

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「国内侵入のおそれがある生物学的ハザードのリスクに関する研究」
平成 26 年度分担研究報告書

食中毒事例が多いキノコの分子系統樹解析と検査法確立

研究分担者 近藤一成 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部
研究協力者 坂田こずえ 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部
研究協力者 菅野陽平 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部
研究協力者 中村公亮 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部
研究協力者 野口秋雄 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部
研究協力者 福田のぞみ 国立医薬品食品衛生研究所・生化学部

研究要旨

きのこによる食中毒は、形態学的に判別が難しい食用きのこの誤食が主な原因である。日本国内で中毒被害が多いツキヨタケ、クサウラベニタケ、カキシメジ、ニガクリタケのうち、特に近縁種が多く、かつ形態学的な判別が困難なクサウラベニタケ、および中毒事例数が常に多いツキヨタケについて、間違えやすい食用きのこ合わせて国内より広くサンプリングして分子系統樹解析を行った。系統樹解析結果をもとに、迅速簡便法として開発した PCR-RFLP 法は、改良を加えて、加熱調理サンプルからの分析も可能し、クサウラベニタケおよびツキヨタケ迅速食毒判定法として確立した。今回さらに、確定検査のための感度および精度に優れたリアルタイム PCR 法をクサウラベニタケおよびツキヨタケに対して新たに開発した。検査の検証及び普及を今後行うにあたり必要な陽性プラスミドの構築を行った。本法により、喫食前検査で中毒発生を防止し、超毒発生時の検査で、きのこ中毒被害事例数の半分を占める、原因きのこ不明の事例の特定につながると考えられる。

A. 研究目的

日本国内では植物性自然毒（高等植物ときのこ）による食中毒被害が毎年発生する。その中で、きのこによる食中毒被害は、多くの野生きのこが発生する 9 月から 11 月に集中している。夏の終わりから秋にかけて、野生のきのこが発生時期に重なり、多くの人がきのこ採取を行い、多くの場合には採取したきのこの鑑定を行わずにそのまま自宅に持ち帰り、摂取し中毒に至る場合が多い。国内で中毒事例が多いきのこに

ついて過去 10 年以上のデータを解析すると、クサウラベニタケとツキヨタケの 2 つのきのこであることが判明している。きのこによる中毒被害事例の中で、原因きのこが特定できない場合も多く存在する。これは、きのこの判別や同定が経験者の形態学的判別により行われているためで、その鑑定能力には大きな個人差があること、形態をとどめていない細分化されたものや調理された場合、さらには、摂取後吐瀉物の場合には同定不可能になる。これらの事実

を踏まえて、植物性自然毒の中で、きのこによる食中毒被害を低減するための施策として重要なことは次のように考えられる。1つは、きのこ採取者に対する一層の情報提供と注意喚起であり、もう一つは迅速にかつ科学的なエビデンスに基づく検査方法の確立と整備であると考えられる。日本国内で食中毒被害が多く発生する、クサウラベニタケとツキヨタケのうち、クサウラベニタケ (*Entoloma rhodopolium* と現在考えられている) は、一般には複合種と言われ複数の種を含むと考えられており、分類学的にも整理されていない。文献および遺伝子データベース情報から、ヨーロッパにおける *Entoloma rhodopolium* として公開されているものと同かどうかを含めて、現在まで詳しく検討されたことはなかった。そこで、本研究班においてこれまでに、クサウラベニタケとその近縁種について全国からサンプルを収集して遺伝子配列を解析を行い、系統樹解析を行ってきた。その結果を用いて生のきのこの判別に有効な PCR-RFLP 法を昨年度までに作成した。本年度は、クサウラベニタケについては確定法としてリアルタイム PCR 法を、ツキヨタケについては加熱調理や吐瀉物を想定し人口胃液処理したサンプルでも適用可能な PCR-RFLP 法および確定法として用いるリアルタイム PCR 法を確立した。

B. 研究方法

クサウラベニタケとその近縁種に関する

実験

クサウラベニタケ・ウラベニホテイシメジの定性リアルタイム PCR 法

(1) 試料

昨年度までに収集した、3つに分類されたクサウラベニタケおよびウラベニホテイシメジの4種類を用いて検討した。また、特異性確認のため市販の食用きのこ6種(シイタケ、マイタケ、ブナシメジ、エノキタケ、マッシュルーム、なめこ)も用いた。

(2) DNA 抽出(DNeasy Plant mini kit)

試料を蒸留水でよく洗浄した後、1.5mL 容チューブに約0.5g採取して、65℃の AP1 buffer 600 μ L と RNaseA 4 μ L を加えマイクロホモジナイザーを用いて粉碎混合した。次に、AP2 buffer 195 μ L を加え、ボルテックスでよく混合した後、氷上で10分間静置した。次に、室温で14,000 \times g 10分間遠心し、その上清を QIAshredder Mini spin culum に負荷し、室温で14,000 \times g 1分間遠心し得られた溶出液を2mL 容チューブに移した。溶出液は1.5倍量の AP3/E buffer を加え混合し、650 μ L ずつ数回に分けて DNeasy Mini spin culum に負荷した。その際、10,000 \times g 1分間遠心し、溶出液は廃棄した。次に、AW buffer 500 μ L を DNeasy Mini spin culum に負荷後、10,000 \times g 1分間遠心し溶出液は廃棄した。これを3回繰り返し、最後に、10,000 \times g 15分間遠心し、余分なアルコールを除去した。DNeasy Mini spin culum は新しい1.5mL 容チューブに移し、65℃に加温しておいた AE buffer 40 μ L をシリカメンブレンに負荷し、5分静置後、10,000 \times g 1分間遠心し溶出液を回収した。

再度、同様の操作を行い、合計 80 μ L DNA 抽出液を得た。DNA 抽出液は濃度調整しないで PCR に供する。

(3) リアルタイム PCR 条件

リアルタイム PCR 装置として 4 色同時分析可能な Roche 製 LightCycler96 を用いた。食用のウラベニシメジおよび 3 つの毒きのこであるクサウラベニタケ近縁種のマルチプレックスリアルタイム PCR は、プライマー対を共通として、プローブを各きのこに特異性の高い領域に設計した。使用したプライマー対およびプローブは以下の通りである。

リアルタイム PCR 検知用プライマーとして

Forward primer-1:

5'-TTCCAAGTGTTCGATTCAACC-3'

Forward primer-2:

5'-CTTCAAGTGTTCGATTTCAACC-3'

Reverse primer:

5'-YTCGCTTCGTCAACCTGAA-3'

グループ特異的検知プローブとしてそれぞれ

E. rhodopolium clade I probe:

5'-Cy3-CACCAGCCTAGGCACAGACAT
TAACTTG- BHQ2a-3'

E. rhodopolium clade II probe:

5'-FAM-TTCAACACCATCAGACGAGCT
AACTCATC-BHQ1a-3'

E. rhodopolium clade III probe:

5'-TexasRed-CACCAGCTTAGGCACAG
ACATTAATTTG-BHQ2a-3'

E. sarcopum probe:

5'-Cy5-ACCAGCTTAGGCACAGATGTG
AACTCATT-BHQ3a-3'

を用いた。

PCR 反応液は 25 μ L/well として調製する。その組成は以下の通りである。

プライマー溶液 (各フォワードプライマー: 12.5 μ mol/L、リバースプライマー: 25 μ mol/L) 1.0 μ L、プローブ溶液 (10 nmol/L) 0.5 μ L、蒸留水 9.0 μ L を混合調製し、DNA 試料液 2.0 μ L を添加した。

また、反応条件は、95 °C で 5 分間加温し、ホットスタート法で反応を開始する。その後、95 °C 15 秒、58 °C 60 秒を 1 サイクルとして、45 サイクルの増幅反応を行った。

(4) 標準プラスミド作成

PCR-RFLP 法およびリアルタイム PCR 法検査に用いることが可能な、クサウラベニタケ 3 種及びウラベニホテイシメジ 1 種の ITS 全領域を含むプラスミドを作成した。すなわち、pTAKN-2 vector に 4 種きのこの全 ITS 領域を挿入した標準プラスミドを構築した (Fig.1)。

pTAKN-2-KUB10 [*E. rhodopolium* clade III]

pTAKN-2-KUB108 [*E. rhodopolium* clade I]

pTAKN-2-KUB124 [*E. rhodopolium* clade II]

pTAKN-2-KUB136 [*E. sarcopum*]

(5) 検出感度および特異性の検討

作成した標準プラスミドを $2 \times 10^0 \sim 2 \times 10^6$ コピー/ μ L に調整してリアルタイム PCR を行い、得られた増幅曲線から増幅効率を求めた。また、あらかじめ検討した検出限界付近の 3 濃度 (5, 10, 20 コピー/rxn) について、21 回繰り返し試行により検出

限界を求めた。また、標準プラスミドとクサウラベニタケ3種及びウラベニホテイシメジそして市販の食用きのこ6種の抽出DNAを用いて、プライマーと4つのプローブの特異性を検討した。

ツキヨタケと食用きのこに関する実験

ツキヨタケのPCR-RFLP法

(1) 試料

国内で収集したツキヨタケおよび国内で収集もしくは購入したシイタケ、ヒラタケ、ムキタケを用いて検討した。また、市販食用きのことしてシイタケ、ヒラタケ、ムキタケに加え、ブナシメジ、マイタケ、エリンギ、マッシュルーム、ナメコ、エノキ、タモギタケを用いた。

(2) DNA抽出(DNeasy Plant mini kit)

試料を蒸留水でよく洗浄した後、液体窒素で凍結し乳棒と乳鉢で粉碎した。粉碎した試料200~400mgに65℃のAP1 buffer 800 µLとRNaseA 4 µLを加え、混合した。次に、P3 buffer 260 µLを加え、ボルテックスでよく混合した後、氷上で10分間静置した。次に、室温で14,000 × g 10分間遠心し、その上清をQIAshredder Mini spin culumに負荷し、室温で14,000 × g 1分間遠心し得られた溶出液を5 mL tubeに移した。溶出液は1.5倍量のAW1 buffer(旧名称 AP3/E buffer)を加え混合し、650 µLずつ数回に分けてDNeasy Mini spin culumに負荷した。その際、10,000 × g 1分間遠心し、溶出液は廃棄した。次に、AW2 buffer(旧名称 AW buffer) 500 µLをDNeasy Mini spin culumに負荷後、10,000 × g 1分間遠心し溶出液は廃

棄した。これを3回繰り返し、最後に、10,000 × g 15分間遠心し、余分なアルコールを除去した。DNeasy Mini spin culumは新しい1.5 mL tubeに移し、65℃に加温しておいたTE 40 µLをシリカメンブレンに負荷し、5分静置後、10,000 × g 1分間遠心し溶出液を回収した。再度、同様の操作を行い、合計80 µL DNA抽出液を得た。

(3) PCR-RFLP法のための制限酵素の選択

アライメント解析結果をもとに、ツキヨタケに対するPCR-RFLP法に用いる制限酵素を、*Sau96I*, *Bpu10I*, *SfcI* および *DrdI/HincII* に設定した。

(4) PCR-RFLP法

きのこ試料からのDNA抽出は、各試料100 mg(乾燥試料20 mg)にPrepMan Ultra Sample Preparation Reagent 400 µLを加え、バイオマッシャーIIで破碎した。100℃で10分間加温した後、室温13,000 × gで2分間遠心し上清を簡易DNA抽出液とした。ITS領域を増幅にはITS1FとITS4Bのプライマー対を用い、PCR反応液は50 µL/wellとして調製した。その組成は以下のとおりである。2 × AmpDirect Plus 25 µL、対象プライマー対溶液(各プライマー、5 µmol/L)各5 µL、5 U/µL BIOTAQ HS DNA Polymerase 0.25 µL、蒸留水 13.75 µLを混合調製し、簡易DNA抽出液 1 µLを添加した。また、反応条件は、95℃で10分間加温し、ホットスタート法で反応を開始する。その後、95℃ 30秒、55℃ 1分、72℃ 1分を1サ

イクルとして、45 サイクルの増幅反応を行った。その後、72 7分伸長反応、4 保存を行った。PCR 産物は必要に応じて精製した。制限酵素処理は、FastDigest *Sau96I*、FastDigest *Bpu10I*、FastDigest *SfcI*、そして FastDigest *DrdI* と FastDigest *HincII* のペアの 4 組の制限酵素それぞれで実施した。反応液の組成は PCR 産物 3 µL もしくは精製した PCR 産物 70 ng、10 × FastDigest Green Buffer 0.67 µL、制限酵素 0.33 µL を混合し、蒸留水を加え全量を 10 µL とした。37 で 5 分以上 (*Bpu10I* のみ 30 分以上) インキュベートし、反応液を 3% アガロースゲルによる電気泳動で分離した。DNA マーカーは、100 bp DNA Ladder を用いた。

