

ساختمان ایمنو نو گلوبولین ها

در این مقاله حتی المقدور سعی میشود که ساختمان شیمیائی و فعالیت ایمنو نو گلوبولینها تجزیه و تحلیل گردد و از شرح جزئیات روشهای شیمیائی و فیزیکی که برای کاوش آنها بکار رفته خودداری مینمائیم .

ایمنو نو گلوبولینها

امروزه کاملاً معلوم شده که فعالیت پادتنی در سه گروه از پروتئینهای سرم مشاهده میشود که آنها را ایمنو نو گلوبولین میخوانند . این سه گروه عبارتند از :
(برای آشنائی بیشتر خوانندگان ارجمند نامها و اصطلاحات قدیم و جدید برای این دسته از پروتئینها ذکر میگردد .)

اصطلاحات جدید	اصطلاحات قدیم
۱ - IgG, γ G	γ 2, γ 7S, γ ss, 6.6 γ
۲ - IgA, γ A	γ 1A, β 2A, 6.6s γ
۳ - IgM, γ M	γ 1M, β 2M, 19s γ

این سه گروه پروتئین بوسیله دستگاه ایمنو نو الکتروفورز کاملاً قابل تمیز و تشخیص میباشد (علاوه بر فعالیت آنتی کوری در سه گروه از پروتئینهای فوق الذکر اخیراً دسته دیگری پروتئین بنام γ E در سرم اشخاص مبتلا به Atopic allergy یافته اند که معتقدند خاصیت آنتی کوری Reaginic یا Skin Sensitizing antibody در این قسمت موجود است) البته لازم بتوضیح است که کلمه ایمنو نو گلوبولینها علاوه بر سه گروه فوق به γ L گلوبولین نیز اطلاق میشود (1).

در اینجا خواص هر یک از گروههای فوق الذکر بطور مختصر ذکر میگردد .
الف - γ G (IgG) این قسمت از پروتئین سرم تقریباً ۷۵ تا ۹۵ درصد مقدار گلوبولین کل سرم را تشکیل میدهد .

وزن مولکولی γ G تقریباً ۱۶۹۰۰۰ میباشد و در تجزیه الکتروفورزی در ناحیه α تا β ممکن است یافت شود . ضریب ته نشینی (Sedimentation coefficient) این قسمت از گلوبولین γ S 75 است و مقدار قند موجود در این پروتئین تقریباً ۲/۵ گرم درصد است (2) .

زمان نیمه عمر (Half Life) $G \ 23 \ 2$ روز است ولی البته باید در نظر داشت که این مدت بستگی بمقدار $G \ 2$ موجود در سرم خون دارد مثلاً در اشخاص Hypogammaglobulinemic (که مقدار $G \ 2$ فوق‌العاده جزئی است) و یا در افرادی که بیشتر گلوبولین خونشان از $A \ 2$ و $M \ 2$ تشکیل یافته (Half Life) $G \ 2$ به سی روز میرسد. در انسان سالم هر روز در حدود $G \ 2$ گرم ساخته و یا از بین میرود (3) فعالیت پادتنی در $G \ 2$ (برعکس $M \ 2$) معمولاً پس از مدت معینی ظاهر میشود و دوام آن طولانی است (4).

ب - $M \ 2$ (IgM) این دسته از پروتئینهای سرم تقریباً 7 درصد مقدار کل گلوبولین موجود در سرم را شامل است وزن مولکولی آن 190000 و ضریب ته نشینی آن $S \ 19$ است. هر چند ضریب ته نشینی قسمت جزئی از این دسته پروتئین به $S \ 29$ و $S \ 38$ میرسد (5). مقدار قند موجود در $M \ 2$ تقریباً 10 درصد وزن آن است و در تجزیه الکتروفورزی این پروتئین معمولاً در ناحیه بین 2 و β یافت میشود. زمان نیمه عمر آن در حدود 5 روز است و در انسان هر روز $0.7/2-0.2/2$ گرم از این پروتئین ساخته و یا از بین میرود. معمولاً خاصیت آنتی کوری در $M \ 2$ قبل از بوجود آمدن $G \ 2$ پدید میآید ولی این خاصیت نسبتاً زود گذر است بعلاوه آنتی کور $M \ 2$ فقط قادر است با آنتی ژنهای غیر محلول (particulate) ترکیب شده و بهیچوجه نمیتواند آنتی ژنهای محلول را خنثی نماید (6).

فعالیت‌های فیزیولوژیکی این دسته از گلوبولینها عبارتست از: (8 و 7)

- ۱- بعضی آنتی کورهای آگلوتینین سرد در $M \ 2$ یافت شده است.
- ۲- آنتی کور ضد آنتی ژن O سالمونلا ($M \ 2$ Salmonella) میباشد.
- ۳- فاکتور مخصوص روماتوئید $M \ 2$ است (Rheumatoid Factor).
- ۴- بعضی فاکتورها مانند فاکتور ضد تیرو گلوبولین پاره آنتی کورهای گروه خونی و پادتن مخصوص واکنش واسرمن در قسمتهای IgG و IgM یافت میشوند.

ج - $A \ 2$ (IgA) حدوداً 22 درصد مقدار کل گلوبولین سرم را تشکیل میدهد. این قسمت از پروتئین سرم بوسیله سولفات روی و همچنین دستگاه الکتروفورز از سایر پروتئینهای سرم جدا میشود. در تجزیه بوسیله اولترا سانتریفوژ $A \ 2$ دارای ضریب ته نشینی مختلف از قبیل $S \ 7$, $S \ 9$, $S \ 11$ و $S \ 13$ میباشد ولی قسمت عمده $A \ 2$ ضریب ته نشینی برابر با $S \ 7$ دارد. مقدار قند این پروتئین سرم در حدود $10-7$ درصد وزن آنست و در تجزیه الکتروفورزی در ناحیه β و 2 مشاهده میگردد محققین گزارش داده اند که فعالیت پادتنی $A \ 2$ بیشتر در براق، اشک چشم، اغوز (Colostrum) و در ترشحات روده و بیبی است. اگر این گزارشات صحت داشته باشد باید این نوع پروتئین را دافع قسمتهای روباز بدن و در حقیقت مدافع مکانهای ورود باکتریها نامید (9).

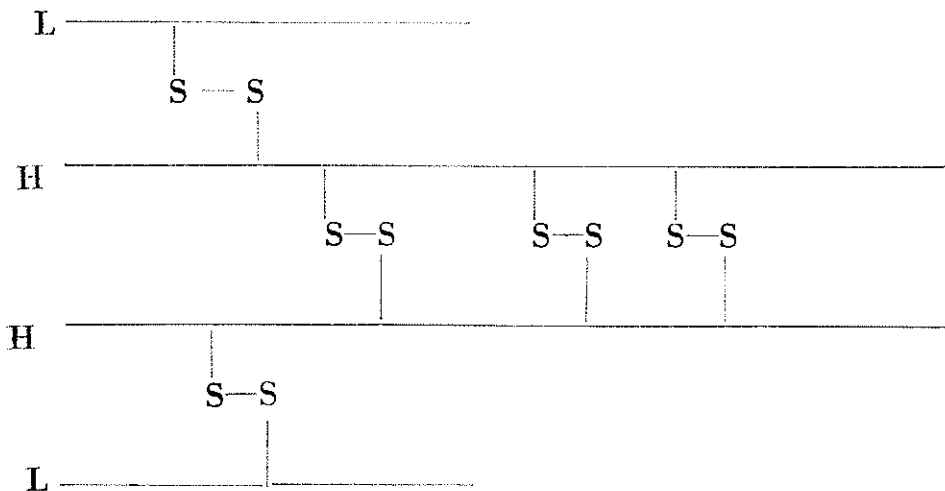
تجزیه شیمیائی ایمنو نو گلوبولین‌ها

معمولاً ایمنو نو گلوبولین‌ها بیش از یک زنجیره پپتیدی Peptide chain دارند و مسلم است که واحدهای اولیه این پروتئینها بوسیله ترکیب اسیدهای آمینه زنجیره‌های کناری بهم متصل میباشند. رابطه‌های دی سولفید (Disulfide bonds) سیستین (Cystine) شاید تنها باند کووالانس (Covalent bond) باشد که زنجیره پروتئینها را بهم وصل کرده است. واضح است که این رابطه‌های دی سولفید بوسیله احیا نمودن قابل تجزیه میباشند و نتیجه از روی وزن مولکولی اجسام حاصله از احیاء نمودن پروتئین میتوان به تعداد زنجیره‌های پپتیدی (Peptide chain) موجود در آن مولکول پی برد مثلاً اگر γG به وزن ملکولی $150,000$ با Mercaptoethanol در حضور 6M اوره تجزیه گردد اجسامی تولید میشود که وزن مولکولی آنها در حدود $50,000$ میباشد در این عمل در حدود 15 رابط دی سولفید از هم گسسته میگردد. تقلیل وزن مولکولی از $150,000$ به $50,000$ حاکی از این است که در مولکول γG گلوبولین در حدود 3 زنجیره پپتیدی وجود داشته است. بهر حال بر اثر این عمل یعنی احیا کردن دو واحد اصلی ایجاد میگردد که میتوان آنها را با سانی بوسیله (CMC) Carboxy Methyl Cellulose گروماتوگرافی از هم جدا نمود ولی متأسفانه واحدهای پروتئینی فوق‌الذکر بر اثر وجود اوره کاملاً خواص فیزیولوژیکی خود را از دست میدهند. حال اگر زنجیره پپتیدی مولکول γG گلوبولین را با Mercaptoethanol در غیاب اوره احیاء نمایند تقریباً 5 رابط شیمیائی دی سولفید (در هر مولکول گلوبولین) از هم جدا میگردد و جسم ثانوی تمام خواص بیولوژیکی جسم اولیه را دارا خواهد بود ولی البته در این عمل وزن مولکولی جسم ثانوی نسبت به وزن مولکولی جسم اصلی تغییری ننموده است و در صورتیکه جسم حاصله را در محیط اسید استیک یک نرمال دیالیز کنند و سپس محلول دیالیز شده را در ستون (*) Sephadex گروماتوگرافی نمایند دو نوع جسم با وزن مولکولی مختلف حاصل میشود که آنها را A و B میخوانند (10) دو نوع جسم دیگر را محققین دیگری بر اثر احیاء نمودن زیاد پروتئین مستقیماً بدست آوردند و بترتیب بنامهای H (Heavy) و L (Light) خواندند. سپس معلوم گردید که A همان H و B همان L میباشد (11). پپتیدهای H و L که بترتیب 74 و 26 درصد وزن γG را تشکیل میدهد در محلول آبکی خنثی کاملاً حل شده و بیشتر خواص حیاتی پروتئین اولیه را دارا میباشند. وزن مولکولی زنجیره‌های H هر یک $52,000$ و زنجیره‌های L هر یک $20,000$ میباشد. بعلاوه بنظر نمیرسد که هیچیک از این زنجیره‌های پپتیدی از پپتیدهای کوچکتری تشکیل یافته باشند که بوسیله رابط دی سولفید بهم متصل هستند زیرا بر اثر احیا نمودن کامل این پپتیدها در وزن مولکولی جسم و جنبش الکتروفورزی آن تغییری حاصل نمیگردد. از آزمایشات متعدد در این زمینه باین نتیجه رسیدند که

(*) Sephadex عبارت از مواد شیمیائی است که معمولاً برای جدا نمودن اجسام از روی وزن مولکولی

آنها بکار میرود.

مولکول γ G گلوبولین ازدوزنجیره H و دوزنجیره L تشکیل یافته است و ۵ رابط شیمیائی دی سولفید دوزنجیره H و L را بهم متصل کرده است. دو رابط دی سولفید زنجیره های H و L را بهم ربط داده و سه رابط دی سولفید دوزنجیره H را بیکدیگر متصل نموده است (شکل ذیل تا اندازه طرز قرار گرفتن زنجیره های L و H و نیز رابطهای شیمیائی دی سولفید را نشان میدهد) (10)



باید در نظر داشت که ترکیب اسیدهای آمینه هر يك از دو زنجیره H و L مختلف و متفاوت است در صورتیکه جمع اسیده های آمینه دو زنجیره H و دو زنجیره L مساوی با اسیده های آمینه مولکول γ G گلوبولین اولیه است. قند موجود در مولکول گلوبولین پس از تجزیه در قسمت زنجیره H یافت میشود و حرکت الکترو فوری این زنجیره با حرکت الکترو فوری مولکول γ G اولیه مطابقت مینماید در حالیکه زنجیره L جنبش الکترو فوری متفاوت دارد (12).

مطالعات دقیق تر با Strach Gell Electrophoresis ثابت نمود که زنجیره (B) از ده ترکیب مختلف تشکیل یافته که آنها را بناهای $B_1 \dots B_{10}$ میخوانند بعلاوه دو گروه آنتی ژنی مختلف بنامهای Type I و Type II در زنجیره L یافتند. این معلومات با کشفیات بعدی یعنی وجود دو نوع پروتئین Bence Jones با دو گروه آنتی ژنی مختلف و الگوی پپتیدی متفاوت مطابقت مینماید (13).

تجزیه ایمو گلوبولین ها بوسیله دیاستاز

در سال ۱۹۵۸ Porter (14) اولین شخصی بود که توانست با موفقیت بوسیله پاپائین فعال شده توسط سیستمین Cysteine گلوبولین خرگوش را به سه گروه تجزیه و آنها را بوسیله

گروماتوگرافی از هم جدا سازد که امروزه آنها را بنامهای تکه I و II و III پورتر Porter میخوانند. وزن مولکولی هر يك از تکه‌های I و II در حدود ۵۰۰۰۰۰ و تکه III وزن مولکولی برابر با ۸۰۰۰۰۰ داشت بعلاوه در تکه‌های I و II خاصیت پادتنی وجود داشت بدینموال که هر يك از تکه‌ها گرچه بنهائمی نمیتوانستند با آنتی ژن مخصوص پرسی سبتاسیون تولید کنند ولی قادر بودند از ترکیب آنتی ژن با پادتن تجزیه نشده جلوگیری نمایند. پورتر از این آزمایش نتیجه گرفت که هر يك از تکه‌های I و II فقط حامل يك محل ترکیبی (Combining site) بودند. در تکه III پورتر هیچگونه خاصیت پادتنی موجود نبود ولی قادر بود کمپلمان (Complement) را در راکسیون‌های آنتی ژن - آنتی بادی فیکسه نماید.

شکستن γ گلوبولین خرگوش بوسیله پپسین نیز در سال ۱۹۵۹ توسط Nisonoff (15) انجام شد و در نتیجه این عمل فقط يك تکه پروتئین با وزن مولکولی ۱۰۰۰۰۰۰ بدست آمد و وظاهرأ قسمت III پورتر بر اثر پپسین نابود شده بود. تکه 5S Nisonoff با وزن مولکولی ۱۰۰۰۰۰۰ و ضریب ته نشینی 5S قادر بود با آنتی ژن مخصوص خود پرسپیتته کند که خود حاکی از این بود که این قسمت حامل هر دو محل ترکیبی آنتی کور (Combining site) بود. تکه 5S Nisonoff بر اثر ترکیب با سیستئین (Cysteine) به دو نیمه مساوی که ضریب ته نشینی هر يك 3S بود تقسیم گردید که هر يك از این دو قسمت کاملاً شبیه به گروه‌های I و II پورتر بودند بعدها Nisonoff و همکارانش ثابت نمودند که يك رابط دی سولفیدی تکه‌های I و II را بهم وصل نموده است.

گلوبولین انسان و موش بعدها بوسیله آنزیم تجزیه شد که نتیجه آن کاملاً شبیه به تجزیه گلوبولین خرگوش میباشد (16) بر اثر تجزیه γ گلوبولین بوسیله پاپائین و سیستئین يك تکه بنام F و تکه دیگری با نام s (Slow) که حرکت الکتروفورزی آن آهسته بود بدست آمد که این تکه بر اثر تجزیه بوسیله گروماتوگرافی به قسمت‌های A و C تقسیم گردید. A و C هر يك فقط دارای يك محل ترکیبی آنتی کوری بودند و در حقیقت تکه‌های A و C در گلوبولین انسان با تکه‌های I و II گلوبولین خرگوش و تکه F یا B انسان با تکه III پورتریکی است. پس از مطالعات و کلاوهای فوق محققین جهت مطالعه بیشتر ساختمان مولکول لازم دانستند تکه‌هایی که بر اثر دیاستاز بدست آمده (تکه‌های Porter, Nosoneff) با زنجیره‌های پپتیدی (Peptide) که بر اثر احیا کردن شیمیائی ملکول γ حاصل شده بود مقایسه و وجه مشترك آنها را مورد مذاقه قرار دهند. بدین منظور آنتی کور مخصوص تکه‌های I و III پورتر در بز تهیه شد و برای راکسیون سرولوژی در مقابل زنجیره‌های پپتیدی قرار گرفت.

(17).

مشاهده گردید که پپتید H با هر دو آنتی کورها واکنش ایجاد نمود در صورتیکه زنجیره B فقط با آنتی کور تکه I و یا II ترکیب میشد ولی بهیچوجه با آنتی کور تکه III راکسیون-

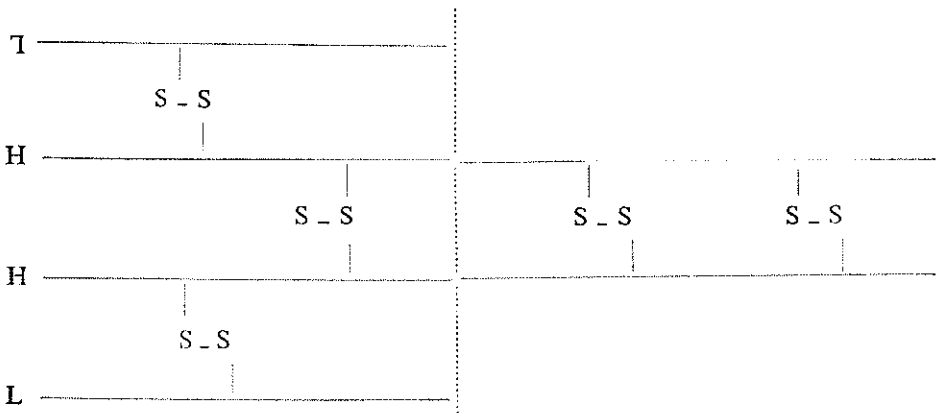
ایجاد نمیکرد. این آزمایش نشان داد که قسمتی از زنجیره H درحین تجزیه دیاستازی با پائین از قسمت دیگری از آن زنجیره قطع و جدا شده است و قسمتی از آن در تکه I و سهم دیگری از آن در تکه III پورتر جایگزین شده بود (زیرا هم با پادتن I و هم با آنتی کسور III واکنش ایجاد نمود). عبارت دیگر تکه I پورتر شامل زنجیره پپتیدی L و قسمتی از H بود ولی تکه III فقط قسمتی از H را دارا میبود.

درحقیقت محل واکنش اثر پائین‌ها منطوری که در شکل ذیل نشان داده شده تقریباً وسط زنجیره های پپتیدی H میباشد و نتیجتاً تکه III پورتر فقط از زنجیره های H متشکل است.

تکه I و II خرگوش

تکه III خرگوش

تکه F انسان



(A piece)

محل اثر پائین

این تحقیقات ثابت نمود که تکه های I و II پورتر که دارای فعالیت آنتی کوریست بوسیله يك رابطه دی سولفیدی بهم مربوط میباشند و هر يك شامل زنجیره کامل L و قسمتی از H هستند این قسمت بعدها بوسیله دانشمندان کاملاً جدا و بنام تکه A (A piece) خوانده شد. ذیلاً اصطلاحاتی که توسط سازمان بهداشت جهانی جهت تکه های آنزیمی و شیمیائی پیشنهاد شده ذکر میگردد.

اصطلاحات کنونی

اصطلاحات پیشنهاد شده

که استعمال میشود

سازمان بهداشت جهانی

A, C, S (I, II)

Fab fragment

(antigen binding)

B, F (III)

Fc fragment

(cystallizable)

A piece

Fd fragment

هما نظور که مولکول γG گلوبولین قابل تجزیه به مولکولهای کوچک میباشند منطوری هم مولکولهای کوچک حاصله میتوانند با هم ترکیب شده و به مولکول γ گلوبولین اولیه مبدل گردند. البته مولکول γ گلوبولین که از ترکیب مولکولهای کوچک بدست میآید بوسیله

رابطه شیمیائی کووالانس بهم متصل نبوده و باسانی حتی در H اسید قابل تجزیه میباشند. جالب اینجا است که نصف مولکول γG بامشخصات معینی قادر است با نصف مولکول γG دیگر که اختصاصات متفاوت نسبت به اولی دارد ترکیب شده و مولکول γG دورگه Hybrid تولید نماید که در یک طرف آن یکنوع فعالیت و در طرف ثانوی نوع دیگری فعالیت ترکیبی خواهد داشت. مثلاً هر طرف مولکول γG دورگه میتواند با آنتی ژن مخصوص بخود ترکیب شوند (18).

نشابه ساختمانی γG و γM و γA

آزمایشی نظیر آزمایشهای فوق الذکر که در مورد γG انجام شده بود درباره γM و γA حقایق ذیل را فاش کرد.

۱ - پس از احیا کردن و تجزیه نمودن γM و γN واحدهای حاصله اصولاً شبیه به واحدهای γG گلوبولین میباشند بدین منوال که بر اثر تجزیه آنها پپتیدهای H و L تولید میشوند.

۲ - گرچه زنجیره‌های L (B) هر سه گلوبولین‌ها در تجزیه الکتروفورزی کاملاً مشابه یکدیگر هستند ولی زنجیره‌های H این ایمونو گلوبولینها هم از نظر تجزیه الکتروفورزی و هم از جهت خاصیت آنتی ژنی بودن کاملاً متمایز و مشخص میباشند.

۳ - آنتی ژنهای ارثی Inv در هر سه ایمونو گلوبولینها وجود دارد در صورتیکه فاکتورهای Gm فقط در زنجیره γG موجود است.

خواص تکه Fc (تکه III پورتر)

بعضی خواص فیزیولوژیکی پادتن کامل فقط در تکه Fc یافت میشود و در تکه Fab وجود ندارد مثلاً تکه Fc میتواند کمپلمان Complement را در راکسیون آنتی ژن - آنتی - کورفیکسه نماید. ذیلاً پاره دیگر از خواص تکه Fc بطور اختصار ذکر میگردد و لازم است خاطر نشان شود که خواص ذیل در تکه‌های I و II وجود ندارد.

۱ - کمپلمان رافیکسه مینماید.

۲ - ازجفت باسانی قابل عبور است.

۳ - از ترکیب فاکتور روماتوئید با γG جلوگیری مینماید (Rheumatoid Factor)

۴ - قابل کریستالیزه شدن میباشد.

خواص آنتی ژنی ایمونو گلوبولینها

مطالعات ایمونو الکتروفورزی و gel diffusion آشکار نمود که تمام ایمونو گلوبولینها دارای خواص آنتی ژنی مشترک میباشند بنابراین پادتن ضد γG گلوبولین میتواند با γA و γM راکسیون ایجاد نماید و یا پادتن γM قادر است با γG و γA ترکیب شود. علاوه بر-

آنتی‌ژن‌های مشترک این سه پروتئین دارای آنتی‌ژنهای اختصاصی میباشند. همانطور که قبلاً ذکر شد پرائر تجزیه گلبولین‌ها بوسیله پاپائین دو تکه آنتی‌ژنی مشخص حاصل میشود که آنها را F و S مینامند.

آنتی‌ژنهای مشترک ایمونو گلوبولینها بایکدیگر و با پروتئین میولیم (Myeloma protein) و بنز جونز در تکه S و آنتی‌ژنهای اختصاصی هر یک از این پروتئینها در تکه F قرار دارد. عبارت دیگر آنتی‌ژنهای مشترک که در تکه S قرار گرفته در زنجیره B و آنتی‌ژنهای اختصاصی که در تکه F موجود است در زنجیره‌های A یافت میشود. باین علت برای تهیه پادتن اختصاصی هر یک از ایمونو گلوبولین‌ها کافیتست که پادتن مولکول کامل را برای جذب پادتن مشترک در مقابل زنجیره B قرار دهند.

گروه آنتی‌ژنهای مشترک موجود در زنجیره B در انسان دو نوع میباشد و آنها را انواع I و II میخوانند. بهمین علت است که از نظر آنتی‌ژنی دو نوع مختلف پروتئین بنز جونز وجود دارد.

References

- 1 - Eisen, H. N., and Pearce, J. H. *Ann. Rev. Microbiol.*, 16, 101 - 26 (1962)
- 2 - Fudenberg, H.H., *Ann. Rev. Microbiol.*, 19, 301 - 31 (1965)
- 3 - Cohen, S., and Porter, R. R., *advan. Immunol.*, 4, 287 - 349 (1964) Individual References
- 1 - Webb, T., Rose, B., and Behon, A.H. (1958). *Cand J. Biochem. Physiol.* 36: 1167.
- 2 - Rosevear, J. W., and Smith, E.L. (1961). *J. Biol. Chem.*, 236 : 425
- 3 - Cohen, S., (1963) *Brit. Med. Bull.* 19 : 202
- 4 - Eisen, H.N., and Siskind, G.W. (1964) *Biochemistry.* 3: 996
- 5 - Muller - Eberhard H.J., and Kunkel, H.G. (1959), *Clin. Chim. Acta.* 4: 252
- 6 - Uhr, J.W., (1964). *Science.* 145: 457
- 7 - Porter, R.R. *The Plasma proteins.* New York: Academic Press, Vol. IP. 279, 1960
- 8 - Fahey, J. L., and Goodman, H. C. (1960). *J. Chin. Invest.* 39 : 1259

- 9 - Tomase, T. B., Jr., and Zigelbaum, S., (1963). *J. Clin. Invest.* 42: 1552
- 10 - Fleischman, J. B., Porter, R.R., and Press, E. M. (1963). *Biochem. J.* 82: 220
- 11 - Edelman, G.M., and Benacerraf, B., (1962) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 48: 1035
- 12 - Porter, R. R., In *Basic Problems in Neoplastic Disease*. Columbia Univ. Press. New York, Page 177, (1962).
- 13 - Cohen, S., and Porter, R.R. (1964). *Biochem. J.* 90: 278
- 14- Porter, R.R. (1950). *Biochem. J.* 73 : 119.
- 15 - Nisonoff, A., Wissler, F.C., Lipman, L.N., and Woernley, D. L. (1960). *Arch. Biochem. Biophys.* 89 : 230.
- 16 - Edelman, G.M., Hermans, J.F., Hermans, M. T., and Kunkel, (1960) *J. Exp. Med.* 112: 203
- 17 - Fleischman, J.B., Pain, R.H., and Porter, R. R. (1962) . *Arch. Biochem., Supp. I* : 174 .
- 18 - Nisonoff, A., andy, W.F., (1962) *Nature* 194: 355.