

2010 年 3 月 31 日

株式会社ガイア 御中

試 験 報 告 書



ITEA 株式会社 東京環境アレルギー研究所

〒113-0034 東京都文京区湯島 2-2-4 スワンビル

電話 03-5840-8983 Fax03-5840-8984



1. 試験名	アレルギーに対する試料の反応試験
2. 試験の目的	試料にアレルギー溶液を添加し、紫外線を照射してアレルギーと反応させ、反応後の溶液中アレルギー濃度を測定し、アレルギーに対する低減効果を検討する。
3. 対象と方法	
試料	レースカーテン
対照	試料同一の未加工布
試験試料のサイズ	5×5cm
試験サンプル数	n=1
対象アレルギー	スギ花粉アレルギー(Cry j 1)
アレルギー溶液	スギ花粉粗抽出液 (スギ花粉粗抽出物, ITEA) (溶解濃度 Cry j 1: 100ng/ml)
試験溶液量	1.5ml
反応温度	4℃
照射光源	ブラックライト (0.5mW/ cm ²)
照射時間	1 時間、6 時間
測定サンプル	試料と反応させたアレルギー溶液
アレルギー測定法	酵素免疫測定法 (サンドイッチ ELISA 法) (酵素免疫測定法/96 穴マイクロプレートの各ウェルに 1 次抗体を固相しアレルギーを捕捉させた。次に予め標識化した 2 次抗体を反応させ、酵素、基質を順に反応させた。発色した各ウェルの吸光度を測定し、標準曲線から検体の抗原量を求めた。)
評価方法	試料または対照を反応させたアレルギー溶液のアレルギー濃度を測定し、下記の式にて低減率を求めた。 $\text{低減率(\%)} = (B - A) / B \times 100$ A : 試料反応後のアレルギー溶液中のアレルギー濃度 B : 対照反応後のアレルギー溶液中のアレルギー濃度

4.プロトコール

アレルゲン溶液の作製

- ① PBS にアレルゲンを溶解したアレルゲン溶液（以下、アレルゲン溶液）を作製した。

測定サンプルの作製

- ② 試料を所定のサイズに調整し、それぞれ PE 製の袋に入れ、アレルゲン溶液を加えた。紫外線を所定時間照射し反応させ、溶液を回収して遠心処理後の上清を測定に供した。

- ③ アレルゲン濃度の測定

試料と反応させたアレルゲン溶液のアレルゲン濃度をサンドイッチ ELISA 法で測定した。

サンドイッチ ELISA 法は、下記の手順で行った。

アレルゲンに対する抗体をマイクロプレートの各ウェルに固相化

↓

ポストコーティング

↓

洗浄後、サンプル、及び標準アレルゲンを添加

↓

洗浄後、標識化抗体を添加

↓

洗浄後、酵素試薬を添加

↓

洗浄後、基質を添加

↓

反応停止後、吸光度を測定

- ④ 標準アレルゲンを用いて作製したウェルの吸光度から検量線を作成し、各試料のアレルゲン濃度を求めた。
- ⑤ 得られた値から、アレルゲン溶液中のアレルゲン濃度減少率を求めた。

5. 結果

酵素免疫測定法(sandwich-ELISA)によるアレルギー量測定結果

表 スギ花粉アレルギー(Cry j 1)の測定 (ng/ml)

サンプル	照射時間	1 時間	6 時間
	試料 (レースカーテン)	0.22	<0.1
	対照 (未加工布)	35.01	22.57
	低減率	99.4%	>99.5%

検出限界: 0.1ng/ml

6. まとめ

- 1) 試料「レースカーテン」に、アレルギー溶液(スギ花粉粗抽出液)を添加し、紫外線を照射して反応させ、反応後の溶液中アレルギー濃度(スギ花粉アレルギー:Cry j 1)を測定しました。
- 2) 本実験系において、試料「レースカーテン」と反応させたアレルギー溶液中のスギ花粉アレルギー(Cry j 1)濃度は、対照に比べ低下し、6 時間経過時には検出感度以下に減少しました。
- 3) 試料「レースカーテン」は、スギ花粉アレルギーへの低減作用があると考えられます。

以上

ITEA 株式会社
 東京環境アレルギー研究所
 東京都文京区湯島 2-2-4 スワンビル
 電話 03-5840-8983 Fax 03-5840-8984

試験実施: 白井 秀治