

文章编号:1000-8551(2016)01-0130-06

虾过敏原及其特异性 IgE 研究进展

傅丽丽 潘家荣

(中国计量学院,浙江 杭州 310018)

摘要: 虾是我国产值较高的甲壳类海产品,由于其味道鲜美、营养丰富而备受消费者喜爱,但也是引发过敏反应的食用海产品之一。本文综述了虾过敏原种类及其表位,特异性 IgE 重排及制备等方面的研究,旨在为降低由虾过敏原引起的过敏性疾病提供理论依据。

关键词: 虾过敏蛋白;表位;IgE;基因重排

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2016.01.0130

以虾为代表的水产甲壳类是联合国粮农组织确定的八大类致敏食物之一^[1],也是成年人主要食源致敏物。在我国虾过敏人群数量庞大,且发病率呈逐年上升趋势。因此研究虾的过敏原对预防、治疗因虾引起的过敏型疾病具有重大意义。食物过敏性疾病主要通过病史、体内皮肤点刺试验和体外血清特异性 IgE (sIgE)检测等方法诊断,而虾引起的过敏反应主要是 IgE 引起的 I 型变态反应,因此制备高特异性 IgE 可有效检测食物中虾过敏原的存在,大大减少由虾过敏蛋白引起的发病率。但虾肉中除了原肌球蛋白外还存在其他过敏原,如精氨酸激酶、肌浆钙离子结合蛋白等,增加了制备高特异性 IgE 的技术难度。此外,欧美国家实施的食物致敏成分标签法以及危害分析和关键控制点(HACCP)管理,已成为制约我国虾类产品出口的最大障碍^[2-4]。因此,研究虾过敏原种类、特性、蛋白表位及其特异性抗体制备等技术,可建立快速高效的过敏原检测方法、改进临床诊断治疗方案,对我国的食品安全和打破贸易技术壁垒具有重要的现实意义。

1 虾过敏现象及机制

虾引起的过敏主要是由 IgE 引起的 I 型变态反应。抗原进入机体后诱发 B 细胞产生 IgE 抗体,产生的 IgE 抗体中的 Fc 段与靶细胞表面 FcεR I 受体分子结合使机体呈致敏状态。当相同抗原再次进入机体,

与已经结合在靶细胞上的 IgE 发生特异性结合,通过“桥联反应”使 2 个以上的 IgE 分子相互靠近并发生构型改变。交联的 FcεR I 可使 2 种胞质内蛋白激酶(Lyn 和 Syk)磷酸化而被激活。之后,接头蛋白和 GTP 交换因子/GTP 酶诱导胞内贮存的 Ca²⁺ 释放,进而促进脱颗粒,释放组胺、趋化因子、中性蛋白酶等介质^[5-7],从而引起荨麻疹、血管性水肿、喉痉挛和哮喘等临床症状,严重可致过敏性休克甚至危及生命。

IgE 的生成依赖于被活化的能够识别过敏原的特异性 B 细胞^[8],CD4⁺T 细胞 Th1/Th2 及其释放的细胞因子参与这种机制调控。Th2 型细胞分泌的 IL-4 和 IL-13 能激发生成 IgE 并维持其效应,同时能够刺激局部肥大细胞活性;而 Th1 型细胞释放的 IFN-γ 和 IL-2 是 IgE 合成的拮抗因素^[9]。此外有研究认为,CD8⁺T 细胞可能也影响 IgE 的生成及过敏反应^[10]。

2 虾过敏原概述

2.1 致敏蛋白种类

2.1.1 主要致敏蛋白 Pen a 1 虾的过敏原大多属原肌球蛋白,其中 Pen a 1 已被鉴定为虾中普遍存在的一种主要过敏原^[11]。Pen a 1 包含 8 个抗原表位,相对分子量为 36 kD,由 2 条不同的 α 螺旋肽链互相缠绕形成超螺旋结构,主要功能是与 F-肌动蛋白细丝结合,调节肌肉运动。在煮后虾的粗提可溶性蛋白中含

收稿日期:2014-04-08 接受日期:2015-09-15

基金项目:国家科技支撑计划课题(2014BAA03B05)

作者简介:傅丽丽,女,主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:1084217387@qq.com

