

# P-10 ヤマイモ中の特異的アレルゲンの検出及びアレルゲン除去法の開発

◎久保田哲平、大石正道

北里大・理・物理・生物物理学

**【目的】** ヤマイモに含まれるアレルゲンタンパク質を、ヤマイモアレルギー患者の血清を用いてウェスタンブロット(WB)で検出を行い、検出されたタンパク質を変性・分解・除去する方法を模索し、ヤマイモのアレルゲン除去法を考案することを目的としている。

**【材料および方法】(1)試料調製、電気泳動及びWB法**

市販のナガイモ (*Dioscorea batatas*) と自然薯 (*Dioscorea japonica*) を試料として用いた。ナガイモをホモジナイズし、20分間遠心分離した。上澄み液を6分間94℃で煮沸しサンプルに用いた。自然薯に対しても同様の方法で調製を行った。16%ポリアクリルアミドゲルを用い、SDS-PAGE電気泳動法で分離後、ゲルを切断し左側をCBB染色、右側をWBに用いた。ブロッキング剤にはゼラチン、ヤマイモアレルギー患者の血清を用いた一次抗体、ALP標識抗ヒトIgE抗体を二次抗体溶液として用い、アレルゲンタンパク質を検出した。

**(2)ヤマイモ中の特異的アレルゲン除去法の開発**

ヤマイモ中のアレルゲン除去の為の処理として、タンパク質分解酵素であるトリプシンを用いてヤマイモの消化処理を行い、SDS-PAGE電気泳動とWBを行った。

**【結果および考察】**

**(1)ナガイモと自然薯における特異的アレルゲンの検出**

CBB染色により分子量約56kDa、32kDa及び3-24kDaの広い領域にタンパク質が検出された。これらのタンパク質のうち、アレルギー患者血清を用いたWB法により検出されたのは32kDaのバンドのみであった。自然薯においてもナガイモ同様に32kDa付近にCBB染色によりバンドが確認でき、WBにおいても特異的反応が見られた。

**(2)トリプシン消化によるアレルゲンタンパク質の分解と抗原性の低減**

トリプシン消化物ではCBB染色で検出できない量まで約32kDaのアレルゲンタンパク質が分解された。WB法においても32kDa付近に特異的反応は見られなかった。またトリプシン消化物では3kDa付近に新たなバンドが2本確認でき、両バンドが患者血清と弱く反応した。トリプシン消化物中の約3kDaのタンパク質は元試料の32kDaのタンパク質と比べ反応性は低くなっており、これはトリプシンによりアミノ酸配列を切断することで、抗原決定基となりうる配列に対して有効な切断が行えたという事だと考えられる。