

**О.Ю. Пархомчук, Е.Е. Григорьева**

**ГЛАВНЫЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЁЗЫ BET V 1: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭПИТОПОВ**

**Научный руководитель: д-р биол. наук Е.Г. Фомина**

*Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, г. Минск*

**O.Yu. Parkhomchuk, E.E. Grigorieva**

**THE MAIN ALLERGEN OF BIRCH POLLEN BET V 1: GENETIC  
CHARACTERISTICS OF FUNCTIONAL EPITOPES**

**Tutor: E.G. Fomina**

*Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk*

**Резюме.** Определён спектр изоформ главного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1, собранной на территории Республики Беларусь. Охарактеризованы генетические особенности В- и Т-клеточных эпитопов. Изучение клонированных фрагментов единичных копий ДНК, кодирующих Bet v 1, позволило определить доминирующую изоформу – Bet v 1.0101. При изучении функционально значимых Т- и В-эпитопов установлены замены аминокислот, которые могут влиять как на клеточный, так и гуморальный иммунный ответ пациентов с сенсibilизацией на пыльцу берёзы.

**Ключевые слова:** *Betula pendula*, Bet v 1, изоформы, PR-10, поллиноз.

**Resume.** The spectrum of Bet v1 isoforms, the main allergen in birch pollen, has been determined in the Republic of Belarus. The genetic features of B- and T-cell epitopes have been characterized. Studying cloned fragments of single copies of DNA that encode Bet v1 allowed us to identify the dominant isoform, Bet v 1.0101. The study of functionally significant T- and B-epitopes revealed amino acid substitutions that may impact cellular and humoral immune responses in patients sensitized to birch pollen.

**Keywords:** *Betula pendula*, Bet v 1, isoforms, PR-10, pollinosis.

**Актуальность.** Bet v 1 является основным аллергеном пыльцы берёзы, который вызывает выработку специфических IgE у большинства пациентов с повышенной чувствительностью к белкам, которые содержатся в пыльце этого дерева. Всё чаще для диагностики и лечения аллергических заболеваний, в том числе и поллиноза, применяются искусственно синтезированные белки. При разработке таких аллергенов важно учитывать наличие и значимость аминокислотных замен в антигенных детерминантах – Т и В-эпитопах. Причём, необходимо принимать во внимание состав как линейных, так и конформационных частей макромолекулы, влияющих как на связывание с антителами, так на активацию Т-клеток и клеточную перекрестную реактивность [1 – 3].

**Цель:** исследование разнообразия изоформ аллергена Bet v 1, присутствующих в пыльце берёз (*Betula pendula*), с последующим анализом В- и Т-эпитопов.

**Задачи:**

1. Определить спектр изоформ главного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1, циркулирующих на территории Республики Беларусь.

2. Охарактеризовать генетические особенности В- и Т-эпитопов.

**Материалы и методы.** Амплификаты генов, кодирующих различные изоформы Bet v 1, получали на матрице суммарной РНК, выделенной из образцов пыльцы, собранной на территории Республики Беларусь в весенний период. Для

получения рекомбинантных плазмидных ДНК с клонированными генами, кодирующими единичные копии вариантов белка Bet v 1 был использован вектор pJET. Определение спектра изоформ осуществлялось с применением секвенирования по Сэнгеру. Для анализа последовательностей использовалась программа Bioedit Sequence Alignment Editor version 7.2.5.

**Результаты и их обсуждение.** Изучено генетическое разнообразие аллергена Bet v 1. Большинство (свыше 40 %) идентифицированных вариантов соответствуют или близки изоформе Bet v 1.0101, что согласуется с данными исследований, проведённых в странах Европы [4 – 7]. Не все идентифицированные генетические варианты Bet v 1 соотносились с последовательностями изоформ Bet v 1, размещёнными в базе данных аллергенных белков. Часть из них (14%) проявила максимальное сходство с депонентами GenBank, которые не включены в перечень аллергенов (рисунок 1).

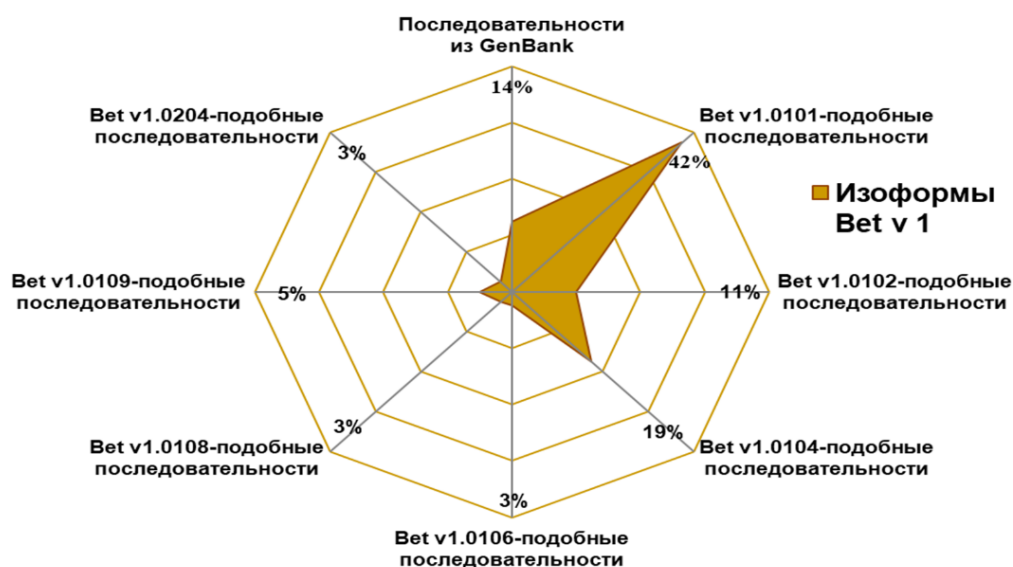
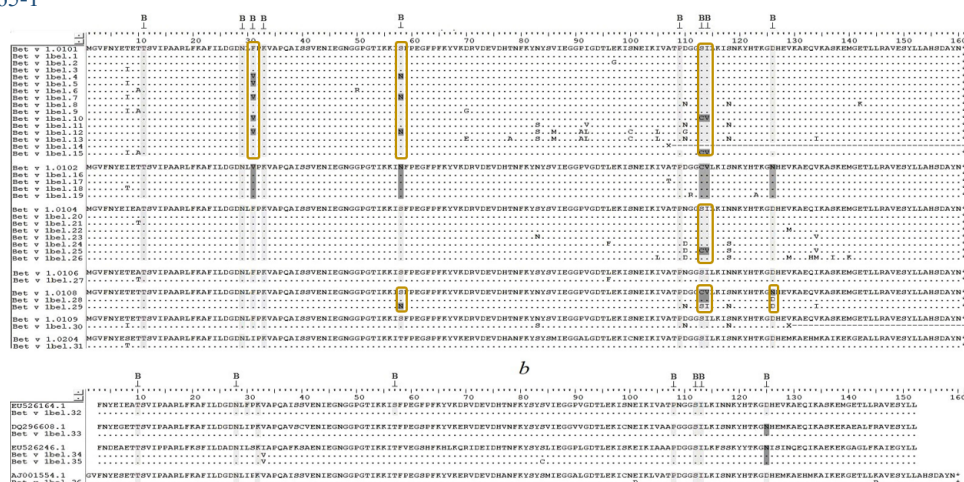


Рис. 1 – Структура спектра изоформ Bet v 1

Проведён анализ аминокислотной последовательности наиболее значимых в функциональном плане фрагментов белка, влияющих на аллергенность и клеточный иммунный ответ – В- и Т-эпитопов. В соответствии с данными литературы В-эпитопы являются конформационными и содержат ряд аминокислот, которые влияют на аллергенность Bet v 1. Это Thr – в 11 положении, Asn – в 29, Phe – в 31, Lis – в 33, Ser – в 58 и 113, Pro, Ile и Asp – в 109, 114 и 126 положениях, соответственно [8, 9].

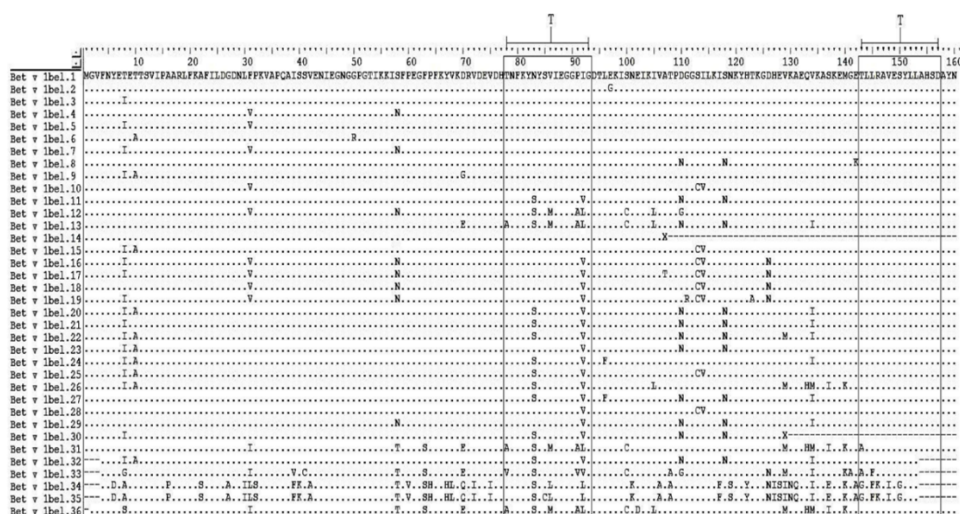
В исследованных нами последовательностях в группах, объединённых вариантами Bet v 1.0101 и Bet v 1.0104 наблюдались замены аминокислот с высокой IgE-связывающей активностью на аминокислоты с низкой активностью в 4 значимых местах: Phe31Val, Ser58Asn, Ser113Cys, Ile114Val. В то же время в группе Bet v 1.0108-подобных последовательностей в трёх положениях произошли замены аминокислот, ассоциированных с изоформами с низкой IgE-связывающей способностью на аминокислоты с соответствующей высокой активностью (Cys113Ser, Val114Ile и Asn126Asp) (рисунок 2).



**Рис. 2** – Анализ аминокислотных остатков, влияющих на аллергенность Bet v 1 (*a* – относительно депонентов базы данных аллергенных белков; *b* – относительно депонентов GenBank).  
Аминокислоты, ассоциированные с изоформами с высокой IgE-связывающей активностью выделены светло-серым цветом, с низкой – темно-серым цветом

Таким образом, обнаружены альтернативные варианты аминокислот, проявляющие разноплановую способность связываться с соответствующими антителами, что может оказывать значимое влияние на степень взаимодействия аллергена с IgE.

Иммунодоминантные, по данным литературы, Т-эпитопы представлены двумя линейными фрагментами, расположенными в центральной и С-концевой областях последовательности [10]. Центральный фрагмент содержал аминокислотные замены в отличие от С-концевого участка последовательности, который оказался высоконсервативным среди различных изоформ аллергена. Замены выявлены в шести положениях (78, 83, 85, 86, 91, 92). Интересно отметить, что Asn в 83 положении у примерно 50 % последовательностей был замещён на Ser. Похожая ситуация наблюдалась в 92 положении, где более чем в половине случаев Ile замещался на Val и в примерно 15 % – на Leu (рисунок 3).



**Рис. 3** – Сравнение аминокислотного состава доминантных Т-клеточных эпитопов Bet v 1 в полученных последовательностях

Установленная особенность исследуемого участка, по литературным данным, может сказаться на клеточной перекрёстной реактивности и активации Т-клеток [10].

### **Выводы:**

1. Показано высокое генетическое разнообразие изоформ Bet v 1 берёзы повислой, произрастающей на территории Республики Беларусь.

2. Большинство полученных последовательностей (36,7%) идентичны или максимально подобны (от 97,5% до 99,4%) по аминокислотному составу аллергену Bet v 1.0101.

3. Установлено, что в пыльце одного дерева экспрессируются белки, соответствующие 7 изоформам главного аллергена пыльцы берёзы.

4. В пяти положениях в В-эпитопах установлены аминокислотные замены, которые ассоциированы с изоформами, проявляющими разнонаправленную (высокую или низкую) IgE-связывающую активность, что может значительно увеличивать вариабельность предполагаемой IgE-реактивности.

5. Т-эпитоп, расположенный в центральной области, содержал аминокислотные замены в шести положениях в большинстве вариантов Bet v 1, в отличие от С-концевого иммунодоминантного Т-клеточного эпитопа, который оказался высоконсервативным среди различных изоформ аллергена. Выявленная вариабельность данного участка может влиять на активацию Т-клеток и клеточную перекрёстную реактивность.

### **Литература**

1. Breiteneder, H. The History and Science of the Major Birch Pollen Allergen Bet v 1 / H. Breiteneder, D. Kraft // *Biomolecules*. – 2023. – Vol. 13, no. 7, p. 1151.
2. Valenta, R. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes / Valenta R., R. Campana, V. Niederberger // *Immunology Letters*. – 2017. – Vol. 189. – P. 19–26.
3. 111 years of allergen-immunotherapy: A long and successful history of the only available disease-modifier in allergic diseases / J. Gutermuth [et al.] // *Allergologie Select*. – 2022. – Vol. 6. – P. 248–258.
4. Characterization of PR-10 genes from eight *Betula* species and detection of Bet v 1 isoforms in birch pollen / M. F. Schenk [et al.] // *BMC plant biology*. – 2009. – Vol. 9, No. 24. – P. 24.
5. Proteomic profiling of birch (*Betula verrucosa*) pollen extracts from different origins / Erler A., // *Proteomics*. – 2011. – Vol. 11, No. 8. – P.1486–1498.
6. Isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen, analyzed by liquid chromatography, mass spectrometry, and cDNA cloning / I. Swoboda [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 1995. – Vol. 270, No. 6. – P. 2607–2613.
7. New Bet v 1 isoforms including a naturally occurring truncated form of the protein derived from Austrian birch pollen / R. Friedl-Hajek [et al.] // *Molecular immunology*. – 1999. – Vol. 36, No. 10. – P. 639–645.
8. Seven different genes encode a diverse mixture of isoforms of Bet v 1, the major birch pollen allergen / M. F. Schenk [et al.] // *BMC Genomics*. – 2006. – Vol. 7. – P. 168.
9. Naturally occurring hypoallergenic Bet v 1 isoforms fail to induce IgE responses in individuals with birch pollen allergy / S. Wagner [et al.] // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2008. – Vol. 121, No. 1. – P. 246–252.
10. T cells specific to multiple Bet v 1 peptides are highly cross-reactive toward the corresponding peptides from the homologous group of tree pollens / G. Lund [et al.] // *Front. Immunol*. – 2023. – Vol. 22, No. 14. – e1291666.