

加工食品の食物アレルギー遺伝子検査の高感度化に関する研究

宮崎, 悦子

<https://hdl.handle.net/2324/7157397>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏名	宮崎 悦子			
論文名	加工食品の食物アレルギー遺伝子検査の高感度化に関する研究			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	宮本 敬久
	副査	九州大学	教授	井倉 則之
	副査	九州大学	准教授	本城 賢一

論文審査の結果の要旨

食物アレルギー表示制度の対象である特定原材料のうち、小麦は食品の原材料として広く使用され、アレルギー患者数が多く、症状も重篤である。消費者庁から通知されている検査方法（通知法）による小麦のスクリーニング検査としての ELISA 法で 10 mg/kg 以上の小麦タンパク質が検出（陽性）されるにもかかわらず、通知法による確認検査として実施される PCR 法において小麦遺伝子が不検出となる事例があり、食の安全性確保の上で大きな問題となっている。本研究は、小麦アレルギー遺伝子の高感度検出法の開発を行ったものである。

まず、定量 PCR 法（qPCR 法）による小麦遺伝子の高感度検出のため、小麦の主要アレルゲンである Triticin 前駆体の遺伝子の一部を増幅するプライマー対および増幅産物特異的な蛍光プローブを設計している。これに加えて既知の植物遺伝子検出用プライマー対および蛍光プローブを用いて本法と PCR 法の比較評価を行っている。植物遺伝子および小麦遺伝子の配列を含むプラスミドおよび小麦粉から抽出した DNA を鋳型として試験した結果、qPCR 法は PCR 法の 4 倍以上高感度であることを示している。

次に、加熱加工食品のモデル試料として小麦粉を添加した米粉クッキーを作製して本 qPCR 法により検査した結果、180℃から 220℃まで試料の焼成温度上昇に伴う小麦遺伝子検出率の低下を認めている。また、ELISA 法で小麦陽性となったが PCR 法では小麦遺伝子陰性となった実試料（焼菓子）2 検体について本法で調べた結果、いずれも小麦遺伝子陽性となり、ELISA 法と同じ結果が得られている。さらに、qPCR 法の実用性評価のため、小麦 12 品種を対象に本法の検出感度を PCR 法と比較した結果、いずれの品種においても PCR 法と同等以上の検出感度が得られることを示している。

最後に、市販の容器包装入りチルド惣菜等 50 検体を対象として、qPCR 法による小麦混入実態調査を行っている。小麦表示のあった 40 検体中、原材料に小麦を含有し、ELISA 法で小麦タンパク質が検出されたビーフシチューおよびビーフカレー 8 検体からは qPCR 法でも小麦アレルギー遺伝子は検出されないことを示している。そこで微量の小麦粉を混入させた牛ミンチ肉をモデル試料として中心温度 95℃で加熱して調べた結果、加熱時間の延長に従って試料からの DNA 抽出量は減少し、3 時間を超えると小麦遺伝子は不検出となることを明らかにしている。これは常圧で 100℃以下であっても長時間の加熱により小麦アレルギー遺伝子は損傷し、遺伝子検査に影響を与えることを示すものである。

以上、本研究は、食品からの高感度小麦遺伝子検出法として qPCR 法を開発し、検査試料の加熱履歴が遺伝子検査に与える影響を明らかにしたもので、食品衛生化学の発展および食の安全性確保に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。