

平成18年度

政策創薬総合研究  
重点研究報告書（I）

## 目 次

課題番号		
KH11001	バイオフォトニクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 …… 1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発	望月直樹 …… 30
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 …… 40
KH21006	病態時の侵害情報伝達に關与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 …… 100
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 …… 126
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 …… 144
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 …… 154
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 …… 168
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 …… 181
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 …… 196
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 …… 208
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 …… 221
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 …… 235
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山耕造 …… 247
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出利光 …… 262
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島正弘 …… 286
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木哲朗 …… 300
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西正孝 …… 310
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤準一 …… 318

KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 344
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 358
KH31025	生薬及び漢方処方of科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 373
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 390
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 402
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 417
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 435
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクス的手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 449
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 466
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 481
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 494
KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田 恵理子 …… 509
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 525
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井 洋士 …… 537
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇 祥子 …… 551
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍兒 …… 566
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名 和 行文 …… 576

## 食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究

所 属 国立医薬品食品衛生研究所  
衛生微生物部

研究者 工藤由起子

### 研究要旨

食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価では、牛乳中の黄色ブドウ球菌の遺伝子検査による定量について適正な DNA 抽出法を見いだし、また牛乳の加熱殺菌が DNA の損失を伴う溶菌を引き起こすことことから定量にこれを考慮する必要があることが明らかになった。遺伝子検出法の検討と応用に関する技術の確立では、LAMP 反応を用いる場合の血液成分や脂肪分が多く反応に障害を及ぼす食材の効果的な前処理が明らかになった。さらに、食品検体での迅速検査法の実践と評価では、惣菜類由来の細菌をモデル細菌とし、これら細菌を衛生指標菌と前提した FCM による測定から、それぞれの細菌に対し定量可能であることを確認した。

### 分担研究者

- (1) 栄研化学株式会社生物化学研究所  
池戸 正成
- (2) (株)日清製粉グループ本社 基礎研究所  
田中 啓子

### A. 研究の目的

食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究を、食品からの検出に特有の問題点に着目し行った。

まず、食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価については、食品の成分や加工工程の特徴をふまえた具体的な方法を検討することを目的とした。対象としては殺菌乳中の黄色ブドウ球菌の毒素とし、毒素遺伝子を PCR 法で検出する際の牛乳成

分による DNA 抽出・精製障害と殺菌工程での菌体からの DNA の損失が検出法の精度に影響することが考えられるため検討を行うこととした。

次に、遺伝子検出法の検討と応用に関する技術の確立については、感度、特異性および操作の簡便性から食中毒細菌の迅速検査法に有用な方法である新規遺伝子増幅法の LAMP 法を対象とした。LAMP 法は PCR 法と比較して材料由来の障害を受けにくいことから、検体の前処理は試薬に添付されている Ex-F を培養液等に等量添加し 95℃で 10 分間加熱処理後、その上清をそのまま測定に用いるという非常に簡易な方法を採用している。この処理法は、Ex-F が水酸化ナトリウムを主成分とするアルカリ溶液であることから、一種のアル

カリ熱抽出法であるが、脂肪分の多い材料では十分に処理できず反応障害が起きることが知られている。本年度の事業研究では、簡便でより効果的な検体処理法を検討した。

さらに、食品検体での迅速検査法の実践と評価については、食品衛生法に基づく成分規格である「食品、添加物等の規格基準」に含まれる生菌総数に焦点をあてた。生菌総数は一般生菌数とも呼ばれ、48～72 時間培養して得られる微生物の総集落数を把握することとして国際的に広く支持されているが、検査に要する時間が長いという欠点がある。惣菜などの腐敗し易い食品の場合、製造後可能な限り早く出荷する必要がある、食品に汚染する一般生菌数を迅速に検査する方法が広く求められている。そこで、一般生菌数を迅速に測定する新規な方法を開発することにした。

