

通常の統計量から計算した精度

試料食品	添加量	Mキット				Nキット			
		ng/mL	試験室数	RSDr%	RSDR%	試験室数	RSDr%	RSDR%	
ソーセージ	Dose A	25	10	9.5	17.4	8	4.0	9.0	
	Dose A 5倍希釈	5	10	7.9	18.5	9	11.6	18.7	
	Dose B	125	10	5.3	11.4	10	5.8	17.2	
	Dose B 5倍希釈	25	10	10.0	12.6	10	4.8	14.9	
牛肉	Dose A	25	10	3.4	9.2	10	8.5	21.7	
	Dose A 5倍希釈	5	9	38.3	43.4	9	54.4	46.6	
	Dose B	125	10	7.9	12.6	10	3.9	15.9	
	Dose B 5倍希釈	25	10	9.6	15.5	9	11.2	33.7	
ビスケット	Dose A	25	10	5.5	12.3	10	8.4	13.8	
	Dose A 5倍希釈	5	10	12.3	36.1	9	31.3	39.0	
	Dose B	125	10	8.9	10.7	9	2.3	11.3	
	Dose B 5倍希釈	25	9	13.2	14.8	10	10.3	25.6	
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	5.2	10.4	10	4.3	6.8	
	Dose A 5倍希釈	5	10	6.3	21.6	10	6.7	13.1	
	Dose B	125	10	5.6	13.8	10	7.9	12.4	
	Dose B 5倍希釈	25	9	4.2	20.1	10	6.3	11.7	
ジャム	Dose A	25	10	8.9	9.9	10	6.6	11.4	
	Dose A 5倍希釈	5	10	9.1	20.2	9	8.3	20.5	
	Dose B	125	10	6.4	14.1	9	8.9	14.7	
	Dose B 5倍希釈	25	10	5.2	11.6	10	5.0	12.4	

頑健な統計量から計算した精度

試料食品	添加量	ng/mL	Mキット		Nキット	
			RSDr	RSDR	RSDr	RSDR
ソーセージ	Dose A	25	8.9	17.5	5.5	17.9
	Dose A 5倍希釈	5	7.2	20.2	14.2	23.9
	Dose B	125	5.8	11.7	5.7	19.2
	Dose B 5倍希釈	25	10.9	14.1	3.1	15.9
牛肉	Dose A	25	2.9	8.1	8.8	22.7
	Dose A 5倍希釈	5	17.8	43.9	31.5	38.2
	Dose B	125	6.2	10.8	4.0	15.6
	Dose B 5倍希釈	25	1.1	9.9	13.2	41.8
ビスケット	Dose A	25	0.7	5.9	7.7	14.7
	Dose A 5倍希釈	5	10.8	34.4	37.0	47.8
	Dose B	125	7.6	10.9	3.0	9.8
	Dose B 5倍希釈	25	17.2	19.8	10.4	27.0
オレンジ ジュース	Dose A	25	5.0	11.6	4.7	6.3
	Dose A 5倍希釈	5	6.9	22.6	7.4	14.8
	Dose B	125	5.6	11.2	6.2	13.3
	Dose B 5倍希釈	25	5.3	21.9	7.0	12.3
ジャム	Dose A	25	9.5	11.0	5.1	12.3
	Dose A 5倍希釈	5	8.1	17.8	10.1	26.1
	Dose B	125	5.7	12.2	5.3	18.6
	Dose B 5倍希釈	25	5.2	12.2	5.5	14.0

Table 11 小麦抗原結果

通常の統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	試験室数	Mキット		Nキット			
			ng/mL	%	試験室数	ng/mL	%	
ソーセージ	Dose A	25	9	22.38	89.5	9	28.30	113.2
	Dose A 5倍希釈	5	9	5.29	105.9	10	4.58	91.6
	Dose B	125	9	62.48	50.0	6	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	9	20.03	80.1	9	15.87	63.5
牛肉	Dose A	25	10	19.17	76.7	9	21.59	86.3
	Dose A 5倍希釈	5	9	4.05	81.1	10	3.84	76.9
	Dose B	125	9	80.58	64.5	0	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	9	22.30	89.2	9	29.44	117.7
トマトソース	Dose A	25	10	24.85	99.4	9	60.52	242.1
	Dose A 5倍希釈	5	10	5.03	100.6	9	5.11	102.2
	Dose B	125	9	96.80	77.4	1	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	10	25.65	102.6	8	127.84	511.4
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	22.46	89.8	9	60.84	243.4
	Dose A 5倍希釈	5	10	4.52	90.5	9	4.63	92.5
	Dose B	125	9	89.33	71.5	1	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	10	23.61	94.4	10	68.57	274.3
ジャム	Dose A	25	9	3.91	15.6	9	1.58	6.3
	Dose A 5倍希釈	5	9	0.84	16.9	9	0.44	8.9
	Dose B	125	10	19.41	15.5	9	4.33	3.5
	Dose B 5倍希釈	25	9	4.22	16.9	10	1.70	6.8

頑健な統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	Mキット		Nキット		
		ng/mL	%	ng/mL	%	
ソーセージ	Dose A	25	22.7	90.9	28.0	112.0
	Dose A 5倍希釈	5	5.3	106.2	4.6	91.7
	Dose B	125	64.3	51.4	146.0	116.8
	Dose B 5倍希釈	25	20.5	82.0	16.9	67.5
牛肉	Dose A	25	19.5	77.9	22.3	89.4
	Dose A 5倍希釈	5	3.9	78.3	3.8	76.8
	Dose B	125	82.9	66.3	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	22.6	90.6	31.3	125.2
トマトソース	Dose A	25	24.8	99.1	65.6	262.5
	Dose A 5倍希釈	5	5.1	101.2	5.3	105.8
	Dose B	125	100.3	80.2	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	25.6	102.6	104.0	416.2
オレンジ ジュース	Dose A	25	22.3	89.3	63.4	253.5
	Dose A 5倍希釈	5	4.5	90.5	4.6	91.9
	Dose B	125	92.6	74.1	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	23.6	94.4	68.6	274.3
ジャム	Dose A	25	4.2	16.7	1.5	6.0
	Dose A 5倍希釈	5	0.9	18.5	0.4	8.9
	Dose B	125	19.0	15.2	4.6	3.7
	Dose B 5倍希釈	25	4.4	17.5	1.6	6.5

