

# 小麦アレルゲンの検出法とその低減化に関する研究 (Ⅲ)

## 1. 目的

近年、食物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療しにくいといわれている。小麦は多くの食品に利用されているにもかかわらず、調理・加工条件による小麦アレルゲンタンパク質への影響に関する知見は少ない。

今年度は、3種類の小麦加工食品（クッキー、蒸しパンおよびかりんとう）を用いて、それぞれの加工条件が小麦アレルゲンタンパク質に及ぼす影響について検討した。

## 2. 方法

### 1) 小麦加工食品の作製

クッキーは、薄力粉をマーガリン、砂糖、卵等と混合し生地とした後、オーブンで180℃、25分間焼成して作製した。蒸しパンは、薄力粉を卵、砂糖、食塩等と混合した後、蒸し器で20分間蒸して作製した。なお、オートクレーブ処理（121℃、10分）した薄力粉を用いたクッキーと蒸しパンも作製した。

かりんとうは、市岡製菓（株）に製造を依頼した。原材料には強力粉を用い、揚げ温度は180℃とした。

### 2) イムノブロット法による小麦アレルゲンタンパク質の検出

試料10mgにSDS-PAGE試料緩衝液1mlと2-メルカプトエタノール0.1mlを加えた後、沸騰水浴中で5分間加熱し、タンパク質を抽出した。この上清をLaemmliの方法<sup>1)</sup>に従い、15%アクリルアミドゲル（テフコ（株）製）に20mAの定電流で電気泳動した。ゲルに泳動されたタンパク質をニトロセルロース膜に転写した後、一次抗体として、代表的な小麦アレルゲンタンパク質の抗体である抗グリアジン抗体（日本ハム（株）製）もしくは抗Tri a Bd 17K抗体<sup>2)</sup>を1時間反応させた。次に、二次抗体としてビオチン標識抗マウスIgG抗体（Vector Laboratories社製）を1時間反応させ、さらに、アビジン化アルカリフォスファターゼとの複合体を形成させた。アルカリフォスファターゼ基質溶液で発色させた後、転写膜上の各バンドの画像をイメージスキャナーにて取得した。得られた画像は、画像処理ソフトウェア（NIH Image 1.63）を用いて定量化した。

### 3) 小麦アレルギー患者血清からのIgE抗体の検出

各小麦加工食品の電気泳動からニトロセルロース膜への転写まで前項の方法と同様に操作した。但し、一次抗体には小麦アレルギー患者血清を、二次抗体

には、ビオチン標識抗ヒトIgE抗体（Vector Laboratories社製）を用いた。

## 3. 結果

グリアジンおよびTri a Bd 17Kについてイムノブロット法により検出を試みた。その結果、グリアジンについては、いずれの食品とも加工による影響はみられなかったが、Tri a Bd 17Kについては、加工により検出量が著しく減少した（図1）。また、この効果は、オートクレーブ処理した薄力粉を用いた蒸しパンにおいて強くみられた。なお、Tri a Bd 17Kは、加熱によりアレルゲン性を保持した重合体を形成することが報告されており<sup>3)</sup>、注意を要する。

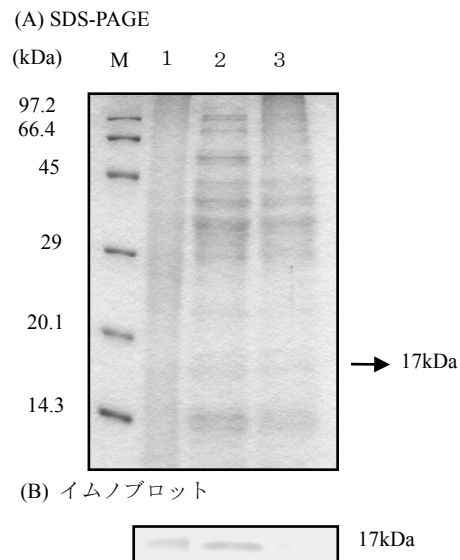


図1 かりんとうからのTri a Bd 17Kの検出  
M: 分子量マーカー, 1: グリアジン標準  
2: 生地, 3: 揚げ後

次に、小麦アレルギー患者血清中から、食物アレルギーの原因抗体であるIgE抗体の検出を行った。その結果、いずれの食品とも加工により31kDa付近のタンパク質においてIgE抗体との反応性が低下する傾向にあった。

## 参考文献

- 1) Laemmli, U.K.: *Nature*, 227, 680-685 (1970).
- 2) Yamashita, H. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65, 2730-2734 (2001).
- 3) 比江森ら: 日本調理科学会平成18年度大会, 岡山 (2006).