

Fig. 2 Le^x 及び Le^a モデル糖鎖

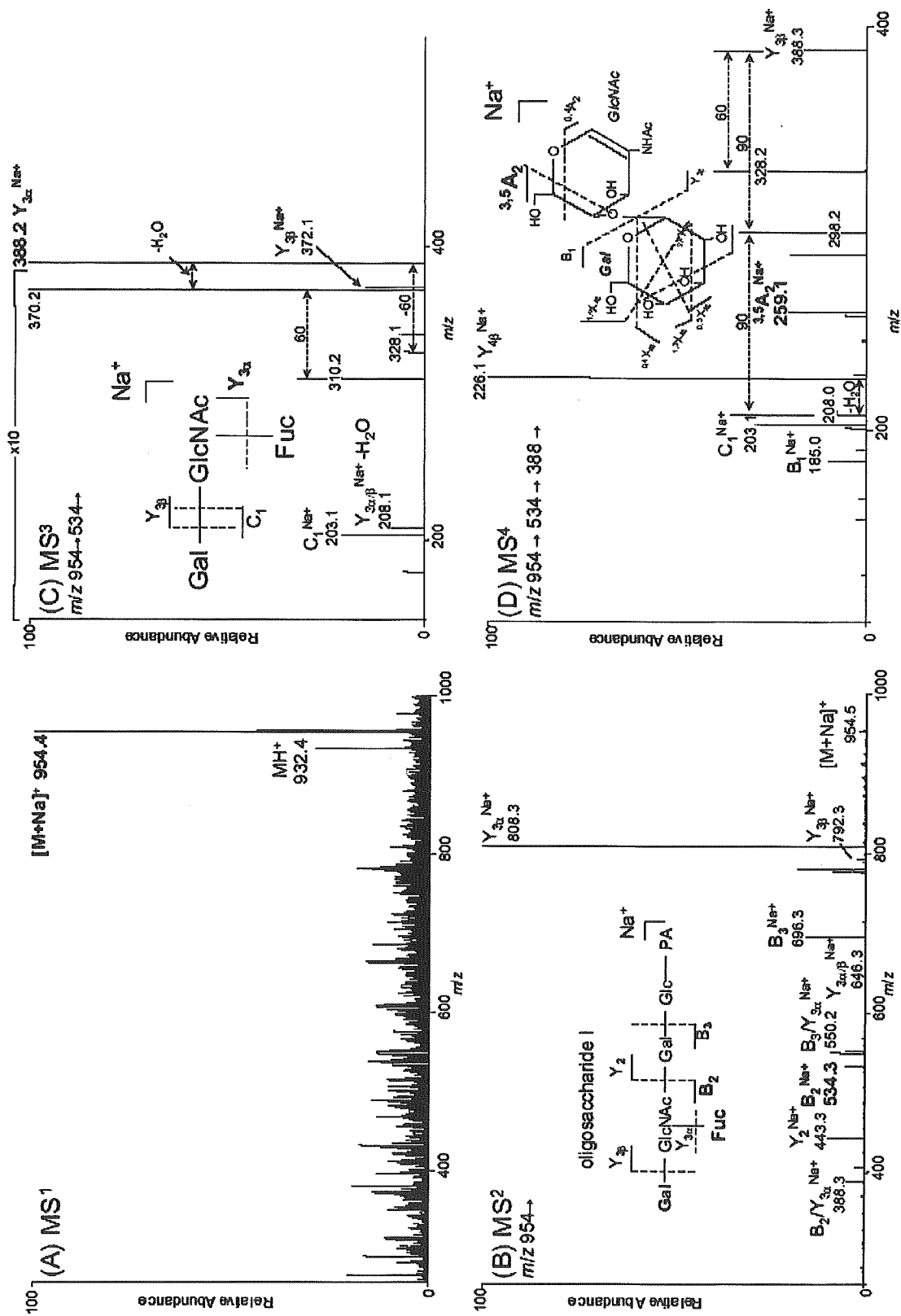


Fig. 3 Le-motetrisaccharide IのMS¹⁻⁴スペクトル

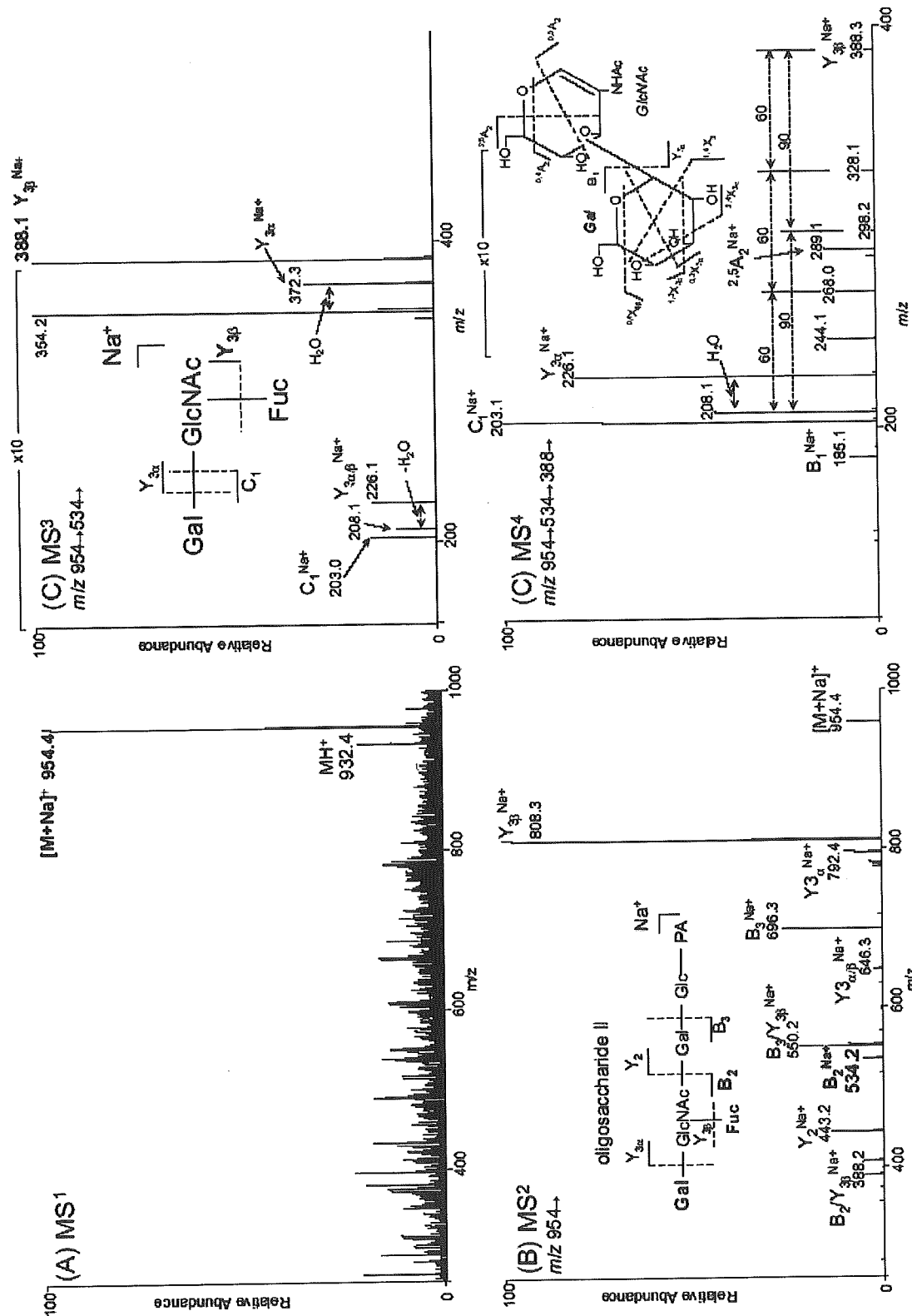


Fig. 4 Leasモデル(糖鎖II)のMS¹⁻⁴スペクトル

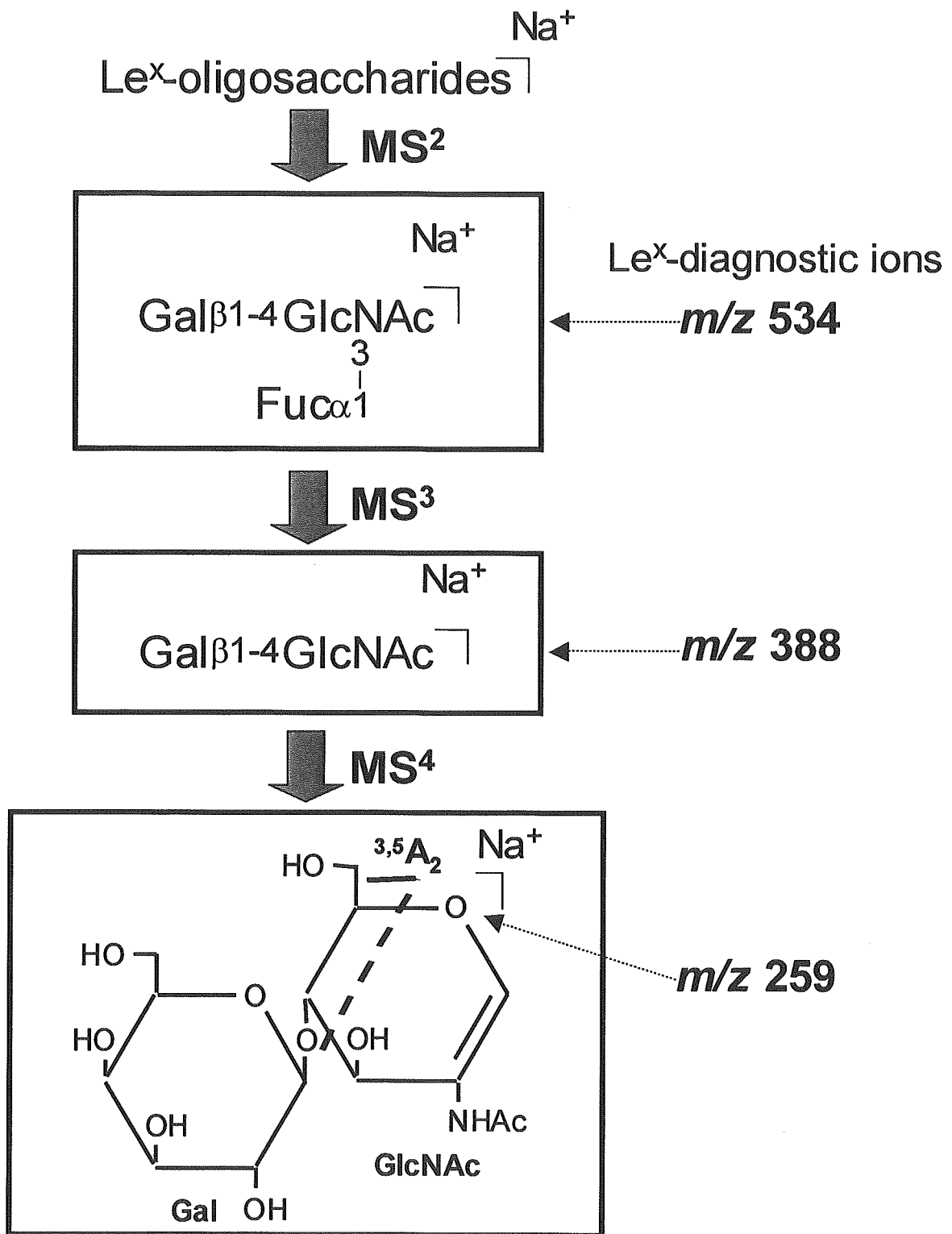


Fig. 5 Le^x糖鎖の開裂とLe^x診断イオン

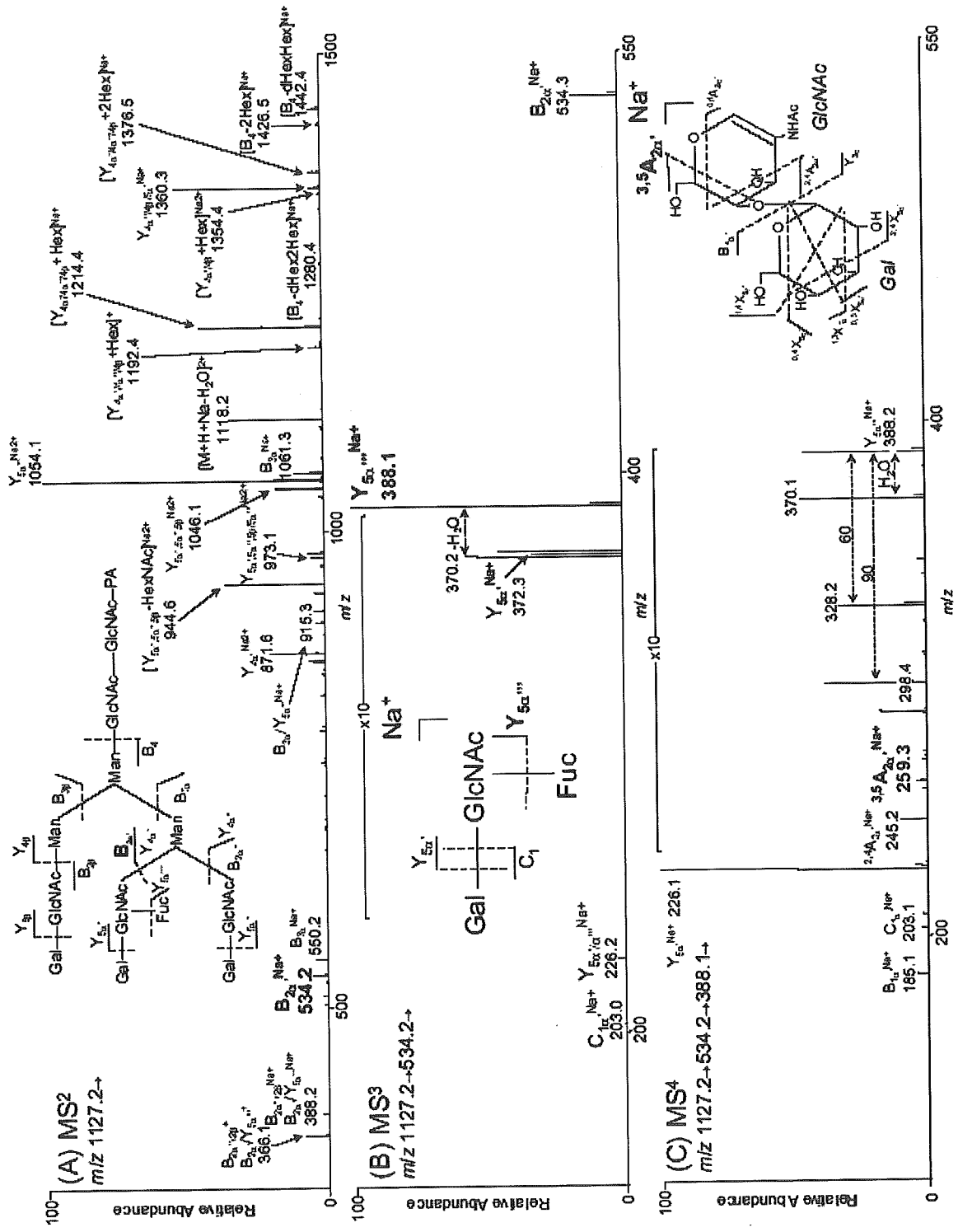


Fig. 6 Le^x-モデル(糖鎖III)のMS²⁻⁴スペクトル

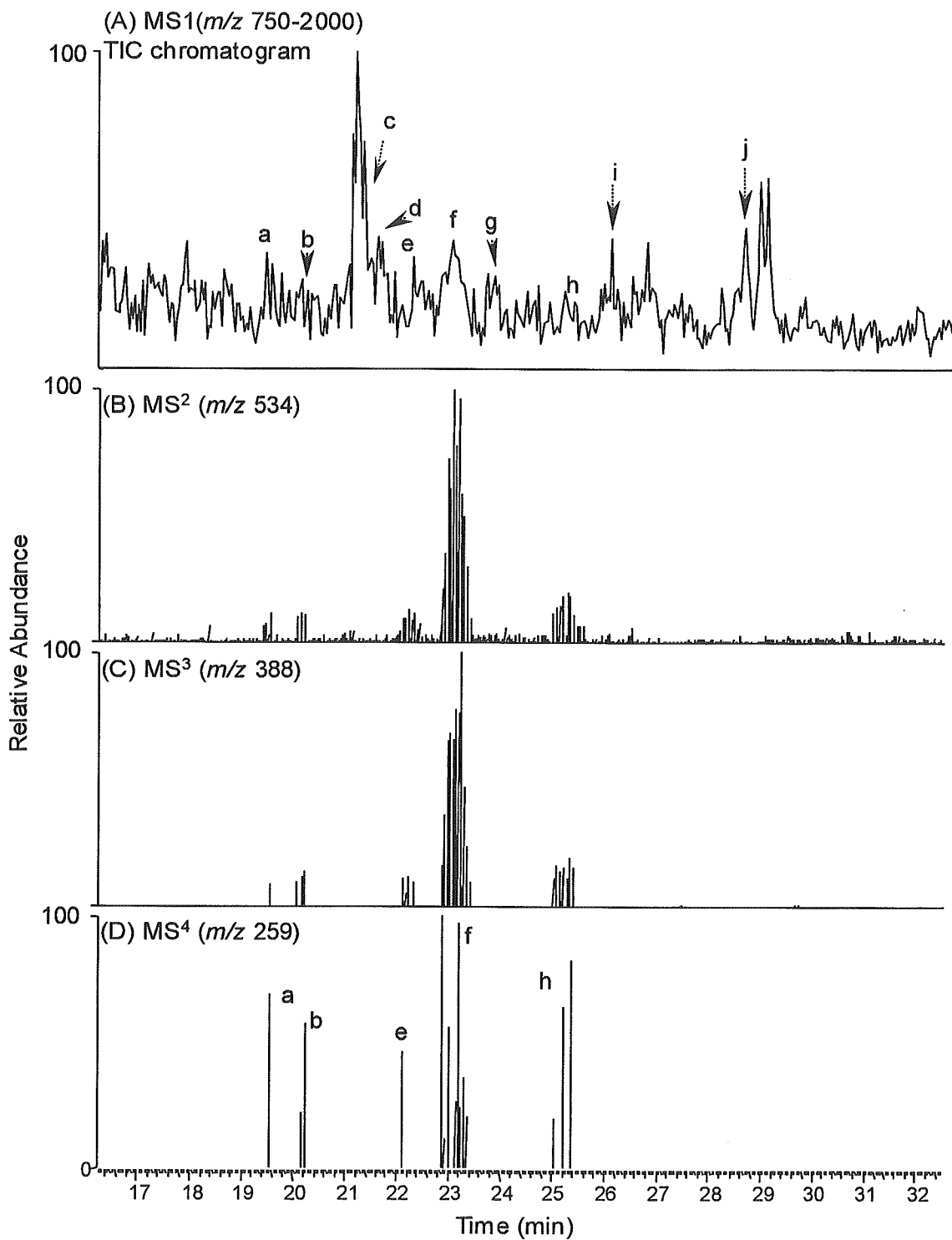


Fig. 7 マウス腎臓由来N結合型糖鎖のLC/MS¹⁻⁴

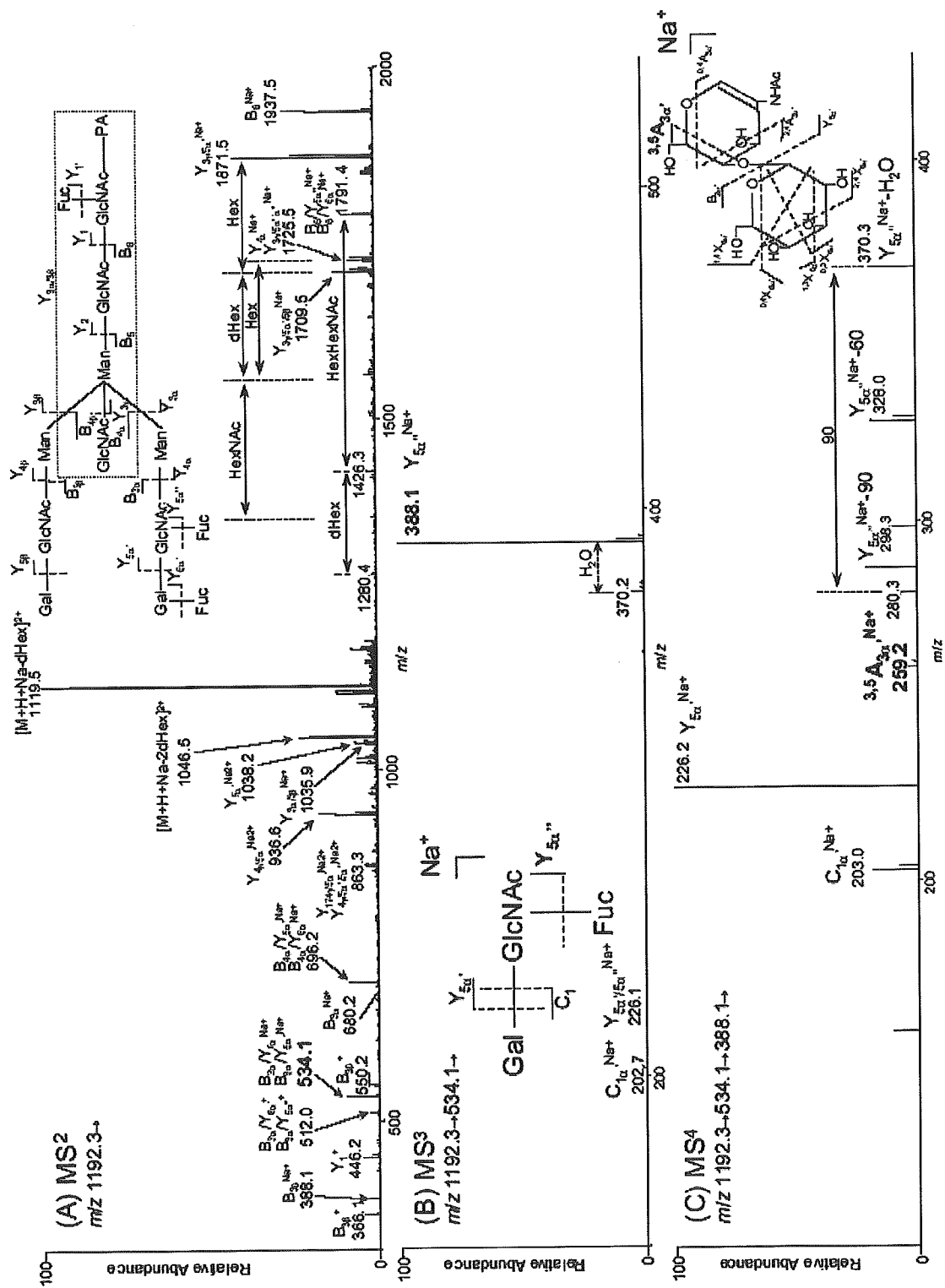
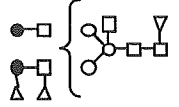
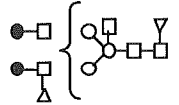
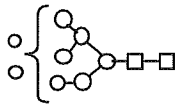
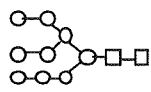
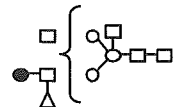
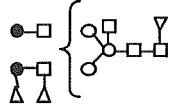
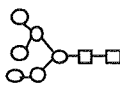
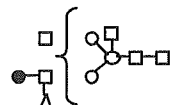
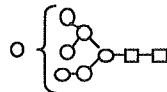
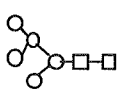


Fig. 8 マウス腎臓由来糖鎖 (ピーク)のMS²⁻⁴スペクトル

Table 1 マウス腎臓に存在する主な糖鎖の糖組成及び推定構造

Sugar No.	Composition ^a	Deduced structure	Lewis type
a	dHex ₃ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^y
b	dHex ₂ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^x
c	Hex ₈ HexNAC ₂		
d	Hex ₉ HexNAC ₂		
e	dHexHex ₄ HexNAC ₅		Le ^x
f	dHex ₃ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^y
g	Hex ₆ HexNAC ₂		
h	dHex ₂ Hex ₄ HexNAC ₅		Le ^x
i	Hex ₇ HexNAC ₂		
j	Hex ₅ HexNAC ₂		

