

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	東 直輝
研究機関名	名古屋大学
所属部署名	工学研究科
役職名	助教
研究課題名	DNA 一分子の遺伝子検出による薬剤耐性菌の迅速検査
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究では、細菌の薬剤耐性検査の高速化に向けて、細菌の DNA 分子上の薬剤耐性遺伝子を DNA 一分子で検出することを目的としている。この実現には、細菌の DNA 分子は数十 kbp (bp : 塩基対) 以上の長鎖分子であるため、いかにして長い塩基配列の中から薬剤耐性遺伝子を高速かつ高精度に検出するかが重要である。本研究では、DNA 一分子上の標的塩基配列を標識して高分解能に観察する細菌の DNA 一分子の薬剤耐性遺伝子検出法を新規に創出する。

本年度では、まず、一つ目の要素技術である DNA 分子上の標的塩基配列の標識法の実験的検証と実験条件の最適化を行った。DNA 分子上の標的塩基配列を標識させた後に、一般的な基板表面上の DNA 一分子伸長法を用いて DNA 一分子を伸長させ、観察を行った。得られた観察像の解析によって、DNA 一分子上の標的配列に標識されていることを確認し、本手法の実現性の検証に成功した。また、得られた観察の結果をもとに、本手法の各工程における最適な試料濃度や反応時間を実験的に決定し、標的配列の標識の高効率化を図った。最適化の余地はあるものの、実験条件の検討によって、標識法の高効率化を実現した。次に、要素技術二つ目の DNA 一分子伸長法のデバイスの設計・開発と実験的検証を実施した。実現性の検証のため、デバイス流路内を電解液で満たした後にモデル DNA 分子を導入した。DNA 分子は電解液中で負に帯電するため、電圧を印加することで流路内の電気泳動を制御した。流路内の DNA 一分子操作によって、DNA 一分子が伸長される様子を観察によって明らかにし、本手法による DNA 一分子伸長の実現性の検証に成功した。