

脂蛋白 (a) 的分离纯化及其抗血清的制备

许 平 庄一义 汪俊军

(南京军区南京总医院生化科)

关键词 脂蛋白 (a), 分离制备, 抗血清

脂蛋白 (a) 简称 Lp(a), 是血清中一种具特殊结构、抗原成分和生理功能的脂蛋白, 近年来国外学者高度重视 Lp(a) 的研究并确定为动脉粥样硬化危险因素的良好指标, 为了探索有关动脉粥样硬化防治的新领域, 我们进行了 Lp(a) 的分离纯化及其抗血清的制备。

取富含 Lp(a) 供血员的新鲜血清, 用 Beckman L8-80M 制备型超速离心机, 以 KBr 调密度提取 1.055—1.110kg/L 的脂蛋白组分, 再用 Sepharose 6B 柱层析将 Lp(a) 与 LDL、HDL 分离, 用 0.15mol/L NaCl、pH8.5 洗脱得第一峰 Lp(a)。

提取的 Lp(a) 在苏丹黑预染的 PAGE 电泳上呈一条相应 Lp(a) 的区带 (图 1), 与 apoAI, AII, CI, CII, CIII, E 和白蛋白抗血清

作双向免疫扩散均无交叉反应, 与 apo B 抗血清和羊抗人全血清在相应 apo B 部位有强沉淀线, 与奥地利 Kostner GM 提供的 Lp(a) 抗血清产生一条沉淀线。

分离纯化的 Lp(a) 免疫绵羊, 每次 1mg, 共 6 次, 得到免疫血清。用超速离心分离密度 1.025—1.045kg/L LDL 组分和 $DS-Mg^{2+}$ 沉淀除去含 apo B 脂蛋白的血清组分, 以此二者制成 Sepharose 4B 免疫亲和层析柱处理抗血清, 除去 apo B 抗体及其它杂抗体。纯化的 Lp(a) 抗血清经免疫电泳鉴定, 与提取的 Lp(a) 和富含 Lp(a) 血清产生专一沉淀线 (图 2), 用

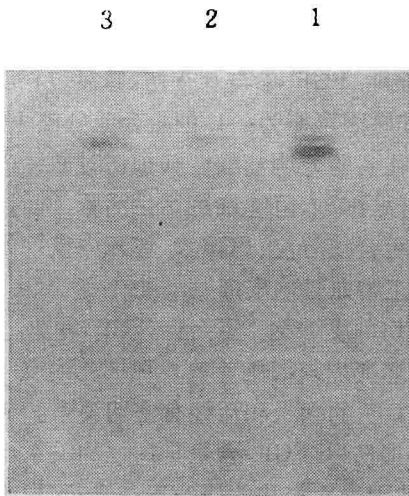


图 1 提取 Lp(a) PAGE 图谱

1. 富含 Lp(a) 血清 2. 超速离心后组分
3. 提取的 Lp(a)

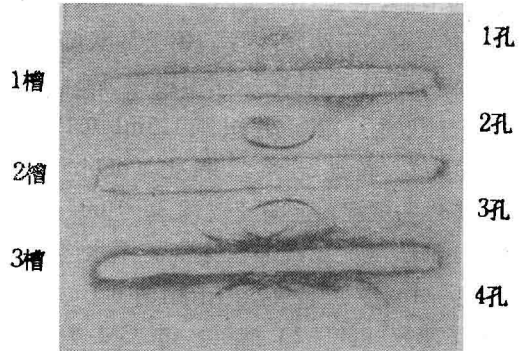


图 2 免疫电泳图谱

1 孔: 提取的 Lp(a) 2, 3, 4 孔: 富含 Lp(a) 血清
1 槽: 纯化 Lp(a) 抗血清 2 槽: apo B 抗血清
3 槽: 羊抗人全血清

免疫双扩散检查, 与 apoAI, AII, B, CI, CII, CIII, E 和白蛋白均无交叉反应, 与 Kostner GM 提供的 apo(a) 产生单一沉淀线, Lp(a) 专一性免疫抗血清效价为 1:32。本研究为 Lp(a) 的检测和临床应用建立了基础。

[本文于 1990 年 1 月 31 日收到]