

## C. 研究結果

### BALB/c マウスの白血球粘着能に対する トランジェント電磁界の影響

超低周波電磁界暴露とトランジェント暴露の暴露による白血球粘着能の変化について検討をおこなった。粘着能の計測は、暴露開始当日 (Day 1) および、8 日目 (Day 8)、及び 15 日目 (Day 15) に、前述の方法でおこなった。暴露群の暴露レベルについては、50Hz、3 mT の超低周波暴露に 7.4 kHz で 162  $\mu$ T の 50 msec signal - 1sec interval (50 ミリ秒シグナル - 1 秒停止の繰り返しモード：図 4 を参照) とした。また、非暴露群を対照とした。暴露群は 18 匹、非暴露群は 13 匹を対象とし実験をおこなった。白血球粘着能の結果を図 7 にまとめた。また個体毎のデータを表 1 に示した。白血球粘着能については個体間のばらつきがあるが、非暴露群においては、増加または減少といった一方向の傾向は存在せず統計的にも差がみられなかった。しかしながら暴露群においては、暴露 15 日目において、暴露開始日および 8 日目と比較して粘着白血球が有意に増加 ( $p < 0.01$ ) することが観察された。

### ProCPR 遺伝子欠損マウスの白血球粘着に 対するトランジェント電磁界の影響

本研究においては、白血球の粘着能と電磁界暴露との間に、カルボキシペプチダーゼ R (CPR) がどの程度関与しているか否かを調べるために、CPR の前駆体 (ProCPR) 遺伝子ノックアウトマウスを用いて、暴露条件下の白血球挙動について DSC 法を用いた *in vivo* での解析、及

び *in vitro* での解析をおこなった。図 8 に白血球挙動について *in vivo* での解析結果を掲げた。本研究では、ProCPR 遺伝子について、+/+、+/-、-/- の 3 群について各 6 匹、計 18 匹に DSC を取り付け、実験を行った。しかしながら、途中でチェンバー破損、血流不全などが見られ、最終的に Day1、Day 8、Day15 の全てのデータが取れたのが、+/+(野生型)群で 4 匹、+/- (ヘテロ) 群で 2 匹、-/- (欠損) 群で 4 匹の計 10 匹であった。したがって、図中のデータは 10 個体分である。その結果、群内では、+/+群、+/-群、-/-群ともに、暴露期間の増大に応じて、白血球粘着能は亢進している傾向が伺えたが統計的有意差は見られなかった。また、群間比較をおこなうと、いずれの測定点においても ProCPR 遺伝子欠損群 (-/-群) の粘着能は、Wild type 群 (+/+群) に比べて、低い傾向が見られたが、これについて統計的有意差は見られなかった。

次に、暴露を始めてから 4 週間後に、全てのマウスを対象に *in vitro* での白血球粘着能を検討した。その結果を図 9 に示す。その結果、+/+群および+/-群については一定面積あたりの粘着白血球の数が-/-群よりも多く、個体間のばらつきも多かった。-/-群は他の 2 群よりも粘着した白血球の数が少なく、ProCPR 遺伝子と粘着について何らかの影響がある可能性は排除できないもののこれらの違いには統計的な有意差は検出されなかった。

#### D. 考察

本分担研究では、超低周波磁界の亜慢性暴露による免疫系への影響を、血管内壁と白血球の相互作用を指標として、実験動物を用いて検討した。

トランジェント磁界は、スイッチのオンオフ操作によって生じる過渡電流に由来する周波数、数百 Hz から数 100kHz に及ぶ周波数的に幅の広い、かつ時間的には数ミリ～数十ミリ秒程度の短い瞬間的な電磁界である。最近このようなトランジェント磁界が生体に何らかの作用を及ぼし、結果として健康影響につながるのではないかと注目されている。米国では 156 世帯において 24 時間あるいはさらに長時間の実測例があるが、その実態はまだ不明な点が多い。トランジェント電磁界に関する実験的研究として、Kurokawa らは、健常なヒトを対象にトランジェント電磁界暴露を行い、血清中のメラトニン、成長ホルモンなどの濃度変化を測定したところ電磁界の急性影響が見られないことを報告している。しかしながら、それ以外の実験的研究については報告がない。研究報告が少ない背景としては、トランジェント磁界は既に述べたように非常に多様な環境を示すものであること、またトランジェント磁界を発生させる発振器に統一の規格が存在しないことなどが考えられる。しかしながら、トランジェント電磁界の研究を進めることの必要性は、WHO の国際 EMF プロジェクトでも強調されていることから今後電磁界の生体リスクを考える際に重要な問題になることが予想される。そのような背景から、本分担研究においては、昨年度までに本研究で開発された発振器を用いて、トランジ

ェント磁界を発生させ、トランジェント磁界に対する生体影響、特に白血球挙動を解析することにより生体の免疫系への影響を検討した。

既に我々は、本研究に用いた手法と同じマウス背側皮膚透明窓 (DSC) を用いた研究において、50Hz、3mT の暴露を 15 日間おこなうと、白血球の粘着能が統計的に有意に惹起されるが、1 mT 以下で同条件の暴露をおこなってもその影響は統計的に見られないことを報告している (Ushiyama *et al.*)。

本研究では、50Hz、3mT の磁場環境にさらに、トランジェント磁界を重畳し、白血球挙動について、検討をおこなった。その結果、15 日間の暴露群の白血球粘着能は同様の操作をした非暴露群よりも有意に高い値を示した。また、暴露群の群内比較においても、15 日間暴露時の白血球粘着能は、暴露開始日及び 8 日目に比べて有意に亢進していた。しかしながら、50Hz、3 mT の単独暴露による影響と比較をすると、トランジェント磁界を重畳することによる影響の増強は見られなかった。少なくともトランジェント磁界が白血球粘着能に大きな影響を与えている可能性は低いと考えられる。したがって、本分担研究で観察された白血球粘着能の亢進現象はおもに 50Hz、3mT の強い磁界によって惹起されたものと考えられる。この結果は電磁界が免疫系に直接的、間接的に何らかの影響を与えることを示唆しているが、一方でヒトの健康に対してどれだけの影響を及ぼすのかについてそのメカニズムも含めてさらに検討が必要である。

本分担研究では、カルボキシペプチダーゼ (CP) R の前駆体である、ProCPR

遺伝子のノックアウトマウスを用いて白血球粘着能の検討をおこなった。CPRは、生体内ではその前駆体 ProCPR から生成され、カルボキシペプチダーゼ (CP) N と同様に生体内のいくつかの活性ペプチドの不活性化に関与している。また CPR 活性は生体内においてはリポ多糖 (LPS) の投与に伴って活性化を受けることから、CPR の生体内の役割としては過剰な炎症反応を抑えるために炎症のメディエーターを分解するよう働いていると考えられている。従って、この CPR の活性が炎症反応の程度を表す指標として考えられる。CPR に関してはこれまでの研究で、Wild type のマウスに 50Hz、3 mT の暴露を 1 週間おこなうとその活性が低下することが示されている。本研究においては、分担研究者の岡田らによって作成された ProCPR ノックアウトマウスを用いて生体顕微鏡的に観察される白血球の挙動を観察し、電磁界暴露下の白血球粘着能における ProCPR の関与について検討をおこなった。その結果、2 週間の連続暴露の範囲内では、有意差はなかったが遺伝子型に関係なく、粘着能が増加傾向を示した。統計的に検出できなかったことの原因としてそれぞれの群に用いた個体数が限られてしまったことが要因と考えられる。また遺伝子型間での違いを見ると、-/- 群では他の 2 群に比べ粘着能が低い傾向が見られた。これについても有意差はみられなかったが、ProCPR 遺伝子が何らかの形で白血球粘着性に関わりを持っていることが、推察される。動物に対して引き続き計 4 週間の亜慢性暴露を行い、その血液を採取し毛細ガラス管を用いて白血球の粘着能を調べたがここでも

暴露による統計的な差は見られなかった。しかしながら、in vivo での結果と同様に、-/- 群で他の 2 群に比べて低い値を示す傾向がみられ、in vitro の結果からも ProCPR 遺伝子が、電磁界暴露による白血球粘着能に関連している可能性が推測される。前述したように、本研究においてはそれぞれの群の個体数が限られた実験であるため、今後、例数を増やして詳細に検討する必要があると思われる。

我々が日常生活で暴露される本研究で用いた条件 (50Hz、3 mT) は日常生活で暴露される磁束密度に比べて、レベルに比べ数千倍強いレベルであるため、通常的环境下では本研究で見られた影響は見られないであろう。しかしながら本研究においても 8 日目と比較して 15 日目では白血球粘着性亢進現象が顕著になっていることからさらに長期間に亘っての暴露も検討する必要がある。

生体内における白血球の粘着亢進には各種サイトカイン、活性酸素や一酸化窒素をはじめとする様々な因子が関与しており、本研究課題では昨年度までの研究でサイトカインの血清中濃度を測定したが、暴露による影響は認められなかった。今後は、たとえば、電磁界暴露と活性酸素の発生の関係などからの検討も必要である。

今回の結果からはトランジェント磁界が重畳された低周波電磁界においても白血球の粘着が惹起されることが示された。このことから低周波電磁界 (含むトランジェント磁界) が生体の免疫反応に作用することが考えられるが、本研究で用いた磁場環境は (特殊な作業環境を除いて) 日常生活では存在しえない非常に強いも

のであるため、ヒトへの健康影響への直接的な外挿をおこなうことはできない。また今回採用したトランジェントの発生条件は、発振器の機械的制約により、限られた一条件のみの検討であったが、日常生活の電磁界レベルは一定ではなく常に変動があり、トランジェント現象においても様々な波形、強度が存在することから、今後は日常生活環境を模倣したような低レベルかつ長期間暴露といった暴露条件で検討を行う必要があるものと思われる。これらの点について今後詳細な検討を行うことで、電磁界のリスク評価に対してさらなる貢献が可能となると考えられる。

#### E. 結論

本分担研究では、マウスのDSC法を用いて白血球と血管内皮の相互作用の計測法を確立し、超低周波電磁界と過渡（トランジェント）電磁界の全身亜慢性暴露に対する影響を追求した。その結果、周波数50Hz、磁束密度3mT、15日間の連続暴露では、暴露前に比べて白血球の粘着が統計学的に有意な亢進を示し、電磁界が生体の免疫系を修飾する可能性が示唆された。

#### F. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ProCPR ノックアウトマウスを提供して頂いた福祉村

病院長寿医学研究所赤津裕康博士に心より感謝致します。また、研究補助員の廣田彰吾君、佐々木律子さんに感謝致します。

#### F. 参考文献

Cossarizza A, Angioni S, Petraglia F, Genazzani AR, Monti D, Capri M, Bersani F, Cadossi R, Franceschi C. 1993. Exposure to low frequency pulsed electromagnetic fields increases interleukin-1 and interleukin-6 production by human peripheral blood mononuclear cells. *Exp Cell Res* 204(2):385-7.

Guttman JL, Niple JC, Silva JM. 1994. Residential transient magnetic field research. Palo Alto, CA: EPRI.

Guttman JL, Zaffanella LE. 1994. Survey measurements and experimental studies of residential transient magnetic fields. Palo Alto, CA: EPRI.

Jain, R.K., Munn, L.L., Fukumura, D.. Dissecting tumour pathophysiology using intravital microscopy, *Nature Reviews Cancer*, 2, 266-276, 2002

Jonai, H., Villanueva, MBG, Yasuda, A., Cytokine profile of human peripheral blood mononuclear cell exposed to 50

Hz EMF, *Ind Health* 34: 359-368, 1996

Kaune WT, Bracken TD, Senior RS, Rankin RF, Niple JC, Kavet R. 2000. Rate of occurrence of transient magnetic field events in U.S. residences. *Bioelectromagnetics* 21(3):197-213.

Kurokawa Y, Nitta H, Imai H, Kabuto M. 2003. Acute exposure to 50 Hz magnetic fields with harmonics and transient components: lack of effects on nighttime hormonal secretion in men. *Bioelectromagnetics* 24(1):12-20.

Non-ionizing radiation, Part 1: Static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 2002. Vol. 80, IARC Press, Lyon,

Repacholi MH, Greenebaum B. 1999. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living system: Health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 20:133-160.

Ushiyama A., Masuda H., Ohkubo C. 2002. Subchronic effects of whole body exposure to 50 Hz electromagnetic fields on leukocyte-endothelium interaction in the microcirculation in mice. *Microcirculation annual*, Vol.18, 111-112.

Ushiyama A., Yamada S., Ohkubo C.: 1998. Acute effects of extremely low frequency electromagnetic fields on leukocyte adhesiveness in mice., *Microcirculation annual*, Vol. 14, 129-130.

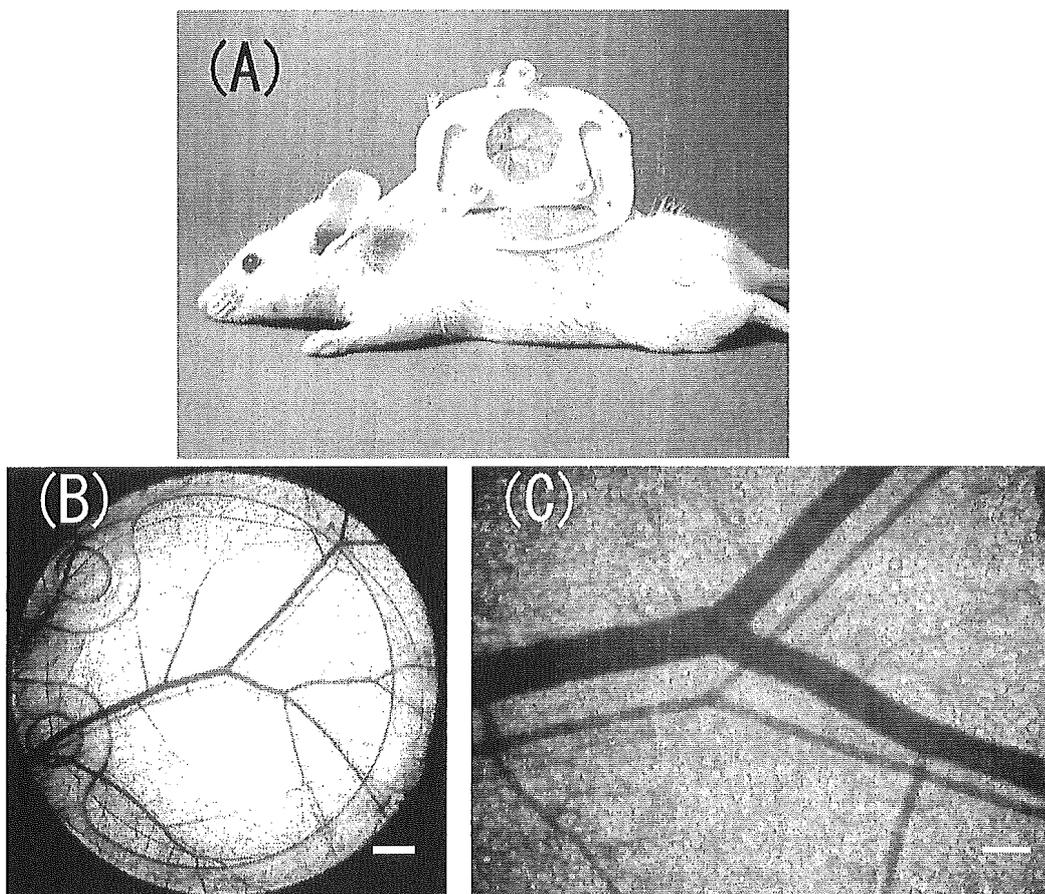


図1 Dorsal Skinfold Chamber を装着したマウス (A) 及び Chamber 内の拡大写真 (B, C)

