

KAMILA KULBAT, JOANNA LESZCZYŃSKA

*Zespół Analizy Żywności i Środowiska  
Instytut Podstaw Chemii Żywności  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Politechnika Łódzka  
B. Stefanowskiego 4/10, Łódź, 90-924  
E-mail: kamila.kulbat@wp.pl*

## ROŚLINNE BIAŁKA OBRONNE JAKO ALERGENY

### WSTĘP

W wyniku oddziaływania na roślinę różnorodnych czynników stresowych, zarówno abiotycznych (zmiany temperatury, susza, niedobór składników mineralnych, zasolenie gleby czy obecność jonów metali ciężkich), jak i biotycznych (patogeny), następuje uruchomienie roślinnych mechanizmów obronnych. Reakcje odpornościowe, początkowo tylko lokalne, pojawiają się w odpowiedzi na bezpośredni kontakt rośliny z patogenicznym mikroorganizmem, zranienie lub działanie czynników stresu środowiskowego. Lokalne reakcje są sygnałem do uruchomienia mechanizmów obronnych obejmujących całą roślinę, czyli systemicznych (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003, BREITENEDER i RADAUER 2004, KRÓL i KĘPCZYŃSKA 2008). Systemiczna odporność roślin jest fizjologicznym stanem gotowości do obrony całej rośliny przed potencjalnymi patogenami, zarówno wirusami, bakteriami, grzybami, jak i owadami (VALLAD i GOODMAN 2004). Głównym celem uruchomienia systemicznych mechanizmów obron-

nych jest ograniczenie rozprzestrzeniania się patogenu i zablokowanie go w miejscu ataku. Odporność systemiczna może być osiągnięta przez bezpośredni transport metabolitów obronnych z miejsca ataku do wszystkich organów rośliny lub dzięki uruchomieniu syntezy *de novo* związków obronnych w niezainfekowanych jeszcze tkankach (HEIL i TON 2008).

W przebiegu odporności roślin typu SAR (ang. systemic acquired resistance, systemiczna odporność nabyta) dochodzi do skoordynowanej aktywacji specyficznego zestawu genów kodujących białka związane z patogenezą tzn. białka PR (ang. pathogenesis-related proteins, PR proteins), kumulacji transkryptów, a następnie ich ekspresji w całej roślinie (VALLAD i GOODMAN 2004, PIETERSE i VAN LOON 2006). Białka PR nie występują konstytutywnie w tkankach roślinnych, a ich synteza jest przejawem uruchomienia systemicznych mechanizmów obronnych (ZHU i współprac. 2003).

### ROŚLINNE BIAŁKA PR

Biosynteza obronnych białek PR w tkankach roślinnych jest inicjowana zarówno w warunkach abiotycznego stresu środowiskowego, jak również w odpowiedzi na infekcje bakteryjne i grzybowe, żerujące owady oraz zranienia tkanek. Steżenie białek

obronnych jest zatem zmienne i ściśle uzależnione od wpływu środowiska zewnętrznego. Względnie stała obecność białek PR może zostać zaobserwowana jedynie w tych tkankach roślinnych, które konstytu-

tywnie narażone są na działanie czynników szkodliwych (SINHA i współaut. 2014).

Po raz pierwszy obecność roślinnych białek obronnych została zaobserwowana w liściach tytoniu (*Nicotiana tabacum*) zainfekowanych wirusem mozaiki tytoniowej, późniejsze badania wykazały obecność białek typu PR w różnych gatunkach roślin (VAN LOON i VAN KAMMEN 1970). Dotychczas wyodrębniono 17 klas białek PR, które podzielono w zależności od ich właściwości chemicznych, ciężaru molekularnego i sekwencji aminokwasowej. Białka PR są kumulowane zarówno we wnętrzu komórek roślinnych, jak i w obrębie apoplastu. Do białek PR należą białka o aktywności m.in.: chitynazy, chitozanyzy, lizozymu,  $\beta$ -1,3-glukanazy, inhibitorów proteaz, peroksydaz i innych (EDREVA 2005, GUEVARA-MORATO i współaut. 2010, SINHA i współaut. 2014). Wśród białek PR są także białka bogate w cysteinę jak również białka taumatynopodobne, osmotynopodobne i inne. Aktywność antymikrobową białek PR wynika z ich właściwości chemicznych. Są to białka albo bardzo kwaśne albo silnie zasadowe. Do charakterystycznych ich właściwości należy też oporność na niskie pH (<3) oraz rozpad proteolityczny, dlatego białka te zachowują swoją aktywność w nieprzyjaznym środowisku, nawet w przestrzeniach pozakomórkowych (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003, EDREVA 2005, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012 a, SINHA i współaut. 2014).

Większość białek PR posiada aktywność antygrzybową, a niektóre wykazują także działanie antybakteryjne, insektobójcze i

nicieniobójcze, a nawet przeciwwirusowe (CARUSO i współaut. 1996, EDREVA 2005, SINHA i współaut. 2014). Toksyczność większości białek PR wynika z ich właściwości hydrolitycznych względem polimerów ścian komórkowych patogenów. Najlepiej poznane pod tym kątem są białka PR o aktywności chitynaz,  $\beta$ -1,3-glukanaz i proteaz (EDREVA 2005, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a i b). Białka PR odgrywają także znaczącą rolę w uszczelnianiu roślinnych ścian komórkowych. Zwiększonej biosyntezie białek PR w tkankach roślinnych towarzyszy również zwiększona biosynteza i kumulacja innych metabolitów obronnych, m.in. polifenoli, fitoaleksyn i flawonoidów. Łącznie z innymi metabolitami obronnymi, białka PR biorą udział w ochronie roślin przed rozwojem infekcji, jak również uczestniczą w procesach wzrostu i rozwoju roślin, m.in. w kiełkowaniu nasion (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003, SINHA i współaut. 2014).

Synteza i kumulacja w tkankach roślinnych obronnych białek PR prowadzi do wzmocnienia odporności roślin i sprzyja wykształcaniu dorodnych organów generatywnych, jednakże wysoka zawartość białek PR w jadalnych częściach roślin, to także większe prawdopodobieństwo wystąpienia odpowiedzi immunologicznej po ich spożyciu.

Znaczna część białek alergennych występujących w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego należy do obronnych białek PR (BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a, b).

