



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie xxx (2017) xxx–xxx

Article original

Bases moléculaires de la réactivité croisée entre Act c 12 et les allergènes globulines 11S des graines : identification in silico des épitopes B d'Act c 12

Molecular basis of cross-reactivity between Act c 12 and other seed 11S-globulin allergens

A. Barre, A. Delplanque, M. Simplicien, H. Benoist, P. Rougé*

UMR 152 Pharma Dev, université de Toulouse, IRD, UPS, faculté de pharmacie, 35, chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse, France

Reçu le 15 octobre 2016 ; accepté le 18 novembre 2016

Résumé

Les fruits du kiwi vert (*Actinidia deliciosa*) et jaune (*Actinidia chinensis*), sont devenus une source importante d'allergies alimentaires en Europe de l'Ouest, pour les enfants comme pour les adultes. Les allergènes responsables correspondent essentiellement à des allergènes typiques de fruits, comme Act d 8 (protéine PR10 Bet v 1-like), Act d 2 (TLP ou protéine *thaumatin-like*) et une chitinase. Tous ces allergènes du kiwi vert, *Actinidia deliciosa*, ont leurs contre-parties dans le kiwi jaune, *A. chinensis*. Récemment, deux autres allergènes appartenant à la superfamille des cupines (Act c 12) et à la famille des albumines 2S (Act c 13), présents dans les graines du kiwi jaune, ont été identifiés. Il s'agit d'allergènes cachés, responsables de réactions croisées avec l'arachide et les fruits à coque. Les épitopes B séquentiels d'Act c 12 ont été identifiés en utilisant une approche in silico. Ils ont été localisés sur la surface du modèle tridimensionnel de la protéine après avoir été identifiés à partir des alignements de séquences des cupines d'arachide et de fruits à coque. Seuls les acides aminés exposés à la surface du modèle d'Act c 12 ont été retenus comme constituants des épitopes B. Ces régions épitopiques présentent d'importantes homologies de conformation et de séquence avec les épitopes B reconnus à la surface des légumineuses d'arachide (Ara h 3) et de fruits à coque. Act c 12 constitue un exemple intéressant d'allergène caché de fruit, susceptible de déclencher des réactions allergiques chez les patients sensibilisés aux cupines d'arachide ou de fruits à coque.

© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Act c 12 ; Globulines 11S ; Légumine ; Structures tridimensionnelles ; Épitopes B ; Réactivité croisée

Abstract

Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*, *A. chinensis*) is an important source of food allergy in children and adults in Western countries. The allergens responsible for this food allergy consist primarily of typical fruit allergens, e.g. the PR10 Bet v 1-like allergen Act d 8, the cysteine protease actinidin Act d 1, the TLP Act d 2, and a chitinase. All of these allergens from *A. deliciosa* fruits have their counterparts in *A. chinensis* fruits. Recently, two other allergens belonging to the cupin superfamily (Act c 12) and the 2S albumin family (Act c 13), found in the kernels of *A. chinensis* fruit, have been identified as hidden fruit allergens responsible for IgE-binding cross-reactivity with peanuts and tree nuts. The sequential IgE-binding epitope regions of Act c 12 were predicted using a combination of *in silico* predictive approaches. Sequential IgE-binding epitopes of Act c 12 were predicted on a three-dimensional model of the protein from the amino acid sequence comparisons of the IgE-binding regions of cross-reacting cupins of peanuts and tree nuts. Residues of the sequence stretches exposed at the molecular surface were assigned as cross-reacting IgE-binding regions of Act c 12. In addition to their conformational similarities, these putative IgE-binding epitopes share a high degree of sequence similarity with the corresponding IgE-binding regions of peanut and tree-nut cupin allergens. The Act c 12 allergen offers an interesting example of a hidden fruit allergen likely to trigger allergic responses in individuals previously sensitized to peanut and other three-nut cupin allergens.

© 2017 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Act c 12; 11S globulins; Legumin; Three-dimensional structures; B-cell epitopes; IgE-binding cross-reactivity

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : pierre.rouge@free.fr (P. Rougé).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2016.11.002>

1877-0320/© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

1. Introduction

L'allergie au kiwi, kiwi vert (*Actinidia deliciosa*) ou kiwi jaune (*Actinidia chinensis*), s'est répandue dans les pays européens depuis quelques années [1,2]. À l'exception de l'Islande, où la symptomatologie des allergies au kiwi peut être sévère, elle se traduit essentiellement par des symptômes oraux dans les autres pays européens. Souvent associée à une allergie pollinique au bouleau en Europe de l'Ouest, cette association est beaucoup moins fréquente en Europe de l'Est [1]. Au Royaume-Uni, des réactions sévères ont été rapportées dans des proportions significatives (18 % des sujets), chez les enfants en particulier [3]. L'allergène Act d 1 ou actinidine, est une protéase à cystéine très résistante [4,5], souvent associée à la sévérité des symptômes [6]. D'autres allergènes caractéristiques des fruits ont été identifiés dans le kiwi vert [7,8] : Act d 2 (TLP ou protéine *thaumatin-like*), Act d 5 ou kiwelin [9], Act d 6 et Act d 7 (PME ou pectine méthylestérases), Act d 8 (protéine PR-10 Bet v 1-like) et Act d 9 (*profiline*). Les TLP ou protéines *thaumatin-like* ont été incriminées dans de nombreuses réactions croisées et allergies croisées [10–12].

Récemment, deux allergènes du groupe des cupines, Act c 12, et des albumines 2S, Act c 13, ont été identifiés dans le kiwi [13,14]. Ces allergènes, présents dans les graines, correspondent à des allergènes masqués, responsables de réactions croisées avec d'autres cupines de graines, notamment les cupines de l'arachide et des fruits à coque [14]. Les cupines sont des allergènes ubiquitaires, abondamment représentés dans les graines de toutes les espèces de dicotylédones [15]. Elles correspondent à trois types de molécules : les vicillines ou globulines 7S, les légumine ou globulines 11S et les germinines ou protéines *germin-like*, qui sont également des globulines 7S. Toutes ces protéines sont bâties sur le même patron structural, le motif cupine, qui est une structure monomérique comportant deux faisceaux de feuillets disposés en coupe (d'où le nom de cupine qui vient du Latin *cupa*). Les vicillines et les germinines sont constituées de trois ou six monomères associés de façon non covalente pour former un homotrimère aplati, de forme triangulaire (7S). Les légumine possèdent une structure identique mais résultent de l'association non covalente de deux homotrimères pour former un homohexamère plus volumineux (11S) [16].

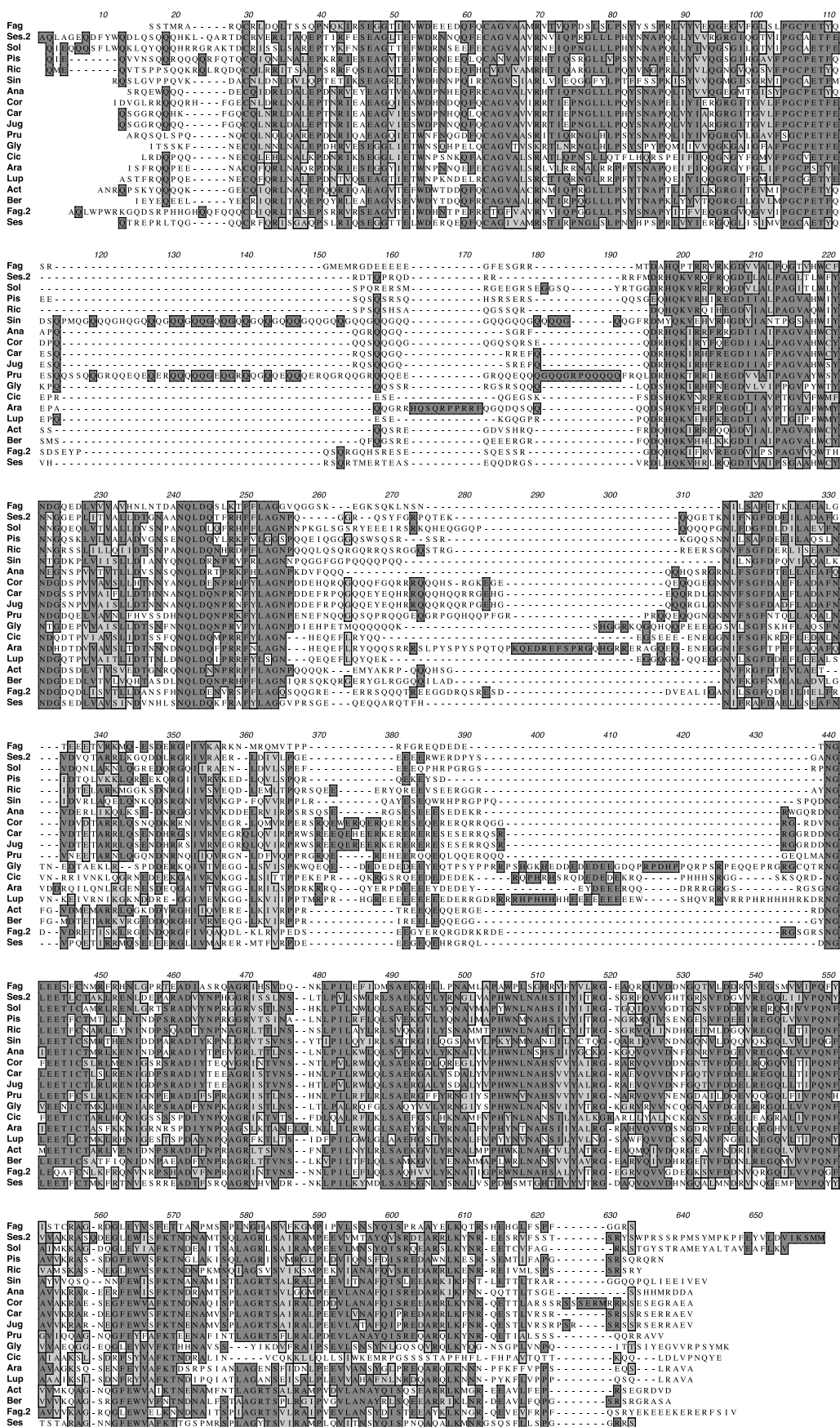
De nombreux allergènes des graines correspondent à des légumine ou globulines 11S. Ce sont des protéines de réserve qui se concentrent dans les corps protéiques de l'albumen et des cotylédons de la graine. Ils constituent des allergènes majeurs dans les graines d'arachide (Ara h 3) et des fruits à coque (Ana o 2 de la noix de Cajou, Ber e 2 de la noix d'Amazonie, Car i 4 de la noix de Pécan, Cor a 8 de la noisette, Jug r 4 de la noix, Pis v 2 de la pistache, Pru du 6 de l'amande). On les retrouve également dans les graines de légumineuses (Cic a 6 du pois chiche, Gly m 6 du soja, conglycinine du lupin, légumine du pois et de la lentille), le sarrasin (Ses i 6 et Ses i 7) et le sésame (Fag e 1 du *Fagopyrum esculentum* et Fag t 1 du *F. tartaricum*). Comme les vicillines, les légumine donnent lieu à des réactivités croisées souvent très étendues [17–21].

Récemment, une réactivité croisée a été mise en évidence entre l'allergène masqué Act d 12 des graines de kiwi et les cupines 11S de l'arachide, de l'amande, de la noisette et, plus rarement, de la noix [13,14]. Une comparaison de la conformation des régions épitopiques sur la surface moléculaire d'Act c 12 et des autres allergènes du groupe des cupines 11S (légumine) a été entreprise afin de préciser les bases moléculaires qui sous-tendent cette réactivité croisée. L'allergène Act c 12 d'*Actinidia chinensis* a été choisi comme modèle car la séquence d'Act d 12, la cupine 11S d'*Actinidia deliciosa*, n'est pas disponible. La proximité structurale de deux cupines 11S appartenant à deux espèces végétales étroitement apparentées, justifie ce choix. Ainsi, le séquençage de quelques peptides issus de l'hydrolyse d'Act d 12, montre un degré d'identité important (98 % d'identité sur 66 acides aminés alignés) avec les régions correspondantes d'Act c 12 [13].

2. Matériel et méthodes

Les séquences des légumine (globulines 11S) du kiwi jaune (*Actinidia chinensis*, Act c 12, accession ABB77213.1), de la noix de Cajou (*Anacardium occidentale*, Ana o 2, accession AAN76862.1), de l'arachide (*Arachis hypogaea*, Ara h 3, accession AAM46958.1), de la noix d'Amazonie (*Bertholletia excelsa*, Ber e 2, accession AA038859.1), de la noix de Pécan (*Carya illinoensis*, Car i 4, accession ABW86978.1), du pois chiche (*Cicer arietinum*, Cic a 6, accession Q9SMJ4.1), de la noisette (*Corylus avellana*, Cor a 9, accession AHA36627.1), du sarrasin (*Fagopyrum esculentum*, Fag e 1, accession AAP15457.1; *Fagopyrum tartaricum*, Fag t 1, accession ABI32184.1), du soja (*Glycine max*, Gly m 6, accession ACN11532.1), de la noix (*Juglans regia*, Jug r 4, accession AAW29810.1), du lupin (*Lupinus albus*, Lup a conglycinin, accession CAI83773.2), de la pistache (*Pistacia vera*, Pis v 2, accession ABU42022.1), de l'amande (*Prunus dulcis*, Pru du 6, accession CAA55009.1), du ricin (*Ricinus communis*, Ric c 2, accession EEF32199.1), du sésame (*Sesamum indicum*, Ses i 6, accession AAD42944.1 et Ses i 7, accession AAK15887.1), de la moutarde (*Sinapis alba*, Sin a 2, accession AAX77384.1) et de la tomate (*Solanum lycopersicum*, Sol l 11S, accession XP_004247735.1) proviennent de la banque NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

Les alignements de séquences ont été réalisés avec CLUSTAL-X [22], à l'aide du logiciel MacVector. Le modèle moléculaire d'Act c 12 a été construit à l'aide du logiciel YASARA Structure [23]. Quinze modèles différents ont été construits à partir des coordonnées cristallographiques de l'amaranthine (*Amaranthus hypocondriacus*) (code PDB 3QAC), de la protéine Pru 1 de l'amande (Pru du 6 de *Prunus dulcis*) (code PDB 3FZ3) [24], de la proglycinine recombinante A3B4 du soja (*glycine max*) (code PDB 2D5F) [25], de la pro-11S globuline recombinante de la citrouille (*Cucurbita maxima*) (code PDB 2E9G) et de la prolégumine du pois (*Pisum sativum*) (code PDB 3KSC) [25]. Finalement, un modèle hybride a été construit pour Act d 12 à partir des 15 modèles individuels. Des modèles moléculaires ont été également construits



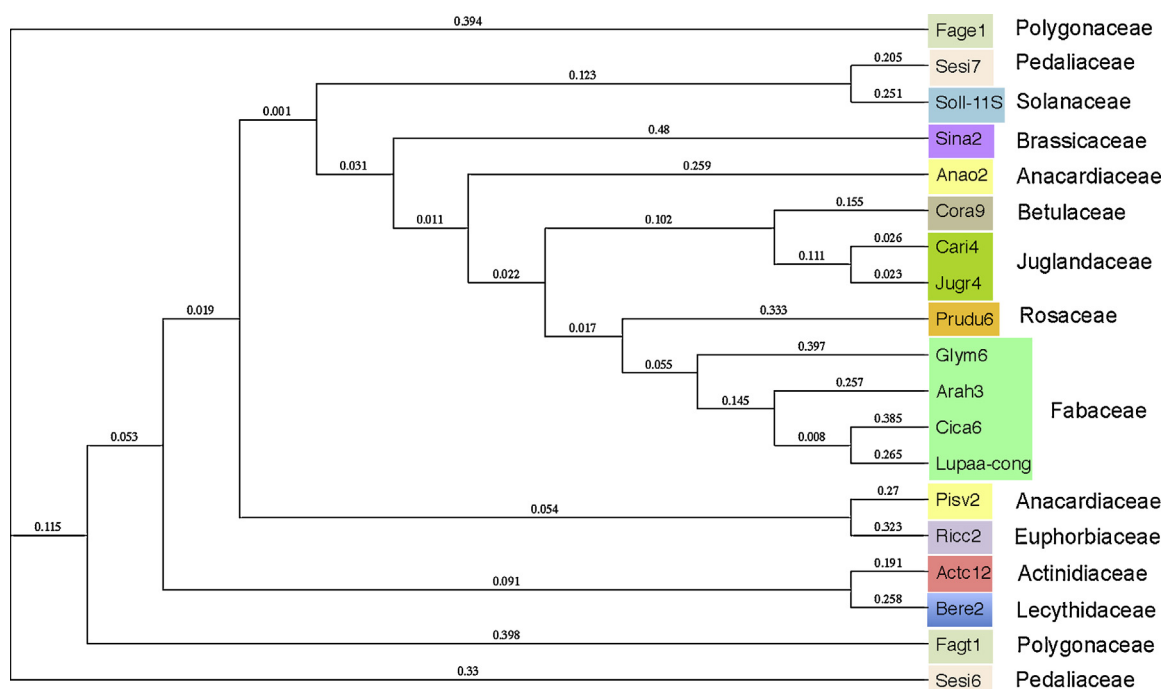


Fig. 2. Arbre phylogénétique des légumineuses (globulines 11S) construit par la méthode du *neighbour joining*, à partir de l'alignement de séquences représenté sur la Fig. 1. Les légumineuses sont colorées en fonction de l'appartenance des espèces végétales à des familles botaniques différentes.

et validés pour Ana o 2 de la noix de Cajou, Cor a 9 de la noisette et Pisl v 2 de la pistache, à l'aide du logiciel YASARA.

La qualité géométrique des modèles a été vérifiée avec Procheck [26] et Anolea [27]. À titre d'exemple, seulement 6 résidus (Arg229, Glu257, Ala262, Arg263, Arg 273 et Asn360) sur les 437 résidus que compte chaque monomère d'Act c 12, se situent dans les régions non permises du diagramme de Ramachandran. De même, un QMEAN score de 0,577 (Z-score = -2) sur une échelle de 0 à 1, est calculé pour le modèle d'Act c 12, à l'aide du serveur QMEAN [28,29]. Toutes ces valeurs attestent de la qualité géométrique satisfaisante du modèle d'Act c 12 construit avec Yasara.

Les structures moléculaires, les surfaces moléculaires et les superpositions moléculaires ont été visualisées avec Yasara et Chimera [30].

