

Alergie

Alergie - allos = jiný, ergon = reakce

Stav přecitlivělosti (hypersenzitivity) organismu na určitou látku - alergen.

Podstatou je porucha řízení imunitního systému vedoucí k nadměrným reakcím poškozujícím organismus či určité orgány.

Působení alergenů se musí kombinovat s dalšími faktory vnitřními (geny) a vnějšími (zevní prostředí).

V první fázi alergické reakce dochází k senzibilizaci, vytvoření paměťových B-lymfocytů pro tvorbu specifických IgE protilátek. Při druhém a dalším setkání s alergenem již tato reakce probíhá bouřlivě s typickým alergickým až anafylaktickým průběhem.

Typy hypersenzitivních reakcí

Samotné rozdělení je problematické, protože se různé typy překrývají (až 6 různých typů).

I. typ - stavy vyvolané anafylaktickou (časnou, protilátkovou) přecitlivělostí

II. typ - stavy vyvolané cytotoxickou protilátkovou přecitlivělostí

III. typ - stavy přecitlivělosti vyvolané imunitními komplexy

IV. typ - pozdní, oddálená přecitlivělost, DTH (delayed type hypersensitivity) - stav vyvolaný pozdní buněčnou přecitlivělostí



Hypersenzitivita I. typu - anafylaxe - atopie - reakce časného typu

Je to nejběžnější typ závislý na IgE, výsledkem je k masivní uvolnění produktů degranulace bazofilů a mastocytů.

1. Senzibilizace (indukční fáze)

- a) Prezentace Ag (alergenu) Th2 lymfocytům prostřednictvím antigen prezentujících buněk (APC).
- b) Sekrece interleukinů, které aktivují B-lymfocyty k produkci IgE.
- c) Vazba IgE (s navázaným Ag nebo bez něj) na membrány bazofilů a mastocytů, jejich senzibilizace k reakci, která nastane při dalším setkání s alergenem.

2. Vlastní reakce časného typu

a) **Navázání alergenů** na oblasti IgE, které jsou ukotveny na mastocytech a bazofilech (napojit se mohou přímo i protilátky s navázaným alergenem).

b) **Přemostění** sousedních na buňku navázaných molekul IgE alergenem (k aktivaci mastocytů může docházet i vznikem křížové vazby IgE s alergenem specifickým IgG).

c) **Aktivace** mastocytů a bazofilů, exocytóza granul, uvolnění histaminu, heparinu aj. Během aktivace mastocytů se syntetizují cytokiny, chemokiny a lipidové mediátory. IL-4 indukuje isotypový přesmyk a další tvorbu IgE, čímž dochází k amplifikaci reakce.

atopie = geneticky podmíněná hypersenzitivita I. typu na vdechnutý nebo polknutý alergen

anafylaxe = akutní celková hypersenzitivní reakce I. typu

JAK SE ROZVÍJÍ ALERGICKÁ REAKCE?



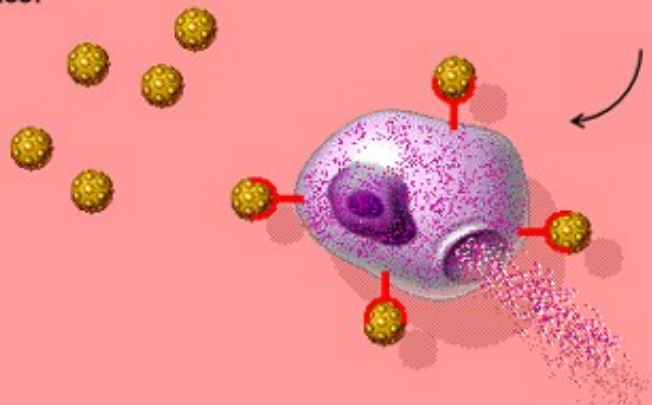
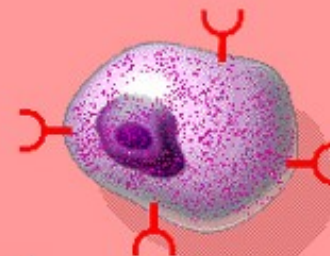
Alergen
(Pylové zrnko)

Alergen se setkává s buňkou imunitního systému, která je schopná vytvářet protilátky.



Protilátky jsou vytvořeny a vážou se na buňku imunitního systému, obsahující histamin.

Při dalším setkání s alergenem dojde k obsazení navázaných protilátek a vyplavení histaminu z buňky. Histamin má hlavní podíl na rozvoji alergické reakce.



Systemová reakce - anafylaktický šok

Reakce antigenů s protilátkami v oběhovém systému a ve všech tkáních.

- Protilátky musí být přítomny ve velkém množství –
- projevy až po mnohokrát opakované imunizaci
- vysoce senzibilizovaní jedinci.
- Antigeny musí být mnoho nebo
- musí být vysoce účinný (vysoká afinita k protilátkám).

Během anafylaxe se uplatňují především IgE u člověka, psa, králíka, krysy a myši a IgG u morčete.

K anafylaxi může dojít i po náhodném proniknutí alergenu do krevního oběhu během hyposenzibilizace („imunizace“), nebo při testování přecitlivělosti.



Hypersenzitivita II. typu - cytotoxická hypersenzitivita

Příčina: reakce na nákazy určitými viry, bakteriemi nebo parazity. popř.

odpovědi na podávání určitých léků: dochází k navázání na buněčnou membránu (A) neimunogenní složka infekčního agens nebo lékový metabolit B) komplex cizorodých složek s protilátkami).

Typická reakce A) autoimunitních chorob

B) transfuzi a transplantaci (imunitní eliminace krvinek a tkání)

Tvorba IgG a IgM, které

A) aktivují komplement

B) působí při buněčné cytotoxicitě závislé na protilátkách (ADCC) (Fagocyty a NK-buňky vážou Fc-části IgG - rozpoznání buňky označené protilátkami a její likvidace svými cytotoxickými mechanismy)

C) protilátka může působit jako opsonin a aktivovat fagocytózu

Klinické příznaky se projevují, jakmile cytotoxická reakce poškodí kritické množství tkáně a vyvolá dysfunkci atakovaných buněk či tkání reakce se mohou objevit po 5 až 8 hodinách.



Hypersenzitivita III. typu

Reakce spojené s tvorbou imunokomplexů

způsobena protilátkami IgG a IgM, tvorba imunokomplexů

Rozhoduje: množství, velikost, struktura a fyzikálně-chemických vlastnosti, místo eliminace fagocytujícími buňkami dochází k ukládání do tkání.

