

Mise au point

Allergénicité des protéines de défense végétale

Allergenicity of plant defence proteins

H. Malandain ^{a,*}, F. Lavaud ^b

^a Laboratoire de biochimie, centre hospitalier Chubert, 56000 Vannes, France

^b Service des maladies respiratoires et allergiques, hôpital Maison-Blanche, Reims, France

Reçu le 6 octobre 2003 ; accepté le 21 avril 2004

Disponible sur internet le 23 juillet 2004

Résumé

La synthèse de protéines de défense fait partie des réponses biochimiques que les plantes ont développées pour lutter contre leurs ennemis naturels et contre les stress environnementaux. De nombreuses protéines de défense végétale sont allergisantes : chitinases, protéines de transfert lipidique LTP, protéines Bet v 1-like. Cet article rappelle les principales familles de protéines de défense végétale, leur impact allergique et l'effet de certains procédés agricoles ou technonutritionnels sur l'allergénicité des aliments végétaux.

© 2004 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

The synthesis of defence proteins is one of the biochemical responses that plants have developed to cope with their natural enemies and with environmental stresses. Many plant defence proteins are allergenic, for example, chitinases, lipid transfer proteins, Bet v 1-like proteins, etc. The present article briefly describes the families of plant defence proteins, and emphasizes their allergenic impact as well as pre- and post-harvest technologies that can affect the allergenicity of foods of vegetable origin.

© 2004 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Mécanismes de défense végétale ; PR-protéines ; Allergie alimentaire ; Familles d'allergènes

Keywords : Plant defence proteins; PR-proteins; Plant allergens; Food allergy

1. Introduction

Pour assurer leur croissance et leur reproduction les plantes doivent s'adapter aux conditions environnementales et lutter contre leurs nombreux ennemis naturels : adaptation au froid, à la salinité du sol, à la sécheresse, résistance aux attaques des insectes, des virus, des moisissures, etc. Les plantes ont développé de très nombreuses parades au cours

de leur évolution et, de tous temps, les sélectionneurs ont cherché à cumuler ces moyens défensifs naturels dans les variétés cultivées.

Les plantes sont dépourvues de système immunitaire adaptatif. Dans toutes ces situations de défense, les plantes utilisent une machinerie biochimique et, notamment, des protéines de défense végétale (PrDV). L'intérêt que porte l'allergologie aux PrDV provient de leur fréquente allergénicité [1]. Les raisons précises de cette allergénicité ne sont pas connues pour le moment. Cependant, en de nombreux points, un parallèle peut être fait entre réponse immunitaire innée des animaux supérieurs et réponse défensive des plantes [2].

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : henri.malandain@ch-bretagne-atlantique.fr
(H. Malandain).

2. Comment les plantes se défendent-elles ?

2.1. La réponse aux stress biotiques [3,4]

La panoplie des plantes est très vaste pour lutter contre les organismes phytophages (insectes adultes/larves, arthropodes, nématodes,...) et contre les pathogènes (virus, bactéries, moisissures,...).

En cas d'attaque la cellule végétale répond par la sécrétion de nombreux composés, dont des PrDV. Celles-ci, souvent de faible masse moléculaire et stables en milieu acide, peuvent être sécrétées hors de la cellule végétale pour combattre le pathogène : c'est le cas des chitinasés, des protéines thaumatin-like, etc. D'autres protéines ont un rôle passif et sont préformées dans la plante, notamment dans les organes de réserve (graines, tubercules, etc.) : ce sont par exemple des

inhibiteurs d'enzymes ou des lectines qui agissent au niveau du tube digestif du prédateur. Mais certaines protéines de réserve, comme les 2S-albumines ou les vicilines, semblent pouvoir aussi participer à l'action défensive au moment de la germination [5,6].

La stimulation des défenses végétales en un point de la plante peut aboutir à une production de PrDV dans toute la plante : c'est la résistance systémique acquise.

La Fig. 1 décrit les différentes phases de la réponse végétale à un stress biotique.

2.2. La réponse aux stress abiotiques [7]

La sécheresse, le froid, la salinité imposent des modifications métaboliques globales. De très nombreux gènes sont activés en réponse à ces stress, de sorte que l'analyse des