L'arbre phylogénétique des légumineuses (globulines 11S) a été construit à partir de l'alignement des séquences de légumineuses par la méthode du *neighbour-joining* et représenté avec MacVector. Cette approche, qui prend en compte la vitesse d'évolution des différentes branches de l'arbre phylogénétique, fournit un arbre non enraciné (*unrooted tree*) dans lequel les séquences de légumineuses ont des affinités phylogénétiques d'autant plus fortes que les distances qui les relient sont plus courtes.

3. Résultats

Les légumineuses se caractérisent par des séquences d'acides aminés bien conservées, indépendamment de leur appartenance botanique (Fig. 1). En dehors de quelques insertions propres à quelques légumineuses (Act c 12, Ara h 3, Cic a 6, Gly m 6, Lup a conglycinine, Pru du 6), les séquences sont conservées, dans les régions N- et surtout C-terminale de ces protéines. L'arbre phylogénétique construit à partir de l'alignement des séquences montre des regroupements phylogénétiques pour les légumineuses ou Fabacées (Ara h 3, Cic a 6, Gly m 6, Lup a conglycinine) et les Juglandacées (Cari e, Jug r 4) (Fig. 2). Par contre, les affinités phylogénétiques sont moins prononcées chez les Anacardiacees (Ana o 2 et Pisl v 2), les Pédaliacées (Sesi 6 et Sesi 7) ou les Polygonacées (Fag e 1 et Fag t 1). Malgré ces quelques divergences, les légumineuses partagent des structures tridimensionnelles parfaitement conservées, constituées de deux homotrimères superposés (Fig. 3). L'association des deux homotrimères s'effectue essentiellement par des liaisons électrostatiques entre les deux faces de signes électriques opposés (électronégative pour une face et électropositive pour la face opposée) de chaque trimère. La règle qui veut qu'au sein d'une famille de protéines, les structures soient davantage

Fig. 1. Alignement des séquences d'acides aminés des légumineuses (globulines 11S) du sarrasin (Fag [Fag e 1] et pour *Fagopyrum esculentum*, Fag 2 [Fag t 1] pour *F. tartaricum*), du sésame (Ses [Sesi 6] et Sesi 2 [Sesi 7] pour *Sesamum indicum*), de la tomate (Sol [S l 11S] pour *Solanum lycopersicum*), de la pistache (Pisl [Pisl v 2] pour *Pistacia vera*), du ricin (Ric [Ric c 2] pour *Ricinus communis*), de la moutarde (Sin [Sin a 2] pour *Sinapis alba*), de la noix de Cajou (Ana [Ana o 2] pour *Anacardium occidentale*), de la noisette (Cor [Cor a 9] pour *Corylus avellana*), de la noix de Pécan (Cari [Cari 4] pour *Carya illinoensis*), de la noix (Jug [Jug r 4] pour *Juglans regia*), de la prune (Pru [Pru du 6] pour *Prunus dulcis*), du soja (Gly [Gly m 6] pour *Glycine max*), du pois chiche (Cic [Cic a 6] pour *Cicer arietinum*), de l'arachide (Ara [Ara h 3] pour *Arachis hypogaea*), du lupin (Lup [Lup a conglycinin] pour *Lupinus albus*), du kiwi jaune (Act [Act c 12] pour *Actinidia chinensis*) et de la noix d'Amazonie (Ber [Ber e 2] pour *Bertholletia excelsa*). Les acides aminés identiques et homologues sont encadrés en gris sombre et en gris clair, respectivement.

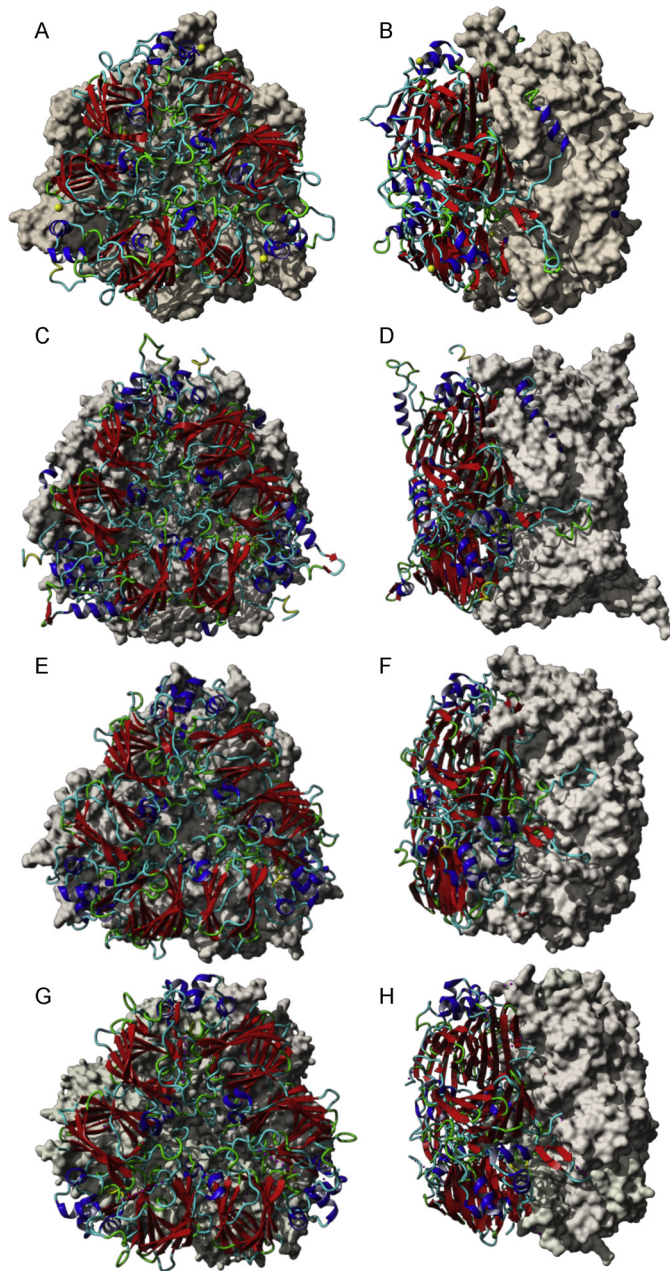


Fig. 3. Modèles tridimensionnels des hexamères d'Act c 12 (A, B), de Cor a 9 (C, D), d'Ana o 2 (E, F) et d'Ara h 3 (G, H). Dans tous les hexamères, la représentation en ruban est utilisée pour l'homotrimère antérieur et la représentation de la surface moléculaire pour l'homotrimère postérieur. Chacun des hexamères est représenté de face (A, C, E, G) et de profil (B, D, F, H).

conservées que les séquences, est ici parfaitement respectée, notamment pour Act c 12, Ana o 2, Ara h 3 et Cor a 9, dont les modèles tridimensionnels sont représentés sur la Fig. 3.

Les épitopes B séquentiels/continus de plusieurs allergènes du groupe des légumineuses ont été identifiés par la technique classique d'« epitope mapping », qui consiste à synthétiser l'ensemble des peptides (15mer en général) chevauchants qui recouvrent la totalité de la séquence, à les immobiliser sur une membrane de papier ou de nitrocellulose et à vérifier leur réactivité IgE à l'aide de sérums de patients allergiques par un test de Coons indirect à l'aide d'un anticorps secondaire marqué.

Cette approche a permis d'identifier les épitopes B séquentiels d'Ara h 3 [20], d'Ana o 2 [31], de Cor a 9 [32], de Jug r 4 [33], de Fag e 1 [21] et de Ses i 6 (P. Rougé, non publié). La plupart de ces épitopes se localisent dans les mêmes régions de tous ces allergènes, comme l'indique un alignement de leurs séquences (Fig. 4). Les régions regroupant au moins 3 épitopes B (sur 5) ont été prédites comme étant des épitopes potentiels d'Act c 12. Une fois identifiées, les séquences correspondant à ces épitopes potentiels ont été repérées sur la surface moléculaire d'Act c 12 et seuls les acides aminés exposés sur la surface du modèle tridimensionnel ont été retenus comme constituants des épitopes potentiels. Ces séquences épitopiques, au nombre de 10, sont indiquées sur la Fig. 4 et sont représentées sur la surface moléculaire des différentes faces du trimère d'Act c 12 (Fig. 5A, B, C). Elles sont distribuées de façon homogène à la surface du trimère.

Au-delà des homologies de séquence que les épitopes potentiels d'Act c 12 partagent avec les épitopes d'autres légumineuses, il existe des homologies de conformation importantes entre les épitopes. Ainsi, la conformation de l'épitope 2 d'Act c 12 est tout à fait comparable à celle observée dans la région épitopique correspondante de Cor a 9 (Fig. 5D, E). De même, les conformations de l'épitope 7 d'Act c 12 et de la région épitopique correspondante d'Ara h 3, sont très voisines. Ces homologies locales de séquence et de conformation sont susceptibles d'expliquer la réactivité croisée observée entre Act c 12 et les autres allergènes de la famille des cupines de l'arachide et des fruits à coque.

4. Discussion

Les légumineuses ou globulines 11S appartiennent à un ensemble très homogènes de protéines à motif cupine, qui regroupe les allergènes majeurs de nombreuses graines de dicotylédones. Les allergènes Ara h 3 de l'arachide, Ana o 2 de la noix de Cajou, Pis v 2 de la pistache, Cor a 9 de la noisette, Jug r 4 de la noix, Fag e 1 du sarrasin et Ses i 6 du sésame, en sont les principaux exemples. Ces protéines se concentrent également dans les pépins ou les noyaux de nombreux fruits et, récemment, Sirvent et al. [13,14] ont identifié une globuline 11S dans les graines du kiwi vert (*Actinidia deliciosa*), Act d 12, responsable d'une réactivité croisée avec les légumineuses de l'arachide et des fruits à coque. Cette légumine présente les mêmes caractéristiques structurales que les autres légumineuses de l'arachide (Ara h 3), des fruits à coque (Ana o 2, Cor a 9, Pis v 2), du sarrasin (Fag e 1) et du sésame (Ses i 6), à savoir une structure hexamérique constituée par l'association non covalente de deux homotrimères identiques (Fig. 3). Comme dans les autres légumineuses, l'association des deux trimères en hexamère est réalisée au moyen d'interactions électrostatiques entre les deux faces de signes opposés (électronégative et électropositive) des deux trimères (résultat non montré). La conservation structurale des légumineuses s'avère supérieure à la conservation de leurs séquences d'acides aminés, qui montre quelques différences interspécifiques. Ainsi, les séquences des légumineuses (Ana o 2, Ara h 3, Cic a 6, Gly m 6, Lup a conglycinine), du sésame (Ses i 6) ou de l'amande (Pru du 6), possèdent

