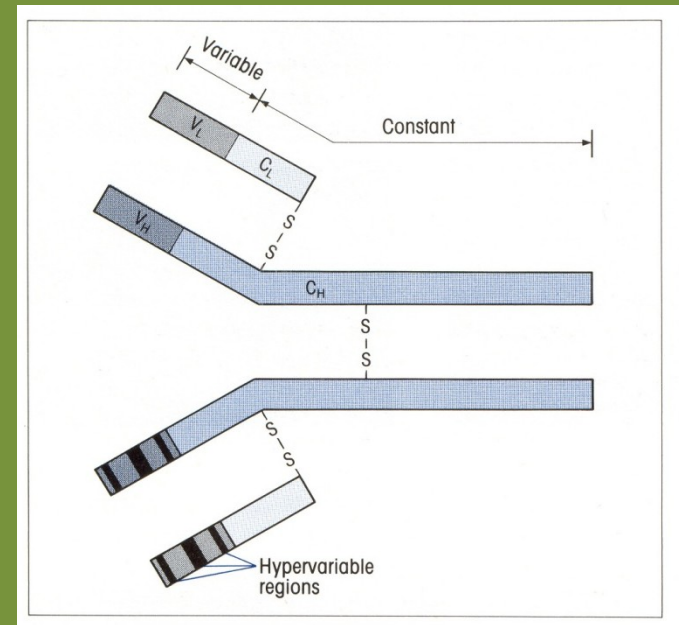
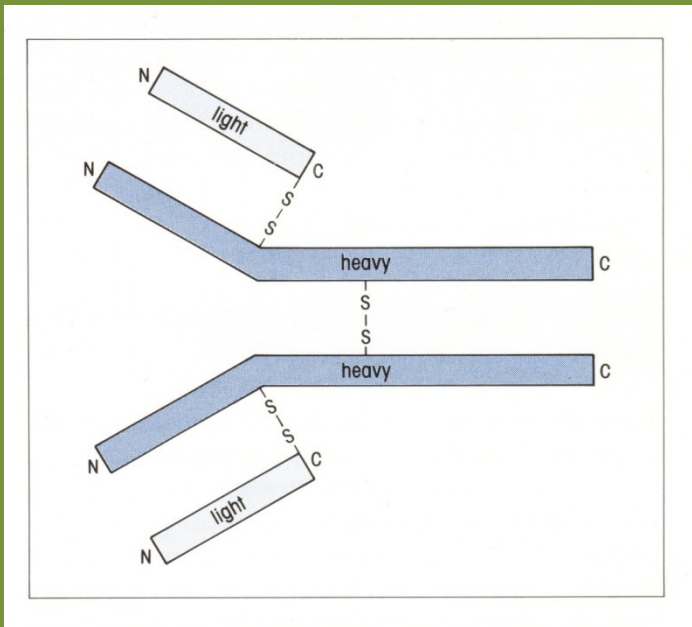


# Protilátky

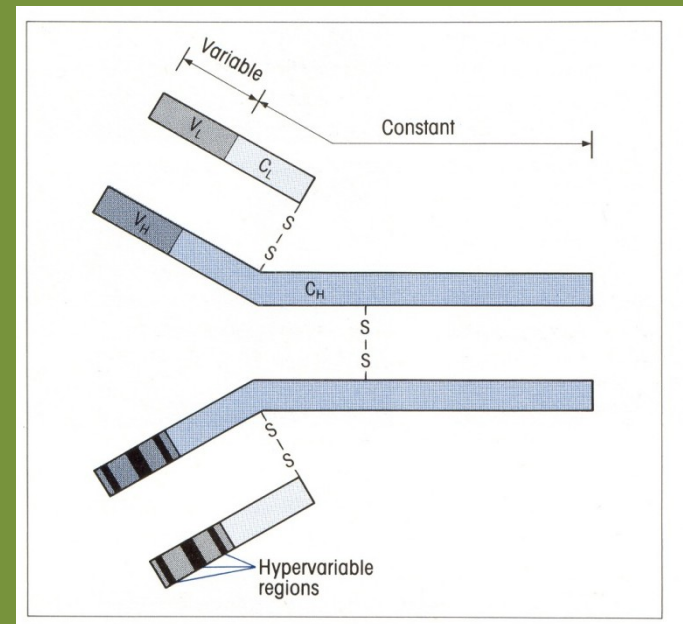
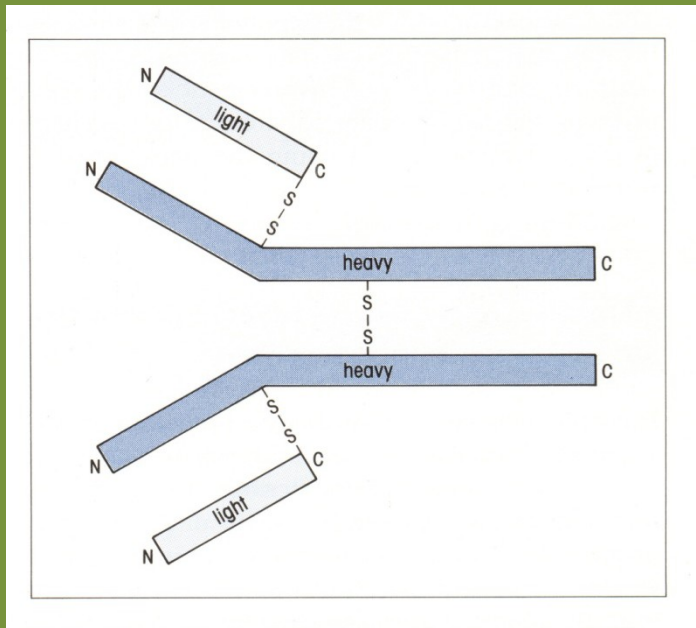
## Nejdůležitější Vlastnosti:

Patří do gama frakce krevních bílkovin (gamaglobuliny), přítomnost některých úseků na bílkovinném řetězci-immunoglobulinové domény – konstantní a variabilní (110AK zbytků), je prototypem rozsáhlé imunologické rodiny molekul (800 důležitých molekul)



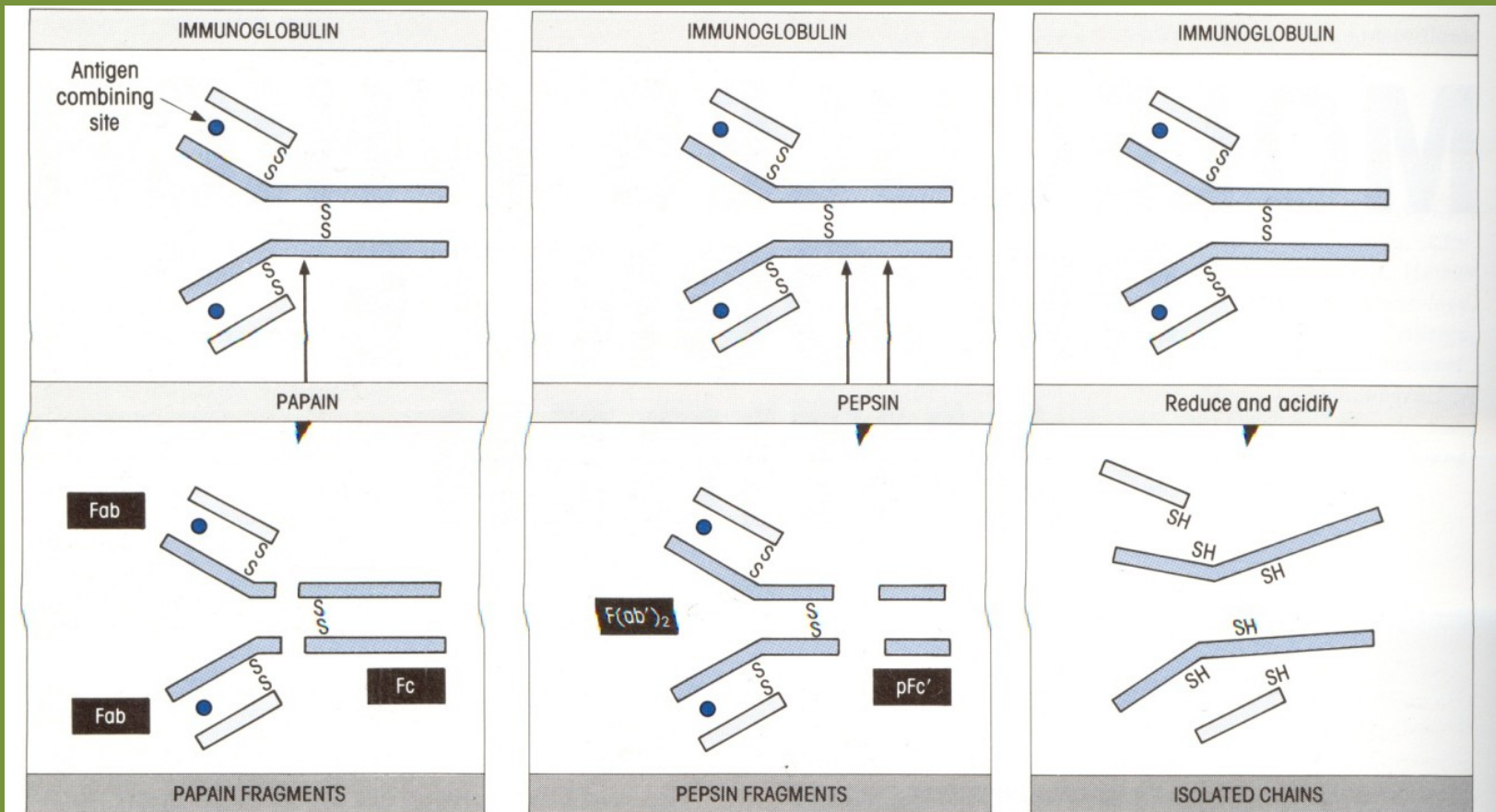
Ab model se dvěma těžkými (určují třídu a izotyp Ig) a 2 lehkými polypeptidickými řetězci (kappa, lambda) spojené interakcí disulfidických můstků, N terminální zbytky