Imunokomplexy se pak vážou na Fc receptor fagocytů nebo aktivují komplement, pomocnou úlohu mají aktivované mastocyty.

Vznik zánětu, který může při přetrvávání velkých nefagocytovatelných komplexů přecházet do chronického stavu.



Hypersenzitivita IV. typu - pozdní, zprostředkovaná buňkami

Tento typ lokální reakce je způsoben zánětlivou reakcí závislou na Th1 buňkách a makrofázích.

Aplikace Ag, reakce po 24 až 72 hodinách proto, že do místa vpichu musí nejprve migrovat Th1 buňky a makrofágy a vzájemně se stimulovat.

Senzibilizace spočívá v prezentaci APC buněk antigenu Th lymfocytům a jejich přeměně v lymfocyty typu Th1, následuje produkce cytokinů, agregace makrofágů, fagocytóza, tvorba lytických enzymů. Vzniká tvrdý otok způsobený buněčnou infiltrací. Reakce je normálně namířena proti intracelulárním parazitům, které aktivované makrofágy dokáží usmrtit, Jinak dochází později k lokálnímu poškození tkáně až k nekrotám.

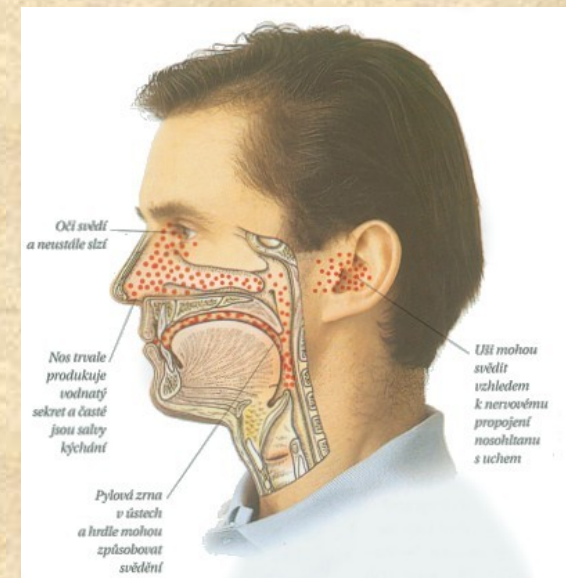


Hypersensitivity 4

Diagnostika alergií

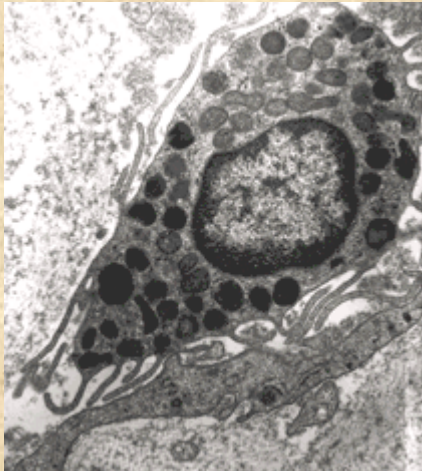
Diagnostické postupy použitelné v praxi při vyšetřování alergických onemocnění a při zvažování indikace alergenové imunoterapie musí splňovat jisté předpoklady. Musí to být testy:

- detekující časný typ alergie (IgE)
- relativně spolehlivé (co nejvyšší senzitivita a specifita)
- vhodné pro rutinní práci (cena, rychlost)
- dostupné (nároky na vybavení)
- bezpečné pro pacienta.

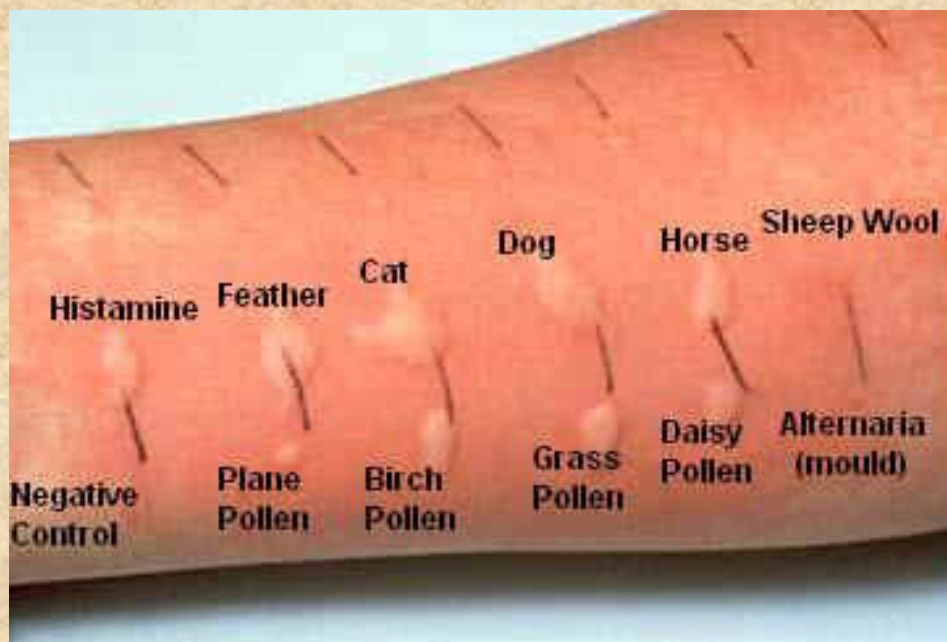


Kožní testy

Kožní testy prováděné s určitým alergenem zjišťují přítomnost specifických IgE protilátek vůči tomuto alergenu, navázaných na kožních mastocytech, bazofilech. Pokud se příslušný alergen váže na specifické IgE protilátky fixované na povrchu mastocytů, dojde k aktivaci a uvolnění mediátorů: vyvolávají A) lokální edém (kožní pupen) B) erytém (zarudnutí) C) pruritus (svědění). Projevy 5 minut po testu a maximální reakce mezi 10 - 20 minutami po testu.



Je nutno zdůraznit, že **neplatí rovnice: pozitivní kožní test = průkaz alergie**.
Senzitivita a specifita kožních testů se pohybuje se obvykle **mezi 80-90 %**.
Kožní testy vhodné pro diagnostiku **A) alergie na inhalační alergeny B) alergie na hmyzí bodnutí**. U **potravinových alergií** - senzitivita a specifita kožních testů nižší. U alergií **lékových** je situace komplikovanější - často se nejedná o reakci zprostředkovanou IgE.



Následné vyšetření po kožních testech

Expoziční (provokační) testy

vystavení pacienta kontaktu s podezřelým alergenem.

Pozitivní reakce - potvrzení alergenu jako příčiny pacientových obtíží.

Nutné podmínky:

- Provedení rovněž slepého testu s neškodnou látkou. Ani pacient ani člověk, který reakci hodnotí, neví, která látka je která (dvojitě slepá kontrolovaná studie s placebem)
- test by se nikdy neměl provádět bez pečlivých předběžných zkoušek na tváři a rtech
- je třeba začínat pouze s nepatrným množstvím potravin.

V oblasti lékových alergií je expoziční test mnohdy jediným možným způsobem objektivizace diagnózy.

K expozičním testům patří dále

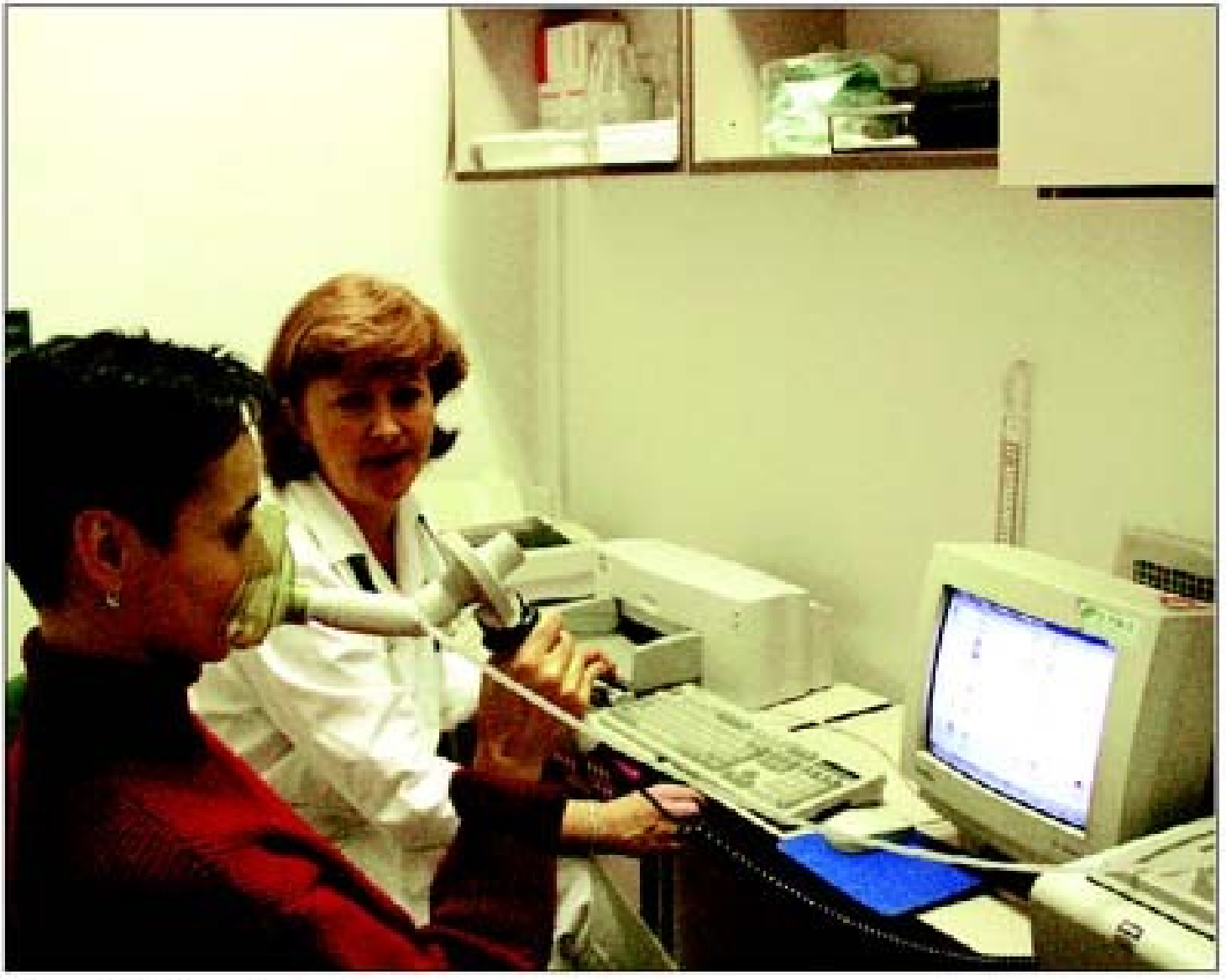
- **spojivkový test**, kdy se roztok alergenu vkapává do spojivkového vaku jednoho oka,
- **intranasální test**, který se provede vkápnutím roztoku alergenu do jednoho nosního průduchu
- **bronchoprovokační test**, kdy pacient vdechuje prostřednictvím inhalátoru testovaný alergen.

používány méně často - poměrně vysoká spolehlivost kožních testů a laboratorních diagnostických postupů pro inhalační alergeny.

u průduškových specifických provokací existují pochybnosti o bezpečnosti (astmatický záchvat) a míře senzitivity a specifity tohoto testu.

Použití hlavně: v oblasti profesních alergóz.





Laboratorní metody

V rámci screeningu může první informaci vedoucí k diagnóze alergózy přinést stupeň **eozinofilie** v krevním obraze nebo hladina celkových **IgE protilátek**.

Eozinofilie

Vyšetření diferenciálního počtu eozinofilů (větší výskyt při alergiích). **Za zvýšené hodnoty se považuje počet eozinofilů nad $0,35 \times 10^9/l$.**

Celková hladina IgE

Kvantifikace celkové hladiny IgE protilátek je prováděna řadou laboratorních metodik. Pouze nejkvalitnější techniky (**EIA, FEIA-enzymová imunoanalýza s fluorescenční detekcí, chemiluminiscence, RIA**) dosahují prahové citlivosti kolem **0,5 U/ml** (kU/l) (=1,2 ng/ml) a optimální přesnosti v rozsahu asi **7,5 - 50 U/ml** (18 - 120 ng/ml). To je třeba mít na mysli zejména u vyšetřování novorozenců a malých dětí. U dospělých je naopak nutno sérum příslušně naředit.

Výpovědní hodnotu hladiny celkových IgE protilátek snižuje vysoká horní hranice normálu, která bývá obvykle definována v rozmezí 2SD. Distribuce hodnot v populaci je velmi šikmá. **Hladiny závisejí na věku** (vzestup do 5. - 7. roku věku).

