

図2 NOST (A), P35S (B), ColE1(C) と 3-plex PCR assay (D)の融解曲線解析

NK603 maize genomic DNA was amplified as template by thermal conditions (initial denaturation at 95°C for 15 m, followed by 50 cycles of denaturation at 95°C for 30 s, annealing at 60°C for 90 s and extension at 72°C for 90 s, and terminal elongation at 72°C for 10 m. Melting curves were analyzed by Rotor gene™ 6000 using EvaGreen® as intercalating dyes, and the corresponding T_m was assigned for each product by arrow.

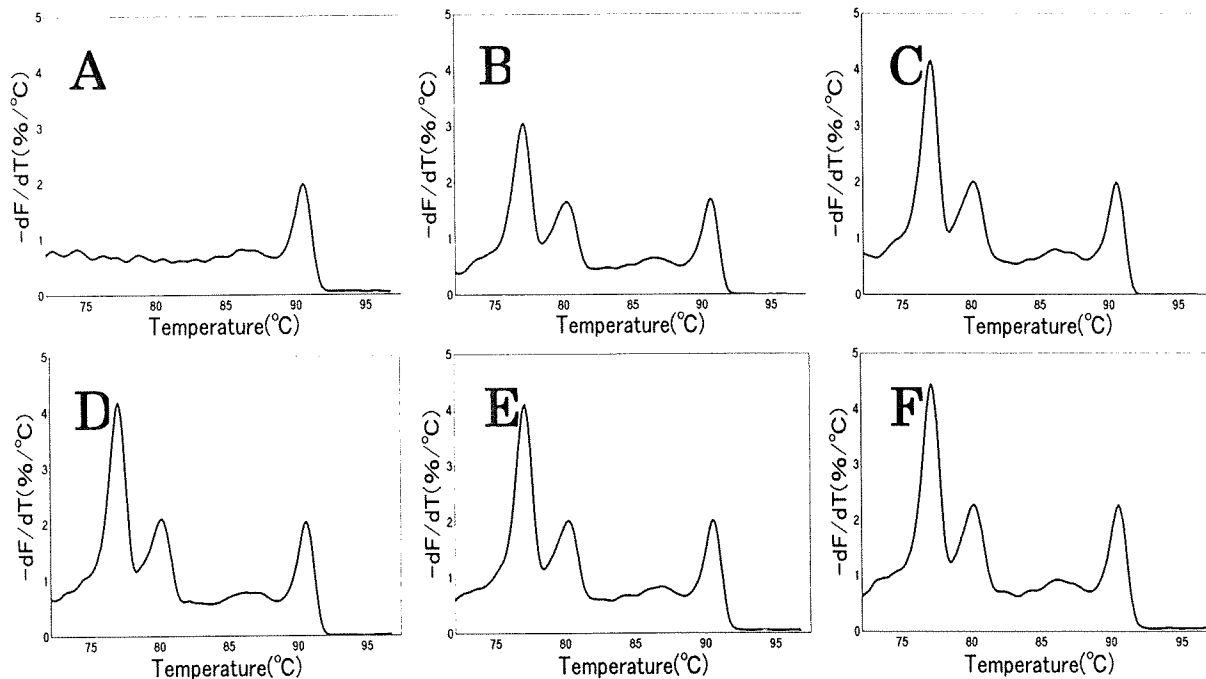


図 3 3-plex realtime PCR の感度の検討.

The melting curves were tested for detection of different amounts of NK603 maize samples: A) 0% (w/w, non-GM), B) 0.1% (w/w), C) 0.5% (w/w), D) 1% (w/w), E) 2% (w/w) and F) 5% (w/w).

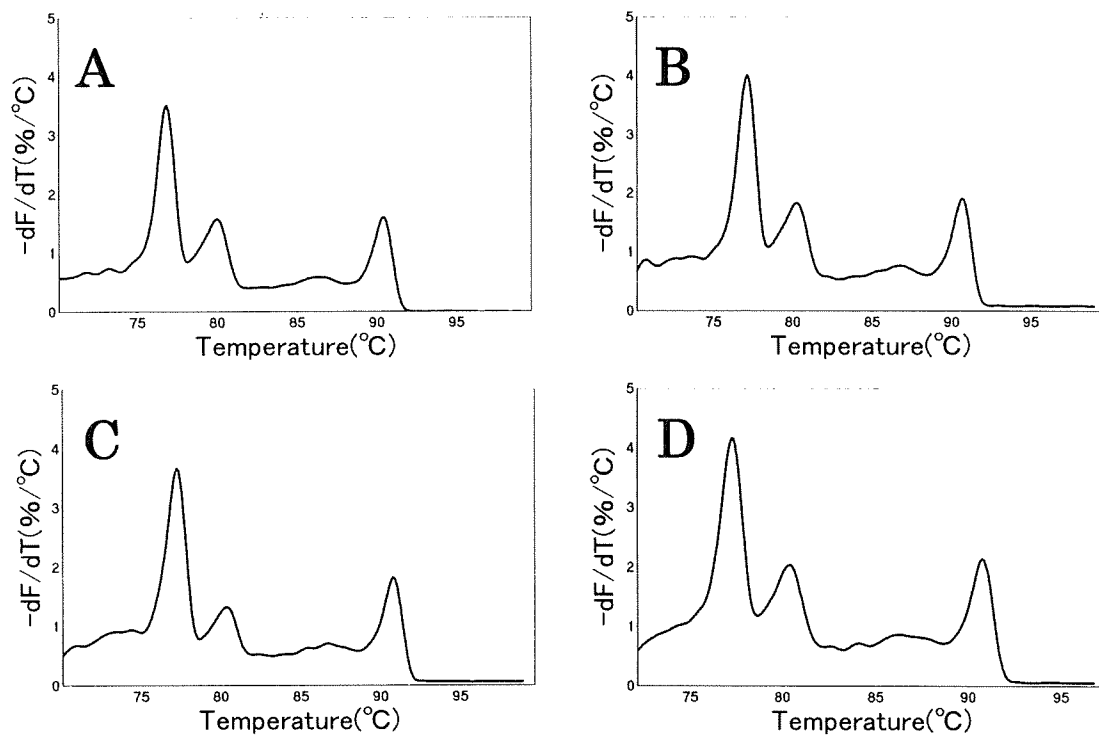


図 4 他の GM 食品混入試料への応用

Melting curves represent 3-plex PCR using total genomic DNA samples from: A) GM soybean (Roundup Ready soybean), B) GM potato (NewLeaf), C) rice contaminated with unauthorized GM rice and D) biscuit contaminated with GM soybean of unknown amount.

