

博士学位論文審査結果の要旨

学位申請者氏名	平川 由紀
論文題目	Development of the Assay Methods for Pesticides by Immunological Technique (免疫学的手法による農薬定量法の開発)
論文審査担当者	主 査 成田 宏史 (印) 審査委員 川添 禎浩 (印) 審査委員 八田 一 (印)

本研究は、残留農薬測定にモノクローナル抗体を用いた直接競合 Enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA を導入し、迅速・簡便・安価な手法として、食品の生産・流通現場において用いる事を目指すと同時に、次世代の定量法として表面プラズモン共鳴 (SPR) による分子間相互作用測定装置 (Biacore T200) を利用したイムノセンサーを構築し、多検体同時測定および自動化を試みたものである。以下にその成果の審査結果を要約する。

まず著者は、植物カビ病用殺菌剤として汎用されているクロロタロニルに対するモノクローナル抗体 TPN9A を作製し、これを用いた直接競合 ELISA を確立した。本法は測定感度、交差反応性、添加回収率において従来の方法と遜色なく、実用性の高いものであった。モノクローナル抗体はその作製には時間・費用・高度な技術が必要であるが、一旦確立できればその質的・量的安定性においてポリクローナル抗体より遥かに優れており、食のグローバル化に対応できる世界共通の定量系の確立には必須のアイテムである。

次に著者は、上述の TPN9A を用いた SPR-イムノセンサーをめざし、感度は ELISA と比較して 10 倍低かったが、測定範囲は 8.0-44 ng/mL と残留基準値の測定には十分で、測定時間が 3 分と短く測定精度も ELISA より高い定量系の開発に成功した。野菜を用いた添加回収試験では、回収率が 90-118 %、HPLC との相関性も相関係数が 1.00 と良好だった。なお、チップからの抗体の解離に 2 段階法を導入することにより、200

回以上の利用を可能にした点はコストダウンに大きく貢献している。本法は、野菜中の残留農薬測定方法として SPR を用いた世界初の成功例であり、特許申請中である。

また著者は、灰色かび病、菌核病に高い効果がある殺菌剤ボスカリドに対するモノクローナル抗体 BSC7 を作製し、これを用いた直接競合 ELISA と SPR-イムノセンサーの開発にも成功している。

現在農薬測定の公定法として用いられている、HPLC-MS 法や GC-MS 法は高価な装置と高度な技術が必要であるし、ELISA 法は簡便・安価であるがマニュアル操作であり時間がかかる。一方、SPR 系は既に多検体化・自動化対応が完了している。そこで申請者は最後に、上述の殺菌剤ボスカリドと現在最も汎用されているネオニコチノイド系に属す殺虫剤であるクロチアニジンとニテンピラムの 3 成分同時定量系の開発をめざし、見事にこれに成功、従来の分析法と比べて遜色ない精度・感度で、時間的・経済的効率を飛躍的に改善した。

申請者が開発したこれらの定量系は、抗原となる物質の特性を熟知した上で、高度な物理・化学・免疫学的知識並びに手法を駆使してのみ確立できるものであり、その発想の独創性並びに技術は高く評価できる。また、できあがった定量系はそのまま実用可能であり、その一部はすでに特許申請がなされている。

以上のように、本論文において作製されたモノクローナル抗体ならびにその結果得られた定量系は学術的に高く評価されると同時に、実用的にも直接社会に貢献出来る性能を有している。また申請者は既に学位申請後、マイクロアレイ型チップを用いた SPR による 10 農薬の同時定量系の開発に着手し、そのプロトタイプの確立に成功している。このように本研究は次世代の農薬さらには医・薬・食品成分の定量に対して先鞭を付けるものであり、この分野の発展に大きく寄与するものと思われる。よって、審査員一同は本論文が京都女子大学大学院家政学研究科博士（学術）の学位論文として十分に価値あるものと認める。