

한국에 서식하고 있는 바퀴벌레 *Blattella germanica*의 알레르기 항원성에 관한 면역학적 연구*

연세대학교 의과대학 소아과학교실

이기영 · 김규언 · 정병주 · 이수영 · 김동수

서 론

바퀴는 바퀴목(Blattaria)에 속하는 곤충으로 이것은 다시 바퀴류(cockroach/Blattodea)로 분류된다. 우리나라에서 발견되고 있는 주가성 바퀴에는 독일바퀴(*Blattella germanica*), 이질바퀴(*Periplaneta americana*), 검정바퀴(*Periplaneta fuliginosa*), 일본바퀴(*Periplaneta japonica*) 등 4종(species)이 있는데 이 중에서 독일바퀴가 전국적으로 가장 널리 분포하고 있을 뿐만 아니라 서식밀도 또한 매우 높은 것으로 되어 있다.^{1,2)}

이러한 바퀴벌레가 알레르기성 비염과 아토피성 천식의 주요 흡입항원이 될 수 있음은 널리 알려져 있으며³⁻⁷⁾, Bernton과 Brown⁸⁻¹⁰⁾ 그리고 Bernton 등¹¹⁾은 이들 바퀴벌레에서 추출한 항원이 피부반응을 일으키는 항체를 유발할 수 있음을 이미 보고하였다.

최근에 이르러서는 이러한 바퀴벌레의 항원성을 RAST법으로도 증명하고 있는데^{3,4)} 저자에 따라 그 양성율은 다르지만 아토피군에서는 20-53%에서, 천식군에서는 49-61%까지 높게 보고되고 있다.^{3,9,12)} 실제로 천식환자에서 이 항원을 이용한 기관지유발시험을 통하여 천식을 유발했던 보고

들^{3,4,11)}을 보아도 바퀴항원이 아토피성 천식 등에 있어서 중요한 항원임을 알 수 있다.

국내의 보고를 보면 이 등¹³⁾이 아토피성 소아천식 환자 502명을 대상으로 실시했던 피부검사서 바퀴가 11.4%의 양성율을 나타내어, 집먼지 진드기, 집먼지, silk 및 고양이털에 이어 5번째로 높은 양성율을 나타냈을 뿐만 아니라, 강 등¹⁴⁾의 보고에서도 그 양성율이 20%를 나타내어 바퀴가 주요한 실내 흡입항원으로 작용할 가능성을 시사해 주고 있다.

이처럼 아토피나 천식에서 바퀴항원의 중요성이 대두됨에 따라 외국에서는 바퀴항원의 분리에 관한 연구가 많이 보고되고 있으나^{15,18)}, 국내에서는 아직 이에 대한 보고가 전무한 실정이어서 저자들은 우리나라에 많이 서식하고 있는 독일바퀴의 항원을 분리하여 그 특성을 규명해 보고자 본 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 항원

한국에 서식하고 있는 독일바퀴를 잡아서 산체로 -70°C에 냉동보관하여 Bernton과 Brown의 방법⁸⁾에 따라서 CoCa용액을 가지고 일차로 조제한 항원(crude extract, 이하 CR-A로 약함)을 추출하였다. 이를 간단히 요약하면 먼저 냉동 보관된 바퀴벌레를 분쇄한 후에 에테르를 사용하여

* 본 연구는 연세대학교 의과대학 교수연구비의 보조로 이루어진 것임.

지방을 제거하고 이것을 CoCa용액 (NaCl 5gm, NaHCO₃ 2.75gm, Phenol 5gm/H₂O 1L)에 넣고 waring blender로 잘 섞어서 4°C에서 7일간 보관한 후에 18,000×g로 원심 분리하여 상층액을 취하였다. 이 상층액을 0.45μm 여과기로 여과하여 증류수에 3일간 투석하였다. 이때 사용한 투석막은 여과공의 크기가 Mw 6,000-8,000 짜리를 사용하였다. 이것을 다시 냉동건조하여 바퀴벌레의 조잡한 항원(CR-A)으로 사용하였다.

2. Column Chromatography

항원을 다시 0.01M/L의 PBS, pH7.5에 대하여 투석한 후에 겔 투과를 실시하였다. 겔 투과법은 Sephacryl S-200(Pharmacia, Piscataway, N.J.)를 사용하였고 column 크기는 2.5×50cm를 사용하였다. 여과는 0.01M/L의 PBS, pH7.5를 사용하여 5.0ml/hr의 속도로 4°C에서 시행하여 2.0ml씩 분획을 수집하였다. 이 분획의 생리적인 활성도를 보기 위하여 표준바퀴항원(Hollister-Stier, Spokane, Wash.)에 양성을 보인 5명의 아토피성 소아천식 환자를 대상으로 피부시험을 실시하였다.

3. SDS-PAGE

Laemmli¹⁹⁾의 방법을 변형하여 SDS-PAGE를 시행하였다. Gel의 농도는 12%를 사용하였고 stacking gel은 4%농도로 하였다. 추출한 항원을 2%(wt/vol) SDS, 5%(vol/vol) 2-mercaptoethanol, 0.02%(wt/vol) bromophenol blue가 함유된 0.06M/L Tris HCl, pH 6.8에 녹여 100°C에 4분간 처리하여 30mA로 전기영동을 시행하였다. 4시간 전기영동을 한 후에 0.01% Coomassie Brilliant Blue(Sigma, St. Louis, Mo.)로 염색을 하였고 분자량은 저분자량의 표준 단백질(Bio Rad. Lab., Richmond, CA.)에 의거하여 계산하였다.

4. 단백질의 전기영동법에 의한 이행과 항원의 면역 검출

Towbin등²⁰⁾의 방법에 의하여 전기영동이 끝난

단백질을 0.45μm 니트로셀룰로소막(Millipore, Bedford, M.A.)에 70V, 3시간 동안 이행시켰다. 이 니트로셀룰로소막을 10% 메탄올이 함유된 PBS에 1시간 동안 세척한 후 3% bovine serum albumin(Sigma, St. Louis, Mo.)이 함유된 10 mM Tris buffer에 4시간동안 담구었다. 이것을 다시 0.9% NaCl로 세척한 후 실온에서 건조시켰다. 환자의 혈청을 0.1% Tween 20과 0.1% NaN₃가 함유된 PBS로 1:3희석하여 16시간 동안 담근 후에 0.1% Tween 20이 함유된 PBS로 3시간 세척하였다. 이것을 다시 ¹²⁵I-labelled antihuman IgE(15,000cpm/stip, Pharmacia)에 16시간 담근후에 0.05% Tween 20가 함유된 PBS로 1시간 동안 3번에 걸쳐 세척한 후 실온에서 건조시켰다. 이것을 X-OMAT X-선필름(Eastman Kodak, Rochester, N.Y.)에 놓고 빛이 차단된 카세트에 넣어 -70°C에서 6일간 보관한 뒤에 현상하였다.

결 과

1. 항원의 정제

CoCa용액으로 1차 분리해 낸 조잡한 항원을 Sephacryl S-200으로 분리한 결과 그림 1에서 보이는 것과 같은 두개의 커다란 분획으로 나눌수 있었다. 이것을 CR-PI와 CR-PII로 명명한 후 각각

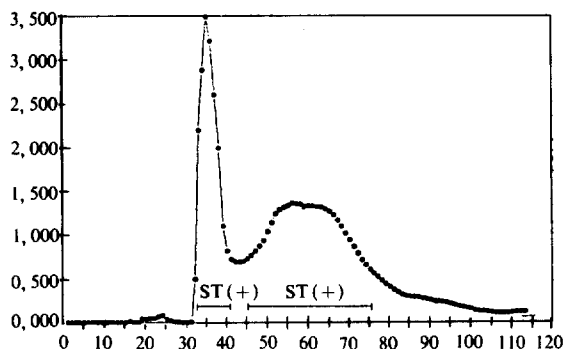


Fig. 1. Sephacryl S-200 Elution Profile of 100mg of Crude CR-A Extract. ST: Skin Test by Scratch Method.

