

平成29年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品での新たな病原大腸菌のリスク管理に関する研究

研究代表者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

分担研究報告書

食品での統一的検査法の開発

研究分担者 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

協力研究報告書

腸管毒素原性大腸菌の検査法の基礎検討 4

研究要旨

腸管毒素原性大腸菌は、食中毒の病因物質のひとつであり、腸管出血性大腸菌と並び、事件発生の頻度や事件当たりの患者数が多いものの、食品からの検査法は未だ確立されていない。本研究では、腸管毒素原性大腸菌の病原因子である毒素遺伝子の検出系を利用した、食品からの本菌検出を目指す。H29年度は、これまでに構築した遺伝子検出系においてクエンチャーの種類及び国内で汎用される検出機器の種類について、その検出感度を比較すると共に、内因性コントロール(IC)を追加し精度を高めた実用性のある試験法へと展開した。

研究協力者

埼玉県衛生研究所 大塚佳代子、大阪美紗、門脇奈津子

A. 研究目的

日本では、年間1,000件ほどの食中毒事件が発生し、患者約2万人が食中毒の被害に遭っている。食中毒の病因物質のひとつである病原大腸菌は、その病原機構に基づき少なくとも5つ以上のグループに分類されている。また、大腸菌はヒトの常在菌として腸内に定着しており、下痢等を引き起こす病原性のある大腸菌と鑑別することは

難しい。

病原大腸菌のひとつである「腸管出血性大腸菌」は、ヒトに重篤な危害を与えた学校給食による食中毒事例を契機に、平成9年に食品からの腸管出血性大腸菌検査法が厚生労働省通知として発出された。その後、近年の患者発生状況を踏まえ、病原機構を利用した遺伝子スクリーニング検出法を取り入れ、検出感度・精度を向上さ

せた検査法へと改良を行い、原因食品の特定や汚染食品の調査に用いられている。一方、「腸管毒素原性大腸菌」は、「腸管出血性大腸菌」と並び食中毒の発生頻度の多い病原大腸菌であるが、食品からの検査法は未だ確立されていない。

本研究では、腸管毒素原性大腸菌の病原因子である耐熱性エンテロトキシン(ST)及び易熱性エンテロトキシン(LT)の遺伝子検出系を利用した、食品からの本菌検出法の確立を目指し、食品の培養条件、遺伝子検出系の構築に係る基礎データの収集を行った。

B. 研究方法

平成 29 年度は、遺伝子スクリーニング検出において、内部コントロール(IC)の追加、クエンチャーの比較、国内で広く使用されている検出機器の比較を主眼に検討した。

1. リアルタイム PCR 試料の調製

食中毒事例に由来する 06:HNM (菌株番号 T6, LT 及び STh 産生) 0148:H28 (菌株番号 T11, STh 産生) 0169:H41 (菌株番号 T5, STp 産生) の計 3 株を供試菌株とした。菌株は Trypticase Soy Broth (TSB, BD) 5mL にて 37℃、16~18 時間培養後、リン酸緩衝希釈水で 10^{-3} から 10^{-6} 希釈菌液まで 10 倍階段希釈し、接種菌液 (想定菌濃度 $10^6 \sim 10^3$ cfu/mL) とした。

接種菌液の菌数測定には、 10^{-6} 希釈菌液及び 10^{-7} 希釈菌液 100 μ L を TSA 各 2 枚

に塗抹し、37℃、18~22 時間培養後、平板上に発育したコロニーを計測した。

供試食品は、非加熱で接種されるミニトマト、大根の漬物、長ネギ、生わかめとし、滅菌ストマッカー袋に 25g ずつ採取したのち、mEC 培地 225mL を加えて 1 分間ストマッカー処理し、42℃、20 時間培養して食品培養液を作製した。食品培養液 0.9mL に接種菌液 0.1mL を接種して菌接種食品培養液 (想定 $10^5 \sim 10^2$ cfu/mL 食品培養液) を調製した (図 1)。

DNA 抽出はアルカリ熱抽出にて行った。菌接種食品培養液 100 μ L は遠心し、沈渣に 50mM NaOH を 85 μ L 加え混和後、100 10 分間加熱した。冷却後、1M Tris-HCl (pH7.0) を 15 μ L 加え、その遠心上清をリアルタイム PCR のテンプレートとした。

2. リアルタイム PCR の反応条件及び解析

リアルタイム PCR は、Frydendahl らが報告した STp 遺伝子 (Mol. Cell. Probes, 2001, 15, 151-160) 共同研究者の小西らが選定した STh 遺伝子、及び West らが報告した LT 遺伝子 (Veterinary Microbiology, 2007, 122, 323-331) を標的とした各プライマー・プローブを参照してシンプレックス反応及びマルチプレックス反応にて行った。反応試薬は TaqMan Environmental MasterMix2.0 (サーモフィッシャーサイエンティフィック) を使用し、プライマー終濃度 0.16~0.2 μ M、プローブ終濃度 0.06

~0.1 μ M となるよう表1及び表2に従い調製した。

検出機器はABI ViiA7 (サーモフィッシュサーモフィッシャーサイエンティフィック) 7500 (サーモフィッシャーサイエンティフィック) LC480 (ロシュ・ダイアグノスティックス) Dice (タカラバイオ) 及び Dice (タカラバイオ) を使用し、50 2分、95 10分の熱変性ののち、95 15秒 - 60 1分で40サイクルの増幅反応後、Auto 又は Manual 設定にて解析し Ct 値 (LC480 の場合は Cp 値) を得た。

3. クエンチャー (TAMRA 及び BHQ) の比較

各種の標的毒素遺伝子 (STp、STh、LT) 検出用の蛍光標識プローブには、5' 末端 (蛍光ラベル) は FAM を 3' 末端 (クエンチャー) は TAMRA 又は BHQ とした。

使用した検出機器は、ABI ViiA7、7500、LC480 の3機器とし、菌接種ミニトマト等4食品培養液についてシンプレックス反応試験により最少検出菌濃度 (検出感度) の算出及び検量線を作成した。

4. IC を加えたマルチプレックス反応試験

各種の標的毒素遺伝子検出用の蛍光標識プローブには、5' 末端 (蛍光ラベル) は FAM を、3' 末端 (クエンチャー) は QSY 又は BHQ とした。この QSY は TaqMan のクエンチャーのひとつとして新たに開発さ

れたものであり、その適合性について BHQ クエンチャーの検出感度との比較により評価した。なお、前述の「1. クエンチャーの比較」において、クエンチャー (TAMRA、BHQ) の種類による検出感度に差が認められなかったことから、本試験での対照クエンチャーは BHQ のみとした。また、菌接種食品培養液についても、前述の「1. クエンチャーの比較」において4種類の食品に差がなかったことから、過去に食中毒事件の原因食品であった「長ネギ」に限定し、新たに菌接種食品培養液を調製後、そのアルカリ熱抽出試料はリアルタイム PCR のテンプレートに供した。

使用した検出機器は、ABI ViiA7、7500、LC480、Dice 及び Dice の5機器とし、シンプレックス反応試験で得られたデータにより最少検出菌濃度 (検出感度) の算出及び検量線を作成した。また、平成26年11月20日付け食安監発1120第3号の厚生労働省通知「腸管出血性大腸菌026、0103、0111、0121、0145 及び0157の検査法」に示された16SrRNA 遺伝子を検出するICを加え、マルチプレックス反応で菌接種長ネギ培養液について検出感度の算出を行った。

C. 研究結果

1. クエンチャー (TAMRA 及び BHQ) の比較

各濃度に希釈した菌液を接種した食品培養液からの ST (STp 及び STh) 遺伝子及び

LT 遺伝子検出における最少検出菌濃度は、4 種類の全食品で試験した 3 種の検出機器及び供試菌 3 株すべて、いずれのクエンチャー (TAMRA、BHQ) でも 10^3 cfu 以上/mL であった。(表 3、表 4)