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
「非食用バイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止に関する
安全性確保のための研究」
総合研究報告書（平成 19～21 年度：分担）

産業用及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物の検知に関する研究

研究分担者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨

食品添加物を生産するための遺伝子組換え微生物は既に実用化されており、工業原料産生及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物の開発も進みつつある。このようなバイオテクノロジー応用技術の拡大により、食用としての評価をされていないバイオテクノロジー応用微生物が誤って食品に混入してくる可能性が示唆されている。そこで、バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の動向に関する調査研究を行った。情報収集により、大腸菌用、乳酸菌用、枯草菌用および酵母用の遺伝子組換えベクターについてそれぞれの特徴についてまとめ一覧表を作成した。国際的な遺伝子組換え研究の最先端の情報収集として、海外で開催された国際シンポジウムへの参加や現地調査により、この分野の情報収集を行った。遺伝子組換え微生物の定量的検知法の検討では、リアルタイム PCR による方法を検討し、食品中に混入した大腸菌モデル組換え体を用いて検討を進めた。

協力研究者：

梶川 揚申（食品衛生管理部）
梶田 和彌（食品衛生管理部）
加藤 光徳（食品衛生管理部）

A. 研究目的

食品添加物を生産するための遺伝子組換え微生物は既に実用化されており、工業原料産生及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物の開発も進みつつある。このようなバイオテクノロジー応用技術の拡大により、本来はヒトが直接摂取することを想定していない非食用バイオテクノロジー応用微生物は多数開発されており、このような遺伝

子組換え微生物が誤って食品に混入してくる可能性が示唆されている。そこで、バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の動向の調査研究を行う。このような情報を基に、非食用バイオテクノロジー応用微生物の食品中への混入を防止するための安全性確保に有用と思われる検知技術の検討を進める。

B. 研究方法

①バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の情報収集は、論文、書籍、インターネット、業者カタログなどを用い、微生物の遺伝子組換えに関わるベクターに

関するデータベース作りを行った。平成 19～20 年度は、大腸菌の市販ベクターと乳酸菌用のベクターについて一覧表を作成した。平成 21 年度は、枯草菌用と酵母用の遺伝子組換えベクターについてまとめた。これらの菌については市販で入手可能なベクターと研究用として用いられている主なベクターについて、ほぼ網羅的にデータベース化した。

②海外の研究動向や行政的な取り組みに関する情報収集や情報交換として、国際シンポジウムへの参加や現地調査を行った。

平成 19 年度は、スペインで開催された“国際環境および工業応用微生物会議”(The Second International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld2007))に参加し、産業用及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物に関する情報収集を行った。

平成 20 年度は、オランダで開催された“国際乳酸菌シンポジウム(LAB9)”(The 9th Symposium on Lactic Acid Bacteria)に参加し、乳酸菌組換え研究の成果を発表するとともに、乳酸菌を応用した遺伝子組換え微生物に関する情報収集を行った。

平成 21 年度は、フランスのパスツール研究所を訪問し、主に遺伝子組換えワクチンの研究状況について情報交換を行った。加えてイタリアで開催されたシンポジウム“プロバイオティクス・プレバイオティクス&ニューフーズ”に参加し、新たに開発される微生物の安全性評価に関する動向と遺伝子組換え研究に関する情報収集や情報交換を行った。

③遺伝子組換え微生物の検知技術の検討では、定量 real time PCR 法について、対象

とする遺伝子や手技など実験系の検討、食品からの検知に関する検討を行った。

平成 19 年度は、微生物における対象遺伝子を測定する検知技術の検討として、リボゾーマル RNA を標的とした定量 real time PCR 法による検出法の検討を開始した。*Escherichia coli* の 23S rRNA 配列を標的とした RT-PCR 法を試みた。プライマーは、En-lsu3F (TGCCGTAACCTTCGGGA GAAGGCA), En-lsu3'R (TCAAGGCTCA ATGTTTCAGTGTC)を用いた。(Matsuda K et al. 2007)

平成 20 年度は、大腸菌モデル組換え体を用いて、ミルク中に混入させた場合の定量的検知法について検討した。モデル組換え体に 1 コピーのみ存在する遺伝子として (dxs: chromosomal D-1-deoxyxylulose 5-phosphate synthase gene) と、複数コピー存在するプラスミド上に存在するグラム陽性細菌でしばしば用いられるエリスロマイシン耐性マーカー遺伝子 (ery: plasmid erythromycin resistance gene) を標的として検知法を検討した。また、モデル大腸菌を、①濃縮操作なし②PBS へ懸濁後に濃縮③牛乳へ懸濁後に濃縮、の 3 通りで PCR テンプレートを調製し、解析した。

平成 21 年度は、大腸菌モデル組換え体を用いて、豚肉中に混入させた場合の定量的検知法について検討した。宿主としては、*E. coli* JM109 株を用い、プラスミドは乳酸菌とのシャトルベクターである pLPEmpty を用いた。標的や条件は平成 20 年度に検討したのを用い定量 real time PCR 法による検知法を検討した。

④市販の豚肉から、アンピシリン耐性大腸菌を分離した。大腸菌や、大腸菌と他の菌

のシャトルベクターには、遺伝子組換え用ベクターのマーカ―としてアンピシリン耐性がしばしば用いられている。そこで、この分離株の耐性について、PCRにて耐性遺伝子を確認し評価を試みた。

C. 研究結果

①バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の情報収集は、3年間に研究用・商業的に入手可能な市販の大腸菌用のベクター、研究用に開発された乳酸菌用発現ベクター、枯草菌用ベクター、酵母用ベクターに関して一覧表を作成して、データベース化した。これらの4つの菌群に関してほぼ網羅的なデータベース化を行った。ベクターは、用途・機能・特徴、研究・開発マーカ―、ベクター名、プロモーター、ターミネーター、マーカ―につき調べた。

大腸菌用ベクターは、844の大腸菌用ベクターについて、カタログ及びwebを中心に市販ベクターを調査し一覧表を作成した。プロモーターは、T7、lac、SP6、CMVなどが頻繁に用いられていた。ときに用途の限定された特殊なプロモーターが使われている場合があった。マーカ―としては、ampicillin を用いていることが多く、kanamycin、chloramphenicol も多用されていた。その他 spectinomycin、hygromycin、geneticin 他が用いられていた。リストには、大腸菌と他の菌のシャトルベクターについてもまとめた。遺伝子組換え操作の確立している大腸菌で遺伝子操作をした後、エレクトロポレーション法などで当該微生物の形質転換を行うために開発されているので、プラスミド上に複数の ori やマーカ―を持つのが特徴である。

乳酸菌用ベクターは、357をリスト化した。市販のベクターはほとんどないため、主に論文、書籍等の文献を基に一覧表を作成した。これらの組換え微生物はそのほとんどがまだ実用化までは至っていない研究段階であり、ワクチン、機能性剤等として開発中である。ベクターの種類は多いが、プロモーター、ターミネーター、マーカ―の種類はそれほど多くなかった。特にマーカ―は選択肢が少なく、erythromycin が一般的で、chloramphenicol が使われる場合もあった。

枯草菌用および枯草菌・大腸菌シャトルベクターは82について、調べた。用いられているプロモーターは多種であり研究者によりそれぞれが開発したプラスミドを利用しているようである。マーカ―としては、ampicillin, tetracycline, kanamycin, chloramphenicol, erythromycin などが用いられていた。

酵母用および酵母・大腸菌シャトルベクターベクターは127について、一覧表を作成した。ベクターの種類は多いが、プロモーター、ターミネーター、マーカ―は用いられている種類がそれほど多くなかった。ベクターのマーカ―としては、ampicillin, kanamycin が広く用いられていた。酵母でのマーカ―としては HIS, TRP, URA, LEU などが使われている。

②海外の情報収集として、3年間に3回海外出張を行い、国際シンポジウムでの情報発信及び情報交換、情報収集と、現地調査としてパスツール研究所を訪問し専門家と直接の情報交換などを行った。

平成19年度は、スペインで開催された“国際環境および工業応用微生物会議”

(BioMicroWorld 2007)に参加し、産業用及び環境浄化目的の遺伝子組換え微生物に関する情報収集を行った。環境浄化のために微生物を利用しようという試みは複数報告されていたが、自然分離株に関する機能の検討が多く、原油汚染、塩害、重金属汚染除去に関しての研究が報告されていた。一部の報告ではどのような酵素が有効かといった遺伝子レベルでの検討もあった。一方、組換え技術を用いて製剤化し、実用化に至っている例はまだなかった。

平成 20 年度は、オランダで開催された“国際乳酸菌シンポジウム(LAB9)” (The 9th Symposium on Lactic Acid Bacteria (LAB9))に参加し、乳酸菌組換え研究の成果を発表するとともに、乳酸菌の遺伝子組換えに関する情報交換を行った。遺伝子組換え技術を用いた育種としては、経口粘膜ワクチンの抗原運搬体として乳酸菌を用いる研究やプロバイオティクスとしてヒトの健康に有用な乳酸菌の育種に組換え技術を応用するなどの研究が進められていた。

平成 21 年度は、フランスのパスツール研究所を訪問し、主に細菌を用いた遺伝子組換えワクチンの研究状況について情報収集を行った。ワクチン開発は現在そのほとんどがウイルスワクチンであり、遺伝子組換え技術で行われている。細菌に関しては、弱毒病原菌を用いた経口粘膜ワクチンの開発が行われているようである。これとは別に基礎研究として、生体と微生物の相互作用の研究にいろいろな遺伝子組換え細菌が開発されている。たとえば蛍光遺伝子を組み込んだ細菌などが代表的な例である。弱毒病原体を抗原運搬体とするワクチンは一時盛んに研究されたが、生体への投与は生

菌でないと効果が低くなってしまう。一方、実用化にあたっては、安全性の面で生存した菌を用いる事にはまだ十分なコンセンサスが得られていない。

イタリアではシンポジウム“プロバイオティクス・プレバイオティクス&ニューフーズ”に参加し、新たに開発された食品の安全性評価に関する情報収集、乳酸菌の遺伝子組換えに関する情報交換を行った。遺伝子組換えを用いた育種については、基礎研究として進められているものの、生きた組換え微生物の安全性に関する議論が進んでおらず、この考え方を国際的に統一するべきだとの意見が出されていた。

③遺伝子組換え微生物の検知技術の検討では、DNA を標的とした定量 real time PCR 法による検知法の検討を行った。

平成 19 年度は、高感度の検出が可能とされるリボゾーマル RNA を標的とした定量 real time PCR 法による検知法の検討を開始した。大腸菌を対象として、主に菌体の処理方法の検討を行った。1 step RT-PCR と 2 step RT-PCR を行ったのち定量 PCR を行い評価したところ、実験毎検出感度が異なり、評価可能な安定した試験法となるよう検討を行った。

平成 20 年度は、DNA を標的とした定量 real time PCR 法による検知法の検討を行った。大腸菌モデル組換え体を対象として、ミルクに混入した場合の定量 PCR を行い具体的な検知法を検討した。プラスミドの分子数として 100 個程度あれば本法により検知が可能であることが示された。

等量の大腸菌から PCR テンプレート溶液 (キレックスビーズ処理) を調製し、染色体上にあるシングルコピーの *dxs* 遺伝子

をターゲットとするプライマーと、プラスミド上にある *ery* 遺伝子をターゲットとするプライマーを用いて定量 PCR を行なった。その結果、*ery* 遺伝子用プライマーを使用した場合の方が Ct 値は 8 程度高かった。

大腸菌を、①濃縮操作なし②PBS へ懸濁後に濃縮③牛乳へ懸濁後に濃縮、の 3 通りで PCR テンプレートを調製し、リアルタイム PCR で解析した。その結果、PBS へ懸濁した場合には濃縮操作をしなかった場合と同等の検出効率であった。

平成 21 年度は、大腸菌モデル組換え体を対象として、豚肉に混入した場合の定量 PCR を行い具体的な検知法を検討した。

E. coli JM109 / pLPEmpty をエリスロマイシンを含む LB ブロスで増菌後、10 倍階段希釈したものを検体として、リアルタイム PCR で分析した。染色体上にあるシングルコピーの遺伝子 *dxs* をターゲットとするプライマーと、プラスミド上にある遺伝子 *ery* をターゲットとするプライマーを用いて定量 PCR を行なった。組換え大腸菌数として 200 個程度あれば本法により検出が可能である。プラスミド上の遺伝子を標的とするコピー数が多いことから、菌数では 20 個程度で検出が可能であることが示された。

モデル組換え大腸菌を豚肉に接種して、接種直後 (T=0h) と、EC 培地で 24 時間増菌後 (T=24h) を調べた。豚肉中では、増菌をしないと *dxs* 遺伝子を標的とした場合、 4×10^4 cfu では検出できないが、プラスミド上の *ery* 遺伝子を標的すると 4×10^4 cfu で検出可能である。一方、EC 培地で 24 時間増菌した後検知すると、いずれも推定接種菌数 4 cfu で検知可能であった。

④モデル組換え大腸菌を接種していない市販の豚肉検体からアンピシリン耐性菌株が分離されたため、遺伝子組換えプラスミドのマーカースとして用いられるアンピシリン耐性遺伝子の塩基配列を基に、プライマーを作成し評価を行った。16S rDNA 配列から分離株は *E. coli* と同定された。組換えベクターに用いられているアンピシリン耐性マーカース用の PCR で増幅された。この分離菌株の内、#6 では、プラスミド上にアンピシリン耐性遺伝子が存在していることが示された。