通讯作者:潘家荣,男,研究员,主要从事食品安全和生物物理研究。E-mail:panjr@263.net

有 20% Pen a 1^[12]。国外研究表明,从印度对虾 (*Penaeus indicus*)^[11,13]、南美白对虾 (*Penaeus aztecus*)^[14]、刀额新对虾 (*Metapenaeus ensis*)^[15] 和长缝拟对虾 (*Parapenaeus fissures*)^[16] 等 4 种虾中分别纯化出 Pen a 1,且超过 80% 的虾类过敏患者的血清能与其发生作用^[17]。李振兴等^[18] 也从凡纳滨对虾、克氏螯虾、口虾蛄几种不同亚目虾中提取出 Pen a 1。

2.1.2 其他致敏蛋白 Morgan 等^[19] 曾报道不同种类虾的过敏原存在差异,除 Pen a 1 外还包括至少 12 种过敏原蛋白质。李启沅等^[20] 总结了 4 种常见虾 (褐对虾、斑节对虾、龙虾、刀额对虾) 的 8 种过敏原 (Met e 1、Pen a 1、Pen i 1、Pen m 1、Pen m 2、Pan s 1、Hom a 1 和相对分子量为 68 kD 的过敏原),除 Pen m 2 属于精氨酸激酶外,其余 7 种同属原肌球蛋白,相对分子量都在 30~40 kD 之间,都具有高度的同源性。

李振兴等^[18] 以不同亚目的凡纳滨对虾 (十足目游泳亚目)、口虾蛄 (十足目) 和克氏螯虾 (十足目爬行亚目) 为研究对象,比较了它们之间主要过敏原的特点,分析了它们之间存在的交叉反应,发现除了在 3 种虾抽提物均有 36 kD 的蛋白质条带外,克氏螯虾还有 2 条大于 97.4 kD 的条带;口虾蛄在 25 kD 处还有 1 条明显条带;此外在 75 kD 附近,凡纳滨对虾和口虾蛄也均有条带出现,在 85 kD 附近,3 种虾抽提物也都有条带出现。张瑾^[21] 研究海虾 (对虾、褐虾、大龙虾等) 肌肉粗体物的蛋白成分时发现,在相对分子质量 10~70 kD 范围内获得 20 条蛋白条带,阳性率最高的为 34 kD 条带蛋白,其次为 36 kD 和 31 kD 条带蛋白;此外,阳性条带蛋白分子量还有 41、27、26、22、17 和 13 kD。但上述研究与 Daul 等^[14] 报道的褐对虾主要过敏原为 36 kD 条带的结果不同,可能是由于实验方法或地域种群不同,或者是原肌球蛋白糖基化程度不同。

除原肌球蛋白外,近几年的研究发现精氨酸激酶以及肌浆钙离子结合蛋白等也是重要的虾过敏原。如 Rosalia 等^[22] 发现虾过敏患者的血清 IgE 可以与虾中的 21 kD 蛋白组分识别,并通过氨基酸序列分析和质谱测定,推测 21kD 蛋白组是原肌球蛋白的轻链。Ayuso 等^[23] 利用多肽合成技术确定了凡纳滨对虾精氨酸激酶中存在 7 个过敏原特异性结合 IgE 的表位区域,包括 8 个表位。

2.2 致敏蛋白表位研究

2.2.1 主要致敏蛋白 Pen a 1 表位研究 过敏反应中实际引起响应的是过敏蛋白上与抗体结合的特定区域,即表位。Pen a 1 的抗原表位信息已越来越明朗。其中,Daul 等^[14]、Reese 等^[24]、Ayuso 等^[25] 通过交叠肽

合成方法,并结合虾过敏患者血清鉴定,认为 Pen a 1 含有 5 个线性的 IgE 结合区:(43~57)、(85~105)、(133~148)、(187~202) 和 (247~284),具体又可细分为 8 个抗原表位:(43~57)、(85~105)、(133~141)、(144~153)、(187~202)、(247~259)、(266~273) 与 (273~284);通过比较发现 Pen a 1 的 5 个 IgE 结合区与节肢动物、昆虫、软体动物、线虫、吸虫、脊椎动物的主要致敏原 IgE 结合区都有较高的同源性和相似性。Zheng 等^[26] 利用生物信息学方法,采用 DNASTar、AntheProt 等软件分析 Pen a 1 的二级结构、亲水性、溶剂可及性、可塑性、抗原指数等多个指标,通过筛选最终预测出 10 个抗原表位,其中第 3 个抗原表位氨基酸位点为 89~105,这与 Ayuso 等^[25] 的第 2 个结合区的结果一致,表明不同物种 Pen a 1 的抗原表位氨基酸个数差异极小。

2.2.2 其他虾致敏蛋白表位研究 虾过敏原表位的研究方式目前主要有 2 种,一是用生物信息学方法预测 IgE 结合表位,如黄于艺等^[27] 通过 Uniprot 数据库,使用 DNASTar 和 NetMHC II 预测中国龙虾 Pan s 1 细胞表位,但该方法仅可用于预测,无法对表位进行鉴定。二是免疫学方法,即用过敏患者 IgE 或 IgG 抗体筛选噬菌体多肽展示库,通过研究过敏原酶解片段或由人工合成的包含所有过敏原氨基酸序列的重叠多肽与 IgE 或 IgG 特异性结合的能力探寻过敏原表位,但这种方法仅能鉴定线性过敏原表位,无法鉴定过敏原的构象表位。而黄建芳等^[28] 通过制备单克隆抗体的方式对凡纳滨对虾原肌球蛋白的过敏原表位进行分析,避免了以上缺点,大大降低了假阳性率,同时也解决了病人特异性 IgE 抗体含量易变等问题。

2.3 致敏蛋白制备研究

虾致敏蛋白的常规制备方法是从虾肉中提取纯化,如 Yu 等^[29] 从斑节对虾中提取 Pen m 2。越来越多的研究者通过基因克隆表达的方法获得目的虾致敏蛋白,目前褐对虾 (*Penaeus aztecus*)、磷虾 (*Euphausia superba*)、口虾蛄 (*Oratosquilla oratoria*)、斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 和日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 的原肌球蛋白基因已先后通过克隆得到,并对其基因及氨基酸序列进行了分析^[30-31],且进一步研究结果表明重组表达蛋白与天然蛋白具有同等的致敏性和交叉反应^[32]。

黄素文等^[33]、易海涛等^[34] 对克氏原螯虾 (淡水小龙虾) 肌肉中原肌球蛋白 (tropomyosin) 基因进行克隆与转化,获得 284 个氨基酸长度具有免疫活性的重组虾 tropomyosin,并命名为 Pro c 1。与数据库中已知的

中国龙虾 *Pan s 1* 的同源性为 98%, 与褐对虾 *Pen a 1*、南美白对虾 *Lit v 1* 以及基围虾 *Met e 1* 等同源性为 97%。杜欣军等^[35]利用分子克隆技术, 从凡纳滨对虾中克隆到原肌球蛋白基因, 并进行了重组表达, 又利用亲和纯化系统获得纯度较高的表达产物。

2.4 影响虾致敏性因素

通过破坏致敏蛋白结构可有效降低食物的过敏性。研究表明, 虾致敏蛋白具有热稳定性, 酶解及辐照处理的敏感性^[36]。酶解使蛋白质肽链断裂, 生成分子量更小的多肽或氨基酸; 超高压和微波能影响生物大分子的结构, 改变分子间和分子内的非共价作用力。Nagpal 等^[37]将虾热处理后, 过敏原仍具有免疫原性, 由此可见, 普通加热并不能破坏致敏蛋白结构。Kuniyoshi 等^[38]报道指出, 多种蛋白酶都能对甲壳类动物过敏原起到良好的降解作用, 经过酶解后的甲壳类动物蛋白抽提物过敏活性几乎完全消失。顾可飞等^[39-40]对虾过敏蛋白进行辐照处理, 发现辐照后虾过敏蛋白的结构、浊度和疏水性都发生了改变, 并分析了不同存在状态下过敏原辐照免疫学效应, 发现辐照可有效降低虾过敏原的致敏性。董晓颖等^[41]集合了酶解、超高压和微波 3 种方法对纯化后的虾过敏蛋白进行处理, 其中酶解后分子量为 36kD 的虾过敏蛋白条带消失, 且致敏性降低或消失; 超高压和微波处理后分子量大小无变化, 但致敏性有所降低。

此外, 通过化学法和基因改造法也可降低过敏原的免疫活性。李庆丽等^[42]采用麦芽糖、葡萄糖与虾过敏原进行美拉德反应, 研究化学反应对虾过敏原免疫活性的影响, 结果表明葡萄糖和麦芽糖分别使虾过敏原免疫活性降低 10% 和 60%。Reese 等^[43]利用点突变使原肌球蛋白的 1 个氨基酸发生改变, 虽然未改变蛋白的二级结构, 但是致敏性下降了 90% ~ 98%, 为虾类原肌球蛋白的脱敏提供了新思路。

3 虾致敏蛋白的特异性 IgE

IgE 是 1966 年日本学者 Ishizaka 发现的一类亲细胞 Ig 抗体, 分子量 188kD, 在血清中含量极低, 仅占血清总 Ig 的 0.002%^[44]。由于 IgE 是介导 I 型变态反应的主要介质, 而 I 型过敏反应在临床上最常见。通过研究特异性 IgE 可以更好地了解一些疾病的发病机制, 寻找治疗的新靶点, 如变应性鼻炎^[45]等; 也可以通过特异性 IgE 抗体有效的检测到过敏原, 避免过敏反应的发生, 如牛奶、虾等食品会引起湿疹^[46]、哮喘^[47]等。因此研究 IgE 的相关特性已成为除过敏原外的另

一大主要课题, 具有重大意义。目前研究热点集中于 IgE 重排规律和特异性 IgE 制备 2 个方面。

3.1 IgE 重排研究

IgE 由 2 条相同的 λ 或 κ 轻链与 2 条相同的 ϵ 重链组成。每条链都由可变区 V (约 110 个氨基酸) 和恒定区 C 组成, 轻链可变区 VL ($V_{\kappa 1} - 4$ 家族、 $V_{\lambda 1} - 7$ 家族) 和重链可变区 VH ($VH 1 - 7$ 家族)^[48-49] 各包括 3 个高变区 (CDR1、CDR2、CDR3), 被相对保守的 4 个骨架区 (FR1、FR2、FR3、FR4) 间隔, 他们所共同组成的构象实际上是抗原特异性互补结合区。抗体 L 链由 C、V、J 3 个基因簇编码, H 链由 C、V、D、J 4 个基因簇编码。据报道 V 编码可变区有 300 种; D 编码高变区有 15 ~ 20 种; J 编码连接 V、C 结合区有 4 ~ 5 种; C 编码恒定区仅有 1 种。这些基因分布于不同染色体并被插入序列分隔, 不能作为独立单位表达, 需经基因重排后才具有转录功能^[50]。重排后所合成的肽链还要进一步进行 L 和 H 链组合, 理论上可产生 $10^8 \sim 10^{10}$ 种以上, 推测抗体分子对抗原的特异性和亲和力与这些重排密切相关。可变区基因的重排伴随着 B 淋巴细胞发育同步进行, 白丽^[51]、Miwa 等^[52]、Xue 等^[53] 均对其重排机制和过程进行了相关报道。但目前针对虾过敏原单表位的 IgE 重排研究还未见系统研究, 且 NCBI 等数据库也未见针对虾过敏蛋白或表位响应的 IgE 相关片段序列。

3.2 特异性 IgE 制备研究

目前虾特异性 IgE 的制备方法主要有 3 种: 一是直接用虾过敏患者血清作为检测用抗体^[54-55]。但此方法收集困难, 易受血清来源及数量的限制, 且特异性差。二是通过虾肉提取纯化或基因原核表达获得的虾致敏蛋白, 经动物免疫进而获得相应多克隆或单克隆 IgE^[56-57]。黄建芳等^[27]用纯化的凡纳滨对虾原肌球蛋白免疫小鼠制备 IgE 单克隆抗体, 获得 5 株针对不同表位的杂交瘤细胞株。然而鼠源性单抗应用于人体中最主要问题是易引起人抗鼠抗体反应 (HAMA), 但许多抗 IgE 单克隆抗体也经过了人源化改造甚至临床应用, 如陈家琪等^[58]以重组 IgE-Fc 片段为抗原, 利用杂交瘤融合技术制备出抗人 IgE 单克隆抗体。这对虾过敏治疗中抗 IgE 抗体的制备和应用有重要启示。赵杰等^[59]通过设计制备虾单表位抗原免疫兔子, 成功制备了针对致敏蛋白 *Pen a 1* 第 85 ~ 第 105 位线性表位多肽的特异性 IgE 抗体, 并验证了该抗体对天然 *Pen a 1* 蛋白具有特异性。三是基因工程克隆抗体部分基因片段, 构建小分子 IgE 抗体。基因工程抗体主要有单链 ScFv、Fab 片段、单域 VH、双特异性 BsAb 以及由

ScFv、Fab 通过 Lniker 构成的双链或多聚抗体等类型,其构建的关键是抗体重链和轻链可变区(V)基因的获得^[60]。潘文斌^[61]从虾致敏小分子抗体制备的取材和可变区片段克隆入手,对基因工程小分子 IgE 的体外制备做了初步研究。但由于可变区的高度变异性使扩增相对困难,至今仍是一个难点。其他领域一些小分子抗体,如专门治疗 B 细胞瘤的双特异 ScFv(作用于 Ep-CAM 和 CD3 抗原)^[62]等研究较多,目前已在临床上应用,但有关虾小分子 IgE 的制备鲜见报道。因此寻找一种获取简单,且针对虾致敏蛋白单一表位的高效价、高灵敏度的抗体制备方法,具有重要价值^[59]。

4 问题与展望

虾类是市场上常见的甲壳类水产品,通过摄食虾类水产品而引发的过敏性疾病已成为临床的常见病^[63]。抗原和抗体是虾过敏研究的两大中心环节,二者相互制约又相互促进,目前二者的研究还面临许多问题,如对其致敏机理的理论认识不够深刻;高纯度抗原抗体制备的技术困难等。根据其他小分子抗体研究进展可预测几个基因工程制备 IgE 的研究方向:一是克隆材料方面。可用虾致敏蛋白单克隆杂交瘤细胞株或经虾单抗位体外免疫且高度纯化的单一 B 淋巴细胞。二是克隆技术方面。单细胞水平的 RT-PCR 将是有力工具。由于数据库内尚无虾致敏 IgE 片段序列,因此可以尝试结合保守的骨架区 FRs 并根据 CDRs 与虾特异性表位的互补关系设计特异性引物。三是表达方面。展示系统(噬菌体、核糖体、酵母)和表达体系(大肠杆菌、酵母、哺乳动物细胞)的优化选择也是小分子抗体由实验走向应用必须进行的工作。此外,可以尝试将 IgE 小分子抗体片段与其他功能性分子连接,发挥其在虾致敏过程中靶向生物学作用,建立终极虾致敏蛋白表位的抗体库。

随着经济的发展,虾类消费量和过敏人群还将继续增长,所面临的食品安全形势日益严峻。加强对虾过敏原表位性质和抗体基因重排的研究,理解虾过敏原活性变化的机理和抗体亲和力、特异性序列的规律,对建立便捷高效的检测技术、改进临床诊断治疗方案以及开发低敏性虾类产品都具有重要的现实指导意义。

参考文献:

[1] Dean D M, Hugh A S, Ronald A S. Food allergy: Adverse reactions to foods and food additives (Second Edition) [M]. USA: Blackwell

