

# と 畜 血 球 の 有 効 利 用

## S O D の 分 離

半 澤 敏  
 齊 藤 修 司  
 肥 後 裕 仁

### The Effective Use of Erythrocyte Separation of Superoxide Dismutase

Satoshi HANZAWA  
 Syuji SAITO  
 Yuji HIGO

An efficient separation of superoxide dismutase from hog blood has been described. Hemoglobin was removed as precipitate from erythrocyte by adjusting the blood solution to pH 3.5 and then neutralizing. Morisin, a crude acid protease powder from *Aspegillus Sairoi*, was added to the supernatant and the mixture was incubated at pH 5.0 and 50 °C for 15 h, during course of which the remaining hemoglobin was decomposed without degradation of superoxide dismutase. After removal of other impurities as precipitate and of low-molecular-weight proteins by ultrafiltration, the slightly reddish solution was flash-evaporated in vacuo to yield superoxide dismutase as a nearly colorless powder, thus providing promising potentials as food additives. The specific activity of the enzyme obtained was more than 300 times as strong as that of the original erythrocyte.

#### 1. 緒 言

と殺された家畜の各組織は食肉、皮革などとして有効に利用されている。ところが血液に関してはほとんど有効な利用がなされていないのが現状である。全国のと場のうち約44%が血液を汚水として処理しており、また残り56%のと場においてもほとんど飼肥料として利用しているにすぎない。

しかし血液は全重量の17%もの蛋白質を含むため、リキッドミートとも呼ばれており<sup>1)</sup>、次世代の食品組材と

して有望である。さらに、血液中には各種酵素類をはじめとした様々な生理活性物質が含有されているので、これらを医薬品や工業用品などとして用いる事も考えられる。と畜血液は様々な利用の可能性を秘めながら、いまだ十分な利用の成されていない有望な資源であるといえる。

血液は遠心分離によって血しょう画分と血球画分とに分離される。このうち血しょう画分はハム、ソーセージの材料としての利用が試みられている<sup>2)</sup>。しかし血球画分は同様の利用が望まれているのにもかかわらず、その

主成分であるヘモグロビンが強い赤色を呈することと変性すると水に溶けない性質をもつために食品に応用ができないのが現状である。筆者らは1985年より血球中のグロビン、ヘミン、スーパーオキシドジスムターゼ等の有効成分を食品製造工程上で系統的に分離し、食品をはじめとした様々な用途に応用することを検討してきた。今回はそのなかでスーパーオキシドジスムターゼの新規な分離法について説明する。

スーパーオキシドジスムターゼ (EC1. 15. 1. 1., 以下 SOD と略す) は1969年に McCord と Fridovich により, (1)式に示す反応を触媒して細胞毒素である活性酸素  $O_2^-$  を消去する生体防御系の酵素であることが明らかにされた<sup>3)</sup>。



SOD は活性酸素が原因で生じる障害の治療に効果があることが報告されており, 炎症や虚血症, 浮腫, 放射線障害などの治療薬, 血栓溶解剤との併用など様々な応用が考えられている<sup>4)5)</sup>。従来, 医薬品に利用するための研究にはウシの SOD が用いられてきた。しかし注射薬として使用する目的から抗原性のないヒト SOD の需要が生じ, 大腸菌を用いて遺伝子工学的にヒト SOD を生産する方法も報告されている<sup>6)</sup>。

このように医薬品としての注目を浴びている一方で, SOD を食品の劣化防止や健康食品に使用しようとする声もある<sup>7)8)</sup>。筆者らは医薬品としての実績のないブタ SOD を食品として利用することを考えた。

しかし従来の方法で精製された SOD は食品に利用するには高価であった。それは SOD を高度に精製するため複雑な精製操作を行うので手間がかかることと回収率が低いことによる。

一般に食品に酵素を使用するためには高度の純度は必要としない。しかしながら SOD の場合は赤血球に由来するために, ヘモグロビンの除去が不完全であると食品に混合するのに適しない赤色を呈してしまう。食品用途を考えた場合, その素材が着色していることはその用途が限られてしまうのである。また, 従来の SOD 精製法の第一段階ではヘモグロビンを除去するためにクロロホルムなどの有機溶媒を大量に使用する。食品として使用するには有機溶媒を完全に除去しなければならないが, そのような手間をかけることも好ましいことではない。