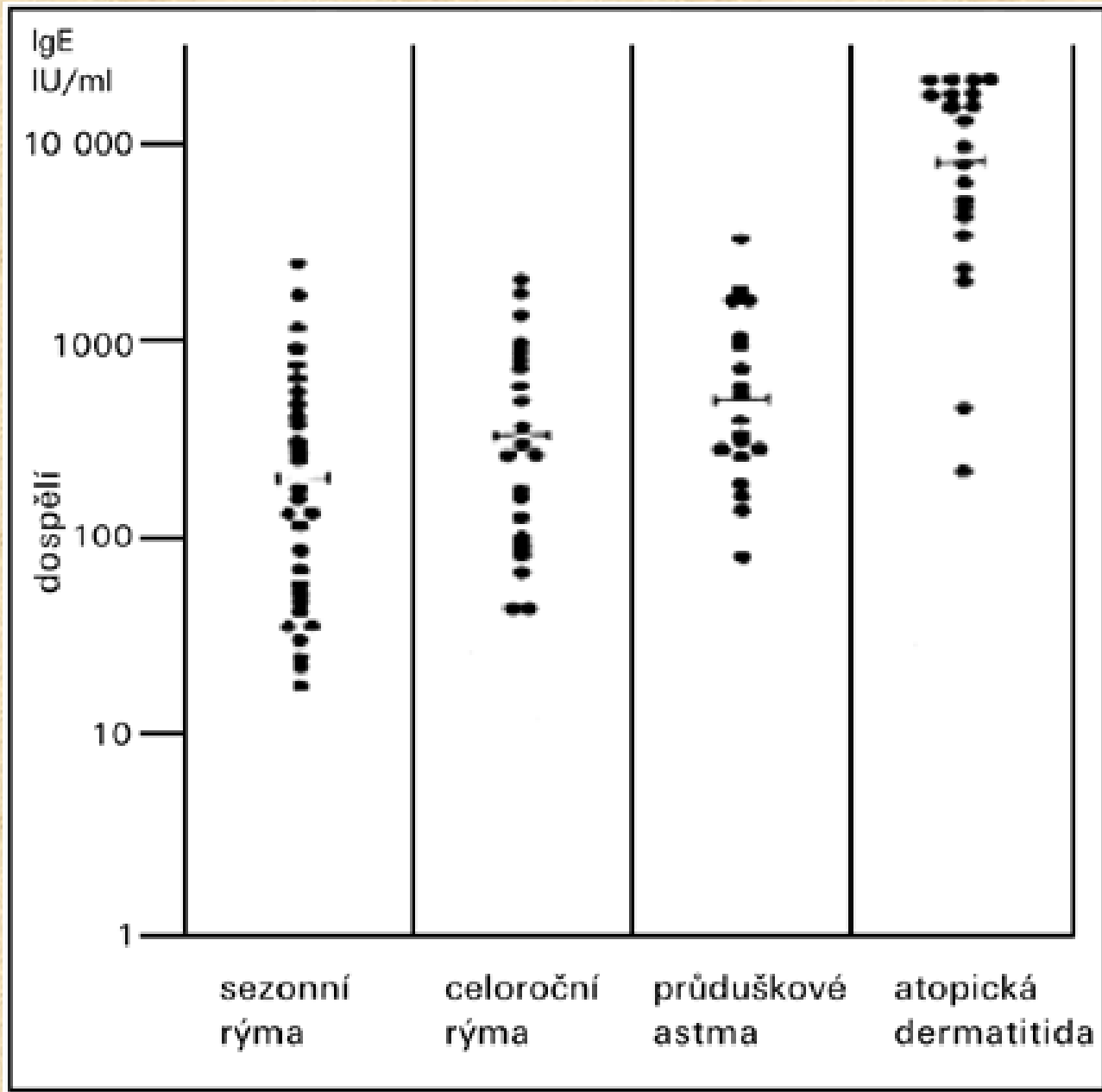
Za normální u novorozenců se považují hladiny do 0,7 U/ml. U dětí signalizuje již hladina +1SD výrazně zvýšené riziko vývoje **alergózy**. **Normální hladina IgE nevylučuje přítomnost alergózy. Při již stanovené diagnóze alergózy nepřinášejí vyšší hladiny IgE žádnou další informaci.**

Věk	IgE (IU/ml)
0–1 rok	3–12
1–5 let	10–50
5–9 let	15–75
9–15 let	40–160
nad 15 let	35–200

	Průměr	+ 1SD	+ 2SD
Novorozenec	< 12	< 12	< 12
1 - 11 měs.	< 12	12	56
1 rok	< 12	15	83
2 - 4 roky	< 12	33	130
5 - 80 let	20	85	367

Hladiny zvýšené nad +2SD jsou časté u osob s polyvalentní alergií na více alergenů a s výskytem různých alergických symptomů. U osob alergických na 1 alergen a s postižením pouze 1 orgánu jsou často hladiny v normě. **Výskyt alergických projevů na kůži (atopická dermatitida) a gastrointestinálních projevů zvyšuje pravděpodobnost zvýšené sérové hladiny IgE.** U atopické dermatitidy nejsou vzácné extrémní hladiny. **Frekvence zvýšené hladiny celkového IgE je vyšší u alergie pylové než u alergie na roztoče a plísně.** Při vyloučení parazitárního postižení je specifická zvýšená hladina IgE pro alergózu velmi vysoká (asymptomatický pacient - prealergický stav).





Stanovení specifických IgE

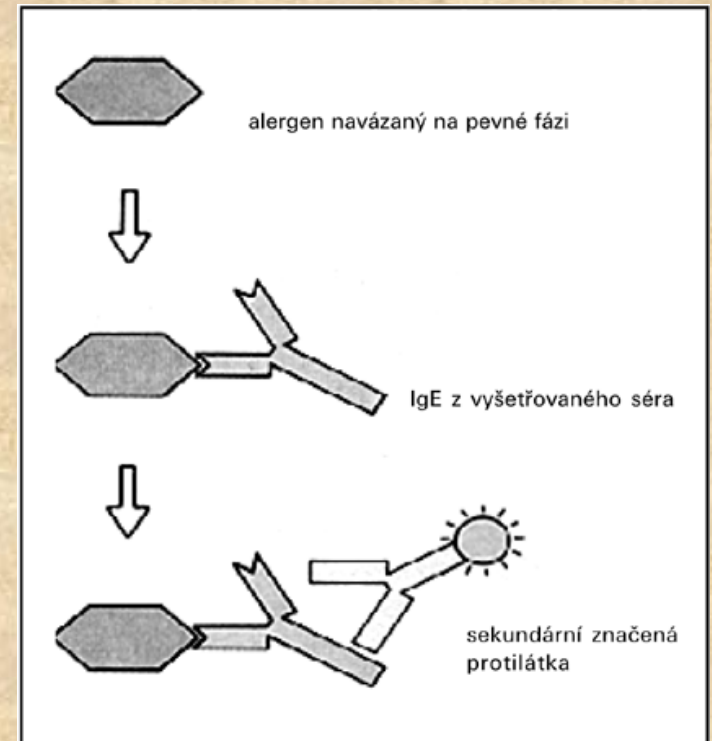
Provádí se u pacientů, u kterých nelze provést kožní test. Stanovují se specifické IgE protilátky proti širokému spektru alergenů. Vyšetření pomocí vysokoafinitní FEIA (CAP systém), chemiluminiscenční analýza (IMMULITE), ELISA.

