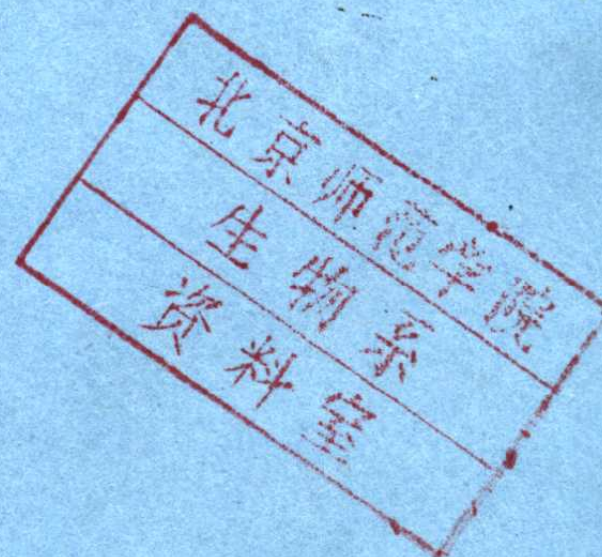


⑧

全国高校基础微生物学  
讲座及教学经验交流班

抗体形成的机制  
与  
多样性的起源

复旦大学生物系微生物教研组  
一九八四年八月 上海



SWT11/1438/11

## 抗体形成的机制与多样性的起源

### 抗体研究的进展概况

自从1890年Emil Von Behring证明,经毒素免疫后动物血清中存在抗毒素后,人们才有抗体的概念,且对抗体在医疗上的价值引起了广泛的重视。1902年Emil Von Behring因此获得了“抗血清疗法”(Antiserum Therapy)的诺贝尔奖金,更促进了抗血清在临床上的应用。1938年Tiselius和Kabat利用电泳的技术证实了结合抗原的活性是与血清电泳的 $\gamma$ -球蛋白的组分有关;因此把抗体统称为 $\gamma$ -球蛋白。当时对抗体的化学性质,从了解到有所了解,算是一个很大的进展。但是不久又发现抗体的活性不仅存在于慢移动区,也存在于快移动区,即电泳的位置不限于 $\gamma$ -球蛋白区,一直延伸到 $\beta$ 甚至 $\alpha$ 球蛋白区带。因此,认为抗体球蛋白具有异源性或不均一性(Heterogeneity)的特点。正由于这种情况,使对抗体性质的研究带来很大的困难。

至50年代,自单细胞系高免疫球蛋白血症患者血中如骨髓瘤、巨球蛋白症以及本周(Bence Jones)蛋白阳性尿中发现了均一性或同源免疫球蛋白(Homogeneous Igs)。这些球蛋白是浆细胞系肿瘤的产物,其结构均一,含量高,易于分离、纯化。以这些材料为研究对象,应用近代蛋白质化学和免疫化学的分析技术,对抗体分子化学本质的研究提供了有利的条件。

60年代,大体上对抗体分子的化学本质和活性均有所了解。进入70年代,抗体的结构包括抗体的立体结构已经研究了很详

组。特别是对抗体肽链中氨基酸排列方面进行了大量的工作，如 E. A. Kabat 与 T. T. Wu 二人仅对免疫球蛋白可变区的顺序分析及有关的基因控制问题从 1970 — 1983 年就发表了 23 篇文章。为抗体研究累积了大有理论与实践价值的资料。

至目前为止，免疫球蛋白的一级结构，立体构型，功能区的功能，抗体的基团结构，多样性的起源，以及遗传与免疫调节等方面均取得了重大的进展。

### 抗体特异性的结构基础

(Structural Basis of Antibody Specificity)

抗体是指一类在抗原物质刺激下所形成的具有与该抗原发生特异性结合反应的免疫球蛋白，其特点是具有特异性，存在于血液、淋巴液及组织液中。必须明确的是抗体是免疫球蛋白，但是免疫球蛋白并不都是抗体。因为抗体这个术语，通常用于靶抗原已被确定的场合，能测定出来抗体的活性；而那些据推测具有与某一抗原相结合的能力，但其靶抗原尚未确定的分子，则用免疫球蛋白这个名称，例如，多发性骨髓瘤患者血清中的免疫球蛋白通常不易查到抗体的活性。

从化学性质来说，抗体是含糖的免疫球蛋白，即糖蛋白，是抗原性复杂的大分子物质。由于分子结构的差别，各具有不同的抗原特异性。因此，根据免疫球蛋白分子结构中各部分抗原性的不同，可将其分类与分型。

#### 一、免疫球蛋白的基本结构与特点：

几类免疫球蛋白中 IgG 含量最高，研究也最清楚，可作为几

类免疫球蛋白的结构和功能代表。

1959年Edelman用化学断键法将免疫球蛋白分子断开后，得知它的基本结构为四条多肽链，即两条具有特异性的重链（Heavy chain, H链）分子量50,000~77,000与两条轻链（Light Chain, L链）分子量为22,500。链间由二硫键非共价联结，形成一个单体分子（图1）。

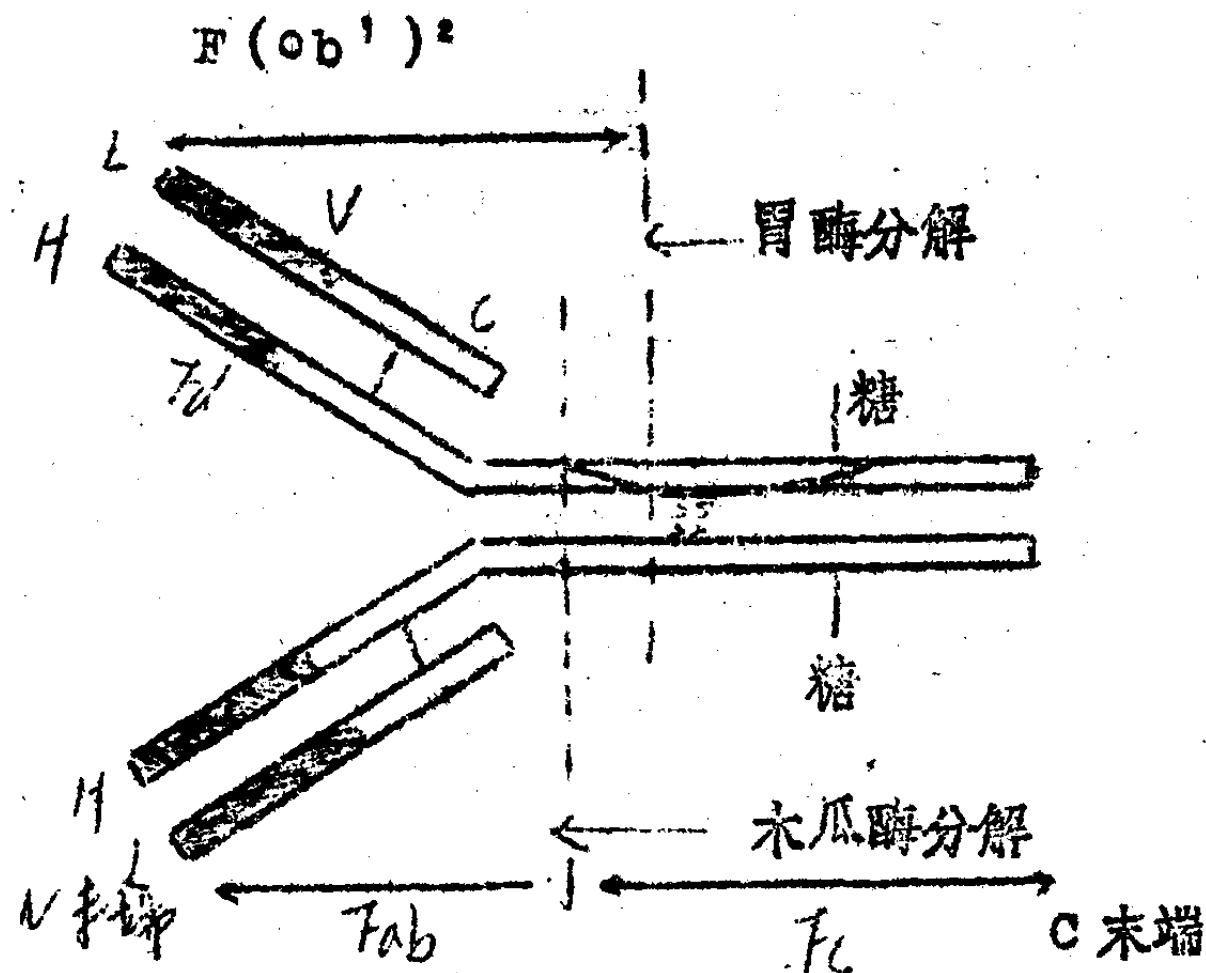


图1 Ig分子构造模式图

后经许多学者证明，这模式也适合于其他几类免疫球蛋白的结构。各类免疫球蛋白的区别主要在于它们分子中的重链氨基酸组成的抗原性的不同而命名的。如IgG为 $\gamma$  (gamma)、IgA为 $\alpha$  (Alpha)、

IgM为 $\mu$  (mu)、IgD为 $\delta$  (delta)、IgE为 $\epsilon$  (epsilon)。同一类别的免疫球蛋白的所有重链共有一定的抗原决定簇，称为类别特异的 (Class Specific)，

抗原决定簇。可与同一抗血清起反应。任何一个免疫球蛋白只有一种的重链 $\gamma$ 或 $\alpha$ 。从未发现一个分子含两条不同的重链，例如一个 $\gamma$ 链与一个 $\alpha$ 链。所以说，在一特定的免疫球蛋白分子中所有的重链都是相同的。重链<sup>可</sup>进一步再被分为血清学上可确定的亚类 (Subclass) 如  $IgG_1$ 、 $IgG_2$ 、 $IgG_3$ 、 $IgG_4$  及  $IgA_1$ 、 $IgA_2$  和  $IgM$  可能有亚类。IgD 和 IgE 未发现有亚类。图(2)

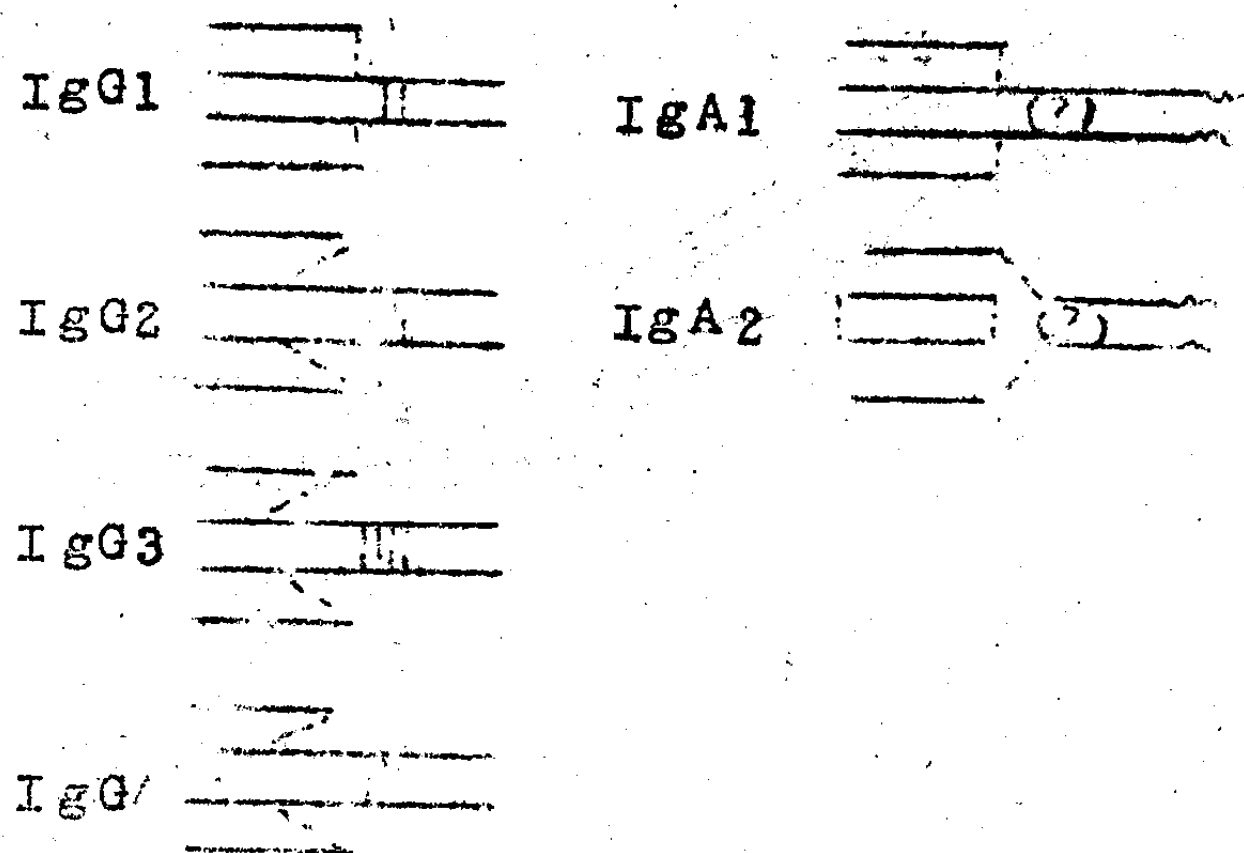


图2. 人类 Ig 的亚类

由血清学确定的轻链只有  $\kappa$  (Kappa) 和  $\lambda$  (lambda) 两型。每一种轻链可以与重链中的任何类别相联系。和重链一样，在一个免疫球蛋白的分子中只有一种轻链。例如一个 IgG 分子由 2 个重链和 2 个轻链 ( $n-1$ ) 所组成。结构式可以是  $(\gamma\kappa)_2$  或  $(\gamma\lambda)_2$ ，但决不会是  $\gamma_2\kappa\lambda$ ，见图(3)。

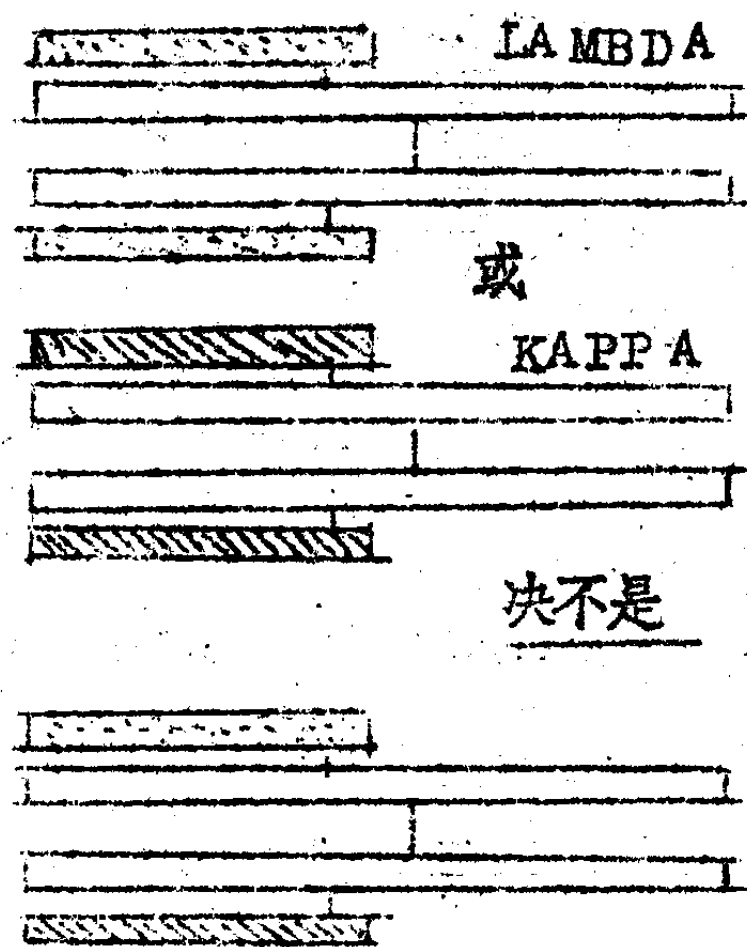


图3 任何单一免疫球蛋白分子只具有一种类型的轻链。

在人类大约  $\frac{2}{3}$  的免疫球蛋白分子中含 K 链， $\frac{1}{3}$  是  $\lambda$  链。在任何单一分子中的轻链彼此是相同的。

轻链是由二硫桥结合到重链上去，而且更重要是通过氢键和疏水键。重链也是通过二硫键彼此结合着。不同类别和亚类的免疫球蛋白具有不同数目的链间二硫键。在所有轻链和重链中链内二硫键以有规则的间隔存在，每个二硫键包括 60—70 个氨基酸残基。

## 二、IgG 分子水解片段的生物学活性：

免疫球蛋白分子结构中不同的部分具有不同的生物学活性，可以通过水解的方法来进行研究。R.R. Porter 用木瓜酶 (Papain) 将 IgG 分子从重链的 219 位氨基酸处切断，得到

了三个片段。两个相同的叫Fab片段 ( Fragment, antigen binding ), 由一条完整的轻链和一条不完整  
的重链所组成。Fab片段中的重链部分称为Fd片段。另一片段为  
FC ( Fragment Crystallizable ), 由联结重链的二  
硫键C端侧的两条不完整重链所组成。每一个IgG分子经木瓜  
酶水解后, 可得到两个Fab片段和一个FC片段, 联结两个Fab  
片段和FC片段的狭窄区, 称为铰链区 ( Hinge region )。  
Edelman用胃蛋白酶 ( Pepsin ) 将IgG分子从重链间的二  
硫键的C端侧切断, 得到了一段较大的片段F(ab')<sub>2</sub>, 剩余  
的重链部分, 称为FC'片段。Fab与F(ab')<sub>2</sub>片段均具有抗  
体活性; FC具有抗原性, 而FC'因继续被胃蛋白酶水解为若  
干小片段, 因此抗原性消失。水解后的各片段及铰链区的生物学  
功能分别说明如下: ( 图4 )。

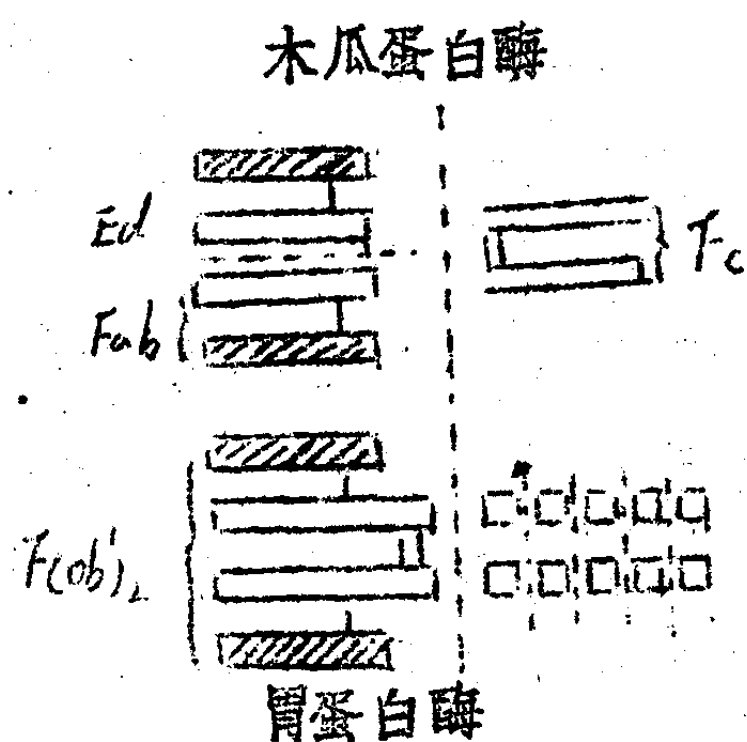


图4 IgG分子的酶介片段

(一) Fab片段 Fab片段的可变区为能与相应抗原进行特异性结合的部位。这一部位的重链与轻链分别由60~70个氨基

酸残基和二硫键相联结组成为致密的闭环结构，见图(5)