#### WŁAŚCIWOŚCI ALERGENNE BIAŁEK PR

Jak wykazują badania, kilka klas białek PR posiada udokumentowane właściwości alergenne, indukujące powstawanie swoistych przeciwciał klasy IgE. Kontakt osoby uczulonej z określonymi białkami PR może skutkować rozwojem klasycznych objawów alergicznych, zarówno ze strony przewodu pokarmowego (ból brzucha, wzdęcia, biegunki), skóry (pokrzywka, zaczerwienie, obrzęk), jak i układu oddechowego (alergiczny nieżyt błony śluzowej nosa, kaszel, utrudniony oddech). Warto pamiętać, że droga wniknięcia alergenu niekoniecznie musi być tożsama z układem, w którym wystąpią objawy alergiczne, np. alergeny pokarmowe niejednokrotnie są przyczyną wysypki skórnej (BUCZYŁKO 2010, SŁOWIANEK i LESZYŃSKA 2011).

Przeciwciała pierwotnie wytworzone w odpowiedzi na konkretny alergen mają zdolność do rozpoznawania podobnych epitopów na innych białkach roślinnych. Gdy antygeny posiadają epitopy identyczne lub bardzo podobne, przeciwciała IgE nie rozpoznają różnic pomiędzy nimi. Wysoki stopień podobieństwa molekularnego pomiędzy niektórymi białkami PR może skutkować pojawianiem się odczynów alergicznych po kontakcie z białkami, na które dana osoba nie była pierwotnie uczulona. Wysoka homologia białek PR należących do tej samej klasy sprawia, że mimo niewielkich różnic, np. w sekwencji aminokwasowej, epitopy powierzchniowe tych białek mogą być rozpoznawane i wiązane przez te same przeciwciała IgE.

Mówimy wówczas o tzw. reaktywności krzyżowej (RAPIEJKO i LIPIEC 2006, SINHA i współaut. 2014) Wysokie prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji krzyżowej zachodzi, gdy podobieństwo sekwencji aminokwasowej białek sięga 70%. Nie jest to jednak regułą, w literaturze opisano bowiem rzadkie przypadki białek roślinnych, które mimo wysokiego podobieństwa molekularnego do alergicznych białek PR, np. głównego alergenu pyłku brzozy Bet v1, pozostają hipoalergiczne, nie indukując reakcji IgE-zależnej (MARKOVIC-HOUSLEY i współaut. 2003, RAPIEJKO i LIPIEC 2006, WAGNER i współaut. 2008, SCHENK i współaut. 2009).

Zjawisko reaktywności krzyżowej jest aktualnie przedmiotem licznych badań. Bardzo często reakcje krzyżowe, będące odpowiedzią organizmu na podobne alergeny różnego pochodzenia, mylone są z alergią poliwalentną. Klinicznie zjawisko reaktywności krzyżowej możemy obserwować u pacjentów, u których pierwotnej alergii wziewnej na pyłek roślin zaczyna towarzyszyć nadwrażliwość na niektóre owoce. Za przykład niech posłużą pacjenci z sezonowym, alergicznym nieżytem błony śluzowej nosa wywołanym pyleniem brzozy (Bet v1), rzadziej olszy i leszczyny, u których bardzo często obserwuje się nadwrażliwość na jabłka, gruszki i brzoskwinie oraz alergeny orzechów laskowych. Szacuje się, iż problem ten dotyczy blisko 80% osób z nadwrażliwością na pyłek brzozy (RAPIEJKO i LIPIEC 2006, KONDO i URISU 2009). Reaktywność krzyżowa może zachodzić także bez udziału specyficznych przeciwciał IgE. W tym przypadku podobne antygeny alergentów rozpoznawane są i wiązane przez receptory limfocytów T. Przykładowo, nadwrażliwość na Bet v1 może inicjować reakcję alergiczną, niezależną od IgE, na homologiczny, główny antygen selera Api g1 (BOHLE i współaut. 2003).

#### BIAŁKA PR-2 (ALERGENY O UMIARKOWANYM ZNACZENIU KLINICZNYM)

Białka należące do klasy PR-2 posiadają właściwości enzymatyczne  $\beta$ -1,3-glukanazy o aktywności endoenzymu hydrolizującego komponenty ścian komórkowych grzybów (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003, BUCZYŁKO 2010). Spełniają istotną rolę w obronności roślin przeciwko patogenom grzybowym. Na podstawie obserwacji mikroskopowych stwierdzono, że największą wrażliwość na działanie roślinnych enzymów wykazują chitynowo-glukanowe wierzchołki strzępek kieł-

kowych grzybów, których uszkodzenie ogranicza wzrost patogenów. Starsze strzępki są mniej podatne na hydrolizę, ponieważ pokrywa je warstwa glikoproteinowo-lipidowa (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003).

Alergenne  $\beta$ -1,3-glukanazy (białka PR-2) zidentyfikowano w bananach *Musa acuminata*, glukanaza bananowa (Mus a5; 30 kD), oraz pyłku oliwki europejskiej *Olea europea* (Ole e9; 46 kD) (źródło: <http://www.allergen.org/>). Prawdopodobnie, podobne białka występują także w kiwi, ziemniakach i pomidorach, jednakże ich alergenicność wymaga jeszcze potwierdzenia. Białko PR-2 jest także istotnym z klinicznego punktu widzenia alergenem lateksu (Hev b2; 34 kD) (BUCZYŁKO 2010).

#### BIAŁKA PR-3 (ALERGENY O UMIARKOWANYM ZNACZENIU KLINICZNYM)

Białka obronne należące do klasy PR-3 posiadają aktywność chitynaz i lizozymów. W komórkach roślinnych występują w wakuolach lub w obrębie apoplastu. Ze względu na zdolności tego rodzaju białek enzymatycznych do hydrolizy komponentów ścian komórkowych grzybów, białka PR-3, zwłaszcza w połączeniu z  $\beta$ -1,3-glukanazami, mają aktywność przeciwgrzybiczą (BUCZYŁKO 2010). Alternatywnymi substratami dla roślinnych chitynaz są peptydoglukany występujące w ścianach komórek bakteryjnych, stąd enzymy te odgrywają także istotną rolę w odporności roślin na choroby bakteryjne (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003).

