

タイトル: 純培養サルモネラ菌の生菌由来DNA検出

カテゴリ: PCR検査

キーワード: 生菌検出、リアルタイムPCR、サルモネラ菌

データソース: タカラバイオ(株)

方法:

Viable *Salmonella* Selection Kit for PCR (製品コード [7711](#)) (※)とCycleavePCR® *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0 (製品コード [CY205](#))を用いて、純培養サルモネラ菌の生菌由来DNAの選択的検出を行った。

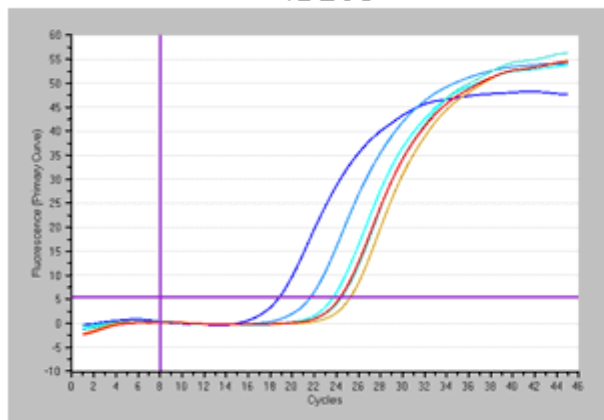
(※)本製品を用いるEMA処理により、少なくとも 2×10^6 個までのサルモネラ死菌を完全に処理でき、生菌検出感度への影響がないことを確認している。

培養したサルモネラ菌を生理食塩水に懸濁して生菌サンプルとした。また、その懸濁液の一部を 95°C 、5分間熱処理したものを死菌サンプルとした。 $10^8 \sim 10^3$ 個の生菌に一定数(10^6 個)の死菌を混合したものを用意し、Viable *Salmonella* Selection Kit for PCRの手順に従ってEMA処理を行った。続いてNucleoSpin® Tissue XS (製品コード [740901.50](#))を用いてDNAを抽出し、得られたDNAを鋳型としてCycleavePCR® *Salmonella* Detection Kit Ver.2.0によるリアルタイムPCRを行った。

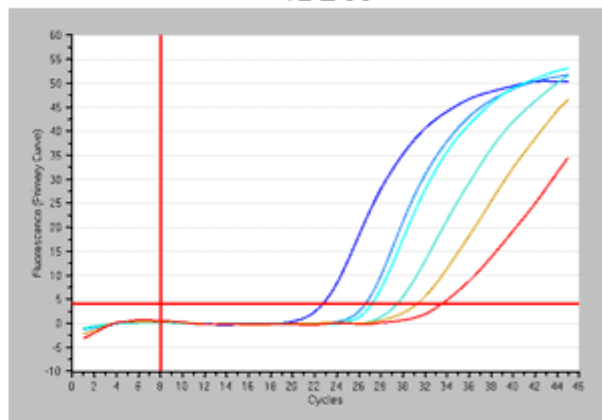
結果:

$10^8 \sim 10^3$ 個の生菌に一定数(10^6 個)の死菌を混合したサンプルを用いて、EMA処理あり/なしの増幅曲線を比較したところ、生菌 $10^7 \sim 10^8$ 個では、ややEMA処理による影響が認められ検出数が減少したが、それ以下の菌数では、生菌が初発数依存的に検出できることが分かった。(下図)

EMA処理なし



EMA処理あり



備考: