

大豆主要抗原蛋白对仔猪肠道致敏反应的研究

强嘉楠¹,赵元¹,赵寒冬²,潘丽¹,娜仁高娃¹,常美楠¹,王雪¹

(1. 吉林农业大学 动物科学技术学院/动物生产及产品质量安全教育部重点实验室/动物营养与饲料科学吉林省重点实验室,吉林 长春 130118; 2. 长春农业博览园,吉林 长春 130118)

摘要:大豆蛋白中存在的抗原物质,影响了大豆及后期加工成品在出生不久的幼龄动物的饲料配制中的广泛使用。作为仔猪主要蛋白日粮来源,大豆中存在的抗原物质对断奶仔猪生长性能有极大的危害。长期以来,学者们已对大豆抗原对仔猪的致敏机理做了深入研究,消化道作为营养物质消化吸收的重要场所是引起幼龄动物过敏反应的关键。本文从大豆主要抗原蛋白对仔猪肠道形态、营养物质消化率、免疫系统的影响以及引起仔猪肠道致敏的原因进行分析。以期日后研究大豆抗原蛋白致敏机理和指导合理配制仔猪日粮提供参考。

关键词:大豆抗原蛋白;仔猪;致敏;肠道

中图分类号:S565.1;S852.4⁺3 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2018.02.0322

Study on Gut Allergenic Responses of Soybean Major Antigen Protein

QIANG Jia-nan¹,ZHAO Yuan¹,ZHAO Han-dong²,PAN Li¹,NARENGAOWA¹,CHANG Mei-nan¹,WANG Xue¹
(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University/Key Laboratory of Animal Production, Product Quality and Security, Ministry of Education/Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Changchun 130118, China; 2. Changchun Modern Agricultural Park, Changchun 130118, China)

Abstract: The presence of antigenic substances in soy protein greatly affects the widespread of soybeans and post-processed finished products in the preparation of feed for small newborn animals. As a piglet diet, the presence of antigens in soybeans have a significant impact on the performance of weaned piglets. For a long time, scholars have done a deep research on the sensitization mechanism of soybean antigens to piglets. The digestive tract, as an important place for digestion and absorption of nutrients, is the key causing the allergic reaction in young animals. This paper summarizes the main antigenic protein of soybean on piglet intestinal morphology, nutrient digestibility, immune system and cause of piglet intestinal sensitization. It would provide a reference for the future research on sensitization mechanism of soybean antigen protein and rationally formulating piglet ration.

Keywords: Soy antigen protein; Piglets; Sensitization; Intestinal tract

目前,大豆中的抗原蛋白的种类已被确认的有 21 种。根据沉降系数不同可将大豆蛋白分为 2S、7S、11S、15S 球蛋白 4 个组分^[1]。其中 Glycinin (11S)和 β -conglycinin (7S)是引起仔猪腹泻等过敏反应的两种重要的抗原蛋白。

大豆抗原蛋白会使幼龄小猪诱发短暂的过敏反应,这是一种通过细胞传导的迟发型过敏反应,从而引发幼龄小猪产生淋巴细胞增生、绒毛严重脱落、加快隐窝细胞有丝分裂,同时还会导致幼龄小猪养分消化吸收率降低和非病原性的腹泻现象^[2]。当给幼龄小猪饲喂大豆抗原蛋白后,其中极少部分会通过小肠上皮进入到淋巴组织和血液系统,刺激其小肠的免疫系统,导致特异性抗原抗体效应的产生和 T 淋巴细胞引起的迟发型过敏症状,两种反应能分别使仔猪肥大细胞散发组织胺、影响细胞通透性、同时导致黏膜性水肿和肠道形态变化^[3]。作为

仔猪日粮,大豆中存在的抗原物质对断奶仔猪生长性能有极大的危害。研究日粮中大豆抗原蛋白对仔猪致敏反应,对于丰富优化动物饲料技术、合理利用饲料资源、保障动物饲料及人类食品安全均有重大意义。

1 仔猪小肠消化道的特点

小肠是仔猪采食后食物消化吸收的主要场所,通常断奶仔猪消化器官已经有良好的消化吸收能力,但是胃肠道状况还不够完善,运动机能较弱。仔猪出生后,直到自然断奶,消化道各个部位都存在各种细菌,同时,粪便中存在大肠杆菌和链球菌等微生物,肠道菌群尚未达到平衡^[4]。随着仔猪消化器官飞快发育,消化酶的分泌能力也飞快上升。仔猪断奶后,因为饲喂日粮突然由乳汁变成固体饲料,极易破坏仔猪小肠绒毛,从而影响仔猪营养物

收稿日期:2017-11-21
基金项目:国家自然科学基金(31572439,31572415);吉林省自然科学基金(20160101348JC);吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(2015198);吉林省重点科技研发项目(20180201018NY)。
第一作者简介:强嘉楠(1992-),女,硕士,主要从事饲料抗营养因子研究。E-mail:465472947@qq.com。
通讯作者:赵元(1981-),女,博士,副教授,主要从事饲料抗营养因子研究。E-mail:zhaoyuan4CL52@126.com。

质的消化吸收。当饲料中含有一些豆科谷物时,受干物质的影响仔猪隐窝加深,绒毛表面由指状变为平舌状,肠绒毛缩短,导致消化吸收面积减小,养分消化吸收能力降低^[5]。8 周岁以后,体内乳糖酶的活性逐步降低,脂肪酶、蛋白酶和淀粉酶的活依旧处于平稳状态,此时仔猪则可以放弃母乳,采食固体饲料^[6];目前的早期断奶手段打乱了仔猪原有的生长发育系统,特别是断奶应激使仔猪消化酶分泌能力突然降低,从而影响了食物的消化能力^[7]。

2 大豆抗原蛋白对仔猪消化道形态结构及其功能的影响

仔猪断奶早期,如果饲喂含有大豆的日粮,那么由于仔猪的自身免疫系统发育尚未完善,对蛋白质消化吸收能力较弱,容易出现蛋白质消化障碍,同时对大豆抗原产生免疫反应,引起小肠形态结构的变化,从而破坏仔猪肠道的免疫系统,导致肠黏膜屏障功能受到破坏,引起仔猪肠道过敏反应^[8]。进而使其养分消化力不断降低,引起幼龄仔猪发生腹泻,严重时甚至会导致死亡。

2.1 大豆抗原蛋白对仔猪肠道形态的影响

饲喂仔猪大豆抗原蛋白后,大量抗原物质未消化直接被肠道吸收,导致仔猪产生过敏反应,引起肠道损伤^[9]。这种损伤称为免疫损伤,一般发生在断奶后 3~4 d,损伤后 4~6 d 即能部分恢复^[10]。以往的相关研究发现:采食大豆粉的断奶仔猪,消化系统变化最大的是小肠细胞,主要为隐窝增生、绒毛萎缩。还有研究发现,饲喂添加大豆粕的日粮可导致幼龄动物尤其是断奶 1~2 周的仔猪,小肠绒毛畸形,进而抗原蛋白导致仔猪肠道形态损伤^[11-12]。Song 等^[13]以大豆蛋白为过敏原的研究进一步发现肠道发生过敏反应时其结构和功能发生损伤性变化,多数出现绒毛萎缩,腺窝增生,粘膜双糖酶活性下降等现象。在研究中发现断奶仔猪被灌服大豆蛋白提取液后,其绒毛高度、隐窝深度和绒毛宽度显著低于饲喂牛乳组,饲喂大豆蛋白的仔猪,刷状缘上皮细胞不完整,存在细胞融合等现象^[14]。研究发现给断奶仔猪饲喂大豆抗原蛋白后与采食不含大豆抗原的仔猪相比,体重减少 10%,绒毛面积减少 37%,十二指肠绒毛高度降低了 24%~36%^[15]。说明大豆抗原蛋白过敏反应可导致肠绒毛结构的变化。

