

ピーナッツおよびソバアレルゲンのIgE結合交叉性エピトープの解析

Elucidation of cross reactive IgE-binding epitope of peanut and buckwheat

○勝山 真多、岡田 晋治、小林 彰子、田辺 創一¹、(東大院農生科・応生化、¹広島大院生物圏科学・生物機能開発)

○Shinta Katsuyama, Shinji Okada, Shoko Kobayashi, and Soichi Tanabe¹ (Dept. Appl. Biol. Chem., Grad. Sch. Agri. Life Sci., Univ. Tokyo, ¹Dept. Biof. Sch. Tec., Grad. Sch. Bios. Sci., Hiroshima Univ.)

【目的】 ソバおよびピーナッツは少量の摂取でアナフィラキシーショックを起こす深刻な食物アレルゲンである。しかし、臨床試験の難しさからアナフィラキシーの原因は未だに解明されていない。両食物により同様の症状が引き起こされるため、食物抗原側に存在すると予想される共通エピトープ構造を明らかにすることが、アナフィラキシー解明の糸口に繋がることを期待された。我々はこれまでに、ソバアレルゲンと交叉性を示すピーナッツアレルゲンのIgE結合エピトープ構造を明らかにした¹⁾。本研究では、ソバのトランスクリプトーム配列データに対する相同性検索により、ピーナッツアレルゲンと交差性を示す候補エピトープを見出したので報告する。

【方法および結果】 ピーナッツアレルギー患者血清を用いたELISAでは、患者IgEはピーナッツおよびソバ抗原共に陽性を示した。Inhibition ELISAにおいて、ソバタンパク質キモトリプシン水解物のペプチド画分はピーナッツアレルゲン-IgE結合を阻害したのに対し、卵白由来ペプチドを用いた同様の検討では阻害が見られなかったことから、交差反応はピーナッツとソバに特異的であると考えられた。ピーナッツタンパク質水解物のペプチド画分を逆相 HPLC に供し、交叉ピークを精製・単離した。N末端アミノ酸解析および LCMS-IT-TOF の結果から、交叉ペプチド配列を“SDQTRTGY”と決定した。この配列はピーナッツタンパク質oleosin 3のN末端付近の配列と一致した。合成した本ペプチドはInhibition ELISAにて、用いた8人すべての患者血清に対しIgE 結合性を示した。ソバのoleosin遺伝子は同定されていなかったため、NCBI nr databaseに登録されているソバタンパク質に対しBLASTP検索を行い、このエピトープ様の配列を持つソバタンパク質を探索したが、“SDQTRTGY”配列とは最大4残基一致する配列しか見つからなかった。Logachevaら²⁾ は、次世代シーケンサーによりソバ花卉のトランスクリプトーム解析している。そこで、このトランスクリプトーム配列データに対しTBLASTN検索を行った。“SDQTRTGY”の8残基中6残基以上が一致する配列が27個見つかった。このうち、BLASTX検索により逆ストランドが別の遺伝子をコードすると考えられるもの6個を除き、21配列が候補として残った。この候補中にはoleosin オーソログは含まれていなかった。候補のうちで“SDQTRTGY”配列との一致度が最も高いのは7/8残基が一致するGAA4HQR01AQ413であった。GAA4HQR01AQ413と類似しているタンパク質は知られていないが、この配列を含め、候補として残る21配列がコードするタンパク質のうち、どれかが交差アレルゲンとなっている可能性が考えられた。

¹⁾ 第60回日本栄養食糧学会講演要旨集p42 (2006). ²⁾ BMC Genomics 2011, 1471-2164.