

IgG 受体蛋白技术的进展

孙书华

(农业部动物检疫所 青岛 266032)

许多细菌可以分泌与 IgG Fc 片段反应的蛋白质,称之为 IgG 受体蛋白^[1]。虽然这种反应的生物学意义没有十分圆满的解释,但这并不妨碍它们在免疫化学领域的广泛应用。基于反应性能上的差异,将分泌 IgG 受体蛋白的细菌分为六类^[1,2],其中以葡萄球菌 A 蛋白(SPA)和链球菌 G 蛋白(SPG)研究得最清楚,应用也最广泛。

SPA 发现于 1940 年,70 年代后得以广泛应用,使免疫化学研究的手段向前迈进了一大步。尽管一些金黄色葡萄球菌可以分泌丰富的 SPA,但就其与哺乳动物 IgG 反应的范围而言不及 SPG。SPG 发现于 70 年代,但 G 组链球

菌难以培养,分泌 SPG 的量小,其纯化的步骤也很复杂,使它的广泛应用受到限制。此外,从自然菌中提取的 IgG 能与血清中的白蛋白反应,极不利于它的应用^[3]。

SPA 和 SPG 与人、猪、兔的 IgG 反应较强,与鼠、禽类的 IgG 及所有动物的 IgA 或 IgM 反应较弱或不反应。在多数情况下,它们与动物 IgG 的反应具有互补性。如 SPA 与狗 IgG 结合的反应强于 SPG,而 SPG 与人 IgG3、小鼠 IgG1 及绵羊、山羊、马、牛等动物的 IgG 反应优于 SPA^[4,5]。SPA 和 SPG 对人和一些动物 IgG 和 IgG 亚类反应的亲合力见表 1 和表 2^[5]。

表 1 SPA 和 SPG 对人和一些动物抗体反应的亲合力

	人	马	牛	猪	绵羊	山羊	兔	鸡	仓鼠	豚鼠	大鼠	小鼠
SPA	+++	++	++	+++	+/-	-	+++	-	+	+++	+/-	++
SPG	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+	++	++	++	++

表 2 SPA 和 SPG 对人和一些动物的 IgG 亚类反应的亲合力

	人				大鼠				小鼠			
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG2c	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3
SPA	+++	+++	-	+++	-	-	-	+	+	+++	+++	++
SPG	+++	+++	+++	+++	-	+++	++	++	+++	+++	+++	+++

SPA 具有 5 个 IgG 结合区,每个区由 58 个氨基酸组成;SPG 具有 2 个或 3 个 IgG 结合区,每个区由 55 个氨基酸组成。SPA 和 SPG 的 IgG 结合区的基因编码序列只有很小的同源性。SPA 与 IgG 反应的生物物理学机制已

有报道。SPA 上-IgG 结合区形成两个反向平行的 α -螺旋。这两个 α -螺旋内的 10 个氨基酸残基与 IgG Fc 端的 CH₂ 和 CH₃ 区内大约相

同数目的氨基酸残基形成疏水键^[6]。SPG蛋白的三级结构已有报道^[7]，它与IgG的反应机理有待阐明。

目前国外使用的SPA和SPG主要是生物工程产品，其成本大大低于从自然菌中提取的SPA和SPG^[8]。1989年Eliasson等人报道了用大肠杆菌表达二者的融合蛋白SPAG^[6]；1991年Andrew Lew等人将SPA及SPG的IgG结合区的基因分别克隆到高效表达载体PGEX，成功表达了SPA、SPG与谷胱甘肽转移酶(GST)的融合蛋白——PA-GST及PG-GST，可溶性蛋白的产量为50mg/L培养菌，并易于提纯^[4]。作者与Andrew Lew合作，用同一载体成功地表达了SPA/SPG融合蛋白(SPAG)。该产物具有SPA的5个IgG结合区和SPG的2个IgG结合区，较SPA或SPG具有更为广泛的免疫化学活性^[8]。表3列出了人和动物血清与基因重组产物PA-、PG-和PAG-GST的琼脂扩散试验结果。在所测试的血清中，SPAG-GST与人和兔、鼠、猫、狗、猴、猪、羊、马、牛、骆驼、羊驼、海豹、狼、鹿等动物的血清反应。由于已知琼脂扩散反应的局限性，或许更灵敏的试验会揭示长鼻目和有袋目动物的血清可与PAG-GST反应，而使该产品成为极有前途的免疫化学试剂。另一种杂交产物SPG/碱性磷酸酶也获表达^[8]，它可直接用作ELISA检测中的第二种试剂。如对人及兔、鼠血清的ELISA检测，该蛋白的工作浓度为5 μ g/ml；对绵羊血清的检测，其浓度为25 μ g/ml。今后有可能将SPA、SPG及碱性磷酸酶的基因融为一体进行表达，使之既有SPA及SPG的IgG结合活性，又有碱性磷酸酶的活性。

