

由式(7)来看, a 大于 b , 说明反应的电子因素所起的作用比几何因素所起的作用为重要, 只有当分子过大或过小时, 第三项才是有意义的因素。

致癌反应不在定域能更小的K区, 而在Bay区进行, 本身是一个耐人寻味的理论问题。随着多核芳烃体内代谢作用的实验工作的深入进行, 这个谜将逐步揭开, K、L区和Bay区的孰是孰非才能最后搞清楚。

参 考 文 献

[1] Pullman, A. et al.: *Adv. Cancer Res.*, **3**, 117, 1955.

- [2] Herndon, W. C.: *Int. J. Quantum Chem.*; *Quantum Biology Symp.*, **1**, 123, 1974.
- [3] Miller, E. C.: *Cancer Res.*, **38**, 1487, 1978.
- [4] Sims, P. et al.: *Nature*, **252**, 326, 1974.
- [5] Weinstein, I. B. et al.: *Science*, **193**, 592, 1976.
- [6] Levin, W. et al.: *Cancer Res.*, **37**, 2721, 1977.
- [7] Levin, W. et al.: *Cancer Res.*, **38**, 1705, 1978.
- [8] Wood, A. W. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **72**, 680, 1976.
- [9] Wood, A. W. et al.: *Cancer Res.*, **38**, 1976, 1978.
- [10] Wood, A. W. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **78**, 847, 1977.
- [11] Berger, G. D. et al.: *Tetrahedron Letters*, **3**, 231, 1978.
- [12] 陈念始: 《键参数函数及其应用》, 科学出版社, 1976.

[本文于1979年2月26日收到]

免 疫 球 蛋 白 的 结 构 与 功 能*

周 虞 灿

(中国科学院西北高原生物研究所)

免疫球蛋白(简称Ig), 在人体上已发现有五类: IgG、IgA、IgM、IgD及IgE。根据结构和功能的差异, 有的又细分为若干亚类, 如IgG分为IgG1、IgG2、IgG3、IgG4等。

五类Ig中, IgG含量最多, 功能了解得最详尽, 结构也研究得最清楚。60年代, 基于化学法和酶解法的研究, 提出Ig分子的四链化学结构。70年代运用物理学方法, 又提出以同源辖区(homology domain)为基本单位的Ig分子三维结构。目前Ig的结构离全部弄清尚早, 但已取得相当满意的结果, 并提出了不少关于结构的新概念。

本文在叙述抗体结构时, 以“碎片”(fragment)代表酶解产物, 如Fab碎片, Fc碎片等; 小于碎片或肽段的称为区段(region), 简称“区”, 如不变区, 可变区, 绞链区(hinge region), 变换区(switch region)等; 比区段更小的肽段称“片段”(segment), 如超可变片段。

一、Ig的基本结构

基本结构模型 Ig通常由二种肽链组

成, 分子量大的(约50 000)叫重链(简称H链: Heavy), 分子量小的(约25,000)叫轻链(简称L链: Light)。在聚合的Ig中(如聚合的IgA和IgM), 还有第三种肽链, 与聚合有关, 故称J(Join)链, 分子量约15,000, 轴比17.9, 富含半胱氨酸, 它连接在 α 或 μ 链倒数第二个半胱氨酸残基上。

任一单体Ig分子都由二条相同的H链和二条相同的L链组成, “四链结构”由此得名。两条H链通过二对二硫键共价维系, 两条L链分别与H链配对, 由一对二硫键在L链C端处与H链共价相连, 形成左右对称的分子结构(图1)。自从电镜和X线衍射法等引入这一研究领域以来, 对四链结构的认识更加丰富。图1是IgG分子“Y”形的基本结构模型^[1], 连接 C_{H1} 和 C_{H2} 的肽段(图中粗线所示)就是IgG分子的“绞链区”, 约含25个氨基酸残基, 其中以脯氨酸比例最高。绞链区有较大的柔性, C端部位易受蛋白水解酶作用、横切成二部分, 如用木

