

腐食物質の多い土壌サンプルから抽出した粗 DNA を鋳型にした PCR

DNA 抽出方法

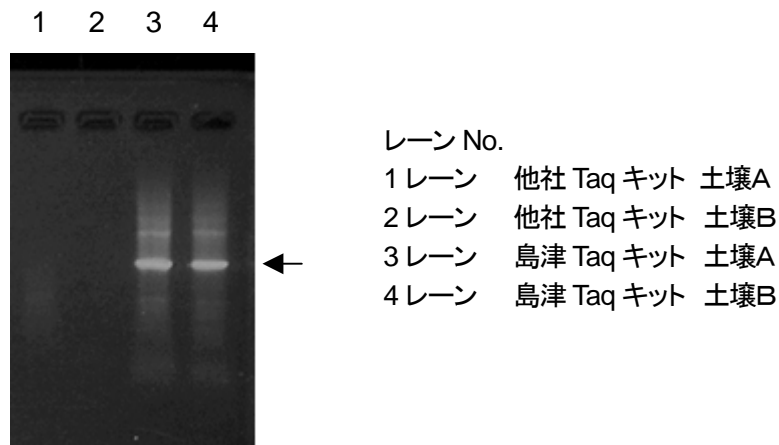
- ① SDS・リン酸バッファーを土壌 0.5g入り2ml チューブに加えビーズで破碎
(ジルコニアビーズの径が 5、0.5、0.1mm の3種入りチューブでビーズ破碎)
- ② 酢酸ナトリウムバッファーでタンパクを沈殿
- ③ エタノール精製(土壌から抽出した DNA の精製度合いを確認し必要に応じて以下の精製)
- ④ DEAE セルロース精製
- ⑤ 吸光度計で精製度を確認

PCR 反応液

抽出した DNA 1ul を Template に、Ampdirect Plus の取扱説明書に記載された標準的な反応(50ul)で PCR を実施

結果

腐食物質の含有量が高い土壌2種類から粗DNAを抽出し、DNA を1ul使用し、16S rDNA の PCR 増幅を行った。



コメント

通常の Taq ポリメラーゼのキットでは、腐食物質の多い土壌(黒ボク土など)から抽出したDNAは、そのまま PCR の鋳型に使用しても増幅ができず、再度精製し、ある一定の精製度合いの純度が確保されないと増幅できない。

通常の Taq ポリメラーゼのキットでは増幅できないものも、増幅が確認された。

参考文献

Ikeda, S., K.N. Watanabe, K. Minamisawa and N. Ytow. 2004. Evaluation of Soil DNA from Arable Land in Japan Using a Modified Direct-extraction Method. *Microbes Environ.* 19: 301-309.