Science, Inc, 1997

- [2] Taylor S L, Hefle S L. Food allergen labeling in the USA and Europe [J]. Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology, 2006, 6(3): 186 - 190
- [3] Hiroshi A, Taksnoru I, Motohiro E. Japan food allergen labeling regulation - history and evaluation [J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2011, 62: 139 - 171
- [4] 胡梅, 钟耀广, 王锡昌. 中国虾类产品主要出口国的技术贸易壁垒分析 [J]. 湖北农业科学, 2009, 48(10): 2613 - 1616
- [5] 李振兴. 虾 (*Penaeus Vannamei*) 过敏原免疫活性的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006: 7 - 8
- [6] 宋晓妮, 董文其. IgE 及其高亲和力受体与过敏性疾病 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(10): 992 - 993
- [7] Sicherer S H, Sampson H A. Food allergy [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010, 125(Suppl 2): 116 - 125
- [8] Untermayr E, Jensen-Jarolim E. Mechanisms of type I food allergy [J]. Pharmacol & Therapeutics, 2006, 1(12): 787 - 798
- [9] Mills E N, Breiteneder H. Food allergy and its relevance to industrial food proteins [J]. Biotechnology Advances, 2005, 23(6): 409 - 414
- [10] Sicherer S H. Food allergy [J]. Lancet, 2002, 360: 701 - 710
- [11] Shanti K N, Martin B M, Nagpal S, Metcalfe D D, Rao P V. Identification of tropomyosin as the major shrimp allergen and characterization of its IgE-binding epitopes [J]. The Journal of Immunology, 1993, 151(10): 5354 - 5363
- [12] Jeoung B J, Reese G, Hauck P, Olive J B, Daul C B, Lehrer S B. Quantification of the major brown shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) by a monoclonal antibody-based sandwich ELISA [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1997, 100(2): 229 - 234
- [13] Naqpal S, Rajappa L, Metcalfe D D, Rao P V. Isolation and characterization of heat-stable allergens from shrimp (*Penaeus indicus*) [J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1989, 83(1): 26 - 36
- [14] Daul C B, Slattery M, Reese G, Lehrer S B. Identification of the major brown shrimp (*Penaeus aztecua*) allergen as the muscle protein tropomyosin [J]. International Archives of Allergy and Immunology, 1994, 105(1): 49 - 55
- [15] Leung P S C, Chu K H, Chow W K, Ansari A. Cloning, expression, and primary structure of *Metapenaeus ensis* tropomyosin, the major heat-stable shrimp allergen [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1994, 94(5): 882 - 890
- [16] Lin R Y, Shen H D, Han S H. Identification and characterization of a 30 kD major allergen from *Parapenaeus fissures* [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1993, 92(6): 837 - 845
- [17] Lehrer S B, Ayuso R, Reese G. Sea food allergy and allergens: A review [J]. Marine Biotechnology, 2003, 5(4): 339 - 348
- [18] 李振兴, 林洪, 李明华, 曹立民. 不同虾类的过敏原及其过敏原性 [J]. 水产学报, 2006, 30(2): 281 - 283
- [19] Morgan J E, O'Neil C E, Daul C B, Lehrer S B. Species specific shrimp allergens: RAST and RAST-inhibition studies [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1989, 83(6): 1112 - 1117

- [20] 李启沉,李荔,刘志刚. 鱼虾贝类的主要过敏原分子免疫学特性研究进展[J]. 水产科学,2008,27(3):154-156
- [21] 张瑾. 海虾致敏个体过敏原的特异性探讨[J]. 检验医学,2009,24(5):333-336
- [22] Rosalia A, Galina G, Ludmilla B, Teresa C, Carlos B, Maria D I, Sampson H A, Kirsten B. Myosin light chain is a novel shrimp allergen, Lit v 3[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2008, 122(4):795-802
- [23] Ayuso R, Garcia S G, Lin J. Greater epitope recognition of shrimp allwegens by children than adults suggests that shrimp sensitisation decreases with age[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2010,125(6):1286-1293
- [24] Reese G, Ayuso R, Carle T, Lehrer S B. IgE-binding epitopes of shrimp tropomyosin, the major allergen Pen a 1 [J]. International Archives of Allergy and Immunology,1999,118(2/4):300-301
- [25] Ayuso R, Lehrer S B, Reese G. Identification of continuous, allergenic regions of the major shrimp allergen Pen a 1 (Tropomyosin) [J]. International Archives of Allergy and Immunology,2002,127(1):27-37
- [26] Zheng L N, Lin H, Pawar R, Li Z X, Li M H. Mapping IgE binding epitopes of major shrimp (*Penaeus monodon*) allergen with immunoinformatics tools[J]. Food and Chemical Toxicology,2011,49(11):2954-2960
- [27] 黄于艺,陈惠芳,何颖,邹泽红,陶爱林. 中国龙虾 Pan s 1 抗原表位研究及相关虾蟹类蛋白进化分析[J]. 现代仪器与医疗,2013,19(1):1-4
- [28] 黄建芳,王彩霞,向军俭,吕思,黄晨. 凡纳滨对虾主要过敏原-原肌球蛋白单克隆抗体的制备及其过敏原表位分析[J]. 免疫学杂志,2012,28(9):746-749
- [29] Yu C J, Lin Y F, Chiang B L, Chow L P. Proteomics and immunological analysis of a novel shrimp allergen, Pen m 2 [J]. Journal of Immunology,2003,170(1):445-453
- [30] Motoyama K, Suma Y, Ishizaki S, Nagashima Y, Shiomi K. Molecular cloning of tropomyosins identified as allergens in six species of crustaceans. [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007,55(3):985-991
- [31] Motoyama K, Suma Y, Ishizaki S, Nagashima Y, Lu Y, Ushio H, Shiomi K. Identification of tropomyosins as major allergens in antarctic krill and mantis shrimp and their amino acid sequence characteristics[J]. Marine Biotechnology, 2008,10(6):709-718
- [32] Albrecht M, Alessandri S, Conti A, Reuter A, Lauer A, Vieths S, Reese G. High level expression, purification and physico-and immunochemical characterisation of recombinant Pen a 1: A major allergen of shrimp[J]. Molecular Nutrition Food Research, 2008,52 (Suppl 2): S186-S195
- [33] 黄素文,杨文潮,朱海,王建峰,倪健波,吕志平,洗静雯,刘志刚. 淡水小龙虾主要过敏原原肌球蛋白基因的克隆、表达及其免疫活性鉴定[J]. 中国免疫学杂志,2011,27(7):642-647
- [34] 易海涛,夏立新,刘芳,闫浩,黄钟,汤慕瑾,陈大伟,刘志刚. 克氏原螯虾主要变应原原肌球蛋白蛋白的一个片段区基因的克隆表达、纯化及免疫原性鉴定[J]. 江西师范大学学报,2011,35(3):280-285
- [35] 杜欣军,张伟伟,孙伟英,王硕. 凡纳滨对虾原肌球蛋白蛋白基因表达模式与重组表达[J]. 渔业科学进展,2009,30(4):38-43
- [36] Byun M W, Kim J H, Lee J W, Park J W, Hong C S, Kang I J. Effects of Gamma Radiation on the Conformational and Antigenic Properties of a Heat-Stable major allergen in brown shrimp [J]. Journal of Food Protection,2000,63(7):940-944
- [37] Nagpal S, Rajappa L, Dean D M, Pillariseti V. Isolation and characterization of heat-stable allergens from shrimp (*Penaeus indicus*) [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology,1989,83(1):26-36
- [38] Kuniyoshi S, Tomomura Y, Hamada Y, Nagashima Y, Shiomi K. Allergenicity of crustacean extractives and its reduction by protease digestion[J]. Food Chemistry,2005,91(2):247-253
- [39] 顾可飞,高美须,李春红. 辐照对虾过敏原生化性质的影响[J]. 核农学报,2007,21(2):160-163
- [40] 顾可飞,高美须,李春红,潘家荣. 辐照对虾过敏原抗原性的影响[J]. 中国食品卫生杂志,2007,19(2):102-105
- [41] 董晓颖,高美须,潘家荣,张春红,王志东,李淑荣. 不同处理方法对虾过敏蛋白分子量及抗原性的影响[J]. 核农学报,2010,24(3):548-554
- [42] 李庆丽,李振兴,林洪. 美拉德反应中麦芽糖、葡萄糖对虾过敏原活性影响的研究[J]. 食品工业科技,2009,30(1):79-81
- [43] Reese G, Viebranz J, Leong-Kee S M, Plante M, Lauer I, Randow S, Moncin M S M, Ayuso R, Lehrer S B, Vieths S. Reduced allergenic potency of VR9-1, a mutant of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin) [J]. The Journal of Immunology, 2005,175(12):8354-8364
- [44] 吴安然,郑珊珊. I 型超敏反应的机制和 IgE 抗体生成的调节[J]. 国外医学:免疫学分册,1981,(2):113-117
- [45] 周明辉. CD23-IgE 介导跨上皮转运在变应性鼻炎发病机制中的作用[D]. 上海:复旦大学,2013
- [46] 单百卉. 血清特异性 IgE 和 IgG 抗体测定在儿童湿疹和银屑病致敏原检测中的应用[D]. 长春:吉林大学,2013
- [47] 丁健. 405 例儿童哮喘患儿主要过敏原分析及干预效果观察[D]. 长沙:中南大学,2014
- [48] 张志超. 乙型肝炎病毒表位 PreS1 基因工程抗体的获得—天然及免疫人源单链抗体库的构建[D]. 大连:大连理工大学,2002:47
- [49] Janezic A, Chapman C J, Snow R E, Hourihane J O, Warner J O, Stevenson F K. Immunogenetic analysis of the heavy chain variable regions of IgE from patients allergic to peanut [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology,1998,101(3):391-396
- [50] Radic M Z. Tracking and trapping somatic mutations in Ig genes [J]. The Journal of Immunology,2008,180(9):5763-5764
- [51] 白丽. B 淋巴细胞发育与 BCR 基因重排[J]. 大理学院学报,2010,9(6):28-31
- [52] Miwa H, Kita K, Nosaka T. Maturation stage specific immunoglobulin heavy chain gene rearrangements, determined by D and D upstream region gene structures [J]. Leukemia Research, 1992,16(9):861-871
- [53] Xue W, Luo S and Adler WH. Immunoglobulin heavy chain junctional diversity in young and aged humans [J]. Human