ところでヘモグロビンを食品用に利用する場合もその赤色は用途が限定されることになって好ましくはなく, さまざまな脱色法が研究されている。その中にプロテアーゼによってヘモグロビンを低分子化してしまい, 水

に不溶性のヘミン結合部位を沈澱させ除去する方法が報告されている<sup>9)</sup>。

筆者らは SOD とヘモグロビンでは安定性に違いがあること, そして一般的に未変性蛋白質は変性した蛋白質にくらべてプロテアーゼに対して耐性が高いことに着目し, SOD は安定なままヘモグロビンのみを分解してしまいう方法を見出したのでここに報告する。

## 2. 実験方法

### (1) SOD 活性測定法

McCord と Fridovich の方法<sup>3)</sup>に従い,  $O_2^-$  によるシトクロム C の還元を阻害する活性を測定した。

### (2) 蛋白質濃度の測定法

BioRad 社製プロテインアッセイキットを使用した。この方法は蛋白質に結合する色素であるクマシーブリリアントブルー G 250 の色調の変化によって蛋白質を定量する。標準蛋白質にはウシ血清アルブミンを使用した。

### (3) pH 処理によるヘモグロビンの除去

ブタ血球は伊藤ハム(株)により食品用として採血したものを供与いただいた。

ブタ血球に水を加えて5倍に希釈して溶血させた。この溶血溶液に濃塩酸または 10 N 水酸化ナトリウム溶液を滴下して pH 2~12 の各 pH に調整した。

室温で30分間放置した後に, 10 N 水酸化ナトリウム溶液または濃塩酸を滴下して pH 7 に調整した。

この操作で生じた沈澱物は遠心分離または東洋濾紙 No. 2 で濾過して除き, 得られた上清の SOD 活性および蛋白質濃度を測定した。

### (4) ウシ SOD の精製

ウシ赤血球 SOD はウシ血球から, Inouye の方法<sup>10)</sup>に従って DEAE 5PW (東ソー(株)製) をカラムとして用いた高速液体クロマトグラフィーによって精製した。

精製 SOD は水に対して十分に透析したのちに, 凍結乾燥して 4°C で保存した。

### (5) SOD のプロテアーゼ処理

凍結乾燥したウシ SOD を 2%(w/w) になるように純水に溶解した。この SOD 溶液に 0.2 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 3~6), 0.2 M トリス塩酸緩衝液 (pH 7~9) または 0.2 M 炭酸ナトリウム緩衝液 (pH 10~11) を等量加えて, pH 3~11 の各 pH に調整した。pH は pH 試験紙を用いて確認した。

この SOD 溶液 1 ml にペプシン溶液またはキモトリプシン溶液 10  $\mu$ l を加えてプロテアーゼ処理を開始した。ここで用いたペプシンとキモトリプシンはシグマ

社製のものを使用し、ペプシンは 10 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0) に、キモトリプシンは 10 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) にそれぞれ 1 mg/ml になるように溶解して使用した。プロテアーゼ処理は 30°C で行った。

対照実験はプロテアーゼを添加する操作のみを省略して同様の操作を行った。

SOD の分解の状態は所定の時間反応を行った後に電気泳動で分析した。

〔6〕 ブタ血球溶血溶液のプロテアーゼ処理

pH 処理によりヘモグロビンの大部分を除去したブタ血球溶血溶液を原料として使用した。

原料溶液を所定の温度に調整したのちに濃塩酸または 10 N 水酸化ナトリウム溶液を滴下して所定の pH に調整した。この溶液にプロテアーゼを加えてプロテアーゼ処理を行った。このときのプロテアーゼ量は原料溶液中の総蛋白質重量の 1/100 とした。プロテアーゼとしてはモルシン (盛進製薬製, 黒麹カビの培養抽出物, pH 3 付近が最適 pH) またはデナブシン (長瀬産業製, 細菌の培養抽出物, 中性から弱アルカリ性で作用する) を使用した。

