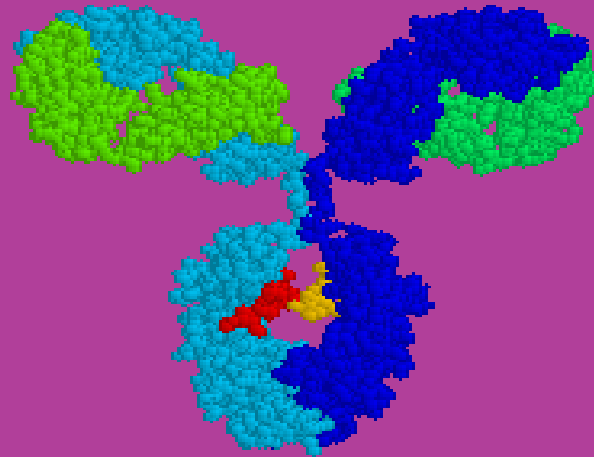


ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΕΣ

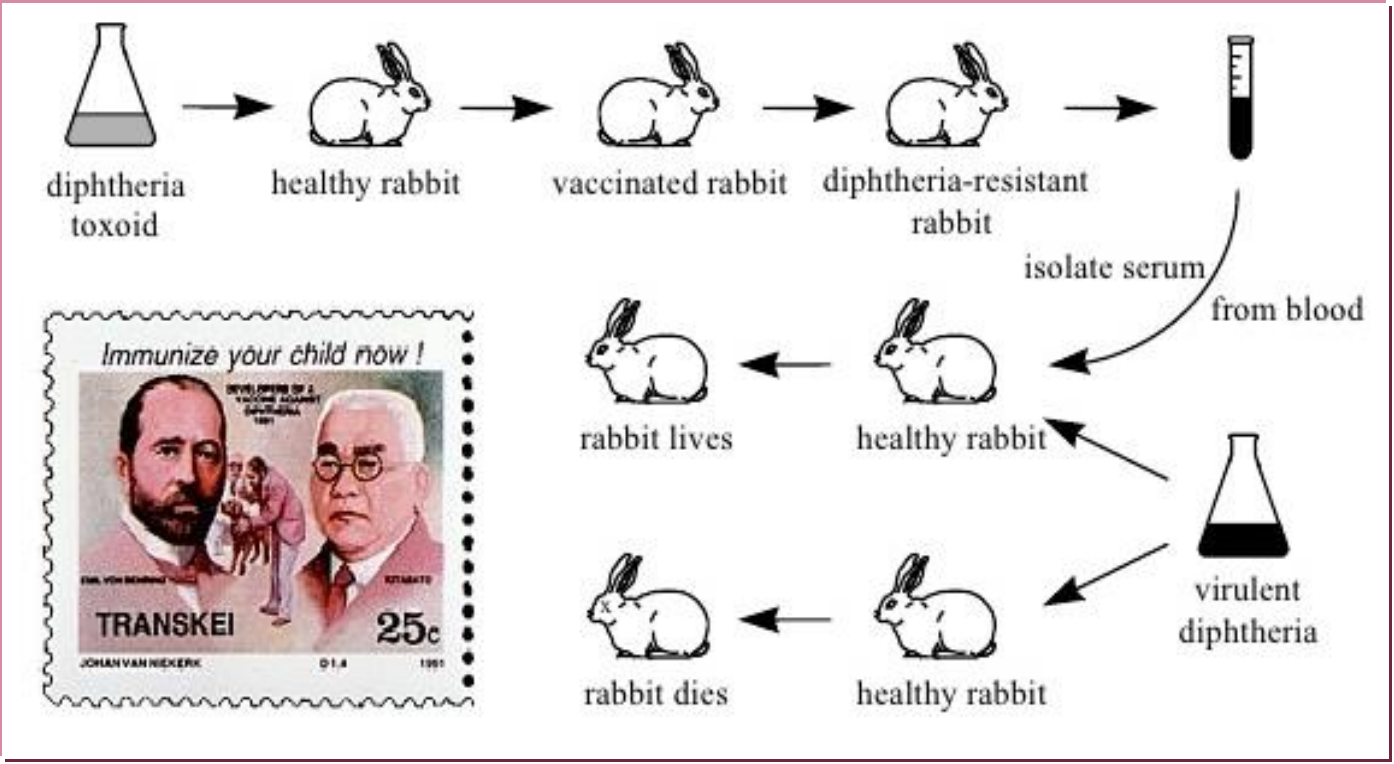
Δομή και λειτουργία



© 1996 Mike Clark

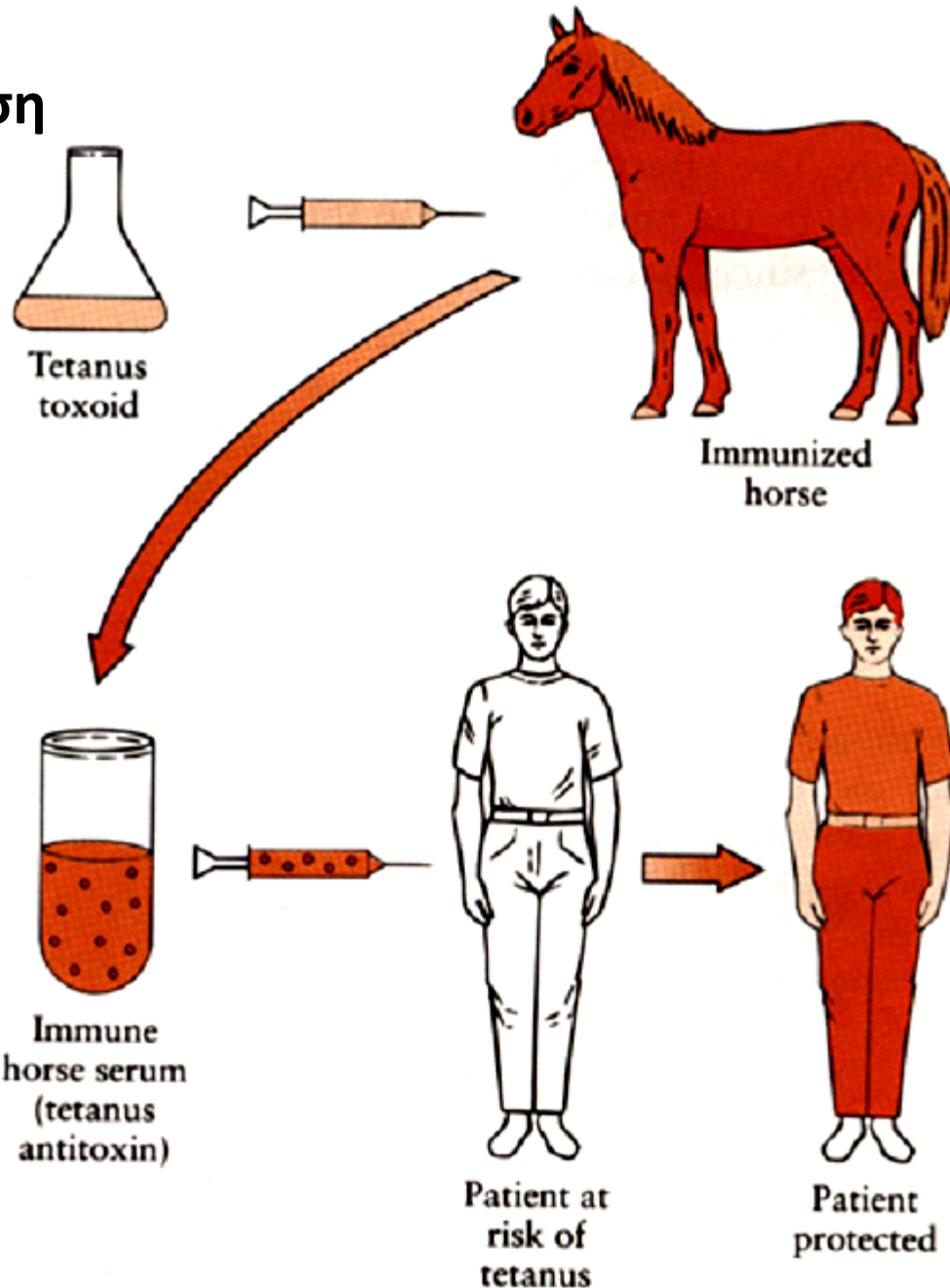
- Η πρώτη πειραματική απόδειξη της επίκτητης ανοσιακής απάντησης ήταν η ανακάλυψη της **χυμικής ανοσίας** έναντι των μικροβιακών **τοξινών**.

1890- Πείραμα Emil Behring και Shibasaburo Kitasato



1930-40 :

Παθητική ανοσοποίηση



Emil von Behring
Nobel Prize winner
1901: **antitoxins**

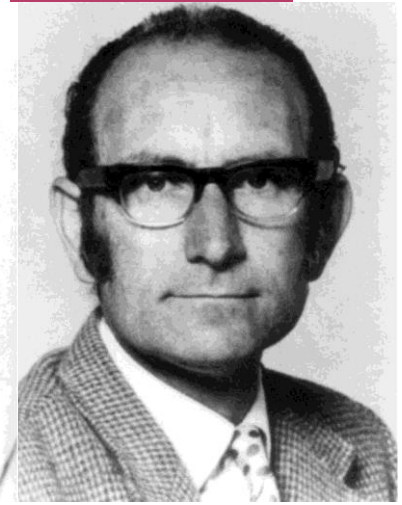
- Προστασία του ανοσοποιημένου ζώου
- Η προστασία μεταφέρεται



**Emil von Behring,
1901, antitoxins**



**Paul Ehrlich , 1908,
production of antibody**



**Georges Kohler and Cesar Milstein,
1984, monoclonal antibody**



**Gerald Edelman
and Rodney Porter,
1972, structure of
antibody**



**Susumu Tonegama, 1987,
structure of Ig gene**

Nobel Prize winners

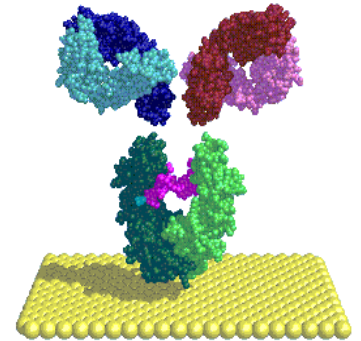
Αντισώματα- Ανοσοσφαιρίνες

- Αντισώματα :

- Πρωτεϊνικά μόρια τα οποία **συνδέονται ειδικά με τα αντιγόνα**

- Ανοσοσφαιρίνες :

- Πρωτεΐνες που έχουν **αντισωματική δράση**
 - πρωτεΐνες που έχουν κοινές καθοριστικές ομάδες με τα abs αλλά δεν είναι γνωστή η αντισωματική τους ικανότητα (πρωτεΐνες μυελωμάτων)



Τι είναι ανοσοσφαιρίνες?

- Πρωτεΐνες ειδικές των αντιγόνων, οι οποίες παράγονται από τα B λεμφοκύτταρα
- Δεσμεύονται στην επιφάνεια των B λεμφοκυττάρων
- Λειτουργούν σαν υποδοχείς για ειδικά αντιγόνα
 - φάση αναγνώρισης
 - Υποδοχέας αντιγόνου στα ώριμα B λεμφοκύτταρα
 - IgM
 - IgD
- Ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών

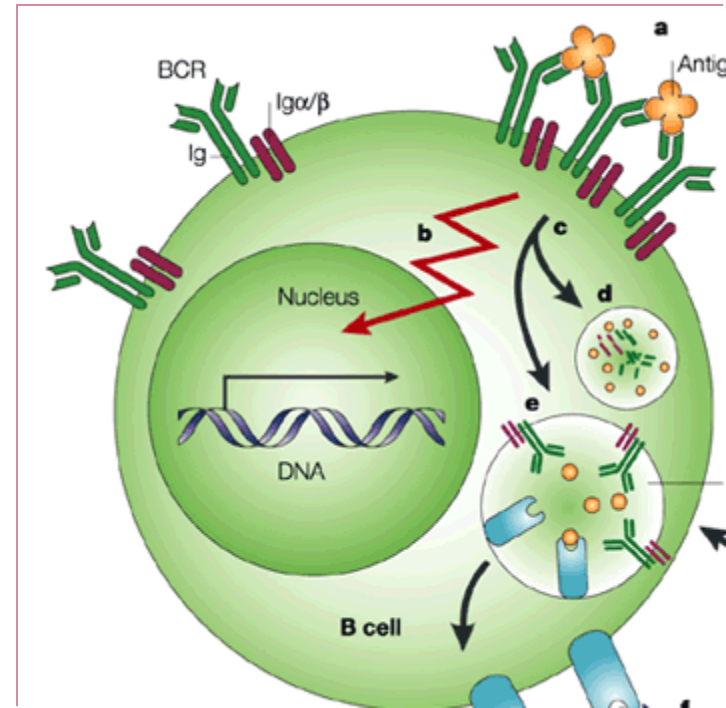
Τι είναι αντισώματα?

- Πρωτεΐνες ειδικές αντιγόνων που παράγονται από πλασματοκύτταρα
- Ανήκουν στην **υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών**
- Κυκλοφορούν στο αίμα και τη λέμφο
 - **Εκκριτικές μορφές ανοσοσφαιρινών**
- Δεσμεύουν **παθογόνους μικροοργανισμούς και τοξίνες** σε εξωκυττάρια διαμερίσματα
- Αντιδρούν με μόρια **της φυσικής ανοσίας**
 - Πρωτεΐνες C, φαγοκύτταρα, ηωσινόφιλα , NK κύτταρα

Που βρίσκονται τα αντισώματα-ανοσοσφαιρίνες;

Τα Β λεμφοκύτταρα είναι τα μόνα κύτταρα που συνθέτουν
αντίσωμα -ανοσοσφαιρίνη

- Στα Β λεμφοκύτταρα
 - **Επιφάνεια :**
 - υποδοχέας αντιγόνου
 - **BCR**
 - **Κυτταρόπλασμα:**
 - ενδοπλασματικό δ.
 - σύστ. Golgi

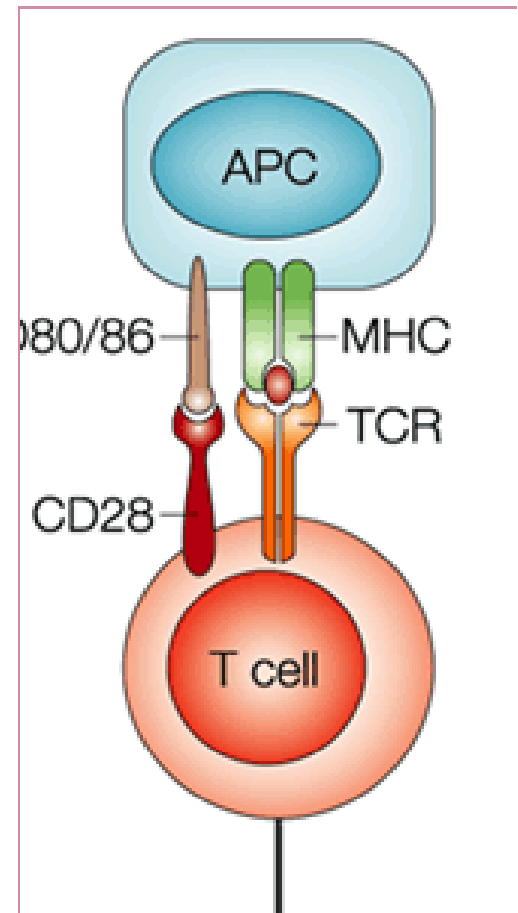
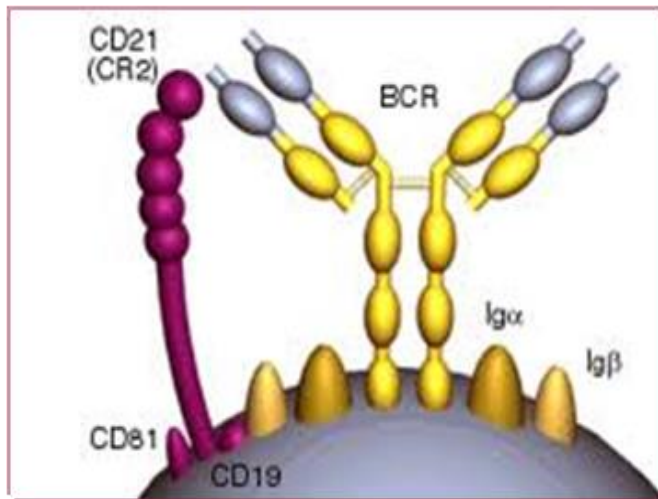


Μεμβρανική Ig-Ρόλος

• Φάση αναγνώρισης : Αναγνώριση Ag

- Μόρια που αναγνωρίζουν αντιγόνο στην επίκτητη ανοσιακή απάντηση

- 1. Ab
- 2. MHC
- 3. T-cell receptor

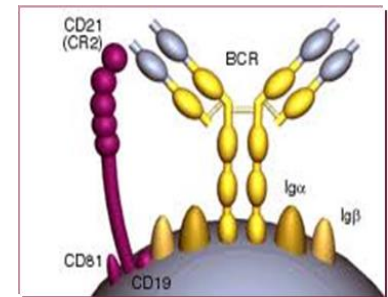


Αναγνώριση Ag

• Τα αντισώματα:

- Έχουν τη μεγαλύτερη ικανότητα διάκρισης μεταξύ των αντιγόνων

- Έχουν τη μεγαλύτερη δύναμη δέσμησης



- Αναγνωρίζουν οποιοδήποτε βιολογικό μόριο

- Απλούς ενδιάμεσους μεταβολίτες

- Σάκχαρα, λιπίδια, ορμόνες

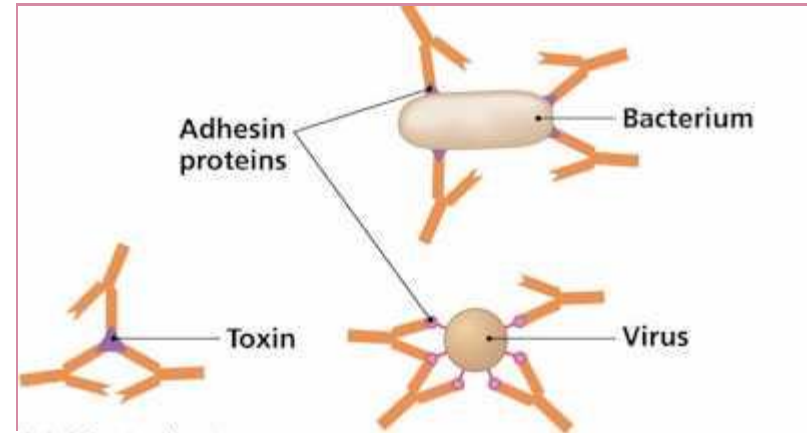
- Μακρομόρια

- Σύμπλοκους πολυσακχαρίτες, φωσφολιπίδια, νουκλεϊνικά οξέα και πρωτεΐνες

Που βρίσκονται τα αντισώματα;

• Εκκριτικά αντισώματα

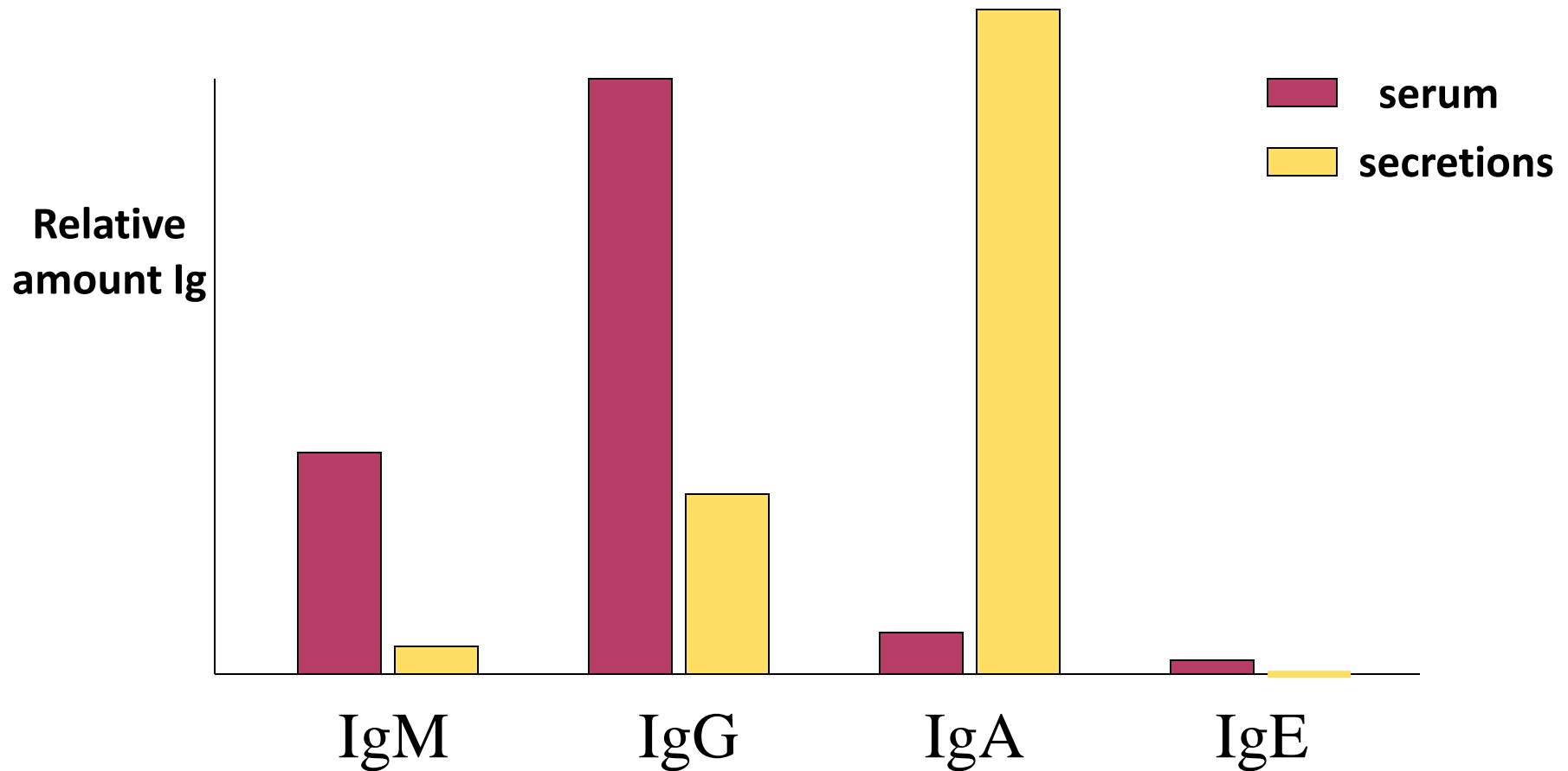
- Στο πλάσμα αίματος
- Στις εκκρίσεις των βλεννογόνων
- Στο μεσοκυττάριο υγρό



- Δεσμευμένα στην επιφάνεια ανοσοδραστικών κυττάρων
 - Μονοπύρρηνα **φαγοκύτταρα**
 - **NK**
 - **Mast** κύτταρα
 - Ηωσινόφιλα

Ένας ενήλικας παράγει 3g αντισωμάτων ημερησίως

Τα 2/3 είναι IgA κατά μήκος του γαστρεντερικού και αναπνευστικού συστήματος



Ανοσοσφαιρίνες-Αντισώματα

Η ανοσοσφαιρίνη της μεμβράνης του Β-λεμφοκυττάρου έχει την ίδια ειδικότητα με τα αντισώματα που παράγονται

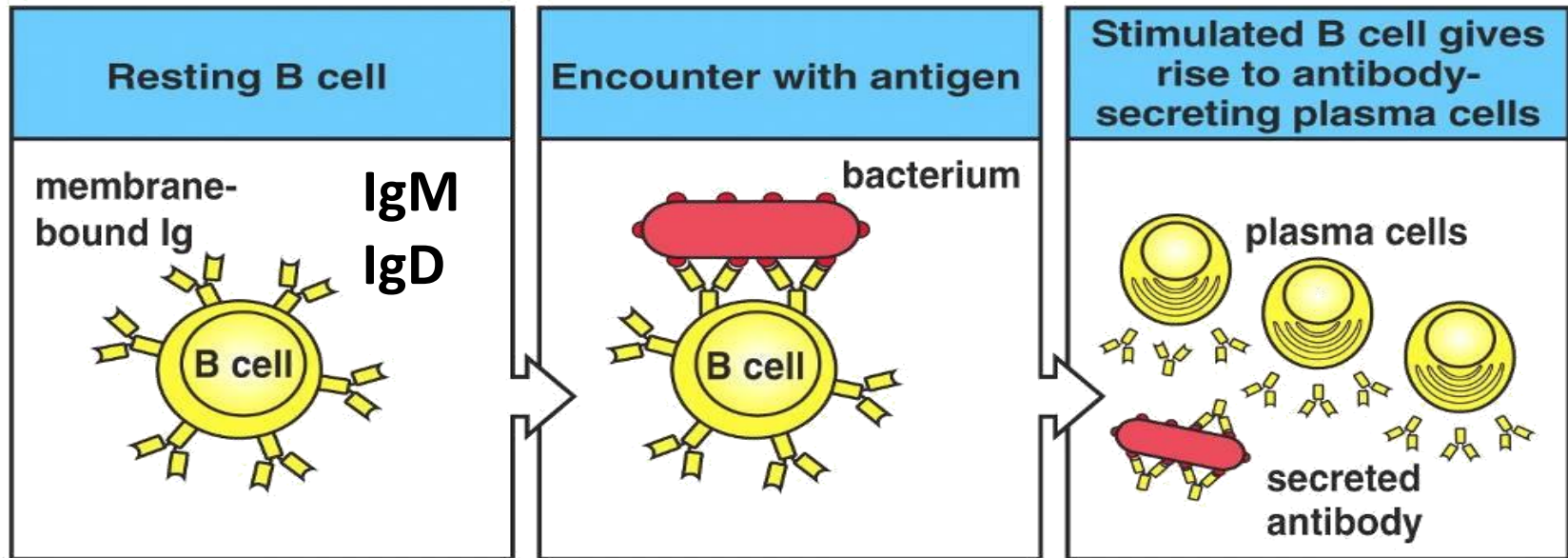


Figure 2-1 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

B κύτταρο μνήμης: mIgM, mIgG, mIgA ή mIgE

Αντισώματα- Ανοσοσφαιρίνες

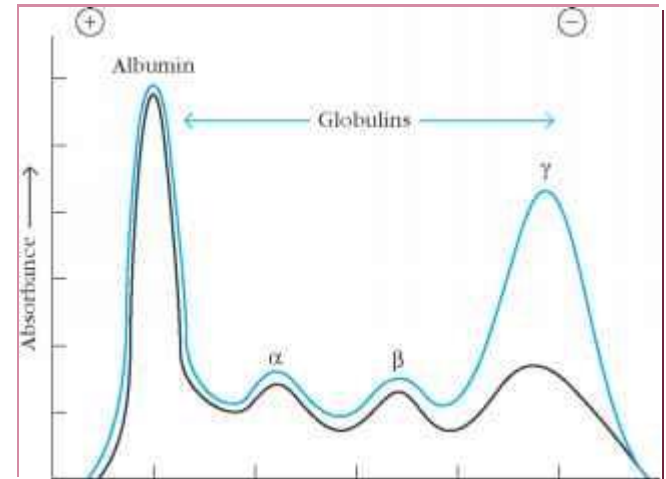
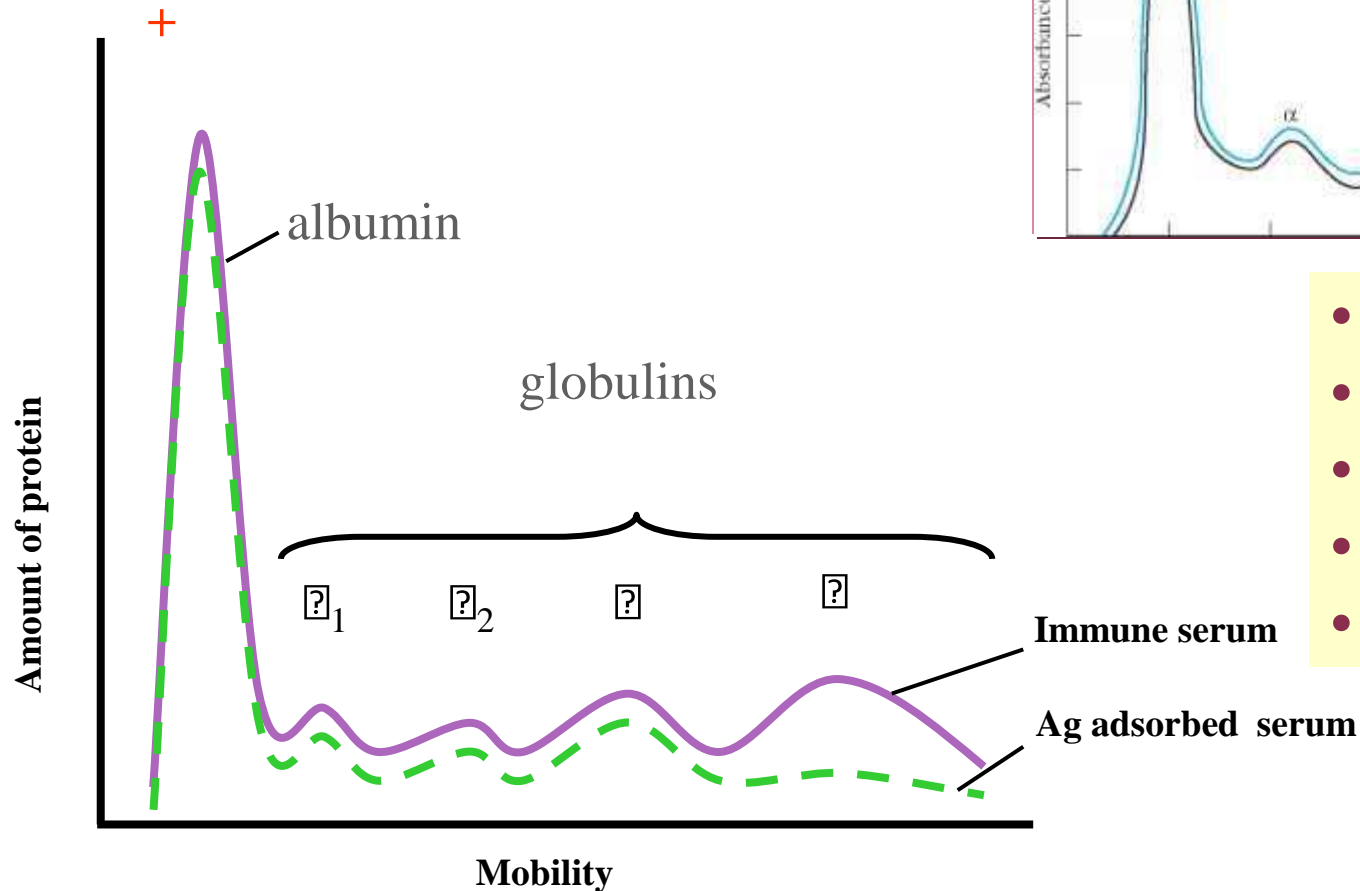
- Παραλαβή από αίμα ανοσοποιημένων ατόμων
 - Πολυκλωνικά αντισώματα
 - Αντισώματα από πολλούς κλώνους Β λεμφοκυττάρων που απαντούν σε πολλούς αντιγονικούς επιτόπους
- Δύο γεγονότα βοήθησαν στη μελέτη των Abs
 - Πρωτεΐνη μυελώματος : μελέτη δομής ανοσοσφαιρινών
 - Αντισώματα που προέρχονται από έναν κλώνο : **πανομοιότυπα**
 - **1959-64** : Edelman και Porter (Nobel 1972)
 - Μονοκλωνικά αντισώματα
 - **1975** : G. Kohler και C. Milstein