D. 考察

①バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の情報収集は、研究用や商業的に入手可能なベクターのデータベース作りとして、3 年間に大腸菌用市販、乳酸菌用、枯草菌用、酵母用のベクターに関して一覧表を作成して、データベース化した。これらの 4 つの菌群に関してほぼ網羅的なデータベース化を行うことができたと思う。

微生物の組換えは、大腸菌に対する組換え技術が最も進んでおり、工業的にも実用化され生産にも用いられている。まず市販で入手可能な大腸菌用のベクターについて調べ、他の菌とのシャトルベクターも加え、844 のベクターについて一覧表を作成した。これにより、現在市販で入手することの可能な主な大腸菌用ベクターはほぼ網羅的にデータベース化できたと思われる。大腸菌の遺伝子組換えでは多くの場合、市販ベクターのパーツを組み合わせ、実用的なベクターや組換え体を作成しているものと思われる。マーカースとしては、ampicillin、kanamycin、chloramphenicol などが使い

やすいことからこれらを利用したベクターが多かった。プロモーターは、lac、T7、SP6など多種にわたって使われていた。これは、大腸菌で機能するものと、シャトルベクターとして他の生物や微生物で機能するものを用いているため、多種類となるものと思われる。それ以外については、生産物を効率よく回収するためにタグを付けるものもあり、このような遺伝子配列を検知用に設定することも可能であると思われる。

乳酸菌組換え用のベクターは、357 について整理した。宿主として *Lactobacillus* 属と *Lactococcus* 属用がほとんどで、これらの菌での遺伝子組換えが進んでいる。プロモーターやターミネーターの種類もそれほど多くない。マーカーでは、erythromycin を用いているものが多く、chloramphenicol なども使われていた。発現が良好であることから乳酸菌のマーカーとしては、erythromycin が頻繁に用いられていた。組換え体の実用化を睨んで抗生物質耐性以外をマーカーとする試みも進んでいる。

枯草菌用および枯草菌・大腸菌シャトルベクターは 82 について、一覧表を作成した。用いられているプロモーターは、多種であり研究者によりそれぞれの開発したプラスミドを利用しているようである。枯草菌はグラム陽性菌としては最も遺伝子組換え研究が進んでいる菌であり、研究者の数も多いため、プラスミドの種類も多数報告されているものと思われる。マーカーとしては、ampicillin, tetracycline, kanamycin、chloramphenicol, erythromycin などが用いられていたが、大腸菌とのシャトルベクターが多いため、大腸菌用のマーカーと重複するものが多い。

酵母用および酵母・大腸菌シャトルベクターベクターは 127 について、一覧表を作成した。ベクターの種類は多いが、プロモーター、ターミネーター、マーカーは用いられている種類がそれほど多くなかった。マーカーとして用いられているのは、ampicillin, kanamycin が多く、これらは大腸菌とのシャトルベクターとして主に大腸菌側で機能するものと思われる。酵母でのマーカーとしては HIS, TRP, URA, LEU などが使われている。

②海外の情報収集としては、国際シンポジウムでの情報発信及び情報交換、情報収集と、現地調査として研究所を訪問し専門家と直接の情報交換などを行い、現在の遺伝子組換え微生物を取り巻く国際情勢を確認することができた。

平成 19 年度は、“国際環境および工業応用微生物会議”で発表されている多数の演題の中で、遺伝子組換え微生物の実用化に関するものは確認できなかったが、自然界から分離された菌株を用いて、土壌や海水の改善を行うなどの試みについては、多数報告されていた。この中には、その浄化機能に関わる遺伝子の特定や評価に関する発表もあり、将来これらの遺伝子を組換え技術に応用する可能性は高いと思われた。

平成 20 年度は、“国際乳酸菌シンポジウム(LAB9)”に参加した。発表されている多数の演題の中で、遺伝子組換え微生物に関するものは経口粘膜ワクチン開発関連と腸管内の定着性を高めるプロバイオティクスの開発、サイトカインを産生させる機能製剤開発などの報告が見られた。乳酸菌組換えに関しては、将来的には経口ワクチンの抗原運搬体として遺伝子組換えを利用する

可能性が高いと思われた。

平成 21 年度は、海外の遺伝子組換えワクチンの研究状況について情報収集を行ったが、ウイルスワクチン研究は盛んであるが、細菌を用いた遺伝子組換えワクチンの実用化は見えていないように思えた。既に開発されている主なワクチンは弱毒化された経口粘膜生ワクチンなどで、マウスの段階では高い効果が確認されている。しかし生きた組換え細菌を解放系に出すには安全性の面で議論が続いており、この点が実用化を妨げているようである。イタリアで開催されたシンポジウム“プロバイオティクス・プレバイオティクス&ニューフーズ”に参加し、新たに開発される微生物の安全性評価に関する研究動向と遺伝子組換え研究に関する情報収集を行った。このシンポジウムでも新たに開発された組換えなどを利用した乳酸菌の安全性については、安全性に関する国際的なコンセンサスが必要であると議論されていた。生きたままの遺伝子組換えの安全性をどのように考えるかは、今後の最も重要な課題と思われた。

③遺伝子組換え微生物の検知法に関しては、モデル組換え体を用いて、定量的な高感度検知法、具体的な遺伝子を標的とした検知法について検討し、これらの方法を食品へ応用し検討を行うことができた。

平成 19 年度は、リボゾーマル RNA を標的とした高感度定量 real time PCR 法を検討した。この方法はターゲットとする遺伝子のコピー数が多いことから、検出感度を高く設定可能であることから、環境微生物や菌叢解析に用いられ始めている。一方、対象とする遺伝子が RNA であることから、安定したデータが取れる試験法プロトコ

ルを作成することが重要である。大腸菌を対象として、1 step RT-PCR と 2 step RT-PCR を行ったのち定量 real time PCR を行い評価したところ、実験毎検出感度が異なり、安定した結果が得られなかった。千差万別な種類の食品を対象とする検知法としては、RNA から cDNA を安定的に作成する方法論が確立しないと、安定した評価が難しいと思われた。

平成 20 年度は、モデル組換え体として大腸菌を対象として、DNA を標的として定量 real time PCR を行い評価した。この検出系では、プラスミドの分子数として 100 個程度あれば定量的な検出が可能である。プラスミドを添加した牛乳サンプルを直接 PCR 反応液に加えた場合（16 倍希釈）、検出は可能であったが、PCR 産物の増幅曲線は正常とは言えなかった。定量測定は可能であるが検出感度は低下してしまうことから、ミルクのような検体については遺伝子の抽出法が必要であると思われる。

