

现代**抗体**技术 及其应用

冯仁青 郭振泉 宓捷波 编著

XIANDAI
KANGTI JISHU JIQI
YINGYONG



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS

现代抗体技术及其应用

冯仁青 郭振泉 宓捷波 编著



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS

内 容 简 介

随着免疫学的飞速发展,抗体技术的应用范围越来越广泛,几乎涉及生命科学的各个领域。在实验室多年从事抗体相关研究的基础上,总结以往工作的经验,参考国内外的相关文献,我们编写了本书。本书分为七章,较详细地介绍了抗原、抗体的相关理论,三代抗体的制备原理、方法,抗体的处理,抗体在体外检测及抗体药物在定向治疗中的应用。本书可作为生物学和医学相关专业本科生、研究生的教材,也可供从事生命科学研究的科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

现代抗体技术及其应用/冯仁青,郭振泉,宓捷波编著. —北京:北京大学出版社, 2006.1

ISBN 7-301-09921-5

I. 现… II. ①冯…②郭…③宓… III. 抗体-研究 IV. Q939.91

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 125321 号

书 名: 现代抗体技术及其应用

著作责任者: 冯仁青 郭振泉 宓捷波 编著

责任编辑: 郑月娥

标准书号: ISBN 7-301-09921-5/Q·0107

出版发行: 北京大学出版社

地 址: 北京市海淀区成府路 205 号 100871

网 址: <http://cbs.pku.edu.cn> 电子信箱: zpup@pup.pku.edu.cn

电 话: 邮购部 62752015 发行部 62750672 编辑部 62752038

排 版 者: 兴盛达打字服务社 82715400

印 刷 者: 北京飞达印刷有限责任公司

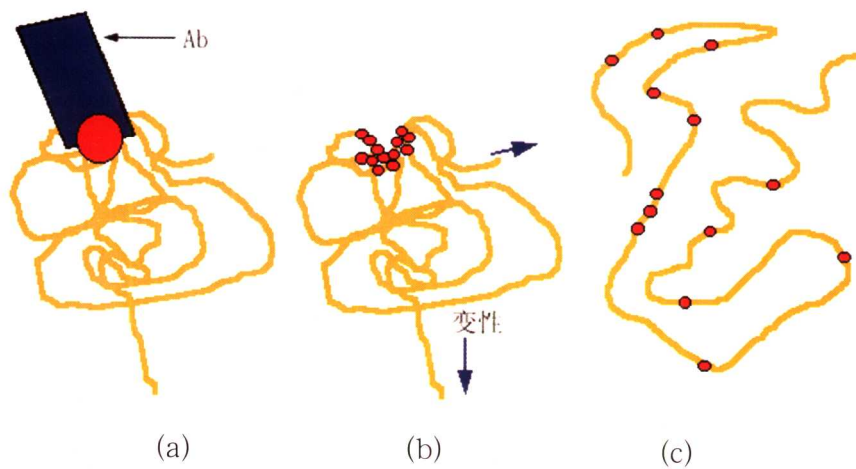
787 毫米×960 毫米 16 开本 15.75 印张 300 千字

2006 年 1 月第 1 版 2006 年 1 月第 1 次印刷

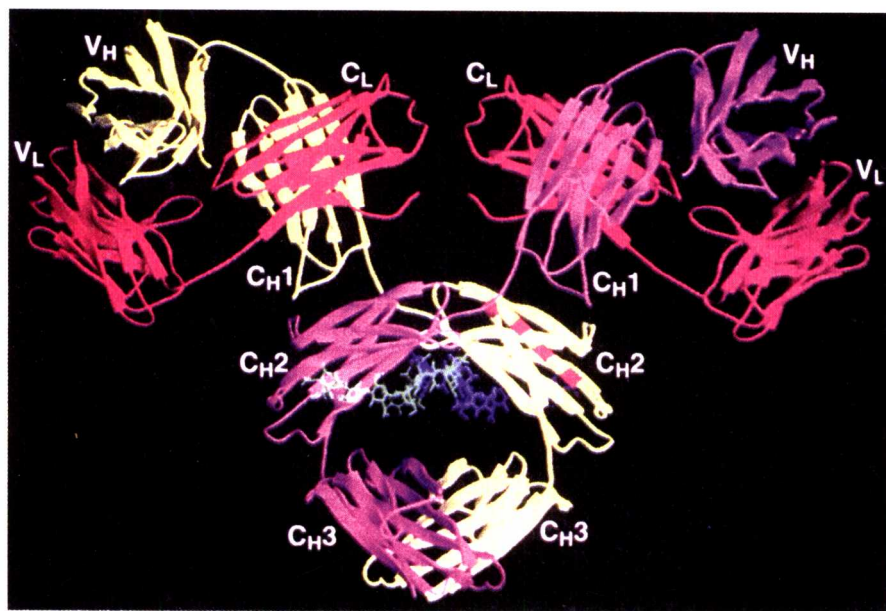
定 价: 24.00 元

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

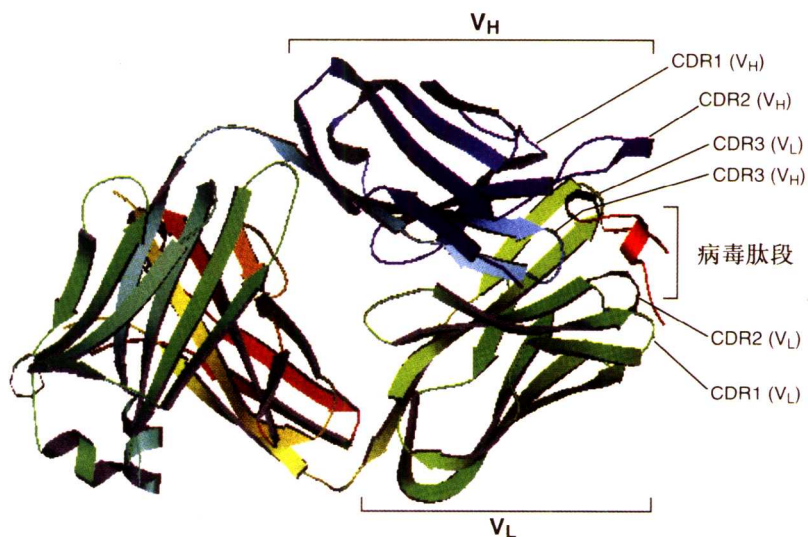
版权所有,翻版必究



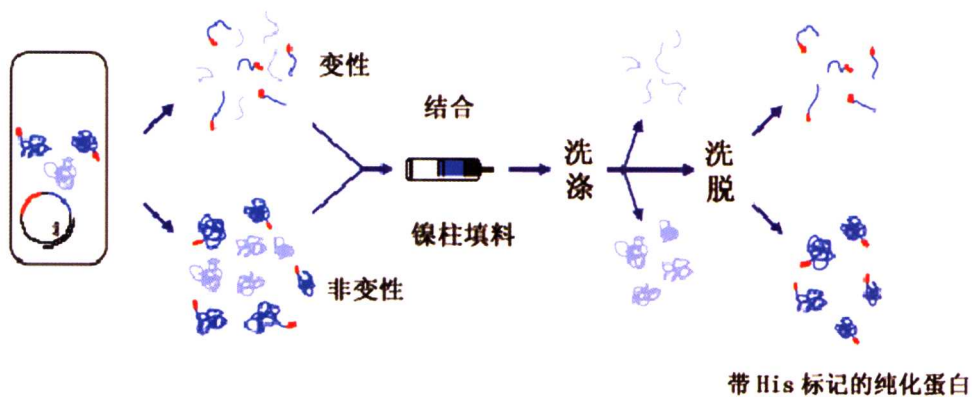
彩图1 不连续的或构象决定簇



彩图2 抗体的分子结构——IgG的Ribbon模型



彩图3 抗原-抗体复合物的结构



彩图4 Ni-NTA 纯化蛋白示意图

前 言

抗体技术是免疫学领域中的一个重要方面,广泛应用于生命科学和医学各学科。随着生物学技术的不断发展,抗体技术也经历了三个发展阶段。

第一代抗体——血清多克隆抗体(PcAb),早在 20 世纪初期已发现血清抗体和细菌毒素的作用,并用于多种疾病的诊治。虽然免疫动物制备的血清抗体的免疫原性和非均质性,给抗体的研究和应用造成困难,但由于血清多克隆抗体识别抗原的广谱性和识别不同表位的各种抗体或识别同一种抗原表位的不同克隆的抗体可协同作用,因而能高效地识别抗原和阻断抗原对机体的危害,所以血清抗体至今仍不失为一种诊治疾病和生命科学研究的有效制剂。

