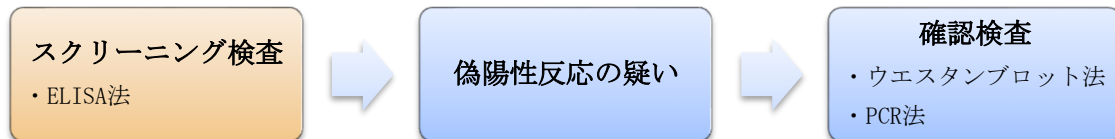


ELISA 法 (特定原材料に準ずるもの)

1 食物アレルギー検査(特定原材料)の流れ

“特定原材料に準ずるもの”には定められた検査法がありませんので、例として特定原材料の検査法を示します。

食品表示基準について(平成27年消食表第139号)別添「アレルギーを含む食品の検査方法」では、ELISA法を用いたスクリーニング検査を最初の実施します。得られた検査結果について偽陽性反応^{*1}が疑われる場合、ウエスタンブロット法やPCR法を用いた確認検査を追加^{*2}で実施します。



このことから、“特定原材料に準ずるもの”の検査においても、ELISA法での検査が可能な検査対象については、ELISA法を用いた検査からの実施をお勧めします。

*1 ELISA法の特性として、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 “特定原材料に準ずるもの”で確認検査を実施する場合、PCR法を用いた検査となります。また、確認検査を追加でご依頼いただく場合には、別途費用が発生いたします。

2 検査対象と検査キット

タンパク質を指標とした検査を行います。定量範囲は、1.0～20.0 $\mu\text{g/g}$ です。

検査対象	検査キット
大豆	FASTKIT エライザ Ver. III シリーズ[日本ハム株式会社]

特定原材料に準ずるものに指定された原材料のうち、ELISA法での検査が可能なものは大豆のみとさせていただきます(2024年8月現在)。

3 検査結果

検査結果が定量下限を下回る場合は、「検出せず」としてご報告します。

検査対象タンパク質が検出され、その値が定量範囲内であった場合は、得られた数値をご報告します。

検査対象タンパク質が検出され、その値が定量範囲の上限を超える場合は「20.0 μ g/g以上」としてご報告します。

4 検体必要量

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

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ないため、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 ELISA法(サンドイッチ法)の一般的な原理

ELISAは、Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay(酵素免疫測定法)の頭文字を取った略称です。抗原抗体反応を利用して対象タンパク質を検出します。

① プレートに固相化された抗体が対象タンパク質(抗原)を捕捉

↓

② 捕捉された対象タンパク質に酵素標識した抗体が結合

↓

③ 酵素基質との酵素反応により発色

↓

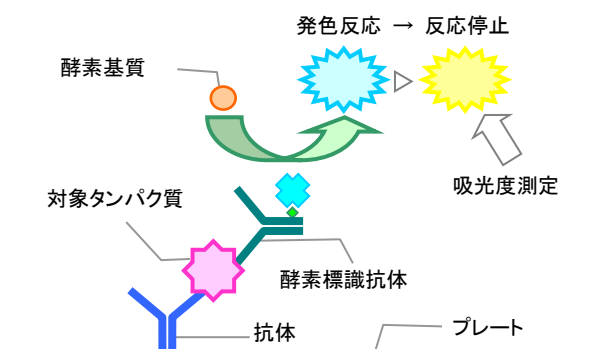
④ 反応停止液を加えて反応停止

↓

⑤ 発色強度を吸光度として測定

↓

⑥ 作成した検量線から対象タンパク質濃度を算出



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 ELISA

↓

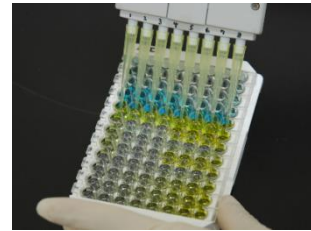
④ 測定結果の解析(吸光度測定, 検量線の作成, タンパク質濃度の算出)



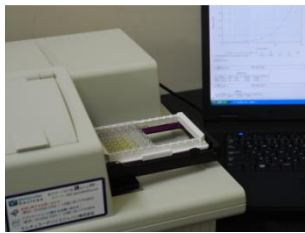
均質化



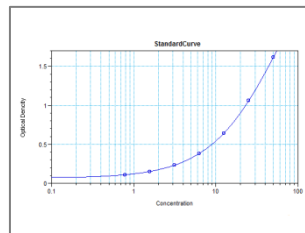
振とう抽出



ELISA



吸光度測定



検量線

以 上