2. IC を加えたマルチプレックス反応試験

IC を加えたマルチプレックス反応試験では、長ネギ培養液からの ST (STp 及び STh) 遺伝子及び LT 遺伝子検出における最少検出菌濃度は、5 種の検出機器及び供試菌 3 株すべて、いずれのクエンチャー (BHQ、QSY) でも 10^3 cfu 以上/mL であった。IC もすべての反応において検出された(表 6)。

リアルタイム PCR で得られた Ct 値と長ネギ培養液中の菌濃度を基に、クエンチャー別並びに検出機器別及び菌株別に検量線を作成した(表 5、図 2 - 図 33)。

D. 考察

過去の食品での新たな病原大腸菌のリスク管理に関する研究において、日本における食中毒発生状況資料(厚生労働省 NESFD、平成 20 年~27 年)を分析した結果、腸管毒素原性大腸菌(以下、ETEC)を病因物質とする事例において、発生件数の多い主要な血清群は 06、025、027、0148、0153、0159、0169 の 7 種類であることを報告した。また、これらの血清群を対象とした食品からの効率的な試験法を策定する目的で、すでに通知で示されている食品

からの腸管出血性大腸菌検査法と同一な培地及び同一の培養温度で ETEC が発育することも明らかにした。また、腸管出血性大腸菌検査法で導入されている検査手法と同様に、遺伝子スクリーニング検査の有用性や免疫磁気ビーズ検査による菌分離の向上も確認できた。

平成 29 年度は、リアルタイム PCR の精度を確保するために、16SrRNA を標的とした IC を加えたマルチプレックス反応による遺伝子検出法を検討した。国内で汎用されている主要な検出機器を使用したリアルタイム PCR は、BHQ 及び QSY のいずれのクエンチャーとの相性が良く、ETEC を接種した食品培養液中の最少菌検出濃度は 10^3 cfu 以上/mL であり、検出感度に優れた。また、IC もすべての反応で検出され、本試験で設定したプライマー、プローブ、反応条件は、食品の ETEC 検査法におけるスクリーニング検査として有用であることが確認できた。

これまでの 3 か年の研究では、リアルタイム PCR による ETEC 検出において Hidaka らのプライマー・プローブ(クエンチャー MGB)、Frydendahl & 小西 & West らのプライマー・プローブ(クエンチャー TAMRA)、Frydendahl & 小西 & West らのプライマー・プローブ(クエンチャー BHQ)、Frydendahl & 小西 & West らのプライマー・プローブ(クエンチャー QSY)、IC を付加したマルチプレックス反応、といった複数の反応系を検討し、いずれも標的遺

伝子を最少菌濃度 10^3 cfu 以上/mL で検出できた。これら各種の反応系や各種の検出機器を用いた方法による検出法を提示できたことは、使用可能な検出機器及び試薬の選択肢が広がり、食品の ETEC 遺伝子スクリーニング検査の実用性が高まるものと期待する。

E. 結論

平成 29 年度は、検出機器、プローブ 3' 末端に付加するクエンチャー及び IC との適合性を調べた。国内で広く使用されている 5 種類の検出機器及び 2 種類のクエンチャーを用いたリアルタイム PCR は、IC を含むマルチプレックス反応条件にて ETEC の標的遺伝子 ST (ST p、ST h) 及び LT を最小菌濃度 10^3 cfu 以上/mL で検出できた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

大阪美紗、大塚佳代子、門脇奈津子、榊田希、小西典子、小俣浩魅、甲斐明美、寺嶋淳、工藤由起子、食品からの腸管毒素原性大腸菌検出におけるリアルタイム PCR 法の検討 . 第 38 回日本食品微生物学会 . 平成 29 年 10 月 5、6 日 . 徳島

H. 知的所有権の取得状況・登録状況

なし

表 1 プライマー及びプローブの塩基配列と反応液調製（シンプレックス反応）

標的遺伝子プライマー等	塩基配列（5' -3'）	容量（ μ L）
<i>STh</i> プライマー（10p）	aaagtggctctgaaagcatgaatag	0.5
プライマー（10p）	cacccggtacaagcaggatt	0.5
プローブ（5p）	FAM-agcaattactgctgtgaattgtgtt-TAMRA 又は BHQ	0.33
<i>STp</i> プライマー（10p）	gcaaaatccggtttaactaatctcaaa	0.5
プライマー（10p）	acagaaataaaaatgccaacattagc	0.5
プローブ（5p）	FAM-ttacctcccgtcatgtgtttcacggat-TAMRA 又は BHQ	0.33
<i>Lt</i> プライマー（10p）	ccggcagaggatggttacag	0.5
プライマー（10p）	gaatccagggttcttctctccaa	0.5
プローブ（5p）	FAM-tagcagggttccccaccggatcacc-TAMRA 又は BHQ	0.33
2×Environmental Mastermix		12.5
蒸留水		6.17
鋳型 DNA		5

表 2 プライマー及びプローブの塩基配列と反応液調製（マルチプレックス反応）

標的遺伝子プライマー等	塩基配列（5' -3'）	容量（ μ L）
<i>STh</i> プライマー（10p）	aaagtggctctgaaagcatgaatag	0.5
プライマー（10p）	cacccggtacaagcaggatt	0.5
プローブ（5p）	FAM-agcaattactgctgtgaattgtgtt-BHQ 又は QSY	0.3
<i>STp</i> プライマー（10p）	gcaaaatccggtttaactaatctcaaa	0.5
プライマー（10p）	acagaaataaaaatgccaacattagc	0.5
プローブ（5p）	FAM-ttacctcccgtcatgtgtttcacggat- BHQ 又は QSY	0.3
<i>Lt</i> プライマー（10p）	ccggcagaggatggttacag	0.5
プライマー（10p）	gaatccagggttcttctctccaa	0.5
プローブ（5p）	FAM-tagcagggttccccaccggatcacc- BHQ 又は QSY	0.3
16SrRNA プライマー（20p）	cctcttgccatcggatgtg	0.2
プライマー（20p）	ggctggtcatcctctcagacc	0.2
プローブ（5p）	HEX-gtggggtaacggctcacctaggcgac- BHQ 又は QSY	0.5
2×Environmental Mastermix		12.5
蒸留水		2.7
鋳型 DNA		5

表 3 各種食品培養液を対象としたシンプレックス反応におけるリアルタイム PCR の検量線 (TAMRA)

食品の種類	検出機器	供試菌株	標的遺伝子	R ²	検量線式	最小検出菌濃度 (log cfu/mL)	
ミニトマト	7500	06	STh	0.988	$y = -3.355x + 45.5$	1.9	
		0148	STh	0.996	$y = -3.276x + 44.262$	2.1	
		0169	STp	0.996	$y = -3.427x + 43.414$	2.1	
		06	LT	0.990	$y = -3.334x + 45.245$	1.9	
	ViiA7	06	STh	0.989	$y = -3.5715x + 47.7554$	1.9	
		0148	STh	0.995	$y = -3.2501x + 46.3798$	3.1	
		0169	STp	0.996	$y = -3.3363x + 43.4822$	2.1	
		06	LT	0.992	$y = -3.6379x + 45.6422$	1.9	
	LC480	06	STh	0.987	$y = -3.0963x + 43.885$	2.9	
		0148	STh	0.997	$y = -3.3443x + 45.639$	2.1	
		0169	STp	0.993	$y = -3.374x + 43.638$	2.1	
		06	LT	0.994	$y = -3.1973x + 44.282$	1.9	
	大根の漬物	7500	06	STh	0.990	$y = -3.258x + 44.256$	1.9
			0148	STh	0.992	$y = -3.276x + 45.045$	2.1
			0169	STp	0.998	$y = -3.349x + 43.648$	2.1
			06	LT	0.985	$y = -3.237x + 44.799$	1.9
ViiA7		06	STh	0.995	$y = -3.2687x + 46.4139$	1.9	
		0148	STh	0.993	$y = -3.4778x + 45.2446$	3.1	
		0169	STp	0.998	$y = -3.5559x + 48.5651$	2.1	
		06	LT	0.997	$y = -3.3151x + 43.9481$	1.9	
LC480		06	STh	0.990	$y = -3.0607x + 43.717$	1.9	
		0148	STh	0.999	$y = -3.3493x + 45.864$	2.1	
		0169	STp	0.998	$y = -3.3945x + 44.087$	2.1	
		06	LT	0.993	$y = -3.1417x + 43.848$	1.9	

