

「知の拠点あいち」重点研究プロジェクト

「食の安心・安全技術開発プロジェクトP2公開セミナー2014」

平成26年5月27日(火)13:30-16:30

食の安心・安全技術開発プロジェクト  
グループ3

食品の微生物(一般生菌、食中毒菌)を迅速(出荷前)に検出、同定できる高度な検査装置の開発状況概要

グループリーダー

名城大学 大学院農学研究科 教授

田村廣人

## G3の最終目標

- 検出：出荷前までに判定
- 同定：30分以内に同定（株レベル）
- 個別検査（検査室）で対応
- 検出限界：特定細菌=陰性；一般生菌=100 CFU

### キーワード：光

光学と分子生物学（生体プローブ）を融合した  
安全・安心技術の開発による  
社会的にインパクトのある製品開発

## 事業マネジメント:G3の開発体制と開発製品群

**S1(培養法):微生物検出のための  
高感度センサデバイスの開発**

サブリーダー:中内茂樹(豊橋技科大)  
浴 俊彦(豊橋技科大)  
海谷 慎一

開発製品:**短時間培養型微小コロニー検査装置**

**S2:高感度化のための微生物集積技術の開発**

サブリーダー:森山龍一(中部大)  
金政 真(中部大)  
種田 明子

開発製品:**・細菌自動分離濃縮システム**  
**・細菌芽胞検出器**

**試作機製作企業**

- ・東海光学(株)
- ・(株)島津製作所
- ・(株)榎屋

**試作機評価企業**

- ・日本ハム(株)
- ・マリンフーズ(株)
- ・キューピー(株)
- ・(財)日本食品分析センター

知の拠点あいち  
Knowledge Hub Aichi

光学と分子生物学の融合  
による  
革新的製品の開発

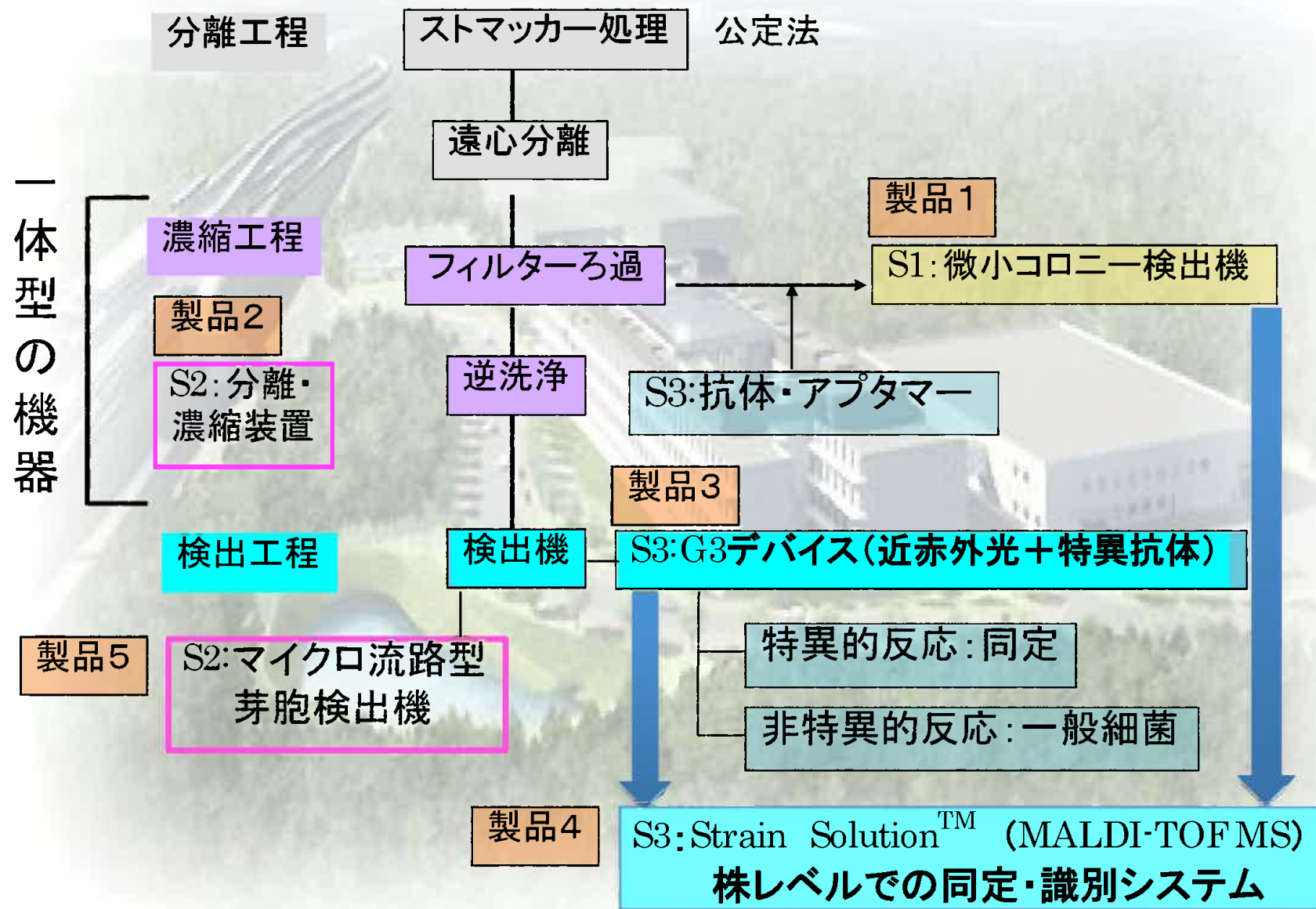
**S3(非培養法):全自動迅速微生物同定手法の開発**

サブリーダー:中野秀雄(名古屋大)  
田村廣人(名城大)、菊池 洋、梅影 創(豊橋技科大)、瀧 真悟(青学大)  
三宅司郎(京都高度技術研究所)、加藤晃代、山本奈保美

開発製品:**・G3デバイスを用いた簡便・迅速検出器**  
**・MALDI-TOF MSを活用した簡便・迅速細菌識別システム**



# G3の研究成果：先進的技術が拓く革新的製品群



# G3製品群の競争力

装置名／微生物	測定時間	検出限界	生菌／死菌 判定	同定レベル		複合菌判定	価格
				種	株		
培養型微小コロニー検査装置	3時間 出荷前までの生菌／死菌判定に最適！	—	○	□	×	×	◎
非培養型簡易検査装置	10分 迅速・簡便・高感度に複数の食中毒細菌を同定！	1細胞	×	○	×	○	◎
細菌識別システム (MALDI-TOF MS)	10分 迅速・簡便に細菌を株レベルで識別！特定菌の追跡汚染ルート特定も可能！	1コロニー	○	○	○	□	△
マイクロ流路型芽胞検出装置	10分 迅速・簡便・高感度に芽胞を検出！	1芽胞	○	×	×	×	◎

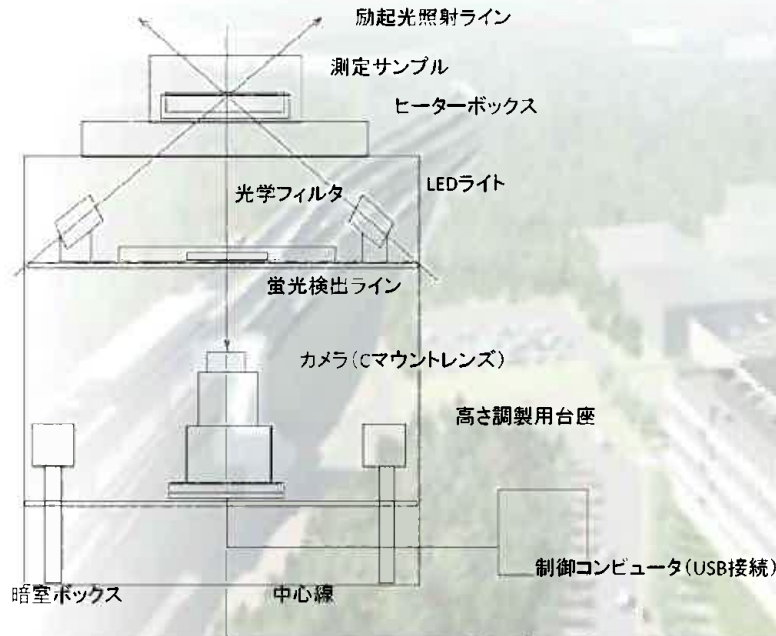
□: 試薬の組合せにより可能

△: 細菌識別システムはハードとの一体価格

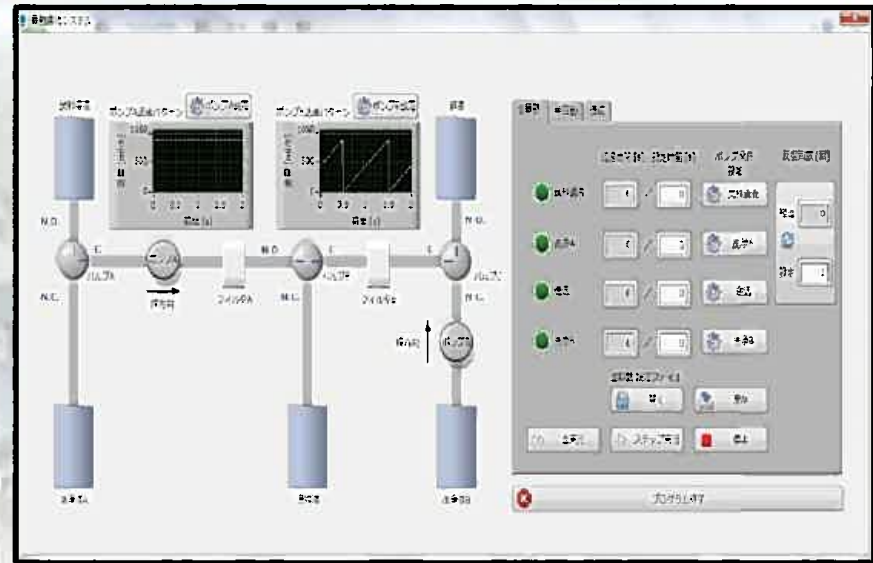
◎: <200万円  
○: 200~1000万円  
△: >1000万円

＜本日ご紹介する製品群＞

S1:微小コロニー検出機仕様図

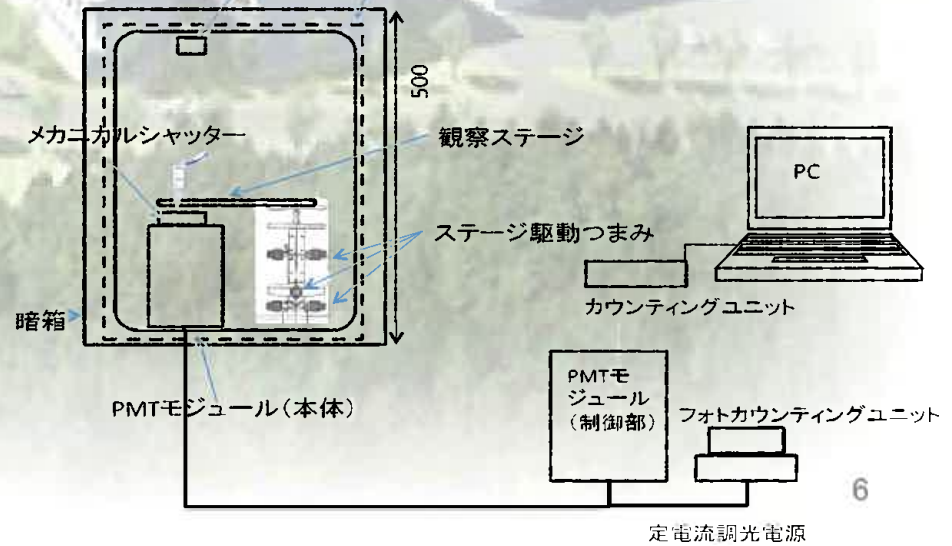


S2:デュアルフィルター方式の分離・濃縮装置



S3:G3デバイス搭載検出機仕様図

590 nm LED照明  
密閉扉は外丁番



SHIMADZU  
Excellence in Science

S3:StrainSolution™

MALDI-TOF MS  
AXIMA 微生物同定システム対応  
高精度MALDI-TOF MSソフトウェア  
**Strain Solution**

**Strain Solution**  
同定分析にMALDI-TOF MSを利用して、10S-1000遺伝子配列解析より高い同定精度を実現可能なソフトウェアです。

**Strain Solution**  
は、AXIMA 微生物同定システムと Strain Solution を用いることにより、検出の精度向上が、かつ、10S-1000遺伝子配列解析より高い同定精度を実現可能となります。

Strain Solutionは、590-06RM5に対応し、最高精度MALDI-TOF MSを用いて検出を可能にするためのソフトウェアです。同定精度は、MALDI-TOF MSの検出精度に依存し、検出精度は、MALDI-TOF MSの検出精度に依存します。

**特徴**

- AXIMA 微生物同定システムと組み合わせて使用することで、従来のMALDI-TOF MSよりも高い同定精度を実現します。
- 検出された遺伝子配列解析結果を、AXIMA 微生物同定システムと連携して、MALDI-TOF MSの検出精度を向上させます。
- 同定精度を向上させるための同定精度向上機能を提供します。

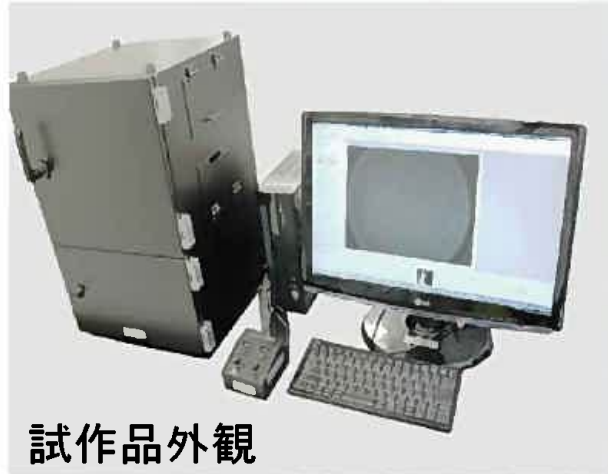
**用途**

- 同定精度向上
- 10S-1000遺伝子配列解析で100%に近い同定精度を実現し、検出の精度向上を実現します。
- 同定精度向上

図1: 同定精度向上のための同定精度向上機能の概要図



# 開発製品：短時間培養型微小コロニー検査装置

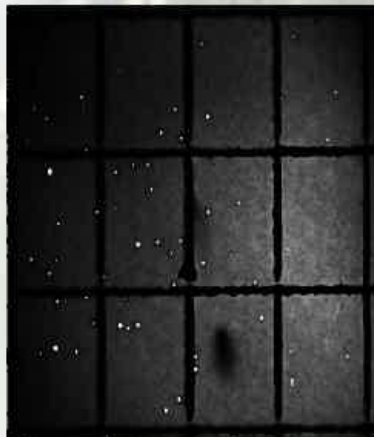


試作品外観

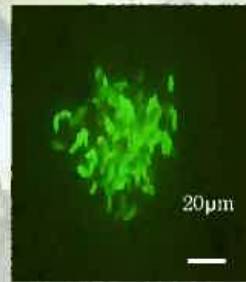
## ＜製品イメージ＞

- ・用途：公定法の一つである寒天平板培養法の迅速化
- ・特長：寒天平板上に現れる目視レベル以下の微生物集落（微生物微小コロニー）が測定可能＝**食品工場出荷前検出**

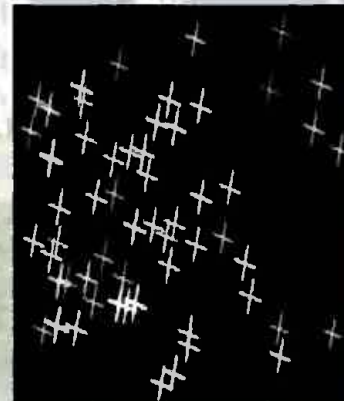
- ## ＜検出原理・特徴＞
- ・蛍光検出による高感度化による微小コロニーの検出
  - ・目視検出の数十倍、透過光検出の数倍の感度で測定可能



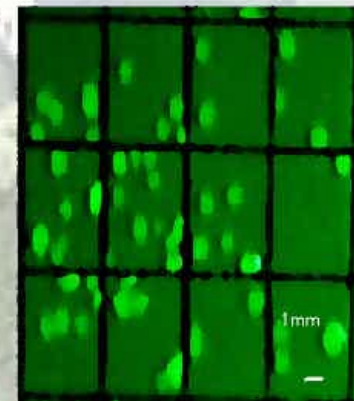
寒天平板培養物撮影画像  
(培養5時間)



微小コロニー  
顕微鏡写真



微小コロニー検出



検出後、一晚培養  
(1mm程度のコロニーを  
目視可能)

# 微生物分離濃縮装置の開発

## 試作品外観

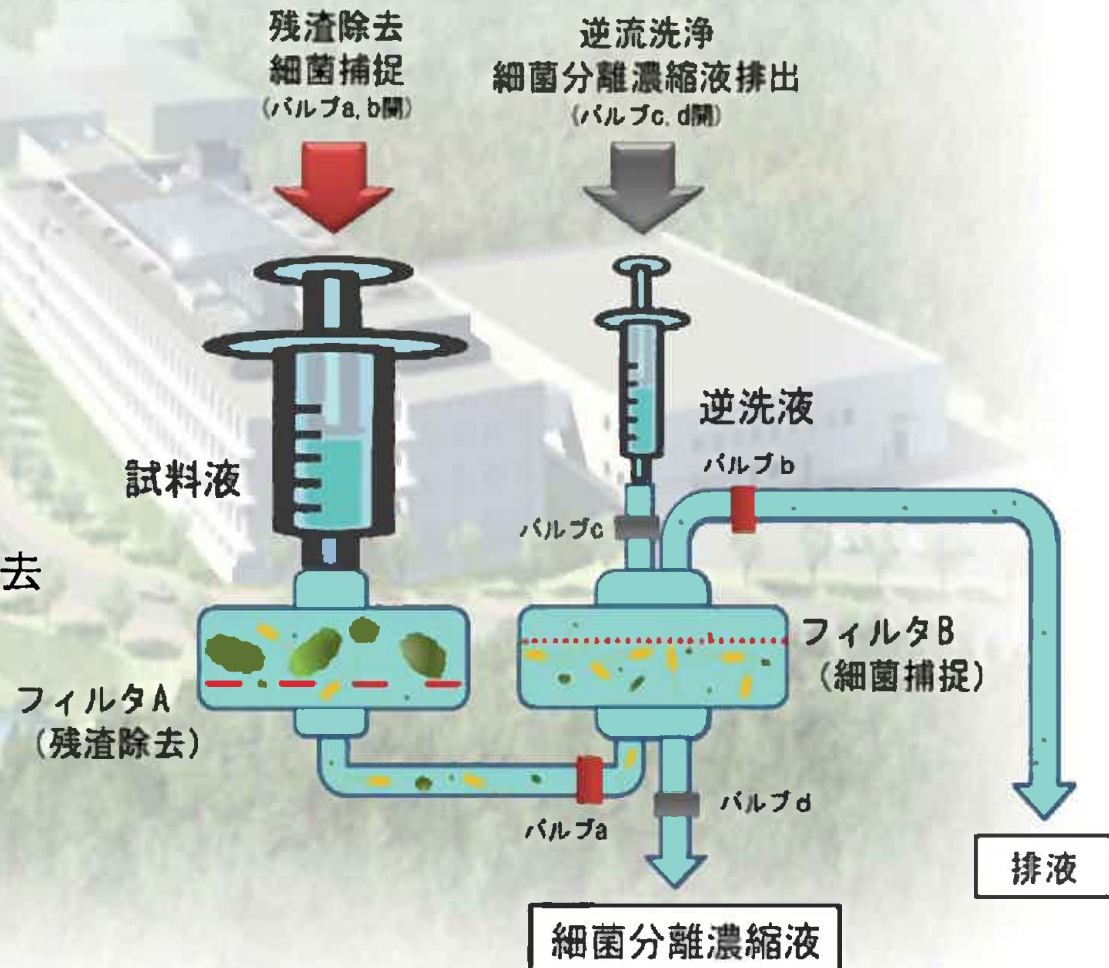


## <製品イメージ>

- ・用途: 試料液の残渣分離除去及び細菌濃縮を同時に行う前処理装置
- ・特長: デュアルフィルターにより多くの食品で**フィルター濃縮が可能**  
非培養のみならず、培養法の試料としても分離濃縮が可能

## <検出原理・特徴>

- ・フィルターAは、濃縮や細菌検出の妨げになる食品残渣を分離除去
- ・フィルターBは、検査試料の生菌数を5~200倍へ濃縮可能
- ・送液ポンプ、流路のバルブをPC制御し、濃縮処理を自動化





# 非培養食中毒菌検査装置の開発

## 試作品外観



## <製品イメージ>

・用途:

**非培養で目的の食中毒菌を迅速に陽性・陰性判定および同定**


・特長:

・蛍光タンパク質と異なり変性しない「近赤外蛍光ガラス」の利用と、食品成分による自家蛍光のない「近赤外領域」の蛍光検出による高い感度

・高性能の「モノクローナル抗体」による食中毒菌の同定と検出

## <検出原理・特徴>

各種食中毒菌に対するモノクローナル抗体と、808 nmの励起光で900～1000 nmの蛍光を発するガラス(近赤外蛍光ガラス)とを組み合わせた、近赤外の蛍光シグナルを用いた食中毒菌の検出・同定システム

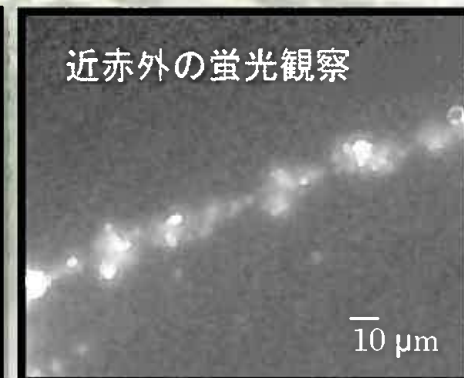
 近赤外蛍光ガラス粒子  
モノクローナル抗体



位相差顕微鏡による  
可視観察



近赤外の蛍光観察



MALDI-TOF MS  
AXIMA 微生物同定システム対応  
高精度細菌鑑別ソフトウェア

# Strain Solution

## Question

質量分析計MALDI-TOF MSを利用して16S rRNA遺伝子配列解析より高い鑑別能の系統解析を行うことは可能ですか？

## Solution

はい、AXIMA 微生物同定システムとStrain Solutionを用いることにより、理論的根拠に基づき、かつ、16S rRNA遺伝子配列解析より鑑別能の高い系統解析が行えます。

Strain Solutionは、S10-GERMS法に基づき、質量分析計MALDI-TOF MSを用いて細菌を各種・レベルで鑑別するためのソフトウェアです。遺伝・レベルでの鑑別が行えるマーカーをあらかじめ登録しておき、対象菌株のMALDI-TOF MS測定データとの一致/不一致を判定することにより鑑別を行います。

## 特長

- AXIMA微生物同定システムと組み合わせることで、従来のMALDI-TOF MSソフトウェアに比べてより高精度・高感度の高い鑑別結果が得られます。
- 遺伝子の塩基配列の違いに基づく細菌の鑑別が、MALDI-TOF MSで迅速・軽便に行えるようになります。
- 菌株データのデータベースが構築できます。
- 外部ソフトウェアにより分子系統解析を行うことも可能です。

## 用途

- 菌株管理
- 16S rRNA遺伝子配列解析では判別が難しい菌株鑑別の、理論的根拠に基づいた鑑別
- 分子系統分析

など、迅速・軽便な菌株同定が行えるAXIMA微生物同定システムの用途がさらに広がります。

S10-GERMS法とは・・・

MALDI-TOF MSより分析されるリボソームタンパク質の分子質量情報と遺伝子配列解析ソフトウェアで得られる16S rRNA塩基配列情報との一致/不一致を比較し、16S rRNA遺伝子配列解析よりも高い鑑別能の系統解析を行うことが可能です。

※S10-GERMSは *S10-gro-alpha* open Gene Encoded Ribosomal protein Mass Spectrum

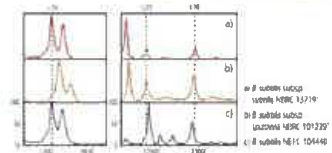
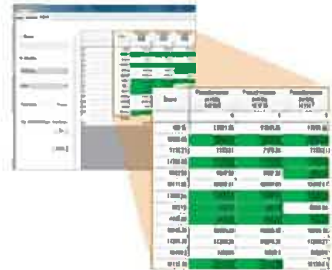
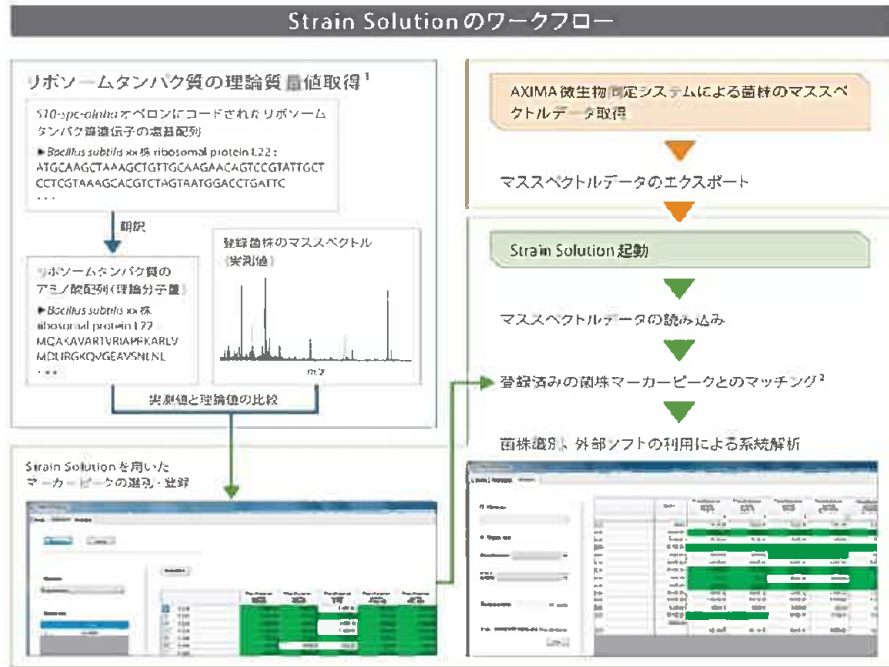


