

令和元年度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

植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究

研究分担報告書

「食中毒の病因植物種の遺伝子解析による同定法の開発及びデータベースの作製」

研究分担者 近藤 一成 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

遺伝子配列に基づく特異的な検出同定法を、中毒事例が多いきのこ 2 種、植物 5 種について簡易法と確定法おそれぞれの検出法を確立してきた。これらの検出法を広く使用してもらうため、さらに、これを基本にして、新たな標的に対する試験法を自ら作成できるようにする目的で、試験法プロトコール、プライマー情報、関連する遺伝子配列情報、中毒統計情報をまとめて整理した自然毒データベース MushPlant を作製して公開した。

野外で実施可能な LAMP 法を用いた有毒植物 5 種に対する検査法の開発を行った。

各有毒植物特異的な LAMP 法用のプライマーを設計し、その性能確認をした。標的とする有毒植物で増幅を示したプライマーについて、さらに増幅反応時間の短縮と検出感度の向上のために追加ループプライマーを設計して検討した。また、多数の植物間での交差性を確認し、標的となる有毒植物と特異性の高いプライマーセットを選出した。スイセンを除く有毒植物 4 種について、食用植物 20 種とも交差反応しない検出系を確立できた。

研究協力者

坂田こずえ 国立医薬品食品衛生研究所

菅野 陽平 北海道立衛生研究所

鈴木 智宏 北海道立衛生研究所

青塚 圭二 北海道立衛生研究所

I. 自然毒データベースの作製

A. 研究目的

日本国内において、自然毒が原因となる食中毒事例は毎年報告されている。植物性自然毒による食中毒は、細菌ウイルスなどを含めた食中毒全体では 10%に満たないが、イヌサフランやニセクロハツ摂取など死に至るケースも報告され

ている。このような背景から、自然毒のリスクに関する情報提供による健康被害防止を目的に、平成 22 年厚生労働科学研究「自然毒のリスクプロファイル作成を目指した調査研究」の成果として、自然毒のリスクプロファイルをホームページで公開し、その後も情報の更新を行いながら現在に至っている。また、そ

の間著者らは簡便な検査法による摂取前検査とともに形態学的な判別ができない試料においても確実な同定が可能な遺伝子検査法の開発に力を入れてきた。これまでに、きのこでは食中毒事例の大部分を占めるものの形態学的な判別が難しいクサウラベニタケ近縁種やツキヨタケの、また、高等植物では食中毒事例が多いイヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの遺伝子検査法（簡便な PCR-RFLP 法と確定 Real-time PCR 法）を開発してきた。しかしながら、これらの方法ですべての植物性自然毒による食中毒原因種をカバーすることは難しく、また、地域により原因種は異なる。そこで、これらの手法が広く活用され、場合により改良されると同時に、新たな標的植物あるいはきのこについての検査法開発を自ら行える環境を作成して提供することが重要と考えて植物性自然毒のデータベースを新たに構築することとした。

今回、厚労省内にある自然毒データベースである「自然毒のリスクプロファイル」のうち、植物性自然毒について内容改定を行うとともに、遺伝子検査法に関する詳細情報を加えて国立医薬品食品衛生研究所生化学部内に植物性自然毒データベース (MushPlant) として整備することとした。

B. 研究方法

国立医薬品食品衛生研究所生化学部内の植物性自然毒データベースに掲載

する情報、必要な資料を作成した。

(1) 厚労省・自然毒リスクプロファイルのホームページの各項目内にある食中毒統計からきのこを原因とする食中毒と有毒植物を原因とする食中毒情報を抜粋し、2000年から2018年まで年次ごとに整理集計して、その年に報告された原因食物とその発生件数、摂食者総数、患者数、死者数を表にまとめた独立したページを作成した。年次推移もグラフで表示した。

(2) 厚労省・自然毒リスクプロファイルのホームページの植物性自然毒項個別データを整理した。きのこの項においては、最近の知見により、クサウラベニタケをクサウラベニタケ近縁種とし、3種があることを記載した。すなわち、クサウラベニタケは日本で食中毒が多いきのこで、これまで欧州起源の *Entoloma rhodopolium* と考えられてきたが、その形態学的な多様性から一つの種ではなく複数の種から構成されるのではないかという指摘は以前からされており、最近の詳細な分類学的研究からクサウラベニタケは少なくとも3種類の異なるきのこから構成されることが明らかになったため*、クサウラベニタケ近縁種として一つのグループの中にこれらの3種を含めた。

・クサウラベニタケモドキ

E. subrhodopolium

Kondo&Nagasawa

・ニセクサウラベニタケ

E. pseudorhodopolium

Kondo&Nagasawa

・コガタクサウラベニタケ

E. lacus Kondo

(3) 有毒きのこではツキヨタケおよびクサウラベニタケ近縁3種について、また、有毒植物ではイヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの5種について、検査・同定法として遺伝子検査法(PCR-RFLP法およびリアルタイムPCR法)に関する情報を記載した。【有毒きのこ】ツキヨタケおよびクサウラベニタケ近縁3種の遺伝子検査法について I.PCR-RFLP法と II.Real-time PCRを用いた方法の二章からなる実験手順書を作成し、詳細に示した。それぞれの試験に使用するプライマー・プローブの配列情報も記載した。

【有毒植物】イヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの5種の遺伝子検査法に関しても同様に示した。標的植物あるいはきのこの配列に関する情報も別表に一覧した。

(4) (3) 以外の標的きのこ、あるいは植物についての遺伝子検査法を自ら作成可能にするための手順概要を記載し、分析スキームを作成した。分析スキームは、行うべき実験手順をフローチャートで示し、検査方法を選択するフローをわかりやすく示した。

(5) 各項目に分散していた食中毒情報を一元化して植物性自然毒データベースとして整理し、生化学部ホームページ内に新しく設けることで、年次変化や中

毒発生傾向などを把握しやすくなることが期待される。

* *Sci. Rep.*, 7: 14942,

DOI:10.1038/s41598-017-14466-x

(2017)

C. 研究結果および考察

まず、データベースにスキームを掲載して分析すべき対象がすでに方法が確立しているものか、新規に開発すべきものかを図で示し分かりやすくした(図1、図2AB)。図1では、有毒植物、有毒きのこの分析スキームをそれぞれ示した。新たに分析法を確立する場合は、図2の分析法開発スキームに従って行うようになっている。今後、開発スキームの改良と併行して提供情報を充実させていくことが必要と考えている。

すでに方法が確立している有毒きのこ(ツキヨタケ、クサウラベニタケ近縁3種)と有毒植物5種の分析の場合は、検査・同定法欄の簡易検査法(PCR-RFLP)または確定検査法(Real-time PCR)の項に示された実施手順概要、配列情報、プライマー・プローブ情報、標準プラスミド配列を参考にして検査を実施することができる。

例としてツキヨタケによる食中毒の判別について記述する。原因食物としてツキヨタケを疑う場合、まず簡易検査法(PCR-RFLP)に従い、必要な試薬・消耗品および検査用プライマーを準備して手順通りにPCRテンプレート調製したのちPCR試験の産物を制限酵素処理したものから得られた電気泳動像より

食毒の判別を行う。この方法でツキヨタケと形態が似ている他の食用きのこを区別することができる。さらに正確に判別したい場合は、確定検査法 (Real-time PCR) に従い、試験する。この方法でツキヨタケ特異的な増幅の有無で判別することができる。

クサウラベニタケ近縁 3 種と有毒植物 5 種においても同様に行うことができる。

食用／有毒含めて開発過程で解析した配列は NCBI に登録をして Accession # を取得している。これらの配列情報 (採取サンプルの解析を含む) は一覧表に整理してあるため (図 3、4)、入手したい配列は表の Accession # をクリックすることで NCBI の該当するホームページから必要な配列情報を得ることができ、方法の改良を行うことも可能となった。

一方、新たに分析法を確立する場合は、分析法開発スキームに従って行う。

まず、よく間違える食用のものと標的とする有毒種のサンプルから、DNA 抽出を行い ITS 領域の解析、およびデータベース上の該当データと併せてアラインメントから特異的な領域を選定する。選定した有毒植物種特異的配列を用いて実際の試料 (食用と有毒植物) を用いて特異性を確認する。また、加工調理された場合も想定して、可能範囲でその他の作物についても交差藩王性を検証したうえで、試験法として確立するものとする。

