

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：99999

研究種目：奨励研究

研究期間：2020～2020

課題番号：20H00967

研究課題名 核酸アプタマーおよび核酸の自発的鎖交換反応を利用した薬毒物の簡便な検出法の開発

研究代表者

嶋田 裕史 (SHIMADA, Hiroshi)

長崎県警察本部刑事部科学捜査研究所・警察研究職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：含リンアミノ酸系除草剤の一種であるグリホサート（Glyp）の簡便迅速な検出法の開発を目指し、核酸アプタマーと金ナノ粒子（AuNPs）を用いる比色分析法の検討を行った。

Glypアプタマー100nMを含有するAuNPs（直径20nm）水溶液100 μ Lに、検体であるGlyp水溶液（10 μ g/mL）を1 μ L添加して10分後に2M NaClを10 μ L加えると、溶液の色が赤から青紫色に変化した。今後、再現性や夾雑物への対策を講じることにより、Glypを検知できる比色センサーへの応用の可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬毒物による事件や事故が起こった場合、その薬毒物を早期に特定することは、犯罪捜査のみならず被害拡大防止等の点においても重要である。

世界で広く使用される含リンアミノ酸系除草剤のグリホサート（Glyp）は、安価で容易に入手可能なため器物損壊や自殺等の事件・事故にも使用される。Glypは高極性の水溶性化合物で、分析には前処理などに多くの時間と手間を要する上、現場レベルでの有効な簡易検査法は未だ確立していない。本研究は、簡便迅速にGlypを検出する手法の開発であり、現場等での迅速な薬毒物検知法として社会に貢献するものである。

研究分野：法科学、分析化学

キーワード：グリホサート 核酸アプタマー 金ナノ粒子

1. 研究の目的

薬毒物が関与する犯罪や事故が発生した場合、その薬毒物を早期に特定することが重要である。世界で広く使用される含リンアミノ酸系除草剤のグリホサート (Glyp) は、安価で容易に入手可能なため、器物損壊や自殺等の事件・事故に使用されることがある。Glyp は高極性の水溶性化合物で、分析には前処理などに多くの時間と手間を要する上、現場レベルでの有効な簡易検査法は未だ確立していない。

核酸アプタマーは、数十～百塩基程度の人工の一本鎖 DNA または RNA であり、抗原-抗体反応のように特定のタンパク、分子、イオン、細胞等の標的と特異的に結合することができる。試験管内でのスクリーニングにより取得することができ、その配列を特定すれば化学合成により容易に入手することができる。本研究は、既に取得されている DNA アプタマー (76 mer の DNA) と、簡易検査法によく用いられる金ナノ粒子 (AuNPs、水溶液中において分散状態では赤色を呈し、凝集が起こると青紫色に色調が変化する) を用いて Glyp を簡便に検出する手法の開発を目的とした。

2. 研究成果

(1) 当初計画していた核酸の鎖交換を利用する系は、AuNPs への DNA の修飾条件等の最適化が完了しなかった。そのため、塩 (NaCl) の添加によって引き起こされる AuNPs の凝集を利用した比色分析法について検討を行った。

まず、Glyp アプタマー (5'-CGT ACG GAA TTC GCT AGC AGA GGG ATG GTG TGG GTG GCT GCG GCT ATA GGA GCG TAC CGG ATC CGA GCT CCA CGT G-3') と AuNPs の混合溶液を調製しておく。ここで、Glyp 非共存下では、一本鎖状態の Glyp アプタマーが AuNPs を取り囲んで保護するため、NaCl を加えても凝集しない (溶液は赤色のまま)。一方、Glyp が存在すると、Glyp アプタマーは Glyp と結合するため AuNPs が保護されず、NaCl を添加することによって凝集が起こり青紫色を呈するという系である。

(2) Glyp アプタマーを 100 nM 含有する AuNPs (直径 20 nm) 水溶液 100 μ L に、検体である Glyp 水溶液 (10 μ g/mL) を 1 μ L 添加し、10 分後に 2M NaCl を 10 μ L 加えると、溶液が青紫色に変化することが確認された。AuNPs については、直径 10 nm のものも検討したが、Glyp に対する応答は得られなかった。

(3) 現状では応答時間に数時間を要しており、実用に耐えうるものではない。AuNPs の直径や、用いる Glyp アプタマーの濃度、塩の種類・濃度等を最適化することによって応答時間を数秒～数分程度に短縮する必要がある。さらに、妨害反応を抑制し、再現性を高めることができれば、現場レベルでの簡易検出法への応用が期待できる。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------