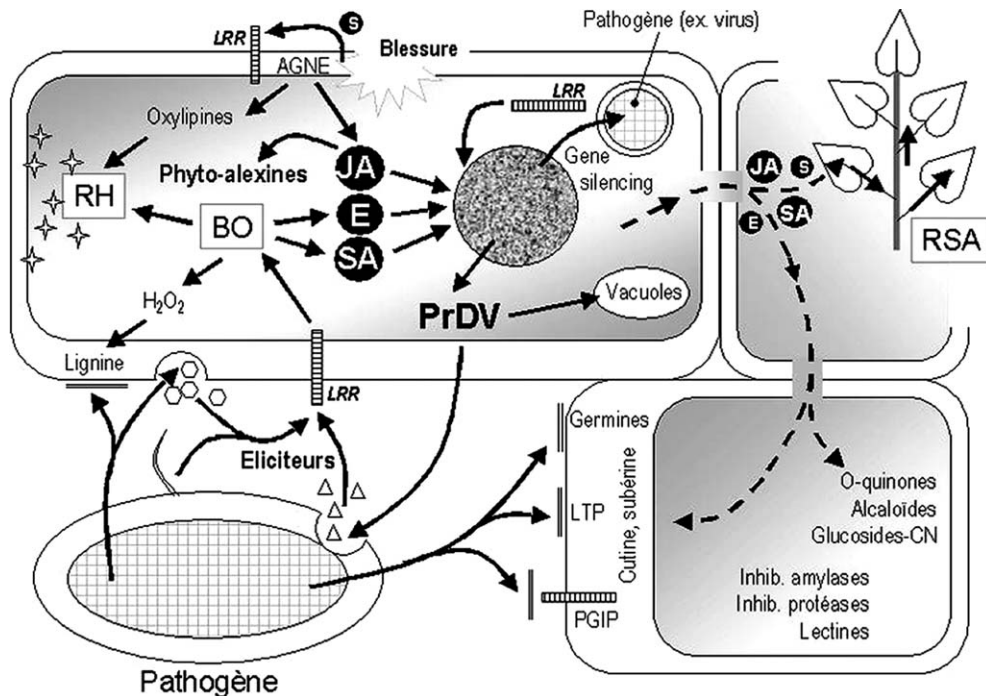


Fig. 1. Les réponses défensives des plantes.

Ce schéma symbolise quelques cellules végétales et leurs réponses vis-à-vis de divers types d'attaque : un pathogène externe (ex. une moisissure), un pathogène intracellulaire (ex. un virus), une blessure (celle-ci pouvant être mécanique ou liée à l'infection par un pathogène). De plus, les principales molécules stockées en prévision d'une attaque sont représentées (cellule végétale en bas à droite).

- Le pathogène extracellulaire attaque la paroi de la cellule végétale à l'aide de diverses enzymes. La lignine tend à s'y opposer. Quand la paroi végétale est endommagée, des fragments en sont émis (ex. des polysaccharides) : ce sont des « éliciteurs ». Ils sont repérés par des récepteurs (LRR ou Leucine-Rich Receptors). La flagelline ainsi que les glycanes libérés depuis le pathogène par la contre-attaque végétale sont aussi des éliciteurs.
- Les germines, les LTP (Lipid Transfer proteins) et les PGIP (Polygalacturonase Inhibiting Proteins) s'interposent à diverses molécules émises par le pathogène. Par exemple, les LTP protègent la cutine et la subérine membranaires de l'action des éliciteurs (molécules ayant pour rôle de rapporter des composés lipidiques indispensables au pathogène).
- La détection du pathogène par un récepteur LRR provoque une réaction en chaîne : on assiste à un « burst oxydatif » (= BO), avec notamment formation d' H_2O_2 (qui favorise la formation de lignine) et à la synthèse de phytohormones (E = éthylène ; SA = salicylate).
- La blessure provoque la libération d'acides gras insaturés membranaires (= AGNE) et l'activation d'un récepteur LRR par une hormone, la systémine (= S). Les AGNE sont utilisés pour la synthèse du jasmonate (= JA), qui est aussi une phytohormone, et de divers lipoperoxydes (= oxylipines).
- Le burst oxydatif peut s'amplifier : c'est la « réaction d'hypersensibilité » (= RH), qui peut aller jusqu'à la mort cellulaire.
- Les phytohormones JA, E et SA activent des synthèses de contre-attaque : les phytoalexines (petites molécules toxiques) et les PrDV qui comprennent des protéines et des peptides. Ces PrDV sont en partie excrétées, en partie stockées.
- La détection d'un virus entraîne une riposte d'inactivation du RNA viral (le « gene silencing »).
- Enfin, grâce aux plasmodesmata, les phytohormones gagnent les cellules végétales avoisinantes, puis toute la plante. Celle-ci acquiert alors une certaine résistance vis-à-vis du pathogène (ou de pathogènes proches) : c'est la « résistance systémique acquise » (= RSA).

changements d'expression des protéines est complexe. On peut néanmoins citer certaines familles de ces PrDV en raison de leur allergénicité :

- réponse aux stress thermiques : les HSP, ou « heat shock proteins », en association avec les cyclophilines [8], limitent les dégâts conformationnels aux protéines. Le froid suscite la sécrétion de bêta-1,3-glucanases, de lipocalines [9]. Les protéines PR-10, en transportant des brassinostéroïdes, pourraient contribuer à améliorer la résistance des plantes aux stress thermiques [10].
- réponse aux stress osmotiques : certaines thaumatin-like, les germines et des cystéine protéases répondent à des variations d'hydratation ou de salinité [7].

