

川崎市告示第67号

公害防止等生活環境の保全に関する条例施行規則第39条第2項第3号イのただし書に定めるダイオキシン類の測定方法

川崎市公害防止等生活環境の保全に関する条例施行規則（平成12年川崎市規則第128号）第39条第2項第3号イの規定に基づき、川崎市長が定める方法を次のように定め、平成18年2月28日から適用する。

なお、この方法により測定されるダイオキシン類の量は、当該測定値をもって別表第7第3項の表の備考3に定める換算をしたものとする。

平成18年2月28日

川崎市長 阿部 孝夫

1 ダイオキシン類がアリア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、マウス肝がん細胞由来Hepa-1c1c7に導入したものとする。）
- (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る。）
- (4) 前処理に、硫酸シリカゲル加熱還流法を使用し、測定に、ダイオキシン類応答性組換え細胞H4II E-luc細胞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H4II 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H4II 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、硫酸およ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、アリアル炭化水素受容体及びアリア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（アリア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）を含有されるものを、アリアル炭化水素受容体核運搬タンパク質（ARNT）には、バキュ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 ARNT を特異的に認識する抗体を使用する。）

## 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-オキシ-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。）

## 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ーオキシシン及びコプラナーポリ塩化ビフェニルを同時測定する方法）
- (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