

※

## 網羅的ペプチドアレイを用いた食物アレルギー結合性 モノクローナル抗体の精密エピトープ解析

(<sup>1</sup> 静岡県大院・薬食, <sup>2</sup> プリマハム(株))

○今中陽<sup>1</sup>, 久保田麻友香<sup>1</sup>, 橋本美保<sup>2</sup>, 加藤重城<sup>2</sup>, 本山智晴<sup>1</sup>, 中野祥吾<sup>1</sup>,  
伊藤創平<sup>1</sup>, 寺田祐子<sup>1</sup>, 伊藤圭祐<sup>1</sup>

**【目的】**食物アレルギー患者数の増加は世界的な社会問題であり、日本では抗体を用いたアレルギー混入の検査が推奨されている。検査用抗体には主にポリクローナル抗体が使用されているが、特異性の高いモノクローナル抗体が利用できれば、より高精度な検査が可能となると期待できる。そこで本研究では、食物アレルギーの動物免疫によって3種のモノクローナル抗体を取得し、ペプチドアレイを用いてエピトープを解析した。

**【方法】**鶏卵オボアルブミン、牛乳 $\alpha$ 1-カゼインをマウスに免疫し、ハイブリドーマ法により3種のモノクローナル抗体(抗オボアルブミン抗体 65F2、962H2、抗 $\alpha$ 1-カゼイン抗体 CN2)を得た後、食品タンパク質の網羅的ペプチドアレイを用いて各抗体のエピトープを精密に解析した。

**【結果】**鶏卵オボアルブミン(UniProt: P01012)および牛乳 $\alpha$ 1-カゼイン(UniProt: P02662)のアミノ酸配列を全網羅するように、12アミノ酸からなるペプチドをセルロース膜上で126種類、203種類化学合成することで、ペプチドアレイを作製した。各ペプチドアレイを用いて65F2、962H2、CN2の結合性を解析した後、結合が検出されたペプチド配列の近傍をN末端あるいはC末端から1残基ずつ欠失させたペプチド群について再度結合性を解析することで、65F2、962H2、CN2の精密エピトープとしてそれぞれ、EAGREVVVG、VLOPSSVD、LAYFYPELFを特定した。Alanine-scanning解析により、各抗体との結合に中心的に寄与する、各ペプチド中の4残基も明らかとした。それら4残基のうち3残基の配置およびアミノ酸の種類が同一である、71種類の主要食品タンパク質由来のエピトープ類似配列ペプチドのアレイを作製し、結合性を解析した結果、いずれの抗体も交差性を示さなかった。以上、食品タンパク質の網羅的ペプチドアレイを用いた迅速かつ精密な解析により、本研究で得られた食物アレルギー結合性モノクローナル抗体の高い特異性が分子レベルで実証された。