

表4 マイクロプレートマネージャVer. 5 使用機関のデータの再計算結果

試料	モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット									FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳									
	機関 6			機関 7			機関 9			試料	機関 6			機関 7			機関 9		
	報告データ ^{a)}	再計算 ^{b)}	報告データ	再計算	報告データ	再計算	報告データ	再計算	報告データ		再計算	報告データ	再計算	報告データ	再計算	報告データ	再計算	報告データ	再計算
試料 1	8.21	9.22	8.41	9.38	9.01	10.02	試料 1	7.07	7.73	7.56	8.08	8.71	9.64						
	8.44	9.45	8.20	9.15	9.01	10.02		6.55	7.23	7.13	7.68	8.90	9.81						
	8.19	9.20	8.31	9.27	8.48	9.51		6.89	7.56	7.91	8.40	8.76	9.68						
試料 2	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	試料 2	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00						
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03						
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01						
試料 3	9.18	10.19	9.76	10.74	9.18	10.18	試料 3	8.78	9.23	10.35	10.41	8.96	9.86						
	9.40	10.41	9.49	10.48	9.22	10.22		8.25	8.78	8.66	9.04	9.42	10.26						
	9.05	10.07	9.50	10.48	10.57	11.42		7.75	8.35	9.46	9.71	9.11	9.99						
試料 4	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.04	試料 4	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.01						
	0.00	0.04	0.00	0.01	0.00	0.00		0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.04						
	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.04	0.00	0.02	0.00	0.01						
試料 5	6.67	7.54	6.47	7.21	6.67	7.60	試料 5	5.68	6.35	6.69	7.27	6.66	7.64						
	6.39	7.21	6.70	7.47	6.40	7.29		5.54	6.21	6.76	7.34	6.84	7.83						
	6.25	7.06	6.73	7.51	6.20	7.07		6.04	6.73	7.27	7.82	5.96	6.89						
試料 6	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	試料 6	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00						
	0.00	0.03	0.00	0.04	0.00	0.03		0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.01						
	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.03	0.00	0.01	0.00	0.01						
試料 7	5.23	5.84	5.19	5.67	5.87	6.68	試料 7	5.87	6.55	6.28	6.87	7.00	8.00						
	5.22	5.82	4.94	5.35	5.59	6.35		5.77	6.45	6.16	6.74	7.15	8.15						
	5.23	5.84	4.97	5.39	5.48	6.22		5.73	6.41	6.10	6.68	6.38	7.35						
試料 8	10.83	11.70	10.37	11.31	12.91	13.23	試料 8	11.69	11.46	13.10	12.40	14.04	13.63						
	10.81	11.69	10.15	11.11	11.95	12.52		11.97	11.65	15.18	13.77	12.45	12.58						
	10.61	11.51	10.16	11.11	12.33	12.81		11.63	11.42	12.13	11.72	14.08	13.65						

a): マイクロプレートマネージャVer. 5、Logistic 4PL による計算結果
b): マイクロプレートマネージャVer. 5、Logistic 5PL (Rodbard) による計算結果

表5 共同試験測定結果(試料2、試料4、試料6)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	試料2		試料4		試料6	
		Xbar	S.D.	Xbar	S.D.	Xbar	S.D.
1	3	0.48	0.84	a)	-	a)	-
2	3	a)	-	a)	-	a)	-
3	3	0.67	0.26	a)	-	0.19	0.21
4	3	a)	-	a)	-	a)	-
5	3	a)	-	a)	-	a)	-
6	3	a)	-	a)	-	a)	-
7	3	a)	-	a)	-	a)	-
8	3	a)	-	a)	-	a)	-
9	3	a)	-	a)	-	a)	-
10	3	a)	-	a)	-	a)	-
11	3	a)	-	a)	-	a)	-

a): 全てのウェルで測定下限 (0.31) 以下

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	試料2		試料4		試料6	
		Xbar	S.D.	Xbar	S.D.	Xbar	S.D.
1	3	a)	-	0.92	0.22	0.25	0.43
2	3	a)	-	a)	-	a)	-
3	3	a)	-	a)	-	a)	-
4	3	a)	-	a)	-	a)	-
5	3	a)	-	a)	-	a)	-
6	3	a)	-	a)	-	a)	-
7	3	a)	-	a)	-	a)	-
8	3	a)	-	a)	-	a)	-
9	3	a)	-	a)	-	a)	-
10	3	a)	-	a)	-	a)	-
11	3	a)	-	a)	-	a)	-

a): 全てのウェルで測定下限 (0.31) 以下

表6 共同試験測定結果(試料1)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z
3	3	8.63	0.63	7.30	1.24	-1.40
10	3	8.81	0.06	0.68	0.12	-1.04
4	3	8.88	0.19	2.13	0.34	-0.91
5	3	9.05	0.12	1.36	0.23	-0.57
2	3	9.13	0.08	0.83	0.14	-0.40
7	3	9.27	0.12	1.24	0.23	-0.14
6	3	9.29	0.14	1.50	0.25	-0.09
1	3	9.67	1.66	17.17	3.31	0.67
9	3	9.85	0.29	2.99	0.51	1.03
8	3	10.02	0.09	0.94	0.18	1.37
11	3	10.08	0.26	2.54	0.47	1.49

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	11	9.34	0.50	5.35	10.34	8.33
R	11	0.64	0.94	—	1.64	—

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z	Z (3を除く)
3	3	5.64	0.03	0.45	0.05	-2.34	
6	3	7.51	0.25	3.39	0.50	-0.91	-1.72
7	3	8.05	0.36	4.48	0.72	-0.49	-1.09
2	3	8.16	0.10	1.25	0.19	-0.41	-0.97
4	3	8.78	0.15	1.70	0.29	0.06	-0.26
5	3	8.85	0.41	4.60	0.80	0.12	-0.17
10	3	9.43	0.40	4.25	0.80	0.56	0.49
1	3	9.62	0.70	7.25	1.39	0.71	0.72
9	3	9.71	0.09	0.92	0.17	0.78	0.82
11	3	9.81	0.62	6.36	1.23	0.85	0.93
8	3	10.09	0.32	3.14	0.61	1.07	1.25

全機関の統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	11	8.70	1.31	15.06	11.31	6.08
R	11	0.61	0.43	—	1.58	—

機関番号 3 を除く統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	10	9.00	0.87	9.67	10.74	7.26
R	10	0.67	0.41	—	1.73	—

表7 共同試験測定結果(試料3)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z
3	3	7.97	0.42	5.33	0.75	-1.73
11	3	8.67	1.79	20.61	3.42	-1.17
4	3	9.68	0.11	1.14	0.20	-0.37
2	3	9.74	0.37	3.78	0.70	-0.32
5	3	9.93	0.33	3.33	0.60	-0.17
6	3	10.22	0.17	1.69	0.34	0.07
10	3	10.38	0.47	4.57	0.85	0.19
7	3	10.57	0.15	1.42	0.26	0.34
9	3	10.61	0.70	6.64	1.24	0.37
8	3	10.94	0.28	2.56	0.54	0.63
1	3	12.85	0.43	3.35	0.86	2.16

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	10.14	1.25	12.33	12.65	7.63
R	11	0.89	0.89	—	2.28	—

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z	Z (3を除く)
3	3	5.84	0.35	5.99	0.65	-2.49	
6	3	8.79	0.44	5.01	0.88	-0.64	-1.50
2	3	9.40	0.43	4.58	0.79	-0.26	-0.85
4	3	9.63	0.38	3.90	0.73	-0.11	-0.60
7	3	9.72	0.69	7.05	1.37	-0.05	-0.51
9	3	10.04	0.20	2.03	0.40	0.15	-0.17
5	3	10.08	0.37	3.70	0.72	0.17	-0.13
10	3	10.40	0.25	2.44	0.45	0.38	0.22
11	3	10.50	0.50	4.72	0.95	0.44	0.32
1	3	11.67	0.31	2.64	0.61	1.17	1.56
8	3	11.77	0.38	3.26	0.73	1.24	1.66

全機関の統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	9.80	1.59	16.22	12.98	6.62
R	11	0.75	0.26	—	1.94	—

機関番号 3 を除く統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	10	10.20	0.94	9.22	12.08	8.32
R	10	0.76	0.27	—	1.96	—

表8 共同試験測定結果(試料5)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z
3	3	6.20	0.33	5.30	0.65	-1.93
4	3	6.77	0.13	1.91	0.25	-0.86
5	3	6.96	0.18	2.53	0.33	-0.52
2	3	6.96	0.13	1.90	0.26	-0.51
11	3	7.22	0.73	10.16	1.43	-0.04
6	3	7.27	0.25	3.38	0.48	0.06
9	3	7.32	0.27	3.64	0.53	0.15
7	3	7.40	0.16	2.20	0.30	0.29
10	3	7.43	0.14	1.83	0.27	0.35
8	3	7.87	0.15	1.95	0.27	1.16
1	3	8.23	1.25	15.13	2.25	1.84

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	7.24	0.54	7.46	8.32	6.16
R	11	0.64	0.64	—	1.64	—

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z	Z (3を除く)
3	3	4.05	0.05	1.28	0.09	-2.51	
6	3	6.43	0.27	4.18	0.52	-0.59	-1.43
2	3	6.91	0.26	3.75	0.48	-0.20	-0.76
5	3	6.96	0.47	6.73	0.86	-0.16	-0.70
4	3	7.04	0.14	2.01	0.27	-0.10	-0.59
11	3	7.35	0.33	4.43	0.64	0.16	-0.16
9	3	7.45	0.50	6.67	0.94	0.24	-0.02
7	3	7.48	0.30	4.00	0.55	0.26	0.02
10	3	7.75	0.52	6.67	0.92	0.48	0.40
1	3	8.59	0.84	9.82	1.47	1.16	1.55
8	3	8.70	0.01	0.07	0.01	1.25	1.71

全機関の統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	7.15	1.24	17.34	9.63	4.68
R	11	0.61	0.42	—	1.58	—

機関番号 3 を除く統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	10	7.46	0.72	9.65	8.90	6.02
R	10	0.67	0.41	—	1.71	—

表9 共同試験測定結果(試料7)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z
3	3	5.06	0.37	7.31	0.64	-1.46
5	3	5.24	0.07	1.38	0.13	-1.15
4	3	5.30	0.09	1.61	0.17	-1.04
7	3	5.47	0.17	3.19	0.32	-0.75
6	3	5.83	0.01	0.20	0.02	-0.13
11	3	5.95	0.78	13.12	1.54	0.06
10	3	6.03	0.08	1.39	0.15	0.19
8	3	6.37	0.11	1.66	0.20	0.78
9	3	6.42	0.24	3.70	0.46	0.86
1	3	6.60	0.20	3.05	0.40	1.18
2	3	6.77	0.10	1.50	0.20	1.46

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	5.91	0.59	9.98	7.09	4.74
R	11	0.38	0.42	—	0.99	—

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z	Z (3を除く)
3	3	3.80	0.07	1.85	0.14	-2.51	
5	3	6.36	0.28	4.40	0.56	-0.42	-1.16
4	3	6.41	0.32	4.95	0.62	-0.38	-1.09
6	3	6.47	0.07	1.11	0.14	-0.34	-1.01
7	3	6.76	0.10	1.44	0.19	-0.10	-0.60
11	3	7.05	0.22	3.17	0.43	0.13	-0.20
2	3	7.11	0.44	6.12	0.87	0.19	-0.11
10	3	7.52	0.06	0.73	0.10	0.51	0.45
9	3	7.83	0.43	5.43	0.80	0.77	0.89
1	3	8.04	0.54	6.73	1.02	0.94	1.18
8	3	8.37	0.50	5.98	1.00	1.21	1.64

全機関の統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	11	6.88	1.23	17.88	9.34	4.43
R	11	0.53	0.36	—	1.37	—

機関番号 3 を除く統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理限界(UCL)	下部管理限界(LCL)
Xbar	10	7.19	0.72	10.01	8.63	5.75
R	10	0.57	0.35	—	1.48	—

表10 共同試験測定結果(試料8)

モリナガ FASPEK 牛乳 測定キット

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z
3	3	8.73	0.17	1.95	0.32	-2.02
4	3	10.57	0.25	2.37	0.44	-0.81
5	3	11.07	0.11	1.01	0.22	-0.48
7	3	11.18	0.12	1.03	0.20	-0.41
11	3	11.46	0.54	4.67	1.05	-0.22
6	3	11.63	0.11	0.92	0.19	-0.10
10	3	12.32	0.16	1.27	0.28	0.35
1	3	12.48	0.55	4.41	1.02	0.45
8	3	12.75	0.20	1.53	0.36	0.63
9	3	12.86	0.35	2.74	0.70	0.70
2	3	14.66	0.99	6.72	1.88	1.89

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	11	11.79	1.51	12.81	14.82	8.76
R	11	0.61	0.53	—	1.56	—

FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

機関番号	繰り返し数	Xbar	S.D.	RSD(%)	R	Z	Z (3を除く)
3	3	7.65	0.21	2.71	0.41	-2.13	
5	3	11.00	0.69	6.23	1.23	-0.75	-1.29
4	3	11.50	0.36	3.16	0.72	-0.54	-1.01
6	3	11.51	0.12	1.07	0.23	-0.54	-1.01
7	3	12.63	1.04	8.27	2.05	-0.07	-0.39
2	3	13.06	1.24	9.49	2.34	0.10	-0.15
9	3	13.29	0.61	4.61	1.07	0.20	-0.02
11	3	14.29	1.03	7.22	2.03	0.61	0.54
1	3	14.44	1.86	12.86	3.55	0.67	0.62
10	3	14.64	0.96	6.59	1.85	0.75	0.73
8	3	16.91	0.65	3.83	1.14	1.69	1.98

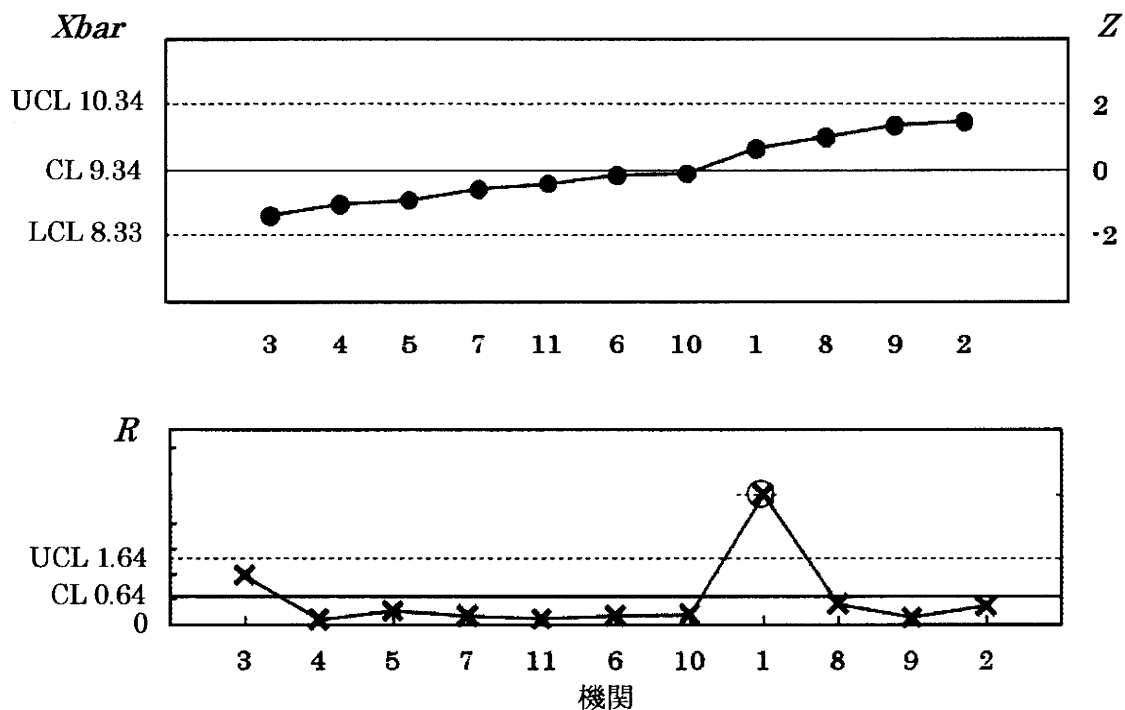
全機関の統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	11	12.81	2.42	18.89	17.65	7.97
R	11	1.51	0.97	—	3.89	—

機関番号 3 を除く統計データ

	データ数	平均値 (CL)	標準偏差	RSD _R (%)	上部管理 限界(UCL)	下部管理 限界(LCL)
Xbar	10	13.33	1.81	13.58	16.95	9.71
R	10	1.62	0.95	—	4.17	—

モリナガ FASPEK 牛乳測定キット



FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

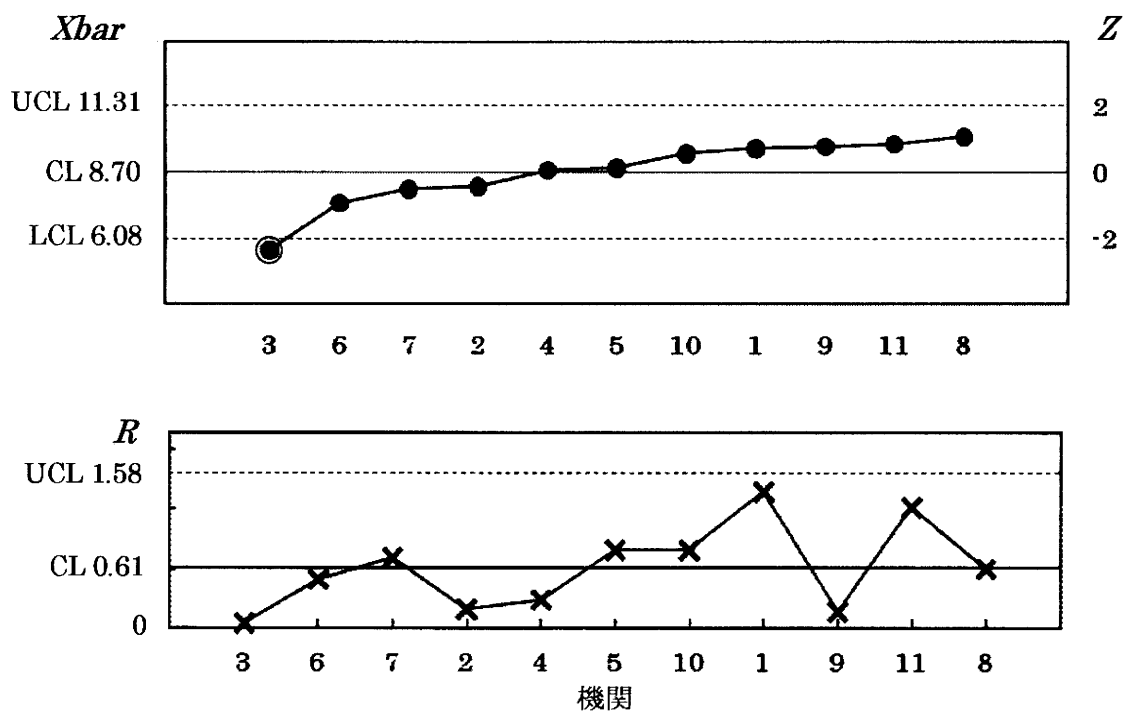
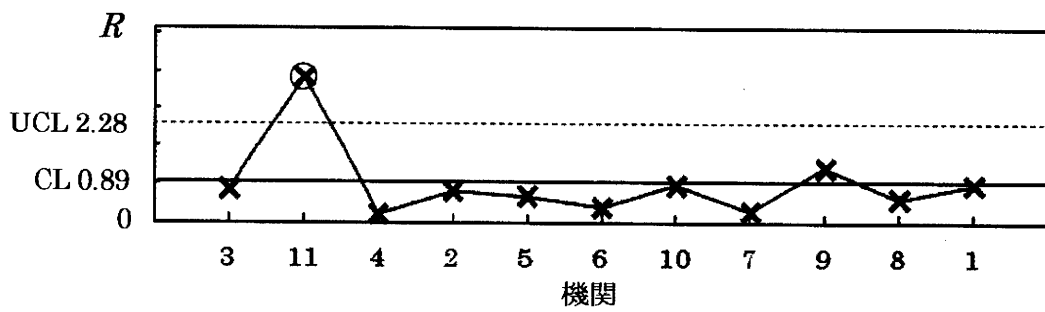
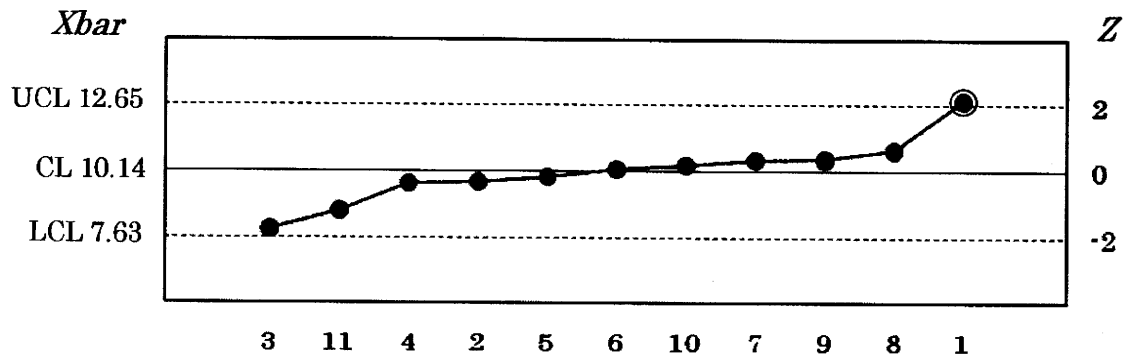


図1 共同試験結果の Xbar-R 管理図(試料1)

モリナガ FASPEK 牛乳測定キット



FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

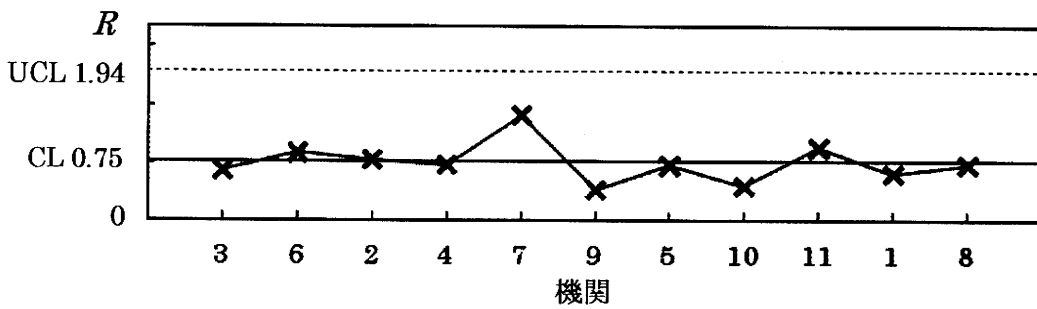
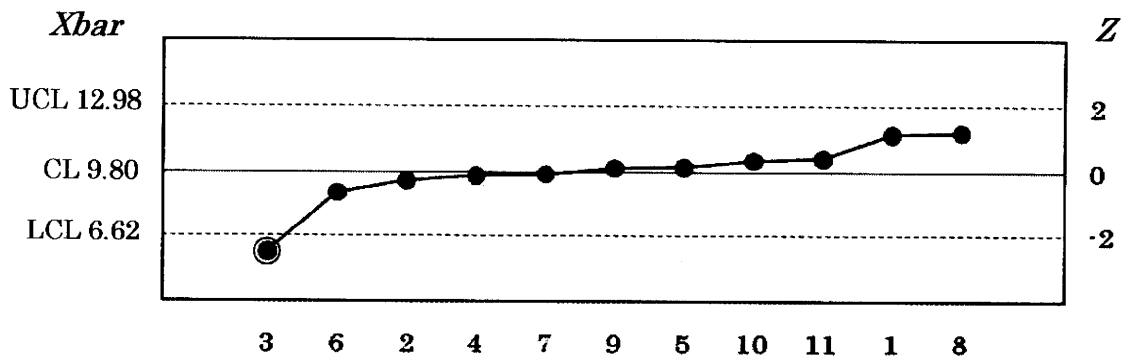
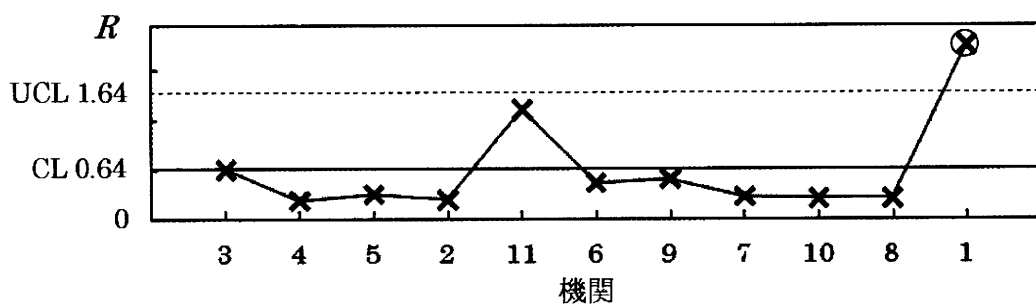
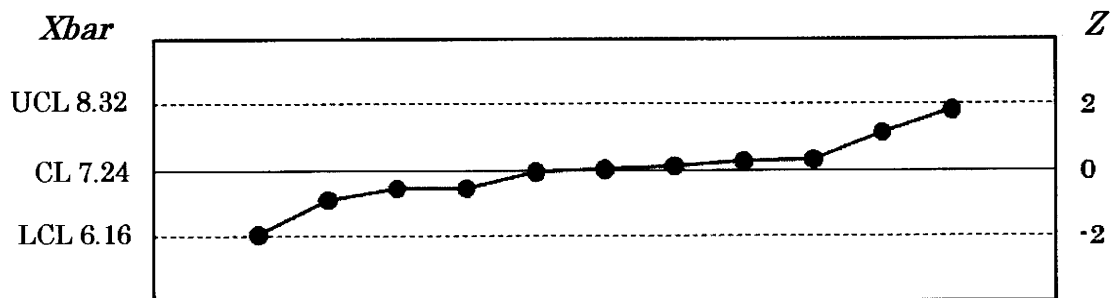


図2 共同試験結果の Xbar-R 管理図(試料3)

モリナガ FASPEK 牛乳測定キット



FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

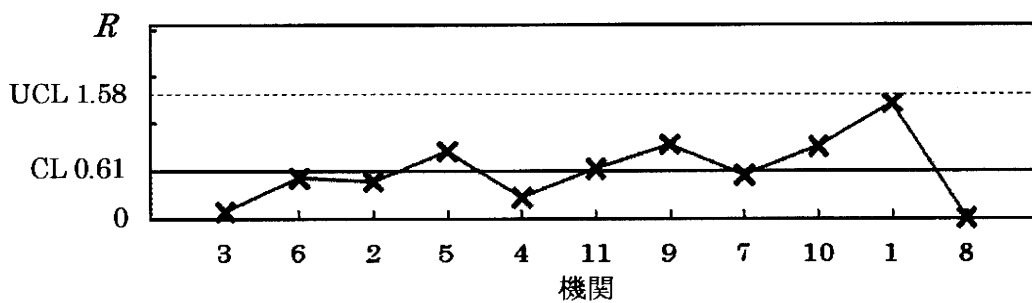
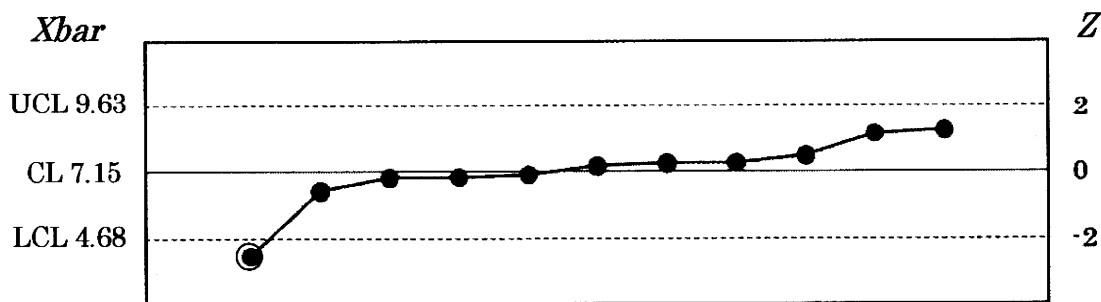
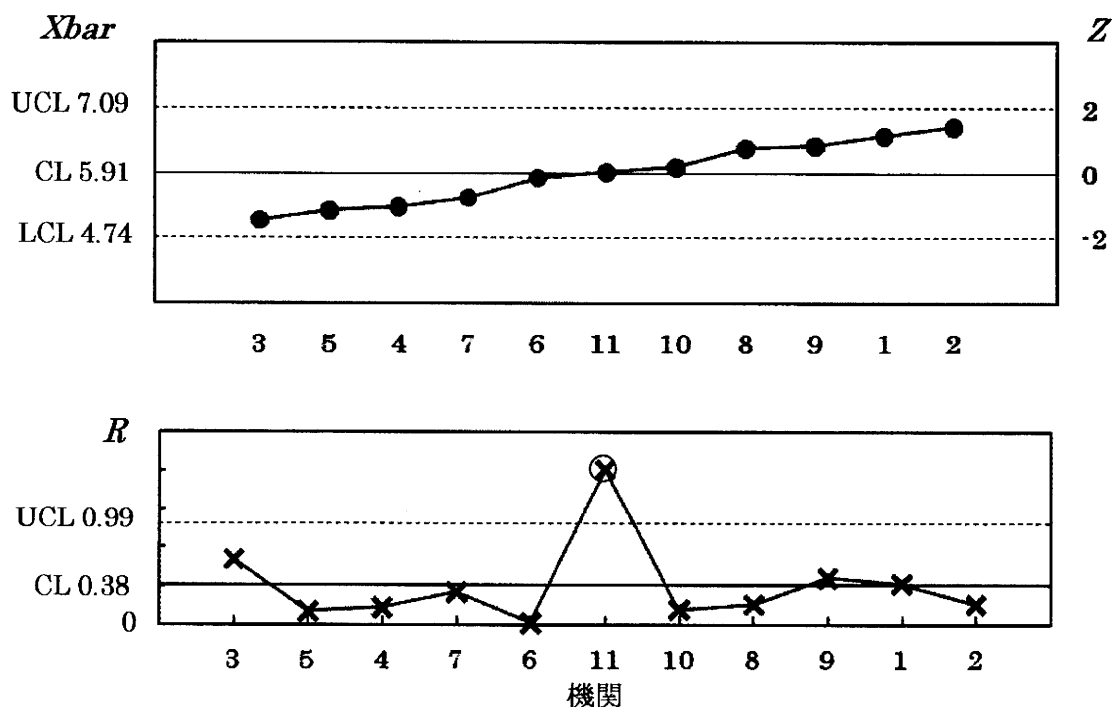


図3 共同試験結果の Xbar-R 管理図(試料5)

モリナガ FASPEK 牛乳測定キット



FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

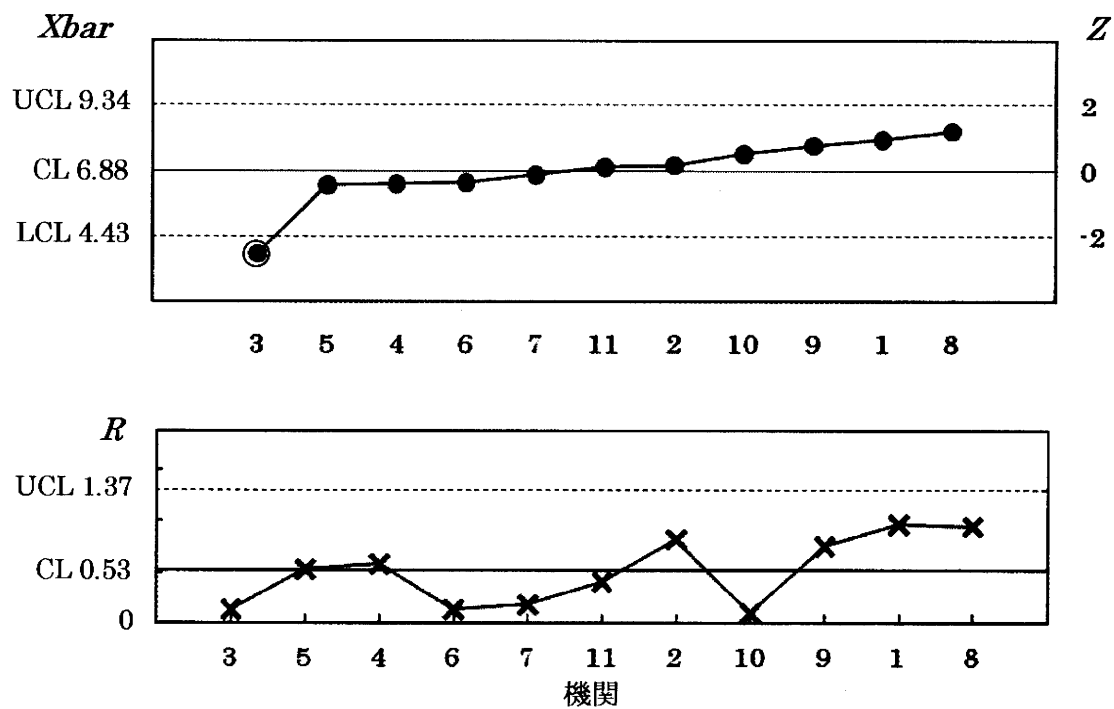
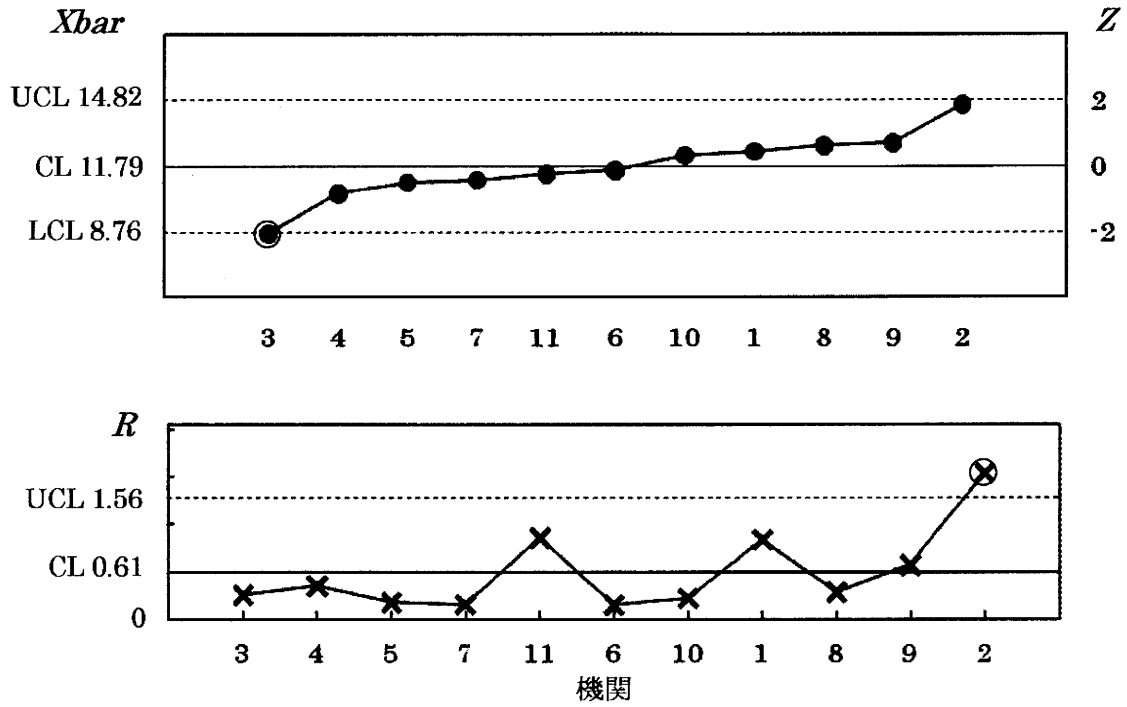


図4 共同試験結果の Xbar-R 管理図(試料7)

モリナガ FASPEK 牛乳測定キット



FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳

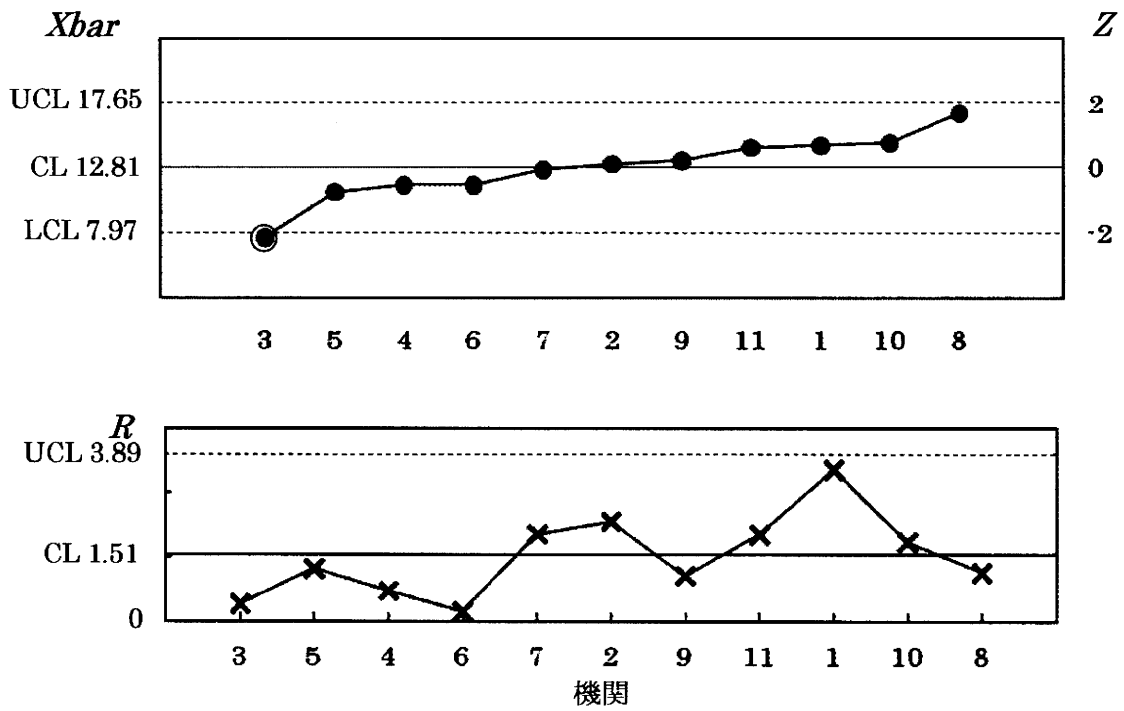


図5 共同試験結果の Xbar-R 管理図(試料8)

表11 平成21年度特定原材料検査実績

機関番号	検査機関の特定原材料検査業務の経験年数	ELISA法							確認試験							
		卵	乳	小麦	そば	落花生	えび・かに	ELISA計	卵	乳	ウエスタンプロット計	小麦	そば	落花生	えび・かに	PCR計
1	7年8ヶ月	297	386	207	103	73	152	1218	2	2	4	31	3	0	18	52
2	8年3ヶ月	48	48	16	40	0	40	192	10	0	10	0	0	0	0	0
3	6年6ヶ月	0	0	0	20	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0
4	7年3ヶ月	46	32	0	0	0	24	102	2	1	3	0	0	0	2	2
5	5年7ヶ月	24	0	10	0	0	24	58	0	0	0	2	0	0	7	9
6	10年3ヶ月	61	67	49	74	29	67	347	5	0	5	0	0	0	0	0
7	7年以上	75	68	51	40	38	56	328	0	0	0	0	0	0	0	0
8	7年0ヶ月	12	23	9	0	4	0	48	0	0	0	3	0	0	0	3
9	7年0ヶ月	20	20	0	20	0	20	80	2	1	3	0	0	0	11	11
10	6年4ヶ月	8	8	8	8	8	16	56	0	0	0	0	0	0	0	0
11	7年8ヶ月	149	313	224	80	72	165	1003	5	8	13	22	2	5	18	47
H21年度計		740	965	574	385	224	564	3452	26	12	38	58	5	5	56	124
H20年度計		1045	1103	739	605	493	504	4489	42	41	83	44	6	2	15	67
増減		-305	-138	-165	-220	-269	+60	-1037	-16	-29	-45	+14	-1	+3	+41	+57

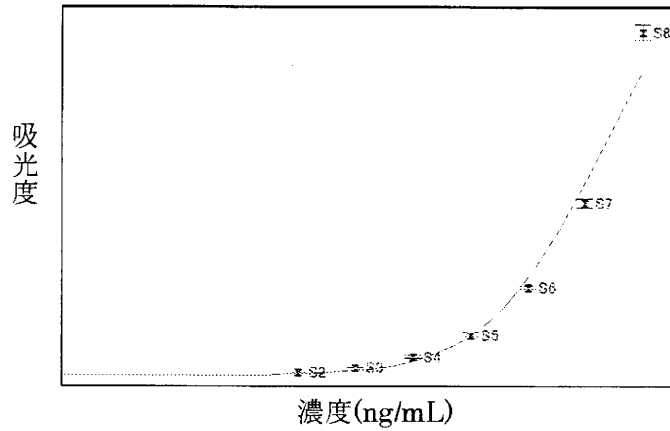


図6 マイクロプレートマネージャーVer.5のLogistic 4PL解析におけるプロット値と検量線

表12 図1におけるプロット値と検量線データ

プロット	吸光度	0.030	0.057	0.086	0.145	0.263	0.508	0.951	1.842
	標準の濃度 (ng/mL)	0	0.78	1.56	3.13	6.25	12.50	25.00	50.00
検量線	吸光度に対応する濃度(ng/mL)		0.99	2.09	3.73	6.46	11.59	21.82	68.92
	プロットとの差		0.21	0.53	0.61	0.21	-0.91	-3.18	18.92

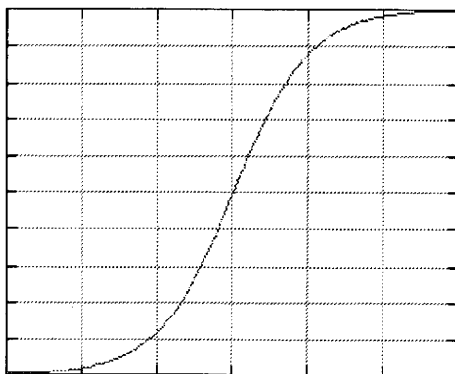


図7 典型的なシグモイド曲線

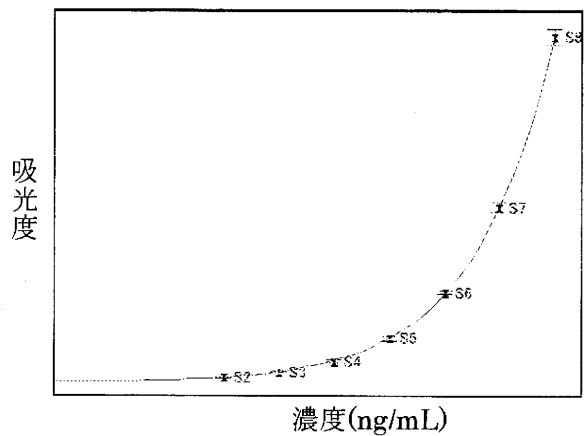


図8 マイクロプレートマネージャーVer.5のLogistic 5PL解析(Rodbard)におけるプロットと検量線

表13 甲殻類抽出液のタンパク質濃度

試料	タンパク質測定法				
	2-D Quant kit	FAテスト EIA-甲殻類「ニッスイ」		甲殻類キット「マルハ」	
	タンパク質濃度 (A) (mg/mL)	タンパク質濃度 (B) (mg/mL)	回収率 B/A×100 (%)	タンパク質濃度 (D) (mg/mL)	回収率 D/A×100 (%)
甲殻類①抽出液	1.03	0.808	78.4	0.424	41.2
甲殻類②抽出液	0.37	0.098	26.5	0.064	17.3
甲殻類③抽出液	2.47	2.989	121.0	2.364	95.7

表14 甲殻類抽出液添加食材中の甲殻類タンパク質

添加液	食材	FAテスト EIA- 甲殻類「ニッスイ」		甲殻類キット 「マルハ」	
		測定値	回収率 ^{a)}	測定値	回収率 ^{a)}
		(μ g/tube)	(%)	(μ g/tube)	(%)
甲殻類① 抽出液	食材なし	12.13	-	6.36	-
	食材1	10.88	89.7	5.35	84.1
	食材2	11.14	91.8	5.68	89.3
	食材3	11.31	93.2	5.91	92.9
	食材4	11.13	91.8	5.86	92.1
	食材5	10.83	89.3	7.13	112.1
	食材6	10.29	84.8	6.93	109.0
甲殻類② 抽出液	食材なし	9.81	-	6.42	-
	食材1	8.29	84.5	5.93	92.4
	食材2	9.09	92.7	6.65	103.6
	食材3	9.16	93.4	6.45	100.5
	食材4	8.84	90.1	6.01	93.6
	食材5	8.82	89.9	7.67	119.5
	食材6	8.69	88.6	7.47	116.4
甲殻類③ 抽出液	食材なし	7.47	-	5.91	-
	食材1	6.26	83.8	5.19	87.8
	食材2	6.37	85.3	5.73	97.0
	食材3	6.44	86.2	6.08	102.9
	食材4	6.34	84.9	5.73	97.0
	食材5	6.17	82.6	6.50	110.0
	食材6	6.18	82.7	6.23	105.4

a): 回収率=各測定値/食材なしの測定値×100

表15 甲殻類添加試料の均一性試験結果

基材	添加物 および タンパク質 添加量*	FAテスト EIA-甲殻類「ニッスイ」				甲殻類キット「マルハ」					
		測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	回収率 (%)	二元配置による分散分析 分散比 判定 (<3.02)	測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	回収率 (%)	二元配置による分散分析 分散比 判定 (<3.02)		
食材4	甲殻類① 17.55 $\mu\text{g/g}$	10.53	4.8	60.0	0.56	均一	5.70	2.4	32.5	0.08	均一
食材6	甲殻類③ 6.78 $\mu\text{g/g}$	6.36	7.1	93.7	0.14	均一	6.20	4.0	91.4	0.75	均一

*: 2-D Quant Kit による測定値

表16 甲殻類添加試料の安定性試験結果

基材	添加物	FAテストEIA-甲殻類「ニッスイ」				甲殻類キット「マルハ」					
		保存前(A)		9W後(B)		保存前(A)		9W後(B)			
		測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	測定値の 平均 ($\mu\text{g/g}$)	RSD (%)	安定性 (B/A \times 100)	
食材4	無し	—	—	0.00	—	—	0.00	—	—	—	
食材4	甲殻類①	10.53	4.8	11.44	4.0	108.6	5.70	2.4	5.97	5.0	104.7
食材6	無し	—	—	a)	—	—	—	—	0.00	—	—
食材6	甲殻類③	6.36	7.1	6.30	5.1	99.1	6.20	4.0	6.44	3.5	103.9

a): キットの測定下限 (0.31) 以下

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

食品衛生外部精度管理調査における適正調査試料作製と
信頼性確保に関する研究(その4)

— 組換え DNA 技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究 —

主任研究者	小島 幸一	(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 所長
分担研究者	大島 赴夫	(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 副所長
協力研究者	穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所 室長
	笠間 菊子	(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員
	小熊 恭代	(財)食品薬品安全センター 秦野研究所 研究員

研究要旨

ラウンドアップ・レディー・ダイズ(RRS)を検査対象とした外部精度管理調査試料として、ブラジル産不分別ダイズと雪乃白姫ダイズを用いて RRS 混入率が約 2%および 5%の試料を作製した。定量 PCR 法による予定濃度は、使用した 2 種のダイズの DNA 収量および混合比に基づき求めた。これら調製試料および RRS を含む市販のダイズ粉末 3 種を用いて、外部精度管理調査を実施した。外部精度管理調査の報告値の平均値を測定法間および予定濃度と比較した結果、市販品では定量 PCR 法と ELISA 法の報告値間で差が大きいものもあったが、表示値と報告値の差はいずれも小さかった。調製試料では、定量 PCR 法と ELISA 法の報告値の差は小さかったが、定量 PCR 法の報告値は予定濃度と一致せず、試料 5 では 2%以上低かった。

外部精度管理調査の報告値を、使用した抽出法ごとに分けて集計した結果、GM quicker では DNA 収量が少なく、定量 PCR におけるコピー数が多い傾向が認められた。この傾向は、当所にて抽出した DNA でも認められた。品質確認のため測定した UV 吸収スペクトルの形状には抽出法間で差は認められなかったが、アガロースゲル電気泳動では GM quicker による DNA のバンドが DNeasy Plant Mini Kit の DNA より濃いことが判明した。また、抽出 DNA の蛍光光度法による定量値と UV 吸収法による定量値の差は GM quicker 抽出液では小さかったが、DNeasy Plant Mini Kit 抽出液では蛍光光度法による定量値が UV 吸収法に比べて大幅に減少した。この結果、DNeasy Plant Mini Kit の抽出液には二本鎖 DNA 以外にも 260 nm に吸収を持つ物質が多く含まれていることが示唆され、これらは PCR の鋳型とならないため UV 吸収法で濃度を調整した場合 GM quicker 抽出液の定量 PCR におけるコピー数が DNeasy Plant Mini Kit の抽出液に比べて高くなると考えられた。トウモロコシについても両抽出法による抽出 DNA について同様の検討を行った結果、DNeasy Plant Mini Kit 抽出液には、ダイズと同じく二本鎖 DNA 以外に 260 nm に吸収を持つ物質が多く含まれていることが示唆された。

A. 研究の目的

遺伝子組換え食品検査における検査精度の向上を目的として遺伝子組換え食品検査に関する外部精度管理調査を実施している。

平成 21 年度遺伝子組換え食品検査の外部精度管理調査の検査対象は安全性確認済み遺伝子組み換えダイズであるラウンドアップ・レディー・ダイズ(以下 RRS とする)であった。RRS の検査法は厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について(一部改正)」(食安発第 0618001 号、平成 20 年 6 月 18 日、以下通知と記載する)により規定されているが、定量 PCR と ELISA による測定法が併記されている。RRS を検査対象とした外部精度管理調査は過去にも実施しているが、その際、定量 PCR 法と ELISA 法による報告値の平均値は必ずしも一致しなかった。渡邊らは本研究の平成 18 年度報告書、組換え DNA 技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究においてダイズ品種間で DNA 収量に差があること、およびこの差が定量 PCR 法による RRS の定量値に影響を与える可能性を述べている。このため平成 21 年度外部精度管理調査試料のうち自家調製試料については重量比での調製濃度に加え原料ダイズの DNA 収量を考慮した予定濃度も算出した。また、これ以外に購入試料として定量 PCR 法または ELISA 法による測定値が表示された市販のダイズ粉末も使用して外部精度管理調査を実施した。参加機関からの報告値は定量 PCR 法と ELISA 法の測定法間で比較したほか、表示濃度、調製濃度または予定濃度と比較した。

渡邊らは第 99 回日本食品衛生学会学術講演会、「リアルタイム PCR 法により得られる測定値の不確かさの推定」において、ダイズの抽出 DNA の定量値が吸光光度法と蛍光光度法で異なることおよび抽出法により DNA 収量に差があ

ることを報告した。また、北村ら(岡山県環境保健センター年報 31, 133-136, 2007)は、定量 PCR において測定される遺伝子のコピー数が DNA 抽出法によって異なることを報告した。平成 21 年度外部精度管理調査においても抽出法間で DNA 収量および定量 PCR で測定される遺伝子のコピー数に抽出法に依存した差が認められたため、その原因について検討した。

B. 研究方法

1. 外部精度管理調査試料

1.1 調製試料

2009 年ブラジル産不分別ダイズ(以下ブラジル産不分別ダイズとする)、契約栽培ダイズである 2008 年カナダ産雪乃白姫ダイズ(以下雪乃白姫ダイズとする)をそれぞれ 200 μm のスクリーンを装着した超遠心粉砕機 ZM200 ((株)レッチェ)を使用して粉砕した。これらの粉末について定量 PCR 法により RRS 含量を測定し、その結果に基づいてブラジル産不分別ダイズ粉末と雪乃白姫ダイズ粉末を混合して濃度の異なる 2 試料を調製した。

1.2 購入試料

定量 PCR 法または ELISA 法による測定値が表示されている RRS を含む市販のダイズ粉末 3 種を使用した。

2. DNA 抽出

DNA 抽出は DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)または GM quicker(ニッポンジーン)を使用し、通知のプロトコールに従って実施した。恒温槽には DryThermoUnit DTU-2B(TAITEC)、遠心分離には多用途小形遠心機 CF16RX(日立工機)を使用した。

3. 定量 PCR

定量 PCR は通知に従い、ダイズ内在性 DNA Le1 オリゴヌクレオチドセット、GM ダイズ(RRS)系統別 DNA RRS オリゴヌクレオチドセット、GM