

排出ガス、ばいじん及び燃え殻のダイオキシン類に係る簡易測定法マニュアル（生物検定法） 新旧対照表

旧マニュアル		新マニュアル	
頁・行	内 容	頁・行	内 容
名称	<u>ダイオキシン類に係る生物検定法マニュアル（排出ガス、ばいじん及び燃え殻）</u>	変更	<u>排出ガス、ばいじん及び燃え殻のダイオキシン類に係る簡易測定法マニュアル（生物検定法）</u>
	<p>マニュアル<u>制定</u>にあたって</p> <p>ダイオキシン類の測定については、<u>環境中の超微量なダイオキシン類を測定するため、これまでの高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計による測定方法では測定に多大な時間と費用が必要となっており、迅速で低廉な、いわゆる簡易測定法の開発・導入が期待されている。</u></p> <p><u>このため、環境省では、平成 16 年 12 月 27 日にダイオキシン類対策特別措置法施行規則（平成 11 年総理府令第 67 号）の一部を改正し、廃棄物焼却炉からの排出ガス、ばいじん及び焼却灰その他の燃え殻（以下「ばいじん及び燃え殻」という。）に含まれるダイオキシン類の測定の一部に生物検定法による簡易測定法の追加等を行った。規則において環境大臣が定めることとされている具体的な測定方法について、技術評価を踏まえて、平成 17 年 9 月 14 日に告示を行い、本マニュアルの対象となっている 4 種類の方法を指定した。</u></p> <p><u>本マニュアルは、ダイオキシン類生物検定法等簡易測定法検討会並びに作業部会の委員のご助力をいただき、作成したものである。本マニュアルが、ダイオキシン類の測定やモニタリングが一層、効果的、効率的に行われ、ダイオキシン類の削減に寄与することに期待する。</u></p>	修正	<p>マニュアルの<u>改訂</u>にあたって</p> <p><u>排出ガスやばいじん及び燃え殻に含まれるダイオキシン類の測定については、極微量の測定となるため、これまで高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた測定方法により行われてきたが、この方法では多大な時間と費用が必要となり、特定施設設置者などにとって大きな負担となってきた。</u></p> <p><u>このような負担を軽減し、ダイオキシン類の長期的管理の基盤となる測定やモニタリングが効果的かつ効率的に行われるようにするため、環境省では迅速で低廉な、いわゆる簡易測定法の導入を検討し、平成 16 年 12 月にダイオキシン類対策特別措置法施行規則（平成 11 年総理府令第 67 号）の一部を改正して、廃棄物焼却炉からの排出ガス（焼却能力 2,000kg/h 未満）やばいじん及び燃え殻に含まれるダイオキシン類の測定の一部に簡易測定法を追加するとともに、平成 17 年 9 月にダイオキシン類対策特別措置法施行規則第二条第一項第四号の規定に基づき環境大臣が定める方法（平成 17 年環境省告示第 92 号。以下「方法告示」という。）を定め、4 種類の生物検定法を指定した。</u></p> <p><u>その後の科学的な知見の蓄積などを踏まえ、平成 22 年 3 月に方法告示の一部を改正し、新たに 6 種類の生物検定法を追加した。今般、この改正を受けて、本マニュアルを改訂し、当該測定方法を追加するとともに、マニュアルに記載されている事項の見直しを行った。</u></p> <p><u>本マニュアルが、ダイオキシン類の測定やモニタリングのより効果的かつ効率的な実施に寄与し、ダイオキシン類の削減に役立つことを期待する。</u></p>

p. 1-上から 2 行目	本マニュアルに記載する各測定方法は、廃棄物焼却炉のうち、焼却能力が1時間当たり、2,000キログラム未満の施設において、当該施設設置者が排出ガスを測定する <u>場合及び廃棄物焼却炉において当該施設設置者がばいじん等を測定する場合に、十分な精度を有するものとして用いることができるものとする。</u> なお、今後の測定技術の進歩や科学的知見の集積等により、 <u>本測定法の改定</u> があり得るものである。 <u>また、本マニュアルに記載する各測定方法を罰則に係る測定で用いることはできない。</u>	p. 1-上から 2 行目 修正	本マニュアルに記載する各測定方法は、廃棄物焼却炉のうち焼却能力が1時間当たり2,000キログラム未満の施設において当該施設設置者が排出ガスに <u>含まれるダイオキシン類の量</u> を測定する <u>場合並びに</u> 廃棄物焼却炉において当該施設設置者がばいじん及び焼却灰その他の燃え殻（以下「 <u>ばいじん及び燃え殻</u> 」という。）に <u>含まれるダイオキシン類の量</u> を測定する場合に用いることができるものであり、 <u>罰則の適用に係る測定に用いることはできないものである。</u> なお、今後、測定技術の進歩や科学的知見の集積等により、 <u>必要に応じ本マニュアルの改訂</u> があり得るものである。
p. 1-上から 9 行目	本マニュアルに記載する各測定方法では、毒性等価係数を有するダイオキシン類（ <u>PCDDs、PCDFs 及びコプラナーPCBs</u> ）を測定対象とし、	p. 1-上から 9 行目 修正	本マニュアルに記載する各測定方法では、毒性等価係数を有するダイオキシン類（ <u>ポリ塩化ジベンゾフラン、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン及びコプラナーポリ塩化ビフェニル</u> ）を測定対象とし、
p. 1-下から 11 行目	なお、精度管理については、環境省において公表している「 <u>ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理の手引き（生物検定法）</u> 」を参照するとともに、 <u>高分離能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を用いる場合</u> にあつては、「 <u>ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理指針</u> 」及び「 <u>ダイオキシン類の環境測定を外部に委託する場合の信頼性の確保に関する指針</u> 」を参照する。	p. 1-下から 7 行目 修正	なお、精度管理については、環境省において公表している「 <u>ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理の手引き（生物検定法）</u> 」及び「 <u>ダイオキシン類の環境測定を外部に委託する場合の信頼性の確保に関する指針</u> 」を参照するとともに、 <u>高分離能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる場合</u> にあつては、「 <u>ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理指針</u> 」を参照する。
p. 1-下から 4 行目	<b>1) TEF</b> 毒性等価係数 (2, 3, 7, 8-TeCDD Toxicity Equivalency Factor) <b>2) TEQ</b> 毒性等量 (2, 3, 7, 8-TeCDD Toxicity Equivalency Quantity)、 <u>PCDDs/PCDFs 及び Co-PCBs の量をダイオキシン類の中で最も強い毒性を有する 2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾパラジオキシンの量に換算した量として表していることを示す記号</u>	p. 2-上から 1 行目 修正	<b>1) TEF</b> 毒性等価係数 (2, 3, 7, 8-TeCDD Toxicity Equivalency Factor)。 <u>ダイオキシン類の各異性体の毒性の強さを、ダイオキシン類の中で最強の毒性を有する異性体である 2, 3, 7, 8-四塩化ジベンゾパラジオキシンの毒性を1としたときの相対的な値として表したもの。</u> <b>2) TEQ</b> 毒性等量 (2, 3, 7, 8-TeCDD Toxicity Equivalency Quantity)。 <u>ダイオキシン類の量（ダイオキシン類全体の毒性の強さ）を表すものであり、ダイオキシン類の各異性体の量を 2, 3, 7, 8-四塩化ジベンゾパラジオキシンの毒性に換算し、合計したもの。</u>
p. 2-上から 2 行目	高分離能ガスクロマトグラフ/ <u>高分解能</u> 質量分析計	p. 2-上から 8 行目 修正	高分離能ガスクロマトグラフ質量分析計 以下、表記方法を統一する。

p. 2-上から 5 行目	5) <u>2, 3, 7, 8-TeCDD</u> 2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン) 6) PCDD ポリクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン 7) PCDF ポリクロロジベンゾフラン	p. 2-上から 10 行目 修正	5) <u>2, 3, 7, 8-TeCDD</u> 2, 3, 7, 8- <u>四塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(2, 3, 7, 8-テトラクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン)</u> 6) PCDD <u>ポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(ポリクロロジベンゾ-パラ-ジオキシン)</u> 7) PCDF <u>ポリ塩化ジベンゾフラン(ポリクロロジベンゾフラン)</u>
p. 2-上から 8 行目	8) <u>生物検定法</u> <u>バイオアッセイ(生物学的定量法)ともいう。</u> 物質の量や構成成分、効力を、その物質を与えられた生物の反応から推定する方法 9) <u>コプラナーPCBs</u> <u>共平面構造型クロロビフェニルで、オルト位に塩素が配位していないもの、及び1つ配位している化合物のうち、12種を規定する。</u> ダイオキシン様 PCBs、DL-PCBs とも <u>言われる</u>	p. 2-上から 14 行目 修正	8) <u>生物検定法</u> 物質の量や構成成分、効力を、その物質を与えられた生物の反応から推定する方法。 <u>バイオアッセイ(生物学的定量法)ともいう。</u> 9) <u>コプラナーPCBs</u> <u>ポリ塩化ビフェニルのうち、オルト位(2, 2', 6及び6')に置換塩素をもたない化合物(ノンオルト体)及び1個ある化合物(モノオルト体)の中で、PCDDやPCDFと似た毒性を有するものとして規定されている12種の化合物。</u> ダイオキシン様 PCBs、DL-PCBs とも <u>いう。</u>
p. 2-上から 16 行目	11) <u>抗体</u> 免疫反応において、抗原の刺激によって生体内に作られ、その抗原と特異的に結合する <u>たん白質</u> の総称	p. 2-下から 18 行目 修正	11) <u>抗体</u> 免疫反応において、抗原の刺激によって生体内に作られ、その抗原と特異的に結合する <u>タンパク質</u> の総称。
p. 2-上から 18 行目		p. 2-下から 16 行目 修正	12) <u>プロモーター</u> <u>mRNA 合成 (DNA から RNA を合成する段階; 転写) の開始に関与する DNA 上の特定領域の短い塩基配列のこと。</u> 13) <u>融合細胞</u> <u>モノクローナル抗体を産生させるために複数の細胞を融合させてできた細胞のこと。</u> ハイブリドーマともいう。 14) <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞</u> <u>ヒト、マウス、ラット、モルモットなどのほ乳類由来の培養細胞に、同種のほ乳類由来のダイオキシン類応答配列を含むプロモーター等にルシフェラーゼレポーター遺伝子を融合したプラスミドを導入したもの。</u>
p. 2-上から 18 行目	12) <u>レポーター遺伝子アッセイ</u> <u>ダイオキシン類による生体内での遺伝子発現誘導メカニズムを活用し、ホタル等の発光酵素であるルシフェラーゼ等を発現させるレポーター遺伝子を導入した組換え細胞を用いて、試料中のダイオキシン類に応答した遺伝子により生成されるルシフェラーゼ等の活性(発光量)をルミノメーターで測定することにより、ダイオキシン類の量を定量する方法</u>	p. 2-下から 9 行目 加筆	15) <u>レポーター遺伝子アッセイ</u> <u>遺伝子発現を調節する転写プロモーターの特性や活性、又はそのプロモーターに結合する転写因子の活性を生物学的に測定する手法。目的遺伝子の転写プロモーターをβ-ガラクトシダーゼやルシフェラーゼ等のレポーター遺伝子上流に挿入した人工遺伝子を作成し、細胞内に導入して、レポーター遺伝子の発現を酵素の活性や生物化学発光を測定することによ</u>

			<u>って定量化する。</u>
p. 2-上から 23 行目	<b>14) 酵素免疫測定法</b> <u>ELISA(Enzyme-linked Immunosorbent Assay)、酵素抗体法、エンザイムイムノアッセイともいう。</u> <u>本マニュアルに記載されている方法は、抗原認識部位(ダイオキシン類)と特異的に結合する抗体を反応させ、未反応の抗体を酵素標識抗体を用いて検出することによって、間接的に試料中のダイオキシン類濃度を測定する方法である</u>	p. 2-下から 3 行目 修正	<b>17) 免疫測定法</b> <u>免疫反応を利用して、微量物質の検出・定量を行う生化学的手法。</u> 抗体が抗原認識部位(ダイオキシン類)と特異的に結合する <u>反応</u> を利用し、試料中のダイオキシン類濃度を測定する方法である。
p. 2-下から 9 行目	<b>17) RLU</b> Relative Light Unit、 <u>発光量ともいう。</u>	p. 3-上から 5 行目 修正	<b>20) RLU</b> <u>(相対) 発光量 (Relative Light Unit)。</u>
p. 2-下から 6 行目	<b>19) HRGC/HRMS 法</b> 高分解能ガスクロマトグラフ質量 <u>分析法</u>	p. 3-上から 8 行目 修正	<b>22) HRGC/HRMS 法</b> 高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた方法。本マニュアルでは以下の方法を指す。 ・ <u>排出ガス：JIS K0311 に定める方法</u> ・ <u>ばいじん及び燃え殻：平成 16 年環境省告示第 80 号(ダイオキシン類対策特別措置法施行規則第二条第二項第一号の規定に基づき環境大臣が定める方法) に定める方法</u>
p. 2-下から 5 行目	<b>20) m<sub>N</sub><sup>3</sup></b> <u>20°C</u> 、101.3kPa(760mmHg)における気体の体積(立方メートル)	p. 3-上から 13 行目 修正	<b>23) m<sub>N</sub><sup>3</sup></b> <u>0°C</u> 、101.3kPa(760mmHg)における気体の体積(立方メートル)
p. 3-上から 9 行目	対象媒体ごとに試料を採取し、ダイオキシン類を抽出後、クリーンアップを行い、以下に列挙する <u>4 つ</u> の生物検定法のいずれかにより定量する。	p. 3-下から 12 行目 修正	対象媒体ごとに試料を採取し、ダイオキシン類を抽出後、クリーンアップを行い、以下に列挙する <u>10 種類</u> の生物検定法のいずれかにより定量する。
p. 3-上から 14 行目	<u>環境省平成 17 年告示</u>	p. 3-下から 7 行目 修正	<u>平成 17 年環境省告示</u> 以下、表記方法を統一する。
p. 3-下から 7 行目		p. 4-上から 1 行目 追加	<b>(4)</b> <u>前処理に、硫酸シリカゲル加熱還流法</u> を利用し、測定に、 <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 H4 II E-luc</u> を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 1 の 4) <b>(5)</b> <u>前処理に、多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム</u> を使用し、測定に、 <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 DR-EcoScreen</u> を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 1 の 5)

			<b>(6)</b> <u>前処理に、硫酸及び多層シリカゲルカラムを使用し、測定に、ダイオキシン類、アリール炭化水素受容体及びアリール炭化水素受容体核運搬タンパク質の複合体形成反応を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第1の6)</u>
p. 3-下から6行目	前処理に、多層シリカゲルカラム及び <b>カーボンカラム</b> を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体と、 <b>検量線作成用標準品</b> 及びプレート固相抗原を用いた <b>抗原固相化-酵素免疫反応</b> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法( <b>環境省平成17年告示第92号第2</b> )	p. 4-上から11行目 修正	<b>(1)</b> <u>前処理に、多層シリカゲルカラム及び<b>活性炭カラム</b>を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相抗原を用いた<b>間接競合酵素免疫測定法</b>を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の1)</u>
p. 3-下から3行目		p. 4-上から14行目 追加	<b>(2)</b> <u>前処理に、多層シリカゲルカラム及び<b>活性炭カラム</b>を使用し、測定に、<b>磁性ビーズ固定化抗ダイオキシン類モノクローナル抗体</b>及び<b>酵素標識抗原</b>を用いた<b>直接競合酵素免疫測定法</b>を利用して、ダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の2)</u> <b>(3)</b> <u>前処理に、多層シリカゲルカラム及び<b>アルミナカラム</b>を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相化抗原を用いた<b>間接競合酵素免疫測定法</b>を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の3)</u> <b>(4)</b> <u>前処理に、多層シリカゲルカラム及び<b>アルミナカラム</b>を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及び<b>抗原固相化ビーズ</b>を用いた<b>結合平衡除外法</b>を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の4)</u>
p. 5 上から2行目	本章では、第3章にて掲げる各生物検定法に共通する事項として、試料採取方法、測定結果の報告及び測定データの精度管理について説明する。	p. 6 上から2行目 修正	本章では、第3章及び第4章で掲げる各生物検定法に共通する事項として、試料採取方法、測定結果の報告及び測定データの精度管理について説明する。
p. 5 上から6行目	試料ガス採取の一般的事項は JIS K0095 による。また、ダイオキシン類測定のための試料ガス採取方法は JIS K0311 「5. 試料ガスの採取」に規定するものとする。	p. 6 上から7行目 修正	試料ガス採取の一般的事項は JIS K0095 による。また、ダイオキシン類測定のための試料ガス採取方法は JIS K0311 「5. 試料ガスの採取」及び <b>ダイオキシン類対策特別措置法施行規則(平成11年総理府令第67号、以下「規則」という。)</b> 第2条第1項第1号に規定するものとする。

p. 6-上から3行目	<b>1.3 試料採取装置</b> JIS K0311「5.2 試料ガス採取装置」に準拠したもの。本マニュアルでは、JIS K0311の <b>付属書1</b> のJIS I型採取装置を原則用いることとし、 <b>II型又はIII型</b> を用いる場合は、JIS K0311の5.2に従い採取装置の妥当性を確認し、記録を作成する。	p. 7-上から3行目 修正	<b>1.3 試料採取装置</b> JIS K0311「5.2 試料ガス採取装置」に準拠したもの。本マニュアルでは、 <b>原則として、JIS K0311の付属書1のJIS I形あるいはII形</b> 採取装置を原則用いることとし、III形を用いる場合は、JIS K0311の5.2に従い採取装置の妥当性を確認し、記録を作成する。
p. 7-上から3行目	ばいじん及び燃え殻、それらの処理物の採取方法は、 <b>厚生省</b> 平成4年告示第192号別表第一(第一号関係)(1)に規定するものとする。	p. 8-上から3行目 修正	ばいじん及び燃え殻、それらの処理物の採取方法は、平成4年 <b>厚生省</b> 告示第192号別表第一(第一号関係)(1)に規定するものとする。 <b>以下、表記方法を統一する。</b>
p. 7-上から12行目	$V = \frac{Q_{DL} \times v \times k}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$ ここに、V: 測定に必要な最小のばいじん及び燃え殻試料の量(g)	p. 8-上から12行目 修正	$W = \frac{Q_{DL} \times v \times k}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$ ここに、W: 測定に必要な最小のばいじん及び燃え殻試料の量(g)
p. 8-枠内上から21行目 修正	③ 汚泥の場合は、試料を湿状のまま秤量する。この場合において、汚泥に含まれる <b>固型分</b> の重量比は、	p. 9-枠内上から21行目 修正	③ 汚泥の場合は、試料を湿状のまま秤量する。この場合において、汚泥に含まれる <b>固形分</b> の重量比は、
p. 9-上から2行目	本マニュアルに定める方法により測定を行った結果は、 <b>ダイオキシン類対策特別措置法施行規則(以下、規則という)様式第6(図2-2)の表1から3の該当する事項及び別紙2(図2-4)に記載する。このとき、規則様式第6の表1から3の備考欄に対応が分かるように簡易測定法と明記し、別紙2を添付する。</b> 別紙2の測定方法の欄には、測定法の告示中の番号(例: 第1の <b>3</b> )を記載しても差し支えない。 実測濃度の欄には、毒性等量に補正する前の濃度(つまり、各測定方法で規定される検量線より求められる測定値であり、媒体ごとに換算されていない値)を記載 <b>することとする。</b> 測定量の欄には、毒性等量に換算後の値を記載することとする。 <b>また、実測濃度及び測定量とも従来の測定方法と同様に、標準酸素補正後の値を記入する。標準酸素補正の方法は、JIS K0311に記載されている方法と同様であり、</b> 本マニュアルの第3章又	p. 10-上から2行目 修正	本マニュアルに定める方法により測定を行った結果は、規則様式第6(図2-2)の表1 <b>又は3</b> の該当する事項及び別紙2(図2-4)に記載する。 <b>その場合、規則様式第6の表1又は3の備考欄に簡易測定法による測定であることが分かるように「簡易測定法」と明記すること。</b> 別紙2の測定方法の欄には、 <b>測定に用いた方法を記載するが、平成17年環境省告示第92号中の当該測定方法の番号(例: 第1の<b>4</b>)</b> を記載しても差し支えない。 実測濃度の欄には、毒性等量に補正する前の濃度(つまり、各測定方法で規定される検量線より求められる測定値であり、媒体ごとに換算されていない値)を記載し、測定量の欄には、毒性等量に換算後の値を記載することとする。 <b>なお、排出ガスの実測濃度及び測定量は、従来のHRGC/HRMS法と同様に、標準酸素補正後の値を記載すること。</b> 標準酸素補正の方法は本マニュアルの第3章又は第4章に記載している。

	<p>は第4章にも記載する。</p> <p><u>検出下限及び定量下限については、原則として実測濃度を記載することとするが、誤解のないよう単位についても併せて記載すること。</u></p> <p>このほか、別紙2の備考欄には、基準値近傍の値である場合はその旨を、及び再測定を行った場合は別紙1(図2-3)に記載された当該再測定結果との対応等を明記する。</p>		<p><u>また、試料における定量下限及び検出下限の欄</u>には、原則として実測濃度を記載するが、誤解のないよう単位も併せて記載することとする。</p> <p>このほか、別紙2の備考欄には、基準値近傍の値である場合はその旨を、及び再測定を行った場合は別紙1(図2-3)に記載された当該再測定結果との対応等を明記する<u>こととする</u>。</p>
p. 11	図2-3 規則別紙1	p. 12-図2-3	図2-3 規則 <b>様式第6</b> 別紙1
p. 11-図2-3 備考	<p><u>5</u> 用語の定義は、<u>日本工業規格K0311又はK0312</u>によること。</p> <p><u>6</u> 整理番号は、測定結果が複数の場合に記入すること。</p>	p. 12-図2-3 備考	<p><u>5 規則第2条第1項第4号の規定に基づき環境大臣が定める方法により測定を行った場合は、備考欄に測定に用いた方法を記載すること。</u></p> <p><u>6</u> 用語の定義は、<u>日本工業規格K0311、K0312又は規則第2条第1項第4号の規定に基づき環境大臣が定める方法</u>によること。</p> <p><u>7</u> 整理番号は、測定結果が複数の場合に記入すること。</p>
p. 12	図2-4 規則別紙2	p. 13-図2-4 加筆	図2-4 規則 <b>様式第6</b> 別紙2
p. 13 上から 11行目	<p>4) <u>既知濃度</u>試料の測定</p> <p><u>5</u> 換算係数の確認</p> <p><u>6</u> 検量線の確認及び...</p>	p. 14 上から 11行目 修正	<p>4) <u>濃度既知</u>試料の測定</p> <p><u>5</u> <u>回収率の確認</u></p> <p><u>6</u> 換算係数の確認</p> <p><u>7</u> 検量線の確認及び...</p>
p. 13 下から 11行目	... 調製作業を行った者、作業日及び作業の内容、使用期限、保存方法及び調製等に使用した試薬のトレーサビリティを確実にする情報を記録する。	p. 14-下から 9行目 修正	... 調製作業を行った者、作業日及び作業の内容、使用期限、保存方法及び調製に使用した試薬等についてトレーサビリティを確実にする情報を記録する。
p. 14 上から 17行目	特に試料の前処理及び生物検定法の測定の作業環境については、 <u>品質</u> 管理の観点から...	p. 15-上から 19行目 修正	特に試料の前処理及び生物検定法の測定の作業環境については、 <u>精度</u> 管理の観点から...
p. 14 上から 20行目	<u>また、前処理と測定に関しては施設が独立していることが望ましい。</u>	p. 15-下から 19行目 削除	
p. 14 上から 21行目	同一施設で <u>高分解能ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いた方法 (以下、「HRGC/HRMS 法」)</u> による...	p. 15-下から 18行目 削除	同一施設でHRGC/HRMS 法による...

p. 14 上から 23 行目	以下の要件を満たす施設を有することとし、精度 <u>(品質)</u> 管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。	p. 15-下から 16 行目 削除	以下の要件を満たす施設を有することとし、精度管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。
p. 14 上から 26 行目	(1) 試験施設は、培養細胞の保存、継代培養及び試験操作等を行うため、 <u>必要に応じ分離された</u> 区域を有し、...	p. 15-下から 13 行目 修正	(1) 試験施設は、培養細胞の保存、 <u>保存処理</u> 、継代培養、 <u>前処理</u> 及び <u>測定</u> 等を行うための <u>専用</u> 区域を有し、...
p. 14-下から 9 行目	(3) <u>自治体等によって</u> 遺伝子組み換え培養細胞の使用に当たっての運用規則等が定められている <u>ことがありうるため、その場合は</u> 該当する規則を遵守すること。	p. 15-下から 9 行目 修正	(3) 遺伝子組み換え培養細胞の使用に当たって、 <u>自治体等による</u> 運用規則等が定められている <u>場合には</u> 該当する規則を遵守すること。
p. 14-下から 4 行目	環境については、精度 <u>(品質)</u> 管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。	p. 15-下から 4 行目 削除	環境については、精度管理の観点からどのような配慮がなされているかを記述する。
p. 16 上から 17 行目	<b>2.2 試料採取の実行に係る判断</b> 前日及び当日の天候(項目によっては数日前の天候についても考慮する。)その他の状況を踏まえ、試料採取の実行の可否について判断し、...	p. 17-上から 19 行目 加筆	<b>2.2 試料採取の実行に係る判断</b> 前日及び当日の天候(項目によっては数日前の天候についても考慮する。)その他の状況を踏まえ、 <u>試料採取担当者は</u> 、試料採取の実行の可否について判断し、...
p. 17 上から 1 行目	2) 測定項目別の <u>特記事項</u> (1) 試料採取器具及び装置並びに使用した試薬等 (2) 試料採取操作 (3) 試料容器	p. 18-上から 2 行目 修正加筆	1) 測定項目別の <u>個別事項</u> <b>(1) 排出ガス</b> a) 試料採取器具、 <u>装置及び</u> 使用した試薬等 • <u>メーカー、形式及び模式図</u> • <u>採取管部(材質、ノズルの内径及び冷却装置の有無)</u> • <u>フィルターの材質</u> • <u>液体捕集部(吸収瓶本数、容量及び吸収液の種類並びに量等)</u> • <u>吸着捕集部(吸着剤カラムの形状及び吸着剤の材質、商品名並びに量)</u> • <u>吸引ポンプ(形式及びメーカー名)</u> • <u>流量計(種類、形式、メーカー名及び校正結果)</u> b) 試料採取操作 • <u>事前調査(採取場所の地上からの高さ、測定孔の状況及び送排風機の位置等並びにダクトの形状等)</u> • <u>設定した試料ガスの採取量、採取時間及び等速吸引流量</u> • <u>漏れ試験の実施状況及び結果</u> • <u>ガスメータの温度及び圧力</u> • <u>フィルター捕集部及び液体捕集部の温度</u>