**variabilní úseky** mají odlišné AK složení u různých plazmatických buněk, konstatní úseky-primární struktura je obdobná u různých molekul Ig, tvar molekuly Y odpovídá schopnosti vázat se na Ag struktury, pantovou oblastí (disulfidické můstky) se přizpůsobuje tvar vazebného místa molekule Ag (zodpovědné za prostorové uspořádání, řetězce Ig jsou glykosylovány, a to umožňuje biologické vlastnosti Ab



## Působením proteolytických enzymů je štěpena Ab pod (pepsin) nebo nad (papain) disulfidickými můstky

Vzniklé proteolytické fragmenty ukazují divalenci (váží se se dvěma Ag) pepsinu a univalenci papainu. pFc reprezentuje C-terminální konec Fc oblasti a je tvořen nekovalentními vazbami





# Variabilní a konstantní domény spolu asociují a vytváří globulární struktury, např Y

Dinitrofenol - Hapten s králičími Ab  
vytváří

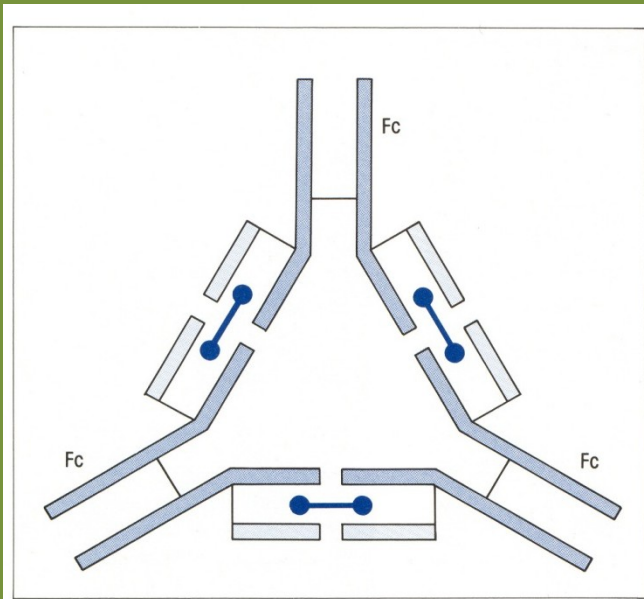
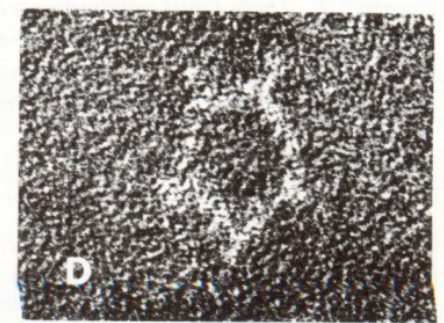
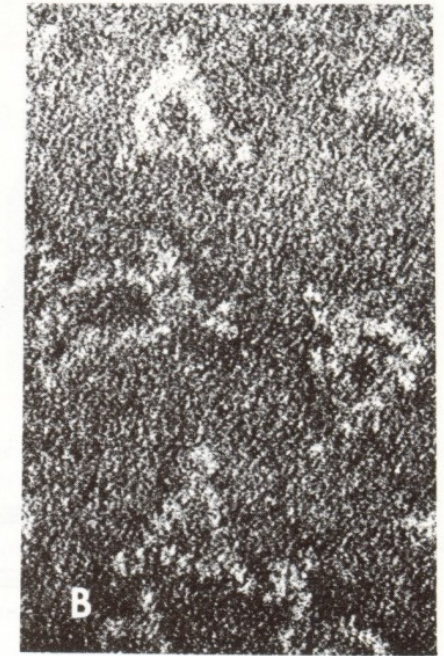
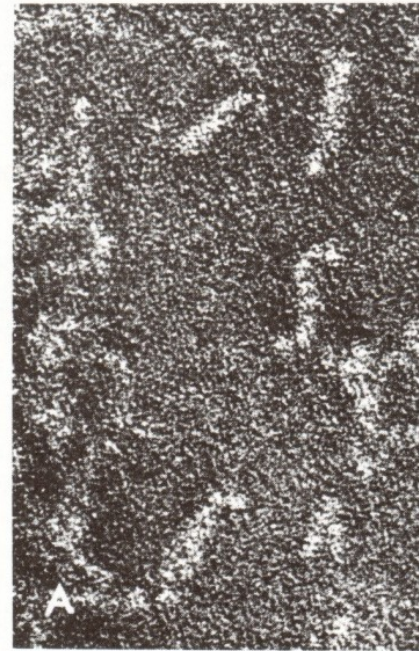
A) dimery B) trimery

C) Tetramery D) pentamery

Obr. A flexibilita v pantové oblasti

Obr. E Fc fragmenty byly natráveny  
pepsinem, nelze je zde pozorovat  
jako u obr. A-D v každém rohu