(5) 市販食用きのこ中での混入試料への適用

作成した検査法の適用範囲を広げるため、市販食用きのこにツキヨタケが混在した場合でも、ツキヨタケが検出可能かどうかを検討した。ITS 領域の PCR 産物 (800 bp) および各制限酵素で切断した時の泳動パターンを比較した。

(6) ツキヨタケの Short-PCR-RFLP 法

ツキヨタケによる中毒が疑われた場合の原因きのこの特定に利用可能な検査法として、加熱調理などにより DNA 断片化が一部進んでいる試料に適用可能な Short-PCR-RFLP 法を検討した。試料 100 mg に蒸留水 500 µL を加え 100 で 30 分加熱し、室温 で 6,000 × g 1 分間遠心した後、上清を取り除いた。崩壊試験第 1 液 (pH 1.2) を 500 µL 加え、37 1 時間インキ

ュベートした後、室温で 6,000 × g 1 分間遠心し、上清を取り除いた。蒸留水を加え、遠心後に上清を取り除く洗浄操作を 2 回繰り返し、残りの沈殿物を試料として PCR-RFLP 法を行った。

DNA 断片化が進んだ試料から増幅するため約 200 bp を標的とする Short-PCR-RFLP 法用のプライマーとして

tukiyo-shortPCR-F1: 5'-

TGTAACAAAGGCATGTGCACG -3'

tukiyo-shortPCR-R1: 5'-

CAAGAGATCCGTTGCTGAAAGT -3'

を用いた。

(7) 標準プラスミド作成

ツキヨタケがなくても PCR-RFLP やリアルタイム PCR によるツキヨタケの判別を可能とするために陽性コントロールプラスミドを作製した。BIOTAQ HS DNA Polymerase で増幅したツキヨタケの ITS 領域を pCR2.1-TOPO に組み込み、*E. coli* TOP10 株でクローニングを行った。

(8) リアルタイム PCR 法の検討

PCR-RFLP 法で得られた結果の確認試験法として、リアルタイム PCR 法について検討した。ツキヨタケの検出用プローブおよびプライマーとして

OM_V-15_Taq:5'

FAM-AGTTGCAGCTATCCC-MGB 3'

OM_V-02f:5' -

TGAAATGAAAGCAGACAGAGCAA -3'

OM_V-66r: 5'-

TGGTTTGACAAGGCTCTTTGGT -3'

を用いた。

Real time PCR 用反応液は 25 μ L /well として調製した。その組成は以下のとおりである。2x FastStart TaqMan Probe Master (Rox) 12.5 μ L、10 μ mol/L プロンプ溶液 0.5 μ L、対象プライマー対溶液(各プライマー、25 μ mol/L)各 0.3 μ L、蒸留水 6.7 μ L を混合調製し、DNA 試料液 5 μ L (0.5 ng/ μ L) を添加した。また、反応条件は、50 で 2 分間保持し、95 で 10 分間加温する。その後、95 15 秒、60 1 分を 1 サイクルとして、45 サイクルの増幅反応を行った。

C. 研究結果

1. PCR-RFLP 法

ツキヨタケと形態類似食用きのこ

これまでに、毒きのこであるクサウラベニタケとその近縁種、食用きのこであるウラベニホテイシメジを判別するための迅速な検査法として、電気泳動後のバンドの泳動パターンで判別する PCR-RFLP 法を開発した。本方法は生きのこおよび調理加工きのこでも適用可能な方法として確立した。

本年度は同様の手法を用いて毒きのこであるツキヨタケと食用きのこであるシイタケ、ムキタケ、ヒラタケに対する PCR-RFLP 法を検討した。PCR-RFLP 法では、*Bpu10I* および *SfcI* による制限酵素処理でツキヨタケのみ切断されることを、*Sau96I* では、シイタケ以外のすべてのきのこが切断されるが、その泳動パターンはツキヨタケとそれ以外では異なることを、また、*DrdI* および *HincII* では、ツキヨタケ以外の食用のきのこを制限酵素で切断し、ツキヨタケと明確に区別できた。これ