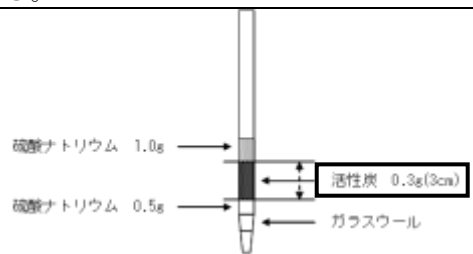
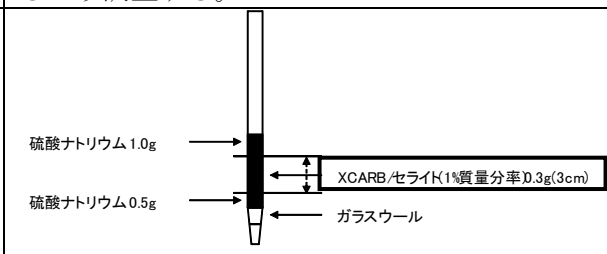
			<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>等速吸引流量、吸引時間及び吸引ガス量</u></li> <li>• <u>試料ガス採取量</u></li> <li>• <u>排出ガスの温度、流速、組成、圧力及び水分量等</u></li> <li>c) <u>試料容器</u></li> <li>• <u>試料回収の方法</u></li> <li>• <u>試料保存の方法（試料容器の材質及び容量等）</u></li> <li>d) <u>その他の追加事項</u></li> <li>• <u>採取試料に係る発生源の規模及び稼働状況</u></li> <li>• <u>酸素濃度による補正</u></li> </ul> <p>(2) <u>ばいじん及び燃え殻</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) <u>試料採取器具、装置及び使用した試薬等</u></li> <li>• <u>採取器具の種類及び材質</u></li> <li>b) <u>試料採取操作</u></li> <li>• <u>試料の採取場所</u></li> <li>• <u>試料採取操作の概要</u></li> <li>• <u>試料採取量</u></li> <li>c) <u>試料容器</u></li> <li>• <u>試料保存の方法（試料容器の種別及び材質）</u></li> <li>d) <u>その他の追加事項</u></li> <li>• <u>試料の状況</u></li> <li>• <u>採取試料に係る発生源（焼却施設）の規模及び稼働状況</u></li> </ul>
p. 17 上から 5 行目	2.4 <u>トラベルブランク試験及び二重測定</u> 試料採取に当たって、トラベルブランク試験のための操作及び二重測定のための試料採取を行い、その実施状況を記録する。	p. 19-上から 3 行目 加筆	2.4 <u>トラベルブランク試験及び二重測定</u> 試料採取に当たって、トラベルブランク試験のための操作及び二重測定のための試料採取を行い、その実施状況を記録する。 <u>なお、トラベルブランク試験を実施する対象は、排出ガス試料採取とする。</u>
p. 17 上から 8 行目	トラベルブランク試験は、移送中に汚染が考えられる場合 ( <u>電気集じん機で集められた灰</u> 等による汚染)...	p. 19-上から 4 行目 加筆	トラベルブランク試験は、移送中に汚染が考えられる場合 ( <u>ばいじん</u> 等による汚染)...
p. 17 上から 12 行目	同一の生物検定法における定量下限以上の測定量（毒性等量）について、 <u>±30%以内であることを確認する。3つ以上の試料の場合は、同一の生物検定法における定量下限以上の測定値について、その平均値（測定量(毒性等量)）</u> を求め、個々の測定量（毒性等量）が平均値の±30%以内であることを確認する。	p. 19-上から 7 行目 削除	同一の生物検定法における定量下限以上の測定量（毒性等量）について、その平均値を求め、個々の測定量（毒性等量）が平均値の±30%以内であることを確認する。

p. 19-上から7行目	3.2 試料の前処理に係る共通事項 4) 試料抽出液のクリーンアップ (5) 使用試薬の種類	p. 20-下から1行目 修正加筆	(d)～(f)に追加技術に関する使用する試薬の種類を加筆 旧マニュアルの(d)は、新マニュアルの(g)に変更
p. 19-上から7行目	<u>d)</u> 前処理に、多層シリカゲルカラム及び <u>カーボン</u> カラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体と、 <u>検量線作成用標準品</u> 及びプレート固相抗原を用いた <u>抗原固相化-酵素免疫反応</u> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法( <u>平成17年環境省告示第92号第2)</u> )	p. 21-下から16行目 修正	<u>g)</u> 前処理に、多層シリカゲルカラム及び <u>活性炭</u> カラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相抗原を用いた <u>間接競合酵素免疫測定法</u> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法( <u>平成17年環境省告示第92号第2の1)</u> )
p. 19-上から7行目	3.2 試料の前処理に係る共通事項 4) 試料抽出液のクリーンアップ (5) 使用試薬の種類	p. 21-下から6行目 加筆	(h)～(j)に追加技術に関する使用する試薬の種類を加筆
p. 19-上から18行目	3.3 試料の前処理に係る測定項目別の <u>特記事項</u> 試料の前処理に係る測定項目別の <u>特記事項</u> については、必要に応じ、記録する。	p. 22-下から18行目 修正、加筆	3.3 試料の前処理に係る測定項目別の <u>個別事項</u> 試料の前処理に係る測定項目別の <u>個別事項</u> については、 <u>以下の通り</u> 。 <u>(1) 排出ガス</u> ・ <u>捕集ダストの塩酸処理</u> <u>(2) ばいじん及び燃え殻</u> ・ <u>試料の調製方法(粉砕情報及び粒径等)</u>
p. 20-上から10行目	前処理から測定までの工程に <u>品質</u> 管理上の問題が発生していないことを定期的に確認するために...	p. 23 上から18行目 変更	前処理から測定までの工程に <u>精度</u> 管理上の問題が発生していないことを定期的に確認するために...
p. 20-上から18行目		p. 23-下から13行目 加筆	6) 回収率の確認のための試料 生物検定法においては、標準物質の添加などによる回収率の確認は困難であるため、少なくとも6ヶ月に1回又は使用する試薬等の製造ロットが変わったときなどに、HRGC/HRMS法に定められた方法により回収率を求める。
p. 21-上から17行目	なお、細胞についてはその継代回数が <u>品質</u> 管理上問題ない範囲内で試験に使用すること。	p. 24-下から11行目 修正	なお、細胞についてはその継代回数が <u>精度</u> 管理上問題ない範囲内で試験に使用すること。
p. 22-上から3行目	4.6 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認 ... 測定担当者は、本マニュアルに従い、検量線作成用標準液の測定操作により得られたデータから、...	p. 25-上から12行目 加筆	4.6 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認 ... 測定担当者は、本マニュアルに従い、 <u>検量線作成用標準液及び濃度既知試料のそれぞれに対して</u> の測定操作により得られたデータから、...
p. 22-上から13行目		p. 25-下から17行目	<u>また、原因究明を行い、再測定した結果が管理限界内とならない場合は、過去のデータを含めてその傾向を解析し、新たな</u>

		<b>加筆</b>	<u>に管理限界を求める対象データの見直しを考慮する。</u>
p. 23-上から 6 行目	以下の 5. 1～5. 4 の作業を行い、作成した記録及び 4. 4～4. 7 の記録を整理し、 <u>問題がないことを確認する。問題を認めた場合には、適切な措置を講じる。</u> 以下の 5. 3 で算出した測定量(毒性等量)の精度(品質)に問題がない場合は、以下の 5. 5～5. 11 の作業を行い、問題がないと認める場合には、測定用試料の定量結果を確定する。	p. 26-下から 18 行目 <b>修正、加筆</b>	以下の 5. 1～5. 4 の作業を行い、作成した記録及び 4. 4～4. 7 の記録を整理し、以下の 5. 3 で算出した測定量(毒性等量)の精度に問題がないことを確認する。 <u>当該精度に問題がない場合は、以下の 5. 5～5. 11 の作業を行い、それらに精度管理上問題がないと認められる場合は、測定用試料の定量結果を確定する。5. 3 で算出した測定量(毒性等量)及び 5. 5～5. 11 の作業において、精度管理上の問題を認めた場合には、適切な措置を講ずる。</u>
p. 23-上から 14 行目	この定量下限と本マニュアル第 3 章及び第 4 章に記載されている方法...	p. 26-下から 11 行目 <b>修正</b>	この定量下限と本マニュアル第 3 章又は第 4 章に記載されている方法...
p. 23-下から 15 行目	<b>5. 2 実測濃度の算出</b> 本マニュアルに定められた方法により、実測濃度を算出し、その結果を記録する。また、実測濃度の算出に至った計算過程を説明できる資料を作成する。	p. 26-下から 2 行目 <b>修正、加筆</b>	5. 2 実測濃度 <b>1) 試料測定時の希釈倍率の設定</b> <u>希釈倍率の公比は、希釈直線性の確認ができるように、定量範囲内に複数点のデータが入るように設定されることが望ましい。</u> <u>実試料の測定において、検量線の直線性が得られる範囲内で複数点のデータが得られなかった場合は、希釈倍率の設定を見直し、再度測定することを考慮する。</u> <b>2) 実測濃度の算出</b> 本マニュアルに定められた方法により、実測濃度を算出し、その結果を記録する。また、実測濃度の算出に至った計算過程を説明できる資料を作成する。
p. 24 上から 3 行目	<b>5. 7 二重測定</b> ... なお、二重測定の値が <u>高い</u> 場合は、その原因を追及して理由を明確にする。	p. 27-下から 18 行目 <b>修正</b>	<b>5. 7 二重測定</b> ... なお、二重測定の値の <u>差が大きい</u> 場合は、その原因を追及して理由を明確にする。
p. 24 上から 1 行目	濃度既知試料を用いて、前処理及び測定操作等工程ごとに <u>濃度既知試料を用いて確認し、原因の究明を行う。</u>	p. 27-下から 14 行目 <b>削除</b>	濃度既知試料を用いて、前処理及び測定操作等工程ごとに確認し、原因の究明を行う。
p. 24 上から 10 行目	<b>5. 9 換算係数の確認</b> <u>少なくとも 6 ヶ月に 1 回</u> 、HRGC/HRMS 法によって測定された試料について、...	p. 27-下から 11 行目 <b>加筆</b>	<b>5. 9 換算係数の確認</b> <u>少なくとも 6 ヶ月に 1 回又は使用する試薬等の製造ロットが変わったときなどに</u> 、HRGC/HRMS 法によって測定された試料について、...

p. 24 下から 8 行目	なお、HRGC/HRMS 法を用いる場合は、「ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理指針」及び「 <u>ダイオキシン類の環境測定を外部に委託する場合の信頼性の確保に関する指針</u> 」に留意することとする。	p. 27-下から 4 行目 削除	なお、HRGC/HRMS 法を用いる場合は、「ダイオキシン類の環境測定に係る精度管理指針」に留意することとする。
p. 24 下から 6 行目		p. 27-下から 2 行目 加筆	<b>5.10 回収率の確認</b> <u>生物検定法においては、試料の採取から前処理操作に至るまでの回収率を、標準物質の添加などによって確認することは困難である。また、生物検定法によって得られた実測値を毒性等量に換算する際に用いる換算係数には、既に抽出及び前処理操作における回収率が考慮されている。そのため、少なくとも 6 ヶ月に 1 回又は使用する試薬等の製造ロットが変わったときなどに、HRGC/HRMS 法に定められた方法によって回収率の測定を行う。</u> このときの回収率が、50%~120%の範囲を逸脱していた場合は、抽出、前処理等の公定ごとに回収率を確認し、原因の究明を行い、その結果及び講じた措置を記録する。  5.10 以下の項目について、項目番号を順送りとする。
p. 24 下から 6 行目	<b>5.10 異常値及び欠測値の発生原因等</b> 5.1~5.9 でデータの確定ができなかった... また、異常値及び欠測値について、問題がある場合については、必要な措置を講じる。	p. 28-下から 5 行目 加筆	<b>5.11 異常値及び欠測値の発生原因等</b> 5.1~5.10 でデータの確定ができなかった... また、異常値及び欠測値について、 <u>精度管理上</u> 問題がある場合については、 <u>再測定</u> などの必要な措置を講じる。
p. 25~ 第3章各論	<u>チトクロム</u>	p. 29~ 第3章各論	<u>シトクロム</u> に用語を統一
p. 25 上から 7 行目	ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6. 1c2 を用いた測定により定量する。	p. 29-上から 7 行目 加筆	ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6. 1c2 を用いた <u>レポータージーンアッセイ</u> による測定により定量する。
p. 25 下から 5 行目	<b>7) ベクター</b> Vector、 <u>DNA</u> 組換え技術において、目的とする遺伝子を宿主細胞に運ぶ自己複製 DNA 分子	p. 29-下から 2 行目 修正	<b>7) ベクター</b> Vector、組換え <u>DNA</u> 技術において、目的とする遺伝子を宿主細胞に運ぶ自己複製 DNA 分子
p. 26 上から 4 行目	<b>10) 遺伝子転写</b> Gene Transcription、ポリメラーゼという酵素により、DNA の一方の鎖から相補的な配列を <u>もつ</u> RNA をコピーすること	p. 30-上から 7 行目 修正	<b>10) 遺伝子転写</b> Gene Transcription、ポリメラーゼという酵素により、DNA の一方の鎖から相補的な配列を <u>持つ</u> RNA をコピーすること

p. 26 下から 15 行目	$V = \frac{Q_{DL} \times k \times v}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$	p. 30-下か ら 12 行目 訂正	$V = \frac{Q_{DL} \times 0.4 \times k \times v}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$
p. 26 下から 13 行目	$Q_{DL}$ : 標準物質における検出下限 (pg/mL, 反応溶液中)	p. 30-下か ら 10 行目 加筆	$Q_{DL}$ : 標準物質における検出下限 (pg/mL, 反応溶液中) <u>6.1 の 2) 検出下限及び定量範囲の算出例の通りに精度プロファイルより求められた検出下限の標準物質濃度</u>
p. 26 下から 2 行 目	...最終的に 4mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガス採取量を次に示す。	p. 31-上か ら 3 行目 加筆	...最終的に 4mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガスの採取量を以下に示す。 <u>なお、標準物質による検出下限値は 0.977pg/ml、排出ガスの測定量への換算係数は 0.221 を用いた。</u>
p. 27 上から 1 行 目	$V = \frac{0.977 \times 0.253 \times 4}{1000} \times \frac{50}{10} \times \frac{1}{0.2} = 0.029$	p. 31-上か ら 6 行目 訂正	$V = \frac{0.977 \times 0.4 \times 0.221 \times 4}{1000} \times \frac{50}{10} \times \frac{1}{0.17} = 0.010$
p. 27 上から 7 行 目	$W = \frac{Q_{DL} \times k \times v}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$	p. 31-上か ら 12 行目 訂正	$W = \frac{Q_{DL} \times 0.4 \times k \times v}{1000} \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$
p. 27-下か ら 6 行目	...最終的に 4mL の測定用試料溶液に調製する場合の <u>ばいじん及び燃え殻試料の採取量を下記</u> に示す。	p. 31-下か ら 4 行目 修正 加筆	...最終的に 4mL の測定用試料溶液に調製する場合の <u>ばいじん及び燃え殻試料の採取量を以下に示す。なお、標準物質における検出下限値は 0.977pg/ml、ばいじん及び燃え殻の測定量への換算係数は 0.318 を用いた。</u>
p. 27-下か ら 5 行目	$W = \frac{0.977 \times 0.345 \times 4}{1000} \times \frac{50}{25} \times \frac{1}{0.1} = 0.026$	p. 31-下か ら 1 行目 修正	$W = \frac{0.977 \times 0.4 \times 0.318 \times 4}{1000} \times \frac{50}{25} \times \frac{1}{0.10} = 0.0099$
p. 28-下か ら 3 行目	<b>16) XCARB</b> 活性炭を分散させたセライト ( <u>1%XCARB/セライト</u> 、又はそれと同等以上の性能を有するもの)	p. 33-上か ら 5 行目 修正	<b>16) XCARB</b> 活性炭を分散させたセライト ( <u>XCARB/セライト(1%質量分率)</u> 、又はそれと同等以上の性能を有するもの)
p. 29-上か ら 9 行目	クデルナ-ダニッシュ (KD)濃縮器 <u>又は</u> ロータリーエバポレータ又は遠心エバポレータ。	p. 33-上か ら 13 行目 修正	クデルナ-ダニッシュ (KD)濃縮器、 <u>ロータリーエバポレータ</u> 又は遠心エバポレータ。
p. 31 下か ら 4 行目	図 3-1-5 にクリーンアップのフロー例を示す	p. 35-下か ら 1 行目 加筆	図 3-1-5 にクリーンアップのフロー <u>の</u> 例を示す