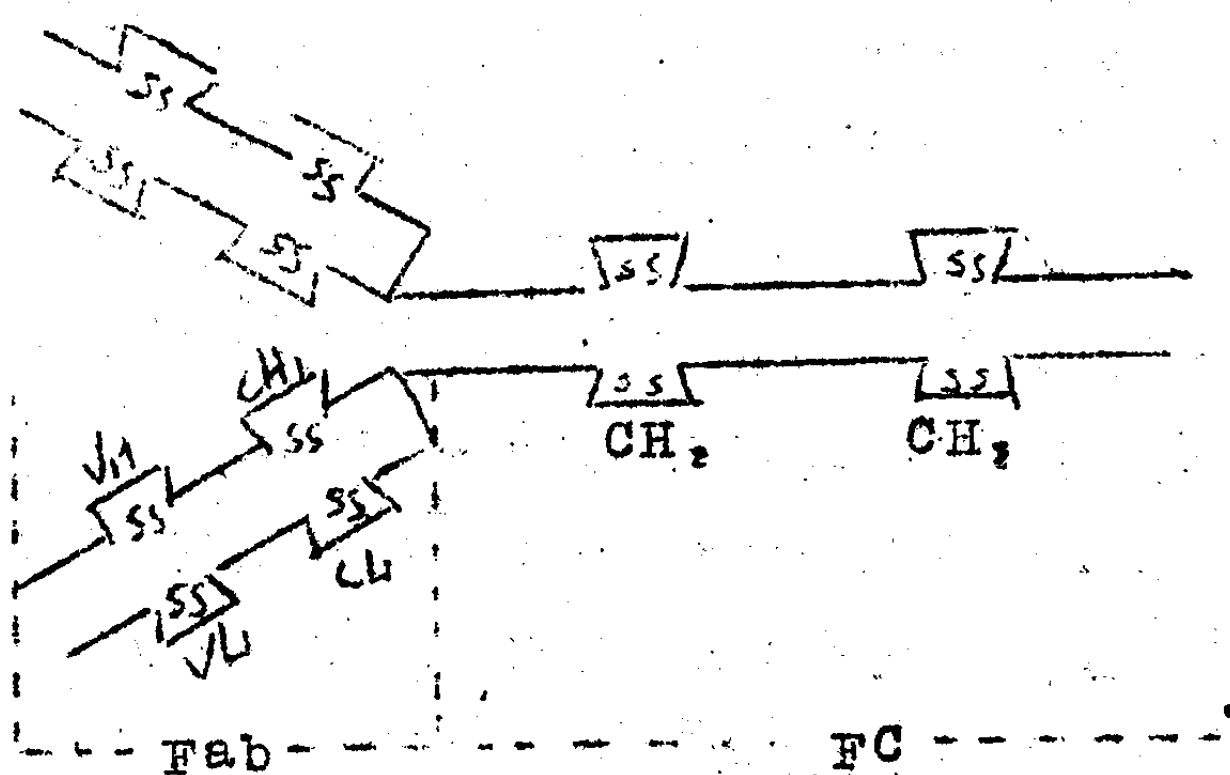


图5 IgG分子的闭环结构

经 $\alpha$ 光衍射证明，闭环结构系由肽链折叠而形成，它是与相应抗原结合的功能集团，是抗体具有特异性的结构基础。

(二)FC片段 FC片段是Ig发效功能的部分，这一部分具有两个致密的闭环结构(CH<sub>2</sub>与CH<sub>3</sub>)与Ig的生物学活性有密切关系。此外，FC片段属于Ig分子中的重链稳定区，是决定Ig分子抗原特异性的部分。

(三)铰链区 此区含有较多的脯氨酸，它是构成胶纤维的重要成分，有坚韧和易柔曲的特性。此区呈高度水合状态，故易于扭转和被蛋白酶水解。铰链区的这些特性对FC片段的发效功能具有深刻的影响。

对Ig水介片段的研究不仅对阐明其分子结构、组成以及各种生物学活性具有重要的理论意义，而且具有实际的临床意义。如用胃蛋白酶水解的 $\gamma$ 球蛋白制剂进行免疫治疗，可以大大减少

付作用，而仍能保持其临床疗效。

### 三、免疫球蛋白分子的亚单位结构

Ig分子是含有 1000 个以上氨基酸残基的巨大分子。轻链较短由 212 ~ 214 个氨基酸残基组成。重链较长，由 421 ~ 450 个氨基酸残基组成的。轻链和重链在分子大小上有差别，但在结构上仍有明显的相似性。每一个肽链是由小的亚单位所构成，这种小单位是大约含 110 个氨基酸残基，环绕一个链内二硫桥的区域。轻链由二个这样的区域所组成，重链有 4 个或更多这样的区域。因为它们相互间在结构上很类似，这些重复的亚单位称为相似区 (Homologous domains)。有两类相似区，称之为可变区和恒定区，图(6)。

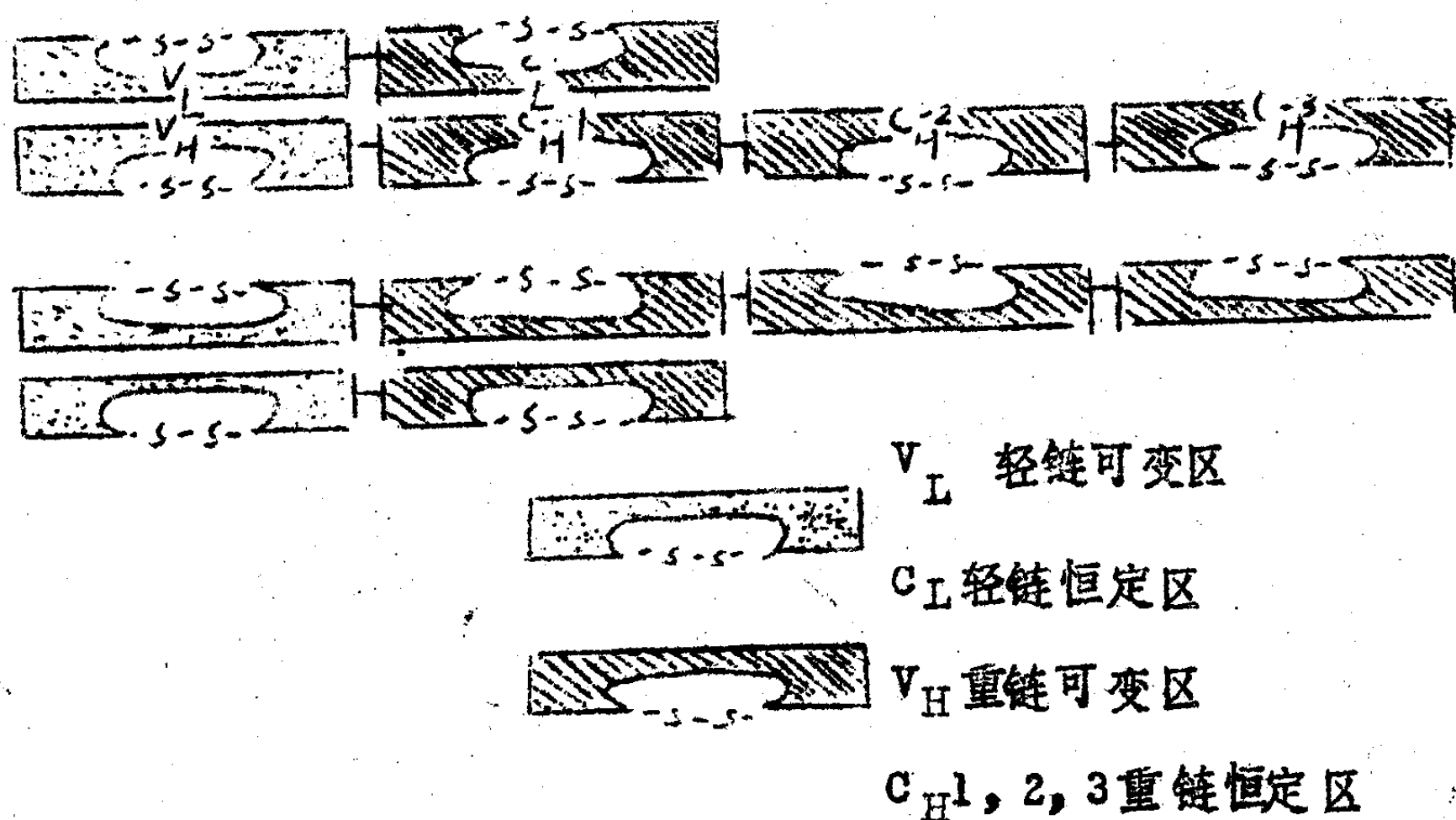


图 6 可变区和恒定区

### (一) 可变区 (Variable region)

在多肽链的N端，轻链的 $1/2$ 与重链的 $1/4$ 区域的氨基酸排列顺序随抗体特异性的不同而有所变化，它反映抗体的特异性，故称为可变区。在重链和轻链区内某些位置上的氨基酸排列次序比V区内其他位置上氨基酸残基变化特别大，称为高变区 (Hypervariable region)，如在轻链第24—34，50—55，89—97三个部位；在重链第30—35，50—65，81—88和95—101四个部位。轻重链上的高变区位置大致相当 (图7)。

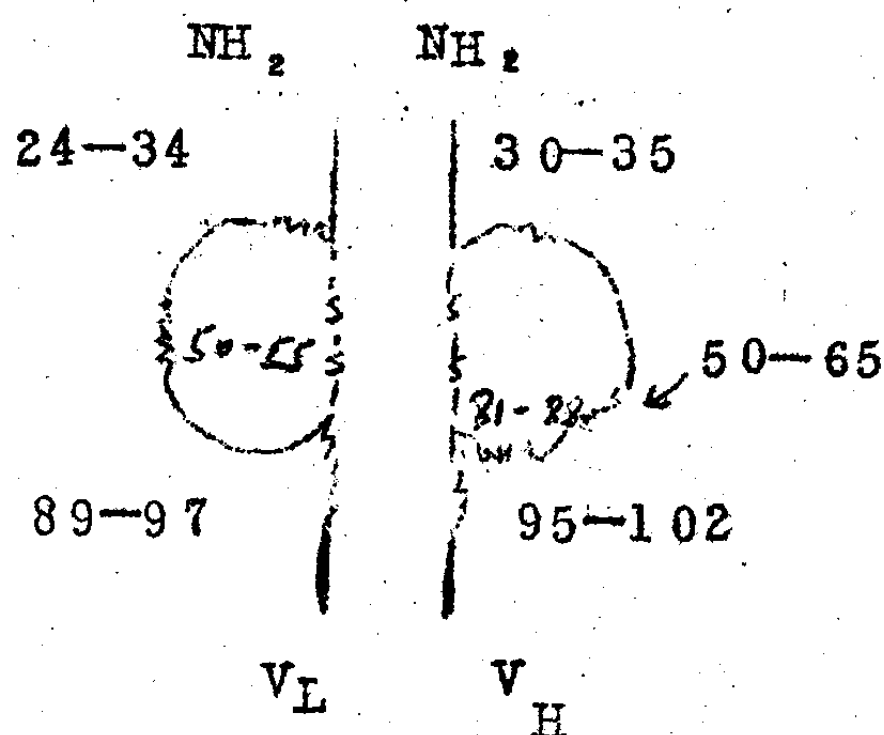


图7 高变区在V<sub>L</sub>-V<sub>H</sub>对中的位置示意图

特异性抗原决定簇与Ig结合的位置就在Ig的高变区。抗体的个体型或独特型抗原决定簇 (idiotypic determinants) 也在这里。抗体的高变区、抗体的抗原结合部位和抗体的独特型决定簇三个不同的概念，目前已统一于一个结构基础上，即抗体分子V区球形顶端凹陷的立体结构。

至于氨基酸的可变性和位置之间的关系 (图8)

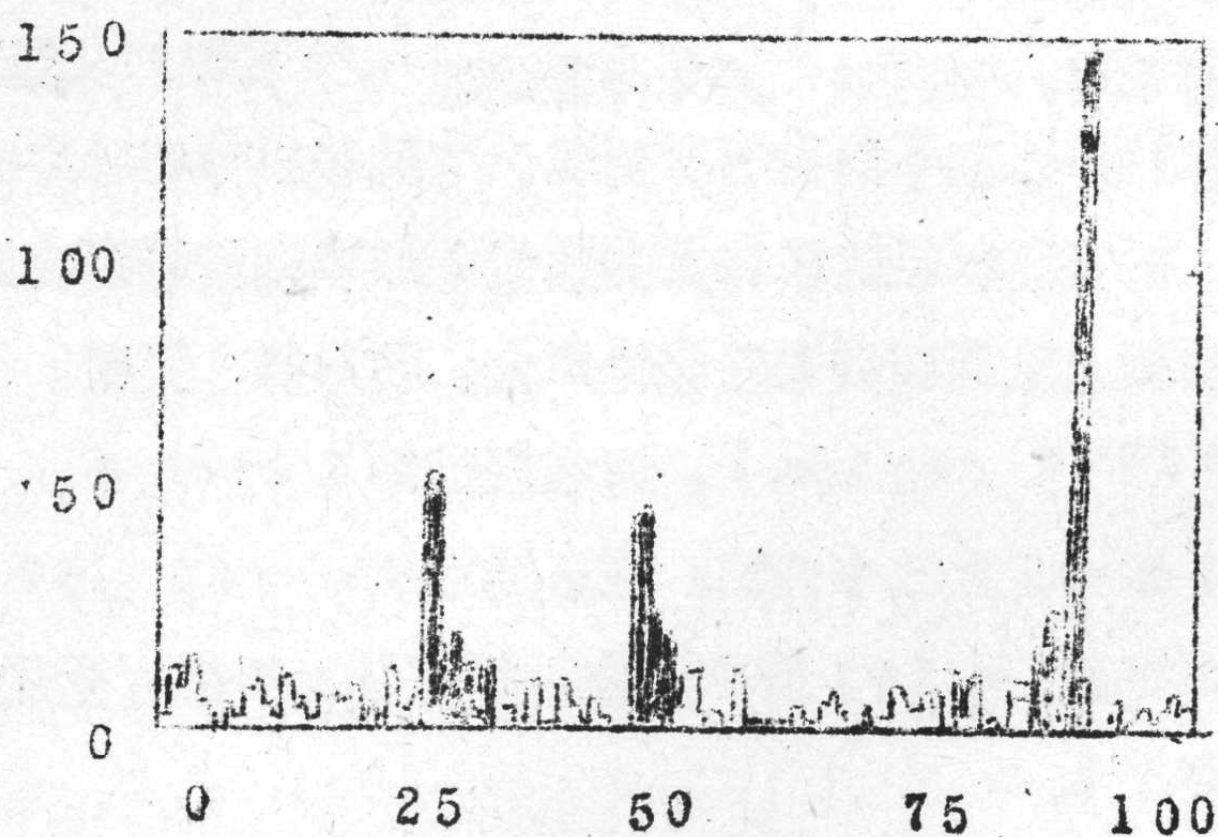


图8 轻链的可变区氨基酸变异率测定统计图  
黑色区域表示高变区 (Wu T.T. and Kabat, E.  
A. 1970)

显示，高度可变位点组成了数个高度可变亚区。轻链可变区有3个这样的高度可变区；重链可变区内有四个。在所有多肽链当中高度可变区域氨基酸的排列顺序有高度可变性。如其中有二位氨基酸发生变化，即有  $2^{40}$  可变机会——有一万亿左右的氨基酸排列顺序，所以抗体的类型是十分众多的。可变区的这种特点，是机体为了适当免疫反应所需要的多种多样的结合专一性（即特异性）。换句话说，机体为了适应与各种各样的抗原作斗争，必须产生具有多种多样专一的抗体，以识别、清除与其相应的抗原物质。抗体分子这种结构上的特点，也是在长期进化过程中逐渐形成的。

## (二) 恒定区 (Constant region, C区)

在多肽链的C端, 轻链的  $1/2$  与重链的  $3/4$  部分氨基酸排列比较恒定, 称为恒定区。如再以链内二硫键的位置的不同, 又可将重链的恒定区分为大致相等的三段, 即  $CH_1$ 、 $CH_2$  与  $CH_3$ 。比较这三段就会发现它们的氨基酸排列顺序很相似, 说明具有高度的同源性, 而且每一段又都和轻链的恒定区 ( $C_L$ ) 也是同源的。这种同源性反映了抗体分子在进化起源上的关系, 即受同一基因控制而合成的, 从而在进化过程中保持了抗体分子的相对稳定性。由此可以解释为什么同类免疫球蛋白的不同型式抗体都具有相同的免疫源性和多种多样的抗体却表现为有限几种反应形式。

## (三) 功能区

每一条多肽链都有一定数目的链内双硫键。链内双硫键把多肽链连接成环 (图9)。

抗原结合

部位

木瓜酶结合补体亲  
细胞性

N 端

C 端

功能区

抗原结

合部位

图9 IgG分子结构及功能的模式图

使免疫球蛋白分子成球形。每条轻链有两个环; IgG及IgA每

条重链有4个环；IgM、IgD及IgE每条重链有5个环，从而将多肽链分为4~5个功能区（domain）。每个功能区有60~70个左右氨基酸残基，各有不同的生物学活性。轻链的两个功能区称为 $V_L$ 及 $C_L$ ，重链的称为 $V_H$ 及 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 、 $C_{H3}$ 及 $C_{H4}$ 。 $V_L$ 与 $V_H$ 的氨基酸排列顺序非常相似， $C_L$ 与 $C_{H1}$ 、 $C_{H2}$ 及 $C_{H3}$ 等的氨基酸排列顺序也非常相似，通常将这些一级结构相似的功能区称为同源区（homologous region）也反映了进化上的同源性，见表一。

表一 免疫球蛋白各区的功能

| 区号 | 区名功能                                |
|----|-------------------------------------|
| 1  | $VH$ 和 $VL$ ( $VK$ 或 $VL$ ) 抗体结合的部位 |
| 2  | $CL$ 和 $CH_1$ 遗传标记所在                |
| 3  | $CH_2$ 补体结合点，与活化补体                  |
| 4  | $CH_3$ 固定组织细胞                       |

#### 四、抗体的不均一性和均一的抗体

用一个纯化的抗原来免疫动物，产生的血清与相应抗原专一性地结合。再使这样的抗原抗体复合物解离，可以得到纯化的抗体。可是，经过复杂手续提纯的抗体仍旧是一群多种多样的免疫球蛋白的混合物。抗体的这种不均一性主要由于以下两方面的原因造成。

##### (一) 抗体的不均一性

##### 1. 外源不均一性 (Extrinsic heterogeneity)

任何抗原大分子均具有许多不同的抗原决定簇。每一个决定簇可能引起一种抗体。因此，一个蛋白质的抗血清不是含有与整个抗原分子的全部决定簇起反应的单一抗体，而是含着针对个别决定簇的许多不同抗体的混合物。一些个体可能产生对某些决定簇的抗体，另一些个体能产生对另一些决定簇的抗体。外源不均一性在评定抗血清的效用时有重要的实际意义。例如，注射白喉类毒素可能产生片段B（细胞专一性基因）的抗体和抗片段A（毒性基因）的抗体，而只有前者对抗体有保护作用。