^a dHex, deoxyhexose; Hex, hexose; HexNAC, *N*-acetylhexosamine
 △, Fuc; ●, Gal; ○, Man; □, GlcNAC

分担研究報告書

移植効率向上を目指したヒト造血幹細胞への高効率な遺伝子導入法の開発

分担研究者 水口 裕之

独立行政法人 医薬基盤研究所

基盤的研究部 遺伝子導入制御プロジェクト プロジェクトリーダー

本研究は、ヒト造血幹細胞に対し骨髄 niche への接着に関与する分子を強制発現させることによって造血幹細胞の移植効率を向上させることを目的とする。その中で本年度は、移植実験に先立ち、アデノウイルス (Ad) ベクターを用いたヒト造血幹細胞への高効率な遺伝子導入法の確立を試みて、以下の結果を得た。

1. Subgroup B に属する 35 型 Ad ベクターは従来汎用されている 5 型 Ad ベクターと比較し、造血幹細胞を含む画分である骨髄由来ヒト CD34 陽性細胞に対し有意に高い遺伝子導入効率を示した。また外来遺伝子の発現をドライブするプロモーターとしては、CA プロモーター (cytomegarovirus 由来エンハンサーに chicken beta-actin プロモーターおよび chicken beta-actin イントロンを加えたプロモーター) が最も優れていた。

2. ヒストン脱アセチル化(HDAC)阻害剤を用いて、ヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞への遺伝子導入効率の改善を試みた。CD34 陽性細胞に 35 型 Ad ベクターを感染させるとともに、HDAC 阻害剤として FR901228 を 0.1ng/ml の濃度で作用させたところ、顕著な遺伝子発現効率の改善に成功した。

協力研究者

川端健二 (独) 医薬基盤研究所
主任研究員

櫻井文教 (独) 医薬基盤研究所
研究員

A. 研究目的

ヒト造血幹細胞はその多分化能ならびに自己複製能から、遺伝子治療の重要な標的細胞であるとともに、細胞治療・再生医療の細胞ソースとしても期待されている。遺伝子治療ならびに細胞・再生医療においては、ex vivo において遺伝子を導入した後、もしくはサイトカインなどで刺激した後、患者に細胞を投与することによって治療が行われている。この場合、移植効率、つまり移植した細胞の何%が生着するかが治療効果を左右する大きな factor となっ

ている。一方で近年、“niche” と呼ばれる幹細胞の居場所が存在することが明らかとなってきた。幹細胞は何らかの分子を介して niche に留まっており、細胞間もしくは特定の因子との相互作用により多分化能ならびに自己複製能を制御していると考えられている。Niche ならびに niche との相互作用に関しては造血幹細胞について最も研究が進んでおり、骨髄 niche への接着に関与する分子も同定されつつある。従って、これらの分子をコードする遺伝子を造血幹細胞に導入することで移植した造血幹細胞の生着率向上、ひいては造血幹細胞を用いた遺伝子治療、細胞・再生医療の更なる治療効果の改善が期待される。そこで本研究は、遺伝子導入用ベクターでヒト造血幹細胞に骨髄 niche への接着を促進する分子を強制発現させることによって、移植効率の向上が可能か否かを検討することを最終目的としている。

移植効率向上を目的とした造血幹細胞への接着関連遺伝子の導入では、その発現は永続的である必要はなく、むしろ一時的な発現が望ましい。そこで、本検討ではアデノウイルス (Ad) ベクターによる遺伝子導入を試みた。本年度は移植実験に先立ち、Ad ベクターによるヒト造血幹細胞への高効率な遺伝子導入法の確立を試みた。

B. 研究方法

1) Ad ベクターの作製

5 型ならびに 35 型 Ad ベクターの作製は improved in vitro ligation 法により行った。シャトルプラスミド pHCMV5 のマルチクローニングサイトに Enhanced Green Fluorescence Protein (GFP) 遺伝子を挿入した pHCMV-GFP を I-CeuI, PI-SceI で消化し、同酵素で消化した 5 型ならびに 35 型 Ad ベクタープラスミド pAdHM4 および pAdMS4 と Ligation することにより、GFP 発現ベクタープラスミド pAdHM4-CMVGFP および pAdMS4-CMVGFP を得た。作製したプラスミドを PacI もしくは SbfI で消化し、Superfect (キアゲン社) を用いて 293 細胞もしくは 35 型 E1B 発現 293 細胞にトランスフェクションすることで GFP 発現 5 型ベクター Ad5GFP ならびに 35 型 Ad ベクター Ad35GFP を得た。Ad ベクターの増幅ならびに精製は定法に従い行った。精製した Ad ベクターの物理化学的力価ならびに生物学的力価は Maizel らの方法、および鐘ヶ江らの方法に従い測定した。また、各種プロモーターの比較検討においては、pHCMV5 のかわりに各種プロモーターを搭載したシャトルプラスミドを用いた。

2) 35 型 E1B 発現 293 細胞の作製

35 型 Ad の E1B-55K 遺伝子を含む 1911-3413 塩基からなるフラグメントは、35 型 Ad ゲノムの 1-7930 塩基からなるフラグメントを有するプラスミド pFS2-Ad35-1 を鋳型としてプライマ

ー 1 (5' -GAT AAA TGG ATC CCG CAG AC-3') とプライマー 2 (5' -CCC AAT ACT CAC CTT AGT CAG-3') を用いて PCR を行い作製した。このフラグメントを pEF/myc/nuc (Invitrogen 社) のマルチクローニングサイトに挿入することで、pEF-Ad35E1B を作製した。このプラスミドを 293 細胞に Superfect を用いてトランスフェクションし、G418 (500 μ g/ml, Invitrogen 社) 存在下で培養することにより、35 型 Ad の E1B-55K タンパク安定発現 293 細胞を得た。

3) CD34 陽性細胞における Cocksackievirus and adenovirus receptor (CAR) ならびに CD46 の発現解析

ヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞 (Cambrex 社) を抗ヒト CAR 抗体 (RmcB, Upstate Biotechnology 社) を含む staining buffer (1% BSA 含有 PBS) に懸濁し、氷上で 1 時間インキュベートした。細胞を洗浄後、phycoerythrin (PE) 標識された抗マウス IgG 抗体 (Pharmingen 社) を含む staining buffer に懸濁し、氷上で 1 時間インキュベートした。細胞を洗浄後、フローサイトメーター (FACScalibur flow cytometer; Beckton Dickinson) を用いて解析した。CD46 発現解析においては、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識された抗 CD46 抗体 (E4.3, Pharmingen 社) を用いて同様に解析した。

4) Ad ベクターによる CD34 陽性細胞への遺伝子導入実験

CD34 陽性細胞は、解凍後サイトカイン入り培地 (human Flt-3 ligand: 100 ng/ml, human stem cell factor; 100 ng/ml, human interleukin (IL)-3; 20 ng/ml, human IL-6; 20 ng/ml, Stem Cell 社) に懸濁、16-18 時間培養した後、 1×10^4 cells/well となるよう 96 穴プレートに播種した。その後、同じくサイトカイン入り培地で調製した GFP 発現 5 型ならびに 35 型 Ad ベクター

を作用させた。合計 48 時間培養後、GFP の発現をフローサイトメーターにて解析した。

5) ヒストン脱アセチル化阻害剤による遺伝子発現効率の上昇

4) と同様に CD34 陽性細胞を調製、播種した。その後、同じくサイトカイン入り培地で調製した CA プロモーターを搭載した GFP 発現 35 型 Ad ベクターを 6000VP/cell で 6 時間作用させた。同時にヒストン脱アセチル化阻害剤 (HDAC 阻害剤) として FR901228 (アステラス製薬より供与)、および CAY10398 (Cayman 社) を各濃度で 6 時間作用させた。その後、細胞を回収・遠心して 35 型 Ad ベクターおよび HDAC 阻害剤を取り除いた後、再び細胞を培地に懸濁し培養した。合計 48 時間培養後、GFP の発現をフローサイトメーターにて解析した。

<倫理面への配慮>

ヒト由来の生体試料を用いる場合は、試料提供者に一切不利益、危険性が伴わないように配慮し、人権擁護を含めたインフォームドコンセントのもとに採取された試料を購入するとともに、研究目的を含め、研究内容の倫理的、科学的妥当性について適正な倫理委員会等による審査・承認を得た上で行った。

C. 研究結果

造血幹細胞への高効率な遺伝子導入は、遺伝子治療のみならず細胞治療・再生医療の発展において必要不可欠である。これまで、造血幹細胞への遺伝子導入ではレトロウイルスベクターもしくはレンチウイルスベクターが主に用いられてきた。しかしながら、これらのベクターでは長期的な遺伝子発現が期待できる一方、ウイルスゲノムが細胞の染色体に組み込まれるため細胞が癌化する恐れがあること、遺伝子機能解析などの一過性の発現が望ましい場合

には適さないことなどが問題となっている。そこで我々は遺伝子が染色体に組み込まれることなく遺伝子発現を示す Ad ベクターによるヒト造血幹細胞への高効率な遺伝子導入法の開発を試みた。

Ad ベクターとしては、従来汎用されている 5 型 Ad ベクター、ならびに血液細胞に対し親和性を有する 35 型 Ad を基本骨格とした 35 型 Ad ベクターを用いた。5 型 Ad ベクターは受容体として coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) を、35 型 Ad ベクターは CD46 を認識することが報告されている (Fig. 1)。そこでまずヒト造血幹細胞を含む画分である骨髄由来 CD34 陽性細胞における CAR ならびに CD46 の発現をフローサイトメーターにて検討した (Fig. 2)。その結果、CD34 陽性細胞においては、5 型 Ad ベクターの受容体である CAR の発現はほとんど認められなかったものの、35 型 Ad ベクターの受容体である CD46 はほぼ全ての細胞が発現していた。

次に CD34 陽性細胞に対し、CMV プロモーターを搭載した GFP 発現 5 型ならびに 35 型 Ad ベクターを加え、48 時間共培養した。その結果、35 型 Ad ベクターは 5 型 Ad ベクターと比較し、有意に高い遺伝子発現効率を示した (Fig. 3)。各 Ad ベクターを MOI (multiplicity of infection) 300 で作用させた場合では、5 型 Ad ベクターでは約 4.5% の細胞しか遺伝子発現を示さなかったのに対し、35 型 Ad ベクターでは約 59% もの細胞が発現を示した。また平均蛍光強度においても、35 型 Ad ベクターは 5 型 Ad ベクターの約 10~60 倍高い値を示した。従って、35 型 Ad ベクターは 5 型 Ad ベクターよりもヒト造血幹細胞への優れた遺伝子導入用ベクターとなりうることを示された。

次に、CD34 陽性細胞においてどのプロモーターが最も優れているか検討するため、各種プロモーターを搭載した 35 型 Ad ベクターを作製して遺伝子発現効率を比較検討した。用いたプロ

モーターとしては、以下の 6 種類である：the human elongation factor 1 α promoter (EF1 α promoter)、the CMV immediate-early 1 gene enhancer/ β -actin promoter with β -actin intron (CA promoter)、the CMV promoter/enhancer with the largest intron of CMV (intron A) (CMVi promoter)、the mouse phosphoglycerate kinase 1 promoter (PGK promoter)、the murine stem cell virus (MSCV) long terminal repeat (LTR) promoter (MSCV promoter)。これら各種プロモーターを搭載した 35 型 Ad ベクターをヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞に 6000VP/Cell で 6 時間のみ作用させたところ、EF1 α プロモーター、CMVi プロモーター、CA プロモーターが他のプロモーターと比較し、高い遺伝子発現効率を示した (Fig. 4)。特に CA プロモーターでは約 54%の細胞が GFP 陽性であり、最も高い遺伝子発現効率を示した。以上の結果より、CD34 陽性細胞における遺伝子発現効率はプロモーターによって大きく異なり、今回調べたプロモーターの中では、CA プロモーターが最も活性が高いことが示された。

CA プロモーターを用いることで遺伝子発現効率の改善が認められたが、CD34 陽性細胞はほぼ全ての細胞が受容体である CD46 を発現しているにもかかわらず、遺伝子発現細胞の割合は 100%に到達していない。そこで遺伝子発現効率の更なる向上を目指して、ヒストン脱アセチル化 (HDAC) 阻害剤存在下での遺伝子発現効率を測定した。HDAC 阻害剤は、内在性および外来遺伝子の発現を転写レベルで増強することが知られている。ヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞に対し、HDAC 阻害剤 (FR901228、CAY10398) および GFP 発現 35 型 Ad ベクターを 6000VP/cell で 6 時間作用させたところ、HDAC 阻害剤非存在下においては、約 59%の細胞が遺伝子発現を示したのに対し、FR901228 濃度の増加とともに遺伝子発現効率の増大が観察され、FR901228 濃度 0.1ng/ml においては 71%の細胞が遺伝子発現

を示した (Fig. 5B-E)。また、平均蛍光強度に関してはさらに顕著な改善が見られ、FR901228 濃度 0.1ng/ml では非存在下と比較し 3.5 倍の上昇が観察された。一方、もう一つの HDAC 阻害剤である CAY10398 では FR901228 の場合と比較し顕著な改善は認められなかった (Fig. 5F-H)。両薬物ともに 0.01-0.1ng/ml の範囲では、明らかな細胞毒性は観察されなかった。以上の結果より、HDAC 阻害剤を用いることによりヒト CD34 陽性細胞へ高効率な遺伝子導入が可能となった。

D. 考察

造血幹細胞への遺伝子導入における最大の問題点は、遺伝子発現効率 (遺伝子発現細胞の割合および遺伝子発現量) が不十分なことが挙げられる。Ad ベクターは、既存の遺伝子導入用ベクターの中で最も高い遺伝子導入活性を有すること、非分裂細胞にも遺伝子導入可能であることから、一過性の遺伝子発現が望ましい場合においては造血幹細胞への優れた遺伝子導入用ベクターになるものと思われる。そこで我々は臨床応用研究を含め一般に使用されている 5 型 Ad ベクター、ならびに血球細胞に親和性を有することが報告されている 35 型 Ad ベクターを用いて、ヒト造血幹細胞を含む細胞画分である骨髄由来 CD34 陽性細胞に遺伝子導入を試みた。その結果、5 型 Ad ベクターではほとんど遺伝子発現を示さなかったのに対し、35 型 Ad ベクターでは 50%以上もの細胞に遺伝子導入可能であった。これは CD34 陽性細胞における受容体の発現レベルを反映しているものと思われ、5 型 Ad ベクターの受容体である CAR の発現はほとんど認められなかったのに対し、35 型 Ad ベクターの受容体である CD46 はほぼ全ての細胞で発現していた。

さらにヒト造血幹細胞への遺伝子導入を最適化するため、各種プロモーターを搭載した 35

型 Ad ベクターを作製し、その遺伝子発現効率を比較検討した。その結果、プロモーターにより遺伝子発現効率は大きく異なり、EF1 α 、CA、CMVi プロモーターが他と比較し優れていた。特に CA プロモーターは最も高い遺伝子発現効率を示した。我々は CA プロモーターが ES 細胞を初めとする各種の未分化細胞において高い転写活性を有することを明らかにしており、ヒト造血幹細胞においても CA プロモーターは有効であると思われる。