Zvětš. 1.000.000x



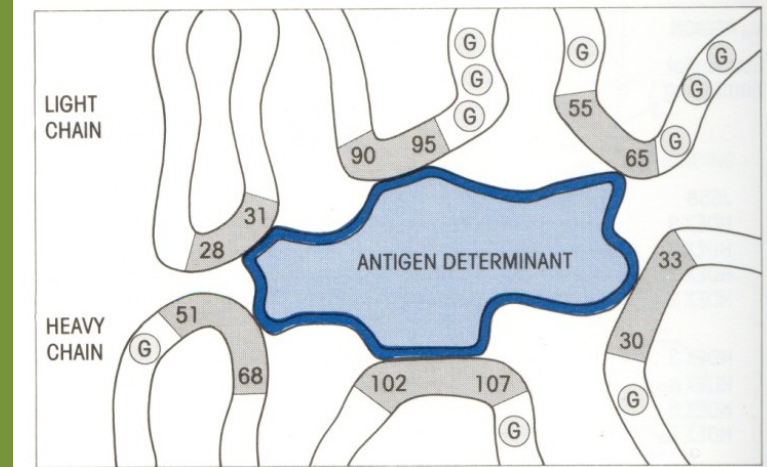
Trimer s Fc fragmenty

## Idealizovaná dvojrozměrná struktura Ag

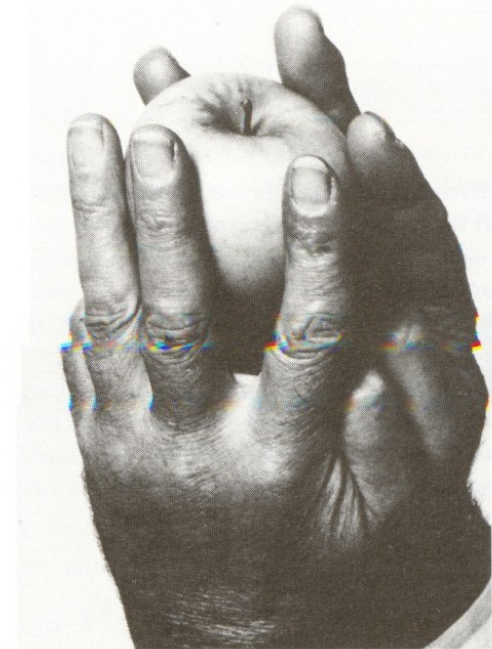
**a) Vazbové místo tvoří peptidické smyčky, které tvoří hypervariabilní úseky na lehkém i těžkém řetězci (číslo znamená počet zbytků AK) a G cukerné zbytky.**

Cukerné zbytky jsou důležité pro zpětné poskládání peptidických řetězců a tvorbu beta struktury skládaného listu. Ta umožňuje, aby hypervariabilní úseky ležely těsně u sebe. Díky vazbě k různým kombinacím hypervariabilních úseků a různým zbytkům uvnitř každé z této oblasti, každá z Ab může tvořit komplex s různými antigenními determinanty.

**b) Simulované kombinační místo tvoření třemi prsty každé ruky. Každý prst představuje hypervariabilní smyčky**



(a)

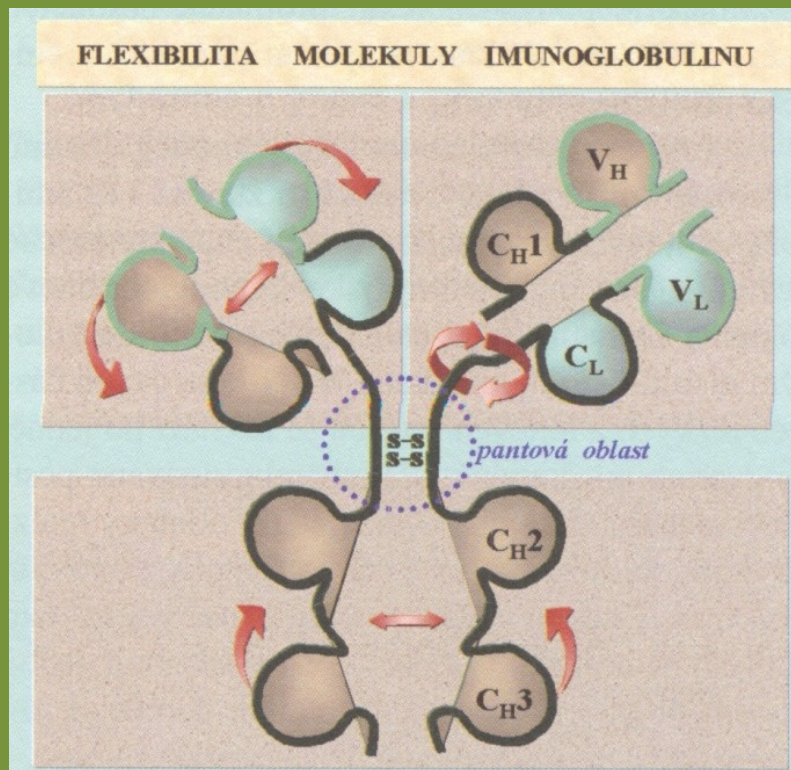


(b)

