

PI と PSS による精製 DNA の濃度と NGS アンプリコン解析結果の比較

PI と PSS による DNA 精製後に 1) 得られた DNA 濃度、2) NGS アンプリコン解析結果、3) 精製 DNA の保存性について比較します。

【方法】

保存液入りのスプーンタイプ採便容器に被験者に便を採取していただき、PI および PSS で DNA を抽出・精製し、DNA の回収率を比較しました。精製 DNA に対しアンプリコン解析 (N=15) を行い、得られたリードの帰属分類群を RDP (属レベル) で推定し、両精製 DNA 間での群集構造の存在割合の相関を調べました。得られた精製 DNA の保存性は、精製 DNA を 4°C で 1 週間、30°C で 10 日間保存し、それぞれより全細菌を対象としたリアルタイム PCR (N=8) による DNA 1 μ L あたりのコピー数を精製直後の検体を基準として DNA の分解率を調べました。

【結果】

1) DNA 濃度

精製 DNA の回収率は、PI の回収率を 100%とした場合に PSS は平均約 84%であり、DNA 回収率は PSS に比べて PI の方が約 2 割高いことが示されました (図 1)。

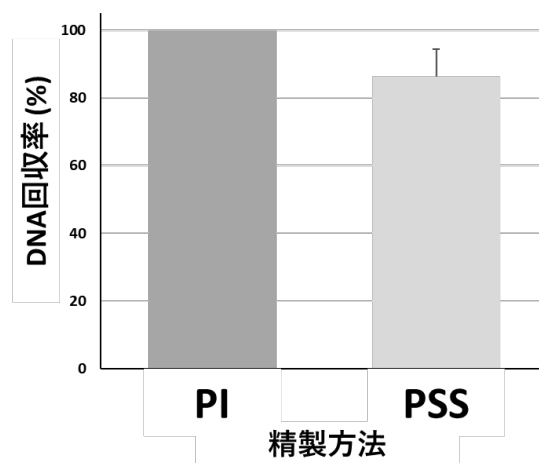


図 1. PI および PSS による精製 DNA 回収率の比較 (PI の回収率を 100%とした場合)

2) アンプリコン解析結果

属レベルでの存在割合 (図 2) を見ると、PI および PSS による精製方法の違いは本結果からは認められませんでした。

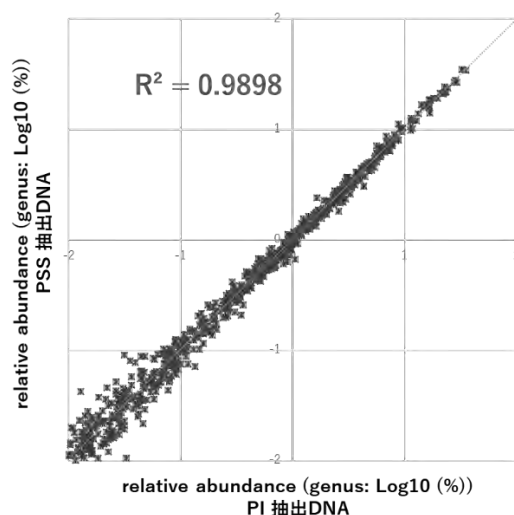


図 2. 属レベルでの存在割合の比較

3) 精製 DNA の保存性

4°C で 1 週間保管した場合にはどちらの精製方法でも DNA の分解は確認できませんでした。しかし、長期保管を想定して実施した 30°C、10 日間保管した精製 DNA では、PI では数%程度しか減少しなかったのに対し、PSS では約 20%の減少が確認されました。

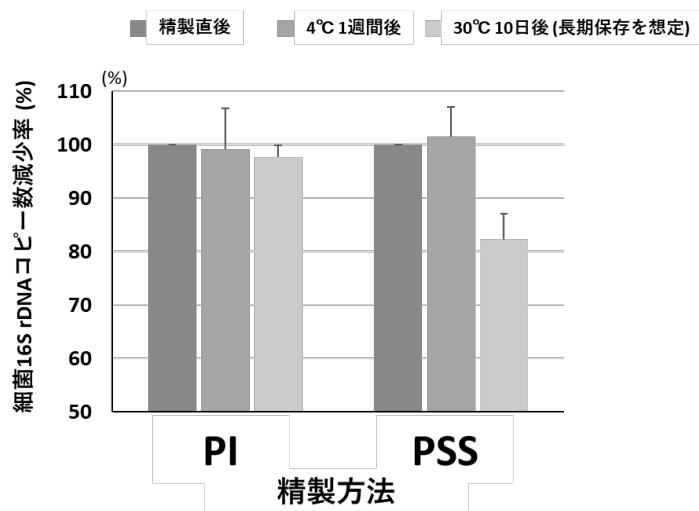


図 3. 全細菌を対象としたリアルタイム PCR による DNA 分解率の比較

精製直後の DNA 1 μ L あたりのコピー数を 100%として算出