

研究快报

从人血清脂蛋白 (a) 中提取载脂蛋白 (a)*

王大宝 潘晓平 严钱勤 唐峻岭

(上海第六人民医院医学遗传研究室, 上海 200233)

关键词 载脂蛋白(a), 溶血纤维蛋白酶原, 双层免疫火箭电泳, 免疫印迹试验

脂蛋白(a)简称 Lp(a) 是和低密度脂蛋白(LDL) 组成极相似的一类脂蛋白, 两者均含有相同结构的脂质和载脂蛋白 B 简称 ApoB; 此外, Lp(a) 还有其独特的载脂蛋白, 即多态糖蛋白 Apo(a).

载脂蛋白(a)简称 Apo(a) 有抑制血纤维蛋白溶解作用, 研究发现其与溶血纤维蛋白酶原的结构有很大同源性. 研究证明 Lp(a) 在血中的浓度与早期冠心病、心肌梗塞、脑卒、心脏搭桥手术后血管狭窄程度及动脉粥样硬化有密切关系. 因此, Apo(a) 的提取对 Lp(a) 和 Apo(a) 的基础研究和临床测定它们在血中的含量具有重要意义.

作者采用 L.J. Seman 氏法 (*Biochem cell Biol*, 1986:64:999—1009) 分离提取 Apo(a). 用火箭免疫电泳筛选, 把富含 Lp(a) 的人血清 (Lp(a) 含量大于 40mg/dl) 收集混合, 超速离心后获粗制 Lp(a), 密度为 1.05—1.07g/ml; 再经过滤凝胶 (Bio-Gel A_{5m}) 柱层析; 洗脱后, 第一主峰的前部分由双层免疫火箭电泳检测为不含 LDL 的 Lp(a). 其在琼脂糖电泳中位于前 β , 用还原剂二硫苏糖醇 (DTT) 处理后的 Lp(a), 迁移率由前 β 转到 β 位, 但在免疫印迹试验中, 与 Lp(a) 抗血清结合位置依然

在前 β 位, 而与 ApoB 抗血清反应显示在 β 位. 2.5%—10% SDS-PAGE 电泳中, Lp(a) 位于 LDL 后面, 说明 Lp(a) 的分子量及颗粒大于 LDL.

收集纯化 Lp(a) 25ml, 蛋白含量为 0.8 mg/ml, 用溴化钠调密度至 1.21g/ml, 置于 38.5ml 容量的离心管中, 上铺密度液 1.182g/ml, 内含 30m mol/l 的 DTT 及 1.25m mol/l 的 PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride). Beckman XL₈₀ 超速离心机, 50.2Ti 转头, 10°C, 49000r/min 离心 25h, 管上部溶液呈黄色, 依次由上向下每 5ml 收集一管, 在管底获得透明胶状蛋白, 该蛋白与 ¹²⁵I-Apo(a) 单克隆抗体 (Pharmacia) 反应, 在放射自显影中, 显示出提取的蛋白与 ¹²⁵I-Apo(a) 单克隆产生免疫沉淀, 证实为 Apo(a), 琼脂糖电泳后的免疫印迹试验结果, 该蛋白与 ApoB 抗血清不反应, 唯与 Lp(a) 抗血清反应. 2.5%—10% 的 SDS-PAGE 梯度电泳中, Apo(a) 呈一较宽的带, 分子量约为 52—57kD, Apo(a) 从 Lp(a) 中获得的回收率为 10%.

Apo(a) 的提取, 为深入研究其结构, 功能, 代谢, 遗传特性及致动脉粥样硬化机制等方面有重要意义.

* 上海市科委科研经费资助课题.

收稿日期: 1992-10-29