Coraz częściej uczulające alergeny lateksu (Hev b6.02, ang. hevein) należą do homologów białek PR-3. Alergeny homologiczne do rodziny białek PR-3 znajdują się także w owocach awokado (Pers a1; 32 kD), bananach (Mus a2; 33 kD) i kasztanach jadalnych (Cas s5) (BREITENEDER i RADAUER 2004, BUCZYŁKO 2010). Z uwagi na wysokie podobieństwo strukturalne białek obronnych należących do tej samej klasy, często alergii na lateks towarzyszy nietolerancja bananów, będąca wynikiem reakcji krzyżowej. U osób uczulonych na alergeny lateksu często obserwuje się tzn. zespół lateksowo-owocowy. Po spożyciu bananów mogą wystąpić różnorodne objawy alergicznego: pokrzywka, bóle brzucha, trudności w oddychaniu, epizody astmatyczne, a nawet zagrażający życiu wstrząs anafilaktyczny; nietolerancja awokado spotykana jest znacznie rzadziej. Na szczęście łatwo uchronić się przed tego rodzaju objawami, unikając spożywania określonych owoców, znacznie

większe zagrożenie niesie ze sobą długotrwały kontakt osoby uczulonej z alergennymi białkami lateksu, np. podczas operacji chirurgicznej (BREITENEDER i RADAUER 2004, RAPIEJKO i LIPIEC 2006, RUDZKI 2009).

#### BIAŁKA PR-5 (ALERGENY O UMIARKOWANYM ZNACZENIU KLINICZNYM)

Rodzina PR-5 to grupa białek homologicznych do słodkiego białka taumatyny, wyizolowanego z owoców afrykańskiego, tropikalnego krzewu *Thaumatococcus daniellii*, dlatego nazywane są białkami taumatynopodobnymi (ang. thaumatin-like proteins, TLPs). Są to białka termostabilne, odporne na proteolizę oraz na zmiany pH (BREITENEDER 2004, EDREVA 2005). Białka TLP, w zależności od pełnionej funkcji, zostały podzielone na trzy grupy. Pierwszą stanowią białka typowo obronne, syntetyzowane w czasie infekcji. Drugą grupę tworzą białka pojawiające się w odpowiedzi na stres osmotyczny, zwane osmotynami. Do trzeciej grupy zaliczono białka, których zadaniem jest ochrona przed infekcją grzybami patogenicznymi (hamują wzrost strzępek grzybni oraz dojrzewanie spor, prawdopodobnie zwiększają także przepuszczalność błon komórkowych patogenów) (BREITENEDER 2004).

Niektóre z białek PR-5 zostały zidentyfikowane jako alergeny pokarmowe o umiarkowanym znaczeniu klinicznym. Jako pierwsze zostało opisane białko Mal d2 o masie 23 kD występujące w owocach jabłoni, odpowiedzialne za IgE-zależne reakcje alergiczne u osób uczulonych na jabłka. Rekombinowane białko Mal d2, syntetyzowane w komórkach *Nicotiana benthamiana*, wykazuje aktywność przeciwgrzybiczą wobec *Fusarium oxysporum* oraz *Penicillium expansum* (BREITENEDER 2004). Homologiczne białka zostały zidentyfikowane w owocach kiwi (Act d2; 24 kD), bananowca (Mus a4; 20 kD), czereśni (Pru av2; 30 kD) i winorośli (24 kD) (BREITENEDER 2004, BUCZYŁKO 2010, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a). Białko występujące w owocach kiwi Act d2 wykazuje właściwości przeciwgrzybicze wobec *Saccharomyces carlsbergensis* i *Candida albicans* (BREITENEDER 2004). W piśmiennictwie pojawiają się także doniesienia o alergenach wziewnych zaliczanych do białek PR-5. Na uwagę zasługuje białko Jun a3 wyizolowane z ziaren pyłku jałowca *Juniperus ashei* oraz Cup a3 występujący w ziarnach pyłku cyprysu *Cupressus arizonica*. Białko Jun a3 jest odpowiedzialne za poważną, sezonową alergię wziewną doty-

kającą mieszkańców południowo-centralnych Stanów Zjednoczonych i północnego Meksyku, natomiast Cup a3 wywołuje wczesno-wiosenną pyłkovicę na terenie Hiszpanii (BREITENEDER 2004).

#### BIAŁKA PR-10 (SILNE ALERGENY WZIEWNE I POKARMOWE)

Funkcja białek PR-10 w tkankach roślinnych nie została jeszcze do końca poznana (BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a, b). Przypuszczalnie białka PR-10, mimo iż powstają w następstwie infekcji, przede wszystkim pełnią ważną rolę w procesie starzenia się roślin (KOZŁOWSKA i KONIECZNY 2003). PR-10 to małe, wewnątrzkomórkowe, kwaśne białka o masie cząsteczkowej 15–18 kD (RADAUER i współaut. 2008). Stwierdzono, że są one zdolne do wiązania się z cytokinami, steroidami lub roślinnym DNA (BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a). Wszystkie zawierają konserwatywną sekwencję aminokwasową bogatą w glicynę GXGXXG (od 46 do 51 reszt aminokwasowych) (HOFFMANN-SOMMERGRUBER i współaut. 1997). Dane literaturowe wskazują na wzmoczoną ekspresję genów kodujących białka PR-10 w warunkach stresu, zarówno po kontakcie rośliny z patogenem, jak i w wyniku zranienia, nadmiernego promieniowania UV czy niskich temperatur. Obserwuje się także pewną konstytutywną ekspresję genów *PR-10* w trakcie wzrostu i rozwoju roślin (LIU i EKRAMODDOULLAH 2004). Niektóre z białek PR-10 wykazują aktywność rybonukleazy w warunkach *in vitro*, co potwierdza ich udział w ochronie roślin podczas infekcji (BUFE i współaut. 1996, BANTIGNIES i współaut. 2000).

Najczęściej opisywanym przedstawicielem białek PR-10 jest białko główne pyłku brzozy Bet v1 (o masie cząsteczkowej 17 kD), strukturalnie podobne do białka Mal d1 jabłka i reagujące z nim krzyżowo. Białka homologiczne do Bet v1 występują ponadto m.in. w marchwi (Dau c1), selerze (Api g1), soi (Gly m4), orzechach ziemnych (Ara h8) i laskowych (Cor a1), owocach truskawki (Fra a1), gruszy (Pyr c1) i czereśni (Pru av1) oraz w ziarnach pyłku drzew z rodziny brzozowatych (*Betulaceae*): brzozy, olszy i leszczyny (HOFFMANN-SOMMERGRUBER i współaut. 1997, KONDO i URISU 2009, BUCZYŁKO 2010).

