

水生动物原肌球蛋白致敏原研究进展

陈红兵^{1,2}, 胡 昕^{1,3}, 谢彦海^{1,4}, 华希玮^{1,3}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 南昌大学, 江西 南昌 330047; 2. 南昌大学 中德联合研究院, 江西 南昌 330047; 3. 南昌大学 食品学院, 江西 南昌 330047; 4. 南昌大学 实验动物科学中心, 江西 南昌 330006)

摘要: 原肌球蛋白(tropomyosin, TM)是甲壳类动物中的一种常见的泛致敏原,同时部分鱼中 TM 致敏性已得到证实。其蛋白质结构保守、同源性高、致敏性强,且具有广泛的免疫交叉反应。原肌球蛋白致敏性及其消减方法、免疫交叉反应都与抗原表位有关。因此,表位研究是原肌球蛋白研究中的重点。本文中介绍了国内外水生动物原肌球蛋白的性质、表位、免疫交叉反应、致敏性及其消减的研究进展。

关键词: 原肌球蛋白;食物过敏;表位;免疫交叉反应;致敏性

中图分类号:TS 201.6 文章编号:1673-1689(2021)03-0001-10 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.03.001

Research Progress on Tropomyosin Allergen in Aquatic Animals

CHEN Hongbing^{1,2}, HU Xin^{1,3}, XIE Yanhai^{1,4}, HUA Xiwei^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 2. Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 3. College of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 4. Science Center of Laboratory Animal, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Tropomyosin (TM) is a common pan-allergen in crustaceans, and its allergenicity is also confirmed in certain kinds of fish. Tropomyosin has a conservative structure, high homology, strong allergenicity and extensive immune cross-reactivity. The studies of tropomyosin allergenicity and its reduction method, immune cross-reaction are all related to the epitope on tropomyosin. Accordingly, epitope is the key target of tropomyosin research. This article briefly reviews the recent progress in aquatic tropomyosin study, including the properties, epitopes, immune cross-reactivity, allergenicity and its reduction.

Keywords: tropomyosin, food allergy, epitope, immune cross-reaction, allergenicity

食物过敏已被世界卫生组织(WHO)列为 21 世纪重要的健康问题之一^[1]。食物过敏影响呼吸系统、胃肠道消化系统和神经系统等,其症状主要表现为水肿、荨麻疹、腹泻、过敏性哮喘等,严重时可能危

及生命^[2]。

八大类过敏食物中包含甲壳类动物和鱼类^[3]。2018 年中国水产品总产量为 6 457.7 万吨,每年人均水产品消费量为 11.7 kg^[4]。随着水产品在我国

收稿日期:2020-07-12

基金项目:国家 863 计划项目(2013AA102205)。

作者简介:陈红兵(1967—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事食物过敏研究。E-mail:chenhongbing@ncu.edu.cn

消费量持续增加,其引起的食物过敏病例也逐渐增多,尤其是在沿海地区。与鸡蛋、牛奶过敏不同,水产品过敏通常是伴随终生的,将对人类健康产生巨大威胁^[9]。因此,水产品引起的食物过敏值得高度重视。

致敏原是指可以诱导机体产生 IgE, 引起 I 型超敏反应的抗原^[6]。原肌球蛋白(tropomyosin, TM)是一种重要的食物致敏原,广泛存在于甲壳类、贝类等水产品中。本文中常见水生动物原肌球蛋白的性质、表位和免疫交叉反应、致敏性及其消减的研究进展进行总结。

1 原肌球蛋白

原肌球蛋白是一种耐热的酸性糖蛋白,相对分子质量为 $3.6 \times 10^4 \sim 4.0 \times 10^4$ ^[7]。TM 主要存在于肌肉

中,与肌动蛋白结合形成复合物调节肌肉收缩。在非肌肉中, TM 主要功能是维持细胞骨架的完整性^[8]。每个 TM 分子有 7 个肌动蛋白结合位点,可结合 7 个肌动蛋白^[9]。TM 二级结构是由 2 个 α 螺旋多肽链相互缠绕形成的超螺旋结构, α 螺旋占比大于 80%, 剩余为 β 螺旋、无规则卷曲等,没有复杂的三、四级空间结构^[10]。TM 结构保守,其中大部分保守的氨基酸序列位于 N 末端和 C 末端^[11]。

原肌球蛋白是多种无脊椎动物中的一种泛致敏原,是软体动物和甲壳类动物的主要过敏原,同时也是其他一些无脊椎动物(屋尘螨等)的次要过敏原^[12]。世界卫生组织与国际免疫联合会(IUIS)下属的过敏原国际命名委员会对已确认的 TM 致敏原进行了登记收录(见表 1)。

表 1 官方认可的致敏原原肌球蛋白^[13]

Table 1 Officially recognized tropomyosin allergens^[13]

	中文名	拉丁学名	致敏原名称	相对分子质量	暴露途径
节肢动物	锈斑蜉	<i>Charybdis feriatus</i>	Cha f 1	3.40×10^4	摄入
	北海褐虾	<i>Crangon crangon</i>	Cra c 1	约 3.80×10^4	摄入
	秀丽白虾	<i>Exopalaemon modestus</i>	Exo m 1	3.80×10^4	摄入
	美洲龙虾	<i>Homarus americanus</i>	Hom a 1	3.40×10^4	摄入
	凡纳滨对虾	<i>Litopenaeus vannamei</i>	Lit v 1	3.60×10^4	摄入
	罗氏沼虾	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Mac r 1	3.70×10^4	摄入
	宽沟对虾	<i>Melicertus latisulcatus</i>	Mel l 1	3.80×10^4	摄入
	刀额新对虾	<i>Metapenaeus ensis</i>	Met e 1	3.40×10^4	摄入
	北方长额虾	<i>Pandalus borealis</i>	Pan b 1	3.70×10^4	摄入
	中国龙虾	<i>Panulirus stimpsoni</i>	Pan s 1	3.40×10^4	摄入
	褐对虾	<i>Penaeus aztecus</i>	Pen a 1	3.60×10^4	摄入
	印度对虾	<i>Penaeus indicus</i>	Pen i 1	3.40×10^4	摄入
	斑节对虾	<i>Penaeus monodon</i>	Pen m 1	3.80×10^4	摄入
	远海梭子蟹	<i>Portunus pelagicus</i>	Por p 1	3.90×10^4	摄入
	克氏原螯虾	<i>Procambarus clarkii</i>	Pro c 1	3.60×10^4	摄入
	埃及伊蚊	<i>Aedes aegypti</i>	Aed a 10	3.20×10^4	吸入
	德国小蠊	<i>Blattella germanica</i>	Bla g 7	3.10×10^4	吸入
	热带无爪螨	<i>Blomia tropicalis</i>	Blo t 10	3.30×10^4	吸入
	花翅摇蚊	<i>Chironomus kiiensis</i>	Chi k 10	3.25×10^4	叮咬
	拱殖嗜渣螨	<i>Chortoglyphus arcuatus</i>	Cho a 10	4.20×10^4	吸入
	家白蚁	<i>Coptotermes formosanus</i>	Copt f 7	3.54×10^4	吸入
	粉尘螨	<i>Dermatophagoides farinae</i>	Der f 10	3.70×10^4	吸入
	屋尘螨	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Der p 10	3.60×10^4	吸入
	害嗜鳞螨	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	Lep d 10	4.00×10^4	吸入
	蠹虫	<i>Lepisma saccharina</i>	Lep s 1	3.60×10^4	吸入
	美洲大蠊	<i>Periplaneta americana</i>	Per a 7	3.30×10^4	吸入
	腐食酪螨	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	Tyr p 10	3.30×10^4	吸入