3. Importance des familles d'allergènes parmi les PrDV

3.1. La classification des PrDV

À la suite des travaux de Van Loon [11], il est d'usage de diviser les PrDV en deux catégories : les protéines dites PR, ou « pathogenesis-related », et les protéines PR-like. Selon cette classification, les PR-protéines ne sont exprimées par la plante que lors d'une attaque, tandis que les PR-like ont un rôle tantôt physiologique tantôt défensif.

En fait, pour les PrDV comme pour les phytohormones, la distinction entre local et systémique, entre préformé et néoformé, entre rôle physiologique et rôle de défense est souvent floue. Ainsi, la classification traditionnelle des PrDV en 14 familles de PR-protéines telle que proposée par Van Loon

[11], est trop restrictive : les bêta 1,3 glucanases (famille PR-2), les LTP (PR-14), les thaumatin-like (PR-5), etc. ont aussi des rôles physiologiques clairement démontrés ; inversement, des protéines ayant un net rôle défensif ne sont reconnues que comme des PR-like (ex. les inhibiteurs de polygalacturonases [12]).

3.2. Fréquence des PrDV parmi les allergènes végétaux

Sachant que beaucoup de protéines ont des fonctions tantôt physiologiques, tantôt défensives, il n'est pas aisé de chiffrer la part des PrDV parmi les allergènes végétaux. Cependant l'analyse des données de l'*International Union of Immunological Societies* (IUIS) [13] et de la littérature donne :

- 42 % des quelque 440 allergènes végétaux caractérisés à ce jour appartiennent à une famille de PrDV ;
- et on compte 26 familles de PrDV sur les 57 familles d'allergènes végétaux.

Le **Tableau 1** liste les familles de PR-protéines selon la classification de Van Loon. Le **Tableau 2** présente les familles de PR-like ayant montré une allergénicité.

3.3. Importance clinique des PrDV allergisantes

Certaines familles de PrDV sont responsables de réactions allergiques fréquentes et/ou sévères. La sensibilisation à ces allergènes peut conduire à une réactivité croisée et parfois à des tableaux cliniques d'allergies associées : sensibilisation à des protéines PR-10 dans le syndrome bouleau-pomme, sen-

Tableau 1
Les familles de PR-protéines selon la classification de van Loon [11]

	Famille de protéines	Mécanismes d'action défensive	Allergènes décrits		Référence indicative
			Nombre	Exemple	
PR-1	V5/Tpx-1/Sc7 ¹	?	1	Cuc m3 (melon)	[14]
PR-2	Bêta 1,3-glucanases	Attaquent les polysaccharides de la paroi du pathogène	2	Ole e 9 (olivier)	[15]
PR-3	Chitinases classe 1	Attaquent la chitine (fungi, insectes, nématodes)	16	Pers a 1 (Avocat)	[16]
	Chitinases classe 2	Synergie avec les bêta 1,3-glucanases	2	Latex	[17]
	Chitinases classe 4		1	Raisin	[18]
PR-4	Win-like	Activité lectine (inactivation de glycoprotéines)	4	Hev b 6.01 (pro-hévéine du latex)	[19]
PR-5	Thaumatin-like	Perméabilisation de la membrane. Résistance au choc osmotique, au froid	6	Mal d 2 (pomme)	[20]
PR-6	?	Inhibiteurs de protéases	0		[11]
PR-7	?	Endoprotéase	0		[11]
PR-8	Chitinases classe 3	Activité chitinase et/ou lysozyme	1	Hévamine (latex)	[21]
PR-9	Peroxydases	Détoxification de H ₂ O ₂	1	Farine de blé	[19]
		Synthèse de lignine			
PR-10	Bet v 1-like	Activité ribonucléase ?	24	Bet v 1 (bouleau)	[22]
		Transport de stéroïdes, de cytokines			
PR-11	?	Endochitinases	0		[11]
PR-12	Défensines	Antimicrobiens	0		[23]
PR-13	Thionines	Membranotoxines (perméabilisation)	0		[24]
PR-14	LTP (protéines de transfert lipidique)	Transport de lipides, défense de la membrane (cutine, subérine)	38	Pru p 3 (pêche)	[25]

¹ La famille V5/Tpx-1/Sc7 comprend des protéines d'organismes très divers et inclut notamment les allergènes du groupe 5 des Vespides et du groupe 3 des fourmis.

