

**ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕРГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА
КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО АЛЛЕРГЕНА КЛУБНИКИ КЛАССА PR-
10**

Мельникова Д. Н. ^{1,2},
Финкина Е. И. ^{1,2},
Богданов И. В. ¹,
Овчинникова Т. В. ^{1,2}

¹ Государственный научный центр Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Москва

² Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет), г. Москва

**CHARACTERISTICS OF THE ALLERGENIC POTENTIAL OF
CLINICALLY SIGNIFICANT STRAWBERRY ALLERGEN OF CLASS
PR-10**

Melnikova D. N. ^{a, b},

Finkina E. I. ^{a, b},

Bogdanov I. V. ^a,

Ovchinnikova T. V. ^{a, b},

^a Federal State Budgetary Scientific Institution of the Russian Federation, State Scientific Center of the Russian Federation, Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences

^b Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University).

Резюме

Несмотря на свою экономическую значимость и пользу, клубника (*Fragaria* × *ananassa*) может вызывать аллергические реакции, опосредованные IgE, преимущественно проявляющиеся синдромом оральной аллергии. Основным фактором сенсibilизации служит аллерген Fra a 1. Этот белок входит в семейство PR-10 (белки, связанные с патогенезом) и гомологичен по своей структуре мажорному аллергену пыльцы берёзы Bet v 1. В данной работе оценивался аллергенный потенциал аллергена клубники Fra a 1, а также анализировались изменения его структурно-функциональных характеристик под влиянием термической обработки. В рамках работы был получен рекомбинантный аллерген клубники Fra a 1, методом флуоресцентной спектроскопии впервые показана его способность связывать широкий спектр жирных кислот, что подтвердило функциональную активность рекомбинантного аналога. Методом кругового дихроизма показано, что нагревание до 98°C вызывает необратимые изменения вторичной структуры белка. С использованием метода иммуноферментного анализа было продемонстрировано, что предварительное кипячение (99°C, 15 мин) приводит к статистически значимому, но частичному (<30%) снижению способности Fra a 1 связывать перекрестно-реагирующие поликлональные анти-Bet v 1 IgG, в то время как связывание со специфическими IgE из сывороток пациентов с пыльцево-пищевой аллергией снижалось лишь в половине случаев. Исследование кинетики протеолиза выявило быструю деградацию аллергена пепсином *in vitro*, которая не ускорялась при его предварительном прогревании. При этом Fra a 1 проявил относительную устойчивость к расщеплению лизосомальными ферментами макрофагов человека *in vitro* по сравнению с Bet v 1 берёзы и Gly m 4 сои. Полученные данные свидетельствуют о частичной термостабильности аллергена Fra a 1, его способности сохранять IgE-связывающую активность у части сенсibilизированных лиц после нагревания и о характеристиках протеолитической деградации, которые могут модулировать его иммуногенность. Результаты работы важны для оценки рисков, связанных с употреблением термически обработанной клубники, и разработки стратегий снижения аллергенности.

Ключевые слова: аллерген клубники Fra a 1, аллергия, перекрестная реактивность, термостабильность, протеолитическая деградация.

Abstract

Despite its economic importance and health benefits, strawberries (*Fragaria × ananassa*) can cause IgE-mediated allergic reactions, primarily manifesting as oral allergy syndrome. The primary sensitizing factor is the allergen Fra a 1. This protein is a member of the PR-10 (pathogenesis-related proteins) family and is structurally homologous to the major birch pollen allergen Bet v 1. This study assessed the allergenic potential of the strawberry allergen Fra a 1 and analyze the effect of heat treatment on its structural and functional properties. A recombinant allergen, Fra a 1, was obtained. Fluorescence spectroscopy demonstrated the protein's ability to bind a wide range of fatty acids, confirming the functional activity of the recombinant analogue. Circular dichroism demonstrated that heating to 98°C causes irreversible changes in the protein's secondary structure. Enzyme-linked immunosorbent assay demonstrated that pre-boiling (99°C, 15 min) leads to a statistically significant but partial (up to 30%) reduction in the ability of Fra a 1 to bind cross-reactive polyclonal anti-Bet v 1 IgG, while binding to specific IgE from sera of patients with pollen and food allergy decreased in only half the cases. A study of proteolysis kinetics revealed rapid degradation of the allergen by pepsin in vitro, which was not accelerated by preheating. Furthermore, Fra a 1 exhibited relative resistance to digestion by lysosomal enzymes of human macrophages in vitro compared to birch Bet v 1 and soybean Gly m 4. These data indicate partial thermal stability of the Fra a 1 allergen, its ability to retain IgE-binding activity in some sensitized individuals after heating, and characteristics of proteolytic degradation that may modulate its immunogenicity. The results of the study are important for assessing the risks associated with the consumption of heat-treated strawberries and developing strategies to reduce allergenicity.

