

TECHNOTE 201

抗体和抗体的结构详解



Enriching Biotechnology

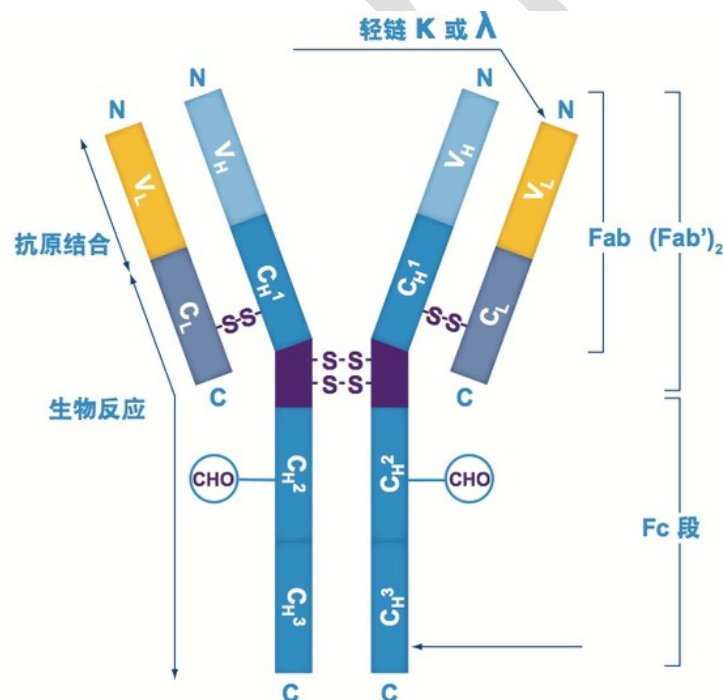
Telephone: +86 021 55809378

E-mail address: marketing@bio-enriching.com

抗体, 也叫免疫球蛋白 (Ig), 是一种能特异性结合抗原的糖蛋白, 而抗原是在易感染动物体内引发抗体产生的物质。在体内, 抗体是由于外源性分子的侵袭而产生的。抗体以一个或者多个 Y 字形单体存在, 每个 Y 字形单体由 4 条多肽链组成, 包含两条相同的**重链**和两条相同的**轻链**。轻链和重链是根据它们的分子量大小来命名的。Y 字形结构的顶端是可变区, 为抗原结合部位。

任何一个抗体的轻链都可以分为 κ 或 λ 型(基于小分子多肽结构上的差异), 每一个抗体的重链则决定了它的类或型。

抗体结构:



1. 重链

哺乳动物 Ig 的重链一共有五种, 分别用希腊字母 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 来命名, 相对应组成的抗体就称为 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM 五种抗体。不同的重链在大小和组成上有所区别, α 和 γ 包含大约 450 个氨基酸, 而 μ 和 ϵ 则有大约 550 个氨基酸。

每个重链有两个区: 恒定区和可变区。所有同一型的抗体其恒定区都是相同的, 不同型的抗体之间则存在差异。重链 γ 、 α 和 δ 的恒定区的组成为 3 个前后串联的 Ig 结构域, 并有一个铰链区增加它的灵活性; 重链 μ 和 ϵ 的恒定区则由 4 个 Ig 结构域组成。不同 B 细胞产生的抗体其重链的可变区不同, 但同一种 B 细胞或细胞克隆产生的抗体其可变区则是相同的, 每一个重链的可变区都是大约 110 个氨基酸长度, 并组成一个单独的 Ig 结构域。

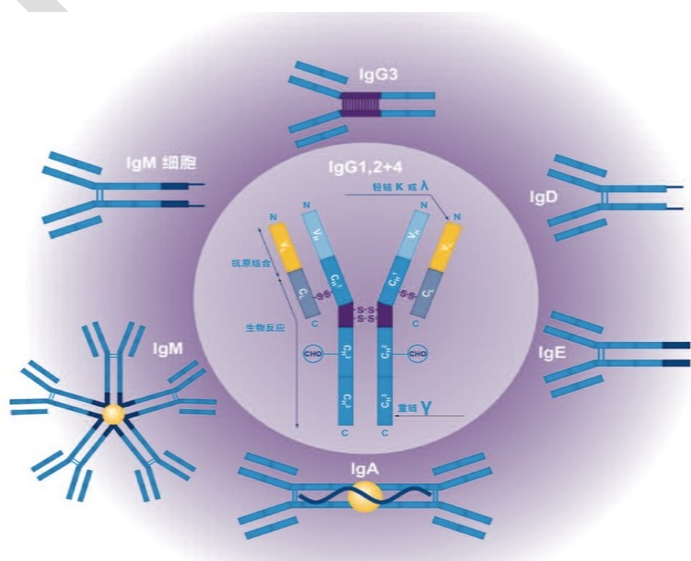
2. 轻链

哺乳动物只有两种轻链: λ 型和 κ 型, 每条轻链有两个前后相连的结构域: 一个恒定区和一个可变区。轻链的长度大约为 211~217 个氨基酸, 每个抗体包含的两条轻链总是相同的, 对哺乳动物来说每一个抗体中的轻链只有一个型: κ 或 λ 型。

3. Fab 和 Fc 段

Fc 段可以直接结合酶或荧光染料来标记抗体, 是在 ELISA 过程中抗体固定在板上的部位, 也是在免疫沉淀、免疫印迹和免疫组化中识别并结合二抗的部位。抗体可以被蛋白酶如木瓜蛋白酶水解成 2 个 F(ab) 段和一个 Fc 段, 或者被胃蛋白酶从铰链区断开, 水解成一个 F(ab)₂ 段和一个 Fc 段。IgG 抗体片段有时是非常有用的, 由于缺少 Fc 段, F(ab) 段即不会和抗原发生沉淀, 也不会活体研究中被免疫细胞捕获。因为分子片段较小, 且缺乏交联功能(由于 Fc 段的缺失), F(ab) 段通常用于功能性研究中的放射性标记, Fc 段则主要用做组化染色中的阻断剂。

抗体同型:



据 Y 形结构的数量和重链种类的不同,哺乳动物体内的抗体可以分为 5 类:IgG、IgM、IgA、IgD、IgE,它们的重链分别是 γ 、 μ 、 α 、 δ 、 ϵ 。各类抗体在生物学特性、功能区域以及结合不同抗原的能力上有所不同,如下表所列:

类/亚类	重链	轻链	分子量 (kDa)	结构	功能
IgA ₁ IgA ₂	α_1 α_2	λ 或 κ	150-600	单体-四聚体	最常引发的免疫球蛋白主要产生于粘膜部位,如肠道、呼吸道和泌尿生殖系统,阻止病菌在粘膜的定居,能抵抗消化并可分泌至乳汁中。
IgD	δ	λ 或 κ	150	单体	功能不详;与 IgM 共同存在于 B 细胞发育的各个阶段;大部分与 B 细胞结合。
IgE	ϵ	λ 或 κ	190	单体	结合变应原引发巨细胞释放组胺,可引起变态反应,也可以对抗寄生虫感染。
IgG ₁ IgG _{2a} IgG _{2b} IgG ₃ IgG ₄	γ_1 γ_2 γ_3 γ_4	λ 或 κ	150	单体	血清中最主要的免疫球蛋白。在免疫反应中提供最主要的抗体以抵御病原菌的侵袭,温和的补体固定剂 (IgG ₃);可通过胎盘。
IgM	μ	λ 或 κ	900	五聚体	最早产生的反应性抗体,在 B 细胞表面表达,分泌型有很高的亲和力。在 B 细胞介导的免疫反应早期、产生足够的 IgG 之前发挥作用,消除病原菌。

鸡的 IgY 在生产多克隆抗体时,选择鸡会比兔和羊有更大优势。

1. 鸡不是哺乳动物,因此更易产生针对哺乳动物抗原的高亲和性抗体(特别是高度保守的哺乳动物蛋白)。

2. 众所周知,这是产生多克隆抗体的最合乎伦理的途径,不需鸡血,只要简单收集鸡蛋就可以。我们的母鸡是以六只一组喂养,而我们有独特的辨认鸡蛋系统,使鸡能自由走动。

3. 一只鸡就可以产生大量抗体,每个月大约可达 3 克 IgY,是兔子的 10-20 倍,而且与兔子相比,鸡产生抗体的周期更快,早在第 25 天就可以从鸡蛋中获取高滴度的抗体。

4. 由于 IgY 存在于鸡蛋中,而鸡蛋可以收集起来并长期储存,还可以根据不同批次抗体的滴毒和/或亲和力来追溯性的从鸡蛋中纯化我们想要的 IgY。

5. 喂养和修建鸡舍的费用低于兔子。

6. IgY 是一种很稳定的抗体,具有以下和哺乳动物 IgG 相同的特征:

- 二价
- 可被木瓜蛋白酶降解成二价 Fab 片段
- 通过标准程序可以进行酶标记、生物素标记和金标记

7. IgY 的 Fc 片段与哺乳动物的 IgG 有明显的不同

• 不会结合哺乳动物的类风湿因子或其它自然产生的抗哺乳动物抗体的抗体(如 HAMA),从而降低实验背景

- 不会激活哺乳动物的补体系统
- 不会结合哺乳动物的 Fc 受体
- 不会结合金葡菌蛋白 A 或蛋白 G

资料整理: Enriching Beads

Enriching