



# MultiReporter Assay System –Tripluc<sup>®</sup>– Vector Series

Code No.

[MRV-101, MRV-102, MRV-103](#)

[MRV-201, MRV-202, MRV-203](#)

[MRV-301](#)

[MRV-501, MRV-502, MRV-503](#)

取扱説明書

TOYOBO CO., LTD.

Bioproducts Sales and Marketing Department

OSAKA JAPAN

**TOYOBO**

## －目次－

[1]	はじめに	2
[2]	製品内容	3
[3]	MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターの概要	4
	1. ルシフェラーゼ遺伝子	4
	2. short life タイプのルシフェラーゼ遺伝子	4
	3. ベクターバックボーン	5
[4]	哺乳類細胞におけるアッセイ方法の概略	6
	1. 実験フロー	6
	2. 被験配列(プロモーター)のクローニング	6
	3. 発光の色分離測定	8
[5]	ベクターマップ及び配列情報	10
[6]	ベクター制限酵素認識部位及び塩基配列	13
[7]	トラブルシューティング	30
[8]	参考文献	30
[9]	関連商品	31

## ご注意

本製品は研究用試薬です。診断・臨床用試薬として決して使用しないでください。本製品の使用にあたっては、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。

## [1] はじめに

レポーター遺伝子を用いた遺伝子発現解析は、レポーター遺伝子に連結されたシス作用性塩基配列（プロモーター、エンハンサー、サイレンサーなど）を含むプラスミドを細胞に導入し、このレポーター酵素の活性を指標に遺伝子発現を評価する手法です。これまで多くのレポーター酵素が用いられてきましたが、感度が高く、活性測定が簡便なことから、ルシフェラーゼの発光を利用したシステムが広く用いられています。

産業技術総合研究所・近江谷先生らは、多くの発光酵素（ルシフェラーゼ）をクローニングし、その中から緑色発光ルシフェラーゼ（**G**reen、最大発光波長 550 nm）、橙色発光ルシフェラーゼ（**O**range、580 nm）、赤色発光ルシフェラーゼ（**R**ed、630 nm）について、哺乳類細胞における発現の実用化に成功しました(1-5)。これらのルシフェラーゼの発光スペクトルは比較的シャープで、かつ pH の影響を受けることなく安定していることから（**S**table **L**uciferase）、色分離測定に適しています。弊社では、近江谷先生らとの共同開発により、これらのルシフェラーゼを用いて、2 つあるいは 3 つの遺伝子発現を同時に測定することが可能なマルチ遺伝子転写活性測定システム MultiReporter Assay System –Tripluc®–及び専用のベクターシリーズを開発しました。

本製品には以下の特長があります。

### **特長 1 3 つの発光スペクトル**

		最大発光波長(nm)	由来	アミノ酸配列
緑色発光ルシフェラーゼ	SLG	550	イリオモテボタル	野生型
橙色発光ルシフェラーゼ	SLO	580	イリオモテボタル	変異体 (T226N)
赤色発光ルシフェラーゼ	SLR	630	鉄道虫	野生型

3 つの酵素活性は、色分離機能を備えたルミノメーターを用いて分離測定（同時測定）することが可能です。特に、赤色発光ルシフェラーゼの発光は、実用化ルシフェラーゼの中でも最も長波長側にあります。

### **特長 2 共通の基質によるアッセイ**

いずれのルシフェラーゼも、ホタルルシフェラーゼと同じ D-luciferin を基質としており、1 つの基質で 3 つのルシフェラーゼ活性を同時に測定することが可能です。従って、従来、複数反応あるいは複数工程で行っていたアッセイを、1 ステップで効率よく行うことが可能です。

さらに 3 つのルシフェラーゼを用いることができますので、1 つのルシフェラーゼをコントロール（内部標準）として、2 つの調べたいプロモーターを同時に解析することも可能です。

### **特長 3 Short life タイプベクター(MRV-501,502,503,511)**

細胞内タンパク質半減期を短縮させ、バックグラウンドとなるシグナルが低減されています。サーカディアンリズム解析や刺激応答など、動的な遺伝子発現の解析に最適です。

## [2] 製品内容

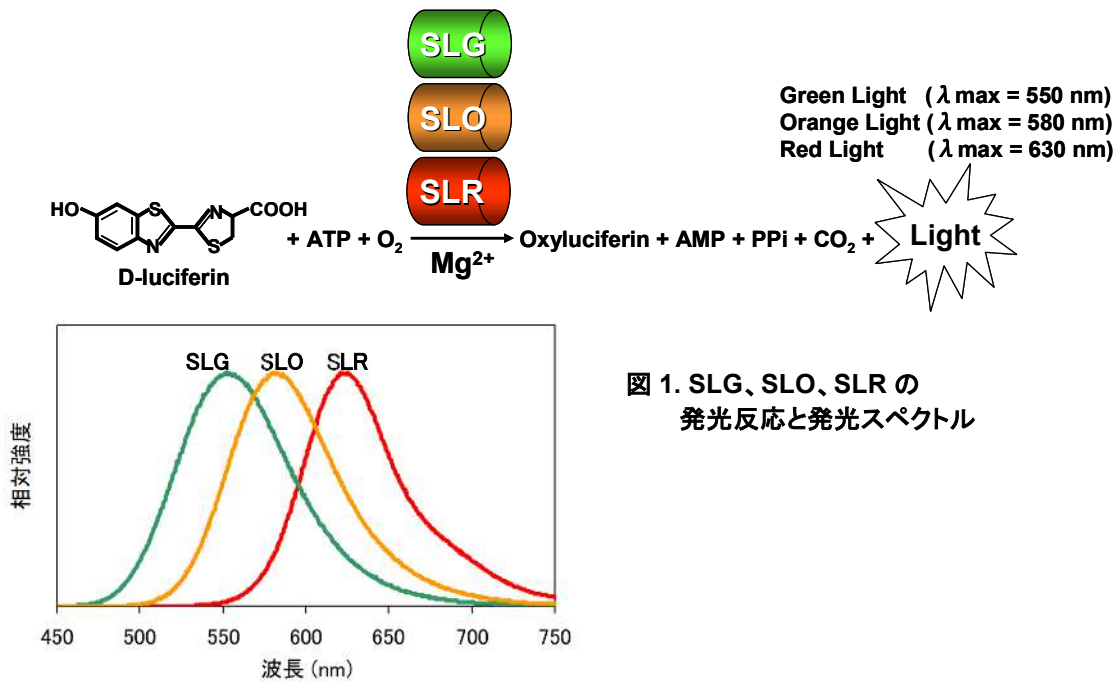
### **MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズ**

品名	Size	Code No.
SLG プロモーター挿入用ベクター <b>pSLG-test</b>	20µg × 1 本	MRV-101
SLO プロモーター挿入用ベクター <b>pSLO-test</b>	20µg × 1 本	MRV-102
SLR プロモーター挿入用ベクター <b>pSLR-test</b>	20µg × 1 本	MRV-103
SLG SV40 コントロールベクター <b>pSLG-SV40 control</b>	20µg × 1 本	MRV-201
SLO SV40 コントロールベクター <b>pSLO-SV40 control</b>	20µg × 1 本	MRV-202
SLR SV40 コントロールベクター <b>pSLR- SV40 control</b>	20µg × 1 本	MRV-203
SLG HSVtk コントロールベクター <b>pSLG-HSVtk control</b>	20µg × 1 本	MRV-301
SLG Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLG(PEST)-test</b>	20µg × 1 本	MRV-501
SLO Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLO(PEST)-test</b>	20µg × 1 本	MRV-502
SLR Short life タイププロモーター挿入用ベクター <b>pSLR(PEST)-test</b>	20µg × 1 本	MRV-503

# [3] MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターの概要

## 1. ルシフェラーゼ遺伝子

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズは、緑色発光ルシフェラーゼ (SLG、最大発光波長 550 nm)、橙色発光ルシフェラーゼ (SLO、580 nm)、及び赤色発光ルシフェラーゼ (SLR、630 nm) の 3 色のルシフェラーゼで構成されます。各ルシフェラーゼの発光スペクトルを図 1 に示します。



## 2. Short life タイプのルシフェラーゼ遺伝子

一般に、一度発現したルシフェラーゼなどのレポータータンパク質が細胞内に比較的長時間とどまることによってバックグラウンドとなるシグナルが生じ、遺伝子発現の変化を過小評価してしまうケースがあります。Li らは、マウス ornithine dehydrogenase 由来 PEST 配列をレポーターに付加することによって不安定化させることに成功しました(6)。Short life タイプベクターはこの技術に応用した高レスポンス型ルシフェラーゼベクターです。

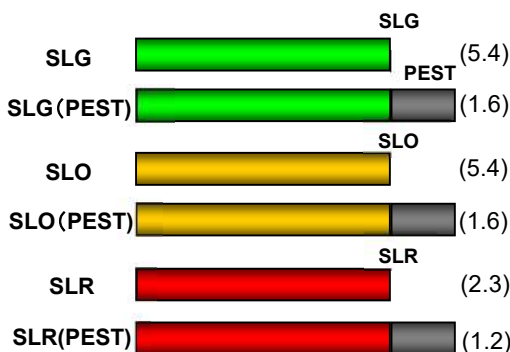


図 2. スタンドードルシフェラーゼと Short life タイプルシフェラーゼ

( )内はシクロヘキシミド処理によって見積もられた細胞内半減期(単位:hr)を示す。

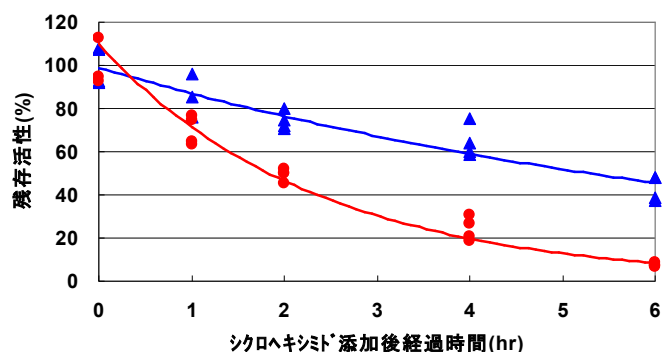


図3. SLO及びSLO(PEST) の細胞内安定性

SLO、SLO(PEST)を発現するCHO細胞をシクロヘキシミド処理した<sub>4</sub> 残存発光活性をMultiReporter Assay System –Tripluc®MRV Detection Reagentsを用いて測定し、相対活性をプロットした。  
 ▲:SLO、●SLO(PEST).

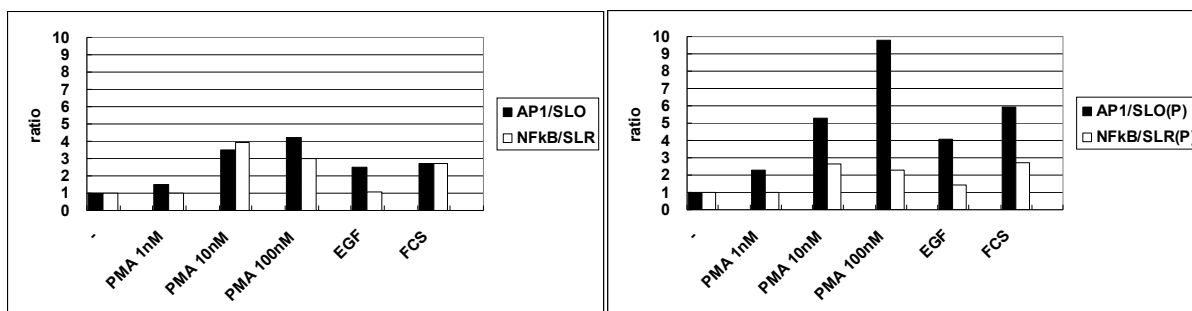


図 4. Short life タイプルシフェラーゼの初期応答性の向上

AP1 及び NF $\kappa$ B レスポンスエレメントを各レポーターシフェラーゼに連結し、インターナルコントロール pSLG-HSVtk control とともに、HeLa S3 細胞にコトランスフェクションした。無血清培地に各薬剤を添加し、3 時間インキュベートした。その後、ルシフェラーゼ活性を測定し、未処理条件を 1 としてプロットした。

### 3. ベクターバックボーン

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターシリーズとして、マルチクローニングサイトを含むプロモーター挿入用ベクターである test ベクター、及び control ベクターを取り揃えています。SV40 プロモーターまたは HSVtk プロモーターを挿入した control ベクターを用途によって使い分けることができます。

MultiReporter Assay System –Tripluc®– ベクターは以下のエレメントを有しております。

#### SV40 Early Promoter 及び Enhancer (pSLG/SLO/SLR-SV40 control)

Simian virus 40 に由来する転写制御配列であり、様々な細胞種で強力に比較的安定した発現を示します。発現活性が高いため、トランスフェクション効率の低い細胞株を用いる場合など、シグナルのレベルに問題がある場合に特に有効なコントロール用プロモーター配列です。これらのエレメントを含む control ベクターは SV40 プロモーター内に SV40 の複製起点を有するため、COS-1 及び COS-7 細胞のような SV40 large T antigen を発現する細胞では、一過性の複製が認められます。

#### HSVtk Promoter (pSLG-HSVtk control)

Herpes simplex virus thymidine kinase (HSVtk) 由来の転写制御配列プロモーターであり、低レベルの安定発現プロモーターです。発現活性が低い一方、SV40 プロモーターに比べ薬剤などの実験処理により変動する可能性が低く、より安定した内部標準として有用なコントロール用プロモーター配列です。

#### SV40 late poly(A) signal

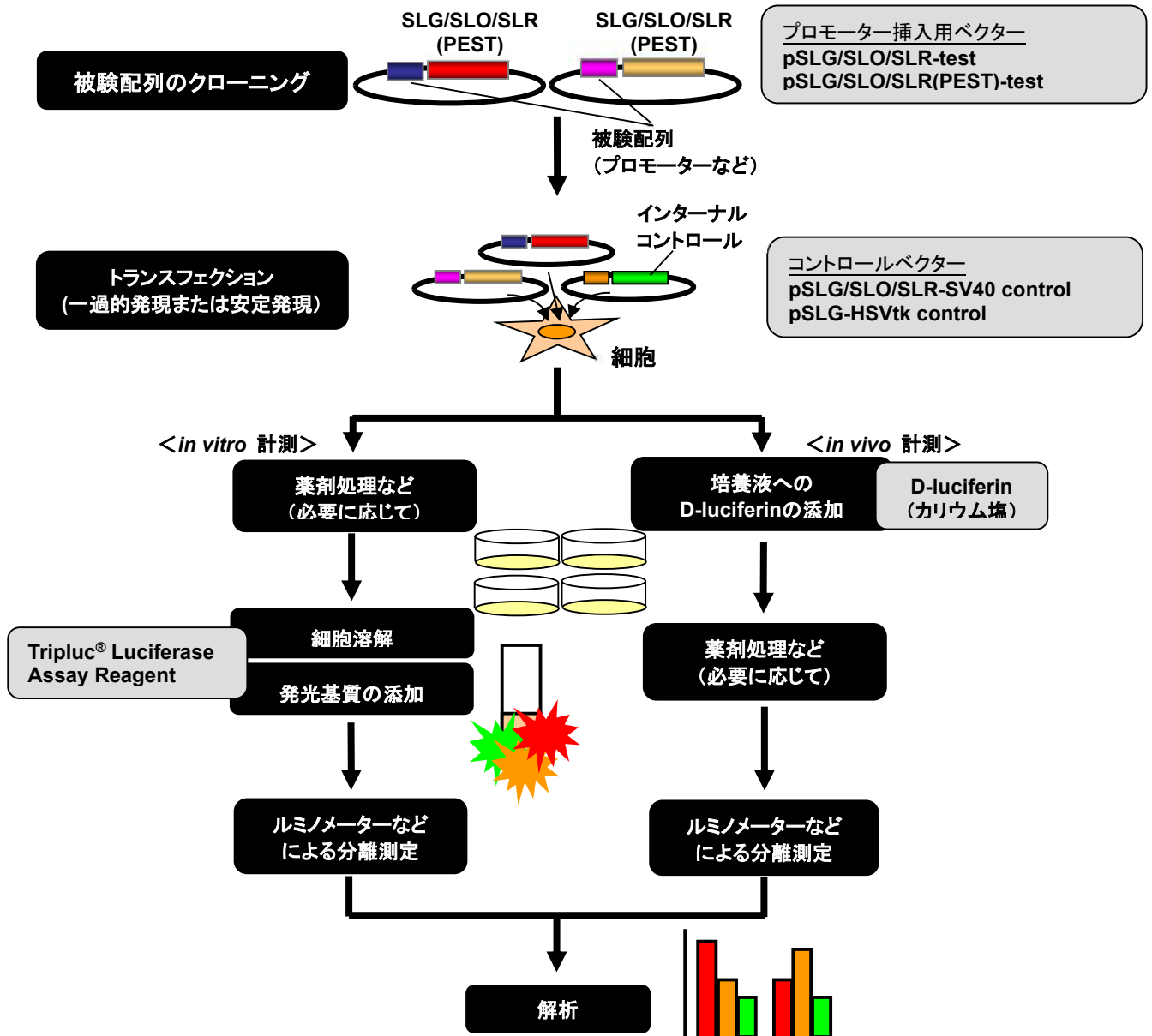
ポリアデニル化シグナルは RNA Polymerase II の転写終結に寄与し、転写産物の 3'末端に 200~250 bp 程度のアデノシンを付加します。これにより、RNA の安定性や翻訳効率が增大します。

