

БЕЛКОВЫЕ ЭКСТРАКТЫ ИЗ БОБОВ СОИ И АРАХИСА: ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ И АЛЛЕРГЕННЫЕ СВОЙСТВА

© 2019 г. П. В. Самойликов*, В. М. Бержец

*E-mail: samoilikov@mail.ru

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Министерство науки
и высшего образования Российской Федерации, Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 28.03.2019

Соя и арахис относятся к наиболее сильным пищевым аллергенам среди всех бобовых растений. На сегодняшний день аллергены этих бобовых по ряду причин остаются недостаточно доступными в клинической практике. В связи с этим целью работы было получение белковых экстрактов из сои и арахиса и оценка их биохимических и аллергенных свойств. Получение раствора белково-полисахаридных комплексов проводили методом водно-солевой экстракции, определение содержания белка проводили методом Бредфорда, изучение белкового состава проводили методом вертикального электрофореза в полиакриламидном геле. Изучение аллергенных свойств проводили методом торможения связывания sIgE. В полученных белковых экстрактах были охарактеризованы белки, которые по молекулярной массе относятся к аллергенам кукурузной, проламиновой, профилиновой фракциям белков и betv 1 подобным белкам. Проведенное исследование отдельных белковых фракций и дальнейшее сопоставление их аллергенных свойств существенно дополнит компонентную диагностику, которая активно внедряется в клиническую практику.

Ключевые слова: аллергены, соя, арахис, белковые экстракты

DOI: 10.31857/S102872210006547-6

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а. ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, лаборатория аллергодиагностики, Самойликов Павел Владимирович. Тел.(моб.): 89267074152.

E-mail: samoilikov@mail.ru

Авторы:

Самойликов П. В., к.м.н., с.н.с. лаборатории аллергодиагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

Бержец В. М., д.б.н., зав. лаб. по разработке аллергенов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

В настоящее время продукты из бобовых культур широко используются в пищевой промышленности, среди которых соя и арахис представляют наибольший интерес из-за высокого содержания белков, жиров и микроэлементов. В то же время эти бобы содержат большое количество аллергенов, которые помимо прямой реакции гиперчувствительности, могут вступать в перекрестные взаимодействия с аллергенами других растений за счет структурной гомологии. Аллергены сои и арахиса по своей структуре и аминокислотному составу могут быть сгруппированы в несколько семейств и су-

персемейств белков, внутри которых возможны IgE-перекрестные реакции: купины, проламины, профилины и betv 1 подобные белки [1].

В связи с этим соя и арахис относятся к наиболее активным пищевым аллергенам среди всех бобовых растений и были включены в состав продуктов питания, вызывающих самую высокую частоту пищевой аллергии в Европе [2]. Кроме того, аллергены сои и арахиса относительно устойчивы к термальной обработке и для снижения их аллергенных свойств требуется длительное кипячение [3]. При этом было показано, что обжарка арахиса (основной вид его термической обработки) напротив увеличивает способность аллергенов связывать sIgE [4].

На сегодняшний день нет отечественных аллергенных экстрактов из сои и арахиса для кожного тестирования. В связи с этим целью работы было получение белковых экстрактов из сои и арахиса и оценка их биохимических и аллергенных свойств.

В работе использовали соевые бобы *Glycine max* и семена арахиса *Arachis hypogaea*. Получение белково-полисахаридных комплексов сои

и арахиса проводили в несколько этапов. В начале семена измельчали до получения соевой муки и гомогенной арахисовой массы. Далее мы проводили обезжиривание добавлением диэтилового эфира с последующим перемешиванием и инкубацией. Получение раствора белково-полисахаридных комплексов проводили методом Эванса-Кока. После этого аллергенный экстракт центрифугировали с последующим отделением супернатанта и проведением стерилизующей фильтрации.

Определение содержания белка проводили методом Бредфорда. Изучение белкового состава полученных экстрактов проводили методом вертикального электрофореза по Леммли [5].

Аллергенную активность экстрактов сои и арахиса оценивали в реакции ингибирования связывания sIgE с соответствующими аллергенами системы ImmunoCAP (Phadia, Швеция), принятыми нами как стандарт. Использовали пуловую сыворотку от 4 больных с сенсibilизацией к сое и арахису (2–3 класс). Для этого пуловую сыворотку инкубировали в течение часа при комнатной температуре с различными концентрациями сои и арахиса, а потом определяли содержание sIgE к этим аллергенам. Концентрация белка в экстракте сои составила 1,332 мг/мл, в экстракте арахиса – 1,98 мг/мл.

При электрофоретическом разделении бобовых экстрактов были выявлены несколько белковых фракций, которые по молекулярной массе (м.м.) согласно международной номенклатуре ВОЗ/WHO/IUIS можно отнести к аллергенам. Белки сои с м.м. 48 кДа и с м.м. 55 кДа могут представлять собой аллергены glym 5 и glym 6, соответственно. Белки арахиса с м.м. 64 кДа и 60,3 кДа могут быть отнесены к аллергенам arah 1 и arah 3, соответственно. Эти белки относятся к 7S и 11S глобулинам и принадлежат к одному суперсемейству белков купинов.

Белки сои с м.м. 7 кДа и 12 кДа относятся к Glym 1 и Glym 8, соответственно. Белки арахиса с м.м. 17 кДа, 15 кДа, 10 кДа, 8,5 кДа и 11 кДа могут являться arah 2, arah 6 и 7, arah 9, arah 16 и arah 17, соответственно. В связи с тем, что аллергены arah 6 и arah 7 имеют примерно одинаковую м.м., на электрофореграмме они получились в виде одной широкой полосы. Похожая картина представлена для аллергенов arah 9, arah 16 и arah 17, они имеют незначительные отличия в м.м. и выглядят как широкая белковая полоса. Эти белки сои и арахиса относятся к суперсемейству проламинов.

Среди профилиновых белков на электрофореграмме видна фракция сои с м.м. 14 кДа и фракция арахиса с м.м. 15 кДа, которые могут быть аллергенами glym 3 и arah 5, соответственно.

К betv 1 подобным белкам относятся glym 4 сои и arah 8 арахиса, которые можно идентифицировать на нашей электрофореграмме как белковые полосы на дорожках разделения сои и арахиса с м.м. 17 кДа. В связи с тем, что arah 8 и arah 2 имеют одинаковую м.м., на электрофореграмме они представлены в виде одной полосы.

Полученные экстракты из бобов сои и арахиса обладали высокой аллергенной активностью сравнимой с таковой с аллергенами в системе ImmunoCAP в 73,1% и 76%, соответственно.

Таким образом, были получены два белковых экстракта, в состав которых входят суперсемейства белков, обладающие выраженными аллергенными свойствами.

Имеются данные, что аллергены, входящие в состав одного суперсемейства или семейства, обладают сходством в 2-мерной и 3-мерной структуре белков или в аминокислотной последовательности, в том числе и для IgE-эпитопов. Проведенное исследование отдельных белковых фракций сои и арахиса, и сопоставление их аллергенных свойств существенно дополнит компонентную диагностику, которая активно внедряется в клиническую практику.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Heimo Breiteneder*. Allergen families and databases // Molecular Allergology Users Guide Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2016, 57–67.
2. *Nwaru B. I., Hickstein L., Panesar S. S., Roberts G., Muraro A., Sheikh A.* EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Prevalence of common food allergies in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2014, 69(8), 992–1007.
3. *Cabanillas B., Cuadrado C., Rodriguez J., Dieguez M. C., Crespo J. F., Novak N.* Boiling and Pressure Cooking Impact on IgE Reactivity of Soybean Allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018, 175(1–2), 36–43.
4. *Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW, Sampson HA.* Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol*. 2001, 107(6), 1077–81.
5. *Остерман Л. А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука, 1981. [*Osterman L. A.* Methods of research of proteins and nucleic acids: Electrophoresis and ultracentrifugation. М.: Science, 1981].

**PROTEIN EXTRACTS FROM BEANS OF SOY AND PEANUT:
FRACTIONAL COMPOSITION AND ALLERGENIC PROPERTIES**

© 2019 P. V. Samoylikov*, V. M. Berzhets

*E-mail: samoilikov@mail.ru

*The Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Science
and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia*

Received: 15.03.2019. **Accepted:** 28.03.2019

Soybeans and peanuts are the strongest food allergens among all leguminous plants. Today, allergens of these legumes are not sufficiently accessible in clinical practice for a number of reasons. In this regard, the aim of the work was to obtain protein extracts from soybeans and peanuts and to evaluate their biochemical and allergenic properties. The preparation of a solution of protein-polysaccharide complexes was performed by the method of water-salt extraction, the determination of the protein content was carried out by the method of Bradford, the study of the protein composition of the obtained extracts was carried out by the polyacrylamide gel electrophoresis. Allergenic properties were investigated by the method of inhibition of sIgE binding. Proteins were described in the obtained protein extracts. They belong to cupin, prolamin, profilin protein fractions and Bet v 1-like proteins. A study of individual protein fractions and further comparison of their allergenic properties will significantly complement the component diagnostics, which is actively being introduced into clinical practice.

Key words: allergens, soy, peanuts, protein extracts

Authors:

Samoylikov P. V., ✉ PhD, laboratory of allergic diagnosis the Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia. **E-mail:** samoilikov@mail.ru;

Berzhets V. M., PhD, Head of the laboratory of development of allergens the Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia.