

# 國產迷你豬和一般屠宰場豬免疫球蛋白 IgG 抗原性之比較

黃天祥 費昌勇 馬屏禾\*

台灣省家畜衛生試驗所

將台大畜牧系自行育種 10 年之小耳種迷你豬血清及一般豬之血清以硫酸銨、陰離子交換樹脂及不容性色層分析等方法可分別自迷你豬和一般豬之血清中純化出 IgG，將二者分別免疫家兔，所得之抗血清與一般豬和迷你豬之全血清做凝膠免疫擴散試驗及免疫電泳試驗，結果顯示二者之抗原性完全相同。本研究證明迷你豬和一般豬免疫球蛋白之抗原性完全相同，故在一般免疫學之材料上可彼此通用。

蘭嶼土產迷你豬業經台大畜牧系李登元、宋元義兩位教授經 10 年完成純系育種<sup>(1)</sup>。由於迷你豬具備了體型小，性成熟早，耐粗食，飼養管理成本低等優點，因此極適合擔任實驗動物<sup>(1,2,3,4,5)</sup>。在形態學上已知其與一般豬無異<sup>(2)</sup>。在疾病之研究上，亦已知在豬瘟、日本腦炎、弓蟲病及一般繁殖病理上與一般豬無異<sup>(6,11)</sup>。但使用一般豬生產之診斷試劑，是否可用於迷你豬？且使用迷你豬生產之診斷試劑是否可用於一般豬，尚無科學依據，鑑於迷你豬在研究上之重要性<sup>(7)</sup>，筆者等特進行迷你豬免疫球蛋白之研究，以了解其免疫球蛋白之抗原性是否與一般家豬無異，據此在免疫學研究或診斷應用上可互相通用二者之材料。此外，此一報告亦為迷你豬免疫學之基礎研究。

## 材料與方法

一般豬血清之 IgG 純化及其特異性抗血清：

屠宰場所收集之豬血清，筆者等過去所研製<sup>(9,10)</sup>。

迷你豬血清：

台灣大學畜牧系自蘭嶼之小耳種迷你豬經 10 年育種完成之純種迷你豬血清<sup>(1,5)</sup>。台大畜牧系宋永義教授贈送。

迷你豬免疫球蛋白 IgG 之純化：

迷你豬血清以 50% 飽和度之硫酸銨沈澱後以 0.01 M, pH 7.6 之磷酸溶液透析，並以此相同溶液進行陰離子交換樹脂 (DEAE Sephacel) 層析，所析出之蛋白質再進行不容性色層分析，取得主尖峰蛋白質後，再進行線性濃度遞增之陰離子交換樹脂層析。以 0.01 M Tris, pH 8.0 為基本溶液 (Initial buffer)，以含 1 M 氯化鈉之基本溶液為終點溶液 (Limit buffer)。層析所得之第一個尖峰即為純 IgG。

特異性抗血清之製作：

抗迷你豬全血清之抗血清：迷你豬之全血

\* 國立台北護理專科學校

清 0.3 ml 與 Freund 完全佐劑混合後仿費等 (8,9) 之方法免疫家兔，得抗迷你豬全血清之抗血清。

抗迷你豬 IgG 之抗血清：將已純化之迷你豬 IgG 仿費等 (8,9) 之方法分別免疫家兔，得抗迷你豬 IgG 之抗血清。

凝膠沈降試驗：

按 Schreiner 和 Pesce (12) 之方法實施：即以 0.85 % 之 Agarose 置 Barbitol buffer ( Sodium barbitol 5 g, Sodium acetate ( 3H<sub>2</sub>O ) 3.25 g, Calcium Lactate 0.38 g, Distilled Water 100 ml, pH 8.0 ) 溶液加熱溶解。取 2 ml 覆於顯微鏡用載玻片上，冷卻後打洞。Sealing agar 及 Precoating agar 均為溶於蒸餾水之 0.3 % Agarose。

免疫電泳法：

按 Schreiner 和 Pesce (12) 之方法實施：仿凝膠免疫擴散法將溶於 Barbitol buffer 之 0.85 % Agarose 灌於載玻片上。打洞，Sealed，加抗原後以 Barbitol buffer 液電泳。電壓為 100mv，電泳時間為 120~150 分鐘（視 Bromophenol blue 之位置調整時間）。電泳後立刻挖溝，Sealed，加抗體。沈降線之染色：

