

# 機能性乳酸菌 H61 株検出プライマー

## － H61 株の検出技術－

### 成果の特徴

- 乳酸菌 *Lactococcus lactis* H61 株のゲノム配列から同株に特異的な領域を抽出し H61 株検出用プライマーセットを設計しました。H61 株でのみ PCR によるバンドが増幅でき、H61 株であることを特定できます。

### 成果の内容

- H61 株の完全長ゲノム配列とゲノム配列既知の同種の4菌株のタンパク質コード領域において相同性の認められない領域を検索、さらに細菌類の遺伝子と比較しても H61 株に特異的な領域を抽出し、プライマーを設計しました。
- 同一亜種の *cremoris* 12 株、同種亜種 *lactis* 8 株のゲノム DNA を鋳型に用いた PCR において、H61 株のみ増幅が見られました。
- H61 株を煮沸あるいはオートクレーブしても PCR 産物は増幅され、加熱死菌体であっても検出可能であることが示されました。

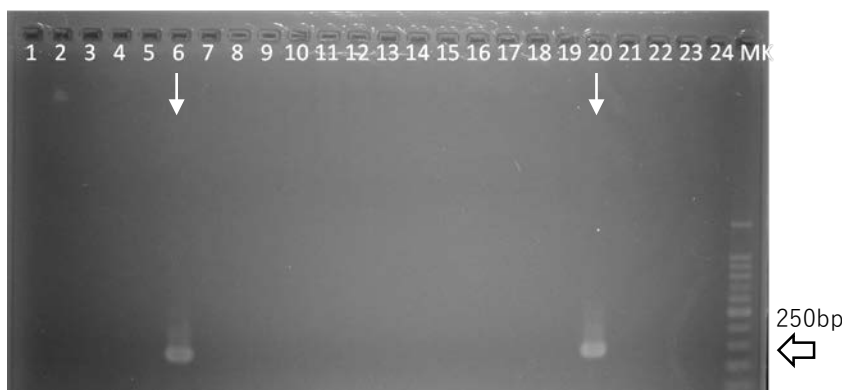


図 1 当該プライマーを用いた PCR 産物のアガロースゲル電気泳動  
H61 株を鋳型に用いた 6 および 20 レーン (矢印で示す) のみに 250bp のバンドが観察される。

レーン 1, 3, 10, 11, 13, 15, 21, 23; *L. lactis* subsp. *lactis* の菌株  
レーン 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 22; *L. lactis* subsp. *cremoris* (6, 20 は H61 株) の菌株  
レーン 12; *Lactobacillus* sp. の菌株

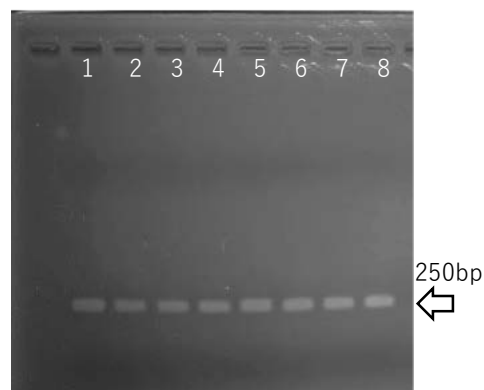


図 2 熱処理した H61 株から調製した DNA を鋳型に用いた PCR 産物のアガロースゲル電気泳動

レーン 1, 2; 生菌から DNA 調製  
レーン 3, 4, 5, 6; 100°C 30 分熱処理した菌体から DNA 調製  
レーン 7, 8; 121°C 15 分オートクレーブ処理した菌体から DNA 調製

### 成果の活用

1. H61 株生菌を用いた製品、あるいは H61 株生菌を加熱した製品において使用菌株が H61 株であることを確認できます。
2. 2. 定量性を必要とする場合は、リアルタイム PCR において菌数測定のためのスタンダードを設定する必要があります。

鈴木ら、特願 (2019年3月25日)