

# 豬環狀病毒抗體檢測方法之研發

豬瘟研究組  
潘居祥 副研究員

## 摘要

豬第2型環狀病毒 (porcine circovirus type 2; PCV2) 包含2種主要開放讀碼區(open reading frames; ORFs)，ORF1 編碼病毒複製相關蛋白，ORF2 則編碼病毒殼體蛋白(capsid protein)，本試驗以原核系統表現 PCV2 之 ORF2 基因片段，研發 Indirect ELISA (iELISA) 法檢測 PCV2 抗體。以 RT-PCR 方式增幅 ORF2 基因，將 RT-PCR 產物以 TA(TA cloning) 選殖方式殖入 TOPO 載體，並以定序方式確認序列。將 ORF2 基因分別次選殖入 pET32a 及 pCold 兩種表現載體，經定序確認後質體分別轉形至 BL-21(DE3) 菌株，以 IPTG 誘導表現重組蛋白並測試是否為水溶性，結果顯示，pCold 質體表現之重組蛋白為可溶性，pET32a 質體表現之重組蛋白呈現不可溶性包涵體。ORF2 重組蛋白以 Western blot 法測試顯示，可辨識PCV2單株及多株抗體。將純化之 ORF2 重組蛋白以 2  $\mu\text{g/ml}$  濃度披覆於 96 孔微量盤，以 iELISA 方式測試 2 倍連續稀釋之 PCV2 陽性豬血清，可呈線性曲線。自製套組與進口商品化 iELISA 套組同時檢測 50 個田間豬血清 PCV2 抗體價，測得 OD 值之相關系數為 0.938，顯示兩種套組對 PCV2 抗體之檢測結果呈現高度一致性。