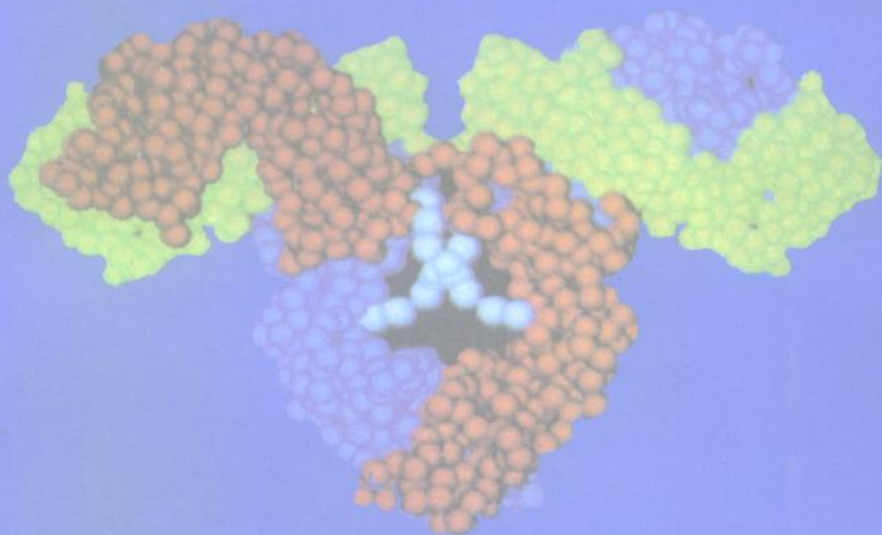


免疫化学

江世益 张鲁雁 编著



R392.11
JSY

上海医科大学出版社

北医大图书馆

免疫化学

DF11.123

江世益 张鲁雁 编著



R392.11
JSY

上海医科大学出版社

北医大图书馆



A 1 C 0 1 8 5 5 8 7 0

序

免疫学原本是研究机体防卫病菌入侵的一门学科，它在预防疾病的发生和传播中曾发挥了极为重要的作用。目前，它的重要性已大大超出了这一范畴，它已渗入生物学，特别是医学的每一个领域。免疫学中的任何一项成就，都很快地被其他学科所引用和吸收。例如免疫细胞的发育与分化已成为研究细胞发育与分化的典范；免疫球蛋白的结构分析，轻链与重链的基因重组堪称分子生物学发展进程中的一个里程碑；淋巴因子及其细胞表面标记物的研究深深地影响着细胞生物学中有关项目的研究；单克隆抗体以及免疫化学等技术更是被广泛应用，已形成一种巨大的生物工程行业。所有这些成就应首先归功于化学的渗入，从而得以从分子水平观察免疫现象，把一个万分复杂的体系逐步显出眉目。同时，免疫化学也应运而生。

所以，免疫化学是一门新兴的边缘学科，人们对此了解不多或比较陌生，需要在行的科学家汇集重要的进展，融会贯通，作简明的介绍。正是在后一个意义上，本书作出了它的贡献。更重要的是这本书的产生是作者在积 10 年的教学经验，逐步充实，编写而成。开始作为研究生的讲义，后来又扩大为医学院本科生的选修课。所以内容较为精练，也便于阅读，疑难之处则辅以实例。

要求一个人为一本他所不很熟悉的学科的著作写序言是不寻常的，不过当我阅读完本书以后，得益匪浅。因此，我相信这是一本对于医学生、研究生以及希求获得这方面知识者大有帮助的书籍。

顾天爵

1995 年 7 月于上海

前 言

近几十年来免疫学在医学领域中蓬勃发展,研究的课题中心已突破早期抗感染免疫的狭隘范畴,而扩展到多种非感染性免疫疾病机制的探讨。对于机体的组织结构与免疫功能之间关系的研究,也已从整体水平发展到细胞水平,继而跨入分子水平。

随着近代物理和化学高科技的发展和应用,使免疫学的许多理论发生了根本的改变,同时由于免疫学本身的实用价值而使其迅速渗入生物科学和各门临床学科领域,形成了许多分支学科,如免疫生物学、免疫遗传学、免疫病理学、免疫化学、免疫药理学和临床免疫学等,成为免疫学发展的前沿学科。

“免疫化学”这一名词由物理化学家 Arrhenius 首先提出。他认为当体外物质注入动物血液中,可产生一种新物质,这种反应称为免疫应答。免疫化学是研究该体外物质与所产生新物质的化学组成和性质,以及它们之间相互作用的机制。这一提法与现代免疫化学的概念相吻合。现代免疫化学就是研究抗原与抗体的组成、结构以及抗原和抗体反应的机制。此外,还研究体内其他免疫活性物质,如补体分子的组成、结构及其功能。目前,免疫化学已应用于免疫性疾病发病机制的基础研究和临床检测等。

近十几年来借助于 X 线晶体衍射分析、核磁共振、电子自旋共振以及圆二色谱等新方法研究,阐明了许多蛋白质抗原的结构、人各类抗体分子的一级结构和三维结构,并通过对抗原结合部位构造的探索,从分子水平上揭示了抗原和抗体特异性结合的本质。

由于细胞免疫学的迅猛发展,它已和免疫化学相互渗透融合,目前以淋巴细胞为中心,从分子水平研究了淋巴细胞对抗原识别、激活和效应放大机制,研究了淋巴细胞膜组成以及膜动力学性质,如膜流动性和膜受体迁移率等与疾病的关系,对抗体多样性起源的遗传控制研究也有较大进展。

自 1983 年起,上海医科大学化学教研室为硕士生开设了“免疫化学”课程,1988 年起相继为本科生开设了“免疫化学”选修课,并几度编写了教材,经过了十多年的实践和经验积累,形成了免疫化学教学的完整体系。在此基础上,这次全面加以整理,并结合编者部分科研资料和国内外有关免疫化学方面的研究进展,以扩充和深化有关章节,重新编写了《免疫化学》一书,以求更好地反映当前免疫化学的基本面貌、最新观念及其进展。

通过选用不同章节,此书既可适用于不同层次的大学生及硕士生、博士生的学习需要,也可供生物学、免疫学、生物化学以及临床医学各有关学科的教学和研究人员参考。

编者衷心感谢顾天爵教授在百忙中对本书的指导并为本书作序。在编写过程中还得到了学校各级领导,尤其是上海医科大学教材委员会、上海医科大学出版社领导和编辑同志对本书编写和出版工作给予帮助和指导,在此一并致谢。限于编者水平,如有疏漏、错误之处,望读者不吝指正。

江世益 张鲁雁

1995 年 7 月

目 录

第一章 抗原的免疫原性和专一性	1
第一节 抗原与免疫原.....	1
第二节 抗原的分类.....	1
一、根据抗原的性能分类.....	1
二、根据抗原的来源分类.....	2
三、根据抗原的化学组成分类.....	3
第三节 构成免疫原的条件.....	4
一、异物性.....	4
二、大分子物质.....	4
三、一定的化学组成和结构.....	4
第四节 抗原特异性的分子基础.....	5
一、抗原决定簇.....	6
二、抗原决定簇对抗原特异性的影响.....	7
三、载体效应.....	10
四、抗原的结合价.....	10
五、交叉反应.....	11
第五节 影响抗原免疫原性的因素.....	12
一、遗传因素.....	12
二、免疫佐剂.....	12
三、荷电状态.....	13
第六节 抗原结构的免疫化学.....	13
一、蛋白质抗原.....	13
二、多糖抗原.....	16
三、病毒抗原.....	18
四、肿瘤抗原.....	21
第二章 抗体的结构和功能	25
第一节 免疫球蛋白分子的基本结构.....	26
一、组成免疫球蛋白分子的基本结构单位——四链模型.....	26
二、结构域和功能区.....	26
三、超变区.....	29
四、铰链区.....	29
五、轻链和重链.....	29
六、免疫球蛋白分子中的糖.....	31
七、免疫球蛋白分子的酶解碎片.....	34
第二节 免疫球蛋白分子的抗原决定簇和变异体.....	35

一、同种型	35
二、同种异型	37
三、独特型	38
第三节 抗体的生物学特性	39
一、与抗原特异性结合	40
二、激活补体	41
三、结合细胞组织	42
四、通过胎盘	44
五、C ₄ 2区的分解代谢速率控制	44
第四节 人各类免疫球蛋白的结构和特性	44
一、IgG	44
二、IgA	47
三、IgM	49
四、IgD	52
五、IgE	53
第五节 抗体的进化	53
第三章 抗体的亲和力及其热力学和动力学	56
第一节 抗原-抗体反应的特点	56
一、抗原与相应抗体的特异性结合	56
二、抗原与抗体的结合呈一定比例	56
第二节 抗体的亲和力	57
第三节 影响抗体亲和力的因素	57
一、基因控制	57
二、年龄	58
三、环境因素	58
第四节 抗体亲和力常数	58
第五节 抗体亲和力常数测定方法	58
第六节 抗体亲和力的热力学	62
第七节 抗体亲和力的动力学	64
第八节 抗体亲和力和疾病的关系	65
一、抗体亲和力和免疫复合物疾病	65
二、抗体亲和力和自身免疫性疾病	65
三、在系统性红斑狼疮中的抗体亲和力	65
四、抗体亲和力和感染、接种的关系	66
第九节 抗原与抗体结合的生物力	66
一、氢键	66
二、范德华力	66
三、库仑引力	66
四、疏水作用	67
五、立体排斥力	67

第四章 抗体分子的空间结构	68
第一节 免疫球蛋白分子的电镜观察.....	68
第二节 免疫球蛋白分子的 X 线晶体衍射分析.....	69
第三节 Mcg λ 轻链二聚体和 IgG(New) Fab' 碎片的空间结构.....	70
第四节 Fc 区域的空间结构.....	73
第五节 Mcg λ 轻链二聚体的构象变化.....	75
第六节 抗原结合部位的构造.....	77
一、X 线晶体衍射法.....	77
二、电子自旋共振法.....	80
三、核磁共振法.....	83
第五章 单克隆抗体分子	85
第一节 由骨髓瘤分泌的均一性抗体.....	85
一、由矿物油诱发成骨髓瘤.....	85
二、小鼠骨髓瘤细胞的命名.....	86
三、骨髓瘤和骨髓瘤蛋白的应用.....	87
第二节 由杂交细胞瘤分泌的均一性抗体.....	88
一、特定抗原细胞选用.....	88
二、骨髓瘤细胞系.....	88
三、细胞融合和克隆化.....	89
四、收取抗体.....	89
第三节 抗体分子的均一性鉴定.....	90
一、等电聚焦分析法.....	90
二、抗体亲和力常数测定.....	91
三、氨基酸序列分析.....	91
第四节 单克隆抗体在生物学和临床上的应用.....	92
一、用于临床诊断.....	92
二、光免疫疗法——肿瘤的诊断和治疗新方法.....	92
三、催化性抗体及其应用.....	95
第六章 抗体的基因	99
第一节 免疫球蛋白的基因.....	99
一、免疫球蛋白的轻链基因.....	100
二、免疫球蛋白的重链基因.....	101
三、C 区基因.....	103
四、膜结合型免疫球蛋白和分泌型免疫球蛋白的基因.....	104
第二节 基因重排.....	104
一、V 区基因重排.....	104
二、12~23 bp 规则.....	106
三、茎环结构.....	107

四、重链类别转换	107
第三节 抗体的多样性	109
一、重链 VDJ 和轻链 VJ 片段的重组连接	109
二、连接的多样性	109
三、体细胞突变	110
第四节 免疫球蛋白基因重排控制和组织特异性表达	110
一、基因重排控制	110
二、基因的组织-特异性表达	110
第五节 重链病	111
第七章 补体分子结构及其激活途径	112
第一节 补体激活的第一途径——经典途径	113
一、各种补体蛋白质	114
二、经典途径的激活过程	120
第二节 补体激活的第二途径——替代途径	122
一、补体因子性质	122
二、替代途径激活过程	123
第三节 补体引起细胞膜损伤的机制	124
第四节 补体系统中的调控蛋白	124
一、C1-Inh	125
二、C4bp	125
三、H 因子	125
四、I 因子	125
五、过敏毒素灭活剂	125
六、备解素	125
七、S-蛋白	125
八、Sp-40, 40	126
九、CR1	126
十、MCP	126
十一、DAF	126
十二、HRF	126
十三、CD59	126
第八章 淋巴细胞表面的分子识别	127
第一节 细胞膜结构	127
一、脂质成分	127
二、蛋白质成分	129
第二节 细胞骨架	180
第三节 细胞膜脂区流动性	131
第四节 细胞表面受体分子的共性	133
第五节 细胞-细胞分子识别	134
第六节 T 淋巴细胞抗原受体	135

一、TCR 结构	135
二、T 淋巴细胞识别抗原	136
三、TCR 的基因	139
第七节 免疫球蛋白超家族	140
一、抗原受体	141
二、免疫球蛋白受体	141
三、T 淋巴细胞表面分子和粘附分子	141
四、脑和胸腺抗原	141
五、NCAM	141
六、生长因子和淋巴因子受体	141
七、病毒受体	141
八、肿瘤抗原	141
第九章 抗体的分离和纯化	142
第一节 免疫球蛋白的溶解度	142
一、蛋白质-蛋白质沉淀法	142
二、脱水沉淀法	143
三、饱和硫酸铵溶液的制备	145
第二节 免疫球蛋白的电荷	146
一、离子交换层析	147
二、电泳分离	150
第三节 分子的大小和形状	157
一、凝胶层析	157
二、分子筛电泳	161
三、超滤法	161
四、沉降法	161
第四节 配体专一性	161
第五节 免疫球蛋白的分离方法	162
一、IgG 的分离	162
二、IgM 的分离	162
三、IgA 的分离	163
四、从小鼠腹水中分离纯化抗 CEA 单克隆 IgG 抗体	163
第十章 临床免疫化学	164
第一节 沉淀检测	164
一、界面环状沉淀检测	164
二、单向免疫扩散检测	164
三、双向免疫扩散检测	166
四、免疫电泳	167
五、电免疫扩散法	167
六、浊度法	169
第二节 凝集试验	169

第三节 补体试验.....	170
一、50%补体溶血试验.....	170
二、补体结合试验.....	172
第四节 标记免疫测定.....	172
一、荧光免疫法.....	172
二、放射免疫法.....	173
三、免疫酶标法.....	174
四、生物素-抗生物素系统(BAS)用于免疫化学检测.....	177
五、化学发光免疫检测法.....	179
第五节 电化学免疫测定法.....	180
一、酶标电化学免疫测定法.....	180
二、非标记电化学免疫测定法.....	181
三、电位离子载体调节免疫测定法.....	181

第一章 抗原的免疫原性和专一性

免疫学中最重要研究课题之一是抗原如何被机体识别而发生免疫应答的问题。在免疫反应过程中,抗原与抗体的结合有赖于抗原的化学组成、分子大小和构象、荷电状态等特性。正确理解抗原的免疫原性及生物机体的免疫应答是了解免疫反应的基础。近十几年来,随着免疫学的发展,免疫学家们已从分子水平研究抗原,阐明了多种蛋白质抗原如肌红蛋白、溶菌酶蛋白等分子的全部抗原结构,对抗原的免疫原性和抗原专一性的结构基础已有深入的了解。关于抗原分子中抗原决定簇的大小、排列和定位,抗原的理化特性以及抗原成分的分离和提纯等方面已积累了丰富的资料。核酸的抗原性已得到证实,细胞表面抗原(血型抗原、组织相容性抗原、肿瘤相关抗原等)的研究也有很大进展。同时抗原的改造和人工合成抗原的研究,为人工合成高效和广谱的疫苗开辟了广阔的前景。

第一节 抗原与免疫原

抗原是一种物质,它具有刺激机体产生抗体或致敏淋巴细胞,并能与由它诱导产生的相应抗体或致敏淋巴细胞发生特异性结合的性能。但是有的物质能与抗体起反应却并不产生免疫应答,也有一些物质在不同物种或同种异体间引起不同的免疫应答。因此,目前采用免疫原性和免疫反应性以描述由抗原引起免疫反应的特性。免疫原性是指抗原能刺激机体产生免疫应答,即产生抗体或致敏淋巴细胞的能力;而免疫反应性则是指与相应抗体或致敏淋巴细胞相结合的能力。所以抗原的免疫学功能即抗原性包括两个方面——免疫原性与免疫反应性,既具有免疫原性又具有免疫反应性的抗原称为免疫原。所有免疫原都同时又是抗原,但抗原并不一定都是免疫原,例如小分子的半抗原(haptens)仅具有免疫反应性而缺乏免疫原性。因而抗原的含义较广,包括免疫原、半抗原以及由各种不同抗原物质构成的复合体,如微生物、血细胞、组织细胞等。由于抗原一词沿用已久,因此,抗原与免疫原、抗原性与免疫原性两词习惯上常通用。

随着免疫学的发展,人们逐渐认识到免疫反应除了形成体液免疫和细胞免疫的正免疫应答外,还有形成免疫耐受的负免疫应答。因而抗原除了具有免疫原性和免疫反应性的主要免疫性能外,还应包括过敏原性和免疫耐受性等含义。过敏原性是指具有诱发各种类型的变态反应并致细胞损伤的能力;免疫耐受性是指不能产生免疫应答的能力。

第二节 抗原的分类

抗原的种类繁多,结构复杂,目前尚无较完善的系统分类方法。鉴于实际应用和理论研究的需要,通常可根据抗原的性能、抗原的来源、抗原的化学组成等将抗原进行分类。

一、根据抗原的性能分类

根据抗原物质所具备的性能可分为完全抗原和半抗原两类。

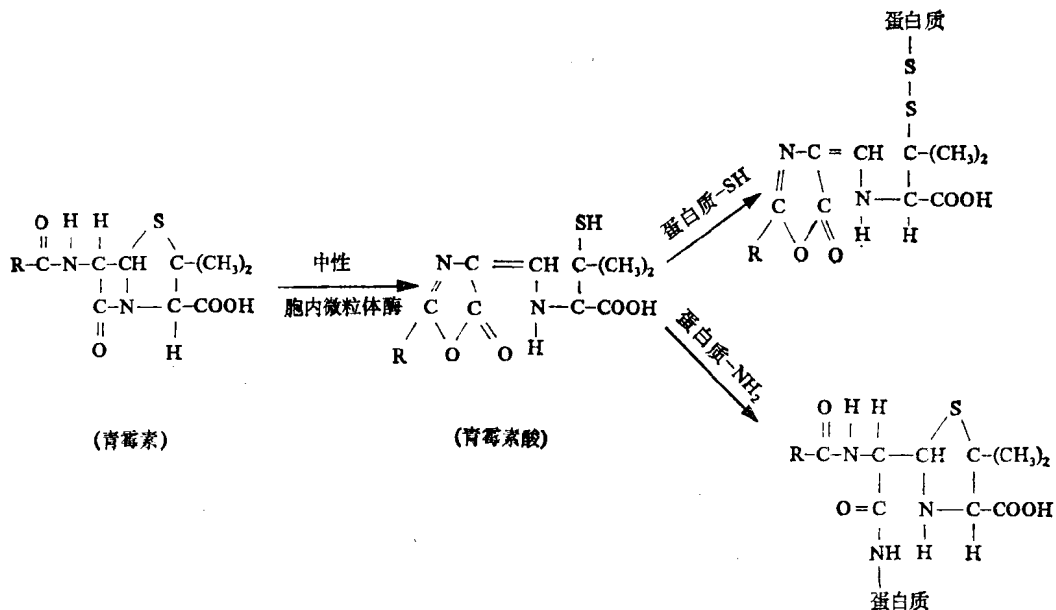
(一) 完全抗原

同时具有免疫原性和免疫反应性的抗原称为免疫原，又称完全抗原。大多数的异种蛋白就是较好的完全抗原，如细菌、病毒、异种动物血清等。它们都是结构复杂的大分子，且具有能在机体内久留而不易被体内酶消化分解的特点，发挥异物免疫刺激的作用。

(二) 半抗原

仅具有与相应抗原或致敏淋巴细胞结合的免疫反应性，而无免疫原性的物质称为半抗原或不完全抗原。如绝大多数的多糖、类脂及一些简单的化学物质，它们本身不具免疫原性，但当与蛋白质大分子结合后形成复合物，便获得了免疫原性，这种与半抗原结合并赋予它免疫原性的蛋白质大分子称为载体。半抗原偶联载体的复合物是完全抗原。它能刺激机体产生抗体和(或)致敏淋巴细胞，并可特异地同相应的半抗原结合，发生免疫反应。半抗原-蛋白质复合物的研究，有助于解释一些药物、化学物质、金属引起机体变态反应的原因。青霉素注入体内引起过敏反应即是一例。

青霉素在体内或体外，都可分解成小分子青霉烯酸。95%的青霉烯酸与体内组织蛋白结合形成抗原，刺激机体产生 IgE，同时又产生封闭抗体 IgG。由于封闭抗体 IgG 与抗原的亲合力比 IgE 与抗原的亲合力大，因此，致敏作用不强。剩下的 5%青霉烯酸可继续分解成青霉素酸，它与组织蛋白结合形成完全抗原，当刺激机体时，只能产生 IgE，而不产生封闭抗体 IgG，因此引起过敏反应。下面的反应式表示青霉素在体内形成完全抗原的过程：



二、根据抗原的来源分类

根据抗原的来源不同可分成外源性抗原与内源性抗原。

(一) 外源性抗原

外源性抗原是从外界引入体内而刺激机体发生免疫应答。根据其属性又可分为天然抗原、人工抗原与合成抗原。天然抗原是指存在于植物、动物、细菌中的颗粒抗原或可溶性抗原，如细菌、病毒、毒素、类毒素、蛋白质、糖类、脂蛋白等。人工抗原是指经化学改性的天然抗

原,如碘化蛋白、二硝基苯基(DNP)蛋白等,它们常被用于研究抗原的特异性问题。合成抗原是指通过化学方法将氨基酸合成多聚体,用以研究抗原的免疫原性与氨基酸种类之间的关系。常用的合成抗原有聚 L-Pro 的同聚物、聚 Glu-Lys-Tyr 的直链多肽、聚(Tyr-Glu)-聚-DL-Ala-聚 Lys 的多链(有支链的)共聚物等。

(二) 内源性抗原

内源性抗原是指体内的自身成分,如机体的组织或细胞因理化因素作用或病毒感染使这些成分发生改变和(或)修饰,成为一种自身抗原或称新生抗原,使机体发生免疫反应。如甲状腺球蛋白存在于甲状腺腺泡内,与体内免疫活性细胞隔绝,通常通过“胞饮”进入腺泡细胞,被胞内酶分解成小分子甲状腺素而进入毛细血管,不会引起免疫应答。若炎症、外伤使蛋白溢出,由体内吸收后成为自身抗原,与机体发生免疫应答而引起自身免疫性甲状腺炎。同样,眼水晶状体蛋白,因外伤漏出而引起的晶状体过敏性内眼炎。男性精子由于炎症或外伤而释放入血液中可发生免疫应答,引起男性不孕症等。

此外,常见的自身抗原还有自身的免疫相关抗原、血型抗原等。

三、根据抗原的化学组成分类

根据抗原的化学组成可分成蛋白质、糖类、脂类与核酸等抗原。

(一) 蛋白质抗原

绝大多数抗原是由蛋白质组成,它们可以是简单蛋白质,也可以是复合蛋白质(如脂蛋白、糖蛋白、核蛋白等)。常用化学方法将蛋白质进行处理,通过变性、氧化、还原、脱氨、硝化和卤化等作用。研究蛋白质抗原的免疫原性的基本原理,目前已能从分子水平阐明一些蛋白质抗原的全部结构及其特异性,如鲸肌红蛋白、溶菌酶、血红蛋白和血清白蛋白等。

(二) 糖类抗原

糖类大部分存在于细菌细胞壁上或细胞壁内,一般本身无免疫原性,是半抗原,它们可与细菌诱发产生的抗体发生反应。但某些大分子的复杂多糖却是良好的免疫原,此类多糖抗原主要存在于细胞膜上,如革兰氏阴性细菌和革兰氏阳性细菌的细胞膜上含有丰富的多糖抗原物质。沙门菌细胞壁上含有脂多糖(LPS)的 O 抗原,以及人类红细胞上的 A、B 抗原等也是多糖成分。

(三) 核酸抗原

用DNA作为免疫动物的抗原较难诱发产生抗体。若将 DNA 偶联牛血清白蛋白(BSA)作为抗原,免疫动物后可产生抗体。系统性红斑狼疮(SLE)患者血清中存在抗核酸抗体,它可与天然的 DNA 或变性的 DNA 相结合。有关 SLE 患者体内产生抗核酸抗体的机制,目前还不清楚。

(四) 低相对分子质量*物质的抗原

已发现某些低分子量物质可作为完全抗原,它可以呈游离状态(不偶联大分子蛋白质载体),也可以吸附在碳颗粒上。前者为非常小的天然小肽分子,如肌红蛋白合成肽;后者是激素,如血管紧张肽 II(angiotensin II)是一个分子量为 1 045 的八肽(Asn-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe)。同样,如杆菌肽(bacitracin)、短杆菌肽 S(gramicidin S)和土霉素(oxytetracycline)等抗生素也具有抗原性。

此外,根据与淋巴细胞的相互关系可分成胸腺依赖性抗原和非胸腺依赖性抗原;根据动

注:本章以后出现的分子量均指相对分子质量(Mr)。

物遗传性即物种间差异性的程度可分为异种抗原、同种异型抗原、个体基因型抗原、嗜异性抗原等。

第三节 构成免疫原的条件

一、异物性

免疫应答是由于免疫活性细胞识别“非己”抗原而触发的，因而引起机体免疫应答的抗原通常都为异种物质。根据种属关系，可将抗原分成以下几种：

(一) 异种间物质

如细菌、病毒、异种血清、植物蛋白等。

(二) 同种异体间物质

如人类红细胞表面血型抗原(A、B、O、Rh)、同种异体组织器官等。

(三) 自身隔绝成分

如甲状腺球蛋白、眼水晶状体蛋白、精子、眼葡萄膜色素等。

实验结果表明，动物种属关系越远，其化学组成和组织结构差异性越大，则免疫原性越强。例如外源性抗原一般都是强免疫原。鸡卵清蛋白对家禽是弱免疫原，而对家兔却是一种良好的免疫原。

正常情况下，机体免疫系统对“自身”的物质亦有识别，然而这仅是一种较弱的反应并有助于促进机体清除衰老或损伤的细胞。但在一定情况下，某些自身组织的蛋白质也能刺激机体产生免疫应答。如由于感染、外伤、药物及各种理化因素作用的结果，导致机体内本来不进入血液和淋巴循环的自身隔绝成分大量释放从而形成免疫原。此外，在上述条件下体内的组织成分发生改变修饰，这种经变性的组织成分，也可成为一种新生抗原。

二、大分子物质

抗原一般为大分子物质。分子量越大，其免疫原性越强。分子量大于 10^5 的蛋白质一般是很强的免疫原，分子量小于 10^4 的物质通常是弱免疫原。因为分子量越大的物质，往往在其分子表面的活性基团较多，化学结构较稳定，不易被机体破坏或排除，能在机体内久留，因而免疫原性也较强。某些肽类及蛋白质的分子量与抗原性之间的关系见表 1-1。

表 1-1 某些肽类及蛋白质的分子量与抗原性

弱免疫原性(分子量)	强免疫原性(分子量)
胰岛素(5.7×10^3)	转铁蛋白(9×10^4)
鱼精蛋白(6×10^3)	核糖核酸酶(1.4×10^4)
组蛋白(6×10^3)	卵清白蛋白(4.4×10^4)
	鞭毛蛋白(4×10^4)
	甲状腺蛋白(6.7×10^4)

单纯的类脂、多糖等因分子较小，一般无免疫原性，只有当和载体蛋白结合后，形成大分子的抗原-载体复合物才具有良好的免疫原性。

三、一定的化学组成和结构

抗原物质除具有高分子量外，还必须具有一定的化学组成和结构，如纤维素、糖原等均多糖虽然是高分子物质，但却无免疫原性，而杂多糖则往往具免疫原性。明胶蛋白质的分

免疫学

分子量虽高达 10^6 , 对家兔却几乎无免疫原性。但分子量为 4×10^4 的卵清白蛋白, 却是良好的免疫原。一些单体的聚合物如多聚 Ala、多聚 Lys 也不是免疫原。这是因为这些直链的氨基酸或单体的聚合物缺乏一定的复杂结构组成, 其稳定性差, 故进入机体内易被酶分解成小分子物质, 在体内不能引起免疫应答。当在明胶表面接上某种化学基团后, 可增强其免疫原性, 如掺入少量(2%)芳香族氨基酸如 Tyr 或 Phe 后可极大地增加明胶的免疫原性, 但掺入的 Tyr 或 Phe 的量达 10% 时, 所产生的抗体却只针对 Tyr 等芳香族氨基酸。用环己氨酸也可获得相似结果。

实验证明, 一些小分子物质若有一定的化学组成即可成为免疫原(表 1-2)。如人工合成的 P-偶氮苯磺酸-N-乙酰-L-酪氨酸, 分子量虽仅为 451, 但具复杂结构, 也有免疫原性, 能引起豚鼠发生迟发型变态反应。Schlossman 等将一系列由不同数目 Lys 组成的低聚体, 在其 N 端偶联 DNP 后作为抗原, 观察它们诱发机体的免疫应答能力, 发现 DNP-Lys 低聚体中的 Lys 数目小于 7, 就较难产生抗 DNP 抗体, 或发生细胞过敏性反应。

表 1-2 几种低分子量的抗原

抗 原	分 子 量	免疫应答
人工合成肽		
氨基酸共聚体: GAT、GL 等	4 000~5 000	抗体
双功能半抗原	600~1 000	抗体/迟发型过敏性反应
DNP-氨基酸	≥ 300	抗体/迟发型过敏性反应
致脑炎多肽	≥ 700	迟发型过敏性反应
肌红蛋白肽	900~3 000	抗体/迟发型过敏性反应
天然肽		
胰岛素和肽链	≤ 600	抗体
促胃酸激素	2 000	抗体
血管紧张肽 II	1 000	抗体/迟发型过敏性反应
催产素	1 007	抗体

抗原的化学结构不同, 常导致不同类型的免疫应答。将 BSA 及连接有无水十二烷基的 BSA 分别免疫豚鼠, 发现前者能刺激机体产生抗体; 而后者免疫时, 主要引起细胞性的免疫应答。

第四节 抗原特异性的分子基础

抗原是引起免疫应答的外因, 同时也是决定免疫特异性的关键分子。抗原的特异性表现在两方面: ①刺激机体产生具有高度专一性的免疫应答, 即免疫原的专一性; ②只能与相应的抗体或致敏淋巴细胞结合而出现免疫反应性, 它不能与无关的抗体或致敏淋巴细胞结合, 即免疫反应的专一性。这种抗原特异性的分子基础是存在于抗原分子表面上的一小部分具有化学活性的区域, 正是这些区域的特性, 在很大程度上决定了免疫反应的专一性。

一、抗原决定簇

抗原分子与相应的抗体分子相互结合时,并不是整个的抗原分子和抗体结合,而仅仅是抗原分子表面上一小部分具有化学活性的区域可以与抗体相结合,抗原分子的这一小部分区域称为抗原决定簇。抗原决定簇的大小、数目和空间位置的差异(包括一级结构和立体结构以及抗原分子其他部分对其结构的作用)对免疫反应的特异性均有显著影响。天然抗原分子通常是结构复杂的大分子,有多个决定簇,难于分析研究,因此,常借助于人工合成的半抗原和载体蛋白偶联形成完全抗原后进行研究。

(一) 抗原决定簇的分子大小

一个抗原决定簇的大小往往受到抗体分子的抗原结合部位大小所限制,常利用人工合成不同数目的多肽或者一系列由大小不同的葡萄糖组成的寡糖链等作为抑制剂,用竞争抑制抗原与抗体的沉淀结合反应以精确测量抗原决定簇的大小。例如用 Lys 的二肽、三肽等一系列多肽抑制抗原与抗体反应,其抑制程度随多肽链长增加而增加,发现五肽~六肽可达最大抑制值;六肽以上随链长的继续增加,抑制程度不再增加。由此表明一个蛋白质或多肽分子的决定簇含 5~7 个氨基酸残基。而一般五肽分子大小约为 $2.5\text{nm} \times 1.1\text{nm} \times 0.65\text{nm}$,此即相当于抗原决定簇大小的上限。根据类似方法可得出,一个多糖决定簇含 5~7 个葡萄糖残基,一个核酸决定簇约含 6~8 个核苷酸。

(二) 抗原决定簇的位点分布

抗原通常为高分子物质,它可带有多个决定簇。抗原决定簇的位点分布对抗原特异性具有决定性意义。Sela 等用聚-DL-Ala 和聚-L-Lys 合成的多肽研究表明:①当多聚-DL-Ala 连接到多聚-L-Lys 骨架上形成叉链状结构,并在叉链末端连上强抗原性的决定簇 Tyr 或 Glu 残基,这时的抗原决定簇外露于分子表面,可与免疫活性细胞接近,能诱发机体产生抗体[图 1-1(a)];②若 Tyr 或 Glu 残基移至多肽叉链骨架结构内部与多聚 Lys 相连,而叉链结构外面被多聚 Ala 掩盖,则此结构失去免疫原性,与免疫活性细胞接触后,不产生免疫应答[图 1-1(b)];③若多聚-L-Lys 骨架被多聚 Ala 与多聚 Lys 间隔相连聚合而成的骨架所代替,由于 Tyr 或 Glu 残基只与多聚 Lys 相连,因此使残基侧链间距离扩大,此时虽然 Tyr

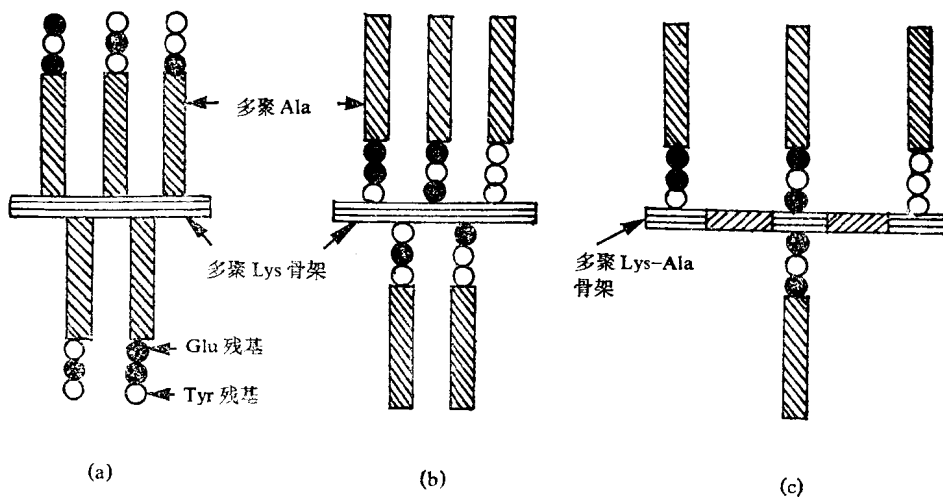


图 1-1 3 种合成的叉链多聚氨基酸

或 Glu 残基连在叉链骨架内部，但免疫活性细胞仍可与它们接近而引起免疫应答[图1-1(c)]。

因此, Sela 等认为抗原的决定簇外露在分子表面, 易被免疫活性细胞接触, 这是抗原免疫原性的必要条件。

此外, 通过对天然抗原尤其是蛋白质抗原的研究表明, 决定一个抗原分子特异性的抗原决定簇是存在于分子表面或分子的突出部位, 即与抗体结合的只是抗原分子表面的几个决定簇。例如 BSA 的决定簇含 18 个, 但大多数决定簇埋藏在分子内部, 暴露在分子表面与抗体特异性结合的只有 6 个。如将 BSA 经酶解后, 内部的决定簇暴露出来, 也可能成为新生的抗原决定簇, 引起免疫反应。

决定簇在抗原上的位点分布还与其整个分子的立体结构密切相关, 一个抗原的立体构象, 不仅决定潜在的决定簇被暴露于表面, 而且进一步还决定于有多少个抗原决定簇进入抗体分子的抗原结合部位与抗体相结合。

二、抗原决定簇对抗原特异性的影响

(一) 化学组成和性质

抗原与抗体反应的高度专一性, 取决于抗原决定簇的化学组成和空间构型、光学构型及立体构象。蛋白质抗原决定簇的特异性由氨基酸的序列和立体构型决定。例如, 不同种属的动物血清白蛋白, 因其末端氨基酸排列不同, 而表现出物种特异性差异(表 1-3)。这是由于具有立体结构的球状蛋白质在其多肽链的盘曲折叠过程中, 往往处于肽链末端转角处或末端的一些氨基酸残基易于裸露在球状蛋白质的分子表面形成突出。决定簇的氨基酸序列不同, 表现出不同种属的抗原特异性。

表 1-3 人和动物血清白蛋白肽链末端氨基酸序列与抗体物种特异性的关系

白蛋白	N 端	C 端
人	Asn, Gly	Gly, Val, Ala, Leu
牛	Asn, Thr	Asp, Glu, Lys, Ser, Thr, Leu, Ala
马	Asn, Thr	Val, Ser, Leu, Ala
兔	Asn	Leu, Ala
羊	Asn	(Glu, Asp, Thr) Ser, Val, Lys, Leu, Ala
猴	Asn	(Asp, Glu), Ser, Lys, Val, Leu, Ala

其次, 采用人工合成的半抗原与载体蛋白偶联的方法, 可进行抗原决定簇与抗原特异性关系的研究。这是因为结合于载体上的半抗原化学基团能发挥控制免疫特异性的功能, 故半抗原相当于天然抗原分子上的一个决定簇。这项工作首先由免疫化学家 Landsteiner 创立, 他用马血清白蛋白分别偶联苯胺类物质, 如苯胺、对-氨基苯甲酸、对-氨基苯磺酸和对-氨基苯腈酸等苯胺衍生物组成偶氮蛋白质, 以此作为抗原分别免疫家兔可得相应抗血清。发现这些抗血清只能与相应抗原起反应(表1-4), 说明不同的化学基团决定抗原抗体反应的专一性。其偶联方法如下: