

30P-pm163

ソバ主要アレルゲン BWp16 の IgE エピトープの同定

○佐藤 里絵¹, 児矢野 聡¹, 高木 加代子¹, 中村 里香¹, 手島 玲子¹ (¹国立衛研・代謝生化学)

【目的】ソバは重篤な食物アレルギー症状であるアナフィラキシーショックを引き起こすことが知られている。ソバ主要アレルゲンの1つである BWp16 は、ペプシンを用いた *in vitro* 消化実験においてペプシン耐性を示すことから、BWp16 がソバアレルギーの重篤な症状と関連することが示唆されている。本研究では BWp16 の IgE エピトープの解析を行った。【方法】BWp16 の IgE エピトープを網羅的に解析するため、セルロース膜上に overlapping ペプチドを合成した SPOTs 膜とソバアレルギー患者血清との反応性を検討した。また、ランダムペプチドファージディスプレイライブラリーを用いたミモトープのスクリーニングを行った。さらに、得られた IgE エピトープの候補配列のアミノ酸残基を1アミノ酸ずつ Ala 残基に置換した変異体を作製した。得られた IgE エピトープの IgE 結合活性は、これらの変異体とマウス抗 BWp16 抗体を用いた ELISA、及び変異体とソバアレルギー患者血清を用いた ELISA 阻害試験により確認した。【結果及び考察】SPOTs アッセイの結果、BWp16 の 99-110 番目のアミノ酸残基に相当する EGVRDLKELPSK が BWp16 の IgE エピトープの候補として単離された。ミモトープスクリーニングの結果、EGVRDLKE と相同な配列が IgE エピトープの候補配列として単離された。アラニンスクリーニングの結果、IgE 結合活性の減少は Glu99 または Asp103 を Ala 残基に置換した際に特に大きかった。ELISA 阻害試験の結果、Asp103 の Ala 残基置換変異体で IgE 結合阻害活性の低下が見られた。以上のことから、EGVRDLKE が BWp16 のエピトープの1つであり、IgE 結合において Asp103 が重要なアミノ酸残基であることが明らかとなった。