

# 微生物推定／細菌叢解析

that's  
GOOD  
science!

2023年8月改訂版

## サンガーシーケンスによる微生物推定解析・群集解析

- 細菌(16S rDNA)
- 真菌(ITS1、D1/D2)

## 遺伝子解析による細菌叢解析

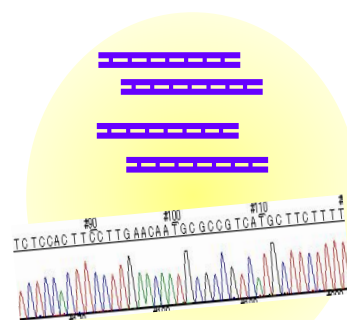
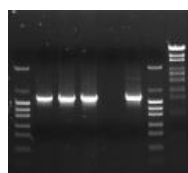
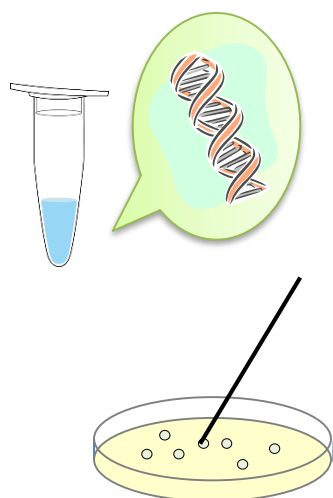
- 細菌(16S rRNAのV3-V4領域)

ゲノムDNA抽出

PCR反応  
～精製

シーケンス解析  
サンガーシーケンス/  
次世代シーケンス(NGS)

情報解析



# 遺伝子解析による微生物推定解析

『遺伝子解析による微生物推定解析』は、第十八改正日本薬局方に「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」として記載され、製造現場での出荷判定や工程管理などに幅広く利用されています。タカラバイオでは、DNA抽出からPCR増幅、シーケンス解析まで、各種ツールを取り揃えています。



## DNA調製

### ■コロニーから簡易抽出

<細菌・真菌>

SimplePrep™ reagent for DNA (製品コード 9180)

MightyPrep reagent for DNA (製品コード 9182)



### ■難抽出にはDNA精製キット

<細菌>

NucleoSpin® Tissue (製品コード 740952.10/.50/.250)

<真菌>

NucleoSpin® Plant II (製品コード 740770.10/.50/.250)

## PCR

### Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800) Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast Fungal rDNA (D1/D2) PCR Kit Fast

製品コード	容量	価格(税別)
RR182A	50回	¥53,000
RR183A	50回	¥53,000
RR184A	50回	¥53,000

- 第十八改正日本薬局方記載のプライマー配列を採用
- PCR反応時間はわずか40~50分!
- オールインワンキットなので、すぐに使用できます。

#### <キットの内容(製品コード RR182A)>

##### PCR試薬

1. TaKaRa Taq HS Fast Detect Premix
  2. 16S rDNA Primer Mix (800)
  3. dH<sub>2</sub>O
  4. Positive Control (*E. coli* DNA)
- シーケンス用プライマー
5. Sequencing Primer 10F
  6. Sequencing Primer 800R

ターゲット	解析領域	製品名	局方記載プライマー
細菌	16S rDNA領域の約0.8 kb	Bacterial 16S rDNA PCR Kit Fast (800)	10F / 800R
真菌	rDNA領域内のITS1領域(150~500 bp)	Fungal rDNA (ITS1) PCR Kit Fast	ITS1F / ITS1R
	rDNA領域内のD1/D2領域(約0.6 kb)	Fungal rDNA (D1/D2) PCR Kit Fast	-

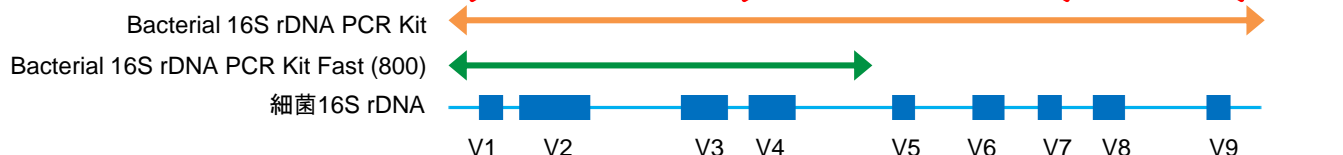
### 細菌16S rDNA全長塩基配列解析には・・・

## Bacterial 16S rDNA PCR Kit

製品コード	容量	価格(税別)
RR180A	50回	¥53,000

本キットには、16S rDNAの全長領域(約1.5 kb)を増幅するためのPCRコンポーネントに加え、PCR産物のシーケンス用プライマーも添付されています。

#### 【各キットの増幅領域】



### PCR産物の精製に

## NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up

PCR反応液にバッファーを加え、精製カラムにアプライして洗浄するだけの簡単操作で、PCR反応液から酵素・ヌクレオチド・塩類・その他の不純物を迅速、簡単に除去できます。



製品コード	容量	価格(税別)
740609.10	10回	¥5,500
740609.50	50回	¥15,000
740609.250	250回	¥62,000

※NucleoSpinはマッハライ・ナーゲル社の製品です。

## サーマルサイクラー

安定した温度制御機能と高い操作性を併せ持つコンパクトサーマルサイクラー  
**Clontech PCR Thermal Cycler GP**

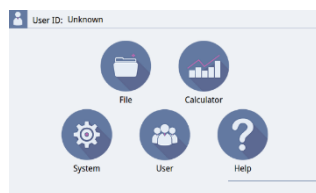
製品コード	価格(税別)
WN400	¥580,000

- 幅18.5 cm、重さ4.3 kg のコンパクトなボディ
- 使い勝手の良いインターフェイスで簡便・快適に操作
- ヒートブロック全体の高い温度均一性を実現
- 幅広い反応条件検討を可能とする12段階のグラジエント機能を搭載
- USBメモリを介した反応プログラムのインポート/エクスポートが可能

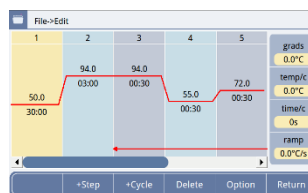


### ▼ 使い勝手の良いユーザーインターフェイス

シンプルな操作画面で、はじめてPCRを行う方でも直感的に操作することができます。



メイン画面



PCR反応設定画面

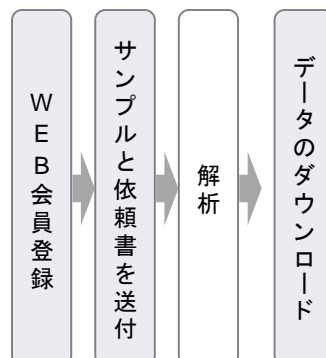
## シーケンス

### 「プレミックスシーケンス解析」受託サービス

受入サンプル(※)でそのまま塩基配列解析を行います。解析データはウェブサイトからダウンロードでき、迅速・簡単に解析結果をご確認いただけます。

サービス項目	参考価格(税別)	参考納期
プレミックスシーケンス解析 (8連チューブ)	¥8,400/8連チューブ	約3営業日 (弊社午前サンプル着から起算)
プレミックスシーケンス解析 (96ウェルプレート)	¥40,320/96ウェルプレート	約3営業日 (弊社午前サンプル着から起算)

※受入サンプル: 鋳型DNAとシーケンスプライマーを混合し、8連チューブ(96ウェルプレート)へ分注したものの



## アセンブル

### DNA配列解析ソフトウェア SEQUENCHER

※本製品の取扱いは、(株)日立ハイテクです。

## 相同性検索

アセンブルされたDNA配列をNCBI BLASTなどのデータベースで検索し、細菌・真菌の種類を類推します。NCBIからは、BLASTアルゴリズムを実装したプログラムをダウンロードして利用することができます。NCBI BLASTはウェブサイト上で使用できます。

NCBI : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

NCBI BLAST : <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

## 16S (V3-V4) Metagenomic Library Construction Kit for NGS

製品コード	容量	価格(税別)
R161A	50回	¥112,000
R161B	100回	¥208,000

本キットは、イルミナ社NGS装置 MiSeqで16S rRNA細菌叢解析を行うためのPCR増幅キットです。16S rRNA遺伝子のV3-V4領域を増幅するための1st PCR用プライマーとPCR酵素をセットにご提供いたします。

Nextera XT Index Kit(イルミナ社)を組み合わせてご使用いただくことで、より簡便に安定した解析データを取得できます。

(注) ライブラリー作製には、本キットのほかに以下の製品もご用意ください。  
 ・Nextera XT Index Kit (イルミナ社)    ・Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter社)

### <キットの内容>

- 2 × Gflex PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup>, dNTP plus)
- Tks Gflex DNA Polymerase
- 16S V3-V4 Primer Mix
- H<sub>2</sub>O

### ● Tks Gflex™の採用でPCRの増幅バイアスを低減

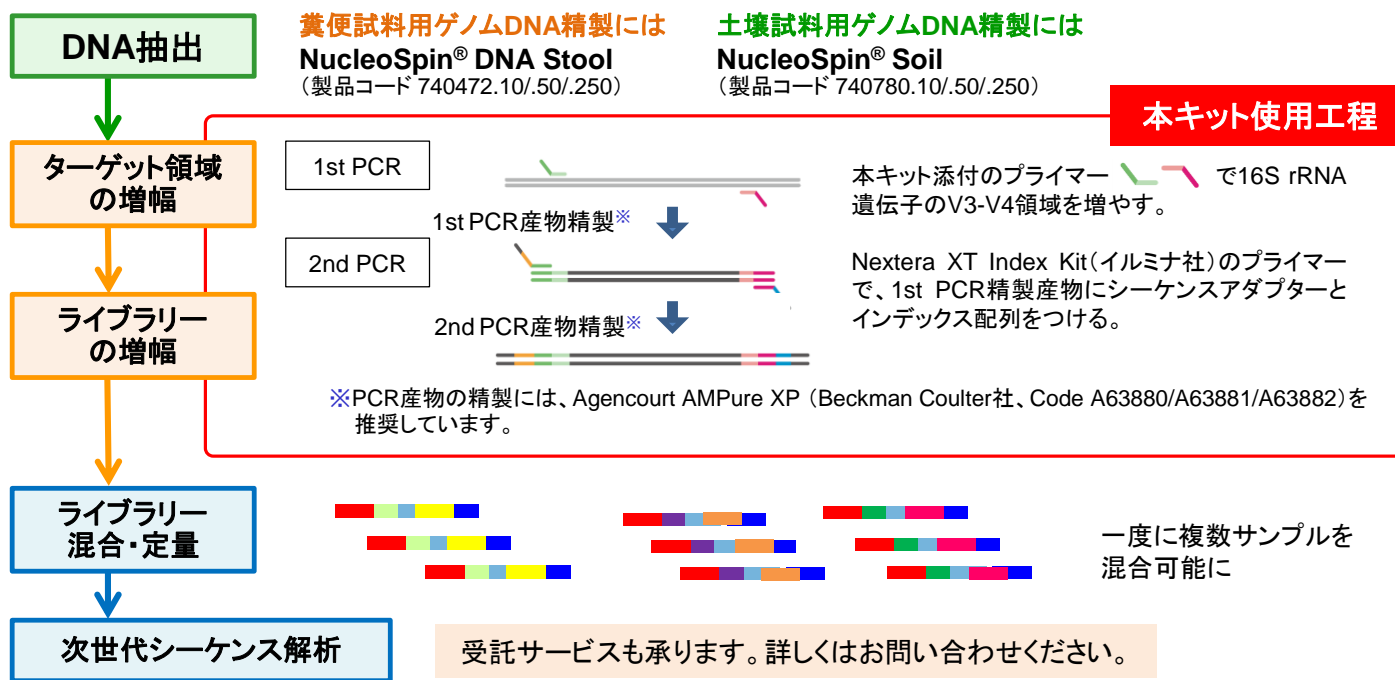
タカラバイオが持つ独自の酵素デザイン技術を駆使した、増幅成功率が極めて高いPCR酵素です。増幅領域のGC含量など内部配列の違いによる影響をほとんど受けないため、サンプル中の細菌DNAの構成比を保ったライブラリーを調製できます。これにより、増幅時のバイアスの少ない、より正確な細菌叢構造のデータ取得が可能になりました。

### ● 品質検定済みの試薬でより安定した解析データに

腸内・口腔内環境の変化による細菌叢構造の変化を正確に把握するには、常に一定品質のライブラリーを調製して解析することが重要です。本製品は、プライマーとPCR酵素をセットにしているため、お客様ご自身での試薬の管理や品質チェックが不要となり、Nextera XT Index Kit(イルミナ社)を組み合わせてご使用いただくことでより簡便に安定した解析データを取得できます。

### ● MiSeqでの解析に最適な16S rRNA遺伝子V3-V4領域を採用

MiSeq 250 bpペアエンドでシーケンスすることにより、リードにエラーが入りにくく、フィルタリングで除かれるリード数を削減することができ、より多くのリードを情報解析に利用することができます。



・本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。  
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。  
 ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。  
 ・本パンフレットに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。  
 ・本パンフレット記載の価格は2023年8月15日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2023年8月作成N

## タカラバイオ株式会社

東日本支店・西日本支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282  
 関西支店・営業第2部 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995  
 テクニカルサポートライン TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995  
 Website <https://www.takara-bio.co.jp>  
 Facebook <https://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店