



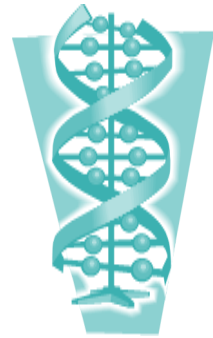
ESCO News Letter

第1巻 第2号

発行日 2012年11月1日

細菌・真菌（酵母・カビ）の遺伝子同定業務

スタート
しました！



微生物汚染によるクレーム製品の 原因菌を追究します。

微生物による製品汚染は、原因菌の種類によっては出荷の停止、製品回収、時には健康被害を引き起こし、治療費等の直接費用の発生だけでなく、会社の信頼失墜を招きかねません。

アース環境サービス(株)では、食品、医薬品・医療機器、容器・包装などの製品の、原材料～製品までの製造工程や製造環境に見られる微生物汚染の原因菌を、種名まで遺伝子同定いたします。

ご提供いただく検体については、純粋分離済みの菌株試料以外にも、クレーム製品・原材料の微生物検査から遺伝子同

定までのご依頼も承ります。

同定検査の結果から、具体的な対策提案を行います。

遺伝子同定検査だけに留まらず、結果に基づいた具体的な衛生管理の対策提案を行います。

遺伝子同定検査で得られた結果から、その微生物の由来、性質（耐熱性や生育条件など）が解れば、より効果的な対策、安全性確認が行えます。

現場を熟知した分析センタースタッフと環境ドクターの総合力で、科学的根拠に基づく、具体的な対策提案で、製品の安全・安心を守るお手伝いをいたします。

この号の内容

細菌・真菌（酵母・カビ）の
遺伝子同定業務スタート 1

遺伝子分析検査の流れ 2

分析内容

- 菌株試料よりDNAを抽出し、細菌では16SrRNA遺伝子、真菌ではスペーサー領域(ITS1)のDNA塩基配列解析を行います。
- 得られた塩基配列を既知の微生物の塩基配列データベースとの相同性検索を行い、同定および推定された微生物種を報告致します。

分析方法

- 日本薬局方「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」に準じた方法を用いて、迅速で精度の高い微生物同定を行います。

注意事項

- 菌株試料については冷蔵でお送り下さい。
- 病原性を有する可能性のある菌株試料については、お受けすることができませんのでご了承下さい。
- お送り頂いた試料は、解析結果報告終了後に廃棄致します。返却を希望される場合は事前にお申し出下さい。
- 良好な結果が得られない場合、最大2回まで分析を行います。検査作業を2回行っても結果が得られない場合は、検査を中止させて頂きます。
- 同定作業が途中で終了した場合は10,000円（ただし、微生物検査からの場合は15,000円）を申し受けます。

■ 低温性微生物が危い！

わが国の食品工場では温度管理が進む中、低温微生物による食品クレームが数多く発生しています。魚肉練り製品、冷凍食肉などの冷蔵・冷凍食品や、生肉、ゆで麺、和洋菓子、惣菜、豆腐などの食品でクレームが発生しています。問題となる微生物は、シュドモナスなどの低温細菌と呼ばれる細菌群や、ラクトバチルスなどの低温性乳酸菌、クラドスポリウムやベニシリウムなどの低温性(好冷性)カビや、カンジダやロドトルーラなどの酵母など幅広くあります。

これらの微生物は水や土壌をはじめ自然環境に広く分布し、空調設備や冷蔵室内、冷凍室内にも見られます。製造環境や工程のマイクロフローを把握すること、保管方法を見直すこと、空調設備のメンテナンス、外気の流入や外部環境を持ち込まないことなど総合的な対策を講じることが重要です。

検体の種類	検査価格	納期 ^{※1}
純粋分離済みの菌株試料 ^{※2}	30,000円/試料	4~7営業日 ^{※3}
微生物検査からの菌株試料	35,000円/試料	7~20営業日 ^{※4}

