

B 细胞免疫球蛋白与 T 细胞抗原受体基因的种系结构及其体细胞重排(续)

陈仁彪

(上海第二医科大学生物教研室和医学遗传学教研室)

T 细胞受体基因

以 ^{125}I 标记的抗原测试 T 细胞, 发现 T 细胞能与抗原结合, 在放射活性很高时被杀灭, 余下的 T 细胞就不再能结合此种抗原。这提示 T 细胞也具有抗原受体, 且有克隆多样性。但对 TCR 的本质多年来捉摸不定, 推测也是一种 Ig 样分子, 故称之为 IgT 或 IgX。1983 年同时有几个实验室制备了与 TCR 反应的克隆特异性抗体。1984 年以来相继克隆了 TCR 基因的 α 、 β 、 γ 基因族, 测定了它们的部分核苷酸顺序。结果提示 TCR 基因的种系结构十分类似于 Ig 基因族, 也同样通过体细胞重排产生活性基因, 二者同属于 Ig 超基因族 (Ig supergene family)^[1]。

(一) TCR 的基本结构及其类别

TCR 识别抗原受主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) (小鼠的 H-2 系统, 人的 HLA 系统) 约束, 即在识别抗原的同时也要识别 MHC 抗原。细胞毒 T 细胞 (cytotoxic T cell, T_c) 要同时识别 I 类抗原 (小鼠的 H-2D 和 H-2K 产物, 人的 HLA-A、HLA-B 和 HLA-C 产物)。辅助性 T 细胞 (helper T cell, T_H) 要同时识别 II 类抗原 (小鼠的 H-2 Ia 抗原, 人的 HLA-D 区抗原)。TCR 究竟是单受体还是双受体, 有过许多争论。近年来的有些研究结果表明 T 细胞并不独立识别抗原和 MHC 产物, 而是同时识别抗原和 MHC 产物, 即识别所谓“改变了的自身” (altered self), 但并不能排除 T 细胞有一种以上受体。

TCR 是一个大分子复合物, 它包含称为 T3 抗原的 3 个无特异性肽链, 其主要组成至少是由 α 和 β 二条肽链构成的一个异型二聚体^[1], 其分子量在小鼠为 42—45k, 在人为 39—49k。肽图分析与氨基酸顺序测定证明 α 链和 β 链均分别由 V 区和 C 区构成。 γ 基因产物也象 $\alpha\beta$ 异型二聚体那样参与决定 T 细胞克隆特异性。但针对 $\alpha\beta$ 异型二聚体的抗血清未能揭示 TCR, 除 T3 外还有额外的亚单位, 可能 γ 链仅疏松地联系于 $\alpha\beta$ 异型二聚体, 或为体细胞第二种受体之一部或全部。

针对 $\alpha\beta$ 异型二聚体的单克隆抗体可显著影响 T 细胞的功能。此外尚有 4 种抗人 T 细胞表面成份的单克隆抗体也可影响 T 细胞的功能, 已由它们检出与 T 细胞抗原识别有关的辅助分子: T4 (小鼠 L3T4)、T8 (小鼠 Lyt2)、T11 和 LEA-1。

TCR 识别抗原受 MHC 产物约束的分子机理尚未阐明。 β 基因在每个 T_c 和 T_H 细胞上都表达, 显然不会对此负责。 γ 基因在 T_c 细胞中优先转录, 似与 I 类抗原识别有关。不同的辅助分子也似与 T 细胞亚类和 MHC 产物有一定关联: T4 与识别 II 类抗原及 T_H 功能相关, T8 与识别 I 类抗原及 T_c 功能相关^[11]。

(二) TCR 基因的种系结构

1. α 链基因族 α 链基因族的种系结构未详, 但它的 cDNA 顺序提示存在 V_α 和 J_α 基因片段, 可能还有 D_α 基因片段^[23]。

2. β 链基因族 β 链基因族种系结构有 V_β 、 D_β 、 J_β 和 C_β 基因族。人的 C_β 基因片段有 $C_{\beta 1}$ 和 $C_{\beta 2}$, 大概各有它们自己的 J_β 基因族, 可称为 $J_{\beta 1}$ 和 $J_{\beta 2}$ ^[13, 23]。 C_β 基因片段有 4 个外显子。

3. γ 链基因族 γ 链基因族已鉴定 3 个 V_γ 基因片段和 3 个 J_γ — C_γ 基因族。由于在 γ 链 cDNA 顺序 V_γ 和 J_γ 接头处尚有额外的核苷酸, 强烈提示 γ 链基因族也含有 D_γ 基因片段^[10]。 C_γ 基因片段有 3 个外显子。

(三) 体细胞重排和重排信号

TCR 基因族的种系结构通过与 Ig 基因族几乎同样的体细胞重排产生活性基因。 β 基因族已检出 D_β 基因片段, α 和 γ 链基因族也有证据提示它们含有 D_α 和 D_γ 基因片段。因此 TCR 基因族的重排更接近 Ig 的 V/D/J 重排(图 11)。 V_β 和 V_γ 3' 侧的七聚体与

Chen Renbiao: Germ-line Structure and Somatic Rearrangement of Genes of B-cell Immunoglobulin and T-cell Antigen Receptor

中国遗传学会教育工作委员会推荐稿。

本文于 1985 年 9 月 11 日收到。

九聚体及 J_{β} 和 J_{γ} 5' 侧的七聚体与九聚体, 与 Ig 的对应顺序高度同源。有的是完全一样的, 如 V_{β} 七聚体和九聚体与 V_H 者完全相同, J_{β} 七聚体与 J_{λ} 者完全相同 (图 12)。

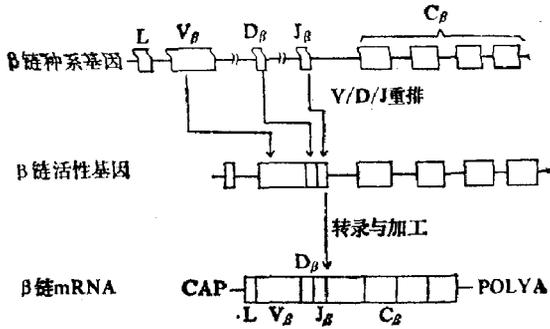


图 11 TCR β 链种系基因 V/D/J 重排和原初转录产物的加工 (根据 Siu et al., 1984 修改)

TCR 基因族的七聚体和九聚体之间也同样有一圈信号顺序和二圈信号顺序, 但在配布上略有不同。在 IgH 链基因族, V_H 3' 侧和 J_H 5' 侧都是二圈信号顺

序, 而 D_H 的两侧均有一圈信号顺序, 因此可按一圈信号和二圈信号拼接规则作 V/D/J 拼接。 J_{β} 5' 侧却不是二圈信号顺序而是一圈信号顺序^[23]。 J_{γ} 也是如此^[10]。相应的 D_{β} 5' 侧为一圈信号, 其 3' 侧为二圈信号 (图 13)^[11]。这证实了 TCR 基因族的体细胞重排也遵循 11/23bp 拼接规则, 但它们不仅可作 V/D/J 拼接, 还有 V/J 和 D/D 拼接的可能性。

B 细胞 IgH 链基因族重排是 D_H/J_H 拼接在先, 而后发生 V_H/D_H-J_H 拼接。同样情况也存在于 TCR β 链基因族, 胸腺细胞中经常有不完全的 $D_{\beta}-J_{\beta}$ 拼接。这一事实提示 β 基因族也是 D_{β}/J_{β} 拼接在先, 随后 V_{β} 连接到 $D_{\beta}-J_{\beta}$ 片段上。

TCR β 基因族重排时也有接头灵活性及在 V_{β}/D_{β} 和 D_{β}/J_{β} 接头处随机插入核苷酸的现象^[13, 24]。

(四) 体细胞突变

迄今所得 TCR 基因的核苷酸顺序数据有限。但所得结果提示 β 链基因也可能存在体细胞突变。 Siu 等 (1984)^[23] 比较种系 V_{β} 基因片段和重排后 cDNA, 发现有 9 处单个核苷酸差异, 其中 3 处在导引段外显

V_β 基因片段

$V_{\beta 2}$	CACAGCGCTGCAGAATCACCCCTGTG	CAGAAACCCTGG TGTTTCTCCTTCTT CTCT ACT
V_{H108A}T.T.A.A.CA.T.C.....A.G.GCAG.AAG.C.GGG.....
V_{H108B}T.T.ACCA.GG.C.....A.....AAG.GCAG.AAGG.GC.GAG.....
$V_{\lambda 1}$AT.ACATGTGTAG.TGGGA.ATCA.....CA.TCT.G.ACAGT.CA.AA.A.CACT.....
$V_{\lambda 2}$AT.ACATGTGTAG.TGGGA.AAC.....CA.TCT.G.ACAGT.CA.....A.CA.....

七聚体

二圈信号

九聚体

J_β 基因片段

$J_{\beta 1-1}$	CTTCAATGTGA	TTTTACCTTGACCCCTGTCACTGTG
$J_{\beta 1-2}$.CA.G.CCC.....	AGAG.GCTATA.TCTTA.....
$J_{\lambda 1}$	A.G.TGC.AAGG.....	TTG.A.GT.TA.A.....A.C
$J_{\lambda 2}$	G.A.TGCAGAG.....	TTG.A.T.GA.TA.A.....A.T
$J_{\lambda 3}$.GGCCCCATAGG.....	TGGG.GGTTT.TA.....T.T
$J_{\lambda 4}$.GGCCCCACAGG.....	AGGG.GGTTTCA.....G

九聚体

一圈信号

七聚体

图 12 TCR 种系基因重排信号与 B 细胞对应顺序比较 (Siu et al., 1984)。

● 示核苷酸与 $V_{\beta 2}$ 相同。

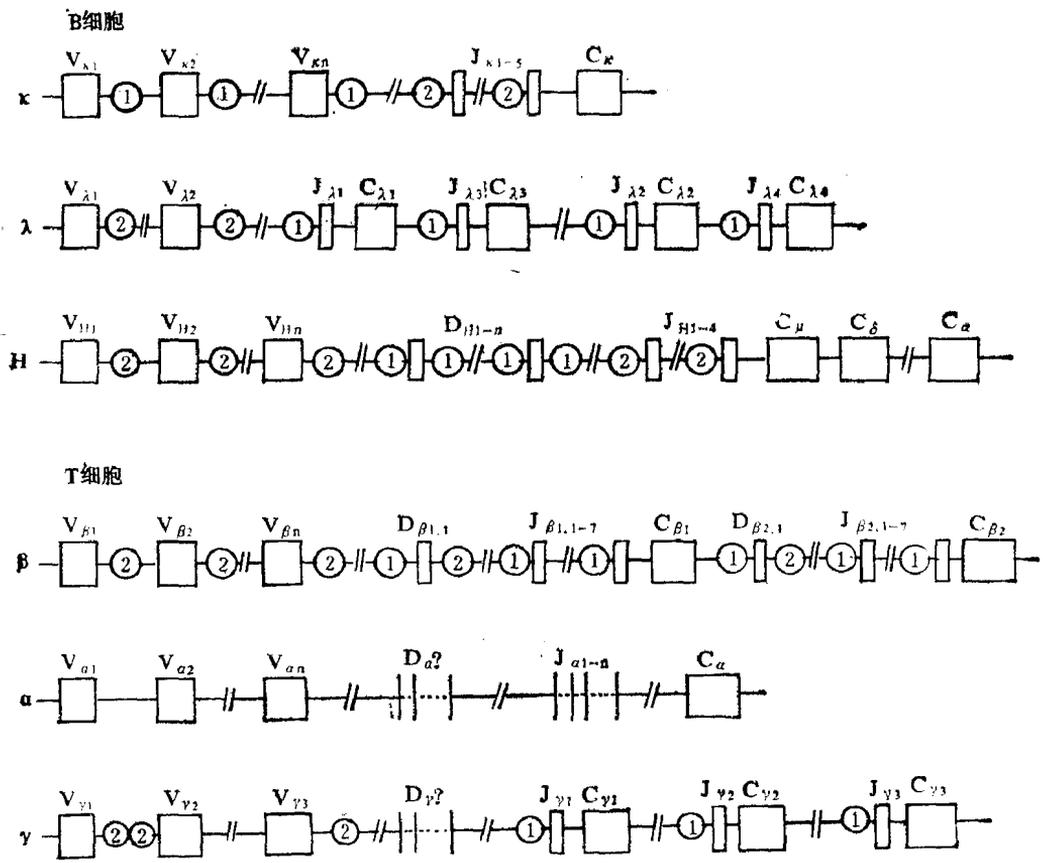


图 13 B 细胞 Ig 和 T 细胞 TCR 种系基因结构和体细胞重排 1 圈/2 圈间隔顺序配布格局 (根据 Hood et al., 1985 修改)

