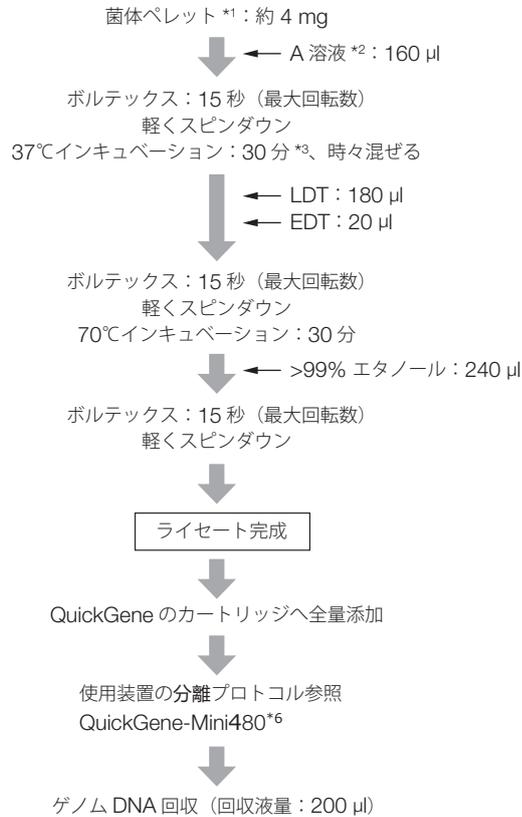


ペニシリン耐性肺炎球菌 (*Streptococcus Pneumoniae*, PRSP) からのゲノムDNA分離

プロトコル



*1 集菌遠心条件 (5,000×g、5 分)

*2 A 溶液: 20 mM トリス塩酸 (pH 7.5)
2 mM EDTA
1.2% Triton X-100
20 mg/ml リゾチーム

* リゾチームは要事調整で加える

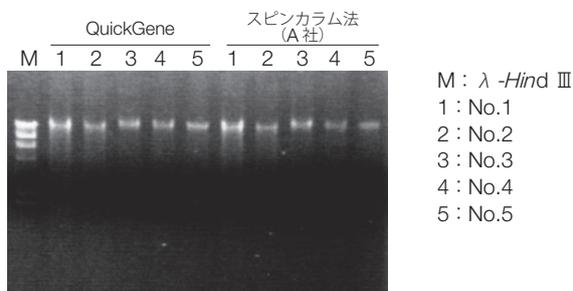
*3 溶液が乳白色に濁る、もしくは沈殿物が生じることがありますが次のステップで溶解します。

*6 本事例は旧機種で取得したデータも含まれます。その他 QuickGene シリーズでもこのプロトコルをご参考頂けます。

結果

- 菌株 No.1: R6 (肺炎球菌標準株)
No.2: PISP 臨床分離株 (ペニシリン中程度耐性肺炎球菌)
No.3: PISP 臨床分離株 (ペニシリン中程度耐性肺炎球菌)
No.4: PRSP 臨床分離株 (ペニシリン高度耐性肺炎球菌)
No.5: PRSP 臨床分離株 (ペニシリン高度耐性肺炎球菌)

電気泳動図



ゲノム DNA の収量

サンプル	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
QuickGene	12.6 μg	4.8 μg	8.6 μg	9.1 μg	8.3 μg
スピнкаラム法 (A社)	10.6 μg	5.8 μg	10.0 μg	8.0 μg	5.4 μg

タンパク質の混入：A260/280

サンプル	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
QuickGene	1.88	2.14	1.74	2.00	1.96
スピナラム法 (A社)	2.11	1.75	1.96	1.70	2.05

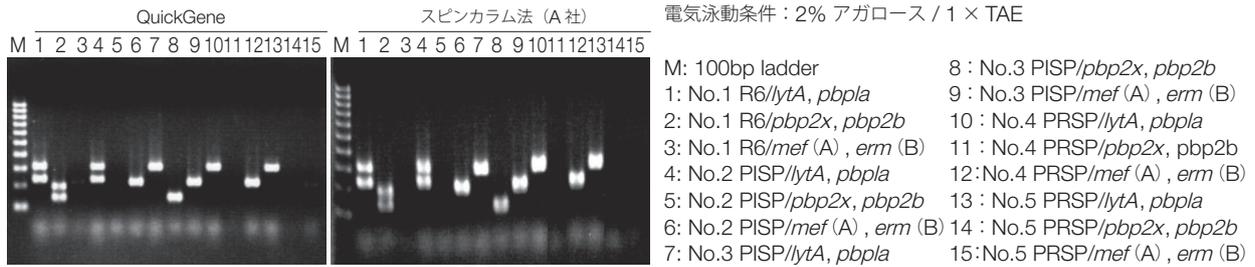
カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

● PCR

QuickGene システムおよびスピナラム法 (A社) を用いて肺炎球菌から分離したゲノム DNA で、*Lyt A* 遺伝子^{*4}、ペニシリン結合タンパク質遺伝子^{*5} (*pbpla*、*pbp2x*、*pbp2b*) さらにマクロライド耐性遺伝子 (*mef (A)*、*erm (B)*) を PCR で検出した。



*4：溶菌酵素遺伝子であり、肺炎球菌のポジティブコントロール。

*5：耐性変異が起きた場合は遺伝子が増幅されないようにプライマーが設計されている。

	<i>lytA</i>	<i>pbp1a</i>	<i>pbp2x</i>	<i>pbp2b</i>	<i>mef (A)</i>	<i>erm (B)</i>
No.1 R6	+	+	+	+	-	-
No.2 PISP	+	+	-	-	-	+
No.3 PISP	+	-	-	+	-	+
No.4 PRSP	+	-	-	-	-	+
No.5 PRSP	+	-	-	-	-	-

No.1 R6 ではペニシリン結合タンパク質遺伝子耐性変異もマクロライド耐性遺伝子も検出されなかった。
 No.2 PISP は *pbp2x*、*pbp2b* の耐性変異と *erm (B)* の存在が認められた。
 No.3 PISP は *pbpla*、*pbp2x* の耐性変異と *erm (B)* の存在が認められた。
 No.4 PRSP は *pbpla*、*pbp2x*、*pbp2b* の耐性変異と *erm (B)* の存在が認められた。
 No.5 PRSP は *pbpla*、*pbp2x*、*pbp2b* の耐性変異が認められたが、マクロライド耐性遺伝子の存在は認められなかった。

以上のように、良好な PCR による薬剤耐性遺伝子解析の結果が得られた。

共通プロトコルサンプル

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)