

# 不同来源免疫球蛋白G的体外抑菌效果

罗明姬, 曹劲松, 彭志英

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广东 广州 510640)

**摘要:** 本文研究4种不同来源的IgG制品对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌作用。采用液体培养基连续稀释法对不同来源IgG做定性抑菌实验; 分别培养12、24h后将其做定量平板涂布实验。30℃恒温培养下, 牛初乳IgG、牛血IgG及猪血IgG对以上三种菌均具有一定抑制作用, 12h的抑菌效果更显著。在本实验条件下未观察到鸡蛋IgY对上述3种细菌的抑菌效果。37℃下, 仅观察到牛初乳IgG在80mg/ml浓度下对于 *St. aureus* 表现出一定抑菌作用。

**关键词:** 抑菌作用; 牛初乳IgG; 牛血IgG; 猪血IgG; 鸡蛋IgY

## Study on Antibacterial Effect *in Vitro* of Immunoglobulin G from Different Sources

LUO Ming-ji, CAO Jin-song, PENG Zhi-ying

(College of Food Scienc and Biotechnolgy, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The inhibition of immunoglobulin G from different sources on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* was studied respectively in this article. The qualitative inhibition of IgG on the three germs determined by tubes serial dilution test and quantitative newcombe experiment was made respectively after 12h and 24h of the fluid culture. Under 30℃, it showed that bovine colostrum IgG, bovine serum IgG and swine serum IgG inhibited respectively the three germs to some extent, and the antibacterial effect of those IgG in 12h culture was more remarkable. But chicken IgY did not inhibit any germ under the experiment condition. Under 37℃, it was observed that bovine colostrum IgG had only low inhibiting rate on *St. aureus* at 80mg/ml concentration.

**Key words:** antibacterial effect *in vitro*; bovine colostrum IgG; bovine serum IgG; swine serumIgG; chicken IgY

收稿日期: 2003-12-31

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(000501)

作者简介: 罗明姬(1977-), 女, 硕士研究生, 从事食品科学和食品生物技术研究。

Biochem, 1972, 31: 290-295.

[10] eile L, Leisinger T. Enzymes of arginine biosynthesis in *methanogenic bacteria*[J]. *Experientia*, 1984, 40: 899-900.

[11] Sakanyan V, Kochikyan A, Mett I, et al. A re-examination of the pathway for ornithine biosynthesis in a *thermophilic* and two *mesophilic* *Bacillus* species[J]. *J Gen microbial*, 1992, 138: 125-130.

[12] Sakanyan V, Charlier D, Legrain C, et al. Primary structure, partial purification and regulation of key enzymes of the acetyl cycle of arginine biosynthesis in *Bacillus stearothermophilus*: dual function of ornithine acetyltransferase[J]. *J GEN Microbiol*, 1993, 139: 393-402.

[13] Frederic Marc, Pierre Weigel, Christianne Legrain, et al. An invariant threonine is involved cleavage of the precursor protein for ornithine acetyltransferase[J]. *J Bio Chem*, 2001, 276: 25404-25410.

[14] F J Picard, J R Dillon. Cloning and organization of seven arginine biosynthesis genes from *Neisseria gonorrhoeae*[J]. *J. Bacteriology*, 1989, 171(3): 1644-1651.

[15] avis R. H. Compartmental and regulatory mechanisms in the arginine pathway of *Niuropora crassa* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Microbiol*, 1986, 50: 280-313.

[16] Hass D, Leisinger T. N-acetylglutamate 5-phosphotransferase of *Pseudomonas*. Catalytic and regulatory properties[J]. *Eur J Biochem*, 1975, 52: 377-383.

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)03-0039-04

在人体血清中, 受抗原刺激所表现的抗体活性主要与其中占 75%~80% 的免疫球蛋白 G(Immunoglobulin G, IgG)有关。IgG 同时能促进巨噬细胞的吞噬作用, 并具有激活补体、介导 ADCC 亲细胞活性、中和毒素、抗菌抗病毒、调节胃肠道等多种生物学活性。目前作为天然食品、饲料成分的 IgG 主要来自于哺乳动物的乳汁、血液及禽鸟的蛋黄, 作为“异源”抗体, 它们在人体胃肠道内具有抵抗一些经口致病原感染的作用。本论文研究了 4 种不同来源 IgG 基料(即牛初乳 IgG、牛血 IgG、猪血 IgG 和鸡蛋 IgY), 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌等三种菌的体外抑制作用。

1 实验材料

1.1 IgG 制品 牛初乳 IgG 基料(纯度 30%)由黑龙江福康生物科技有限公司提供, 牛血和猪血 IgG 基料(纯度 12%, 主要成分为 IgG、血清白蛋白)由武汉恩彼生物科技有限公司提供, 鸡蛋 IgY 粉(纯度 30%)由本实验室制备。

1.2 菌种 大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *St. aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, *B. Subtilis*)由本学院微生物实验室提供。

1.3 培养基

1.3.1 肉汤培养基 牛肉膏 5.0g、蛋白胨 10.0g、氯化钠 5.0g, 加水 1000ml 溶解后, 用 0.5mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.2~7.4, 高压灭菌(103.4kPa, 30min)。

1.3.2 牛肉膏琼脂培养基(BPA) 即肉汤培养基 1000ml, 另加入琼脂 20.0g, 至完全溶解, 高压灭菌(103.4kPa, 30min)。

2 实验方法

2.1 IgG 溶液制备

准确称取 IgG 粉 10g, 溶于无菌蒸馏水, 分别配制 1000mg/ml 牛初乳 IgG、1000mg/ml 牛血 IgG、500mg/ml 猪血 IgG、1000mg/ml 鸡 IgY。以上样品用 0.2 $\mu$ m 滤膜两次过滤除菌, 此后再置于 63℃水浴 30min 消毒。各取 1ml 平板活菌计数。

2.2 菌种活化及菌悬液的制备

实验菌种划线接种于牛肉膏琼脂培养基上, 30℃/37℃培养 24h 后挑选 1~2 个活化菌典型菌落接种至斜面 BPA 上, 置于 30℃/37℃培养 24h 后, 吸取 2ml 灭菌生理盐水于斜面管中, 小心将斜面上的菌刮下并混匀,

吸取 1ml 接种于 20ml 的肉汤培养基中, 30℃/37℃孵育, 培养时间为 16h, 再用灭菌生理盐水稀释至 10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup>cfu/ml(A<sub>560nm</sub> 约 0.4), 混匀, 供试。同时平板活菌计数。

2.3 IgG 抗菌实验

表 1 2 倍试管连续稀释情况

Table 1 A dilution series of double tubes test

管编号	1	2	3	4	5	试验菌对照	IgG 对照
普通肉汤(ml)	0.8	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.4
经处理 IgG(ml)	3.2	2.0	2.0	2.0	2.0	0.0	1.6
供试菌液(ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0

表 2 30℃恒温培养管不同 IgG 的抑菌率(%)

Table 2 The inhibition of immunoglobulin G from different sources to three germs

	管编号	时间(h)	1	2	3	4	5
<i>E. coli</i>	牛初乳	12	91.6	60.0	—	—	—
	IgG	24	68.4	15.8	—	—	—
	牛血	12	98.4	81.6	—	—	—
	IgG	24	93.7	47.4	—	—	—
	猪血	12	/	94.7	50.0	—	—
	IgG	24	/	60.5	—	—	—
	鸡	12	—	—	—	—	—
	IgY	24	—	—	—	—	—
<i>St. aureus</i>	牛初乳	12	98.2	91.8	47.1	—	—
	IgG	24	92.9	58.8	—	—	—
	牛血	12	97.6	88.2	11.8	—	—
	IgG	24	91.2	35.3	—	—	—
	猪血	12	/	92.9	52.9	—	—
	IgG	24	/	61.8	—	—	—
	鸡	12	—	—	—	—	—
	IgY	24	—	—	—	—	—
<i>B. Subtilis</i>	牛初乳	12	99.96	99.7	88.0	48.0	—
	IgG	24	99.2	92.8	61.6	—	—
	牛血	12	99.5	95.6	87.2	—	—
	IgG	24	97.9	84.0	52.0	—	—
	猪血	12	/	99.6	90.4	77.6	—
	IgG	24	/	98.4	84.0	36.0	—
	鸡	12	—	—	—	—	—
	IgY	24	—	—	—	—	—

注: 1. 管编号同表 1。即, 1、2、3、4、5 号管 IgG 粉浓度分别为 80、40、20、10、5mg/ml;  
2. 猪血 IgG 粉由于其溶解度所限而不能配制出均匀的、完全溶解的 80mg/ml 溶液, 在表中以符号“/”表示;  
3. 表中符号“—”表示, 本实验条件下该浓度的涂布量不可数而未得出抑菌率。

稀释和培养: 采用试管连续稀释法。将已经除菌处理的各 IgG 液用肉汤培养基如表 1 作 2 倍连续稀释, 并加入一定浓度菌液, 分别于 30℃恒温培养 12、24h 及 37℃恒温培养 24h, 观察细菌悬液生长情况; 同时, 分别作试验菌对照和各 IgG 液对照(试验菌对照管不加 IgG 液; IgG 液对照管不加试验菌)。分别在上述各系列浓度

管中选取3管不同浓度管培养液分别稀释10、10<sup>2</sup>、10<sup>3</sup>、10<sup>4</sup>倍后,取0.1ml涂布于BPA平板上,30℃/37℃培养24h,测定存活菌数,按照下式计算抑菌率:抑菌率%=(1-存活菌数/原始菌数)×100%。

3 结果与讨论

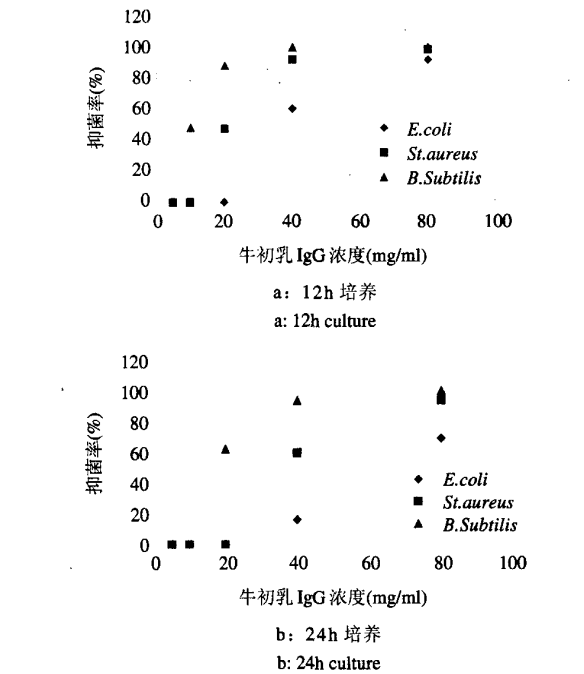
因各IgG液各有一定颜色及浊度,30℃及37℃恒温下,IgG抗菌管及试验菌对照管培养后,肉眼下难以确定各管是否有菌生长,并不能直接观察到最低抑菌浓度MIC。按照2.3方法涂布培养,可以分析不同抑菌效果。

各经除菌、灭菌处理IgG液活菌计数,及其后的肉汤培养中皆未发现有活菌生长。

实验发现,37℃组恒温培养管只有加入*St.aureus*的80mg/ml牛初乳IgG试管样最终涂布数量可数,最终为2.6×10<sup>4</sup>cfu/ml。对于*St.aureus*,37℃下,80mg/ml牛初乳IgG的抑菌率为85.6%。

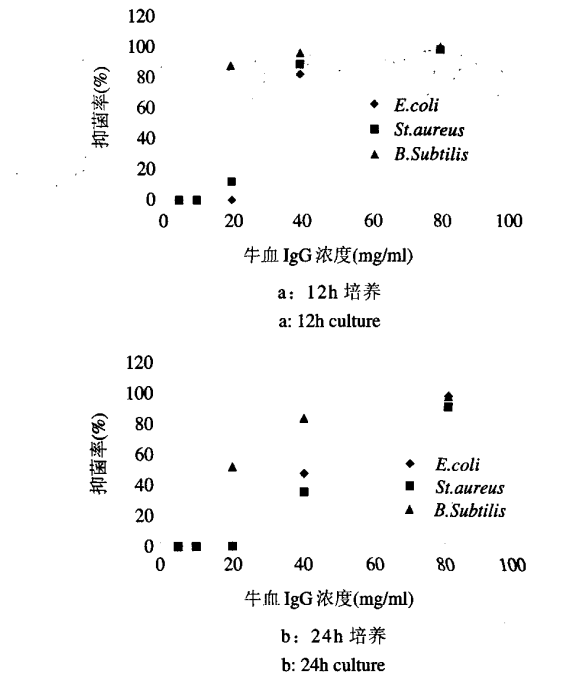
30℃恒温培养管中各IgG的抑菌率见表2,图1~3依次为牛初乳、牛血、猪血IgG制品对*E.coli*、*St.aureus*、*B.Subtilis*等3种菌在30℃恒温不同时间体现出的抑制效果。

上述实验图表中表明,30℃培养下,牛初乳IgG、牛血IgG及猪血IgG对以上三种菌均具有显著抑制作用,



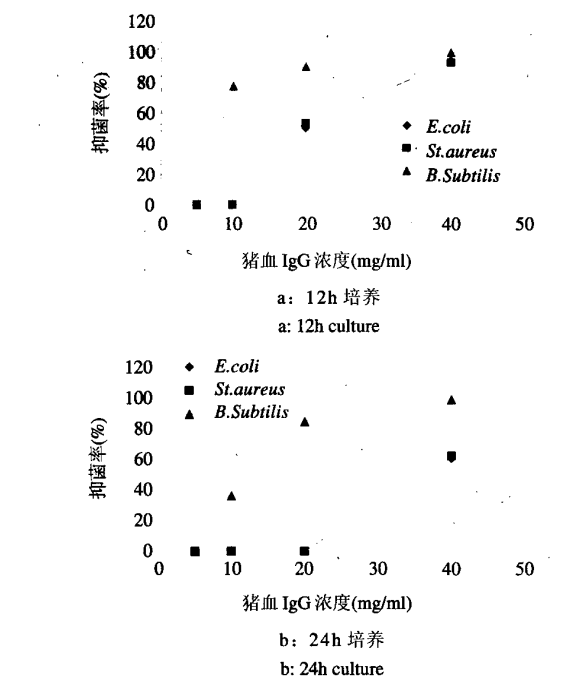
注: 80、40、20、10、5mg/ml牛初乳IgG粉浓度分别为对应于24、12、6、3、1.5mg/ml牛初乳IgG活性纯度。

图1 牛初乳IgG抑菌效果分析图  
Fig.1 Analysis chart of antibacterial effect of bovine colostrum IgG



注: 80、40、20、10、5mg/ml牛血IgG粉浓度分别为对应于9.6、4.8、2.4、1.2、0.6mg/ml牛血IgG活性纯度。

图2 牛血IgG抑菌效果分析图  
Fig.2 Analysis chart of antibacterial effect of bovine serum IgG



注: 40、20、10、5mg/ml猪血IgG粉浓度分别为对应于4.8、2.4、1.2、0.6mg/ml血IgG活性纯度。

图3 猪血IgG抑菌效果分析图  
Fig.3 Analysis chart of antibacterial effect of swine serum IgG

# 磷酸盐对肌球蛋白热凝胶硬度、保水性和超微结构的影响

徐幸莲, 王霞, 周光宏, 林丽军, 黄红兵

(南京农业大学 农业部农畜产品加工与质量控制重点开放实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 本文研究了焦磷酸钠(SPP)、三聚磷酸钠(TPP)和六偏磷酸钠(HMP)对肌球蛋白热诱导凝胶硬度、保水性和超微结构的影响。结果显示: SPP 和 TPP 使凝胶硬度下降, HMP 则相反; SPP 和 TPP 可降低 PM 和提高 SMp 凝胶的保水性, 而 HMP 可增大两者保水性; 扫描电子显微镜观察凝胶超微结构发现, SPP、TPP 使得蛋白凝胶网络中交联轴变长, 孔洞直径变大, HMP 的影响程度要小于前两者。

**关键词:** 兔骨骼肌; 肌球蛋白; 凝胶; 硬度; 保水性; 超微结构

## Effect of Phosphates on Heat-induced Gelation Properties of Myosin from Rabbit Skeletal Muscles

XU Xing-lian, WANG Xia, ZHOU Guang-hong, LIN Li-jun, HUANG Hong-bing

(Key Laboratory of Agricultural and Animal Products Processing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Effects of phosphates on heat-induced gelation properties (Hardness, Water holding Capacity and ultra microstructure) of myosin from rabbit skeletal muscles were studied. Results showed that Sodium pyrophosphate (SPP) and Trimeric sodium phosphate (TPP) decreased the gel hardness and Psoas major(PM) gel WHC, but increased Semimembranosus

收稿日期: 2004-05-08

作者简介: 徐幸莲(1962-), 女, 教授, 博士, 主要从事畜产品加工与质量控制研究。

且培养 12h 后表现出的抑菌效果较之 24h 更为显著。例如, 12h 培养的 80mg/ml 牛初乳 IgG(即活性牛初乳 IgG 浓度为 24mg/ml)对 *E.colis* 的抑菌率为 91.6%, 再经过 12h 培养后抑菌率降为 68.4%; 而同样对 *St.aureus* 12h 培养的抑菌率为 98.4%, 再经过 12h 培养后的抑菌率略有降低, 为 93.7%; 对于 *B.Subtilis* 12h 和 24h 培养的抑菌率分别高达 99.96% 与 99.2%。

人体内 IgG 活性的半衰期约为 23d。而从本实验结果的对比可以看出, 随着培养温度的升高和培养时间的延长, 部分 IgG 将失去活性。同时, 不同来源 IgG 对于不同菌种的抑菌率是不一样的, 原因可能有两个: 一是抗体只能与相应抗原发生特异性结合, 如抗 *St.aureus* 的抗体只能与 *St.aureus* 结合, 而不同 IgG 基料中针对不同菌种的特异性抗体含量是不同的; 二是基料中可能存在其它抑制实验菌的成分或与 IgG 有协同抗菌作用的成分, 例如牛初乳 IgG 基料中存在着具活性的乳铁蛋白、

乳过氧化物酶、溶菌酶等等。

鸡 IgY 在本实验条件下没有观察到对上述 3 种细菌的抑菌效果。但据国内外大量文献报道, 鸡蛋在其产生和贮存过程中通常会产生相当含量的抗 *St.aureus*、*E.colis* 的抗体, 在本实验中未有体现, 可能与鸡 IgY 的提取、加工过程, 或本实验条件导致该免疫球蛋白的某些功能区域发生改变有关。

最后, 采用本文抗菌实验方法, 可以有效克服 IgG 基料本身浊度、IgG 含量及活性等因素所带来的实验误差。

### 参考文献:

- [1] 李明远. 微生物学与免疫学[M]. 人民卫生出版社, 2000.
- [2] 祖若夫, 等. 微生物学实验教程[M]. 复旦大学出版社, 1993.
- [3] 范秀容, 等. 微生物学实验[M]. 高等教育出版社, 1998.
- [4] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验[M]. 科学出版社, 2002.