

シカジーニアス® 分子疫学解析POTキット (E. クロアカ complex用)

Cica Geneus® *E. cloacae complex* POT KIT

藤田医科大学の鈴木匡弘先生により開発されたPCR-based ORF Typing (POT法) は、マルチプレックスPCRを用いて複数の特定遺伝子を同時に増幅し、アガロース電気泳動で検出された増幅バンドパターンを解析し、菌体間の相同性を比較する方法です。

Enterobacter cloacae complex(ECC)は、*E. cloacae* の近縁の菌種の総称であり、その中の一部はカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌(CPE)としても問題になっております。本キットはECCを対象とし、主要菌種(*E. hormaechei* / *E. asburiae* like^{*1} / *E. kobei* like^{*2})の菌種同定、*E. hormaechei* / *E. asburiae* likeのクローン同定及び菌株識別、*E. kobei* like / その他ECCの簡易的なクローン同定が可能です。

本キットは、藤田医科大学と関東化学 生命科学研究所との共同研究の成果を用いて開発されました。

*1, *2 詳細については、裏面の解析例をご確認ください。

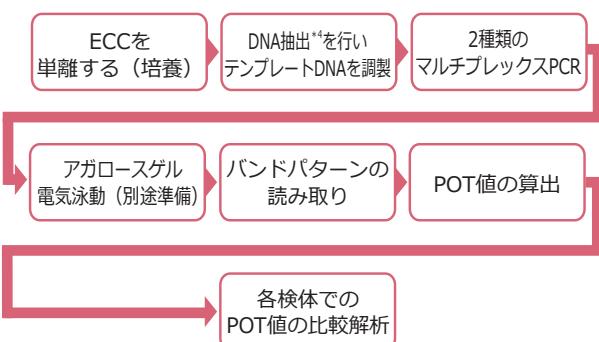
特長

- 解析結果を数値化 (POT値) することで、ECCの主要菌種の菌株識別が可能です。
- 最適化したマルチプレックスPCRなので、約4時間以内で分子疫学解析が可能です。
- 特別な装置は不要です。
- *E. hormaechei*, *E. asburiae*においては、MLSTと同程度以上の識別能を有しております。

キットの構成 (30回分)

個別名称	容量
試薬A AptiTaq DNA Master (5×Conc.) ^{*3}	240μL ×1本
試薬B PCRサブリメント	240μL ×1本
試薬C プライマーミックスα	120μL ×1本
試薬D プライマーミックスβ	120μL ×1本
試薬E ポジティブコントロール	240μL ×1本
試薬F 6× ローディングバッファー	240μL ×1本

操作手順

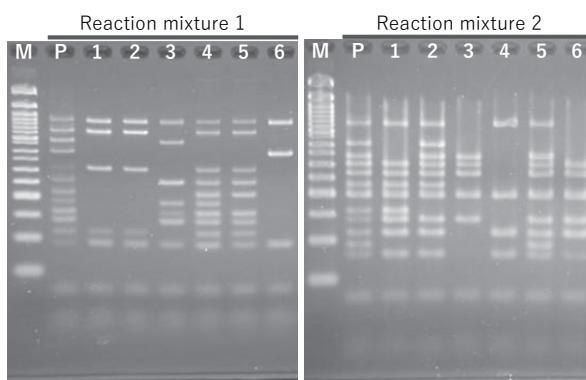


*3 AptiTaq DNA Master (5×Conc.) は、Roche Diagnostics K.K.の商品です。

*4 シカジーニアス® DNA抽出試薬は別売です。

解析例

図1 電気泳動パターンの実例



下記の菌株について解析した電気泳動パターンの実例

M: 50 bp DNA Ladder, P: ポジティブコントロール（試薬 E）、
1-6: *Enterobacter* sp. 分離株

表1 検出ORFの種類（ターゲット領域）とPCR増幅産物サイズ

	POT No.	増幅サイズ (bp)	POT 係数	ターゲット領域
Reaction mixture 1	PCR PC	668	-	ECC 判定領域
	<i>E. hormaechei</i> PC	562	1000	<i>E. hormaechei</i> 判定領域
	<i>E. asburiae</i> like PC	477	2000	<i>E. asburiae</i> like 判定領域
	<i>E. kobei</i> like PC	399	3000	<i>E. kobei</i> like 判定領域
	POT1-1	313	128	Genomic island-1
	POT1-2	261	64	Genomic island-2
	POT1-3	216	32	Genomic island-3
	POT1-4	187	16	Genomic islet-1
	POT1-5	163	8	Genomic island-4
	POT1-6	141	4	Genomic island-5
Reaction mixture 2	POT1-7	116	2	Genomic island-6
	POT1-8	93	1	<i>bla</i> _{IMP-1} group
	<i>E. hormaechei</i> PC	562	-	<i>E. hormaechei</i> 判定領域
	POT2-1	410	1024	Genomic island-7
	POT2-2	344	512	Genomic islet-2
	POT2-3	312	256	Genomic island-8
	POT2-4	274	128	Genomic island-9
	POT2-5	234	64	Genomic island-10
	POT2-6	202	32	Genomic islet-3
	POT2-7	163	16	Genomic island-11
	POT2-8	144	8	Genomic island-12
Reaction mixture 3	POT2-9	118	4	Genomic island-13
	POT2-10	97	2	Genomic island-14
	POT2-11	82	1	Genomic island-15

①2つのマルチブレックス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この電気泳動のバンドの有無の結果を用いて、POT値解析用の計算シートに二進法で入力し、2つのカテゴリーのPOT値を算出します。

I PCR PCが陽性の場合、その検体は *Enterobacter cloacae* complex であることが確認できます。

II POT値1が1000以上2000未満であれば *E. hormaechei*、2000以上3000未満であれば *E. asburiae* like(一部の *E. asburiae* と一部の *E. rogenkampii*)、3000以上であれば *E. kobei* like(*E. kobei* と一部の *E. rogenkampii*)、1000未満であれば *Enterobacter cloacae* complex であるが菌種は不明と判定されます。

III POT値1が奇数の場合は、*bla*_{IMP-1} groupを保有していると推定出来ます。

IV 検体間のPOT値を比較することで、菌体間の相容性を客観的に推測出来ます。

V 集団感染から得られた菌体はPOT1、2のPOT値が全て同一になります。

※ 試験株の菌種が *E. kobei* like、その他ECCの場合、POT1値とMLST解析との相関性は低く、同じST型の菌株でも異なるPOT1値またはPOT型になることや、異なるST型の菌株でも同じPOT1値またはPOT型を示す場合があります。

解析結果

弊社製品HPからPOT値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で入力し
(バンドあり:1、バンドなし:0)、2つのカテゴリーのPOT値を算出した。

	図1におけるサンプル番号					
	1	2	3	4	5	6
POT1	1131	1131	2093	1255	1239	3001
POT2	509	2029	1872	37	943	429

製品情報

製品名	包装	保存	製品番号
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (E. クロアカ complex用)	30回分	冷凍 (-25~ -20 °C)	08376-97
シカジニアス® DNA抽出試薬	120回分	冷蔵 (2 °C~8 °C)	08178-96

その他POTキットシリーズ

製品名	包装	製品番号
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (黄色ブドウ球菌用)	120回分	08180-96
	30回分	08180-97
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (緑膿菌用)	50回分	08187-96
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (アントバクター属菌用)	30回分	08062-96

製品名	包装	製品番号
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (大腸菌用)	30回分	08362-97
シカジニアス® 分子疫学解析POTキット (C. ディフィシル用)	30回分	08106-97

●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。
●本キットは、藤田医科大学から特許許諾を得て製造しております。他メーカーの商品に関するライセンスについては、各メーカーにご確認ください。

製品の価格につきましては、弊社ホームページ
「Cica-Web」をご確認ください。
右記の二次元バーコードからもご覧いただけます。→



- 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。

Cica 関東化学株式会社
試薬事業本部

〒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>