按 Schreiner 和 Pesce (12) 之方法實施：抗體抗原反應完成後將玻片浸於 4℃ 之 PBS 溶液中，以磁棒攪動溶液，每 8 小時換液一次，共 6 次，然後取出，於 Agarose 上蓋以濕濾紙，於室溫中陰乾，以 1 % 之 Amido black ( 溶於 450 ml 之 12 % 冰醋酸，450 ml 之 16 % 醋酸鈉，及 100 ml 甘油之混合溶液中 ) 染色 30 ~ 60 分鐘。復置溶於 50 % 甲醇之 1 % 醋酸液中脫色。以移去過多之染料。脫色時間視程度調整。

迷你豬和一般豬 IgG 抗體之比較：

將抗迷你豬或一般豬 IgG 之抗血清分別與此二種豬之全血清做凝膠沈降試驗，以比較此二種豬血清中 IgG 抗體性之差異。

### 結 果

迷你豬 IgG 之純化：

迷你豬血清經陰離子交換樹脂以 0.01 M 磷酸溶液層析所得之蛋白質經以不容性色層分析後可得一常態分佈之尖峯 (圖 1)。取尖峯中央部份以免疫電泳分析後得知有一主沈澱線及另一條細小之沈澱線，故有再以線性濃度遞增之陰離子交換樹脂層析，經此一處理後可得一主尖峯，緊隨主尖峯後出現一小尖峯 (圖 2)。取主尖峯之部份經免疫電泳分析得知為純 IgG (圖 3)。

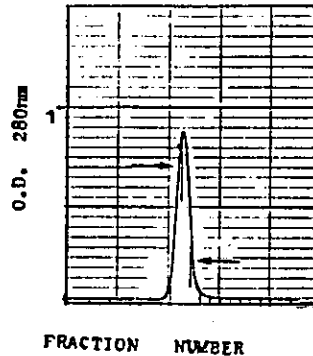


圖 1 經鹽析及陰離子交換樹脂處理後之迷你豬血清蛋白，再經不容性色層分析後之圖形。回收管數按箭頭所示。

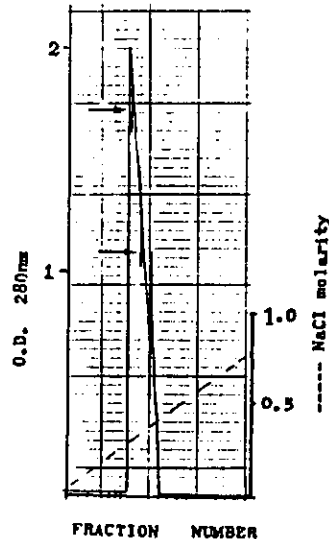


圖 2 經圖 1 不容性色層分析後回收之血清蛋白，再以線性濃度遞增之陰離子交換樹脂層析之圖形。回收管數按箭頭指示。



圖3 經純化後之迷你豬和一般豬之 IgG 以抗迷你豬和抗一般豬全血清之抗血清測定其純度。ms = 迷你豬全血清；mG = 迷你豬 IgG；G = 一般豬 IgG。ams = 抗迷你豬全血清；as = 抗一般豬全血清。

由圖3可知迷你豬血清中 IgG 之純化結果與吾人過去對一般豬之純化結果一致(圖3)。抗迷你豬和抗一般豬 IgG 之抗體與二者全血清之凝膠沈降試驗：

將迷你豬和一般豬 IgG 之抗血清分別與

迷你豬和一般豬之全血清做凝膠沈降試驗，結果顯示此四種成份所產生之沈降線在交叉點上並無馬刺 (SPUR) 或交叉 (Cross-Over) 現象，故知免疫學上 Isotype 之抗原性完全相同 (Identical) (圖4)。



圖4 以抗迷你豬 IgG 之抗血清(A)和抗一般豬 IgG 之抗血清(B)分別與迷你豬之全血清(C)和一般豬之全血清(D)經凝膠沈降試驗之反應結果。

## 討 論

迷你豬和一般豬之血清按本文之方法純化後所得之 IgG，分別以抗迷你豬和抗一般豬全血清之抗體以免疫電泳法測定得知為已純化之 IgG (圖 3)。由於經此法所純化之 IgG 尚未了瞭是包含了所有之亞族 (Subclass) 或僅為其中之一種或數種亞族，故不能根據此兩種豬之 IgG 在電泳中之位置來比較二者之抗原性。但由相同方法所純化出之兩種 IgG 在免疫電泳分析之沈澱線來看是完全一致 (圖 3)。理論上無論吾人所純化出之 IgG 是屬於何種亞族，由於均含有各亞族之共同抗原，故經免疫家兔所得之抗體必定可與血清中之所有 IgG 亞族結合。

由圖 4 可知抗迷你豬和一般豬 IgG 之抗血清與迷你豬和一般豬之全血清經凝膠沈降試驗得知在沈降線之交叉點上並無馬刺 (SPUR) 或交叉 (Cross-over) 現象，顯示此二組抗體和抗原在免疫學上完全相同 (Identical)。

迷你豬是十分理想之實驗動物，無論在基礎生理學或傳染病學之研究上，均能以遠較一般豬為低之成本進行試驗。台灣自行育種之迷你豬品種優良，目前已廣受國際重視。本研究證實迷你豬和一般豬之免疫球蛋白 IgG 在抗原性上完全相同。因此一切用於一般豬之抗體抗原反應之材料均可使用於迷你豬，如此可節省甚多基礎材料之製備及研究成本，對豬之研究上有莫大之幫助。

## 參 考 文 獻

1. 李登元、宋永義、劉瑞珍。1976。小型豬選育 I，台灣省本地小耳種豬性能之初步觀察報告。中國畜牧學會會誌。5：39～42。
2. 李登元、宋永義、劉瑞珍。1977。小型豬選育 II，本省小耳種豬自飼與手飼之生長發育比較。中國畜牧學會會誌。6：1～5。
3. 李登元、宋永義。1979。小型豬選育 III，本省小耳種豬近親配種之近親系選

- 拔。中國畜牧學會會誌。8：109～113。
4. 李登元、宋永義、黃添美。1980。小型豬選育 IV，本省小耳種近親配種之近親系選拔 (續)。中國畜牧學會會誌。9：153～156。
5. 李登元、宋永義、黃添美。1982。小型豬選育 V，本省小耳種豬近親配種之近親系選拔。中國畜牧學會會誌。11：41～44。
6. 吳福明。1982。蘭嶼小耳種公豬之繁殖病理調查。中華民國獸醫學會雜誌。8：59～69。
7. 吳福明、徐久忠、林鴻國。1984。蘭嶼豬的開發與利用(一)建立蘭嶼豬 SPF 實驗室。台灣畜牧獸醫學會會報。44：1～9。
8. 費昌勇、李永基。1983。雞血清中 IgG 和 IgM 之純化及其特異性抗體之製備。中華民國獸醫學會雜誌。9：119～124。
9. 費昌勇、黃天祥、賴秀穗、邱仕炎。1986。豬免疫球蛋白 IgG 及 IgM 特異性抗體之簡易生產法。中華民國獸醫學會雜誌。12：99～105。
10. 費昌勇、黃天祥、林敬覆、林榮培、曹素華。1986。抗豬免疫球蛋白 G 抗血清之簡易生產法，台灣省畜衛試所研報。22：63～72。
11. 賴秀穗、王吉德、王俊秀、吳福明。1980。台東及蘭嶼之蘭嶼小耳種豬一般豬病毒性疾病之血清抗體與內、外寄生蟲疾病之調查 (unpublished data)。
12. Schreiner, J.E. and A.J. Pesce. 1974. Immunochimistry. P. 97-127. In J.M. Brewer, A.J. Pesce, R.B. Ashworth (E.D.), Experimental Techniques in Biochemistry, 1st ed Prentice-Hall.

**THE COMPARISON OF IgG ANTIGENICITY BETWEEN THE TAIWAN  
MINIATURE AND CONVENTIONAL PIGS**

Huang, T.S. ., Andrew, C.Y. Fei , P.H. Mar\*

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

Seral IgG of native small-ear miniature pig, raised by the Department of Animal Husbandry, National Taiwan University, was purified by the means of salting out and column chromatography.

Specific antiserum against the IgG was produced by immunization of rabbits. The antigenicity of IgG was compared with the IgG of Common Pig, purified by the similar way as described, by agar gel precipitation and immunoelectrophoresis.

Result showed the antigenicity of the two IgG's were identical.

---

\* National Taipei College of Nursing.