子, 6 处在 V_{β} 外显子, 引起 4 个氨基酸置换, 其中 2 个在导引段, 2 个在 V_{β} 区。在 J_{β} 基因片段也发现有单个核苷酸中性置换。

讨论与结论

(一) Ig 超基因族 T 细胞和 B 细胞都有克隆多样性。迄今对 TCR 的研究揭示, TCR 基因十分类似于 IgH 链基因。这表现在:

1. 两者的种系结构都包括 V、D、J、C 4 组基因片段。
2. 两者都在分化成熟过程中通过类似的体细胞 V/D/J 重排形成活性基因。它们的重排信号有相同或十分相似的七聚体和九聚体, 也遵循一圈识别顺序 (12bp 间隔) 总是拼接于二圈识别顺序 (23 ± 1 bp 间隔) 的规则。两者都是 D/J 拼接在先, 而后 V 拼接于 D—J。
3. 两者在 V/D 和 D/J 的重排接头处都可能有核苷酸拼接灵活性, 也都可通过某种未知机理随机(?) 插入核苷酸。
4. 两者都可发生体细胞突变。
5. TCR C_{β} 和 C_{γ} 基因片段也和 Ig C_{μ} 基因片

段那样, 有一段顺序为富含碱性氨基酸的穿膜肽段编码。

6. 两者产生多样性的机理也十分相似。Ig 的多样性有下列来源:

- (1) 种系多样性: 除 C_{κ} 在小鼠和人都只有一个基因片段外, 其他各基因片段都是不同程度的多份的, 彼此同源而不相同。
- (2) 重排多样性: L 链基因族的 V/J 重排和 H 链基因族的 V/D/J 重排产生组合多样性。
- (3) 接头多样性: V/J、V/D 和 D/J 接头处均有核苷酸拼接灵活性。另外, 在 V/D 和 D/J 接头处还可以不依赖于模板的方式插入一个或几个核苷酸。
- (4) 突变多样性: Ig 基因族有较高的突变率, 可能存在某种超突变机理。
- (5) 组合多样性: 特定的 L 链和特定的 H 链构成 Ig 分子产生 BCR 或 Ig 抗原结合部位大量组合多样性。

假定 V/J、V/D 和 D/J 的接头多样性有 10 种。估计小鼠 V_{κ} 有 300 种, J_{κ} 有 4 种, V_H 有 200 种, D_H 有 12 种, J_H 有 4 种, 则小鼠 κ 链多样性估计有 $300 \times 4 \times 10 = 12,000$, H 链多样性有 $200 \times 12 \times 4 \times 10 =$

960,000。小鼠 Ig 的多样性可达 $12,000 \times 960,000 = 115$ 亿。同样,人的 V_{κ} 有 150 种, J_{κ} 有 5 种, V_H 有 80 种, J_H 有 6 种, D_H 假设有 50 种, 则人的 κ 链可有 7,500 种, H 链可有 2,400,000, Ig 的多样性可达 180 亿。

上述 Ig 产生多样性的机理均存在于 TCR 中。从目前少量数据看来, TCR 基因的种系多样性大概低于 Ig, 因此它总的多样性程度可能低于 Ig, 但 TCR 有一种未见于 Ig 的多样性机理, D_{β} 基因片段可以 3 种读码框拼接接到 V_{β} 基因片段上, D_H 基因片段只以一种读码框拼接。此外, TCR γ 链与 $\alpha\beta$ 异型二聚体的关系不明, 对它的多样性程度还不能有即使是很粗略的估计。

当然 TCR 与 Ig 在结构上和功能上都是有差别的。已知 TCR β 链基因族在大鼠第 6 号染色体, 在人第 7 号染色体。T 细胞偶尔也可发生 IgH 链基因族 D_H-J_H 基因片段拼接。

Ig λ, κ, H 链基因族是一组有类似功能的同源基因, 可称为多基因族 (multigene family)。TCR α, β, γ 链基因族也是一个多基因族。两者同属于 Ig 超基因族 (Ig supergene family)。超基因族指的是一组顺序相关的同源基因, 但不一定在功能上相关, 可以包括若干个多基因族和单拷贝基因。

Ig 超基因族的原型是 Ig, 其结构单位是约长 110 氨基酸的同源单位 (homology unit), 每个同源单位通常有一个独立的外显子编码, 说明分子结构与基因的外显子/内含子结构相关。Ig 超基因族的成员都以这样的同源单位为其结构单位, 这些成员是 TCR 基因、MHC 基因、T8(Lyt2) 基因、多聚 Ig 受体基因和 Thy-1 基因。这些同源关系提示, 涉及于脊椎动物免疫反应的基因, 很多可能有共同的进化来源。

(二) 探索无止境。自从七十年代初有了分子遗传学实验技术, 在整个七十年代中对 Ig 遗传和多样性机理的研究取得了巨大的成果。种系学说和体细胞学说殊途同归, 熔于一炉, 基本上阐明了 Ig 多样性的来源。进入八十年代以来, 分子免疫遗传家们开始在捉摸不定的 TCR 领域中拓荒, 只花了两年多的时间就揭开了 TCR 的面纱, 进展迅速, 令人目眩。但是对 Ig 和 TCR, 不少老问题尚未找到答案, 新问题又不断产生, 看来探索是无止境的。

1. 等位排斥 (allelic exclusion) 是 Ig 遗传中的一个老问题, 指的是成熟 B 细胞只产生带有一种独特的抗原结合部位的 Ig, 它的等位结构是不表达的。这可以有几种可能性。

(1) Ig 基因族都是纯合的, 两条同源染色体发生完全相同的重排, 产生同一种活性基因。这看来是不可能的。

(2) Ig 基因族的等位结构是有缺陷的, 因此只有

一条染色体可通过体细胞重排产生一种活性基因。这就预期会有“缺陷纯合”的个体, 它们将完全不能产生 Ig 活性基因。这看来也是不可能的。

(3) 两条同源染色体都有体细胞重排的能力, B 细胞作重排试探, 一次重排成功就通过某种机理抑制了同源染色体的重排。已有证据提示重排可能失误, 产生所谓“非生产性拼接”。Ig 基因片段看来只按一个读码框翻译, 拼接脱出此读码框, 就不能产生有活性的基因, 这是一个吸引人的模型, 但对此同源抑制的机理毫无所知。

2. 选择性转录 (selective transcription) 或称差别转录 (cliffereential transcription) 见于 IgH 链 C_{μ_m}, C_{μ} 和 C_{δ} 的表达。这三类 H 链均由同一个活性基因转录。Nabeshima 等人(1984)报道, 鸡骨骼肌球蛋白碱性肽链基因有 9 个外显子, 在第一和第二外显子 5' 端各有一个转录起始信号, 因此产生一长一短两种原初转录产物, 再经不同拼接产生两种成熟 mRNA: LC_1 mRNA 包含 1-4-5-6-7-8-9 外显子, LC_2 mRNA 含有 2-3-5-6-7-8-9 外显子。Ig 的选择性转录的差别在 3' 端, 但细胞是怎样解决转录终止信号问题的呢?

3. 超突变装置 (hypermutation apparatus) 和核苷酸无模板随机插入 (random insertion) 被用来解释 Ig 很高的体细胞突变率和重排后 D_H 基因片段两侧的核苷酸变异。对它们的机理都还有待于研究。

4. 体细胞重排的拼接机理如何? 应用兔 Ig 同种异型标记的早期研究提示, 一条 Ig 链的 V 区和 C 区总是由呈 cis 构型的 DNA 片段编码。先验地来说, 染色体内重组可以有拷贝插入、切除插入、倒转拼接、成襻缺失、不等交换等几种模型。目前数据倾向于成襻缺失模型 (loopingout-deletion)。但已知有些骨髓瘤细胞以 J_{κ} 七聚体接于 V_{κ} 七聚体。成襻缺失或许并非唯一的机理。

5. 捉摸不定的 TCR 露出了它的真面目, 认识其作用机理还不容易。TCR 是一类分子, 还是有几类分子? γ 链与 $\alpha\beta$ 异型二聚体有关还是无关? 根据已知受体分子的二聚体单位模式, 或许在 γ 链之外, 还另有一种它的聚合肽链。凡此种种, 都有待于进一步探索。Ig 基因族的转录, 已知受它组织特异性增强子控制。TCR 基因族是否也有它的增强子顺序。好在有了 Ig 的模式, 对 TCR 的认识将会是加速度向前发展的。

参 考 文 献

- [1] Acuto, O. et al.: 1983. *Cell*, 34: 717—726.
- [2] Alt, F., D. Baltimore: 1982. *PNAS*, 79: 4118—4122.
- [3] Banerji, J.: 1983. *Cell*, 33: 729—740.
- [4] Benoist, C., P. Chambon: 1981. *Nature*, 290: 304—310.
- [5] Bernard, O. et al.: 1978. *Cell*, 15: 1133—1144.

- [6] Dreyer, W. J., J. C. Bennett: 1965. *PNAS*, 54: 864.
- [7] Early, P. et al.: 1980. *Cell*, 19: 981—992.
- [8] Gillies, S. D. et al.: 1983. *ibid.*, 33: 717—728.
- [9] Hayday, A. C. et al.: 1984. *Nature*, 307: 334—340.
- [10] Hayday, A. C. et al.: 1985. *Cell*, 40: 259—269.
- [11] Hood, L. et al.: 1985. *ibid.*, 40: 225—229.
- [12] Hozumi, N., S. Tonegawa: 1976. *PNAS*, 73: 3628—3632.
- [13] Kavaler, J. et al.: 1984. *Nature*, 310: 295—302.
- [14] Kemp, D. J. et al.: 1980. *PNAS*, 77: 2876—2880.
- [15] Leder, P.: 1982. *Scient. Amer.*, 246: 102—115.
- [16] Picard, D. et al.: 1984. *Nature*, 307: 80—82.
- [17] Queen, G. et al.: 1983. *Cell*, 33: 741—748.
- [18] Rogers, J. et al.: 1980. *ibid.*, 20: 303—312.
- [19] Rogers, J. et al.: 1981. *ibid.*, 26: 19—27.
- [20] Saito, H. et al.: 1984. *Nature*, 309: 757—762.
- [21] Sakano, H. et al.: 1979. *ibid.*, 277: 627—633.
- [22] Sakano, H. et al.: 1980. *ibid.*, 286: 676—683.
- [23] Siu, G. et al.: *Cell*, 37: 393—401.
- [24] Siu, G. et al.: *Nature*, 311: 344—350.
- [25] Tonegawa, S.: 1983. *ibid.*, 302: 575—581.
- [26] Van Ness, B. G. et al.: 1981. *Cell*, 27: 593—602.
- [27] Weiher, H. et al.: 1983. *Science*, 219: 626—631.

(全文完)



中国遗传学会召开二届四次常委会

中国遗传学会于1986年7月28日至8月1日在贵阳市召开二届四次常委(扩大)会。谈家桢理事长主持了会议。会议主要审查了各地向中国遗传学会第三次代表大会提交的学术论文,并通过了其它事宜。

中国遗传学会第三次代表大会暨学术讨论会截止1986年7月25日收到应征论文919篇,送审数877篇,中选文章514篇。这些论文内容广泛,质量有很大提高,反映出近四年来我国遗传学研究有了新的进展。这些中选论文将由湖南科技出版社出版,书名为《中国的遗传学研究》。每册估价3元,向全体会员以50%的价格优惠售给(1.5元),各地征订册数请报学会办公室,以确定印刷量。本书于1987年4月出版。第三次代表大会的代表名额及分配办法待1986年12月常委会确定。

关于是否设立免疫遗传学委员会事宜请人类和医学遗传委员会讨论后决定。会议同意成立中国医学遗传学会,归中华医学会和中国遗传学会双重领导。

常委会决定于1987年夏在内蒙古举办青

少年遗传学夏令营,营员60名左右,由爱好生物学的中学生组成。夏令营活动委托内蒙古遗传学会筹办,中国遗传学会科普委员会副主任、内蒙古农牧学院副院长耿庆汉负责。

自然科学名词审定委员会遗传学名词审定工作在复旦大学修订的“遗传学词汇”基础上进行,拟于1986年12月在广州或北京召开定稿会。

常委会听取了李汝祺优秀动物遗传学论文评审小组的汇报,决定1985年度奖金授予施立明同志和王宗仁同志。评审小组指出,1985年度动物遗传学优秀论文都是核学内容的文章,只是从核型角度探讨进化关系,面较窄。今后的评审工作将从发表在有关杂志的文章中评选,应征论文作者请将发表文章所刊登的杂志名称告学会办公室。

中国遗传学会常委会号召全体会员认真学习胡启立同志在中国科协三大开幕式上的讲话,努力作好遗传学的教学、科研和普及工作为四化建设作出应有的贡献。

(安锡培)