

生物学研究概说

免疫化学

[英] M. W. 斯图尔德 著



科学出版社

R392.1
1

· 生物学研究概说 ·

免疫化学

[英] M. W. 斯图尔德 著

施秉仪 译

潘家秀 校

科学出版社

1979

1531 · 15431 · 第一册
01-15 · 1541 · 科学出版社
元 02.0 : 价定

内 容 简 介

本书系由英国伦敦肯尼迪风湿病学研究所免疫学部，免疫化学实验室主任 M. W. Steward 所编写的。内容包括抗原的性质，免疫球蛋白的结构和合成，抗体-抗原反应，以及抗体的生物学功能等。而其重点是放在对现代结构的概念及抗体-抗原反应动力学和生物学的重要性上。本书的特点是篇幅短小，内容精炼。主要是从生物化学角度和分子水平讲述免疫化学的基本知识。因此，既可作为免疫学的基础读物，又可作为免疫学研究者入门参考。书中每章节内容都附有参考文献，可供读者进一步追索。

本书可供生物化学、免疫学、细胞学、医学等方面的科技人员及大专院校和医学院校师生参考。

M. W. Steward
Outline Studies in Biology
IMMUNOCHEMISTRY
Chapman and Hall 1974

· 生物学研究概说 ·

免 疫 化 学

[英] M. W. 斯图尔德 著

施秉仪 译

潘家秀 校

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1979年6月第一版	开本：787×1092 1/32
1979年6月第一次印刷	印张：2 3/4
印数：0001—33,420	字数：59,000

统一书号：13031·1041

本社书号：1463·13-10

定价：0.30 元

译者的话

近十多年来,医学领域中的免疫学进展较快,其研究内容已从狭隘的抗感染,扩大到许多非传染性免疫性疾病的发病机理;对于机体免疫器官、组织、细胞结构和功能的研究,已从整体、细胞水平,深入到分子水平。但是,从临床病人的需要来看,不论在实验方法及基础理论知识方面,都仍远远不能满足。这是因为许多疾病,很可能就是由于自身的免疫功能的失调而引起的。因此,应用由近代物理、化学的新概念、新技术形成的免疫学的新分支学科——免疫化学来研究其发病机理和检测的方法,是医学科学现代化中一项重要而迫切的任务。

翻译本书的意图就是为着在医学免疫学和细胞学领域内,展开分子水平的研究做些“铺路”工作。

本书在翻译过程中,曾经程伊洪同志热情指导,最后又惠承潘家秀同志在百忙之中抽空对全文作了细致的校阅,在此,谨向他们表示衷心的感谢。

由于译者水平有限,缺少经验,诚然在主观上尽了很大努力,但译文中难免还会存在不少的缺点和错误,恳切希望广大读者和从事这方面研究和教学的同志批评指正。

施乘仪

1978年于北京

目 录

译者的话	i
1. 引言	1
2. 抗原	3
2.1 天然抗原	4
2.1.1 血细胞、病毒和细菌	4
2.1.2 蛋白质	5
2.1.3 糖类	7
2.1.4 脂类	8
2.1.5 核酸	8
2.2 人工抗原	9
2.3 合成抗原	12
2.4 免疫原性与抗原特异性的分子基础	14
2.4.1 分子大小	14
2.4.2 组成	15
2.4.3 立体构象	15
2.4.4 电荷	17
2.4.5 光学构型	18
2.4.6 物理形态	18
2.5 抗原性决定簇的大小	18
2.6 细胞的作用	19
参考文献	19
3. 免疫球蛋白和抗体	21
3.1 免疫球蛋白和特异抗体的分离和提纯	21
3.2 免疫球蛋白及抗体的检出和测定	23

3.3	免疫球蛋白的结构	25
3.3.1	IgG 的基本四链结构模式	25
3.3.2	免疫球蛋白的类别	28
3.3.3	氨基酸顺序的研究	33
3.3.4	抗体结合部位	35
3.3.5	同种异型和个体基因型(Allotypes and Idiotypes)	37
3.4	免疫球蛋白的生物合成	41
3.4.1	细胞学基础	41
3.4.2	合成、装配和分泌	43
3.4.3	免疫球蛋白生物合成的基因控制	45
	参考文献	48
4.	抗体-抗原的相互作用	51
4.1	沉淀反应	51
4.2	凝集反应	53
4.3	抗体-抗原反应的动力学	54
4.3.1.	抗体亲和力	55
4.3.2	亲和力计算方程式的推导	56
4.3.3	亲和力的测量方法	60
4.4	抗体-抗原相互作用中的分子间作用力	65
4.4.1	氢键	65
4.4.2	非极性或疏水性的相互作用	65
4.4.3	离子的或库仑力的相互作用	66
4.4.4	分子间吸引力(范德瓦耳斯力)	66
4.4.5	立体因素或立体排斥力	66
4.5	抗体亲和力的生物学意义	67
	参考文献	71
5.	抗体的生物学活性	73
5.1	补体结合	75
5.2	抗体的其他生物学性质	78

1. 引 言

人们久已知道,与传染性微生物如细菌或病毒接触以后,若再重复感染,可以对同一感染因子产生免疫。这种感染性因子的免疫性与抗体(γ 球蛋白,它与这些因子作用,并协助消灭之)和细胞参与的免疫机理都有关系。当清楚了体液和细胞免疫的两个方面有相互依存的关系时,从事现代研究的免疫学家,似乎也把他们自己区属于这个领域中的这一方面或这个领域的另一方面。把免疫学分为两个方面,并不是新现象。的确,直到 Wright (1903)的工作证明了早先 Metchnikoff (1883)描述的抗体(调理素)确实有助于细胞参与的吞噬细菌作用时,才完成了免疫性这两种假说之间的协调。然而,本书的目的并不是为了区分这两方面研究的意义。本书的题材着重于体液免疫方面;细胞免疫方面的内容将在本丛书另一册中介绍。

研究抗体的历史,可追溯远至 1890 年,当时 Von Behring 首先研究了用马抗毒素抗体中和细菌毒素。大约在这时候,免疫化学的先驱者 Paul Ehrlich 第一个定量地研究了毒素与抗毒素的沉淀反应。由于他对免疫学沉淀反应的兴趣,引致了伟大的物理化学家 Arrhenius 首先使用了免疫化学这个名词。在 1907 年出版的,用“免疫化学”为标题的一系列讲稿中,他说:“我把这些演讲的题目命名为‘免疫化学’,希望这个词能表示外来物质在注入动物的血液后,所产生的物质的化学反应即免疫,并在这几页中有所讨论。由此,接着的是在这里也应考虑到与其产物相互作用的物质,如与蛋白质和酵

素有关的它们的化学性质。”

这个定义仍然适用于现代免疫化学，并可用现代名词加以饰新，如抗原与抗体化学的研究以及抗原与抗体相互作用机理的研究。

当然，我们的概念比早期的免疫化学家更为宽广，他们把抗体和抗原当作均一的物质——甚至把血清也认为是单一的“抗原”。我们现在知道，这远非事实。即使白蛋白那样纯化的抗原，尚有几个抗原性决定簇。利用已知结构的合成抗原，有助于确定抗原性的某些分子要求。在结构与功能方面，抗体具有可厌的不均一性。这个事实阻碍了对免疫球蛋白的化学结构和合成工作的详细研究。骨髓瘤蛋白的发现——它是均一的蛋白质，代表骨髓瘤病人一个单一的免疫球蛋白品种——对抗体结构研究有很大帮助。虽然如此，关于骨髓瘤蛋白是否真正代表抗体的问题，仍不能回答。对免疫化学家挑战的免疫应答机制的问题之一，是这种系统的基因控制的本质。这种系统能够产生抗体，并具有针对经常在变换的抗原环境的特异性。而这种变化能力的表现是否是由于生殖细胞系中基因所传递的有限数量的体细胞突变的结果，或是生殖细胞系携带了机体多样性的所有必要基因的结果？尚待阐明。

