

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 為広 紀正 （国立医薬品食品衛生研究所・生化学部・主任研究官）

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 83、及び、10 種のアレルゲンについて総数 42 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 2111 となり、また、エピトープ既知のアレルゲン数は 227 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

2015年6月から2016年5月までの1年間にNCBI PubMedに収載された論文から、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合わせて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。28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21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10報を選択し、ピアレビューを行った。その結果、6報の論文(Table 1)から10種のアレルゲンについて、総数42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2111、エピトープ既知のアレルゲン数は227、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

28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83種追加、また、10種のアレルゲンについて総数42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

2015年6月から2016年5月までの1年間にNCBI PubMedに収載された論文から、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、6報の論文から10種のアレルゲンについて、総数42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 28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. Mameri H, Brossard C, Gaudin JC, Gohon Y, Paty E, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA, Drouet M, Solé V, Wien F, Lupi R, Larré C, Snégaroff J, Denery-Papini S..
Structural Basis of IgE Binding to α - and γ -Gliadins: Contribution of Disulfide Bonds and Repetitive and Nonrepetitive Domains.
Agric Food Chem. 2015 Jul 29;63(29):6546-54..
PMID:26186140
 2. Bublín M, Kostadinova M, Fuchs JE, Ackerbauer D, Moraes AH, Almeida FC, Lengger N, Hafner C, Ebner C, Radauer C, Liedl KR, Valente AP, Breiteneder H
A Cross-Reactive Human Single-Chain Antibody for Detection of Major Fish Allergens, Parvalbumins, and Identification of a Major IgE-Binding Epitope..
PLoS One. 2015 Nov 18;10(11):e0142625.
PMID:26579717
 3. Saeed H, Gagnon C, Cober E, Gleddie S.
Using patient serum to epitope map soybean glycinins reveals common epitopes shared with many legumes and tree nuts.
Mol Immunol. 2016 Feb;70:125-33..
PMID:26766775
 4. Han Y, Lin J, Bardina L, Grishina GA, Lee C, Seo WH, Sampson HA..
What Characteristics Confer Proteins the Ability to Induce Allergic Responses? IgE Epitope Mapping and Comparison of the Structure of Soybean 2S Albumins and Ara h 2..
Molecules. 2016 May 12;21(5)
PMID:27187334
 5. Zhang Y, Zhu L, Li S, Zhang J, She T, Yan J, Bian Y, Li H
Identification of the major allergenic epitopes of Eriocheir sinensis roe hemocyanin: A novel tool for food allergy diagnoses.
Mol Immunol. 2016 May 18;74:125-132.
PMID:27208437
 6. Chen X, Negi SS, Liao S, Gao V, Braun W, Dreskin SC.
Conformational IgE epitopes of peanut allergens Ara h 2 and Ara h 6.
Clin Exp Allergy. 2016 May 30.
PMID:27238146
-

Table 2 28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 21	21	31	VRVPVPLQLP	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P04725
	Tri a 21	45	52	VQQQQFPG	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P04725
	Tri a 21	75	84	YLQLQFPQP	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P04725
	Tri a 21	102	107	QSFPPQQPYPQQ	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P04725
	Tri a 21	239	250	QQQPSSQVSFQQ	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P04725
002	Tri a ?	144	152	PQQPFPQQPQ	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P08453
	Tri a ?	44	54	LSQQPQQTFFQ	F-ELISA/Pepscan	L	PMID 26186140	P08453
003	Gad m 1				Phage library/NMR	C	PMID 26579717	Q90YK9
004	Gly m 6.0501.	214	222	KQQQHQQQE	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	Q7GC77
	Gly m 6.0501.	226	236	GSVLSGFSKHFL	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	Q7GC77
	Gly m 6.0501.	313	324	EEEDQPRPDHPP	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	Q7GC77
005	Gly m 6.0201.	121	129	QRPQDRHVK	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
	Gly m 6.0201.	130	141	VHRFREGDLIAV	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
	Gly m 6.0201.	136	153	GDLIAVPTGVAWWMYNN	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
	Gly m 6.0201.	214	225	GSNILSGFAPEF	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
	Gly m 6.0201.	256	261	KGGLRV	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
	Gly m 6.0201.	283	291	QCVETDKGC	peptide array/ 2D western	L	PMID 26766775	P04405
006	Ara h 2	22	30	RQQWELQGD	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	31	39	RRCQSQLER	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	43	51	RPCEQHLMQ	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	61	69	ERDPYSPSQ	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	70	78	DPYSPSPYD	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	88	99	QERCCNELNEFE	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	94	105	ELNEFENNQRCM	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	115	123	NQSDRLQGR	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	121	132	QGRQQEQQFKRE	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	130	138	KRELRLNPQ	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
	Ara h 2	139	150	QCGLRAPQRCDL	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2
Ara h 2	145	156	PQRCDLDVESGG	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q6PSU2-2	
007	Gly m ?	39	50	NINPCEHIMEKI	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q9ZNZ4
	Gly m ?	69	80	TMPGRINYIRKK	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q9ZNZ4
	Gly m ?	84	94	EEEEEGHMQKC	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q9ZNZ4
	Gly m ?	99	110	SELKSPICQCKA	peptide microarray	L	PMID 27187334	Q9ZNZ4
008	Gly m 8	31	42	CRKQLQGVLNTP	peptide microarray	L	PMID 27187334	P19594
	Gly m 8	67	78	ILRTMRGRINYI	peptide microarray	L	PMID 27187334	P19594
	Gly m 8	102	113	SELRSPKCQCKA	peptide microarray	L	PMID 27187334	P19594
	Gly m 8	127	138	EKQKKKMEKELI	peptide microarray	L	PMID 27187334	P19594
009	Eri s ?	181	208	NSEVIQEAYTAQMTQTPSKIKSHFTGS	dotblot assay	L	PMID 27208437	K4EJG5
	Eri s ?	237	255	FWWDDSHENHHIERKGENF	dotblot assay	L	PMID 27208437	K4EJG5
	Eri s ?	360	378	GDVIESSTYSPNPQYYGAL	dotblot assay	L	PMID 27208437	K4EJG5
010	Ara h 2				Phage Display Peptide Library	C	PMID 27238146	Q6PSU2
011	Ara h 6				Phage Display Peptide Library	C	PMID 27238146	Q647G9

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