次に、各項目に分散していた食中毒情報を一元化して、食中毒統計情報として新たなページを作成して整理するとともに (図 5)、年次推移をグラフで表示した。また原因種の個別データも整理して掲載した。

過去 18 年の統計情報から、同定された原因きのこに関しては、ツキヨタケまたはクサウラベニタケ類が主要な原因きのこであった。事例発生件数総数は、きのこの生育状況や採取数が天候や社会情勢の影響を受けることを考慮する必要があるが、年 16 件から 86 件までの幅があった。死者数は少ないが数年ごとに発生し、合計 13 名であった。ドクツルタケやニセクロハツ、カエントケが原因と判明した例もあったが、原因種不明の場合も多く存在する。ツキヨタケまたはクサウラベニタケ類だけをみるとツキヨタケは毎年一定数の中毒が発生する傾向であるが、クサウラベニタケは中毒事例総数が多い時に多い傾向が見て取れる。中毒事例総数が多い時は、きのこ類が豊作の時で、そのようなときは、食用のウラベニホテイシメジに食らえて通常小さい有毒のクサウラベニタケが大きく成長することで、判別が難しくなっていることが原因の一つと考えられた。

D. 結論

食中毒統計情報から掲載検査法分析スキーム、分析法開発スキーム、配列情報のほか、分類のための分子系統樹解析

例を示した、新たな植物性自然毒データベース MushPlant を構築した。

本データベースを活用することにより、各試験機関は既法の遺伝子検査法の実行や改良を行えるだけでなく、新たな標的に対する試験査法の開発が可能となる。

II. LAMP 法を用いた簡易検出法の開発

A. 研究目的

有毒植物による食中毒事例はスイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトで多く発生し、食中毒事例全体の約7割を占める。特に、イヌサフランでは死亡事例も報告されている。山菜採り、家庭菜園での採取や採取した植物の譲渡などによる「家庭」での食中毒発生が多くを占めており、迅速簡便な有毒植物の同定法が求められてきた。そのようなニーズに対応すべく LAMP 法を用いた有毒植物の判別法の開発について検討を行った。植物の DNA バーコーディング領域である ITS 領域、*rbcL* 領域、*matK* 領域および *psbA-trnH* 領域の塩基配列情報をもとに LAMP 法用プライマーを設計し、その選択性や増幅反応時間について検討を行った。さらに、増幅反応時間の短縮や検出感度の向上のために追加で設計したループプライマーの性能についても検討を行った。また、設計したプライマーセットを用いた LAMP 法の特異性についても確認し、標的となる有毒植物由来 DNA を選択的に増幅するプライマーセ

ットを選抜した。特異性の高いプライマーを用いた迅速簡便な LAMP 法が確立できれば、2 時間以内に原因植物の特定が可能となり、有毒植物が疑われる食中毒の早期原因究明に有用であると考えられる。

B. 研究方法

(1) 試料

本研究で用いた有毒植物（トリカブト 4 種、イヌサフラン、スズラン 2 種、バイケイソウ、スイセン、チョウセンアサガオ 3 種）および誤認されやすい食用植物（ニリンソウ、ギョウジャニンニク、ギボウシ 2 種、ニラ）は北海道立衛生研究所の薬用植物園で採取したものを使用した。その他の誤認されやすい食用植物（モロヘイヤ、オクラ、ゴボウ）は国内産（北海道、沖縄県、群馬県）の市販品を試料として用いた。

(2) DNA 抽出

各試料からの DNA 抽出は、DNeasy plant mini kit (QIAGEN)を用いた。抽出した DNA 溶液の濃度は、超微量分光光度計 NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific)を用いて定量した。

(3) LAMP 法

Loopamp DNA 増幅試薬キット（栄研化学）を用い、必要に応じて、Loopamp 蛍光・目視検出試薬（栄研化学）を反応液に添加して LAMP 法を実施した。増幅反応は、63°C で 1 時間もしくは 2 時間保持後に、酵素を失活させるため 80°C で 5 分間処理した。増幅反応には、リアルタイム濁度測定装置 LA-320C（栄研化学）

を用いた。

C. 研究結果および考察

トリカブト、イヌサフラン、バイケイソウ、スイセン、チョウセンアサガオそれぞれの ITS 領域、*rbcL* 領域、*matK* 領域および *psbA-trnH* 領域の配列情報をもとに各有毒植物の検知を目的とした LAMP 法用プライマーを設計した。標的とする有毒植物及び誤認されやすい食用植物を対象に各プライマーを用いた LAMP 法を実施したところ、いくつかのプライマーで標的となる有毒植物で増幅を示すことが確認できた。増幅反応は、多くは反応開始後、30 分から 40 分程度で増幅し始めるが、中には 60 分過ぎから増幅を示すものもあった。

反応時間の短縮と検出感度の向上を目的にループプライマーを追加設計し、その効果を確認した (図 8~12)。本来ループプライマーは、2 本まで設計できるが、配列とプライマーの相性の関係で一部のプライマーについてはループプライマーが 1 本だけであった (図 4) が、いずれも反応開始から 20 分前後で増幅の立ち上がり確認できるようになった。これにより、60 分の反応時間で十分に増幅を確認できるようになった。

ループプライマーを含む LAMP 法用プライマーセットの特異性を確認するため、合計 20 種の有毒植物および食用植物に対し LAMP 法を実施した (図 13)。その結果、トリカブト検出用、イヌサフラン検出用、バイケイソウ検出用、チョウセンアサガオ検出用に設計したプラ

イマーセットで、標的となる有毒植物以外では増幅しないことが確認できた。しかし、スイセン検出用に設計したプライマーを用いた LAMP 法では、反応時間が 60 分を過ぎたあたりから多くの植物種で増幅を示したため、再度プライマー設計から見直すこととした。

D. 結論

作成した LAMP 法プライマーおよびループプライマーのセットの中から、トリカブト検出用、イヌサフラン検出用、バイケイソウ検出用、チョウセンアサガオ検出用の 4 種類のプライマーセットを選出した。この 4 種類のプライマーセットは、有毒植物および食用植物 (合計 20 種類) との交差性試験を実施しても、それぞれ標的とする有毒植物種以外では増幅を示さず、特異性が高いことが確認された。

LAMP 法用のプライマーの設計に際して、植物 DNA バーコード領域である ITS 領域、*rbcL*、*matK* および *psbA-trnH* 領域を対象に配列情報からプライマーを設計し、LAMP 法を実施した結果、ITS 領域もしくは *matK* 領域を対象としたプライマーで、十分な増幅速度を示し、特異性が高いものが得られた。これは、ITS 領域や *matK* 領域の配列情報に、有毒植物の品種間では共通配列が多く、また有毒植物と食用植物との品種間では、特徴的な差異が適度にあり、そこが LAMP 法の選択特異性に適していたためと考えられる。

今後は、各プライマーセットでの

LAMP 法の検出感度の確認や、また加熱・消化処理した有毒植物の検出の可否などを確認していく。また、スイセン検出用プライマーについては、再度調整をして特異性の高いプライマーを作出する。

今回作成したイヌサフラン用プライマーセットは、イヌサフランと同様に食用植物のギョウジャニンニクと誤認して食中毒を引き起こす恐れのあるスズランでは増幅を示さなかった。ギョウジャニンニクに似た有毒植物の判定をする際には、イヌサフランと共にスズランも検出できると応用の幅が広がるので、今後スズラン検出用のプライマーの設計についても検討を行う。

I. II. 共通

E. 業績

論文発表

- 1) 近藤一成、坂田こずえ、加藤怜子、菅野陽平、武内伸治、佐藤正幸：有毒クサウラベニタケ近縁種のリアルタイム PCR 法による同定. *食衛誌* **60** (5)、144-150、2019
- 2) Narushima, J., Kimata, S., Soga, K., Sugano, Y., Kishine, M., Takabatake, R., Mano, J., Kitta, K., Kanamaru, S., Shirakawa, N., Kondo, K., Nakamura, K.: Rapid DNA template preparation directly from a rice sample without purification for loop-mediated

isothermal amplification (LAMP) of rice genes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **84**, 670-677, 2020

