

低分子量アレルゲンの検出技術の開発

ー等電点電気泳動と酢酸-尿素ゲルによる二次元電気泳動手法ー

技術の特徴

- ・食物アレルゲンの網羅的な検出のために二次元電気泳動の手法が利用されている。また、 α -amylase/trypsin inhibitorをはじめとし主要アレルゲンとして同定されている15kDa以下のタンパク質もある。しかし、頻用されている等電点電気泳動とSDS-PAGEとの組み合わせによる二次元電気泳動の手法では15kDa以下のタンパク質が泳動の先端に収束してしまい十分な分離が得られない。
- ・本研究においては等電点電気泳動と酢酸-尿素ゲル(AU-PAGE)を組み合わせることにより、15kDa以下のタンパク質を十分に分離することを可能にした。
- ・また、セミドライブロットング装置による、電気泳動により分離したタンパク質のPVDF膜への転写の最適条件も検討し、これにより低分子量のアレルゲンの検出技術を確立した。

研究の内容

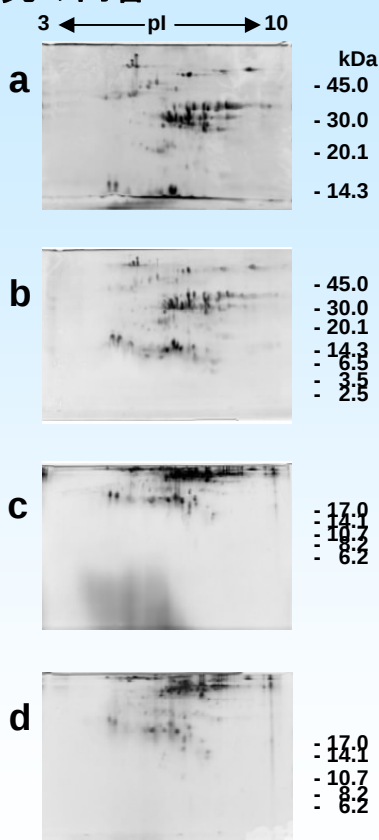


図1 コムギタンパク質の二次元電気泳動像(a)SDS-PAGE with Tris-glycine buffer, (b)SDS-PAGE with Tris-Tricine buffer, (c)AU-PAGE, (d)Extended AU-PAGE

- ・一次元目として等電点電気泳動を行った後、二次元目の電気泳動としてSDS-PAGE(Tris-glycine(図1a) or Tris-Tricine(図1b) buffer system)及びAU-PAGE(図1c & d)を行ったところ、AU-PAGEにより15kDa以下のタンパク質の良好な分離が認められた。このとき、AU-PAGEは酸性条件下における泳動で、タンパク質は+の電荷を持つためSDS-PAGEとは逆向きの泳動を行った。
- ・分離したタンパク質を最適化した条件にてPVDF膜に転写し、コムギアレルギー患者血清によって認識されるタンパク質を検出した。患者血清によって強く認識されるタンパク質をMS解析に供したところ、既知のアレルゲンである α -amylase/trypsin inhibitor(CM17 & AC17)とlipid transfer proteinと同定された(図2)。
- ・以上により本手法が低分子量のアレルゲンの解析に有効であることが示された。

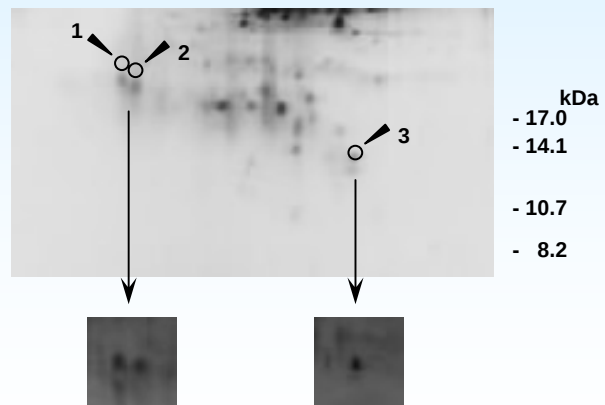


図2 アレルゲンタンパク質の同定(1)CM17 protein, (2)CM17 protein, (3)lipid transfer protein 1

今後の展開

近年食物アレルギーに対する関心には高いものがあるがアレルゲンそのものに対する情報はまだ十分とはいえない状況である。本研究において開発された二次元電気泳動の手法を用い、低分子量のタンパク質も含めアレルゲンの網羅的探索を行うことにより、食品素材中のアレルゲン分子の詳細な情報の把握・蓄積が期待される。

参 考

Kazumi Kitta, et al., Detection of low-molecular weight allergens resolved on two-dimensional electrophoresis with acid-urea polyacrylamide gel, Anal. Biochem. 351(2006)290-7

代表研究者: 橘田和美

所 属: 食品分析研究領域

GMO検知解析ユニット

お問合せは、情報広報課(029-838-7992)へお願いします。