2.2 大豆抗原蛋白对仔猪肠道营养物质消化率的影响

大豆主要抗原蛋白能够引起仔猪肠道过敏,导致肠道损伤,进而引发消化吸收障碍、过敏性腹泻

和生长受阻。王维等^[16]研究发现:饲喂含有大豆球蛋白的断奶仔猪日增重、养分消化率均显著降低,且每天都出现腹泻反应。分析其原因除了断奶仔猪生理特点外,肠上细胞边缘的双糖酶、蔗糖酶、乳糖酶、异麦芽糖酶浓度及活性的下降是影响仔猪营养物质消化率下降的重要因素。有研究发现发酵豆粕可以很好的改善断奶仔猪的肠道形态和消化酶活性^[17]。Tao 等^[18]在试验中发现猪采食大豆抗原蛋白的生理阶段,仔猪的营养物质消化率明显低于其它各生理阶段。通过发酵方式可使仔猪摄取大豆后营养物质吸收功能得到改善,大豆粕饲喂仔猪导致平均体重增加量显著增加,饲料消耗降低。饲喂发酵豆粕后 10% 和 15% 的仔猪血清碱性磷酸酶和总血清蛋白质水平显著提高,生长得到改善^[19-20]。赵元等^[21-22]以仔猪为研究对象,利用大豆球蛋白及 β -伴大豆球蛋白纯品对两种抗原蛋白在仔猪体内的变化进行了测定,发现 Glycinin 或 β -Conglycinin 可降低仔猪或成年猪干物质和粗蛋白在消化道各部位的表观消化率,最终会导致回肠养分表观消化率的绝对值较对照组减少 3%~6%。进一步研究还发现,大豆球蛋白还会导致仔猪小肠上皮细胞通透性增加。 β -Conglycinin 及其酶解产物处理仔猪肠上皮细胞,随着作用时间和刺激浓度的增加,蛋白通过网格型依赖内吞的转运方式跨上皮细胞后吸收量不断上升^[23-24]。综上所述,大豆主要蛋白对仔猪肠道营养物质消化率有很大影响。

2.3 大豆抗原蛋白对仔猪黏膜免疫系统的影响

仔猪采食含有大豆的日粮后,由于一小部分未被消化酶消化成小分子的蛋白质和碳水化合物穿过肠上皮细胞间的缝隙进入血液组织和淋巴,这些存在抗原活性的物质使机体产生分泌型 IgA、血清 IgA 及血清 IgE。分泌型 IgA 主要影响机体对抗原的免疫耐受性以及免疫排斥能力^[25]。血清 IgE 和 IgM 能与血液中的抗原相结合,引起机体发生免疫损伤。其中作为引起免疫损伤的重要抗体 IgE 具有一定的细胞亲和性,其中 Fc 部分与组织中肥大细胞上的 Fc 受体结合,从而使机体处于敏感状态^[26]。当抗原再次刺激机体后,与结合在肥大细胞上的 IgE 结合,使肥大细胞释放组胺等介质,从而引起肠黏膜水肿、杯状细胞黏液渗出等一系列不良反应。

3 大豆抗原蛋白对仔猪致敏原因分析

3.1 大豆抗原蛋白对仔猪致敏途径的分析

大多数的大豆抗原蛋白都要先降解成氨基酸和小肽,才能被仔猪肠道吸收,但是,新生哺乳动物的肠上皮可以通过完整的蛋白质分子。因此大豆

抗原蛋白在仔猪小肠内就可以通过黏膜上皮被吸收,然后进入血液系统。当抗原蛋白被吸收后,便可以使机体致敏。致敏机制通过3个途径:(1)特异性抗体 IgE 介导的 I 型过敏反应,又称速发型过敏反应。肥大细胞和嗜碱性粒细胞作为效应细胞,组胺与白三烯为效应因子,造成肠黏膜水肿且细胞通透性增加。(2)由过敏原与 IgM 和 IgG 形成的可溶性免疫复合物介导的 III 型变态反应又称超敏反应^[27]。主要导致组织器官损伤和充血性水肿等过敏症状。(3)由特异性 T 细胞介导的 IV 型过敏反应,为迟发型过敏反应,关键造成动物肠道形态结构的损伤。通常断奶仔猪采食大豆蛋白后,几种过敏途径将会同时发生,从而导致机体出现过敏现象。

3.2 仔猪消化道存在的具有免疫活性的抗原蛋白

目前,诸多学者对消化道内存在的具有免疫活性的抗原蛋白进行研究,Zhao 等^[28]发现食糜中的大豆球蛋白的活性从胃到十二指肠中部呈持续下降趋势,且下降幅度最大。鲍男^[29]发现从十二指肠到空肠中部大豆抗原蛋白的含量不断下降,其中十二指肠的积累光密度明显高于空肠中部。而且发现断奶仔猪的小肠上段含有蛋白质消化酶并发挥重要作用,大豆球蛋白在此段肠道几乎能够完全被降解^[30]。鲍男^[29]在试验中发现,仔猪在被饲喂大豆后,仔猪不但发生过敏反应而且检测出 7S 在小肠绒毛中的定位规律正常,变化趋势为先降低后升高。分析其原因可能是食糜中的抗原蛋白含量减少了,另一方面则可能是因为仔猪空肠后段和回肠中有细胞覆于黏膜淋巴表面,它们会和大豆抗原特异性结合,影响周围的柱状细胞对抗原的通透性。从而导致仔猪肠道内存在的大豆抗原蛋白诱发仔猪过敏。

3.3 仔猪消化道可能存在与抗原蛋白结合的受体

消化道是引起幼龄动物过敏的主要场所,消化道内残留的抗原蛋白是引起仔猪致敏的因素之一,除此之外,受体也可能导致仔猪发生过敏反应。受体是存在于细胞膜或细胞内的,可以结合细胞外专一信号分子从而激活细胞内相关生物反应,使细胞对外界刺激产生相应效应的特殊蛋白质。食物过敏一般是由消化道内开始引发,消化道内存在致敏蛋白,游金明^[31]用荧光标记的单克隆抗体检测到 β -conglycinin 可与仔猪的十二指肠、空肠和回肠上皮细胞结合,所以推测小肠上皮细胞中可能存在与大豆 β -conglycinin 相结合的受体,且理论上推断是细胞膜受体。如果肠上皮细胞表面有与之结合的受体,在这些受体的帮助下,致敏蛋白将信号传导

至细胞或组织的特定部位,通过级联反应发挥特定的生理作用,从而引发机体过敏。

4 展望

随着世界范围内养殖业的快速发展,人类对于饲料种类及其营养含量的需求与日俱增,大豆蛋白作为高质量的植物蛋白源,不但营养价值特别高,而且有着较高利用率。但同时大豆蛋白又是具有很强抗原性的植物蛋白,随时可导致婴儿和幼龄动物产生消化道过敏。消化道中大豆致敏原抗原表位是引起动物过敏的根本物质基础,它们也是造成动物对大豆蛋白过敏差异的原因之一,小肠上皮受体是接受过敏原并传递信号的靶蛋白,因而大豆致敏蛋白抗原表位及其受体分析对于寻求能够有效封闭抗原表位或受体等的过敏阻断剂极其重要,同时也可以为进一步揭示大豆抗原蛋白致敏机理提供理论依据。对于丰富优化动物饲料技术、合理利用饲料资源、保障动物饲料及人类食品安全均有重大意义。

参考文献

[1] 赵元,秦贵信,张晓东,等. 大豆蛋白中抗原物质的研究进展[J]. 大豆科学, 2007, 26(4): 613-617. (Zhao Y, Qin G X, Zhang X D, et al. Advances in antigenic matter of soybean protein [J]. Soybean Science, 2007, 26(4): 613-617.)

[2] 徐国栋,李智红. 中西医结合治疗种猪豆粕蛋白过敏性肠炎[J]. 中国动物保健, 2010, 12(3): 67-69. (Xu G D, Li Z H. Integrative treatment of bovine soybean protein allergic enteritis [J]. China Animal Health, 2010, 12(3): 67-69.)

[3] 游金明,李德发. 大豆抗营养因子研究进展[J]. 饲料与畜牧:新饲料, 2006(9): 40-43. (You J M, Li D F. Research progress on soybean anti nutritional factors [J]. Feed and Animal Husbandry: New Feed, 2006(9): 40-43.)