#### Background reduction signal

ポリアデニル化シグナルである AATAAA を 2 つ含む SV40 early poly(A) signal をタンデムにルシフェラーゼ遺伝子上流に配置し、より強力な転写終結のためのシグナルとしてベクターバックボーンに起因するノイズシグナルを低減します(7)。マルチクローニングサイトの上流にタンデムに配置されているため、インサート確認用のプライマーを設計される場合には注意が必要です(p.7 をご参照下さい)。

## [4] 哺乳類細胞におけるアッセイ方法の概略

### 1. 実験フロー



\*1 ; より精度の高い測定をしていただくために、SLG、SLO、SLR の発光量ができるだけ同レベルになるようにプラスミドの混合量を調整いただくことをお勧めいたします。この際、SLO、SLR に比べ SLG の発光の相対レベルが高いため、内部標準としてご利用いただくことをお勧めいたします (内部標準としての SLG をご利用いただくことで、多くの場合、内部標準として添加いただくプラスミド量を抑えることができます)。

\*2 ; 2 色のアッセイでは SLG と SLR の組み合わせをお勧めいたします。

### 2. 被験配列(プロモーターなど)のクローニング

pSLG-test、pSLO-test、pSLR-test、pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test、pSLR(PEST)-test のマルチク

ローニングサイトへプロモーターなどのシスエレメントをクローニングします。

被験配列(プロモーターなど)のクローニングには、弊社 high fidelity ホットスタート PCR 酵素 KOD –Plus– (Code No. KOD-201)や KOD –Plus– Ver.2(Code No. KOD-211)のご使用をお勧めいたします。

インサートをご確認いただくためのコロニーダイレクト PCR あるいはシーケンス反応には、下記の挿入配列確認用プライマーのご使用をお勧めいたします。

### フォワードプライマー

① (pSLG/pSLO/pSLR 共通)「SLGOR-F primer」

**SLGOR-F**

CAA TGTATCTTAT CATGTCTGGA TC →

5' aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag ccataccaca ttgttagagg ttttacttgc tttaaaaaac  
ctccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg caattgttgt tgtaaacttg tttattgcag ottataatgg  
ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac  
tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcataatgt atcttatcat  
gtctgctcga ggtcgcagggt atcgataagc ttacgcgtgc tagcgcattc agatctacta gtcggccgga tctcgaattc  
Xho I Sal I Cla I Hind III\*1 Mlu I Nhe I Sph I Bgl II Spe I EcoR V EcoR I

ctgcagccca ccaccatgg  
Pst I\*2

マルチクローニングサイト

SLG/SLO/SLR

\*1 Hind III認識配列はpSLG/SLO/SLR(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお勧めできません。

\*2 Pst I認識配列はSLR遺伝子内にも存在しますので、pSLR-test、pSLR(PEST)-testベクターへのインサートの挿入に用いることはお勧めできません。

(注) バックグラウンド低減シグナルとして SV40 poly(A) signal が複数配置されているため、プライマーをマルチクローニングサイトの<sup>上流近傍</sup>に設計されますと、PCR 反応やシーケンス反応を上手く行うことができません。

### リバースプライマー

① (pSLG/pSLO 共通)「SLGO-R primer」

5' ctcgaggtcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcg aattcctgca  
Xho I Sal I Cla I Hind III\*1 Mlu I Nhe I Sph I Bgl II Spe I EcoR V EcoR I Pst I  
90 100 110 120 130 140 150 160  
gccaccacc atggctaagc agatcatcct gcacggcgc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
SLG/SLO → ← GTAGGA CGTGCCGCGG TTCGGGTC  
170 180  
agctctacag ggccctgacc SLGO-R primer

\* 数字はpSLG-test、pSLO-test、pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-testの配列番号を示します。

\*1 Hind III認識配列はpSLG(PEST)/SLO(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお勧めできません。

② (pSLR 用)「SLR-R primer」

5' ctcgaggtcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcg aattcctgca  
Xho I Sal I Cla I Hind III\*1 Mlu I Nhe I Sph I Bal II Spe I EcoR V EcoR I Pst I\*2  
90 100 110 120 130 140 150 160  
gccaccacc atggaagaag agaacatcgt gaatgggat cgcctcggg atctggtgtt cctggcaca gccggcctgc  
SLR → ← GCA CTTACCGCTA GCGGGAGCCC  
170 180  
agctgtatca gtcctgtat SLR-R primer

\* 数字はpSLR-testの配列番号を示します。

\*1 Hind III認識配列はpSLR(PEST)-testベクターのプロモーター挿入に用いることはお勧めできません。

\*2 Pst I認識配列はSLR遺伝子内にも存在しますので、pSLR-testベクターへのインサートの挿入に用いることはお勧めできません。



### 3. 発光の色分離測定

MultiReporter Assay System –Tripluc®–の色分離測定には、アトー株式会社「ルミネッセンサーMCA」(Code No. AB-2250)、あるいは微弱発光対応型マルチラベルプレートリーダー(パーキンエルマー社「ARVO シリーズ」など)など、色分離機能を備えたルミノメーターを用いることにより分離測定が可能です。

さらに、リアルタイム計測にはアトー株式会社「クロノス」(Code No. AB-2500)による色分離測定が可能です。

#### (1) チューブタイプルミノメーターを用いた 3 色ルシフェラーゼの分離測定

アトー株式会社「ルミネッセンサーMCA」を用いた測定方法をご紹介します。これらのルミノメーターには、色分離のため、560 nm ロングパスフィルター(560 nm LP、Filter 1)と 600 nm ロングパスフィルター(600 nm LP、Filter 2)が内蔵されています。

まず、SLG、SLO、SLR をそれぞれ別々に発現させた細胞を用いて、①フィルターを用いない測定(全光)、②560 nm LP (Filter 1)透過光の測定、③600 nm LP (Filter 2)透過光の測定を実施し、下記の係数を算出します。

係数名		表記	測定法
SLG	Filter 1 透過率	T1g	SLG 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2g	SLG 全光に対する Filter 2 透過光の割合
SLO	Filter 1 透過率	T1o	SLO 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2o	SLO 全光に対する Filter 2 透過光の割合
SLR	Filter 1 透過率	T1r	SLR 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2r	SLR 全光に対する Filter 2 透過光の割合

3 色のルシフェラーゼを含むサンプル中の SLG、SLO、SLR の発光量を G、O、R とした場合、①フィルターを用いない測定(全光)光量; F0、②560 nm LP (Filter 1)透過光の測定光量; F1、③600 nm LP (Filter 2)透過光の測定光量; F2 は下記のように記述されます。

$$F0 = G + O + R$$

$$F1 = T1g * G + T1o * O + T1r * R$$

$$F2 = T2g * G + T2o * O + T2r * R$$

つまり、各係数を決定し、F0、F1、F2 を測定することによって、G、O、R は下記のように算出されます。

$$G = \frac{(T1o * T2r - T1r * T2o) * F0 + (T2o - T2r) * F1 + (T1r - T1o) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

$$O = \frac{(T1r * T2g - T1g * T2r) * F0 + (T2r - T2g) * F1 + (T1g - T1r) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

$$R = \frac{(T1g * T2o - T1o * T2g) * F0 + (T2g - T2o) * F1 + (T1o - T1g) * F2}{T1g * T2o + T1r * T2g + T1o * T2r - T1g * T2r - T1r * T2o - T1o * T2g}$$

係数を予め入力しておくことで、G、O、R を自動で算出することが可能です。

\* 上記測定原理は、アトー株式会社より特許出願中です(特開 2004-333457)。

\*\* 2 色の場合の色分離測定には、560 nm LP (Filter 1)または 600 nm LP (Filter 2)のいずれかのフィルター、及び全光の測定で色分離測定が行えます。SLG 及び SLR、SLO 及び SLR をご使用の場合は 600 nm LP (Filter 2)を、SLG 及び SLO をご使用の場合は 560 nm LP (Filter 1)を選択いただくことをお勧めいたします。

## (2) プレートリーダーを用いた3色ルシフェラーゼの分離測定

パーキンエルマー社「ARVO シリーズ」を用いた測定方法をご紹介します。測定用フィルターとして、①波長510nm:半値幅60nm (Filter1)、②595nm:60nm (Filter2)、③660nm:100nm (Filter3)を使用します。

まず、SLG、SLO、SLR をそれぞれ別々に発現させた細胞を用いて、①フィルターを用いない測定(全光)、②Filter 1 透過光の測定、③Filter 2 透過光の測定、④Filter 3 透過光の測定を実施し、下記の係数を算出します。

係数名		表記	測定法
SLG	Filter 1 透過率	T1g	SLG 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2g	SLG 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3g	SLG 全光に対する Filter 3 透過光の割合
SLO	Filter 1 透過率	T1o	SLO 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2o	SLO 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3o	SLO 全光に対する Filter 3 透過光の割合
SLR	Filter 1 透過率	T1r	SLR 全光に対する Filter 1 透過光の割合
	Filter 2 透過率	T2r	SLR 全光に対する Filter 2 透過光の割合
	Filter 3 透過率	T3r	SLR 全光に対する Filter 3 透過光の割合

3色のルシフェラーゼを含むサンプル中のSLG、SLO、SLRの発光量をG、O、Rとした場合、①Filter 1の測定光量;F1、②Filter 2の測定光量;F2、③Filter 3の測定光量;F3は下記のように記述されます。

$$\begin{pmatrix} F1 \\ F2 \\ F3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T1g & T1o & T1r \\ T2g & T2o & T2r \\ T3g & T3o & T3r \end{pmatrix} \begin{pmatrix} G \\ O \\ R \end{pmatrix}$$

つまり、各係数を決定し、F0、F1、F2を測定することによって、G、O、Rは下記のように算出されます。

$$\begin{pmatrix} G \\ O \\ R \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T1g & T1o & T1r \\ T2g & T2o & T2r \\ T3g & T3o & T3r \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} F1 \\ F2 \\ F3 \end{pmatrix}$$

この計算は、Microsoft® Excelを用いて行うことができます。下記のMicrosoft® Excelの関数をご利用ください。

### 逆行列の算出

算出結果(逆行列)を表示するセル(「3行×3列」の範囲)を指定後、「MINVERSE」関数を選択し、元になる配列(「3行×3列」の範囲)を指定し、「Ctrl キー+ Shift キー」を押しながら「OK」をクリックします。

### 行列計算

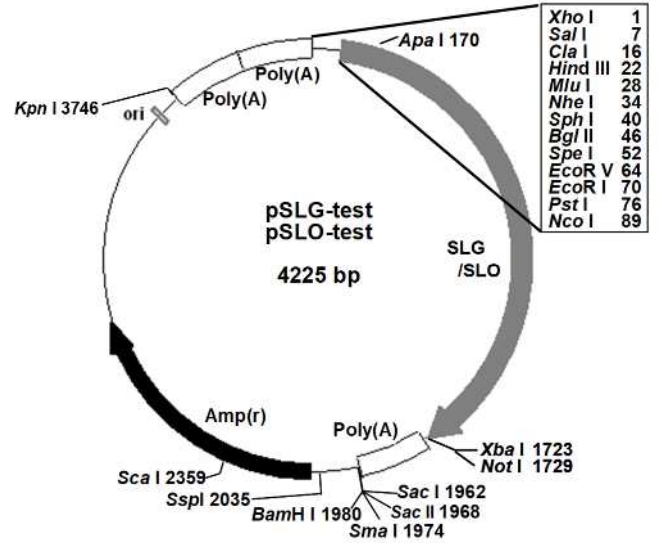
算出結果を表示するセル(「3行×1列」の範囲)を指定後、「MMULT」関数を選択し、透過率の逆行列(「3行×3列」の範囲)及び測定値の行列(「3行×1列」の範囲)の配列2つを指定後、「Ctrl キー + Shift キー」を押しながら「OK」をクリックします。

## [5] ベクターマップ及び配列情報

### (1) pSLG-test、pSLO-test

#### pSLG-test、pSLO-test

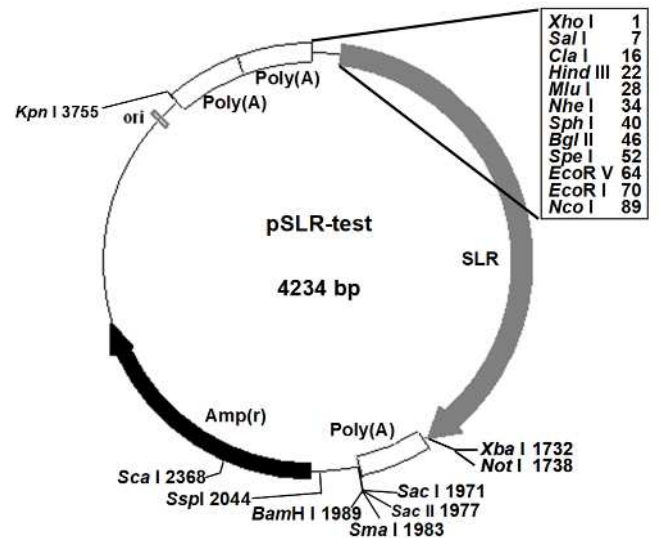
Multiple cloning region	1-77
SLG/SLO gene	91-1722
SV40 late poly(A) signal	1736-1961
β-lactamase (Amp (r)) gene	2055-2915
background reduction signal	3752-4225
SLGOR-F primer	3968-3992
SLGO-R primer(complementary)	105-128



### (2) pSLR-test

#### pSLR-test

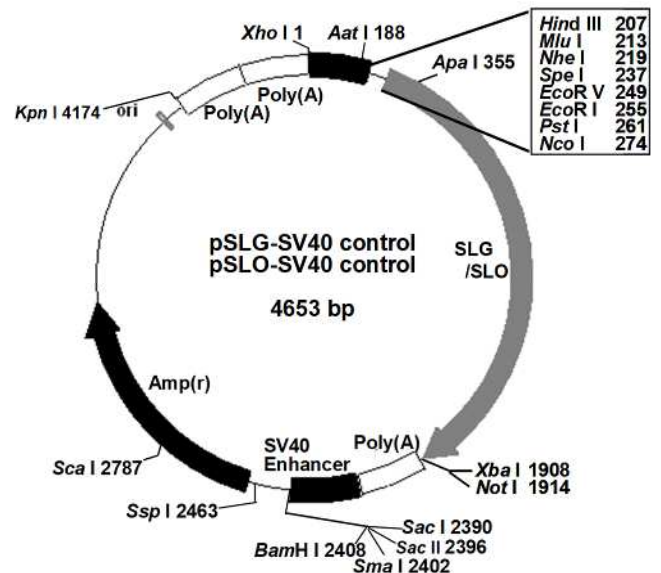
Multiple cloning region	1-77
SLR gene	91-1731
SV40 late poly(A) signal	1745-1970
β-lactamase (Amp (r)) gene	2064-2924
background reduction signal	3761-4234
SLGOR-F primer	3977-4001
SLR-R primer(complementary)	108-130



