

# 人 sBCMA cDNA 的克隆、高可溶性融合表达及活性分析 Cloning , Soluble Expression and Characterization of Human sBCMA

管政兵,曹 鹏,叶记林,张双全\*

GUAN Zheng-Bing, CAO Peng, YE Ji-Lin and ZHANG Shuang-Quan\*

南京师范大学生命科学学院,江苏省分子医学生物技术重点实验室,南京 210097

Jiangsu Province Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, Life Sciences College, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China

**摘 要** BCMA 是除 TACI 外 BAFF 和 APRIL 共用的另一细胞表面受体。为了研究 sBCMA 作为拮抗受体的可能及获得活性 sBCMA 蛋白用做结构功能研究,我们以 RT-PCR 法从人 B 系非洲淋巴瘤细胞株 Raji 总 RNA 中扩增出人 BCMA 的全长 cDNA,经克隆测序证实所克隆的基因为人 BCMA。继而通过嵌套 PCR 扩增出胞外可溶区(sBCMA,46 个氨基酸组成,含有一个 6 个半胱氨酸的保守 CRD,构成 3 个二硫键)cDNA,构建原核表达载体 pET43.1(+)-sBCMA,在大肠杆菌菌株 Origami B(DE3)pLysS 中高可溶性融合表达出重组蛋白 sBCMA-NusA-His<sub>6</sub>,同时克隆表达了融合蛋白 NusA-His<sub>6</sub>。经 Ni<sup>2+</sup>-NTA 亲和纯化后的目的蛋白进行细胞学实验表明 sBCMA 能特异阻断 BAFF 促小鼠 B 细胞的增殖作用,而 NusA-His<sub>6</sub> 则不能,证实我们所表达得到的受体胞外可溶性片段 sBCMA 与配体具有较高的结合活性。sBCMA 融合蛋白的成功表达将为二硫键富含类蛋白的表达提供参考,并为研究其临床应用以及 BAFF 和 APRIL 受体结构和功能的关系奠定基础。

**关键词** RT-PCR, sBCMA, 融合表达, 增殖抑制

中图分类号 R392.11 文献标识码 A 文章编号 1000-306X(2006)01-0046-06

**Abstract** BCMA is one of the transmembrane receptors belonging to BAFF and APRIL. In order to identify the feasibility of sBCMA as decoy receptor and obtain active sBCMA for its structural and functional research, full length of hBCMA was amplified with total RNA from Raji cell line by RT-PCR, and the cDNA encoding the extracellular soluble domain of hBCMA was inserted into pET43.1(+) vector. The recombinant vector pET43.1(+)-sBCMA was transformed into *E. coli* Origami B(DE3)pLysS which is helpful for disulfide bond construction of expression proteins. After IPTG induction, the recombinant protein was expressed as soluble fusion protein, sBCMA-NusA-His<sub>6</sub>, and identified by western blotting. Then the target protein was purified by Ni<sup>2+</sup>-chelating Sepharose Fast Flow. The binding activity between recombinant sBCMA and BAFF was detected by ELISA. Also, Recombinant sBCMA inhibited proliferation of mouse B cell stimulating by rhBAFF. It was proved that recombinant sBCMA has good bioactivity and the method to express those proteins rich in disulfide bond is feasible and effectual.

**Key words** RT-PCR, sBCMA, fusion expression, proliferation inhibition

B 淋巴细胞刺激因子(BAFF,又叫 BLyS、THANK、zTNF-4、TALL-1 及 TNFSF-13B)和增殖诱导

配体(APRIL,又叫 TALL-2、TRDL-1 及 TNFSF-13)分别是 1999 年由 Shu<sup>[1]</sup>和 1998 年由 Hahne<sup>[2]</sup>发现并克

Received: September 19, 2005; Accepted: November 3, 2005.

This work was supported by a grant from The National Natural Sciences Foundation of China (No.30271093).

\* Corresponding author. Tel: 86-25-83598720, E-mail: zhangshuangquan@263.net

国家自然科学基金资助项目(No.30271093)

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

隆成功的。BAFF 是外周血 B 细胞一个关键的存活与成熟因子,APRIL 在不依赖 T 细胞的 II 型抗原反应和 T 细胞存活过程中扮演一个重要角色,同时它也能诱导一些非淋巴细胞的增殖和存活。

对 BAFF 过表达的转基因小鼠、自发性红斑狼疮小鼠模型及临床流行病学的研究均揭示,BAFF 的过量表达是系统性红斑狼疮<sup>[3 4 5 6 7]</sup>、重症肌无力<sup>[7]</sup>、类风湿性关节炎<sup>[6 8]</sup>、干燥综合征<sup>[9]</sup>等多种自身免疫疾病的病因之一,且 BAFF 的浓度往往与病情的严重程度正相关<sup>[3 6]</sup>,如何控制 BAFF 在血液中的含量成为了治疗自身免疫疾病的关键之一。

同时,近年诸多研究表明,APRIL 在多种肿瘤细胞的增殖和存活以及促肿瘤形成的过程中都起着独特的作用<sup>[10 11]</sup>,APRIL 分子可能是作为一种自分泌或旁分泌生长因子而促进肿瘤的形成及肿瘤的增殖与存活<sup>[12 13 14]</sup>。体外及动物体内实验发现 APRIL 受体的可溶形式可通过竞争性抑制 APRIL 与其膜受体的结合而明显抑制某些肿瘤细胞的增殖<sup>[3 15 16]</sup>(如结肠癌细胞等)。BCMA 作为 BAFF 和 APRIL 的细胞表面共用受体,在两者生物学功能发挥的过程中起着重要的作用。可溶性 BCMA(sBCMA)是受体 BCMA 胞外区段的一部分,具有与 BAFF 和 APRIL 特异结合而达到拮抗 BAFF 和 APRIL 的作用,这使得其可能成为治疗自身免疫疾病和某些肿瘤的一种新思路。为探讨人 sBCMA 的生物学性状和用于疾病治疗的可能性,我们应用反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)对人 sBCMA 的 cDNA 基因进行了克隆和序列测定,并在大肠杆菌中表达得到了活性 sBCMA 蛋白,为进一步研究临床应用打下了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

Raji 细胞株由本实验室培养,RPMI1640 培养基购自 GIBCO 公司。RT-PCR 试剂盒、质粒提取试剂盒、DNA 回收试剂盒购自 Promega 公司。Taq DNA 聚合酶、限制酶、T4 DNA 连接酶购自 TaKaRa 公司。Anti-His6 抗体购自 Invitrogen 公司。引物由上海英骏公司合成。Ni<sup>2+</sup> chelating Sepharose Fast Flow 购自 Pharmacia Biotech 公司。表达载体 pET43.1a(+) 大肠杆菌表达菌株 Origami B(DE3) pLysS 为本室保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 人 Raji 细胞株总 RNA 的提取** 参照 Trizol 试剂盒说明书提取 2mL Raji 细胞( $5 \times 10^6$  个/mL)总 RNA,用甲醛变性琼脂糖凝胶电泳鉴定其完整性,紫

外分光光度计测定其浓度。

**1.2.2 RT-PCR 及 BCMA 全长 cDNA 的克隆** 根据 GenBank 中登录的人 BCMA cDNA 序列,设计一对扩增人 BCMA cDNA 全序列的引物,正向引物为:5'-TCAGTGCATATGTTGCAGATGG-3',反向引物为:5'-CAGTCAGAATTCATTACCTAGCAG-3'。RT-PCR 的反应条件为:以总 RNA 为模板,在 50 $\mu$ L 反应体系中,加入 5 $\times$  RT-PCR 反应缓冲液 10 $\mu$ L,25mmol/L MgSO<sub>4</sub> 2 $\mu$ L,10mmol/L dNTP 混合物 1 $\mu$ L,20 $\mu$ mol/L 的上下游引物各 2.5 $\mu$ L,AMV 逆转录酶 1 $\mu$ L,Tfi DNA 聚合酶 1 $\mu$ L 及 RNA 模板 2 $\mu$ L,补水至 50 $\mu$ L。RT-PCR 循环参数为:48 $^{\circ}$ C 逆转录 45min,94 $^{\circ}$ C 变性 2min,再进行 40 个 PCR 循环(94 $^{\circ}$ C 变性 30s,57 $^{\circ}$ C 退火 1min,68 $^{\circ}$ C 延伸 2min),最后于 68 $^{\circ}$ C 延伸 7min。RT-PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离后,用胶回收试剂盒回收约 580bp 的 DNA 条带,置 4 $^{\circ}$ C 保存。BCMA cDNA 基因以 *Nde* I 和 *Eco* R I 双酶切,回收后与 pET28a(+) (*Nde* I 和 *Eco* R I 双酶切后)连接,转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞。通过菌落 PCR 法和抽提质粒酶切鉴定法筛选出插入正确外源基因的转化子。将鉴定的重组质粒 pET28a(+) -BCMA 送去测序。

**1.2.3 BCMA 胞外可溶区(sBCMA) cDNA 表达载体的构建及鉴定** 根据编码 sBCMA 的 cDNA 序列,设计正向引物为:

5'-TCAGTGCCGCGGTTGCAGATGG-3',

反向引物为:

5'-CAGTCAGAATTCATTATGAATTGGTCACAC-3',

以 pET28a(+) -BCMA 为模板,按常规方法进行嵌套 PCR。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 变性 2min,再进行 30 个循环(94 $^{\circ}$ C 变性 30s,57 $^{\circ}$ C 退火 30s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1min),最后于 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min,4 $^{\circ}$ C 保存 PCR 产物。扩增的 sBCMA cDNA 片段,经 *Sac* II 和 *Eco* R I 双酶切后,与 pET43.1a(+) (*Sac* II 和 *Eco* R I 双酶切后)连接,转化感受态 DH5 $\alpha$ ,筛选转化子,菌落 PCR 鉴定阳性克隆,从阳性克隆中提取质粒并进行序列测定,重组质粒命名为 pET43.1a(+) -sBCMA。

**1.2.4 sBCMA 融合蛋白在大肠杆菌中的诱导表达及鉴定** 采用 SDS-PAGE 和 Western-blotting 进行鉴定。以表达载体 pET43.1a(+) -sBCMA 转化感受态 Origami B(DE3) pLysS,在含 Amp 的 LB 的平板上挑取单克隆接种于含适当浓度 Amp 的 LB 液体培养基中,于 37 $^{\circ}$ C 振荡培养约 3h,使  $A_{600} \approx 0.6$ ,加入终浓度为 1mmol/L 的 IPTG,37 $^{\circ}$ C 振荡培养,诱导 5h 后取

1mL 菌液离心收集菌体,同时设未诱导对照。以 50 $\mu$ L H<sub>2</sub>O 重悬菌体后,再加 50 $\mu$ L 2 $\times$  上样缓冲液,混匀,煮沸 5 min,以 12000g 离心 10 min 后行 SDS-PAGE。Western-blot 中所用一抗为羊抗 His<sub>6</sub>,二抗为辣根过氧化物酶标记的鼠抗羊 IgG。其简要步骤是:将诱导的产物先行 SDS-PAGE 然后以浸入式法将蛋白电转移至硝酸纤维素膜(NC膜)上,用记号笔标记蛋白 marker 各条带,然后依次经 5% 脱脂奶粉室温封闭 1h,与抗 His<sub>6</sub> 单抗孵育 1h,与 HRP 标记的鼠抗羊 IgG 孵育 1h,每步完成后均严格洗膜,最后加 TMB 避光显色。

**1.2.5 重组蛋白的 Ni<sup>2+</sup>-NTA 亲和纯化:**将含重组质粒 pET43.1a(+)sBCMA 的表达菌株在 200mL LB 培养基中扩大培养并按上述条件进行 IPTG 诱导后,离心收集细菌,25mL Binding Buffer(5mmol/L 咪唑,0.5mmol/L NaCl,20mmol/L Tris-HCl pH7.9)重悬及超声破菌,4℃离心 20min,弃沉淀,留上清过 Ni<sup>2+</sup>-NTA 柱。简要过程是:3 体积 Binding Buffer 平衡 Ni<sup>2+</sup>-NTA 柱后,手动上样含可溶性重组蛋白的上清,6 体积 Wash Buffer(60mmol/L 咪唑,0.5mol/L NaCl,20mmol/L Tris-HCl pH7.9)洗去未结合上 Ni<sup>2+</sup>-NTA 柱的杂蛋白,最后 6 体积 Elute Buffer(1mol/L 咪唑,0.5mol/L NaCl,20mmol/L Tris-HCl pH7.9)洗脱目的蛋白,PBS 透析除盐,以 SDS-PAGE 及毛细管电泳分析纯度并以紫外分光光度计检测蛋白浓度。

**1.2.6 ELISA 法检测 BAFF 与 sBCMA 的特异性结合** 溶菌酶、活性 rhsTRAIL 与 rhBAFF 分别以 10 $\mu$ g/mL 包被于 96 孔板,经 5% 脱脂牛奶封闭后,分别加入稀释至 10 $\mu$ g/mL 的重组蛋白(sBCMA-NusA-His<sub>6</sub>)或融合蛋白 NusA-His<sub>6</sub> 的 PBS 溶液,37℃孵育 1h,洗板,加入 1:1000 稀释的羊抗 His<sub>6</sub> 单抗,37℃孵育 1h,洗板,加入 1:1000 稀释的鼠抗羊 IgG-HRP,37℃孵育 1h,洗板,加入 TMB 显色底物,显色 15min 后以 2mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止反应,测定各孔 OD<sub>450</sub>。实验设三复孔,取其平均值,并计算标准误差。

**1.2.7 sBCMA 对 BAFF 促 B 细胞增殖活性的阻断作用** 颈椎脱臼处死约 9 周龄雌性 BALB/C 小鼠,采用 NH<sub>4</sub>Cl 去红细胞及抗鼠 CD19 磁珠分离法无菌分离脾脏 B 细胞,用 RPMI1640 调节细胞密度至 2 $\times$ 10<sup>5</sup> 个/mL。将 B 细胞悬液加入 96 孔培养板,每孔 100 $\mu$ L。向每孔内加入终浓度为 1 $\mu$ g/mL 的 BAFF、2.5 $\mu$ g/mL 山羊抗小鼠 IgM(预试验得出的最优方案),及 2.5 $\mu$ g/mL sBCMA-NusA-His<sub>6</sub>,或 2.5 $\mu$ g/mL

NusA-His<sub>6</sub>,37℃,5% CO<sub>2</sub> 培养 72h 后每孔加入 10 $\mu$ L 5mg/mL MTT,37℃,5% CO<sub>2</sub> 继续培养 5h,加入 100 $\mu$ L SDS-HCl 溶解沉淀物,37℃过夜,测定各孔 OD<sub>570</sub> 值。实验设三复孔,取其平均值,并计算标准误差。

## 2 结果

### 2.1 人 BCMA 全长 cDNA 的 RT-PCR

以 Raji 细胞株提取的总 RNA 为模板,经 RT-PCR 扩增后,在 580bp 左右处有一特异性 DNA 条带,与预期的大小一致(图 1)。

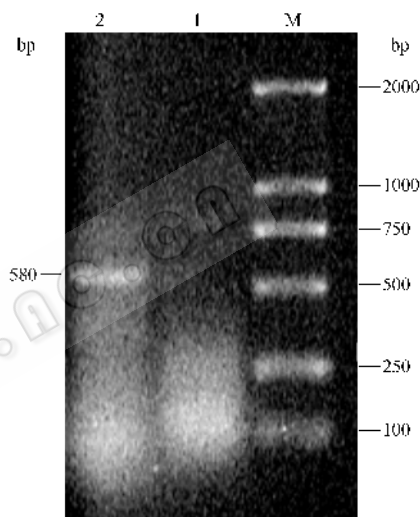


图 1 RT-PCR 扩增人全长 BCMA 琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Gel electrophoresis of the RT-PCR products

M: DNA marker DL2000;

1: negative control;

2: the full length of hBCMA cDNA amplified from the mRNA derived from Raji cell line.

### 2.2 人 sBCMA 表达载体 pET43.1a(+)sBCMA 的构建

人 BCMA 胞外区约有 50 个氨基酸,选取 BCMA 第 1-46 位氨基酸作为 sBCMA 蛋白进行表达。以克隆的全长 BCMA cDNA 为模板,以特异性引物扩增编码 BCMA 胞外可溶区的 DNA 片段,经酶切,连接至表达载体 pET43.1a(+),构建成 pET43.1a(+)-sBCMA 转化至 DH5 $\alpha$  菌落 PCR 筛选出插入目的片段的阳性克隆,复制保存(图 2)。

### 2.3 sBCMA 重组蛋白在大肠杆菌中的诱导表达及 Ni<sup>2+</sup>-NTA 亲和纯化

以 pET43.1a(+)sBCMA 质粒转化 *E. coli* 菌株 Origami B(DE3)pLysS 进行 IPTG 诱导。诱导 5h 后,表达蛋白占菌体总蛋白的比例达到最高(数据未列出),约为 50%。菌体裂解物在 SDS-PAGE 图谱约

61.0kD 处出现明显的 sBCMA 重组蛋白表达条带。表达蛋白经 Ni<sup>+</sup>-NTA 纯化后行 SDS-PAGE 及毛细管电泳分析 ,证实目的蛋白纯度达到 90% 以上 ,说明目的蛋白纯度是较高的( 图 3 )。

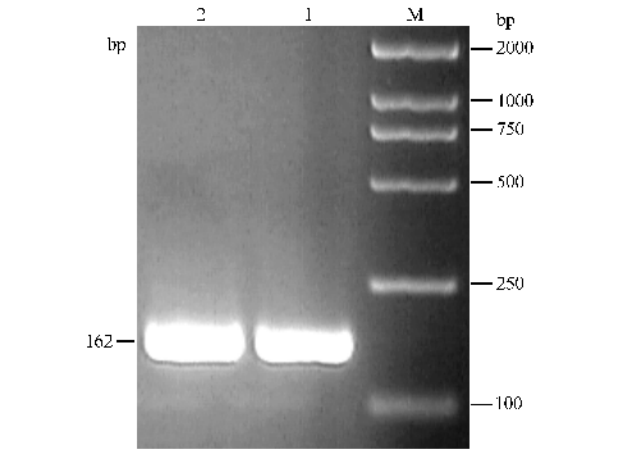


图 2 菌落 PCR 鉴定 sBCMA 阳性克隆

Fig. 2 The positive clones that were screened by PCR

M : DNA marker DL2000 ;  
1 2 : positive clones.

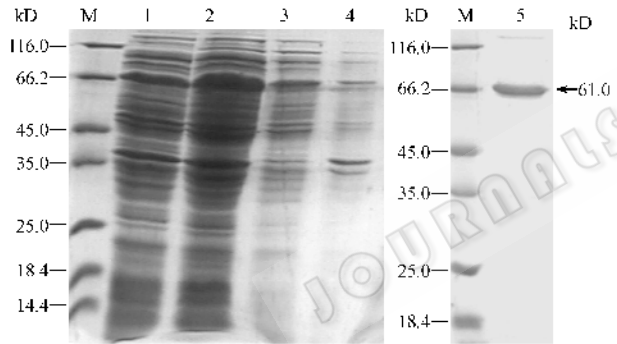


图 3 SDS-PAGE 分析 sBCMA 融合蛋白表达及其 Ni<sup>+</sup> 柱亲和和层析

Fig. 3 SDS-PAGE Analysis of expression products

and purified recombinant protein by Ni<sup>+</sup>-NTA  
M : protein marker ; 1 : not induced ; 2 : 5h after induction ; 3 :  
supernatant of sonicated cells ; 4 : pellet of sonicated cells ; 5 : purified  
sBCMA recombinant protein.

2.4 表达产物 sBCMA 的免疫印迹分析

以 His<sub>6</sub> 标签肽为标志的 Western-blotting 分析显示 ,经 IPTG 诱导的含重组表达载体 pET43.1a ( + )-sBCMA 的菌体裂解物能与抗 His<sub>6</sub> 单抗特异性反应 ,在约 61.0kD 处呈现单一条带 ,而经同样诱导的只含载体 pET43.1a ( + )的菌体裂解物则无此反应 ,说明所表达的融合蛋白的确是目的蛋白( 图 4 )。

2.5 ELISA 法检测 sBCMA 与 BAFF 的特异性结合

由图 5 分析可见 ,包被在 96 孔板上的溶菌酶、rhsTRAIL 及 rhsBAFF ,其中 rhsBAFF 与 sBCMA-NusA-

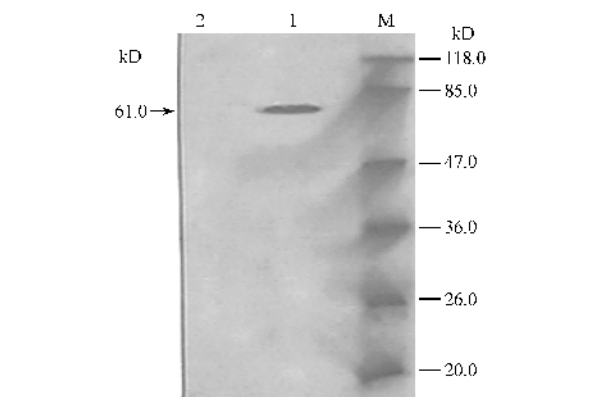


图 4 sBCMA 融合蛋白的免疫印迹鉴定

Fig. 4 Western blotting of sBCMA recombinant protein

M : prestained protein marker ; 1 : expression of sBCMA-NusA- His<sub>6</sub> in  
Origami B( DE3 ) pLysS transformed by plasmid pET43.1a ( + )-sBCMA ;  
2 : Origami B( DE3 ) pLysS transformed by empty plasmid pET43.1a  
( + ) .

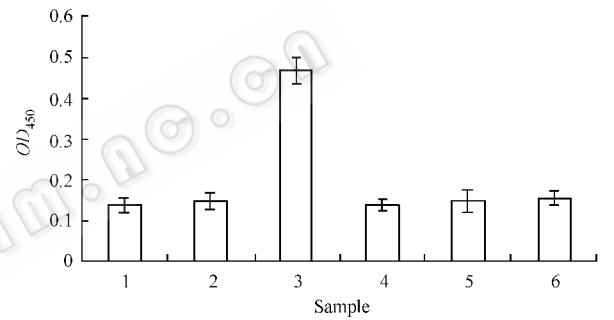


图 5 sBCMA 与 BAFF 的特异性相互作用

Fig. 5 The specific interaction of sBCMA and BAFF

1 4 : coated with lysozyme ; 2 5 : coated with rhsTRAIL ; 3 6 : coated  
with rhsBAFF ; 1 2 , 3 : incubated by sBCMA-NusA-His<sub>6</sub> ; 4 , 5 , 6 :  
incubated by NusA-His<sub>6</sub> ; 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 : detected by goat anti His<sub>6</sub>  
and mouse anti goat IgG-HRP.

His<sub>6</sub> 的结合信号明显高于其它两者 ,虽然 TRAIL 与 BAFF 同为 TNF 家族成员 ,但由于 BCMA 不是 TRAIL 的受体 ,因而两者无相互作用 ,而配体 BAFF 与 BCMA 存在明显的相互作用。同时不含 sBCMA 配体结合区的 NusA-His<sub>6</sub> 融合蛋白则与溶菌酶、rhsTRAIL 及 rhsBAFF 都无明显结合信号 ,进一步证实 sBCMA 与 BAFF 的特异性相互作用。

2.6 sBCMA 对 BAFF 促 B 细胞增殖活性的阻断作用

由图 6 分析可知 ,当共刺激因子山羊抗小鼠 IgM 存在时 ,rhsBAFF 能刺激鼠的 B 淋巴细胞增殖 ,“ 诱饵受体 ”sBCMA-NusA-His<sub>6</sub> 能阻断这种增殖作用 ,而融合蛋白 NusA-His<sub>6</sub> 不能阻断之 ,证实 BAFF 与 sBCMA 有特异性相互作用。

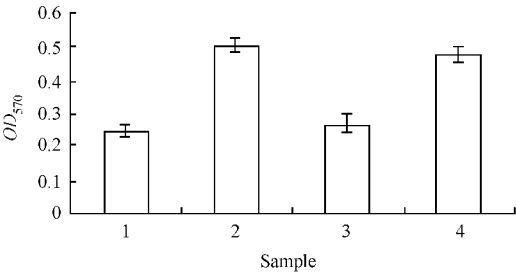


图6 sBCMA 对 BAFF 促 B 细胞增殖活性的阻断作用

Fig. 6 Inhibition of BAFF Triggered B cell proliferation by sBCMA

1 : PBS ; 2 : 1μg/mL BAFF + 2.5μg/mL goat anti mouse IgM ; 3 : 1μg/mL BAFF + 2.5μg/mL goat anti mouse IgM + 2.5 μg/mL sBCMA-NusA-His<sub>6</sub> ; 4 : 1μg/mL BAFF + 2.5μg/mL goat anti mouse IgM + 2.5μg/mL NusA-His<sub>6</sub> .

3 讨论

细胞表面受体蛋白的胞外区一般都具有复杂的空间结构,包含大量的二硫键,给此类蛋白的异源活性表达常常造成很大的困难。酵母表达系统对蛋白的加工能力较强,但目前常用的酵母表达系统(如毕赤酵母表达系统)对富含二硫键蛋白的加工能力也很差,且表达周期长,大规模表达条件较难摸索。哺乳动物细胞系统在表达结构复杂、富含二硫键蛋白时具有很大优势,但由于表达量很低、成本高、纯化困难等原因使该系统的使用也受到限制。所以原核表达系统仍是我们表达蛋白的首选,常用的大肠杆菌表达系统具有遗传背景清楚、转化和表达效率高、易操作,可以快速生产大量重组蛋白的优点,然而由于大肠杆菌没有膜系统的存在,不能像真核生物那样在细胞器内造成还原性环境,所以重组蛋白难以形成正确的二硫键,虽有不少文献报道利用 GST 融合表达有利于目的蛋白二硫键的形成,但是仍然存在一些诸如可溶性差、表达量低的问题。基于此,我们选择了 pET43.1a(+)载体,并与 trx/gor 突变体菌株 Origami B(DE3) pLysS 结合使用,融合 Nus.Tag 表达目的蛋白,这样使得我们的目的蛋白易于在胞浆中形成二硫键,形成有活性的可溶蛋白形式。

Novogen 公司新推出的 pET43.1a(+)NusA 融合系统用于克隆和高水平表达与 NusA 蛋白(Nus.Tag 495 个氨基酸,对数据库 SwissProt 中 4000 个以上蛋白进行可溶性建模,NusA 被确认为具有最高可溶性的蛋白)融合的多肽序列,在大肠杆菌中生产可溶性活性重组蛋白,并且与 trx/gor 突变体 Origami 和 OrigamiB 菌株结合使用,有利于表达蛋白在胞浆中形成二硫键<sup>[17,18]</sup>。本工作的成功也证实了此载体

相对于其它 pET 载体所具备的独有优势:一方面可避免目的蛋白太小而在大肠杆菌中无法表达的情况,另一方面表达的融合蛋白具有高可溶性,有利于富含二硫键的目的蛋白在胞浆中形成蛋白二硫键,并可选择性地融合 His.Tag,有利于目的蛋白的纯化。

关于 BCMA 胞外区的表达,迄今还没有在大肠杆菌系统中可溶性表达的报道。本实验克隆了人 BCMA 全长的 cDNA 序列,并参考文献选择了尽量少的胞外可溶区(46 个氨基酸)cDNA 克隆入 pET43.1a(+)载体,通过可溶性表达 sBCMA 融合蛋白来研究 sBCMA 的生物学活性。由于表达的融合蛋白上没有切割 Nus.Tag 的蛋白酶位点,因此我们又克隆表达了 NusA-His<sub>6</sub> 融合蛋白作为排除融合标签非特异性作用的阴性对照,实验也证实,sBCMA 虽融合了一个其它较大的蛋白,但对其生物学活性影响不大。实验室早期工作曾尝试将 sBCMA cDNA 克隆进 pET28a(+)载体,这样只融合 His<sub>6</sub>.Tag 表达,但由于目的蛋白太小,mRNA 不稳定,无论我们如何改变诱导条件或是改做 Tricine-SDS-PAGE 提高 SDS-PAGE 方法对小分子量蛋白分离的分辨率,蛋白都几乎检测不到表达。

人活性 sBCMA 的获得,为进一步开展人 sBCMA 功能、结构及其关系研究奠定了重要基础。sBCMA 有望开发成治疗自身免疫性疾病和某些恶性肿瘤的新型药物,如可将 sBCMA 融合入 IgG1 Fc 段构成 BAFF 和 APRIL 的拮抗剂 BCMA-Fc 或通过 phage display 技术筛选出抗 sBCMA 的人源性 scFv 用以靶向治疗那些在 B 细胞表面特异性过表达受体 BCMA 的恶性 B 系肿瘤病人。此外,我们也可通过对其氨基酸序列进行点突变来探索该受体与配体结合的关键功能位点等等。

REFERENCES(参考文献)

[ 1 ] Shu HB, Hu WH, Johnson H. TALL-1 is a novel member of the TNF family that is down-regulated by mitogens. *J Leukoc Biol*, 1999, **65**(5):680-683

[ 2 ] Hahne M, Kataoka T, Schroter M *et al*. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth. *J Exp Med*, 1998, **188**(6):1185-1190

[ 3 ] Marsters SA, Minhong Yan, Pitti RM *et al*. Interaction of the TNF homologues BLyS and APRIL with the TNF receptor homologues BCMA and TACI. *Curr Biol*, 2000, **10**(13):785-788

[ 4 ] Mackay F, Woodcock SA, Lawton P *et al*. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune

- [ 5 ] Khare SD , Sarosi I , Xia XZ *et al.* Severe B cell hyperplasia and autoimmune disease in TALL-1 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2000 , **97** ( 7 ) :3370 – 3375
- [ 6 ] Zhang J , Roschke V , Baker KP *et al.* A role for B lymphocyte stimulator in Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol* , 2001 , **166** ( 1 ) :5 – 10
- [ 7 ] Cheema GS , Roschke V , Hilbert DM *et al.* Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthr Rheum* , 2001 , **44** ( 6 ) :1313 – 1319
- [ 8 ] Wang H , Marsters SA , Baker T *et al.* TACI-ligand interactions are required for T cell activation and collagen-induced arthritis in mice. *Nat Immunol* , 2001 , **2** ( 7 ) :632 – 637
- [ 9 ] Groom J , Kalled SL , Cutler AH *et al.* Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjögren 's syndrome. *J Clin Invest* , 2002 , **109** ( 1 ) :59 – 68
- [ 10 ] Yu G , Boone T , Delaney J *et al.* APRIL and TALL-1 and receptors BCMA and TACI : system for regulating humoral immunity. *Nat Immunol* , 2000 , **1** ( 3 ) :252 – 256
- [ 11 ] Rennert P , Schneider P , Cachero T *et al.* A soluble form of B cell maturation antigen , a receptor for the tumor necrosis factor family member APRIL , inhibits tumor cell growth. *J Exp Med* , 2000 , **192** ( 11 ) :1677 – 1684
- [ 12 ] Roth W , Wagenknecht B , Klumpp A *et al.* APRIL , a new member of the tumor necrosis factor family , modulates death ligand-induced apoptosis. *Cell Death Differ* , 2001 , **8** ( 4 ) :403 – 410
- [ 13 ] Ware CF. APRIL and BAFF connect autoimmunity and cancer. *J Exp Med* , 2000 , **192** ( 11 ) :F35 – F37
- [ 14 ] Roschke V , Sosnovtseva S , Ward CD *et al.* BLyS and APRIL from biologically active heterotrimers that are expressed in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *J Immunol* , 2002 , **169** ( 8 ) :4314 – 4321
- [ 15 ] Stein JV , Lopez-Fraga M , Elustondo FA *et al.* APRIL modulates B and T cell immunity. *J Clin Invest* , 2002 , **109** ( 12 ) :1587 – 1598
- [ 16 ] Dai SS (戴双双) , He FT (何凤田) , Zhang Y (张艳) *et al.* Cloning and expression of human soluble APRIL gene in *Escherichia coli*. *Chinese Journal of Biotechnology* (生物工程学报) , 2004 , **20** ( 6 ) :875 – 878
- [ 17 ] Harrison RG. Expression of soluble heterologous proteins Via fusion with NusA protein. *inNovations* , 2000 , **11** :4 – 7
- [ 18 ] Davis GD , Elisee C , Harrison RG *et al.* New fusion protein systems designed to give soluble expression in *E. coli*. *Biotechnol Bioeng* , 1999 , **65** ( 4 ) :382 – 388