

· 简 报 ·

## 去唾液酸粘蛋白—多聚(L)赖氨酸—HLA-B7 真核表达质粒复合物的合成<sup>①</sup>

杨 洁<sup>②</sup> 聂咏梅 罗超权 杨英浩

(中山医科大学生生化教研室; 广州, 510089)

主题词 蛋白水解产物 生物合成

中图分类号 D 12.776

受体介导的内吞作用转导外源基因进入靶细胞<sup>[1]</sup>,是目前所知的较有效的靶向性基因导入方法。该方法是利用能与细胞表面特异性受体结合的相应配体,以多价阳离子辅助物(例如多聚(L)赖氨酸或鱼精蛋白)为连接桥与DNA形成一种特殊的蛋白质-核酸复合物,通过配体与受体的结合,将外源基因导入靶细胞。

根据肝癌细胞表面的去唾液酸粘蛋白受体(asia loorosomucoid receptor,简称ASOR-R)可特异地与血浆中去唾液酸粘蛋白(asia loorosomucoid,简称ASOR)相结合的特点,我们按下述3步合成了蛋白质-核酸复合物,去唾液酸粘蛋白—多聚(L)赖氨酸—HLA-B7真核表达质粒(简称ASOR-Poly(L)-lysine-pRSVB7)<sup>[2]</sup>:①用神经氨酸酶水解去除 $\alpha$ 1酸性糖蛋白的末端唾液酸,通过Sephedex G-5(层析获得纯化的ASOR,浓缩保存;②在EDC[1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺]的作用下,将ASOR与Poly(L)-lysine连接,层析纯化,SDS/PAGE电泳鉴定后浓缩保存;③将pRSVB7质粒与ASOR-Poly(L)-lysine在HBS缓冲液(150mmol/L NaCl, 20mmol/L Hepes)中进行连接,用0.8%琼脂糖电泳鉴定,该复合物的泳动速率比单纯的pRSVB7质粒明显减慢。用软琼脂糖回收处理,获得纯化的复合

物。

近年的免疫学研究表明,肿瘤细胞之所以能逃避机体的免疫反应,与肿瘤细胞表面缺乏共刺激因子HLA-B7,不能有效激活细胞毒性T淋巴细胞(CTL)有关。大量实验表明肝癌细胞表面缺乏HLA-B7分子,本文合成的蛋白质-核酸复合物,为进一步将带有共刺激因子HLA-B7cDNA的真核表达质粒带入肝癌细胞,提高肝癌细胞表面HLA-B7的表达水平,增强CTL的杀伤力,深入研究免疫治疗肝癌提供了物质基础。

### 参 考 文 献

- 1 Wagner E, Cotten M, Foisner R, *et al.* Transferrin-polycation-DNA complexes: the effect of polycations on the structure of the complex and DNA delivery to cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 4255
- 2 Cristiano R J, Smith L C, Woo S L C, *et al.* Hepatic gene therapy: adenovirus enhancement of receptor-mediated gene delivery and expression on primary hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 2122

(1997-01-03收稿 1997-02-28修回)

① 国家教委博士点基金资助项目; ② 第一作者, 1968年出生, 女, 博士生