

氏 名 (本籍)	ど い ひろ とし 土 井 啓 利 (千 葉 県)
学 位 の 種 類	博 士 (生物工学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 6148 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	加工食品中のアレルギー物質検知法の開発

主	査	筑波大学教授	理学博士	繁 森 英 幸
副	査	筑波大学教授	農学博士	杉 浦 則 夫
副	査	筑波大学教授	工学博士	王 碧 昭
副	査	筑波大学准教授	博士 (理学)	山 田 小須弥

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、アレルギー疾患の増加が社会問題となっており、先進国では、子供の 8%、大人では 2%が何らかの食物アレルギーを持つことが報告されている。またアレルギー物質を含む食品による健康被害は、皮膚症状や消化器系症状、呼吸器系症状を呈し、時には痙攣や呼吸困難等を伴うアナフィラキシーショックによって死に至る可能性もあり、非常に深刻な問題である。しかしながら今日では、食物アレルギーの抜本的な治療がないため、アレルギーの原因となる物質を摂取しないことが有効な対策となっている。そのためには食品中に含まれるアレルギー物質の検知法が重要である。そこで本研究では、種々の食品の中でもとくに検知法が未開発であるアレルギー物質を含むくるみおよびゼラチンに着目し、ELISA 法を用いてこれらを含む加工食品中のアレルギー物質の検知法の開発を目的とした。

くるみ検知法の開発

加工食品の測定に適した熱安定かつ含有量の多いタンパク質である 2S-Albumin を精製し抗原とした。様々な抗体作成条件を検討し、SDS 及び 2-Mercaptoethanol で変性させた抗原を用いることで加工食品中に存在する変性した 2S-Albumin を認識できるポリクローナル抗体を得ることに成功した。この作成した抗体と食品中の不溶性や変性タンパク質を抽出することができる SDS 及び 2-Mercaptoethanol を含む抽出液を組み合わせる ELISA 法を開発した。開発した ELISA 法は、検出範囲 0.3-20 µg/g であり、検出限界 0.16 µg/mL、定量限界 0.31 µg/mL の十分な検出感度を持ち、165 種類中 163 種類の食品原料で偽陽性反応がなく高い特異性を持つことを示した。以上より開発した ELISA は、加工食品中のくるみの検出に有用であることが示唆された。

ゼラチン検知法の開発

抗原として様々なゼラチンや合成ペプチドの検討、動物種の選択など抗体作成条件を検討した結果、アルカリで処理することによって製造された牛ゼラチンをヤギに免疫することで目的とする ELISA 法に適したポリクローナル抗体を得るのに成功した。この抗体を用いて開発した ELISA 法は、検出範囲 0.3-20 µg/g であり、検出限界 0.31 µg/mL、定量限界 0.62 µg/mL の十分な検出感度を持ち、151 種類の食品原料の評価ではコラーゲンの変性によってゼラチン化が起きる加熱肉で強い反応性を示したが他に重大な偽陽性反応は見られなかった。

れず高い特異性を持つことが示された。以上のことから開発した ELISA は、加工食品中のゼラチンの検出に有用であることが示唆された。

食品製造の現場で限られた製造ラインで他品種の製品を製造されるため、原料にアレルギー物質を原材料に使用していなくても、非意図的に他の製品原料が微量に混入する可能性があるため、食品中のアレルギー物質を検査することが必要である。開発した 2 つの ELISA 法は、大型の測定設備を必要とせず比較的短時間で通常困難とされる食品中のアレルギー物質を直接抗体が認識することで検知できる。また同時に多検体測定できることから様々な食品を製造している食品工場でのアレルギー物質の検査法として非常に有用であり、アレルギー患者が誤ってアレルギー物質を摂取するリスクを低減することが期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、くるみとゼラチンに含まれるアレルギー物質について ELISA 法を用いて迅速にかつ簡便に検知する方法の開発に関する報告である。

患者数が多い、卵、乳、小麦、えび、かにおよび重篤度が高いそば、落花生では、すでに検知法が開発され行政の食品表示の監視、企業の品質管理に利用されているが、他にも重篤なアレルギーを引き起こす食品があり現在の検査態勢では十分とは言えない。そのため本研究では、検知法が未開発なアレルギー物質を含む、くるみ及びゼラチンアレルギーに着目してそれらの検知法の開発を行った。いずれの食品においても、適切なポリクローナル抗体を得ることに成功しており、それらを用いた ELISA 法を開発した。いずれの方法も検出感度が高く、アレルギー物質に対する特異性も高く、比較的短時間で検知することが可能である。以上の結果から、本研究で見出されたくるみとゼラチン由来のアレルギー物質の検知法は、十分に実用化に値するものと考えられる。したがって、本研究成果は生命産業の発展に大いに寄与するものと思われる。

平成 24 年 1 月 26 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。