

ELISA법에 의한 mouse의 血清 및 組織中の T-2 toxin의 檢索

김동술 · 송재영* · 정덕화*
식품의약품안전본부, 경상대학교* 식품공학과

The Detection of T-2 toxin in Serum and Organ of Mouse by ELISA

Dong-Sul Kim, Jae-Young Song* and Duck-Hwa Chung*

Department of Nutrition, Food and Drug Administration, *Department of Food Science & Tech., Gyeongsang National University,
Chinju, 660-701

ABSTRACT

In order to detect the T-2 toxin accumulation in the animal tissues, T-2 toxin, produced by *Fusarium sporotrichioides* M-1-1, was injected to mouse by 0, 1 and 2 mg per kilogram of body weight, respectively, and T-2 toxin extracted from serum and organs were analyzed by the indirect competitive ELISA. The indirect competitive ELISA established in the laboratory can be check less than 0.1 ppb level of T-2 toxin and average recovery of T-2 toxin spiked was 80~113% in animal samples such as serum, liver and kidney. After 6 weeks of treatment with 2 mg of T-2 toxin per kg body weight, T-2 toxin was accumulated in serum (133.0 ng/ml), liver(1.4 ng/g) and kidney(14.3 ng/g) of mouse injected with 2 mg of toxin per kg body weight.

Keywords : T-2 toxin, indirect competitive ELISA

I. 서 론

곰팡이가 생성하는 대사산물인 mycotoxin은 오염된 사료를 섭취한 가축이나 수산동물에 급여되면 1차적으로 이들에 중독증을 초래하고 이들로 부터 생산된 육류와 어류는 사람이 소비함에 따라 먹이 사슬을 통하여 사람에게 급성 또는 만성적 장애를 유발하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 인체에 여러가지 형태로 위해를 주는 mycotoxin중 trichothecene은 *Fusarium* 연구센터(International Toxic *Fusarium* Reference Collection, 미국 펜실바니아 주립대학)를 중심으로 추진되어온 연구결과에 의하면 *Sporotrichiella* section의 *Fusarium sporotrichioides*와 *F. poae*, *Discolor* section의 *F. culmorum*, *F. sambucinum*, *F. graminearum*, *Gibbosum* section의 *F. equiseti*, *Liseola* section의 *F. moniliforme* 등^{2,4)}이 주요 독소의 생성균으로 보고되고 있으며, 현재 80여종의 유도체가 알려져 있다.

그 중 식품에서 발견 빈도가 비교적 높은것은 *F. graminearum*(*Gibberellazeae*)과 *F. sporotrichioides*에 의해 생성되는 nivalenol, deoxynivalenol, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol 등이다.⁴⁾ 이 중에서 T-2 toxin[3-hydroxy-4, 15-diacetoxy-8-(3-methylbutyryloxy)-12,13-epoxy-DELTA⁹-trichothecene]은 녹는 점이 151~152°C인 흰색 결정체로서 사람이나 동물이 섭취했을 경우 소장에서 쉽게 흡수되어 체내에 확산되는 독성이 강한 Type A군 trichothecene이다.⁵⁾ 그러나, *Fusarium* 독소와 중독증과의 관계를 체계적으로 실증하는 역학적 자료는 현재까지 없다. 한편, T-2 toxin은 동물에서 단독 혹은 복합적으로 *Fusarium* 중독증(fusario-toxicosis)을, 사람에서는 식중독성 무백혈구증(alimentary toxic aleukia:ATA)과 같은 질병⁶⁾을 일으킨다. T-2 toxin에 의한 중독 사고로 가장 컸던 것은 2차 세계대전중 노동력이 부족하여 이듬해 봄까지 밭에 방치되었던 수수를 비롯한 농작물을 수확하여 식료로 공급된 결

과 구 소련 Otenburg 지방 주민의 약 10%가 식중독성 무백혈구증에 걸려 60%까지 사망하였던 사고이다.⁶⁾ 또한 일본에서 콩각지(bean hull)를 섭취한 말의 대량폐사 원인이 T-2 toxin임이 밝혀졌고,⁵⁾ 1971년 미국의 위스콘신주에서는 *F. tricinatum*에 오염된 옥수수사료를 먹은 가축들의 대량 폐사사건이 발생하였다.⁷⁾ 이러한 T-2 toxin의 분석법에는 TLC(thin layer chromatography)법,⁸⁾ GC(gas chromatography)법⁹⁾ 및 GC-MS(gas chromatography-mass spectrometer)법¹⁰⁾ 등이 사용되어져 왔다.

일반적으로 곰팡이독은 미량으로도 존재하기 때문에 기기 분석을 위해서는 많은 량의 시료가 필요하고 분석적인 전처리 조작들이 복잡하며, 더우기 GC-MS의 경우에는 기기의 단가가 고가이며 전문인력을 필요로 하며, 다량의 유기용매를 사용하므로 실험자의 안전성이 문제시 되었다.^{11,12)} 이와 같은 문제점을 해결하기 위해 새롭게 시도된 분석법이 RIA (radioimmunoassay)법이었는데 RIA법 역시 방사성 폐기물의 위험성이 문제되어¹³⁾ Chu 등,¹⁴⁾ Pestka 등,¹⁵⁾ Hunter 등¹⁶⁾ 및 Gendleff 등¹⁷⁾을 중심으로 특정 mycotoxin에 대해 감도 높은 항체를 동물의 체내에서 생성하여 이를 직접 곡류나 식품 및 동물조직 중의 오염된 mycotoxin을 분석하기 위한 방법으로 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)법이 응용되어서 종래의 분석법에서 나타났던 단점들을 극복하게 되었다. *Fusarium*속 곰팡이의 경우 자연계에 널리 분포하며, aflatoxin을 생산하는 *Aspergillus*속 곰팡이와 비교할 때 5~20°C의 저온에서 mycotoxin을 분비할 수 있고 저산소 환경에서도 생육할 수 있다. T-2 toxin은 일년내내 우리의 음식물에 오염될 수 있고, T-2 toxin은 지속적으로 우리가 섭취하고 있는 음식물을 통하여 인체에 오염될 가능성이 높다. 그러므로 우리나라 농산물에서도 trichothecene계 곰팡이독의 오염가능성이 예견되며 최근에 들어와서는 농산물 수입의 증가에 따라 국내에서도 오염의 가능성이 커졌다고 생각되어서, 이들에 대한 법적규제와 검색업무 위한 제도적 장치가 요구된다. 따라서 본 연구에서는 본 실험실에서 확립한 간편하고 쉬운 ELISA 측정법의 응용과 T-2 toxin이 mouse의 혈청 및 조직중에 축적되는 정도를 조사하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. T-2 toxin 생산균주의 배양

실험에 필요한 많은 양의 T-2 toxin을 실험실 내에서 생산하기 위하여 Ueno교수(일본동경이과대학)로부터 T-2 toxin 생산균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1을 분양받아 T-2 toxin을 생산하였다. 먼저 균주를 potato dextrose agar(PDA, Difco.) 평판 배지에 접종하여 25°C에서 5일간 활성화시킨 후 1 mm×4 mm의 크기로 agar plug를 만들어 CMC(NH₄NO₃ 1.0 g, KH₂PO₄ 1.0g, MgSO₄ 7H₂O 0.5 g, yeast extract 1.0 g, carboxymethylcellulose 15 g, distilled water 1 l, pH 5.6)배지에 접종하고 진탕배양(280±10 rpm, 25°C, 5일)하여 conidia를 생성하였다. 생성된 conidia를 멸균 증류수를 첨가하여 haemocytometer로 10⁶ conidia/ml의 농도로 조절하여 접종균으로 사용하였다.

2. T-2 toxin의 추출 및 정제

T-2 toxin의 생산은 Burimeister¹⁸⁾의 방법을 변형하여 실험하였다. 즉, 쌀배지(쌀 1 kg, 수분 40%)에 *F. sporotrichioides* M-1-1의 conidia(10⁶ conidia/ml)를 접종한 후, 25°C에서 2주 배양한 다음, 다시 15°C에서 2주간 배양하였다. 배양물을 ethylacetate로 추출, 여과한 후 여액을 감압건조하여 5 ml가 되게한 후 silica gel(Merck, 70~230 mesh)로 충전된 5 cm×50 cm 컬럼에 흡착시켜, n-hexane 1 l로 탈지시킨 후 n-hexane: acetone(12:7) 1 l, n-hexane:acetone(1:2) 1 l를 차례로 유출시켜 fraction collector(LKB 2211, U.S.A)로 10 ml씩 수집한 후 TLC로 확인하였다. 이 때 TLC법에 사용된 전개용매는 ethylacetate:toluene(3:1) 혼합용액을 사용하였으며, 20% H₂SO₄로 발색하여 UV (365 nm)에서 확인하였다. T-2 toxin이 들어있는 분획을 전부 모아서 이를 감압 건조한 후 잔사를 benzene 5 ml에 녹여 n-hexane을 혼탁해지기 직전까지 소량씩 첨가한 다음, 냉장고(4°C)에 방치하여 T-2 toxin 결정을 얻었다.

3. 실험동물 및 실험개요

동물체내에서 T-2 toxin이 미치는 영향을 살펴보기 위하여 C₃H/He 계통의 mouse를 실험동물로 이용하였다. Mouse는 생후 6주된 것으로 평균무게 25 g의 암컷을 이용하였다. 사육실의 온도는 25°C로 유지하고, 아울러 명암주기는 12시간(08:00~20:00)으로 고정하였다. 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 실험군은 3군으로 나누어 실험하였으며 대조군인 A군은 옥수수 기름만 투여했고, B군의 경우

는 T-2 toxin을 옥수수 기름에 녹여서 1 mg/kg을 사용하였으며, C군에 있어서는 2 mg/kg을 주당 3회씩 경구투여 하였다. 사료 섭취량과 몸무게는 주 3회 이상 측정하였으며, mouse를 2, 4, 및 6주째 되는 시기에 희생시켜 혈액을 받고 간과 소장의 기관을 적출하여 ELISA 분석용 시료로 사용하였다.

4. T-2 toxin 분석을 위한 시료조제

상기의 ELISA법을 응용하여 조직 및 혈청중 T-2 toxin량을 알아보기 위하여 다음과 같이 추출하였다. 혈청의 경우는 혈청 150 μ l에 메탄올 150 μ l를 가하고 10분동안 강하게 교반한 후 15,000 rpm에서 5분동안 원심분리하였다. 원심분리한 상등액을 일정량 취해 PBS-Tween으로 제조한 5% 메탄올 용액을 가하고 전체를 10%의 메탄올 농도로 맞추어 ELISA 분석에 이용하였으며, 간과 신장조직의 시료준비는 조직을 각각 1g씩 취하여 5 ml ethylacetate를 넣어 5분 동안 균질화한 후 30분 동안 진탕한 후 증류수 7.5 ml를 가하여 ethylacetate층을 세척하고 ethylacetate층 2.5 ml 취해 건조시키고 메탄올 1 ml와 증류수 4 ml를 가해 용해시켜 Sep Pak(C₁₈, Waters사) 컬럼에 통과시켰다. 그런 다음 메탄올-물 (10:90)의 혼합용매로 컬럼을 세척하고 흡착된 T-2 toxin을 메탄올 5 ml로 용리시켜 건조한 후 0.1 ml의 메탄올에 녹인 다음 0.9 ml의 PBS-Tween을 가해 ELISA 분석용 시료로 사용하였다.

5. 조직 및 혈청중 T-2 toxin의 정량분석

실험동물의 혈청과 조직에서 T-2 toxin의 오염여부를 분석하기 위하여 Ohtani 등¹⁹⁾ 방법에 준하여 ELISA법을 확립하였다. 즉, T-2 toxin-HG-BSA를 coating buffer (carbonate buffer)에 녹여 96well microplate에 100 μ l(100 ng/well)씩 분주하여 4°C에서 하루 방치하여 coating 시킨 후 세척액(PBS-Tween)으로 4회 세척하였다. 그런 다음 비특이적 반응을 방지하기 위해 PBS에 녹인 0.1% ovalbumin을 well에 125 μ l씩 분주하여 4°C에서 하룻밤 방치한 후 세척액으로 4회 세척하였다. 세척한 plate에 표준 T-2 toxin 또는 분석시료 추출액과 1차 antibody (1:1000) 50 μ l를 well에 주입하고 다시 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. 반응시킨 plate를 세척액으로 5회 세척하고 well에 2차 antibody(1:10,000)를 10 μ l씩 분주하고 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 세척액으로 다시 6회 세척한 후 기질

