



HAL
open science

Allergènes moléculaires des pollens : où en sommes-nous ?

Annick Barre, Hervé Benoist, Pierre Rougé

► To cite this version:

Annick Barre, Hervé Benoist, Pierre Rougé. Allergènes moléculaires des pollens : où en sommes-nous ? . Revue Française d'Allergologie, 2019, 59 (8), pp.592-604. 10.1016/j.reval.2019.07.005 . hal-03365975

HAL Id: hal-03365975

<https://ut3-toulouseinp.hal.science/hal-03365975v1>

Submitted on 21 Jul 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Allergènes moléculaires des pollens: où en sommes-nous ?

Molecular aspects of pollen allergens: where do we currently stand?

Annick Barre, Hervé Benoist, Pierre Rougé *

UMR 152 Pharma Dev, Université Paul Sabatier, Institut de Recherche et Développement,
Faculté de Pharmacie, 35 Chemin des Maraîchers, 31062 Toulouse Cedex 9, France

* Auteur correspondant:

Pierre Rougé

Tel. 06 95 52 08 51

Email pierre.rouge.perso@gmail.com

Allergènes moléculaires des pollens: où en sommes-nous ?

Molecular aspects of pollen allergens: where do we currently stand?

Résumé

Les allergènes polliniques appartiennent à différentes familles de protéines PR (PR pour Pathogenesis-Related), protéines impliquées dans les mécanismes de défense développés par les plantes: PR-2 ou endo β -glucanases, PR-3 ou chitinases, PR-5 ou thaumatin-like protéines (TLP), PR-10 ou protéines Bet v 1-like, PR-12 ou défensines et PR-14 ou protéines de transfert des lipides (LTP). D'autres allergènes polliniques correspondent à des protéines à rôle structural (profilines, expansines), métabolique (polcalcine) ou enzymatique (ribonucléases, pectate lyases, polygalacturonases). Les structures tridimensionnelles de la plupart des allergènes polliniques ont été caractérisées, les structures manquantes étant souvent accessibles par modélisation moléculaire à partir de patrons structuraux connus. Les épitopes B liant les IgE d'un petit nombre d'allergènes polliniques ont été identifiés par différentes approches (cartes épitopiques et analyse des complexes allergène-IgE), et les épitopes T de nombreux allergènes sont actuellement connus. Le caractère dégénéré de la reconnaissance des épitopes T par les récepteurs TCR, explique qu'un même TCR puisse reconnaître des épitopes T différents et, inversement, qu'un même épitope T puisse être reconnu par des TCR différents. L'identification de ces épitopes apporte une contribution essentielle dans différents domaines comme l'utilisation des allergènes polliniques recombinants ou naturels pour le diagnostic biologique des pollinoses ou l'utilisation d'épitopes T en immunothérapie spécifique. Ils permettent également de prédire les possibilités de réactions croisées et de co-sensibilisation entre des allergènes polliniques d'origine différente ou dans le syndrome oral entre des allergènes polliniques et des allergènes de fruits ou de légumes. Ces différents aspects moléculaires sont abordés dans cette revue.

Mots clés

Allergènes moléculaires, pollens, pollinoses, allergénicité, épitopes B, épitopes T, réactivité croisée, syndrome oral, syndrome pollen-fruit, diagnosis, immunothérapie spécifique

Abstract

Pollen allergens belong to various families of PR (i.e. pathogenesis-related) proteins involved in plant defense mechanisms, such as PR-2 (endo-glucanases), PR-3 (chitinases), PR-5 (thaumatin-like proteins or TLP), PR-10 (Bet v 1-like proteins), PR-12 (defensins) and PR-14 (lipid transfer proteins or LTP). They may also comprise proteins with other functions such as structural function (profilin, expansins), metabolic function (polcalcin) or enzymatic function (ribonucleases, pectate lyases, polygalacturonases) (e.g. ribonucleases, pectate lyases and polygalacturonases). The structural scaffolds of the major weed and tree pollen allergens have been identified either by X-ray crystallography or by NMR for smaller molecules such as LTP and polcalcin. Other pollen allergens of unknown structure have been successfully modelled from templates belonging to the same protein families. Epitope mapping of free allergens and analysis of allergen-IgE complexes enabled identification of IgE-binding B-cell epitopes at the surface of a few pollen allergens. A higher number of T-cell epitopes were identified along the amino acid sequence of various pollen allergens likely to interact with CD4+ T lymphocytes via T-cell receptors (TCRs). However, this low-affinity recognition of T-cell epitopes by TCRs is degenerate, allowing a single TCR to recognize different T-cell epitopes, and, conversely, enabling many different TCRs to recognize the same T-cell epitope. The identification of both B- and T-cell epitopes of pollen allergens is of paramount importance in optimizing the use of natural and recombinant pollen allergens as molecular tools for the component-resolved diagnosis of pollinoses and in improving current immunotherapy practice, for instance by reducing side effects associated with immunotherapy. In addition, identification of B- and T-cell epitopes may provide valuable assistance in the prediction of IgE-binding cross-reactivity and co-sensitization among pollen allergens of different origins, and between pollen and fruit or vegetable allergens responsible for oral allergy syndrome (OAS). Our review aims to present an overview of all these molecular aspects of pollen allergens.

Key words

Molecular allergen, pollen, pollinosis, allergenicity, B epitope, T epitope, IgE-binding cross-reactivity, oral allergy syndrome, pollen-fruit syndrome, diagnosis, specific immunotherapy

Introduction

L'analyse structurale des allergènes polliniques a démarré assez tardivement, en 1996, avec la résolution à l'échelle atomique (2.0 Å) de l'allergène majeur Bet v 1 du pollen de bouleau (*Betula verrucosa*), par les techniques conjointes de diffraction des rayons X et de résonance

magnétique nucléaire (RMN) [1]. Depuis, les structures moléculaires d'autres allergènes polliniques ont été décrites et, actuellement, l'architecture des principaux allergènes polliniques est bien connue. La plupart des allergènes polliniques de structure encore inconnue, peuvent être modélisés, d'autant plus facilement qu'ils appartiennent à seulement quelques familles de protéines dont les patrons structuraux sont bien identifiés. En association avec d'autres techniques d'analyse (cartes épitopiques utilisant des peptides synthétiques ou issus de bibliothèques de phages), l'analyse structurale des allergènes polliniques libres ou complexés à des anticorps IgE ou IgG, a permis d'identifier les épitopes B liant les IgE sur la surface moléculaire de plusieurs allergènes. D'autres approches expérimentales ont permis d'identifier les épitopes T de nombreux allergènes polliniques, responsables de l'interaction avec les lymphocytes T CD4+ et les récepteurs TCR. L'identification des épitopes B et T permet d'optimiser l'utilisation des allergènes polliniques naturels (n) ou recombinants (r), comme outils de diagnostic (tests unitaires, biopuces d'allergènes) et comme outils thérapeutiques dans l'immunothérapie spécifique. Elle apporte aussi des renseignements précieux sur l'aptitude des allergènes polliniques à développer des réactions croisées, souvent associées à des co-sensibilisations, avec d'autres allergènes des pollens ou des aliments, des fruits et légumes en particulier. Ces différents aspects moléculaires sont abordés dans la présente revue.

1. Diversité des allergènes du pollen

La plupart des allergènes polliniques appartiennent à différentes familles de protéines PR (PR pour Pathogenesis-Related), protéines impliquées dans les mécanismes de défense développés par les plantes, notamment contre les champignons phytopathogènes [2]. Les principales familles de protéines PR impliquées sont les PR-2 (endo β 1,3-glucanases), les PR-3 (chitinases I, II, IV-VII), les PR-5 (protéines thaumatin-like ou TLP), les PR-8 (chitinases III), les PR-10 (protéines Bet v 1-like), les PR-12 (défensines) et les PR-14 (protéines de transfert des lipides ou LTP) (Tableau 1). D'autres allergènes correspondent à des protéines à rôle structural (expansines, profilines) ou métabolique (polcalcines), ou à diverses enzymes impliquées dans des processus métaboliques variés (ribonucléases, pectate lyases, polygalacturonases). Cette diversité est plutôt limitée car les grains de pollen correspondent à des prothalles mâles dont la composition des enveloppes, intine et exine, reste relativement homogène dans tous les groupes de plantes, indépendamment de différences structurales parfois importantes.

2. Structures et propriétés des allergènes du pollen

Les structures moléculaires des allergènes polliniques sont bien connues, même si elles concernent essentiellement les allergènes des pollens de bouleau (*Betula verrucosa*) et de quelques graminées comme la fléole (*Phleum pratense*) (Tableau 2). Les structures moléculaires répertoriées dans la Protein Data Bank (PDB), obtenues par radiocristallographie aux rayons X ou, plus rarement, par RMN, donnent une bonne image de la diversité structurale des allergènes polliniques (Fig. 1). D'autre part, le développement des techniques de modélisation moléculaire, permet de construire des modèles moléculaires fiables pour les allergènes polliniques dont les structures moléculaires ne sont pas encore disponibles.

Les allergènes polliniques correspondent à de petites protéines comme les défensines (10-12 kDa), les profilines (14 kDa), les polcalcines (10 kDa), les LTP (9 kDa), ou les inhibiteurs trypsiques (15 kDa). D'autres allergènes polliniques sont plus volumineux comme les expansines (25 kDa), les allergènes des graminées du groupe 5 (ribonucléases) (30 kDa), les chitinases 4 (25 kDa), les PR-5 thaumatin-like (20 kDa), les allergènes des graminées du groupe 4 (55 kDa) ou les pectate lyases (40 kDa). En outre, ces allergènes plus volumineux sont souvent *N*-glycosylés et peuvent se comporter comme des CCD (Cross-reactive Carbohydrate Determinant) [43,44]. En dehors de quelques allergènes constitués d'un seul motif de structure secondaire comme les allergènes de graminées du groupe 2 et les inhibiteurs trypsiques constitués exclusivement de feuillets- β , ou les polcalcines et les LTP qui ne possèdent que des hélices- α , les autres allergènes correspondent à des protéines $\alpha+\beta$ comportant des feuillets- β associés à des hélices- α .

Parmi les allergènes polliniques les plus courants, Bet v 1 et les protéines PR-10 Bet v 1-like, sont constituées d'un large feuillet- β à disposition antiparallèle, incurvé, associé à deux hélices- α (Fig. 1). Les profilines (Art v 4) sont formées d'un feuillet- β central à disposition antiparallèle, pris en sandwich entre des hélices- α (Fig. 1). Dans les expansines (Phl p 1), les allergènes des graminées du groupe 2 (Phl p 2) ou les inhibiteurs trypsiques (Pla a 1), les brins β s'associent en deux feuillets- β disposés en sandwich (Fig. 1). Par contre, seules des hélices- α interviennent dans la structure des polcalcines (Che a 3), des LTP (Par j 2) ou des chitinases (Cry j chitinase) (Fig. 1). Les 4 hélices- α des LTP forment un coeur central d'où part une boucle C-terminale, pour adopter une conformation dite "saxophone-like". Quatre ponts disulfures assurent à cet édifice moléculaire une stabilité importante, qui explique la résistance élevée des LTP responsables d'allergies alimentaires à la dénaturation thermique (cuisson) et à la dégradation protéolytique digestive (pepsique, trypsique) [45].

Les allergènes des pollens de Cupressacées, comme Cup s 3, Cup a 3 ou Jun a 3 (PR-5 thaumatin-like), ou Jun a 1 (pectate lyase), sont des protéines volumineuses de structures plus complexes. Cup a 1 possède la structure en trois domaines (domaine I central formé de 2 feuillets- β antiparallèles disposés en sandwich, encadré par le domaine II formé uniquement d'hélices- α et le domaine III réduit à un feuillet β disposé en épingle-à-cheveu, typique de la thaumatine et des protéines PR-5 (Fig. 1). Cette structure, stabilisée par 8 ponts disulfures, offre une bonne résistance à la dénaturation thermique et à la protéolyse digestive [46]. Les allergènes Jun a 1, Cup s 1 et Cry j 1, possèdent une structure en β -prisme incurvé caractéristique des enzymes pectate lyases et polygalacturonases (Fig. 1). Ces deux familles d'allergènes sont glycosylées par des chaînes *N*-glycaniques complexes.

Les caractéristiques structurales des allergènes polliniques vont conditionner leur propriétés physico-chimiques (solubilité, point isoélectrique, résistance à la dénaturation thermique, résistance à la protéolyse digestive) et fonctionnelles (charges de surface, allergénicité, épitopes B et T). Parmi ces allergènes, on distingue quelques protéines thermosensibles, facilement inactivées lors d'une cuisson prolongée (profilines) mais la plupart correspondent à des protéines thermostables dont l'allergénicité n'est que partiellement atténuée par la cuisson (LTP, TLP) [45,46]. En fait, la présence de ponts disulfures dans les allergènes polliniques constitue un facteur important de stabilité.

3. Allergénicité des pollens

Les caractéristiques séquentielles et structurales des allergènes polliniques vont définir leur allergénicité, matérialisée par l'existence d'épitopes B IgE-réactifs et d'épitopes T sensibilisants, dispersés sur leur surface moléculaire. Les connaissances accumulées dans ce domaine restent fragmentaires, en dépit des analyses de surface très complètes réalisées sur Bet v 1 (PR-10) et Bet v 2 (profiline), et de quelques allergènes de graminées comme Phl p 2 (group 2) et Phl p 7 (polcalcine).

Les approches classiques d'identification des épitopes séquentiels par epitope-mapping (cartes épitopiques) et mutagénèse dirigée (remplacement des acides aminés par l'alanine), associées à l'analyse de complexes cristallographiques Bet v 1-fragment Fab d'IgG murines (code PDB 1FSK) ou Bet v 2-fragment Fab d'IgE monoclonales (code PDB 1CQA), ont montré que la reconnaissance des allergènes du bouleau par les IgE ou les IgG implique des épitopes B séquentiels dont quelques acides aminés seulement interagissent avec le paratope des IgG/IgE par des liaisons hydrogènes (Fig. 2A). Les IgG murines interagissent avec deux

épitopes séquentiels **45E-G-N-G-G-P50** et **70R-V-D-E-V-D-H76** dont les acides aminés **E45**, **G46**, **N47** et **P50** du premier épitope et les acides aminés **R70**, **D72** et **H76** du second épitope, établissent un réseau d'une dizaine de liaisons hydrogènes avec quelques acides aminés des deux domaines variables du paratope (Fig. 2B-D) [5]. Des analyses effectuées avec différentes IgE monoclonales, révèlent un schéma d'interaction identique avec l'épitope séquentiel **56I-S-F-P-E-G-L-P-F-K-Y-V-K-D69** de la profiline Bt v 2, dont les acides aminés **S57**, **E60**, **L62**, **F64**, **K65** et **D69** établissent un réseau de liaisons hydrogènes avec le paratope des IgE (Fig. 2E,F) [22]. Dans les deux cas, des liaisons de Van der Waals et des interactions hydrophobes complètent la liaison de l'allergène, Bet v 1 ou Bet v 2, avec les anticorps.

Des schémas d'interaction similaires ont été observés avec les allergènes Phl p 2 et Phl p 7 de la fléole (Fig. 3). Les acides aminés de quatre épitopes séquentiels **30E-V-E-L-R34**, **39D-E-W41**, **65N-F-R-F-L69** et **75K-N-V-F-D-D80** de Phl p 2, allergène du groupe 2 des graminées, interagissent par des liaisons hydrogènes avec le paratope des IgE spécifiques (Fig. 3A,B,C) [27]. Des interactions hydrophobes impliquant la plupart des acides aminés apolaires des quatre épitopes, viennent compléter la liaison de Phl p 2 avec les IgE. La liaison de la polcalcine Phl p 7 aux IgE, obéit au même schéma d'interaction (Fig. 3D,E) [38], mais dans ce cas, deux épitopes distincts, **7R-I-F-K-R-F-D-T-N-G-D-G-K-I-S-L-S23** et **38D-E-V-Q-R-M-M-A-E-I-D-D-G-D52**, dont seulement quelques acides aminés établissent des liaisons hydrogènes avec le paratope des anticorps (Fig. 3D-G). Bien que séparés sur les deux faces de l'allergène, ces deux épitopes interagissent avec l'anticorps.

Les investigations moléculaires sur les épitopes B des pollens de Cupressacées (Jun a 1, Jun a 3) et de beaucoup d'autres arbres, sont plus fragmentaires et mériteraient sûrement d'être davantage développées. Les quatre épitopes B identifiés dans Jun a 3, PR-5 TLP du genévrier d'Ashe, sont exclusivement localisés dans le domaine II constitué d'hélices α [47]. Ils correspondent aux segments de séquence **120-A-D-I-N-A-V-C-P-S-E-L-K131**, **132V-D-G-G-C-N-S-A-C-N-V-F-K-T145**, **152N-A-Y-V-D-N-C-P-A-T-N-Y-S-K165** et **169N-Q-C-P-Q-A-Y-S-Y-A-K179**, bien exposés à la surface de Jun a 3.

Contrairement aux épitopes B, l'identification et la caractérisation moléculaire des épitopes T des allergènes polliniques a rapidement progressée, dans le but d'obtenir des peptides utilisables pour l'immunothérapie spécifique des rhinites allergiques liées aux pollens de graminées (fléole, ivraie), de Cupressacées (genévrier d'Ashe) et d'arbres (bouleau, platane). De nombreux épitopes T ont été identifiés, qui correspondent à des oligopeptides de 10- à 15-mer, susceptibles d'interagir de façon plus ou moins spécifique avec la corbeille du CMH-II des T-récepteurs TCR. Le tableau 3 illustre quelques épitopes T identifiés dans les allergènes

des pollens de bouleau (Bet v 1) [48], de fléole (Phl p 1) [49], de pâturin (Poa p 1) [50], de cryptomeria (Cry j 1) [51] ou d'ambrosie (Amb a 5) [52]. La taille moyenne de ces épitopes est de 12 à 17 acides aminés, avec un coeur de 9 acides aminés [53]. La plupart contiennent des acides aminés électronégatifs/acides (acide aspartique D/Asp et acide glutamique E/Glu) et/ou des acides aminés électropositifs/basiques (arginine R/Arg et lysine K/Lys). Ces résidus chargés interviennent dans la fixation des épitopes T sur leurs récepteurs. Les épitopes T renferment également plusieurs acides aminés hydrophobes, notamment des acides aminés aromatiques comme la phénylalanine (F/Phe), la tyrosine (Y/Tyr) ou le tryptophane (W/Trp). Ces épitopes adoptent une conformation linéaire, qui leur permet de s'adapter à la corbeille du CMH-II des TCR. Les acides aminés en position 2, 3, 5 et 7 de l'épitope T sont impliqués dans l'interaction avec les TCR, tandis que les acides aminés en position 1, 4, 6 et 9 interviennent plutôt dans l'interaction avec les lymphocytes T [54]. La dégénérescence observée dans la reconnaissance des épitopes T par les récepteurs TCR, et les analogies de séquence observées entre les épitopes T des allergènes polliniques d'espèces apparentées, renforcent l'allergénicité croisée entre les pollens de Graminées ou de Cupressacées [55].

A côté des approches expérimentales, des approches bioinformatiques variées ont été utilisées pour prédire, avec plus ou moins de succès, les épitopes B et T des allergènes des pollens. Les méthodes de prédiction des épitopes B reposent sur la recherche, dans les séquences protéiques ou dans les profils hydrophatiques dérivés de ces séquences, des régions constituées essentiellement d'acides aminés hydrophiles, flexibles, accessibles, souvent chargés (acides aminés fortement électronégatifs, comme les acides aspartique et glutamique, ou fortement électropositifs, comme l'arginine ou la lysine, qui sont sensés être prédominants dans les régions correspondant aux épitopes B [56]. De très nombreuses échelles d'hydrophilie/hydrophobie, d'accessibilité au solvant ou de flexibilité, ont été proposés, utilisées pour calculer des index antigéniques susceptibles d'identifier les régions à fort potentiel allergéniques. Des méthodes plus sophistiquées, basées sur les profils hydrophatiques des allergènes [57,58] ou sur l'analyse de surface de modèles tridimensionnels construits par homologie, ont été développés avec plus ou moins de succès. D'une façon générale, les résultats de ces approches bioinformatiques doivent être considérés avec prudence, sauf s'ils proviennent d'analyses rigoureuses effectuées en comparaison avec des allergènes voisins de structure et d'allergénicité parfaitement connues, pour prédire par exemple la possibilité de réactions croisées entre les membres d'une même famille d'allergènes [59,60]. Les approches bioinformatiques utilisées pour prédire les épitopes T ou les peptides immunotoxiques pour les intolérances sévères au gluten ou la maladie cœliaque, souffrent des mêmes limitations [61,62].

4. Les allergènes moléculaires des pollens disponibles pour le diagnostic et l'immunothérapie spécifique

Les techniques modernes de clonage et de séquençage des gènes ou des ADNc, ont permis d'élucider la séquence des acides aminés d'une majorité d'allergènes polliniques. En retour, ces travaux ont permis d'utiliser les gènes ou les ADNc pour des allergènes recombinants (r) dans divers systèmes de production procaryotes (*colibacille*) ou eucaryotes (levures, baculovirus, tabac). Les systèmes de production procaryotes fournissent des allergènes non glycosylés, tandis que les systèmes eucaryotes permettent d'obtenir des allergènes partiellement ou totalement glycosylés. A côté des allergènes naturels (n) isolés et purifiés à partir de différents pollens, les allergènes recombinants sont largement utilisés pour le diagnostic biologique et pour l'immunothérapie spécifique des pollinoses.

Plusieurs allergènes moléculaires sont utilisés dans les tests de diagnostic unitaires développés par différentes firmes pharmaceutiques. On les retrouve également dans les tests multiplexés qui se sont développés depuis quelques années. Les tableaux 4 et 5 récapitulent les allergènes moléculaires naturels (n) et recombinants (r) utilisés dans les biopuces ISAC (Phadia, Thermo Fischer) et Alex (MAD, Macro Array Explorer). Les allergènes moléculaires ont introduit dans le diagnostic des allergènes responsables de pollinoses, une spécificité que les extraits polliniques n'avaient pas. En outre, ils constituent un outil de choix pour objectiver les réactivités croisées susceptibles de se produire entre des allergènes d'origines différentes.

L'utilisation d'allergènes moléculaires recombinants en immunothérapie spécifique présente plusieurs avantages sur les allergènes naturels tels que la possibilité de disposer de molécules parfaitement définies, de qualité constante et disponibles en grandes quantités [63]. En outre, l'immunothérapie s'oriente aussi vers la production, par génie génétique, d'allergènes recombinants modifiés, dans lesquels les épitopes T sont conservés au détriment des épitopes E (hypoallergéniques), susceptibles favoriser la production d'anticorps bloquants (IgG) et de diminuer les effets secondaires constatés dans les traitements classiques par des allergènes polliniques naturels [64]. Néanmoins, l'identification des épitopes B et T des allergènes concernés, est un prérequis indispensable pour envisager de telles modifications, ce qui est loin d'être le cas pour la plupart des allergènes polliniques. L'immunothérapie sublinguale utilisant des allergènes Mal d 1 et Bet v 1 recombinants, fournit des résultats prometteurs dans le traitement du syndrome pomme-bouleau [65-67].

5. Allergies croisées et syndromes pollen-fruit

Les allergènes polliniques de séquences et structures voisines, sont fréquemment à l'origine de réactions croisées, plus rarement responsables d'allergies croisées. A côté des réactions croisées entre allergènes polliniques de Graminées ou de Cupressacées, responsables de co-sensibilisations fréquentes, des syndromes oraux (OAS) peuvent intervenir entre les allergènes polliniques et des allergènes voisins des fruits ou des légumes (Tableau 6) [68-73]. Dans leurs formes bénignes, ces syndromes oraux se manifestent par des picotements au niveau des lèvres (syndrome labial) et autour de la bouche. Dans les formes plus sévères, des manifestations oro-pharyngées peuvent survenir.

Les réactivités croisées reposent sur des bases moléculaires, constituées par des épitopes B de séquences et de conformations voisines, voire identiques [74,75]. A titre d'exemple, la réactivité croisée fréquemment observée entre les LTP des pollens, notamment Amb a 6 de l'ambrosie (*Ambrosia artemisiifolia*) et Art v 3 de l'armoise (*Artemisia vulgaris*), et les LTP des fruits, comme Pru p 3 de la pêche (*Prunus persica*), ou des légumes, comme Api g 2 du céleri (*Apium graveolens*), trouvent leur origine dans des homologies plus ou moins prononcées de séquence et de structure (Fig. 4A-E). En particulier, la disposition spatiale de certains acides aminés des épitopes B impliqués dans l'établissement de liaisons hydrogènes avec le paratope des IgE correspondantes, est un facteur essentiel de cette réactivité croisée (Fig. 4F-M). Ce qui importe en l'occurrence, ce n'est pas tellement la conformation même de ces acides aminés, qui peut varier selon les conformères prédominants des différents allergènes, mais leur positionnement respectif par rapport aux acides aminés du paratope des IgE, qui vont interagir spécifiquement avec eux pour créer un réseau de liaisons hydrogènes et d'interactions hydrophobes responsable de l'association spécifique allergène-IgE.

Les épitopes T interviennent également dans la réactivité croisée, au niveau cellulaire. Les lymphocytes T stimulés par les épitopes T de Bet v 1, sont également stimulés par d'autres protéines PR-10 Bet v 1-like apparentées, comme Api g 1, Dau c 1, Mal d 1 and Pru av 1, et l'épitope T 142-156 de Bet v 1 peut être activé par les allergènes homologues des fruits (Mal d 1, Pru av 1) ou des légumes (Api g 1, Dau c 1) [76]. D'autre part, il n'est pas rare que les épitopes T identifiés le long de la séquence d'un allergène, chevauchent en partie ou totalement, les épitopes B séquentiels identifiés dans cet allergène. C'est le cas des épitopes T identifiés dans la LTP de pêche Pru p 3, qui chevauchent trois des quatre épitopes B identifiés dans cet allergène [75,77]. C'est là une source importante de réactions croisées [78].

6. Conclusion

L'analyse de la structure et des propriétés moléculaires des allergènes polliniques, démarrée il y a seulement quelques décades, a permis d'identifier les bases moléculaires de l'allergénicité, épitopes B liant les IgE et épitopes T activant les lymphocytes T CD4+ par le biais d'interactions avec les récepteurs TCR, et d'améliorer la prédiction des réactivités croisées entre allergènes de séquences et de structures voisines, réactivités croisées entre allergènes polliniques et réactivités croisées entre allergènes polliniques et allergènes alimentaires (syndromes oraux). Le développement concomitant des techniques de génie génétique (séquençage et clonage des gènes ou des ADNc, mutagenèse dirigée, production d'allergènes recombinants), ont permis de remplacer l'isolement et la purification des allergènes à partir des pollens, opérations délicates et fastidieuses, par la production en quantité d'allergènes recombinants, molécules parfaitement définies et de qualité constante. Les allergènes recombinants ont permis d'accéder à des tests multiplexés de diagnostic moléculaire des pollinoses (biopuces d'allergènes recombinants) et de remplacer les extraits naturels d'allergènes polliniques utilisés en immunothérapie spécifique.

La liste de toutes ces avancées, réalisés en quelques années, est certes impressionnante mais elle masque une réalité plus nuancée en termes de connaissances sur la structure et les propriétés moléculaires des allergènes polliniques:

- nos connaissances sur la structure des allergènes polliniques reste fragmentaire,
- les épitopes B d'un grand nombre d'allergènes polliniques n'ont pas encore été identifiés,
- les mécanismes des réactivités croisées, humorales (épitopes B) et cellulaires (épitopes T) commencent seulement à être appréhendés,
- les voies de régulation qui sous-tendent les mécanismes moléculaires de reconnaissance des épitopes B et T par les anticorps (IgE, IgG) ou les récepteurs correspondants (TCR), restent à approfondir,
- l'influence des facteurs épigénétiques ou du microbiote sur ces interactions et leur régulation, reste à défricher,

Il est certain que l'avenir apportera un lot de réponses et de connaissances supplémentaires dans ces différents domaines, mais il est urgent de s'en préoccuper en raison de la progression incessante des allergies polliniques sévères, notamment chez les enfants, et d'autant plus que les prévisions climatiques risquent de l'accélérer.

Conflits d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

Références bibliographiques

1. Gajhede M, Mosmark P, Poulsen FM, Ipsen H, Larsen JN, Joost van Neerven RJ, Schou C, Løwenstein H, Spangfort MD. X-ray and NMR structure of Bet v 1, the origin of birch pollen allergy. *Nat. Struct. Biol.* 1996 ;3 :1040-1045.
2. Radauer C, Bublin M, Wagner S, Mari A, Breiteneder H. Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008;121:847-852.
3. Schweimer K, Sticht H, Nerkamp M, Boehm M, Breitenbach M, Vieths S, Rösch P. NMR spectroscopy reveals common structural features of the birch pollen allergen Bet v 1 and the cherry allergen Pru a 1. *Appl. Magn. Reson.* 1999 ;17 :449-464.
4. Markovic-Housley Z, Degano M, Lamba D, von Roepenack-Lahaye E, Clemens S, Susani M, Ferreira F, Scheiner O, Breiteneder H. 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 :123-133.
5. Mirza O, Henriksen A, Ipsen H, Larsen JN, Wissenbach M, Spangfort MD, Gajhede M. Dominant epitopes and allergic cross-reactivity : complex formation between a Fab fragment of a monoclonal murine IgG antibody and the major allergen from birch pollen Bet v 1. *J. Immunol.* 2000 ;165 :331-338.
6. Spangfort MD, Mirza O, Ipsen H, Van Neerven RJ, Gajhede M, Larsen JN. Dominating IgE-binding epitope of Bet v 1, the major allergen of birch pollen, characterized by X-ray crystallography and site-directed mutagenesis. *J. Immunol.* 2003 ;171 :3084-3090.
7. Holm J, Gajhede M, Ferreras M, Henriksen A, Ipsen H, Larsen JN, Lund L, Jacobi H, Millner A, Würtzen PA, Spangfort MD. Allergy vaccine engineering : epitope modulation of recombinant Bet v 1 reduces IgE binding but retains protein folding pattern for induction of protective blocking-antibodies responses. *J. Immunol.* 2004 ;173 :5258-5267.
8. Kofler S, Asam C, Eckhard U, Wallner M, Ferreira F, Brandstetter H. Crystallographic mapped ligand binding differs in high and low IgE binding isoforms of birch pollen allergen Bet v 1. *J. Mol. Biol.* 2012 ;422 :109-123.
9. Ackaert C, Kofler S, Horejs-Hoeck J, Zulehner N, Asam C, Von Grafenstein S, Fuchs JE, Briza P, Liedl KR, Bohle B, Ferreira F, Brandstetter H, Osstingh GJ, Duschl A. The impact of nitration on the structure and immunogenicity of the major birch pollen allergen Bet v 1.0101. *PLoS One* 2014 ;9 :e104520.
10. Kofler S, Ackaert C, Samonig M, Asam C, Briza P, Horejs-Hoeck J, Cabrele C, Ferreira F, Dusch A, Huber C, Brandstetter H. Stabilization of the dimeric birch pollen allergen Bet v 1 impacts its immunological properties. *J. Biol. Chem.* 2014 ;289 :540-551.

11. Nony E, Bouley J, Le Mignon M, Lemoine P, Jain K, Horiot S, Mascarell L, Pallardy M, Vincentelli R, Leone P, Roussel A, Batard T, Abiteboul K, Robin B, de Beaumont O, Arvidsson M, Rak S, Moingeon P. Development and evaluation of a sublingual tablet based on recombinant Bet v 1 in birch pollen-allergic patients. *Allergy* 2015 ;70 :795-804.
12. Grutsch S, Fuchs JE, Freier R, Kofler S, Bibi M, Asam C, Wallner M, Ferreira F, Branstetter H, Liedl KR, Tollinger M. Ligand binding modulates the structural dynamics and compactness of the major birch pollen allergen. *Biophys. J.* 2014 ;107 :2972-2981.
13. Machado Y, Freier R, Scheiblhofer S, Thalhamer T, Mayr M, Briza P, Grutsch S, Ahammer L, Fuchs JE, Wallnoefer HG, Isakovic A, Kohlbauer V, Hinterholzer A, Steiner M, Danzer M, Horejs-Hoeck J, Ferreira F, Liedl KR, Tollinger M, Lackner P, Johnson CM, Brandstetter H, Thalhamer J, Weiss R. Fold stability during endolysosomal acidification is a key factor for allergenicity and immunogenicity of the major birch pollen allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016 ;137 :1525-1534.
14. Moraes AH, Asam C, Almeida FCL, Wallner M, Ferreira F, Valente AP. Structural basis for cross-reactivity and conformation fluctuation of the major birch pollen allergen Fag s 1. *Sci. Rep.* 2018 ;8 :10512.
15. Biesiadka J, Bujacz G, Sikorski MM, Jaskolski M. Crystal structures of two homologous pathogenesis-related proteins from yellow lupine. *J. Mol. Biol.* 2002 ;319 :1223-1234.
16. Pasternak O, Biesiadka J, Dolot R, Handschuh L, Bujacz G, Sikorski MM, Jaskolski M. Structure of a yellow lupin pathogenesis-related PR-10 protein belonging to a novel subclass. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2005 ;61 :99-107.
17. Fernandes H, Bujacz A, Bujacz G, Jelen F, Jasinski M, Kachlicki P, Otlewski J, Sikorski MM, Jaskolski M. Cytokine-induced structural adaptability of a *Lupinus luteus* PR-10 protein. *FEBS J.* 2009 ;276 :1596-1609.
18. Ruszkowski M, Sliwiak J, Ciesielska A, Barciszewski J, Sikorski M, Jaskolski M. Specific binding of gibberellic acid and cytokinin-specific binding proteins : a new aspect of plant hormone-binding proteins with the PR-10 fold. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014 ;70 :2032-2041.
19. Michalska K, Fernandes H, Sikorski M, Jaskolski M. Crystal structure of Hyp-1, a St. John's wort protein implicated in the biosynthesis of hypericin. *J. Struct. Biol.* 2010;169:161-171.
20. Thom KS, Christensen HE, Shigeta R, Huddler D, Shalaby L, Lindberg U, Chua NH, Schutt CE. The crystal structure of a major allergen from plants. *Structure* 1997 ;5 :19-32.
21. Offermann LR, Schlachter CR, Perdue ML, Majorek KA, He JZ, Booth WT, Garrett J, Kowal K, Chruszcz M. Structural, functional, and immunological characterization of profilin panallergens Amb a 8, Art v 4, and Bet v 2. *J. Biol. Chem.* 2016 ;291 :15447-15459.

22. Fedorov AA, Ball T, Mahoney NM, Valenta R, Almo SC. The molecular basis for allergen cross-reactivity : crystal structure and IgE-epitope mapping of birch pollen profilin. *Structure* 1997 ;5 :33-45.
23. Soh WT, Briza P, Dall E, Asam C, Schubert M, Huber S, Aglas L, Bohle B, Ferreira F, Branstetter H. Two distinct conformations in Bet v 2 determine its proteolytic resistance to cathepsin S. *Int. J. Mol. Sci.* 2017 ;18 :E2156.
24. Mares-Mejía I, Martínez-Caballero S, Garay-Canales C, Cano-Sánchez P, Torres-Larios A, Lara-González S, Ortega E, Rodríguez-Romero A. Structural insights into the IgE mediated responses induced by the allergen Hev b 8 and Zea m 12 in their dimeric forms. *Sci. Rep.* 2016 ;6 :32552.
25. Yennawar NH, Li LC, Dudzinski DM, Tabuchi A, Cosgrove DJ. Crystal structure and activities of EXPB1 (Zea m 1), a β -expansin and group-1 pollen allergen from maize. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2006 ;103 :14664-14671.
26. De Marino S, Morelli MA, Fraternali T, Tamborini E, Musco G, Vrtala S, Dolecek C, Arosio P, Valenta R, Pastore A. An immunoglobulin-like fold in a major plant allergen : the solution structure of Phl p 2 from timothy grass pollen. *Structure* 1999 ;7 :943-952.
27. Padavattan S, Flicker S, Schirmer T, Madritsch C, Randow S, Reese G, Vieths S, Lupinek C, Ebner C, Valenta R, Markovic-Housley Z. High-affinity IgE recognition of a conformational epitope of the major respiratory allergen Phl p 2 as revealed by X-ray crystallography. *J. Immunol.* 2009 ;182 :2141-2151.
28. Schweimer K, Petersen A, Suck R, Becker WM, Rösch P, Matecko I. Solution structure of Phl p 3, A major allergen from timothy grass pollen. *Biol. Chem.* 2008 ;389 :919-923.
29. Zafred D, Nandy A, Pump L, Kahlert H, Keller W. Crystal structure and immunologic characterization of the major grass pollen allergen Phl p 4. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013 ;132 :696-703.
30. Zafred D, Steiner B, Teufelberger AR, Hromic A, Karplus PA, Schofield CJ, Wallner S, Macheroux P. Rationally engineered flavin-dependent oxidase reveals steric control of dioxygen reduction. *FEBS J.* 2015 ;282 :3060-3074.
31. Huang TH, Peng HJ, Su SN, Liaw SH. Various cross-reactivity of the grass pollen group 4 allergens : crystallographic study of the Bermuda grass isoallergen Cyn d 4. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2012 ;68 :1303-1310.
32. Rajashankar K, Bufe A, Weber W, Eschenburg S, Lindner B, Betzel C. Structure of the functional domain of the major grass-pollen allergen Phl p 5b. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2002 ;58 :1175-1181.
33. Treviño MA, García-Mayoral MF, Barral P, Villalba M, Santoro J, Rico M, Rodríguez R, Bruix M. NMR solution structure of Ole e 6, a major allergen from olive tree pollen. *J. Biol. Chem.* 2004 ;279 :39035-39041.

34. Neudecker P, Nerkamp J, Eisenmann A, Nourse A, Lauber T, Schweimer K, Lehmann K, Schwarzinger S, Ferreira F, Rösch P. Solution structure, dynamics, and hydrodynamics of the calcium-bound cross-reactive birch pollen Bet v 4 reveal a canonical monomeric two EF-hand assembly with a regulatory function. *J. Mol. Biol.* 2004 ;336 :1141-1157.
35. Verdino P, Barderas R, Villalba M, Westritschnig K, Valenta R, Rodríguez R, Keller W. Three-dimensional structure of the cross-reactive pollen allergen Che a 3 : visualizing cross-reactivity on the molecular surfaces of weed, grass, and tree pollen allergens. *J. Immunol.* 2008 ;180 :2313-2321.
36. Verdino P, Westritschnig K, Valenta R, Keller W. The cross-reactive calcium-binding pollen allergen, Phl p 7, reveals novel dimer assembly. *EMBO J.* 2002 ;21 :5007-5016.
37. Henzl MT, Sirianni AG, Wycoff WG, Tan A, Tanner JJ. Solution structures of polcalcin Phl p 7 in three ligation states : apo-, hemi-Mg²⁺-bound, and fully Ca²⁺-bound. *Proteins* 2013 ;81 :300-315.
38. Mitropoulou AN, Bowen H, Dodev TS, Davies AM, Bax HJ, Bevil RL, Bevil AJ, Gould HJ, James LK, Sutton BJ. Structure of a patient-derived antibody in complex with allergen reveals simultaneous conventional and superantigen-like recognition. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 2018 ;115 :E8707-E8716.
39. Ghosh D, Mueller GA, Schramm G, Edwards LL, Petersen A, London RE, Haas H, Gupta Bhattacharya S. Primary identification, biochemical characterization, and immunologic properties of the allergenic pollen cyclophilin Cat r 1. *J. Biol. Chem.* 2014 ;289 :21374-21385.
40. Razzera G, Gadermaier G, de Paula V, Almeida MS, Egger M, Jahn-Schmid B, Almeida FC, Ferreira F, Valente AP. Mapping the interactions between a major pollen allergen and human IgE antibodies. *Structure* 2010 ;18 :1011-1021.
41. Stemeseder T, Freier R, Wildner S, Fuchs JE, Briza P, Lang R, Batanero E, Lidholm J, Liedl KR, Campo P, Hawranek T, Villalba M, Brandstetter H, Ferreira F, Gadermaier G. Crystal structure of Pla l 1 reveals both structural similarity and allergenic divergence within the Ole e 1-like protein family. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017 ;140 :277-280.
42. Czerwinski EW, Midoro-Horiuti T, White MA, Brooks EG, Goldblum RM. Crystal structure of Jun a 1, the major cedar pollen allergen from *Juniperus ashei*, reveals a parallel β -helical core. *J. Biol. Chem.* 2005 ;280 :3740-3746.
43. Afferni C, Iacovacci P, Barletta B, Di Felice G, Tinghino R, Mari A, Pini C. Role of carbohydrate moieties in IgE binding to allergenic components of *Cupressus arizonica* pollen extract. *Clin. Exp. Allergy* 1999;29:1087-1094.
44. Iacovacci P, Pini C, Afferni C, Barletta B, Tinghino R, Schininà E, Federico R, Mari A, Di Felice G. A monoclonal antibody specific for carbohydrate epitope recognizes an IgE-binding determinant shared by taxonomically unrelated allergenic pollens. *Clin. Exp. Allergy* 2001;31:458-65.

45. Scheurer S, Lauer I, Foetisch K, San Miguel Moncin M, Retzek M, Hartz C, Enrique E, Lidholm J, Cistero-Bahima A, Vieths S? Strong allergenicity of Pru av 3, the lipid transfer protein from cherry, is related to high stability against thermal processing and digestion. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004;114:900-907.
46. Smole U, Bublin M, Radauer C, Ebner C, Breiteneder H. Mal d 2, the thaumatin-like allergen from apple, is highly resistant to gastrointestinal digestion and thermal processing. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008;147:289-298.
47. Soman KV, Midoro-Horiuti T, Ferreon JC, Goldblum RM, Brooks EG, Kurosky A, Braun W, Chein CH, 2000. Homology modeling and characterization of IgE binding epitopes of mountain cedar allergen Jun a 3. *Biophys. J.* 2000;79:1601-169.
48. Ebner C, Schenk S, Szépfalusi Z, Hoffmann K, Ferreira F, Willheim M, Scheiner O, Kraft D. Multiple T cell specificities for Bet v 1, the major birch pollen allergen, within single individuals. Studies using specific T cell clones and overlapping peptides. *Eur. J. Immunol.* 1993;23:1523-1527.
49. Schenk S, Breiteneder H, Susani M, Najafian N, Laffer S, Duchêne M, Valenta R, Fischer G, Scheiner O, Kraft D, Ebner C. T-cell epitopes of Phl p 1, major pollen allergen of timothy grass (*Phleum pratense*): Evidence for crossreacting and non-crossreacting T-cell epitopes within grass group I allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995;96:986-996.
50. Mohapatra SS, Mohapatra S, Yang M, Ansari AA, Parronchi P, Maggi E, Romagnani S. Molecular basis of cross-reactivity among allergen-specific human T cells: T-cell receptor $V\alpha$ gene usage and epitope structure. *Immunology* 1994;81:15-20.
51. Ikagawa S, Matsushita S, Chen YZ, Ishikawa T, Nishimura Y. A Single amino acid substitutions on a Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1)-derived peptide induced alterations in human T cell responses and T cell receptor antagonism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996;97:53-64.
52. Zhu X, Greenstein JL, Rogers BL, Kuo MC. T cell epitope mapping of ragweed pollen allergen *Ambrosia artemisiifolia* (Amb a 5) and *Ambrosia trifida* (Amb t 5) and the role of free sulfhydryl groups in T cell recognition. *J. Immunol.* 1995;155:5064-5073.
53. Rudensky A, Preston-Hurlburt P, Hong SC, Barlow A, Janeway CA Jr. Sequence analysis of peptides bound to MHC class II molecules. *Nature* 1991;353:622-627.
54. Sant'Angelo DB, Robinson E, Janeway CA Jr, Denzin LK. Recognition of core and flanking amino acids of MHC class II-bound peptides by the T cell receptor. *Eur. J. Immunol.* 2002;32:2510-2520.
55. Sone T, Dairiki K, Morikubo K, Shimizu K, Tsunoo H, Mori T, Kino K. Identification of human T cell epitopes in Japanese cypress pollen allergen, Cha o 1, elucidate the intrinsic mechanism of cross-allergenicity between Cha o 1 and Cry j 1, the major allergen of Japanese cedar pollen, at the T cell level. *Clin. Exp. Allergy* 2005;35:664-671.