续表 1

	中文名	拉丁学名	致敏原名称	相对分子质量	暴露途径
软体动物	澳洲鲍	<i>Haliotis laevis</i> / <i>Haliotis rubra</i>	Hal l 1	3.34×10 ⁴	摄入
	散大蜗牛	<i>Helix aspersa</i>	Hel as 1	3.60×10 ⁴	摄入
	僧帽牡蛎	<i>Saccostrea glomerata</i>	Sac g 1	3.80×10 ⁴	摄入
	太平洋褶柔鱼	<i>Todarodes pacificus</i>	Tod p 1	3.80×10 ⁴	摄入
	太平洋牡蛎	<i>Crassostrea gigas</i>	Cra g 1	3.80×10 ⁴	摄入
鱼类	莫桑比克罗非鱼	<i>Oreochromis mossambicus</i>	Ore m 4	3.30×10 ⁴	摄入
	虎头鲨	<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>	Pan h 4	3.50×10 ⁴	摄入
	大西洋鲑	<i>Salmo salar</i>	Sal s 4	3.70×10 ⁴	摄入
线虫动物	异尖线虫	<i>Anisakis simplex</i>	Ani s 3	4.10×10 ⁴	摄入
	蛔虫	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Asc l 3	4.00×10 ⁴	摄入

资料来源:www.allergen.org。

1.1 鱼类原肌球蛋白

脊椎动物 TM 与无脊椎动物 TM 同源性约为 55%,与无脊椎动物 TM 相比,脊椎动物 TM 结构更加灵活多变^[14]。一般认为脊椎动物 TM 没有致敏性,然而近年来发现少数鱼类 TM 具有致敏性^[15]。鱼类中的主要致敏原是小清蛋白,Liu 等^[16]的研究表明原肌球蛋白(Ore m 4)是莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)的致敏原^[4],同时也是 TM 作为脊椎动物致敏原的较早报道。该 TM 与人原肌球蛋白亚型 5 同源性为 87.7%,引起的过敏反应与自身免疫十分相似。另外,研究者在带鱼(*Trichiurus lepturus*)^[17]、鲤鱼^[18]中发现有相对分子质量与 TM 相似且具有致敏性的蛋白质。张晶宇^[19]发现牙鲆鱼(*Paralichthys olivaceus*)原肌球蛋白 alpha-1、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)原肌球蛋白 alpha-1 和 alpha-4 与已知致敏原莫桑比克罗非鱼 Ore m 4 的相似性分别为 97.9%、82.0%、89.0%,推测这 3 种蛋白质可能具有潜在的致敏性。如今相关研究领域已对鱼类 TM 的致敏性有越来越多的研究。

1.2 甲壳类动物原肌球蛋白

虾和蟹是人类食用的主要甲壳类动物,其中虾的 TM 约占虾肌肉的 5%~7%^[20]。TM 是甲壳类动物中主要致敏原,该致敏原最早在 1981 年被报道^[21]。60%~80% 甲壳类动物过敏患者对原肌球蛋白 IgE 反应为阳性^[22]。在甲壳类动物肌肉中发现了 TM 2 种亚型:快型和慢型。虽然这 2 种亚型之间结构相似,但是某些特定氨基酸序列具有差异^[23]。目前,多种甲壳类动物的 TM 已被纯化和鉴定^[24-29]。TM 可存在于螃蟹、虾的加工环境中,与职业性过敏有关^[30]。

1.3 软体动物原肌球蛋白

相比于甲壳类动物,软体动物的 TM 研究较少。目前,WHO 公认的软体动物的致敏原有 6 种(Cra g 1、Hal l 1、Hel as 1、Sac g 1、Tod p 1、Hal m 1),其中前 5 种为 TM。Miyazawa 等^[31]于 1996 年已报道 TM 是鱿鱼(*Todarodes pacificus*)的主要致敏原。黄榕芳^[32]克隆了栉孔扇贝(*Azumapecten farreri*)TM 的 cDNA 序列,得到等电点为 4.46 的原肌球蛋白。吕良涛^[33]对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)TM 进行分离纯化以及分子克隆,结果表明菲律宾蛤仔 TM 相对分子质量约为 3.7×10⁴,等电点 5.1。与甲壳类动物 TM 类似,软体动物 TM 也存在职业性过敏风险。如有一名厨师加工和烹饪鱿鱼后出现过敏症状并被确诊为过敏^[34]。

2 原肌球蛋白表位和免疫交叉反应研究

2.1 原肌球蛋白抗原表位

表位(epitope)又称为抗原决定簇,是指抗原分子中可诱导免疫反应的数个氨基酸组成的序列和空间结构^[7]。按照空间结构,表位可分为线性表位与构象表位。线性表位与食物过敏关系密切^[35],对于 TM 表位的研究以线性表位为主。致敏原表位区域比非表位区域更加稳定^[36]。TM 被胃肠消化后,其表位结构会在消化过程中发生改变。消化过程中,酶可能破坏或改变 TM 部分表位,也可暴露更多隐藏在内部的线性表位^[37]。TM 表位的研究对免疫交叉反应、致敏性评价与消减、临床诊断等均有重要作用。

