

タイトル: 純培養レジオネラ属菌の生菌由来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、レジオネラ属菌

データソース: タカラバイオ(株)

方法:

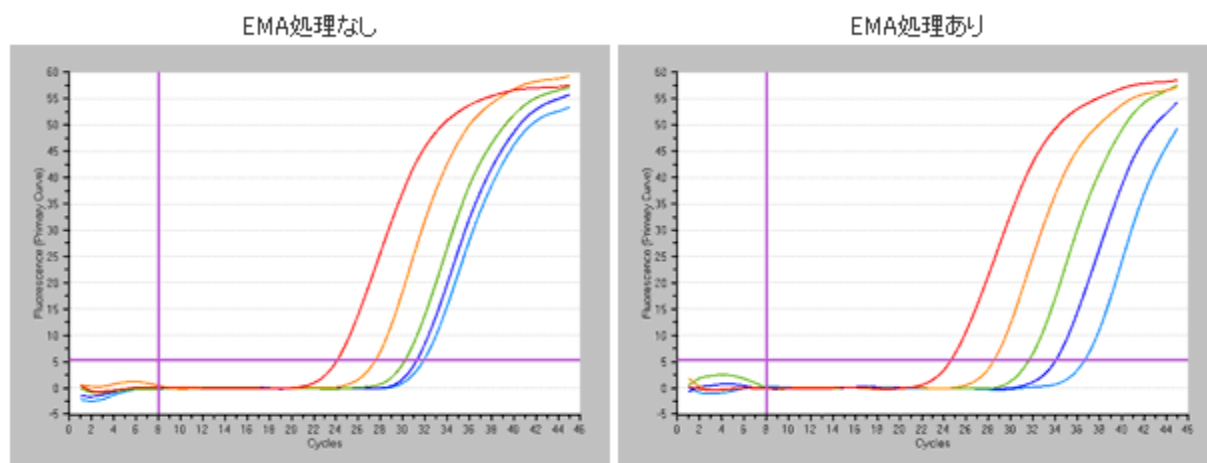
Viable *Legionella* Selection Kit for PCR (製品コード [7710](#)) (※)とCycleavePCR® *Legionella* (5S rRNA) Detection Kit Ver.2.0 (製品コード [CY210](#))を用いて、純培養レジオネラ属菌の生菌由来DNAの選択的検出を行った。

(※)本製品を用いるEMA処理により、少なくとも 4×10^4 個までのレジオ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。

Legionella pneumophila SG1株をBCYE α 培地上で30°C、4日間培養し、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。 $10^6 \sim 10^2$ 個の生菌に一定数(10^4 個)の死菌を混合したものを用意し、Viable *Legionella* 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® *Legionella* (5S rRNA) Detection Kit Ver.2.0 によるリアルタイムPCRを行った。

結果:

$10^6 \sim 10^2$ 個の生菌に一定数(10^4 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、EMA処理後には、死菌由来DNAからの増幅が抑制され、生菌が初発数依存的に検出できることが分かった。(下図)



備考: