

免 疫 化 学

医药卫生学术资料讲座之四十七

武汉市革命委员会卫生局

一九七八年四月

免疫化学

M · W · Steward 编著

胡徽鸿 陈毅峰 译

邓瑞林 苏 华 校

目 录

1	绪论.....	(1)
2	抗原.....	(2)
2·1	天然抗原.....	(3)
2·1·1	血细胞、病毒和细菌.....	(3)
2·1·2	蛋白质.....	(3)
2·1·3	碳水化合物.....	(4)
2·1·4	类脂体.....	(5)
2·1·5	核酸.....	(5)
2·2	人工抗原.....	(5)
2·3	合成抗原.....	(8)
2·4	免疫原性和抗原特异性的分子基础.....	(9)
2·4·1	分子量.....	(9)
2·4·2	组成.....	(10)
2·4·3	空间构型.....	(10)
2·4·4	电荷.....	(11)
2·4·5	光学构型.....	(12)
2·4·6	物理状态.....	(12)
2·5	抗原决定簇的大小.....	(12)
2·6	细胞类型的影响.....	(13)
	参考文献.....	(13)
3	免疫球蛋白和抗体.....	(15)
3·1	分离及纯化.....	(15)
3·2	检测.....	(16)
3·3	免疫球蛋白的结构.....	(18)
3·3·1	I gG的基础四链模式.....	(18)

3·3·2	免疫球蛋白的分类	(19)
3·3·3	氨基酸顺序研究	(22)
3·3·4	抗体结合部位	(24)
3·3·5	同种异型和个体基因型	(46)
3·4	免疫球蛋白的生物合成	(28)
3·4·1	细胞基础	(28)
3·4·2	合成、组合和分泌	(29)
3·4·3	遗传控制	(30)
	参考文献	(32)
4	抗体——抗原的相互作用	(34)
4·1	沉淀反应	(34)
4·2	凝集反应	(35)
4·3	抗体——抗原反应动力学	(36)
4·3·1	抗体亲和力	(36)
4·3·2	亲和力计算方程的推导	(37)
4·3·3	亲和力测定方法	(39)
4·4	抗体——抗原相互作用的分子间力	(42)
4·4·1	氢键	(42)
4·4·2	非极性作用或疏水性作用	(42)
4·4·3	离子或库仑的相互作用	(43)
4·4·4	范·德华尔 (Van der waals) 力	(43)
4·4·5	空间因素或空间排斥力	(43)
4·5	抗体亲和力的生物学意义	(43)
	参考文献	(46)
5	抗体的生物学活性	(48)
5·1	补体结合作用	(49)
5·2	抗体的其他生物学性质	(51)
	参考文献	(52)

1 绪 论

人们早已知道，当个体与传染性微生物如细菌、病毒等接触，可导致个体对其后的同种微生物再次传染时，形成免疫。对这些传染性微生物的免疫性，有赖于抗体（与传染性微生物起反应，并且有助于将它们消除的两种球蛋白）的产生，以及细胞免疫机制。显然，这些体液免疫和细胞免疫是相互有关的，但是，似乎现代免疫学家本身，仍自称属于这些领域中某一领域的研究者。免疫学的这种分科，并不是一种新现象。的确，早在1883年Metchnikoff氏所描述的对细菌的细胞吞噬作用，实际上是在抗体（调理素）的帮助下完成的。而直到Wright氏（1903年）指出抗体后，在免疫性的两种假说之间，才取得一致的见解。虽然本书的目的，不在于反对或者支持研究界限的这种分类，但主要内容只是涉及体液免疫，细胞免疫将在本丛书的另册中讨论。

追溯抗体研究的历史，远至1890年当时Von Behring氏最先研究了马抗毒素对细菌毒素的中和作用。大约与此同时，免疫化学的先驱者Paul Ehrlich氏最先研究了毒素与抗毒素的定量沉淀反应。他对免疫沉淀反应研究的影响，导致物理化学家Arrhenius氏首先采用术语“免疫化学”（immunochemistry）。在1907年出版的一系列题名为“免疫化学”的论文，他说：

“我给这些论文取题名为“免疫化学”，想用这个术语，表示在这些论文中所讨论的，异物注射于动物血液中，即免疫接种所产生的物质的化学反应。那么，对与这些产物反应的物质，如蛋白质和体细胞酶，也将着重对它们的化学性质进行讨论。”

这个定义对现代免疫化学仍然是适用的，并且可按现代术语重新定义为“研究抗原、抗体的化学性质，以及它们相互作用机制的科学”。

当然，我们改变了将抗体和抗原视为同质性物质，甚至认为血清是单一“抗原”的这种早期免疫化学家的概念。因为现在我们知道，这种概念距离事实甚远，即使简单的纯化抗原（如蛋白），也都具有多抗原决定簇。采用一定结构的合成抗原，可帮助我们了解有关抗原性所必需的分子结构。众所周知，从结构和机能的意义上说，抗体是异源的，正因为如此，妨碍着对免疫球蛋白化学结构的详细研究及其人工合成。从骨髓瘤患者中，发现骨髓瘤蛋白——典型的单一免疫球蛋白，极大地促进了抗体结构的研究。即使如此，骨髓瘤蛋白是否代表真正的典型抗体，仍然是一个有待回答的问题。在免疫反应方面，使免疫化学家感到困难的，是遗传控制系统的本态问题，此系统能针对经常地变化着的抗原环境，产生具有特异性的抗体。显示这种变化能力，是否是由于胚系中限定数目的基因遗传引起体细胞突变，抑或是胚系载有抗体多样性所需的全部基因，尚待阐明。

尽管近几年来免疫化学领域，取得了很大的进展，特别是在抗体的结构、合成、功能以及抗体结合部位的定位、结构和组成的初步研究方面。但是，仍然有许多问题，需要确定证实。

本书就是在此总的背景下编写的，其目的在于给读者有关大量免疫化学知识的一般概况，以及让读者了解现代研究进展的一些方向。

2 抗 原

术语“抗原”(antigen)通常用于两个方面。其一是描述这样一类物质,当注射于某适当动物体时,能够诱导产生循环抗体,或者改变细胞的反应性,如迟发性超敏反应;其二描述一类仅具有对抗体起反应的性能(即抗原特异性)的物质。显然这两种特性是不相同的。有些物质能够与抗体反应,但不能自身诱导抗体形成;同样地,有些物质能激发某些动物(反应体)的免疫反应,但不能激发另一些动物(非反应体)的免疫反应。因此,描述某一类物质具有诱导免疫反应能力,宿主的免疫反应能力必须予以考虑。近年来则用术语“免疫原”(immunogen)描述物质抗原性与宿主免疫反应性的关系。即对于免疫反应来说,抗原性物质是免疫原,而对于非反应者,则是非免疫原。所以术语“抗原性”(antigenicity)规定了物质的两种属性:(1)免疫原性和(2)抗原特异性。在抗原分子上,有些称为抗原决定簇的部分,与这些免疫原性和抗原特异性有关。这些抗原决定簇具有与抗体结合部位反应的三度空间结构,并且一种抗原可以具有几个不尽相同的抗原决定簇。

在免疫学发展的早期,研究得最普遍的抗原是细菌和白细胞。而后,细菌毒素和其他可溶性的动植物产物,也得到了研究;同时,获得了有关这些天然抗原化学性质的一些概念。这些抗原一般分类为蛋白质、脂蛋白、糖脂或多糖。近代尖端的化学和生物化学的技术应用于抗原物质的分离、提纯和合成,使人们对抗原性物质的认识,有了极大的发展。

可按文献〔1, 2〕将抗原分为三类:

- (1)天然抗原;
- (2)人工抗原;
- (3)合成抗原(见表2·1)。

表2·1 抗 原 的 分 类

类 别	来 源	例:
天然抗原	植 物 细 菌 动 物	颗粒性抗原: 血细胞、细菌、病毒。 可溶性抗原: 毒素、类毒素、蛋白质、碳水化合物、糖蛋白、脂蛋白。
人工抗原	经化学法改变的天然抗原	碘化蛋白、蛋白—半抗原结合物, 如偶氮—二硝基苯蛋白(AZO & DNP—proteins)。
合成抗原	化学合成的分子	多肽、聚氨基酸、多链氨基酸共聚体(Multichain aminoacid copolymers)

下面将以各类抗原的实例，概括地讨论这三大类抗原。

2.1 天然抗原

2.1.1 血细胞、病毒和细菌

如上所述，复杂的颗粒性天然抗原，如血细胞、细菌和病毒的使用，在对免疫反应的认识发展中，起了重要的作用。的确，这些抗原如绵羊红血细胞，尤其经常的用于在细胞水平研究抗体的形成，其中如Jerne氏的溶血斑形成细胞测定法〔3〕，有助于在体外检测抗体形成细胞。红血细胞抗原的免疫化学，仍然是理论上和应用上都有极大研究兴趣的课题。对于应用方面研究来说，关于D红血细胞抗原（该抗原通常与新生儿溶血症有关），和它与相应抗体反应的动力学研究，对利用抗-D抗体被动转移到疑有对被D阳性细胞致敏的D阴性（即Rh血型阴性）母体，来控制该疾病，作出了相当的贡献〔4〕。

菸草花叶病毒（T.M.V）是首先得到鉴定、结晶和用之作为多价抗原的病毒。最先应用电子显微镜技术证实抗体—抗原相互反应，也是利用这种抗原。该病毒使免疫化学家特别感兴趣，由于它是RNA核心和构成其蛋白外壳的2130个多肽单位（每个单位包含已知顺序的158个氨基酸）所组成的。

细菌和病毒作为抗原，也仍然是相当使人们感兴趣的，特别是在细胞壁化学结构已知的情况下。例如，溶血链球菌群A和C的免疫决定簇，是已经详细了解的（见2.1.3节），这些抗原，用于研究抗体产生的遗传控制的本质〔1,2,3〕。

2.1.2 蛋白质

蛋白质（表2.2）是最先发现具有抗原性的物质，至今仍被广泛地作为抗原。

表2.2 通常研究的蛋白质抗原

蛋 白 质	分 子 量 (近似值)
TMV亚单位蛋白	17000
肌红蛋白	17000
鞭毛蛋白	40000 (及聚合体形式)
卵白蛋白	44000
白喉类毒素	65000
血清白蛋白	69000
铁(离子转运)蛋白	90000
球蛋白	170000
血兰蛋白	$2-7 \times 10^6$

蛋白质是极复杂的分子，虽然容易从植物、动物和微生物中获得高纯度状态的蛋白质。但是，关于它们的多抗原决定簇的精确性质，尚了解甚少。尽管受到这样的局限，利用蛋白质抗原所进行的研究，极大地有益于人们对免疫反应的认识。

人们曾致力于通过对蛋白的有限分解，来描述若干蛋白质的某些抗原决定簇。以这种方法，从人血清白蛋白中得到一个分子量为7000的肽片段，具有亲系分子中抗原决定簇中的一个决定簇〔5,6〕。因缺乏对蛋白质结构的详细认识，妨碍了对该问题的进一步研究。但是，

已知氨基酸顺序和构型的肌红蛋白——一种蛋白质——被用于研究其抗原决定簇的性质。这种蛋白质具有最少个数(仅四个)的抗原决定簇,可惜,它不是一种特别有效的免疫原。对其整个分子以及从它所得的肽片段所进行的免疫化学研究〔7〕,已揭示在该分子中存在两种类型的抗原决定簇:

- (1)“顺序性决定簇”(Sequential)——由无规则螺旋形氨基酸顺序构成的决定簇;
- (2)“构型性决定簇”(Conformational)——其本质取决于空间构型的决定簇。

这些内容将在2·4节作更详细的讨论。

从沙门氏菌鞭毛分离的蛋白抗原——鞭毛蛋白所作的免疫化学研究,给其抗原决定簇的性质和定位,提供了一些线索。用溴化氰(Cyanogen bromide)裂解单体(分子量40000)(溴化氰断裂蛋氨酸—氨基酸中的肽键)得到四个片段,其中一个片段含有此天然分子的全部抗原决定簇〔8〕。为了更精确地确定这些抗原决定簇的性质,尚要作更进一步的研究。对分子量约17000的菸草花叶病毒的亚单位蛋白,也作了类似的研究工作。为了确定分子的抗原活性部分,曾研究了单体蛋白的肽片段同整个分子的抗体的结合活性。

除了用酶学和化学方法产生的肽,用于研究蛋白质的抗原决定簇之外,还采用了化学改变的方法。各种化学处理,包括变性、氧化、还原、消化、脱氨基、酯化、酰化和卤化等等对蛋白抗原性的影响,都作过研究〔9〕。按这种方法处理过的蛋白,呈现出对天然分子的抗体减弱反应性,但是,这种结果尚不易解释。其影响是否因为化学处理导致特异部位的改变,或仅仅构型变化所引起的,这个问题,很难回答。

显然,尽管多年来广泛应用蛋白质作为抗原,对这些高度复杂的分子的抗原本质,仍然认识甚少,因而这一领域对免疫化学家仍是一个大的挑战。对简单的蛋白质和天然状态存在的肽,作为抗原,同样进行了研究。这些物质包括有胰岛素、高血糖素、促胃液激素、降钙素、缓激肽、血管收缩素(垂体后叶)加压激素、促肾上腺皮质激素以及生长激素等等。一般地说,它们都是微弱的免疫原,为了诱导抗体形成,需要配合佐剂作免疫接种,或通过化合方法,结合于天然的或合成的载体分子上,以提高它们的免疫原性。这种弱免疫原性,认为是因肽的分子量低的缘故。用放射免疫分析法测定人类血清中的多种这些物质,已应用于临床。但它们的弱免疫原性,对临床应用造成很大的困难。因为,为了获得足够高的试验灵敏度,需要使用高效(高亲和力)的抗体。

2·1·3 碳水化合物

大多数类型的细菌,在它们的细胞壁上,或细胞壁内,都具有血清学上活性的碳水化合物。这些碳水化合物,只是与细菌诱导产生的抗体起反应,而不是与它们自身免疫原性诱导产生的抗体起反应,它们只具有抗原性质(见2·2节)。在某些情况下,分离的碳水化合物,如脑膜炎双球菌A族和C族碳水化合物,和肺炎双球菌多糖体,对于人体则是免疫原。其他一些碳水化合物,如葡聚糖(dextrans)、果糖(Levans)和壁酸(teichoic acid)也已证明对人体是免疫原。碳水化合物的分子量,对这些具有重复抗原决定簇的物质的免疫原性,显得特别重要。有关这方面的问题,葡聚糖——D—葡萄糖的聚合物——作了广泛的研究,分子量低于50000的葡聚糖,对人体的免疫原性,远弱于分子量90000以上的葡聚糖〔10〕。Ⅱ型肺炎双球菌多糖的分子量,必须超过18000,才能诱导小鼠的免疫反应〔11〕。链球菌细胞壁的组特异性碳水化合物A和C作为抗原,作了广泛的研究。用经过热灭活的胃蛋白酶消化的A组或C组菌,制取的菌苗,对家兔作免疫接种,诱导形成抗组特异性碳水化合物的抗

体。A组碳水化合物是由重复的N—乙酰葡萄糖胺—鼠李糖(N—acetyl glucosamine—rhamnose)单位(每个单位包含17个克分子的N—乙酰葡萄糖胺和38个克分子的鼠李糖)所组成,分子量约为10000。N—乙酰葡萄糖胺为免疫显性基团。C组碳水化合物具有类似的结构,由N—乙酰氨基半乳糖—鼠李糖单位组成,N—乙酰氨基半乳糖为其显性基团。N—乙酰葡萄糖胺能够抑制抗A组菌苗抗体对A组碳水化合物的沉淀作用,而N—乙酰氨基半乳糖则不能抑制这种沉淀作用。这一事实,举例证明了所形成抗体的微妙特异性。对于C组碳水化合物,反之也一样[12]。组特异性链球菌和肺炎双球菌碳水化合物,是免疫化学家特别感兴趣的,因为针对这些碳水化合物的家兔抗体,与正常抗体不同,其分子异质性往往是受局限的[11]。对这些抗体的研究,极大地促进了人们对免疫球蛋白结构和其合成的遗传控制的认识。

2·1·4 类脂体

纯化类脂从未能令人信服地证实有免疫原性,似乎欲获得抗类脂的抗体,它必须与更大的大分子结构相复合,如与蛋白质、合成多肽或红血细胞等相复合。

2·1·5 核酸

在近二十年中,核酸是生物化学家极感兴趣的抗原,从全身性红斑性狼疮(SLE)患者中,发现抗核酸的抗体,引起了免疫化学家对这些复杂分子的兴趣。SLE是一种伴有在血清中,出现抗核抗体和抗核酸抗体的多种免疫异常的疾病。抗DNA抗体和DNA的免疫复合物,常常被沉积在肾小球中。将核酸与载体如甲基化牛型血清白蛋白、蛋白质或合成聚氨基酸等相结合,仅实验性地成功地获得抗核酸抗原的抗体。尽管免疫化学家对这些物质颇感兴趣,但它们的免疫原性的精确性质,仍需待确定,

2·2 人工抗原

由上述可知,为了认识免疫原性的化学基础,必须克服天然抗原高度复杂性所造成的困难。为此,免疫化学家所采用的一种途径,是将天然抗原经过化学改变,制取人工抗原。即将已知化学结构的小抗原决定簇,代替蛋白质抗原,提供人们许多有关免疫反应特异性本质的数据资料。

自本世纪初以来,就已经知道,蛋白质经过深度碘化之后,则失去它们的种特异性。这些碘化蛋白质的抗体,主要是直接与碘化酪氨酸残基有关,该残基是深度碘化的蛋白质都同样具有的。自Karl Landsteiner氏将已完全知晓结构的小分子,与蛋白质分子结合,所作的权威性免疫化学实验之后,开始积累有关免疫反应特异性的资料[13]。Landsteiner氏首先采用术语“半抗原”(hapten),描述一种“特殊的不含蛋白质的物质”。这种物质虽然在玻璃试管中对抗体具有反应性,但是根本不诱导抗体形成,或仅仅轻微诱导抗体形成。这种仅具有血清学活性的物质,不同于具有两种活性的蛋白质抗原,所以称之为“半抗原”。

虽然,术语“半抗原”往往用于低分子量的芳香族物质(表2·3)但上述的定义提示,该术语可用于任何一种自身不能诱导抗体形成(即非免疫原性)的物质,但是能够与完全免疫原性分子所产生的抗体反应。象变成芳香族化合物那样的物质,某些药物(如青霉素)、低聚糖、核酸、核苷酸、肽和脂类,都可以是半抗原。

表2.3 常见半抗原举例

基 团	结 构	与载体结合方式
偶氮苯甲酸 (azobenzoate)	$R-N=N-C_6H_4-COO^-$	以偶氮键酪氨酸、组氨酸的芳香环结合, 和赖氨酸的 $\epsilon-NH_2$ 结合
肿酸偶氮苯 (azobenzencarsonate)	$R-N=N-C_6H_4-AsO_3H^-$	
偶氮苯磺酸 (azobenzensulphorate)	$R-N=N-C_6H_4-SO_3^-$	
二硝基酚 (dinitrophenol)	$R-C_6H_3(NO_2)_2$	用卤素衍化物即2,4-dinitrofluorobenzene (2,4-二硝基氟苯)进行亲核蛋白取代
三硝基酚 (trinitrophenol)	$R-C_6H_2(NO_2)_3$	
4-羟基-3-碘-5-硝基苯乙酰 (4-hydroxy-3-iod-5-nitrophenacetyl)	$R-N=N-COCH_2-C_6H_2(OH)(NO_2)(I)$	赖氨酸的 NH_2 基与赖氨酸的 NH_2 基产生叠氮化反应
R = 蛋白质 (R = protein)	R = protein	

构型对免疫原性的作用, 将在2.4节中较详细地讨论, 这里简要地提及Landsteiner氏关于不同偶氮蛋白的血清学特异性所作的开拓性研究。Landsteiner氏证实, 当氨基苯磺酸的三种异构体(邻位、间位、对位)重氮化之后, 与蛋白质(马血清蛋白)结合, 然后给家兔注射, 产生抗体, 能够鉴别这三种异构体。因此, 抗间位偶氮苯磺酸基团的马血清蛋白的抗体, 可与携带该间位异构体的另一种载体蛋白发生有效的沉淀, 但与携带其余二种异构体的另一种载体蛋白, 仅发生极不完全的沉淀。在类似的实验中, Landsteiner氏和Van der Scheer氏通过沉淀抑制作用证实, 针对磺酸半抗原的抗体, 可以区别磺酸基被肿酸基或羧酸基取代的磺酸半抗原和偶氮苯半抗原[14]。这些实验, 进一步证实了抗体-抗原相互作用的奇妙特异性。

利用偶氮结合产生结合物的方法, 不仅适用于芳香胺, 并且也可用于与碳水化合物衍生物结合的蛋白质。的确, Landsteiner氏通过合成D和L-酒石酸的两种异构的偶氮酒石酸, 与蛋白质载体结合, 可证实D-和L-酒石酸的血清学特异性。针对这些结合物的抗体, 能够将这些结合物与D-和L-异构体相区别。人工抗原的研究, 促进了人们对免疫

反应特异性的认识。上述的研究工作，就是杰出的实例。

在讨论利用完全合成抗原之前，应简单地考虑，为了研究化学基团对明胶免疫原性的影响，而把化学基团附于劣免疫原明胶的研究结果。一些研究的结果，摘要在表2·4，且在文献[15]

表2·4结合半抗原和肽类对明胶免疫原性的影响

被结合的基团	对免疫原性的影响
糖残基 (Sugar residues):	
如: 阿拉伯胶糖 (arabinose)	—
纤维素-乙二醇 (Cellulose-glycol)	—
糖残基十酪氨酸	↑
芳香化合物:	
如: 重氮化合物	↑
苯甲酸	—
异氰酸苯酯 (phenylisocyanate)	—
氨基酸:	
D 酪氨酸 L 酪氨酸	↑
苯基丙氨酸 蛋氨酸	↑
色氨酸 赖氨酸 谷酰胺 丙氨酸 丝氨酸	—
聚氨基酸:	
聚酪氨酸 聚苯基丙氨酸 聚色氨酸 聚甘氨酸	↑
聚丙氨酸 聚谷氨酸 聚赖氨酸	—
肽类: (缩氨酸)	
亮氨酸-谷氨酸 赖氨酸-谷氨酸 酪氨酸-谷氨酸	↑

“↑”表示免疫原性提高

“—”表示免疫原性不受影响

中附有详细的参考资料。很明显，许多种类的化学基团附着于明胶，通常都可以增强明胶的免疫原性。如果以2%的芳香族氨基酸酪氨酸与明胶结合，则可增强明胶的免疫原性。如果酪氨酸的含量为10%，虽然明胶还是具有强的免疫原性，但所诱导产生的抗体的特异性，却是针对酪氨酸肽而不是针对明胶的[1]。这类的研究，虽然对免疫原性的本质提供某些指征，但是有明显的局限性。采用制取完全合成抗原的技术，导致人们对免疫原性的分子水平的认识的迅速发展。

2.3 合成抗原

从上面的讨论中可知，在研究赋与天然抗原（如蛋白质）免疫原性和抗原性的精确化学本质过程中，遇到了由于它们的高度复杂性所造成的困难。利用人工抗原，获得了有关免疫反应特异性的有价值的资料，但只是近十年至十五年间，合成了直线型和分支型氨基酸聚合物和共聚物，才极大地促进了人们对免疫原性在分子水平上的认识。通过研究这些合成抗原化学结构精确变化造成的影响，则有可能了解许多影响免疫原性的分子特性。许多这样的合成抗原，已在一些动物中，包括小鼠、家兔、豚鼠、大鼠以及人体中作过试验。详细的资料可参考有关的评论文献。用于免疫化学研究的合成抗原的类型，摘要于表2·5。

Sela氏所采用的免疫原性多链（分支型）共聚物——聚（酪氨酸-谷氨酸）-聚-DL-丙氨酸-聚-L-赖氨酸（Poly(tyr-glu)-Poly-DL-alanine-Poly-L-lysine)的结构，例举于图2·1(a)(1)。在该多链（分支型）共聚物中，酪氨酸和谷氨酸残基结合于聚-DL-丙氨酸

表2·5 合成聚肽抗原

型 别	实 例
均聚物	聚L-蛋自 (PolyL-Pro)
直线型聚肽	聚谷氨酸 ⁵⁰ 赖氨酸 ³⁹ 酪氨酸 ⁶ (poly glu ⁵⁰ lys ³⁹ tyr ⁶)
无规则共聚物	(蛋白 ⁶⁶ 甘氨酸 ²⁴) _n (pro ⁶⁶ gly ²⁴) _n
有顺序或周期性聚合物 (α螺旋体) (α, helix)	(酪氨酸-丙氨酸-谷氨酸) _n (tyr-ala-glu) _n
多链(分支型)共聚物	聚(酪氨酸-谷氨酸)-聚-DL-丙氨酸-聚-赖氨酸 [poly(tyr glu)-poly D-L-ala poly-lys]

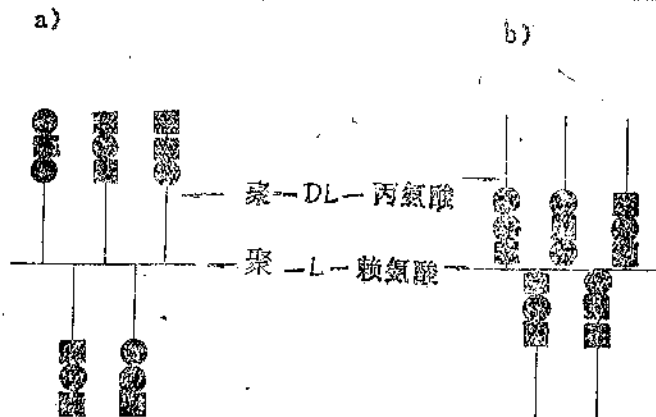


图2·1 poly(tyr, glu)-poly-DL-ala-poly-L-lys的多链共聚物
(a) 免疫原性结构
(b) 非免疫原性结构 (来源于文献[1])

氨酸-聚-L-赖氨酸 (Poly DL alanine poly L lysine) 骨架 (其自身是非免疫原性的) 的外端。如果同样的氨基酸直接结合于该聚-L-赖氨酸骨架, 然后再结合上聚-DL-丙氨酸肽 (图2·1(b)), 那么, 所形成的聚肽是非免疫性的。此例说明, 为了诱导抗体形成, 必须有免疫学上起重要作用的基团。同样的三肽可以人工合成, 或者是在一个分支型共聚物 (具有顺序性决定簇的免疫原) 上连接到多聚DL-丙氨酸-多聚-L-赖氨酸 (图2·2(a)) 的侧链上去, 或者连接到一个有顺序性残基 (或周期性共聚物) 上去, 后者具有一个 α -螺

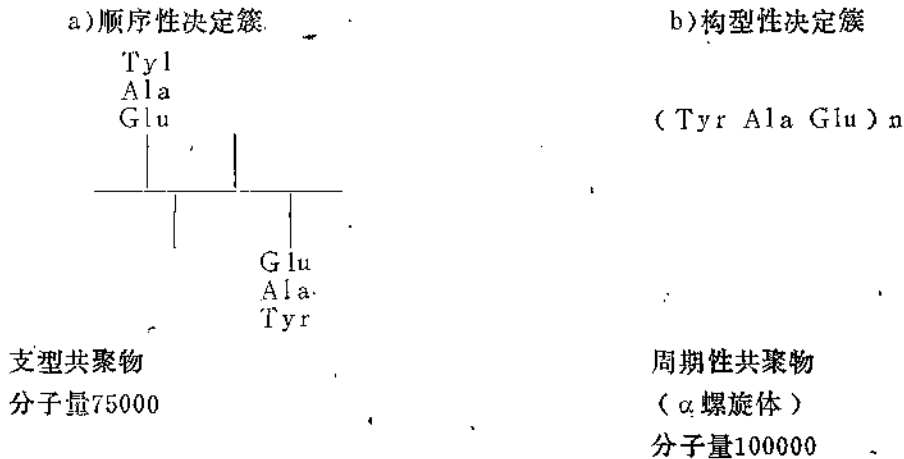


图2·2合成的顺序性和构型性决定簇 (来源于文献[1])

Tyr = 酪氨酸
Ala = 丙氨酸
Glu = 谷氨酸

旋 (α helix) 作为免疫原的构型决定簇 (图2·2(b))。针对顺序性决定簇的抗体, 不与构型性决定簇起交叉反应; 反之亦然。这表明构型对免疫性和抗原特异性的作用。

这些例子, 说明对合成抗原所进行过的研究型式。下一节将概述由有关免疫原性和抗原特异性的分子基础的研究中所获得的各种资料。

2·4 免疫原性和抗原特异性的分子基础

Sela氏说:

“我们对控制抗原性, 即免疫原性和抗原特异性的许多分子参数, 如分子的组成、大小、形状、可接触性、电荷、光学结构以及空间构型等等的认识, 近年来在不断提高, 而且这种进展, 主要是归因于合成抗原。合成抗原分子的相对简单性, 有助于人们解释所作实验的结果, 甚至往往能够检测如遗传变异之类的因素对免疫反应的影响; 对于复杂的天然抗原, 这些影响则不容易洞察了” [1]。

本节将概述目前人们对上述参数在控制抗原性方面的作用的认识。

2·4·1 分子量

人们曾经认为, 分子量低于5000—10000的物质, 是无免疫原性的。对于蛋白质抗原而

言，这也许是正确的，但正如抗体形成试验和改变细胞反应性试验所证明，另有一些分子量低至450的分子，也表现出免疫原性（表2·6）。

表2·6 低分子量的免疫原

免 疫 原	分子量	被免疫的动物
聚-谷氨酸 ⁵⁰ -丙氨酸 ⁴⁰ -酪氨酸 ¹⁰ (poly-Glu ⁵⁰ -Ala ⁴⁰ -Tyr ¹⁰)	4000	兔子
3-二硝苯杆菌肽 (tri-dinitrophenyl bacitracin)	1928	豚鼠
血管收缩素 (Angiotensin)	1031	豚鼠
P-偶氮苯磺酸-3-L-酪氨酸 (P-azobenzenarsonate-tri-L-tyrosine)	750	家兔, 豚鼠
P-偶氮苯磺酸-N-乙酰-L-酪氨酸 (P-azobenzenarsonate-N-acetyl-L-tyrosine)	451	豚鼠

2·4·2 分子组成

一般地说， α -氨基酸均聚物是非抗原性的，但是，两种氨基酸的聚合物对家兔和豚鼠是免疫原性的。由三种或四种氨基酸组成的聚合物是强免疫原。酪氨酸和苯丙氨酸同明胶结合，大大地提高了明胶的免疫原性(2·4节)。用环己基丙氨酸(Cyclohexylalanine)(环己烷环取代苯丙氨酸中的芳香环)作试验，也得到类似的结果，这表明使酪氨酸和苯丙氨酸在免疫原性方面起重要作用的是环状结构，而不是芳香度。在合成多肽中有芳香氨基酸如酪氨酸存在，虽然一般都大大地增加所产生抗体的数量，但是它并不是免疫原性的关键因素。

2·4·3 空间构型

很久以来，人们已经认识到蛋白质的空间排列对抗原特异性是很重要的，因为经过化学变性的蛋白质与抗天然分子的抗体根本不发生反应，或者仅稍微发生反应。对合成多肽所作的研究，清楚地表明，尽管顺序性决定簇和构型性决定簇都是由相同的氨基酸(三肽酪氨酸-丙氨酸-谷氨酸)(the tripeptide tyr ala glu)所组成，(见图2·2)但免疫系统能够区别顺序性决定簇或无规则螺旋型决定簇和构型性决定簇，例如一个 α -螺旋。虽然两系统之间不存在交叉沉淀作用，但环状双向色性(circular dichroism)研究表明[16]，当抗 α -螺旋型结构的抗体与无规则螺旋型聚肽反应时，可发生诱导无规则螺旋型产生螺旋性趋向的构型改变，这种现象称为“构型转移”(transconformation)。在抗-阿扑肌红蛋白-肌红蛋白(the antiapomyoglobin-myoglobin)系统中，已证实了诱导交叉反应抗原发生构型改变的类似的抗体。因为抗体诱导了构型改变，该反应的结果是骨髓瘤蛋白释放出正铁血黄素[17]。

用肽和聚-L-赖氨酸的分支型链共聚物作免疫接种，使家兔产生抗九肽缓激肽的抗体，此抗体已用于研究构型对抗原特异性的作用[18]。已经测定过各种缓激肽类似体，与这些抗体的结合能力。类似体氨基酸侧链的改变，可导致构型改变(即脯氨酸或甘氨酸残基发生构型改变)，很大地改变了与抗体的结合能力。而取代作用导致电荷数或憎水性改变，并不

影响与抗体的结合能力。此外,还有其他一些证据,可以证实构型影响抗原特异性作用,例如 Arnon 氏和 Sela 氏有关针对鸡卵白溶菌酶 (egg white lysozyme) 的“环肽” (Loop peptide) (图2·3) 的抗体所作的杰出研究[19]。

溶菌酶的顺序64—83的离析肽,称为“环”肽,因为在残基64与80之间,存在双硫桥键。

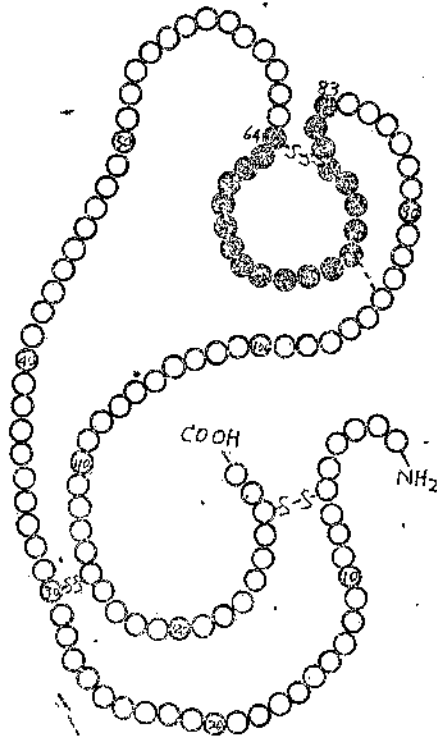


图2·3 鸡卵蛋白溶菌酶的氨基酸顺序
(⑤-⑭) 标示“环肽”

如果与多聚-DL-丙氨酸-聚-赖氨酸结合,所形成的结合物,在家兔或山羊体中,诱导产生针对天然溶菌酶的抗体。借助于不溶性“环”肽〔与代乙溴酰基纤维素 (chromacetyl cellulose) 结合的“环”肽〕,从被溶菌酶免疫的动物血清中;可分离出特异性类似的抗体。这些分离的抗体,仍然可与溶菌酶反应,并且该反应可被“环”肽抑制,但不被通过还原作用和羧甲基化作用由“环”肽衍生的开链肽所抑制。这表明针对“环”肽的抗体,识别特异的空间构型,而不是仅仅识别氨基酸的顺序。这些研究人员,用完全人工合成的,具有完全相同氨基酸顺序的“环”肽所诱导产生的抗体,也证明了类似的结果[20]。

2·4·4 电荷数

通过改变氨基酸的组成,而依次地改变合成抗原所带的净电荷数,一些研究结果揭示,电荷不是决定免疫原性所必需要求的因素。一般地说,电荷数不影响所形成抗体的数量。但是电荷数越高的分子,是越弱的免疫原。有意思的是,在免疫原分子的净电荷数和针对它们所形成的抗体的电荷数之间,存在着相反的关系。因而碱性 ρ -偶氮苯甲酸 (basic ρ -azobenzenearsonate) 结合物诱导形成比较酸性的抗体,而酸性 ρ -偶氮苯甲酸结合物 (acid- ρ -azobenzenearsonate) 则诱导形成比较碱性的抗体。

2·4·5 光学构型

在2·3节中，已讨论过抗体在与抗原反应中的高度空间特异性。光学构型对免疫原性的影响，人们用合成聚肽抗原作过研究。D-氨基酸聚合物，具有比相应的L-异构体聚合物更弱的免疫原性。L-氨基酸残基结合于由D-氨基酸组成的合成大分子的外侧，则使D-氨基酸聚合物转变为强免疫原。相反地，由L-氨基酸为主体所组成但侧链以D-氨基酸为末端的大分子是很弱的免疫原(21)。D-氨基酸聚合物的弱免疫原性，似乎由于它们的不完全分解代谢，和在动物体中长期滞留的原故，连续缓慢地释出导致免疫无反应性。

