

21PO-pm109S

非増幅で迅速・簡便な核酸測定法の開発

○河田 尚暉¹, 山角 薪之介¹, 大野 葵², 中石 和成³, 渡部 聡³, 吉村 昭毅⁴,
伊藤 悦朗² (¹早稲田大院先進理工, ²早稲田大教育, ³株式会社タウンズ, ⁴北医療
大薬)

1. 目的

現在の核酸測定法は PCR 法が主流となっている。しかし全体の容量が極めて少なく、煩雑な操作、複数回の加熱と冷却が必要である。そのため、偽陽性・偽陰性、測定時間、コストなどにさまざまな課題がある。そこで我々は簡便でかつ高感度な核酸測定法を開発し、PCR 法の欠点を解決した。この方法では PCR 法のように核酸自体の増幅は行わず、標識プローブから得られるシグナルを増幅する。増幅にはチオ NAD 酵素サイクリング法を用いている。今回はこの非増幅核酸測定法について報告する。

2. 方法

タンパク質測定によく用いられるサンドイッチ ELISA のように、固相プローブと標識プローブでターゲット核酸を挟み込んで捕捉する。標識プローブには酵素が標識されており、その生成物がチオ NAD 酵素サイクリングの基質として働く。サイクリング反応が起こると、チオ NADH が三角数として増幅される。チオ NADH を比色定量することで溶液中の核酸量の測定が可能となる。測定対象としては、結核菌が特異的に分泌するタンパク質 MPB64 の DNA 配列を用いた。

3. 結果と考察

現在の検出限界は 4.06×10^3 copies/ μ L であり、PCR 法と同程度またはそれ以上の感度で測定できた。結核菌以外にも応用可能であり、簡便で高感度な核酸測定技術のプラットフォームとして活用が期待できる。