

30T-am08

オリゴヌクレオチドマイクロアレイによる水環境の微生物モニタリングの迅速・高感度化

○一條 知昭¹, 山口 進康¹, 谷 佳津治^{1,2}, 那須 正夫¹ (¹阪大院薬, ²大阪大谷大薬)

【目的】水系感染症のアウトブレイクを防止するためには、継続的な微生物モニタリングを行い、迅速に起因菌を検出することが効果的である。検出にあたっては複数の病原細菌を対象とする必要があり、マイクロアレイ法の利用が有効である。しかし結果を得るまでには通常 1 日程度を必要とすることから、さらなる迅速化が求められている。本研究では、マイクロアレイによる微生物モニタリングを可能とするために、時間の短縮と感度の向上を試みた。

【方法】データベース上より 16S rRNA 遺伝子の塩基配列が入手可能である 13 種類の水系感染症起因菌を検出対象とし、ARB ソフトウェア (<http://www.arb-home.de/>) を用いてプローブを独自にデザインした。細菌から抽出した 16S rRNA 遺伝子上の 4 つの領域 (各約 300 塩基) を multiplex PCR により増幅後、*in vitro* 転写反応を行い、蛍光標識した転写産物をマイクロアレイ上でハイブリダイゼーションし、デザインしたプローブの特異性、マイクロアレイの検出感度を評価した。

【結果および考察】標準菌株から抽出した DNA を用いて評価したところ、ほぼ全てのプローブについて特異性を確認することができた。また、multiplex PCR を併用することで PCR の時間が短縮化でき、検出までに要した時間は試料調製を含め 6 時間以内であった。さらに標的遺伝子の断片化が図れたことから、感度を 10 倍向上することができた (検出限界: 10^3 cells)。これらのことから、本法を用いることにより、迅速・高感度な水環境中の病原細菌のモニタリングを行うことができると考えられる。

* 本研究は (財) 日本宇宙フォーラムが推進している「宇宙環境利用に関する地球研究公募」プロジェクトの一環として行ったものである。