

○奈良香、横井川久己男、河合弘康（奈良女大・生活環境）

目的 大腸菌検査は食品の細菌学的検査において重要な項目である。汎用されている大腸菌検査法の中で、最確数法は検査に数日以上かかり、操作が煩雑で、熟練が要求される。また、迅速な酵素法は、病原性大腸菌が検出されない等の問題が指摘されている。そのため、迅速かつ正確に大腸菌を検出する方法が望まれている。本研究では、大腸菌のアラニンラセマーゼ遺伝子に特異的なプライマーを設計し、ポリメラーゼチェーンリアクション（PCR）法により、大腸菌を迅速かつ正確に検出する条件を検討した。

方法 アラニンラセマーゼ遺伝子の非保存領域の配列に基づいて数種のオリゴヌクレオチドを合成し、PCRのプライマーとしてアラニンラセマーゼ遺伝子断片の増幅を検討した。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。PCR増幅産物の検出はアガロースゲル電気泳動により行い、 ϕ X174/*Hae*III digestをサイズマーカーとして増幅産物のサイズを算出した。

結果 合成した数種のプライマーを用いてアラニンラセマーゼ遺伝子断片の増幅を検討し、約370bpの遺伝子断片が、特異的に増幅されるプライマーを見いだした。次に、PCRに用いる試料の前処理条件を種々検討し、1% Tween20, 1% NaCl, 1mM EDTAを溶菌液として、大腸菌細胞を100℃で10分間加熱した試料をPCRに用いた時、最も効率的にアラニンラセマーゼ遺伝子断片が増幅された。また、調製された溶菌液は、10℃で10週間保存後も、PCRの鑄型DNAとして安定であることが判明した。