

ポリメラーゼチェーンリアクションによる

アラニンラセマーゼ遺伝子の検出に関する研究

奈良女大・生活環境、\* 聖母女学院短大 ○大久保陽子、横井川久己男、  
遠藤金次\*、河合弘康

〔目的〕食品の細菌学的検査の多くは培養法を主体とするため、数日以上の日数を要し、操作も煩雑なため、迅速かつ簡便な細菌検査法が望まれている。アラニンラセマーゼ (AR) は細菌に普遍的に存在し、細菌細胞壁の生合成に必須の役割を果たしている。本研究では、食品の一般細菌検査をAR遺伝子を指標として、迅速かつ特異的に行うことを目的とし、本酵素遺伝子の高い相同領域に対応するプライマーを用いたポリメラーゼチェーンリアクション (PCR) により、本酵素遺伝子断片を特異的に増幅する条件を検討した。

〔方法〕PCRは、プログラムテンプコントロールシステムPC-700 (アステック) を用いて行った。プライマーはARの活性中心Lys<sup>41</sup>、及びHis<sup>168</sup>を含む領域に対応する数種のプライマーを設計した。

〔結果〕Bacillus psychrophilus由来染色体DNAを鋳型とし、作成した各種プライマーを用いて、最も特異的にAR遺伝子断片(約400 bp)を増幅するプライマー種を検討した後、低温菌、常温菌、好熱菌由来のいずれの染色体DNAを鋳型としたPCRにおいても、同様のサイズのDNAが増幅される条件を確立した。得られたB. psychrophilus及びEscherichia coli JM109由来のPCR産物のDNAシーケンシングを行い、本PCR法によりAR遺伝子断片が増幅されることが明らかとなった。また、本PCR法は他の各種細菌染色体DNAを鋳型としても約400 bpのAR遺伝子断片と思われるDNAが増幅された。