



大阪科学・大学記者クラブ 御中
(同時提供先：文部科学記者会、科学記者会)



2022年8月8日

大阪公立大学

金属から出る光の色を用いて 食中毒を引き起こす細菌を迅速かつ同時に識別することに成功！

<本研究のポイント>

- ◇金属ナノ粒子とポリマー粒子^{*1}の複合体に細菌の抗体を導入した検査標識を開発。
- ◇散乱光^{*2}の色の違いから、腸管出血性大腸菌（O26、O157）、黄色ブドウ球菌を同時に識別することに成功。
- ◇細菌の培養を必要としないため、1時間以内での迅速な検査が可能。

<概要>

大阪公立大学大学院 工学研究科 物質化学生命系専攻の椎木 弘教授、板垣 賢広大学院生（博士前期課程2年）、田邊 壮氏（大阪府立大学大学院 工学研究科 博士前期課程修了）らの研究グループは、金、銀、銅のナノ粒子とポリマー粒子からなる複合体がそれぞれ白、赤、青の散乱光を示すことを利用し、腸管出血性大腸菌（O26、O157）や黄色ブドウ球菌を迅速かつ同時に識別することに成功しました。

食品や医療、環境などさまざまな分野で行われている細菌検査には、培養法や標識法などが用いられていますが、培養に時間がかかる、標識の寿命が短い、複数菌種の同時識別が不可能であるなどの問題点がありました。

本研究では、金、銀、銅のナノ粒子とポリマー粒子からなる複合体がそれぞれ白、赤、青の異なる散乱光を示すことを利用し、金ナノ粒子複合体に O26、銀ナノ粒子複合体に O157、銅ナノ粒子複合体に黄色ブドウ球菌の抗体を導入した検査標識を開発しました。これらに O26、O157、黄色ブドウ球菌を結合させ、顕微鏡で観測したところ、O26 は白色、O157 は赤色、黄色ブドウ球菌は青色の散乱光として識別することに成功しました（図1）。また、従来の方法では複数菌種の識別は技術的に不可能でしたが、本標識を用いることで細菌を迅速に同時識別することに成功しました。

本手法では、導入する抗体を変えることでさまざまな菌種を識別できるほか、検査に細菌の培養を必要とせず、1時間以内での迅速な検査が可能なため、今後新たな検査手法としての実用化が期待されます。

本研究成果は、米国化学会が刊行する国際学術誌「Analytical Chemistry」に、2022年7月25日にオンライン速報版として掲載されました。

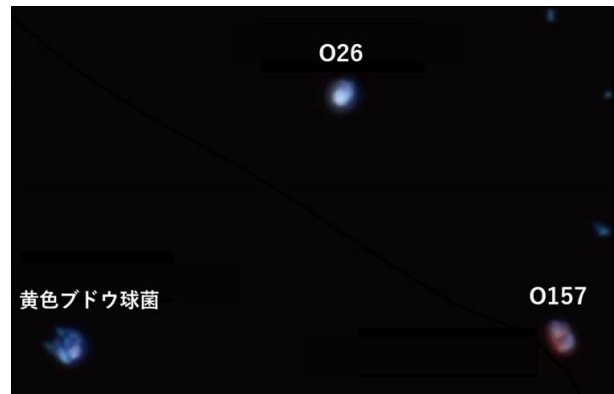


図1 散乱光の色により同時識別された細菌

独自のナノバイオ材料の開発により、新しい検出原理、検査法の確立を目指しています。この開発を通じて、食の安心・安全の確保のみならず、機能性食品の安定供給や品質管理、医療、創薬、公衆衛生などの観点から安全で豊かな社会の形成に貢献したいと考えています。



椎木 弘教授

<研究の背景>

国内における食中毒事故は毎年約 1 千件発生し、被害者は 1 万人を超えており、その内 90% 以上は微生物を原因としたものです。給食や弁当・総菜などを扱う工場では、公定法に準じた細菌検査が実施されていますが、検査には培養を要するため結果は 48 時間後、つまり出荷後に判明します。このことから、食中毒事故の抑制のためには出荷前に判定可能な迅速検査法の開発が切望されています。

これまで、蛍光物質や金ナノ粒子を結合した抗体が特定細菌の表面構造に特異結合することを利用して、細菌の標識化が行われてきましたが、蛍光物質の化学安定性や蛍光寿命に課題があるほか、金ナノ粒子の表面プラズモンに基づく発色は単色であるため、複数菌種の識別は技術的に不可能でした。

<研究の内容>

本研究ではまず、ポリマー粒子に多数の金属ナノ粒子が内包された構造からなる複合体（金属/ポリマーハイブリッド（図 2））が、同サイズの金ナノ粒子に比べて強い散乱光を生じることを明らかにしました。これは、複合体がポリマーを母体として多数の金属ナノ粒子が直接接することなく高密度に分散した構造を有しており、複体内において光の吸収・散乱が効率的に行われているためです。この複合体の散乱光は、空気中においても長期間安定であることから、安定で高感度な標識物質として機能することが期待されます。さらに、この複合体は、金属種（金、銀、銅）によって異なる色（白、赤、青）の散乱光を示すことを明らかにしました（図 3）。

そこで、これらの複合体に腸管出血性大腸菌（O26、O157）や黄色ブドウ球菌に対して特異結合^{※3}する抗体をそれぞれ導入し（図 4）、これらを標識として特定細菌への結合性を確認しました。その結果、顕微鏡観察下において大腸菌 O26 は白色、O157 は赤色、黄色ブドウ球菌は青色の散乱光として観察されました。さらに、種々の菌種を含む腐敗肉試料に、O26、O157、黄色ブドウ球菌を所定量添加した試料を作製し、これらの標識を用いたところ、特定菌種を同時識別することに成功しました。

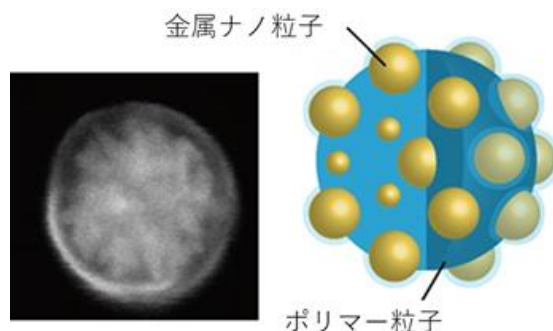


図 2 複合体の透過型電子顕微鏡像と構造

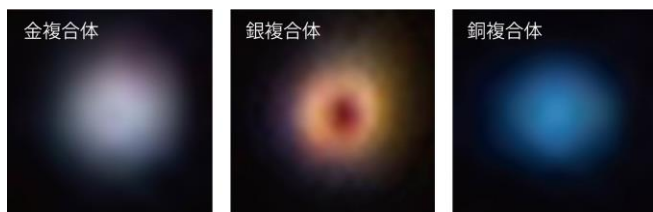


図 3 金、銀、銅のナノ粒子からなる各複合体の光散乱特性

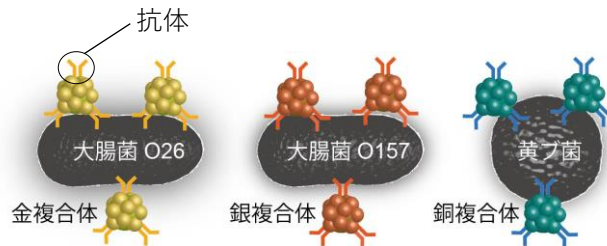


図 4 複合体による各種細菌の標識化の概念図

<期待される効果・今後の展開>

本手法では、導入する抗体を変えることで、さまざまな細菌を標的とする標識の作製が可能となります。また、検査に細菌の培養が必要でないため、1時間以内に細菌の検出が可能です。このことから、食の安心・安全の確保、機能性食品の安定供給や品質管理、医療、創薬、公衆衛生など、さまざまな用途において事業所レベルでの自主管理が可能となり、安心・安全で豊かな社会の形成に貢献できると考えられます。今後は、種々の標的に対応可能な複合体の開発や複合体の特性に着目した新たな検出法の開発により実用化を目指します。

<資金情報>

本研究の一部は、JST 研究成果展開事業 大学発新産業創出プログラム (START) (JPMJST1916)、科学研究費助成事業 (科研費) 基盤研究 (A) (KAKENHI 21H04963) からの支援を受けて行われました。

■掲載誌情報

【発表雑誌】 Analytical Chemistry (IF=6.986)

【論文名】 Simultaneous Optical Detection of Multiple Bacterial Species Using Nanometer-Scaled Metal–Organic Hybrids

【著者】 So Tanabe, Satohiro Itagaki, Kyohei Matsui, Shigeki Nishii, Yojiro Yamamoto, Yasuhiro Sadanaga, Hiroshi Shiigi

【論文 URL】 <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c01188>

<用語解説>

- ※1 ポリマー粒子…ポリマーを主成分とする球状構造物のことで、本開発では粒径 100 nm のサイズの粒子が多数の金属ナノ粒子を内包した構造を有している。
- ※2 散乱光…光を物質に入射させると、物質が入射した光を吸収すると同時に光を四方八方に放出する現象のこと。本開発では、細菌細胞に結合した複合体の散乱光に着目した検出を行っている。
- ※3 特異結合…物質が特定の物質とだけ結合する結合のことで、本開発では、複合体に結合した抗体が、細菌表面の特定の抗原とだけ反応する性質を利用している。

【研究内容に関する問い合わせ先】

大阪公立大学大学院 工学研究科
教授 椎木 弘 (しいぎ ひろし)
T E L : 072-254-9875
E-mail : shii@omu.ac.jp

【報道に関する問い合わせ先】

大阪公立大学 広報課
担 当 : 竹内 春奈
T E L : 06-6605-3411
E-mail : koho-list@ml.omu.ac.jp