• 系統編號	RC9101-0097
• 計畫中文名稱	以噬菌體展出系統來篩選 C 型肝炎病毒特異性的重組人類抗體的研究(I)
• 計畫英文名稱	Generation and Characterization of Recombinant Human Antibodies Specific for Hepatitis C Virus by Phage Displaying System (I)
• 主管機關	行政院國家科學委員會
• 計畫編號	NSC89-2314-B038-042
• 執行機構	台北醫學院醫事技術系
• 本期期間	8908 ~ 9007
• 報告頁數	6 頁
• 使用語言	英文
• 研究人員	楊沂淵 Yang, Yi-Yuan
• 中文關鍵字	人類重組抗體；噬菌體展示系統；C 型肝炎病毒；大腸桿菌
• 英文關鍵字	Recombinant human antibody；Phage displaying system；Hepatitis C virus (HCV)；Escherichia coli
• 中文摘要	C 型肝炎是由 C 型肝炎病毒經體液傳染的病毒性肝炎，患者易導致慢性肝炎、肝硬化、甚至肝癌而死亡。據估計目前全世界 C 型肝炎帶原者之人口約超過 10 億,因此如何預防與治療 C 型肝炎是肝病防治上的一個重要議題。HCV 爲帶有套膜(Envelope)的正，單股 RNA 病毒，長度約 9.5kb，分類上屬於 Flaviviridae 科，HCV 的非結構蛋白 NS3 是一種 Immunodominant antigen，具有 Serine protease 與 RNA helicase 兩種活性，其基因序列具有 Highly conserved，在 HCV 的複製過程中佔有一重要地位。本實驗是利用 Dr. Toshiaki Maruyama 所構築的 2 個 C 型肝炎抗體基因庫，其大小分別是：含有 kappa 輕鏈與重鏈的基因庫爲 1.3×10/sup 7/(簡稱爲 HCK)，含有 lambda 輕鏈與重鏈的基因庫爲 2.1×10/sup 6/(簡稱爲 HCL)。經過嗜菌體的篩選(Biopanning)和富化(Enrichment)，然後利用西方墨點法(Western blotting)由 30 個菌株中各篩選出 15 個具有抗體片段表現的菌株，藉由 ELISA 分析發現 lambda 輕鏈的 2 個菌株對 NS3 抗原具有結合的特異性，不過我們卻無法篩選出任何具有 kappa 輕鏈的 NS3 陽性菌株，以亞培公司所設計的 NEIA 來做確認，發現 HCL4 與 HCL7 菌株對 HCV 抗原呈陽性反應(2.47 S/CO，1.33 S/CO)。進一步分析 20 個 kappa 輕鏈與重鏈及 20 個 lambda 輕鏈與重鏈的 DNA 序列，發現 kappa 輕鏈之 HCK5 菌株的輕鏈在 CDR3 部份的胺基酸序列與 Dr. Maruyama 所找出之 YKns3al 的輕鏈相同，但重鏈部份則不相同，而 lambda 輕鏈之 HCL4 菌株在重鏈 CDR3 部份的胺基酸序列則與 Dr. Maruyama 的 YKns3b 的重鏈相同，但輕鏈部份則不相同。由以上結果我們得知：重鏈在 anti-NS3 抗體之活性扮演較重要之角色,而利用大腸桿菌來製造和 C 型肝炎 NS3 抗原具有結合能力的人類抗體蛋白片段應是可行的且具有發展的價值。

- 英文摘要

In this study, hepatitis C antibody libraries were established and the heavy chain genes with either kappa or lambda light chain genes resulted in 1.3×10/sup 7/ (HCK) and 2.1×10/sup 6/ (HCL) clones in size, respectively. After biopanning against the NS3 of HCV, we used Western blot analysis to randomly check 30 clones and found that 15 contained Fab fragment. The preliminary enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA) data suggest that 2 clones containing lambda light chain (HCL4 and L7) may be specific for NS3. Furthermore, their NS3 binding activity was confirmed by AxSYM HCV 3.0 Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA). DNA sequence analysis indicated that HCK5 and YKns3al contained identical CDR3 region in kappa light chain gene, but differed in the heavy chain. Moreover HCL4 and YKns3b used the same heavy chain, but different light chain genes! Taken together, our results showed that the NS3 binding activity of those screened anti-NS3 Fab antibodies was mainly determined by the heavy chain. The conclusion is consistent with most of the previous studies which indicated that the heavy chain plays an important role in antigen binding activity.