Białka z rodziny PR-10 mogą wywoływać zarówno objawy pyłkownicy (alergia wziewna na pyłek brzozy, olszy i leszczyny), jak również ustny zespół uczuleniowy (ang. oral allergy syndrome, OAS) (w przypadku bia-

łek zawartych w pokarmach) (KONDO i URISU 2009). Wysokie podobieństwo sekwencji aminokwasowej tych białek stanowi przyczynę ich reaktywności krzyżowej. Pierwotna alergia wziewna na pyłek brzozy bardzo często prowadzi do rozwoju wtórnej alergii pokarmowej, której często towarzyszą objawy zespołu anafilaksji jamy ustnej. Objawy pojawiają się po spożyciu określonych owoców, orzechów lub warzyw zawierających białka homologiczne do głównego antygeny pyłku brzozy Bet v1. Występujące reakcje mają zazwyczaj charakter miejscowy i nie stanowią bezpośredniego zagrożenia życia (MIDORO-HORIUTI i współaut. 2001, RAPIEJKO i LIPIEC 2006, KUŹMIŃSKI i współaut. 2009, HAUSER i współaut. 2010, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a).

Białka PR-10 są termolabilne i podatne na proteolizę. Obróbka cieplna zaburza przestrzenną strukturę białka, lecz nie niszczy jego sekwencji aminokwasowej. Niektóre białka PR-10, mimo obróbki termicznej, są zdolne do pobudzania limfocytów T do proliferacji i produkcji cytokin (bez udziału przeciwciał IgE). Takie właściwości sprawiają, że mogą wywołać bardzo poważną późną reakcję alergiczną (BUCZYŁKO 2010, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a). Systemiczne reakcje alergiczne zostały zaobserwowane u pacjentów uczulonych na główny alergen

selera Api g1, który poddany działaniu wysokiej temperatury, zachowuje silne właściwości alergenne (KONDO i URISU 2009). KLEINE-TABBE i współaut. (2002) zbadali i opisali grupę 20 pacjentów z alergią wziewną na pyłek brzozy, u których występowały silne reakcje alergiczne po spożyciu produktów zawierających ziarna soi. U 17 osób z badanej grupy zaobserwowano opuchliznę twarzy, natomiast 14 pacjentów wykazywało pełne objawy OAS. Surowice 17 na 20 pacjentów badanej grupy (85%) wykazały specyficzne wiązanie przeciwciał IgE z antygenem wyizolowanym z soi Gly m4.

Oficjalna lista najczęstszych alergenów należących do rodziny PR-10, zgodna z the Allergen Nomenclature Sub-Committee (<http://www.allergen.org/>), została zaprezentowana w Tabeli 1.

#### BIAŁKA PR-14 (BIAŁKA O BARDZO SILNYCH WŁAŚCIWOŚCIACH ALERGENNYCH)

Białka PR-14 to grupa białek przenoszących lipidy (ang. lipid transfer proteins, LTP), które biorą udział m.in. w transporcie monomerów lipidowych niezbędnych do syntezy kutykuli na powierzchni organów roślinnych, dlatego często kumulują się na skórce owoców (szczególnie obficie występują na skórce brzoskwiń) (BUCZYŁKO 2010, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012b). Roślinne

Tabela 1. Białka alergenne należące do rodziny PR-10, reagujące krzyżowo z Bet v 1 (źródło: <http://www.allergen.org/>).

Źródło alergenu	Nazwa alergenu
Brzoza brodawkowata ( <i>Betula pendula</i> ): ziarna pyłku	Bet v 1
Olsza czarna ( <i>Alnus glutinosa</i> ): ziarna pyłku	Aln g 1
Leszczyna pospolita ( <i>Corylus avellana</i> ): ziarna pyłku	Cor a 1.0101
Leszczyna pospolita ( <i>C. avellana</i> ): owoce (orzech laskowy)	Cor a 1.0401
Jabłoń domowa ( <i>Malus domestica</i> ): owoce	Mal d 1
Brzoskwinia zwyczajna ( <i>Prunus persica</i> ): owoce	Pru p 1
Morela pospolita ( <i>Armeniaca vulgaris</i> ): owoce	Pru ar 1
Wiśnia ptasia, czereśnia ( <i>Prunus avium</i> ): owoce	Pru av 1
Grusza pospolita ( <i>Pyrus communis</i> ): owoce	Pyr c 1
Soja warzywna ( <i>Glycine max</i> ): owoce	Gly m 4
Orzacha podziemna ( <i>Arachis hypogaea</i> ): owoce (orzech ziemny)	Ara h 8
Seler zwyczajny ( <i>Apium graveolens</i> ): bulwy	Api g 1
Aktinidia smakowita ( <i>Actinidia deliciosa</i> ): owoce (kiwi)	Act d 8
Marchew zwyczajna ( <i>Daucus carota</i> ): korzeń	Dau c 1
Fasola złota 'mung' ( <i>Vigna radiata</i> ): owoce	Vig r 1

Tabela 2. Białka alergenne należące do rodziny PR-14 (LTP) (źródło: <http://www.allergen.org/>).

Źródło alergenu	Nazwa alergenu
Brzoskwinia zwyczajna ( <i>Prunus persica</i> ): owoce	Pru p 3
Jabłoń domowa ( <i>Malus domestica</i> ): owoce	Mal d 3
Wiśnia ptasia, czereśnia ( <i>Prunus avium</i> ): owoce	Pru av 3
Morela pospolita ( <i>Armeniaca vulgaris</i> ): owoce	Pru ar 3
Banan zwyczajny ( <i>Musa acuminata</i> ): owoce	Mus a 3
Kukurydza zwyczajna ( <i>Zea Mays</i> ): owoce	Zea m 14
Leszczyna pospolita ( <i>C. avellana</i> ): owoce (orzech laskowy)	Cor a 8
Jęczmień zwyczajny ( <i>Hordeum vulgare</i> ): owoce (kłosy)	Hor v 14
Bylica pospolita ( <i>Artemisia vulgaris</i> ): ziarna pyłku	Art v 3

białka LTP, w odróżnieniu od zwierzęcych, zostały podzielone na dwie grupy, LTP swoiste, przenoszące określone klasy fosfolipidów, oraz nieswoiste (nsLTP), które mogą wiązać kilka klas fosfolipidów. Właściwości alergenne mają tylko białka drugiej grupy. Objawy alergii na białka LTP pojawiają się najczęściej w okolicach jamy ustnej, gardła i krtani (CHWAŁA 2012).