## B. 研究方法

### 1. 食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価

黄色ブドウ球菌を10 mlのTSBにて37°Cで7.5時間培養した。培養液をPBSにて $10^6 \sim 10^8$  cfu/mlの範囲で10倍段階希釈し、培養液とその段階希釈液1mlを10,000Xg、4°Cで5分間遠心し上清を除いた。その後、50Uのアクロモペプチダーゼを含むTE100 $\mu$ lを加え、50°Cで30分間インキュベートした。DNAは抽出キットにより抽出した。黄色ブドウ球菌定量のため抽出したDNAを鋳型にリアルタイムPCRを行い、得られたCt値と菌数から検量線を作成した。培養液の菌数のカウントのためにTSA培地にて培養しコロニー数を計測した。

生乳における黄色ブドウ球菌を定量するため、培養液1ml及び0.1mlと段階希釈菌液0.1mlを未殺菌生乳（国内農場産、黄色ブドウ球菌陰性）に加えた。それらを10,000Xgで4°C5分間遠心し、脂肪層と液体が取り除き、沈査に0.05% Tween 20 加PBS を加え3回洗浄した。さらに、PBSにて2回洗浄し、蛋白及び脂肪を除去した。その後、沈査に50Uのアクロモペプチダーゼを含むTE100 $\mu$ lを加え、50°Cで30分間インキュベートした。菌接種検体及び非接種検体（negative control）からDNAを抽出しリアルタイムPCRの鋳型として使用した。リアルタイムPCRの増幅反応は、50°Cで2分、95°Cで10分の後に、95°C15秒及び60°C1分を40サイクル行った。反応液の組成は25 $\mu$ lのTaqMan universal PCR master mix、5  $\mu$ lの鋳型DNA（10 ng/ $\mu$ l）、1  $\mu$ Mの各プライマー、250 nMのTaqManプローブからなる。反応の蛍光はABI PRISM 7000 sequence detector によって読み取った。

また、黄色ブドウ球菌接種牛乳の加熱処理の影響を検討した。黄色ブドウ球菌の培養液及びその10倍段階希釈液0.1 mlを滅菌ガラスバイアル中の1mlの生乳に接種し、低温殺菌である63°C 30分とHTST殺菌である72°C 15秒で加熱処理した。63°C 30分の加熱処理では、まず37°Cに加熱し、その後、63.2°Cに加熱した。牛乳が63°Cまで達するのに22分間かかったが、日本の食品衛生法では、63°Cまで達するまでに20分以上費やすことが推奨されている。バイアル中の温度をセンサーでモニターした。

### 2. 遺伝子検出法の検討と応用に関する技術

の確立

Loopamp 腸管出血性大腸菌検出試薬キット (栄研化学)を用いて、使用方法に従った処理法 (Ex-F 法)と Beige らが結核菌の遺伝子診断に使用した水酸化ナトリウムによる熱処理法 (アルカリ熱抽出法)、それに市販の核酸抽出試薬キット、TaKaRa DEXPAT (タカラバイオ), DNeasy Tissue Kit (キアゲン), PrepMan Ultra Reagent (アプライド バイオシステムズ・ジャパン), High Pure PCR Template Preparation Kit (ロシユ ダイアグノステイクス) 全 6 種類の処理法を用いた。アルカリ熱抽出法は、次のような方法で行った。培養液 0.1mL を 10,000×g で 10 分間遠心し、上清を取り除いた沈渣に滅菌した 50mM NaOH 0.1mL を添加し、100℃で 10 分間加熱する。その処理液 50 μL に滅菌した 1M Tris (pH7.0)を 8 μL 添加して中和し、10,000×g で 10 分間遠心した上清を検体とした。Ex-F 法および市販の核酸抽出試薬キットはそれぞれの使用説明書に従って行った。対象食材は、牛レバー、鶏レバー、豚レバー、鶏挽き肉、鶏もも肉、全卵、卵黄、マヨネーズ、プロセスチーズ、ゴーダチーズの全 10 種類を用いた。いずれの食材も試験前に腸管出血性大腸菌の汚染がないことを確認した。それぞれの食材を 5g 秤量し、フィルター付きのスタマッカーバックへ入れ、ノボピオシン加 mEC 培地 (栄研化学)を 45mL 加えて、1 分間、スタマッカー処理し、42℃、20 時間培養した。

