

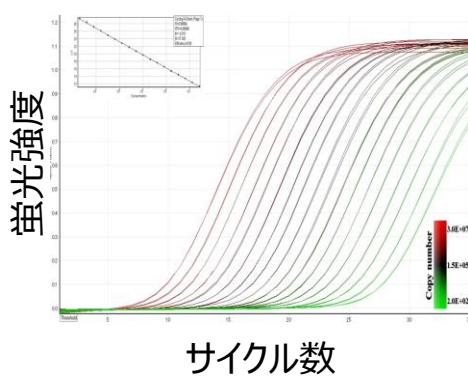
リアルタイム PCR 解析サービスのご案内

説 明

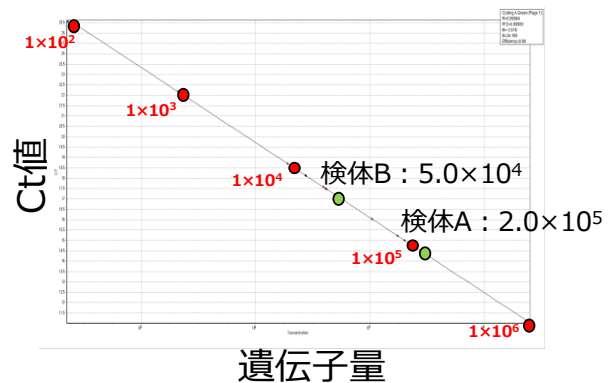
次世代シーケンス・アンプリコン解析を用いた菌種構成の網羅的な解析だけではなく、細菌叢解析には定量的な指標（細菌の量）を用いることが重要であると考えられるようになってきました¹⁾。細菌叢解析では、「検体に含まれる菌種の構成割合およびその変化」が良く示されていますが、リアルタイム PCR 解析は「構成割合ではなく、対象とする菌種の遺伝子量およびその増加や減少」といった定量的な情報を示すことができるのが特徴です。

リアルタイム PCR 解析は、細菌叢解析に用いられる分子生物学的手法の中で最も定量性の高い技術の一つであり、微量なサンプルからでも正確に定量することが可能であることから、今後ますます細菌叢解析に利用されると考えられます。

リアルタイム PCR 法は、サンプルに含まれる特定分類群（微生物）の遺伝子を、リアルタイム PCR 装置を用い、指数関数的に増幅する DNA の量をリアルタイムにモニタリングすることで、サンプル中に含まれる目的対象とする微生物の遺伝子量（コピー数）を推定する技術です。本技術を用いることで、サンプル 1 g あるいは 1 mL あたりに含まれる特定の細菌種の遺伝子量を推定可能な技術となります。種々のマーカーとなる細菌が分かっている場合、あるいは注目している細菌が決まっている場合には、迅速かつ安価な手法であるリアルタイム PCR 解析を行うことが有効と考えられます。また、ターゲットとする細菌の遺伝子量と全細菌の遺伝子量を比較することで、サンプル中の目的対象とする細菌の割合（相対比）を算出することも可能です。



蛍光値をリアルタイムに
モニタリング



検量線を作成し、
検体の遺伝子量を定量

食品分野において

リアルタイム PCR を用いた解析として、緑茶エキスと紅茶エキスが腸内環境に及ぼす影響²⁾、ケトース投与による腸内細菌叢の変化³⁾、ヘスペレチン投与が腸内環境に及ぼす影響⁴⁾、プロバイオティック乳酸菌の病原微生物に対する投与効果⁵⁾など多くの研究報告がされています。

プライマー

<https://www.tecsrg.co.jp/services/community-structure/realtime-pcr/>

当社は、腸内 (72 種類)、口腔内 (16 種類)、皮膚・その他 (6 種類)、水環境 (7 種類)、窒素循環 (11 種類)、アーキア (9 種類)、微生物腐食 (8 種類)、その他環境 (13 種類)、食品分野等 (22 種類) で使用可能なプライマーを常時取り揃えています。

リストにない分類群に関しては文献調査、プライマー設計、プラスミド DNA スタンダードの作製から行うことが可能です。

注目の細菌	説明
<i>Akkermansia muciniphila</i>	腸内細菌叢と肥満、糖尿病などの代謝性疾患との関連が示唆され、次世代プロバイオティクスとしても注目されている*
<i>Atopobium parvulum</i>	大腸がんの進行度との関連が示唆
<i>Bacteroides fragilis</i>	polysaccharide A (PSA)を産生し、宿主免疫系の発達および恒常性の維持に対する関与が示唆されている*
<i>Christensenella minuta</i>	低 BMI、体重増加抑制との関連が示唆されている
<i>Clostridium</i> cluster XI	肥満にともなう非アルコール性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis NASH) との関連が示唆され、デオキシコール酸産生細菌を含む
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	抗炎症作用があり炎症性腸疾患 (IBD) との関連が示唆され、次世代プロバイオティクスとしても注目されている*
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	大腸がんの進行度との関連が示唆
<i>Methanobacteriaceae</i> 科	欧米人と比較して、日本人ではその保菌率が少ないメタン生成菌 <i>Methanobrevibacter</i> および <i>Methanosphaera</i> 属
<i>Peptostreptococcus stomatis</i>	大腸がんの進行度との関連が示唆
<i>Roseburia</i> 属	ヒト腸管内での主要な酪酸生成菌
<i>Veillonella</i> 属	高負荷運動後に増加する乳酸代謝細菌**

*El Hage R, Hernandez-Sanabria E, Van de Wiele T. Emerging Trends in "Smart Probiotics": Functional Consideration for the Development of Novel Health and Industrial Applications. *Front Microbiol.* 2017;8:1889

**Scheiman J, Luber JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, et al. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat Med.* Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1038/s41591-019-0485-4.

参考文献

- 1) Vandeputte D, Kathagen G, D'hoel K, Vieira-Silva S, et al Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature* 2017;551:507–511.
- 2) Unno T, Osakabe N. Green tea extract and black tea extract differentially influence cecal levels of short-chain fatty acids in rats. *Food Science & Nutrition* 2018;6:728–735.
- 3) Tochio T, Kitaura Y, Nakamura S, Sugawa C, Takahashi M et al. An Alteration in the Cecal Microbiota Composition by Feeding of 1-Kestose Results in a Marked Increase in the Cecal Butyrate Content in Rats. *PLoS One* 2016;11:e0166850.
- 4) Unno T, Hisada T, Takahashi S. Hesperetin Modifies the Composition of Fecal Microbiota and Increases Cecal Levels of Short Chain Fatty Acids in Rats. *J Agric Food Chem* 2015;63:7952–7957.
- 5) Takahashi S, Yoshida Y, Nakanishi N, Tsukahara T, Ushida K. Quantitative real-time PCR monitoring of *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* with oral administration of *Lactobacillus plantarum* strain Lq80 to weaning piglets. *Anim Sci J* 2008;79:737–744.

URL: <https://www.tecsrg.co.jp/services/community-structure/realtime-pcr/>

〒424-0065 静岡県静岡市清水区長崎 330 番地
TEL: 054-349-6211 FAX: 054-349-6121
E-MAIL: tsl-contact@tecsrg.co.jp