

衛生微生物技術協議会第40回研究会・熊本
レファレンスセンター等関連会議
「大腸菌」

演者1

井口 純（宮崎大学・農学部）

「大腸菌のOg-/Hg-typing PCR法について」

演者2

泉谷 秀昌（感染研・細菌 I）

「EHEC MLVAについて」

衛生微生物技術協議会・第40回研究会
レファレンスセンター等関連会議・大腸菌
(熊本市国際交流会館：7月10日 11:10-12:10)

Og- and Hg-typing PCR

大腸菌の血清型をPCRで判定できる手法

宮崎大学 農学部 畜産草地科学科

井口 純

iguchi@med.miyazaki-u.ac.jp

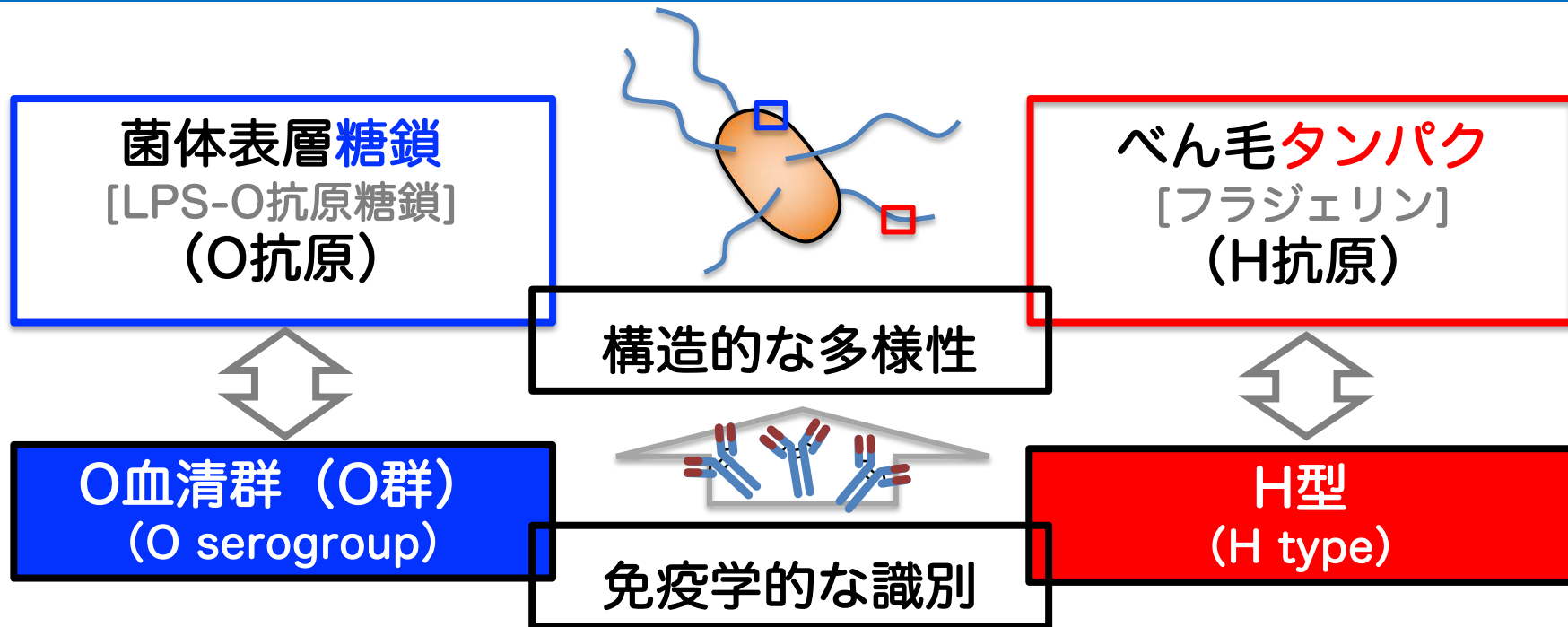


宮崎大学
University of Miyazaki

本日のテーマ

1. 大腸菌血清型の概要
2. Og-typing PCRについて
3. Hg-typing PCRについて
4. 参考情報
5. まとめ

大腸菌の血清型 (serotype) 「O:H型」



国際大腸菌血清型別レファレンスセンター
デンマーク国立血清学研究所 (SSI : Statens Serum Institut)

O群	血清型	H型
01-0188 (欠番 : 31, 47, 67, 72, 94, 122) (亜型 : 18ab/ac, 28ab/ac, 112ab/ac)	タイプ	H1-H56 (欠番 : 13, 22, 50)
185種類	種類	53種類

血清型別の特徴

- 適度な分解能：185 × 53 = 9805 (≒MLST：multi-locus sequence typing)
 - 血清型が同じ：系統的にごく近縁な菌株
 - 集団事例や流行株の調査
(集団感染事例の探知、汚染源や汚染経路の予測)
 - 保有する病原性遺伝子セットが同じ可能性・高
(病原型やヒトに対するリスクの予測)
- MLVAやPFGEなどの分子疫学解析を行う時は、血清型（特にO群）による事前の分類が前提
- 豊富な情報：国際的に確立された手法
病原型、リスク、流行、疫学、ゲノムなどにリンク

抗血清試薬

メーカー	血清型	O群	H型
SSI Diagnostica (2016~) 国内代理店 ベリタス 完全タイピング	対応範囲 (single)	全・185種類	全・53種類
	混合血清 (pool)	23種類 (AA-XX)	6種類 (A-F)
	初期コスト (single+pool)	約470万円 (19,000x185+52,000x23)	約300万円 (52,000x59)
	作業時間 *増菌時間 (o/n) を含む	2-3日	3-4日
デンカ生研	対応範囲 (single)	50種類	22種類
	混合血清 (pool)	9種類 (1-9)	なし
	初期コスト (single+pool)	約16万円	約12万円
	作業時間 *増菌時間 (o/n) を含む	2日	3日

EHEC O104:H4 (*stx2+aggR*)によるアウトブレイク

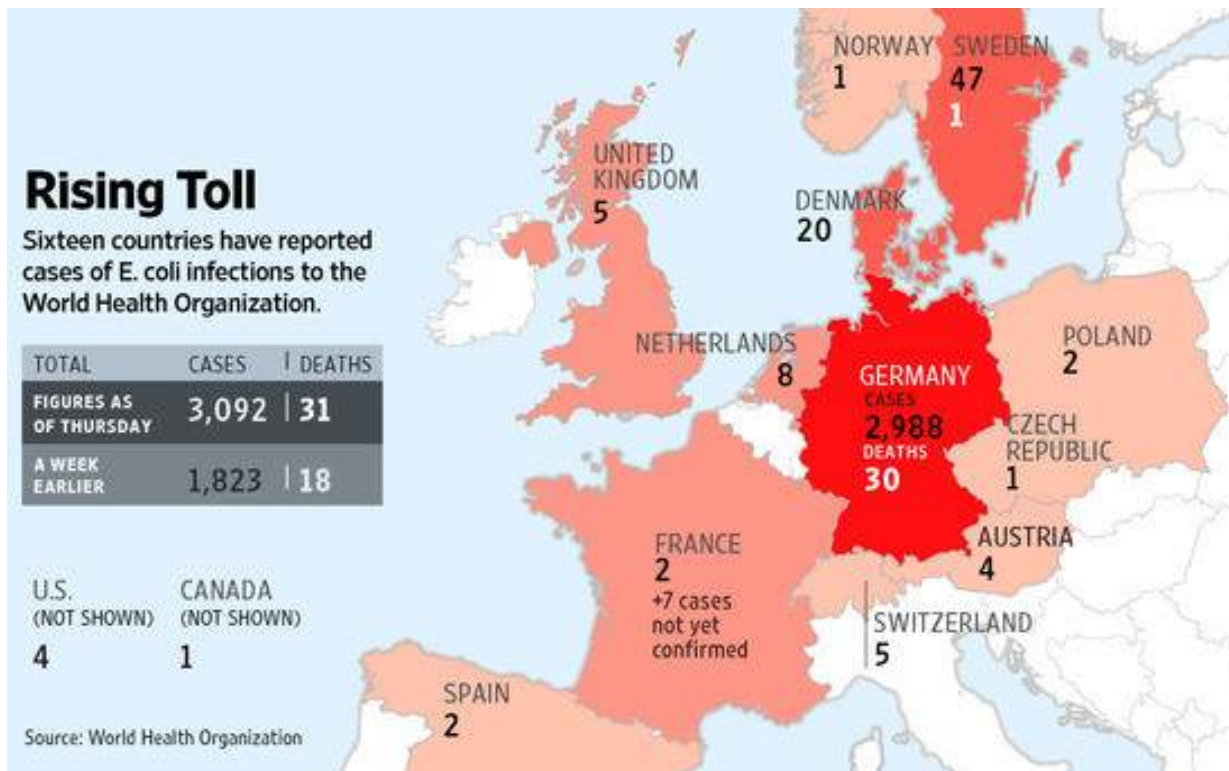
- ・感染者数：4,075名
- ・死亡者：50名
- ・16カ国で感染者
(2011. 7. 22 WHO report)

原因食品：発芽野菜



<https://www.barfblog.com/tags/o104/>

2011年5月 ドイツを中心に発生
(5月8日～7月4日)



<https://www.nap.edu/read/13423/chapter/2>

我が国への侵入にも警戒が必要だったが、、、

Og- and Hg-typing PCR

目標：既存のO群・H型分類に対応した
広域な**遺伝学的分類手法の開発**・評価

技術：**PCR法**（汎用性が高い・コストが低い・改良が容易）

Og-typing PCR

(*E. coli* O-genotyping PCR : ECOG-PCR)

20種類のmultiplex-PCRキット
(162種類のプライマーペアを含む)

Iguchi et al. J Clin Microbiol. 53: 2427-32 (2015)

Hg-typing PCR

(*E. coli* H-genotyping PCR)

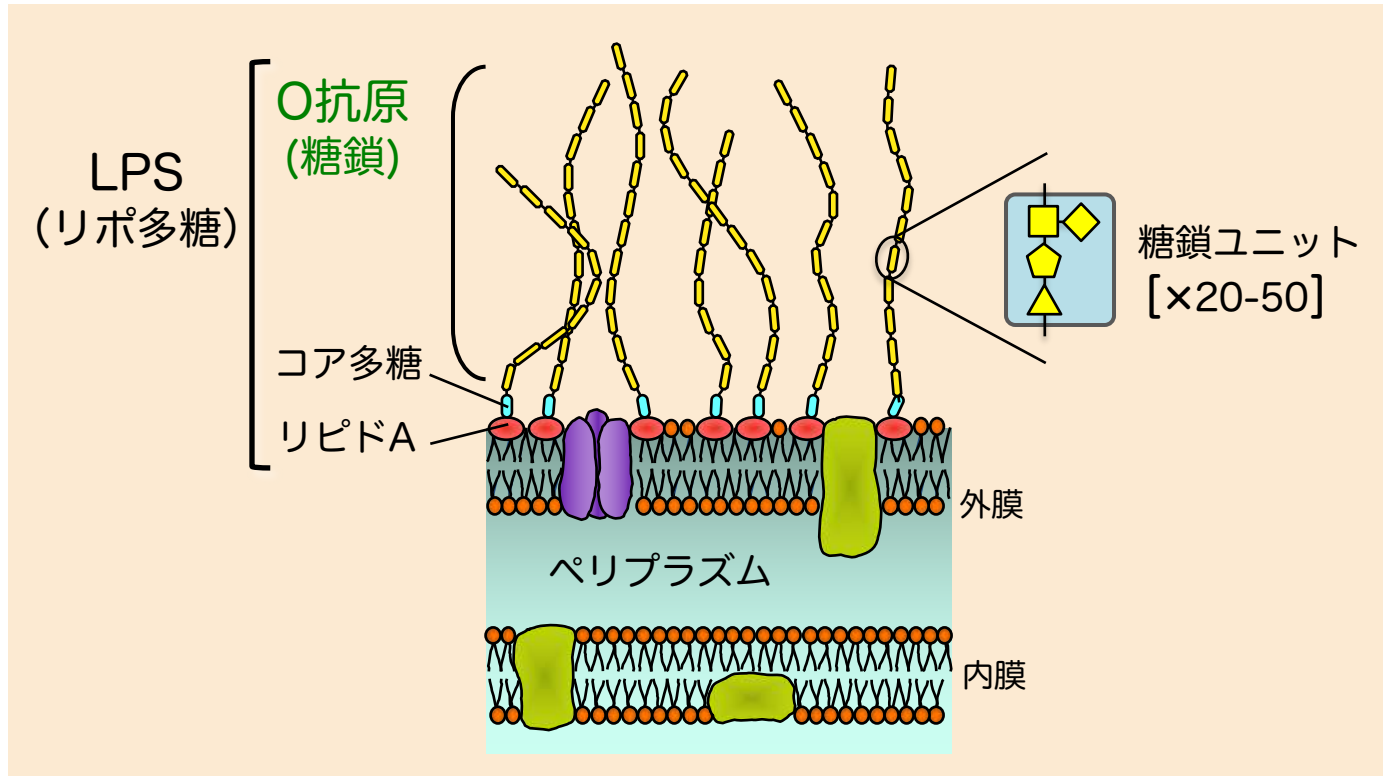
10種類のmultiplex-PCRキット
(51種類のプライマーペアを含む)

Banjo et al. J Clin Microbiol. 56: e00190-18 (2018)