56. Hayes M, Rougé P, Barre A, Herouet-Guicheney C, Roggen EL. In silico tools for exploring potential human allergy to proteins. *Drug Discov. Today: Dis. Models* 2016;j.ddmod.2016.06.001.
57. Hopp TP, Woods KR. Prediction of protein antigenic determinants from amino acid sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1981;78:3824-3828.
58. Kyte J, Doolittle RF. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 1982;157:105-132.
59. Holm J, Baerentzen G, Gajhede M, Ipsen H, Larsen JN, Løwenstein H, Wissenbach M, Spangfort MD. Molecular basis of allergic cross-reactivity between group 1 major allergens from birch and apple. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 2001;756:307-313.
60. Mittag D, Batori V, Neudecker P, Wiche R, Friis EP, Ballmer-Weber BK, Vieths S, Roggen EL. A novel approach for investigation of specific and cross-reactive IgE epitopes on Bet v 1 and homologous food allergens in individual patients. *Mol. Immunol.* 2006;43:268-278.
61. Ponomarenko J, Papangelopoulos N, Zajonc DM, Peters B, Sette A, Bourne PE. IEDB-3D: structural data within the immune epitope database. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:D1164-D1170.
62. Barre A, Simplicien M, Cassan G, Benoist H, Rougé P. Docking of peptide candidates to HLA-DQ2 and HLA-DQ8 basket as a tool for predicting potential immunotoxic peptides toward celiac diseased people. *Rev. Fr. Allergol.* 2018;58:482-488.
63. Ferreira F, Wallner M, Breiteneder H, Hartl A, Thalhamer J, Ebner C. Genetic engineering of allergens: future therapeutic products. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002;128:171-178.
64. Valenta R, Niederberger V. Recombinant allergens for immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007;119:826-830.
65. Geroldinger-Simic M, Kinaciyan T, Nagl B, Baumgartner-Durchschlag U, Huber H, Ebner C, Lidholm J, Bartel D, Vieths S, Jahn-Schmid B, Bohle B. Oral exposure to Mal d 1 affects the immune response in patients with birch pollen allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013;131:94-102.
66. Kinaciyan T, Nagl B, Faustmann S, Frommlet F, Kopp S, Wolkersdorfer M, Wöhrl S, Bastl K, Huber H, Berger U, Bohle B. Efficacy and safety of 4 months of sublingual immunotherapy with recombinant Mal d 1 and Bet v 1 in patients with birch pollen-related apple allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018;36:1002-1008.
67. Kitzmüller C, Jahn-Schmid B, Kinaciyan T, Bohle B. Sublingual immunotherapy with recombinant Mal d 1 downregulates the allergen-specific Th2 response. *Allergy* 2019 [Epub ahead of print]
68. Breiteneder H. Thaumatin-like proteins - a new family of pollen and fruit allergens. *Allergy* 2004;59:479-481.

69. Breiteneder H, Mills C. Nonspecific lipid-transfer proteins in plant foods and pollens: an important allergen class. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005;5:275-279.
70. Palacin A, Cumplido J, Figueroa J, Ahrazem O, Sánchez-Monge R, carrillo T, Salcedo G, Blanco C. Cabbage lipid transfer protein Bra o 3 is a major allergen responsible for cross-reactivity between plant foods and pollens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006;117:1423-1429.
71. Pascal M, Muñoz-Cano R, Reina Z, Palacín A, Vilella R, Picado C, Juan M, Sánchez-López J, Rueda M, Salcedo G, Valero A, Yagüe J, Bartra J. Lipid transfer protein syndrome: clinical pattern, cofactor effect, and profile of molecular sensitization to plant-foods and pollens. *Clin. Exp. Allergy* 2012;42:1529-1539.
72. Palacín A, Rivas LA, Gómez-Casado C, Aguirre J, Tordesillas L, Bartra J, Blanco C, Carrillo T, Cuesta-Herranz J, Bonny JA, García-Alvarez-Eire MG, García-Nuñez I, Fernández FJ, Gamboa P, Muñoz R, Sánchez-Monge R, Torres M, Losada SV, Villalba M, Vega F, Parro V, Blanca M, Salcedo G, Díaz-Perales A. The involvement of thaumatin-like proteins in plant food cross-reactivity: a multicenter study using a specific protein microarray. *PLoS ONE* 2012;7:e44088.
73. Van Gasse AL, Sabato V, Bridts CH, Ebo DG. L'allergie au cannabis: bien plus qu'un voyage stupéfiant. *Emerging allergens: Cannabis. Rev. Fr. Allergol.* 2014;54:144-147.
74. Breiteneder H., Mills C. Structural bioinformatic approaches to understand cross-reactivity. *Mol. Nutr. Food Res.* 2006;50:628-632.
75. Borges JP, Barre A, Culerrier R, Granier C, Didier A, Rougé P. Lipid transfer proteins from Rosaceae fruits share consensus epitopes responsible for their IgE-binding cross-reactivity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008;365:685-690.
76. Jahn-Schmid B, Radakovics A, Lüttkopf D, Scheurer S, Vieths S, Ebner C, Bohle B. Bet v 1 142-156 is the dominant T-cell epitope of the major birch pollen allergen and important for cross-reactivity with Bet v 1-related food allergens.
77. Schulten V, Radakovics A, Hartz C, Mari A, Vazquez-Cortes S, Fernandez-Rivas M, Lauer I, Jahn-Schmid B, Eiwegger T, Scheurer S, Bohle B. Characterization of the allergic T-cell response to Pru p 3, the nonspecific lipid transfer protein in peach. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009;124:100-107.
78. Jahn-Schmid B, Hauser M, Wopfner N, Briza P, Berger UE, Asero R, Ebner C, Ferreira F, Bohle B. Humoral and cellular cross-reactivity between Amb a 1, the major ragweed pollen allergen, and its mugwort homolog Art v 6. *J. Immunol.* 2012;188:1559-1567.

Légendes des figures

Figure 1. Structures tridimensionnelles des allergènes polliniques : Bet v 1 du bouleau *Betula verrucosa* (code PDB 4MNS), Art v 4 de l'armoise *Artemisia vulgaris* (code PDB 5EM0), Phl p

1 de la fléole *Phleum pratense* (code PDB 1N10), Phl p 2 de la fléole (code PDB 1WHO), Amb t 5 de l'ambroisie *Ambrosia artemisiifolia* (code PDB 3BBG), Ole e 6 de l'olivier *Olea europea* (code PDB 1SS3), Che a 3 du chénopode *Chenopodium album* (code PDB 2OPO), Cat r 1 de la pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus* (code PDB 2MC9), Art v 1 de l'armoise (code PDB 2KPY), Pla l 1 du plantain *Plantago lanceolata* (code PDB 4Z8W), Par j 2 de la pariétaire *Parietaria judaica* (la LTP de pariétaire a été modélisée), Cry j chitinase du cryptomeria *Cyptomeria japonica* (code PDB 5H7T), Cyn d 4 du chiendent pied de poule *Cynodon dactylon* (code PDB 4DNS), Cup s 3 du cyprès *Cupressus sempervirens* (la TLP du cyprès vert a été modélisée), Jun a 1 du genévrier d'Ashe *Juniperus ashei* (code PDB 1PXZ).

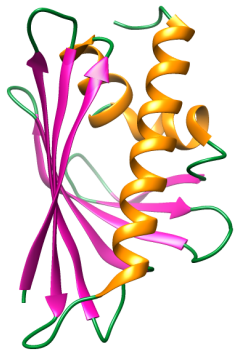
Figure 2. A. Structure du complexe Bet v 1-fragment Fab d'un anticorps (IgG) murin (code PDB 1FSK). Les deux régions variables des chaînes légère (VL, colorée en jaune) et lourde (VH, colorée en rouge) de l'anticorps, sont indiquées. La zone d'interaction des deux molécules est matérialisée par le cercle de tirets. B. Les liaisons hydrogènes établies entre les deux molécules sont indiquées par des tirets pointillés (----). C. Zone d'interaction de Bet v 1 vue de face: les deux épitopes séquentiels 45EGNGGP50 et 70RVDEVDH76 sont colorés en rouge et en bleu, et les acides aminés impliqués dans des liaisons hydrogènes avec l'anticorps, sont numérotés. Le cercle en tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. D. Localisation à la surface de Bet v 1 des acides aminés de l'épitope B impliqués dans des liaisons hydrogènes avec le paratope de l'anticorps. En rouge, les acides aminés de l'épitope séquentiel 45**EGNGGP**50; en bleu, les acides aminés de l'épitope 70**RVDEVDH**76. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. E. Zone d'interaction de Bet v 2 vue de face: l'épitope séquentiel 56FE**EPGHLAPTGLHL**69 est coloré en bleu, et les acides aminés impliqués dans des liaisons hydrogènes avec l'anticorps, sont numérotés. Le cercle en tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps (code PDB 1CQA). F. En bleu, localisation à la surface de Bet v 1 de l'épitope 56FE**EPGHLAPTGLHL**69. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. G. Localisation des acides aminés de l'épitope 56FE**EPGHLAPTGLHL**69 impliqués dans des liaisons hydrogènes avec le paratope de l'anticorps. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps.

Figure 3. A. A. Structure du complexe Phl p 2-fragment Fab d'un anticorps IgE (code PDB 2VXQ). Les deux régions variables des chaînes légère (VL, colorée en rouge) et lourde (VH, colorée en jaune) de l'anticorps, sont indiquées. La zone d'interaction des deux molécules est matérialisée par le cercle de tirets. B. Zone d'interaction de Phl p 2 vue de face: les quatre épitopes séquentiels 30E**VELR**34, 39D**EW**41, 65N**FRFL**69 et 75K**NVFDD**80 de Phl p 2 sont colorés en bleu, et les acides aminés impliqués dans des liaisons hydrogènes avec l'anticorps, sont numérotés. Le cercle en tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. C. En

bleu, localisation à la surface de Phl p 2 des acides aminés des quatre épitopes 30**EVELR**34, 39**DEW**41, 65**NFRFL**69 et 75**KNVFDD**80 impliqués dans des liaisons hydrogènes avec le paratope de l'anticorps. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. D. Première zone d'interaction de Phl p 7 vue de face: l'épitope séquentiel 7**RIFKRFDTNGDGKISLS**23 est coloré en bleu, et les acides aminés impliqués dans des liaisons hydrogènes avec l'anticorps, sont numérotés. Le cercle en tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps (code PDB 5OTJ). E. Deuxième zone d'interaction de Phl p 7 vue de face: l'épitope séquentiel 38**DEVQRMMAEIDTDGD**52 est coloré en bleu, et les acides aminés impliqués dans des liaisons hydrogènes avec l'anticorps, sont numérotés. Le cercle en tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. F. En bleu, localisation à la surface de Phl p 7 des acides aminés de l'épitope 7**RIFKRFDTNGDGKISLS**23 impliqués dans des liaisons hydrogènes avec le paratope de l'anticorps. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps. G. En bleu, localisation à la surface de Phl p 7 des acides aminés de l'épitope 38**DEVQRMMAEIDTDGD**52 impliqués dans des liaisons hydrogènes avec le paratope de l'anticorps. Le cercle de tirets matérialise la surface du paratope de l'anticorps.

Figure 4. A. Comparaison des séquences d'acides aminés des LTP polliniques Amb a 6 et Art v 3 avec les LTP de fruit (Pru p 3) ou de légume (Api g 2). Les épitopes B identifiés dans la séquence de Pru p 3 sont encadrés en rouge (épitope 1), en vert (épitope 2), en bleu (épitope 3) et en violet (épitope 4). B,C,D,E. Structures moléculaires de Pru p 3 (code PDB 2ALG) (B) et Art v 3 (code PDB 6FRR) (C), et modèles moléculaires construits par homologie pour Api g 2 (D) et Amb a 6 (E). Les extrémités N et C terminales des chaînes polypeptidiques sont indiquées. F,G,H,I. Localisation des épitopes B sur la surface moléculaire de Pru p 3 (F), d'Art v 3 (G), d'Api g 2 (H) et d'Amb a 6 (I). Les épitopes B sont colorés en rouge (épitope 1), en vert (épitope 2), en bleu (épitope 3), en violet (épitope 4) et numérotés. J,K,L,M. Topographie de l'épitope 4 sur la surface moléculaire de Pru p 3 (J), d'Art v 3 (K), d'Api g 2 (L) et d'Amb a 6 (M). Les épitopes B sont colorés en rouge (épitope 1), en vert (épitope 2), en bleu (épitope 3), en violet (épitope 4) et les molécules sont orientées différemment.

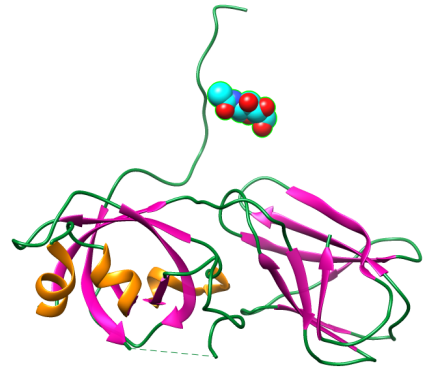
Figure 5. Localisation des épitopes B et T dans la séquence de Pru p 3, montrant le chevauchement des deux catégories d'épitopes. Les épitopes B de Pru p 3 sont colorés respectivement en rouge (épitope B1), vert (épitope B2), bleu (épitope B3) et violet (épitope B4) et numérotés 1-4. Les épitopes T sont colorés en jaune et numérotés 1-4. Les zones de chevauchement des épitopes B1-T1, B2-T2-T3 et B3-T4, sont indiquées en gras et encadrées, dans les alignements partiels de séquence correspondants.



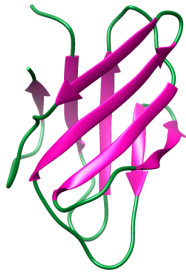
Bet v 1 (PR-10)



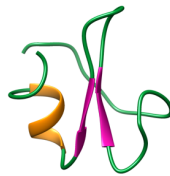
Art v 4 (profilin)



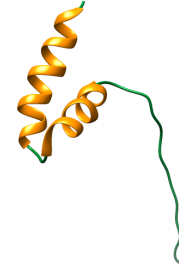
Phl p 1 (expansine)



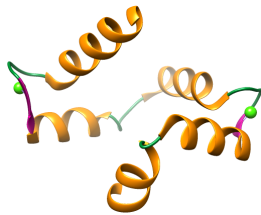
Phl p 2 (groupe 2)



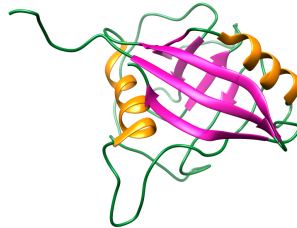
Amb t 5 (groupe 5)



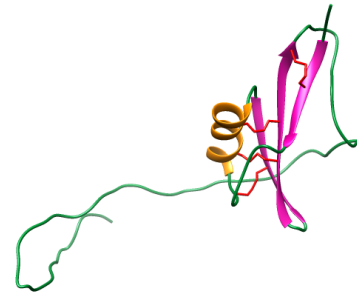
Ole e 6 (groupe 6)



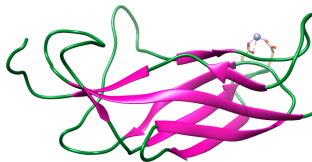
Che a 3 (polcalcine)



Cat r 1 (cyclophiline)



Art v 1 (défensine)



Pla l 1 (inhibiteur trypsique)



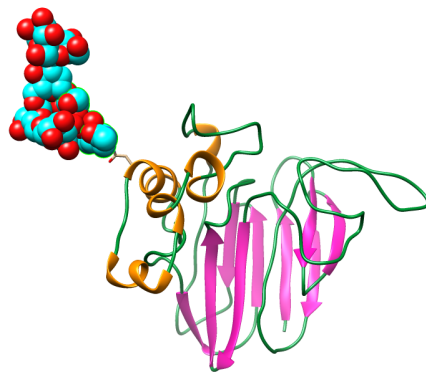
Par j 2 (LTP)



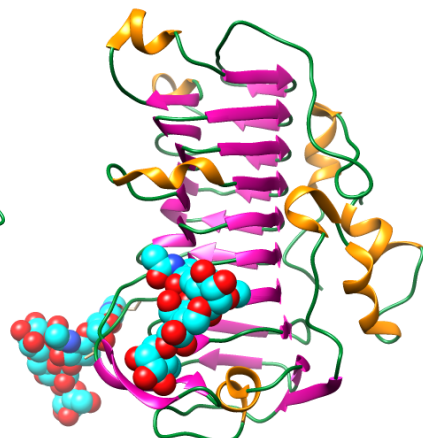
Cry j chitinase



Cyn d 4 (groupe 4).



Cup s 3 (TLP).



Jun a 1 (pectate lyase)

Figure 2

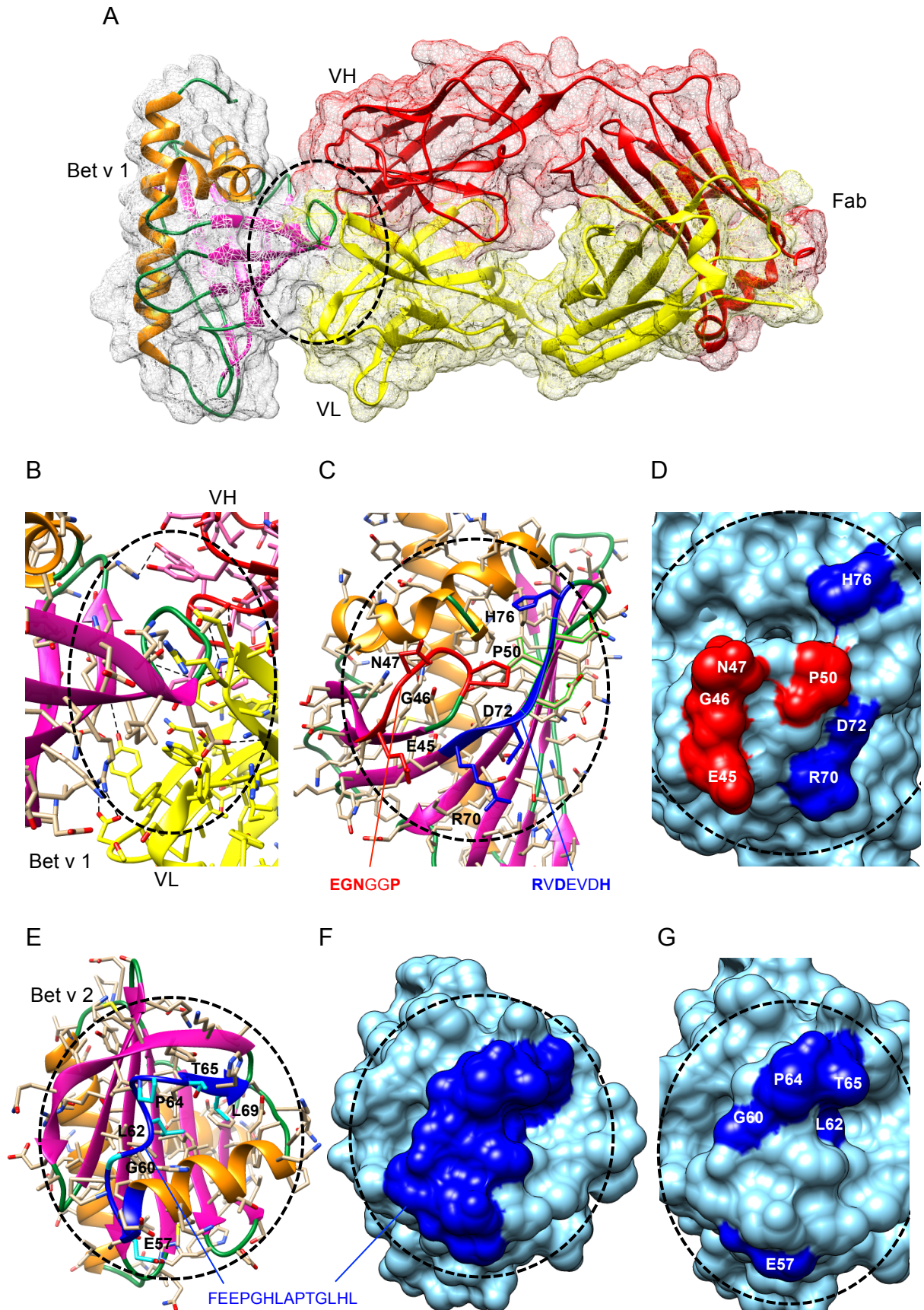


Figure 3

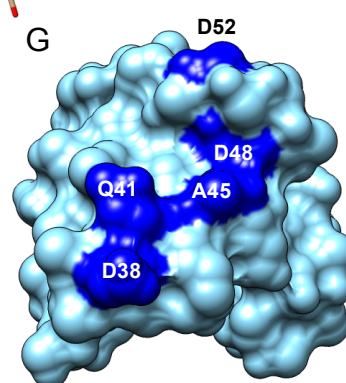
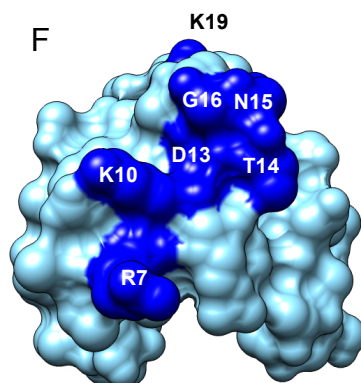
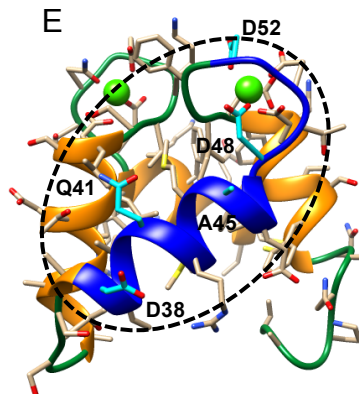
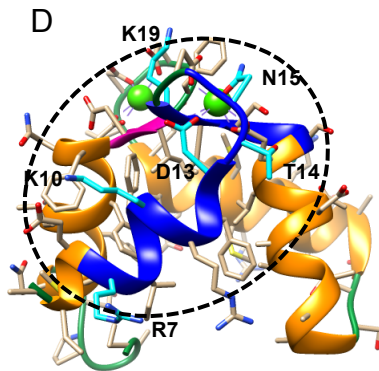
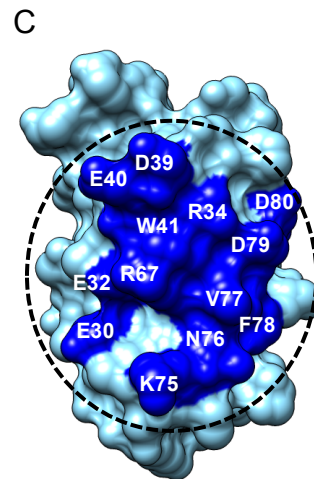
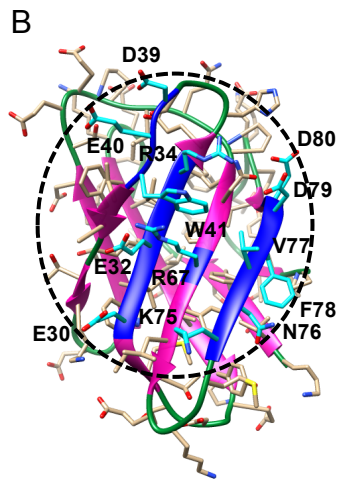
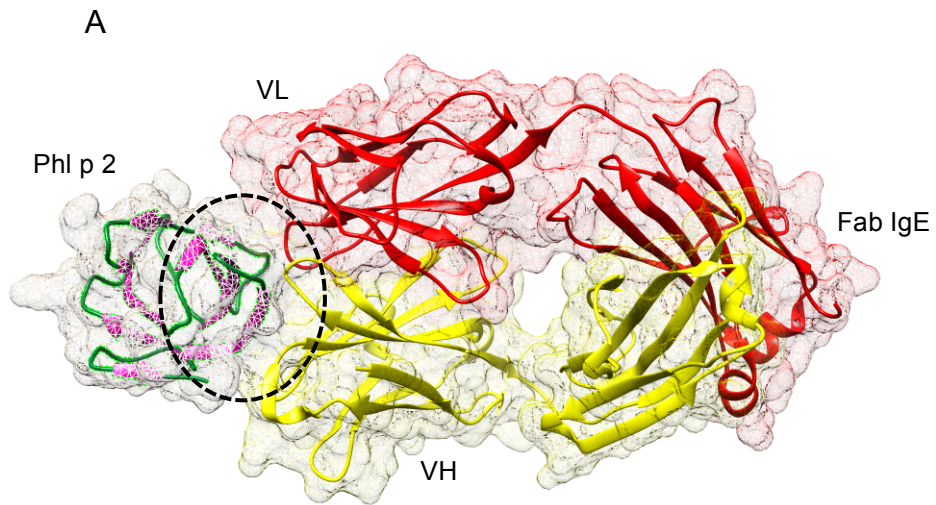


Figure 4

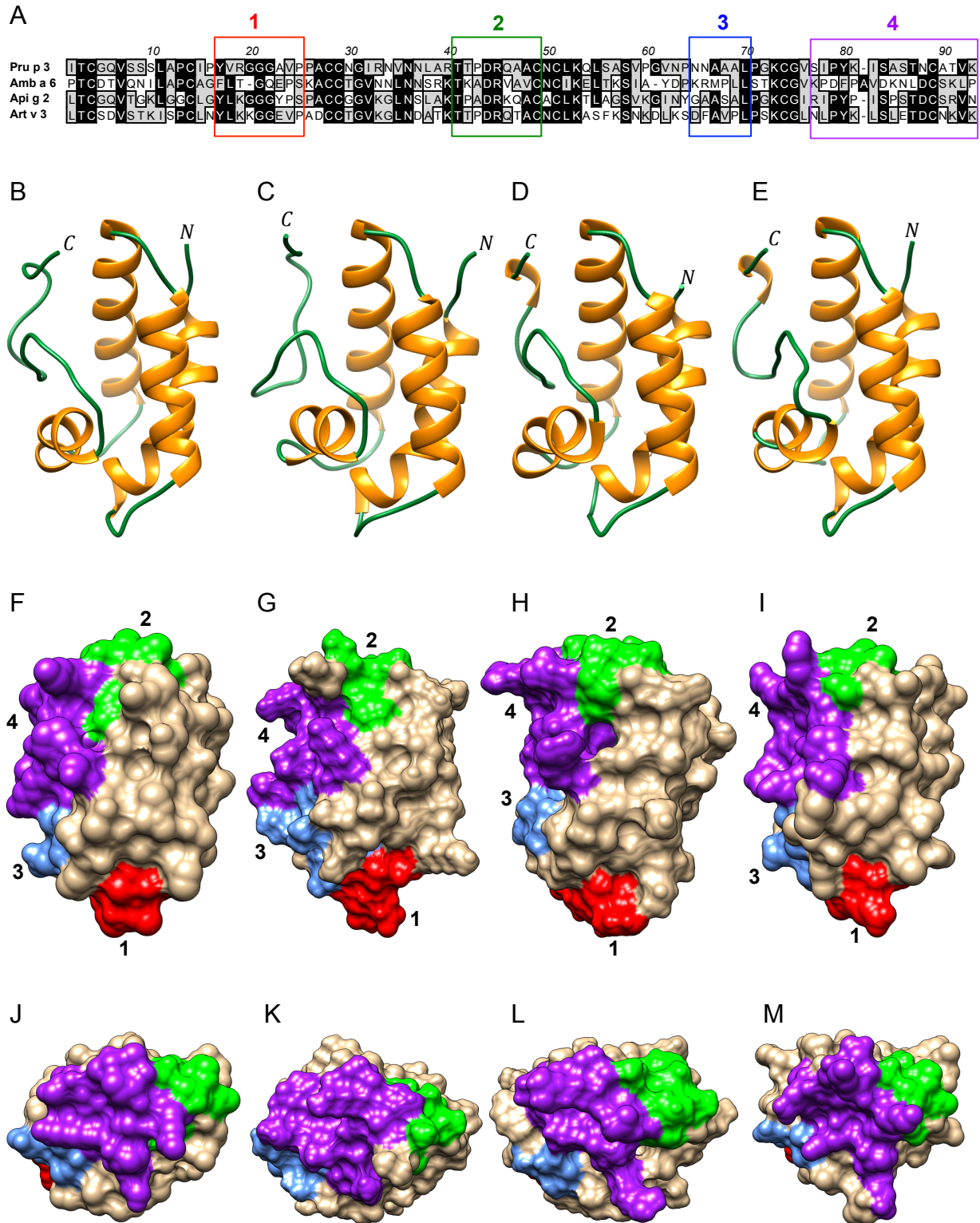
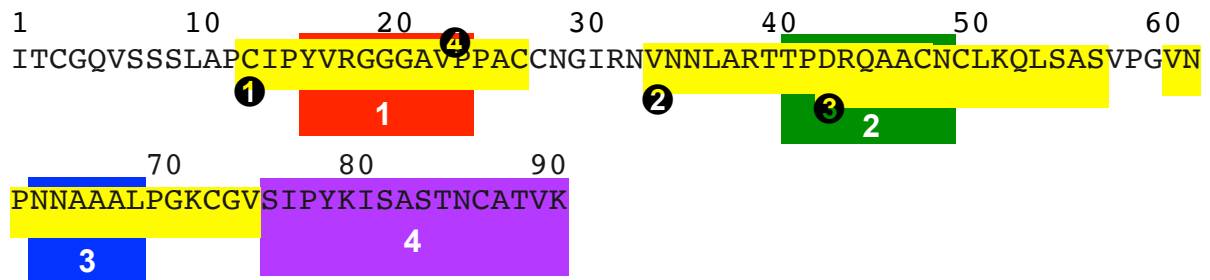


Figure 5



1	Epitope B1:	YVRGGGAVP	(16-24)
①	Epitope T1:	CIP <b style="border: 1px solid black; padding: 2px;">YVRGGGAVP PAC	(13-27)
2	Epitope B2:	TPDRQAACN	(41-49)
②	Epitope T2:	VNNLART <b style="border: 1px solid black; padding: 2px;">TPDRQAAC	(34-48)
③	Epitope T3:	DRQAACN CLKQLSAS	(43-57)
3	Epitope B3:	NNAAAL	(64-69)
④	Epitope T4:	VNP <b style="border: 1px solid black; padding: 2px;">NNAAAL PGKCGV	(61-75)

Tableau 1. Principales familles de PR protéines incriminées dans les pollinoses et le syndrome oral (OAS). Les allergènes polliniques sont **en gras**, les allergènes responsables de syndromes oraux sont en italiques.

Familles:	Protéines:	Allergènes:
PR-2	Glucanases	Ole e 9 , <i>Mus a 5</i>
PR-3	Chitinases I, II, IV-VII	Cry j chitinase
PR-5	Protéines Thaumatin-like	Cup a 3, Cup s 3, Jun a 3, Jun o 3, Jun v 3, Thu oc 3, <i>Pru av 2, Mal d 2, Cap a 1, Act d 2, Act c 2, Mus a 4</i>
PR-8	Chitinases III	<i>Ziz m 1</i>
PR-10	Protéines PR-10 Bet v 1-like	Aln g 1, Bet v 1, Cor a 1 <i>Api g 1, Dau c 1, Mal d 1, Pru av 1</i>
PR-12	Défensines	Amb a 4, Art v 1
PR-14	LTP (Protéines de Transfert des Lipides)	Art v 3, Ole e 7, Par j 2, Pla a 3 <i>Cor a 8, Mal d 3, Pru ar 3, Pru p 3, Zea m 14</i>

Tableau 2. Liste des structures tridimensionnelles des allergènes polliniques disponibles à la Protein Data Bank.

Espèce végétale	Allergène (famille)	Code PDB	Structure	Réf.
Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v 1	1B6F, 1BTV, 1BV1, 1FM4, 1FSK, 1LLT, 1QMR, 4A80, 4A81, 4A83, 4A84, 4A85, 4A86, 4A87, 4A88, 4A8G, 4A8U, 4A8V, 4B9R, 4BK6, 4BK7, 4BKC, 4BKD, 4BTZ, 4MNS, 4QIP, 4Z3L, 6ALK	Cristallo. et RMN	[1,3-13]
Hêtre (<i>Fagus sylvatica</i>)	PR10 Bet v1-like		RMN	[14]
Lupin (<i>Lupinus albus</i>)	PR10 Bet v1-like	1ICX, 1IFV, 1XDF, 2QIM, 3E85	Cristallo.	[15-17]
Luzerne (<i>Medicago truncatula</i>)	PR10 Bet v 1-like	4Q0K	Cristallo.	[18]
Millepertuis (<i>Hypericum perforatum</i>)	PR10 Bet v 1-le	3IE5	Cristallo.	[19]
Arabette (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Ara t 8 (profiline)	1A0K, 3NUL	Cristallo.	[20]
Armoise (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 4 (profiline)	5EM0, 6B6J	Cristallo.	[21]
Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v 2 (profiline)	1CQA, 5NZB, 5NZC	Cristallo.	[22-23]
Maïs (<i>Zea mays</i>)	Zea m 12 (profiline)	5FEF	Cristallo.	[24]
Fléole des prés (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p 1 (expansine)	1N10	Cristallo.	
Maïs (<i>Zea mays</i>)	Zea m 1 (expansine)	2HCZ	Cristallo.	[25]
Fléole des prés (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p 2 (groupe 2)	1BMW, 1WHO, 1WHP, 2VXQ	Cristallo. et RMN	[26-27]
	Phl p 3 (groupe 2)	2JNZ, 3FT1, 3FT9	Cristallo.	[28]
	Phl p 4 (groupe 4, GO)	3TSH, 3TSJ, 4PVH, 4PVJ, 4PVK, 4PWB, 4PWC	Cristallo.	[29, 30]
Chiendent pied de poule (<i>Cynodon dactylon</i>)	Cyn d 4 (groupe 4, GO)	4DNS	Cristallo.	[31]
Fléole des prés (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p 5 (groupe 5, ribonucléase)	1L3P	Cristallo.	[32]
	Phl p 6 (groupe 6)	1NLX	Cristallo.	
Ambroisie (<i>Ambrosia trifida</i>)	Amb t 5 (groupe 5)	1BBG, 2BBG, 3BBG	RMN	
Olivier (<i>Olea europaea</i>)	Ole e 6 (groupe 6)	1SS3	RMN	[33]
Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>)	Bet v 4 (polcalcine)	1H4B	RMN	[34]
Chénopode (<i>Chenopodium album</i>)	Che a 3 (polcalcine)	2OPO	Cristallo.	[35]
Fléole des prés (<i>Phleum pratense</i>)	Phl p 7 (polcalcine)	1K9U, 2LVJ, 2LVK, 5OTJ	Cristallo.	[36-38]
Pervenche de Madagascar (<i>Catharanthus roseus</i>)	Cat r 1 (cyclophiline)	2MC9	RMN	[39]
Armoise (<i>Artemisia vulgaris</i>)	Art v 1 (defensine)	2KPY	RMN	[40]
Plantain (<i>Plantago lanceolata</i>)	Pla l 1 (Ole e 6-like, Inhibiteur trypsique)	4Z8W	Cristallo.	[41]
Genévrier d'Ashe (<i>Juniperus ashei</i>)	Jun a 1 (pectate lyase)	1PXZ	Cristallo.	[42]
Cryptomeria (<i>Cryptomeria japonica</i>)	Cry j chitinase	5H7T	Cristallo.	

Tableau 3. Séquences d'épitopes T identifiées dans les allergènes polliniques du bouleau (Bet v 1), de la fléole (Phl p 1), du pâturin (Poa p 1), du cryptomeria (Cry j 1) et de l'ambroisie (Amb a 5). Les acides aminés chargés (D,E et K,R) sont en caractères gras. Les conformations minimisées représentées dans ce tableau (épitopes linéarisés), sont celles qui s'adaptent à la corbeille du CMH-II des TCR.

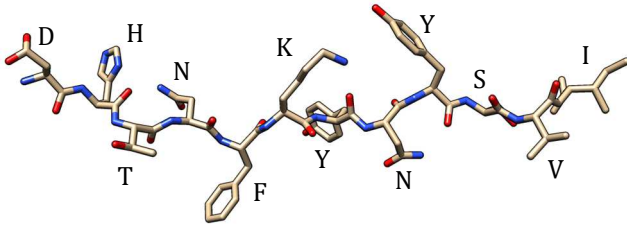
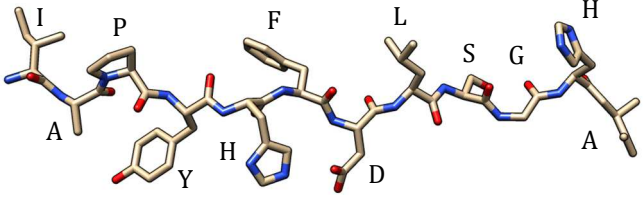
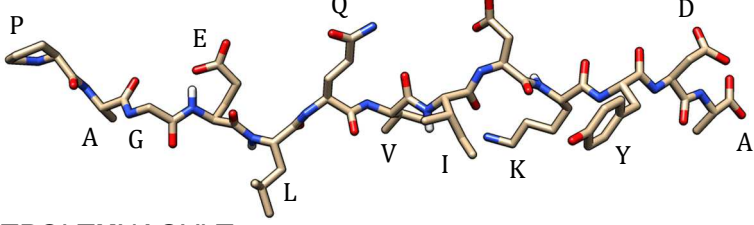
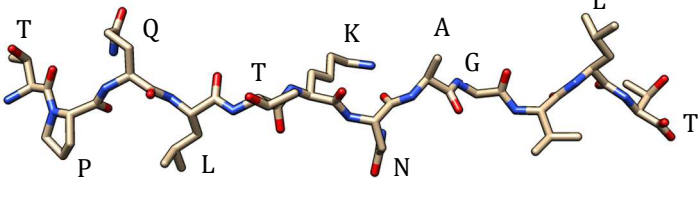
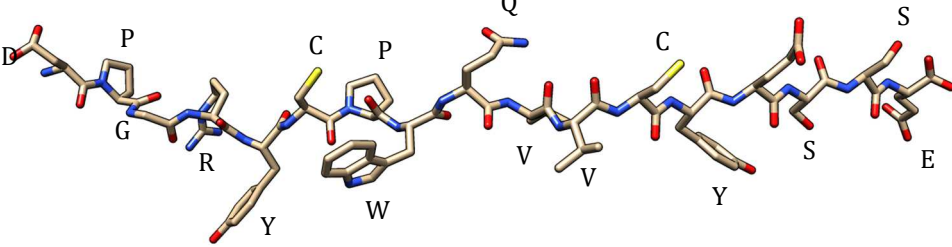
Allergène:	Epitope T:	Réf.
Bet v 1	DHTNFKYNYSVI 	[47]
Phl p 1	IAPYHFDLSGHA 	[48]
Poa p 1	PAGELQVIDKYDA 	[49]
Cry j 1	TPQLTKNAGVLT 	[50]
Amb a 5	DPGRYCPWQVVCYESSE 	[51]

Tableau 4. Liste des allergènes moléculaires, naturels (n) et recombinants (r), disponibles pour le diagnostic des pollinoses, à l'aide de la biopuce ISAC (Aln g: aulne, Amb a: ambroisie, Art v: armoise, Bet v: bouleau, Che a: chénopode, Cor a: noisetier, Cup a: cyprès bleu, Cyn d: chiendent pied de poule, Fra e: frêne, Mer a: mercuriale, Ole e: olivier, Phl p: fléole, Pho d: palmier dattier, Pla a: plantain, Par j: pariétaire, Sal k: soude).

Allergène naturel:	Protéine:	Allergène recombinant:	Protéine:
nCyn d 1 nPhl p 4 nAmb a 1 nCry j 1 nCup a 1 nArt v 1 nArt v 3 nOle e 7 nPho d 2 nPla a 2 nSal k 1	expansine groupe 4 Graminées Pectate lyase - - Défensine LTP - Profilin Polygalacturonase Pectine méthyl- estérase	rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 rPhl p 6 rAln g 1 rBet v 1 rCor a 1 rBet v 2 rPhl p 12 rMer a 1 rPhl p 7 rBet v 4 rChe a 1 rPla a 1 rPhl p 11 rPar j 2 rPla a 3 rOle e 9 rPla a 1 rBet v 6	expansine - groupe 5/6 Graminées - PR-10 - - Profiline - - Polcalcine - Famille Ole e 1 - - LTP - Glucanase Invertase inhibiteur Isoflavone réductase

Tableau 5. Liste des allergènes moléculaires, naturels (n) et recombinants (r), disponibles pour le diagnostic des pollinoses, à l'aide de la biopuce ALEX (Aln g: aulne, Amb a: ambrosie, Art v: armoise, Bet v: bouleau, Che a: chénopode, Cor a: noisetier, Cup a: cyprès bleu, Fra e: frêne, Ole e: olivier, Phl p: fléole, Pho d: palmier dattier, Pla a: plantain, Par j: pariétaire).

Allergène naturel:	Protéine:	Allergène recombinant:	Protéine:
nLol p 1 nOle e 1 nCup a 1 nPho d 2	expansine groupe 1 Olivier Pectate lyase Profiline	rPhl p 1 rPhl p 2 rPhl p 5 rPhl p 6 rAln g 1 rBet v 1 rCor a 1 rBet v 2 rOle e 2 rPhl p 12 rAln g 4 rPhl p 7 rArt v 1 rAmb a 4 rChe a 1 rFra e 1 rArt v 3 rPar j 2 rAmb a 1 rPla a 1 rBet v 6	expansine - groupe 5/6 Graminées - PR-10 - - Profiline - - Polcalcine - Défensine - Famille Ole e 1 - LTP - Pectate lyase Invertase inhibiteur Isoflavone réductase

Tableau 6. Allergènes polliniques responsables de réactions croisées avec des allergènes alimentaires (syndromes pollen-fruit et pollen-légumes).

Famille d'allergènes	Allergènes	Plante	Origine
LTP (PR-14)	Amb a 6 Art v 3 Ole e 7 Pla a 3 Api g 2 Bra o 3 Can s 3 Cit s 3 Cuc m LTP Dau c 3 Mus a 3 Mal d 3 Pru ar 3 Pru p 3 Sin a 3	Ambroisie (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>) Armoise (<i>Artemisia vulgaris</i>) Olivier (<i>Olea europea</i>) Platane (<i>Platanus acerifolia</i>) Céleri (<i>Apium graveolens</i>) Chou (<i>Brassica oleracea</i>) Cannabis (<i>Cannabis sativa</i>) Orange (<i>Citrus sinensis</i>) Melon (<i>Cucumis melo</i>) Carotte (<i>Daucus carota</i>) Banane (<i>Musa acuminata</i>) Pomme (<i>Malus domestica</i>) Abricot (<i>Prunus armeniaca</i>) Pêche (<i>Prunus persica</i>) Moutarde (<i>Sinapis alba</i>)	Pollen - - - Racine Feuilles - Fruit - Racine Fruit - - - Graine
Proteines Bet v 1-like (PR-10)	Aln g 1 Bet v 1 Api g 1 Mal d 1 Pru p 1 Gly m 4	Aulne (<i>Alnus glutinosa</i>) Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>) Céleri (<i>Apium graveolens</i>) Pomme (<i>Malus domestica</i>) Pêche (<i>Prunus persica</i>) Soja (<i>Glycine max</i>)	Pollen - Racine Fruit - Graine
Profilines	Amba 8 Art v 4 Bet v 2 Che a 2 Ole e 2 Api g 4 Cuc m 2 Dau c 4 Pru p 4 Sin a 4	Ambroisie (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>) Armoise (<i>Artemisia vulgaris</i>) Bouleau (<i>Betula verrucosa</i>) Chénopode (<i>Chenopodium album</i>) Olivier (<i>Olea europea</i>) Céleri (<i>Apium graveolens</i>) Melon (<i>Cucumis melo</i>) Carotte (<i>Daucus carota</i>) Pêche (<i>Prunus persica</i>) Moutarde (<i>Sinapis alba</i>)	Pollen - - - - Racine Fruit Racine Fruit Graine
TLP (PR-5)	Cup s 3 Mal d 2 Pru p 2 Pru av 2	Cyprès (<i>Cupressus sempervirens</i>) Pomme (<i>Malus domestica</i>) Pêche (<i>Prunus persica</i>) Cerise (<i>Prunus avium</i>)	Pollen Fruit - -