

大豆主要过敏原及其脱敏方法的研究进展

杨 慧^{1,2}, 陈红兵^{1,2,*}, 程 伟^{1,2}, 高金燕³, 李 欣^{1,3}

(1.南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047; 2.南昌大学中德联合研究院, 江西 南昌 330047;

3.南昌大学生命科学与食品工程学院食品系, 江西 南昌 330047)

摘 要:大豆是引起食物过敏最常见的过敏原食物之一, 如何降低大豆的致敏性, 保证大豆食品的安全, 已成为食品安全领域的一项重要课题。大豆中的过敏原蛋白很多, 大致可分为种子储藏蛋白、结构蛋白和防御相关蛋白。其中7S球蛋白组分中的Gly m Bd 30 K和Gly m Bd 28 K, β -伴大豆球蛋白中的Gly m Bd 60K是3种主要的过敏原。近几年来, 以热加工法、酶处理法、超高压法和基因工程法为代表的大豆脱敏技术研究取得了很多新进展。其中, 热加工法与酶处理法已经在食品工业中广泛应用。超高压法作为一种新的大豆脱敏技术, 由于它对大豆的营养价值和风味影响较小, 越来越受到食品工业的关注, 具有潜在的应用前景。基因工程法则是食品脱敏的新技术, 它可以消除食物原料过敏原性, 但基因食品的安全性仍饱受争议, 能否实际应用于脱敏仍待进一步研究。

关键词:大豆过敏; 脱敏; 7S 球蛋白

Research Progress of Soybean Allergens and Its Desensitization Methods

YANG Hui^{1,2}, CHEN Hong-bing^{1,2,*}, CHENG Wei^{1,2}, GAO Jin-yan³, LI Xin^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

2. Sino-German Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China;

3. Department of Food Science, School of Life Sciences and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Soybean is one of the common allergic foods and its consumption is still increasing. How to reduce the allergenicity and ensure consumption safety has become an important issue in the field of food safety. There are many soybean protein allergens including storage proteins, structure proteins and disease-related proteins. Among them, Gly m Bd 30K, Gly m Bd 28K located in 7S conglycinin fragments and Gly m Bd 60K located in β -conglycinin protein are recognized as the major allergens. Currently, many methods including heating treatment, enzymatic treatment, high-pressure treatment and genetic engineering have been developed to desensitize their allergenicity. Heating or enzymatic treatment has been successfully applied in the food industry. Since high-pressure technology does not affect the nutritional value and flavor of the food, it is a promising method for allergy desensitization. Although genetic engineering can eliminate allergenicity of food materials, its practical application in desensitization is still ongoing due to its safety.

Key words: soybean allergy; desensitization; 7S globulin

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)21-0273-05

大豆是一种十分重要的植物蛋白资源, 在食品工业中被广泛使用, 但同时大豆也是8类主要致敏食物之一^[1]。因此, 大豆蛋白给大豆过敏人群带来了不可避免的食品安全问题^[2]。大豆过敏大多表现为过敏性皮炎, 如荨麻疹等; 也可引起胃肠道紊乱, 如大豆蛋白刺激的结肠

炎, 一些患者可能严重失水导致休克和死亡^[3]。据调查发现, 约0.3%~0.4%的婴幼儿患有大豆过敏症, 此外随着大豆制品越来越多, 成年人大豆过敏的发病率也在不断上升^[4]。

迄今为止, 大豆过敏尚无特效疗法, 严格避免食

收稿日期: 2011-06-28

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-08-0704); 国家自然科学基金项目(30860220);

南昌大学食品科学与技术国家重点实验室目标导向项目(SKLF-MB-201002)

作者简介: 杨慧(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: 969482680@qq.com

* 通信作者: 陈红兵(1967—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: chbgjy@hotmail.com

用含大豆的食物是大豆过敏患者的最佳选择。然而大豆营养丰富,若从大豆过敏患者的膳食中去除大豆成分,势必会造成营养的不均衡。而且,现在食物配料多样化,食物的组成变得十分复杂,很难避免不食用大豆成分。显而易见,大豆过敏已经严重影响了部分人群的生活质量,甚至危及生命。因此,开发低致敏性大豆制品,保护大豆过敏患者的消费安全,具有重要的现实意义。

1 大豆过敏原的分类

截止到2011年6月12日,致敏原数据库(<http://www.allergenonline.org>)收录了38种大豆过敏原。其中的36种来自栽培大豆品种,2种来自野生型大豆品种。表1列出了一些大豆的主要过敏原蛋白,包括16种IgE介导的过敏原^[5]。

表1 大豆过敏原一览表
Table 1 Allergens in soybean

蛋白质或其片段的名称	IgE 结合的大豆蛋白 的分子质量/kD
Gly m 1a	7
Gly m 1b	7.5
Gly m 2	8
Gly m 3	12~15
2S 球蛋白片段	17
孔尼兹大豆胰蛋白酶抑制剂; 2S 球蛋白	20
大豆乳清蛋白片段	18~21
大豆球蛋白 G2; 7S 球蛋白	22
Gly m Bd 28K; 7S 球蛋白	28
Gly m Bd 30K, P34; 免疫显性过敏原	30~34
大豆乳清蛋白片段	29~31
大豆植物凝集素; 大豆凝集素	32
7S 球蛋白	33~35
7S 球蛋白	35~38
大豆球蛋白 G1; 大豆球蛋白酸性链; 11S 球蛋白	35~40
7S 球蛋白	40~41
β -伴大豆球蛋白的 β -亚单位	42
7S 球蛋白	47~50
7S 球蛋白	52~55
β -伴大豆球蛋白的 α -亚单位; Gly m Bd 60k	63~67
β -伴大豆球蛋白的 α' -亚单位	71

根据沉降系数的不同,大豆蛋白在进行密度梯度离心时,可分离得到11S、7S、2S、15S共4个组分,分别称为11S球蛋白、7S球蛋白、2S球蛋白和15S球蛋白,前2种约占大豆种子总蛋白的70%^[6],且每一组分均是1种蛋白复合物。

根据植物性蛋白不同的生物功能,大豆蛋白过敏原可划分为3大类,分别称为种子储藏蛋白、结构蛋白和防御相关蛋白。其中,大豆种子储藏蛋白包括大豆球

蛋白(11S球蛋白)、 β -伴大豆球蛋白(7S球蛋白)以及7S球蛋白组分中的两个低丰度蛋白Gly m Bd 30K和Gly m Bd 28K。结构蛋白则包括种子外壳蛋白、肌动蛋白抑制剂等。而防御相关蛋白包括病理相关蛋白、胰蛋白酶抑制剂、凝集素多肽片段等^[7]。

另外,根据蛋白与其生物活性相关的保守结构的特点,大豆种子中的过敏原蛋白又可以分为5大类:Gly m 5(β -伴大豆球蛋白)、Gly m Bd 30K、Gly m Bd 28K、Gly m 6(大豆球蛋白)和Gly m Ti(胰蛋白酶抑制剂)^[8]。

2 大豆中主要过敏原的类型及理化特性

虽然大豆中过敏原蛋白众多,但目前根据蛋白含量多少和致敏能力的大小,Gly m Bd 30K、Gly m Bd 28K和Gly m Bd 60K被认为是大豆中最主要的过敏原。

2.1 Gly m Bd 30K

Gly m Bd 30K是大豆7S组分中的一种低丰度蛋白,其含量低于大豆蛋白质总含量的1%^[9],由257个氨基酸残基组成,是一种单分子、不溶于水的糖蛋白。它通过二硫键与大豆中其他蛋白连接,并参与大豆球蛋白的折叠。

此外,Gly m Bd 30K又名P34,这是因为Gly m Bd 30K和P34的N端氨基酸序列和氨基酸组成是一致的。因此,两者被认为是可互换名称的同一种蛋白^[10]。

Ogawa等^[11]研究发现,Gly m Bd 30K能被65%大豆过敏患者的血清所识别,是大豆中致敏性最强的储藏蛋白。而Helm等^[12]用抗原表位法分析发现,成熟的Gly m Bd 30K蛋白至少有10个抗原表位,而且不同的IgE抗原表位针对不同过敏病人血清的结合能力有显著性的差异。但是Gagnon等^[13]通过2-D电泳和IgE Western blotting,认为大豆中致敏性最强的蛋白是11S球蛋白中的酸性多肽(A3多肽),而不是Gly m Bd 30K。

2.2 Gly m Bd 28K

Gly m Bd 28K是大豆7S组分中的另一种重要的过敏原,属于天冬酰胺糖蛋白,由220个氨基酸残基组成。在植物体内以寡聚体形式存在,纯化后单体的分子质量为26kD,等电点为6.1^[14]。它的含量低于Gly m Bd 30K蛋白,也是一种低丰度蛋白,属于Cupin蛋白家族。Cupin蛋白家族的很多成员都具有过敏原性,比如 β -伴大豆球蛋白、大豆球蛋白的G1和G2蛋白、胡桃中的Jug r 2和花生中的Ara h 1、Ara h 2^[15]。

Hiemori等^[16]研究证明,Gly m Bd 28K的糖基化位点是IgE抗体识别的重要表位,他发现去糖基化后的Gly m Bd 28K蛋白,与大豆过敏患者血清中IgE抗体特异性结合的活性就会丧失,以此推断N-连接聚糖部分就是大豆Gly m Bd 28K蛋白的IgE反应活性决定域;随后他们又发现大豆过敏患者血清中的IgE抗体识别位点位于

Gly m Bd 28K 蛋白肽骨架第 20 位的 N-连接聚糖。

Xing 等^[17]检测大豆过敏患者的血清发现, Gly m Bd 28K 与其 C-末端的 23kD 片段都具有免疫原性, 可以和特异性 IgE 抗体结合; 实验证明, Gly m Bd 28K 和 23kD 片段在体内会通过疏水作用相互结合在一起。此后, Hiemori 等^[18]研究发现 23kD 片段糖基化作用后可与大豆过敏患者血清中 IgE 抗体特异性结合。

2.3 Gly m Bd 60K

Gly m Bd 60K 是 β -伴大豆球蛋白的 α -亚基。 β -伴大豆球蛋白的分子质量为 180~210kD, 由 α (67kD)、 α' (71kD)及 β (50kD) 3 种亚基所组成^[19], 同 Gly m Bd 30K 和 Gly m Bd 28K 一样, Gly m Bd 60K 过敏原也是一种糖蛋白, 它是由多糖与蛋白质 N 端的天门冬氨酸结合而成的共轭型糖蛋白。

Ogawa 等^[20]研究则证明 α 亚基(Gly m Bd 60K)是 β -伴大豆球蛋白组分中的一个过敏原, 能被 25% 的大豆过敏患者的血清所识别。虽然 α 与 α' 亚基在基因结构上同源性高达 85%, 但识别 α 亚基的 IgE 并不识别 β -伴球蛋白中的另两个亚基 α' 和 β , 而且也没有免疫交叉反应; 他进一步指出大豆过敏患者 IgE 抗体识别的过敏原表位位于 β -伴大豆球蛋白 N 端的 232~383 残基处, 而且这段系列不含任何糖基化位点, 说明 α -亚基虽是一种糖蛋白, 但它的 IgE 过敏原表位与糖基化无关。随后 Krishnan 等^[21]研究发现 α 、 α' 和 β 3 种亚基均能与大豆过敏患者血清中 IgE 特异性结合, 即都能引起大豆过敏。

3 大豆脱敏方法

根据去除过敏原致敏性原理的不同, 大豆脱敏技术可以分为热加工处理、超高压法、酶处理法、化学法、育种法以及基因工程法等。

3.1 热加工处理

对于过敏原是蛋白质的食品, 热处理会破坏蛋白质的空间构象, 进而在一定程度上可降低食品的致敏性。Lakemond 等^[22]研究发现高温会引起大豆球蛋白空间构象及三维结构的变化, 即加热到一定程度可以降低其致敏性或去除致敏性。Koshiyama 等^[23]也发现, 加热使 11S 大豆球蛋白变性, 其四级结构会发生变化, 从而使大豆的致敏性降低。

尽管多数人认为热加工会破坏蛋白质的空间结构从而降低大豆的致敏性, 但 Davis 等^[24]却对此观点提出了质疑。他认为, 由热加工引起的 Maillard 反应的糖基化产物会变成新的抗原, 并产生新的过敏原表位。而 Friedman 等^[25]的研究也证实了这个观点, 他们的研究发现, 经过高压热处理后的 Gly m Bd 30K 蛋白, 与 IgE 的结合能力显著增强。此外, Bostel 等^[26]研究却发现,

热处理并不影响大豆球蛋白与 IgE 的结合能力。这一系列研究表明, 由于大豆过敏原的过敏原表位数量结构的复杂性, 仅凭热处理很难有效地降低大豆蛋白质的致敏性。

3.2 超高压法

超高压就是利用 100MPa 以上的压力, 在常温或较低温度下, 使食品中的酶、蛋白质和淀粉等生物大分子改变活性、变性或糊化, 同时杀灭细菌等微生物以达到灭菌的过程, 而食品的天然味道、风味和营养价值不受或很少受到影响, 并可能产生一些新的质构特点的一种加工方法^[27]。因此, 超高压处理技术可能为开发低过敏性大豆制品开辟一种新的方法。

Tang 等^[28]研究发现, 在大于或者等于 300MPa 高压的条件下, 大豆球蛋白解离为亚基, 而且这些亚基的构象也发生了改变, 还有含硫基团、疏水区域以及紫外吸收能力的氨基酸的数量大大增加了; 经 400MPa、10min 高压条件下处理, 大豆球蛋白完全变性; 经 500MPa、10min 条件下处理, 大豆球蛋白的二级结构 α -螺旋和 β -折叠被破坏并转变为无规卷曲。

Peñas 等^[29]则发现, 大豆中的 7S 球蛋白(β -伴大豆球蛋白)和 11S 球蛋白在 300MPa 和 400MPa 高压条件下, 两种蛋白质都变性失活。此后他又进一步研究并发现, 在 200MPa 和 300MPa 条件下, 大豆中的 Gly m 1 的致敏性也大幅度降低^[30]。

综上所述, 超高压处理能够改变大豆球蛋白的原有构象甚至将其完全变性, 大豆球蛋白构象的变化必然会对其过敏原性产生影响。因此, 超高压法作为一种新的大豆脱敏技术, 越来越受到食品工业的重视。

3.3 酶水解法

大豆中的过敏原绝大多数是蛋白质, 而酶解是一种常用的蛋白质改性方法。在蛋白酶的作用下, 可以通过改变过敏原表位原有的空间结构, 或者断裂一些化学键改变原有结构而降低其致敏性, 也可通过水解酰胺键产生小分子肽段来减弱或消除其致敏性。此外, 可产生具有调节免疫功能, 降血压等其他生理功能的活性肽。基于以上原因, 利用酶解改性降低大豆蛋白过敏原性也受到了广泛关注。

Tsumura 等^[31]发现一种 Proleather FG-F 的碱性蛋白酶, 当水解度达到 25% 时, 能有效水解 Gly m Bd 30K 致敏蛋白, 而且此时 7S 球蛋白 α 亚基和 Gly m Bd 28K 的电泳条带消失, 可知此条带已经被水解, 说明大豆的过敏原性已降低。此外, Lee 等^[32]用胃蛋白酶和糜蛋白酶对大豆 11S 球蛋白进行水解, 结果显示 11S 的酶解片段的致敏性降低甚至消失。而后 Cabanillas 等^[33]进一步用酶联免疫吸附实验法对大豆水解产物进行检查, 结果表明大豆水解产物的免疫原性远远低于其底物蛋白。

酶解大豆配制婴幼儿乳,是牛乳过敏婴儿的良好替代品。然而,据研究表明8%~14%的牛奶过敏的婴儿仍然对大豆酶解配方乳过敏^[34]。事实上,水解调制婴儿乳中存在少量的天然大豆蛋白,这些残存的蛋白质或蛋白质片段有可能会引起过敏反应,甚至激发速发型过敏反应^[35]。Ahn等^[36]开展了牛奶过敏儿童是否对大豆蛋白发生超敏反应的研究工作,发现224名牛乳过敏儿童中有18.3%大豆特异性IgE阳性患者。这说明,酶法水解加工大豆蛋白的安全性取决于水解程度和致敏片段是否存在^[37]。因此,酶法制备低致敏大豆乳的方法仍值得进一步研究与评估。

3.4 化学法

目前用于降低大豆蛋白致敏性的化学方法主要是利用大豆蛋白的糖基化作用。糖基化作用就是将碳水化合物以共价键的形式与蛋白质分子上的 α 或 β -氨基相连接而形成糖基化蛋白的化学反应。

van de Lagemaat等^[38]用竞争酶联免疫吸附实验法,检测了大豆分离蛋白被果糖和低聚果糖等糖基化前后过敏原活性的变化,发现糖基化后大豆分离蛋白的过敏原性降低了90%。此外,Shannon等^[39]也报道了用瓜尔豆胶制备的半乳甘露聚糖掩蔽Gly m Bd 30K抗体识别结构,从而成功地消除了Gly m Bd 30K的致敏作用。Usui等^[40]则研究发现壳聚糖比半乳甘露聚糖更能通过糖基化作用降低大豆蛋白的过敏原性。

但是,Ogawa等^[20]认为糖基化不是与IgE结合的必要条件。他们对水解后的 β -伴大豆球蛋白的肽段进行了Western blotting实验,发现与IgE结合的肽段并不是糖肽。而后,Calabozo等^[41]则采用斑点印迹检测法发现,IgE也可与脱糖基的肽段或蛋白反应。因此,无法确定糖链在致敏反应中的作用。在其他过敏原的研究中也有类似结果,如当检测花粉Pla 1的碳水化合物时,则发现部分患者血清中的IgE与脱糖基蛋白反应的强度降低了20%,但也有患者对此无反应。

可见,目前关于糖基化作用在大豆致敏反应方面有着不同的结论和观点。当然,这些差异一方面与确定过敏反应的诊断方法有关,另一方面与实验所采用的血清类型(动物或人)有关,而且食物过敏原间的交叉反应非常复杂。因此,对糖基及其结构在致敏反应中的作用仍需要进一步研究。

3.5 育种法

Takahashi等^[42]通过 γ 射线辐射,培育出了缺失 α 与 α' 亚基的大豆品种,通过两代检测,发现这种亚基缺失的性状能够稳定遗传。此后,中国科学院采用筛选育种的方法,筛选到了缺失Gly m Bd 28K和7S球蛋白 α -亚基的大豆新品种^[43]。美国科学家应用生物技术也培育出了缺失Gly m Bd 30K的低致敏性大豆品种,这种

大豆在发芽率、生长性、结果率、蛋白含量、含油率等方面均与普通大豆相同^[44]。另外,日本京都大学的研究人员采用自然杂交法和 γ 射线照射法,通过诱导植株突变和优选的方法同样培育出了低致敏性大豆品种,而且临床实验表明这种低致敏性大豆的味道没有变化,安全性等也没有问题^[45]。

3.6 基因工程法

运用基因工程的方法可以通过消除内源性基因,从而根除大豆过敏原的致敏性。Herman等^[9]应用遗传修饰法,成功地去除了大豆中的主要过敏原Gly m Bd 30K。然而,单纯地去除过敏原,可能会对大豆植株的生理特性以及大豆蛋白的加工性能产生一定的影响。比如,Gly m Bd 30K可能是与植物病理相关的蛋白,去除后是否会影响大豆植株的抗病性,还待进一步的验证;另外,通过基因工程法去除过敏原本身就具有争议性,它可能会带来新的潜在过敏原。如,巴西三角形胡桃中富含蛋氨酸的白蛋白被引入到大豆中,以弥补大豆中这种必需氨基酸的缺乏。然而,Nordlee等^[46]研究却发现,巴西三角形胡桃过敏患者的血清中特异性IgE可识别转基因大豆中的过敏原,这大大增加了转基因大豆的致敏性。因此,这种大豆产品没有商业化推广^[47]。另外,国内外对转基因大豆致敏性评价方法的研究仍在进行之中,尚没有统一可信的评价方法。

4 结 语

大豆过敏是全世界普遍关注的食品安全问题,虽然我国是世界上大豆品种资源最丰富的国家,但对大豆过敏原的研究却鲜见报道。近几年来,随着大豆过敏的严重性和发生频率不断上升,我们必须重视大豆中蛋白质的过敏问题。因此,深入开展大豆过敏原的理论研究有重大意义。

至于大豆及其制品的脱敏技术,热加工法与酶处理法已经在食品工业中广泛应用,它们可以有效地降低部分大豆蛋白质的致敏性,将一直成为工业化生产低致敏大豆制品的一种选择。化学法中关于糖基化作用在大豆致敏反应方面,目前有着不同的结论和观点。因此,这种方法仍具有争议性,值得进一步研究。育种法由于育种年限较长,研究成果较少,尚需进一步探索。超高压法作为一种新的大豆脱敏技术,不影响大豆的营养价值和风味,越来越受到食品工业的重视,具有潜在的应用前景。基因工程法则是近年来大豆食品脱敏技术的一个新的选择,它直接作用于过敏原的源头,通过消除内源基因彻底消除过敏原的致敏性。但基因食品的安全性却饱受争议,能否实际应用于脱敏仍待研究,将是未来食品脱敏技术关注的热点。

参考文献:

- [1] YOU Jinming, SUN Peng, Li Defa, et al. A novel method using immuno-affinity chromatography for isolating β -conglycinin from soybean proteins [J]. Food Chemistry, 2009, 117(2): 371-374.
- [2] FRANKE A A, HALM B M, ASHBURN L A. Isoflavones in children and adults consuming soy[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2008, 476(2): 161-170.
- [3] 方旭前, 朱友林, 邱丽娟. 大豆过敏原与低过敏原质创新[J]. 遗传, 2006, 28(8): 1043-1050.
- [4] SAVAGE J H, KAEDING A J, MATSUI E C, et al. The natural history of soy allergy[J]. Allergy Clin Immunol, 2010, 125(3): 683-686.
- [5] BALLMER-WEBER B K, VIETHS S. Soy allergy in perspective[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2008, 8(3): 270-275.
- [6] YAKLICH R W. β -Conglycinin and glycinin in high-protein soybean seeds[J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(2): 729-735.
- [7] HOFFMANN-SOMMERQRUBER K. Plant allergens and pathogenesis-related proteins. What do they have in common[J]. Intl Arch Allergy Immunol, 2000, 122(3): 155-166.
- [8] ROUQUIÉ D, CAPT A, EBY W H, et al. Investigation of endogenous soybean food allergens by using a 2-dimensional gel electrophoresis approach [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2010, 58(3): 47-53.
- [9] HERMAN E M, HELM R M, JUNG R, et al. Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean[J]. Plant Physiology, 2003, 132(1): 36-43.
- [10] XIANG P, BAIRD L M, JUNG R, et al. P39, a novel soybean protein allergen, belongs to a plant-specific protein family and is present in protein storage vacuoles[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(6): 2266-2272.
- [11] OGAWA T, BANDO N, TSUJI H, et al. Identification of the soybean allergenic protein, Gly m Bd 30 K, with the soybean seed 34-kDa oil-body-associated protein[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1993, 57(6): 1030-1033.
- [12] HELM R M, COCKRELL G, HERMAN E. Cellular and molecular characterization of a major soybean allergen[J]. Intl Arch Allergy Immunol, 1998, 117(1): 29-37.
- [13] GAGNON C, POYAS V, COBER E R, et al. Soybean allergens affecting north American patients identified by 2D gels and mass spectrometry [J]. Food Analytical Methods, 2010, 3(4): 363-374.
- [14] TSUJI H, BANDO N, HIEMORI M, et al. Purification and characterization of soybean allergen Gly m Bd 28K[J]. Biosci Biotech Biochem, 1997, 61(6): 942-947.
- [15] BREITENEDER H, RADAUER C. A classification of plant food allergens [J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2004, 113(5): 821-830.
- [16] HIEMORI M, BANDO N, OGAWA T, et al. Occurrence of IgE antibody-recognizing N-linked glycan moiety of a soybean allergen, Gly m Bd 28K[J]. Intl Arch Allergy Immunol, 2000, 122(2): 38-45.
- [17] XING P, HAAS E J, ZEECE M G, et al. C-Terminal 23kDa polypeptide of soybean Gly m Bd 28K is a potential allergen[J]. Planta, 2004, 220(1): 56-63.
- [18] HIEMORI M, ITO H, KIMOTO M, et al. Identification of the 23-kDa peptide derived from the precursor of Gly m Bd 28K, a major soybean allergen, as a new allergen[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1675(1): 174-183.
- [19] POYSA V, WOODROW L, YU K. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality[J]. Food Research International, 2006, 39(3): 309-317.
- [20] OGAWA T, BANDO N, TSUJI H, et al. Alpha-subunit of beta-conglycinin, an allergenic protein recognized by IgE antibodies of soybean-sensitive patients with atopic dermatitis[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1995, 59(5): 831-833.
- [21] KRISHNAN H B, KIM W S, JANG S, et al. All three subunits of soybean β -conglycinin are potential food Allergens[J]. Agric Food Chem, 2009, 57(3): 938-943.
- [22] LAKEMOND C M M, JONGH D H, HESSING M, et al. Heat denaturation of soy glycinin: influence of pH and ionic strength on molecular structure[J]. Agric Food Chem, 2000, 48(6): 1991-1995.
- [23] KOSHIYAMA M, HAMANO M, FUKUSHIMA D. A heat denaturation study of the 11S globulin in soybean seeds[J]. Food Chemistry, 1981, 6(4): 309-322.
- [24] DAVIS E J, SMALES C M, JAMES D C. How can thermal processing modify the antigenicity of proteins[J]. Allergy, 2001, 56: 56-60.
- [25] FRIEDMAN M, BRANDON D L. Nutritional and health benefits of soy proteins[J]. Agric Food Chem, 2001, 49(3): 1069-1086.
- [26] BOXTEL E L, BROEK L A, KOPPELMAN S J. Legumin allergens from peanuts and soybeans: effects of denaturation and aggregation on allergenicity[J]. Mol Nutr & Food Res, 2008, 52(6): 674-682.
- [27] MOZHAEV V, HEREMANS K, FRANK J, et al. Exploiting the effects of high hydrostatic pressure in biotechnological applications[J]. Trends in Biotechnology, 1994, 12(12): 493-501.
- [28] TANG Chuanhe, MA Chingyung. Effect of high pressure treatment on aggregation and structural properties of soy protein isolate[J]. Food Science and Technology, 2009, 42(2): 606-611.
- [29] PEÑAS E, RESTANI P, BALLABIO C, et al. Assessment of the residual immunoreactivity of soybean whey hydrolysates obtained by combined enzymatic proteolysis and high pressure[J]. Eur Food Res Technol, 2006, 222(3): 286-290.
- [30] PEÑAS E, PRESTAMO G, POLO F, et al. Enzymatic proteolysis, under high pressure of soybean whey: analysis of peptides and the allergen Gly m 1 in the hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2006, 99(3): 569-573.
- [31] TSUMURA K, KUGIMIYA W, BANDO N. Preparation of hypoallergenic soybean protein with processing functionality by selective enzymatic hydrolysis [J]. Food Science and Technology Research, 1999, 5(2): 171-175.
- [32] LEE H W, KEUM E H, LEE S J, et al. Allergenicity of proteolytic hydrolysates of the soybean 11S globulin[J]. Journal of Food Science, 2007, 72(3): 168-172.
- [33] CABANILLAS B, PEDROSA M M, RODRIGUEZ J, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on lentil allergenicity[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2010, 54(9): 1266-1272.
- [34] MALDONADO J, GIL A, NARBONA E, et al. Special formulas in infant nutrition: a review[J]. Early Hum Dev, 1998, 53(1): 23-32.
- [35] BUSINCO L, BRUNO G, GIAMPIETRO P G. Soy protein for the prevention and treatment of children with cow-milk allergy[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1998, 68(6): 1447-1452.
- [36] AHN K M, HAN Y S, NAM S Y, et al. Prevalence of soy protein hypersensitivity in cow's milk protein-sensitive children in Korea[J]. J Korean Med Sci, 2003, 18(4): 473-477.
- [37] ORTOLANI C, BRUIJINZEEL-KOOMEN C, BENGTSOON U, et al. Controversial aspects of adverse reactions to food[J]. Allergy & Clinical Immunology, 1999, 54(1): 27-45.
- [38] van de LAGEMAAT J, SILVÁN J M, MORENO F J, et al. *in vitro* glycation and antigenicity of soy proteins[J]. Food Research International, 2007, 40(1): 153-160.
- [39] SHANNON W, KRISTEN B, ELVIRA G. Allergenic proteins in soybean: processing and reduction of P34 allergenicity[J]. Nutrition Reviews, 2005, 63(2): 47-58.
- [40] USUI M, TAMURA H, NAKAMURA K. Enhanced bactericidal action and masking of allergen structure of soy protein by attachment of chitosan through Maillard-type protein-polysaccharide conjugation[J]. Nahrung Food, 2004, 48(1): 69-72.
- [41] CALABOZO B, BARBER D, POLO F. Studies on the carbohydrate moiety of plai1 allergen. Identification of a major N-glycan and significance for the immunoglobulin E-binding activity[J]. Clinical and Experimental Allergy, 2002, 32(11): 1628-1634.
- [42] TAKAHASHI K, BANDA H. An induced mutant line lacking the α -subunit of β -conglycinin in soybean[J]. Breed Sci, 1994, 44(1): 65-66.
- [43] 刘晓毅. 大豆食源性致敏蛋白的识别去除及脱敏后加工特性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [44] 尹红. 美国科学家首次成功培育过敏性低大豆品种[J]. 粮食与油脂, 2003(1): 22.
- [45] SHRIDHAR K S, HARSHAL H K, KENNETH H R. Advances in seed protein research: a perspective on seed allergens[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(6): 93-117.
- [46] NORDLEE J A, TAYLOR S L, TOWNSEND J A, et al. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans[J]. New Eng J Med, 1996, 334(11): 688-692.
- [47] TAYLOR S L, HEFLE S L. Genetically engineered foods: implications for food allergy[J]. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2002, 2(3): 249-252.