

異なる換気量での屋内スギ花粉中の Cryj1 含有量に関する研究

身近な粒子－花粉－Cryj1

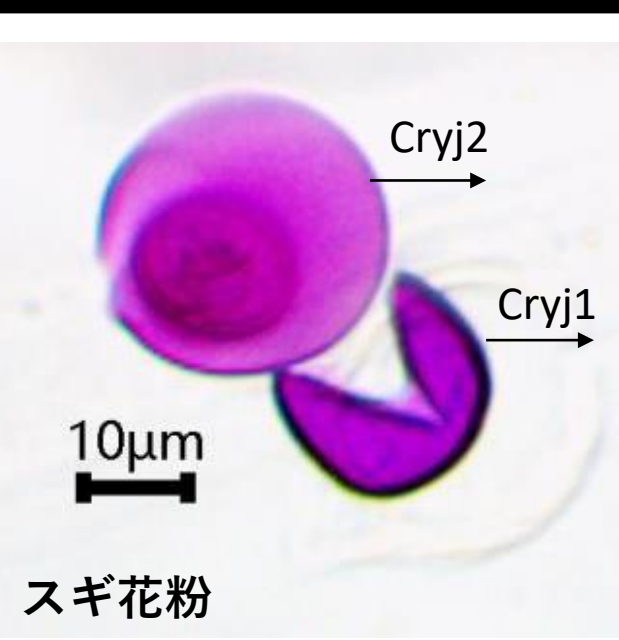
花粉が与える影響とは？



これって

- ・皮膚のかゆみ
- ・目の充血やかゆみ
- ・頭痛
- ・のどの痛み
- ・呼吸困難
- ・精神状態の悪化
- ・睡眠の質の低下

スギ花粉は日本人の花粉症の主な原因の一つです。スギ花粉には複数のタンパク質が含まれており、の中で Cryj1 と Cryj2 は最も一般的なアレルゲンの1つです。研究によると、Cryj1 の量は通常、Cryj2 の量より 2～4 倍多いことが示されています。



Cryj1は主にスギ花粉の外層（体外層）に存在し、Cryj2は主にスギ花粉の内側に存在します。アレルゲンを含む花粉は、さまざまな方法で室内に侵入します。

研究目的

A:屋内侵入スギ花粉の Cryj1 アレルゲン含有量。

B:Cryj1 アレルゲンの侵入に対する換気量の影響。

研究手法



測定前
アンダーセン6段サンプラーにフィルター・スライドと円形のカバースリップを取り付けます。（フィルター・スライドはスギ花粉粒子を収集するために使用され、円形のカバースリップはCryj1アレルゲンを収集するために使用されました。）

測定
バルコニーのドアと小さい窓を閉めます。室内にドライアイスを入れて二酸化炭素を放出します。室内（②）と室外（①）に濃度計（UNI Logtta CO2）を設置して二酸化炭素の濃度を検出します。

室内の二酸化炭素濃度が7000ppmを超える場合、時間Kを記録します。換気モードを変更し、アンダーセンサンプラーを開いてスギ花粉とCryj1アレルゲンを収集します。

室内の二酸化炭素濃度が室外の二酸化炭素濃度とほぼ同じになった場合、時間K+1を記録します。アンダーセンサンプラーと濃度計を停止します。後の花粉とアレルゲンのテストのために、フィルター・スライドと円形のカバースリップを収集します。

図3.測定手順
表1. 开窗モード

Modes	Balcony door	Small window
1	close	close
2	close	open
3	open	close
4	open	open

Cryj1の抽出プロセス

10 ml of diluent
After stirring for 30s with a stirring rod
Circular coverslip
Centrifuge tube
Centrifuge
Remove the centrifuge tube
Supernatant

花粉粒子を含む円形のカバースリップを遠心管に置き、希釈用の希釈液 10ml を加えます。

4000rpm（毎分回転数）で20分間振盪（機能：花粉粒子からCryj1を抽出し、上清中に保持）。

Cryj1を含む上清を取り出し、4℃で保存し、10日以内に使用してください。

サンドイッチELISA法の操作手順

96-well antibody-coated plate
Sample solution (Supernatant) 50µL
Standard solution 50 µL
Secondary antibody solution 50 µL
Stir, incubate at 37°C for 2 hours, and wash three times with a volume of 300µL per well each time. The washing solution should be discarded after each wash.

Stir, stand at 37°C for 20 minutes
Substrate solution 100 µL
Stir, incubate at 37°C for 1 hour, and wash 6 times with a recommended wash volume of 300 µL/well for each wash.

Reaction stop solution 100 µL
Stir
Absorbance measurement 450nm

サンドイッチELISA法の原理

Antibody Target protein Enzyme-labeled antibody Enzyme reaction

Cryj1濃度の標準曲線

OD450 (nm)

Concentration ng/ml

$y = -0.0004x^3 + 0.0095x^2 + 0.0362x + 0.0458$
 $R^2 = 1$

換気量の計算

$$ACH = \frac{Q}{V} = \frac{(C_i^K - C_i^{K+1})}{(C_i - C_o) \Delta t}$$

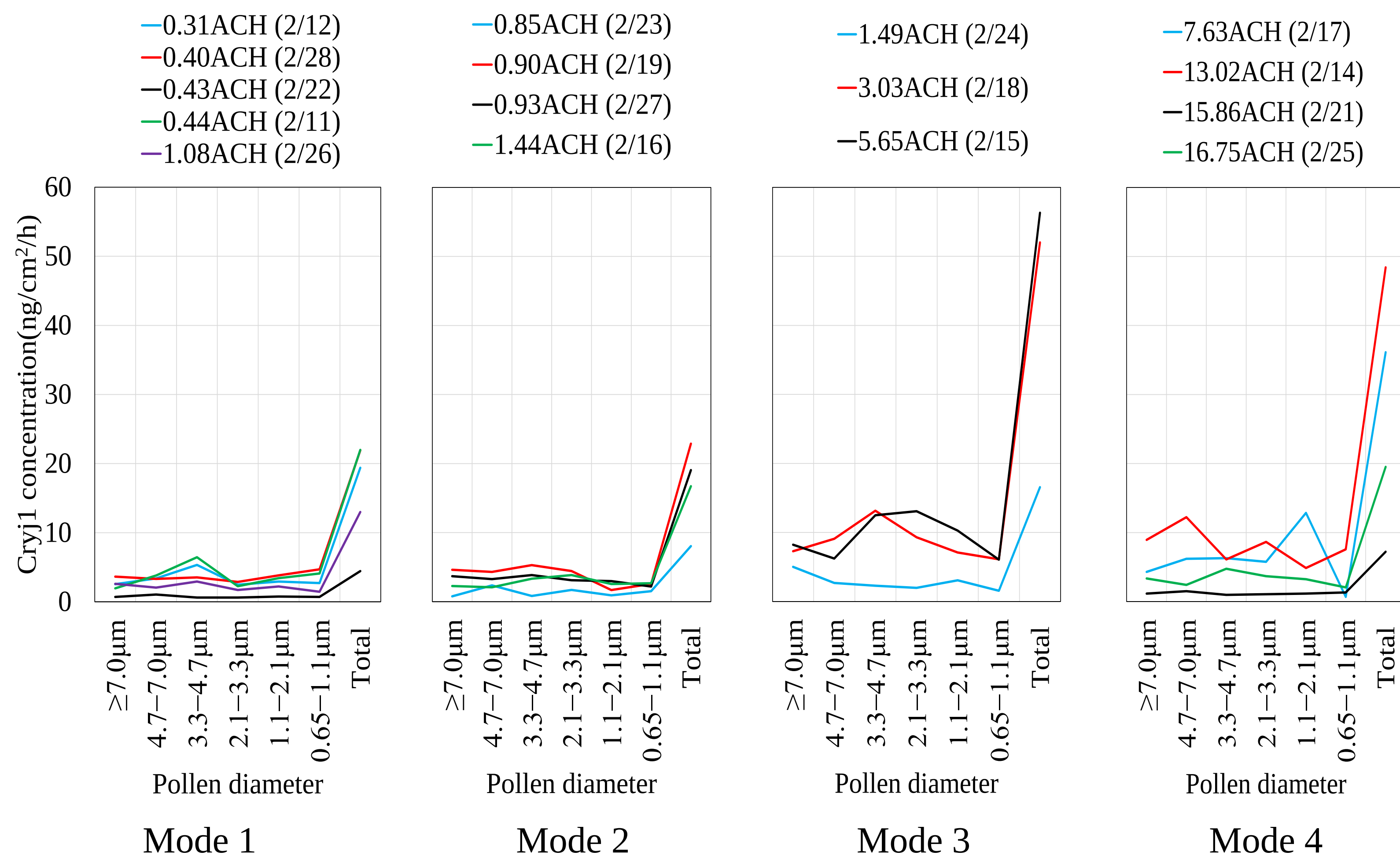
Cryj1濃度計算

$$C_{Cryj1} = \frac{V_{extract fluid} C_{Cryj1}^{ELISA}}{A \Delta t}$$

Q は自然換気量 (m³/h)、 C_i^K と C_i^{K+1} はそれぞれ時刻 K と時刻 K+1 における室内 CO₂ 濃度 (ppm) です。V は試験対象の屋内空間の容積 (m³) を示します。C_i は、時刻 K と K+1 の間の室内平均 CO₂ 濃度です。C_o は、時刻 K と時刻 K+1 の間の屋外の平均 CO₂ 濃度を示します。Δt は時刻 K と時刻 K+1 の時間間隔です。

C_{Cryj1} は、1 時間あたり平方センチメートルあたりの計算された Cryj1 濃度 (ng/cm²/h) を示します。V_{extract fluid} は抽出液の体積を示し、この研究では 10ml である。C_{Cryj1}^{ELISA} は、サンドイッチ ELISA 法により得られた Cryj1 濃度 (ng/ml) を示す。A は円形のカバースリップの面積を示し、この研究では 0.5 cm² です。Δt は時刻 K と時刻 K+1 の時間間隔を表す。

結果



低い空気交換率 (Mode 1、2、3) では、直径 3.3 ~ 4.7 µm の花粉粒子で高濃度の Cryj1 が検出され、次に直径 0.65 ~ 1.1 µm の花粉粒子が検出されました。空気交換率が高い場合でも、直径 3.3 ~ 4.7 µm の花粉粒子で高濃度の Cryj1 が検出され、次に直径 4.7 ~ 7 µm、2.1 ~ 3.3 µm、0.65 ~ 1.1 µm の花粉粒子が検出されました。直径が 7µm を超える花粉粒子では、Cryj1 の濃度が低くなります。高い空気交換率 (Mode 3、4) では、室内の Cryj1 濃度が増加する傾向があり、異なる粒子サイズ範囲間の Cryj1 濃度の差も増加する傾向があることがわかりました。換気率と屋内の Cryj1 濃度は完全に負の相関関係にあるわけではなく、屋外の Cryj1 濃度にも影響されました。ただし、窓を閉める (Mode1) と、室内の Cryj1 濃度を効果的に減らすことができます。