

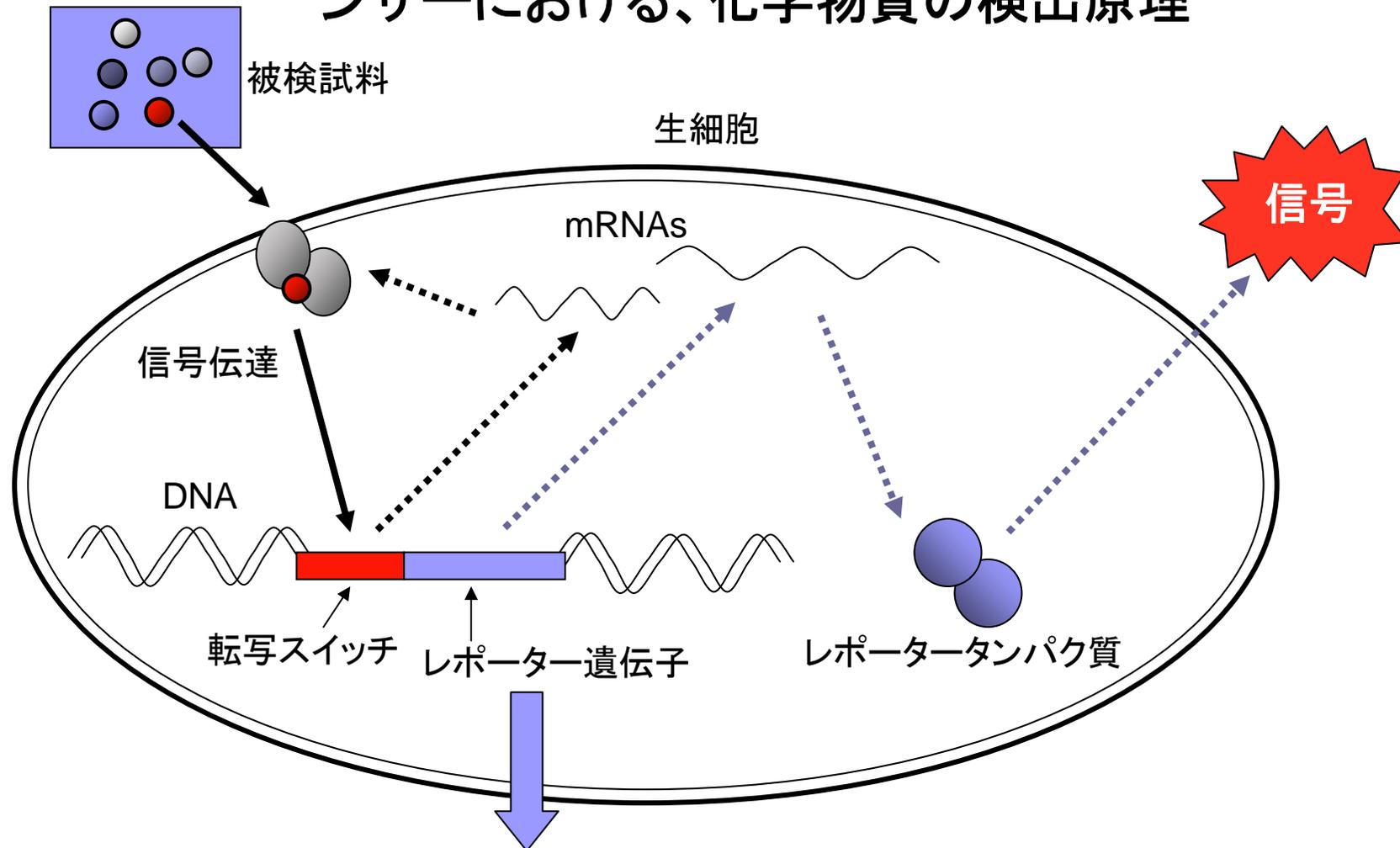


微生物バイオセンサーを用いた有害 金属の簡易検出とその応用

インテック(株) 代表取締役 井上 襄

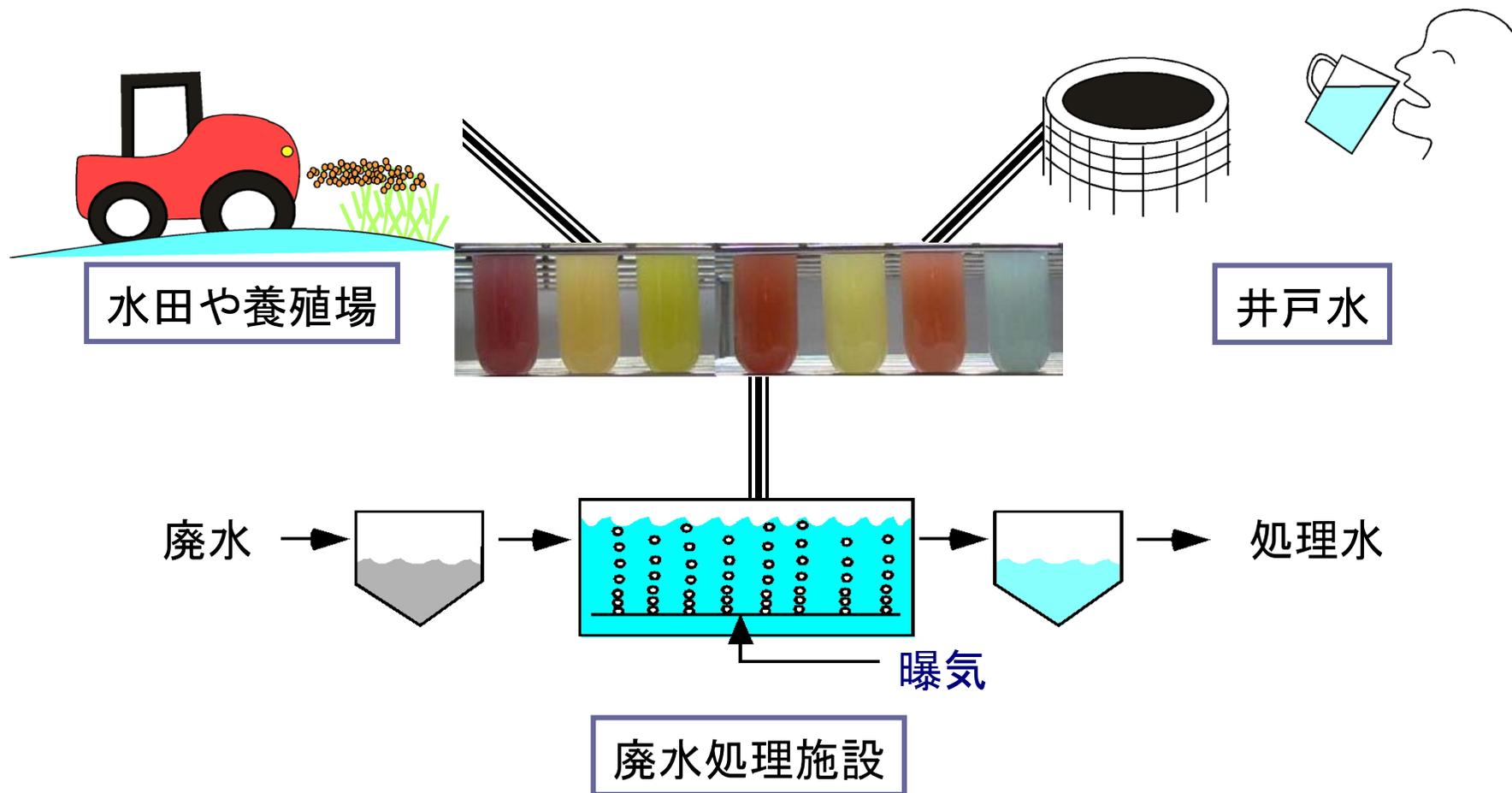
宇都宮大学農学部 准教授 前田 勇

遺伝子組み換えにより育種された微生物バイオセンサーにおける、化学物質の検出原理



カロテノイド合成系遺伝子

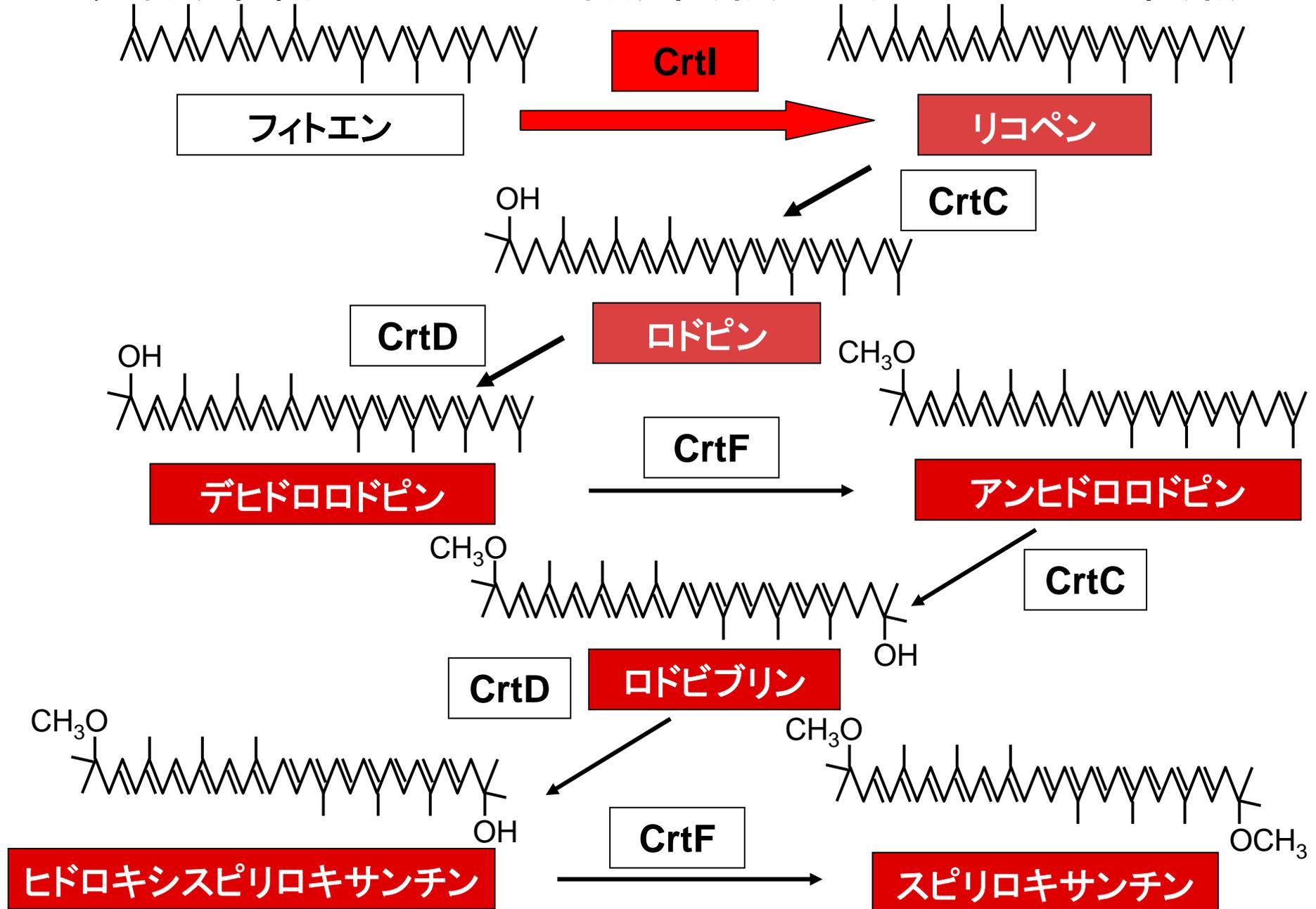
水試料中の有害金属を簡易検出するバイオセンサーの用途



レポーター遺伝子の特性から見た従来技術との比較

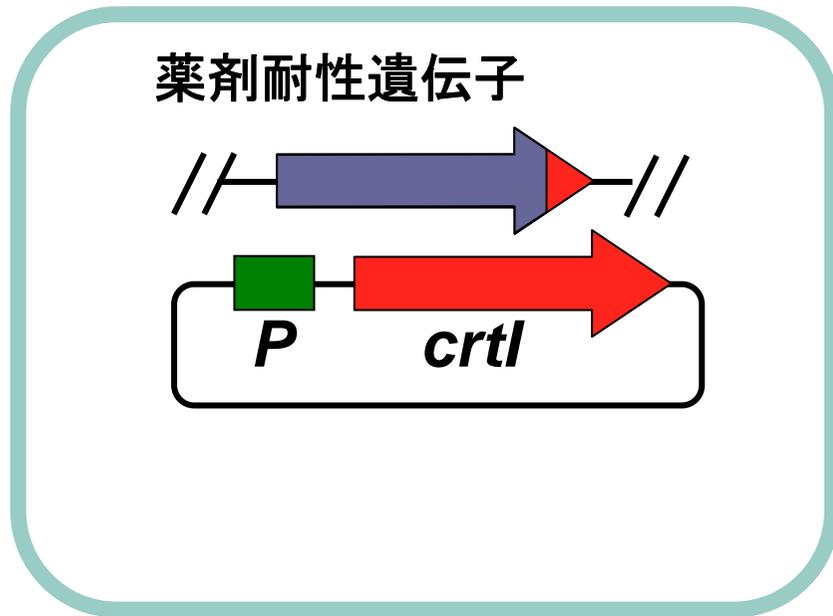
| レポーター遺伝子 | 検出に特定の環境や装置が必要でない | 検出に発色試薬が必要でない |
|----------------------|-------------------|---------------|
| カロテノイド合成遺伝子 | ○ | ○ |
| ホタル発光遺伝子 | 暗所 | D-ルシフェリン |
| 発光細菌 発光遺伝子 | 暗所 | ○ |
| オワンクラゲ 緑色蛍光タンパク質 | 励起光源と暗所 | ○ |
| 大腸菌β-ガラクトシダーゼ 遺伝子 | ○ | X-Gal |

光合成細菌のカロテノイド合成経路(スピリロキサンチン経路)

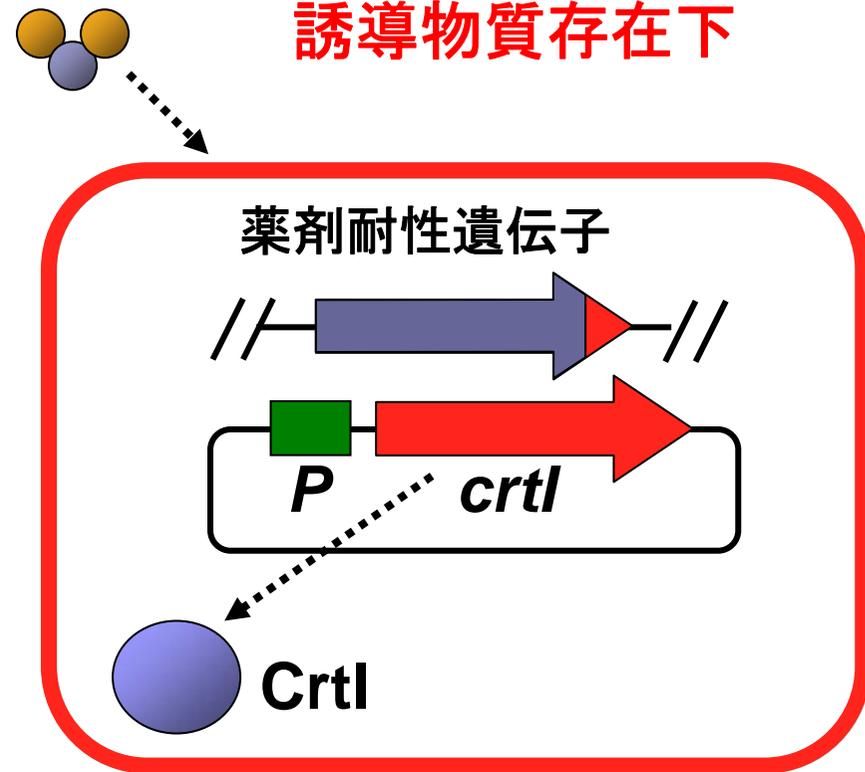


微生物バイオセンサーによる被検試料中の誘導物質の検出原理

誘導物質非存在下



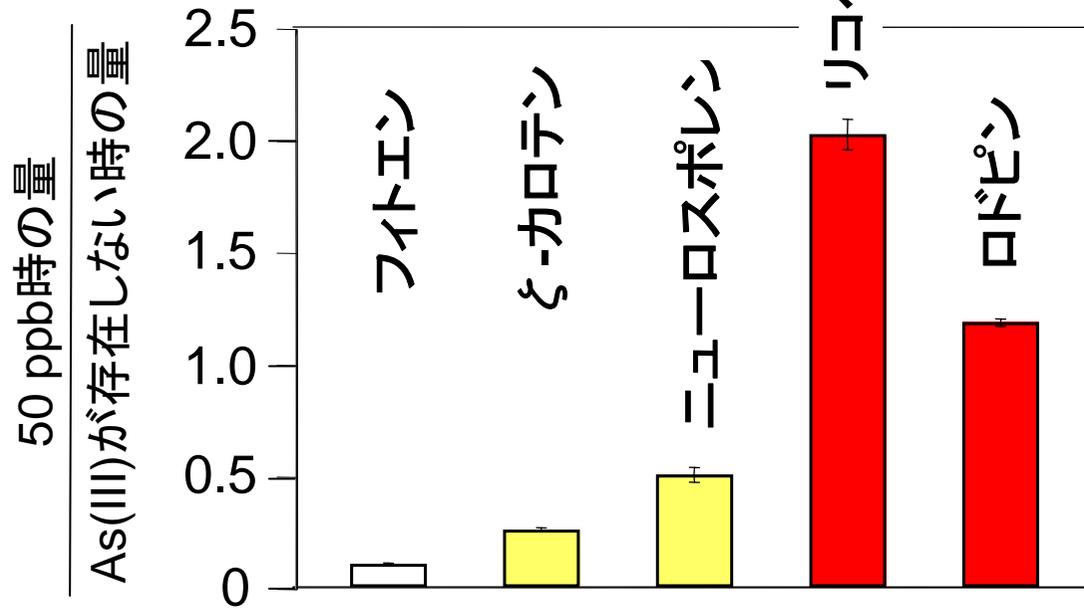
誘導物質存在下



バイオセンサー株
P, 転写スイッチ

亜ヒ酸による微生物バイオセンサーのカロテノイド組成変化

微生物バイオセンサーが
亜ヒ酸を検出するとトマ
トの色素を合成

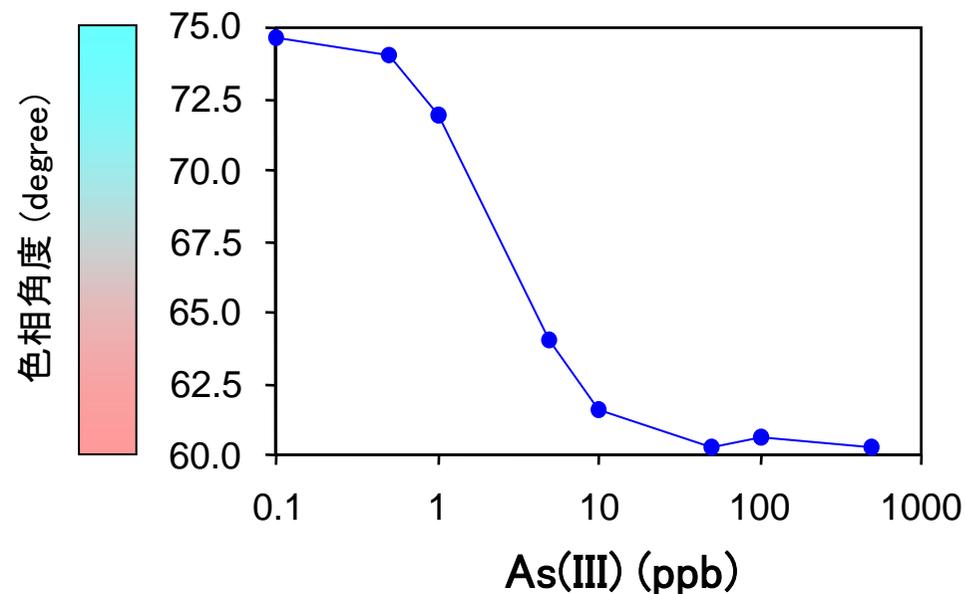


ヒ素検出用バイオセンサーの亜ヒ酸検出時の色変化



0 0.1 0.5 1.0 5.0 10 50 100 500

As(III) (ppb)



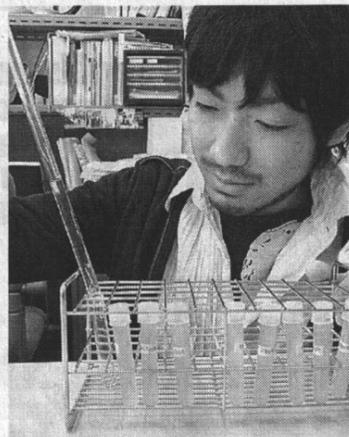
色座標系による色の評価

理化学機器や発色試薬に依存せず、環境中のヒ素汚染の簡易検出が可能になった。

2009年(平成21年)1月8日(木曜日)

水中ヒ素汚染 微生物で検出

宇都宮大など開発



開発したヒ素を検出する微生物センサー

宇都宮大学農学部の前田勇准教授らは、環境コンサルタンツ会社と共同で、水中のヒ素汚染を目視で検出できる微生物センサーを開発した。微生物を入れた試験管に検査対象の液体を入れると、ヒ素が含まれている場合に微生物が変色して水が赤くなる。高価な分析機器を使うことなく、素人でも安価で簡単にヒ素の有無を検査をすることができるといふ。

素人も目視で 食品向け 販売計画

共同開発したのは環境コンサルタンツのインテック(東京都足立区)とテクノサイエンス(同)。両社は地下水の汚染測定に使用したり、センサーを食品会社向けに販売したりすることを計画している。

微生物は有害な化学物質を感じると、特定の遺伝子が活動を始める。遺伝子組み換え技術により、この活動に連動して光を発する微生物センサーもできている。しかしこうした光を検出するためには専用機器が必要で、目視だけで微生物の色の変化が分かるセンサー

「はこれまで無かった。微生物センサーを開発した。前田准教授らはトマトの赤い色のものであるカロチノイド色素を合成する酵素を作り出す遺伝子に着目。この遺伝子と、ヒ素を感じると活動する遺伝子が連動した。世界保健機関(WH

このセンサーは凍結乾燥した微生物の粉末と栄養液、検査したい試料を試験管に入れて光を当てただけでヒ素を検出できる。世界保健機関(WH

あすから「ふるさと祭り東京」

宇都宮市やJAつつのみる。宇都宮の特色などで組織する「つつのみる」にPRし、知名度や農林産物ブランド化を売り上げ増を促進協議会」は、九日から東「ふるさと祭り

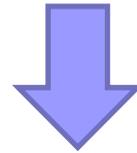
京ドームで開かれる「ふるさと祭り東京2009」に、九十二日宇都宮産のいちごやギョーザ、地ビールなどを出展す

いちごやギョーザ

産学連携の事例として
日本経済新聞(栃木版)
2009年1月8日に掲載された。

実用化に向けた課題

- 生(なま)の微生物バイオセンサーを用いて、硬水や軟水、地下水においてセンサーが機能することを確認した。



- 生の微生物バイオセンサーの活性損失を最小限に留める凍結乾燥法などの加工処理法の開発
- 食品が含有しセンサーの応答性を阻害する夾雑物の把握とそれらを効率的に除去する前処理法の開発



企業への期待

- 市場性を見込める食品・食材中の有害金属検査に本技術を応用展開したい。
- 生菌の加工処理技術の提供
- 食品検査における前処理技術の提供
- 食品検査あるいは環境計測における微生物バイオセンサーの用途開拓



想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、食品製造に適用することで産地初期加工水選定のメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、最終缶詰封入水チェックの効果も期待される。
- また、民生用途・農業用水において、有害含有物質を監視することも可能になる。



想定される業界

- 想定されるユーザー

食品製造メーカーの水煮缶詰加工製造工場
水質検査を担当する地域保健所等

- 想定される市場規模

水は、全ての食の分野に係わるので、市場規模は驚く程広く大きいと想定される。ヴェトナムの筍水煮だけを考えても、竹藪での初期処理用水源の数は500を超えている。さらに人参の水煮・さばの水煮・等、水が製品に包含される商品は数多くある。

凍結乾燥処理による微生物バイオセンサーへのダメージ

As(III) (ppb) 0 50



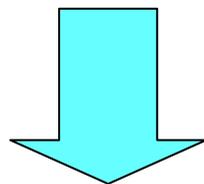
生の微生物センサー

0 50



凍結乾燥処理

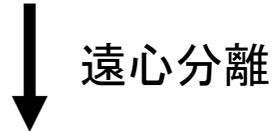
凍結乾燥処理により微生物バイオセンサーの増殖能が大幅に減少



凍結乾燥処理のダメージを軽減させるため保護剤を利用

凍結乾燥条件の検討

生の微生物バイオセンサー



菌体沈殿物

保護剤 (あ, い, う, え, お) を含む培地を添加

1. A条件の設定

2. B条件の設定

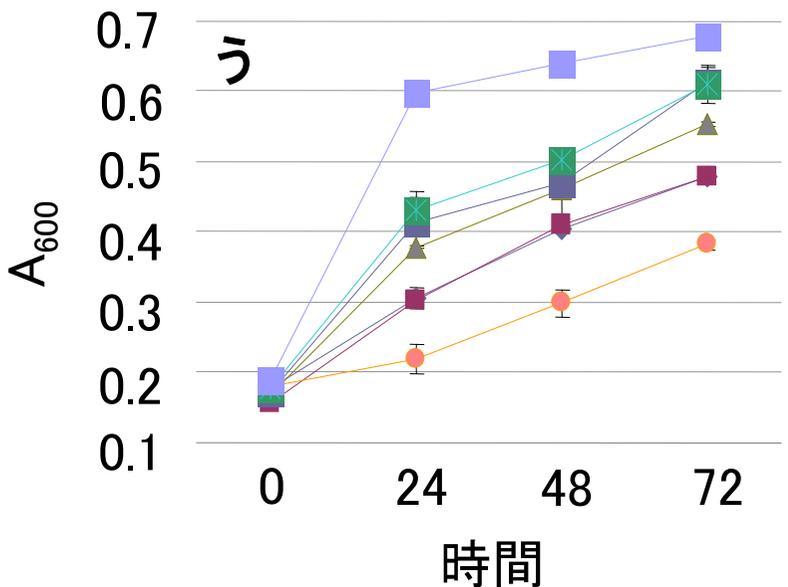
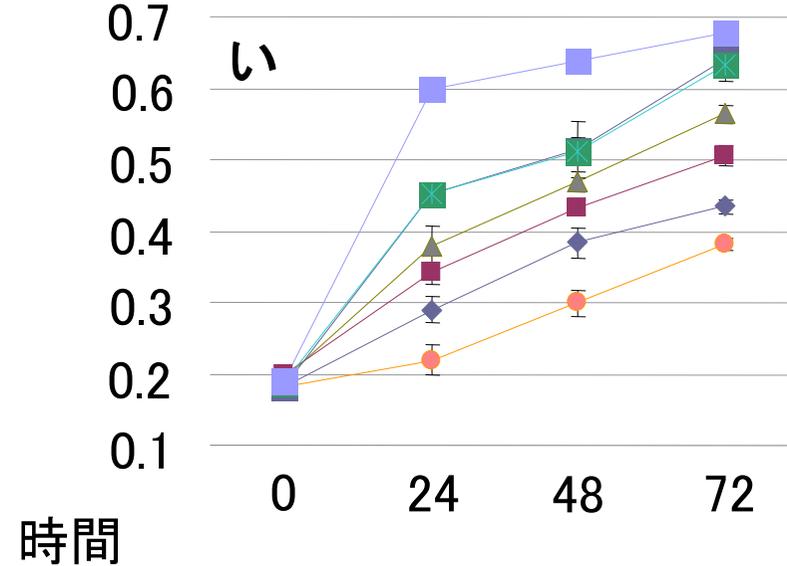
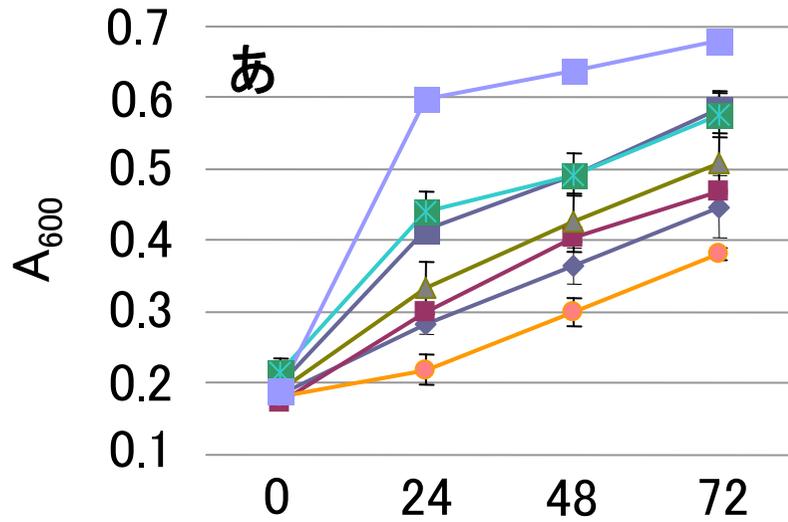
3. C条件の設定

液体窒素による瞬間凍結および凍結乾燥

滅菌水で復水

微生物センサーの増殖を評価

A条件の検討(1)

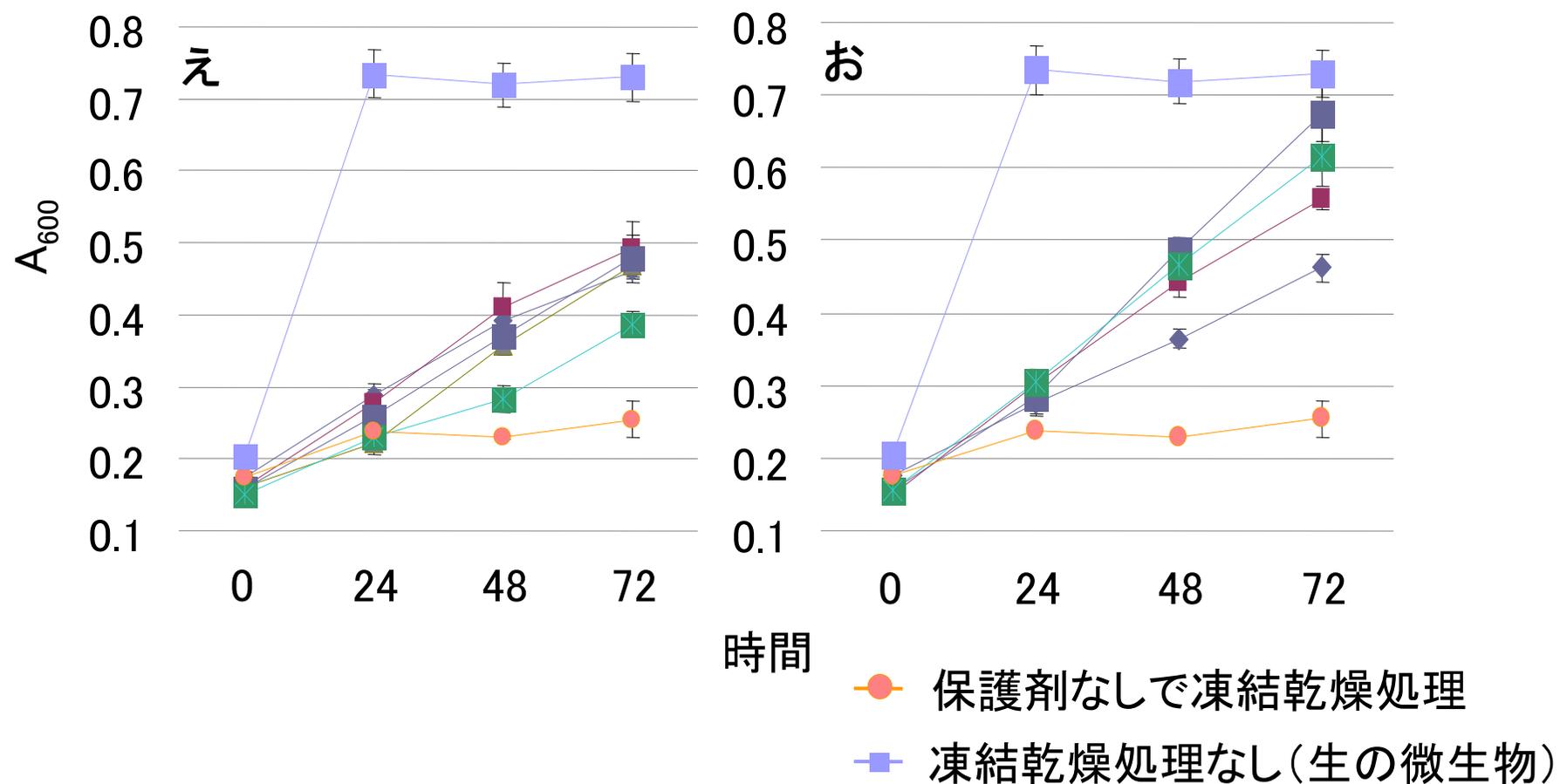


- 保護剤なしで凍結乾燥処理
- 凍結乾燥処理なし(生の微生物)

