

厚生労働科学研究補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)

分担研究報告書

ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究

(3) 食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究

(3-1) 表面プラズモン共鳴センサーを用いた市販魚中のダイオキシン類スクリーニング法

分担研究者 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

**研究要旨**

表面プラズモン共鳴センサー装置(ピアコア)を用いた、市販魚中のダイオキシン類に対するスクリーニング法を検討した。コプラナーPCBs に対するスクリーニング法として、抗 PCB 118 モノクローナル抗体(抗 PCB 118 抗体)を使用した競合法を確立した。センサーチップに PCB 類似体-牛アルブミン結合物を固定化し、抗 PCB 118 抗体と測定試料を競合させ、チップ上に結合した抗体を検出した。前処理した試料の測定時間は1試料あたり約12 minであった。PCB 118 に対する定量下限は100 ng/ml であり、魚試料を20 g を使用した場合の試料における定量下限は1 ng PCB 118/g であった。しかし、前処理した魚試料液に対する PCB 118 の添加回収率は低く、マトリックスによる影響が示唆された。そこで測定試料は希釈系列をとり測定し、最も希釈率の大きい試料の測定値を用いて試料濃度を算出した。7 検体の魚試料に対して本法を適用し、同じ抗 PCB 118 抗体を使用した酵素免疫測定法(ELISA)と比較試験を行った。その結果、両者の定量値は良く一致し、本法は ELISA と同等の測定能を有することが示唆された。さらに10 検体の魚試料に対して HRGC/HRMS と比較試験を行った結果、コプラナーPCBs の毒性等量値と比較的良好な相関( $r = 0.89$ )が認められ、スクリーニング法として期待できた。しかし、魚の種類(スズキ)によっては、他の魚試料と比較し高めの定量値が得られる傾向があり、注意が必要であった。

また、ダイオキシン類(コプラナーPCBs 及び PCDD/Fs)に対するスクリーニング法として、芳香族炭化水素受容体(AhR)への結合活性に基づく測定法の予備的検討を行った。センサーチップにダイオキシン応答配列 DNA を固定化し、2,3,7,8-TCDD、AhR 及び結合に必要なコファクターを添加し、チップ上に結合した TCDD-AhR 複合物の検出を試みた。しかし、TCDD 濃度に依存したシグナルの上昇は認められず、測定系を再検討する必要があった。

**研究協力者**

国立医薬品食品衛生研究所・食品部  
佐々木久美子

ン類に対するスクリーニング法が開発できれば、食品衛生上有意義である。魚などの食品を対象にしたダイオキシン類のスクリーニング法としては、培養細胞を用いたレポータージーンアッセイや酵素免疫測定法(ELISA)が早くから検討されている。しかし、前処理した試料の測定に半日から数日を要することから、更

**A. 研究目的**

我が国では、魚を介したダイオキシン類の摂取量が多いため、市販魚におけるダイオキシ

なる測定時間の迅速化が望まれている。近年、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance, SPR) センサーを用いたバイオセンサーの開発が、食品の分野で活発に行われている<sup>1)</sup>。SPR センサー装置としてはピアコア (ピアコア(株)) が良く使用されており、食品中の抗生物質やビタミンの測定などに利用されている。本法は抗原 - 抗体反応などの生体分子の相互作用をラベルフリーかつリアルタイムに測定できることから、短時間 (数分 ~ 10 分程度) で測定できる特徴を有している。

我々は、抗 PCB 118 モノクローナル抗体 (抗 PCB 118 抗体) を使用した ELISA が、市販魚中のコプラナー PCBs のスクリーニング法として有用であることを明らかにした<sup>2-4)</sup>。しかし、前処理した魚試料の測定に 3 時程度を要し、更なる測定迅速化が望まれていた。そこで、抗 PCB 118 抗体によるスクリーニング法の開発をピアコアにより検討し、バリデーションデータの作製を行った。また、ダイオキシン類 (コプラナー PCBs 及び PCDD/Fs) に対するスクリーニング法の予備的検討として、芳香族炭化水素受容体 (AhR) への結合活性を利用した測定法について、検量線の作製を試みた。

## B. 研究方法

### 1. 試薬

ジクロロメタン、ヘキサン、メタノールはダイオキシン類分析用 (関東化学 (株)) を使用した。DMSO (anhydrous, 99.9+%) はシグマ アルドリッチ ジャパン (株) より購入した。多層シリカゲルカラム (ガラス製 4 層) はジーエルサイエンス (株) より購入した。アルミナカラムはガイドライン<sup>5)</sup> に従い作製した。活性炭分散シリカゲルカラムは、関東化学 (株) より購入した。ダイオキシン類標準品は和光純薬工業 (株)、AccuStandard 社製、又は Wellington 社製を使用した。

HBS-EP buffer (10 mM HEPES pH7.4, 150

mM NaCl, 3mM EDTA, 0.005% Surfactant P20)、アミノカップリングキット、センサーチップ CM5 (カルボキシメチル基を導入したデキストランを固定化したタイプ)、センサーチップ SA (ストレプトアビジン固定化したタイプ)、50 mM NaOH はピアコア (株) より購入した。

PCB 類似体 - 牛アルブミン結合物 (PCB-BSA)、抗 PCB 118 抗体、ELISA キット (コプラナー PCB-EIA システム) は (株) エンバイオテック・ラボラトリーズより購入した。

ダイオキシン応答配列 DNA (dioxin response element, DRE)、Cytosol (AhR を含む)、AhR nuclear translocator (ARNT extract) 及び Activator は Ah イムノアッセイキット (株) クボタの構成試薬を使用した。

### 2. 試料

魚試料は、東京都内のスーパーマーケットで購入したものを、ホモジナイザーで均一化し使用した。

### 3. 装置

ホモジナイザーは (株) 日本精機製作所製マルチブレンダーミルを用いた。SPR 測定装置はピアコア (株) のピアコア 3000 を使用した。また、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HRGC/HRMS) は日本電子製 (JMS-700) を使用した。

### 4. 前処理

均一化した試料 (20 g) を採取し、2 M 水酸化カリウム水溶液 (100 ml) を加え、室温で一晩放置 (約 16 hr) しアルカリ分解を行った。アルカリ分解液はメタノール (150 ml) を加えた後、ヘキサン (100 ml) で振とう抽出 (10 min × 3 回) を行った。抽出液は 2% (w/v) 塩化ナトリウム水溶液 (150 ml) で 2 回洗浄後、濃硫酸を加え硫酸処理を行った。硫酸層の着色が薄くなるまで数回繰り返し洗浄した後、2% 塩化ナトリウム水溶液 (50 ml) で 2 回洗浄し、さらにヘキサン

洗浄水(50 ml)で1回洗浄した。その後、多層シリカゲルカラムに負荷し、ヘキサン(200 ml)により溶出した。溶出液は、さらにアルミナカラムに添加し、ヘキサン(150 ml)で洗浄後、2% (v/v)ジクロロメタン/ヘキサン(150 ml)により第1分画(モノオルト PCBs)を溶出、60%(v/v)ジクロロメタン/ヘキサン(200 ml)により第2分画(ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs)を溶出した。PCB 118 が含まれる第1分画は DMSO (200  $\mu$ l)に置換し、遠心操作後(12,000 rpm、5min)、上清をピアコアに供した。また、多層シリカゲルカラム後に活性炭分散シリカゲルカラム処理を行う精製法についても検討した。多層シリカゲルカラムからの溶出液を、活性炭分散シリカゲルに添加後、室温で放置(約 30 min)した。ヘキサン(50 ml)で洗浄後、25% (v/v)ジクロロメタン/ヘキサン(50 ml)により第1分画(モノオルト PCBs)を溶出、トルエン(50 ml)により第2分画(ノンオルト PCBs 及び PCDD/Fs)を溶出した。PCB 118 を含む第1分画は DMSO(200  $\mu$ l)に置換し、遠心操作後(12,000 rpm、5min)、上清をピアコアに供した。図1には本前処理法のフローチャートを示した。

## 5. センサーチップへの固定化

### (1)PCB-BSA の固定化

CM5 センサーチップのフローセル(4本のうちの1本)に、アミンカップリングキットを使用して PCB-BSA を固定化した。固定化時のセンサーチップ部の温度は 25 $^{\circ}$ C に設定することが多いが、固定化量を多くするため 37 $^{\circ}$ C に設定した。HBS-EP を移動層(10  $\mu$ l/min)とし、キット付属の EDC と NHS の等量混合液を注入(70  $\mu$ l)し、センサーチップ表面の活性化を行った。その後、PCB-BSA を酢酸バッファー(pH 4.0)で 40 倍に希釈し、注入(70  $\mu$ l)した。さらに、残余の活性型 NHS 基をブロッキングするため、エタノールアミン(1 mol/L)を注入(70  $\mu$ l)した。固定化後、センサーチップ部の温度を 25 $^{\circ}$ C に

下げ、流速を 60  $\mu$ l/min にあげて、50mM NaOH 水溶液を注入(5  $\mu$ l)し、固定化したチップの安定化を行った。

### (2)DRE の固定化

SA センサーチップのフローセル(4本のうちの1本)に、ビオチン化 DRE を固定化した。固定化時のセンサーチップ部の温度は 25 $^{\circ}$ C に設定した。HBS-EP を移動層(10  $\mu$ l/min)とし、50 mM NaOH 水溶液と 2 M NaCl 水溶液の等量混合液を注入(5  $\mu$ l)し、チップのコンディショニングを行った。その後、ビオチン化 DRE を 1 M NaCl 水溶液で 10 倍希釈し、注入(15  $\mu$ l)した。固定化後、1 M NaCl 水溶液を注入(5  $\mu$ l)し、固定化したチップの安定化を行った。

## 6. ピアコアによる測定

### (1)コプラナーPCBs 測定法

PCB-BSA を固定化した CM5 センサーチップを使用し、センサーチップ部の温度は 25 $^{\circ}$ C に設定した。HBS-EP:DMSO=9:1 を移動層(20  $\mu$ l/min)とし、抗 PCB 118 抗体(5.5  $\mu$ g/ml in HBS-EP)と測定試料(DMSO 溶液)をオートサンプラーで混合後(混合比 9:1)、40  $\mu$ l を kinject コマンドで注入した。また、チップに対する非特異的な吸着を考慮するため、何も固定化していないフローセル(リファレンスセル)に対しても同時に試料を注入した。固定化物に結合した抗 PCB 118 抗体のレスポンス(RU)は、注入終了後 15 秒に読み取った。なお、測定試料の RU は、固定化セルに対する RU からリファレンスセルに対する RU を差し引いて算出した。注入後、高濃度汚染試料のキャリアオーバーを防ぐため、mix コマンドを使用し DMSO でニードル等を洗浄した。続いて、流速を 60  $\mu$ l/min に上げ、50 mM NaOH 水溶液を注入(5  $\mu$ l)しセンサーチップの再生処理を行った。再生処理後、試料を変えて、上記の測定操作を繰り返した。なお、再生処理の繰り返しのに伴い PCB-BSA の固定化量が若干、低下していく現象が認められた。本研究では、固定

化量が 500 ~ 1200 RU の範囲内で全ての実験を行った。標準溶液 (PCB 118) は各濃度について 2 回の測定を行い、検量線は 4 パラメーターロジスティック回帰により近似した。本法の測定原理を、図 2(a) に示した。

## (2) ダイオキシン類測定法

DRE を固定化した SA センサーチップを使用し、センサーチップ部の温度は 25°C に設定した。Ah イムノアッセイキットに付属している Cytosol 溶液 (AhR を含む)、Activator 及び ARNT extract を混合後 (混合比 60:3:1)、標準溶液 (2,3,7,8-TCDD DMSO 溶液) を添加 (1/100 量) した。室温で 20 分程度放置した後、HBS-EP を移動層 (20 µl/min) とし、20 µl を kinject コマンドで注入した。また、センサーチップに対する非特異的な吸着を考慮するため、何も固定化していないフローセル (リファレンスセル) に対しても同時に試料を注入した。固定化 DRE に結合した AhR-TCDD 複合物の RU を、注入終了後 15 秒に読み取った。なお、測定試料の RU は、固定化セルに対する RU からリファレンスセルに対する RU を差し引いて算出した。標準溶液は各濃度について 2 回の測定を行った。本法の測定原理を、図 2(b) に示した。

## 7. ELISA

抗 PCB 118 抗体を用いた ELISA キットを、説明書<sup>6)</sup>に従い使用した。

## 8. HRGC/HRMS 分析

既報<sup>7)</sup>に従い、ダイオキシン類を定量した。

## C. 研究結果及び考察

### 1. コプラナー PCBs 測定法

#### (1) 検量線の定量範囲

検量線の定量範囲を設定するため、標準溶液 (PCB 118) の繰り返し測定を行った。50 ~ 600 ng/ml の標準溶液を、異なる日に繰り返

し測定した (表 1)。100 ~ 600 ng/ml の間では変動係数が 5% 以内、定量値も真値から ± 10% 以内におさまり、良好な精度及び正確度であった。そこで、100 ng/ml を定量下限、600 ng/ml を定量上限に設定した。魚試料 20 g を使用した場合、試料中の定量下限値は 1 ng/g (PCB 118 換算量) であった。検量線の一例を、図 3 に示した。

#### (2) 交差反応性

本法のコプラナー PCBs に対する交差反応性について検討した。既知濃度の各異性体を測定し、検量線から得られた PCB 118 換算濃度を、各異性体の実濃度と比較し交差反応性を算出した (表 2)。本法は PCB 77、PCB 105、PCB 114 及び PCB 156 に若干の交差反応性 (9.8 ~ 40.3%) を示したが、それ以外のコプラナー PCBs 異性体に対しては極めて低い交差反応性であった (< 2.7%)。抗 PCB 118 抗体を使用した ELISA の交差反応性と比較すると、PCB 77、PCB 105、PCB 114 及び PCB 156 に対して数倍高い交差反応性が得られているが、全体的な交差反応性の傾向は類似していた。

#### (3) マトリックスの影響

前処理後の魚試料に含まれマトリックスの影響を検討するため、添加回収試験及び希釈直線性試験を行った。添加回収試験では、前処理済みの魚試料液に対し既知濃度の PCB 118 を添加し、本法により測定した (表 3)。また、前処理操作として多層カラム後に、アルミナカラムあるいは活性炭カラムによる精製操作を検討した。数種類の魚試料について試験した結果、全体的に回収率は悪かったが、前処理試料を希釈した場合は回収率が改善される傾向が認められた。アルミナカラム処理と活性炭カラム処理による顕著な回収率の違いは認められなかった。操作ブランク試料では良好な回収率が得られていることから、魚試料中のマトリックスが測定に影響していることが示唆され

た。

さらに、前処理済みの魚試料液を使用した希釈直線性試験を行った。魚試料液を DMSO で段階希釈し、希釈測定時の定量値を初期濃度と比較した(図 4)。その結果、希釈操作により得られる定量値が最大 2 倍程度増加する場合があります、添加回収試験結果と同様にマトリックスの影響が疑われた。また、アルミナカラム処理と活性炭カラム処理の結果には顕著な違いは認められなかった。

以上の結果から、測定時のマトリックスの影響を可能な限り低く抑えるため、魚試料を測定する際は希釈系列をとり、希釈率が最も高い試料で得られた定量値から試料濃度を算出した。なお、以後の実験では多層カラム後の精製操作としてアルミナカラム処理を選択した。

#### (4)再現性試験

本法の測定再現性について検討するため、同一の魚試料の分析を複数回行った。まず、同一の前処理済み魚試料液について、連続測定した(表 4-1)。4 回連続して測定した結果、全ての魚試料で定量値の変動係数は極めて低かった(< 3.7%)。次に、同一の前処理済みの魚試料について、異なった日に分析を行った(表 4-2)。連続測定の場合と同様に、全ての試料で定量値の変動係数は極めて低かった(< 3.5%)。さらに、同一の魚試料を使用し、前処理から測定までの一連の操作を異なる日に複数回行った(表 4-3)。その場合でも、全ての試料で定量値の変動係数は低かった(< 5.9%)。以上のように、本法の測定再現性は優れていたことから、魚試料の測定回数は 1 回とした。

#### (5)ELISA 及び HRGC/HRMS 分析との比較試験

本法の定量値と、同じ抗体を使用した ELISA の定量値を比較するため、市販魚試料(7 試

料)について比較試験を行った。その結果、両者で得られた定量値は良く一致した(図 5)。本 ELISA は魚試料中のコブラナー PCBs を、良好に測定できることが既報<sup>2-4)</sup>により明らかにされていることから、本法もコブラナー PCBs 測定において良好な性能を有すると考えられる。

次に本法の定量値を、HRGC/HRMS の PCB 118 定量値と比較した。本法はスズキの 2 試料で高めの値が得られたが、その他の魚試料では PCB 118 の定量値に概ね近い値を示した(図 6(a))。本法の定量値が PCB 118 定量値より大きくなる理由としては、コブラナー PCBs 以外の PCBs に交差反応していることが考えられる。測定分画に含まれる PCB 118 以外のコブラナー PCBs(PCB 105、PCB 114 及び PCB 156)に対しても若干の交差反応性を示すが(表 2)、これらのコブラナー PCBs 濃度は魚試料中では PCB 118 濃度と比較し著しく低い(数分の一から数十分の一程度)。従って、PCB 118 以外のコブラナー PCBs が定量値に大きく影響しているとは考えにくい。本抗体はコブラナー PCBs 以外の PCBs である PCB 31、PCB 66 及び PCB 70 に対しても、ELISA で若干の交差反応性(12.9-15.2% of PCB 118)を示すことが報告されている<sup>6)</sup>。仮にこれらの異性体が最終検液に多量に含まれた場合、本法の定量値を上昇させる可能性が高い。なお本研究では、コブラナー PCBs に分類されない PCB 31、PCB 66 及び PCB 70 の HRGC/HRMS 分析は行っていないため、これらの異性体の試料中濃度は不明である。

さらに本法の定量値を、HRGC/HRMS 分析のコブラナー PCBs 毒性等量値と比較した。比較的良好的な相関( $r = 0.89$ )が認められ、本法は毒性等量濃度を推測するスクリーニング法として期待できた。しかし、魚の種類(スズキ)によっては、その他の魚試料と比較し高い定量値が得られる傾向があり、注意が必要であった。今後はより多数の比較検体の測定を行

い、本法の実用性を明らかにしていく必要がある。また、現段階ではマトリックスの影響を軽減するため、希釈系列をとり試料を測定する必要がある。従って、試料数が多くなった場合、ELISA より測定時間が長くなり、迅速性が失われる点が今後の検討課題である。

## 2. ダイオキシン類測定法

AhR を使用したダイオキシン類測定法の予備的検討として、検量線の作製を試みた。各濃度に希釈した標準溶液(2,3,7,8-TCDD)を分析したが、濃度依存的なレスポンスの増加は認められなかった(図 7)。詳細な検討は行っておらず、原因は不明である。AhR と標準溶液のインキュベーション時間、複合物に対する抗体(抗 ARNT 抗体)の使用等を検討し、測定系を再検討する必要があると考えられる。

## D. 結論

- 1) 本法は魚試料中のコプラナーPCBs を、比較的良好に短時間で測定することが可能であった。
- 2) 従来法(HRGC/HRMS 分析)と良い相関が得られたことから、魚中のコプラナーPCBs の毒性等量濃度を推測するスクリーニング法として期待できた。しかし、一部の魚種(スズキ)では他の魚と比較して高い定量値が得られるため、注意が必要であった。
- 3) AhR を使用したダイオキシン類の測定法については、検量線の作製ができなかった。予備的な検討に止まっており、今後検討の余地がある。

## E. 参考文献

- 1) Patel PD. Overview of affinity biosensors in food analysis. J. AOAC Int., 89(2006) 805-818.
- 2) 平成 15 年度厚生労働科学研究費補助

金研究報告書「ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究」(分担報告書 3-1 ELISA による市販魚中のコプラナーPCBs 及び総 PCBs のスクリーニング法の開発)

- 3) 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金研究報告書「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究」(分担報告書 3-1 PCB ELISA と Ah イムノアッセイによる市販魚中のダイオキシン類のスクリーニング法)

- 4) Tsutsumi T, Amakura Y, Okuyama A, Tanioka Y, Sakata K, Sasaki K, Maitani T. Application of an ELISA for PCB 118 to the screening of dioxin-like PCBs in retail fish. Chemosphere, 65(2006)467-473.

- 5) 厚生省生活衛生局“食品中のダイオキシン類及びコプラナーPCB の測定方法暫定ガイドライン”平成 11 年 10 月

- 6) EnBio Coplanar PCB EIA system Instruction booklet. Chiyoda Parion Bldg., 6th Floor, 2-3-16 Kanda Suda-cho, Chiyoda-Ku, Tokyo 101-0041, Japan.

- 7) 平成 13 年度厚生科学研究費補助金研究報告書「ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究」(分担報告書 1-2 ダイオキシン類の迅速測定法の開発及び分析の精密化に関する研究)

## F. 研究業績

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 堤 智昭、三好紀子、佐々木久美子、米谷民雄: 表面プラズモン共鳴センサーを用いた市販魚中のコプラナーPCBs スクリーニング法. 第 16 回環境化学討論会(2007.6) 国立医薬品食品衛生研究所

表1 PCB 118の測定精度及び正確度

PCB 118 Conc. ng/ml	PCB 118 found ( <i>n</i> =6)		
	Mean ± SD ng/ml	CV %	Bias %
50	48.5 ± 14.7	30.4	-3.0
100	101.3 ± 2.6	2.6	1.3
200	198.1 ± 2.7	1.4	-1.0
300	315.3 ± 8.8	2.8	5.1
450	463.6 ± 7.8	1.7	3.0
600	566.7 ± 10.3	1.8	-5.6

1) 標準溶液を異なった日に複数回測定した時の精度及び正確度を示す。

表2 コプラナーPCBsに対する交差反応性

PCB isomers	Cross-reactivities (%)		
	ピアコア <sup>1)</sup>	ELISA <sup>2)</sup>	
ノノールト	PCB 77	40.3	17.8
	PCB 81	2.7	<3.0
	PCB 126	1.5	<3.0
	PCB 169	<1.0	<0.1
モノールト	PCB 105	10.3	2.5
	PCB 114	9.8	3.4
	PCB 118	100	100
	PCB 123	<1.0	<0.1
	PCB 156	33.2	7.2
	PCB 157	<1.0	<0.1
	PCB 167	<1.0	<0.1
	PCB 189	<1.0	<0.1

1) PCB 118換算濃度の実濃度に対する割合 (%) を算出した。

2) ELISAキット (EnBio Coplanar PCB EIA system) のパンフレット<sup>6)</sup>より引用した。

**表3 前処理済の魚試料液に対する添加回収試験<sup>1)</sup>**

サンプル	希釈倍率	PCB 118 添加濃度 ng/ml	回収率 (%)	
			アルミナカラム処理	活性炭カラム処理
操作ブランク	-	100	99.6	93.9
		200	95.4	93.7
ブリ	-	200	51.8	33.4
	2	200	66.6	46.1
	4	200	77.2	63.5
サーモン	-	200	66.3	73.3
	2	200	77.2	85.4
スズキ	4	200	60.5	63.6

1) 前処理した試料溶液に既知濃度のPCB118を添加し、ピアコアにより測定した。未添加の試料溶液に定量下限以上の測定値が得られた場合は、ブランク値として差し引いて回収率を算出した。

**表4 ピアコアによる魚試料測定の実現性**

**4-1 連続測定した場合の定量値の実現性**

サンプル	希釈率	ピアコア, ng/ml						
		1st	2nd	3rd	4th	Mean	SD	CV (%)
スズキ#1	8	124	127	128	125	126	1.8	1.4
スズキ#2	16	136	133	134	144	137	5.0	3.7
サーモン	2	116	113	113	116	115	1.7	1.5

前処理済の同一の魚試料液を、連続してピアコアにより分析した。定量値は同一の検量線を用いて算出した。

**4-2 異なる日に分析した場合の定量値の実現性**

サンプル	希釈率	ピアコア, ng/ml						
		1st	2nd	3rd	4th	Mean	SD	CV (%)
スズキ#1	8	128	124	130	133	129	3.8	2.9
スズキ#2	16	136	125	131	129	130	4.6	3.5
サーモン	2	116	116	122	116	118	3.0	2.6

前処理済の同一の試料液を、異なる日にピアコアにより分析した。定量値は各測定日に作製した検量線を用いて算出した。

**4-3 前処理も含めた一連の操作を行った場合の定量値の実現性**

サンプル	希釈率	ピアコア, ng/ml						
		1st	2nd	3rd	4th	Mean	SD	CV (%)
スズキ#1	8	142	139	128	126	134	7.9	5.9
サーモン	2	116	127	128	124	124	5.4	4.4

同一の魚試料を使用して、前処理から測定までの一連の操作を異なる日に実施した。定量値は各測定日に作製した検量線を用いて算出した。また、1、2回目と3、4回目の測定では、固定化日が異なるセンサーチップを使用した。

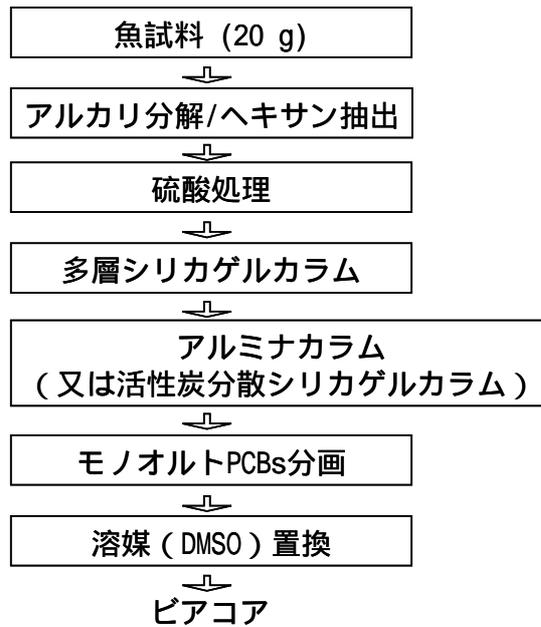
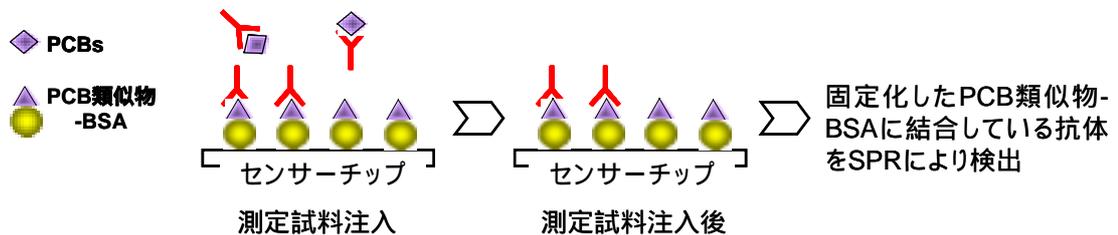


図1 コプラナーPCBs測定のための前処理方法

(a) 抗PCB 118抗体を使用したコプラナーPCBs測定法



(b) AhRを使用したダイオキシン類測定法

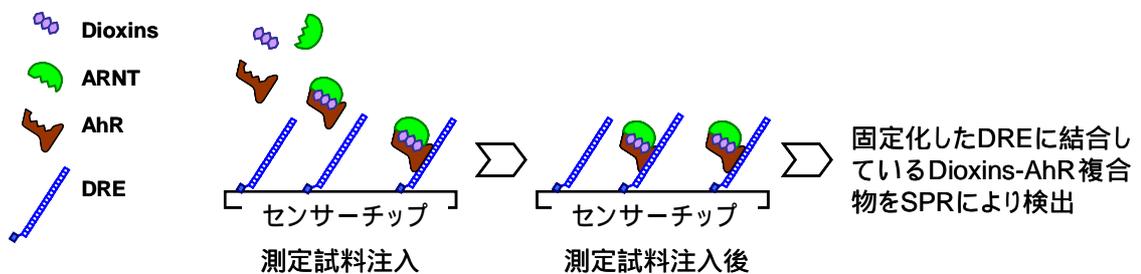


図2 ピアコアを使用したダイオキシン類測定法

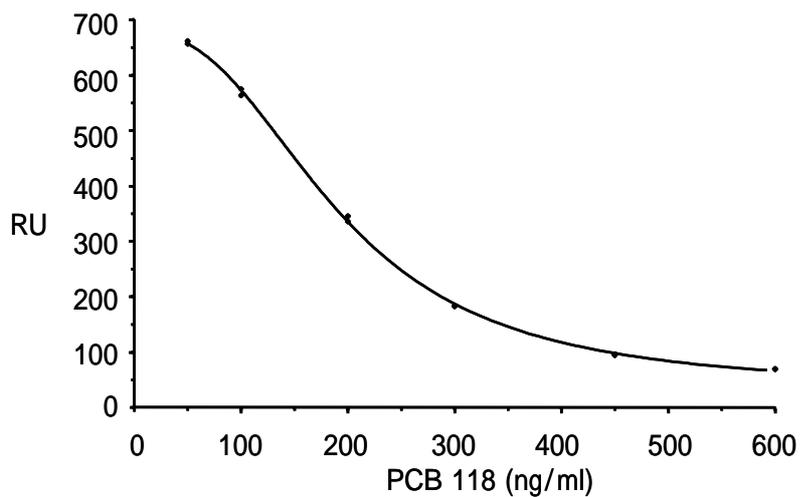


図3 PCB 118標準曲線

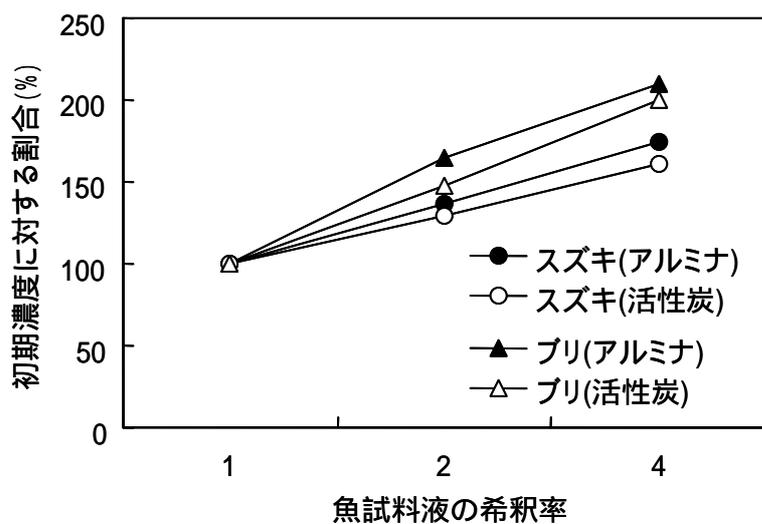


図4 希釈直線性試験