p. 32 下から 6 行目	2) 精製カラムの <b>作成</b>	p. 36-下から 6 行目 修正	2) 精製カラムの <b>作製</b>
p. 33 下から 1 行目	(注 3) 定規を使用し 1%XCARB/セライト層が 3cm の厚みになっていることを確認する。 <u>なっていない場合</u> 、3cm になるよう調整する。	p. 37-下から 4 行目 修正	(注 3) 定規を使用し 1%XCARB/セライト層が 3cm の厚みになっていることを確認する。 <u>厚みが 3cm に満たない場合</u> 、3cm になるよう調整する。
p. 33 図 3-1-7		p. 37 図 3-1-7 修正	
p. 34-上から 13 行目	<u>(注 4) コプラナーPCBs 画分+PCDDs 及び PCDFs 画分を混合液として測定に供する。</u>	p. 38-上から 11 行目 修正	<u>(10) (8)および(9)画分 (コプラナーPCBs 画分+PCDDs 及び PCDFs 画分)</u> を混合液として測定に供する。
p. 34-下から 9 行目		p. 38-下から 12 行目 加筆	<u>(9)および(10)画分 (コプラナーPCBs 画分+PCDDs 及び PCDFs 画分)</u> を混合液として測定に供する。
p. 35-上から 6 行目	<u>哺乳類細胞株(マウス肝がん細胞)に、外来遺伝子であるホタルルシフェラーゼ遺伝子に DRE をつないだベクターを細胞内に安定的に挿入した組み換え細胞が用いられる。ダイオキシン類がリガンドとして、Ah 受容体と結合し、生じた Ah 受容体-リガンド複合体が DRE に結合し、下流遺伝子転写の結果、発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光を発光光度計(ルミノメーター)で測定することによりダイオキシン類の定量を行う。</u> 2, 3, 7, 8-TeCDD により検量線を作成し、試料の発光量(RLU)から実測濃度を算出する。排出ガス並びにばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を <u>実測濃度</u> に乘じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。	p. 39-上から 3 行目 修正	<u>本方法は、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6. 1c2 を用いて、試料中に含まれるダイオキシン類が細胞内の Ah 受容体と結合することに由来して発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光量を発光光度計で測定することによりダイオキシン類の毒性等量を測定する方法である。</u> 2, 3, 7, 8-TeCDD を用いて検量線を作成し、試料の発光量から算出した実測濃度に排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を乘じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。
p. 35-上から 16 行目	<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6. 1c2 : ホタルルシフェラーゼ遺伝子の上流域に 4 個のダイオキシン応答配列 DRE を含むシトクロム P450(CYP1A1)プロモーターを持つプラスミド pGudLuc6. 1 を、マウス肝がん細胞 Hepa1c1c7 に導入したもの(注 6)</u>	p. 39-上から 10 行目 修正	<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6. 1c2 : レポーター遺伝子としてホタルのルシフェラーゼ遺伝子を用い、その上流域にダイオキシン応答配列 DRE を 4 個持つマウスのシトクロム P450(CYP1A1)プロモーターを配置したプラスミド pGudLuc6. 1 を、マウス肝がん由来細胞 Hepa-1c1c7 に導入したもの(注 5)。</u>

p. 35-下から 12 行目	1) 培地(RPMI1640 培地、FBS(+8%体積分率)、ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液(+1%体積分率)) <u>RPMI1640 with L-Glutamine 500mL に FBS 44mL、ペニシリン/ストレプトマイシン 5mL を混合したもの</u>	p. 39-上から 15 行目 修正	1) 培地(RPMI1640 培地、FBS(+8%体積分率)、ペニシリン/ストレプトマイシン混合溶液(+1%体積分率)) <u>2) を 500mL に 3) を 5mL、4) を 44mL 混合したもの</u>								
p. 35-下から 4 行目	6) リン酸緩衝生理食塩液(PBS)	p. 39-下から 10 行目 修正	6) リン酸緩衝生理食塩液(PBS(-))								
p. 37 表 3-1-2	<table border="1"><tr><td>Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)</td><td>4111</td><td>180</td><td>0.250</td></tr></table>	Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)	4111	180	0.250	p. 40 表 3-1-2	<table border="1"><tr><td>Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)</td><td>3893</td><td>171</td><td>0.237</td></tr></table>	Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)	3893	171	0.237
Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)	4111	180	0.250								
Total PCDD/Fs (ng-TEQ/mL)	3893	171	0.237								
p. 37-下から 14 行目	測定に用いる器具及び装置は、 <u>以下</u> による。	p. 40-下から 1 行目	測定に用いる器具及び装置は、 <u>次</u> による。 <u>以下、表記方法を統一する。</u>								
p. 39-下から 11 行目	<b>3.2 試験使用細胞の回収</b>	p. 43-上から 1 行目 削除、加筆	<b>3.2 細胞の回収</b>								
p. 39-下から 10 行目	1) 培養フラスコ(150cm <sup>2</sup> ) (注 10)をインキュベーターから取り出し、中の培地が濁っていないか目視で確認し、培養顕微鏡で細胞状態を確認する。	p. 43-上から 2 行目 加筆	1) 培養フラスコ(150cm <sup>2</sup> ) (注 10)をインキュベーターから取り出し、中の培地が濁っていないか目視で確認し、培養顕微鏡で細胞状態を確認する。 <u>培養フラスコの容量と試薬の分注量の一覧を表 3-1-3 に示した。</u>								
p. 40-下から 16 行目	<b>3.3 試験使用細胞の継代</b>	p. 43-下から 15 行目 削除	<b>3.3 細胞の継代</b>								
p. 40-下から 14 行目	2) 空の培養フラスコ(150cm <sup>2</sup> )にあらかじめ培地 <u>を</u> 19mL 入れておく(注 8)。	p. 43-下から 13 行目 修正	2) 空の培養フラスコ(150cm <sup>2</sup> )にあらかじめ培地 19mL <u>を</u> 入れておく(注 8)。								
p. 40-下から 7 行目	6) インキュベーターにフラスコを入れ、CO <sub>2</sub> <u>5%</u> 、37°Cの環境下で培養する。	p. 43-下から 7 行目 修正	6) インキュベーターにフラスコを入れ、 <u>5%</u> CO <sub>2</sub> 、37°Cの環境下で培養する。								
p. 41-上から 1 行目	<b>3.4 試験使用細胞の保存</b>	p. 44-上から 1 行目 削除	<b>3.4 細胞の保存</b>								
p. 41-下から 3 行目	5) 下記の計算を行い(注 13)、最終濃度 7.5×10 <sup>5</sup> cells/mL となるよう最終容量を求め、 <u>最終</u> 容量になるように培地で適宜、希釈調製を行う(注 8)	p. 44-下から 4 行目 修正	5) 下記の計算を行い(注 13)、最終濃度 7.5×10 <sup>5</sup> cells/mL となるよう最終容量を求め、 <u>最小</u> 容量になるように培地で適宜、希釈調製を行う(注 8)								

p. 43-上から7行目	(4) ... 検量線作成用標準液及びQC溶液+NCを190・Lずつ2つのウェルに分注する。	p. 46-上から2行目 加筆	(4) ... 検量線作成用標準液及びQC溶液+NCを190μLずつ2つのウェルに分注する。 <u>プレートレイアウト例は、図3-1-8の通り。</u>
p. 44-下から2行目	(4) ... 190・Lずつ2つのウェルに分注する(注8)。	p. 47-上から10行目 加筆	(4) ... 190μLずつ2つのウェルに分注する(注8)。 <u>プレートレイアウト例は、図3-1-9の通り。</u>
p. 47-上から3行目	10段階のダイオキシン類濃度希釈列に対する... を行う。	p. 49-上から8行目 加筆	10段階のダイオキシン類濃度希釈列に対する... を行う。 <u>検量線作成およびパラメータの例は、図3-1-10の通り。</u>
p. 47-下から8行目	感度変動の管理図作成の例を次に説明する。	p. 49-下から5行目 加筆	感度変動の管理図作成の例を次に説明する。 <u>STD5(TeCDD : 0.78ppt)及びQC溶液管理図例は、図3-1-11及び図3-1-12の通り。</u>
p. 47-下から6行目	2) STD5(TeCDD : 0.78ppt)については、5.3測定試料の定量に従って毒性等量を算出する。	p. 49-下から1行目 加筆	2) STD5(TeCDD : 0.78ppt)については、5.3測定試料の定量に従って毒性等量を算出する。 <u>STD5(TeCDD : 0.78ppt)の算出例は、表3-1-6の通り。</u>
p. 47-下から1行目		p. 50-上から6行目 加筆	<u>QC溶液の算出例は、表3-1-6の通り。</u>
p. 48-下から12行目	<b>5.3 測定試料の定量</b> 実測濃度の算出方法の手順を以下に示す(注18)。	p. 50-下から10行目 加筆	<b>5.3 測定試料の定量</b> 実測濃度の算出方法の手順を以下に示す(注19)。 <u>実測濃度の算出例は、表3-1-7の通り。</u>
p. 49-下から7行目	(備考) 排出ガスの酸素濃度による補正が <b>必要な場合には</b> 、次式によって <u>所定の酸素濃度に換算する</u> 。 $C = \frac{21 - O_n}{21 - O_s} \times C_s$ ここに、C : 酸素の濃度 $O_n$ における実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) <u><math>O_n</math> : 換算する酸素の濃度 (%)</u> $O_s$ : 排出ガス中の酸素の濃度 (注19) (%) $C_s$ : 排出ガス中の実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) (注19) 排出ガス中の酸素の濃度が20%を超える場合は、 $O_s=20$ とする。	p. 51-下から6行目 修正	(備考) 排出ガスの酸素濃度による補正は、次式によって行う。 $C = \frac{9}{21 - O_s} \times C_s$ ここに、C : 酸素の濃度 $O_n$ における実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) $O_s$ : 排出ガス中の酸素の濃度 (注20) (%) $C_s$ : 排出ガス中の実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) (注20) 排出ガス中の酸素の濃度が20%を超える場合は、 $O_s=20$ とする。 以下、 <u>酸素濃度換算方法を統一する</u> 。



p. 50-上から 10 行目	<b>2) 検出下限及び定量範囲の算出例</b> 調製した検出下限等算出用標準溶液を... 検出下限及び定量範囲を図より読み取る。	p. 52-下から 4 行目 <b>加筆</b>	<b>2) 検出下限及び定量範囲の算出例</b> 調製した検出下限等算出用標準溶液を... 検出下限及び定量範囲を図より読み取る。 <u>検出下限及び定量範囲の確認のレイアウト例は、図 3-1-13 の通り。</u>
p. 50-下から 1 行目	検出下限及び定量範囲の算出例を表 3-1-9、図 3-1-14 に示す。	p. 52-下から 2 行目 <b>加筆</b>	検出下限及び定量範囲の算出例を表 3-1-9、図 3-1-14 に示す。 <u>標準物質濃度 (pg/ml) の定量値から得られた変動係数 (n=5) から 30~20% の地点を検出下限値 (ここでは、0.977pg/ml)、20% 以下の定量範囲で最小濃度を定量下限値 (ここでは、1.95pg/ml) とした。</u>
p. 54-下から 7 行目	多数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=93、n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。	p. 56-上から 11 行目 <b>修正</b>	多数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=94、n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。
p. 55-上から 6 行目	ダイオキシン類応答性組換え細胞 101L を用いた測定により定量する。	p. 57-上から 6 行目 <b>修正</b>	ダイオキシン類応答性組換え細胞 101L を用いた <u>レポータージーンアッセイによる</u> 測定により定量する。
p. 55-下から 14 行目	1) 遺伝子組換え細胞 組換え DNA 技術を用いて作製された細胞 2) 組換え DNA 技術 組換え DNA を作製し、それを生細胞(宿主)に移入し、増殖させる技術	p. 57-下から 12 行目 <b>削除</b>	
p. 55-下から 12 行目	<b>3) Ah 受容体 Ah Receptor、Arylhydrocarbon Receptor、アリール炭化水素受容体、特異的な細胞外シグナル伝達分子(リガンド)に結合し、細胞の応答するきっかけとなるタンパク質。ダイオキシン類の生体影響の多くは、この受容体と結合することにより引き起こされる</b> <b>4) リガンド Ligand、タンパク質又は他の分子の特異的部位に結合する分子の総称。受容体が鍵穴でリガンドが鍵の関係。両者が結合すると、両者の関係に特異的な信号が発生し生理反応が引き起こされる</b> <b>5) ルシフェラーゼ遺伝子 Luciferase Gene、生物発光反応を触媒する酵素を発現するホタル由来の遺伝子</b> <b>6) CYP1A1 Cytochrome P450、薬物代謝酵素シトクロム P450 類に属する薬物代謝酵素。CYP1A1 は、ダイオキシン類により誘導されることが知られている</b> <b>7) DRE Dioxin Responsive Element、<u>ダイオキシン応答配列、ダイオキシン類が特異的に結合する遺伝子の塩基配列部分</u></b> <b>8) プラスミド Plasmid、小型の環状 DNA 分子のこと</b>	p. 57-下から 12 行目 <b>修正</b>	<b>1) Ah 受容体 Ah Receptor、Arylhydrocarbon Receptor。アリール炭化水素受容体、特異的な細胞外シグナル伝達分子(リガンド)に結合し、細胞の応答するきっかけとなるタンパク質。ダイオキシン類の生体影響の多くは、この受容体と結合することにより引き起こされる</b> <b>2) リガンド Ligand。タンパク質又は他の分子の特異的部位に結合する分子の総称。受容体が鍵穴でリガンドが鍵の関係。両者が結合すると、両者の関係に特異的な信号が発生し生理反応が引き起こされる</b> <b>3) ルシフェラーゼ遺伝子 Luciferase Gene。生物発光反応を触媒する酵素を発現するホタル由来の遺伝子</b> <b>4) CYP1A1 Cytochrome P450。薬物代謝酵素シトクロム P450 類に属する薬物代謝酵素。CYP1A1 は、ダイオキシン類により誘導されることが知られている</b> <b>5) XRE Xenobiotic Responsive Element。<u>生体異物応答配列</u></b> <b>6) プラスミド Plasmid。小型の環状 DNA 分子のこと</b> <b>7) 継代培養 Subculture。保存培養から微生物あるいは培養細</b>

