

レファレンス委員会報告

結核菌

地衛研における結核菌遺伝子解析に関する アンケート調査(2013)

- 遺伝子解析の実施状況

- 実施 41施設
- 実施予定 8施設
- 実施せず 30施設
 - 他施設へ依頼 5施設

- 何らかの形でタイピングを実施(予定を含む)しているのは54施設(68.3%; 54/79)

DNAの増幅



各ローカスのDNAを
サーマルサイクラー
で増幅

2-3時間必要

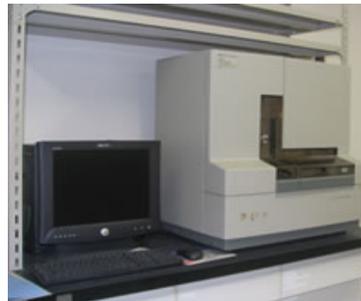
PCR産物分子量測定



アガロースゲル電気泳動



マイクロチップ電気泳動



DNAシーケンサー
フラグメント解析

コピー数へ換算

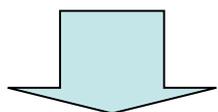
換算表を使ってマニュアルで

結果(分子量)がデジタルで
表示されるので換算表を使っ
てマニュアルで

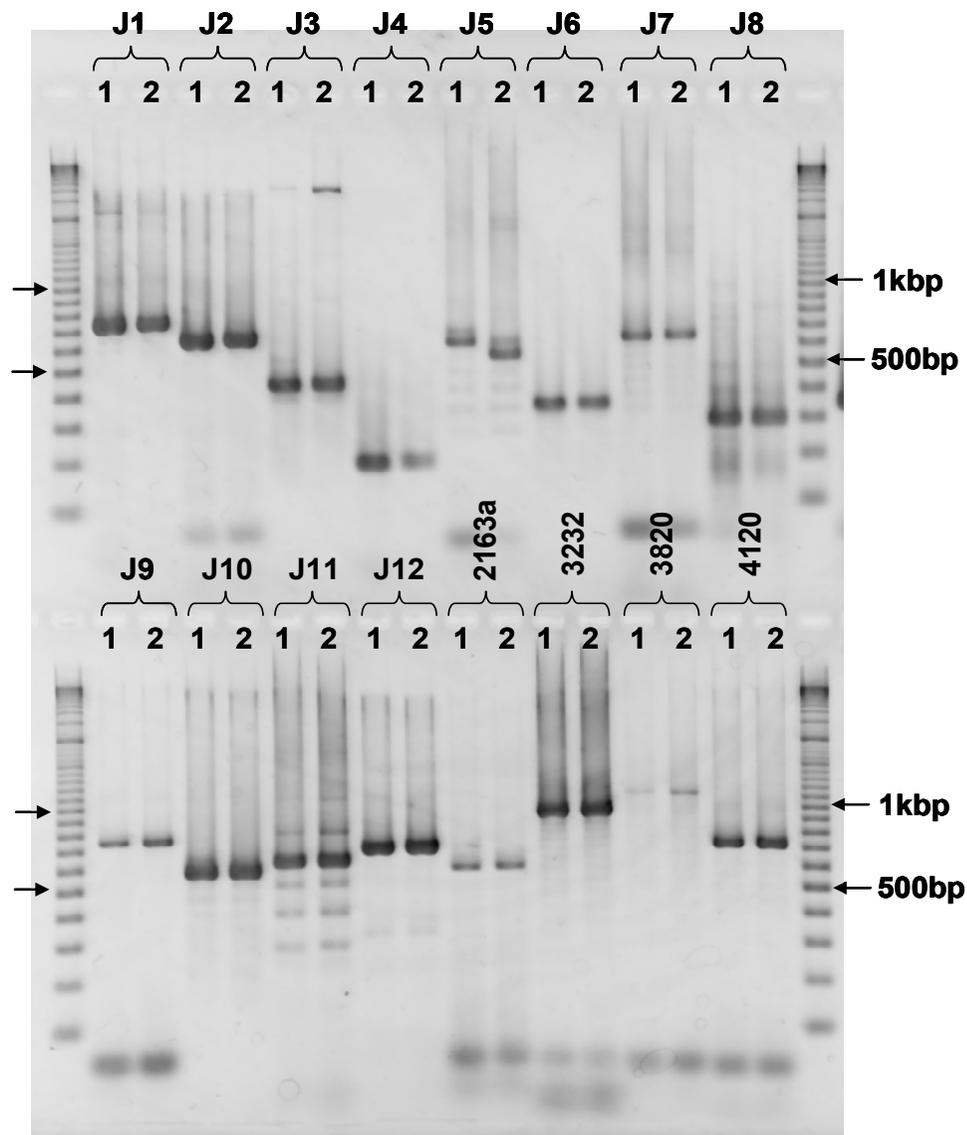
Genemapperで解析

VNTRのためのPCRの条件と分析例

DNA (1 ng) 1 μ l
10 μ M Primer mix 1 μ l
2.5 mM dNTP 4 μ l
2xGC buffer I 12.5 μ l
Ex Taq (Takara) 0.13 μ l
Add H₂O to 25 μ l



94°C 5分 }
94°C 30秒 } x 35
63°C 30秒 }
72°C 3分 }
72°C 7分 }
4°C ∞



結核に関するリファレンス活動

- 反復配列多型分析用スターターキットの配布
54施設に配布

スターターキットVer.2

JATA(12)、JATA(15)-VNTR分析及びハイパーバリアブルのローサイを分析するためのプライマーセット
(18種、36本)

- 精度管理用標準DNA(4種類)の送付
25年度中は1施設に送付

昨年準備した精度保証用の結核菌DNA

パネルの用精製DNA(5~6株)

日本国内で分離される結核菌の遺伝系統の割合に合わせた

- ・ 北京型(4~5株)
 - ancient 2~3株
 - modern 2株
- ・ 非北京型(1株)

結核菌VNTR外部精度評価実施要項

- 目的
 - 結核菌の遺伝子タイピングとしてのVNTRの精度保証
- 参加要件
 - 任意
- 実施方法
 - 結核菌の精製DNAを使用
 - 被検検体数：3検体
 - 対象ローカス：JATA 12 (min) + 15 + Supply 24まで
 - 解析方法：各施設のルーチン法
 - 実施期間：検体受領から1ヶ月
- 評価解析
 - データの返送を受けた時点で正解を送付
 - 各ローカスの正答率等、全体解析結果を後日報告

結核菌VNTR分析の精度保証研究に参加希望
施設の募集

7月中



ゲノムDNAの発送

8月中



結果回収

9月中



結果の評価(難しいローカスの特定と対策)

10-11月中

結核菌レファレンス委員

- 北海道東北新潟：宮城県保健環境センター・畠山 敬
- 関東甲信静：神奈川県衛生研究所・相川勝弘
- 東海北陸：富山県衛生研究所・磯部順子
- 近畿：大阪市立環境科学研究所・長谷 篤
- 中国四国：岡山県環境保健センター・大畠律子
- 九州：大分県衛生環境研究センター・緒方喜久代
- 結核研究所抗酸菌部・御手洗聡(世話人)、前田伸司