

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6911660号  
(P6911660)

(45) 発行日 令和3年7月28日(2021.7.28)

(24) 登録日 令和3年7月12日(2021.7.12)

(51) Int. Cl. F I  
**C 1 2 N** 1/20 (2006.01) C 1 2 N 1/20 A  
**C 1 2 Q** 1/04 (2006.01) C 1 2 Q 1/04

請求項の数 5 (全 10 頁)

|           |                              |           |  |
|-----------|------------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2017-175897 (P2017-175897) | (73) 特許権者 | 311002067<br>J N C株式会社<br>東京都千代田区大手町二丁目2番1号  |
| (22) 出願日  | 平成29年9月13日(2017.9.13)        | (74) 代理人  | 100126505<br>弁理士 佐貫 伸一                       |
| (65) 公開番号 | 特開2019-50751 (P2019-50751A)  | (74) 代理人  | 100131392<br>弁理士 丹羽 武司                       |
| (43) 公開日  | 平成31年4月4日(2019.4.4)          | (74) 代理人  | 100160945<br>弁理士 菅家 博英                       |
| 審査請求日     | 令和2年3月31日(2020.3.31)         | (74) 代理人  | 100168996<br>弁理士 諫山 雅美                       |
|           |                              | (72) 発明者  | 寺村 哉<br>神奈川県横浜市金沢区大川5-1 J N C<br>株式会社 横浜研究所内 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クロストリジウム属細菌選択分離用培地

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) サイクロセリン、(b) ポリミキシンB、(c) アミノグリコシド系抗生物質、(d) タウロコール酸ナトリウム、及び(e) 有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質を含有する、クロストリジウム属細菌の検出用培地。

【請求項2】

さらに(f) マンニトール、フルクトース、及びメレチトースからなる群から選択される一種以上を含む糖又は糖アルコールを含有する、請求項1に記載の培地。

【請求項3】

さらに(g) レシチンを含有する、請求項1又は2に記載の培地。

【請求項4】

前記クロストリジウム属細菌が、クロストリジウム パーフリンジェンス(Clostridium perfringens)、クロストリジウム ディフィシル(Clostridium difficile)、及びクロストリジウム スポロゲネス(Clostridium sporogenes)からなる群から選択される、請求項1~3のいずれか一項に記載の培地。

【請求項5】

請求項1~4のいずれか一項に記載の培地に検体を接種する工程、前記検体に含まれる微生物を培養する工程、及び前記微生物のコロニーを検出する工程を含む、クロストリジウム属細菌の検出方法。

【発明の詳細な説明】

10

20

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、クロストリジウム属細菌を選択・分離して検出するための培地に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

クロストリジウム属細菌は、グラム陽性の偏性嫌気性芽胞形成菌である。そのうち、特にクロストリジウム パーフリンジェンス (*Clostridium perfringens*; 以降、「Cp」とも記す) やクロストリジウム ディフィシル (*Clostridium difficile*; 以降、「Cd」とも記す) は病原性細菌として知られている。また、クロストリジウム スポロゲネス (*Clostridium sporogenes*; 以降、「Cs」とも記す) は、毒素非生産菌ではあるが食品汚染の指標として用いられる。

10

Cpはヒトや動物の大腸内常在菌であり、土壌や下水、河川、海等にも広く分布し、食肉、魚介類あるいは野菜などの多くの食品が本菌に汚染されている。さらに、本菌は芽胞を形成時に毒素であるエンテロトキシンを産生するが、芽胞は加熱処理により完全に死滅せず、調理食品や加工食品からも検出される。そのため、しばしば食中毒の原因となり、食品衛生及び安全の点からその検出が重要視されている(非特許文献1、2)。

Cdは病院や高齢者保養施設等での院内感染における日和見感染細菌として知られ、入院患者において抗生物質の投与により腸内のCdが異常増殖したとき、偽膜性大腸炎を引き起こす。近年、欧米では強毒性Cdによる大規模感染が頻発しており、問題となっている(非特許文献1、2)。

20

## 【0003】

Cpの選択分離培地としては、サイクロセリン、ポリミキシンB、及びカナマイシンを含むTSC寒天培地(Tryptose Sulfite Cycloserine agar)等が知られている。TSC寒天培地に検体を塗布後、嫌気培養すると、Cpは亜硫酸塩を還元し、黒色のコロニーを作り、Cdを含む他のクロストリジウム属細菌はほとんど阻止される(非特許文献3、4)。

また、Cdの選択分離培地としては、CCFA培地(Cycloserine Cefoxitin Fructose Agar)等が知られている。CCFA培地に検体を塗布後、嫌気培養すると、Cdはラフ(Rough)型のコロニーを形成するが、サイクロセリンとセフォキシチンにより腸内細菌などの大部分は発育が阻止される(非特許文献5)。

30

## 【先行技術文献】

## 【非特許文献】

## 【0004】

【非特許文献1】食品衛生検査指針 微生物編 2015 公益社団法人 日本食品衛生協会 412 - 428頁、2015年3月31日。

【非特許文献2】微生物の簡易迅速検査法 五十君静信ら監修 株式会社テクノシステム 197 - 198頁、2013年11月16日。

【非特許文献3】MERCK TSC寒天培地カタログ(メルク微生物マニュアル第12版) [http://www.merckmillipore.com/JP/ja/product/TSC-agar,MDA\\_CHEM-111972](http://www.merckmillipore.com/JP/ja/product/TSC-agar,MDA_CHEM-111972)

【非特許文献4】新 細菌培地学講座・下II 第二版 坂崎利一監修 株式会社近代出版 48 - 50頁、1990年1月20日

40

【非特許文献5】BD CCFA培地カタログ <https://www.bdj.co.jp/micro/products/1f3pro0000s7gwy.html>

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

従来、複数種のクロストリジウム属細菌、例えばCpとCdとを同一の培地上で選択的に検出できる培地はなく、当然に両者を同一の培地上で識別できる培地もなかったため、それぞれに適した培地及び培養条件で別々に検査を行う必要があった。しかしながら、食品検体や臨床検体の別に拘らず、検体中に人に危害を与えるおそれのあるCpやCd等ク

50

ロストリジウム属細菌の存在を迅速かつ確実に検出することは重要である。

このような状況を鑑みて、本発明は、複数種のクロストリジウム属細菌を同一の培地で選択的に検出し、かつ両者を識別可能な培地を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、上記課題を解決するべく鋭意研究の末、特定の組成を有する培地が、複数種のクロストリジウム属細菌を生育することができ、さらに該培地上で種ごとのコロニーの外観性状が異なることを見出し、本発明を完成させた。

【0007】

すなわち、本発明は以下の通りである。

[1] (a) サイクロセリン、(b) ポリミキシン B、(c) アミノグリコシド系抗生物質、(d) タウロコール酸ナトリウム、及び(e) 有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質を含有する、クロストリジウム属細菌の検出用培地。

[2] さらに(f) マンニトール、フルクトース、及びメレチトースからなる群から選択される一種以上を含む糖又は糖アルコールを含有する、[1]に記載の培地。

[3] さらに(g) レシチンを含有する、[1]又は[2]に記載の培地。

[4] 前記クロストリジウム属細菌が、クロストリジウム パーフリンジェンス、クロストリジウム ディフィシル、及びクロストリジウム スポロゲネスからなる群から選択される、[1]～[3]のいずれかに記載の培地。

[5] [1]～[4]のいずれかに記載の培地に検体を接種する工程、前記検体に含まれる微生物を培養する工程、及び前記微生物のコロニーを検出する工程を含む、クロストリジウム属細菌の検出方法。

【発明の効果】

【0008】

本発明の培地を用いれば、複数種のクロストリジウム属細菌が種ごとにそれぞれ異なる外観性状を有するコロニーとして、選択的に生育し、明確に検出・鑑別できる。したがって、種々の雑菌に汚染された環境の検体や、飲食品検体、臨床検体中の複数種のクロストリジウム属細菌、例えばC p及びC dとを、同一の培地で検出・識別することが容易となる。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】本発明の培地上でのC pのコロニーの写真。

【図2】本発明の培地上でのC dのコロニーの写真。

【図3】本発明の培地上でのC d、C p、及びC sのコロニーの写真。

【発明を実施するための形態】

【0010】

本発明の培地は、(a) サイクロセリン、(b) ポリミキシン B、(c) アミノグリコシド系抗生物質、(d) タウロコール酸ナトリウム、及び(e) 有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質を含有する。

【0011】

(a) サイクロセリンは、細胞壁合成阻害剤であり、クロストリジウム属細菌を除く大部分の菌の発育を抑制することができる。そのため、夾雑菌の影響を受けることなくクロストリジウム属細菌を分離することができる。

サイクロセリンの本発明の培地中の含有量は、使用時(微生物の生育時、以降同じ)の濃度として1mg～1000mg/Lが好ましく、150～300mg/Lがより好ましい。

【0012】

(b) ポリミキシン Bは、グラム陰性菌を抑制することができる。なお、クロストリジウム属細菌の発育には影響を与えない。

ポリミキシン Bの本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として1mg～100mg

10

20

30

40

50

/Lが好ましく、5～50mg/Lがより好ましい。

【0013】

(c) アミノグリコシド系抗生物質は、クロストリジウム属細菌を除く大部分の菌の発育を抑制することができる。アミノグリコシド系抗生物質としては、カナマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、ストレプトマイシン等が好ましく挙げられる。

アミノグリコシド系抗生物質の本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として1mg～100mg/Lが好ましく、5～50mg/Lがより好ましい。

【0014】

(d) タウロコール酸ナトリウム(胆汁酸)は、Cdの発育を促進し、また特徴的かつ明瞭なラフ型のコロニーを形成させやすくするための成分である。

タウロコール酸ナトリウムの本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として0.1～5g/Lが好ましく、0.5～2g/Lがより好ましい。

【0015】

(e) 有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質は、クロストリジウム属細菌を色原体化合物に依存する有色のコロニーとして形成させるために用いる。培地上でのクロストリジウム属細菌の生育に伴い、これらが保有するホスファターゼにより前記基質が加水分解され、有色の色原体化合物が遊離し、コロニーを着色する。

有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質としては、5-プロモ-3-インドリルリン酸、5-プロモ-4-クロロ-3-インドリルリン酸、5-プロモ-6-クロロ-3-インドリルリン酸等が挙げられる。これらの基質を使用する場合には、培養後に好気状態に戻して、遊離した色原体化合物を酸化縮合させて着色させる必要がある。その他に前記ホスファターゼ基質としては、1-(2-(4-ジメチルアミノベンゾイル)フェニル)-1H-インドール-3-イルリン酸(1-{2-[4-(Dimethylamino)benzoyl]phenyl}-1H-indol-3-yl phosphate, disodium salt; Biosynth社製Aldol 515-phospahte)が好ましく挙げられる。これを使用する場合は遊離した色原体化合物の酸化縮合は不要であるため、嫌気条件下での培養中にコロニーを着色させることができる。

前記ホスファターゼ基質の本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として0.01～0.5g/L含有するのが好ましく、0.05～0.15g/L含有するのがより好ましい。

【0016】

本発明の培地は、さらに(f)糖又は糖アルコールを含有することが好ましい。かかる糖又は糖アルコールは、好ましくはマンニトール(マンニット)、フルクトース、及びメレチトースからなる群から選択される一種以上を含み、これらのうちマンニトールがより好ましい。Cdはこれらの糖又は糖アルコールを資化することができるため、その生育が促進され、より検出しやすくなる。また、Cdによる糖又は糖アルコールの資化によりCdのコロニー周囲の培地のpHが下げられ、Cdが保有する酸性ホスファターゼによる有色の色原体化合物の遊離が促進される。なお、CpやCsはマンニトール、フルクトース、及びメレチトースを通常は資化しない。

糖又は糖アルコールを含有せずとも、本発明の培地はCdを含むクロストリジウム属細菌を生育でき、かつそれぞれ異なる外観性状のコロニーとして識別できるが(Cp:赤色コロニー、Cd:無色コロニー、Cs:肌色コロニー)、糖又は糖アルコールを含有させることにより二者が有色のかつ色調の異なるコロニーとして生育するため(Cp:赤色コロニー、Cd:オレンジ色コロニー、Cs:肌色コロニー)、より検出・識別がしやすくなるため、好ましい。

前記糖又は糖アルコールの本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として1g～30g/Lが好ましく、1～10g/Lがより好ましい。

【0017】

本発明の培地は、さらに(g)レシチンを含有することが好ましい。これにより、Cpが保有するレシチナーゼによりレシチンが分解され、Cpのコロニーの周囲に白濁(混濁帯)が生じ(いわゆる卵黄反応)、コロニーの視認性及びCdとの識別性が高まる。なお

10

20

30

40

50

、C dやC sはレシチナーゼを保有しないので、かかる白濁は呈さない。

ここでレシチンは、好ましくは卵黄レシチンである。また、通常は卵黄の態様で本発明の培地に添加される。

レシチンの本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として1~20g/Lが好ましく、5~10g/Lがより好ましい。また、レシチンを卵黄の態様で含有させる場合の卵黄の含有量は、使用時の濃度として1~10質量%が好ましく、1~3質量%がより好ましい。

#### 【0018】

本発明の培地は、通常は固体(ゲル状を含む)である。そのため、本発明の培地は、ゲル化剤を含むことが好ましい。ここでゲル化剤は、含水により膨潤・ゲル化する物質を指し、培地を成型するためのマトリックスの役割を担う。

ゲル化剤は、通常は高分子化合物であり、増粘性多糖類や吸水性ポリマー等、一般に微生物培養用の固体培地に用いられるものでよい。例えば、寒天、グアーガム、キサンタンガム、ローカストビーンガム、ジェランガム、ポリビニルアルコール、メチルセルロースやエチルセルロース等のアルキルセルロース、カルボキシメチルセルロースやカルボキシエチルセルロース等のカルボキシアルキルセルロース、及びヒドロキシメチルセルロースやヒドロキシエチルセルロース等のヒドロキシアルキルセルロースが挙げられ、これらから一種又は二種以上を組み合わせた混合物を使用することができる。またこれらの高分子化合物の大きさ(平均分子量、重合度等)は、微生物培養用の固体培地に用いられるときの一般的な範囲のものを用いればよい。例えば、重量平均分子量が好ましくは5000~20000、また鹼化度が好ましくは75~99%、より好ましくは85~90%のポリビニルアルコールを用いることができる。

#### 【0019】

ゲル化剤の本発明の培地中の含有量は、使用時の濃度として、微生物培養用の固体培地に用いられるときの一般的な範囲とすればよい。例えば、重量平均分子量が5000~20000で鹼化度が75~99%のポリビニルアルコールを用いる場合は、使用時の濃度として140~300g/Lが好ましく、160~260g/Lがより好ましい。また例えば、重量平均分子量が1万~100万の寒天を用いる場合は、使用時の濃度として5~30g/Lが好ましく、10~20g/Lがより好ましい。このような含有量とすることにより、培地を取扱いやすく成型できる。

#### 【0020】

本発明の培地は、上記成分の他に、抗菌性物質、栄養成分、無機塩類、他の糖類、増粘剤、pH調整剤、等を任意に含有してもよい。

抗菌性物質としては、例えば、ポリリジン、プロタミン硫酸塩、グリシン、ソルビン酸等が挙げられる。

栄養成分としては、例えば、ペプトン、獣肉エキス、酵母エキス、魚肉エキスが好ましい。

無機塩類としては、例えば、塩化ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二ナトリウム、硫酸マグネシウム、チオ硫酸ナトリウム等の無機酸金属塩、ピルビン酸ナトリウム、クエン酸鉄アンモニウム、クエン酸ナトリウム等の有機酸金属塩が挙げられる。

他の糖類としては、例えば、グルコース、ラクトース、スクロース、キシロース、セロビオース、マルトースが挙げられる。

増粘剤としては、例えば、デンプン及びその誘導体、ヒアルロン酸、アクリル酸誘導体、ポリエーテル、コラーゲン等が挙げられる。

pH調整剤としては、例えば、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムが挙げられる。

#### 【0021】

なお、前述した以外の選択物質、例えば、セフォキシチン等の抗生物質や、ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)、Tween80、コール酸ナトリウム等の胆汁酸塩等の界面活性剤は、クロストリジウム属細菌の生育を妨げる場合があるため、本発明の培地に実質的に含有させない方が好ましい。特に、セフォキシチンは、Cpがセフォキシチン感受性で

10

20

30

40

50

あるため、実質的に含有しないことが好ましい。ここで実質的に含有しないとは、使用時の濃度として好ましくは0.1 mg/L以下、より好ましくは0.001 mg/L以下、さらに好ましくは0 mg/Lである。

また、本発明の培地は、通常、鉄イオンと亜硫酸イオンとを併用して含有しない。これは、該組合せの存在下ではコロニーが黒色になり二種のコロニーを識別し難くなるためである。

