

PRESS RELEASE (2026/09/07)

大豆の主要なイソフラボンを蛍光で簡便に測定する新手法を開発

～大豆食品の成分評価や品質管理への活用に期待～

ポイント

- ① 分割型緑色蛍光タンパク質 (split-GFP) (※1)を利用し、大豆の主要なイソフラボンであるダイジンとゲニスチンを簡便に測定する新手法を開発
- ② ダイジンやゲニスチンの存在を蛍光として検出し、洗浄操作なしで約2時間で測定可能
- ③ 大豆や大豆食品の簡便な成分評価や品質管理への利用に期待

概要

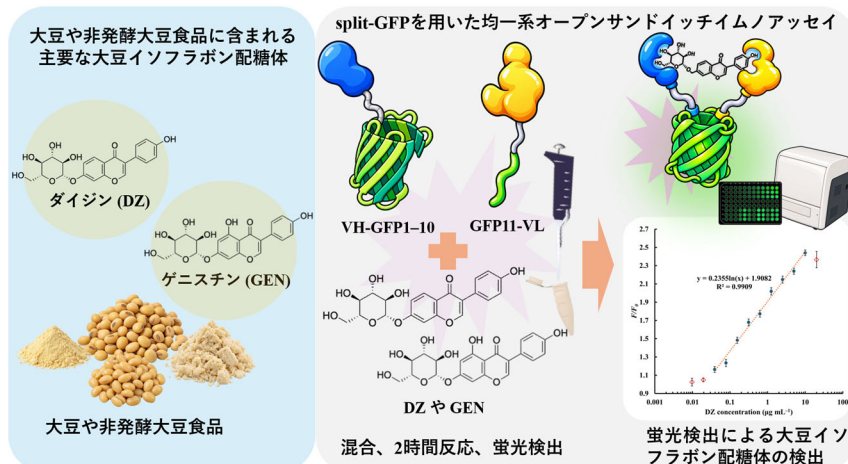
大豆や豆腐、豆乳、きな粉などの大豆食品には、健康機能が注目されているイソフラボンが含まれています。中でも、ダイジン (DZ) とゲニスチン (GEN) は主要なイソフラボン配糖体(※2)です。これらの成分は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (※3)などによって測定できますが、より簡便に検出できる方法が求められていました。

九州大学大学院薬学府博士課程3年の Thi Huynh Anh Huynh 大学院生、大学院薬学研究院の森元聡名誉教授、坂元政一准教授らの研究グループは、山口東京理科大学薬学部の田中宏幸教授と共同で分割型緑色蛍光タンパク質 (split-GFP) を利用した均一系オープンサンドイッチイムノアッセイ(※4)を世界で初めて開発しました。さらに、この新しい測定原理を用いることで、主要な大豆イソフラボン配糖体である DZ と GEN を簡便に測定できることを実証しました。

研究グループは、GEN にも反応する抗 DZ モノクローナル抗体の重鎖可変領域(※5) (VH) と軽鎖可変領域 (VL) に、2つに分割した緑色蛍光タンパク質 (GFP) をそれぞれ融合しました。DZ または GEN が存在すると VH と VL が相互作用し、それに伴って分割された GFP が再構成され、蛍光を発する仕組みです。これにより、従来のイムノアッセイで必要となる固定化や洗浄などの煩雑な操作を必要とせず、約2時間で測定できる、信頼性および正確性の高いアッセイを構築しました。

本手法により、DZ と GEN を中心とする主要な大豆イソフラボン配糖体を蛍光シグナルによって簡便に評価することが可能となります。大豆や大豆食品の成分を迅速かつ簡便に評価する新たな分析法として、品質管理などへの活用が期待されます。

本研究成果は、英国の国際学術誌「Food Chemistry」に2026年8月27日(木)にオンライン掲載されました。



研究者からひとこと：

今回開発した split-GFP を用いたイムノアッセイは、洗浄を必要とせず、大豆の主要なイソフラボンを簡便に測定できる新しい手法です。今後は、より高感度な測定や他の食品成分への応用を進め、食品の成分評価や品質管理への貢献を目指します。(坂元政一)

本研究の概要

【研究の背景と経緯】

大豆や豆腐、豆乳、味噌、納豆などの大豆食品には、健康機能が注目されるイソフラボンが豊富に含まれています。中でも、ダイジン（DZ）とゲニスチン（GEN）は主要なイソフラボン配糖体であり、大豆食品の成分評価や品質管理のため、その含有量を測定することが重要です。

これらの測定には高速液体クロマトグラフィー（HPLC）などが用いられますが、高価な装置や専門的な操作が必要です。また、ELISA などのイムノアッセイも、固定化や洗浄など複数の操作を必要とし、測定に時間がかかります。

そこで研究グループは、2 つに分割した緑色蛍光タンパク質（split-GFP）が再構成されると蛍光を発する仕組みに着目し、固定化や洗浄を必要とせず、DZ と GEN を簡便に測定できる新たなイムノアッセイの開発を目指しました。

【研究の内容と成果】

研究グループは、DZ のみならず GEN にも反応性を有するモノクローナル抗体の重鎖可変領域（VH）と軽鎖可変領域（VL）に、GFP を 2 つに分割した GFP1-10 および GFP11 断片をそれぞれ融合しました。DZ や GEN が存在すると VH と VL の相互作用が促進され、それに伴って 2 つの GFP 断片が近づいて再構成され、緑色蛍光が強くなります（図 1）。つまり、DZ や GEN の存在を蛍光の強さに変換して測定できる仕組みです。

研究グループは、この仕組みを利用して、タンパク質の組み合わせや濃度、反応温度、反応時間などの条件を検討しました。その結果、GFP11 を VL の N 末端側に融合した組み合わせで、より強い蛍光応答が得られることを見出しました。さらに条件を最適化することで、固定化、ブロッキング、洗浄などの煩雑な操作を必要とせず、試料と試薬を混合して 2 時間反応させるだけで試料中の DZ および GEN を測定可能な均一系オープンサンドイッチイムノアッセイを構築することに成功しました。

また、測定精度、再現性、添加回収試験などによって性能を評価した結果、大豆試料の分析において良好な結果が得られ、本測定法の信頼性と正確性が確認されました。さらに、本手法はマイクロプレート上で複数の試料を同時に測定でき、HPLC のようなクロマトグラフィーによる分離や測定時の移動相も必要としないため、試料調製後の分析操作を大幅に簡略化できるという利点があります。

さらに、おから、大豆、煮豆、きな粉など市販の 12 試料について、本手法と従来の HPLC による測定結果を比較した結果、本手法で得られた値と、HPLC で測定した DZ と GEN の合計値との間に高い相関（ $R^2=0.970$ ）が認められました（図 2）。これらの結果から、本手法は DZ と GEN を中心とする主要な大豆イソフラボン配糖体を簡便に評価する方法として有用であることが示されました。

本研究は、split-GFP をオープンサンドイッチ法と組み合わせ、低分子化合物を定量する均一系イムノアッセイとして応用した初めての例です。今後、大豆や大豆食品の成分評価や品質管理を、より簡便に行うための新たな分析技術としての活用が期待されます。

【今後の展開】

これまで、大豆イソフラボンの測定には HPLC や ELISA などが用いられてきましたが、専用の装置や煩雑な操作が必要でした。本研究では、抗体による分子認識と split-GFP による蛍光検出を組み合わせることで、洗浄操作を必要とせず、約 2 時間で測定できる簡便なイムノアッセイを構築しました。

今後は、測定に用いるタンパク質の生産・精製効率の向上や反応液量の削減を進め、より実用的な分析法への発展を目指します。また、さまざまな標的を認識する抗体などを活用することで、本手法を大豆イソフラボン以外の低分子化合物にも応用し、食品の成分評価や品質管理に幅広く活用できる分析技術への展開を目指します。

【参考図】

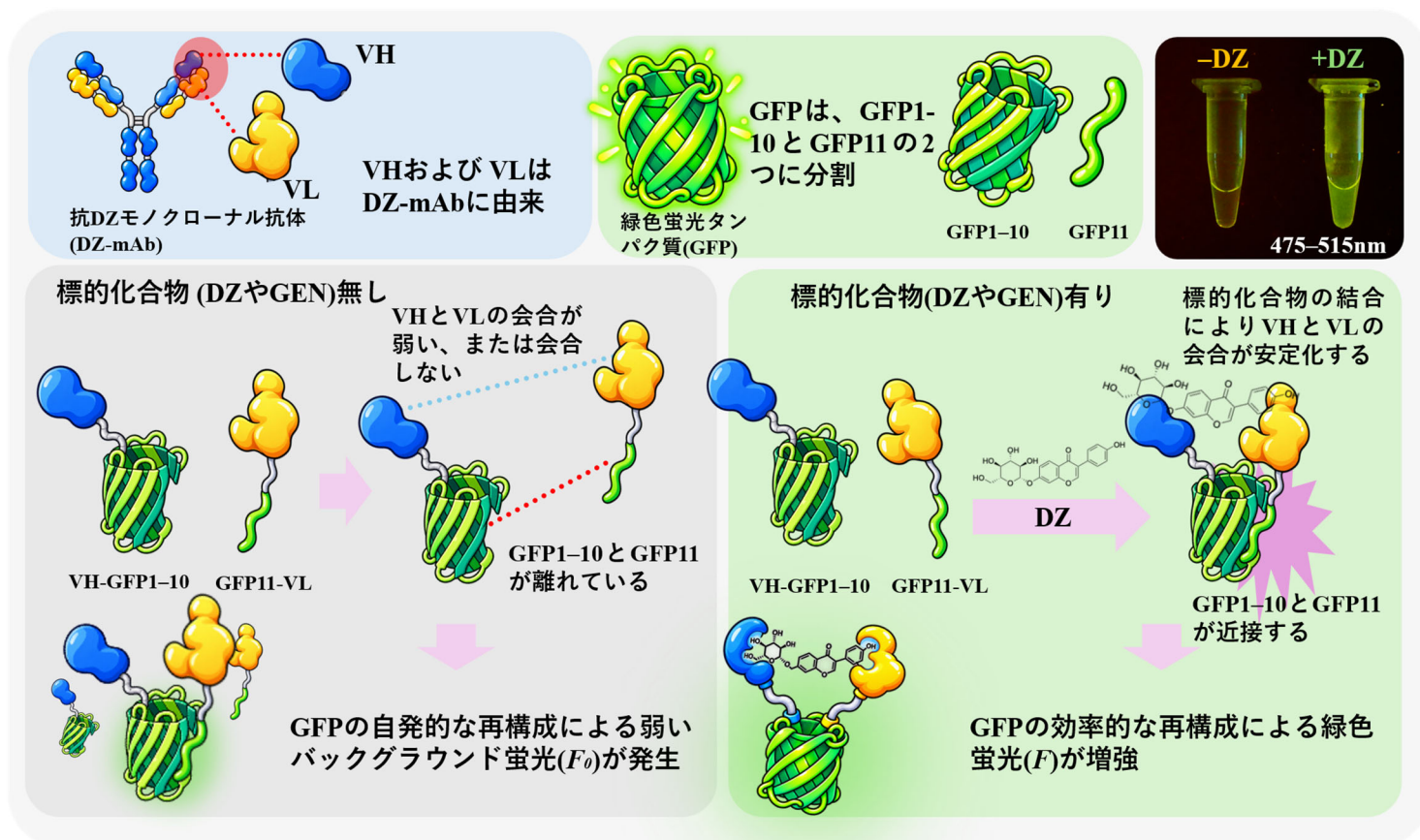


図1 標的化合物を介した GFP の再構成による緑色蛍光の発生機序

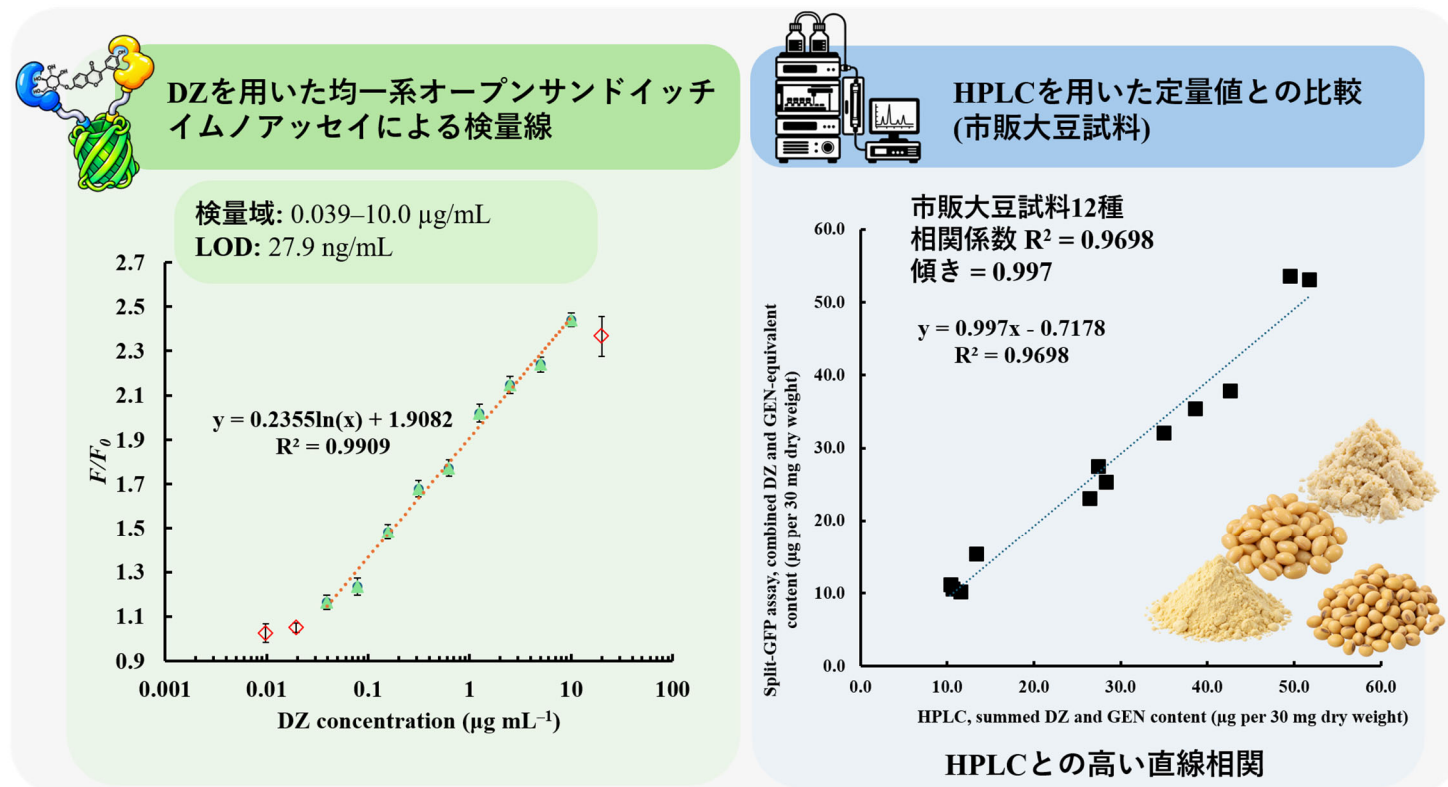


図2 本アッセイの検量線と HPLC を用いた定量値との比較

【用語解説】

(※1) 分割型緑色蛍光タンパク質 (split-GFP)

緑色の蛍光を発する緑色蛍光タンパク質 (GFP) を GFP1-10 と GFP11 の 2 つの断片に分割したもので、各々は蛍光を発しないが GFP が再構成されることで緑色の蛍光を発する。

(※2) イソフラボン配糖体

イソフラボンに糖が結合した化合物。ダイジン (DZ) とゲニスチン (GEN) は、大豆に含まれる代表的なイソフラボン配糖体である。

(※3) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

液体試料中の複数の成分を分離し、それぞれの成分を測定する分析法である。

(※4) 均一系オープンサンドイッチイムノアッセイ

抗体の一部である重鎖可変領域 (VH) と軽鎖可変領域 (VL) を使って標的を検出する方法。VH と VL が標的を挟むように結合することから、「オープンサンドイッチ」と呼ばれる。標的が結合すると VH と VL の結びつきが変化し、その変化を緑色蛍光などの信号として検出する。また「均一系」とは、途中で洗浄や分離をせず、混ぜた状態のまま測定できる方式を意味する。

(※5) 可変領域

抗体の中で標的を認識する部分。本研究の測定法では、抗体の重鎖可変領域 (VH) と軽鎖可変領域 (VL) をそれぞれ利用している。

【謝辞】

本研究の一部は JSPS 科研費 (JP17K15466) の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌: Food Chemistry

タイトル: Split-GFP-based homogeneous open sandwich immunoassay for rapid and simple detection of daidzin and genistin in soybeans

著者名: Thi Huynh Anh Huynh, Munetaka Shiratsuchi, Poomraphie Nuntawong, Hiroyuki Tanaka, Satoshi Morimoto, Seiichi Sakamoto

D O I : 10.1016/j.foodchem.2026.150899

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学大学院薬学研究院 准教授 坂元政一 (サカモトセイイチ)

TEL: 092-642-6581 FAX: 092-642-6581

Mail: s.sakamoto@phar.kyushu-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報課

TEL: 092-802-2130 FAX: 092-802-2139

Mail: koho@jimu.kyushu-u.ac.jp