

ストロンチウムアパタイトを用いた Real-time PCR 法の基礎的検討

◎大澤 稜¹⁾、伏脇 猛司²⁾、赤羽 貴行³⁾、樋口 武史⁴⁾、中山 章文⁵⁾

岐阜県総合医療センター 臨床検査科¹⁾、(一財)大阪府結核予防会大阪病院 診断検査部 臨床検査科²⁾、安曇野赤十字病院 臨床検査部³⁾、彦根市立病院 臨床検査科⁴⁾、岐阜医療科学大学 保健医療学研究科⁵⁾

(目的)

結核感染をコントロールするためには、初診時の迅速な結核菌検査による早期診断が必要不可欠である。そこで今回我々は結核菌遺伝子検査法の迅速性の向上を目的として、生体試料からの DNA の分離に用いたストロンチウムアパタイト (SrHAP) 担体を DNA 試料として Real-time PCR 反応を行う事による DNA 精製・遺伝子増幅過程の簡略化に関する基礎的検討を行ったので報告する。

連絡先：058-246-1111 (内線 5112)

(方法および結果)

Real-time PCR 法は、結核菌 ITS 配列 (Internal transcribed spacer region of the Mycobacterium genome) を標的遺伝子とした Miller らの報告¹⁾を参考とした。検討試料には結核菌の代わりに *Mycobacterium bovis* BCG 株を DNA 試料として用いた。SrHAP からの DNA の脱離に用いるリン酸緩衝液の PCR 反応への影響と DNA を吸着させた SrHAP を DNA 試料として反応液に加えたときの PCR 反応の条件について検討した。その結果、リン酸緩衝液の PCR 反応への影響では 60mM までの反応液中のリン酸緩衝液濃度において増幅反応が見られた。DNA を吸着させた SrHAP の反応では、20mM から 50mM のリン酸緩衝液を含む PCR 反応液において増幅が見られた。

(考察)

以上の結果から、DNA 吸着 SrHAP を DNA 試料として用いた Real-time PCR 法が結核菌遺伝子検査法の迅速性の向上に寄与する可能性が示唆された。

1) N. Miller et al. J. Clin. Microbiol., 40, (2002) 4143.