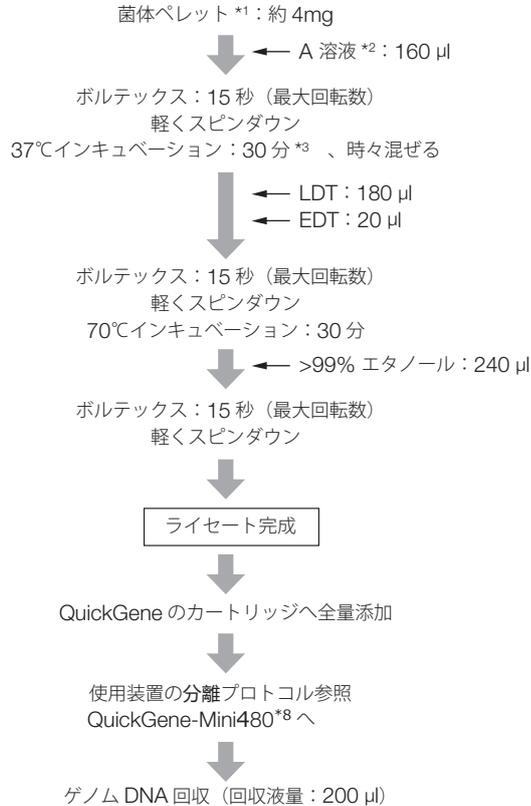


バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-resistant *Enterococcus*; VRE) からのゲノムDNA分離

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

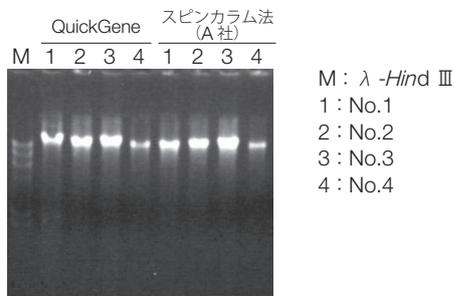
*3 溶液が乳白色に濁る、もしくは沈殿物が生じることがありますが次のステップで溶解します。

*8 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：バンコマイシン感受性 *E.faecium*（バンコマイシン感受性腸球菌臨床分離株）
No.2：バンコマイシン感受性 *E.faecalis*（バンコマイシン感受性腸球菌臨床分離株）
No.3：バンコマイシン耐性 *E.faecalis*（バンコマイシン耐性腸球菌臨床分離株）
No.4：バンコマイシン耐性 *E.faecalis*（バンコマイシン耐性腸球菌臨床分離株）

電気泳動図



ゲノム DNA の収量

サンプル	No.1	No.2	No.3	No.4
QuickGene	11.1 μg	7.4 μg	9.6 μg	3.0 μg
スピнкаラム法 (A社)	4.2 μg	7.0 μg	11.1 μg	1.8 μg

■ タンパク質の混入：A260/280

サンプル	No.1	No.2	No.3	No.4
QuickGene	2.03	1.75	1.94	1.78
スピнкаラム法 (A社)	1.73	1.70	1.96	1.70

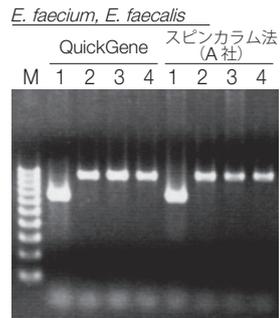
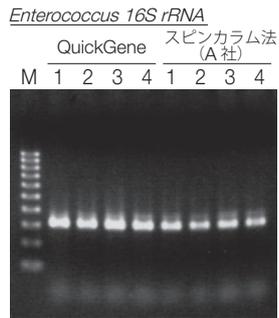
■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

● PCR

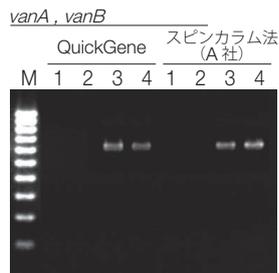
QuickGene システムおよびスピнкаラム法 (A社) を用いて腸球菌から分離したゲノム DNA で、*Enterococcus 16S rRNA*、*E.faecium**⁴、*E.faecalis**⁵、薬剤耐性遺伝子 (*vanA**⁶、*vanB**⁷) を PCR で検出した。



電気泳動条件：2% アガロース / 1 × TAE

M：100 bp DNA Ladder

- 1：No.1 バンコマイシン感受性 *E. faecium*
(バンコマイシン感受性腸球菌臨床分離株)
- 2：No.2 バンコマイシン感受性 *E. faecalis*
(バンコマイシン感受性腸球菌臨床分離株)
- 3：No.3 バンコマイシン耐性 *E. faecalis*
(バンコマイシン耐性腸球菌臨床分離株)
- 4：No.4 バンコマイシン耐性 *E. faecalis*
(バンコマイシン耐性腸球菌臨床分離株)



- No.1 バンコマイシン感受性 *E. faecium* は *vanA*、*vanB* 陰性の *E. faecium* と同定された。
- No.2 バンコマイシン感受性 *E. faecalis* は *vanA*、*vanB* 陰性の *E. faecalis* と同定された。
- No.3、4 バンコマイシン感受性 *E. faecalis* は *vanA* 陰性、*vanB* 陽性の *E. faecalis* と同定された。

いずれのプライマーを用いた場合も良好な結果が得られ、生化学的な検討と一致する結果であった。

*4：*E. faecium* 特異的プライマー (658 bp)
*6：薬剤耐性遺伝子 *vanA* (732 bp)

*5：*E. faecalis* 特異的プライマー (941 bp)
*7：薬剤耐性遺伝子 *vanB* (635 bp)

■ 共通プロトコルサンプル

ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP)