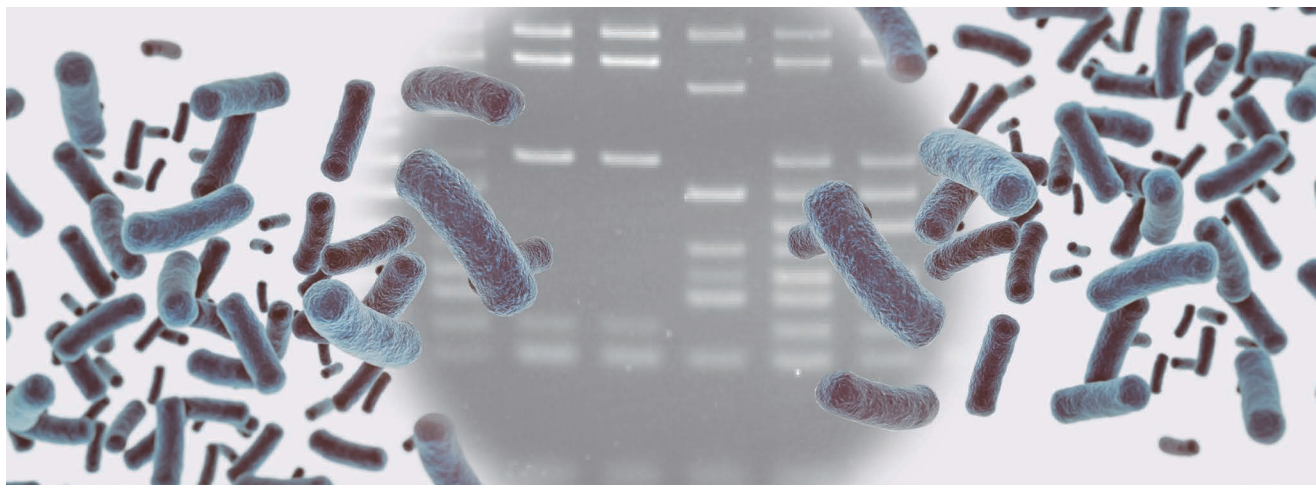


シカジーンアス® 分子疫学解析POTキット (E. クロアカ complex用)

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<sup>\*1</sup>)の菌種推定、*E. hormaechei* の菌株識別・ST型推定、一部の*E. asburiae* の簡易的なST型推定が可能です。

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 詳細については、裏面の解析例をご確認ください。

## 特長

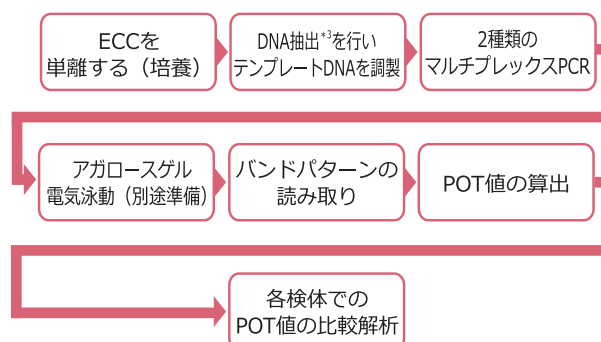
- 解析結果を数値化 (POT値) することで、*E. hormaechei* の菌株識別が可能です。
- 最適化したマルチプレックスPCRなので、約4時間以内で分子疫学解析が可能です。
- 特別な装置は不要です。
- *E. hormaechei*においては、MLSTと同等の識別能を有しております。

## キットの構成 (30回分)

| 個別名称   | 容量        |
|--|-----------|
| 試薬A AptaTaq DNA Master (5×Conc.) <sup>*2</sup> | 240μL ×1本 |
| 試薬B PCRサブプリメント                                 | 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 |

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

## 操作手順

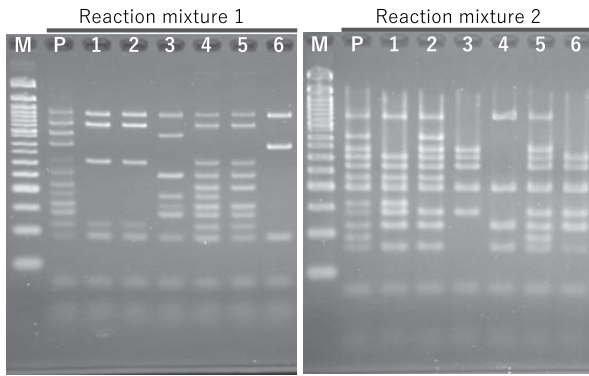


\*3 シカジーンアス® DNA抽出試薬は別売です。



## 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 1 PC | 477        | 2000              | <i>E. asburiae</i> like 1 判定領域 |
|                    | <i>E. asburiae</i> like 2 PC | 399        | 3000              | <i>E. asburiae</i> like 2 判定領域 |
|                    | POT1-1                       | 313        | 128               | Genomic island-1               |
|                    | POT1-2                       | 261        | 64                | Genomic island-2, 2a           |
|                    | POT1-3                       | 216        | 32                | Genomic island-3, 3a           |
|                    | POT1-4                       | 187        | 16                | Genomic islet-1                |
|                    | POT1-5                       | 163        | 8                 | Genomic island-4               |
|                    | POT1-6                       | 141        | 4                 | Genomic island-5, 5a           |
| Reaction mixture 2 | POT1-7                       | 116        | 2                 | Genomic island-6               |
|                    | POT1-8                       | 93         | 1                 | bla <sub>IMP-1</sub> 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              |
| 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 1(一部の*E. asburiae*と一部の*E. roggenkampii*)、3000以上であれば*E. asburiae* like 2(*Enterobacter* species close to *E. asburiae*と一部の*E. roggenkampii*)、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<sub>IMP-1</sub> 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、*E. hormaechei*の菌体間の相同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。
- ※ *E. asburiae* like 1と判定された検体はPOT1-2, 1-3, 1-6, 1-8が合計されたPOT1のみが、*E. asburiae* like 2はPOT1-8のみが算出されます。

## 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 | 2069 | 1255 | 1239 | 3001 |
| POT2 | 509          | 2029 | -    | 37   | 943  | -    |

## 製品情報

| 製品名                                      | 包装    | 保存            | 希望価格(円) | 製品番号     |
|--|-------|---------------|---------|----------|
| シカジーニース® 分子疫学解析POTキット (E. クロアカ complex用) | 30回分  | 冷凍 (-25~-20℃) | 47,500  | 08376-97 |
| シカジーニース® DNA抽出試薬                         | 120回分 | 冷蔵 (2℃~8℃)    | 24,000  | 08178-96 |

## その他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     |
|-------------------------------------|-------|---------|----------|------------------------------------|------|---------|----------|
| シカジーニース® 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 | シカジーニース® 分子疫学解析POTキット (大腸菌用)       | 30回分 | 44,000  | 08362-97 |
|                                     | 30回分  | 40,000  | 08180-97 | シカジーニース® 分子疫学解析POTキット (C. ディフィシル用) | 30回分 | 47,500  | 08106-97 |
| シカジーニース® 分子疫学解析POTキット (緑膿菌用)        | 50回分  | 67,000  | 08187-96 |                                    |      |         |          |
| シカジーニース® 分子疫学解析POTキット (アシネトバクター属菌用) | 30回分  | 44,000  | 08062-96 |                                    |      |         |          |

★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。  
 ●本キットは、藤田医科大学から特許許諾を得て製造をしております。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。

- 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。

**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>