環状ナフタレンジイミド固定化電極を用いた COVID-19 由来の PCR 産物の電気化学的検出

(九工大院工) ○佐藤 しのぶ・廣岡 雄太・竹中 繁織

Electrochemical detection of COVID-19 PCR products using cyclic naphthalene diimideimmobilized electrodes (*Department of Applied Chemistry, Kyushu Institute of Technology*)

Shinobu Sato, Yuta Hirooka, Shigeori Takenaka

Screening for COVID-19 is currently performed by Quantitative Reverse Transcription PCR (RT-qPCR). However, since primer dimer amplification often occurs as the number of PCR cycles increases, detection by low-cycle PCR would improve the accuracy of the test. Therefore, we developed a highly sensitive electrochemical PCR product detection system using a cyclic naphthalene diimide (cNDI)-immobilized electrode. cNDI-immobilized electrode is expected to be able to capture the ends of double-stranded DNA. Here, we used FND as an electrochemical indicator in combination with a cNDI-immobilized electrode to detect PCR products obtained from the Covid-19 virus.

Keywords: cyclic naphthalene diimide; ferrocenylnaphthalene diimide; PCR product; catenane; Electrochemical DNA detection

COVID-19 の診断は定量的逆転写 PCR が主に用いられるが、PCR サイクル数が多く、プライマーダイマー形成による擬陽性が問題となっている。そこで、講演者らは、低サイクル PCR での電気化学的検出システムを開発した。提案システムは環状ナフタレンジイミド(cNDI)固定化電極により PCR 産物を末端固定化する。次にフェロセン化ナフタレンジイミド (FND) 添加して、得られる電流増加により検出する。

本システムでコピー数の異なる COVID-19 のサンプル (SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit のポジティブコントロール、タカラバイオ) について検討した。cNDI 固定化電極に PCR 回数の異なる産物を添加し、FND を含む電解液で測定したところ、10 コピー以上で大きな電流増加が得られた。これより、リアルタイム PCR で蛍光の観察できないサイクル数でも電気化学的手法で PCR 産物が検出できることが明らかとなった。

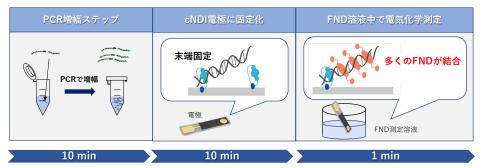


図. cNDI 固定化電極による PCR 産物の電気化学検出概念図.