

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 7 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658030

研究課題名(和文)イチゴのアレルギー誘発性評価システムの開発

研究課題名(英文)Development of an evaluation system for inducibility of strawberry allergy.

研究代表者

宇野 雄一 (Uno, Yuichi)

神戸大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90304120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：イチゴにより口腔アレルギー症候群を発症するケースがあり、生活の質の低下や、生産物の消費低迷が懸念されている。本研究では、イチゴに含まれるアレルゲンおよび抗アレルギー成分の解析を行い、誘発性評価システム開発のための基礎的知見を得た。IgE結合能の解析により、イチゴの主要アレルゲンはFra a 1であると考えられた。Fra a 1の含量は、品種、栽培方法、生育段階、および部位の違いにより増減し、その構造は、60以上の加熱により変化した。また、イチゴの抗アレルギー成分にも品種間差がみられた。以上により、品種、栽培方法、調理方法などの適切な選択によりイチゴアレルギーが緩和できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fruit allergies are serious health problems that limit the quality of life and slumping consumption of agricultural products. Strawberry can cause oral allergy syndrome, an allergic reaction in patients. In this study, the fundamental knowledge was obtained by analyzing strawberry allergen Fra a 1 and antiallergic constituents, towards the development of an evaluation system for inducibility of strawberry allergy. The analysis of IgE binding capacity revealed that Fra a 1 might play an important role in determining the allergenicity of strawberry fruits. Fra a 1 content varied by cultivars, cultivating methods, ripening stages, and different tissues. The secondary structure of Fra a 1 was altered by heating to more than 60°C. There is a difference in antiallergic effects among strawberry cultivars. These findings suggest that strawberry allergy symptoms could be reduced by appropriate selection of cultivars, cultivating methods, and cooking methods.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：園芸学・造園学

キーワード：イチゴ バラ科果実 品種間差 栽培方法 シラカバ花粉症 口腔アレルギー症候群

### 1. 研究開始当初の背景

イチゴ (*Fragaria × ananassa*) は、リンゴやナシと並び、バラ科果実の中でも消費量が高い重要な農産物である。その一方で、イチゴにより食物アレルギーを発症するケースがあり、健康維持の障害や QOL (生活の質) の低下を招くと同時に、生産物の消費低迷をもたらしている。アレルギー患者の根本的治療は難しいとされ、基本的には摂食の回避で対応するが、誤飲により発症した場合には抗ヒスタミン薬やステロイド薬に頼っているのが現状である。食物アレルギーは、感作経路や惹起される臨床症状により、クラス 1 とクラス 2 に分類されている (小川, 2010)。クラス 1 は、消化管感作を中心とし、蕁麻疹、下痢、嘔吐などの症状をおこす。クラス 2 は、気道や皮膚から感作し、口腔、咽頭、口唇のかゆみ、腫脹などの口腔アレルギー症候群 (Oral Allergy Syndrome; OAS) が現れ、イチゴのアレルギーはこれに相当する。OAS は、花粉症患者が花粉と交叉抗原性を示す果実・野菜等を食べたときに発症するケースが多い。シラカバ花粉症患者が、モモ、リンゴ、ナシ、イチゴなどのバラ科果実を摂取した際に起こる OAS の合併頻度は 40-50% という報告がある (朝倉, 2009)。また、感作抗原もシラカバ花粉だけでなくとどまらず、同じカバノキ科のオオバヤシャブシ花粉や (足立・堀川, 2006)、イチゴ花粉などの可能性が指摘されている (Patiwael *et al.*, 2010)。バラ科果実のアレルゲンの多くには、感染特異的タンパク質 (Pathogenesis-Related Protein: PR) が含まれており、PR-10 タンパク質、タウマチン様タンパク質 (TLPs, PR-5)、非特異的脂質輸送タンパク質 (nsLTPs, PR-14)、およびプロフィリン (Profilin) の 4 種類のファミリーに分類されている (Marzban *et al.*, 2008)。シラカバ花粉の主要アレルゲンは、Bet v 1 であることから (Ipsen and Lowenstein, 1983)、OAS のアレルゲンは Bet v 1 と相同性を持つ PR-10 ファミリーに属し、イチゴでは Fra a が該当する (Karlsson *et al.*, 2004)。これまでに、5 種類の Fra a 1 アイソフォーム (Musidlowska-Persson *et al.*, 2007) と、1 種類ずつの Fra a 2 および Fra a 3 が同定されている (Munoz *et al.*, 2010)。したがって、イチゴの低アレルゲン化を目指す場合、主要アレルゲンである Fra a タンパク質を抑制した品種または栽培方法の選抜・改良が考えられる。そのためには、主要なアイソフォームの発現様式や品種間差に関する知見の蓄積が必要であり、本研究では、数品種のイチゴを材料に用い、Fra a 遺伝子およびタンパク質について詳細に解析した。

