

DOROTA NAŁĘCZ, JUSTYNA PAGUR, IWONA SZERSZUNOWICZ

**ANALIZA *IN SILICO* ALERGENNYCH BIAŁEK ORZECHA ZIEMNEGO (*ARACHIS HYPOGAEA* L.), GŁÓWNIIE ARA H 9, W PROGNOZOWANIU EPITOPÓW SUROWCÓW ROŚLINNYCH REAGUJĄCYCH KRZYŻOWO**

Streszczenie

W pracy przeprowadzono analizę *in silico* w celu oceny reaktywności krzyżowej białek orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L.), ze szczególnym uwzględnieniem białka Ara h 9 – markera reaktywności krzyżowej w odniesieniu do białek owoców. Określono możliwość występowania reakcji krzyżowych między różnymi białkami orzecha ziemnego, jak również między białkami orzecha ziemnego a białkami innych alergenów pokarmowych, w tym powszechnie znanych alergenów soi, soczewicy, pomidora, orzecha laskowego, jabłoni zwyczajnej i brzoskwini oraz m.in. chińskiego liczi i daktylowca. Podobieństwo sekwencji epitopów białek orzecha ziemnego na poziomie > 80 %, oceniane na podstawie komputerowych baz danych: UniProtKB i BIOPEP oraz programu EVALLER, stwierdzono głównie w stosunku do epitopów soi, pomidora, orzecha laskowego, jabłoni i brzoskwini.

**Słowa kluczowe:** alergenne białka orzecha ziemnego, epitopy, reaktywność krzyżowa, algorytm DFLAP, EVALLER, BIOPEP

## Wprowadzenie

Alergia pokarmowa to nieprawidłowa reakcja układu immunologicznego, która występuje u osób wrażliwych na niektóre składniki obecne w żywności (np. białka) [5, 10, 14]. Reakcje alergiczne wywołane przez białka orzecha ziemnego dotyczą ok. 0,5 ÷ 0,7 % populacji ogółem [22, 23]. Około 7 ÷ 10 % wszystkich białek orzecha ziemnego uznano za substancje o charakterze alergennym [17]. Obecnie sklasyfikowano 13 alergenów orzecha ziemnego, określonych od Ara h 1 do Ara h 13 (wg listy alergenów opublikowanej przez Podkomitet ds. Nazewnictwa Alergenów Międzynarodowej Unii

---

Dr inż. D. Nałęcz, mgr J. Pagur, dr inż. I. Szerszunowicz, Katedra Biochemii Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn. Kontakt: [dota@uwm.edu.pl](mailto:dota@uwm.edu.pl)

Towarzystw Immunologicznych (ang. *Allergen Nomenclature Sub-committee of the International Union of Immunological Societies*) [9, 11, 18, 26].

Ara h 9 należy do grupy białek alergennych orzecha ziemnego, powodujących silne reakcje alergiczne. To białko transportujące lipidy (ang. *Lipid Transfer Protein*) o masie cząsteczkowej  $9,8 \cdot 10^3$  Da i pI 9,45, występujące w 2 izoformach Ara h 9.0101 i Ara h 9.0201. Ze względu na podobieństwo sekwencji aminokwasowej Ara h 9 orzecha ziemnego do sekwencji aminokwasowych innych alergenów obecnych w owocach, głównie z rodziny różowatych (*Rosaceae*), np. alergenu jabłoni Mal d 3 oraz alergenu brzoskwini Pru p 3, istnieje możliwość wystąpienia wysokiej reaktywności krzyżowej między tymi białkami. Ara h 9 uznano za marker reaktywności krzyżowej związanej z alergią na owoc brzoskwini oraz inne owoce wywodzące się z tej samej rodziny (jabłko, gruszkę, śliwkę itp.) [11, 12].

Alergia wywołana spożyciem białek orzecha ziemnego jest przykładem alergii IgE-zależnej i u niektórych osób może wywołać szok anafilaktyczny [8, 16, 21, 27]. W odpowiedź immunologiczną zaangażowane są limfocyty T i B. Limfocyty aktywowane antygenem przekształcają się w komórki Th1 i Th2. Aktywacja komórki Th2 prowadzi do uwalniania cytokin, które pobudzają limfocyty B do produkcji przeciwciał IgE przeciw specyficznemu antygenowi, prezentowanemu komórkom T. Przeciwciała IgE wiążą się z powierzchnią komórek tucznych i bazofili (granulocytów zasadochłonnych). Połączenie kilku przeciwciał z antygenem na komórce tucznej prowadzi w konsekwencji do degranulacji i uwalniania mediatorów odpowiedzialnych za wystąpienie alergii pokarmowej [24].

Dotychczasowe badania potwierdzają powstawanie reakcji krzyżowych między białkami orzecha ziemnego i innymi białkami roślin, zwłaszcza strączkowych (np. soi, soczewicy) oraz między epitopami białek orzechów różnych gatunków [1, 20, 22, 25]. Największe prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji krzyżowej istnieje między orzechem włoskim a laskowym oraz orzechem pekan [6]. Możliwość zachodzenia takich reakcji może wynikać bezpośrednio z podobieństwa sekwencji aminokwasowej i struktury trzeciorzędowej białek. Można wymienić wiele przykładów występowania reakcji krzyżowych. Reakcje krzyżowe zachodzące między białkami pyłków roślinnych (głównie pyłków brzozy, ambrozji i bylicy) a białkami orzecha ziemnego określane są jako tzw. zespół pyłkowo-pokarmowy – PFAS (ang. *Pollen-Food Allergy Syndrome*). Innym przykładem zespołu alergii może być zespół lateksowo-owocowy – LFS (ang. *Latex-Fruit Syndrome*) [15, 16].

Identyfikacja potencjalnie alergennych białek jest niezbędna do bezpiecznego wprowadzania na rynek produktów spożywczych. Sekwencje aminokwasowe białek można analizować, wykorzystując różne bazy danych (np. UniProtKB) [4], bazy białek alergennych i ich epitopów (np. BIOPEP) [3] oraz programy komputerowe (np. EVALLER) [19] w celu oceny m.in. reaktywności krzyżowej białek [13, 14]. Odpo-

wiednio opracowane algorytmy i detektory komputerowe pozwalają wykrywać podobieństwo sekwencji aminokwasowych między epitopami jeszcze niezidentyfikowanych białek a epitopami znanych alergenów. Przewidywanie reaktywności krzyżowej białek za pomocą programu EVALLER i algorytmu DFLAP [19] polega na znalezieniu określonych fragmentów sekwencji białka, wykazujących podobieństwo do epitopów znanych alergenów. Ocena podobieństwa sekwencji epitopów alergenowych, mogących reagować krzyżowo, do epitopów znanych alergenów dokonywana jest poprzez porównanie badanej sekwencji aminokwasowej białka z sekwencjami białek alergenowych, znajdujących się w zasobach bazy programu EVALLER [19]. Dokładny opis zasady działania programu EVALLER na podstawie algorytmu DFLAP (ang. *Detection Based on Filtered Length-Adjusted Allergen Peptides*) przedstawiono w pracy Soeria-Atmadja i wsp. [24].

Celem pracy była ocena reaktywności krzyżowej białek orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L.) w warunkach *in silico*. W pracy analizowano, czy w białkach orzecha ziemnego, a w szczególności w białku Ara h 9, występują sekwencje identyczne lub zbliżone do sekwencji aminokwasowych alergenów niektórych owoców lub warzyw. Sekwencje aminokwasowe epitopów IgE orzecha ziemnego porównano z epitopami innych alergenów pokarmowych przy użyciu programu EVALLER i algorytmu DFLAP [19].

### Material i metody badań

Spośród 495 sekwencji aminokwasowych białek orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L.), dostępnych i zapisanych w bazie UniProtKB w podstawowym, stosowanym w bioinformatyce, formacie FASTA [4], wybrano 58 sekwencji (w tym 7 sekwencji znajdujących się również w bazie BIOPEP [3, 4]). Były to wszystkie sekwencje białek zapasowych orzecha ziemnego, oleozyn, białek transportujących tłuszcze oraz profilin, które poddano analizie reaktywności krzyżowej.

