

新旧のパルスフィールドゲル電気泳動装置による画像の比較検討

Comparison of PFGE images obtained by old and new devices

大畠律子・狩屋英明・中嶋 洋（細菌科）

Ritsuko Ohata, Hideaki Kariya and Hiroshi Nakajima

【資 料】

新旧のパルスフィールドゲル電気泳動装置による画像の比較検討

Comparison of PFGE images obtained by old and new devices

大島律子・狩屋英明・中嶋 洋（細菌科）

Ritsuko Ohata, Hideaki Kariya and Hiroshi Nakajima

要 旨

パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）装置更新に伴いPFGE画像にバンドのブレが生じるようになったため、更新前後の装置によるPFGE画像の差とその原因を調べた。その結果、2装置によるPFGE画像の差の一因には、泳動槽の材質の違いがあると考えられた。そのため、プロトコールに従っても良好な画像が得られない場合は、PFGE技術の検討だけでなく、PFGE装置の検討も必要と思われた。

[キーワード：PFGE装置，PFGE画像]

[Key words：PFGE device，PFGE image]

1 はじめに

当センターでは、平成5年度にB社製のPFGE装置を導入し、特に平成10年度以降、多くの細菌感染事例の疫学解析にPFGEを用いてきた。また、「PFGEにより解析された画像を基盤とした分散型情報システム（パルスネット）」構築のためのPFGE技術の精度管理においても、良好な画像を得てきた。ところが、平成16年度にPFGE装置を更新（B社製）して以来、画像にバンドのブレが生じるようになった。そのため、PFGE装置に何らかの原因があると考え、装置による画像の差とその原因について検討した。

2 方 法

PFGEは、平成16年度購入の装置（新装置）と平成5年度購入の装置（旧装置）を用い、「感染研ニュープロトコール」に従って実施し、結果を比較した。アガロースブロックは分子量マーカーとサンプル2個の計3個を1セットとし、同一ブロックを新旧の装置用に分割し、同じ調整試薬で処理して泳動した。泳動用ゲルおよび泳動用バッファーについても、同一の試薬を用いて調整した。泳動用ゲルと泳動槽の水平は、中心地点に水平器を置いて確認した。泳動中の泳動バッファーの温度と電流は、泳動開始時、20分後および15.5～18.5時間後までは一時間毎に記録した。泳動後

のゲルは、同一条件で染色・撮影した。

3 結果及び考察

新旧の装置によりPFGE画像を比較した結果、図1に示したように新装置に比べ旧装置の方が鮮明であった。

新旧の装置を比較してみると、泳動バッファーの温

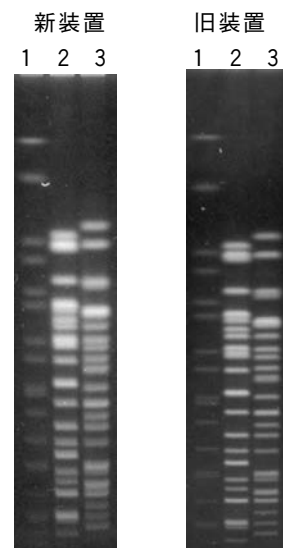


図1 新旧の装置によるPFGE画像の比較

1：分子量マーカー S.Braenderup H9812

2,3：腸管出血性大腸菌O157

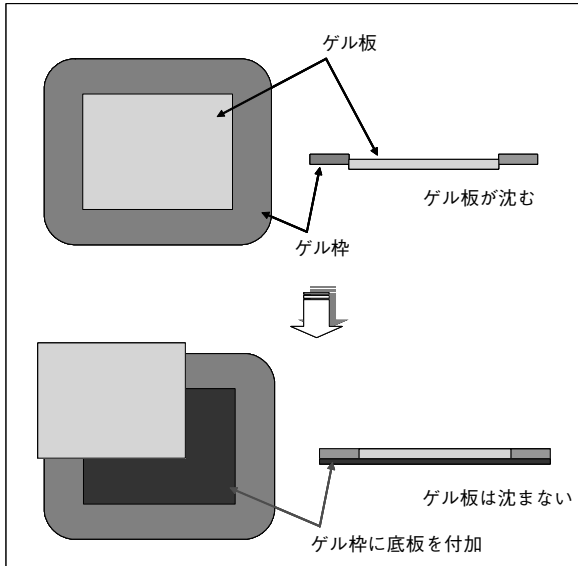


図2 底面付きゲル枠によるゲル板沈下の防止

度と電流は大差がなかったが、泳動槽の材質の堅さが異なっており、より堅い旧装置はゲル固定枠にゲル板が水平に固定されるのに対し、新装置ではゲル板が1 mm程度沈んで固定されていた（図2）。

これらの結果から、泳動槽の材質の違いがPFGE画像の差の一因と考えられた。なお、新装置で見られたゲル板の沈みは、装置更新時に最初に納入された泳動槽でより深く見られ、PFGE画像のバンドにブレが生

じていた。このクレーン交換のため貸与された同型の泳動槽でもゲル板が1 mm程度沈み、バンドにブレが見られた。従って、材質の柔らかい新装置の場合、ゲル枠の一部が泳動槽底面から浮き上がり、相対的にゲル板が沈下した状態となり、ゲル枠がゲルへの正常な通電の障壁になってバンドにブレが生じたものと推測された。この対策には、底面付きゲル枠によるゲル板沈下の防止（図2）等が考えられる。

最近では、diffuse outbreak が頻発し、広域的な疫学調査が必要となっている。インターネットによるPFGE画像の交換は、その有効な手段のひとつである。PFGE画像は、プロトコルの改良等により、普及当時に比べて格段に鮮明になった。しかし、改良されたプロトコルに従っても良好な画像が得られない場合は、PFGE装置の検討も必要であると思われた。

4 結論

新旧装置によるPFGE画像の差は、泳動槽の材質の違いが一因と考えられた。そのため、プロトコルに従っても良好な画像が得られない場合は、PFGE技術の検討だけでなく、PFGE装置の検討も必要と思われた。