

Εύρηκα

# 利用免疫螢光法 找出 A 型流感病毒中 不易突變之 T cell 抗原

作者：洪翊勝、陳冠豪、陳彥睿

指導老師：魏宏仁

指導教授：楊宏志



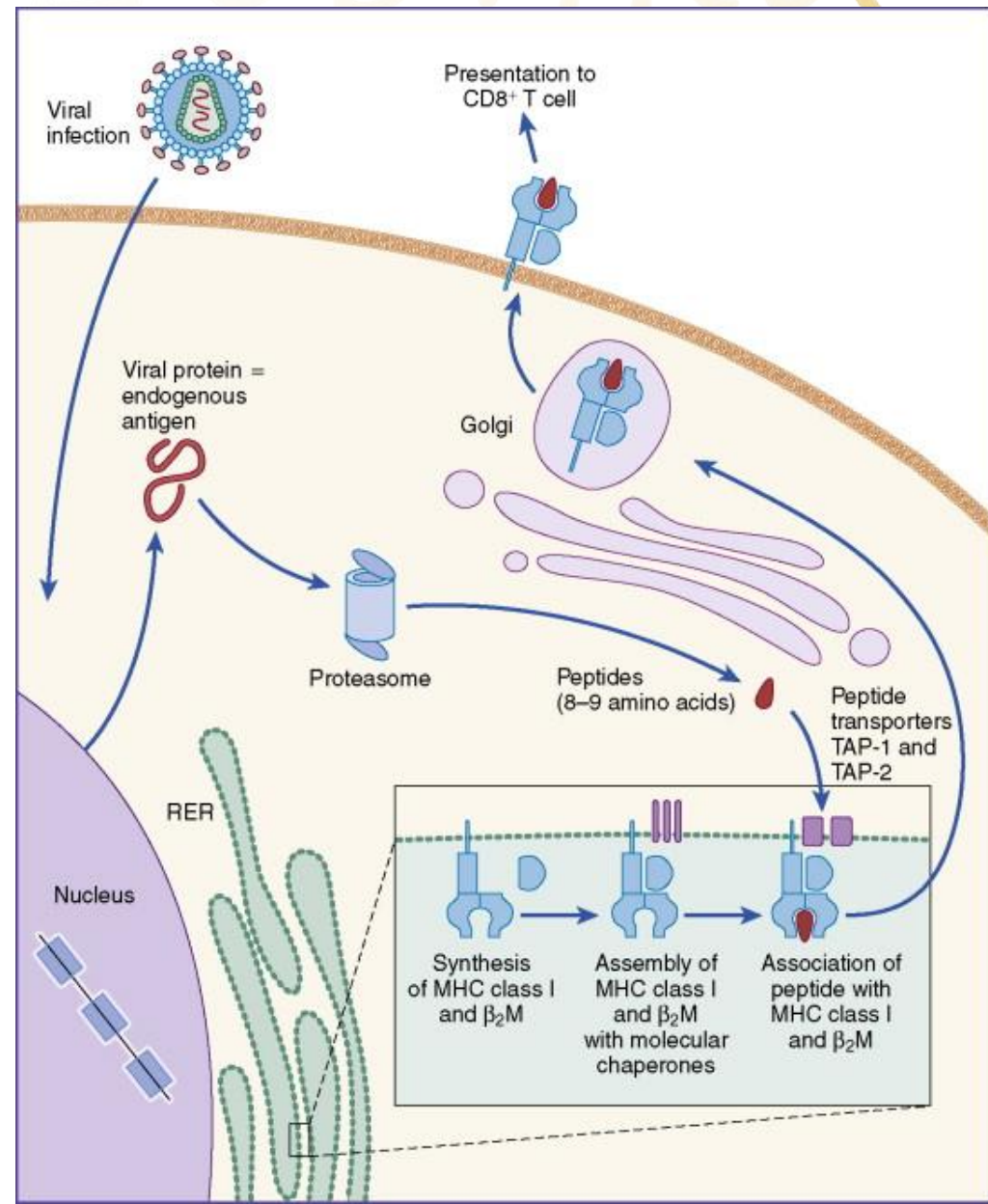
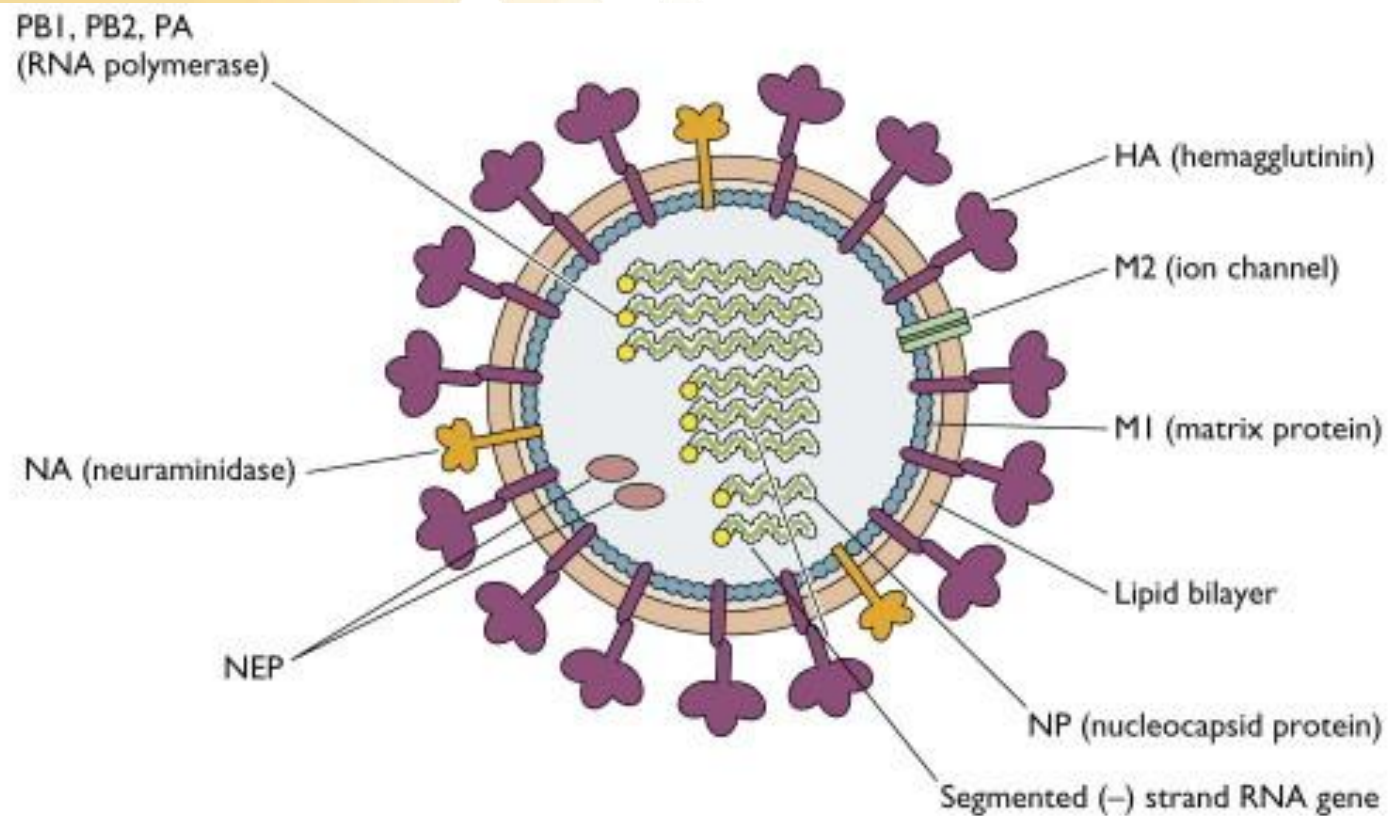
# 名詞解釋

Εύρηκα

- HLA ( Human Leukocyte Antigen) : 人類白血球抗原
- 胜肽 ( peptide ) : 由多個胺基酸組合而成的胺基酸鏈，長度約為2-50個胺基酸



# 壹、研究背景



## 貳、研究目的

- 一、找出臺裔族群常見之 HLA 等位基因
- 二、找出 A 型流感病毒較不易突變且廣泛存在的 RNA 序列
- 三、預測序列之產物中可高機率被臺裔族群常見 HLA 呈現的胜肽
- 四、以螢光免疫法驗證預測之胜肽是否容易被 HLA 表現



# 參、研究過程與方法

## 一、透過等位基因頻率資料庫查詢臺裔族群中常見 HLA 種類

- HLA-A 為主
- Taiwan population





# 參、研究過程與方法

## 二、利用資料庫找出 A 型流感病毒內部較不易突變的 RNA 序列

- Influenza Virus Database + 大數據分析法
- 在流感病毒的 8 條 RNA 中以核蛋白/基質蛋白為主

**Influenza Virus Resource**  
Information, Search and Analysis



# 參、研究過程與方法

## 三、用網站預測 A 型流感病毒內部可被高機率呈現的胜肽

- IEDB
- SYFPEITHI
- NetMHC 4.0 Server



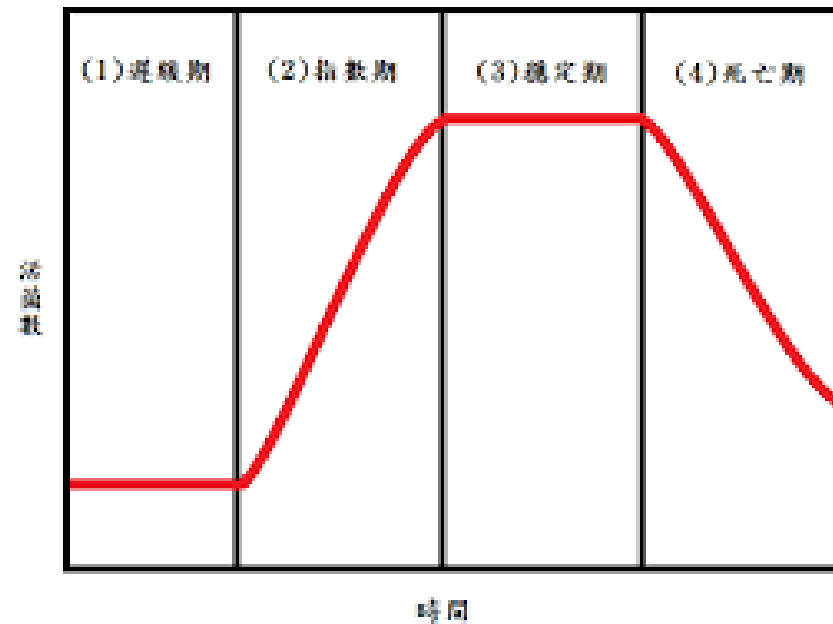
# 參、研究過程與方法

Εύρηκα

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現（分為三階段）

### （一）細胞培養

- T2
- ( T2/A11 )
- ( T2/A24 )





# 參、研究過程與方法

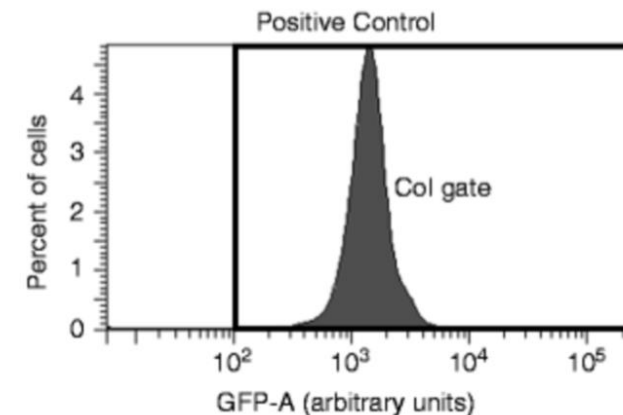
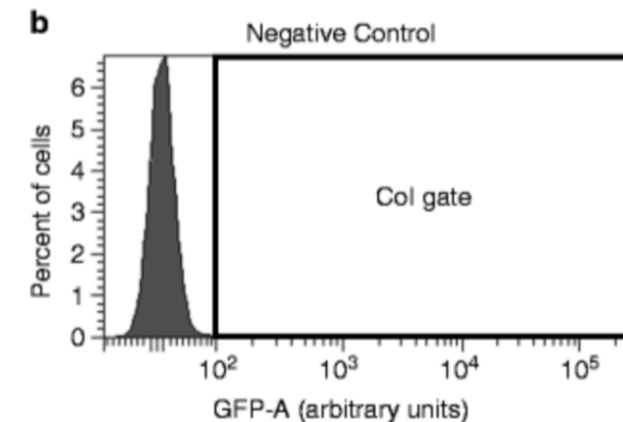
## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現（分為三階段）

### （二）前測實驗

➤ T2

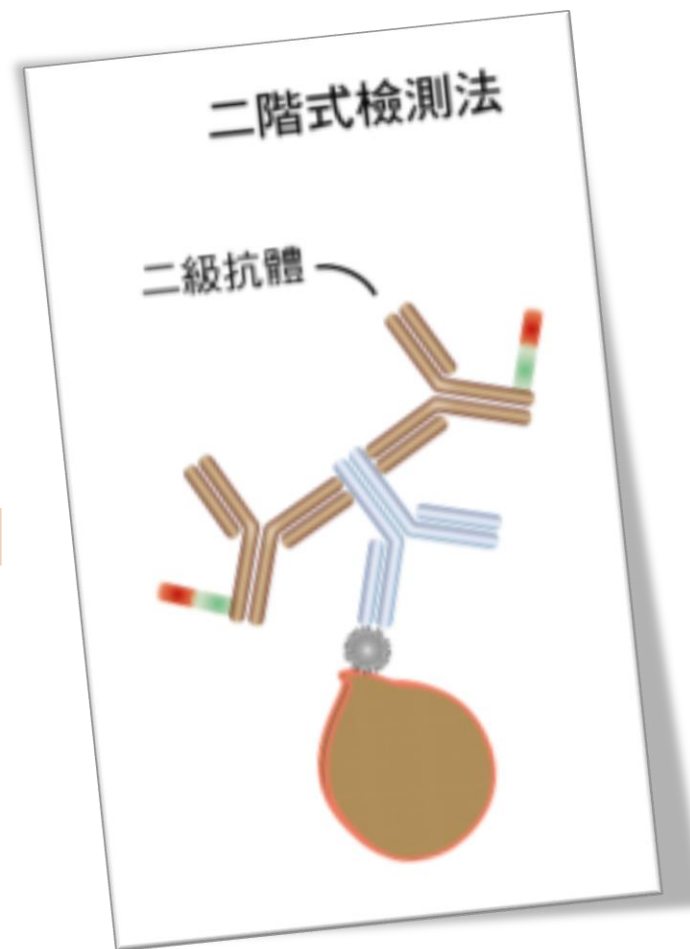
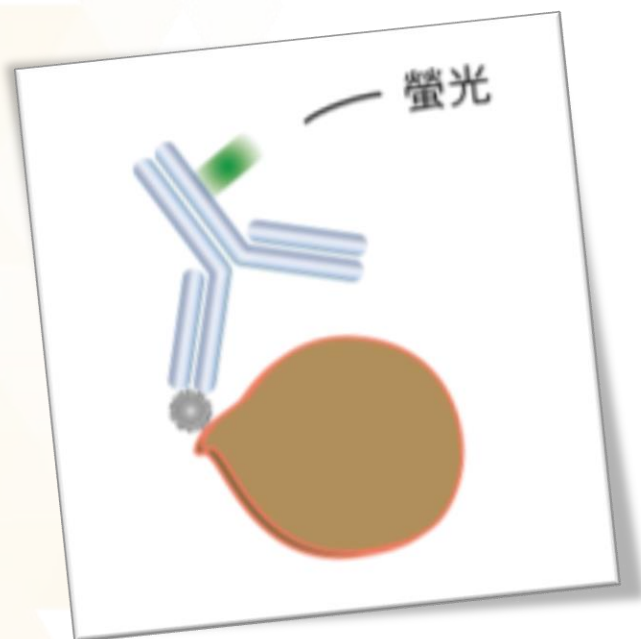
➤ T2/A11

A3Con1	KVFPYALINK	T2/A11 中確定表現
OVA1	SIINFEKL	T2&T2/A11 中皆不表現
HBcore	FLPSDFFPSV	T2 中確定表現

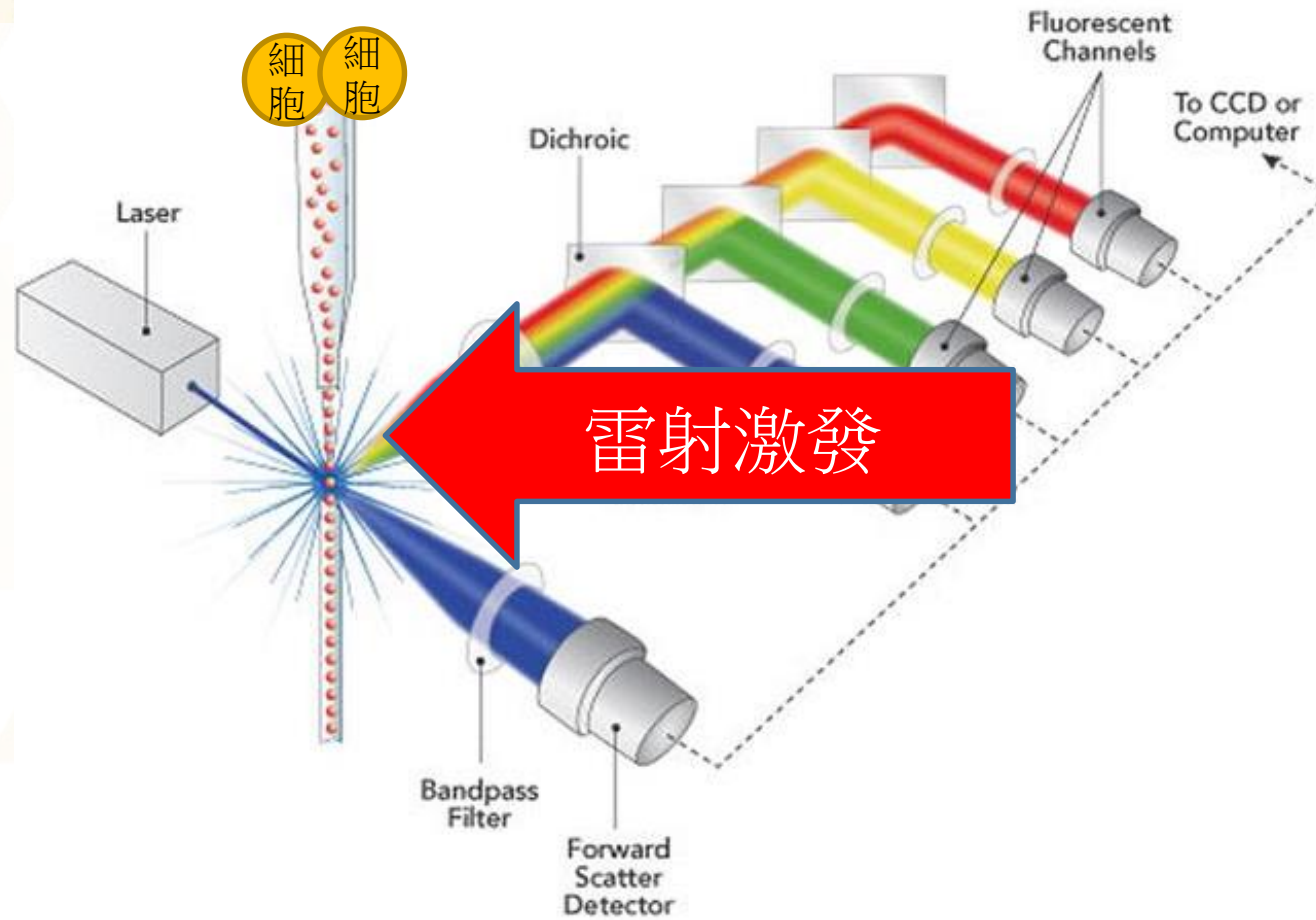


# \* 螢光免疫法

Εύρηκα



# \* 細胞流式儀




























































# 參、研究過程與方法

Εύρηκα

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現（分為三階段）

### （三）驗證實驗

	$\beta$ 2M Only	$\beta$ 2M GL9	$\beta$ 2M A3Con1	$\beta$ 2M OVA1	$\beta$ 2M peptide A	$\beta$ 2M peptide B
T2/A02						
(T2/A11)						
(T2/A24)						

Line	Allele	Population	% of individuals that have the allele	Allele Frequency (in_decimals)	Sample Size	IMGT/HLA <sup>1</sup> Database	Distribution <sup>2</sup>	Haplotype <sup>3</sup> Association	Notes <sup>a</sup>
1	A*01:01	 Taiwan pop 2	① {	0.0060	364	See			
2	A*02:01	 Taiwan pop 2		0.1290 ■	364	See			
3	A*02:03	 Taiwan pop 2		0.0560 ■	364	See			
4	A*02:05	 Taiwan pop 2		0.0020	364	See			
5	A*02:06	 Taiwan pop 2		0.0260	364	See			
6	A*02:07	 Taiwan pop 2		0.1380 ■	364	See			
7	A*02:90	 Taiwan pop 2		0.0010	364	See			
8	A*03:01	 Taiwan pop 2		0.0020	364	See			
9	A*11:01	 Taiwan pop 2	② {	0.2730 ■	364	See			
10	A*11:02	 Taiwan pop 2		0.0260	364	See			
11	A*23:01	 Taiwan pop 2		0.0010	364	See			
12	A*24:02	 Taiwan pop 2	③ {	0.1640 ■	364	See			
13	A*24:20	 Taiwan pop 2		0.0010	364	See			
14	A*26:01	 Taiwan pop 2		0.0100	364	See			
15	A*29:01	 Taiwan pop 2		0.0010	364	See			
