

表1. 遺伝子シーケンスの供試菌株

	由来	株数
事例1	患者	1
事例2	患者	1
事例3	患者	1
事例4	患者	1
事例5	患者	1
事例6	患者	1
事例7	患者	1
事例8	患者	1
事例9	患者	1
事例10	患者	1
事例11	患者	1
事例12	患者	1
事例13	患者	1
事例14	食品	1
事例15	患者	1
事例16	患者	1
事例17	患者	1
事例18	患者	1
事例19	患者	1
事例20	患者	1
事例21	患者	1
ヒト（無症状保菌者）		2
動物	トリ	12
	サル	1
食品		2
	合計	38

事例：事例または下痢症の事例

表2. *E. albertii* 特異的リアルタイムPCRのプライマーおよびプローブ候補

名称	プライマーおよびプローブ (蛍光およびクエンチャー標識)	産物
EA_rt1	フォワードプライマー : EA_rt1F リバープライマー : EA_rt1R プローブ : EA_rt1P (FAM/ZEN/IBFQ)	150 bp
EA_rt2	フォワードプライマー : EA_rt2F リバープライマー : EA_rt2R プローブ : EA_rt2P (FAM/ZEN/IBFQ)	97 bp

表3. プライマーの至適濃度の検討時の1 wellあたりの反応溶液組成

試薬	プライマー終濃度					
	0.1 $\mu$ M	0.3 $\mu$ M	0.4 $\mu$ M	0.5 $\mu$ M	0.6 $\mu$ M	0.9 $\mu$ M
Taqman Environmental Master Mix	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1F/EA_rt2F	0.15 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.6 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.9 $\mu$ l	1.35 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1R/EA_rt2R	0.15 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.6 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.9 $\mu$ l	1.35 $\mu$ l
10 $\mu$ M EA_rt1P/EA_rt2P	0.75 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l
滅菌蒸留水	8.95 $\mu$ l	8.35 $\mu$ l	8.05 $\mu$ l	7.75 $\mu$ l	7.45 $\mu$ l	6.55 $\mu$ l
DNA	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
合計	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l

表4. プローブの至適濃度の検討時の1 wellあたりの反応溶液組成

試薬	プローブ終濃度			
	0.05 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M	0.15 $\mu$ M	0.25 $\mu$ M
Taqman Environmental Master Mix	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1F/EA_rt2F	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1R/EA_rt2R	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l
10 $\mu$ M EA_rt1P/EA_rt2P	0.15 $\mu$ l	0.3 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l	0.75 $\mu$ l
滅菌蒸留水	8.95 $\mu$ l	8.8 $\mu$ l	8.65 $\mu$ l	8.35 $\mu$ l
DNA	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
合計	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l

表5. 1 wellあたりの反応溶液組成

試薬	EA_rt1	EA_rt2
Taqman Environmental Master Mix	15 $\mu$ l	15 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1F/EA_rt2F	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l
20 $\mu$ M EA_rt1R/EA_rt2R	0.45 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l
10 $\mu$ M EA_rt1P/EA_rt2P	0.3 $\mu$ l	0.45 $\mu$ l
滅菌蒸留水	8.95 $\mu$ l	8.05 $\mu$ l
DNA	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
合計	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l

表6. 開発したリアルタイムPCRの特異性試験へ供試した菌種と結果

菌種	供試株数	リアルタイムPCR陽性株数	
		EA_rt1	EA_rt2
<i>Arcobacter butzleri</i>	1	0	0
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	1	0	0
<i>Arcobacter skirrowii</i>	1	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	1	0	0
<i>Campylobacter coli</i>	1	0	0
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	0
<i>Escherichia albertii</i>	42	42	42
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0
<i>Escherichia fergusonii</i>	1	0	0
<i>Escherichia hermannii</i>	1	1	0
<i>Hafnia alvei</i>	1	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	0
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>Morganii</i>	1	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium	1	0	0
<i>Shigella boydii</i>	4	1	0
<i>Shigella flexneri</i>	1	0	0
<i>Shigella sonnei</i>	1	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	0	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	1	0
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1	0	0