

シカジーニクス® 病原遺伝子検出PCRキット(下痢原性大腸菌用)2

Cica Geneus® Pathogenesis Gene Detection PCR Kit (for Diarrheagenic *E.coli*) 2

下痢原性大腸菌 (Diarrheagenic *E. coli*) は、ヒトに腹痛・下痢症を引き起こす大腸菌の総称であり、性質や症状の違いにより5種類および他の下痢原性大腸菌に分類されます。¹⁾ また、近年、大腸菌と近縁の下痢症起因菌である *Escherichia albertii* (*E. albertii*) を原因とする食中毒や集団感染事例がたびたび発生しております。

本製品は、マルチプレックスPCR法により、下痢原性大腸菌のうち主な5種類である **EHEC/VTEC** (腸管出血性/ペロ毒素産生性大腸菌)、**EPEC** (腸管病原性大腸菌)、**ETEC** (腸管毒素原性大腸菌)、**EIEC** (腸管侵入性大腸菌)、**EAggEC** (腸管凝集付着性大腸菌) および *E. albertii* の病原性に関わる遺伝子を同時に検出できます。

1) 国立感染症研究所, IASR 33(1), 2012, 下痢原性大腸菌の分類の見直しについて

特長

- 2種類のプライマーミックスを用いて、大腸菌および *E. albertii* の菌種特異的遺伝子と7種類の病原性因子^{*1}を同時に、かつ区別して検出できます。

*1 病原性因子：ペロ毒素1, 2型(VT1, 2)遺伝子(*stx1, 2*)、耐熱性エンテロトキシン(ST)遺伝子(*est*)、

易熱性エンテロトキシン(LT)遺伝子(*elt*)、インチミン遺伝子(*eae*)、凝集付着性関連因子(*aggR*)、腸管侵入性関連因子(*invE*)

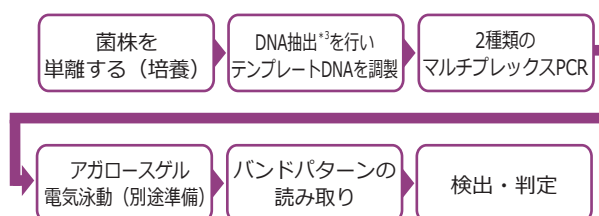
- 検出結果を数値化することで、判定結果を明確化できます。
- ポジティブコントロール等、PCRに必要な試薬が同梱しています。
- インターナルコントロールの検出結果から、PCR阻害の有無を確認できます。

キットの構成 (50回分)

個別名称	容量
試薬A Aptaq DNA Master (5×Conc.) ^{*2}	400 μL ×1本
試薬B PCRサブプリメント	700 μL ×1本
試薬C プライマーミックス1	200 μL ×1本
試薬D プライマーミックス2	200 μL ×1本
試薬E ポジティブコントロール	250 μL ×1本
試薬F 6×ローディングバッファー	400 μL ×1本

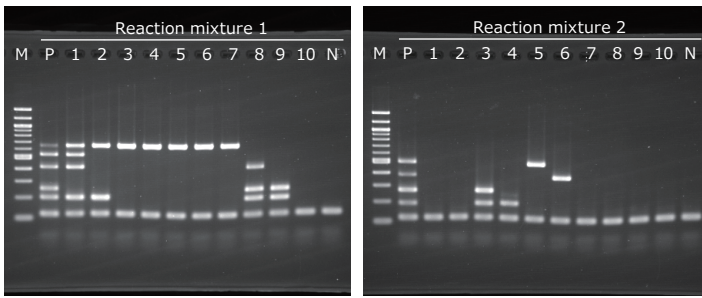
*2 Aptaq DNA Master (5×Conc.) は、Roche Diagnostics K.K.の商品です。

操作手順



*3 シカジーニクス® DNA抽出試薬は別売です。

図1 電気泳動パターンの実例



M : 100 bp DNA Ladder, P : ポジティブコントロール, 1 : *E. coli* ATCC 35150 (EHEC/VTEC), 2 : *E. coli* ATCC 43887 (EPEC), 3 : *E. coli* ATCC 35401 (ETEC), 4 : *E. coli* NCTC 11603 (ETEC), 5 : *E. coli* 分離株 (EAggEC), 6 : *E. coli* ATCC 43893 (EIEC), 7 : *E. coli* ATCC 11775 (非病原性), 8 : *E. albertii* 分離株 (*stx2f* 陽性), 9 : *E. albertii* LMG 20976, 10 : *Citrobacter freundii* ATCC 8090
N : ネガティブコントロール (TE 緩衝液)

- ① 2つのマルチプレックスPCRの電気泳動結果(図1)からバンドパターン(表1)を読み取ります。
- ② *uidA* が検出された場合は、表1を参考に、係数と結果(1または0)を乗算したものをポイントとし、ポイントの合計を算出して下さい。合計ポイントを表2と照らし合わせ、大腸菌の病原型を判定して下さい。
- ③ *lysP* が検出された場合は、*E. albertii* と判定して下さい。
- ④ *uidA*、*lysP* の両方とも検出されなかった場合は、本キットにおいては菌種判定不能となります。

解析結果

弊社製品 HP から解析用計算シートをダウンロード後、バンドの有無を二進法(1,0)で入力し、係数の合計値を算出した。

カテゴリー	サンプル番号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
係数の合計値	97	1	24	16	2	4	0	65	1	0
病原型の判定	EHEC/VTEC (<i>stx1+</i> <i>stx2+</i> <i>eae+</i>)	EPEC (<i>eae+</i>)	ETEC (<i>est+</i> <i>elt+</i>)	ETEC (<i>est+</i>)	EAggEC (<i>aggR+</i>)	EIEC (<i>invE+</i>)	大腸菌	<i>E. albertii</i> (<i>stx2+</i> <i>eae+</i>)	<i>E. albertii</i> (<i>eae+</i>)	菌種判定不能

表1 検出遺伝子とPCR増幅産物サイズ

	係数	増幅サイズ (bp)	ターゲット遺伝子
Reaction mixture 1	-	652	<i>uidA</i> (<i>E. coli</i> 判定領域)
	32	532	<i>stx1</i>
	64	413	<i>stx2</i>
	-	252	<i>lysP</i> (<i>E. albertii</i> 判定領域)
	1	199	<i>eae</i>
	-	120	インターナルコントロール
Reaction mixture 2	2	499	<i>aggR</i>
	4	379	<i>invE</i>
	8	270	<i>elt</i>
	16	191	<i>est</i>
	-	120	インターナルコントロール

本キットでは、
 * 志賀赤痢菌が保有する志賀毒素遺伝子も *stx1* として検出します。
 * *E. albertii* が保有する *stx2f* バリエーションも *stx2* として検出します。
 * *Citrobacter* 属が保有する *eae* も検出します。
 * *est* のフタ型 (STp) とヒト型 (STh) の両方を検出します。
 * 赤痢菌の大半が保有している *uidA* も検出するため、赤痢菌と大腸菌を区別することができません。

表2 合計ポイントと病原型

合計ポイント	判定 (大腸菌の場合)
0	EHEC/VTEC, EPEC, ETEC, EIEC, EAggEC 以外の大腸菌
1	EPEC (<i>eae+</i>)
2	EAggEC (<i>aggR+</i>)
4~7	EIEC (<i>invE+</i>)
8~15	ETEC (<i>elt+</i>)
16~23	ETEC (<i>est+</i>)
24~31	ETEC (<i>est+</i> , <i>elt+</i>)
32~63	EHEC/VTEC (<i>stx1+</i>)
64~95	EHEC/VTEC (<i>stx2+</i>)
96~127	EHEC/VTEC (<i>stx1+</i> , <i>stx2+</i>)
上記以外	生化学的性状等を併用して判断してください

製品情報

製品名	包装	保存	希望価格 (円)	製品番号
シカジーニクス® 病原遺伝子検出キット(下痢原大腸菌用) 2	50回分	冷凍 (-25℃~-20℃)	53,000	08377-96
シカジーニクス® DNA抽出試薬	120回分	冷蔵 (2℃~8℃)	24,000	08178-96

★上記の他に必要な機材・試薬などがございますので、弊社営業所もしくは販売店へお問合せください。

その他 PCR・POTキットシリーズ

製品名	包装	希望価格 (円)	製品番号	製品名	包装	希望価格 (円)	製品番号
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (黄色ブドウ球菌用)	120回分	87,000	08180-96	シカジーニクス® ESBL遺伝子型検出キット2	30回分	44,000	08116-96
	30回分	40,000	08180-97	シカジーニクス® AmpC遺伝子型検出キット	30回分	40,000	08143-96
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (緑膿菌用)	50回分	67,000	08187-96	シカジーニクス® カルバペナーゼ遺伝子型検出キット2	30回分	44,000	08158-96
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (アシネト/クター属菌用)	30回分	44,000	08062-96	シカジーニクス® コアグラゼ検出セット (黄色ブドウ球菌用)	50回分	53,000	08179-96
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (大腸菌用)	30回分	44,000	08362-97	シカジーニクス® 毒素遺伝子検出キット (<i>C. difficile</i> 用)	30回分	44,000	08115-96
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (C. ティフィシム用)	30回分	47,500	08106-97				
シカジーニクス® 分子疫学解析POTキット (E. クロアカ complex用)	30回分	47,500	08376-97				

- 本記載の製品は、試薬 (試験、研究用として用いる化学薬品) としての用途にご利用ください。
- 本記載価格に、消費税等は含まれておりません。
- 本記載の製品情報は予告なく変更する場合があります。最新情報は、弊社ホームページ「Cica-Web」をご確認ください。

- 本製品の実験条件等は、別途取扱説明書をご確認ください。
- 本製品は開発中の為、本リーフレットの内容を変更する場合がございます。あらかじめご了承ください。



〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号

TEL : 03-6214-1090

HP : <https://www.kanto.co.jp>

EA231005
BGa-08(202311)