図中のスケールバーはそれぞれ、1 mm(B), 200  $\mu$ m を示す。

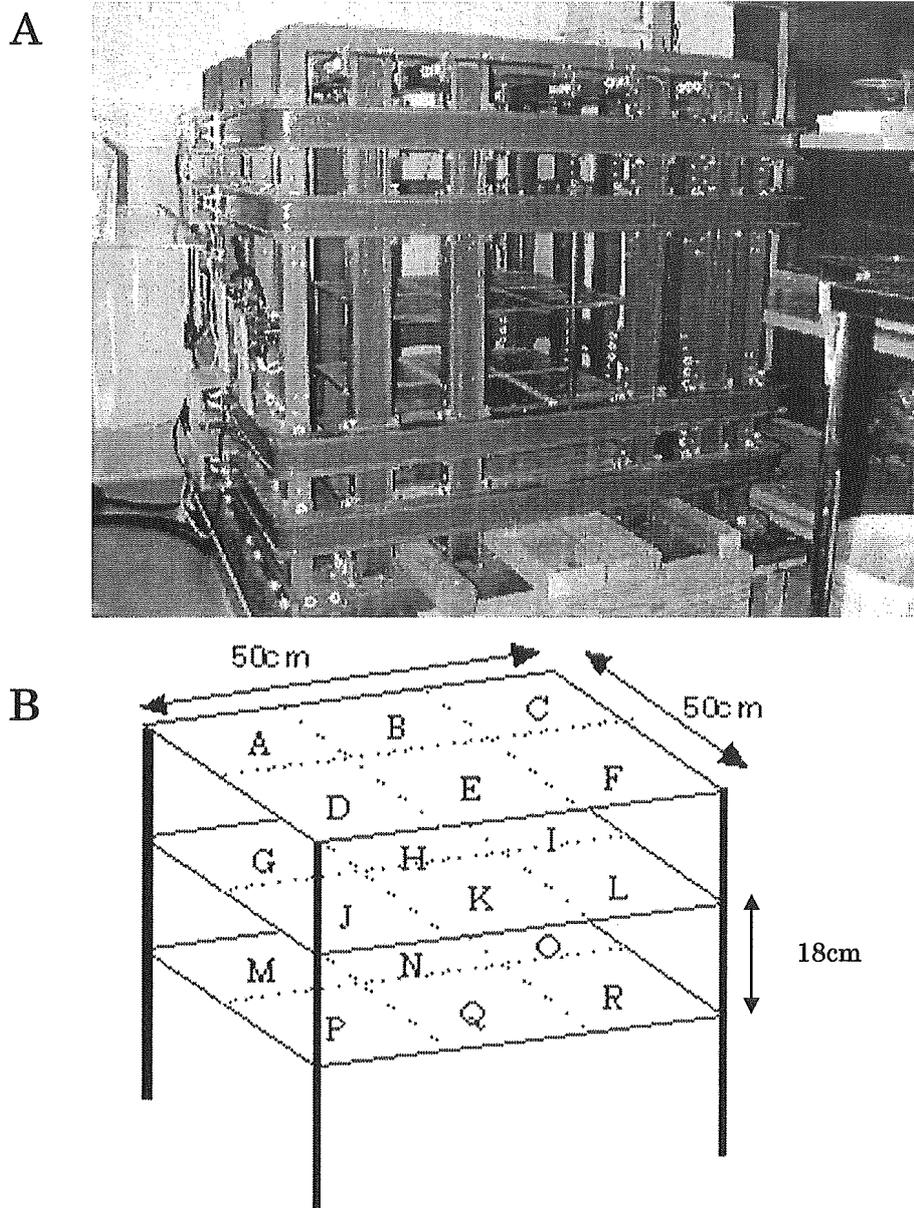
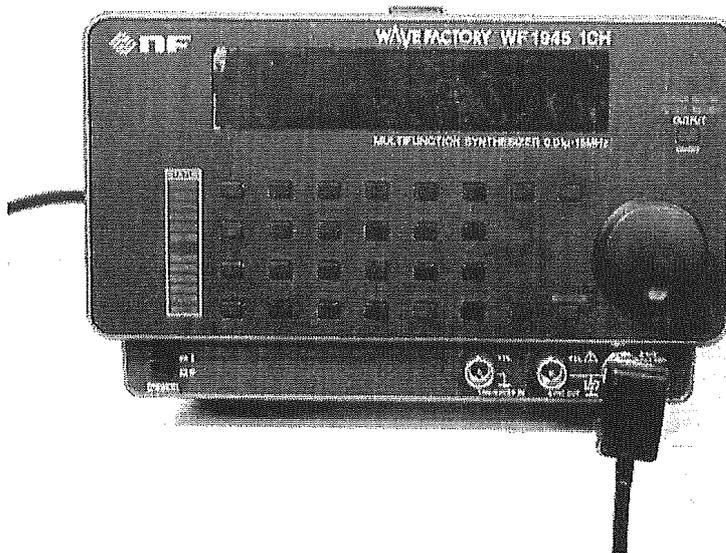


図2 超低周波電磁界歪慢性装置 (A) とその内部の棚の電磁界強度分布 (B)

(A) 本暴露装置は3軸各4個のコイルから構成され、各軸で独立した電源装置を通して内部で均一な電磁界を発生することができる。

(B) 暴露に用いるマウス飼育ケージに合わせて3段の棚を作成し、最大18個のケージをおけるようスペースを区切った。出力を3mTの設定ではそれぞれのスペースの中央での測定値(実効値)を示す。A:3.084mT(以下単位同じ), B: 2.982, C: 3.090, D: 3.120, E: 3.070, F: 3.142, G: 3.080, H: 3.015, I: 3.053, J: 3.040, K: 3.032, L: 3.073, M: 3.140, N: 3.072, O: 3.129, P: 3.077, Q: 3.007, R: 3.010

A



B

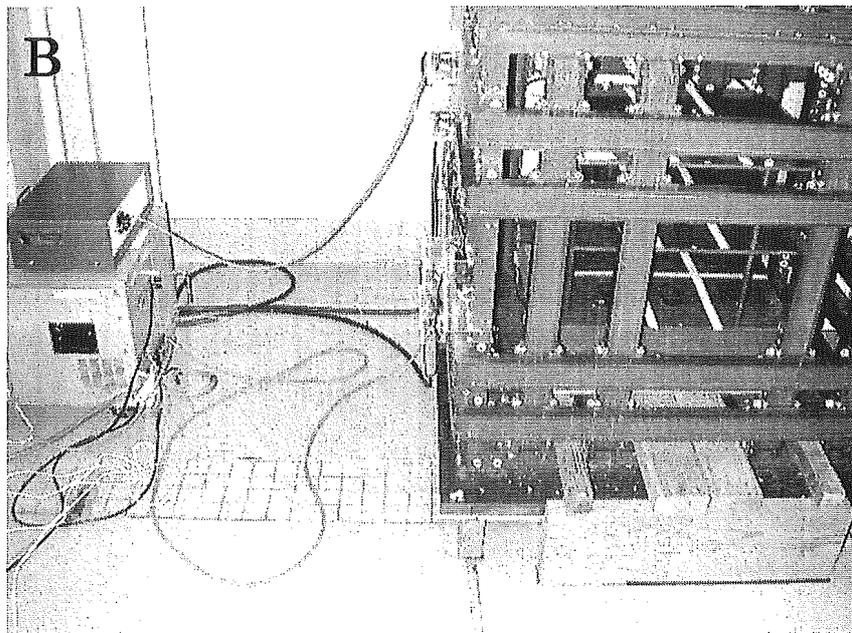


図3 トランジェント電磁界の発振器 (A) とコイルのセットアップ図 (B)

発振器 (A) は暴露室の外に置き、作業者の安全を確保した。発振器は、アンプ (B の左側) に接続しさらにその出力はコイルに入力される。

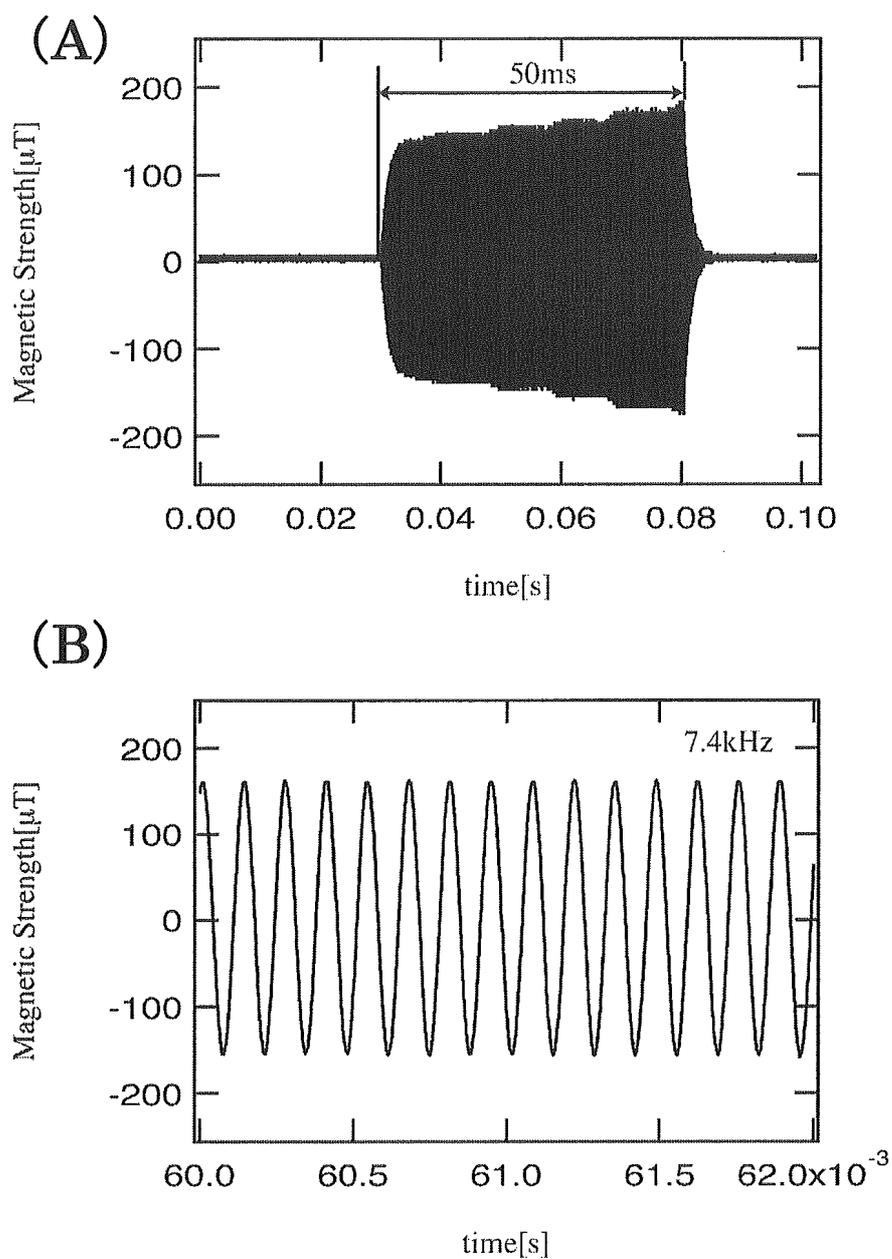


図4 トランジェント発生器から生じるシグナル

(A) 50ms パースト on, 1s パースト off の設定の波形で、Y 軸は  $B_z$  成分；鉛直方向成分の磁界強度を示す。測定場所はコイルのほぼ中心位置である。

(B) A 図の 60ms から 62ms までを拡大したもの。詳しく見ると、パースト on 時にはこのような約 7.4kHz の正弦波形の磁界が生成されている。

(図提供：東京都立大学 鈴木敬久先生)

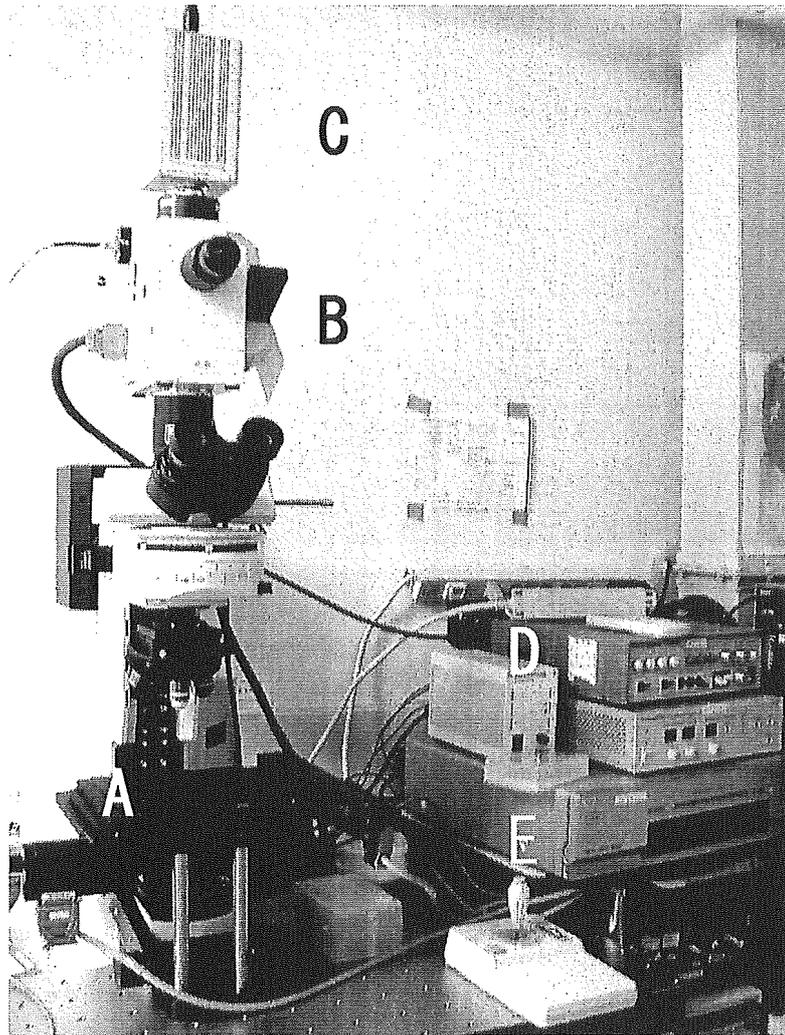


図5 共焦点顕微鏡観察システム

本システムは、正立型落射蛍光顕微鏡 (A)、共焦点ユニット (B)、インテンシファイア付き CCD カメラ (C) を通じて得られた画像を、タイムレコーダー (D) を通じて、デジタルビデオレコーダー (E) 上で記録することが可能である。また、画像は、ビデオボードを介して PC に転送され、ハードディスクに記録することも可能である。

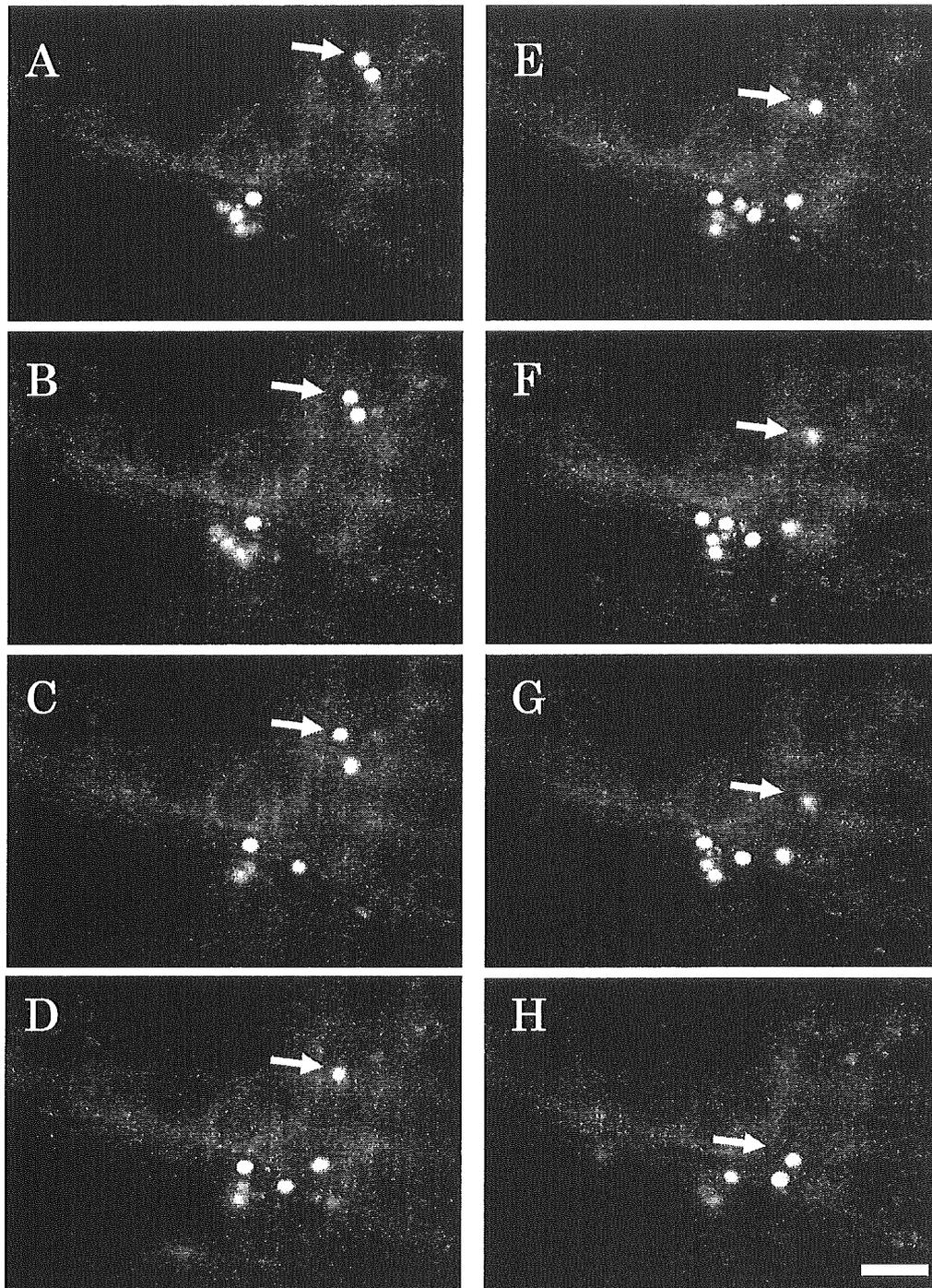


図6 Rhodamine 6Gにより蛍光染色された白血球のレーザー共焦点顕微鏡による同一血管床の連続像 (A~H)

白血球は蛍光を発するため白い点として確認される。粘着性を示す白血球 (図中の矢印) は血流に対して著しく低い速度で内皮細胞上を転がりながら流れることがわかる。(スケールバーは 100  $\mu\text{m}$ )

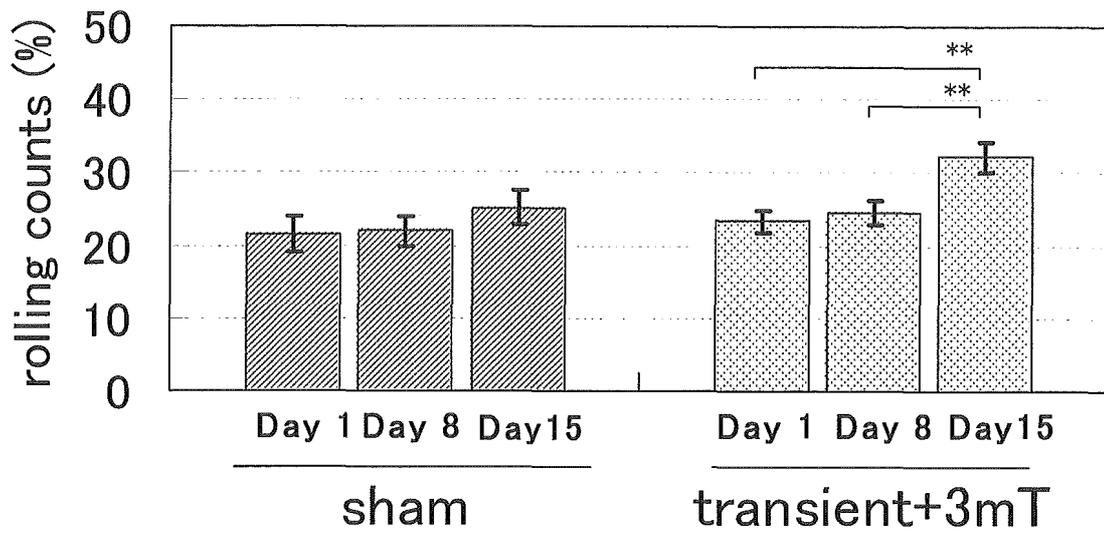


図7 トランジェント電磁界暴露群 (transient+3mT) と対照群 (sham) の暴露前 (Day 1) と暴露開始後 8 日目 (Day 8) 及び 15 日目 (Day 15) における白血球粘着能の変化

対照群は N=13、暴露群は N=18 であり、それぞれ mean ± SE を示す。

(\*\*  $p < 0.01$ )