Keywords: strawberry allergen Fra a 1; allergy; cross-reactivity; thermostability; proteolytic degradation.

1 Введение

Клубника (*Fragaria* × *ananassa*) является экономически важной плодовой культурой, ценным источником витаминов и антиоксидантов, однако её потребление может вызывать IgE-опосредованные аллергические реакции, преимущественно в форме синдрома оральной аллергии [6]. Ведущую роль в сенсibilизации, особенно в Центральной и Северной Европе, играет пищевой аллерген клубники Fra a 1, принадлежащий к семейству белков связанных с патогенезом (PR-10) и являющийся структурным гомологом основного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1 [6, 13]. Аллергия на Fra a 1 представляет собой классический пример перекрёстной реактивности, при которой IgE-антитела, вырабатываемые против Bet v 1, реагируют с гомологичными белками в пище, что объясняет высокую частоту аллергии на клубнику среди пациентов с поллинозом. Белки семейства PR-10, включая Fra a 1, характеризуются консервативной трёхмерной структурой с внутренней гидрофобной полостью, и обладают способностью связывать различные лиганды, например, фитостероиды и флавоноиды [5]. Именно нативная конформация этих белков важна для связывания с IgE, поскольку основные эпитопы являются конформационными. Известно, что аллергены семейства PR-10 обладают различной устойчивостью к денатурирующим воздействиям, таким как нагревание. Потеря нативной конформации приводит к разрушению конформационных эпитопов и, как следствие, к снижению IgE-связывающей способности [1]. Это свойство имеет фундаментальное значение для понимания патогенеза аллергии и разработки стратегий снижения аллергенности, например, при создании гипоаллергенных вариантов для специфической иммунотерапии [1, 7]. Целью настоящего исследования была оценка аллергенного потенциала основного аллергена клубники Fra a 1 и анализ термостабильности его молекулярной структуры.

2 Материалы и методы

Для экспрессии рекомбинантного белка Fra a 1 была сконструирована плазида рЕТ-His8-TrxL-Fra a 1, кодирующая зрелый белок Fra a 1 (GenBank LC214966.1) в составе гибридного белка. Белок экспрессировали в клетках *E. coli* BL21(DE3), индуцируя экспрессию 0.2 mM ИПТГ, и очищали с помощью аффинной хроматографии с последующим отщеплением белка-партнёра бромцианом и препаративной ОФ-ВЭЖХ [4].

Вторичную структуру белка анализировали методом кругового дихроизма на спектрополяриметре J-810 (диапазон 190–250 нм) в 10 mM фосфатном буфере (pH 7.4) при концентрации белка 30 мкМ. Способность Fra a 1 связывать лиганды определяли флуориметрически с помощью зонда TNS (4 мкМ) на приборе F-2710 (возбуждение 320 нм, испускание 437 нм) в том же буфере при 25°C. После регистрации исходной флуоресценции комплекса белок-TNS проводили титрование раствора жирными кислотами (4 мкМ) с измерением флуоресценции через 2 мин после каждого добавления [11].

Методом твёрдофазного ИФА оценивали связывание нативного и термически обработанного (99°C, 15 мин) Fra a 1 с антителами. Белок

45 иммобилизовали на планшеты, после чего свободные сайты связывания
46 блокировали 2% BSA. В качестве первичных использовали кроличьи
47 поликлональные антитела против Bet v 1 (разведение от 1:100 до 1:24 414 в
48 PBS с 0,5% BSA, инкубация ночь при 4°C) или сыворотки пациентов с
49 аллергией на берёзу (разведение 1:4 в PBS с 0,5% BSA) [3]. Для детекции
50 применяли конъюгированные с пероксидазой вторичные антитела против IgG
51 кролика (1:50 000) или IgE человека (1:2 000) с последующей инкубацией в
52 лунках субстрата TMB. Для исследования протеолитической устойчивости Fra
53 a 1 (нативный или термически обработанный) инкубировали с пепсином (pH
54 2,0, 37°C, 2 ч, соотношение 1:20), затем нейтрализовали и обрабатывали
55 смесью трипсин/ α -химотрипсин (pH 7.0, 37°C, 2 ч, соотношения 1:400 и 1:100
56 соответственно) [3]. Деградацию контролировали методом SDS-
57 электрофореза в 15% ПААГ.

58 Лизосомы выделяли из человеческих макрофагов, полученных методом
59 РМА-индуцированной дифференциации клеток линии THP-1 [3].
60 Лизосомальная фракция макрофагов была получена ранее описанным нами
61 способом [3]. Выделенную лизосомальную фракцию человеческих
62 макрофагов лизировали 0.1% Triton X-100, корректность выделения
63 контролировали по активности лизосомального фермента N-ацетил- β -D-
64 глюкозаминидазы [3].

65 Для моделирования деградации Fra a 1 инкубировали с лизосомальным
66 лизатом (соотношение 2:1) в фосфатно-цитратном буфере (pH 5,5, 20 mM DTT)
67 при 37°C в течение 4 суток. Пробы анализировали SDS-электрофорезом в
68 ПААГ.

69 **3 Результаты и обсуждение**

70 Употребление клубники может вызывать IgE-опосредованные
71 аллергические реакции, часто связанные с предшествующей сенсибилизацией
72 к мажорному аллергену класса PR-10 пыльцы берёзы Bet v 1. Специфические
73 IgE-антитела к Bet v 1 способны перекрёстно реагировать с гомологичным
74 аллергеном клубники Fra a 1, относящимся к семейству PR-10 и имеющим
75 значительное структурное сходство с Bet v 1 (57% идентичности). Это
76 приводит преимущественно к развитию синдрома оральной аллергии, хотя в
77 редких случаях возможны системные реакции, включая крапивницу и
78 анафилаксию [9]. Белки семейства PR-10 считаются термолабильными и
79 чувствительными к протеолизу в желудочно-кишечном тракте. Однако
80 данные об их стабильности противоречивы: например, аллерген сои Gly m 4
81 способен ренатурировать после термической обработки, что, вероятно,
82 объясняет случаи анафилаксии на соевые продукты, прошедшие умеренную
83 термическую обработку [8]. Это указывает на вариабельность структурной
84 устойчивости среди гомологов Bet v 1. В данной работе мы исследовали
85 аллергенный потенциал Fra a 1 клубники и влияние на него температуры.

86 На первом этапе была разработана система для гетерологичной
87 экспрессии Fra a 1 в клетках *E. coli* в виде гибридной конструкции с
88 тиоредоксином А и октагистиридиновой последовательностью.

89 Сконструированный плазмидный вектор обеспечил возможность
90 последующего отщепления целевого аллергена из состава гибридного белка
91 бромцианом по остатку Met. Разработанная методика выделения аллергена
92 позволила получить его рекомбинантный аналог, полностью идентичный
93 природному белку по молекулярной массе, N-концевой аминокислотной
94 последовательности и спектру кругового дихроизма. Так как Fra a 1 относится
95 к семейству липидсвязывающих белков, ранее была показана его способность
96 связывать флавоноиды [12].

97 Для подтверждения функциональной активности аллергена впервые
98 была исследована его способность связывать различные жирные кислоты
99 (ЖК). Согласно полученным данным, сродство насыщенных жирных кислот к
100 белку Fra a 1 демонстрирует параболическую зависимость от длины их
101 алифатической цепи, достигая максимума для пальмитиновой кислоты
102 (C16:0). Однако наибольшую прочность комплекса с белком формирует
103 мононенасыщенная олеиновая кислота (C18:1, Δ9) (рисунок 1А). Известно,
104 что комплекс с липидными молекулами может защищать пищевые аллергены
105 от желудочно-кишечного распада и облегчать их усвоение.

106 Исследование влияние температуры на вторичную структуру аллергена
107 клубник Fra a 1 было проведено методом КД-спектроскопии. КД-спектр Fra a 1
108 при рН 7,4 выявил комбинацию α- и β-вторичных структур, характерную для
109 гомологов Bet v 1. Нагревание аллергена даже до 98°C не приводило к полной
110 денатурации белка, однако при последующем охлаждении до 20°C Fra a 1 не
111 приобретал свою исходную структуру, что свидетельствовало о неполном
112 рефолдинге молекулы аллергена (рисунок 1Б). Схожая ситуация была
113 показана нами ранее для Aln g 1 ольхи [10]. Напротив, восстановление
114 структуры после полной денатурации было показано ранее для других
115 гомологов Bet v 1, например Pru p 1 персика и Gly m 4 сои [3].

116 На следующем этапе работы методом ИФА было оценено влияние
117 предварительного прогревания на способность Fra a 1 клубники связываться с
118 антителами. Для этого были использованы полученные нами ранее
119 поликлональные кроличьи анти-Bet v 1 IgG, перекрёстно реагирующие с Fra a
120 1. Предварительное прогревание в течение 15 мин при 99°C приводило к
121 снижению способности аллергена связываться с IgG. Данный эффект был
122 статистически значимым для различных разведений сыворотки, хотя IgG-
123 связывающая способность снижалась не более, чем на 30% (рисунок 2А).

124
125 Предварительное прогревание также приводило к статистически
126 значимому снижению способности аллергена взаимодействовать с IgE из
127 сывороток пациентов с синдромом пыльцевой-пищевой аллергии. Однако
128 данный эффект наблюдался только в случае половины сывороток пациентов с
129 аллергией (рисунок 2Б). Вероятно, кипячение аллергена клубники в течение
130 15 мин могло приводить к его денатурации и разрушению конформационных
131 эпитопов. Однако это не приводило к критическому снижению способности
132 Fra a 1 связываться IgE из сывороток пациентов с аллергией, предполагая

133 возможность развития аллергических реакций на клубнику, прошедшую
134 термическую обработку в течение короткого времени. Ранее для Gly m 4 сои
135 нами было показано, что данный аллерген, вызывающий анафилаксию, не
136 теряет способность связывать IgE из сывороток пациентов с аллергией после
137 кипячения, вероятно из-за способности молекулы аллергена к рефолдингу [3].
138 Далее исследовали влияние предварительной термической обработки на
139 протеолитическую устойчивость аллергена клубники к ферментам
140 желудочно-кишечного тракта человека. Fra a 1 инкубировали последовательно
141 с пепсином в кислых условиях, моделируя желудочное расщепление, а затем
142 со смесью трипсин/ α -химотрипсин при нейтральном pH, моделируя
143 последующее расщепление в кишечнике. Электрофоретический анализ
144 показал, что нативный белок быстро расщеплялся пепсином, и уже через 30
145 минут наблюдалось полное исчезновение полосы, соответствующей Fra a 1.
146 При этом предварительное прогревание аллергена не привело к статистически
147 значимому увеличению скорости его деградации. Незначительный эффект,
148 наблюдавшийся лишь в первые минуты инкубации с пепсином,
149 свидетельствует о сохранении белком высокой чувствительности к
150 протеолизу независимо от его термического состояния (Рисунок 3А).

151 Поэтому было предположено, что термическая обработка клубники не
152 приводит к увеличению скорости деградации аллергена Fra a 1 в ЖКТ
153 человека и не является фактором снижения его аллергенности.

154 Известно, что скорость эндолизосомальной деградации белков
155 определяет дальнейшее представление их коротких фрагментов в комплексе с
156 белками главного комплекса гистосовместимости МНС II на поверхности
157 антиген-презентирующих клеток (АМФ). Для оценки протеолитической
158 стабильности аллергена исследовали скорость деградации Fra a 1 под
159 действием лизосомальных ферментов, выделенных из макрофагов человека
160 методом дифференциального центрифугирования в градиенте перколла.
161 Контрольный эксперимент подтвердил стабильность белка в отсутствие
162 ферментов в течение 4 суток инкубации при 37°C (Рисунок 3Б). В присутствии
163 лизосомальных ферментов наблюдалась деградация Fra a 1, однако её скорость
164 была существенно ниже по сравнению с аллергенами Bet v 1 (берёза) и Gly m
165 4 (соя), которые полностью расщеплялись в течение первых 24 часов. При этом
166 следовые количества Fra a 1 детектировались электрофоретически даже после
167 48 часов инкубации (Рисунок 3Б). Существуют данные о корреляции между
168 устойчивостью белков к лизосомальной деградации *in vitro* и их аллергенным
169 потенциалом. Например, показано, что высокоаллергенный изоаллерген Bet v
170 1.0101 более чувствителен к расщеплению, чем его гипоаллергенный вариант
171 Bet v 1.0401 [2]. На основании полученных результатов, демонстрирующих
172 повышенную устойчивость Fra a 1 к лизосомальному протеолизу по
173 сравнению с Bet v 1 и Gly m 4, можно предположить, что аллерген клубники
174 обладает менее выраженной сенсibiliзирующей способностью.

175 Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда
176 (проект № 23-75-10116).

177 **4 Заключение**

178 Несмотря на структурную лабильность, характерную для белков
179 семейства PR-10, аллерген клубники Fга а 1 проявляет частичную
180 термостабильность: после кипячения он сохраняет способность связываться
181 со специфическими IgE примерно у половины сенсibilизированных
182 пациентов. Это указывает на потенциальный риск развития реакций на
183 термически обработанную клубнику. Fга а 1, быстро расщепляясь пепсином,
184 проявляет относительную устойчивость к деградации в лизосомах макрофагов
185 — свойство, которое может влиять на его иммуногенность и отличать его от
186 более агрессивных сенсibilизаторов, таких как Bet v 1. Таким образом,
187 аллергенный потенциал Fга а 1 определяется не только его перекрестной
188 реактивностью с Bet v 1, но и собственной структурной устойчивостью к
189 денатурации и внутриклеточному протеолизу, что необходимо учитывать при
190 оценке клинической значимости данной аллергии.

РИСУНКИ

Рисунок 1. (А) Сродство жирных кислот к Fra a 1. Погрешности представляют стандартную ошибку среднего значения. (Б) Влияние нагревания на вторичную структуру аллергена клубники Fra a 1. Конец эксперимента 20 °С – КД-спектр аллергена при 20 °С после охлаждения с 98 °С.

Figure 1. (A) Affinity of fatty acids for Fra a 1. Error bars represent standard errors of the mean. (B) Effect of heating on the secondary structure of the strawberry allergen Fra a 1. End of experiment (20°C) – CD spectrum of the allergen at 20°C after cooling from 98°C.

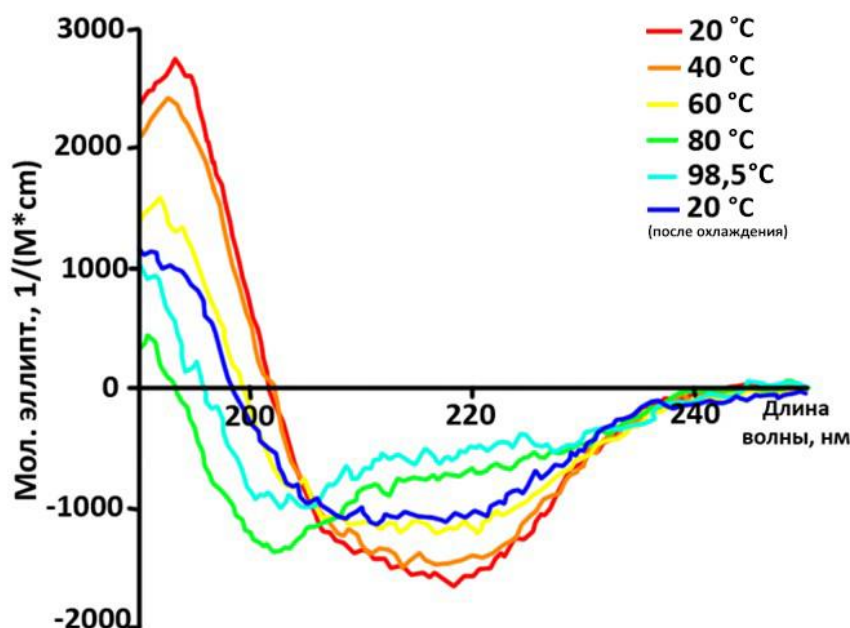


Рисунок 2. Влияние температуры на способность Fra a 1 клубники связывать антитела – поликлональные кроличьи анти-Bet v 1 IgG (А) и IgE из сывороток пациентов с аллергией (Б). Планки погрешностей отображают стандартные отклонения между техническими повторностями. Различия средних значений A_{450} между интактным и предварительно прогретым аллергеном сравнивали с помощью мультиплетного t -теста. Уровни значимости: $*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$; $****p < 0,0001$.

Figure 2. Effect of temperature on the ability of strawberry Fra a 1 to bind antibodies – polyclonal rabbit anti-Bet v 1 IgG (A) and IgE from sera of allergic patients (B). Error bars represent standard deviations between technical replicates. Differences in mean A_{450} values between intact and preheated allergen were compared using a multiple t -test. Significance levels: $*p < 0.05$; $**p < 0.01$; $***p < 0.001$; $****p < 0.0001$.

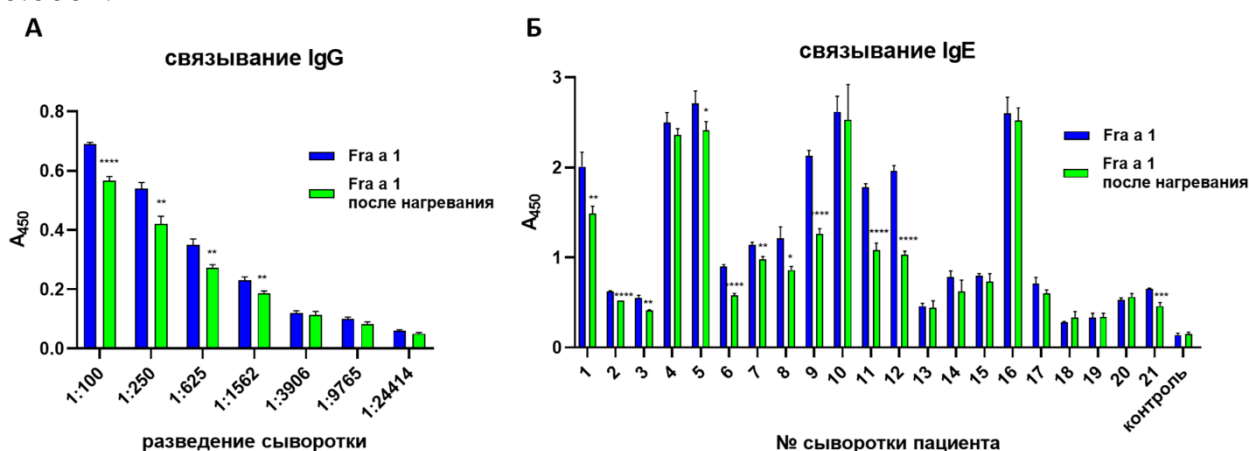
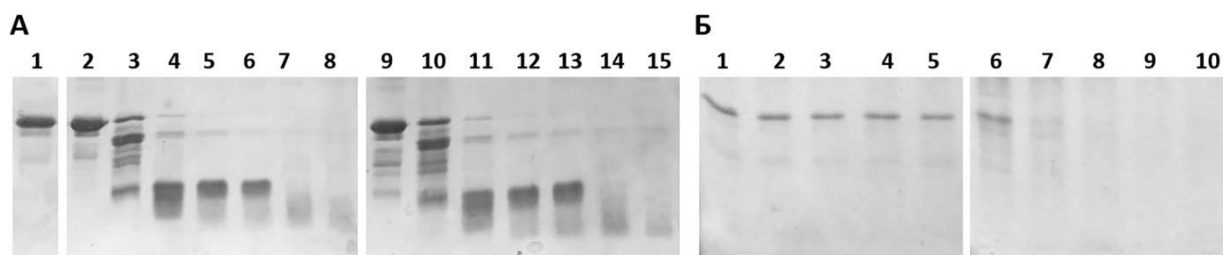


Рисунок 3. Устойчивость Fra a 1 клубники к деградации. (А) Протеолитическое расщепление аллергена в условиях, *in vitro* моделирующих его последовательное переваривание в ЖКТ человека: интактный Fra a 1 (1); расщепление интактного (2-5) или прогретого при 99°C Fra a 1 (9-12) пепсином в течение 1, 5, 30 и 120 мин; дальнейшее расщепление интактного (6-8) или прогретого аллергена (13-15) смесью трипсин/ α -химотрипсин в течение 5, 30 и 120 мин. (Б) Протеолитическое расщепление аллергена в условиях, *in vitro* моделирующих его эндолизосомальную деградацию: Fra a 1, проинкубированный в буферном растворе в течение 0, 1, 2, 3 и 4 дней (1-5); аллерген, проинкубированный в течение того же времени с лизосомальными ферментами (6-10).

Figure 3. Resistance of strawberry Fra a 1 to degradation. (A) Proteolytic cleavage of the allergen under conditions *in vitro* simulating its sequential digestion in the human gastrointestinal tract: intact Fra a 1 (1); cleavage of intact (2-5) or Fra a 1 heated at 99°C (9-12) with pepsin for 1, 5, 30, and 120 min; further cleavage of intact (6-8) or heated allergen (13-15) with a trypsin/ α -chymotrypsin mixture for 5, 30, and 120 min. (B) Proteolytic cleavage of the allergen under conditions *in vitro* simulating its endolysosomal degradation: Fra a 1 incubated in buffer solution for 0, 1, 2, 3, and 4 days (1-5); allergen incubated for the same time with lysosomal enzymes (6-10).



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Мельникова Дарья Николаевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Учебно-научный центр;

Адрес: ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Москва, 117997;

телефон: +79153777677;

e-mail: d_n_m@mail.ru

Daria Nikolaevna Melnikova^a, PhD (Chemistry), Senior Researcher, Educational and Scientific Center;

Address: Miklukho-Maklaya St., 16/10, Moscow, 117997;

telephone: +79153777677;

e-mail: d_n_m@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Финкина Екатерина Ивановна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Учебно-научный центр;

Ekaterina Ivanovna Finkina, PhD (Chemistry), Senior Researcher, Educational and Scientific Center;

Богданов Иван Владимирович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Учебно-научный центр;

Ivan Vladimirovich Bogdanov, PhD (Chemistry), Senior Researcher, Educational and Scientific Center;

Овчинникова Татьяна Владимировна, доктор химических наук, заведующая отделом, Учебно-научный центр;

Tatyana Vladimirovna Ovchinnikova, Doctor of Chemical Sciences, Head of Department, Educational and Scientific Center;

Блок 3. Метаданные статьи

**ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕРГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛИНИЧЕСКИ
ЗНАЧИМОГО АЛЛЕРГЕНА КЛУБНИКИ КЛАССА PR-10
CHARACTERISTICS OF THE ALLERGENIC POTENTIAL OF CLINICALLY
SIGNIFICANT STRAWBERRY ALLERGEN OF CLASS PR-10**

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

FRA A 1: АЛЛЕРГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

FRA A 1: ALLERGENIC POTENTIAL

Ключевые слова: аллерген клубники Fra a 1, аллергия, перекрестная реактивность, термостабильность, протеолитическая деградация.

Keywords: strawberry allergen Fra a 1; allergy; cross-reactivity; thermostability; proteolytic degradation.

Краткие сообщения.

Количество страниц текста – 5,

Количество таблиц – 0,

Количество рисунков – 3.

11.12.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации источника английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Bohle B.; Zwölfer B.; Heratizadeh A.; Jahn-Schmid B.; Antonia Y.D.; Alter, M.; Keller, W.; Zuidmeer, L.; van Ree, R.; Werfel, T.; Ebner, C. Cooking birch pollen-related food: divergent consequences for IgE- and T cell-mediated reactivity in vitro and in vivo. J Allergy Clin Immunol., 2006, Vol. 118, no.1, pp. 242-249.	-	DOI: 10.1016/j.jaci.2006.03.011
2	Egger M., Jürets A., Wallner M., Briza P., Ruzek S., Hainzl S., Pichler U., Kitzmüller C., Bohle B., Huber C.G., Ferreira F. Assessing protein immunogenicity with a dendritic cell line-derived endolysosomal degradome. PLoS One, 2011, Vol. 6, no. 2, pp. 17278	-	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017278
3	Finkina E.I., Bogdanov I.V., Ziganshin R.H., Strokach N.N., Melnikova D.N., Toropygin I.Y., Matveevskaya N.S., Ovchinnikova T.V. Structural and Immunologic Properties	-	https://doi.org/10.3390/ijms232315386

	of the Major Soybean Allergen Gly m 4 Causing Anaphylaxis. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> , 2022, Vol. 23, pp. 15386.		
4	Finkina E.I., Danilova Y.D., Melnikova D.N., Ovchinnikova T.V., Bogdanov I.V. Sensitization potential of the major soybean allergen Gly m 4 and its cross-reactivity with the birch pollen allergen Bet v 1. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> , 2025, Vol.26, no.7, pp. 2932;	-	https://doi.org/10.3390/ijms26072932
5	Finkina E.I., Melnikova D.N., Bogdanov I.V., Ovchinnikova T.V. Plant pathogenesis-related proteins PR-10 and PR-14 as components of innate immunity system and ubiquitous allergens. <i>Curr. Med. Chem.</i> , 2017, Vol. 24, pp.1772–1787.	-	DOI: 10.2174/0929867323666161026154111
6	Franz-Oberdorf K., Eberlein B., Edelmann K., Hücherig S., Besbes F., Darsow U., Ring J., Schwab W. Fra a 1.02 is the most potent isoform of the Bet v 1-like allergen in strawberry fruit. <i>J. Agric. Food Chem.</i> , 2016, Vol. 64, no.18, pp. 3688–3696	-	https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00488

7	Johansen P., Senti G., Gómez J.M.M., Wüthrich B., Bot A., Kündig T.M. Heat denaturation, a simple method to improve the immunotherapeutic potential of allergens. <i>Eur. J. Immunol.</i> , 2005, Vol. 35, pp. 3591–3598.	-	https://doi.org/10.1002/eji.200535076
8	Kosma P., Sjölander S., Landgren E., Borres M.P., Hedlin G. Severe reactions after the intake of soy drink in birch pollen-allergic children sensitized to Gly m 4. <i>Acta Paediatr.</i> , 2011, Vol. 100, pp. 305-306.	-	DOI: 10.1111/j.1651-2227.2010.02049.x
9	Ma S., Sicherer S. H., Nowak-Wegrzyn A. A survey on the management of pollen-food allergy syndrome in allergy practices. <i>J. Allergy Clin. Immunol.</i> , 2003, Vol. 112, no.4, pp. 784–788.	-	DOI: 10.1016/s0091-6749(03)02008-6
10	Melnikova D.N., Finkina E.I, Potapov A.E., Danilova Y.D., Toropygin I.Y., Matveevskaya N.S., Ovchinnikova TV., Bogdanov I.V. Structural and immunological features of PR-10 allergens: focusing on the major alder pollen allergen	-	https://doi.org/10.3390/ijms25094965

	Aln g 1. Int J Mol Sci., 2024, Vol. 25. no. 9, pp. 4965.		
11	Mogensen J. E., Wimmer R., Larsen J.N., Spangfort M.D., Otzen D.E. The major birch allergen, Bet v 1, shows affinity for a broad spectrum of physiological ligands. The Journal of Biological Chemistry, 2002, Vol. 277, pp. 23684-23692.	-	DOI: 10.1074/jbc.M202065200
12	Munoz C., Hoffmann T., Escobar N. M., Ludemann F., Botella M. A, V. Valpuest, and W. Schwab, The strawberry fruit Fra a allergen functions in flavonoid biosynthesis. Molecular Plant, Vol. 3, no. 1, pp. 113–124.	-	DOI: 10.1093/mp/ssp087
13	Orozco-Navarrete B., Kaczmarska Z., Dupeux F., Garrido-Arandia M., Pott D., Díaz Perales A., Casañal A., Márquez J. A., Valpuesta V., Merchante C. Structural bases for the allergenicity of Fra a 1.02 in strawberry fruits. J. Agric. Food Chem. 2020, Vol. 68, pp.10951–1096.	-	DOI: 10.1021/acs.jafc.9b05714