供試菌株は *Escherichia coli* EKN No. 5901 株 (ATCC43890, O157:H7, VT1 遺伝子保持)を用いた。ハートインフュージョン寒天平板培地 (栄研化学)で 37℃一晩培養して得られた菌体を生理食塩水に懸濁し MacFarland No.1 (約  $3.0 \times 10^8$

colony forming unit (cfu)/mL)に調製、菌懸濁液とした。それぞれの食材のノボピオシン加 mEC 培地培養液に菌懸濁液を、未接種 (0)および  $2.4 \times 10^4$ 、 $2.4 \times 10^5$  cfu/mL になるよう接種したものを検体として用いた。測定機器には LA-320C (栄研化学)を用いた。

### 3. 食品検体での迅速検査法の実践と評価

惣菜類から検討対象とすべきモデル食品を選定して、モデル食品から一般生菌数として検出される細菌叢を把握した。モデル細菌叢として *Leuconostoc* 属、*Pseudomonas* 属、*Pantoea* 属、*Corynebacterium* 属を選定した。

フローサイトメータは、全自動細胞解析装置 Cytomics FC500 (BECKMAN COULTER)を使用した。細菌の染色には、核酸染色剤 LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (Molecular Probes)を用いた。食品試料としてはほうれん草白和え、キャベツ、キュウリ、タマネギを用いた。食品試料に 9 倍量の滅菌ミリ Q 水を加え、スタマッカー処理して 10%乳剤を調製した。これらに各細菌培養希釈液を添加したものを試料液とした。なお、供試食品の生菌数はいずれも 4 log cfu/g 未満であった。FCM での測定前に、試料液に対して下記の前処理を行った。試料液を 3,000rpm、1 分間遠心分離して回収した上清を、孔径 3 μm のフィルターで濾過した後、12,000rpm、3 分間遠心分離を行い、上清を除去して、沈殿物に滅菌ミリ Q 水 500 μL を加え再懸濁した。また、LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit にて染色した。染色後、絶対数測定内部標準用試薬 Flow-Count (BECKMAN COULTER)を 50 μL 添加して、FCM による測定を行った。さらに、細菌を添加した試料液の生菌数は、

平板培養法で求めた培養液の生菌数の値を用いて、食品 1g あたりの生菌数として算出した。FCM で得られたデータの解析は、あらかじめ菌液のみで測定した SS-FS サイトグラム上で菌体が発見される領域をゲート設定し、食品試料液の SS-FS サイトグラム上におけるゲート内粒子について、FL1-FL3 サイトグラムを作成して行った。

## C. 研究成果

### 1. 食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価

黄色ブドウ球菌培養液においては、TaqMan assayで $10^1 \sim 10^7$  cells/mlの範囲でCt値と菌数の間には非常に高い相関関係があった( $r^2=0.99$ )。また、牛乳検体においては、DNA抽出を行うために0.05% Tween 20 加PBSを加え3回洗浄し、さらにPBSにて2回洗浄し、蛋白及び脂肪を除去し、その後に50Uのアクロモペプチダーゼを含むTE100 $\mu$ lを沈査に加え、50 $^\circ$ Cで30分間インキュベートする方法によって、純菌の検量線とほぼ重なり相関係数も高くない検量線を得た( $r^2=0.99$ )。

加熱処理が定量に与える影響については、63 $^\circ$ C 30分の加熱の後に作成した牛乳の検量線では、非加熱検体で作成した検量線に比べ約2サイクルほど上方に位置した。一方、72 $^\circ$ C 15秒の加熱は検量線にほとんど影響しなかった。

### 2. 遺伝子検出法の検討と応用に関する技術の確立

Ex-F 法では、鶏レバー、鶏挽き肉、マヨネーズ、全卵、卵黄、プロセスチーズ、ゴーダチーズで菌数  $2.4 \times 10^5$ ,  $2.4 \times 10^4$  cfu/mL のいずれも陽性、0 cfu/mL は陰性であったが、牛レバー、豚レ

バー、鶏もも肉では  $2.4 \times 10^5$  cfu/mL のみ陽性、 $2.4 \times 10^4$  と 0 cfu/mL は陰性であった。アルカリ熱抽出法、TaKaRa DEXPAT による処理では 10 種類すべての食材で  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^5$  cfu/mL いずれも陽性、0 cfu/mL は陰性となった。DNeasy Tissue Kit は、鶏レバーの  $2.4 \times 10^4$  cfu/mL のみ陰性となり、その他の食材では  $2.4 \times 10^5$ ,  $2.4 \times 10^4$  cfu/mL いずれも陽性、0 cfu/mL は陰性となった。PrepMan Ultra Reagent は、ゴーダチーズのみ 0,  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^5$  cfu/mL すべて陰性となり、その他の食材では  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^5$  cfu/mL いずれも陽性、0 cfu/mL は陰性となった。High Pure PCR Template Preparation Kit では、鶏挽き肉の  $2.4 \times 10^4$  cfu/mL のみ陰性となり、その他の食材はすべて  $2.4 \times 10^4$ ,  $2.4 \times 10^5$  cfu/mL いずれも陽性、0 cfu/mL は陰性となった。

### 3. 食品検体での迅速検査法の実践と評価

食品残渣由来の粒子が発見されない領域を細菌検出リージョンとして設定した。また、細菌を添加した場合における食品試料液の FL1-FL3 サイトグラムの例としてキュウリを食材とした。細菌検出リージョン内の細菌分布は、細菌の種類によって異なっており、グラム陽性菌は、グラム陰性菌に比べて食品残渣残渣の分布域に近接して分布していた。特に、*Leuconostoc* 属株とキュウリ残渣の分布は非常に近接しており、*Leuconostoc* 属株の菌体群の一部は食品残渣の領域に入り込んでいた。FCM による細菌数は各試料液の FL1-FL3 サイトグラムの細菌検出リージョン内粒子数から、食品試料 1g あたりの細菌数を算出した。FCM により求められた細菌数と平板培養法による生菌数の比較としてキュウリにおける結果、いずれの食品においても、FCM による細

菌数と平板培養法による生菌数には高い相関があった(相関係数  $r = 0.96 \sim 0.99$ )。また、2回の試験における再現性も良好であった。

#### D. 考察

##### 1. 食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価

本研究では、黄色ブドウ球菌に特異的で普遍的な転写制御遺伝子を対象にしたリアルタイムPCR法を用いて、定量リアルタイムPCRにより牛乳中の黄色ブドウ球菌の検出感度を調べ、加熱殺菌乳における測定を前提として、それに特異的なDNA抽出法および測定阻害について検討した。PCR効率は食品の構成成分によって影響を受けることが知られており、牛乳及び乳製品でもPCR効率減少することが報告されている。さらに、牛乳はDNA抽出効率にも影響を与える。これらを克服するため、厳しい洗浄工程を取り入れた結果、純菌及び牛乳検体で $10^1$  cfu/mlの感度で黄色ブドウ球菌を検出することができた。また牛乳検体を使用しても $10^1$  to  $10^7$  cfu/mlの範囲で高い相関係数を持った検量線を作成することができた。洗浄工程が不十分であると再現性がないことから、本研究の洗浄工程は正確な定量に必須であることが判明した。

63℃ 30分の加熱処理では、検量線は非加熱より上方に約2サイクル分上昇した。一方、72℃ 15秒の加熱はほとんど影響しなかった。検量線の上方への移動は、63℃ 30分の加熱に伴う溶菌によるDNAの損失が原因と考えられる。予備実験では、63℃ 30分の加熱後の純菌の上清には、72℃ 15秒の加熱後の上清に比べ

10倍量のDNAが含まれていた。63℃ 30分の加熱で初期菌量の約3分の1相当量のDNAが放出されたことから加熱時間が溶菌に影響したと考えられ、低温殺菌の加熱処理が検体からのDNA回収に影響を与えることを示している。それゆえ、より正確に菌数を定量するためには加熱条件ごとに検量線を作成するべきだと考えられる。

