

超高压処理による鶏卵白オボムコイドの低アレルギー化

新潟大学教育人間科学部・教授 小谷 スミ子

新潟大学農学部・教授 鈴木 敦士（共同研究者）／助教授 原 崇（共同研究者）

■ 目的

卵アレルギーは乳幼児に最も頻度高く発症する即時型食物アレルギーの一つである。卵のアレルゲンは主に卵白に含まれるタンパク質であるが、中でも特に強いアレルギー性を示すのがオボムコイド(OVM, *Gal d 1*)である。OVMは特異な分子構造により加熱処理や化学的処理に対して高い抵抗性を示し、そのアレルギー性を完全に除くことは難しい。本研究では、加熱処理とは異なる新しい食品加工法である高圧処理をOVMに行い、卵アレルギー患者血清IgE抗体との結合性をELISA法で構造変化をCDスペクトルと蛍光スペクトルから検討することを目的とした。

■ 実験方法

OVM(Trypsin Inhibitor Type III-0、ニワトリ卵白由来、シグマ社製)水溶液10 μ g/mlをポリエチレン袋の中に入れ、脱気、封入後超高压処理装置NBIP(NIKKISO NBIP 45-120-70)を使用し、100～600MPaで13 $^{\circ}$ C、10分間の高圧処理を行った。ELISA(*Enzyme-linked immunosorbent assay*)はEngvallとPerlmanの方法を一部改変して行った。高圧処理したOVM水溶液(0.2mg/ml)を直ちに日本分光JASCO J-725型円二色性分散計(データ解析装置付き)でCDスペクトルを測定した。二次構造の割合は、平均残基分子楕円率をYang等(1986)の式から算出した。立体構造の変化は蛍光スペクトルから解析した。すなわちOVM水溶液(0.2mg/ml)をインナーセル型高圧光学セルを取り付けた蛍光分光光度計F-2000(日立製)で測定し、得られた蛍光スペクトルからRuan等(1998)の式を用いて質量中心を求め、その変化からチロシン残基周辺の疎水領域の移動を解析した。

■ 結果と考察

高圧処理したOVMの卵アレルギー患者血清IgE抗体との結合性は100～400MPaと圧力が低い領域では圧力に依存して低下したが、500、600MPaと圧力を上昇させるとむしろ増加した。CDスペクトルからは高圧処理したOVMの2次構造の変化は認められなかった。しかしOVM分子内に存在する芳香族アミノ酸のチロシンを内在蛍光プローブとして蛍光スペクトルを測定したところ、極大吸収波長は400MPaまでは圧力上昇に伴い長波長側に移動した。このことはチロシン残基が分子内部の疎水領域から親水性環境である分子表面に移動していることを示唆する。また常圧にもどしても極大吸収波長は高圧処理前の水準まで回復しなかったことから、OVMの構造変化が不可逆的なものであると考えられる。さらに質量中心の値も蛍光スペクトルと同様に400MPaまでは加圧強度の増加によって値が減少し、除圧を行っても加圧処理前の値には戻らなかった。

オボムコイドの分子内に存在するチロシン残基6個のうち、5個はIgE抗体結合部位(Mine等2002)に含まれることから、高圧処理したオボムコイドの立体構造変化は、IgE抗体結合部位の変化を示す。これらのことから高圧処理で生じたOVMの高次構造変化は、IgE抗体エピトープの構造変化を誘導し抗体結合性を低下させたものと考えられる。即時型アレルギーの要因であるIgE抗体との結合性の低下はアレルギー性の低下にもつながると考えられる。