

令和 2 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  
食中毒データベースの改訂および  
簡易試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発」

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

I 【自然毒データベース MushPlant について】 これまでに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 種について簡易検査法と確定検査法を確立してきた。これらの検出法を一般的に広く使用してもらい、さらに新たな植物種や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、分析スキーム、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。令和二年度は、これを改訂する作業を行った。

II 【迅速試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発】 これまで作成したバイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブト検出用 LAMP に加え、スイセン検出用 LAMP プライマーを新規に設計し、その性能について確認した。また、有毒植物が疑われる実際の食中毒を想定し、加熱・消化処理した植物試料を対象に各有毒植物検出用 LAMP を行い、各植物が検出可能か確認した。さらに、陽性コントロールプラスミドを用いて検出限界も確認し、本 LAMP 法の有効性について検討を行った。

研究協力者

坂田こずえ 国立医薬品食品衛生研究所  
田口 千恵 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

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してきた。

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作成した植物性自然毒データベース（MushPlant）の更新を行った。

## B. 研究方法

昨年度は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、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 を作成し、公開した。

今年度はその改訂作業として、食中毒原因植物およびきのこのデータについて個別ファイルに分け情報を整理し見やすく改訂、関連する遺伝子配列情報を増強（きのこ）、中毒統計情報は厚生労働省食中毒情報にて公開される前年度事例一覧から自然毒（植物）およびきのこを原因とする項目を抜粋、整理して追加、等の作業を行った。

## C. 研究結果および考察

MushPlant（図1）更新作業としてまず個別データの整理を行った。すなわち、きのこ、植物それぞれについて、一つのファイルにまとめられていた情報をもとに、1品種ごとに個別ファイルに整理した。データベース上からダウンロードしたひとまとめのファイルを用いて知りたい情報を各々が検索する方法とともに、個別のファイルから目的の情報を参照することもできるように変更した。

（図2）個々のファイルは、統一書式を用いることで情報の見やすさや探しやすさを向上させた。（図3）また、もとの「自然毒のリスクプロファイル」のデータ作成時から時間がたっているためリンク先が消失してしまった関連情報 Web ページへのリンクの項目を修正した。さらに事例の追加情報として、食品衛生学雑誌に掲載されている「食中毒等事件例」を収集・調査した。具体的には第56巻（H26）から61巻（R01）のそ

れぞれ2号（前期）と5号（後期）を参照した。

配列情報一覧表は、食用／有毒含めて開発過程で解析した配列を NCBI に登録し取得した Accession #をまとめたものである。採取サンプルの解析結果を含む配列情報一覧表の 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、検査法改良や新たな分析法開発への一助となることが期待される。自然毒データベース MushPlant 公開時は、きのこの配列情報については特に事例の多いツキヨタケとクサウラベニタケ類の2種のみ記載であったが、今回、個別データを記載している残り17種（ニガクリタケ、カキシメジ、シロタマゴテングタケ、テングタケ、ドクササコ、ドクツルタケ、ベニテングタケ、タマゴタケモドキ、ニセクロハツ、ドクヤマドリ、ニセショウロ、ヒメアジロガサ、ネズミシメジ、ハイイロシメジ、ヒガシシビレタケ、スギヒラタケ、カエントケ）についても調査して加えることで配列に関する情報量を大幅に増強した。（図4）

食中毒統計情報について、厚生労働省発表の最新食中毒統計資料（2019年、2020年）から有毒植物およびきのこによる発生事例を集計して、以前の年次推移図表（2000年～2018年）に追加した。

（図5）有毒植物の中でイヌサフランはここ6年連続して中毒死亡例があり、き

のこでは中毒事例が多い2種（クサウラベニタケ類とツキヨタケ）による死亡例は報告されていないが、ニセクロハツの死亡例（2018年）のほかに種類不明の死亡例も数例あり、今後も注意する必要がある。

## D. 結論

昨年度に構築した新たな植物性自然毒データベース MushPlant は、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まとめたものである。今年度は、より本データベースを活用しやすくすることを目的として改良、更新作業を行った。これらの情報を利活用することで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法の開発が可能となる。

## II. 簡易試験法としての有毒植物 LAMP 法の開発

### A. 研究目的

有毒植物による食中毒事例は毎年発生している。イヌサフランやトリカブトなどでは死亡事例も報告されるなど、有毒植物の誤食は、重篤な健康被害を引き起こすことが知られている。そのため、食中毒発生時には、迅速な原因植物同定が重要となる。原因植物の同定には、形態学的鑑別および LC-MS/MS による有毒成分の検出等が行われてきたが、近年、特定の遺伝子領域の短い塩基配列（DNA バーコーディング領域）を利用

した遺伝子による同定が試みられている。一方、遺伝子増幅法のひとつである LAMP 法は、PCR 法に比べて増幅の確認が簡易であり、ループプライマーを用いることにより、短時間に検査結果を得ることが可能となる。そこで本研究では、有毒植物による食中毒事例の 6 割を占めるスイセン、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブトを検出する LAMP 法の開発を目指し、検討を行ってきた。これまでの検討において、植物の DNA バーコーディング領域である ITS 領域および matK 領域を標的とした各有毒植物検出用プライマーセットを設計し、バイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオおよびトリカブトを選択的に検出可能なプライマーセットを選出した。

今年度は、スイセン検出用プライマーセットを作成し、その選択性や増幅反応時間について検討を行った。また、実際の食中毒を想定し、加熱・消化処理した有毒植物を対象として LAMP を行い、各植物が検出可能か確認した。さらに、陽性コントロールプラスミドを用いて検出限界も確認し、本 LAMP 法の有効性について検討を行った。

