

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の一部を改正する告示 新旧対照表

○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（平成十七年環境省告示第九十二号）
（傍線の部分は改正部分）

改 正	現 行
<p>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</p> <p>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、<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞HIL6.1c2</u>を用いたレポータージオ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（<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞HIL6.1c2</u>は、<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、その上流域にダイオキシン類応答配列DREを4個持つマウス</u>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、<u>マウス肝がん細胞由来Hepa-1c1c7</u>に導入したものである。）</p> <p>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、<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞101L</u>を用いたレポータージオ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（<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞101L</u>は、<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</u>のシトクロムP450（CYP1A1）プロモーターを配置したプラスミドpLlAINを、<u>ヒト肝がん細胞由来HepG2</u>に導入したものである）</p>	<p>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</p> <p>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、<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞HIL6.1c2</u>を用いたレポータージオ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（<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞HIL6.1c2</u>は、<u>ホタルルシフェラーゼ遺伝子の</u>上流域に<u>4個のダイオキシン類応答配列DREを含む</u>シトクロムP450（CYP1A1）プロモーターを持つプラスミドpGudLuc6.1を、<u>マウス肝がん細胞Hepa1c1c7</u>に導入したものである。）</p> <p>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、<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞101L</u>を用いたレポータージオ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（<u>ダイオキシン類応答性組換え細胞101L</u>は、<u>3個の生体異物応答配列XREを含む</u>人のシトクロムP450（CYP1A1）プロモーターに<u>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</u>プラスミドpLlAINを、<u>人肝細胞由来HepG2</u>に導入したものである。）</p>

る。)

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XRRE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に導入したものである。)

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H4IIE-1uc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H4IIE-1uc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H4IIEに導入したものである。)

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XRRE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に導入したものである。)

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、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類応答配列XRRE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-YaXRE×5-bsdを、マウス肝由来Hepa-1細胞に導入したものである。)

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（サイトソール）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（ARNIT）には、バキユロウイ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ARNIT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シリ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

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

前処理に、多層シリカゲルカラム及びカーボンカラムを使用し、測定に、抗ダイオキシン類モノクローナル抗体と、検量線作成用標準品及びプレート固相抗原を用いた抗原固相化-酵素免疫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（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、検量線作成用標準品及び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シリルグリシン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。）

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—オキシ—5— [(2, 4, 5—トリクロロフェニル) アミノ] ペンタジンを使用する。)

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 (ハイブリドマ) から収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'—トリクロロピフェニル—4—イロキシ)ヘキサノン酸を使用する。)

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 (ハイブリドマ) から収得した 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

<p>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 <u>ージオキシン及びゴフラーナーポリ塩化ビフェニルを同時に測定す る方法</u>）</p> <p><u>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</u></p> <p><u>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</u></p> <p>備考 （略）</p>	<p>備考 （略）</p>
---	---------------