



大豆主要过敏原 β -伴大豆球蛋白及其抗原表位的研究进展

李堂昊, 布冠好, 陈复生

(河南工业大学 粮油食品学院, 河南 郑州 450001)

摘要:大豆具有较高的营养价值和良好的功能特性,其应用越来越广泛,然而大豆也是主要的食物过敏原之一,会诱发机体发生过敏反应,影响健康。研究表明,诱发食物过敏的决定性因素是蛋白质上的抗原表位,过敏原通过抗原表位与抗体或者致敏淋巴细胞特异性结合,引起免疫应答。为了进一步研究大豆蛋白过敏原的致敏机理,明确其主要抗原表位。本文综述了大豆中主要过敏原蛋白的结构组成与致敏部位,并通过数据库总结 β -伴大豆球蛋白的主要抗原表位。此外,阐述了不同加工方式对大豆过敏蛋白的影响,为进一步开发低致敏性或无致敏性大豆产品提供理论依据。

关键词:大豆蛋白;抗原表位;致敏性;表位数据库

Development in Major Allergen β -conglycinin and Its Antigen Epitopes of Soybean

LI Tang-hao, BU Guan-hao, CHEN Fu-sheng

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Soybean has high nutritional value and good functional characteristics, and its application is more and more widely. However, soybean also is one of the most important food allergens, it will induce food allergic reactions and affect the health of the body. Studies have shown that the true determinant of food allergy was the epitope on the protein. Allergen cause an immune response by specifically binding an epitope to an antibody or sensitized lymphocyte. In order to further study the sensitization mechanism of soy protein allergens, and identify their major epitopes. This paper reviewed the structural composition and sensitization sites of major allergen proteins in soybean, and summarized the main antigenic epitopes of β -conglycinin through database. In addition, the effects of different processing methods on soybean allergic protein were discussed, which would provide theoretical basis for further development of low or non-allergic soybean products.

Keywords: Soy protein; Antigen epitopes; Sensitization; Epitope databases

富含蛋白质和油脂的大豆及其衍生产品被广泛应用于人类食品与动物饲料的生产当中^[1]。然而,大豆也是公认的八大食物过敏原之一,是人类常见的食物过敏原。目前,国内外对于大豆过敏尚无根本解决办法,只能依靠避免摄入来防止食物过敏反应的发生。此外,大豆凭借其丰富的营养价值和良好的功能特性,作为食品添加剂出现在许多食品中,这无疑给大豆过敏人群带来了潜在威胁^[2-3]。食物过敏反应会造成严重的健康问题,在一般人群中,对大豆过敏的成人达到 0.5%,儿童高达 13%^[4]。通常食物过敏会表现为两方面的症状:一方面是对皮肤的刺激,诸如皮疹、荨麻疹和湿疹等,另一方面是恶心呕吐腹泻等胃肠道症状^[5]。症状严重者会发生休克,甚至于危及生命^[6]。在机体免疫应答过程中,起着决定性作用的是抗原分子上的抗原表位^[7],免疫细胞通过识别,与抗原上的表位

结合,从而发挥抗原的功能和特异性。因此,研究大豆主要过敏原抗原表位的序列组成及功能特性,并通过具有针对性的处理方法,能够使这些抗原表位无法被机体内的免疫细胞识别,从而达到消除或消减大豆致敏性的目的,为进一步生产出无致敏性或者低致敏性的大豆产品找到途径。对于食品过敏原的处理,目前通常采用物理、化学、生物及两种或两种以上的方法相互结合,通过改变蛋白质结构,使过敏原表位发生变化,以达到更好地降低致敏性的效果。文章对大豆中的主要过敏原及其抗原表位,不同加工方式对蛋白过敏原的影响进行了综述,以期为最低致敏性大豆产品的开发奠定理论基础。

1 大豆中的主要过敏原

目前主要的大豆蛋白过敏原可分为种子储藏

收稿日期:2019-03-15

基金项目:国家自然科学基金(31871748, 31201293);河南省重点研发与推广专项(182102110299);河南教育厅科学技术研究重点项目(19A550005);河南工业大学省属高校基本科研业务费专项(2015RCJH02)。

第一作者简介:李堂昊(1995-),男,硕士,主要从事食品蛋白质资源开发与利用研究。E-mail: 317371903@qq.com。

通讯作者:布冠好(1980-),女,博士,副教授,主要从事食品蛋白质资源开发与利用。E-mail: buguanhao2008@126.com。

蛋白、结构蛋白和防御相关蛋白 3 大类,其中大豆种子储藏蛋白被认为是引发机体食物过敏的主要成分^[8]。按照沉降系数(S)分类,可将大豆储藏蛋白分成 4 种蛋白,分别是 2S、7S、11S 和 15S。 β -伴大豆球蛋白(7S 的主要成分)和大豆球蛋白(11S 的主要成分)是大豆蛋白中最主要的过敏原,约占大豆蛋白总量的 70%^[8-9]。除这两者之外,7S 组分中的两个低丰度蛋白 Gly m Bd 28K 与 Gly m Bd 30K/P34,和 3 种结构蛋白 Gly m 1、Gly m 2 和 Gly m 3,以及病理相关蛋白都被认为是大豆中的致敏成分^[8,10]。在这些大豆蛋白过敏原中, β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白以其较高的含量和较强的免疫性,被认为是引发食物过敏的最主要成分。

1.1 β -伴大豆球蛋白

β -伴大豆球蛋白(β -conglycinin)是大豆中的一种主要贮藏蛋白,约占大豆蛋白的 30%,是大豆中主要的食物过敏原^[11]。 β -伴大豆球蛋白是由 α (约 67 ku)、 α' (约 71 ku)和 β (约 50 ku)3 种亚基通过疏水作用相互缔合而成的共轭型三聚糖蛋白^[8]。其中, α 亚基/Gly m Bd 60K 的致敏性最强,可被 25% 的大豆敏感病人的血清识别,是最早被公认的主要过敏原蛋白^[12]。已有报道表明, β -伴大豆球蛋白的 3 个亚基均具有致敏性,且 α 亚基与 α' 和 β 亚基的氨基酸序列的同源性分别为 90.4% 和 76.2%^[11,13]。利用 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)可以检索到 β -伴大豆球蛋白的 α' 和 β 亚基的同源三聚体,Maruyama 等^[14]通过建模模拟出来了蛋白质三级结构。

1.2 大豆球蛋白

大豆球蛋白(glycinin)是大豆中的主要贮藏蛋白,在胚胎时期合成,占大豆种子干重的 20%^[15],约占大豆种子总蛋白的 40%^[16]。一般来说,大豆球蛋白的分子量为 320 ~ 360 kDa^[17]。它是由 5 个不同的亚基 G1 (A1aBb, 53.6 kDa)、G2 (A2B1a, 52.4 kDa)、G3 (A1Bb2, 52.2 kDa)、G4 (A5A4B3, 61.2 kDa)和 G5 (A3B4, 55.4 kDa)组成的六聚体寡蛋白^[18]。Adachi 等^[19]报道了大豆球蛋白的聚体结构,每一个大豆蛋白单聚体亚基都是由 1 条酸性多肽链 A(分子量为 35 ~ 43 kDa, pI 4.8 ~ 5.5)和 1 条碱性多肽链 B(分子量约为 20 kDa, pI 6.5 ~ 8.5)通过 1 个二硫键连接而成^[17-20]。根据序列同源性,可以将大豆球蛋白的 5 个亚基分成两组,组 I 包含 G1、G2 和 G3,组 II 包含 G4 和 G5,亚基的同源性在组内超过 84%,组间为 45% ~ 49%^[18]。目前已经有研究表明,大豆球蛋白的致敏性弱于 β -伴大豆球蛋白,且致敏性主要源于酸性多肽链 A1a、A1b、

A2、A3 和 A4,而其碱性多肽链很少与大豆过敏患者的血清产生免疫应答,说明大豆球蛋白的酸性和碱性多肽链存在差异^[20-24]。

1.3 Gly m Bd 30K/P34

Gly m Bd 30K(又被称为 P34)是通过免疫印迹分析在大豆提取物中发现的分子量为 30 kDa 的 IgE 结合蛋白^[25]。它属于 7S 组分,是一种低丰度蛋白,分布在成熟大豆的液泡中,含量约为总大豆蛋白的 1%^[8]。P34 属于木瓜蛋白酶超家族,是一种不溶于水的单分子 N-连接糖蛋白^[8]。有研究指出,Gly m Bd 30K/P34 至少含有 10 个抗原表位,可以被 65% 的大豆过敏患者的血清识别,而且与牛奶酪蛋白、Gly m 4 和桦树花粉 Bet v 1 存在交叉过敏反应,因此被称为大豆中致敏性最强的蛋白^[26-28]。也有研究表明,P34 与凝集素会发生共移现象,推测 P34 的致敏性可能不到 50%,高分辨率 2D 免疫印迹的检测结果表明,P34 并不是最主要的过敏原^[29]。

1.4 Gly m Bd 28K

Gly m Bd 28K 是 7S 组分中的一种低丰度蛋白,是一种重要的大豆蛋白过敏原,大约能被 25% 的大豆过敏患者的血清识别^[27]。Gly m Bd 28K 是一种通过 N-端连接的糖蛋白,推测其结构为 Man3GlcNAc2 骨架与 β 1 \rightarrow 2 木糖和 α 1 \rightarrow 3 海藻糖分支糖链,IgE 抗体可以识别其糖基化位点和含有相同糖链的糖蛋白,它是一种具有交叉反应的蛋白过敏原^[30]。Gly m Bd 28K 属于 Cupin 家族,通过 1 个基于 β -伴大豆球蛋白 β 亚基的模型表明,Gly m Bd 28K 含有 2 个 Cupin 区域。优势表位位于 C-末端 Cupin 区域的 β -折叠的边缘,并且出现在连接 2 个 Cupin 区域的 1 个潜在的溶剂可及的环上^[31]。有研究表明,Gly m Bd 28K 与 P34 是糖组成相同的糖蛋白,而这些糖蛋白的糖部位可能是 IgE 抗体识别的表位^[32]。

2 大豆主要过敏原的抗原表位

通常将大豆蛋白质视作引起食物过敏的过敏原,其诱发食物过敏的真正决定性因素是蛋白质上的抗原决定簇,即“抗原表位”。过敏原通过抗原表位与抗体或者致敏淋巴细胞发生特异性结合,引起免疫应答。根据结合的受体细胞不同,可以将抗原表位分为 T 细胞表位和 B 细胞表位。对于食物过敏,抗原表位是和抗体发生特异性结合从而引发免疫应答的 B 细胞抗原表位。按照表位结构的不同,可以将 B 细胞表位分为线性表位与构象表位。线性表位是指一段连续的氨基酸序列,在分子内部与外部均存在。构象表位是指序列上不相连的几个

氨基酸残基,在空间上形成特定的空间构象,可由 B 细胞受体或抗体识别^[33]。为了改变其抗原性,采用不同的加工方式,使蛋白质结构发生变化,过敏原的表位发生改变。一方面,热加工会使花生过敏原 Ara h 2 的构象表位被破坏,致使其抗原性与致敏性下降。另一方面,热加工使蛋白质内部的线性表位有可能暴露出来,而原本暴露的线性表位可能会因为蛋白结构折叠被埋起来,改变其抗原性与致敏性^[34]。

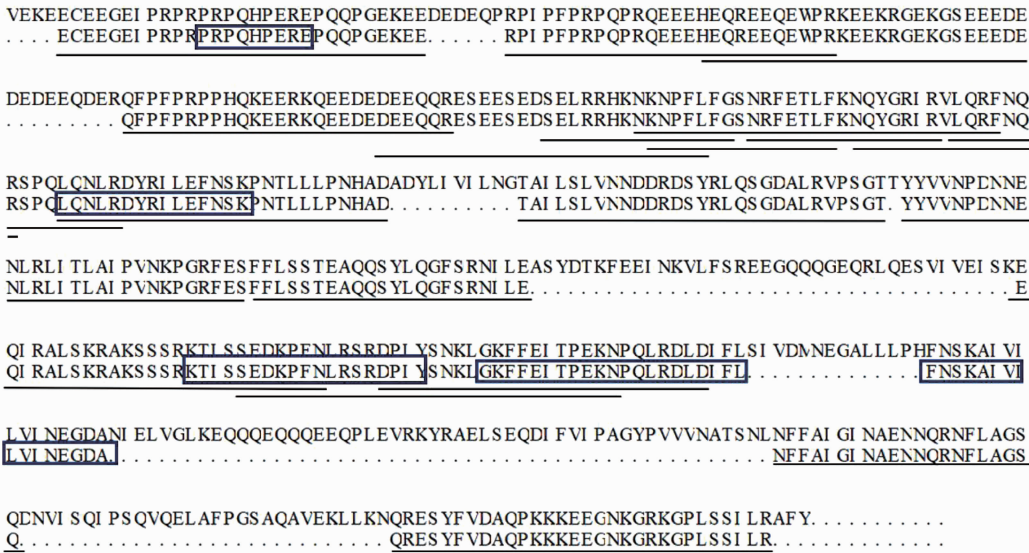
但是抗原决定簇在蛋白质中的情况较为复杂,因此对其进行定位与预测存在着很大困难。而传统利用单一的试验方法进行定位,存在难度较大、操作繁杂、效率低等显著缺点。随着生物信息学的发展,利用生物信息学数据和相关的软件可以预测抗原表位,这不仅节约了时间,减轻了工作量,更大大加快了研究的进程,取得了较好的试验成果^[35]。研究者们通过这些已有的研究成果进行收集整理,开发出了 B 细胞表位数据库。目前,建立的 B 细胞表位数据库主要有 PDB^[36]、CED^[37] 和 IEDB^[38]。通过数据库可以检索出由公开出版物收集和研究者自行提交的抗原表位。此外,每一个 B 细胞抗原表位都提供了对应的研究文献、来源、结构和试验验证等相关信息^[38-39]。 β -伴大豆球蛋白是大豆中主要的致敏蛋白,本实验室主要对 β -伴大豆球蛋

白的抗原表位进行深入研究。利用生物信息学手段对 β -伴大豆球蛋白 3 个亚基的抗原表位进行总结,对于了解并解决其过敏问题有重要意义。也为预测研究不同的食物过敏原蛋白提供思路。

2.1 β -伴大豆球蛋白的 α 亚基表位

通过 IEDB 数据库(www.iedb.org)检索 β -伴大豆球蛋白 α 亚基的 B 细胞抗原表位。检索出的是经由不同的研究者验证的 223 条抗原表位^[40-43],均是线性表位,前人经过 239 次试验验证,一共得到 22 条具有显著性的抗原表位。为便于后续对 β -伴大豆球蛋白 3 个亚基抗原表位进一步研究,利用 DNA Star 生物信息学软件的 Protean 程序,在 α 亚基氨基酸全序列中查找 22 条筛选出来的显著性抗原表位(图 1),3 个亚基抗原表位所在区域相同的氨基酸序列有待于下一步研究。

由图 1 中可知, β -伴大豆球蛋白 α 亚基的全序列和已经被预测的抗原表位区域之间的重合度接近 70%,表明其是大豆蛋白中主要的致敏原。此外,由于 3 个亚基之间的序列同源性较高,且具有相同的表位序列, α 亚基与 α' 或 β 亚基很可能存在交叉反应,这意味着在对 3 个亚基分别进行研究时,要排除交叉反应的影响。此外,不同研究中通过试验验证的表位之间的重叠部分极有可能是致敏性最强的部分。



“_____”标记的是已报道的抗原表位的位置。方框内的是 α' 或 β 亚基的相同的氨基酸序列。下同。
“_____”is the location of the epitope given in the reference. Within the box are the identical amino acid sequences compared with α' or β subunit. The same below.

图 1 β -伴大豆球蛋白 α 亚基氨基酸序列及其已经报道的抗原表位

Fig. 1 The amino acid sequence of β -conglycinin α subunit and the reported epitopes in the references

2.2 β -伴大豆球蛋白的 β 亚基表位

通过 IEDB 数据库 (www.iedb.org) 检索 β -伴大豆球蛋白 β 亚基的 B 细胞抗原表位。与在 β 亚基的氨基酸序列上查找已验证的抗原表位^[41-44] (图 2), IEDB 数据库收录的经过验证的 β -伴大豆球蛋

白 β 亚基的抗原表位存在区域与 β 亚基氨基酸全序列的重合度约为80%。这表明 β -伴大豆球蛋白的 β 亚基含有较多的抗原表位,是大豆蛋白中主要的致敏原。

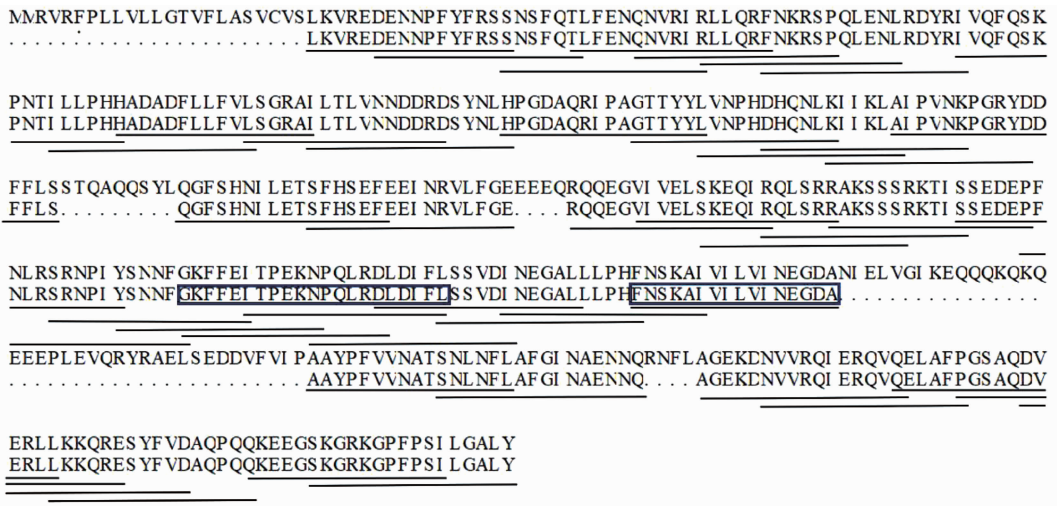


图2 β -伴大豆球蛋白 β 亚基氨基酸序列及其已经报道的抗原表位

Fig. 2 The amino acid sequence of β -conglycinin β subunit and the reported epitopes in the references

2.3 β -伴大豆球蛋白的 α' 亚基表位

通过 IEDB 数据库(www.iedb.org)检索 β -伴

大豆球蛋白 α' 亚基的 B 细胞抗原表位。在 α' 亚基氨基酸序列中查找已验证的^[40-44] 抗原表位(图 3)。

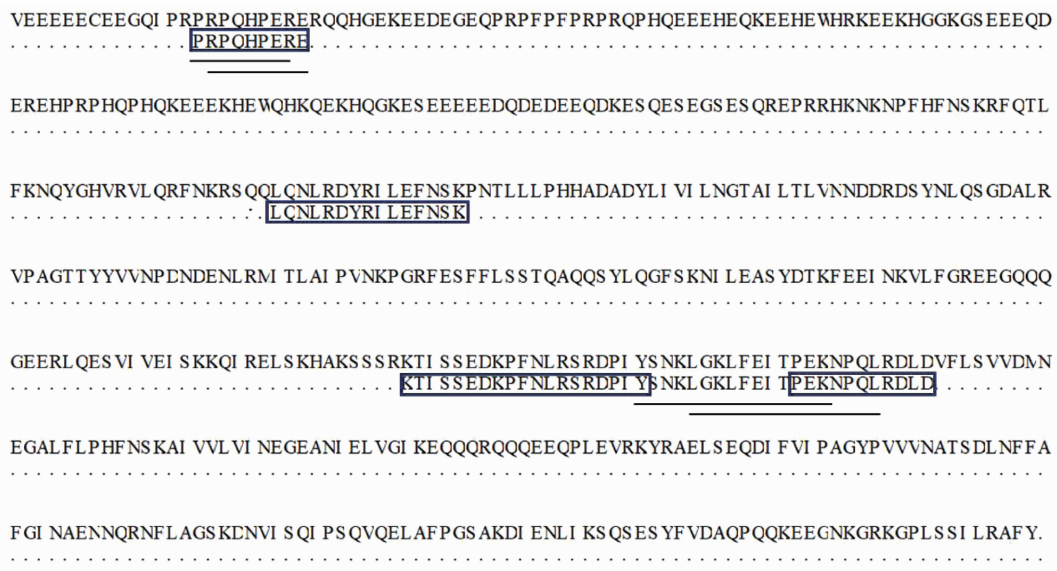


图3 β -伴大豆球蛋白 α' 亚基氨基酸序列与已经报道的抗原表位

Fig.3 The amino acid sequence of β -conglycinin α' subunit and the reported epitopes in the references

由图3中可知,IEDB数据库收录的经过验证的 β -伴大豆球蛋白 α' 亚基的抗原表位较少且较为集中。比对结果表明 β -伴大豆球蛋白 α' 亚基的致敏性可能没有 α 和 β 亚基强,不是最主要的致敏原蛋白。

3 不同加工方式对大豆蛋白过敏原的影响

近年来,通过采用不同的加工方式降低或消除过敏原的抗原性与致敏性,从采用单一处理方式到多种处理方式协同处理,均对过敏原的抗原性与致敏性的消减起到一定程度的影响。超高压处理作为一种新兴的非热加工技术,已经用于降低大豆蛋白的免疫反应性。Elena 等^[45]研究表明经过超高压处理萌发的豆芽抗原性显著降低,加压种子的抗原性反而更高,并指出抗原性的变化是由于超高压诱导了蛋白质结构的展开和蛋白质变性,这可能有利于萌发期的大豆种子蛋白的构象表位暴露于激活状态下的蛋白酶。赵益菲等^[46]的研究表明,采用超高压处理大豆球蛋白能够有效地降低其抗原性,经由超高压处理的大豆球蛋白的二级结构中有序结构含量下降,无序结构与疏水性区域增加,进而推测是蛋白质中表位的破坏或掩盖使大豆球蛋白的抗原性降低。Li 等^[47]研究了超高压对婴儿配方食品中大豆分离蛋白的致敏性与结构特性的影响,结果表明,在压力 300 MPa 处理 15 min 时,可以最大程度的消减婴儿配方食品中大豆分离蛋白过敏原能力,且超高压会影响巯基的含量和疏水性等相互作用,使螺旋与转角含量显著上升,而折叠和有序结构含量显著下降,过敏原的抗原表位与二级结构密切相关^[47]。

热处理作为常用的食品加工方式,能够使蛋白质空间结构发生改变,影响抗原表位的识别,从而降低其致敏性。赵益菲等^[48]的研究发现,热处理可以一定程度的降低 β -伴大豆球蛋白的免疫原性,但不能完全消除,红外光谱的结果表明,热处理后蛋白质有序结构减少,而无序结构含量增加,蛋白质空间结构的改变可能掩盖了表面的抗原表位,从而使蛋白质抗原性降低。Ling 等^[43]的研究结果表明,经过热处理的大豆球蛋白更容易被其单克隆抗体识别,这可能是由于连接酸性与碱性多肽的二硫键断裂所致,这种破坏可能增加了表位的可及性和与变性有关的构象变化。此外,利用酶法也可以降低大豆蛋白的抗原性。蛋白酶可以将蛋白质水解成多肽,破坏原有的抗原表位,使其无法被免疫细胞识别,从而降低其抗原性。Yamanishi 等^[49]利用 8 种蛋白酶水解大豆蛋白,利用免疫印迹方法检测酶解产物的免疫原性,结果表明,Proleather 和 Protease N 两种酶水解可以显著降低大豆蛋白抗原表位与单克隆抗体的结合。另有研究表明利用生物发酵的方式,也可以对大豆蛋白的免疫反应性产生影响。Meinlschmidt 等^[50]研究了不同菌种的液态发酵对大

豆分离蛋白的免疫反应性的影响,发现瑞士乳杆菌发酵能够显著降低大豆蛋白的免疫反应性,降低效果几乎达到 100%。这种强降低效果可能是由于大豆蛋白表面构象表位的改变,导致 IgE 结合能力变化所引起的。综上所述,不同的单一加工方式可以有效地降低大豆致敏蛋白的抗原性。

此外,采用两种不同的加工方式结合处理会显著降低大豆致敏蛋白的抗原性。Meinlschmidt 等^[51]提出利用超高压辅助酶解来降低大豆免疫活性,结果表明,在酶水解前施加 500 MPa 的压力,几乎无法检测出处理后的 β -伴大豆球蛋白的免疫反应性,SDS-PAGE 和 LC-MS/MS 结果发现 β -伴大豆球蛋白的结构发生变化,大分子量的蛋白被水解,形成小分子的肽,可能破坏了原有的抗原表位。Peñas 等^[52]的研究结果也发现,在高压条件下酶解大豆乳清,可以显著降低大豆乳清中过敏原 Glym 1 的致敏性,且这种协同方式比单一方式的处理效果更好。另外,Kasera 等^[53]使用热处理结合 γ 辐射处理 3 种豆类,结果表明,相比于单独加热,结合处理可以显著降低 IgE 的结合能力,且单独 γ 辐射处理不会对 IgE 结合能力产生影响。因此,不同的加工方式相结合可以对大豆过敏原的蛋白结构产生影响,改变其抗原表位,从而达到降低过敏原的抗原性与致敏性的目的。

4 结语与展望

本文综述了大豆主要的过敏原蛋白,并利用生物信息学方法,结合过敏原表位数据库总结 β -伴大豆球蛋白 3 个亚基的 B 细胞表位,利用生物信息学软件整理出抗原表位可能存在的氨基酸序列区间。此外,阐述了不同加工方式对大豆过敏蛋白的影响。不同的加工方式作用于蛋白质的空间结构,进而改变蛋白质表面抗原表位的状态,致使蛋白的抗原性与致敏性产生变化。这将为进一步利用不同的加工方式开发低致敏性或无致敏性大豆产品提供理论依据。

随着大豆及其加工制品应用的越来越广泛,对大豆过敏问题的关注也更加全面与深入。首先,对大豆主要过敏原表位进行的研究以及其数据库的完善,有利于筛选出关键性的优势表位,建立优势表位的免疫学检测方法。其次,已有研究表明,不同的加工方式对大豆过敏原的致敏性会产生显著影响,但是对于大豆蛋白过敏原的抗原表位鲜有研究,在加工过程中具体被破坏、暴露或掩埋的抗原表位还有待进一步研究。最后,构建并利用表位抗体可以进一步揭示不同加工方式对大豆及其制品

致敏性的影响机理,并有助于开发低致敏性或无致敏性的大豆蛋白产品。

参考文献

- [1] Friedman M, Brandon D L. Nutritional and health benefits of soy proteins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(3):1069-1086.
- [2] You J M, Sun P, Li D, et al. A novel method using immuno-affinity chromatography for isolating β -conglycinin from soybean proteins[J]. *Food Chemistry*, 2009, 117(2):371-374.
- [3] Van Bostel E L V, Broek L A V D, Koppelman S J, et al. Legumin allergens from peanuts and soybeans: Effects of denaturation and aggregation on allergenicity[J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2008, 52(6):674-682.
- [4] Saeed H, Gagnon C, Cober E, et al. Using patient serum to epitope map soybean glycinins reveals common epitopes shared with many legumes and tree nuts[J]. *Molecular Immunology*, 2016, 70:125-133.
- [5] Batista R, Martins I, Jenó P, et al. A proteomic study to identify soya allergens-the human response to transgenic versus non-transgenic soya samples[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2007, 144(1):29-38.
- [6] David T. Food allergy: Adverse reactions to food and food additives[J]. *Archives of Disease in Childhood*, 1997, 77(4):368-374.
- [7] 张伟, 余传信. 抗原表位的研究进展及其应用[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2012, 24(1):99-103. (Zhang W, Yu C X. Research and application of epitope[J]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, 2012, 24(1):99-103.)
- [8] 龚育清, 杨安树, 陈红兵, 等. 基于生物技术控制大豆过敏原的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(10):375-379. (Gong Y Q, Yang A S, Chen H B, et al. Research progresses in the control of soybean allergen on the basis of biotechnology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(10):375-379.)
- [9] Mujoo R, Trinh D T, Ng P K W. Characterization of storage proteins in different soybean varieties and their relationship to tofu yield and texture[J]. *Food Chemistry*, 2003, 82(2):265-273.
- [10] Hoffmann-Sommergruber K. Plant allergens and pathogenesis-related proteins. What do they have in common? [J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2000, 122(3):155-166.
- [11] Maruyama N, Katsube T, Wada Y, et al. The roles of the N-linked glycans and extension regions of soybean β -conglycinin in folding, assembly and structural features[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1998, 258(2):854-862.
- [12] 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]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 1995, 59(5):831-833.
- [13] Krishnan H B, Kim W S, Jang S C, et al. All three subunits of soybean β -conglycinin are potential food allergens[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(3):938-943.
- [14] Maruyama Y, Maruyama N, Mikami B, et al. Structure of the core region of the soybean beta-conglycinin alpha' subunit[J]. *Acta Crystallographica Section D-Biological Crystallography*, 2004, 60(2):289-297.
- [15] Spencer D, Boulter D. The physiological role of storage proteins in seeds and discussion[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1984, 304(1120):275-285.
- [16] Murphy P A, Resurreccion A P. Varietal and environmental differences in soybean glycinin and β -conglycinin content[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1984, 32(4):911-915.
- [17] Wang T, Qin G X, Sun Z W, et al. Advances of research on glycinin and β -conglycinin: A review of two major soybean allergenic proteins[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2014, 54(7):850-862.
- [18] Prak K, Nakatani K, Katsube-Tanaka T, et al. Structure-function relationships of soybean proglycinins at subunit levels[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(9):3650-3657.
- [19] Adachi M, Kanamori J, Masuda T, et al. Crystal structure of soybean 11S globulin: Glycinin A3B4 homo-hexamer[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(12):7395-7400.
- [20] 郑树贵, 曹松屹, 孙泽威, 等. 天然大豆球蛋白亚基的分离纯化[J]. *中国油料作物学报*, 2009, 31(1):75-80. (Zheng S G, Cao S Y, Sun Z W, et al. Isolation and purification of native glycinin subunits[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2009, 31(1):75-80.)
- [21] Helm R M, Cockrell G, Connaughton C, et al. A soybean G2 glycinin allergen[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2000, 123(3):205-212.
- [22] Zeece M G, Beardslee T A, Markwell J P, et al. Identification of an IgE-binding region in soybean acidic glycinin G1[J]. *Food and Agricultural Immunology*, 1999, 11(1):83-90.
- [23] Xiang P, Beardslee T A, Zeece M G, et al. Identification and analysis of a conserved immunoglobulin E-binding epitope in soybean G1a and G2a and peanut Ara h 3 glycinins[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 408(1):51-57.
- [24] Beardslee T A, Zeece M G, Sarath G, et al. Soybean glycinin G1 acidic chain shares IgE epitopes with peanut allergen Ara h 3[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2000, 123(4):299-307.
- [25] Helm R, Cockrell G, Herman E, et al. Cellular and molecular characterization of a major soybean allergen[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 1998, 117(1):29-37.
- [26] Ogawa T, Tsuji H, Bando N, et al. Identification of the soybean allergenic protein, Gly m Bd 30k, with the soybean seed 34-kDa oil-body-associated protein[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1993, 57(6):1030-1033.
- [27] Ogawa T, Bando N, Tsuji H, et al. Investigation of the IgE-binding proteins in soybeans by immunoblotting with the sera of the soybean-sensitive patients with atopic dermatitis[J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 1991, 37(6):555-565.
- [28] Tsai J J, Chang C Y, Liao E C. Comparison of allergenicity at Gly m 4 and Gly m Bd 30k of soybean after the genetic modification[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(6):1255-1262.
- [29] Gagnon C, Poysa V, Cober E R, et al. Soybean allergens affect-

- ing north american patients identified by 2D gels and mass spectrometry[J]. *Food Analytical Methods*, 2010, 3(4):363-374.
- [30] 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]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2000, 122(4):238-245.
- [31] Xiang P, Haas E J, Zeece M G, et al. C-terminal 23 kDa polypeptide of soybean Glym Bd 28k is a potential allergen[J]. *Planta*, 2004, 220:56-63.
- [32] Tsuji H, Bando N, Hiemori M, et al. Purification and characterization of soybean allergen Gly m Bd 28k[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1997, 61(6):942-947.
- [33] Barlow D J, Edwards M S, Thornton J M. Continuous and discontinuous protein antigenic determinants[J]. *Nature*, 1986, 322(6081):747-748.
- [34] 胡纯秋, 高金燕, 陈红兵, 等. 热加工对花生过敏原 Ara h 2 抗原性及构象的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(9):2550-2554. (Hu C Q, Gao J Y, Chen H B, et al. Effect of heat treatment on the antigenicity and conformation of peanut allergen Ara h 2[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2010, 30(9):2550-2554.)
- [35] 单晓红. 大豆和牛奶致敏原表位预测及加工对其抗原性和结构的影响[D]. 无锡:江南大学, 2013; 3-4. (Shan X H. Prediction of soybean and milk allergen peptides and effects of processing treatment on their antigenicity and conformational structure[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013; 3-4.)
- [36] Berman H M, Westbrook J, Feng Z, et al. The protein data bank[J]. *Genetica*, 2000, 106(1-2):149-158.
- [37] Huang J, Honda W. CED: A conformational epitope database[J]. *BMC Immunology*, 2006, 7(1):1-8.
- [38] Vita R, Mahajan S, Overton J A, et al. The immune epitope database (IEDB)[J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(D1):339-343.
- [39] 马凡舒, 张蕾, 王洋, 等. B 细胞抗原表位预测方法的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2016, 43(1):63-67. (Ma F S, Zhang L, Wang Y, et al. Advance on prediction methods of b-cell antigen epitope[J]. *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2016, 43(1):63-67.)
- [40] Kuhne Y, Reese G, Ballmer-Weber B K, et al. A novel multipetide microarray for the specific and sensitive mapping of linear IgE-binding epitopes of food allergens[J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2015, 166(3):213-224.
- [41] Sun X, Shan X, Yan Z, et al. Prediction and characterization of the linear IgE epitopes for the major soybean allergen β -conglycinin using immuno informatics tools[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 56(12):254-260.
- [42] Fu C J, Jez J M, Kerley M S, et al. Identification, characterization, epitope mapping, and three-dimensional modeling of the α -subunit of β -conglycinin of soybean, a potential allergen for young pigs[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(10):4014-4020.
- [43] Huang L, Mills E N C, Carter J M, et al. Analysis of thermal stability of soya globulins using monoclonal antibodies[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1998, 1388(1):215-226.
- [44] Taliencio E, Loveless T M, Turano M J, et al. Identification of epitopes of the β subunit of soybean β -conglycinin that are antigenic in pigs, dogs, rabbits and fish[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(11):2289-2294.
- [45] Peñas E, Gomez R, Frias J, et al. High hydrostatic pressure effects on immunoreactivity and nutritional quality of soybean products[J]. *Food Chemistry*, 2010, 125(2):423-429.
- [46] 赵益菲, 布冠好, 陈复生. 超高压对大豆球蛋白抗原性及结构的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(17):92-97. (Zhao Y F, Bu G H, Chen F S. Effect of high hydrostatic pressure on the antigenicity and structure of glycinin[J]. *Food Science*, 2018, 39(17):92-97.)
- [47] Li H, Zhu K, Zhou H, et al. Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(2):808-814.
- [48] 赵益菲, 布冠好, 陈复生. 热处理对 β -伴大豆球蛋白结构及免疫活性的影响[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(5):51-56. (Zhao Y F, Bu G H, Chen F S. Influence of heat treatment on the immunoactivity and structures of β -conglycinin[J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2017, 38(5):51-56.)
- [49] Yamanishi R, Tsuji H, Bando N, et al. Reduction of the allergenicity of soybean by treatment with proteases[J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 1996, 42(6):581-587.
- [50] Meinschmidt P, Ueberham E, Jörg L, et al. Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein isolate[J]. *Food Chemistry*, 2016, 205:229-238.
- [51] Meinschmidt P, Brode V, Sevenich R, et al. High pressure processing assisted enzymatic hydrolysis - An innovative approach for the reduction of soy immunoreactivity[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2017, 40:58-67.
- [52] Peñas E, Préstamo 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.
- [53] Kasera R, Singh A B, Kumar R, et al. Effect of thermal processing and γ -irradiation on allergenicity of legume proteins[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50(10):3456-3461.