モデル大腸菌から PCR テンプレート溶液を調製し、染色体上にあるシングルコピーの遺伝子をターゲットとした場合と、プラスミド上にある遺伝子をターゲットとした場合を比較すると、プラスミド上のマーカーである *ery* 遺伝子をターゲットとした場合の方が Ct 値は 8 程度高かった。この差は、大腸菌内でのプラスミドのコピー数を反映しており、そのコピー数が 10^2 オーダーであることが推測された。

モデル大腸菌を、①濃縮操作なし②PBS へ懸濁後に濃縮③牛乳へ懸濁後に濃縮、の 3 通りでテンプレートを調製し、リアルタイム PCR で解析した結果、PBS へ懸濁した場合には濃縮操作をしなかった場合と同

等の検出効率であったため、濃縮作業による大腸菌の損失は少ないと考えられた。一方、牛乳からの濃縮では、検出効率が著しく低下していたことから、この作業によって大部分の大腸菌が失われたことが示唆された。

平成 21 年度は、遺伝子組換え微生物の定量的検知法に関し検討を進めた。モデル組換え体として大腸菌を用い、定量 PCR で評価した。豚肉に接種し、添加回収実験を行った。平成 20 年度の牛乳サンプルを直接 PCR 反応液に加えた時には、検出は可能であったが、PCR 産物の増幅曲線は異常であった。豚肉の場合は、牛乳に比べ増殖曲線の乱れは大きくなかった。直接検出では、 10^4 cfu 以上の菌数を必要としたが、24 時間の増菌培地による処理を行えば、接種予想菌数 1 桁での検出が可能であることが示された。1 つの遺伝子組換え細菌あたり 1 コピーしか持たない遺伝子を標的とした場合と、プラスミド上のような複数コピー存在する遺伝子を標的とする場合では、当然複数コピー存在する場合の検出感度が高かった。直接分析する場合では、特にその差が顕著であるが、増菌した場合はほとんど差が無かった。

④近年、市販の豚肉や鶏肉からは、しばしばアンピシリン耐性株が分離され問題となっている。これらは Extended Spectrum β -lactamase (ESBL) と呼ばれその急激な増加が問題となっている。今回の実験でも市販豚肉からアンピシリン耐性株が得られたことから、遺伝子組換えベクターに用いられているアンピシリン耐性遺伝子との比較を試みた。分離された耐性菌の内、1 株はアンピシリン耐性がプラスミド上にコー

ドされており、組換え用マーカーとして用いられている遺伝子配列を基に作成したプライマーセットで増幅が見られた。このプラスミドが遺伝子組換え由来であるかの判定は容易ではなく、それ以外の遺伝子の保持状況を明らかにしながら、今後も検討して行く必要があると思われる。

E. 結論

非食用バイオテクノロジー応用微生物に関する開発・実用化の動向に関する調査研究を行った。情報収集をすすめ、844 の大腸菌用市販、357 の乳酸菌用、82 の枯草菌用および 127 の酵母用遺伝子組換えベクターについて、データベース化を行った（添付資料参照）。環境浄化に微生物を用いる研究が進んでいることから、スペインで開催された“国際環境および工業応用微生物会議”に参加し、この分野の情報収集を行った。乳酸菌研究で遺伝子組換えに関する研究が進んでいることから、オランダで開催された“国際乳酸菌シンポジウム(LAB9)”に参加し、この分野の情報収集を行った。遺伝子組換えに関する研究が進んでいる分野として、ワクチン開発についてはフランスのパスツール研究所を訪問し情報交換を行うと共に、イタリアで開催された国際シンポジウム“プロバイオティクス・プレバイオティクス&ニューフーズ”に参加し、この分野の情報収集を行った。遺伝子組換え微生物の定量的検知法に関し食品を用いて具体的な検討を進めた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Kim TW, Igimi S, Kajikawa A, Kim HY. Display of heterologous proteins on the surface of *Lactococcus lactis* using the H and W domain of PrtB from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* as an anchoring matrix. J Appl Microbiol. 104(6):1636-1643. (2008)
2. Kajikawa A., and Igimi S. Reduction of TNF- α inducing capacity of recombinant *Lactobacillus casei* caused by the expression of *Salmonella* OmpC. Appl. Environ. Microbiol. 75(9):2727-2734. (2009)
3. Kajikawa A., Masuda K., Katoh M., and Igimi S.: Adjuvant effects for oral immunization provided by recombinant *Lactobacillus casei* secreting biologically active murine interleukin-1 beta. Clinical and Vaccine Immunology. 17(1):43-48. (2010)
4. Kajikawa A., Ichikawa E., and Igimi S.: Development of a Highly Efficient Protein-secreting System in Recombinant *Lactobacillus casei*. Journal of Microbiology and Biotechnology. 20(2):375-382 (2010)
5. Kajikawa A. and Igimi S.: Innate and acquired immune responses induced by recombinant *Lactobacillus casei* displaying flagellin-fusion antigen on the cell-surface. Vaccine 28(19) :3409-3415 (2010)

6. 五十君静信: 遺伝子組換え乳酸菌を用いた経口粘膜ワクチン開発の試み。日本臨床腸内微生物学会会誌。11:34-40 (2009)

学会発表

1. Kajikawa A. and Igimi S. Construction and evaluation of recombinant lactobacilli expressing *Salmonella* antigens for development of vaccines. International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld 2007). Seville (Spain) 2007.11
2. 五十君静信。遺伝子組換え技術による乳酸菌の新しい機能の開発。日本微生物資源学会第15回大会。千葉。2008.7
3. Kajikawa A., and Igimi S. Expression of *Salmonella* OmpC in recombinant *Lactobacillus casei* induced an attenuated pro-inflammatory response of RAW264.7 cell. 9th Symposium on Lactic acid bacteria. Egmond aan Zee (The Netherlands) 2008.8.
4. 五十君静信。遺伝子組換え乳酸菌を用いた経口粘膜ワクチン。第11回日本臨床腸内微生物学会。2008.9。東京

