

小型蛍光偏光度測定装置による微生物遺伝子の計測

Measurement of microbial gene by ultra-small fluorescence polarization system

東京工科大学大学院¹, バイオ・情報メディア研究科, コンピュータサイエンス専攻小泉 大和¹, 湯沢 友之, 鶴岡 誠¹Tokyo University of Technology, Graduate School of Bionics, Computer and Media Science,
Computer Science Program¹Yamato Koizumi¹, Tomoyuki Yuzawa, Makoto Tsuruoka¹ E-mail: tsuruoka@stf.teu.ac.jp

【はじめに】当研究室では蛍光偏光 (FP) 法による迅速・簡便な遺伝子検出実験を行っている。FP 法は遺伝子に付加された蛍光標識が回転する速さを計測して、蛍光偏光度 (FP 値) を算出する方法である。この計測方法は迅速・簡便・低コスト化が可能であるが、現存の解析装置は大型のものが多く、そこで当研究室では市販されている蛍光偏光度測定装置(大型装置)と比較して、高感度かつ低コストの超小型蛍光偏光度測定装置を研究し開発している。現状の研究試作装置では、装置の小型化、軽量化そして試薬の微量化が達成出来ている。(Table1)

Table1 Comparison of a large system and a small system

	大型装置	研究試作装置
外形寸法	525 × 525 × 305 mm	125 × 100 × 100 mm
重量	37 kg	1.7 kg
測定サンプル量 (試薬+サンプル)	50 μ l (96 ウェル) 10 μ l (384 ウェル)	2.5 μ l 0.35 μ l

しかし現状は大型装置で遺伝子増幅直後に検出できる増幅サンプル(1 倍と呼ぶ)は研究試作装置では検出できない事が問題となっている。この原因として研究試作装置は大型装置より最小検出感度が低い事が考えられる。そこで、本研究では、2 つの FP 装置についてどの程度感度に差があるかの定量的検討を行った。

【実験方法】当研究室で FP 法用に考案さ

れた前処理法の後、遺伝子増幅を行い 1 倍を作った。これをエタノール沈殿により濃縮し、1 倍～20 倍までの増幅産物を調製し、2 種の FP 装置で遺伝子計測を行った。尚、測定に用いるサンプル総量は、試作装置について 2.5 μ l、大型装置について 10 μ l とした[1]。

【結果・考察】実験結果より、研究試作装置では、20 倍濃縮で研究上の判定基準を超える FP 値が得られた(Fig.1)。このことから大型装置と研究試作装置とでは、濃度による最小検出感度が約 20 倍低いことが確認された。また、測定サンプル総量を考慮すると測定対象(遺伝子)の絶対量による比較において、試作装置の最小検出感度は約 5 倍低いと考えられる。この結果をもとに、試作装置の次期改良では大型装置と同等の濃度感度を達成したいと考える。

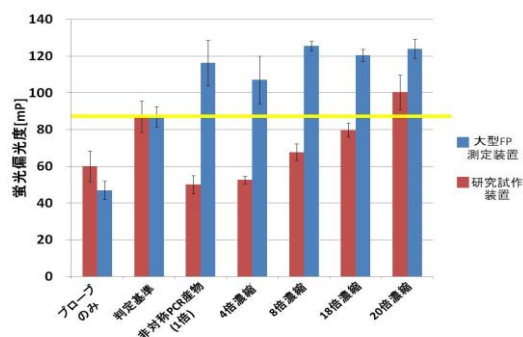


Fig.1 FP Values using two systems

[1] 本堂貴子, 鶴岡誠, 第 57 回応用物理学会