



16S rDNA-Full 報告書

シリアル番号 XXXXXxx
管理番号 SIID 00000
作業完了日 202x 年 xx 月 xx 日
発行日 202x 年 xx 月 xx 日

極秘資料

本報告書の使用にあたっての確認事項

1. 本報告書は株式会社テクノスルガ・ラボ 技術責任者による承認済みです。
2. 研究発表（論文投稿）や特許明細書への転用を除き、本報告書の一部または全部をそのままあるいは改変して第三者へ転用などされた場合には、株式会社テクノスルガ・ラボは一切の責任を負いかねます。
3. 当社受託サービス等は、試験・研究用途を目的として販売しております。当社受託サービスを医療や臨床診断などの試験・研究目的以外へご使用される場合、これに起因する損失・損害等については、当社では一切の責任を負いかねます。

技術責任者

印

株式会社テクノスルガ・ラボ 研究センター 技術部

〒424-0065 静岡県静岡市清水区長崎 388 番地の 1

TEL : 054-349-6155 FAX : 054-349-6121

Mail : tsl-contact@tecsrg.co.jp



検体情報

備考

目的

16S rDNA (16S rRNA 遺伝子) の塩基配列解析の結果から、検体の帰属分類群を推定します。

方法

1. 培養条件

- ・培地 アキュディア トリプトソーヤ寒天培地 顆粒 (Shimadzu Diagnostics Corporation, Japan)
- ・培養温度 30°C
- ・培養確認時間 24 時間
- ・その他条件 好気培養

2. 16S rDNA 塩基配列解析

- DNA 抽出 アクロモペプチダーゼ (FUJIFILM Wako Pure Chemical, Japan)
- PCR 増幅 Tks Gflex DNA Polymerase (Takara Bio, Japan)
- サイクルシーケンス BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA)
- 使用プライマー¹⁾ PCR 増幅: 9F, 1510R
シーケンス (約 1,500 bp): 9F, 515F, 1099F, 536R, 926R, 1510R
- シーケンス ABI PRISM 3500xL Genetic Analyzer System (Applied Biosystems)
- 塩基配列決定 ChromasPro 2.1 (Technelysium, AUS)
- BLAST 相同性検索²⁾ 解析ソフトウェア: ENKI v3.3 (TechnoSuruga Laboratory, Japan)
データベース
DB-BA18.0 (TechnoSuruga Laboratory)
国際塩基配列データベース (DDBJ/ENA/GenBank)
検索日: 202x 年 xx 月 xx 日
- 簡易分子系統解析 系統樹の推定: 近隣結合法³⁾
塩基置換モデル: Kimura-2-parameter⁴⁾
樹形の信頼性評価: ブートストラップ法⁵⁾ (1,000 反復)

* 塩基配列は、シーケンサーからの生データ（エレクトロフェログラム）を当社技術者が目視により確認し、修正を行った後に決定しています。

* 会社名、製品名は一般に各社の日本および各国での商標または登録商標です。

結果

1. SIID00000

表 1-1. SIID00000 の DB-BA に対する BLAST 検索結果
相同性スコアで上位 30 に検索された 16S rDNA 塩基配列データ

	登録名	株名	Accession No.	相同率	BSL
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC14990	D83363	1475/1475 (100.0%)	1*
2	<i>Staphylococcus caprae</i>	ATCC35538	AB009935	1467/1474 (99.5%)	1*
3	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	ATCC49326	AB009937	1466/1474 (99.5%)	1*
4	<i>Staphylococcus capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	JCM2420	AB626127	1464/1473 (99.4%)	1*
5	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	ATCC14953	L37602	1463/1475 (99.2%)	1*
6	<i>Staphylococcus petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>	CCM8418	JX139845	1456/1474 (98.8%)	
7	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	ATCC29970	D83367	1454/1475 (98.6%)	1*
8	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	ATCC51129	AB009944	1455/1476 (98.6%)	
9	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	ATCC12600	D83357	1455/1476 (98.6%)	2
10	<i>Staphylococcus argenteus</i>	MSHR1132	FR821777	1455/1476 (98.6%)	
11	<i>Staphylococcus simiae</i>	CCM7213	AY727530	1454/1475 (98.6%)	1*
12	<i>Staphylococcus schweitzeri</i>	FSA084	CCEL01000025	1454/1476 (98.5%)	
13	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	ATCC43809	AB009941	1452/1474 (98.5%)	1*
14	<i>Staphylococcus devriesei</i>	KS-SP_60	FJ389206	1454/1476 (98.5%)	
15	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	ATCC35844	D83355	1454/1476 (98.5%)	2
16	<i>Staphylococcus petrasii</i> subsp. <i>croceilyticus</i>	MCC10046	AY953148	1452/1475 (98.4%)	
17	<i>Staphylococcus warneri</i>	ATCC27836	L37603	1449/1470 (98.6%)	1*
18	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	DSM20328	X66101	1452/1475 (98.4%)	1*
19	<i>Staphylococcus caeli</i>	82B	MH431939	1444/1477 (97.8%)	
20	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>urealyticus</i>	ATCC49330	AB009936	1443/1476 (97.8%)	
21	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	ATCC15305	AP008934	1443/1477 (97.7%)	1*
22	<i>Staphylococcus cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	ATCC29974	D83361	1443/1477 (97.7%)	1*
23	<i>Staphylococcus auricularis</i>	ATCC33753	D83358	1441/1475 (97.7%)	
24	<i>Staphylococcus microti</i>	CCM4903	EU888120	1440/1474 (97.7%)	
25	<i>Staphylococcus hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	GTC1228	AB233326	1430/1455 (98.3%)	1*
26	<i>Staphylococcus edaphicus</i>	CCM8730	KY315825	1442/1477 (97.6%)	
27	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	ATCC43764	D83360	1440/1475 (97.6%)	1*
28	<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	B3117	AF322002	1442/1478 (97.6%)	
29	<i>Staphylococcus petrasii</i> subsp. <i>jettensis</i>	SEQ110	JN092118	1416/1438 (98.5%)	
30	<i>Staphylococcus xylosus</i>	ATCC29971	D83374	1441/1477 (97.6%)	1*

注 1) BSL (バイオセーフティレベル) はレベル 1* (日和見病原体) 以上を表記し、空欄はレベル 1 を意味します (参照 補足 7)。

注 2) 株名中の “_ (アンダーバー)” は、スペースを意味します。

注 3) 網掛けは、簡易分子系統解析に供した配列データを示します。

表 1-2. SIID00000 の国際塩基配列データベースに対する BLAST 検索結果
相同性スコアで上位 30 に検索された 16S rDNA 塩基配列データ

登録名	株名	Accession No.	相同性率
Staphylococcus sp.	B0021-03	MW866508	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD21N4	CP060157	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	FDAARGOS_1363	CP069951	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	FDAARGOS_1364	CP069954	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	FDAARGOS_1243	CP069473	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD27N1	CP052975	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD33-1	CP052971	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD66-8	CP060250	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD15-1	CP053002	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD17-1	CP053000	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD26-1	CP052998	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD59-1	CP052997	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD21-2	CP052994	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD27-3	CP052991	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD12-1	CP052990	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD05-1	CP052984	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD25-1	CP052981	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD26-2	CP052978	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD29-1	CP052973	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD31-1	CP053088	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD33-3	CP052969	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD39-1	CP052967	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD43-1	CP052962	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD46-1	CP052959	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD47-1	CP052955	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD66-1	CP052953	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD66-6	CP052951	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD69-1	CP052948	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD75-1	CP052941	1475/1475 (100.0%)
Staphylococcus epidermidis	HD99-1	CP052940	1475/1475 (100.0%)

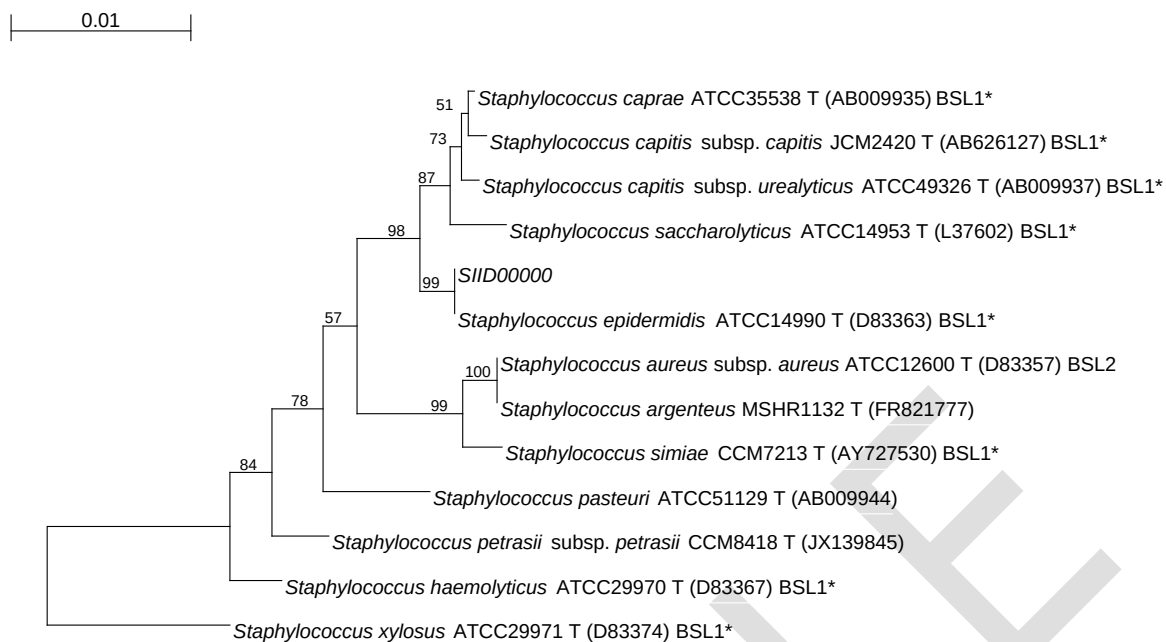


図 1-1. SIID00000 の 16S rDNA 塩基配列に基づく簡易分子系統樹
 左上の線はスケールバー、系統枝の分岐に位置する数字はブートストラップ値、
 株名の末尾の T はその種の基準株 (Type strain)、BSL はバイオセーフティレベル
 (BSL1* (日和見病原体) 以上を表記) を示します。



まとめ

検体名	SIID	帰属分類群	バイオセーフティ レベル
SAMPLE	00000	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	レベル 1 (日和見病原体)

バイオセーフティレベルについて(日本細菌学会バイオセーフティ指針より)

レベル	内容
1	ヒトに疾病を起こし、或いは動物に獣医学的に重要な疾患を起こす可能性のないもの (日和見感染を含む)
2	ヒト或いは動物に病原性を有するが、実験室職員、地域社会、家畜、環境等に対し、重大な災害とならないもの、実験室内で曝露されると重篤な感染を起こす可能性はあるが、有効な治療法、予防法があり、伝播の可能性は低いもの。
3	ヒトに感染すると重篤な疾病を起こすが、他の個体への伝播の可能性は低いもの。



検体の近縁となった既知種の分離源情報

SIID00000

近縁菌種	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
分離源	環境（外気、室内）、体表、ヒト皮膚粘膜など自然界に広く分布
引用文献	カラーアトラス 環境微生物, 山崎省二編, 2002.
BSL	レベル 1 (日和見病原体)
備考	

SAMPLE

本報告書に付随する電子データ一覧

データ内容	形式
塩基配列テキストファイル	txt
エレクトロフェログラム	ab1

補足

1. 本報告書で示す検体の同定結果は、16S rDNA 部分塩基配列解析に基づき推定された帰属分類群です。分類学に基づく同定 (最終的な種の異同の決定) には、形態観察や生理・生化学性状試験、DNA 塩基配列に基づく分子系統解析、化学的性状試験、DNA-DNA ハイブリッド形成試験などの試験結果から総合的に判断することが重要です。
2. 細菌の同定では、分類の基準となる基準株 (種・亜種の命名基準) と比較することが重要とされています。本報告書では、各菌種・亜種の基準株の 16S rDNA 塩基配列との比較および解析の結果から、検体の帰属分類群を推定しています。
3. 本報告書で示す学名 (菌種) に関する情報は、以下のウェブサイトにてご確認ください。
LPSN-List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (<http://www.bacterio.net/>)
4. DB-BA は、弊社と国立遺伝学研究所との共同開発品です。分類学的に細菌の同定を行う際は基準株との比較を行うことが重要であることから、当データベースは基準株に由来する 16S rDNA 塩基配列データのみを収録しています。
5. 国際塩基配列データベース (DDBJ/ENA/GenBank) に対する相同性検索の結果は、検索を実施した時点の情報です。国際塩基配列データベースの登録情報は常に更新されており、論文などを投稿する前には、再度相同性検索することをお勧めします。
6. 簡易分子系統解析は、論文などの投稿を前提としたアライメント結果の編集および系統樹の作成は行っておりません。
7. 本報告書で示すバイオセーフティレベル (BSL) は、日本細菌学会バイオセーフティ指針「病原細菌の BSL レベル」に従います。BSL はレベル 1 が最も低いものの、レベル 1 であっても日和見感染が報告されている種があり、その安全性を保障するものではありません。また、検体の帰属種または近縁種の BSL がレベル 2 以上である場合には、検体は同等の取扱いをされることをお勧めします。なお、本報告書では、日和見病原体については「BSL1*」と表記しています。
8. 本報告書に関するご質問等につきましては、株式会社テクノスルガ・ラボ 技術部までお問い合わせください。



引用文献

- 1) 中川恭好, 川崎浩子. 遺伝子解析法 16S rRNA 遺伝子の塩基配列決定法. 日本放線菌学会編集. 放線菌の分類と同定. 東京: 日本学会事務センター; 2001. pp. 88–117.
- 2) Altschul SF, Madden TF, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997;25:3389–3402.
- 3) Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987;4:406–425.
- 4) Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 1980;16:111–120.
- 5) Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985;39:783–791.