

독일바퀴 알레르겐의 특성규명에 관한 연구

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 내과학교실*, 기생충학교실†, 알레르기연구소

정병주 · 류정우 · 염혜영 · 박중원* · 홍천수*
이한일† · 옹태순† · 김규언 · 이기영

〈한글 요약〉

목적 : 바퀴벌레는 알레르기질환을 유발하는 중요한 기인항원이다. 우리 나라도 임상중상이 위중하여 이환율이 높은 바퀴항원에 의한 알레르기환자가 증가될 것으로 추정된다. 독일바퀴의 알레르겐은 최근까지도 논란이 되고 있다. 이에 저자들은 독일바퀴의 주알레르겐을 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

방법 : 알레르기피부시험 혹은 RAST검사에서 바퀴항원에 양성으로 나온 32명을 대상으로 하였다. 독일바퀴 조항원을 protease inhibitor를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우로 나누어 제조한 후 SDS-PAGE로 단백띠를 비교하였고 IgE immunoblot으로 독일바퀴 알레르겐을 규명하였다.

결과 : 조항원에 protease inhibitor를 첨가하지 않았을 경우에는 41 kD 단백띠는 관찰할 수 없었고 32, 55 및 78 kD 단백띠가 관찰되었다. Allergogram상 15개 이상의 단백띠가 있었는데 그중 10 kD 단백띠는 해상도는 높지 않으나 대상환자들의 혈청과 31%에서 결합하여 가장 호발하였으며 21, 25, 36 및 52 kD 단백띠는 각각 22, 28, 16, 및 19%의 환자들에서 관찰되었다

결론 : 바퀴벌레와 같은 동물성 알레르겐의 조항원을 제조할 때에는 체내에 존재하는 protease들의 작용을 억제시키는 물질을 첨가하여 주는 것이 좋을 것으로 생각되고, IgE와 주로 결합하는 바퀴단백은 분자량이 10, 21, 25, 36 및 52 kD이 중요한 단백질로 추정된다.

서 론

바퀴벌레는 알레르기질환을 유발하는 중요한 기인항원이다¹⁻⁵⁾. 우리 나라 호흡기알레르기 환자들에서 바퀴항원에 대한 감작률은 소아에서는 약

10%⁶⁾, 성인에서는 약 20%로^{7, 8)} 바퀴는 우리나라에서 소아뿐 아니라 성인에서도 알레르기질환의 중요한 흡입항원이 된다.

최근 미국에서 7개의 연구기관에서 합동으로 연구한 바에 의하면 도시에 거주하는 소아 천식환자들 중 바퀴항원은 감작률이 가장 높았고 임상중상이 위중한 경우가 많아서 다른 알레르겐에 감작된 환자들에 비해서 이환율도 가장 높았다⁹⁾. 또한 병원 응급실로 방문하였던 심한 천식환아들은 바퀴벌레에 감작되었던 경우가 가장 많아 바

본 연구는 연세의대 소아과학교실 연구비로 이루어졌음.

책임저자: 정병주 인천시 서구 가정동 511-6

인천세브란스병원 소아과

Tel: (032)572-7502 Fax: (032)572-9993

퀴벌레는 천식증상을 급격히 악화시킬 수 있는 중요한 위험요인이 된다는 보고도 있다¹⁰⁾. 우리나라도 주거환경이 서구화됨에 따라 임상증상이 위중하여 이환율이 높은 바퀴항원에 의한 알레르기환자가 증가될 것으로 추정된다.

바퀴벌레는 4,000여종(species)이 있는 것으로 알려져 있는데, 우리나라에서는 독일바퀴(*Blattella germanica*), 이질바퀴(*Periplaneta americana*), 검정바퀴(*Periplaneta fuliginosa*), 일본바퀴(*Periplaneta japonica*) 등 4종이 있는데 이 중에서 독일바퀴가 전국적으로 가장 널리 분포하고 서식밀도도 높아 독일바퀴가 우리나라에서는 가장 문제가 되는 것으로 추정된다^{11, 12)}.

독일바퀴 추출액에 포함되어 있는 다수의 단백질 중 주로 알레르기를 유발하는 단백질(주알레르겐)을 규명하는 것은 알레르기질환의 진단과 치료를 하는데 매우 중요한 기초자료가 된다. 독일바퀴의 알레르겐은 외국에서는 활발히 연구되어져 왔는데¹³⁻¹⁹⁾, 최근까지도 논란이 되고 있다^{18, 19)}. 즉 Arruda 등¹⁸⁾은 유전자 클로닝법으로 독일바퀴에는 분자량은 21-36 kD 사이인 Bla g 1-2, Bla g 4-6까지 5종류의 단백질이 주알레르겐으로 보고하였으나 Musmand 등¹⁹⁾은 westernblot법으로 36, 45, 50, 60 및 67 kD 단백질이 50% 이상의 환자에서 IgE와 결합하며 Arruda 등¹⁸⁾의 보고에는 존재하지 않는 60 kD 단백질은 약 80% 환자에서 IgE와 결합하여 이 단백질이 독일바퀴에서는 가장 중요한 알레르겐으로 작용할 것으로 보고하였다.

이에 저자들은 현재까지 논란이 되고 있는 독일바퀴의 주알레르겐을 규명하고자 본 연구를 실시하였다.

대상 및 방법

1. 대상

연세의대 알레르기클리닉을 방문한 호흡기알레르기 환자들 중 알레르기피부시험 혹은 RAST검사에서 양성인 32명을 대상으로 하였다.

2. 독일바퀴 조항원 제조

우리 나라에서 서식하고 있는 독일바퀴를 기생충학교실에서 기증받아 진균류에 오염되지 않도록 사육하였다. 독일바퀴 성충을 세척한 후 액화 질소로 냉동시켜 분쇄하였다. 바퀴가루를 ether로 지방을 제거한 후 Coca용액(NaCl 5 gm, NaHCO₃ 2.75 gm, phenol 5 gm/H₂O 1L)에 protease inhibitor cocktail²⁰⁾ 혹은 1:100, 1,000, 및 10,000으로 희석한 acetone을 첨가하여 waring blender로 잘 섞어서 냉장실에서 3일간 항원을 추출한 뒤 18,000 g로 30분간, 3회 원심 분리하여 상층액을 여과공의 크기가 1 kD인 투석막을 이용하여 millipore water에 투석하였다.

3. 독일바퀴 알레르겐 규명

1) SDS-PAGE, immunoblot 및 immunostain

Laemmli방법²¹⁾을 변형하여 SDS-PAGE를 실시하였다. Staking gel의 농도는 3%, separating gel은 15% gel을 사용하여 제조된 독일바퀴 조항원을 reducing sample buffer(2% SDS, 5% 2-mercaptoethanol, 60 mM Tris HCl, bromophenol blue pH 6.8)에 녹여 100°C에서 5분간 끓인 후 100V에서 20분, 200V에서 1시간 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 Coomassie stain을 하였다.

Towbin방법²²⁾으로 전기영동이 끝난 gel을 nitrocellulose membrane에 이행시켰다. 이 막을 TBS/tween with 1% BSA로 blocking한 뒤 독일바퀴 알레르기환자의 혈청과 실온에서 1일 결합시켰다. 여기에 alkaline phosphatase labeled goat antihuman IgE(Sigma chemical Co. Saint Louis, MO)를 반응시킨 뒤 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate(BCIP)와 4-nitro blue tetrazolium chloride(NBT)(Sigma chemical Co. Saint Louis, MO)법으로 발색시켰다.

결 과

1. 대상

대상환자 32명은 모두 바퀴벌레 알레르기피부 시험에서 양성이었으며, 동시에 실시하였던 RAST 시험에서 +1는 15명, +2 및 +3는 각각 9명과 6명이었고, 5명은 RAST시험을 실시하지 않았다 (Table 1).

Table 1. Subjects Profile

Group	RAST	Allergy skin test	No. of cases
1	+1	positive	15
2	+2	positive	9
3	+3	positive	3
4	ND*	positive	5
Total			32

*Not done

2. SDS-PAGE

바퀴체부에 존재하는 protease를 억제하기 위하여 protease inhibitor cocktail 혹은 acetone을 희석한 용액을 첨가하여 독일바퀴의 조항원을 제조하였는데 두 경우에서 SDS-PAGE로 분리된 단백질 양상은 동일하였고 acetone의 첨가정도에 따른 단백질 모습도 일치하였다. 이에 반해서 protease inhibitor를 첨가하지 않았을 경우에는 41 kD 단백질은 관찰할 수 없었고 32, 55 및 78 kD 단백질이 관찰되었다(Fig. 1).

3. Immunoblotting 및 immunostain

Protease inhibitor cocktail을 사용하여 제조한 독일바퀴 조항원으로 실시한 IgE immunoblot상 RAST +1에서는 60%, RAST +2 와 +3에서는 각각 66%와 100% 환자혈청에서 IgE와 결합하는 단백질을 관찰할 수 있었다. 알레르기피부시험만 양성이고 RAST를 실시하지 않았던 환자들에서는 단백질을 관찰할 수 없었다(Fig. 1). Allergogram상 15개 이상의 단백질이 있었는데 그중 10 kD 단백질은 해상도는 높지 않으나 대상환자들의 혈청과 31%에서 결합하여 가장 호발하였으며 21, 25, 36 및 52 kD 단백질은 각각 22, 28, 16 및 19%의 환자들에서 관찰되었다(Fig. 2).

고 찰

바퀴벌레는 3억 5천만년전에 진화된 가장 오래 되고 원시적인 곤충 중 하나이며 약 4,000종이 존재한다. 우리 나라와 같은 온대성기후 지역에서는 대부분 독일바퀴(*Blatella germanica*)가 주종을 이룬다^{11, 12)}. Perlman¹⁾이 1958년 바퀴벌레가 기관지천식의 원인이 될 수 있다는 것을 보고한 이래 바퀴 알레르기에 대한 많은 연구가 진행되었다. 최근 Rosenstreich 등⁹⁾이 미국 7개 도시에 거주하는 소아들을 무작위로 선정하여 조사한 바에 의하면 천식의 빈도는 31.2%였는데, 이들 중 바

Fig. 1. SDS-PAGE of German cockroach crude allergen extracts. Lane 1; molecular weight marker, lane 2; not add protease inhibitor mixture nor acetone, lane 3; add protease mixture, lane 4-6; add acetone 1: 10,000, 1,000, 100 dilution.

Fig. 2. IgE immunoblotting analysis of German cockroach allergens.
Lane 1-15; RAST 1+, lane 16-24; RAST 2+, lane 25-27; RAST 3+,
lane 28-32; RAST not done, lane 33; negative control.

퀴항원에 감작된 경우는 37%, 집먼지진드기는 35%, 고양이털은 23%로 바퀴가 소아천식의 가장 중요한 기인항원이 된다고 보고하였다. 또한 바퀴항원이 원인이 되었던 천식환자들은 집먼지진드기나 고양이털에 감작되었던 환자들에 비해 임상 증상이 위중하여 야간에 호흡곤란이 심하고 학교 결석 일수도 많으며 입원 치료하였던 경우도 3배나 많았다.

국내의 보고로는 이 등⁶⁾은 소아 호흡기알레르기 환자들 중 알레르기피부시험에서 바퀴항원의 양성률은 11.4%로 집먼지진드기, 고양이털 다음으로 높은 양성률을 보였고, 성인 호흡기알레르기 환자들에서도 바퀴항원의 양성률은 약 20%로^{7,8)} 바퀴는 우리 나라에서 소아뿐 아니라 성인에서도 알레르기질환의 중요한 흡입항원이 될 수 있음을 시사해 준다. 우리 나라의 주거환경이 서구화됨에 따라 임상증상이 위중하여 이환율이 높은 바퀴항원에 의한 천식환자가 증가될 것으로 추정된다.

