

細菌を一営業日以内に検知できる省スペースセンサシステム 食中毒被害を未然に防ぐ！安全・安心な食生活を！

財団法人福岡県産業・科学技術振興財団と国立大学法人九州大学は、文部科学省の知的クラスター創成事業にて「安全・安心のためのバイオエレクトロニクス技術の研究開発とセンシングLSI化」（平成19年度～平成23年度）を推進しています。この度、表面プラズモン共鳴（SPR）法による抗原抗体反応型細菌検知システムの開発に成功しました。

【開発概要】

検知対象物質を高選択的にかつ高感度に測定する方法として、抗原抗体反応型SPRセンサが挙げられます。SPR法はセンサチップ上の金薄膜近傍の質量変化を光の屈折率変化（センサ出力は共鳴角変化）として検出する方法で、このセンサは化学物質（検知対象物質）に高選択性を示す抗原抗体反応の化学情報をSPR法により高感度に電気信号に変換させます。九州大学大学院システム情報科学研究院では、既存の据え置き型装置と同程度の基本特性を示すポータブルSPR装置の開発に成功しました。

この装置の実施例として、牛乳中の大腸菌の検知を行ないました。乳および乳製品の成分規格等に関する省令では、牛乳1.11 mL（×2本、B.G.L.B法）に大腸菌群（大腸菌、サイトロバクター属細菌、クレブシエラ属細菌等の衛生指標菌）が陰性（菌数ゼロ）でなければならないと定められており、推定試験だけでも48時間を要しています。一方、迅速検査法が関連機関で研究されていますが、一斉検出ならびに簡易・迅速測定が可能で高感度な食中毒細菌検出装置の開発には至っていません。

本検知システムでは、大腸菌群が共通に持っている指標酵素（ベータ・ガラクトシダーゼ）に対する抗体がセンサチップ上に固定化されており、菌体抽出物中にその指標酵素が存在していれば抗原抗体反応がセンサチップ上で起こり、牛乳中に大腸菌群が存在していたことが判明します。この検知システムを開発する上で、装置の開発以外に次の技術開発が必須です。一点は、抗体のセンサチップ上への固定化技術の最適化です。つまり、抗体が最も抗原結合能を発揮できるように、抗体をセンサチップ上に並べる技術開発です。もう一点は、牛乳中からの大腸菌群の培養技術ならびに培養菌体からSPR法による測定に適した試料を調製するための前処理技術の最適化です。九州大学大学院システム情報科学研究院は、同学農学研究院と協力し上記の重要な要素技術も合わせて開発しました。

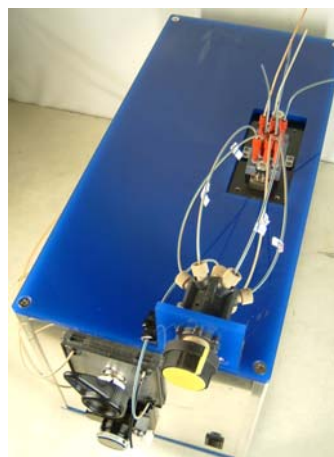
その結果、九州大学の工学系と農学系の研究室がもつ技術のコラボレーションにより、**市販の低温殺菌牛乳中に人為的に添加した大腸菌を、本開発装置を用い、全工程を一営業日以内で選択・特異的に検知することに成功**しました。

【実証試験】

市販の牛乳11.1 mL当たり4菌体の大腸菌を接種し多段階濾過を行なった後、濾紙を適当な培地中に入れ8時間振とうしました。その際、大腸菌を接種しないものを対照試料としました。その後、生育した菌体を集め破碎し、この菌体抽出物を上記SPR装置に供しました。この装置には最適化された方法で抗体を固定化したセンサチップが装着されています。実際に、大腸菌を選択・特異的に検知できることを実証しました。同じく対照試料として大腸菌群には含まれないサルモネラ属細菌を用いた試験では、センサ応答（共鳴角変化）が見られませんでした。

