

论抗血清效价兼释反应场之形状

贾万钧 张建宗

鲁志新

(中国军事医学科学院基础医学研究所) (沈阳军区后勤部军事医学研究所)

绪方富雄^[1]曾指出,所谓抗血清效价是随着稀释液的绝对量、红血球或菌液的浓度而变化的,

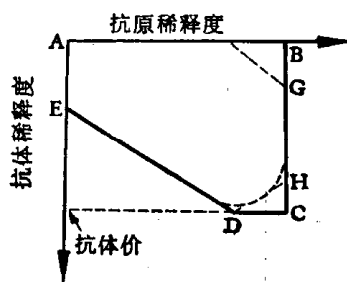


图1 沉淀或凝集反应场

的,如果不把这些因素严格规定,就不能和别的实验室的抗血清效价相比较。那么,怎样严格地规定这些因素呢?这个问题涉及到抗原抗体凝集或沉淀反应场(图1)。众所周知,在抗原抗体反应中,当抗原量不变抗体量递增时,可得到一条沉淀曲线;反之亦然。当抗原量抗体量同时变化时,则可见反应范围呈多边形,称之为反应场^[2]。反应场集中地展现出抗原抗体反应的复杂性及规律性,很早就引起人们的关注。然而,迄今不清楚的地方尚多。我们想利用以前提出的两个计算公式^[3,4]对抗血清效价问题以及反应场的形状进行探讨。

一、拐点D的血清学意义

反应场中为什么会出现拐点D?在早期研究中把D所对应的抗血清稀释倍数定为“抗体价”,实际上是指抗血清效价,而不是抗体的结合价。那么,为什么D所对应的抗血清稀释倍数能作为衡量抗血清效价的标准?确定抗血清效价时抗原的浓度是否可随意规定呢?如果不是,该抗原浓度应怎样确定呢?

为了回答这些问题,必须弄清出现拐点D的微观实质。ED是抗原过剩引起阻滞现象的界限,当抗原抗体以这样的比例反应时,刚好出现阻滞现象。根据文献[4],我们取复合物的组成为 $A_{\lambda_B}B$,A为抗原,B为抗体, λ_B 为抗体的最高配位数, $A_{\lambda_B}B$ 的有效抗原表面积为 a_{λ_B} 。这时抗原的浓度应为

$$[A] \approx \lambda_B [A_{\lambda_B}B] \quad (1)$$

沿DC方向,抗体的浓度不再减少,而抗原的浓度减少,但仍无可见反应发生,这表明,由于抗原的减少,而游离出来的抗体结合部位将结合到同一抗原表面上(图2)。所以对于D点,按文献[3]可以给出该处复合物 $A_{\lambda_B}B$ 的浓度,因为 $[A_{\lambda_B}B]$ 刚好是 $A_{\lambda_B}B$ 与 $A_{\lambda_B-1}B$ 交联的临界浓度 C'_P 。对于IgM和颗粒抗原(如菌体抗原等),我们有

$$C'_P \approx \frac{4R_2}{a_{\lambda_B}R_1}, \quad (2)$$

式中符号的意义,见文献[3]。由(1)式得

$$[A] \approx \lambda_B C'_P. \quad (3)$$

本文 1980 年 3 月 18 日收到。

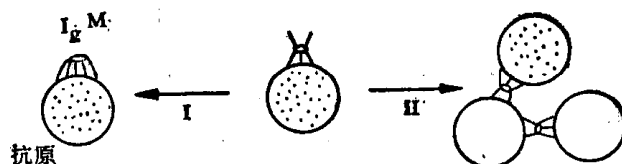


图2 游离结合部位的两种反应方式

沿 **DC**, 由于抗原减少, 抗体量不减, 而且又不再发生复合物的交联反应, 所以复合物越来越小, 其表面积越来越小. 在 **DC** 与 **BC** 交点 **C** 处, $a_{1B} = a_1$, a_1 为单个抗原表面积. 由(2)式, C'_P 刚好就是文献 [3] 中所给出的抗原抗体交联时抗原临界浓度 C_P , 交点 **C** 所对应的抗原和抗体浓度(颗粒/毫升)相等.

