

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 33、及び、9 種のアレルゲンについて総数 27 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 2144 となり、また、エピトープ既知のアレルゲン数は 236 となった。また、これまでのユーザー登録制を廃止し、ADFS 利用に際しての利便性を向上させた。

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

2016年6月から2017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。29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24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14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9種のアレルゲンについて、総数27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2144、エピトープ既知のアレルゲン数は236、構造既知のアレルゲン数は163、糖鎖付加アレルゲン数は131となった。

付加アレルゲン数は131となった。

ユーザー登録制の廃止

ADFSの運用においては、これまでユーザーにメールアドレス及びパスワードを登録してもらい、登録ユーザーの人数を把握できるようにしていた。しかし、実際にはユーザーがパスワードを失念した場合等の管理者側への問い合わせが頻繁に生じており、また、ユーザー登録というステップが、トップページへのアクセス者の具体的なADFS利用を妨げる可能性も考えられた。そこで、このような状況を改善するため、また、ADFSへのアクセスや利用における利便性を向上させるため、ユーザー登録制を廃止し、トップページにアクセスカウント数を表示することとした。この変更により、ADFSの全てのウェブページへの容易なアクセスを可能とし、利用に際しての利便性を向上させ、より使いやすいデータベースとすることができた。システム変更後約1ヶ月経過した段階で、アクセス数は順調に増加している。

D. 考察

29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33種追加、また、9種のアレルゲンについて総数27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。また、ユーザー登録制度の廃止により、ADFS 利用に際しての利便性を向上させることができた。

E. 結論

2016 年 6 月から 2017 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、5 報の論文から 9 種のアレルゲンについて、総数 27 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

安達玲子
食物アレルゲンの表示制度と検査法、および多機能アレルゲンデータベース ADFS について
食品衛生研究 68 巻 2 号 pp15-22 (2018)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Table 1 29 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. Łysakowska ME, Sienkiewicz M, Banaszek K, Sokołowski J.
The Sensitivity of Endodontic Enterococcus spp. Strains to Geranium Essential Oil.
Molecules. 2015 Dec 21;20(12):22881-9.
PMID: 26703546
 2. Sircar G, Jana K, Dasgupta A, Saha S, Gupta Bhattacharya S.
Epitope Mapping of Rhi o 1 and Generation of a Hypoallergenic Variant: A CANDIDATE MOLECULE FOR FUNGAL ALLERGY VACCINES.
J Biol Chem. 2016 Aug 19;291(34):18016-29.
PMID: 27358405
 3. Cui Y, Teng F, Yu L, Zhou Y, Wang N, Zhang C, Yang L.
Sequential epitopes of Dermatophagoides farinae allergens identified using peptide microarray-based immunoassay.
IUBMB Life. 2016 Oct;68(10):792-8.
PMID: 27481284
 4. Havenith H, Kern K, Rautenberger P, Spiegel H, Szardenings M, Ueberham E, Lehmann J, Buntru M, Vogel S, Treudler R, Fischer R, Schillberg S.
Combination of two epitope identification techniques enables the rational design of soy allergen Gly m 4 mutants.
Biotechnol J. 2017 Feb;12(2).
PMID: 27906504
 5. Yang Y, Zhang YX, Liu M, Maleki SJ, Zhang ML, Liu QM, Cao MJ, Su WJ, Liu GM.
Triosephosphate Isomerase and Filamin C Share Common Epitopes as Novel Allergens of Procambarus clarkii.
J Agric Food Chem. 2017 Feb 1;65(4):950-963...
PMID: 28072528



Table 2 29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	Bos d 4	20	34	EQLTKCEVFRELKDL	ELISA	L	PMID 26703546	P00711
	Bos d 4	120	134	INYWLAKKALCSEKL	ELISA	L	PMID 26703546	P00711
002	Gly m 4	43	46	NEVG	IgE-specific linear peptide microarray / random phage peptide display	L	PMID 27906504	C6T1G1
	Gly m 4	74	83	IDEANLGYSY	IgE-specific linear peptide microarray / random phage peptide display	L	PMID 27906504	C6T1G1
	Gly m 4	121	125	ETKGD	IgE-specific linear peptide microarray / random phage peptide display	L	PMID 27906504	C6T1G1
003	Pro c ?	16	30	NGDRAGIDSIIISFMK	Phage Display / Dot blot	L	PMID 28072528	F5A6E9
	Pro c ?	166	180	PVWAIGTGKTATPEQ	Phage Display / Dot blot	L	PMID 28072528	F5A6E9
	Pro c ?	205	219	RIIYGGSVTPGNCKE	Phage Display / Dot blot	L	PMID 28072528	F5A6E9
004	Pro c ?	478	492	FKDRKDGSCYVSYKV	Phage Display / Dot blot	L	PMID 28072528	E0VB57
005	Rhi o 1	44	59	TGEYLTQKYFNSQRNN	ELISA	L	PMID 27358405	A0A097CKB4
	Rhi o 1	311	326	GAEKNWAGQYVVDCKNK	ELISA	L	PMID 27358405	A0A097CKB4
006	Der f 1	46	53	SAYLAYRN	peptide microarray	L	PMID 27481284	P16311
	Der f 1	71	78	GCHGD TIP	peptide microarray	L	PMID 27481284	P16311
	Der f 1	99	110	AREQQCRRPNSQ	peptide microarray	L	PMID 27481284	P16311
	Der f 1	179	186	GSTQGVDY	peptide microarray	L	PMID 27481284	P16311
007	Der f 2	32	39	KVMVDGCH	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q00855
	Der f 2	97	106	LVKGQQYDIK	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q00855
	Der f 2	123	130	VTVKLIGD	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q00855
008	Der f 4	92	105	DIHTRSGDEQQFRR	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
	Der f 4	130	139	QSGGLGTNGHH	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
	Der f 4	248	255	SHPIIYHE	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
	Der f 4	284	291	ITNVFRNN	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
	Der f 4	378	388	VGPPTDQHGNI	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
	Der f 4	506	519	VGHDEFDAFVAYHI	peptide microarray	L	PMID 27481284	A0A023NMA7
009	Der f 7	49	56	MKVPDHAD	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q26456
	Der f 7	69	81	GELAMRNIEARGL	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q26456
	Der f 7	117	124	DLAYKLGD	peptide microarray	L	PMID 27481284	Q26456

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