

特定原材料検出試薬

F A テ ス ト イ ム ノ ク ロ マ ト ー く る み

開発の経緯および特徴

食品表示法に基づく食品表示基準の一部改正により、「くるみ」は食物アレルギーを誘発する可能性が高い特定原材料に指定され、加工食品および添加物への表示が義務化されました。アレルギー物質を含む食品の表示を正しく行うためには、製造記録による確認と検査による特定原材料の混入の確認が必要です。

食物アレルギー対策には、表示を正しく行うための原材料や最終製品検査はもとより、製造工程における意図しない混入を防止するために、製造器具器材の洗浄性を日常的に確認することが重要となります。

本試薬は、イムノクロマト法を原理とした、くるみ由来タンパク検出用の簡易キットです。簡単な操作で迅速に結果が得られるため、食品企業における日常の管理に有効です。このキットは特許第5133663号を利用しています。

【特徴】

- 食品中のくるみに由来するタンパク質を高感度に検出できます。
- 原材料から加工食品まで、加熱・加工等の有無によらず幅広い食品に適用できます。
- 簡単な操作で短時間(20分)に結果が得られます。結果の判定は目視で可能です。
- 高い特異性を持ち、再現性に優れています。

一般的な注意

- 本試薬は食品検査用試薬であり、食物アレルギー発症の有無を診断する試薬ではありません。本試薬の検出結果とアレルギー発症との相関性については確認されていません。
- 添付文書を良く読み、記載された操作方法に従って使用してください。
- 測定結果に基づく特定原材料の有無については、原材料や製造記録の確認等、他の情報と併せて総合的に判断してください。

形状・構造等(キットの構成)

- | | |
|-----------|-------|
| ① テストプレート | 10テスト |
| ② 検体希釈液 | 50 mL |

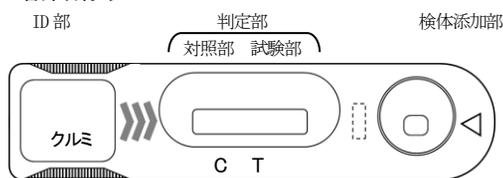
使用目的

食品中のくるみ由来タンパク質(2Sアルブミン)の検出。

測定方法(測定原理)

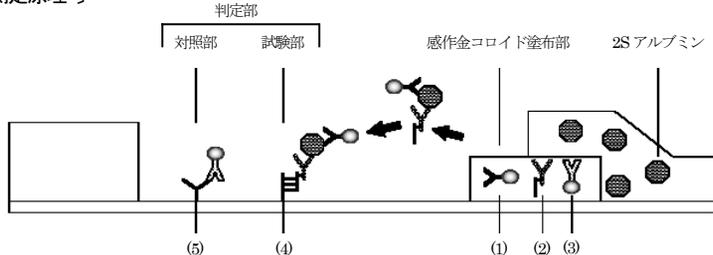
本品は、イムノクロマト法を原理とした、くるみ由来タンパク質の検出キットです。

【テストプレート各部名称】



テストプレートは検体を添加する検体添加部、判定を行う判定部、検体名等を記入するID部から構成されています。さらに判定部は、くるみ由来タンパク質の判定を行う試験部(T)、対照ラインの確認を行う対照部(C)からなっています。

【測定原理】



- (1) ; 金コロイド結合抗くるみ2Sアルブミンモノクローナル抗体
- (2) ; オリゴヌクレオチドI結合抗くるみ2Sアルブミンポリクローナル抗体
- (3) ; 金コロイド結合タンパク質
- (4) ; オリゴヌクレオチドI'結合タンパク質
- (5) ; 金コロイド結合タンパク質に対する抗体

感作金コロイド塗布部には、金コロイド結合抗くるみ2Sアルブミンモノクローナル抗体およびオリゴヌクレオチドI結合抗くるみ2Sアルブミンポリクローナル抗体が塗布されており、判定部にはオリゴヌクレオチドI'結合タンパク質が固相化されています(オリゴヌクレオチドIとI'は互いに相補鎖をなしています)。くるみ2Sアルブミンを含む試料溶液を滴下すると、くるみ2Sアルブミンは感作金コロイド塗布部において金コロイド結合抗くるみ2Sアルブミンモノクローナル抗体とオリゴヌクレオチドI結合抗くるみ2Sアルブミンポリクローナル抗体と結合して複合体を形成します。クロマトグラフィー法の原理により移動したこれらの複合体が試験部(T)においてDNA-DNAの相互反応により固相化されているオリゴヌクレオチドI'に捕捉されます。捕捉された複合体は金コロイドを含んでいるために金コロイドの着色(赤紫色ライン)が認められます。試料中にくるみ2Sアルブミンが存在しない場合は、オリゴヌクレオチドI結合抗くるみ2Sアルブミンポリクローナル抗体のみが捕捉されるため、試験部(T)にラインが出現しません。

一方、試料中のくるみ2Sアルブミンの有無にかかわらず試料溶液が正常に移動すると、対照部(C)には赤紫色のラインが認められます。

操作上の注意

- 食品検体の採取法
 - 試料には食品あるいは原材料を使用してください。
 - 試料は食品一包装単位に含まれる可食部全体から調製してください。
 - 試料中の特定原材料の成分は不均一に分布していると考えられていますので、必ず均質化操作を行ってください。
 - 均質化使用するフードカッター等の粉砕機は、試料毎に交換し、洗浄してください。
- 試薬は全て室温(20~25℃)に戻してから使用してください。
- アルミ袋開封後のテストプレートは、直ちに使用してください。開封したものを室内に長時間放置すると吸湿して性能が劣化します。
- 検体採取に用いるチップは検体毎に新しいものを使用してください。
- テストプレートの検体添加部には手を触れないでください。偽陽性の原因になります。
- テストプレートへは正確な量を滴下してください。少ない場合は展開不良、多すぎる場合は反応が正しく行われません。
- 抽出操作の3)は加工度の高い食品では抽出操作の1)、2)より抽出効率が低下する場合があります。使用目的に応じて抽出操作を選択してください。

用法・用量(操作方法)

A-1. 測定溶液の調製(食品検体からの検出)

【必要な器具】

- マイクロピペット、メスシリンダーおよびビーカー
- ポリプロピレン製遠沈管(50 mL容)および試験管
- 粉砕機(フードカッターなど)、ホモジナイザー
- 遠心分離機(3,000×g以上が可能なもの)
- ろ紙、ロート
- F AテストII 抽出用試薬

【試薬の調製】

1. 検体抽出液の調製

[1. 検体抽出液]の調製には、別売のF AテストII 抽出用試薬(コード:08627)をご使用ください。[A:抽出用A液(10倍濃縮液)]、[B:抽出用B液(10倍濃縮液)]、[C:抽出用C液(10倍濃縮液)]および精製水を1:1:1:7の比率で混合し、必要量を調製してください。[A:抽出用A液(10倍濃縮液)]に沈殿が生じている場合は、加温溶解してからご使用ください。

(調製例:24検体測定する場合)

A:抽出用A液(10倍濃縮液)	50 mL
B:抽出用B液(10倍濃縮液)	50 mL
C:抽出用C液(10倍濃縮液)	50 mL
精製水	350 mL
	500 mL

2. 測定試薬の調製

- テストプレート...そのまま使用します。室温(20~25℃)に戻してから開封してください。
- 検体希釈液...そのまま使用します。使用前に室温(20~25℃)に戻してください。

【操作方法】

1. 検体の調製・抽出操作

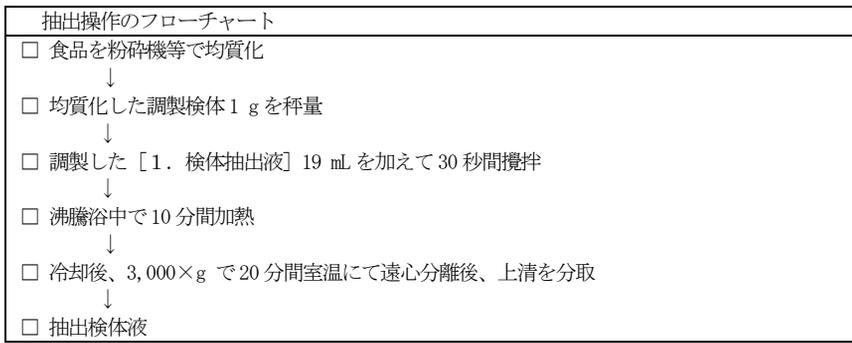
- ELISA法と同じ抽出操作
 - 試料を粉砕機(フードカッターなど)で粉砕し、均質混和して調製検体とします。
 - 均質化した調製検体1gをポリプロピレン製遠沈管(50 mL容)に量り採り、調製した[1. 検体抽出液]19 mLを加え、よく振り混ぜて混合し、固形分を均等に分散させます。この際、泡立たせないよう注意しながら、ボルテックス等を用いて検体を分散させます。
 - 振とう機に遠沈管を横にして置き、室温で一晩(12時間以上)振とうしながら抽出します。振とう回数は1分間に90から110往復程度、振とう幅は3 cm程度として、振とうにより液が遠沈管の両端に打ち付けるようになるくらいに調整してください。
 - 時々遠沈管の上下を入れ替えるなどの操作をして、液面に沿って付着する調製検体を分散させます。
 - 抽出液のpHを確認し、必要であれば適切に薄めた水酸化ナトリウム溶液または希塩酸で中性付近(pH 6.0~8.0)になるよう調整します。
 - 室温、3,000×gの条件で20分間遠心し、遠心後に得られる上清を分取します。沈渣が得られない場合は上清を濾紙で濾過し、これを抽出検体液とします。

抽出操作のフローチャート

- 食品を粉砕機等で均質化
- ↓
- 均質化した調製検体1gを秤量
- ↓
- 調製した[1. 検体抽出液]19 mLを加えて室温で一晩(12時間以上)往復振盪
- ↓
- 3,000×gで20分間室温にて遠心分離後、上清を分取
- ↓
- 抽出検体液

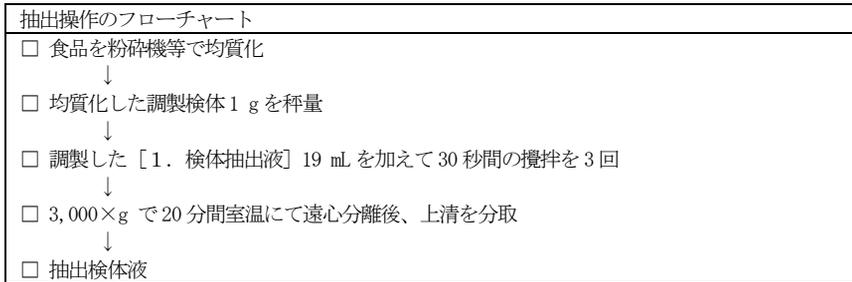
2) 加熱による短時間抽出操作

- 試料を粉砕機(フードカッターなど)で粉砕し、均質混和して調製検体とします。
- 均質化した調製検体1gをポリプロピレン製遠沈管(50 mL容)に量り採り、調製した[1. 検体抽出液]19 mLを加え、あまり泡立たせないよう注意しながら、ボルテックスを用いて30秒間攪拌します。
- 遠沈管のフタを閉めた状態で、沸騰浴中で10分間加熱します。加熱処理は遠沈管中の溶液が十分に浸るように行います。
- 流水等で冷却後、1)のa)以降の操作を行います。



3) 短時間抽出操作

- 4) 試料を粉碎機（フードカッターなど）で粉碎し、均質混和して調製検体とします。
- 5) 均質化した調製検体 1 g をポリプロピレン製遠沈管（50 mL 容）に量り採り、調製した [1. 検体抽出液] 19 mL を加え、あまり泡立たせないよう注意しながら、ボルテックスを用いて 30 秒間の攪拌を 3 回し、1) のわ以降の操作を行います。



2. 測定溶液の調製方法

1. において調製した試料抽出液を、検体希釈液を用いて 10 倍希釈し、測定溶液とします。

A-2. 測定溶液の調製（ふき取り検体）

- 〔必要な器具〕
- 1) ふき取り用綿棒
 - 2) 試験管等
 - 3) マイクロピペット

〔ふき取り液の準備〕
精製水 100 mL に 0.9 g の塩化ナトリウムを溶解し、生理食塩水を調製し、一定量を試験管等に分注します。

- 〔ふき取り操作方法〕
- 1) ふき取り用綿棒を生理食塩水に浸します。
 - 2) ふき取り用綿棒で検査対象をふき取ります。
 - 3) ふき取った綿棒を試験管等に戻し、生理食塩水内でよく洗い出し、測定溶液とします。

- ※ リン酸緩衝生理食塩水、精製水などが充填された市販のふき取りキットも使用できます。偽陽性を防ぐため、充填液の組成に注意してください。また精製水が充填されたふき取りキットを用いると、稀に偽陽性を生じる場合があります。検体希釈液と等量混合して試験を実施してください。
- ※ 洗い出し後の測定溶液の pH を確認し、必要であれば中性付近（pH 6.0～8.0）になるよう調整します。
- ※ 洗い出し後の測定溶液は、微生物の増殖によって反応に影響をおよぼすことがありますので、長時間の放置は避けてください。
- ※ 製造ラインの洗浄水（精製水や水道水など）をそのまま測定に用いると、稀に偽陽性を生じる場合があります。検体希釈液と等量混合して試験を実施してください。

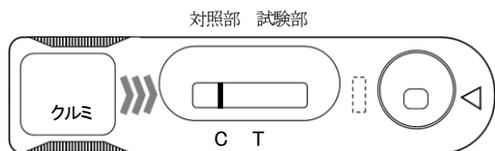
B. 測定操作

- 1) アルミ袋からテストプレートを取り出します。
- 2) マイクロピペットで測定溶液 100 μL を分取し、テストプレートの検体添加部に滴下します。
- 3) 室内温度（15～30℃）で、20分間静置して反応させます。
- 4) 判定部に出現するラインの有無を目視で確認します。

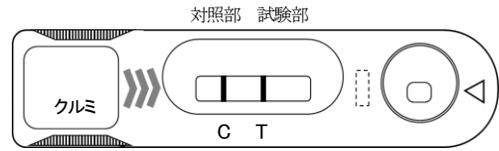
—— 測定結果の判定法 ——

〔測定結果の判定〕
試料溶液を滴下して 20 分経過後、判定部に現れる赤紫色ラインの有無で判定します。判定は以下の基準に従って実施してください。

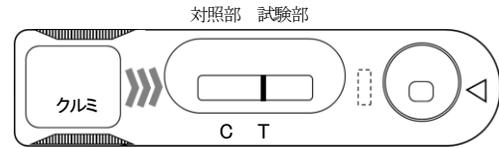
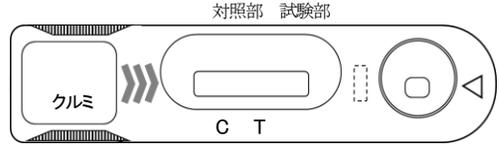
- 1) 陰性
下図のように対照部 (C) にのみラインが出現した場合は陰性と判定します。



- 2) 陽性
下図のように試験部 (T) および対照部 (C) の両方にラインが出現した場合は、ラインの強弱に関係なく陽性と判定します。



- 3) 再検査
試験部 (T) のラインの有無に関係なく対照部 (C) にラインが出現しない場合は、測定が適切に行われていないことが考えられます。測定操作法を再度確認の上、再試験を行ってください。



—— 性能 ——

用法、用量欄の操作法により次の性能試験を行うとき以下の条件に適合します。

1. 検出感度

食品中のくるみタンパク質として 2～5 ppm (μg/g)。但し、試料の加工による特定原材料の成分の変化・分解などにより、抽出効率の変動、測定結果の変動が生じることがあります。

2. 特異性

- 1) 本試薬は、クルミ科クルミ属の他に、山核桃に反応性を示します。
- 2) 特定原材料（卵、乳、小麦、そば、落花生、えび、かき）との反応は認められません。

—— 使用上または取扱い上の注意 ——

1. 一般的な注意事項

- 1) この添付文書をよく読み、記載された操作法に従って使用してください。
- 2) 使用期限の過ぎた製品は使用しないでください。
- 3) 試薬類は凍結させないでください。
- 4) 試薬は全て室温に戻してから使用してください。
- 5) 反応時間は正確に行ってください。

2. 危険防止上の注意事項

- 1) 本キットの試薬類は、皮膚や粘膜、衣類等につけないでください。
- 2) 試薬が目や口に入った場合には、水で十分洗い流す等の応急処理を行い、必要があれば医師の手当を受けてください。
- 3) [1. 検体抽出液] には界面活性剤と還元剤を含んでおりますので、検査中はマスクや使い捨てのプラスチック製手袋等の着用をお勧めします。

3. 廃棄上の注意事項

- 1) 使用後の試薬は、十分量の水で流して廃棄してください。
- 2) 使用後の試薬容器および使用した器具等の廃棄の際には、廃棄物に関する規定に従って適切に処理してください。

—— 貯蔵方法・有効期間 ——

〔貯 法〕
冷所（2～8℃）で保存してください。

*〔有効期間〕
製造後 12 ヶ月。外箱に使用期限を表示してあります。

—— 包装単位 ——

FA テスト イムノクロマトーくるみ 10 テスト用 Code 08638

—— 別売関連製品 ——

FA テスト EIAーくるみ Code 08637
 FA テスト EIAー甲殻類Ⅱ Code 08624
 FA テスト イムノクロマトー甲殻類Ⅱw 20 テスト用 Code 08628
 FA テストⅡ 抽出用試薬 Code 08627

—— 参考文献 ——

- 1) 消費者庁「食品表示基準について-別添 アレルゲンを含む食品の検査方法」（平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号消費者庁次長通知、令和 5 年 3 月 9 日消食表第 102 号次長通知により一部改正）

—— 問い合わせ先 ——

〒110-0005 東京都台東区上野 3-24-6
 島津ダイアグノスティクス株式会社 カスタマーサポート担当
 電話 03(5846)5707

製造販売元

島津ダイアグノスティクス株式会社

東京都台東区上野 3-24-6 〒110-0005 TEL 03(5846)5611 (代)

(3K29)