

# イムノクロマトグラフィの水環境評価への適用

## バイオアッセイによる安全性評価研究委員会

微量化学物質の同定・定量には、ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) や液体クロマトグラフィタンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) などを用いた機器分析が広く用いられており、高感度・高精度で類似した構造を持つ物質についても非常に有効である。その一方で、より一般的なユーザーに対して、簡便・迅速で安価な分析を可能とする技術も同時に必要となっており、その答えの1つが抗原抗体反応の特異性を利用したイムノアッセイ (免疫測定法) であり、その検出特異性を利用して、ELISA (酵素免疫化学測定法) による水試料中の微量化学物質測定キットなども市販され、その将来性が期待されている。

今年度のシンポジウムでは、イムノアッセイの中でもクロマトグラフィによる分離技術を組み合わせることで簡便性・迅速性・低価格化を目指したイムノクロマトグラフィ技術に注目して、水環境中の微量化学物質の分析・評価などの適用性について討議することを目的とした。当研究委員会委員長 (有蘭幸司: 熊本県立大学) による趣旨・概要説明の後、5件の招待講演をおこない、最後に総合討論を実施した。

イムノクロマトグラフィ技術の現状と課題: 奥山 亮 (藤倉化成) では、まず、妊娠検査キットなどイムノクロマトグラフィ技術として最も一般的なラテラルフローアッセイの原理・概要について、一般の聴衆にもわかりやすく説明があった。その後、開発プロセスにおいて重要とされる抗体の作成と選定、標識体の粒子径や金コロイド等の素材の選定、さらにニトロセルロース等のメンブレン等部材の選定など技術的側面から整理して紹介がなされた。また最後には、イムノクロマトグラフィの普及に向けた課題である感度や正確性などについて説明があった。

イムノクロマトグラフィを用いた水環境中カドミウムの簡易分析: 宮坂 均 (関西電力) ほかでは、水環境中のカドミウム定量への応用可能性について検討した結果が紹介された。発表者らは、米のカドミウム許容濃度が0.4 ppmに強化されることに伴い需要が増加した簡便な分析法として、イムノクロマトグラフィのキットを開発・販売している。今回は水質基準や土壌の溶出基準の10 ppbならびに水道水質基準の3 ppbを目標に、さらに高感度の抗体を作成した。銅やマンガン、亜鉛などに対して若干の反応交差性が検出されたが、概ね良好な抗体が得られ、ミネラルウォーターや水道水、河川水等に3~12 ppbのカドミウムを添加し、その回収率や再現性の試験結果が報告された。結果はほぼ良好だったが、

米の抽出液などと同様に、一部は亜鉛やマンガン等に由来する妨害が示唆された。

イムノアフィニティーカラムを利用した水環境中有害化学物質の高感度分析: 乾 秀之 (神戸大) では、内分泌かく乱化学物質の1つとされるビスフェノール A を対象に、モノクローナル抗体だけでなく、その抗体から一本鎖可変領域断片 (scFv) を作成・精製して固定化することでイムノアフィニティーカラムを作製した結果が報告された。このカラムを河川水に適用して HPLC や ELISA 法で添加回収および標準添加法で定量を試みた結果、回収率は概ね良好で、数十 ng・L<sup>-1</sup> レベルまでほぼ精度よく測定できることがわかった。また、通常の Oasis HLB などの固相抽出カラムと比較した場合、高い選択性で BPA を回収できることも報告された。ただ、scFv 抗体の取得には大量の大腸菌培養液を要するなど、大量生産・実用化には依然として課題が残っている。

イムノクロマトグラフィを用いた環境化学物質の分析: 初山政慶 (アイシン精機) ほかでは、環境省の迅速法マニュアルにも掲載されている廃油中の PCB 測定に競合イムノクロマトを利用した方法や、マルチバンド法イムノクロマトを用いた前処理がほとんどいらぬ PCB 測定法について紹介があった。PCB は多くの異性体・同族体を有することから、GC-MS による分析では測定作業が非常に煩雑化していることから、廃油中濃度の大まかな把握などの用途に応じてはその適用性が高いことが示唆された。一方で、試験感度が温度に非常に敏感であることから、非常に正確な温度制御が必要という課題も指摘された。

フロー式イムノセンサーによる環境試料分析: 澤田石一之 (愛媛大) では、ダイオキシン類簡易分析法として公定法に認められたフロー式イムノセンサーについての紹介があった。このシステムでは、JIS 規格で定めるように測定法の精度と測定原理の妥当性が精度プロファイルによって客観的に評価可能であり、機器分析に比べて弱いとされる信頼性の確保を十分に図っている点の特徴である。また、PCDFs や KCmix など3種の異なるモノクローナル抗体を用いた測定結果をもとに、異性体組成の大まかな特徴や未知試料の汚染原因についても推測可能となっている点で有効である。この手法は界面活性剤等の汚染化学物質の測定の際の ELISA 法の感度を大きく向上することも可能で、水環境評価への適用性も期待される。

(徳島大学 山本裕史)