很明显, C'_P 与 **D** 所对应的抗体浓度大体相等, 这就是说, 沿 **DC** 线段, 虽然抗原浓度减少, 但只要抗体浓度为 C'_P , 那么复合物的交联将不发生. 由(2)式可知, 对于一种抗原及其抗体, C'_P 值是一定的, 也就是说, 引起可见反应的抗体最低浓度是一定的. 所以 **D** 所对应的抗体稀释倍数可以用来衡量同一抗原的抗血清之效价, 实际上是抗血清中含某种抗体绝对量的多少. 由(3)式得知, 当我们确定抗血清效价(稀释倍数)时, 抗原的浓度应为 $\lambda_B C'_P$, 否则各实验室所得抗血清效价是不能互相比较的.

二、DC 的理论位置

前已述及, 由于抗原浓度减少, 复合物的表面积越来越小, 依(2)式 C'_P 增大, 即相应的抗体浓度增加. 因此, **DC** 线段的理论位置应是 **DH**. 实际上 **DH** 不会是直线的, 因为 **D**、**H** 点不会是很明显的角, 而是一种逐渐过渡的状态. 所以反应场不会是典型的多边形, 而是图 1 中虚线所示的形状. 这个理论上的形状刚好和松桥直^[5]等提供的反应场一致.

三、举例验证

我们以布鲁氏菌等八种抗原为例进行计算, 看理论值和实测值是否一致. 当抗原是菌体、抗体是 IgM 时, $\lambda_B = 2$, $A_{1B}B$ 为 A_1B . 如果顾及到复合物中抗原之间的空间阻碍, 为简便起见, 我们取 $a_2 \approx a_1$, 则由(2)式可算得 C'_P , 代入(3)式得 **D** 点所对应的抗原浓度 $[A] \approx 2 C'_P$.

表1 反应场中拐点 **D** 所对应的抗原浓度(颗粒/毫升)

抗 原	实 测 值	理 论 值
绵羊红血球	5.3×10^6	4.8×10^6
绵羊血小板	3.0×10^7	3.2×10^7
伤寒沙门氏菌	1.4×10^3	1.4×10^3
霍乱弧菌	1.8×10^3	1.4×10^3
弗氏痢疾杆菌	1.3×10^3	1.2×10^3
布氏杆菌	4.0×10^3	4.0×10^3
土拉伦斯杆菌	1.4×10^9	1.6×10^9
灵杆菌	1.8×10^9	1.6×10^9

注: 表中数字为 3—6 次实验的平均值.

我们用布氏杆菌等八种抗原分别免疫动物,从抗血清中提取 IgM,再将抗原及提取的 IgM 稀释成不同浓度,进行凝集反应。详细方法见文献 [6],这里不再赘述。这样,我们就得到反应场,测得 D 点所对应的抗原浓度,将实测值和理论值列入表中。由表 1 所列数据,可见理论值和实测值基本一致。以上八种抗原的反应场的形状基本上均与理论所给出的一致。

四、结 语

我们提出了测定抗体效价时抗原浓度的计算式,这种计算适用于抗体 IgM 和颗粒性抗原;对于 IgG,可利用 Crothen & Metzger^[7] 的关于抗原临界浓度计算式以及本文中的 (3) 式。

目前临床和实验室中一般采用未经分离提纯的抗血清,可按具体情况选用相应的计算式。比如,确定抗血清的凝集反应效价时, IgM 的凝集活性最高,而 IgG 的凝集活性很低,而且对于细菌抗原,抗体大部分分布在 IgM 中,特别是免疫初期的抗血清,确定抗原浓度时就可按 IgM 处理;在沉淀反应中,因为 IgG 的活性最高,而且蛋白分子抗原的抗体多分布在 IgG 中,特别是多次免疫以及免疫后期的抗血清,所以可近似 IgG 的情况处理。

最后,我们要指出的是,抗原大小相差悬殊, D 点所对应的反应体系中复合物的形态组成各异,而且存在游离抗原,我们把复合物视为 A_{1B} 、 $A_{1B-1}B$, 这只是一种近似处理。

参 考 文 献

- [1] 绪方富雄, 理論血清學, 1965, 44.
- [2] 江上不二夫、八木康夫, 免疫化學, 昭和 26 年, 129.
- [3] 贾万钧, 科学通报, 23 (1978), 11: 692—695.
- [4] 贾万钧, 科学通报, 24 (1979), 23: 1099—1102.
- [5] 松橋直、淺川英男, 免疫血清學, 1979, 50—52.
- [6] 贾万钧、鲁志新、张建宗, 科学通报, 25 (1980), 23: 1099—1101.
- [7] Crothers, D. M. & Metzger, H., *Immunochemistry*, 9 (1972), 3: 341—356.