1975 年 Köhler 和 Milstein 创立了杂交瘤技术,使第一代抗体发展到第二代抗体——单克隆抗体(McAb)。这一具有划时代意义的新技术,为抗体的分子生物学研究提供了一个全新的手段,同时也为所有需要制备和应用抗体的领域提供了一个全新的方法,受到全世界学者的极大关注。由于这一技术的创立大大促进了免疫学、遗传学、微生物学、分子生物学和基础与临床医学等学科的发展,为此 Köhler 和 Milstein 也由于这一杰出的贡献获得了 1984 年诺贝尔生理学与医学奖。

进入 20 世纪 80 年代后,基因工程逐渐应用于抗体技术领域,特别是抗体库技术的发展和研究,使抗体技术发展到了第三代抗体——基因工程抗体(GEAb),包括对已有的单克隆抗体基因进行改造和重组而制备为基因工程抗体以及用抗体库技术筛选、克隆新的单克隆抗体。此技术不经细胞融合,甚至不经预先免疫,是目前抗体应用研究十分活跃的领域,至今已有不少有应用价值的抗体研发成功,这一抗体技术的应用,尤其是人源抗体方面,必将大大促进抗体技术领域的发展。

为解决学生所需,作者参阅了近年来国内外有关论著,并结合我们多年的教学和研究经验编写了本书,以供选修本课的学生使用。本书也适用于从事生物医学和其他与生命科学相关的科研人员或教师参考。由于本书涉及面较广,局限性在所难免,请读者不吝赐教。

编 者
2005 年 6 月

目 录

第 1 章 抗原.....	(1)
1.1 抗原的特性	(1)
1.1.1 抗原的免疫原性	(1)
1.1.2 抗原的免疫反应性	(3)
1.2 抗原决定簇	(3)
1.3 半抗原和载体效应	(5)
1.4 抗原的分类	(8)
1.5 抗原特异性和免疫原性的分子基础	(9)
1.6 免疫佐剂	(10)
1.6.1 佐剂的分类	(10)
1.6.2 佐剂的生物学作用	(11)
第 2 章 抗体	(12)
2.1 抗体生成的理论——克隆选择学说	(13)
2.2 抗体的分子结构与功能	(13)
2.2.1 抗体分子的基本结构	(14)
2.2.2 可变区和恒定区	(20)
2.2.3 抗体的其他成分	(21)
2.2.4 抗体分子的功能区	(22)
2.2.5 抗体分子的酶切片段	(24)
2.2.6 抗体的生物学功能	(25)
2.3 特异性免疫应答过程	(28)
2.3.1 特异性免疫应答的特点	(29)
2.3.2 特异性免疫应答的阶段	(29)
2.4 免疫球蛋白的基因及其表达	(30)
2.4.1 免疫球蛋白基因的结构	(32)
2.4.2 免疫球蛋白基因的重排	(34)
2.4.3 免疫球蛋白基因表达的调节	(40)
2.4.4 免疫球蛋白的多样性	(41)

2.5	抗原与抗体的相互作用	(42)
2.6	三代抗体简介	(44)
2.6.1	第一代抗体:多克隆抗体	(44)
2.6.2	第二代抗体:单克隆抗体	(45)
2.6.3	第三代抗体:基因工程抗体	(45)
2.7	免疫血清的制备	(46)
2.7.1	原理	(46)
2.7.2	抗原的制备	(47)
2.7.3	佐剂的应用	(50)
2.7.4	动物免疫	(51)
第3章	单克隆抗体	(55)
3.1	引言	(55)
3.2	杂交瘤技术制备单克隆抗体的基本原理	(55)
3.3	杂交瘤细胞的筛选原理	(58)
3.4	融合用细胞的制备	(59)
3.4.1	免疫动物	(59)
3.4.2	骨髓瘤细胞的复苏和培养	(60)
3.4.3	饲养细胞的培养	(61)
3.4.4	血清的选择	(61)
3.5	细胞融合	(62)
3.5.1	制备饲养细胞层	(62)
3.5.2	制备骨髓瘤细胞悬液	(62)
3.5.3	制备免疫脾细胞悬液	(63)
3.5.4	细胞融合	(63)
3.6	杂交瘤细胞的选择培养	(64)
3.7	特异性抗体的检测	(64)
3.7.1	酶联免疫吸附测定——间接 ELISA 法	(65)
3.7.2	标记 SPA 间接 ELISA 法	(66)
3.7.3	亲和素-生物素 ELISA (ABC-ELISA) 法	(66)
3.7.4	其他方法	(67)
3.8	杂交瘤细胞的克隆化	(68)
3.8.1	有限稀释法	(68)
3.8.2	半固体琼脂平皿培养法	(69)
3.8.3	单细胞显微镜操作法	(69)

3.9 杂交瘤细胞的冻存	(70)
3.10 杂交瘤细胞株染色体检测	(70)
3.11 单克隆抗体的大量制备	(72)
3.11.1 动物体内诱生单克隆抗体法	(72)
3.11.2 体外培养产生单克隆抗体法	(72)
3.12 单克隆抗体的纯化	(73)
3.12.1 硫酸铵沉淀法或正辛酸-硫酸铵沉淀法	(73)
3.12.2 免疫吸附层析法	(73)
3.12.3 蛋白 A-琼脂糖珠亲和层析法或蛋白 G-琼脂糖珠亲和层析法	(73)
3.12.4 DEAE 离子交换层析法	(74)
3.13 单克隆抗体的保存	(74)
3.14 单克隆抗体 Ig 类型的鉴定	(75)
3.15 杂交瘤细胞及单克隆抗体的其他性质鉴定	(75)
3.15.1 杂交瘤细胞的其他性质鉴定	(75)
3.15.2 单克隆抗体的其他性质鉴定	(75)
3.16 淋巴细胞杂交瘤技术的优缺点	(76)
3.16.1 优点	(76)
3.16.2 缺点	(77)
3.16.3 用细胞工程制备人单克隆抗体的局限性	(78)
第 4 章 基因工程抗体	(79)
4.1 引言	(79)
4.1.1 单抗的局限性和基因工程抗体的出现	(79)
4.1.2 基因工程抗体的分类	(79)
4.2 组合抗体库	(83)
4.3 噬菌体展示抗体库	(84)
4.3.1 原理	(84)
4.3.2 构建	(87)
4.3.3 抗体库的富集、筛选	(98)
4.4 核糖体展示抗体库	(103)
第 5 章 抗体的处理	(105)
5.1 抗体的纯化	(105)
5.1.1 引言	(105)
5.1.2 抗体的预处理	(105)

5.1.3	盐析法	(106)
5.1.4	正辛酸-饱和硫酸铵纯化法	(108)
5.1.5	亲和层析法	(109)
5.1.6	优球蛋白纯化法	(110)
5.1.7	凝胶过滤法	(111)
5.1.8	离子交换层析	(114)
5.1.9	疏水层析	(115)
5.1.10	高效液相色谱	(115)
5.1.11	固定化金属亲和色谱	(116)
5.2	抗体的保存	(116)
5.3	抗体的理化性质鉴定	(117)
5.3.1	蛋白含量的计算	(117)
5.3.2	相对分子质量及纯度测定	(121)
5.3.3	等电点的测定	(124)
5.3.4	亲和力的测定	(126)
5.4	抗体的标记	(128)
5.4.1	放射性同位素标记技术	(129)
5.4.2	荧光素色素标记技术	(129)
5.4.3	酶标记技术	(131)
5.4.4	生物素标记技术	(133)
5.4.5	胶体金标记技术	(135)
第6章	抗体在体外检测中的应用	(139)
6.1	放射免疫分析	(139)
6.1.1	基本原理	(139)
6.1.2	检测方法	(140)
6.2	免疫放射分析	(141)
6.2.1	免疫放射分析原理	(141)
6.2.2	检测方法	(142)
6.2.3	免疫放射分析技术特点	(142)
6.3	酶免疫分析	(143)
6.3.1	均相 EIA	(144)
6.3.2	非均相 EIA	(147)
6.4	荧光免疫分析	(153)
6.4.1	荧光免疫染色法	(155)

6.4.2 荧光免疫分析	(157)
6.5 化学发光免疫分析	(158)
6.6 免疫染色	(161)
6.6.1 免疫染色的原理	(161)
6.6.2 培养细胞的免疫染色方法	(163)
6.6.3 组织切片的免疫染色方法	(164)
6.6.4 细胞涂片	(165)
6.6.5 Western blotting 膜上蛋白质的免疫染色方法	(166)
6.6.6 免疫染色的注意事项	(166)
6.7 免疫-PCR 和 PCR-免疫	(167)
6.7.1 免疫-PCR(IM-PCR)	(167)
6.7.2 PCR-免疫	(171)
6.7.3 注意事项	(172)
6.8 抗体芯片技术	(173)
6.9 免疫胶体金的制备和应用	(175)
6.9.1 免疫胶体金技术的基本原理	(175)
6.9.2 胶体金和免疫胶体金的制备方法	(175)
6.9.3 免疫胶体金的应用	(176)
6.10 免疫层析快速诊断技术	(179)
6.10.1 免疫胶体金快速诊断技术的原理	(179)
6.10.2 免疫胶体金快速诊断技术的优点	(181)
6.10.3 免疫胶体金快速诊断技术的应用现况	(182)
6.11 基于抗体的细胞分离技术	(183)
6.11.1 免疫盘化法	(183)
6.11.2 免疫磁珠法	(183)
6.11.3 荧光激活的细胞分选法	(188)
6.12 免疫沉淀法	(197)
6.12.1 靶蛋白的放射性标记	(197)
6.12.2 裂解细胞	(198)
6.12.3 特异性免疫复合物的形成及收集	(198)
6.12.4 放射性标记蛋白质的放射自显影分析	(199)
6.13 免疫印迹	(199)
6.13.1 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	(199)
6.13.2 免疫印迹	(203)

6.14 免疫亲和层析技术	(207)
6.14.1 免疫亲和层析的基本过程	(208)
6.14.2 抗体和载体的选择	(208)
6.14.3 操作步骤	(213)
6.14.4 影响免疫亲和层析纯化效果的因素	(214)
6.15 免疫电镜技术	(216)
6.15.1 透射电镜样品的制备	(217)
6.15.2 免疫电镜标记物	(219)
6.15.3 免疫电镜中的分子桥技术	(221)
6.15.4 免疫标记程序	(223)
6.15.5 对照实验	(224)
6.15.6 扫描电镜及冷冻蚀刻免疫电镜	(225)
第7章 抗体药物在定向治疗中的应用	(229)
7.1 引言	(229)
7.2 抗体药物的治疗机理	(230)
7.3 抗体药物治疗中存在的问题	(230)
7.4 单抗靶向药物的发展趋势	(231)
7.5 单克隆抗体与化疗药物联合用药治疗肿瘤的特点	(232)
7.6 重组免疫毒素在癌症治疗中的应用	(232)
7.7 免疫脂质体在定向治疗中的应用	(234)
7.7.1 免疫脂质体的优越性	(235)
7.7.2 免疫脂质体的种类	(236)
7.7.3 免疫脂质体在应用中存在的问题	(237)
参考文献	(239)

第1章 抗 原

抗原(antigens, Ag)是一种能够刺激机体免疫系统,激活 T 或 B 淋巴细胞,而产生特异性免疫应答,并能与相应免疫应答产物即细胞免疫的效应 T 细胞或体液免疫的抗体,在体内或体外发生特异性结合反应的物质。根据抗原的定义,抗原有两方面的特性:免疫原性(immunogenicity)和免疫反应性(immunoreactivity)。

1.1 抗原的特性

1.1.1 抗原的免疫原性

抗原的免疫原性是指抗原刺激机体引起免疫应答的性能。抗原的免疫原性是由抗原的化学组成、相对分子质量、化学结构、异物性、宿主遗传性等决定的。不是自然界中所有的物质都能作为抗原刺激机体产生免疫应答。

蛋白质、多糖、磷脂、脂多糖、结合蛋白质、核酸、激素等有机物是常见的抗原。作为蛋白质抗原一般要求相对分子质量约在 10 000 以上,多糖抗原则需要在 600 000 以上。在天然多肽中,能引起免疫应答的最小分子是胰高血糖素(glucagon, 相对分子质量为 3480)。一般而言,相对分子质量越大,结构越复杂,免疫原性越强。在有机物中,蛋白质的免疫原性最强。大分子物质免疫原性较强与相对分子质量越大,其表面携带的抗原决定簇越多,因而对淋巴细胞的刺激作用就越大有关;而且大分子胶体物质,化学结构较稳定,在体内不易被破坏和清除,存留时间较长,使淋巴细胞得到较持久刺激,有利于免疫应答的发生。

在胚胎发育过程中,免疫系统对自身组织形成天然免疫耐受。机体免疫系统能够识别宿主自身物质和非己异物,对自身物质产生免疫耐受,对非己异物产生免疫应答。抗原在化学结构上与机体自身成分不同,具有异物性:①异种物质。通常抗原来源与宿主种系关系越远,免疫原性就越强。如病毒的衣壳蛋白、细菌的细胞壁等对人类而言都是免疫原性很强的抗原。②同种异体物质。如人的红细胞抗原物质和人的白细胞抗原等。③自身物质。自身物质一般不具免疫原性。有些物质如隐蔽的自身成分(眼晶体蛋白、精子等),在正常情况下与免疫系统是隔绝的,但是一旦屏障遭到破坏,这些物质进入血流,即可与免疫活性细胞接触而成为自身抗原异物。另外,自身物质在外伤、感染、药物和射线的影响下,其理化性质发生质

的改变时,也可成为具有免疫原性的抗原物质。

抗原诱导免疫应答的强弱与宿主本身的免疫状态有关。如宿主对接触过的抗原处于致敏状态,免疫应答较强。机体免疫功能低下,对抗原的免疫应答较弱。在抗血清的制备中,虽然小鼠、大鼠、豚鼠、兔子、山羊、绵羊或者马都可以作为抗血清产生动物,但是不同种属的动物对抗原的免疫应答能力不同,例如纯化多糖对人和小鼠具有良好的免疫原性,而将其免疫豚鼠则不能引起免疫应答。所以应根据抗血清的用量和动物的反应性选择实验动物,应用最多的动物是兔子。

与人类有关的抗原有:①病原微生物。在医疗中将病原微生物制成疫苗进行预防接种,可以提高人的免疫力。如应用减毒活疫苗、死疫苗、亚单位疫苗等进行预防接种,刺激机体产生相应的抗体,对机体产生保护作用。也可以根据微生物抗原的特异性进行各种免疫学试验,帮助诊断疾病。如检测乙型肝炎表面抗原、表面抗体,e抗原、e抗体,核心抗原等,以检查有无乙型肝炎病毒的感染。②同种异体抗原。有两大类,一类是红细胞血型抗原,包括A、B、O血型抗原,Rh血型抗原等。不同血型间相互输血,可引起严重的输血反应。所以在需要输血之前要进行交叉配血试验,选择同型的血(表1.1)。另一类是存在于人类白细胞细胞膜上的人类白细胞抗原(HLA),又称主要组织相容性抗原。它们与血型抗原一样,也是由遗传决定的,受染色体上的基因控制。不同的个体(同卵双生者除外)其组织细胞的组织相容性抗原绝大多数不完全相同,因此,在同种异体之间进行皮肤或脏器移植时,常因供者移植物中存在受者所没有的抗原成分,刺激受者产生对移植物的免疫反应,导致移植物受到排斥而坏死,造成移植失败。③动物免疫血清。临床上常用的各种抗毒素血清,一般都是用免疫马来制备的。一方面,抗毒素能中和与其相应的外毒素,起到防治疾病的作用;另一方面,它能刺激人体产生抗马血清蛋白的抗体,当再次接受马的免疫血清时,有可能发生超敏反应。④异嗜性抗原。一类与种属特异性无关的,存在于人以及某些动物、植物、微生物的性质相同的抗原。⑤肿瘤抗原。由物理的、化学的因素或某些病毒诱发的实验动物肿瘤,其细胞中或细胞表面均出现特异性抗原,称为肿瘤特异性抗原。已证实在某些人类肿瘤中存在着与病毒密切相关的抗原。

表 1.1 A、B、O 血型及血型抗体

表 型	基因型	红细胞表面血型抗原	血浆中血型抗体
A	A/A A/O	A	抗 B
B	B/B B/O	B	抗 A
AB	A/B	AB	—
O	O/O	—	抗 A, 抗 B

1.1.2 抗原的免疫反应性

抗原的免疫反应性是指抗原与相应免疫应答产物即细胞免疫的效应T细胞或体液免疫的抗体,在体内或体外发生特异性结合反应的性能。抗原和相应的抗体在空间结构上必须互补,即抗原的抗体结合部位(表位)和抗体的抗原结合部位就像锁和钥匙的关系,分子间空间互补,通过非共价键的相互作用,紧密结合在一起。抗原和抗体的特异性结合形成免疫复合物,被巨噬细胞等的吞噬作用清除,是机体抵御外来分子和微生物入侵的重要机制;抗原和抗体结合的高度特异性也是许多体内外免疫学检测的分子基础。

1.2 抗原决定簇

抗原决定簇或表位(antigenic determinant or epitope)是存在于抗原分子表面、决定抗原特异性的特殊化学基团,是抗原与抗体相互作用的区域。蛋白质抗原上的表位是由相邻连续的或非连续的氨基酸序列形成的局部表面结构。在共价序列的邻近氨基酸残基形成的表位称为线性决定簇(linear determinant)(图1.1)。据估计,能与抗体形成特异性结合的线性决定簇的大小约为6个氨基酸残基。大多数情况下,线性决定簇不能与抗体的抗原结合部位接触,只有在其变

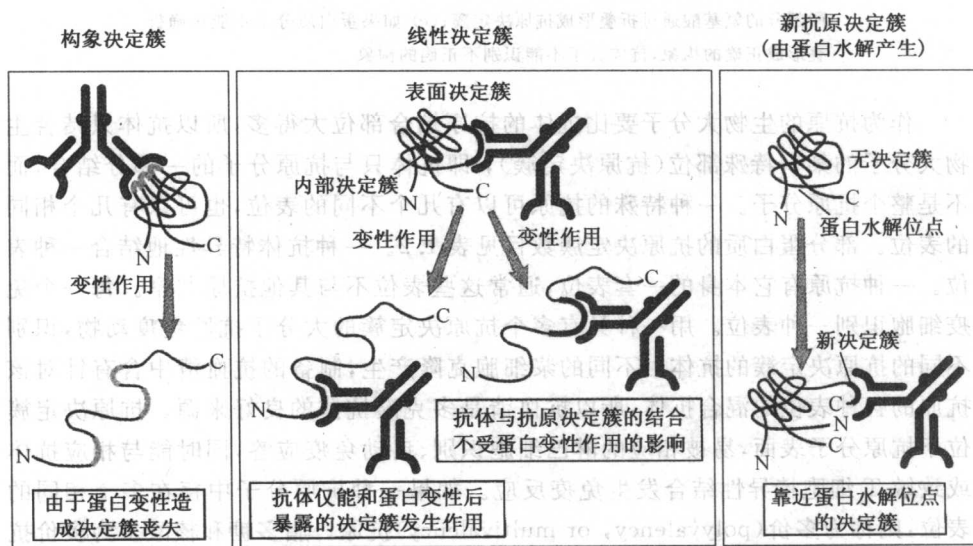


图 1.1 抗原决定簇的种类

性时才被暴露。还有一种在天然蛋白质分子中不存在或不被暴露的抗原决定簇,经过特定的蛋白酶水解后才形成或被暴露出来,这种抗原决定簇称为新抗原决定簇(neoantigenic determinant)(图 1.1)。在蛋白质分子折叠时,由线性氨基酸序列的相隔离的氨基酸残基而形成的空间构象,称为构象决定簇(conformational determinant)(图 1.2 或彩图 1)。如溶菌酶分子上的表位来自一级序列的两个相隔离的氨基酸残基,所以蛋白质或者肽类抗原的抗原决定簇依赖于其一级结构和空间结构。

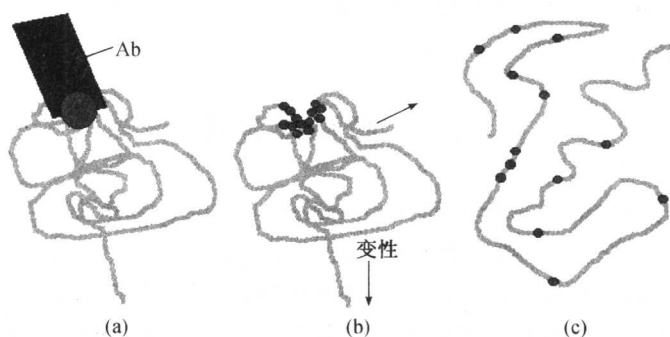


图 1.2 不连续的或构象决定簇

(a) 大分子蛋白的决定簇通常由许多氨基酸组成;(b) 来自蛋白质分子的不同部分的氨基酸通过折叠形成抗原决定簇;(c) 如果蛋白质分子不能正确折叠形成正确的构象,抗体分子不能识别不正确的构象

作为抗原的生物大分子要比抗体的抗原结合部位大得多,所以抗体只结合生物大分子的某一特殊部位(抗原决定簇),即抗体只与抗原分子的一部分结合,而不是整个抗原分子。一种特殊的抗原可以有几个不同的表位,也可以有几个相同的表位。部分蛋白质的抗原决定簇数目见表 1.2。一种抗体特异性地结合一种表位。一种抗原有它本身的一套表位,通常这些表位不与其他抗原共享。每一个免疫细胞识别一种表位。用一种具有多个抗原决定簇的大分子抗原免疫动物,识别不同的抗原决定簇的抗体由不同的浆细胞克隆产生,制备的抗血清中含有针对该抗原的各种表位的混合抗体,所以抗血清是多克隆抗体的良好来源。抗原决定簇位于抗原分子表面,易被相应的淋巴细胞识别、启动免疫应答,同时能与相应抗体或致敏 T 细胞特异性结合发生免疫反应。如果一种抗原分子中存在多个相同的表位,则称为多价(polyvalency, or multivalency)抗原。脂多糖和核酸多为多价抗原,而球蛋白不是多价抗原。

表 1.2 部分蛋白质的抗原决定簇数目

名 称	决定簇数目/个
人血清白蛋白	4
鸡卵清白蛋白	10
牛血清白蛋白	18
甲状腺球蛋白	40
精鲸肌红蛋白	5

1.3 半抗原和载体效应

半抗原(haptens)是指不含蛋白质成分的有机小分子,它们能和抗体起反应,即有免疫反应性,但它们单独存在的情况下不能诱发机体产生免疫应答,即无免疫原性,如药物(青霉素)、寡糖、核苷酸、某些肽类及有机化合物等。

抗原抗体反应最重要的特点是具有高度的特异性。抗原特异性是以它本身分子的结构为基础的,即由抗原决定簇的结构特性所决定的。Landersteiner (1917)通过人工合成抗原的方法来研究抗原特异性。分别用 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{AsO}_3\text{H}_2$ 与苯胺连接起来,生成对氨基苯甲酸、对氨基苯磺酸或对氨基苯砷酸。再经过偶氮化与牛血清白蛋白结合成三种新的人工抗原。在这三种新的人工抗原中,用的是同一种牛血清白蛋白,差别在于与苯胺连接的化学基团分别为 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 或 $-\text{AsO}_3\text{H}_2$ 。用这三种新的人工抗原分别免疫动物,获得三种不同的抗体。用这些抗体检测以不同化学基团连接的三种抗原时,只有相对应的抗原抗体才发生反应(表 1.3)。这一经典实验证明抗原的特异性取决于大分子上所结合的化学基团——抗原决定簇。在实验中,对氨基苯甲酸、对氨基苯磺酸或对氨基苯砷酸为有机小分子,本身没有免疫原性,但有免疫反应性,作为半抗原与牛血清白蛋白偶联,可形成一个结合抗原(conjugated antigen)或完全抗原(complete antigen)。偶联的蛋白质称为载体蛋白(carrier protein)或载体。半抗原作为完全抗原上的一个新的抗原决定簇,用完全抗原免疫动物后产生抗载体蛋白的抗体和抗半抗原的抗体。载体分子必须具有免疫原性,与半抗原偶联后才能诱导机体产生对半抗原的免疫应答。