

度を比較した。その結果、すべてのそば粉において-ME 抽出液よりも+ME 抽出液の方がタンパク質濃度は高かった。しかし、-ME 抽出液のタンパク質濃度は標準品規格に記載のタンパク質濃度 (2.8~4.2 mg/mL) をいずれも満たすことから、メルカプトエタノールを含まない抽出液でもそば粉からのタンパク質抽出は十分可能であることが確認された。

次に、これら 6 種類のそばタンパク質抽出液をそれぞれ 100 µg/mL となるよう希釈後、3 種類の ELISA キットで測定し、そばタンパク質の定量値を比較した。その結果、茨城県産そば粉及び中国北方産そば粉では、すべてのキットでそばタンパク質の検出が確認された。しかし、ダツタンそば粉では、日本ハムキット、モリナガキットでは検出されたが、プリマハムキットでは検出下限以下だった。プリマハムキットはそばタンパク質の検出にモノクローナル抗体を使用していることから、ダツタンそば粉はプリマハムキットのモノクローナル抗体が認識できる抗原タンパク質を含んでいない可能性が考えられた。また、各抽出液を比較した場合、中国北方産 (日本ハムキット使用時) を除くすべてのそば粉及びキットにおいて、+ME 抽出液よりも-ME 抽出液で測定値が高かった。また、中国北方産そば粉及び ME 抽出液を使用した溶液でキット間の測定値の差が最も小さかった。

以上の結果より、添加用そばタンパク質溶液の調製には 3 キットの測定値の差が最も少ない中国北方産そば粉及び ME 抽出液を使用することとした。

次に、選定したそば粉及び抽出液を用いて調製したそばタンパク質溶液を基材に添

加し、回収率及び安定性を検討した。すなわち中国北方産そば粉から-ME 抽出液を使用して標準品規格に従って調製したそばタンパク質溶液を、ビスケット、こしあん、カスタードクリーム、チョコレートクリームに添加してそばタンパク質添加試料を調製した。そばタンパク質の添加量はそれぞれ 8.6 µg/g、9.7 µg/g、8.9 µg/g、8.8 µg/g とした。各そばタンパク質添加試料のそばタンパク質量を調製直後に 3 種類のキットで測定し、測定値を添加タンパク質量で除して回収率を求めた。その結果、ビスケット、こしあん、カスタードクリーム、チョコレートクリームでそれぞれ日本ハムキットが 175.8%、179.6%、134.5%、108.5%、モリナガキットが 127.5%、120.4%、108.1%、117.6%、プリマハムキットが 108.7%、96.2%、85.5%、86.0% と、日本ハムキット、モリナガキット、プリマハムキットの順に回収率が高かった。さらに、油分の少ない基材であるビスケット、こしあんは油分の多いカスタードクリーム、チョコレートクリームに比べて回収率が高かった。調製した試料は-20℃で保存し、保存 1 ヶ月後及び保存 2 ヶ月後にも保存前と同様に測定し、保存後の測定値を保存前の測定値で除して安定性を求めた。その結果、全ての試料において、モリナガキットでは 97.4~119.1%、プリマハムキットでは 91.2~123.8%と安定性は良好であった。しかし、日本ハムキットでは、保存 1 ヶ月後の安定性が 148.5~164.1%、保存 2 ヶ月後の安定性が 160.3~281.5%と保存期間が長くなるにつれ回収率が高くなる傾向が認められた。平成 19 年度にも、そば粉添加試料において同様の傾向が認められる

ことを報告しており、そばタンパク質の添加方法や添加基材を変更しても改善されないことから、試料ではなくキットに問題がある可能性が考えられた。また、日本ハムキットの検量線作成に使用したそば標準品の実測値を比較したところ、保存前、保存1ヶ月後、保存2ヶ月後の順に低下していた。一方、試料の実測値は全期間を通してほぼ同程度であった。このことから、日本ハムキットに付属のそば標準品が長期保存により劣化し、検量線の吸光度が低くなるため、試料の定量値が見かけ上高くなる可能性があると考えられた。そこで、保存前の検量線データを使用して、保存1ヶ月後、保存2ヶ月後の試料について再計算して得られた測定値について、安定性を検討した。その結果、全ての試料において、保存1ヶ月後の安定性が77.4~85.7%、保存2ヶ月後の安定性が79.2~89.9%と良好であった。

そば標準品の安定性を検討した結果、日本ハムキットでは試料の保存期間が長くなるにつれ回収率が高くなる傾向が認められた。その原因として、日本ハムキットに同梱されているそば標準品（以下、日本ハム標準品とする）が長期保存により劣化する可能性が考えられた。そこで、そば標準品の安定性について確認するために、日本ハム標準品とモリナガキットに同梱されているそば標準品（以下、モリナガ標準品とする）を日本ハム、モリナガの両キットを使用して測定し、実測値を比較した。なお、キット（同梱のそば標準品を含む）は全て4℃で保存し、測定回数はキット購入時（保存0ヶ月）、保存2ヶ月後の計2回実施した。その結果、モリナガキットで測定した場合、キット購入時の日本ハム標準液とモリナガ

標準液の測定値は同程度であり、保存2ヶ月後においても同程度であった。一方、日本ハムキットを用いて測定した場合、キット購入時の日本ハム標準液の測定値は、モリナガ標準液の測定値に比べて低かった。また、保存2ヶ月後では、日本ハム標準液とモリナガ標準液の両方でキット購入時と比較して測定値が低かった。以上の結果より、標準液中に含まれるそばタンパク質のうち、モリナガキットで検出するタンパク質は長期保存により劣化しないが、日本ハムキットで検出するタンパク質は長期保存により劣化する可能性が考えられた。また、日本ハムキットにおいて、日本ハム標準液がモリナガ標準液に比べて測定値が低かったのは、標準液に記載されている使用期限が日本ハム標準液では2ヶ月短く、モリナガ標準液よりも不安定なためであると考えられた。また外部精度管理調査を実施するにあたっては、各参加機関で保存期間の異なる標準液を使用して検量線を引いた場合に試料の測定結果に大きく影響する可能性があるため、共通のそば標準品の配布についても検討する必要があると考えられた。

6.4 組換え DNA 技術応用食品検査のための適正試料の作製検討：

外部精度管理調査試料調製に先立ち、63Bt コメ DNA 溶液を nonGM コメ DNA 溶液で段階希釈して63Bt コメ検出用試験を行い、増幅の有無を検討した。その結果1600倍希釈まで全ての反応で増幅が確認されたが Ct 値及び増幅曲線についても検討を加えた結果、希釈率が100倍以上では Ct 値のバラツキが大きいこと及び増幅曲線の安定性も良くないことがわかった。一方、供与

された 63Bt コメ DNA 溶液の量には限りがあるため、増幅曲線が安定し Ct 値の再現性が期待できる 10 倍希釈液及び増幅曲線の安定性、Ct 値の再現性は期待できないが、陽性の判定は十分期待できる 100 倍希釈液を調製することとし、10 倍希釈液を試料 B (63Bt 高濃度)、100 倍希釈を試料 A (63Bt 低濃度) とした。次に CpTI プラスミド溶液を Ct 値が試料 A と同程度となるよう nonGM コメ DNA 溶液により希釈し、試料 D とした。さらに、nonGM コメ DNA 溶液を試料 C とした。

調製した各試料について均一性試験を実施した。その結果、コメ陽性対照用試験では全試料の全測定で陽性となったほか、試料 A の 63Bt コメ検出用試験、試料 B の 63Bt コメ検出用試験、試料 D の CpTI コメ検出用試験の全測定で陽性の結果が得られた。また、これ以外に陽性となった測定はなかった。均一性試験で得られた Ct 値の平均及び標準偏差は、いずれも再現性は良好であり、予定どおり試料が調製できたものと考えられた。

陽性対照プラスミドと試料の Ct 値から、各精度管理試料の PCR 1 反応液あたり (50 ng DNA) の害虫抵抗性遺伝子のコピー数を推定した。試料 A、試料 B、陽性対照プラスミドの 63Bt コメ検出用試験の測定において、Th. line を指数増幅部に設定してそれぞれ Ct 値を求め、試料と陽性対照プラスミドの差を n とした。次にリアルタイム PCR の増幅率を 2 と仮定して、 2^n を陽性対照プラスミドと試料のコピー数の相対値とし、相対値に陽性対照プラスミドのコピー数 500 を乗じ、試料のコピー数とした。その結果、試料 A は 7.6 コピー、試料 B は 84.2 コピー

の組換え遺伝子を含むと算出された。また、試料 D についても CpTI コメ検出用試験の結果から同様にしてコピー数を推定したところ、49.4 コピーとなった。

250K の陽性対照プラスミド (非売品) を段階希釈して測定し、63Bt コメ検出用試験、CpTI コメ検出用試験、コメ陽性対照用試験のそれぞれについて検量線を作成した。これに別プレートによる測定で得られた Ct 値を代入し、試料 A、試料 B、63Bt コメ DNA 溶液の 63Bt 遺伝子のコピー数、試料 D の CpTI 遺伝子のコピー数、及び 63Bt コメ DNA 溶液のコメ陽性対照用遺伝子 (PLD) のコピー数を求めた。その結果、63Bt 遺伝子のコピー数は試料 A では 11.6 コピー、試料 B は 103 コピー、試料 D の CpTI 遺伝子では 45.5 コピーと算出された。これらの値は陽性対照プラスミドとの Ct 値の差から計算したコピー数と近似していた。また、63Bt コメ DNA 溶液の 63Bt コメ遺伝子のコピー数は 1093 コピー、コメ陽性対照用遺伝子のコピー数は 69110 コピーと計算された。さらに 63Bt コメにおける組換え DNA 配列と内在性遺伝子の存在比を 1:1 と仮定し、抽出原料の組換え米混入率を計算した結果、1.58%となった。

陽性プラスミドを用いた検出下限の検討では、改正通知法における害虫抵抗性遺伝子組換えコメ検出用の各検出系の検出下限 (コピー数) を陽性対照プラスミドを用いて検討した。陽性対照プラスミドを nonGM コメ DNA 溶液で段階希釈し、害虫抵抗性遺伝子組換えコメ検出用 3 試験をそれぞれ 8 併行で測定し、実施した全ての反応で陽性と判定された最低濃度を検出下限とした。その結果、検出下限は 63Bt コメ検出用試験

が 6.25 コピー、NNBt コメ検出用試験及び CpTI コメ検出用試験が 12.5 コピーとなり、検出系による差はほとんどなかった。この結果は平成 20 年度に報告したリアルタイム PCR によるコメ最終確認試験の検出下限の 63Bt コメ検出用試験 750 コピー、NNBt コメ検出用試験 80 コピーに比べいずれも検出感度が上昇し、特に 63Bt コメ検出用試験で顕著だった。この原因としては、旧検知法では 63Bt コメ検出用試験と NNBt コメ検出用試験はプライマーを共用した Duplex PCR であったのに対し、改正通知法は 63Bt コメ検出用試験と NNBt コメ検出用試験をそれぞれ別の反応液で実施するようになったこと、NNBt コメ検出用試験に用いるプローブの蛍光色素が VIC (HEX) から FAM に変更されたこと、使用した陽性対照プラスミドが前回とは違うものであること、陽性判定の基準が変更になったことなどが影響していると考えられた。

得られた Ct 値をそのまま統計解析した場合、Ct 値は測定機器の特性や整備状況に依存した誤差を含むものと考えられた。この誤差を補正することを目的として陽性対照プラスミドと試料の Ct 値の差を算出し、この差について正規確率プロット及び z - スコア管理図を作成して解析した。その結果、試料 A 及び試料 B の 63Bt コメ検出用試験では正規確率プロットの形状はほとんど変化がなく、陽性対照プラスミドによる補正の効果は認められなかった。また、CpTI コメ検出用試験でも正規確率プロットの形状は若干の改善に留まり、補正の効果は明確ではなかった。

以上の結果から、定性試験の測定法がリアルタイム PCR 法の場合、あらかじめ Th.

line を指数増幅領域に指定し、収集した Ct 値を解析することにより、外部精度管理参加機関における測定精度をより詳しく推定できると考えられた。また、DNA 抽出も含めたリアルタイム PCR 法による定性試験の Ct 値を解析する場合は、PCR 反応液に含まれる鋳型の量が機関によってばらつくことが予想されるため、組換え遺伝子の測定における Ct 値と陽性対照用遺伝子の測定における Ct 値の差をとるなどの補正が必要となる可能性も考えられた。

引き続き、遺伝子組換え食品検査外部精度管理調査において収集した Ct 値に対して、定量試験の外部精度管理で用いる統計手法を適用し、定性試験による外部精度管理結果をより詳細に解析できないか検討した。外部精度管理の判定結果から DAS59132 トウモロコシの検出に関しては全機関が陽性試料及び陰性試料を正しく判定し、正答率は 100% だった。定性試験では検出下限付近のコピー数を含む試料の測定結果において、検出の有無は確率の問題となるため、正しく判定するためには繰り返しの数を多く設定する必要がある。しかし、通知法では繰り返しの数が指定されており、外部精度管理調査では試料の濃度を検出下限付近に設定すると陰性だった場合、結果の解釈が難しくなると考えられた。このため、平成 23 年度の外部精度管理調査試料は検出下限付近の濃度設定を避け、低濃度試料でも検出下限の 10 倍以上の濃度とした。このため、陽性試料に関しては難易度が低くなり、結果として正答率は全試料とも 100% となった。従って、判定結果のみから参加機関の検出感度を確認することは困難であった。

通知法の DAS59132 検知法は定性試験ではあるもののリアルタイム PCR による試験であるため、増幅が認められた測定においては増幅曲線に Th. line を設定することにより Ct 値を求めることができる。外部精度管理調査の際に収集した Th. line 0.2 の Ct 値を検討した。DNA 溶液試料は DNA 抽出及び濃度調製の操作が含まれないため PCR 反応液に含まれる鋳型の量には機関間差が少なく、Ct 値はほぼ一定になると予想される。このため、試料 A、試料 C については Ct 値をそのまま解析した。試料 A 及び試料 C の統計解析結果のうち、ヒストグラム及び正規確率プロットを検討した結果、いずれの試料においてもひずみ、とがりは共に小さく、一部のデータを除いて正規分布に近い形状を示した。試料 A の Xbar 管理図、z-スコア管理図では、機関番号 23、機関番号 30、機関番号 32 が、R 管理図では機関番号 8 が管理限界外の値となった。試料 C の Xbar 管理図、z-スコア管理図では、機関番号 23、機関番号 30 が、R 管理図では機関番号 8 が管理限界外の値となった。機関番号 30 は試料 A と試料 C のいずれでも z-スコアが -2 以下であったが、昨年度報告した組換えコメの測定でも Ct 値が小さい傾向が認められている。機関番号 30 はリアルタイム PCR 装置に ABI7000 を使用しており、コメの時と同様、測定装置の特性により管理限界外の値となった可能性が高いと考えられた。機関番号 23 も試料 A と試料 C の両方で z-スコアが 2 を超えたが、蛍光強度、蛍光コンポーネントには問題がなく、管理限界外となった原因は不明であった。

試料 A で z-スコアの絶対値が 2 を超えた機関番号 32 は反応がプラトーに達した時

の蛍光強度が他の機関に比べて小さく、さらに蛍光コンポーネントでは、プローブに由来する TAMURA と TaqMan Universal PCR Master Mix に由来する ROX の比が他機関と異なることが判明し、PCR 反応液の調製が Ct 値に影響した可能性が考えられた。R-管理図では機関番号 8 が試料 A、試料 C のいずれも管理限界外の値となり、Ct 値の再現性が悪いことから、PCR 反応液の混合が不十分だった可能性が考えられた。

粉末試料でも、PCR 測定に供する DNA 溶液の濃度は同じであるが、これには抽出及び濃度調製による機関間差が含まれてくるため、PCR 反応の Ct 値が DNA 溶液試料に比べてばらつくことが予想された。しかし、DNA 濃度の誤差は、同じ DNA 溶液を試料とするトウモロコシ陽性対照用試験と DAS59132 検出用試験の Ct 値に同程度の誤差として現れると考えられるため、両者の差を解析することにより、DNA 濃度の誤差を補正できる可能性が考えられた。

そこで、試料 2 のトウモロコシ陽性対照用試験と DAS59132 検出用試験の Ct 値をそのまま用いて統計解析を実施し、ヒストグラム及び正規確率プロットを検討した。その結果、いずれの試験においてもひずみ、とがりは小さかったが、データの分布は右側に裾を引いた形となった。DNA 抽出のばらつきの指標となると考えられる R 管理図では機関番号 11 が両試験で、機関番号 1 及び機関番号 23 がいずれか一方の試験で管理限界外の値となり、これらの機関では DNA の 2 抽出間の再現性が悪かったことが明らかになった。次に、DAS59132 検出用試験と、トウモロコシ陽性対照用試験の Ct 値の差を求め、この差について統計解析を実施し

た。ヒストグラム及び正規確率プロットを検討した結果、Ct 値をそのまま用いた場合にくらべて、ひずみ、とがりが小さくなり、グラフの形状が正規分布に近づいた。また、R 管理図で管理限界外の値となったのは機関番号 1 のみで、機関番号 11 及び機関番号 23 では DNA 抽出のばらつきを相殺できたと考えられた。機関番号 1 の Ct 値のばらつきが大きいのは DAS59132 検出用試験のみであり、ばらつきの原因が DNA 抽出以外にあることが明らかになった。試料 2 の Ct 値をそのまま統計処理した z-スコア管理図では、機関番号 14 及び機関番号 23 が、トウモロコシ陽性対照用試験と DAS59132 検出用試験で共に z-スコアが 2 を超え、抽出 DNA 溶液の濃度が薄かった可能性が示された。一方、Ct 値の差を用いた z-スコア管理図では、機関番号 14 及び機関番号 23 のいずれも z-スコアは 2 以内となり、PCR 測定には問題がないことが示された。また、Ct 値の差を用いた z-スコア管理図で絶対値が 2 を超えた機関番号 13 及び機関番号 20 は、Ct 値をそのまま統計処理した場合には z-スコアは 2 以内と問題はなく、トウモロコシ陽性対照用試験または DAS59132 検出用試験のいずれかの PCR 測定に問題があった可能性が考えられたが、原因は不明であった。

また、0.5%と5%の陽性コントロールの Ct 値を比較すると両者の差は平均 3.54 で、Ct 値の差から求めた両者の濃度差は平均 11.63 となり、調製濃度の差より若干大きく測定された。試料 C と 0.5%陽性コントロールの Ct 値の相関を検討したところ、両者の相関係数は 0.896 と良好で、リアルタイム PCR の Ct 値には、試料ごとの誤差よりも、測定機関固有の誤差（PCR 装置、試薬

のロット、ピペットの誤差等）の影響が大きいことが明らかになった。

遺伝子組換え米の検査に使用する 4 遺伝子（PLD、CpTI、63Bt、NNBt）について、コメ陽性コントロールプラスミドを水で段階希釈した DNA 溶液を鋳型として、9600 Emulation mode 及び Standard mode の 2 種類のランモードでそれぞれリアルタイム PCR 測定を行い、Ct 値を比較した。その結果、PLD 及び 63Bt では 6 濃度中 4 濃度、NNBt では 6 濃度中 5 濃度で 9600 Emulation mode よりも Standard mode で Ct 値が若干ではあるが大きい傾向にあった。さらに、指数関数的な増幅がみられたウェル数（増幅数）、さらに、指数関数的な増幅が確認されたウェルのうち、48 未満の Ct 値が得られたウェル数（陽性数）について比較した結果、PLD 及び CpTI の 5 コピー/ウェルでは 9600 Emulation mode の増幅数が 6 ウェル中 6 ウェルであったのに対し、Standard mode の増幅数は 6 ウェル中 5 ウェルと増幅しないウェルが 1 ウェルあった。また、NNBt では 5 コピー/ウェルと 2.5 コピー/ウェルの両方で 9600 Emulation mode の増幅数が 6 ウェル中 5 ウェルであったのに対し、Standard mode の増幅数が 6 ウェル中 4 ウェルに減少した。

次に、実際の遺伝子組換え食品検査に近づけるため、希釈液を水から非遺伝子組換え米 DNA に変えて DNA 溶液を調製した。この DNA 溶液を鋳型として CpTI、63Bt、NNBt の 3 遺伝子について同様にリアルタイム PCR 測定を行い、モード間の比較を行った。その結果、CpTI ではすべての濃度で 9600 Emulation mode よりも Standard mode で Ct 値が大きく、水で希釈した場合に比べて Ct

値のモード間差が大きい傾向があった。また 63Bt、NNBt では 6 濃度中 4 濃度で Standard mode の Ct 値が若干ではあるが大きく、希釈液に水を用いた場合と同様の傾向がみられた。一方、増幅数は CpTI、NNBt ではいずれの濃度においてもモード間の差はみられなかったが、63Bt の 5 コピー/ウェルでは、9600 Emulation mode の増幅数が 6 ウェル中 6 ウェルであったのに対し、Standard mode の増幅数が 6 ウェル中 5 ウェルとモード間で差がみられた。

以上より、通知法の遺伝子組換え米の検出に使用する 4 遺伝子では、Standard mode を用いて測定を行った場合、9600 Emulation mode に比べ得られる Ct 値が大きく、検出下限付近の低い濃度では増幅数及び陽性数が減少する傾向が確認された。しかし、Ct 値のモード間差はほとんどが 1 サイクル以内と非常に小さいことから、ランモードの違いは判定結果にほとんど影響しないと考えられた。また、今回は併行数及び反復数が少なく、検出下限付近の濃度におけるランモードの違いによる増幅の有無についての明確な差は確認できなかった。

通知法に記載されている安全性未審査の遺伝子組換え米のリアルタイム PCR 条件は変性時間が 20 秒間であるのに対し、安全性未審査の遺伝子組換えパパイヤでは 15 秒間と短いため、9600 Emulation mode よりも温度変化が速い Standard mode では、変性時間が短いことによる PCR 反応への影響がより大きくなることが予想された。そこで、遺伝子組換えパパイヤの検査に使用する 4 遺伝子 (Chy、CaM、PRSV-YK、PRSV-SC) について、2 種類のモード間における Ct 値、検出数及び陽性数について比較した。ただ

し、陽性数については、指数関数的な増幅が確認されたウェルのうち、43 未満の Ct 値が得られたウェル数を陽性と判定した。その結果、Ct 値は CaM、PRSV-YK の 1.25 コピー/ウェルを除くすべての遺伝子及び濃度で 9600 Emulation mode よりも Standard mode の方が若干小さくなった。しかし、CaM では 1.25 コピー/ウェルにおいて 9600 Emulation mode の増幅数が 6 ウェル中 6 ウェルであったのに対し、Standard mode の増幅数が 6 ウェル中 4 ウェルと増幅しないウェルがあった。また、PRSV-YK では同濃度において 9600 Emulation mode 及び Standard mode の増幅数がいずれも 6 ウェル中 5 ウェルであったが、陽性数は 9600 Emulation mode が 6 ウェル中 4 ウェル、Standard mode が 6 ウェル中 3 ウェルとモード間で差がみられた。

以上より、通知法の遺伝子組換えパパイヤの検出に使用する 4 遺伝子では、Standard mode を用いて測定を行った場合、9600 Emulation mode に比べ得られる Ct 値が小さい傾向にあったが、モード間差は遺伝子組換え米の場合よりもさらに小さく、Ct 値に与える影響はほとんどないと考えられた。また、CaM 及び PRSV-YK では検出下限付近の低い濃度では増幅数及び陽性数が Standard mode で減少する傾向が確認されたが、併行数及び反復数が少なく、検出下限付近の濃度におけるランモードの違いによる増幅の有無及び増幅の遅れについての明確な差は確認できなかった。

異なるランモードが Ct 値及び判定結果に与える影響はほとんどないことが確認された。次に、リアルタイム PCR の測定結果から各遺伝子の増幅効率を算出し、比較し

た。その結果、遺伝子組換え米の検査に使用する4遺伝子(PLD、CpTI、63Bt、NNBt)では希釈液に水を用いた場合、CpTI及びNNBtでは各ランモードの増幅効率に差はみられなかったが、PLD及び63Btでは9600 Emulation modeよりもStandard modeで増幅効率が高かった。さらに、希釈液に非遺伝子組換えコメDNAを用いて測定した3遺伝子(CpTI、63Bt、NNBt)すべてで、9600 Emulation modeよりもStandard modeで増幅効率が高く、水希釈の時よりもモード間差が大きくなった。3遺伝子全ての増幅効率がStandard modeで上昇したのは、希釈に使用した非遺伝子組換え米DNA溶液に含まれるPCR反応阻害物質とStandard modeにおける温度の切り替えにかかる時間が短いことが影響している可能性が考えられた。

遺伝子組換えパパイアの検査に使用する4遺伝子(Chy、CaM、PRSV-YK、PRSV-SC)では、全ての遺伝子で増幅効率のモード間差が非常に小さく、Standard modeで測定しても9600 Emulation modeと同様の増幅効率が得られることが確認された。

E. 結論

1 尾花分担研究

平成23年度の精度管理試験において、添加試料の原材料である大豆には、水溶液に溶解した農薬を均一かつ安定的に含浸させることができた。検討段階では、農薬の水-オクタノール分配係数と、大豆に含浸された濃度には相関関係がみられた。添加農薬の内、相対的に脂溶性が高い農薬は、低いものよりも高濃度で含浸された。そのため農薬は水溶液から大豆の脂質に分配すると推測された。本研究で開発した精度管理

試料は、複数の原材料の一部に被験物質が添加されている点で、従来の均一化された単一の食材試料とは異なる。複数の原材料からなる加工食品で、原材料ごとに分別する手法も取り入れた精度管理試験が可能であることが実証できた。

外部精度管理試験で、均一化法の全項目が良好な結果を得たのは6機関であり、分別法は5機関であった。両法で共に良好なのは5機関で、分別法で良好であった機関と一致した。4機関では、一つ以上の評価項目で適正な範囲を外れた。均一化法で適正域から外れた3機関のうち2機関は、均一化法で外れた真度又は精度の評価項目は、分別法のそれと一致していた。項目で見ると、適正域から外れたのはプロポキスルを除いて8項目あり、両法で外れたのは、カルバリル及びチオベンカルブであった。

基準適合性の判定で、加工食品の適合性、原材料の適合性及び最終判定で全項目が付与値に基づく判定と一致したのは、8機関であった。1機関は原材料の適合性で、大豆のカルバリルのみが誤りであった。付与値に基づく分析値は、端数処理前が0.24 ppmで、端数処理すると0.2 ppmとなり、基準値と一致した。分析法の精度の僅かな変動で、判定の正誤が決まった。参加した協力機関は、加工食品中の農薬分析で、加工食品から分別した原材料を分析し、その結果に基づいて、食品規格への適否を適切に判定する能力を有することが認められた。

平成24年度に提示したアルキルシクロブタノンの分析法は通知試験法よりも簡便であり、全機関が初めて行う試験でありながら、試料と標準品を受領してから結果を報告するまで約2.5ヶ月という短期間で可

能であったことから、汎用性が高く有用であると考えられた。平成 24 年度に実施した畜肉に加えて、平成 25 年度に実施した植物や魚由来の食品についても照射履歴が正しく判定できたことから、汎用性が高く有用であると考えられた。外部精度管理試験は、Xbar-R 管理図では一部管理限界を超える報告値があったが、原因がある程度予測されるものもあり、試験法自体に問題があるとは考え難かった。本来の照射履歴検知は定性判定が最重要であり、2 年間で未知試料 6 種の判定について、全機関が誤回答なく判定できたことから、全体として良好な結果が得られたと考えられる。また、食品中の 2-アルキルシクロブタノン分析の基本的な操作は、動物性食品中の農薬や汚染物の分析法と基本的に同じ手順であり、これらを日常的に行っている衛生研究所など食品の衛生検査機関にはなじみ深い分析法である。本研究では実施した精度管理試験は、日常業務で蓄えた知識や技術を応用的に検証するには、非常に適した事例であると考えられる。

2 中澤・斉藤分担研究

本研究は、DON 汚染が危惧される食品として、従来的小麦類に加えて大麦製品であるビールに着目し、フィールドでの迅速な検査を行うための ELISA の実用性について検証した。その結果、市販の ELISA キットはビール中 DON のスクリーニングとして十分に適用可能であった。国産製品はもとより、輸入食品など市場に流通する食品の安全性評価や、今後の規制値導入の検討に際して重要な情報を提供することに大いに寄与することが期待される。

3 斉藤分担研究

CPA に対する ELISA 法の確立を行い、これを用いためんつゆにおけるマトリックス効果について検討した。その結果、めんつゆを 5 倍以上希釈することにより PBS とほぼ同等の検量線が得られた。構築した ELISA の妥当性を検証するために、添加回収試験を行って、真度、併行精度及び室内再現精度など分析法バリデーションを行った。その結果、検量線測定範囲の 5 から 100 ng/mL の 4 点について平均回収率から真度の差を検証したところ、ほぼ同等の値が得られ、この範囲での測定値に信頼性があることが確認された。また、一元配置法により、上記測定ポイントにおける併行精度と室内再現精度を求めたところ、併行精度は 23.0~31.1%、室内再現精度は 17.0~30.6%と、いずれも相対標準偏差の数値としては若干高めであったが、併行精度と室内再現精度の数値がほぼ同レベルであった。以上の結果から、本法は、CPA 汚染が危惧される食品の実態調査においてスクリーニングとして適用可能であり、輸入食品など市場に流通する食品の安全性評価や、今後の規制値導入の検討に際して重要な情報を提供することに大いに寄与することが期待される。

4 村山分担研究

GC/MS によるクロルピリホス等の定量においては、GC-FPD によるクロルピリホス個別試験法と比べて定量精度、再現性ともに劣っていた。GC/MS においては、絶対検量線法による回収率が 115~201%であったが、マトリックス検量線法による回収率は 78~148%であり、厚生労働省が示している精度

管理ガイドライン（平成9年4月1日）、試験法妥当性評価ガイドライン（平成22年12月24日）に規定されている真度70～120%の範囲から一部はずれていた。一方、試験溶液への標準溶液添加法による回収率は91～107%あり、より簡便、高精度なマトリックス効果補正方法であることを実証した。

LC/MSによるサイクラミン酸の定量においては、標準溶液添加法により簡便かつ高精度に定量を行う事ができた。標準溶液添加法は人手を省ける上に、より正確な結果が得られる点で、マトリックス検量線法より優れていた。

MG及びLMGへの食品添加物の影響では、MGは二酸化硫黄と反応性が高く付加体を生成している可能性が高いことが分かった。一方、MGは過酸化水素との反応性は低いことが分かった。LMGは二酸化硫黄、過酸化水素ともに若干反応するが、6時間室内放置後の減衰はともに5%以内であった。検体中に含まれる二酸化硫黄を過酸化水素により酸化処理することで、MG及びLMGの添加回収試験を阻害する可能性がある二酸化硫黄の影響を除去できる可能性が示された。

5 鎗田分担研究

IDMSを適用することにより、外部精度管理調査試料中の分析対象農薬9種類を真度と併行精度が良く分析することができた。また、平成25年度外部精度管理調査（残留農薬検査I）の調査試料を分析した結果、同法によって真度が高くかつ不確かさが小さい分析値を得られることを確認した。以上の結果から、IDMSは外部精度管理調査試料中の分析対象農薬の精確

分析に有効な方法であると考えられた。

6 渡辺分担研究

6.1 理化学検査のための適正試料の作製：

精度管理調査における適正な調査試料作製は重要であり、調査対象項目の濃度の同等性及び調査期間中の濃度の安定性の確保が必須となる。そこで、これらの必須項目を満たす調査試料を作製することを目的とし、実分析をふまえた調査試料の作製を検討し、以下の結論を得た。

残留動物用医薬品について、新たな基材として検討した牛肉試料は、これまでの鶏肉及び豚肉と比較してブランク試料由来の夾雑ピークが多く、また添加したサルファ剤全体として回収率が低かった。しかしながら、ヒレ肉においては添加したすべてのサルファ剤について良好な均一性が得られ、調査試料としての可能性があると考えられた。またカタ肉についても、残留基準のあるSDDの回収率及び均一性ともに良好であることから、この2部位について更なる保存安定性の検討を要すると考えられた。

ヒレ肉における安定性の検討はSIXを除く9種の（添加した）サルファ剤について冷蔵保存7日後までは概ね良好な安定性が得られた。凍結融解安定性についても、ヒレ肉、カタ肉ともに3回目で一部のサルファ剤に見かけ上回収率が上がる傾向があったが、基準値の設定があるSDDについてはいずれの基材でも80%以上の安定性があり、調査試料としての可能性があると考えられた。

食品添加物の着色料について、新基材であるゼラチンを用いたゼリー菓子、固体

試料として、適用できることが示唆された。調査試料としての必要量 (50~80 kg) を作製する場合の操作などを考慮した、実試料作製へ向けての作製方法の検討は必要であった。

果実ペースト、魚肉製品 (鮭フレーク) 及び魚肉練り製品 (しんじょう、かまぼこ) を用いて試料作製を検討した結果、固体・半固体試料として、いずれの基材も適用できることが示唆された。高タンパク質食品あるいは高脂質食品を想定した調査試料として、今年度検討した基材はいずれも有効であると考えられた。

食品添加物の保存料 (ソルビン酸) について、大根漬けを基材としてソルビン酸添加試料作製した結果、大根の部位によるソルビン酸濃度の違いはほとんどなく、良好な安定性が得られたことから、本基材はソルビン酸の定量試験用調査試料に適用できる可能性が示唆された。大根漬けを基材としたソルビン酸の長期安定性を確認した結果、作製後 60 日間は良好な安定性であり、その後緩やかに減少する傾向が認められた。作製後約 135 日でも 85% 以上の安定性が確認できた。また、基材対浸漬溶液比では、1:1 が最も理論値に近い濃度となり、添加濃度コントロールの点からも最も適していると考えられた。

また、シロップを基材として、ソルビン酸の定量試験用調査試料を作製する際、添加標準品をソルビン酸あるいはソルビン酸カリウムを用いて作製した場合の安定性を検討した。その結果、シロップのような水溶液の場合は、ソルビン酸を標準品として添加すると、ソルビン酸カリウムと比較して安定性が著しく低下し、調査試料と

してはソルビン酸カリウムの方が適していることが示唆された。また、基材成分によりいずれの標準品が適しているか異なる可能性も考えられた。

果実ペーストを基材として、ソルビン酸及び PHBA エステル類の添加試料を作製した結果、外観及び均一性試験の結果から、保存条件は冷蔵保存が適していると判断した。また、市場での使用実態及び今回の得られた回収率の観点から、ソルビン酸、PHBA イソプロピル、PHBA ブチル、PHBA イソブチルの 4 種の保存料について調査試料の添加が期待でき、今後は、冷蔵保存での長期保存安定性を検討する必要がある。

魚肉練り製品としてしんじょうへの添加試料を作製したところ、冷蔵保存、冷凍保存のいずれにおいても良好な均一性が得られた。今後は、冷凍保存条件での長期保存安定性や凍結融解安定性について、検討する必要がある。基材として市販の魚のすり身 (生) へ添加し、それを加熱してかまぼこを作製した場合、加熱前の試料には均一性が確認できたが、現加熱方法では、加熱後での均一性が得られていない。そのため、今後は加熱時の容器等も含め、再度、加熱条件について検討する必要がある。

残留農薬検査試料については、新たにマッシュポテトの適用の可能性を検討した結果、離水防止の目的で安定剤を添加することで解凍後の均質性が目視観察で明らかに改善された。安定剤として、ペクチン及びパールアガーを用い 8 種の農薬を添加して作製した試料の回収率は、1 農薬を除いて良好な結果であった。今後は実試料作製に近い量で農薬を添加・混合し、均一性を確認し、さらに複数回の凍結融解後の

均一性及び安定性の確認が必要があると考えた。

固体試料である穀類の粉末試料として新たに玄米の適用を、5種の農薬を添加して検討した。試料作製には浸漬溶媒に酢酸エチルが適していると考えられたが、一部の農薬で回収率やばらつきに問題があった。今後は、実試料作製に向けて均一化の方法を検討し、さらに安定性を確認する必要があると考えられた。

玄米あるいは精米を粉体フラスコ中で農薬添加溶媒（酢酸エチル溶液）に浸漬後、浸漬溶媒を留去し、得られた米を乾燥・遠心粉碎することで作製する方法により、良好な均一性が得られることが明らかとなったが、安定性は、作製後数か月で、約10～20%の農薬濃度の減少が予測され、今後は、安定性を確保する方法の検討が必要である。固体試料での長期安定性が確保できれば、今後内部精度管理用試料としての適用も可能と考える。

また、野菜ペーストとして枝豆を基材として試料作製を試みた結果、水分あるいは油分を適宜添加し均質な基材とした後、農薬を添加混合することで、良好な均一性が得られた。さらに冷凍保存安定性及び凍結融解安定性の確認が必要である。

重金属検査試料については、カドミウム添加玄米試料の作製において、手動で行ってきた混合をロッキングミキサーを用いることで機械化できることが確認できた。今後は、高濃度カドミウム玄米を用いた場合、濃度の分散性も考慮して希釈率の上限を確認することで、一層の効率化が図れると考えられた。

6.2 微生物学検査のための適正試料の作製：

外部精度管理調査において新規項目を導入することを目的として、セレウス菌検査及びビブリオ属菌検査に関する調査試料の作製を試みた。

セレウス菌用調査試料では、これまでに確立した米飯試料を用いた陰性対象菌について温度負荷をかけた際の添加菌数の変動を観察した。その結果、基材作製溶液中の食塩濃度を20%以上とすることにより、22.5℃あるいは32.5℃で保存した場合においても安定した菌数を認めた。このことから、食塩濃度を20%とすることにより、陽性対象菌及び陰性対象菌の両者において温度変化に強い安定な調査試料を作製することができたものと判断した。

一方、ビブリオ属菌ではこうや豆腐以外の基材についても検討するべく、外部精度管理調査において既にも実績のあるマッシュポテト、ハンバーグ及び魚介製品としてまぐろ切り身を用いて検討したが、いずれの基材も添加菌を安定して回収することができなかったことから、これらの基材については調査試料の候補として採用することは現状では難しいものと判断した。ビブリオ属菌は一般的に冷蔵保存においても安定性を確保することが難しいことから、冷凍保存といった別の温度帯での保存を含めて検討する必要があるものと考えられた。また、こうや豆腐基材のより確実な作製を行うために、グラム陽性菌の増殖抑制を目的としてナイシンの効果について検討したが、ビブリオ属菌に対して影響を与えなかったものの、グラム陽性菌に対しても顕著な効果は認められず、ナイシンを添加すること

の意義を見出すには至らなかった。

平成 24 年度の外部精度管理調査において、一般細菌数測定用基材として採用している寒天状基材でストマッカー袋のメーカーにより試験対象菌の回収率が異なるとの報告があったことから、この原因について明らかにするべく検討した。その結果、一部のストマッカー袋において著しく低い回収率が認められ、この要因としてストマッカー処理した後の寒天の粒子径がストマッカー袋のフィルターを通過することができず、寒天粒子中に取り込まれた試験対象菌を回収することができなかったことに基づくと考えられた。これは試験対象菌がフィルターに吸着しなかったこと、ならびにストマッカー処理時間を延長することで回収率の上昇傾向が認められたことによっても支持される。しかも、使用する寒天のメーカーによっても低い回収率となる傾向は異なり、基材を作製するうえで、非常に重要な要因となることが明らかとなった。寒天状基材は外部精度管理調査の一般細菌数測定検査において秤量が可能であり、かつ安定的に試験対象菌を回収することができることから非常に有益な基材であると考えられる。そのため、本検討結果を踏まえて十分な予備検討を必要とすることに加え、使用機材に影響を受けない基材中の成分の改良等についても検討する必要があることが示唆された。

6.3 アレルギー物質検査のための適正試料の作製：

共同試験においては、エビ添加試料及びカニ添加試料を用いて外部精度管理調査の模擬試験を行った。調製した試料の均一性及び

試験期間内の安定性の確認、プロトコールの作成、試料の配布、報告書の回収に関しては昨年度と同様支障なく実施できることを確認した。また、ELISA 解析ソフトウェアのマイクロプレートマネージャーVer.5 の Logistic 4PL 解析は甲殻類キットの解析においても検量線の回帰が不十分なことが明らかになった。

共同試験の統計解析では、Xbar が管理限界外となったのは 1 測定のみであった。しかし、検量線用標準液、試料液の測定は、両キット共に、ウェル間の吸光度の再現性が悪い測定が認められ、測定操作だけでなく、測定キットのウェルに差を生ずる原因があった可能性も考えられた。また、共同試験試料について PCR 法による確認試験を実施した。ホワイトソースを基材とした試料では添加液の種類に応じてエビ、カニ DNA が想定通り検出され、確認試験試料としても使用可能と考えられた。ハンペンを基材とした試料ではカニを添加した試料でカニ DNA が想定どおり検出された。しかしブランク試料から基材に由来するエビ DNA が検出され、確認試験試料としては適当でないことが判明した。ブロッコリーを基材とした試料ではエビ添加液を甲殻類タンパク質として 10 μ g/g 加えた試料でもエビ DNA は検出できなかった。一方、別の原料から作製したエビ添加液を加えたブロッコリー試料ではエビ DNA が検出できた。この結果、今回共同試験試料の調製に用いたエビ添加液は含まれるエビ DNA の含量または質に問題があることが判明した。今後、確認試験試料に添加するエビ添加液の調製を再検討する必要性が生じた。

卵添加試料を用いて外部精度管理調査を試験的に実施した。実施に先立って行った事前調査では案内状を送付した 73 機関のうち半数を超える 42 機関が参加を申し込

み、特定原材料検査の外部精度管理に対する需要が大きくなったことが明らかになった。調製した試料は均一性及び試験期間内の安定性が確認され、プロトコール及び試料の配布、報告書の回収に関しては特に問題は認められなかった。また、卵タンパク質の測定結果はいくつかの機関を除いておおむね適正と考えられたが、ELISA の吸光度の相対標準偏差が著しく大きい機関がいくつか認められ、これらの機関ではピペット注入精度、プレートの洗浄操作、プレートリーダーの位置調整等について再度確認する必要があると考えられた。さらに、ELISA 解析ソフトウェアに通知に指定されている 4PL 解析（マイクロプレートマネージャー Ver. 5 の 5PL を除く）以外の解析法を使用している機関があることが判明し、試料の濃度によっては 4PL により再解析した結果と乖離が認められたことから、適切な ELISA 解析ソフトウェアを用意することが必要と考えられた。

より簡便で安定性の高いそば試料の作製を目的として、3 種類のそば粉及び 2 種類の抽出液を用いてタンパク質を抽出し、3 キットの ELISA 測定値から最もキット間の差が少ない組み合わせとして、中国北方産そば粉及びメルカプトエタノールを含まない抽出液を選定した。さらに、そばタンパク質抽出液を基材に添加し、添加回収率及び保存安定性について検討した。その結果、すべての試料において、モリナガキット、プリマハムキットで測定した場合は、回収率及び安定性ともに良好であった。日本ハムキットで測定した場合には、保存期間が長くなるにつれ、そば標準品の劣化が原因と考えられる検量線の測定値の低下がみら

れたため、保存前の検量線を使用して保存後の試料の安定性を確認した。その結果、日本ハムキットにおいてもすべての試料で良好な回収率及び安定性結果が確認された。

6.4 組換え DNA 技術応用食品検査のための適正試料の作製検討：

害虫抵抗性遺伝子組換え米を検査対象とした外部精度管理調査において、調査試料の調製を検討し、その均一性試験を実施した。いずれも想定通り正しく検出され、また Ct 値の再現性も良好だったことから、計画どおり試料が調製できたものと考えられた。また、陽性対照プラスミドと試料の Ct 値から、各精度管理試料について 1 反応あたりの害虫抵抗性遺伝子のコピー数を推定した結果、試料 A は 7.6 コピー、試料 B は 84.2 コピー、試料 D は 49.4 コピーの組換え遺伝子を含むと算出された。

改正通知法の害虫抵抗性遺伝子組換えコメ検出用の各検出系の検出下限（コピー数）を陽性対照プラスミドを用いて検討した。その結果、63Bt コメ検出用試験は 6.25 コピー、NNBt コメ検出用試験及び CpTI コメ検出用試験では 12.5 コピーとなり、63Bt コメ及び NNBt コメ検出用試験の検出感度が旧検知法に比べて上昇したほか、検出系による感度の差も無くなったことが明らかになった。

外部精度管理調査の際に Th. line を指定して収集した参加機関における Ct 値のデータについて正規確率プロット及び z-スコア管理図を作成し、グラフの形状を検討した。その結果、試料 A 及び試料 B の 63Bt コメ検出用試験の Ct 値の正規確率プロットはひずみ、とがり共に小さく、正規分布

に近い分布を示していた。この時、z-スコアが2以上となった機関のうちいくつかからは、Ct値がはずれた原因が推定でき、Ct値の解析により、外部精度管理参加機関における測定精度をより詳しく推定できる可能性が示された。

一方、粉末試料では、Ct値をそのまま用いてヒストグラム、正規確率プロットを作成した結果、形状が正規分布とは多少異なっていた。トウモロコシ陽性対照用試験とDAS59132 検出用試験のCt値の差を用いることによりDNA濃度の誤差の補正を試みた結果、ヒストグラム、正規確率プロットの形状はより正規分布に近くなった。また、Ct値をそのまま解析した時、z-スコアが2以上であった機関は、いずれも2未満となり、限界外の値となった原因が、DNA濃度にあったことが確認できた。

通知法に記載されている9600 Emulation mode及び通常のリアルタイムPCR機器で設定されているStandard modeを使用し、遺伝子組換え米及び遺伝子組換えパパイヤの各遺伝子についてリアルタイムPCRを行い、Ct値、増幅数、陽性数について比較した。その結果、遺伝子組換え米の4遺伝子(PLD、63Bt、NNBt、CpTI)は、Standard modeで測定した場合、9600 Emulation modeよりもCt値が高くなる傾向にあった。一方、遺伝子組換えパパイヤの4遺伝子(Chy、CaM、PRSV-YK、PRSV-SC)は、Standard modeで測定した場合、9600 Emulation modeよりもCt値が低くなる傾向にあったが、モード間のCt値の差は比較的小さく、判定結果にはほとんど影響しないことが明らかになった。また、各遺伝子の増幅効率についても比較した結果、希釈液に水を使用した場合

はほとんどの遺伝子でモード間の差は認められなかった。一方、希釈液にDNA溶液を使用した場合にはStandard modeの増幅効率が高く、モード間差が大きくなることから、実際に食品から抽出したDNA溶液中にPCR阻害物質を多く含んでいる場合には、使用するランモードにより、増幅効率に差が生じる可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 笠間菊子、小熊恭代、穂山浩、鈴木達也、渡辺卓穂、小島幸一：ダイズ及びトウモロコシ抽出DNAの精製度の検討，日本食品化学学会誌、20(3)、203-208 (2013)

2. 学会発表

1) 渡辺卓穂、高坂典子、鈴木達也、小島幸一：食品衛生外部精度管理調査のための残留動物用医薬品調査試料の作製検討について：日本食品化学学会第19回総会・学術大会、名古屋、2013.

H. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「検査機関の信頼性確保に関する研究」

平成 23 年度～平成 25 年度

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

誌上発表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
尾花裕孝： 福井直樹、高取聡、 北川陽子、起橋雅浩、 梶村計志、尾花裕孝	加工食品材料中における残留農薬 濃度の推定の試み	食品衛生学雑誌	54	392-396	2013
福井直樹、高取聡、 北川陽子、起橋雅浩、 梶村計志、尾花裕孝	LC-MS/MS による農産物を主原料と した加工食品中の残留農薬一斉分 析法の検討	食品衛生学雑誌	54	426-433	2013
Kitagawa Y., Okihashi M., Takatori S., Kajimura K., Obana H., Furuta M., Nishiyama T.	A Rapid and Simple Method for the Determination of 2-Alkylcyclobutanones in Irradiated Meat and Processed Foods	Food Analytical Methods	7	1066-1072	2014
村山三徳： 村山三徳	食品中放射性物質の安全確保対策	月刊食料と安全	9(12)	24-29	2011
鈴木達也： Akiyama H., Imai T., Ebisawa M.	Japan Food Allergen Labeling Regulation - History and Evaluation	Advances in Food & Nutrition Research	62	139-171	2011
Akiyama H., Sakata K., Makiyama D., Nakamura K., Teshima R., Nakashima A., Ogawa A., Yamagishi T., Futo S., Mano J., Oguchi T., Kitta K.	Interlaboratory study of DNA extraction from multiple ground samples, multiplex real-time PCR, and multiplex qualitative PCR for individual kernel detection system of genetically modified maize	J. AOAC Int.	94	1540-1547	2011
Takabatake R., Akiyama H., Sakata	Development and Evaluation of Event-Specific Quantitative	Food Hygiene and Safety Science	52	100-107	2011

K., Onishi M., Koiwa T., Futo S., Minegishi Y., Teshima R., Furui S., Kitta K.	PCR Method for Genetically Modified Soybean A2704-12	<i>(Shokuhin Eiseigaku Zasshi)</i>			
Taguchi H., Watanabe S., Tenmei Y., Hirao T., Akiyama H., Sakai S., Adachi R., Sakata K., Urisu A., Teshima R.	Differential detection of shrimp and crab for food labeling using polymerase chain reaction	<i>J. Agric. Food Chem.</i>	59	3510-3519	2011
Sakai Y., Kotoura S., Yano T., Kurihara T., Uchida K., Miake K., Akiyama H., Tanabe S.	Quantification of pork, chicken and beef by using a novel reference molecule	<i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i>	75	1639-1643	2011
Nakamura, K., Akiyama, H., Ohmori, K., Takahashi, Y., Takabatake, R., Kitta, K., Nakazawa, H., Kondo, K., Teshima, R.	Identification and Detection Method for Genetically Modified Papaya Resistant to Papaya Ringspot Virus YK Strain	<i>Biol. Pharm. Bull.</i>	34	1648-1651	2011
Takabatake R., Koiwa T., Kasahara M., Takashima K., Futo S., Minegishi Y., Akiyama H., Teshima R., Oguchi T., Mano J., Furui S., Kitta K.	Interlaboratory validation of quantitative duplex real-time PCR method for screening analysis of genetically modified maize	<i>Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)</i>	52	265-269	2011
Mano J., Yanaka Y., Ikezu Y., Onishi M., Futo S.,	Practicable group testing method to evaluate weight/weight GMO content in	<i>J. Agric. Food Chem.</i>	59	6856-6863	2011

Minegishi Y., Ninomiya K., Yotsuyanagi Y., Spiegelhalter F., Akiyama H., Teshima R., Hino A., Naito S., Koiwa T., Takabatake R., Furui S., Kitta K.	maize grains				
渡辺卓穂： 笠間菊子、井上雪乃、 穂山浩、鈴木達也、 坂田こずえ、中村公 亮、大島赴夫、小島 幸一、近藤一成、手 島玲子	プラスミドDNA を用いた中国産安 全性未承認遺伝子組換えコメ検査 に関する外部精度管理調査	日本食品化学会誌	19(3)	215-222	2012
渡辺卓穂	食の安全を確保するための外 部精度管理	日本海水学会誌	67(1)	12-18	2013
笠間菊子、小熊恭 代、穂山浩、鈴木 達也、渡辺卓穂、 小島幸一	ダイズおよびトウモロコシ抽 出 DNA の精製度の検討	日本食品化学学 会誌	20(3)	203-208	2013
渡辺卓穂	食品添加物検査の外部精度管理調 査について(平成25年5月 第105 回 日本食品衛生学会学術講演会 シンポジウム ―食品中の食品添 加物分析の現状と課題―)	食品衛生学雑誌	55(1)	J-10-J-14	2014

学会発表

発表者氏名	タイトル名	発表学会名	出版年
尾花裕孝： 起橋雅浩、中山裕紀子、内 田耕太郎、永吉晴奈、山口 貴弘、柿本健作、尾花裕孝	冷凍餃子を試料とした加工食品中 の農薬分析における技能試験	第 102 回日本食品衛生学会学術講 演会 (秋田)	2011
福井直樹、小阪田正和、高 取聡、北川陽子、柿本葉、 中辻直人、中山裕紀子、起 橋雅浩、尾花裕孝	原材料に分別可能な加工食品試料 を用いた農薬分析技能試験	第 102 回日本食品衛生学会学術講 演会 (秋田)	2011

北川陽子、起橋雅浩、中山裕紀子、中辻直人、小阪田正和、柿本葉、福井直樹、高取聡、尾花裕孝	アルキルシクロブタノンを指標とした照射食品の簡易検知法	第 103 回日本食品衛生学会学術講演会（東京）	2012
尾花裕孝： 北川陽子、起橋雅浩、高取聡、梶村計志、尾花裕孝、西山利正、古田雅一	簡易分析法による照射生レバー中 2-アルキルシクロブタノンの測定	第 105 回日本食品衛生学会学術講演会（東京）	2013
起橋雅浩、北川陽子、高取聡、梶村計志、尾花裕孝、古田雅一	照射試料を用いた 2-アルキルシクロブタノン測定における技能試験	第 105 回日本食品衛生学会学術講演会（東京）	2013
北川陽子、起橋雅浩、福井直樹、高取聡、梶村計志、尾花裕孝、西山利正、古田雅一	2-アルキルシクロブタノンを指標とした食品の照射履歴の簡易分析法の検討	第 49 回日本食品照射研究協議会（東京）	2013
斉藤貢一： 斉藤貢一、渡邊みどり、佐々木美香、馬場奈美季、岩崎雄介、中澤裕之	高速溶媒抽出-LC/UV 法によるシクロピアゾン酸の分析	第 101 回日本食品衛生学会学術集会（東京）	2011
番場一恵、斉藤貢一、青山知未、岩崎雄介、伊藤里恵、中澤裕之	ELISA による液状調味料中に含まれるシクロピアゾン酸の分析	日本薬学会第 132 回年会	2012
高橋拓海、岩崎雄介、伊藤里恵、斉藤貢一	ELISA および GC/MS 法によるビール中に残留するデオキシニバレノール分析法の検討	第 57 回 日本薬学会関東支部大会（東京）	2013
村山三徳： 村山三徳	食品中の放射性物質検査の実際	食品中の放射性物質にかかわる講演会	2011
村山三徳	食品中の放射性物質検査について	第 8 回食品衛生講演会	2011
村山三徳	近年の輸入食品の検査状況	輸入食品検査検討会	2011
村山三徳	食品の放射能測定	フードシステムソリューション 2011 フードセーフティセミナー	2011
村山三徳	食品等における放射性汚染物質の検査の実際	工業技術会講習会	2011
村山三徳	食品中の放射性物質の新基準と対応について	第 7 回食品品質管理セミナー	2012
村山三徳	食品中の放射性セシウム検査の実際と問題点	サイエンスフォーラムセミナー	2012