## 2. 内源不均一性 (Intrinsic heterogeneity)

内源不均一性是指免疫球蛋白分子的化学结构上的差异和多样性。即由构成抗体分子中氨基酸排列顺序的多样性所决定，特别是抗原结合部位氨基酸排列顺序的多样性。因此，机体在同一抗原刺激下，可产生几种具有相同专一性的抗体分子。例如，给人注射胰岛素后，人体可产生H<sub>2</sub>G、IgM、IgA与IgE四种抗牛胰岛素的抗体，并可与牛胰岛素发生特异性的反应。因牛胰岛素与人胰岛素极相似，仅在H链与L链上有微小的差别（表2），表明人体对这样微小的差别有精密的识别机制。

表2 人胰岛素与牛胰岛素的差别

| 氨基酸位置     | 人胰岛素 | 牛胰岛素   |
|-----------|------|--------|
| H链第8, 10位 | 丙、氨酸 | 苏、异亮氨酸 |
| L链第30位    | 丙氨酸  | 苏氨酸    |

由此可见，抗体的这种不均一性，乃是机体积极适应各种抗原刺激的免疫功能高度分化的表现。这种结构上的差异可以用血

清等方法检查出来。免疫球蛋白这些血清学的专一性可分为三类，反映了抗体分子结构在不同水平的变化。

(1) 同族专一性 (Isotypic specificities) 同一物种所有个体共同具有的抗原专一性。如上所述，据此可将免疫球蛋白分为类 (Class) 和型 (Type)，以及亚类 (Subclass) 等。

(2) 同种异型专一性 (Allotypic Specificities) 同一物种不同个体间在几种形式的抗原专一性。如同一种系内各个个体间 Ig 的重链与轻链结构上的微小差异，常表现为 1—2 个氨基酸残基的不同。这种微小的差别反映着各个个体间的基因标记 (Genetic markers) 的不同。人类 Ig 的同种异型标记有 Gm 标记 (Gammamarker)、Am 标记

(alphamarker) 和 Km (旧名 Inv) 标记 (K chain marker) 三种。以 Km 标记为例，它定位于 K 链稳定区 153 及 191 位氨基酸残基 (表 3)。

表 3 与同种异型有关的氨基酸顺序

| 同种异型                              | 氨基酸位置 |     |
|-----------------------------------|-------|-----|
|                                   | 153   | 191 |
| Km <sub>1</sub> , Km <sub>2</sub> | 丙氨酸   | 亮氨酸 |
| Km <sub>3</sub>                   | 丙氨酸   | 缬氨酸 |
| Km <sub>4</sub>                   | 缬氨酸   | 亮氨酸 |

(3) 个体型或独特型专一性 (Idiotypic Specificities)

存在于抗体分子高变区的独特结构，称为独特抗原决定簇。不同特异性抗体高变区的氨基酸种类和排列各异，所以它们具有不同的独特型特异性。具体是指抗体分子V区球形顶端凹陷部的立体结构(图10)。

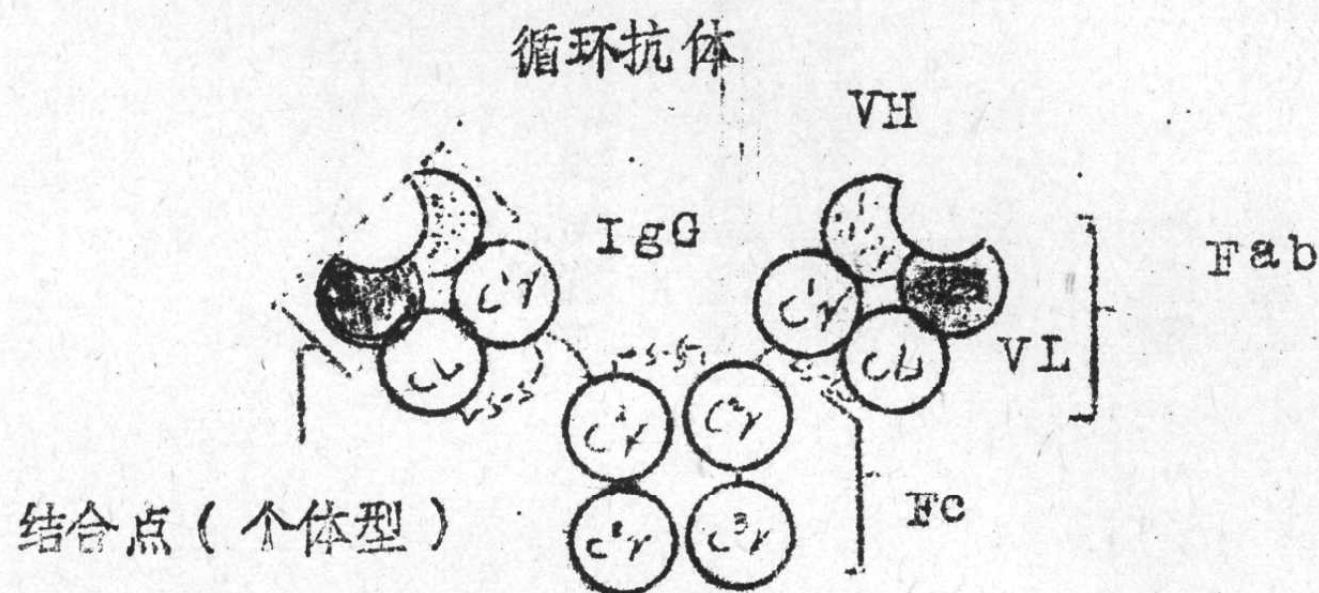


图10 游离Ig的个体型(独特型)决定簇示意图

这是由于抗体形成细胞的遗传性的差异而产生出自己特有的抗体分子。同一个体内有千万种不同的抗体形成细胞株，针对不同抗原产生不同的特异性抗体。后者又以不同的独特型决定簇在同一体内激发相应的抗独特型抗体的产生。

总之，由于抗体分子结构在不同水平上的变化，因而在体内便存在着多种多样的抗体分子。可用下面简图(11)表之。

