

ご使用に際しては、本取扱説明書をよくお読み下さい。

[食品中アレルゲン検出用]
アレルゲンチェッカー「小麦」
(PCR プライマーキット)

2002 年 12 月作成



オリエンタル酵母工業株式会社
長浜生物科学研究所
長浜ライフサイエンスラボラトリー(長浜 LSL)

取扱説明書

【特徴】

平成 13 年 4 月の食品衛生法関連法規の改定により平成 14 年 4 月から特定原材料 5 品目(卵, 乳, 小麦, そば, 落花生)についての表示が義務付けられました。また, 平成 14 年 11 月に厚生労働省より特定原材料 5 品目の検査方法について公定法が通知され(「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」食発第 1106001 号, 平成 14 年 11 月 6 日), 小麦, そば, 落花生の 3 品目については PCR(Polymerase Chain Reaction)法による定性試験(確認検査)が採用されています。DNA は加熱耐性が高いため, PCR 法による特定原材料の検知法は加工食品の分析手段として有用です。

本品は, PCR 法による食品中の小麦の遺伝子の検出に必要なプライマー, 植物 DNA 検出用プライマー, および陽性コントロールテンプレートを含む検査キットです。PCR に必要な酵素, バッファー類などは含まれておりません。

小麦検出用プライマーについては, 株式会社 日清製粉グループ本社により, 特許出願されています。

【キットの内容】

小麦検出用キット(100 反応分)

- ・ 25 μ M 小麦検出用 F-primer (Wtr01-5') *
- ・ 25 μ M 小麦検出用 R-primer (Wtr10-3') *
- ・ 25 μ M 植物 DNA 検出用 F-primer (CP03-5') *
- ・ 25 μ M 植物 DNA 検出用 R-primer (CP03-3') *
- ・ 陽性コントロールテンプレート

* ()内は厚生労働省通知法記載の primer の名称

【保存】 -20℃

【有効期限】 製造日より 2 年(使用期限は外装に記載してあります)

【本キット以外に必要な試薬および機器】

- ・ AmpliTaq Gold & 10x PCR buffer II/MgCl₂ with dNTP(アプライドバイオシステムズ社)など
- ・ 滅菌水 (Milli-Q 水をオートクレーブ滅菌したもの)
- ・ マイクロピペット
- ・ PCR 反应用チューブ
- ・ サーマルサイクラー(アプライドバイオシステムズ社, GeneAmp PCR System 9600, 9700 など)

【操作法の例】

本キットのプライマー溶液(-20℃保存)およびその他必要な凍結保存試薬を氷上で融解させ, 攪拌後スピンドウンして氷中に置く。DNA 試料液以外の試薬をあらかじめ必要量(マイクロピペットの精度を考慮して少なくとも 4 本分以上)調製し, PCR 反应用チューブに 22.5 μ L ずつ分注しておく。各 DNA 試料液(2.5 μ L)を添加後, サーマルサイクラーにセットする。反応終了後, 反応液 7.5 μ L をアガロースゲル電気泳動にかけ, PCR 産物のバンドを検出して判定する(小麦: 141 bp, 植物: 124 bp)。

A. 反応組成

	【液量】	【最終濃度】
滅菌水	15.475 μ L	
10x PCR buffer II	2.5	1x
2 mM each dNTP	2.5	0.2 mM
25 mM MgCl ₂	1.5	1.5 mM
25 μ M F-primer	0.2	0.2 μ M
25 μ M R-primer	0.2	0.2 μ M
5 U/ μ L AmpliTaq Gold	0.125	0.025 U/ μ L
20 ng/ μ L DNA 試料液(*)	2.5	2 ng/ μ L
Total	25.0 μL	

(*) 検体の DNA 濃度が 20 ng/ μ L に達しない場合は、最も 20 ng/ μ L に近い濃度で調製し、DNA 試料液とする。陽性コントロールテンプレートについては原液を 2.5 μ L 使用する。また、プライマー対を加えないもの並びに DNA 試料液を加えないものについても調製し、陰性コントロールとする(ブランク反応液)。

B. 反応条件

- ・ 95°C, 10 min
 - ・ 95°C, 0.5 min
 - ・ 60°C, 0.5 min
 - ・ 72°C, 0.5 min
 - ・ 72°C, 7 min
 - ・ 4°C 保存
- 40 cycles

【使用上または取扱い上の注意】

1. 特定原材料の有無については本キットの結果だけでなく、製造記録の確認および他の方法による結果と合わせて総合的に判断して下さい。
2. 実際の実験操作、ならびに日頃の実験環境の保全にあたり、DNA (特に PCR 増幅産物) の混入に十分注意して下さい。
3. 陽性コントロールテンプレートは、検体あるいは反応液にコンタミすると擬陽性となるので、取り扱いには十分注意して下さい。
4. 陰性コントロールを必ず取り、陰性であることを確認して下さい。
5. 本製品には PCR 操作のライセンスは含まれません。

【販売元および問合せ先】

日立化成工業株式会社 医薬品事業部門
〒108-0023 東京都港区芝浦 4-9-25(芝浦スクエアビル)
TEL: 03-5446-9220 FAX: 03-5446-9467

【製造元】

オリエンタル酵母工業株式会社 長浜生物科学研究所
長浜ライフサイエンスラボラトリー(長浜 LSL)
〒526-0804 滋賀県長浜市加納町 50 番地
TEL: 0749-64-2347 FAX: 0749-63-7910