

Antigeny

- **Základní vlastnosti**

1. Cizorodost – během vývoje IK b. v kostní dřeni či v thymu se B a T lymfocyty učí rozpoznávat vlastní Ag (klonová delece). Pokud se vlastní Ag během maturace lymfocytů v prim. orgánech neobjevil, nedojde k eliminaci klonu lymfocytů, které by ho rozpoznali a reagovaly na něj. Příklad: Spermie

Imunogennost – schopnost indukovat im. odpověď. Čím větší fylogenetická vzdálenost mezi jedinci (při imunizaci), tím větší imunogenosti, například: Transplantace ledvin dvojčat, nepříbuzného dárce

Příklad: Kolagen, cytochrom evolučně konzervované molekuly – imunogennost nepatrná

2. Degradovatelnost – Pokud molekula nemůže být degradovatelná (solubilizovaná), není Ag.

Příklad: Ocelové jehly, klouby z umělé hmoty přijímá organismus bez reakcí. Látka rychle se rozkládající nemá stabilní fragmenty na indukci im. Odpovědi

Příklad: D-AK u savců nepřírozené, peptidy v organismu nedegradovatelné, po zabudování peptidu z L-AK vznik Ag

3

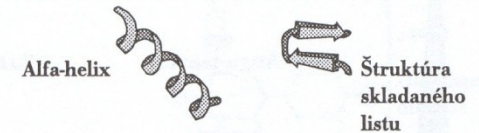
Vlastnosti Ag

Biochem. struktura — 1. Peptidy —
výborné Ag (komplexnost, velikost, toxiny,
bičíky)) 2. heterodimery glykoproteiny
(buň. membrány), lipopolysacharidy (G-),
proteoglykany, nukleoproteiny 3.
polysacharidy- špatné Ag (škrob) 4. Lipidy
— špatné Ag (strukturní nestabil) 5. NK —
slabé (flexibilita) - nukleoproteiny
(stabilizace)

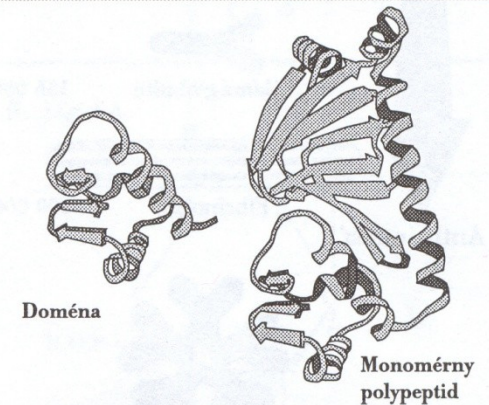
4. Molek. hmotnost — čím vyšší, tím lepší Ag
méně jako 5000 kDa - neimunogenní
5000-10000 kDa — slabý Ag
Nad 10000 — silný Ag , obr.

-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-
(sekvencia aminokyselín v polypeptidovom reťazci)

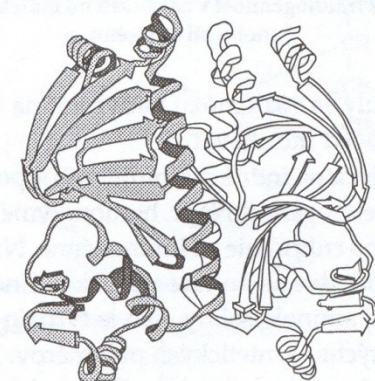
PRIMÁRNA ŠTRUKTÚRA



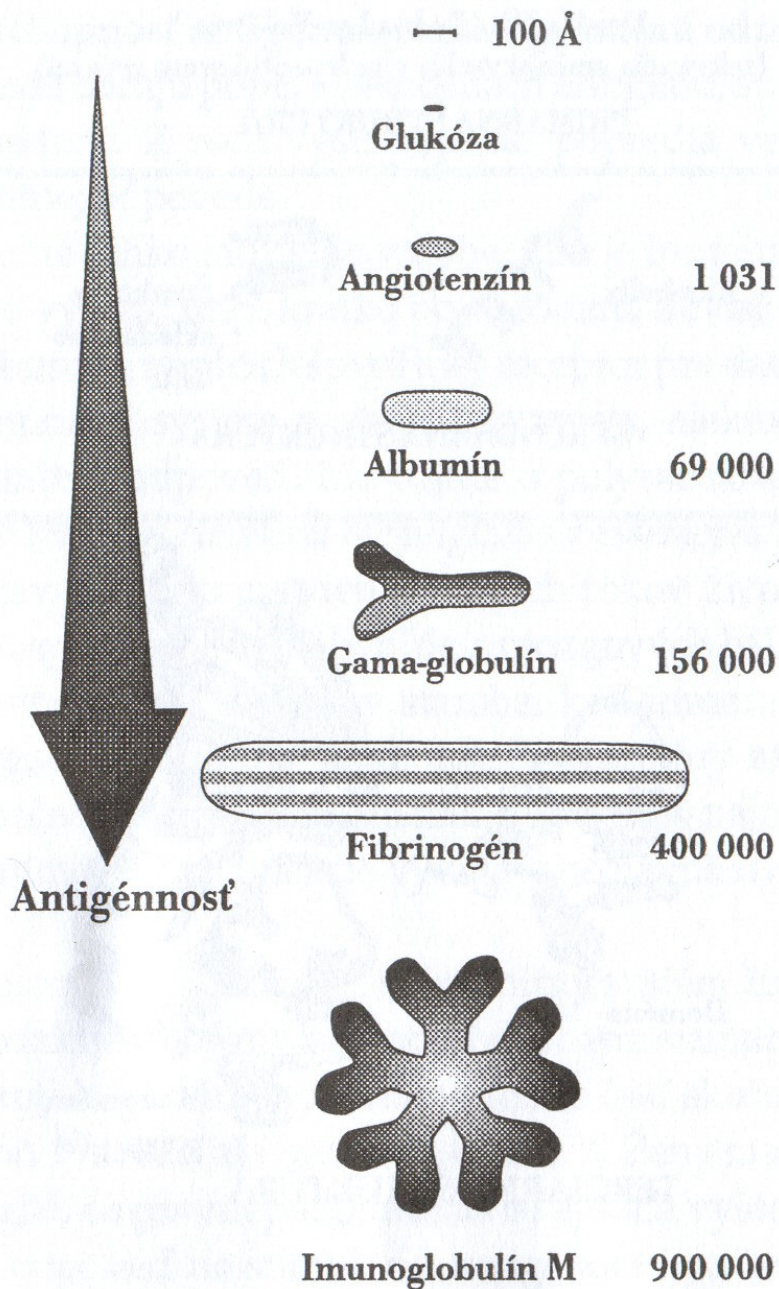
SEKUNDÁRNA ŠTRUKTÚRA



TERCIÁRNA ŠTRUKTÚRA



KVARTÉRNA ŠTRUKTÚRA



Další požadavky:

komplexnost a heterogennost:
homopolymery-heteropolymery,
Př. přidání aromat. AK-zvýšení imunogennosti
4 úrovně organizace proteinů:

Primární, sekundární, terciální, kvarterní struktura přispívají k celkové komplexnosti – zvýšení imunog. Obr.

5. Strukturní stabilita – Ag vysoce flexibilní, bez fixního tvaru – špatné Ag př. želatina, po zabudování tyrozinu, try stabilizace

Vlastnosti Ag

6. Dávka a cesta vniku Ag do těla – nedostatečná dávka – stav neodpovídavosti; nízkózónová tolerance, příliš vysoká dávka – vysokózónová tolerance

Vícenásobná aplikace na dosažení potřebné i. odpovědi, způsoby vniku Ag do těla rozhoduje, který lymfatický orgán a které populace buněk se zúčastní na i. odpovědi

7. Biologické faktory – věk, hormony, genetická vybavenost pro i. odpověď, pohlaví. Př. pohlaví – ženy: odraz stimulačního vlivu estrogenů – 1. odolnost proti infekcím – žijí déle 2. vyšší hladiny Ig 3. I. odpověď na stimulaci rychlejší

Antigeny z hlediska diagnostiky

Nativní a rekombinantní Ag

Ag – schopné vyvolat I odpověď, komplexní, nekomplexní Ag, haptén, determinanty, nosič

V laboratořích: Stanovení Ab proti:

- a) Autoantigenům
- b) Alergenům
- c) Ag infekčních činitelů

Použití Ag pro diagnostické účely: a) nativní b) rekombinantní

Adb) příprava

- a) chemickou analýzou
- b) genovým inženýrstvím (vnesením genu do vhodné bakterie)

Nevýhoda:

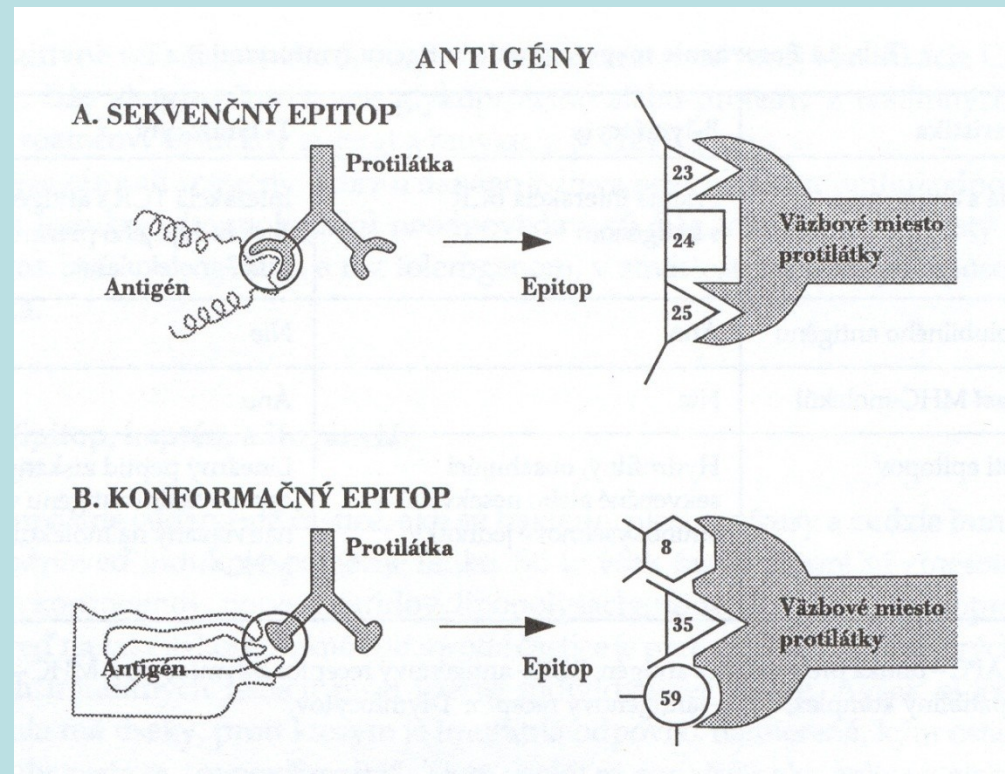
- a) Čistota produktu, která není přírodě vlastní
- b) Shodná prim. max sekundární struktura
- c) Jsou –li vyšetřovaná Ab namířena proti konformačnímu epitopu, nejsou v testu detekovatelné

Závěr: Testovací systémy by měly mít **A) nativní i B) rekombinantní Ag**

Porovnávaní rozpoznání Ag lymfocyty B a T

Charakteristika	B-lymfocyty	T-lymfocyty
Interakcia s antigénom	Priama interakcia BCR s antigénom	Interakcia TCR s antigénom si vyžaduje jeho prezentáciu MHC-molekulami
Väzba solubilného antigénu	Áno	Nie

B lymfocyty nebo Ab rozpoznávají sekvenční (pořadí AK) nebo konformační epitop (AK v sekundární struktuře), po denaturaci nerozezná, skryté AK rozezná, hydrofilní rozezná, hydrofobní ne. Globulární proteiny-kontakt s 15-22 AK, závisí na terciální struktuře

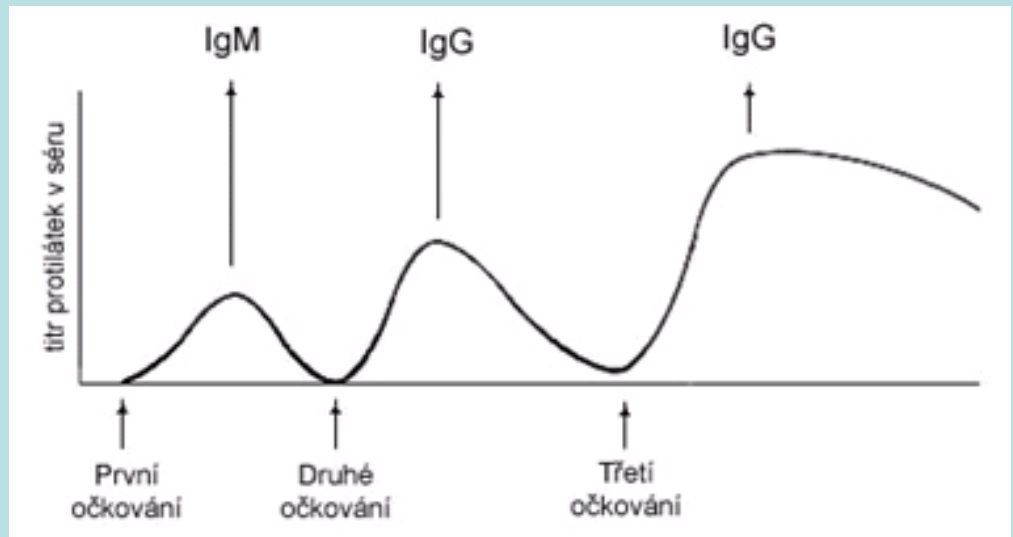


T lymfocyty

- TCR T_c lymfocytů rozeznávají jen fragment rozrušené molekuly procesem uvnitř v APC buňce navázaný na MHCI (15-25AK)
- TCR Th-MHCII.
- Peptid – hydrofobní AK musí být ponořené do žlábků MHC, hydrofilní k TCR

Experimentální imunizace

1. Zjištění dynamiky a výše hladiny tvorby Ig u pokusných zvířat
2. Zjištění koncentrace proteinů očkovací látky
3. Aplikace dávky při spodní hranici hodnoty množství očkovací látky
4. Aplikace po třech týdnech dle schématu
5. Izolace séra s vytvořenými Ab z pokusných zvířat



Průběh imunitní odpovědi, aplikace po třech týdnech

Experimentální imunizace

- Literatura udává jako optimální očkovací dávku rozmezí hodnot 5 – 50 μg nerozpustných proteinů v bakteriální suspenzi. Toto množství lze aplikovat nejen intraperitoneálně, ale i subkutánně. Intraperitoneální očkování je nejběžnější metodou, která se používá pro vpravení většího množství Ag do myši (Harlow, Lane 1988).
- K očkování se dá použít spodní hranici hodnot Ag, aby se mohla sledovat dynamika protilátkové odpovědi, která závisí nejen na množství Ag, ale i na jeho specifitě a také na organismu, který očkujeme.

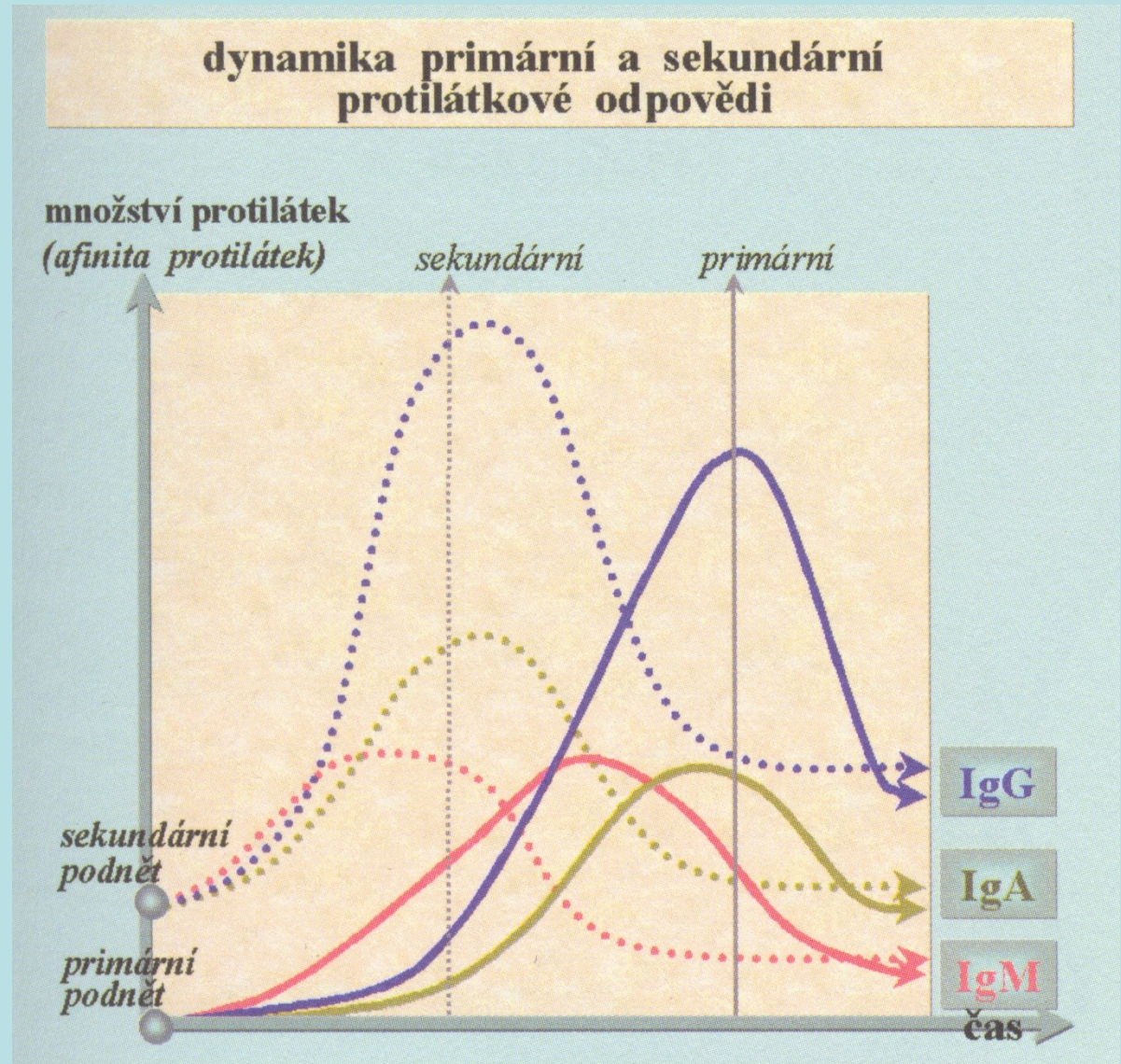
Dynamika primární a sekundární protilátkové odpovědi

Obr. Primární odpověď

1. Tvorba Ab ve třídě IgM, potom další třídy a podtřídy (IgG, IgA..)
2. Postupné zvyšování afinity Ab podle procesu somatické mutace

Sekundární odpověď

1. rychlejší a intenzivnější tvorba tříd IgG, IgA, nižší tvorba IgM
2. Vyšší afinita a množství Ab expanzí paměťových buněk, které již prodělaly proces somatické mutace



Antigeny z hlediska diagnostiky

Nativní a rekombinantní Ag

Ag – schopna vyvolat I odpověď, komplexní, nekomplexní Ag, haptén , determinanty, nosič

V laboratořích: Stanovení Ab proti:

- a) Autoantigenům
- b) Alergenům
- c) Ag infekčních činitelů

Použití Ag pro diagnostické účely: a) nativní b) rekombinantní

Adb) příprava

- a) chemickou analýzou
- b) genovým inženýrstvím (vnesením genu do vhodné bakterie)

Nevýhoda:

- a) Čistota produktu, která není přírodě vlastní
- b) Shodná prim. max sekundární struktura
- c) Jsou –li vyšetřovaná Ab namířena proti konformačnímu epitopu, nejsou v testu detekovatelné

Závěr: Testovací systémy by měly mít A) nativní i B) rekombinantní Ag