### (3) pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

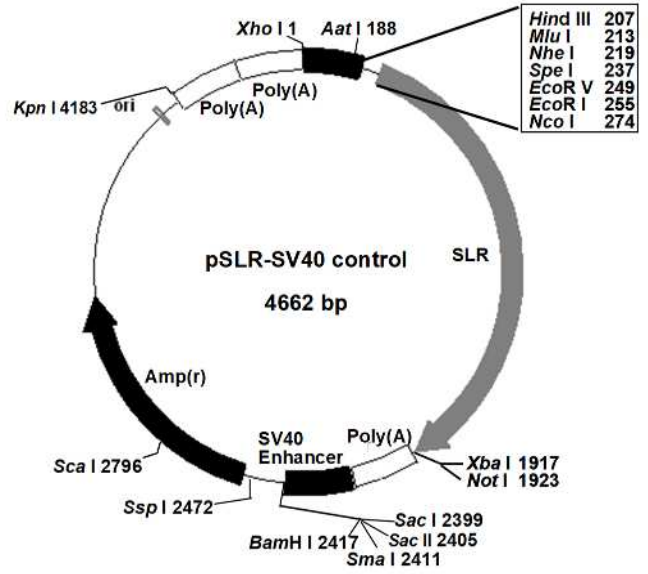
#### pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

SV40 early promoter	7-207
SLG/SLO gene	276-1907
SV40 late poly(A) signal	1921-2144
SV40 enhancer	2145-2389
β-lactamase (Amp (r)) gene	2483-3343
background reduction signal	4180-4653



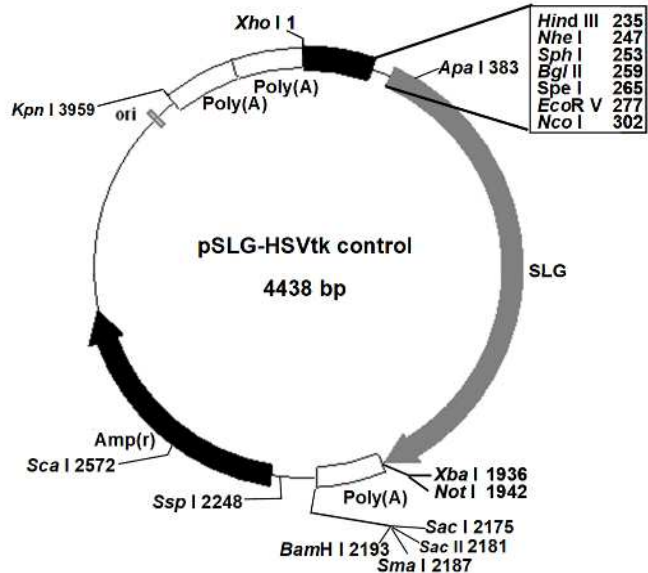
**(4) pSLR-SV40 control**

<b>pSLR-SV40 control</b>	
SV40 early promoter	7-207
SLR gene	276-1916
SV40 late poly(A) signal	1930-2153
SV40 enhancer	2154-2398
β-lactamase (Amp (r)) gene	2492-3352
background reduction signal	4189-4662



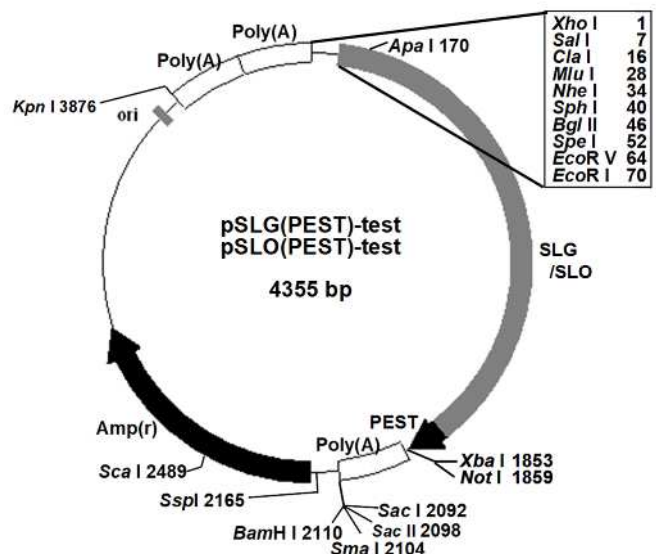
**(5) pSLG-HSVtk control**

<b>pSLG-HSVtk control</b>	
HSVtk promoter	7-234
SLG gene	304-1935
SV40 late poly(A) signal	1949-2174
β-lactamase (Amp (r)) gene	2268-3128
background reduction signal	3965-4438



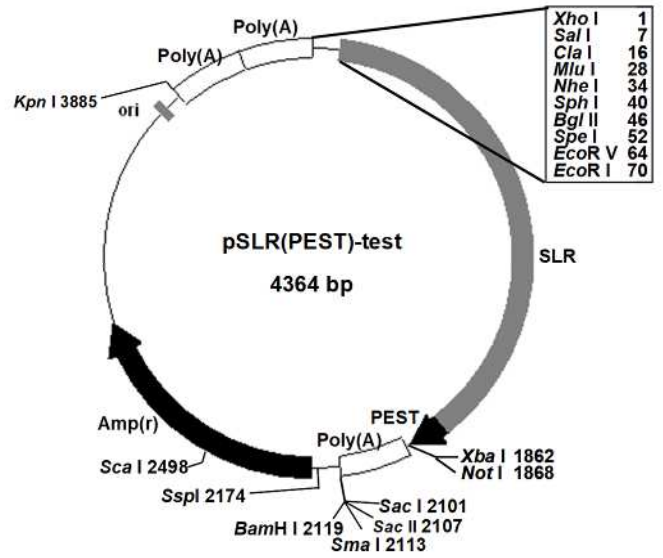
**(6) pSLG(PEST)-test, pSLO(PEST)-test**

<b>pSLG(PEST)-test, pSLO(PEST)-test</b>	
Multiple cloning region	1-77
SLG/SLO gene	91-1719
PEST	1720-1842
SV40 late poly(A) signal	1860-2090
β-lactamase (Amp (r)) gene	2185-3045
background reduction signal	3876-4355
SLGOR-F primer	4098-4122
SLGO-R primer(complementary)	105-128



(7) pSLR(PEST)-test

<b>pSLR(PEST)-test</b>	
Multiple cloning region	1-77
SLR gene	91-1728
PEST	1729-1851
SV40 late poly(A) signal	1869-2099
β-lactamase (Amp (r)) gene	2194-3054
background reduction signal	3885-4364
SLGOR-F primer	4107-4131
SLR-R primer(complementary)	108-130



## [6] ベクター制限酵素認識部位及び塩基配列

### (1) pSLG-test、pSLO-test

表 1. pSLG-test、pSLO-test ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3746	<i>Bsp</i> CI	1	2470	<i>Nco</i> I	1	89
<i>Acc</i> I	2	7 263	<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Ac</i> I	2	2239 2612	<i>Bsp</i> MI	2	1114 651	<i>Not</i> I	1	1729
<i>Afl</i> III	2	28 3730	<i>Bsr</i> BRI	2	3752 3989	<i>Nsp</i> I	2	40 3730
<i>Ahd</i> I	1	2837	<i>Bsr</i> DI	2	2601 2783	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Alw</i> 44I	2	2170 3416	<i>Bsr</i> GI	1	368	<i>Pci</i> I	1	3730
<i>Alw</i> NI	2	565 3316	<i>Bss</i> SI	2	2173 3557	<i>Psh</i> BI	1	2666
<i>Apa</i> I	1	170	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Psp</i> AI	1	1974
<i>Apa</i> LI	2	2170 3416	<i>Bst</i> ZI	2	58 1730	<i>Pst</i> I	1	76
<i>Ase</i> I	1	2666	<i>Bsu</i> 36I	1	192	<i>Pvu</i> I	1	2470
<i>Ava</i> I	2	1 1974	<i>Cfr</i> 9I	1	1974	<i>Pvu</i> II	1	258
<i>Avi</i> II	1	2617	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Sac</i> I	1	1962
<i>Axy</i> I	1	192	<i>Drd</i> I	1	3622	<i>Sac</i> II	1	1968
<i>Bal</i> I	2	1016 1061	<i>Eag</i> I	2	58 1730	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bam</i> HI	1	1980	<i>Eam</i> 1105I	1	2837	<i>San</i> DI	1	128
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Ecl</i> HKI	1	2837	<i>Sca</i> I	1	2359
<i>Bbs</i> I	2	1152 1630	<i>Eco</i> 52I	2	58 1730	<i>Sex</i> AI	1	1421
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Eco</i> 81I	1	192	<i>Sgr</i> AI	2	1020 1509
<i>Bcg</i> I	1	2315	<i>Eco</i> ICRI	1	1962	<i>Sma</i> I	1	1974
<i>Bgl</i> I	1	2718	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bmr</i> I	2	2792 563	<i>Fsp</i> I	1	2617	<i>Ssp</i> I	1	2035
<i>Bsa</i> AI	1	1183	<i>Hind</i> III	1	22	<i>Tfi</i> I	2	881 923
<i>Bsa</i> BI	2	3752 3989	<i>Psp</i> OMI	1	170	<i>Vsp</i> I	1	2666
<i>Bso</i> BI	2	1 1974	<i>Kpn</i> I	1	3746	<i>Xba</i> I	1	1723
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> 1407I	1	368	<i>Msc</i> I	2	1016 1061	<i>Xma</i> I	1	1974

表 2. pSLG-test、pSLO-testベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI
<i>Bss</i> HIII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cpo</i> I
<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I
<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI
<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I
<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I					

### pSLG-test ベクター配列

1 ctcgaggtcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg cggatatcg aattcctgca  
81 gcccaccacc atggctaacc agatcatcct gcacggcgcc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tctgaggga ggccctgac gacgccaca cagaggaggt ggtgtcttac  
241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgt acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt  
321 gtgcagcgag aatagacca tcttcttcta cccctgacg gccgcctgt acatggcggt gatcaccgcc accgtgaacg

401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactggtgt totgctcaa gaaggccatc  
 481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatgggcca  
 561 ggcccagtcg ctgagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcc  
 641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccaccggc ctgccaaagg gctggtgtct gaccacagg  
 721 aacctgagcg tgcgcttctg ccaactgcaag gacccccctg tcggcaccag aacctatccc tccacctcca tctgttccat  
 801 cgtgcccttc caccacgcct tcggaatggt cacaaccctg tcctacttca tegtgggctt gagagtgtgt ctgctgaaga  
 881 gattcgagga gaagtcttcc ctgagcacca tcgagaagta cagaatocca acaatcgtgc tggcccctcc tgtgatggtg  
 961 ttcttgctga agagcccctt ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcggcg cccctgtggg  
 1041 caccgaggtt gocgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggcgcatcc tocagggcta cggcctgacc gagacctgct  
 1121 gcgcccgtgt gatcaccccc cacgacgacg tgaagaccgg ctccaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
 1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
 1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggtt ggctgcactc cggcgacgtg ggatactacg  
 1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggtt accaggtggc ccccgccgag  
 1441 ctggagtggc tgctgctcca gcacctatc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg ccggcgagct  
 1521 gcccggcgcc tgcacgtgtc tccaggaggg caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgcc gagcgagtgt  
 1601 ctcccaccaa ggcacatccg ggccggagtgc tcttctgga cgacatcccc aaggggccca cggcaagctt ggtgagaagc  
 1681 gagctcggga agctgctggc ccagaagaag tccaagctgt aatctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat  
 1761 gagtttgtag aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaaat gctttatttg tgaattttgt gatgctattg ctttattttg  
 1841 aaccattata agctgcaata aacaagttaa caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg  
 1921 aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca aatgtggtat ggagctcccg cggcccgggg gatcctcaaa tatgtatccg  
 2001 ctcatgagac aataaccctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc  
 2081 ccttattccc ttttttgogg cattttgcc tctgttttt gctcaccagc aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag  
 2161 atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaaaga  
 2241 cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact  
 2321 cggtcgccgc atacactatt ctcaaatga cttggttag tactcaccag tcacagaaaa gcattctacg gatggcatga  
 2401 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacctgcg gccaacttac ttctgacaac gatcggagga  
 2481 ccgaaggagc taaccgcttt ttgcaaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga  
 2561 agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac  
 2641 tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttagcag gaccacttct gcgctcggcc  
 2721 cttccggctg gctggtttat tgcgtataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc  
 2801 agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg  
 2881 ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa  
 2961 cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaaa atcccctaac gtgagttttc  
 3041 gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt totgcccgta atctgctgct  
 3121 tgcaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgtt gccggatcaa gagctacca cttttttcc gaaggtaact  
 3201 ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc  
 3281 accgcctaca tacctcgtc tgcataatcct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa tgcgtgtctt accgggttgg  
 3361 actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga  
 3441 acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaagcgc cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag  
 3521 gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgctggtat ctttatagtc  
 3601 ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc  
 3681 agcaacgcgg cttttttacg gttcctggcc ttttctgctc cttttgctca catgttcttt cctgcggtac cgatcataat  
 3761 cagccatacc acattttag aggttttact tgccttaaaa aacctcccac acctcccctt gaacctgaaa cataaaatga  
 3841 atgcaattgt tgttgttaac ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat  
 3921 aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctgga tcataatcag  
 4001 ccataccaca tttgttagagg tttacttgc tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg  
 4081 caattgttgt tgttaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaataaa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa  
 4161 gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgccaac tcacatcat atcttatcat gctctg

**pSLO-test ベクター配列**

1 ctcgaggctc acggtatcga taagccttac cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccggatatcg aattcctgca  
 81 gccaccacc atggctaacc agatcatcct gcacggcgcc aagcccagg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
 161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tctgaggga ggccctgatc gacgccaca ccgaggaggt ggtgtcttac  
 241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgtc acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt

321 gtgcagcgag aatagcacca ttttcttcta ccccgatgac gccgcctgt acatgggogt gatcaccgcc accgtgaacg  
401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga ccctgaacat ctccaagccc gaactgggtg totgctcaa gaaggccatc  
481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaagggtgt gctgctggac agcaaggagg atatgggoga  
561 ggcccagtg ctagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg  
641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccacgggc ctgccaaagg gcgtgggtgct gaccacagg  
721 aacctgagcg tgcgcttctg cactgcaag gacccctgt tcggcaacag aacctcccc tccacctcca tctgtccat  
801 cgtgcccttc caccacgct tcggaatgt cacaaccctg tcctacttca togtgggocg gagagtgggt ctgtgaaga  
881 gattcgagga gaagtcttc ctgagcacca tcgagaagta cagaatocca acaatcgtgc tggccctcc tgtgatgggt  
961 ttcctggcta agagccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agagggtggc accggcggcg cccctgtggg  
1041 caccgaggtt gccgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggcgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgct  
1121 gcgcccgtgct gatcaccccc cagcagcag tgaagaccgg ctccaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggtt ggctgcactc cggcgactg ggatactacg  
1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggtt accaggtggc cccgcggag  
1441 ctggagtggc tgctgctcca gcacctcc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg ccggcgagct  
1521 gcccggcgcc tgcctcgtgc tccaggagg caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatgcc gagcgagtgt  
1601 ctcccaccaa gcgcatccgg ggcggagtgc tctcgtgga cgacatcccc aagggcgcca ccggcaagct ggtgagaagc  
1681 gagctcgga agctgctggc ccagaagaag tccaagctgt aatctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat  
1761 gagtttgac aaaccacaac tagaatgcag tgaaaaaat gctttatttg tgaatttgat gatgctattg ctttatttg  
1841 aaccattata agctgcaata aacaagttaa caacaacat tgcattcatt ttatgttca ggttcagggg gaggtgtggg  
1921 aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca aatgtggtat ggagctcccg cggccggggg gatcctcaa tatgtatccg  
2001 ctcatgagac aataacctg ataatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc  
2081 ccttattccc tttttgagg cttttgctt tctgttttt gctcaccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag  
2161 atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa  
2241 cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgcccggc aagagcaact  
2321 cggtcgccc atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactaccag tcacagaaaa gcattctac gatggcatga  
2401 cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacctgcg gccaacttac tctgacaac gatcggagga  
2481 ccgaaggagc taaccgctt tttgcacaac atgggggatc atgtaactc ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga  
2561 agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac  
2641 tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctggcc  
2721 cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgggt atcattgcag cactggggcc  
2801 agatggaag ccctcccgt tctagttat ctacacgagc gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatc  
2881 ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt gtaactgct agaccaagtt tactcatata tactttgat tgatttaaaa  
2961 cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg aagatcctt ttgataatct catgacaaa atcccctaac gtgagttttc  
3041 gttccactga gogtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atccttttt tctgcccgt atctgctgct  
3121 tgcaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggttgttt gccggatcaa gagctacca ctctttttcc gaaggtaact  
3201 ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc  
3281 accgcctaca tacctcgtc tgctaactct gttaccagt gctgctgcca gtggcgataa tctgtgtctt accgggttg  
3361 actcaagac atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga  
3441 acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gaaaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag  
3521 gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcagc agggagcttc cagggggaaa cgctggtat ctttatagtc  
3601 ctgtcgggtt tgcacacctc tgacttgagc gtcgattttt gtgatgctcgc tcaggggggc ggagcctat gaaaaacgcc  
3681 agcaacgagg cctttttacg gttcctggcc tttgtctgac cttttgctca catgttcttt cctgcccgtac cgatcataat  
3761 cagccatacc acattttag aggttttact tgccttaaaa aacctcccac acctccccct gaacctgaaa cataaaatga  
3841 atgcaattgt tgtttttaa ttgtttattg cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat  
3921 aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt ggtttgtcca aactcatcaa tctatcttat catgtctgga tcataatcag  
4001 ccataccaca tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cotgaaacat aaaatgaatg  
4081 caattgttgt gttaacttg tttattgcag cttataatgg ttacaataaa agcaatagca tcacaaattt cacaaataa  
4161 gcatttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gctgtg



## (2) pSLR-test

表1. pSLR-test ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3755	<i>Bst</i> EII	1	1599	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Acc</i> I	1	7	<i>Bst</i> PI	1	1599	<i>Not</i> I	1	1738
<i>Ac</i> /I	2	2248 2621	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Nsp</i> V	1	250
<i>Afl</i> III	2	28 3739	<i>Bst</i> ZI	2	58 1739	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	2	1070 2846	<i>Bsu</i> 36I	1	694	<i>Pci</i> I	1	3739
<i>Alw</i> 44I	2	2179 3425	<i>Cbi</i> I	1	250	<i>Ple</i> I	2	2852 3369
<i>Apa</i> LI	2	2179 3425	<i>Cfr</i> 9I	1	1983	<i>Psh</i> BI	1	2675
<i>Ase</i> I	1	2675	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Psp</i> 1406I	2	2248 2621
<i>Avi</i> II	1	2626	<i>Csp</i> 45I	1	250	<i>Psp</i> AI	1	1983
<i>Axy</i> I	1	694	<i>Drd</i> I	1	3631	<i>Pvu</i> I	2	117 2479
<i>Bam</i> HI	1	1989	<i>Eag</i> I	2	58 1739	<i>Pvu</i> II	2	160 1519
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eam</i> 1104I	2	97 2057	<i>Sac</i> I	1	1971
<i>Bbe</i> I	1	1162	<i>Eam</i> 1105I	2	1070 2846	<i>Sac</i> II	1	1977
<i>Bbs</i> I	1	903	<i>Ear</i> I	2	97 2057	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Ecl</i> HKI	2	1070 2846	<i>Sbf</i> I	1	1089
<i>Bbv</i> CI	1	1686	<i>Eco</i> 52I	2	58 1739	<i>Sca</i> I	1	2368
<i>Bci</i> VI	2	2003 3530	<i>Eco</i> 81I	1	694	<i>Sex</i> AI	1	1424
<i>Bcl</i> I	2	662 707	<i>Eco</i> ICRI	1	1971	<i>Sfo</i> I	1	1162
<i>Bgl</i> I	2	1658 2727	<i>Eco</i> O65I	1	1599	<i>Sgf</i> I	1	116
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sgr</i> AI	1	1341
<i>Bmr</i> I	1	2801	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sma</i> I	1	1983
<i>Bsa</i> I	2	2779 1111	<i>Eco</i> T14I	1	89	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bse</i> RI	1	944	<i>Ehe</i> I	1	1162	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Fba</i> I	2	662 707	<i>Sse</i> 8387I	1	1089
<i>Bsp</i> 1407I	1	404	<i>Fsp</i> I	1	2626	<i>Ssp</i> I	1	2044
<i>Bsp</i> CI	2	117 2479	<i>Hind</i> III	1	22	<i>Sty</i> I	1	89
<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Kas</i> I	1	1162	<i>Vsp</i> I	1	2675
<i>Bsp</i> MI	1	1616	<i>Kpn</i> I	1	3755	<i>Xba</i> I	1	1732
<i>Bsr</i> BI	2	1736 2007	<i>Lsp</i> I	1	250	<i>Xcm</i> I	2	968 1307
<i>Bsr</i> DI	2	2610 2792	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsr</i> GI	1	404	<i>Mly</i> I	2	3369 2852	<i>Xma</i> I	1	1983
<i>Bss</i> SI	2	2182 3566	<i>Nar</i> I	1	1162	<i>Xmn</i> I	1	2247
<i>Bst</i> BI	1	250	<i>Nco</i> I	1	89			

表2. pSLR-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apa</i> I	<i>Asc</i> I
<i>Avr</i> II	<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI
<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III
<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O109I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I
<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OMI
<i>Rsr</i> II	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 9II

### pSLR-test ベクター配列

```

1  ctcgaggtcg acggtatoga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccggatatcg aattoctgca
91  gccaccacc atggaagaag agaacatcgt gaatggcgat cgccctcggg atctggtgtt ccttggcaca gccggcctgc
161 agctgtatca gtccctgtat aaatactctt acatcaccga cggaatcadc gacgccaca ccaacgaggt gatctcctat
241 gccagattt tggaaacaag ttgccgcctg gccgtgagcc tggagaagta tggcctggat cacaacaacg tggcggccat

```

321 ttgcagcgag aacaacatcc acttcttcgg cctctgacg gctgcctat accaggggat tccaatggcc acatccaacg  
401 atatgtacac cgagagggag atgatcggcc acctgaacat ctccaagcca tgtctgatgt tctgttccaa gaagtccctg  
481 ccattcatcc tgaaggtgca gaagcacctg gactttctca agaaggtgat cgtgatcgac agcatgtacg acatcaacgg  
561 cgtggagtgc gtgttcagtt tctgttcccg gtacaccgat catgcgttcg atccagtgaa gttcaaccct aaagagtttg  
641 atcccctgga gagaaccgcg ctgatcatga catcctctgg aacaaccggc ctgcctaagg gcgtggtgat cagccacagg  
721 agcatcacca tcagattcgt ccacagcagc gatcccatct acggcacccg catcgcccca gatacatcca tcttgccat  
801 cgcccctttc caccacgcct tcggactggt taccgccctg gcttactttc cagtgggcoct gaagatcgtg atggtgaaaa  
881 agtttgaggg cgagttcttc ctgaagacca tccagaacta caagatcgtc tctatcgtgg tgccctctcc aatcatggtg  
961 tatctggcca agagccctct ggtggatgag tacaatctgt ccagcctgac agagatcgcc tgtggcggct cccctctggg  
1041 cagagacatc gccgacaagg tggccaagag actgaaggtc cacggcatcc tgcagggcta tggcctgacc gagacctgta  
1121 gcgccctgat cctgagcccc aacgatagag agctgaagaa gggcgccatc ggcccccta tgccctatgt ccaggtgaag  
1201 gtgattgaca tcaacaccgg caaagccctg ggaccaagag agaagggcga gatttgcttc aagagccaga tgctgatgaa  
1281 gggctaccac aacaaccac aggccaccag ggatgccctg gacaaggacg ggtggctgca caccggcgtat ctgggctact  
1361 acgacgagga cagattcatc tatgtggtgg atcggctgaa agaactcatc aagtacaagg gctaccaggt ggcccctgcc  
1441 gagctggaga acttgcttct gcagaccct aacatctctg atgccggcgt catcggcatc ccagacgagt ttgcccggca  
1521 gctgccttcc gctgtgtcg tgctggagcc tggcaagacc atgaccgaga aggaggtgca ggattatata gccgagctgg  
1601 tgaccaccac caagcacctg cggggcggcg tgggttctat cgacagcatt ccgaaaggcc caacaggcaa gctgatgaga  
1681 aacgagctga gggccatctt tgcccgcgag caggccaagt ccaagctgta atctagagcg gccgccaga catgataaga  
1761 tacattgatg agtttgaca aaccacaact agaatgcagt gaaaaaatg ctttatttgt gaaatttgtg atgctattgc  
1841 tttatttcta accattataa gctgcaataa acaagttaac aacaacaatt gcattcattt tatgtttcag gttcaggggg  
1921 aggtgtggga ggttttttaa agcaagtaaa acctctacaa atgtggtatg gagctccgcg gcccccgggg atcctcaaat  
2002 atgtatocgc tcatgagaca ataaccctga taaatgcttc aataatattg aaaaaggag agtatgagta ttcaacattt  
2081 ccgtgtgcc cttattccct tttttcggc attttgcctt cctgtttttg ctcaccaga aacgctggtg aaagtaaaag  
2161 atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg gttacatcga actggatctc aacagcggta agatccttga gaggtttgc  
2241 cccgaagaac gttttccaat gatgagcact tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tcccgtattg acgcccggca  
2321 agagcaactc ggtcgcgca tacactatc tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag catcttacgg  
2401 atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg ctgccataac catgagtgat aacactcgg ccaacttact tctgacaacg  
2481 atcggaggac cgaaggagct aaccgctttt ttgcacaaca tgggggatca tgtaactcgc ctgatcgtt gggaaccgga  
2561 gctgaatgaa gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgtag caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa  
2641 ctggcgaact acttactcta gcttcccggc aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg  
2721 cgctcggccc ttccggtggt ctggtttatt gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgggta tcatgagc  
2801 actggggcca gatgtaagc cctcccgtat cgtagttatc tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat gaacgaata  
2881 gacagatcgc tgagataggt gcctcactga ttaagcattg gtaactgtca gaccaagttt actcatatat actttagatt  
2961 gatttaaac ttcatthta atttaaaagg atctaggtga agatcctttt tgataatctc atgacaaaaa tccottaacg  
3041 tgagttttc ttccactgag cgtcagacc cgtagaaaag atcaaaggat cttcttgaga tccctttttt ctgocgta  
3121 tctgtcgtt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggg ggtttgtttg ccgatcaag agctaccaac tctttttccg  
3201 aaggttaact gcttcagcag agcgcagata ccaataactg ttcttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa  
3281 ctctgtagca ccgcctacat acctcgctct gctaactcctg ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag tctgtctta  
3361 ccgggttgga ctcaagacga tagttaccgg ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagocccagc  
3441 ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga tacctacagc gtgagctatg agaaagcgc acgcttccg aaggagaaa  
3521 ggcggacagg tatccgtaaa gcggcagggt cggacagga gagcgcacga gggagcttc agggggaac gcctggtatc  
3601 tttatagtcc tctcgggttt cgcacctct gacttgagc tctgattttg tgatgctcgt cagggggcg gagcctatgg  
3681 aaaaacgcca gcaacgcggc ctttttacgg ttcttgccct tttgctggcc ttttctcac atgttctttc ctgocgtacc  
3761 gatcataatc agccatacca cattttaga gttttactt gctttaaaaa acctcccaca cctccccctg aacctgaaac  
3841 ataaaatgaa tgcaattggt gttgttaact tgtttattgc agcttataat gtttacaat aaagcaatag catcacaat  
3921 ttcacaaata aagcattttt ttoactgcat tctagttgtg gtttgccaa actcatcaat gtatcttata atgtctggat  
4001 cataatcagc cataccacat ttgtagaggt tttacttgc ttaaaaaacc tcccacact cccctgaac ctgaaacata  
4081 aaatgaatgc aattgtgtt gtaacttgt ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat cacaaattc  
4161 acaataaag cattttttc actgcattct agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctg

### (3) pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control

表 1. pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control ベクターを 1~5 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Aat</i> I	1	188	<i>Bsr</i> DI	2	3029 3211	<i>Nsi</i> I	2	2242 2314
<i>Acc</i> 65I	1	4174	<i>Bsr</i> GI	1	553	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Acc</i> I	1	448	<i>Bss</i> SI	2	2601 3985	<i>Pci</i> I	1	4158
<i>Ac</i> I	2	2667 3040	<i>Bst</i> API	2	2244 2316	<i>Psh</i> BI	1	3094
<i>Afl</i> III	2	213 4158	<i>Bst</i> XI	1	268	<i>Psp</i> 1406I	2	2667 3040
<i>Ahd</i> I	1	3265	<i>Bst</i> ZI	2	243 1915	<i>Psp</i> AI	1	2402
<i>Alw</i> 44I	2	2598 3844	<i>Bsu</i> 36I	1	377	<i>Psp</i> OMI	1	355
<i>Alw</i> NI	2	750 3744	<i>Cfr</i> 9I	1	2402	<i>Pst</i> I	1	261
<i>Apa</i> I	1	355	<i>Drd</i> I	1	4050	<i>Pvu</i> I	1	2898
<i>Apa</i> LI	2	2598 3844	<i>Eag</i> I	2	243 1915	<i>Pvu</i> II	1	443
<i>Ase</i> I	1	3094	<i>Eam</i> 1105I	1	3265	<i>Sac</i> I	1	2390
<i>Ava</i> I	2	1 2402	<i>Ecl</i> HKI	1	3265	<i>Sac</i> II	1	2396
<i>Avi</i> II	1	3045	<i>Eco</i> 52I	2	243 1915	<i>San</i> DI	1	313
<i>Avr</i> II	1	191	<i>Eco</i> 81I	1	377	<i>Sca</i> I	1	2787
<i>Axy</i> I	1	377	<i>Eco</i> ICRI	1	2390	<i>Sex</i> AI	2	1606 2292
<i>Bal</i> I	2	1201 1246	<i>Eco</i> RI	1	255	<i>Sfi</i> I	1	137
<i>Bam</i> HI	1	2408	<i>Eco</i> RV	1	249	<i>Sgr</i> AI	2	1205 1694
<i>Bbs</i> I	2	1337 1815	<i>Eco</i> T22I	2	2242 2314	<i>Sma</i> I	1	2402
<i>Bcg</i> I	1	2743	<i>Fsp</i> I	1	3045	<i>Spe</i> I	1	237
<i>Bgl</i> I	2	138 3146	<i>Hind</i> III	1	207	<i>Ssp</i> I	1	2463
<i>Bln</i> I	1	191	<i>Kpn</i> I	1	4174	<i>Stu</i> I	1	188
<i>Bsa</i> AI	1	1368	<i>Mlu</i> I	1	213	<i>Tfi</i> I	2	1066 1108
<i>Bso</i> BI	2	1 2402	<i>Msc</i> I	2	1201 1246	<i>Vsp</i> I	1	3094
<i>Bsp</i> 1407I	1	553	<i>Nco</i> I	1	274	<i>Xba</i> I	1	1908
<i>Bsp</i> CI	1	2898	<i>Nhe</i> I	1	219	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> MI	2	1299 836	<i>Not</i> I	1	1914	<i>Xma</i> I	1	2402

表 2. pSLG-SV40 control、pSLO-SV40 control ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Bae</i> I	<i>Bae</i> I
<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfi</i>	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I	<i>Bsp</i> DI
<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cla</i> I
<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I
<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I
<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I
<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I							

#### pSLG-SV40 control ベクター配列

```

1  ctcgagatct gcattcgaat tagtcagcaa ccatagtccc gccccaact ccgccatcc cgcccctaac tccgccagt
81  tccgcccatt ctccgcccga tcgctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt
161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg ctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcagtc agatctacta
241 gtcggccgga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatggc taacagatc atcctgcaag cgccaagcc cagggacccc
321 ctggacctgg gcaccgcccg cttcagctc tacagggcc tgaccaactt ctccttctg agggaggccc tgatcgacgc
401 ccacaccgag gaggtggtgt ctacgccga catcctggag aacagctgta gactggctaa gtgctacgag aactacggcc
481 tgcgccagaa cagcgtgac tcogtgtgca gcgagaatag caccatctt ttctacccg tgatcgccgc cctgtacatg
561 ggctgtatca ccgccaccgt gaacgacagc tacaccgagc gggagctgct ggagaccctg aacatctcca agccgaact
641 ggtgttctgc tocaagaagg ccatcaagaa catgatggcc ctgaagagga acgtgaact catcaagaag gtggtgctgc
721 tggacagcaa ggaggatag ggcgaggccc agtgctgag caacttcatg gcccggtact ccgagcccaa cctggacgtg
801 agaaaactta agccaaggga cttcgacgcc aaggagcagg tggcccttat tatgtctctc tctggacca ccggcctgcc