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
1	TAクローニング用	TAKARA	pMD20-T vector			ampicillin
2	クローニング 遺伝子発現	Novagen	pT7Blue	lac promoter T7 promoter		ampicillin
3	クローニング 遺伝子発現 in vitro translation	Novagen	pT7Blue-2	lac promoter T7 promoter SP6 promoter		ampicillin
4	クローニング 遺伝子発現	Novagen	pT7Blue-3	lac promoter T7 promoter		ampicillin kanamycin
5	クローニング 遺伝子発現	Novagen	pSCREEN	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
6	クローニング 遺伝子発現	Novagen	pSTBlue-1	T7 promoter SP6 promoter		ampicillin kanamycin
7	T7発現システム	Novagen	pETBlue-1	T7 promoter E. coli		ampicillin
8	T7発現システム	Novagen	pETBlue-2	T7 promoter E. coli		ampicillin
9	N末端T7タグ	Novagen	pET-3a-d	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
10	N末端T7タグ	Novagen	pET-9a-d	T7 promoter	T7 terminator	kanamycin
11	N末端T7タグ	Novagen	pET-11a-d	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
12	N末端Hisタグ	Novagen	pET-14b	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
13	N末端Hisタグ	Novagen	pET-15b	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
14	N末端Hisタグ	Novagen	pET-16b	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
15	N末端T7タグ	Novagen	pET-17b	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
16	N末端Hisタグ	Novagen	pET-19b	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
17	C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-20b(+)	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
18	C末端Hisタグ	Novagen	pET-21(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
19	N末端T7タグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-21a-d(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
20	C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-22b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
21	C末端Hisタグ	Novagen	pET-23(+)	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
22	N末端T7タグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-23a-d(+)	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
23	C末端Hisタグ	Novagen	pET-24(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
24	N末端T7タグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-24a-d(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
25	C末端HSVタグ C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-25b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
26	C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-26b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
27	C末端HSVタグ C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-27b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
28	N末端Hisタグ N末T7タグ C末Hisタグ	Novagen	pET-28a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
29	N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-29a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
30	N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-30a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
31	N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-30 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
32	N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-30 Xa/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
33	N末端KSI C末端Hisタグ	Novagen	pET-31b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
34	N末端Trxタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-32a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
35	N末端Trxタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末Hisタグ	Novagen	pET32-Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
36	N末端Trxタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-32-Xa/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
37	N末端Hisタグ N末端PKA N末端T7タグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-33b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
38	N末端SDsbAタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-39b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
39	N末端DsbCタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ periplasmic	Novagen	pET-40b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
40	N末端GSTタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-41a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
41	N末端GSTタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-41 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
42	N末端GSTタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-42a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
43	N末端Nusタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端HSVタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-43.1a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
44	N末端Nusタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端HSVタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-43.1 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
45	N末端Nusタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端HSVタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-44a-c(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
46	N末端Nusタグ N末端Hisタグ N末端Sタグ C末端HSVタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-44 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
47	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-45b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
48	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-46 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
49	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-47b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
50	N末端Trxタグ N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-48b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
51	N末端GSTタグ N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-49b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
52	N末端Hisタグ N末端NuSタグ N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pET-50b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
53	N末端Strepタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-51b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
54	N末端Strepタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-51b Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
55	N末端Strepタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-52b(+)	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
56	N末端Strepタグ C末端Hisタグ	Novagen	pET-52b(+) 3C/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
57	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pCDF-1b	T7lac promoter	T7 terminator	spectinomycin
58	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pCDF-2 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	spectinomycin
59	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pRSF-1b	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
60	N末端Hisタグ C末端Sタグ	Novagen	pRSF-2 Ek/LIC	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
61	N末端Hisタグ C末端Sタグ、HSVタグ	Novagen	pETcoco-1	T7lac promoter	T7 terminator	chloramphenicol
62	N末端Hisタグ Sタグ HSVタグ C末端	Novagen	pETcoco-2	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
63	共発現Hisタグ Sタグ	Novagen	pETDuet-1	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
64	共発現Hisタグ Sタグ	Novagen	pACYCDuet-1	T7lac promoter	T7 terminator	chloramphenicol
65	共発現Hisタグ Sタグ	Novagen	pCDFDuet-1	T7lac promoter	T7 terminator	spectinomycin
66	共発現Hisタグ Sタグ	Novagen	pRSFDuet-1	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
67	共発現Hisタグ Sタグ	Novagen	pCOLADuet-1	T7lac promoter	T7 terminator	kanamycin
68	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEX-1.1	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
69	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-1.1 Hygro	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin hygromycin
70	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-1.1 Neo	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin neomycin geneticin
71	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-2	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
72	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-2 Hygro	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin hygromycin
73	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-2 Neo	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin neomycin geneticin
74	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-3	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
75	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-3 Hygro	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin hygromycin
76	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-3 Neo	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin neomycin geneticin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
77	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-4	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
78	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-4 Hygro	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin hygromycin
79	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Hisタグ Sタグ HSVタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-4 Neo	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin neomycin geneticin
80	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Strepタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-5	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
81	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Strepタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-5 Ek/LIC	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
82	E. coli, insect, vertebrate シャトルベクター Strepタグ Hisタグ	Novagen	pTriEx-6 3C/LIC	T7lac promoter chicken B-actin promoter P10 promoter	T7 terminator rabbit B globin	ampicillin
83	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ	Novagen	pIEx-1	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
84	昆虫細胞での発現 GSTタグ Hisタグ Sタグ	Novagen	pIEx-2	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
85	昆虫細胞での発現 GSTタグ Hisタグ Sタグ HSVタグ	Novagen	pIEx-3	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
86	昆虫細胞での発現 Sタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-4	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
87	昆虫細胞での発現 signal peptide Sタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-5	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
88	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ	Novagen	pIEx-6	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
89	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ	Novagen	pIEx-7 Ek/LIC	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
90	昆虫細胞での発現 Strepタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-8	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
91	昆虫細胞での発現 Strepタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-8 Ek/LIC	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
92	昆虫細胞での発現 Strepタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-9	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
93	昆虫細胞での発現 Strepタグ Hisタグ	Novagen	pIEx-9 3C/LIC	IE1 promoter	IE1 terminator	ampicillin
94	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ HSVタグ	Novagen	pBiEx-1	T7lac promoter IE1 promoter	T7 terminator IE1 terminator	ampicillin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
95	昆虫細胞での発現 GSTタグ Hisタグ Sタグ HSVタグ	Novagen	pBiEx-2	T7lac promoter IE1 promoter	T7 terminator IE1 terminator	ampicillin
96	昆虫細胞での発現 Sタグ Hisタグ	Novagen	pBiEx-3	T7lac promoter IE1 promoter	T7 terminator IE1 terminator	ampicillin
97	昆虫細胞での発現 Hisタグ	Novagen	pBAC-1	polh promoter		ampicillin
98	昆虫細胞での発現 Hisタグ	Novagen	pBACgus-1	polh promoter		ampicillin
99	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBAC-2cp	polh promoter		ampicillin
100	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBACgus-2cp	polh promoter		ampicillin
101	昆虫細胞での発現 分泌 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBAC-3	polh promoter		ampicillin
102	昆虫細胞での発現 分泌 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBACgus-3	polh promoter		ampicillin
103	昆虫細胞での発現 Hisタグ	Novagen	pBAC4x-1	polh promoter p10 promoter		ampicillin
104	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBAC-5	gp64 promoter		ampicillin
105	昆虫細胞での発現 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBACgus-5	gp64 promoter		ampicillin
106	昆虫細胞での発現 分泌 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBAC-6	gp64 promoter		ampicillin
107	昆虫細胞での発現 分泌 Hisタグ Sタグ Hisタグ	Novagen	pBACgus-6	gp64 promoter		ampicillin
108	クローニング プロモーター解析	Novagen	pMLuc-1		rabbit b-globin	ampicillin
109	クローニング プロモーター解析	Novagen	pMLuc-2	minimal TK promoter	rabbit b-globin	ampicillin
110	クローニング プロモーター解析	Novagen	pMLuc-3		rabbit b-globin	ampicillin
111		Novagen	pBlueSTAR			ampicillin
112		Novagen	pLacI			chloramphenicol
113		Novagen	pLysS			chloramphenicol
114		Novagen	pLysE			chloramphenicol
115	SiRNA発現ベクター	Novagen	pSiEx-1			
116	大腸菌、酵母シャトルベクター 染色体への組み込み	TAKARA	pAUR101(Accession No, AB012282)			ampicillin aureobasidinA
117	大腸菌、酵母シャトルベクター	TAKARA	pAUR112(Accession No, AB012283)			ampicillin aureobasidinA uracil
118	大腸菌、酵母シャトルベクター	TAKARA	pAUR123(Accession No, AB012284)	alcohol dehydrogenase 1 promoter	alcohol dehydrogenase 1 terminator	ampicillin aureobasidinA
119	大腸菌、酵母シャトルベクター	TAKARA	pARU135			ampicillin aureobasidinA
120	大腸菌、酵母シャトルベクター	TAKARA	pAUR224	Cytomegalovirus promoter		ampicillin aureobasidinA
121	大腸菌-Aspergillus シャトルベクター	TAKARA	pAUR316			ampicillin aureobasidinA

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
122	大腸菌-Aspergillus シャトルベクター	TAKARA	pPTR I			ampicillin pyrithiamine
123	大腸菌-Aspergillus シャトルベクター	TAKARA	pPTR II			ampicillin pyrithiamine
124	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pUC18 (Accession No, L09136)	lac promoter		ampicillin
125	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pUC19 (Accession No, L09137)	lac promoter		ampicillin
126	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pHSG298	lac promoter		kanamycin
127	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pHSG299 (Accessi on No, M19415)	lac promoter		kanamycin
128	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pHSG396	lac promoter		chloramphenicol
129	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pHSG398	lac promoter		chloramphenicol
130	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pHSG399 (Accessi on No, M19087)	lac promoter		chloramphenicol
131	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pUC118 (Accessio n No, U07649)	lac promoter		ampicillin
132	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pUC119 (Accessio n No, U07650)	lac promoter		ampicillin
133	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pTV118N	lac promoter		ampicillin
134	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pSTV28	lac promoter		chloramphenicol
135	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pSTV29	lac promoter		chloramphenicol
136	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pTWW228	lac promoter		ampicillin
137	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pTWW229	lac promoter		ampicillin
138	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pKF3(Accession No, D14641)	tryptophan promoter		chloramphenicol
139	ODA法 (Oligonucleotide- directed Dual Amber 法)によるSite- directed Mutagenesis クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pKF18k- 2(Accession No, D63846)	lac promoter		kanamycin
140	ODA法 (Oligonucleotide- directed Dual Amber 法)によるSite- directed Mutagenesis クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pKF19k- 2(Accession No, D63847)	lac promoter		kanamycin
141	クローニング	TAKARA	pBR322(Accessio n No, J01749)			ampicillin tetracycline
142	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	M13mp18(Access ion No, X02513)	lac promoter		
143	大腸菌-Bacillus subtillisのシャトルベ クター	TAKARA	pHY300PLK			ampicillin tetracycline
144	クローニング 遺伝子発現	TAKARA	pAP3neo(Accessi on No, AB003468)	SV40 promoter		ampicillin
145	SiRNA発現用レトロウ イルスベクター	TAKARA	PSINsi- hH1(Accession No, S68670)	human H1		ampicillin
146	SiRNA発現用レトロウ イルスベクター	TAKARA	pSINsi- hU6(Accession No, X07425)	human U6		ampicillin
147	SiRNA発現用レトロウ イルスベクター	TAKARA	pSINsi- mU6(Accession No, X06980)	mouse U6		ampicillin
148	ダブルノックダウンタ イプSiRNA発現用レト ロウイルスベクター	TAKARA	pSINsi-DK I	human H1 human U6		ampicillin
149	ダブルノックダウンタ イプSiRNA発現用レト ロウイルスベクター	TAKARA	pSINsi-DK II	human U6 mouse U6		ampicillin
150	SiRNA発現用基本ベ クター	TAKARA	pBAAsi-hH1	human H1		ampicillin
151	SiRNA発現用基本ベ クター	TAKARA	pBAAsi-hU6	human U6		ampicillin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
152	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-mU6	mouse U6		ampicillin
153	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-hH1 Pur	human H1		ampicillin
154	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-hU6 Pur	human U6		ampicillin
155	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-mU6 Pur	mouse U6		ampicillin
156	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-hH1 Neo	human H1		ampicillin
157	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-hU6 Neo	human U6		ampicillin
158	SiRNA発現用基本ベクター	TAKARA	pBAsi-mU6 Neo	mouse U6		ampicillin
159	SiRNA expression cassetteのPCRによる調製	Mirus	siXpress Expression Vector			kanamycin
160	高効率遺伝子導入用レトロウイルスベク	TAKARA	pDON-AI-2 Neo			ampicillin
161	高効率遺伝子導入用レトロウイルスベク	TAKARA	pDON-AI-2			ampicillin
162	高効率遺伝子導入用レトロウイルスベク	TAKARA	pDON-AI			ampicillin
163	高発現遺伝子導入用レトロウイルスベク	TAKARA	pMEI-5 Neo			ampicillin
164	高発現遺伝子導入用レトロウイルスベク	TAKARA	pMEI-5			ampicillin
165	コスミドベクター	TAKARA	pAxcwit			ampicillin
166	コスミドベクター	TAKARA	pAxCAwtit	CAG promoter		ampicillin
167	コールドショック発現ベクター	TAKARA	pCold TF	cspA promoter		ampicillin
168	コールドショック発現ベクター	TAKARA	pCold I	cspA promoter		ampicillin
169	コールドショック発現ベクター	TAKARA	pCold II	cspA promoter		ampicillin
170	コールドショック発現ベクター	TAKARA	pCold III	cspA promoter		ampicillin
171	コールドショック発現ベクター	TAKARA	pCold IV	cspA promoter		ampicillin
172	シャペロンプラスミド	TAKARA	pG-KJ18	araB promoter Pzt1 promoter		chloramphenicol
173	シャペロンプラスミド	TAKARA	pGro7	araB promoter		chloramphenicol
174	シャペロンプラスミド	TAKARA	pKJE7	araB promoter		chloramphenicol
175	シャペロンプラスミド	TAKARA	pG-Tf2	Pzt1 promoter		chloramphenicol
176	シャペロンプラスミド	TAKARA	pTf16	araB promoter		chloramphenicol
177	Brevibacillus用発現ベクター	ヒゲタ醤油	pNCMO2	P2 promoter	X-terminator	ampicillin
178	in vitro transcription	Novagen	pCITE-2a(+)	T7 promoter T3 promoter	T7 terminator	ampicillin
179	in vitro transcription	Novagen	pCITE-4a-c(+)	T7 promoter T3 promoter	T7 terminator	
180	in vivo遺伝子導入用ベクター	Mirus	pLive	mouse mimal albumin promoter		kanamycin
181	in vivo遺伝子導入用ベクター	Mirus	pLIVE-SEAP	mouse mimal albumin promoter		kanamycin
182	in vivo遺伝子導入用ベクター	Mirus	pLIVE-lacZ	mouse mimal albumin promoter		kanamycin
183	哺乳動物細胞発現ベクター	TAKARA	pBApo-CMV Neo	CMV IE promoter		ampicillin
184	哺乳動物細胞発現ベクター	TAKARA	pBApo-CMV Pur	CMV IE promoter		ampicillin
185	哺乳動物細胞発現ベクター	TAKARA	pBApo-CMV	CMV IE promoter		ampicillin
186		Delphi Genetics	pStaby1.2	T7 promoter		ampicillin
187	TAクローニング	invitrogen	pCR8/GW/TOPO	T7 promoter		Spectinomycin
188	TAクローニング	invitrogen	pENTR/D-TOPO	T7 promoter		kanamycin
189	TAクローニング	invitrogen	pENTR/SD/D-TOPO	T7 promoter		kanamycin
190	TAクローニング	invitrogen	pENTR/TEV/D-TOPO	T7 promoter		kanamycin
191	クローニング	invitrogen	pDONR201			kanamycin
192	クローニング	invitrogen	pDONR221			kanamycin
193	クローニング	invitrogen	pDONR/Xeo			zeocin
194	Gatewayエントリーベクター	invitrogen	pENTR 1A,2B,3C,			kanamycin
195	Gatewayエントリーベクター	invitrogen	pENTR 4			kanamycin

