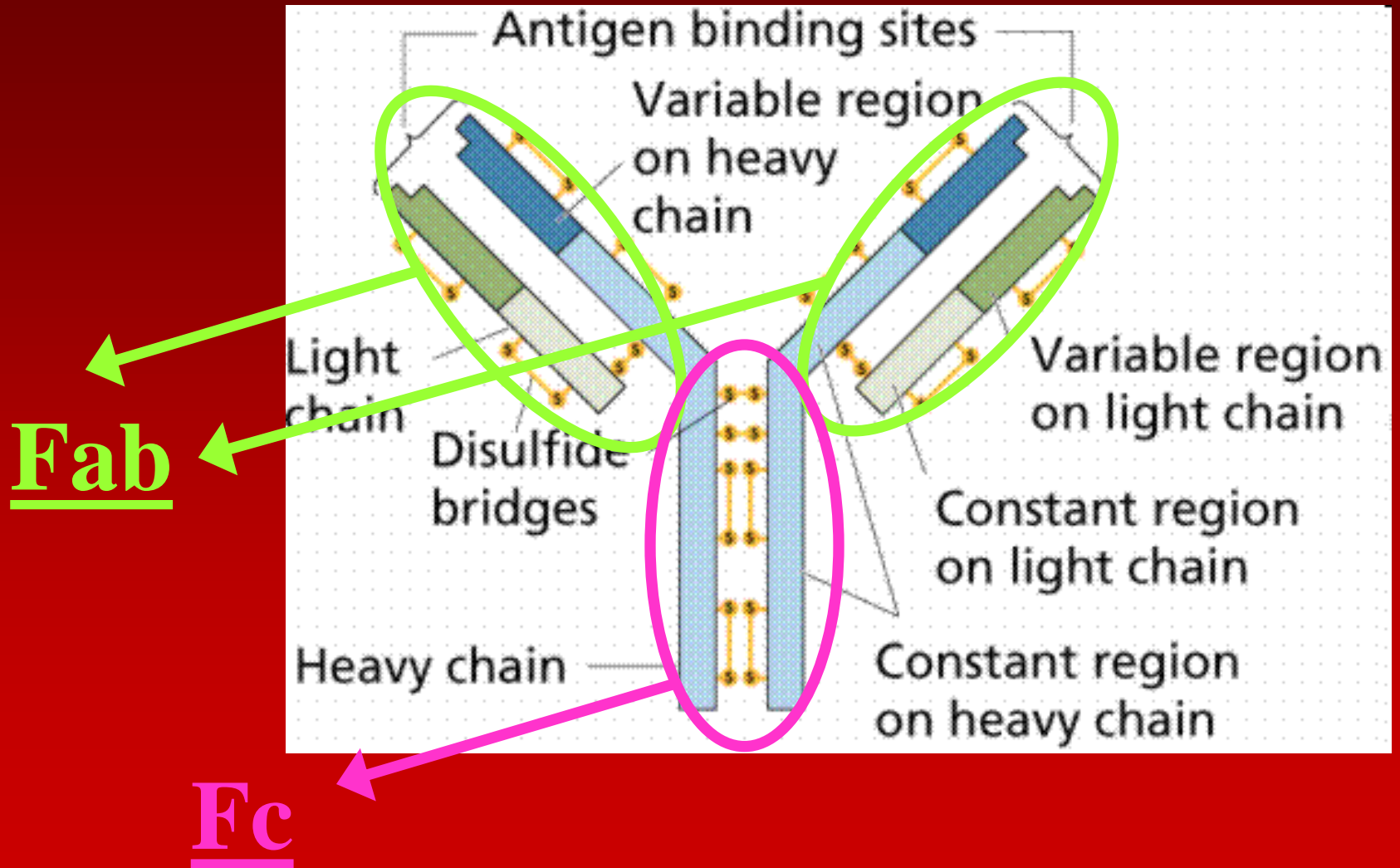


# PROTILÁTKY

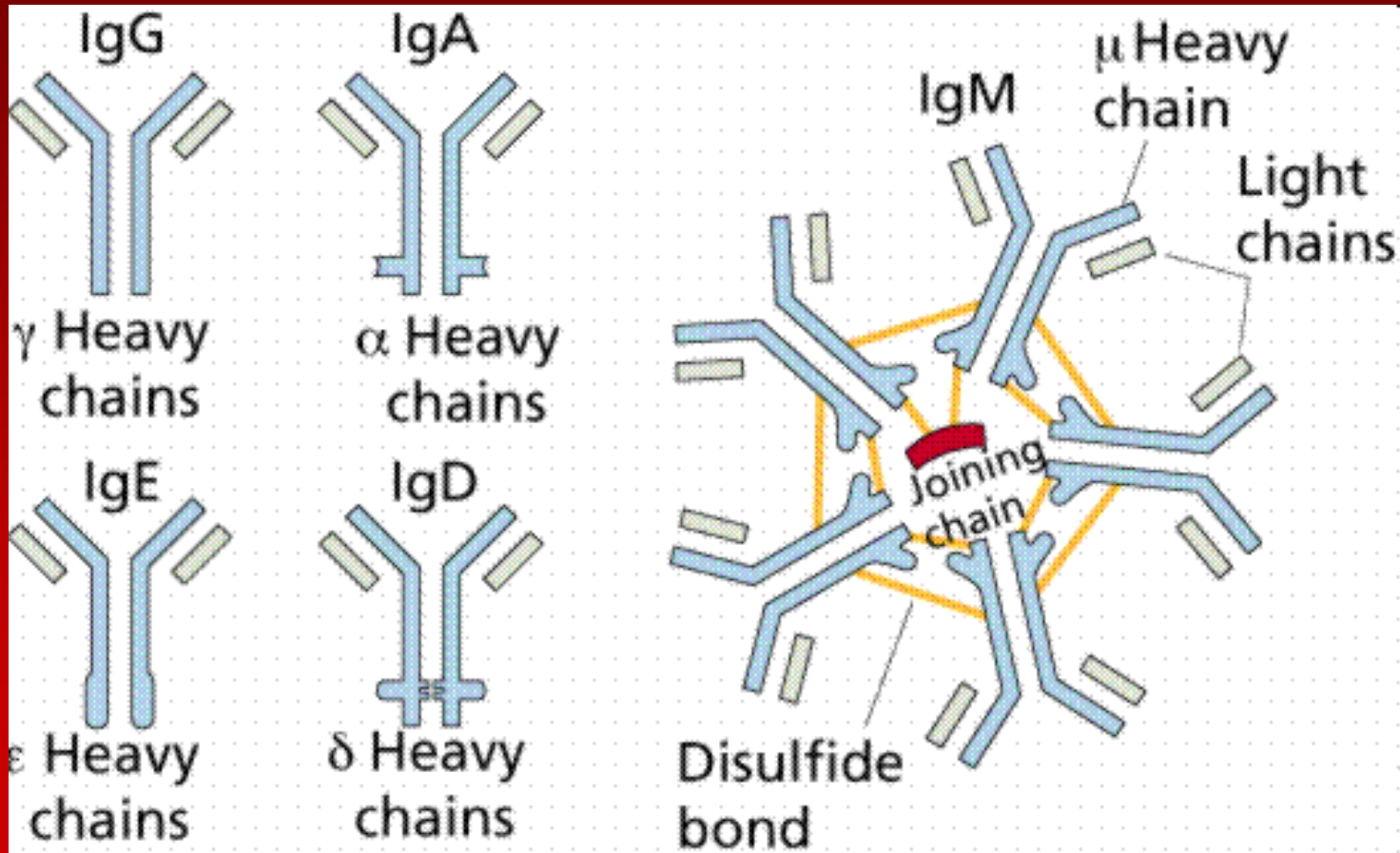
- třídy, normální hladiny Ab
- základní charakteristika reakce Ag – Ab
- afinita , avidita
- polyklonální, monoklonální Ab

# PROTILÁTKY (Ab)



# Izotypová třída protilátek

- dána konstantní oblastí těžkého řetězce



# Interakce Ag s Ab

- **EPITOP** – část Ag, na kterou se váže Ab
- vazebné místo protilátky – hypervariabilní oblasti (CDR – complementarity determining region)
- zprostředkována slabými vazebnými interakcemi (nekovalentní vazba):
  - vodíkové můstky, iontové vazby,
  - hydrofóbní interakce, van der Waalsovy síly

# Normální hladiny Ab v séru (dospělého člověka)

- IgG 7,5 - 15,6 g/l
  - IgA 0,8 - 4,5 g/l
  - IgM 0,5 – 3 g/l
  - IgD < 30 mg / l
  - IgE < 2 mg / l
- } potřeba citlivé  
detekční techniky

# Vyšetření Ab

- IgG, A, M, D, E – turbidimetrie, nefelometrie
- specifické IgE (proti alergenům) – vzhledem k nízké hladině jsou třeba citlivé imunochemické metody (např. chemiluminiscence – analyzátor Immulite, EIA, RIA)
- specifické IgG (proti patogenům) - ELISA

# Afinita, avidita

## AFINITA

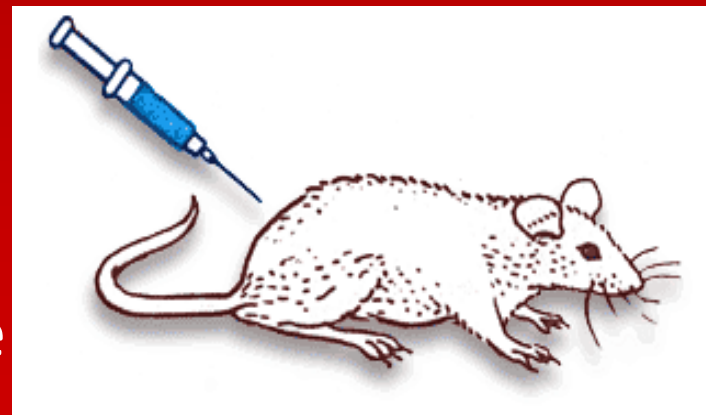
- síla vazby mezi jedním vazebným místem Ab a jedním epitopem Ag
- čím větší **specificita** Ab, tím větší **afinita**

## AVIDITA

- síla vazby mezi Ab a multivalentním Ag
- 1 molekula Ab má 2 vazebná místa
- IgM – pentamer, sekreční IgA – dimer  
(ze sterických důvodů se nemohou vázat všechna vazebná místa současně, IgM – max. 6 vazeb)

# Polyklonální Ab

- obsahují směs protilátek různé specifity, avidity
- Připravují se imunizací zvířat (myš, králík, koza, ovce...) požadovaným antigenem
- po určité době se zvířeti odebere sérum a vyizolují se z něj protilátky
- jsou levnější než monoklonální
- pro některé aplikace výhodnější
- Využití v diagnostice:  
nefelometrie, turbidimetrie,  
konjugát ELISA, imunofluorescence

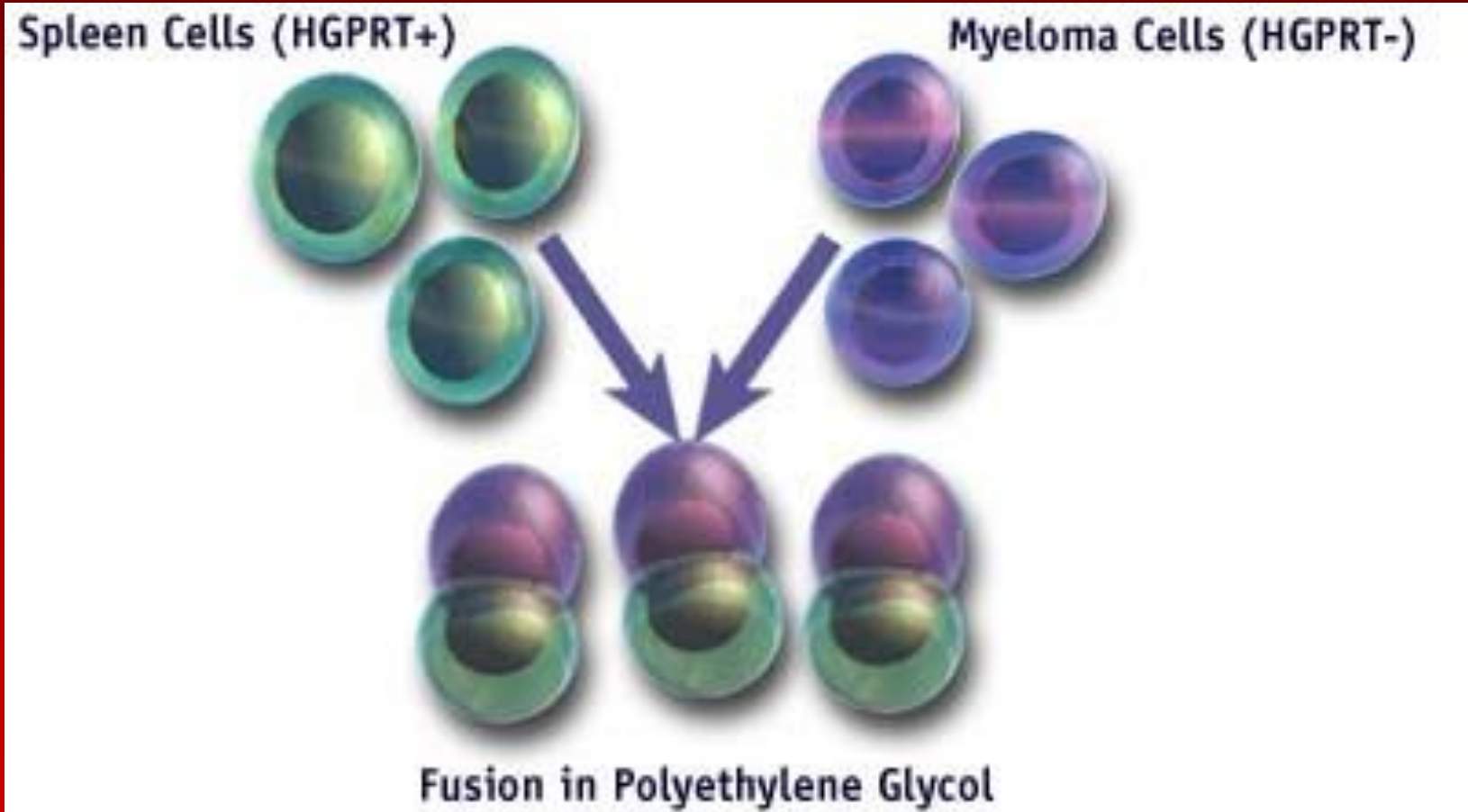




# Monoklonální Ab

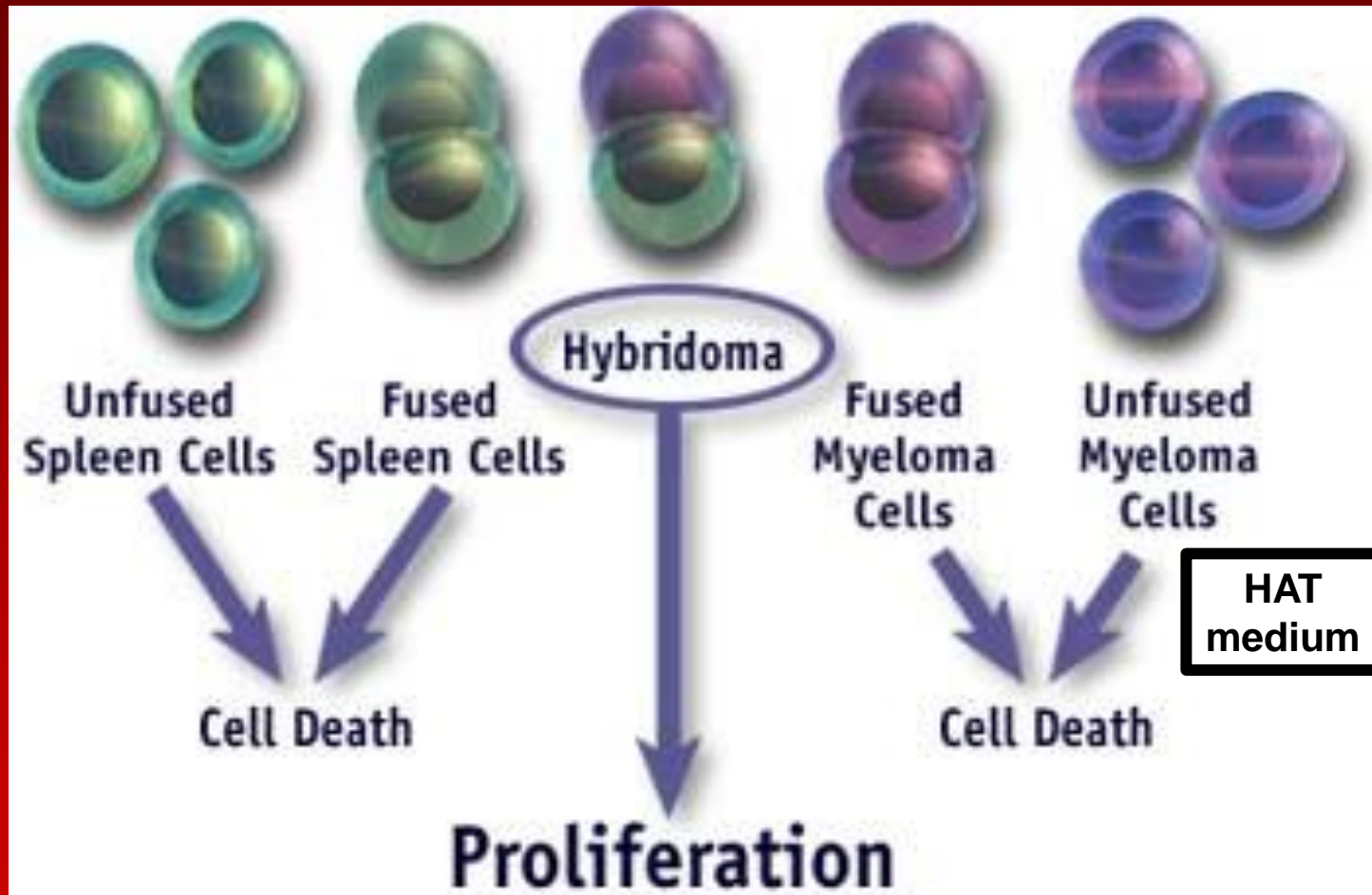
- obsahují jen protilátky 1 specifity (proti 1 Ag)
- připravují se hybridomovou technologií
- **HYBRIDOM** – buňka vzniklá fúzí myšního B-lymfocytu a myelomové buňky
- selekce hybridomů (úspěšně fúzované buňky rostou na médiu HAT, mají enzym HGPRT)
- selekce klonu, který produkuje protilátky požadované specifity
- Využití v diagnostice: průtoková cytometrie, histologie

# MAb II.



HGPRT = hypoxantin-guanin fosforibožyl transferáza

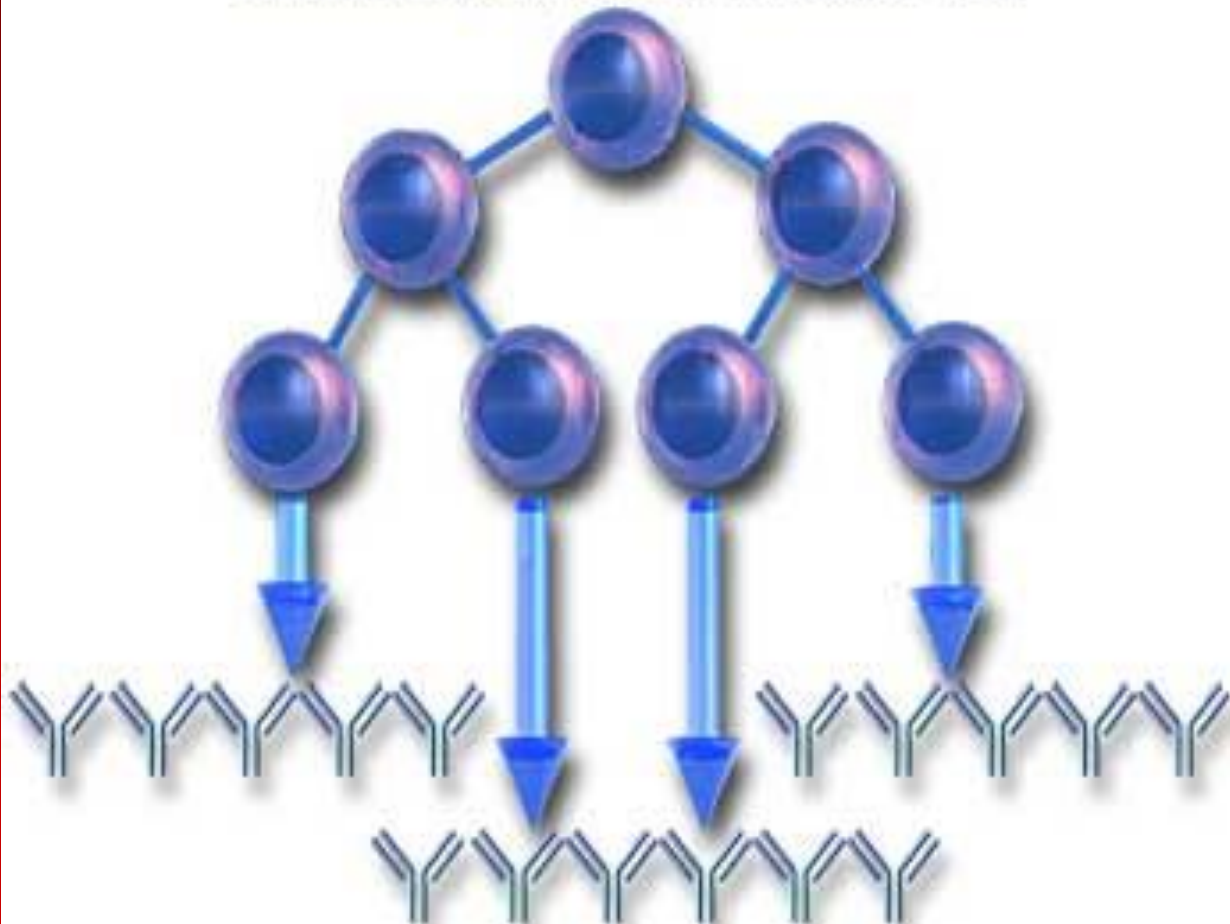
# MAb III.



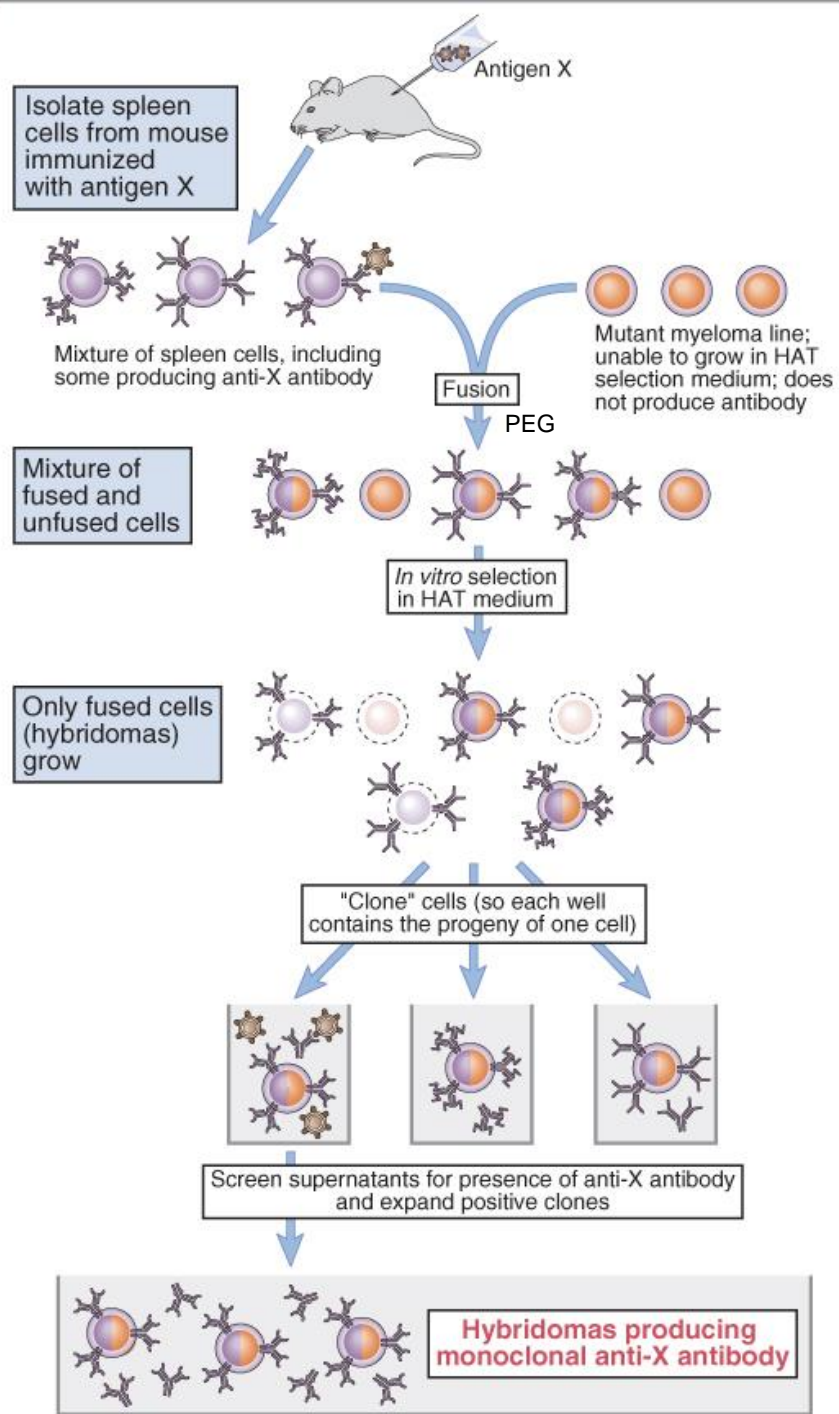
HAT obsahuje Hypoxantin, Aminopterin, Tymin

# MAb IV.

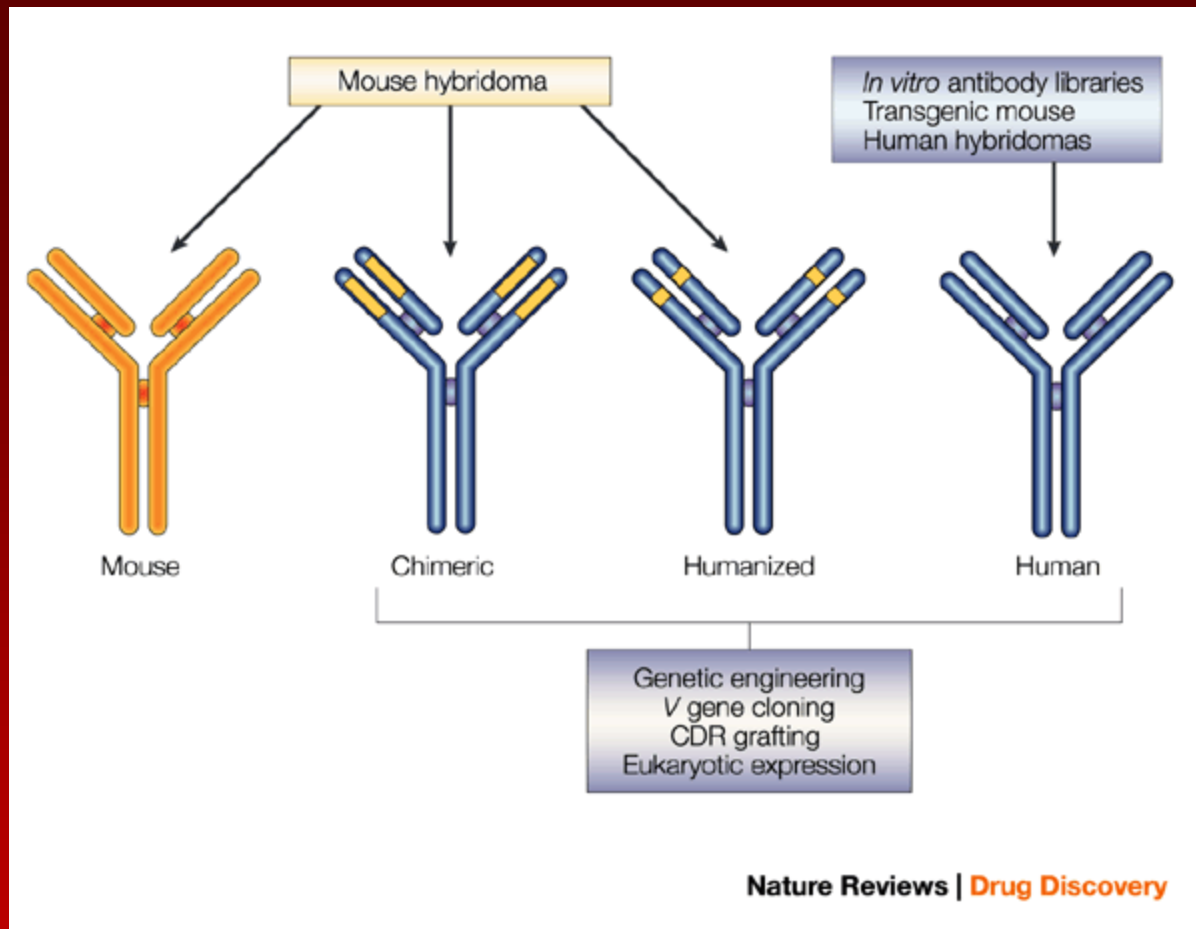
Clonal expansion of a single cell



Monoclonal antibodies with single antigen specificity



# MAb POUŽÍVANÉ K TERAPII



- Myší (celé) **-momab**
- Chimérické (myší  $V_H$   $V_L$ ) **-ximab**
- Humanizované (myší hypervar.úseky) **-zumab**
- Lidské (připravené technikami mol.biol. dle knihoven)