

单克隆抗体 3D3 重链可变区基因结构分析^①

史依仁 郭先健 颜江华^② (第三军医大学新桥医院呼吸研究所, 重庆 400037)

中国图书分类号 Q523-1

单克隆抗体(McAb)在科研及影像诊断等领域应用十分广泛,鼠源性单克隆抗体,由于其抗原性,在人体疾病治疗应用受到限制,利用DNA重组技术,构建各种重组抗体基因,表达制备重组抗体,可降低其抗原性,前提是必须获得其可变区基因,我们利用设计合成的一对鼠抗体重链可变区引物,采用逆转录PCR方法,扩增抗人肺癌单克隆抗体3D3重链可变区基因^[1],并对其进行测序分析,结果表明该DNA全长354 bp 编码118个氨基酸。

1 材料与与方法

单克隆抗体3D3杂交瘤细胞常规复苏培养,收集培养细胞约 1×10^8 提取杂交瘤细胞总RNA,以细胞总RNA为模板,合成cDNA第一链,再以设计合成引物:VHfor:5'-d[GATATACCCGGGTGTCAAACCTG-CAGGGAGTCTGG] VHback: 5'-d[ATTCTAGACTAGT-GAGGAGACGGTGACCAGGGT],常规PCR扩增,电泳鉴定并回收纯化扩增产物,以粘末端方式将扩增单克隆抗体重链可变区基因克隆到puc18/puc19,双脱氧末端终止法^[2],对插入重链可变区基因测序分析。

2 结果与讨论

测序结果表明单克隆抗体3D3重链可变区基因全长354 bp,编码118个氨基酸,由基因序列推导氨基酸序列如下:GVKLQESGAELVRDGD VFLTCATSDFNIFDTYIHWVQRPE QGLEWIGRIDPANANTNYDQKFKDKATLTADYSSNTVFLHVSSLTSADT AVYYCARWDTTALFDCWGGQTTVS VSS。

同源性分析表明我们获得的DNA序列为单克隆抗体3D3重链可变区基因,与小鼠Ig重链可变区基因同源性达75%~85%,与其它基因序列无显著

意义同源。进一步分析表明,该抗体重链可变区基因片段(VH)编码氨基酸序列与小鼠Ig重链可变区I、II、III、IV组同源性分别为45%、71%、49%、60%,又与II(c)亚组同源性为最高达78%,连接基因片段(JH)编码氨基酸序列符合JH₂基因编码氨基酸序列特点^[3]。因此我们认为单克隆抗体3D3重链可变区基因是由胚系可变区基因片段(VH),多样性基因片段(D)和连接基因段(JH₂)重排而成,属II(C)亚组。免疫球蛋白重链可变区基因重排机制较复杂,涉及VH、D、JH基因片段识别、切割、连接及碱基剪切、增加等机制,因此,VH、D、JH连接方式多样,造成免疫球蛋白重链可变区高度可变性,尤其表现在重链可变区CDR3。小鼠免疫球蛋白重链CDR3长度由2~19个氨基酸残基组成,表面成分较复杂的抗原刺激产生较长CDR3,使抗体有足够空间与之更好地结合,反之较平坦简单抗原产生CDR3较短^[4],本实验获得VH基因编码CDR1、CDR2、CDR3氨基酸残基分别有5、17、9个。CDR3为9个氨基酸,推测其识别相应抗原较复杂。

单克隆抗体3D3识别抗原在人肺癌细胞膜上有较高表达,我们从其杂交瘤细胞中获得了该抗体重链可变区基因,为进一步构建基因工程免疫毒素打下基础。

3 参考文献

- 1 颜江华. 抗人肺癌单克隆抗体3D3的研制及其特性鉴定. 单克隆抗体通讯, 1992; 8(3): 22
- 2 Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. DNA Sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 74(12): 5463
- 3 Kabat E A, Wutt, Perry H M *et al.* Sequences of proteins of immunological Interest [us], Department of Health and Human Services. Bethesda; NIH, MD, 1991; 4351 ~ 4387
- 4 Chen P P. Structural analysis of human developmentally regulatal VH genes. Scand J Immunol, 1990; (3): 257

[收稿 1997-07-20 修回 1998-03-07]

(编辑 徐杰)

① 本课题受国家自然科学基金资助(39300015)

② 厦门大学抗癌研究中心

作者简介: 史依仁, 男, 32岁, 博士