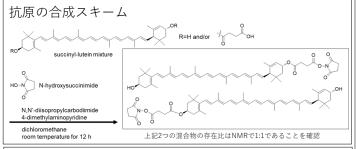
ルテインを検出する抗体

- 抗体及びELISA kitの開発 -

成果の特徴

- カロテノイドの1種であるルテインの新規抗体を作製しました。
- この抗体を使ったELISA法を開発しました。
- HPLCを使わずに野菜中や血中のルテイン濃度測定への応用が期待できます。

成果の内容



ウサギポリクロナール抗体の力価



204,800倍まで希釈し た血清を抗原固相プ レートへ添加、1次反

Anti-rabbit IgG goat-HRPで2次反応。発色、 吸光度測定。 吸光値のカットオフ値 0.2以上と設定、その

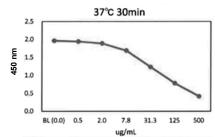
希釈倍数を力価と定義。

抗体の特異性

カロテノイド	阻害率	─ 血清を反応用プレートへ添加。 — 各カロテノイドを希釈し添加、
ルテイン	53.0 %	- 4000000 イドを布がしが加い 1次反応。抗原固相プレート
ゼアキサンチン	9.9 %	を作製、ブロッキング。
β-クリプトキサンチン	5.7 %	1次反応液を抗原固相プレー
リコペン	0 %	トへ添加し、2次反応。
α-カロテン	0 %	Anti-rabbit IgG goat-HRPで
β-カロテン	10.8 %	3次反応。

発色させ、吸光度測定。ここでは、抗原50 μg/mLのデータ。特異 性を阻害率で示す。ルテインの吸光値が、0.492、コントロール (0.1 % BSA) が1.044であった。阻害率の計算は、 $[1-(0.492/1.044)] \times 100 = 53.0\%$

競合ELISA法



抗体を反応用プレート 添加。ルテインを500 μg/mL-0.5 μg/mL及 び1 ng/mLに希釈し、 抗体を入れたwellへ添 加、1次反応。 抗原固相プレートをブ ロッキング。1次反応 液を抗原固相プレート へ添加、2次反応。

Anti-rabbit IgG goat-HRPで3次反応。発色させる。発色停止 後、吸光度測定。阻害率を計算すると、ルテイン濃度依存的に、 2.5 %-78.0 %となる。

試作Kitの内容



ルテイン 抗体



抗体用



稀釈用 緩衝液



濃縮 洗浄液



TMB 基質液



HRP標識 2次抗体



停止液



抗原固相 プレート

想定される用途・連携希望先

本研究で作製した抗ルテイン抗体は、ルテイン濃度測定用としてELISA法に適用し ますが、免疫染色法にも使える可能性があります。

抗体、ELISA kitの利用を検討してくださる機関・企業との連携を希望します。

参考

出願番号:特願2024-029516

※農林水産研究推進事業:健康寿命延伸に向けた食品・食生活実現プロジェクトの成果です。

英一、今場 担当研究者:小竹 司朗

屋:食品研究部門 食品健康機能研究領域 (小竹) 所 食品加工・素材研究領域(今場)