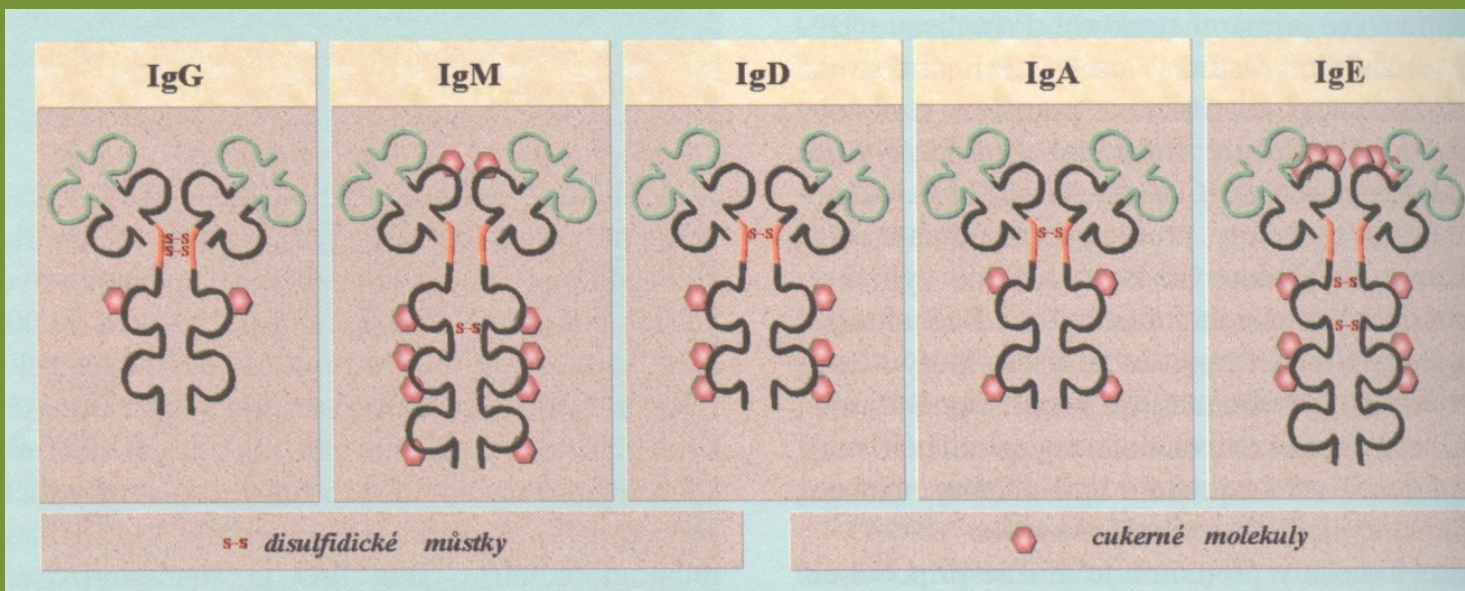


**Obr. Pantová oblast** se přizpůsobuje tvarem vazebného místa na Ag konkrétní Ag struktuře. Část Ab molekuly se **a) rozvívá**  
**b) otáčí**

Obr. Naznačuje možnosti změn prostorového uspořádání částí molekul Ab



**Obr. Počet konstantních domén** je různý pro různé typy těžkých řetězců, úroveň glykosylace, počet a umístění disulfidických můstků u různých Ig tříd







# Afinita

- Je vyjádřena **asociační konstantou K**
- Je poměr mezi koncentrací komplexu Ag-Ab a koncentrací volného Ag v násobku s koncentrací volné Ab
- Platí pro monoklonální Ab
- Polyklonální Ab jsou ve své afinitě heterogenní. Afinita se vyjadřuje jako rovnovážná konstanta reakce Ab a Ag v definovaných podmínkách pro definované reaktanty