2·4·6 物理状态

如果将抗原注射入动物体，抗原的物理状态则是决定抗原是否是免疫原的极重要因素。蛋白质、核酸和合成抗原，存在于聚集状态或非聚集状态时，具有不同的免疫原性。例如，聚集状态的牛型丙种球蛋白，对小鼠是强免疫原，但是经过超速离心，而处于非聚集状态的牛型丙种球蛋白，则不能诱导免疫反应。许多抗原加入生理盐水中注射，则是无免疫原性的，如果并用弗氏(Freund's)佐剂(一种悬浮有灭活的干结核分枝杆菌的水油乳剂)或吸附于明矾沉淀物上，则为强免疫原性。

2·5 抗原决定簇的大小

一些研究者采用各种抗原，对与抗体结合部位真实结合的抗原区域的近似大小，作过估计。一般地说，估计决定簇大小的方法，是用一系列分子量递增的抑制剂，来抑制抗体对同系抗原的结合。例如，采用一系列的低聚糖，通过抑制作用的研究，估计出人类葡聚糖-抗葡聚糖系统的决定簇大小，相当于六个吡喃葡萄糖环(glucopyranose rings)。不同系统所测得的数据表明，各自决定簇的大小，都非常近似。

表2·7 各种抗原决定簇的大小估计

抗原	决定簇的组成和大小估计A	
葡聚糖	6糖残基 (6 Sugar residues)	34×12×7
核酸	4-5嘌呤或嘧啶残基 (4-5 purine or pyrimidine residues)	15×20
炭疽杆菌	六肽 (hexapeptide)	36×10×6
聚-丙氨酸-BSA (poly ala BSA)	五-丙氨酸 (pentalanine)	25×11×6.5
聚-赖氨酸-RSA (poly-lys-RSA)	五(六)-赖氨酸 (penta(hexa)lysine)	27×72×6.5
聚-赖氨酸-磷酸基-BSA (poly-lys phosphoryl-BSA)	五-赖氨酸 (pentalysine)	27×17×6.5

2.6 细胞类型的影响

除了分子因素影响免疫原性之外(见2.4节);必须考虑宿主的免疫状态。现已经很清楚,在具有遗传性地对抗原产生免疫反应能力的动物体中,免疫反应的发生,关系到三种类型协同产生抗体的细胞:

- (1)来源于胸腺的淋巴细胞(T细胞),
- (2)来源于骨髓的淋巴细胞(B细胞),
- (3)巨噬细胞。(见3.4.1节)

在免疫反应过程中,存在着一个淋巴样细胞的受体对抗原的识别时相,此受体能特异地结合抗原。

这些协同作用和识别反应,依抗原性质的不同而异。在免疫反应中,T淋巴细胞的机能是作为“辅助细胞”协助抗原激发B细胞。但是,并不是所有的抗原,都需要T细胞的辅助作用,非胸腺依赖性“抗原”的例子,有固紫染色阴性细菌的脂多糖、肺炎双球菌的多糖以及合成抗原聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone)。这些抗原具有重复抗原决定簇的特性。天然抗原,如免疫球蛋白、白蛋白和红细胞,通常都需要T细胞的辅助作用,被称为“胸腺依赖性”抗原('thymus dependent' antigens)。

在动物体中,存在非聚集的游离状态抗原或非常大量的抗原时,可导致动物体对某一通常可诱导形成抗体的抗原,不发生免疫反应(免疫耐受性)。与骨髓细胞相比,似乎胸腺细胞更容易引起无反应性,并且胸腺细胞的这种免疫无反应性的持续时间,要比骨髓细胞长得多[23]。细胞被激发产生抗体或者发生无反应性的机制,尚不清楚。

参考文献

1. Sela, M. (1969), *Science* 166, 1365.
2. Sela M. (1966), *Advanc. Immunol.* 5, 29.
3. Jerne, N.K., & Nordin, A.A. (1963), *Science* 140, 405.
4. Hughes Jones, N.C. (1967), *Immunology*, 12, 565.
5. Press, E. and Porter R.F. (1962) *Biochem. J.* 83, 172.
6. Lapresle & Webb (1965), *Biochem. J.* 95, 245 and Lapresle & Goldstein (1969) *J. Immunol.* 102, 733.
7. Crumpton, M.J. (1967), in 'Antibodies to Biologically active Molecules', (ed. B. Cindler), vol. 1, p. 61, Pergamon Press, New York.
8. Parish, C.R., Wostar, R. Jr., & Ada, B.L. (1969), *Biochem. J.*, 113, 501
9. Boyd, W.C. (1966), *Fundamentals of Immunology* p. 135-141, Wiley Interscience, New York.
10. Kabat, E.A. & Bezer, A.E. (1958) *Arch. Biochem. Biophys.* 78, 306.
11. McMaster, P.R.B., Schade, A.L., Finnerley, J.F., Caldwell, M.B. & Prescott, B. (1970), *Fed. proc.* 29, 812.
12. Krause, R.M. (1970), *Advance. Immunol.* 12, p. 3.