

## 열처리에 따른 콩 단백질 Allergenicity 변화

손대열 · 이보련\* · 손동화\*\* · 이광신 · 안강모 · 남승연 · 이상일

성균관대학교 의과대학, 삼성서울병원 소아과학교실, \*중앙대학교 의과대학, \*\*한국식품개발연구원

### Allergenicity Change of Soybean Proteins by Thermal Treatment

Dae-Yeul Son, Bo-Ryun Lee\*, Dong-Wha Shon\*\*, Kwang-Shin Lee,  
Kang-Mo Ahn, Sung-Yeon Nam and Sang-Il Lee

Sungkyunkwan University School of Medicine, Department of Pediatrics Samsung Medical Center,

\*Jungang University School of Medicine, \*\*Korea Food Research Institute

#### Abstract

Soy bean is one of the most common food material to cause food hypersensitivity reactions in Korea. In this study we have investigated the effect of heating on antigenicity and allergenicity change of soybeans by using immunoblotting and ELISA methods with serum of soybean allergic patients and polyclonal antibody against soybean proteins. Soybean proteins were extracted by one-hour heating in boiling waterbath and separated by SDS-PAGE. After heat treatment, no significant changes of soy protein patterns were observed in SDS-PAGE analysis. Furthermore, the heat treatment had no effect on the results in immunoblotting with polyclonal antibody as well as in ELISA with soybean allergic patients' serum. With these results it may be concluded that allergenicity and antigenicity of soybeans do not reduce by thermal treatment.

Key words : food allergy, soybean, allergenicity

## 서 론

알레르기는 알레르기를 유발시키는 물질(allergen)과의 반복되는 접촉으로 발생하는 신체 과민반응(hypersensitivity)으로, 다음과 같은 세 단계를 거쳐 진행된다. 우선, allergen과의 처음 접촉에서 allergen을 인식하는 면역물질(antibody)이 체내에서 생성되고, 이 면역물질이 알레르기에 관여하는 세포에 부착되고, 이후 allergen과의 반복 접촉에서 면역물질과 allergen이 결합함으로써 알레르기 관여세포에서 화학매개체가 세포 밖으로 분비되어 조직에서 여러 가지 알레르기 증상을 일으킨다. 산업화에 따른 알레르기 발병 증가는 세계적인 추세로서, 알레르기 환자의 대다수가 식품에도 알레르기 반응을 일으키는 것으로 보고되어 지고 있다. 한 예로 심한 아토피성 피부염 환자의 60%가

음식물에 대한 과민반응을 갖는 것으로 보고 된 바 있다<sup>(1,2)</sup>. 식품에는 다양한 단백질이 함유되어 있으며 그 중 일부 단백질은 알레르기를 유발시키는 allergen으로 알려져 있다<sup>(3)</sup>. 나라마다 문화의 차이로 인해 섭취되는 식품의 종류 뿐만 아니라 섭취량에도 커다란 차이가 있으며, 따라서 알레르기를 주로 일으키는 식품 종류도 나라마다 큰 차이를 보이는데 예를 들어 노르웨이에서는 codfish가, 미국에서는 땅콩이, 일본이나 우리나라에서는 콩이나 메밀 등이 알레르기를 일으키는 주요 식품으로 손꼽을 수 있다<sup>(4)</sup>. 콩은 값싸고 질 좋은 단백질을 많이 함유하고 있기 때문에 예로부터 우리나라에서는 많은 음식에 여러 형태로 사용되고 있으며, 그로 인한 우리나라 국민들의 콩 단백질에 대한 감작 정도도 증가하고 있다<sup>(5)</sup>. 또한 현재 가열 처리에 따른 식품 알레르기성 변화에 대한 연구가 활발하게 진행되어지고 있는데 참치나 연어의 경우에는 가열처리 후에는 알레르기성을 상실하는 것으로 보고 되었고<sup>(6)</sup>, 계란의 경우에는 열처리 후에도 알레르기성이 계속 존재하는 것으로 알려져 있다<sup>(7)</sup>.

이에 본 연구에서는 콩을 가열 처리한 후 콩 단백질을 분리하여 콩에 대해 알레르기 반응을 일으키는

Corresponding author : Dae-Yeul Son, 50 Ilwon-Dong, Kangnam-Gu, Samsung Biomedical Institute, Clinical Research Center B233 Sungkyunkwan University School of Medicine Seoul 135-230, Korea  
Tel : 82-2-3410-3655  
Fax : 82-2-3410-3757  
E-mail : soncha@lycos.co.kr

환자들의 혈청과 콩 단백질을 토끼에 면역시켜 얻은 다클론항체(polyclonal antibody)를 이용하여 immunoblotting과 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)의 방법을 통해 가열 처리에 따른 콩의 알레르기성 변화를 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 다클론항체

대두 단백질에 대한 특이항체의 생산을 위해 분리 정제된 콩 단백질을 PBS(0.25 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.25 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.75 M NaCl, pH 7.2)에 용해하여 2마리의 토끼(New Zealand White)에 면역하였다. 이때 콩 단백질의 일회 면역원량은 500  $\mu\text{g}$ 이었으며 PBS에 용해시켜 Freund's complete adjuvant와 혼합하여 피하 주사하였다. 추가면역은 2-3주 간격으로 같은 방법으로 실시하였으며 추가면역 때에는 incomplete adjuvant를 사용하였다. 면역 후 채혈하여 분리된 항혈청은 4°C에 보관하였다.

### 환자 혈청

환자 혈청은 알레르기 증상으로 병원에 내원한 환자중에서 콩에 대한 CAP 검사에서 2+ 이상의 반응을 나타낸 알레르기 환자들의 혈액에서 분리되었으며, 얻어진 혈청은 -20°C에 보관하였다.

### 가열 처리

Hexane 처리하여 얻어진 탈지 대두분말 0.5 g씩을 증류수로 20배(w/w) 희석하고 100°C 끓는 물에서 각각 0분, 2분, 5분, 10분, 30분, 60분 중탕 가열 처리하였다. 또한 본 시료 중 일부는 전자레인지에서 2분간 가열 처리하였다.

### 콩 단백질 분리

가열 처리된 콩가루 용액은 NaOH로 pH를 8.0으로 맞춘 뒤 60분간 진탕하여 용해하고 6000 rpm으로 60분간 원심분리하였으며 상등액 중 0.5 ml를 다른 시험관에 옮긴 후, 이를 Soy total로 표기하였다. 나머지 상등액은 타 시험관에 옮긴 후, HCl을 첨가하여 pH를 4.0로 조정하였으며 6000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻어진 상등액은 whey fraction으로 표시하였다. 원심분리된 침전물은 증류수에 현탁하여 NaOH를 이용하여 pH를 7.5로 조정하였으며 침전물의 용해 후 6000 rpm으로 8분간 원심 분리하여 얻어진 상등액은 globulin으로 표기하였다.

### 단백질 농도 측정

분리된 단백질 농도는 Bio-Rad에서 제공된 Protein Assay Kit(Cat. No. 500-001)를 이용하여 측정하였고 이때 bovine serum albumin(BSA)를 표준물질로 사용하였다.

### SDS-PAGE/Westernblot

SDS-PAGE는 13% separating gel과 5% stacking gel을 이용하였다<sup>(8)</sup>. 시료는 2배 농도의 sample buffer (1 M Tris-HCl: pH 6.8, 50% glycerol, 10% SDS, 2-mercaptoethanol, 1% bromphenol blue)와 1:1(w/w)로 섞은 후 끓는 물에서 5분간 중탕 가열한 뒤 lane 당 30  $\mu\text{g}$ 의 농도로 분리하였다. 전기 영동은 100 volt에서 5분, 200 volt에서 35분 시행하였으며 전기영동 후, gel은 Coomassie staining solution(1.0 g Coomassie Blue R-250, 450 ml methanol, 450 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , 100 ml glacial acetic acid)로 5분간 염색하고 Coomassie destaining solution(100 ml methanol, 100 ml glacial acetic acid, 800 ml  $\text{H}_2\text{O}$ )로 적절히 탈색 후 건조 보관하였다.

