

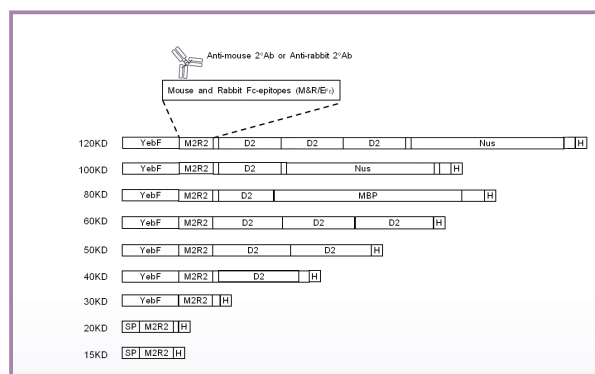
# 二級抗體所辨識之抗原決定位及其用途

■生物醫學暨環境生物學系 鄭添祿 教授

蛋白標記 (Protein marker) 若能在西方點墨法 (Western blot) 中直接被目前市面上最廣泛使用的任何抗老鼠/兔子之二級抗體辨識且自動呈色於底片上，將能使實驗人員更有效率、方便且準確的進行實驗。我們在本研究中開發了一種含有老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤，此標籤能被抗老鼠/兔子之二級抗體辨識且自動呈色於底片上。我們利用結構模擬軟體篩選三段老鼠 (M1, M2, M3) 及三段兔子 (R1, R2, R3) IgG抗體Fc區域的線性抗原決定位 (Linear epitope; LE) 作為標籤的候選序列 (IgG Fc LE)。利用西方點墨法發現老鼠 (M2) 及兔子 (R2) 抗體線性抗原決定位能成功被BL21大腸桿菌表現且可被抗老鼠/兔子之二級抗體直接辨識、自動呈色於底片上。我們將M2及R2結合成大小約15 kDa的含有老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤 (M&R tag)，並在其後依序接上不同分子量大小之蛋白，組成含有老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤之重組蛋白標記 (M&R linear epitopes protein marker; M&R LE protein marker; 15–120 kDa)。利用西方點墨法發現M&R LE protein marker能成功被BL21大腸桿菌表現且可被抗老鼠/兔子之二級抗體直接辨識、自動呈現出規則的分子量大小於底片上。我們研發

的含有老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤具有以下優點：(1)方便性：可以伴隨著二級抗體染色自動呈色在底片上，功能相當實用。(2)準確性：此標籤是 dye-free，所以分子量準確。(3)可加熱：能使蛋白質標記標籤呈現出最準確的分子量。(4)廣泛應用性：能被任何抗老鼠/兔子之二級抗體辨識。(5)可作為陽性控制組。此標籤除可當作蛋白質標記 (Protein marker) 或重組蛋白質 (Recombinant protein) 的偵測標籤 (tag) 外，更可當做實驗的陽性控制組 (Positive control)，使實驗人員能更方便且精準的判斷實驗結果，未來將有相當大的機會能取代目前傳統之蛋白質標籤，對合作企業其蛋白質分子量標記市場將開創無限的商機。

為了建構出帶有不同分子量大小含老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤之重組蛋白標記 (M&R LE protein marker)，我們挑選被抗老鼠及兔子之二級抗體辨識能力較好的 Mouse 2 (M2) 及 Rabbit 2 (R2) 線性抗原決定位 (linear epitope)，組成“含老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤 (M&R tag)”。並利用Cloning技術在其基因序列後依序接上不同分子量之蛋白質 (D2 [10 kDa]、MBP [40 kDa]及Nus [60 kDa])，形成可加熱、自動呈色於底片且分子量規則之含老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤之重組蛋白標記。YebF為E.coli secreted protein，接上YebF之重組蛋白標記，將能被分泌至細菌培養上清液中。H表示 His tag，SP表示 Signal peptide。



◀ Figure 1. 含老鼠及兔子抗體線性抗原決定位標籤之重組蛋白標記 (M&R LE protein marker) 基因建構總圖