

MCE-202 “MultiNA” によるアレルゲン物質の検出

Detection of Allergen Materials with MCE-202 “MultiNA”

日本では世界に先駆けてアレルゲンを含む食品の表示制度が導入されています。平成13年4月よりアレルゲンを含む食品の表示が義務化され、平成20年6月には「えび」と「かに」の2品目が追加されました。表示による消費者への情報提供は、アレルギーによる健康危害を未然に防ぐことを目的としています。したがって、極微量であっても特定原材料を含有もしくは混入している場合は、その事実を明示する事が求められます。

定性PCR法による検出が可能な特定原材料は小麦、そば、落花生、えび、かにの5種類です。

ここでは厚生労働省通知法に準じた方法（厚生労働省通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」平成21年7月24日 食安発第0724第1号）により抽出したDNAを鋳型としてPCRによりアレルゲン関連遺伝子を増幅しました。これらをDNA/RNA分析用マイクロチップ電気泳動装置MCE-202 “MultiNA”により検出した例をご紹介します。

Y.Sogabe

■分析手順

Experimental Procedure

DNAの抽出方法とPCRの条件は、厚生労働省通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」平成21年7月24日 食安発第0724第1号に従って行いました。小麦、そば、落花生、えび、かにがそれぞれ含まれる食品から

DNAを抽出しました。

抽出は「イオン交換樹脂タイプキット法」で行いました。DNAの精製度の確認と定量は島津ライフサイエンス分光光度計“BioSpec-nano”を用いて行いました。

■試薬 / キット

Reagents / Kits

- ・ DNA-500 Kit
(島津製作所) P/N292-27910-91
- ・ SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S-11494
- ・ 25bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011
- ・ QIAGEN Genomic-tip 20/G
(キアゲン) 10223

■PCR産物分析条件

Analytical Condition of PCR Products

- 分析装置 : MCE-202"MultiNA"
分析モード : DNA-500オンチップモード



Fig. 1 アレルゲン物質の検出手順
Experimental Procedure of Detection of Allergen Materials

結果

Results

小麦、そば、落花生、えび、かにを含む食品由来のDNAからのPCR増幅物をMultiNAで分析した結果をFig. 2に示します。小麦、そば、落花生、えび、かにそれぞれに由来するPCR増幅物がMultiNAによって明瞭に検出することができました。(図中のサイズ推定値は本実験によるものです。厚生労働省通知法では小麦、そば、落花生、えび、かにからPCRによって増幅されるDNAのサイズはそれぞれ141 bp、127 bp、95 bp、187 bp、62 bpとされています。)

対象にMultiNAで分析したものと同一サンプルをアガロースゲル電気泳動で分析した結果を【参考】に示します。アガロースゲル電気泳動ではPCR増幅物のサイズが不明確で客観性に乏しい結果となってしまいます。しかしながらMultiNAではエレクトロフェログラムに加えてゲルイメージとして結果が得られるのでデータとしての確認も高いものとなります。また、小麦とそば増幅産物は近接しております。MultiNAはアガロースゲル電気泳動と比べて分解能と感度が優れておりますのでこれらを明確に検出することが可能です。

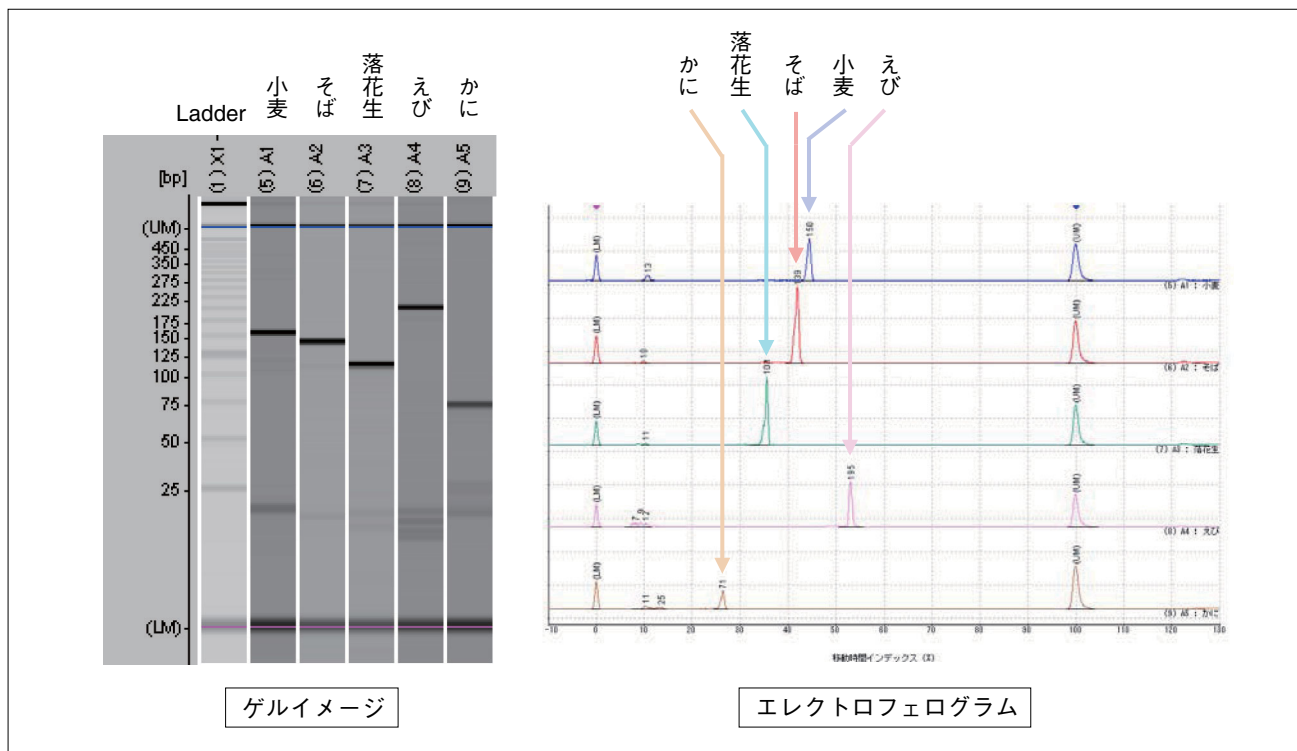
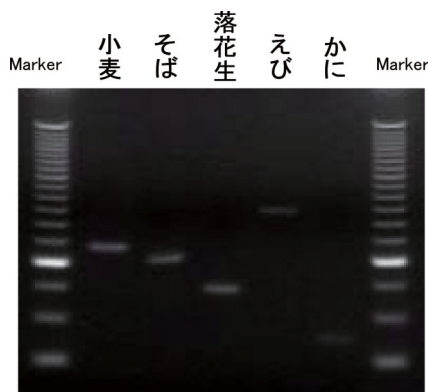


Fig. 2 アレルゲン物質の分析結果
Analytical Results of PCR Products from Allergen Materials



【参考】アガロースゲル電気泳動によるアレルゲン物質の分析結果
Agalose Gel Electrophoresis of PCR Products from Allergen Materials

初版発行：2009年10月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

● 0120-131691 (携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号 (075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。