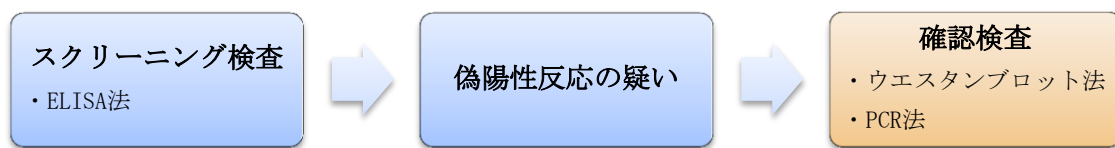


ウエスタンブロット法(特定原材料 確認検査)

1 食物アレルギー検査(特定原材料)の流れ

アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成22年9月10日消食表第286号)では、ELISA法を用いたスクリーニング検査*1を最初に実施します。得られた検査結果について偽陽性反応*2が疑われる場合には、ウエスタンブロット法やPCR法を用いた確認検査を追加で実施します。



*1 スクリーニング検査を未実施で、スクリーニング検査からの実施をご希望の場合、確認検査とは別に費用が発生します。

*2 ELISA法の特徴として、対象タンパク質と似た構造を持つ他のタンパク質(小麦に対する大麦など)が検査キットに反応してしまう場合があります、これを偽陽性反応と呼びます。

2 検査対象と検査キット

2種類の検査キットを用いてタンパク質を指標とした検査を行い、各検査キットの検査結果をそれぞれご報告いたします。検出限界は約10 μ g/gです。

検査対象	検査キット
卵	<ul style="list-style-type: none"> ・モリナガ卵ウエスタンブロットキット(卵白アルブミン) [株式会社 森永生科学研究所] ・モリナガ卵ウエスタンブロットキット(オボムコイド) [株式会社 森永生科学研究所]
乳	<ul style="list-style-type: none"> ・モリナガ牛乳ウエスタンブロットキット(カゼイン) [株式会社 森永生科学研究所] ・モリナガ牛乳ウエスタンブロットキット(β-ラクトグロブリン) [株式会社 森永生科学研究所]

3 検査結果

「検出する」または「検出せず」としてご報告します。定量試験ではありませんので数値は得られません。

なお、検査結果はご提供いただいた検体についての結果となりますので、当該検体の母集団を保証するものではありません。

4 検体必要量

1食分毎の単位にて50g以上をご用意ください。1食分が少量の場合は、合わせて50g以上となるようにをご用意ください。原料の場合は50g程度をご用意ください。

スクリーニング検査で上記の検体量をご提供いただいている場合、追加検体をご用意いただく必要はありません。

5 検査に影響を及ぼす成分

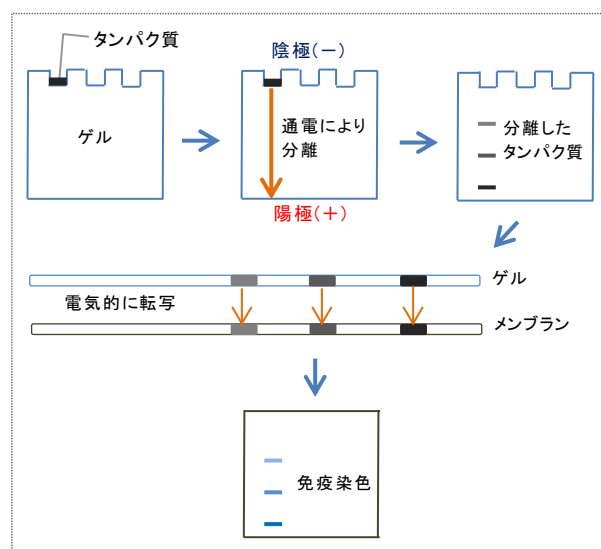
ポリフェノールのようにタンパク質を吸着する性質を持つ物質は、検査に対する妨害物質として作用し、検査結果に影響を与えることがあります。また、増粘剤や海藻に含まれるフコイダンのように粘性を有する物質は、抗原抗体反応を介さずに非特異的な吸着を示すことがあります。そのため、“これらそのもの”及び“これらを多く含む検体”では信頼性のある結果が得られない場合があります。

なお、検査結果に影響を与える物質は多種存在しますが、すべての物質が明らかにされているわけではありませんので、ご依頼をいただいた段階で影響を予測することは出来ません。

6 ウェスタンブロット法の一般的な原理

対象タンパク質について“分子量の違い”と“抗原抗体反応”を組み合わせることで検出する方法です。そのため、抗原抗体反応により検出を行うELISA法よりも高い検出特異性が得られます。

- ① 電気泳動によりタンパク質をゲルを通して分子量で分離
 - ↓
- ② 分離したゲル中のタンパク質をメンブランへ転写(ブロッティング)
 - ↓
- ③ 抗原抗体反応を利用した免疫染色法によりタンパク質を染色
 - ↓
- ④ 得られた染色像から対象タンパク質のバンドを確認



7 検査工程

① 前処理(均質化, 秤量)

↓

② タンパク質の抽出(抽出液の添加, 振とう, 遠心分離, ろ過)

↓

③ ウェスタンブロット法(電気泳動, ブロッティング, 免疫染色)

↓

④ 対象タンパク質のバンドを確認



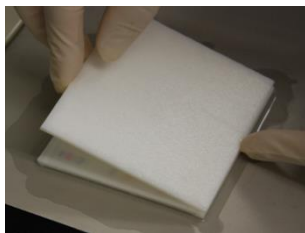
均質化



振とう抽出



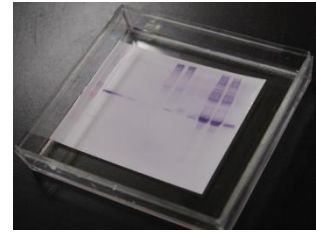
電気泳動



ブロッティング①



ブロッティング②



免疫染色

以 上