Białka PR-14 zidentyfikowano w ziarnach pyłku drzew i roślin zielnych, owocach i laktosie, natomiast brak ich w ziarnach pyłku traw. PR-14 to grupa białek odpowiedzialnych za poważne alergię pokarmową, wywołane zjedzeniem owoców z rodziny różowatych (Rosaceae), w tym jabłek, brzoskwiń, czereśni, moreli i truskawek. Alergia na białka LTP dotyczy zwłaszcza mieszkańców regionu śródziemnomorskiego (BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012b).

Białka LTP, jako bardzo silne alergeny pokarmowe, są zdolne do wywoływania ogólnoustrojowych reakcji alergicznych, w tym anafilaksji. Białka te są odporne na denaturację oraz na trawienie pepsyną. Nawet po obróbce termicznej zachowują silne właściwości alergenne. Reakcje alergiczne mogą występować po zjedzeniu ugotowanego pokarmu. Występujące reakcje są silniejsze niż w przypadku OAS wywołanym białkami grupy PR-10 (MIDORO-HORIUTI i współaut. 2001). Białka wiążące lipidy kumulują się głównie w zewnętrznych tkankach roślin, dlatego u części osób uczulonych na LTP objawy alergiczne nie występują po zjedzeniu owoców obranych ze skórki (CHWAŁA 2012).

Najczęściej opisywanym białkiem należącym do rodziny PR-14 jest alergen Mal d3,

występujący w skórce jabłka. Jest to białko wywołujące ciężką alergię pokarmową (często łącznie z objawami uogólnionej anafilaksji) na owoce jabłka, występującą bez związku z alergią na ziarna pyłku brzozy (alergia na Mal d3 spotykana jest najczęściej wśród mieszkańców wybrzeża Morza Śródziemnego) (RAPIEJKO i LIPIEC 2006, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012b). Dla porównania alergia na jabłka w Północnej i Środkowej Europie jest wywołana reakcją na białko Mal d1 (rodzina PR-10), przebiega dość łagodnie i towarzyszy jej zazwyczaj uczulenie na główny alergen ziaren pyłku brzozy (białko Bet v1) (BUCZYŁKO 2010, BOKSZCZANIN i PRZYBYŁA 2012a). Jako drugi popularny alergen z grupy LTP należy wymienić białko Pru p3, obficie występujące w skórce brzoskwiń (CHWAŁA 2012).

Lista najczęstszych alergenów należących do rodziny PR-14, zgodna z The Allergen Nomenclature Sub-Committee (<http://www.allergen.org/>), została zaprezentowana w Tabeli 2.

Białka alergenne należące do PR-14 znaleziono także w owocach orzecha włoskiego, orzachy podziemnej (orzyszki ziemne), śliwy, migdałowca pospolitego (migdały), gruszy, kiwi, pomidora, truskawki, pomarańczy, figi, ananasa i winorośli. Zaskakująca jest także obecność białka LTP w słodzie jęczmiennym, wpływająca na jakość piwa i powstawanie charakterystycznej pianki (BUCZYŁKO 2010, CHWAŁA 2012).

Homologiczne do Pru p3 (brzoskwinia) białko Art v3 znaleziono w pyłku bylicy pospolitej (*Artemisia vulgaris*) oraz potwierdzono ich reakcję krzyżową (BUCZYŁKO 2010).

## BIAŁKA SZOKU CIEPLNEGO

Poza omówionymi roślinnymi białkami PR związanymi z patogenezą, do białek zaangażowanych w mechanizmy obronne zaliczane są białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins, HSP), które występują w komórkach wszystkich organizmów żywych, zarówno eukariotycznych, jak i prokariotycznych. Białka te charakteryzuje silnie konserwatywna struktura pierwszorzędowa (KAŻMIERCZUK i KILIAŃSKA 2009, AL-WHAIBI 2011, TUKAJ i LIPIŃSKA 2011).

Część białek HSP jest syntetyzowana w komórkach konstytutywnie (stanowią 5-10% wszystkich białek komórki), jednakże zdecydowana większość białek szoku cieplnego jest syntetyzowana po zadziałaniu na komórkę czynników stresowych. Ekspresja białek szoku cieplnego regulowana jest poprzez czynnik transkrypcyjny HSF1 (ang. heat shock factor 1). W warunkach stresu wewnątrzkomórkowe stężenie białek HSP może wzrosnąć nawet kilkakrotnie. Wśród głównych stresorów indukujących biosyntezę białek HSP wymienić należy wzrost temperatury komórek (o kilka stopni powyżej temperatury fizjologicznej), stres oksydacyjny, zakażenia wirusowe, promieniowanie UV, a także kontakt komórek z jonami metali ciężkich (PROHÁSZKA i FÜST 2004, KOPERWAS 2011, KOKOCIŃSKA i WSPÓŁAUT. 2012).

Do jednych z wielu funkcji pełnionych przez białka HSP należy odgrywanie roli tzn. białek opiekuńczych, chaperonów. Białka HSP jako chaperony nadzorują prawidłowe cięcie, składanie i kolejno fałdowanie nowo syntetyzowanych polipeptydów, biorą także udział w zmianie konformacji przestrzennej białek uszkodzonych lub nieprawidłowo zwinionych, które mają zostać naprawione. Inną istotną funkcją białek HSP jest proteolityczna

degradacja białek niefunkcjonalnych lub ich agregatów, które z uwagi na liczne uszkodzenia nie nadają się do naprawy (AL-WHAIBI 2011, TUKAJ i LIPIŃSKA 2011). Białka HSP pełnią swoistą rolę buforów wewnątrzkomórkowych, sprawując kontrolę nad przyjmowaniem prawidłowej konformacji przestrzennej także przez białka z punktowymi mutacjami struktury pierwszorzędowej. Oznacza to, że mimo nieprawidłowo wbudowanego jednego aminokwasu w łańcuchu polipeptydowym, zmienione białko może przyjąć strukturę zbliżoną do formy niezmutowanej i tym samym zachować swoją funkcjonalność (WYSOCKA 2003). Białka HSP pełnią ponadto rolę aktywatorów niektórych kinaz białkowych i czynników transkrypcyjnych, biorą także udział w regulacji aktywności kaspaz, białek enzymatycznych o właściwościach proteaz, kontrolujących apoptozę (KOKOCIŃSKA i WSPÓŁAUT. 2012).

