

第二章 抗体的结构与功能

抗体 (antibody, Ab) 是机体免疫细胞被抗原激活后, 由分化成熟的终末 B 细胞---浆细胞合成、分泌的一类能与相应抗原特异性结合的具有免疫功能的球蛋白。这一概念是相对于抗原 (能刺激机体产生抗体的物质, antigen, Ag) 而建立的。经对不同免疫血清的电泳分析、超速离心分析和分子量测定等方法, 发现血清蛋白可分为白蛋白、 α_1 、 α_2 、 β 及 γ 球蛋白, 大部分抗体活性存在于 γ 球蛋白内, 但有小部分抗体活性可存在于 α 球蛋白和 β 球蛋白内 (图 2-1)。因此, 抗体是免疫球蛋白, 但免疫球蛋白不一定是抗体。1968 年和 1972 年的国际会议统一命名, 明确指出免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) 是指具有抗体活性或化学结构与抗体分子相似的球蛋白。

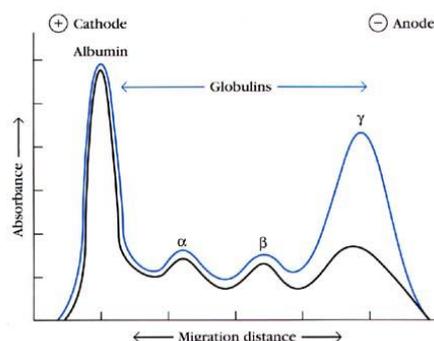


图 2-1 正常人血清和免疫血清电泳分离图

黑线: 正常人血清 蓝线: 免疫血清

抗体和免疫球蛋白 在很多情况下他们被视为同义词, 但侧重点有所不同。在涉及基因、免疫反应类别及遗传的场所, 常用免疫球蛋白这个概念, 而在具体实验操作技术时常用抗体的概念。

通过蛋白质生物化学、分子生物学、细胞生物学等多方面的大量研究, 人们对抗体的结构和功能有了较精确的了解。抗体不仅是生命活动中重要的成员, 在疾病的诊断、机理的认识和治疗上有着重要的位置, 而且也已成为现代生物学研究领域的重要工具之一。

第一节 抗体分子的结构

通过冷冻蚀刻电镜和精密的 X 射线晶体衍射等分析发现抗体分子的基本结构是由四肽链组成的, 包括二条较小的轻链和二条较大的重链, 成 Y 型结构 (图 2-2)。这样一个“Y”型分子被称为 Ig 分子的单体, 是构成免疫球蛋白分子的基本单位。下面从不同角度对抗体的分子结构进行阐述。

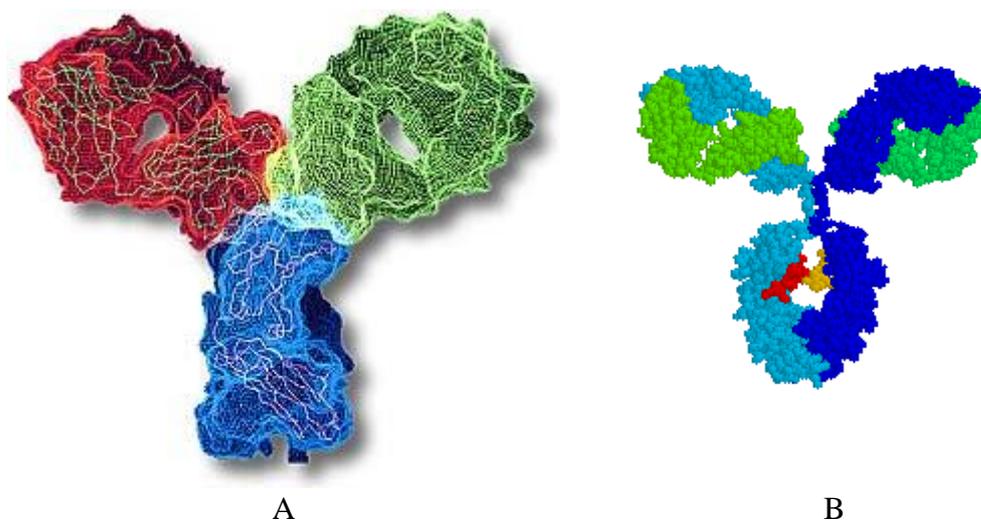


图 2-2 抗体分子基本结构模拟图

一、基本结构

(一) 轻链和重链

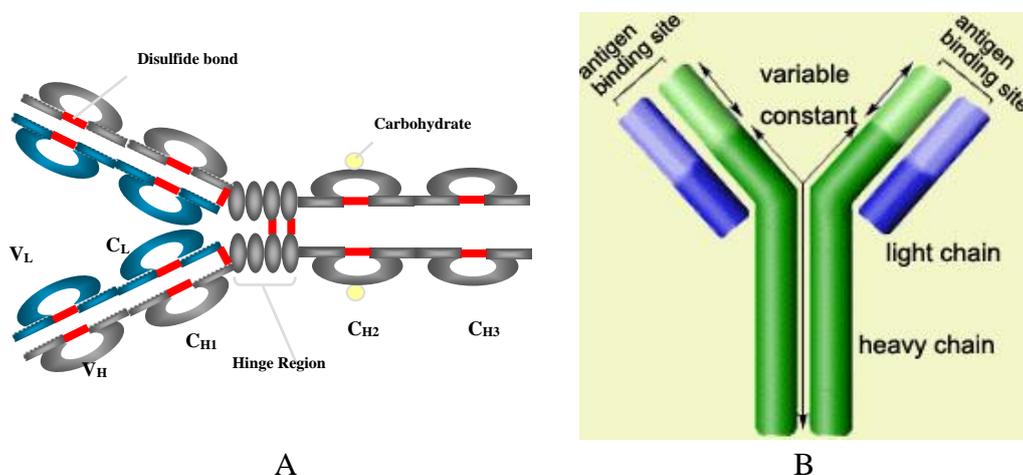


图 2-3 抗体分子基本结构示意图

图 2-3 是抗体分子基本结构的典型示意图。研究表明，抗体主要由二条轻链（light chain, L 链）和二条重链（heavy chain, H 链）经二硫键连接形成，两端游离的氨基或羧基分别命名为氨基端（N 端）和羧基端（C 端）。

1. 轻链（light chain, L 链）

大约由 214 个氨基酸残基组成，通常不含碳水化合物，分子量为 24kD，有两个由链内二硫键组成的环肽。L 链可分为 Kappa (κ) 与 lambda (λ) 2 个亚型。一个天然 Ig 分子上两条轻链的型别总是相同的，两型轻链的功能无差异。不同种属中两型轻链的比例不同。

正常人血清免疫球蛋白 κ : λ 约为 2: 1, 而在小鼠则为 20: 1。 κ : λ 比例的异常可能反映免疫系统的异常, 例如人类免疫球蛋白 λ 链过多提示可能有产生 λ 链的 B 细胞肿瘤。

2. 重链 (heavy chain, H 链)

重链大小约为轻链的 2 倍, 大约由 450-550 个氨基酸残基组成, 分子量 55-75kD, 含糖数量不同。每条 H 链含有 4~5 个链内二硫键所组成的环肽。不同 H 链由于氨基酸组成的排列顺序、二硫键的数目和位置、含的种类和数量不同, 其抗原性也不相同。根据 H 链抗原性的差异可将其分为 5 类: μ 链、 γ 链、 α 链、 δ 链和 ϵ 链。不同 H 链与 L 链 (κ 或 λ 链) 组成完整 Ig 的分子分别称之为 IgM、IgG、IgA、IgD 和 IgE。 γ 、 α 和 δ 链上含有 4 个环肽, μ 和 ϵ 链含有 5 个环肽。

所有重链都可以表达成两种分子型式: 分泌型和膜型。这两种分子的区别在于最后一个重链恒定区功能区的近羧基端氨基酸序列的不同。所有的重链也都有糖基化的 N 端, 即含有与天冬氨酸侧链相连的寡糖基团。不同的 Ig 的寡糖位置变化很大。寡糖的精确构成并非完全取决于多肽序列, 可能随抗体分子所处时的生理状态不同而有所不同。

(二) 可变区和恒定区

通过对 H 链或 L 链的氨基酸序列比较分析, 发现其氨基端 (N-末端) 氨基酸序列变化很大, 称此区为可变区 (Variable region, V 区), 而羧基端 (C-末端) 则相对稳定, 变化很小, 称此区为恒定区 (Constant region, C 区)。

1. 可变区

位于 L 链靠近 N 端的 1/2 (约含 108~111 个氨基酸残基) 和 H 链靠近 N 端的 1/5 或 1/4 (约含 118 个氨基酸残基)。每个 V 区中均有一个由链内二硫键连接形成的肽环, 每个肽环约含 67~75 个氨基酸残基。V 区氨基酸的组成和排列随抗体结合抗原的特异性不同有较大的变异。由于 V 区中氨基酸的种类及排列顺序千变万化, 故可形成许多种具有不同结合抗原特异性的抗体。

2. 恒定区

位于 L 链靠近 C 端的 1/2 (约含 105 个氨基酸残基) 和 H 链靠近 C 端的 3/4 区域或 4/5 区域 (约从 119 位氨基酸至 C 末端)。H 链每个功能区约含 110 多个氨基酸残基, 含有一个由二硫键连接的 50~60 个氨基酸残基组成的肽环。这个区域氨基酸的组成和排列在同一种属 Ig 同型 L 链和同一类 H 链中都比较恒定, 如人抗白喉外毒素 IgG 与人抗破伤风外毒素的 IgG, 它们的 V 区不相同, 只能与相应的抗原发生特异性的结合, 但其 C 区的结构是相同的, 即具有相同的抗原性, 应用马抗人 IgG 第二体均能与这两种抗不同外毒素的抗体 (IgG) 发生结合反应。这是应用荧光、酶、同位素等标记抗体 (第二抗体) 的重要基础。

(三) 超变区和骨架区

比较许多不同抗体的 V 区氨基酸序列, 发现 V_H 和 V_L 各有三个区域的氨基酸组成和排列顺序特别易变化。这些可变区域称为超变区 (hypervariable region, HVR), 分别用 HVR1、HVR2 和 HVR3 表示。 V_L 的 HVR 在 24-34、50-56、89-97 氨基酸位置。 V_H 的 HVR

在 31-35、50-56、95-102 氨基酸位置。

V_L 和 V_H 的三个超变区共同组成抗体与抗原的结合部位 (antigen-binding site)，该部位形成一个与抗原决定基互补的表面 (图 2-4)，因此超变区又称为互补性决定区 (complementarity-determining region, CDR)。 V_L 和 V_H 的 HVR1, HVR2, HVR3 又分别称为 CDR1, CDR2, CDR3，其中 CDR3 具有更高的超变程度。超变区也是 Ig 分子独特型决定簇 (idiotypic determinants) 主要存在的部位。在大多数情况下 H 链在与抗原结合中起更重要的作用。

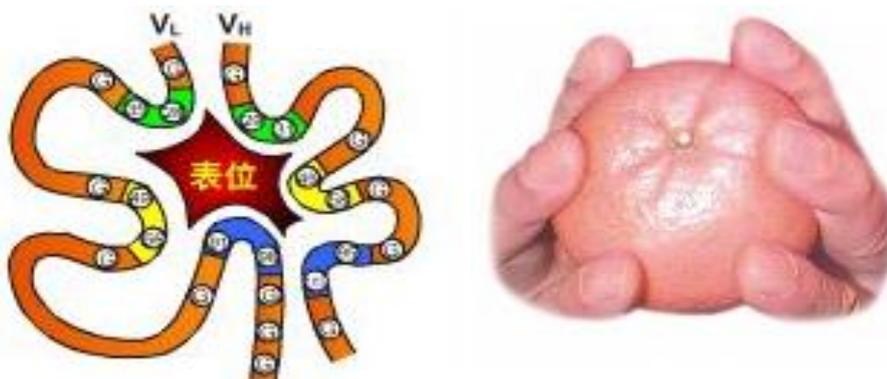


图 2-4 抗体的互补性决定区与抗原表位结合示意图

V 区中超变区之外的区域，其氨基酸组成和排列顺序相对不易变化，称为骨架区 (framework region, FR)。 V_L 和 V_H 各有 4 个骨架区，分别用 FR1、FR2、FR3 和 FR4 表示。

(四) 铰链区

铰链区 (hinge region) 位于 C_{H1} 和 C_{H2} 之间 (图 2-5)。是一非独立的功能区。不同 H 链铰链区含氨基酸数目不等， α_1 、 α_2 、 γ_1 、 γ_2 和 γ_4 链的铰链区较短，只有 10 多个氨基酸残基； γ_3 和 δ 链的铰链区较长，约含 60 多个氨基酸残基，其中 γ_3 铰链区含有 14 个半胱氨酸残基，如此造成五类 Ig 或亚类的铰链区不尽相同。IgM 和 IgE 缺乏铰链区。

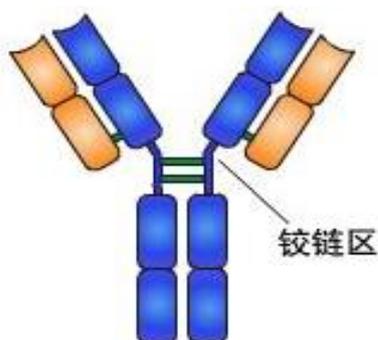


图 2-5 抗体分子铰链区示意图

铰链区包括 H 链间二硫键，该区富含脯氨酸，不形成 α -螺旋，易发生伸展及一定程度的转动，当 V_L 、 V_H 与抗原结合时此区发生扭曲，使抗体分子上两个抗原结合点能更好地与两个抗原决定簇发生互补结合（图 2-6）。 C_{H2} 和 C_{H3} 构型变化时，可显示出活化补体、结合组织细胞等生物学活性。铰链区对木瓜蛋白酶、胃蛋白酶敏感，当用这些蛋白酶水解免疫球蛋白分子时此区常发生裂解。

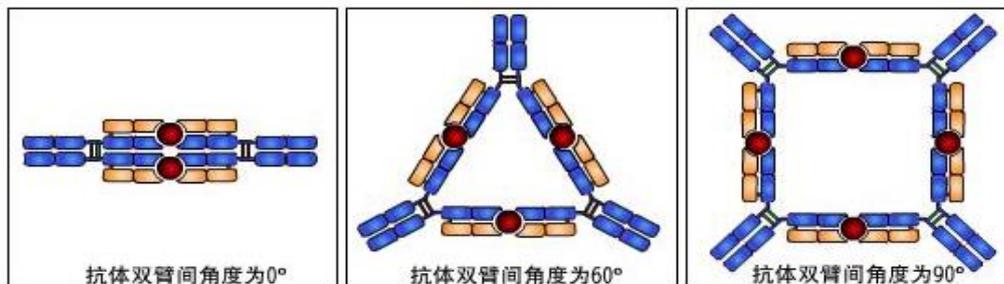


图 2-6 抗体分子铰链区的伸展扭曲特性

二、功能区

Ig 分子的每条肽链（H 链和 L 链）可通过链内二硫键折叠成若干球形功能区（或称结构域，domain）。这些功能区的功能虽不相同，但其结构相似。每一功能区约由 110 个氨基酸组成，其氨基酸序列有高度同源性。免疫球蛋白的每个功能区的二级结构是由几股多肽链折叠一起形成的两个反向平行的 β 片层（anti-parallel β sheet），每个 β 片层结构由 3 至 5 股反平行的多肽链组成。两个 β 片层中心的两个半胱氨酸残基由一个链内二硫键垂直连接，形成一个“ β 桶状（ β barrel）”或“ β 三明治（ β sandwich）”的结构（图 2-7），具有稳定功能区的作用。免疫球蛋白肽链的这种折叠方式称为免疫球蛋白折叠（immunoglobulin folding）。

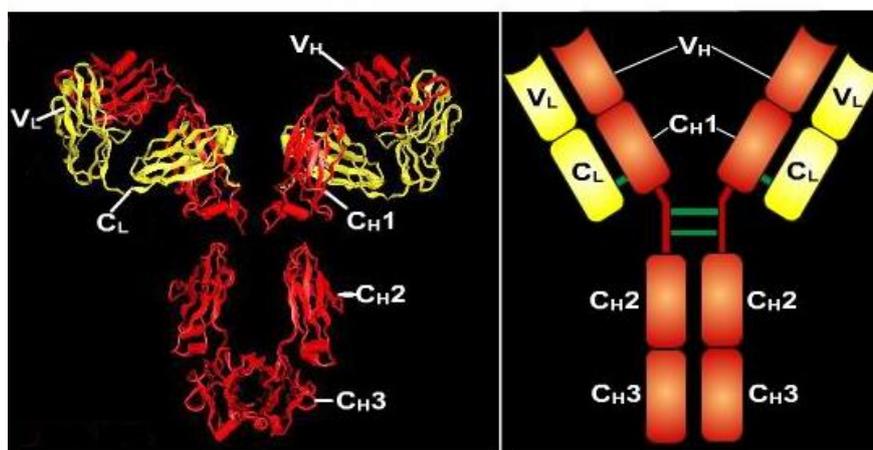


图 2-7 免疫球蛋白功能区折叠片断示意图

可变区中的超变区在 Ig 折叠的一侧形成超变区环（hypervariable loops），是与抗原结

合的位置。 V_H 和 V_L 通过非共价相互作用组成一个 F_V 区。单个Ig分子具有2个抗原结合位点（antigen-binding site），二聚体分泌型IgA具有4个抗原结合位点，五聚体IgM可有10个抗原结合位点。 C_L 和 C_H 上具有部分同种异型（allotype）的遗传标记。IgG的 C_{H2} 具有补体C1q的结合点，能活化补体的经典途径。母体IgG借助 C_{H2} 部分可通过胎盘主动传递到胎体内。IgG的 C_{H3} 具有结合单核细胞、巨噬细胞、粒细胞、B细胞和NK细胞Fc段受体的功能。IgM的 C_{H3} 具有补体结合位点。IgE的 $C_{\epsilon 2}$ 和 $C_{\epsilon 3}$ 功能区与结合肥大细胞和嗜碱性粒细胞 $Fc\epsilon RI$ 有关。各功能区位置及其主要功能见表2-1。

表 2-1 免疫球蛋白功能区的主要功能

功能区位置	主要功能
V_H 、 V_L	抗原结合部位
$C_{H1}\sim 3$ 和 C_L	Ig 遗传标志所在
$C_{H2}(IgG)$ 、 $C_{H3}(IgM)$	C1q 结合部位
$C_{H2}\sim C_{H3}(IgG)$	结合并通过胎盘
$C_{H3}(IgG)$	$Fc\gamma R$ 结合部位
$C_{H4}(IgE)$	$Fc\epsilon R$ 结合部位

三、水解片段

如前所述，抗体分子的铰链区对木瓜蛋白酶、胃蛋白酶敏感，当用这些蛋白酶水解免疫球蛋白分子时常发生裂解。Porter 等最早用木瓜蛋白酶（papain）水解兔 IgG,从而获知了 Ig 四肽链的基本结构和功能。抗体片段的水解特性不仅有助于我们了解抗体的结构，而且对认识抗体的功能及功能改进和应用具有意义。

（一）木瓜蛋白酶的水解片段

木瓜蛋白酶水解 IgG 的部位在铰链区 H 链链间二硫键近 N 端侧。切断后可得到三个片段（图 2-8）：

① 两个 Fab 段（fragment of antigen binding, 抗原结合段）,每个 Fab 段由一条完整的 L 链和一条约为 1/2 的 H 链组成，Fab 段分子量为 54kD。一个完整的 Fab 段可与抗原结合，表现为单价，但不能形成凝集或沉淀反应。Fab 中约 1/2H 链部分称为 Fd 段，约含 225 个氨基酸残基，包括 V_H 、 C_{H1} 和部分铰链区。

② 一个 Fc 段（fragment crystallizable, 可结晶段）,由连接 H 链二硫键和近羧基端两条约 1/2 的 H 链所组成，分子量约 50kD。Ig 在异种间免疫所具有的抗原性主要存在于 Fc 段。

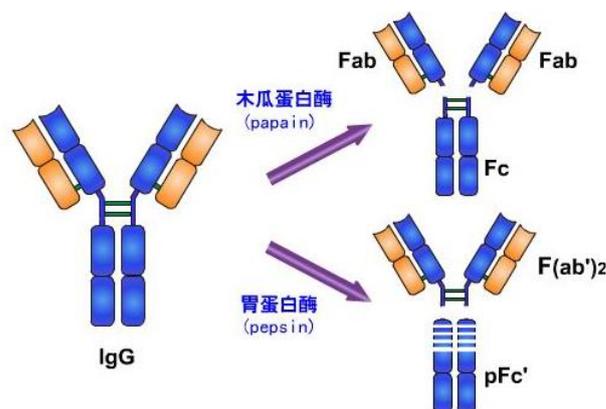


图 2-8 免疫球蛋白水解片段示意图

(二) 胃蛋白酶的水解片段

Nisonoff 等最早用胃蛋白酶 (pepsin) 裂解免疫球蛋白。胃蛋白酶在铰链区 H 链链间二硫键近 C 端切断 Ig 分子, 获得一个 $F(ab')_2$ 片段及若干 pFc' 小分子片段 (图 1-8)。 $F(ab')_2$ 包括一对完整的 L 链和一对由链间二硫键相连的略大于 Fab 中 Fd 的 H 链 (称为 Fd') , 约含 235 个氨基酸残基, 包括 V_H 、 V_{H1} 和铰链区。 $F(ab')_2$ 具有双价抗体活性, 与抗原结合可发生凝集和沉淀反应。双价的 $F(ab')_2$ 与抗原结合的亲和力要大于单价的 Fab。由于应用 $F(ab')_2$ 时保持了结合相应抗原的生物学活性, 又减少或避免了 Fc 段抗原性可能引起的副作用, 因而在生物制品中有较大的实际应用价值。例如白喉抗毒素、破伤风抗毒素等均是抗体经胃蛋白酶消化后精制提纯的生物制品。虽然 $F(ab')_2$ 与抗原结合特性方面同完整的 Ig 分子一样, 但由于缺乏 Ig 中 Fc 部分, 因此不具备固定补体以及与细胞膜表面 Fc 受体结合的功能。 $F(ab')_2$ 经还原等处理后, H 链间的二硫可发生断裂而形成两个相同的 Fab' 片段。Ig 的 Fc 段被胃蛋白酶水解成若干小分子片段, 称为 pFc' , 失去生物学活性。

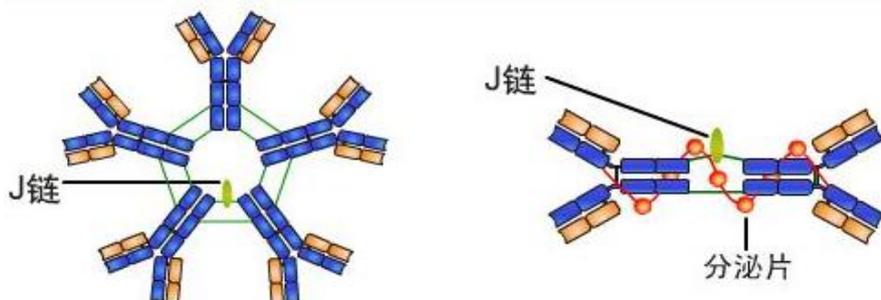
四、其它成分

(一) J 链

免疫球蛋白具有单体、双体和五聚体等形式。单体是由一对 L 链和一对 H 链组成的基本结构, 如 IgG、IgD、IgE 血清型 IgA; 双体是由 J 链连接的两个单体, 如分泌型 IgA (secretory IgA, SIgA) 二聚体 (或多聚体) IgA 结合抗原的亲和力 (avidity) 要比单体 IgA 高; 五聚体是由 J 链和二硫键连接五个单体, 如 IgM。μ 链 Cys414 ($C_{\mu 3}$) 和 Cys575 (C 端的尾部) 对于 IgM 的多聚化极为重要。在 J 链存在下, 通过两个邻近单体 IgMμ 链 Cys 之间以及 J 链与邻近 μ 链 Cys575 之间形成二硫键组成五聚体。由粘膜下浆细胞所合成和分泌的 IgM 五聚体, 与粘膜上皮细胞表面 pIgR (poly-Ig receptor, pIgR) 结合, 穿过粘膜上皮细胞到粘膜表面成为分泌型 IgM (secretory IgM)。

J 链 (joining chain) 存在于二聚体分泌型 IgA 和五聚体 IgM 中 (图 2-9)。J 链分子

量约为 15kD，由于 124 个氨基酸组成的酸性糖蛋白，含有 8 个半胱氨酸残基，通过二硫键连接到 μ 链或 α 链的羧基端的半胱氨酸。J 链可能在 Ig 二聚体、五聚体或多聚体的组成以及在体内转运中的具有一定的作用。IgG、IgD 和 IgE 是单体，没有 J 链。



2-9 J链和分泌片断示意图

(二) 分泌成分

分泌成分 (secretory component, SC)，又称分泌片 (secretory piece)，是分泌型 IgA 上的一个辅助成分 (图 1-9)。分子量约为 75kD，为一种糖蛋白，由上皮细胞合成，以共价形式结合到 Ig 分子，并一起被分泌到粘膜表面。SC 的存在对于抵抗外分泌液中蛋白水解酶的降解具有重要作用。

第二节 抗体的分类

免疫球蛋白能与抗原特异性结合，具有抗体活性。动物经天然抗原免疫后可产生针对该抗原上不同决定簇的多种抗体，显示出异质性。同时免疫球蛋白也属于蛋白质大分子，其本身也具有免疫原性。决定 Ig 抗原特异性的决定簇位于 Ig 分子结构的不同链和区，并据此可将免疫球蛋白分为不同的类型。

一、免疫球蛋白的分类

免疫球蛋白根据其分子结构、大小、带电量、溶解度及其与抗原的作用等的不同，可以分成不同的类、亚类、型和亚型。

(一) 类

抗体分子的重链根据其恒定区抗原特异性的差异可分成 μ 链、 γ 链、 α 链、 δ 链和 ϵ 链。根据重链类别可将同一种属所有个体内的 Ig 分成 5 类 (class)，分别称之为 IgM、IgG、IgA、IgD 和 IgE。这种差异是由重链恒定区氨基酸组成、排列顺序、构型及二硫键等不同而决定的。每一 Ig 分子内其各条重链的类别都相同。各类免疫球蛋白的理化特性和生物学特性见表 2-2。

表 2-2 人类免疫球蛋白的理化特性和生物学特性

理化特性	免疫球蛋白				
免疫球蛋白	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
重链名称	γ	α	μ	δ	ϵ
重链功能区数目	4	4	5	4	5
主要存在形式	单体	单体、双体	五聚体	单体	单体
分子量(kD)	146-170	160,400	970	175	188
碳水化合物 (%)	4	10	12	18	12
血清浓度(mg/dl)	1150±300	210±50	150	0.3-4	0.002
血清总 Ig (%)	75	10	5-10	<1	<0.001
外分泌液	-	+++	+	-	-
经典途径活化补体	++	-	+++	-	-
代替途径活化补体	+	+	?	+	+
半衰期 (天)	20-23	5.8	5.1	2.8	2.5
合成部位	脾、淋巴结 浆细胞	粘膜相关淋 巴样组织	脾、淋巴结 浆细胞	扁桃腺、 脾浆细胞	粘膜固有 层浆细胞
通过胎盘	+	-	-	-	-
免疫作用	抗菌、抗 病毒、抗 毒素、自 身抗体	粘膜局部免 疫作用, 抗 菌、抗病毒, 免疫排除功 能	早期防御作 用, 溶菌, 溶 血, SmIgM, 天然血型抗 体, 类风湿因子	SmIgM+SmIgD + 正应答	抗寄生虫 感染, I 型 超敏反应

(二) 亚类

同一类 Ig, 根据其重链恒定区 (主要是铰链区) 氨基酸组成的较小差异、以及二硫键位置和数目的不同, 又可分为亚类 (subclass)。亚类间抗原性的差异要小于不同类之间的差异。如人类 IgG 有 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 四个亚类 (图 2-10); IgA 有 IgA1、IgA2; IgM 有 IgM1 和 IgM2。IgD 和 IgE 目前尚未发现有亚类。

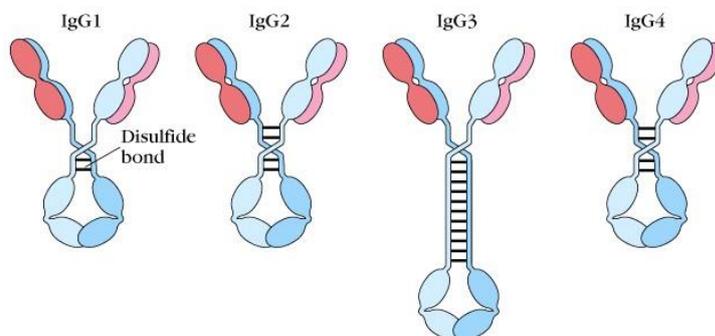


图 2-10 Ig 的不同亚类

(三) 型

根据各类 Ig 轻链恒定区化学结构与抗原性的差异, 可将轻链分成 κ 链和 λ 链, Ig 也据此分为 κ 和 λ 两个型 (type)。不同人种二型比例有差异, 不同种属间差异更大。正常人血清免疫球蛋白 κ : λ 约为 2: 1, 而在小鼠则为 20: 1。

(四) 亚型

所有 κ 链恒定区的结构基本相同, 但 λ 链恒定区的氨基酸排列有差异, 据此可分为 $\lambda 1$ 、 $\lambda 2$ 、 $\lambda 3$ 和 $\lambda 4$ 四个亚型 (subtype)。亚型的表示方式有时也有所不同。例如 λ 链 190 位氨基酸为亮氨酸时, 称 OZ(+), 也即 $\lambda 1$; 为精氨酸时, 称 OZ(-), 或 $\lambda 2$ 。又如 λ 链 154 位为甘氨酸时, 称 Kern(+), 或 $\lambda 3$; 为丝氨酸时, 称 Kern(-), 或 $\lambda 4$ 。OZ 标志和 Kern 标志都是 λ 链的亚型标志。

二、按免疫球蛋白抗原特性分类

Ig 本身具有抗原性。将 Ig 作为免疫原免疫异种动物、同种异体或在自身体内可引起不同程度的免疫性。根据 Ig 不同抗原决定簇存在的不同部位以及在异种、同种异体或自体中产生免疫反应的差别, 可把 Ig 的抗原性分为同种型、同种异型和独特型等三种不同抗原决定簇 (图 2-11)。

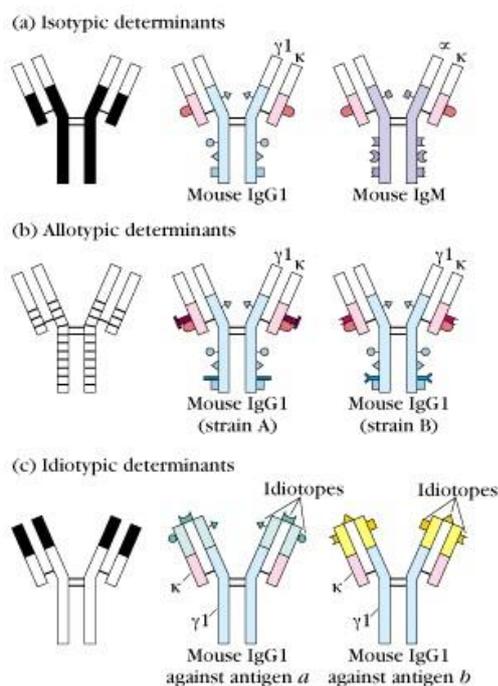


图 2-11 抗体的抗原性决定簇

(一) 同种型

同种型 (isotype) 是指同一种属内所有个体共有的 Ig 抗原特异性的标记, 在异种体内

可诱导产生相应的抗体。换句话说,同种型抗原特异性因种属(species)而异。同种型的抗原性主要位于C_H和C_L上。同种型主要包括Ig的类、亚类,型和亚型。他们可以用抗C区H链和L链的抗体,借助血清学的方法进行鉴定。由于同种型抗原决定簇是某一种属动物所有个体Ig分子上的共有成分,因此不能作为遗传标志。

(二) 同种异型

同种异型(allotype)是指同一种属不同个体间的Ig分子抗原性的不同,在同种异体间可诱导免疫反应。同种异型抗原性的差别往往只有一个或几个氨基酸残基的不同,可能是由于编码Ig的结构基因发生点突变所致,并被稳定地遗传下来,因此Ig同种异型可作为一种遗传标记(genetic markers),这种标记主要分布在C_H和C_L上。

1. IgG重链的同种异型标志(G_m)

已发现在 γ 1、 γ 2、 γ 3和 λ 4重链上均存在有同种异型标记,包括:G1_ma、x、f、z;G2_mn;G3_mg1、g5、b0、b1、b3、b4、b5、c3、c5、s、t、u、v;G4_m4a、4b,共20种左右。其中G表示 λ 链,1、2、3或4表示亚类 λ 1、 λ 2、 λ 3和 λ 4,m代表标记(marker)。

除G1_mf和z位于IgG1分子的C γ 1区外,其余的G_m均位于Fc部位。一条 γ 链可能同时具有一个以上的G_m标志,如白种人常常在 γ 1H链C γ 1区有G1_mz,Fc部位有G1_ma。由于人第14号染色体编码四种IgG亚类的C区基因C γ 1、C γ 2、C γ 3和C γ 4是密切连锁的,因此IgGH链各亚类G_m标记可作为间倍体(haplotype)遗传给子代。

2. IgA重链的同种异型标志(A_m)

α 2H链已发现有A2_m1和A2_m2两种。A2_m1在411、428、458和467位氨基酸上分别为苯丙氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、缬氨酸;A2_m2则分别为苏氨酸、谷氨酸、异亮氨酸和丙氨酸。 α 1H链上尚未发现有同种异型存在。

3. IgE重链(ϵ 链)

IgE重链上的同种异型目前只发现Em1一种。

4. κ 链上的同种异型

旧称为Inv,现分为Km1、2和3。Km1在153位和191位氨基酸上分别为缬氨酸和亮氨酸,Km2分别为丙氨酸和亮氨酸,Km3分别为丙氨酸和缬氨酸。 λ 轻链上尚未发现有同种异型。

(三) 独特型

独特型(idiotype)为每一种特异性IgV区上的抗原特异性。不同抗体形成细胞克隆所产生的IgV区具有与其客观存在抗体V区不同的抗原性,这是由可变区中成其是超变区的氨基酸组成、排列和构型所决定的。所以,在单一个体内所存在的独特型数量相当大,可达 10^7 以上。独特型的抗原决定簇称为独特位(idiotope),可在异种、同种异体以及自身体内诱导产生相应的抗体,称为抗独特型抗体(anti-idiotypic antibody,Id)。独特型和抗独特型抗体可形成复杂的免疫网络系统,在免疫调节中具有重要地位。

三、免疫球蛋白分子的超家族

应用 DNA 序列分析和 X 晶体衍射分析等研究表明,许多细胞膜表面和机体某些蛋白质分子,其多肽链折叠方式与 Ig 折叠相似,在 DNA 水平和氨基酸序列上与 IgV 区或 C 区有较高的同源性,它们可能从同一原始祖先基因(primordial ancestral gene)经复制和突变衍生而来。编码这些多肽链的基因称为免疫球蛋白基因超家族(immunoglobulin gene superfamily),这一基因超家族所编码的产物称为免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily,IGSF)(图 2-12)。

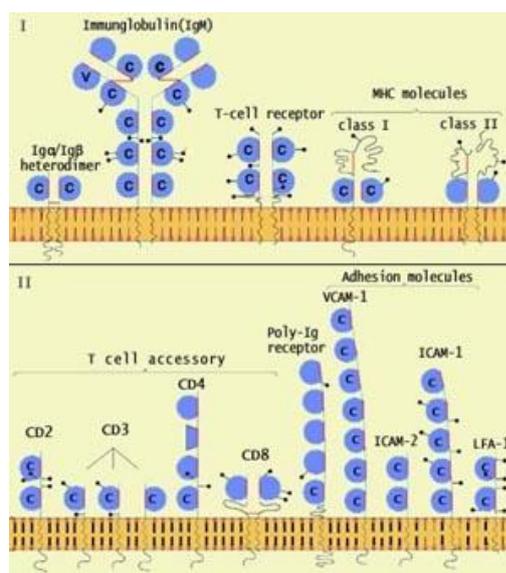


图 2-12 免疫球蛋白分子的超家族

由于细胞表面标记、单克隆抗体以及基因工程研究的进展,近年来发现属于 IGSF 的成员已达近百种,主要包括 T 细胞、B 细胞抗原识别受体和信号传导分子、MHC 及相关分子、Ig 受体、某些细胞因子受体、神经系统功能相关分子、以及部分白细胞分化抗原(CD)。

IGSF 的成员均含有 1~7 个 Ig 样功能区,每个 Ig 样功能区约含 100(70~110)个氨基酸残基,功能区的二级结构是由 3~5 股反平行 β 折叠股各自形成两个反平行 β 片层的平面,每个反平行 β 折叠股由 5~10 个氨基酸残基组成, β 片层内侧的疏水性氨基酸起到稳定 Ig 折叠的作用,大多数功能区内有一个二硫键,垂直连接两个 β 片层,形成二硫键的两个半胱氨酸间有 55~75 个氨基酸残基,使之成为一个球形结构,肽链的这种折叠方式称为免疫球蛋白折叠(Ig fold)。

根据 IGSF 功能区中 Ig 折叠方式、两个半胱氨酸之间氨基酸残基的数目以及与 IgV 区或 C 区同源性的程度,IGSF 功能区可分为 V 组、C1 组和 C2 组。

IGSF 的功能是以识别为基础,因此又称为识别球蛋白超家族。IGSF 很可能最早起源于原始的具有粘附功能的基因,通过复制和突变衍生形成了识别抗原、细胞因子受体、IgFc 段受体、细胞间粘附分子以及病毒受体等不同的功能区。

第三节 抗体的基因结构及其表达和抗体多样性

一、抗体分子的基因库

Ig 分子是由三个不连锁的 Ig κ 、Ig λ 和 IgH 基因所编码。Ig κ 、Ig λ 和 IgH 基因定位于不同的染色体上(表 2-3)。编码一条 Ig 多肽链的基因是由在胚系中多个分隔的 DNA 片段(基因片段)经重排而形成的。1965 年 Dreyer 和 Bennet 首先提出假说,认为 Ig 的 V 区和 C 区是由分隔存在的基因所编码,在淋巴细胞发育过程中这两个基因发生易位而重排在一起。1976 年日本学者利根川进应用 DNA 重组技术证实了这一假说。利根川进由此获得 1987 年医学和生理学诺贝尔奖。

表 2-3 免疫球蛋白基因定位

编码多肽链	基因符号(人)	基因染色体定位	
		人	小鼠
κ 轻链	Ig κ	2	6
λ 轻链	Ig λ	22	16
重链	IgH	14	12

二、重链基因的结构及其重排和表达

(一) 重链基因库

人类 H 链基因库中编码的基因片段包含有先导序列基因(Leader sequence, L)、可变区基因(Variation region, V_H)、多样性基因(Diversity, D_H)、连接基因(Joining, J)及恒定区基因(Constant region, C_H)片段的外显子,在上述各外显子之间都有无编码功能的长短不一的碱基序列插入(图 2-13)。

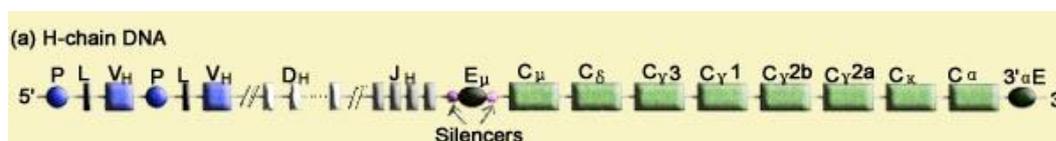


图 2-13 重链 V 区基因库连锁群结构图

1. 先导序列基因(L 片段)

在每个 V_H 基因片断的 5' 端都有两个 L 基因。在 L1 上游有启动子,在 L1 基因与 V_H 基因 5' 端之间有 93 个碱基的插入序列。L1 基因编码先导肽 N 末端大部分氨基酸(约 15~16 个氨基酸)。L2 基因与 V_H 基因 5' 端直接相连,编码先导肽 C 末端的 4 个氨基酸。H 链在粗面内质网核糖体内合成的过程中,疏水性型的先导肽位于 V_H 的 N 端,它引导 H 链穿越内质网上的通道进入内质网。穿膜后先导肽被内质网上的先导肽酶切断水解。因此,已装配的 Ig 肽链 N 端无先导肽。

2. 可变区 (V_H) 基因片段

人类重链基因库中有许多 V_H 基因片段, 已鉴定出 119 个, 其中具有开放读框 (open reading frame, ORF)、能进行重排转录表达的功能性 V_H 基因片段为 51 个。小鼠 V_H 基因片段约为 250~1000 个。

V_H 基因片段与 D_H、J_H 重排后, 构成编码 Ig H 链 V 功能区 (V domain) 的基因。其中 V_H 基因片段编码 V 区靠 N 端 96~101 个氨基酸残基, 包括 CDR1、CDR2 和 3 个骨架区 (FR1、FR2、FR3)。

3. 多样性 (D_H) 基因片段

D 基因片段仅存在于 H 链, 不存在于 L 链, 位于 J_H 基因群的 5' 端, 特点是序列和长度多变。小鼠 D_H 共有 12 个片段, 人约有 30 个功能性 D_H 片段。D 片段编码 H 链 CDR3 中大部分氨基酸残基。

4. J 基因片段 (J_H)

J_H 连接 V 基因片段和 C 基因片段。小鼠 J_H 有 4 个, 人有 9 个 J_H 片段, 其中 6 个是有功能的, 编码 15~17 个氨基酸, 构成部分 CDR3 和第 4 个骨架区。

5. 恒定区 (C_H) 基因片段

C_H 基因位于 J_H 基因群的 3' 端, J_H 和 C_H 间约有 1300 个碱基的间隔, 在此插入序列中含有增强子元件。人类 C_H 基因群由 9 段 C_H 基因组成, 从 5' 端起分别为 μ、δ、γ3、γ1、α1、γ2、γ4、ε 及 α2。小鼠 C 区基因片段从 5' 端到 3' 排列的顺序是 C_μ-C_δ-C_{γ3}-C_{γ1}-C_{γ2b}-C_{γ2a}-C_ε-C_α。除 δ 基因外, 其它 8 段基因的 5' 侧都有一段无编码功能的特殊碱基序列, 称为转换区 (switch region, S)。S 区是重组酶识别的部位, 在 Ig 合成的类别转换中起重要作用。每个 C_H 基因中各含有 3~4 个外显子, 每个外显子分别编码相应的恒定区功能。

Ig 类别转换 (class switch) 是指一个 B 细胞克隆在分化过程中, V 基因不变, 而 C_H 基因片段发生不同重排。比较 C_H 基因片段重排后基因编码的产物, 其 V 区相同, 而 C 区不同。即识别抗原的特异性相同, 而 Ig 的类或亚类发生改变。Ig 可能是通过缺失模式和 RNA 剪接两种机制来实现类别的转换 (图 2-14)。

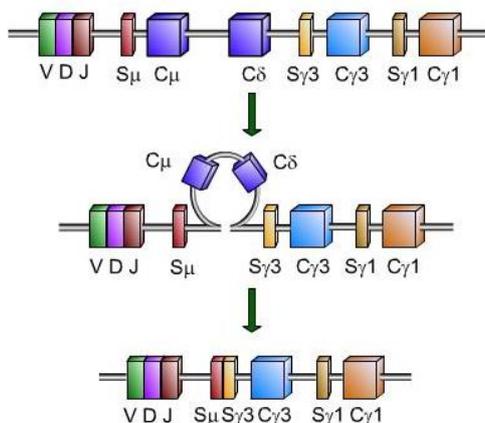


图 2-14 Ig 的类别转换

5. 膜表面 Ig 重链基因

膜表面 Ig (SmIg) 是 B 细胞识别抗原的受体。SmIg 和分泌性 Ig 的 H 链结构相类似, 所不同的是 SmIg H 的羧基端多含一段穿膜的疏水性氨基酸残基和胞浆区。因此 SmIg H 链的转录本 (transcript) 要比分泌性 IgH 链转录本多 1~2 个外显子。编码 H 链的羧基端部分, 其氨基酸残基的数目视 H 链不同而有差异。如人 SmIgu 链的这一部分长约 41 个氨基酸残基, 而小鼠 SmIge 链此区域却有 72 个氨基酸残基。这个区域包括三个部分: ①一个酸性间隔子, 与 H 链最后一个 CH 功能区相同, 位于胞膜外侧; ②含 26 个氨基酸残基的疏水区, 为穿膜部分; ③胞浆内部分, 3~28 个氨基酸残基不等。

(二)、重链基因的重排

H 链 V 区基因是由 V、D、J 三种基因片段经重排组成。首先发生 D 与 J 基因片段的连接形成 D-J, 然后再与 V 片段连接 (图 2-15)。H 链 V 区基因的易位和连接是通过七聚体-间隔序列-九聚体识别信号和重组酶而完成的。

CH 基因由多个外显子组成, 位于 J 基因片的下游。每一个外显子编码一个功能区。铰链区由单独的外显子编码。一个相同的 C 区基因可与若干不同的 V 区基因在 DNA 水平上重排, 并在 mRNA 水平上剪接而连成编码一条肽链的基因。

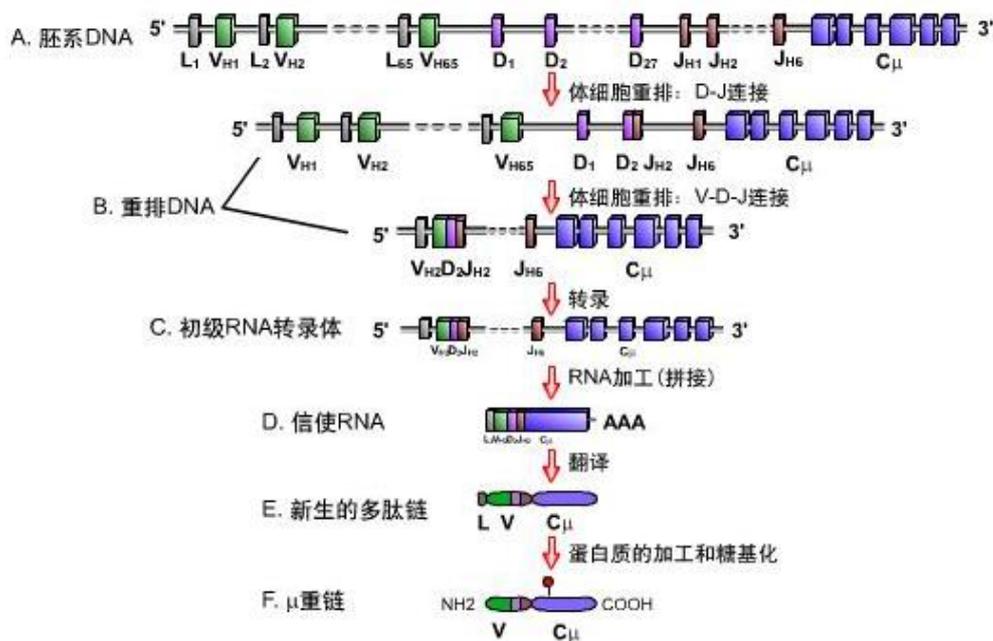


图 2-16 Ig 基因的表达 (重链 V-D-J 重排、转录及翻译)

三、轻链基因的结构和重排

(一)轻链基因库

1. κ 链基因库

κ 链基因库包含 V 基因片段 (Vκ)、J 基因片段 (Jκ) 和 C 基因片段 (Cκ)。小鼠 Vκ

基因片段约有 250 个， J_{κ} 有 5 个（其中 4 个有功能）， C_{κ} 只有 1 个。人 V_{κ} 基因片段约有 100 个（50 个有功能）， J_{κ} 有 5 个， C_{κ} 也只有 1 个。 V_{κ} 与 J_{κ} 基因片段重组后构成编码 κ 链 V_{κ} 功能区的基因，其中编码第 26~32、48~55 位氨基酸的碱基序列多变，为 CDR1 及 CDR2 区。 V_{κ} 与 J_{κ} 基因连接处编码 CDR3。 J_{κ} 与 C_{κ} 基因间插入序列中有增强子（图 2-16）。

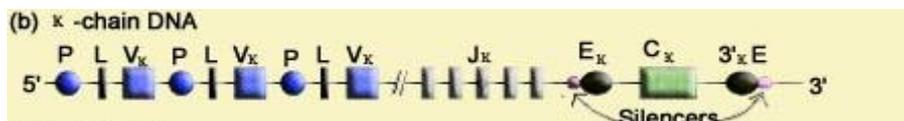


图 2-16 κ 轻链基因库连锁群结构图

2. λ 链基因库

λ 链基因也是由 V_{λ} 、 J_{λ} 和 T_{λ} 基因片段经重排后组成。小鼠 V_{λ} 基因片段有 3 个： $V_{\lambda 1}$ 、 $V_{\lambda X}$ ；4 个 J_{λ} 和 4 个 C_{λ} 基因片段，分为 ($J_{\lambda 2}C_{\lambda 2}$ ， $J_{\lambda 4}C_{\lambda 4}$ 和 $J_{\lambda 3}C_{\lambda 3}$ ， $J_{\lambda 1}C_{\lambda 1}$) 两组。人 V_{λ} 约有 100 个，至少有 6 个 C_{λ} 与各自的 J 基因片段相连（图 2-17）。



图 2-17 λ 轻链基因库连锁群结构图

(二) 轻链基因的重排

在 IgH 链基因重排后，L 链可变区基因片段随之发生重排（图 2-18）。在 L 链中， κ 链基因先发生重排，如果 κ 基因重排无效，随即发生 λ 基因的重排。L 链的 CDR1、CDR2 和大部分 CDR3 由 V_{κ} 或 V_{λ} 基因片段所编码（ V_{κ} 编码 95 个氨基酸残基）， J_{κ} 或 J_{λ} 基因片段编码 CDR3 的其余部分和第四个骨架区（ J_{κ} 编码从 96 位到 108 位氨基酸）。 κ 链基因是 V 基因片段（ V_{κ} ）、J 基因片段（ J_{κ} ）和 C 基因片段（ C_{κ} ）重排后组成。 λ 链基因也是由 V_{λ} 、 J_{λ} 和 T_{λ} 基因片段经重排后组成，但它们的基因重排比较复杂。人 λ 链确切的重排情况还不清楚。

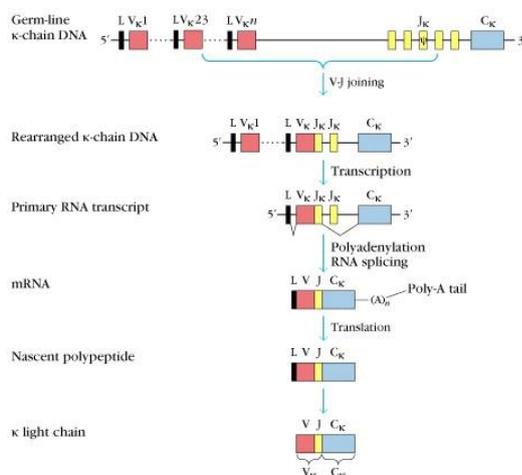


图 2-18 轻链基因的重排

四、抗体多样性的遗传基础

抗体的多样性及异质性都是指血清中抗体的高度不均一性。机体对外界环境中种类众多的抗原刺激可产生相应的特异性抗体，推算抗体的多样性在 1000 万以上。造成抗体多样性的原因有外因和内因。外因是自然界中千变万化的抗原分子及其表位，但更重要的是内因，即基因控制（图 2-19）。抗体多样性的遗传基础主要表现在以下几个方面。

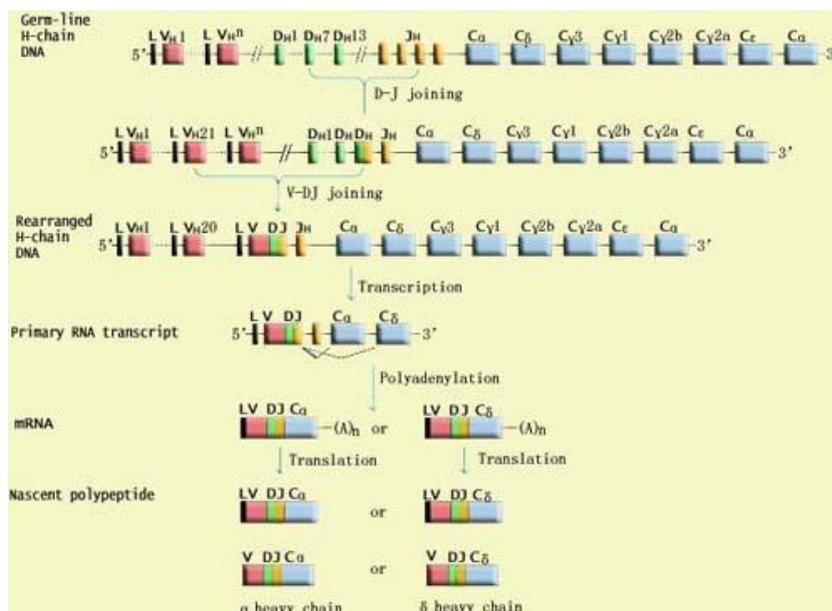


图 2-19 抗体多样性的遗传基础

1. 胚系 (germ line) 中众多的 V、D、J 基因片段

在胚系上，尚未重排的 Ig 基因片段数量相当多，这是生物在长期进化中形成的。

2. VDJ 连接的多样性

在 L 链基因重排过程中 V-J 连接位点有一定的变异范围，例如 V_L 基因片段 3'端 5 个核苷酸 CCTCC 和 J_L 基因片段 5'端 4 个核苷酸 GTGG 连接时，总共 9 个核苷酸中只有 6 个核苷酸编码 L 链第 95、96 位氨基酸，因此可产生 8 种不同的连接方式。在 H 链基因重排过程中 K-J 以及 V-D-J 连接时都可有连接多样性的存在。

3. 体细胞突变 (somatic mutation)

体细胞在发育过程中可发生基因突变。以长期体外培养的 B 细胞前体为例，每个细胞每个碱基对的突变率约为 $1 \sim 43 \times 10^5$ ，这种点突变主要发生在 V 基因。体细胞突变扩展了原有胚系众多基因片段重排的多样性。

4. N 区的插入

在 Ig H 链基因片段重排过程中，有时可通过无模板指导的机制 (nontemplet directed

mechanism),在重组后 D 基因片段的两侧即 V_H-D_H 或 D_H-J_H 连接处额外插入称为 N 区的几个核苷酸。N 区不是由胚系基因所编码。在 N 区插入前,先通过外切酶切除 V_H-D_H 或 D_H-J_H 连接处几个碱基对,然后通过末端脱氧核苷酸转移酶 (terminal deoxynucleotidyl transferase,TdT) 连接上 N 区。由于额外插入了 N 区,可发生移码突变 (frame shift mutation),使插入部位以及下游的密码子发生改变,从而编码不同的氨基酸,大大地增加了抗体的多样性。

5. L 链 H 链相互随机配对

例如小鼠 H 链和 κ 链随机配对后推算其多样性可达 4.8×10⁷,如果再加上 H 链与 λ 链的随机配对其多样性应更多了。

几种不同的遗传机制造成每一个体中膜结合性和分泌性抗体的多样性。表 2-4 总结了每种机制对总的抗体库的贡献。

表 2-4 鼠抗体多样性的机制

	H	κ	λ
胚系基因*			
V 基因片段	250~1000	250	2
J 片段	4	4	3
D 片段	12	0	0
多样性组合			
V×J(×D)	10 000~40 000	1000	6
H-L 链组合			
H×κ	1×10 ⁷ ~4×10 ⁷		
H×λ	5×10 ⁴ ~10×10 ⁴		
连接多样性库总的潜能	10⁹~10¹¹		

*基因片段的数目是估计值。

小鼠在所有受检动物种中是独特的,因为其 Vλ 基因的数目少且含 λ 轻链的抗体中多样性是有限的。除了这些,其他种类的哺乳动物 (包括人) 基本上是相似的。

五、抗体的生物合成与装配

抗体主要由脾、淋巴结和其它淋巴组织内的浆细胞所产生。抗体的生物合成和装配过程可归纳为以下几个步骤:①在 DNA 转录及 mRNA 剪接后,携带遗传信息的 mRNA 移至粗面内质网上的核糖体,重、轻链分别在大、小核糖体上合成;②重链与轻链汇集于粗面内质网中,装配为四肽;③所形成的 Ig 分子向细胞膜移动,在移动过程中加糖,形成完整的 Ig 分子后分泌到细胞外,成为游离的抗体。

第四节 抗体分子的生物学功能

抗体是一种重要的免疫分子，具有多方面的生物学活性。图 2-20 形象地表示了抗体的多种生物学功能。

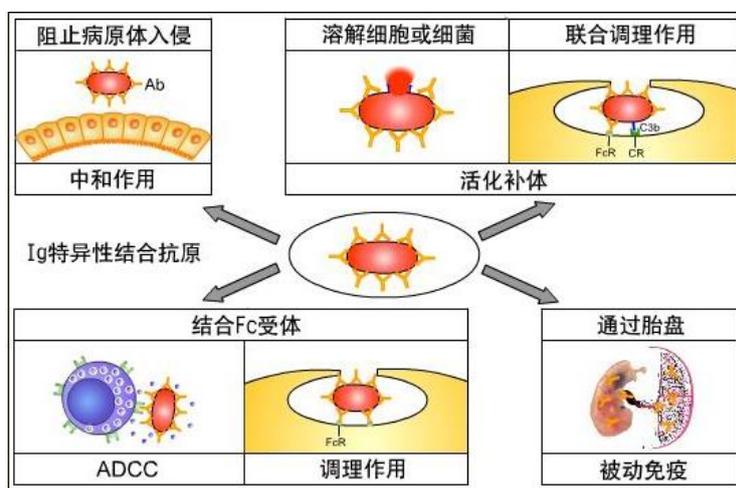


图 2-20 抗体分子的生物学功能

一、特异性结合抗原

Ig 最显著的生物学特点是能够特异性地与相应的抗原结合，如细菌、病毒、寄生虫、某些药物或侵入机体的其他异物。Ig 的这种特异性结合抗原特性是由其 V 区（尤其是 V 区中的超变区）的空间构成所决定的。Ig 的抗原结合点由 L 链和 H 链超变区组成，与相应抗原上的表位互补，借助静电力、氢键以及范德华力等次级键相结合，这种结合是可逆的，并受到 pH、温度和电解浓度的影响。在某些情况下，由于不同抗原分子上有相同的抗原决定簇，或有相似的抗原决定簇，一种抗体可与两种以上的抗原发生反应，此称为交叉反应（cross reaction）。

抗体分子可有单体、双体和五聚体，因此结合抗原决定簇的数目（结合价）也不相同。Fab 段为单价，不能产生凝集反应和沉淀反应。F(ab')₂ 和单体 Ig（如 IgG、IgD、IgE）为双价。双体分泌型 IgA 有 4 价。五聚体 IgM 理论上应为 10 价，但实际上由于立体构型的空间位阻，一般只有 5 个结合点可结合抗原。

利用抗体的这一功能，我们可以将抗体用于治疗感染或进行免疫学诊断。

二、与补体结合

当抗体与相应抗原结合后，IgG 的 C_{H2} 和 IgM 的 C_{H3} 暴露出结合 C₁q 的补体结合点，开始活化补体（图 2-21）。IgM、IgG1、IgG2 和 IgG3 可通过经典途径活化补体。凝聚的 IgA1、IgG4 及 IgE 等可以通过替代途径活化补体。IgG 活化补体需要一定的浓度，以保证两个相邻

的 IgG 单体同时与 1 个 C1q 分子的两个亚单位结合。

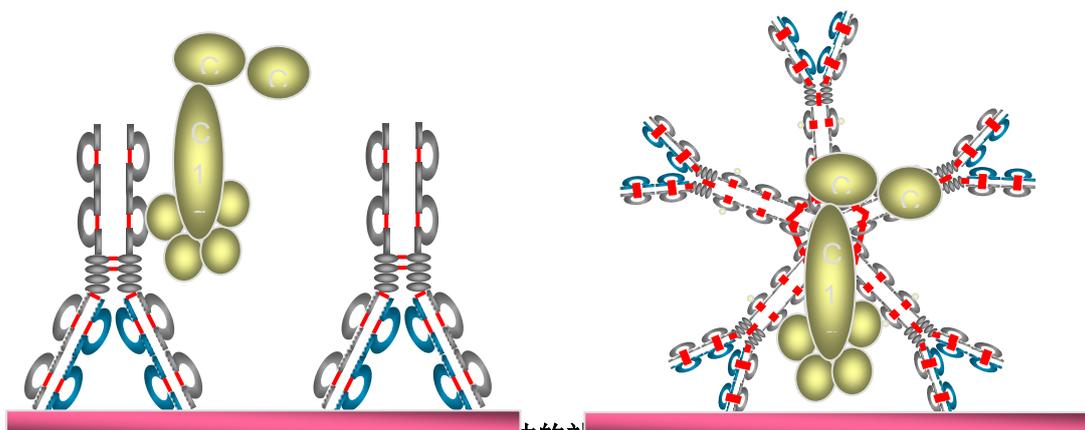


图 2-22 抗体的补体激活

三、结合 Fc 受体

不同细胞表面具有不同 Ig 的 Fc 受体，分别用 FcγR、FcεR、FcαR 等来表示。当 Ig 与相应抗原结合后，由于构型的改变，其 Fc 段可与具有相应受体的细胞结合。IgE 抗体由于其 Fc 段结构特点，可在游离情况下与有相应受体的细胞（如嗜碱性粒细胞、肥大细胞）结合，称为亲细胞抗体（cytophilic antibody）。抗体与 Fc 受体结合可发挥不同的生物学作用。

1. 介导 I 型超敏反应

变应原刺激机体产生的 IgE 可与嗜碱性粒细胞、肥大细胞表面 IgE Fc 受体（FcεRI）高亲和力结合。当相同的变应原再次进入机体时，可与已固定在细胞膜上的 IgE 结合，刺激细胞脱颗粒，释放组胺，合成由细胞脂质来源的介质如白三烯、前列腺素、血小板活化因子等，引起 I 型超敏反应。

2. 调理吞噬作用

调理作用（opsonization）是指抗体、补体 C3b、C4b 等调理素（opsonin）促进吞噬细菌等颗粒性抗原（图 2-22）。由于补体对热不稳定，因此又称为热不稳定调理素（heat-labile opsonin），抗体又称热稳定调理素（heat-stable opsonin）。补体与抗体同时发挥调理吞噬作用，称为联合调理作用。中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞具有高亲和力或低亲和力的 FcγRI（CD64）和 FcγRII（CD32），IgG 尤其是人 IgG1 和 IgG3 亚类对于调理吞噬起主要作用。嗜酸性粒细胞具有亲和力 FcγRII，IgE 与相应抗原结合后可促进嗜酸性粒细胞的吞噬作用。抗体的调理机制一般认为是：①抗体在抗原颗粒和吞噬细胞之间“搭桥”，从而加强了吞噬细胞的吞噬作用；②抗体与相应颗粒性抗原结合后，改变抗原表面电荷，降低吞噬细胞与抗原之间的静电斥力；③抗体可中和某些细菌表面的抗吞噬物质如肺炎双球菌的荚膜，使吞噬细胞易于吞噬；④吞噬细胞 FcR 结合抗原抗体复合物，吞噬细胞可被活化。

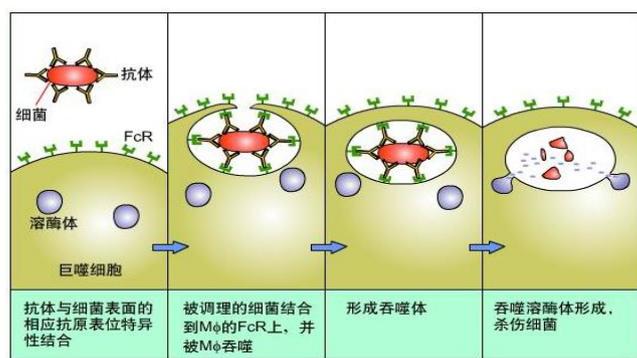


图 2-22 抗体的调理作用

3. 发挥抗体依赖细胞介导的细胞毒作用

当 IgG 抗体与带有相应抗原的靶细胞结合后, 可与有 Fc γ R 的中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞、NK 细胞等效应细胞结合, 发挥抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) (图 2-23)。目前已知, NK 细胞发挥 ADCC 效应主要是通过其膜表面低亲和力 Fc γ RIII (CD16) 所介导的。IgG 不仅起到连接靶细胞和效应细胞的作用, 同时还刺激 NK 细胞合成和分泌肿瘤坏死因子和 γ 干扰素等细胞因子, 并释放颗粒, 溶解靶细胞。嗜酸性粒细胞发挥 ADCC 作用是通过其 Fc ϵ RII 和 Fc α R 介导的, 嗜酸性粒细胞可脱颗粒释放碱性蛋白等, 在杀伤寄生虫如蠕虫中发挥重要作用。

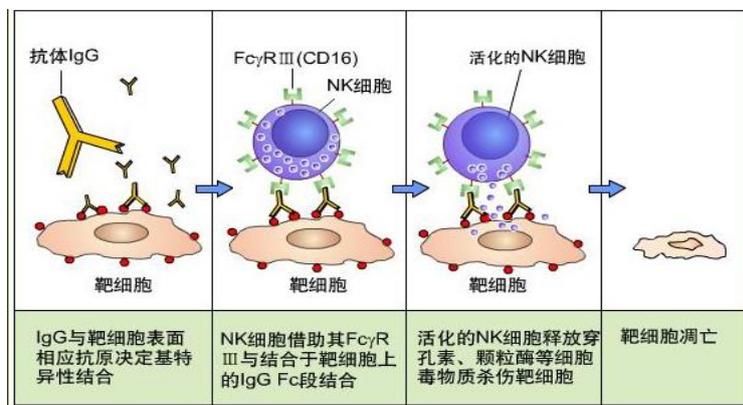


图 2-23 抗体的 ADCC 功能

此外, 人 IgG Fc 段能非特异地与葡萄球菌 A 蛋白 (staphylococcus protein A, SPA) 结合, 应用 SPA 可纯化 IgG 等抗体, 或代替第二抗体用于标记技术。

四、通过胎盘和粘膜

在人类, IgG 是唯一可通过胎盘从母体转移给胎儿的 Ig。IgG 能选择性地与胎盘母体一侧的滋养层细胞结合, 转移到滋养层细胞的吞饮泡内, 并主动外排到胎儿血循环中。IgG 的

这种功能与 IgG Fc 片段结构有关，如切除 Fc 段后所剩余的 Fab 并不能通过胎盘。IgG 通过胎盘的作用是一种重要的自然被动免疫，对于新生儿抗感染有重要作用。

分泌型 IgA 则可通过呼吸道和消化道的粘膜，是粘膜局部免疫的最主要因素。

五、参与免疫调节

抗体对体液免疫有正负调节作用。此外，抗独特型抗体可识别自身体内其他抗体或细胞克隆上的独特型决定簇。这种自我识别是抗体分子参与免疫调节的重要机制之一，即独特型网络调节。