第144号(2019年1月7日発行)



愛研技術通信

あけましておめでとうございます。

旧年中は格別のご厚情を賜り、誠にありがとうございました。

私たち社員一同、常に学ぶ姿勢を忘れずに、成長という目的に向かって勇往邁進していきたいと思います。

本年も変わらぬお引き立ての程よろしくお願い申し上げます。

皆様のご健勝とご発展をお祈り申し上げます。



平成 31 年正月

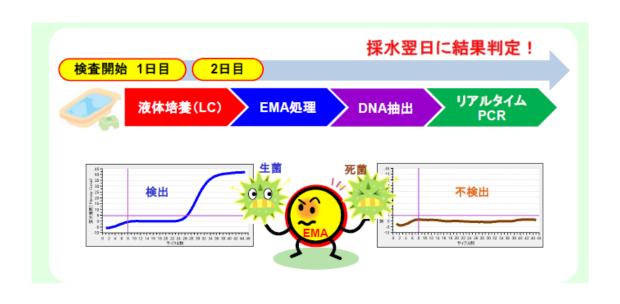


法令・告示・通知・最新記事・その他

〇 レジオネラ属菌の遺伝子検査を始めます。

~ 浴水の試験結果を2日で提供します ~

2019年1月からリアルタイムPCR装置を用いて浴水のレジオネラ属菌の遺伝子検査を開始します。 この遺伝子検査法を利用することで、2日間で分析結果を提供できるようになります。



【 レジオネラ属菌の遺伝子検査法 】

レジオネラ属菌の検査方法は「レジオネラ症防止指針」に示されている「培養法」で行っていました。しかし、レジオネラ属菌は増殖速度が遅く、この方法では試験結果が出るまでに 7~10 日かかっ

ていました。近年、遺伝子検査技術の発展によりレジオネラ属菌検査が遺伝子検査法で行えるようになりました。

平成27年3月31日に、厚生労働省健康局生活衛生課長通知「循環式浴槽におけるレジオネラ症防止対策マニュアル」の改正について(健衛発0331第7号)が発出され、遺伝子検査法の活用について述べられています。また、平成29年8月には、「第4版レジオネラ症防止指針」が改訂発行され、浴槽水を対象とし、迅速検査法のひとつとして遺伝子検査法が収載されました。

下図にレジオネラ属菌の検査方法を示します。

従来の培養法を図の下段に示します。培養法では試料を濃縮後、酸処理によりレジオネラ属菌以外の雑菌を殺菌し、その後寒天培地に塗布し約7日間培養します。レジオネラ属菌が存在していた場合は、培地上に確認されたレジオネラ属菌と思われるコロニーを2種類のBCYE α 寒天培地に塗布し最大2日培養し、培養結果からレジオネラ属菌と判断していました。

遺伝子検査法では、試料を濃縮後、液体培地で18時間培養して菌数を増やした後、EMA 処理で生菌と死菌を分離し、DNA 抽出を行った後リアルタイム PCR 装置で菌数の計測を行います。所要時間は検査開始から2日間で結果を報告できます。

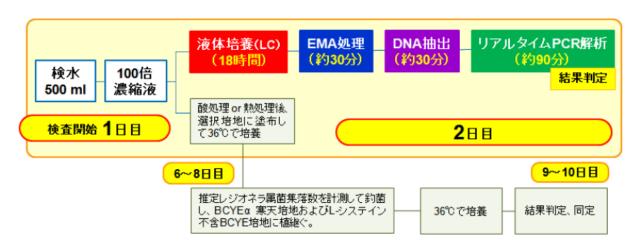


図. レジオネラ属菌の試験方法(各図はタカラバイオ(株)ホームページより引用)

【遺伝子検査とは】

遺伝子の中には、多数の遺伝情報が書き込まれています。遺伝子は、DNA (デオキシリボ核酸) という物質で構成されています。DNAは、二本の鎖がからまった二重らせん構造となっており、それぞれの鎖はA (アデニン)、G (グアニン)、C (シトシン)、T (チミン)の4種類の物質(塩基と呼ぶ)が連なった重合体で構成されています。この4種類の物質の並び方(塩基配列)は生物種によって異なっており、生物種毎に固有の配列の領域が存在することが知られています。

また、二重らせん構造を形成する際は、対になる塩基が決まっており、アデニン(A)とチミン(T)、グアニン(G)とシトシン(C)が必ずペアになります。

遺伝子検査では、このことを利用して、特定の生物種に固有の塩基配列を対象に検査を行います。

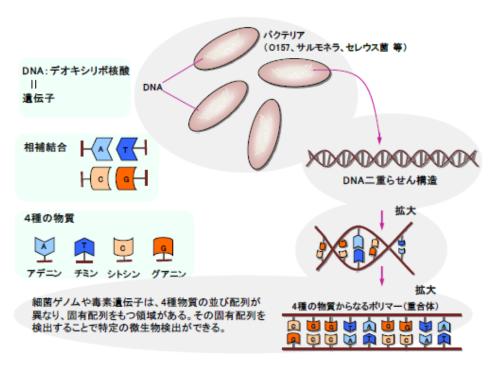


図. DNA の構造

【 リアルタイム PCR 法とは 】

PCRとは Polymerase Chain Reaction (ポリメラーゼ連鎖反応) の頭文字をとったものです。

DNA は加熱により、2 本鎖が1 本ずつに分離します。分離した DNA に酵素 (DNA ポリメラーゼ)と合成の引き金になる1 本鎖核酸 (プライマー)を加えると元の塩基配列を基に対になる塩基配列が合成されます。この合成反応を繰り返し行うことで、DNA が2倍・4倍・8倍・・・と指数関数的に増加します。この方法を用いると、DNA を数時間で100万倍に増幅できます。微量のDNA を検出することは難しいですが、同じDNA が多量にあれば検出が容易になります。

リアルタイム PCR 法は合成反応液の中にあらかじめ蛍光プローブあるいは蛍光色素を添加し、リアルタイムで目的遺伝子の増幅をモニタリングする方法です。

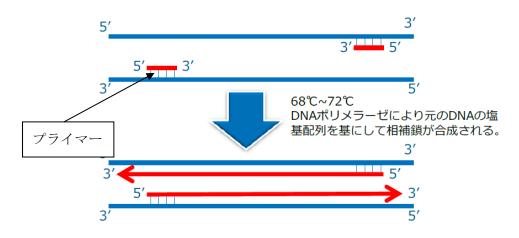


図. PCR による DNA の合成

【 EMA 処理とは 】

遺伝子検査法では細胞の生死に係わらず遺伝子を検出します。レジオネラ属菌などの細菌検査では、人体に有害な生菌のみを検出する必要があります。そのため、EMA 処理を行い、生菌と死菌とを分離します。

EMA (ethidium monoazide) は可視光に暴露すると、DNA に共有結合する色素です。細菌を EMA で処理すると、生菌では EMA が細胞内部に浸透しないため DNA と反応しませんが、死菌では細胞膜に生じた穴から内部に浸透し、DNA と反応します。反応した DNA は遺伝子増幅されませんので、EMA 処理後に PCR を行うと生菌由来 DNA が選択的に検出されます。

【 冷却塔のレジオネラ属菌検査 】

冷却塔水のレジオネラ属菌検査では、EMA 処理による死菌抑制効果がありません。これは、冷却 塔水では殺菌剤投与があり、その影響と考えられています。そのため、検査方法が確立するまでは、 従来通り培養法で分析を行います。

【 遺伝子検査法の応用 】

現在、遺伝子検査は検便検査、動植物の感染症 や腫瘍検査、食品の衛生検査や品種検査などに応 用されています。また、近年遺伝子検査を利用し た水中生物のモニタリングに関する研究、いわゆ る環境DNA分析の試験研究が各研究機関で行われて います。

愛研では、環境に関するDNA分析に取り組みながら 環境DNA分析の実用化を目指し各試験機関の研究動向 を注視しながら取り組んでいきます。



図. リアルタイムPCR装置

○ 「第18回高校生ものづくりコンテスト全国大会」で審査業務を通じて

測定分析部 加藤 良樹

2018年11月17、18日に愛知県立総合工科高等学校で「第18回高校生ものづくりコンテスト」が開催されました。愛知県環境測定分析協会に化学部門の審査員と試料調製の依頼があり、審査員の一人として参加しました。

本大会は公益社団法人 全国工業高等学校長協会が主催する全国の工業系の高校生が一堂に会して、旋盤作業、自動車整備、電気工事、電子回路組立、化学分析、木材加工、測量の7つの部門ごと

に分かれて技術・技能を競い合う全国大会です。出場が決定した選手は県予選、地区予選を見事に突破し、勝ち抜いた生徒になります。全国大会の開催会場は毎年変わり、今回は東海地方が開催会場になりました。そこで、私が審査業務を通じて感じた選手のこと、全国大会の模様をお伝えしようと思います。

化学分析は例年に続き、試料中のカルシウム 及びマグネシウムという「硬度」を分析して、 未知試料に含まれる濃度を求める競技でした。

化学分析の場合、競技内容が分析なので、物を作って何かを生み出すことはありません。しかし、化学は未知の試料を分析して何がどのくらい含まれているかを知ることができます。

硬度の分析は、今では機器による分析が主流ですが、今回は競技ということで手作業による分析方法(キレート滴定法)に準じることとしています。それに伴い、分析準備や試薬調製、ノウハウが必要な操作も多く、さまざまな場面で技量が問われます。

競技が開始すると選手はまず分析前に下準備 に入りました。工程をシュミレーションする選



写真:コンテストの様子。 背広の3名が審査員。 (愛知県環境測定分析協会提供)

手もいれば、使用するガラス器具を入念に洗浄する選手、課題をよく読んで理解してから操作に入る 選手など、緊張しながらも各自が考え行動している様子に、全国大会のレベルの高さを感じました。 測定対象の硬度は、水道水に含まれています。したがって、使用するガラス器具は純水を用いて水 道水由来の硬度を取り除くように洗浄をしなければいけません。ほとんどの選手がその理屈を理解し て洗浄している様子でした。

しばらくすると、選手は次工程の反応溶液を作成するようになります。使用する試薬はエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物です。これは若干の吸湿性があるので、分取する際は取り扱いに注意しなければなりません。また、湿度を嫌うとなると試薬を入れる容器も乾燥してなければ正確な秤量になりませんし、メスフラスコに移す際も試薬を回収しきらないといけません。それでも、選手は真剣にひとつひとつの作業の意味を理解して動いているように感じました。

下準備が整い、反応溶液も作成した選手は分析作業に入ります。化学分析の基本となるガラス器具への共洗い、試料の分取、滴定作業を行います。試料を分取する際はホールピペットの内面に試料溶液を置換しなければいけません。分取操作は溶液を標線に合わせて、最後まで出し切らないと正確な量を取れませんし、滴定作業ではたった1滴の違いで結果が変わってしまいます。カルシウムを求めるなら溶液が赤紫色から青色になる終点の見極めも結果に影響を与える重要な要素です。この主たる工程の大会模様は、操作しながらも整理整頓を心がけている選手、コンタミネーションを意識して操作している選手、滴定の手さばきが熟練の分析者のようになるまで練習してきた選手、原理を理解し時間配分を考えてメリハリのある操作をしていた選手など、全国大会に向けて時間を割いて訓練してきた選手の様子が伺えました。

結果として優勝者は石川県立工業高等学校の生徒さんに決まりましたが、全国大会に出場しているだけに、どの選手も高い技術レベルであったと思います。

最後に、近年の分析は迅速に正しい結果を出すだけではなく、その分析結果を受けてどう判断し、評価できるか付加価値が求められます。それらは広い知識と探求心、チャレンジする行動や多くの苦労、失敗体験で成り立ちます。そして、このものづくりコンテストも貴重な体験となり、大切な自分の財産になると思います。私事ですが、彼らといつかこの分析業界で、一緒に活躍できる日を楽しみにしています。

○ NASAの小惑星探査機「オシリスレックス」が地球近傍小惑星「ベンヌ」に到着!

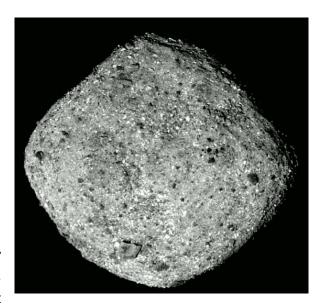
2018年12月4日NASAホームページ抜粋

小惑星「ベンヌ(Bennu)」は、1999年に発見され、 平均直径560メートルほど。地球と火星の中間に軌 道を持つアポロ群に属する小惑星です。アポロ群の 小惑星は地球に接近するという潜在的な脅威性を持 つことで知られており、今後200年ほどの間に何度も 地球に接近し、最悪の場合は衝突する可能性すら存 在します。

NASAは2016年9月に探査機「オシリス・レックス」 を打ち上げ、2018年12月4日に到着しました。

小惑星「ベンヌ」は、現在日本が「はやぶさ2」で 探査している「りゅうぐう」と同様に炭素を多く含む 天体と考えられています。また、水が鉱物の中に閉じ 込められている可能性もあり、生命の起源を知る重要 なてがかりになることが期待されています。

12月18日のアリゾナ大学の研究チームの発表によると、可視光線・赤外線分光器「OVIRS」と熱放射分光器「OTES」が取得したデータから、酸素と水素の原子が結



写真「オシリス・レックス」が撮影 した小惑星「ベンヌ(Bennu)」 (「NASA」ホームページより引用)

合したヒドロキシ基(水酸基、OH)の存在が明らかになりました。

今後、日本の探査機「はやぶさ」のように「ベンヌ」の惑表面から採取した試料を地球に持ち帰る予定です。日本の国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構(JAXA)との間で「オシリス・レックス」と「はやぶさ2」が採取したサンプルをシェアする協定を結んでいます。

編集後記

11月9~10日に「社員旅行」で駒ヶ根や松本へ行ってきました。筆者はその前々日に業界団体の研修で京都に行ってきました。また、10月25日にも別の業界団体の研修で松山へ行ってきました。松山では「鯛めし」や「じゃこ天」、京都ではランチで「フレンチ」を堪能し教養と栄養を補充しました。今回の社員旅行でも2日目のランチが「フレンチ」でした。紅葉も見ごろになっており、社員の団結力も深まり楽しく充実した良い旅行となりました。 (A. K.)





写真上、下:松本城にて



株式会社 愛 研

(http://www.ai-ken.co.jp)
本 社 〒463-0037 名古屋市守山区天子田 2-710 電話(052)771-2717 FAX(052)771-2641
半田営業所 〒475-0088 半田市花田町 2-65 電話(0569)28-4738 FAX(0569)28-4749