```

881 aaagggcgtg gtgctgacc acaggaacct gagcgtgcgc ttcgtccact gcaaggacc cctgttcgco accagaacca  
 961 tcccctccac ctccatctcg tccatcgtgc ccttccacca cgccttcgga atgttcacaa cctgttccta ctccatcgtg  
 1041 ggccctgagag tggctgctgt gaagagattc gaggagaagt tcttccctgag caccatcgag aagtacagaa tcccaacaat  
 1121 cgtgtcggcc cctcctgtga tgggtttcct ggctaagagc cccctgggtg accagtacga cctgtccagc atcagagagg  
 1201 tggccaccgg cggcgcccct gtgggcaccg aggttgccgt ggccgtggcc aagcggctga agatcggcgg catcctccag  
 1281 ggctacggcc tgaccgagac ctgctgcgcc gtgctgatca cccccacga cgacgtgaag accggctcca cggcagggt  
 1361 agccccctac gtgcaggcta agatcgtgga cctgaccacc ggcaagtccc tgggacctaa caagagaggc gagctgtgct  
 1441 tcaagagcga gatcatcatg aagggtact tcaacaacaa gcaggccacc gaggaggcca tcgacaagga gggctggctg  
 1521 cactccggcg acgtgggata ctacgacgac gatggacatt tcttctggtt ggaccgctg aaagagctga tcaagtacaa  
 1601 gggctaccag gtggcccccg ccgagctgga gtggctgctg ctccagcacc catccatcaa ggatgccggc gtgaccggcg  
 1681 tgcccagcga ggccgcccgg gagctgcccg gcgcctgcat cgtgctccag gagggcaaga gcctgaccga gcaggagatc  
 1761 atcgactaca tcgccgagcg agtgtctccc accaagcgca tccggggcgg agtctcttc gtggacgaca tcccaaggg  
 1841 cgccaccggc aagctggtga gaagcgagct gcggaagctg ctggcccaga agaagtcaa gctgtaatct agagcggccg  
 1921 cccagacatg ataagatata ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaaa aaaatgcttt atttgtgaaa  
 2001 tttgtgatgc tattgcttta ttgtaacca ttataagctg caataaacaa gttaacacaa acaattgcat tcatTTTTatg  
 2081 tttcaggttc agggggagggt gtgggagggt ttttaaagca agtaaaacct ctacaaatgt gtagatctg aacgatggag  
 2161 cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggccggagtt gggcggggac tatggttctg gactaattga  
 2241 gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg  
 2321 ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagcg agctcccgcg  
 2401 gccccgggga tctcaaaata tttatccgct catgagacaa taacctgat aaatgctta ataatttga aaaaggaaga  
 2481 gtatgagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgggca ttttgccttc ctgtttttgc tcaccagaa  
 2561 acgctggtga aagtaaaaga tgcgaagat cagttgggtg cagcagtggt ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa  
 2641 gatccttgag agttttcgcc ccgaagaacg tttccaatg atgagcactt ttaaagtct gctatgtggc gcggtattat  
 2721 cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgat acactattct cagaatgact tggttgagta ctaccagtc  
 2801 acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcatgct tgcataacc atgagtgata aactgcggc  
 2881 caacttactt ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat ggggatcat gtaactcgcc  
 2961 ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccagca tgctgttagc aatggcaaca  
 3041 acgttgcgca aactattaac tggcgaacta ctactctag cttcccgca acaattaata gactggatgg agcgggataa  
 3121 agttgcagga ccacttctgc gctcggccct tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt  
 3201 ctgcgggat cattgcagca ctggggccag atgtaagcc ctccgtatc gtagttatct acacgacggg gagtcaggca  
 3281 actatggatg aacgaaatag acagatcgtc gagataggtg cctcaactgat taagcattgg taactgtcag accaagttaa  
 3361 ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatTTTTaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca  
 3441 tgacaaaat ccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaggatc ttcttgagat  
 3521 cctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaa aaccaccgct accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga  
 3601 gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt tcttctagtg tagccgtagt  
 3681 taggccacca cttcaagaac tctgtagcac gcctacata cctcgtctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt  
 3761 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg  
 3841 ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcggca  
 3921 cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca  
 4001 gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc  
 4081 agggggcgag agcctatgga aaaacgccag caacgccggc ttttacggc tcttgccctt ttgctggcct tttgctcaca  
 4161 tgttctttcc tgcggtaccg atcataatca gccataccac atttgtagag gttttacttg ctttaaaaaa cctcccacac  
 4241 ctcccctga acctgaaaca taaaatgaat gcaattgttg ttgttaactt gtttattgca gcttataatg gttacaata  
 4321 aagcaatagc atcacaatc tcaaaaataa agcatttttt tcaactgact ctagtgtggg tttgtccaaa ctcatcaatg  
 4401 tatcttatca tgtctggatc ataatacagc ataccacatt ttagtagggt ttacttgctt taaaaacct cccacacctc  
 4481 cccctgaacc tgaacataa aatgaatgca attgtgttg ttaactgtt tattgcagct tataatggtt acaataaag  
 4561 caatagcatc acaatttca caaataaagc attttttca ctgcattcta gttgtggtt gtccaaactc atcaatgtat  
 4641 cttatcatgt ctg

**pSLO-SV40 control ベクター配列**

1 ctcgagatct gcatctcaat tagtcagcaa ccatagtccc gccctaact ccgccatcc cgcccctaac tccgccagt  
 81 tccgcccatt ctccgcccga tcgctgacta attttttita tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt  
 161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcagtc agatctacta  
 241 gtcggccgga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatggc taacgagatc atcctgcacg gcgccaagcc cagggacccc  
 321 ctggacctgg gcaccgccgg cattcagctc tacagggcc tgaccaactt ctcttctctg agggaggccc tgatcgacgc

401 ccacaccgag gaggtggtgt ctacgcca catcctggag aacagctgta gactggctaa gtgctacgag aactacggcc  
481 tgcgccagaa cagcgtgatc tccgtgtgca gcgagaatag caccatcttc ttctaccccg tgatcgccgc cctgtacatg  
561 ggcgtgatca cgcgccaccg gaagacagc tacaccgagc gggagctgct ggagaccctg aacatctcca agccogaact  
641 ggtgttctgc tocaagaagg ccatcaagaa catgatggcc ctgaagagga acgtgaactt catcaagaag gtggtgctgc  
721 tggacagcaa ggaggatag ggcgaggccc agtgctgag caacttcatg gcccggctact ccgagcccaa cctggacgtg  
801 agaaaactta agccaaggga cttcgacgcc aaggagcagg tggccottat tatgtctccc tctggacca ccggcctgcc  
881 aaagggogtg gtgctgaccc acaggaacct gagcgtgccc ttctccact gcaaggacc cctgttcggc aacagaacca  
961 tcccctccac ctccatcctg tccatcgtgc ccttccacca cgccttcgga atgttcacaa cctgttccta ctcatcgtg  
1041 ggcctgagag tgggtgctgt gaagagattc gaggagaagt tcttctgag caccatcgag aagtacagaa tccaacaat  
1121 cgtgctggcc cctcctgtga tgggtttcct ggctaagagc cccctgggtg accagtacga cctgtccagc atcagagagg  
1201 tggccaccgg cggcgcccct gtgggcaccg aggttgccgt ggccgtggcc aagcggctga agatcggcgg catcctccag  
1281 ggctacggcc tgaccgagac ctgctgccc gtgctgatca cccccacga cgacgtgaag accggctcca ccggcagggt  
1361 agcccctac gtgcaggcta agatcgtgga cctgaccacc ggcaagtccc tgggacctaa caagagaggc gagctgtgct  
1441 tcaagagcga gatcatcatg aagggtact tcaacaacaa gcaggccacc gaggaggcca tcgacaagga gggctggctg  
1521 cactccggcg acgtgggata ctacgacgac gatggacatt tcttctggtt ggaccggctg aaagagctga tcaagtacaa  
1601 gggctaccag gtggccccc cggagctgga gtgctgctg ctccagcacc catccatcaa ggatgccggc gtgaccggcg  
1681 tgcccagcga ggccgcccgc gagctgccc ggcctgcat cgtgctccag gagggcaaga gcctgaccga gcaggagatc  
1761 atcgactaca tcgccgagcg agtgtctccc accaagcgca tccggggcgg agtctgtctt gtggacgaca tcccaaggg  
1841 cgccaccggc aagctggtga gaagcgagct gcggaagctg ctggcccaga agaagtccaa gctgtaatct agagcggccg  
1921 cccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaaa aaaatgcttt atttgtgaaa  
2001 tttgtgatgc tattgcttta ttgtaacca ttataagctg caataaacia gttacaaca acaattgcat tcatttatg  
2081 tttcagttc agggggaggt gtgggaggt ttttaagca agtaaacct ctacaaatgt gtagatctg aacgatggag  
2161 cggagaatgg gcggaactgg gcggagttag gggcgggatg ggccggagtt ggggcgggac tatggttctg gactaattga  
2241 gatgcatgct ttgcatactt ctgcctgctg gggagcctgg ggactttcca cacctggttg ctgactaatt gagatgcatg  
2321 ctttgcatac ttctgcctgc tggggagcct ggggactttc cacaccctaa ctgacacaca ttccacagcg agctcccgcg  
2401 gcccggggga toctcaaata tgtatccgct catgagacaa taacctgat aaatgctta ataatttga aaaaggaaga  
2481 gtatgagtat tcaacattc cgtgtgccc ttattccctt ttttgggca ttttgcctc ctgtttttgc taccocagaa  
2561 acgctggtga aagtaaaaga tctgaagat cagttgggtg cagcagtggt ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa  
2641 gatccttgag agttttcggc ccgaagaacg tttccaatg atgagcactt ttaaagtct gctatgtggc gcggtattat  
2721 cccgtattga cgcgggcaa gagcaactcg gtcgcccgat acactattct cagaatgact tggttgagta ctaccagtc  
2801 acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc tgccataacc atgagtgata aactgcggc  
2881 caacttactt ctgacaacga tcggaggacc gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat ggggatcat gtaactcgcc  
2961 ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccaga tgcctgtagc aatggcaaca  
3041 acgttgcgca aactattaac tggcgaacta ctactctag cttccggca acaattaata gactggatgg agcgggataa  
3121 agttgcagga ccacttctgc gctcggccct tccggctggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggg gagcgtgggt  
3201 ctgcgggtat cattgcagca ctggggccag atgtaagcc ctcccgatc gtagttatct acacgacggg gactcaggca  
3281 actatggatg aacgaaatag acagatcct gagataggt cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttta  
3361 ctcatatata ctttagattg atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca  
3441 tgacaaaat ccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaggatc ttcttgagat  
3521 cttttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaa aaccaccgct accagcggtg gttgtttgc cggatcaaga  
3601 gctaccaact ctttttccga aggtaactgg cttcagcaga gcgagatc caaatactgt tcttctagt tagcogtagt  
3681 taggccacca cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgtctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt  
3761 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttgac tcaagacgat agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacggggg  
3841 ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcga  
3921 cgcttcccga agggagaaag gcggacaggt atccggtgag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca  
4001 ggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc  
4081 agggggcggc agcctatgga aaaacgccag caacgcggcc ttttacggt tctgcccct ttgctggcct tttgctcaca  
4161 tgttctttcc tgcggtaccg atcataatca gccataccac atttgtagag gttttacttg ctttaaaaa cctcccacac  
4241 ctcccctga acctgaaaca taaaatgaat gcaattgttg ttgtaactt gtttattgca gcttataatg gttacaata  
4321 aagcaatagc atcacaatc tacaataaa agcatttttt tcaactgact ctagtgtgg tttgtccaaa ctcatcaatg  
4401 tatcttatca tgtctggatc ataatacagc ataccacatt tgtagagggt ttacttgctt taaaaacct cccacacctc  
4481 cccctgaacc tgaacataa aatgaatgca attgtgttg ttaactgtt tattgcagct tataatggtt acaataaag  
4561 caatagcatc acaatttca caataaagc attttttca ctgacttcta gttgtggtt gtccaaactc atcaatgat  
4641 cttatcatgt ctg

#### (4) pSLR-SV40 control

表 1. pSLR-SV40 control ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Aat</i> I	1	188	<i>Bsu</i> 36I	1	879	<i>Nsi</i> I	2	2251 2323
<i>Acc</i> 65I	1	4183	<i>Csp</i> 45I	1	435	<i>Nsp</i> V	1	435
<i>Ac</i> I	2	2676 3049	<i>Cbi</i> I	1	435	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	2	1255 3274	<i>Cfr</i> 9I	1	2411	<i>Pci</i> I	1	4167
<i>Alw</i> 44I	2	2607 3853	<i>Drd</i> I	1	4059	<i>Ple</i> I	2	3280 3797
<i>Apa</i> LI	2	2607 3853	<i>Eag</i> I	2	243 1924	<i>Psh</i> BI	1	3103
<i>Ase</i> I	1	3103	<i>Eam</i> 1104I	2	282 2485	<i>Psp</i> 1406I	2	2676 3049
<i>Avi</i> II	1	3054	<i>Eam</i> 1105I	2	1255 3274	<i>Psp</i> AI	1	2411
<i>Avr</i> II	1	191	<i>Ear</i> I	2	282 2485	<i>Pvu</i> I	2	302 2907
<i>Axy</i> I	1	879	<i>Ecl</i> HKI	2	1255 3274	<i>Pvu</i> II	2	345 1704
<i>Bam</i> HI	1	2417	<i>Eco</i> 52I	2	243 1924	<i>Sac</i> I	1	2399
<i>Bbe</i> I	1	1347	<i>Eco</i> 81I	1	879	<i>Sac</i> II	1	2405
<i>Bbs</i> I	1	1088	<i>Eco</i> ICRI	1	2399	<i>Sbf</i> I	1	1274
<i>Bbv</i> CI	1	1871	<i>Eco</i> O65I	1	1784	<i>Sca</i> I	1	2796
<i>Bci</i> VI	2	2431 3958	<i>Eco</i> RI	1	255	<i>Sex</i> AI	2	1609 2301
<i>Bcl</i> I	2	847 892	<i>Eco</i> RV	1	249	<i>Sfi</i> I	1	137
<i>Bln</i> I	1	191	<i>Eco</i> T14I	2	191 274	<i>Sfo</i> I	1	1347
<i>Bsa</i> I	2	3207 1296	<i>Eco</i> T22I	2	2251 2323	<i>Sgf</i> I	1	301
<i>Bse</i> RI	2	172 1129	<i>Ehe</i> I	1	1347	<i>Sgr</i> AI	1	1526
<i>Bsp</i> 1407I	1	589	<i>Fba</i> I	2	847 892	<i>Sma</i> I	1	2411
<i>Bsp</i> CI	2	302 2907	<i>Fsp</i> I	1	3054	<i>Spe</i> I	1	237
<i>Bsp</i> MI	1	1801	<i>Hind</i> III	1	207	<i>Sse</i> 8387I	1	1274
<i>Bsr</i> DI	2	3038 3220	<i>Kas</i> I	1	1347	<i>Ssp</i> I	1	2472
<i>Bsr</i> GI	1	589	<i>Kpn</i> I	1	4183	<i>Stu</i> I	1	188
<i>Bss</i> SI	2	2610 3994	<i>Lsp</i> I	1	435	<i>Sty</i> I	2	191 274
<i>Bst</i> API	2	2253 2325	<i>Mlu</i> I	2	213 787	<i>Vsp</i> I	1	3103
<i>Bst</i> BI	1	435	<i>Mly</i> I	2	3797 3280	<i>Xba</i> I	1	1917
<i>Bst</i> EII	1	1784	<i>Nar</i> I	1	1347	<i>Xcm</i> I	2	1153 1492
<i>Bst</i> PI	1	1784	<i>Nco</i> I	1	274	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bst</i> XI	1	268	<i>Nhe</i> I	1	219	<i>Xma</i> I	1	2411
<i>Bst</i> ZI	2	243 1924	<i>Not</i> I	1	1923	<i>Xmn</i> I	1	2675

