

カドミウム簡易検出キットを商品化

イムノクロマトグラフィー法を利用したバイオセンサーを開発

カドミウムに反応する抗体を新たに作り出す
大型分析機器に劣らない測定感度
測定キットを販売開始

ひとこと 環境科学研究所 バイオテクノロジー領域 主任研究員 佐々木 和裕

カドミウムに反応する抗体を新たに作り出す

食の安全への関心が世界的に高まる中、国際的な政府間機関であるコーデックス（CODEX）委員会が、精米に含まれるカドミウムの上限を0.4ppm（=0.4mg/kg）と決めました。日本政府もこの基準の批准を検討しており、食品に含まれるカドミウムを測定する簡便で低コストな方法の開発が待たれています。

電力中央研究所はカドミウムを抗原とする抗体を作り出し、これをバイオセンサーへ利用することに成功し、このほど関西電力株式会社と株式会社住化分析センターと共同で商品化しました。

国際食品規格づくりが進む

コーデックス委員会は消費者の健康保護と公正な食品貿易の確保のため1962年に設立され、現在174カ国が参加しています。委員会は健康に影響を及ぼす物質として重金属に注目し、2006年には毒性の強いカドミウムについて精米と海産二枚貝などの含有量基準値を決めました。これを受けて日本でも、食品からのカドミウム摂取に関するリスク評価などが農林水産省で予定されています。

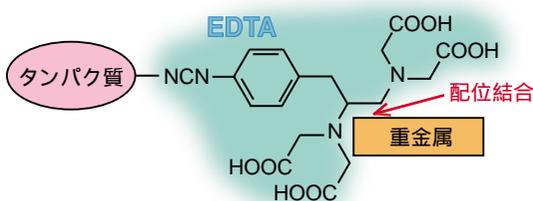
電力中央研究所では以前より抗原抗体反応を利用したバイオセンサーの実用化に取り組み、重金属を対象とした抗体の開発を進めてきました。今回、この抗原抗体反応を利用し米を対象として、カドミウムの簡易測定法の開発に取り組みました。

抗体を選び抜く

抗原抗体反応では新しい抗体を作るために、抗体反応の原因となる物質（抗原）をマウスに数回注射し、これに対する免疫反応を起こさせ、抗体を分泌する細胞を作り出します。抗原が金属の場合、金属原子のイオンが小さくすぐに体外へ排出されてしまうため免疫反応が起きにくく、そのままでは抗体は作られません。金属原子と結合するEDTAを使い、分子の大きいタンパク質と結合させてから注射をするなどの工夫が必要です（図1）。

一つの個体内には抗体の分泌を行う細胞が数百万個以上ありますが、その中から抗原によく反応する抗体（モノクローナル抗体）を分泌する細胞を取捨選択していきます。

このような手法で、カドミウム、鉛、水銀などの重金属のモノクローナル抗体を作り出すことに成功しました（表1）。



| | 検出下限 | 環境基準 | 排水基準 |
|-------------|--------|----------------------------|--------|
| カドミウム (Cd) | 0.3ppb | 10ppb | 100ppb |
| 水銀 (Hg) | 0.3ppb | 0.5ppb | 5ppb |
| 亜鉛 (Zn) | 1.0ppb | 30ppb(淡水域) | 5ppm |
| 銅 (Cu) | 10ppb | 土壌1kgにつき 125mg未満(水田に限る) | 5ppm |
| クロム(Ⅲ価)(Cr) | 20ppb | 50ppb | 500ppb |

図1 EDTAの分子構造

EDTAは、エチレンジアミン四酢酸（ $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ）のことで、金属イオンと配位結合（2つの原子の一方からのみの化学結合）する。

表1 電力中央研究所が開発した
重金属モノクローナル抗体とその感度

*1ppb = 1000ppm。今回開発したバイオセンサーとは別の方法で測定

大型分析機器に劣らない測定感度

簡単な操作で、10分ほどで測定

今回開発したバイオセンサーには、イムノクロマトグラフィーと呼ばれる原理を採用しています。イムノクロマトグラフィー法は、ごく微量な物質を短時間で測定することができ操作も簡単なため、インフルエンザの診断などに使われています。

イムノクロマトグラフィー法に用いる抗体には、あらかじめ赤色の色素を付けています。この抗体とカドミウムを含む試料を混合すると、カドミウムと抗体が結合します(図2-A)。一方、キット内のテストラインにはカドミウムが固定されており(図2-B)ここに試料と抗体の混合液を流すと、試料中のカドミウムと結合できなかった抗体だけがテストラインに捕捉されます。試料中のカドミウムが少ない時ほどテストラインに捕捉される抗体が増え、発色が濃くなります。発色の度合いをリーダーで読み取り、溶液中のカドミウム濃度を測ります。当研究所が作製したバイオセンサーでは、0.005ppm以上のカドミウムを検出できます。

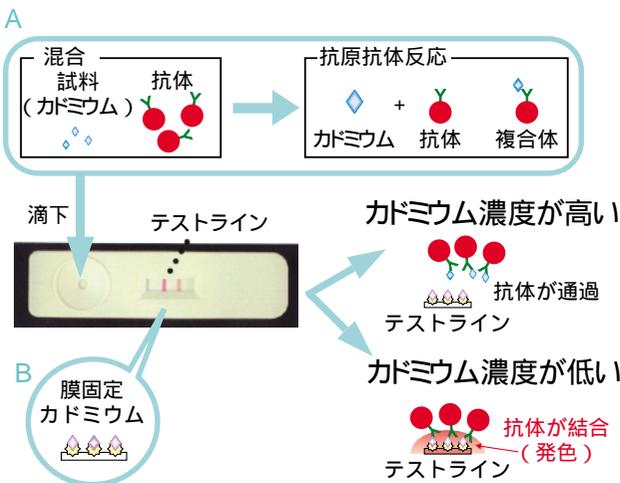


図2 イムノクロマトグラフィー法のメカニズム

玄米中のカドミウムを100%抽出

玄米中のカドミウムをイムノクロマトグラフィー法で精度よく測定できるように、成分測定用の試料を簡単に調整する前処理の方法も開発しました。

玄米中のカドミウムの測定にあたっては、玄米を砕き希塩酸溶液に浸し、カドミウムを溶かし出します。この時、抗原抗体反応を阻害する成分も同時に溶け出すため、カドミウムだけを分離・回収するカドミウム吸着カラムを開発しました。このカラムを用いることによって、簡単な操作で玄米中のカドミウムをほぼ100%回収できるようになりました。

この前処理方法とイムノクロマトグラフィー法を組み合わせ、玄米中のカドミウム濃度の測定を行いました。その測定の結果を、現在最も信頼性が高いとされる大型分析機器の測定結果と比較したところ、両者は非常に良く一致していました(図3)。この他にも、稲の茎葉部、そば粉などのカドミウム含量の測定が可能なることを確認しています。

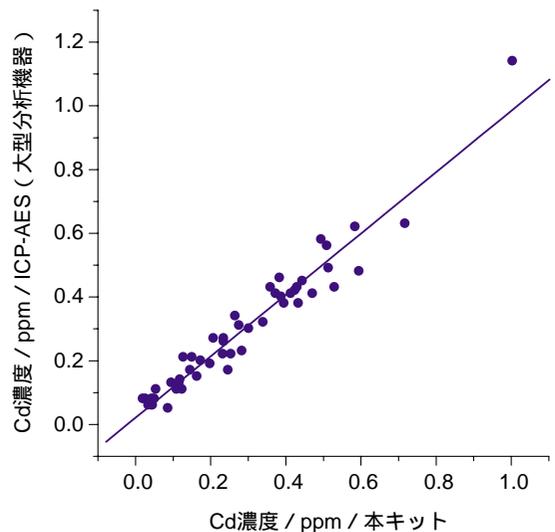


図3 大型分析機器との比較

測定キットを販売開始

商品化の実現

これまでの研究成果をもとに、関西電力(株)と(株)住化分析センターと共同で、農業の現場で扱いしやすいキットを商品化し、「カドミエールCd」の名称で8月から試験販売が開始されました(図4)。従来の方法と比べ、測定時間、コストが大幅に削減できるとして注目を集めています。



図4-1 「カドミエールCd」前処理キット
A:ろ紙 B:試薬 C:固相カラム ほか



図4-2 「カドミエールCd」測定部キット
A:イムノクロマトグラフィー B:抗体
C:クロマトリーダー

測定対象を広げて

重金属の簡易測定法は米ばかりでなく、土壌汚染の調査方法としても社会的ニーズが高まっています。そこで、鉛やクロムなどの重金属へも測定対象を拡大し、土壌分析などの環境分野への適用を図るため、新しいバイオセンサーの開発に取り組んでいきます。

ひとこと



環境科学研究所
バイオテクノロジー領域
主任研究員

佐々木 和裕

基礎的な抗体作りから始まり、それが成功するやセンサーの開発に着手、さらにそれが十分な性能を持つことが分かった、最後は商用化にまで進展しました。順風満帆と思われるかもしれませんが、研究が進むに従い増えた外部の方々との共同作業などにより、自力だけでは実現できない多くのことを達成できたことが大きかったと思います。一緒に仕事をさせて頂いたすべての方々へ感謝するとともに、今回の貴重な経験を今後の研究に活かしていきたいと思っています。

既刊「電中研ニュース」ご案内

- No.443 排出権取引制度は温暖化防止につながるか?
- No.442 環境税は温暖化防止につながるか?

- No.441 DNA鑑定を利用した野生動物調査法を開発
- No.440 地震に対する建物の安全性を簡便に予測