学会発表

- 1) 成島純平、中村公亮、木俣真弥、曾我慶介、菅野陽平、岸根雅宏、高畠令王奈、真野潤一、橘田和美、金丸俊介、白川七海、近藤一成：コメ由来遺伝子の高精度検査を可能にする簡易法の開発. 日本食品衛生学会第 115 回学術講演会、東京、2019 年 10 月
- 2) 菅野陽平：LAMP 法（ループ介在等温増幅法）による自然毒の遺伝子検査へのアプローチ. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会 部門別研究会 食品部門、広島、2019 年 12 月
- 3) 坂田こずえ、加藤怜子、近藤一成：自然毒データベースの改定について. 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会、広島、2019 年 12 月
- 4) Kondo, K., Sakata, K., Kato, R., Noguch, A.: Identification of toxic plants that cause severe food poisoning using real-time PCR. *Recent Advances in Food Analysis Prague, Czech Republic, Nov.5-8 (2019)*

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

図1 生化学部ホームページ上に記載したデータベースのウェブサイト

生化学部は、分子生物学・免疫学・分離食品、薬品、化粧品、医薬品外、また、放射線の安全管理、業務の研究業務は、研究所内各部署および外、消費者庁、食品安全委員会と連

データベース

GMO-db
Comprehensive DataBase on Biotech Products

GMO-db provides indispensable information on official detection methods of genetically modified crops, guidelines for method development, biotechnologies including genome editing, risk assessment standard, allergenicity assessment guidelines, and status of GMO development. More than 20 years have passed since GM crop was commercially introduced to the market. GM crop cultivation has spread worldwide. However, public understanding is not yet progressing. GMO-db can help understand the latest biotechnologies and safety assessment.

MushPlant
DataBase on toxic Mushrooms and Plants

MushPlant database was built for the purpose of preventing health hazards by natural poisons. The database includes statistical data of food poisoning cases caused by mushrooms and mushrooms between 2000 and 2016, DNA-based identification methods based upon specific loci (eg. ITS, RPB2, matK), sequence data links, analytical methods, and examples of molecular phylogenetic study. These data and information can help you understand the risk of natural toxins in toxic mushrooms/plants and identify them correctly.

ADFS

植物性自然毒データベース
MushPlant: database on Toxic Plants and Mushrooms

(背景) 自然界に存在する植物・動物にはヒトに対して有害な作用を有する生理活性物質を持つものが数多く存在する。このため、山菜取りやきのご持りにおいて有毒な品種であるのに食用の品種と誤って判断、摂取することで毎年食中毒事例が報告されている。そこで、自然毒による健康被害を防止する目的で、平成21年厚生労働省HP内に「自然毒のリスクプロファイル」として自然毒データベースを公開してきた。今回、有害植物及び菌類(きのこ)に対する遺伝子検査法を追加更新し、生化学部内に植物性自然毒データベースとして新たに公開した。

(目的) これまでに、形態学的な判別が難しく、かつ食中毒事例が多いクサウラボニタケ近縁種やツキヨタケ、イヌサフラン、スイセン、バイケイソウ、チョウセンアサガオ、トリカブトの遺伝子検査法 (PCR-RFLP法とReal-time PCR法) を開発してここに公開した。しかし、これらの方法ですべての食中毒原因種をカバーすることは難しく、また地域により原因種は異なる。そこで、これらの手法が広く活用されると同時に、新たな種別植物あるいはきのこについて、自ら検査法開発を行える環境を作成して提供することが重要と考えられた。MushPlantデータベースでは、掲載している検査法を実施できるとともに、必要に応じて新たな検査法開発を支援するための情報を提供する。

	植物	きのこ
中毒統計情報	統計および年次推移 (Excel形式)	統計および年次推移 (Excel形式)
Sequences	有害5種 (Excel形式)	ツキヨタケ (Excel形式) クサウラボニタケ (Excel形式)
検査・同定法 (RFLP, Real-timePCR)	有害5種 (pdf)	ツキヨタケ (pdf) クサウラボニタケ (pdf)
個別データ	有害植物 (link)	有毒きのこ (pdf)

① 分析スキーム (pdf)

② 分子系統樹解析 (分枝解析) の例

本データベースの作成および維持は、厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進事業 (H20-食品一般-015, H22-食品一般-011, H24-食品一般-007, H27-食品一般-007, H30-食品一般-008) の支援により実施されている。

(参考文献)

(1) Sugano, Y., Sakata, K., Nakamura, K., Noguchi, A., Fukuda, N., Suzuki, T., Kondo, K. Rapid identification method of *Omphalotus japonicus* by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *Food Hyg. Saf. Sci.*, 58, 113-123 (2017).

(2) Kondo, K., Nakamura, K., Ishigaki, T., Sakata, K., Noguchi, A., Fukuda, N., Nagasawa, E., Teshima, R., Nishimaki-Mogami, T. Molecular phylogenetic analysis of new *Entoloma rhodopoli*-um-related species in Japan and its identification method using PCR-RFLP. *Sci. Rep.*, 7, 14627. doi:10.1038/s41598-017-14627-1