	<p>9) 継代培養 Subculture、保存培養から微生物あるいは培養細胞の一部を分けて別の新鮮な培地に植え継ぎ、再び培養したもの</p> <p>10) 発光基質 生物発光反応の基質</p>		<p>胞の一部を分けて別の新鮮な培地に植え継ぎ、再び培養したもの</p> <p>8) 発光基質 生物発光反応の基質</p>
p. 56-上から 10 行目	2) 特に指定がない限り、1) で決定した濃度の 1/30 以下に試料ガスにおける検出下限を設定する。	p. 58-上から 10 行目 加筆	2) 特に指定がない限り、1) で決定した濃度の 1/30 以下に試料ガスにおける検出下限を設定する。 <u>(例) 5 ng-TEQ/m<sup>3</sup>N レベルのダイオキシン類濃度を測定する場合 (必要となる試料ガスにおける検出下限は 0.17 ng-TEQ/m<sup>3</sup>N)</u>
p. 56-下から 9 行目	<p>(例) 抽出液を 20 mL に定容し、その抽出液から 10 mL を分取してクリーンアップを行い、最終的に 0.08 mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガス採取量を <u>下記</u> に示す。</p> $V = \frac{300 \times 0.217 \times 0.08}{1000} \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.17} = 0.061$	p. 58-下から 10 行目 加筆	<p>(例) 抽出液を 20 mL に定容し、その抽出液から 10 mL を分取してクリーンアップを行い、最終的に 0.08 mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガスの採取量を <u>以下</u> に示す。 <u>なお、標準物質における検出下限値は 300pg/mL、排出ガスの測定量への換算係数は 0.185 を用いた。</u></p> $V = \frac{300 \times 0.185 \times 0.08}{1000} \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.17} = 0.052$
p. 56-下から 3 行目	2) 特に指定がない限り、1) で決定した濃度の 1/30 以下に試料ガスにおける検出下限を設定する。	p. 58-下から 3 行目 削除 加筆	2) 特に指定がない限り、1) で決定した濃度の 1/30 以下に <u>ばいじん及び燃え殻試料</u> における検出下限を設定する。
p. 57-上から 10 行目	<p>(例) 3 ng-TEQ/g レベルのダイオキシン類濃度を測定する場合 (必要となるばいじん及び燃え殻試料における検出下限は 0.1 ng-TEQ/g)</p> <p>抽出液を 10 mL に定容し、その抽出液全量を用いてクリーンアップを行い、最終的に 0.2 mL の測定用試料溶液に調製する場合のばいじん及び燃え殻試料の採取量を <u>下記</u> に示す。</p> $W = \frac{300 \times 0.217 \times 0.2}{1000} \times \frac{10}{10} \times \frac{1}{0.1} = 0.13$	p. 59-上から 13 行目 加筆	<p>(例) 3 ng-TEQ/g レベルのダイオキシン類濃度を測定する場合 (必要となるばいじん及び燃え殻試料における検出下限は 0.1 ng-TEQ/g)</p> <p>抽出液を 10 mL に定容し、その抽出液全量を用いてクリーンアップを行い、最終的に 0.2 mL の測定用試料溶液に調製する場合のばいじん及び燃え殻試料の採取量を <u>以下</u> に示す。 <u>なお、標準物質における検出下限値は 300pg/mL、ばいじん及び燃え殻の測定量への換算係数は 0.192 を用いた。</u></p> $W = \frac{300 \times 0.192 \times 0.2}{1000} \times \frac{10}{10} \times \frac{1}{0.1} = 0.12$
p. 57-下から 2 行目	試料の前処理に用いる試薬は、JIS K0311 <u>又は</u> 厚生省平成 4 年告示第 192 号別表第一(第一号関係) (1)	p. 60-上から 2 行目 修正	試料の前処理に用いる試薬は、JIS K0311 <u>若しくは</u> 平成 4 年厚生省告示第 192 号別表第一(第一号関係) (1)

p. 58-上から3行目	2) ケイソウ土	p. 60-上から6行目 加筆	2) ケイソウ土 <u>バリアン社製</u> <u>ハイドロマトリックス</u> 、又は <u>同等の品質のもの。</u>
p. 58-下から17行目	JIS K0311 又は <u>厚生省平成4年告示第192号別表第一(第一号関係)(1)に記載のもの及び下記の器具、又は同等品</u>	p. 60-下から11行目 修正	JIS K0311 又は <u>平成4年厚生省告示第192号別表第一(第一号関係)(1)に記載のもの及び下記の器具、又はこれらと同等の品質のもの。</u>
p. 58-下から7行目	9) KD管	p. 60-下から1行目 加筆	9) KD管 <u>φ12 mm×L 92mm、クリーンアップ済み試料のDMSO置換に使用</u>
p. 61-上から1行目	(4) アセトン抽出液を濃縮し、トルエン抽出液と合わせた後無水硫酸ナトリウムで脱水し、合わせる。	p. 63-上から4行目 修正	(4) アセトン抽出液を濃縮したものと及びトルエン抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水し、合わせる。
p. 62-上から2行目	2) 精製カラムの作成(図3-2-6)	p. 64-上から5行目 修正	2) 精製カラムの作製(図3-2-6)
p. 62-下から13行目	3) クリーンアップ	p. 64-下から11行目 加筆	3) クリーンアップ操作
p. 63-上から19行目	<u>ヒト遺伝子組み換え細胞である101L細胞が用いられる。試料中に含まれるダイオキシン類が細胞内のAh受容体と結合することによって発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光を発光光度計(ルミノメーター)で測定することによりダイオキシン類の定量を行う。</u> 2, 3, 7, 8-TeCDDにより検量線を作成し、試料の発光量(RLU)から実測濃度を算出する。排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を実測濃度に乗じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。	p. 65-下から14行目 修正	<u>本方法は、ダイオキシン類応答性組換え細胞101Lを用いて、試料中に含まれるダイオキシン類が細胞内のAh受容体と結合することによって発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光量を発光光度計で測定することによりダイオキシン類の毒性等量を測定する方法である。</u> 2, 3, 7, 8-TeCDDを用いて検量線を作成し、試料の発光量から算出した実測濃度に排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を乗じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。
p. 63-下から11行目	2.1 使用細胞 ダイオキシン類応答性組換え細胞101L： <u>3個の生体異物応答配列XREを含むヒトのシトクロムP450(CYP1A1)プロモーターにホタルのルシフェラーゼ遺伝子と融合した5' 隣接配列が安定的に統合されたプラスミドpL1A1Nを、人肝細胞由来HepG2に導入したもの</u>	p. 65-下から8行目 修正	2.1 使用細胞 ダイオキシン類応答性組換え細胞101L： <u>レポーター遺伝子としてホタルのルシフェラーゼ遺伝子を用い、その上流域に生体異物応答配列XREを3個持つヒトのシトクロムP450(CYP1A1)プロモーターを配置したプラスミドpL1A1Nを、ヒト肝がん細胞由来HepG2に導入したもの。</u>

p. 64-上から 8 行目	11) リン酸緩衝生理食塩液 (PBS) マグネシウム及びカルシウム 不含	p. 66-上から 12 行目 修正	11) リン酸緩衝生理食塩液 (PBS (-)) マグネシウム及びカルシウム 不含
p. 64-上から 9 行目	<u>12) ルシフェラーゼアッセイキット BD PharMingen 製 556866 (発光基質、緩衝液、細胞溶解液同梱) 又はこれと同等の性能を有するもの</u>	p. 66-上から 13 行目 変更	<u>12) 発光基質 東洋インキ製 ピッカジーン発光キット</u>
p. 64-下から 14 行目	9) マイクロピペット 10) 12 チャンネルマイクロピペット 11) ピペットエイド 12) 安全キャビネット	p. 66-下から 11 行目 修正	9) マイクロピペット <u>5~20<math>\mu</math>L、20~200<math>\mu</math>L、200~1000<math>\mu</math>L</u> 10) 12 チャンネルマイクロピペット <u>5~50<math>\mu</math>L、50~300<math>\mu</math>L</u> 11) ピペットエイド <u>メスピペットに取り付けて液の出し入れに使用できるもの</u> 12) 安全キャビネット <u>クラスIIのもの</u>
p. 65 下から 12 行目	シャーレの底面に張り付いている細胞をメスピペットを用いて ピペッティングで剥がして遠心管に移す(注2)。	p. 67-下から 8 行目 修正	シャーレの底面に張り付いている細胞はメスピペットを用いて ピペッティングで剥がして遠心管に移す(注2)。
p. 65 下から 9 行目	5) 上澄み液を廃棄し、残ったペレット状の細胞に培養液を適量 加えてメスピペットを用いてピペッティングし、懸濁液を作製する (注2)。	p. 67-下から 5 行目 削除	5) 上澄み液を廃棄し、残ったペレット状の細胞に培養液を適量 加えてピペッティングし、懸濁液を作製する(注2)。
p. 65 下から 5 行目	7) よく混和した懸濁液を血球計算盤に適量分注し、顕微鏡で細胞 数をカウントする。カウントをもとに懸濁液の濃度(cells/mL) を計算する。	p. 67-下から 1 行目 修正	7) よく混和した懸濁液を血球計算盤に適量分注し、顕微鏡で 細胞数をカウントして懸濁液の濃度(cells/mL)を計算する。
p. 66-下から 6 行目	<b>4.2 曝露</b> 1) 測定値が定量範囲内... 希釈系列試料を作製する。試料希釈 の例を表 3-2) -1 に示す。	p. 68-下から 3 行目 加筆	<b>4.2 曝露</b> 1) 測定値が定量範囲内... 希釈系列試料を作製する。 <u>試料希 釈の例を表 3-2-1 に示す。</u>
p. 67-上から 3 行目		p. 69-上から 6 行目 加筆	5) <u>ウェルプレートでの試料の配置例を図 3-2-7 に示す。</u>
p. 67-上から 3 行目	5) 培養マイクロプレートをインキュベーターに入れ、16 $\pm$ 0.5 時間曝露する。	p. 69-上から 7 行目 修正	6) 培養マイクロプレートをインキュベーターに入れ、16 $\pm$ 0.5 時間曝露する。
p. 69-上から 4 行目	2) 測定試料の fold induction を検量線の回帰式に代入し、 <u>測定 試料の定量を行う。</u>	p. 71-上から 3 行目 修正	2) 測定試料の fold induction を検量線の回帰式に代入し、 <u>測 定値を求める。</u>

p. 69-上から 6 行目	3) 検量線の定量範囲内にある <b>発光量</b> (fold induction)のうち、試料の希釈倍率と <b>定量データ</b> の間に良好な直線関係(希釈直線性)が得られる希釈段階について、 <b>定量データ</b> に希釈倍率を乗じて実測濃度(測定用試料当たり)を求める。	p. 71-上から 4 行目 <b>修正</b>	3) 検量線の定量範囲内にある fold induction のうち、試料の希釈倍率と <b>測定値</b> の間に良好な直線関係(希釈直線性)が得られる希釈段階について、 <b>測定値</b> に希釈倍率を乗じて実測濃度(測定用試料当たり)を求める。
p. 69-上から 10 行目	5) 試料希釈列の全ての <b>発光量</b> (fold induction)が検量線の定量範囲から外れた場合、試料の希釈倍率を再度調製した上で測定を行う。	p. 71-上から 9 行目 <b>削除</b>	5) 試料希釈列の全ての fold induction が検量線の定量範囲から外れた場合、試料の希釈倍率を再度調製した上で測定を行う。
p. 69-上から 12 行目	(備考) 排出ガスの酸素濃度による補正 <b>が必要な場合には</b> 、次式によって <b>所定の酸素濃度に換算する</b> 。 $C = \frac{21 - O_n}{21 - O_s} \times C_s$ ここに、 $C$ : 酸素の濃度 $O_n$ における実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) $O_n$ : <b>換算する酸素の濃度 (%)</b> $O_s$ : 排出ガス中の酸素の濃度(注 4) (%) $C_s$ : 排出ガス中の実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N)	p. 71-上から 11 行目 <b>修正</b>	(備考) 排出ガスの酸素濃度による補正は、次式による。 $C = \frac{9}{21 - O_s} \times C_s$ ここに、 $C$ : 酸素の濃度 $O_n$ における実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) $O_s$ : 排出ガス中の酸素の濃度(注 4) (%) $C_s$ : 排出ガス中の実測濃度 (ng/m <sup>3</sup> N) <b>(以下この換算式に統一する。)</b>
p. 71-上から 8 行目	<b>6.2 試料における検出下限及び定量下限</b> 試料における検出下限及び定量下限は、試料量と前処理を経た最終検液量の数値と、 <b>標準物質における</b> 検出下限及び定量下限から理論的に算出する。	p. 73-上から 5 行目 <b>修正</b>	<b>6.2 試料における検出下限及び定量下限</b> 試料における検出下限及び定量下限は、試料量と前処理を経た最終検液量の数値と、 <b>実運用上の</b> 検出下限及び定量下限から理論的に算出する。
p. 72-下から 4 行目	ばいじん及び燃え殻試料については、 <b>厚生省</b> 平成 4 年告示第 192 号別表第一(第一号関係)(2)に準拠した方法(ただし、同表ウ(イ)の内標準物質の添加の操作は行わない)により測定量(毒性等量)を求め、・・・	p. 74-下から 3 行目 <b>修正</b>	ばいじん及び燃え殻試料については、平成 4 年 <b>厚生省</b> 告示第 192 号別表第一(第一号関係)(2)に準拠した方法(ただし、同表ウ(イ)の内標準物質の添加の操作は行わない)により測定量(毒性等量)を求め、・・・
p. 73-下から 7 行目	多数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=39、n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。	p. 75-下から 7 行目 <b>修正</b>	多数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=41、n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。
p. 74-上から 2 行目	その 3 前処理に、多層カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法( <b>環境省</b> 平成 17 年第 92 号第 1 の 3)	p. 76-上から 2 行目 <b>修正</b>	その 3 前処理に、多層カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年 <b>環境省</b> 告示第 92 号第 1 の 3)

p. 74-上から 6 行目	対象媒体ごとに試料を採取し、ダイオキシン類を抽出後、クリーンアップを行い、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 を用いた測定により定量する。測定方法のフローを図 3-3-1 に示す。	p. 76-上から 6 行目 <b>加筆</b>	対象媒体ごとに試料を採取し、ダイオキシン類を抽出後、クリーンアップを行い、ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 を用いた <u>レポータージーンアッセイ</u> による測定により定量する。測定方法のフローを図 3-3-1 に示す。
p. 74-上から 8 行目	<p><u>1) 遺伝子組換え細胞 組換え DNA 技術を用いて作製された細胞</u></p> <p><u>2) 組換え DNA 技術 組換え DNA を作製し、それを生細胞(宿主)に移入し、増殖させる技術</u></p> <p><u>3) Ah 受容体 Arylhydrocarbon Receptor、アリール炭化水素受容体、特異的な細胞外シグナル伝達分子(リガンド)に結合し、細胞の応答するきっかけとなるタンパク質。ダイオキシン類の生体影響の多くは、この受容体と結合することにより引き起こされる</u></p> <p><u>4) ルシフェラーゼ遺伝子 Luciferase Gene、生物発光反応を触媒する酵素を発現するホタル由来の遺伝子</u></p> <p><u>5) 転写調節領域 ある遺伝子の転写調節に関わる遺伝子上の領域</u></p> <p><u>6) XRE Xenobiotics Responsive Element、生体異物応答配列</u></p> <p><u>7) 継代培養 Subculture、保存培養から微生物あるいは培養細胞の一部を分けて別の新鮮な培地に植え継ぎ、再び培養したもの</u></p> <p><u>8) 発光基質 生物発光反応の基質</u></p> <p><u>9) 精度プロファイル 精度確認用の標準溶液濃度と変動係数(CV%)との関連図</u></p>	p. 76-上から 9 行目 <b>修正</b>	<p><u>1) Ah 受容体 Arylhydrocarbon Receptor、アリール炭化水素受容体、特異的な細胞外シグナル伝達分子(リガンド)に結合し、細胞の応答するきっかけとなるタンパク質。ダイオキシン類の生体影響の多くは、この受容体と結合することにより引き起こされる。</u></p> <p><u>2) ルシフェラーゼ遺伝子 Luciferase Gene、生物発光反応を触媒する酵素を発現するホタル由来の遺伝子。</u></p> <p><u>3) XRE Xenobiotics Responsive Element、生体異物応答配列</u></p> <p><u>4) 継代培養 Subculture、保存培養から微生物あるいは培養細胞の一部を分けて別の新鮮な培地に植え継ぎ、再び培養したもの。</u></p> <p><u>5) 発光基質 生物発光反応の基質。</u></p> <p><u>6) 精度プロファイル 精度確認用の標準溶液濃度と変動係数(CV%)との関連図。</u></p>
p. 75-下から 1 3 行目	抽出液を 50mL に定容し、その抽出液から 25mL を分取してクリーンアップを行い、最終的に 0.07mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガス <u>採取量を下記に示す。</u>	p. 77-下から 15 行目 <b>加筆</b>	抽出液を 50mL に定容し、その抽出液から 25mL を分取してクリーンアップを行い、最終的に 0.07mL の測定用試料溶液に調製する場合の試料ガスの <u>採取量を以下に示す。なお、標準物質における検出下限値は 100pg/mL、排出ガスの測定量への換算係数は 0.319 を用いた。</u>
p. 76-上から 8 行目	抽出液を 50mL に定容し、その抽出液全量を用いてクリーンアップを行い、最終的に 0.07mL の測定用試料溶液に調製する場合のばいじん及び燃え殻試料の採取量を下記に示す。	p. 78-上から 8 行目 <b>加筆</b>	抽出液を 50mL に定容し、その抽出液全量を用いてクリーンアップを行い、最終的に 0.07mL の測定用試料溶液に調製する場合のばいじん及び燃え殻試料の採取量を <u>以下に示す。なお、標準物質における検出下限値は 100pg/mL、ばいじん及び燃え殻の測定量への換算係数は 0.390 を用いた。</u>
p. 76-下から 6 行目	<p>1) 水 JIS K0557 に規定する A4(又は A3)の水又は同等<u>な</u>品質のもの</p> <p>2) メタノール JIS K8891 に規定するもの又は同等<u>な</u>品質のもの</p>	p. 78-下から 2 行目 <b>加筆</b>	<p>1) 水 JIS K0557 に規定する A4(又は A3)の水、又は同等<u>の</u>品質のもの</p> <p>2) メタノール JIS K8891 に規定するもの、又は同等<u>の</u>品質のもの</p>

<p>3) アセトン JIS K8040 に規定するもの又は同等の品質のもの  4) トルエン JIS K8680 に規定するもの又は同等の品質のもの  5) ジクロロメタン JIS K8117 に規定するもの又は同等の品質のもの  6) ヘキサン JIS K8825 に規定するもの又は同等の品質のもの  7) ジメチルスルホキシド(DMSO) JIS K9702 に規定するもの又は同等の品質のもの(注 1)  8) 硫酸ナトリウム JIS K8987 に規定するもの又は同等の品質のもの  9) 塩酸 JIS K8180 に規定するもの又は同等の品質のもの  10) 硫酸 JIS K8951 に規定するもの又は同等な品質のもの  11) ヘキサン洗浄水 1)の水を 6)のヘキサンで十分洗浄したもの  12) シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  13) 水酸化カリウム(2%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  14) 硫酸(44%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  15) 硝酸銀(10%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  16) アルミナ JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  17) ガラス繊維ろ紙 JIS K0311 6.2 に規定するもの又は同等な品質のもの  18) 窒素 JIS K01107 に規定するもの又は同等な品質のもの  19) 酢酸 JIS K8355 に規定する特級又は同等の品質のもの  20) 無水酢酸 JIS K8886 に規定する特級又は同等の品質のもの</p>	<p>3) アセトン JIS K8040 に規定するもの、又は同等の品質のもの  4) トルエン JIS K8680 に規定するもの、又は同等の品質のもの  5) ジクロロメタン JIS K8117 に規定するもの、又は同等の品質のもの  6) ヘキサン JIS K8825 に規定するもの、又は同等の品質のもの  7) ジメチルスルホキシド(DMSO) JIS K9702 に規定するもの、又は同等の品質のもの(注 1)  8) 硫酸ナトリウム JIS K8987 に規定するもの、又は同等の品質のもの  9) 塩酸 JIS K8180 に規定するもの、又は同等の品質のもの  10) 硫酸 JIS K8951 に規定するもの、又は同等の品質のもの  11) ヘキサン洗浄水 1)の水を 6)のヘキサンで十分洗浄したもの  12) シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  13) 水酸化カリウム(2%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  14) 硫酸(44%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  15) 硝酸銀(10%質量分率)シリカゲル JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  16) アルミナ JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  17) ガラス繊維ろ紙 JIS K0311 6.2 に規定するもの、又は同等の品質のもの  18) 窒素 JIS K01107 に規定するもの、又は同等の品質のもの  19) 酢酸 JIS K8355 に規定する特級、又は同等の品質のもの  20) 無水酢酸 JIS K8886 に規定する特級、又は同等の品質のもの</p>
---	--

p. 77-下から 12 行目	<b>3.2 ソックスレー抽出器</b> JIS R3503 に規定するもの又はこれと同等の品質のもの。接続部にグリースを使用してはならない	p. 79-下から 10 行目 <b>加筆</b>	<b>3.2 ソックスレー抽出器</b> JIS R3503 に規定するもの、又はこれと同等の品質のもの。接続部にグリースを使用してはならない
p. 78-上から 5 行目	<b>4.2.1</b> 排出ガス	p. 80-下から 3 行目 <b>修正</b>	<b>1)</b> 排出ガス
p. 79-上から 1 行目	<b>4.2.2</b> ばいじん及び燃え殻	p. 81-下から 4 行目	<b>2)</b> ばいじん及び燃え殻
p. 82-上から 12 行目	<b>1. 測定の概要</b> マウス肝由来の遺伝子組み換え細胞である HeB5 細胞を用いて、試料中に含まれるダイオキシン類が細胞内の Ah 受容体と結合することによって発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光を発光光度計(ルミノメーター)で測定することにより、ダイオキシン類の定量を行う。 2, 3, 7, 8-TeCDD によりを用いて検量線を作成し、試料の発光量(RLU)から実測濃度を算出する。排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を実測濃度に乗じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。	p. 85-上から 3 行目 <b>修正</b>	<b>1. 測定の概要</b> 本方法は、 <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5</u> を用いて、試料中に含まれるダイオキシン類が細胞内の Ah 受容体と結合することによって発現するルシフェラーゼの活性に基づく発光量を発光光度計で測定することによりダイオキシン類の毒性等量を測定する方法である。 2, 3, 7, 8-TeCDD を用いて検量線を作成し、試料の発光量から算出した実測濃度に排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を乗じることにより、測定量(毒性等量)を算出する。
p. 82-上から 20 行目	<b>2.1 使用細胞</b> ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 : <u>ラットグルタチオン S-トランスフェラーゼ Ya サブユニット遺伝子の転写調節領域にあるダイオキシン応答配列をプラスミド pGL3 のホタルのルシフェラーゼ遺伝子上流域に含むプラスミド pGL3-chTATA-YaXREx5-bsd</u> を、マウス肝由来 Hepa-1 細胞に導入したもの	p. 85-上から 10 行目 <b>修正</b>	<b>2.1 使用細胞</b> ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 : <u>レポーター遺伝子としてホタルのルシフェラーゼ遺伝子を用い、その上流域に生体異物応答配列 XRE を 5 個配置したプラスミド pGL3-chTATA-YaXREx5-bsd</u> を、マウス肝がん細胞由来 Hepa-1c1c7 に導入したもの
p. 83-上から 3 行目	測定に用いる器具及び装置は、 <u>以下</u> による。	p. 85-下から 6 行目 <b>修正</b>	測定に用いる器具及び装置は、 <u>次</u> による。
p. 84-下から 14 行目	継代は 20 代程度までを使用の目安とする。継代中の細胞がある場合、 <u>工事停電等によりインキュベーターの運転が止まってしまふ恐れがある際は、予備電源等を用意して、可能な限り培養環境を一定に保つように留意する。</u>	p. 87-上から 19 行目 <b>削除</b>	継代は 20 代程度までを使用の目安とする。継代中の細胞は可能な限り培養環境を一定に保つように留意する。
p. 84-下から 11 行目	<b>3.3 試験使用細胞の保存</b>	p. 87-上から 20 行目 <b>削除</b>	<b>3.3 細胞の保存</b>



p. 84-下から7行目	細胞凍結保存用チューブに0.5~1mL/ <u>細胞凍結保存用</u> チューブの割合で細胞 <u>保存</u> 懸濁液を分注し、-80℃のディープフリーザーにて凍結させる(-20~-30℃のフリーザーで凍結後、ディープフリーザーに移しても良い)。	p. 87-上から24行目削除	細胞凍結保存用チューブに0.5~1mL/チューブの割合で細胞懸濁液を分注し、-80℃のディープフリーザーにて凍結させる(-20~-30℃のフリーザーで凍結後、ディープフリーザーに移しても良い)。
p. 85-上から3行目	希釈細胞懸濁液をリザーバーに注ぎ、マルチチャンネルピペッター( <u>8ch 電動</u> )等で96ウェルプレートに100μL/wellの割合で分注する。	p. 87-下から5行目削除	希釈細胞懸濁液をリザーバーに注ぎ、マルチチャンネルピペッター等で96ウェルプレートに100μL/wellの割合で分注する。
p. 85-上から9行目	必要に応じて更に希釈を行う。希釈にはガラス容器( <u>ガラスバイアル</u> )を用いる。	p. 88-上から2行目修正	必要に応じて更に希釈を行う。希釈にはガラス容器等( <u>ダイオキシン類の吸着のない材質製のもの</u> )を用いる。
p. 85-上から12行目	希釈元には市販の2, 3, 7, 8-TeCDDのDMSO溶液が利用できる。	p. 88-上から5行目加筆	希釈元には市販の2, 3, 7, 8-TeCDD <u>に付属</u> のDMSO溶液が利用できる。
p. 85-上から15行目	・・・、96ウェルディープウェルプレートにマルチチャンネルピペッター( <u>8ch 電動</u> )を用いて990μL/well分注する。これに上で調製した試料のDMSO溶液を10μL/well添加する。	p. 88-上から8行目削除	・・・96ウェルディープウェルプレートにマルチチャンネルピペッターを用いて990μL/well分注する。これに上で調製した試料のDMSO溶液を10μL/well添加する。
p. 85-上から17行目	一連(例えば、96ウェルプレートの1枚分)の試料添加が終了したら、マルチチャンネルピペッター( <u>8ch 電動</u> )で試料添加済み培地を、吸引、吐出の繰り返しにより混合した後、・・・	p. 88-上から9行目削除	一連(例えば、96ウェルプレートの1枚分)の試料添加が終了したら、マルチチャンネルピペッターで試料添加済み培地を、吸引、吐出の繰り返しにより混合した後、・・・
p. 85-下から6行目	続いて、PBS(-)(非滅菌)をマルチチャンネルピペッター( <u>8ch 電動</u> )で80~100μL/well添加し、96ウェルプレートを緩やかに傾け(回して)ウェル内を洗浄する(細胞が剥がれないように注意)。	p. 88-上から17行目削除	続いて、PBS(-)(非滅菌)をマルチチャンネルピペッターで80~100μL/well添加し、96ウェルプレートを緩やかに傾け(回して)ウェル内を洗浄する(細胞が剥がれないように注意)。
p. 91-下から5行目	ばいじん及び燃え殻試料については、 <u>厚生省</u> 平成4年告示第192号別表第一(第一号関係)(2)に準拠した方法(ただし、同表ウ(イ)の内標準物質の添加の操作は行わない)ならびに本法4.1~4.3及び5.3に従って操作し、それぞれの方法について測定量(毒性等量)を求める。	p. 94-下から5行目修正	ばいじん及び燃え殻試料については、平成4年 <u>厚生省</u> 告示第192号別表第一(第一号関係)(2)に準拠した方法(ただし、同表ウ(イ)の内標準物質の添加の操作は行わない)ならびに本法4.1~4.3及び5.3に従って操作し、それぞれの方法について測定量(毒性等量)を求める。
p. 92-上から3行目	多数の排出ガス試料(この例ではn=25、n=20以上が望ましい)について本測定方法とHRGC/HRMS法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求め、HRGC/HRMS法による毒性等量を本測定方法による実測濃度で除したものの平均値を換算係数とする。	p. 95-上から3行目修正	多数の排出ガス試料(この例ではn=25、n=20以上が望ましい)について本測定方法とHRGC/HRMS法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求め、HRGC/HRMS法による毒性等量を本測定方法による実測濃度で除したものの平均値を換算係数とする。

p. 92-上から 11 行目	複数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=44, n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。HRGC/HRMS 法による毒性等量を本測定方法による実測濃度で除したものの平均値を換算係数とする。	p. 95-上から 11 行目 修正	複数のばいじん及び燃え殻試料(この例では n=44, n=20 以上が望ましい)について本測定方法と HRGC/HRMS 法でそれぞれ実測濃度、毒性等量を求める。HRGC/HRMS 法による毒性等量を本測定方法による実測濃度で除したものの平均値を換算係数とする。
		p. 96 追加技術 挿入	<u>その 4 前処理に、硫酸シリカゲル加熱還流法</u> を利用し、測定に、 <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 H4 II E-luc</u> を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 1 の 4)
		p. 114 追加技術 挿入	<u>その 5 前処理に、多層シリカゲルカラム及びアルミナカラム</u> を使用し、測定に、 <u>ダイオキシン類応答性組換え細胞 DR-EcoScreen</u> を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 1 の 5)
		p. 137 追加技術 挿入	<u>その 6 前処理に、硫酸及び多層シリカゲルカラム</u> を使用し、測定に、 <u>ダイオキシン類、アリール炭化水素受容体及びアリール炭化水素受容体核運搬タンパク質の複合体形成反応</u> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 1 の 6)
p. 93-上から 2 行目	前処理に、多層シリカゲルカラム及び <u>カーボンカラム</u> を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体と、 <u>検量線作成用標準品</u> 及びプレート固相抗原を用いた <u>抗原固相化-酵素免疫反応</u> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(環境省平成 17 年告示第 92 号第 2)	p. 160-上から 2 行目 修正	<u>その 1 前処理に、多層シリカゲルカラム及び活性炭カラム</u> を使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相抗原を用いた <u>間接競合酵素免疫測定法</u> を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成 17 年環境省告示第 92 号第 2 の 1)
p. 93-上から 6 行目及びフロー	<u>抗原固相化-酵素免疫反応</u> を用いた測定により定量する。	p. 160-上から 6 行目及びフロー 修正	<u>抗ダイオキシン類モノクローナル抗体</u> を用いた <u>間接競合酵素免疫測定法</u> による測定により定量する。
p. 94-上から 8 行目の式	$V = 0.0669 \times \left( \frac{Q_{DL}}{1000} \right)^{0.8301} \times v \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$	p. 161-上から 8 行目の式 修正	$V = Q_{DL} \times v \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$
p. 94-上から 9 行目	(0°C、101.32kPa) (m³N)	p. 161-上から 9 行目 修正	(m³N)

p. 94-上から10行目	標準物質における検出下限 (ng/mL, DMSO 溶液中) <u>(他の方法と単位が異なることに注意)</u>	p. 161-上から10行目 修正	標準物質の検出下限 (ng-TEQ/mL, DMSO 溶液中)
p. 94-上から15行目	検出下限 (0℃、101.32kPa) (ng-TEQ/m <sup>3</sup> N)	p. 161-上から14行目 修正	(ng-TEQ/m <sup>3</sup> N)
p. 94-上から16行目	<u>なお、Q<sub>DL</sub>には、第5節「6.1 標準物質における検出下限及び定量範囲の確認」に従い算出した検出下限(DMSO溶液1mL相当量)を用いる。「6.1の2) 検出下限及び定量範囲の算出例」における表4-1-7に示した例では、排出ガス測定用キットの標準物質における検出下限は0.01ng-TEQ/mLである。</u>	削除	
p. 94-下から8行目及び式	試料ガス採取量を下記に示す。 $V = 0.0669 \times \left(\frac{120}{1000}\right)^{0.8301} \times 1 \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.17} = 0.14$	p. 161-下から12行目及び式 修正加筆	試料ガスの採取量を以下に示す。なお、標準物質における検出下限は0.011ng-TEQ/mLを用いた。 $V = 0.011 \times 1 \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.17} = 0.13$
p. 94-下から6行目	4時間 3m <sup>3</sup> N	p. 161-下から9行目 加筆	4時間、3m <sup>3</sup> N
p. 94-下から2行目	1/30以下に <u>試料ガス</u> における	p. 161-下から5行目 修正	1/30以下に <u>ばいじん及び燃え殻</u> における
p. 95-上から1行目の式	$W = 0.0035 \times \left(\frac{Q_{DL}}{1000}\right)^{0.974} \times v \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$	p. 161-下から3行目の式 修正	$W = Q_{DL} \times v \times \frac{V_E}{V'_E} \times \frac{1}{C_{DL}}$
p. 95-上から3行目	標準物質における検出下限 (ng/mL, DMSO 溶液中) <u>(他の方法と単位が異なることに注意)</u>	p. 161-下から1行目 修正	標準物質の検出下限 (ng-TEQ/mL, DMSO 溶液中)
p. 95-上から9行目	<u>なお、Q<sub>DL</sub>には、第5節「6.1 標準物質における検出下限及び定量範囲の確認」に従い算出した検出下限(DMSO溶液1mL相当量)を用いる。「6.1の2) 検出下限及び定量範囲の算出例」における表4-1-7に示した例では、ばいじん及び燃え殻測定用キットの標準物質における検出下限は0.006ng-TEQ/mLである。</u>	削除	

p. 95-下から5行目	必要となる試料	p. 162-上から7行目 加筆	必要となる <u>ばいじん及び燃え殻</u> 試料
p. 95-下から2行目及び式	採取量を <u>下記に示す</u> 。 $W = 0.0035 \times \left( \frac{1500}{1000} \right)^{0.974} \times 1 \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.1} = 0.10$	p. 162-上から10行目及び式 修正	採取量を <u>以下に示す</u> 。なお、 <u>標準物質における検出下限は0.009ng-TEQ/mLを用いた</u> 。 $W = 0.009 \times 1 \times \frac{20}{10} \times \frac{1}{0.1} = 0.18$
p. 96-下から17行目	水又は	p. 163-上から4行目 加筆	水、 <u>又は</u>
p. 96-下から16行目	するもの又は	p. 163-上から5行目 加筆	するもの、 <u>又は</u> 以下、表記方法を統一する。
p. 96-下から9行目	9) <u>多層シリカゲルカラム</u> JIS K0311に規定されたシリカゲル類と同等の分離性能を有するもの	p. 163-上から12行目 修正加筆	9) <u>多層シリカゲルカラム</u> <u>ダイオキシン類のクリーンアップ用として市販されているものの中で、活性炭カラムと連結して使用が可能なもの</u> 。JIS K0311に規定されたシリカゲル類と同等の分離性能を有するもの。 <u>。</u>
p. 96-下から8行目	10) <u>活性炭カラム</u> <u>ダイオキシン類のクリーンアップ用として... が確認されているもの</u> 。(リバーシブルカーボンカラム <u>又はそれと同等以上の性能を有するもの</u> )	p. 163-上から15行目 修正加筆	10) <u>活性炭カラム</u> <u>ダイオキシン類のクリーンアップ用として... が確認されているもの</u> 。 <u>逆方向の溶出が可能なもの</u> 。(リバーシブルカーボンカラム)。 <u>。</u>
p. 96-下から3行目	4時間以上加熱 <u>処理</u> して	p. 163-上から20行目 修正	4時間以上加熱して
p. 98-99のフロー	図4-1-3 及び 図4-1-4	P164-165のフロー 修正	図4-1-3 及び 図4-1-4
p. 99-上から2行目	<u>厚生省</u> 平成4年告示第192号	p. 165-上から2行目 修正	平成4年 <u>厚生省</u> 告示第192号
p. 100-下から4行目	2) <u>精製カラムの作成</u> JIS K0311に規定された方法に準拠して、多層シリカゲルカラム及び活性炭カラムを作成する。	p. 166-上から10行目 加筆	2) <u>精製カラムの作製</u> <u>市販品を用いる</u> 。もしくは、JIS K0311に規定された方法に準拠して、多層シリカゲルカラム及び活性炭カラムを作成する。

p. 101-下から6行目	a) <u>多層シリカゲルカラムと活性炭カラムを図 4-1-6 に示す通りに連結し、最初にトルエン 100mL で洗浄する。続いてヘキサン 100mL で洗浄する。</u>	p. 167-上から5行目 修正加筆	a) <u>多層シリカゲルカラムをヘキサン 10mL で洗浄し、ヘキサン流下中に吸引ポンプを使用して空気抜きを行う。</u> b) <u>活性炭カラムを逆方向に連結し、最初にトルエン 100mL で洗浄し、トルエン流下中に吸引ポンプを使用して空気抜きを行う。続いてヘキサン 100mL で洗浄する。</u>
p. 101		p. 167-上から9行目 加筆	c) <u>多層シリカゲルカラムと活性炭カラムを図 4-1-6 に示す通りに連結する。</u>
p. 101-上から8行目	b) ~ f)	p. 167-上から10行目 修正	d) ~ h) に繰り返し下げる
p. 101-上から17行目	(注 2) <u>多層シリカゲルカラム及び活性炭カラム</u>	p. 167-上から18行目 修正	(注 2) 活性炭カラム
p. 102-上から1行目	4) <u>DMSO への置換操作及び測定用試料の保存</u> (1)	p. 167-下から2行目 修正加筆	なお、ここで挙げた精製操作以外の操作であっても、次の条件を満たすことが確認されれば、用いてもよい。この確認には、適用する試料媒体について、5 以上の採取地点の異なる試料を用いて 5 回以上の繰り返し、計 25 点以上のデータが必要である。 a) <u>ダイオキシン類の回収率が HRGC/HRMS 法による測定で 90% 以上である。</u> b) <u>適用しようとする新規の操作方法によって得られた試料液について本測定方法によりえられた結果が、従来の操作方法により得られた試料液で本測定方法により得られた結果の ±30% である。</u>
p. 102-上から1行目		p. 168-上から5行目 修正加筆	4) <u>溶媒置換及び測定用試料の保存</u> (1)
p. 102-上から6行目	(3) <u>(2) の DMSO 溶液をパスツールピペットでメスフラスコに移す。</u> (4) <u>少量の DMSO 溶液で試験管内を洗浄し、その洗液も先のメスフラスコに移す。最終的に DMSO 溶液で一定量に定容する。(通常 1mL に定容する。試料中の予想ダイオキシン類濃度により定容量を変更しても良い。)</u> (5) <u>定容した DMSO 溶液を所定の褐色バイアル瓶に移し、密栓後、</u>	p. 168-上から9行目 修正	(3) <u>(2) の DMSO 溶液を窒素気流下で 10 分間程度静置する。ヘキサン等の疎水性有機溶媒が残っていると、測定操作の段階で検体溶液が白濁することがあるので注意すること。</u> (4) <u>DMSO 溶液をパスツールピペットでメスフラスコに移す。</u> (5) <u>少量の DMSO 溶液で試験管内を洗浄し、その洗液も先のメスフラスコに移す。最終的に DMSO 溶液で一定量に定容する。(通常 1mL に定容する。試料中の予想ダイオキシン類濃度によ</u>

	<u>室温で暗所に保存する。</u>		<u>り定容量を変更しても良い。)</u> <u>(6)定容した DMSO 溶液を所定の褐色バイアル瓶に移し、密栓後、室温で暗所に保存する。</u>
p. 102-上から 13 行目	本方法は、ダイオキシン類の毒性等量(TEQ)と相関性が高い、五塩化及び六塩化ジベンゾフラン類と特異的に反応する抗ダイオキシン類抗体を用いた <u>酵素免疫測定法</u> を利用するものである。 2,4,5-トリクロロフェノールグリシルグリシン(TCP)により検量線を作成し、試料の吸光度から実測濃度を算出する。排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を <u>実測濃度</u> に乘じることにより測定量(毒性等量)を算出する。	p. 168-上から 18 行目 修正	本方法は、ダイオキシン類の毒性等量との相関性が高い、五塩化ジベンゾフラン類と特異的に反応する抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相抗原を用いた <u>間接競合酵素免疫測定法</u> によりダイオキシン類の毒性等量を測定する方法である。 2,4,5-トリクロロフェノールグリシルグリシン(TCP)を用いて検量線を作成し、試料の吸光度から算出した実測濃度に排出ガス、ばいじん及び燃え殻について定められた換算係数を乘じることにより測定量(毒性等量)を算出する。
p. 102-下から 16 行目	<b>2.1 使用キット</b> <u>酵素免疫測定法</u> キット(抗ダイオキシン類モノクローナル抗体には、マウス由来の融合細胞(ハイブリドーマ)から取得した五塩化ジベンゾフラン類を特異的に認識する抗体を、 <u>検量線作成用標準品及びプレート固相抗原</u> には、2,4,5-トリクロロフェノール及び <u>グリシルグリシン</u> 又は牛血清アルブミン(BSA)から合成した化合物を使用する)(注3) <u>(注3) 排出ガス測定用キットとばいじん及び燃え殻測定用キットがあり、用途に応じて使い分けること。キットの内容物の例を以下に示す。</u>	p. 168-下から 10 行目 修正	<b>2.1 使用キット</b> <u>使用キット</u> (抗ダイオキシン類モノクローナル抗体には、マウス由来の融合細胞(ハイブリドーマ)から取得した五塩化ジベンゾフラン類を特異的に認識する抗体を、プレート固相抗原には、2,4,5-トリクロロフェノール及び牛血清アルブミン(BSA)から合成した化合物を、 <u>検量線作成用標準品には、2,4,5-トリクロロフェノール及びグリシルグリシンから合成した化合物を使用する。</u> )は、以下の試薬等から構成されるものである。なお、1)~4)までの試薬は発送時に室温保存用箱に収納されており、5)~12)までの試薬及びパーツは冷蔵保存用箱に収納されている。
p. 103-上から 5 行目	測定に用いる試薬は、次による。	p. 169-上から 11 行目 加筆	測定に用いる <u>使用キット以外</u> の試薬は、次による。
p. 103-下から 9 行目	<b>3. キットの取り扱い</b> 以下の取り扱い上の注意点を遵守すること。 1) 冷蔵保存用箱に収納されている試薬及びパーツは、冷蔵庫(2~8℃)にて保管すること。 <u>ただし、プレート密閉用シール及び取り扱い説明書は室温にて保管しても差し支えない。</u> 2) 室温保存用箱(別便にて提供)にて送付する TCP 濃縮標準溶液は必ず常温(15~25℃)で保管すること。 3) キットの有効期間は、未開封の状態で製造より 1 年間。キットを分割使用する場合は、... 袋内の空気を極力抜いた状態でし	p. 169-下から 4 行目 修正	<b>3. キットの取り扱い</b> 以下の取り扱い上の注意点を遵守すること。 1) 冷蔵保存用箱に収納されている試薬及び <u>プレート</u> は、冷蔵庫(2~8℃)にて保管すること。 2) 室温保存用箱にて送付する TCP 濃縮標準溶液は必ず常温(15~25℃)で保管すること。 3) キットの有効期間は、未開封の状態で製造より 1 年間である。 <u>る。</u> キットを分割使用する場合は、... 袋内の空気を極力抜いた状態でしっかりとチャックを閉じておくこと(ここでの「開

	つかりとチャックを閉じておくこと。		<u>封」とは、各試薬容器の開栓や、マイクロプレートの真空パック開封を指す。</u>
p. 104-上から10行目	<b>2) 二次抗体溶液の調製</b> 二次抗体濃縮液を二次抗体希釈用緩衝液で150倍に希釈して使用する。二次抗体溶液は、二次抗体の安定性確保の観点から、二次免疫反応を行うまでの2時間以内に <u>調製することが望ましい。</u> 分割使用の場合は、二次抗体濃縮液を必要に応じて量り取り調製すること（開封後1ヶ月以内に使い切る）。 <u>また、希釈調製した二次抗体溶液は使用するまで冷蔵保管すること。</u>	p. 170-上から13行目 修正	<b>2) 二次抗体溶液の調製</b> 二次抗体濃縮液を二次抗体希釈用緩衝液で150倍に希釈して使用する。二次抗体溶液は、二次抗体の安定性確保の観点から、二次免疫反応を行うまでの2時間以内に <u>調製し、使用するまで冷蔵保管する。</u> 分割使用の場合は、二次抗体濃縮液を必要に応じて量り取り調製すること（ <u>ただし</u> 開封後1ヶ月以内に使い切る）。
p. 105-下から3行目	洗浄後、ペーパータオル上で抗原固相マイクロプレートをタッピング（ <u>軽く</u> 叩く）し、洗浄液を完全に除去する。	p. 171-下から8行目 修正	洗浄後、ペーパータオル上で抗原固相マイクロプレートをタッピング（ <u>強く十分に</u> 叩く）し、洗浄液を完全に除去する。
p. 106-上から4行目	洗浄後、ペーパータオル上で抗原固相マイクロプレートをタッピング（ <u>軽く</u> 叩く）で洗浄液を完全に除去する。	p. 171-下から2行目 修正	洗浄後、タッピング（ <u>強く十分に</u> 叩く）で洗浄液を完全に除去する。
p. 106-下から15行目	<b>4) 抗原固相マイクロプレートの洗浄後は、... 極力少なくなるようにタッピング（<u>軽く</u>叩く）を行い、残液を除去すること。</b>	p. 172-上から15行目 修正	<b>4) 抗原固相マイクロプレートの洗浄後は、... 極力少なくなるようにタッピング（<u>強く十分に</u>叩く）を行い、残液を除去すること。</b>
p. 107-上から6行目	<b>3) 検量線の作成</b> 各濃度に調製した... する。	p. 172-下から3行目 修正加筆	<b>3) 検量線の作成</b> 各濃度に調製した... する。 <u>検量線作成の例を図4-1-8に示す。</u> <u>(図4-1-8を差し替え)</u>
p. 107-下から1行目	図4-1-8 検量線作成 <u>及びパラメーター</u> の例	p. 173-上から11行目 修正	図4-1-8 検量線作成の例

p. 108-上から1行目	<p><b>5.2 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認</b>  検量線作成用標準溶液の測定操作により... 記録し保存する。以下に、<u>ばいじん及び燃え殻</u>の例を示す。</p> <p>1) 検量線における... 算出する。表 4-1-3 の例では、<u>STD3</u> における測定値の <math>B/B_0</math> がおよそ <u>50%(47~48%)</u> に相当する。</p> <p>2) 標準物質濃度に希釈倍率(例では <u>16</u>) を乗じた... を算出する。(表 4-1-3 参照)</p> <p>3) 得られた測定量(毒性等量) (ng-TEQ/mL) を平均(例：<u><math>(0.58+0.64)/2=0.61</math></u>) し、管理図に記録し保存する。</p> <p>4) <math>IC_{50}</math> 付近における測定量(毒性等量) の工程平均(<math>\mu</math>) と標準偏差(<math>\sigma</math>) を算出し、<u><math>\pm 2\sigma</math></u> を管理限界とする。変動係数(CV%) は 20% 以内に収まることが望ましい。<u>使用キット</u> ごとの管理限界等の数値例を表 4-1-4 に示す。</p>	p. 173-下から10行目 修正	<p><b>5.2 検量線の確認及び感度変動の管理図による確認</b>  検量線作成用標準溶液の測定操作により... 記録し保存する。以下に、<u>排出ガス</u>の例を示す。</p> <p>1) 検量線における... 算出する。表 4-1-3 の例では、<u>STD5</u> における測定値の <math>B/B_0</math> がおよそ <u>60%(59~63%)</u> に相当する。</p> <p>2) 標準物質濃度に希釈倍率(例では <u>256</u>) を乗じた... を算出する。(表 4-1-3 参照)</p> <p>3) 得られた測定量(毒性等量) (ng-TEQ/mL) を平均(例：<u><math>(5.4+5.4)/2=5.4</math></u>) し、管理図に記録し保存する。</p> <p>4) <math>IC_{50}</math> 付近における測定量(毒性等量) の工程平均(<math>\mu</math>) と標準偏差(<math>\sigma</math>) を算出し、<u><math>\pm 2\sigma</math></u> を管理限界とする。変動係数(CV%) は 20% 以内に収まることが望ましい。<u>測定媒体</u> ごとの管理限界等の数値例を表 4-1-4 に示す。  <u>(表 4-1-3、表 4-1-4、図 4-1-9 を差し替え)</u></p>
p. 108-下から1行目	<u>作成した管理図の例を、図 4-1-9 に示す。</u>	p. 174 削除	
p. 109-上から2行目	<p><b>5.3 測定試料の定量</b>  各試料の吸光度を検量線に内挿し、阻害率(<math>B/B_0</math>) 20~80%の範囲でかつ希釈直線性が認められる<u>範囲の濃度</u>に各希釈倍率を掛けた値の平均値(濃度の平均値)を用いて、次式により実測濃度(排出ガスにおいては ng/m<sup>3</sup>N、ばいじん及び燃え殻においては ng/g) を算出する。</p>	p. 174-下から8行目 修正	<p><b>5.3 測定試料の定量</b>  各試料の吸光度を検量線に内挿し、阻害率(<math>B/B_0</math>) 20~80%の範囲でかつ<u>試料の希釈倍率の逆数と吸光度から求めた標準物質換算濃度(実測濃度)との間に良好な直線関係(希釈直線性)が得られる希釈段階について、標準物質換算濃度(実測濃度)</u>に各希釈倍率を掛けた値の平均値(濃度の平均値)を算出する。<u>最後に</u>次式により実測濃度(排出ガスにおいては ng/m<sup>3</sup>N、ばいじん及び燃え殻においては ng/g) を算出する。</p>
p. 109-下から7行目	備考) 排出ガスの酸素濃度による補正が <u>必要な場合には</u> 、次式によって <u>所定の酸素濃度に換算する</u> 。	p. 175-上から4行目 修正	(備考) 排出ガスの酸素濃度による補正は、次式による。
p. 110-上から2行目	<p><b>6.1 標準物質における検出下限及び定量範囲の確認</b>  標準物質における検出下限及び定量範囲の確認は、定量値の変動係数(CV%) が 30% 以下となる点を検出下限とし、20% 以下となる上下 2 点間を定量範囲とする方法で行う。下記に、排出ガス<u>測定用キットを用いてにおいて</u> n=5 で測定した例を示す。</p>	p. 175-上から11行目 修正	<p><b>6.1 検出下限及び定量範囲の確認</b>  検出下限及び定量範囲の確認は、定量値の変動係数(CV%) が 30% 以下となる点を検出下限とし、20% 以下となる上下 2 点間を定量範囲とする方法で行う。下記に、排出ガス<u>において</u> n=5 で測定した例を示す。</p>
p. 110-上から10行目		p. 175-上から19行目 加筆	<u>(4) さらに、TCP 標準物質を含まない試料希釈用 DMSO のみをブランクとする。(表 4-1-5 参照)</u>



<p>p. 110-上から 12 行目</p>	<p><b>2) 検出下限及び定量範囲の算出例</b>  <b>(1)</b> 調製した検出下限等算出用標準溶液を 4. 測定操作に従って測定する。n=5 の <u>6</u> 段希釈系列で測定する場合のマイクロプレートへの分注操作の一例を図 4-1-10 に示す。  <b>(2)</b> 吸光度 (測定値) を測定して、4-パラメーターの式の各係数 (A~D) を算出 (吸光マイクロプレートリーダーコントロールソフトを用いても良い) し、吸光度から検出下限等算出用標準溶液相当量 (定量値) を算出する。  <b>(3)</b> 検出下限等算出用標準溶液相当量 (定量値 : ng/mL) を下式に代入し、測定<u>値</u> (毒性等量) に変換する。  <b>(4)</b> 各希釈濃度域における測定<u>値</u> (毒性等量) の平均値、標準偏差 (<math>\sigma</math>) 及び変動係数 (CV%) を算出する。(表 4-1-6 参照)。  <b>(5)</b> 横軸に<u>検出下限等算出用標準液濃度</u>、縦軸に変動係数をプロットした精度プロファイルを作成する (図 4-1-12 参照)。  <b>(6)</b> 精度プロファイルより、変動係数 30% の点を検出下限、20% となる上下 2 点間を定量範囲とする。</p>	<p>p. 175-下から 11 行目 <b>修正</b></p>	<p><b>2) 検出下限及び定量範囲の算出例</b>  <b>(1)</b> 調製した検出下限等算出用標準溶液を 4. 測定操作に従って測定する。n=5 の <u>7</u> 段希釈系列で測定する場合のマイクロプレートへの分注操作の一例を図 4-1-10 に示す。  <b>(2)</b> 吸光度 (測定値) を測定して、4-パラメーターの式の各係数 (A~D) を算出 (吸光マイクロプレートリーダーコントロールソフトを用いても良い) し、吸光度から検出下限等算出用標準溶液相当量 (定量値) を算出する。  <b>(3)</b> 検出下限等算出用標準溶液相当量 (定量値 : ng/mL) を下式に代入し、測定<u>量</u> (毒性等量) に変換する。  <b>(4)</b> 各希釈濃度域における測定<u>量</u> (毒性等量) の平均値、標準偏差 (<math>\sigma</math>) 及び変動係数 (CV%) を算出する。(表 4-1-6 参照)  <b>(5)</b> 横軸に<u>測定量 (毒性等量)</u>、縦軸に変動係数をプロットした精度プロファイルを作成する。(図 4-1-11 参照)  <b>(6)</b> <u>作成した精度プロファイルより、定量値の変動係数 (CV%) が 30% 以下となる点を読み取り検出下限とする。また、定量値の変動係数 (CV%) が 20% 以下となる上下 2 点を読み取り</u> 定量範囲とする。  <b>(図 4-1-10、表 4-1-6、図 4-1-11 を差し替え)</b></p>
<p>p. 111-下から 2 行目</p>	<p>上記方法により算出した排出ガス及びばいじん並びに燃え殻<u>測定用キット</u>における検出下限及び定量範囲を表 4-1-7 及び表 4-1-8 に示す。</p>	<p>p. 177-上から 1 行目 <b>修正</b></p>	<p>上記方法により算出した排出ガス、ばいじん並びに燃え殻における検出下限及び定量範囲を表 4-1-7 及び表 4-1-8 に示す。  <b>(表 4-1-7、表 4-1-8 を差し替え)</b></p>
<p>p. 112-表 4-1-7 表 4-1-8</p>	<p>表 4-1-7 <u>標準物質</u>における検出下限 表 4-1-8 <u>標準物質</u>における定量範囲</p>	<p>p. 177 上から 7 行目 8 行目 <b>修正</b></p>	<p>表 4-1-7 検出下限 表 4-1-8 定量範囲</p>
<p>p. 112-上から 7 行目</p>	<p><b>6.2 試料における検出下限及び定量下限の確認</b>  前処理に供した試料量と前処理を経た最終検液量等から、<b>毒性等量</b>における検出下限及び定量下限を用いて理論的に算出する。試料における検出下限及び定量下限は、試料採取量や最終検液量等により異なるため、表 4-1-9 及び表 4-1-10 に例を示す。</p>	<p>p. 177 下から 3 行目 <b>修正</b></p>	<p><b>6.2 試料における検出下限及び定量下限の確認</b>  前処理に供した試料量と前処理を経た最終検液量等から、<b>6.1 の操作により得られた</b>検出下限及び定量下限を用いて理論的に算出する。試料における検出下限及び定量下限は、試料採取量や最終検液量等により異なるため、表 4-1-9 及び表 4-1-10 に例を示す。  <b>(表 4-1-9、表 4-1-10 を差し替え)</b></p>

p. 114-上 から1行目	測定値(毒性等量)(ng-TEQ/g) = $0.0035 \times \left[ \frac{Q}{1000} \right]^{0.974} \times \frac{v}{V_E} \times \frac{V_E}{V}$	p. 178 下か ら5行目 修正	測定量(毒性等量)(ng - TEQ/g)  = $0.0601 \times \left( \frac{Q}{1000} \right)^{0.9605} \times \frac{v}{V'_E} \times \frac{V_E}{V}$
p. 115-上 から3行目	濃度既知の試料を本測定方法により測定し得られた実測濃度 (ng/mL) と、HRGC/HRMS 法により測定し得られた試料中の毒性等量 (ng-TEQ/mL) の関係から測定量(毒性等量)への換算式を算出した。	p. 180-上か ら3行目 加筆	濃度既知の試料 <u>(この例では n=29。n=20 以上が望ましい)</u> を本測定方法により測定し得られた実測濃度 (ng/mL) と、HRGC/HRMS 法により測定し得られた試料中の毒性等量 (ng-TEQ/mL) の関係から測定量(毒性等量)への換算式を算出した <u>(図 4-1-12 参照)</u> 。
p. 115-上 から6行目	濃度既知の試料を本測定方法により測定し得られた実測濃度 (ng/mL) と、HRGC/HRMS 法により測定し得られた試料中の毒性等量 (ng-TEQ/mL) の関係から測定量(毒性等量)への換算式を算出した。	p. 180-上か ら7行目 加筆	濃度既知の試料 <u>(この例では n=27、n=20 以上が望ましい)</u> を本測定方法により測定し得られた実測濃度 (ng/mL) と、HRGC/HRMS 法により測定し得られた試料中の毒性等量 (ng-TEQ/mL) の関係から測定量(毒性等量)への換算式を算出した <u>(図 4-1-13 参照)</u> 。
		p. 181 追加技術 挿入	<u>その2 前処理に、多層シリカゲルカラム及び活性炭カラムを使用し、測定に、磁性ビーズ固定化抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及び酵素標識抗原を用いた直接競合酵素免疫測定法を利用して、ダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の2)</u>
		p. 203 追加技術 挿入	<u>その3 前処理に、多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及びプレート固相化抗原を用いた間接競合酵素免疫測定法を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の3)</u>
		p. 227 追加技術 挿入	<u>その4 前処理に、多層シリカゲルカラム及びアルミナカラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体及び抗原固相化ビーズを用いた結合平衡除外法を利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(平成17年環境省告示第92号第2の4)</u>