Roślinne białka HSP zostały podzielone, w zależności od ich ciężaru molekularnego, na sześć klas: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 i małe HSP (ang. small heat shock proteins, sHSP). Rośliny wyższe, w warunkach stresu środowiskowego, mogą w zależności od gatunku, gromadzić w swoich komórkach co najmniej 20 różnych białek HSP. Aktywacja genów kodujących białka HSP indukowana stresem jest regulowana zarówno na poziomie transkrypcji, jak i translacji. Prawdopodobnie zróżnicowanie zdolności roślin do biosyntezy i kumulacji białek szoku cieplnego, podobnie jak zdolności do syntezy białek PR, odzwierciedla stopień adaptacji rośliny do warunków stresowych (KAŻMIERCZUK i KILIAŃSKA, 2009, AL-WHAIBI 2011, TUKAJ i LIPIŃSKA 2011).

## IMMUNOGENNOŚĆ BIAŁEK HSP

Z uwagi na silnie konserwatywną sekwencję aminokwasową i tym samym duże podobieństwo molekularne między białkami szoku cieplnego pochodzącymi od niespokrewnionych organizmów (tzn. zjawisko mimikry antygenowej), przeciwciała wytworzone przez ludzki organizm w odpowiedzi na kontakt z egzogennymi, np. bakteryjnymi białkami HSP, mogą krzyżowo rozpoznawać własne, bardzo podobne do bakteryjnych, białka szoku termicznego. Podobne reakcje

krzyżowe mogą wystąpić w odpowiedzi na kontakt układu immunologicznego z egzogennymi, nie pochodzącymi od drobnoustrojów, białkami szoku cieplnego i prowadzić do reakcji alergicznych. Dotychczas zidentyfikowano tylko kilka białek HSP o udokumentowanych właściwościach alergicznych (WYSOCKA 2003, RABCZYŃSKI i WSPÓŁAUT 2006): Alt a3 (70 kD) z *Alternaria alternata*, Pen c19 (70 kD) z *Penicillium citrinum*, Asp f12 (90 kD) z *Aspergillus fumigatus*, Mala s10

(86 kD) z *Malassezia sympodialis* oraz Cas s9 (sHSP; 17 kD) z *Castanea sativa*.

Pyłek drzew zawiera wiele alergenów wykazujących reakcje krzyżowe z białkami pyłku innych gatunków drzew oraz nasion i owoców. Wśród gatunków należących do rzędu bukowców (Fagales), odpowiedzialnych za wiele reakcji alergicznych, białka leszczyny są dobrym przykładem źródła alergenów wziewnych i pokarmowych. GRUEHN i współaut. (2003) zidentyfikowali i scharakteryzowali alergeny z pyłku leszczyny i białek orzecha laskowego pod kątem funkcji fizjologicznej i możliwych reakcji krzyżowych. Szczególnie białka o masie 70–72 kDa z wielu tkanek różnych gatunków roślin wykazywały wiele reakcji krzyżowych. Po oczyszczeniu zidentyfikowano m.in. dwie izoformy białka wiążącego luminal BiP (ang. luminal binding protein) z rodziny HSP70, ze zgodnością sekwencji na poziomie 88–92% u różnych roślin.

Innym przykładem alergenu należącego do białek szoku cieplnego jest Alt a3 wyizolowany z zarodników *Alternaria alternata* należącego do rodziny HSP70 (www.allergen.org). Dokładnie opisanym alergenem jest białko Cas s9 (sHSP; 17 kD) z kasztana jadalnego *Castanea sativa*. Dotychczas określono jego sekwencję aminokwasową oraz

kodujące geny (SOTO i współaut. 1999, LOPEZ-MATAS i współaut. 2004). Wysoką homologię sekwencyjną oraz reakcje krzyżowe z ludzkimi białkami HSP70 wykazuje alergen z pędzłaka *Penicillium citrinum* Pen c19, również zaliczany do HSP70 (SHEN i współaut. 1997). Inne białko szoku termicznego z rodziny HSP90 zidentyfikowane u *Aspergillus fumigatus*. Asp f12 odpowiedzialne jest za reakcje płucne u osób chorych na aspergilozę (KUMAR i współaut. 1993). Ciekawym alergenem jest białko Mala s10 (HSP 70) z drożdży *Malassezia sympodialis* obecne na powierzchni skóry ssaków, które w sprzyjających warunkach może wywoływać dermatozę (ANDERSSON i współaut. 2004).

Pomimo wyizolowania kilku białek HSP, które potencjalnie mogą inicjować odczyny alergiczne, ogólna wiedza na temat możliwego ich działania alergennego jest jeszcze bardzo skąpa. Z uwagi na homologię, silny konserwatyzm struktury oraz zdolność do wywoływania odpowiedzi immunologicznej, białka HSP, podobnie jak poszczególne klasy białek PR, mogą stanowić nową grupę panalergenów, a więc mogą być odpowiedzialne za część reakcji krzyżowych pomiędzy białkami obecnymi w ziarnach pyłku różnych gatunków roślin i żywności pochodzenia roślinnego (GRUEHN i współaut. 2003).

## ROŚLINNE BIAŁKA OBRONNE JAKO ALERGENY

### Streszczenie

W odpowiedzi na kontakt z mikroorganizmami lub szkodliwe czynniki środowiskowe, rośliny uruchamiają szlaki sygnałowe prowadzące do biosyntezy szeregu metabolitów obronnych. Efektywną linią obrony jest synteza i kumulacja w tkankach roślinnych różnorodnych białek patogenez (ang. pathogenesis-related proteins, PR). Do białek, których synteza wzrasta w warunkach stresu, zaliczane są także białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins, HSP), które w przeciwieństwie do typowych dla roślin białek PR, występują w komórkach niemal wszystkich organizmów żywych. Wzrost stężenia białek PR, podobnie jak zwiększona kumulacja białek HSP w tkankach roślinnych sprzyja odporności roślin oraz wykształcaniu zdrowych kwiatów i owoców. Niektóre z roślinnych białek obronnych wykazują jednak właściwości alergizujące, indukując

u osób wrażliwych różnorodne reakcje alergiczne. Zwiększona zawartość określonych białek obronnych w jadalnych częściach roślin, to większe prawdopodobieństwo wywołania nieprawidłowej reakcji immunologicznej po ich spożyciu.