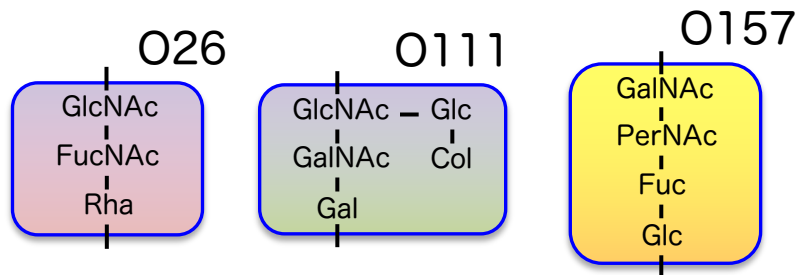
Og-typing PCR

O抗原

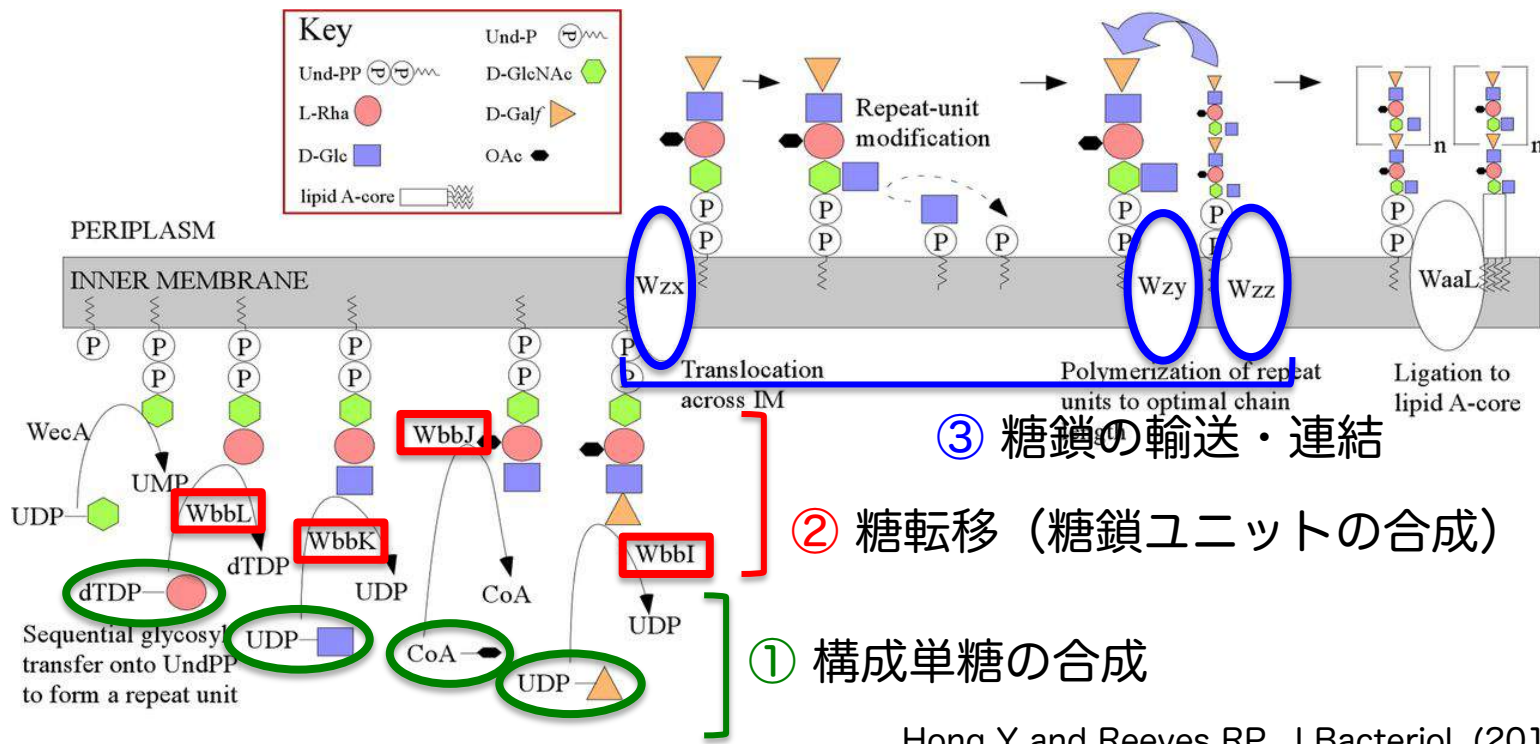
グラム陰性菌の菌体表層



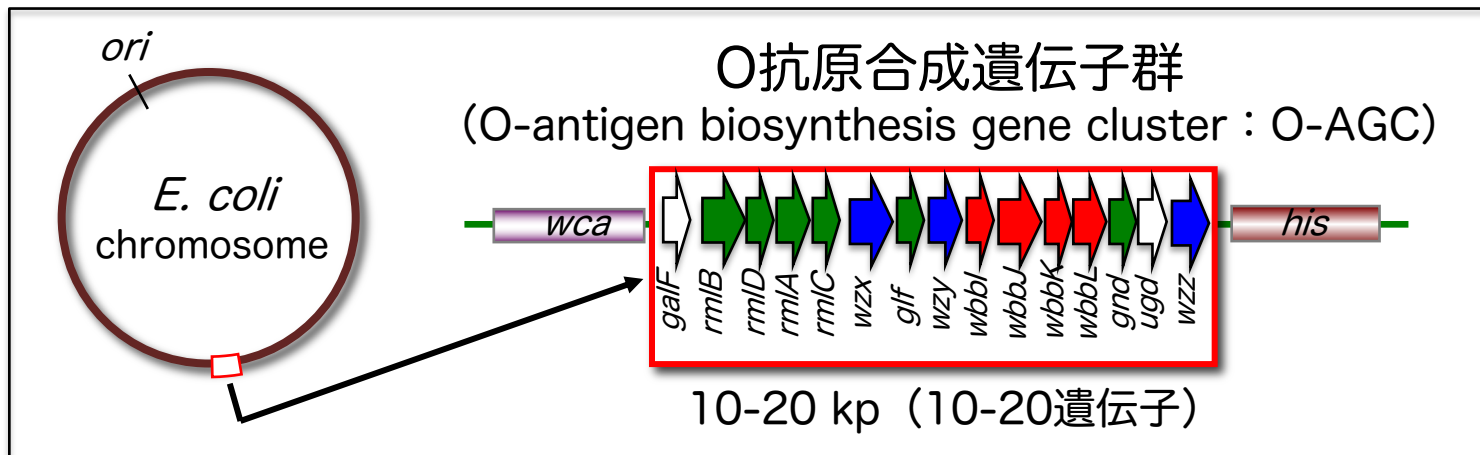
主なO群の
糖鎖ユニットの構造



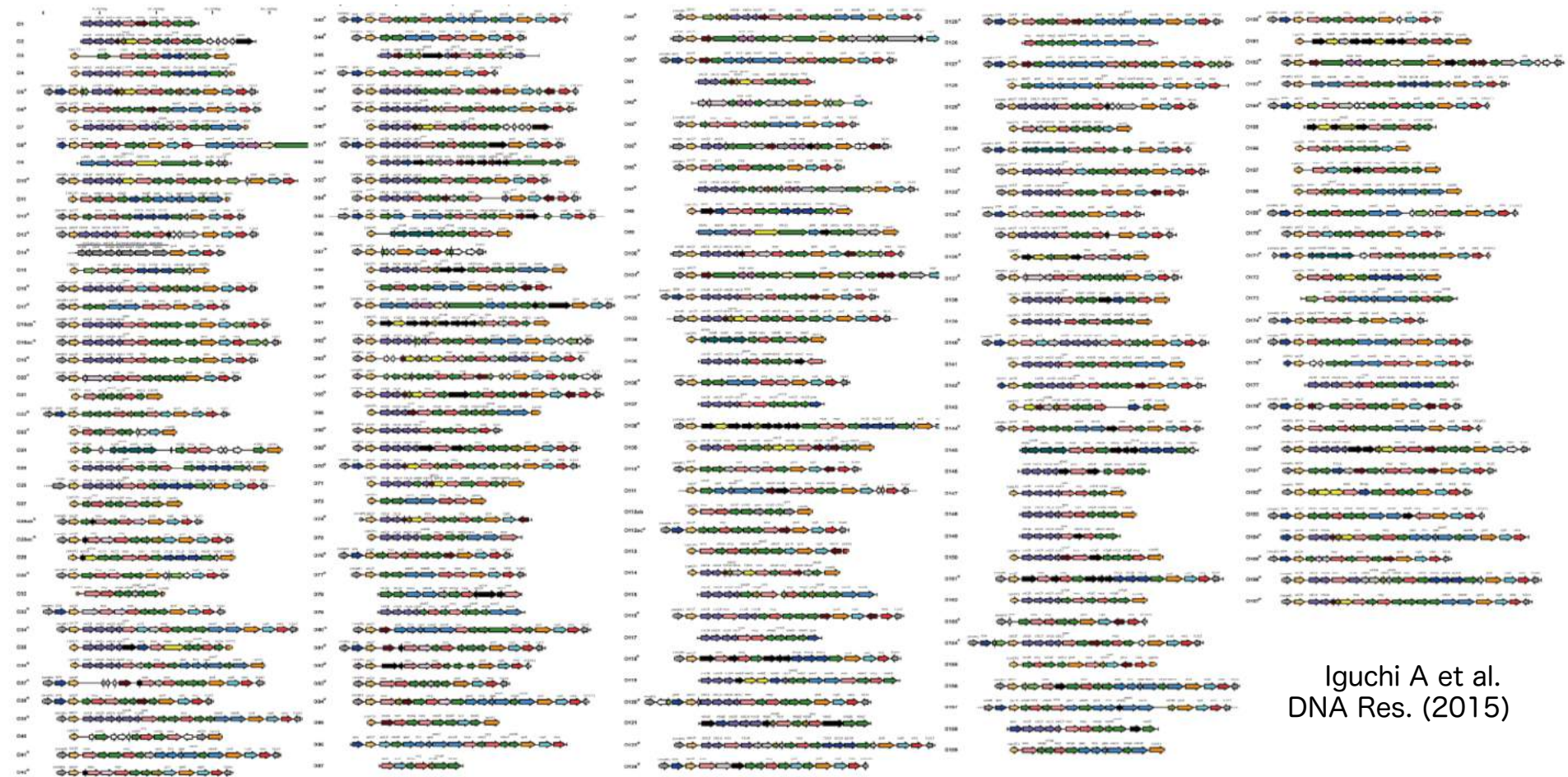
O抗原の合成に関わる遺伝子（群）



Hong Y and Reeves RP. J Bacteriol. (2014)より改変



O抗原合成遺伝子群の全体像



Iguchi A et al.
DNA Res. (2015)

184種類のO群 (O1~O187)

*O188は2015年に追加

O抗原合成遺伝子群の全体像

- すべてのO抗原合成遺伝子領域がいずれかのペア遺伝子を保有

③ 糖鎖の輸送・連結

wzx / *wzy* (O-unit flippase/polymerase)

または

wzm / *wzt* (ABC transporter)

- 異なるO群では各遺伝子の塩基配列の相同性が70%以下

→ O群を判定するマーカー遺伝子として有効

ただし、

35種類のO群では、*wzx/wzy*または*wzm/wzt*の相同性が高い ($\geq 97\%$)

15グループ (Gp) にグループ化

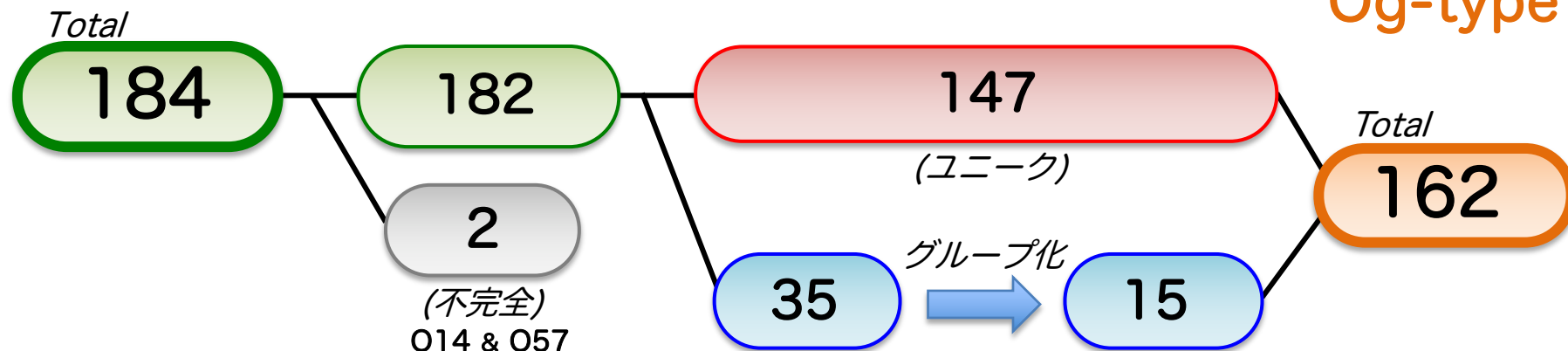
Gp	O群	Gp	O群	Gp	O群
Gp1	O20、O137	Gp6	O46、O134	Gp11	O153、O178
Gp2	O28ac、O42	Gp7	O2、O50	Gp12	O18ab、O18ac
Gp3	O118、O151	Gp8	O107、O117	Gp13	O124、O164
Gp4	O90、O127	Gp9	O17、O44、O73、O77、O106	Gp14	O62、O68
Gp5	O123、O186	Gp10	O13、O129、O135	Gp15	O89、O101、O162

O抗原合成遺伝子群 (Og-type) の整理

O群

O抗原合成遺伝子群の比較・整理

遺伝子型
Og-type



O20, O137	: Gp1
O28ac, O42	: Gp2
O118, O151	: Gp3
O90, O127	: Gp4
O123, O186	: Gp5
O46, O134	: Gp6
O2, O50	: Gp7
O107, O117	: Gp8
O17, O44, O73, O77, O106	: Gp9
O13, O129, O135	: Gp10
O153, O178	: Gp11
O18ab, O18ac	: Gp12
O124, O164	: Gp13
O62, O68	: Gp14
O89, O101, O162	: Gp15