**Praxe:** afinita při infekčním onemocnění viz dynamika protilátkové odpovědi.

**V počáteční fázi infekčního onemocnění:**

spec. Ab k Ag infekčního agens – není pevná vazba, afinita, avidita nízká

Průběh infekce - avidita narůstá

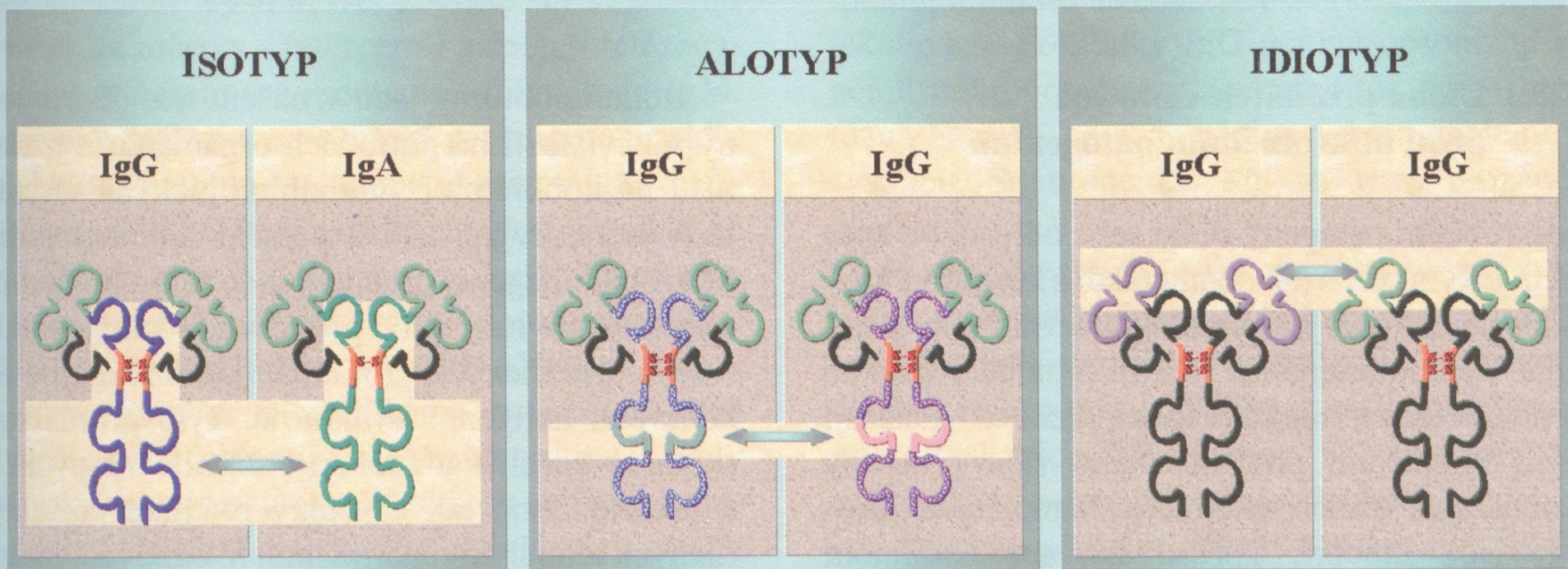
Stanovení afinity a avidity v klinické praxi – určení fáze různých onemocnění



**Obr. Izotypové rozdíly** - rozdíly v AK složení konstantních částí řetězců (příslušnost k třídě)

**Alotypové** – odlišnosti v konstantní části těžkých řetězců podmíněné genet. Polymorfismem

**Idiotypové** – odlišnosti ve variabilní části molekul Ig podmíněné přeskupením genových segmentů – **unikátní vazebné vlastnosti každé Ab**





## TŘÍDY, PODTŘÍDY IMUNOGLOBULINŮ

IgM	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	IgA <sub>1</sub>	IgA <sub>2</sub>	IgD	IgE
-----	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------	-----	-----

### fyzikálně-chemické vlastnosti

těžký řetězec	μ	γ <sub>1</sub>	γ <sub>2</sub>	γ <sub>3</sub>	γ <sub>4</sub>	α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	δ	ε
mol. hmotnost	970	150	150	170	150	160	160	180	190
sérová hladina (g/l) <i>dospělé osoby</i>	1,5 - 3	3 - 9	1,5 - 6	0,2 - 1	0,01 - 1,0	0,5 - 3,8	0,05 - 0,85	0,01 - 0,2	< 200 IU/ml
poločas rozpadu <i>(dny)</i>	10	21	20	7	21	6	6	3	2

### distribuce v tkáních

difúze do tkání	-	+++	+++	+++	+++	++ <small>monomer</small>	-	-	+
prostup přes epitel	+	-	-	-	-	-	+++	-	-
prostup přes placentu	-	+++	+	++	+-	-	-	-	-