Badania przeprowadzono w następujących etapach:

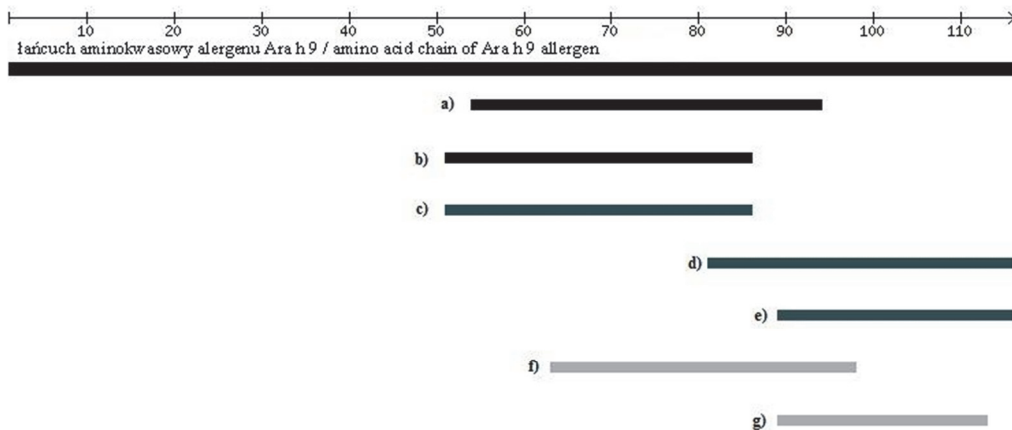
- kopiowanie wybranych sekwencji białka *Arachis hypogaea* L. z baz danych: UniProtKB i BIOPEP w formacie FASTA,
- analiza sekwencji białka w programie EVALLER [19], służącym do przewidywania reaktywności krzyżowej białek [24],
- znalezienie zestawu fragmentów sekwencji identycznych lub podobnych do dowolnych fragmentów sekwencji alergenów, występujących w bazie programu EVALLER.

### Wyniki i dyskusja

Program EVALLER może służyć do przewidywania reakcji krzyżowych białek. Korzystając z programu (na podstawie algorytmu DFLAP) wyszukano w sekwencji

analizowanego białka fragmenty podobne do sekwencji epitopów występujących w innych, alergennych białkach żywności [2, 24]. Sekwencje aminokwasowe wybranego białka orzecha ziemnego (bazy UniProtKB i BIOPEP) wprowadzono w formacie FASTA do okna dialogowego programu EVALLER i zaznaczono maksymalną liczbę dopasowanych sekwencji (maksymalnie możliwa liczba dopasowań w programie wynosi 7). W ten sposób wyszukano 7 najbardziej podobnych sekwencji aminokwasowych w stosunku do badanej sekwencji białka. Na podstawie wyników analizy *in silico* uzyskano informację czy analizowane białko wykazuje reaktywność krzyżową wobec innych białek żywności oraz dane o lokalizacji potencjalnych epitopów w łańcuchu analizowanego białka.

Na rys. 1. przedstawiono graficznie schemat łańcucha polipeptydowego Ara h 9 (numer identyfikacyjny ID B6CEX8 w bazie UniProtKB) – markera reaktywności krzyżowej w odniesieniu do białek owoców, głównie z rodziny różowatych (*Rosaceae*) [11, 12] oraz lokalizację 7 epitopów innych alergenów pokarmowych (rys. 1), dopasowanych do fragmentów łańcucha Ara h 9 przy wykorzystaniu programu EVALLER [19].



Rys. 1. Graficzne przedstawienie lokalizacji epitopów Ara h 9 orzecha ziemnego (ID B6CEX8) oraz epitopów innych alergenów (niespecyficznych białek przenoszących lipidy), w łańcuchu alergenu Ara h 9: a) Zea m 14 z kukurydzy (ID P19656), b) Lyc e 1 z pomidora (ID CAJ19705), c) Hev b 12 z kuczukowca brazylijskiego (ID AAL25839), d) Lyc e 2 z pomidora (ID CAJ19706), e) Pru p 3 z brzoskwini (ID P81402), f) Cor a 8 z orzecha laskowego (ID AAK28533), g) Mal d 3 z jabłoni zwyczajnej (ID AAR22488) – dopasowanych w programie EVALLER [19].

Fig. 1. Graphic representation of locations of Ara h 9 epitopes of (ID B6CEX8) peanut and of epitopes of other allergens (non-specific lipid transfer proteins) in chain off Ara h 9 allergen: a) Zea m 14 of maize (ID P19656), b) Lyc e 1 of tomato (ID CAJ19705), c) Hev b 12 of *Hevea brasiliensis* (ID AAL25839), d) Lyc e 2 of tomato (ID CAJ19706), e) Pru p 3 of peach (ID P81402), f) Cor a 8 of hazelnut (ID AAK28533), g) Mal d 3 of common apple tree (ID AAR22488) – matched in the EVALLER software [19].

Tabela 1. Podobieństwo sekwencji epitopów białek pochodzących z surowców roślinnych do epitopów alergenu Ara h 9 orzecha ziemnego (ID B6CEX8)<sup>a</sup>, dostępnych w bazie programu EVALLER [19].

Table 1. Similarity among sequences of protein epitopes derived from plants and epitopes of Ara h 9 peanut allergen (ID B6CEX8)<sup>a</sup> available in EVALLER software database [19].

Nazwa białka / Name of protein		Sekwencja i lokalizacja epitopu w łańcuchu białka Sequence and localization of epitope in protein chain <sup>c</sup>		Podobieństwo sekwencji FASTA porównywanych białek Similarity of FASTA sequences of proteins under comparison	
znany alergen known allergen (ID) <sup>a</sup>	potencjalny alergen potential allergen (niespecy- ficzne białko przenoszące lipidy / non-specific lipid transfer prote- in) (ID) <sup>b</sup>	znany alergen known allergen	potencjalny alergen potential allergen	podobieństwo similarity [%]	współczynnik Smith- Watermana Smith- Waterman algorithm
Alergen Ara h 9 - niespecyficzne białko przenoszące lipidy Allergen Ara h 9 - non-specific lipid transfer protein (B6CEX8)	Zea m 14 z kukurydzy Zea m 14 of maize (P19656)	<sup>54</sup> GVRGLLGALR <b>TTADRQA</b> ACNCLKAAAGSLRGLNQG NAAAL <sup>95</sup>	<sup>1</sup> GVRSLNNAART <b>TADRRAA</b> CNCLKNAAGVSGLNAGN AASI <sup>40</sup>	67,50	133
	Lyc e 1 z pomidora Lyc e 1 of tomato (CAJ19705)	<sup>51</sup> CCSGVRGLLGALR <b>TTADR</b> QAACNCLKAAAGSLRGL <sup>85</sup>	<sup>6</sup> CCDGVKGLLGQA <b>KTIVDR</b> QAAC <b>TCLK</b> SAASSFTGL <sup>40</sup>	85,60	131
	Hev b 12 z kawkowca brazylijskiego Hev b 12 of <i>Hevea brasiliensis</i> (AAL25839)	<sup>51</sup> CCSGVRGLLGALR <b>TTADR</b> QAACNCLKAAAGSLRGL <sup>85</sup>	<sup>3</sup> CCNGVRIINNA <b>AKTTADR</b> QTACQCLKSAAGSVKGL <sup>37</sup>	62,90	125

c.d. tab. 1

Alergen Ara h 9 - niespecyficzne białko przenoszące lipidy Allergen Ara h 9 - non-specific lipid transfer protein (B6CEX8)	Lyc e 2 z pomidora Lyc e 2 of tomato (CAJ19706)	<sup>81</sup> SLRGLNQGNAAALPGRGG VSIPIKISITSTNCATIK <sup>115</sup>	<sup>2</sup> SIKGIDTGKAAAGLPGVCGV NIPYKISPSTDCSTVQ <sup>36</sup>	80,05	124
	Pru p 3 z brzoskwini Pru p 3 of peach (P81402)	<sup>89</sup> NAAALPGRCGVSIPIYKIST STSTNCATIK <sup>115</sup>	<sup>2</sup> NAAALPGKCGVHPIYKISA STNCAIVK <sup>28</sup>	85,20	124
	Cor a 8 z orzecha laskowego Cor a 8 of hazelnut (AAK28533)	<sup>69</sup> RTTADRQAAACNCLKAAA GSLRGLNQGNAAALPGRC <sup>97</sup>	<sup>2</sup> RTTSDROSACNCLKDTAK GIAGLNPNLAAAGLPGKC <sup>36</sup>	62,90	116
	Mal d 3 z jabłoni zwyczajnej Mal d 3 of common apple (AAR22488)	<sup>89</sup> NAAALPGRCGVSIPIYKIST STNCA <sup>112</sup>	<sup>1</sup> NAAAGLPGKCGVNVPIYKIST STNCA <sup>24</sup>	83,33	114

