

蛇毒蛋白應用研究及抗蛇毒血清製造技術

劉健信*、李佳蓉、李蓉、許靜倫、陳昭宏、張筱琦、謝文欽

摘要

臺灣常見的六大毒蛇依照生態分布可分為地棲的百步蛇 (*Deinagkistrodon acutus*)、龜殼花 (*Protobothrops mucrosquamatus*)、鎖鏈蛇 (*Daboia russelli siamesis*)、雨傘節 (*Bungarus multinctus*)及眼鏡蛇 (*Naja atra*)等及半樹棲型赤尾青竹絲 (*Viridovipera stejnegeri*)。而蛇毒是毒蛇從毒腺中分泌出來的一種液體，主要成分除了蛇毒蛋白，另外還有輔助酶等。蛇毒成分十分複雜，不同蛇毒的毒性、藥理及臨床症狀各有特點，單就藥理學作用來分類則可分成神經性蛇毒、出血性和混合性蛇毒。蛇毒蛋白的研究基礎就是利用其藥理上特性，進而分離純化特殊蛇毒蛋白，結合分子生物學及結構化學等方式，加以應用在現在製藥、檢驗和抗蛇毒血清的製造。現今已上市藥物如利用蛇毒蛋白，具有抗凝血功能的肽化合物，被用來治療心絞痛，另外像消炎、糖尿病、高血壓、慢性疼痛及腦中風藥物中都可看到應用蛇毒蛋白的蹤跡。在臨床檢驗方面，疾病管制署自製抗雨傘節及眼鏡蛇毒馬血漿中，已成功分別純化出抗雨傘節毒及眼鏡蛇毒的專一性抗體，並嘗試用免疫沉澱加上質譜分析的方法，鑑定此專一性抗體所能辨認之蛋白質身分。未來若成功發展此偵測平臺技術，將可加速臨床蛇咬病人的蛇毒鑑別診斷，進而提高病人治癒成功率。面對毒蛇咬傷中毒的個案，及時注射正確的抗蛇毒血清製劑仍是目前最有效的治療方式。馬匹仍是國際公認最常用、能大量取得、且操作安全的抗蛇毒血清製造用動物。將蛇毒抗原免疫至馬匹體表，使馬匹體內的免疫系統產生能中和蛇毒蛋白的抗體，接著採集馬匹血液分離血漿，再以胃蛋白酶 (pepsin) 消化及鹽析純化處理，分裝和真空凍結乾燥，成為治療用抗蛇毒血清。根據資料顯示疾病管制署產製的抗蛇血清凍晶注射劑，可有效治療本土性毒蛇咬傷病患外，亦無明顯副作用。

關鍵字：毒蛇；蛇毒；抗蛇毒血清

衛生福利部疾病管制署研究檢驗及疫苗研製中心
通訊作者：劉健信*
E-mail: liuch@cdc.gov.tw

投稿日期：2014年4月1日
接受日期：2014年7月15日
DOI: 10.6524/EB.20150224.31(4).001

前言

臺灣地處亞熱帶地區，地型多高山，森林茂密，氣候溫暖潮濕，非常適合蛇類生長。從日據時代起就開始蛇類的研究，從早期羽鳥重郎進行的臺灣蛇類分類，中間有山口謹爾的臺灣蛇毒血清學研究及之後的血清學療法等基礎研究，到後來杜聰明博士開啓臺灣蛇毒的藥理及毒理學研究之濫觴，促使臺灣蛇毒研究享譽國際，進而在世界舞臺發光發熱，使蛇毒研究立下臺灣本土基礎科學不可抹滅的重要里程碑。

本篇文章將從臺灣毒蛇生態的角度簡介現今臺灣蛇類分類，進而介紹蛇毒蛋白應用研究和抗蛇毒血清製造的方式，在溫故知新這項臺灣之光榮的同時，也希望藉此能扭轉大家聞蛇色變的刻板印象，啟發蛇毒對人類健康促進及疾病治療的無限可能。

一、臺灣毒蛇生態簡述：臺灣毒蛇可依生態表現型及毒腺與毒牙等特徵來分類。

(一) 依生態表現型分類：Seymour(1987) [1]將臺灣的毒蛇依生態表現型，區分為水棲(Aquatic)、半水棲(Semi- Aquatic)、地穴居(Fossorial)、地棲(terrestrial)及樹棲(Arboreal)等五大類。依其定義歸納：臺灣典型的水棲毒蛇，以蝙蝠蛇科(Elapidae)的海蛇亞科(Hydrophiinae)為代表，其終生不上陸地；半水棲蛇類則主要在水中活動覓食，不同種類有不同比例的時間在陸地上活動，以蝙蝠蛇科的闊尾海蛇亞科(Laticaudinae)及水蛇科(Homalopsidae)為典型；地穴居蛇類，則是棲息於土壤的縫隙及枯枝落葉層中，臺灣並不具有此類型的毒蛇；地棲蛇類，活動空間以地面為主，臺灣常見毒蛇均屬此一生態表現型，如百步蛇、鎖鏈蛇、雨傘節及眼鏡蛇等；樹棲蛇類的體型多半呈現細長型，尾部比例長且纏繞性良好，體色亦多以綠色及褐色系為主，如：大頭蛇；還有一些蛇類的特性，介於地棲與樹棲之間，並遊走於此兩類型的棲息環境，形成所謂的半樹棲(Semi- arboreal)類型，如：茶斑蛇、赤尾青竹絲等。

(二) 依毒腺與毒牙分類：目前分布於臺灣符合廣意定義的毒蛇，共有六科31種，依毒蛇毒牙生長相對位置的前後及結構，蛇毒注射效率由高至低，依序可區分為：前管牙(solenoglyphos)、前溝牙(proteroglyphous)及後溝牙(opisthoglyphos)等三大類[2]。然而，過半數以上的種類，棲息在與人類活動的空間相聚較遠的環境，如：隨著洋流四處移動的海蛇；或數量稀少，如：瑪家龜殼花、菊池氏龜殼花等；且攻擊性不強，如：蝙蝠蛇科的三種赤蛇：環紋赤蛇、梭德氏代紋赤蛇及羽鳥氏帶紋赤蛇，這些“毒蛇”雖具有毒牙與毒腺，卻甚少或從未曾發生過咬傷人的案例。

二、蛇毒蛋白成分分析及藥理作用

蛇毒是從毒蛇毒腺分泌出來的一種毒液，一般呈淡黃至黃褐色之蛋清狀黏稠液體，有特殊腥味。當中成分除了佔絕大比例的水分外，另外還有干擾生理機能的毒素及各類輔助蛋白酶。新鮮蛇毒在常溫及空氣中容易變質，喪失活性及毒力，故採真空或凍結乾燥處理，可保存長達十數年以上。

分析臺灣常見六大毒蛇，其所含有的蛇毒蛋白成分及藥理作用機制各有特點，導致表現出的蛇咬臨床症狀也有所不同，分析說明如下：

(一) 神經性蛇毒：例如雨傘節及飯匙倩。

1. 雨傘節蛇毒中依據其毒理作用位置不同可成為突觸前神經毒素 (Pre-synaptic neurotoxin; 又稱 β 神經毒素, β -bungarotoxin) 及突觸後神經毒素 (Post-synaptic neurotoxin; 又稱 α 神經毒素, α -bungarotoxin) [3]。 β 神經毒素具有與乙醯膽鹼受體 (acetylcholine receptor) 結合的專一特性，故可阻斷乙醯膽鹼 (acetylcholine) 釋放磷脂類成分，中斷神經至肌肉的傳導。另外 α 神經毒素則作用在運動神經末端，他可競爭乙醯膽鹼在肌細胞膜上受體的位置，抑制乙醯膽鹼的釋放，而產生不可逆的神經至肌肉傳導阻斷作用，故遭雨傘節咬傷之患者會出現劇烈麻痺的症狀。
2. 眼鏡蛇毒中的主要蛇毒蛋白成分有：磷脂水解酵素 (Phospholipase A2, PLA2)、心臟毒蛋白 (Cardiotoxin, CTX) 及神經毒素 (Neurotoxin, NTX)。磷脂水解酵素 PLA 會使紅血球產生破裂進而引起溶血，主要作用方式是造成細胞內游離酸增加，使膜蛋白發生異常乙醯化，進而影響細胞功能，另外還會造成肌肉壞死、水腫、內出血及發炎現象等 [4;5]。另外心臟毒蛋白被認為是眼鏡蛇毒中最主要成分，約佔蛇毒蛋白的 45-55%，主要作用機制認為是造成鈣離子調解受到影響，進而造成心肌及骨骼細胞的壞死，或是破壞細胞膜上的雙層磷脂結構，進而造成細胞死亡。而毒性成分 NTX，屬於突觸後膜神經毒素，作用與雨傘節的 α 神經毒素相似。

(二) 出血性蛇毒：例如龜殼花、赤尾青竹絲及百步蛇，其特色說明如下：目前已知的出血性蛇毒中同時擁有造成出血及凝血的藥理機制分子存在。其中 ADPase, X-fibrinogenase 及 RGD containing peptide 此三種蛇毒蛋白成分會抑制血小板凝集造成出血。然而有部分出血性毒蛇，如百步蛇毒含有一種類凝血酶 (Thrombin-like enzyme)，可使纖維蛋白原轉變為纖維蛋白，引發凝血作用。

(三) 混合性蛇毒：例如鎖鏈蛇。其蛋白酶能活化第五、第十等凝集因子，使血管栓塞；其磷酯 又具有降血壓及神經毒性的特性；所以此類蛇毒呈快速血壓下降、血栓且兼有麻痺現象的複雜症狀。

三、蛇毒對於藥品開發之前景

自然界用於治療人類疾病的藥物來源不外乎動物、植物及真菌等，大部分來自於植物及真菌，只有少數的藥物來自於動物，原因是自動物的毒液中萃取有效成分發展成藥物，需要進行繁瑣的步驟，從尋找有毒的動物、毒液的萃取，再利用各種方式如：層析法、X光散射技術(X-ray scattering techniques)及核磁共振光譜學(Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)分析蛋白質，找出可能具有藥物活性的胜肽序列、取得候選藥物與標的的分子立體結構，預測藥物與標的的結合的位置及作用機制，其後再進行合成胜肽、研究生物活性機制等，通過一連串臨床試驗，才能變成藥物。目前已上市藥物案例，如表一，例如默克藥廠的Tirofiban[6]，是鋸鱗蝮蛇毒液中的蛋白胜肽，具有抗凝血anti-platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors的功能，被用來治療心絞痛；Amylin製藥的Exenatide[7]，是希拉毒蜥毒液中的蛋白胜肽化合物，被用來治療糖尿病；必治妥施貴寶藥廠的Captopril[8]，於矛頭蝮蛇的毒液中發現，應用於治療高血壓；最後是愛爾蘭製藥的Ziconotide[9]，由芋螺的毒液中萃取而得，可以治療慢性疼痛。而Ancrod(或稱Viprinex) [10]，由馬來亞蝮蛇的毒液中所萃取出來的化合物，被認為有抗凝血defibrinogenase的功效，可用來治療腦中風，現階段正進行臨床第三期試驗(未登入表中)。

表一、動物的毒液發展為上市藥物案例

藥名	功用	製造藥廠	來源
Tirofiban	心絞痛治療	Merck	<i>Echis carinatus</i>
Amylin	糖尿病治療	Amylin Pharma	<i>Heloderma suspectum</i> (Gila monster)
Captopril	高血壓治療	Bristol-Myers squipb	<i>Bothrops alternatus</i> (Brazilian lance head snake)
Ziconotide	慢性疼痛治療	Elan Corporation	<i>Conus magnus</i>

另日前訪臺新加坡籍Gopalakrishnakone博士也進行不同方向的蛇毒藥品開發[11-12]，例如：

(一) 抗菌抗發炎：CB-AM13.A1 peptide

它是利用蠍毒的primary structures與蛇毒的PLA2 protein合成，在微生物及動物實驗中皆證實CB-AM13.A1 peptide對具有抗藥性細菌的*Staphylococcus aureus*之具有良好的抑制作用。

