

Лекція 3. Вибір методів імуноаналізу за участю антитіл

Загальна характеристика реакції антиген-антитіло. Фактори, що впливають на прояв реакцій антиген-антитіло

Феномени перебігу реакції антиген-антитіло та методи їхнього дослідження

Фактори, що визначають можливість реакції зв'язування антиген-антитіла

Загальна характеристика реакції антиген-антитіло. Фактори, що впливають на прояв реакцій антиген-антитіло

Неодмінною умовою використання антитіл є оцінка сироватки: специфічності, титру і параметрів зв'язування в тих тест-системах, в яких вони будуть використані.

Загальна характеристика реакції антиген-антитіло. Фактори, що впливають на прояв реакцій антиген-антитіло

Взаємодія антитіл з антигеном, антигенні детермінанти якого індукували їхній синтез, здійснюється за рахунок компліментарності поверхні епітопів антигену та паратопів антитіла. Стабільність утворених комплексів антиген-антитіла забезпечується нековалентними зв'язками між епітопом та паратопом. Це водневі, електростатичні, сили Ван-дер-Ваальса і гідрофобні зв'язки. Множинні зв'язки між антигеном і антитілом гарантують, що антиген буде туго з пов'язане з антитілом.

Єдине свідчення реакції антигену й антитіла – це утворення імунного комплексу антиген-антитіло.

Утворення комплексу залежить від безлічі факторів у тому числі:

- концентрації реагентів,
- температури,
- тривалості інкубації,
- рН тест-системи,
- афінності – чим вона вище, тим більше шансів утворення й стійкості комплексу,
- авідності – полівалентні комплекси стійкі,
- співвідношення антиген/антитіло, воно визначає розмір комплексів – великі комплекси формуються при високих концентраціях антигену й антитіла,
- фізичного стану антигену й антитіла: корпускулярні антигени при зв'язуванні антитілами аглютинують, розчинні полівалентні антигени при зв'язуванні антитіла преципітують.

У сучасному біоаналізі використовують три класи антитіл: поліклональні, моноклональні та модифіковані (гуманізовані) рекомбінантні антитіла.

Феномени перебігу реакції антиген-антитіло та методи їхнього дослідження

Перебіг реакції антиген-антитіло супроводжується проявом наступних феноменів.

1. Первинний феномен (сенсibiliзація).

Його суть: поєднання антиген специфічних сайтів антитіл з відповідними детермінантами на антигені.

Тести для виявлення цієї реакції є технічно важким, складним, дорогими, потребують спеціального обладнання і витрат часу. Це методи засновані на використанні міток: імунофлуоресцентного, радіоімунного та імуноферментного аналізів.

2. Вторинний феномен.

Поєднані антиген-антитіла утворюють перехресні зв'язки, формують решітки, створюють великі комплекси, які легко виявляються.

Методи, які використовуються для виявлення цих реакцій швидко, їх легко виконати, вони дешеві, потребують менше витрат часу і звичайно не вимагають спеціального устаткування.

Ці методи є менш специфічними, менш чутливими і мають більше перешкод. Методи, що використовуються для виявлення такого роду реакцій включають преципітацію, аглютинацію і реакцію зв'язування комплементу.

3. Третинний феномен.

Реакції антиген-антитіло не видно, але згодом виявляється її вплив на реакцію тканини або клітин.

Ці типи реакцій включають: запалення, фагоцитоз, відкладення імунних комплексів, імунні прилипання, а також хемотаксис.

Вторинний феномен є методом вибору для багатьох серологічних тестів при виявленні *in vitro* наявності антигену або антитіла.

Преципітація припускає можливість сполучення розчинних антитіл з розчинним антигеном з утворенням нерозчинних комплексів.

Аглотинація це процес, в якому корпускулярні антигени (клітини, частки) у присутності специфічних антитіл агрегують з утворення великих, видимих агрегатів.

Фіксація комплементу. Завдяки зв'язування антигену специфічними антитілами й утворення комплексу антиген-антитіло Fc-фрагменти антитіл у складі комплексів здатні зв'язувати C1q субодиницю C1 компонента комплементу і запускати класичний шлях активації системи комплементу.

Фактори, що визначають можливість реакції зв'язування антиген-антитіла

Зв'язок антигену і антитіл визначають насамперед дві характеристики антитіл – їхні афінність та авідність.

1. Афінність є первісною силою тяжіння антигензв'язуючого сайту антитіл до конкретних епітопів антигену або його детермінантам. При зближенні антигену і антитіл формуються слабкі хімічні зв'язки і комплекс може дисоціювати. Гарна просторова комплементарність антитіл та антигену буде визначати стабільність зв'язку.

Антитіла можуть реагувати з антигенами, які структурно схожі на оригінал антигену і приводити до перехресної реактивності, чим більше схожості оригінальному антигену, тим сильніше реакція. Чим більше подібність антигену і антитіл з ідеальним замком (ключ-замок), тим більше афінність.

2. Авідність є сумою всіх сил тяжіння між антигеном і антитілом. Це сила, яка стабілізує реакцію антиген-антитіло, утримуючи молекули разом. Чим сильніше хімічні зв'язки, які формуються між антигеном і антитілом, тим менша ймовірність того, що реакція буде оборотною.

3. Закон діючих мас регулює оборотності реакції антиген-антитіло.

Вільні антиген і антитіла знаходяться в рівновазі з пов'язаними. Константа рівноваги відображає швидкість утворення комплексу антиген-антитіла та його дисоціацію. Афінність прямо впливає на швидкість реакції утворення комплексу, а авідність оборотне визначає швидкість його дисоціації.