図2-A 有毒きのこの分析スキーム

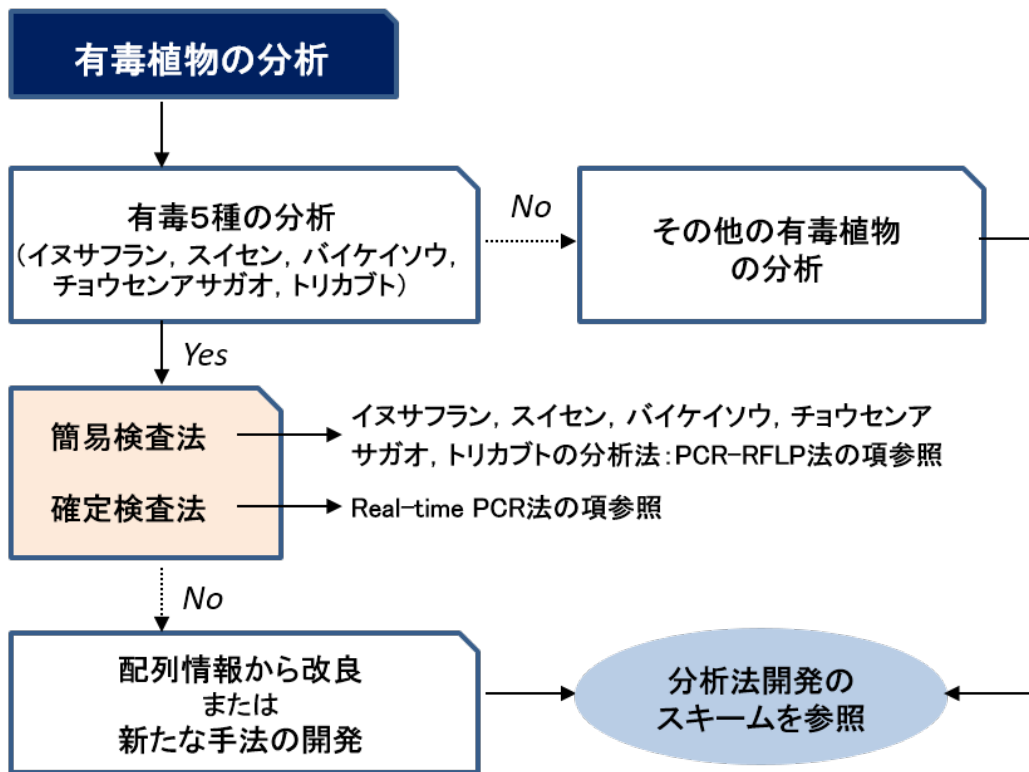


図2-B 有毒植物の分析スキーム

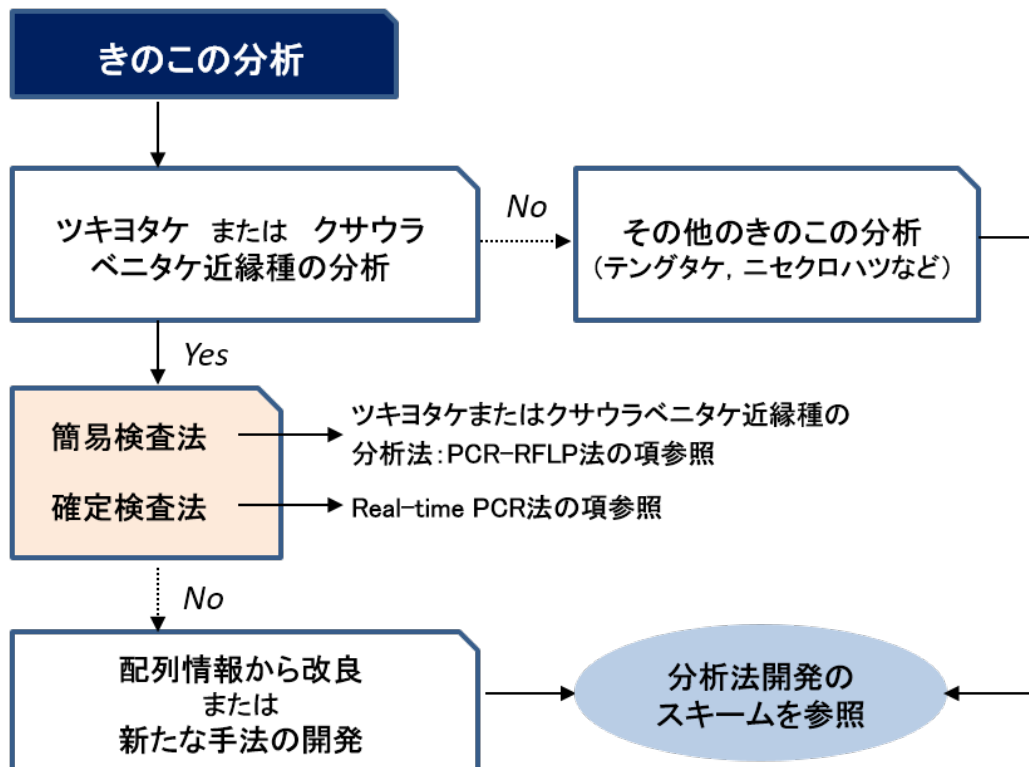


図3 分析法開発のスキーム

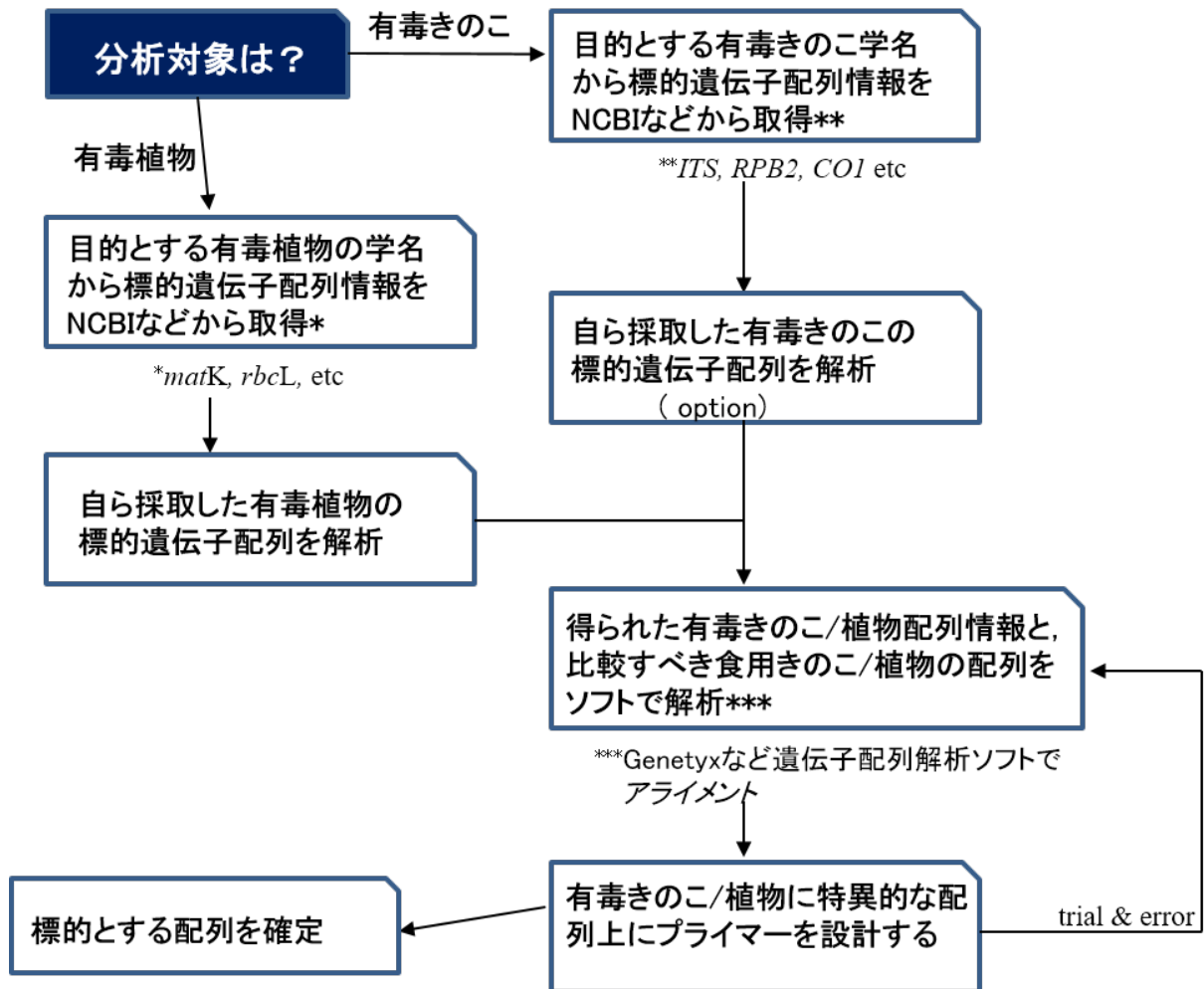


図4 配列情報一覧 (植物)

学名	rbcL		matK		trnH-psbA	
	length (bp)	Acc. No.	length (bp)	Acc. No.	length (bp)	Acc. No.
<i>Allium tuberosum</i>	1,434	JN969266	1,552	this study	577	GQ434888
<i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i>	1,334	HM640487	1,563	HM640601	644	GQ923940
<i>Narcissus tazetta</i>	703	GQ436660	1,565	HMO11047	558	GQ436660
<i>Narcissus elegans</i> スイセン	1,341	AF116972	882	KU127381		
<i>Hosta sieboldiana</i>	1,469	this study	1,604	this study	686	this study
<i>Hosta plantaginea</i>	1,334	HM640480	1,566	HM640594	656	KC704294
<i>Hosta rectifolia</i>	1,327	L10253				
<i>Veratrum album</i> subsp. <i>oxysepalum</i>	1,225	JN417478	1,536	JF807719	314	JF807759
<i>Veratrum stamineum</i> var. <i>stamineum</i>			1,536	JF807731	301	JF807783
<i>Veratrum stamineum</i> var. <i>micranthum</i>			1,536	JF807729	289	KT254787
<i>Veratrum stamineum</i>	1,384	KM242996	1,555	AB040184		
<i>Veratrum album</i>	1,390	D28168	1,537	JF807687	294	KJ395078
<i>Veratrum maackii</i>	1,390	AB018849	1,556	AB040183	309	JF807786
<i>Veratrum parviflorum</i>	1,365	AJ235813				
<i>Veratrum virginicum</i>	1,371	AJ276348	1,509	KM242777		

NCBI matK
配列ページへ
JUMP

click

図5 配列情報一覧 (きのこ)

sample name	location	year	morphologically	genetically identified as	Accession #		
					ITS	RPB2	
KUB 1	frozen	Yamagata	2010	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma subrhodopolum</i>	LC088033	LC148032
KUB 2	frozen	Yamagata	2010	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma</i> sp.	LC088034	LC148033
KUB 3	freeze-dried	Yamagata	2010	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma subrhodopolum</i>	LC088035	LC148034
KUB 4	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	—	—	—
KUB 5	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088036	LC148035
KUB 6	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088037	LC148036
KUB 7	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088038	LC148037
KUB 8	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	—	—	—
KUB 9	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088039	LC148038
KUB 10	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088040	—
KUB 11	freeze-dried	Shimane	2008	<i>Entoloma rhodopolum</i>	—	—	—
KUB 101	frozen	Niigata	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088041	LC148039
KUB 102	frozen	Niigata	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma pseudorhodopolum</i>	LC088042	LC148040
KUB 103	frozen	Hokkaido	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	—	—	—
KUB 104	frozen	Tokyo	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma lacus</i>	LC088043	LC148041
KUB 105	frozen	Tokyo	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma lacus</i>	LC088044	—
KUB 106	frozen	Tokyo	2011	<i>Entoloma rhodopolum</i>	<i>Entoloma lacus</i>	LC088045	LC148042

NCBI ITS
配列ページへ
JUMP

click

図6 食中毒統計情報

2000(H12)	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	患者数	死者数
2001(H13)	48	118	84	0	0	0
2002(H14)	10	18	10	0	0	0
2010(H22)	28	125	86	0	0	0
クサウラベニタケ類						
2018(H30)	発生件数	摂食者総数	患者数	死者数	患者数	死者数
ツキヨタケ	7	15	13	0	0	0
クサウラベニタケ	3	7	7	0	0	1
ニセショウロ属	2	4	3	0	0	0
ハイイロシメジ	1	5	3	0	0	0
カヤタケ属	1	3	3	0	0	0
テングタケ	1	2	2	0	0	0
カキシメジ	1	1	1	0	0	0
ドクカラカサタケ	1	1	1	0	0	0
タマゴタケモドキ	1	1	1	0	0	0
ニセクロハツ	1	1	1	1	0	1
不明	2	8	8	0	0	0
自然毒(キノコ)の合計	21	48	43	1	0	1

図7 食中毒患者数の年次推移

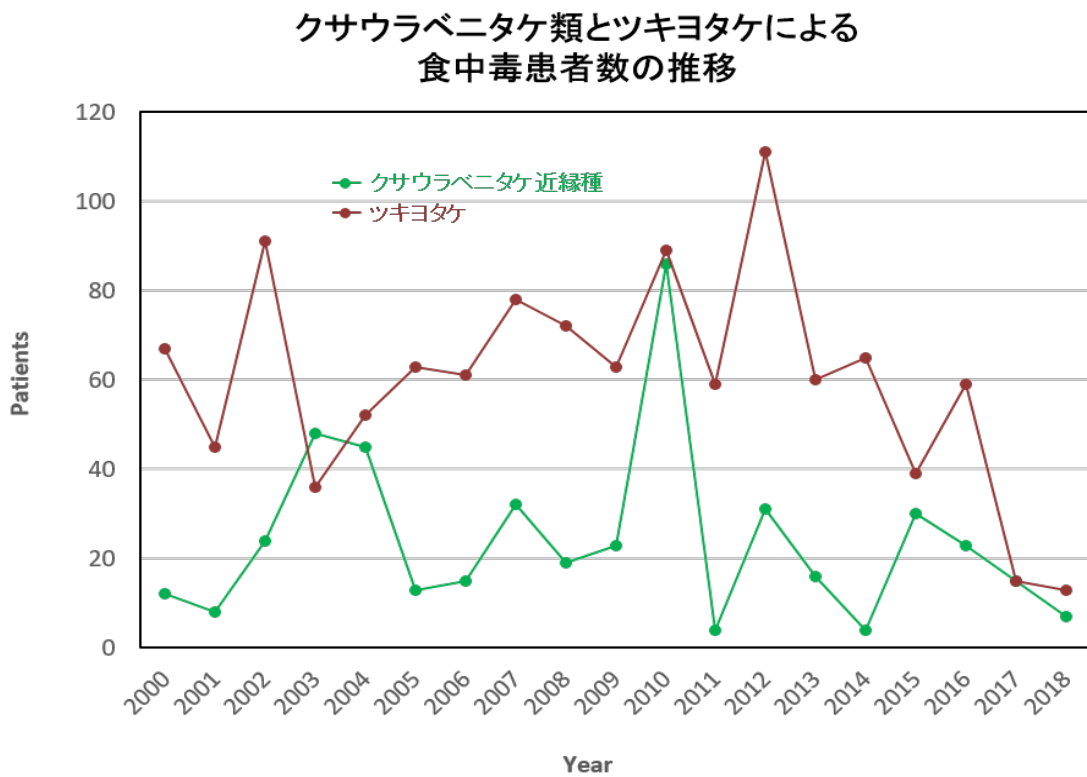
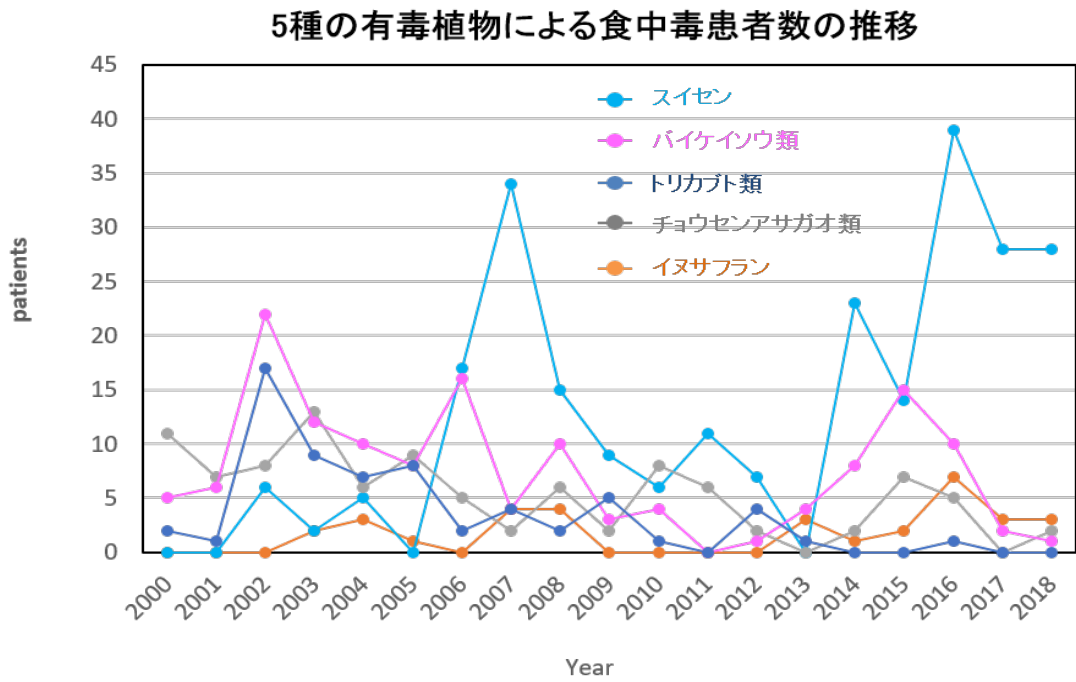
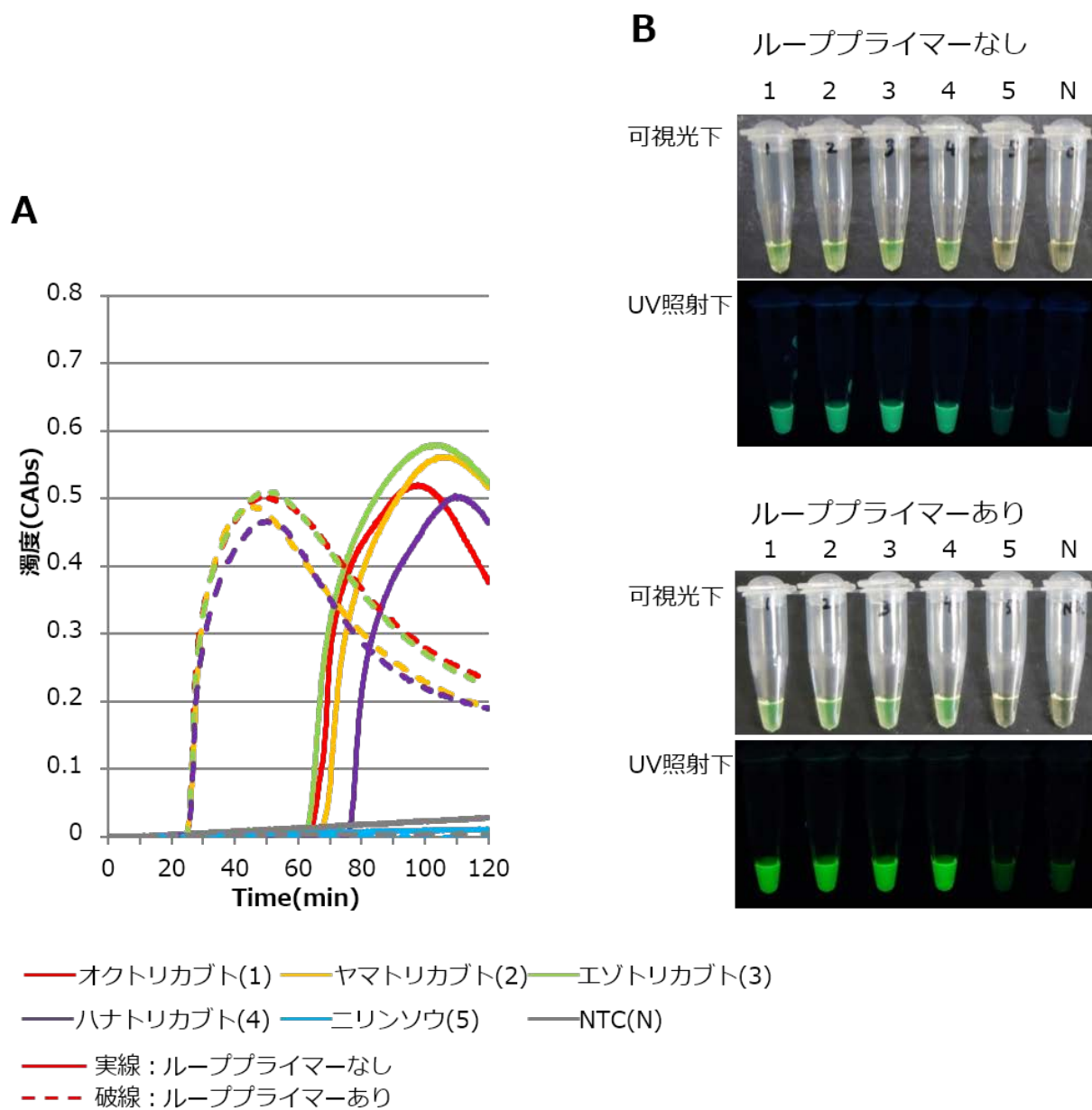
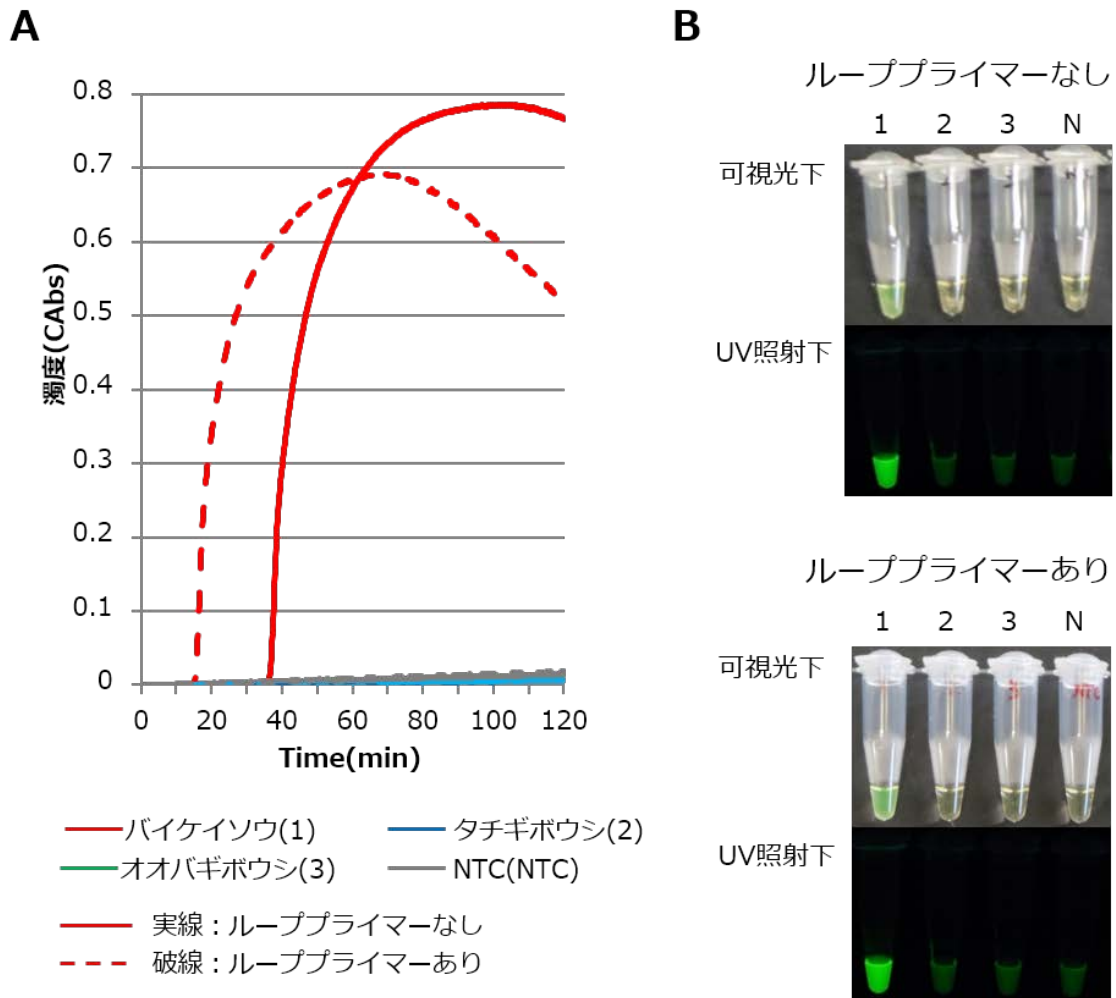


図8 トリカブト検出用プライマーを用いたLAMP法



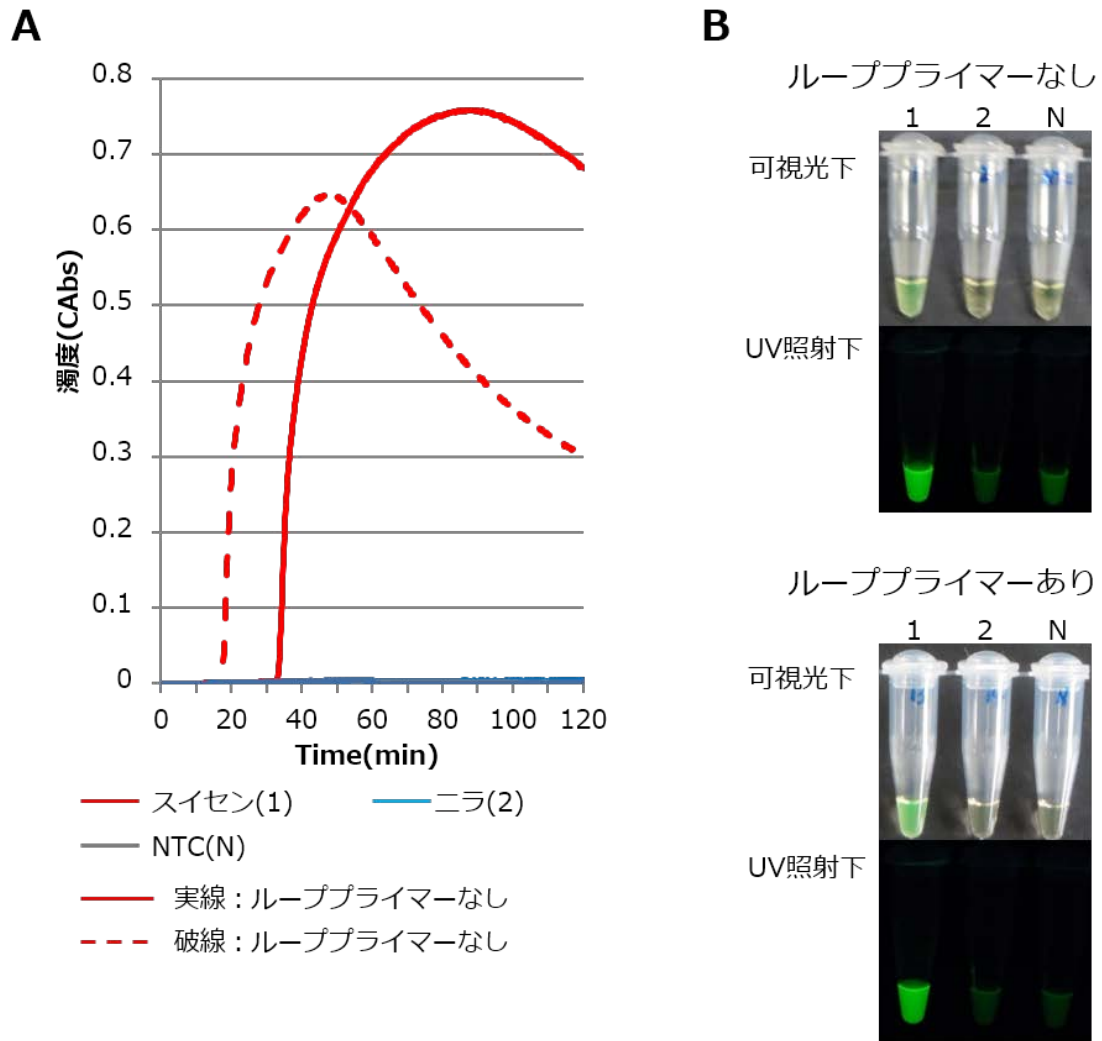
トリカブトのITS領域を標的としたプライマー(4本)およびループプライマーを加えたプライマーセット(合計6本)を用いてLAMP法を実施した。(A)濁度を指標としたLAMP法の増幅、(B)蛍光目視試薬を添加し、LAMP法を行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

