

イミダゾリウム修飾担体の DNA 吸着特性と核酸増幅法への適用

(地方独立行政法人大阪産業技術研究所) ○柿倉 泰明

Imidazolium-modified supports as nucleic acid adsorbents and its application to DNA amplification testing (*Osaka Research Institute of Industrial Science and Technology*)

○Yasuaki Kakikura

Imidazolium modified silica (IMS) was prepared toward facile DNA extraction without multiple instrument steps and organic solvent treatment. The results indicated that the IMS was capable for specifically adsorbing DNA by electrostatic interactions with the imidazolium. The adsorbed DNA on the IMS was effectively eluted by means of high concentration buffer. The developed method could be employ for nucleic acid testings such as PCR.

Keywords : *DNA Extraction; Imidazolium; Nucleic Acid Testing*

核酸検査は、病原体などの標的に由来する核酸を増幅して検出する手法であり、微量の標的を高感度検出できる。そのため、医療や農畜産などの分野で広く活用されている。近年では特定の検査室の外でも使えるポータブルな核酸増幅反応用の装置が上市され¹⁾、検体を採取した現場での核酸検出を可能にしている。一方で、その前処理工程である核酸抽出に着目すると、遠心操作や有機溶媒処理など、煩雑な操作を要する手法が標準的に用いられているのが現状である。そこで、簡便な核酸抽出の手法の開発に向けて、シリカゲル表面にイミダゾリウムを修飾した核酸吸着体(Imidazolium modified silica, IMS)を作製した。本発表では IMS への静電的相互作用による核酸の吸着、溶出方法の検討、および溶出液の核酸増幅への適用結果について報告する。

アルコキシシランを原料として、ゾルーゲル法によりチオール基を有するシリカゲルを作製した。このシリカゲル表面に、ene-thiol 反応によってビニルイミダゾリウムを修飾して、IMS を得た。これをピペットチップに装填し、大腸菌を熱破砕した液を通過させた。続いて、IMS を水で通液洗浄し、高濃度の緩衝液をピペッティングすることで溶出操作を行った。IMS への DNA の吸着および溶出は、16S rRNA 遺伝子を検出対象としたリアルタイム PCR により行った。その結果、IMS に DNA が特異的に吸着され、ピペッティングによる溶出操作により DNA が回収可能であることを確認した。当日は、等温核酸増幅法による検出への適用についても併せて報告する。

1) S. Zidovec Lepej, M. Poljak, *Clin. Microbiol. Infect.* **2020**, 26, 411.