長ネギ	7500	06	STh	0.990	$y = -3.308x + 45.138$	1.9	
		0148	STh	0.994	$y = -3.351x + 45.837$	2.1	
		0169	STp	0.988	$y = -3.553x + 44.1$	2.1	
		06	LT	0.992	$y = -3.319x + 43.974$	1.9	
	ViiA7	06	STh	0.993	$y = -3.3613x + 48.4168$	2.9	
		0148	STh	0.991	$y = -3.4002x + 47.9661$	2.1	
		0169	STp	0.992	$y = -3.5817x + 45.6304$	2.1	
		06	LT	0.994	$y = -3.4970x + 45.3990$	1.9	
	LC480	06	STh	0.984	$y = -3.234x + 46.042$	1.9	
		0148	STh	0.999	$y = -3.3887x + 46.175$	2.1	
		0169	STp	0.991	$y = -3.2413x + 43.069$	2.1	
		06	LT	0.990	$y = -3.554x + 46.456$	1.9	
	生わかめ	7500	06	STh	0.988	$y = -3.494x + 45.877$	1.9
			0148	STh	0.993	$y = -3.415x + 45.307$	2.1
			0169	STp	0.996	$y = -3.369x + 43.701$	2.1
			06	LT	0.992	$y = -3.302x + 45.875$	1.9
ViiA7		06	STh	0.986	$y = -3.6125x + 46.9418$	1.9	
		0148	STh	0.994	$y = -3.4884x + 47.9141$	2.1	
		0169	STp	0.997	$y = -3.3449x + 43.6169$	2.1	
		06	LT	0.989	$y = -3.6262x + 45.2728$	1.9	
LC480		06	STh	0.982	$y = -3.5103x + 45.371$	1.9	
		0148	STh	0.994	$y = -3.2997x + 45.061$	2.1	
		0169	STp	0.994	$y = -3.369x + 43.887$	2.1	
		06	LT	0.984	$y = -3.341x + 45.445$	1.9	

表4 各種食品培養液を対象としたシンプレックス反応におけるリアルタイム PCR の検量線(BHQ)

食品の種類	検出機器	供試菌株	標的遺伝子	R ²	検量線式	最小検出菌濃度 (log cfu/mL)
ミニトマト	7500	06	STh	0.988	$y = -3.355x + 45.5$	1.9
		0148	STh	0.996	$y = -3.276x + 44.262$	2.1
		0169	STp	0.996	$y = -3.427x + 43.414$	2.1
		06	LT	0.990	$y = -3.334x + 45.245$	1.9
	ViiA7	06	STh	0.988	$y = -3.447x + 45.8199$	1.9
		0148	STh	0.996	$y = -3.2593x + 46.0564$	2.1
		0169	STp	0.991	$y = -3.3023x + 44.225$	2.1
		06	LT	0.988	$y = -3.6105x + 45.0849$	1.9
	LC480	06	STh	0.986	$y = -3.4869x + 45.204$	1.9
		0148	STh	0.997	$y = -3.2227x + 44.032$	2.1
		0169	STp	0.998	$y = -3.3283x + 43.26$	2.1
		06	LT	0.989	$y = -3.0927x + 43.739$	1.9
大根の漬物	7500	06	STh	0.990	$y = -3.258x + 44.256$	1.9
		0148	STh	0.992	$y = -3.276x + 45.045$	2.1
		0169	STp	0.998	$y = -3.349x + 43.648$	2.1
		06	LT	0.985	$y = -3.237x + 44.799$	2.9
	ViiA7	06	STh	0.996	$y = -3.2839x + 45.9949$	1.9
		0148	STh	0.996	$y = -3.4186x + 44.6491$	2.1
		0169	STp	0.994	$y = -3.3453x + 46.7089$	2.1
		06	LT	0.998	$y = -3.3767x + 44.4755$	1.9
	LC480	06	STh	0.998	$y = -3.153x + 43.622$	1.9
		0148	STh	0.997	$y = -3.4313x + 45.712$	2.1
		0169	STp	0.997	$y = -3.4002x + 44.165$	2.1
		06	LT	0.993	$y = -3.0207x + 43.099$	2.9

長ネギ	7500	06	STh	0.990	$y = -3.308x + 45.138$	1.9	
		0148	STh	0.994	$y = -3.351x + 45.837$	2.1	
		0169	STp	0.988	$y = -3.553x + 44.1$	2.1	
		06	LT	0.992	$y = -3.319x + 43.974$	1.9	
	ViiA7	06	STh	0.988	$y = -3.3798x + 46.5772$	1.9	
		0148	STh	0.989	$y = -3.3503x + 47.3936$	2.1	
		0169	STp	0.992	$y = -3.5248x + 45.3049$	3.1	
		06	LT	0.994	$y = -3.4985x + 45.0365$	1.9	
	LC480	06	STh	0.992	$y = -3.402x + 46.055$	1.9	
		0148	STh	0.999	$y = -3.4043x + 45.938$	2.1	
		0169	STp	0.992	$y = -3.2617x + 43.277$	2.1	
		06	LT	0.989	$y = -3.4343x + 44.923$	1.9	
	生わかめ	7500	06	STh	0.988	$y = -3.494x + 45.877$	1.9
			0148	STh	0.993	$y = -3.415x + 45.307$	2.1
			0169	STp	0.996	$y = -3.369x + 43.701$	2.1
			06	LT	0.992	$y = -3.302x + 45.875$	1.9
ViiA7		06	STh	0.986	$y = -3.5022x + 46.6068$	1.9	
		0148	STh	0.992	$y = -3.3767x + 46.843$	2.1	
		0169	STp	0.991	$y = -3.359x + 43.784$	2.1	
		06	LT	0.986	$y = -3.6175x + 45.3449$	1.9	
LC480		06	STh	0.984	$y = -3.2437x + 44.934$	1.9	
		0148	STh	0.991	$y = -3.3253x + 44.767$	2.1	
		0169	STp	0.994	$y = -3.3313x + 43.773$	2.1	
		06	LT	0.969	$y = -3.0463x + 41.772$	1.9	

表5 長ネギ培養液を対象としたシンプレックス反応におけるリアルタイム PCR の検量線

クエンチャーの種類	検出機器	供試菌株	標的遺伝子	R ²	検量線式
BHQ	7500	06	STh	0.996	$y = -3.419x + 45.838$
		0148	STh	0.972	$y = -3.304x + 45.346$
		0169	STp	0.996	$y = -3.448x + 44.186$
		06	LT	0.995	$y = -3.385x + 43.578$
	ViiA7	06	STh	0.998	$y = -3.402x + 46.377$
		0148	STh	0.997	$y = -2.973x + 45.458$
		0169	STp	0.991	$y = -3.221x + 43.420$
		06	LT	0.972	$y = -3.059x + 42.884$
	LC480	06	STh	0.995	$y = -3.210x + 44.768$
		0148	STh	0.999	$y = -2.640x + 43.179$
		0169	STp	0.982	$y = -3.437x + 43.937$
		06	LT	0.999	$y = -3.480x + 44.939$
	Dice	06	STh	0.988	$y = -3.225x + 44.85$
		0148	STh	0.962	$y = -2.922x + 44.51$
		0169	STp	0.985	$y = -3.170x + 43.78$
		06	LT	0.995	$y = -3.037x + 43.09$
Dice	06	STh	0.981	$y = -2.635x + 43.05$	
	0148	STh	0.975	$y = -3.071x + 46.55$	
	0169	STp	0.984	$y = -3.098x + 43.62$	
	06	LT	0.968	$y = -2.994x + 43.39$	
QSY	7500	06	STh	0.978	$y = -3.032x + 43.362$
		0148	STh	0.978	$y = -2.777x + 42.734$
		0169	STp	0.990	$y = -3.296x + 44.044$
		06	LT	0.974	$y = -3.137x + 44.049$
	ViiA7	06	STh	0.996	$y = -3.115x + 44.436$
		0148	STh	0.995	$y = -3.237x + 45.888$
		0169	STp	0.983	$y = -3.248x + 42.598$
		06	LT	0.989	$y = -3.198x + 43.879$
	LC480	06	STh	0.995	$y = -3.610x + 46.862$
		0148	STh	0.998	$y = -2.705x + 43.647$
		0169	STp	0.996	$y = -3.270x + 43.330$
		06	LT	0.998	$y = -3.370x + 44.489$
	Dice	06	STh	0.995	$y = -2.928x + 44.00$
		0148	STh	0.994	$y = -3.188x + 46.39$
		0169	STp	0.989	$y = -3.212x + 44.16$
		06	LT	0.980	$y = -2.995x + 43.31$
Dice	06	STh	0.989	$y = -3.250x + 45.70$	
	0148	STh	0.994	$y = -2.859x + 45.31$	
	0169	STp	0.965	$y = -3.066x + 43.84$	
	06	LT	0.990	$y = -2.633x + 42.01$	