尽管近几年来，在免疫化学领域里，特别是在机体的结构、合成和功能方面的知识、以及抗体结合部位的定位、结构和组成的初步研究中，有了巨大的进展，但在很多方面还有待创建。

本书的撰写是基于这样一个总的背景。目的是为了给读者大量的免疫化学知识的一个总的概要，并为进行当前的研究提出某些方向。

2. 抗 原

抗原这个名词通常有二种含义：首先是指一种物质，当注射入合适的动物体内后，能促使其产生循环抗体或改变细胞的反应性，如迟发超敏性；其次是指该物质具有能与抗体作用的性质，即抗原特异性。很清楚，这二种特性是不相同的，有些物质能与抗体起反应，但自身不能诱发抗体的形成。同样地，有些物质能触发某几类动物（应答者），产生免疫应答，但对别类动物（无应答者）则不能引起免疫应答。因此，在描述一种物质诱发免疫应答能力时，必须考虑宿主的免疫应答性。近来，用“免疫原”（Immunogen）这个名词来描述一种物质在这方面的抗原性。因此，对应答者来说，抗原物质是有免疫原性的，而对无应答者来说是非免疫原性的。因而抗原性这个名词是指物质的二种性质：（1）免疫原性和（2）抗原特异性。抗原分子上的某些部分称为抗原性决定簇，由它来确定抗原的免疫原性和抗原特异性。抗原性决定簇有一个三维结构，以此同抗体结合部位作用。一个抗原可能有几个，但并不一定相同的决定簇。

在免疫学创始期间，细菌和血细胞是用于研究的最普通的抗原。随后，研究了细菌毒素和其他可溶性的植物和动物产物。与此同时，对这些天然抗原的化学性质也获得了某些概念。天然抗原通常分为蛋白质，脂蛋白，糖蛋白或多糖。由于应用近代化学和生物化学的技术，对抗原物质进行了分离，提纯和合成，使我们对抗原本质的了解有了较大的进展。

抗原可分成三类^[1,2]：A. 天然抗原，B. 人工抗原和 C. 合

成抗原(见表 2.1)。

现将这三大类型的抗原,概要地逐一举例说明。

2.1 天然抗原

2.1.1 血细胞、病毒和细菌

如上所述,应用这类复杂颗粒的天然抗原如血细胞、细菌和病毒对增进我们了解免疫应答起着重要作用。确实,象羊红细胞这类抗原,仍常规地在应用,特别是在细胞水平上研究抗体的形成。如 Jerne^[3] 的溶血斑形成细胞的测定系统,它便于在体外检验抗体细胞。红细胞抗原的免疫化学,在理论和应用上,仍被认为是极有研究意义的课题。关于后者, D 红细胞抗原(该抗原通常发生在新生儿溶血症中)和与它相应抗体反应的动力学研究,在对这种疾病通过被动转移抗 D (Rh 血

表 2.1 抗原的分类

抗原分类	来源	举 例
天然抗原	植 物 细 菌 动 物	颗粒: 血细胞,细菌,病毒。 可溶的: 毒素类毒素, 蛋 白质, 糖类, 糖蛋白, 脂蛋 白。
人工抗原	经化学 改性的天然 抗 原	碘化蛋白, 半抗原结合蛋白如 AZO 蛋白和 DNP 蛋白。
合成抗原	化学合成 的分子	多肽,多聚氨基酸, 多链氨基酸共聚体。

型)抗体到 D 阴性(即 Rh 阴性)的母亲(她是受 D 阳性细胞致敏的怀疑者)的控制上,作出了重要贡献^[4]。

烟草斑纹病毒(T. M. V)是第一个被鉴定和结晶的病毒,并已用作多价抗原。应用这个抗原,在电子显微镜下首先证实了抗体与抗原之间的作用。免疫化学家对这个病毒特别感兴趣。因为它是由一个 RNA 核和 2,130 个相同多肽单元的蛋白外壳所组成的(每个单元有 158 个已知顺序的氨基酸)。

应用细菌和病毒作为抗原仍是颇有兴趣的。特别是对那些化学结构已知的细胞壁。例如,用已详细了解的溶血性链球菌基因 A 和 C 的决定簇(2.1.3 节)作为抗原以研究抗体生成的基因控制的本质。

2.1.2 蛋白质

蛋白质(表 2.2)是最早知道有抗原性的物质,现仍广泛地用作抗原。蛋白质是很复杂的分子,容易从植物、动物和微生物中得到高度纯化的蛋白质。然而对于多种抗原性决定簇的确切性质却知道得很少。尽管有这些限制,蛋白质抗原的应

表 2.2 通常研究的蛋白质抗原

蛋 白 质	分子量(约数)
T. M. V 亚单位蛋白质	17,000
肌红蛋白	17,000
鞭毛蛋白	40,000(及聚合体形式)
卵清蛋白	44,000
白喉类毒素	65,000
血清白蛋白	69,000
转铁蛋白	90,000
球蛋白	170,000
钥孔鲎血蓝蛋白	$2-7 \times 10^6$

用对我们了解免疫应答问题仍作出了重要贡献。为了搞清楚某几个蛋白质抗原性决定簇,曾试用了有限蛋白水解法。如水解

人血清白蛋白，得到了一个分子量约为 7000 的多肽碎片，其中含有母体分子中的一个抗原性决定簇^[5,6]。由于对蛋白质结构缺少详细知识，妨碍了对这些问题的进一步研究。然而，肌红蛋白的氨基酸顺序和构象已详细知道，并已利用来研究抗原性决定簇的性质。遗憾的是，这个蛋白质并不是一个特别好的免疫原，至少有四个抗原性决定簇。对这个完整分子和多肽碎片^[7]的免疫化学研究，了解到在分子中两种类型的抗原性决定簇：(1)“顺序型”，即抗原性决定簇是由无规卷曲(random coil)的形式的氨基酸顺序所组成的。(2)“构象型”，即抗原性决定簇的性质与立体构象有关。关于这方面的问题将在 2.4 节中详细讨论。

从微生物沙门氏菌鞭毛中分离出的蛋白质抗原——鞭毛素的免疫化学研究，已得到了抗原性决定簇的性质和所在部位的某些线索。用溴化氰(破坏含有蛋氨酸的多肽链)使单体(分子量 40,000)断裂得到四个碎片，其中的一个碎片包含了天然分子的所有抗原性决定簇^[8]。为了更正确地说明这些决定簇的性质，尚需进一步研究。对分子量约为 17,000 的烟草斑纹病毒的亚单位蛋白质进行了类似的研究。尝试在分子上定位抗原活性部位，研究了亚单位蛋白质的多肽碎片与针对整个分子的抗体的结合活性。

为了研究蛋白质抗原性决定簇，除利用酶和化学的水解产物多肽以外，还应用了化学改性的技术。各种化学处理如变性、氧化、还原、消化、脱氨、脂化、酰化和卤化作用对蛋白质抗原性的影响都曾作过研究^[9]。经过这些方法处理后的蛋白质与天然分子所产生的抗体的作用能力有所降低，但是要解释这些结果则是个问题。这些处理的结果是否是改变了某特定部位或仅是改变了构象的问题？要回答它是很难的。

显然，尽管多年来，蛋白质作为抗原曾广泛地被应用，但

对这些极为复杂的分子的抗原性质,至今仍了解甚少。因此,在这些领域里,对免疫化学家来说,仍是一个很大的挑战。简单蛋白质和天然存在的多肽,也已作为抗原来研究。它们包括有胰岛素、胰高血糖素、胃泌素、降血钙素、血管舒缓激肽、血管紧张肽、后叶加压素,促肾上腺皮质激素和生长激素等。总之,它们是些弱的免疫原,需要加强它们的免疫原性。可以用佐剂免疫接种或把他们化学偶联到天然或合成的载体分子上去,以诱发抗体生成。这种弱的免疫原性归因于多肽的低分子量。应用放射免疫分析法测定人血清中的这些物质,在临床上很有用。但它们的弱免疫原性成了难题。因为它们的测定需要一个有效的(高亲和力)抗体,以获得足够的敏感性。

2.1.3 糖类

大部分类型的细菌的细胞壁上或细胞壁内,具有血清学活性的糖类。这些糖类能与细菌诱发的抗体起作用,但它们自身并不是免疫原。即它们有半抗原的性质(见 2.2 节)。在另外情况下,从脑膜炎球菌 A 型和 C 型分离的糖类和肺炎球菌多糖物,对人是免疫原。其他糖类,如右旋糖酐,果聚糖和膜酸对人也有免疫原性。具有重复抗原性决定簇的这些糖类的分子量,对免疫原性有特别重要的意义。关于右旋糖酐——D 葡萄糖聚合体已有广泛研究。得知分子量小于五万的比分子量等于或大于九万的对人的抗原性弱得多^[10]。分子量超过 18,000 的 III 型肺炎球菌多糖,能诱发小鼠免疫应答。链球菌的细胞壁的族特异糖类 A 和 C 已广泛作为抗原加以研究。将胃蛋白酶消化的 A 族和 C 族微生物用热杀死后所制备的疫苗免疫兔子阐明,是对族特异的糖生成抗体。A 族糖是由分子量约为 10,000 的重复-N-乙酰氨基葡萄糖——鼠李糖单元(17 个

克分子的 N-乙酰氨基葡萄糖和 38 个克分子鼠李糖)所组成。其中, N-乙酰氨基葡萄糖是它的免疫显性基因。C 族糖具有相似的结构, 是由 N-乙酰氨基半乳糖——鼠李糖单元所组成。N-乙酰氨基半乳糖为其免疫的显性部分。N-乙酰氨基葡萄糖能抑制 A 族糖并和 A 族疫苗抗体产生沉淀, 而 N-乙酰氨基半乳糖则不能。这个事实证明了所生成的抗体的高度特异性。对 C 族糖则相反, 也是如此^[12]。免疫化学家对链球菌和肺炎球菌糖类的族特异性特别感兴趣。因为兔子对这些糖类所生成的抗体与对正常抗体不同。分子的不均一性往往是有限的^[11]。对这些抗体性质的研究, 为增进关于免疫球蛋白结构和合成的遗传控制知识作出了重要贡献。

2.1.4 脂类

还没有令人信服的证据证明纯化的脂类有抗原性。为了获得其抗体, 必须与较大的分子结构如蛋白质、合成多肽或红血球复合。

2.1.5 核酸

在最近的二十年内, 生物化学家对核酸很感兴趣。他们从全身性红斑狼疮 (SLE) 病人的血清中找到了核酸抗体, 引起了免疫化学家对这些复杂分子的兴趣。SLE 是一种有许多免疫性异常的疾病。在病人血清中含有抗细胞核和抗核酸的抗体。这种 DNA (脱氧核糖核酸) 与 DNA 抗体的复合物常沉积在肾脏的肾小球中。只有将核酸抗原同甲基化了的牛血清白蛋白、蛋白质或合成的多聚氨基酸载体结合后, 实验才能成功地获得核酸抗原的抗体。虽然, 这些材料, 在免疫化学中具有重要意义, 但是有关它们免疫原特性的确切性质则尚待确定。

2.2 人工抗原

显然,按上所述,为了得到免疫原性的化学基础知识,必须克服天然抗原高度复杂性的问题。为解决这个问题,免疫化学家已利用的一个途径是化学改造天然抗原,以产生人工抗原。为此,用已知化学结构的,小的决定簇基团置换蛋白质抗原上的基团,对了解免疫反应的特异性的本质提供了很多信息。

在本世纪初已知道蛋白质经多量碘化后,便失去种特异性。这种碘化蛋白质的抗体,主要是针对碘化蛋白质所共有的碘化酪氨酸残基的。然而,直到 K. Landsteiner^[13] 应用已知的小分子和蛋白质偶联的经典免疫化学实验后,才开始累积有关免疫反应特异性的知识。Landsteiner 首先提出“半抗原”这一名词,以表示不含蛋白质的特异性物质。虽然它在体外能引起反应,但不能诱发或仅有轻微的抗体应答,与具有双重性质的蛋白质抗原相比,显然不同。故建议把这些有血清学活性的物质命名为“半抗原”。

虽然“半抗原”名词常指某些低分子量的芳香化合物(表 2.3),然而上述定义指出,该名字可应用于自身不能产生抗体(即:不是免疫原性的),但能与对抗整个免疫原分子的合成抗体起反应的物质。如芳香化合物那样多变化的物质,某些药物(青霉素)、寡糖、核酸和核苷酸、多肽和脂类,均是半抗原。

虽然免疫原性构型的构象作用将在 2.4 节中较详细地讨论,但对 Landsteiner 的不同偶氮蛋白质血清学特异性的始创工作,将在这里简要地概述。他证明,当氨基苯磺酸的三种异构体(邻位、间位和对位)重氮化后,分别再和蛋白质(马血清蛋白质)偶合,注射于兔子,所产生的抗体能区别这三种异构

表 2.3 普通半抗原举例

基 因	结 构	载体偶合的模式
偶氮苯	$R-N=N-\text{C}_6\text{H}_4\text{COO}^-$	偶氮与酪氨酸, 组氨酸的芳香环和赖氨酸的 $\epsilon\text{-NH}_2$ 基结合。
偶氮苯砷酸	$R-N=N-\text{C}_6\text{H}_4\text{AsO}_3\text{H}^-$	
偶氮苯磺酸	$R-N=N-\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-$	亲核性取代应用卤素衍生物即 2,4 二硝基氟苯。
二硝基酚	$R-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$	
三硝基酚	$R-\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3$	
4-羟基-3-碘-5-乙酰基硝基苯酚	$R-N=N-\text{COCH}_2-\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})(\text{NO}_2)(\text{I})$	赖氨酸的 NH_2 基 与赖氨酸的 NH_2 起叠氮反应。
R = 蛋白质	R = 蛋白质	

体。例如, 对含有间位偶氮苯磺酸基的马蛋白质所产生的抗体能与带有间位异构体的不同载体蛋白质很好地产生沉淀, 而与带有其他三个异构体的仅产生很少沉淀。Landsteiner 和 Van der Scheer^[14] 利用抑制沉淀作用, 证实了磺酸半抗原的抗体能区别磺酸半抗原和磺酸基团被砷酸盐或羧基所置换的偶氮苯半抗原。这些实验进一步证明了抗体-抗原相互作用的绝妙特性。

应用偶氮偶联以产生共轭物的方法, 不仅用于芳香胺, 也能用于糖衍生物偶联蛋白质。Landsteiner 利用合成二个重氮酒石酸异构体连接到蛋白质载体上, 确证了 D-和 L-酒石酸异构体的血清学免疫特异性。这项工作是研究人工抗原, 为增进免疫应答特异性知识, 所作的一个有贡献的极好例子。

在讨论全合成抗原应用之前, 为了了解化学基团对它的