

■研究・実践の課題（テーマ）

ω-5 グリアジン特異的モノクローナル抗体を用いた定量系の確立

■主任研究者 和泉秀彦

■共同研究者 河合菜月、山田千佳子

■研究・実践の目的、方法、結果、考察や提案等の概要

【目的】

昨年度の研究により、小麦アレルゲンである ω-5 グリアジン特異的モノクローナル抗体が作製できた。そこで本年度は、様々な条件で作製した小麦モデル加工品中の ω-5 グリアジンの存在状態の確認や、摂取後の血中 ω-5 グリアジンの定量を行うために、この抗体を用いた定量系の確立を試みた。

【方法】

モデル小麦加工品を作製し茹で汁へ溶出するタンパク質を解析した。NaClの有無、茹で時間、表面積、生地 pH について検討した。Lowry 法で溶出タンパク質量の定量、SDS-PAGE でタンパク質組成の解析、イムノブロットで ω-5 グリアジンの検出を行った。また、マウスに ω-5 グリアジンを経口投与し 30 分後に血液、消化管内容物を回収後、阻害 ELISA、イムノブロットにて血中 ω-5 グリアジンの検出を試みた。

【結果・考察】

モデル小麦加工品中から茹で汁へ溶出するタンパク質については、経時的、表面積の増加に伴いタンパク質溶出量は増加し、ω-5 グリアジンの溶出も確認された。また、酸添加とアルカリ添加生地では溶出タンパク質の組成は異なっており、酸性側での溶出量が多くなった。ω-5 グリアジンの溶出量は酸添加 > アルカリ添加生地となった。以上の結果は、加工条件による低アレルゲン化の可能性を示すものである。

消化性・吸収性については、コントロールとして用いた OVA が経口投与 30 分後に小腸まで到達していたのに対し、ω-5 グリアジンは大部分が胃に残存しており、小腸からは検出されなかった。OVA は水溶性タンパク質であるのに対し、ω-5 グリアジンはプロラミンに分類される不溶性タンパク質である。マウスに投与した試料も ω-5 グリアジンは溶解せず、ペースト状だったため、消化に時間がかかり結果が OVA とは異なると考えられた。血清を用いた阻害 ELISA については、OVA は検量線による定量可能範囲が 0.01~1μg/mL となり、血清中濃度は平均 206.165ng/mL であった。一方 ω-5 グリアジンは定量可能範囲が 1~100μg/mL となり、検出限界以下であった。イムノブロットで ω-5 グリアジンの検出を試みたところ、無投与マウス血清中の成分と抗体との反応が認められた。この結果から、マウス血清成分と作製抗体とが反応してしまうため、ω-5 グリアジンの検出感度が低下し、検出が困難であったと考えられた。今後これらの問題点を改善して検出系の精度を高め、

生体内での $\omega$ -5 グリアジンの挙動を詳細に解析することで、実際の加工方法の異なる食品を摂取した際の症状の差の解明に繋げたい。