※1：弊社総合分析センターに菌株試料が午前中に到着した場合の納期です（午後到着はプラス1日）。

※2：貴社で純粋分離していただいた菌株試料を用いて分析を行います。

※3：真菌については、菌量が少なく(50mg 目安)十分なDNAの抽出ができない場合には再培養を行いますので、ご報告までに時間を要する場合があります。

※4：微生物検査にかかる日数として、細菌：2日、酵母：3日、カビ：7日がそれぞれプラスされます。



遺伝子分析検査の流れ

[概要]

第十六改正日本薬局方に記載された「遺伝子解析による迅速同定法」に準じた下記の方法で検査を行い、細菌・真菌(酵母・カビ)の菌種を推定します。

[試験方法]

■ DNA抽出

- 細菌：薬局方記載の熱処理によりDNAを抽出する。
- 酵母：DNA抽出キット「ZR Fungal/Bacterial DNA MiniPrep™ (ZYMO RESEARCH 社製)」を用いてDNAを抽出する。
- カビ：糸状菌細胞壁溶解酵素「Yatalase™ (タカラバイオ社製)」を用いて糸状菌の細胞をプロトプラスト化した後、グラスビーズを用いた機械的破壊によりDNAを抽出する。

■ PCR

下記のプライマーを用いてDNA抽出サンプルの目的領域を増幅する。

	目的の遺伝子領域	プライマー	塩基配列
細菌	16S rRNA遺伝子の一部	10F	5'-GTTTGGATCCTGGCTCA- 3'
		800R	5'-TACCAGGGTATCTAATCC- 3'
真菌	ITS1領域	ITS1F	5'-GTAACAAGGT(T/C)TCCGT- 3'
		ITS1R	5'-CGTTCTTCATCGATG- 3'

- ・使用機材 Mx3000P QPCR System (Agilent Technologies社製)

■ PCR産物の検出

PCR後、アガロースゲル電気泳動により目的領域の増幅を確認する。

細菌：約800bp、真菌：約150~470bp

- ・使用機材 サブマリン電気泳動装置(ISEP-1010) (アズワン社製)
サブマージ・アガロース電気泳動装置(AE-6100) (ATTO社製)

■ 塩基配列の解析・判定

PCR産物を蛍光標識し、シーケンサーで塩基配列を決定する。得られた塩基配列について公共のデータベース*と照合する。相同性の高い上位10種をリストアップする。

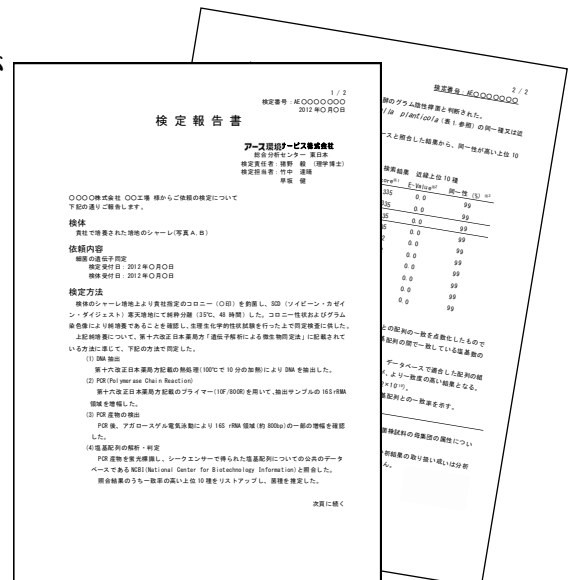
※ NCBI (URL=<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>) のBLAST検索サービスを検索対象とする。

- ・使用機材 3130ジェネティックアナライザ (ライフテクノロジーズジャパン社製)
3730DNAアナライザ (ライフテクノロジーズジャパン社製)

■ 検定報告書

検定報告書には、以下の項目が含まれます。

- ・検体写真
- ・ご依頼の内容
- ・検定方法
- ・結果
所見
近縁上位10種の同一性 (%)



総合環境衛生管理で
社会に貢献します

無断複写・複製はご遠慮下さい。
本件に関してのお問合せは、
03-3253-0640
ホームページもご覧ください
<http://www.earth-kankyo.co.jp/>