通常の統計量から計算した精度

試料食品	添加量	ng/mL	Mキット		Nキット			
			試験室数	RSDr%	RSDR%	試験室数	RSDr%	RSDR%
ソーセージ	Dose A	25	9	11.1	18.0	12.7	7.2	21.1
	Dose A 5倍希釈	5	9	9.3	14.6	10.3	13.5	12.8
	Dose B	125	9	5.6	12.6	8.9	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	9	6.4	11.7	8.3	12.6	30.1
牛肉	Dose A	25	10	10.8	17.8	12.6	8.1	16.8
	Dose A 5倍希釈	5	9	10.3	17.2	12.2	11.7	17.1
	Dose B	125	9	3.5	13.2	9.3	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	9	12.2	10.9	7.7	20.5	28.8
トマトソース	Dose A	25	10	19.9	20.9	14.8	47.5	48.2
	Dose A 5倍希釈	5	10	11.4	20.1	14.2	19.1	20.2
	Dose B	125	9	10.3	17.9	12.6	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	10	17.4	16.0	11.3	140.4	140.3
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	14.0	20.3	14.3	73.6	70.5
	Dose A 5倍希釈	5	10	14.3	27.2	19.2	10.2	12.3
	Dose B	125	9	6.0	17.1	12.1	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	10	4.9	18.3	12.9	37.3	55.0
ジャム	Dose A	25	9	34.6	55.2	39.1	60.5	71.4
	Dose A 5倍希釈	5	9	18.2	61.0	43.2	43.0	59.2
	Dose B	125	10	7.4	37.3	26.4	8.5	33.9
	Dose B 5倍希釈	25	9	5.7	72.4	51.2	7.1	34.1

頑健な統計量から計算した精度

試料食品	添加量	ng/mL	Mキット		Nキット	
			RSDr	RSDR	RSDr	RSDR
ソーセージ	Dose A	25	13.9	19.8	8.6	22.7
	Dose A 5倍希釈	5	11.7	16.2	13.3	13.3
	Dose B	125	5.6	15.1	122.9	137.6
	Dose B 5倍希釈	25	7.9	15.1	15.8	37.7
牛肉	Dose A	25	9.0	15.4	9.9	21.6
	Dose A 5倍希釈	5	7.6	22.2	11.0	18.4
	Dose B	125	4.0	17.0	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	12.8	12.8	25.7	32.5
トマトソース	Dose A	25	21.9	22.9	55.5	55.5
	Dose A 5倍希釈	5	12.4	22.6	14.8	21.1
	Dose B	125	11.3	22.4	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	14.2	15.3	53.0	85.8
オレンジ ジュース	Dose A	25	15.5	19.7	18.0	49.0
	Dose A 5倍希釈	5	13.4	30.1	7.9	12.4
	Dose B	125	6.0	21.8	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	5.1	14.6	37.2	60.8
ジャム	Dose A	25	16.6	39.8	15.4	55.1
	Dose A 5倍希釈	5	17.1	51.0	18.5	59.1
	Dose B	125	6.4	25.6	10.2	39.3
	Dose B 5倍希釈	25	6.9	23.7	8.0	30.4

Table 12 そば抗原結果

通常の統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	試験室数	Mキット		Nキット			
			ng/mL	%	試験室数	ng/mL	%	
ソーセージ	Dose A	25	9	18.08	72.3	9	16.28	65.1
	Dose A 5倍希釈	5	9	4.56	91.2	10	3.58	71.6
	Dose B	125	10	81.27	65.0	8	152.08	121.7
	Dose B 5倍希釈	25	10	21.53	86.1	10	14.33	57.3
牛肉	Dose A	25	10	21.96	87.8	10	27.49	110.0
	Dose A 5倍希釈	5	9	4.95	98.9	10	5.08	101.5
	Dose B	125	10	90.58	72.5	7	232.47	186.0
	Dose B 5倍希釈	25	10	22.83	91.3	10	24.76	99.0
トマトソース	Dose A	25	10	26.73	106.9	8	30.48	121.9
	Dose A 5倍希釈	5	9	5.62	112.4	10	5.87	117.4
	Dose B	125	9	98.52	78.8	5	-	-
	Dose B 5倍希釈	25	9	25.05	100.2	9	31.58	126.3
ビスケット	Dose A	25	9	20.75	83.0	10	13.76	55.0
	Dose A 5倍希釈	5	9	3.81	76.2	10	2.77	55.4
	Dose B	125	10	90.18	72.1	8	103.09	82.5
	Dose B 5倍希釈	25	9	19.43	77.7	9	12.07	48.3
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	27.93	111.7	9	38.29	153.2
	Dose A 5倍希釈	5	10	5.54	110.8	10	6.10	122.0
頑健	Dose B	125	9	106.54	85.2	5	-	- な
	Dose B 5倍希釈	25	9	27.33	109.3	9	35.32	141.3

頑健な統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	Mキット		Nキット		
		ng/mL	%	ng/mL	%	
ソーセージ	Dose A	25	18.4	73.4	17.1	68.4
	Dose A 5倍希釈	5	4.5	89.1	3.6	71.6
	Dose B	125	81.3	65.0	141.8	113.5
	Dose B 5倍希釈	25	21.6	86.3	14.1	56.3
牛肉	Dose A	25	21.9	87.5	27.5	110.0
	Dose A 5倍希釈	5	4.9	98.1	5.0	100.7
	Dose B	125	90.6	72.5	185.2	148.2
	Dose B 5倍希釈	25	22.9	91.8	24.1	96.6
トマトソース	Dose A	25	26.7	106.9	33.2	132.7
	Dose A 5倍希釈	5	5.6	111.0	5.9	117.3
	Dose B	125	98.5	78.8	184.9	147.9
	Dose B 5倍希釈	25	25.0	100.2	32.4	129.7
ビスケット	Dose A	25	20.4	81.4	13.4	53.8
	Dose A 5倍希釈	5	3.9	78.5	2.8	55.1
	Dose B	125	90.4	72.3	100.8	80.7
	Dose B 5倍希釈	25	19.4	77.7	12.2	48.9
オレンジ ジュース	Dose A	25	27.8	111.3	40.2	160.8
	Dose A 5倍希釈	5	5.6	111.9	6.0	119.2
	Dose B	125	105.3	84.3	182.1	145.7
	Dose B 5倍希釈	25	26.5	105.9	36.5	146.0

通常の統計量から計算した精度

試料食品	添加量	Mキット				Nキット			
		ng/mL	試験室数	RSDr%	RSDR%	試験室数	RSDr%	RSDR%	
ソーセージ	Dose A	25	9	5.3	18.6	9	5.3	26.9	
	Dose A 5倍希釈	5	9	5.3	11.4	10	11.0	22.3	
	Dose B	125	10	3.8	9.4	8	21.4	68.1	
	Dose B 5倍希釈	25	10	4.6	10.5	10	10.3	21.5	
牛肉	Dose A	25	10	11.7	15.3	10	4.2	53.8	
	Dose A 5倍希釈	5	9	9.4	15.8	10	9.3	24.0	
	Dose B	125	10	5.1	8.7	7	15.0	111.6	
	Dose B 5倍希釈	25	10	10.6	18.7	10	9.1	25.4	
トマトソース	Dose A	25	10	15.9	16.4	8	6.5	11.4	
	Dose A 5倍希釈	5	9	11.6	19.8	10	6.4	10.6	
	Dose B	125	9	7.8	10.3	5	-	-	
	Dose B 5倍希釈	25	9	7.4	14.9	9	6.9	12.9	
ビスケット	Dose A	25	9	6.9	10.6	10	9.6	32.6	
	Dose A 5倍希釈	5	9	7.4	14.6	10	10.7	23.1	
	Dose B	125	10	7.9	9.3	8	39.5	61.4	
	Dose B 5倍希釈	25	9	13.3	20.4	9	7.1	20.8	
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	9.2	13.8	9	10.1	23.4	
	Dose A 5倍希釈	5	10	9.6	18.9	10	5.7	18.8	
	Dose B	125	9	4.7	11.4	5	-	-	
	Dose B 5倍希釈	25	9	4.2	11.7	9	6.8	36.9	

頑健な統計量から計算した精度

試料食品	添加量	ng/mL	Mキット		Nキット	
			RSDr	RSDR	RSDr	RSDR
ソーセージ	Dose A	25	6.6	14.8	6.3	32.4
	Dose A 5倍希釈	5	6.9	15.5	11.9	25.1
	Dose B	125	3.7	10.5	23.2	65.2
	Dose B 5倍希釈	25	2.4	5.0	10.9	20.2
牛肉	Dose A	25	9.3	15.3	3.7	61.0
	Dose A 5倍希釈	5	10.4	16.2	9.8	25.6
	Dose B	125	8.9	5.4	11.7	92.8
	Dose B 5倍希釈	25	8.9	19.3	10.3	23.3
トマトソース	Dose A	25	13.6	16.6	6.6	22.1
	Dose A 5倍希釈	5	14.8	22.9	6.8	11.3
	Dose B	125	8.4	11.5	9.8	42.5
	Dose B 5倍希釈	25	9.2	16.1	8.2	16.6
ビスケット	Dose A	25	8.9	12.4	10.6	32.3
	Dose A 5倍希釈	5	9.1	18.6	11.1	25.0
	Dose B	125	8.6	10.0	14.6	59.1
	Dose B 5倍希釈	25	11.8	22.1	7.4	19.8
オレンジ ジュース	Dose A	25	9.2	14.5	12.1	29.6
	Dose A 5倍希釈	5	9.0	19.0	6.4	17.9
	Dose B	125	4.3	11.8	8.6	57.4
	Dose B 5倍希釈	25	5.5	12.0	6.7	29.3

Table 13 落花生抗原結果

通常の統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	試験室数	Mキット		Nキット		%	
			ng/mL	% 試験室数	ng/mL	%		
ソーセージ	Dose A	25	10	40.52	162.1	8	7.53	30.1
	Dose A 5倍希釈	5	10	7.35	146.9	8	1.72	34.3
	Dose B	125	7	141.37	113.1	9	24.97	20.0
	Dose B 5倍希釈	25	10	32.88	131.5	10	7.76	31.0
牛肉	Dose A	25	10	42.19	168.7	10	8.93	35.7
	Dose A 5倍希釈	5	10	7.13	142.7	10	2.06	41.2
	Dose B	125	7	145.98	116.8	9	26.42	21.1
	Dose B 5倍希釈	25	10	35.17	140.7	10	7.25	29.0
トマトソース	Dose A	25	10	38.11	152.4	10	4.04	16.1
	Dose A 5倍希釈	5	10	8.08	161.6	10	0.84	16.7
	Dose B	125	7	137.19	109.7	9	14.14	11.3
	Dose B 5倍希釈	25	10	35.43	141.7	9	3.48	13.9
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	36.82	147.3	10	8.75	35.0
	Dose A 5倍希釈	5	10	7.78	155.7	10	2.73	54.6
	Dose B	125	7	134.75	107.8	9	19.18	15.3
	Dose B 5倍希釈	25	10	33.81	135.3	9	8.03	32.1
ジャム	Dose A	25	10	21.66	86.6	10	2.22	8.9
	Dose A 5倍希釈	5	8	4.55	91.0	8	0.50	10.1
	Dose B	125	9	89.28	71.4	9	8.09	6.5
	Dose B 5倍希釈	25	10	19.08	76.3	10	2.34	9.4

頑健な統計量から計算した回収率

試料食品	添加量 ng/mL	Mキット		Nキット		
		ng/mL	%	ng/mL	%	
ソーセージ	Dose A	25	40.3	161.0	8.6	34.5
	Dose A 5倍希釈	5	7.6	151.0	1.9	38.2
	Dose B	125	136.4	109.1	26.8	21.5
	Dose B 5倍希釈	25	32.9	131.5	7.7	30.7
牛肉	Dose A	25	43.2	172.7	8.9	35.7
	Dose A 5倍希釈	5	7.3	146.3	2.0	40.4
	Dose B	125	135.9	108.7	27.6	22.1
	Dose B 5倍希釈	25	35.2	140.7	7.2	28.8
トマトソース	Dose A	25	38.2	152.8	4.0	16.0
	Dose A 5倍希釈	5	8.4	168.2	0.8	16.9
	Dose B	125	127.6	102.1	14.3	11.5
	Dose B 5倍希釈	25	35.6	142.2	3.6	14.4
オレンジ ジュース	Dose A	25	36.4	145.5	8.8	35.3
	Dose A 5倍希釈	5	7.8	156.9	2.8	55.7
	Dose B	125	126.2	101.0	18.4	14.7
	Dose B 5倍希釈	25	34.0	135.9	7.6	30.5
ジャム	Dose A	25	21.5	86.1	2.2	8.7
	Dose A 5倍希釈	5	4.6	92.5	0.5	9.9
	Dose B	125	83.4	66.7	7.7	6.1
	Dose B 5倍希釈	25	19.1	76.3	2.3	9.0

通常の統計量から計算した精度

試料食品	添加量	Mキット				Nキット			
		ng/mL	試験室数	RSDr%	RSDR%	試験室数	RSDr%	RSDR%	
ソーセージ	Dose A	25	10	5.3	16.7	8	8.5	18.3	
	Dose A 5倍希釈	5	10	6.9	31.5	8	11.8	24.3	
	Dose B	125	7	5.5	23.3	9	4.7	33.9	
	Dose B 5倍希釈	25	10	4.3	11.6	10	4.2	24.0	
牛肉	Dose A	25	10	7.6	24.0	10	4.6	32.6	
	Dose A 5倍希釈	5	10	9.5	31.0	10	12.6	30.4	
	Dose B	125	7	2.2	29.2	9	3.9	43.7	
	Dose B 5倍希釈	25	10	9.7	15.4	10	12.7	36.1	
トマトソース	Dose A	25	10	12.5	18.5	10	5.3	14.7	
	Dose A 5倍希釈	5	10	10.9	27.5	10	10.5	16.0	
	Dose B	125	7	6.5	25.9	9	1.8	23.5	
	Dose B 5倍希釈	25	10	12.0	16.7	9	6.9	17.1	
オレンジ ジュース	Dose A	25	10	5.0	21.0	10	4.4	15.3	
	Dose A 5倍希釈	5	10	6.2	26.7	10	5.9	26.1	
	Dose B	125	7	2.7	28.9	9	4.8	18.6	
	Dose B 5倍希釈	25	10	9.4	18.0	9	4.5	25.6	
ジャム	Dose A	25	10	20.9	21.4	10	18.2	22.0	
	Dose A 5倍希釈	5	8	20.9	17.6	8	11.0	23.2	
	Dose B	125	9	11.3	28.6	9	6.3	25.4	
	Dose B 5倍希釈	25	10	11.5	18.3	10	45.5	32.2	

頑健な統計量から計算した精度

試料食品	添加量	ng/mL	Mキット		Nキット	
			RSDr	RSDR	RSDr	RSDR
ソーセージ	Dose A	25	5.1	12.7	10.3	34.7
	Dose A 5倍希釈	5	7.2	28.0	12.8	33.1
	Dose B	125	6.3	18.3	5.5	42.1
	Dose B 5倍希釈	25	4.1	13.0	4.6	25.3
牛肉	Dose A	25	7.6	20.9	5.1	36.9
	Dose A 5倍希釈	5	7.7	28.1	14.1	30.5
	Dose B	125	2.6	15.8	2.1	47.2
	Dose B 5倍希釈	25	9.8	17.1	11.0	39.2
トマトソース	Dose A	25	10.8	19.5	5.9	12.6
	Dose A 5倍希釈	5	10.4	22.0	11.4	16.7
	Dose B	125	6.4	11.4	2.3	24.8
	Dose B 5倍希釈	25	12.1	17.7	8.3	21.9
オレンジ ジュース	Dose A	25	5.6	20.8	4.8	13.9
	Dose A 5倍希釈	5	6.6	26.7	5.6	24.2
	Dose B	125	3.2	17.1	4.9	18.0
	Dose B 5倍希釈	25	9.4	19.0	6.0	31.7
ジャム	Dose A	25	21.8	21.8	20.1	20.2
	Dose A 5倍希釈	5	18.4	18.6	14.5	27.1
	Dose B	125	13.2	16.8	5.2	17.3
	Dose B 5倍希釈	25	12.6	20.6	9.7	28.9

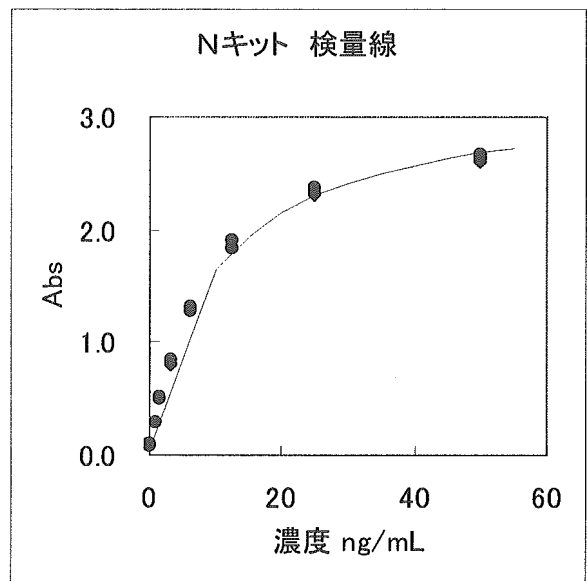
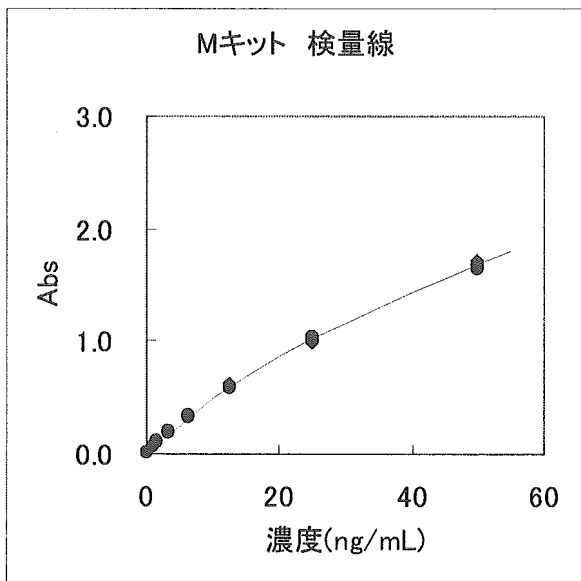


Figure 2 小麦キットの検量線比較

資料 1

送付内容

1. ILV ご案内文書

Inter-Laboratory Validation (ILV) のご協力をお願い

- ・ ELISA キットの ILV の案内
- ・ ILV を実施する上の留意点
- ・ 資料 1. 送付内容 (当文書)

2. 測定マニュアル

- ・ 資料 2. 試料抽出方法
- ・ 資料 3. 森永 ELISA キット (Sタイプ) 操作方法
- ・ 資料 4. 日本ハム新キット測定マニュアル (ILV 試験用)
- ・ 資料 5. フローチャート

3. データ入力用 FD および返送用封筒 各 1

- ・ データ入力用エクセルファイル (1-卵.xls、2-牛乳.xls、3-小麦.xls、4-そば.xls、5-落花生.xls)

4. モデル加工食品

- ・ ソーセージ (Dose A、Dose B・・・各 1 本)
- ・ 牛肉レトルトパウチ (Dose A、Dose B・・・各 1 本)
- ・ トマトソース (Dose A、Dose B・・・各 1 本)
- ・ ビスケット (Dose A、Dose B・・・各 1 本)
- ・ オレンジジュース (Dose A、Dose B・・・各 1 本)
- ・ ジャム (Dose A、Dose B・・・各 1 本)

各群 5 種類、計 6 種類に対して抗原添加濃度 2 系列 (Dose A、Dose B) があります。(※一つの食品に複数種の抗原が添加されています。ただし、抗原添加が 0 の可能性もあります。) ジュースをのぞく各試料を約 3g 分注した遠心管が一本ずつ、1 機関あたり 6 種類×2 系列の 12 本 (ジュースのみ缶単位で配送) が同梱されています。

下記の表に各食品の測定対象キットを示します。

評価試験キット(群)	卵	牛乳	小麦	そば	落花生
(各モデル加工食品には Dose A、Dose B の 2 系列 があります。)	ソーセージ				
	牛肉レトルトパウチ				
			トマトソース		
	ビスケット			ビスケット	
	オレンジジュース				
	ジャム				ジャム

試料抽出方法

使用器具：50mL 容 プラスチック製遠心管（キャップ付き）

pH 試験紙

使用機器：天秤

振とう器

ボルテックス

遠心機

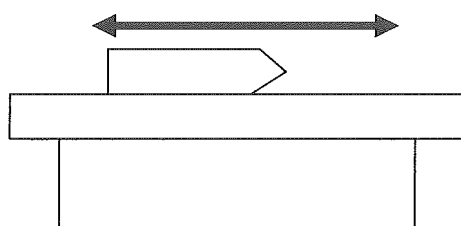
検体抽出液の調製

キット付属の検体希釈液（モリナガ製キット付属の検体希釈液と日本ハム製キットの抽出用緩衝液は全く同一の溶液）、抽出用S液、抽出用M液、精製水を1:2:2:15の比率で混合する。（詳細は各キットのプロトコール参照のこと）

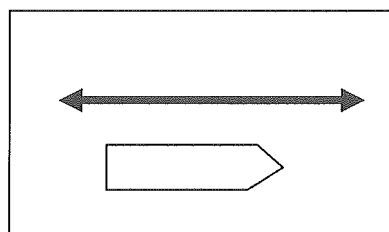
抽出操作

1. 試料1 gをプラスチック製遠心管に量り取る。
2. 検体抽出液19 mLを加える。
3. よく振り混ぜて混合し、固形分を均等に分散させる。（あまり泡立たせないよう注意しながら、ボルテックスなどを用いて試料が十分に分散するようにする。）
4. 振とう機に遠心管を横にして置き、室温で一晩（12時間以上）振とう（90～110rpm、1往復が1回転とし、1分間に90から110往復）しながら抽出する。（振とう幅は3 cm程度。振とうにより液が両端に打ち付けるようになるくらいの振とう回数とする。時々上下を入れ替えるなどの操作をして、液面に沿って付着するサンプルを分散させる。）

横から見た図



上から見た図



矢印は振とう方向

5. 抽出液のpHを確認し、必要であれば、中性（pH 6.0-8.0）となるように調整する。（pHの確認はpH試験紙で良いが、なるべく測定レンジの狭いものを用いる。）
6. 3000 x gの条件で20分間遠心し、遠心後に得られる上清を別の容器にとる。（なるべく一定量の水層を分取する。沈査が得られない場合はろ過する。可能であれば油層は除くこと。遠心はさらに高速でも問題はない。）温度は室温程度とする。（冷却するとSDSが沈殿するため。）

森永 ELISA キット (Sタイプ) 操作方法

株式会社森永
生科学研究所

【測定する際の注意事項】

1. キットの試薬にはアレルギー性を有する卵タンパク質やウシ血清アルブミンを使用しています。これらのタンパク質にアレルギーのある方は本キットを使用する際には試薬の取扱いには十分に注意し、慎重に測定操作を行って下さい。
2. 試薬は全て常温に充分戻してから使用して下さい。
3. 測定は3重測定で行って下さい。
4. 反応時間は正確に測定して下さい。
5. 標準溶液および検体を分注する際、ピペティング容量にばらつきが生じないように注意して下さい。
6. 酵素反応は遮光下で行って下さい。
7. 測定は埃などが除去された清潔な環境で行って下さい。

【キットの構成】

	品 名	容 量	数 量
A	抗体固相化モジュール	8ウェル×6本	2パック
B	標準品 (50ng/mL)	1 mL	2 本
C	酵素標識抗体溶液	13 mL	1 本
D	酵素基質溶液 (TMB 溶液)	13 mL	1 本
E	反応停止液 (1N 硫酸)	13 mL	1 本
F	検体希釈液 (20倍濃縮液, 1000 mL 用)	50 mL	2 本
G	洗浄液 (20倍濃縮液, 1000 mL 用)	50 mL	1 本
H	抽出用S液 (10 倍濃縮液)	120 mL	1 本
I	抽出用M液 (10 倍濃縮液)	120 mL	1 本
	モジュール用フレーム		1 個
	モジュール用フタ		1 枚

【試薬の調製法】

1. 固相化モジュール
 - A 抗体固相化モジュールを常温に充分戻してから開封して下さい。
開封後は直ちに使用して下さい。
2. C, D, E, の試薬はそのまま使用します。使用前に常温に充分戻してください。
 - C 酵素標識抗体溶液

D 酵素基質溶液

E 反応停止液

3. 標準溶液の調製

標準溶液 (50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0 ng/mL) を調製します。

B 標準品 (50ng/mL) を下記に示すように検体希釈液 II (「6. 検体希釈液 II」参照) を用いて, 25ng/mL から 0.78ng/mL の希釈系列を調製します。

ブランク (0 ng/mL) は検体希釈液 IIを用います。

最終濃度 (ng/mL)	25	12.5	6.25	3.12	1.56	0.78
標準溶液 (50ng/mL)	500	500	500	500	500	500
検体希釈液 II (μ L)	500	500	500	500	500	500

4. 検体抽出液の調製

F 検体希釈液を 20 倍に, H 抽出用 S 液を 10 倍に, I 抽出用 M 液を 10 倍になるように合わせて精製水で希釈し検体抽出液とします。必要量を調製してください。

※ H 抽出用 S 液は加温溶解してからご使用下さい。溶解後は常温で保存可能です。

※ 検体の抽出に用います。(例: 24 検体測定する場合)

F 検体希釈液 (20倍濃縮液)	25 mL
H 抽出用 S 液 (10倍濃縮液)	50 mL
I 抽出用 M 液 (10倍濃縮液)	50 mL
精製水	375 mL
	500 mL

5. 検体希釈液 I の調製

F 検体希釈液を精製水で 20 倍に希釈します。必要量を調製して下さい。

※ 標準溶液, 検体希釈液 II の調製及び検体の希釈に用います。

(例: 24 検体測定する場合)

F 検体希釈液 (20倍濃縮液)	. .	10 mL
精製水	190 mL
		200 mL

6. 検体希釈液 II の調製

上記 4. で調製した検体抽出液を検体希釈液 Iで 20 倍に希釈します。必要量を調製してください。

※ 標準溶液の調製及び検体の再希釈に用います。
(例：24 検体測定する場合)

検体抽出液	5m L
検体希釈液 I	95m L

		100 m L

7. 洗浄液の調製

G 洗浄液を精製水で 20 倍に希釈します。

必要量を調製して下さい。

※ 検体の測定には調製済み洗浄液を使用します。

【検体の調製法・抽出法】

※ 検体の抽出は、別紙（資料 2. 試料抽出方法）に従って行うこと。

1. 測定サンプルを均一になるようにミキサー等で粉砕する。
2. 1 g をプラスチック製遠心管などに取り、検体抽出液 19 mL（「4. 検体抽出液」参照）を加えよく振り混ぜて混合し、固形分を均等に分散させる。
3. 遠心管を横にして振とう機で一晩（12 時間以上）振とうしながら抽出する。（90～100rpm, 振とう幅 3cm 程度）
4. 抽出液の pH を確認し、必要であれば中性付近（pH 6.0～8.0）になるよう調整する。（pH 試験紙でよい）
5. 3,000×g 以上で 20 分間遠心分離し、上清を分取する。
6. 上清をろ紙でろ過する。
7. ろ液を 検体希釈液 I（「5. 検体希釈液 I」参照）を用い 20 倍に希釈し、検体とする。
8. 更に検体を希釈して測定する場合は、検体希釈液 II（「6. 検体希釈液 II」参照）を用い希釈する。

【測定法】

（一次反応）

1. A 抗体固相化モジュールを付属のモジュール用フレームにセットします。
2. 各ウェルに標準溶液（0, 0.78 ～ 50ng/mL）または検体を 100 μ L ずつ添加します。
3. 付属のモジュール用フタをして常温で正確に 1 時間静置して反応させます。