また、イチゴはアレルゲンを持つが、同時にアレルギー症状を緩和させる成分も含有している。例えば、イチゴの一部のフラボノイドやフェノール成分が、RBL-2H3 細胞の高親和性 IgE 受容体 (Fc $\epsilon$ RI) の抗原刺激による脱顆粒を抑制するという報告がある (Itoh *et al.*, 2009)。また、ヒトのヒスチジンデカルボキシラーゼ (HDC) の活性阻害率を比較する方法があり、食物の簡易抽出エキスを活用できることから (Nitta *et al.*, 2007)、本研究では、数品種のイチ

ゴを材料として、同方法による抗アレルギー成分の評価を試みた。

### 2. 研究の目的

本課題の最終目標は、イチゴの OAS 誘発性評価システムを開発することである。そのためには、主要アレルゲンを特定し、特性や発現プロフィールを把握することが必要である。したがって本研究では、Fra a を対象として、シラカバアレルゲンとの交差性、温度変化時の二次構造の解析、発現の品種間差異、発達段階および環境への応答性、ならびに組織特異性を調査し、評価のための基礎的知見を得ることを目的とした。また、イチゴエキスの HDC 活性阻害率を調査し、抗アレルギー成分について検討した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 供試材料

イチゴ果実 (瘦果および果托) は、市販品およびガラス温室内で栽培し収穫した 11 品種を対象とした。果実は液体窒素で凍結しパウダー状に粉砕した後、解析するまで -80℃ で保存した。

#### (2) 栽培条件

一定期間の冷蔵処理を行った苗を使用した。2 品種計 9 株を 3 つのプランタに定植し、神戸大学内の温室で栽培した。ヤシガラ培地を用い、養液には山崎処方の A 液、B 液及び微量要素を施肥した。開花後、受粉作業を行って果実を収穫した。塩ストレス処理を行う場合は、40mM と 80mM の NaCl を養液に混ぜ、植物の株元に施用した。

#### (3) リアルタイム PCR による発現解析

Fruit-mate™ for RNA Purification (Takara) および Sepasol®-RNA I Super G (Nacalai Tesque) を用い、添付のプロトコルにしたがって total RNA の抽出を行った。DNase により DNA を分解した後、ReverTra Ace qPCR RT Kit (Toyobo) を使用した逆転写反応により cDNA を合成した。この cDNA を鋳型にして、THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (Toyobo) を用いて PCR 反応を行った。Fra a 1 遺伝子および EF1- 遺伝子の保存性の高い領域にそれぞれのプライマーセットを設計した (Fra a 1-F: GCC CCG GAA CCA TCA AG, Fra a 1-R: CTT GGT CTC GTA GTC GAT CTT CTC, EF1 -F: TGG TGA TGC TGG CTT TGT TAA G, EF1 -R: TCC TTC TTC TCC ACA GCC TTG)。EF1- 遺伝子の発現量によって Fra a 1 遺伝子の発現量を標準化し相対的発現量とした。これを生物学的反復数 4 について調査し、統計処理により有意差を検定した。

#### (4) Fra a のクローニングと融合タンパク質の作成

イチゴ果実から抽出した total RNA を逆転写して合成した cDNA を鋳型として、Fra a 1, Fra a 2, および Fra a 3 に特異的なプライマーによる PCR を行った。得られた PCR 産物は、pCold ベクターに挿入してクローニングを行った。シーケンス

を確認したベクターコンストラクションを大腸菌 BL21 (DE3 pLySs) に導入し, 6xHis-tag 融合タンパク質を誘導した. 精製には His SpinTrap (GE Healthcare) を使用した.

(5) Fra a 1 タンパク質の温度依存的変化の解析  
イオン交換カラムにより精製した 6xHis-tag:Fra a 1 融合タンパク質を 20 に保温したのち, 40, 60, および 70 に加温し, 再び 20 に戻した. 松尾 (2013) の方法に従い, BL-15 を放射光源とした真空紫外円二色性分散計により, 変性タンパク質の VUVCD スペクトルを測定した. 得られた VUVCD からの二次構造情報と Neural Network 法によるアミノ酸配列情報の組み合わせから,  $\alpha$ -helix と  $\beta$ -strand の位置を予測した (VUVCD-NN 法).

(6) イムノブロットによるタンパク質の分析  
タンパク質は, 凍結した果実からフェノール法により抽出し, ブラッドフォード法により濃度を測定した. タンパク質は SDS-PAGE によって分離し, PVDF メンブレンに転写した. 一次抗体として抗 6xHis::Fra a 1e 抗体 (モルモット血清) を, 二次抗体として抗モルモット IgG::AP を用いた. また, 恒常的な発現を示す EF1 をコントロールに用いるため, 一次抗体は抗シロイヌナズナ EF1 ウサギ抗体, 二次抗体は抗ウサギ IgG::AP を用いた. BCIP-NBT Solution Kit (Nacalai Tesque) により染色を行い, 得られたバンドを画像解析ソフト Image J を用いて数値化し, EF1 に対する相対的な Fra a 1 タンパク質の蓄積量として評価した. さらに, シラカバに対する特異 IgE を持つ 6 人のヒトの血清または血漿を一次抗体に, 二次抗体に抗ヒト IgE::AP を用い, 同様にイムノブロットを行ってシラカバアレルゲンとの交叉性を調査した.

(7) 免疫組織染色  
イチゴ果実の横断面, 縦断面それぞれについて, 厚さ 1mm の薄片を作成し, PVDF メンブレンに直接転写した. 一次抗体にモルモット抗 Fra a 1 抗体, 二次抗体に抗モルモット IgG 抗体, 発色に BCIP-NBT を使用した.

(8) イチゴの抗アレルギー成分の評価  
イチゴ果実を凍結乾燥させ, 50%エタノールで粗抽出液を得た. Nitta *et al.*, (2007) の方法に従い, 基質にヒスチジンをういて, HDC により触媒されて生成したヒスタミンを HPLC で定量した. イチゴ粗抽出液を添加した場合の生成ヒスタミン量を, 添加しない場合の生成ヒスタミン量で除することで HDC 活性の阻害率を算出した.

(9) モルモットにおける受身皮膚アナフィラキシー反応の調査  
シラカバ花粉抗原 (Bet v 1) とイチゴ果実抗原 (Fra a 1) との交差性について, モルモットにおける受身皮膚アナフィラキシー (passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 反応により検討した. すなわち, 抗シラカバ花粉血清, 抗 Bet v 1

血清, および抗 Fra a 1 血清をモルモットの皮内に投与することにより, 皮膚の肥満細胞を受動的に感作し, その後, シラカバ花粉, Bet v 1, および Fra a 1 を静脈内投与することにより, 皮膚にアナフィラキシー性の血管透過性亢進が発現するか否かを, 抗原と同時に静脈内投与するエバンスブルー色素の漏出量を指標に検討した.

#### 4. 研究成果

(1) Fra a 融合タンパク質の抗体反応性  
ゲノム解析が終了した 2 倍体の野生種のイチゴ *Fragaria vesca* において *Fra a* 遺伝子のホモロジー検索を行ったところ, 19 のオルソログが存在することが分かった. また EST 情報をもとにストレス条件下における転写量を比較したところ, Fra a 1 a2 と配列が一致する遺伝子 (Gene ID: 07038) の発現が最も高く, 特に塩ストレスによって誘導されていた (Revarola *et al.*, 2011). この遺伝子のプロモーター領域においてストレス応答に関係する既知のシス配列が複数見られたことはこの結果を支持した. 続いて栽培イチゴ (*Fragaria × ananassa*) から cDNA のクローニングを行い, Fra a 1b, d, e, f および Fra a 2, 3, 4b の 7 種類を単離した (図 1). これらの cDNA を用

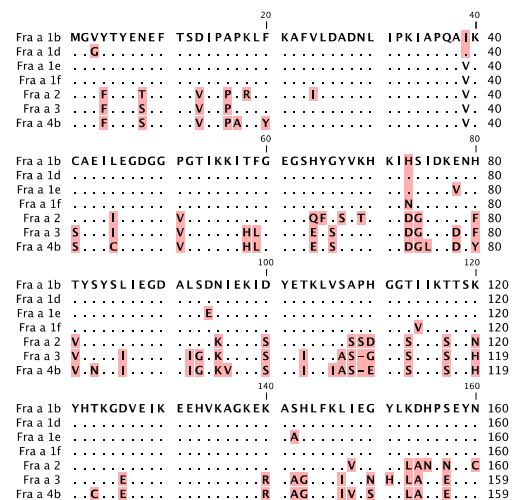


図 1. Fra a タンパク質の推定アミノ酸配列のアライメント. ドットは Fra a 1b と同一アミノ酸を, ハイフンはギャップを示す.