독일바퀴 알레르기 질환을 명확히 진단하고 효과적인 치료를 실시하기 위한 기초연구로는 주알레르겐을 분리하고 그 특성을 규명하는 것이 첫 단계이며 가장 중요하다. Zwick 등¹³⁾이 면역형광법을 이용하여 연구한 바에 의하면 바퀴알레르겐은 위장관점막과 내용물, 신장과 상동기관인 Malpighian vessel 및 난자세포에 존재함으로 바

퀴체내에서 배설되는 물질이 주로 문제가 되는 것으로 보고하였다. Lehrer 등¹⁴⁾은 바퀴충체로 제조한 조항원이 바퀴의 대변으로 AST시험에서 유효하게 억제되는 것으로 보아 바퀴알레르겐은 배설물일 것이라는 Zwick 등¹³⁾의 주장을 뒷받침하여 주었다. 바퀴 배설물 내에는 다수의 단백질이 존재하는데 그들 중 어떠한 단백질이 주로 알레르기를 유발하는지, 그 주알레르겐은 현재까지 논란이 있다. Arruda 등¹⁸⁾이 유전자 클로닝법으로 독일바퀴의 주알레르겐을 분리한 바에 의하면 독일바퀴에는 Bla g 1-2, Bla g 4-6까지 5종류의 단백질이 주알레르겐으로 밝혀졌다. Bla g 1은 분자량이 20-25 kD인 단백질이나 그 기능은 아직 밝혀지지 않았고, Bla g 2는 36 kD 단백질로 aspartic protease와 유사한 아미노산 구조를 가지며, 미국바퀴에는 존재하지 않는다. Bla g 4는 21 kD 단백질로 아미노산 배열이 백서의 뇨단백, 우유의 beta-lactoglobulin이나 개 알레르기의 주알레르겐인 calycin과 유사한 구조를 가지고 있다. Bla g 5는 25 kD 단백질로 초파리의 glutathione transferase와 아미노산배열이 약 50%에서 일치한다. Bla g 6은 약 25 kD 단백질인 troponin으로 알려졌다.

이에 반해서 Musmand 등¹⁹⁾이 37명의 독일바퀴 알레르기환자들을 대상으로 독일바퀴의 배설

물과 충체를 SDS-PAGE와 IgE immunoblot을 시행해 본 결과 36, 45, 50, 60 및 67 kD 단백질이 50% 이상의 환자에서 IgE와 결합하는 것을 관찰하였다. 특히 Arruda 등¹⁸⁾의 보고에는 존재하지 않는 60 kD 단백질은 약 80% 환자에서 IgE와 결합하여 이 단백질이 독일바퀴에서는 가장 중요한 알레르겐으로 작용할 것으로 보고하였다. 국내에서도 동일한 실험을 실시하여 64 kD 단백질이 환자 혈청 IgE와 가장 강하게 결합하는 것으로 보고되었다²³⁾.

위와 같이 동일한 알레르겐에서 주알레르겐이 상이한 것은 연구기법의 차이에 의한 것으로 추정된다. Arruda 등¹⁸⁾이 실시한 유전자클로닝법은 바퀴벌레에서 mRNA를 분리하여 reverse transcription으로 cDNA를 만든 후 vector에 삽입하여 cDNA library를 제조하여 환자혈청, 단클론항체 혹은 oligonucleotide probe로 선별하는 기법이다. 이 방법은 주알레르겐의 유전자구조까지 규명할 수 있는 매우 유용한 최신기법이지만 cDNA library를 선별하는 과정에서 주알레르겐 클론들을 모두 찾아내지 못할 수 있다. Musmand 등¹⁹⁾의 westernblot법은 주알레르겐을 규명하는 가장 일반적인 방법인데 바퀴벌레의 경우에는 주의하여야 할 점이 있다. 바퀴벌레와 같은 동물성 알레르겐은 체내에 단백질을 분해하는 protease가 있는데 조항원을 제조하는 과정에서 protease가 다른 단백질을 분해할 수 있다. 또한 바퀴벌레를 사육하는 과정에서 사료에 진균들이 자랄 수 있는데 이것을 섭취한 바퀴로 조항원을 제조하면 조항원 내에 진균들이 포함될 수 있다.

따라서 저자 등은 조항원이 진균에 오염되지 않도록 주의하면서 사육하였고 protease inhibitor로 protease inhibitor cocktail 혹은 acetone을 추가한 경우와 전처치를 하지 않은 경우로 나누어서 바퀴조항원을 제조하여 SDS-PAGE를 실시하여 분리되는 단백질을 관찰하였는데 protease inhibitor를 첨가하지 않았을 경우에는 protease inhibitor로 전처치하였던 경우에 비해서 41 kD 단백질은 없었고 78, 55 및 32 kD 단백질이 관

찰되었다.

Protease inhibitor cocktail은 chymotrypsin, trypsin, 및 thrombin과 같은 serine protease를 억제할 수 있는 phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF), metalloprotease를 억제하는 EDTA, 그리고 pepsin, renin, cathepsin D, 및 chymosin 등과 같은 acid protease를 억제하는 pepstatin A, 그리고 serine 혹은 thiol protease를 억제할 수 있는 leupeptin 등을 적정 비율로 혼합한 용액을 사용하였다.

저자 등이 실시한 westernblot에서는 Musmand 등¹⁹⁾이 주알레르겐으로 보고한 60, 67 kD의 비교적 고분자량 단백질은 발견할 수 없었는데 이는 위에서 서술한 조항원제조시 protease inhibitor를 첨가하지 않아서 단백질이 변성되었을 것으로 추정되었다. 본 연구에서 분리된 21 kD 단백질은 Bla g 1 혹은 Bla g 4, 25 kD 단백질은 Bla g 5 혹은 Bla g 6, 36 kD 단백질은 Bla g 2로 추정된다. 한가지 흥미로웠던 사실은 10 kD과 52 kD 단백질은 Arruda 등¹⁹⁾의 보고에는 없었으나 본 연구에서는 매우 높게 발견되었는데 향후 이 단백질들에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

또한 본 연구에서는 알레르기피부시험상 양성으로 나왔던 환자들의 혈청 중 60%에서만 westernblot에서 단백질을 보였는데 동시에 실시한 RAST에서 +1은 60%, +2는 66%, +3는 100%에서 단백질을 보였다. Westernblot법은 IgE와 결합되는 단백질을 규명할 수 있는 장점은 있으나 알레르기피부시험이나 RAST에 비해서 예민도가 낮은 검사법으로 추정되나 향후 바퀴항원으로 유발시험을 실시하여 그 결과와 비교하여 진단적 가치를 평가해보는 것이 좋을 것으로 사료된다.

요 약

바퀴벌레와 같은 동물성 알레르겐의 조항원을 제조할 때에는 체내에 존재하는 protease들의 작용을 억제시키는 물질을 첨가하여 주는 것이 좋

을 것으로 생각되고, IgE와 주로 결합하는 바퀴단백은 분자량이 10, 21, 25, 36 및 52 kD이 중요한 단백질이며, westernblot법, RAST 및 알레르기피부 시험의 임상적 의의는 향후 전향적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구를 위해서 아낌없는 도움을 주신 새아희 선생님께 감사의 글을 드립니다.

참고 문헌

- 1) Perlman F. Insects as inhalant allergens. *J Allergy* 1958;29:302-28.
- 2) Kang B, Vellody D, Homburger H, Yunginger JW. Cockroach cause of allergic asthma: its specificity immunologic profile. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:80-3.
- 3) Kang B. Study on cockroach antigen as probable causative agent in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1976;58:357-65.
- 4) Shulaner FA. Sensitivity to cockroach in three group of allergic children. *Pediatrics* 1970;45:465-6.
- 5) Mendoza J, Synder FD. Cockroach sensitivity in children with bronchial asthma. *Ann Allergy* 1970;28:159-63.
- 6) 이기영, 김규연. 면역요법용 백신을 처방할 때 불필요한 항원을 배제하는 방법에 관한 연구. *알레르기* 1988;8:150-64.
- 7) 홍천수. 알레르기 피부반응 검사와 판독방법. *알레르기* 1993;13 Suppl 1:23-32.
- 8) 강석영, 최병휘, 문희범, 민경업, 김유영. 한국인 호흡기알레르기 환자에 있어의 피부시험 성적에 관한 연구. *알레르기* 1984;4:49-56.
- 9) Rosensteich DL, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavin RG, Gergen P, et al. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma.

New Engl J Med 1997;336:1356-63.

- 10) Pollart SM, Chapman MD, Fiocco GP, Rose G, Platts-Mills TAE. Epidemiology of acute asthma; IgE antibodies to common inhalant allergens as a risk factor for emergency room visits. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:875-82.
- 11) 이한일. 곤충위생학, 고문각, 서울, 1986:91-103.
- 12) 권순완, 오신근, 윤운기, 김성원, 이용석, 김광호 등. 우리 나라에 서식하고 있는 바퀴벌레의 분포에 관한 연구. *알레르기* 1993;13: 334-41.
- 13) Zwick H, Popp W, Sertl k, Rauscher H, Wanke T. Allergen structure in cockroach hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:623-30.
- 14) Lehrer SB, Horner WE, Menon P, Stankus RP. Comparison of cockroach allergenic activity in whole body and fecal extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:727-35.
- 15) Schou C, Lind P, Fernandez-Caldas E. Identification and purification of an important cross-reactive allergen from American(*Periplaneta americana*) and German cockroach(*Blattella germanica*). *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:935-46.
- 16) Kang BC, Wilson M, Price KH, Kambara T. Cockroach-allergen study: allergen patterns of three common cockroach species probed by allergenic sera collected in two cities. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87: 1073-80.
- 17) Helm RM, Squillace DJ, Jones RT, Brenner RJ. Shared allergic activity in Asian(*Blattella asahinai*), German(*Blattella germanica*), American(*Periplaneta americana*) and Oriental(*Blatta orientalis*) cockroach species. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1990;92: 154-61.
- 18) Arruda LK, Vailes LD, Benjamin DC, Chapman MD. Molecular cloning of German cockroach(*Blattella germanica*) allergens.

- Int Arch Allergy Immunol 1995;105:295-7.
- 19) Musmand JJ, Horner WE, Lopez M, Lehrer SB. Identification of important allergens in German cockroach extracts by sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and western blot analysis. J Allergy Clin Immunol 1995;95:877-85.
- 20) Bollag DM, Edelstein SJ. Protein methods. 1st ed. New York: Wiley-Liss Co., 1991:1-26.
- 21) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970;227:680-6.
- 22) Towbin H, Staehelin T and Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications: Pro North Acad Sci. USA 1979;76:4350-5.
23. 이기영, 김규언, 정병주, 이수영, 김동수. 한국에 서식하고 있는 바퀴벌레 *Blattella germanica*의 알레르기 항원성에 관한 면역학적 연구. 알레르기 1991;11:30-8.

= Abstract =

Identification and Characterization of German Cockroach Allergen

Byeung Ju Jeoung, M.D., Jeong Woo Ryu, M.D., Hae Yung Yum, M.D.
Jung Won Park, M.D.^{*}, Chein-Soo Hong, M.D.^{*}, Han Il Lee, M.D.[†],
Tai Soon Yong, M.D.[†], Kyu Earn Kim, M.D. and Ki Young Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Internal Medicine^{}, Parasitology[†],
Institute of Allergy, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Purpose : Cockroaches have been reported one of the major causes of allergic disease such as bronchial asthma and allergic rhinitis. About 10% of children and 20% of adult respiratory allergy patients have positive results of allergy skin tests to cockroach allergen. This finding suggests that cockroach is also important allergen in Korea. Among 4,000 species, German cockroach seems predominant species in the Korean peninsula. Identification and characterization of the major allergen is the first step in German cockroach allergen research. But, there have been controversies. It may depend upon different identifying methods. The aim of our study was to identify the major allergen in German cockroach using Westernblot.

Methods : Crude German cockroach allergen extracts with or without protease inhibitor cocktail mixture were prepared, and protein patterns of these two extracts were compared using SDS-PAGE and Coomassie stain. Sera from 32 atopic asthmatic patients with positive allergy skin test against cockroach allergen were used for IgE immunoblot.

Results : Coomassie stain after SDS-PAGE demonstrated some discordance between the differently prepared crude allergen extracts. In comparison with the allergen extract which abolished endogenous protease activity, the untreated extract revealed new 32, 55 and 78 kD protein bands and 41 kD protein band was disappeared. About 60% of sera with positive allergy skin test revealed IgE binding bands in Westernblot. Among them, 10, 21, 25, 36 and 52 kD protein band might seem important German cockroach allergen.

Conclusion : Finding above may suggest that endogenous protease could denature allergenic proteins in the process of crude cockroach allergen extract. The 10, 21, 25, 36, and 52 kD might be the important allergens in German cockroach.

Key Words : German cockroach, Protease inhibitor