所定の時間反応をおこなったのちに東洋濾紙 No. 2

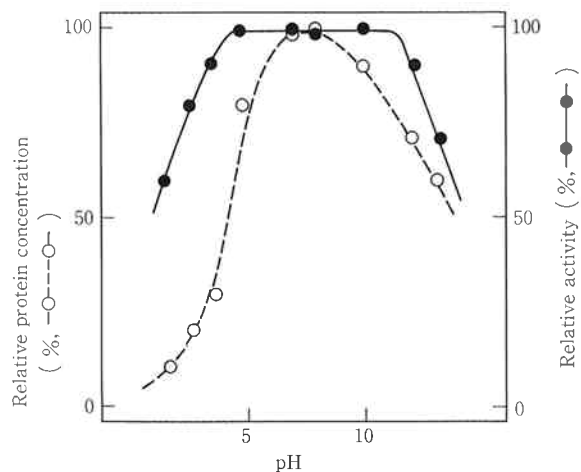


Fig. 1 Relative activity of superoxide dismutase and protein concentration of hog erythrocyte at pH 7.5 after acid or alkaline treatment at various pH at 25°C for 30 min.

を用いて生じた沈澱物を除去し、10 N 水酸化ナトリウム溶液または濃塩酸で pH 7.0 に調整して反応を停止させた。

プロテアーゼ処理ののち、生じた不純物の沈澱物を過または遠心分離して除去し、さらに透析または分画分子量 1 万の限外濾過膜で濃縮して低分子量化したペプチドを除去した。保存する場合はスプレードライをして粉末として保存した。

〔7〕 電気泳動

ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) は Davis の方法<sup>11)</sup> に従い、7.5%ゲルで泳動を行った。

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS PAGE) は Laemmli の方法<sup>12)</sup> に従い、20%ゲルで泳動を行った。SDS PAGE にかけるサンプルは 1/10 液量の 50% (w/v) トリクロル酢酸 (TCA) を加えて蛋白質を変性沈澱させたのちに 1% (w/v) SDS/1% (v/v) 2-メルカプトエタノールに再溶解し、100°C で 2 分間加熱して調製した。

3. 実験結果

〔1〕 pH 処理によるヘモグロビンの除去

変性したヘモグロビンは中性付近の pH で水にほとんど溶けないことが知られている。一方 SOD は加熱、有機溶媒の添加、酸やアルカリに対して非常に安定な酵素であることが知られている。そこで酸性またはアルカリ性の pH にさらすことによりブタ溶血溶液中のヘモグロビンを変性させ、次いでこの溶液を中和することによってヘモグロビンを沈澱させて SOD と分離することを試みた。

Fig. 1 に溶血溶液をさまざまな pH 調整し室温で 30 分間放置したのち中和して、生じた沈澱物を除去した上清の SOD 活性と蛋白質濃度を示した。

pH 6~9 で処理を行った場合は SOD 活性、蛋白質濃度ともに変化は見られなかった。しかし pH 5 以下、または pH 10 以上で処理を行うと蛋白質濃度は急激に低下した。これに対して SOD 活性は pH 3~11 のあいだで大きな失活はなかった。

すなわち pH 3~6 または pH 9~11 のあいだで血球

Table 1 Purification of superoxide dismutase

	Vol (ℓ)	Activity (U/ml)	[Protein] (mg/ml)	Specific activity (U/mg)	Total activity (U)	Yield (%)
Erythrocyte	1.0	50	62	0.8	50000	100
pH 3.5 treatment	0.85	56	5.2	11.9	48000	96

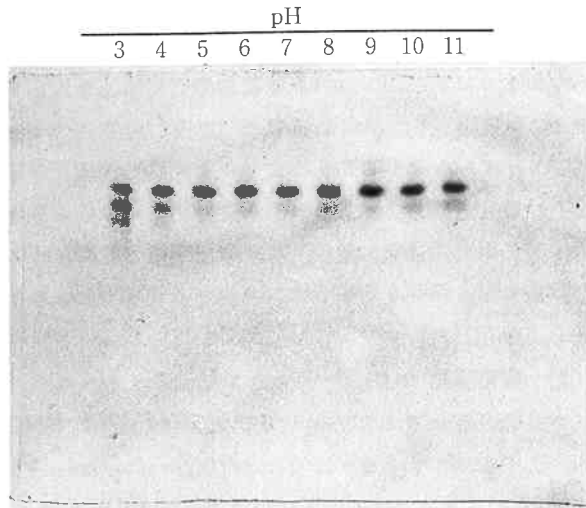


Fig. 2 Polyacrylamide gel electrophoresis of bovine superoxide dismutase incubated at various pH at 30°C for 15 hr.

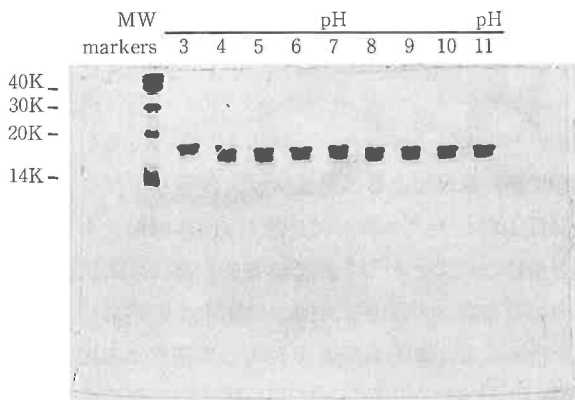


Fig. 3 SDS polyacrylamide gel electrophoresis of bovine superoxide dismutase incubated at various pH at 30°C for 15 hr.

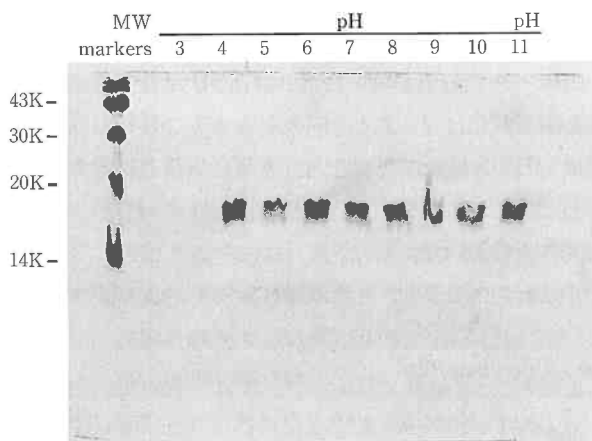


Fig. 4 SDS polyacrylamide gel electrophoresis of bovine superoxide dismutase incubated with pepsin (pH 3~5) or chymotrypsin (pH 6~11) at various pH at 30°C for 15 hr.

溶血溶液を処理することにより SOD とヘモグロビンを分離することが可能であることが判明した。なお酸性側で pH 処理を行った場合に比べて、アルカリ性側では SOD の回収率や蛋白質の分離などの再現性が劣っていた。したがって以降ヘモグロビンの除去を行う場合は、得られる SOD の比活性が最も高く、しかも再現性の最も良い pH 3.5 で行うことに決定した。

Table 1 に水で5倍に希釈して溶血させた血球 10 を原料として pH 3.5 処理を行った場合の物質収支を示した。この操作により血球中の総蛋白質の90%が除去された。しかも SOD 活性の回収率も96%と極めて良好であった。

しかし得られた溶液はまだかなりの赤色を呈しており、このままでは食品に混合して使用する目的には不十分なものであると判断した。

(2) SOD のプロテアーゼ処理

酵素活性を基準にみると SOD はヘモグロビンに比べて安定性が極めて高いことが示されたが、プロテアーゼ処理に対しても高い安定性を示すかどうかを精製されたウシ SOD を用いて検討することにした。

これに先立って、様々な pH で SOD を処理することによって電気泳動的な変化が見られるかどうかを検討した。このとき pH は Fig. 1 に示した実験で活性の低下の見られなかった pH 3~11 で行った。

30°C で15時間処理を行った後の PAGE のパターンを Fig. 2 に示した。pH 4~11 の広い範囲で電気泳動のパターンは一定であり、荷電の異なるアイソマーと主成分の2つのバンドだけが確認された。ところが pH 3 においては電気泳動パターンに変化がみられ、アイソマーのバンドの下にさらにバンドが出現していた。SDS PAGE では pH 3 においても pH 4~11 と同様に電気泳動パターンには変化は見られなかった (Fig. 3)。したがって、PAGE における変化は SOD 分子が分解した

Table 2 Activity of superoxide dismutase and protein concentration after protease treatment of pH 3.5 treated erythrocyte at 50°C

Proteases	pH	Incubation time			
		0 hr		15 hr	
		Activity (U/ml)	[Protein] (mg/ml)	Activity (U/ml)	[Protein] (mg/ml)
Denapsin	10.0	43	3.6	10	1.4
	7.5	43	3.6	37	3.0
Morsin	5.0	43	3.6	30	0.5

Table 3 Purification of superoxide dismutase

	Vol. ( $\ell$ )	Activity (U/ml)	[Protein] (mg/ml)	Specific activity (U/mg)	Total activity (U)	Yield (%)
Erythrocyte	2.0	46	51	0.9	92000	100
pH 3.5	1.7	45	2.5	18	76500	83.2
Proteolysis	1.7	40	0.29	130	68000	73.9
U.F.	0.6	110	0.33	330	66000	71.7

ためではなく、SOD 分子の構造になんらかの変化が生じたためであると判断した。

pH 3~11 の各 pH で SOD をプロテアーゼ処理したのが Fig. 4 である。pH 3, 4, 5 はペプシンを、pH 6~11 ではキモトリプシンをくわえて 30°C, 15時間処理を行ったものである。

電気泳動で分析したところ、pH 3 で処理を行った場合だけ SDS PAGE にバンドが確認できなかった。pH 3 では TCA 可溶性の低分子ペプチドにまで分解されてしまったと考えられる。したがって SOD は pH 4~11 の広い範囲でプロテアーゼ耐性を示すことが判明した。

### (3) 酸変性溶血溶液のプロテアーゼ処理

SOD を分解させることなく、かつ残存するヘモグロビンを分解することを目的に pH 3.5 で処理した溶血溶液のプロテアーゼ処理を行った。プロテアーゼ処理の pH はデナプシン処理は pH 7 または10, モルシン処理は pH 5 とした。また、処理温度は処理中の雑菌汚染を防ぐために 50°C とした。

その結果を Table 2 に示した。

pH 7 で15時間デナプシン処理をおこなった場合は蛋白質濃度の減少は見られず、プロテアーゼによるヘモグロビンの分解は不十分であった。また、pH 10 では蛋白質濃度とともに SOD 活性まで低下した。

ところが pH 5 でモルシン処理をおこなった場合は SOD の活性の低下に比べて蛋白質濃度が著しく低下した。また、この条件では pH 7 または10で処理を行った場合にはほとんど見られなかった黒色の沈澱物が大量に生じた。これはヘモグロビンが分解して生じたペプチドのうちヘミンを結合したものが凝集して沈澱したものである。

pH 7 または10でのプロテアーゼ処理をおこなったものは pH 5 に調整してもこの様な沈澱はほとんど生じなかった。これは溶血溶液中に残存するヘモグロビンの分解が不十分であるためにこの様な沈澱物が生じないのであると考えた。

したがって、弱酸性の pH 5 付近で、モルシンのよう

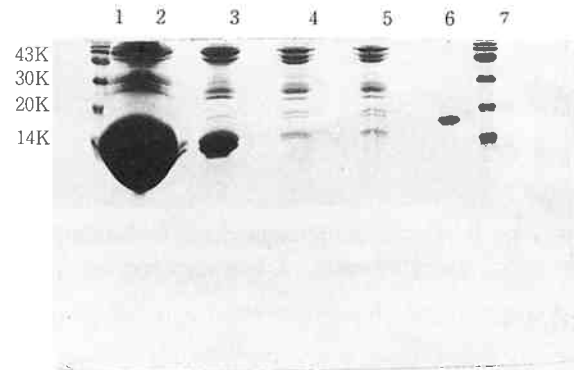


Fig. 5 SDS polyacrylamide gel electrophoresis of hog erythrocyte (lane 2), pH 3.5 treated erythrocyte (lane 3), morusin treated erythrocyte (lane 4), concentrated erythrocyte by UF membrane (lane 5) and purified bovine superoxide dismutase (lane 6). Lane 1 and 7, molecular weight standard.

な酸性領域で活性を発現するプロテアーゼを使用することが SOD を分解させることなく、溶液中に残存するヘモグロビンのみを分解するのに好ましい条件であると判断した。

そこで、水で5倍に希釈したブタ血球溶血溶液 2 $\ell$  を原料として、pH 3.5 処理によるヘモグロビンの除去から pH 5 でのモルシン処理を行い、さらに分画分子量 1 万の UF 膜で濃縮して物質収支を求めた。

その結果を Table 3 に示した。モルシンで処理するまでに SOD の比活性は原料に比べて100倍にまで上昇した。また、UF 膜で濃縮することによって比活性は更に3倍に上昇し、最終的に比活性は300倍にまで上昇した。この濃縮操作で SOD 活性は上昇しているが蛋白質濃度はほとんど上昇していない。したがって不純物であるヘモグロビンはほとんどが分子量 1 万以下のペプチドにまで分解されたものと考えられる。また、UF 膜で濃縮する前にすでに蛋白質濃度が著しく低下している。その理由は、ここで用いた蛋白定量法が低分子量のペプチ

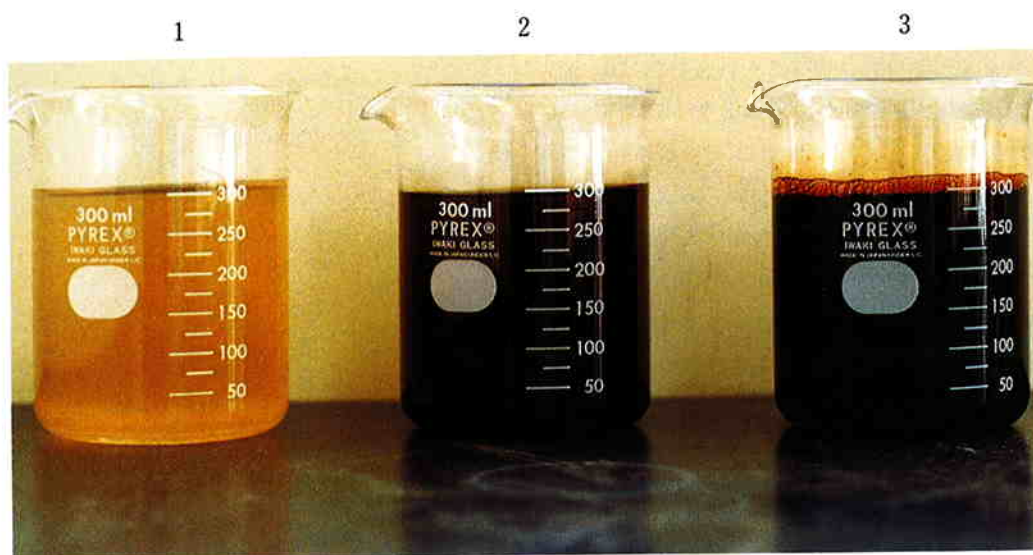


Fig. 6 Crude superoxide dismutase solutions. 1, morusin treated erythrocyte. 2, pH 3.5 treated erythrocyte. 3, hog erythrocyte.

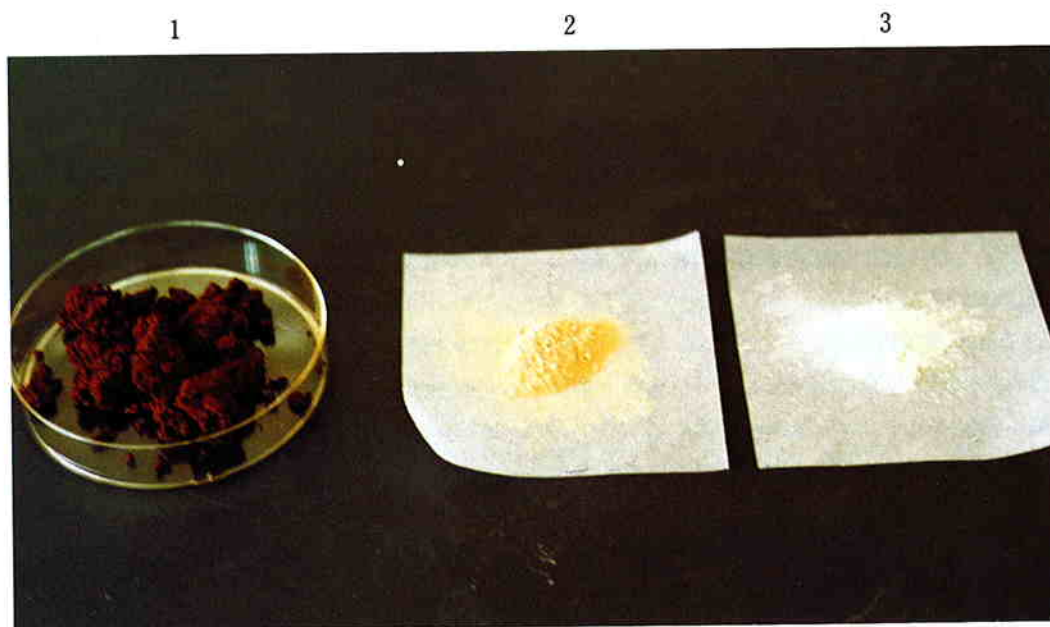


Fig. 7 Crude superoxide dismutase powders and hemoglobin. 1, denatured hemoglobin. 2, pH 3.5 treated erythrocyte. 3, morusin treated erythrocyte.

ドに対する感度が低い方法であるために、モルシン処理で極めて低分子量にまで分解されたペプチドが検出されなかったこと、そしてヘモグロビン分解物の一部が凝集して沈澱物として除去されたことによる。

各操作を行った後の溶液 400  $\mu$ l (SOD 約 5  $\mu$ g 相当) をサンプリングして SDS PAGE をおこなった結果を Fig. 5 に示した。Lane 2 は原料の溶血血球である。分子量 1 万付近の大きなバンドはヘモグロビンであると思

われる。Lane 3 はこれを pH 3.5 処理したもの、Lane 4 はモルシンで処理を行ったもの、Lane 5 はさらに濃縮を行ったものである。処理工程がすすむにつれてヘモグロビンのバンドが小さくなっているのが明らかである。しかしながら分子量 4 万以上の高分子量の蛋白質のバンドに変化は見られず、この条件ではプロテアーゼで処理しても高分子量の蛋白質は分解しなかった。

Fig. 6 は原料溶血溶液、pH 3.5 処理後の溶液、そし

てモルシン処理後の溶液の写真である。pH 3.5 処理後の溶液はまだかなりの赤色をのこしているが、モルシンで処理することによって溶液の赤色はほとんど除去された。

また、Fig. 7 は pH 3.5 処理によって回収したヘモグロビンの沈澱、そして pH 3.5 処理後の溶液とモルシン処理後の溶液をそれぞれスプレードライした粉末の写真である。溶液状態では赤色が若干残存していたが、粉末化すると完全な白色になった。

#### 4. 考 察

筆者らは食品として使用可能な SOD の調製法を検討してきた。すなわち、単純な方法で SOD の比活性を上昇させ、さらに食品としての用途が限られることがないようにヘモグロビン由来の赤い色が除去されていることを目標とした。また、あとで製品から除去するのが困難な大量の有機溶媒や大量の塩を使用することも避けることとした。

ところで、アミラーゼなどの一部の酵素蛋白質はプロテアーゼ消化に極めて抵抗性が高く、酸やアルカリ、界面活性剤などで変性させないと分解しないことが知られている。

SOD も安定性の高い酵素であるので pH を限定すればプロテアーゼの作用を受けないであろうと思い、精製したウシ SOD のプロテアーゼに対する pH 安定領域を調べたところ pH 4 以上では全く分解しないことが確認された。すなわち pH 4 と 3 の間で SOD 分子に何かドラチックな構造変化が生じているものと考えられる。PAGE でのバンドの変化もこれを示唆している。

以上のデータを踏まえて血球溶血溶液のプロテアーゼ処理を行ったのだが、このとき用いたプロテアーゼはプロテアーゼそのもののコストを考えてペプシンやキモトリプシンなどの精製されたプロテアーゼの使用を避けてモルシンとデナプシンを使用した。

pH 7 では蛋白質が分解しなかったのは pH 3.5、室温で30分の処理では残存するヘモグロビンが未変性状態で存在するためにプロテアーゼの作用を受けにくいのであろうと考えられる。

pH 10 では SOD の活性が著しく低下してしまったが、この理由がよく分からない。精製 SOD で行った実験では pH 10 ではキモトリプシンの作用を受けなかったため、SOD は分解しないはずであった。これは精製した SOD がウシ由来であったのに対して、pH 3.5 処理した血球がブタ由来であるために素材の差が現れたの

かもしれない。また、精製した系と多量の夾雑物質を含む系との違いであるかもしれない。いずれにしても pH 10 では pH 5 で処理を行った場合に比べて蛋白質濃度も余り低下しておらず、ヘミン含有ペプチドの沈澱も余り見られなかったため、これ以上追及しなかった。

また、ここでは pH 3.5 処理によって大部分のヘモグロビンを除去した溶血溶液を原料に使用した。その理由は溶血溶液のままではヘモグロビンがあまりにも大量に存在するためにプロテアーゼが余計に必要となることと、データは示さないが溶血溶液を pH 5 に調整してモルシン処理を行った場合は SOD の活性が低下してしまったことによる。SOD の活性が低下した理由は凝集したヘミン含有ペプチドの沈澱に吸着して沈澱したものと考えられる。いずれにせよ不純物の多い系とより純粋な系とでは挙動が異なるようである。

今回の方法で食品用として調製した SOD がはたしてコスト的に引き合うものであるかどうかは、原価計算もしておらず、また使用するプロテアーゼも処理する条件も厳密には詰めていないので何ともいえない。しかしここで実施した SOD 精製法は従来に例を見ないユニークなものである。

従来プロテアーゼは主に蛋白質を低分子化させる目的に使用されてきた。そのために、分解させる素材蛋白質をあらかじめ煮沸などで十分に変性させてプロテアーゼが作用しやすくさせたり、また使用するプロテアーゼの最も活性の高い pH や温度で使用されてきた。筆者らはプロテアーゼの作用条件や素材蛋白質の変性状態を微妙にコントロールして、複数の蛋白質が混在する中で目的の酵素蛋白質は分解させず、不純物である蛋白質のみを分解する方法を開発した。このようなプロテアーゼの使用方法はかつて無かったものである。

また、生体内部においては様々な蛋白質が、それぞれに固有のライフタイムをもって合成され、分解されている事が知られている。ある蛋白質は素早く分解され、ある蛋白質の分解は非常に遅い。そこにはなんらかのコントロールのメカニズムが存在するものと考えられる。ここで筆者らの行ったヘモグロビンと SOD の分別加水分解はそのようなメカニズムのひとつのモデルを提供するものでもある。

#### 文 献

- 1) “未利用動物蛋白質の有効利用—Liquid meat の現状と将来—” 講演会要旨 (1985)
- 2) “と畜血液高度利用化研究事業報告書” と畜血液有

- 効利用研究会編, (株)日本畜産副産物協会 (1983)
- 3) McCord & Fridovich; *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055 (1969)
- 4) 大柳善彦; “醸造協会誌”, 82(1), 20-27 (1987)
- 5) “スーパーオキシドと医学”, 大柳善彦著, 共立出版(株) (1981)
- 6) L. Sherman et al.; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 5465-5469 (1983)
- 7) 豊崎俊幸ら; *New Food Industry*, 27, 30-35 (1985)
- 8) 篠 園彦; “食品と科学”, 28, 84-88 (1986)
- 9) 二見(松島)瑞子, 斉藤佑尚, 稲田祐二; “食肉に関する助成研究調査成果報告書” pp. 296-301, 財団法人 伊藤記念財団 (1985)
- 10) K. Inouye; *J. Chromatography*, 327, 301-311 (1985)
- 11) B. J. Davis; *Ann. New York Acad. Sci.*, 121, 404-427 (1964)
- 12) U. K. Laemmli; *Nature*, 277, 680-685 (1970)



著 者

氏名 半 澤 敏  
Satoshi HANZAWA  
入社 昭和60年4月1日  
所属 研究本部  
          生物学研究所  
          第五研究室  
          副主任研究員



著 者

氏名 斉 藤 修 司  
Syuji SAITO  
入社 昭和60年4月1日  
所属 研究本部  
          生物学研究所  
          第五研究室  
          副主任研究員



著 者

氏名 肥 後 裕 仁  
Yuji HIGO  
入社 昭和58年11月1日  
所属 研究本部  
          生物学研究所  
          第五研究室  
          第五研究室長