図9 バイケイソウ検出用プライマーを用いたLAMP法



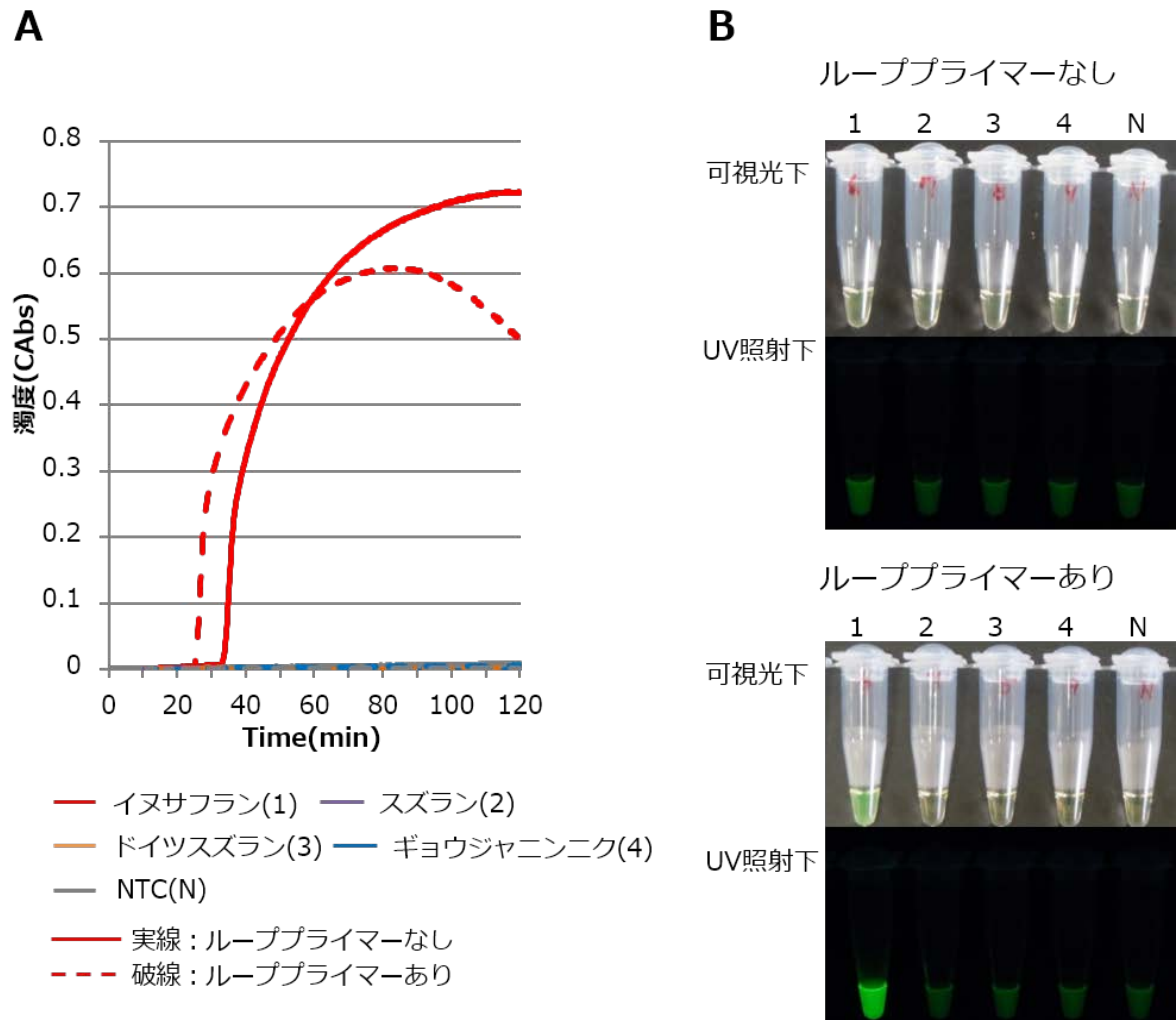
バイケイソウのITS領域を標的としたプライマー(4本)およびループプライマーを加えたプライマーセット(合計6本)を用いてLAMP法を実施した。(A)濁度を指標としたLAMP法の増幅、(B)蛍光目視試薬を添加し、LAMP法を行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

図10 スイセン検出用プライマーを用いたLAMP法



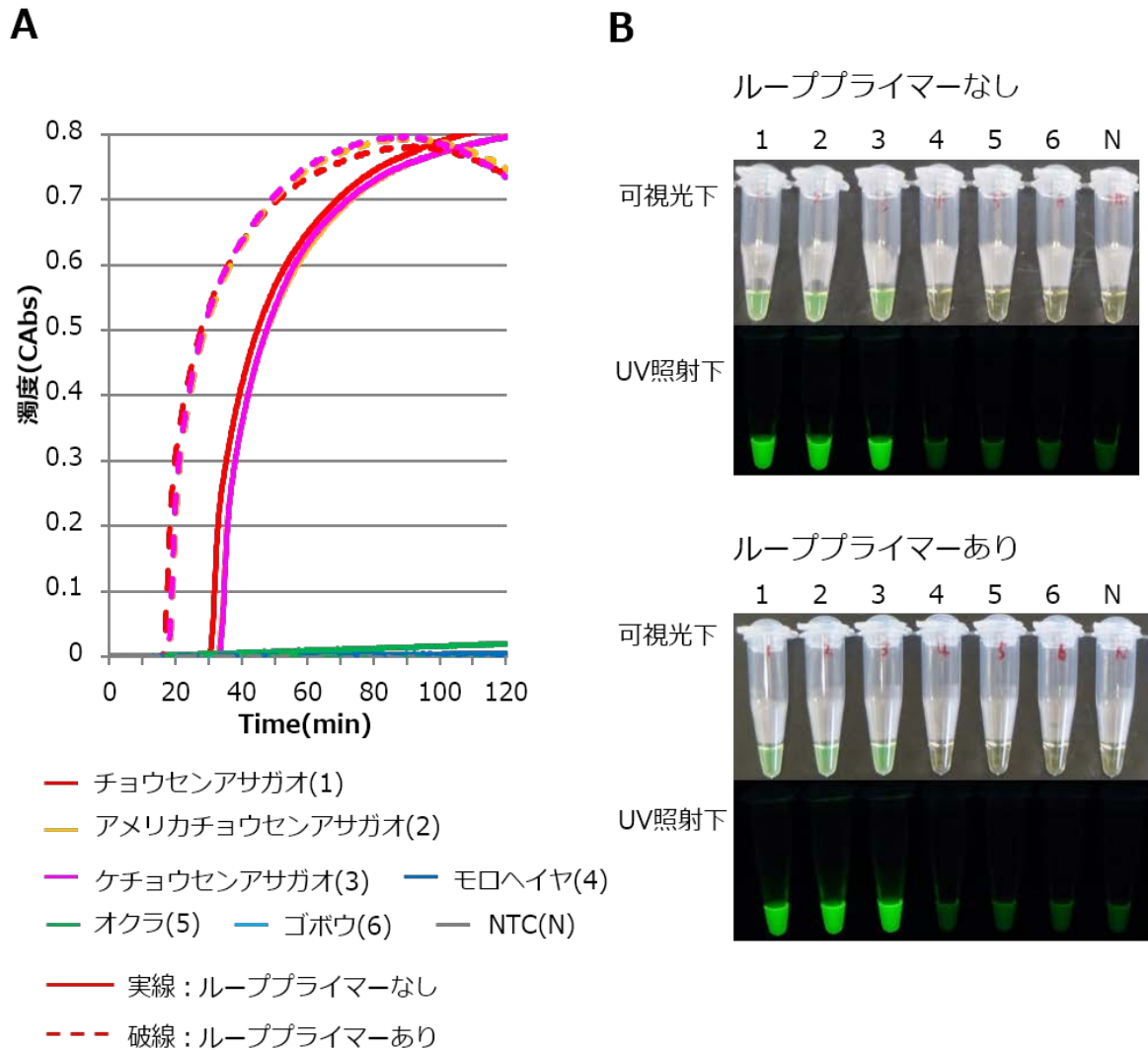
スイセンのITS領域を標的としたプライマー(4本)およびループプライマーを加えたプライマーセット(合計6本)を用いてLAMP法を実施した。(A)濁度を指標としたLAMP法の増幅、(B)蛍光目視試薬を添加し、LAMP法を行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