<開発したポータブルSPR装置の写真>

装置全体（左）と本体のセンサチップ装着部を含む上面（右）

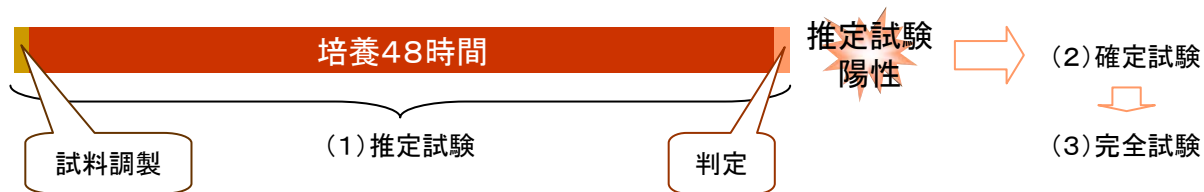


<SPR装置のスペック>

名称	項目	仕様
本体	外寸	W170×D350×H180 mm(突起部除く)
	重量	6 kg
	電源	AC100 V
	光源	HE7601SG GaAlAs 770 nm LED
	検出部	131万画素CCDカメラ
	測定角度	70±5°
	角度分解能	0.0001°
	送液	ペリスターポンプ
	流路	6方バルブによる流路切替え、PEEKチューブ
センサ	測定原理	表面プラズモン共鳴法
	センサチップ	ガラス基板に金をスパッタリング
	チャンネル数	5チャンネル(最大測定試料数4サンプル)
	流路	500 μm厚, ウレタン樹脂
	取り付け	治具による固定
外部コントローラ	パソコンOS	Microsoft Windows XP Home Edition
	CPU	インテルAtomプロセッサ N270 (動作周波数1.6 GHz)
	HDD	2.5インチ 160 GB
	外寸	W235×D180×H42 mm(突起部除く)
	重量	1.3 kg
	電源	AC100 V
	ソフトウェア	チップ修飾モード, 検量線作成モード, 測定モードより構成
	制御	ExpressCard/34により通信制御

<B.G.L.B法と期待される検査法>

- 牛乳中の大腸菌群検査公定法(B.G.L.B法): 検査に時間を要する

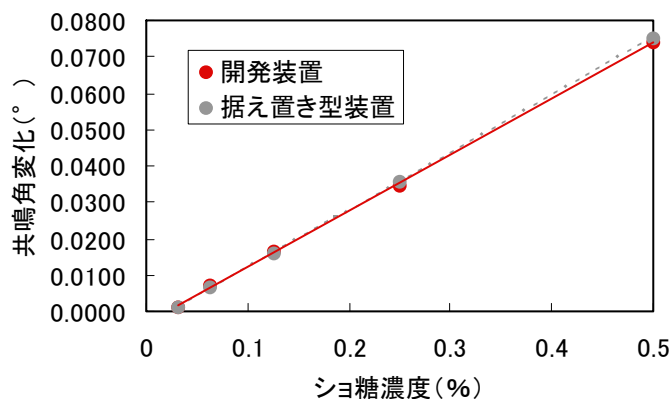


- 要求される検査法: **迅速、高感度、正確**

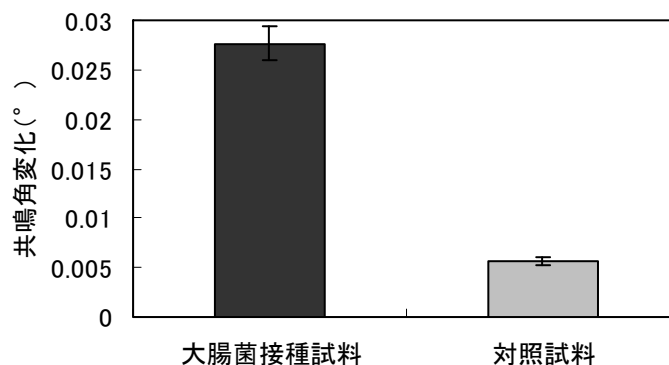


<SPR装置の基本特性試験>

金薄膜表面の屈折率変化を引き起こす標準化学物質としてショ糖を用いた。



<牛乳からの大腸菌の検知試験>



【今後の展開】

S P R法は自動化に適した測定方法と考えられ、全工程の自動化に取り組んでいきます。その過程で装置を改良することで、全工程で9時間という今回の所要時間のさらなる短縮を図ることができると考えられます。

また、この度牛乳中の大腸菌の検知に成功したことで、今後他の飲料中の大腸菌群さらに広く一般に食中毒細菌の検知にも適用していきます。

現在、保健所は食中毒細菌検査を行なっていませんが、本技術開発により検査の簡易・迅速化が達成されるので、今後、各保健所でも食中毒細菌検査が可能になることが期待されます。将来的には、本装置を車載にすることで「動く検査室」へと発展させる予定です。

【問い合わせ先】

<全般について>

九州大学大学院システム情報科学研究院 教授

「安全・安心のためのバイオエレクトロニクス技術の研究開発とセンシングL S I化」プロジェクトマネージャー 都甲 潔

〒819-0385 福岡市西区元岡744 ウェスト2号館458号室

電話：(092)802-3748

ファックス：(092)802-3770

電子メール：toko@ed.kyushu-u.ac.jp

<プロジェクトについて>

(財)福岡県産業・科学技術振興財団(福岡I S T)

副事業総括 力武 知嗣

〒814-0001 福岡市早良区百道浜3-8-33

電話：(092)832-7155

ファックス：(092)832-7152

電子メール：rikitake@ist.or.jp

国際ビジネスマッチングコーディネーター 呉 英順

電話：(092)832-1717

ファックス：(092)832-1700

電子メール：go-eijun@lab-ist.jp

<開発内容について>

(財)福岡県産業・科学技術振興財団(福岡I S T) 研究員 小林 弘司

〒812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1

九州大学大学院農学研究院 食品衛生化学研究室

電話：(092)642-3025

ファックス：同上

電子メール：kobaibc@agr.kyushu-u.ac.jp