

人突触相关蛋白抗原表位分析及多克隆抗体的制备

王 仁¹, 杨向东¹, 刘俊文¹, 屈顺林¹, 唐蔚青², 王 抒²

(1. 南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001; 2. 卫生部北京医院老年医学研究所生物化学室, 北京市 100730)

[关键词] 病理学与病理生理学; 人突触相关蛋白抗原; 抗原表位分析; 泡沫化相关基因 FRG4

目的 泡沫化细胞差异表达基因 FRG4 经生物信息学分析, 与人突触相关蛋白基因有很高同源性, 经联机检索, 有关突触相关蛋白的研究很少, 与脂蛋白代谢、泡沫细胞形成和凋亡的关系没有报道。本文在对泡沫化相关基因 FRG4 分析的基础上, 利用计算机软件进行抗原表位分析, 制备特异的抗人突触相关蛋白的多克隆抗体, 为进一步深入研究其表达和功能提供条件。**方法与结果** 选取抗原多肽: 利用 ExPASy 软件和 BioEdit 软件对 FRG4 cDNA 序列进行亲水性分析, 预测其二级结构; 使用 Lasergene99 软件预测其抗原决定簇; 根据亲水性、二级结构、偶联难易及实验难度选取抗原 13 肽 PKLVKEEVFWRNY。④多肽合成及交联: 采用美国 ABI 公司的多肽自动合成仪, 以固相合成法合成, 合成产物经高效液相色谱纯化检测, 纯度达到 90% 以上; 抗原多肽与血兰蛋白用 BDB 法交联, 与不完全弗氏佐剂等体积混合包被。④动物免疫: 多点皮下注射抗原免疫新西兰兔, 每两周强化免疫一次, 第三次免疫后 10 天取耳血测抗体效价(ELISA 法)。抗血清收获及检测: 第四次免疫后第十至十四天经颈动脉放血, 分离抗血清, 冷冻抽干, -20℃保存。高效液相色谱检测显示抗体纯度达 82.79%, 抗体滴度为 1:16 000, 免疫印迹方法检测在 40 kDa 处有一条带, 与软件分析结果相符合。**结论** 制备了高效的免抗人突触相关蛋白多克隆抗体。

(此文编辑 胡必利)