* 1980年3月第三次修改稿。

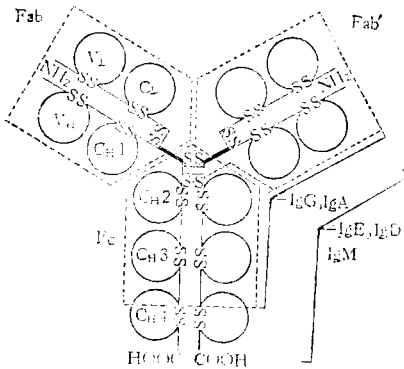


图1 IgG分子基本结构模式

瓜酶降解得 Fab 和 Fc 碎片,胃蛋白酶降解得 F(ab)₂ 碎片,再经化学还原得 Fab' 碎片。

就一级结构来看,各链上都有几段序列重复的区段,每区段约含110个残基。这类区段在球蛋白结构学上特指为同源辖区(详见本文第二部分),如 V_L, V_H, C_L, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}; IgE 和 IgM 分子还有 C_{H4}。

不变区、可变区和超可变区 每条肽链的N端辖区具有可变序列,称可变区,以V表示;其余辖区的序列相对稳定,称不变区,以C表示。可变区中有若干伸展的较短肽段,序列的可变频率最高,即所谓超可变区。超可变区在 V_L 内发现有三个。可变辖区成对相配,构成“可变辖区对”(V_L—V_H)。抗原结合部位(或称抗原结合中心)就位于 V_L 和 V_H 接触的界面上,而且结合中心的残基主要来源于上述超可变区。可见阐明可变区和超可变区的结构具有特别重要的意义。

遗传标记物的结构基础 鉴于各类 Ig 的氨基酸序列都已测定,抗体的抗原性结构基础因而得到揭示。

任一类 Ig 的 L 链都只有共同的二种型,即 K 和 λ。L 链一般由 214 个氨基酸组成, V_L 和 C_L 各占序列一半。现已证实, K 链 C 区第 191 位的亮氨酸与遗传标记物 Km(1) 关联,同一位序上的缬氨酸与 Km(3) 关联,而 Km(2) 是由 191 位的亮氨酸和 153 位的丙氨酸共同决定。λ 链 C 区第 190 位的精氨酸和赖氨酸的互换,则决定抗原因子 O₂ 的存在与否。

五类 Ig 的 H 链各不相同,分别以 γ、α、μ、δ、ε 表示。α 链约含 450 个残基,μ 链含 576 个残基。可变区只占全链的四分之一、不变区占四分之三。与 L 链一样, H 链 C 区个别位序上氨基酸的变换决定遗传标记物 Gm 异型抗原的存在与否,如 IgG1α 重链第 355—358 的精一天冬—谷—亮决定 G1m(1) 的特异性。近年来 Ig 遗传标记物一级结构的差异,已成为 Ig 遗传多态现象活跃的研究课题。

二、辖区结构

辖区(domain),具体地说是指球蛋白分子多肽链上的亚区,是一种结构上独立、功能上“自治”的球状折迭单位,因它首次在 Ig 中发现,所以特称为“Ig 折迭”^[2]。

辖区又分结构的和功能的两类。结构辖区是几何上独立的基本单位。它在多肽链上成串排列,似串珠。功能辖区即使从多肽链上切除下来也不失其在完整分子中原有的功能,如有限的蛋白酶降解产物 Fab 和 Fc 碎片。结构辖区、功能辖区和多肽链三者的关系,现代的观点是:一条多肽链等于一个或一个以上的功能辖区,一个功能辖区等于一个或一个以上的结构辖区^[3]。图 1 每个圈代表一个结构辖区,二条链上相应的结构辖区配成对,构成一个功能辖区,如 V_L—V_H。功能辖区有一共同的明显特征,即执行功能的活性中心总是位于二个结构辖区的界面处。但对 Ig 来说,结构和功能二种辖区的区分,仍然存在着混乱,有把上述的结构辖区看作亚单位,而把功能辖区视作一个结构辖区^[1,4]。