##### 2. 遺伝子検出法の検討と応用に関する技術の確立

Loopamp 腸管出血性大腸菌検出試薬キットの使用方法に従った処理法 (Ex-F 法)では、取扱説明書の注意書き記載のように牛レバー、豚レバーといったレバー検体と、鶏もも肉で反応阻害が確認された。LAMP 法に用いる検体処理法としては、試験したすべての食材でアルカリ熱抽出法、TaKaRa DEXPAT が優れていた。DNeasy Tissue Kit は鶏レバーで阻害が確認され、PrepMan Ultra Reagent はゴーダチーズ、High Pure PCR Template Preparation Kit では鶏挽き肉が影響し、遺伝子抽出試薬キットの間でも食材の種類により影響の回避効果が異なっていた。Ex-F 法は、前培養液に等量の Ex-F を添加、95℃で 10 分間加熱後遠心した上清を検体として使用できるため、実際の操作はピペティング→加熱→遠心→ピペティング、と非常に簡易といえるが、血液成分や脂肪分が多い検体についてはアルカリの作用が十分でないと考えられる。また Ex-F 添加処理後、増幅反応に使用する前に中和処理を行っていないが、アルカリ熱抽出法のように中和処理をする方がより増幅反応に適していることが考えられる。アルカリ熱抽出法は、「腸管出血性大腸菌 O157 及び O26 の検査法」



(厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長発)の DNA 抽出法でも採用され、LAMP 法についても脂肪分の多い食品については Ex-F ではなくアルカリ熱抽出法を用いるよう記載されているが、本検討でも同様の結果が得られた。この方法は、遠心操作や試薬の添加操作等が従来の Ex-F 法と比べて多くなるが、いままで試験が出来なかったレバーや脂肪分の多い食材の試験が可能になること、安価な試薬のみで実施できるという経済的な面からも有用な方法であると思われる。

### 3. 食品検体での迅速検査法の実践と評価

本研究分担において惣菜類に汚染するモデル細菌それぞれについて、FCM による測定により細菌毎の定量が可能であることが確認された。FCM による測定法で得られた細菌数は、平板培養法による生菌数と高い相関があり、本測定法によって、食品の生菌数  $4 \log \text{ cfu/g}$  以下と  $5 \log \text{ cfu/g}$  以上との判別、および  $5 \log \text{ cfu/g}$  以上の定量は十分に可能であることが示された。なお、本測定法では10%乳剤の約  $10 \mu\text{L}$  を測定していることから、理論上の検出限界は  $3 \log \text{ cells/g}$  となる。本検討で用いた食品試料(コントロール)の生菌数は  $2 \sim 4 \log \text{ cfu/g}$  であり、それらの試料液では細菌検出リージョンに数個の粒子が検出された。しかしながら、検出された粒子が食品残渣であるか細菌であるかの判別は困難であったため、 $4 \log \text{ cfu/g}$  以下における定量性は評価できなかった。

### E. 結論

食品検体の特性に合った検査システムの開発と評価では、牛乳中の黄色ブドウ球菌の

遺伝子検査による定量について適正な DNA 抽出法を見いだし、また牛乳の加熱殺菌処理が定量に与える影響を検討し、加熱が DNA の損失を伴う溶菌を引き起こすことから定量にこれを考慮する必要があることが明らかになった。遺伝子検出法の検討と応用に関する技術の確立では、LAMP 反応を用いる場合、血液成分や脂肪分が多く反応に障害を及ぼす食材の効果的な前処理は、アルカリ熱抽出と TaKaRa DEXPAT が優れており、安価な試薬で実施できる点からも有用な方法と思われた。さらに、食品検体での迅速検査法の実践と評価では、惣菜類由来の細菌をモデル細菌とし、これら細菌を衛生指標菌と前提した FCM による測定から、それぞれの細菌に対し定量可能であることを確認した。今後、小型で低価格の FCM が開発されれば、本手法を食品製造現場における細菌汚染の簡易迅速検査法として応用することが可能であると考えられた。

以上のように、食品からの食中毒細菌などの検出について現実により適応した新規の迅速検査法の検討が行われ、今後の応用が期待できると考えられた。

### F. 研究発表

Hara-Kudo, Y., Nemoto, J., Ohtsuka, K., Segawa, Y., Takatori, K. Kojima T., Ikedo, M. Loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of Vero toxin-producing *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. 56: 398-406, 2007.

Goto, M., Takahashi, H., Segawa, Y.,

Hayashidani, H., Takatori, K.,  
Hara-Kudo, Y. Real-time PCR method for  
quantification of *Staphylococcus*  
*aureus* in milk. J. Food Prot. 70:  
90-96, 2007.

- G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

---

平成18年度  
政策創薬総合研究  
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団  
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル(小伝馬町駅前)4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社