

抗体集積化磁気ナノ粒子を用いたサルモネラ検出方法の開発

琉球大学医学部保健学科生体代謝学分野・准教授 作道 章一

■ 目的

サルモネラ検出に用いられることの多い培養法は、判定までに3～5日を要する。このため、簡便で迅速かつ高感度に検出できる方法の開発が求められている。我々は平成22年度に財団法人旗影会より研究助成を受け、窒素ガスプラズマによる鶏卵の殺菌消毒法の開発を行ってきた。本研究では、このガスプラズマ技術を応用して効率的にアミノ基を表面修飾した磁気ナノ粒子を作製し、サルモネラに選択性を持った抗体を多数結合させた抗体集積化磁気ナノ粒子をもちいたサルモネラ高感度検出系の開発を行った。

■ 方法

直流アーク法により作製したグラフェン層でカプセル化された磁性体ナノ微粒子を用いた。アンモニアの雰囲気下で高周波プラズマを発生させることで、磁気ナノ微粒子の表面にアミノ基を修飾させた。そこに、カップリング剤であるSPDP(*N*-Succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionate) (Dojindo)を反応させ、アミノ基と抗体のカルボキシル基を架橋した。サルモネラに対する抗体(anti-*Salmonella* O-antigen)を結合した抗体集積化磁気ナノ粒子はサルモネラ懸濁液と混和した後、磁気フィールドを用いて回収した。サルモネラは初発X1サルモネラ懸濁液とそれをPhosphate buffered saline(PBS)で1000倍希釈した液を初発X1000サルモネラ懸濁液を用いた。それぞれ、磁性フィールドを用いて回収した際の各フラクションに存在するサルモネラをシート状培地(サニ太くん)で培養計測した。市販されている抗体結合磁性ナノ粒子(Dynabeads® anti-*Salmonella*)も同様の条件で実験し結果を比較した。

■ 結果および考察

まず、Dynabeads® anti-*Salmonella* を利用した濃縮率と吸着率を測定した。初発菌数X1の場合濃縮率が5.7倍であり吸着率は8.2%であった。初発菌数X1000の場合、濃縮率0.969倍、吸着率8.1%であった。本研究で作製した抗体集積化磁気ナノ粒子の場合、初発菌数X1では濃縮率70.9倍吸着率34.1%であり、初発菌数X1000では濃縮率27.5倍、吸着率18.9%であった。

サルモネラを原因とする食中毒の発生件数や患者数は、毎年上位にランクされ、鶏肉、豚肉、牛肉、乳製品、鶏卵などが主な原因食品と考えられているが、原因食品が同定できない場合も多い。サルモネラを含む細菌性食中毒を防止するには、早期に汚染食品を検出し、その流通対策を講じることが、被害の拡大防止に欠かせない。本研究により、サルモネラに選択的に濃縮回収できる抗体集積化磁気ナノ粒子を作製することができた。抗体集積化磁気ナノ粒子は市販のサルモネラ濃縮用磁性ビーズであるDynabeads® anti-*Salmonella* よりも高濃縮率かつ高吸着率でサルモネラを濃縮できた。さらに、高濃度のサルモネラ液からも低濃度のサルモネラ液からも効率的に濃縮および吸着が可能であった。これらのことより、抗体集積化磁気ナノ粒子をもちいることで迅速かつ高感度なサルモネラ検出が可能になるものと考えられる。

■ 結語

ガスプラズマ技術を応用して効率的にアミノ基を表面修飾した磁気ナノ粒子にサルモネラに対する抗体を多数結合させたビーズ(抗体集積化磁気ナノ粒子は、市販のサルモネラ濃縮用磁性ビーズであるDynabeads® anti-*Salmonella* よりも高濃縮率かつ高吸着率を示した。したがって、抗体集積化磁気ナノ粒子は汚染食品からの迅速かつ高感度なサルモネラ検出を可能にし、食中毒対策に貢献することができるものと考えられる。