IgG受体蛋白的应用领域极为广泛，国内有关SPA的报道已很多^[9]。现有的基因工程产物SPAG较SPA的反应活性更强，将对免

表3 人和各种动物血清与PA-、PG-、PAG-GST的琼脂扩散试验

供试动物		PA*	PG*	PAG*
灵长目	人 猴	+	+	+
食肉目	猫 狗 狼 海狗	+	-	+
偶蹄目	绵羊 山羊 奶牛 鹿 水牛	-	+	+
	猪 骆驼 羊驼	+	+	+
奇蹄目	马	-	+	+
兔目	兔	-	-	+
啮齿目	小鼠	-	-	+
长鼻目	大鼠	-	-	-
有袋目	袋鼠 考拉熊 袋獾	-	-	-
禽纲	鸡 鸭	-	-	-

* 三种蛋白分别从基因重组产物中提纯

疫化学技术的发展和作用起到促进作用。IgG受体蛋白SPAG的应用前景如下：

(1) 作为广谱的第二抗体试剂：用辣根过氧化物酶(HRP)或碱性磷酸酶标记SPAG，用于ELISA试验；也可用荧光素标记，用于免疫荧光技术；而用放射性同位素标记SPAG，适用于检查大部分哺乳动物标本。此外，SPAG可用于免疫电镜技术。澳大利亚动物卫生实验室(AAHL)的Alex Hyatt用金标记作者提供的SPAG，对多种动物标本进行检测，获得了理想的结果。我们已将SPAG-HRP结合物用于Western Blot的检测，效果良好。

(2) 免疫吸附剂：基于SPAG可与IgG Fc片段结合的特点，把它交联到一定的固相剂上，可以纯化大部分哺乳动物的IgG，或用以分离Fab和Fc片段。

(3) 用于肿瘤治疗的研究：SPA用于肿瘤治疗的效果是肯定的。多数学者认为其作用机制与SPA-IgG复合物的形成有关^[9]。作者设想，基因工程产物SPAG易于提纯，性能稳定，有可能代替SPA，为肿瘤的治疗开辟一条途径。

(下转第105页)

(上接第 118 页)

参 考 文 献

- [1] Myhre E B, Kronvall G. Basic Concepts of Streptococci and Streptococcal Disease. Reed-book, Chertsey, U. K. 1981, 209—210.
- [2] Reis K J, Siden E J, Boyle M D P. Biotechniques, 1988, **6**: 130—136.
- [3] Kronvall G. J. Immunol., 1973, **111**: 1401—1406.
- [4] Andrew Lew, Beck D J, Thomas L M. J. Immunol. Methods, 1991, **136**: 211—219.
- [5] Ed Harlow, David Lane. Antibodies, Cold spring Harbor Laboratory Printed in U. S. A, CSH, 1988, 617—618.
- [6] Eliasson M, Andersson R, Olsson A, *et al.* J. Immun., 1989, **142**: 575—581.
- [7] Angela M G, David R F, Nina Z E, *et al.* Science, 1991, **253**: 657—661.
- [8] Shu-hua Sun, Andrew Lew. J. Immun. Methods, 1992, **152**: 43—48.
- [9] 薛清刚. 当代世界医学, 北京: 人民卫生出版社, 1989, 51—64.