

# 27T-pm17

溶液中 FISH 法の開発およびマイクロ流路システムを用いた危害細菌の特異的検出  
山口 進康<sup>1</sup>, ○後藤 聡子<sup>1</sup>, 那須 正夫<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>阪大院薬)

【目的】我々が健康に生活するためには、河川などの水環境や生活用水、製造用水などの衛生微生物学的な安全管理が重要である。そのためには、危害細菌の簡便なモニタリング方法が必要となる。FISH 法とは、菌体内の rRNA に蛍光標識したプローブをハイブリダイズさせることで、特異的に細菌を検出する方法であり、様々な危害細菌に適応することができる。一般的に FISH 法では、ろ過やフィルター上での操作が煩雑であることが課題となっている。そこで、本研究では、ろ過することなく FISH を行い、溶液状態で細菌を検出できるマイクロ流路システムを用いて、簡便に細菌数を測定するための系を検討した。

【方法】*Escherchia coli* と *E. coli* に特異的な Cy3-ES445 プローブを用いて、固定液を取り除くことなくハイブリダイゼーションを溶液中で行う「溶液中 FISH 法」の条件検討を行った。溶液中 FISH を行った試料について、蛍光顕微鏡と当研究室で独自に作製したマイクロ流路システムを用いて *E. coli* 数の測定を行い、結果を比較した。

【結果および考察】*E. coli* の標準株試料について、固定液とプローブを含むハイブリダイゼーション溶液を加えてハイブリダイズさせた後、蛍光顕微鏡で観察したところ、すべての *E. coli* が Cy3-ES445 プローブとハイブリダイズしていることを確認した。次に、溶液中 FISH を行った後の試料について、マイクロ流路システムにより *E. coli* 数を測定したところ、蛍光顕微鏡により求めた測定値と比較して、大きな差は見られなかった。この結果より、溶液中 FISH 法とマイクロ流路システムを用いることで、水中の危害細菌数を簡便に測定できることを確認した。

\*本研究は JSPS 科研費 (26670062) により行なったものである。