

助成年度：平成 28 年度

[所属] 金沢大学 理工研究域

[役職] 准教授

[氏名] 本多 了

[課題]

## 選択的次世代シーケンス解析を用いた薬剤耐性遺伝子保有細菌プロフィールによる糞便汚染発生源推定

[内容]

次世代シーケンス法を用いた薬剤耐性遺伝子保有細菌プロフィールによる発生源推定手法を新たに開発することを目的として、磁気ビーズハイブリダイゼーション法を用いた環境水や排水中からの薬剤耐性遺伝子保有ゲノムの回収手法の検討と適用可能性の評価を行った。

畜産業から医療機関などで広く使用されているβラクタム系薬剤を対象として、石川県金沢市近郊で検出率の高い耐性遺伝子の選定を行い、blaTEM 遺伝子が最も高頻度で検出されたことから、blaTEM 遺伝子を標的とすることにした。blaTEM-Inna と blaTEM-Sima の reverse プライマー配列をキャプチャープローブ配列として、磁気ビーズハイブリダイゼーション法による blaTEM 遺伝子の回収条件の最適化を行った。磁気ビーズの種類およびハイブリ条件（ハイブリ時間、温度、標的遺伝子量）を変えて、回収率を比較した。

その結果より、blaTEM 遺伝子を保有するゲノムの回収には、blaTEM-Inna プローブをキャプチャープローブとして、ハイブリ時間 24 時間、ハイブリ温度 42°C、初期の標的遺伝子量  $10^6$ copies の条件で行うのが最適であり、80-90%の回収率が見込めることが分かった。