#### 【0022】

本発明の培地は、クロストリジウム属細菌の発育の点から、培地調製時のpHが6.0~8.0であるのが好ましく、pH7.0~7.4であるのがより好ましい。

#### 【0023】

本発明の培地の形態は特に限定されず、シャーレ等の容器中で固化させた形態の他に、シート状の乾燥簡易培地にすることもできる。

シート状の乾燥簡易培地としては、例えば国際公開97/24432号公報に記載の、多孔質材料を含有する層とゲル化剤を含有する層とを積層して含む構成のシート形態のものが挙げられる。この場合、ゲル化剤を含有する層を本発明の培地とすればよい。

#### 【0024】

本発明の培地は、複数種のクロストリジウム属細菌を種ごとにそれぞれ異なる外観性状を有するコロニーとして生育し、明確に検出・鑑別することができる。また、本発明の培地は、他の細菌から選択的に分離することもできる。そのため、本発明のクロストリジウム属細菌の検出方法に好適に使用することができ、好ましくはCp、Cd、及びCsの検出方法に適し、より好ましくはCp及びCdの検出方法に適する。

本発明の方法は、本発明の培地に検体を接種する工程、前記検体に含まれる微生物を培養する工程、及び前記微生物のコロニーを検出する工程を含む。ここで、前記培養工程は、33~45で、24~48時間嫌気培養することが好ましい。

#### 【0025】

本発明の培地に適用される検体としては、肉類、魚介類、野菜・果物等の生鮮食料品、チーズ、乳酸菌飲料、発酵食品等の加工飲食品の他にも、便などの臨床検体、飲料水、淡水、海水、調理場、病院などのふき取り検体等が挙げられる。また、これらの検体を予めチオグリコール酸培地やクックドミート培地等の増菌用培地で培養した培養液も用いることができる。

#### 【実施例】

#### 【0026】

次に実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

#### 【0027】

##### (1) 培地の作製

表1に示す組成成分の1リットル使用量を970ミリリットルの精製水に加え、121、15分間加温溶解し、約50になるまで冷却してベース培地とし、加熱滅菌した。そこに、精製水に溶解したサイクロセリン、カナマイシンをろ過滅菌してから加え、よく混合した。さらに、ジメチルスルホキシドで溶解したAldol(登録商標)-515 phosphate(Biosynth社)を加えよく混和した(表2)。その後、無菌的に採取した卵黄を終濃度3質量%になるように加え、よく混和した。プラスチックシャーレ(90 mm)に15 mLずつ分注して培地が固まるまで静置し、本発明の培地を作製した。作製した培地は培地表面を還元化するために2日以上嫌気下で保管してから後述の供試試験に用いた。

#### 【0028】

10

20

30

40

## 【表 1】

表 1

| <ベース培地>               | 終濃度 (g/L) |
|-----------------------|-----------|
| Proteose peptone No.2 | 30        |
| マンニトール                | 6         |
| Bacto yeast extract   | 3         |
| タウロコール酸ナトリウム          | 1         |
| リン酸二水素カリウム            | 1         |
| リン酸水素二ナトリウム           | 5         |
| 塩化ナトリウム               | 2         |
| 硫酸マグネシウム              | 0.1       |
| 寒天                    | 15        |
| ポリミキシンB               | 0.01      |

(pH7.2±0.2)

10

## 【 0 0 2 9 】

## 【表 2】

表 2

| <滅菌後に添加>                          | 終濃度 (g/L) |
|-----------------------------------|-----------|
| サイクロセリン                           | 0.25      |
| カナマイシン                            | 0.01      |
| Aldol <sup>TM</sup> -515phosphate | 0.1       |
| 卵黄                                | 30        |

(pH7.2±0.2)

20

30

## 【 0 0 3 0 】

## ( 2 ) 菌株の供試

供試菌株のうち C p、C d 及び C s は、ヒツジ血液寒天培地で 24 時間、嫌気条件下で前培養したものを供試菌として使用した。それ以外の菌株は、ヒツジ血液寒天培地で 24 時間、好気条件下で前培養したものを供試菌として使用した。各供試菌株は、白金耳により ( 1 ) で作製した培地に画線塗抹し、35、48 時間嫌気培養後、発育及びコロニーの外観性状を確認した。

結果を表 3 並びに図 1 ~ 3 に示す。

## 【 0 0 3 1 】

## 【表 3】

表 3

| 供試菌                                      | コロニー生育状況             |
|--|----------------------|
| <i>Clostridium difficile</i> JCM7571     | オレンジ色の表面がすりガラス状のコロニー |
| <i>Clostridium perfringens</i> JCM3816   | 赤色コロニー（周辺は白濁）        |
| <i>Clostridium sporogenes</i> NBRC13950  | 肌色の金属調のコロニー          |
| <i>Escherichia coli</i> NBRC102203       | 抑制                   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> NBRC12689  | 抑制                   |
| <i>Bacillus subtilis</i> NBRC3134        | 抑制                   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> NBRC 100910 | 抑制                   |
| <i>Candida albicans</i> NBRC1594         | 抑制                   |

10

## 【 0 0 3 2 】

供試菌株のうち、C p、C d 及び C s のみが本発明の培地上で生育することができた。また、図 1 に示すように C p はコロニー周辺の白濁帯を有する明瞭な赤色コロニーとして生育し、図 2 に示すように C d はコロニー周辺の白濁帯を有さないオレンジ色のコロニーとして検出され、図 3 に示すように C s はコロニー周辺の白濁帯を有さない肌色の金属調のコロニーとして検出され、これらの菌種を同一組成の培地上で外観性状の異なるコロニーとして識別できた。また、同一培地上で複数種のクロストリジウム属細菌が共存する検体を培養した場合も、それぞれを異なる外観性状のコロニーとして識別することができる。培地に含有させた有色の色原体化合物を遊離し得るホスファターゼ基質は一種にも拘らず、C p と C d と C s とのコロニーで識別可能な色調の違いが生じたのは、両菌種が保有するホスファターゼの種類の違いに因るものと推察される。

20

また、表 1 組成からマンニトールのみを除いた他は同様にして C p 及び C d を供試した場合は、C p は赤色コロニーとして発育し、C d は無色コロニーとして発育し、C s は肌色コロニーとして発育した。

## 【産業上の利用可能性】

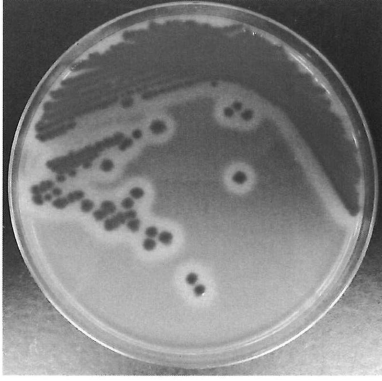
30

## 【 0 0 3 3 】

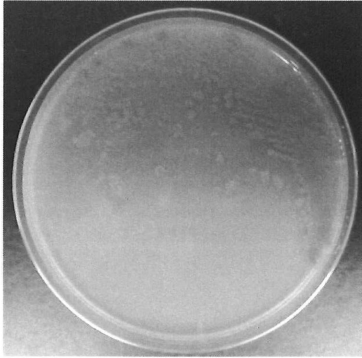
本発明により、複数種のクロストリジウム属細菌がそれぞれ異なる外観性状を有するコロニーとして、選択的に生育し、明確に検出・鑑別できる培地が提供される。これにより、種々の雑菌に汚染された環境の検体や、飲食品検体、臨床検体中のクロストリジウム属細菌を、同一の培地で検出・識別することが容易となるため、人体に害のある病原菌の迅速かつ簡便な検出が実現されるため有用である。



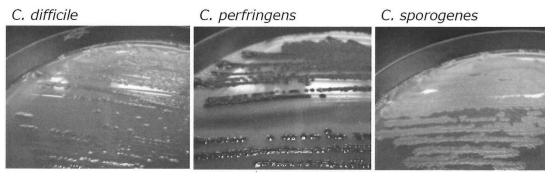
【 1】



【 2】



【 3】



---

フロントページの続き

(72)発明者 小椋 彩

神奈川県横浜市金沢区大川5 - 1 JNC株式会社 横浜研究所内

審査官 関 景輔

(56)参考文献 特開2017 - 108721 (JP, A)

国際公開第2015 / 184454 (WO, A1)

Journal of Microbiological Methods, 1985年, Vol.4, p.189-194

Food Control, 2008年, Vol.19, p.1091-1095

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 1/20

C12Q 1/04

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)