(TMBZ)용액 100 μ l를 분주하여 실온에서 30분 동안 발색시켰다. 푸른색으로 발색된 well에 2N-H₂SO₄용액을 50 μ l씩 넣어 반응을 정지시켜 ELISA reader (450 nm, Dynatech Lab., U.S.A.)로 흡광도(O.D.)를 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. T-2 toxin의 생산

실험에 필요한 많은 양의 T-2 toxin을 생산하기 위하여, 공시균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1을 고체배지에 배양하여 실험에 사용할 독소를 생산하였다. CMC 배지에서 conidia를 생성한 후 쌀배지에 공시균주의 conidia(106 conidia/ml)를 접종하여 25°C에서 2주간, 다시 10°C에서 2주간 배양하여 ethylacetate로 추출하여 clean-up column으로 다량의 색소성분들을 제거한 후 silica gel 컬럼에 흡착시켜, n-hexane 1 l로 탈지시킨 후 n-hexane:a-

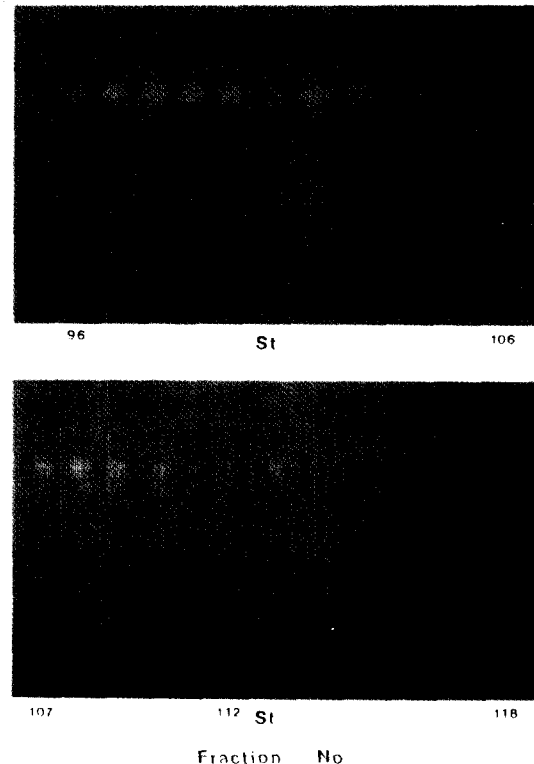


Fig. 1. Elution pattern of crude extract from culture of *Fusarium sporotrichioides* M-1-1 on silica gel column monitored by TLC.

cetone (12:7) 1 l, n-hexane:acetone(1:2) 1 l를 차례로 유출시켜 fraction collector (LKB 2211, U.S. A)로 10 ml씩 수집하여 TLC로 chromatogram을 확인한 결과는 Fig. 1에 나타나있다. 이때 사용한 전개용매는 ethylacetate:toluene(3:1) 혼합용액을 사용하였으며, 20% H₂SO₄로 발색하여 UV(365 nm)에서 확인하였다. 그 결과, fraction tube No. 1~95번까지 색소성분만 용출되었고 96~112번까지의 분획에서 T-2 toxin이 나타났다. T-2 toxin이 검출된 분획을 모아 용매를 건조시킨 결과, 1.2 g의 crude toxin이 얻어졌으며 이것을 benzene:n-hexane용매로 재결정하여 0.7 g의 T-2 toxin 결정을 얻을 수 있었다. Burmeister¹⁸⁾는 쌀배지에 같은 공시균의

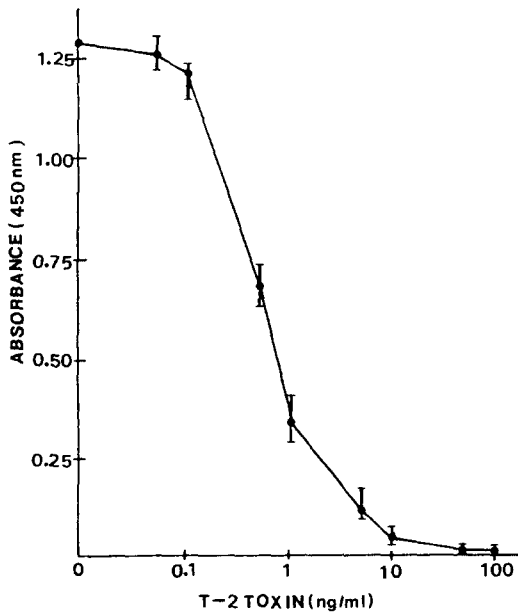


Fig. 2. Indirect competitive ELISA standard curve for T-2 toxin.

conidia(10^6 conidia/ml)를 접종한 후 25°C에서 2주 배양한 다음 다시 10°C에서 2주간 배양, 추출 및 정제를 한 후 hexane-acetone-toluene 용액으로부터 1.0 g의 T-2 toxin을 얻었다는 보고와의 차이는 정제조건에 상이함에 기인한 것으로 사료되었다.

2. ELISA법에 의한 T-2 toxin의 정량

Ohtani 등¹⁹⁾의 방법에 준하여 indirect competitive ELISA법의 측정조건에 의해서 작성된 표준곡선은 Fig. 2와 같이 나타났으며, 이때의 T-2 toxin에 대한 검출한계는 약 0.1ppb이었다.

3. 조직 및 혈청중의 T-2 toxin의 축적

Mouse에서 적출한 혈청중의 T-2 toxin량을 ELISA법으로 알아본 결과는 Table 1에 나타나 있다. 혈청의 경우, 독소를 투여하지 않은 대조군(A군)은 T-2 toxin이 실험 기간에 걸쳐 검출되지 않았으며, 2 mg/kg의 T-2 toxin를 mouse에 투여한 군에서는 2, 4, 6주 후에 각각 46.7 ± 2 , 118.7 ± 2.3 및 133.0 ± 11.5 $\mu\text{g/ml}$ 가 검출되어 시간이 경과함에 따라서 독소의 양이 증가하는 것을 알 수가 있었다. 또한 본 실험에서 선택한 추출방법과 ELISA 분석방법에 의해 혈청 중에 축적된 T-2 toxin의 양이 정상적으로 분석되는지를 알아보기 위해 혈청에 표준 T-2 toxin을 일정량 첨가한 후 분석하였을때의 회수율은

Table 2. Recovery of T-2 toxin from serum samples after spiking authentic toxin(triplicate runs)

T-2 toxin A added (ng/ml serum)	Recovery (%)	C.V.*
50	89	0.137
10	113	0.136
1	80	0.103

*C.V. : coefficient of variance

Table 1. Detection of T-2 toxin from serum samples of mouse by indirect competitive ELISA

Treatment (toxin/body weight)	No. of serum donor mouse	T-2 toxin ($\mu\text{g/ml}$ serum)		
		2*	4*	6*
control	5	ND	ND	ND
1 mg/kg***	5	28.7 ± 3.06	109.0 ± 6.11	128.7 ± 12.0
1 mg/kg**	5	46.7 ± 2.00	118.7 ± 2.30	133.0 ± 11.5

* : weeks after treatment

**p<0.001

***p<0.01

ND : not detected

Table 3. Detection of T-2 toxin from kidney samples of mouse by indirect competitive ELISA

Treatment (toxin/ body weight)	No. of kidney donor mouse	T-2 toxin (ng/g kidney)		
		2*	4*	6*
control	5	ND	ND	ND
1 mg/kg***	5	0.67±0.115	1.40±0.200	10.7±0.800
2 mg/kg***	5	4.70±1.330	8.23±3.330	14.3±2.520

* : weeks after treatment

*** p<0.001

ND : not detected

Table 4. Recovery of T-2 toxin from kidney samples after spiking authentic toxin(triplicate runs)

T-2 toxin added (ng/g kidney)	Recovery(%)	C.V.*
50	103	0.147
10	93	0.062
1	80	0.125

*C.V.: coefficient of variance

Table 6. Recovery of T-2 toxin from liver samples after spiking authentic

T-2 toxin added (ng/g kidney)	Recovery(%)	C.V.*
50	106	1.963
10	91.6	0.032
1	101	0.103

*C.V.: coefficient of variance

Table 5. Detection of T-2 toxin from liver samples of mouse by indirect

Treatment (toxin/ body weight)	No. of kidney donor mouse	T-2 toxin (ng/g kidney)		
		2*	4*	6*
control	5	ND	ND	ND
1 mg/kg***	5	0.2±0.02	0.2±0.02	0.3±0.05
2 mg/kg***	5	0.7±0.20	0.8±0.01	1.4±0.007

* : weeks after treatment

*** p<0.001

ND : not detected

Table 2와 같았다. 즉, 혈청 1 ml에 10, 5, 1 ng에 해당하는 T-2 toxin을 첨가하였을 때 각각 89, 113, 80%의 회수율을 나타내었다.

신장에서의 T-2 toxin 축적여부를 살펴본 결과, 대조군에서는 T-2 toxin이 검출되지 않았지만, T-2 toxin을 2 mg/kg의 농도로 쥐에 투여한 후 신장에 축적되는 독소의 양은 2, 4, 6주 후 각각 4.70±1.33, 8.23±3.33 및 14.3±2.52 ng/g이었으며, 시간이 경과 할수록 독소의 축적량은 증가하였지만 혈청과 비교 할 때 축적되는 양은 적었다.(Table 3.) 한편, 신장에서의 coefficient variance은 Table 4에서 보는 바와 같이 신장 1 g 당 50, 10, 1 ng에 해당하는 T-2 toxin을 첨가하였을 때 각각 0.147, 0.062, 및 0.125를 나타내었다.

한편, 적출한 간에서의 T-2 toxin 축적여부를 조사 한 결과는 Table 5와 같으며 그 결과, A군에서는 T-

2 toxin이 검출되지 않았으며, kg당 2 mg의 T-2 toxin을 투여하였을 경우 2주, 4주 및 6주 후 각각 0.7±0.2, 0.8±0.01, 및 1.4±0.07 ng/g이 축적되었으며 혈청이나 신장의 경우와는 달리 간에서는 축적되는 독소의 양이 아주 낮았다. 또한 간 1 g 당 50, 10, 1 ng에 해당하는 T-2 toxin을 첨가하였을 때 각각 106, 91.6, 101%의 회수율을 나타내었다(Table 6).

이상의 조직에 대한 ELISA 결과는 T-2 toxin이 여러조직에 축적되며 특히 간장과 신장에 많이 축적된다는 Chi,²⁰⁾ Ellison 등²¹⁾의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

IV. 결 론

동물생체 시료 중에 축적되는 함량을 검색하기 위해 공시균 *Fusarium sporotrichioides* M-1-1으로

T-2 toxin을 생산하여 mouse에 0, 1 및 2 mg/kg 생체중량 수준으로 투여한 후 혈청 및 조직시료를 취하여 indirect competitive ELISA를 실시하였다. 본 실험실에서 확립한 indirect competitive ELISA에 의한 최저 분석한계는 0.1 ppb이었으며 회수율은 80~113%를 보였다. T-2 toxin의 투여량과 투여시기에 따라 mouse의 혈청, 간, 신장에서의 축적양상을 살펴본 결과, T-2 toxin을 2 mg/kg을 처리한 군에서 6주 후 각각 133.0 ng/ml, 14.3 ng/g 그리고 1.4 ng/g의 T-2 toxin이 축적된 것으로 나타났다.

참고문헌

- 1) Mirocha, C. J., Schauerhamer, B., Christensen, C. M. and Kommedahl, T.: Natural occurrence of *Fusarium* toxins in feedstuff. *Appl. Environ. Microbiol.*, **32**, 553-556, 1976.
- 2) Bamburg, J. R., Riggs, N. V. and Strong, M.: Structure of toxins from two strains of *Fusarium tricinctum*. *Tetrahedron.*, **24**, 3329-3336, 1968.
- 3) Ellison, R. A. and F. N. Kotsonis, : T-2 toxin as an emetic factor in mouldy corn. *Appl. Microbiol.*, **26**, 540-543, 1973.
- 4) Ueno, Y. : Trichothecenes-Chemical, Biological and Toxicological Aspects. Elsevier Science Publishers Amsterdam, 135-178, 1983.
- 5) Ueno, Y., Ishii, K., Sakai, K., Kanaeda, S., Tsunoda, H., Tanaka, T. and Enomoto, M. : Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*: Microbial survey on "bean-hull poisoning of horses" with the isolation of toxic trichothecenes, nesolaniol and T-2 toxin of *Fusarium solani* M-1-1. *Japan J. Exp. Med.*, **42**, 187-203, 1973.
- 6) Joffe, A. Z. : *Fusarium poae* and *F. sporotrichioides* as principal causal agent of alimentary toxic aleukia. In *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses*, Marcel Dekker, New York, 21-86, 1978.
- 7) Hue, I. C., Smalley, E. B., Strong, F. M. and Ribelin, W. E. : Identification of T-2 toxin mouldy corn associated with a lethal toxicosis in dairy cattle. *Appl. Microbiol.*, **24**, 684-690, 1972.
- 8) Patterson, D. S. P. and Roberts, B. A. : Mycotoxins in animal feedstuffs: Sensitive thin layer chromatographic detection of aflatoxin, ochratoxin A, sterigmatocystin, zearalenone and T-2 toxin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 1265-1267, 1979.
- 9) Collins, G. J. and Rosen, J. D. : Distribution of T-2 toxin in wet milled corn products. *J. Food Sci.*, **46**, 877-879, 1981.
- 10) Collins, G. J. and Rosen J. D. : Gas-liquid chromatographic/mass spectrometric screening method for T-2 toxins in milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **62**, 1274-1280, 1979.
- 11) Ueno, Y., Ishikawa, K., Amakai, M., Nakajima, M., Saito, M., Enomoto, M. and Ohtsubo, K. : Comparative study on skin-necrotizing effect of scirpene metabolites of *Fusaria*. *Japan J. Exp. Med.*, **40**, 33-38, 1970.
- 12) Ueno, Y., Sato, N., Ishii, K., Tsunoda, H. and Enomoto, M. : Biological an chemical detection of trichothecene mycotoxins of *Fusarium* species. *Appl. Microbiol.*, **25**, 699-704, 1973.
- 13) Hewetson, J. F., Pace, J. G. and Beheler, J. E. : Detection and quantitation of T-2 mycotoxin in rat organs by radioimmunoassay. *J. Assoc. Anal. Chem.*, **70**, 645-652, 1987.
- 14) Chu, F. S., Grossman, S., Ru, D. W., and Mirocha, C. J. : Production of antibody against T-2 toxin. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 104-108, 1979.
- 15) Pestka, J. J., Lee, S. S., Lau, H. P. and Chu, F. S. : Enzyme-linked immunosorbent assay for T-2 toxin. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **58**, 940-944, 1981.
- 16) Hunter, K. W., Brinfield, A. A., Miller, M., Frinkelman, F. D. and Chu, F. S. : Preparation and characterization of monoclonal antibodies to the trichothecene mycotoxin T-2. *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 168-172, 1985.
- 17) Gendloff, E. H., Pestka, J. J., Dixon, D. E. and Hart, L. O. : Production of a monoclonal antibody to T-2 toxin with strong cross-reactivity to T-2 metabolites. *Phytopathology*, **77**, 57-59, 1987.
- 18) Burmeister, H. R., Ellis, J. J. and Yates, S. G. : Correlation of biological to chromatographic data for two mycotoxins elaborated by *Fusarium*. *Appl. Microbiol.*, **21**, 673-675, 1971.
- 19) Ohtani, K., Kawamura, O., Kaji, H., Chiba, J. and Ueno, Y. : Development of enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for T-2 toxin using monoclonal antibodies. *Proc. Japan Assoc. Mycotoxicol.*, **22**, 31-32, 1985.
- 20) Chi, M. S., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Weaver, G., Bates, F., Shimoda, W. and Burmeister, H. R. : Subacute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks. *Poultry Science*, **56**, 306-313, 1977.
- 21) Ellison, R. A. and Kotsonis, F. N. : In vitro metabolism of T-2 toxin. *Appl. Microbiol.*, **27**, 423-424, 1974.