

表2 抽出・検出感度(感染研 平成16年度)

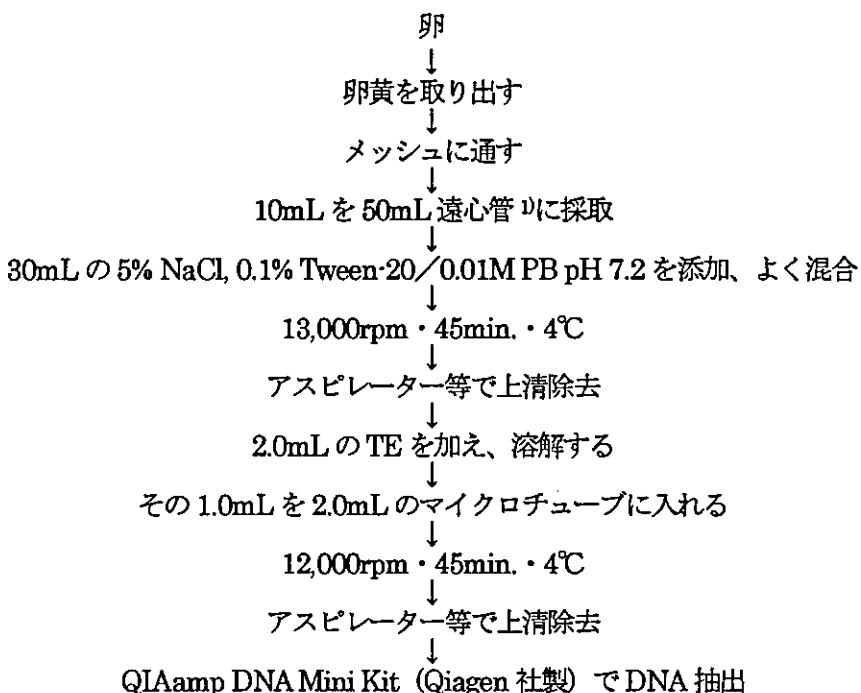
標的領域 (ラベル)	抽出方法 検出方法	検出可能な菌数(／assay)				
		50	5	0.5	0.05	0.005
Omp1(FAM) IS2(VIC)	QIAamp Real Time PCR	+	+	±	-	-
Omp1(FAM) IS2(VIC)	KingFisher Real Time PCR	+	+	-	-	-

表3 Q熱コクシエラをスパイクした卵黄からの感染研法とJ法の抽出・検出感度比較

検体 (卵黄量)	抽出法*	スパイク菌数／検体(卵黄1個=1.7g/ml)				
		340,000	34,000	3,400	340	34
前処理方法	Coxiella particles/0.5mL					
	10,000	1,000	100	10	1	
	Coxiella particles/assay					
	500	50	5	0.5	0.05	
卵黄(0.5mL) 5.9%NaCl-PBS	Q	+	+	+	±	-
卵黄(0.5mL) 5.9%NaCl-PBS	K	+	+	+	-	-
卵黄(2.6mL**) 5.9%NaCl-PBS	K	+	-	-	-	-
卵黄(2.6mL) Tween20/NP40	J	±	-	-	-	-

* 抽出方法. Q: QIAamp, K: NaCl-PBSでペレット後にDNA抽出機, J: Tween20/NP40でペレット後にDNA抽出機

** J法が用いているKingFisherのDNA抽出効率(99%)と感染研で用いたKingFisher mLの抽出効率(95%)を比較、検体量その他を1.3倍量で実施。



1) LABCON社製 Cat. No.3181-345

図5 コクシエラ汚染卵からのDNA抽出プロトコル

ATL : 360μL

Protease K : 40μL

→ここで十分に溶解させる (56°C・約2時間・時々攪拌)

AL : 400μL

→70°C・10min.

EtOH : 400μL

→2回に分けて、スピンドラムに通す。

…その後の条件はQIAamp DNA Mini Kitのプロトコル通り。最終的に200μLのAEに溶出させる。

図6 QIAamp DNA Mini Kit の条件