

# 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, Příklad: 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 vzniká 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.)

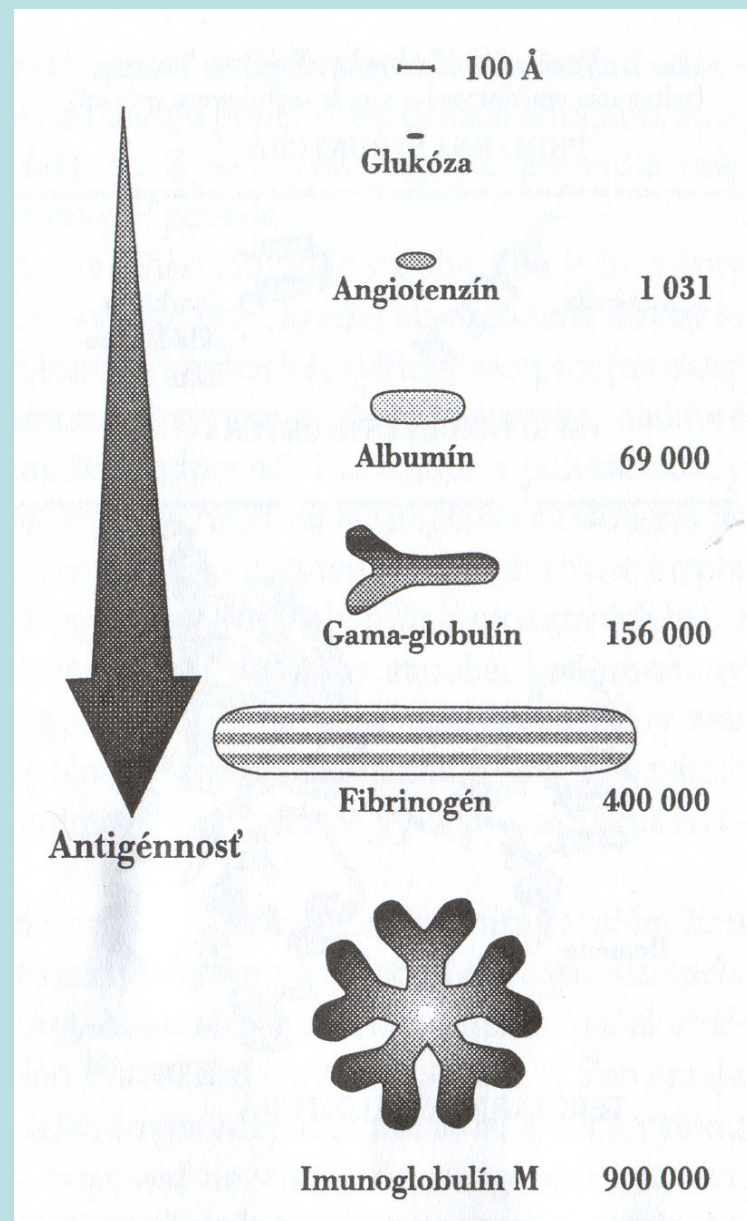
NK – slabé (flexibilita)

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

méně jako 5000 kDa - neimunogenní

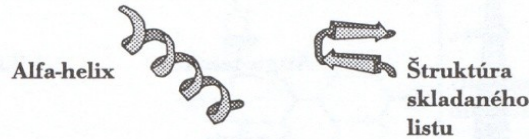
5000-10000 kDa – slabý Ag

Nad 10000 – silný Ag , obr.

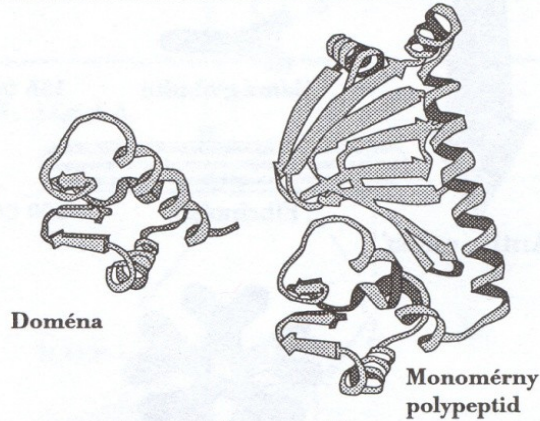


-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-  
(sekvencia aminokyselín v polypeptidovom reťazci)

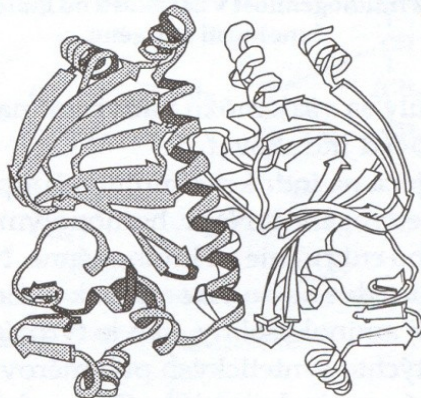
### PRIMÁRNA ŠTRUKTÚRA



### SEKUNDÁRNA ŠTRUKTÚRA



### TERCIÁRNA ŠTRUKTÚRA



Dimérový proteín  
KVARTÉRNA ŠTRUKTÚRA

## Další požadavky:

komplexnosť a heterogennosť:  
homopolymery-  
heteropolymery,  
Př. přidání 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

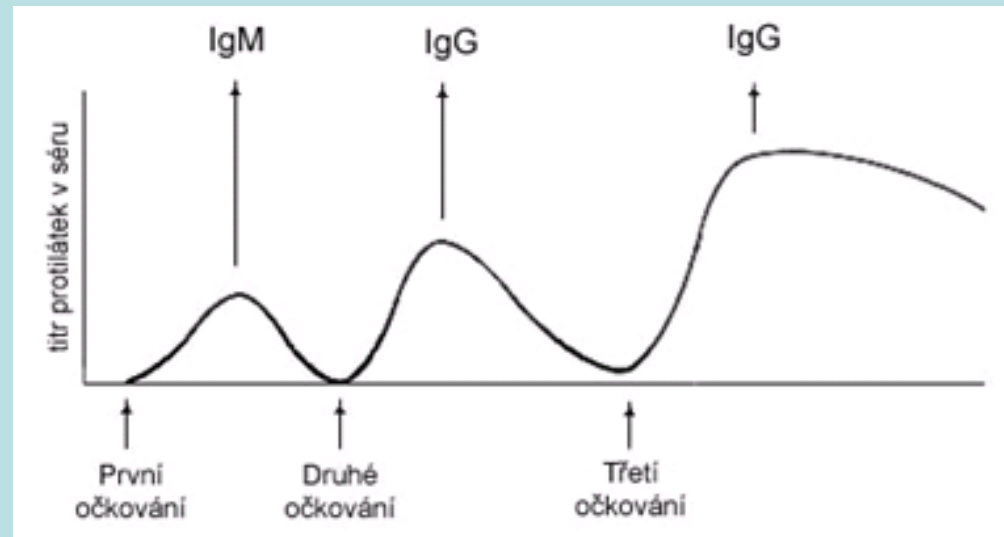
**6. Dávka a cesta vniku Ag do těla** – nedostatečná dávka – stav neodpovídavosti; nízkozónová tolerance, příliš vysoká dávka – vysokozónová tolerance

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  $\mu\text{g}$**  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:
- 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