表6 長ネギ培養液を対象とした IC 含有マルチプレックス反応における検出感度

クエンチャーの種類	検出機器	供試菌株	標的遺伝子	最少検出菌濃度 (log cfu/mL)
BHQ	7500	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	3.2
		0169	STp	2.0
	ViiA7	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	LC480	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	Dice	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	Dice	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
QSY	7500	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	ViiA7	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	LC480	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	Dice	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0
	Dice	06	STh/LT	2.0
		0148	STh	2.2
		0169	STp	2.0

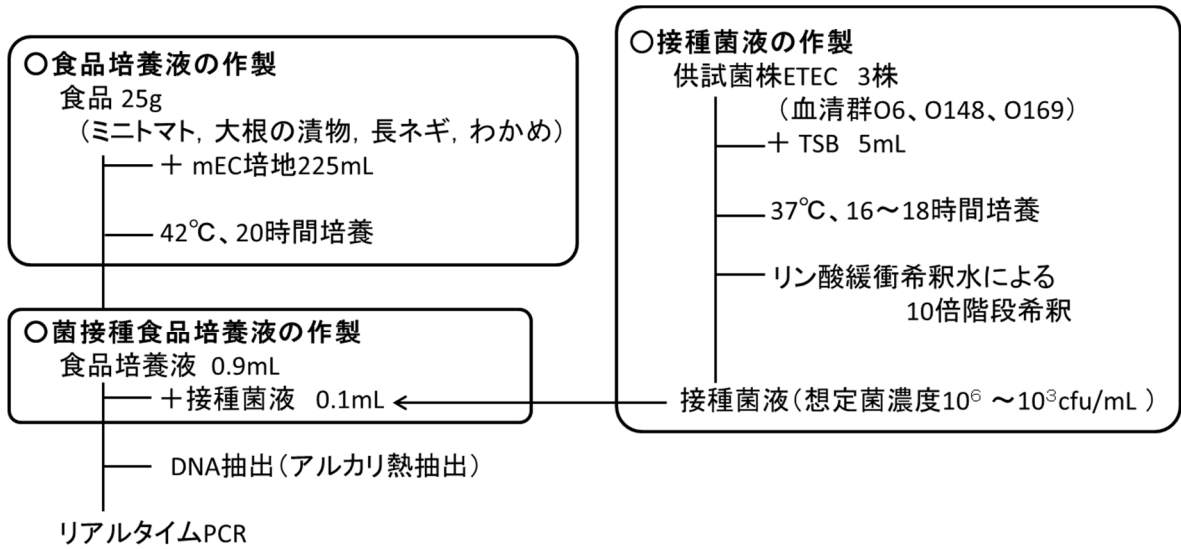


図1 ST及びLT遺伝子検出法の検出感度試験

BHQ (7500 : ABI)

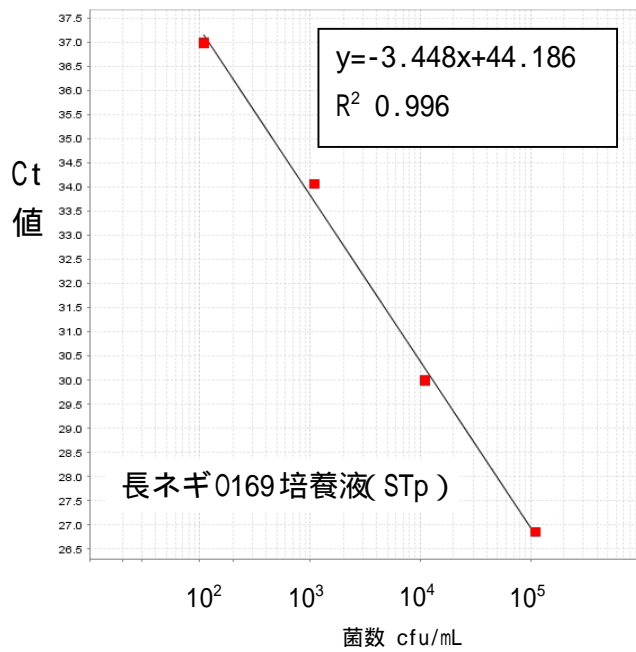


図2 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

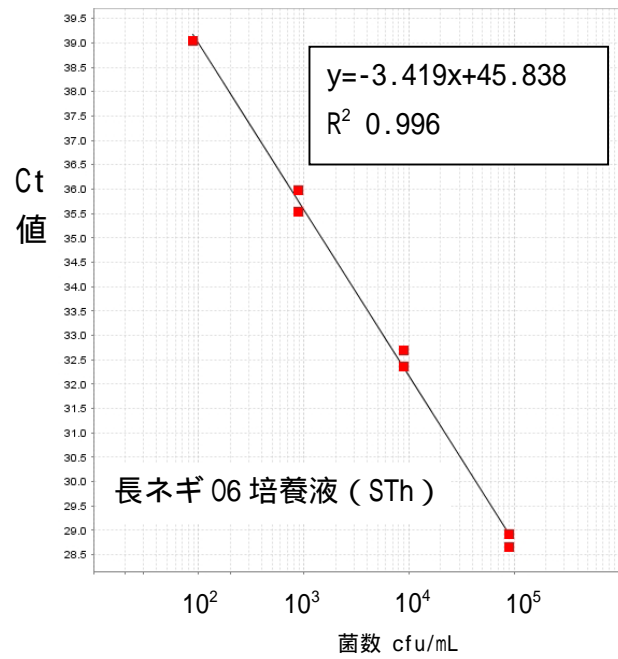


図3 長ネギ 06 による検量線 (ST)

