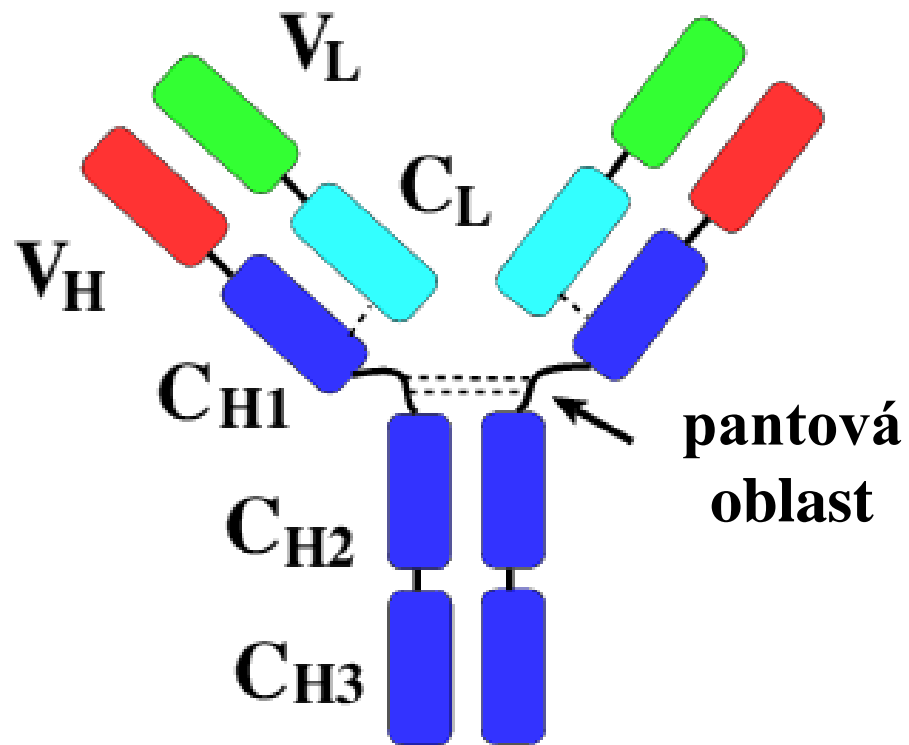


# Protilátky

# Struktura Ig: lehké a těžké řetězce



## Struktura Ig: lehké a těžké řetězce

Lehké řetězce:

- $\kappa$ ,  $\lambda$  (65 : 35 u člověka)
- 23 kDa
- 215 aminokyselin

## Struktura Ig: lehké a těžké řetězce

Těžké řetězce:

- 5 izotypových tříd
- Různá molekulová hmotnost
- 4 domény (IgG, IgD, IgA) nebo 5 domén (IgM, IgE)
- 440 - 450 aminokyselin

# Struktura Ig: fleksibilita

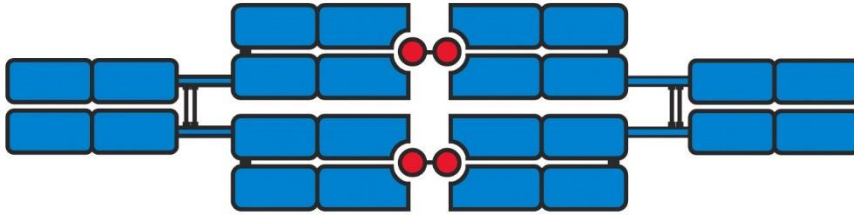


Figure 3-4 part 2 of 4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

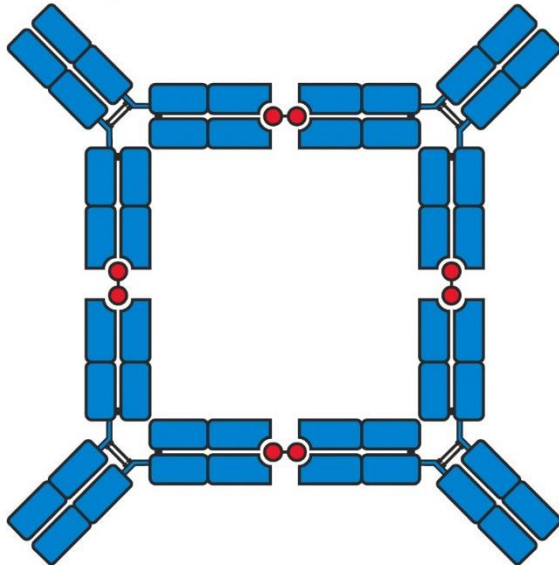


Figure 3-4 part 4 of 4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

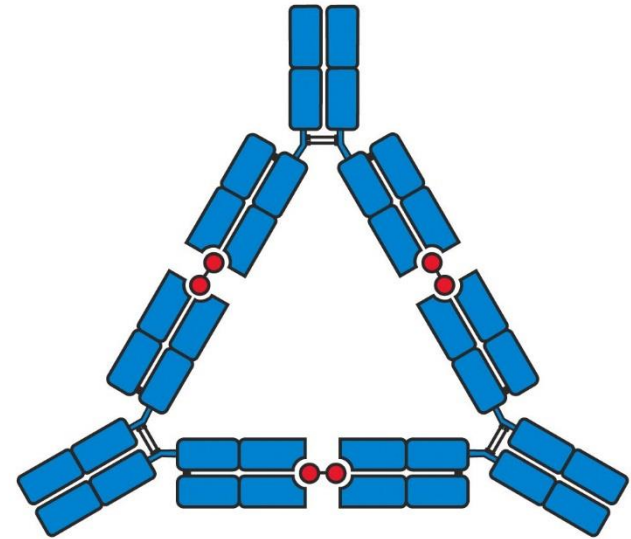


Figure 3-4 part 3 of 4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Struktura Ig: proteolytické štěpení

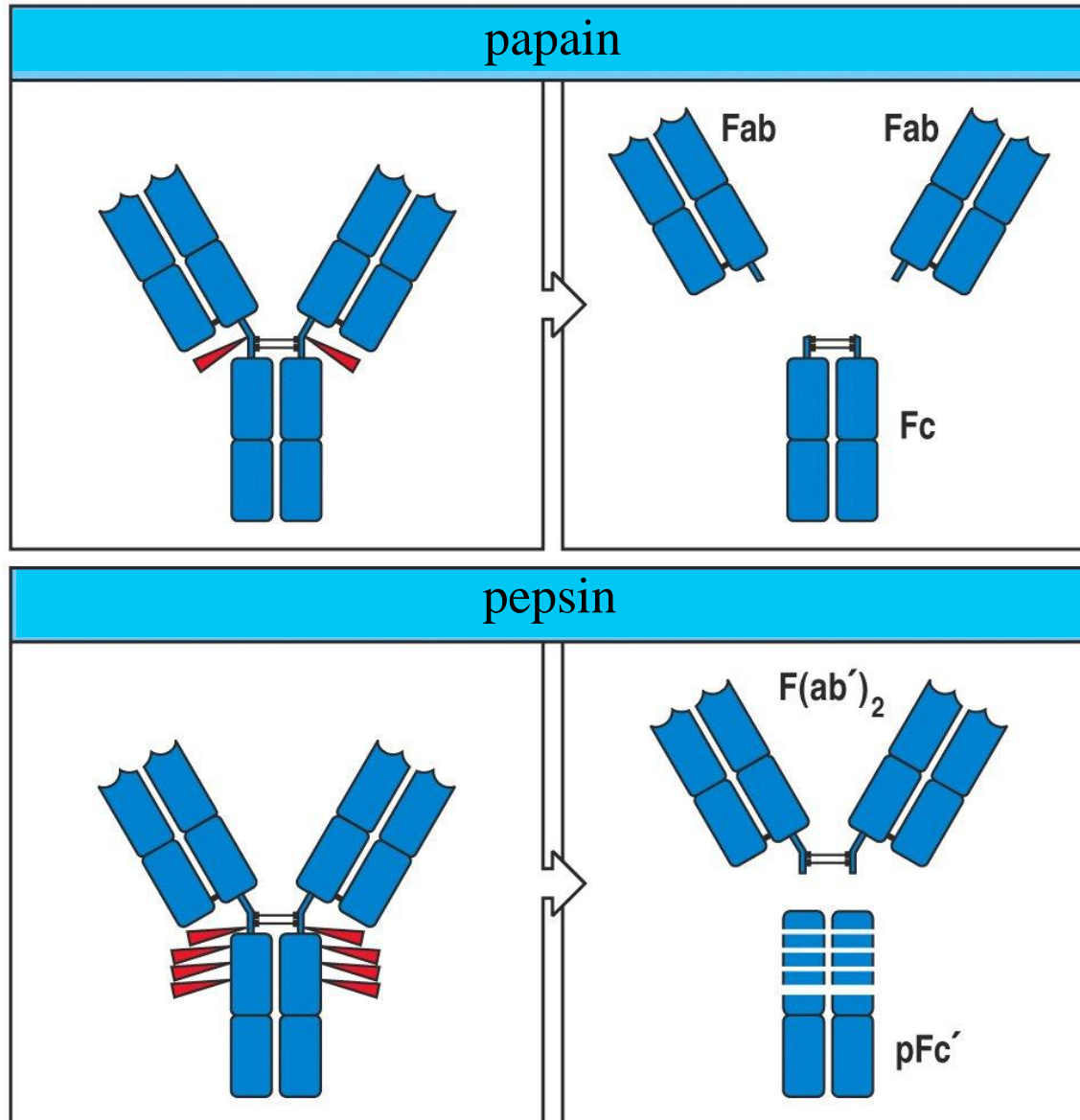
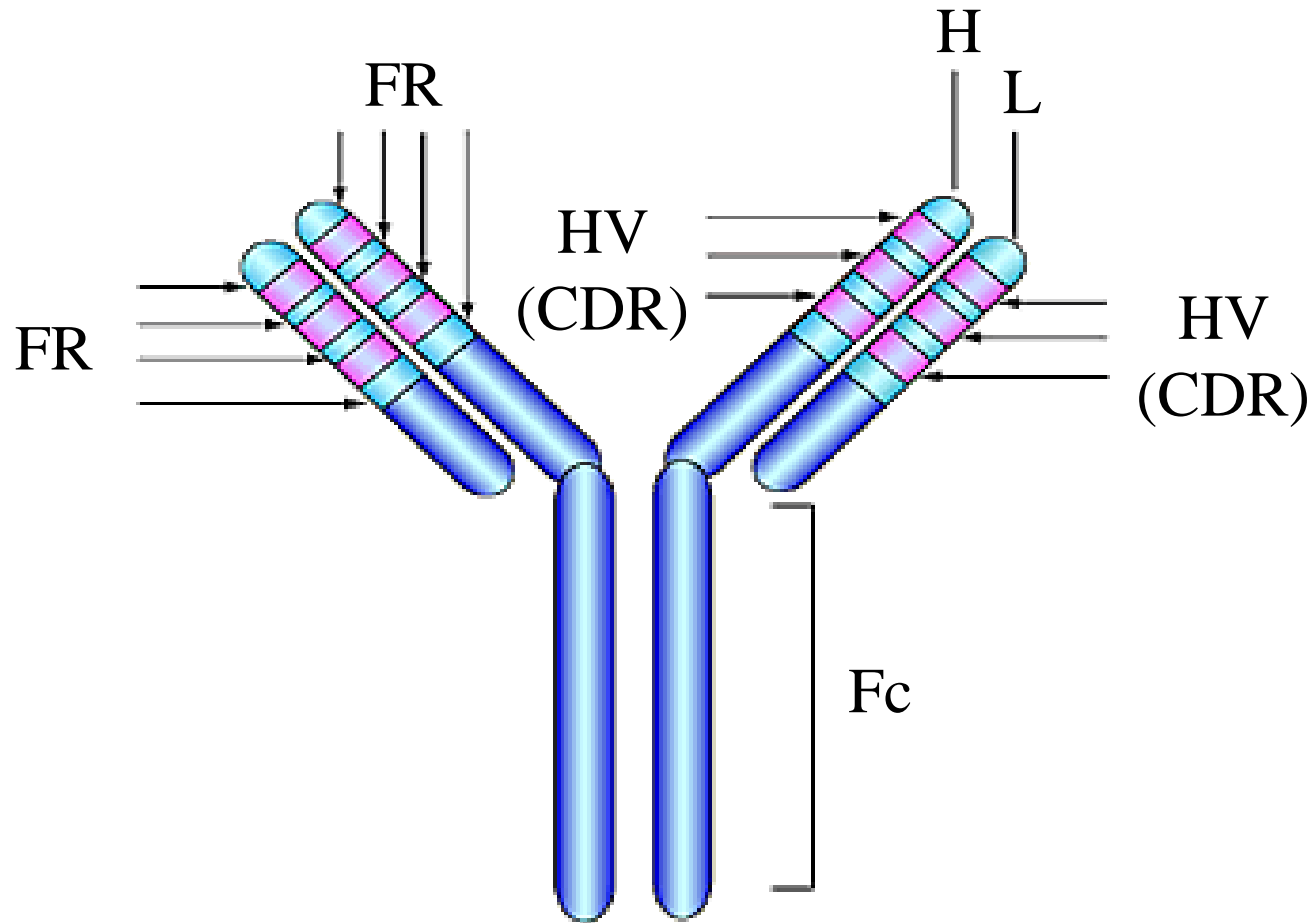


Figure 3-3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## Struktura Ig: hypervariabilní úseky



CDR = oblasti určující komplementárnost

FR = kostrová oblast

# Struktura Ig: hypervariabilní úseky

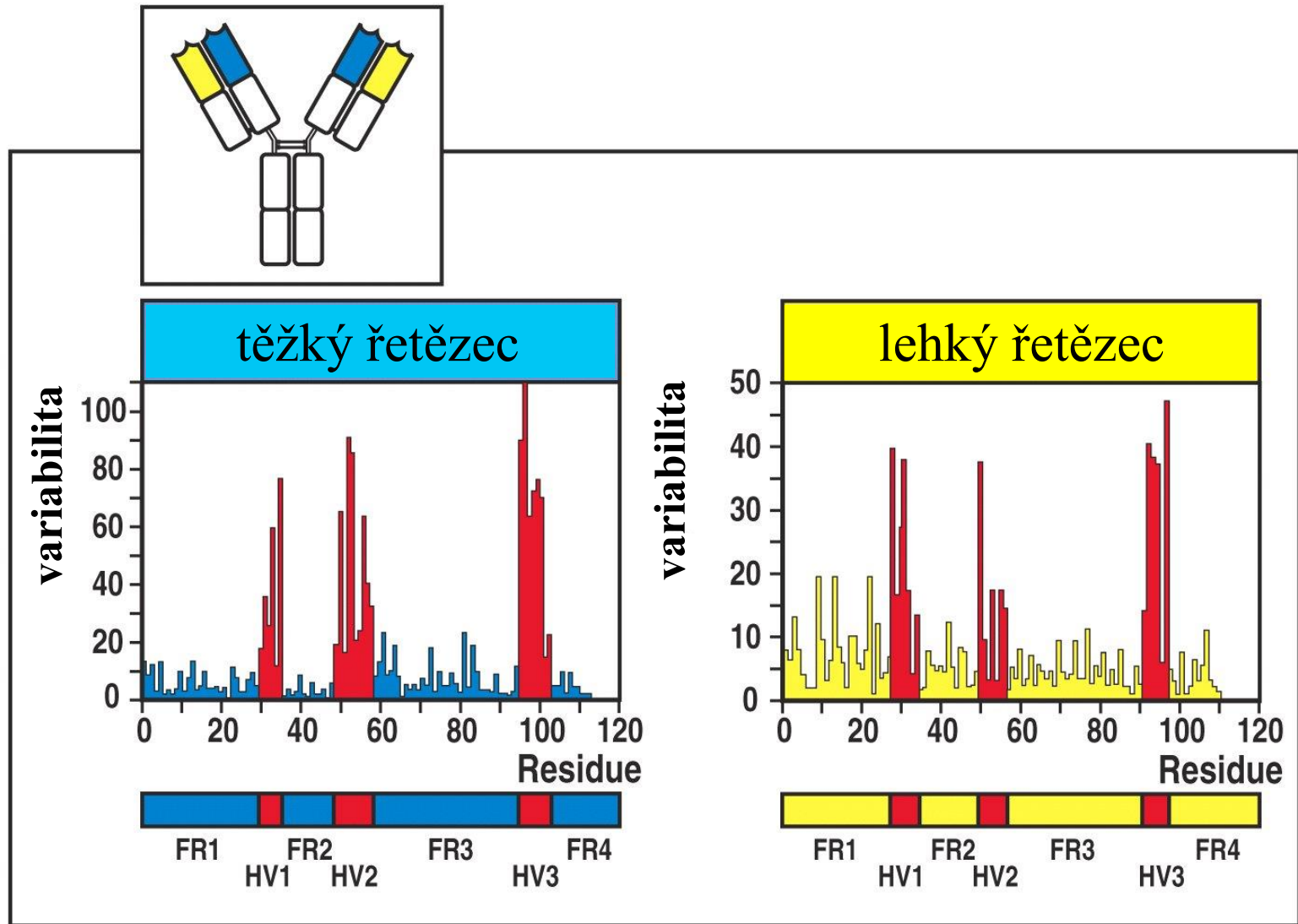
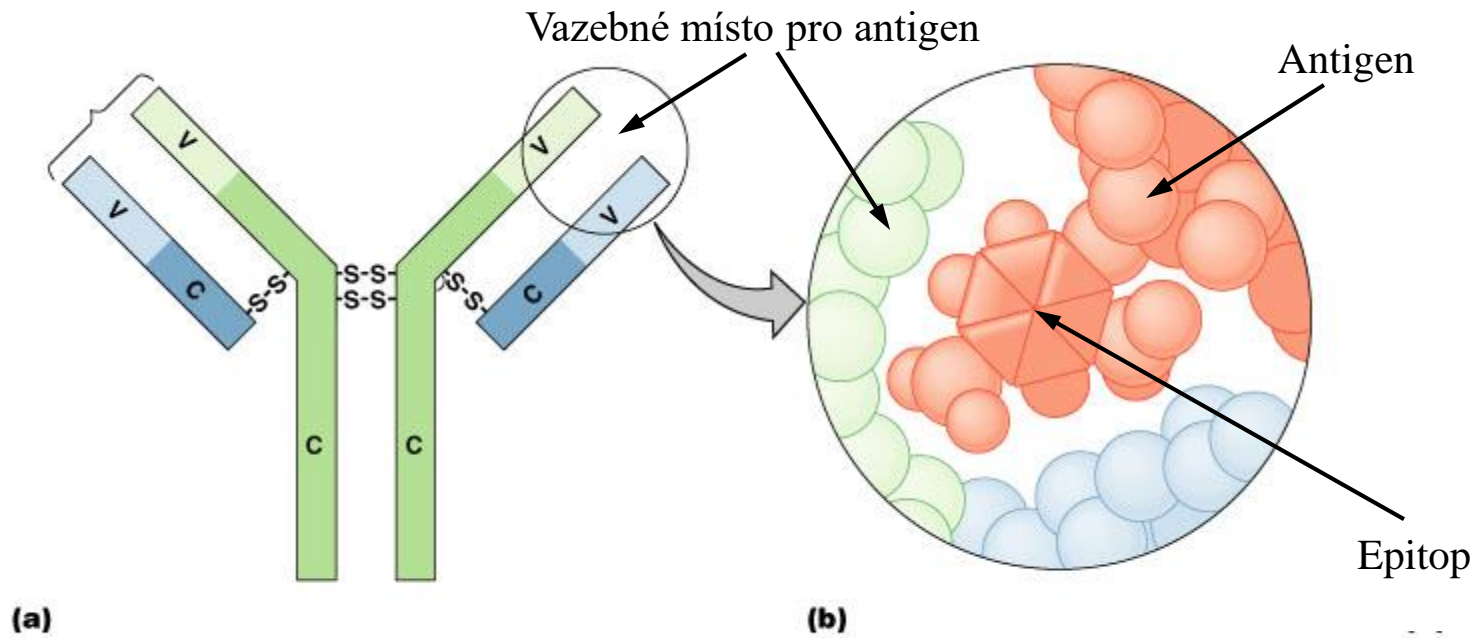


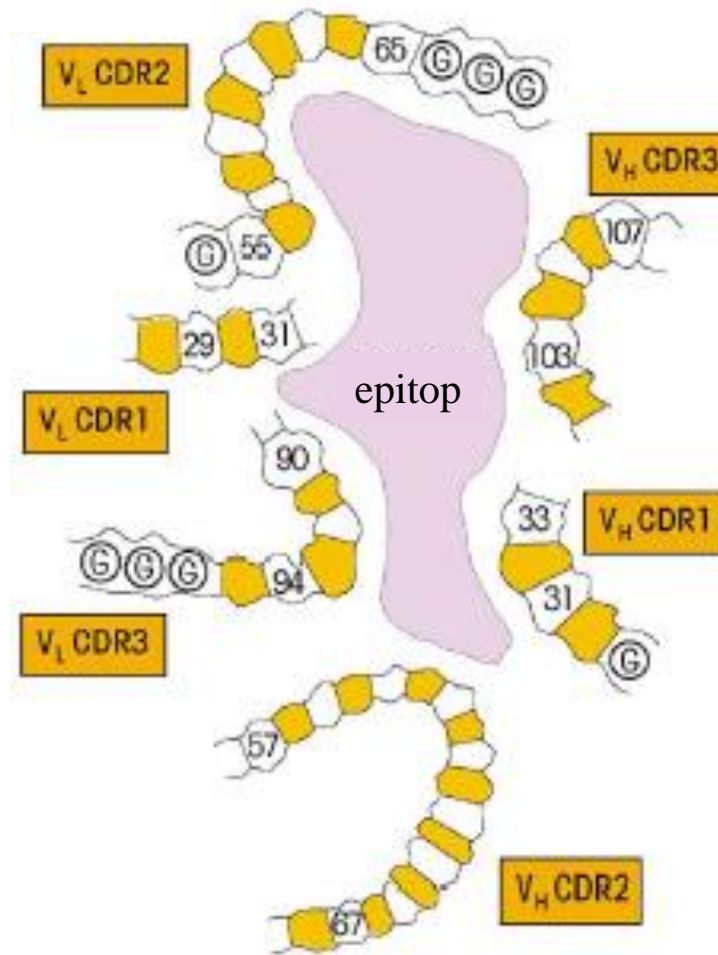
Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Struktura Ig: vazebné místo pro antigen



# Struktúra Ig: vazebné miesto pro antigen



# Struktura Ig: izotypové třídy

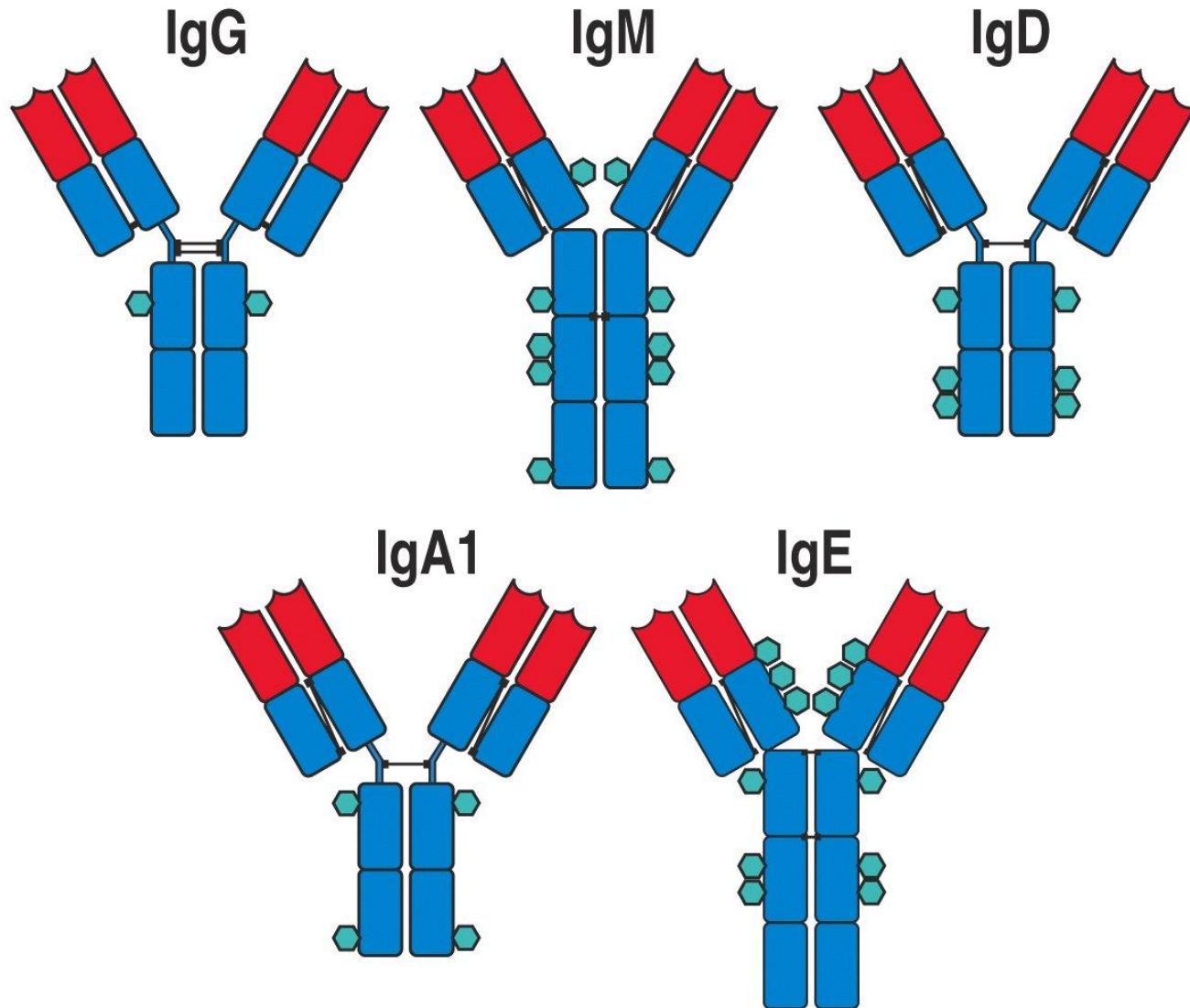




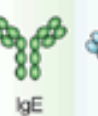


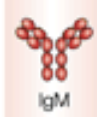
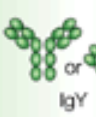











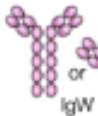
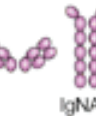



Figure 4-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Struktura Ig: izotypové třídy

		přeskupování gen. segmentů, hypermutace	izotypový přesmyk	germinální centra
	 IgM  IgD  IgG  IgE  IgA	+	+	+
	 IgM  IgY or  IgY  IgA	+	+	+
	 IgM  IgY  IgX	+	+	-
	 IgM  IgD	+	-	-
	 IgM  IgW or  IgNAR	+	-	-
	žádné Ig	?	-	-

# Struktura Ig: izotypové třídy

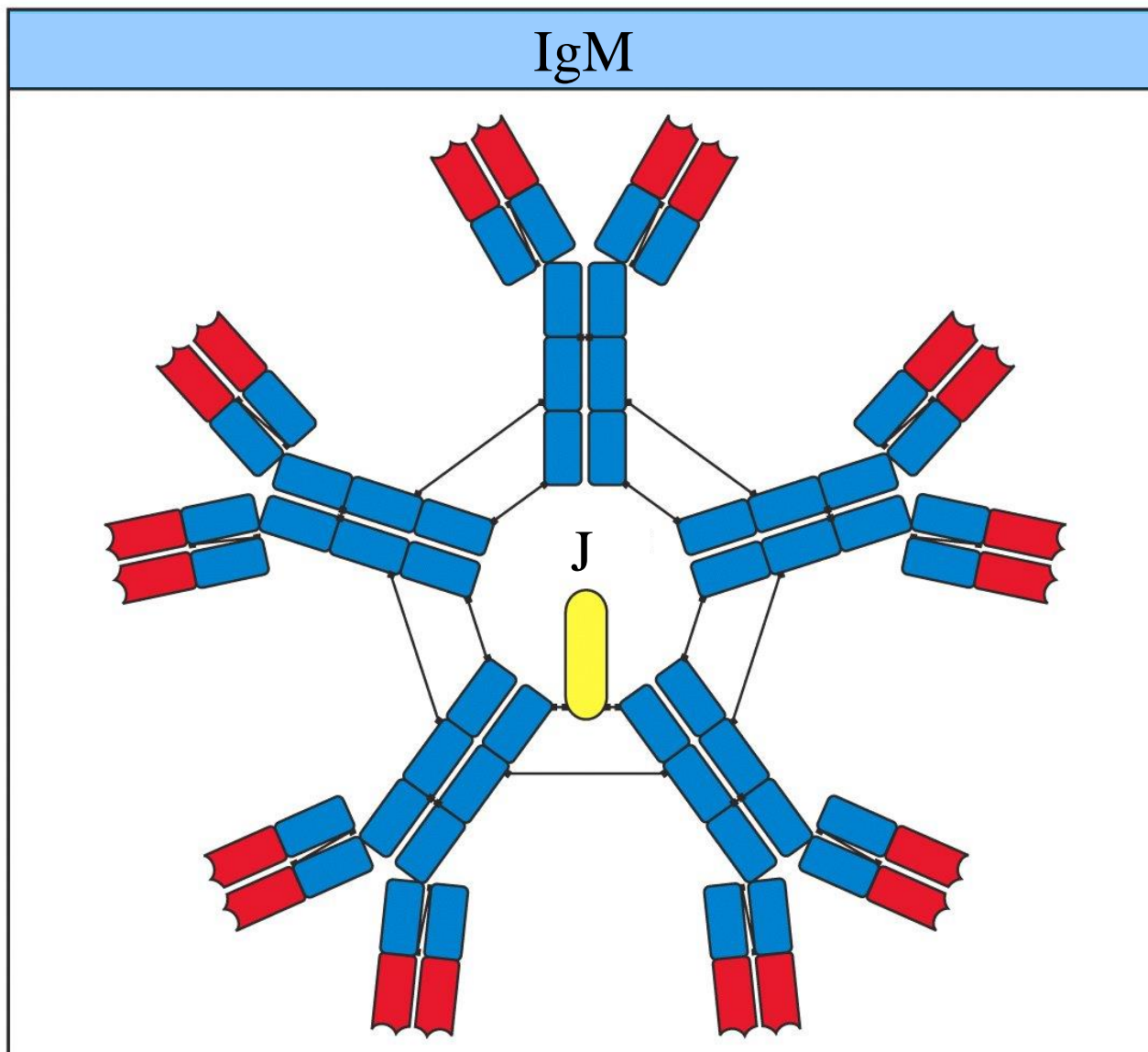


Figure 4-23 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Struktura Ig: izotypové třídy

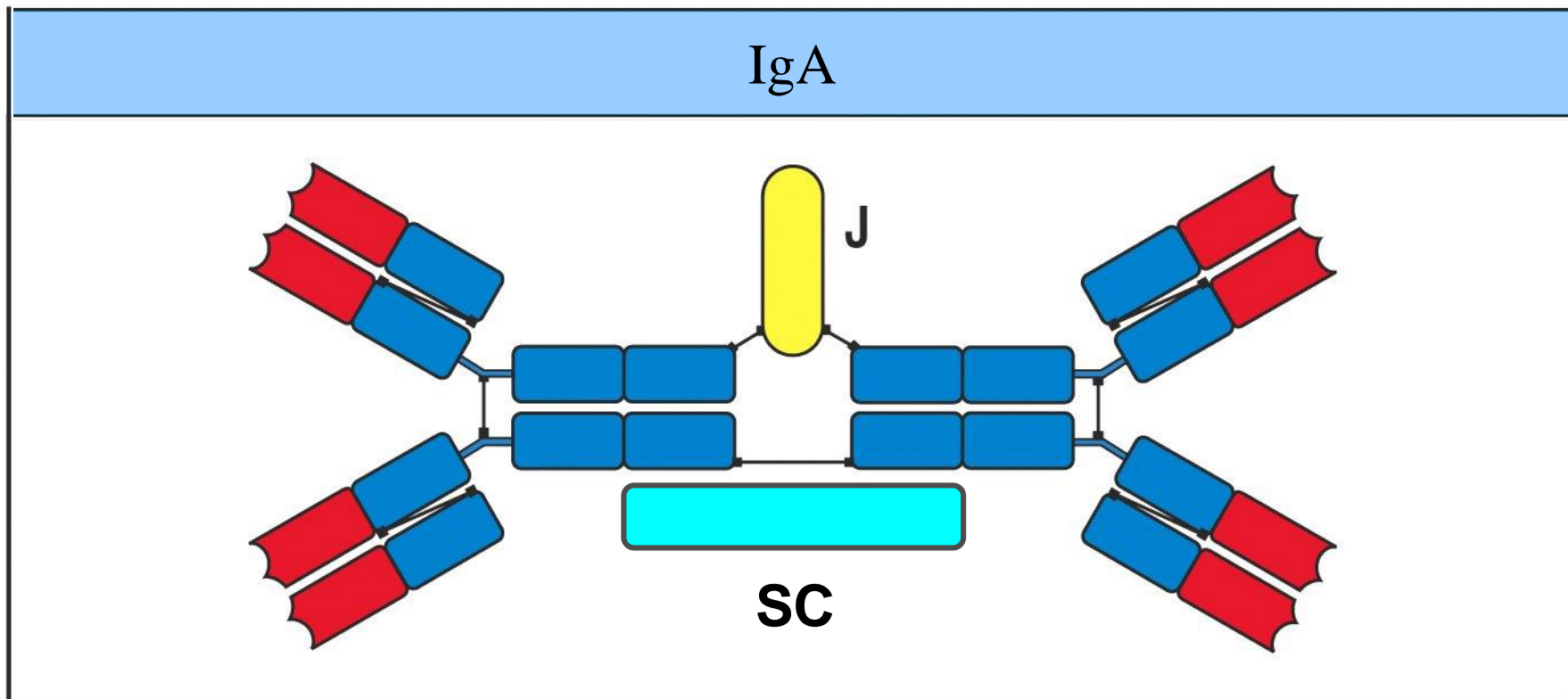


Figure 4-23 part 2 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## Struktura Ig: izotypové třídy

Ig									
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE
Těžký řetězec	$\gamma_1$	$\gamma_2$	$\gamma_3$	$\gamma_4$	$\mu$	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\delta$	$\epsilon$
Mw (kDa)	146	146	165	146	970	160	160	184	188
Hladina v séru (mg/ml)	9	3	1	0.5	1.5	3.0	0.5	0.03	$5 \times 10^{-5}$
Životnost v séru (dny)	21	20	7	21	10	6	6	3	2

Figure 4-17 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Struktura Ig: izotypy, allotypy, idiotypy

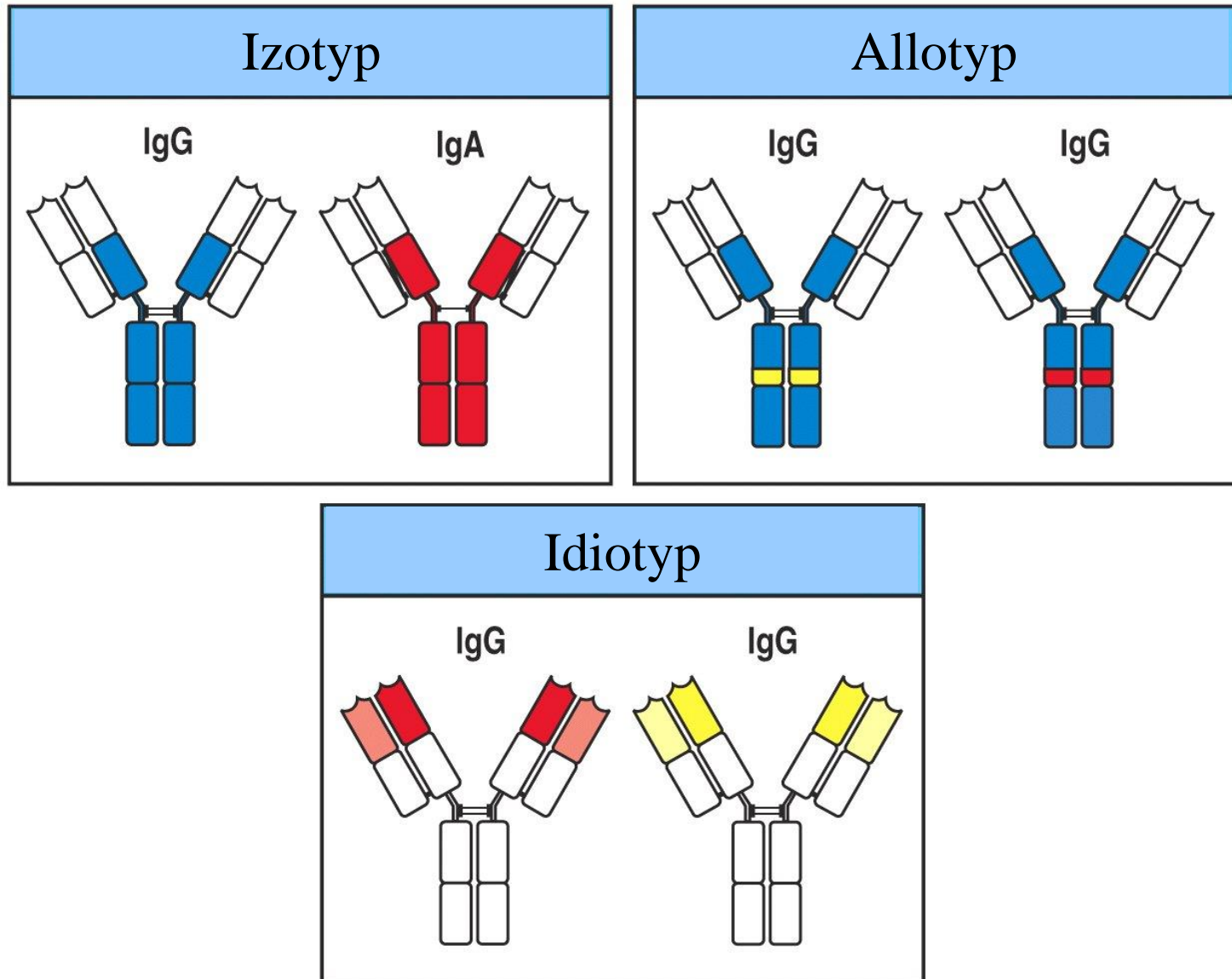
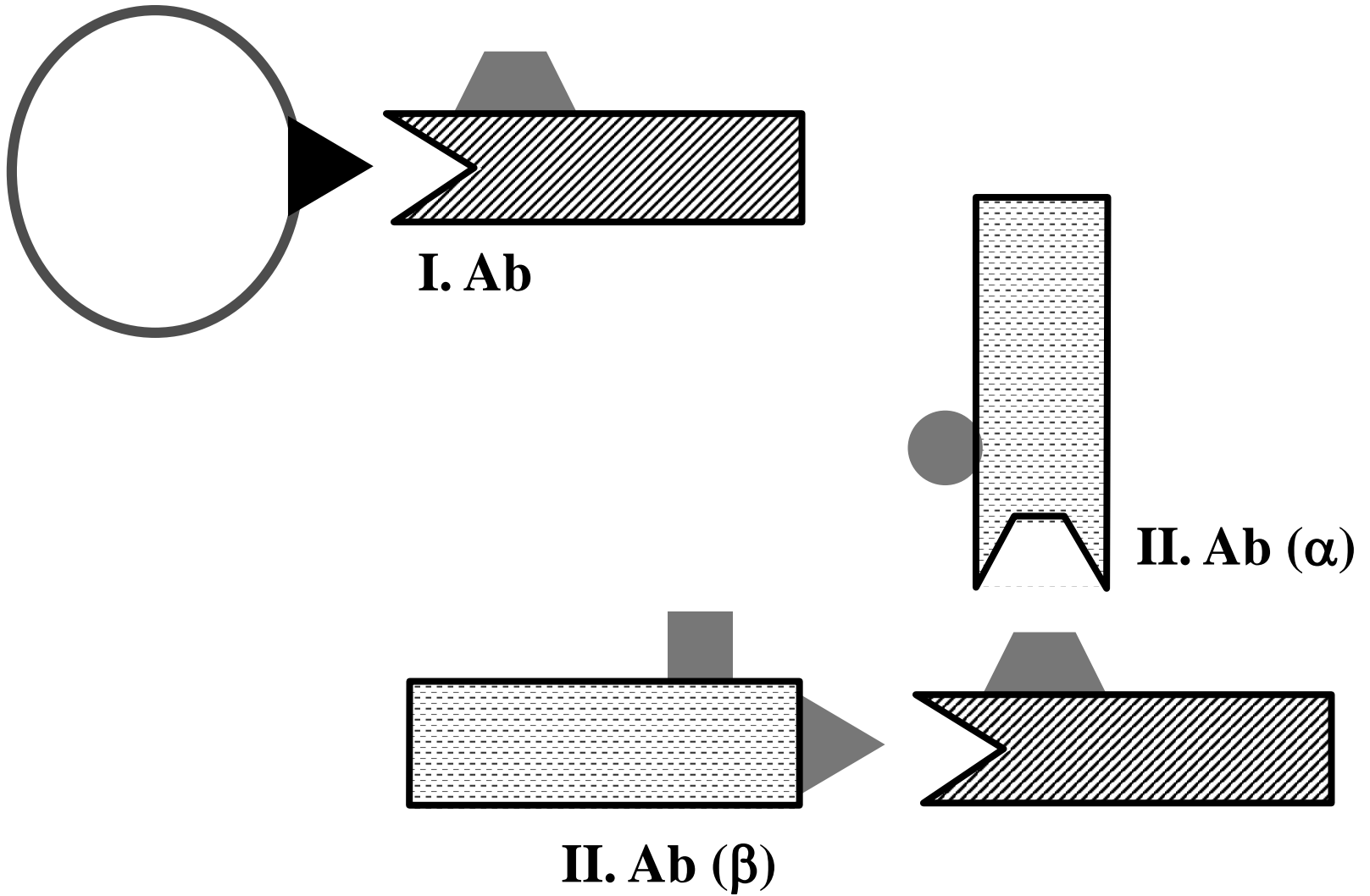


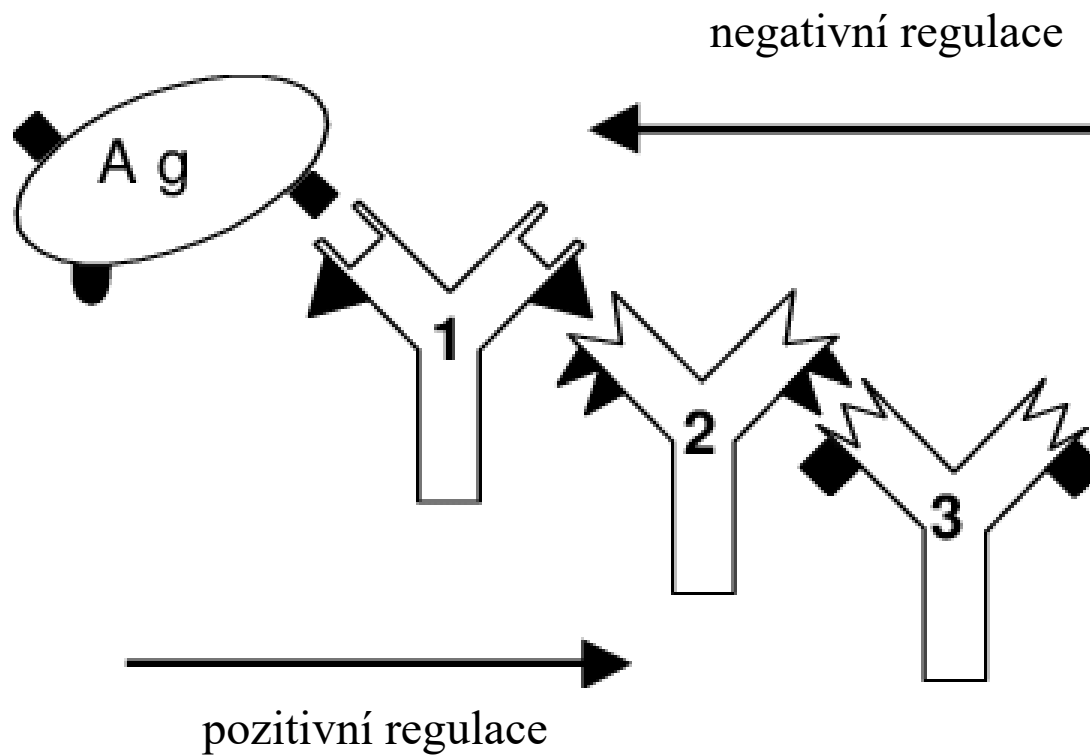
Figure 4-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Struktura Ig: idiotypy



# Struktura Ig: idiotypy



# IgG

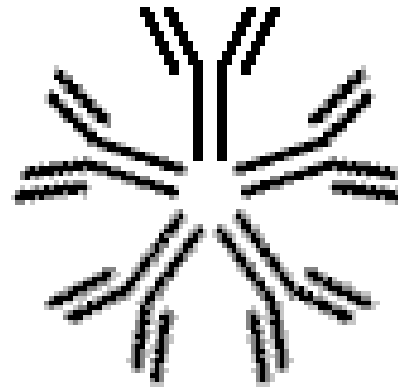
## IgG

- hlavní část sérových Ig
- podstatná část protilátkových aktivit (opsonizace, neutralizace, aktivace komplementu)
- opakovaná imunizace
- přenos přes placentu od matky k plodu
- hlavní protiinfekční ochrana novorozenců

# IgM

## IgM

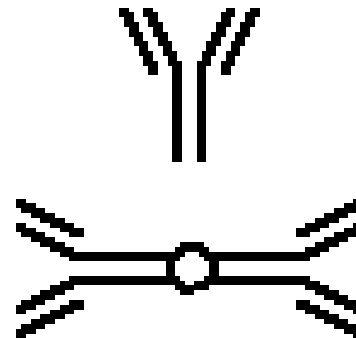
- první Ig ve fylogenezi
- vznikají po prvním kontaktu s Ag
- hlavně korpuskulární Ag
- membránový BCR



# IgA

## IgA

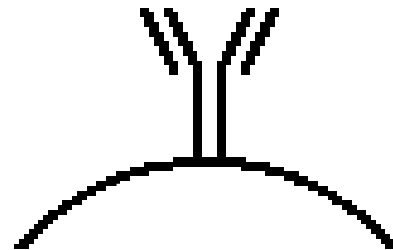
- sekreční IgA (sliny, slzy, nosní sekret, pot, kolostrum, plicní sekret, urogenitální a gastrointestinální trakt)
- ochrana sliznic a tělních povrchů
- sekreční komponenta ~ extracelulární část polymerního Ig receptoru (pIgR)
- sérový IgA



# IgD

## IgD

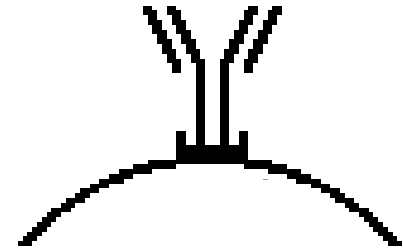
- cytoplazmatická membrána B lymfocytů
- slabá protilátková aktivita
- citlivý k proteolýze - hodnoty v séru velmi nízké



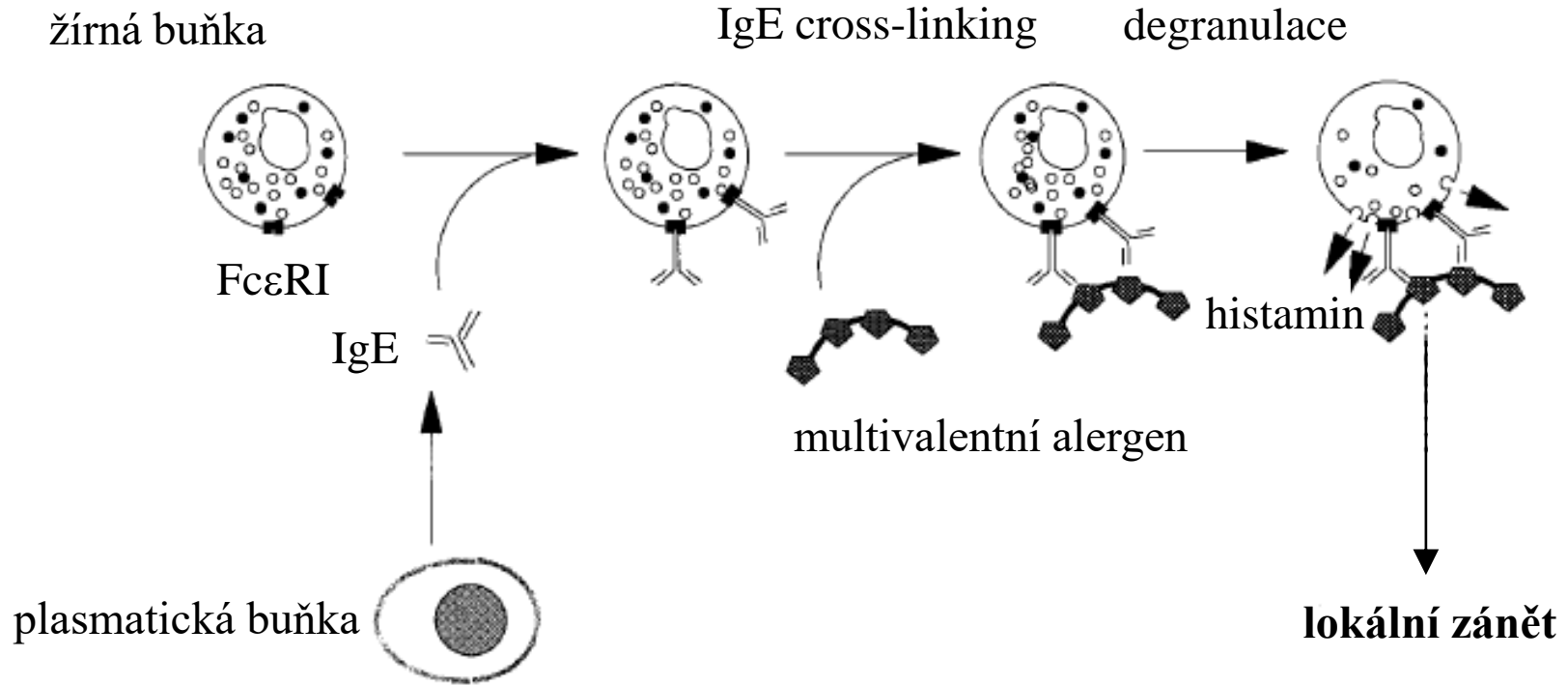
# IgE

## IgE

- nejnižší koncentrace v séru
- nejkratší biologický poločas rozpadu
- Fc $\epsilon$  receptory na mastocytech a bazofilech
- alergické reakce časného typu
- původní biologická funkce – ochrana proti parazitům?

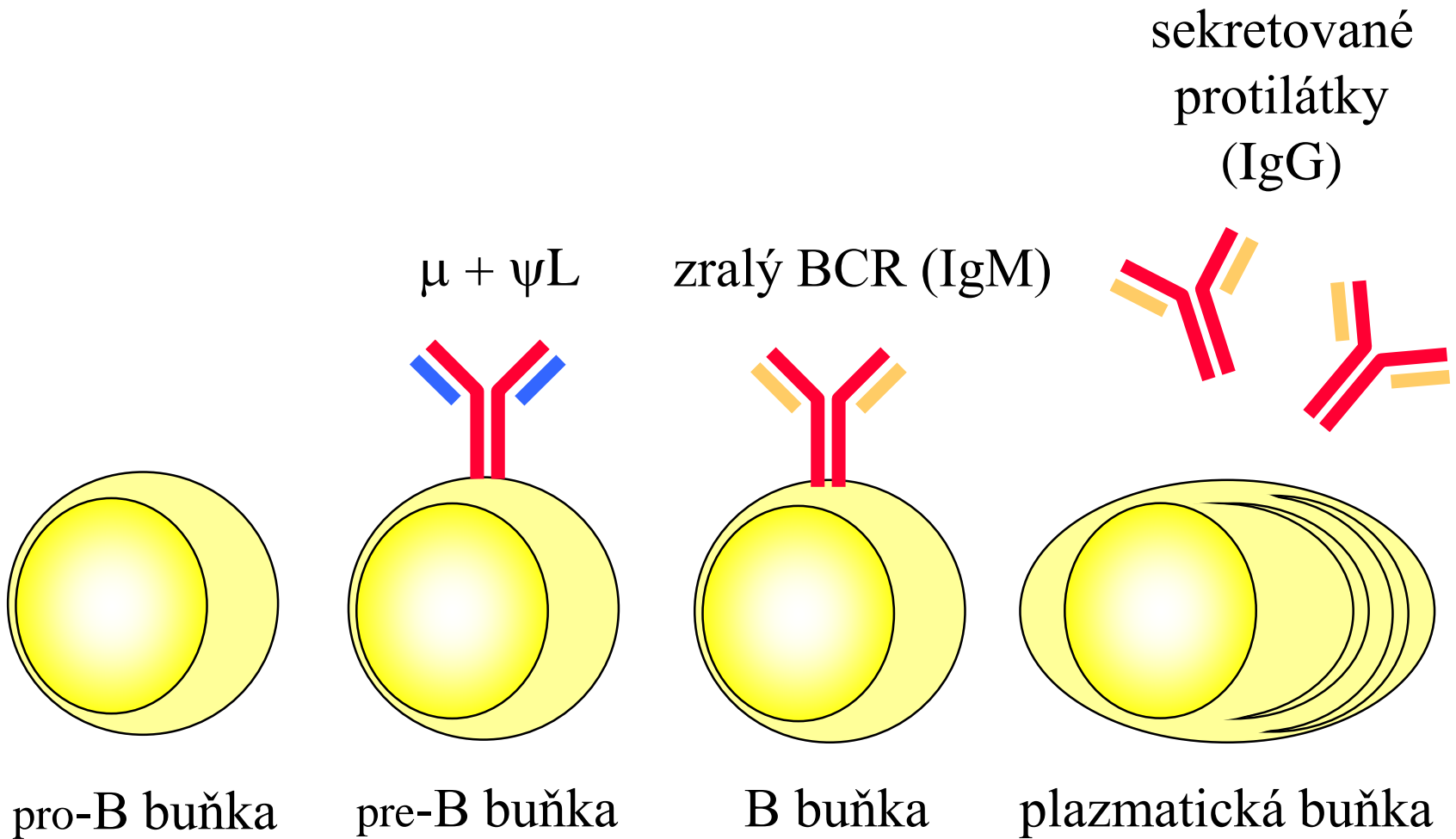


# IgE

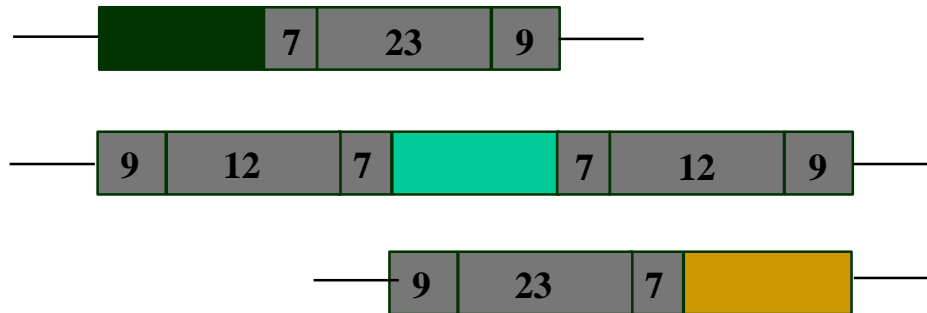
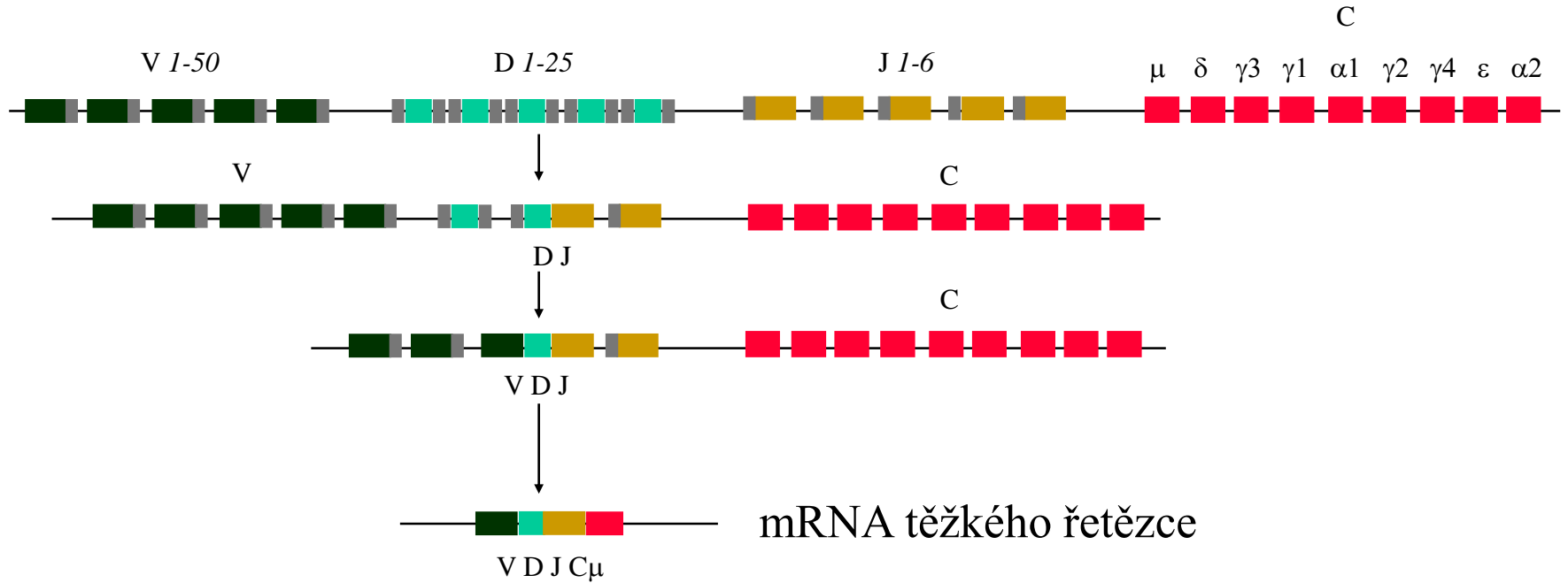




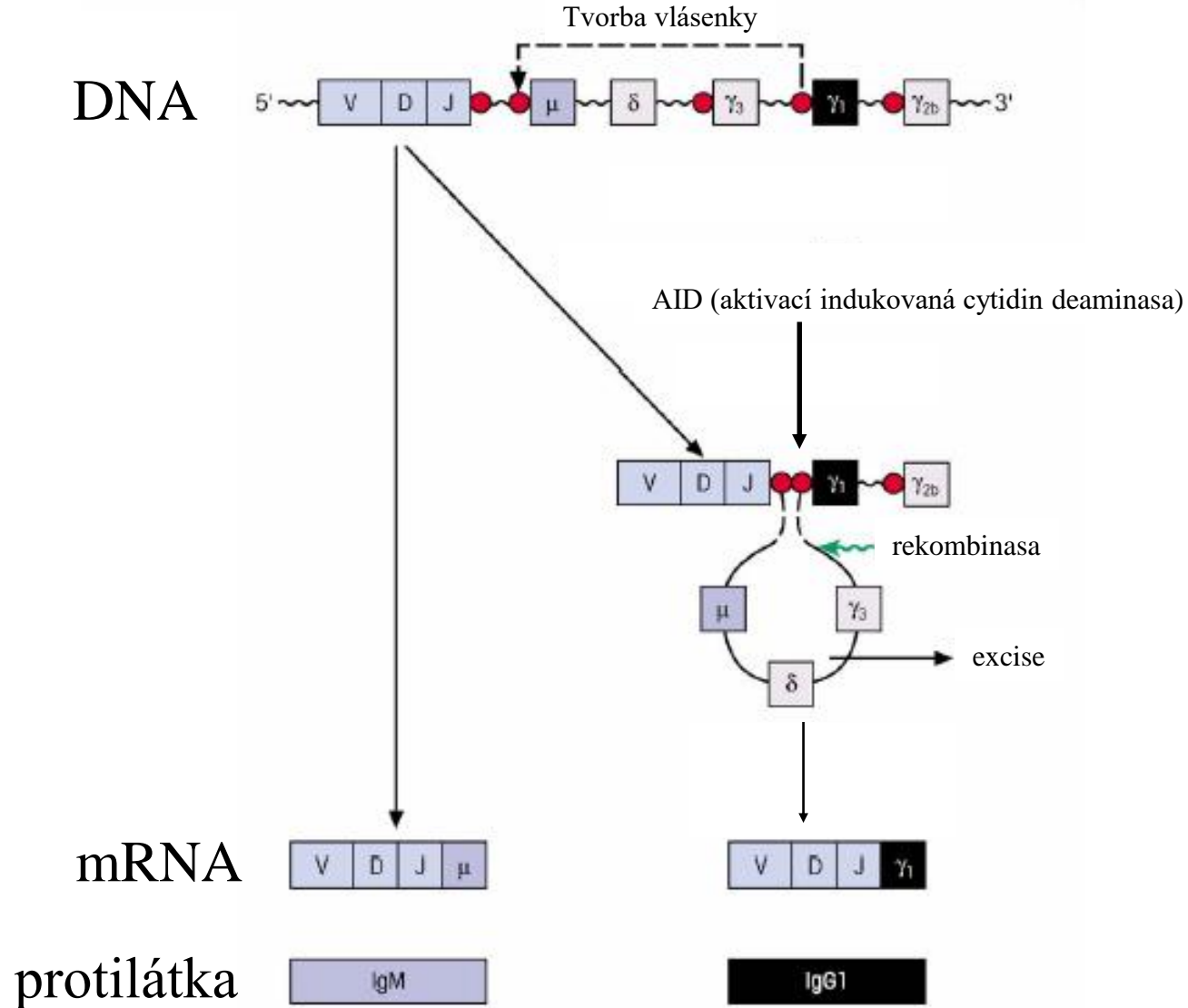
# Tvorba Ig: zrání B lymfocytů



# Tvorba Ig: přeskupení genových segmentů pro Ig



# Tvorba Ig: izotypový přesmyk



## Alelická exkluze

- platí pro těžké i lehké řetězce
- jakmile proběhne úspěšná přestavba genů pro Ig řetězce na jednom chromozomu, zastaví se další pokusy na druhém chromozomu
- každý B-lymfocyt produkuje současně jen jeden typ těžkého a jeden typ lehkého řetězce

## Klonální restrikce

- každý B-lymfocyt exprimuje pouze protilátky specifické pro jeden epitop a pokud se dále dělí, nepodstupuje další V/J nebo V/D/J přeskupování
- B-lymfocyt a jeho potomstvo jsou identičtí ve své antigenní specifitě a v izotypu  $\kappa$  nebo  $\lambda$  řetězce

## Funkce protilátek

- Protilátky mohou být přímo protektivní, pokud inhibují vazbu mikroorganismu nebo toxinu na odpovídající buněčný receptor.
- Protilátky nepůsobí v izolaci, ale úzce spolupracují s jinými složkami imunitního systému.
- neutralizace
- opsonizace
- aktivace komplementu

# Funkce protilátek

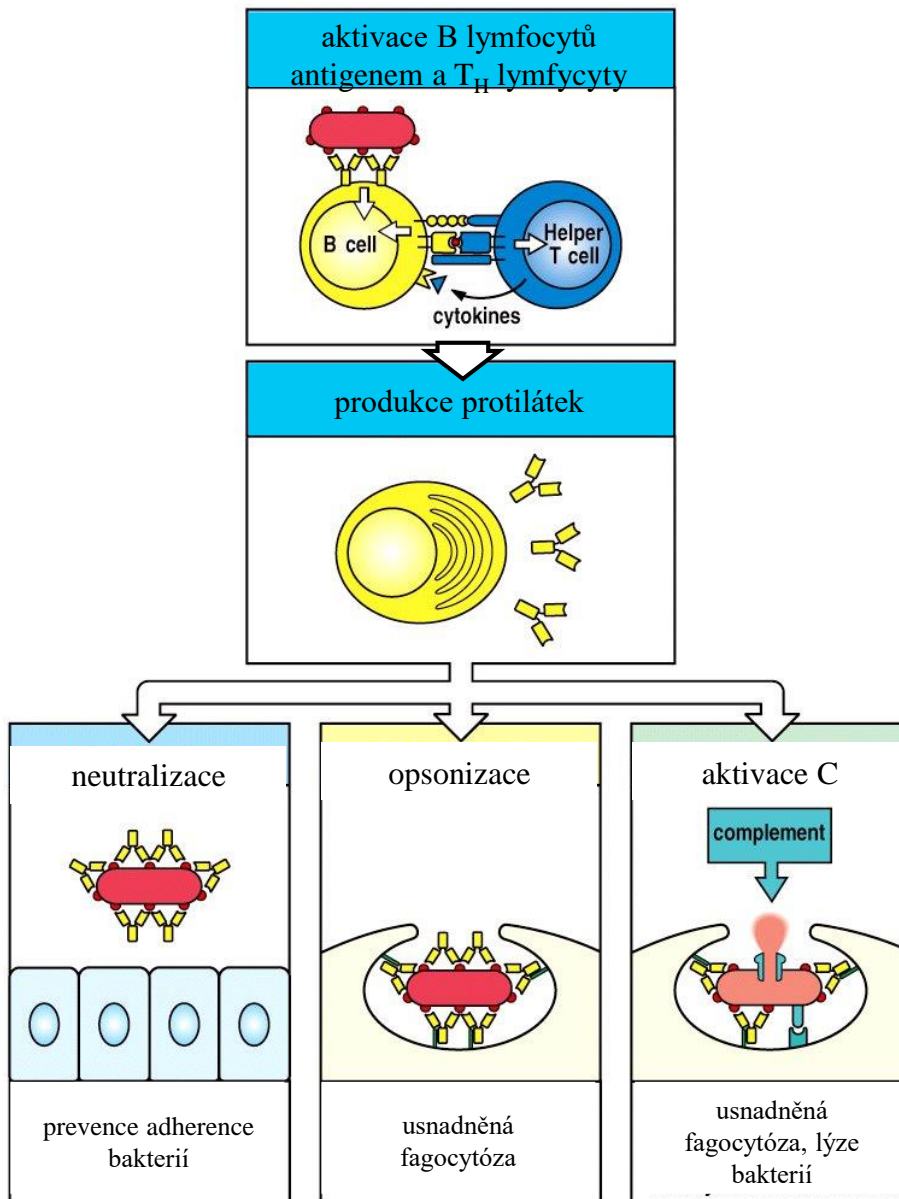


Figure 9-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Funkce protilátek

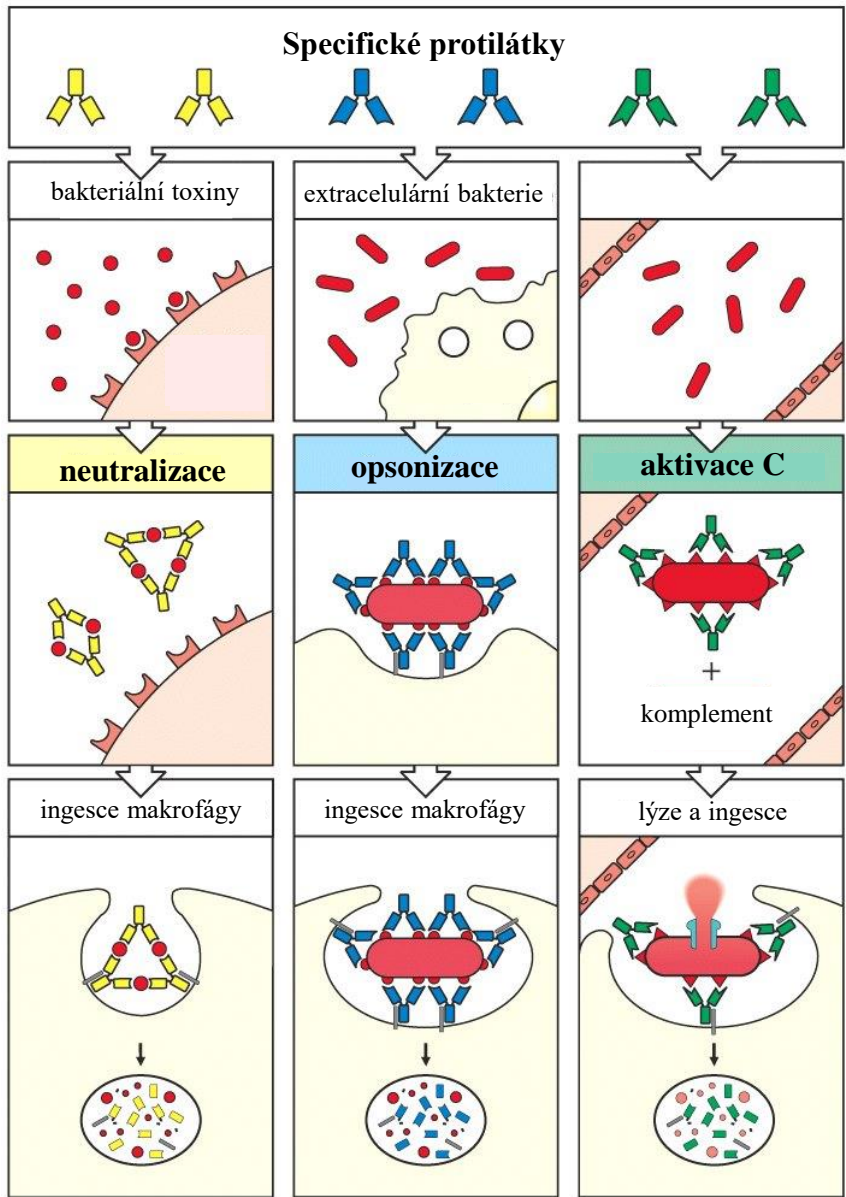


Figure 1-24 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Funkce protilátek

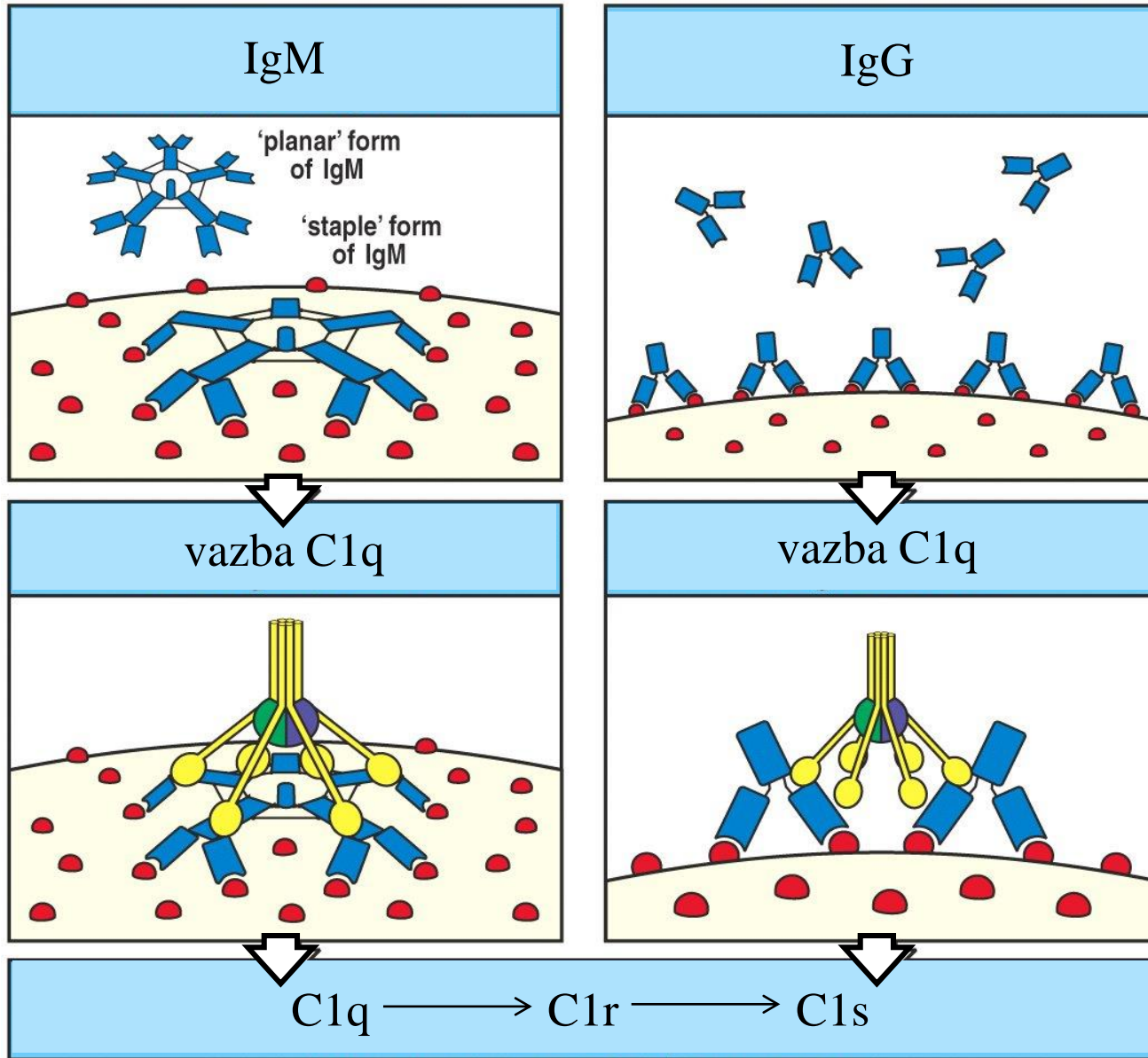


Figure 9-28 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Funkce protilátek: ADCC (buňkami zprostředkovaná cytotoxicita závislá na protilátkách)

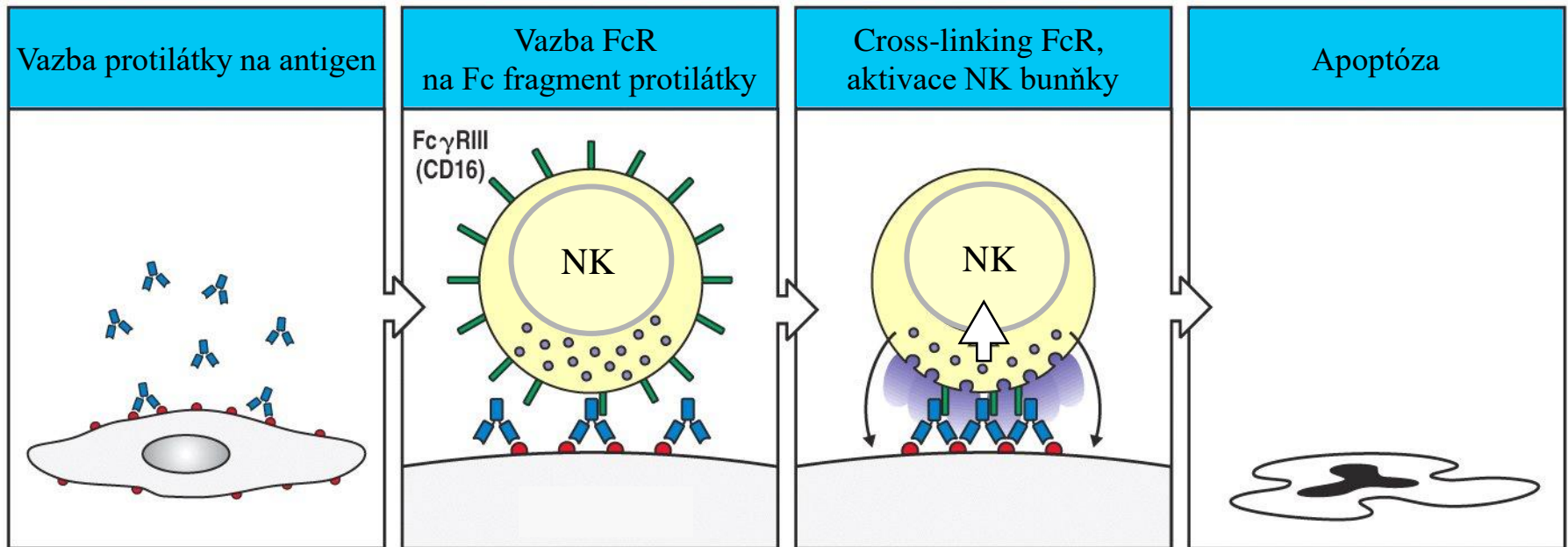


Figure 9-34 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## Funkce protilátek: izotypové třídy

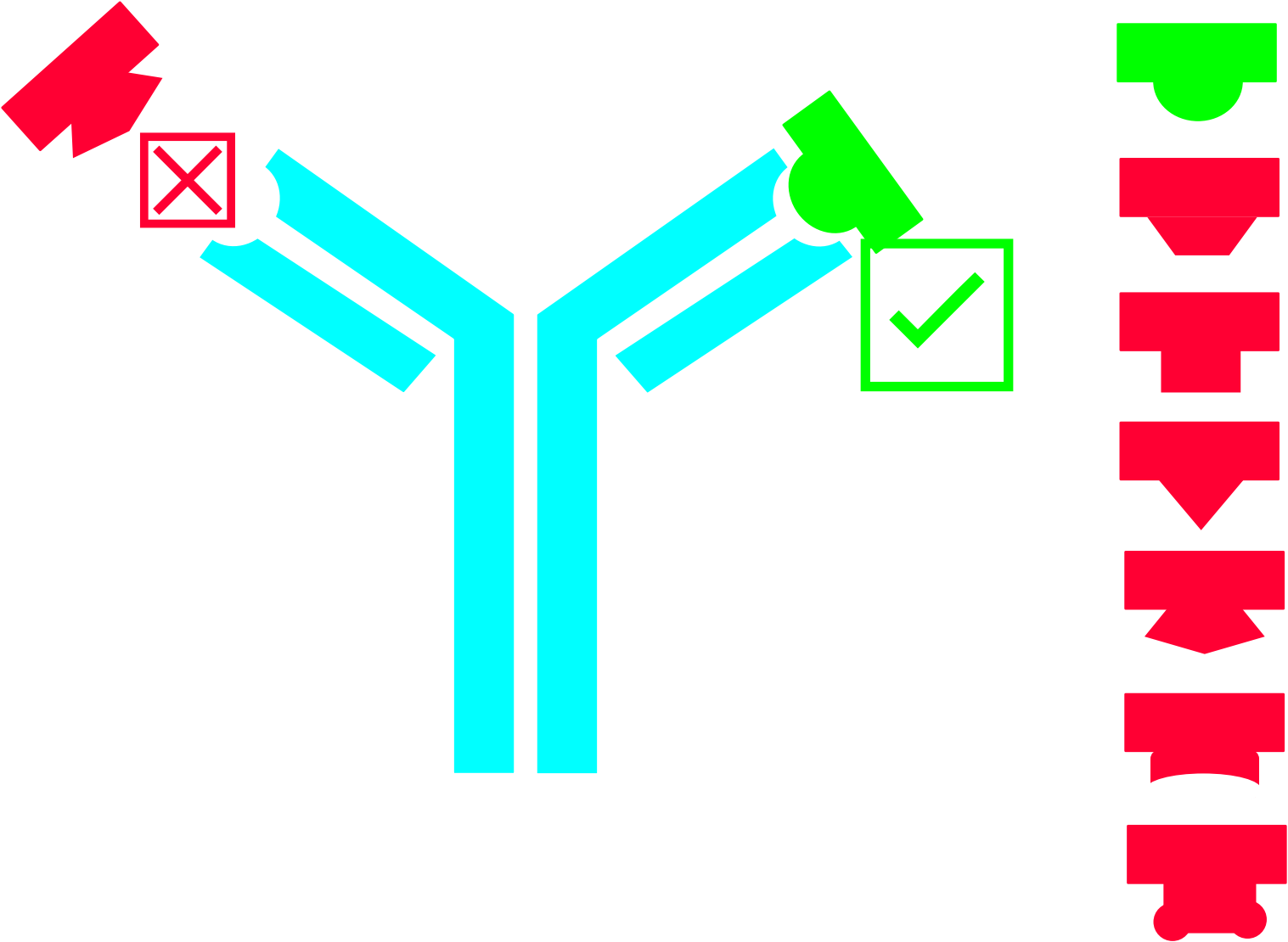
	Ig								
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE
Aktivace komplementu (klasická)	++	+	+++	-	+++	-	-	-	-
Aktivace komplementu (alternativní)	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Přenos přes placentu	+++	+	++	- +	-	-	-	-	-
Vazba na FcR	+	-	+	- +	-	+	+	-	+
Vazba na bazofily a žírné buňky	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
Reaktivita s proteinem A	+	+	- +	+	-	-	-	-	-

Figure 4-17 part 2 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

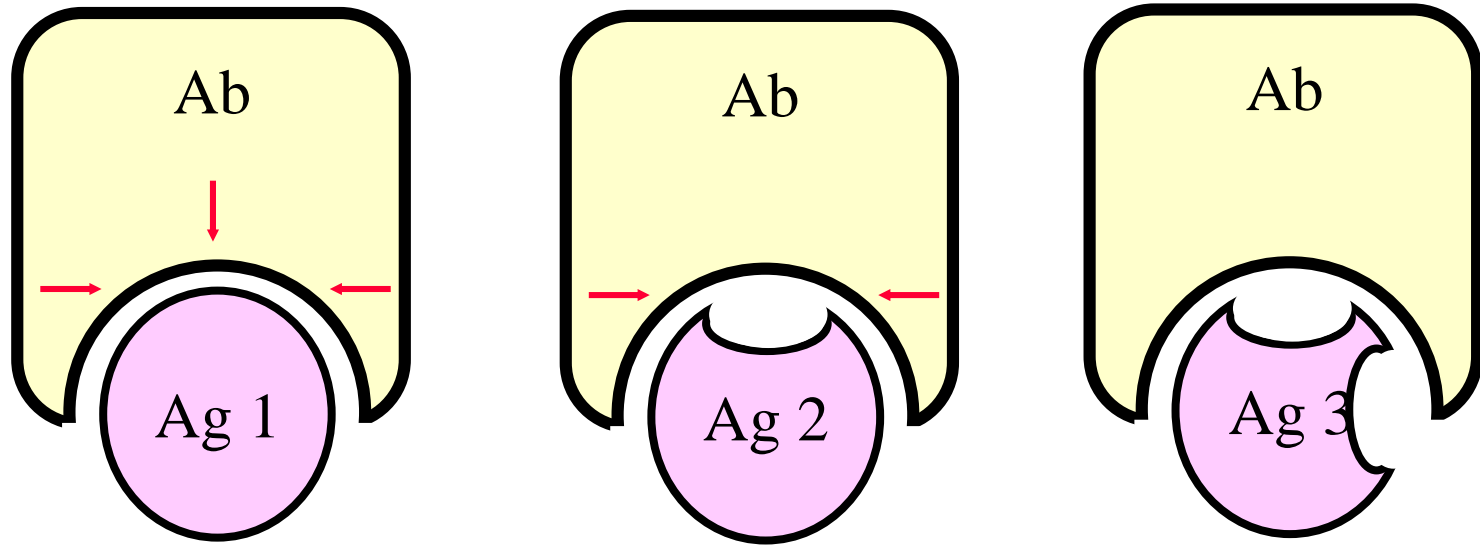
## Reakce antigen-protilátka: základní pojmy

- **Afinita** - síla reakce mezi jednotlivou antigenní determinantou a jednotlivým vazebným místem protilátky.
- **Avidita** – je celková síla vazby mezi antigenem s mnoha antigenními determinantami a multivalentními protilátkami.
- **Specificita** – schopnost jednotlivé protilátky a jejího vazebného místa reagovat pouze s jednou určitou antigenní determinantou
- **Křížová reaktivita** – schopnost jednotlivé protilátky reagovat s více než jednou antigenní determinantou

# Reakce antigen-protilátka: specifická



# Reakce antigen-protilátka: křížová reaktivita



# Primární a sekundární protilátková odpověď

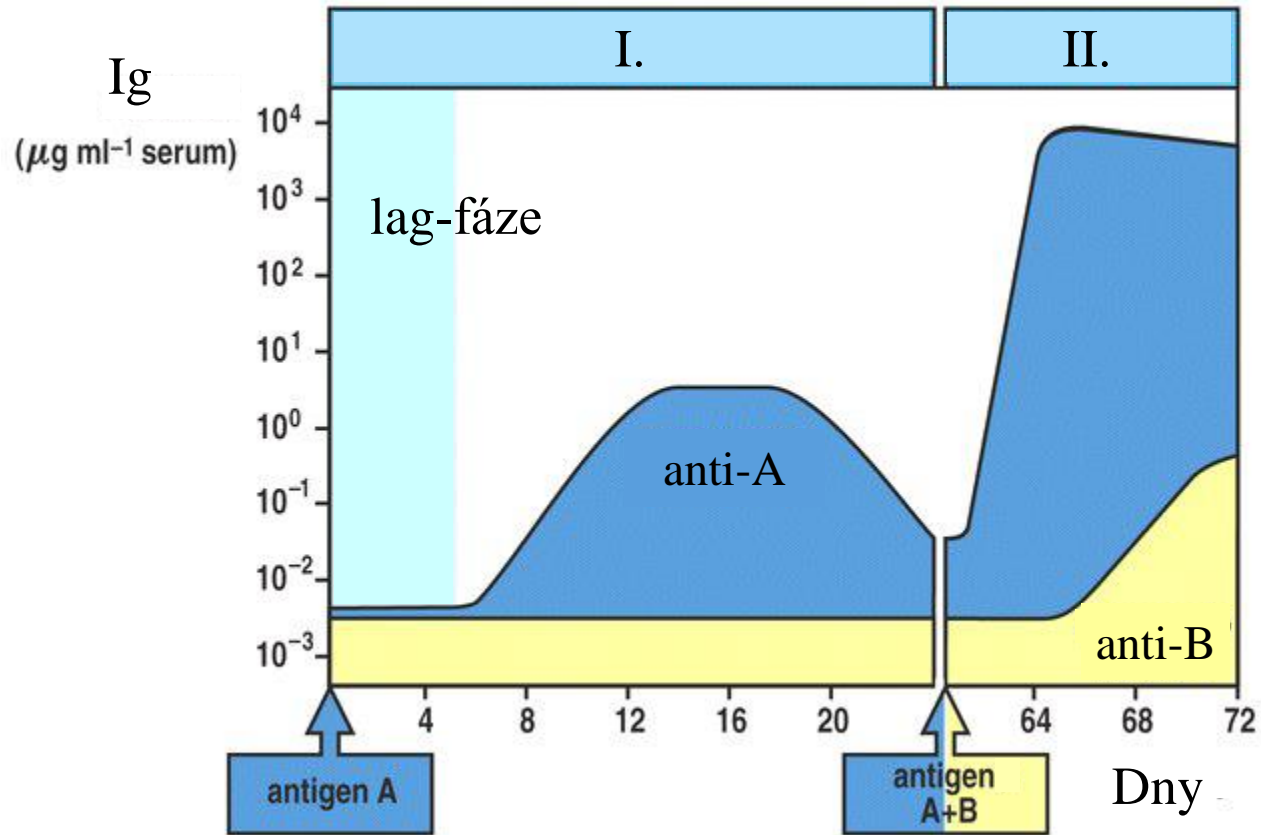
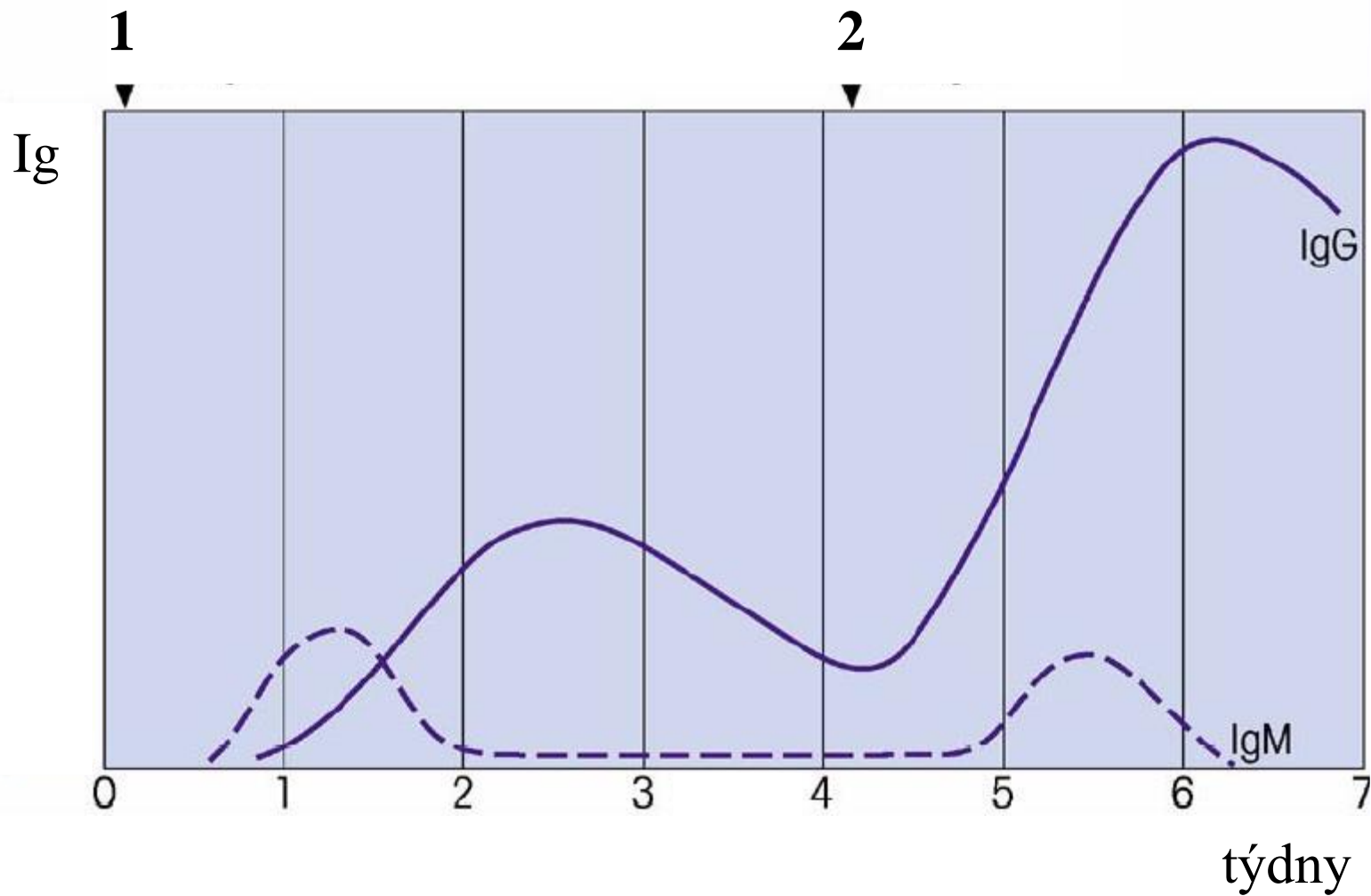


Figure 1-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## Primární a sekundární protilátková odpověď





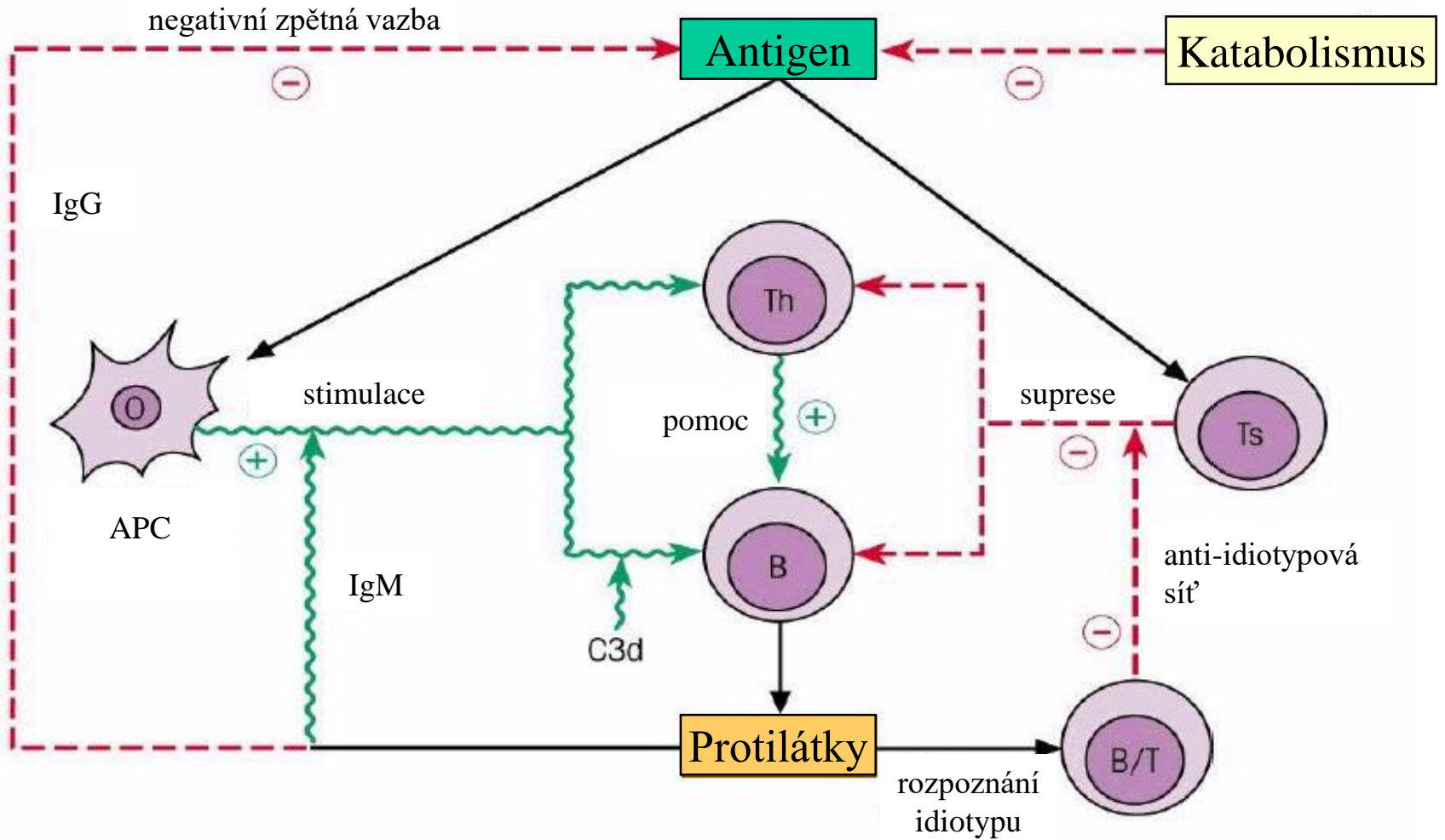
## Primární protilátková odpověď

- 3-4 dny po imunizaci
- lokalizace – sekundární lymfatické orgány
- typ odpovědi – IgM izotyp, nízká afinita k antigenu, účinné v bloádě rozšiřování antigenu
- imunokomplexy Ab+Ag uchovávané v lymfatických uzlinách na FDC (velmi dlouho, možná roky!) – primární lymfoidní folikuly
- FDC opět stimulují B lymfocyty (klonální expanze buněk primárně stimulovaných Ag)

## Sekundární protilátková odpověď

- podmínky: rozpoznání antigenů na FDC v primárních lymfatických folikulech, signály z Th lymfocytů
- nové dělení a diferenciace B lymfocytů, mutace V genového segmentu pro H, L řetězce
- pouze B lymfocyty s velmi silnou afinitou přežijí, buňky s afinitou slabou (neproduktivní mutace) zahynou
- rostoucí výběr a soutěž buněk, protože klesá množství antigenu (na FDC)
- intenzivní proliferace a hynutí
- lokalizováno v sekundárních lymfoidních folikulech v germinálních centrech
- afinita o 4-6 řádů vyšší než u IgM primární odpovědi

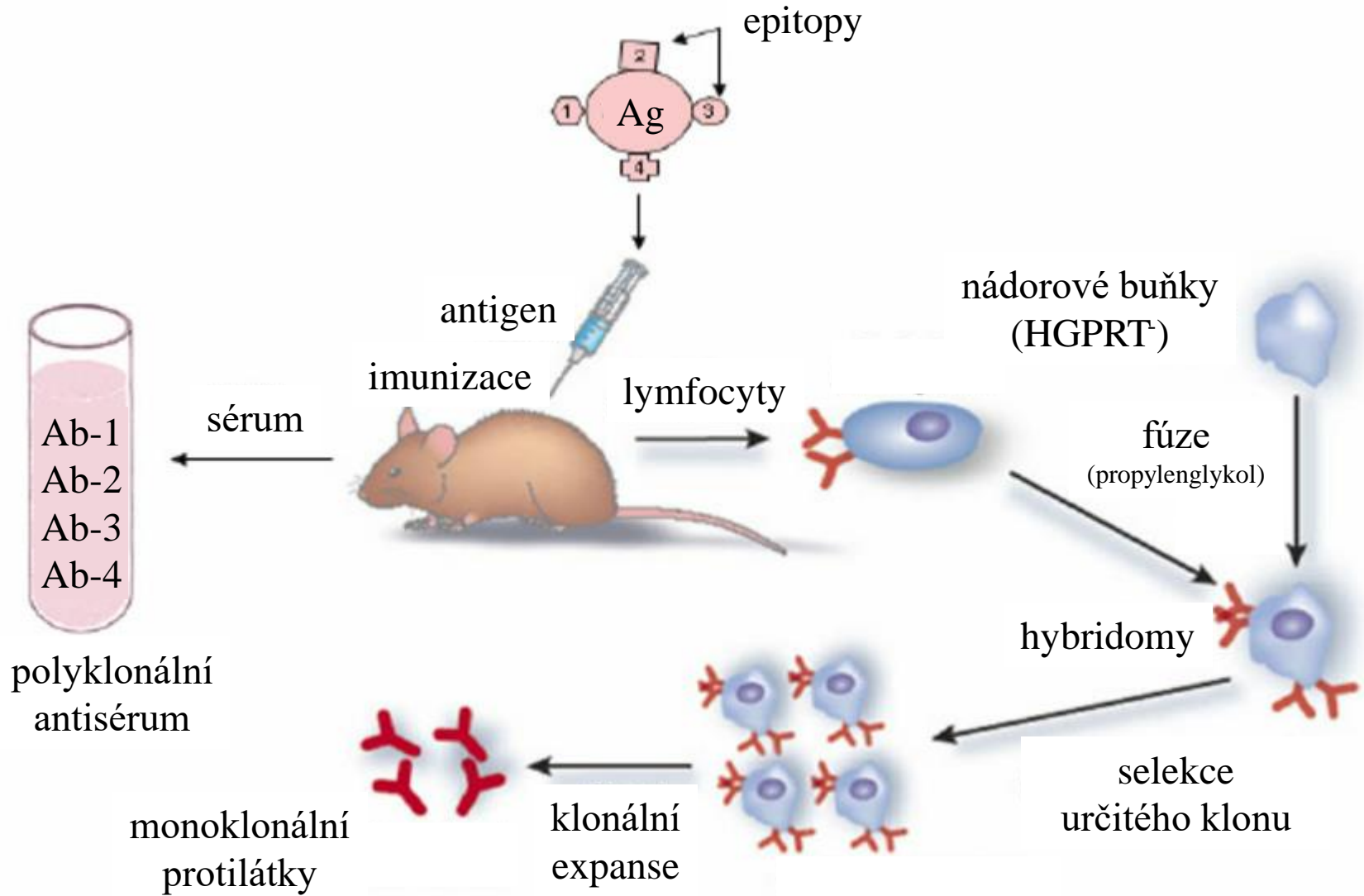
# Regulace protilátkové odpovědi



## Monoklonální protilátky

- protilátky produkované jediným klonem B-lymfocytů
- uměle vytvořených hybridizací B-lymfocytů s určitou antigenní specifitou (= vytvářejí Ig se stejnou antigenní specifitou) a nádorových buněk (= jsou „nesmrtelné“)
  - nádorové buňky HGPRT<sup>-</sup> (hypoxantin-guanin fosforibosyltransferasa)
  - kultivace v HAT-mediumu (hypoxanthin, aminopterin a thymidin)
- využití monoklonálních protilátek
  - diagnostika (např. průtoková cytometrie, ELISA)
  - léčba (anti-IgE, anti-TNF- $\alpha$ , anti-CD3)

# Monoklonální protilátky



# Monoklonální protilátky