Stanovení specifických IgG

Pozitivita specifických IgG je dnes považována pouze za průkaz předchozí expozice alergenu či alergenů u pacientů, u kterých kožní testy i specifické IgE tzv. nevycházejí. U alergií na jed blanokřídlého hmyzu jsou někdy negativní jak kožní testy tak stanovení specifických IgE, navzdory těžkým alergickým reakcím. Totéž platí také pro alergie na plísně a potraviny, méně potom na některé další inhalační alergeny - upřesnění stanovením IgG (EIA).

Hladina alergen-specifických IgE protilátek

Prototypem těchto testů je **RAST** (radioalergosorbent test). **Alergen je navázán kovalentní vazbou na nitrocelulózovou pevnou fázi, kterou bývá papírový disk.** Inkubace s vyšetřovaným sérem - vazba specifického IgE ze séra na disk. Po promytí disku provedena druhá inkubace s protilátkou proti IgE, která je značena izotopem jodu 125. Intenzita navázané radioaktivity přímo úměrná množství specifického IgE ve vyšetřovaném vzorku.



Použití **různých** pevných fází k navázání alergenů, **různých** alergenů, **různých** enzymů k označení protilátek proti IgE, různé substrátů a z toho vyplývající různých systémů detekce výsledného signálu. Rovněž jsou používány různé systémy standardů pro kalibraci. **Každá technika má svá vlastní kritéria pro hodnocení.**

První používanou pevnou fází byla **nitrocelulóza**. Vazba na antigen je stabilní, ale může dojít **k zamaskování některých epitopů antigenu** a také dochází k nespecifické vazbě IgE na nitrocelulózu v případě, že hladiny celkového IgE jsou vysoké.

Navázání antigenu na pevnou fázi v trojrozměrné podobě je významným zlepšením techniky. Alergen je v tomto případě navázán na hydrofilní derivát celulózy. Tento systém má schopnost vázat **tříkrát více bílkoviny alergenu** než papírový disk. Tato technika je uváděna pod označením **CAP System**.

Jiným zlepšením původní metody je navázání antigenu v kapalně fázi - AlaSTAT.

Různé modifikace:

AlaSTAT – Ag se váže v kapalně fázi, křenuv paroxidza

RAST – vazba p pouit Abs enzymu beta galaktosidáza

FAST - vazba p pouit Abs enzymu alkalick fosfatáza

Charakter enzymu hraje roli p rozkyvn Ab v potravinov alergii

CAP

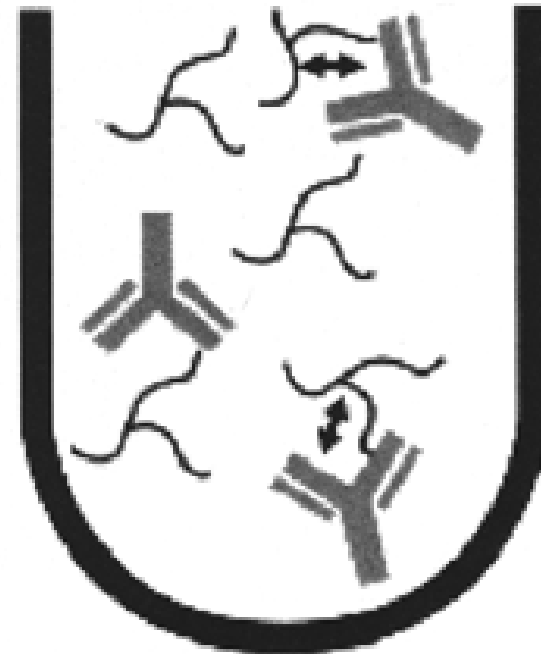
Vazba IgE na alergen
v pevné fázi



- vazba je omezena na
povrch pevné fáze

AlaSTAT

Vazba IgE na alergen
v kapalně fázi



- reaktanty jsou mobilní a
všude v dobrém vzájemném
kontaktu

Různé techniky používají různé protilátky anti-IgE - monoklonálních i polyklonálních. Liší se i v systému detekce: radioimunoassay, fluorescenční alergosorbent test (FAST) atd. Důležité hledisko moderních technik je trend k vysoké automatizaci.

Významným problémem je výběr standardů pro kalibraci. Mohou to být séra obsahující specifické protilátky proti pylu břízy (RAST), jílku (FAST) apod. CAP používá jako standard celkový IgE.

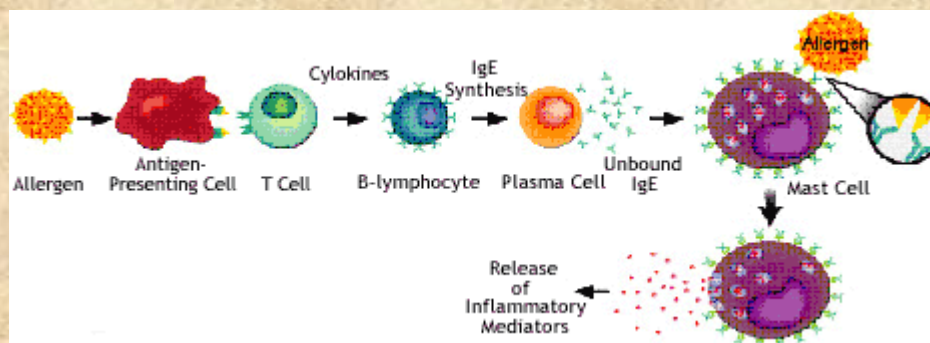
Vzhledem k těmto výše uvedeným odlišnostem **jsou i rozdíly ve výsledcích u různých technik velmi časté.**

Specifita testu, tedy vlastnost testu, že není falešně pozitivní, nesmí být zaměňována s pozitivitou na zkříženě reagující alergeny (nejčastěji pyly, ovoce, zelenina), která se nemusí projevovat klinicky. Specifita RAST testu je výborná - kolem 95 %. Specifita FAST testu je o něco nižší. Přítomnost specifických IgE protilátek proti určitému alergenu není vyloučena ani u asymptomatické osoby.

Senzitivita (citlivost) testů se pohybuje u nejkvalitnějších technik **kolem 75 %**. Některé antigenní složky mohou z komerčně dostupných preparátů vymizet, a tím způsobit falešně negativní výsledek.

Proč není 100% citlivost:

- obsah specifických protilátek v séru je často vyšší než vazebná kapacita alergenu.
- nemusí být vždy zcela zajištěno, že po vazbě alergenu na pevnou fázi jsou dostupné všechny antigenní determinanty daného alergenu.
- během inkubace nemusí dojít k navázání všech specifických IgE protilátek (různá afinita protilátek proti různým epitopům) a nelze ani vyloučit interferenci specifických IgG protilátek (např. po imunoterapii).



Přesto lze pokládat množství navázané sekundární značené protilátky za úměrné (v určitém rozsahu) množství specifického IgE ve vyšetřovaném séru. **Křivky vyjadřující závislost vazby na množství specifických protilátek bývají paralelní pro různé alergeny i pro celkové IgE. Proto lze takovou křivku použít jako kalibrační i pro jiné alergeny. Konečným výsledkem je spíše relativní číslo.**

Testy detekující uvolnění mediátorů po expozici alergenu

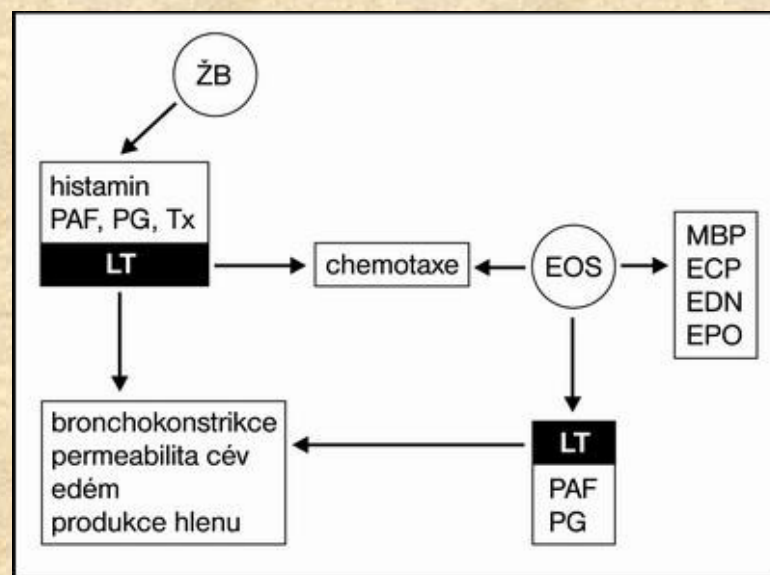
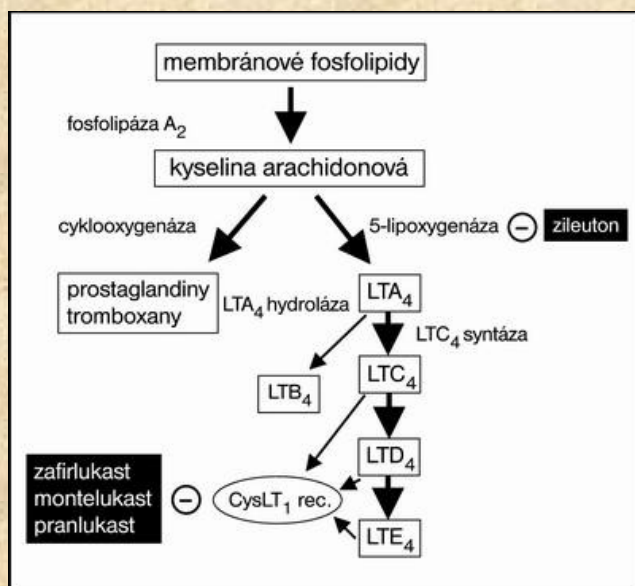
Test uvolnění histaminu - kvantifikace histaminu uvolněného z bazofilů po inkubaci s alergenem. Kvantifikace histaminu pomocí **ELISA** nebo **RIA** s využitím monoklonální protilátky proti histaminu. **Určitá omezení vzhledem k poměrně vysokému spontánnímu uvolňování histaminu z leukocytů.**

Test uvolnění tryptázy - mediátor uvolňovaný z mastocytů, má delší poločas rozpadu, oproti stanovení histaminu nebývají výsledky falešně pozitivní, význam u anafylaktických reakcí (léky, bodnutí hmyzem), stanovení - **FEIA**

CAST test (Cellular Allergen Stimulation Test) - měření hladiny leukotrienů

po stimulaci leukocytů IL-3 a alergenem in vitro. Principem ELISA technika s monoklonální protilátkou proti společné determinantě leukotrienů.

Testy jsou určeny především pro výzkumné účely. Rutinnímu využití brání vysoká cena a nároky na vybavení laboratoře. Senzitivita a specifita těchto testů může být v problematická. **Perspektivně uplatnění i v oblastech, kde reakce nejsou zprostředkovány IgE mechanismem (některé léky, potraviny).**



Stanovení ECP (eosinofilní kationický protein)

Aktivované eozinofily degranulují a uvolňují do okolních tkání silně bazické granulární proteiny, které jsou schopny ničit parazity. Mohou však způsobit destrukci tkání spojenou s astmatem a jinými zánětlivými onemocněními. Mezi granulární proteiny patří i ECP. **ECP narušuje buněčnou membránu a umožňuje průnik enzymů do buněk a jejich následné poškození a poškození tkání podslizničního vaziva, bazální membrány respirační sliznice i hladkého svalstva bronchu.**

Existuje vysoká korelace mezi koncentrací ECP a klinickými astmatickými symptomy.

ECP odráží sezónní změny aktivity atopického onemocnění, nezávisle na koncentraci IgE.

