

スギ花粉抗原 Cry j 1 量測定 ELISA キットの開発

○近藤正敏、岡森万理子、嶋田貴志（ニチニチ製薬株式会社 中央研究所）

榎本雅夫（日本赤十字社和歌山医療センター 耳鼻咽喉科）

【はじめに】

スギ花粉症は増加し、国民の約 16%がスギ花粉症に悩んでいる。スギ花粉症のセルフケアに関しては、衣服やマスク内に持ち込まれた花粉数、さらに室内塵に存在する花粉数を評価する必要がある。このような花粉数を推定する手段として、顕微鏡下で確認する方法があるが、非常に困難である。そこで、我々は、容易にスギ花粉の主要抗原である Cry j 1 の濃度を測定できる ELISA キットを開発した。開発した ELISA キットの測定方法、基礎的評価および応用例などについて報告する。

【実験方法】

（本キットの測定方法）96 穴のコーティングプレートの各ウェルに標準液および検体を添加し、37°Cで 1 時間反応させ、さらに室温で 12 時間反応させた。プレートを洗浄した後、各ウェルにビオチン化二次抗体を添加し、37°Cで 1 時間反応させ、さらに室温で 2 時間反応させた。プレートを洗浄した後、各ウェルにストレプトアビジン結合ガラクトシダーゼを添加し、37°Cで 1 時間反応させた。プレートを洗浄した後、各ウェルに基質(o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド)を添加し、37°Cで約 10 分反応させた。各ウェルに反応停止液を添加し、攪拌後、波長 415nm における吸光度を測定した。

（Cry j 1 サンプル液の希釈試験）Cry j 1 サンプル液を 500 倍希釈～4000 倍希釈まで 2 倍ずつの段階希釈し、本キットでサンプル液中の Cry j 1 量を測定した。

（マウス糞便中の Cry j 1 測定）本キットの使用応用例として、スギ花粉を経口投与したマウス糞便中の Cry j 1 量を測定した。

【実験結果】

（検量線）Cry j 1 標準液の検量線は、直線性および検量線形状ともに良好な成績が得られた。また、検量線から本 ELISA キットにおける Cry j 1 の検出限界は、約 300pg/mL と判断された。

（希釈試験）Cry j 1 サンプル液の 500 倍希釈～4000 倍希釈の段階希釈において、希釈倍率に依存して Cry j 1 濃度が減少した。

（マウス糞便中の Cry j 1 量）様々な夾雑物を含む糞便からでも Cry j 1 の測定は可能であった。投与量の約 2%の Cry j 1 が、糞便中に検出された。

【まとめ】

我々が開発した Cry j 1 量測定 ELISA キットは、検量線、希釈試験など基礎的評価に関して良好な成績が得られと考えている。また、本キットは、基礎的、臨床的に応用価値が高いと考えている。