

アプリケーションデータシート #010

化学発光検出解析装置 **LumiVision PRO HS II** No. 03

追加事例集① 細菌のタイピングとサザンブロット



リボソームRNA遺伝子を指標とした病原性細菌のタイピングにおける使用事例

【ルミビジョンプロHS II】は、自動で最適な露光画像が得られる『オートモニタリング機能』に加えて『イメージインテンシファイア』の搭載によりX線フィルムの約10倍という感度を達成した化学発光検出解析装置です。

ここではリボソームRNA遺伝子(rDNA)に見られる多型性を利用した、ある種の病原性細菌のタイピングにおいて行ったrDNAオペロンの数を決定するためのサザンブロットハイブリダイゼーションの検出事例をご紹介します。なおこの事例は、名古屋大学大学院の太田美智男教授のご提供によるものです。

リボソームと細菌のタイピングについて

リボソームは、すべての生物に含まれていて、細胞内でタンパク質合成の場となる細胞小器官(オルガネラ)です。このリボソーム内に存在するRNAをリボソームRNA(rRNA)と呼びます。このrRNAを指定する遺伝子であるrDNA遺伝子(rDNA)周辺領域は非常に変異を受けやすく、細菌の種や亜種の間で少しずつ異なる多型性をもつことが知られています。細菌のゲノムDNAを制限酵素で切断することによって生成するDNA断片をリボソームRNAのオペロン※を用いたプローブで検出することによって、このrDNA周辺領域の多型を指標にした細菌のタイピング(種を同定分類すること)ができます。

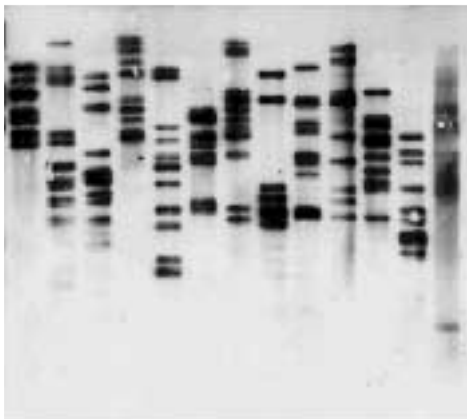
※オペロンとは

遺伝子は、実際の産物の設計図となっている部分(構造遺伝子)だけでなく、その遺伝子が発現するためのスイッチとなっている部分(作動遺伝子)があって初めて機能することができます。様々な環境要因によってこのスイッチがONになったときだけ、その遺伝子が発現するようになっています。作動遺伝子と構造遺伝子から成る、遺伝子発現に必要なひとつの単位をオペロンと呼んでいます。

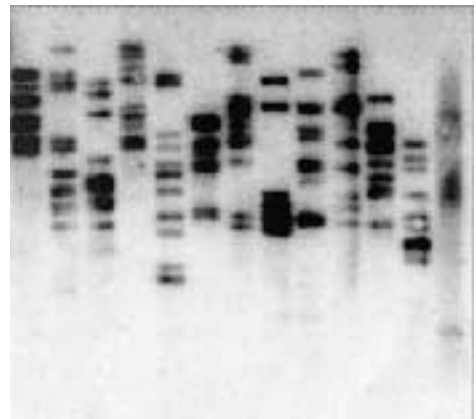
rDNAオペロンの数を決定するための実験

ゲノムDNAを各種制限酵素で切断後にアガロースゲルで電気泳動してメンブレンフィルターに転写し、ハイブリダイゼーションを行いました。rDNAの配列の一部をプローブとして、アマシャムバイオサイエンスのキットを使用して作製しました。化学発光基質はCDP-Starを使用しました。微量のサンプルしか使用できないためX線フィルムでは3時間の露光が必要でしたが、【ルミビジョンプロHS II】では一晩経ったメンブレンにおいてもわずか5分で同等の検出結果を得ることができました。

このように、感度が高いということはシグナルが弱いバンドを検出しやすくなるというだけでなく、より短時間で従来と同等以上の検出結果を得られるということです。この実験のように微量のサンプルしか使えない場合でも、【ルミビジョンプロHS II】の感度によって実験の効率化が期待できます。



X線フィルムで3時間露光



同じメンブレンを(化学発光が減衰していると思われる)翌日にルミビジョンプロHS IIで5分露光

著者・編集

タイテック株式会社 (<http://www.taitec.ne.jp/>)

商品企画部 宣伝企画グループ

〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1

TEL:048-988-8359 FAX:048-988-8362

E-mail: miyatani@taitec.org

2004年4月発行 本紙についてのお問い合わせは、上記までお願いいたします。
ルミビジョンプロHS IIについては、タイテックの製品カタログをご覧ください。

実験データのご提供

名古屋大学大学院医学系研究科分子総合医学専攻 微生物・免疫学講座
分子病原細菌学・耐性菌制御学分野(医学部 細菌学教室)

太田 美智男 教授