表 2. pSLR-SV40 control ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apa</i> I	<i>Asc</i> I
<i>Bae</i> I	<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I
<i>Bsp</i> DI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cla</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I
<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O109I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I
<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OMI	<i>Rsr</i> II
<i>Sal</i> I	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I		

#### pSLR-SV40 control ベクター配列

1 ctcgagatct goatctcaat tagtcagcaa ccatagtcgcc gccctaact cgcgccatcc cgcccctaac tccgcccagt  
81 tccgcccatt ctccgcccga tcgctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc gcctcggcct ctgagctatt  
161 ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt tgcaaaaagc ttacgcgtgc tagcgcgcatgc agatctacta  
241 gtcggccgga tatcgaattc ctgcagccca ccaccatgga agaagagaac atcgtgaatg gcgatcgccc tcgggatctg  
321 gtgttcctg gcacagccgg cctgcagctg tatcagtcgcc tgtataaata ctcttacatc accgacggaa tcatcgacgc  
401 ccacaccaac gaggtgatct cctatgccca gattttcgaa acaagttgcc gcctggcgt gagcctggag aagtatggcc  
481 tggatcacia caacgtggtg gccatttgca gcgagaacia catccacttc ttcggccctc tgatcgcgtgc cctataccag  
561 gggattocaa tggccacatc caacgatatg tacaccgaga gggagatgat cggccacctg aacatctcca agccatgtct

641 gatgttctgt tocaagaagt cctgccatt catcctgaag gtgcagaagc acctggactt totcaagaag gtgatcgtga  
721 tcgacagcat gtacgacatc aacggcgtgg agtgcgtggt cagtttctgt tcccgttaca cccgatcatgc gttcogatcca  
801 gtgaagttca accctaaaga gtttgatccc ctggagagaa ccgcgctgat catgacatcc tctggaacaa cgggctgcc  
881 taagggcgtg gtgatcagcc acaggagcat caccatcaga ttctgtccaca gcagcgatcc catctacggc acccgcatcg  
961 ccccagatac atccatcctg gccatcggcc ctttccacca cgccttggga ctgtttaccg ccttggctta ctttccagtg  
1041 ggccctgaaga tcgtgatggt gaaaaagttt gaggcgagtt tcttctgtaa gaccatccag aactacaaga tcgcttctat  
1121 cgtggtgcct cctccaatca tgggtgatct ggccaagagc cctctggtgg atgagtacaa tctgtccagc ctgacagaga  
1201 tcgcctgtgg cggctcccct ctgggcagag acatcgccga caaggtggcc aagagactga aggtccacgg catcctgcag  
1281 ggctatggcc tgaccgagac ctgtagcgc ctgatcctga gccccaacga tagagagctg aagaagggcg ccatcggcac  
1361 ccctatgccc tatgtccagg tgaaggtgat tgacatcaac accggcaaaag ccttgggacc aagagagaag ggcgagattt  
1441 gcttcaagag ccagatgctg atgaagggct accacaacaa cccacaggcc accagggatg ccttggacaa ggacgggtgg  
1521 ctgcacaccg cgcgatctgg ctactacgac gaggacagat tcatctatgt ggtggatcgg ctgaaagaac tcatcaagta  
1601 caagggtac caggtggccc ctgccgagct ggagaacttg cttctgcagc accctaact cctctgatcc ggcgtcatcg  
1681 gcatcccaga cgagtttggc ggccagctgc cttccgctg tgtctgtctg gagcctggca agaccatgac cgagaaggag  
1761 gtgcaggatt atatcgccga gctggtgacc accaccaagc acctgcgggg cggcgtggtg ttcacgaca gattccgaa  
1841 aggcccaaca ggcaagctga tgagaaacga gctgagggcc atctttgcc ggcagcaggc caagtccaag ctgtaacta  
1921 gagcggccgc ccagacatga taagatacat tgatgagttt ggacaaacca caactagaat gcagtgaaaa aatgcttta  
2001 tttgtgaaat ttgtgatgct attgctttat ttgtaacct tataagctgc aataaacaag ttaacaacaa caattgcatt  
2081 cttttatgt ttcaggttca gggggagggtg tgggaggttt tttaaagcaa gtaaaacctc tacaatgtg gtagatctga  
2161 acgatggagc ggagaatggg cggaaactggg cggagttagg ggcgggatgg ggcgagttag gggcgggact atggttctg  
2241 actaattgag atgcatgctt tgcatacttc tgcctgctgg ggagcctggg gactttccac acctggttgc tgactaattg  
2321 agatgcatgc tttgcatact tctgcctgct ggggagcctg gggactttcc acaccctaac tgacacacat tccacagcga  
2401 gctcccgcgg cccgggggat cctcaaatat gtatccgctc atgagacaat aacctgata aatgcttcaa taatattgaa  
2481 aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgcctt tattcccttt tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct  
2561 caccagaaa cgctggtgaa agtaaaagat gctgaagatc agttgggtgc acgagtggtt tacatcgaac tggatctcaa  
2641 cagcggaag atccttgaga gttttcggcc cgaagaactt tttccaatga tgagcacttt taaagttctg ctatgtggcg  
2721 cggattatc ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgcccata cactattctc agaatgactt ggttgagtac  
2801 tcaccagtca cagaaaagca tcttacggat ggcatgacag taagagaatt atgcagtct gccataacca tgagtataa  
2881 cactcggccc aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgctttttt gcacaacatg ggggatcatg  
2961 taactcgcct tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac gacgagcgtg acaccacgat gcctgtagca  
3041 atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggccaactac ttactctagc ttcccggcaa caattaatag actggatgga  
3121 ggcgataaa gttgcaggac cacttctcgc ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct ggagccggtg  
3201 agcgtgggtc tcgcggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaagccc tccgctatcg tagttatcta cacgacgggg  
3281 agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgctg agataggtgc ctcactgatt aagcattggt aactgtcaga  
3361 ccaagtttac tcatatatac tttagattga tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctagggtgag atcctttttg  
3441 ataatctcat gaccaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct  
3521 tcttgagatc cttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg tttgtttgcc  
3601 ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt cttctagtgt  
3681 agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctcgctctgc taatcctgtt accagtggct  
3761 gctgccagtg cgcataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg  
3841 aacggggggt tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaac acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagctatgag  
3921 aaagcggcac gcttccgaa gggagaaagg cggacaggtg tccggtgagc ggacgggtcg gaacaggaga gcgcacgagg  
4001 gagcttccag ggggaaacgc ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc gattttttgtg  
4081 atgctcgtca gggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggccttt tgcctggcctt  
4161 ttgctcacat gttctttcct gcggtaccga tcataatcag ccataccaca tttgtagagg ttttacttgc tttaaaaaac  
4241 ctcccacacc tcccctgaa cotgaaacat aaaatgaat caattgttgt tgttaacttg tttattgcag cttataatgg  
4321 ttacaataaa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcattttttt cactgcattc tagttgtggt ttgtocaaac  
4401 tcatcaatgt atcttatcat gctctgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcctt aaaaaacctc  
4481 ccacacctcc cctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgtttgtt taacttgtt attgcagctt ataattggtta  
4561 caaataaagc aatagcatca caattttcac aaataaagca tttttttcac tgcattctag ttgtggtttg tccaaactca  
4641 tcaatgtatc ttatcatgctc tg

(5) pSLG-HSVtk control

表 1. pSLG-HSVtk ベクターを 1 または 2 箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3959	<i>Bsr</i> DI	2	2814 2996	<i>Not</i> I	1	1942
<i>Acc</i> I	1	476	<i>Bsr</i> GI	1	581	<i>Nsp</i> V	1	127
<i>Ac</i> /I	2	2452 2825	<i>Bss</i> SI	2	2386 3770	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Ahd</i> I	1	3050	<i>Bst</i> BI	1	127	<i>Pci</i> I	1	3943
<i>Alw</i> 44I	2	2383 3629	<i>Bst</i> XI	1	296	<i>Psp</i> AI	1	2187
<i>Alw</i> NI	2	778 3529	<i>Bst</i> ZI	2	271 1943	<i>Psp</i> OMI	1	383
<i>Apa</i> I	1	383	<i>Bsu</i> 36I	1	405	<i>Pst</i> I	2	217 289
<i>Apa</i> LI	2	2383 3629	<i>Cbi</i> I	1	127	<i>Psh</i> BI	1	2879
<i>Ase</i> I	1	2879	<i>Cfr</i> 9I	1	2187	<i>Psp</i> 1406I	2	2452 2825
<i>Ava</i> I	2	1 2187	<i>Csp</i> 45I	1	127	<i>Pvu</i> I	1	2683
<i>Avi</i> II	1	2830	<i>Drd</i> I	1	3835	<i>Pvu</i> II	1	471
<i>Axy</i> I	1	405	<i>Eag</i> I	2	271 1943	<i>Sac</i> I	1	2175
<i>Bal</i> I	2	1229 1274	<i>Eam</i> 1105I	1	3050	<i>Sac</i> II	1	2181
<i>Bam</i> HI	1	2193	<i>Ecl</i> HKI	1	3050	<i>San</i> DI	1	341
<i>Bbs</i> I	2	1365 1843	<i>Eco</i> 52I	2	271 1943	<i>Sca</i> I	1	2572
<i>Bbu</i> I	1	253	<i>Eco</i> 81I	1	405	<i>Sex</i> AI	1	1634
<i>Bcg</i> I	1	2528	<i>Eco</i> ICRI	1	2175	<i>Sgr</i> AI	2	1233 1722
<i>Bgl</i> I	1	2931	<i>Eco</i> RI	2	124 283	<i>Sma</i> I	1	2187
<i>Bgl</i> II	1	259	<i>Eco</i> RV	1	277	<i>Spe</i> I	1	265
<i>Bmr</i> I	2	3005 776	<i>Fsp</i> I	1	2830	<i>Sph</i> I	1	253
<i>Bsa</i> AI	1	1396	<i>Hind</i> III	1	235	<i>Ssp</i> I	1	2248
<i>Bsa</i> BI	2	3965 4202	<i>Kpn</i> I	1	3959	<i>Tfi</i> I	2	1094 1136
<i>Bso</i> BI	2	1 2187	<i>Lsp</i> I	1	127	<i>Vsp</i> I	1	2879
<i>Bsp</i> 1407I	1	581	<i>Mlu</i> I	2	188 241	<i>Xba</i> I	1	1936
<i>Bsp</i> CI	1	2683	<i>Msc</i> I	2	1229 1274	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bsp</i> MI	2	1327 864	<i>Nco</i> I	1	302	<i>Xma</i> I	1	2187
<i>Bsr</i> BRI	2	3965 4202	<i>Nhe</i> I	1	247			

表 2. pSLG-HSVtk ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bae</i> I	<i>Ban</i> III	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Blp</i> I	<i>Bpu</i> 1102I	<i>Bsi</i> WI
<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> 106I	<i>Bsp</i> DI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> API	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI
<i>Bst</i> Z17I	<i>Cla</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I
<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI
<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI	<i>Rsr</i> II	<i>Sal</i> I	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI
<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I				

pSLG-HSVtk ベクター配列

```

1  ctcgagctgc ttcattccccg tggcccgttg ctcgcgtttg ctggcgggtgt ccccgaaga aatatatttg catgtcttta
81  gttctatgat gacacaaacc cgcgccagcg tcttgtcatt ggcgaaattcg aacacgcaga tgcagtcggg gcggcgcggt
161 cccaggtcca cttgcataat taaggtgacg cgtgtggcct cgaacaccga ggcaccctgc agcgaccgcg ttaaagcctt
241 acgctgtgcta ggcgatgcag atctactagt cggccggata tcgaattcct gcagcccacc accatggcta acgagatcat
321 cctgcaacggc gccaaagccca gggaccacct ggacctgggc accgcgggca ttcagctcta caggccctg accaacttct
401 ccttcctgag ggaggccctg atcgacgccc acaccgagga ggtggtgtct tacgccgaca tcttgagaaa cagctgtaga
481 ctggctaagt gctacgagaa ctacggcctg cgcagaaca gcgtgatctc cgtgtgcagc gagaatagca ccatcttctt
561 ctaccocgtg atcgccgccc tgtacatggg cgtgatcacc gccaccgtga acgacagcta caccgagcgg gagctgctgg
641 agaccctgaa catctccaag cccgaactgg tgtctgtctc caagaaggcc atcaagaaca tgatggccct gaagaggaac
721 gtgaacttca tcaagaaggt ggtgctgctg gacagcaagg aggatattgg cgaggcccag tgccctgagca acttcatggc
801 ccggtactcc gagcccaacc tggacgtgag aaacttcaag ccaagggact tcgacgcca ggagcaggtg gcccttatta

```



881 tgtcctcctc tggcaccacc ggctgcoaa agggcgtggt gctgaccac aggaacctga gcgtgcgctt cgtccactgc  
961 aaggaccccc ttttcggcac cagaaccatc ccctccacct ccatcctgtc catcgtgcc ttccaccaog ccttcggaat  
1041 gttcacaacc ctgtcctact tcatcgtggg cctgagagt gtgctgtga agagattoga ggagaagttc ttctgagca  
1121 ccacgagaa gtacagaatc ccaacaatcg tgcgtgcccc tctgtgatg gtgttcctgg ctaagagccc cctggtggac  
1201 cagtacgacc tgtccagcat cagagagggt gccaccggcg gcgcccctgt gggcaccgag gttgccgtgg ccgtggccaa  
1281 gcggctgaag atcggcggca tctccagggt ctacggcctg accgagacct gctgcgctgt gctgatcacc cccacgacg  
1361 acgtgaagac cggctccacc ggagggttag cccctacgt gcaggctaag atcgtggacc tgaccaccgg caagtccctg  
1441 ggacctaaca agagaggcga gctgtgcttc aagagcgaga tcatcatgaa gggctacttc aacaacaagc aggccaccga  
1521 ggaggccatc gacaaggagg gctggctgca ctccggcgac gtgggatact acgacgacga tggacatttc ttctggtgg  
1601 accggctgaa agagctgatc aagtacaagg gctaccaggt ggccccgcc gagctggagt ggctgctgct ccagcaccga  
1681 tccatcaagg atgccggcgt gaccggcgtg cccgacgagg ccgcccggca gctgcccggc gcctgcatcg tgcctcagga  
1761 gggcaagagc ctgaccgagc aggagatcat cgactacatc gccgagcgag tgtctccac caagcgcatc cggggcggag  
1841 tcgtcttctg ggacgacatc ccaagggcg ccaccggcaa gctggtgaga agcgagctgc ggaagctgct ggcccagaag  
1921 aagtccaagc tgtaatctag agcggccgcc cagacatgat aagatacatt gatgagttg gacaaaccac aactagaatg  
2001 cagtgaaaaa aatgctttat ttgtgaaatt tgtgatgcta ttgctttatt tgaaccatt ataagctgca ataaacaagt  
2081 taacaacaac aattgcattc attttatgtt tcaggttcag ggggagggtgt gggaggtttt ttaaagcaag taaaacctct  
2161 acaaatgtgg tatggagctc ccgcccggc ggggatcctc aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg  
2241 cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt cgccttatt cctttttttg cggcattttg  
2321 ccttcctggt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggtgacacga gtgggttaca  
2401 tcgaactgga tctcaacagc gtaagatcc ttgagagttt tgcccccgaa gaacgttttc caatgatgag cacttttaa  
2481 gttctgctat gtggcggcgt attatccgt attgacggcg ggcaagagca actcggctgc cgcatacact attctcagaa  
2561 tgacttggtt gactactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgcctcca  
2641 taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc tttttgac  
2721 aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgac agcgtgacac  
2801 cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgct gcgcaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat  
2881 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcggg ctggctggtt tattgctgat  
2961 aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt  
3041 tatctacacg acggggagtc aggcaactat gtagaagca aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc  
3121 attgtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt ttttaattaa aaggatctag  
3201 gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttctgtccac tgagcgtcag accccgtaga  
3281 aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt tttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag  
3361 cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat  
3441 actgttcttc tagttagacc gtagtttagc caccacttca agaactctgt agcaccgct acatacctcg ctctgctaat  
3521 cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta cgggataagg  
3601 cgcagcggtc gggctgaaac gggggttctg gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct acaccgaact gagataccta  
3681 cagcgtgagc tatgagaaag ccccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca ggtcggaac  
3761 aggagagcgc acgaggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg  
3841 agcgtcgatt tttgtgatg tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttctg  
3921 gccttttctg ggcccttttc tcacatgttc tttctgcgg taccgatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt  
4001 acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgtgtgtgtt aactgttta  
4081 ttgcagotta taatggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttact gcattctagt  
4161 tgtggtttgt ccaaaactcat caatgtatct tatcatgtct ggatcataat cagccatacc acattttag aggttttact  
4241 tgctttaaaa aacctcccac acctccccct gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgtgttaac ttgtttattg  
4321 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat aaagcatttt tttactgca ttctagttgt  
4401 ggtttgtcca aactcatcaa tgtatcttat catgtctg

(6) pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test

表1. pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-testベクターを1または2箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3876	<i>Bsp</i> CI	1	2600	<i>Not</i> I	1	1859
<i>Acc</i> I	2	7 263	<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Nsp</i> I	2	40 3860
<i>Ac</i> /I	2	2369 2742	<i>Bsp</i> MI	2	1114 651	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Afl</i> III	2	28 3860	<i>Bsr</i> BRI	2	3882 4119	<i>Pci</i> I	1	3860
<i>Ahd</i> I	1	2967	<i>Bsr</i> DI	2	2731 2913	<i>Psh</i> BI	1	2796
<i>Alw</i> 44I	2	2300 3546	<i>Bsr</i> GI	1	368	<i>Psp</i> 1406I	2	2369 2742
<i>Alw</i> NI	2	565 3446	<i>Bss</i> SI	2	2303 3687	<i>Psp</i> AI	1	2104
<i>Apa</i> I	1	170	<i>Bst</i> API	1	1810	<i>Psp</i> OMI	1	170
<i>Apa</i> LI	2	2300 3546	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Pst</i> I	2	76 1808
<i>Ase</i> I	1	2796	<i>Bst</i> ZI	2	58 1860	<i>Pvu</i> I	1	2600
<i>Ava</i> I	2	1 2104	<i>Bsu</i> 36I	1	192	<i>Pvu</i> II	1	258
<i>Avi</i> II	1	2747	<i>Cfr</i> 9I	1	2104	<i>Sac</i> I	1	2092
<i>Axy</i> I	1	192	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Sac</i> II	1	2098
<i>Bal</i> I	2	1016 1061	<i>Drd</i> I	1	3752	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bam</i> HI	1	2110	<i>Eag</i> I	2	58 1860	<i>San</i> DI	1	128
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eam</i> 1105I	1	2967	<i>Sca</i> I	1	2489
<i>Bbs</i> I	2	1152 1630	<i>Ecl</i> HKI	1	2967	<i>Sex</i> AI	1	1421
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Eco</i> 52I	2	58 1860	<i>Sgr</i> AI	2	1020 1509
<i>Bcg</i> I	1	2445	<i>Eco</i> 81I	1	192	<i>Sma</i> I	1	2104
<i>Bgl</i> I	1	2848	<i>Eco</i> ICR	1	2092	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Blp</i> I	1	1716	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Ssp</i> I	1	2165
<i>Bmr</i> I	2	2922 563	<i>Fsp</i> I	1	2747	<i>Tfi</i> I	2	881 923
<i>Bpu</i> 1102I	1	1716	<i>Hrd</i> III	2	22 1714	<i>Vsp</i> I	1	2796
<i>Bsa</i> AI	1	1183	<i>Kpn</i> I	1	3876	<i>Xba</i> I	1	1853
<i>Bsa</i> BI	2	3882 4119	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bso</i> BI	2	1 2104	<i>Msc</i> I	2	1016 1061	<i>Xma</i> I	1	2104
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Nco</i> I	2	89 1722			
<i>Bsp</i> 1407I	1	368	<i>Nhe</i> I	1	34			

表 2. pSLG(PEST)-test、pSLO(PEST)-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Asc</i> I	<i>Avr</i> II
<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bbv</i> CI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII	<i>Bst</i> 1107I
<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> BI	<i>Bst</i> EII	<i>Bst</i> PI	<i>Bst</i> Z17I	<i>Cbi</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> 45I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III
<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I	<i>Eco</i> O65I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Lsp</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I
<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Nsp</i> V	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI	<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Psh</i> AI
<i>Rsr</i> II	<i>Sap</i> I	<i>Sbf</i> I	<i>Sfi</i> I	<i>Sgf</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Sse</i> 8387I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I
<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I								

pSLG(PEST)-test ベクター配列

1 ctcgaggtcg acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccgatatcgc aattcctgca  
81 gcccaccacc atggctaacc agatcatcct gcacggcgcc aagcccaggg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tctgagggga ggccctgacg gacgccaca ccgaggaggt ggtgtcttac  
241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaagtgtc acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt  
321 gtgcagcgag aatagacca tcttcttcta ccccgatcgc gccgcctgt acatggcgtg gatcaccgcc accgtgaacg  
401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactggtgt tctgctcaa gaaggccatc  
481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatggcgga  
561 ggcccagtgc ctgagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa cttcaagcca agggacttcg

641 acgccaagga gcaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccaccggc ctgccaaagg gcgtgggtgct gaccacacagg  
721 aacctgagcg tgcgcttctg ccaactgcaag gacccctctg tccggcaccag aacctatccc tccacctcca tctgtccat  
801 cgtgcccttc caccacgcct tcggaatggt cacaaccctg tcctacttca togtgggctt gagagtgggt ctgctgaaga  
881 gattcgagga gaagttcttc ctgagcacca tcgagaagta cagaatocca acaatcgtgc tggccctcc tgtgatgggtg  
961 ttcttggtta agagccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcggcg cccctgtggg  
1041 caccgaggtt gccgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggccgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgct  
1121 gcgccgtgct gatcaccccc cagcagcagc tgaagaccgg ctccaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggtt ggctgcactc cggcgactg ggatactag  
1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggtt accaggtggc ccccgccgag  
1441 ctggagtgcc tgctgctcca gcacccatcc atcaaggatg ccggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg cggcgagct  
1521 gcccgggccc tgcatcgtgc tccaggaggc caagagcctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgcc gacgaggtgt  
1601 ctcccaccaa gcgcatccgg ggccgagtcg tcttcgtgga cgacatcccc aaggcgcca cggcaagct ggtgagaagc  
1681 gagctgcgga agctgctggc ccagaagaag tccaagctta gccatggctt cccgcccggg gtggaggagc aggtgctggtg  
1761 cacgtgccc atgtcttctg cccaggagag cgggatggac cgtcacctg cagcctgtgc tctgtctagg atcaatgtgt  
1841 agatgccatt cttctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag  
1921 tgaaaaaaat gctttatttg tgaattttgt gatgctattg ctttatttgt aaccattata agctgcaata aacaagttaa  
2001 caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca  
2081 aatgtggtat ggagctcccg cggcccgggg gatcctcaaa tatgtatccg tcatgagac aataaccctg ataatgctt  
2161 caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc cttattccc tttttgccc cattttgct  
2241 tcctgttttt gctcaccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg  
2321 aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaagaa cgttttcca tgatgagcac ttttaaagtt  
2401 ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact cggctgccc atacactatt ctcagaatga  
2481 cttggttgag tactcaccag tcacagaaaa gcactttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa  
2561 ccatgagtgta taacactgcg gccaacttac tctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgctt tttgacacac  
2641 atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac  
2721 gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa  
2801 tagactggat ggagcgggat aaagttgcag gaccattct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa  
2881 tctggagccc gtgagcgtgg gtctcgggtt atcattgcag cactggggcc agatggtaag cctcccgtga tctgagttat  
2961 ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgccctcactg attaagcatt  
3041 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgatttaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg  
3121 aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccctaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa  
3201 gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgcgctga atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg  
3281 tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaagtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact  
3361 gttctctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaatact  
3441 gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc  
3521 agcggctggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag  
3601 cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaa aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg  
3681 agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc  
3761 gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg ctttttaac gttcctggcc  
3841 ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgoggtac cgatcataat cagccatacc acattttag aggttttact  
3921 tgctttaaaa aacctcccac acctcccct gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgtgttaac ttgtttattg  
4001 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt  
4081 ggtttgtcca aactcatcaa tttatcttat catgtctgga tcataatcag ccataaccaca tttgtagagg ttttacttgc  
4161 tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg caattgtgtg ttttaacttg tttattgcag  
4241 cttataatgg ttacaataa agcaatagca tcacaattt cacaaataa gcatttttt cactgcattc tagttgtggt  
4321 ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gtctg

**pSLO(PEST)-test ベクター配列**

1 ctgaggtcgc acggtatcga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg ccggatatcg aattcctgca  
81 gccaccacc atggctaacg agatcatcct gcacggcgc aagcccagg accccctgga cctgggcacc gccggcattc  
161 agctctacag ggccctgacc aacttctcct tctgagggga ggccctgac gacgccaca ccgaggaggt ggtgtcttac  
241 gccgacatcc tggagaacag ctgtagactg gctaaagtct acgagaacta cggcctgcgc cagaacagcg tgatctccgt  
321 gtgcagcag aatagcacca tcttcttcta cccctgacg gccgcctgt acatggcgtg gatcaccgcc accgtgaacg  
401 acagctacac cgagcgggag ctgctggaga cctgaacat ctccaagccc gaactggtgt tctgctcaa gaaggccatc

481 aagaacatga tggccctgaa gaggaacgtg aacttcatca agaaggtggt gctgctggac agcaaggagg atatgggcga  
561 ggcccagtgc ctgagcaact tcatggcccg gtactccgag cccaacctgg acgtgagaaa ctcaagcca agggacttcg  
641 acgccaagga goaggtggcc cttattatgt cctcctctgg caccacoggc ctgccaagg gcgtggtgct gaccacagg  
721 aacctgagcg tgcgcttctg ccaactgcaag gacccctgt tgcgcaacag aacctcccc tccacctcca tctgtccat  
801 cgtgcccttc caccacgct tgcgaatggt cacaaccctg tctacttca tctgtggcct gagagtgtg ctgctgaaga  
881 gattcgagga gaagtcttc ctgagcacca tgcagaagta cagaatccca acaatcgtgc tggccctcc tgtgatggtg  
961 tctctggcta agagccccct ggtggaccag tacgacctgt ccagcatcag agaggtggcc accggcggcg cccctgtggg  
1041 caccgagggt gccgtggccg tggccaagcg gctgaagatc ggccgcatcc tccagggcta cggcctgacc gagacctgct  
1121 gcgccgtgct gatcaccccc cagcagcagc tgaagaccgg ctccaccggc agggtagccc cctacgtgca ggctaagatc  
1201 gtggacctga ccaccggcaa gtccctggga cctaacaaga gaggcgagct gtgcttcaag agcgagatca tcatgaaggg  
1281 ctacttcaac aacaagcagg ccaccgagga ggccatcgac aaggagggt ggctgcactc cggcgactg ggatactacg  
1361 acgacgatgg acatttcttc gtggtggacc ggctgaaaga gctgatcaag tacaagggt accaggtggc ccccgccgag  
1441 ctggagtggc tgcctctcca gcacctcc atcaaggat cggcgtgac cggcgtgccc gacgaggccg cggcgagct  
1521 gcccggcgcc tgcctctgca tccaggagg caagaccctg accgagcagg agatcatcga ctacatcgc gagcgagtgt  
1601 ctcccacaa gcgcatccgg ggccgagtcg tctctgtgga cgacatccc aaggcgcca cggcaagct ggtgagaagc  
1681 gagctgogga agctgctggc ccagaagaag tccaagctta gccatggctt cccgcccggg gtggaggagc aggtctgtg  
1761 cacgctgccc atgtcttctg cccaggagag cgggatggac cgtcaccctg cagcctgtgc tctctgtagg atcaatgtgt  
1841 agatgccatt cttctagagc ggccgcccag acatgataag atacattgat gagtttggac aaaccacaac tagaatgcag  
1921 tgaaaaaaat gctttattg tgaatttgt gatgctattg cttttttgt aaccattata agctgcaata aacaagttaa  
2001 caacaacaat tgcattcatt ttatgtttca ggttcagggg gaggtgtggg aggtttttta aagcaagtaa aacctctaca  
2081 aatgtggtat ggagctcccg cggcccgggg gatcctcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataacctg ataatgctt  
2161 caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc cttattccc ttttttgcg cattttgct  
2241 tctgttttt gctcaccag aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg gttacatcg  
2321 aactggatct caacagcggg aagatcctg agagtttccg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt  
2401 ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc aagagcaact cggctgcccgc atacactatt ctgagaatga  
2481 cttggttag tactcaccag tcacagaaaa gcactttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgocataa  
2561 ccatgagtga taacctcgc gccaaacttac tctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgctt tttgcacaac  
2641 atgggggac atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac  
2721 gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa  
2801 tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccattct gcgctggcc cttccggctg gctggtttat tgcgtataaa  
2881 tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgggt atcattgcag cactggggcc agatggtgaa cctcccgtg tctgtagttat  
2961 ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt  
3041 ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tactttagat tgattaaaa cttcattttt aatttaaaag gatctaggtg  
3121 aagatccttt ttgataatct catgaccaa atccctaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa  
3201 gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt tctgocgta atctgctgct tgcaaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg  
3281 tggtttgttt gccgatcaa gagctacca cttttttcc gaaggttaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact  
3361 gttcttctag ttagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgcataatct  
3441 gttaccagt gctgctgcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc  
3521 agcggtoggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag  
3601 cgtgagctat gaaaaagcg cacgcttccc gaaggagaa agggcgacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg  
3681 agagcgcac agggagcttc caggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tgcacacctc tgcattgagc  
3761 gtcgatttt gtgatgctc tcaggggggc ggagcctat gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttac gttcctggcc  
3841 ttttctggc cttttctca catgttctt cctcgggtac cgatcataat cagccatacc acattttag aggttttact  
3921 tgccttaaaa aacctcccac acctcccct gaacctgaaa cataaaatga atgcaattgt tgttgttaac ttgtttattg  
4001 cagcttataa tggttacaaa taaagcaata gcatacaaaa tttcacaat aaagcatttt tttcactgca ttctagttgt  
4081 ggtttgtcca aactcatcaa tctatcttat catgtctgga tcataatcag ccataccaca tttgtagagg ttttacttgc  
4161 tttaaaaaac ctcccacacc tcccctgaa cctgaaacat aaaatgaatg caattgtgt tgttaactg tttattgcag  
4241 cttataatgg ttacaaataa agcaatagca tcacaaattt cacaaataaa gcatttttt cactgcattc tagttgtggt  
4321 ttgtccaaac tcatcaatgt atcttatcat gctg

## (7) pSLR(PEST)-test

表1. pSLR(PEST)-testを1または2箇所切断する制限酵素

酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位	酵素	箇所	切断部位
<i>Acc</i> 65I	1	3885	<i>Bst</i> BI	1	250	<i>Nco</i> I	2	89 1731
<i>Acc</i> I	1	7	<i>Bst</i> EII	1	1599	<i>Nhe</i> I	1	34
<i>Ac</i> /I	2	2378 2751	<i>Bst</i> PI	1	1599	<i>Not</i> I	1	1868
<i>Afl</i> III	2	28 3869	<i>Bst</i> XI	1	83	<i>Nsp</i> V	1	250
<i>Ahd</i> I	2	1070 2976	<i>Bst</i> ZI	2	58 1869	<i>Pae</i> R7I	1	1
<i>Alw</i> 44I	2	2309 3555	<i>Bsu</i> 36I	1	694	<i>Pci</i> I	1	3869
<i>Apa</i> LI	2	2309 3555	<i>Cbi</i> I	1	250	<i>Ple</i> I	2	2982 3499
<i>Ase</i> I	1	2805	<i>Cfr</i> 9I	1	2113	<i>Psh</i> BI	1	2805
<i>Avi</i> II	1	2756	<i>Cla</i> I	1	16	<i>Psp</i> 1406I	2	2378 2751
<i>Axy</i> I	1	694	<i>Csp</i> 45I	1	250	<i>Psp</i> AI	1	2113
<i>Bam</i> HI	1	2119	<i>Drd</i> I	1	3761	<i>Pvu</i> I	2	117 2609
<i>Ban</i> III	1	16	<i>Eag</i> I	2	58 1869	<i>Pvu</i> II	2	160 1519
<i>Bbe</i> I	1	1162	<i>Eam</i> 1104I	2	97 2187	<i>Sac</i> I	1	2101
<i>Bbs</i> I	1	903	<i>Eam</i> 1105I	2	1070 2976	<i>Sac</i> II	1	2107
<i>Bbu</i> I	1	40	<i>Ear</i> I	2	97 2187	<i>Sal</i> I	1	7
<i>Bbv</i> CI	1	1686	<i>Ecl</i> HKI	2	1070 2976	<i>Sbf</i> I	1	1089
<i>Bci</i> VI	2	2133 3660	<i>Eco</i> 52I	2	58 1869	<i>Sca</i> I	1	2498
<i>Bcl</i> I	2	662 707	<i>Eco</i> 81I	1	694	<i>Sex</i> AI	1	1424
<i>Bgl</i> I	2	1658 2857	<i>Eco</i> ICR I	1	2101	<i>Sfo</i> I	1	1162
<i>Bgl</i> II	1	46	<i>Eco</i> O65I	1	1599	<i>Sgf</i> I	1	116
<i>Blp</i> I	1	1725	<i>Eco</i> RI	1	70	<i>Sgr</i> AI	1	1341
<i>Bmr</i> I	1	2931	<i>Eco</i> RV	1	64	<i>Sma</i> I	1	2113
<i>Bpu</i> 1102I	1	1725	<i>Eco</i> T14I	2	89 1731	<i>Spe</i> I	1	52
<i>Bse</i> RI	2	1753 944	<i>Ehe</i> I	1	1162	<i>Sph</i> I	1	40
<i>Bsp</i> 106I	1	16	<i>Fba</i> I	2	662 707	<i>Sse</i> 8387I	1	1089
<i>Bsp</i> 1407I	1	404	<i>Fsp</i> I	1	2756	<i>Ssp</i> I	1	2174
<i>Bsp</i> CI	2	117 2609	<i>Hir</i> d III	2	22 1723	<i>Sty</i> I	2	89 1731
<i>Bsp</i> DI	1	16	<i>Kas</i> I	1	1162	<i>Vsp</i> I	1	2805
<i>Bsp</i> MI	1	1616	<i>Kpn</i> I	1	3885	<i>Xba</i> I	1	1862
<i>Bsr</i> DI	2	2740 2922	<i>Lsp</i> I	1	250	<i>Xcm</i> I	2	968 1307
<i>Bsr</i> GI	1	404	<i>Mlu</i> I	1	28	<i>Xho</i> I	1	1
<i>Bss</i> SI	2	2312 3696	<i>Mly</i> I	2	3499 2982	<i>Xma</i> I	1	2113
<i>Bst</i> API	1	1819	<i>Nar</i> I	1	1162	<i>Xmn</i> I	1	2377

表 2. pSLR(PEST)-test ベクター内に認識部位のない制限酵素

<i>Aat</i> I	<i>Aat</i> II	<i>Acc</i> B7I	<i>Acc</i> III	<i>Afe</i> I	<i>Afl</i> II	<i>Age</i> I	<i>Aor</i> 51HI	<i>Apa</i> I	<i>Asc</i> I
<i>Avr</i> II	<i>Bae</i> I	<i>Bbr</i> PI	<i>Bfr</i> I	<i>Bln</i> I	<i>Bsa</i> AI	<i>Bsi</i> WI	<i>Bsm</i> BI	<i>Bsp</i> EI	<i>Bss</i> HII
<i>Bst</i> 1107I	<i>Bst</i> 98I	<i>Bst</i> Z17I	<i>Btr</i> I	<i>Cpo</i> I	<i>Csp</i> I	<i>Dra</i> III	<i>Eco</i> 105I	<i>Eco</i> 47III	<i>Eco</i> 72I
<i>Eco</i> O109I	<i>Eco</i> T22I	<i>Fse</i> I	<i>IPpo</i> I	<i>Mro</i> I	<i>Nde</i> I	<i>Nru</i> I	<i>Nsi</i> I	<i>Pac</i> I	<i>Pfl</i> FI
<i>Pfl</i> MI	<i>Pma</i> CI	<i>Pme</i> I	<i>Pml</i> I	<i>Ppu</i> MI	<i>Psh</i> AI	<i>Psp</i> OMI	<i>Rsr</i> II	<i>San</i> DI	<i>Sap</i> I
<i>Sfi</i> I	<i>Sna</i> BI	<i>Srf</i> I	<i>Stu</i> I	<i>Swa</i> I	<i>Tth</i> 111I	<i>Van</i> 91I			

### pSLR(PEST)-test ベクター配列

```

1 ctcgaggctcg acggtatoga taagcttacg cgtgctagcg catgcagatc tactagtcgg cgggatatcg aattcctgca
81 gcccaccacc atggaagaag agaacatcgt gaatggcgat cgccctcggg atctggtgtt ccttggcaca gccggcctgc
161 agctgtatca gtccctgtat aaatactctt acatcaccga cggaatcadc gacgccaca ccaacgaggt gatctcctat
241 gcccagattt tcgaaacaag ttgccgcctg gccgtgagcc tggagaagta tggcctggat cacaacaacg tggtgccat
321 ttgcagcgag aacaacatcc acttcttcgg ccctctgac gctgcctat accaggggat tccaatggcc acatocaacg

```

401 atatgtacac cgagagggag atgatcggcc acctgaacat ctccaagcca tgtctgatgt totgttccaa gaagtccctg  
481 ccattcatcc tgaagtgca gaagcacctg gactttctca agaaggtgat cgtgatcgac agcatgtaag acatcaacgg  
561 cgtggagtgc gtgttcagtt tctgttcccg gtacaccgat catgcgttcg atccagtga gttcaaccct aaagagtttg  
641 atcccctgga gagaaccgcg ctgatcatga catcctctgg aacaaccggc ctgcctaagg gctgtggtgat cagccacagg  
721 agcatcacca tcagattcgt ccacagcagc gatcccatct acggcacccg catcgcccca gatacatcca tcttggccat  
801 cggccctttc caccacgctc tggactgtt taccgacctg gcttactttc cagtgggctt gaagatcgtg atggtgaaaa  
881 agtttgaggc cgagttcttc ctgaagacca tccagaacta caagatcgtc totatcgtgg tgcctcctcc aatcatggtg  
961 tatctggcca agagccctct ggtggatgag tacaatctgt ccagcctgac agagatcgcc tgtggcggct cccctctggg  
1041 cagagacatc ggcgacaagg tggccaagag actgaaggtc cacggcatcc tgcagggcta tggcctgacc gagacctgta  
1121 gcgccctgat cctgagcccc aacgatagag agctgaagaa gggcgccatc ggcaccoccta tgcctatgt ccaggtgaag  
1201 gtgattgaca tcaacaccgg caaagccctg ggaccaagag agaagggcga gatttgcttc aagagccaga tgcctgatga  
1281 gggctaccac aacaaccac aggccaccag ggatgccctg gacaaggacg ggtggctgca caccggcgtat ctgggctact  
1361 acgacgagga cagattcatc tatgtggtgg atcggctgaa agaactcatc aagtacaagg gctaccaggt ggccctgcc  
1441 gagctggaga acttgcttct gcagcaccct aacatctctg atgccggcgt catcggcatc ccagacgagt ttgcccggca  
1521 gctgccttcc gctgtgtctg tctgtgagcc tggcaagacc atgaccgaga aggaggtgca ggattatata gccgagctgg  
1601 tgaccaccac caagcacctg cggggcggcg tgggttctat cgacagcatt cggaaaggcc caacaggcaa gctgatgaga  
1681 aacgagctga gggccatctt tggccgagc caggccaagt ccaagcttag ccatggcttc ccgcccggagg tggaggagca  
1761 ggctgctggc acgctgcccc tgtcttctgc ccaggagagc gggatggacc gtcaccctgc agcctgtgct tctgctagga  
1841 tcaatgtgta gatgccattc ttctagagcg gccgccaga catgataaga tacattgatg agtttgaca aaccacaact  
1921 agaatgcagt gaaaaaaaa ctttatttct gaaatttctg atgctattgc tttatttcta accattataa gctgcaataa  
2001 acaagttaac aacaacaatt gcattcattt tatgtttcag gttcaggggg aggtgtggga gttttttta agcaagtaa  
2081 accttaciaa atgtggtatg gagctccgc gccccgggg atcctcaaat atgtatccgc tcatgagaca ataaccctga  
2161 taaatgcttc aataatattg aaaaaggaag agtatgagta ttcaacattt cctgtctgcc cttattccct tttttgggc  
2241 attttgctt cctgtttttg ctaccccaga aacgctggtg aaagtaaaag atgctgaaga tcagttgggt gcacgagtgg  
2321 gttacatcga actggatctc aacagcggta agatccttga gagttttcgc cccgaagaac gttttccaat gatgagcact  
2401 tttaaagttc tgctatgtgg cgcggtatta tcccgattg acgcccggca agagcaactc ggtcggccga taactattc  
2481 tcagaatgac ttggttgagt actcaccagt cacagaaaag catcttacgg atggcatgac agtaagagaa ttatgcagtg  
2561 ctgccataac catgagtgat aacactcgg ccaacttact tctgacaacg atcggaggac cgaaggagct aaccgctttt  
2641 ttgcacaaca tgggggatca tgaactcgc cttgatcgtt gggaaccgga gctgaatgaa gccatacca acgacgagcg  
2721 tgacaccacg atgctgttag caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttccggc  
2801 aacaattaat agactggatg gagcgggata aagttgcagg accacttctg cgtcgggcc ttccggctgg ctggtttatt  
2881 gctgataaat ctggagccgg tgagcgtggg tctcgggta tcatgacgc actggggcca gatggtgtaag cctcccgtat  
2961 cgtagtattc tacacgacgg ggagtcaggc aactatggat gaacgaaata gacagatcgc tgagataggt gcctcactga  
3041 ttaagcattg gtaactgtca gaccaagttt actcatatat actttagatt gatttaaac ttcattttta atttaaaagg  
3121 atctagtgta agatcctttt tgataatctc atgacaaaa tcccttaacg tgagttttc ttccactgag cgtcagacc  
3201 cgtagaaaag atcaaaggat cttcttgaga tctttttt ctgcccgtaa tctgtctgct gaaacaaaa aaaccaccgc  
3281 taccagcggg ggtttgtttg ccgatcaag agtaccacac tctttttccg aaggtaactg gcttcagcag agcgcagata  
3361 ccaataactg ttcttctagt gtagccgtag ttaggccacc acttcaagaa ctctgtagca ccgctacat acctcgctct  
3441 gctaatoctg ttaccagtgg ctgctgccag tggcgataag tctgtcttta cggggttga ctcaagacga tagttaccgg  
3521 ataaggcgca gcggtcgggc tgaacggggg gttcgtgcac acagcccagc ttggagcgaa cgacctacac cgaactgaga  
3601 tacctacagc gtgagctatg agaaagcgc acgcttccc aaggagagaa ggcggacagg tatccggtaa gcggcagggt  
3681 cggaacagga gagcgcacga gggagcttcc aggggaaac gcctggtatc tttatagtcc tgtcgggttt cggcacctct  
3761 gacttgagcg tcgatttttg tgatgctcgt cagggggcg gagcctatgg aaaaacgcca gcaacgggc ctttttacgg  
3841 ttcttggcct tttgctggcc tttgctcac atgttctttc ctgcccgtacc gatcataatc agccatacca cattttaga  
3921 ggttttactt gotttaaaaa acctcccaca cctcccctg aacctgaaac ataaaatgaa tgcaattgtt gttgtaact  
4001 tgtttattgc agcttataat gtttacaat aaagcaatag catcacaat ttcacaata aagcattttt ttcactgcat  
4081 tctagtgtg gtttgcctaa actcatcaat gtatcttct atgtctggat cataatcagc cataccacat ttgtagagg  
4161 tttacttgc ttaaaaaacc tcccacacct cccctgaac ctgaaacata aatgaatgc aattgttgtt gttacttgt  
4241 ttattgcagc ttataatggt tacaataaa gcaatagcat cacaaattc acaataaag cattttttc actgcattct  
4321 agttgtggtt tgtccaaact catcaatgta tcttatcatg tctg

## [7] トラブルシューティング

### (1) クローニング

現象	対応
ターゲット領域の PCR 増幅が上手くいかない	ターゲット領域に GC リッチな領域が含まれる場合、PCR 反応効率が低下することがあります。下記のように PCR を行うことによって改善される場合があります。 <ul style="list-style-type: none"><li>・PCR を 2 ステップサイクルにする。</li><li>・PCR の Denature ステップを 98°C、10 秒にする。</li><li>・5%程度の DMSO を PCR 反応液に添加する。</li></ul>
コロニーダイレクト PCR が上手くいかない	適切なプライマーを使用してください(p.7 参照)。また、上記のように PCR を行うことによって改善される場合があります。

### (2) トランスフェクション

現象	対応
ルシフェラーゼが発現しない、または発現が低い	<ul style="list-style-type: none"><li>・ もともと発現の低いプロモーターの可能性がります。低レベルの発現の確認には SLO または SLG が適しています。SLR に連結されている場合、SLO あるいは SLG に組み換えることをお勧めします。</li><li>・ トランスフェクション試薬あるいは条件が不適当な可能性があります。試薬や条件を変えて実施してください。</li><li>・ プラスミド抽出の際、大腸菌が混入した可能性があります(顕微鏡で観察すると、細胞以外に菌体が認められます)。フェノール/クロロホルム抽出を実施してください。</li><li>・ プラスミドの純度が低い可能性があります。Endotoxin の混入が少なくなるように再精製してください。</li></ul>

## [8] 参考文献

1. Nakajima, Y., Kimura, T., Suzuki, C., and Ohmiya, Y. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **68**, 948-951(2004)
2. Nakajima, Y., Ikeda, M., Kimura, T., Honma, S., Ohmiya, Y. and Honma, K. *FEBS Letters* **565**, 122-126 (2004)
3. 近江谷克裕 *生化学*, **76**, 5-15(2004)
4. 中島芳浩、菅田和法、近江谷克裕 *バイオテクノロジージャーナル*, 7-8, 453-455(2005)
5. Nakajima, Y., Kimura, T., Sugata, K., Enomoto, T., Asakawa, A., Kubota, H., Ikeda, M. and Ohmiya, Y. *Biotechniques*, **38**,891-894(2005)
6. Li, X., Zhao, X., Fang, Y., Jiang, X., Duong, T., Fan, C., Huang, C.C., Kain, S.R. *J. Biol. Chem.* **273**, 34970-34975(1998)
7. Andrew G.B., Joanna B., Cameron S.O., and Peter N.C. *Plasmid*, **44**, 173-182(2000)

## [9] 関連商品

品名	内容	Code No.
Tripluc®システム用 1 液アッセイ試薬 ( <i>in vitro</i> アッセイ用) <b>Tripluc® Luciferase Assay Reagent</b>	10mL × 1 本	MRA-301
High Fidelity PCR 用酵素 <b>KOD -Plus-</b>	200 U × 1 本	KOD-201
High Fidelity PCR 用酵素 <b>KOD -Plus- Ver.2</b>	200 U × 1 本	KOD-211
Taq ベースのブレンド型 PCR 用酵素 <b>Blend Taq®</b>	250 U × 1 本	BTQ-101
Taq ベースのブレンド型 PCR 用酵素 (Hot start 対応) <b>Blend Taq® -Plus-</b>	250 U × 1 本	BTQ-201
簡単ライゲーション <b>Ligation high</b>	50 回用	LGK-101
コンピテントセル <b>Competent high DH5 α</b>	0.1mL × 10 本	DNA-903



# TOYOBO

## 【製造・販売元】

— 価格・在庫に関するお問い合わせ —

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (大阪)  
〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号  
大阪梅田ツインタワーズ・サウス  
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833  
E-mail : order\_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (東京)  
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号  
住友商事京橋ビル  
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951  
E-mail : order\_lifescience@toyobo.jp

— 製品の内容・技術に関するお問い合わせ —

テクニカルライン  
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833  
開設時間 9:00~12:00 , 13:00~17:00 (土日祝日、休日を除く)  
E-mail : tech\_osaka@toyobo.jp  
[URL] <https://lifescience.toyobo.co.jp/>