16	A*30:01	 Taiwan pop 2		0.0310	364	See			
17	A*31:01	 Taiwan pop 2		0.0080	364	See			
18	A*32:01	 Taiwan pop 2		0.0020	364	See			
19	A*33:03	 Taiwan pop 2		0.1140 ■	364	See			

# 肆、研究結果

## 二、找出 A 型流感病毒較

1. 存在於 99% 以上之 A

2. 存在於 90% ~ 99% 之

NP					
		%	Length	Start	End
Peptides present in 90% to 99% of samples					
DQVRESRNPNGNAEIEDLIFLARSALILRGSVAHKSCLPAC	91.0	40	240	279	
MVLSAFDERRNKYLEEHPSAGKDPKKTGGPIY	90.2	32	66	97	
RPNENPAHKSQLVWMACHSAAFEDLR	91.8	26	317	342	
NPIVPSFDMSNEGSYFFGDNAEEYD	93.8	25	473	497	
AYERMCNILKGKFQTAAQRAM	93.7	21	218	238	
EGYSLVGIDPFKLLQNSQ	91.8	18	294	311	
PRGKLSTRGVQIASNEN	97.3	17	354	370	
GIGRFYIQMCTELKLS	93.4	17	35	51	
Peptides present in more than 99% of samples					
TYQRTRALVRTGMDPRMCSLMQGSTLPRRSGAAGAAVKG	99.2	39	147	185	
ARSALILRGSVAHKSCLPAC	99.4	20	260	279	
AYERMCNILKGKFQTAAQ	99.4	18	218	235	
RPNENPAHKSQLVWMA	99.4	17	317	333	
DQVRESRNPNGNAEIEDL	99.3	17	240	256	
KRGINDRNFWRGENGR	99.6	16	198	213	
GIGRFYIQMCTELKL	99.6	15	35	49	
YWAIRTRSGGNTNQQ	99.6	15	385	399	
MASQGTKRSYEQMET	99.5	15	1	15	
NEGSYFFGDNAEEYD	99.4	15	483	497	
M1					
		%	Length	Start	End
Peptides present in 90% to 99% of samples					
VFAGKNTDLEALMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTPSERGLQRI	98.1	49	31	79	
AFGLVCATCEQIADSQHRSHRQM	92.2	23	143	165	
Peptides present in more than 99% of samples					
HENRMVLASTTAKAMEQ	99.6	17	175	191	
GALASCMGLIYNRMG	99.7	15	122	136	



## 肆、研究結果

### 三、預測 A 型流感病毒內部可被高機率呈現的胜肽

1. 該胜肽至少在兩網站為最優異者
2. 該胜肽於其中一網站擁有特別突出的分數，  
並且於其他網站中均為前三名者



# 肆、研究結果

## 三、預測 A 型流感病毒內部可被高機率呈現的胜肽

HLA-A*11:01	<紅字表示單項最高>					
NP						
DQVRESRNPNGNAEIEDLIFLARSALILRGSVAHKSCLPAC	start	end	length	IEDB	SYFPEITHI	NetMHC4.0
IILRGSVAHK	26	34	9	4.95	18	4
LILRGSVAHK	25	34	10	1.58	18	8.5
FLARSALIILR	19	28	10	5.1	21	19
HLA-A*24:02	<紅字表示單項最高>					
NP						
DQVRESRNPNGNAEIEDLIFLARSALILRGSVAHKSCLPAC	start	end	length	IEDB	SYFPEITHI	NetMHC4.0
IFLARSALI	18	26	9	0.21	21	0.17(SB)
HLA-A*02:01	<紅字表示單項最高>					
NP						
DQVRESRNPNGNAEIEDLIFLARSALILRGSVAHKSCLPAC	start	end	length	IEDB	SYFPEITHI	MHC 4.0
FLARSALIIL	19	27	9	1.2	24	0.6(WB)

## 肆、研究結果

### 三、預測 A 型流感病毒內部可被高機率呈現的胜肽

HLA-A*02:01	
GL9	GILGFVFTL
IV10	ILGFVFTLTV
AI11	ALMEWLKTRPI

HLA-A*11:01	
MK9	MVLASTTAK
SR10	SLMQGSTLPR

HLA-A*24:02	
II9	IFLARSALI
FL9	FYIQMCTEL

## 肆、研究結果

### 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

#### 1. 前測實驗：

A3Con1	KVFPYALINK	T2/A11 中確定表現
OVA1	SIINFEKL	T2&T2/A11 中皆不表現
HBcore	FLPSDFFPSV	T2 中確定表現



## 肆、研究結果

### 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

#### 1. 前測實驗：

	$\beta$ 2M Only	$\beta$ 2M A3Con1	$\beta$ 2M OVA1	$\beta$ 2M HBcore
T2(A02)	—	—	—	+
T2/A11	—	+	—	—

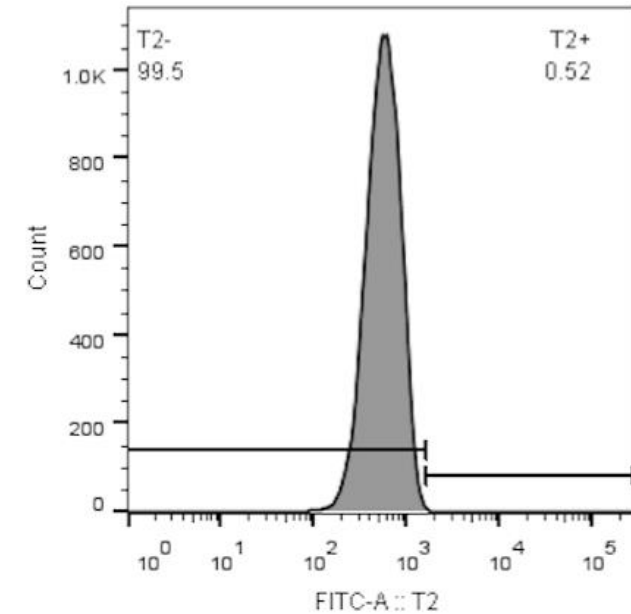
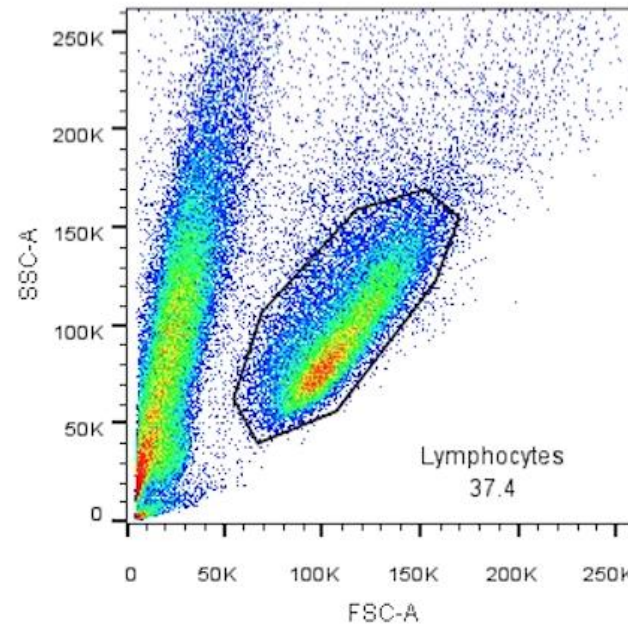


## 肆、研究結果

### 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

#### 1. 前測實驗：

T2 cell  
 $\beta$ 2M Only



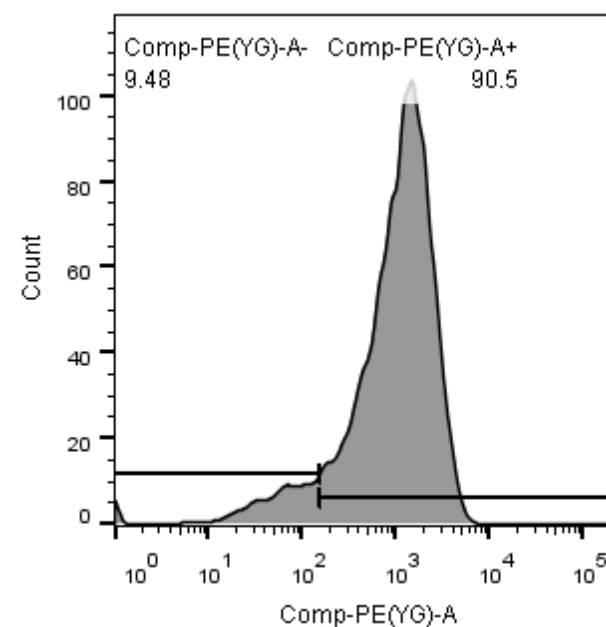
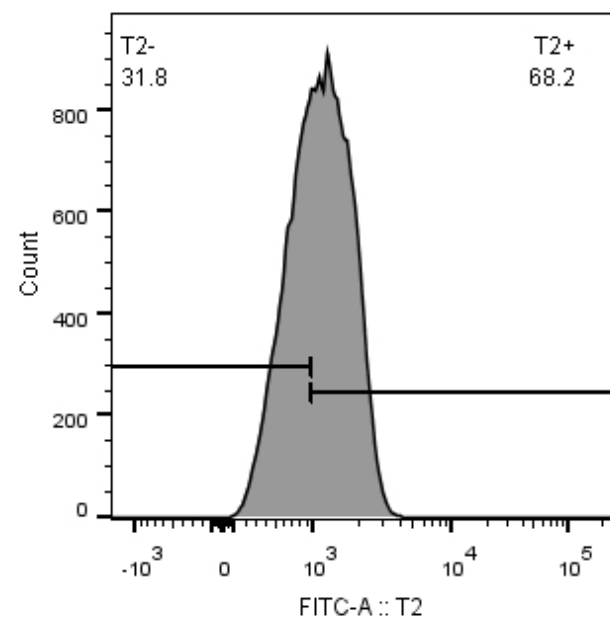


# 肆、研究結果

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

### 1. 前測實驗：

T2 cell  
HBcore



T2/A11 cell  
A3Con1



## 肆、研究結果

### 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

#### 1. 前測實驗：

	$\beta$ 2M Only	$\beta$ 2M A3Con1	$\beta$ 2M OVA1	$\beta$ 2M HBcore
T2(A02)	—	—	—	+
T2/A11	—	+	—	—



# 肆、研究結果

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

### 2. 驗證實驗：T2 cell

	β2M Only	β2M GL9	β2M A3Con1	β2M OVA1	β2M IV10	β2M AI11
T2(A02)	—	+	—	—	?	?

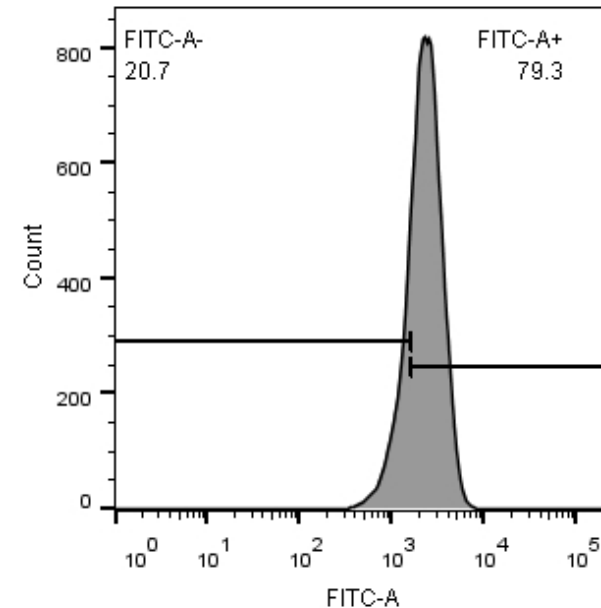
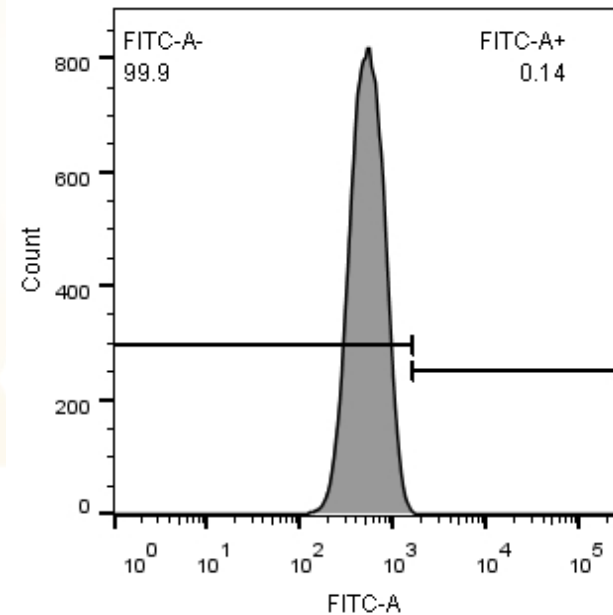


# 肆、研究結果

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

### 2. 驗證實驗：T2 cell

T2 cell  
 $\beta$ 2M Only



T2 cell  
GL9

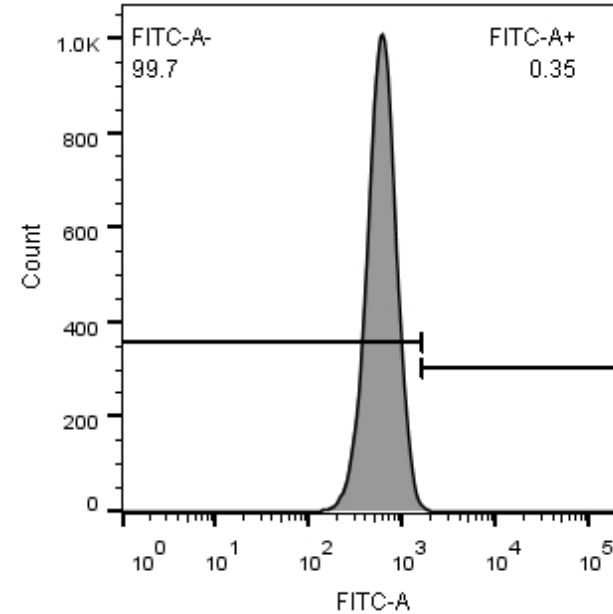
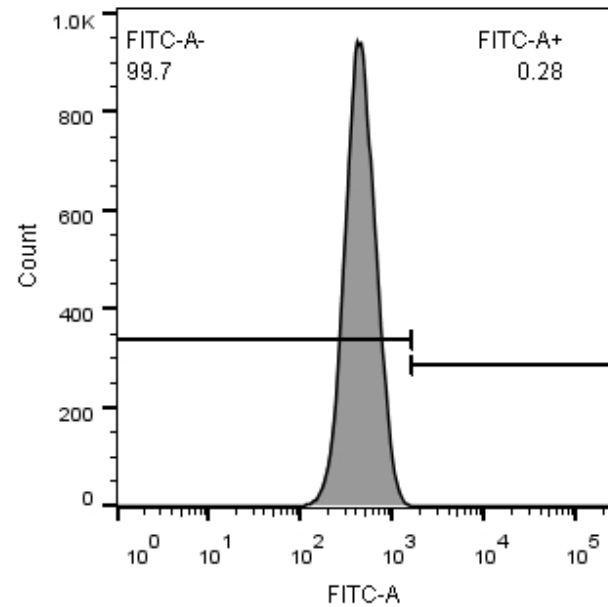


# 肆、研究結果

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

### 2. 驗證實驗：T2 cell

T2 cell  
IV10








T2 cell  
AI11



# 肆、研究結果

## 四、以實驗驗證預測之胜肽是否容易被表現

### 2. 驗證實驗：T2 cell

	β2M Only	β2M GL9	β2M A3Con1	β2M OVA1	β2M IV10	β2M AI11
T2(A02)						





## 伍、結論

- 一、臺裔族群中常見 HLA 種類主要為  
HLA-A\*02:01, HLA-A\*11:01, HLA-A\*24:02
- 二、找出 A 型流感病毒內部較不易突變的 RNA 序列
- 三、預測六段可高機率被呈現的胜肽
- 四、以實驗驗證預測之胜肽是否確實容易被表現 ( T2 cell )



## 陸、未來展望

- 一、使用不同濃度的胜肽進行實驗
- 二、使用預測 T2 cell之其他胜肽的實驗
- 三、進行 T2/A11 cell、T2/A24 cell 的實驗



Εύρηκα

# 特別致謝

- 台大醫學院 楊宏志教授
- 台大臨床醫學研究所 王志強教授
- 台大醫學院 蔡承學 研究員



# 致謝

Εύρηκα

- 建中數理資優班 姚志鴻 高君陶 導師
- 建中生物科 魏宏仁 老師
- 兩班生物組的各位同學
- 一路支持我們的父母親



謝謝您的聆聽