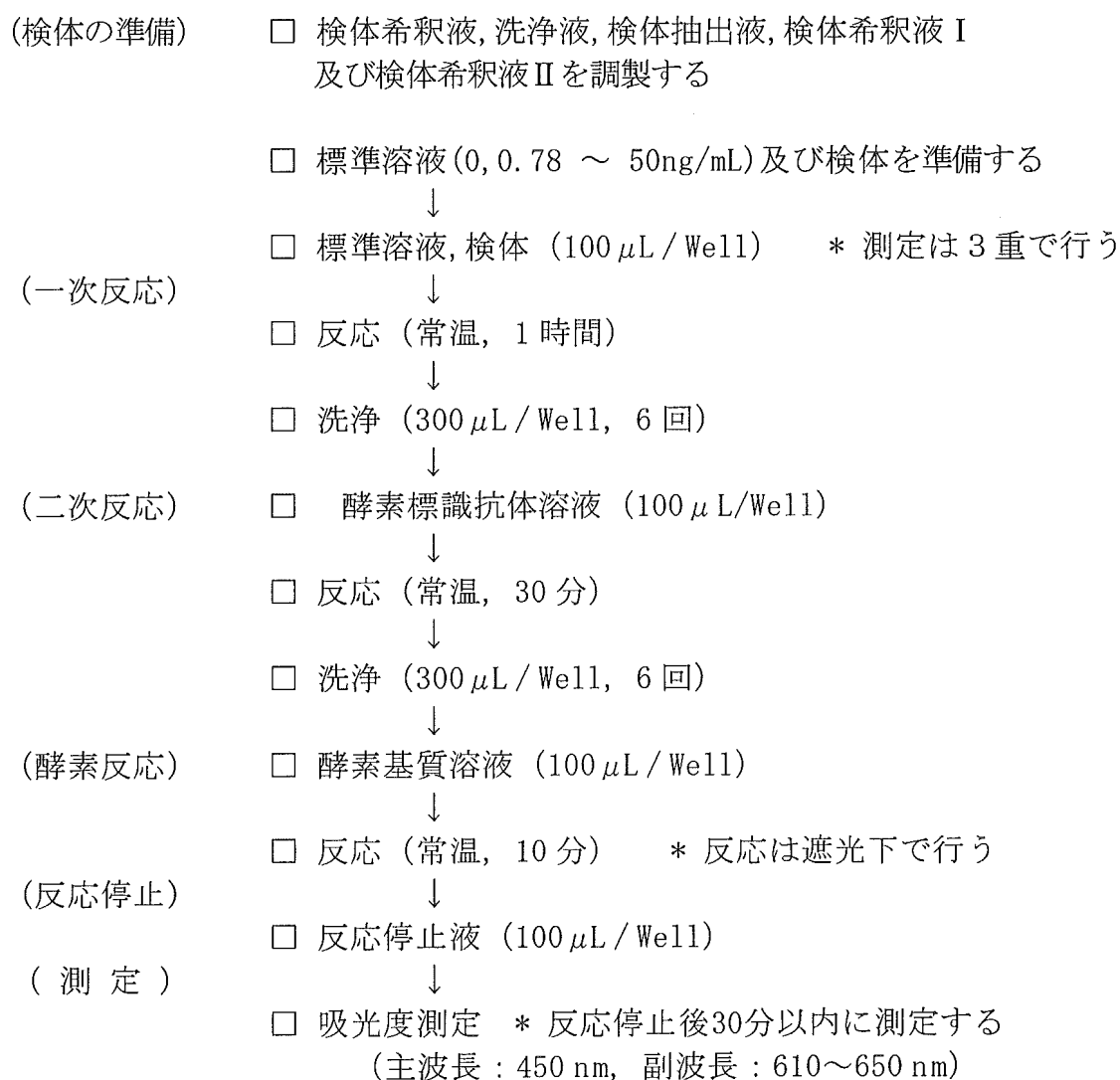
（二次反応）

1. ウェル内の溶液を完全に除去し、各ウェルあたり 300 μ L ずつの洗浄液で 6 回洗浄します。
2. C 酵素標識抗体溶液を各ウェルに 100 μ L ずつ分注します。
3. フタをして常温で正確に 30 分間静置して反応させます。

(酵素反応)

1. ウェル内の溶液を完全に除去し、各ウェルあたり 300 μ L ずつの洗浄液で 6 回洗浄します。
2. D 酵素基質液を各ウェルに 100 μ L ずつ分注します。
3. フタをして常温遮光下で正確に 10 分間静置して反応させます。
4. E 反応停止液を各ウェルに 100 μ L ずつ分注し酵素反応を停止させます。
5. プレートリーダーで各ウェルの吸光度を測定します。
※ 酵素反応停止後は 30 分以内に吸光度を測定して下さい。
6. 標準溶液の吸光度より標準曲線を作成し、検体中のタンパク質濃度を求めます。

〈測定のフローチャート〉



<キットの内容>

	品 名	容 量	数 量
A	抗体固相化プレート	96 ウェル	1 枚
B	標準溶液 (50 ng/mL)	1.5 mL	1 本
C	希釈用緩衝液	100 mL	1 本
D	ビオチン結合抗体	150 μ L	1 本
E	酵素アビジン結合物	150 μ L	1 本
F	発色剤	12 mL	1 本
H	反応停止液	12 mL	1 本
I	濃縮洗浄液	100 mL	1 本
J (検体抽出液)	抽出用緩衝液 (20 倍濃縮)	50 mL	別添
	抽出用 S 液 (10 倍濃縮)	120 mL	別添
	抽出用 M 液 (10 倍濃縮)	120 mL	別添

※ 外箱に記載されておりますキットの内容と実際添付されているキットの内容は異なっておりますので、本マニュアルに従って確認してください。

<試薬の調製方法>

【A：抗体固相化プレート】

アルミパウチのまま、十分室温に戻してから開封して下さい。開封後は、直ちに使用して下さい。

※ 冷えた状態でプレートをアルミパウチから取り出したり、アルミパウチから取り出した状態で長時間放置したりしますと、吸湿して測定値が変化する恐れがあります。

【B：標準溶液】

標準溶液の調製は、下記の<標準溶液の希釈方法>に記載している手順に従って行って下さい。

※ 標準溶液は、用時調製して下さい。

【C：希釈用緩衝液】

室温に戻してから使用して下さい。測定操作では、2種類の希釈液を使用します。

希釈液①：Cの希釈用緩衝液をそのまま使用します。

希釈液②：検体抽出液を希釈液①で20倍に希釈します。

	標準溶液の 希釈	抽出検体の希 釈(20倍希釈)	抽出検体の希 釈(20倍希釈 後の5倍希釈)	ビオチン化 抗体の希釈	酵素アビジン 結合物の希釈
希釈液①		○		○	○
希釈液②	○		○		

【D：ビオチン結合抗体、E：酵素アビジン結合物】

プレートに添加する直前に希釈液①にて 100 倍希釈し、使用して下さい。

【F：発色剤、H：反応停止液】

室温に戻してから使用して下さい。

【I：濃縮洗浄液】

精製水にて 10 倍希釈し、使用して下さい。

【J：検体抽出液】

別添の抽出液調製用試薬を下記の比率で混合し、よく攪拌してから使用して下さい。

(例：24 検体測定する場合)

抽出用緩衝液 (20 倍濃縮)	:	25 mL
精製水	:	375 mL
抽出用 S 液 (10 倍濃縮)	:	50 mL
抽出用 M 液 (10 倍濃縮)	:	50 mL
合計	:	500 mL

※ 抽出用緩衝液 (20 倍濃縮) は、森永キットに含まれる「F 検体希釈液 (20 倍濃縮)」と同一の内容です。

※ 抽出用 S 液は、冷蔵保存条件下では、内容物が析出し、沈殿します。十分室温に戻した後よく攪拌してから使用して下さい。

※

※ <標準溶液の希釈方法>

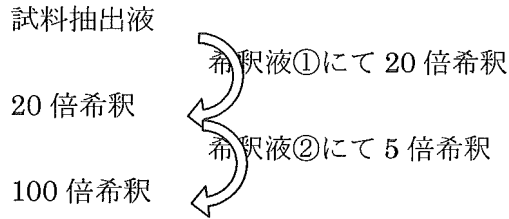
標準溶液 (B：50 ng/mL) を希釈液②により倍々希釈し、下記の希釈系列を作製して下さい。50 ng/mL 以下の 8 点 (標準溶液の原液及び 0 ng/mL を含む) をウェルに添加し、検量線を作製します。

最終濃度 (ng/mL)	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.78125	0
		5						
標準溶液 (B：50ng/mL)	400	400	400	400	400	400	400	
希釈液②		400	400	400	400	400	400	400

<試料抽出液の調製方法>

食品検体の抽出は、別紙の検体抽出法に従って実施して下さい。

本試験では、試料抽出液を 20 倍希釈及び 100 倍希釈したものを測定溶液とします。それぞれの希釈は下記の通り行って下さい。

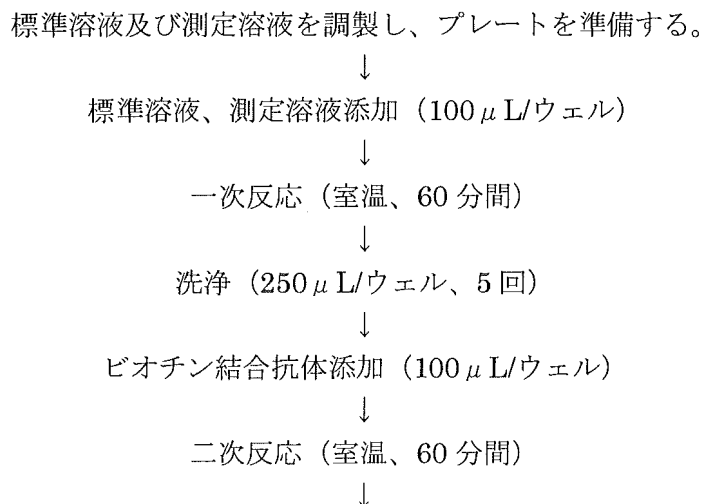


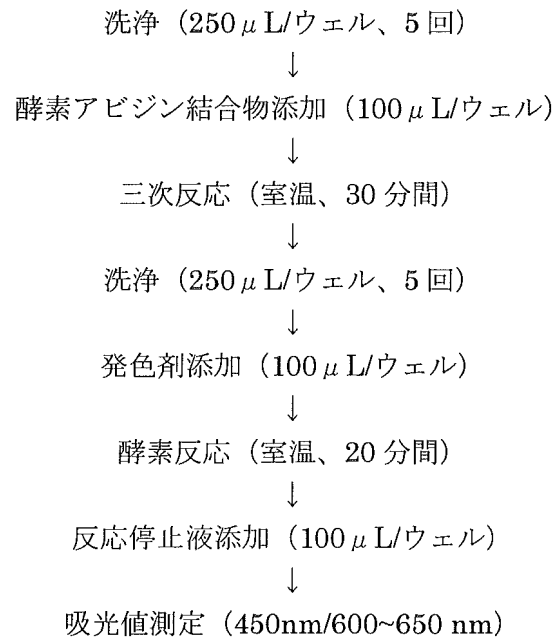
※ 本キットの希釈用緩衝液は、5 種類（卵、牛乳、小麦、そば、落花生）共通ですので、調製した測定溶液は、5 種類全てのキットに共通して使用（ウェルに添加）できます。

<測定操作手順>

1. 標準溶液及び試料抽出液を希釈した測定溶液を調製する。
2. 抗体固相化プレートをアルミパウチに入れたままで室温に戻しておく。
3. 1.で調整した標準溶液及び測定溶液を、各ウェルに 100 μ L ずつ分注する。
4. 攪拌後室温（20～25 $^{\circ}$ C）にて 60 分間反応させる。
5. プレートを各ウェルあたり 250 μ L の洗浄液にて 5 回洗浄する。
6. 100 倍希釈したビオチン結合抗体を 100 μ L ずつ各ウェルに分注する。
7. 攪拌後室温（20～25 $^{\circ}$ C）にて 60 分間反応させる。
8. プレートを各ウェルあたり 250 μ L の洗浄液にて 5 回洗浄する。
9. 100 倍希釈した酵素アビジン結合物を 100 μ L ずつ各ウェルに分注する。
10. 攪拌後室温（20～25 $^{\circ}$ C）にて 30 分間反応させる。
11. プレートを各ウェルあたり 250 μ L の洗浄液にて 5 回洗浄する。
12. 発色剤を 100 μ L ずつ各ウェルに分注する。
13. 攪拌後、静置し室温（20～25 $^{\circ}$ C）にて 20 分間酵素反応させる。
14. 反応停止液を 100 μ L ずつ各ウェルに分注する。
15. 攪拌後、プレートリーダーで主波長 450 nm、副波長 600～650nm の吸光値を測定する。
（反応停止後、30 分以内に吸光度測定を行って下さい。）

<測定のプロローチャート>





平成15年度厚生労働科学研究費補助金 食品安全確保研究事業

健康保護を目的とした食に関するリスクコミュニケーションのすすめ方に関する研究

研究者名簿（五十音順）

主任研究者

丸井 英二 （順天堂大学医学部公衆衛生学教室）

分担研究者

穂山 浩 （国立医薬品食品衛生研究所）

今村 知明 （東京大学医学部附属病院）

太田 裕見 （財団法人食品産業センター）

大日 康史 （国立感染症研究所情報センター）

堀口 逸子 （順天堂大学医学部公衆衛生学教室）

平成15年度 厚生労働科学研究費補助金 食品安全確保研究事業

「健康保護を目的とした食に関するリスクコミュニケーションのすすめ方に関する研究」

研究報告書

発行所 順天堂大学医学部公衆衛生学教室 〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1
TEL:03-5802-1049/FAX:03-3814-0305