ほぼ全ての CD34 陽性細胞が受容体である CD46 を発現しているにもかかわらず、遺伝子発現細胞の割合が 100%に到達しないことから、一部の細胞では 35 型 Ad ベクターが感染し遺伝子が細胞内に入っているにもかかわらず、遺伝子発現に至らないことが示唆された。そこでヒストンの脱アセチル化を阻害することで、内在性ならびに外来性遺伝子の発現を増強することが知られているヒストン脱アセチル化 (HDAC) 阻害剤を用い、CD34 陽性細胞における遺伝子発現の増強を試みた。HDAC 阻害剤として FR901228 ならびに CAY10398 を 0.01-0.1ng/ml の濃度で 35 型 Ad ベクターとともにヒト骨髄由来 CD34 陽性細胞に作用させたところ、FR901228 を 0.1ng/ml の濃度で加えることにより遺伝子発現効率の顕著な改善が見られた。HDAC 阻害剤は、ヒストンのアセチル化を促進することによりヌクレオソーム構造が緩み、転写因子が DNA と直接作用しやすくなって内在遺伝子の転写が活性化されると考えられている。これまでも癌細胞への従来型 (5 型) Ad ベクターによる遺伝子導入実験において、HDAC 阻害剤処理により 5 型 Ad ベクターの受容体である coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) ならびにインテグリンの発現が上昇し、それによりベクター取り込み量が増加することで、最終的な遺伝子発現効率が上昇すると報告されている。一方で、HDAC 阻害剤は外来遺伝子の発現も転写レベルで増強することが知られてお

り、プラスミドを用いた遺伝子導入系においても転写活性化による遺伝子発現効率の増大が報告されている。今回の検討においても、受容体の発現上昇によるベクター取り込み量の増加、もしくは転写レベルでの導入遺伝子の発現増大のどちらかのメカニズムにより最終的な遺伝子発現量が増加しているものと思われる。

E. 結論

35 型 Ad を基盤とした遺伝子導入用ベクターは、5 型 Ad ベクターと比較し造血幹細胞を含む画分である CD34 陽性細胞に対し優れた遺伝子導入効率を示すことが明らかとなった。さらに HDAC 阻害剤として FR901228 を用いることで、さらに高効率な遺伝子発現が可能になった。今後、造血幹細胞の niche における接着に関与する分子を効率良く遺伝子発現させることによる移植効率の向上を検討する予定である。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawabata K., Sakurai F., Koizumi N., Hayakawa T., Mizuguchi H. Adenovirus vector-mediated gene transfer into stem cells. *Mol. Pharm.*, in press.
- 2) Sakurai F., Kawabata K., Yamaguchi T., Hayakawa T., Mizuguchi H. Optimization of adenovirus serotype 35 vectors for efficient transduction in human hematopoietic progenitors: comparison of promoter activities. *Gene Ther.*, 12, 1424-1433 (2005)

クチン等への応用；彩都シンポジウム&サイエンスセミナーSP；2005年7月；大阪

2. 学会発表

- 1) 水口裕之；overview 『ウイルス・非ウイルスベクター開発研究の最前線と臨床・産業化への道』；日本薬学会 126 年会；2006 年 3 月 28-39 日、仙台
- 2) 水口裕之；遺伝子機能解析のための次世代アデノウイルスベクターの開発；第 69 回新適塾「21 世紀の薬箱」；2006 年 1 月 31 日、大阪
- 3) 水口裕之；次世代アデノウイルスベクターの開発基盤研究；九州大学母子総合研究リサーチコアカンファレンス（九州大学医学部特別講演）；2006 年 1 月 17 日、福岡
- 4) 水口裕之；遺伝子治療研究における薬学の役割；ベクター開発の重要性；平成 17 年度大阪大学薬学部卒後研修会「食・健康と薬学」；2005 年 12 月 2 日、大阪
- 5) 水口裕之；改変アデノウイルスベクターによる遺伝子導入制御；「生物医工学サロン」第 17 回集会；2005 年 11 月 9 日、大阪
- 6) 櫻井文教、川端健二、山口照英、早川堯夫、水口裕之；新規アデノウイルスベクターを用いたヒト造血前駆細胞への遺伝子導入の最適化；第 64 回日本癌学会総会；2005 年 9 月 14-16 日、札幌
- 7) 水口裕之；カプシドタンパク質の改変によるアデノウイルスベクターの遺伝子導入制御；遺伝子・デリバリー研究会 第 5 回夏期セミナー；2005 年 8 月 2 日、箱根
- 8) 水口裕之；次世代アデノウイルスベクターの開発と遺伝子機能解析、遺伝子治療、ワ

- 9) Fuminori Sakurai, Kenji Kawabata, Teruhide Yamaguchi, Takao Hayakawa, Hiroyuki Mizuguchi；Adenovirus serotype 35 vector-mediated transduction in human hematopoietic progenitors；第 11 回日本遺伝子治療学会；2005 年 7 月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当事項なし

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

該当事項なし

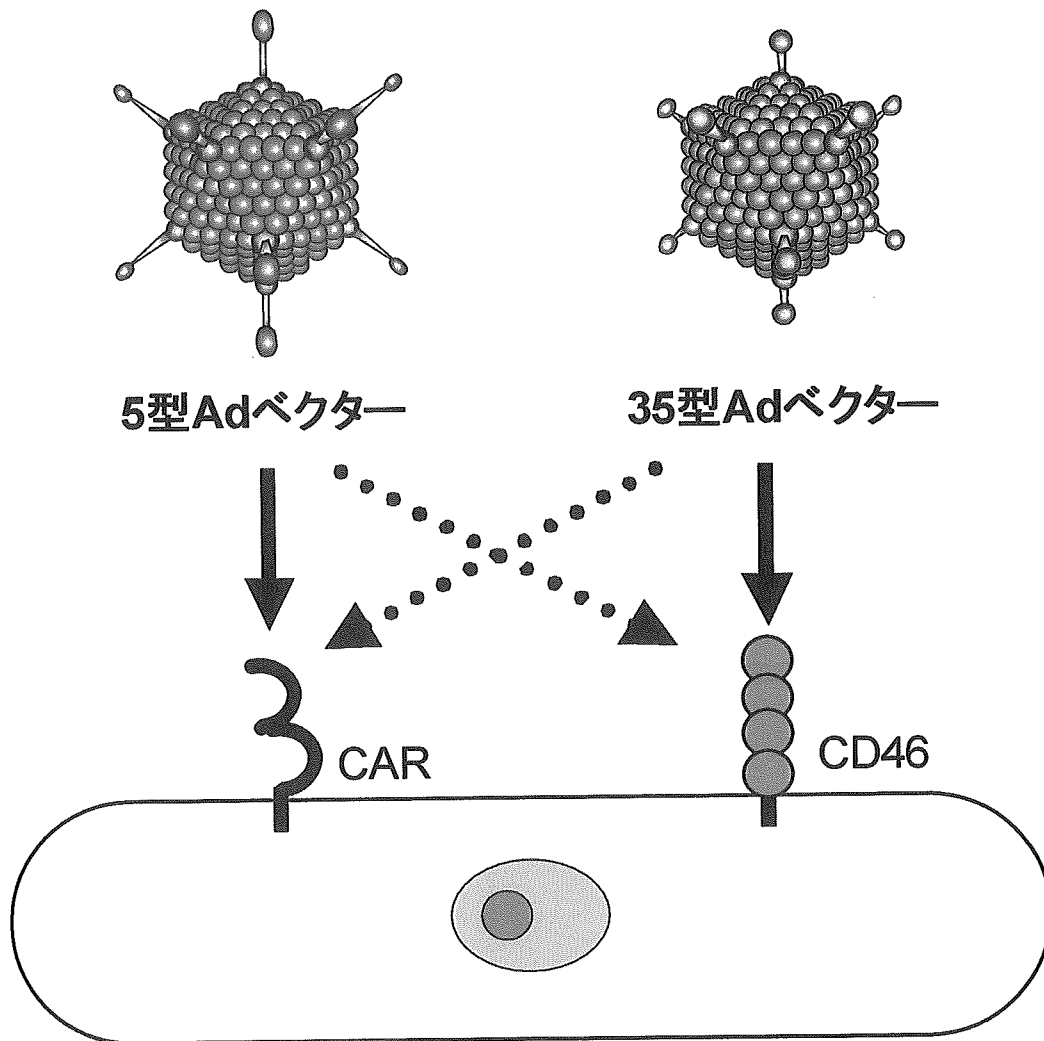
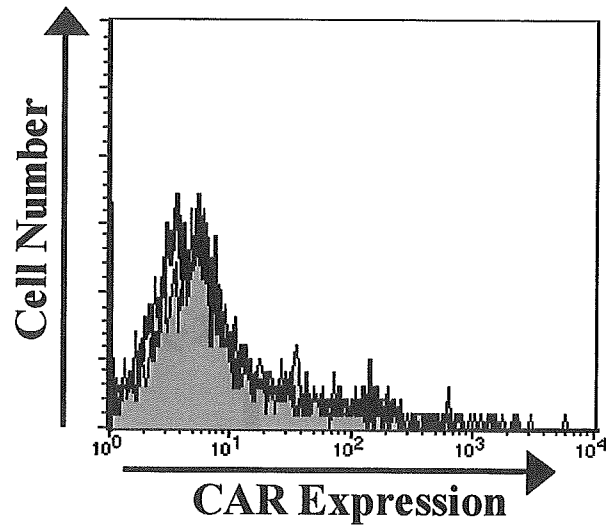


Fig.1 Diagram of interaction between Ad vectors and receptors. Ad serotype 5 vectors (subgroup C) utilize coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) for infection, while Ad serotype 35 vectors (subgroup B) utilize human CD46 for infection.

