

决定簇在人 IgE 抗体分子中的相关位置所引起,有待进一步研究。目前本实验室仅有一个骨髓瘤病人的纯 IgE 抗原,如能得到更多的骨髓瘤病人 IgE 纯抗原进行抗原决定簇的分析,当能对是否存在后一种可能性得到较明确的结果。

3. 在 ELISA 竞争试验中,我们发现加入针对不同抗原决定簇的竞争性 McAb 孔后, O. D. 值比未加入竞争 McAb 孔或加入不相关 McAb 的 O. D. 值增高,这一现象在 3 次试验中均重复出现。其原因尚不清楚。Ehrlich 等^[8]和 Moyle 等^[9]研究证实,针对 2 个不同抗原决定簇的 McAbs 混合后其对抗原的亲合力高于单一 McAb 的亲合力。Moyle 等并进一步证明这一亲合力增高现象是由于 2 个 McAb 分子与两个抗原分子在免疫反应中形成一个四聚体环状复合物所致。我们竞争试验中的 O. D. 值增高可能与此原因有关。

4. 影响透明沉淀线出现的因素。我们已经报道过 IgG 抗原与相应的 McAb 反应时出现透明沉淀线,并对其机理作了初步分析^[5]。本文用抗人 IgE McAb 对透明沉淀线的形成条件作了初步探讨。(1) 不同厂出品的琼脂糖对透明沉淀线的形成没有影响。我们使用三个厂的产品(青岛水产品加工厂,海燕牌 4#;上海东海制药厂和 Serva 厂),在相同条件下进行免疫双扩散试验,均可形成清晰的透明沉淀线。但使用 1% 琼脂 (Difco agar) 进行免疫双扩散试验则形成乳白色沉淀线,这与含有 2% PEG 6000 的 1.5% 琼脂糖的结果完全一致。(2) 抗原和抗体的浓度对透明沉淀线形成有直接关系。我们试验人 IgE 抗原浓度低于 1mg/ml 时与不同浓度 McAb (从原液稀释到 1:32) 均不形成透明沉淀线。但抗原浓度大于 2mg/ml 时, McAb 浓度稀释 1:4 时仍可出现透明沉淀线,说明抗原浓

度和 McAb 的浓度对透明沉淀线的形成有直接关系。

5. 抗人 IgE McAb 的应用: Chandler^[10] 建立两株抗人 IgE McAbs 杂交瘤细胞株,并应用检测人血液中总 IgE。Conrad^[11] 获得两株抗大鼠 IgE McAbs, 用于对肥大细胞和嗜硷性细胞组织胺释放等研究。我们建立 6 株抗人 IgE 重链特异 McAbs, 经过筛选后除可应用于过敏性疾病的临床诊断,还可以应用于 I 型过敏性疾病机理的探讨。

人 IgE 在血清中含量甚微 (μg 水平) 因而纯化非常困难。用抗人 IgE McAb 制成亲和层析柱对人 IgE 进行纯化,得到的纯 IgE,可用于 IgE 的结构和功能方面研究。

其它鉴定用的 IgA, IgM 和 IgD 抗原由本所生化室免疫化学组赠与; Kappa 和 Lambda 抗原由卫生部上海生物制品研究所赠与,一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 邹明发等:《中华微生物学和免疫学杂志》,3(5),278, 1983。
- [2] 刘尔翔:《北京医学》2(4), 244, 1980。
- [3] Ishizaka, K. et al.: *Immunochemistry*, 7, 687 1978。
- [4] Shulman, M. et al.: *Nature*, 276, 269, 1978。
- [5] Zou Mingfa, et al.: *Scientia Sinica (Series B)* 27 (8), 818, 1984。
- [6] Baeber et al.: *Selected Methods in Cellular Immunology*, P351, 1980。
- [7] 汪美先等:《医学情报资料》(ELISA 专辑)4-5, 81, 1979。
- [8] Ehrlich, P. H. et al.: *J. Immunology*, 128(6), 2709, 1982。
- [9] Moyle, W. R. et al.: *J. Immunology*, 131 (4), 1900, 1983。
- [10] Chandler, H. M. et al.: *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.*, 72, 267, 1983。
- [11] Conrad, D. H. et al.: *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.*, 70, 352, 1983。

[本文于 1984 年 2 月 13 日收到]

抗原基因工程研究取得进展——简介中国农业科学院幼畜腹泻致病菌 抗原基因工程研究成果

1985 年 3 月 24—28 日国家科委“中国生物工程开发中心”在武汉召开了基因工程疫苗研究工作交流讨论会。中国农业科学院分子生物学研究室和中国农业

科学院哈尔滨兽医研究所交流了联合攻克猪、牛、羊幼畜腹泻病致病菌抗原基因工程研究取得进展:(1) 成
(下转第 65 页)

表 2

溶液浓度 μg/μL	0.025	0.075	0.125	0.20	0.25	0.30	0.40	0.50
响应(峰面积)单位 面积	5.08	15.50	25.40	40.99	50.54	60.25	82.00	101.40

过他们的摩尔吸光系数 ϵ 值及分子量 M 换算后,可得到相应的校正系数。

三、原叶样品的提取率

用 M. S. Ahmed 方法,三种甙的提取较完全^[10]。我们用 Ahmed 方法的提取率作对照(定为 100% 提取),研究了速效提取法的效率。测得结果列在表 3,表明二种方法的提取率相同,而本法更省时间。

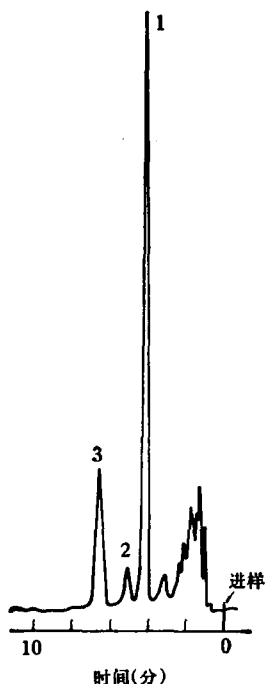


图 1 曲型样品的 HPLC 色谱图

峰号 1: Stevioside 2: Rebaudioside C
3: Rebaudioside A.

(上接第39页)

功地构建了无肠毒素的 K88_a 抗原工程菌株;(2)工程菌株具有良好免疫原特性,制成菌苗后,注射至妊娠母猪,仔猪吃了初乳,对强毒菌攻击的抵抗力高,而对对照组仔猪死亡严重;(3)成功地在受体菌克隆了 K99 抗原基因,并获得了良好表达,经动物结肠实验无毒;(4)构建的猪腹泻致病菌抗原基因重组体(K88_a-

表 3

样号	原叶 1			原叶 2	提取时间
	Ahmed	10.53	10.53	13.87	
测定结果 %	Ahmed	10.53	10.53	13.87	1天
	本法	10.75	10.72	10.86	13.96
提取率% (以 Ahmed 法为 100%)					
	101.6	102.7	101.8	100.6	

四、方法的精密度

重复测定几组样品,计算出标准偏差值在 0.23%—0.37%;变异系数在 0.46—2.2%。

五、对实际样品的测定

用本法测定了湖南省的甜叶菊加工工艺研究的试验样品及中间半成品及产品近 200 个,典型的样品色谱图见图 1。本法在实际应用中效果良好,为准确评价各种工艺方案提供了可靠的数据。

参 考 文 献

- [1] 韦业成:《食品科学》,7,25,1983。
- [2] 卞咏梅:《植物生理学通讯》,3,15,1981。
- [3] 三桥博等:《药学杂志》,95(1),127,1975。
- [4] 坂本征则等:《药学杂志》,95(12),15,1975。
- [5] Jacques Metivier et al.: *J. Experimental Botany*, 30 (117), 805, 1979。
- [6] Teruaki, H. et al.: *Japan Kokai*, 75, (67), 192, C.A. 83 (1975), 110845 C.
- [7] Ahmed, M.S. et al.: *J. Chromatography*, 192, 387, 1980。
- [8] 桥本庸平:《日本特许公报》,昭 54—9991,1,25,1979。
- [9] Yonel gashimoto, et al.:《生药学杂志》,82(4),209, 1978。
- [10] Ahmed, M.S. et al.: *J. Chromatography*, 236, 523, 1982。
- [11] Dobberstein, et al.: U.S.P., 4361697, 11, 30, 1982。
- [12] Hirokado Masako, et al.:《食品卫生学杂志》,21 (6), 451,1980。
- [13] 陆德培等:《生物化学与生物物理学报》,14(5), 501, 1982。
- [14] 黄克武等:《生物化学与生物物理学报》,14(5), 508, 1982。

[本文于 1984 年 7 月 18 日收到]

K99), 转化受体菌,获得良好表达,即具有合成两种抗原能力;(5)“工程菌”及双功能“工程菌”的构建成功为研制预防猪、牛、羊幼畜腹泄病在理论上或实践上都是可行的,目前,这两个单位遵照“科学技术必须面向经济建设”的战略方针,抓紧时间,既重视基础研究,又加强其应用研究,要以更大的干劲,充满信心为早日将“工程菌苗”实用化而共同努力。(柯 为)