ら 4 組の制限酵素の複数を用いることでツキヨタケを判別同定可能であることを確認した (Fig.2)。

そこで次に、ツキヨタケにおいても加熱調理などにより DNA の一部断片化が進んでいる試料にも適応可能な約 200 bp の範囲を標的とする Short-PCR-RFLP 法を検討した。その結果、60 分の加熱処理および人工胃液処理においても 200 bp のバンドは増幅でき、*SfcI* もしくは *DrdI/HincII* 処理することで、毒のツキヨタケのみ切断、または、食用のシイタケ、ヒラタケ、ムキタケのみ切断されることから食毒を明確に区別できることを明らかにした (Fig.3)。

さらに、市販食用きのこ (複数種類) の混合試料にツキヨタケが混在した場合にツキヨタケの判別が可能かどうか確認するため、2.5% ~ 100% の割合でツキヨタケが混在する試料を調製した。60 分の加熱および人工胃液処理後に制限酵素 (*DrdI/HincII*) 処理を行い、200 bp の短い標的配列を用いた Short-PCR-RFLP を実施した。その結果、2.5% まで全てのツキヨタケを含む試料で切断されないバンドが残っており、ツキヨタケの存在が確認できた (Fig.4)。

2. リアルタイム PCR 法

(1) クサウラベニタケとその近縁種

PCR-RFLP 法は、PCR 反応後にそれぞれに特異的な制限酵素で処理して、電気泳動した時の泳動パターンの違いで判別するもので、特殊な装置を必要としないことから、各都道府県衛生研究所だけではなく、保健所あるいは役所等でも実施可能な方法で、検査の裾野を拡大する意味でも重要

である。一方で、これらの結果を確認するための高感度な確定法としてリアルタイム PCR を用いた方法を整備すれば、上記検査法で判定ができなかった場合にも最終確認が可能となり結果の信頼性が向上することから検討した。

クサウラベニタケについては、他に2つの近縁種が毒でありこの3系統および食用ウラベニホテイシメジを検出する必要があることから、マルチプレックス定性リアルタイム PCR 法の開発を行った。昨年度に、予備検討を行い、3系統（毒2系統および食用）の検討を行い特異的に検出可能であることを確認した。そこで、本年度はすべての系統で、必要な感度で特異的に検出可能かどうか、および PCR 効率や検出限界を求めた。その結果、2~200,000 コピーの陽性プラスミドを用いたところ、良い直線性を示し ($R^2=0.99\sim 1.00$)、PCR 効率 (E) は 96~102%と良好であった。また、検出限界は 10 コピー (*E. rhodopolium*- clade II; 蛍光色素 FAM および *E. rhodopolium*- clade III; 蛍光色素 Texas-Red) から 20 コピー (*E. rhodopolium*- clade I; 蛍光色素 VIC および *E. sarcopum*; 蛍光色素 Cy5) であった (Figs.5 and 6)。しかしながら、4色 (FAM, VIC, Texas-Red, Cy5) を用いたマルチプレックスでは感度に差が見られたほかに、Ct 値 40 付近から弱いながら非特異的増幅が見られた。この非特異的増幅は、各プローブを用いたシンプレックスでは見られなかった。以上の結果から、プローブをうまく設計することで、4系統それぞれを特異的に検出できることが明らかになった。

(2) ツキヨタケとその近縁種

ツキヨタケについては、毒性を持つ分類学上の近縁種が存在しないことから、ツキヨタケのみに特異性が高いプライマー・プローブを設計したところ、シイタケ、ムキタケ、ヒラタケを含む市販食用きのこには交差反応しない、ツキヨタケ特異的な検出が可能であることが明らかになった

(Fig.7)。また、ツキヨタケがなくても確認試験が実施できるように、ツキヨタケの ITS 領域を組み込んだ陽性コントロールプラスミドを作製した (Fig.8)。作製したツキヨタケ陽性コントロールプラスミドを用いてリアルタイム PCR を実施した結果、 $10^3\sim 10^9$ copy/well の範囲で良好な直線性を示した。検出限界は 500 コピー、PCR 効率も 85%程度であった。