2.1.1 原肌球蛋白表位研究方法 研究致敏原表位的实验方法包括重叠肽库技术、噬菌体展示技

术、质谱、蛋白质芯片、表面等离子共振技术等^[38],此外还可使用生物信息学方法进行表位预测。常见的表位预测软件包括 DNASTar Protean System、AntheProt software、BepiPred 2.0 Server、SOPMA 等,再结合抑制性斑点印迹、酶联免疫吸附实验(ELISA)、嗜碱性粒细胞脱颗粒实验等进行鉴定^[39-40]。另外,高通量测序与基因编辑技术也逐渐在表位研究中得到运用^[41]。

2.1.2 甲壳类动物原肌球蛋白表位定位与鉴别 已有不少学者对甲壳类动物 TM 表位进行定位与鉴别。如 Ayuso^[42]使用重叠肽库鉴定出褐对虾的 5 个线性表位。Zheng^[43]利用 DNASTar Protean 系统、癌症疫苗中心(CVC)的生物信息学预测抗原肽(BPAP)系统和 BepiPred 1.0 Server 预测斑节对虾 Pen m 1 表位,得到 10 个预测表位并鉴定出其中 8 个为主要表位,酪氨酸、谷氨酸、精氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸在表位中比例较高。韩建勋^[44]研究发现,凡纳滨对虾 TM 中 Peptide 1、Peptide 3、Peptide 6 和 Peptide 9 是关键性表位。南美白对虾 Lit v 1 已预测出 10 个线性表位,其中 8 个通过间接竞争 ELISA 得到验证。Peptide 2(28—41)则未见报道,或为南美白对虾 TM 的特异性表位^[45]。杨煌^[46]预测出拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)TM 的 8 个 T 细胞表位,其表位分布范围广,患者几乎都可识别。王学丽^[47]用南美白对虾 TM 的抗消化表位合成肽灌胃 Balb/c 小鼠,其中 3 个抗原表位肽(111—125、137—141、50—66)引起小鼠特异性 IgE 抗体和组胺水平上升,证明 TM 经过消化后部分表位仍具有免疫活性,这 3 个表位或是虾过敏的关键性表位。华希玮等^[48]预测到日本沼虾 10 个 B 细胞线性表位与 5 个 T 细胞表位,与已确定的 TM 表位有重叠部分。Zhang 等^[49]采用 DNASTar Protean System、AntheProt software、BepiPred 2.0 Server 3 个软件预测秀丽白虾 TM 表位,并使用抑制性斑点印迹和重叠肽库鉴定出 5 个线性表位:Epitope 1(43—59)、Epitope 2(85—105)、Epitope 3(131—164)、Epitope 4(187—201)、Epitope 5(243—280),同时对胃肠道消化物进行表位预测,33 个消化后的肽段中有 26 个呈 IgE 阳性。

2.1.3 软体动物原肌球蛋白表位定位与鉴别 与虾 TM 相比,对软体动物 TM 的表位研究相对较少。牡蛎 Cra g 1 表位已明确包含 AA92—105(IQLEEDMERSEER)^[49]。Ishikawa^[50]鉴定了章鱼

Oct v 1 表位为 AA77—112、AA148—160、AA269—281,表位 AA77—112 与牡蛎 Cra g 1 表位 AA92—105 有相同的序列。黄蓉芳^[32]研究了 18 种软体动物 TM 的序列一致性,发现氨基酸序列保守区域为:AA120—125、AA164—178、AA214—228、AA251—261,其中 AA251—261 与 Pen a 1 表位有重合部分,或可导致交叉反应。吕良涛^[51]在排除人、猪 TM 和菲律宾蛤仔 TM 相同的表位后,预测确定了菲律宾蛤仔 TM 的 4 个线性表位:Peptide 2、Peptide 6、Peptide 9 和 Peptide 10。

2.2 原肌球蛋白免疫交叉反应

交叉反应是一种致敏原诱导机体产生的 sIgE 与另一种相似致敏原结合诱发产生的过敏反应^[52]。交叉反应的物质基础是抗原表位^[53]。不同致敏原有相同或相似的表位易产生交叉反应。国际食品法典委员会(CAC)对交叉反应评估标准进行了修订:蛋白质中的氨基酸数目超过 80,当氨基酸同源性大于 35%或者含有相同的 8 个连续氨基酸,该蛋白质可能存在交叉反应性^[54]。致敏原氨基酸序列同源性高,可能导致其三维结构具有同源性^[55]。同源性高并不能证明一定产生免疫交叉反应,需要结合血清学实验研究,但是血清学交叉反应与临床反应不一定完全相关^[56]。

2.2.1 水产品 TM 之间免疫交叉反应 TM 结构保守,多种 TM 具有共同的 IgE 表位,因此 TM 交叉反应广泛存在。无脊椎动物 TM 之间的交叉反应已得到证实^[57],并且无脊椎动物致敏原中 TM 交叉反应最强。

过去,脊椎动物的 TM 基本被认为无致敏性。但是,近年来研究表明某些鱼类和贝类中的 TM 也可能存在潜在的交叉反应^[58]。李荔等^[59]克隆纯化的斑马鱼 TM 对鱼虾蟹过敏患者血清具有良好的免疫活性。2018 年报道了一位虾过敏患者在摄取一定量的鱼后出现过敏反应,特异性 IgE(ImmunoCAP ISAC)实验中检测了 112 种致敏原组分,鱼小清蛋白无阳性反应,对 TM(Pen m 1、Der p 10、Ani s 3、Bla g 7)呈阳性。该患者血清与相对分子量 3.6×10^4 条带对应物质呈 IgE 阳性反应,免疫印迹结果表明该条带为 TM,证明鳕鱼 TM 可与虾 TM 发生交叉反应^[60]。

甲壳类动物之间 TM 同源性可达 98% 以上。Zheng 等^[43]比较了 14 种甲壳类动物 TM 氨基酸序列,发现凡纳滨对虾、斑节对虾、褐美对虾 TM 表位

序列基本一致,且 14 种 TM 潜在表位也具有高度相似性,或可以进一步解释交叉反应的发生。Abramovitch^[26]通过免疫印迹与 ELISA 发现远海梭子蟹与斑节对虾的 TM 有交叉反应性。周瑾茹^[45]研究表明 21 种虾、蟹的 TM 同源性均大于 80%,具有潜在交叉反应性。

与甲壳类动物 TM 相比,软体动物之间的 TM 同源性相对较低。Leung 对 TM 进行了系统发育分析, TM 主要分为两大类:节肢动物 TM 与软体动物 TM。这两类平均同源性分别为 91.7%和 77.2%。与甲壳类动物 TM 相比,软体动物 TM 的同源性低很多(56%~68%),表明软体动物 TM 更加多样化,致敏能力或有不同。TM 不是唯一引起甲壳类动物与软体动物免疫交叉反应的致敏原^[61]。已知甲壳类动物 TM 的 97 个 IgE 表位中,软体动物 TM 中含有 26 个,其中双壳纲动物 TM 共有表位更少,特异性更强^[52]。因此,甲壳类动物与软体动物 TM 之间的交叉反应还不是很明确。

2.2.2 水产品 TM 与其他 TM 的免疫交叉反应 TM 也是一种吸入性致敏原,在蟑螂、尘螨等昆虫中存在。除了在水产品间存在外,蟑螂、尘螨与甲壳类动物、软体动物之间也存在一定的 TM 交叉反应。蟑螂、尘螨与甲壳类动物同属于节肢动物,更易发生交叉反应^[62]。蟑螂和螨虫 TM 与虾 TM 同源性可达 80%以上,其 IgE 表位相似度高于软体动物 TM,所以虾过敏患者对蟑螂和螨虫的交叉反应风险更高^[12]。Der p 10 并不是屋尘螨主要致敏原,但螨虾过敏综合征(Mite Shrimp Allergy Syndrome, MSAS)已被证实^[63]。TM 交叉反应还具有地域性及气候性差异,中国农村虾致敏性高于城市,而蟑螂和灰尘较多有诱发虾过敏的可能^[64]。也有研究表明尘螨与虾 TM 阳性反应率低,交叉反应可能由其他致敏原引起^[65]。

可食用昆虫与甲壳类动物的 TM 之间也存在交叉反应,甲壳类动物过敏患者食用粉虫具有过敏风险。在一项双盲食物激发实验中,15 名虾过敏患者中有 13 人对粉虫产生过敏反应,主要致敏原是原肌球蛋白和(或)精氨酸激酶^[66]。Jeong 等^[67]发现重组家蚕 TM 与其他可致敏 TM 同源性为 78.5%~81.0%,ImmunoCAP 结果显示对家蚕 TM 呈阳性的 8 份血清中有 6 份对虾、螃蟹 TM 也呈阳性,证明家蚕 TM 与甲壳类动物 TM 具有潜在交叉反应。

鸡、猪、兔、人的 TM 与刀额新对虾 TM 的同源性在 53%~57%^[61]。吕良涛^[51]的研究表明菲律宾蛤仔和猪的 TM 同源性为 50.35%,氨基酸序列差异较大,预测基本无交叉反应。

3 原肌球蛋白致敏性及其消减的研究

3.1 原肌球蛋白致敏性评价

致敏原的致敏性评价主要有生物信息学方法、血清学方法、模拟胃肠液消化实验、细胞学方法和动物模型实验^[68]。其中细胞学方法常见的有 KU812 和肥大细胞等细胞模型;动物模型实验中常用的动物有 C57BL/6、C3H/HeJ、DBA2、Balb/c 等^[69]小鼠品系以及 SD、Wistar 和 BN^[70]大鼠品系。

3.1.1 原肌球蛋白致敏性的体外评价 TM 是一种致敏性强的致敏原,血清学实验证明了多种 TM 的致敏性。口虾蛄 TM 的血清 IgE 反应呈阳性,但其肉中 TM 含量很低,推测基本不会引发食物过敏^[71]。李智伟^[72]检测了 35 位虾过敏患者血清 IgE,其中 25 位患者(71.4%)对 TM 有反应。南极磷虾作为新型食物来源,免疫印迹结果证明 TM 是南极磷虾中主要致敏原,且与美国龙虾 TM 相似。鱼类 TM 中鳕鱼和长鳍金枪鱼 TM 可被 IgE 识别,具有致敏性^[58]。

日本沼虾 TM 可导致 KU812 细胞产生明显的脱颗粒作用,Balb/c 小鼠模型中 TM 组血液中 IgE、IgG1 水平明显升高,证明日本沼虾 TM 具有很强的致敏性^[73]。张江涛^[74]利用重组的牡蛎 Cra g 1 致敏原建立 BN 致敏大鼠模型,与对照组相比,致敏组白细胞和淋巴细胞等含量上升,血液中 IgE、IgG 水平和组胺释放量上升,肠道肥大细胞产生脱颗粒现象,该动物模型可运用于 Cra g 1 的致敏性研究。Xu 等^[75]使用 Balb/c 小鼠模型与 RBL 细胞模型比较了对虾、蛤蜊和鱼类 TM 致敏性,发现鱼 TM 致敏性较弱,虾 TM 和蛤蜊 TM 可使小鼠体内 IgE、IgG1、组胺等显著升高,RBL 细胞脱颗粒现象明显,具有强致敏性,同时发现 TM 煮沸前后致敏性变化不显著。

3.1.2 原肌球蛋白胃肠消化稳定性 食物中的致敏原经胃肠道消化后,其结构与表位会产生变化,致敏性也随之改变^[76]。模拟胃肠液消化实验对食物致敏原的致敏性评价更准确。TM 性质稳定,经过胃肠消化后依然具有致敏性^[77]。

锯缘青蟹(*Scylla serrata*)TM 在消化 60 min 后,相对分子质量为 3.4×10^4 的产物仍具有免疫活性^[78]。

南美白对虾与斑节对虾 TM 用模拟胃液处理后仅出现小部分降解,模拟肠液处理 4 h 后原 TM 条带仍存在,免疫印迹结果表明致敏性虽有下降但未消失,且南美白对虾 TM 比斑节对虾 TM 更耐消化^[79]。黄天娇^[80]选择 4 种烹饪方式对虾进行处理后,再进行体外消化,发现经水煮、油炸、红烧,虾肉产物免疫活性分别下降 86.90%、88.94% 和 97.39%。牡蛎 Cra g 1 酸处理后因构象改变而使 IgE 结合能力下降,对酸处理后的产物进行胃蛋白酶和胰蛋白酶的水解,胃蛋白酶降低致敏性,胰蛋白酶反而使其致敏性上升,可能是因为降解的 TM 片段暴露或产生了更多的表位^[81]。