図 16S rRNA遺伝子の相違率が99.9%の菌株4種のS10-GERMS法による鑑別

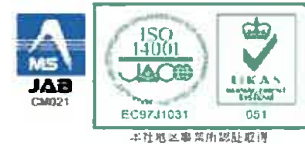


### 注意事項

- 枠内には示した部分のみソフトウェア機能に含まれていません。
- 本ソフトウェアにはアストサンパ以外マーカーピークは登録されていません。目的菌株の菌株マーカーピークは、あらかじめ登録しておく必要があります。
- 本ソフトウェアは、菌株の塩基配列に基づいて菌株を同定するためのソフトウェアです。菌株の同定は、菌株の塩基配列に基づいて行われます。

### 文献

Y. Imai, H. Imai, H. Sato, H. Hiroaki, S. Aoi, K. Fujimori, H. Hoshino, and H. Hiroo Tamura. Classification of the Genus *Bacillus* Based on MALDI-TOF MS Analysis of Ribosomal Protein Coded in *S10* and *gro-alpha* Operons. J. Agric. Food Chem. 2011, 59 (11), 5222-5230.  
このソフトウェアは、名産品生産者連合会共同研究所のサービスとして、愛知県内の食品製造研究プロジェクトの一環として、安全技術開発プロジェクト「グループリーダー」名産品生産者連合会共同研究所(田代 眞人教授)によって得られた成果をもとに開発されています。



本社地区事業所認証取得

## 株式会社 島津製作所

トラブル解消のための補修部品・消耗品は弊所製品をご利用ください。  
外観および仕様は改良のため、予告なく変更することがありますのでご了承ください。  
分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

- 東京支店 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3-103 (3319-0025) 5631 (本支店) 5616 (総機) 5685
- 関西支店 510-0012 大阪府北区芝田1丁目1-4 旭興ターミナルビル14階 06(6)737-0001(本支店) 06(6)737-0002(総機) 6556
- 札幌支店 040-0607 札幌市北区北七条西2丁目3-1 札幌ビル5階 011(7)700-6605
- 東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエアビル12階 022(2)21-6331
- 郡山支店 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山フコク生命ビル2階 024(9)39-3790
- つくば支店 305-0031 つくば市角野3丁目17-1 029-8511(本支店) 029-8511(総機) 8515
- 北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区敷島町1-4 男塾安田ビル5階501号室 048(6)48-0000(本支店) 048(6)48-0001(総機) 0081
- 横浜支店 720-0004 横浜市西区北幸2丁目8-29 東武横浜南3ビル7階 045(5)19-0000(本支店) 045(5)19-0001(総機) 311-015
- 静岡支店 432-8062 静岡市駿河区浅井2丁目1-4 伊豆静岡駅前ビル2階 054(2)65-0121
- 名古屋支店 450-0001 名古屋市中区東区南町1丁目42-1 名古屋国際センタービル9階 (052)265-0000(本支店) 7521 (総機) 7531
- 京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京桑原町1-1 (075)823-0000(本支店) 1604 (総機) 1603
- 神戸支店 650-0033 神戸市中央区三宮町9-3 栄光ビル9階 (078)331-6465
- 岡山支店 700-0826 岡山市北区船場町3-10 住友生命岡山ニューシティビル6階 (086)221-2511
- 四国支店 760-0017 高松市善町1丁目6-1 住友生命高松ビル9階 (087)823-6623
- 広島支店 730-0036 広島市中区安国町4-25 明治安国生命広島ビル15階 (082)248-4312
- 九州支店 812-0039 福岡市博多区東区南4-2-0 島津博多ビル4階 (092)283-0000(本支店) 3332 (総機) 3324

島津コールセンター (操作・分析に関する電話相談窓口) ☎ 0120-131691 (075)813-1691  
http://www.an.shimadzu.co.jp/

2013年9月3日より販売

SHIMADZU CORPORATION

# 光で解決する

食品等の微生物を検出できる  
高度な計測デバイスの開発にご期待下さい

## 達成目標

- ・ 検出：最長出荷前までに判定；30分以内に同定・識別
- ・ 個別検査（検査室）で対応
- ・ 検出限界：特定細菌=陰性；一般生菌=100 CFU

ご清聴有り難うございました



G3グループリーダー  
名城大学農学部  
田村 廣人