

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-283003

(P2004-283003A)

(43) 公開日 平成16年10月14日(2004. 10. 14)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/70	C 1 2 Q 1/70 Z N A	4 B O 6 3
// C 0 7 K 14/005	C O 7 K 14/005	4 B O 6 5
C 0 7 K 14/435	C O 7 K 14/435	4 H O 4 5
C 0 7 K 19/00	C O 7 K 19/00	
C 1 2 N 7/00	C 1 2 N 7/00	
審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 11 頁)		

(21) 出願番号	特願2003-61727 (P2003-61727)	(71) 出願人	899000013
(22) 出願日	平成15年3月7日 (2003. 3. 7)		財団法人理工学振興会
(31) 優先権主張番号	特願2003-24800 (P2003-24800)		東京都目黒区大岡山 2 - 1 2 - 1
(32) 優先日	平成15年1月31日 (2003. 1. 31)	(74) 代理人	100077517
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		弁理士 石田 敬
		(74) 代理人	100092624
			弁理士 鶴田 準一
		(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100082898
			弁理士 西山 雅也
		(74) 代理人	100081330
			弁理士 樋口 外治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バクテリオファージによる大腸菌の検出

(57) 【要約】

【課題】 大腸菌を検出するための新規な方法の提供。

【解決手段】 大腸菌の検出方法において、標識された外殻蛋白質を有する T 系バクテリオファージを試料と接触せしめ、そして細胞表面に当該標識が結合した細菌等が該試料中に存在するか否かを判定することを特徴とする方法、並びに大腸菌の細胞表面に特異的に吸着する、標識された外殻蛋白質を有する T 系バクテリオファージを含んでなる、大腸菌検出試薬。本発明によれば、大腸菌の細胞の表面に特異的に吸着したバクテリオファージの外殻蛋白質に結合した標識を直接検出するので、大腸菌を、短時間で、簡単に、高感度に、正確に検出する事が出来る。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

大腸菌の検出方法において、標識された外殻蛋白質を有する T 系バクテリオファージを試料と接触せしめ、そして細胞表面に当該標識が結合した細菌が該試料中に存在するか否かを判定することを特徴とする方法。

【請求項 2】

前記 T 系バクテリオファージの中に病原性大腸菌特異的ファージである P P O 1 株を含む、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記外殻蛋白質が、S O C (S m a l l O u t e r C a p s i d) 蛋白質である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。 10

【請求項 4】

前記標識が、緑色蛍光タンパク質 (G r e e n F l u o r e s c e n t P r o t e i n ; G F P) であり、この G F P が前記 S O C 蛋白質にペプチド結合により連結されている、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 S O C (S m a l l O u t e r C a p s i d) 蛋白質が、配列番号：2 又は配列番号：6 に示すアミノ酸配列を有する、請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 6】

大腸菌の細胞表面に特異的に吸着する、標識された外殻蛋白質を有する T 系バクテリオファージを含んでなる、大腸菌検出試薬。 20

【請求項 7】

前記 T 系バクテリオファージの中に P P O 1 株を含む、請求項 6 記載の試薬。

【請求項 8】

前記外殻蛋白質が、S O C (S m a l l O u t e r C a p s i d) 蛋白質である、請求項 6 又は 7 に記載の試薬。

【請求項 9】

前記標識が、緑色蛍光タンパク質 (G r e e n F l u o r e s c e n t P r o t e i n ; G F P) であり、この G F P が前記 S O C 蛋白質にペプチド結合により連結されている、請求項 6 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 10】

前記 S O C (S m a l l O u t e r C a p s i d) 蛋白質が、配列番号：2 又は配列番号：6 に示すアミノ酸配列を有する、請求項 8 又は 9 に記載の試薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、大腸菌の検出方法に関する。更に詳しくは、本発明は、宿主に対するバクテリオファージの特異性を利用した、大腸菌の検出方法及びそのための試薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

衛生指標細菌として用いられている大腸菌群の中には、大腸菌以外の細菌が多く含まれ、必ずしもヒト由来糞便性大腸菌濃度を反映していない。また、大腸菌群の検出は培養法で行うため、通常検出までに 1 日以上を要する。

わが国における病原性大腸菌 O 1 5 7 の検出件数は毎年増加しており、感染による死亡者も報告されている。この感染症による被害を最小限に抑えるためには、感染が疑われる患者の糞便中からの病原菌の迅速な検出と、感染源の迅速な特定が必要である。このため、従来から、病原性大腸菌 O 1 5 7 の検出のための種々の方法が開発されている。

【0003】

例えば、病原性大腸菌固有の抗原に対する抗体を用いる方法が知られているが、精度の点で問題がある。また、病原性大腸菌の D N A 中の、当該大腸菌に特異的な特定の領域、具 50

体的にはベロ毒素（V t 1，V t 2）をコードする遺伝子領域をP C Rにより増幅して、その存在を検出する方法が知られているが、この方法の実施には高度の技術が必要である上、死菌と、検出したい生菌とが区別できないという欠点がある。

【0004】

更に、特開2000-308486号公報、及び特開2002-45183号公報には、特定の細菌に対して特異的なバクテリオファージの遺伝子に標識を組みこんでおき、このファージを細菌細胞に感染させて、細菌細胞中で増加する標識を検出する方法が記載されている。しかしながら、この方法においては、バクテリオファージを細菌に感染させ、細菌の菌体内の標識を検出しなければならない、このために時間を要し、また検出すべきシグナル（蛍光）が微弱であって、感度が十分でないなどの問題点がある。

10

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

従って、本発明は、細菌に対するバクテリオファージの特異性を利用しながら、迅速で且つ高感度で大腸菌を検出できる方法を提供しようとするものである。

【0006】

本発明者は、上記の課題を解決すべく種々検討した結果、大腸菌に対して特異的に感染するバクテリオファージの外殻蛋白質を標識しておき、このバクテリオファージを当該大腸菌の細胞表面に吸着させれば、細胞内の標識を検出する必要がなく、迅速に且つ高感度で大腸菌を検出できることを見出し、本発明を完成した。

【0007】

【課題を解決するための手段】

従って本発明は、大腸菌の検出方法において、標識された外殻蛋白質を有するT系バクテリオファージを試料と接触せしめ、そして細胞表面に当該標識が結合した細菌当該試料中に存在するか否かを判定することの特徴とする方法を提供する。

本発明はまた、大腸菌の細胞表面に特異的に吸着する、標識された外殻蛋白質を有するT系バクテリオファージを含んでなる、大腸菌検出試薬を提供する。

【0008】

上記のT系バクテリオファージの具体例としては、T4ファージ又は本発明者らがブタの糞便から単離したP P O 1株が挙げられる。また、前記外殻蛋白質としてはS O C（S m a l l O u t e r C a p s i d）蛋白質が挙げられる。上記標識としては、緑色蛍光タンパク質（G r e e n F l u o r e s c e n t P r o t e i n；G F P）を、前記外殻蛋白質、例えばS O C蛋白質にペプチド結合により連結して使用するのが好ましい。このS O C蛋白質は、例えば配列番号：2又は配列番号：6に示すアミノ酸配列を有する。

30

【0009】

【発明の実施の形態】

細菌のみに感染するウイルスであるバクテリオファージは、特定の細菌にのみ感染するという高い宿主特異性を有している。この感染に当たっては、バクテリオファージは大腸菌の表面抗原に特異的に吸着し、しかる後に、バクテリオファージ中のD N Aが菌体内に注入され、菌体内ではバクテリオファージのD N Aが複製されるとともに、バクテリオファージの外殻蛋白質など、ファージ粒子の形成に必要な蛋白質が合成され、それらが集合してファージ粒子が形成され、細菌細胞が溶菌して多数のファージ粒子が放出されて、新たな感染サイクルが始まる。本発明は、上記のファージ感染サイクルの内、初期の、バクテリオファージが大腸菌の細胞表面に特異的に吸着される段階を利用する。

40

【0010】

本発明の方法に用いるバクテリオファージとしては、大腸菌に特徴的な抗原を認識して当該大腸菌に特異的に吸着するバクテリオファージであれば特に限定されないが、T4ファージ又は本発明者らが、大腸菌O 1 5 7：H 7株に感染するファージを環境中からスクリーニングした結果、ブタの糞便から単離した、P P O 1株が具体例として挙げられる。

【0011】

50

本発明の方法においては、大腸菌の細胞表面に吸着されたバクテリオファージを、外部から検出する必要があるので、ファージの外殻蛋白質を標識しておく必要があり、この外殻蛋白質として、Small Outer Capsid (SOC) 蛋白質を修飾するのが好ましい。バクテリオファージ P P 0 1 株の SOC 蛋白質は配列番号：2 に T 4 ファージの SOC 蛋白質は配列番号：6 に、それぞれ示す。なお、P P 0 1 - S O C のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を、配列番号：1 に T 4 - S O C のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を、配列番号：5 に、それぞれ示す。

【0012】

本発明において使用する標識としては、バクテリオファージの外殻蛋白質を標識できるものであればよいが、簡単に検出でき、且つバクテリオファージの外殻蛋白質に簡単に結合させることができるものとして、緑色蛍光タンパク質 (Green Fluorescent Protein; GFP) が挙げられる。この前記標識が、緑色蛍光タンパク質 (Green Fluorescent Protein; GFP) は、前記 SOC 蛋白質の、例えば N-末端又は C-末端ペプチド結合により連結される。このためには、バクテリオファージに SOC 蛋白質をコードする DNA と GFP をコードする DNA とを読み枠を合わせて連結すればよい。なお、GFP をコードする DNA のヌクレオチド配列を配列番号：3 に示し、そして GFP のアミノ酸配列を配列番号：4 に示す。

【0013】

本発明の方法を実施するに当たっては、糞便、食品、又はその他の検体から、常法に従って細菌を分離する。細菌の分離、培養は本発明の特徴を構成するものではなく、任意の方法を用いることが出来る。

【0014】

本発明に使用するバクテリオファージは、常法に従って調製することが出来る。例えば、バクテリオファージ P P 0 1 株など、病原性大腸菌 O 1 5 7 の細胞表面に特異的に吸着するファージを、その宿主、例えば大腸菌 O 1 5 7 : H 7 株 (A T C C 4 3 8 8 8) の培養物に添加した後、その大腸菌を常法に従って培養することにより溶菌し、溶菌物を遠心分離して不溶物を除去すれば、バクテリオファージ粒子を含む液が得られる。

【0015】

検出試験は、例えば次のようにして行う事が出来る。被験細菌を、ファージを吸着させるのに適した、例えば LB 培地に懸濁し、その少量、例えば 5 0 μ L を取る。次に、適当に希釈したファージ液を、例えば 1 : 1 の容量比で前記菌体懸濁液に加え、混合する。この混合液を約 2 5 $^{\circ}$ C にて、例えば約 1 0 分間放置し、ファージを培養菌体の表面に吸着させる。この操作において、被懸細菌中に大腸菌 O 1 5 7 が含まれておれば、その細胞表面に、標識されたバクテリオファージが吸着する。

【0016】

次に、上記の細菌懸濁液を遠心分離して、細菌細胞を得る事により、未吸着バクテリオファージを除去し、さらに細胞を洗浄することにより、非特異的に付着しているバクテリオファージを除去する。

【0017】

バクテリオファージの吸着を介して細菌表面に固定された標識は、標識の種類に応じて選択された検出方法により検出される。標識が緑色蛍光タンパク質 (Green Fluorescent Protein; GFP) である場合、4 6 0 ~ 4 9 0 n m の波長の励起紫外線を細菌細胞に照射し、その際発生する 5 1 0 ~ 5 5 0 n m の波長の紫外線を検出又は測定する。この検出・測定は、例えば蛍光顕微鏡での観察、フローサイトメトリーなど、定法に従って行う事ができる。

【0018】

【実施例】

次に実施例により、本発明を更に具体的に説明する。

実施例 1. GFP 導入ファージ液の調製

GFP 導入ファージを大腸菌 O 1 5 7 : H 7 A T C C 4 3 8 8 8 に感染させ、感染

菌体を LB 培地中で振盪培養 (28℃, 120 rpm) することにより、GFP 導入ファージを増殖させた。ファージの感染は、対数増殖期前期の大腸菌培養液に GFP 導入ファージを MOI (Multiplicity of infection) = 0.01 [PFU/CFU] となるように添加することで行った。

【0019】

ファージ添加から約6時間の振盪培養後、クロロホルム2.5ml を添加し、4℃恒温下に1時間放置することで、未溶菌菌体を溶菌させた。クロロホルム処理後、菌体破碎物の除去を目的に、遠心分離 (9500 x g, 10 min, 4℃) を行い、ファージを含む遠心上清を回収した。この遠心上清250ml に PEG6000 25g および NaCl 10g を溶解させた後に、4℃恒温下に一晚放置した。一晚静置後、遠心分離 (16000 x g, 60 min, 4℃) を行い、沈殿としてファージを収集した。 10

【0020】

この沈殿を SM 10ml 中に懸濁した後、クロロホルム20ml を加え、4℃恒温下に6時間静置した後に遠心分離 (10000 x g, 20 min, 4℃) を行い、PEG6000 を除去した。遠心分離後回収した水層について、セシウムクロライド密度勾配 (1.7, 1.5 および 1.45 g/cm³) 中で遠心分離 (111000 x g, 2 hr, 4℃) を行い、ファージを濃縮した。回収したファージ濃縮液について、SM 中で一晚透析を行い、CsCl を除去した。

【0021】

実施例2. 病原性大腸菌O157の検出

大腸菌 O157:H7 (ATCC 43888) および大腸菌 K-12 (W3110) を、それぞれ LB 培地 2ml に播種し、振盪培養 (37℃, 120 rpm) を行った。1.5時間の振盪培養後、培養液 (10⁷ CFU/ml) 100μl を採取し、大腸菌O157:H7 のみの懸濁液、大腸菌K-12 のみの懸濁液、および両者を体積比 1:1 で混合した大腸菌懸濁液を調製した。それぞれの懸濁液について、遠心分離 (17400 x g, 1 min, 4℃) を行い、集菌した。集菌した菌体ペレットを LB中に懸濁させた。 20

【0022】

懸濁後、室温下に10分間静置した後、MOI が 100 [PFU/CFU] となるように、GFP 導入ファージライゼイト (10⁹ PFU/ml) 100μl を添加した。ファージ添加後、室温にて10分間反応させた後、遠心分離 (17400 x g, 1 min, 4℃) を行い、未吸着ファージを含む上清を除去した。遠心後の菌体ペレットをLB の5倍希釈液100μl で洗浄した後、PBS液10μl に懸濁した。この懸濁液について、落射型蛍光顕微鏡を用い、GFP 蛍光 (励起波長: 460-490 nm、蛍光波長: 510-550 nm) を観察した。 30

【0023】

結果を、図1のA~Cに示す。この図において、上段は通常の光学観察した結果を示し、下段は蛍光検出した結果を示す。Aは、大腸菌O157:H7 のみの懸濁液の結果を示し、Cは、大腸菌K-12 のみの懸濁液の結果を示し、そしてBは、両大腸菌懸濁液を体積比56:44で混合した混合大腸菌懸濁液の結果をしめす。A及びBにおいては、蛍光染色された細胞が観察されるのに対して、Cにおいては、蛍光染色された細菌が観察されず、本発明の方法で病原性大腸菌O157が特異的に検出される事が確認された。 40

実施例3. 大腸菌K12 (W3110) の検出

図2はT4ファージのSOC蛋白質にGFPを融合し、大腸菌K12 (W3110) に感染させたときの光学顕微鏡写真 (A) と蛍光顕微鏡写真 (B) である。大腸菌O157:H7 同様、本組換えファージにより、ヒト由来大腸菌K12株を蛍光顕微鏡で検出できることが確認できた。

【0024】

【発明の効果】

本発明によれば、大腸菌を、短時間で、簡単に、高感度に、正確に検出する事が出来る。

【 0 0 2 5 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Detection of Escherichia coli 0157 by bacteriophage

<120>

<130> 6

<210> 1

10

<211> 246

<212> DNA

<213> Bacteriophage PP01

<223> Nucleotide sequence of DNA encoding small outer capsid protein of bacteriophage PP01

<400> 1

atggctagta ctcgcgggta tgtaaatatt aaaacatttg agcaaaaatt agatggaaat	60	20
aagaaaattg aaggaaagga aatttcigta gctttccctc tttattciga cgttcacaaa	120	
atttcigggcg ctcattatca gatattccct tcagaaaaag cagcatattc tacagtatat	180	
gaagaaaatc aacgtactga atggattact gcaaacgaag atttgtggaa agtaactggt	240	
gaataa	246	

<210> 2

<211> 81

30

<212> PRT

<213> Bacteriophage PP01

<223> Amino acid sequence of small outer capsid protein of bacteriophage PP01

<400> 2

Met Ala Ser Thr Arg Gly Tyr Val Asn Ile Lys Thr Phe Glu Gln Lys		40
1 5 10 15		
Leu Asp Gly Asn Lys Lys Ile Glu Gly Lys Glu Ile Ser Val Ala Phe		
20 25 30		
Pro Leu Tyr Ser Asp Val His Lys Ile Ser Gly Ala His Tyr Gln Ile		

	35		40		45	
Phe	Pro	Ser	Glu	Lys	Ala	Ala
Tyr	Ser	Thr	Val	Tyr	Glu	Glu
Asn	Gln					
50		55		60		
Arg	Thr	Glu	Trp	Ile	Thr	Ala
Asn	Glu	Asp	Leu	Trp	Lys	Val
Thr	Gly					
65		70		75		80
Glu						

10

<210> 3

<211> 717

<212> DNA

<213>

<223> Nucleotide sequence of DNA encoding green fluorescence protein

<400> 3

```

atgagttaaag gagaagaact tttcactgga gtgtgccaa tttttgttga attagatggt 60
gatgttaatg ggcacaaatt tttgttcagt ggagaggggtg aaggatgatc aacatacggg 120
aaacttacc ttaaatttat ttgcactact ggaaaactac ctgttccatg gccaacactt 180
gtcactactt tcacttatgg tgttcaatgc ttttcaagat acccagatca tatgaaacgg 240
catgactttt tcaagagtgc catgcccga ggittatgtac aggaaagaac tatatttttc 300
aaagaigacg ggaactacaa gacacgtgct gaagtcaagt ttgaagggtg tacccttggt 360
aatagaatcg agttaaaagg tattgatit aaagaagatg gaaacattct tggacacaaa 420
ttggaataca actataacc acacaatgta tacatcatgg cagacaaaca aaagaatgga 480
atcaaagtta acttcaaaat tagacacaac attgaagatg gaagcgttca actagcagac 540
cattatcaac aaaatactcc aattggcgat ggccctgtcc ttttaccaga caaccattac 600
ctgtccacac aatctgccct ttcgaaagat cccaacgaaa agagagacca catggtcctt 660
cttgagttag taacagctgc tgggattaca catggcatgg atgaactata caaatag 717

```

20

30

<210> 4

<211> 238

<212> PRT

40

<213>

<223> Amino acid sequence of green fluorescence protein

<400> 4

Met	Ser	Lys	Gly	Glu	Glu	Leu	Phe	Thr	Gly	Val	Val	Pro	Ile	Leu	Val
1				5					10					15	
Glu	Leu	Asp	Gly	Asp	Val	Asn	Gly	His	Lys	Phe	Ser	Val	Ser	Gly	Glu
			20					25					30		
Gly	Glu	Gly	Asp	Ala	Thr	Tyr	Gly	Lys	Leu	Thr	Leu	Lys	Phe	Ile	Cys
			35					40					45		
Thr	Thr	Gly	Lys	Leu	Pro	Val	Pro	Trp	Pro	Thr	Leu	Val	Thr	Thr	Phe
			50					55					60		
Thr	Tyr	Gly	Val	Gln	Cys	Phe	Ser	Arg	Tyr	Pro	Asp	His	Met	Lys	Arg
65						70					75				80
His	Asp	Phe	Phe	Lys	Ser	Ala	Met	Pro	Glu	Gly	Tyr	Val	Gln	Glu	Arg
						85					90				95
Thr	Ile	Phe	Phe	Lys	Asp	Asp	Gly	Asn	Tyr	Lys	Thr	Arg	Ala	Glu	Val
						100					105				110
Lys	Phe	Glu	Gly	Asp	Thr	Leu	Val	Asn	Arg	Ile	Glu	Leu	Lys	Gly	Ile
						115									125
Asp	Phe	Lys	Glu	Asp	Gly	Asn	Ile	Leu	Gly	His	Lys	Leu	Glu	Tyr	Asn
						130									140
Tyr	Asn	Pro	His	Asn	Val	Tyr	Ile	Met	Ala	Asp	Lys	Gln	Lys	Asn	Gly
145						150									160
Ile	Lys	Val	Asn	Phe	Lys	Ile	Arg	His	Asn	Ile	Glu	Asp	Gly	Ser	Val
						165									175
Gln	Leu	Ala	Asp	His	Tyr	Gln	Gln	Asn	Thr	Pro	Ile	Gly	Asp	Gly	Pro
						180									190
Val	Leu	Leu	Pro	Asp	Asn	His	Tyr	Leu	Ser	Thr	Gln	Ser	Ala	Leu	Ser
						195									205

10

20

30

40

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val
 210 215 220
 Thr Ala Ala Gly Ile Thr His Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
 225 230 235

<210> 5

<211> 243

10

<212> DNA

<213> Bacteriophage T4

<223> Nucleotide sequence of DNA encoding small outer capsid protein of bacteriophage T4

<400> 5

atggctagta ctgcggtta tgtaatatc aaaacatttg agcagaaatt agatggaaat 60
 aagaaaattg aaggaaagga aatttcgtga gctttccctc tttattctga cgttcacaaa 120
 atttcggcgc ctcatatcca gacattccct tcagaaaaag cagcatattc tacagtatat 180
 gaagaaaatc aacgtactga atggattgct gcaaatgaag atttgtggaa agtaactggt 240
 taa 243

