

B06

Production and Purification of Polyclonal Antibodies against Methamphetamine

陳美吟 (Mei-Yin Chen)¹、楊朝成 (Chau-Chen Yang)²、張竣凱 (Jiunn-Kae Chang)¹、
周淑芬 (Shu-Fen Chou)^{1*}

¹ 嘉南藥理科技大學生物科技系

² 嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所

Corresponding author : chousf@mail.chna.edu.tw

摘要

背景與目的：甲基安非他命 (methamphetamine ; METH) 為作用在中樞神經系統的一種精神興奮劑，也是在台灣常見的濫用藥物之一，並列為二級管制藥品管理。目前 METH 被限制用於治療嗜睡、注意力不集中以及肥胖等疾病，但因為 METH 具有促使體重減低、振奮精神、合成容易、產生欣快感以及成癮性等作用，導致濫用藥物的情形日趨嚴重。本研究為生產抗 METH 之多株抗體，未來可應用於免疫試片系統之開發。由於小分子 METH (約 149.233 g/mol) 不易在小鼠體內引起免疫反應，故本研究挑選牛血清蛋白 (bovine serum albumin ; BSA) 以及絲膠蛋白 (sericin) ，分別與 METH 合成生物共軛物，藉由大分子蛋白誘導小鼠體內產生 METH 之抗體。方法：本研究利用化學合成方式，將 METH 與 BSA 和 sericin 合成生物共軛物，並藉由 SDS-PAGE 與 ESI-Q-TOF MS 檢測探討生物共軛物合成之最佳條件。分別將兩種生物共軛物以腹腔免疫注射方式免疫 Balb/c 小鼠，每隔十天免疫一次。程序為取 80 μ g 生物共軛物加入 0.5 mL PBS 溶液和 0.5 mL 弗氏完全佐劑混合均勻，除第一次免疫使用弗氏完全佐劑，其餘皆使用弗氏不完全佐劑乳化抗原進行免疫。分別在第一次免疫前與第四次免疫後七天採血，並應用間接型 ELISA 方法檢測兩種生物共軛物對小鼠之免疫效果。獲得高度免疫之小鼠，於十天後，注射 0.5 mL Pristane 和 106 個 NS-1 骨髓癌細胞。觀察小鼠腹部增大情形，並在未造成小鼠活動困難前，收集小鼠腹水。最後以 HitrapTM rProtein A Fast Flow 親和性管柱進行腹水抗體之純化。結果：(一) 化學合成生物共軛物：以之前實驗探討最佳條件之化學合成方式鍵結 METH 與蛋白質，在利用 ESI-Q-TOF MS 分析蛋白質上 METH 鍵結數目，由數據中顯示，一分子 BSA 鍵結約 4-18 個 METH，而一分子 sericin 鍵結約 21 個 METH。(二) SDS-PAGE：利用此方法比對 BSA 與 sericin 再透過化學合成方式後能保留其分子量。(三) 小鼠免疫：透過間接型 ELISA 的方法顯示出，四次免疫後 BSA-METH 與 sericin-METH 皆能在小鼠體內產生免疫反應。結論：已成功利用化學方式合成出 BSA-METH 與 sericin-METH 之生物共軛物，兩種生物共軛物並能在小鼠體內發生免疫反應，尤其是利用 BSA-METH 當免疫原其效果較好，並成功純化出抗 METH 之多株抗體，未來將應用於免疫層析試片系統之開發。