

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级

学 号: 21620141152503

UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**A 型移植抗原的纯化**

**Purification of type A transplantation antigens**

肖 骏

指导教师姓名: 李晓彤 教授

专业名称: 细胞生物学

论文提交日期: 2017 年 4 月

论文答辩时间: 2017 年 5 月

学位授予日期: 2017 年 月

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2017 年 05 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( 李晓彤 )课题(组)的研究成果,获得( 李晓彤 )课题(组)经费或实验室的资助,在( 李晓彤 )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

2017年5月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 2037 年 7 月 1 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

2017 年 5 月 日

## 目 录

摘 要.....	6
Abstract.....	7
缩略词对照表 .....	9
<b>第一章 前言 .....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 移植抗原简介 .....</b>	<b>10</b>
1.1.1 移植抗原的研究概况.....	10
1.1.2 移植抗原的分型.....	12
1.1.3 移植抗原的基因与遗传.....	14
1.1.4 移植抗原的生物学功能.....	16
<b>1.2 移植抗原的配型与器官移植 .....</b>	<b>18</b>
1.2.1 移植免疫.....	18
1.2.2 移植抗原配型与移植.....	19
1.2.3 移植前的血清学检测.....	20
<b>1.3 移植抗原与疾病 .....</b>	<b>21</b>
<b>1.4 移植抗原的纯化 .....</b>	<b>22</b>
1.4.1 早期移植抗原的纯化方法.....	22
1.4.2 利用大肠杆菌表达并纯化移植抗原.....	23
1.4.3 在真核细胞中表达并纯化移植抗原.....	23
1.4.4 移植抗原的不同表达形式.....	24
<b>1.5 本课题的研究内容及意义 .....</b>	<b>25</b>
<b>第二章 材料与方 法 .....</b>	<b>27</b>
<b>2.1 实验材料 .....</b>	<b>27</b>
2.1.1 细胞株与实验动物.....	27
2.1.2 质粒.....	27
2.1.3 主要耗材及试剂.....	27

2.1.4 主要仪器.....	28
2.1.5 常用试剂的配制.....	29
<b>2.2 实验方法.....</b>	<b>32</b>
2.2.1 蛋白纯化相关实验.....	32
2.2.2 PAGE 电泳相关实验.....	34
2.2.3 酶联免疫吸附反应.....	35
2.2.4 免疫沉淀.....	36
2.2.5 免疫斑点分析.....	37
<b>第三章 结果与分析.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1 检测移植抗原的表达.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2 镍柱亲和纯化.....</b>	<b>38</b>
3.2.1 目的蛋白洗脱条件的探索.....	38
3.2.2 目的蛋白的镍柱亲和纯化.....	39
3.2.3 优化目的蛋白的结合条件.....	39
3.2.4 镍柱纯化前的预处理.....	40
3.2.4.1 沉淀目的蛋白的最佳硫酸铵浓度.....	40
3.2.4.2 预处理目的蛋白后的镍柱纯化.....	41
<b>3.3 稳定细胞株中目的蛋白的纯化.....</b>	<b>42</b>
3.3.1 获取目的蛋白的最佳时间.....	42
3.3.2 从完全培养基中纯化目的蛋白.....	43
3.3.3 从基础培养基中纯化目的蛋白.....	43
<b>3.4 抗体亲和纯化.....</b>	<b>44</b>
<b>3.5 目的蛋白纯化后的评估.....</b>	<b>45</b>
3.5.1 目的蛋白的纯度鉴定.....	45
3.5.2 目的蛋白的活性鉴定.....	46
<b>第四章 讨论.....</b>	<b>50</b>
<b>参 考 文 献.....</b>	<b>54</b>
<b>致谢.....</b>	<b>60</b>

## Table of Content

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>6</b>
<b>Abbreviation</b> .....	<b>8</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1 The general situation of transplantation antigens</b> .....	<b>9</b>
1.1.1 The development of transplantation antigens.....	9
1.1.2 Transplantation antigens types .....	11
1.1.3 The genetics of the transplantation antigens .....	13
1.1.4 Biological functions of transplantation antigens.....	15
<b>1.2 Transplantation antigens match and organ transplantation</b> .....	<b>16</b>
1.2.1 Transplantation immunity.....	17
1.2.2 Transplantation antigens match and transplantation.....	18
1.2.3 The detection of antiserum before transplantation.....	18
<b>1.3 Transplantation antigens and diseases</b> .....	<b>19</b>
<b>1.4 Transplantation antigens purification</b> .....	<b>20</b>
1.4.1 Early purification of transplantation antigens .....	20
1.4.2 Transplantation antigens expression and purification in E. coli .....	21
1.4.3 Transplantation antigen expression and purification in eukaryotic cells ....	21
1.4.4 Transplantation antigen expression in different forms.....	23
<b>1.5 Significance and content of the research</b> .....	<b>24</b>
<b>Chapter 2 Materials and Methods</b> .....	<b>25</b>
<b>2.1 Material</b> .....	<b>25</b>
2.1.1 Cell lines and animals.....	25
2.1.2 Plasmids.....	25
2.1.3 Reagents and Consumables .....	26
2.1.4 Instruments .....	27

2.1.5 Common buffer .....	27
<b>2.2 Methods .....</b>	<b>30</b>
2.2.1 Protein purification experiments .....	30
2.2.2 PAGE electrophoresis experiments.....	32
2.2.3 ELISA.....	33
2.2.4 Immunoprecipitation .....	34
2.2.5 Dot immunobinding assay .....	35
<b>Chapter 3 Results and analysis.....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 The detection of transplantation antigen expression .....</b>	<b>36</b>
<b>3.2 Ni<sup>+</sup> column affinity purification .....</b>	<b>36</b>
3.2.1 The exploration of imidazole elution conditions.....	36
3.2.2 Purified protein by Ni <sup>+</sup> column directly .....	37
3.2.3 Optimizing the condition of protein binding.....	37
3.2.4 Pretreatment before Ni <sup>+</sup> column purification .....	38
3.2.4.1 The best concentration of ammonium sulfate to precipitate protein .....	38
3.2.4.2 Ni <sup>+</sup> column affinity purification after pretreatment.....	39
<b>3.3 Express and purify protein in stable cell lines .....</b>	<b>39</b>
3.3.1 The best time to harvest protein.....	40
3.3.2 Purify protein from complete medium.....	40
3.3.3 Purify protein from basic medium .....	41
<b>3.4 Antibody affinity purification .....</b>	<b>42</b>
<b>3.5 Purified protein evaluation.....</b>	<b>42</b>
3.5.1 Identification the purity of protein.....	42
3.5.2 Identification the activity of protein .....	43
<b>Chapter 4 Discussion .....</b>	<b>46</b>
<b>References .....</b>	<b>50</b>
<b>Acknowledgement.....</b>	<b>56</b>

## 摘 要

移植抗原（transplantation antigens）是指能够引起移植排斥反应的细胞膜表面蛋白。从发现移植抗原到现在的近 60 年间，研究者对它的认识也从最初的组织器官移植发展到认识其在免疫系统中所发挥的重要作用，最近又有研究结果表明其与许多疾病的发生发展都有着密切的联系，而且移植抗原因其多态性而具有的庞大容量也使得其成为人类基因组研究中最复杂最多态性的领域，移植抗原的研究也因此面临着巨大的挑战。因此，有关移植抗原的研究一直是免疫学，遗传学，临床移植等研究的重点。

在器官移植中，供患者的移植抗原匹配程度直接决定了移植排斥反应的强度，进而影响移植的成功与否。为方便在移植前对供患者的移植抗原进行匹配，研究者一直在致力于构建移植抗原库。最初的方案是直接从未成熟淋巴细胞，血小板，脂质体等组织细胞中提取，之后发展到在原核系统中分别表达纯化，再通过添加特异性的抗原肽在体外复性重组，最近的报道则主要是在真核细胞中表达重组质粒，并利用抗体亲和纯化等手段获取移植抗原。

本实验通过在人胚肾细胞中表达重组的 A 型移植抗原，并经过一系列纯化条件的优化，最终得到符合要求的蛋白。实验结果表明，在验证了重组蛋白的成功表达后，摸索出镍柱纯化的最佳条件，之后又采用抗体亲和纯化得到了纯度较高的蛋白，经过高效液相色谱法评估纯度超过 99% 且均一性良好的移植抗原，同时通过免疫沉淀、免疫斑点实验和酶联免疫吸附反应等多种手段验证了其活性。

关键词：移植抗原 蛋白纯化 器官移植



## **Abstract**

Transplantation antigens are those membrane proteins able to cause transplant rejection. Now it is almost sixty years since transplantation antigens have been described, the knowledge of transplantation antigens have been developed from the initial organ transplantation to the important roles that they are playing in the immune system. Recently, studies have showed that the close associations between transplantation antigens and diseases. Meanwhile, the large capacity of transplantation antigens also makes them be the most polymorphism and complex field of human genome research. Therefore, transplantation antigens related studies have been the focus of immunology, genetics and clinical transplantation research.

