

牛的组织相容性抗原(BoLA)的研究 第二报 BoLA抗血清的聚类分析

孙逸平

(中日友好医院临床医学研究所)

安加宾 徐林敏 杨启生 林玲

张新根 吕立岩 江载芳

(北京市儿童医院儿科研究所)

苗泽荣 唐鼎恩 秦志锐

齐广海 王丹冰 吕健强

(中国农业科学院畜牧研究所)

摘要

取500头怀孕母牛的血, 制成血清后, 分别与随机选择的40头牛的淋巴细胞反应, 方法采用国际标准微量淋巴细胞毒方法, 筛选得到274份阳性血清。将这些阳性血清再用包括5个家系的60头牛的淋巴细胞进行细胞毒试验, 数据经聚类分析后, 得到了十三组高度相关的血清, 并作出了血清图。这十三组血清图被初步命名为BoLA-W1—W13。其特异性将与国际标准BoLA进行核对。本文进一步探讨了中国黑白花奶牛的BoLA的抗原分布及应用价值。

前言

前文报道使用经过改良的国际标准淋巴细胞毒方法, 筛选了500头奶牛血清, 获得了淋巴细胞毒阳性血清274份, 阳性率为54.8%^[1]。这些血清被认为是含有针对胎牛的父源性组织相容性抗原(BoLA)的抗体的。将这些抗体经过特异性鉴定加以标准化, 就可以用来鉴定BoLA型别。

由于BoLA抗原有高度多态性, 因此, 通过任何免疫途径所产生的同种异体抗体一般都是多价的。利用微量淋巴细胞毒试验鉴定抗BoLA的原理是寻找各份血清所包含的共同抗体特异性部分。设一组阳性BoLA抗血清含有同一特异性的抗体, 则它们对一组含这一BoLA特异性的淋巴细胞将会发生共同的反应。而对包含其他BoLA特异性的淋巴细胞则不反应。通过全部BoLA阳性抗血清对若干个淋巴细胞试验, 利用数学进行聚类分析, 将相似反应格局的血清聚于一组, 并对该组血清进行特异性的命名, 即获得该组血清所包含的共同特异性。

聚类分析的第一步是求出任意两支血清之间的相关系数R。

设任意两支血清, 血清j和血清i。当血清j和血清i与若干头随机选择的牛的淋巴细胞反应, 则这两支血清对每头牛的淋巴细胞的反应有四种情况, 以(+)表示阳性反应, (-)表示阴性反应。

*本文于1985年8月18日收稿。

- a. j、i均为(+) b. j(+), i(-)
 c. j(-), i(+) d. j, i均为(-)

将这四种情况列于 2×2 偶然性表中，则有：

		j	
		+	-
i	+	a	c
	-	b	d

$a + c = A$
 $b + d = B$

$$a + b = C \quad c + d = D \quad N = a + b + c + d$$

根据上表，可定量计算每两个血清的反应格局的相似程度。用相关系数R度量。

$$R = \frac{a \cdot d - b \cdot c}{A \cdot B \cdot C \cdot D}$$

对于 X 个血清的反应格局可以得到 $\frac{X(X-1)}{2}$ 个R值。R值等于1时，两个血清的

反应格局完全一致，可以认为两个血清有共同特异性。R值大于某个数值可认为相似。通过计算机聚类分析选出大于规定R值的血清为相似血清。将每组相似血清作出血清反应图（简称血清图），凡血清图的共同反应部分即为共有特异性。

材 料 和 方 法

一、取500头怀孕母牛的血，制成血清后，分别与随机选择的40头牛的淋巴细胞反应。方法采用国际标准微量淋巴细胞毒方法，筛选得到274份阳性血清。将这些血清再与随机选择的60头牛的淋巴细胞用同法试验。

二、用电子计算机计算出每两个血清间的R值。

三、利用聚类分析法，自编计算机程序将所有R值进行聚类分析，聚类标准为 $R \geq 0.5$ 。

四、将经由聚类分析得到的血清作出血清反应图。

结 果

经过以上步骤得到相似反应格局的血清共十三组。暂命名为BoLA-W1-W13。

BoLA-W1 血清型

BoLA型的血清支数和抗原频率

型	血清支数	抗原频率 (%)															
		10.0	13.3	13.3	15.0	18.3	20.0	21.7	23.3	23.3	25	25	30	31.7	33.3	40.0	
BoLA-W 1	15	10.0	13.3	13.3	15.0	18.3	20.0	21.7	23.3	23.3	25	25	30	31.7	33.3	40.0	
BoLA-W 2	9	1.7	1.7	1.7	3.3	3.3	5.0	5.0	5.0	5.0							
BoLA-W 3	13	5.0	6.7	8.3	10	10	11.7	11.7	11.7	15	16.7	16.7	21.7	33.3			
BoLA-W 4	5	30.0	31.7	33.3	36.7	48.3											
BoLA-W 5	5	1.7	1.7	5	5	5											
BoLA-W 6	8	1.7	1.7	3.3	5	5	5	5	5	5							
BoLA-W 7	8	1.7	1.7	1.7	3.3	5	5	5	5	5							
BoLA-W 8	7	3.3	3.3	5	5	5	5	5	5	5							
BoLA-W 9	4	1.7	1.7	5	5												
BoLA-W 10	8	8.3	11.7	16.7	16.7	18.3	20	33.3	33.3	35							
BoLA-W 11	6	5	6.7	6.7	6.7	15	11.7										
BoLA-W 12	10	8.3	8.3	11.7	11.7	13.3	13.3	15	15	18.3	33.3						
BoLA-W 13	3	5	5	6.7													

它们的血清图如BoLA—W 1，(W 2—W13省略)。

讨 论

一、1978年于苏格兰的爱丁堡举行第一次牛的白细胞抗原(BoLA)专题讨论会鉴定了20组相似血清，可鉴定11种BoLA抗原^[2]。1980年于荷兰的Wageningen举行第二次国际会议，有9个实验室参加，包括362支血清对144个淋巴细胞标本的试验。与第一次会议比较11个第一次会议鉴定的抗原被确认了10个，另外又发现了6个新的特异性^[3]。本试验因尚未获得国际血清而采用暂时命名。

二、根据二次国际会议资料，认为牛的第一类组织相容性抗原只有一个复等位基因位点，这是极有兴趣的，因为迄今对小鼠和人的组织相容性复合体的研究都证明是多位点复等位基因编码的。本文的工作未就此作出证明，但可以用这些血清进一步研究，这对哺乳动物的进化有重要理论意义。

三、根据已得到的十三组血清可以初步测出中国黑白花奶牛BoLA的型别，有关资料将于下文发表。

参 考 文 献

- [1] 安家宾等，1986，牛的组织相容性抗原的研究 第一报 BoLA抗血清的筛选。畜牧兽医学报，17(2)：77—82。
- [2] R. L. Spooner et al., 1979. Analysis of alloantisera against bovine lymphocytes. Joint report of 1st International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) workshop. Anim. Blood Grps biochem. Genet. 10 : 63—86.
- [3] Joint report, 1982. Proceedings of the Second International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) workshop. Anim. Blood Grps biochem. Genet. 13 : 33—53.

STUDY ON MAJOR HISTO-COMPATIBILITY COMPLEX OF CATTLE IN CHINA

II. ANALYSIS OF ALLOANTISERA AGAINST BOVINE LYMPHOCYTE

Sun Yiping

(*Sino-Japanese Friendship Hospital*)

An Jiabin, Xu Linmin, Yang Qisheng, Lin Ling,

Zhang Xingen, Lu Liyan, Jiang Zaifang

(*Beijing Research Institute of Pediatrics*)

Miao Zerong, Tang Dingen, Qin Zhirui,

Qi Cuanghai, Wang Danbin, Lu Jianqiang

(*Institute of Animal Science of Chinese Academy of
Agricultural Sciences*)

Abstract

Serum samples drawn from 500 pregnant Black and White cattle were screened against a panel of 40 random of lymphocytes and produced 274 cytotoxic antisera by international standard microlymphocytotoxic method. Then, these antisera were tested against lymphocyte samples from 60 cattle belonging to 5 different sire families. Thirteen lymphocyte antigens were identified with the aid of a computer program according to their reaction patterns and designated BoLA-W₁ to W₁₃. The serograph is given in this paper. A comparison test of these results with international BoLA designation should be made. The antigen distribution of the BoLA and the value of its application to animal production in China were also discussed.