

平成19年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 3 2 6 9 2 2. 研究機関名 東京工科大学
3. 研究種目名 基盤研究(B) 4. 研究期間 平成18年度～平成19年度
5. 課題番号 1 8 3 5 0 0 8 0
6. 研究課題名 分子インプリント法を用いた有害微生物DNAの簡便な検出システムの開発

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
1 0 3 5 8 1 1 1	<small>フリガナ</small> ミノウラ, ノリヒコ 箕浦, 憲彦	バイオニクス学部	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
7 0 3 5 7 2 5 0	<small>フリガナ</small> シンボ, トシオ 新保, 外志夫	産業技術総合研究所・バイオニクス研究センター	副センター長
	<small>フリガナ</small>		
	<small>フリガナ</small>		
	<small>フリガナ</small>		
	<small>フリガナ</small>		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

前年度に設計及び仕様決定した、分子インプリンティングポリマー（MIP）ゲル材料を泳動媒体に用いたゲル電気泳動検出システムを試作した。内径0.8mm、長さ4.3cmの毛細管内にDNA認識部位をもつゲルを調製することにより装置の小型化を実現し、さらに、泳動ゲルの陽極側末端にDNA用蛍光染色剤の液溜めを設置して、ゲルより溶離してきたDNAを蛍光染色剤と反応させた蛍光標識DNAを蛍光検出器にそのまま送り込む工夫をすることにより、検出の自動化を実現することが出来た。

次に、この検出システムを用いた標的DNA検出条件の検討、すなわち染色剤濃度、アクリルアミド濃度、通電電圧等の最適化を行い、検出時間の大幅な短縮を確認した。

さらに、本検出システムを用い、λDNA564bpフラグメントを認識するMIPゲルを調製し、先の実験で決定した最適条件下で、λDNA564bpフラグメントを検出する実験を行った。λDNA564bpフラグメントの溶離時間は、対照としたポリアクリルアミドゲル電気泳動での溶離時間より相対的に長いという、期待された結果が得られた。この実験結果から、MIPゲルの結合部位にλDNA564bpフラグメントが捕捉されたことが推察され、前年度に研究したチューブゲル電気泳動と同様に、相対溶離時間の遅れを利用した標的DNA検出が可能であることがわかった。

本検出システムを用い、病原性大腸菌DNAの断片（34bp、ベロトキシンDNA）を認識するMIPゲルを調製し、ベロトキシンDNAを検出できるかどうか検討した。現時点では、ベロトキシンDNAの相対溶離時間の遅れが明瞭に観察できていない。この原因として、検出に成功したチューブゲル電気泳動の結果および上記のλDNA564bpフラグメントの結果と比較した場合、標的ベロトキシンDNAの鎖長が極めて短いため、DNA結合部位に配位する機能性モノマーの数が少なく、標的DNAと結合部位との相互作用が弱くなっていることから、ゲルの長さ（毛細管の長さ）の不足が考えられる。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4判縦長横書1枚)を添付すること。

10. キーワード

- | | | |
|-----------------|-----------|----------|
| (1) 分子インプリンティング | (2) 高分子ゲル | (3) 電気泳動 |
| (4) 核酸 | (5) 塩基配列 | (6) 分子認識 |
| (7) 分子鋳型 | (8) ペロ毒素 | (裏面に続く) |

11. 研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 1 ）件

著者名	論文標題				
Masayo Ogiso	DNA detection system using molecularly imprinted polymer as the gel matrix in electrophoresis				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Biosensors & Bioelectronics	有	22	2017	1974-1981	

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	

〔学会発表〕 計（ 2 ）件

発表者名	発表標題		
M. Ogiso	DNA detection system using molecularly imprinted polymer as the gel matrix in electrophoresis		
学会等名	発表年月日	発表場所	
1st Asian Biomaterials Congress	平成19年12月7日	Epochal Tsukuba International Congress Center	

〔図書〕 計（ 2 ）件

著者名	出版社		
箕浦憲彦（監修：軽部征夫）	（株）テクノシステム		
書名		発行年	総ページ数
毒物バイオセンサ（バイオセンサ・ケミカルセンサ事典）		2017	366・373

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計（ 1 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別
標的DNA解析方法及び解析装置	箕浦憲彦・小 木曾真佐代 ・新保外志夫	(独)産業技術 総合研究所	特許公開番号2007-93 230	平成17年9 月27日	国内

〔取得〕 計（ 1 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
DNA分子識別機能材料	箕浦憲彦・小 木曾真佐代	(独)産業技術 総合研究所	特許第3921530号	平成19年3 月2日	国内

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--