- Immunology,1997,57(2):80-92
- [54] Liang Y L, Cao M J, Su W J, Zhang L J, Huang Y Y, Liu G M. Identification and characterisation of the major allergen of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2008, 111(4):998-1003
- [55] Marsh J, Rigby N, Wellner K, Reese G, Knulst A, Akkerdaas J, Ree R V, Radaue C, Lovegrove A, Sancho A, Mills C, Vieths S, Hoffmann S K, Shewry P R. Purification and characterisation of a panel of peanut allergens suitable for use in allergy diagnosis[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2008, 52(sup 1):272-285
- [56] Li Z X, Lin H, Cao L M, Khalid J. Impact of irradiation and thermal processing on the immunoreactivity of shrimp (*Penaeus vannamei*) proteins [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 87(6):951-956
- [57] Reese G, Schickanz S, Lauer I, Randow S, Luttkopf D, Vogel L, Lehrer S B, Vieths S. Structural, immunological and functional properties of natural recombinant Pen a 1, the major allergen of brown shrimp, *Penaeus aztecus* [J]. Clinical and Experimental Allergy, 2006, 36(4):517-524
- [58] 陈家琪,瞿爱东,祝婧焯,黄海武. 阻断型抗人 IgE 单克隆抗体的制备及其表位分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(10):845-850
- [59] 赵杰,高美须,潘家荣,王志东,蓝丽平,睢珂,许舒婷,刘超超,牟慧. Pen a 1 表位抗原多克隆抗体的制备及鉴定[J]. 中国农业科学, 2013, 46(15):3191-3198
- [60] Li J, Wang Y, Wang Z Z, Dong Z W. Influences of amino acid sequences in FR1 region on binding activity of the scFv and Fab of an antibody to human gastric cancer cells[J]. Immunology Letters, 2000, 71(3):157-165
- [61] 潘文彬. 虾致敏原刺激下人 B 淋巴细胞制备及 IgE 基因研究 [D]. 杭州:中国计量学院, 2014
- [62] 张英鸽. 纳米技术在医药领域中的应用[J]. 中国药理通讯, 2003, 20(3):9-10
- [63] 刘平静,李娟,陈伟,陈味味,李雪颀,张晓峰. 健康人与虾过敏患者血清虾过敏原特异性 IgE 检测[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(2):124-125

Recent Advances in Shrimp Allergens and Specific IgE

FU Lili PAN Jiarong

(China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018)

Abstract: Shrimp products, a kind of crustacean seafood with high value in China, are deeply popular with consumers because of their delicious flavor and rich nutrition. However, it is one of the edible seafood, which is often reported to cause allergic reaction. This paper has summarized species and epitopes of the shrimp allergens, the rearrangement and preparation of specific IgE to provide certain theoretical basis for reducing allergic diseases.

Keywords: shrimp-allergen, epitope, IgE, gene rearrangement