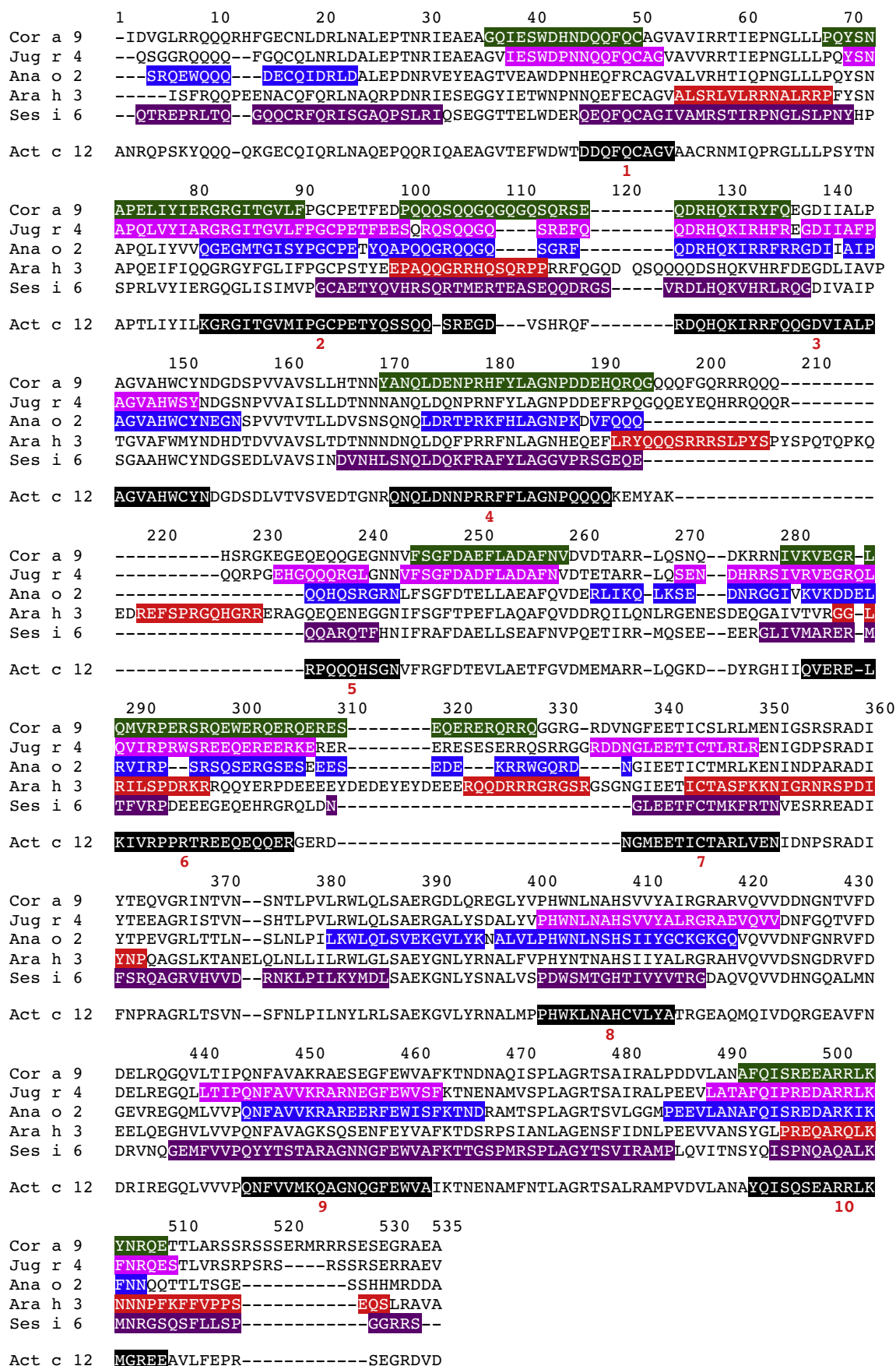


Fig. 4. Localisation des épitopes B séquentiels identifiés le long de la séquence d'acides aminés de Cor a 9 (vert), de Jug r 4 (rose), d'Ana o 2 (bleu), d'Ara h 3 (rouge) et de Ses i 6 (bordeaux). Les 10 épitopes B séquentiels prédits le long de la séquence d'acides aminés d'Act c 12, sont encadrés de noir et numérotés en rouge.

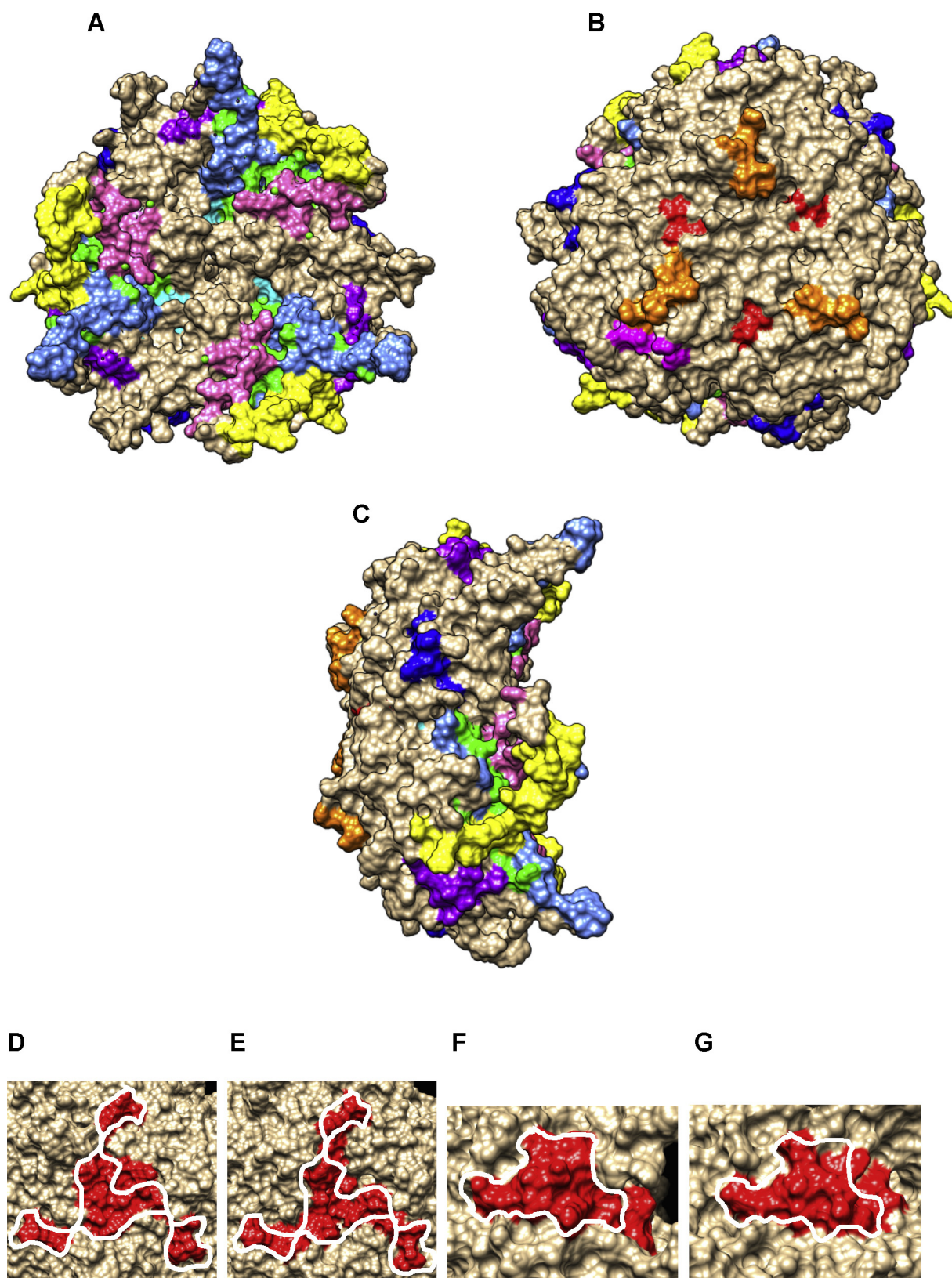


Fig. 5. A, B, C. Localisation des épitopes B séquentiels sur la surface moléculaire d'Act c 12. A, B et C correspondent respectivement à la face antérieure (A), postérieure (B) et de profil (C) de l'homotrimer d'Act c 12. Les épitopes sont colorés respectivement en rouge (épitope 1), bleu clair (épitope 2), vert (épitope 3), magenta (épitope 4), orange (épitope 5), (épitope 6), rose (épitope 7), bleu cyan (épitope 8), bleu (épitope 9), violet (épitope 10). D, E. Comparaison de la conformation de l'épitope 1 sur la surface moléculaire d'Act c 12 (D) et Cor a 9 (E). F, G. Comparaison de la conformation de l'épitope 7 sur la surface moléculaire d'Act c 12 (F) et d'Ara h 3 (G). Les régions de conformation similaire sont encadrées de blanc.

des insertions de plusieurs acides aminés que l'on n'observe pas dans les autres légumineuses d'origines différentes (Fig. 1).

Les épitopes B continus/séquentiels d'Act c 12 ont pu être identifiés le long de la séquence des acides aminés, par comparaison avec d'autres légumineuses allergènes (Ana o 2 de la noix de Cajou, Ara h 3 de l'arachide, Cor a 9 de la noisette, Jug r 4 de la noix et Ses i 6 du sésame) dont la localisation des épitopes B a été effectuée par la méthode expérimentale de l'« epitope mapping » (Fig. 3). Les 10 séquences épitopiques identifiées le long de la séquence d'Act c 12, forment des régions épitopiques exposées sur la surface moléculaire d'Act c 12. Néanmoins, quelques-uns de ces épitopes, notamment l'épitope 2 restent peu exposés à la surface d'Act c 12. Ces régions épitopiques recouvrent les deux faces ainsi que la tranche du trimère d'Act c 12 et certaines d'entre elles forment une véritable mosaïque d'épitopes à la surface du trimère. En raison de l'association de deux trimères en hexamère, seuls les épitopes d'une des deux faces supérieures et postérieures seront exposés au solvant et accessibles aux IgE. Par contre, les épitopes des deux trimères qui se localisent sur la tranche seront bien exposés à la surface de l'hexamère.

La comparaison des surfaces moléculaires occupées par les épitopes B d'Act c 12 avec les surfaces correspondantes des autres légumineuses, montre l'existence de conformations très similaires communes à la plupart de ces surfaces (Fig. 4D, E, F, G). Ces homologies conformationnelles sont très probablement à l'origine de la réactivité croisée observée entre Act d 12 et les autres allergènes du groupe des légumineuses. Bien que beaucoup de réactivités croisées identifiées jusqu'à présent n'aient pas de traduction clinique, il n'est pas possible d'écarter cette l'hypothèse d'allergies croisées entre le kiwi et les autres fruits à coque, d'autant que toutes ces protéines développent généralement une allergénicité importante.

Pour conclure, il convient toutefois de noter que notre approche *in silico* de détermination des épitopes B continus/séquentiels d'Act c 12, reste prédictive. La réalité des régions épitopiques B prédites sur la surface moléculaire d'Act c 12 devra être étayée par une approche expérimentale d'« epitope mapping », utilisant des IgE spécifiques de sérums de patients allergiques aux allergènes de la famille des légumineuses/globulines 11S.

5. Conclusion

L'existence d'une réactivité croisée entre le kiwi et l'arachide et les fruits à coque repose sur la présence d'un allergène du groupe des légumineuses ou globulines 11S, dans les graines présentes dans le fruit. Les modèles moléculaires construits pour Act c 12, Ana o 2, Cor a 9, Jug r 4 et Ses i 6 montrent que toutes ces protéines sont bien conservées et correspondent à des hexamères résultant de l'empilement de deux homotrimères identiques grâce à des interactions électrostatiques. Les comparaisons de séquences nous ont permis d'identifier 10 régions épitopiques sur la surface moléculaire d'Act c 12. La comparaison des surfaces moléculaires occupées par les régions épitopiques d'Act c 12 avec celles occupées par les régions correspondantes sur les légumineuses de l'arachide et des autres fruits à coque, montre des analogies

conformationnelles souvent importantes. Ces homologies conformationnelles expliquent parfaitement, au niveau moléculaire, la réactivité croisée observée entre le fruit du kiwi et les graines d'arachide ou de fruits à coque, sans pour autant pouvoir préjuger de leur traduction clinique. Les résultats de l'approche *in silico* mise en oeuvre pour identifier les épitopes B séquentiels/continus présomptifs d'Act c 12, demandent bien sûr à être confirmés et validés par une approche expérimentale d'« epitope mapping », utilisant les IgE spécifiques de sérums de patients allergiques.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Le TM, Bublin M, Breiteneder H, Fernández-Rivas M, Asera R, Ballmer-Weber B, et al. Kiwifruit allergy across Europe: clinical manifestation and IgE recognition patterns to kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:164–71.
- [2] Westman M, Lupinek C, Bousquet J, Andersson N, Pahr S, Baar A, et al. Early childhood IgE reactivity to pathogenesis-related class 10 proteins predicts allergic rhinitis in adolescence. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:1199–206.
- [3] Lucas JS, Grimshaw KE, Collins K, Warner JO, Hourihane JO. Kiwi fruit is a significant allergen and is associated with differing patterns of reactivity in children and adults. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1115–21.
- [4] Bublin M, Radauer C, Knulst A, Wagner S, Scheiner O, Mackie AR, et al. Effects of gastrointestinal digestion and heating on the allergenicity of the kiwi allergens Act d 1, actinidin, and Act d 2, a thaumatin-like protein. *Mol Nutr Food Res* 2008;52:1130–9.
- [5] Grozdanovic MM, Ostojic S, Aleksic I, Andjelkovic U, Petersen A, Gavrovic-Jankulovic M. Active actinidin retains function upon gastrointestinal digestion and is more thermostable than the E-64 inhibited counterpart. *J Sci Food Agric* 2014;94:3046–52.
- [6] Grozdanovic MM, Čavić M, Nešić A, Andjelković U, Akbari P, Smit JJ, et al. Kiwifruit cysteine protease actinidin compromises the intestinal barrier by disrupting tight junctions. *Biochem Biophys Acta* 2016;1860:516–26.
- [7] Maddumage R, Nieuwenhuizen NJ, Bulley SM, Cooney JM, Green SA, Atkinson RG. Diversity and relative levels of actinidin, kiwelin, and thaumatin-like allergens in 15 varieties of kiwifruit (Actinidia). *J Agric Food Chem* 2013;61:728–39.
- [8] Moreno Álvarez A, Vila Sexto L, Bardina L, Grishina G, Sampson HA. Kiwifruit allergy in children: characterization of main allergens and patterns of recognition. *Children* 2015;2:424–38.
- [9] Bernardi ML, Picone D, Tuppo L, Giangrieco I, Petrella G, Palazzo P, et al. Physicochemical features of the environment affect the protein conformation and the immunoglobulin E reactivity of kiwelin (Act d 5). *Clin Exp Allergy* 2010;40:1819–26.
- [10] Palacín A, Quirce S, Sanchez-Monge R, Bobolea I, Díaz-Perales A, Martín-Muñoz F, et al. Sensitization profiles to purified plant food allergens among pediatric patients with allergy to banana. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22:186–95.
- [11] Palacín A, Rivas LA, Gómez-Casado C, Aguirre J, Tordesillas L, Bartra J, et al. The involvement of thaumatin-like proteins in plant food cross-reactivity: a multicenter study using a specific protein microarray. *Plos One* 2012;7(9):e44088.
- [12] Ashok Kumar HG, Venkatesh YP. *In silico* analyses of structural and allergenicity features of sapodilla (Manilkara zapota) acidic thaumatin-like protein in comparison with allergenic plant TLPs. *Mol Immunol* 2014;57:119–28.