(A)



(B)

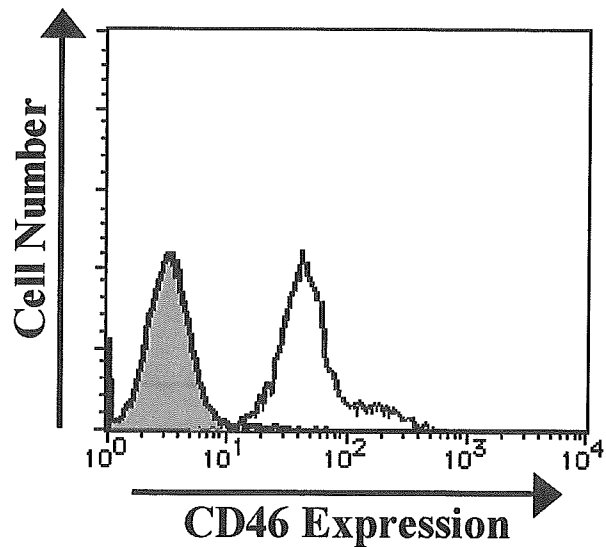


Fig. 2 Expression of Ad receptors on human bone-marrow CD34⁺ cells. (A) Coxsachievirus and adenovirus receptor (CAR) (a receptor for Ad5), (B) CD46 (a receptor for Ad35). Human bone-marrow CD34⁺ cells were incubated with FITC-conjugated anti-CD46 antibody for measurement of CD46. For analysis of CAR expression, the cells were treated anti-CAR antibody. After a 1-hr incubation, cells were washed and resuspended in a staining buffer containing phycoerythrin (PE)-labeled anti-mouse IgG antibody. After a 1-hr incubation, the cells were subjected to flowcytomteric analysis. As a negative control, the cells were incubated with an irrelevant antibody (shaded histogram).

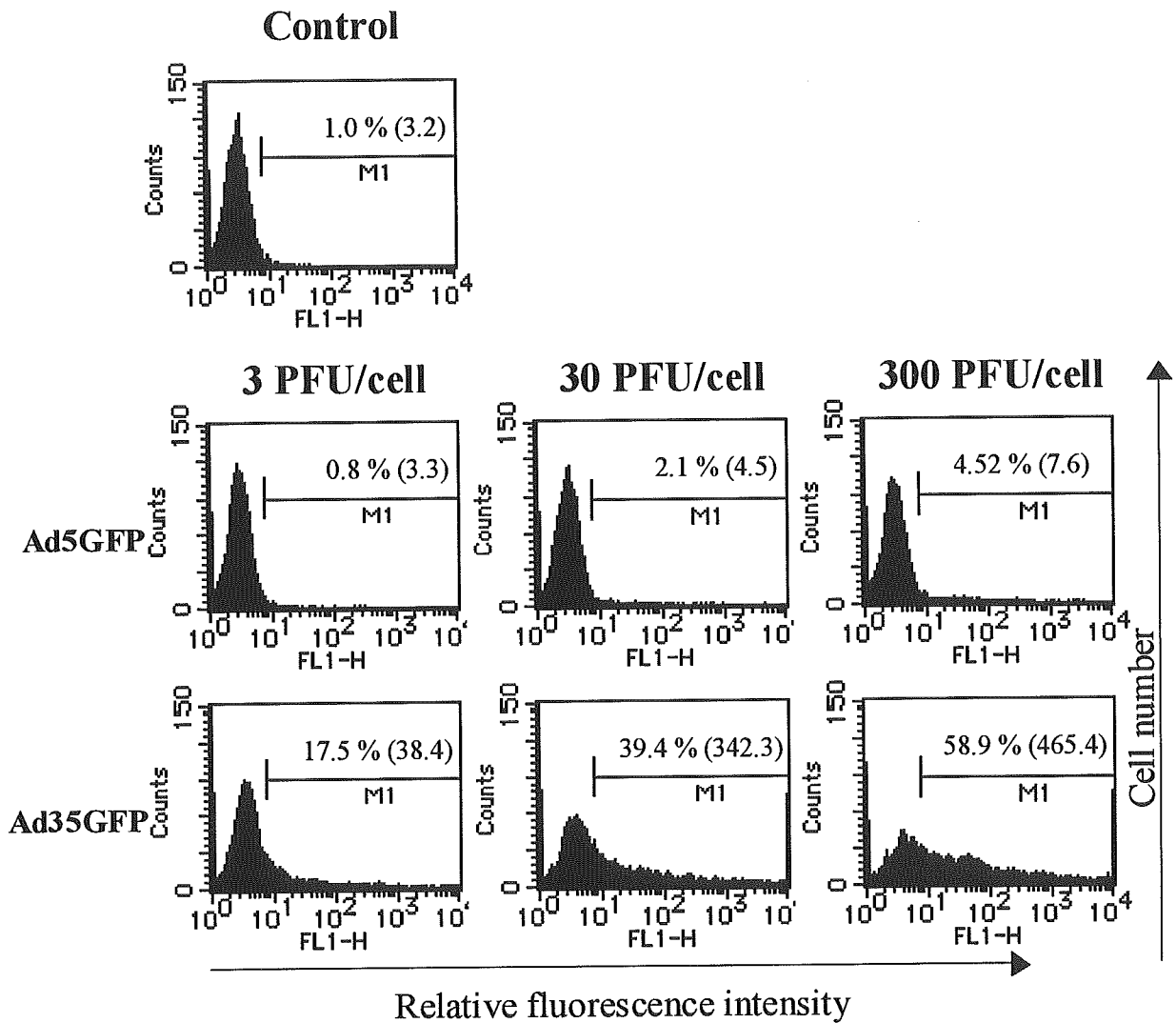


Fig. 3 GFP expression in human bone-marrow CD34⁺ cells transduced with Ad5GFP and Ad35GFP. Human CD34⁺ cells were suspended in the medium containing the cytokine cocktail (3×10^5 cells/ml). The cells were seeded into a 96-well plate (1×10^4 cells/well), and equal volumes of the Ad vectors were applied to the cells 16-18 hrs after seeding. Forty-eight hour later, GFP expression in the cells were measured by flow cytometry.