Table 1. Clinical Status of the Selected Patients

Patient	Age/sex	Diagnosis	Total IgE IU/ml	ST	RAST for cockroach	CR-A	ST for CR-PI	CR-P-II
1	5/M	Asthma Rhinitis Conjunctivitis	201	HD(SP) DF(SP) DP(SP) Cock (P) Milk (P)	+1	P	Neg	SP
2	9/M	Asthma EIA	830	HD(SP) DF(SP) DP(SP) Cock (SP)	+2	P	Neg	P
3	5/M	Asthma	728	HD(SP) DF(SP) DP(SP) Cock (P)	+1	P	Neg	P
4	4/M	Asthma All, Rhinitis	1100	HD(P) DF(P) DP(SP) Cock (SP) Crab (SP)		P	Neg	P
5	9/M	Asthma Rhinitis Atopic Dermatitis Urticaria	904	HD(SP) DF(SP) DP(SP) Alternaria (SP) Cock (SP)	+3	SP	P	SP

SP : Strong positive, P : Positive, Neg : Negative, HD : House dust,
DF : Dermatophagoides farinae, DP : Dermatophagoides pteronyssinus,
Cock : Cockroach, ST : Skin test, EIA : Exercise Induced Asthma

을 5명의 환자에 대하여 피부시험을 통하여 생물학적 활성도를 측정해 보았으며 결과는 표 1과 같았다. 5명은 모두 아토피성 천식이 있는 환자들이었으며 천식 이외에 알레르기성 비염, 담마진 및 운동유발성 천식 등을 갖고 있었다. 이들을 Hollister-Stier사의 알레르기항원으로 피부시험을 시행한 결과 집먼지진드기에 모두 양성 반응을 보이면서 바퀴항원에도 양성반응을 보였다. 바퀴항원에 대한 RAST결과는 +1에서 +3까지 다양하게 나타났다. 이들에게 CR-PI와 CR-P-II로 피부반응검사를 실시한 결과 CR-PI은 5명중 한명에서만 양성 반응을 보인 반면에 CR-P-II에 대해서는 5명 모두가 양성반응을 나타냈다. 또한 CR-PI

에 양성인 환아도 약양성 반응만을 보였는데 이 결과는 CR-PI보다는 CI-P-II에 항원성이 있다는 것을 의미하는 것으로 생각된다.

2. SDS-PAGE

CoCa용액으로 1차 분리해낸 항원을 SDS-PAGE로 분자량을 측정해 본 결과(Figure 2) 적어도 28개의 항원 띠를 관찰할 수 있었으며 Hollister-Stier사의 항원과 비교해 볼 때 약간의 차이가 관찰되었다(Figure 3). CR-PI에서는 10개의 항원이 관찰되었는데 3개의 항원 즉 분자량이 97,400, 76,000, 24,000 dalton인 항원들이 가장 확실하게 관찰되었다. CR-P-II에서는 15개의

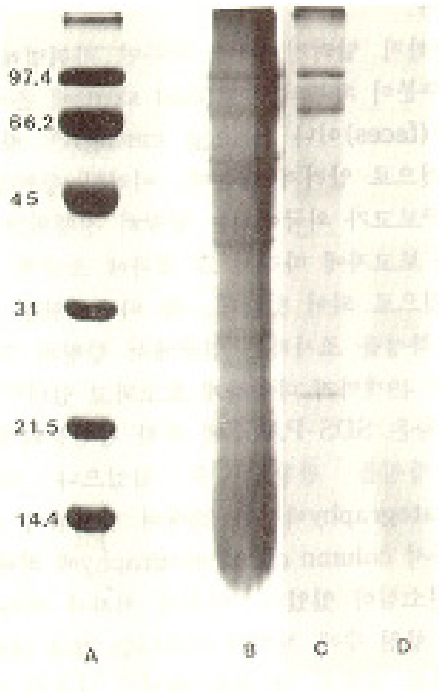


Fig. 2. SDS-PAGE analysis of crude CR-A extract and pooled extraction. MWs were determined from a standard mixture of proteins of known MW ; A, low MW markers : phosphorylase-b(97.4kD), bovine serum albumin(66.2kD), ovalbumin(45kD) carbonic anhydrase(31kD), soybean trypsin inhibitor(21.5kD), and lysozyme(14.4kD) ; B, crude CR-A extract ; C, Cr-PI ; D, Cr-P-II.

항원이 관찰되었는데 64,000 dalton되는 항원이 가장 뚜렷하였다.

3. 환자혈청에 의한 특이항원의 면역검출

5명의 환자의 혈청을 섞어서 바퀴항원과 결합하는 항원 특이 IgE항체를 검출하였다(Figure 4). CR-A항원에 대한 IgE 특이항체는 13항원(분자량 22,000, 29,000, 32,500, 37,000, 39,000, 42,500, 44,000, 50,000, 55,000, 64,000, 74,000, 88,000, 111,000 dalton)에 대해 강하게 결합하는 양상을 보였는데 특히 64,000 dalton의 항원과 강하게 결합하였다. CR-PI항원과 결합하는 항체의 양상을 관찰한 결과 7개 정도의 항원(분자량 111,000, 88,000, 64,000, 55,000, 50,000,

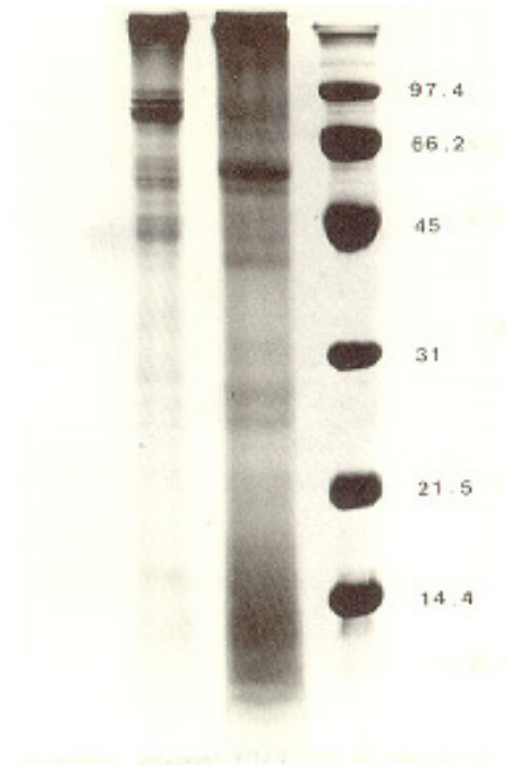


Fig. 3. SDS-PAGE analysis of crude CR-A extract and commercial cockroach antigen. MWs were determined from a standard mixture of proteins of known MW ; A, low MW markers : phosphorylase-b(97.4kD), bovine serum albumin(66.2kD), ovalbumin(45kD), carbonic anhydrase(31kD), soybean trypsin inhibitor(21.5kD), and lysosome(14.4kD) ; B, crude CR-A extract ; C, commercial cockroach antigen.

44,000, 42,500, 39,000 dalton)이 결합하는 양상을 보였지만 그 정도는 매우 약하였고 39,000 dalton인 항원만이 다소강하게 결합하였다. 흥미로웠던 사실은 CR-P-II항원과 항체의 결합은 64,000 dalton인 항원만이 유일하게 매우 강한 결합을 보였다는 것이다. 대조군으로 정상인의 혈청을 검사해 본 결과 비특이적인 항체의 결합은 관찰되지 않았다.

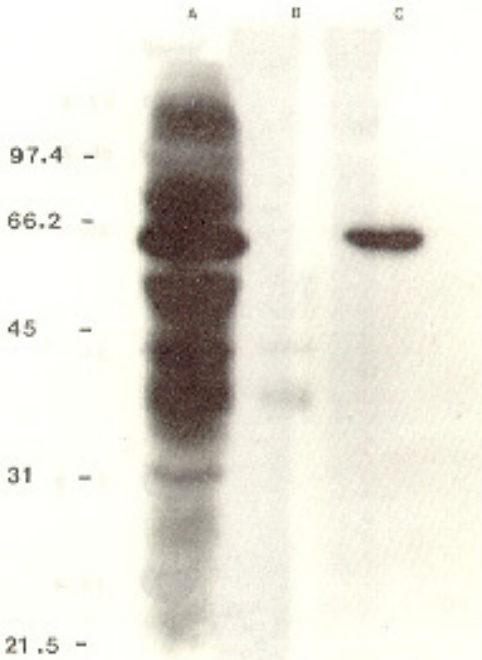


Fig. 4. Autographs of SDS-PAGE-separated components of crude CR-A extract, Cr-PI, and Cr-PII after electroblotting on NC and followed by immunodetection with human IgE antibodies. A, CR-A extract, B, Cr-PI, and C, Cr-PII.

고 찰

1964년 Bernton과 Brown⁸⁾이 곤충알레르기 중 에서 바퀴에 의한 알레르기를 보고한 이래, 알레르기성 비염과 천식의 원인으로서 바퀴벌레에 대한 인식이 높아지기 시작하였다. 미국도시의 저소득 계층의 환자 중 약 반수가 바퀴항원을 사용한 알레르기 피부시험에 양성을 보였으며 이들의 혈청에는 바퀴벌레 특이 IgE항체가 높았다는 보고가 있다. 또한 이들 환자들이 바퀴추출액으로 실시한 기관지유발시험에도 양성을 보였으며, 상당수에서 초기 반응뿐만 아니라 후기반응까지 나타나는 이중반응을 보였다는 보고는 바퀴알레르기가

reagin-allergen반응임을 시사하는 것이라고 볼 수 있다.

지금까지 알려진 바에 의하면 바퀴벌레항원은 그 대부분이 체부와 허물(cast skin)에 존재하고, 배설물(feces)이나 난(egg casing)은 항원성이 약한 것으로 알려져 있는데, 이러한 항원성에 관한 연구보고가 외국에서는 활발히 진행되고 있다. 그러나 보고자에 따라서 그 결과에 조금씩 차이가 있는 것으로 되어 있는데, 즉 바퀴항원을 분리하여 그 특성을 조사하는 연구에서 항원의 수가 29개 또는 49개까지 다양하게 보고되고 있다^{17,21)}.

저자들은 SDS-PAGE에 의한 항원분리에서 28개의 항원을 관찰할 수 있었으나 column chromatography에서는 25개의 항원밖에 관찰되지 않아서 column chromatography에 의해 약간의 항원소실이 있었다. 이처럼 저자에 따라서 관찰되는 항원 수에 차이가 나타나는 것에 대해서는 그 이유를 정확히 알 수는 없지만 사용한 바퀴의 종류, 겔의 농도 또는 Sephadex종류의 차이를 전혀 간과할 수는 없을 것으로 사료된다.

Twarog 등¹⁵⁾은 Sephadex G-75와 DEAE cellulose chromatography를 사용하여 항원을 Cr-I, Cr-II, 그리고 Cr-III의 3분획으로 나누어, Cr-I(분자량 25,500 dalton)과 Cr-II(분자량 63,000-65,000 dalton)이 피부시험에서 70%의 양성율을 보였고 Cr-III(분자량 10,000 dalton)은 30%의 양성율 밖에는 보이지 않았다고 하였다. Chang 등¹⁶⁾은 Sephadex G-75를 사용하여 두분획으로 항원을 나누었는데 Cr-PI에는 적어도 분자량이 378,000, 44,000 그리고 65,100 dalton에 이르는 3가지의 아분획이 있는데, 이들에 대한 피부시험은 100%의 양성율을 보였고, Cr-PII에는 분자량 13,700 dalton의 항원이 있어서 70%의 피부시험 양성율을 나타냈다고 보고하였다.

Stankus와 Oneil²²⁾은 Sephadex G-75를 사용하여 12,500에서 75,000 dalton의 분자량을 갖는 항원이 중요한 항원이라고 하면서 이를 "fraction 2"라고 명명하였고, 이것은 바퀴항원 중에서도 특이 항원이며 또 이들은 electrofocusing에 의하면 pH 3.75에서 4.50에 등전기점(isoelectric point)

을 갖는 산성 항원인 것을 밝혀내었다²³⁾. Wu와 Lan²¹⁾도 Sephadex G-150 SF와 DEAE Cellulose chromatography를 사용하여 Cr-PI와 Cr-PII를 분리하였으며 이들은 각각 73%와 93%의 피부시험 양성율을 보여주고 있으며 분자량 26,000 dalton에서 120,000 dalton에 이르는 적어도 9개의 항원들이 특이 IgE와 반응한다고 보고하고 있다. 이처럼 저자들에 따라서 그 항원의 특이성이 다소 차이가 있으나 분자량이 100,000 dalton이 넘어가는 큰 항원들보다는 60,000-80,000 daeton 근처의 분자량을 갖는 항원이 높은 피부시험 양성율을 보인다는 데 의견이 모아지고 있는 것을 알 수 있다.

저자들은 Sephacryl S-200을 사용하여 항원을 분리한 결과 역시 CR-PI와 CR-PII의 커다란 두 분획으로 나눌 수 있었다. Wu와 Lan²¹⁾은 CR-PI에서도 피부시험에 양성을 보인 반면 저자들은 여기서는 1명의 환자만이 양성 반응을 보였으며 그것도 약양성이었다. 그러나 다른 저자들과 마찬가지로 CR-PII에서는 모두에서 양성을 보였으며, 또한 피부시험과 환자들의 혈청을 사용한 면역검출 방법은 잘 일치하는 결과를 보였는데 CR-PI에서는 7개의 항원만이 특이 IgE와 결합하는 양상을 보였으며 그 정도는 매우 약하게 반응하였고 그 중에서 분자량 55,000, 44,000, 39,000 dalton인 항원은 약간 강하게 반응하였다. 흥미로웠던 사실은 CR-PII에서 분자량 64,000 dalton인 항원에서 매우 강하게 단일 띠로 특이 항체와 결합하는 양상을 보였다는 것이다. 이 결과는 피부시험도 상응하는 결과였다.

겔 분리를 시행하지 않은 조잡한 항원으로 면역검출을 시행한 결과에서는 13개의 항원이 특이항체와 결합하는 양상을 보였는데 여기에서도 분자량 64,000 dalton인 항원과 가장 강하게 결합하는 것을 알 수 있었고 그 외 분자량 55,000 39,000 dalton인 항원이 역시 강하게 결합하였다. 조잡한 항원과 CR-PI, CR-PII항원들의 특이항체에 대한 결합양상이 다른 이유는 잘 설명할 수 없는 것으로, 이 부분에 대하여는 좀 더 많은 연구를 시행해야 할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 한국에 많이 분포하고 있는 독일바퀴를 사용하였는데 Wu와 Lan²¹⁾은 미국바퀴를 사용하였고 저자마다 서로 다른 바퀴를 사용한 것으로 그 결과에 차이가 조금씩 있을 것으로 사료된다. 이런 이유로 저자들은 상품화된 바퀴항원(Hollister Stier제품)을 같은 SDS-PAGE로 분리하여 항원성에 차이가 있는지 여부를 비교해 보았다.

Stankus 등²³⁾은 독일바퀴와 미국바퀴의 항원성에 차이가 있으며 물론 그 항원에는 공통항원이 있다고 보고하였다. 저자들의 경우도 마찬가지로 약간의 항원성에 차이가 있는 것으로 관찰되었는데 이러한 항원성의 차이가 과연 상품화된 항원으로 피부시험을 실시할 때 우리나라에 널리 분포되어 있는 독일바퀴항원을 피부시험에 사용하는 것과 차이가 있을 것인지에 대하여서도 좀더 연구해 보아야 할 것으로 사료된다. 특히 CR-PII에서 관찰된 분자량 64,000 dalton인 항원이 우리나라 소아 연령층에서 가장 항원성이 높은 항원으로 사료되므로 이 항원을 가지고 앞으로 피부시험을 실시하는 것이 좋을 것으로 사료되며 이것을 가지고 RAST와 RAST억제검사도 더 시행할 필요가 있다. 또한 crossed immunoelectrophoresis를 하든지 crossed radioimmuno-electrophoresis를 시행하여 항원을 좀더 연구해야 할 것으로 사료된다. 앞으로 이 항원에 대한 특이성을 좀더 밝혀내고 또 항원을 분리해 낸다면 임상적으로 환자에게 검사항원으로도 사용할 수 있다. 또한 RAST치를 측정하는 표준항원으로 발전시킬 수 있으리라 보고 사료되며 이 항원을 가지고 기관지유발시험도 실시할 수 있을 것으로 기대된다.

결 론

아토피성 소아천식 환자에서 바퀴벌레의 항원성을 연구하기 위하여, CoCa용액으로 조잡한 항원을 분리하고, Sephacryl S-200겔 분리법을 이용하여 2개의 항원분획을 나누어, SDS-PAGE와 면역검출법으로 바퀴항원을 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 겔 분리법에 의하여 분리된 CR-PI과 CR-PII항원으로 실시한 피부시험 결과 각각 20%와 100%의 양성율을 나타내었다.

2. SDS-PAGE에 의한 항원 분리결과 28개의 항원을 관찰 할수 있었고 CR-PI에서는 10개, CR-PII에서는 15개의 항원이 관찰되었다.

3. 환자 혈청내의 특이 IgE는 조잡한 항원과는 13개의 항원, CR-PI과는 7개의 항원, CR-PII와는 1개의 항원과 결합하는 것을 볼 수 있었는데, CR-PI의 항원들은 그 결합 정도가 약하였고 분자량 39,000 dalton이 약간 강하게 결합하였고, CR-PII에서는 분자량 64,000 dalton인 항원이 아주 강하게 단일 띠로 결합하여 이 항원이 우리나라 소아들에게는 가장 항원성이 강한 단백질로 생각된다.

-Abstract-

An Immunological Study on Allergic Antigenicity of *Blattella germanica* in Korea

Ki Young Lee, M.D., Kyu Earn Kim, M.D.,
Byung Ju Jeaung, M.D.,
Soo Young Lee, M.D., and
Dong Soo Kim, M.D.

*Department of Pediatrics, Yonsei University
College of Medicine*

Two allergenic fractions in crude German cockroach extract have been isolated with

Sephacryl S-200 gel filtration. The partially purified fractions of CR-PI and CR-PII elicited a positive skin response in 20% and 100% of pediatric patients sensitive to the crude extracts, respectively. Crude extract contains at least 28 antigenic components, as demonstrated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. CR-PI and CR-PII contain 10 and 15 antigenic components respectively as demonstrated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Electroblothing analysis with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis reveals 13 allergenic components of molecular weights with 111,000, 88,000, 74,000, 64,000, 55,000, 50,000, 44,000, 42,500, 39,000, 37,000, 32,500, 29,000 and 22,000 daltons that are able to bind specific IgE. Among these 13 principal allergens, one component of molecular weight 64,000 daltons in CR-PII bound strongly the sera of atopic patients tested. This protein is undoubtedly the major allergen of German cockroach extract in Korean atopic children.

