

(様式第1号)

## 新規調査研究計画書(全体計画)

調査研究課題	セレウス菌嘔吐毒素セレウリドの HPLC 検出法による簡便化の検討
計画期間	平成20年度～22年度 3年間
背景 必要性	セレウス菌嘔吐毒素は食品に混入して食中毒の原因となる熱耐性細菌毒素として知られ、わが国においても本菌による食中毒が毎年報告されている。本食中毒診断には原因食品中からセレウリドを直接検出すると同時に、分離した菌株のセレウリド生産性を検査することが重要である。セレウリドは免疫原性がないため迅速・簡便な毒素の検査法がない。このため、最も一般的に用いられている測定法はHEp-2細胞の空胞化活性により判定する方法である。しかし本法は判定までに最低でも3日を要し、さらに熟練の技術を必要とするので正確な検出及び多数の検体の同時処理が困難であった。より高感度な測定法としてLC/MS(/MS)による測定法も報告されているが、高価な機械を必要とするためあまり普及していない。近年PCR法によるセレウリド生合成酵素遺伝子を確認する方法も開発されたが、この方法ではセレウリド量を調べるできない。したがって、セレウリド定量法の改良と操作法の簡便化を図ることが望まれる。
目的	LC/MS(/MS)による高感度なセレウリド測定法は、抽出操作が煩雑で高価な機械を使用するため普及していない。セレウリド定量法の改良と操作法の簡便化を図ることにより、HPLC-UV測定法による定量法を確立し食中毒原因の迅速な判定ならびに食の安全・安心確保に寄与することを目的とする。
計画内容	1. 菌培養液及び食品中の固相抽出法によるセレウリド精製法の簡便化・改良 2. HPLC-UVを使用したセレウリド定量法の改良 3. 上記1、2の検討結果を用い、組織培養法、HPLC/MS(/MS)法及びPCR法との比較と食中毒事例への適用。
研究目標 (達成しようとする成果及びその活用方法)	嘔吐毒素(セレウリド)の食品及びその他検体中での有無を明らかにすることは、食中毒原因究明やHACCP、ISO22000による食品製造管理上きわめて重要であり、その簡便な検出法の開発が求められており本研究の成果が役立つと考えられる。
実施上の課題及び対応	
備考	