



生物化学实验

免疫学实验技术

6.1 抗原与抗体

北京大学 王青松 胡晚倩

概述

- 抗原与相应抗体之间的特异性结合反应是免疫学检测的基础。抗体作为免疫学检测中的重要分子，广泛应用于生命科学研究、临床诊断及疾病的治疗。

抗原

- 抗原 (antigens, Ag) 是指所有能诱导机体产生免疫应答, 并与相应免疫应答产物 (抗体或致敏淋巴细胞) 在体内外发生特异性结合的物质。

抗原的基本特性

- **免疫原性 (Immunogenicity)**
 - 指抗原刺激机体引起免疫应答的能力。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。
- **免疫反应性 (Immunoreactivity)**
 - 指抗原与免疫应答产物（抗体或效应T细胞），在体内外发生特异性结合反应的能力。
 - 抗原和相应的抗体在空间结构上互补，可通过非共价键的相互作用，紧密结合在一起。

抗原与抗体结合的高度特异性是免疫学检测的分子基础。

抗原的分类

根据抗原性质

完全抗原

- 既具有免疫原性又有反应原性的物质称为完全抗原。
- 例如大多数蛋白质、细菌、病毒、细菌外毒素等。



不完全抗原（半抗原）

- 只具有反应原性，缺乏免疫原性的物质称为半抗原。例如小分子化合物，激素及药物等。

半抗原需要与蛋白质载体结合后，可获得免疫原性，引起机体产生特异性抗体。

抗原的特异性

- 抗原与抗体的结合具有高度的特异性，其分子基础是抗原表位与抗体的抗原结合部位的结构互补性。
- 抗原表位 (antigenic epitope) 又称抗原决定簇 (antigenic determinant) ，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。
- 抗原表位通常是由5~15个氨基酸残基或5~7个多糖残基或核苷酸组成。

抗原表位是决定抗原特异性的分子基础。

抗原的交叉性

- **交叉反应**

- 天然抗原通常含有多种或多个抗原表位。两种抗原可以有结构相同或相似的抗原表位，称为共同抗原表位。
- 共同抗原表位的存在，使抗体除与其相应抗原的自身抗原表位特异性结合，还可与具有共同抗原表位的其它抗原发生反应，称为交叉反应

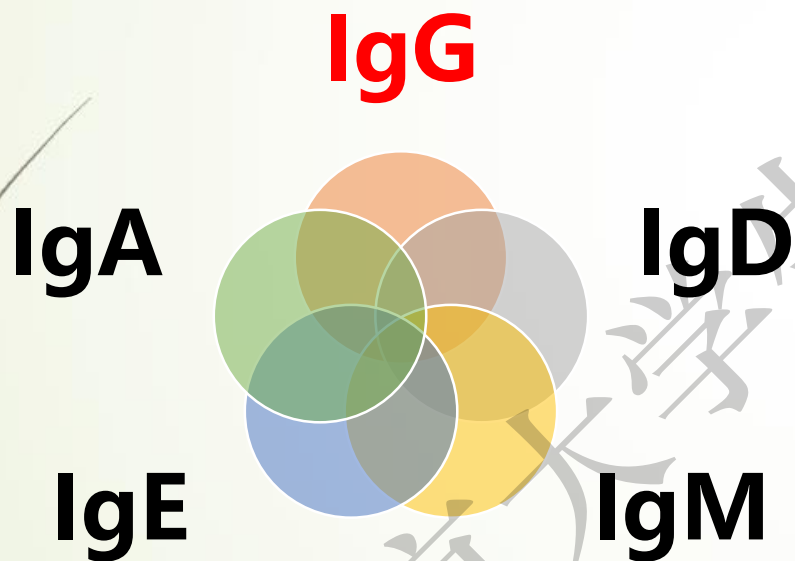
- **交叉抗原**

- 含有共同抗原表位的不同抗原，称为共同抗原或交叉抗原。

抗体

- 抗体 (antibody, Ab) 是机体免疫系统在抗原物质刺激下, 由B淋巴细胞的终末分化细胞——浆细胞所产生的一类可与相应的抗原发生特异性反应的免疫球蛋白 (Immunoglobulins, Ig) 。
- 免疫球蛋白主要存在于人和动物血液 (血清)、组织液及其他分泌液中。

免疫球蛋白的分类



- IgG是血清中的主要Ig，含量最高，约占血清中Ig总量的75~80%。
- IgG有免疫保护作用，可抗菌和抗病毒，能激活补体、中和毒素，在体液免疫中最为重要。
- IgG与抗原结合可出现沉淀反应、凝集反应、补体结合反应和中和反应。

抗体的基本结构

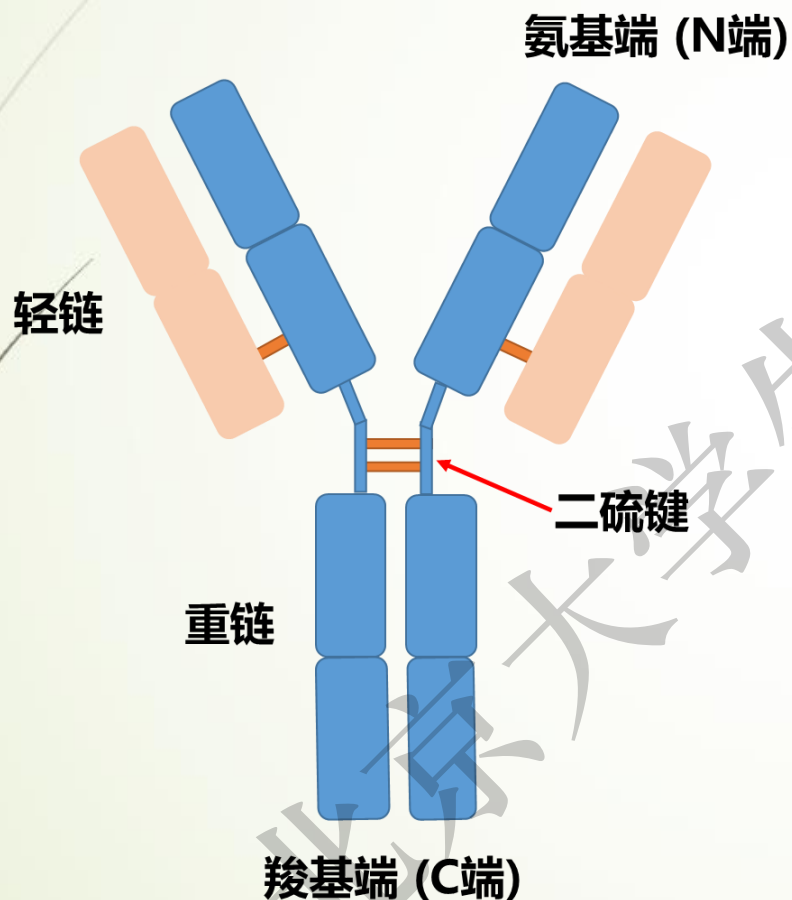
- 抗体的基本单位结构是2条轻链与2条重链组成的**四条对称的多肽链**，呈“Y”形结构。



轻链为2条相同的较短的肽链，大约由214个氨基酸残基组成，相对分子质量约为24 kDa。

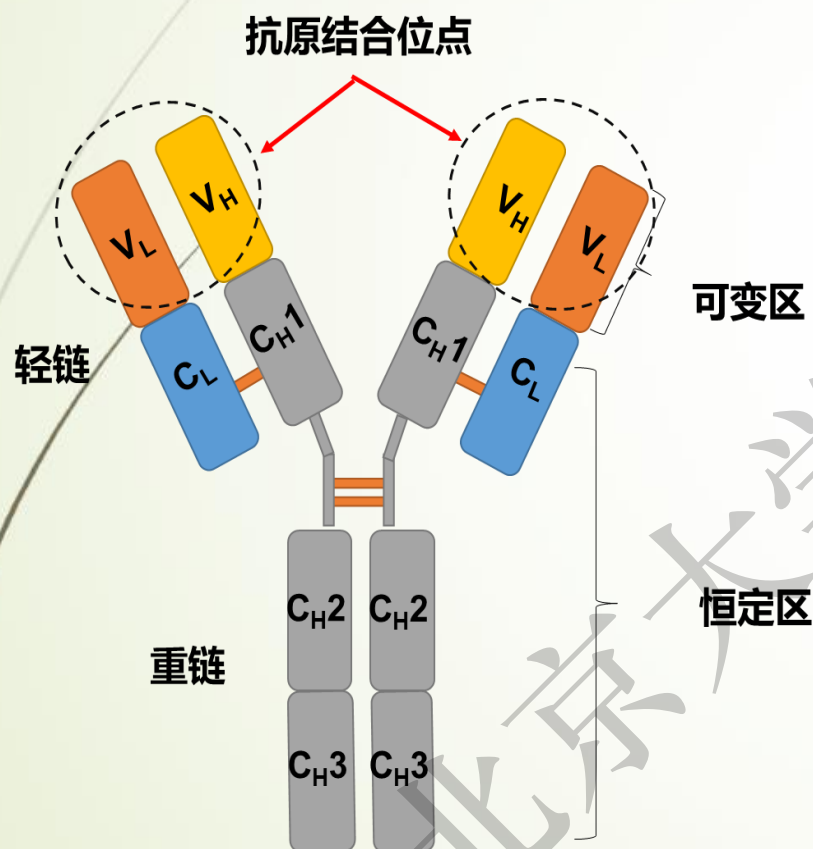
重链为2条相同的较长的肽链，含450~550个氨基酸残基，相对分子质量约为55 kDa或70 kDa。

抗体的基本结构



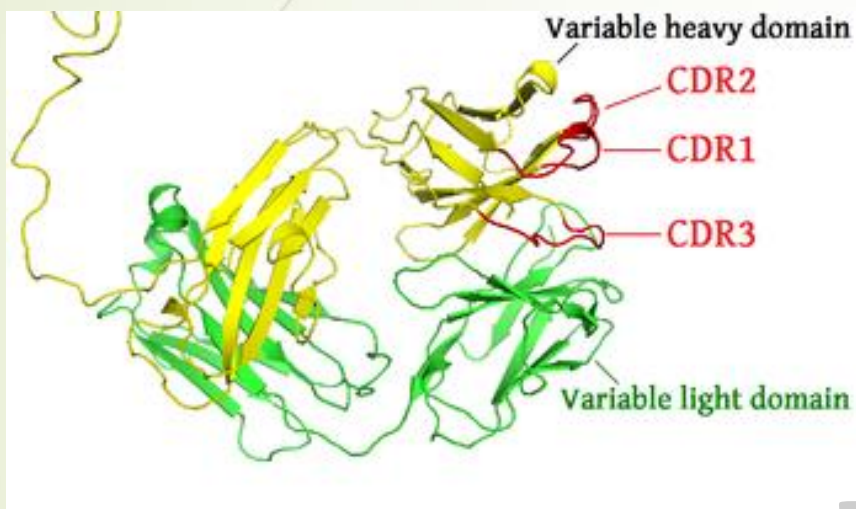
- 抗体单体中四条肽链两端游离的氨基或羧基的方向是一致的，分别命名为氨基端（N端）和羧基端（C端）。
- 轻链与重链是由**二硫键连接**形成一个四肽链分子为抗体分子的单体，是构成免疫球蛋白分子的基本结构。
- 二硫键存在于：每条轻链与重链内部、每条轻链与相邻的一条重链之间、2条重链之间。

抗体的可变区与恒定区



- **可变区 (variable region, V区)**
 - 免疫球蛋白L链与H链的N端氨基酸序列变化很大, 称此区为可变区。
 - 位于L链靠近N端的1/2和H链靠近N端的1/5或1/4区域, L链和H链的V区分别称为V_L和V_H。
- **恒定区 (constant region, C区)**
 - 免疫球蛋白L链与H链的C端相对稳定, 变化很小, 称此区为恒定区。
 - 位于L链靠近C端的1/2和H链靠近C端的3/4或4/5区域。
- **V区氨基酸的组成和排列决定抗体的抗原结合特异性。**
- **C区的结构是相同的, 因此具有相同的抗原性, 是制备第二抗体时进行抗体的荧光素、酶标记的重要基础。**

抗体的高变区



<https://en.wikipedia.org/wiki/>

- 免疫球蛋白分子可变区 V_H 和 V_L 存在3个氨基酸组成和排序顺序高度变异的区域，称为高变区(hypervariable region, HVR)，分别是：HVR1/HVR2/HVR3。
- 重链和轻链的HVR共同构成抗体V区与相应的抗原表位互补结合，又叫互补决定区 (complementarity-determining region, CDR)，分别以CDR1/CDR2/CDR3表示。
- HVR (CDR) 是V区中与抗原表位互补结合的部位。单个IgG分子具有2个抗原结合位点。

不同抗原所诱导产生的抗体，其CDR氨基酸组成与序列的差异决定了抗体与相应抗原表位结合的高度特异性。

抗体的分类

多克隆抗体

- 用抗原免疫动物后制备的抗血清为多克隆抗体。
- 优点：可识别多个抗原表位，制备时间短，成本低
- 缺点：特异性不高，易发生交叉反应

单克隆抗体

- 由一种抗原表位刺激机体单一B细胞克隆产生的高度均一、仅针对某一特定抗原表位的抗体，称为单克隆抗体。
- 优点：高度均一性、纯度高、特异性强、效价高、交叉反应少

基因工程抗体

- 又称重组抗体，是利用DNA重组和蛋白质工程技术，对免疫球蛋白基因进行加工改造和重新装配，经转染受体细胞所表达的抗体。
- 是在临床疾病治疗中具有广阔应用前景的第3代人工抗体。

抗体的双重性

- 抗体是免疫球蛋白，但其对异种动物来说又是很好的抗原，因此它既是抗体，又可作为抗原，即抗体的双重性。
- 用提纯的兔IgG免疫异种动物羊，就可产生羊抗兔IgG抗体，也就是抗抗体（即二抗）。
- 抗抗体（二抗）在免疫标记及检测中具有重要作用。