いて 6xHis-tag 融合タンパク質を作成した. シラカバに対する特異 IgE を持つ 6 人のヒトの血清または血漿血清を使用したイムノブロットを行ったところ, Fra a 2, 3, 4b の反応性は低い傾向を示す一方で, Fra a 1b, d, e, f は全員の抗体により認識された. また, 6xHis::Fra a 1e をモルモットに免疫して得られた血清を用いたイムノブロットの結果, 同様に Fra a 1 との反応性が高かった. これら 4 種類の Fra a 1 は 97% 以上のアミノ酸配列の相同性を持つこと, 先述した *F. vesca* における唯一の *Fra a 1* オルソログ (07038) の発現が高いことから, アレルゲン性を評価する際はこのグループを測定対象にするべきだと考えられた. ただし, Fra a 1, Fra a 2, および Fra a 3 の組換えタンパク質の好塩基球活性化試験や (Franz *et al.*, 2013), イチゴ果実内の遺伝子発現の解析結果から (Munoz *et al.*, 2010), Fra a 2 が最も

アレルギー性が高いとする説もあるため、今後さらに詳細な検討を要するだろう。

### (2) VUVCD によるタンパク質の解析

Fra a 1 タンパク質の真空紫外円二色性 (VUVCD) スペクトルを測定した結果、60°C および 70°C で加温した後の冷却による二次構造の変化が認められた。40°C の加温冷却では構造は変化しなかった。VUVCD-NN 法により、20°C における Fra a 1 二次構造の予測を行ったところ、NMR で決定された構造と一致していた (Seutter von Loetzen *et al.*, 2012)。60°C で加温冷却した Fra a 1 の構造は、Glu58 から Leu60 までの  $\beta$ -strand を失っていた。この位置は、エピトープ (Gly63-Thr69) の近傍であり、IgE の結合能に影響すると考えられた。

### (3) Fra a 1 発現量の品種間差異

11 品種のイチゴの Fra a 1 遺伝子の発現量のレベルをリアルタイム PCR によって比較した。統計解析の結果、相対的発現量に品種間差があることが認められた。有意差が認められた 2 品種について、異なる生産地で栽培されたサンプルを 5 力所ずつから収集し、栽培環境の影響をみた。遺伝子発現を調べたところ、個々の発現は必ずしも一定の傾向を示さなかったが、2 品種の平均の高低順は前実験と同じであった。さらに、温室内の同一条件下で栽培した場合も結果は一致していた。この条件の Fra a 1 タンパク質について、モルモット血清を用いたイムノブロットを行ったところ、蓄積量は転写レベルと同様の傾向を示した。これらの結果は、果実のアレルギー性を評価する際の環境条件の重要性を示した。

### (4) Fra a 1 の発達段階および環境への応答性、ならびに組織特異性

生育段階別の Fra a 1 の発現解析を行った結果、その転写および翻訳産物は果実の生育初期に最も高い値を示し、生育後期段階においては顕著に減少した (図 2)。また Fra a 1 の相対

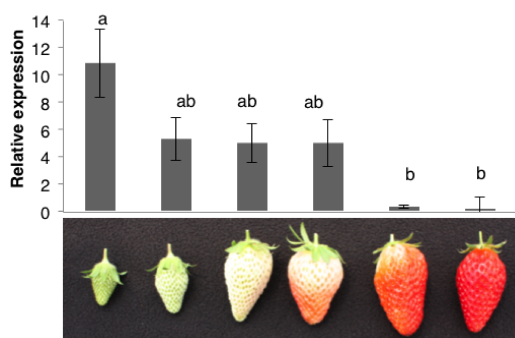


図 2. Fra a 1 遺伝子の生育段階別発現。左から順に Medium Green, Large Green, White, Turning, Red, Over Red のステージを示す。EF1 $\alpha$  遺伝子の発現量によって Fra a 1 遺伝子の発現量を標準化し相対的発現量とした。異なるアルファベットは、Tukey-Kramer の HSD 検定 5%水準で有意差が有ることを示す。

