

微生物採取キットの性能評価

Tokushima Prefectural Industrial Technology Center

株式会社アクティス 後藤 仁

工業技術センター 食品・応用生物担当 西岡 浩貴, 岡久 修己

1. 研究目的

近年、微生物の測定についてDNA等の生体物質で測定する微生物迅速測定法が発展しつつあり、微生物採取キットであるスワブ(図1)の品質にもDNAフリーであることが求められるようになった。本研究では、微生物迅速測定法に適応したスワブを作製するため、スワブのDNAフリー評価系の構築を行った。



図1 スワブ(DS-90)

2. 研究内容

PCR法によるスワブのDNAフリー確認

- ① リリース操作
滅菌水の入ったバイアルにスワブを入れ、ボルテックスで強く撹拌した。
- ② DNA抽出
リリース後の溶出液を試料とし、NucleoSpin Tissue(タカラバイオ)を用いた。
- ③ PCRによるDNAの増幅
PCR温度サイクルは、熱変性として98℃で10秒、アニーリングとして55℃で30秒、伸長反応として72℃で1分を35サイクルで行った。
プライマーは、バクテリアの16S rRNA保存領域をもとに作製した(表1)。

表1 プライマー配列

プライマー	配列・(5' to 3')
1369F	CGGTGAATACGTTTCYCGG
1492R	GGWTACCTTGTTACGACTT

- ④ 3.0% アガロースゲル電気泳動
ゲルの染色にはSYBR Green I Nucleic Acid Gel Stainを用いた。

3. 研究成果

無処理のスワブではバンドが確認されず、L.plantarum培養液を添加したスワブにはバンドが確認された(図2)。よって、スワブはバクテリアDNAフリーであることがわかった(検出限界0.64 pg)。以上より、スワブのバクテリアDNAフリー評価系を確立することができた。

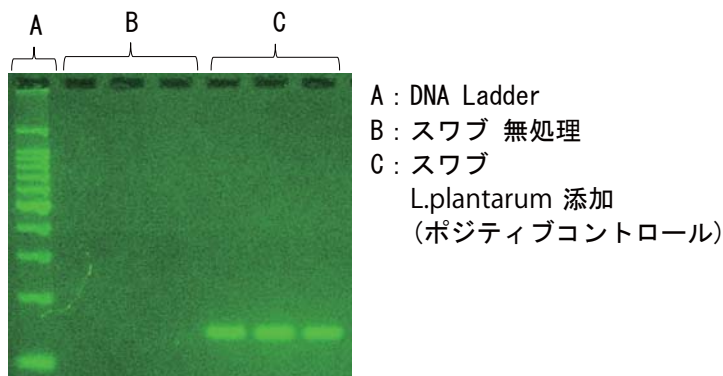


図2 スワブのバクテリアDNAフリー確認結果