

Antigeny z hlediska diagnostiky a pro potřeby imunizace

Nativní a rekombinantní Ag

Ag – schopen 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 vyšetřované Ab namířeny proti konformačnímu epitopu, nejsou v testu detekovatelné

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

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 rozpoznaly a reagovaly na něj. Příklad: spermie

Imunogennost – schopnost indukovat im. odpověď. Čím větší fylogenetická vzdálenost mezi jedinci (při imunizaci), tím větší imunogennost, například transplantace ledvin dvojčat, nepříbuzného dárce, například kolagen, cytochrom evolučně konzervované molekuly – imunogennost nepatrná

2. Degradovatelnost – Pokud molekula nemůže být degradovatelná, 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 pravého Ag

Vlastnosti Ag

3. Biochem. struktura – 1. Peptidy – výborné Ag (komplexnost, velikost, př. toxiny, bičíky) heteropolymery 2. Nukleoproteiny (stabilizace) 3. glykoproteiny (buň. membrány) 4. lipopolysacharidy (G-)

polysacharidy- špatné Ag (škrob)

Lipidy – špatné Ag (strukturní nestabil.)

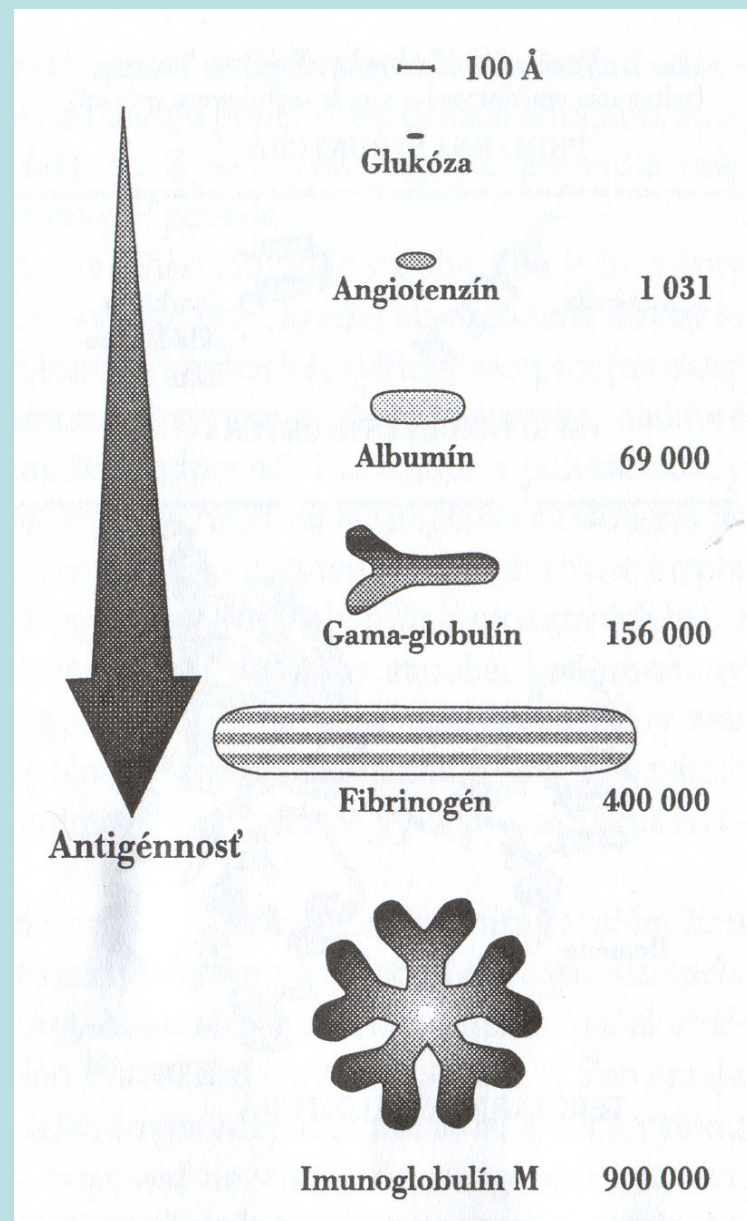
NK – slabé (flexibilita)

4. Molek. hmotnost – čím vyšší, tím lepší Ag

méně jako 5000 kDa - neimunogenní

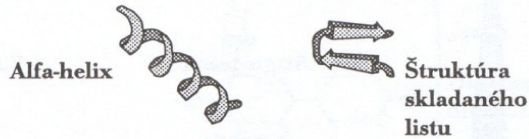
5000-10000 kDa – slabý Ag

Nad 10000 – silný Ag , obr.

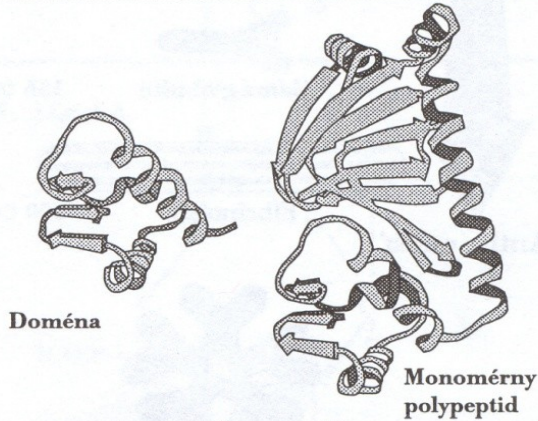


-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-
(sekvencia aminokyselín v polypeptidovom reťazci)

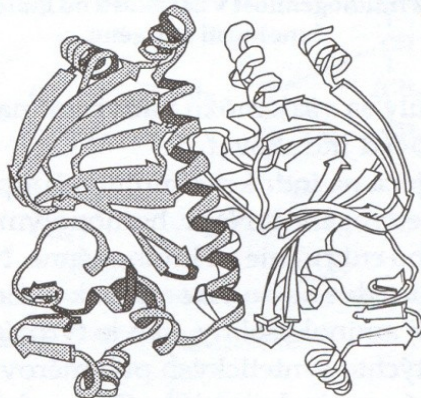
PRIMÁRNA ŠTRUKTÚRA



SEKUNDÁRNA ŠTRUKTÚRA



TERCIÁRNA ŠTRUKTÚRA



KVARTÉRNA ŠTRUKTÚRA

Další požadavky:

komplexnosť a heterogennosť: homopolymery-heteropolymery, Pŕ. pridání aromat. AK-zvýšení imunogennosti 4 úrovně organizace proteinů:

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

Vlastnosti Ag

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

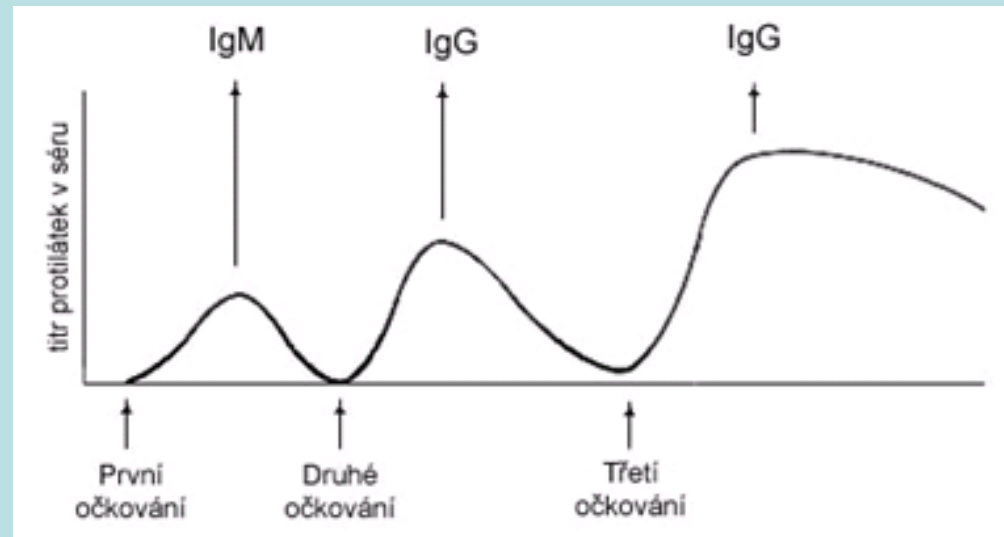
6. Dávka a cesta vniku Ag do těla – nedostatečná dávka – stav neodpovídavosti; nízkozónová tolerance, příliš vysoká dávka – vysokozónová tolerance

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

Př. použití Ag - 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:
 - **a)** intraperitoneálně **b)** subkutánně
- nejběžnější metoda - **intraperitoneální** očkování, použití: pro vpravení většího množství Ag do myši (Harlow, Lane 1988).
- K očkování se dá použít spodní hranici hodnot Ag:
- Sledování dynamiky protilátkové odpovědi: **závisí:**
 - na množství Ag
 - na jeho specifitě
 - 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