Δομή ανοσοσφαιρινών

- Όλα τα αντισώματα έχουν την ίδια βασική δομή αλλά εμφανίζουν έντονη ποικιλότητα στην περιοχή που δεσμεύεται το αντιγόνο
 - Υπάρχουν $>10^9$ διαφορετικά μόρια Abs, το κάθε ένα από τα οποία έχει **διαφορετική αλληλουχία** αμινοξέων στην περιοχή που συνδέεται με το αντιγόνο
- Οι **δραστικές λειτουργίες** των αντισωμάτων και οι άλλες φυσικοχημικές ιδιότητες των Abs σχετίζονται με την περιοχή η οποία δεν συνδέεται με το αντιγόνο και εμφανίζει σχετικά **μικρή ποικιλία** μεταξύ των **διαφορετικών Abs**

Δομή ανοσοσφαιρινών

Πείραμα A. Tiselius - E.A.Kabat, 1939

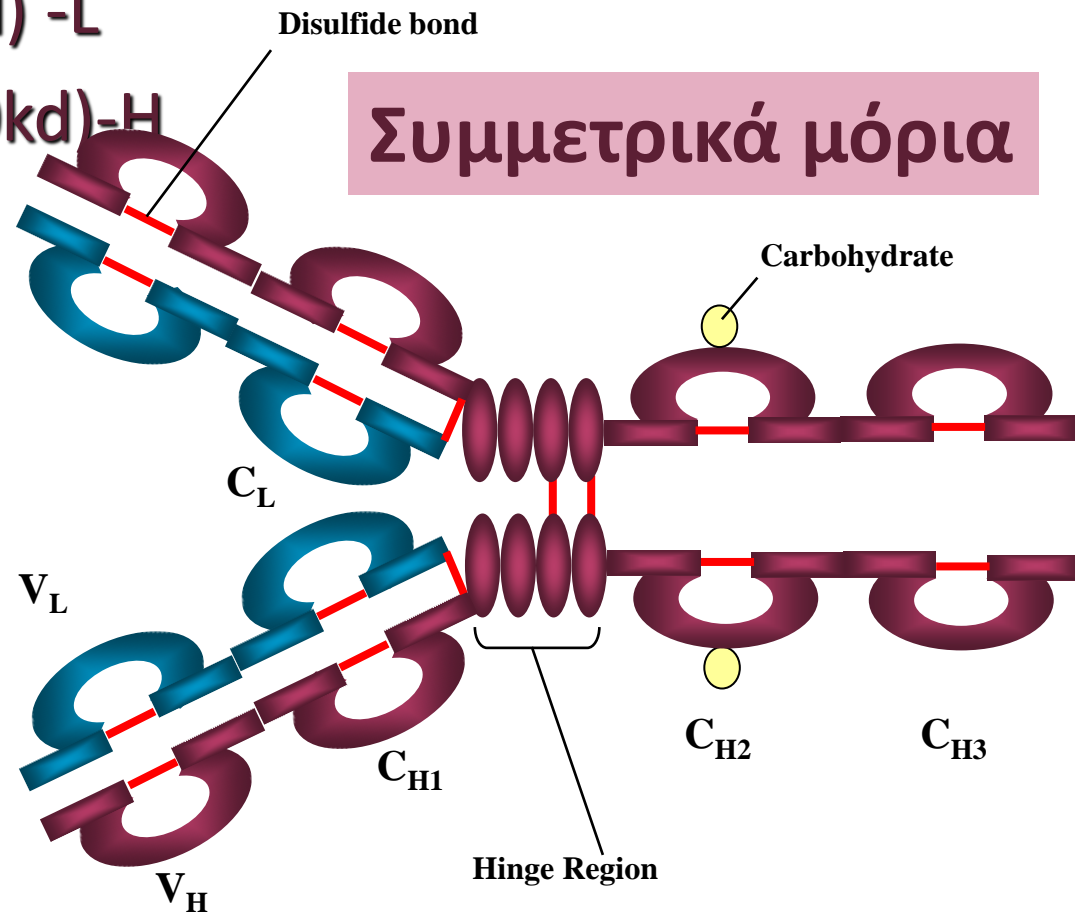


- Αλβουμίνη
- α_1 σφαιρίνες
- α_2 σφαιρίνες
- β σφαιρίνες
- γ σφαιρίνες

Δομή ανοσοσφαιρινών

- Αναγωγή του μορίου με μερκαπτοαιθανόλη έδειξε ότι το μόριο αποτελείται από δύο μεγάλες πεπτιδικές αλυσίδες και δύο μικρότερες
- Ελαφριές αλυσίδες (25kd) -L
- Βαριές αλυσίδες (50 ή 70kd)-H