辖区的同源性 IgG 分子的结构辖区,有相同的重复序列,相同的链折迭,有明显的同源性,又称同源辖区。一般认为它们是在进化过程中基因复制而产生的。它们的关系是:V 区和 V 区同源,C 区和 C 区同源,而 V 区和 C 区虽然链折迭相似,但并非同源,只在辖区的边缘上有一个同源的序列^[5]。

蛋白质同源性的研究能提供蛋白质进化和遗传方面有用的知识。氨基酸序列的最大相同

和链折迭的最大相似是同源性的二个要素。现在肽链折迭的相似性通常是把二个辖区迭加后,以 α 碳原子之间均方根距离(rms)来表示。序列的同源性除根据残基排列有最大相同性外,近年来已开始用遗传距离的大小来表示,单位为 PAM (接受点突变的百分率)。最近发现有若干球蛋白,主要是一些胞内酶,如磷酸甘油酸激酶、丙糖磷酸异构酶、丙酮酸激酶以及胞液超氧化物歧化酶等,其肽链序列虽不同 Ig 辖区,但链折迭相似。此外,发现移植抗原(HLA)不仅有与 Ig 相似的链折迭,而且它的一条轻链和 Ig 的 C 辖区同源,HLA-B7 重链也有一段肽链与人的 V_H 序列同源^[3]。从上述事例可见,一级结构相同,三级结构相似者具有最大同源性,但三级结构相似,未必就一级结构相同。“Ig 折迭”在氨基酸序列十分不同的情况下重现,其进化意义尚不清楚。

辖区的三级结构 在一级结构中,同源辖区是指肽链上重复的序列,每一重复单位约 110 个残基,其中又有 60—70 个残基由一个链内二硫键构成氨基酸环。辖区的三级结构是指由 110 个残基组成的肽链折迭的结构,它是一种特殊的“Ig 折迭”(图 2)。这类折迭是由肽链盘绕堆积成的二个 β 片层(不含 α 螺旋)构成,二层间充满疏水侧链。其中一层折迭有四条肽股(短肽),叫四股层,另一层折迭有三条肽股,叫三股层。每一股与相邻二股方向相反,所以“Ig 折迭”实际上是特有的双层反平行片段

结构。链内二硫键在二层内部,通过三股层正中一股和四股层相向平行的一股共价相连,其方向与片层平面接近垂直(图中黑棒所示)。可变辖区比不变辖区多一个附加肽环,伸展在三股层上,使三股层变为五股层,以此区别 C 辖区^[6]。

通常对各条肽股以及连接肽股的各个片段,按照所在的位置命名。Amzel 和 Poljak^[13] 总结已有的标记系统,提出改进的辖区平面图标记法。从图 3 可见,四股层以 4β 表示,含有 $4\beta_1, 4\beta_2, 4\beta_3$ 和 $4\beta_4$ 股;三股层以 3β 表示,含有 $3\beta_1, 3\beta_2, 3\beta_3$ 股。 V 辖区附加环的二条肽股,因它伸展在三股层上,则以 $3\beta_4$ 和 $3\beta_5$ 表示(虚线所示),另外为了与 C 区三股层(3β)相区别, V 区三股层特以 $3\beta'$ 表示。连接 β 片层各肽股的片段,按同侧归类,位于 N 末端侧者为前环(front loop),以 fl 代表,包括 fl_1, fl_2, fl_3 片段;位于 C 末端侧者为后环(back loop),以 bl 代表,包括 bl_1, bl_2, bl_3 片段。 fl_4 和 bl_4 是连接附加环的片段,只有 V 区才有(虚线所示)。