3.2 原肌球蛋白致敏性消减研究

开发低敏食物是改善食物过敏的一个重要方法,因此如何利用食品加工技术降低致敏性是一个重要问题。食品加工过程中,加工使 TM 结构产生变化,表位被破坏或者改变,进而影响其致敏性^[82]。致敏性消减方法可分为物理法、化学法、生物法等。使用单一方法对 TM 的致敏性消减效果有限,多种技术联合使用是致敏性消减的研究趋势。

3.2.1 物理方法 物理方法是利用热处理、高压、超声、辐照等方法直接破坏 TM 的结构,进而影响其致敏性。TM 是一种耐高温的蛋白质,因此单纯通过加热对于 TM 致敏性的影响很小。用高静压技术(HPP)处理凡纳滨对虾 TM 可破坏其一级结构^[44]。Ozawa^[83]将虾肉高压加热(121 °C、20 min),ELISA 结果表明 TM 的 IgE 结合能力下降,连续同样条件处理 3 次后,TM 低于检测阈值,证明高压加热是降低虾 TM 致敏性的有效办法。

辐照技术可以使蛋白质发生交联、降解,分子构象发生变化^[84]。如刘光明等^[85]研究表明小剂量辐照对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)和三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)TM 影响不大,加大剂量(10 kGy)后可部分破坏 TM 的表位并降低其致敏性。官爱艳等^[86]发现电子束辐照可以降低中华管鞭虾(*Solenocera crassicornis*)TM 的含量和致敏性,辐照能够降解 TM 和改变 TM 空间构象,消减致敏性效果与辐照剂量成正比。

3.2.2 化学方法 糖基化是蛋白质中游离氨基与还原糖之间的反应,在致敏性消减中应用较广^[87]。虾 TM 富含游离氨基的赖氨酸,因此糖基化能够破坏其表位,降低致敏性^[88]。

Zhang^[89]发现低聚半乳糖、甘露寡糖和麦芽五糖可以降低虾 TM(Exo m 1)致敏性,但是低聚果糖与 TM 发生美拉德反应后,致敏性反而升高,可能是因为原表位被破坏后产生了新致敏原。杨煌^[46]将拟穴青蟹 TM 与 L-阿拉伯糖反应,免疫印迹和斑点印迹结果表明美拉德产物的 IgE、IgG 结合能力下降,并且通过树突状细胞(DC)模型发现美拉德产物抑制 CD86 表达水平,影响 DC 对 T 细胞提呈。Masako 等^[90]将扇贝 TM 与葡萄糖反应(60 °C、3 h)后 IgE 结合活性降低。蔺海鑫等^[91]发现菲律宾蛤仔 TM 在美拉德反应发生后 α -螺旋含量下降 71.7%,IgE 结合能力下降 76.2%。 α -螺旋的稳定性与 NH—和—CO 之间的氢键有关,证明美拉德反应会破坏 TM 的结构稳定性。

3.2.3 酶法 酶法是利用蛋白酶断裂肽键破坏一级结构降低蛋白质相对分子质量,或者破坏抗原表位和改变空间结构来降低致敏性^[92]。董晓颖等^[93]使用 5 种蛋白酶对海白虾 TM 进行酶解,间接 ELISA 结果表明风味蛋白酶和中性蛋白酶降低致敏性的效果最好。孙佳益^[94]使用 5 种酶(胰蛋白酶、菠萝蛋白酶、碱性蛋白酶、无花果蛋白酶、 α -胰凝乳蛋白酶)作用于南美白对虾 TM,其中无花果蛋白酶可以显著消减致敏性。高永艳等^[95]使用菠萝蛋白酶单一酶解与酶解复合超声方法处理南美白对虾虾糜,ELISA 结果表明致敏性分别下降 30.70% 和 33.33%。张弛^[96]使用碱性蛋白酶水解后的褐对虾 Pen a 1 构建小鼠致敏模型,水解 TM 组与 TM 组相比,sIgE 水平下降 40.44%,组胺水平下降 5%。贾莹等^[97]使用酶解和超高压结合方法处理南美白对虾 TM,ELISA 结果表明致敏性下降 95.27%。酶的种类很多,温度与酶解时间等对酶解效果也有影响,选择酶时应注意是否有合适的酶切位点。

3.2.4 其他方法 基因改良是将定点表位的基因敲除或进行基因突变,根本上改变蛋白质的组成和性质从而降低甚至消除致敏性。Wai 等^[98]对虾 TM(Met e 1)进行定点突变,致敏的小鼠血液 IgE 结合能力和肥大细胞脱颗粒现象显著下降。Liu 等^[98]将锯缘青蟹 TM 3 个关键氨基酸(R 90、E 164、Y 267)用丙氨酸进行替代,突变后的 TM 与原 TM 相比与患者血清 IgE 结合活性明显降低。梅雪娇^[100]通过基因定点突变降低拟穴青蟹 TM 的致敏性,对 TM 关键氨基酸进行基因定点突变,突变 TM 与原 TM 相比,IgE 结合能力下降 18.1%。但是该技术存在一定的

风险,可能产生新的表位^[10]。

反义肽是DNA反义链编码而成的肽段,可与正义肽特异性配对,通过生物信息学方法筛选与TM特异性结合的适配体小肽。适配体小肽能与目标蛋白质强亲和力结合,12个TM的适配体小肽对拟穴青蟹TM和IgG的结合均有抑制作用^[100]。

4 展望

随着水产品产量和消费量的迅速增加,甲壳类水产品引起的食物过敏现象越来越普遍。原肌球蛋白是甲壳类水生动物中一种重要的致敏原,研究人

员对TM的性质、表位、交叉反应、致敏性及其消减等方向不断探索,已取得了很多重要进展。TM的结构与基本性质已被基本了解,各种生物信息学软件分析促进了对TM表位的研究。同时TM表位的研究对探索致敏性与交叉反应等至关重要。但对TM的研究还有很多难题,如在表位方面对其构象表位的了解还知之甚少,TM交叉反应的机制尚不明确等。生产低致敏甚至脱敏水产品加工食品具有广阔前景,但目前基本停留在理论研究阶段,还需要进一步深入探索。

参考文献:

- [1] KIRSCH S, FOURDRILIS S, DOBSON R, et al. Quantitative methods for food allergens: a review[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 395: 57-67.
- [2] 刘方方, 曹晖, 孙若琳, 等. 食物过敏的机理与安全控制[J]. 扬州大学烹饪学报, 2014, 31(1): 32-35.
- [3] 米娜莎, 王栋, 王宁, 等. 水产品过敏原危害性评价及管理建议[J]. 中国渔业质量与标准, 2017, 7(6): 30-35.
- [4] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴—2019[R]. 北京: 中国统计出版社, 2019: 12-15.
- [5] 尹悦, 刘堂喻亨, 李晓珍, 等. 天津大学生过敏性疾病的调研与分析[J]. 实用检验医师杂志, 2014, 6(2): 91-94.
- [6] 曹雪涛. 医学免疫学: 第7版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [7] 林昕, 梁田田, 卢瑛. 南美对虾主要过敏原检测样品的快速简便预处理方法[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2019, 50(5): 796-800.
- [8] 周硕, 鲁正, 吴华, 等. 原肌球蛋白的功能与相关疾病的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(11): 1601-1604.
- [9] HOFFMAN D R, DAY E D, MILLER J S. The major heat stable allergen of shrimp[J]. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 1981, 47(1): 17-22.
- [10] 刘光明, 梁银龙, 翁凌, 等. 锯缘青蟹主要过敏原的纯化与鉴定[J]. 水生生物学报, 2010, 34(1): 108-114.
- [11] NUGRAHA R, KAMATH S D, JOHNSTON E, et al. Conservation analysis of B-cell allergen epitopes to predict clinical cross-reactivity between shellfish and inhalant invertebrate allergens[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1-13.
- [12] FABER M A, PASCAL M, KHARBOUCHI O, et al. Shellfish allergens: tropomyosin and beyond[J]. *Allergy*, 2017, 72(6): 842-848.
- [13] POMÉS A, DAVIES J M, GADERMAIER G, et al. WHO/IUIS allergen nomenclature: providing a common language[J]. *Molecular Immunology*, 2018, 100: 3-13.
- [14] JAMES J K, NANDA V. Comparative dynamics of tropomyosin in vertebrates and invertebrates[J]. *Proteins*, 2020, 8(2): 265-273.
- [15] REESE G, AYUSO R, LEHRER S B. Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 1999, 119(4): 247-258.
- [16] LIU R, HOLCK A L, YANG E, et al. Tropomyosin from tilapia (*Oreochromis mossambicus*) as an allergen[J]. *Clinical & Experimental Allergy*, 2013, 43(3): 365-377.
- [17] 杨睿, 吴海强, 刘志刚. 带鱼过敏原的分离、鉴定与纯化[J]. 热带医学杂志, 2008, 8(11): 1112-1114.
- [18] 肖有明, 刘红, 陈红兵, 等. 鲤鱼小清蛋白过敏原的分离纯化[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 385-388.
- [19] 张晶宇. 基于蛋白质组学的鱼类过敏原检测方法研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2019.
- [20] 富舒洁. 基于肠道菌群—宿主代谢途径的益生菌缓解原肌球蛋白致敏机理的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- [21] HOFFMAN D R, DAY E D, MILLER J S. The major heat stable allergen of shrimp[J]. *Annals of Allergy*, 1981, 47(1): 17-22.
- [22] PASCAL M, GRISHINA G, YANG A C, et al. Molecular diagnosis of shrimp allergy: efficiency of several allergens to predict

- clinical reactivity[J]. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology:in Practice**,2015,3(4):521-529.
- [23] MOTOYAMA K,SUMA Y,ISHIZAKI S,et al. Molecular cloning of tropomyosins identified as allergens in six species of crustaceans[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2007,55(3):521-529.
- [24] LALY S J,SANKAR T V,KUMAR P S. Identification of allergic proteins of Flower tail shrimp (*Metapenaeus dobsonii*) [J]. **Journal of Food Science and Technology**,2019,56(12):5415-5421.
- [25] FAISAL M,VASILJEVIC T,DONKOR O N. Effects of selected processing treatments on antigenicity of banana prawn (*Fenneropenaeus merguensis*) tropomyosin[J]. **International Journal of Food Science & Technology**,2019,54(1):183-193.
- [26] 黄于艺,陈惠芳,何颖,等. 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.
- [27] ABRAMOVITCH J B,SANDIP K,NIRUPAMA V,et al. IgE reactivity of blue swimmer crab (*Portunus pelagicus*) tropomyosin, Por p 1, and other allergens; cross-reactivity with black tiger prawn and effects of heating [J]. **Plos One**,2013,8(6):1-13.
- [28] 刘萌,刘思寒,刘红,等. 盐浓度 - 等电点沉淀技术联用制备高压后青蟹肌肉中过敏原的工艺研究[C]// 中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集. [出版地不详]:中国食品科学技术学会,2018:332.
- [29] MEI K,LI G,ZHANG J,et al. Studying on the IgG binding capacity and conformation of tropomyosin in *Ovalipes punctatus* meat irradiated with electron beam[J]. **Radiation Physics and Chemistry**,2020,168:1-6.
- [30] JEEBHAY M F,MOSCATO G,BANG B E,et al. Food processing and occupational respiratory allergy-an EAACI position paper [J]. **Allergy**,2019,74(10):1852-1871.
- [31] MIYAZAWA H,FUKAMACHI H,INAGAKI Y,et al. Identification of the first major allergen of a squid (*Todarodes pacificus*) [J]. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**,1996,98(5):948-953.
- [32] 黄榕芳. 软体类海产品主要过敏原的基因克隆及生物信息学分析[D]. 青岛:中国海洋大学,2014.
- [33] 吕良涛,蔺海鑫,高卿,等. 菲律宾蛤仔过敏原原肌球蛋白的鉴定与分子克隆[J]. 食品安全质量检测学报,2015,6(11):4538-4544.
- [34] WILFINGER D,KUEHN A,TAKACS S,et al. Occupational disease of the skin in a cook's mate suffering from contact urticaria caused by type I sensitization to tropomyosin from squid[J]. **Allergologie**,2020,43(1):3-9.
- [35] PEKAR J,RET D,UNTERSMAJR E. Stability of allergens[J]. **Molecular Immunology**,2018,100:14-20.
- [36] OZAWA H,UMEZAWA K,TAKANO M,et al. Structural and dynamical characteristics of tropomyosin epitopes as the major allergens in shrimp[J]. **Biochemical and Biophysical Research Communications**,2018,498(1):119-124.
- [37] 李军普. 牛奶过敏分子诊断及抗原表位分析[D]. 天津:天津医科大学,2019.
- [38] 羊红光,张立佳,成彬. B 细胞表位预测研究进展[J]. 河北省科学院学报,2019,36(3):21-27.
- [39] 薛海燕,韩波,李珊,等. 牛羊乳 α - 酪蛋白的 B 细胞抗原表位预测及免疫反应性分析[J]. 陕西科技大学学报,2017,35(5):133-138.
- [40] ZHANG Z Y,LI X M,XIAO H,et al. IgE-binding epitope mapping of tropomyosin allergen (Exo m 1) from *Exopalaemon modestus*, the freshwater Siberian prawn[J]. **Food Chemistry**,2020,309:125603.
- [41] 韩勇,高花,翟晓鑫,等. 新型多肽表位技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2017,44(2):44-52.
- [42] AYUSO R,REESE G,LEONG-KEE S,et al. Molecular basis of arthropod cross-reactivity: IgE-binding cross-reactive epitopes of shrimp, house dust mite and cockroach tropomyosins[J]. **International Archives of Allergy and Immunology**,2002,129(1):38-48.
- [43] ZHENG L N,LIN H,PAWAR R,et al. Mapping IgE binding epitopes of major shrimp (*Penaeus monodon*) allergen with immunoinformatics tools[J]. **Food and Chemical Toxicology**,2011,49(11):2954-2960.
- [44] 韩建勋. 高静压处理对虾原肌球蛋白致敏性及结构变化规律研究[D]. 北京:中国农业大学,2016.
- [45] 周瑾茹. 水产品主要过敏原毛细管电泳检测方法的建立及抗原表位的研究[D]. 杭州:浙江工商大学,2017.
- [46] 杨煌. 美拉德反应影响拟穴青蟹主要过敏原致敏性的机理研究[D]. 厦门:集美大学,2019.
- [47] 王学丽. 模拟胃液消化对虾类主要过敏原原肌球蛋白抗原表位和致敏性的影响[D]. 上海:上海海洋大学,2019.
- [48] 华希玮,谢彦海,陈红兵. 日本沼虾原肌球蛋白线性表位预测研究[J/OL]. (2020-04-02)[2020-05-10]. <http://fffg519dd384f3c94c4585c0545a358a706bhkwupu5ffw6p56fpp.fgy.ncu.cwkeji.cn:8080/kcms/detail/11.1759.TS.20200402.1308.006.html>.

- [49] ISHIKAWA M, ISHIDA M, SHIMAKURA K, et al. Tropomyosin the major oyster *crassostrea gigas* allergen and its IgE-binding epitopes[J]. **Journal of Food Science**, 1998, 63(1): 44-47.
- [50] ISHIKAWA M, SUZUKI F, ISHIDA M, et al. Identification of tropomyosin as a major allergen in the octopus *Octopus vulgaris* and elucidation of its IgE-binding epitopes[J]. **The Japanese Society of Fisheries Science**, 2001, 67(5): 934-942.
- [51] 吕良涛, 蔺海鑫, 李振兴, 等. 菲律宾蛤仔原肌球蛋白线性表位初步预测[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4): 1138-1145.
- [52] LEUNG N Y H, WAI C Y Y, SHU S A, et al. Current immunological and molecular biological perspectives on seafood allergy: a comprehensive review[J]. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, 2014, 46(3): 180-197.
- [53] 夏宏林, 何颖, 邹泽红, 等. 苹果过敏原 Mal d 4 蛋白抗原表位预测及交叉反应分析[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(1): 57-61.
- [54] 朱盼, 陈红兵, 胡纯秋, 等. 基于表位预测的花生过敏原 Ara h 6 免疫交叉反应性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 318-322.
- [55] PEDROSA M, BOYANO-MARTINEZ T, GARCIA-ARA C, et al. Shellfish allergy: a comprehensive review[J]. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, 2015, 49(2): 203-216.
- [56] 孙娜. 细胞模型用于食物蛋白致敏性评价及过敏机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [57] BARRE A, SIMPLICIEN M, CASSAN G, et al. Food allergen families common to different arthropods (mites, insects, crustaceans), mollusks and nematods: cross-reactivity and potential cross-allergenicity[J]. **Revue Francaise d'Allergologie**, 2018, 58(8): 581-593.
- [58] FERNANDEZ G, GUILLEN A, DASCHNER C. Possible allergenic role of tropomyosin in patients with adverse reactions after fish intake[J]. **Immunological Investigations**, 2018, 47(4): 416-419.
- [59] 李荔, 陈樱麟, 闫浩, 等. 斑马鱼原肌球蛋白基因克隆表达及免疫学鉴定[J]. 水产科学, 2013, 32(1): 26-30.
- [60] PEIXOTO S, MONTEIRO T, CARVALHO M, et al. Vertebrate tropomyosin as an allergen[J]. **Pubmed**, 2018, 28(1): 51-53.
- [61] TAYLOR S L. Molluscan shellfish allergy[J]. **Advances in Food and Nutrition Research**, 2008, 54: 139-177.
- [62] AALBERSE R C. Shrimp serology: we need tests with more and less cross-reactivity[J]. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: in Practice**, 2015, 3(4): 530-531.
- [63] TUANO K T S, DAVIS C M. Oral allergy syndrome in shrimp and house dust mite allergies[J]. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: in Practice**, 2018, 6(6): 2163-2164.
- [64] FENG M L, YANG Z W, PAN L Y, et al. Associations of early life exposures and environmental factors with asthma among children in rural and urban areas of Guangdong, China[J]. **Chest**, 2016, 149(4): 1030-1041.
- [65] YANG Z, ZHAO J, WEI N, et al. Cockroach is a major cross-reactive allergen source in shrimp-sensitized rural children in southern China[J]. **Allergy**, 2018, 73(3): 585-592.
- [66] BROEKHOVEN S V, BASTIAAN-NET S, JONG N W D, et al. Influence of processing and *in vitro* digestion on the allergic cross-reactivity of three mealworm species[J]. **Food Chemistry**, 2016, 196: 1075-1083.
- [67] JEONG K, HAN I S, LEE J, et al. Role of tropomyosin in silkworm allergy[J]. **Molecular Medicine Reports**, 2017, 15(5): 3264-3270.
- [68] 高琳, 杨安树, 高金燕, 等. 食物过敏原致敏性评估方法研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(7): 252-257.
- [69] 周微芳, 范卓妍, 姜松松, 等. 食品致敏性评价的动物和细胞模型研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4): 1120-1126.
- [70] HUANG J J, LIU C J, WANG Y, et al. Application of *in vitro* and *in vivo* models in the study of food allergy[J]. **Food Science and Human Wellness**, 2018, 7(4): 235-243.
- [71] MOTOYAMA K, SUMA Y, ISHIZAKI S, et al. 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.
- [72] 李智伟. 虾过敏患者 TM-sIgE 和 sIgG4 抗体表达水平及抗原表位谱分析[D]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [73] 邵虎明. 日本沼虾原肌球蛋白的分离鉴定及致敏性分析[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [74] 张江涛, 张瑞雪, 方磊, 等. 牡蛎 Cra g 1 蛋白大鼠致敏模型的建立与分析[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(18): 73-79.
- [75] XU L L, SUN L R, LIN H, et al. Allergenicity of tropomyosin of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and clam (*Ruditapes philippinarum*) is higher than that of fish (*Larimichthys crocea*) via *in vitro* and *in vivo* assessment[J]. **European Food Research and Technology**, 2020, 246(1): 103-112.
- [76] 赵鑫. 模拟消化对 Pen a1 及其抗原表位免疫原性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [77] MOTOYAMA K, ISHIZAKI S, NAGASHIMA Y, et al. Cephalopod tropomyosins: identification as major allergens and molecular

