

Development of a Rapid and Simultaneous Detection Method for Multiple Foodborne Pathogens Using Surface Plasmon Resonance Biosensor

張, 暁光

<https://hdl.handle.net/2324/1441322>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名： 張 暁光

論文題名： Development of a Rapid and Simultaneous Detection Method for Multiple Foodborne Pathogens Using Surface Plasmon Resonance Biosensor
(表面プラズモン共鳴バイオセンサーによる食中毒細菌の一斉迅速検査法の開発)

論文審査の結果の要旨

本研究は、主要な食中毒細菌の簡易迅速同時検出法の開発を目的とし、*Escherichia coli* 0157:H7 (0157)、*Salmonella Enteritidis* (SE) および *Listeria monocytogenes* (LM) の3種類の主要食中毒細菌を一斉増菌後、特異抗体固定化チップを装着した表面プラズモン共鳴 (SPR) バイオセンサーによる同時検出法について検討したものである。

まず、シングルチャンネル SPR バイオセンサーを用いて、3 菌種の同時検出条件設定のため基礎的検討を行っている。菌体内抗原に対する抗体および菌体表面抗原に対する抗体をそれぞれ固定化したチップを装着した SPR バイオセンサーを用いて、試料前処理法について種々検討した。その結果、菌体内および菌体表面抗原の検出いずれにも超音波破碎処理が最適であることを示している。

次に、3 菌種の同時検出条件設定のため、各細菌の超音波破碎処理液を混合したものを試料として各細菌特異的ポリクローナル抗体を固定化したチップを用いて測定した。その結果、非標的細菌が同濃度共存した場合には抗体との交差反応により標的細菌の検出が妨害されるが、超音波破碎処理液の遠心分離沈殿懸濁液を試料とすることで交差反応は低減され、3 菌種の特異的な検出が可能であることを示している。このときの検出下限は 0157 : 1.8×10^6 CFU/ml、SE : 9.0×10^6 CFU/ml、LM : 18×10^6 CFU/ml であった。また、初発菌数 1~30 CFU/250 ml で 24 時間混合培養後に集菌した菌体の超音波破碎沈殿の懸濁液からも抗体固定化チップを用いて 3 菌種の特異的な検出が可能であることを示している。

これらの結果をもとに、チャンネル毎に異なる食中毒細菌特異的ポリクローナル抗体を固定化した 5 チャンネルの SPR バイオセンサーを用いて 3 菌種の同時検出について検討している。純粋培養菌の超音波破碎沈殿懸濁液を試料として試験した結果、 10^8 CFU/ml の非標的細菌共存下でも本マルチチャンネル SPR バイオセンサーにより、0157 : 0.6×10^6 CFU/ml、SE : 1.8×10^6 CFU/ml、LM : 7.0×10^6 CFU/ml をそれぞれ特異的に検出できることを示している。各細菌を 1~30 CFU となるように接種した鶏肉の培養液において、3 菌種を特異的に検出できたことから、その実用性も明らかにしている。

さらに、より高感度かつ特異的に同時検出するため、3 種類の食中毒細菌それぞれに対するモノクローナル抗体の作製にも成功している。

以上要するに、本研究は、主要な食中毒細菌のマルチチャンネル SPR バイオセンサーによる同時検出法を開発し、その実用性を示したものであり、食品衛生化学および食品微生物学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。