20

<210> 6

<211> 80

<212> PRT

30

<213> Bacteriophage T4

<223> Amino acid sequence of small outer capsid protein of bacteriophage T4

<400> 6

Met Ala Ser Thr Arg Gly Tyr Val Asn Ile Lys Thr Phe Glu Gln Lys
 5 10 15
 Leu Asp Gly Asn Lys Lys Ile Glu Gly Lys Glu Ile Ser Val Ala Phe
 20 25 30

40

Pro Leu Tyr Ser Asp Val His Lys Ile Ser Gly Ala His Tyr Gln Thr
 35 40 45
 Phe Pro Ser Glu Lys Ala Ala Tyr Ser Thr Val Tyr Glu Glu Asn Gln
 50 55 60
 Arg Thr Glu Trp Ile Ala Ala Asn Glu Asp Leu Trp Lys Val Thr Gly
 65 70 75 80

10

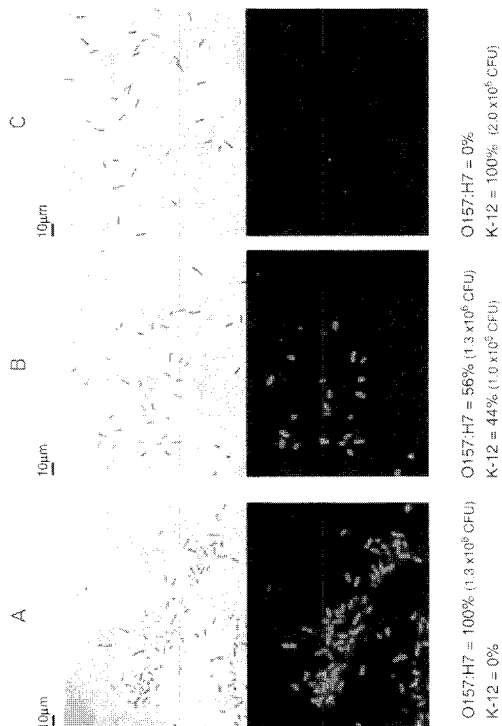
【図面の簡単な説明】

【図 1】図 1 は実施例 2 の結果を示し、A は、大腸菌 O 1 5 7 : H 7 のみの懸濁液中の細菌を本発明の方法により検出した結果を示す、生物の形態を示す図面代用写真である。B は、大腸菌 O 1 5 7 : H 7 及び大腸菌 K - 1 2 の両者を含む懸濁液中の細菌を本発明の方法により検出した結果を示す、生物の形態を示す図面代用写真である。C は、大腸菌 K - 1 2 のみの懸濁液中の細菌を本発明の方法により検出した結果を示す、生物の形態を示す図面代用写真である。

【図 2】図 2 は実施例 3 の結果を示す、生物の形態を示す図面代用写真である。

【図 1】

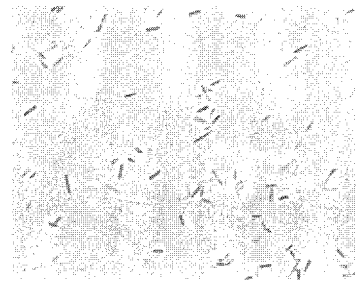
図 1



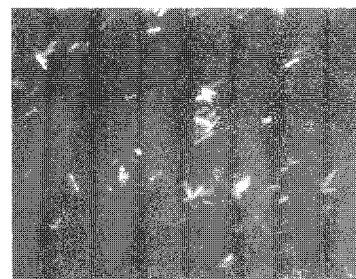
【図 2】

図 2

A: 光学顕微鏡写真



B: 蛍光顕微鏡写真



フロントページの続き

- (72)発明者 丹治 保典
神奈川県横浜市緑区長津田町4 2 5 9 東京工業大学内
- (72)発明者 海野 肇
神奈川県横浜市緑区長津田町4 2 5 9 東京工業大学内
- (72)発明者 織田 全人
神奈川県横浜市緑区長津田町4 2 5 9 東京工業大学内
- (72)発明者 森田 昌知
神奈川県横浜市緑区長津田町4 2 5 9 東京工業大学内
- F ターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ06 QR48 QR79 QS12 QS36 QX01
4B065 AA98X AC20 BA25 CA46
4H045 AA30 BA10 BA41 CA01 CA50 DA50 EA50 FA71 FA72