维普资讯 http://www.cqvip.com

HBsAg 颗粒表面的"尾巴"现象

张润高 黄志戎

（中国人民解放军第一医院，兰州）

关键词：HBsAg 颗粒，皂素，尾巴

乙型肝炎表面抗原（HBsAg）可引起保护性抗体，故对其结构的研究十分重视。已知HBsAg 颗粒由子粒组成，对它的氨基酸序列亦有不少了解[1]。然而子粒之间是怎样连结着，未见报道。我们用皂素等处理使 HBsAg 颗粒松散，以观察子粒间的结构，结果发现处理后，HBsAg 颗粒上可裂解出像条尾巴的丝状物，暂称为尾巴现象。从典型的尾巴上看出，子粒之间有着线性连结。现作如下报道。

材料和方法

1. **HBsAg 的提取和胃蛋白酶处理** 含 HBsAg 对流电泳（CEP）滴度 1：64 的人血清，生理盐水等量稀释，用 1N HCl 调 pH 至 1.55±0.05（丹麦 BMS_3 MK_2 pH 计测定），每毫升加粗制胃蛋白酶（北京生物化学制品厂，酶活力 1：3000）5mg，置 37℃ 水浴 6h，冷至室温用 1N NaOH 调至中性。以亲和层析从中提取抗原（提取过程用的洗脱剂为 3mol/L KCNS），再经亲和层析除去残留人血清蛋白，用滤菌器除菌。

2. **皂素处理** 提纯的抗原（CEP 滴度 1：8），每毫升加入 2～20mg 皂素（E. Merck）封入安瓿内，100℃ 煮沸 30分钟。

3. **电镜观察等** 经皂素处理后的抗原，对流电泳测定滴度，作免疫电镜凝集试验了解与抗体的反应性，在 4 万倍电镜下观察形态变化。同时用未经皂素和加热处理之抗原作对照试验。

结 果

1. HBsAg 的抗原性变化 HBsAg 先经胃蛋白酶处理，再经皂素加热处理，对流电泳测定滴度并未发生下降（表 1）。这反映出皂素对煮沸引起 HBsAg 蛋白的凝聚有阻止作用，使 HBsAg 与抗-HBs 的反应性在 CEP 测定时无影响。

2. 电镜观察的结果 经胃蛋白酶处理之后，HBV 的三种颗粒（Dane 颗粒，22nm 颗粒和管型颗粒），形态上无明显变化（图 1），但又经皂素加热处理后，三种颗粒都出现了结构松散，有的发生了裂解。最值得注意的是，一些颗粒裂解出像条尾巴的螺旋形丝

本文于1988年1月26日收到

本文曾被全国首届病毒学会议（1986年）选入论文汇编

本实验承蒙北京军区总医院陈良标付主任技师，卫生部兰州生物制品研究所吴妙灵付主任技师进行电镜观察和照像，特此致谢！

维普资讯 http://www.cqvip.com

状物（图2、3）。将图片中出现裂解等形状，剪集在一起（图4），可以见到：A_{1-2} 形

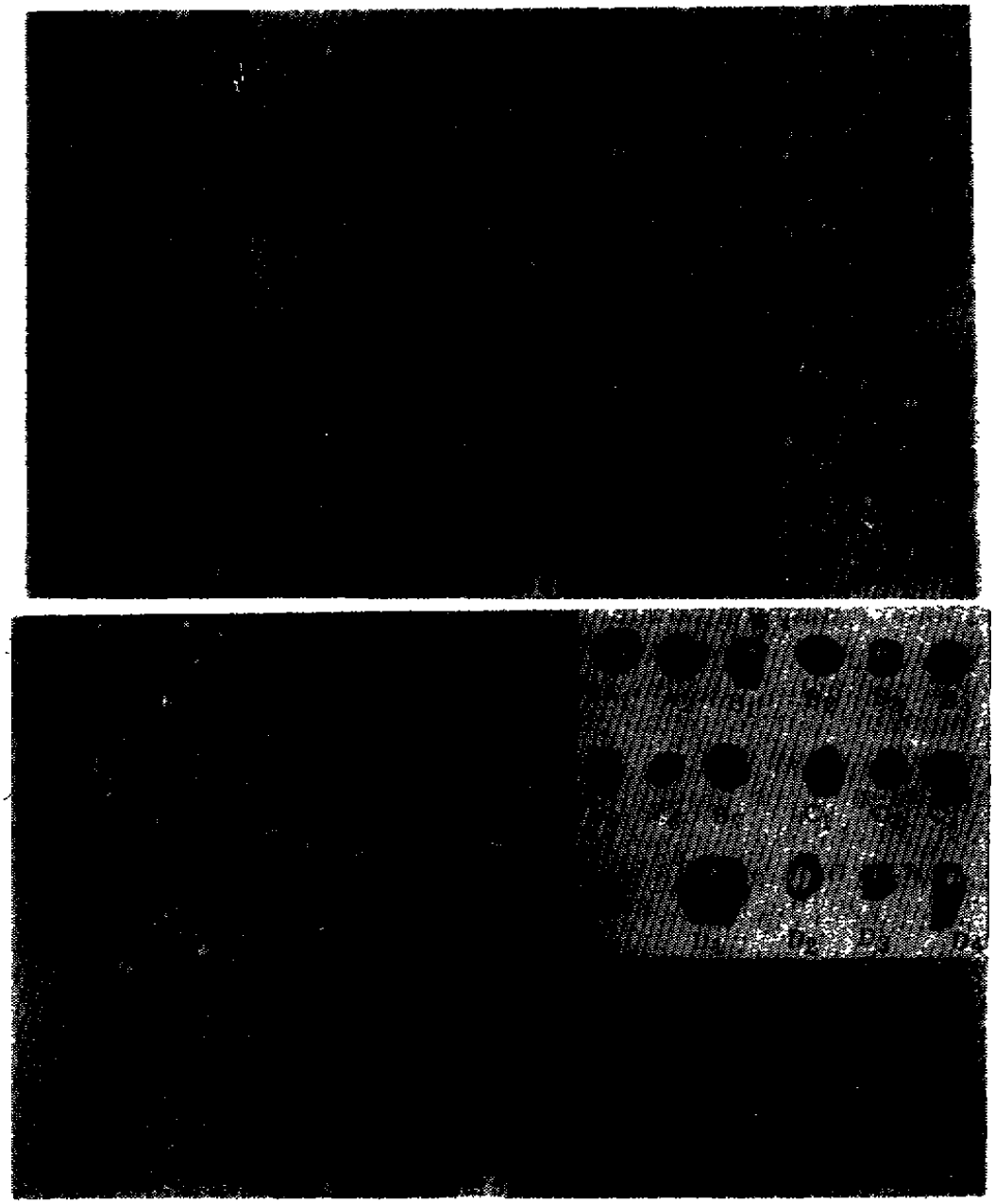

图 HBsAg 颗粒的电镜照片(120,000×)
Fig Electron micrographs of HBsAg particles
1 未经皂素处理无尾出现的 HBsAg 颗粒
1 HBsAg particles with no tails
2,3 经皂素和胃蛋白酶处理后出现了尾巴的 HBsAg 颗粒
2 3 HBsAg particles, which were treated by pepsin and saponin, with tail.
4 出现了尾巴颗粒的剪集
4 The clippings of HBsAg particles with tails

维普资讯 http://www.cqvip.com

态变化不明显；B_{1-8} 颗粒出现了各种形态改变，而且还裂解出了尾巴；C_{1-4} 是管型颗粒裂解出尾巴的现象，尤其是 C_1 清楚地显示出尾巴由三个子粒线性连接成螺旋形丝状物；D_{1-4} 是 Dane 颗粒遭裂解后出现的各种形状。HBsAg 颗粒仅经胃蛋白酶处理、仅加入皂素和仅经 100℃ 加热，都未出现尾巴现象。

免疫电镜凝集试验表明，提取的抗原颗粒与抗-HBs 混合后发生凝集。

表 1 加不同量皂素煮沸后 HBsAg 滴度变化

Table 1 The changes of HBsAg titer after adding various amount of saponin and boiling.

HBsAg 溶液(ml)	皂素(mg)	100℃(分)	对流电泳滴度 △				
			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
0.5	不加	0	+++	++	+−	−	−
0.5	20	30	+++	++	++	+	−
0.5	5	30	+++	++	+−	+	−
0.5	0.1	30	++	+	−	−	−
0.5	0	30	++	−	−	−	−
0	20(加盐水0.5ml)	30	−	−	−	−	−

△ "+～++" 表示不同程度沉淀线，"−" 表示无沉淀线

讨 论

根据免疫电镜凝集试验和形态学观察，提取出的抗原确为 HBV 的颗粒。它们在通常的情况下无尾巴现象，经皂素等处理之后，多次实验都发现了尾巴现象，所以说尾巴现象反映着 HBV 颗粒的一种结构。由于 22nm 颗粒和管型颗粒不含核酸，故尾巴现象的出现不是核酸的外溢。一些尾巴，尤其是 C_1 的尾巴，清楚地显示出了由子粒线性连接组成。据此认为，子粒之间有着线性连接，它是 HBsAg 颗粒的一种亚结构。根据此种观点去观察未经皂素处理的 HBsAg 颗粒，如图 1 的管型颗粒，可以看出子粒之间的距离并非相等，而是有着密集成线状的排列。应该说这是子粒间有线性连接的表现。

线性连接使子粒之间不易散开，这对维持它在机体内的免疫原性可能起着一定作用。目前人工合成的多肽抗原免疫原性很弱，除其它原因外，抗原的颗粒太小可能亦为重要的原因。

参 考 文 献

〔1〕 刘鸿光等，1985，科研通讯，1：45。

The "Tail" Phenomenon on Surface of HBsAg Particles

Zhang Run-gao and Huang Zhi-rong

(*1st hospital of PLA, Lanzhou*)

HBsAg particles treated with pepsin and saponin can split up filiforms just like a tail. This phenomenon maybe indicate that there are linear links between the capsomers of HBsAg particles.

Key words: HBsAg particle, Saponin, Tail