## B. 研究方法

### (1) 試料

本研究で用いた有毒植物（スイセン、バイケイソウイヌサフラン、スズラン 2 種、チョウセンアサガオ 3 種、トリカブト 4 種、）および食用植物（ニラ、ギボウシ 2 種、ギョウジャニンニク、ニン

ソウ）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。また、各試料の加熱・消化処理は、純水中で 100℃30 分加熱後に人工消化液に 60 分間浸漬して行い、DNA 抽出は簡易 DNA 抽出キット PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いた。

### (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。増幅は、63℃で 1 時間もしくは 2 時間保持することで行った。その後、酵素を失活させるため 80℃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

今回、スイセン検出用に ITS 領域を標的とした LAMP 用プライマーを作成した。本プライマーを用いて、スイセンおよび誤認されやすい食用植物のニラを対象に LAMP を行った。その結果、反応開始後 50 分ほどでスイセン試料でのみ DNA 増幅の立ち上がりが認められた

(図 6A)。蛍光・目視検出試薬を添加して LAMP を行った結果でも、同様にスイセン試料でのみ蛍光を呈した(図 6B)。しかし、DNA 増幅の立ち上がりに 50 分近く要したことから、これまで作成した有毒植物検出用プライマーセット同様に、反応時間の短縮と検出感度を向上させる目的で追加のループプライマーを作成した。その結果、DNA 増幅の立ち上がりは、30 分程度で確認できるようになり、反応速度の向上がみられた(図 6A)。

次に、他の植物との交差性を確認するため、スイセン、ニラを含む合計 20 種の植物を対象にループプライマーを含むスイセン検出用プライマーセットを用いて LAMP を行った。その結果、スイセン試料でのみ増幅を示し、他の植物とは交差性を示さなかった(図 7)。

次に、実際の食中毒を想定し、加熱・消化処理試料を対象に各プライマーセットを用いて LAMP を行った。加熱・消化処理は、各植物約 100 mg を純水中で 100°C30 分加熱後に人工消化液に 60 分間浸漬して行い、PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent 400  $\mu$ l を添加して抽出した DNA 溶液 1  $\mu$ l を対象に LAMP を行った。その結果、それぞれ標的有毒植物の DNA 増幅が認められた(図 8)。各有毒植物検出用 LAMP の増幅の立ち上がりは、20 分から 30 分程度であり、60 分の反応時間で十分増幅を確認できる増幅量を示した。

また、陽性コントロールプラスミドを利用して、各有毒植物検出用プライマーセットを用いた LAMP の検出限界を検討した結果、スイセンとイヌサフランは 104 copies まで、バイケイソウとチョウセンアサガオ、トリカブトは 103 copies まで、増幅可能と推測された(表 1)。加熱・消化処理試料の LAMP による増幅結果は、この検出限界から判断すると数十から数百倍の増幅量であり、有毒植物が疑われる食中毒の残存物からの原因特定に本 LAMP 法が適用可能な検出感度と考えられる。

#### D. 結論

これまで作成したバイケイソウ、イヌサフラン、チョウセンアサガオ、トリカブト検出用プライマーセットに新規作成したスイセン検出用プライマーセットを加え、合計 5 種類の有毒植物が検出可能となった。5 種類の有毒植物検出用 LAMP 法は、有毒植物が疑われる実際の食中毒を想定した加熱・消化処理した植物試料も標的有毒植物のみで増幅を示し、また試料調製から 2 時間程度で結果判定が可能であることから、有毒植物が疑われる食中毒の迅速かつ簡便な原因特定に有用と考えられる。

#### I. II. 共通

E. 業績  
論文発表  
なし

## 学会発表

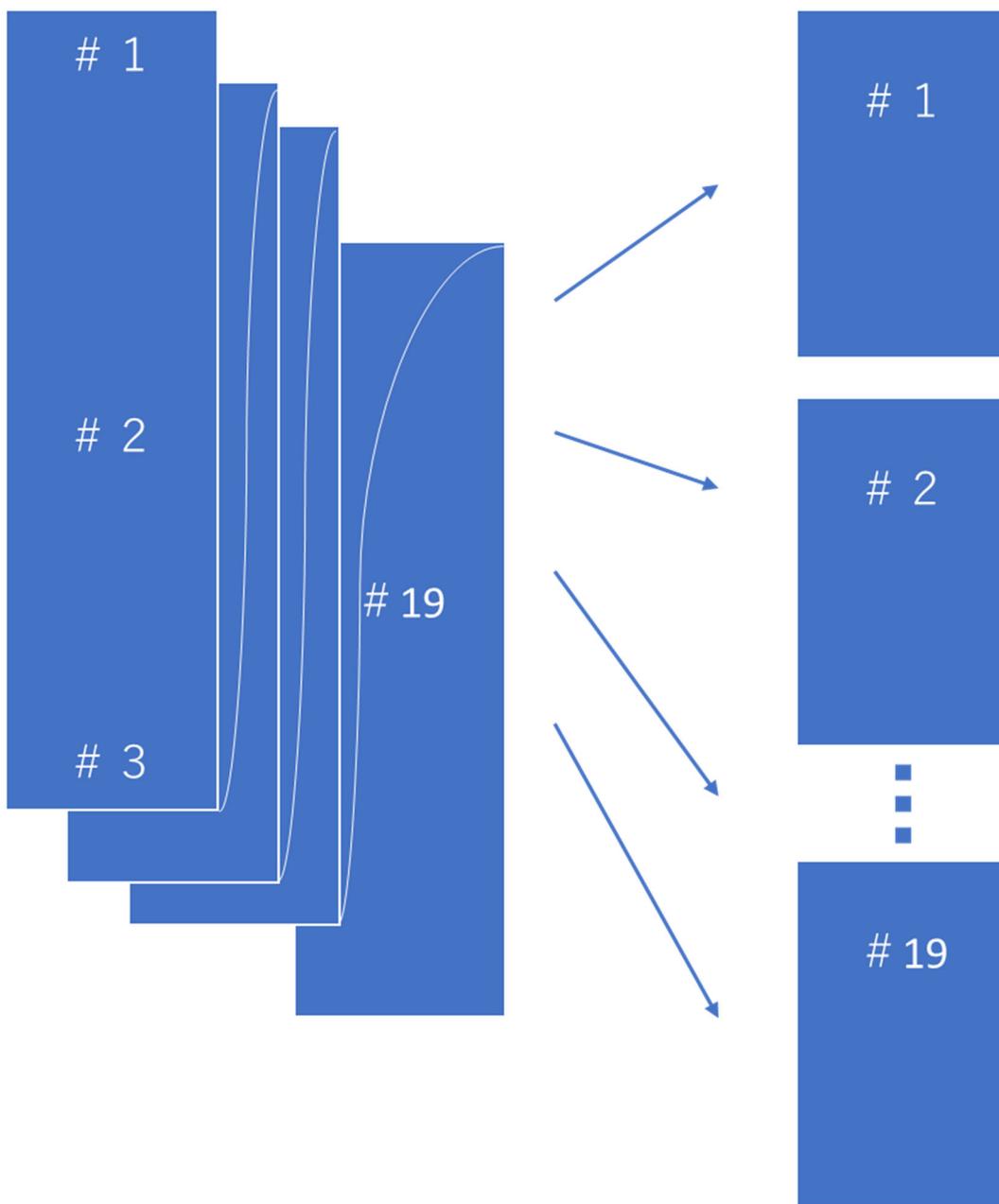
- 1) 菅野 陽平、青塚 圭二、坂田 こずえ、  
中村 公亮、鈴木 智宏、近藤 一成：  
LAMP 法を用いた有毒植物の迅速  
判別法の構築、日本食品化学学会  
第 26 回 総会・学術大会、誌上発表、  
2020 年 5 月
- 2) 近藤 一成、坂田 こずえ、曾我 慶介、  
菅野 陽平、佐藤 正幸、福多 賢太郎、  
豊田 敦、野口 英樹：猛毒 *Amanita*  
*virosa* のゲノム解析と遺伝子アノテ  
ーション、第 43 回日本分子生物学会  
年会 2020 年 12 月
- 3) 曾我慶介、吉田光範、坂田こずえ、近  
藤一成：ナノポアシーケンス技術を用  
いた致死性有毒キノコ *Amanita*  
*virosa* のゲノムアセンブリの検討、第  
43 回日本分子生物学会年会 2020 年  
12 月
- 4) 菅野陽平、青塚圭二、上野健一、鈴  
木智宏：ウェスタンプロット法によ  
るアレルギー物質検査の判定に関  
する画像解析、第 57 回全国衛生化  
学技術協議会年会、誌上発表、2020  
年 11 月

## 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



# 1～19の情報が連続した一つのワードファイル

一括ダウンロードして、目的の情報を検索する

# 1～19の情報が独立した個別のワードファイル

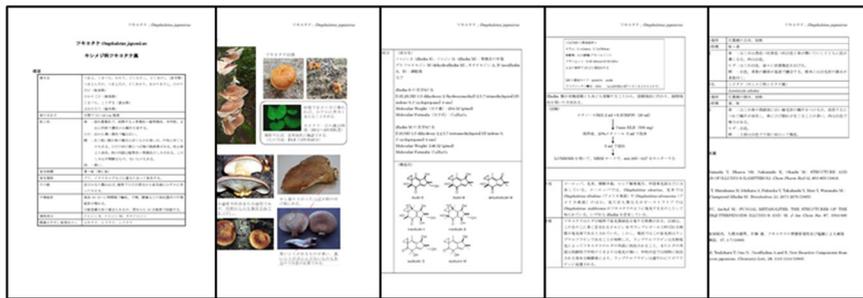
目的の植物名、きのこ名がわかっている場合、個別に参照できる

図2 個別データ閲覧方法の追加

## きのこの統一書式

<p>きのこ 名称</p> <p>学名</p> <table border="1"> <tr><td>属名</td><td></td></tr> <tr><td>種名</td><td></td></tr> <tr><td>科名</td><td></td></tr> <tr><td>目名</td><td></td></tr> <tr><td>綱名</td><td></td></tr> <tr><td>門名</td><td></td></tr> <tr><td>界名</td><td></td></tr> <tr><td>菌界</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌門</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌綱</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌目</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌科</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌属</td><td></td></tr> <tr><td>担子菌種</td><td></td></tr> </table> <p>学名</p> <p>1) 学名</p> <p>2) 学名</p> <p>3) 学名</p> <p>4) 学名</p> <p>5) 学名</p> <p>6) 学名</p> <p>7) 学名</p> <p>8) 学名</p> <p>9) 学名</p> <p>10) 学名</p> <p>11) 学名</p> <p>12) 学名</p> <p>13) 学名</p> <p>14) 学名</p> <p>15) 学名</p> <p>16) 学名</p> <p>17) 学名</p> <p>18) 学名</p> <p>19) 学名</p> <p>20) 学名</p> <p>21) 学名</p> <p>22) 学名</p> <p>23) 学名</p> <p>24) 学名</p> <p>25) 学名</p> <p>26) 学名</p> <p>27) 学名</p> <p>28) 学名</p> <p>29) 学名</p> <p>30) 学名</p> <p>31) 学名</p> <p>32) 学名</p> <p>33) 学名</p> <p>34) 学名</p> <p>35) 学名</p> <p>36) 学名</p> <p>37) 学名</p> <p>38) 学名</p> <p>39) 学名</p> <p>40) 学名</p> <p>41) 学名</p> <p>42) 学名</p> <p>43) 学名</p> <p>44) 学名</p> <p>45) 学名</p> <p>46) 学名</p> <p>47) 学名</p> <p>48) 学名</p> <p>49) 学名</p> <p>50) 学名</p>	属名		種名		科名		目名		綱名		門名		界名		菌界		担子菌門		担子菌綱		担子菌目		担子菌科		担子菌属		担子菌種		<p>きのこ 名称</p> <p>学名</p> <p>1) 学名</p> <p>2) 学名</p> <p>3) 学名</p> <p>4) 学名</p> <p>5) 学名</p> <p>6) 学名</p> <p>7) 学名</p> <p>8) 学名</p> <p>9) 学名</p> <p>10) 学名</p> <p>11) 学名</p> <p>12) 学名</p> <p>13) 学名</p> <p>14) 学名</p> <p>15) 学名</p> <p>16) 学名</p> <p>17) 学名</p> <p>18) 学名</p> <p>19) 学名</p> <p>20) 学名</p> <p>21) 学名</p> <p>22) 学名</p> <p>23) 学名</p> <p>24) 学名</p> <p>25) 学名</p> <p>26) 学名</p> <p>27) 学名</p> <p>28) 学名</p> <p>29) 学名</p> <p>30) 学名</p> <p>31) 学名</p> <p>32) 学名</p> <p>33) 学名</p> <p>34) 学名</p> <p>35) 学名</p> <p>36) 学名</p> <p>37) 学名</p> <p>38) 学名</p> <p>39) 学名</p> <p>40) 学名</p> <p>41) 学名</p> <p>42) 学名</p> <p>43) 学名</p> <p>44) 学名</p> <p>45) 学名</p> <p>46) 学名</p> <p>47) 学名</p> <p>48) 学名</p> <p>49) 学名</p> <p>50) 学名</p> <p>51) 学名</p> <p>52) 学名</p> <p>53) 学名</p> <p>54) 学名</p> <p>55) 学名</p> <p>56) 学名</p> <p>57) 学名</p> <p>58) 学名</p> <p>59) 学名</p> <p>60) 学名</p> <p>61) 学名</p> <p>62) 学名</p> <p>63) 学名</p> <p>64) 学名</p> <p>65) 学名</p> <p>66) 学名</p> <p>67) 学名</p> <p>68) 学名</p> <p>69) 学名</p> <p>70) 学名</p> <p>71) 学名</p> <p>72) 学名</p> <p>73) 学名</p> <p>74) 学名</p> <p>75) 学名</p> <p>76) 学名</p> <p>77) 学名</p> <p>78) 学名</p> <p>79) 学名</p> <p>80) 学名</p> <p>81) 学名</p> <p>82) 学名</p> <p>83) 学名</p> <p>84) 学名</p> <p>85) 学名</p> <p>86) 学名</p> <p>87) 学名</p> <p>88) 学名</p> <p>89) 学名</p> <p>90) 学名</p> <p>91) 学名</p> <p>92) 学名</p> <p>93) 学名</p> <p>94) 学名</p> <p>95) 学名</p> <p>96) 学名</p> <p>97) 学名</p> <p>98) 学名</p> <p>99) 学名</p> <p>100) 学名</p>
属名																													
種名																													
科名																													
目名																													
綱名																													
門名																													
界名																													
菌界																													
担子菌門																													
担子菌綱																													
担子菌目																													
担子菌科																													
担子菌属																													
担子菌種																													

