

菌同定結果報告書

ご依頼者： 株式会社 殿

大和製罐株式会社総合研究所
環境計量士 加藤寛之

分析依頼のありました

菌同定

に関して分析結果を以下にご報告いたします。

分析依頼日：平成 年 月 日 依頼品受領日：平成 年 月 日
分析コース： 受付番号：
分析担当者：

分析結果

1. 分析依頼品

1 菌株（貴社分離菌株）

2. 分析目的

菌の同定

3. 試験方法

1) 性状試験

検体の単離状況を確認した後、標準寒天培地（日水製薬製）を用いて各種温度域での生育確認を行いました。その後、24時間培養したコロニーについて、グラム染色、オキシダーゼ活性、カタラーゼ活性、運動性等の基礎的な性状を調査し、7日間の培養後に孢子形成の有無を確認しました。

2) 16S rDNA-TOP500bp を用いた同定

検体を 30 で 18～24 時間培養し、サンガー法を用いて同定を行いました。新鮮な培養検体よりゲノム DNA を抽出¹し、PCR 法により 16S rDNA の TOP500bp 付近を増幅した後²、得られた塩基配列をシーケンス³して解析⁴を行いました。

1: フェノールクロロホルム法を用いました。

2: 16S rDNA-TOP500bp の増幅、サイクルシーケンス共に Micro seqTM 500 16S rDNA Bacterial Sequencing Kit (Applied Biosystems 社製) を使用しました。

サーマルサイクラーは Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems 社製) を使用しました。

3: DNA シーケンサーは ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems 社製) を使用しました。

4: Micro seqTM Analysis Software version 1.0 で AB_Bacteria 500Lib を使用しました。

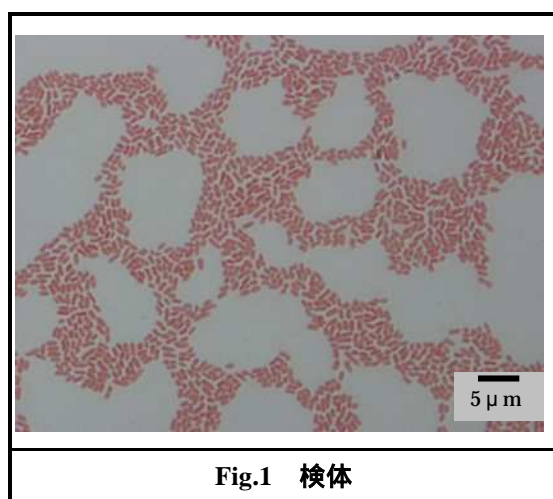
4 . 結果

4 - 性状検査結果

	検体
細胞形態	桿菌
グラム染色	-
オキシダーゼ活性	+
カタラーゼ活性	+
運動性の有無	無
孢子形成の有無	無
O / F (ブドウ糖酸化/発酵)	+ / -
30 ・ 好気培養	+
30 ・ 嫌気培養	-
45 ・ 好気培養	W +
45 ・ 嫌気培養	-
55 ・ 好気培養	-
55 ・ 嫌気培養	-

+ :陽性(生育) - :陰性(生育しない) W+ :わずかに生育

4 - Fig. : 光学顕微鏡写真 (×1000 グラム染色後)



4 - 16S rDNA-TOP500bp を用いた解析結果

菌名	ATCC No.	相同率	バイオセーフティレベル
AAAA	25416	98.65%	2
BBBB	33617	96.89%	1
CCCC	8361	96.89%	1

4 - 検体の 16S rDNA-TOP500bp 塩基配列

```

1                                                                 70
ATTRAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGA
71                                                                 140
GTGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCCTGTAGTGGGGATAGCCCGCGCAAAGCCGGATTA
141                                                                 210
ATACCCGCATACGATCTATGGATGAAAGCGGGGACCTTCGGGCCTCGCGCTATARGGTTGGCCGATGGCT
211                                                                 280
GATTAGCTAGTTGGTGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGAYGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGC
281                                                                 350
CACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATTTTGGACAATGGGCGA
351                                                                 420
AAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTRAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGCACTTGTCCGGAAAGA
421                                                                 490
AATCCTTGGCTCTAATACAGTCGGGGATGACGGTWCYGAAGAATAAGCACCGGCTAAYTAC

```

5 . 考察

調査を行った検体はグラム陰性桿菌で、30 でよく生育する細菌でした。

検体の DNA 塩基配列を Applied Biosystems 社製の菌株データベース Micro seq™ にて照合した結果、相同率が AAAA と 98.65%、BBBB と 96.89%、CCCC と 96.89% 一致しました。検体は相同率の高さから AAAA と判断します。

Bergey's manual によると、AAAA は 40 でも生育し、最適生育温度は 30 ~ 35 と報告されています。また、カタラーゼ活性、オキシダーゼ活性共に陽性と報告されており、今回の菌株の性状検査結果と一致します。

AAAA はバイオセーフティレベル 2 に分類され、AA 属から再分類されたものです。主に湿潤した場所に生息し、臨床標本、軟膏、点眼薬、石けん、水道水、透析液、腐敗した玉葱や土壌などからの検出報告がある菌株です。自然環境に存在する細菌ではありますが、日和見感染菌として院内感染症の一端を担う細菌とされています。

以上