



Title	陰イオンおよび非イオン界面活性剤測定のための ELISA 開発に関する研究
Author(s)	郷田, 泰弘
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44655
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていない ため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利 用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	郷 田 泰 弘
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 2 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 1 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	陰イオンおよび非イオン界面活性剤測定のための ELISA 開発に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 藤田 正憲 (副査) 教 授 田中 稔 薬学研究科教授 西原 力 助教授 池 道彦

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、陰イオンおよび非イオン界面活性剤を簡便かつ高感度に測定できる Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) の開発を目的として、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 (Linear Alkylbenzene Sulfonates : LAS)、アルキルフェノールエトキシレート (Alkylphenol Ethoxylates : APE) およびアルキルエトキシレート (Alkyl Ethoxylates : AE) を簡便かつ高感度に測定できる ELISA を開発し、環境試料への適用によりその有用性の評価を行った研究の成果をまとめたもので、緒論、4 章からなる本論、および総括ならびに結論から構成されている。

緒論では、種々の界面活性剤のうち LAS、APE および AE をモニタリングすることの必要性を示すとともに、既存の界面活性剤測定法の欠点を指摘し、本研究の目的を述べている。

第 1 章では、これまでに開発されてきた環境汚染物質に対する ELISA について概観するとともに、現行測定法の長所、短所を整理し、ELISA 開発の上での目標、ポイントを明確にしている。

第 2 章では、LAS 測定用 ELISA を開発し、その感度および河川水への適用性を評価している。LAS 特異的モノクローナル抗体および LAS+LAS 分解中間生成物特異的モノクローナル抗体を取得して ELISA を構築し、 $20 \mu\text{g/L}$ の測定感度が得られることを確認している。また、実際の河川水を前処理なしで測定可能であることを実験的に示しており、得られた測定値は固相抽出-HPLC による測定値と高い相関があることを確認している。

第 3 章では、APE 測定用 ELISA を開発し、その感度および河川水への適用性を評価している。スパーサー部分を改良したハブテンを免疫原として用いることによって、APE および分解中間生成物特異的モノクローナル抗体を取得し、ELISA を構築している。この抗体を用いた ELISA による APE の測定感度は $20-50 \mu\text{g/L}$ であることを確認するとともに、簡易な固相抽出による濃縮を行うことで、実際の河川水を測定可能であることを実験的に示しており、得られた測定値は固相抽出-HPLC による測定値とよく相関することを確認している。

第 4 章では、AE 測定用 ELISA を開発し、その感度および河川水への適用性を評価している。AE は構造上最も免疫原性の弱いものであったが、通常の 4 倍量のハイブリドーマスクリーニングを経て、AE 特異的モノクローナル抗体を取得し、ELISA を構築している。この抗体を用いた ELISA による AE の測定感度は、プレートタイプで $20 \mu\text{g/L}$ 、チューブタイプでは $2 \mu\text{g/L}$ と非常に高いことを確認している。また、簡易な固相抽出による濃縮を行うことで、実際の河川水を測定可能であることを実験的に示しており、得られた測定値は固相抽出-HPLC による測定値と高い相関があることを確認している。

総括ならびに結論では、本研究で得られた成果を統括したうえで、モニタリングの必要性が高い3種の界面活性剤について、簡便かつ高感度測定が可能な ELISA が確立されたものと結論している。その上で、現行測定法と ELISA のメリット、デメリットを比較し、目的に応じてこれらの測定法を使い分けることを提案し、ELISA の標準化、公定法化に向けた今後の課題についてまとめている。

論文審査の結果の要旨

界面活性剤は人類が最も多量に生産、消費している化学物質の1つであり、その大部分は排水として排出される運命にあることから、最終の受け皿となる水環境中での挙動を解明しておくことは、人の健康や生活への影響のみならず、生態系への影響の視点からも重要である。しかし、現行の界面活性剤測定法は、有害な有機溶媒を使用した煩雑な前処理や高価な機器を必要とすることから、水環境中における界面活性剤の測定頻度はそれほど高くないのが現状である。

本論文は、陰イオンおよび非イオン界面活性剤を簡便かつ高感度に測定できる ELISA の開発を目的として、その生産量や分解中間生成物の毒性からモニタリングの必要性が高いと考えられる LAS、APE および AE を簡便かつ高感度に測定できる ELISA を開発し、環境試料への適用によりその有用性の評価を行った研究の成果をまとめたものであり、その成果を要約すると以下ようになる。

- (1) LAS 測定用 ELISA および LAS+LAS 分解中間生成物測定用 ELISA を開発し、実際の河川水を前処理なしで測定可能であることを実験的に示している。
- (2) APE+APE 分解中間生成物測定用 ELISA を開発し、簡易な固相抽出による濃縮を行うことで、実際の河川水を測定可能であることを実験的に示している。
- (3) AE 測定用 ELISA を開発し、簡易な固相抽出による濃縮を行うことで、実際の河川水を測定可能であることを実験的に示している。

以上のように、本論文は環境工学、特に環境中における汚染物質のモニタリング技術の発展に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。