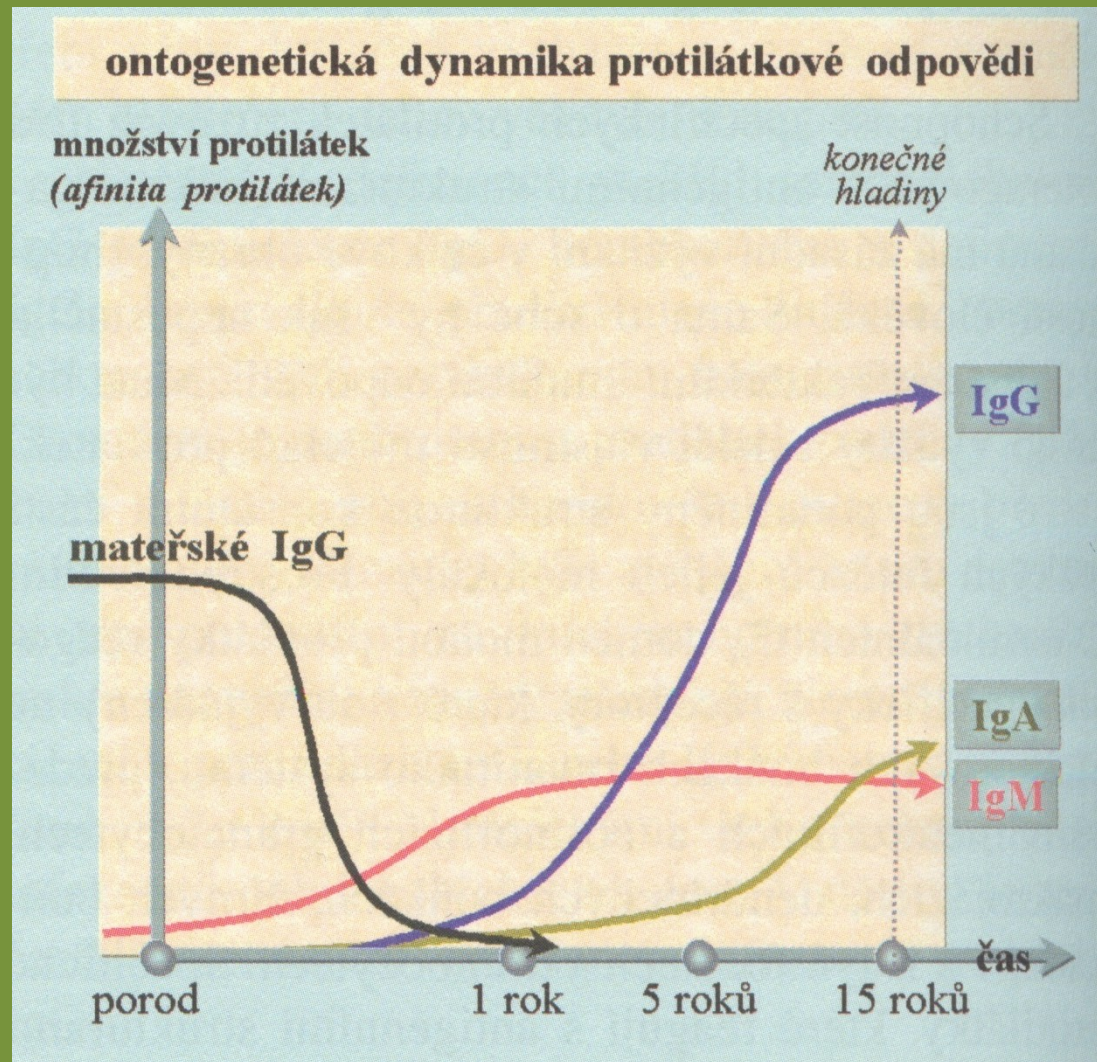
### funkční aktivita

neutralizace	+	++	++	++	++	++	++	-	-
opsonizace	-	+++	-	++	+	+	-	-	-
vazba na receptory fagocytů	-	+	-	+	+-	+	+	-	+
vazba na receptory mastocytů	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
klasická cesta aktivace kompl.	+++	++	+	+++	-	-	-	-	-
alternativní cesta aktivace kompl.	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Charakteristika vlastností tříd a podtříd Ig



**Obr. Ig v ontogenezi:** přes placentu pasivně IgG do porodu, v pozdních fázích těhotenství tvorba vlastních IgM, IgA pasivně v kolostru a mléku, ostatní či zvýšené hladiny značí intrauterinní infekce





# Dynamika primární a sekundární protilátkové odpovědi

## Obr. Primární

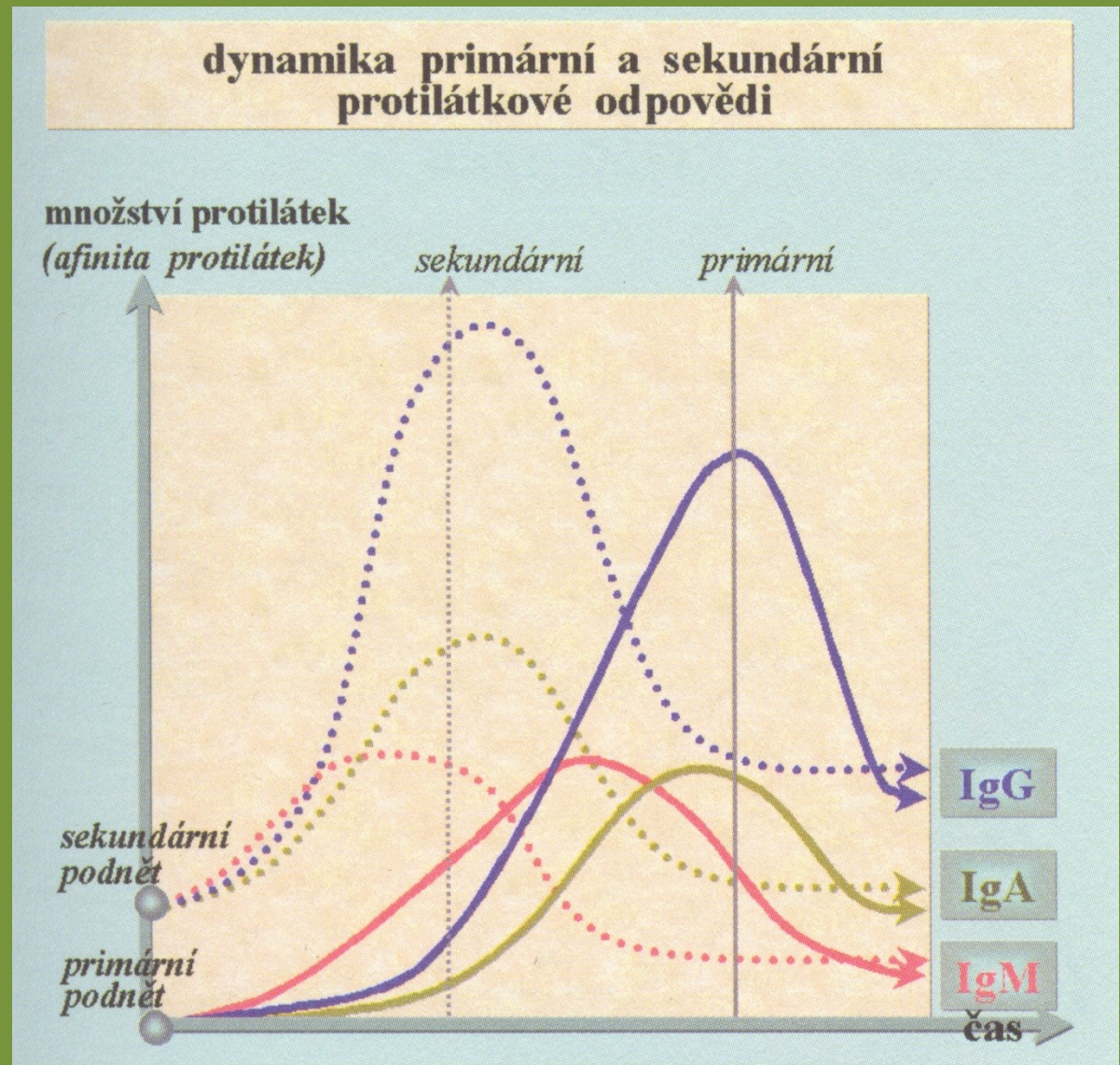
**odpověď 1.** Tvorba Ab ve třídě IgM, potom další třídy a podtřídy (IgG, IgA..)

**2.** Postupné zvyšování afinity Ab podle procesu somatické mutace

## Sekundární odpověď

**1.** rychlejší a intenzivnější tvorba tříd IgG, IgA, nižší tvorba IgM

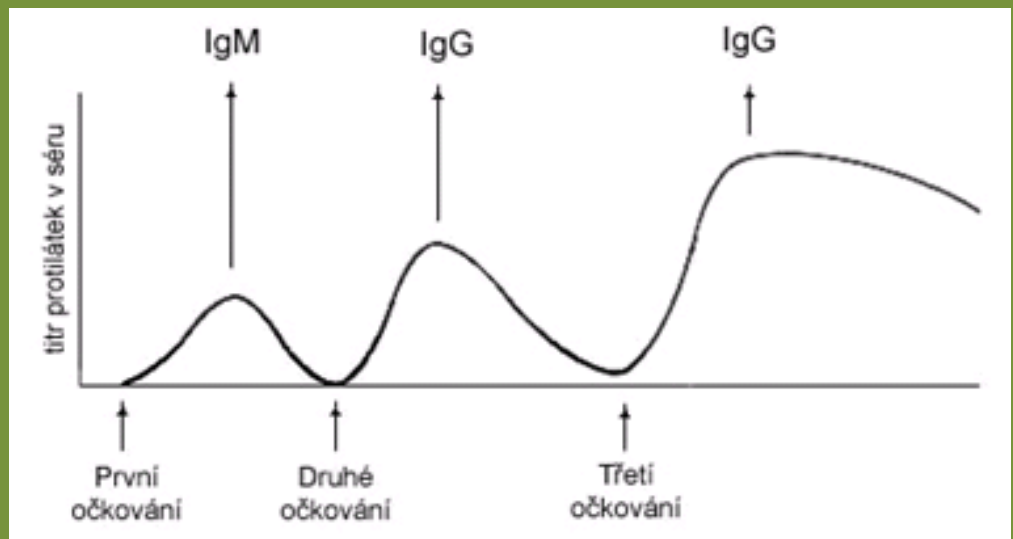
**2.** Vyšší afinita a množství Ab expanzí paměťových buněk, které již prodělaly proces somatické mutace





# 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  $\mu\text{g}$  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:
- možnost sledování dynamiky protilátkové odpovědi: Závisí:
  - na množství Ag
  - na jeho specifitě
  - na organismu, který očkujeme.



# Stanovení Ab u infekčních chorob