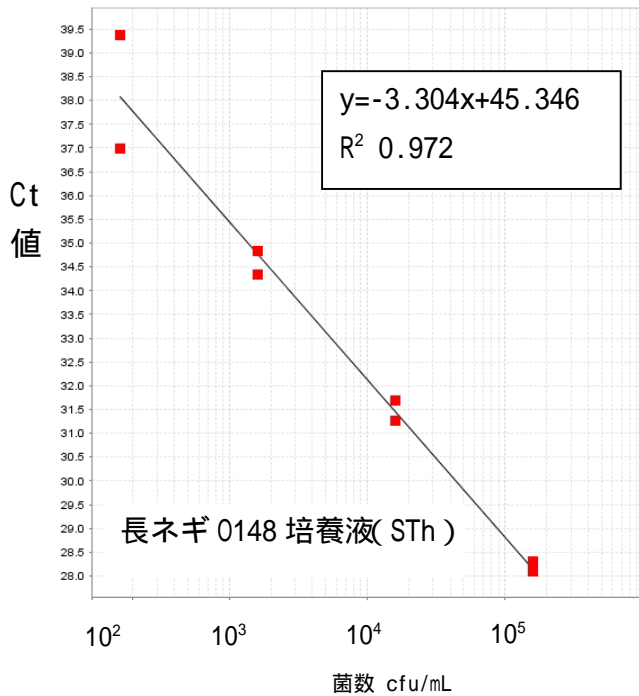


図4 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

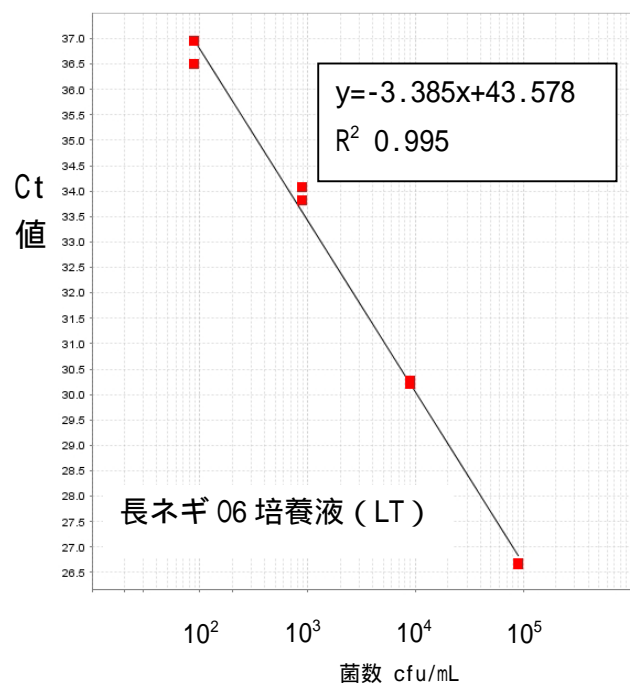


図5 長ネギ 06 による検量線 (LT)

BHQ (ViiA7 : ABI)

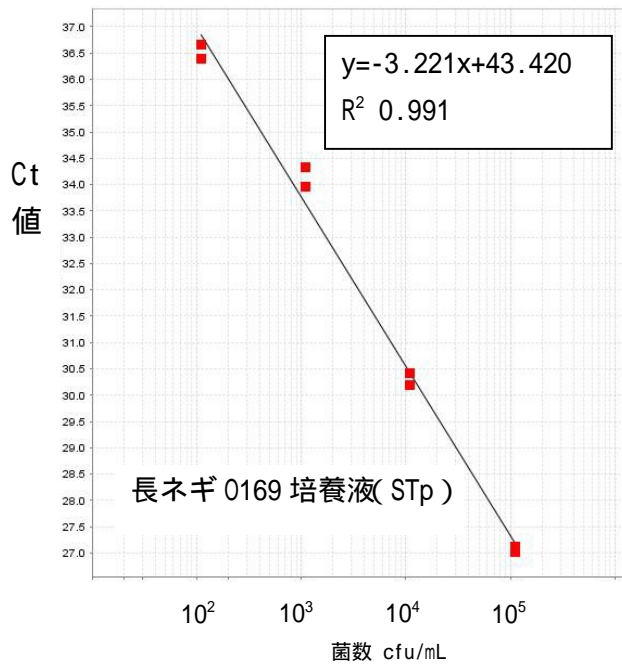


図 6 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

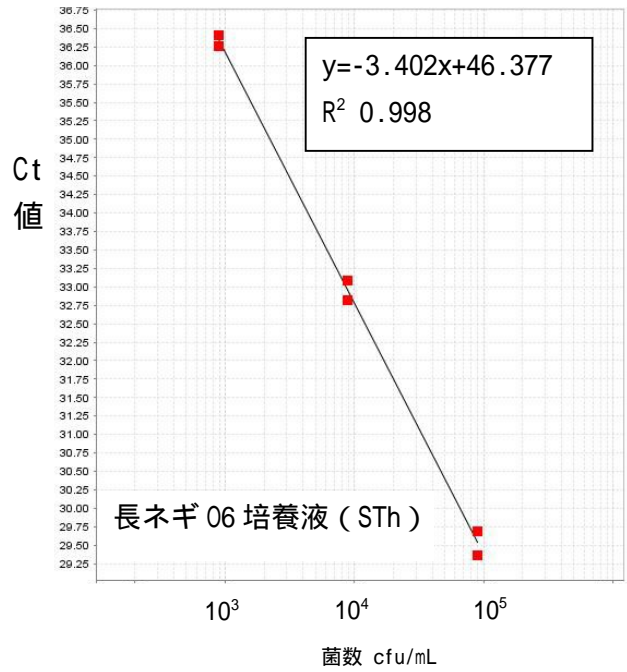


図 7 長ネギ 06 による検量線 (ST)

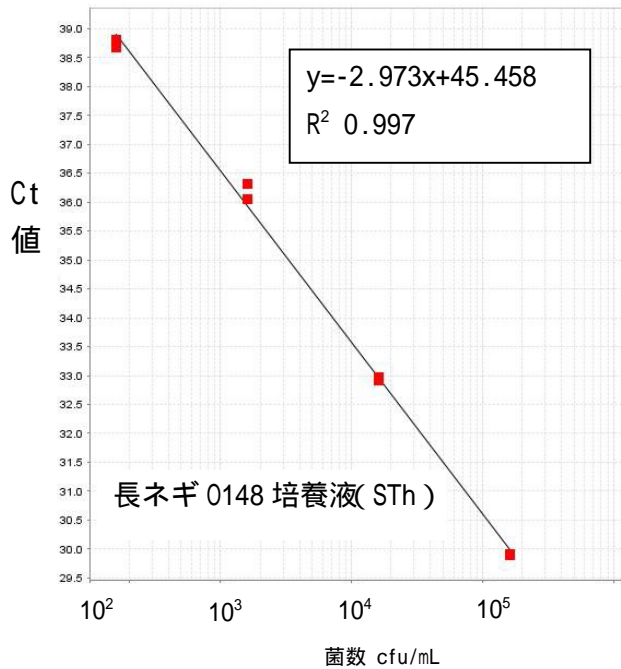


図 8 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

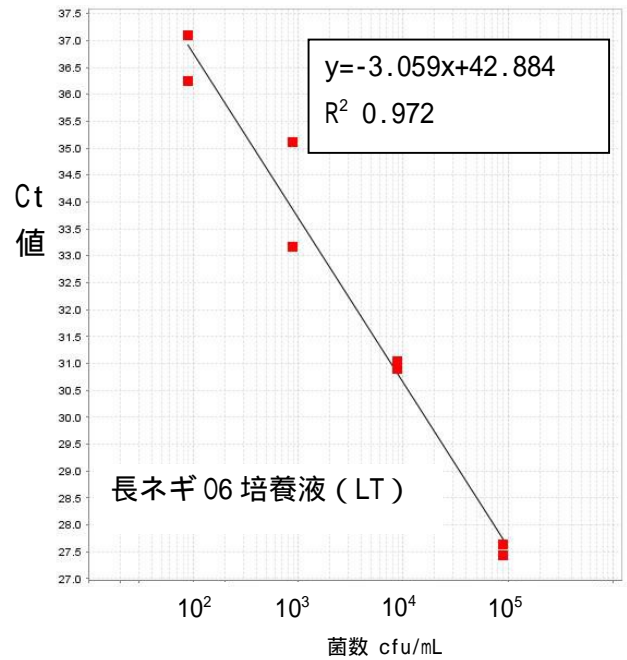


図 9 長ネギ 06 による検量線 (LT)

BHQ (Dice : TAKARA)

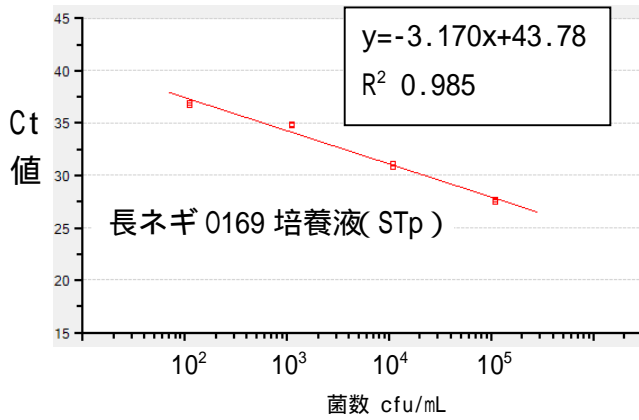


図 10 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

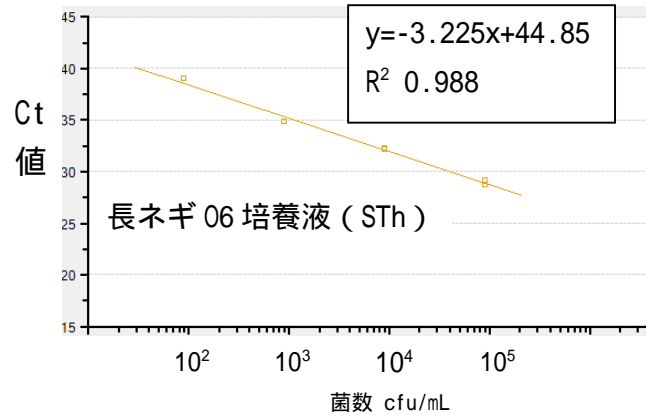


図 11 長ネギ 06 による検量線 (ST)

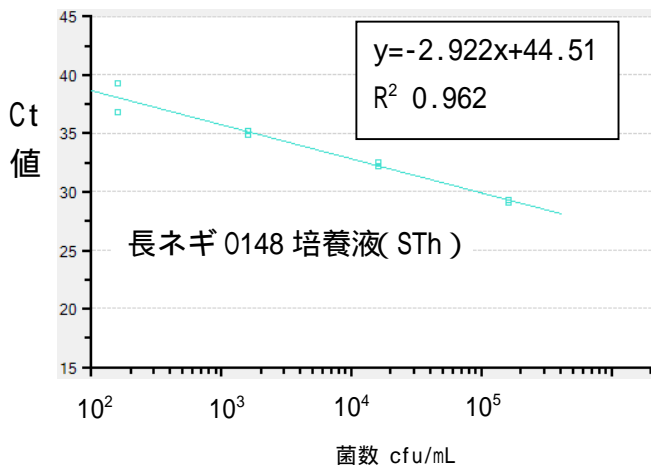


図 12 長ネギ 0146 による検量線 (ST)

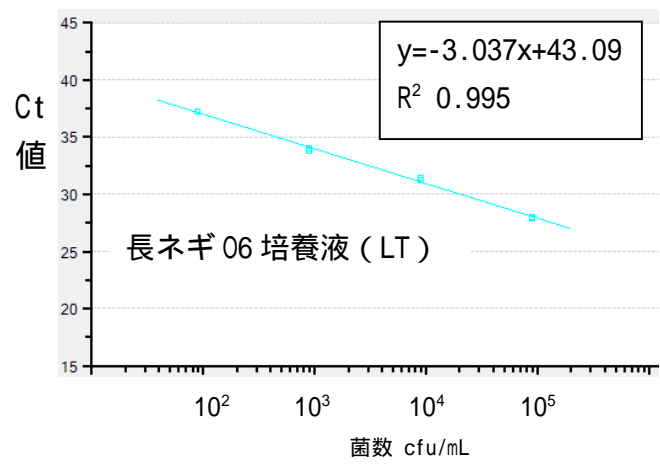


図 13 長ネギ 06 による検量線 (LT)

BHQ (Dice : TAKARA)

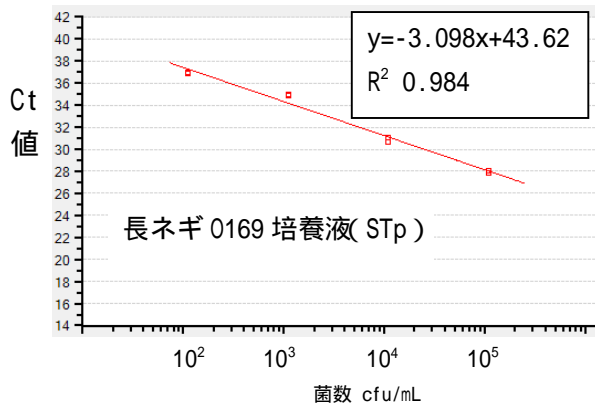


図 14 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

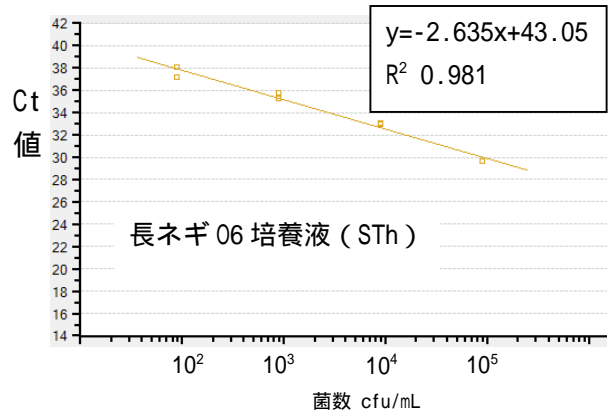


図 15 長ネギ 06 による検量線 (ST)

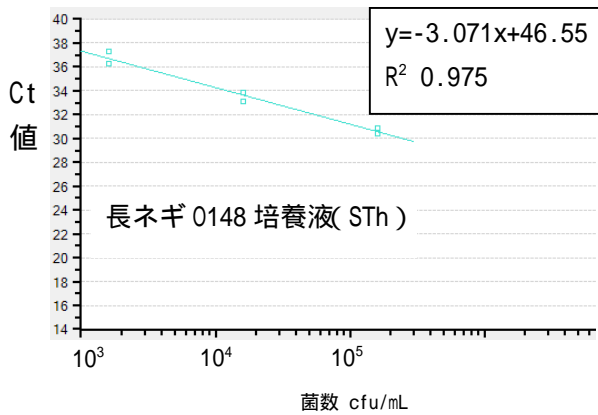


図 16 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

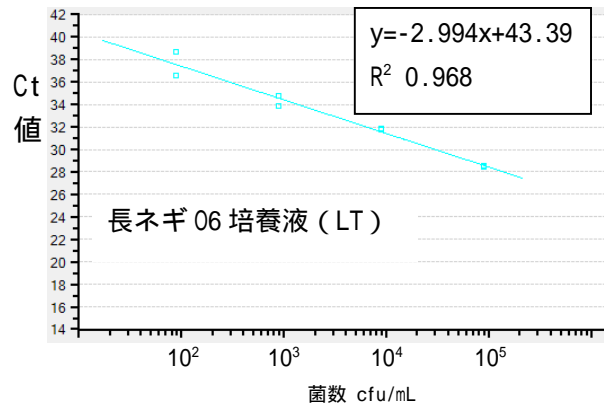


図 17 長ネギ 06 による検量線 (LT)

QSY (7500 : ABI)

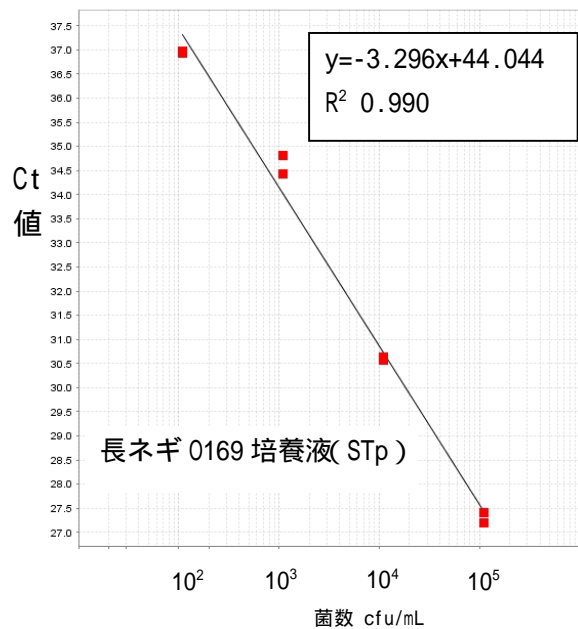


図 18 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

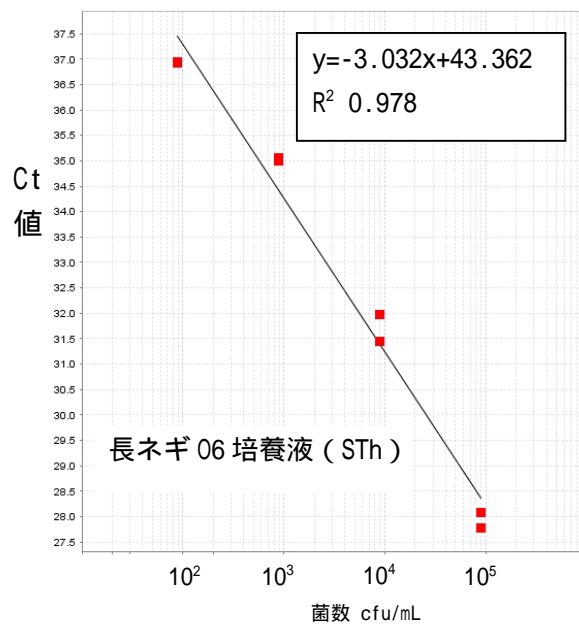


図 19 長ネギ 06 による検量線 (ST)

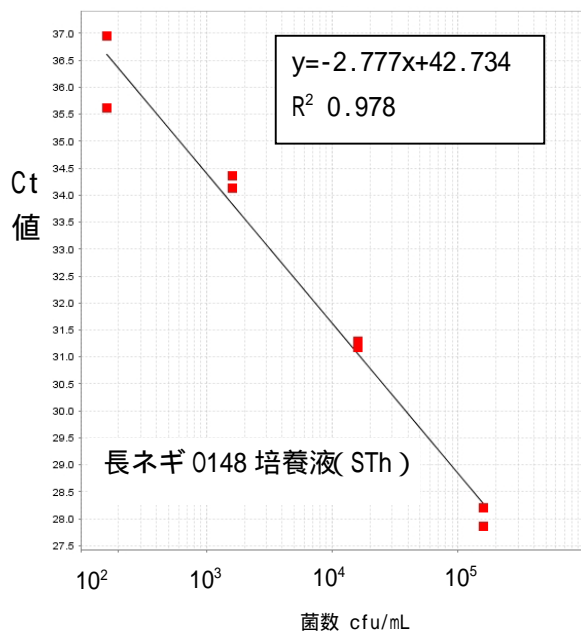


図 20 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

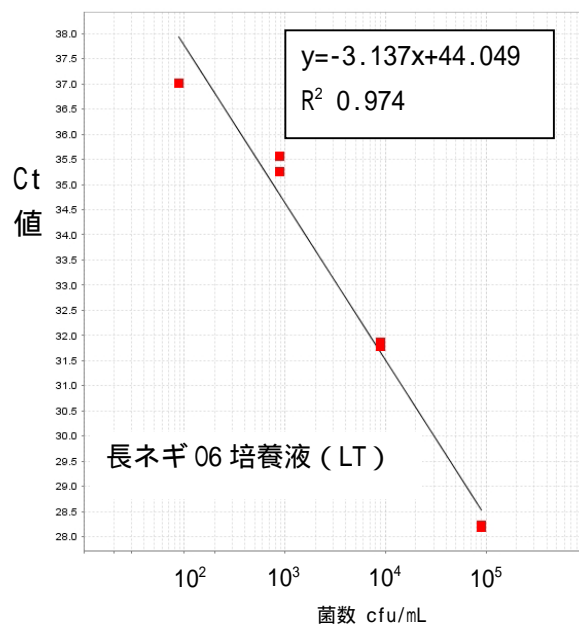


図 21 長ネギ 06 による検量線 (LT)

QSY (ViiA7 : ABI)

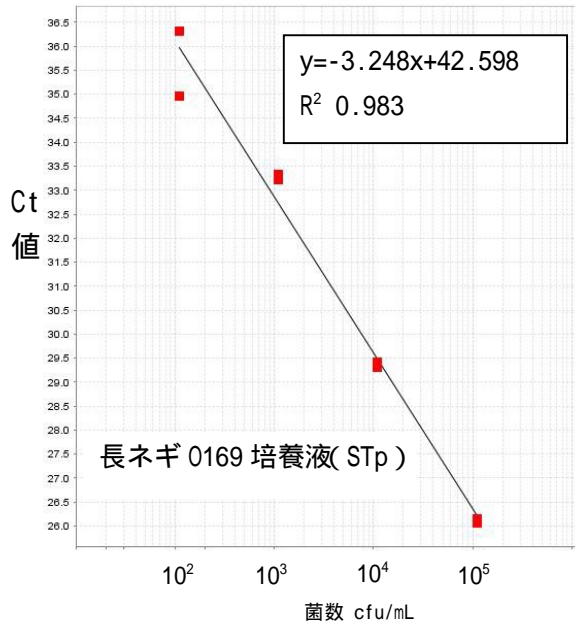


図 22 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

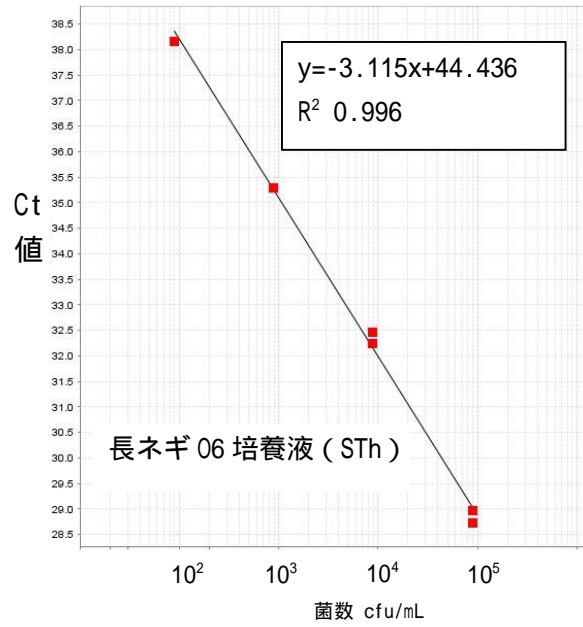


図 23 長ネギ 06 による検量線 (ST)

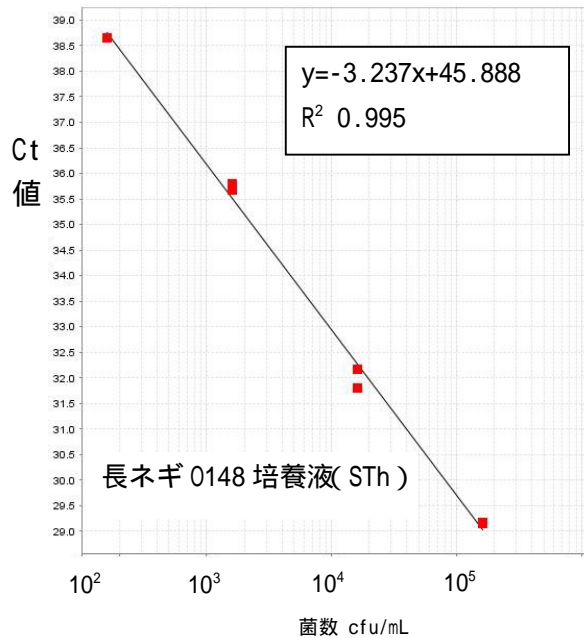


図 24 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

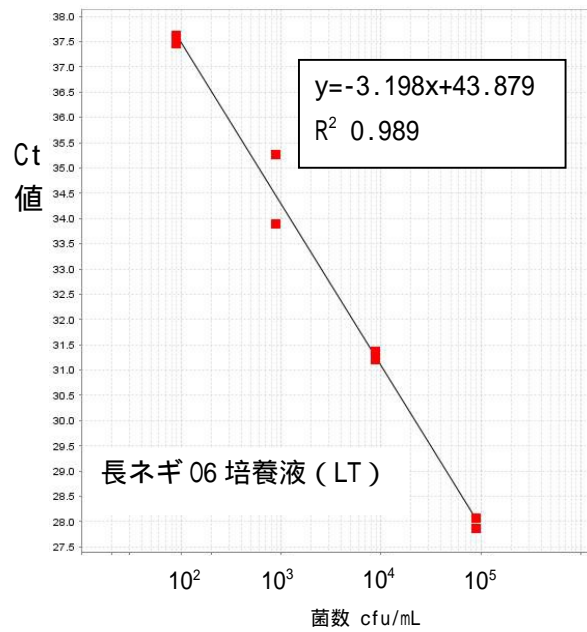


図 25 長ネギ 06 による検量線 (LT)

