

特異的分子プローブ/プライマーによる菌検出技術の開発と核酸断片化パターンのデータベース(DB)化

研究目的

これまでの公定法では細菌種を決定するまでに24~48時間を必要とする培養法が用いられてきた。

本プロジェクトでは細菌種をより迅速に決定するために培養に依存しない方法で食中毒菌の検出および種決定ができるような技術の開発を目的とした。

研究成果

標的遺伝子の決定



大腸菌ゲノムより目的の *fliC*断片が増幅された。レーン1と2は同じ *fliC*だが、増幅する位置が異なる。

*fliC*断片: 食中毒菌だけを選別(検出)するための標的遺伝子

今後の展開

1. 短期培養条件とシグナル増幅法の最適化
2. 標的以外の微生物等の検出、同定に及ぼす影響を評価
3. 非培養法による生きた食中毒菌の標的遺伝子のDB化

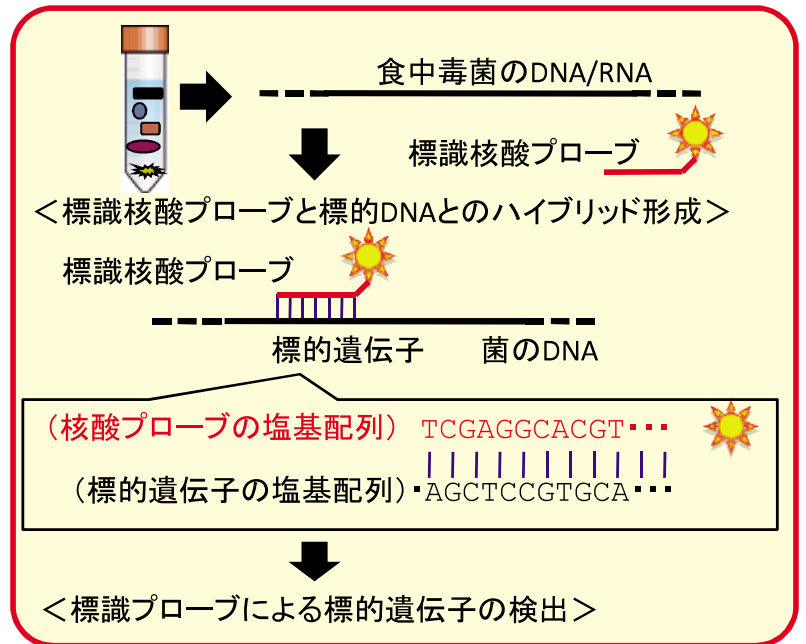
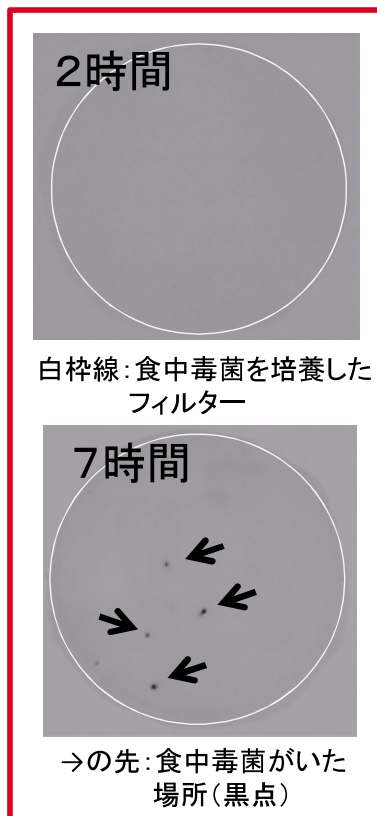


図 本研究開発の概要

食中毒菌のみを検出する核酸プローブの開発



食中毒菌をフィルター上で短時間(約7時間)培養した後、DNAと結合するプローブで菌の検出を可能とした。

食中毒菌を同定するための核酸断片のDB化

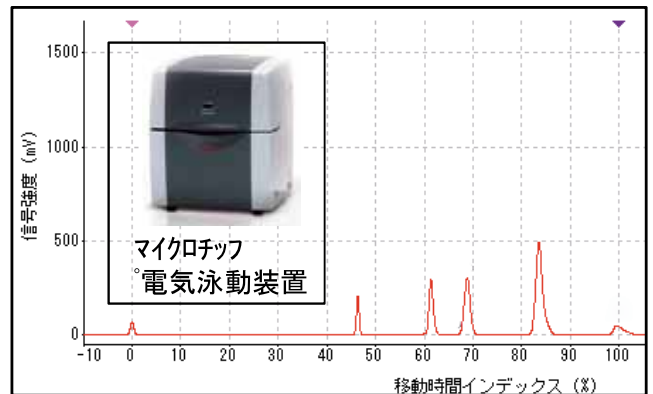


図. 細菌遺伝子のマイクロチップ電気泳動結果

細菌種毎に核酸断片化パターン(赤ピーク)が異なるため食中毒菌を同定することが可能

標的遺伝子は、培養液では50cfu/ml 食品へのスパイク試験では100cfu/gで増幅が確認できた。