

■研究・実践の課題（テーマ）

小麦重症アレルギーの ω -5 gliadin 特異的モノクローナル抗体の作製

■主任研究者 和泉秀彦

■共同研究者 河合菜月

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【目的】小麦アレルギー患者の重症アレルギーとして、 ω -5 gliadin が知られている。近年、小麦アレルギー患者が同量の小麦タンパク質を含むパン・うどんを摂取した際に、パンにのみアレルギー症状を呈する事例が報告されている。我々は、加工方法の違いにより食品中のアレルギーの状態が異なっているため、パンとうどんで症状誘発度合いに差が生じているのではないかと考えている。

加工食品中の ω -5 gliadin の定量や状態の確認を行うためには、抗 ω -5 gliadin 抗体を用いた定量系の確立が不可欠である。しかし、現存する市販の抗体ではウェスタンブロット法による変性 ω -5 gliadin の検出が困難であった。以上より、 ω -5 gliadin を検出するモノクローナル抗体を作製し、定量系の確立を目指すことにした。

【方法】 ω -5 gliadin のエピトープ配列を発見する遺伝子を組み込んだ大腸菌を用い、リコンビナント ω -5 gliadin を得た。それをマウスに免疫し抗体価の上昇を確認後、脾臓細胞とミエローマ細胞と融合させ抗体産生細胞を得た。r- ω -5 gliadin を固相に用いた ELISA でスクリーニングを繰り返し行い、 ω -5 gliadin 特異的モノクローナル抗体（以下 ω -5 gliadin MoAb と表記）の確立を試みた。

【結果および考察や提案】 ω -5 gliadin MoAb を 2 クローン（No.10 と No.15）確立することができた。

小麦粉から PBS および SDS-PAGE Sample Buffer (2ME 含有)を用い、天然の小麦由来可溶性タンパク質および不溶性タンパク質を抽出した。これらのタンパク質と ω -5 gliadin MoAb の培養上清を用いウェスタンブロットを行った結果、これらの抗体で天然の ω -5 gliadin も検出できることが確認できた。山田准教授に師事した学生の卒業研究においても、うどんのゆで汁に溶出した ω -5 gliadin を検出出来た。

現在市販されている抗 gliadin 抗体では ω -5 gliadin を検出できなかったことから、この MoAb の獲得は小麦加工食品中の ω -5 gliadin 定量系確立に大きく寄与すると考えられる。ただし、 ω -5 gliadin のエピトープ配列が α -/ β -gliadin のそれと高い相同性を示すために、 ω -5 gliadin 以外の gliadin も同時に検出してしまうことに留意する必要がある。

今後は、No.10 と No.15 の ω -5 gliadin MoAb を腹水精製により純度高くかつ大量に獲得する。

そしてこれらの抗体を用いて ω -5 gliadin の定量系を確立し、小腸粘膜から血中への吸収量

や速度、それらを変化させる要因を追究するために、動物実験を進める予定である。