Tableau 2
Protéines PR-like allergisantes

Famille de protéines	Mécanismes d'action défensive	Allergènes décrits		Référence indicative
		Nombre	Exemple	
2S albumines	Protéines de stockage avec parfois activité inhibitrice d'amylase/trypsine	20	Bra j 1 (moutarde)	[26]
Inhibiteurs d'amylase/trypsine (ATI)	Inhibiteurs d'enzymes digestives d'insectes	6	Hor v 15 (farine d'orge)	[27]
Berberine bridge enzymes	Synthèse de phytoalexines	2	BG-60 (chiendent dactyle)	[28]
Cyclophilines	Protection 3D des protéines (ex. stress abiotiques)	2	Bet v 7 (bouleau)	[29]
Cystéine protéases C1	Toxicité pour les insectes phytophages	4	Act c 1 (kiwi)	[30]
Germines	Résistance à la déshydratation	1	Poivre	[31]
	Détoxification de l'oxalate ; tolérance à la sécheresse aux métaux lourds			
HSP (heat shock proteins)	Protection des protéines (ex. stress thermiques)	2	HSP-1 (noisette)	[32]
Inhibiteurs de sérine protéases, type Kunitz	Inhibition de diverses protéases (ex. larves d'insectes)	2	STKI (soja)	[33]
Inhibiteurs de sérine protéases, type potato-1		1	Farine de sarrasin	[34]
Isoflavone réductases	Synthèse de phytoalexines et de lignanes (résistance mécanique)	12	Pyr c 5 (poire)	[35]
Lectines	Liaison aux glycoprotéines (ex. tube digestif)	1	Agglutinine (arachide)	[19]
Patatin-like	Activité lipasique (sur les membranes ?)	3	Hev b 7 (latex)	[36]
Ribosome inactivating proteins (RIP)	Les RIP1 inactivent les ribosomes (virus, fungi). Les RIP2 ont une activité lectine	1	Sam n 1 (sureau)	[37]
Superoxyde dismutases Cu/Zn	Détoxification des radicaux libres	2	Ole e 5 (olivier)	[38]
Superoxyde dismutases Mn		2	Hev b 10 (latex d'hévéa)	[39]

sibilisation au domaine hévéine et aux chitinases de classe 1 dans le syndrome latex–fruits [40,41].

Dans les situations associant des réactions à un pollen et à des aliments, il est admis que l'allergie alimentaire est secondaire à une sensibilisation préalable par voie respiratoire [42]. D'autres allergies associées résultent d'une sensibilisation directe par voie digestive, les allergènes étant dits alors « complets » : c'est le cas pour les LTP (ex. pêche et autres fruits des rosacées) ou pour les 2S-albumines (ex. graines de légumineuses, moutarde, etc.) [19].

Hormis les protéines PR-10 présentes dans les pollens de fagales et dont le modèle est Bet v 1, l'importance des autres familles de PrDV dans les pollinoses est moins bien connue. C'est le cas notamment pour :

- les LTP contenues dans les pollens d'olivier, d'armoise, de pariétaire, d'ambrosie, de noyer ;
- les thaumatin-like qui représentent le groupe 3 des allergènes des Cupressacées ;
- les isoflavone réductases trouvées dans les pollens de bouleau, de cèdre du Japon et d'armoise.

Au niveau alimentaire, l'importance clinique des PR-10 est bien connue, conduisant à des tableaux de syndrome oral le plus souvent mais pas exclusivement [43]. Des réactions systémiques sévères ont été notées chez des patients sensibilisés à des 2S-albumines, des LTP ou des thaumatin-like [44], ou bien vis-à-vis du domaine hévéine. Enfin, certaines familles de PrDV ont une allergénicité alimentaire notable, même si celle-ci reste à mieux préciser : c'est le cas des bêta-1,3-glucanases, des patatin-like, des isoflavone réductases et des cystéine protéases C1.

4. Influence des procédés agricoles et technonutritionnels sur l'allergénicité due aux PrDV

4.1. Rendements agricoles et PrDV

Pour limiter les pertes agricoles dues aux insectes et aux arthropodes, il est fait appel à des traitements externes chimiques des cultures. Cependant, beaucoup de ces produits ont des effets néfastes sur la santé et sur la biosphère.

Parmi les solutions pour limiter l'emploi des pesticides, la transgénèse de protéines « Cry » insecticides est utilisée depuis quelques années pour le maïs et le coton [45]. Les gènes de ces protéines proviennent de *Bacillus thuringiensis*, une bactérie tellurique employée de longue date comme biopesticide en pulvérisations sur les cultures. Les plantes transgéniques « Bt » ainsi obtenues produisent donc une nouvelle protéine qui complète les moyens défensifs naturels. Les protéines Cry des plantes transgéniques autorisées pour l'alimentation humaine n'ont pas d'allergénicité connue [46].

Cependant, l'utilisation de la manipulation génétique pour lutter contre d'autres agresseurs des végétaux semble plus difficile et n'a pas reçu d'application commerciale à ce jour : il semble que la défense contre les moisissures, les bactéries et les nématodes nécessite des montages transgéniques plus complexes [47]. Il en est de même pour les stress abiotiques [48].

Divers essais ont montré la possibilité d'améliorer les défenses des plantes en transférant des PrDV : des chitinases, des thaumatin-like, des bêta-1,3-glucanases, etc. [49–52].

Il est aussi envisagé de construire des transgènes stimulant les défenses naturelles des plantes afin d'obtenir une réponse défensive plus large et donc plus efficace [53–56]. Une expression accrue de PrDV est donc attendue, que l'on cherchera à cibler au moment d'une attaque et aux parties de la plante concernées par cette attaque.