QSY (Dice : TAKARA)

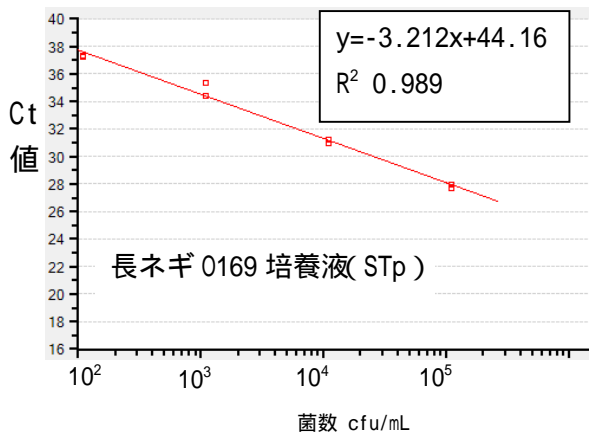


図 26 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

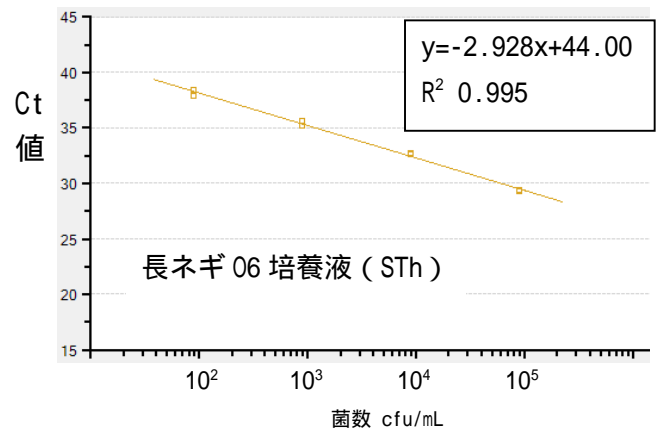


図 27 長ネギ 06 による検量線 (ST)

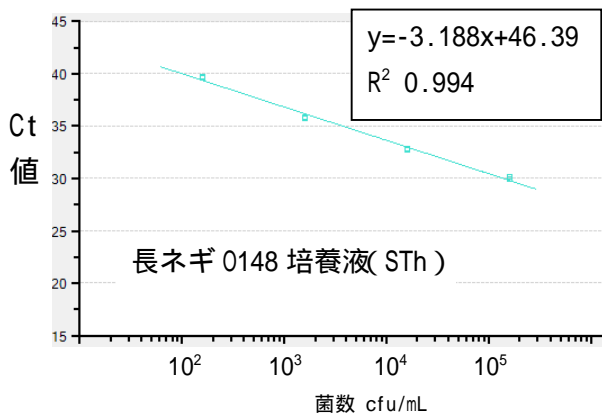


図 28 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

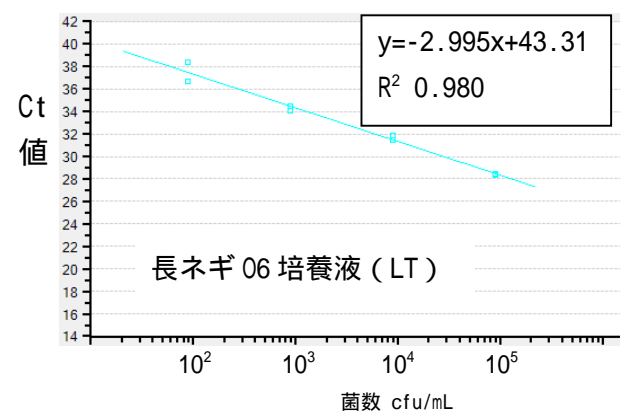


図 29 長ネギ 06 による検量線 (LT)

QSY (Dice : TAKARA)

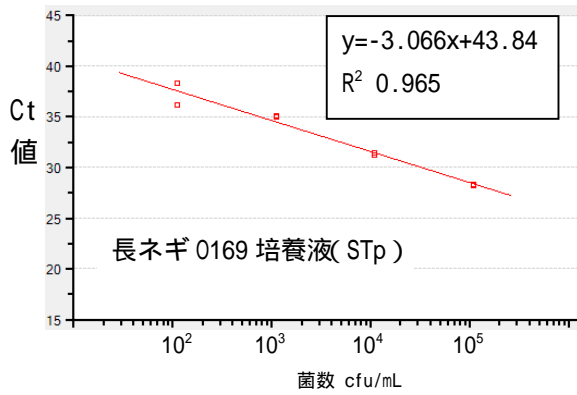


図 30 長ネギ 0169 による検量線 (ST)

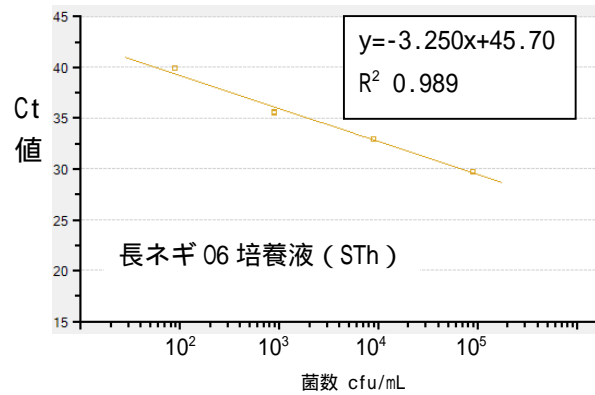


図 31 長ネギ 06 による検量線 (ST)

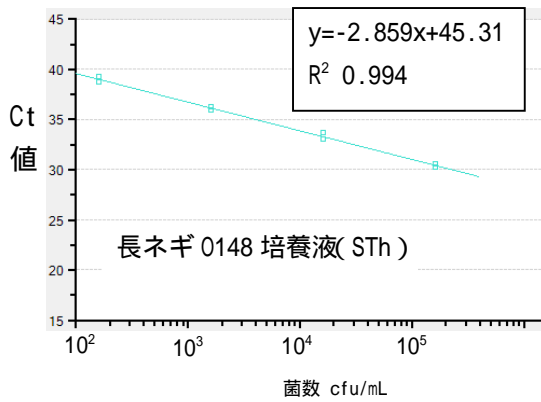


図 32 長ネギ 0148 による検量線 (ST)

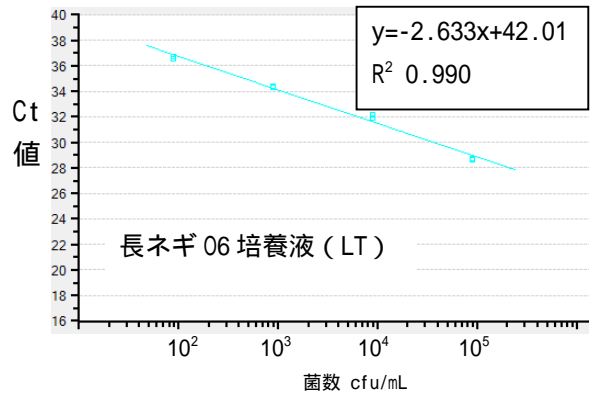


図 33 長ネギ 06 による検量線 (LT)