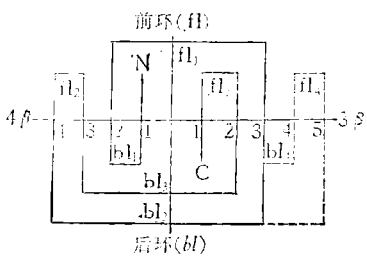


图 3 辖区结构平面标记系统

上述肽段的二级结构一般不呈现 α 螺旋。

每一同源辖区约 50% 的残基参与构成 β 片层 ($4\beta_1-4\beta_4$ 和 $3\beta_1-3\beta_3$ 或 $3\beta_5$)，不同的同源辖区 β 片层肽股的三维结构非常相似,高度稳定。这是因为每一辖区都含有一个由相同的氨基酸残基组成的基本核心,而这些残基的大部分参与形成 β 片层,包括链内二硫键的二个半胱残基和第一个半胱残基之后的 14 或 15 位序上的不变色氨酸。基本核心对于辖区的三维结

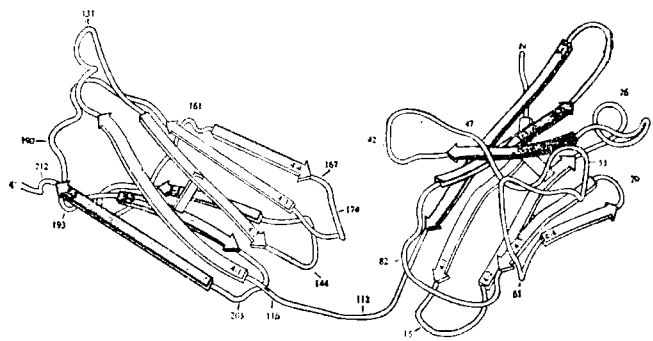


图 2 V 和 C 辖区双层反平行片段结构

图中 131、161、190、……为多肽序列中氨基酸序数

构有高效的保护力，而其本身又受平均最小基变值 (average minimum base change) 的遗传密码子所保护，以保证抗体分子结构保持相当稳定。

V 辖区 (V_H 和 V_L) 内超可变区形成连接片段 d_1, d_2, d_4 ，在三维结构中它们空间互补，相互贴近，决定抗原结合中心的构型。结合中心上结构的差异很大程度是由于这些片段因氨基酸的插入，取代和缺失而引起的。抗原结合中心序列的这种微妙的差异就是引起抗体各种特异性的结构依据。

“辖区对”结构 辖区间相互作用有纵向的，也有横向的。纵向作用是指同一条链上相邻辖区的相互作用，这类作用一般不强，但与信息传递有关，涉及抗体第二功能(补体固定)。横向作用是指轻重链上相应的二个辖区的相互作用。由于这种作用，同源辖区成对相连，构成“同源辖区对”。Davies^[4] 认为 Ig 的基本单位不应是辖区，而是具有强作用的原源辖区对。的确，辖区对的特殊作用似乎是抗体分子的基本特征。

Ig 分子同源辖区对有三种：一、V 型，如 V_L-V_L 或 V_L-V_H 辖区对；结构特点是四股层 (4β) 朝外，三股层 ($3\beta'$) 朝内，面面对，接触松弛，辖区间有裂缝或沟槽，构成抗原结合腔(图 4)。二、C 型，即除 C_{H2} 外的同源辖区对，如 C_L-C_L ， $C_{H1}-C_L$ ， $C_{H3}-C_{H3}$ 。结构的特点恰好与 V 型相反，四股层 (4β) 朝内，三股层 (3β) 朝外，形成致密的非共价结合(图 4 下部)。二硫键间距(中心对中心) V 辖区对约 25 Å，C 辖区对约 18 Å，表明 C 型比 V 型致密。V 和 C 同源辖区对结构上的这种差别是由于旋转变构 (rotational isomerism) 引起的。Edmundson^[7] 认为遗传变异需要造成合适的氨基酸接触，旋转变构是为了适应这个需要。这是 Ig 进化过程中的一个关键步骤。它不仅使极端相似的 V 和 C 辖区有了区别，并赋予 V 辖区对有结合抗原的本领。三、 C_{H2} 型，在 Fc 碎片或 IgG 分子中都已观察到 $C_{H2}-C_{H2}$ 缔结，作用很弱，已知 Ig 固定补体的功能寓于此。

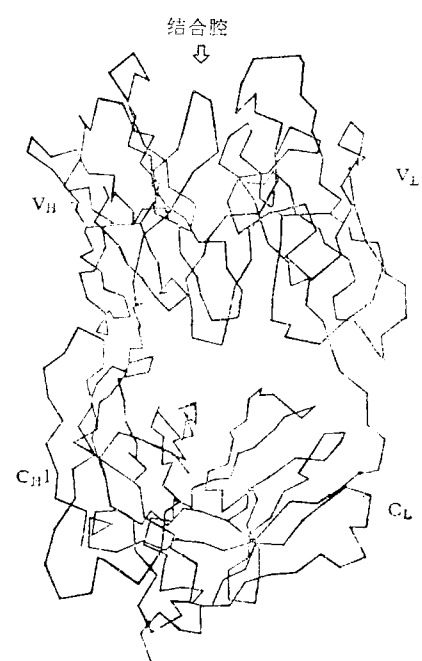


图 4 Fab D1503 α 碳骨架轮廓
右 L 链，左 H 链。上 V_H-V_L ，下 $C_{H1}-C_L$

辖区的四级结构 L 链二聚体和 Fab 碎片各有 4 个结构辖区。图 5 是 Mcg L 链二聚体四级结构模式，A 为棒状结构模式，B 为 α 碳原子骨架模式。四级结构通常由以下三项数值(表 1)表示：1. 辖区长轴(同链二辖区长轴延长线)交角，如 C_1 和 V_1 交角 70° ， C_2 和 V_2

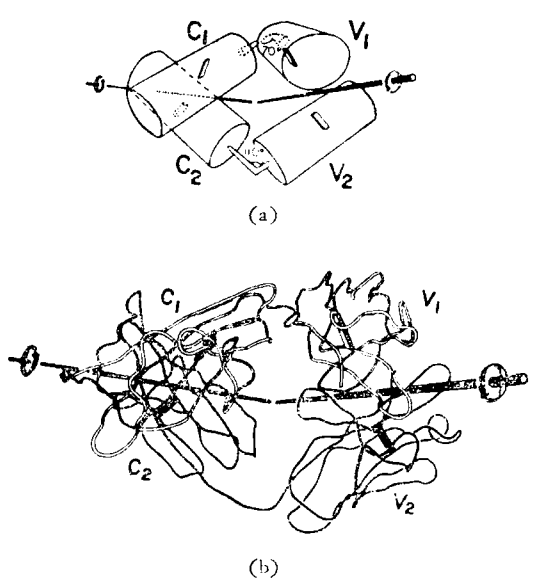


图 5 Mcg L 链二聚体四级结构
(a) 为棒状结构，(b) 为 α 碳骨架结构

交角 110° 。交角说明二个辖区伸展的程度；2. 假双折迭轴交角 (V_1-V_2 和 C_1-C_2 对称轴延长线的交角)。数值说明：辖区对线性排列的程度；3. 二硫键间距(同链 C_1 与 V_1 或 C_2 与 V_2 间二硫键中心与中心的距离)。

表 1 L 链二聚体和 Fab 碎片四级结构数值比较

蛋 白 质	双折迭 轴交角	H 链 (单体1)		L 链 (单体2)	
		长轴 交角	二硫键 间距	长轴 交角	二硫键 间距
L 链二聚体 Mcg	120°	70°	25 Å	110°	43 Å
Fab 碎片 M603	135°	80°	30 Å	100°	40 Å
Fab 碎片 New	137°	80°	—	110°	—

表 2 高分辨力分析的 Ig 碎片

蛋 白 质	来 源	片 段 成 分	类 或 型	分 辨 力	确 定 法
Mcg	人	L 链二聚体	λ	2.3 Å	半抗原 DNP
New	人	Fab (胃酶溶解)	λ, γ_1	2.8 Å	半抗原经化维生素 K ₁
Rei, Au, Roy	人	V_L 二聚体	K_1	2.8 Å	
McPC 603	鼠	Fab (胃酶溶解)	K, α	3.1 Å	半抗原磷酸胆碱
KoL	人	Fab	λ	3.0 Å	多重同型重原子取代
KoL	人	IgG		4.0 Å, 3.5 Å	同上
	人	Fc		3.5 Å	同上

中心有密切关系的辖区,如上所述,实际上就是 V 型辖区对。

结合中心的结构特点 几种骨髓瘤蛋白结合中心的三维结构已经阐明,其中以人 Fab New 和鼠 McPC603 (简称 M603) 的资料最详细,前者与维生素 K 的衍生物结合^[8],后者与磷酸胆碱结合^[9]。结合中心结构特点已初步总结为以下二点:

1. 结合中心皆有一个结合腔(图 4),位于 V_L-V_H 之间,由二条不同的多肽链形成。这一特征可加深这样的理解,即用有限的基因物质可形成无数的结合中心。如不同的 L 和 H 链各为 n_1 和 n_2 条,那末二者就有 $n_1 \times n_2$ 种组合,即 $n_1 \times n_2$ 种结合中心^[5]。初步测得 $n_1 \times n_2$ 的值是 10^7 ,那末 n_1 和 n_2 的数量级应是 10^4 和 10^3 。

二条相同的 L 链和二条相同的 H 链同时存

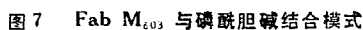
三、抗原结合中心的结构

根据化学结构分析,抗原结合中心位于 L 链二聚体或 Fab 碎片的氨基端可变区内,尤其是超可变区内。电镜观察表明抗原结合中心位于 Y 形的臂端;X 线衍射分析,特别是亲和标记分析,更有力地证实抗原结合中心位于超可变区内。最近,核磁共振,电子自旋共振以及化学限制反应,为 Ig—配体系统的研究提供了更有效的分析方法。

迄今 X 线衍射技术高鉴别力分析也仅限于 Fab 碎片和 L 链二聚体,至于 Fc 碎片和完整的 IgG 分子的资料还不多(表 2)。与抗原结合

在,也是抗体分子特异性功能所需。在血浆中无数不同的 Ig 的肽链若无限制地交换,势必妨碍它与相应的抗原发生有效的专一作用,而四链共价连接则可避免 Ig 结构的随意性,满足专一性和特异性的要求。

2 任一结合中心都由 6 条(或 5 条)超可变片段组成,每条片段含有 5 至 10 个残基。结合中心具有共同的稳定的骨架(β -片层),结构的差异主要在于超可变环序列的改变。X 线衍射分析证实超可变区氨基酸的取代、缺失或插入,都能诱使结合中心区段的整个形状、大小以及一般的化学性质发生明显改变。显然,超可变性本身就足以解释抗体结构的多样性。此外,分子表面的特异性是由表面的形状、氢键供受体的方式以及电荷等所决定。估计 100Å^2 的结合表面能形成 1000 个特异性不同的结合中心,这就使小小的结合腔何以能产生众多的特异性表



四、Fc 碎片和 IgG 分子的结构

结合的抗原对抗体分子施加应力,使其暴露出补体结合部位; 3. 缔合模型 (associative model), 抗原抗体复合物的聚集,引起 Fc 缔合。上述各类模型的阐明,尚有待三维结构的详尽分析。

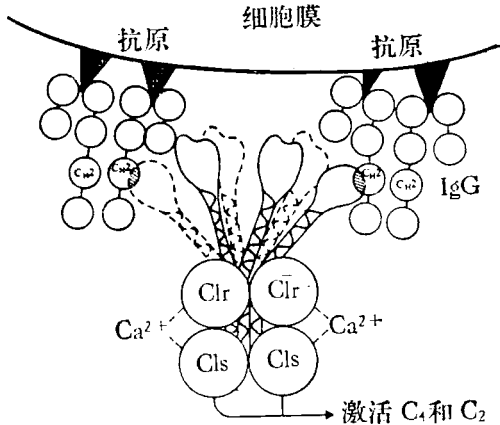


图 8 补体 C1 成分被抗原抗体复合物激活示意图

▨: C1q 与 IgG 作用部位; ■: 抗原抗体作用部位

完整的 IgG 分子 人结晶骨髓瘤 IgG KoL 在分辨力为 5 Å、4 Å 和 3.5 Å 下经 X 线衍射技术研究,发现此晶体蛋白似乎含有正常的绞链区,甚至在晶格中绞链区也有运动能力,使分子的这部分结构非常无序。电子密度图上不能追溯出 Fc 的构型。 C_{H2} 除因肽链的连续性而与 C_{H1} 接触外,二者再无别的接触。人 IgG1_(K) Dob (一种冷球蛋白)^[15] 的三维结构研究证实碳水化合物不仅使 C_{H2} 与 C_{H1} 横向相隔,而且也插入 C_{H1} 和 C_{H2} 之间,使之纵向相隔。如图 7 所示,深黑部位代表支链碳水化合物,白圈与黑灰圈,各代表一条 H 链。

绞链区的柔性是属区段的柔性,早已为人所知。然而,完整 IgG 分子结晶学研究揭示出最突出的特征是分子的柔性(或叫可塑性)。它存在于连结 V_H 与 C_{H1} , V_L 与 C_L 以及 C_{H2} 与 C_{H3} 的变换区肽段。此两类柔性的肽段的作用,可能是保证抗体能按抗原的大小和形状,通过改变活性部位的角度和距离,使抗原结合

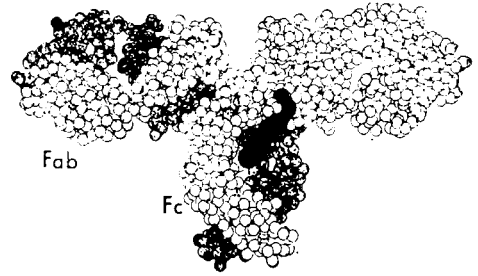


图 9 IgG Dob 三维结构模型

中心与抗原决定基达到最适地互补,最有效地结合。

为了使效应器功能的触发和结构的定位更加明确,尚有待更多的结构分析。

参 考 文 献

- [1] Amzel, L. M. & Poljak, R. J.: *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 961—997. 1979.
- [2] Huber, R.: *Trends Biochem. Sci.*, **1**, 174—178. 1976.
- [3] Schulz, G. E. & Schirmer, R. H.: *Principles of Protein Structure*, New York, Heidelberg, Berlin, p. 46—65. 1979.
- [4] Davies, D. R., et al.: *Ann. Rev. Biochem.*, **44**, 639—667. 1975.
- [5] Poljak, R. J.: *Nature*, **256**, 373—376. 1975.
- [6] Edmundson, A. B. et al.: *Biochemistry*, **13**, 3816—3827. 1974.
- [7] Edmundson, A. B. et al.: *Fed. Proc.*, **35**, 2110—2123. 1976.
- [8] Amzel, L. M. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 1427—1430. 1974.
- [9] Segal, D. M., et al.: *ibid.*, **71**, 4298—4302. 1974.
- [10] Saul, F., et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 585—597. 1978.
- [11] Capra, D. & Edmundson, A. B.: *Scientific American*, **236**(1), 50—59. 1977.
- [12] 王亚辉:《自然杂志》,1979年,2卷3期,158页。
- [13] Reid, K. B. M.: in “Companion to biochemistry”, Vol. 2. 407—432. 1979.
- [14] Metzger, H.: *Adv. Immunol.*, **18**, 169—207. 1974.
- [15] Sarma, V. R. et al.: *J. Biol. Chem.*, **246**, 3753—3759. 1971.

[本文于 1978 年 12 月 19 日收到]