

中型蛍光偏光度測定装置の開発と性能評価

Development of the small fluorescence polarization measuring device

東京工科大¹, ○(B)新堀友員¹, 湯沢友之¹, 鶴岡誠¹

Tokyo Univ. of Tech.¹, ○Tomokazu Shinbori¹, Tomoyuki Yuzawa¹, Makoto Tsuruoka¹

E-mail: tsuruoka@stf.teu.ac.jp

【背景・目的】

当研究室では、感染症等における早期発見や拡大防止を目標に、持ち運び可能で迅速・簡便な遺伝子情報計測システムの開発を行っている。計測方法としては蛍光偏光法（以下 FP 法）を用いており、この方法は蛍光標識を付加した DNA 試薬（蛍光標識 DNA）を使用する。この試薬が計測対象の遺伝子 DNA に対して二重らせん結合するか否かについて、蛍光偏光度の値（以下 FP 値）の相違として表す事ができる。これにより微生物等の遺伝子情報を特異的に計測可能であるが、多くの市販装置は大型で現場への持ち運びは困難である。そこで我々は装置の小型化に関する研究開発を行っている。

【実験方法】

開発中の装置について、蛍光励起光源には青色 LED、受光デバイスにはフォトマル、サンプルセルには円柱状ガラスセル（測定サンプル・試薬量、各々 50 μ L）を用いた。

試薬（蛍光標識 DNA）の蛍光標識はフルオレセインとし、その濃度を 0.5 nM または 1 nM と設定した。緑膿菌を熱処理し、同菌遺伝子の特異的領域について非対称 PCR 法により増幅した。これを測定サンプルとし、蛍光標識 DNA を混合させた。なおこの試薬は緑膿菌に特異的な塩基配列の DNA に結合するよう既に設計されたものである。また FP 値の計測は、蛍光標識試薬のみと判定基準について、また陰性コントロールとしては、熱処理した緑膿

菌サンプルの代わりに純水を入れたもの、緑膿菌の代わりに大腸菌または黄色ブドウ球菌を用いたもの（それぞれ Ec, Sa）について実施した。なおここで用いる判定基準とは、本研究 FP 法で遺伝子検出の陽性を決める際の参考とする値である^[1]。

【結果・考察】

試薬濃度を 1 nM とし、セルアダプタの光透過孔形状の最適化により、緑膿菌遺伝子増幅産物の FP 値が判定基準の FP 値より高く得られ、同菌遺伝子の FP 法による測定が確認された（図 1）。また緑膿菌の代わりに大腸菌(Ec)または黄色ブドウ球菌(Sa)のサンプルを用いた場合は何れも陰性コントロールと同じく低い FP 値を示した。この結果は、本研究の装置および試薬が三大常在菌の中で緑膿菌のみの遺伝子の特異的に測定出来ることを示している。以上より、本研究の蛍光偏光度測定装置の性能が確認された。今後は本装置のデータ処理システムについて改良する予定である。

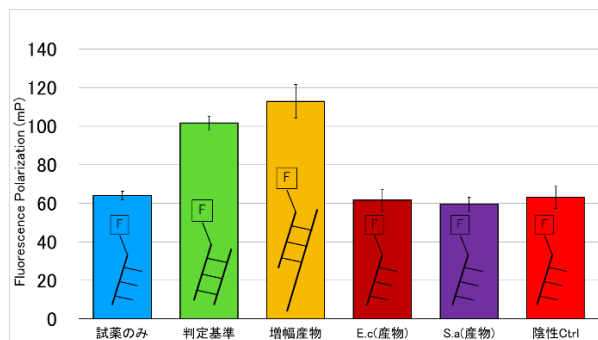


図 1 実験結果（縦軸；FP 値）

[1] 小森, 杉谷, 鶴岡, 応用物理学会春季講演会予稿集 10p-PA3-6, (2019)