

モバイル型迅速簡便 微生物菌遺伝子検査システムの開発

研究機関 ／研究者

北陸先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 教授 高村 禪

北陸先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 客員教授 Manish Biyani

(株)バイオデバイステクノロジー 取締役企画部長 牛島 ひろみ

(株)バイオデバイステクノロジー 研究員 Madhu Biyani、道畠 さゆ美

目的

食品の微生物検査は食品衛生上重要であるが、通常の培養法では結果が出るまでに2~3日かかり、生鮮食品では汚染が見つかった時点で消費されている可能性がある。

本研究では30分という短時間、低コストで持ち運びできる微生物検査システムを開発、普及させ、食の安心・安全を高める。

成果概要

(測定原理)RPA法に基づいて行う。RPA法では、DNAの増幅、検査を37℃の等温で可能であり、試験チューブを手で握って反応させることが可能である。この手法と我々が開発した印刷電極及び手のひらサイズの小型ポテンシostatを用いた遺伝子センサーを組み合わせることで、小型低コストのシステムを実現させる(図1)。

(成果1)当初プローブを固定することなく、methylene blueやHoechst33258等電気化学的活性を持つインターカレーターを用いた検出方法の開発を目指した。しかし、DNA増幅量が比較的少ないRPAではこの方法は陰性と陽性の差が検出できなかった。そこで、金ナノ粒子を標識としたプライマーを磁性粒子で電極上に固定化して測定する方法を新たに考案した。この方法ではRPAによる増幅反応10分、後処理10分、電気化学測定に5分で、30分以内に測定可能であった。洗浄を十分に行うことで陽性と陰性を良好に分別できた(図2左)。

(成果2)成果1の方法では、RPA後の溶液中に、金ナノ粒子標識増幅DNA、標識されていないもの、標識用のprobe、残存するprimer等が混在し、遠心分離を行う必要がある。遠心分離機は持ち運びしにくく、オンサイトの検査には難がある。そこで、5分でゲル電気泳動が完了するマイクロゲル電気泳動装置を試作し、これによりRPA後の解析を検討したところ、容易に陰性と陽性の区別が可能となった。この電気泳動装置は約20cm角サイズの小型軽量タイプであり、マイクロゲルはプレキャストタイプにできるためモバイル型システムとしての製品化は容易である(図2右)。

On-site Sampling for Molecular Food Safety Testing

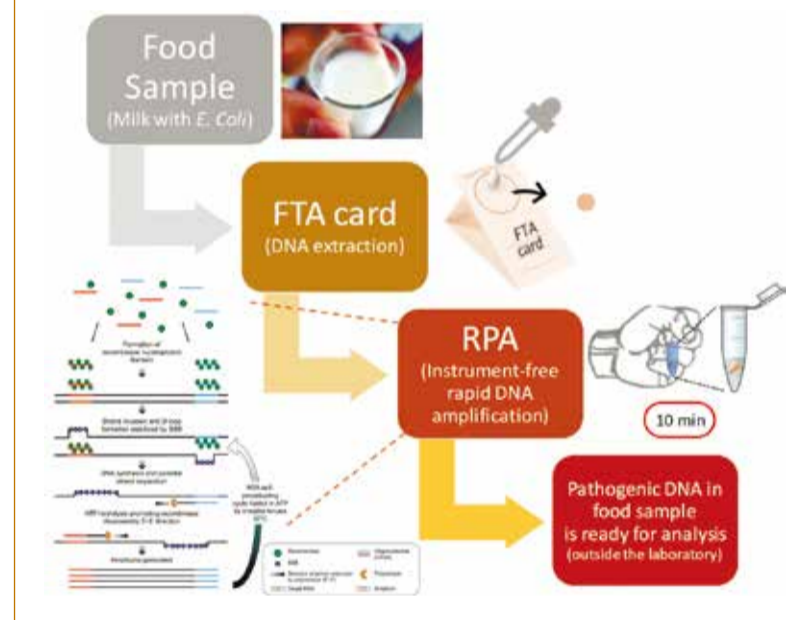


図1 サンプルングの方法とRPA法を用いたオンサイトDNA増幅・検査のしくみ。

On-site Analysis for Molecular Food Safety Testing

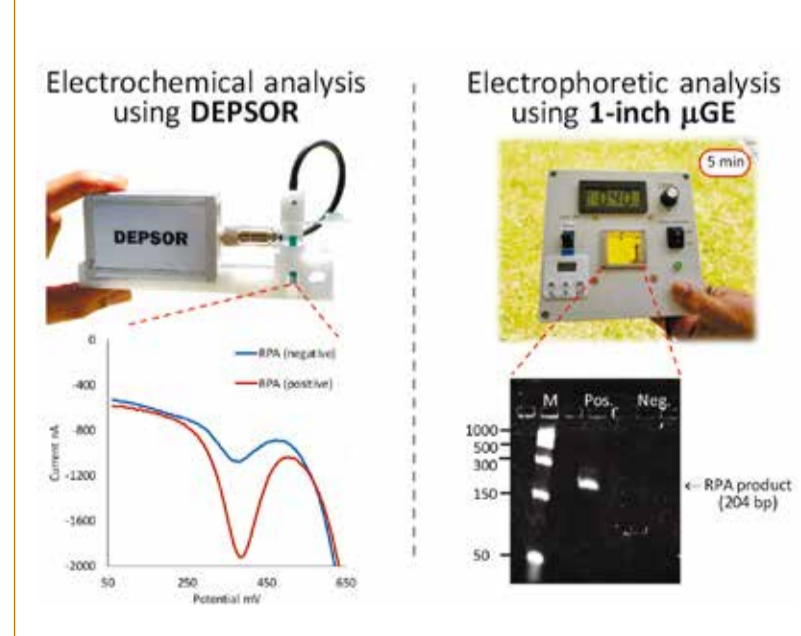


図2 食品安全のオンサイト分子レベル検査装置と検査結果。電極型(左)と電気泳動型(右)。