

## 集積型蛍光 DNA プローブによる高感度 RNA 検出マイクロアレイ技術を用いた迅速微生物検出法の開発

(横河電機株式会社<sup>1)</sup>) ○蓼沼 崇<sup>1</sup>・宮内 祐樹<sup>1</sup>・田口 朋之<sup>1</sup>

Development of a Rapid Microbial Test System by Highly Sensitive RNA Detection on Microarray with Self-Assembled Fluorescent DNA Probe (<sup>1</sup>*Yokogawa Electric Corporation*)  
○Takashi Tadenuma<sup>1</sup>, Yuuki Miyauchi<sup>1</sup>, Tomoyuki Taguchi<sup>1</sup>

Microarrays are one of the most useful rapid microbial testing methods. In a general method, it is necessary to amplify the gene to be detected by PCR, which makes the testing process more complicated. Therefore, we have developed a self-assembled fluorescent DNA probe technology that can detect nucleic acids with high sensitivity on the microarray. In this presentation, we report a PCR-free rapid detection system for microorganisms by RNA detection using the developed self-assembled fluorescent DNA probe.

A self-Assembled fluorescent DNA probe was designed based on bacterial 16S ribosomal RNA gene. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were selected as target bacteria and comparative bacteria, respectively. The 16S rRNA was extracted by the high-temperature pressurized nucleic acid extraction method and applied to a microarray that specifically detects *S. aureus*. As a result of detection with a self-Assembled fluorescent DNA probe, it was confirmed that only the target bacteria of  $10^5$  cells could be specifically detected.

**Keywords :** *Rapid Microbial Test; Self-assembled fluorescent DNA probe; PCR-free detection; RNA detection; Microarray*

マイクロアレイ技術は有用な微生物迅速検査手法の一つである。しかし一般的な手法においては検出対象遺伝子を PCR 等によって増幅する必要があり、検査工程は煩雑になる。本研究では、高感度に核酸を検出可能な自己集積型の蛍光 DNA プローブ技術を開発した。本技術では、蛍光分子を修飾した DNA プローブが検出対象 RNA 周辺に自己集積することで、マイクロアレイにハイリダイズさせた RNA 分子を高感度に検出することができる。また、我々は以前、微生物から核酸を数十から数分という短時間で抽出することができる技術である高温加圧核酸抽出法を開発している<sup>1)</sup>。自己集積型蛍光 DNA プローブと高温加圧核酸抽出法を用い、簡易な操作で微生物検出が可能な RNA 検出による PCR フリーの迅速検出システムを構築した。

細菌に共通した16S rDNAを対象に自己集積型蛍光DNAプローブを設計した。検出対象に*Staphylococcus aureus*、比較菌として*Escherichia coli*を選択し、高温加圧核酸抽出法で抽出した16S rRNAを*S. aureus*を特異的に検出するマイクロアレイにアプライした。集積型蛍光DNAプローブを用いて検出を行った結果、 $10^5$  cellsの対象菌の検出を確認した。一方比較菌である*E. coli*サンプルの結果においてはスポットに蛍光は認められず、対象菌を特異的に検出可能であった。

1) 三森裕示, 蓼沼崇, 他, 防菌黴学会第 41 回年次大会要旨集, p. 69 (2014)