O群 Og-type

PCRプライマーのデザインと評価

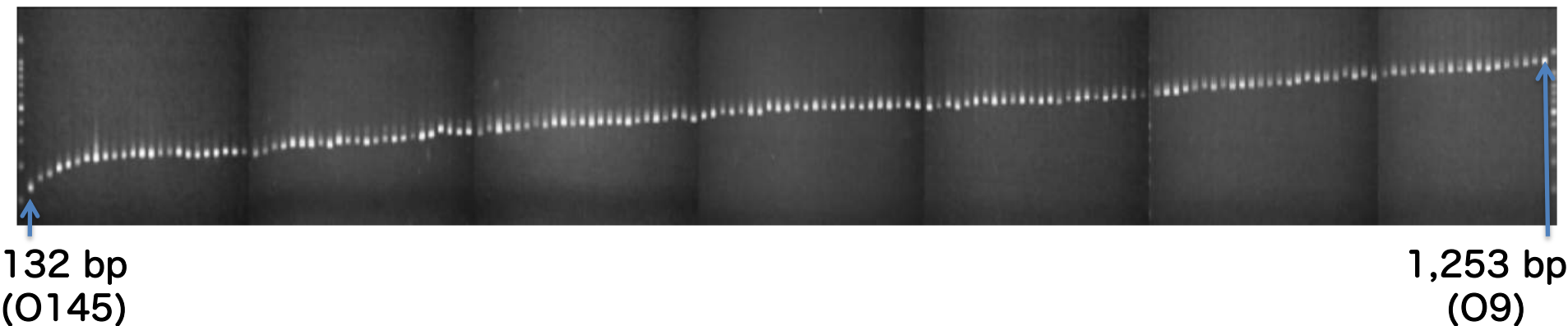
それぞれのOg-typeを検出する
プライマーをデザイン



全O群参考株
(184株) を用いて
特異性を確認

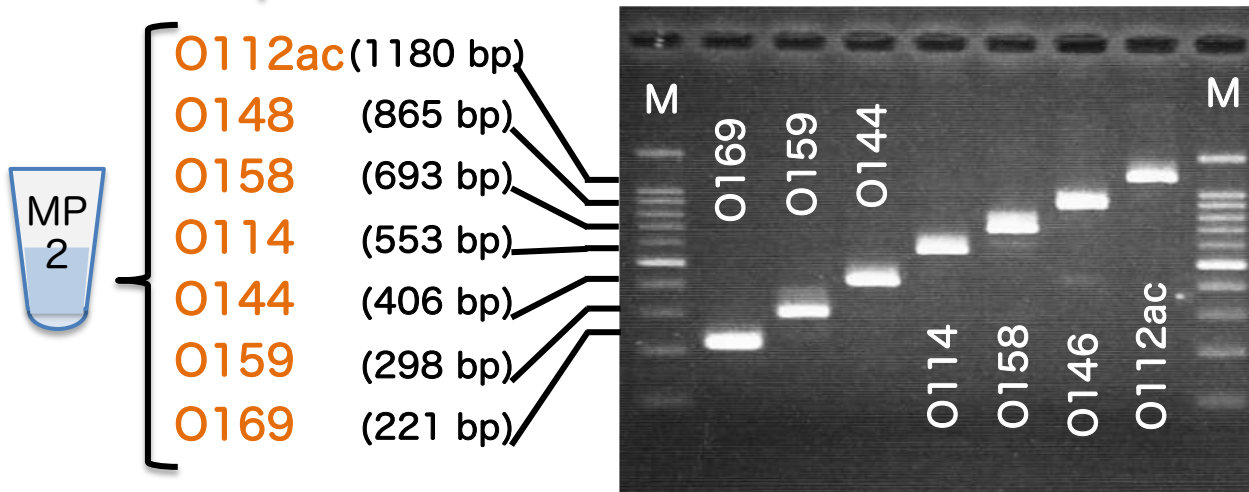
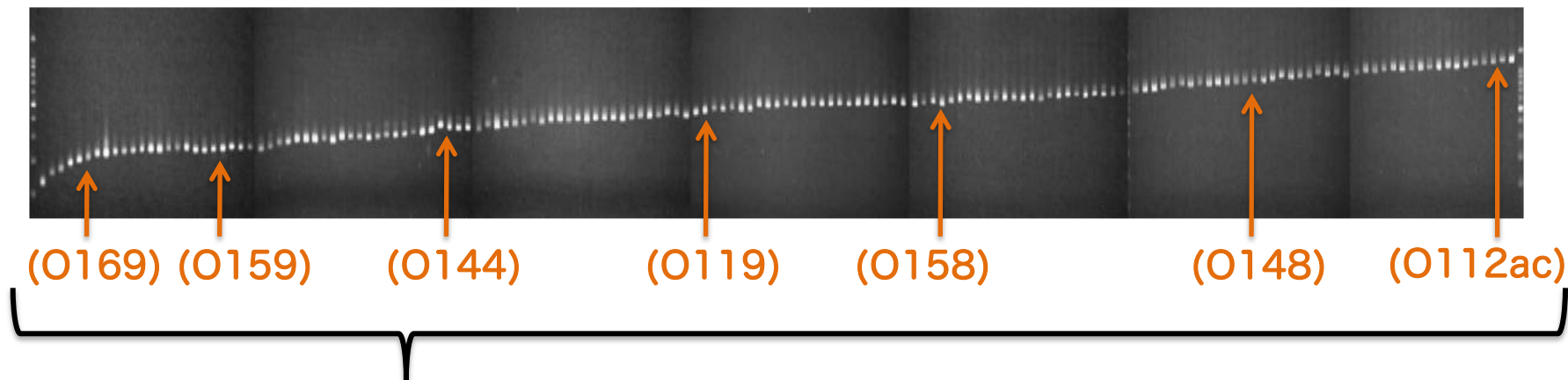
×
162種類

162種類のプライマーペアにより得られたPCR産物



Multiplex-PCRキットの構築

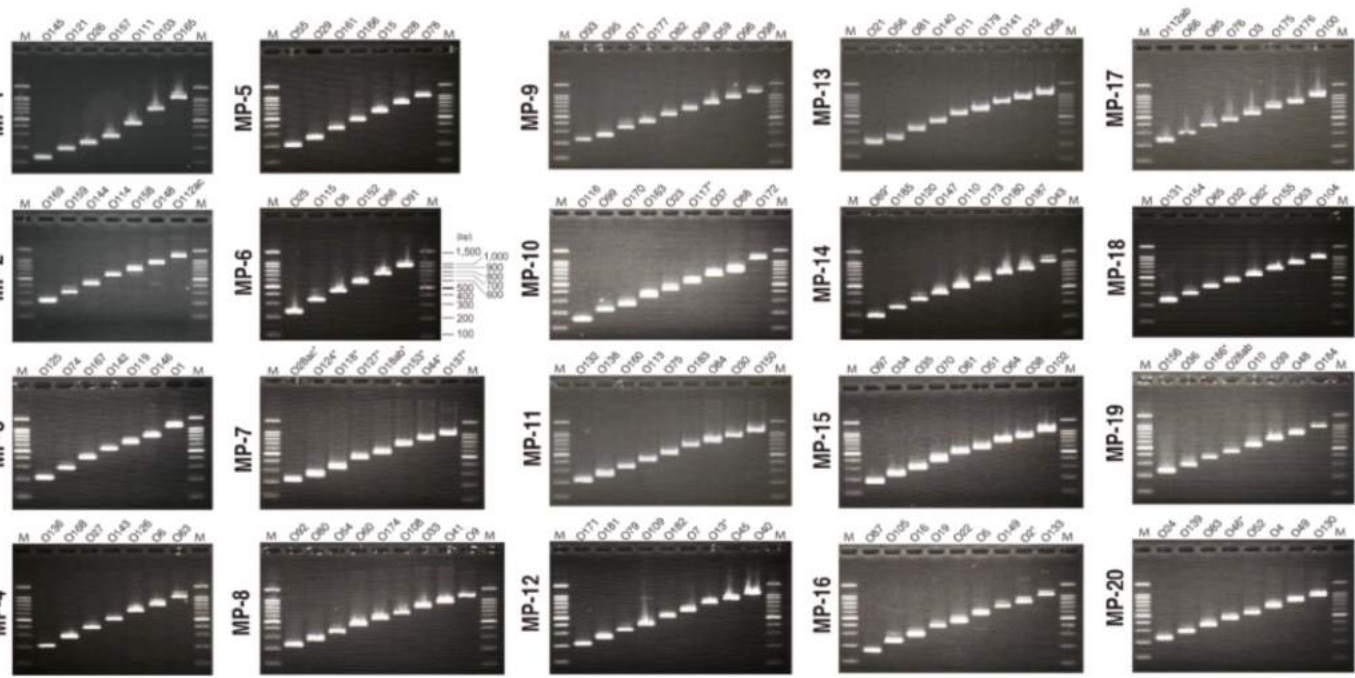
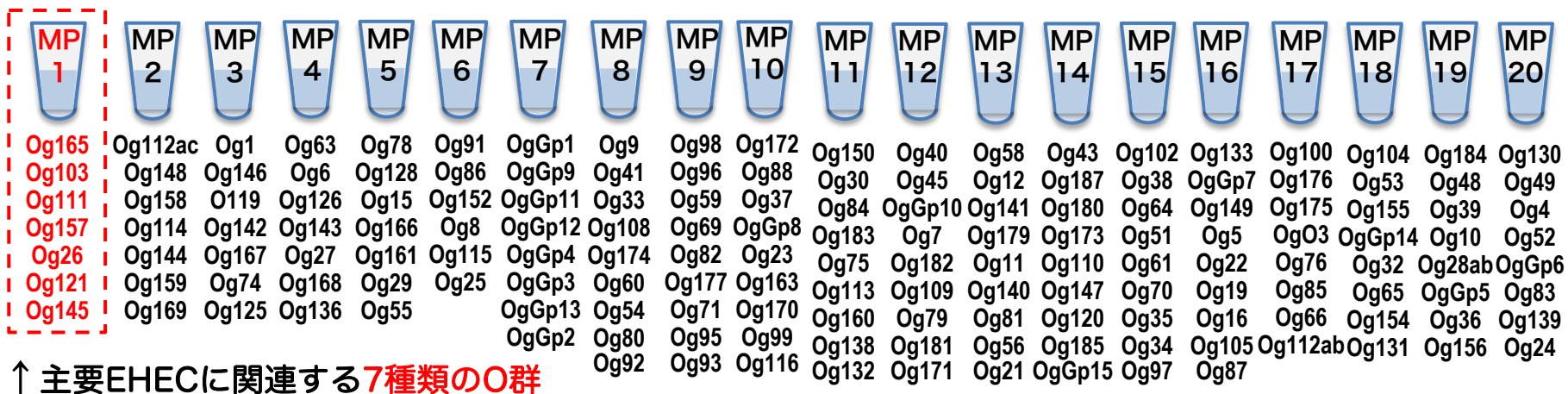
162種類の特異的PCRにより得られたPCR産物



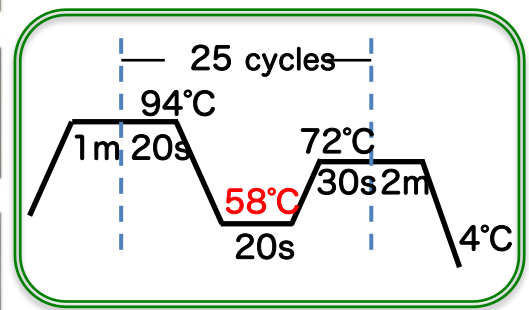
チューブ1本のPCR反応で7種類のOg-typeを検出

Multiplex-PCRキットの構築

Og-typing PCR

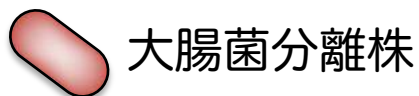


単一のPCR反応条件



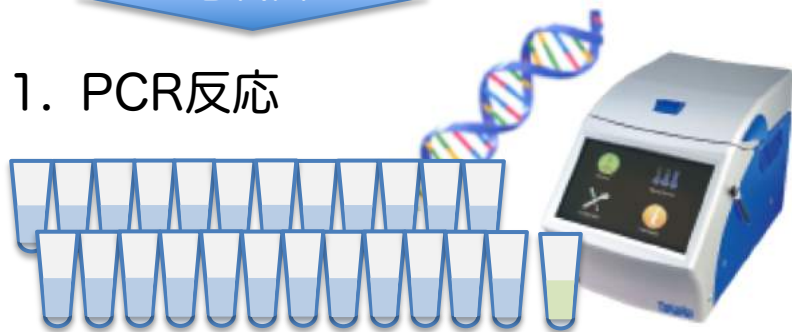
反応時間：約60分間

Og-typing PCR



DNA

1. PCR反応



+

2. 電気泳動によるPCR産物の確認

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 P



MP-18 (993 bp) → Og104

完全タイピングの場合

	抗血清	PCR
網羅検査に必要な試薬類の総額(初期コスト)	470万円	20万円
1検体のコスト	2万円	1000円以下
検査に係る時間	2日	3時間

✓広範囲 ✓低コスト ✓短時間

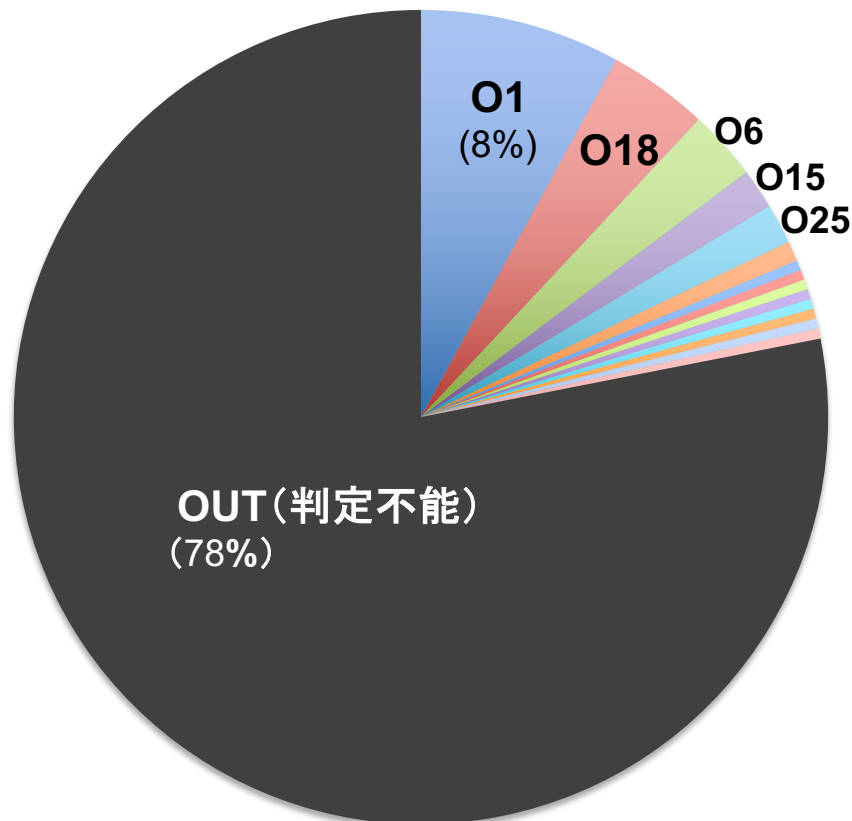
Og-type vs O群

全参考株：完全一致
試験株：ほぼ一致

健康人由来大腸菌のOg-typing PCR

デンカ生研・免疫血清

(14種類を確認)

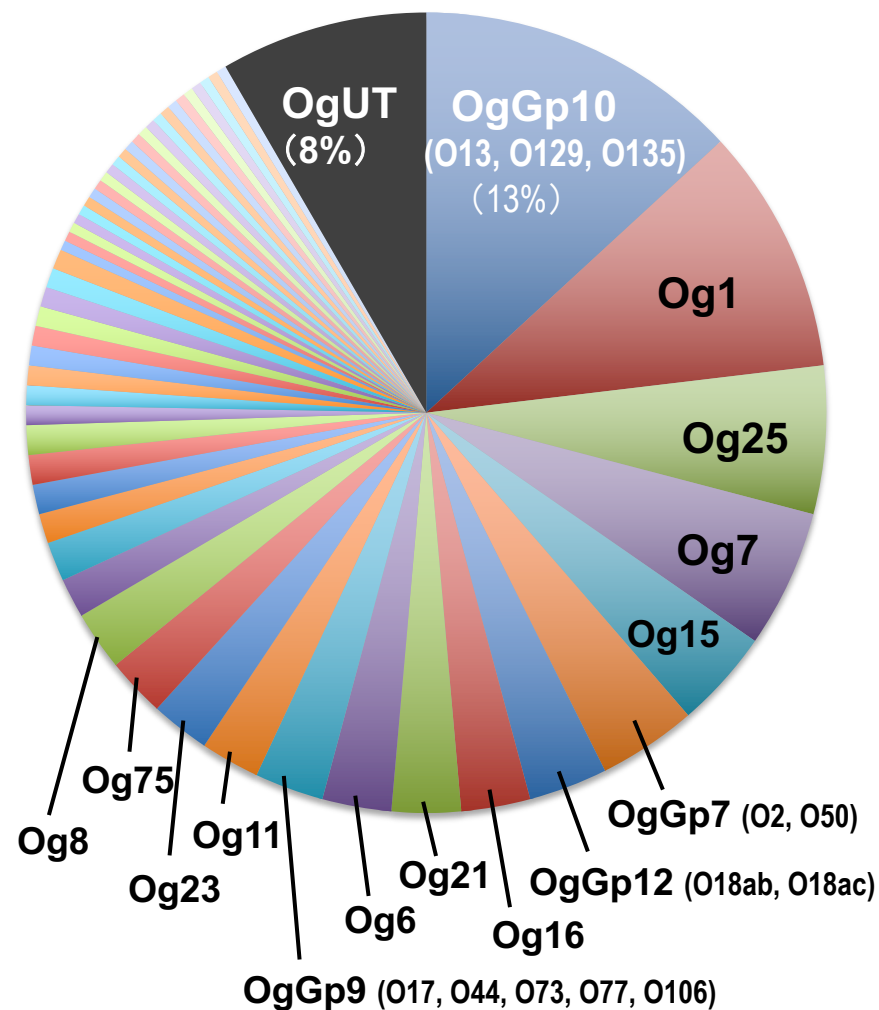


O18 : **OgGp12(O18ab/O18ac)**
OgGp10(O13, O129, O135), Og4, Og23

O15 : **Og15**, Og7

Og-typing PCR

(51種類を確認)

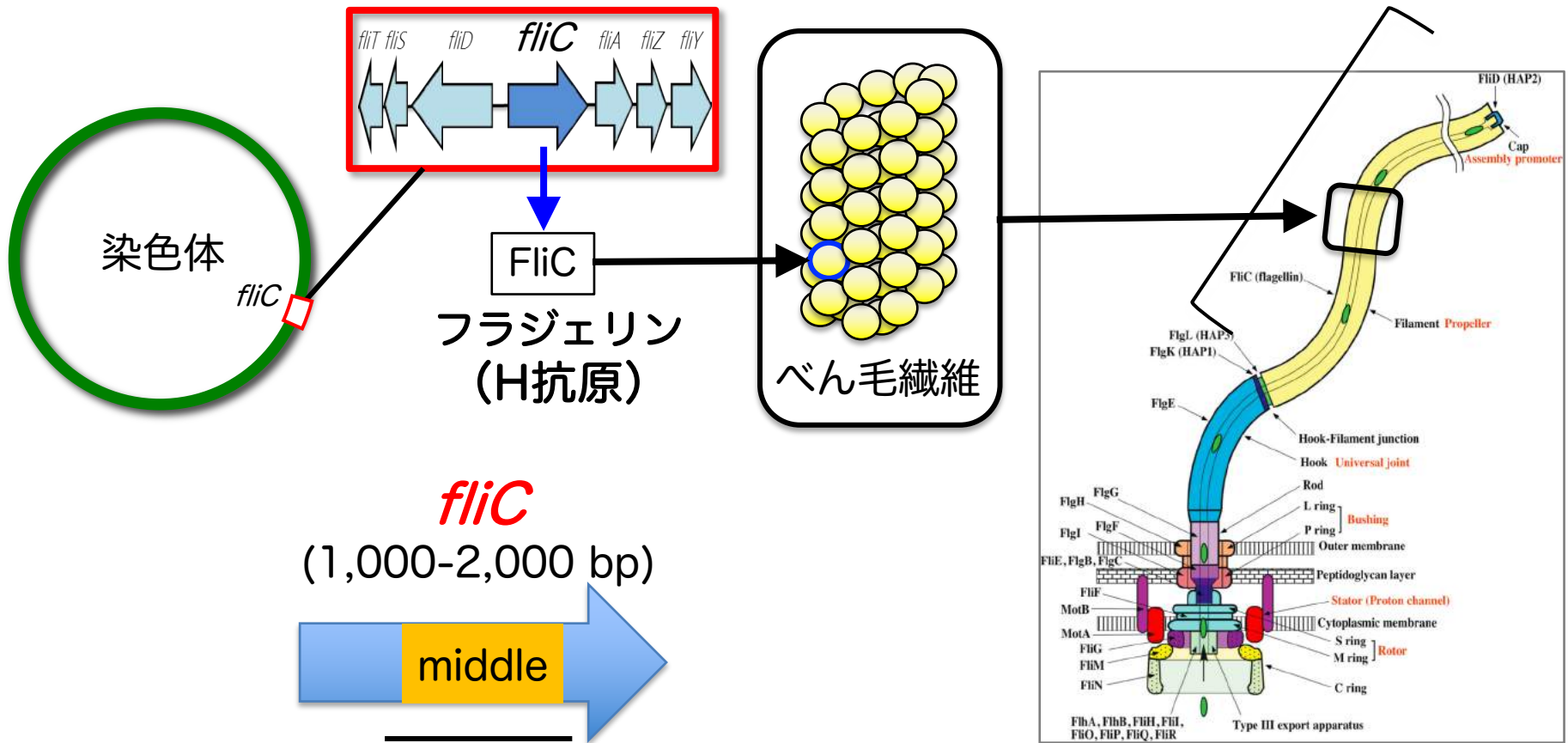


Og-typing PCRの注意点

- ・ Og-typeが判定できない (OgUT) 菌株あり (10%)
 - 既定型以外のOg-type (新規) の可能性
 - *重要度の高いものについてはゲノム配列情報を基に新規Og-type (OgN) 検出PCRプライマーを開発済み (OgN1, OgN8, OgN9, OgN10, OgN12, OgN31, OgN3, OgN5, OSB16)
- ・ Og-typeとO群が一致しない菌株あり (1%)
 - Og-typeに対応するO抗原が発現していない
 - 抗血清による非特異的凝集
- 2種類のOg-typeが検出される菌株あり (1-2%)
 - 莢膜合成遺伝子群がOg-typeマーカー遺伝子と相同な遺伝子を含む

Hg-typing PCR

H抗原=フラジェリンをコードする *fliC*



塩基配列の多様性が高い領域
(おおよそ90%以下)

→ H型を判定するマーカー配列として有効

ただし、
H1とH12の相同性は高い
(98%)

PCRプライマーのデザインと評価

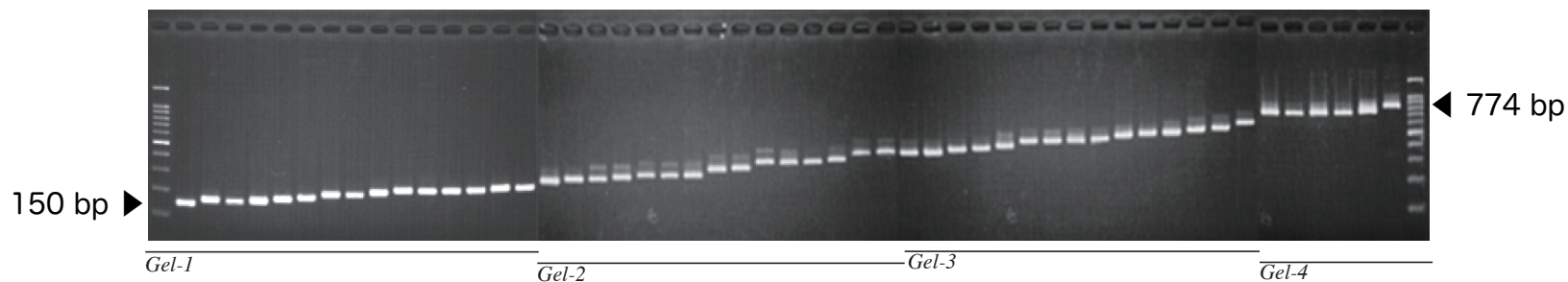
それぞれのHg-typeを検出する
プライマーをデザイン



全H型参考株
(53株) を用いて
特異性を確認

×
51種類

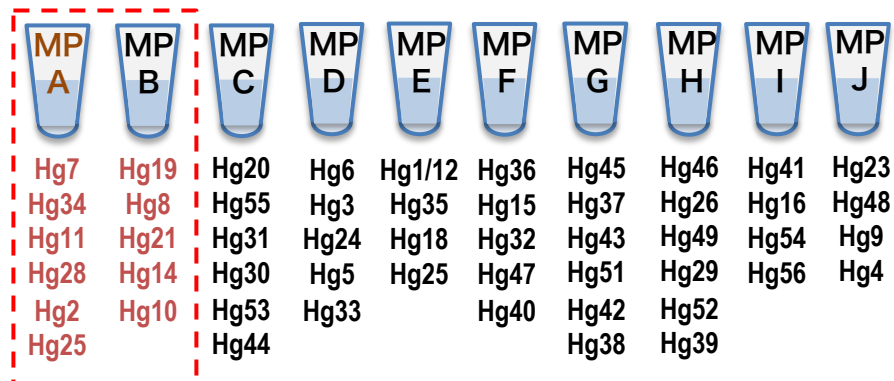
51種類のプライマーペアにより得られたPCR産物



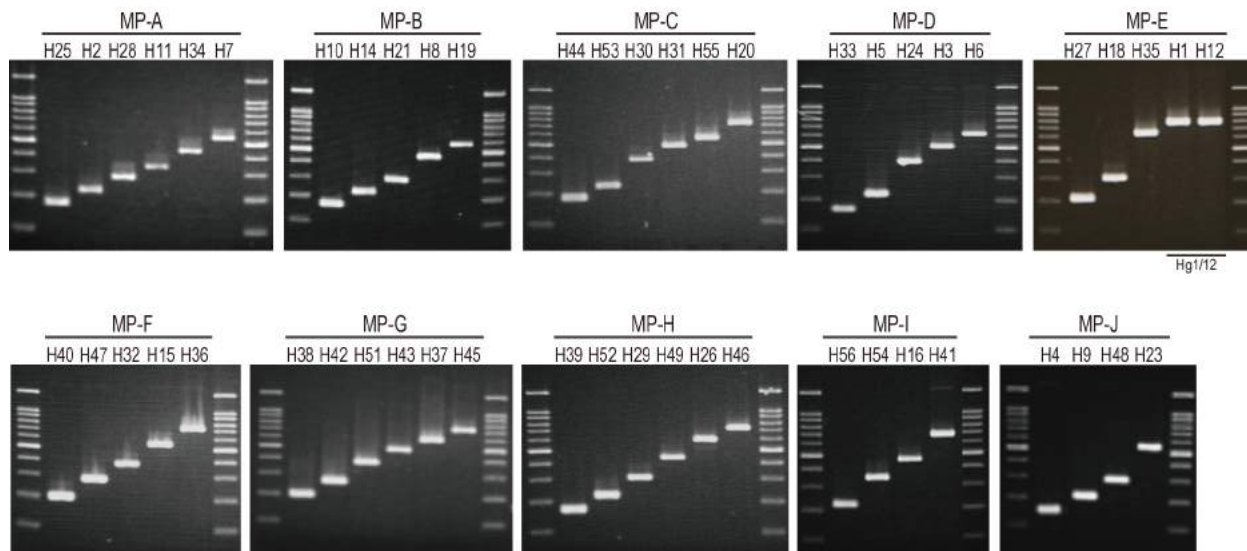
Multiplex-PCRキットの構築

O群	主要H	その他H	
O157	H7		
O26	H11		
O111	H8	H11	H21
O103	H2	H11	H25
O121	H19		
O145	H28	H25	H34
O165	H25		
O91	H14	H10	H21
O45	H2		
O6	H10		
O178	H19		

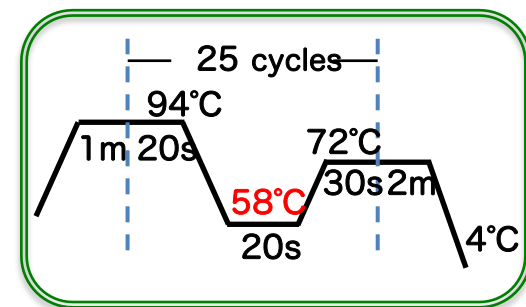
Hg-typing PCR



主要EHECに関連する
11種類のH型



単一のPCR反応条件



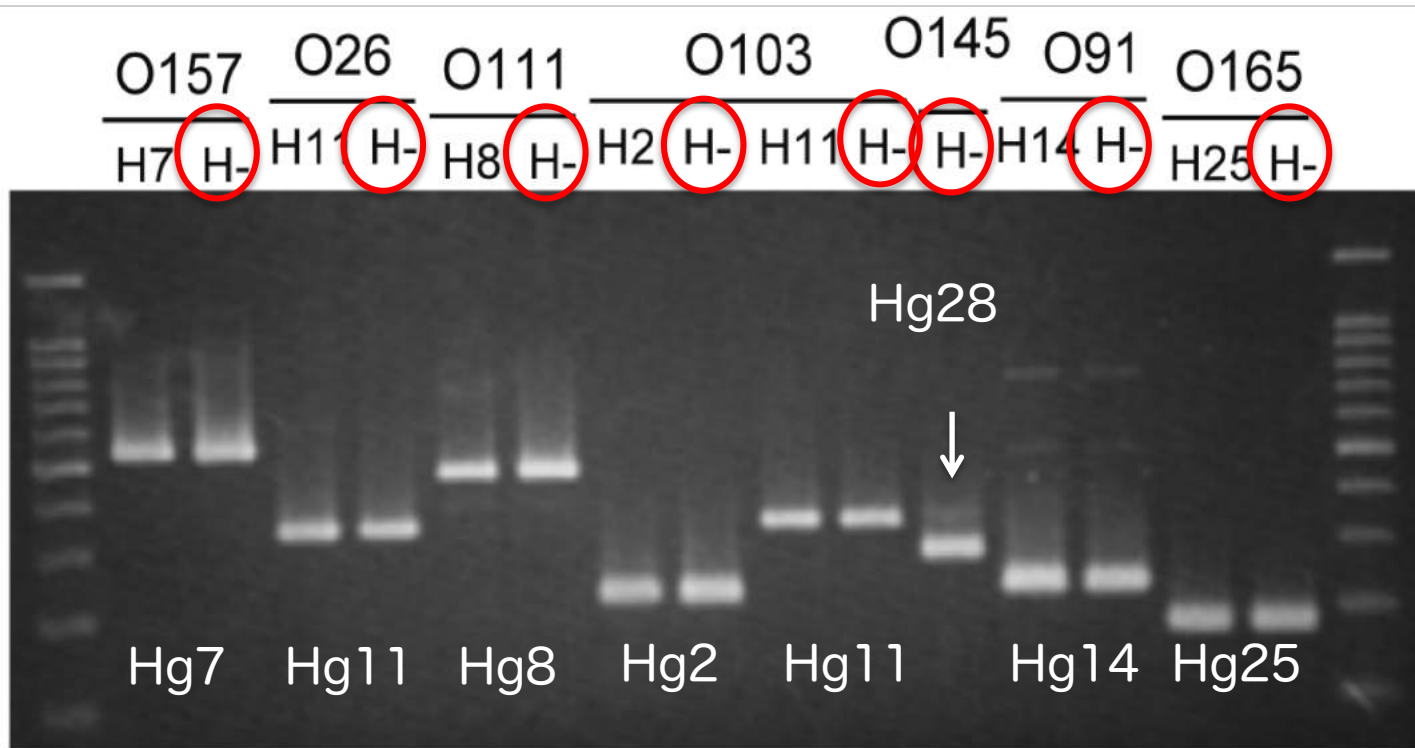
反応時間：約60分間

国内で分離される主要O群-EHECのH型

O血清群	報告数* (2,289)	H型の分布	主要なH型	その他のH型	参考文献
O157	1,355		H7		
O26	502		H11		
O111	78		H8	H11 H21	Ju W et al. Foodborne Pathog Dis 2014 Dallman T et al. JCM. 2012
O103	93		H2	H11 H25	Iguchi A et al. JCM. 2012
O121	67		H19		
O145	94		H28	H25 H34	Beutin L et al. PLoS one 2015 Prager R et al. Int J Med Microbiol 2014 Murakami K et al. PLoS one. 2014
O165	6		H25		
O91	15		H14	H21 H28	Madic J et al. Lett Appl Microbiol 2009 Rey J et al. Int J Food Microbiol 2006

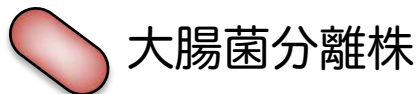
*IASR 36:119- (2015) 腸管出血性大腸菌検出例の血清型別臨床症状 2014年

非運動性株 (H-) のHg-typing PCRの結果



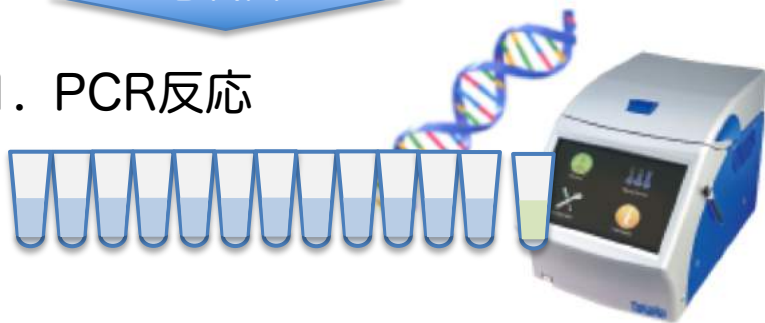
血清学的手法では判定できない非運動性株 (HNMまたはH-) であっても、マーカー遺伝子 (配列) は完全に保存されている場合が多く、Hg-typing PCRであれば判定可能

Hg-typing PCR



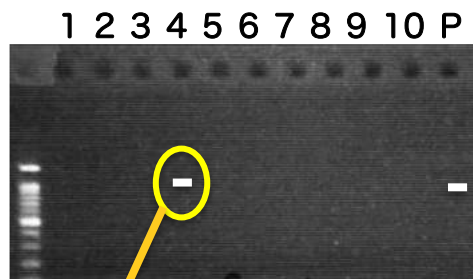
DNA

1. PCR反応



+

2. 電気泳動によるPCR産物の確認



MP-D (399 bp) Hg24

完全タイピングの場合

	抗血清	PCR
網羅検査に必要な試薬類の総額(初期コスト)	300万円	10万円
1検体のコスト	2万円	700円以下
検査に係る時間	3日	3時間

✓広範囲 ✓低コスト ✓短時間

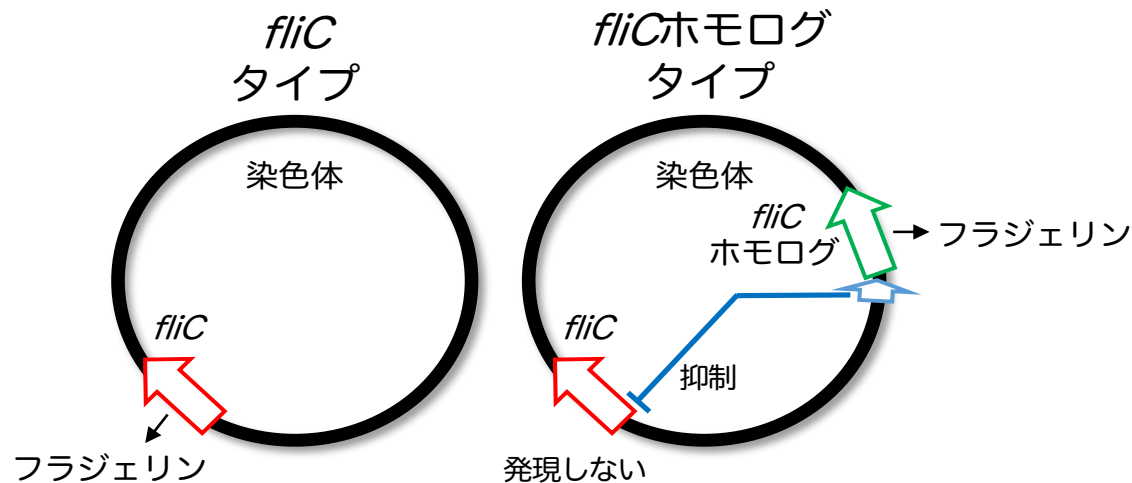
✓非運動性株でも判定可

Hg-type vs H型

全参考株：完全一致
試験株：ほぼ一致

Hg-typing PCRの注意点

- Hg-typeが判定できない (HgUT) 菌株あり (1%未満)
 - *fliC*を含むゲノム領域の欠失
 - 既定型以外のHg-type (新規) の可能性
- 2種類のHg-typeが検出される菌株あり (1-2%)
 - 外来性領域上に *fliC*ホモログ (類似遺伝子)



*fliC*ホモログタイプのH型：

H3, H17, H35, H36, H44, H47, H53, H54, H55

Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M, and Pathogenic E. coli Working Group in Japan.

Escherichia coli **O-genotyping PCR**; a comprehensive and practical platform for molecular O-serogrouping.

Journal of Clinical Microbiology 53(8):2427-32 (2015)

Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S; Pathogenic E. coli Working Group in Japan.

Escherichia coli **H-genotyping PCR**; a complete and practical platform for molecular H-typing.

Journal of Clinical Microbiology pii: JCM.00190-18 (2018)

宮崎大学・井口研究室HPからダウンロード可

- ・ Og-, Hg-typing PCRの全プライマー配列（エクセルファイル）
- ・ 日本語版プロトコール（PDF）

問い合わせ先：Iguchi@med.miyazaki-u.ac.jp

まとめ

- ・ Og-, Hg-typing PCRによって
広域、低コスト、短時間な判定が可能

- ・ PCR法によって得られる結果（遺伝子型、Og-, Hg-type）と、
抗血清を用いた凝集試験による結果（表現型、O群、H型）は
ほぼ一致（稀に一致しないこともある）

- ・ ベン毛を発現していない非運動性株（H-）でも
Hg-typeの判定は可能

お願い

菌株に関する正しい情報を共有するために、**表現型と遺伝子型の結果は区別**し、PCR法によって得られた結果を報告書や論文に記載する場合は、「**Og**（例えばOg104）」または「**Hg**（例えばHg10）」として表記する。

