

利用單株抗體探討人類 Haptoglobin 之化學結構及免疫特性

學生：殷韶禪

指導教授：毛仁淡 博士

國立交通大學生化工程研究所碩士班

摘 要

Haptoglobin (Hp) 在人體中有三種不同的型態，分別是 Hp 1-1, Hp 2-1 以及 Hp 2-2。其中 Hp 2-1 以及 Hp 2-2 個體之 α 2 鏈 (142 個胺基酸) 相對於 α 1 鏈 (83 個胺基酸) 多了一段重複性序列 (從胺基酸 12 到 70)，故在 α 2 鏈上亦多了一個 SH group，因此可藉由雙硫鍵的形成而分別連接成線形的 Hp 2-1 聚合物與圓圈形的 Hp 2-2 聚合物。為了解三種型態 Hp 之免疫特性與其結構的關係，我們以 Hp 2-1 或 Hp 2-2 為抗原製作出之專一性抗體來闡示。單株抗體 3H8 其抗原決定位經由 peptide array 證實位於 α 鏈之胺基酸 31 至 39 (RYQCKNYYK)，利用細菌表現之 α 1 及 α 2 重組蛋白亦可證實此抗體對 α 2 之反應較強，然而對於三種型態 Hp 之免疫反應卻幾近相同，可能導因於 Hp 2-1 及 2-2 之聚合物結構使得胺基酸 31 至 39 區域無法完全曝露。此外此抗體以競爭型酵素免疫連結分析法 (competitive-ELISA) 對三種型態 Hp 之免疫反應亦幾乎相同，故利用此抗體，即能有效快速地於人類血漿之 Hp 定量。另一方面，我們以 Hp 2-1 及 2-2 為抗原製作出之單株抗體，大多數僅能辨識雙硫鍵結未被破壞之 Hp，且無法辨認以還原劑如 β -mercaptoethanol 分離之 α 鏈或 β 鏈，可能是由於 Hp 2-1 及 2-2 具有複雜程度較高之聚合物結構，而形成獨特的抗原決定位。這些單株抗體 (conformational-dependent mAbs) 中，我們發現有兩株 (3B7 與 4H11) 對於 Hp 1-1 之免疫反應明顯比 Hp 2-1 及 2-2 弱。於人類血漿中亦可區分 Hp 1-1 與另外兩種具有聚合物之 Hp 型態，只要再結合專一辨識 Hp 1-1 之單株抗體，即可快速區分不同型態之 Hp。