REFERENCES

- 1) 이한일 : 곤충위생학, p. 91-103 고문각, 서울, 1986.
- 2) 이한일, 홍한기, 심제철, 이종석 : 한국산 바퀴에 관한 연구(I) : 육내서식종의 분류, 분포, 살충제감수성시험 및 구제약의 실험, 국립보건연구원보 10: 169-176, 1973.

- 3) Kang B, and Sulit N : A comparative study of prevalence of skin hypersensitivity to cockroach and house dust antigens. *Ann Allergy* 41 : 333-336, 1978.
- 4) Kang B, Vellody D, Homburger H, and Yunginger JW : Cockroach cause of allergic asthma ; its specificity immunologic profile. *J Allergy Clin Immunol* 63 : 80-86, 1979.
- 5) Kang B : Study on cockroach antigen as probable causative agent in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 58 : 357-365, 1976.
- 6) Shulaner FA : Sensitivity to the cockroach in three groups of allergic Children. *Pediatrics* 45 : 465-466, 1970.
- 7) Mendoza J and Synder FD : Cockroach sensitivity in children with bronchial asthma. *Ann Allergy* 28 : 159-163, 1970.
- 8) Bernton HS and Brown H : Insect allergy : preliminary studies of the cockroach. *J allergy Clin Immunol* 35 : 506-513, 1964.
- 9) Bernton HS and Brown H : Cockroach allergy II. The relation of infestation to sensitization. *South Med J* 60 : 852-855, 1967.
- 10) Bernton HS and Brown H : Cockroach allergy : age of onset of skin reactivity. *Ann Allergy* 28 : 420-422, 1970.
- 11) Bernton HS, McMahon TF, and Brown H : Cockroach asthma. *Br J Dis Chest* 66 : 61-66, 1972.
- 12) Marchand AM : Allergy to cockroaches. *Bol Asoc Med PR* 58 : 49-53, 1966.
- 13) 이기영, 김규연 : 면역요법용 백신을 처방할때 불필요한 항원을 배제하는 방법에 관한 연구. *알레르기* 8 : 150-164, 1988.
- 14) 강석영, 최병위, 문희범, 민경업, 김유영 : 한국인 호흡기 알레르기 환자에 있어서의 피부시험 성적에 관한 연구. *알레르기* 4 : 49-56, 1984.
- 15) Twarog FJ, Picone FJ, Strunk RS, So J, and Colten HR : Immediate hypersensitivity to cockroach. *J Allergy Clin Immunol* 59 : 154-160, 1977.
- 16) Chang JL, Johnson J, and Kang B : Characterization of cockroach antigen [Abstract] *J Allergy Clin Immunol* 71 : 161, 1983.
- 17) O'Neil CE, Porretta BS, Stankus RP : Cockroach Extracts : antigen/allergenic analysis using crossed immunoelectrophoresis techniques[Abstract] *J Allergy Clin Immunol* 77 : 161, 1986.
- 18) Jones GS, Wu CH, Chang JL, Johnson J, and Kang B : Purification and characterization of major allergens in cockroach extract[Abstract] *Clin Research* 34 : 888A, 1986.
- 19) Laemmli UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685, 1970.
- 20) Towbin H, Staehelin T, and Gordon J : Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. *Proc Natn Acad Sci. USA* 76 : 4350-4354, 1979.
- 21) Wu CH and Lan JL : Cockroach hypersensitivity : isolation and partial characterization of major allergens. *J Allergy Clin Immunol* 82 : 727-735, 1988.
- 22) Stankus RP, and O'Neil CE :

Antigenic/allergenic characterization of american and german cockroach extracts. J Allergy Clin Immunol 81 : 563-570, 1988.

SB : Identification and characterization of important cockroach allergens. J Allergy Clin Immunol 86 : 781-787, 1990.

23) Stankus RP, Horner WE, and Lehrer