• 系統編號	RG9105-0019
• 計畫中文名稱	應用嗜菌體展出系統來生產對人類具專一性的 B 型肝炎病毒抗體及其變異區基因使用的研究
• 計畫英文名稱	Generation and Characterization of Human Hepatitis B Virus Specific Antibodies Using Phage Display System and Studies of Their Variable Region Gene Usage
• 主管機關	行政院衛生署
• 計畫編號	DOH89-DC-1019
• 執行機構	台北醫學院
• 本期期間	8809 ~ 8912
• 報告頁數	32 頁
• 使用語言	中文
• 研究人員	楊沂淵 Yang, Yi-Yuan
• 中文關鍵字	B 型肝炎病毒；噬菌體展示；特異抗體；B 型肝炎表面抗原
• 英文關鍵字	Hepatitis B virus (HBV)；Phage display；Specific antibody；Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

• 中文摘要

B 型肝炎病毒(HBV)是目前主要引起慢性肝炎的病源之一，可能與肝硬化及肝癌的發生有關。HBV 的 Surface 蛋白(HBsAg)在 HBV 的感染複製過程扮演一個非常重要的角色。因此對於治療慢性 B 型肝炎，HBsAg 應該是一個很重要的目標。單株抗體已普遍的應用於治療、診斷及基礎研究中，爲了更深入地了解 HBsAg 的可能致病機轉及其單株抗體的可能應用，嗜菌體表現系統提供了一種方法用以產生大量的對 HBsAg 抗原具有特異性的單株抗體。在本研究中我們獲得了兩個含有重鏈結合 Kappa 輕鏈或重鏈結合 Lambda 輕鏈的抗體基因庫，分別具有 4.65* 10/sup 4/和 2.5* 10/sup 5/的大小。經過 4 次針對於 HBsAg 的篩選過程後，隨機挑選出的菌株利用限制酵素分析，同時具有 Kappa 輕鏈及重鏈的菌株比例由 46.6%增加到 93.3%，同時具有 Lambda 輕鏈及重鏈的菌株比例由 71.4%增加到 100%。更進一步由西方點墨分析法偵測到 50kD 大小的蛋白質，顯示輕鏈及重鏈都有被表現出來並構成正確的 Fab 抗體片段結構。初步的 ELISA 結果顯示，4 個菌株可能對 HBsAg 抗原具有特異性。DNA 序列的分析結果顯示 4 個菌株中有 2 個是完全相同但不同於另外 2 個相同的菌株，而且重鏈都是屬於 VH4 這一族。我們所獲得的菌株是否的確對於 HBsAg 具有特異性，仍需要更進一步的證實。經由 DNA 序列的分析比較，將可得知人類抗 HBV 抗體基因中的使用情形。而這些抗 HBV 單株抗體應有助於 B 型肝炎的治療以及闡明 HBsAg 在病毒感染過程中扮演的角色。另外，本實驗所建構的人類抗體基因庫亦可更進一步地應用於篩選對其他不同抗原具有特異性的單株抗體。

• 英文摘要

Hepatitis B virus (HBV) is one of the major pathogens of chronic hepatitis, which may lead to liver cirrhosis and hepatoma. HBV surface antigen (HBsAg) plays an important role in HBV infection. To further study HBsAg and the possible applications of monoclonal antibodies against the virus, phage display system offers and alternative method for the generation of large numbers of anti-HBsAg mono-specific antibody molecules. In the present study, two phage display antibody libraries were established by combining PCR products of heavy chain genes with those of either kappa or lambda light chain genes, resulting in 4.65* 10/sup 4/ and 2.5* 10/sup 5/ clones in size, respectively. After 4th panning against the purifies HBsAg, the results of restriction analysis on randomly selected clones showed that both heavy and light chain gene inserts increased from 46.6% to 93.3% (kappa library) and 71.4% to 100% (lambda library), respectively. Furthermore, the detection of a 50 kD protein molecule using western blotting technique suggested the heavy and light chain polypeptides have been expressed and associated into the correct configuration. The preliminary ELISA data suggested that 4

clones may be specific for HBsAg, but not for BSA. DNA sequences of 4 clones indicated that 2 clones are identical but different from the other 2 identical clones. Whether or not these Fab fragments are specific for HBsAg molecule remains to be determined. Taken together, our data suggested phage display system could offer an efficient way in the generation of virus-specific clones.