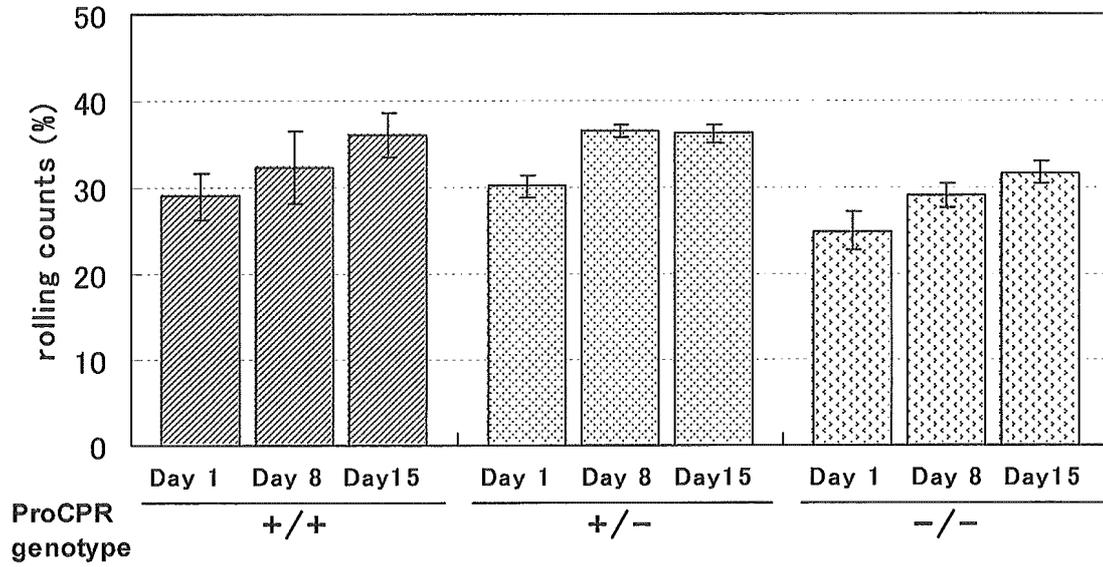


図8 ProCPRの genotype の違いによる Transient 電磁界暴露条件下における白血球粘着能の変化  
白血球粘着能は暴露開始前 (Day 1)、8日目 (Day 8)、15日目 (Day15) にそれぞれ測定した。各データはそれぞれ、mean±SE を示す。

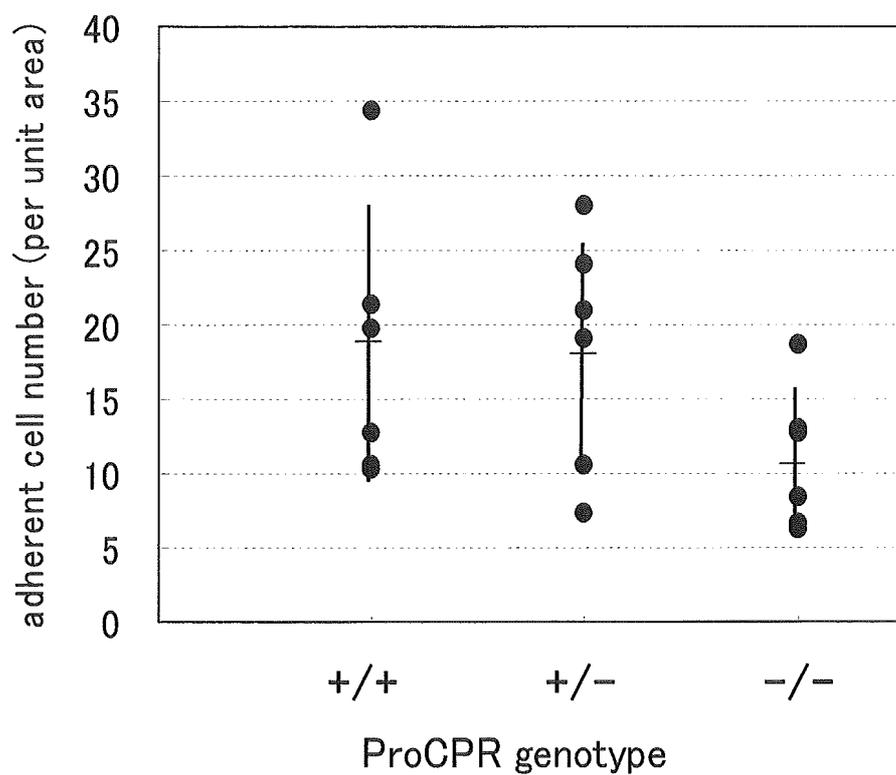


図9 ProCPR genotype が異なるマウス由来の血液中の白血球粘着能

4週間のトランジェント電磁界歪慢性暴露後の血液を採取し、*in vitro* 法で粘着能を測定した。各群6匹のデータを●で示し、バーは mean ±SD を示す。

表1 電磁界亜慢性暴露環境における白血球粘着能（個体別データ）

対照群				暴露群			
No.	Day1	Day8	Day15	No.	Day1	Day8	Day15
1	6.7	13.6	15.2	1	19.5	16.6	22.2
2	16.2	10.3	21.1	2	15.9	20.2	42.8
3	8.9	23.9	12.2	3	11.5	15.3	33.9
4	38.3	22.6	28.8	4	24.5	16.9	29.2
5	18.0	27.4	29.1	5	28.6	26.1	28.0
6	13.5	33.4	24.6	6	26.0	20.6	25.9
7	30.9	17.9	10.7	7	20.7	19.5	14.7
8	26.3	19.5	36.2	8	32.4	25.0	30.2
9	18.9	24.8	23.8	9	20.7	36.2	24.6
10	25.1	16.2	31.1	10	24.2	14.4	39.3
11	27.3	34.5	33.3	11	28.3	25.3	33.3
12	27.6	30.9	30.7	12	16.0	26.9	27.6
13	22.8	21.5	30.9	13	32.5	32.9	44.8
				14	18.1	22.5	40.8
				15	26.3	25.8	44.1
				16	22.7	25.8	37.7
				17	34.3	35.0	24.9
				18	19.0	36.5	35.3
mean	21.6	22.8	25.2	mean	23.4	24.5	32.2
標準偏差	9.0	7.4	8.2	標準偏差	6.3	7.0	8.4
標準誤差	2.5	2.1	2.3	標準誤差	1.5	1.7	2.0

## 分担研究報告書

超低周波電磁界全身暴露による白血球動態への影響に関する研究

主任研究者 大久保千代治 国立保健医療科学院生活環境部部長

分担研究者 岡田秀親 名古屋市立大学大学院医学研究科教授

### 研究要旨

前年度までの研究で、炎症ペプチドの活性を不活化するカルボキシペプチダーゼ R (CPR) とその前駆体の ProCPR が、低周波電磁界暴露マウスにおいて変動する可能性があることを示唆する知見を得た。そこで、炎症時や電磁界暴露時などにおける ProCPR の動物体内での役割を解析する手段として、ProCPR の遺伝子をノックアウト (KO) して、ProCPR 欠損マウスを用いての解析を行うこととした。KO マウスの作成に手間取ったが、作成に成功することができた。KO マウスに対する電磁界全身暴露を行ったが、統計学的に有意差を検定するには実験動物の数が充分用いることができなかつたので、詳細な解析は今後に残された。KO マウスの産出は軌道に乗ってきたので、匹数を増やしての実験も可能になっている。

#### A. 研究目的

1989年に我々は血液中に存在する新しいカルボキシペプチダーゼを発見した。それは以前から知られていた Carboxypeptidase N (CPN) と同様にペプチドの C 末端の塩基性アミノ酸 (リジンおよびアルギニン) を遊離させる作用を持つが、前駆体として存在し一度活性化されると非常に熱に不安定な性質を持つなど明らかに CPN とは異なる新しいカルボキシペプチダーゼであった。我々はその酵素が CPN と比較してリジンよりもアルギニンを遊離させる能力が高いことからアルギニンの R をとって 'Carboxypeptidase R (CPR)' と名づけた。

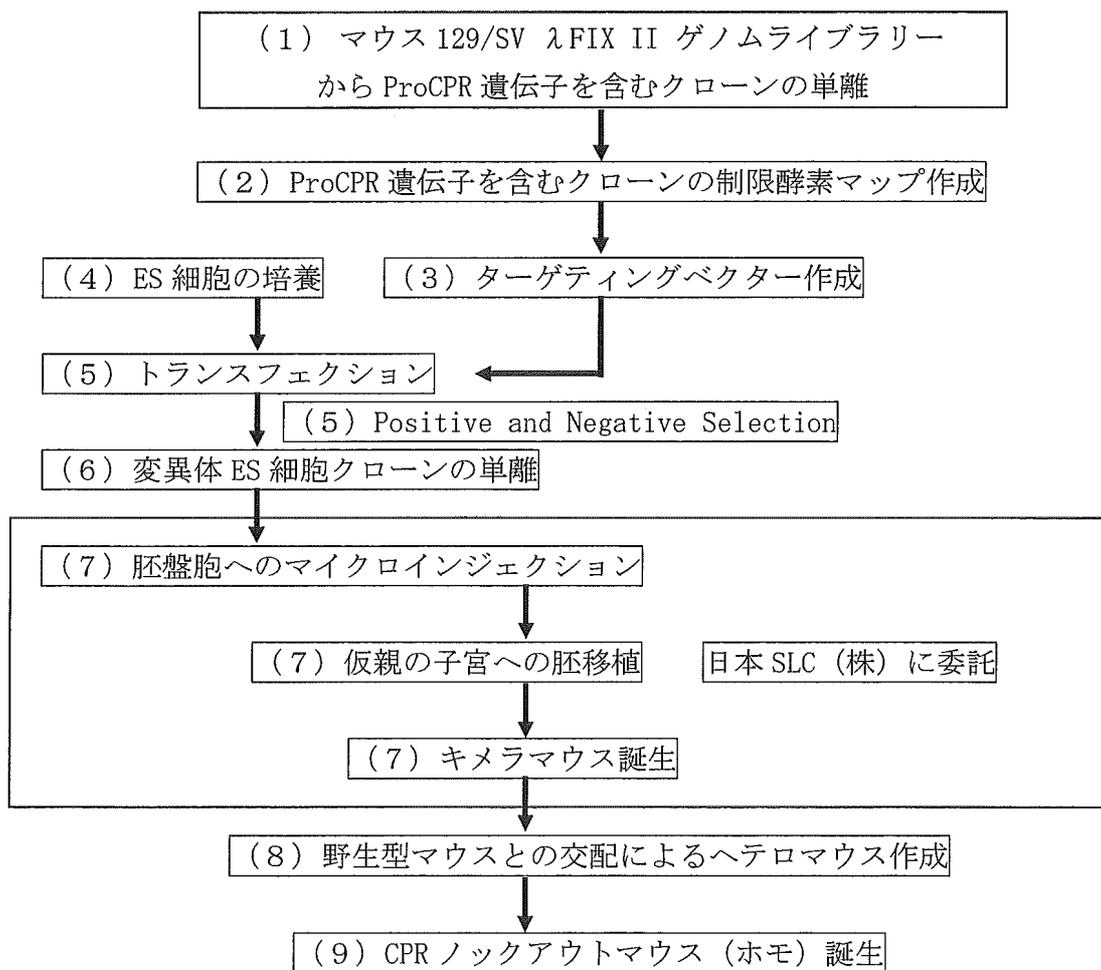
CPR はその酵素活性から 2 つの大きな役割を担うことが *in vitro* において証明されている。1 つは炎症性ペプチド (ブラジキニンやアナフィラトキシン) の C 末端アルギニンを遊離することでそれらのペプチドを不活性化する機能で、2 つ目はプラスミノゲンの結合に必要なフィブリン表面のリジンを遊離させ、プラスミノゲンがプラスミンとして活性化することを阻害することで血栓の溶解を遅らせる機能である。後者の作用から血液学の分野で CPR は Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) という名で知られている。

最近、我々は LPS による刺激が CPR の遺

伝子発現を増強させ血液中のカルボキシペプチダーゼ活性を上昇させることを発見した。また Boffa らによって CPR 遺伝子のプロモーター部位に炎症に関与することで知られる転写因子 C/EBP の結合部位が存在し実際に機能していることが報告された。炎症性ペプチドを不活性化する機能と共にこうした点からも我々は CPR が炎症時において大きな役割を担っていると考えている。特に DIC や Septic shock などはまさに炎症と凝固線溶系と

いう CPR が関わる 2つのシステムが密接に関連している病態なので CPR はその病態形成の重要な構成要素であると推測される。生体内での CPR やその前駆体の ProCPR の生体内の役割を検討する手段として ProCPR を欠失させたノックアウトマウスを作成して活用する方法が考えられる。電磁界暴露における ProCPR や CPR の動態を探るためにも有用である。そこで、ProCPR 遺伝子ノックアウトマウスを作成した。

#### CPR ノックアウトマウス作成までのフローチャート



この報告書では以後、このフローチャートで示した順に内容を述べる。

(1) マウス 129/SV  $\lambda$ FIX II ゲノムライブラリーから ProCPR 遺伝子を含むクローンの単離

この計画が実行される以前に私たちはマウス proCPR 遺伝子の cDNA をマウス (BALB/c) 肝 cDNA ライブラリーをスクリーニングして得た。そして 1.5kb の ProCPR 遺伝子の cDNA は pBlueScript SKII(-) に組み込まれた形で作成されていた (Sato et al.;JI, 2000)。以下の実験は名市大麻酔科幸村 Dr. により行われた。上記の ProCPR 遺伝子の cDNA をプロ

ーブとして、マウス 129/SV  $\lambda$ FIXII ゲノムライブラリーをスクリーニングして ProCPR 遺伝子を含むクローンを 11 クローン単離できた。それぞれがどのエクソンを含むクローンであるかを決めるための実験をした。エクソン 1、2、3A、5、7、10 よりオリゴヌクレオチドを作成し、それらを T4 polynucleotide kinase により RI 標識されたリン酸基を末端に付加してプローブを作成した。作成したプローブを使って各クローンをサザンブロット解析した。その結果を表にして以下に示す。

#### <結果>

Primer 名	mCPR40	2m51	mCPR252	1m57	1m264	mCPR3'
エクソン	1	2	3A	5	7	10
Clone6	-	+	+	-	-	-
Clone7	-	-	-	+	+	+
Clone11	-	-	+	+	+	-
Clone14	-	-	-	+	+	+
Clone16	-	+	+	-	-	-
Clone19	-	+	+	+	-	-
Clone20	-	+	+	+	-	-
Clone21	-	+	+	+	-	-
Clone22	-	-	+	+	-	-
Clone23	-	-	-	+	+	-
Clone24	-	+	+	+	-	-

+はその当該クローンが上に示したエクソン中に含まれるオリゴヌクレオチド (プライマー) とハイブリしたことを示している。

#### <考察>

得られたクローンの中に ATG を含むエクソン 1 を含んだクローンが得られなかった。そこでノックアウトする部位をカルボキシペプチダーゼとしての活性に必須な亜鉛結合部位と基質結合部位を含んだエクソン 5 をノックアウトすることに決

めた。そこでエクソン 5 含むクローンである clone11 とそれに一部重なりサイズが小さく扱いやすい clone6 をマッピングすることにした。

(2) ProCPR 遺伝子を含むクローンの制限酵素マップ作成

<目的>

ノックアウトマウスを作成するにあたって必要なのはノックアウトする部分を欠損させネオマイシン耐性遺伝子に置き換えたターゲティングベクターを作ることである。この際、ゲノム上の proCPR 遺伝子がどの制限酵素でどこが切れるのかをはっきりさせなければベクターを作ることができない。そこで proCPR 遺伝子を含んだプラスミドを使って制限酵素マップを作成した。

<方法>

クローン 6 とクローン 11 のインサート

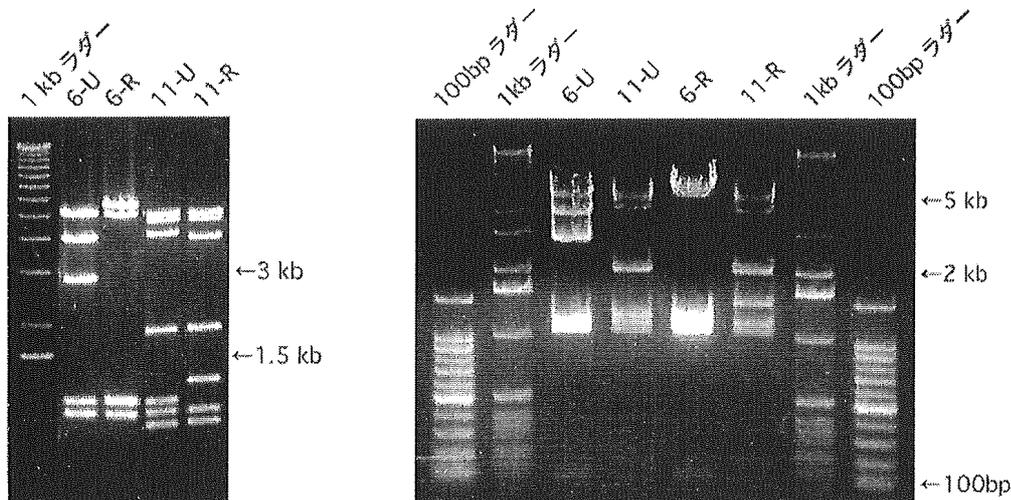
を pBlueScript SKII(-) にサブクローニングし、両方向に入れたクローン、6-U、6-R (クローン 6 由来) と 11-U、11-R (クローン 11 由来) を作成した。

各クローンを各種の制限酵素で切断、電気泳動により各フラグメントの長さを確認しマッピングを行った。さらに泳動したゲルをナイロンメンブレンに転写して、各エクソンに含まれるオリゴヌクレオチドを T4 ポリヌクレオチドキナーゼにより 5'末端を RI 標識してサザンハイブリダイゼーションを行った。この結果を利用してマッピングを完成させた。

<結果>

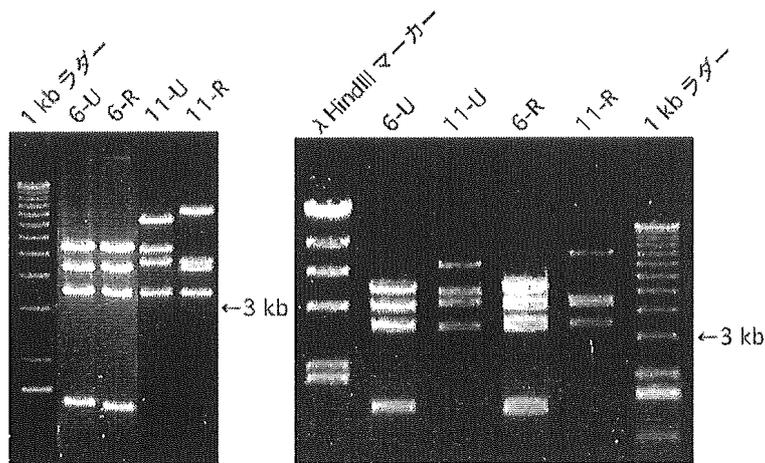
各クローン (6-U, 6-R, 11-U and 11-R) を EcoRI で切断した泳動結果

左図 : 1%アガロースゲル使用時 右図 : 1.5%アガロースゲル使用時

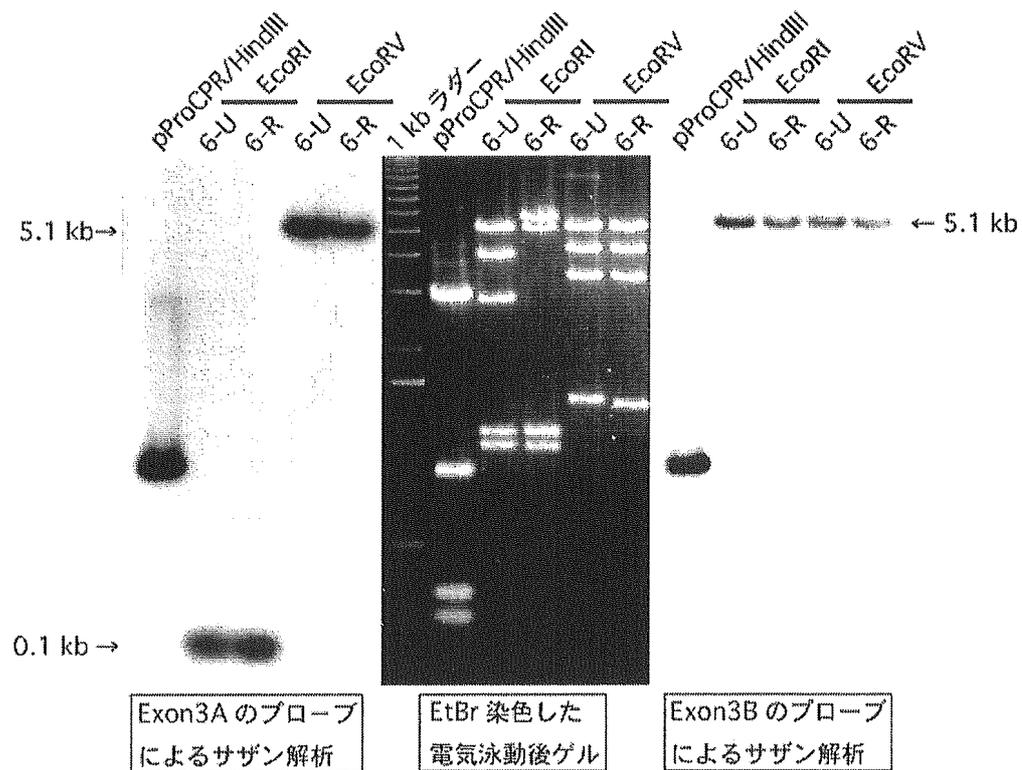


各クローン (6-U, 6-R, 11-U and 11-R) を EcoRV で切断した泳動結果

左図 : 1%アガロースゲル使用時 右図 : 1.5%アガロースゲル使用時



クローン 6-U とクローン 6-R を EcoRI 又は EcoRV で処理した時のサザンブロット解析結果



クローン 11-U とクローン 11-R を EcoRI 又は EcoRV で処理した時のサザンブロット解析結果