SDS-PAGE sample buffer와 혼합한 시료는 10  $\mu\text{g}/\text{cm}$ 의 농도로 전기영동 후, nitrocellulose membrane(NC)에 transfer buffer(Tris base 11.5 g, Glycine 58 g, 10% SDS 20 ml, Methanol 400 ml, 1500 ml  $\text{H}_2\text{O}$ )를 사용하여 100 volt에서 1시간 electrotransfer 하고 0.3%의 Tween20이 포함된 PBS로 1시간 실온에서 blocking하였다. Immunoblotting은 손, Scheurer등의 방법에 따라 실행되었다<sup>(9,10)</sup>. Polyclonal antibody는 1:2000으로 희석하여 16시간 반응시키고 0.03% Tween20이 포함된 PBS 용액으로 3회 세척 후 1:6000으로 희석시킨 anti-rabbit IgG-biotin과 실온에서 1시간 반응시켰다. 0.03% Tween20이 포함된 PBS 용액으로 3회 세척 후 1:3000으로 희석한 streptavidine alkaline phosphatase와 30분간 반응시켰으며 3회 세척하였다. 이후 alkaline phosphatase conjugate substrate를 반응시켜 발색 반응을 관찰하였다.

### Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

96-well plate의 well에 최종 농도가 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 되도록 coating buffer(0.1 mol/L sodium carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.5)로 희석한 시료를 각 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 4°C에 16시간 반응시킨 후 ELISA washign buffer(42.7 g NaCl, 5 ml Tween20 in 500 ml  $\text{H}_2\text{O}$ )로 3회 세척하였으며 blocking buffer(TBS+0.1% Tween20)를 이용, 1시간 blocking 한 후, 다시 ELISA washing buffer로 3회 세척하였다. 여기에 blocking

buffer을 이용해 1:50으로 희석한 혈청이나 1:2000으로 희석한 polyclonal antibody를 100 μl씩 가하고 4°C에서 16시간 반응시켰다. 4000배로 희석시킨 anti-human IgE, 6000배로 희석시킨 anti-rabbit IgG-Biotin conjugate는 각각 실온에서 1시간, 3000배로 희석시킨 streptavidine-alkaline phosphatase는 실온에서 30분간 반응시켰다. 이후 alkaline phosphatase substrate를 가하여 37°C에서 1시간 반응시킨후 1 N의 NaOH를 가하고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**결 과**

**SDS-PAGE**

열처리 후 추출한 콩 단백질을 13%의 SDS-PAGE로 단백질의 크기에 따라 분리한 결과 globulin fraction에서는 열처리에 따른 단백질 변화는 거의 관찰되지 않았다. 단 열처리에 따라 각 단백질의 미세한 농도 차이를 확인할 수 있었다(Fig. 1). 5분 이상 가열 처리된 대두 단백질에서는 대략 15 kDa 크기의 단백질 밴드가 희미해지는 것이 관찰되었으나 열처리 되지 않은 대두와 2분 가열 처리한 대두 단백질과의 차이는 미약하였다. 또한 열처리 하지 않은 soy total과 5분간 열을 가한 whey fraction, globulin fraction 단백질을 비교한 결과 뚜렷한 차이는 보이지 않았으며, soy total과 whey fraction, globulin fraction에서 약간씩 다른 단백질 band를 관찰할 수 있었다. 그리고 whey fraction과 globulin fraction에서는 강하게 염색된 단백질 band가 서로 다른 위치에 있음을 확인할 수 있었다. Whey fraction에서는 대략 40 kDa 크기의 단백질이, globulin fraction에서는 40 kDa 크기 단백질 외에 80-85 kDa 사

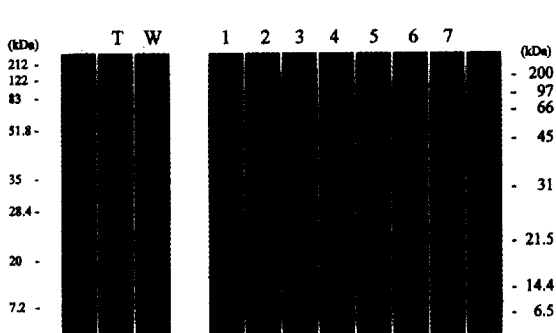
이의 두 단백질 밴드가 뚜렷하게 관찰되었으며 그 밖에 50, 45, 22 kDa 크기의 단백질 band를 비교적 뚜렷하게 확인할 수 있었다.

**Immunoblotting**

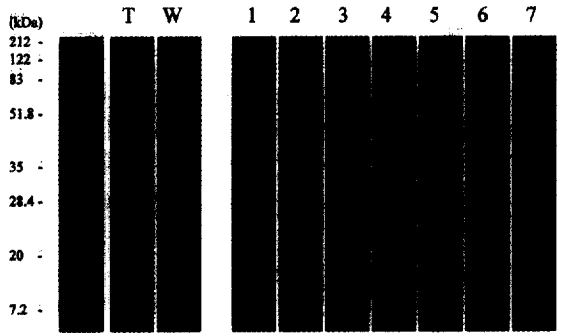
Soy total과 whey fraction의 단백질을 토끼에서 얻어진 다클론 항체와의 반응을 immunoblotting한 결과 서로 비슷한 위치에서 band가 관찰됨을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). SDS-PAGE 분리 후 Coomassie로 염색한 gel에서 진하게 나타났던 대략 40 kDa 크기의 대두 단백질은 다클론 항체에 의해 인식되지 않았으며 Globulin의 경우에서도 열처리에 관계없이 비슷한 band 모양이 확인되었다. 다클론 항체에 의해 강하게 인식된 대두 단백질은 크기가 대략 26 kDa정도의 단백질이었으며, 48 kDa 정도의 단백질도 뚜렷하게 확인되었다. Coomassie로 염색한 gel상에서는 5분 이상의 열처리된 대두 단백질에서 18 kDa 크기의 단백질 밴드가 다소 감소되는 경향을 보인 반면 immunoblotting 검사에서는 오히려 5분 이상의 열처리된 대두 단백질에서 18 kDa 크기의 단백질 밴드가 다클론 항체에 의해 약하게 인식되었다.

**ELISA**

대두에 대해 알레르기 반응을 일으키는 9명의 대두 알레르기 환자 혈청을 1명의 정상인의 혈청과 함께 ELISA법을 이용하여 각기 다른 시간 열처리 하고 분리한 콩의 globulin 단백질과의 반응 정도를 조사한 결과 대부분의 환자 혈청에서는 immunoblotting에서의 결과와 같이 열처리한 시간에 관계없이 환자의 특이 항체 IgE는 콩 알레르겐과 대등한 반응성을 나타냈다



**Fig. 1. SDS-PAGE analysis of heat treated soy proteins.** The gel was stained by Coomassie blue. T: Soy total fraction, W: Whey fraction Soy globulin fraction were heated in boiling waterbath for 1: 0 min, 2: 2 min, 3: 5 min, 4: 10 min, 5: 30 min, 6: 1 hour 7: Soy globulin fraction were heated by microwave for 2 min



**Fig. 2. Immunoblotting analysis of heat treated soy proteins with polyclonal antibody against soybean.** T: Soy total fraction, W: Whey fraction Soy globulin fraction were heated in boiling waterbath for 1: 0 min, 2: 2 min, 3: 5 min, 4: 10 min, 5: 30 min, 6: 1 hour 7: Soy globulin fraction were heated by microwave for 2 min

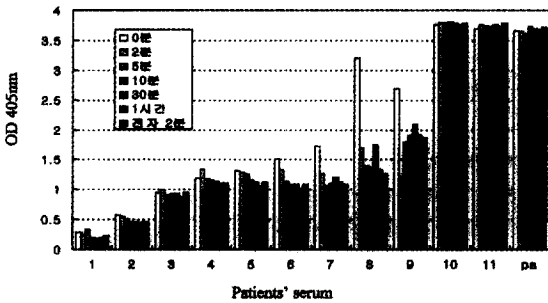


Fig. 3. ELISA analysis of heat treated soy proteins with soy allergic patients' serum and polyclonal antibody against soybean.

1: control buffer, 2: non-allergic patient's serum, 3-11: soy allergic patients' sera, pa: polyclonal antibody. Patients' serum or polyclonal antibody were diluted by 1:50 or 1:2000 respectively.

(Fig. 3). 그러나 ELISA법에 의해 조사된 총 9명의 대두 알레르기 환자 혈청 중에서 두 명의 혈청(환자 8와 9)은 immunoblotting에서는 구별되지 않았던 반응성의 차이를 확인할 수 있었는데 이들 두 환자의 혈청은 가열하지 않은 대두 단백질에 대해 가열 처리한 것보다 대략 1.5-2배 더 강력한 반응을 나타냈다. 또한 대부분의 환자 특이 항체는 다클론 항체보다 약하게 대두 단백질과 반응한 반면, 두 환자(혈청 10과 11)의 혈청에서는 다클론 항체와 대등한 강력한 반응을 나타냈다. ELISA법을 이용한 다클론항체의 가열 처리한 대두 단백질에 대한 반응성은 immunoblotting에서의 결과와 마찬가지로 가열처리의 시간과는 무관하게 일정하고 높은 반응성을 유지하였다.

## 고 찰

음식물은 많은 단백질을 포함하고 있으며 어떤 단백질이 allergen으로 작용하는지는 정확히 밝혀져 있지 않다<sup>(11)</sup>. 그러나 각 개인의 유전적인 요인이 작용하여 allergy 질환이 일어나는 것은 확실한 것처럼 보인다<sup>(12)</sup>. 또한 개인에 따라 알레르기 반응 정도와 특이 항체가 알레르겐을 인식하는 부위(epitope)가 다를 수 있다. 본 실험 결과를 통해 확인할 수 있었다. 콩 단백질은 이미 사람과 동물에서 allergy 반응을 일으킨다고 보고되었다<sup>(13,14)</sup>. Bock등<sup>(15)</sup>은 콩에 알레르기를 가진 사람에게서 대두 추출물에 대한 IgE와 IgG의 level이 증가함을 확인하였다. 콩의 어떤 fraction이 더 항체를 많이 생산하는지는 아직 밝혀진 바가 없는데 Burks등은 콩에 대해 아토피성 피부염과 DBPCFC(double-blind, placebo-controlled food challenge)에 양성인 아이들을 대상으로

연구한 결과 어느 특정한 fraction이 주요 allergen이라고 결론 내릴 수 없었으며 콩 단백질의 많은 fraction에 대해 IgE와 IgG가 반응하는 것 같다고 발표한 바 있다<sup>(16)</sup>. 한편 Shibasaki<sup>(17)</sup>는 콩의 globulin 단백질의 2S, 7S, 11S fraction 사이에 cross-reactivity가 있으며, 특히 2S component가 세 fraction 중에서 가장 높은 allergenicity를 가진다고 결론 내리기도 하였다. 주요한 식품 allergen은 대부분 분자량이 10,000에서 60,000 dalton의 범위에 있는 수용성 glycoprotein이며 알레르기를 나타내기 위해서는 면역학적으로 활성화된 형태로 위장관에 도달하여야 한다<sup>(18)</sup>. 그래서 이러한 단백질들은 비교적 열처리나 산처리, proteolysis에 저항력을 갖고 있다<sup>(3)</sup>. 땅콩, 새우, 우유, 어류와 같은 많은 알레르기를 일으키는 음식은 열에 저항력을 갖고 있는 것으로 보고되고 있는데 Virture와 Wittig는 달걀 흰자의 가장 강력한 allergen인 ovomucoid를 75-100°C로 열처리 한 경우에도 allergenicity에 변화가 없음을 확인한 바도 있다<sup>(7)</sup>.

이와는 대조적으로 과일과 많은 야채에 존재하는 allergen은 열에 비교적 약한 것으로 알려져 있다<sup>(19)</sup>. 신선한 사과에서 뽑은 추출물로 skin-prick test를 시행한 결과 양성 반응을 나타냈으나 30분간 열처리를 한 사과에서의 추출물을 이용한 검사에서는 음성반응을 나타냈다<sup>(20)</sup>. 또한 Bernhisel-Brodent등은 어류에 과민반응을 가진 소아 환자를 대상으로 참치와 연어의 allergen을 연구한 결과, 통조림에 든 참치와 같이 열과 압력으로 처리한 식품의 경우, 날것 보다 allergenic property가 감소함을 확인 하였다<sup>(6)</sup>.

본 연구에서 조사된 콩 단백질의 전기영동 분리 결과를 보면 콩 단백질은 열처리에 따른 단백질 분해 정도가 크지 않았으며, immunoblotting과 ELISA의 결과 자료를 분석해 볼 때 그 항원성의 변화에도 큰 영향이 없음을 확인되었다. 이는 이미 연구된 땅콩, 새우, 우유 및 어류에서의 연구 결과<sup>(7)</sup>와 잘 일치하였다. 본 실험의 immunoblotting과 ELISA 결과를 종합해 볼 때 콩에 존재하는 알레르겐 단백질은 열처리를 통해서도 대부분의 환자에 있어서 환자 혈청내의 IgE가 인식하는 부위(epitope)가 보존되었으며 대두 알레르겐은 사과의 주요 알레르겐인 Mal d 1<sup>(9)</sup>의 경우와는 달리 단백질의 공간적 3차원 구조와는 무관한 sequential epitope를 갖고 있다고 추측된다. 그러나 ELISA의 결과에서 나타났듯이 환자마다 알레르겐과의 반응 정도의 차이와 일부 소수의 환자는 열처리에 따른 대두 단백질과의 반응성이 약화되는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 알레르기 연구에 있어서 모든 환자들이 알레

르겐에 동일하게 반응을 일으키지 않는다는 점을 항상 고려해야 한다는 중요한 자료를 제시하는 결과이다.

본 연구는 앞으로의 콩 알레르겐 epitope 연구의 방향을 제시한 중요한 결과로써, 앞으로 합성 펩타이드와 protease를 이용해 생성된 콩 알레르겐 단백질의 단편 조각들의 환자 혈청과의 반응성 검사로서 대다수의 환자들에게서 확인된 대두 단백질의 sequential epitope의 연구가 계속 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

콩은 우유, 계란과 더불어 우리나라에서 과민성 알레르기를 일으키는 대표적인 식품중의 하나로 손꼽힌다. 이에 본 연구에서는 콩에 알레르기 반응을 일으키는 환자의 혈청과 콩 단백질을 토기에 면역하여 얻은 다클론 항체를 이용하여 immunoblotting 및 ELISA 방법을 통하여 가열 처리한 콩과의 반응성을 조사 함으로서 가열처리가 콩의 항원성 내지는 알레르기성에 미치는 영향을 조사하였다. 물중탕으로 1 시간까지 가열 처리 후 SDS-PAGE에 의해 분리된 콩 단백질은 열처리에 따른 콩 단백질 band의 변화를 관찰할 수 없었다. 또한 다클론 항체와의 반응성 확인을 위한 immunoblot 방법에서도 열처리에 따른 반응성의 차이는 나타나지 않았으며 콩 알레르기 환자의 혈청 역시 가열 처리에 따른 콩과의 반응성의 차이가 ELISA법을 이용한 측정에서 관찰되지 않았다.

이상의 결과로부터 콩 알레르겐의 항원성 및 알레르기성은 가열처리에 의해 변화되지 않음을 확인할 수 있었다.

## 문 헌

1. Samson, H.A. and McCaskill, C.C. Food hypersensitivity in atopic dermatitis: evaluation of 113 patients. *J. Pediatr.* 107: 669-675 (1985)
2. Burks, A.W., Mallory, S.B., Williams L.W. and Shirrell M.A. Atopic dermatitis: clinical relevance of food hypersensitivity reactions. *J. Pediatr.* 113: 447-451 (1988)
3. Kay, A.B. and Coombs, R.R.A. *Allergy and Allergy Disease*. Vol. 2, pp. 963-968, Blackwell Science (1985)
4. O'Neil, L.E. and Lehrer, S.B. Occupational reactions to food allergens, pp. 207-235. In: *Food allergy :adverse reactions to food and Additives*. Metcalfe, S. and Simon (eds.). Blackwell Scientific Publication, Boston, MA (1991)
5. Anderson, J.A. and Sogn, D.D. Adverse reaction to foods. Hyattsville, Md: NIH Publication No. 2442 (1984)

6. Bernhisel-Broadbent, J., Scanolon, S., Strause, D. and Sampson, H.A. Clinical relevance of altered fish allergenicity secondary to various preparation methods. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90: 622-629 (1992)
7. Virture, C.M. and Wittig, H.J. Allergenicity of egg protein fractions as determined by histamine release from human lung tissue. *Fed. Proc.* 29: 576-582 (1970)
8. Bollag, D.M., Rozycki, M.D. and Edelstein, S.J. Protein methods, pp. 107-139, A John. Wiley & Sons, Inc., Publication (1996)
9. Son, D.Y., Scheurer, S., Hausteine, D. and Vieths, S. Pollen-related food allergy: cloning and immunological analysis of isoforms and mutants of Mal d 1, the major apple allergen, and Bet v 1, the major birch pollen allergen. *Eur. J. Nutr.* 38: 201-215 (1999)
10. Scheurer, S., Son, D.Y., Boehm, M., Karamloo, F., Franke, S., Hoffmann, A., Hausteine, D. and Vieths, S. Cross-reactivity and epitope analysis of Pru a 1, the major cherry allergen. *Mol. Immunol.* 36: 155-167 (1999)
11. Marsh, D.G. Allergens and the genetics of allergy. In: Sela M, ed. *The antigens*, Vol. 3, pp. 271-350, Academic Press, New York, USA (1982)
12. Burks, A.W., Williams, L.W., Thresher W., Connaughton C., Cockrell G. and Helm R.M. Allergenicity of peanut and soybean extracts altered by chemical or thermal denaturation in patient with atopic dermatitis and positive food challenges. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90: 889-897 (1992)
13. Hill, L.W. The production of nonetiological skin hypersensitivity to foods by natural means of atopic persons. *J. Allergy.* 13: 366-370 (1942)
14. Matthews, T.S. and Soothill, J.F. Complement activation after milk feeding in children with cow's milk allergy. *Lancet.* 2: 893-895 (1970)
15. Bock, S.A., Lee, Y., Remigo, L.K. and May, C.D. Studies of hypersensitivity reactions to foods in infants and children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 62: 327-332 (1978)
16. Burks, A.W., Brooks, J.R. and Sampson, H.A. Allergenicity of major component proteins of soybean determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoblotting in children with atopic dermatitis and positive soy challenges. *J. Allergy Clin. Immunol.* 81: 1135-1142 (1998)
17. Shibusaki, M., Suzuki, S., Tajima, S., Nemoto, H. and Kurome, T. Allergenicity of major component proteins of soybeans. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 61: 441-610 (1980)
18. Bierman, C.W., Pearlman, D.S., Shapiro, G.G. and Busse, W.W. *Allergy asthma and immunology from infancy to adulthood*, pp. 665-667, W.B. Saunders Company 3rd Edition (1985)
19. Hannuksela, M. and Lahti, A. Immediate reactions to fruits and vegetables. *Contact Dermat.* 3: 70-84 (1977)
20. Dreborg, S. and Foucard, T. Allergy to apples, carrot and potato in children with birch pollen allergy. *Allergy* 38: 167-172 (1983)

(2000년 4월 21일 접수)