Il conviendra par conséquent de s'assurer de l'absence d'allergénicité de ces plantes transgéniques [57].

4.2. Conservation des aliments végétaux

Le simple stockage avant commercialisation peut augmenter la concentration de PrDV, certaines pouvant être des allergènes. Cela a été montré pour les pommes [58], les tomates [59], les cerises [60], les poivrons [61] et le raisin [62]. Cependant, la conservation à +20 °C ne semble pas modifier l'expression des LTP dans les pêches [63] et une atmosphère pauvre en oxygène limite l'augmentation de Mal d 1 et de Mal d 2 dans les pommes [58].

Les phytohormones, comme l'acide salicylique ou l'éthylène, ont un rôle essentiel dans la cascade défensive [64]. Mais ces molécules ont aussi de nombreuses actions au cours du développement normal de la plante. Par exemple, l'éthylène fait démarrer les changements métaboliques qui marquent le mûrissement des fruits. On utilise donc ce gaz pour maîtriser le moment de la commercialisation de certains fruits et légumes comme les pommes, les poires, les bananes, les tomates ou les avocats [65].

Cette utilisation de l'éthylène dans la chaîne agroalimentaire peut aboutir à une modification de l'IgE-réactivité vis-à-vis de l'aliment : cela a été montré pour le haricot vert [66] et pour le navet [67]. Armentia a noté une réponse plus importante des tests cutanés natifs pratiqués avec des tomates traitées par des phytohormones [68].

4.3. Les procédés technoolimentaires [69]

Les procédés chimiques et physiques pour obtenir des produits dérivés peuvent induire ou modifier l'allergénicité des aliments (isolats de blé [70], soja texturé [71]).

L'effet de la cuisson sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires a fait l'objet de nombreuses études. D'une façon générale, la chaleur provoque une dénaturation progressive de la protéine avec perte de la structure III [72], voire une agrégation avec d'autres protéines (ex. patatines [73]). Cela peut conduire à une perte d'IgE-réactivité, les épitopes étant stériquement modifiés. L'exemple le plus classique est celui des protéines PR-10, caractéristiques du syndrome bouleau-pomme : chez les sujets sensibilisés aux PR-10, des réactions allergiques sont le plus souvent observées avec les aliments crus mais pas après cuisson. Mais d'autres PrDV s'avèrent stables à la chaleur, telles les LTP [25].

Aussi, pour les aliments contenant à la fois des PR-10 et des LTP, les sujets sensibilisés aux PR-10 toléreront ces aliments une fois cuits, tandis que les patients sensibilisés

aux LTP verront leurs réactions persister même après cuisson. Ces différences de stabilité retiennent aussi sur la sévérité des symptômes : les sujets sensibilisés par des PR-10 (ex. en Allemagne, en Suisse ou dans le Nord de la France par le pollen de bouleau) auront pour les mêmes aliments des réactions le plus souvent localisées à la sphère orale, tandis que des patients italiens ou espagnols (sensibilisation directe aux LTP, notamment de pêche) pourront présenter des réactions plus sévères. Cela a été montré notamment pour les noisettes et pour les cerises [74,75].

À l'image des aliments en conserve, la congélation industrielle peut passer par une étape de chauffage et induire une inactivation de certains allergènes (ex. la chitinase classe 1 du haricot vert [76]).

4.4. Stabilité des PrDV lors de la digestion

La relation entre la digestibilité des protéines et leur allergénicité est complexe, mettant en jeu des facteurs aussi divers que le chauffage préalable ou la matrice du bol alimentaire [77]. Et autant d'allergènes que de protéines (a priori) non allergéniques se sont avérées stables au cours d'un test de digestion simulée in vitro [78].

Le comportement des PrDV à la digestion est connu pour certaines familles de protéines : comme pour la cuisson, les LTP et les 2S-albumines sont stables et les PR-10 instables. S'agissant des chitinases de classe 1, leur stabilité est faible à la chaleur mais bonne en digestion gastrique [79], ce qui est en accord avec la clinique où des réactions systémiques sont possibles avec l'aliment s'il est consommé cru (syndrome latex-fruits) [17].

Une compacité associée à de nombreux ponts disulfures protège la protéine vis-à-vis des enzymes digestives : c'est le cas des LTP [80], des 2S-albumines [81] et du domaine hévéine des chitinases de classe 1 ou 4 [79]. De ce point de vue, certaines PrDV de moins de 15 kDa ont peut-être une allergénicité sous-estimée : les défensines (PR-12), les thionines (PR-13), les indolines, les knottines, les métallothionéines et les inhibiteurs de type Bowman-Birk.

5. Conclusion

Les protéines de défense des plantes intéressent non seulement les botanistes et les biotechnologistes mais aussi les allergologues car elles représentent une proportion importante des allergènes d'origine végétale. Si l'impact clinique de certaines familles de PrDV est à présent assez bien étudié (PR-10, LTP), l'allergénicité de beaucoup d'autres familles de PrDV est encore mal élucidée. Cependant, les progrès des techniques de protéomique et de génie génétique permettent d'augurer une croissance rapide du nombre des allergènes connus.

Remerciements

à Pascal Demoly pour ses conseils et à Lucienne Cadio pour son assistance technique.

Références

- [1] Hoffmann-Sommergruber K. Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens. *Biochem Soc Trans* 2002;30:930–5.
- [2] Nurnberger T, Brunner F. Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. *Curr Opin Plant Biol* 2002; 5:318–24.
- [3] Parker JE. Plant recognition of microbial patterns. *Trends Plant Sci* 2003;8:245–7.
- [4] Dangl JL, Jones JDG. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 2001;411:826–33.
- [5] Pantoja-Uceda D, Santoro J, Rico M, Monsalve R, Villalba M. Solution structure of allergenic 2S albumins. *Biochem Soc Trans* 2002;30: 919–24.
- [6] Marcus JP, Green JL, Goulter KC, Manners JM. A family of antimicrobial peptides is produced by processing of a 7S globulin protein in *Macadamia integrifolia* kernels. *Plant J* 1999;19:699–710.
- [7] Seki M, Kamei A, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Curr Opin Biotechnol* 2003;14:194–9.
- [8] Andreeva L, Heads R, Green CJ. Cyclophilins and their possible role in the stress response. *Int J Exp Pathol* 1999;80:305–15.
- [9] Frenette Charron JB, Breton G, Badawi M, Sarhan F. Molecular and structural analyses of a novel temperature stress-induced lipocalin from wheat and *Arabidopsis*. *FEBS Letters* 2002;517:129–32.
- [10] Markovic-Housley Z, Degano M, Lamba D, et al. Crystal structure of a hypoallergenic isoform of the major birch pollen allergen Bet v 1 and its likely biological function as a plant steroid carrier. *J Mol Biol* 2003;325:123–33.
- [11] van Loon LC, van Strien EA. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol* 1999;55:85–97.
- [12] De Lorenzo G, D'Ovidio R, Cervone F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annual Rev Phytopathol* 2001;39:313–35.
- [13] Allergen nomenclature. List of allergens www.allergen.org/List.htm.
- [14] Asensio Sánchez T. PR-1, a novel class of plant pathogenesis-related proteins involved in food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113(suppl. 2) abstract n° 512.
- [15] Huecas S, Villalba M, Rodríguez R. Ole e 9, a major olive pollen allergen is a 1,3-beta-glucanase. Isolation, characterization, amino acid sequence, and tissue specificity. *J Biol Chem* 2001;276:27959–66.
- [16] Diaz-Perales A, Sánchez-Monge R, Blanco C, Lombardero M, Carillo T, Salcedo G. What is the role of the hevein-like domain of fruit class I chitinases in their allergenic capacity? *Clin Exp Allergy* 2002; 32:448–54.
- [17] Blanco C. Latex-fruit syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep* 2003;3: 47–53.
- [18] Pastorello EA, Farioli L, Pravettoni V, et al. Identification of grape and wine allergens as an endochitinase 4, a lipid-transfer protein, and a thaumatin. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:350–9.
- [19] Breiteneder H, Ebner C. Atopic allergens of plant foods. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:261–7.
- [20] Krebitz M, Wagner B, Ferreira F, et al. Plant-based heterologous expression of Mal d 2, a thaumatin-like protein and allergen of apple (*Malus domestica*), and its characterization as an antifungal protein. *J Mol Biol* 2003;329:721–30.
- [21] Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:S33–9.
- [22] Wensing M, Akkerdaas JH, Van Leeuwen A, et al. IgE to Bet v 1 and profilin: Crossreactivity patterns and clinical relevance. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:435–42.
- [23] Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nature Rev Immunol* 2003;3:710–20.
- [24] Garcia-Olmedo F, Molina A, Alamillo JM, Rodriguez-Palenzuela P. Plant defense peptides. *Biopolymers* 1998;47:479–91.
- [25] Van Ree R. Clinical importance of non-specific lipid transfer proteins as food allergens. *Biochem Soc Trans* 2002;30:910–3.
- [26] Monsalve RI, Villalba M, Rodríguez R. Allergy to mustard seeds: the importance of 2S albumins as food allergens. Internet. *Symp Food Allergens* 2001;3:57–69.
- [27] Armentia A. Allergy to cereal alpha-amylase inhibitors. *Alergol Immunol Clin* 2000;15:45–50.
- [28] Liaw S, Lee DY, Chow L, Lau GX, Su SN. Structural characterization of the 60-kDa bermuda grass pollen isoallergens, a covalent flavoprotein. *Biochem Biophys Res Comm* 2001;280:738–43.
- [29] Flückiger S, Fijten H, Whitley P, Blaser K, Cramer R. Cyclophilins, a new family of cross-reactive allergens. *Eur J Immunol* 2002;32:10–7.
- [30] Lucas JSA, Lewis SA, Hourihane JOB. Kiwi fruit allergy: A review. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:420–8.
- [31] Jensen-Jarolim E, Schmid B, Bernier F, et al. Allergologic exploration of germins and germin-like proteins, a new class of plant allergens. *Allergy* 2002;57:805–10.
- [32] Beyer K, Bardina L, Grishina G, Grishin A, Sampson HA. Identification of a heat shock protein as a major hazelnut food allergen in hazelnut induced systemic reactions AAAAI 59th Annual Meeting, Denver, 7–12 March, 2003, Poster no 724.
- [33] Seppälä U, Majamaa H, Turjanmaa K, et al. Identification of four novel potato (*Solanum tuberosum*) allergens belonging to the family of soybean trypsin inhibitors. *Allergy* 2001;56:619–26.
- [34] Park JW, Kang DB, Kim CW, et al. Identification and characterization of the major allergens of buckwheat. *Allergy* 2000;55:1035–41.
- [35] Karamloo F, Wangorsch A, Kasahara H, et al. Phenylcoumaran benzylic ether and isoflavonoid reductases are a new class of cross-reactive allergens in birch pollen, fruits and vegetables. *Eur J Biochem* 2001;268:5310–20.
- [36] Schmidt MH, Raulf-Heimsoth M, Posch A. Evaluation of patatin as a major cross-reactive allergen in latex-induced potato allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89:613–8.
- [37] Förster-Waldl E, Marchetti M, Schöll I, et al. Type I allergy to elderberry (*Sambucus nigra*) is elicited by a 33.2 kDa allergen with significant homology to ribosomal inactivating proteins. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1703–10.
- [38] Carnés J, Fernández-Caldas E. Ole e 4 and Ole e 5, important allergens of *Olea europaea*. *Allergy* 2002;57(suppl. 71):24–8.
- [39] Flückiger S, Scapozza L, Mayer C, Blaser K, Folkers G, Cramer R. Immunological and structural analysis of IgE-mediated cross-reactivity between manganese superoxide dismutases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:292–303.
- [40] Malandain H. Les allergies associant pollens et aliments. *Allergie Immunologie (Paris)* 2003;35:253–6.
- [41] Lavaud F, Sabouraud D, Deschamps F, Perdu D. Crossreactions involving natural rubber latex. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997;15: 429–47.
- [42] Vieths S, Scheurer S, Ballmer-Weber B. Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. *Ann NY Acad Sci* 2002;964:47–68.
- [43] Kleine-Tebbe J, Wangorsch A, Vogel L, Crowell DN, Haustein UF, Vieths S. Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by a Bet v 1-related PR-10 protein in soybean, SAM22. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:797–804.
- [44] Zuidmeer L, Bolhaar S, Knulst A, et al. Severe symptoms caused by thaumatin-like proteins in foods: a result of primary sensitization to birch pollen? EAACI 22th Congress, Paris, 7–11 June 2003, Poster no 196.
- [45] ICGEB. GMO's background. 15/01/2004.
- [46] Siegel JP. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J Invertebrate Pathol* 2001;77:13–21.
- [47] Datta K, Baisakh N, Thet KM, Tu J, Datta SK. Pyramiding transgenes for multiple resistance in rice against bacterial blight, yellow stem borer and sheath blight. *Theor Appl Genet* 2002;106:1–8.

- [48] Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta* 2003;218:1–14.
- [49] Fagoaga C, Rodrigo I, Conejero V, et al. Increased tolerance to *Phytophthora citrophthora* in transgenic orange plants constitutively expressing a tomato pathogenesis related protein PR-5. *Mol Breeding* 2001;7:175–85.
- [50] Anand A, Zhou T, Trick HN, Gill BS, Bockus WW, Muthukrishnan S. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *J Exp Bot* 2003;54:1101–11.
- [51] Chang MM, Culley D, Choi JJ, Hadwiger LA. *Agrobacterium*-mediated co-transformation of a pea beta-1,3-glucanase and chitinase genes in potato (*Solanum tuberosum* L. c.v. Russet Burbank) using a single selectable marker. *Plant Sci* 2002;163:83–9.
- [52] Rohini VK, Sankara Rao K. Transformation of peanut (*Arachis hypogaea* L.) with tobacco chitinase gene: variable response of transformants to leaf spot disease. *Plant Sci* 2001;160:889–98.
- [53] Carlini CR, Grossi-de-Sa MF. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon* 2002;40:1515–39.
- [54] McDowell JM, Woffenden BJ. Plant disease resistance genes: recent insights and potential applications. *Trends Biotechnol* 2003;21:178–83.
- [55] Wu G, Shortt BJ, Lawrence EB, et al. Activation of host defense mechanisms by elevated production of H₂O₂ in transgenic plants. *Plant Physiol* 1997;115:427–35.
- [56] Verberne MC, Verpoorte R, Bol JF, Mercado-Blanco J, Linthorst HJ. Overproduction of salicylic acid in plants by bacterial transgenes enhances pathogen resistance. *Nature Biotechnol* 2000;18:779–83.
- [57] FAO Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology, 22–25/01/2001. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on allergenicity of foods derived from biotechnology, 22–25/01/2001.
- [58] Hsieh LS, Moos M, Lin Y. Characterization of apple 18 and 31 kD allergens by microsequencing and evaluation of their content during storage and ripening. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:960–70.
- [59] Pressey R. Two isoforms of NP24: a thaumatin-like protein in tomato fruit. *Phytochemistry* 1997;44:1241–5.
- [60] Fils-Lycaon BR, Wiersma PA, Eastwell KC, Sautière P. A cherry protein and its gene, abundantly expressed in ripening fruit, have been identified as thaumatin-like. *Plant Physiol* 1996;111:269–73.
- [61] Kim YS, Park JY, Kim KS, Ko MK, Cheong SJ, Oh BJ. A thaumatin-like gene in nonclimacteric pepper fruits used as molecular marker in probing disease resistance, ripening, and sugar accumulation. *Plant Mol Biol* 2002;49:125–35.
- [62] Salzman RA, Tikhonova I, Bordelon BP, Hasegawa PM, Bressan RA. Coordinate accumulation of antifungal proteins and hexoses constitutes a developmentally controlled defense response during fruit ripening in grape. *Plant Physiol* 1998;117:465–72.
- [63] Botton A, Begheldo M, Rasori A, et al. Factors affecting gene expression of lipid transfer protein (LTP), the major allergen of peach fruit. *Acta Horticulturae* 2002;592:237–43.
- [64] Singh DP, Moore CA, Gilliland A, Carr JP. Activation of multiple antiviral defence mechanisms by salicylic acid. *Mol Plant Pathol* 2004;5:57–63.
- [65] White PJ. Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *J Exp Bot* 2002;53:1995–2000.
- [66] Sanchez-Monge R, Blanco C, Perales AD, et al. Class I chitinases, the panallergens responsible for the latex-fruit syndrome, are induced by ethylene treatment and inactivated by heating. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:190–5.
- [67] Hänninen AR, Mikkola JH, Kalkkinen N, et al. Increased allergen production in turnip (*Brassica rapa*) by treatments activating defense mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:194–201.
- [68] Armentia A, Callejo A, Diaz-Perales A, Martin-Gil F, Salcedo G. Enhancement of tomato allergenicity after treatment with plant hormones. *Allergol Immunopathol* 2003;31:44–6.
- [69] Sanchez C, Frémont S. Conséquences des traitements thermiques et de la formulation sur la structure et l'allergénicité des protéines alimentaires. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2003;43:13–20.
- [70] Leduc V, Morisset M, Guérin L, Moneret-Vautrin DA. Néoa allergénicité de certains isolats de farine de blé: implication du gluten déamidé. *Alim'Inter* 2003;8:30–4.
- [71] Franck P, Moneret-Vautrin DA, Dousset B, et al. The allergenicity of soybean-based products is modified by food technologies. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:212–9.
- [72] Wal JM. Thermal processing and allergenicity of foods. *Allergy* 2003;58:727–9.
- [73] Koppelman SJ, Van Koningsveld GA, Knulst AC, Gruppen H, Pigmans IG, De Jongh HH. Effect of Heat-Induced Aggregation on the IgE Binding of Patatin (Sol t 1) Is Dominated by Other Potato Proteins. *J Agric Food Chem* 2002;50:1562–8.
- [74] Pastorello EA, Vieths S, Pravettoni V, et al. Identification of hazelnut major allergens in sensitive patients with positive double-blind, placebo-controlled food challenge results. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:563–70.
- [75] Ballmer-Weber BK, Scheurer S, Fritsche P, et al. Component-resolved diagnosis with recombinant allergens in patients with cherry allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:167–73.
- [76] Sanchez-Monge R, Diaz-Perales A, Blanco C, Salcedo G. Class I chitinases and the latex fruit syndrome. *Internet Symp Food Allergens* 2000;2:137–44.
- [77] Teuber SS. Hypothesis: the protein body effect and other aspects of food matrix effects. *Ann NY Acad Sci* 2002;964:111–6.
- [78] Fu TJ, Abbott UR, Hatzos C. Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid—a comparative study. *J Agric Food Chem* 2002;50:7154–60.
- [79] Diaz-Perales A, Blanco C, Sanchez-Monge R, Varela J, Carrillo T, Salcedo G. Analysis of avocado allergen (Prs a 1) IgE-binding peptides generated by simulated gastric fluid digestion. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:1002–7.
- [80] Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al. Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:20–32.
- [81] Murtagh GJ, Dumoulin M, Archer DB, Alcocer MJ. Stability of recombinant 2 S albumin allergens in vitro. *Biochem Soc Trans* 2002;30:913–5.