**Evaluer le pouvoir déclenchant de 3 inhibiteurs d’alpha amylase (CM3, CM16 et 0,28) pour produire de nouvelles lignées de blé.**

**Roberta Lupi1, Silvio Tundo3, Mickael Lafond4, Thierry Giardina4, Sandra Denery-Papini1, Martine Morisset5, Raviraj Kalunke6, Francesco Sestili2, Colette Larré 1, Stefania Masci2**

*1UR 1268 Biopolymères, Interactions, Assemblages, INRA, F-44316 Nantes, France*

*2Department of Agriculture and Forest Science (DAFNE), University of Tuscia, 01100 Viterbo, Italy*

*3Department of Land, Environment, Agriculture and Forestry (TESAF), University of*

*Padova, 35020, Legnaro, Italy*

*4* Aix Marseille Univ, CNRS, Centrale Marseille, iSm2, Marseille, France

5 Service d’Allergologie - CHU ANGERS, 4 rue Larrey 49933 Angers Cedex 9, France

6 Institute of Plant and Microbial Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan

*roberta.lupi@inra.fr*

Bien que le blé soit un aliment largement consommé par une grande majorité de la population mondiale, certaines de ses protéines sont impliquées dans des réactions indésirables. Parmi celles-ci, les inhibiteurs d’alpha amylase/trypsine (ATI) sont des acteurs importants dans les allergies respiratoires et alimentaires au blé.

Les ATI comprennent plusieurs polypeptides qui sont des inhibiteurs de protéases exogènes. Trois ATI nommés CM3, CM16 et 0,28 sont considérés comme des allergènes majeurs; en particulier les isoformes CM3 et CM16 ont été décrites comme impliquées dans l’anaphylaxie induite par l’effort (AIE). Les ATI pourraient également jouer un rôle important dans d’autres pathologies liées au blé, en effet depuis quelques années ces protéines ont été décrites comme activateurs de l'immunité innée. Cette activité conduit à plusieurs hypothèses sur leur rôle potentiel dans des pathologies digestives telles que la sensibilité au blé de type non cœliaque et même la maladie cœliaque. Le potentiel allergénique de ces protéines individuellement a été étudié dans cette étude.

Les ARN correspondant aux trois gènes CM3, CM16, et 0.28 ont été extraits des caryopses de blé tendre cv Bobwhite à 28 JAA. Les trois protéines correspondant ont été exprimées et produits dans le système d’expression hétérologue Pichia *pastoris* puis purifiées et caractérisées

Les trois protéines purifiées ainsi que l’extrait de type CM-like ont été testées in vitro sur un modèle cellulaire qui mime le déclanchement de la réaction allergique. Pour ce test 28 sérums de patients allergiques au blé ont été utilisés.

Chacune de ces trois protéines est capable d’induire une dégranulation des mastocytes. Une grande amplitude de réactivité a été observée pour chaque protéine selon les sérums testés.

Nos résultats ont montré que chacune de ces protéines, CM3, CM16 et 0,28 sont des allergènes actifs car ils sont capables de provoquer la dégranulation des basophiles. Des blés dépourvus de ces protéines ont été produits, l’évaluation de leur allergénicité est en cours. L’utilisation de ces lignées pourrait être envisagée dans des protocoles d’immunotolérance dans le cadre de l’allergie, et aussi dans la sensibilité au blé de type non cœliaque.