

○富岡里佳子 横井川久己男 遠藤金次\* 河合弘康

(目的) 大腸菌検査法は数日以上要し、その操作は煩雑で熟練が要求される。また、長期にわたる検査のため、食品の保存における種々の問題点が指摘されている。本研究では、大腸菌のアラニンラセマーゼ(AR)遺伝子を指標として、食品中の大腸菌をドットプロットハイブリダイゼーションにより、迅速かつ簡便に検出、定量する条件を検討した。

(方法) 大腸菌ARのLys<sup>41</sup>-Asp<sup>173</sup>の配列に対応する遺伝子断片をDigoxigenin(DIG)標識したプローブを用いた。標的DNAの検出は、酵素的化学発光法により行った。

(結果) 大腸菌K12株を標準大腸菌株として、ドットプロットハイブリダイゼーションの諸条件を検討し、良好なシグナルが得られる条件を確立した。定量性の面では、大腸菌細胞 $10^3$ ~ $10^6$ 個までは直線的にシグナル強度が増加した。細菌の溶菌方法は、試料の安定性の点からアルカリ-SDS法とした。以上の実験条件で、各種細菌101株の溶菌液を試料として、ドットプロットハイブリダイゼーションによるAR遺伝子の検出を試みたところ、大腸菌43株は全て反応し、大腸菌近縁の*Salmonella typhimurium*等を含むその他の58株の細菌は、シグナルが検出されなかった。食品中の大腸菌の検出は、各種食品に大腸菌を加えてアルカリ-SDS処理をした試料について行った。対照として、食品のみのアルカリ-SDS処理液を用いた。その結果、本プローブは食品のみの試料とは反応せず、大腸菌を添加した全ての食品試料と反応した。以上の結果から、AR遺伝子を指標として、食品中の大腸菌を特異的に検出できることが明らかとなった。