[4] 孙泽威,秦贵信,姜玉杰. 大豆抗原及其对仔猪和犊牛的影响[J]. 动物营养学报, 2005, 17(1): 20-24. (Sun Z W, Qin G X, Lou Y J. Soybean antigen and its effect on piglets and calves [J]. Journal of Animal Nutrition, 2005, 17(1): 20-24.)

[5] Guzmón P, Saldaña B, Cámara L, et al. Influence of soybean protein source on growth performance and nutrient digestibility of piglets from 21 to 57 days of age [J]. Animal Feed Science & Technology, 2016, 222(1): 75-86.

[6] 何明清,谢镜怀,朱玉兰,等. 对仔猪不同日龄不同肠段正常肠菌群与仔猪黄、白痢病原菌的关系的研究[J]. 四川农业大学学报, 1983(2): 243-249. (He M Q, Xie J H, Zhu Y L, et al. The piglets of different ages in different intestinal segments of normal intestinal flora and piglet, study the pullorum pathogens [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 1983(2): 243-249.)

[7] 徐昌领,陈训银. 断奶仔猪消化系统生长发育特点和营养调控措施[J]. 广东饲料, 2010(12): 37-38. (Xu C L, Chen X

- Y. Characteristics and nutritional regulation of growth and development of digestive system in Guangdong[J]. Guangdong Feed, 2010(12): 37-38.)
- [8] 刘欣, 冯杰. 大豆抗原蛋白与断奶仔猪腹泻的关系[J]. 饲料研究, 2005(2): 47-48. (Liu X, Feng J. Relationship between Soybean Antigen Protein and Diarrhea in Weanling Piglets [J]. Feed Research, 2005(2): 47-48.)
- [9] Dreau D, Lalles J P, Lejan C, et al. Hypersensitivity to soybean proteins in early weaned piglets: Humoral and cellular components [J]. Advances in Experimental Medicine & Biology, 1995, 371B: 865.
- [10] Zhu C, Wu Y, Jiang Z, et al. Dietary soy isoflavone attenuated growth performance and intestinal barrier functions in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide[J]. International Immunopharmacology, 2015, 28(1): 288-294.
- [11] Che L, Zhan L, Fang Z, et al. Effects of dietary protein sources on growth performance and immune response of weanling pigs[J]. Livestock Science, 2012, 148(1-2): 1-9.
- [12] Zhu C, Wu Y, Jiang Z, et al. Dietary soy isoflavone attenuated growth performance and intestinal barrier functions in weaned piglets challenged with lipopolysaccharide[J]. International Immunopharmacology, 2015, 28(1): 288-294.
- [13] Song Y S, Pérez V G, Pettigrew J E, et al. Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma[J]. Animal Feed Science & Technology, 2010, 159(1): 41-49.
- [14] 徐君. 大豆球蛋白和 β -伴球蛋白对小鼠肠上皮细胞营养生理功能的影响与分子机理研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009. (Xu J. Effects of glycinin and β -conglycinin on the nutrition and physiological functions of intestinal epithelial cells in mice [M]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2009.)
- [15] 龙定彪, 刘作华, 江山, 等. 哺乳期补饲大豆粕对断奶仔猪生产性能和肠道发育的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2013(13): 49-52. (Long D B, Liu Z H, Jiang S, et al. Lactation feeding soybean meal on the performance and intestinal development of weaned piglets[J]. Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary, 2013(13): 49-52.)
- [16] 王维, 边连全, 吴洪涛. 大豆球蛋白对断奶仔猪生长性能、日粮养分消化率的影响[J]. 现代畜牧兽医, 2009(1): 6-8. (Wang W, Bian L Q, Wu H T, Effects of glycinin on growth performance and dietary nutrient digestibility of weaned piglets[J]. New Animal Science and Veterinary Medicine, 2009(1): 6-8.)
- [17] Feng J, Liu X, Xu Z R, et al. Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets[J]. Digestive Diseases & Sciences, 2007, 52(8): 1845-1850.
- [18] Tao W, Qin G, Sun Z, et al. Comparative study on the residual rate of immunoreactive soybean glycinin (11S) in the digestive tract of pigs of different ages[J]. Food & Agricultural Immunology, 2010, 21(3): 201-208.
- [19] Zhu J, Gao M, Zhang R, et al. Effects of soybean meal fermented by *L. plantarum*, *B. subtilis* and *S. cerevisiae* on growth, immune function and intestinal morphology in weaned piglets[J]. Microbial Cell Factories, 2017, 16(1): 191.
- [20] Yuan L, Chang J, Yin Q, et al. Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets[J]. Animal Nutrition, 2016, 3(1): 19-24.
- [21] 赵元, 秦贵信, 孙泽威, 等. Glycinin 和 β -Conglycinin 对不同生长阶段猪生长性能和粗蛋白消化率的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(19): 35-40. (Zhao Y, Qin G X, Sun Z W, et al. Effects of Glycinin and β -Conglycinin on growth performance and crude protein digestibility of pigs in different growth stages [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2011, 47(19): 35-40.)
- [22] 赵元. 大豆球蛋白及 β -伴大豆球蛋白在仔猪体内消化动力学的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2006. (Zhao Y. Study on the kinetics of digestion of glycinin and β -conglycinin in piglets [J]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2006.)
- [23] 韩蕊. 大豆球蛋白对仔猪小肠上皮细胞机械屏障功能的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013. (Han R. Effects of glycinin on the mechanical barrier function of piglet intestinal epithelial cells [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2013.
- [24] 张诗尧. 仔猪小肠上皮细胞对 β -Conglycinin 及其酶解产物吸收规律的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2016. (Zhang S Y, piglets intestinal epithelial cells of β -Conglycinin and its enzymatic product absorption law [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016.)
- [25] 韩鹏飞, 姜学, 马曦. 大豆抗原蛋白研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2009, 45(19): 69-72. (Han P F, Jiang X, Ma X. Research Progress on Soybean Antigen Proteins [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2009, 45(19): 69-72.
- [26] 李德发, 马曦, 孙鹏. 大豆抗原蛋白研究进展[C]. 杭州: 中国畜牧兽医学会动物营养学分会学术研讨会, 2008. (Li D F, Ma X, Sun P. Advances in research on soybean antigen protein [C]. Hangzhou: Chinese Society of Animal Science and Veterinary Medicine, 2008.)
- [27] 刘丹丹, 赵元, 张诗尧. 大豆抗原蛋白对肠道致敏性的研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2015, 51(5): 77-81. (Liu D D, Zhao Y, Zhang S Y. Research progress on sensitization of soybean antigen to intestine [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2015, 51(5): 77-81.)
- [28] Zhao Y, Qin G Z, Zhang X, et al. Disappearance of immunoreactive glycinin and β -conglycinin in the digestive tract of piglets [J]. Archives of Animal Nutrition, 2008, 62(4): 322-330.
- [29] 鲍男. 大豆抗原在仔猪小肠组织中分布规律的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2007. (Bao N. Soybean antigen in the distribution of piglets in the law [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2007.)
- [30] 鲍男, 秦贵信, 赵元, 等. 热处理前后 β -伴大豆球蛋白在仔猪小肠组织中分布规律的研究[C]. 桂林: 中国畜牧兽医学会养猪学分会第五次全国会员代表大会暨养猪业创新发展论坛, 2010. (Bao N, Qin G X, Zhao Y, et al. Study on distribution of β -conglycinin before and after heat treatment in small intestine of piglets [C]. Guilin: Chinese Society of Animal Husbandry and Veterinary Medicine Fifth National Congress of Pigs Industry Innovation and Development Forum, 2010.)
- [31] 游金明. 抗大豆抗原蛋白-conglycinin 单克隆抗体的制备及初步应用[D]. 北京: 中国农业大学, 2007. (You J M. Anti-soybean antigen protein-conglycinin monoclonal antibody preparation and preliminary application [D]. Beijing: China Agricultural University, 2007.)