発現量とアントシアニン含量において、負の相関が認められた。Fra a はフラボノイド系色素が結合すると推定されていることから (Casanal *et al.*, 2013)、果実の着色における役割が示唆された。

白色果実のイチゴ品種は低アレルギー性であると報告されている (Hjernø *et al.*, 2006)。しかしながら、2 種類の白色果実の品種は、特徴的な Fra a 1 の発現レベルを示さなかった。PR-10 タンパク質は病害応答の他にストレスやホルモンによって植物体内で発現量が変化することが知られている (Liu and Ekramoddoullah, 2006)。実際に、栽培期間中の 40mM の NaCl 処理により、Fra a 1 タンパク質の蓄積量はコントロールと比べて約 3.2 倍増加した。

免疫組織染色の結果、Fra a 1 が果托よりも瘦果に多く局在すると考えられ、果実肥大との関連性が推察された。ただし、この結論を強固にするためには、各々の組織からタンパク質を抽出し、定量データを得るべきであり、今後の課題としたい。

以上により、Fra a 1 の発現が環境や発達の変化に対して応答することが明らかになった。今後は、生物的 / 非生物的ストレス応答、果実の着色 / 肥大、植物ホルモン伝達系などの生理現象における Fra a 1 遺伝子およびタンパク質の詳細な動態やパラログの機能分化などを明らかにする必要があるだろう。

### (5) 受身皮膚アナフィラキシー反応による交差性の検討

抗原として、シラカバ花粉、Bet v 1、および Fra a 1 を用い、PCA 反応による検討を行ったところ、皮膚にアナフィラキシー性の血管透過性亢進の陽性反応がみられたのは、Fra a 1-Fra a 1、および Bet v 1-Bet v 1 の組み合わせのみであり、シラカバ花粉を含めたそれぞれの交差反応は認められなかった。この原因としては、モルモットの個体差などが考えられたが結論には至らず、実験条件を含めた検討が課題として残った。

### (6) イチゴの抗アレルギー成分の評価

果実の粗抽出液によるヒスタジンデカルボキシラーゼ活性阻害試験を行った結果、品種ごとの阻害率に統計的な有意差が存在した。最も阻害率が高い品種の抽出エキスは、低い品種と比較して 10 倍程度の高い阻害率でヒスタミン合成を阻害した。同一品種でも生産地が異なると、阻害率が変化したが、有意差は認められず、結果には品種特性が反映されていると考えられた。これを明らかにするために、同一条件で栽培した品種を用いた比較を行いたいと考えている。

緑茶でもヒスタジンデカルボキシラーゼ活性阻害試験が行われており、エピガロカテキン、およびエピカテキンガラートが HDC の阻害効果を持つことが示唆されている (Nitta *et al.*, 2007)。イチゴの果実は、ビタミン C、葉酸、フェノール物質などの栄養素や、アントシアニンなどの機能性物質を多く含むが (Giampieri *et al.*, 2012)、本研究で得られた抗アレルギー成分を特定することが、評価系の安定性につながるだろう。

### (7) 謝辞

本研究の遂行にあたり、(株)ピオスタの蔵原美穂博士から多くの的確なアドバイスをいただき

ました。また、農研機構 野菜茶業研究所の野口裕司博士には、研究材料を栽培していただくと共に、ご助言を頂戴しました。広島大学放射光科学研究センターの松尾光一博士、神戸大学連携創造本部の森一郎教授、山崎清志博士には、タンパク質の解析でご協力を賜りました。神戸大学大学院農学研究科・農学部の夫津木大輔氏、鳴神学氏、爾見優子氏、石橋美咲氏には、種々の実験や議論において、格別の御協力を賜りました。以上、ここに記してみなさまに厚くお礼申し上げます。

#### (8) 引用文献

朝倉光司. (2009) 専門講座, 口腔アレルギー症候群. 日耳鼻, 112, 38-41

足立厚子, 堀川達弥. (2006) 花粉症に伴う口腔アレルギー症候群の地域差について 兵庫県南部における阪神間と東播磨との比較. アレルギー, 55, 811-819

Casanal, A., Zander, U., Munoz, C., Dupeux, F., Luque, I., Botella, A.M., Schwab, W., Valpuesta, V., Marquez, J.A. (2013) The strawberry pathogenesis-related 10 (PR-10) Fra a proteins control flavonoid biosynthesis by binding to metabolic intermediates. J. Biol. Chem., 288:35322-35332.

Franz, K., Eberlein, B., Hucherig, S., Edelmann, K., Besbes, F., Ring, J., Darsow, U., Schwab, W. (2013). Breeding of hypoallergenic strawberry fruit. J. Berry Res., 3, 197-201.

Giampieri, F., Tulipani, S., Josè, S., Alvarez-Suarez, M., Josè, L.Q., Mezzetti, B., Battino, M. (2012) Review: The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. Nutrition, 28, 9-19.

Hjerno, K., Alm, R., Canback, B., Matthiesen, R., Trajkovski, K., Bjork, L., Roepstorff, P., Emanuelsson, C. (2006) Down-regulation of the strawberry Bet v 1-homologous allergen in concert with the flavonoid biosynthesis pathway in colorless strawberry mutant. Proteomics, 6, 1574-1587.

Ipsen, H., Lowenstein, H. (1983) Isolation and immunochemical characterization of the major allergen of birch pollen (*Betula verrucosa*). J. Allergy Clin. Immunol., 72, 150-159.

Itoh, T., Ninomiya, M., Yasuda, M., Koshikawa, K., Deyashiki, Y., Nozawa, Y., Akao, Y., Koketsu, M. (2009) Inhibitory effects of flavonoids isolated from *Fragaria ananassa* Duch on IgE-mediated degranulation in rat basophilic leukemia RBL-2H3. Bioorg Med Chem., 17, 5374-5379.

Karlsson, A.L., Alm, R., Ekstrand, B., Fjellkner-Modig, S., Schiott, A., Bengtsson, U., Bjork, L., Hjerno, K., Roepstorff, P., Emanuelsson, C.S. (2004) Bet v 1 homologues in strawberry identified as IgE-binding proteins and presumptive allergens. Allergy, 59, 1277-1284.

Liu, J., Ekramoddoullah, A.K.M. (2006) The family 10 of plant pathogenesis-related proteins: Their structure, regulation, and function in response to biotic and abiotic stresses. Physiol. Mol. Plant Pathol., 68: 3-13.

Seutter von Loetzen, C, Schweimer, K, Schwab, W, Rösch, P, Hartl-Spiegelhauer, O. (2012) Solution structure of the strawberry allergen Fra a 1. Biosci. Rep., 32, 567-575.

Marzban, G., Maghuly, F., Herndl, A., Katinger, H., Laimer, M. (2008) Screening and identification of putative allergens in berry fruits of the Rosaceae family: technical challenges. Biofactors., 34, 37-46.

松尾光一. (2013) 放射光真空紫外円二色性を用いた蛋白質の構造解析法. 蛋白質科学会アーカイブ, 6, e69, 1-16

Muñoz, C., Hoffmann, T., Escobar, N.M., Ludemann, F., Miguel, A.B., Valpuesta, V., Schwab, W. (2010) The strawberry fruit Fra a allergen functions in flavonoid biosynthesis. Mol. Plant, 1, 113-124.

Musidlowska-Persson, A., Alm, R., Emanuelsson, C. (2007) Cloning and sequencing of the Bet v 1 - homologous allergen Fra a 1 in strawberry (*Fragaria × ananassa*) shows the presence of an intron and little variability in amino acid sequence. Mol. Immunol., 44, 1245-1252.

Nitta, Y., Kikuzaki, H., Ueno, H. (2007) Food components inhibiting recombinant human histidine decarboxylase activity. J. Agric. Food Chem., 55, 299-304.

小川 正. (2010) 日本人の食物アレルギーの現状と対策-大豆アレルギーに対する研究の歩み-. 総合福祉科学研究, 1, 77-90.

Patiwael, J.A., Vullings, L.G.J., de Jong, N.W., van Toorenenbergen, A.W., Gerth van Wijk, R., de Groot, H. (2010) Occupational allergy in strawberry greenhouse workers. International Archives of Allergy Immunol., 152, 58-65.

