

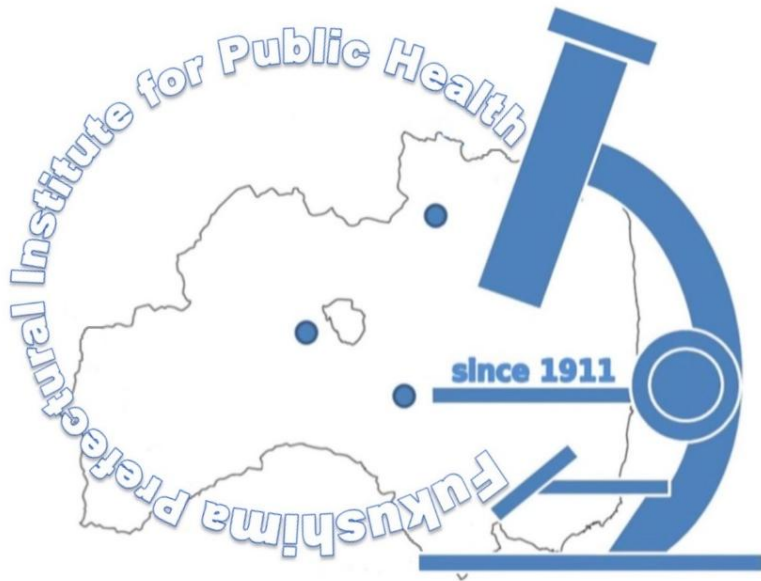
シン・所長の部屋

「衛生研究所」 について

2026年10月

～衛生研究所では、なにをしているのだろうか？～
その10

福島県 衛生研究所



Fukushima Prefectural Institute for Public Health

「衛生研究所」では、何をしているのだろうか？ の 第10弾 です。

引き続き、
これまで衛生研究所で行われてきた
調査研究 について、
いくつか取り上げて、紹介させていただきます。

微生物課、理化学課、試験検査課 の **3課6部門**で、
多くの調査研究・学会発表を行っていますが、
今回は、
試験検査課 での調査研究で、
「有毒植物のPCRによる鑑別法の開発」 についてです。

⇒ 令和5年度 所内発表からの抜粋です

Datura sp. チョウセンアサガオ



Gloriosa sp. グロリオサ



Narcissus sp. スイセン



Colchicum sp. イヌサフラン



令和5年度福島県衛生研究所研究発表会

高等植物による食中毒を想定した 有毒植物PCR鑑別法の開発

自然毒について

自然毒

植物性

きのこ類
高等植物

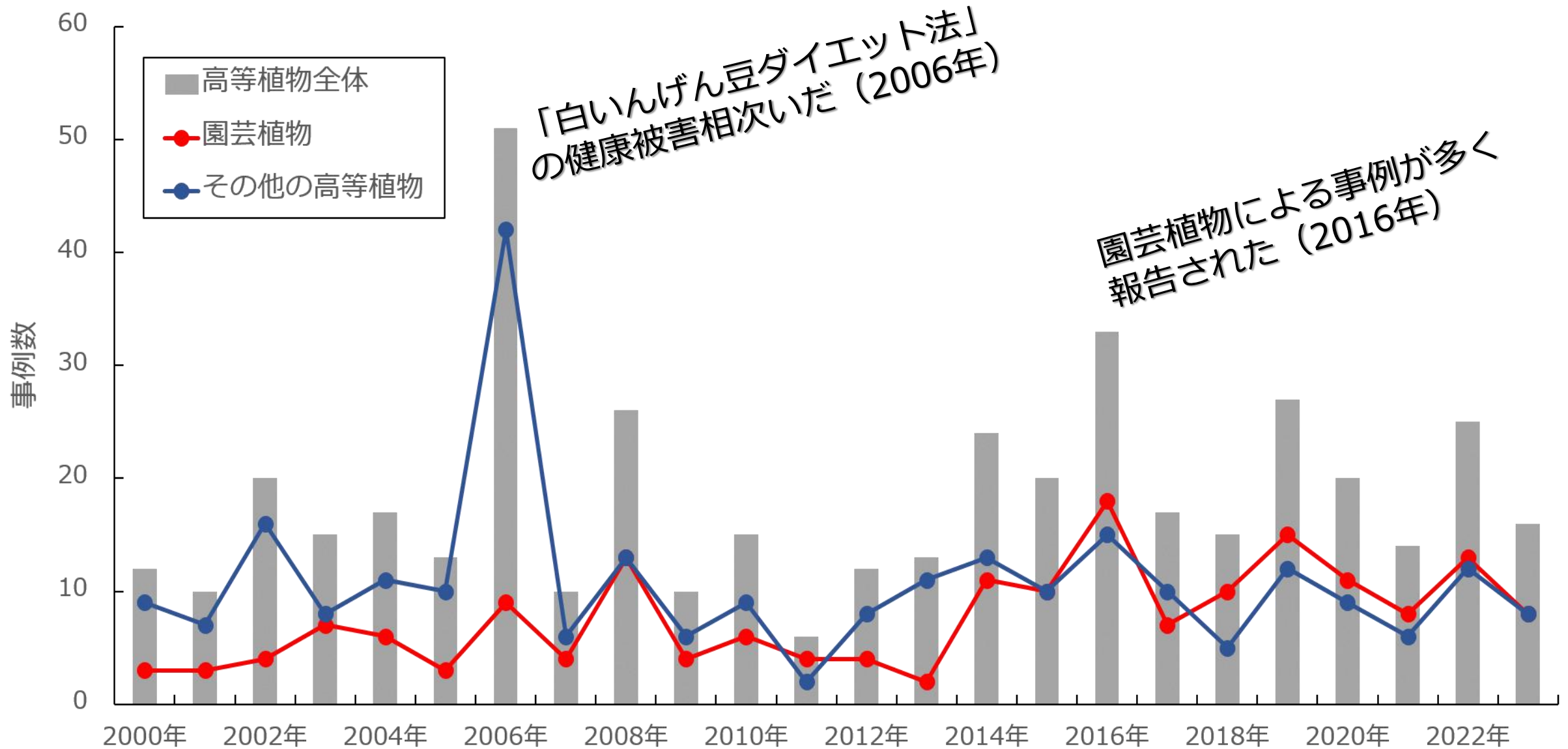
動物や植物が、天然に
