

16S rRNA遺伝子ユニバーサルプライマー 一覧

水産技術研究所病理部診断グループ(旧増養殖研究所魚病診断・研修センター)では、27F/1492Rのプライマーセットをよく用いている。その場合のPCR条件は：94℃3分→(94℃30秒、53℃30秒、72℃60秒)×35サイクル→72℃5分

区分	(文献)	プライマー				設計領域※ (大腸菌での位置)	備考	推奨度
		名称	別名	種別	配列(5'-3')			
PCR	3, 16	6F		フォワード	GRAGAGTTTGATCMTGGC	6-23		—
	6	P0mod		フォワード	AGAGTTTGATCMTGG	8-22	P0を改変。	—
	13	26f		フォワード	AGAGTTTGATCATGGCTCA	8-26		—
	2	8F	27F	フォワード	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	8-27	理化学研究所微生物材料開発室および株式会社ベックスで使用。	—
	2, 4	8F	8-27F, 20F	フォワード	AGAGTTTGATCATGGCTCAG	8-27		—
	3, 4, 5	27F	EubB (27F)	フォワード	AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	8-27		☆☆
	6	P0		フォワード	GAGTTTGATCMTGGCTCAG	9-27		—
	3	27f		フォワード	GAGTTTGATCCTGGCTCAG	9-27		—
	8	MH1		フォワード	AGTTTGATCMTGGCTCAG	10-27		—
	17	16S-10F		フォワード	GTTTGATCCTGGCTCA	11-26	株式会社ベックス使用。	—
	7	63f		フォワード	CAGGCCTAACACATGCAAGTC	43-63		—
	13	308f		フォワード	GCTGGTCTGAGAGGATGATC	289-308		—
	12	337F		フォワード	GACTCCTACGGGAGGCWGCAG	337-357		—
	2	357F		フォワード	CTCCTACGGGAGGCAGCAG	339-357		—
	14	341f		フォワード	CCTACGGGAGGCAGCAG	341-357		—
	3	530f		フォワード	GTGCCAGCMGCCGCGG	515-530		—
	2	515F		フォワード	GTGCCAGCMGCCGCGGTAA	515-533		—
	4	533F		フォワード	GTGCCAGCAGCCGCGGTAA	515-533		—
	14	518f		フォワード	CCAGCAGCCGCGGTAAT	518-534		—
	5	519F		フォワード	CAGCMGCCGCGGTAATWC	519-536		—
	6	P3		フォワード	AGGATTAGATACCCTDTAG	784-803	シーケンスエラー有 (AGGATTAGATACCCTDgTAG)	—
	3	785F		フォワード	GGATTAGATACCCTGGTA	785-802		—
	6	P3mod		フォワード	ATTAGATACCCTDTAGTCC	787-806	P3を改変。、シーケンスエラー有 (ATTAGATACCCTDgTAGTCC)	—
	3	928F		フォワード	TAAACTYAAAKGAATTGACGGG	905-927		—
	3	926f		フォワード	AAACTYAAAKGAATTGACGG	907-926		—
	3	1114f		フォワード	GCAACGAGCGCAACCC	1009-1114		—
	10	1100F		フォワード	YAACGAGCGCAACCC	1100-1114		—
	2	16S.1100. F16		フォワード	CAACGAGCGCAACCCT	1100-1115		—
	2	1237F		フォワード	GGGCTACACACGYGCWAC	1220-1237		—
	5	338R		リバーズ	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	355-338		—
	9	336R		リバーズ	ACTGCTGCSYCCCGTAGGAGTCT	358-336		—
	14	518r		リバーズ	ATTACCGCGGCTGCTGG	534-518		—
	1, 2, 3	519-536R	519R	リバーズ	GWATTACCGCGGCKGCTG	536-519	PCRが開発される前に探索された領域。 逆転写反応による遺伝子解析に使用。	—
3	518R		リバーズ	GTATTACCGCGGCTGCTGG	536-518		—	
13	556r		リバーズ	CTTTACGCCAGTAATTCCG	575-556		—	
17	16S-800R		リバーズ	TACCAGGGTATCTAATCC	802-785	株式会社ベックス使用。	—	
6	PC3		リバーズ	CTAHAGGGTATCTAATCCT	803-784	シーケンスエラー有 (CTAcHAGGGTATCTAATCCT)	—	
15	785r		リバーズ	CTACCAGGGTATCTAATCC	803-785		—	
11	805R		リバーズ	GACTACCAGGGTATCTAATC	805-786		—	
6	PC3mod		リバーズ	GGACTAHAGGGTATCTAAT	806-787	PC3を改変。、シーケンスエラー有 (GGACTAcHAGGGTATCTAAT)	—	
3	907R		リバーズ	CCGTCAATTCMTTTRAGTTT	926-907		—	

14	907r		リバース	CCGTCAATTCMTTGTGAGTTT	926-907		—
3, 4	1100r		リバース	GGGTTGCGCTCGTTG	1114-1100		—

16S rRNA遺伝子ユニバーサルプライマー 一覧 続き

区分	(文献)	プライマー				設計領域※ (大腸菌での位置)	備考	推奨度
		名称	別名	種別	配列 (5'-3')			
	7	1387r		リバース	GGGCGGWTGTACAAGGC	1404-1387		—
	1, 3, 5	1392r	1406R	リバース	ACGGGCGGTGTGTRC	1406-1392		—
	2	1391R		リバース	GACGGGCGGTGTGTRCA	1407-1391		—
	3	1406R		リバース	TGYACACACCTCCCGT	1408-1393	逆相補鎖の記載 (ACGGGAGGTGTGTRCA)	—
	13	1391r		リバース	GTGTGACGGGCGGTGTGTA	1411-1393		—
	2	1492R (s)		リバース	ACCTTGTTACGACTT	1506-1492		—
	3, 6	PC5		リバース	TACCTTGTTACGACTT	1507-1492		—
	8	MH2		リバース	TACCTTGTTACGACTFCACCCCA	1509-1487	混合塩基 (F) 不明	—
	2, 4	1492R (l)	1500R	リバース	GGTTACCTTGTTACGACTT	1510-1492	理化学研究所微生物材料開発室 で使用。	—
	18	1492r	PR1	リバース	GGCTACCTTGTTACGACTT	1510-1492	株式会社ベックス使用。	—
	19	1492R		リバース	GGYTACCTTGTTACGACTT	1510-1492	1492R (Lane 1991)を改変。	☆☆
	3	1492R		リバース	TACGGYTACCTTGTTACGACTT	1513-1492		—
	5	EubA (1525R)		リバース	AAGGAGGTGATCCANCCRCA	1541-1522		—
	3, 4	1525r		リバース	AAGGAGGTGWTCCARCC	1541-1525		—

文献

- 1 D. J. Lane, B. Pace, G. J. Olsen, D. A. Stahl, M. L. Sogin, and N. R. Pace, Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analyses, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 82, no. 20, pp. 6955-6959, 1985.
- 2 Turner, S., Pryer, K.M., Miao, V.P.W., and Palmer, J.D. 1999. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 327-338.
- 3 Lane, D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Stackebrandt, E., and Goodfellow, M., eds., John Wiley and Sons, New York, NY, pp. 115-175.
- 4 Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., and Lane, D.J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology* 173: 697-703.
- 5 M.T. Suzuki, S.J. Giovannoni. Bias caused by template annealing in the amplification of mixtures of 16S rRNA genes by PCR *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (1996), pp. 625-630
- 6 Wilson K. H., Blitchington R. B., Greene R. C. Amplification of bacterial 16S ribosomal DNA with polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990;28:1942-1946.
- 7 Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC et al. (1998) Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers That Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 64: 795-799
- 8 Thompson FL, Hoste B, Vandemeulebroecke K, Swings J. Genomic diversity amongst *Vibrio* isolates from different sources determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism. *Syst Appl Microbiol*. 2001;24:520-538.
- 9 Weidner S., Arnold W., Puhler A. (1996). Diversity of uncultured microorganisms associated with the seagrass *Halophila stipitata* estimated by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Appl. Environ. Microb.* 62 766-771.
- 10 Downes J, et al. *Pyramidobacter piscicola* gen. nov., sp. nov., a member of the phylum 'Synergistetes' isolated from the human oral cavity. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2009;59:972-980.
- 11 Leser TD, Amenuvor JZ, Jensen TK, Lindecrone RH, Boye M, Møller K. Culture-independent analysis of gut bacteria: the pig gastrointestinal tract microbiota revisited. *Appl Environ Microbiol*. 2002;68:673-90. doi: 10.1128/AEM.68.2.673-690.2002.
- 12 Jaric M, Segal J, Silva-Herzog E, Schnepfer L, Mathee K, Narasimhan G. Better primer design for metagenomics applications by increasing taxonomic distinguishability. *BMC Proc*. 2013;7(Suppl 7):S4.
- 13 Demarta A, Tonolla M, Caminada AP, Ruggeri N, Peduzzi R. Signature region within the 16S rDNA sequences of *Aeromonas popoffii*. *FEMS Microbiology Letters*. 1999;172(2):239-246.
- 14 Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59: 695-700.
- 15 Lee SH, Malone C, Kemp PF. (1993). Use of 16S rRNA-targeted fluorescent probes to increase signal strength and measure cellular RNA from natural planktonic bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 101: 193-201.

- 16 Minkwitz A., Berg G. Comparison of antifungal activities and 16S ribosomal DNA sequences of clinical and environmental isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Clin. Microbiol.* 2001;39:139-145.
- 17 Saito, R., Nonaka, S., Nishiyama, H. & Okamura, N. (2012). Molecular mechanism of macrolide-lincosamide resistance in *Moraxella catarrhalis*. *J Med Microbiol* 61, 1435-1438.
- 18 Edwards, U., Rogall, T., Blocker, H., Emde, M. & Bettger, E. C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes: characterization of a gene coding for 16s ribosomal RNA. *Nucleic Acids Res* 17, 7843-7853.
- 19 Loy A., Lehner A., Lee N., Adamczyk J., Meier H., Ernst J., Schleifer K.-H., & Wagner M. (2002). Oligonucleotide microarray for 16s rRNA gene-based detection of all recognized lineages of sulfate-reducing prokaryotes in the environment. *Applied and Environment Microbiology*, 68, 5064-5081.

※ユニバーサルプライマー設計領域の比較対象

>CP023349.1:226883-228438 *Escherichia coli*

```

AAAATTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAACAGAAAGCAGCTTGCTGCTTTGC
TGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTGCA
AGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTCCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGAT
CCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGG
GCGCAAGCCTGATGCAGCCATGTCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTT
TGCTCATTGACGTTACCCGCGAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTG
GGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTC
GTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACGAAGACTGAC
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCGTAAACGATGTGCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGC
GTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGG
TGGAGCATGTGGTTAATTTCGATGCAACGCGAAGAACCCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAAC
CGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGC
GGTCCGGCCGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGACCAGGGCTAC
ACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAAC
TCGACTCCATGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCAT
GGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCCTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAAC
CGTAGGGGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCTTAAAGAAGC

```