

分子数担保DNA標準物質の開発 —PCR試薬・機器の性能評価および精度管理等のために—

【技術開発の背景】

- ・核酸を標的とした分子生物学的実験手法は、様々な分野で広く用いられている。
- ・PCR (Polymerase Chain Reaction) 法を代表とする核酸増幅技術の普及は著しい。
- ・PCR法自体の検出下限値は、理論的には最適条件下で標的配列1コピーと考えられるが、実際には、統計学的な推定でしか求めることができない。
- ・PCR法はゼロトランス規制の検査(食中毒菌、未承認GM等)にも用いられているため、試薬・機器の性能評価および精度管理は数コピー/反応の濃度域で行うことが望ましい。
- ・これまで、低分子数域で分子数が担保されたDNA標準物質は存在しなかった。

【研究の内容】

DNA標準物質製造プロセス

新たに開発した標準物質は、標的配列を1コピー導入した細胞の作製、細胞数と標的配列数を一致させるための細胞周期制御、バイオプリンティング用の特殊インクジェットヘッドによる細胞数の計測および吐出、1細胞からPCRを可能にする前処理等の一連のプロセスにより製造される(図1)。

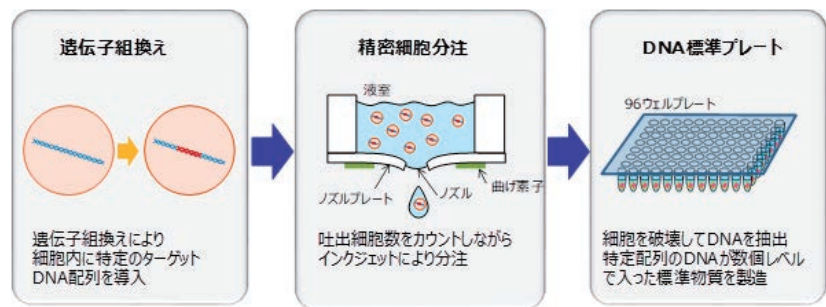


図1. DNA標準物質製造プロセス

DNA標準物質の評価

リアルタイムPCRにより、DNA1～1000分子のCq値の評価を行った結果。新たに開発した標準物質は低分子数域でも直線性が保たれており、繰り返し測定のみならず少ないことが確認できた(図2)。

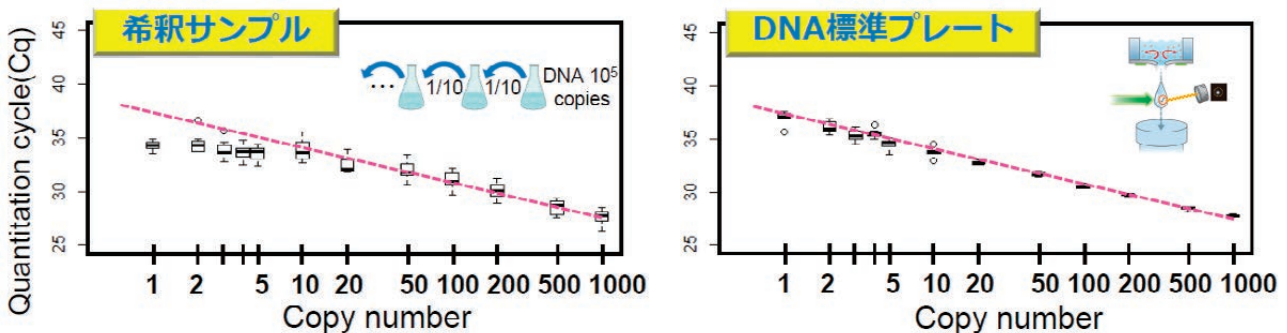


図2. リアルタイムPCRによるDNA標準物質の評価

【今後の展開】

本DNA標準物質の普及を図る。また、本DNA標準物質の利用を念頭とした精度管理手法の標準化を目指す。

本成果は、株式会社リコーおよび株式会社ファスマックとの共同研究による。



農研機構
食品研究部門

代表研究者: 橘田 和美
所属: 食品分析研究領域
信頼性評価ユニット