

ストレプトアビジン-ビオチン ELISA を用いた馬鈴薯に含まれる自然毒成分の検出

◎岡田 光貴¹⁾
京都橘大学¹⁾

【目的】 α -ソラニン(SO)と α -チャコニン(CHA)は、主に馬鈴薯(ジャガイモ)が含有する自然毒成分である。我々は以前、SOとCHAを検出する、直接法を原理とした酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)の構築を試みた。このELISA(Direct ELISA)は検出感度が不安視されたため、本研究ではビオチンとストレプトアビジンの結合反応を利用したELISA(B-S direct ELISA)を構築し、その性能を評価する。

【材料】①SOとCHAに結合するウサギ由来ポリクローナル抗体(anti-Sold antibody)を使用した。②市販の健常人血清試料(serum)と尿試料(urine)はコスモ・バイオ株式会社より供した。③SOとCHAの粉末製剤はSigma-Aldrich Co, LLCより供した。④Biotin Labeling Kit-SHとPeroxidase Labeling Kit-SHは株式会社同仁化学研究所より供した。

【方法】馬鈴薯食中毒患者の生体試料を入手することは困難であるため、3つの溶媒、①10 mM リン酸緩衝液 pH 7.4 (buffer), ②serum, および③urineにて粉末製剤を目的濃度に調製したものを生体試料と見做した。また、スーパーマーケットで購入した馬鈴薯(Irish Cobbler)の塊茎、皮、芽を切り

取り、それぞれ計量後に抽出したものを試料とした。

B-S direct ELISAでは、各種試料をプレートに1晩かけてコーティングした。洗浄とブロッキング後、ビオチン標識 anti-Sold antibody を添加し1時間、さらにペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを反応させ1時間静置し、発色反応後の吸光度を490nmで測定した。

【結果】① B-S direct ELISAにより、bufferで調製したSOとCHAを含む試料の検出感度は、Direct ELISAの約5倍に増強した。② B-S direct ELISAにより、serumおよびurineで調製したSOとCHAを含む試料の検出感度は、Direct ELISAのそれぞれ約2.5倍と約1.6倍に増強した。③ Direct ELISAとB-S direct ELISAいずれにおいても、馬鈴薯の塊茎、皮、芽の成分抽出液からSOとCHAの含有量を測定することが可能であった。

【考察と結論】本研究を通じて構築したB-S direct ELISAは、試料がbuffer, serum, およびurineの場合において、Direct ELISAを超えるSOとCHAの検出性能を有すると思われた。(岡田光貴:075-574-4486)