

ソバに含まれる IgE 結合タンパク質に関する研究

(2012年9月24日受付)

(2012年10月24日受理)

佐藤里絵

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品素材科学研究領域

Studies on IgE-binding proteins in buckwheat

(Received September 24, 2012)

(Accepted October 24, 2012)

Rie Satoh

Food Resource Division, National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization

Abstract

Buckwheat is known to cause immediate-type hypersensitivity reactions including anaphylaxis, which is mediated by specific Immunoglobulin E (IgE) antibodies. First, we analyzed the role of Cys residues in the allergenicity of the 16-kDa protein Fag e 2, one of the major allergens in buckwheat. Mutational analysis of recombinant Fag e 2 (rFag e 2) revealed that 7 out of 10 Cys mutants showed weaker IgE binding to patient's serum than wild-type rFag e 2 (rFag e 2 WT). Mutations of Cys65 and Cys66 in rFag e 2 decreased the pepsin digestibility of the protein, and an ELISA inhibition assay revealed a weaker inhibitory effect of rFag e 2 C65S than that of rFag e 2 WT. These results suggested that the Cys residues, especially Cys65, are involved in the allergenicity of rFag e 2. Then, we screened candidates for the IgE-binding epitopes on Fag e 2 using the SPOTs assay and mimotope method. We identified the peptide EGVRDLKE as a candidate for the IgE-binding epitope of Fag e 2, and Asp103 as a critical amino acid residue for the IgE-binding activity of Fag e 2. Finally, we examined the comprehensive IgE-binding profile of proteins (allergenome) in buckwheat seeds using immunoproteomic techniques. Salt-soluble proteins were extracted from buckwheat seeds. A two-dimensional immunoblot analysis using patients' sera revealed multiple spots containing known and novel IgE-binding proteins. Some spots were newly identified as 13S globulin protein subunits or isoforms. Some spots that were homologous to vicilin-like proteins indicated the presence of newly identified vicilin-like proteins in buckwheat. Our findings pave the way for the development of hypoallergens and application of more accurate diagnostic methods for buckwheat allergy.

Keywords : ソバ、IgE 結合タンパク質、アレルゲン、プロテオミクス、アレルゲノーム
buckwheat, IgE-binding proteins, allergen, proteomics, allergenome

I はじめに

ソバ(普通ソバ、*Fagopyrum esculentum* Moench)は、アミノ酸スコア92の高タンパク質食品で、血管強化作用や抗酸化作用などの効果を持つルチンや、豊富な食物繊維およびビタミンB群を含むなど、その栄養価が評価されている。また、ソバは分類学上小麦とは近縁ではないが、しばしば小麦の代わりに用いられ、特に小麦(グルテン)アレルギー患者にとっては貴重な穀類の1つである。その一方で、ソバは重篤なアレルギー症状であるアナフィラキシーショック

を引き起こすことでも知られている。1909年に“Buckwheat poisoning”としてソバアレルギー患者が報告されて以来¹⁾、日本においても1930年代からソバアレルギーの症例が報告されてきた²⁾。ソバは、麺やクレープ、パンケーキ、パン、スープ、粥、ゼリー、クラッカーやビスケットなど様々な形で世界各地において食されているが、アジアで食される頻度が高いことや、ソバ殻を詰めた枕を用いることが、アジアにおいてソバアレルギー発症率の高いことに起因すると推測される。

ソバアレルギーは、その症状の発現に免疫グロブリンE (Immunoglobulin E, IgE) を介した免疫反応が関与するI型

連絡先 : 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品素材科学研究領域 佐藤里絵

Corresponding author: Rie Satoh, Ph.D., Food Resource Division, National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization, 2-1-12, Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

本稿は第14回日本食品化学学会奨励賞の受賞内容に基づくものである。