

小麦アレルゲンの検出法とその低減化に関する研究

1. 目的

近年、食品アレルギー患者が急激に増加しており、原因食品としては、卵、牛乳の次に小麦が挙げられている。とりわけ、小麦アレルギーは、卵もしくは牛乳アレルギーと比べて治癒しにくいといわれており、患者側からは、小麦を除去した食事もしくは小麦代替加工食品を食することしか対応策がないとされている。しかし、嗜好性の強い菓子類の場合では、代替食だけで十分であるとは言い難い。

そこで、本研究では小麦アレルギー患者も食することのできる小麦加工食品（特に、菓子類）の開発を目指している。本年度は、小麦粉もしくは小麦バターを加熱処理した際の小麦アレルゲンタンパク質量の変化について酵素抗体法（以下、ELISA法）を用いて検討した。さらに、試料からDNAを抽出および精製し、これらを増幅させて小麦アレルゲンを検出する方法（以下、PCR法）もあわせて行った。

2. 方法

小麦粉（薄力粉）10gをアルミホイルに包み、オープン加熱（200℃、10分）もしくはオートクレーブ加熱（121℃、10分）を行った。その後、同一の条件で抽出操作を行い、複合抗原認識抗体を用いたELISAキット（日本ハム（株）製）にて小麦アレルゲンタンパク質量の測定を行った。なお、対照として非加熱の小麦粉を用い、同様に抽出を行った。オートクレーブ加熱については、加熱時間による変化についても検討した。また、小麦粉（薄力粉）に同量の蒸留水を加え、よく混合した小麦バターを用いても同様の実験を行った。

試料からのDNAの抽出および精製は、イオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN Genomic-Tip 20/G）により行い、得られた抽出液を用いて定性PCRを行った。なお、小麦アレルゲン検出用プライマーは、倉敷紡績（株）バイオメディカル部より購入した。

3. 結果

小麦アレルゲンタンパク質量は、小麦粉をオープン加熱することにより、対照に比べて約1/2に、オートクレーブ加熱では、約1/185にまで減少することが分かった（表1）。

同様に、小麦バターにおいても、小麦アレルゲンタンパク質量は、加熱処理により対照に比べて減少しており、特に、オープン加熱でも約1/20に減少していた（表1）。

表1 加熱処理による小麦アレルゲンタンパク質量の変化

	アレルゲンタンパク質 (mg/ml)	
	小麦粉	小麦バター
非加熱	37.1	18.8
オープン加熱	17.7	1.0
オートクレーブ加熱	0.2	0.1

次に、小麦粉のオートクレーブ加熱時間による小麦アレルゲンタンパク質量の変化について検討した。その結果、わずか2分間の加熱により急激に減少し、その後、さらに経時的に減少していくことが分かった（表2）。

表2 小麦粉のオートクレーブ加熱時間による小麦アレルゲンタンパク質量の変化

加熱時間 (分)	アレルゲンタンパク質 (mg/ml)
0	37.1
2	1.6
5	0.9
10	0.3
20	0.2

加熱処理を行った小麦粉からDNAを抽出および精製した結果、各試料中のDNA濃度に差はみられなかった。なお、PCR法による詳細な結果については、現在解析中である。

今回の実験では、小麦粉を加熱処理することにより、ELISA法における小麦アレルゲンタンパク質量が減少した。しかし、これらの結果は、アレルゲンタンパク質の立体構造の変化による不溶化のために、タンパク質の抽出効率が低下したことによる見かけの変化である可能性もある。今後、この点についてウエスタンブロット法等を用いて詳細に検討する必要がある。また、精製抗原認識抗体を用いたELISAキット（（株）森永生科学研究所製）を用いても検討する予定である。