

[成果情報名]小麦アレルゲン・リポドトランスファープロテインを検出できる抗ペプチド抗体

[要約]小麦の水溶性アレルゲンタンパク質であるリポドトランスファープロテイン(LTP)の部分ペプチドを抗原とする抗体は、小麦とライ麦の LTP と特異的に結合し、2ng 以上の精製小麦 LTP を検出できる。

[キーワード]小麦アレルギー、LTP、抗ペプチド抗体、イムノプロット、酵素免疫測定

[担当]東北農研・パン用小麦研究東北サブチーム

[代表連絡先]電話 019-643-3414

[区分]東北農業・流通加工、作物・冬作物

[分類]技術・参考

---

### [背景・ねらい]

日本における食品アレルギー患者の約 10%が小麦アレルギー患者であるため、小麦は食品への表示義務があるアレルギー原材料 5 品目の一つに指定されている。食品中の小麦タンパク質の混入を検出するためのキットが市販されているが、主に水難溶性アレルゲンタンパク質であるグリアジンの抗体を用いて検出しているため、水溶性アレルゲンタンパク質であるリポドトランスファープロテイン (LTP) は検出できない。LTP は分子量約 9kDa の塩基性タンパク質で、種々の穀類や野菜、果樹などに広く含まれている。そこで、小麦 LTP を特異的に検出するため、小麦 LTP の部分ペプチドを抗原とする抗ペプチド抗体を作製し、その特性を明らかにする。

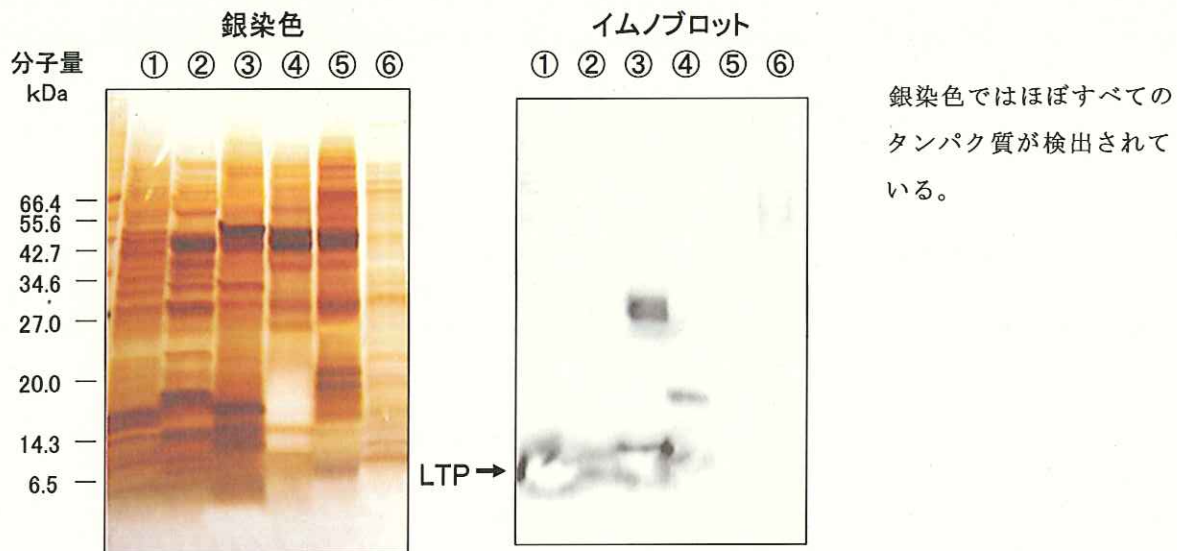
### [成果の内容・特徴]

1. 小麦 LTP の 17~27 番アミノ酸からなる部分ペプチド (VQGGPGPSGQC) を合成してキャリアタンパクに結合させた後、ウサギ 1 羽に免役し、全血を Protein-A カラムで精製することにより、5.75mg/mL の抗体 (免疫グロブリン G) が 42mL 得られる。
2. 本抗体と各種穀類種子の水抽出タンパク質 20 $\mu$ g ずつを用いてイムノプロットを行うと、抗体は小麦とライ麦の LTP に強く結合し、約 30kDa のライ麦タンパク質や約 20kDa のエン麦タンパク質にも交差反応するが、米やトウモロコシの水抽出タンパク質には交差しない (図 1)。また、本抗体はニンジンやリンゴの水抽出タンパク質にも交差しない。
3. 本抗体を麦類水抽出タンパク質 5 $\mu$ g ずつと反応させると、小麦とライ麦の LTP のみが検出され、1 $\mu$ g の小麦およびライ麦の水抽出タンパク質と反応させても LTP の検出が可能である (図 2)。
4. 本抗体は酵素免疫測定法により、2ng 以上の精製小麦 LTP を検出できる (図 3)。

### [成果の活用面・留意点]

1. 本抗体は食品に混入する微量の水溶性小麦タンパク質の検出に応用できる。
2. 本抗体はライ麦の LTP にも反応するため、ライ麦が混入する可能性がある食品の小麦水溶性タンパク質の検出では注意を要する。

[具体的データ]



①小麦、②大麦、③ライ麦、④エン麦、⑤米、⑥トウモロコシ

図1 抗小麦 LTP 抗体の各種穀類種子水抽出タンパク質に対する交差性  
タンパク質各 20 $\mu$ g ずつを電気泳動し、抗体を 5,000 希釈して使用

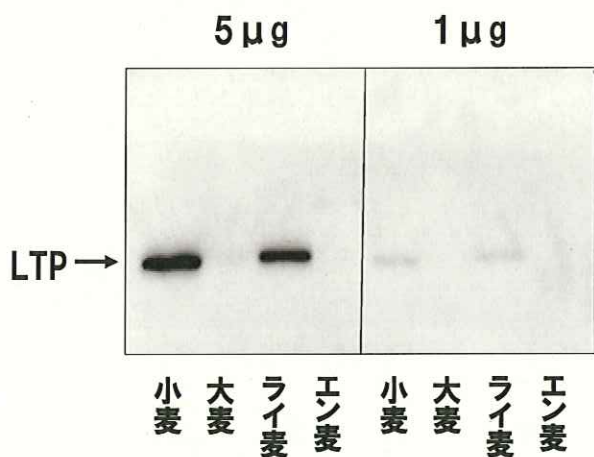


図2 麦類水抽出タンパク質のイムノブロット  
タンパク質 1 および 5 $\mu$ g ずつを電気泳動  
1 $\mu$ g でも小麦とライ麦で LTP が検出できる

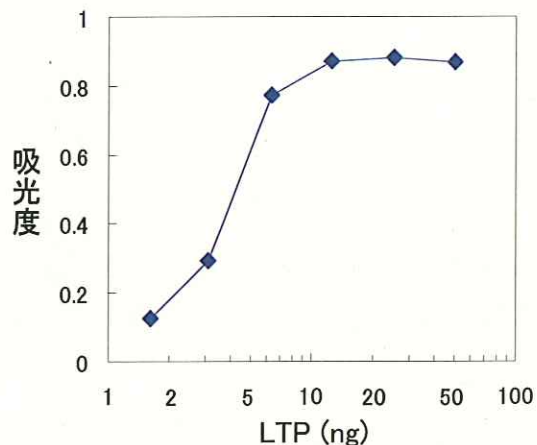


図3 精製小麦 LTP の酵素免疫測定  
抗原をプレートに直接吸着させて測定

[その他]

研究課題名：実需者ニーズに対応したパン・中華めん用等小麦品種の育成と加工・利用技術の開発

課題 ID：311-c

予算区分：基盤研究費、重点研究強化

研究期間：2006～2007 年度

研究担当者：老田 茂

発表論文等：老田(2007)、特願 2007-265281