小型蛍光偏光測定装置の性能評価

Evaluation of the small fluorescence polarization measuring device

東京工科大 [1]，　○(B) 小森翼 [1]，杉谷貴子 [1]，鶴岡誠 [1]
Tokyo Univ. of Tech.[1], ◦Tsubasa Komori[1], Takako Sugiya[1], Makoto Tsuruoka[1]
E-mail: tsuruoka@stf.teu.ac.jp

【はじめに】

私たち周りには食中毒や感染症を引き起こす細菌、ウイルスが多く存在する。そのような微生物に感染したとき迅速簡便に把握し被害の拡大を防ぐ必要がある。蛍光偏光（FP）法を用いるとそれらの遺伝子情報を迅速簡便に検出することが可能である。当研究室では、人体にとって危険性の高い微生物遺伝子を計測する前段階として、三大常在菌（大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌）の遺伝子を迅速簡便且つ特異的に検出するための試薬開発、及び携帯可能な FP 測定装置（SFP-200R）に関する研究開発を行っている。今回、小型測定装置を用いて、緑膿菌遺伝子の検出を試みた。尚、本研究の小型装置と市販大型装置の比較例を表 1 に示す。

表 1　FP 測定装置の比較例

	大型測定装置	小型測定装置
光源	キセノンフラッシュランプ	レーザーダイオード
受光	フォトマル	フォトマル
試薬濃度	5nM	50nM
試薬量	10μL	0.35~2.5μL
重量	38kg	1.7kg

【実験方法】

緑膿菌の特異的塩基配列に結合する蛍光標識 DNA プローブ試薬を用いた。緑膿菌サンプルを 80%エタノール中で熱処理し、その一部に対して最適化した条件で非対称 PCR を行い、一本鎖 DNA を増幅した。その産物と上記プローブ試薬を混合し、SFP-200R にセットした。その時点を開始点として 1 分毎に蛍光偏光度を測定した。プローブ試薬の濃度は 5×10^{-7} mol/L、試薬及び測定サンプルの総量は 2.5 μL とした。

【結果・考察】

測定結果を図 1 に示す。図の横軸（略称）は、プローブ；蛍光標識 DNA プローブ試薬のみ、アンチ；プローブ＋完全相補合成 DNA（19 塩基）、増幅産物；プローブ＋緑膿菌遺伝子増幅産物（215 塩基）、陰性；プローブ＋陰性コントロールを示している。理論上 FP 値の大小は、プローブ及び陰性＜アンチ＜増幅産物となるが、増幅産物の FP 値がアンチよりも下回っている。これは、プローブ試薬に対して十分に反応するだけの緑膿菌が存在しなかったと考える。しかし、陰性コントロールと増幅産物との差がしっかり確認できるため、SFP-200R を用いた緑膿菌の検出が可能と考えられる。

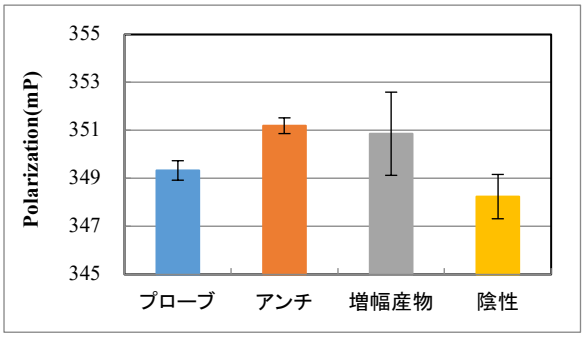

図 1　SFP-200R における緑膿菌検出結果

© 2019年 応用物理学会