Because the degree of patients' transplantation antigens matching in the organ transplantation determines the strength of the graft rejection reaction directly, they affect the success of transplantation. For the convenience of transplantation antigens matching for patients before transplantation, the researchers have been working on building the transplantation antigens library. Purification technology have developed from extracting transplantation antigens in the stimulated lymphocyte cells directly, to purifying domains respectively in vitro and refolding by adding the antigen peptide before expressed in the prokaryotic system, nowadays purifying by constructing recombinant plasmid expressed in eukaryotic cells. Transplantation antigens purification technology is continuous developing and improving. At the same time, detection of transplantation antigens antiserums has gradually improved from micro lymphocytes cytotoxicity experiments to a variety of means such as fluorescent beads flow cytometry, ELISA and solid phase immunoassay technology with the development of transplantation antigens purification methods.

The main content of this experiment is expressing recombinant type A transplantation antigens in human embryonic kidney cells, after a series of purification conditions optimization, we got type A transplantation antigens. Our results showed that after verify the success expression of recombinant proteins, we

optimized the best conditions needed for Ni<sup>+</sup> purification, and we got high purity protein by using antibody affinity purification. We confirmed type A transplantation antigens obtained got more than 99% purity and good homogeneity, verified its activity through various means, such as IP, DIBA, ELISA.

Keywords: transplantation antigens; protein purification; organ transplantation

厦门大学博硕士论文摘要库

## 缩略词对照表

缩略语	英文全称	中文全称
MHC	major histocompatibility complex	主要组织相容性复合体
mHC	minor histocompatibility antigen	次要组织相容性复合体
HLA	human leukocyte antigen	人类白细胞抗原
KD	kilodalton	千道尔顿
KIA	killer cell immunoglobulinlike receptor	杀伤细胞免疫球蛋白样受体
His	Histidine	组氨酸
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
SDS	sodium dodecyl sulfate	十二烷基磺酸钠
OD	optical density	光密度
PBS	phosphate buffer solution	磷酸盐缓冲液
HRP	horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
MAbs	monoclonal antibodies	单克隆抗体
DIBA	dotimmunobinding assay	免疫斑点实验
IP	immunoprecipitation	免疫沉淀
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附测定法
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
WB	Western Blot	蛋白质印迹法

## 第一章 前言

### 1.1 移植抗原简介

#### 1.1.1 移植抗原的研究概况

移植抗原是导致同种异体免疫排斥反应的原因，其中编码最强移植抗原的基因座位即为主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC），其编码的抗原即为主要组织相容性抗原，另外，还含有次要组织相容性抗原（minor histocompatibility antigen, mHC）、ABO 血型抗原、组织特异性抗原等，但发挥主要免疫排斥作用的是 MHC。以主要组织相容性抗原为代表的移植抗原在人体内主要存在于除精子和子宫滋养层细胞以外的所有有核细胞，且在白细胞中表达量最高，因此又被称为白细胞抗原，即 HLA（图 1-1）。自从约 60 年前的第一个人类主要组织相容性抗原发现以来，相关领域的研究已经由单一的移植组织相容性研究，发展为当今基础免疫学和临床免疫学最前沿且最具中心地位的研究领域之一。

最早在二十世纪初，美国遗传学家 Ernest E. Tyzzer 和 Clarence C. Little 通过品系内外小鼠的肿瘤移植实验发现，小鼠对于品系内外的移植肿瘤敏感性存在差异，由此推测出存在多达 15 个基因作为决定移植肿瘤存活的遗传学基础<sup>[1]</sup>，开启了受体针对移植植物识别差异的认知先河。1936 年，英国内科医生兼病理学家 Peter A. Gorer 发现与上述现象相关的首个移植植物相关的抗原即小鼠血型抗原 II；1937 年，美国哺乳动物遗传学家 George D. Snell 等发现小鼠组织相容性抗原由位点 H-2 编码，并发现小鼠位点 H 就是小鼠血型抗原 II，并将其命名为 H2 位点。由此，Snell 将与同种组织移植以及肿瘤移植急性排斥反应相关的基因称为主要组织相容性复合物。之后的研究发现其他哺乳动物也存在类似于小鼠 H2 位点的 MHC 系统<sup>[1]</sup>。1958 年，J.Dausset 通过研究多次输血者以及多次分娩妇女的血清中抗体的情况，发现了人类白细胞表面抗原，并以三个参与此实验的志愿者名字的首字母将其命名为 MHC，并极具前瞻性的预言 MHC 将在器官移植和骨髓移植中将发挥重要作用。后来证明人类的 MHC 就是人类白细胞表面抗原<sup>[2]</sup>。而此之后的 1963 年，B.Benacerraf 团队通过免疫豚鼠时所获得的免疫应答反应，发现

MHC 与免疫应答之间存在着密切的关联<sup>[3]</sup>。正是由于 Benacerraf、Dausset 和 Snell 对于移植抗原开创性的研究工作，使得他们三人共享了 1980 年的诺贝尔生理和医学奖<sup>[4]</sup>。

移植抗原的研究早期进展较为缓慢，因为移植抗原有及其丰富的多态性，导致其相关研究的工作量和难度都较大，所以有关的实验室与研究专家共同组织了国际组织相容性研讨会以便能够互相协作，加快移植抗原研究的进展。自 1968 年 kai 开展移植抗原基因组学的研究以来，国际移植抗原的相关数据库便在持续更新中<sup>[5]</sup>，最近已更新到了 3.27.0 版本，相关数据多达几十万。移植抗原的遗传数据库能有如此快的发展，正是源于临床移植中移植抗原配型的巨大需求，因为移植抗原的匹配程度直接决定了组织器官移植的成功与否。但关于移植抗原遗传学的研究又由于其高度的多态性而困难重重，这也使之成为人类基因组研究中最复杂最多态性的区域。

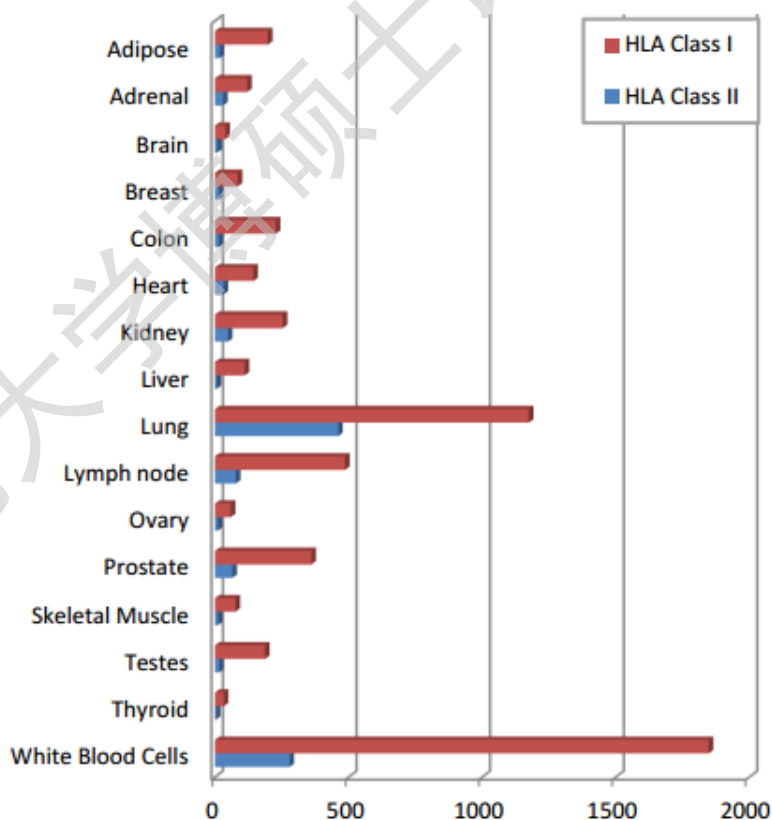


图 1-1 各组织器官中人类白细胞抗原表达情况<sup>[6]</sup>

Fig.1.1 HLA expression in various tissues and organs

我国研究者自二十世纪 70 年代始就已经认识到了移植抗原的重要性并展开了相关的研究工作，并在 70 年代末建立起了属于中国人自己的人类白细胞抗原系统。但该系统容量较小，而且相关研究采用国内单独的分类系统，也未能与国际研究展开合作。虽然在 80 年代国内的移植抗原系统开始与国际系统接轨，但从 80 年代开始，国际移植抗原研究已经从单一的血清学研究发展到血清学为辅，以分子克隆技术为主的移植抗原基因分型技术研究，国内进展缓慢。到 90 年代时，国内移植抗原研究已经存在了较大差距。可喜的是，2000 年中华骨髓库获得了重启，在相关研究工作者的努力下，中国的移植抗原研究也发展为以基因分型技术为主，并不断加大移植抗原的临床研究。在这段时期，中国的移植抗原研究突飞猛进，国内研究者们也发现了中国人群中特有的移植抗原新等位基因。所有的这些工作都为我国骨髓移植和器官移植患者带来了福音，同时也表明我国的移植抗原分型研究已经居于世界先进水平。

### 1.1.2 移植抗原的分型

以人类组织相容性抗原为代表的移植抗原最早的研究是源于组织器官的移植实验，Dausset 通过研究皮肤和尸肾的移植效果与供患者之间移植抗原匹配度而找到定义移植抗原的依据。最初的移植抗原研究主要是采用临床上的抗血清和免疫细胞为处理手段，采用血清学和细胞培养的方法开展移植抗原的分型与研究。自 1958 年通过白细胞凝集实验检测出第一个移植抗原以来，后续便快速发展出补体依赖的微量淋巴细胞毒试验，以细胞培养为鉴定手段的混合白细胞反应，以及细胞介导的淋巴细胞毒实验等分型技术。这些早期的技术主要是利用抗血清中特异性抗体能与细胞表面的移植抗原特异性的结合，进而引发细胞毒作用而裂解免疫细胞，由此判定抗血清中特异性抗体与移植抗原之间的对应关系。然而，血清中含有的多种抗体，可能导致识别出移植抗原的多个抗原表位，同时不同的抗原分子也可能具有相同的抗原决定簇，因此这些手段都存在着较高的错判率。事实上随着抗血清种类的增加与检测方法的改进，许多原先的单一抗原又可以进一步被细分为多种抗原，如原始的 HLA-B22 抗原在后期分解为 HLA-B54、HLA-B55 和 HLA-B56 等多种更加精确的抗原类型。

自 20 世纪 90 年代开始，分子生物学技术得到了巨大的发展，同一种氨基酸序列所对应的碱基序列具有很大差异，因此采用核酸序列作为分型依据能够准确

定位到每一个碱基。移植抗原的等位基因分型手段也逐渐取代了早先的血清学与细胞学分型技术。在 1996 年第 12 届国际组织相容性研讨会上,首次提出 HLA-I 类抗原的基因分型后,基因分型技术快速发展并逐渐成为主要分型手段,以至于如今移植抗原的血清学分型只作为基因分型的一种辅助技术,国际通用的 HLA 命名采用的也是与血清学分型相匹配的移植抗原的基因分型。采用基因分型技术后移植抗原的等位基因数目增长极快。研究者们最初为每个移植抗原基因预留了 99 个等位基因的位置,很快便扩展到 199 个却仍然不够,最终不得不采用数字与字母结合的命名方法来区分不同的移植抗原基因。基因型分型技术的运用大大提高了移植抗原基因库的容量,也使得移植抗原基因在与血清学分型相对应的前提下,分辨率不断提高。移植抗原的基因分型技术与血清学分型技术相比,除在分辨率上有很大提高外,还有其他的一些优势。比如基因组的 DNA 来源可以是较易获取的组织细胞而非需要保持活力的淋巴细胞,因此材料用量少且可长期保持,同时基因分型技术自动化程度较高,实验重复性较好,另外采用第二代测序方法的分型技术还具有高通量、检测速度快等特点。

当然,基因分型技术也存在着一些问题,除了成本花费更高以外,最主要的制约是基因分型也存在着模棱两可的结果<sup>[7]</sup>。产生这种模棱两可分型结果的原因,主要是由于移植抗原基因所在的区域存在着较多的具有高度同源性的假基因,断裂基因等,这些基因由于片段的缺失、断裂以及突变等原因而失去了表达蛋白的能力,但对于以检测核酸序列为基础的基因分型技术却带来了巨大的挑战。最先进的测序分型技术可以通过给扩增后的 DNA 模板测序,检出所有存在的碱基突变,但得到的结果却是两条单体型序列的组合,同时得到的序列也包含那些假基因,断裂基因等。由于移植抗原本身具有的高度多态性,导致难以分辨所得基因序列的真假,因此需要血清学等其他技术手段辅助鉴定。事实上,目前已登记的模棱两可的基因分型结果多达几十万种。而且对于组织器官移植而言,除了需要对患者做移植抗原基因的高分辨率分型外,还需要对患者家庭成员的移植抗原进行分型,如果都采用高分辨率的精细分型无疑对患者来讲将花费巨大。因此,基因分型与血清学分型的综合考虑最有利于确定患者及其家庭成员的移植抗原信息,帮助患者找到最适供体。

根据移植抗原的分子结构、所递呈的肽段是来自胞内还是胞外以及递呈的目

标免疫细胞的种类，主要被分为I型移植抗原和II型移植抗原（即 HLA-I和HLA-II）。I类移植抗原包括经典的 HLA-A, -B 和-C 以及非经典的 HLA-E, -F 和-G, 分子结构都为  $\alpha$  链通过非共价键结合至  $\beta_2$  微球蛋白, 主要负责呈递胞内来源的多肽到  $CD8^+$  T 细胞和自然杀伤细胞, 从而导致被感染及发生严重变异细胞的裂解死亡。II类移植抗原分子则是由结构类似的  $\alpha$  链和  $\beta$  链组成, 主要包括 HLA-DR, -DP 和-DQ, 负责递呈胞外来源的肽段到  $CD4^+$  T 细胞, 帮助加强免疫反应, 导致产生抗体等效应, 维持机体稳态<sup>[8,9]</sup>。本实验的研究对象为 A 型移植抗原, 即 HLA-I型中的 HLA-A 类蛋白。

### 1.1.3 移植抗原的基因与遗传

移植抗原的遗传区域定位于第 6 号染色体短臂上 (6p21.31-21.33), 约占人类基因组的 0.1%, 含有将近 400 万个碱基对, 编码了超过 220 个基因, 大部分参与抗感染的免疫防御<sup>[10]</sup>。

I类移植抗原的基因较靠近端粒 (图 1-2), 经典的移植抗原 A, B, C 三种类型的基因长度为 4Kb~5Kb, 含有 8 个外显子, cDNA 长度近 1100bp, 编码 365 个氨基酸。第 1 外显子编码信号肽, 在翻译过程中引导后续过程在粗面型内质网中进行, 第 2, 3, 4 外显子分别编码  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$  活性区, 氨基酸个数分别为 90, 92, 92。该段作为其抗原决定区, 但氨基酸序列的主要变化区域位于  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$ , 因此其血清学特异性也主要由此处决定。而在生理状态下发挥结合抗原肽功能也是由  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  组成的一处疏水活性区, 此疏水活性区被称为抗原结合区 (antigen recognition domain, ARD)。第 5 个外显子则编码跨膜区, 通过疏水结构将其锚定于细胞膜上, 第 6 和第 7 个外显子编码胞质部分, 第 8 个外显子是非翻译序列 (图 1-3)。此外,  $\beta_2m$  则位于第 15 号染色体上, 但  $\beta_2m$  仅起着稳定  $\alpha$  链结构与活性的作用, 不影响抗原肽的结合也不影响I类移植抗原的抗原活性。

II类移植抗原基因相比于I类则更靠近着丝点 (图 1-2), 目前鉴定出的等位基因也近 4000 个,  $\alpha$  和  $\beta$  链各含 6 个外显子, cDNA 长度 801bp, 编码 266 个氨基酸。第 1 外显子编码信号肽和第 1 活性区的少量氨基酸, 剩余的第 1 活性区的 90 各氨基酸则由第 2 外显子编码。第 2 活性区由第三外显子编码, 含有 94 个氨基酸, 是结合抗原肽的功能部, 作为II类移植抗原分子的抗原结合区, 同样也是氨基酸序列的主要变化区域, 决定了II类移植抗原分子的分型。第 4 外显子编码



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库