

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2006～2010
課題番号：18310089
研究課題名（和文） ペプチドバーコードによる食品アレルゲンの
エピトープナノマッピング法の確立
研究課題名（英文） Development of epitope nano-mapping method of food allergen
by peptide barcode
研究代表者
七里 元晴（SHICHIRI MOTOHARU）
独立行政法人物質・材料研究機構・ナノ有機センター・NIMS ポスドク研究員
研究者番号：00421389

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学、ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：タンパク質チップ、ペプチドバーコード、エピトープマッピング、アレルゲン

1. 研究計画の概要

アレルギー発症に関わる IgE 抗体のエピトープを個人レベルで同定することができれば、類似したアミノ酸配列を持つ他の食物タンパク質を危険因子として予測（交差反応の予測）し、あらかじめ排除することが可能である。また、エピトープデータベースを構築すれば、機能的食品などの開発に有意義なデータとなりうる。

本研究では、DNA を足場（支持体）として用い、この上にアレルゲンのペプチド鎖を順に並べたペプチドバーコードを作成し、高集積、かつ高感度にエピトープ解析できる新規技術の開発を目的とする。

2. 研究の進捗状況

(1) ペプチドバーコードの設計・合成

当初予定していた、DNA の三重鎖形成によるペプチドバーコードは、熱や物理的的刺激などに対して非常に不安定である事が判明した。このため、足場となる DNA に一本鎖を用い、ペプチドタグ（ペプチド-DNA 複合体）をプライマーとした二本鎖形成によるペプチドバーコード作成法について検討した。

まず、この二重鎖ペプチドバーコードのプロトタイプとなるビオチンラベルプライマーを用いたバーコードの作成を行った。その結果、安定性、およびラベル効率など非常に良好であった。また、このプロトタイプにストレプトアビジンを結合させ、AFM 観察を行ったところ、バーコード上の目的の位置（ビオチンプライマー）にストレプトアビジンを観察することが可能であることが明らかとなった。さらに、現在は実際にペプチド

タグを用いたバーコード作成を試みており、バーコード形成には成功している。

(2) ペプチドバーコードのアレイ化のための基板設計、および技術開発

上述したプロトタイプのペプチドバーコードを様々なポリマーでコートしたガラス基板上へ伸張固定を試みた。その結果、芳香族環を含むポリマーで被覆した基板表面にバーコード DNA を再現性よく、整列固定することに成功した。さらに、AFM による観察を行った結果、反応部位の検出が可能である事が示された。

3. 現在までの達成度

<区分>③やや遅れている

当初は、簡便さなどの理由から、DNA の三重鎖を形成することによりペプチドバーコードの作成を行う予定であった。しかし、ハイブリダイゼーションの条件検討などを行った結果、三重鎖は安定性、その他に問題があり、本研究の目的を達成するには不向きである事が判明した。このため、当初の予定を変更し、二重鎖のペプチドバーコード作成を検討した。この間、約1年を要し、現在の達成度の遅れの原因となっている。

4. 今後の研究の推進方策

研究代表者民間企業異動のため、20年度をもって研究打ち切りとなる。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

- ① Simple One-Step Growth and Parallel Alignment of DNA Nanofibers via Solvent Vapor-Induced Buildup. H. Nakao, T. Taguchi, H. Shiigi and K. Miki. *Chem Commun (Camb)*. 2009 14: 1858-60
査読有り

〔学会発表〕(計1件)

- ① 溶媒蒸発により形成される DNA ナノファイバー. 中尾秀信、田口知弥、林英樹、岩田太、三木一司. 第57回高分子討論会. 2008/09/24- 2008/09/26. 大阪市立大学