また、複数種類の市販食用きのこにツキヨタケが 2.5%~100%の割合で混在する試料から抽出した DNA を用いてリアルタイム PCR を実施した結果、ツキヨタケの混在している試料では明確な増幅が確認された。また複数種類の市販食用きのこの混合試料を用いた Short-PCR-RFLP で PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent によって抽出した簡易抽出 DNA 溶液を用いてリアルタイム PCR を行った場合も、抽出 DNA と同様の結果が得られた。このことから、簡易抽出法でより短時間で確定検査が可能であると考えられた。

D. 考察

植物性自然毒の中でも、きのこ毒について原因物質が特定されているものは多くはない。また、ツキヨタケやカキシメジのように原因物質が明らかになっているも

のも存在するが、LC/MSなどで分析しようと考えても標準品が存在しない、あるいは分解のため分析時に試料中に存在しないという重要な問題に直面する。さらに、野生きのこの場合には、その成分含量は非常に大きく変動し(数十から数百倍)、ある毒きのこを検出する場合、ある地域からの試料は検出可能であっても、別の地域からの試料は検出下限以下になることも想定される。その成分が明らかな唯一の原因物質である場合には、同一きのこでも、測定した試料が検出下限以下であれば問題はない。しかしながら、きのこ毒の原因物質には類縁体が多く存在し、かつ毒性を示す成分も複数あることが多いため、化学的成分分析のみに依存すると、リスク管理上問題となることが考えられる。

そこで、本研究班では食中毒被害事例が多いきのこについて、採取時期や採取地域、測定までの保存時間と状態により、化学成分(低分子有機化合物やペプチド、タンパク質)のように変動しない検査対象として、きのこ自身が持つ遺伝子塩基配列を用いた信頼性の高い、かつ迅速で簡便な試験検査法を確立し、これまで中毒被害防止と中毒発生時の原因きのこ特定のための、健康危機管理に必要な必要な試験法を整備することが極めて重要である。

今年度までに開発したクサウラベニタケとその近縁種、およびツキヨタケと形態類似きのこに対する迅速簡便な同定法である PCR-RFLP 法、および、高感度で確定検査としても重要な特異性の高い定性リアルタイム PCR 法を開発することができた。本方法は調理加熱後の試料でも適用できることから、利用される場面は多いと

考えられる。今後は全国の検査可能なところに普及していくことが必要であると考えられた。

E. 結論

1. クサウラベニタケは、日本国内では近縁種が3種存在することが明らかになった。これら毒性を持つ3種の簡便迅速な検査法として PCR-RFLP 法を加熱調理サンプルまで適用可能な方法として確立した。さらに、確定法として4系統同時分析のための4色マルチプレックス定性リアルタイム PCR 法を開発した。
2. ツキヨタケについて、誤食原因であるシイタケ、ムキタケ、ヒラタケに対する簡便迅速な検査法として PCR-RFLP 法を加熱調理サンプルまで適用可能な方法として確立した。さらに、確定法としてマルチプレックス定性リアルタイム PCR 法を開発した。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
投稿準備中(クサウラベニタケ分類および PCR-RFLP 法)
2. 学会発表
 1. 坂田こずえ、近藤一成、中村公亮、野口秋雄、小林友子、福田のぞみ、最上(西巻)知子: Multiplex real-time PCR を用いたクサウラベニタケとその近縁種の同定 .第 108 回日本食品衛生学会学術講演会 (2014.12)
 2. 坂田こずえ、近藤一成、中村公亮、野口秋雄、小林友子、福田のぞみ、最上(西

巻) 知子: RFLP および Real-time PCR
法を用いたクサウラベニタケ複合種の
分析法 . 第 51 回全国衛生化学技術協議
会年会 (2014.11)

G. 知的財産権の出願・登録状況

ツキヨタケとシイタケ、ムキタケヒラタ
ケに対する PCR-RFLP 法およびリアルタ
イム PCR 法に関して出願した。

出願番号 : 特願 2014 - 103555

出願日 : 平成 26 年 5 月 19 日

発明の名称 : きのこの同定方法および同定
キット

出願人 : 公益財団法人ヒューマンサイエ
ンス振興財団 様

発明者 : 近藤 一成 様 (国立医薬食品衛
生研究所)

弊所整理番号 : 26H105