例：ツキヨタケ



## 高等植物の統一書式

<p>高等植物 名称</p> <p>学名</p> <table border="1"> <tr><td>属名</td><td></td></tr> <tr><td>種名</td><td></td></tr> <tr><td>科名</td><td></td></tr> <tr><td>目名</td><td></td></tr> <tr><td>綱名</td><td></td></tr> <tr><td>門名</td><td></td></tr> <tr><td>界名</td><td></td></tr> </table> <p>学名</p> <p>1) 学名</p> <p>2) 学名</p> <p>3) 学名</p> <p>4) 学名</p> <p>5) 学名</p> <p>6) 学名</p> <p>7) 学名</p> <p>8) 学名</p> <p>9) 学名</p> <p>10) 学名</p> <p>11) 学名</p> <p>12) 学名</p> <p>13) 学名</p> <p>14) 学名</p> <p>15) 学名</p> <p>16) 学名</p> <p>17) 学名</p> <p>18) 学名</p> <p>19) 学名</p> <p>20) 学名</p> <p>21) 学名</p> <p>22) 学名</p> <p>23) 学名</p> <p>24) 学名</p> <p>25) 学名</p> <p>26) 学名</p> <p>27) 学名</p> <p>28) 学名</p> <p>29) 学名</p> <p>30) 学名</p> <p>31) 学名</p> <p>32) 学名</p> <p>33) 学名</p> <p>34) 学名</p> <p>35) 学名</p> <p>36) 学名</p> <p>37) 学名</p> <p>38) 学名</p> <p>39) 学名</p> <p>40) 学名</p> <p>41) 学名</p> <p>42) 学名</p> <p>43) 学名</p> <p>44) 学名</p> <p>45) 学名</p> <p>46) 学名</p> <p>47) 学名</p> <p>48) 学名</p> <p>49) 学名</p> <p>50) 学名</p>	属名		種名		科名		目名		綱名		門名		界名		<p>高等植物 名称</p> <p>学名</p> <p>1) 学名</p> <p>2) 学名</p> <p>3) 学名</p> <p>4) 学名</p> <p>5) 学名</p> <p>6) 学名</p> <p>7) 学名</p> <p>8) 学名</p> <p>9) 学名</p> <p>10) 学名</p> <p>11) 学名</p> <p>12) 学名</p> <p>13) 学名</p> <p>14) 学名</p> <p>15) 学名</p> <p>16) 学名</p> <p>17) 学名</p> <p>18) 学名</p> <p>19) 学名</p> <p>20) 学名</p> <p>21) 学名</p> <p>22) 学名</p> <p>23) 学名</p> <p>24) 学名</p> <p>25) 学名</p> <p>26) 学名</p> <p>27) 学名</p> <p>28) 学名</p> <p>29) 学名</p> <p>30) 学名</p> <p>31) 学名</p> <p>32) 学名</p> <p>33) 学名</p> <p>34) 学名</p> <p>35) 学名</p> <p>36) 学名</p> <p>37) 学名</p> <p>38) 学名</p> <p>39) 学名</p> <p>40) 学名</p> <p>41) 学名</p> <p>42) 学名</p> <p>43) 学名</p> <p>44) 学名</p> <p>45) 学名</p> <p>46) 学名</p> <p>47) 学名</p> <p>48) 学名</p> <p>49) 学名</p> <p>50) 学名</p> <p>51) 学名</p> <p>52) 学名</p> <p>53) 学名</p> <p>54) 学名</p> <p>55) 学名</p> <p>56) 学名</p> <p>57) 学名</p> <p>58) 学名</p> <p>59) 学名</p> <p>60) 学名</p> <p>61) 学名</p> <p>62) 学名</p> <p>63) 学名</p> <p>64) 学名</p> <p>65) 学名</p> <p>66) 学名</p> <p>67) 学名</p> <p>68) 学名</p> <p>69) 学名</p> <p>70) 学名</p> <p>71) 学名</p> <p>72) 学名</p> <p>73) 学名</p> <p>74) 学名</p> <p>75) 学名</p> <p>76) 学名</p> <p>77) 学名</p> <p>78) 学名</p> <p>79) 学名</p> <p>80) 学名</p> <p>81) 学名</p> <p>82) 学名</p> <p>83) 学名</p> <p>84) 学名</p> <p>85) 学名</p> <p>86) 学名</p> <p>87) 学名</p> <p>88) 学名</p> <p>89) 学名</p> <p>90) 学名</p> <p>91) 学名</p> <p>92) 学名</p> <p>93) 学名</p> <p>94) 学名</p> <p>95) 学名</p> <p>96) 学名</p> <p>97) 学名</p> <p>98) 学名</p> <p>99) 学名</p> <p>100) 学名</p>
属名															
種名															
科名															
目名															
綱名															
門名															
界名															

例：アジサイ



図3 個別ファイルの統一書式

# NCBI配列ページへ

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/>

**Table. Datasets used for molecular phylogenetic study**

Data name	Accession #	length (bp)	Accession #	length (bp)
1 <i>Omphalotus japonicus</i>	AY313286	704	LN850532	868
2 <i>Omphalotus japonicus</i> NBRC 4931	AB301607	721	LN850533	868
3 <i>Omphalotus japonicus</i> TNS Kasuya B817	KJ395302	746	LN850534	868
4 <i>Omphalotus japonicus</i> Besh456	AF525067	617	LN850535	850
5 <i>Omphalotus japonicus</i> CBS37451	AF525069	616	LN850538	869
6 <i>Omphalotus japonicus</i> CBS44669	AF525068	617	LN850537	868
7 <i>Omphalotus illudens</i>	AY313271	717	LN850520	867
8 <i>Omphalotus illudens</i>	AY313272	717	LN850521	883
9 <i>Omphalotus illudens</i>	AY313273	717	LN850519	868
10 <i>Omphalotus illudens</i>	AY313274	714	LN850523	868
11 <i>Omphalotus nidiformis</i>	AY313275	700	LN850624	908
12 <i>Omphalotus olearius</i>	AY313276	709	LN850622	910
13 <i>Omphalotus olearius</i>	AY313277	709	LN850623	908
14 <i>Omphalotus olearius</i>	AY313278	708	LN850684	902
15 <i>Omphalotus olearius</i> AFTOL-ID 1718	DQ494681	676	LN850683	900
16 <i>Omphalotus olivaceus</i>	AY313279	705	LN850590	918
17 <i>Omphalotus olivaceus</i>	AY313280	703	LN850588	920
18 <i>Omphalotus olivaceus</i>	AY313281	702	LN850542	884
19 <i>Omphalotus olivaceus</i>	AY313282	702	LN850543	886
20 <i>Omphalotus subilludens</i>	AY313283	703	LN850570	878
21 <i>Omphalotus subilludens</i>	AY313285	701	LN850569	878
22 <i>Omphalotus cf. subilludens</i> TENN59518	AY313284	703	LN850478	885
23 <i>Lentimla edodes</i> Chamsongri	AB286067	1029	LN850479	883
24 <i>Lentimla edodes</i> D703PP-9	AB366151	758	LN850482	835
25 <i>Lentimla edodes</i> G408PP-4	AB366150	753	LN850488	880
26 <i>Lentimla edodes</i> FMRI0339VF14	KJ395354	760	LN850483	880
27 <i>Pleurotus ostreatus</i> NBRC 33211	AB733144	678	LN850601	883
28 <i>Pleurotus ostreatus</i> 2106	HQ286595	638	LN850602	880
29 <i>Pleurotus ostreatus</i>	AF079283	654	LN850603	883
30 <i>Panellus edulis</i> HMI/AU7214	GQ219730	667	LN850604	883
31 <i>Panellus edulis</i> HUP-1	AB544083	1340	LN850604	883
32 <i>Sarcomyxa serotina</i> 21	FR686568	719	LN850607	883
33 <i>Sarcomyxa serotina</i> AFTOL-ID 536	DQ494695	636	LN850498	863
34 <i>Sarcomyxa serotina</i> UASWS0313	EF174452	685	LN850495	883
			LN850499	885
			LN850500	885
			AB301602	943
			AB301603	898
			LN850446	851
			LN850452	854
			KC710108	864
			KC710116	973
			GU373512	911
			DQ486700	885
			GQ397694	928
			AB587746	923
			JF927804	991
			DQ825407	1174
			AF357032	589
			DQ367434	1172