前処理をした魚試料液をDMSOで2倍系列に希釈し、ピアコアで測定した。

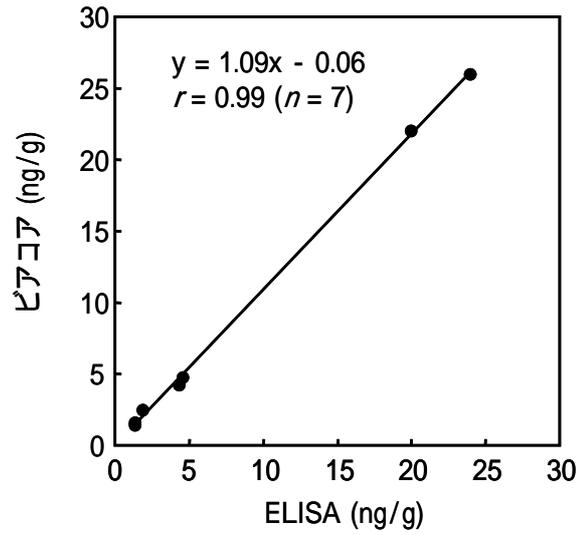


図5 魚試料におけるピアコアとELISAの定量値の比較

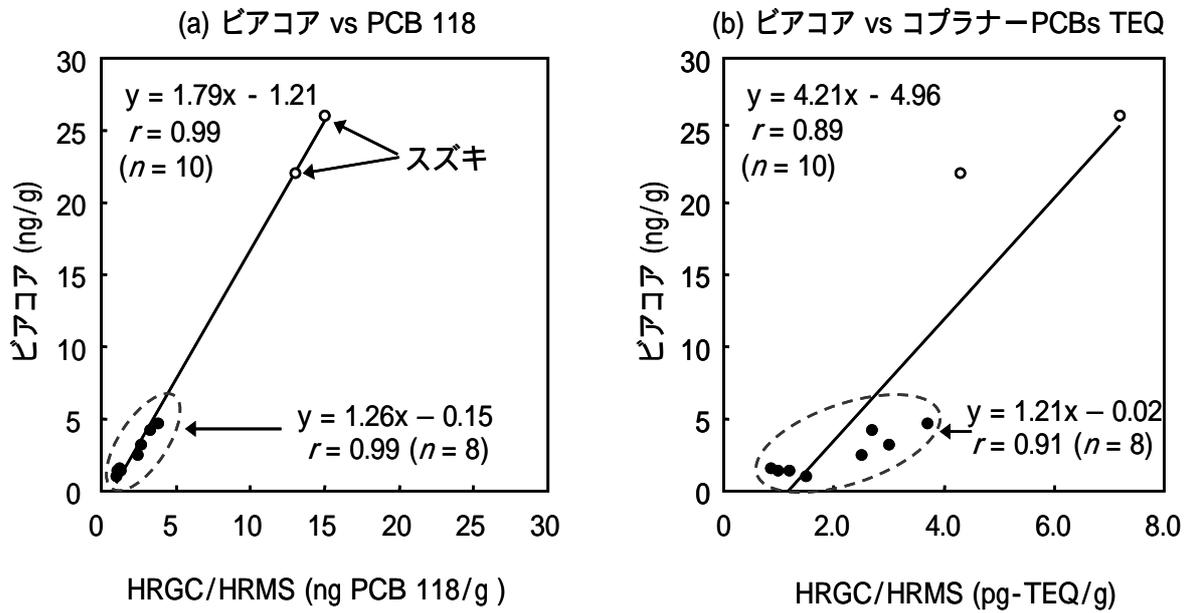


図6 魚試料におけるピアコアとHRGC/HRMSの定量値の比較

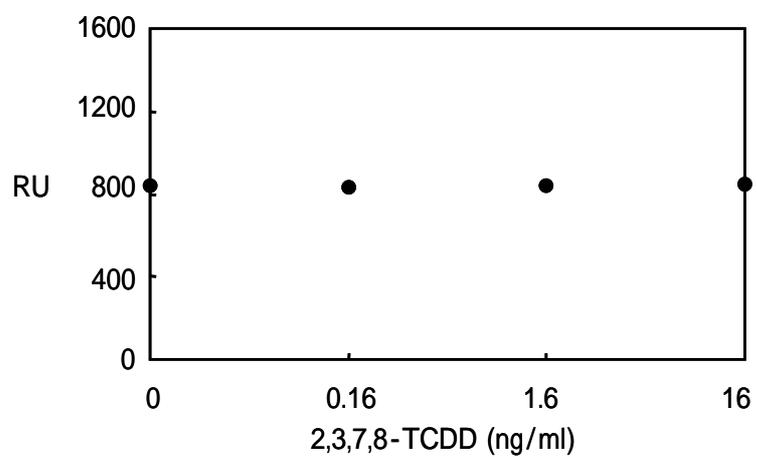


図7 2,3,7,8-TCDD 標準溶液から得られたレスポンス