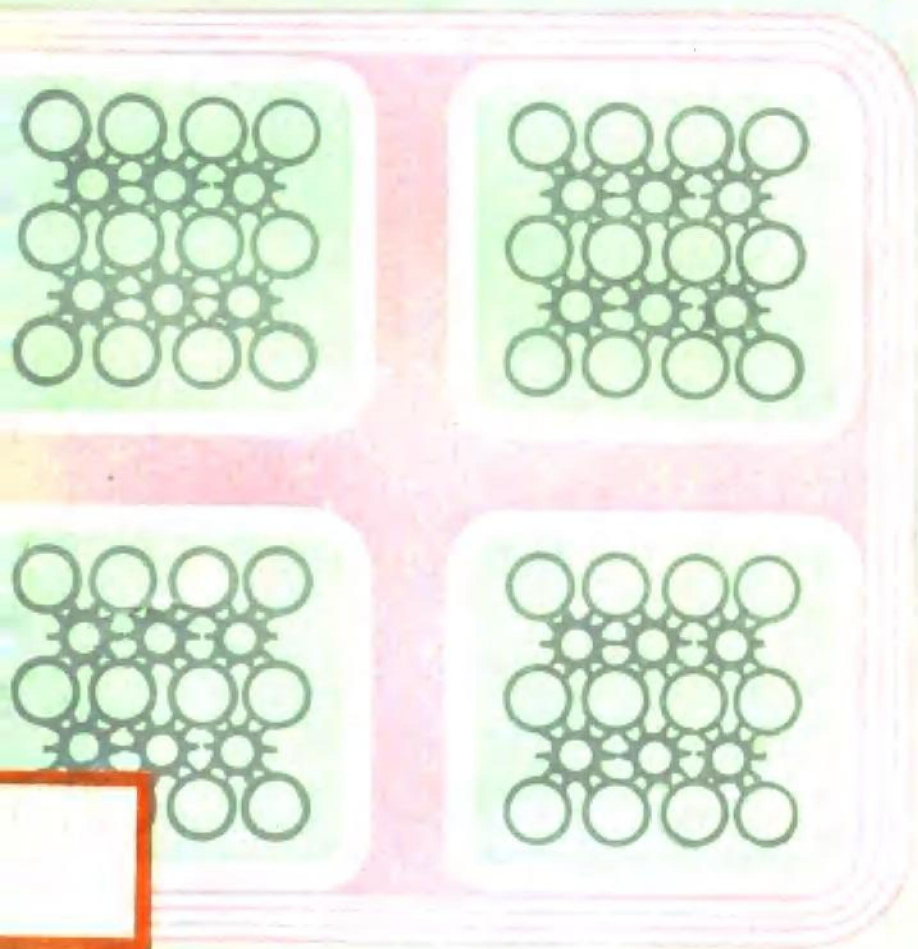


免疫血清学检验指导

——抗原抗体反应定量表的应用

贾万钧 著 李文简 校



化学工业出版社

免疫血清学检验指导

——抗原抗体反应定量表的应用

贾万钧 著

李文简 校

化学工业出版社

内 容 提 要

作者运用物理化学、胶体化学的动力学,热力学及统计处理的原理和方法,研究了抗原抗体反应体系的物理化学和胶体化学本质和规律,建立了抗原抗体反应的物理模型,导出了反应的一般动力学方程,给出反应体系在各种极限状态下的计算公式,并根据理论公式和实际应用的具体条件把计算结果列成定量表,列举了这些表格在凝集反应、沉淀反应、免疫扩散反应、免疫电泳、酶联免疫、化学发光免疫等十几项免疫血清学临床检测技术中的应用。最后回答了免疫血清学检验中常见的100个问题。

作者推导和计算出的这些表格经实践证明准确度高,查找迅速、在临床检验和科研等方面有重大指导价值,据此该项成果多次在军内及卫生部系统获奖。

本书是从事免疫学、免疫血清学、生物化学等专业人员和临床检验工作者必备的参考书。

免疫血清学检验指导

——抗原抗体反应定量表的应用

贾万钧 著

李文简 校

责任编辑:陈志良

封面设计:许立

化学工业出版社出版发行

(北京和平里七区十六号楼)

化工印刷厂印刷

新华书店北京发行所经销

开本850×1168 1/32印张 8 1/2 字数 222 千字

1988年9月第1版 1988年9月北京第1次印刷

印 数 1—3000

ISBN 7-5025-0244-0/TQ·201

定 价 2.80 元

前 言

这是一本理论与实际紧密结合的免疫血清学专著。为适应我国从事免疫血清学工作者数理化基础，并保证理论体系的完整性，作者简明扼要、深入浅出地交待了抗原抗体反应的微观动态模型以及运用物理化学、胶体化学中的热力学、动力学、统计力学等基本原理和方法推导出来的计算式。又系统地介绍了该理论的实际应用。书中的应用表格是沟通理论与实践的关键章节，是本书的重点。为了帮助读者理解和运用这些表格，作者又例举了在免疫血清学检验中的应用。

这本专著是贾万钧同志二十来年的研究成果。这一研究成果使免疫血清学在理论上自成体系，并在实践中获得广泛的应用，博得使用者的好评，为免疫学开拓了新的领域——免疫物理化学。

这一学说包括四个模型（亦称贾氏模型）、九个计算式。其中有IgM与颗粒抗原结合模型、当量域反应模型、阻滞域竞争反应模型以及抗体交联与同面结合的竞争模型。作者首先给出了抗原抗体反应的一般速度方程，再根据上述模型推导出抗原抗体反应的各种极限情况（阻滞域、最适比、临界现象等）的九个计算式。

早在本世纪三十年代就开始了免疫血清学的定量理论研究，建立过一些计算式，甚至也提出了抗原抗体反应动力学。但是，由于受当时历史条件所局限，提不出合理的抗原抗体反应模型，甚至连一个抗体形态结构的模型也没有。这样，宏观上的数量问题当然不可能得到解决，所建立的计算式也不能付诸使用。因此，应该说，贾万钧同志把免疫血清学理论以颗粒水平（把抗原抗体视为一个没有任何结构的、僵死的实体颗粒，把它们之间的反应归于这些实体粒子之间的简单碰撞和结合）提高到分子水平（考虑到抗原抗体的形态结构，特别是抗体分子内部各亚单位的运动），从定性水平提

高到定量水平。正象谢少文教授评价的那样：“这在我国还是第一次”。

贾氏模型把抗原抗体反应的微观过程展现在我们的面前，它沟通了微观过程和宏观上的数量关系。对于一些免疫血清学中长期争论而得不到解决的问题，比如抗原抗体反应的临界现象、Ramon最适比与Dean-Webb最适比的关系以及完全抗体和不完全抗体等重要问题也能给予满意的解释。更引人入胜的是这个理论体系的应用，也就是书中的应用表格一章。它关系到琼脂板单向免疫扩散、双向免疫扩散、对流免疫电泳、火箭免疫电泳等十几项临床检验中经常使用的免疫血清学方法。以最经典的凝集反应到最现代化的化学发光免疫分析，几乎都涉及到了。对于一些应用中看来没法进行理论定量的问题，它居然能给出表格；我们往往花上几个月才能通过大量实验摸索到的数据在表中能很快查到。

在国外免疫血清学、理论免疫血清学早已问世。但在国内，血清学只做为一个章节放在一般免疫学中。贾万钧同志的《血清学理论与应用》一书只偏重理论推导，况且，如何用贾氏模型去解决实际问题，这本身又是一个难度较大的应用研究课题。所以，本书的出版在临床检验和实验室的应用，促进理论与实际结合等方面有重要意义。

最后要指出的是，这个理论体系的应用，决不限于书中的十个表格，希望读者举一反三，使它能在实践中解决更多的问题，并且能在解决实际问题的过程中得到发展。

中国人民解放军第一军医大学教授

李文简

一九八七年六月

书 评

贾万钧同志二十年来阅读了有关免疫血清学大量中外文献，并从自己的研究实践中得到启发，提出了血清反应的分子机理，并指出这个理论的应用价值。这在我国还是第一次，给我国的免疫学研究指出了一个方向。

这本书先用一些篇幅将血清学的基本概念、一般规律以及现在流行的理论加以分析和综合，再根据自己的长期研究提出了抗原抗体反应的物理模型和数学模型以及这些模型的应用。

在国外，关于血清学的理论已有好几种。有的偏于物理的，但更多偏于化学方面。贾万钧同志从物理化学和胶体化学着眼，研究血清反应的机理，提高了免疫学中一个方面的基础。

在国内，虽然免疫学的著作很多，但是专门讨论理论问题的著作尚未成书，能够提出自己看法的文章更加少见。这样，贾万钧同志的这本著作特别值得注意。我个人认为这是一部很值得学习的新书。

谢少文教授

序

近年来,我先后应邀为辽宁省防疫站等单位举办的主管技师以上科技人员进修班、沈阳军区举办的检验军医学习班、北京市西城区主办的检验学习班等讲课,曾经写过几次讲义。本书是由这些讲义整理而成。

在写这本书的时候,我首先考虑的是读者的基础和要求。在讲课时感到,一般从事免疫血清学的科技人员虽然对数理化的基本原理和方法感到生疏,但他们对免疫血清学中的具体问题则是相当熟悉。顾及到这些积极的方面,我还是将理论部分做了简要的介绍。

本书的研究对象是抗原抗体反应体系的物理化学、胶体化学的本质和规律,揭示反应的分子机理,目的在于对抗原抗体反应进行理论定量。从研究的思序来看,首先是提出抗原抗体反应的微观动态模型,再进行沟通微观与宏观的统计处理,进而给出宏观上的各种现象和数量问题的答案。这一套思序是符合统计处理的研究方法的。由于目前对抗原抗体分子的形态结构尚不十分了解,在这项研究中统计力学原理和方法的应用的还不多。但应指出,在抗体枢纽区的研究中将会更多地应用到统计力学。

本书的理论部分,主要是抗原抗体反应的物理模型以及建立在这些模型基础上的沟通微观和宏观的统计处理。两者中模型部分更重要,因为没有一个是较为完备和接近实际情况的模型,统计结果是不会十分准确的。因此在我的理论研究中大部分时间是花在如何建立正确的抗原抗体反应的物理模型。

本书把理论免疫血清学的研究对象分成两部分:抗原抗体反应的微观过程,抗原抗体的形态结构与功能之间的联系。反应过程的阐明和推算都离不开那些与过程有关的反映形态结构和功能的微观模型以及沟通这些微观模型与宏观现象的物理化学、胶体化学的原

理和方法。因此，本书与一般免疫学、免疫化学、免疫血清学的区别在于，它运用了物理化学、胶体化学的动力学、热力学、统计学原理和方法揭示了抗原抗体反应的物理化学、胶体化学本质和规律，因此本书可以取名《免疫物理化学》。另一方面，由理论公式而计算出的定量表格在免疫血清学检验技术中能迅速提供准确的数据，给分析检验工作者以指导，因此，本书从实用角度叫做《免疫血清学检验指导》更合适。

先后有十几个单位的三十多人参加了这项工作的理论或应用研究。其中有中国科学院计算中心李萌涛、中国科学院物质结构研究所许松岩、中国医学科学院基础所邱长春、卫生部上海生物制品所章谷生教授等。也曾得到许多行政领导的支持。特别是得到了谢少文教授等老一辈免疫学家的鼓励和支持。在这里向他们表示衷心的感谢。

中国人民解放军总医院副研究员

贾万钧

一九八七、五、

目 录

第一章 抗原抗体反应的物理模型及其统计处理	(1)
第一节 抗原抗体反应动力学研究所面临的问题	(1)
第二节 以往的理论	(2)
第三节 抗原抗体反应的物理模型及统计处理	(4)
第二章 抗原抗体反应动力学	(10)
第一节 抗原抗体反应的一般速度方程	(10)
第二节 阻滞现象	(11)
第三节 抗原抗体反应的最适比	(14)
第四节 临界现象及其计算式	(19)
第二章 免疫血清学技术中的几个基本概念	(22)
第一节 抗原表面决定基	(22)
第二节 完全抗体与不完全抗体	(23)
第三节 抗血清效价	(26)
第四节 最佳抗体板	(33)
第五节 最佳抗原板	(34)
第六节 某些抗原的物化参数表	(34)
第四章 抗原抗体反应定量表	(36)
第一节 凝集反应的抗原最佳浓度参考表	(37)
第二节 絮状沉淀的抗原最佳浓度参考表	(40)
第三节 抗血清中抗体含量测定参考表	(42)
第四节 最佳抗原板制备表	(48)
第五节 最佳抗体板制备表	(50)
第六节 抗原表面决定基数目参考表	(67)
第七节 抗原抗体最适比参考表	(70)
第八节 液相化学发光免疫分析理论标准曲线的抗原浓度参考表	(78)
第九节 固相化学发光免疫分析理论标准曲线的抗原浓度参考表	(94)

第十节	酶标抗体（单克隆或多克隆）效价参考表·····	（ 97 ）
第五章	抗原抗体反应定量表在免疫血清学检验中的应用·····	（110）
第一节	在试管凝集、沉淀反应中的应用·····	（110）
第二节	在琼脂板免疫扩散反应中的应用·····	（119）
第三节	在免疫电泳中的应用·····	（127）
第四节	在酶联免疫吸附试验中的应用·····	（139）
第五节	在化学发光免疫分析及放免分析中的应用·····	（146）
第六节	在血清抗体含量测定中的应用·····	（154）
第六章	免疫血清学问答 100 例·····	（159）

第一章 抗原抗体反应的物理模型及其统计处理

第一节 抗原抗体反应动力学研究所面临的问题

Cromwell 早在1925年就奠定了抗原抗体沉淀或凝集反应场。日本学者，特别是绪方富雄等在这方面也做了很多工作。我国把沉淀或凝集反应场叫做滴定方阵。反应场的形式很多，图 1. 的形式是具有代表性的一种。

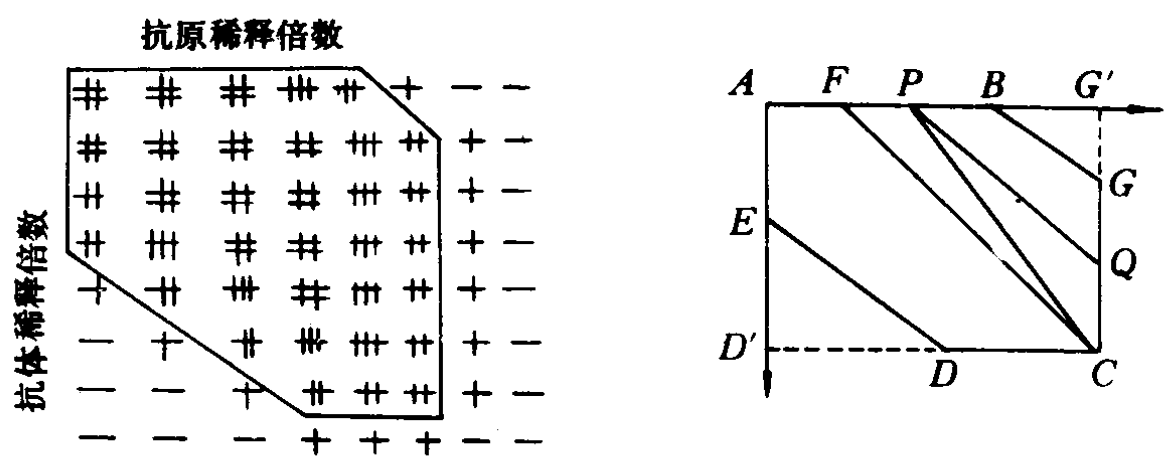


图 1 反应场示意图

反应场提出了下列问题：

1. 抗原抗体反应为什么会有阻滞域、过剩域、当量域？
2. 为什么抗体过剩引起的阻滞现象不如抗原过剩时明显与常见？
3. 为什么存在最适比？
4. 在最适比中为什么又有时最适比（反应最快）与量最适比（沉淀或凝集物最多）？
5. 在时最适比中为什么又分 Ramon 最适比（图1. PQ）与 Dean-Webb 最适比（图1. PC）？

6. 与Dean-Webb 最适比相比较, 为什么量最适比 (图 1. FC) 偏于抗原过剩域, Ramon 最适比偏于抗体过剩域?

7. 为什么随着抗原抗体浓度的稀释量最适比与Dean-Webb 最适比趋于一致?

8. 为什么随着抗原抗体浓度的增加 Dean-Webb 最适比与 Ramon 最适比趋于一致?

9. 为什么会有抗原抗体的临界浓度 (图 1. G' 、 D' 所代表的抗原抗体浓度)?

10. 为什么对于个别抗原抗体, 量最适比、Ramon 最适比、Dean-Webb 最适比会一致起来?

抗原抗体反应类型繁多, 但从根本上来讲, 大部分包括在沉淀反应和凝集反应的范围内。因此, 这些问题可以说是抗原抗体反应, 甚至可以说是免疫血清学的基本理论问题。

抗原抗体沉淀或凝集反应场是长期实践的结晶, 它既是免疫血清学理论研究的出发点, 也应是免疫血清学理论研究的归宿。

第二节 以往的理论

Arrhenius (1907) 和 Ehrlich (1911) 把抗原抗体反应看成是酸碱中和, 把质量作用定律用到抗原抗体反应中。实际上他们没有摆脱一般化学反应概念的束缚, 只是把化学反应的概念和规律简单地挪用到抗原抗体反应中。如果把物质存在形态的发展分成不同的阶段: 无机化合物、有机化合物、生物大分子、细胞……, 那么显而易见, 在每个发展阶段上都有相应的反应 (结合) 方式, 而且随着物质存在形态的发展, 它们的反应 (结合) 的方式和过程越来越复杂。抗原抗体反应是物质处于生物大分子和细胞水平上的反应或结合, 其反应形式和过程的复杂性当不言而喻了, 是不可能用酸碱中和来解释完全的。

因此, 初期的化学学说在实践面前遇到了不可解脱的困难。人们对它产生了怀疑, 不得不寻求别的解释。于是, 产生了吸附学说。吸附学说是 Bordet (1929) 提出来的。该学说认为, 抗原抗体反应

是吸附现象。吸附学说曾一度占优势，但它的缺点是不能解释抗原抗体反应的特异性，而支持抗原抗体反应特异性的事实越来越多。因此，吸附学说的这一突出弱点使化学学说又重新活跃并诞生了一个折衷的学说，这就是 Γοστεв 提出的化学—吸附学说。

从人类认识抗原抗体反应机理的历史来看，化学—吸附学说是人们走了两个极端之后提出来的。该学说的基本内容是，抗原抗体反应分成二个阶段：第一个阶段是抗原抗体反应形成简单的复合物，反应是特异的；第二阶段是复合物之间的结合，是非特异的吸附现象。他们认为，象化学学派那样认为抗原抗体反应只是一种特异的、受化学规律支配的反应是不全面的；另一方面，象吸附学说那样否定抗原抗体反应特异性也是不正确的。他们认为化学学说和吸附学说对抗原抗体反应机理的估计都是片面的，都只是部分地反映了实际情况。

化学—吸附学说洞察到抗原抗体反应的特异和非特异方面，并追溯到抗原抗体的结构上，这在认识上是可取的。但是，该学说把反应的第二阶段看成是非特异的吸附现象，这与免疫化学和血清学的现代成就相违背。

抗原抗体反应特异性的进一步证实，迫使吸附学说让位于化学学说。但是，化学学说的前程仍然坎坷不平。它不得不进行自我修整，格子论便诞生了。

格子论做为抗原抗体复合物组成和结构的学说，基本上是正确的。但它只考虑到抗体的交联而没考虑到抗体的同面结合（图2.）。

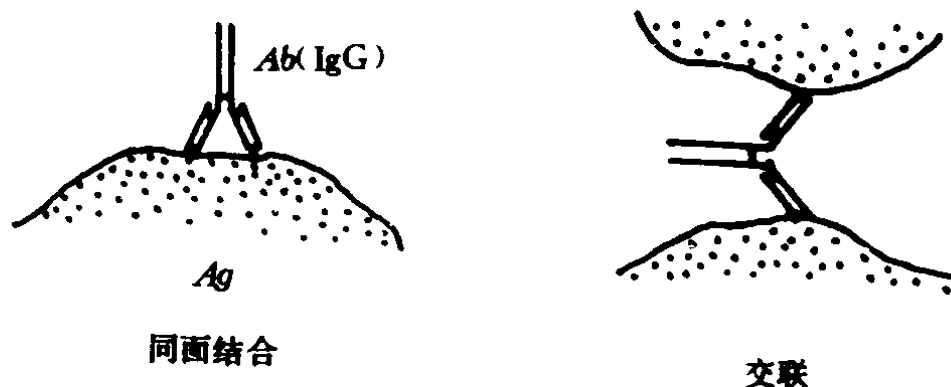


图2 抗体与抗原的同面结合与交联

它没有详细地研究抗原抗体的反应历程，更没有追溯到抗原抗体的形态结构。因此，它虽然能大体上（或定性地）描绘出抗原抗体反应的当量域、过剩域和阻滞域，但对反应场所提出的其他问题则不能回答。尽管格子论者千方百计地企图给出抗原抗体反应方程，从而进行定量理论研究，但正如 Гостев 所指出的那样，他们所给出的针对某一反应域（比如抗体过剩域）的计算式不能适用于邻近的反应域，而描述整个反应的方程却不能给出各种反应域（比如当量域、过剩域、阻滞域）的特殊形式。

以往理论之所以存在这些问题，主要是受历史条件的局限，当时人们对抗原抗体的一些必要的分子参数几乎一无所知。

第三节 抗原抗体反应的物理 模型及统计处理

一、反应历程及复合物的结构

近代免疫化学和血清学的成就提供了研究这个问题的必要且充分（尽管不十分充分）的条件，使我们对抗原抗体反应历程及其复合物结构做出进一步的设想：

（一）整个抗原抗体反应分成两个方面——非特异方面和特异方面。非特异方面指抗原抗体或它们的复合物要反应就必须通过扩散穿越介质，分子之间要彼此碰撞。特异方面是指抗原抗体及其复合物之间的结合。反应又可分成两个阶段，第一个阶段是抗原抗体之间、抗原抗体与复合物之间的结合；第二阶段是复合物之间的结合。必须指出，这里所说的两个方面、两个阶段都没有严格的时间概念。换言之，在某一瞬间上述的两个反应方面、两个阶段可能同时存在。

（二）抗原抗体及其复合物的扩散碰撞规律服从胶体化学中的 Smoluchowski 定律、Müller 定律以及周国城等提出的非球型对称扩散理论。

（三）第一阶段反应，由于有游离的抗原抗体参加，比起第二阶段的复合物之间的反应，扩散速度要大得多，反应要快得多。抗

原抗体浓度越大，比例合适，那么第一阶段所形成的复合物——初级复合物(即游离抗原抗体之间或它们与复合物之间形成的复合物)就越大。当抗原抗体浓度相当大且比例合适时，初级复合物便成为肉眼可见的颗粒，反应在第一阶段完成，没有第二阶段。在这种情况下，抗原抗体混合后的配位关系，通过彼此结合而被固定下来。抗原抗体浓度越稀或比例不合适，则初级复合物越小，若形成可见颗粒则初级复合物须经反复碰撞结合，反应很慢。它们混合后的配位关系早已破坏。在抗原抗体相当稀的时候，可以将初级复合物的组成理想化为一个抗原（或抗体）结合几个抗体（或抗原）(图 3.)。

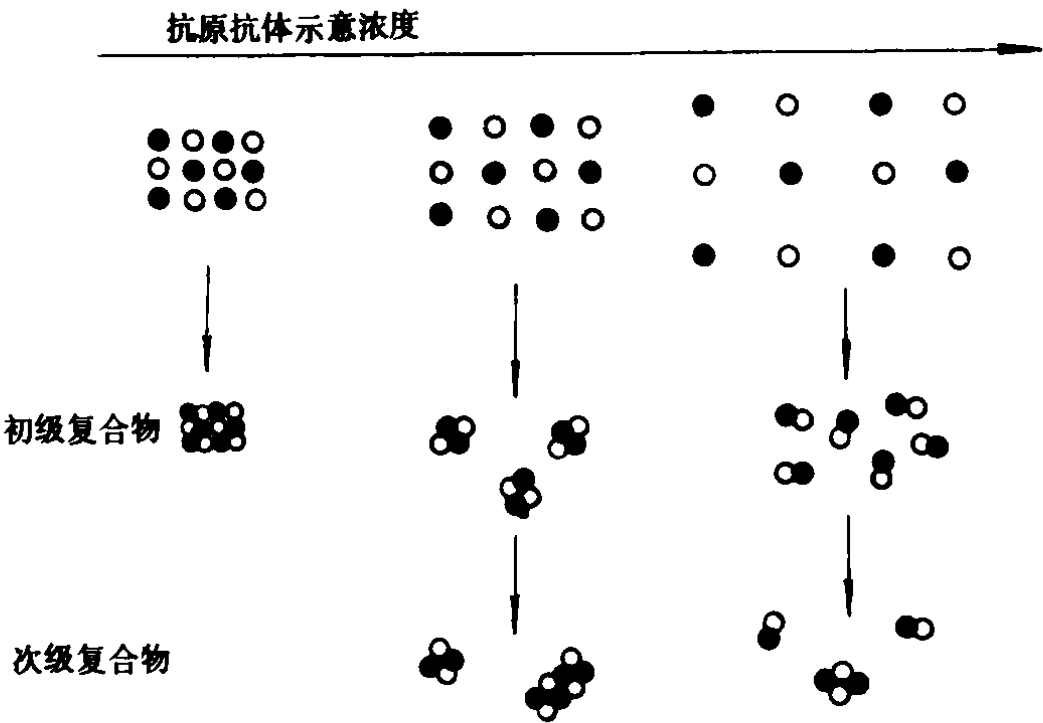


图 3 反应历程与浓度关系

当然事实上不会完全这样。

（四）在抗原抗体反应体系中，如果着眼于一个复合物，那么就会有很多种类型的反应。大体上可分成三种类型：该复合物与游离的抗原抗体反应；与其他复合物反应；自身反应（同面结合），即该复合物表面上的游离结合部位结合在它本身抗原表面上。这就是说，反应是多种方向的。这种微观上的多向性反映在宏观上便是抗原抗体反应的多域性（阻滞域、过剩域、当量域）。

抗原抗体反应的多向性与多域性

多 向 性	多 域 性
复合物与游离的抗原抗体反应 复合物之间反应 复合物表面的游离结合部位同面结合	可能导致过剩域、阻滞域 可能导致当量域 可能导致临界现象

(五) 在抗原抗体复合物中, 抗原抗体的配位数和结合价并不一致。结合价是实际参与结合的决定基或抗体结合部位数。结合价取决于抗原的决定基数目、抗体的结合部位数目、抗原抗体的相对大小、抗原表面的起伏、决定基的密度、分布以及抗原抗体的浓度比。对于一对给定的抗原抗体, 除了浓度比之外其它因素都随之确定了。因此, 它们的结合价将随着浓度比而变化 (图 4.)。配位数是指抗体 (抗原) 周围分布着的抗原 (抗体) 数目。

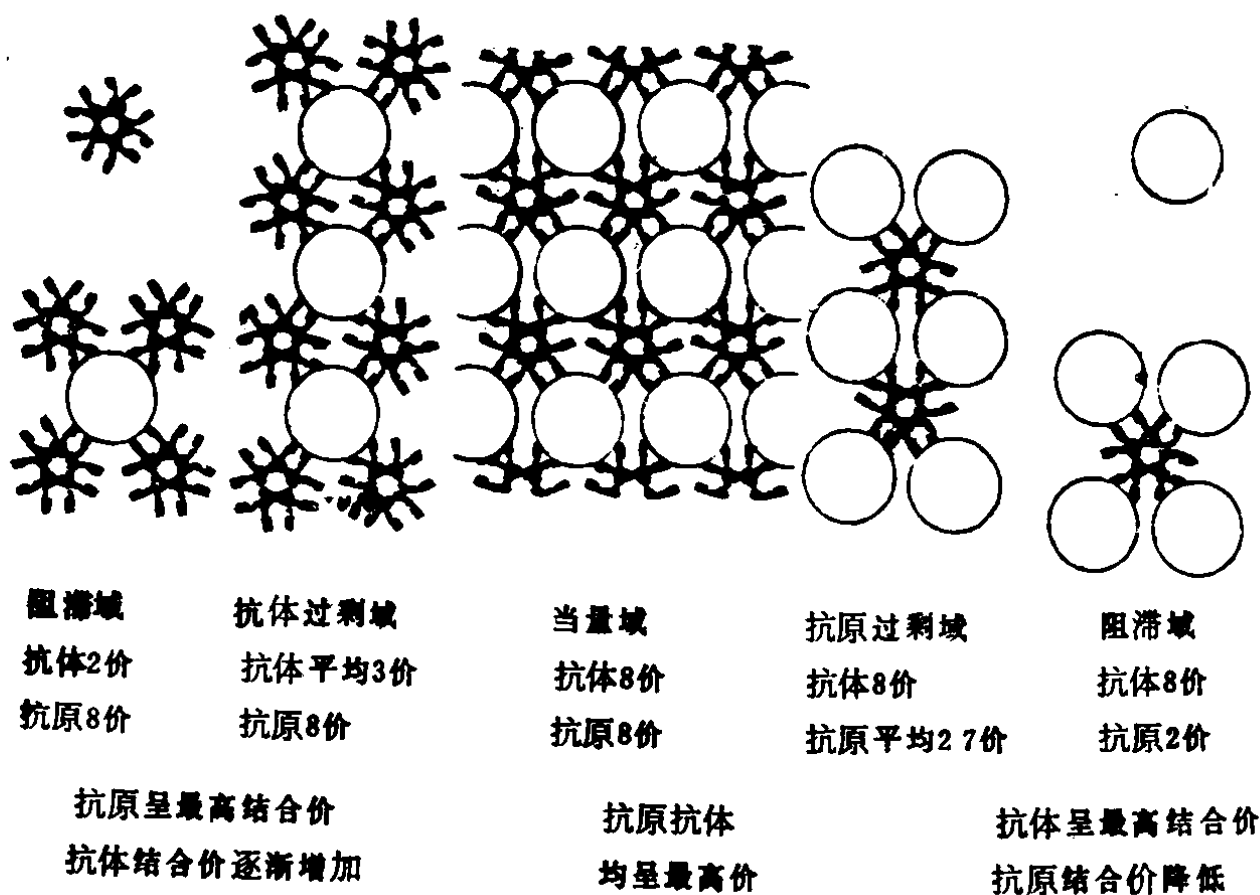


图 4 抗原抗体结合价随浓度比的变化规律

(六) 格子论做为复合物的结构学说基本上是正确的。但要指出的是, 抗体的特定结构是枢纽区, 因为有了这种结构, 抗体与抗

原可以交联也可以同面结合。在反应中究竟表现为那种结合方式，则取决于抗原或复合物的浓度以及抗体分子中枢纽区的灵活性。抗原或复合物的浓度大（不是抗体过剩），则交联将占优势；浓度小到一定程度则同面结合将占优势。在当量域中，随着反应的进程，复合物增大，则粒子（或颗粒）浓度迅速降低，复合物表面上的抗体游离结合部位将表现为同面结合。因此，即便是在当量域中复合物的增长或延伸能力也不是无限的。而反应终了时的复合物的尺寸取决于抗原抗体的初始浓度。因此，抗原抗体浓度低时，则需要高灵敏度的方法才能测出其复合物。这除了复合物的绝对量少以外，另一个重要的原因就是复合物小。

二、IgG 与多价抗原结合模型

Crot hers 和 Metzger 从 IgG 的形态结构，特别是 IgG 分子内部各片断之间的运动形式出发，提出 IgG 与多价抗原结合模型。

（一）抗体结合部位与抗原决定基结合的条件

假设结合部位 A 与决定基 D 相结合，那么结合部位 A 必然要出现在 D 周围的某个特定的小空间里（空间分布），而且还必须有特定的取向（角度分布）。如图 5. 中所示，只有当结合部位 A 的取

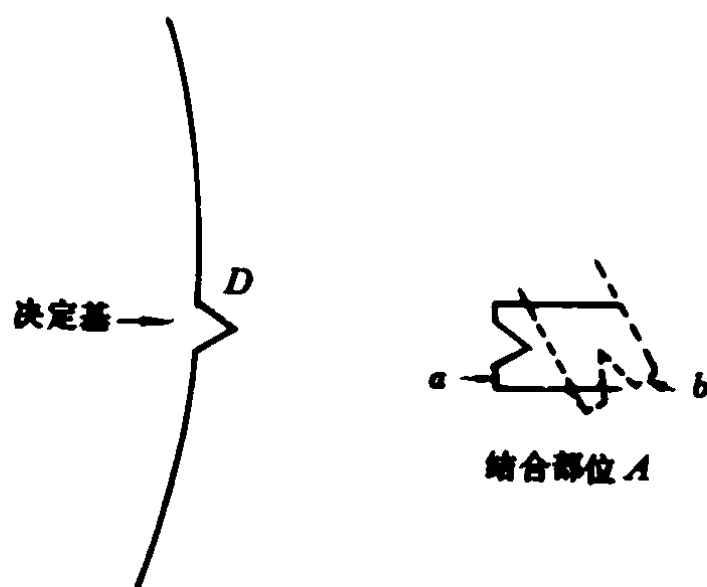


图 5 决定基与结合部位成键的几何条件

向是 a 时才能与 D 结合，而取向为 b 时则不能结合。因此，影响结合部位与决定基结合的因素有二个：空间分布与角度分布。但角度