- [13] Sirvent S, Cantó B, Cuesta-Herranz J, Gómez F, Blanca N, Canto G, et al. Act d 12 and Act d 13: two novel, masked, relevant allergens in kiwifruit seeds. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1765–7.
- [14] Sirvent S, Cantó B, Gómez F, Blanca N, Cuesta-Herranz J, Canto G, et al. Detailed characterization of Act d 12 and Act d 13 from kiwi seeds: implication in IgE cross-reactivity with peanut and tree nuts. *Allergy* 2014;69:1481–8.
- [15] Dunwell JM, Purvis A, Khuri S. Cupins: the most functionally diverse protein superfamily? *Phytochemistry* 2004;65:7–17.
- [16] Rougé P, Brunet E, Borges JP, Jauneau A, Saggio B, Bourrier T, et al. Les protéines à motif cupine : allergènes majeurs des graines. *Rev Fr Allergol* 2011;51:36–40.
- [17] Barre A, Borges JP, Rougé P. Molecular modelling of the major peanut allergen Ara h 1 and other homotrimeric allergens of the cupin superfamily: a structural basis for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochimie* 2005;87:499–506.
- [18] Barre A, Jacquet G, Sordet C, Culerrier R, Rougé P. Homology modelling and conformational analysis of IgE-binding epitopes of Ara h 3 and other legumin allergens with a cupin fold from tree nuts. *Mol Immunol* 2007;44:3243–55.
- [19] Barre A, Sordet C, Culerrier R, Rancé F, Didier A, Rougé P. Vicilin allergens of peanut and tree nuts (walnut, hazelnut and cashew nut) share structurally related IgE-binding epitopes. *Mol Immunol* 2008;45:1231–40.
- [20] Rougé P, Culerrier R, Sabatier V, Granier C, Rancé F, Barre A. Mapping and conformational analysis of IgE-binding epitopic regions on the molecular surface of the major Ara h 3 legumin allergen of peanut (*Arachis hypogaea*). *Mol Immunol* 2009;46:1067–75.
- [21] Sordet C, Culerrier R, Granier C, Didier A, Rougé P. IgE-binding epitopic peptide mapping on a three-dimensional model built for the 13S globulin allergen of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Peptide* 2009;30:1021–7.
- [22] Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The Clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tool. *Nucleic Acids Res* 1997;15:4876–82.
- [23] Krieger E, Koraimann G, Vriend G. Increasing the precision of comparative models with Yasara Nova – a self-parameterizing force field. *Proteins* 2002;47:393–402.
- [24] Jin T, Albillos SM, Guo F, Howard A, Fu TJ, Kothary MH, et al. Crystal structure of prunin-1, a major component of the almond (*Prunus dulcis*) allergen amandin. *J Agric Food Chem* 2009;57:8643–51.
- [25] Tandang-Silvas MR, Fukuda T, Fukuda C, Prak K, Cabanos C, Kimura A, et al. Conservation and divergence on plant seed 11S globulins based on crystal structures. *Biochim Biophys Acta* 2010;1804:1432–42.
- [26] Laskowski RA, MacArthur MW, Moss DS, Thornton JM. Procheck: a program to check the stereochemistry of protein structures. *J Appl Cryst* 1993;26:283–91.
- [27] Melo F, Feytmans E. Assessing protein structures with a non-local atomic interaction energy. *J Mol Biol* 1998;277:1141–52.
- [28] Benkert P, Biasini M, Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics* 2011;27:343–50.
- [29] Arnold K, Bordoli L, Kopp J, Schwede T. The Swiss-Model workspace: a web-based environment for protein structure homology modelling. *Bioinformatics* 2006;22:195–201.
- [30] Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF-Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 2004;25:1605–12.
- [31] Rougé P, Thibau F, Bourrier T, Saggio B, Culerrier R, Rancé F, et al. Signification clinique des allergènes croissants de la noix de Cajou (*anacardium occidentale*). *Rev Fr Allergol* 2011;51:31–5.
- [32] Robotham JM, Hoffman GG, Teuber SS, Beyer K, Sampson HA, Sathe SK, et al. Linear IgE-epitope mapping and comparative structural homology modeling of hazelnut and English walnut 11S globulins. *Mol Immunol* 2009;46:2975–84.
- [33] Rosenfeld L, Shreffler W, Bardina L, Niggemann B, Wahn U, Sampson HA, et al. Walnut allergy in peanut-allergic patients: significance of sequential epitopes of walnut homologous to linear epitopes of Ara h 1, 2 and 3 in relation to clinical reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:238–45.