- cloning[J]. **Food and Chemical Toxicology**, 2006, 44(12):1997-2002.
- [78] 黄园园, 刘光明, 周利亘, 等. 蟹类主要过敏原的模拟肠胃液消化及其对过敏原活性的影响[J]. 中国食品学报, 2009, 9(4): 15-22.
- [79] LIU G M, HUANG Y Y, CAI Q F, et al. Comparative study of *in vitro* digestibility of major allergen, tropomyosin and other proteins between grass prawn (*Penaeus monodon*) and Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2011, 91(1):163-170.
- [80] 黄天娇, 王梦梦, 高永艳, 等. 不同烹饪方式及体外模拟消化对凡纳滨对虾主要过敏原肌球蛋白免疫活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(11):2424-2430.
- [81] ZHANG J T, LIU W Y, LEI F, et al. Effect of acid and *in vitro* digestion on conformation and IgE-binding capacity of major oyster allergen Cr a g 1 (tropomyosin)[J]. **Allergologia et Immunopathologia**, 2020, 48(1):26-33.
- [82] 林薇, 许素玲, 周琼艳, 等. 蟹类主要过敏原及其消减技术研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(3):290-296.
- [83] OZAWA H, YAMAMURA A, KIMIJIMA T, et al. Elimination of the major allergen tropomyosin from shrimp muscle by boiling treatment[J]. **Fisheries Science**, 2020, 86(7):197-202.
- [84] 韩建勋, 陈颖, 葛毅强. 虾类主要过敏原及其消减技术研究进展[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7):201-208.
- [85] 刘光明, 王玉松, 黄园园, 等. 辐照处理对蟹类过敏原(原肌球蛋白)性质的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2009, 48(2):287-292.
- [86] 官爱艳, 罗华彬, 梅卡琳, 等. 电子束辐照对中华管鞭虾原肌球蛋白免疫原性及其构象的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(3): 116-121.
- [87] KUMAR G R, KRITI G, AKANKSHA S, et al. Maillard reaction in food allergy: pros and cons[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2018, 58(2):208-226.
- [88] RAO Q C, JIANG X Y, LI Y D, et al. Can glycation reduce food allergenicity? [J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2018, 66(17):4295-4299.
- [89] ZHANG Z Y, LI X M, XIAO H, et al. Insight into the allergenicity of shrimp tropomyosin glycosylated by functional oligosaccharides containing advanced glycation end products[J]. **Food Chemistry**, 2020, 302:1-10.
- [90] TODA M, HEILMANN M, ILCHMANN A, et al. The Maillard reaction and food allergies: is there a link? [J]. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, 2014, 52(1):61-67.
- [91] 蔺海鑫, 林洪, 王晓斐, 等. 美拉德反应对菲律宾蛤仔原肌球蛋白结构及免疫活性的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(3):22-26.
- [92] 王文杰. 复合酶解法制备低致敏奶粉及其工厂设计[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [93] 董晓颖, 高美须, 潘家荣, 等. 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.
- [94] 孙佳益. 南美白对虾的主要过敏原的低致敏性处理方法及其评价体系研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
- [95] 高永艳, 陈钦再, 郭桂萍, 等. 南美白对虾主要过敏原原肌球蛋白的低致敏性处理方法研究[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(4):413-419.
- [96] 张弛. 酶解处理对虾致敏蛋白的致敏性影响分析[D]. 杭州: 中国计量学院, 2015.
- [97] 贾莹, 胡志和. 超高压结合酶法消减南美白对虾虾仁的致敏性[J]. 食品科学, 2016, 37(24):16-20.
- [98] WAI C Y Y, LEUNG N Y H, HO M H K, et al. Immunization with Hypoallergens of shrimp allergen tropomyosin inhibits shrimp tropomyosin specific IgE reactivity[J]. **Plos One**, 2017, 9(11):1-10.
- [99] LIU G Y, MEI X J, HU M J, et al. Analysis of the allergenic epitopes of tropomyosin from mud crab using phage display and site-directed mutagenesis[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2018, 66(34):9127-9137.
- [100] 梅雪娇. 基因定点突变和适配体小肽对拟穴青蟹主要过敏原的影响[D]. 厦门: 集美大学, 2019.
- [101] 陈瑜. 多酚化合物对虾类过敏原免疫活性的影响及抗过敏活性的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.