

他誌掲載論文抄録

(令和3年4月～令和4年3月)

合成樹脂製の器具・容器包装における溶出試験の精度の検証

尾崎麻子(大阪健安基研), 六鹿元雄(国衛研), 岸映里(大阪健安基研), 阿部智之(日食衛協), 阿部裕(国衛研), 安藤景子(長野県環境研), 石原絹代(日食分セ), 牛山温子(川崎市健安研), 内田晋作(日穀検), 大坂郁恵(埼玉衛研), 大野浩之(名古屋市衛研), 風間貴充(日食分セ), 加藤千佳(愛知衛研), 小林尚(食分開セ), 佐藤環(福岡保環研), 柴田博(顕微鏡院), 関戸晴子(神奈川県衛研), 高島秀夫(化研評機), 田中葵(日海検), 外岡大幸(さいたま市衛研), 花澤耕太郎(食環検協), 山口未来(国衛研), 山田悟志(日食検), 吉川光英(東京都健安研), 渡辺一成(化研評機), 佐藤恭子(国衛研)

食品衛生学雑誌, 63, 51-61 (2022)

溶出試験は器具・容器包装の規格適合性や安全性を確認するうえで重要な試験法であるが, 溶出操作から定量までを含めた溶出試験全体の試験室間共同試験はほとんど実施されていない。そこで, 22機関が参加し, 広範なオクタノール/水分分配係数を有する10物質を添加した8種類の合成樹脂製モデル試料を用いて試験室間共同試験を行い溶出試験全体の精度を検証した。その結果, HorRat(r)は大部分が基準を満たしたが, HorRat(R)は基準を超過したものが多かった。そのため, 単一試験室で行うには精度は概ね確保されるが, 試験室間の精度には問題があった。この主な原因としては, 試験機関間における溶出操作時の温度や時間管理等の試験溶液の調製操作の差異によるものと考えられた。

大豆タンパク質の定量に及ぼす調理・加工の影響

渡邊裕子, 秋山晴代(帝京平成大学), 大澤伸彦(前川崎市健康研), 井村香織(相模原市衛研), 伊関直美(相模原市衛研), 植田壽美子(相模原市衛研), 政岡智佳, 赤星千絵(川崎市健安研)

食品衛生学雑誌62(6),193-202(2021)

大豆の調理・加工によるタンパク質定量への影響を検討した。リン酸緩衝食塩水抽出画分はピシンコニン酸法で測定し, ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)と2-メルカプトエタノール(ME)含有緩衝液抽出画分は2-D

Quant Kitで測定し, 各画分のSDSポリアクリルアミド電気泳動分析を行い, さらに各種ELISAで測定を行った。豆腐調理過程では浸漬大豆と生呉でタンパク質濃度が変動し, 試料均一化時の水分量によるタンパク質溶解性の変動が要因と考えられた。豆乳作製時の生呉の加熱でのタンパク質濃度の低下は熱変性を表すと考えられた。豆腐ではSDS, ME抽出による測定系への影響が考えられた。加熱調理では炒り豆を除き50kDa付近以上と20kDa付近のタンパク質が変性し, 2度揚げ豆腐で40kDa付近のタンパク質が変性したが, 煮豆を除いたタンパク質濃度は低下しなかった。さらに炒り豆, ゆば, 炒りおから, 揚げ豆腐では調理時間に伴いタンパク質濃度が増加したことから, 水分の低下に伴いタンパク質の変性温度が高温にシフトしたと考えられた。食品表示法に準拠した2種のELISAは大豆調理加工品や納豆を除いた発酵食品, 健康食品中のタンパク質とペプチドを検出し, 大豆タンパク質の検出に有用であった。

Gene Expression Over Time During Cell Transformation Due to Non-Genotoxic Carcinogen Treatment of Bhas 42 Cells

Kiyomi Ohmori^{1,2*}, Asuka Kamei³, Yuki Watanabe⁴ and Keiko Abe^{3,5}

¹ Chemical Division, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

² Research Initiatives and Promotion Organization, Yokohama National University

³ Group for Food Functionality Assessment, Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology

⁴ Health and Anti-Aging Project, Kanagawa Academy of Science and Technology

⁵ Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

* Corresponding author

International Journal of Molecular Sciences, 23, 3216, 2022

Bhas 42細胞形質転換試験 (Bhas 42 CTA) は、遺伝子毒性発がん物質 (NGTxC) を含む腫瘍促進化合物による細胞形質転換を遺伝子毒性発がん物質とは区別して検出するための特定のツールとして、経済協力開発機構 (OECD) で認定された唯一の試験法である。この試験法は、腫瘍性形質転換の表現型検出を可能にするという大きな利点を提供する。非遺伝毒性発がん物質を含む腫瘍促進化合物の細胞形質転換メカニズムの研究に Bhas42CTA を使用することの主な利点は、Bhas 42細胞は、*v-Ha-ras* 遺伝子がマウス線維芽細胞にトランスフェクトされた細胞株であるため、腫瘍開始化合物による処理を要することなく、被験物質の細胞形質転換活性を直接検出できることである。完全繰り返し実験 3 回の Bhas 42CTA において、腫瘍促進化合物であり NGTxC でもある 12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート (TPA) で処理した Bhas 42細胞について、各回での経時的な 4 点の RNA 試料を調製し、DNA マイクロアレイを使用して遺伝子発現変動を解析した。本報告は、NGTxC 単独による細胞形質転換過程での経時的な遺伝子発現を網羅的に解析した最初の論文である。TPA で処理された Bhas42細胞の細胞形質転換過程において活性化または不活性化された経路は、RAS 遺伝子だけでなく、がんの特徴であるさまざまなパスウェイにも直接関連していた。

Deep neural network for the determination of transformed foci in Bhas 42 cell transformation assay

Minami Masumoto¹, Ittetsu Fukuda², Suguru Furihata², Takahiro Arai², Tetsuo Kageyama^{1,3}, Kiyomi Ohmori^{1,4*}, Shinichi Shirakawa², Junichi Fukuda^{1,3*}

¹ Faculty of Engineering, Yokohama National University

² Graduate School of Environment and Information Sciences

³ Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology

⁴ Kanagawa Prefectural Institute of Public Health
* Corresponding author

Scientific Reports, 11 : 23344, 2021

Bhas 42細胞形質転換試験は、Bhas 42細胞に発がん物質をばく露し、コンフルエントな単層上に形質転換巣と呼ばれるフォーカスを形成することにより、化学物質の発がん性を予測する目的で使用されている。形質転換フォーカスは、形態学的基準により訓練を受けた専門家によって分類および定量化される。この試験法は国際的

な検証研究によって認定され、OECDによってガイダンス文書として発行されているが、個々の形質転換フォーカスの分類には人手や時間を要し、精度の高い判定には教育訓練を要する。そこで我々は、ディープニューラルネットワークを使用して、フォーカスをより迅速かつ客観的に分類することを提案する。データセットを取得するために、Bhas42CTAは強力な腫瘍プロモーターである12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテートを処理して実施し、フォーカス画像は専門家が分類した(合計1405枚の画像)。判定のラベル付けを行ったフォーカス画像は、ランダム画像処理で拡張され、畳み込みニューラルネットワーク (CNN) のトレーニングに供した。トレーニングされたCNNは、TPAのテストデータセットで0.95の曲線スコアの下領域を示し、フォーカス分類の初心者による従来法による成果を大幅に上回った。TPA以外の2種の腫瘍プロモーターをテストデータとしたCNNの性能は、AUCが0.87であった。CNNは、フォーカス判定の基本的なツールとして細胞形質転換試験をサポートする可能性がある。

Detectability of papaya, tomato, apple and banana DNA in dried fruit products processed with food additive sulfites

Kiyomi Ohmori¹, Chie Akaboshi², Eiko Sato², Jumpei Narushima³, Shinya Kimata³, Keisuke Soga⁴, Kazunari Kondo⁴, Hiroshi Akiyama⁴, Kousuke Nakamura^{4*}

¹ Chemistry Division, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health

² Kawasaki City Institute for Public Health

³ Food Research Institute

⁴ National Institute of Health Sciences

* Corresponding author

日本食品化学学会誌 28 (3), 107-116, 2021

本研究では、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (リアルタイムPCR) によるドライフルーツに含有するフルーツ由来のデオキシリボ核酸 (DNA) の検出可能性について調査した。ゲノムDNA中に低コピー数存在するパパイヤ内在性遺伝子 (Chymopapain)、トマト内在性遺伝子 (LAT52)、ならびにリンゴ内在性遺伝子 (Apo 5) を標的に、漂白、防腐剤または抗酸化目的に食品添加物亜硫酸塩で処理されたドライフルーツ製品について調査した結果、14製品中13製品のパパイヤドライフルーツ、8製品中8製品のトマトドライフルーツ、3製品中3製品のリンゴドライフルーツから、検出の閾値として設定したCq値40以下で、DNAは検出されなかった。一方で、

ゲノム中に高コピー数存在する内因性遺伝子(18SrDNA)については、同程度の内在性遺伝子の増幅断片長が再現性良く検出された。また、亜硫酸塩の添加の有無にかかわらず、調査したすべてのバナナドライフルーツ製品については、単一コピー数のバナナ内因性遺伝子(BAN)が50 ng DNAを鋳型にCq値22.33~35.80で検出された。以上の結果は、ドライフルーツ製品では、原材料のフルーツと亜硫酸塩が用いられた加工工程の組み合わせによってはDNA収量が不十分で、低コピー数の遺伝子を標的とした場合、リアルタイムPCRを用いたドライフルーツ中の遺伝子組換え食品やアレルゲンを含む食品等の再現性ある検出は困難になる可能性が示唆された。

畜水産物中のキノロン系およびテトラサイクリン系薬剤の一斉分析法

福光 徹, 脇ますみ, 萩尾真人, 林 孝子, 桑原千雅子 (神奈川衛研)

食品衛生学雑誌, 62, 168-174 (2021)

畜水産物中のキノロン系およびテトラサイクリン系薬剤18成分を対象としたLC-MS/MSによる高精度な一斉分析法を確立した。*n*-ヘキサン存在下、EDTA含有クエン酸緩衝液-メタノール-アセトニトリル(3:1:1, v/v/v)混液で試料から対象薬剤を抽出し、Oasis PRiME HLBミニカラムで精製した。本分析法は、*n*-ヘキサンをを用いることで、脂肪を含む固体試料中の対象薬剤も抽出可能であることが示唆された。また、ミニカラムからの溶出液に0.1 vol%ギ酸含有・メタノール-アセトニトリル(3:7, v/v)混液を用いることで、回収率の低下を最小限にしつつ精製効果を向上させることができた。6種類の食品試料を用いて妥当性評価を実施した結果、選択性および添加濃度におけるS/N比は良好であり、真度70.6~113.8%, 併行精度9.0%以下, 室内精度15.5%以下とガイドラインの目標値を満たした。

有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律(有害物質含有家庭用品規制法)における繊維製品中防虫加工剤試験法改定に係る検討

西以和貴, 上村仁, 大嶋智子 (大安研), 菅谷なえ子 (横浜市衛研), 印南佳織 (千葉県衛研), 田畑佳世 (堺市衛研), 河上強志 (国立衛研),

YAKUGAKU ZASSHI, 141(8), 1031-1040 (2021)

わが国では、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律により、繊維製品中の防虫加工剤(ディルドリンおよび4,6-dichloro-7-(2,4,5-trichlorophenoxy)-2-trifluoromethylbenzimidazole; DTTB)の使用が規制されている。これらの薬剤の現公定試験法は約40年前に定められたものであるため、我々は以前の研究で改良した分析法を開発した。本研究では、この改良試験法の妥当性を確認した。3 μg/g(規制値の1/10)と30 μg/g(規制値)に調製したサンプルを6つの検査機関で分析したところ、ほぼ全てのサンプルにおいて高い真度及び精度(真度:70~120%, 併行精度:<10%, 室内精度:<15%)を示し、本法の有効性が確認された。また、規制導入前に実際に市場に流通していた3つのサンプルについても検証を行った。これらのサンプルの分析結果は、検査機関間のばらつきが少なく、本法が実際のサンプルにも適用可能であることが確認された。一方、ある検査機関では定量値が他の検査機関より明らかに低くなっていた。これは、GC-MS分析において、試料マトリックスの内標準物質への影響(マトリックス効果)が大きくなっていることが主な原因と考えられた。そこで、疑似マトリックスとしてポリエチレングリコール300(PEG)を用いた分析方法を検討した。PEGは標準溶液とマトリックス含有溶液のGC-MS応答差を最小化することから、PEGを用いたGC-MS分析は本法におけるマトリックス効果対策に有用であると考えられた。