

## バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理及び 国民受容に関する研究

### 分担課題 アレルゲンデータベースによるアレルゲン性評価に関する研究

研究分担者 安達 玲子 （国立医薬品食品衛生研究所・生化学部・室長）

研究協力者 酒井 信夫 （国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部・室長）

#### 研究要旨

本研究では、バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理に関する研究の一環として、アレルゲン性予測解析法の 1 つとして運用・公開しているアレルゲンデータベース (ADFS; Allergen Database for Food Safety) について、新たに公開・論文発表されたアレルゲン情報及びエピトープ情報を追加し、データベースの更新を行った。その結果、アレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報 251、及び、5 種のアレルゲンについて総数 17 のエピトープ情報を追加した。本年度の更新作業により、アレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は 2028 となり、また、エピトープ既知のアレルゲン数は 143 となった。

#### A. 研究目的

生産性の向上や栄養付加を目的として、現在、様々な遺伝子組換え食品が開発されている。宿主としては、植物だけでなく、遺伝子組換え動物も開発が進んでいる。また最近では、遺伝子組換え植物同士を交配して得られるスタック品種も開発されている。これは、遺伝子を組み換えて付与された機能をスタックすることにより、生産性の向上等を図っているものであるが、このような品種について形質にどのような変化が現れるかについて研究されている例は少ない。これらのようなこれまで存在していなかった遺伝子組換え生物については、非意図的な影響等を考慮し、安全性評価の方法等について検討する必要がある。

多様化するバイオテクノロジー技術を用いて開発される遺伝子組換え食品に関しては、そのリスクの 1 つとしてアレルゲン性増大の可能性が考えられる。本研究では、

アレルゲン性解析法の 1 つとして開発した、アレルゲン性の予測機能を装備したアレルゲン・エピトープ情報データベース (ADFS; Allergen Database for Food Safety) に関して、その情報内容を更新し充実させることにより、遺伝子組換え食品のリスク管理の上で必須であるアレルゲン性評価系に関する研究を行う。

#### B. 研究方法

##### 登録アレルゲン（アミノ酸配列情報）のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルゲンデータベース (AllergenOnline) における登録アレルゲンのアップデート内容を、ADFS に反映させた。

##### エピトープ情報の追加

2014 年 6 月から 2015 年 5 月までの 1 年

間に NCBI PubMed に掲載された論文から、キーワード検索により、エピトープ配列決定に関するものを抽出した。キーワードとしては、IgE、epitope、linear、conformational、sequence、recognition 等々のワードを使用し、これらを複数組み合わせることで 6 通りの検索式を作成して検索を行った。この検索により抽出されてきた論文についてピアレビューを行った。その結果エピトープ情報を報告していると判断された論文について、そのエピトープ情報を整理し、アレルゲンデータベース (ADFS) のデータに追加した。

### C. 研究結果

#### 登録アレルゲン (アミノ酸配列情報) のアップデート

米国ネブラスカ大学リンカーン校が運営しているアレルゲンデータベースである AllergenOnline は、登録アレルゲンの全てが国際的なアレルギーの専門家チームによるピアレビューを経ており、登録タンパク質がアレルゲンであるというエビデンスの信頼性が非常に高いデータベースである (但しエピトープ情報は含まない)。ADFS における登録アレルゲンは平成 20 年度に AllergenOnline の登録アレルゲンと統合し、その後も AllergenOnline のアップデートに伴って ADFS 登録アレルゲンのアップデートを行っている。27 年度においても引き続きこのアップデート作業を実施した。

#### エピトープ情報の追加

エピトープ配列に関しては、キーワード検索により抽出された論文は 22 報であった。その中からアレルゲン・エピトープ情報が記載されていると思われる 7 報を選択し、ピアレビューを行った。その結果、5 報の論文 (Table 1) から 5 種のアレルゲンについて、総数 17 のエピトープ情報を新たに追加した (Table 2)。

上記のアレルゲン及びエピトープ情報更新作業により、ADFS のアレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報は 2028、エ

ピトープ既知のアレルゲン数は 143、構造既知のアレルゲン数は 128、糖鎖付加アレルゲン数は 129 となった。

### D. 考察

27 年度においては、アレルゲン及びイソアレルゲンのアミノ酸配列情報を 251 種追加、また、5 種のアレルゲンについて総数 17 のエピトープ情報を ADFS に追加した。本研究により、遺伝子組換え食品のアレルゲン性に関する評価・予測系を充実させることができ、現在までに既に開発されている遺伝子組み換え食品、及び多様化するバイオテクノロジー技術により今後作製されるであろう新規遺伝子組換え食品のアレルゲン性を、より高い精度で評価・予測することが可能となった。

### E. 結論

2014 年 6 月から 2015 年 5 月までの 1 年間に NCBI PubMed に掲載された論文から、キーワード検索により、エピトープ配列決定に関するものを抽出した。これらの論文についてピアレビューを行い、5 報の論文から 5 種のアレルゲンについて、総数 17 のエピトープ情報を新たに ADFS に追加した。また、AllergenOnline の登録アレルゲン (アミノ酸配列情報) に関するアップデートを ADFS に反映させた。この情報更新により遺伝子組換え食品のアレルゲン性評価・予測方法である ADFS をより充実させることができた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1 27年度ピアレビューによりエピトープ情報を収集した論文

1. Pahr S, Selb R, Weber M, Focke-Tejkl M, Hofer G, Dordić A, Keller W, Papadopoulos NG, Giavi S, Mäkelä M, Pelkonen A, Niederberger V, Vrtala S, Valenta R.  
Biochemical, biophysical and IgE-epitope characterization of the wheat food allergen, Tri a 37.  
PLoS One. 2014 Nov 4;9(11):e111483.  
PMID: 25368998
2. Longo V, Costa MA, Cibella F, Cuttitta G, La Grutta S, Colombo P.  
Multiple IgE recognition on the major allergen of the Parietaria pollen Par j 2.  
Mol Immunol. 2015 Feb;63(2):412-9.  
PMID: 25284812
3. Asam C, Batista AL, Moraes AH, de Paula VS, Almeida FC, Aglas L, Kitzmüller C, Bohle B, Ebner C, Ferreira F, Wallner M, Valente AP.  
Bet v 1—a Trojan horse for small ligands boosting allergic sensitization?  
Clin Exp Allergy. 2014 Aug;44(8):1083-93.  
PMID: 24979350
4. Allergy. 2014 Dec;69(12):1617-28.  
Devanaboyina SC, Cornelius C, Lupinek C, Fauland K, Dall'Antonia F, Nandy A, Hagen S, Flicker S, Valenta R, Keller W.  
High-resolution crystal structure and IgE recognition of the major grass pollen allergen Phl p 3.  
PMID: 25123586
5. Yang Y, Cao MJ, Alcocer M, Liu QM, Fei DX, Mao HY, Liu GM.  
Mapping and characterization of antigenic epitopes of arginine kinase of Scylla paramamosain.  
Mol Immunol. 2015 Jun;65(2):310-20.  
PMID: 25728640

Table 2 27年度新たに ADFS に追加したエピトープ情報

	Name	start	end	Sequence	Method	CTYPE	Reference	UniProt acc.No
001	Tri a 37	2	31	KSCCRSTLG RNCYNLCRAR GAQKLCAGVC R	Dot-blot / Inhibition ELISA	L	PMID 25368998	J7K291
	Tri a 37	22	51	AQKLCAGVC RCKISSGLSC PKGFPLALE S	Dot-blot / Inhibition ELISA	L	PMID 25368998	J7K291
	Tri a 37	42	71	KGFPKLAL E SNSDEPD TIE YCNLGC R SSV C	Dot-blot / Inhibition ELISA	L	PMID 25368998	J7K291
	Tri a 37	62	90	CNLGCRSSV CDYMVNAAAD DEEMKLYVEN	Dot-blot / Inhibition ELISA	L	PMID 25368998	J7K291
	Tri a 37	82	111	EEMKLYVEN CADACVSFCN GDAGLPSLDA Y	Dot-blot / Inhibition ELISA	L	PMID 25368998	J7K291
002	Par j 2	32	61	EEACGKVVQD IMPCLHFVKG EEKEPSKECC	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
				EEACGKVVQD IMPCLHFVKG EEKEPSKECC				
	Par j 2	32	85	SGTKKLSEEV KTTEQKREAC KCIV	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
				SEEV KTTEQKREAC KCIVRATKGI SGIKNELVAE				
	Par j 2	68	107	VPKKCD	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
	Par j 2	79	107	EAC KCIVRATKGI SGIKNELVAE VPKKCD	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
003	Par j 2	91	107	I SGIKNELVAE VPKKCD	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
				I SGIKNELVAE VPKKCDIKTT LPPITADFDC				
	Par j 2	91	133	SKIQSTIFRG YY	Immuno Blot	L	PMID 25284812	P55958
004	Bet v 1			NMR	C	PMID 24979350	P15494	
005	Phl p 3			ELISA with amino acid mutation	C	PMID 25123586	Q69B42	
005	Scy p ?	113	127	VDPDQKFVISTRVRC	SPOTs/Degranulation assay	L	PMID 25728640	H6VG13
	Scy p ?	127	141	CGRSMEGYFPNPCLT	SPOTs/Degranulation assay	L	PMID 25728640	H6VG13
	Scy p ?	141	155	TEAQYKEMESKVSST	SPOTs/Degranulation assay	L	PMID 25728640	H6VG13
	Scy p ?	204	218	WPTGRGIYHNDNKTF	SPOTs/Degranulation assay	L	PMID 25728640	H6VG13

注) start, end: エピトープ配列の始点及び終点アミノ酸の番号  
Ctype: エピトープのタイプ. L: linear, C: conformational