番号	用途・機能・特徴	研究・開発メーカー	ベクター	プロモーター	ターミネーター	マーカー
196	Gatewayエントリーベクター	invitrogen	pENTR 11			kanamycin
197	哺乳類細胞のレポーターアッセイ		pGeneBLAzer-TOPO	T7 promoter		ampicillin
198	哺乳類細胞のレポーターアッセイ		pGeneBLAzer/UBC	T7 promoter		ampicillin
199			pENTR/GeneBLAzer			kanamycin
200	in vitro タンパク質合成	invitrogen	pEXP1-DEST	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
201	in vitro タンパク質合成C末端Hisタグ	invitrogen	pEXP2-DEST	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
202	in vitro タンパク質合成	invitrogen	pEXP3-DEST	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
203	in vitro タンパク質合成	invitrogen	pEXP4-DEST	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
204	chloramphenicol acetyltransferase	invitrogen	pEXP3-GW/CAT	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
205		invitrogen	pEXP4-ORF	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
206	human calmodulin-like 3(Accession No, NM_005185)	invitrogen	pEXP5-NT/CALML3	T7 promoter	T7 terminator	ampicillin
207	T7発現システムN末端BioEaseタグ	invitrogen	pET104-DEST	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
208	T7発現システムN末端BioEaseタグ	invitrogen	pET104/GW/lacZ	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
209	T7発現システムN末端BioEaseタグ	invitrogen	pET104.1-DEST	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
210	T7発現システムN末端BioEaseタグ	invitrogen	pET104.1/GW/lacZ	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
211	T7発現システムN末端Hisタグ N末端Lumioタグ	invitrogen	pET160-DEST	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
212	T7発現システムC末端Hisタグ C末端Lumioタグ	invitrogen	pET161-DEST	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
213	T7発現システムC末端Hisタグ	invitrogen	pET-DEST-42	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin
214	大腸菌発現用	invitrogen	pDEST14	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
215	大腸菌発現用N末端GSTタグ	invitrogen	pDEST15	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
216	大腸菌発現用N末端Hisタグ	invitrogen	pDEST17	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
217	大腸菌発現用C末端GSTタグ	invitrogen	pDEST24	T7lac promoter	T7 terminator	ampicillin chloramphenicol
218	昆虫細胞発現用	invitrogen	pDEST8	polyhedrin promoter		ampicillin chloramphenicol
219	昆虫細胞発現用N末端Hisタグ	invitrogen	pDEST10	polyhedrin promoter		ampicillin chloramphenicol
220	昆虫細胞発現用N末端GSTタグ	invitrogen	pDEST20	polyhedrin promoter		ampicillin chloramphenicol
221	昆虫細胞発現用	invitrogen	pMT-DEST48	metallothionein promoter		ampicillin chloramphenicol
222	昆虫細胞発現用N末端BioEaseタグ	invitrogen	pMT/BioEase-DEST	metallothionein promoter		ampicillin chloramphenicol
223	昆虫細胞発現用N末端BioEaseタグ	invitrogen	pMT/BioEase-GW/lacZ	metallothionein promoter		ampicillin chloramphenicol
224	昆虫細胞発現用	invitrogen	pIB/V5-His-DEST	OplE2 promoter		ampicillin chloramphenicol
225	哺乳類細胞発現用N末端Hisタグ	invitrogen	pDEST26	CMV promoter		ampicillin
226	哺乳類細胞発現用N末端GSTタグ	invitrogen	pDEST27	CMV promoter		ampicillin
227	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA3.2/V5-DEST	T7 promoter		ampicillin chloramphenicol
228	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA6.2/V5-DEST	T7 promoter		ampicillin chloramphenicol
229	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA3.1/nV5-DEST	CMV promoter		ampicillin chloramphenicol
230	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA3.1/nV5-GW/lacZ	CMV promoter		ampicillin
231	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA-DEST40	CMV promoter		ampicillin chloramphenicol
232	哺乳類細胞発現用	invitrogen	pcDNA/GW-40/lacZ	CMV promoter		ampicillin chloramphenicol