



國立中山大學

## 新興污染物研究中心

Center for Emerging Contaminants Research, NSYSU

Newsletter

August 2013  
Volume 3, Issue 8

- ❖ 恭賀 本中心下列校內成員化學系 曾韋龍教授榮獲101學年度本校研究傑出獎。
- ❖ 本中心校內成員化學系助理教授 林柏樵博士研究開發金屬離子輔助之位相選擇性抗體修飾方法，相關研究成果概述如下：抗體（免疫球蛋白）具有抗原性，可用以免疫動物製備相應的抗體，而這種抗體常用於免疫球蛋白的檢測。如將這些免疫球蛋白分解成片段，像是 Fc 段、Fab 段、或重鏈、輕鏈等，則可製得分辨能力更高的特異性抗體。由此可知，抗體的修飾是極為重要的。一般製備免疫球蛋白片段有以下的方法：非共價鍵解離法、共價解離法、溴化氰裂解法、等。前兩者皆會產生不穩定的中間產物，必須在其中間體產生的時候添加一些穩定劑，較為麻煩；若採用溴化氰裂解法，因溴化氰分子量與抗體差異極大，容易將其與抗體進行分離，而且溴化氰只會切除特定的位置，特異性極高。在以溴化氰 (CNBr) 酸性條件下反應時，會切除抗體之恆定區，反應機制中進而生成一個內酯 (Lactone) 環，如下圖 1 所示。藉由引進金屬，預期可增加可被攻打的亞胺鍵之化學活性，讓親核性基團更容易進行反應而達到更有利之切除條件。免疫球蛋白是構成體內體液性免疫系統最重要的作用部分，是由 B 淋巴球分化成的漿細胞 (Plasma Cell) 所合成的。對抗原具有極高的專一性。免疫球蛋白由兩種蛋白質次級單位所組成，根據其相對大小，分別稱為輕鏈 (Light Chain) 與重鏈 (Heavy Chain)。一個免疫球蛋白分子，各含有兩個輕鏈與重鏈，不同鏈間以雙硫鍵 (Disulfide Bond) 彼此鍵結。每一個鏈上可再分成數個不同的功能區，每個功能區上都具有其獨特的功能。輕鏈上朝著 C 端的部分稱為恆定區 (Constant Domain, Fc)，而靠近 N 端的部分稱做輕鏈的變異區 (Variable Domain, Fab)。在重鏈上，靠近 N 端大約 1/4 的部分是重鏈的變異區，而其它部分則為重鏈的恆定區。免疫球蛋白與抗原的結合位置是在重鏈與輕鏈的 N 端，也就是在 Fab 功能區處。所謂蛋白質鏈的功能區並非單指胺基酸的線狀排列順序而已，還同時包括其次級、三級構造所形成的球狀區域。在免疫球蛋白中，已有五種不同的重鏈被發現，重鏈的形式決定了免疫球蛋白的種類。以人類免疫球蛋白 Human IgG 在 75 mM CNBr, 0.1N HCl 溶液中反應 4 hr，探討改變不同金屬鹽類，所使用的金屬鹽類包含  $GdCl_3$ ,  $CdN_2O_6$ ,  $NiSO_4$ ,  $CaCl_2$ ,  $FeCl_3$ ,  $FeCl_2$ ,  $Ce(NO_3)_4$ ,  $CuSO_4$ ,  $CoBr_2$  等，探討對抗體切除效率之影響。實驗操作方法為在 eppendorf 加入 Human IgG 1 uL (10 ug/uL)，隨後 CNBr 及各種金屬鹽類水溶液下進行反應。可以得到在加入不同金屬進行抗體之切除反應。進一步利用金屬所得到抗體切除進行 SDS-PAGE 電泳分析之結果，經由 Image Q 計算每一個 Band 相對強度，並且歸一化。其中，以加入金屬  $CdN_2O_6$ ,  $NiSO_4$  及  $FeCl_2$ ，為相對較好的切除條件，切除效率達 0.53-0.64。由實驗證實，藉由引進金屬確實可以增加欲被攻打的亞胺鍵結之親電性，讓親核性基團更容易攻打，達到更有利之切除條件。

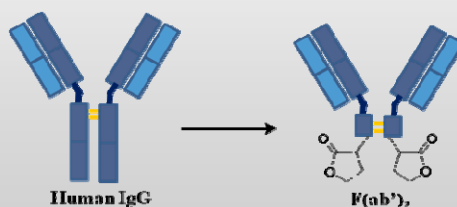


圖 1. 溴化氰引導抗體切除之示意簡圖

Publisher: Gordon C. C. Yang (楊金鐘)

Phone: +886 7 5252000 ext. 4407

Email: [gordon@mail.nsysu.edu.tw](mailto:gordon@mail.nsysu.edu.tw)