平成19年3月23日 第32回共同会議

# エビに係る技術的検討の 成果について②

藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院 小児科 宇理須厚雄

厚生労働科学特別研究事業 平成16年度 食品中のアレルギー物質の同定と表示方法に 関する研究 食品の安心・安全確保推進研究事業 平成17-18年度 食品中に含まれるアレルギー物質の検査法開発に 関する研究

> 主任研究者 藤田保健衛生大学坂文種報徳會病院小児科 宇理須厚雄

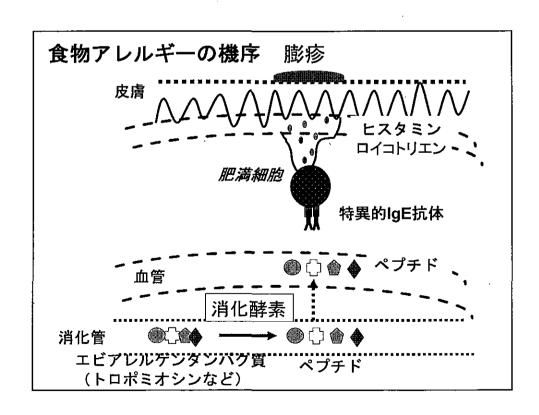
## 特定原材料等の指定 (平成14年4月より本格的に施行)

- ■特定原材料(省令による規定);表示義務 卵、乳、小麦、そば、落花生(5品目)
- ■特定原材料に準じる(通知による規定);表示奨励あわび、いか、いくら、えび、オレンジ、かに、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、さけ、さば、大豆鶏肉、バナナ、豚肉、まつたけ、もも、やまいもりんご、ゼラチン

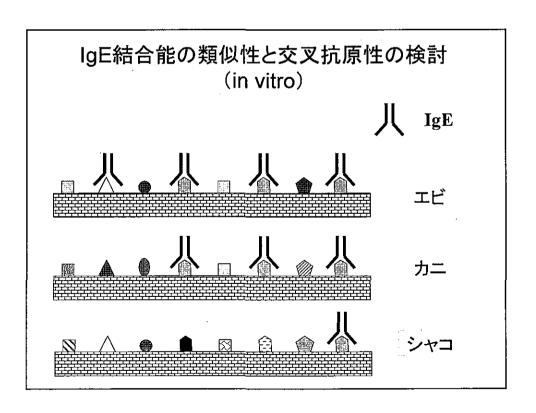
#### 甲殻類アレルギー 表示比較一覧

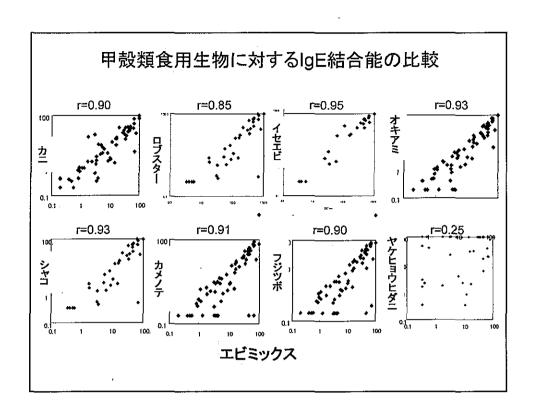
日本村	票準商品分類	,	現行の 表示対 象	十脚目
	えび類 (いせえ りがに類を除く)			0
	いせえび・うちわえ りがに類	イセエビ、 ロブス ター	×	0
7135	かに類		O	0
713 6そ	71361 しゃこ類	しゃこ	×	×
の他	71362 あみ類			
の甲か類	71363 おきあみ類	なんきょ くおきあ み	×	×
~	71369 他に分類さ れない甲かく類	かめのて	×	×
	1000 110 000	みねふじ つぼ	×	×

- IgE結合能の類似性と交叉抗原性の検討 (in vitro)
- 甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンのアミノ酸配列からみた類似性
- ・ エビアレルギー患者を基準とした臨床的交 叉反応性
- ・えび・かに検知法の開発状況



- IgE結合能の類似性と交叉抗原性の検討 (in vitro)
- ・甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンのアミノ酸配列からみた類似性
- エビアレルギー患者を基準とした臨床的交叉反応性
- ・えび・かに検知法の開発状況





日本標準商品分類 7133 えび類(Lいせえ び・ざりがに類を除く)		現行	十脚	臨床症 状の交	lgE結合能交叉		トロポミオシン		ELISA	PCR法	
		'	Ē	叉	相関 係数	<ul><li>素数 (IgE)抑制試験</li><li>1.94 相互に抑</li></ul>	p Immunoblot	アミノ酸配列の相同性	検出		
		0	0	基準	0.94 以上					検出	
7134 いせえび・うちわ いせえび、ロブ えび・ざりがに類 スター		×	0	ND	0,95 0.85	ND	女文性あり	約90%以上	検出	検出	
7135 かに類			0	0	64.7%	0.90 以上	ND	交叉性あり	約90%以上	検出	検出せず (開発中)
7136 その 他のか く類	71361 しゃこ 類	しゃこ	×	×		0.93	抑制+/-``	ND	約90%以上	検出	検出せず
	71362 あみ 類				ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出せず
	71363 おきあ み類	なんきょくおき あみ	×	×	26.7%	0.93	抑制+/-	交叉性あり	約90%以上	検出	検出せず
	71369 他に 分類されない	かめのて	×	×	ND .	0.91	抑制+/-	交叉性あり	ND	検出	ND
	甲かく類	みねふじつぼ	×	×	ND	0.90	<b>抑制+/-</b>	交叉性あり	約65%(アワ ビ類76- 80%)	検出	ND
7131 いか頚					<b>/3/5%</b>	0.75	ND	交叉性あり	約60%	検出せ す	検出せず
7132 たこ類					20,3%	0,75	ND		約60%	検出せず	検出せず

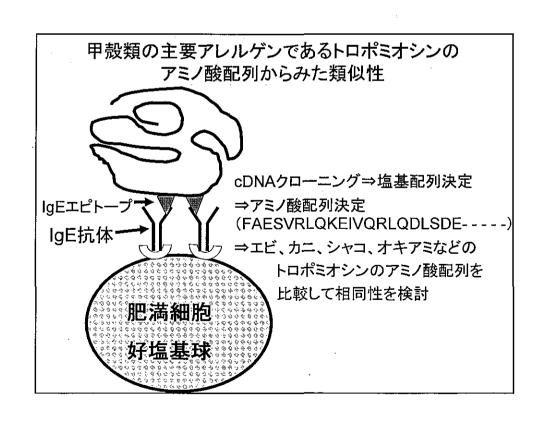
- IgE結合能の類似性と交叉抗原性の検討 (in vitro)
- 甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンのアミノ酸配列からみた類似性
- エビアレルギー患者を基準とした臨床的交叉反応性
- ・えび・かに検知法の開発状況

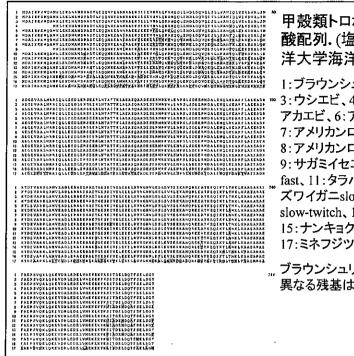
#### 甲殻類のアレルゲン;トロポミオシン

	主要	ミアレルゲン
ΣΕ	antigen-IŁII	
インドエビ(Penaeus indicus)	Sa-IŁII	
インドエビ( <i>Penaeus indicus</i> )	t RNA	
インドエビ(Penaeus indicus)	Pen i 1	トロポミオシン
ブラウンシュリンプ(Penaeus aztecus)	Pen a 1	トロポミオシン
ヨシエビ(Metapenaeus ensis)	Met e 1	トロポミオシン
タイショウエビ(Penaeus orientalis)	Pen o 1	トロポミオシン
アメリカンロブスター(Homarus americanus)	Hom a 1	トロポミオシン
イセエビ類( <i>Panulirus stimpsoni</i> )	Pan s 1	トロポミオシン
カニ類( <i>Charybdis feriatus</i> )	Cha f 1	トロポミオシン

# 軟体動物アレルゲン

	主要アレ	ルゲン
スルメイカ	Tod p 1	トロポミオシン
マガキ	Cra g 1	トロポミオシン
マガキ	Cra g 2	トロポミオシン
サザエ	Tur c 1	トロポミオシン
アワビ類、ホタテガイ類、イガイ類		トロポミオシン
マダコ	Oct v 1	トロポミオシン

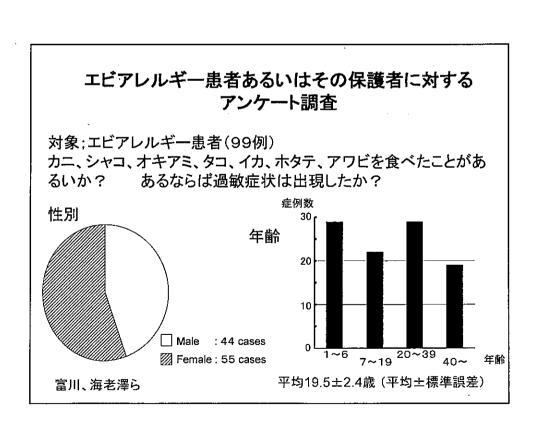


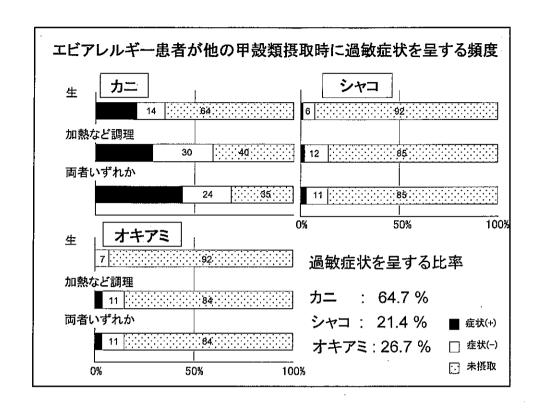


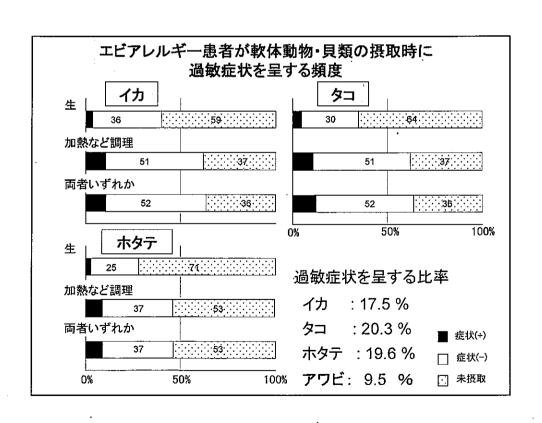
- <sup>®</sup> 甲殻類トロポミオシンのアミノ 酸配列. (塩見一雄 東京海 洋大学海洋食品科学科)
- 1:ブラウンシュリンプ、2:クルマエビ、3:ウシエビ、4:ヨシエビ、5:ホッコクアカエビ、6:アメリカンロブスターfast、7:アメリカンロブスターslow-twitch、8:アメリカンロブスターslow-tonic、9:サガミイセエビ、10:タラバガニfast、11:タラバガニslow-tonic、12:ズワイガニslow-tonic、13:ケガニslow-twitch、14:ケガニslow-tonic、15:ナンキョクオキアミ、16:シャコ、17:ミネフジツボ
- <sub>...</sub> ブラウンシュリンプトロポミオシンと 異なる残基は影をつけて示す。

- IgE結合能の類似性と交叉抗原性の検討 (in vitro)
- 甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンのアミノ酸配列からみた類似性
- エビアレルギー患者を基準とした臨床的交叉反応性
- ・えび・かに検知法の開発状況

日本標準商品分類 7133 えび類(いせえ び・ざりがに類を除く)		現行	十脚	臨床症 状の交	lgE結合能交叉		トロポミオシン		ELISA	PCR法	
			''	a a	叉	相関係数	RAST (IgE)抑 制試験	IgE 阻害 Immunoblot	アミノ酸配列 の相同性		
		0	0	基準	0.94 以上	相互に抑え変変性あり	交叉性あり	基準	検出	検出	
7134 いせえび・うちわ いせえび、ロブ えび・ざりがに類 スター		×	0	ND	0.95 0.85	ND	交叉性あり	約90%以上	検出	検出	
7135 かに類			0	0	64.7%	0.90 以上	ND	交叉性あり	約90%以上	検出	検出せず (開発中)
7136 その 他の の <b>Y</b> 類	71361 しゃこ 類	しゃこ	×	×	21.496	0,93	抑制+/-	ND	約90%以上	検出	検出せす
	71362 あみ 類				ND	NĐ	ND	ND	ND	検出	検出せる
	71363 おきあ み類	なんきょくおき あみ	×	×	26.7%	0.93	抑制+/-	交叉性あり	約90%以上	検出	検出せず
	71369 他に 分類されない	かめのて	×	×	ND	0.91	抑制+/->	交叉性あり	ND	·検出	ND
	甲かく類	みねふじつぼ	×	×	ND	0.90	抑制+/-*/	交叉性あり	約55%(アワ ビ類75 80%)	検出	ND
7131 いか類						0.75	ND	交叉性あり	約60%	検出せず	検出せす
7132 t	とこ類				263%	0.75	ND		#560%	検出せ	検出せず







日本標準商品分類 7133 えび類(いせえ び・ざりがに類を除く)		現行	十脚	50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 50 5	lgE結合能交叉		トロポミオシン		ELISA	PCR法	
				8	叉	相関係数	RAST (IgE)抑 制試験	IgE 阻害 Immunoblot	アミノ酸配列の相同性		
		0	0	基準	0.94 以上		互に抑 交叉性あり	基準。	検出	検出	
7134 いせえび・うちわ いせえび、ロブ えび・ざりがに類 スター		×	0	ND	0.95 0.85	ND	<b>交叉性あり</b>	約90%以上	検出	検出	
7135 かに類			0	0	64.7%	0.90 以上	ND	<b>交叉性あり</b>	約90%以上	検出	検出せす (開発中)
7136 その 他 の か く 類	71361 しゃこ 類	しゃこ	×	×	21 AV	0.93	抑制+/-	ND	約90%以上	検出	検出せず
	71362 あみ 類				ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出せす
	71363 おきあ み類	なんきょくおき あみ	×	×	25/8/	0.93	抑制+/-	交叉性あり	約90%以上	検出	検出せず
	71369 他に 分類されない	かめのて	×	×	ND	0.91		交叉性あり	ND	検出	ND
	甲かく類   	みねふじつぼ	×	×	ND	0.90	抑制+/-	交叉性あり	約55%(アワ ビ類75- 80%)	検出	ND
7131 L	か類					0.75	ND	交叉性あり	約60%	検出せず	検出せす
7132 <i>f</i>	≐こ類				203%	0.75	ND	******	<b>約60%</b>	検出せず	検出せす

- IgE結合能の類似性と交叉抗原性の検討 (in vitro)
- 甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンのアミノ酸配列からみた類似性
- エビアレルギー患者を基準とした臨床的交叉反応性
- ・えび・かに検知法の開発状況

## 甲殻類検知キットのバリデーション結果

		キットA		キットB					
モデル加工食品	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)	室間精度 (RSD%)	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)	室間精度 (RSD%)			
魚肉ソーセージ	102.8	5.1	23.2	63.5	4.0	6.1			
FDスープ	98.3	4.1	19.4	73.6	3.9	9.4			
トマトソース	95.8	9.7	19.7	85.7	4.6	5.5			
クリームコロッケ	82.1	8.2	20.6	77.7	4.8	6.2			
鶏肉団子	100.0	6.6	21.6	72.2	5.3	8.9			

- ★甲殻類の主要アレルゲン(トロポミオシン)に対するポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を作製し、サンドイッチELISA法に基づく2種類の甲殻類検知キット(キットA、B)を開発した。
- ★両キットを5種類のモデル食品を用いて10機関によるパリデーション試験に供したところ、いずれのキットにおいても回収率は50-150%、室間精度は25%未満と良好な結果が得られ、甲殻類検知キットとして実用可能であると判断された。

甲殻類アレルギー物質を										ELISA PCR法	
日本標準商品分類		現行	十脚	臨床症 状の交	児を結	合能交叉	トロポミオシン		ELISA	PCR法	
	•			目	叉	相関 係数	RAST (IgE)抑 制試験	IgE 阻害 Immunoblot	アミノ酸配列 の相同性		
7133 えび類(いせえ び-ざりがに類を除く)		0	0	基準	0.94 以上		押 交叉性あり	基準	検出	検出	
7134 いせえび・うちわ いせえび、ロブ えび・ざりがに類 スター		×	0	ND	0,95 0.85	ND	文文性あり	約90%以上	検出	検出	
7135 かに類			0	0	64.7%	0.90 以上	ND	XXEB9	約90%以上。	検出	検出せず (開発中)
7136 その 他の 甲類	71361 しゃこ 類	しゃこ	×	×	2x 4%	0.93	押制+/->、	ND	約90%以上	検出	検出せず
	71362 あみ 類				ND	ND	ND	ND	ND	検出	検出せず
	71363 おきあ み類	なんきょくおき あみ	×	×	26 7%	0.93	抑制 //	<b>交叉性あり</b>	約90%以上	検出	検出せす
	71369 他に 分類されない	かめのて	×	×	ND	0.91	<b>御朝子</b> へこくだい	交叉性あり	מא	検出	ND
	単かく類	みねふじつぼ	×	×	ND	0.90	抑制+/->	<b>50</b> 4440	約55%(アウ ビ類75- 80%)	検出	ND
7131 いか類				\$1 5% \$\\\\\\\	0.75	ND	交叉性あり	約60%	検出せ す。	検出せず	
7132 <i>†</i>	こ類				20/3%	0.75	ND		約60%	検出せ	検出せず