Objaśnienia: / Explanatory notes:

<sup>a</sup> - numer identyfikacyjny znanego alergenu w bazie danych UniProtKB [4] / identification number of known allergen in the UniProtKB database [4]; <sup>b</sup> - numer identyfikacyjny potencjalnego alergenu w bazie programu EVALLER / identification number of potential allergen in EVALLER software database; <sup>c</sup> - blokiem zaznaczono identyczne fragmenty 6-11-aminokwasowe sekwencji dopasowanych epitopów w łańcuchach potencjalnego i znanego alergenu /block denotes identical fragments of 6-11-amino acids of matched epitopes sequences in the chains of a potential and known allergen

W tab. 1. przedstawiono sekwencje aminokwasowe epitopów alergenu Ara h 9 oraz epitopów innych alergenów pokarmowych o podobnej sekwencji aminokwasowej. Dla porównywanych epitopów białek przedstawiono identyczne sekwencje 6 - 11-aminokwasowe oraz cechy podobieństwa sekwencji porównywanych epitopów, tj. podobieństwo sekwencji (wyrażone w %) i współczynniki Smith-Watermana (tab. 1).

Prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji krzyżowej jest bardzo wysokie wówczas, gdy podobieństwo sekwencji aminokwasowej białek wynosi minimum 70 %. Małe prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji krzyżowej obserwuje się przy podobieństwie sekwencji poniżej 50 % [16]. Oficjalnymi kryteriami bioinformatycznymi przyjętymi przez Światową Organizację Zdrowia (ang. *World Health Organization*) do identyfikacji białek jako alergenów, które mogą reagować krzyżowo z poznanymi wcześniej alergenami, są: podobieństwo wspólnego fragmentu zawierającego co najmniej 6 - 8 reszt aminokwasowych lub obecność podobnego fragmentu zawierającego co najmniej 80 reszt aminokwasowych (podobieństwo minimum 35 %) [7, 14]. Sekwencje aminokwasowe epitopów Ara h 9 były podobne do sekwencji epitopów alergenowych jabłoni, brzoskwini i pomidora (w ok. 80 - 85 %), kukurydzy (w ok. 68 %) oraz orzecha laskowego i kauczukowca brazylijskiego w ok. 63 % (tab. 1). Według Barrio i wsp. [2] białko może wykazywać właściwości alergenne, jeśli wartość współczynnika Smith-Watermana jest  $> 100$ . Wartości współczynnika Smith-Watermana epitopów alergenu Ara h 9 wynosiły od 114 do 133 (tab. 1).

Fragmenty sekwencji 58 białek orzecha ziemnego zostały dopasowane automatycznie przez program do sekwencji 7 epitopów znanych alergenów pokarmowych (głównie owoców i warzyw), dostępnych w bazie programu EVALLER (razem  $58 \times 7 = 406$  epitopów). Na podstawie dopasowanych fragmentów sekwencji białek orzecha ziemnego do epitopów innych alergenów pokarmowych można przypuszczać, że 58 analizowanych białek może wywoływać reakcje krzyżowe.

Uwzględniając strukturę pierwszorzędową epitopów białek orzecha ziemnego stwierdzono wzajemne podobieństwo 200 epitopów w grupie białek od Ara h 1 do Ara h 8 (z wyjątkiem Ara h 5). Podobieństwo sekwencji aminokwasowych epitopów, w tej grupie białek, wynosiło 70 - 100 %, a wartości współczynnika Smith-Watermana kształtowały się w przedziale od 113 do 466. Ponadto, sekwencje aminokwasowe epitopów alergenu Ara h 9 wykazały podobieństwo do 206 fragmentów peptydowych, pochodzących z innych źródeł, w tym: soi – 60, soczewicy – 35, pomidora – 20, orzecha laskowego – 20, jabłoni zwyczajnej – 18, gruszy pospolitej – 16, brzoskwini – 15, gryki – 5, chmielu japońskiego – 4, liczi chińskiego – 3, ambrozji bylicolistnej – 3, daktylowca – 3, kukurydzy – 2 oraz kauczukowca brazylijskiego – 2. Stopień podobieństwa sekwencji epitopów orzecha ziemnego wobec epitopów wymienionych alergenów pokarmowych, pochodzących z innych źródeł, wynosił od 45 % (epitopy gruszy pospolitej) do 98 % (epitopy soi). Podobieństwo sekwencji epitopów białek orzecha

ziemnego > 80 % stwierdzono w stosunku do epitopów glicyny i konglicyny soi (głównie wobec takich alergenów, jak: Ara h 1, Ara h 3 i Ara h 4), profiliny i białka przenoszącego lipidy (LTP) z pomidora (wobec Ara h 5 i Ara h 9), oleozyny orzecha laskowego (wobec Ara h 10 i Ara h 11), alergenu Mal d 3 jabłoni zwyczajnej (wobec Ara h 8 i Ara h 9) oraz brzoskwini (głównie wobec Ara h 9). Ponadto we wszystkich porównywanych sekwencjach epitopów obecne były fragmenty identyczne, co najmniej 6 - 8-aminokwasowe [7]. Wartości współczynnika Smith-Watermana znacznie przekroczyły 100, co oznacza, że analizowane białka stanowią potencjalne zagrożenie dla osób chorych na alergię pokarmową [2].

Na podstawie wyników analizy *in silico* można przypuszczać, że reakcje krzyżowe mogą występować między białkami orzecha ziemnego i roślin strączkowych, takich jak soja i soczewica [20]. Podczas korzystania z programu EVALLER istnieją ograniczenia co do liczby możliwych dopasowań sekwencji epitopów (program pozwala na maksymalnie 7 dopasowań dla danego białka), dlatego nie potwierdzono występowania reakcji krzyżowych między białkami orzecha ziemnego a białkami fasoli, grochu i ciecierzycy [20]. Przeprowadzona w pracy analiza *in silico* białka orzecha włoskiego w stosunku do białek orzecha ziemnego pozwoliła na potwierdzenie podobieństwa 91-aminokwasowych epitopów białka wicylino-podobnego orzecha włoskiego (Jug r 2) i konarachiny orzecha ziemnego (Ara h 1) na poziomie 40,66 % (wartość współczynnika Smith-Watermana = 200). Przedstawione wyniki badań dotyczą jedynie rozważań teoretycznych. Alergia pokarmowa stanowi ważny problem kliniczny. Dlatego też sięga się po nowe narzędzia badawcze i prowadzi badania *in silico* z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych. Na podstawie informacji z badań klinicznych oraz wyników badań prowadzonych przy użyciu nowoczesnych metod analitycznych, w tym immunometrycznych, powstają lub uzupełniane są bazy danych zawierające informacje na temat epitopów alergennych, m.in. białek orzecha ziemnego. Są to tzw. epitopy eksperymentalne, czyli zidentyfikowane przy użyciu metod instrumentalnych (np. 2-DE, MALDI-MS).

### Podsumowanie

Wykorzystując program EVALLER przeprowadzono analizę *in silico* białek orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L), ze szczególnym uwzględnieniem Ara h 9, z jednoczesnym wskazaniem lokalizacji potencjalnych epitopów w łańcuchu danego białka. Program umożliwił analizę porównawczą epitopów alergennych orzecha ziemnego z epitopami innych alergenów pokarmowych. Na podstawie uzyskanych wyników analizy wybranych białek orzecha ziemnego uznano, że są to alergeny reagujące krzyżowo, głównie wobec białek owoców i warzyw, a sekwencje niektórych epitopów są zbliżone do sekwencji epitopów znajdujących się w bazie BIOPEP. Stwierdzono obecność fragmentów peptydowych o sekwencji aminokwasowej takiej samej jak se-



kwencja epitopów Ara h 9 lub zbliżonej do niej, występujących w zidentyfikowanych epitopach alergenów pokarmowych, takich jak: orzech ziemny, soja, soczewica, pomidor, orzech laskowy, jabłoń zwyczajna, brzoskwinia, grusza pospolita, gryka, chmiel japoński, liczi chińskie, ambrozja bylicolistna, daktylowiec, kukurydza i kauczukowiec brazylijski. Stopień podobieństwa sekwencji epitopów orzecha ziemnego do epitopów ww. alergennych białek żywności był zróżnicowany (od 45 do 100 %). Podobieństwo sekwencji epitopów białek orzecha ziemnego na poziomie > 80 % stwierdzono głównie w stosunku do epitopów alergenów pokarmowych: soi, pomidora, orzecha laskowego, jabłoni zwyczajnej i brzoskwini. Wyniki te wskazują na możliwość występowania reakcji krzyżowych białek orzecha ziemnego z wymienionymi białkami.

*Niniejsza praca była finansowana w ramach tematu statutowego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie nr 528-0712-809.*

### Literatura

- [1] Al-Ahmed N., Alsowaidi S., Vadas P.: Peanut allergy: an overview. *Allergy Asthma Clin. Immunol.*, 2008, **4** (4), 139-143.
- [2] Barrio M.A., Soeria-Atmadia D., Nistér A., Gustafsson M.G., Hammerling U., Bongcam-Rudolf E.: Evaller: a web server for *in silico* assessment of potential protein allergenicity. *Nucl. Acid Res.*, 2007, **35**, 694-700.
- [3] Baza danych BIOPEP. [online]. Dostęp w Internecie [5.06.2013]: <http://www.uwm.edu.pl/biochemia/>.
- [4] Baza danych UniProtKB. [online]. Dostęp w Internecie [4-6.06.2013]: <http://www.uniprot.org/>.
- [5] Conti L.: Niepożądane reakcje na produkty spożywcze. W: *Alergie i nietolerancje pokarmowe*. Wyd. Bellona, Warszawa 2007, ss. 10-14.
- [6] Goetz D.W., Whisman B.A., Goetz A.D.: Cross-reactivity among edible nuts: double immunodiffusion, crossed immunoelectrophoresis, and human specific IgE serologic surveys. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2005, **95** (1), 45-52.
- [7] Goodman R.E.: Practical and predictive bioinformatics methods for the identification of potentially cross-reactive protein matches. *Nutr. Food Res.*, 2006, **50**, 655-660.
- [8] Hałat Z.: Alergeny orzechów arachidowych w powietrzu pomieszczeń. [online]. Dostęp w Internecie [30.06.2013]: <http://www.halat.pl/arachidy.html>.
- [9] IUIS/WHO Allergen Nomenclature Home Page. [online]. Dostęp w Internecie [20.03.2014]: <http://www.allergen.org/>.
- [10] Jędrychowski L., Wróblewska B., Szymkiewicz A.: State of the art on food allergens – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, 165-175.
- [11] Krause S., Reese G., Randow S., Zennaro D., Quaratino D., Palazzo P., Ciardiello M.A., Petersen A., Becker W.M., Mari A.: Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, **124** (4), 771-778.
- [12] Lauer I., Dueringer N., Pokoj S., Rehm S., Zoccatelli G., Reese G., Miguel-Moncin M.S., Cistero-Bahima A., Enrique E., Lidholm J., Vieths S., Scheurer S.: The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin. Exp. Allergy*, 2009, **39**, 1427-1437.

- [13] Minkiewicz P., Dziuba J., Darewicz M., Bucholska J., Mogut D.: Evaluation of *in silico* prediction possibility of epitope sequences using experimental data concerning allergenic food proteins summarised in BIOPEP database. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2012, **62** (3), 151-157.
- [14] Minkiewicz P., Dziuba J., Gładkowska-Balewicz I.: Update of the list of allergenic proteins from milk, based on local amino acid sequence identity with known epitopes from bovine milk proteins - a short report. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2011, **61** (2), 153-158.
- [15] Mittag D., Akkerdaas J., Ballmer-Weber B.K., Vogel L., Wensing M., Becker W.M., Koppelman S.J., Knulst A.C., Helbling A., Hefle S.L., van Ree R., Vieths S.: Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. J. Allergy Clin. Immunol., 2004, **114** (6), 1410-1417.
- [16] Panaszek B.: Podstawy patomechanizmu zjawiska alergii krzyżowej. Alergia, 2010, **3**, 39-46.
- [17] Pele M.: Peanut allergens. Romanian Biotech. Letters, 2010, **15** (2), 5204-5212.
- [18] Pons L., Chery C., Romano A., Namour F., Artesani M.C., Guéant J.-L.: The 18 kDa peanut oleosin is a candidate allergen for IgE-mediated reactions to peanuts. Allergy, 2002, **57** (72), 88-93.
- [19] Program EVALLER. [online]. Dostęp w Internecie [03-29.09.2013]: <http://www.slv.se/engb/Group1/Food-Safety/e-Testing-of-protein-allergenicity/>.
- [20] Sicherer S.H.: Clinical implications of cross-reactive food allergens. J. Allergy Clin. Immunol., 2001, **108** (6), 881-888.
- [21] Sikorska E., Małolepszy J.: Alergia na orzeszki ziemne. Alerg. Asthma Immunol., 1996, **1** (3), 131-133.
- [22] Sikorski Z.E., Wróblewska B.: Alergeny w żywności. W: Chemia żywności, odżywcze i zdrowotne właściwości składników żywności. Red. Z.E. Sikorski i B. Wróblewska. WNT, Warszawa 2007, ss. 90-101.
- [23] Skolnick H.S., Conover-Walker M.K., Koerner C.B., Sampson H.A., Burks W., Wood R.A.: Food and drug reactions and anaphylaxis. The natural history of peanut allergy. J. Allergy Clin. Immunol., 2001, **107** (2), 367-374.
- [24] Soeria-Atmadja D., Lundell T., Gustafsson G., Hammerling U.: Computational detection of allergenic proteins attains a new level of accuracy with *in silico* variable-length peptide extraction and machine learning. Nucl. Acids Res., 2006, **34** (13), 3779-3793.
- [25] Szymkiewicz A., Chudzik-Kozłowska J.: Peanut allergenicity and cross-reactivity with pea proteins in the *in vivo* model. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2013, **63** (1), 35-42.
- [26] Wen H.W., Borejsza-Wysocki W., Decory T.R., Durst R.A.: Peanut allergy, peanut allergens, and methods for the detection of peanut contamination in food products. Comp. Rev. Food Sci. Food Safety, 2007, **6**, 47-58.
- [27] Wróblewska B., Szymkiewicz A., Jędrychowski L.: Wpływ procesów technologicznych na zmiany alergenicności żywności. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, **6** (55), 7-19.

**IN SILICO ANALYSIS OF PEANUT (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) ALLERGENIC PROTEINS,  
MAINLY OF ARA H 9, TO PREDICT EPITOPES IN CROSS-REACTING PLANTS**

**S u m m a r y**

In the paper, an *in silico* analysis was performed for the purpose of assessing the cross-reactivity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) proteins, and special attention was paid to the Ara h 9 protein, a marker for cross-reactivity concerning fruit proteins. There were determined possible cross-reactions, which might occur among various proteins of peanut as well as among peanut proteins and other food allergen proteins including the commonly known proteins of soybean, lentil, tomato, hazelnut, common apple, and peach,

and, also, some other proteins such as, inter alia, Chinese lychee and date palm fruit. Using UniProtKB and BIOPEP databases as well as the EVALLER software database, the matching degree of peanut protein epitope sequences (> 80 %) was determined mainly against soybean, tomato, hazelnut, apple and peach epitopes.

**Key words:** peanut allergenic proteins, epitopes, cross-reactivity, DFLAP algorithm, EVALLER, BIOPEP 