

## 遺伝子解析による医薬品中細菌迅速同定法の検討

○宮原 美知子<sup>1</sup>, 小川 史代<sup>1</sup>, 菊池 裕<sup>1</sup>, 小西 良子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>国立衛研)

「目的」第15改正日本薬局方(日局)参考情報に「遺伝子解析による微生物の同定法」として、細菌については16S rRNA 遺伝子が使われ、10F-800R のプライマーによる遺伝子増幅により配列解析して菌種同定を行うとしている。この10F-800R 約800 bp の解析で日局収載標準菌細菌株11菌種についてこの遺伝子解析を行うとともに、改善すべき点について検討を行った。

「方法」16S rRNA 遺伝子解析に用いたプライマーは、日局参考情報記載の10F、800R の他に16S rRNA のほぼ全長を増幅する10F-1500R に使われる1500R と800R の相補的配列の解析の800F である。PCR での組み合わせは10F-800R, 800F-1500R と10F-1500R である。シーケンス解析には2社の市販kit も検討した。日局第15改正参考情報に記されたDNA 抽出法を用い、増幅法も同様の条件を使用した。また、PCR 試薬として、数社での検討を行った。シーケンサーはABI Prism 310 Genetic Analyzer を使用した。遺伝子解析には、NCBI blastn, Lasergene と Genetyx を使用した。また、MicroSeq 使用時には、MicroSeq ID ソフトウェアを使用した。

「結果」検討した菌種では、すべて検討した菌種の名前は遺伝子解析により引き出されることが分かった。局方記載の10F-800R 16S rRNA 遺伝子のみの解析では、すべての菌株を同定することはできなかったが(同定率6/11)、10F-1500R とほぼ全長を解析しても10F-800R 解析より同定確率は上昇するが(同定率9/11)、同定が不可能な菌株もあった。

「考察」10F-1500R ほぼ全長での解析を行った上で(時間的には10F-800R と同様に処理可能)、同定できなかった菌は従来の生化学的方法等を併用すべきである。