図 1 1 イヌサフラン検出用プライマーを用いたLAMP法



イヌサフランのmatK領域を標的としたプライマー(4本)およびループプライマーを加えたプライマーセット(合計5本)を用いてLAMP法を実施した。(A)濁度を指標としたLAMP法の増幅、(B)蛍光目視試薬を添加し、LAMP法を行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

図12 チョウセンアサガオ検出用プライマーを用いたLAMP法



チョウセンアサガオのmatK領域を標的としたプライマー(4本)およびループプライマーを加えたプライマーセット(合計6本)を用いてLAMP法を実施した。(A)濁度を指標としたLAMP法の増幅、(B)蛍光目視試薬を添加し、LAMP法を行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

図 1 3 各有毒植物用LAMP法の交差性の確認

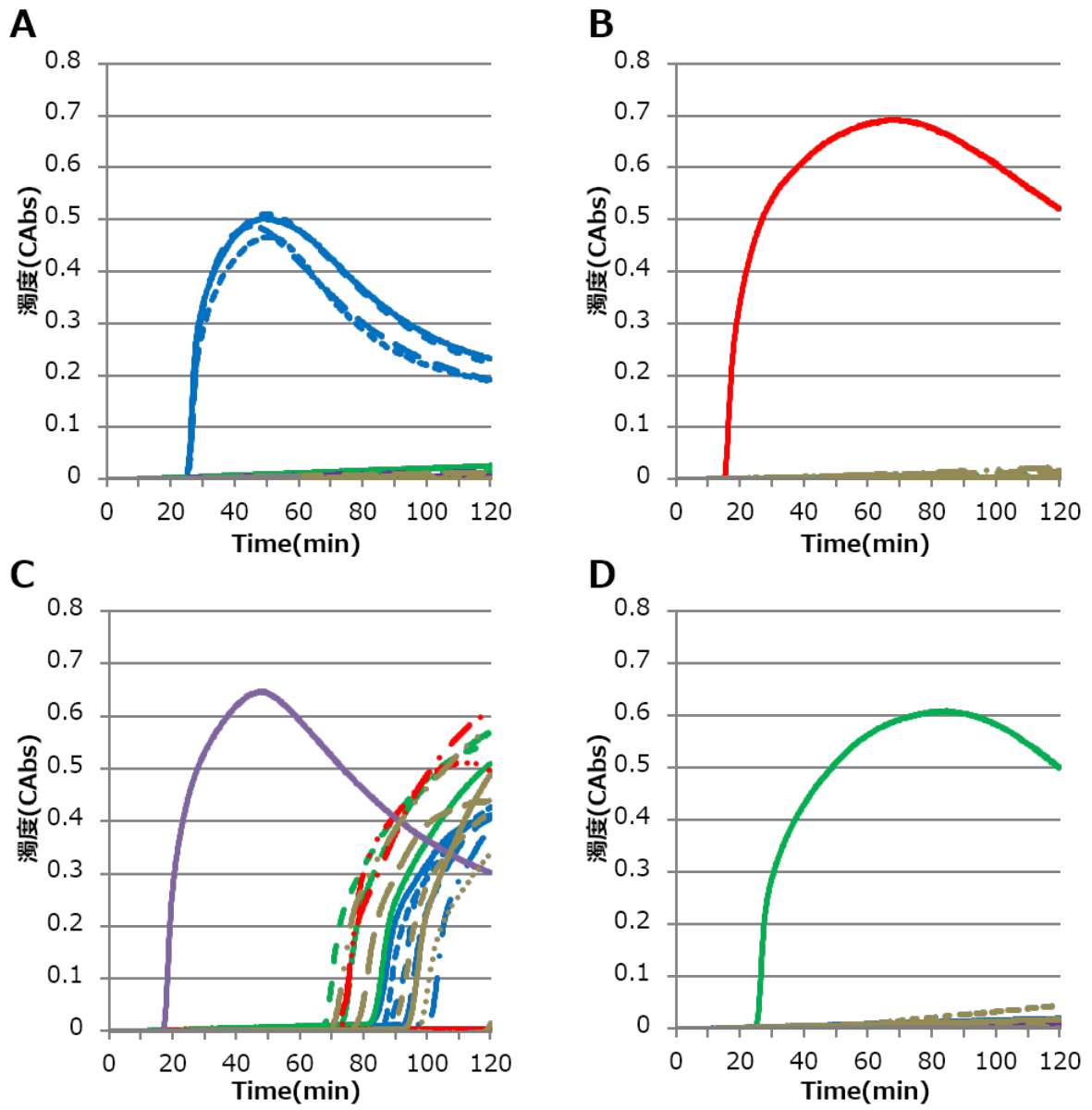
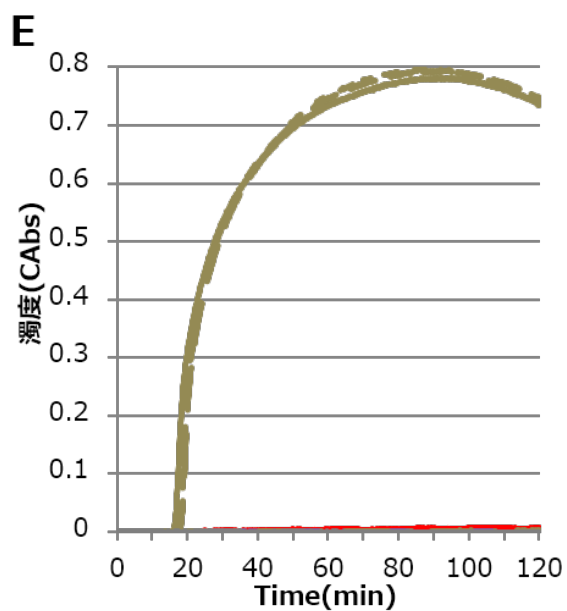


図 1 3 各有毒植物用LAMP法の交差性の確認(続き)



(A)トリカブト、(B)バイケイソウ、(C)スイセン、(D)イヌサフラン、(E)チョウセンアサガオの各種有毒植物検出用プライマーセット(ループプライマーを含む)を用いてLAMP法を実施した。

- | | | |
|------------------|-----------------|---------------|
| — オクトリカブト | — ヤマトリカブト | - - - エゾトリカブト |
| - - - ハナトリカブト | - · - ニリンソウ | |
| — イヌサフラン | — スズラン | - - - ドイツスズラン |
| - · - ギョウジャニンニク | | |
| - · - バイケイソウ | - · - タチギボウシ | - · - オオバギボウシ |
| — スイセン | - · - ニラ | |
| — チョウセンアサガオ | — アメリカチョウセンアサガオ | |
| - - - ケチョウセンアサガオ | - · - モロヘイヤ | |
| - · - オクラ | ゴボウ | — NTC |