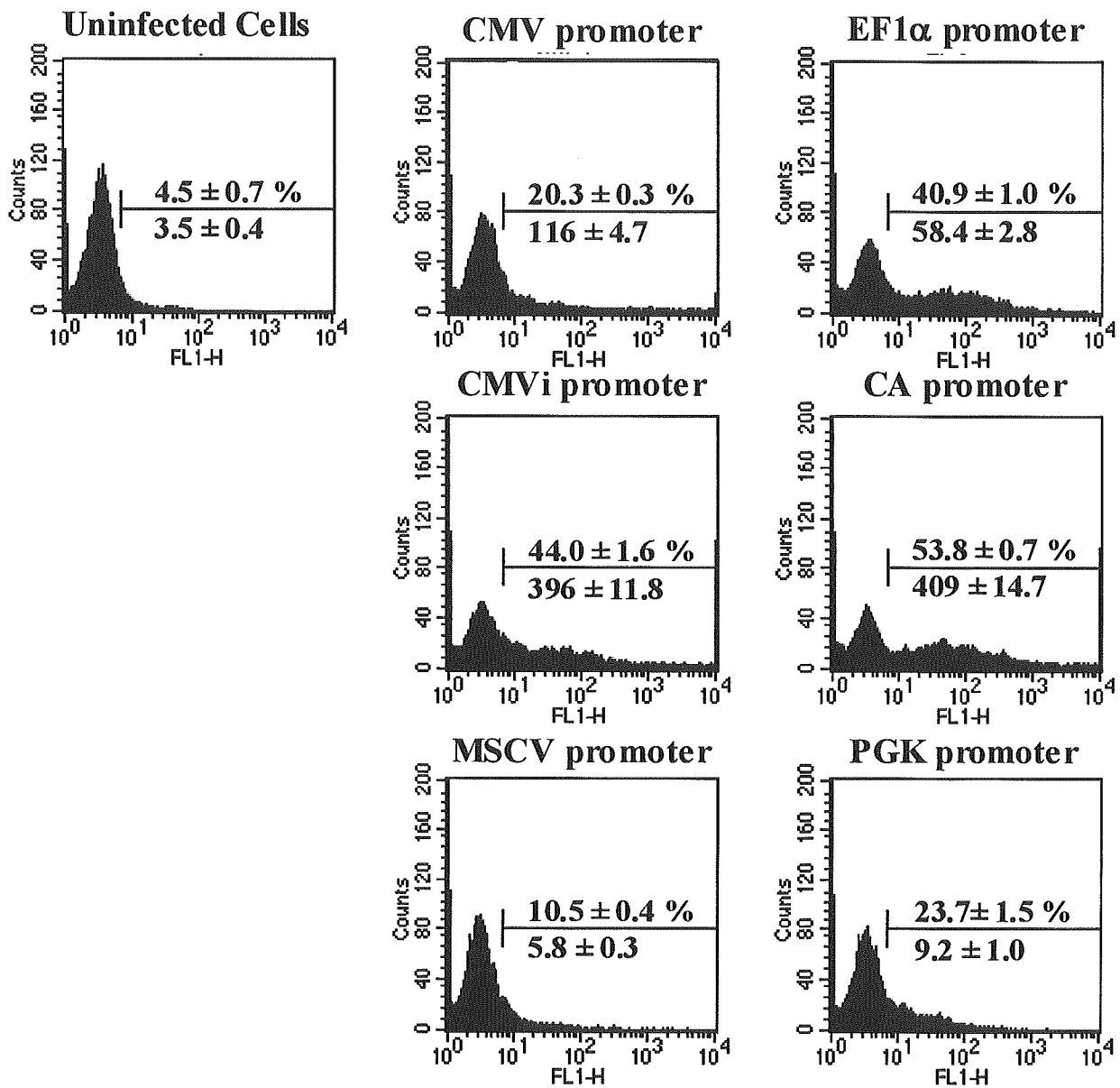


Fig. 4 Comparison of promoter activities in human bone-marrow CD34⁺ cells transduced with Ad35 vectors. The CD34⁺ cells were transduced with Ad35 vectors at 6000 VP/cell for 6 hrs, washed, and resuspended in medium. Forty-eight hours later, GFP expression was measured by flow cytometry. The results are shown as a percentage of GFP-positive cells (upper) and the mean fluorescence intensity (MFI) (lower) in the panel. All data represent the means \pm S.D. of three experiments.

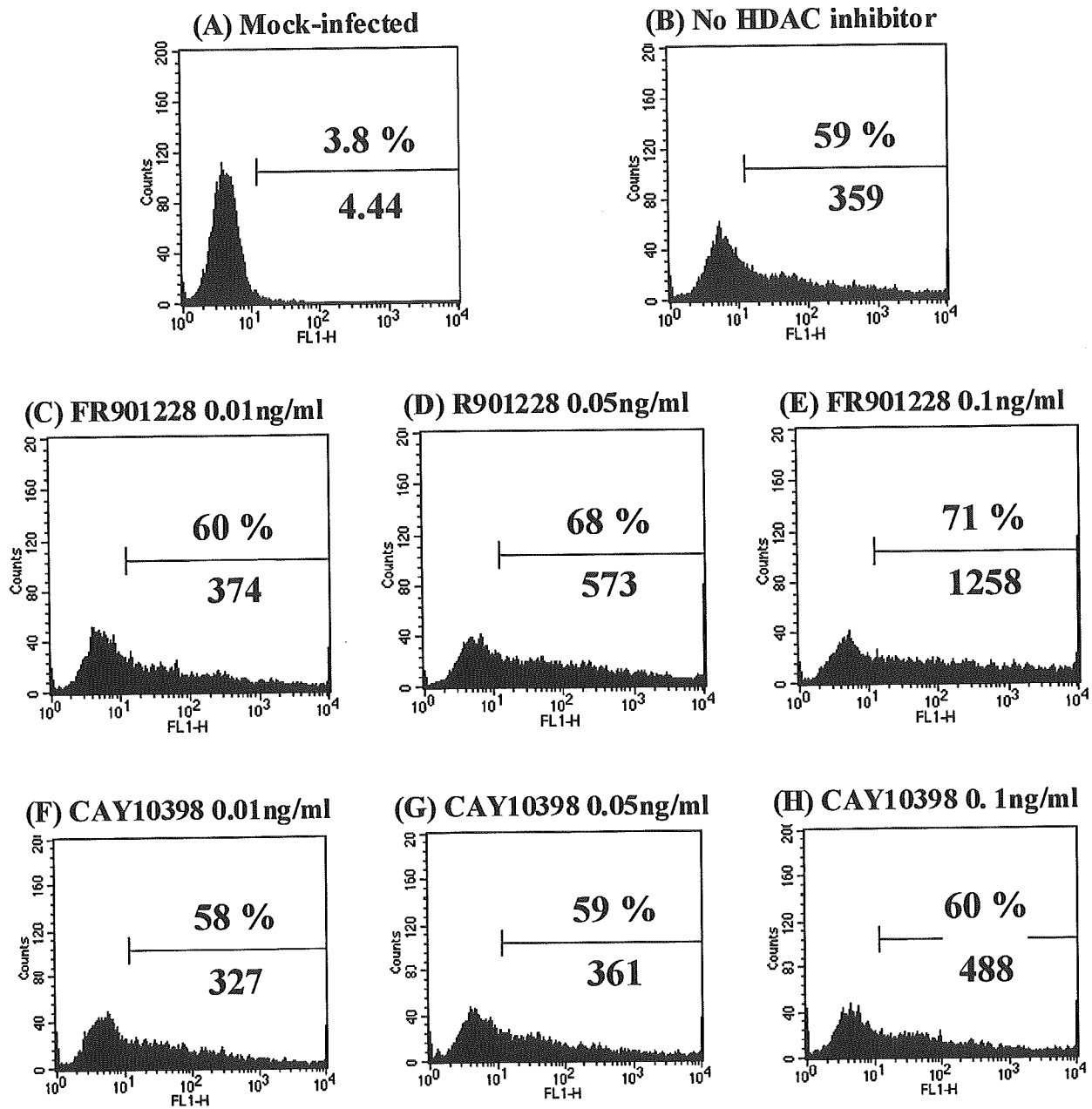


Fig. 5 Effect of treatment with HDAC inhibitors on the transduction of human bone-marrow CD34⁺ cells. The CD34⁺ cells were incubated with HDAC inhibitors at the indicated concentrations and Ad35 vectors at 6000 VP/cell for 6 hrs, washed, and resuspended in medium. Forty-eight hours later, GFP expression was measured by flow cytometry. The results are shown as a percentage of GFP-positive cells (upper) and the mean fluorescence intensity (MFI) (lower) in the panel.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	頁
川崎ナナ, 伊藤さつき, 早川堯夫	糖タンパク質の 質量分析	谷口直之, 伊藤幸成	糖鎖科学の新 展開	エヌ・ ティー・ エス	東京	2005	69 -75
Nana KAWASAKI, Satsuki ITOH and Toru KAWANISHI	LC/MS strategies in the characterization of glycoproteins		Encyclopedia of mass spectrometry, Vol. 8,	Elsevier	ア ム ス テ ル ダ ム	in press	
川崎ナナ	LC/MSn による 糖タンパク質糖 鎖の解析	永井克孝	未来を拓く糖 鎖科学	金芳堂	京 都	2005	20 -21