



Application

バクテリアの16S rRNA遺伝子の定量

製品名

モバイル リアルタイムPCR装置 (PicoGene® PCR1100)

メーカー名

日本板硝子株式会社

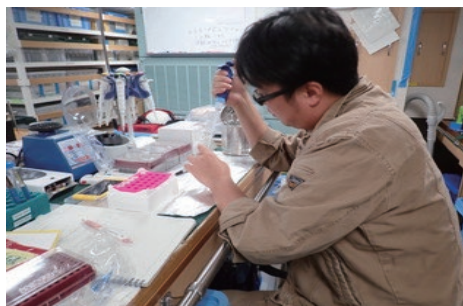
下記のデータは、東京大学大気海洋研究所 地球表層圏変動研究センター 生物遺伝子変動分野 伊知地稔先生のご厚意により掲載させて頂きました。

実験概要

海洋の表層から深層に生息する微生物の現存量を調査するために、学術研究船等に乗船し、対象とする微生物の遺伝子数を測定している。本モバイルリアルタイムPCR装置のモニターに応募した目的は、本装置を学術研究船に持ち込んで、航海中に船上で対象遺伝子検出が可能か、船の揺れが測定結果に影響を与えるかなどを検証するためである。



船上測定で利用した東北海洋生態系調査研究船「新青丸」



新青丸船内の実験室における作業の様子

実験材料

今回は陸上試験と同様な検量線が引けるかで検証したので、環境試料から得られたクローン (プラスミド) をテンプレートとした。
 プラスミド名：kt1184
 プライマー：27F & 1492R (DeLong et al. 2006)
 blastによる近縁種：Nitrospira marina Nb-295 (X82559)、相同性92%

● 反応組成

Template	1.0 μL
Enzyme	0.8 μL
Buffer	10.0 μL
Primer-F	1.0 μL (10000 nM)
Primer-R	1.0 μL (10000 nM)
Probe	1.0 μL (10000 nM)
DW	5.2 μL
Total	20.0 μL

● 使用したプライマーとプローブ

Primer-F：Bac358F
 Primer-R：Bac781R
 Probe：515R
 (Nadkarni et al. 2002)

● PCR 試薬の種類

酵素 KAPA 3G Plant

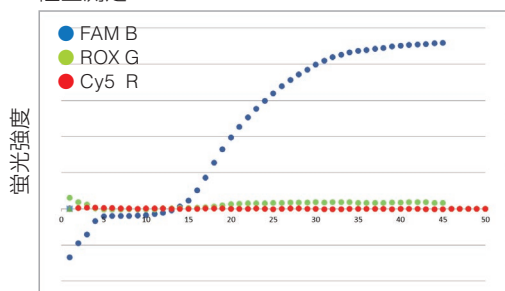
● 反応プログラム

Hotstart 95°C / 15 sec
 Denature 95°C / 4 sec
 Annealing 60°C / 15 sec
 Cycles 50 cycles

結果

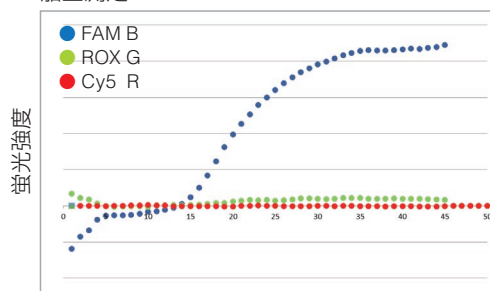
検体番号001：6.03x10⁸ copies/μL

陸上測定



計測時間
17 min 11 sec

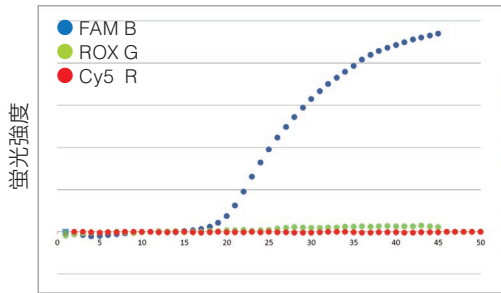
船上測定



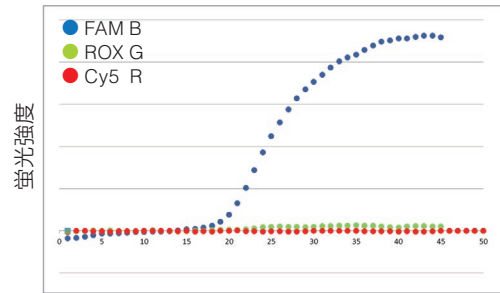
計測時間
17 min 17 sec

検体番号002 : 6.03×10^7 copies/ μ L

陸上測定

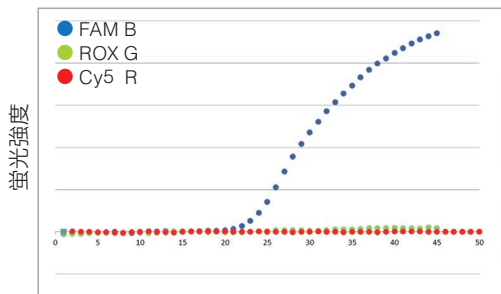

 計測時間
17 min 08 sec

船上測定

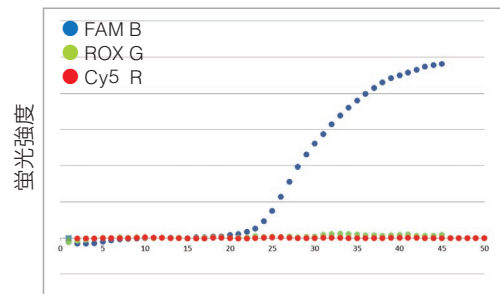

 計測時間
17 min 16 sec

検体番号003 : 6.03×10^6 copies/ μ L

陸上測定

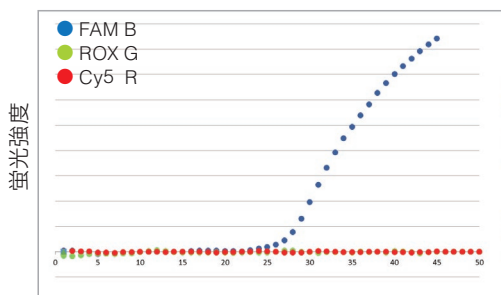

 計測時間
17 min 11 sec

船上測定

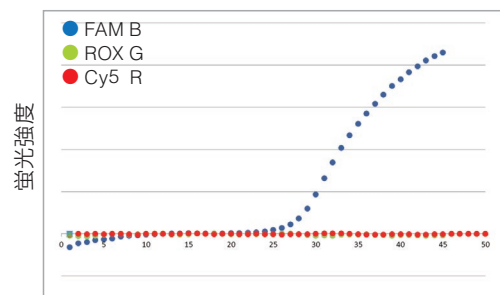

 計測時間
17 min 24 sec

検体番号004 : 6.03×10^5 copies/ μ L

陸上測定

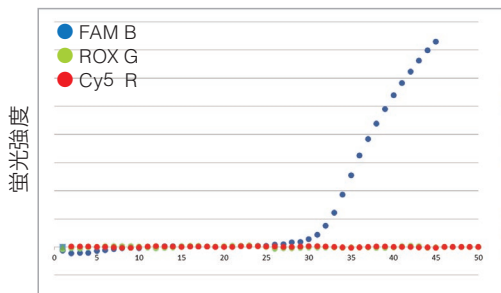

 計測時間
17 min 15 sec

船上測定

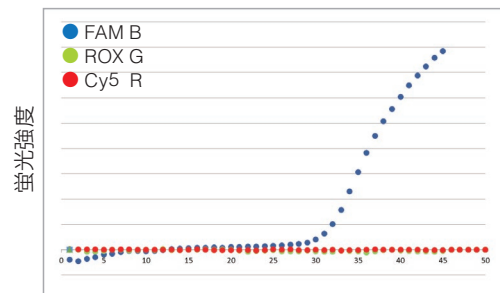

 計測時間
17 min 19 sec

検体番号005 : 6.03×10^4 copies/ μ L

陸上測定

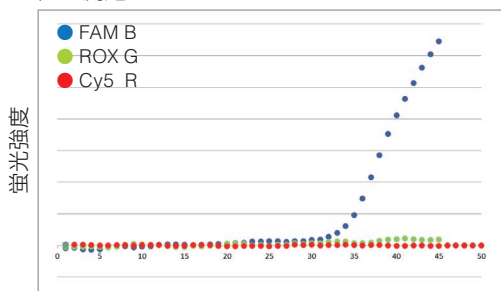

 計測時間
17 min 17 sec

船上測定

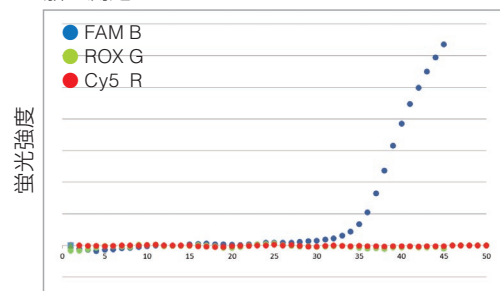

 計測時間
17 min 15 sec

検体番号006 : 6.03×10^3 copies/ μ L

陸上測定

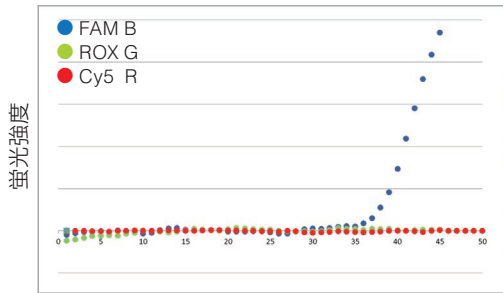

 計測時間
17 min 15 sec

船上測定

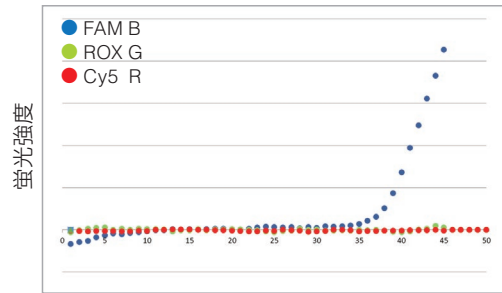

 計測時間
17 min 11 sec

検体番号007 : 6.03x10² copies/μL

陸上測定

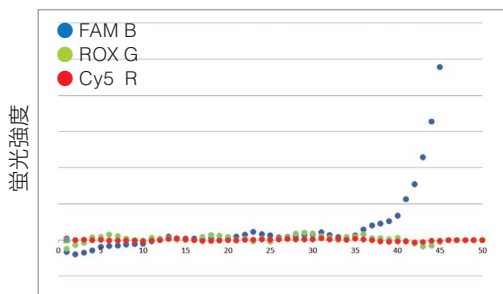

 計測時間
17 min 15 sec

船上測定

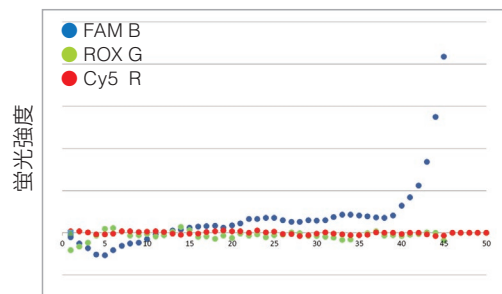

 計測時間
17 min 14 sec

検体番号008 : 6.03x10¹ copies/μL

陸上測定

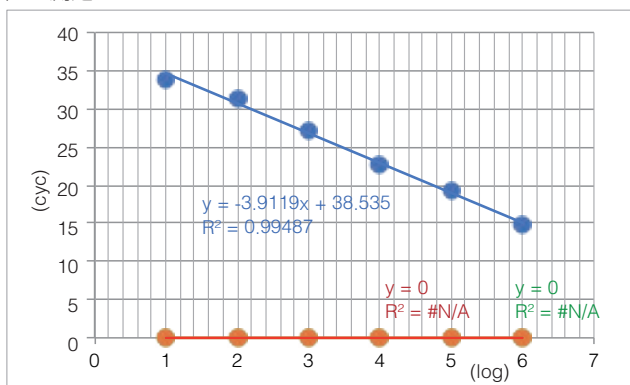

 計測時間
17 min 13 sec

船上測定

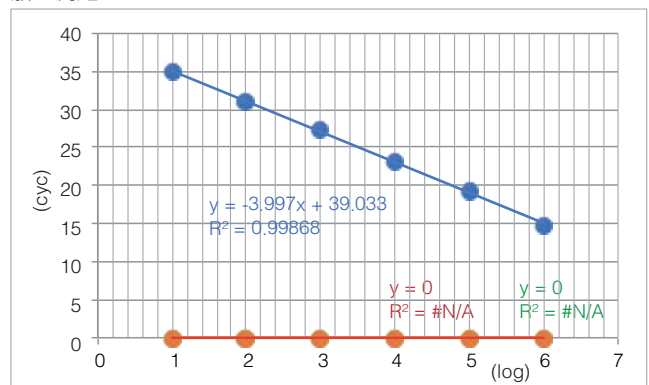

 計測時間
17 min 12 sec

検量線 (x10⁸ ~ x10³)

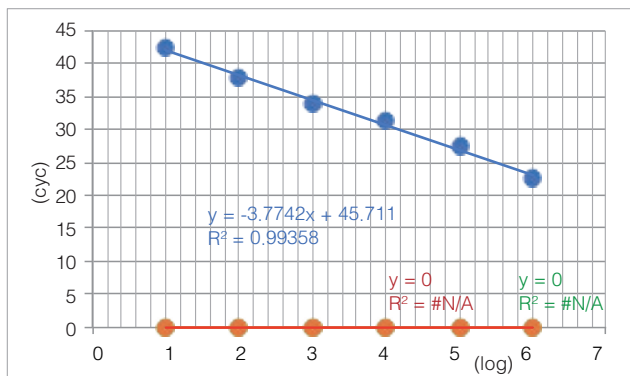
陸上測定



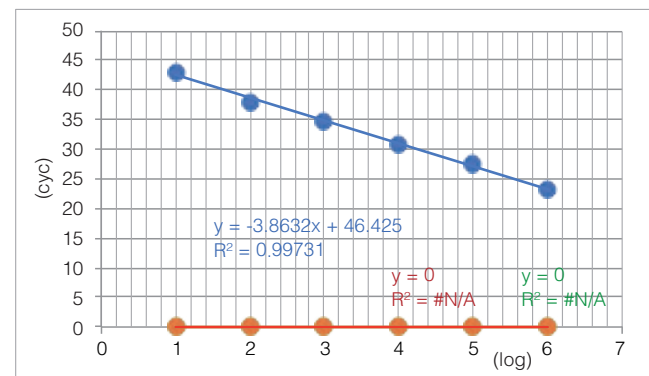
船上測定


検量線 (x10⁶ ~ x10¹)

陸上測定



船上測定



お客様のコメント

船上でも陸上と同様な測定ができ、検量線も作成できた。
 操作も簡単で、航海中の船上での対象遺伝子検出に適していると考えられる。
 航海中の船の揺れの影響も無かった。