W pracy omówiono poszczególne grupy białek PR i HSP o udokumentowanych właściwościach alergicznych. Szczególny nacisk został położony na reaktywność krzyżową alergenów o podobnej budowie molekularnej. Ich wysoka homologia stanowi bowiem częstą przyczynę wywoływania niespodziewanych reakcji alergicznych po kontakcie z substancjami, na które dana osoba nie była pierwotnie uczulona. Poznanie tego rodzaju reaktywności pomiędzy pozornie niespokrewnionymi ze sobą alergenami stanowi podstawę do nowego spojrzenia na roślinne białka PR i HSP jako nowe grupy panalergenów.

## ALLERGENICITY OF PLANT DEFENSE PROTEINS

### Summary

In response to direct contact with microorganisms or harmful environmental factors, plants trigger signaling pathways leading to biosynthesis of

many different kinds of defense metabolites. One of the most effective ways for plants to deal with pathogenic microorganisms and insects is biosynthe-



sis and accumulation of variety pathogenesis-related proteins (PR proteins). Among proteins which biosynthesis increases in stress conditions are also heat shock proteins (HSP). HSP are not only characteristic for plants, but in the contrary to PR proteins, they occur in all Eucaryota cells. Increased accumulation of PR proteins as well as high concentration of heat shock proteins in plant tissues favors plant resistance and facilitates formation of healthy flowers and fruits. However, some of plant's defense proteins exert allergenic properties and could cause allergic reactions in humans. Increased content of specific defense proteins in edible parts of plants

results in a greater probability of abnormal immune response.

The paper discusses variety of groups of HSP and PR proteins with documented allergenic properties. Particular emphasis is placed on the cross-reactivity of allergens of similar molecular structure. Their high homology is in fact a common reason of unexpected allergic reactions after contact with substances to which the person was not originally sensitized. Knowing this kind of reactivity between seemingly unrelated to each other allergens is the basis for a new approach to plant's HSP and PR proteins as a new group of panallergens.

## LITERATURA

- AL-WHAIBI M. H., 2011. *Plant heat-shock proteins: A mini review*. J. King Saud Univ. Sci. 23, 139-150.
- ANDERSSON A., RASOOL O., SCHMIDT M., KODZIUS R., FLUCKIGER S., ZARGARI A., CRAMERI R., SCHEYNIUS A., 2004. *Cloning, expression and characterization of two new IgE-binding proteins from the yeast Malassezia sympodialis with sequence similarities to heat shock proteins and manganese superoxide dismutase*. Eur. J. Biochem. 271, 1885-1894.
- BANTIGNIES B., SEGUIN J., MUZAC I., DEDALDECHAMP F., GULICK P., IBRAHIM R., 2000. *Direct evidence for ribonucleolytic activity of a PR-10-like protein from white lupin roots*. Plant Mol. Biol. 42, 871-881.
- BOHLE B., RADAKOVICS A., JAHN-SCHMIDT B. 2003. *Bet v 1, the major birch pollen allergen, initiates sensitization to Api g 1 the major allergen in celery: evidence at T cell level*. Eur. J. Immunol. 33, 3303-3310.
- BOKSZCZANIN K. Ł., PRZYBYŁA A. A., 2012a. *Molekularne aspekty alergii na produkty pochodzenia roślinnego. Cz. II. Białka związane z patogenezą (PR), alergenność jabłek warunkowana genem Mal d1*. Pol. Merk. Lek. XXXII, 189, 176.
- BOKSZCZANIN K. Ł., PRZYBYŁA A. A., 2012b. *Molekularne aspekty alergii na produkty pochodzenia roślinnego. Cz. III. Panallergeny oraz hodowla odmian hypoalergicznych*. Pol. Merk. Lek. XXXII, 190, 250.
- BREITENEDER H., 2004. *Thaumatin-like proteins - a new family of pollen and food allergens*. Allergy 59, 479-481.
- BREITENEDER H., RADAUER CH., 2004. *A classification of plant food allergens*. J. Allerg. Clin. Immunol. 113, 821-830.
- BUCZYŁKO K., 2010. *Roślinne białka stresu jako alergeny dla człowieka*. Alergia 3, 53-58.
- BUFE A., SPANGFORT M. D., KAHLERT H., SHLAAK M., BECKER W. M., 1996. *The major birch pollen allergen, Bet v1, shows ribonuclease activity*. Planta 199, 413-415.
- CARUSO C., CAPORALE C., CHILOSI G., 1996. *Structural and antifungal properties of a pathogenesis-related protein from wheat kernel*. J. Prot. Chem. 15, 35-44.
- CHWAŁA C., 2012. *Białka transportujące lipidy*. Alergia 3, 31-33.
- EDREVA A., 2005. *Pathogenesis-Related Proteins: Research progress in the last 15 years*. Gen. Appl. Plant Physiology 31, 105-124.
- GRUEHN S., SUPHIOGLU C., O'HEHIR R. E., VOLKMAN D., 2003. *Molecular cloning and characterization of hazel pollen protein (70kD) as a luminal binding protein (BiP): a novel cross-reactive plant allergen*. Int. Arch. Allergy Immunol. 131, 91-100.
- GUEVARA-MORATO M. A., GARCIA DE LACOPA M., GARCIA-LUQUE I., SERRA M. T., 2010. *Characterization of a pathogenesis-related protein 4 (PR-4) induced in Capsicum chinense L plants with dual RNase and DNase activities*. J. Exp. Bot. 61, 3259-3271.
- HAUSER M., ROULIAS A., FERREIRA F., EGGER M., 2010. *Panallergens and their impact on the allergic patient*. Allergy Asthma Clin. Immunol. 6, 1.
- HEIL M., TON J., 2008. *Long-distance signaling in plant defence*. Trends Plant Sci. 13, 264-270.
- HOFFMANN-SOMMERGRUBER K., VANEK-KREBITZ M., RADAUER C., 1997. *Genomic characterization of members of the Bet v 1 family: genes coding for allergens and pathogenesis-related proteins share intron positions*. Gene 197, 91-100.
- KAZMIERCZUK A., KILIAŃSKA M., 2009. *Pleiotropowa aktywność białek szoku cieplnego*. Postepy Hig Med Dosw. 63, 502-521.
- KLEINE-TABBE J., VOGEL L., CROWELL D. N., HAUSTEIN U. F., VIETHS S., 2002. *Severe oral allergy syndrome and anaphylactic reactions caused by Bet v1-related PR10 proteins in soybean, SAM22*. J. Allergy Clin. Immunol. 110, 797-804.
- KOKOCIŃSKA M., TARKOWSKI M., LATOCHA M., 2012. *Rola białek szoku cieplnego w terapii fotodynamicznej*. Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol. Family Med. 18, 117-121.
- KONDO Y., URISU A. 2009. *Oral allergy syndrome*. Allergol. Internat. 58, 485-491.
- KOPERWAS L., 2011. *Przewrotna natura białek szoku cieplnego (HSP)*. <http://laboratoria.net/pl/artykul/12370.html>
- KOZŁOWSKA M., KONIECZNY G., 2003. *Biologia odporności roślin na patogeny i szkodniki*. Wyd. AR im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu.
- KRÓL P., KĘPCZYŃSKA E., 2008. *Rola jasmonianów w indukowanej odporności systemicznej roślin przeciwko patogenom*. Biotechnologia 1, 122-135.
- KUMAR A., REDDY L. V., SOCHANIK A., KURUP V. P., 1993. *Isolation and characterization of a recombinant heat shock protein of Aspergillus fumigatus*. Clin. Exp. Allergy 91, 1024-1030.
- KUŹMIŃSKI A., GRACZYK M., PRZYBYSZEWSKI M., BARTUZI M., 2009. *Alergia na pokarmy pochodzenia roślinnego – narastający problem współczesnej alergologii (część I)*. Alergologia Info. 4, 45-49.
- LIU J.-J., EKRAMODDOULLAH A. K. M., 2004. *Characterization, expression and evolution of two novel subfamilies of Pinus monticola cDNAs encoding pathogenesis-related (PR)-10 proteins*. Tree Physiol. 24, 1377-1385.

