

植物アレルゲンの構造

Structure of allergens derived from plant materials

京都大学大学院農学研究科品質設計開発学分野 丸山 伸之

【研究背景】国内消費量の増加等の影響により、ナッツ類アレルギーが著しく増加している。さらに、ナッツ類は様々な加工食品に使用されており、誤食の可能性が高い食品でもあるため、ナッツ類アレルギーの原因抗原(アレルゲン)の解明は非常に重要である。その主要なアレルゲンは貯蔵タンパク質のビシリンである。ナッツ類のビシリンは、特徴的システインモチーフをもつ N 末端領域においてプロセシングされた C 末端の成熟タンパク質領域がアレルゲンであると認識されていた。しかし近年、ピーナッツやアーモンド種子中にビシリン N 末端断片の残存が確認され、この断片がアレルゲンとして作用する可能性が指摘されている。そこで、プロセシングが確認されていないピスタチオのビシリンの N 末端断片を同定し、その抗原性について解析した。また、アーモンドのビシリン N 末端領域の特徴的システインモチーフと抗原性との関連性についても解析を行った。

【方法】1) ピスタチオと同じウルシ科であるカシューナッツのビシリン N 末端領域に対応する抗体を作製した。この抗体を用いて、ピスタチオ種子からビシリン N 末端断片を抽出・精製した。ビシリン C 末端領域の N 末端配列を決定し、それらの結果に基づいて N 末端断片に対応する組換えタンパク質を設計し、*P.pastoris* 酵母で発現、精製した。2) アーモンドビシリン N 末端断片に対する組換えタンパク質(野生型)及びそのシステイン残基をセリン残基に置換した変異型をそれぞれ *P.pastoris* 酵母で発現、精製した。得られた精製タンパク質について、CD・ゲルろ過クロマトグラフィーによる構造的評価、ELISA による抗原性の評価を行った。

【結果】ピスタチオ種子からビシリン N 末端断片として分子量約 17 kDa の断片を精製した。ビシリン C 末端領域の N 末端配列を決定した結果、異なる二箇所の切断部位が予測された。一方、アーモンドのビシリン N 末端断片に対する CD 及びゲルろ過クロマトグラフィーの結果より、野生型では主に α ヘリックス構造を取るのに対し、変異型ではランダムコイルに近い構造をとる事が示された。ELISA により、野生型はアーモンドアレルギーの患者血清と反応することが示唆されたが、変異型では反応性が低くなる患者が見られた。これまでの報告と併せ、ナッツ類のビシリン N 末端断片は患者血清との反応性を有するものが存在し、その反応性にはシステイン残基が関与するという共通性がある可能性が示唆された。

*これらの構造の推定のためにアプリケーション Discovery Studio を使用した。