EHEC MLVAについて

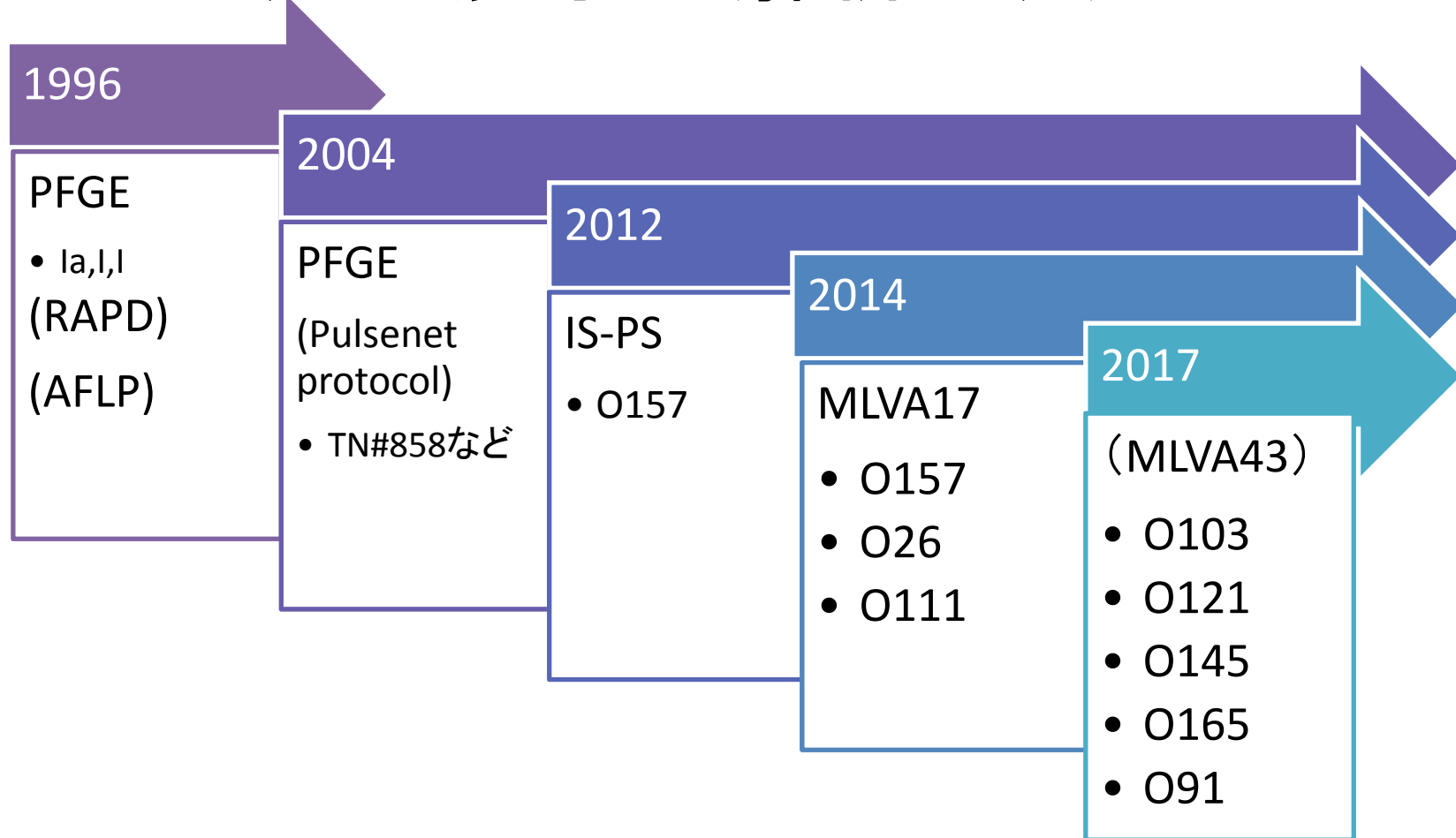
衛生微生物技術協議会第40回研究会

—大腸菌リファレンス会議

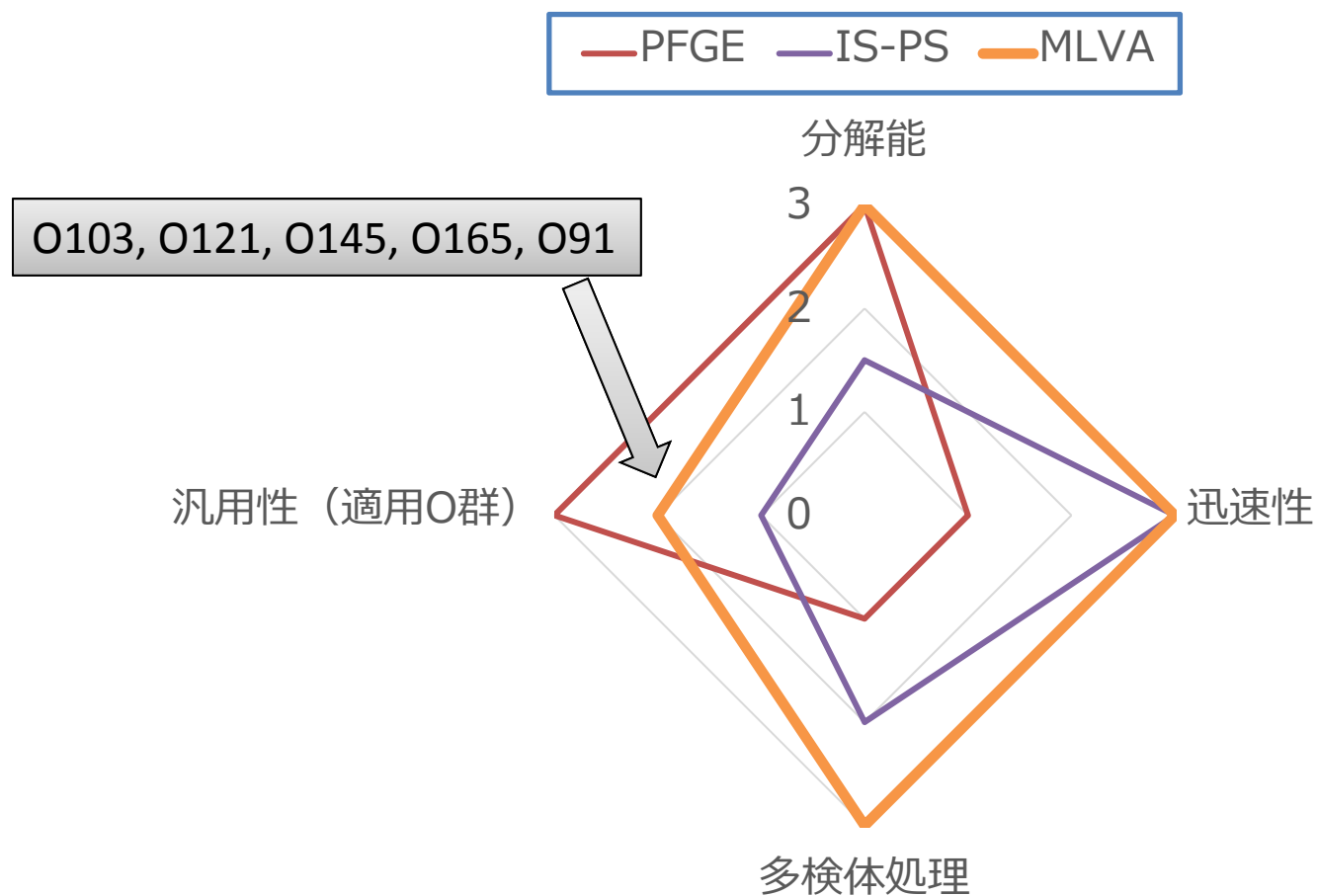
国立感染症研究所細菌第一部

泉谷秀昌、伊豫田 淳

わが国でEHECに使われてきた 分子疫学的解析手法



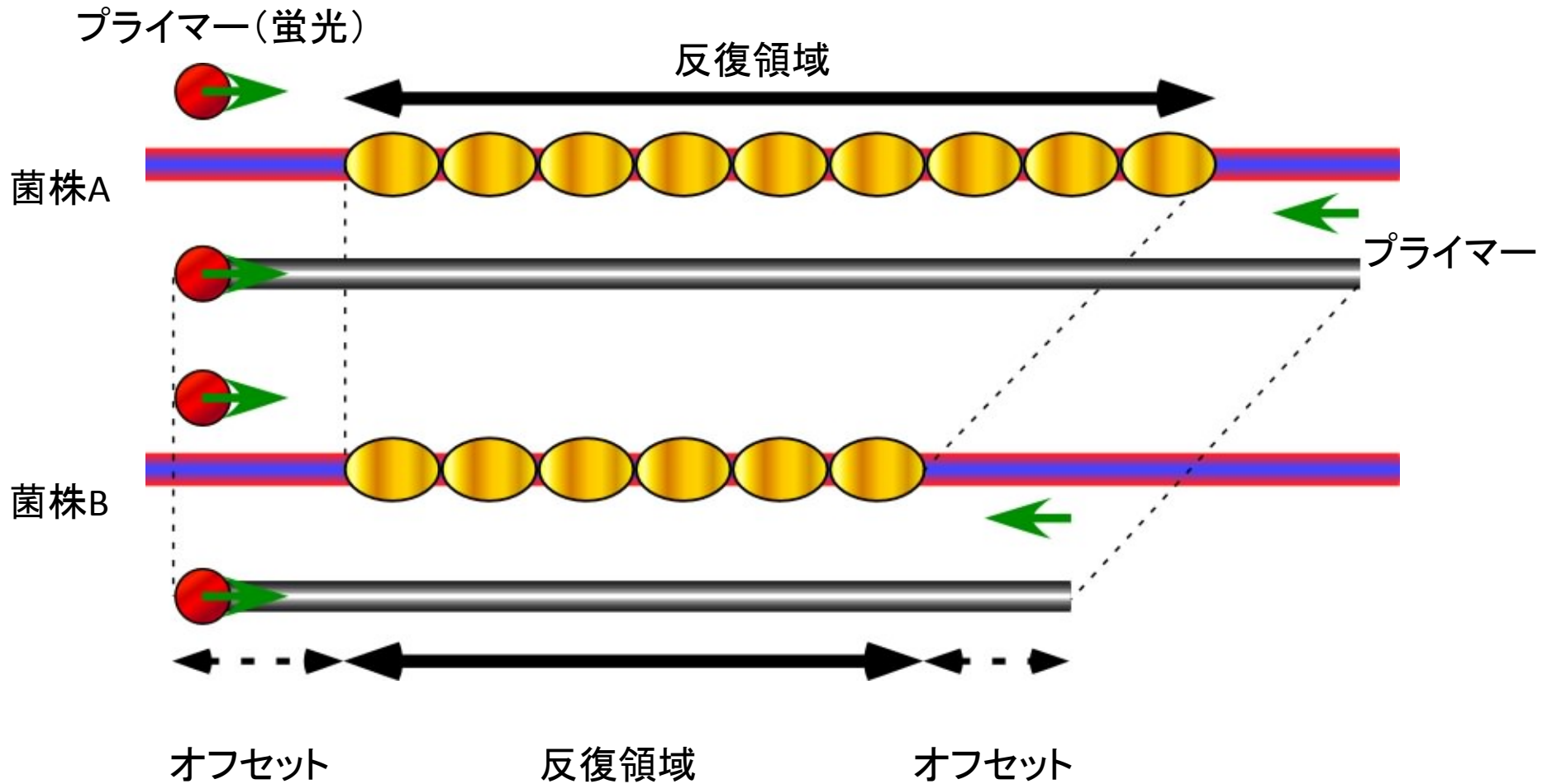
EHEC分子疫学解析法



(多検体処理能力はラボ環境に依存)

MLVA原理

[検出される産物の大きさ] - [オフセット] = [反復領域の大きさ]
[反復領域の大きさ] / [反復配列1ユニットの長さ] = [リピート数]



MLVA17 遺伝子座について

Reaction mix 1

O157-34	<i>EHC-1</i>	<i>EHC-2</i>	O157-9	<i>EHC-5</i>	O157-3	O157-25	<i>EH111-8</i>	<i>EH157-12</i>
	(SVL-3*)	(SVL-1*)	(SVL-2*)					

9か所

Reaction mix 2

<i>EH111-14</i>	<i>EH111-11</i>	O157-17	O157-10	O157-36	O157-19	<i>EHC-6</i>	O157-37	<i>EH26-7</i>
(SVL-7*)						(SVL-12*)	(SVL-11*)	

9(8)か所

CDC(O157) : 8か所
PNJ(2014年4月～) : 17か所

(Izumiya, et al., Microbiol Immunol. 54, 569-577, 2010.)

(* Timmons C, et al., J. Microbiol. Met. 125, 70-80, 2016.)

MLVA43 追加遺伝子座について 追加5血清群用 (O103, O121, O145, O165, O91)

Reaction mix q1

q1701 q1702 q1705 q1708 q1710 q1712 q1716 q1724 q1725 q1726 q1727 q1730 q1731
(SVL-5*) (SVL-6*)

13か所

Reaction mix q2

q1704 q1707 q1711 q1714 q1715 q1717 q1718 q1720 q1721 q1722 q1723 q1728 q1729
(SVL-23*)

13か所

17か所 + 26か所 ⇒ 43か所

(* Timmons C, et al., J. Microbiol. Met. 125: 70-80, 2016)

型数及びDiversity Indexの比較 (2018年株)

MLVA17	株数	型数	SID
O157	1760	704	0.994
O26	648	222	0.979
O111	86	54	0.994

MLVA43	株数	型数	SID
O103	139	48	0.833
O121	156	46	0.955
O145	49	24	0.921
O165	4	4	1
O91	35	31	0.993

MLVA型表記

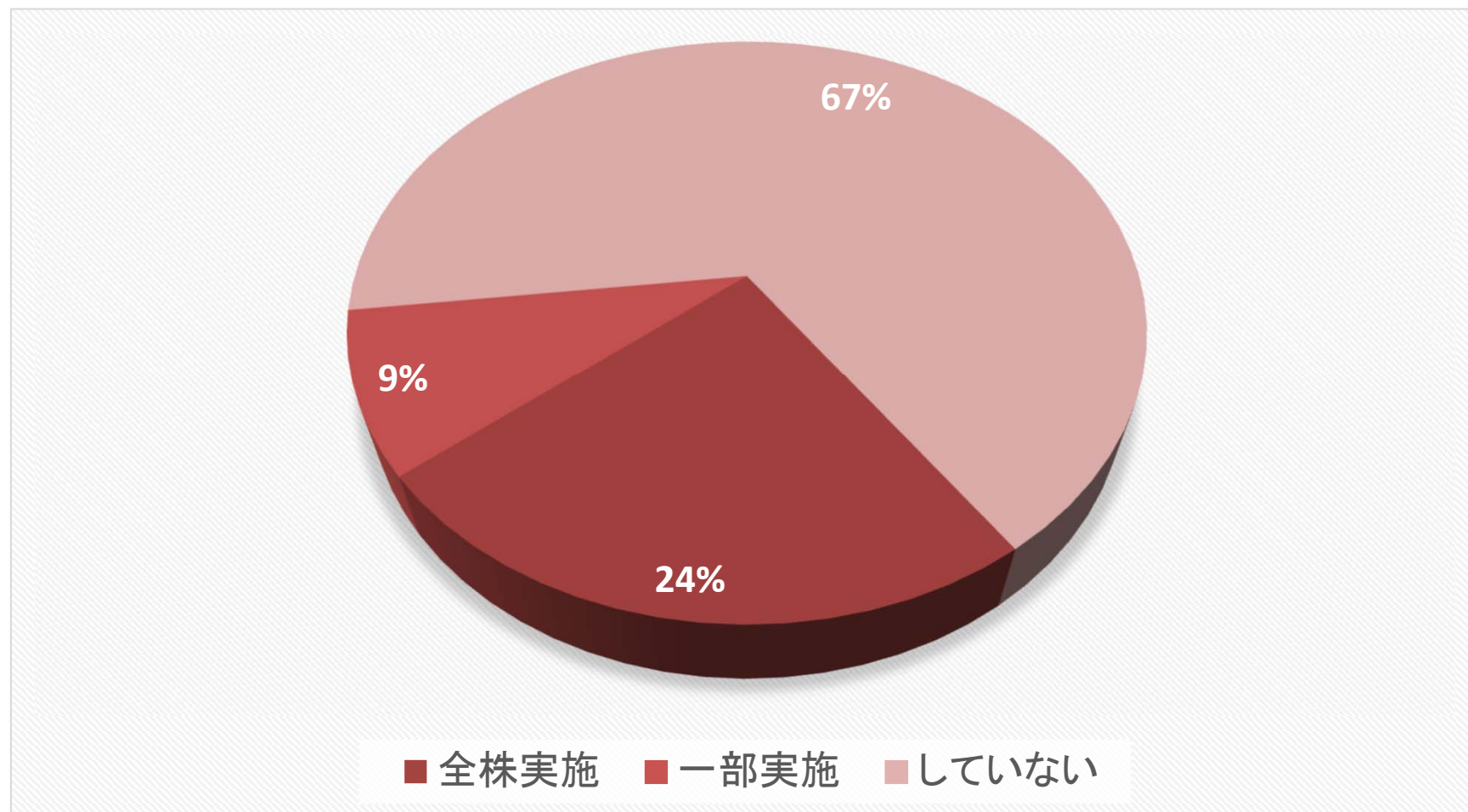
	MLVA型
O157	19m0xxx
O26	19m2xxx
O111	19m3xxx
O103	19m4xxx
O121	19m5xxx
O145	19m6xxx
O165	19m7xxx
O91	19m8xxx

広域株のブロック別分布（2018年）

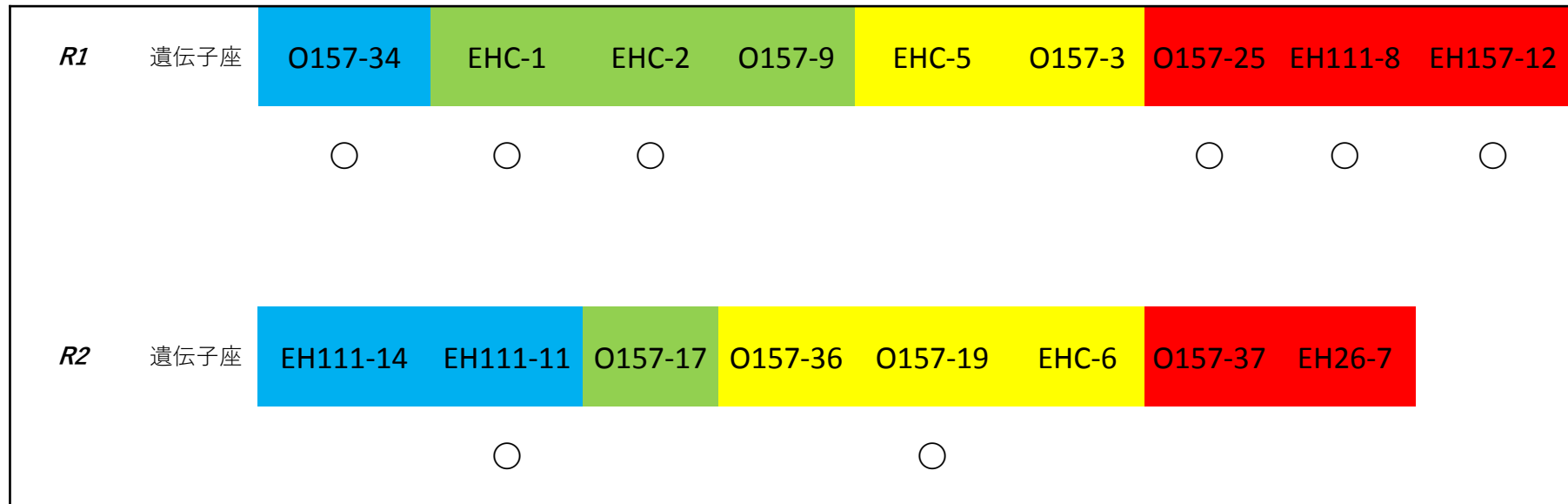
血清群	毒素型	型/コンプレックス	株数	機関数*	北海道東北新潟	関東甲信静	東海北陸	近畿	中国四国	九州	関連事例
O157	VT1+VT2	18c016	65	29	7	26	3	14	7	8	
O157	VT1+VT2	18c035	44	27	14	15	9	1	5		ドームホテル
O157	VT2	18c010	32	18		21		6	5		
O157	VT1+VT2	18c041	27	17	3	15	2	7			
O157	VT1+VT2	18c002	45	15	3	40			1	1	サンチュ
O157	VT1+VT2	18c034	61	14		58	1	1		1	研修施設
O121	VT2	18m5019	36	14	6	30					ハンバーガー
O157	VT1+VT2	18c012	36	12	1	29		4	2		
O157	VT1+VT2	18c022	19	12	1	2		9	4	3	
O157	VT1+VT2	18c036	18	11	1	13	4				

