

【 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 】

公布日：平成 17 年 09 月 14 日

環境省告示第 92 号

改正 平成 22 年 3 月 31 日

環境省告示第 26 号

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は、次のとおりとする。

第1 ダイオキシン類がアリール炭化水素受容体に結合することを利用した方法

1 前処理に、硫酸シリカゲルカラム及び活性炭カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2 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(ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2 は、レポーター遺伝子としての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、マウス肝ガン細胞由来 Hepa-1c1c7 に導入したものとす。)

2 前処理に、硫酸シリカゲルカラム及び活性炭カラムを使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 101L 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(ダイオキシン類応答性組換え細胞 101L は、レポーター遺伝子としての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 に導入したものとす。)

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(ダイオキシン類応答性組換え細胞 HeB5 は、レポーター遺伝子としての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-YaXRE × 5-bsd を、マウス肝がん細胞由来 Hepa-1c1c7 に導入したものとす。)

4 前処理に、硫酸シリカゲル加熱還流法を利用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H4 II E-luc 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(ダイオキシン類応答性組換え細胞

胞 H4 II E-luc は、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類応答配列 DRE を4個持つラットのシトクロムP450(CYP1A1)プロモーターを配置したプラスミド pGudLuc1.1 を、ラット肝がん細胞由来 H4 II E に導入したものとする。)

5 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、ダイオキシン類応答性組換え細胞 DR-EcoScreen 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(ダイオキシン類応答性組換え細胞 DR-EcoScreen は、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7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 pIND-GCDR7 を、マウス肝がん細胞由来 Hepa-1c1c7 に導入したものとする。)

6 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(アリール炭化水素受容体には、モルモット由来の細胞質液(サイトソル)に含有されるものを、アリール炭化水素受容体核運搬タンパク質(ARNT)には、バキュロウィルスの発現系を用いて生産したヒト由来のものを、ダイオキシン類応答配列DREには、化学合成したものを、抗アリール炭化水素受容体複合体ポリクローナル抗体には、ヤギ由来の融合細胞(ハイブリドーマ)から取得したARNTを特異的に認識する抗体を使用する。)

第2 ダイオキシン類を抗原とする抗原抗体反応を利用した方法

1 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、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(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、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。)

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(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及び六塩化ジベンゾフラン類を特異的に認識する抗体を、酵素標識抗原には、アルカリ

性ホスファターゼで標識された2, 4, 5-トリクロロフェノール誘導体を、検量線作成用標準品には、5-オキソ-5-[(2, 4, 5-トリクロロフェニル)アミノ]ペンタン酸を使用する。)

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(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、プレート固相抗原及び検量線作成用標準品には、6-(3, 3', 4'-トリクロロビフェニル-4-イロキシ)ヘキサ酸を使用する。)

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(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2, 3, 4, 7, 8-五塩化ジベンゾフランを特異的に認識する抗体を、抗原固相化ビーズには、2, 4, 5-トリクロロフェノキシ誘導体及び高分子担体から合成したものを、検量線作成用標準品には、3-[6-(2, 4, 5-トリクロロフェノキシ)ヘキサノイルアミノ]プロピオン酸を使用する。)

第3 ガスクロマトグラフ質量分析計により測定する方法

1 前処理に、硫酸シリカゲルカラム、多層シリカゲルカラム又は多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムを使用し、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計によりダイオキシン類を測定する方法(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を同時に測定する方法)

2 前処理に、多層シリカゲルカラム又は多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムを使用し、ガスクロマトグラフ四重極形質量分析計によりダイオキシン類を測定する方法

3 前処理に、多層シリカゲルカラム又は多層シリカゲルカラム及び活性炭シリカゲルカラムを使用し、ガスクロマトグラフ三次元四重極形質量分析計によりダイオキシン類を測定する方法

備考

この測定方法は、精度についての科学的知見の蓄積等を踏まえて見直しを行う。