Rivarola, M., Chan, A.P., Liebke, D.E., Melake-Berhan, A., Quan, H., Cheung, F., Ouyang, S., Folta, K.M., Slovin, J.P. and Rabinowicz, P.D. (2011) Abiotic stress-related

expressed sequence tags from the diploid strawberry *Fragaria vesca* f. *semperflorens*, Plant Genome., 4, 12–23.

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 4 件)

Futsuki, D., Nitta, Y., Iduhara, M., Tsuruta, H., Tsugehara, T. and Uno, Y. (2014) Expression of strawberry allergen *Fra a 1* gene during fruit ripening. Acta Horticulturae 査読有, (*in press*).

Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M. and Uno, Y. (2013) Analysis of IgE binding capacity and stress inducibility of strawberry allergen *Fra a 1*. , International Strawberry Congress, Antwerp, 査読無, USB (頁数 6 頁) .

Narukami, M., Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M., Noguchi, Y. and Uno, Y. (2013) Comparison of transcript and protein levels of strawberry allergen *Fra a 1* among different cultivars. , International Strawberry Congress, Antwerp, 査読無, USB (頁数 6 頁) .

Nitta, Y., Futsuki, D., Nabe, T., Tsuruta, H., Iduhara, M., Uno, Y. and Matsuo, K. (2012) The temperature dependence of *Fra a 1* protein structure., HiSOR Activity Report 2012, 査読無, 132-133.

〔学会発表〕 (計 7 件)

夫津木大輔, 奈邊健, 新田陽子, 鶴田宏樹, 巖原美穂, 野口裕司, 宇野雄一 (2013) イチゴアレルギー *Fra a 1* の IgE 反応性と果実における局在, 園芸学会平成 25 年度秋季大会, 平成 25 年 9 月 20~22 日, 岩手大学, 園芸学研究, 第 12 巻別 2: p.191

Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M. and Uno, Y. (2013) Analysis of IgE binding capacity and stress inducibility of strawberry allergen *Fra a 1*. , International Strawberry Congress, Sep 4-6, Antwerp (Belgium), Book of abstracts p.66.

Narukami, M., Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M., Noguchi, Y. and Uno, Y. (2013) Comparison of transcript and protein levels of strawberry allergen *Fra a 1* among different cultivars. , International Strawberry Congress, Sep 4-6, Antwerp (Belgium), Book of abstracts p.59-60.

Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M. and Uno, Y. (2013) Comparison of IgE binding capacity and expression analysis of strawberry allergen *Fra a*

1., ASHS (American Society for Horticultural Science) Annual Congress 2013, July 22-25, Palm Desert (California, USA), HortScience 48 (9), S308-309 (Abstr.).

Narukami, M., Futsuki, D., Nabe, T., Nitta, Y., Tsuruta, H., Yamazaki, K., Iduhara, M., Noguchi, Y. and Uno, Y. (2013) Varietal differences in transcript and protein levels of strawberry allergen *Fra a 1*, ASHS (American Society for Horticultural Science) Annual Congress 2013, July 22-25, Palm Desert (California, USA), HortScience 48 (9), S308 (Abstr.).

夫津木大輔, 奈邊健, 新田陽子, 鶴田宏樹, 巖原美穂, 宇野雄一 (2012) イチゴアレルギーをコードする *Fra a 1* 遺伝子の単離と発現解析, 園芸学会平成 24 年度秋季大会, 9 月 22~24 日, 福井県立大学, 園芸学研究, 第 11 巻別 2: p.420.

夫津木大輔, 奈邊健, 新田陽子, 鶴田宏樹, 山崎清志, 巖原美穂, 宇野雄一 (2012) イチゴアレルギーをコードする *Fra a 1* 遺伝子の解析, 神戸大学研究基盤センター若手フロンティア研究会, 12 月 25 日, 神戸大学, 概要集 p.38.

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

宇野 雄一 (UNO, Yuichi)  
神戸大学・大学院農学研究科・准教授  
研究者番号：90304120

### (2) 研究分担者

奈邊 健 (NABE, Takeshi)  
京都薬科大学・薬学部・准教授  
(現：摂南大学・薬学部・教授)  
研究者番号：40228078

### (3) 研究分担者

新田 陽子 (NITTA, Yoko)  
岡山県立大学・保健福祉学部・准教授  
研究者番号：70403318

### (4) 研究分担者

鶴田 宏樹 (TSURUTA, Hiroki)  
神戸大学・連携創造本部・准教授  
研究者番号：20346282