*、上位10を示した

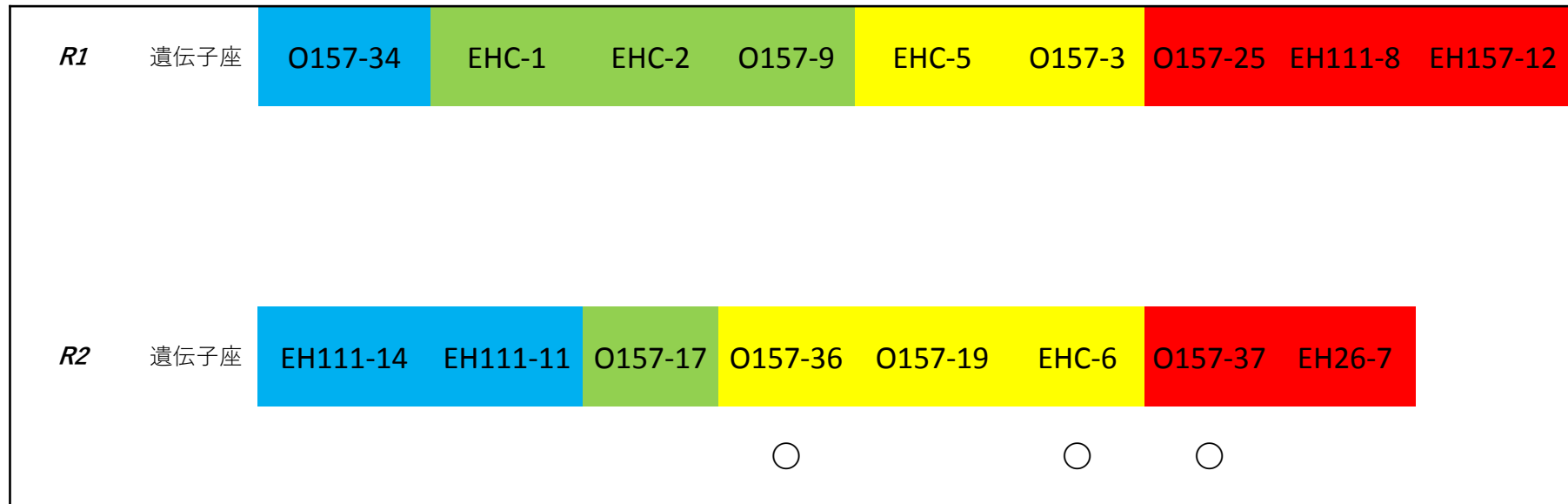
MLVA実施状況(2018年)



0157、026、0111においてピークの出現頻度が 99%以上(2017-2018年株)の遺伝子座



プラスミド(にあると考えられている)遺伝子座



18c0zz(あるいは18m0xxx) ZZZ県

型名もしくはComplex名
都道府県名

Key	date	source	MVA Type	MVA No.
co18xxx1	2018-m-d1	XXX		
co18xxx2	2018-m-d2	YYY		
co18xxx3	2018-m-d3	YYY		
co18xxx4	2018-m-d4	AAA		
co18xxx5	2018-m-d1	BBB		

線の長さは
異なる遺伝子座の
数を表します

ComplexのMST

該当菌株
菌株番号、分離日、機関、型名、Complex名
【機関で色分け】

リピート数の違いは反映されていません

現在(過去1-2か月以内)発生中の集発の一部と考えられます。
追加情報等ございましたらお知らせください。

コメント(参考)

18m0541

2019年3月以後

菌株版
(co)

~~コード+~~
地研番号

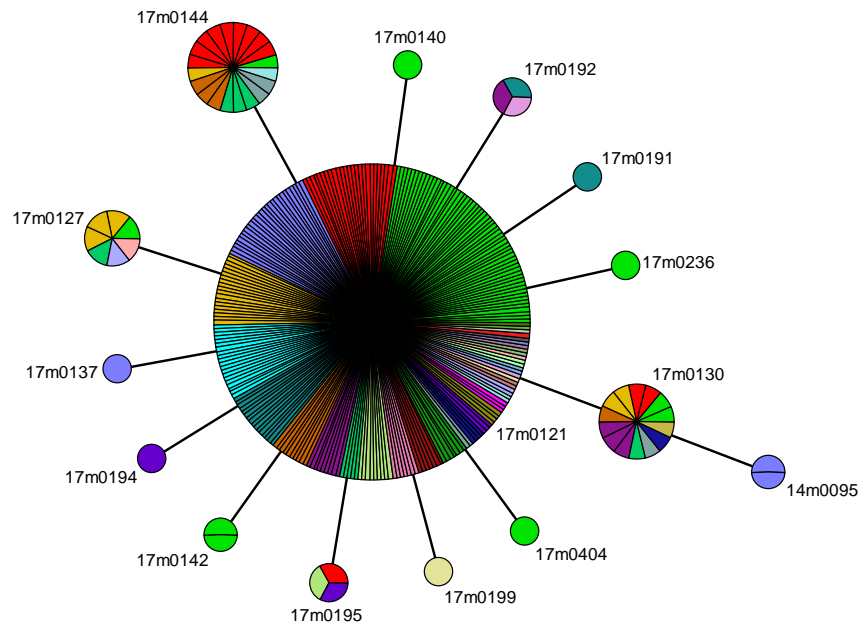
データ版
(dt)

Key	date	Chiken#	source	MLVA Type
co182963	2018-12-14	18121201		18m0541
co182964	2018-12-14	18121202		18m0541
co182965	2018-12-14	181213		18m0541
co190046	2019-01-09	190107		18m0541
co190278	2018-12-25	EC2018-329		18m0541
co190293	2019-02-21	E750		18m0541
co190298	2019-02-19	@@H31-2		18m0541
co190307	2019-02-24	30H91		18m0541
co190309	2019-02-22	30008		18m0541
co190316	2019-02-01	19-031		18m0541
co190317	2019-02-01	19-032		18m0541
co190318	2019-02-08	19-033		18m0541
co190350	2019-03-04			18m0541
co190533	2019-03-01	EH-6-2019		18m0541
co190544	2019-04-19	EC4035		18m0541
dt190017	2019-02-17	Y33095		18m0541
dt190021	2019-02-20	EH6309		18m0541
dt190023	2019-02-27	KIH19-15		18m0541
dt190024	2019-02-25	KIH19-16		18m0541
dt190027	2019-03-04	30H93		18m0541
dt190028	2019-02-22	EC2019002		18m0541
dt190030	2019-03-09	1		18m0541
dt190031	2019-03-09	2		18m0541
dt190032	2019-03-09	3		18m0541
dt190033	2019-03-09	4		18m0541
dt190034	2019-03-03	KIH19-42		18m0541

(26株)

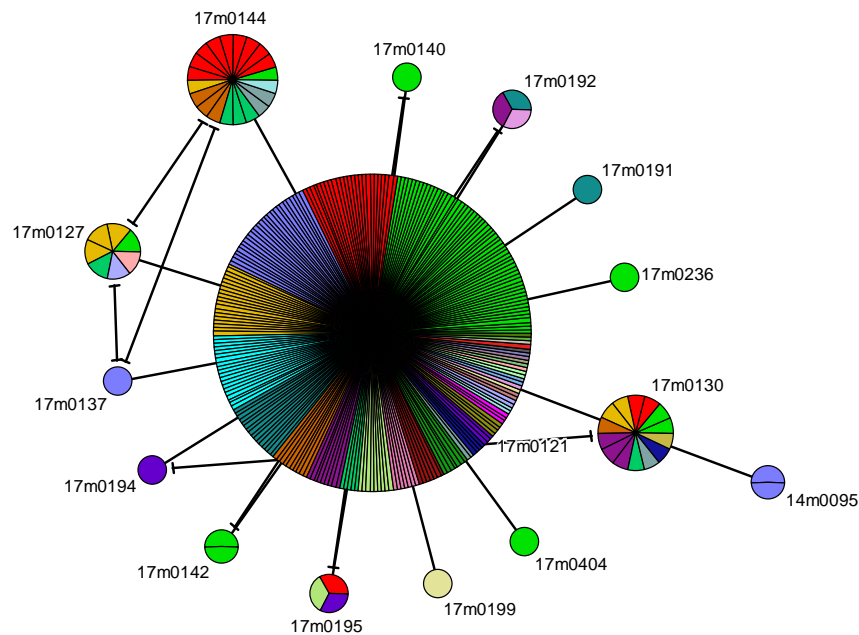
回覧している Minimum Spanning Treeについて

- 本来のMST
 - 構成要素すべてを網羅する
 - 各要素を結ぶ辺の重みが最小のもの
- Bionumericsで作成
 - 線の角度の意味はない



17c013

回覧している Minimum Spanning Treeについて



- 本来のMST
 - 構成要素すべてを網羅する
 - 各要素を結ぶ辺の重みが最小のもの
- Bionumericsで作成
 - Single locus variantがわかるように、クロスリンクを付加している
 - 「⊥」で区別

MLVAフローチャート 操作

鋳型DNA

- 菌株培養
- DNA抽出

PCR

- マルチプレックスPCR 2種類(8血清群)+2種類(追加5血清群)
- 産物の希釈(HiDi Formamideで)

電気泳動

- シークエンサー
- GeneScanサイズマーカー

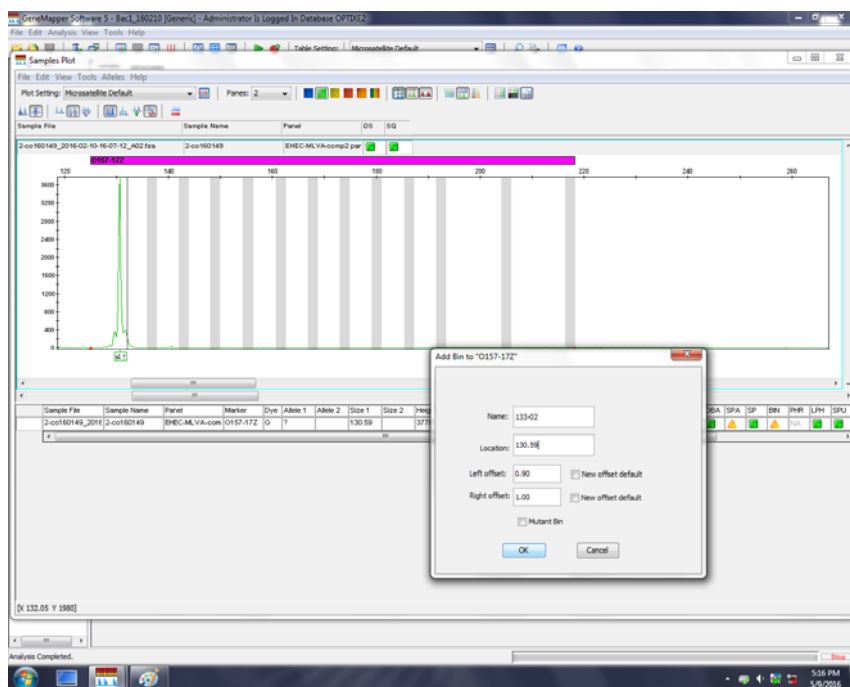
解析

- ピーク検出
- リポート数への変換

Genemapperのパネル・
bin設定ファイル

SeqStudio用パネルも
(2019年4月から)

Binの修正



- 機器によってBinの位置を修正する必要があります。
- Samples Plot画面等で修正してください。
- 全てのピーク位置をカバーしているわけではありませんので、Binの追加が必要な場合があります。

フラグメント解析ソフト パネル補足

- ビン位置の微調整
 - リピート数が既知の株でビンの位置を調整
- ビン追加
 - ビンが立っていないところにピークが出現
 - 出現位置が、近くのビンからリピートユニット分(6塩基など)の整数倍離れた場所
- 一括修正
 - 設定テキストファイル>エクセル上で(+0.5)などで修正>テキストファイルに保存>インポート
 - 空白セルに0.5を入力>コピー>形式を選択して貼り付け「加算」
- パネルのアリル名
 - 365-02
 - RIGHT関数: $\text{RIGHT}(XX,2) = "02"$
 - RIGHT関数: $\text{RIGHT}(XX,2) * 1 = "2"$

事務連絡（平成30年6月29日）

事 務 連 絡
平成 30 年 6 月 29 日

国立感染症研究所 御中

厚生労働省健康局結核感染症課
厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課

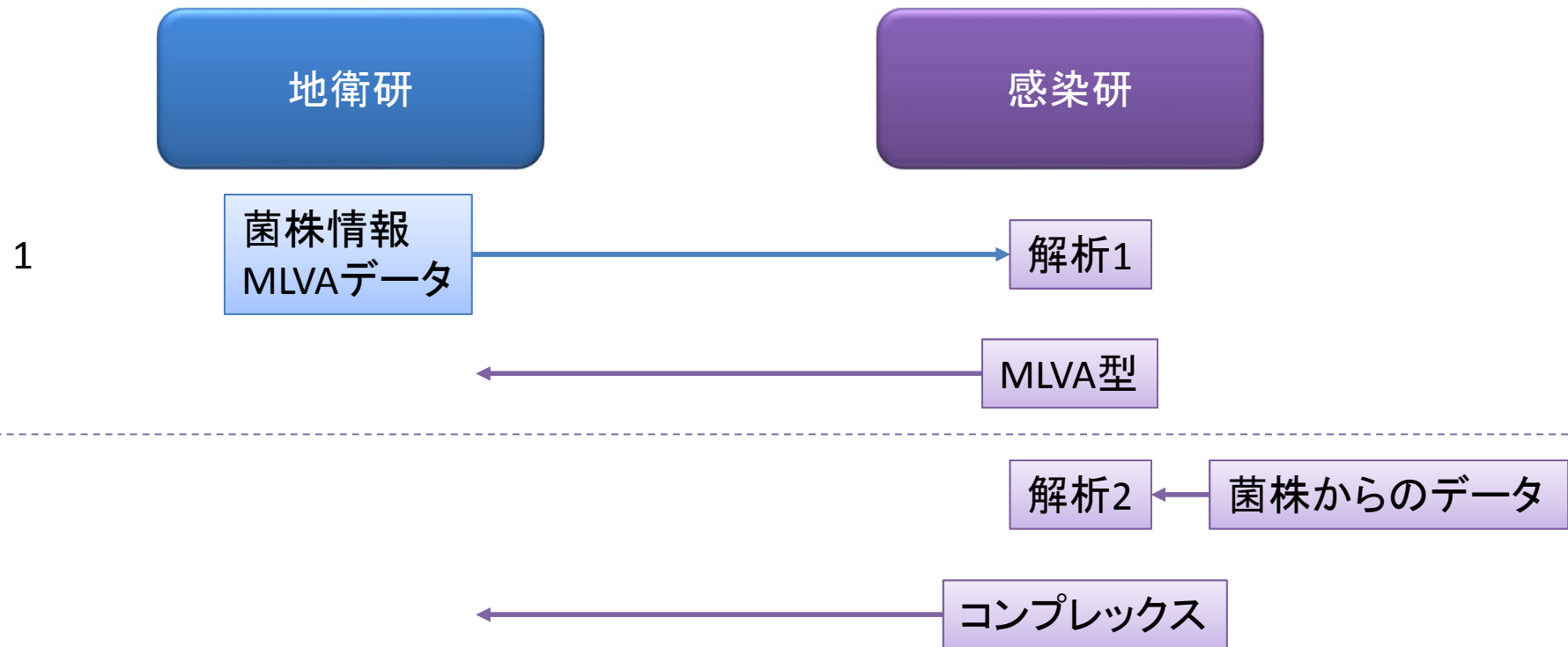
腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について

腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒については、平成 29 年夏期の発生事例を踏まえ、同年 11 月に腸管出血性大腸菌感染症・食中毒事例の調査結果取りまとめを行い、事例の検証、今後の対応等を整理し公表しています。

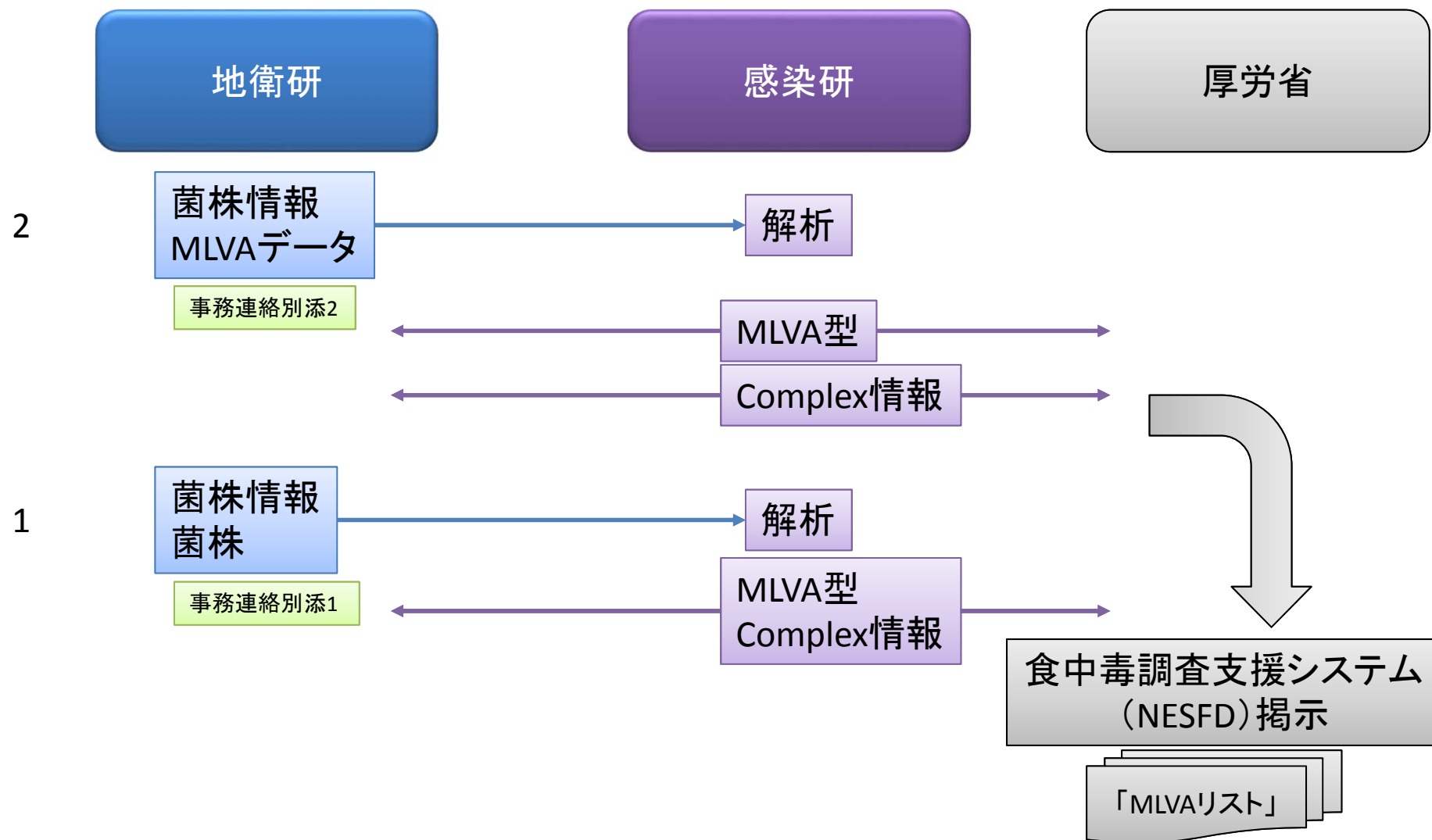
今般、当該取りまとめを踏まえ、病因物質が腸管出血性大腸菌 0157, 026, 0111 と疑われる場合は、下記の関係通知（※）に加え、別紙のとおり取扱うこととしますので、実施方よろしく申し上げます。

送付MLVAデータに基づく MLVA型付与について(厚労省事務連絡)

	EH111-11T	EH111-14BB	EH111-8O	EH157-12N	EH26-7D	EHC-1Q	EHC-2C	EHC-5S	EHC-6U	O157-3W	O157-34Y	O157-9M	O157-25J	O157-17Z	O157-19L	O157-36AA	O157-37V
[菌株#]	2	-2	1	6	-2	11	5	-2	-2	11	9	12	4	4	7	9	6



送付MLVAデータに基づく MLVA型付与について(厚労省事務連絡)



データ送付ファイル 別添2シートについてお願い

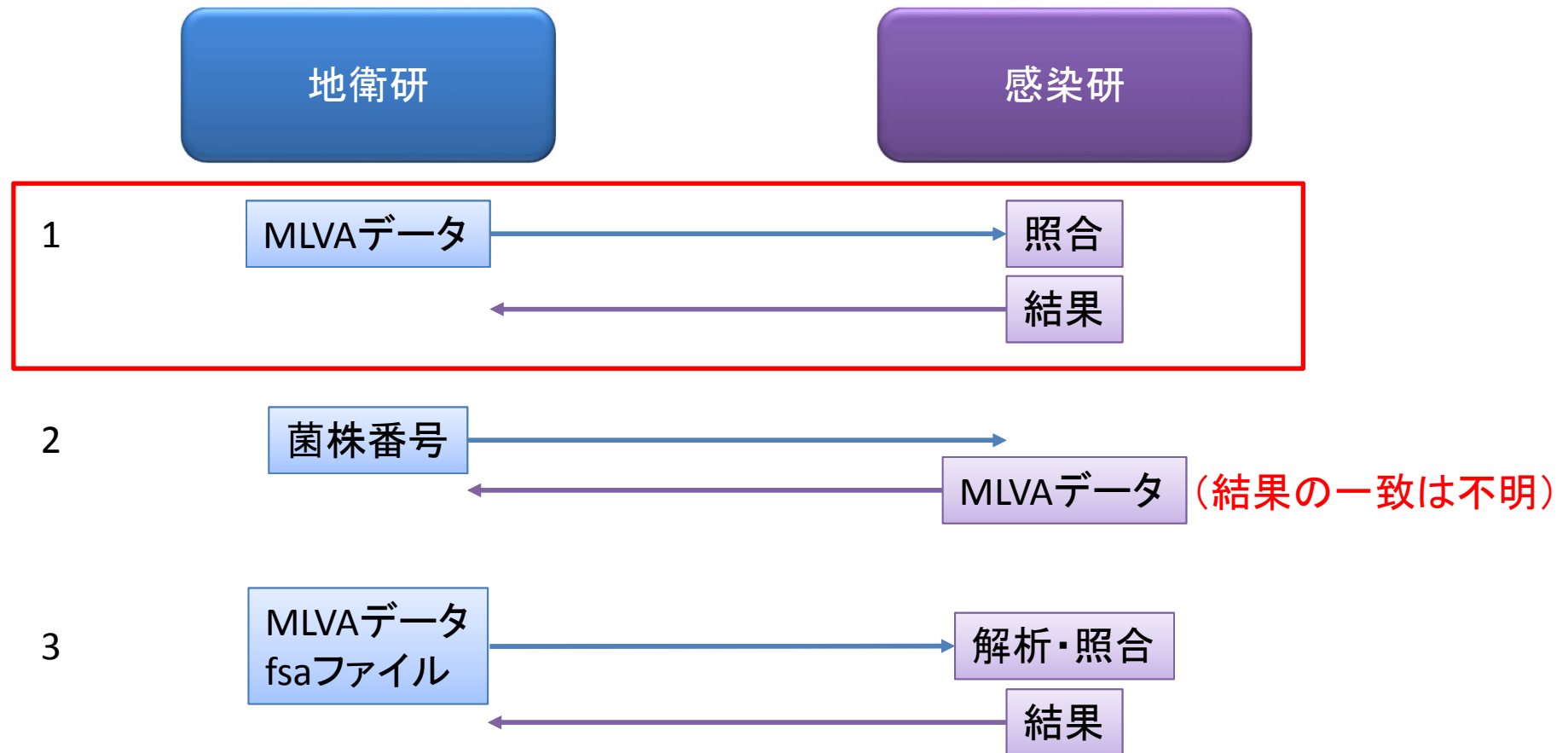
- 別添2シートをそのままお使いください
 - 別添1及び3のシートを非表示にしない。
 - 削除は可
 - カラムを隠したりしない。
- 1つのカラム中に改行を入れないでください。
- 見本、以前入力した内容は削除してから送付してください。
- 分離日（もしくは診断日）を入力してください。
- 複数ピークに関する情報は備考に記入してください。
 - データ欄には最も高いシグナルのリピート数を入力してください。
- 増幅なしの場合には[-2]と記入してください。

厚労省事務連絡後の菌株送付について

- 地衛研でMLVAを実施した菌株については菌株を送る必要はありませんが、結果の精度確認をする必要があります。
 - 適宜、菌株も送付しリピート数の確認をお願いいたします。

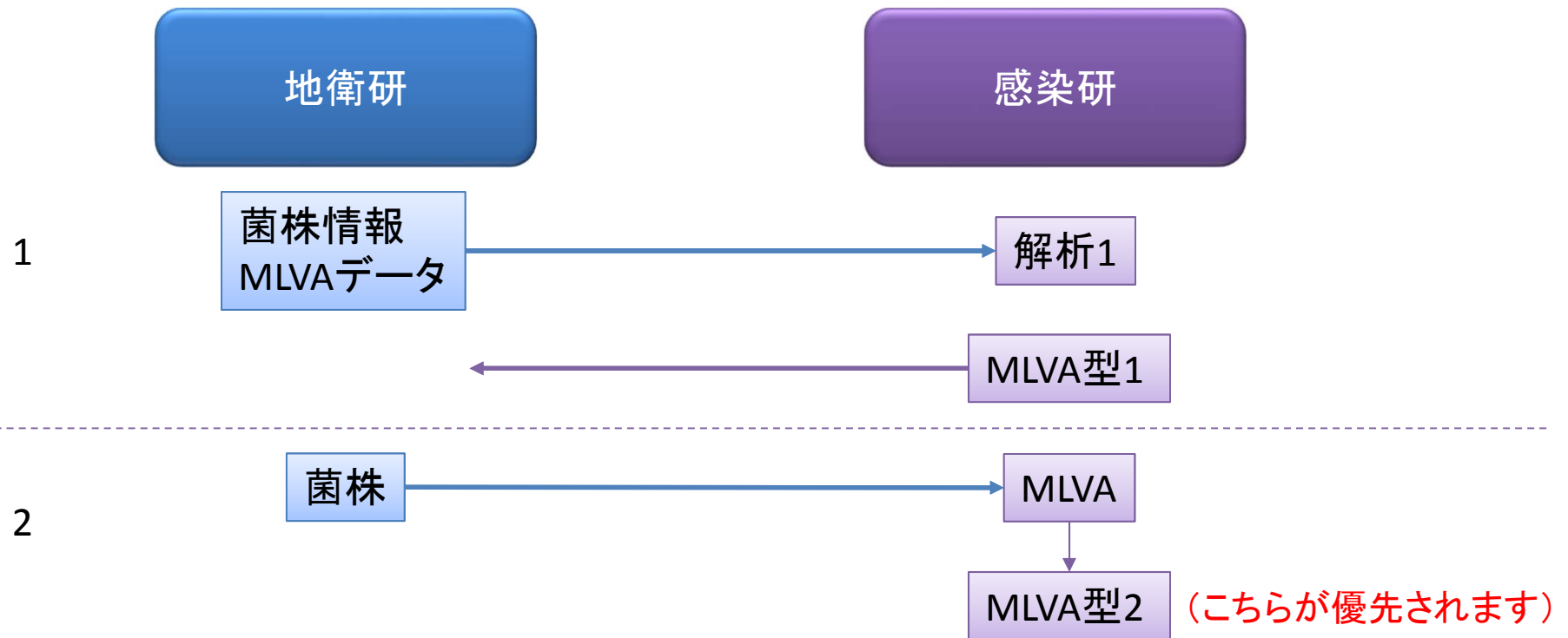
MLVAデータ精度確認について

	EH111-11T	EH111-14BB	EH111-8O	EH157-12N	EH26-7D	EHC-1Q	EHC-2C	EHC-5S	EHC-6U	O157-3W	O157-34Y	O157-9M	O157-25J	O157-17Z	O157-19L	O157-36AA	O157-37V
[菌株#]	2	-2	1	6	-2	11	5	-2	-2	11	9	12	4	4	7	9	6



送付MLVAデータと送付菌株から得られたデータ (MLVA型)が異なる場合

	EH111-11T	EH111-14BB	EH111-8O	EH157-12N	EH26-7D	EHC-1Q	EHC-2C	EHC-5S	EHC-6U	O157-3W	O157-34Y	O157-9M	O157-25J	O157-17Z	O157-19L	O157-36AA	O157-37V
[菌株#]	2	-2	1	6	-2	11	5	-2	-2	11	9	12	4	4	7	9	6



送付MLVAデータと送付菌株から得られたデータ (MLVA型)が異なる場合に考えられる原因

	EH111-11T	EH111-14BB	EH111-8O	EH157-12N	EH26-7D	EHC-1Q	EHC-2C	EHC-5S	EHC-6U	O157-3W	O157-34Y	O157-9M	O157-25J	O157-17Z	O157-19L	O157-36AA	O157-37V
[菌株#]	2	-2	1	6	-2	11	5	-2	-2	11	9	12	4	4	7	9	6

- 本質的に異なる場合
 - データがあつたりなかったり
 - PCRの条件設定、ピークの判定、データ転載における誤り
 - パネル設定(すべてが+1など)
- 実質的に同じだが、結果的に異なる場合
 - ダブルピークのとり方
 - 継代による変化

お知らせ

- 7月以後は2019年株のみと比較を行います。
- 引き続き、菌株(ならびに情報・データ)送付のほどよろしくお願いいたします。