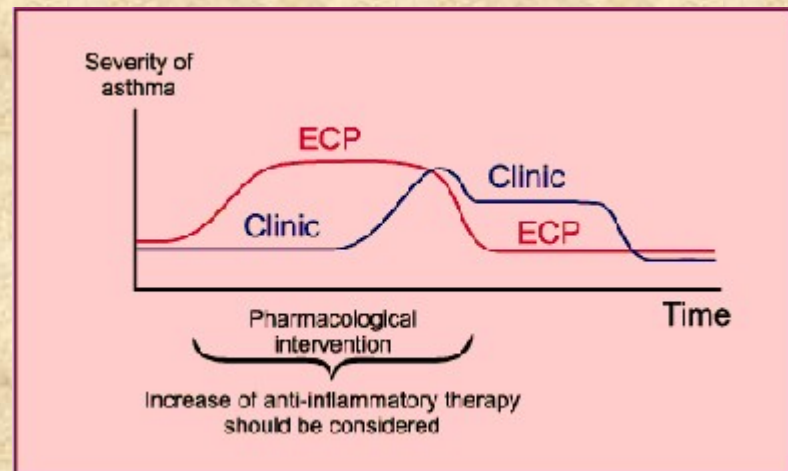
Koncentrace ECP koreluje s aktivitou atopické dermatitidy.

Stanovení hladiny ECP se nabízí jako vhodný diagnostický ukazatel tíže zánětu u astmatu, ale v praxi má určité limity.

Metodika je citlivá, ale provádí se jen na určitých typech laboratorních analyzátorů ve specializovaných imunologických laboratořích.

Doporučený čas na zpracování vzorku 1-2 hodiny při uchování krve v pokojové teplotě, nebo okamžité oddělení séra a hluboké zamražení před vlastním zpracováním. Vyšetřovací metoda: vysokoafinitní FEIA (CAP systém), chemiluminiscenční analýza (IMMULITE)

Referenční hodnoty: < 20 ug/l



Test aktivace bazofilů (BAT)

Test aktivace bazofilů s využitím flowcytometru vyvinut jako alternativní metoda pro *in vitro* diagnostiku IgE zprostředkované alergické reakce pro různé alergeny.

Po expozici alergenu dochází k aktivaci bazofilů s navázanými molekulami alergen-specifického IgE na povrchu buňky.

Dochází ke změně exprese některých povrchových struktur těchto buněk. Využito sledování změny exprese antigenu CD63 na buňkách nesoucích IgE (bazofilech) pomocí flowcytometru. **Bylo prokázáno, že lidské bazofily aktivované in vitro (alergenem nebo anti-IgE protilátkami) prostřednictvím jejich vysokoafinitního receptoru pro IgE nově exprimují CD63 také na své membráně.** Exprese CD63 na povrchu bazofilů tak velmi dobře koreluje s jejich degranulací.

Plná krev (event. suspenze leukocytů) inkubována s alergenem.

Současně inkubace tzv. negativní kontroly (místo alergenu přidán ředící roztok) a pozitivní kontroly (látka způsobující aktivaci co největšího počtu bazofilů - anti-IgE protilátka nebo N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin tzv. FMLP).

Po inkubaci smíchání s protilátkou označující bazofily (anti-IgE nebo anti-CD203) a protilátkou vázající se na aktivované bazofily (anti-CD63).

Poté provedena lýza erytrocytů.

Měření pomocí flowcytometru.

Bazofily tzv. gatovány na základě bočního rozptylu (side scatter) a specifického značení bazofilů (SS/anti-IgE nebo SS/CD203c).

Na takto vybraných bazofilech je měřena exprese aktivačního znaku CD63. Výsledkem procento aktivovaných bazofilů tj. anti-IgE+/CD63+ nebo CD203c+/CD63+ v závislosti na typu použitých protilátek.

Odkazy na stránky se seznamy alergologických vyšetření na některých pracovištích

http://www.fnusa.cz/files/kliniky/ukia/UKIA_matody_0911.pdf

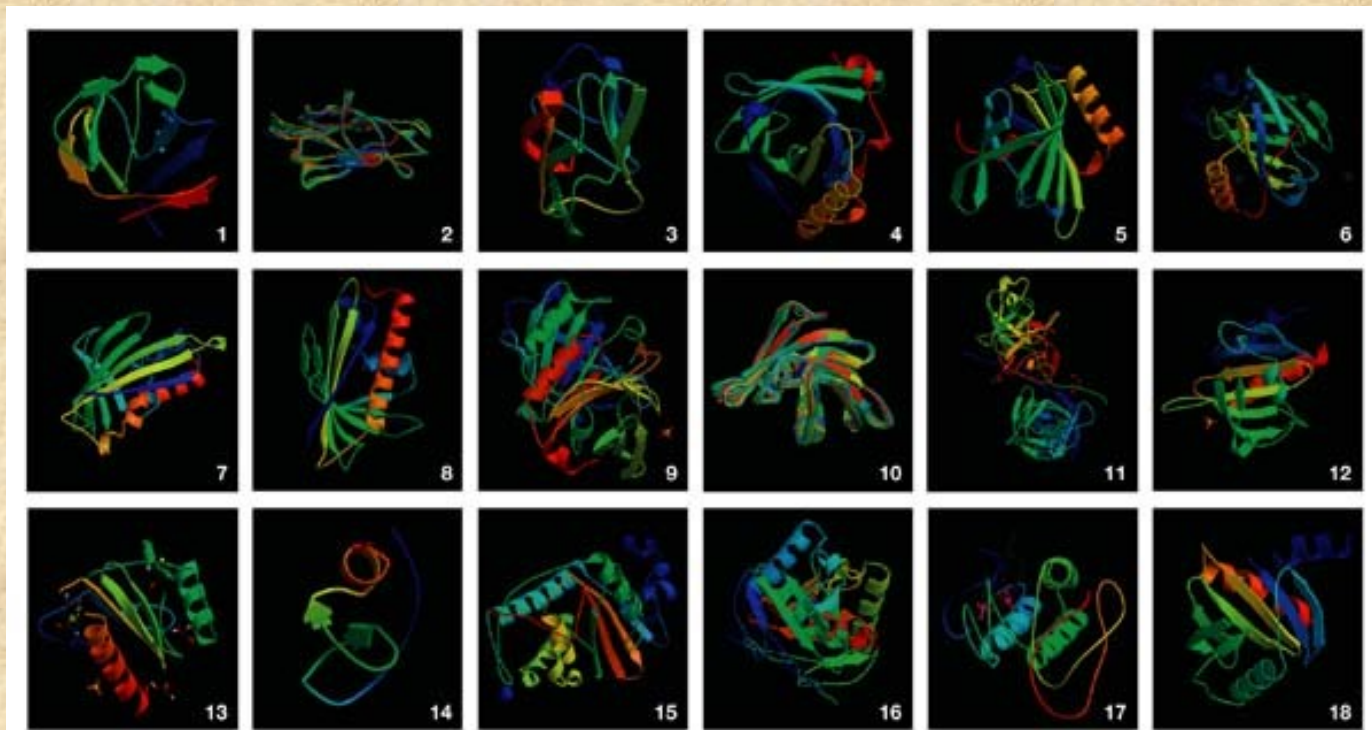
http://www.ifcor.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=67&Itemid=5&limitstart=5

<http://www.interimun.cz/prehled-vysetreni-23-alergologie-%28specificke-ige-aj.%29.htm>

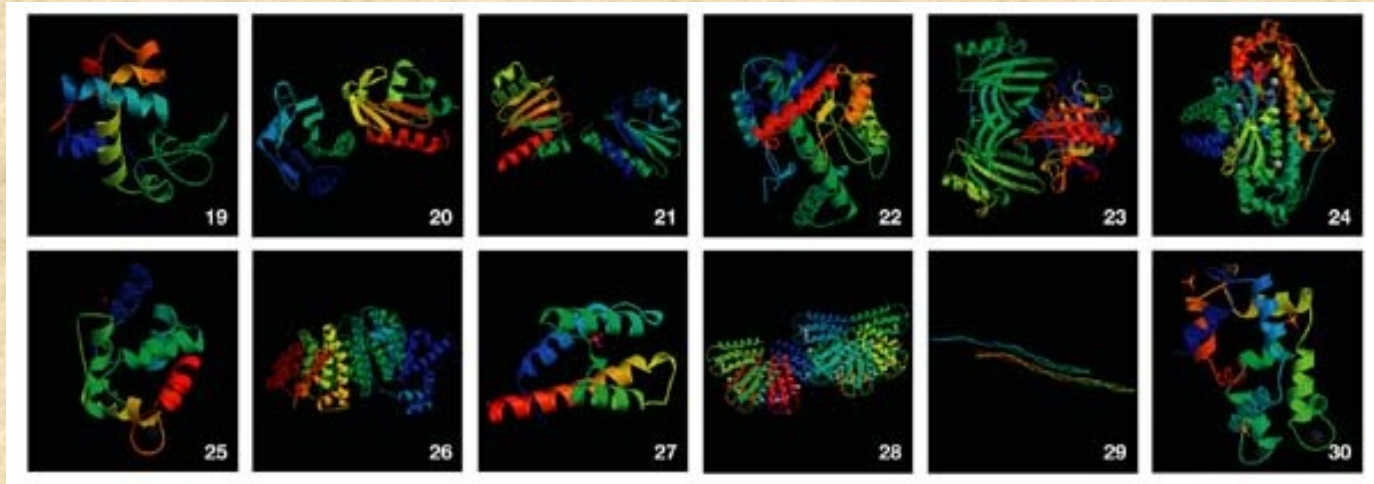
<http://www.interimun.cz/prehled-vysetreni-32-alergologie-%28test-aktivace-bazofilu%29.htm>

<http://www.imalab.cz/clanek/266-test-aktivace-bazofilu.aspx>

http://www.ftn.cz/fileadmin/ftn/Kliniky/Imunologie/Dokumenty/2012_Imuno_zadani_a_2_web.pdf



Structures of known allergens. All structures are available in the Protein Data Bank and the code for each is given. (1) **Timothy grass pollen allergen Phl p 2** (crystal, 1.9 Å resolution, 1WHO). (2) **Mite allergen Der p 2** (NMR structure, 1A9V). (3) **Mite allergen Der f 2** (NMR structure, 1AHK). (4) **Bovine lipocalin dander allergen Bos d 2** (crystal, 1.8 Å resolution, 1BJ7). (5) **Horse allergen Equ c 1** (crystal, 2.3 Å resolution, 1EW3). (6) **Mouse urinary protein Mus m 1** (crystal, 2.4 Å resolution, 1MUP). (7) **Protein L1pr10.1A from yellow lupine** (crystal, 1.95 Å resolution, 1ICX). (8) **Birch pollen allergen Bet v 1** (crystal, 2.0 Å resolution 1BV1). (9) **Bovine lactoglobulin** (crystal, 1.8 Å resolution, 1BEB). (10) **Cherry allergen Pru av 1** (NMR structure, 1E09). (11) **Timothy grass pollen allergen Phl p 1** (crystal, 2.9 Å resolution, 1N10). (12) **Human profilin** (crystal, 2.0 Å resolution, 1FIL). (13) ***Arabidopsis thaliana* profilin** (crystal, 1.6 Å resolution, 3NUL). (14) **Ragweed pollen allergen Amb T 5** (NMR structure, 1BBG). (15) **Wasp venom allergen 5** (crystal, 1.9 Å resolution, 1QNX). (16) **Hevea latex allergen Hev b 8** (crystal, 3.1 Å resolution, 1G5U). (17) **Bee venom phospholipase A2** (crystal, 2.0 Å resolution, 1POC). (18) **Birch pollen profilin** (crystal, 2.4 Å resolution 1CQA).



(19) Hen egg-white lysozyme (crystal, 1.8 Å resolution, 1BWH). **(20) *Acanthamoeba castellanii* profilin** (crystal, 2.3 Å resolution, 1F2K). **(21) Yeast profilin** (crystal, 2.3 Å resolution, 1YPR). **(22) Bee venom hyaluronidase** (crystal, 1.6 Å resolution, 1FCQ). **(23) Rat urinary protein and its complex with a Hyaline Droplet Inducer** (crystal, 2.9 Å resolution, 2A2G). **(24) *Aspergillus fumigatus* manganese superoxide dismutase** (crystal, 2.0 Å resolution, 1KKC). **(25) Carp parvalbumin** (crystal, 1.5 Å resolution, 4CPV). **(26) Human serum albumin** (crystal, 2.5 Å resolution, 1BJ5). **(27) Functional domain of timothy grass pollen allergen Phl p 5b** (crystal, 1.98 Å resolution 1L3P). **(28) Timothy grass pollen allergen Phl p 6** (crystal, 2.8 Å resolution, 1NLX). **(29) Tropomyosin** (crystal, 7.0 Å resolution, 1C1G). **(30) Timothy grass pollen allergen, Phl p 7** (crystal, 1.75 Å resolution, 1K9U). Figure kindly provided by R. Valenta.

http://www.nature.com/embor/journal/v5/n8/fig_tab/7400204_f1.html