(二) 止痛：Prohanin

因眼鏡王蛇毒液在老鼠身上有止痛效果。因此利用層析法分析篩選出一段胜肽，命名為Prohanin，已知作用機轉為阻斷Arginine與nitric oxide之路徑連結，可使痛覺不傳遞。Prohanin止痛效果在老鼠實驗發現較Aspirin佳，且Prohanin無成癮性、雖Prohanin為胜肽，但因分子量小，不會造成抗體。

(三) 抗發炎：PIP (PLA2-inhibitory protein)

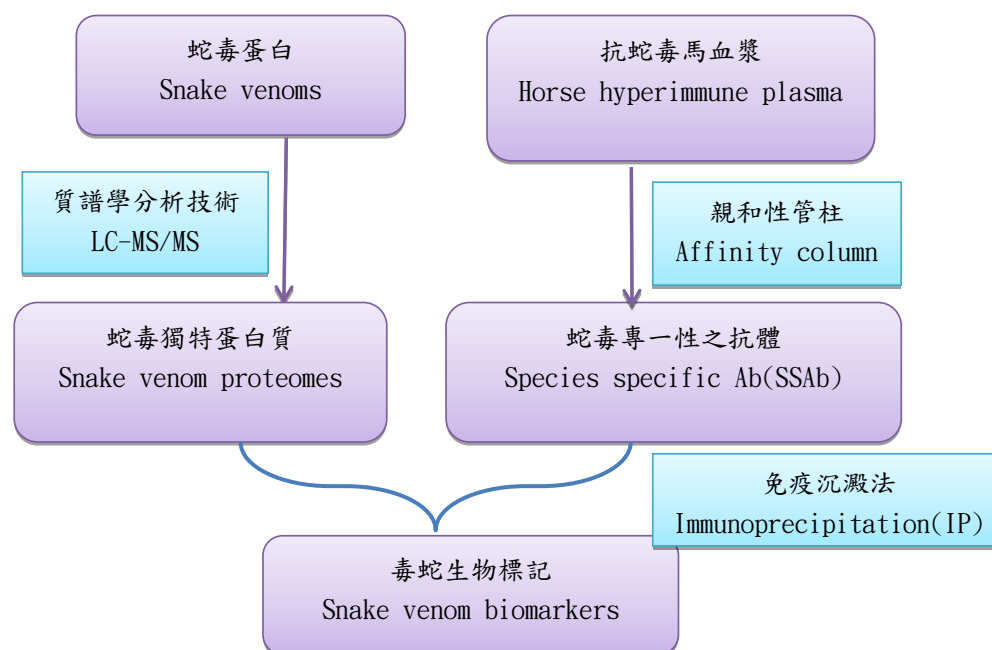
骨盆腔發炎有些原因是來自於PLA2 (Phospholipase A2 inhibitors) 造成，而有些蛇毒成分含PIP，對於PLA2有抑制效用。藉由NMR分析Phospholipases A2與PIP Peptides候選藥物兩者的分子結構，挑選合適的PIP對PLA2有明顯抑制。

目前在醫療上常用於抗菌、止痛、消炎等用途之藥物，大都由化學合成而得，其實從動物毒液成分的研究可以發現，自然界早已經存在一些有療效的物質，與其他現有藥物的比較上，從毒液萃取、重組的胜肽應用在醫療上之實驗看來，有藥效佳且更減少對生物體的傷害等等的競爭優勢，雖然這些成分還在動物測試或臨床試驗，但可以想見動物毒給予開發人類醫療用藥的科學家們一個新方向。

四、開發毒蛇咬傷檢驗試劑

毒蛇咬傷常造成嚴重的傷害甚至死亡，在臨床上如何快速、正確的診斷咬傷毒蛇的種類，是非常重要的議題。在國外開發許多臨床診斷方法，包含：快篩片、ELISA[13]。而國內亦有許多醫院及學術單位正積極研發毒蛇咬傷快速檢驗試劑。

以長庚大學分子醫學研究中心蛋白體核心實驗室為例，該實驗室正系統性分析由衛生福利部疾病管制署(簡稱疾管署)所提供之臺灣六種常見毒蛇的蛇毒蛋白質及抗蛇毒馬血漿。以質譜學(LC-MS/MS)鑑定六種臺灣常見毒蛇之每一種蛇毒中所有可能蛋白質，並相互比較分析這些鑑定的蛋白質以找出每一種蛇毒中可能的獨特蛋白質。再製備六種蛇毒之親和性管柱，以這些親和性管柱從蛇毒免疫之馬血漿中純化出具蛇種專一性之抗體(species-specific antibodies, SSAb)。以蛇種專一性抗體對蛇毒做免疫沉澱 (immunoprecipitation)，尋找蛇種專一性抗體之相對應抗原，並以質譜學鑑定此相對應抗原之蛋白質身分，最後在結合質譜學及免疫學兩種分析方法找到之各蛇毒特有蛋白質，並尋找出最適合之毒蛇咬傷生物標記，詳如圖一毒蛇咬傷快速檢驗試劑研究方法流程圖。



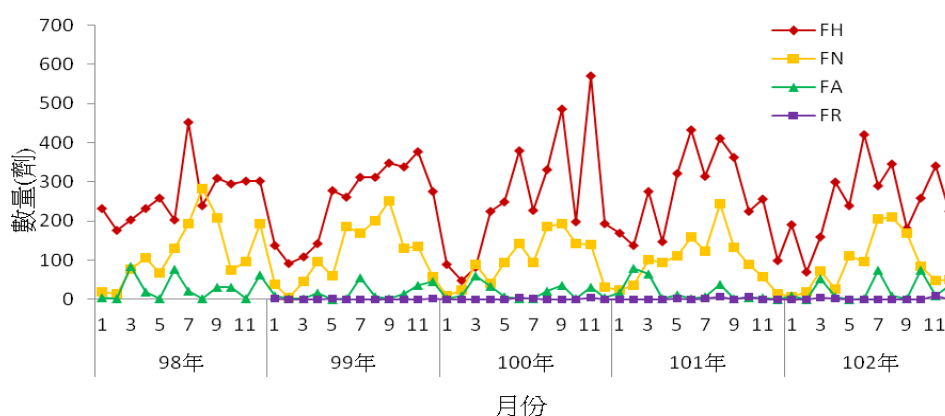
圖一、毒蛇咬傷快速檢驗試劑研究方法流程

初步發現，各種蛇毒大約都有20-30個特有蛋白質(胺基酸序列具獨特性)，這些獨特分子有潛力作為特定毒蛇咬傷之生物標記。目前已針對眼鏡蛇蛇毒特有蛋白質(cobra venom factor)生產抗體，使用此自製抗體(anti-cobra venom factor antibody)以免疫學技術對六種蛇毒進行偵測，此抗體只對眼鏡蛇蛇毒產生訊號，再次證實此蛋白質cobra venom factor是眼鏡蛇特有之蛋白質。

而從疾管署申請之抗雨傘節與眼鏡蛇馬血漿中，已成功純化出雨傘節專一性抗體與眼鏡蛇專一性抗體，且專一性測試結果非常好，已嘗試以免疫沉澱加上質譜分析之方法學，鑑定此專一性抗體所能辨認之蛋白質身分，目前已鑑定出數個候選分子。未來將蛇種專一性抗體放入在生物快篩試劑及生物檢測儀，此兩種檢驗平臺進行測試。若測試結果良好，則會開始利用成功發展的偵測平臺技術進行動物實驗與臨床試驗。

五、抗蛇毒血清的製造

依世界衛生組織(WHO)的報告評估，每年全世界至少421,000人被蛇毒咬傷，造成20,000人因此死亡，甚至有專家提出警告認為，被毒蛇咬傷的數據可能高達1,841,000人，而死亡的人更高達94,000人[14]，毒蛇咬傷病例發生的區域主要集中在南亞、東南亞及非洲等地。在臺灣，毒蛇分佈區域，除了百步蛇、鎖鍊蛇分佈較偏重南部及東部山區之外，其它四種毒蛇在全臺各地都可見，毒蛇咬傷之後，小則咬傷處局部腫脹疼痛，但嚴重時會出現全身性的症狀，甚至於危及生命。2007年世界衛生組織(WHO)將抗蛇毒血清製劑列入「世界衛生組織基本藥物清單」(WHO Model List of Essential Medicines)，由於在毒蛇咬傷中毒的個案中，及時注射正確的抗蛇毒血清製劑是目前最有效的治療方式[15]。臺灣每年大約有1,000位民眾被毒蛇咬傷後須接受抗蛇毒血清治療[16]，而臺灣是擁有全世界少數自行生產抗蛇毒血清製劑的國家，目前疾管署產製國內六種常見毒蛇之抗蛇毒血清，分別為抗龜殼花及赤尾鮎蛇毒血清凍晶注射劑(FH)、抗雨傘節及飯匙倩蛇毒血清凍晶注射劑(FN)、抗百步蛇毒血清凍晶注射劑(FA)及抗鎖鏈蛇蛇毒血清凍晶注射劑(FR)四類，每年使用劑量及情形，如下圖二。近5年平均銷售量分別為FH：3,076±97瓶、FN：1,251±145瓶、FA：237±76瓶、FR：10±5瓶。



圖二、98~102年抗蛇毒血清凍晶注射劑銷售月線圖

抗蛇毒血清的取得方式是將蛇毒蛋白抗原免疫至馬匹身上，使馬匹體內的免疫系統產生能中和蛇毒蛋白的抗體，接著採集馬匹血液，分離出血漿，再經過純化精製步驟而成。抗蛇毒血清的製造雖有不同的方法，但基本上，可將每個方法都分成三個階段。第一階段：蛇毒抗原的動物免疫及抗血漿採集；第二階段：抗蛇毒血清的純化；第三階段：抗蛇毒血清的充填和包裝，即所謂的「成品」。

在第一階段中，免疫用蛇毒蛋白的製備為抗蛇毒血清製程的首要步驟，疾管署的毒蛇飼養室會定期進行不同種類的毒蛇毒液採集，由專業技術人員將毒蛇毒液擠出集中收集，然後盡速進行凍結乾燥，儲存於-20°C，即所謂的「粗毒」。收集至一定存量後，再將塊狀的粗毒研磨成細緻粉末再分裝至小玻璃瓶中，這些蛇毒粉末即為免疫動物的蛇毒抗原。

大部分用於產製抗蛇毒血清的動物皆為馬匹，由於馬匹體型大，可產出大量血漿，個性易馴服，且可適應大部分的氣候型態，屬於非偶蹄類動物，可排除感染普利昂蛋白(Prion)的風險，加上長年以來使用馬匹血漿所製成的抗蛇毒血清都證實其安全性及有效性[17]，這些特點使馬匹成為目前免疫蛇毒的最佳選擇。亦有報導以羊為蛇毒抗原的免疫動物，但較不常見。

馬匹依既定的免疫時程表注射蛇毒蛋白抗原，這些蛇毒蛋白抗原在生物安全櫃內調製，降低馬匹免疫注射部位的感染。將免疫毒以適當溶液回溶後以無菌過濾器過濾，再與佐劑混合形成黏稠的乳狀液體保存於低溫。免疫注射部位一般會選擇較靠近馬匹主要淋巴結的位置，例如頸部及背部，以皮下注射的方式每個注射點注射小體積(約0.05-0.2mL)的蛇毒蛋白抗原，增加抗原與抗原呈現細胞的接觸機會，以促進免疫反應。馬匹接受蛇毒蛋白抗原注射後，會定期採取血液樣本偵測血漿中的抗體力價，當抗體力價達到標準以上，且經評估馬匹健康狀態許可之下，採集約馬匹體重的1.5%血液量。採血是以靜脈穿刺的方式採集馬匹外側頸靜脈血液，在採血前採血部位必須先剃毛消毒。採血時以磅秤監控採血量，避免採血過量造成馬匹身體負擔。

採集的血液在潔淨室內靜置隔夜後，再進行血球與血漿之分離，分離後的血球以無菌生理食鹽水溶液進行懸浮，再回灌到馬匹體內；分離所得之血漿則冷藏保存，進行製程品質管制：抗體力價測試、負荷菌試驗及細菌內毒素試驗等，確認血漿之品質符合標準後，才能進入後續的純化精製步驟。

第二階段-抗蛇毒血清的純化，依純化過程是否有加入酵素處理，分成三大類，分述如下：1、完整的IgG免疫球蛋白：在抗蛇毒血清的純化過程中，未經酵素(enzyme)處理過。2、F(ab')₂片段(F(ab')₂ fragment)：於抗蛇毒血清純化過程中，加入胃蛋白酶處理，利用胃蛋白酶切割IgG免疫球蛋白的恒定區(constant region；Fc)片段，目前疾管署採行此法。3、Fab片段(Fab fragment)：於抗蛇毒血清純化過程中，加入木瓜素(papain)進行處理，僅剩

蛇毒分子的結合片段存在。此三大類的抗蛇毒血清分子量不同，造成它們在人體內所展現的藥物動力特性 (pharmacokinetic property) 也有所差異，例如，Fab片段，進入人體後，分佈範圍最廣，因分子量較其他二者小，約50kDa (kiloDalton)，所以相對而言，可在最短時間內離開血管進入血管以外的組織間隙中，進行血管外組織間隙的蛇毒抗原清除作用，但也因分子量小的緣故，所以在人體內代謝率也較其他二種抗蛇毒血清快，無法長時間停留在人體內，半生期(half-life)約4-24小時，而，F(ab')₂片段和IgG免疫球蛋白的分子量依序分別約為100kDa及150kDa，雖到達血管外的組織間隙的時間較Fab片段長，但它們在人體內的半生期皆較長，約2-4天，且因分子量較大，當與蛇毒抗原結合後，可形成較穩定且較易被清除的免疫複合體(immune complex)，而Fab片段與蛇毒抗原的結合則較不穩定。

除了利用酵素進行抗蛇毒血清免疫球蛋白的切割處理外，另外，純化過程主要目的是要降低抗蛇毒血清內的不純物，提昇免疫球蛋白濃度。在不同的純化製程中，目前較被採用的為鹽析方法(salting-out procedure)、辛酸(caprylic acid或稱octanoic acid)純化方法，另外，亦有在酵素進行切割處理抗蛇毒血清免疫球蛋白後，進行透析(diafiltration)及層析(chromatography) [18]。鹽析法的原理，主要是利用在不同的酸鹼值中，蛇毒血清內的蛋白質，對鹽離子的溶解度有所差異，而將需要的成分或雜質取出或去除之，常用的鹽類有硫酸銨(ammonium sulfate)和硫酸鈉(sodium sulfate)，一般而言，鹽析法，例如硫酸銨，在抗蛇毒血清免疫球蛋白的純化回收率約為40%-50%，而辛酸純化方法，其回收率則約為60%-75%。疾管署產製的抗蛇血清凍晶注射劑，其純化方法先以胃蛋白酶消化，移除免疫球蛋白的恒定區(Fc)片段，再利用硫酸銨進行鹽析並透析製成，回收率雖不如辛酸純化方法的回收率高，但可有效治療本地被毒蛇咬傷的病患，且臨床使用鮮少有明顯副作用[19]。

第三階段抗蛇毒血清的充填和包裝，會因抗蛇毒血清的運送方便性、存放效期和經濟的考量，決定是否進行真空凍結乾燥(lyophilization)，抗蛇毒血清經過真空凍結乾燥處理後，與液體製劑相較之下，有較長的保存期限，且方便儲存與運送，以疾管署產製的四種抗蛇毒血清凍晶注射劑產品為例，均有經過真空凍結乾燥製成，冷藏存放有效期為5年。

結語

疾管署現為我國唯一生產供應抗蛇毒血清製劑之機構，每年供應涵蓋4種抗蛇毒血清製劑共約5,000劑，提供全國各地醫療院所甚至是海外相關研究或臨床單位使用，數十年來已拯救無數個病患生命。但未來因應PIC/S GMP法規政策，考量其昆陽園區現有疫苗製造廠房軟硬體設施老舊及場地限制，已無法符合與時俱進的相關規範。故相關馬匹飼養、血漿採集、分離及製造純化等工作，將會陸續轉移

到其新建於國立屏東科技大學內的國家免疫馬匹畜牧場及財團法人國家衛生研究院，以確保後續抗蛇毒血漿及抗蛇毒血清產品的穩定供應無虞。也希望藉由本篇內容以鑑往知來，讓未來蛇毒相關研究不論是在實體應用或產品製造上，能夠在這棵古老的樹上綻放美麗的新花。

致謝

感謝國立屏東科技大學舉辦抗蛇毒血清製造指引/診斷技術之國際論壇，也感謝國立宜蘭大學毛俊傑老師提供相關資料，及長庚大學分子醫學研究中心蛋白質核心實驗室的老師提供相關諮詢，同時亦感謝本中心同仁協助文獻之收集及提供。

參考文獻

1. Seymour RS. Scaling of cardiovascular physiology in snakes. *Amer Zool* 1987;27:97-109.
2. 毛俊傑：抗蛇毒血清製造指引/診斷技術論壇，台灣毒蛇生態概述。2013。
3. Yang CC. Snake neurotoxin. *The snake* 1984;16:90-103.
4. Fletcher JE, Jiang MS. LYS49 phospholipase A2 myotoxins lyse cell cultures by two distinct mechanisms. *Toxicon* 1998;36:1549-55.
5. Jeng TW, Hendon RA, Fraenkel-Conrat H. Search for relationships among the hemolytic, phospholipolytic, and neurotoxic activities of snake venoms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:600-4.
6. Valgimigli M, Tebaldi M. Safety evaluation of tirofiban. *Expert Opin Drug Saf* 2010;9:801-19.
7. Bhavsar S, Mudaliar S, Cherrington A. Evolution of exenatide as a diabetes therapeutic. *Curr Diabetes Rev*. 2013;9:161-93.
8. Heel RC, Brogden RN, Speight TM, et al. Captopril: a preliminary review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drugs* 1980;20:409-52.
9. Pope JE, Deer TR. Ziconotide: a clinical update and pharmacologic review. *Expert Opin Pharmacother* 2013;14:957-66.
10. Atkinson RP. Ancrodin in the treatment of acute ischaemic stroke. *Drugs* 1997;54(Supply 3):100-8.
11. Thwin MM, Satish RL, Chan ST, et al. Functional site of endogenous phospholipase A2 inhibitor from python serum. *Eur J Biochem* 2002;269:719-27.
12. Samy RP, Thwin MM, Stiles BG, et al. Therapeutic potential of peptides with neutralizing ability towards the venom and toxin (CaTx-I) of *Crotalus adamanteus*. *Curr Top Med Chem* 2011;11:2540-55.
13. Pardal PPD, Souza SM, Monteiro MRDD, et al. Clinical trial of two antivenoms for the treatment of Bothrops and Lachesis bites in the north eastern Amazon region of Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2004;98:28 - 42.

14. WHO Neglected tropical diseases snakebites. http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/snakebites/en/
15. WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins 2012;114-28 .
16. 劉健信、江大雄、連偉成等：2002-2005年台灣地區使用抗蛇毒血清的流行病學分析，疫情報導。2009;466-78。
17. Zhang J. The structural stability of wild-type horse prion protein. *J Biomol Struct Dyn.*2011;29:369-77.
18. Jones RGA, Landon J. A protocol for ‘enhanced pepsin digestion’ :a step by step method for obtaining pure antivody fragments in high yield from serum. *Journal of Immunological Methods* 2003;275:239-50.
19. Chen JC, Bullard MJ, Chiu TF, et al. Risk of immediate effects from F(ab)₂ bivalent antivenin in Taiwan. *Wilderness and Environmental Medicine* 2000;11:163-67