

§ 4.8. Антитела и антигены

Защита организма от чужеродных биополимеров и, тем самым, от инфекционных микроорганизмов осуществляется посредством *клеточного и гуморального иммунитета* (см. § 17.9). Во втором случае иммунитет определяется взаимодействием *антител* (АТ) — особых белков, производимых лимфатическими клетками, — с чужеродными биополимерами, именуемыми в этом случае *антигенами* (АГ). Иммунный ответ, т. е. появление антител в организме, есть результат узнавания антигенов определенными популяциями лимфоцитов. Процесс развивается на уровне организма, в нем участвуют различные клеточные узнающие системы, являющиеся «обучающимися», так как они приобретают *память* об однажды введенном антигене и отвечают на его вторичное введение усиленной выработкой антител.

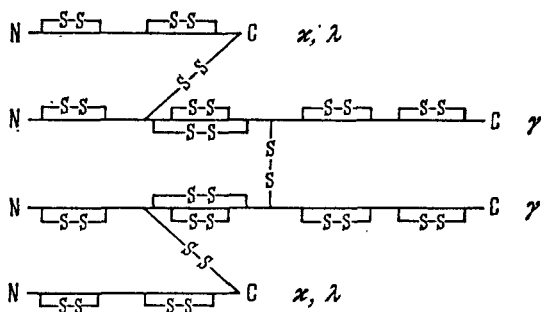
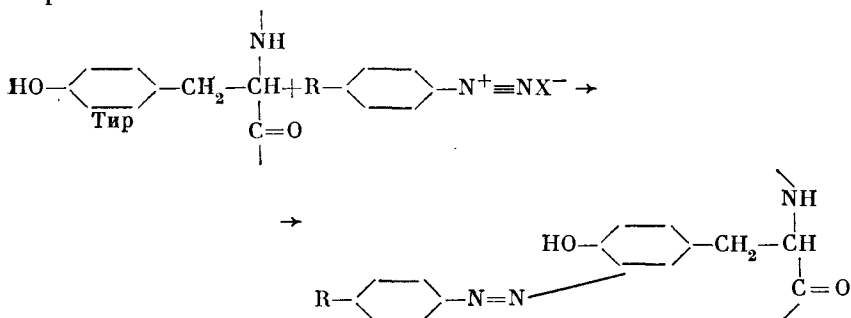


Рис. 4.24. Схема строения антитела IgG

АТ — это белки, относящиеся к иммуноглобулинам. У человека имеется пять основных классов иммуноглобулинов, обозначаемых IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. В качестве АТ функционируют IgG. Их м. м. примерно 150 000, константа седиментации 7S. Иммуноглобулины IgM являются пентамерами IgG. Строение многих IgG изучено. На рис. 4.24 показана схема IgG кролика. Молекула состоит из двух тяжелых цепей с м. м. $53\,500 \pm 4\,000$ (~450 остатков), обозначаемых γ, и двух легких — с м. м. $23\,800 \pm 1\,000$ (~220 остатков), обозначаемых κ или λ. Цепи связаны дисульфидными мостиками.

АТ к самым различным АГ имеют сходное строение, несмотря на различия в первичной структуре, локализованные в вариабельной, V-области молекулы, лежащей вблизи N-концов легких и тяжелых цепей. По-видимому, АТ имеют доменную структуру, состоящую из нескольких глобул, соединенных друг с другом (рис. 4.25). V-области ответственны за взаимодействие АТ — АГ, поскольку специфичность АТ определяется особенностями первичной структуры. Активный центр АТ содержит V-область. В каждой молекуле АТ таких центров два.

АГ — прежде всего белки и полисахариды. Ландштейнер (1919) разработал метод получения искусственных АГ, основанный на соединении диазотированных ароматических веществ с Тир белка:



Таким образом, можно ввести в белок любой радикал R. R-фенилазобелок можно использовать в качестве АГ и стимулировать выработку соответствующих АТ.

Установлено, что фактором, определяющим антигенную специфичность, является именно радикал R, а белок играет второстепенную роль: АТ, полученное в ответ на R—Б (Б — белок), реагирует с R—Б' (Б' — другой белок), но не с R'—Б. Антиген R—Б дает с соответствующим АТ труднорастворимый осадок. Если добавить к системе R—АГ, АТ малые молекулы, содержащие ту же самую группу R, то реакция АГ с АТ тормозится, а при дальнейшем повышении концентрации прекращается. Малые молекулы не создают АТ в организме и не являются АГ. Однако они взаимодействуют с ранее возникшими АТ, образуя растворимые соединения. Это — так называемое гаптеновое действие, а указанные малые молекулы называются *гаптенами*. Гаптены конкурируют с АГ, взаимодействуя с теми же активными областями АТ. Реакция АТ с гаптеном или с АГ осуществляется посредством слабых взаимодействий, но подчиняется закону действия масс. Природные АГ поливалентны, т. е. они содержат несколько детерминантных (гаптеновых) групп. Для иммунологических процессов существенно пространственное строение детерминантной группы.

Наличие реактивных групп (активных центров) в АТ доказывается красивыми опытами Прессмана и Штернберга (1951). Кролик иммунизировался искусственными АГ, содержащими в качестве детерминантных групп остаток *n*-азобензойной кислоты

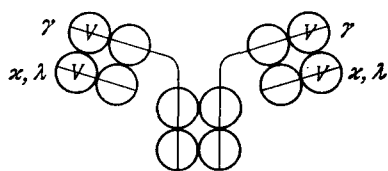
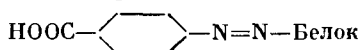
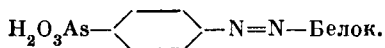


Рис. 4.25. Схема доменной структуры IgG по Эдельману

или *n*-азофениларсиновой кислоты



Полученные АТ подвергались йодированию, чем полностью подавлялась их иммунологическая активность. Однако если йодирование проводилось в присутствии гаптен, то активность сохранялась. Очевидно, что введение йода в активную область АТ

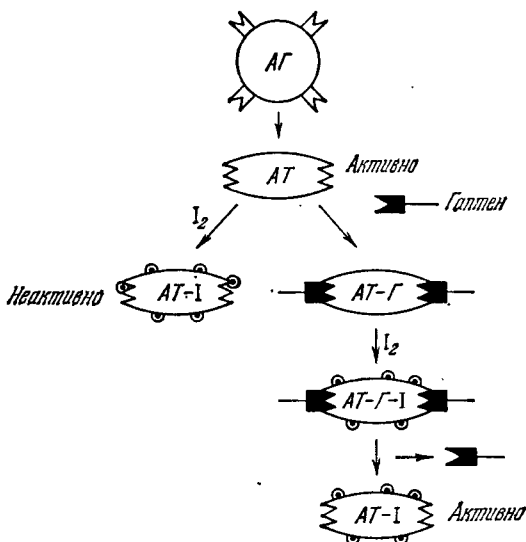
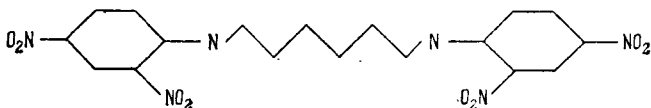


Рис. 4.26. Схема йодирования антител

уничтожает ее активность, а гаптен защищает эту область от йода. Сказанное изображено на рис. 4.26. Между активной областью АТ, с одной стороны, и гаптенем или детерминантной группой АГ, с другой, имеется структурное соответствие.

Методом электронной микроскопии была изучена структура комплекса АТ с соответствующим бифункциональным динитрофенильным гаптенем (ДНФ)



На рис. 4.27 показана электронная микрофотография комплекса АТ с ДНФ, а на рис. 4.28 — схема ее интерпретации. Двухвалентные АТ, взаимодействуя с двухвалентными же молекулами ДНФ, образуют тройные циклы. Выступы у вершин треугольников являются частями АТ, не содержащими переменных участков.

При предварительной обработке АТ пепсином эти части отщепляются (рис. 4.27, б).

Константы равновесия реакции АТ с АГ или гаптенем (Г) определяются в опытах *in vitro*:

$$K = \frac{[AT - \Gamma]}{[AT][\Gamma]} = \exp\left(-\frac{\Delta H - T \Delta S}{RT}\right). \quad (4.53)$$

По зависимости K от $1/T$ определяются ΔH и ΔS . Изменения энтальпии порядка десятка кДж/моль (слабые взаимодействия),



Рис. 4.27. Электронные микрофотографии комплекса АГ с АТ (а) и этого же комплекса, обработанного пепсином (б)

изменения ΔS , как правило, положительны, что можно объяснить освобождением гидратирующих молекул воды при образовании комплексов.

Исследования зависимости констант равновесия (связывания) от структуры Г или соответствующей детерминантной группы АГ были проведены Полингом и Прессманом (1944—1957). В частности, были получены АТ к ионам *орто*-, *мета*- и *пара*-азобензоларсоната. Антитела к каждой из этих групп действуют так, как если бы они вступали в структурное соответствие с ван-дер-ваальсовой поверхностью детерминантной группы. Зависимость взаимодействия от структуры проявляется очень ярко. Так, например, АТ к *орто*-азобензоларсонату хорошо связывает другие *орто*-замещенные (с радикалами ОН, NO₂, Cl, CH₃, NH₂ вместо AsO₃H⁻), слабее *мета*-замещенные и хуже всего *пара*-замещенные. Весьма важно относительное расположение частей гаптеновой группы. Для АТ к *пара*-N=N—C₆H₄—AsO₃H⁻ относительные константы связывания гаптенем OAsO₃H⁻, H₃CAso₃H⁻, H₃C₆AsO₃H⁻ и H₃C₆CH₂AsO₃H⁻ равны соответственно 0, 0, 1, 0. Удаление бензольного кольца (необходимого для связывания) от арсоната на одну группу CH₂ уничтожает связывание. Связывание сильно зависит от природы заряженной группы. Так,

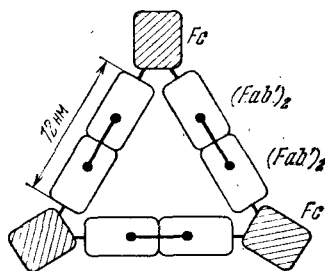


Рис. 4.28. Схема комплекса АГ с АТ. «Гантели» — молекулы ДНФ

те же АТ одинаково сильно связывают $C_6H_5AsO_3H^-$ и $C_6H_5PO_3H^-$, но не связывают $C_6H_5SO_3^-$, $C_6H_5CO_2^-$ и $C_6H_5SbO_5H_4^-$. Важны размеры иона.

Эти и другие данные свидетельствуют о комплементарности, о структурном соответствии активного участка АТ и детерминантной (или гаптеновой) группы АГ. Изучение взаимодействия АТ к поли-*L*-аланину с олигопептидами аланина позволило оценить размеры активного участка АТ: $2,5 \times 1,1 \times 0,2$ нм³. Антитела — глобулярные белки. При денатурации АТ их способность к специфическому связыванию АГ или Г исчезает. В некоторых случаях удается осуществить ренатурацию антител с восстановлением их активности. Присутствие гаптена способствует ренатурации.

Молекулы АТ обладают некоторой гибкостью, т. е. способностью к конформационным превращениям. С помощью поляризованной люминесценции комплексов IgG с люминесцирующими красителями были установлены времена вращательной релаксации τ , оказавшиеся порядка 50 нс (см. § 5.5). Эти значения соответствуют броуновскому вращательному движению не всей молекулы белка, но малых ее участков, т. е. указывают на гибкость молекулы белка. По-видимому, домены обладают подвижностью. Взаимодействие гаптена с АТ приводит к заметному увеличению τ , что указывает на изменение конформации АТ. Было установлено, что при образовании комплекса АТ—АГ конформация АГ также меняется. Данные оптических измерений подтверждаются исследованиями спектров электронного парамагнитного резонанса антител, содержащих парамагнитные метки.

Когда в организм вводится АГ, в нем производится множество различных АТ. Каждое АТ синтезируется лишь одной определенной группой лимфоцитов и их производных — плазматических клеток (см. § 17.10). Милстейн и Келер (1975) разработали так называемую *гибридную технику*, позволяющую выделять клон идентичных клеток, производящих определенные моноклональные АТ. Метод состоит в слиянии клеток миеломы — злокачественной опухоли иммунной системы с лимфоцитами, иммунизованными определенными АГ. Гибридные клетки — *гибридомы* — размножаются. Таким способом удается получать большие количества *моноклональных* АТ, широко применяемых в исследованиях, для диагностики, а также в терапии.

Модельная теория иммунитета изложена в § 17.10.

§ 4.9. Фибриллярные белки

В заключение этой главы остановимся на строении и свойствах фибриллярных белков — структурных и сократительных. Первые играют роль опорных и защитных компонент, входя в состав сухожилий, хрящей, костей, связок и т. д. (*коллагены*), а также кожи, волос, шерсти, рогов и т. д. (*кератины*). Вторые