含有する有毒成分

食物連鎖を通して、
動物の体内に取り込まれた
有毒成分

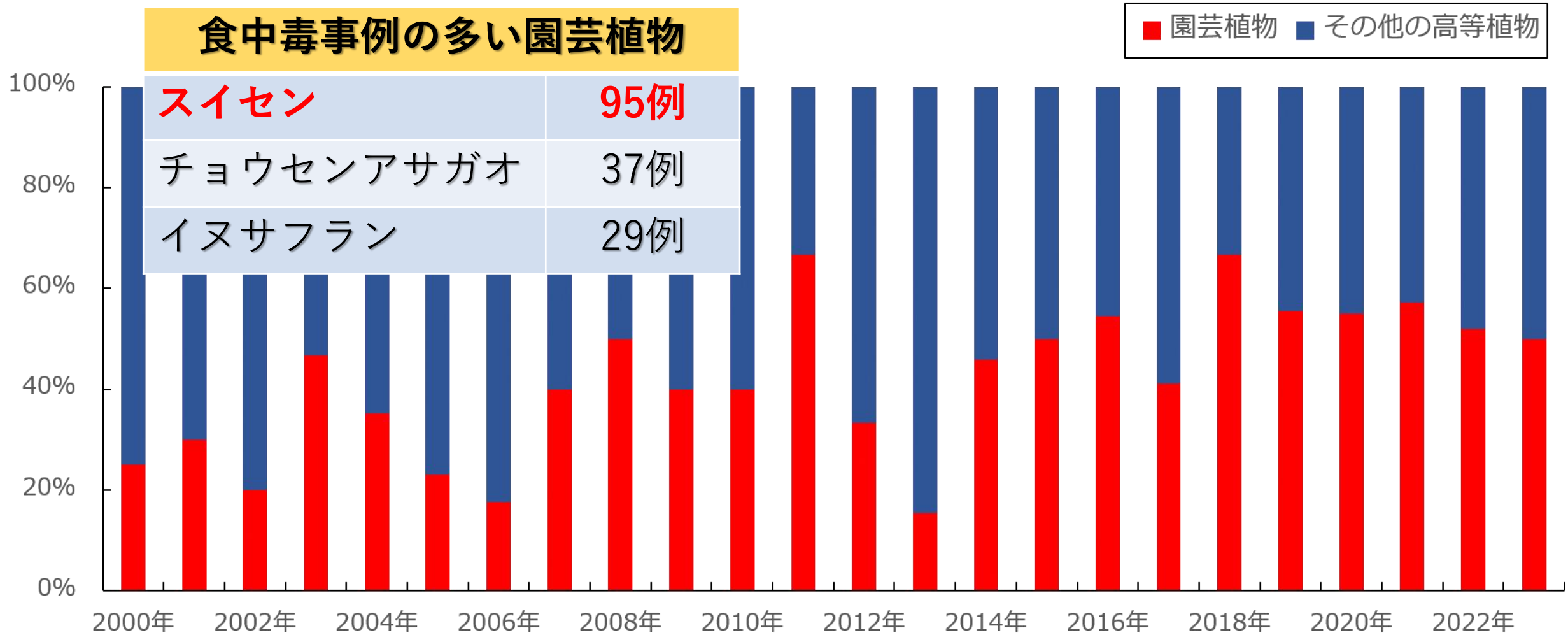
動物性

魚類
貝類

高等植物による食中毒事例発生状況



高等植物による食中毒事例数比の年次推移



園芸植物による食中毒事例は増加傾向にある。

25%_{2000年} → **50%**_{2023年}

スイセン、イヌサフラン及びグロリオサの地域別発生状況

事例数 2000-2023年 (X)

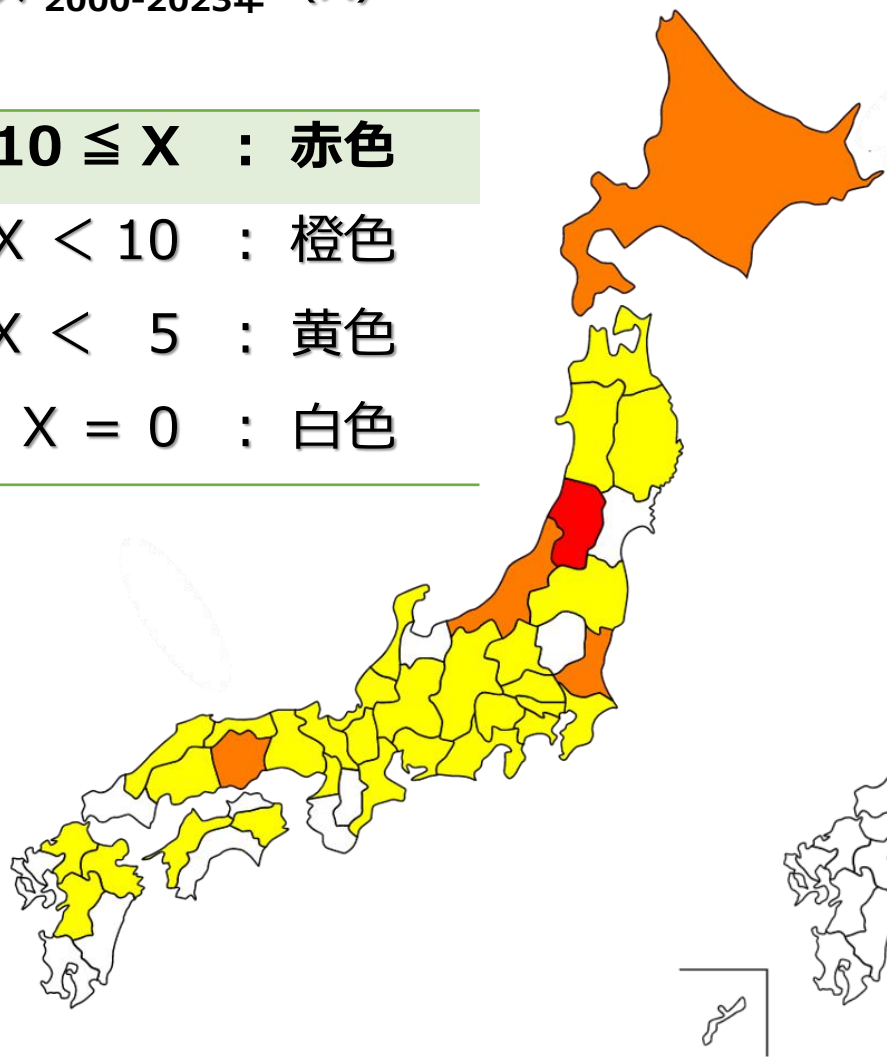
$10 \leq X$: 赤色

$5 \leq X < 10$: 橙色

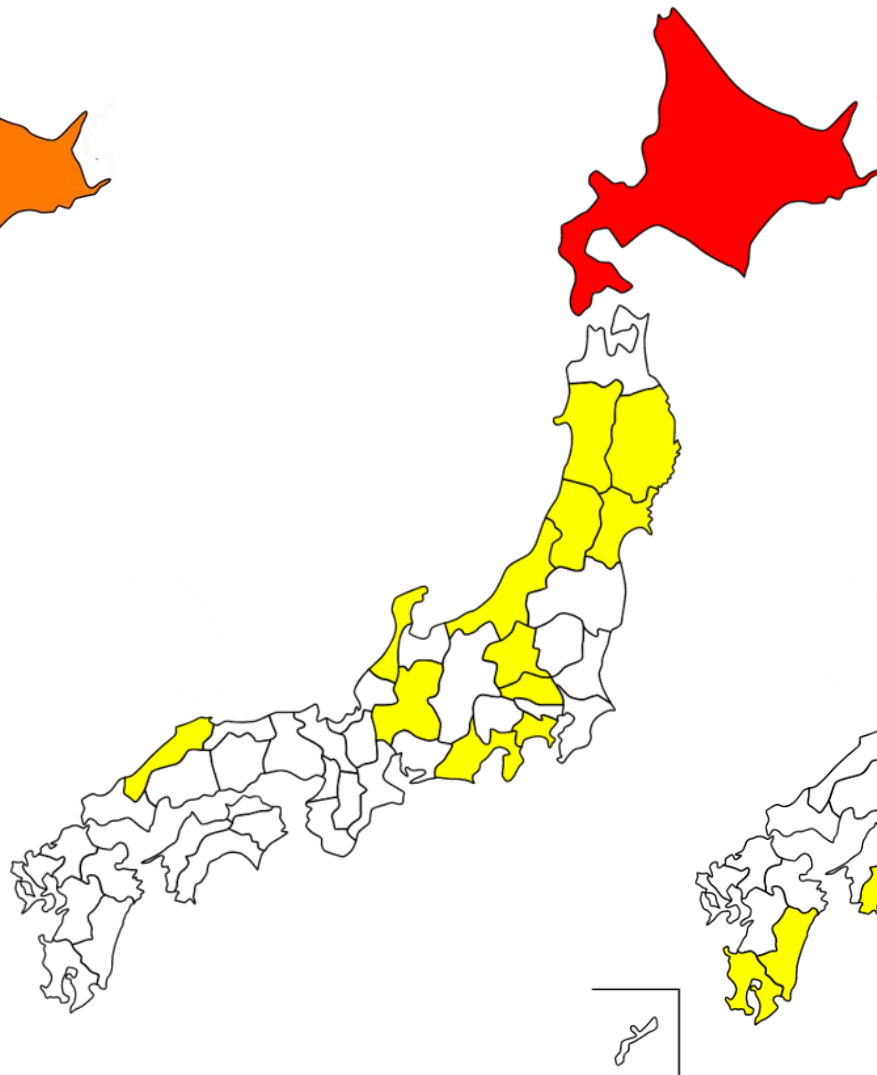
$1 \leq X < 5$: 黄色

$X = 0$: 白色

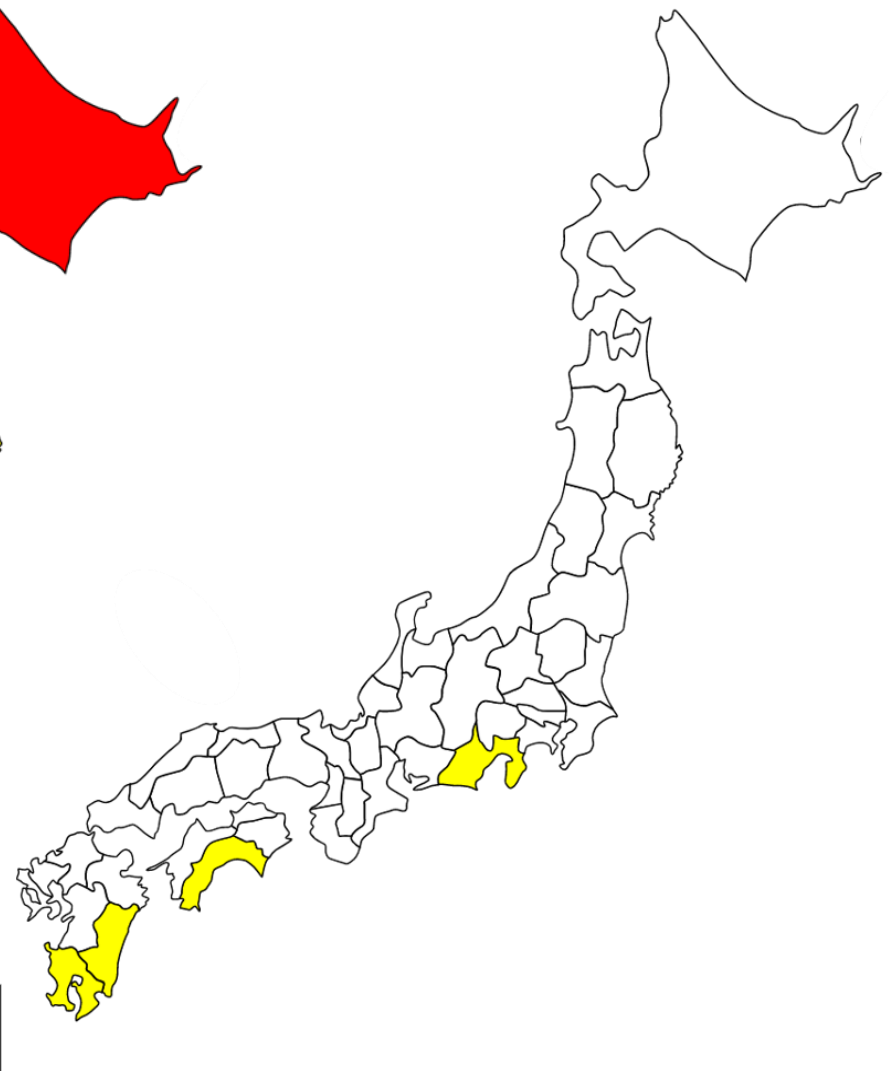
スイセン



イヌサフラン



グロリオサ



研究目的

- 全国規模で、増加傾向にある園芸植物による植物性自然毒食中毒に対して、検査体制の強化を目的に、スイセン、イヌサフラン及びグロリオサのPCR鑑別法を開発した。
- 開発したPCR鑑別法が、実際の食中毒を想定した検査材料（調理品や患者吐物）に適用可能か検証した。

有毒植物PCR鑑別法の概要

STEP01 DNA抽出

DNA抽出ーワンステップ法変法

簡便な操作で、短時間に粗DNA試料液を調製可能

試料50mg
採取

▶ ホモジナイズ

▶ インキュベート
95℃ 10min

▶ 遠心分離
12,000rpm
5min

▶ 上清採取
テンプレート
DNA

+ Lysis Buffer 500μL添加

有毒植物の検出とDNA抽出確認を同時に実施

KOD One® PCR Master Mix-Blue-(TOYOBO)

- ✓ クールドサンプル※からの増幅が可能 ※未精製のDNAサンプル
- ✓ 高速PCR対応（伸長時間1~5sec/1kb）
- ✓ Loading Dye混合済みでゲルへの直接アプライが可能



検出したPCRバンドの組み合わせで目視判定

試料	PCRバンド		判定
	有毒植物検出	DNA抽出確認	
A	+	+	有毒植物である
B	-	+	有毒植物でない
C	+ or -	-	再検査

STEP02 PCR

有毒植物マルチプレックスPCR

STEP03 結果判定

アガロースゲル電気泳動

試料採取から
約3時間で検査完了

検査試料及び実験方法

標的植物

有毒植物 3種類

スイセン、イヌサフラン、グロリオサ

生試料（植物そのもの）

調理

- ✓ 水煮（沸騰水浴5分、10分）
- ✓ 油炒め（1分、3分）
- ✓ 電子レンジ加熱（500W1分、3分）

人工胃液消化

最大時間で各調理したものを0.1%ペプシン含有人工胃液中に37℃で30分、2時間及び4時間加温

対照植物

特異性確認のための対照

食用植物 22種類

ニラ、オオバギボウシ、ナガイモ等

▶ 1. 本PCR法の特異性確認

▶ 2. 調理及び人工胃液処理による影響検証

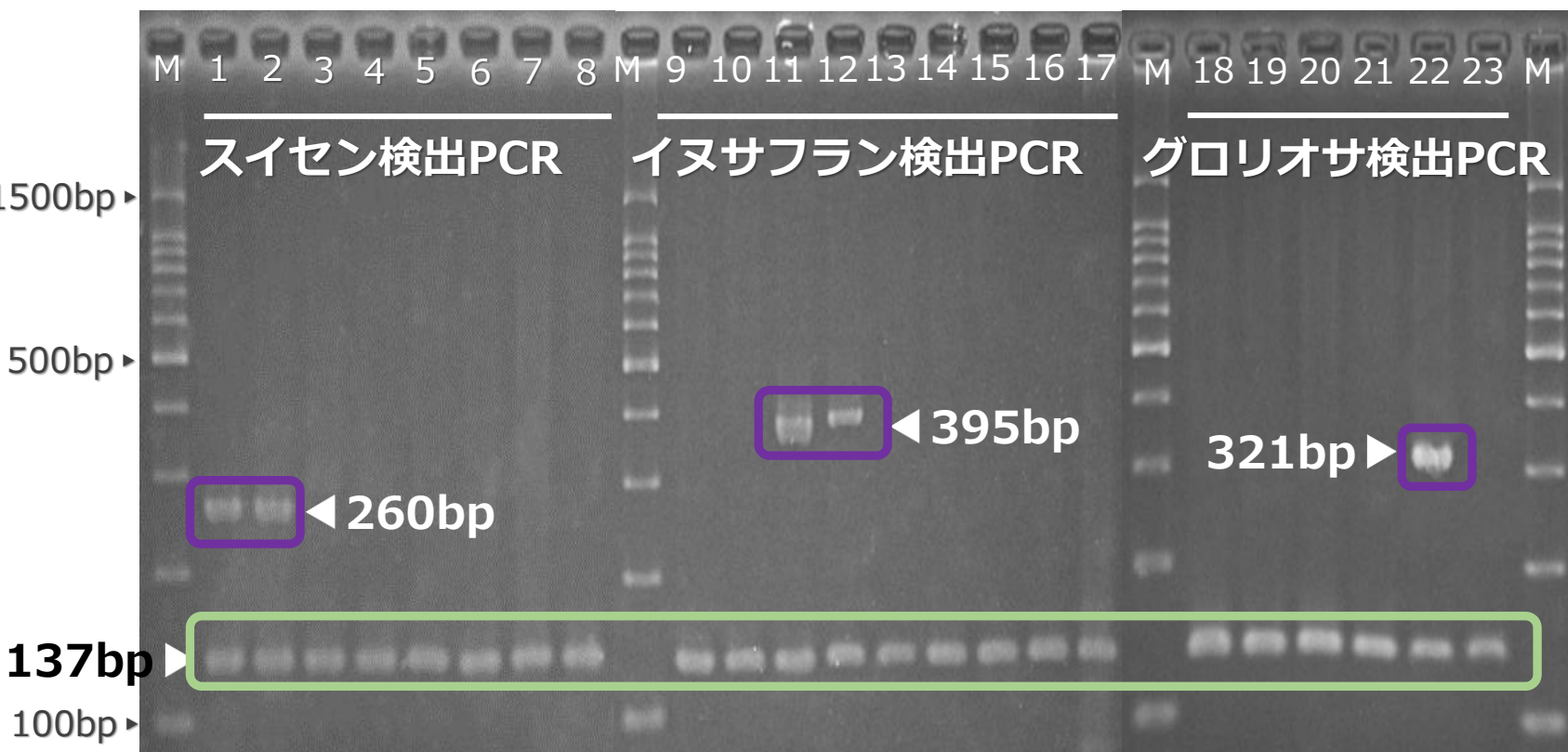
結果 1. PCR法の特異性確認

DNA抽出確認バンド → すべての試料液で**検出**

有毒植物検出バンド →
✓ 有毒植物の各試料液は**検出**
✓ 食用植物の各試料液は**非検出**

本PCR法は
対象有毒植物を
特異的に検出可能

アガロースゲル電気泳動結果の一例



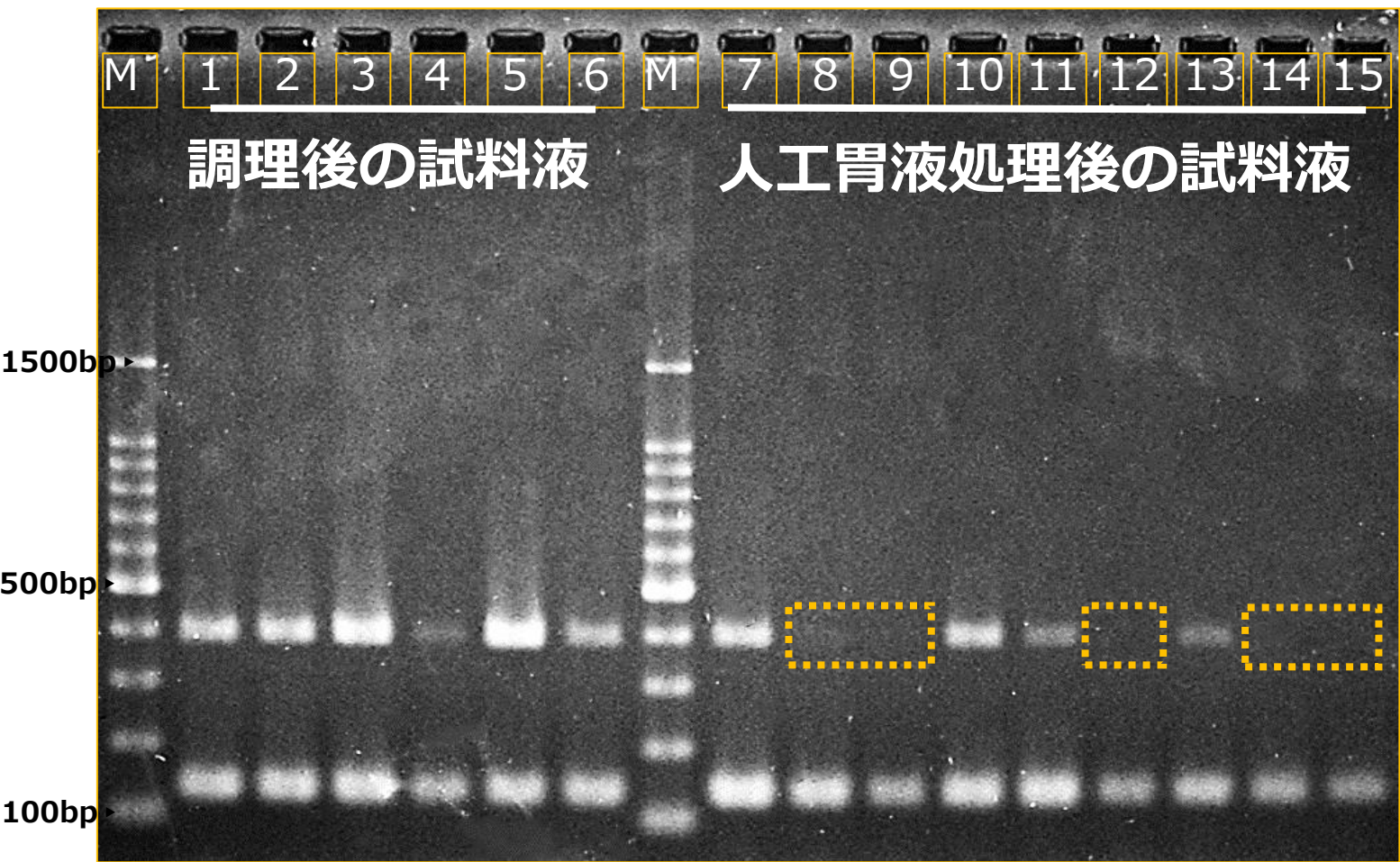
Lane 1,9,18 : スイセン (葉)
Lane 2,10,19 : スイセン (球根)
Lane 3,11,20 : イヌサフラン (葉)
Lane 4,12,21 : イヌサフラン (球根)
Lane 5,13,22 : グロリオサ (球根)

Lane 6 : ニラ Lane 15 : ミヨウガ
Lane 7 : ノビル Lane 16 : ニンニク
Lane 8 : タマネギ Lane 17 : キョウジャニンニク
Lane 14 : オハギ Lane 23 : ナガイモ

結果 2. 調理及び人工胃液処理による影響検証

DNA抽出確認バンド → **すべての**の試料液で**検出** 有毒植物検出バンド → **人工胃液処理**試料液の一部で**非検出**

アガロースゲル電気泳動結果の一例



調理条件	人工胃液消化条件	イヌサフラン 球根		Lane
		395bp	137bp	
水煮 5分	未処理	○	○	1
水煮 10分		○	○	2
油炒め 1分		○	○	3
油炒め 3分		○	○	4
電子レンジ 1分		○	○	5
電子レンジ 3分		○	○	6
水煮 10分	37℃,30分	○	○	7
	37℃,2時間	×	○	8
	37℃,4時間	×	○	9
油炒め 3分	37℃,30分	○	○	10
	37℃,2時間	○	○	11
	37℃,4時間	×	○	12
電子レンジ 3分	37℃,30分	○	○	13
	37℃,2時間	×	○	14
	37℃,4時間	×	○	15

考察

人工胃液処理後の試料液の一部で、有毒植物検出バンドが非検出となった原因に、**DNAの断片化** が考えられた。

- 人工胃液処理でDNAが断片化し、検出感度が低下することや、その影響が試料の大きさ、形状及び消化液の浸透性等に左右されることが既法で知られている。

有毒植物検出バンドが非検出であった試料液に関して...

- **DNA精製後も有毒植物検出バンドは**非検出

PCR阻害物の影響は考えにくい。

- **DNA抽出確認バンドは**検出

有毒植物検出バンドよりも短い配列をターゲットとしているため、DNA断片化の影響を受けづらかったと考えられた。

まとめ

- ワンステップ法変法によるDNA抽出及びクルードサンプル対応試薬の使用により、検体採取から約3時間で判定可能な検査法を構築した。
- 人工胃液処理で検出感度の低下がみられ、
今後は検出感度向上のための検討が課題

食中毒原因物質の分子生物学的鑑別法

鑑別法の種類	概要	メリット	デメリット
DNA バーコーディング法	特定の塩基配列を読み取り、データベース上の塩基配列と比較する方法	検出対象に共通したプライマーを用いることが可能で、原因物質が絞れない場合に有利	検査工程が長く、結果判定までに十数時間を要する
PCR法	検査対象に特異的な塩基配列について、PCR後の増幅産物を検出して判定する方法	結果判定までに数時間を要し、DNAバーコーディング法よりも迅速な検査が可能	検出対象個々に特異的なプライマーを設計する必要がある

PCR法の種類	概要	特徴
Conventional - PCR法	PCR後の増幅産物をアガロースゲル電気泳動により検出する方法で、有毒植物は検出、識別すべき植物は非検出となる	定性的検出 他PCR法に比べて安価
PCR - RFLP法	PCR後の増幅産物を制限酵素で切断し、有毒植物と識別すべき食物のバンドパターンの違いをアガロースゲル電気泳動より検出する方法	定性的検出 有毒植物に特異的なプライマーの設計が困難な場合（識別すべき植物と似た塩基配列等）に有利
Realtime - PCR法	PCRによる増幅をリアルタイムに測定する方法であり、増幅曲線として表現される	定量的検出 特異性が高い 他PCR法よりも迅速だが高価

本法と参考法の比較

検査法	DNA抽出			PCR	
	原理	サンプル前処理	サンプル量	クルートサンプル	伸長時間
本 法	溶解液による熱抽出	ペッスル粉碎	50mg（湿重量）	○ 対応	5sec / kb
参考法※	シリカゲル膜による スピンカラム抽出	凍結粉碎	100mg≥（湿重量） 20mg≥（乾燥重量）	× 非対応	1min / kb

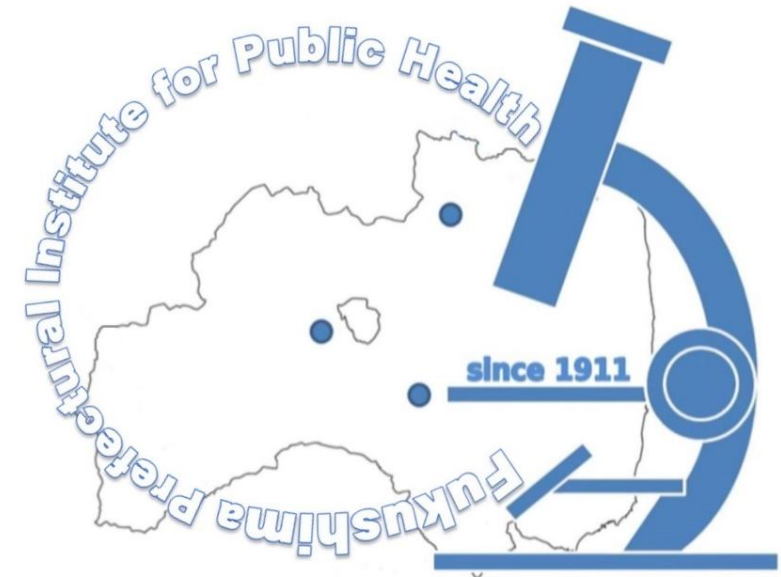
- ※ 参考法は、
複数の文献で使用されている以下の試薬等で
本法と同様な検査を実施した場合
- DNA抽出：DNeasy® Plant Mini Kit(QIAGEN)
 - PCR試薬：TaKaRa Ex Taq® HS(タカラバイオ)

検査法	作業時間	コスト / サンプル
本 法	約 3 時間	¥ 870
参考法※	約 4 時間	¥ 1,745

最近の感染症発生動向について

<10月第3週までの調査結果の特徴>

- 全国的に、**A型インフルエンザ** 流行
⇒ 遺伝子型は**H1pdm09**タイプ～ワクチンが効く
- 新型コロナ感染者数は横ばい
- すでに白鳥が飛来～**鳥インフルへの対応**も要準備



現在のところ、世界的なパンデミックになりそうな感染症の報告はないが

- コンゴ民主共和国での
ブンディブギョウイルスによる**エボラ出血熱の流行は拡大、継続のまま**
⇒ 感染者は**8000人**を越え、死者も3900人を越えた。
⇒ **検疫強化の継続～注意喚起**