「保護剤なし」と比較して24時間後の増殖が有意に増加した

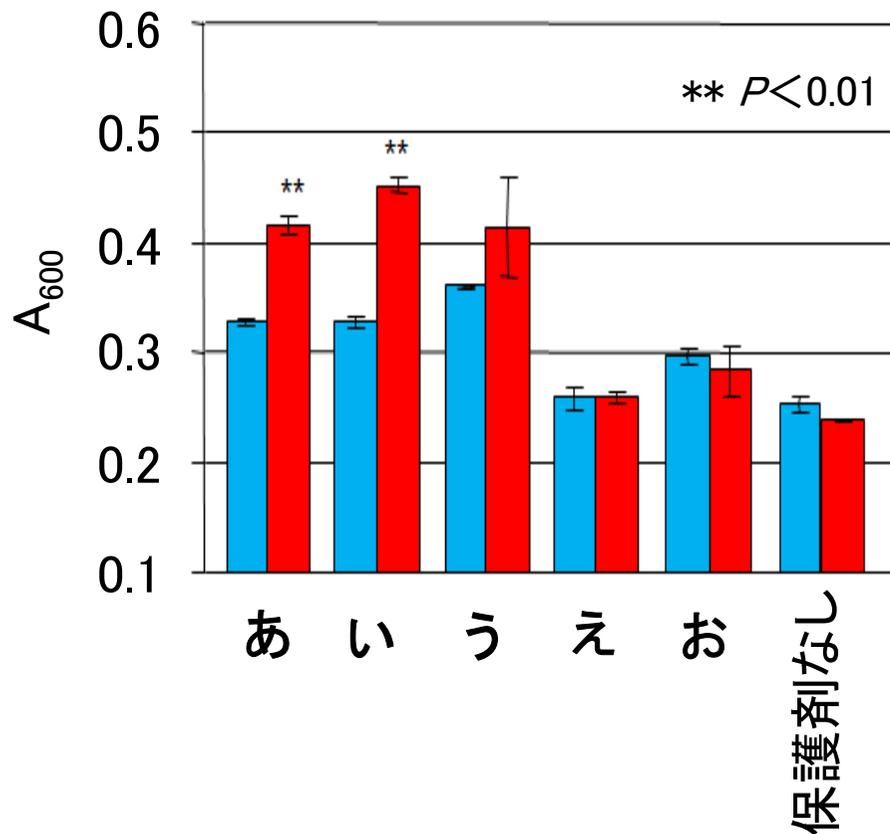
保護剤(あ)(い)(う)ではA条件の最適化が特に有効であった

A条件の検討(2)



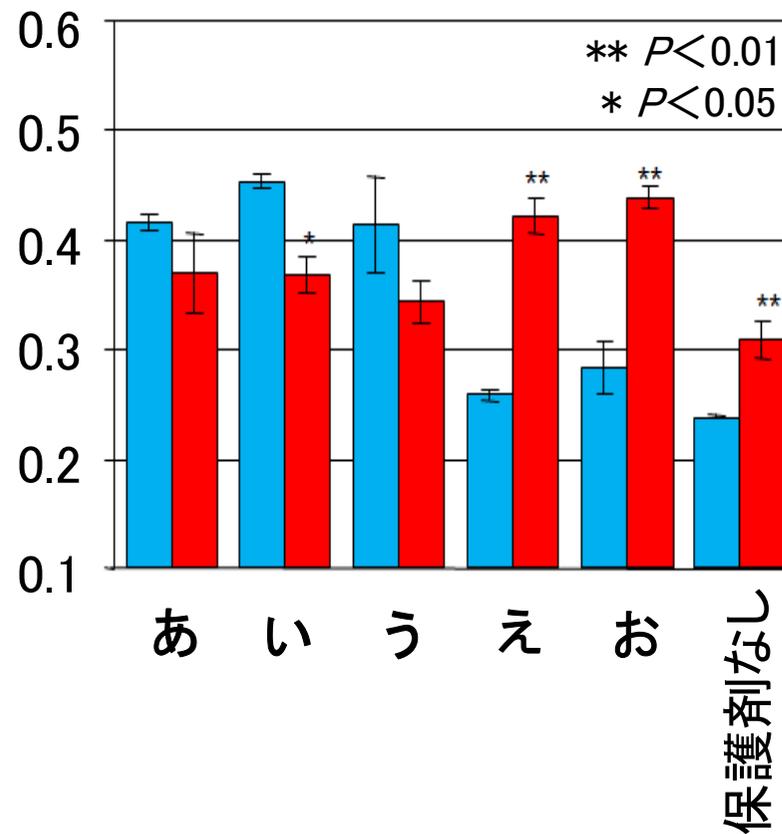
保護剤(え)(お)ではA条件により24時間後の増殖に増加が見られなかった

B条件の検討



保護剤(あ)(い)では、B条件による24時間後の増殖の増加が認められた

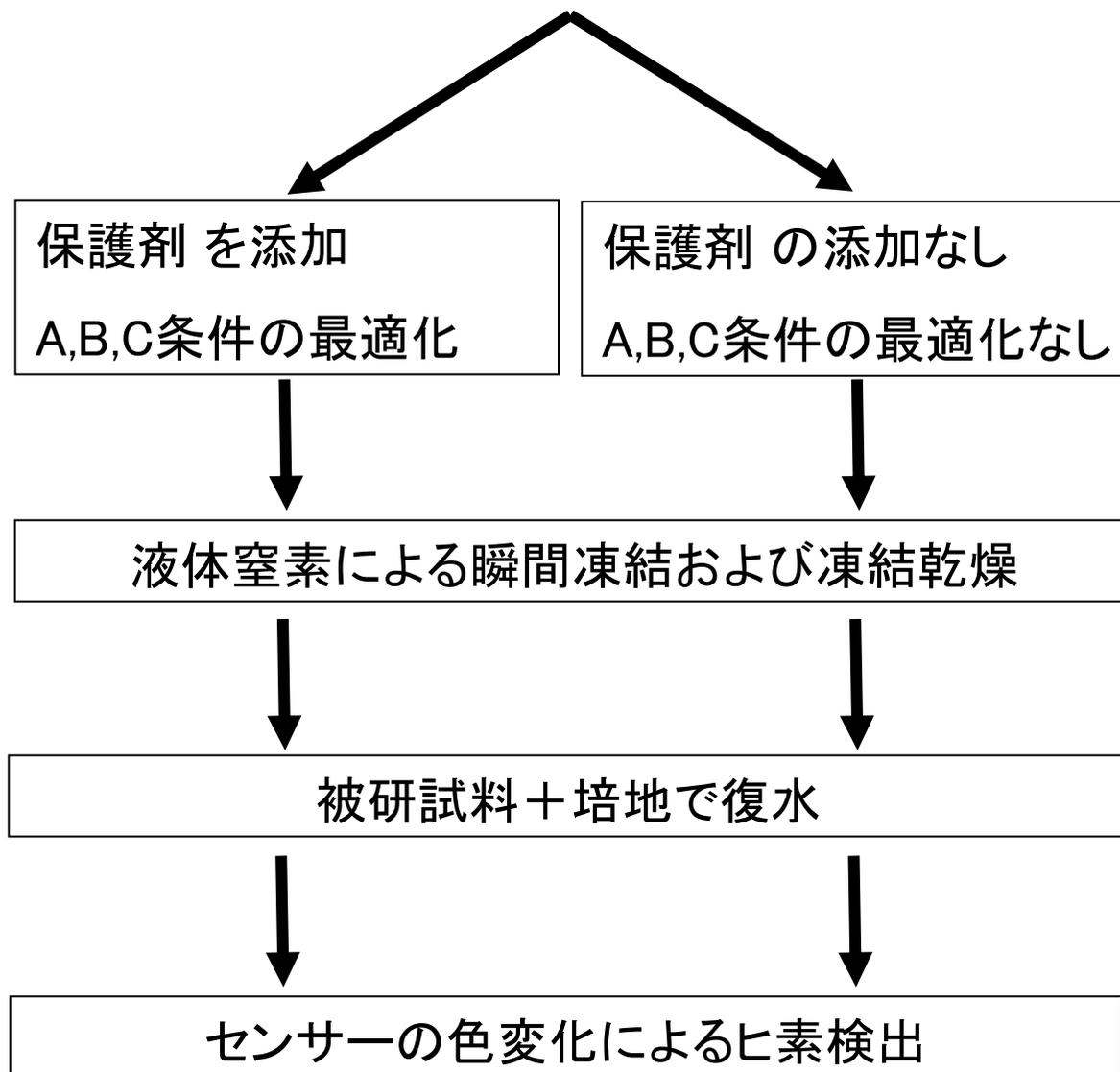
C条件の検討



保護剤(え)(お)では、C条件による24時間後の増殖の増加が認められた

ヒ素検出試験におけるA,B,C条件の最適化の効果確認

生の微生物バイオセンサー



ヒ素検出試験（ヒ素添加24時間後）

| 保護剤 | | 明度 | 色相角度° | 色相変量 | |
|-------|------|------|-------|------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| あ | non | 96.3 | 78.3 | ---- |  |
| | As50 | 96.2 | 66.5 | 11.8 | |
| い | non | 97.4 | 69.8 | ---- |  |
| | As50 | 97.3 | 66.3 | 3.6 | |
| う | non | 96.3 | 76.9 | ---- |  |
| | As50 | 96.1 | 66.2 | 10.8 | |
| え | non | 96.5 | 79.2 | ---- |  |
| | As50 | 97.0 | 68.9 | 10.3 | |
| お | non | 95.9 | 78.5 | ---- |  |
| | As50 | 96.0 | 66.7 | 11.8 | |
| 保護剤なし | non | 99.0 | 84.7 | ---- |  |
| 最適化なし | As50 | 99.0 | 83.3 | 1.3 | |

バイオセンサー生菌の加熱殺菌条件の検討

| | 75°C | 98°C |
|-----|-------|-------|
| 1分間 | ----- | 検出される |
| 3分間 | 検出されず | 検出されず |

98°C、1分間の加熱ではコロニーが形成されたが
3分間の加熱でコロニー形成が見られなくなった

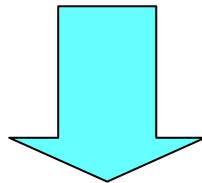
75°Cでも3 分間の加熱でコロニー形成が見られなくなった

亜ヒ酸検出用キット



まとめ

- 保護剤(あ)もしくはは(う)、(お)を用いて、条件A,B,Cを最適化することにより、生の微生物センサーの活性損失を最小限に抑え凍結乾燥処理が可能となった
- 微生物センサー(5ml)を75°C以上の湯浴で3分間以上処理することで使用後の滅菌が可能であった



実用化に向けた進展が見られた



本技術に関する知的財産権

発明の名称 : 組換えバイオセンサー

出願番号 : 特願2007-340804

出願人 : 宇都宮大学

発明者 : 前田 勇 他

お問い合わせ先

宇都宮大学 知的財産センター 近藤三雄

TEL 028-689-6325

FAX 028-689-6320

e-mail kondou@cc.utsunomiya-u.ac.jp