- LOPEZ-MATAS M. A., NUNEZ P., SOTO A., ALLONA I., CASADO R., COLLADA C., GUEVARA M. A., ARAGONCILLO C., GOMEZ L., 2004. *Protein cryoprotective activity of a cytosolic small heat shock protein that accumulates constitutively in chestnut stems and is up-regulated by low and high temperatures*. J. Plant Physiol. 134, 1708-1717.
- MARKOVIC-HOUSLEY Z., DEGANO M., LAMBA D., VON ROEPENACK-LAHAYE E., CLEMENS S., SUSANI M., FERREIRA F., SCHEINER O., BREITENEDER H., 2003. *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. 325, 123-133.
- MIDORO-HORIUTI T., BROOKS E. G., GOLDBLUM R. M., 2001. *Pathogenesis-related proteins of plants as allergens*. Ann. Allergy Asthma Immunol. 87, 261-271.
- PIETERSE C. M. J., VAN LOON L. C., 2006. *Signaling cascades involved in induced resistance*. [W:] *Induced Resistance for Plant Defence*. WALTERS D., NEWTON A., LYON G. (red.). Blackwell Publishing, 65-88.
- PROHÁSZKA Z., FÜST G., 2004. *Immunological aspects of heat-shock proteins—the optimum stress of life*. Mol. Immunol. 41, 29-44.
- RABCZYŃSKI M., ADAMIEC R., OLSZEWSKA-ROCZNIK J., 2006. *Przeciwciała anty-HSP 60/65 – rola w patogenezie miażdżycy, czynnik ryzyka rozwoju blaszki miażdżycowej*. Adv Clin Exp Med. 15, 933-939.
- RADAUER CH., LACKNER P., BREITENEDER H., 2008. *The Bet v1 fold: an ancient, versatile scaffold for binding of large hydrophobic ligands*. BMC Evol. Biol. 8, 286.
- RAPIEJKO P., LIPIEC A. 2006. *Wybrane aspekty alergii krzyżowej*. Alergoprofil 2, 11-15.
- RUDZKI E., 2009. *Alergia na banany*. Alergeny. Medycyna Praktyczna. <http://alergie.mp.pl/chorobyalergiczne/alergeny/pokarmowe/show.html?id=59960>
- SCHENK M., CORDEWENER J., AMERICA A., VAN'T WESTENDE W., SMULDERS M., GILISSEN L., 2009. *Characterization of PR-10 genes from eight Betula species and detection of Bet v1 isoforms in birch pollen*. BMC Plant Biol. 9, 24.
- SHEN H. D., AU L. C., LIN W. L., LIAW S. F., TSAI J. J., HAN S. H., 1997. *Molecular cloning and expression of a Penicillium citrinum allergen with sequence homology and antigenic crossreactivity to a hsp 70 human heat shock protein*. Clin. Exp. Allerg. 27, 682-690.
- SINHA M., SINHA M., SINGH R. P., SINGH KUSHWAHA G., IQBAL N., SINGH A., KAUSHIK S., KAUR P., SHARMA S., SINGH T. P., 2014. *Current overview of allergens of plant pathogenesis related protein families*. Sci. World J., 2014, 1-19.
- SŁOWIANEK M., LESZCZYŃSKA J., 2011. *Alergeny przypraw*. Żywność Nauka Technologia Jakość 76, 15-28.
- SOTO A., ALLONA I., COLLADA C., GUEVARA M. A., CASADO R., RODRIGUEZ-CEREZO E., ARAGONCILLO C., GOMEZ L., 1999. *Heterologous expression of a plant small heat-shock protein enhances Escherichia coli viability under heat and cold stress*. J. Plant Physiol. 120, 521-528.
- TUKAJ S., LIPIŃSKA B., 2011. *Białka szoku termicznego w reumatoidalnym zapaleniu stawów: przyjaciel czy wróg?* Post. Hig. Med. Dośw. 65, 427-436.
- VALLAD G. E., GOODMAN M., 2004. *Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture*. Crop Sci. Soc. Am. 44, 1920-1934.
- VAN LOON L. C., VAN KAMMEN A., 1970. *Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from Nicotiana tabacum var. "Samsun" and "Samsun NN". II: changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus*. Virology 40, 199-211.
- WAGNER S., RADAUER C., BUBLIN M., HOFFMANN-SOMMERGRUBER K., KOPP T., GREISENEGGER E. K., 2008. *Naturally occurring hypoallergenic Bet v1 isoforms fail to induce IgE responses in individuals with birch pollen allergy*. J. Allergy Clin. Immunol. 121, 246-252.
- WYSOCKA M., 2003. *Tajemnice białek szoku termicznego odstonięte*. <http://pulsmedycyny.pl/2578159,3682,tajemnice-bialek-szoku-termicznego-odsloniete>
- ZHU Y. J., QIU X., H. MOORE P. H., BORTH W., HU J., FERREIRA S., ALBERT H., 2003. *Systemic acquired resistance induced by BTH in papaya*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 63, 237-248.