

# 30P-pm164

ソバ 16 kDa アレルゲンに対するサンドイッチ ELISA 系の構築

○中村 厚<sup>1</sup>, 佐藤 里絵<sup>1</sup>, 安達 玲子<sup>1</sup>, 手島 玲子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>国立衛研)

【目的】近年、我が国における食物アレルギー患者数は増加傾向にある。ソバアレルギーはアナフィラキシーを含む重篤なアレルギー症状を引き起こす危険性が高く、摂食には注意を要する。現在、ソバのアレルギー原因物質は 10 種類以上が報告されている。中でも、16 kDa アレルゲン(BWp16;2S アルブミン)はアナフィラキシーの履歴がある患者血清中 IgE と特異的に結合すること、24 kDa アレルゲンと比較して人工胃液中における分解性が低いこと等が明らかとなっている。そこで本研究では、加工食品中に含まれる BWp16 を特異的に検出可能な ELISA 系の構築を目的とした。

【方法】BWp16 に対するモノクローナル抗体(マウス)を作製し、得られた複数の抗体の中からサンドイッチ ELISA に最適な抗体の組み合わせを検討した。固相抗体およびビオチン標識抗体の至適濃度を決定後、精製 BWp16 を用いて作製した検量線を基に、ソバ高濃度標準液、調理加工モデル食品および市販加工食品中に含まれる BWp16 量の算出を試みた。また、落花生、小麦、コメ等、種子植物間交差反応性の有無について検討した。

【結果および考察】固相抗体濃度：20  $\mu\text{g/mL}$  (100  $\mu\text{L/well}$ )、ビオチン標識抗体：1  $\mu\text{g/mL}$  (100  $\mu\text{L/mL}$ )、HRP 標識ストレプトアビジン：1/40,000 (100  $\mu\text{L/mL}$ )の系を構築した。発色基質には tetramethylbenzidine(TMB)を用いた。その結果、BWp16 の検出限界は 3.60 ng/mL、同定量限界は 10.92 ng/mL であった。また、構築した ELISA 系はソバ以外の種子植物抽出液とは抗原交差性を示さず、極めて特異性の高い ELISA 系であることが示された。