Accession #	length (bp)
EF534351	681
EF126735	681
EF126734	683
MK167411	648
AF418607	684
EU819428	713
EF534352	685
MW403857	685
MW403856	713
MW403855	684
MG820045	697
KC813134	1206
KC952713	722
KC952679	697
KP783457	797
JF273537	669
KM085390	699
KF679819	660
DQ367915	889
DQ422010	1595
KC699766	646
KC699765	646
KC699764	646
KC699763	646
KC699762	646
KC699761	646
KC699760	646
KC699759	646
KC699758	646
KC699757	646
KC699756	646
KC699755	646
KC699754	646
KC699753	646
KC699752	646
JF834331	612
EU597075	800
AY606963	665
AY061695	693
EF126733	683
AM113962	629
AM113961	701
AM113960	692
AM087260	682
AF418606	672
MW403861	672
MK167400	618
EF534350	687

Accession #	length (bp)
KJ395353	59
KJ395354	76
KJ395355	80
KJ395356	984
KJ395357	982
KJ395358	984
KJ395359	963
KJ395360	976

ツキヨタケ

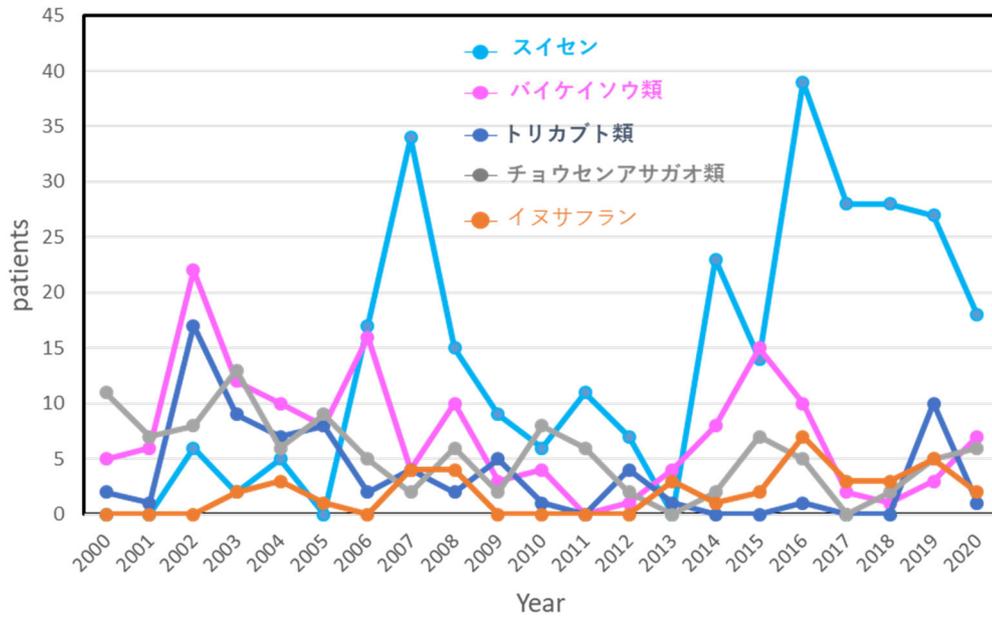
クサウラベニタケ類

ニガクリタケ

ニセクロハツ

図4 配列情報一覧の増強 (きのこ)

### 5種の有毒植物による食中毒患者数の推移



### クサウラベニタケ類とツキヨタケによる食中毒患者数の推移

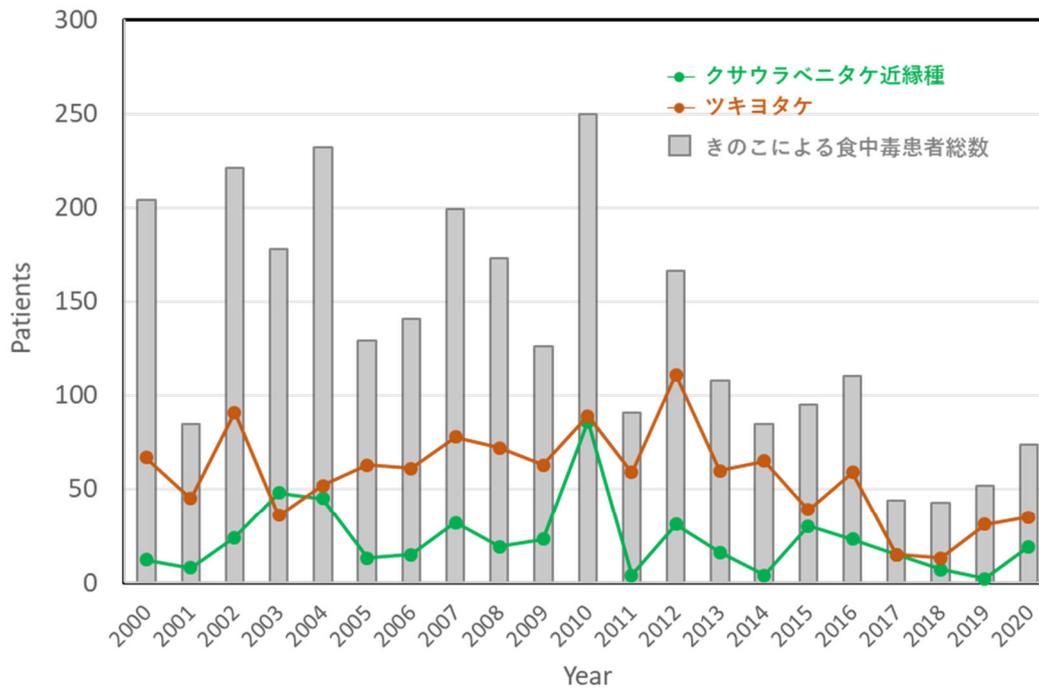


図5 食中毒患者数の年次推移

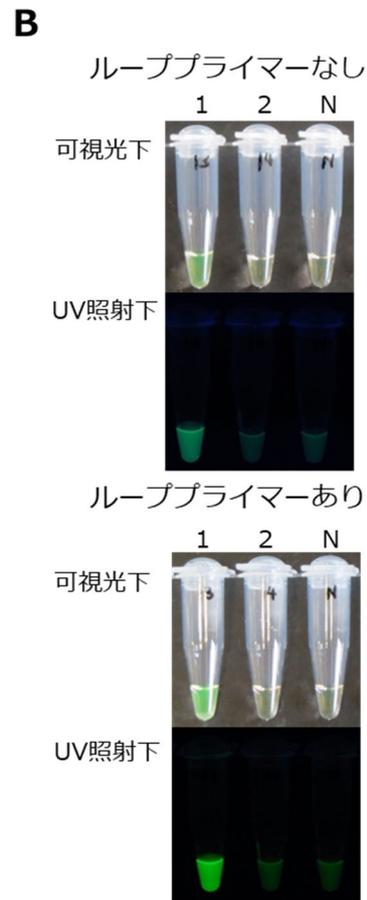
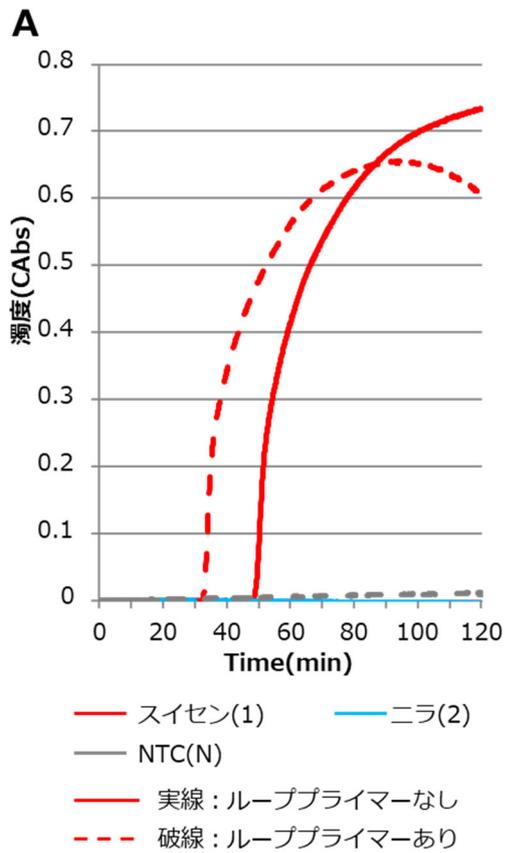


図6 スイセン検出用プライマーを用いたLAMPの結果

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を行った。(A)濁度を指標としたLAMPの増幅、(B)蛍光目視試薬を添加してLAMPを行った反応チューブの写真(可視光下/UV照射下)。

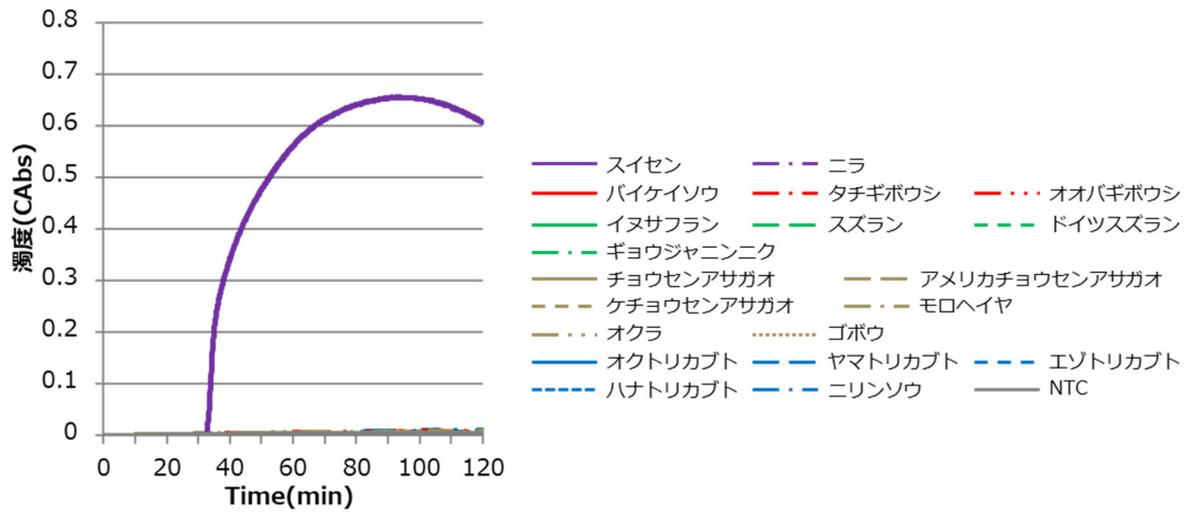


図7 スイセン検出用プライマーセットを用いたLAMPの交差性の確認

スイセン検出用プライマーセット(ループプライマーを含む)を用いて各植物由来DNA(10 ng)に対しLAMPを行った。

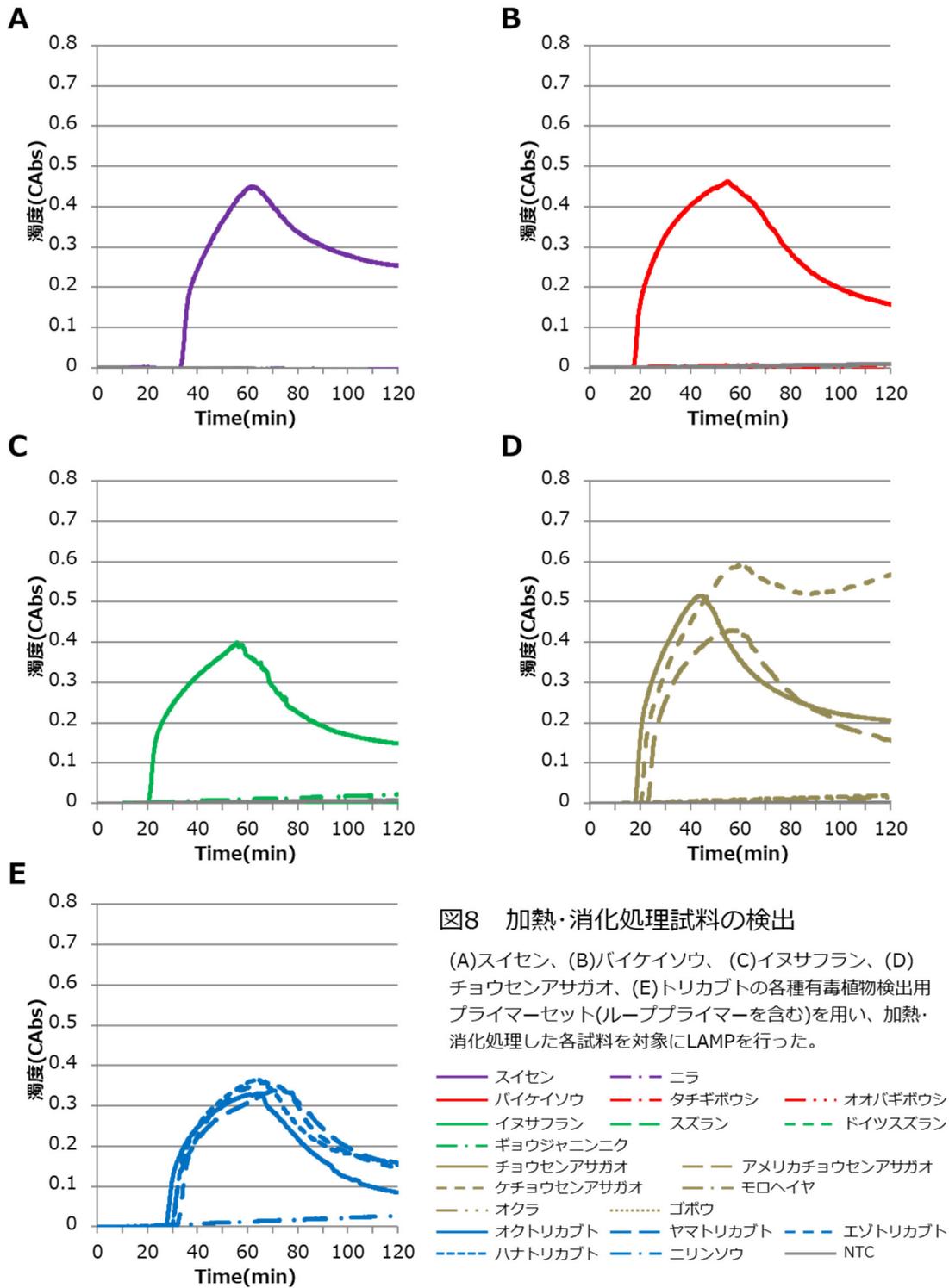


表 1 有毒植物検出用LAMPの検出限界コピー数の確認

	Copy number of positive control plasmid (copy)							
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>
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	+	+	+	+	+	+	-	-

各陽性コントロールプラスミドを用いたLAMPを3併行で行い、60分以内に全てのサンプルでDNA増幅を示した場合は+、1か2サンプルでDNA増幅を示した場合は±、DNA増幅を示さなかった場合は-とした