- Δισουλφιδικοί δεσμοί
 - Inter-chain
 - Intra-chain



Χημικές και ενζυμικές μέθοδοι αποκάλυψαν τη δομή των ανοσοσφαιρινών

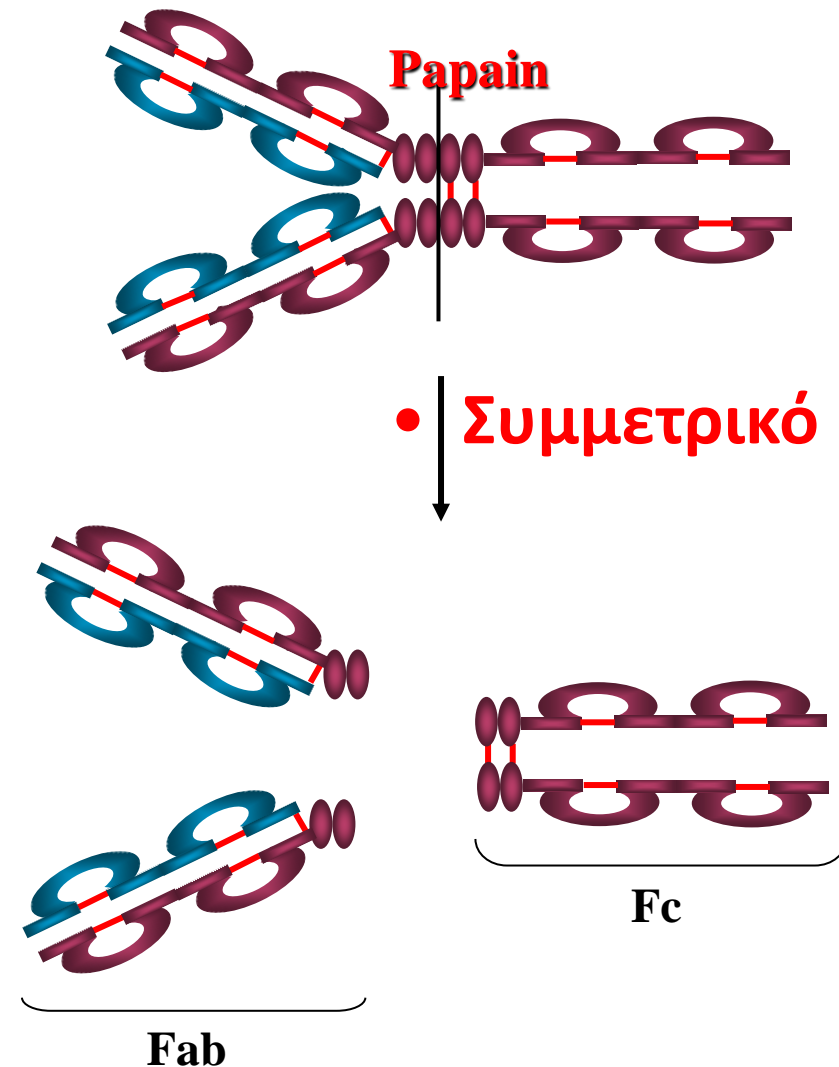
- **Fab (Fragment antigen binding)**

- συνδέεται ειδικά με το Ag
- η ειδικότητα καθορίζεται από V_H and V_L

- MB :50.000

- **Fc (Fragment crystallizable)**

- εκτελεστικές λειτουργίες
- MB: 50.000



Χημικές και ενζυμικές μέθοδοι αποκάλυψαν τη δομή των ανοσοσφαιρινών

- Διδύναμο κλάσμα $\rightarrow F(ab')_2$

μ.β. > 100000



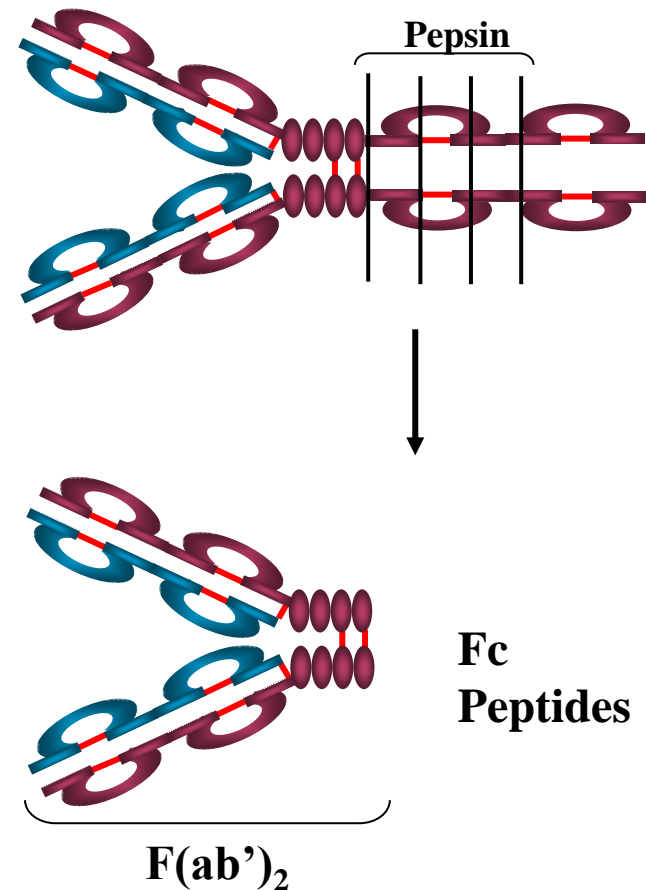
αναγωγή S-S δεσμών



- Δύο μονοδύναμα $F(ab')$

μ.β. > κατά 10% από το αντίστοιχο Fab

- Fc πεπτίδια

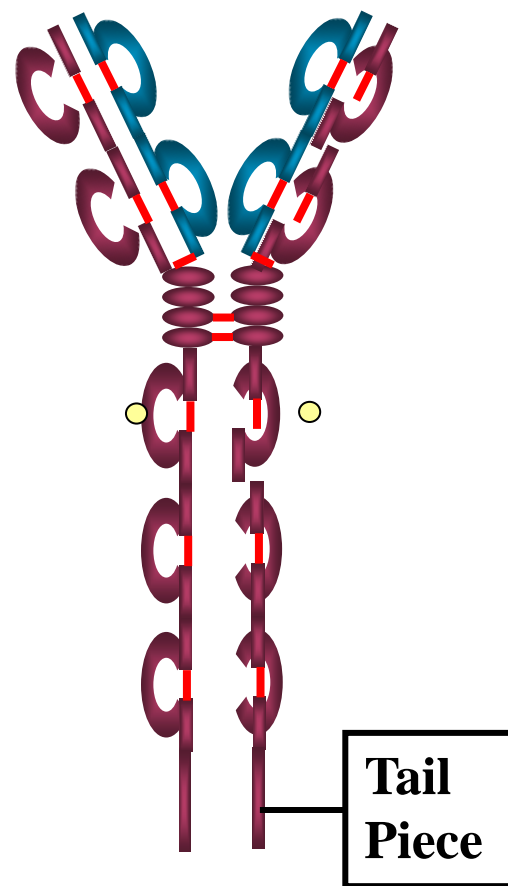


Χημικές και ενζυμικές μέθοδοι αποκάλυψαν τη δομή των ανοσοσφαιρινών

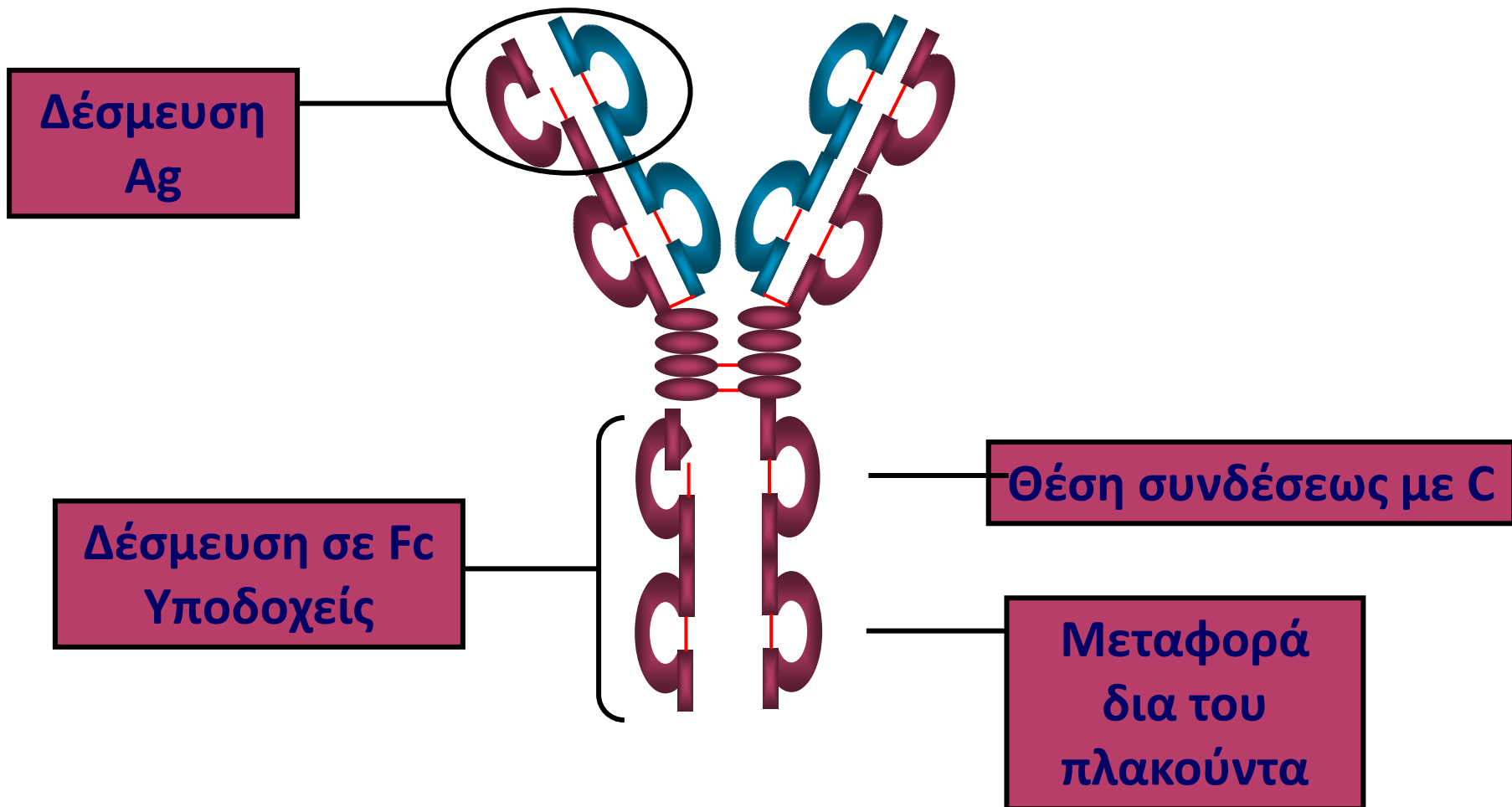
- Ανοσοποίηση πειραματοζώων με θραύσματα Fab, Fc:
 - Το αντίσωμα έναντι του **Fab** αντιδρά τόσο με τις **H** όσο και με τις **L** αλυσίδες
 - Το αντίσωμα έναντι του **Fc** αντιδρά με τις **H** αλυσίδες

Έτσι προέκυψε η δομή των ανοσοσφαιρινών

- Η ελαφριά αλυσίδα(L) περιλαμβάνεται εξ ολοκλήρου στο Fab τμήμα
- Η βαριά αλυσίδα αποτελεί κλάσμα και των δύο κλασμάτων(Fab και Fc)
- Οι L αλυσίδες συνδέονται με τις H με ένα S-S δεσμό
- Οι H αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους με ένα ή > S-S δεσμούς



Προϊόντα διασπάσεως ανοσοσφαιρινών

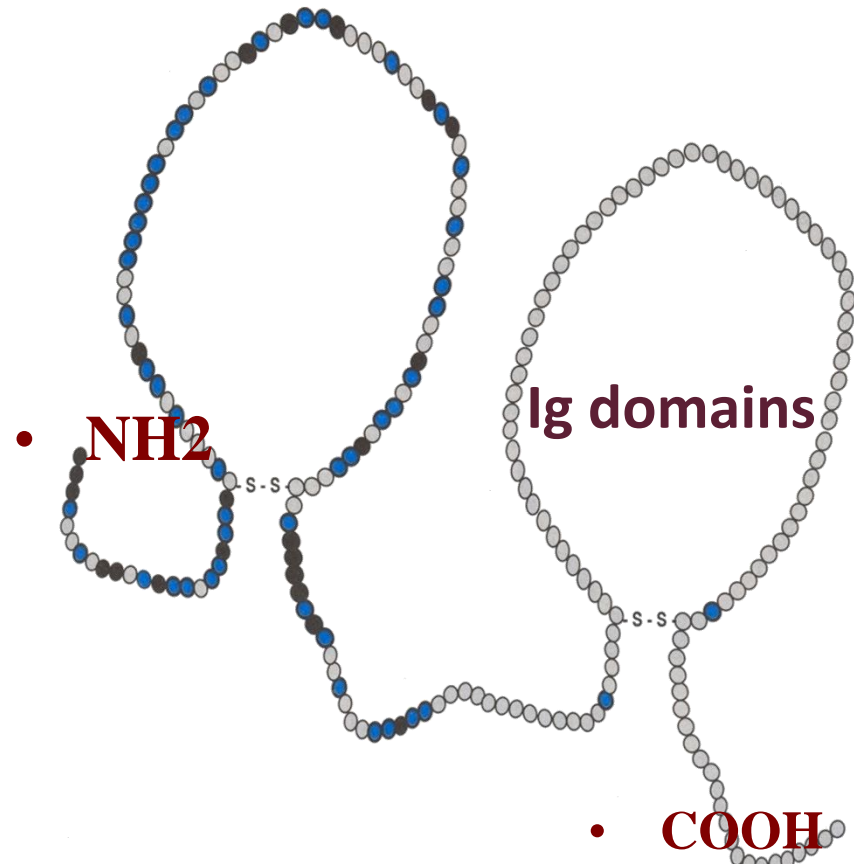


Αλληλουχία αμινοξέων ελαφριάς αλυσίδας

- Μυελωματικές πρωτεΐνες
- 214 αμινοξέα
- Σταθερό τμήμα (Constant -CL) :
ίδια αλληλουχία
- Μεταβλητό (Variable-VL) :
διαφορετικές αλληλουχίες
- Δύο ενδοαλυσιδικοί δεσμοί
σφαιρικές αναδιπλώσεις
(loops-αγκύλες)

• λ:21-86(V) ,136-194(C)

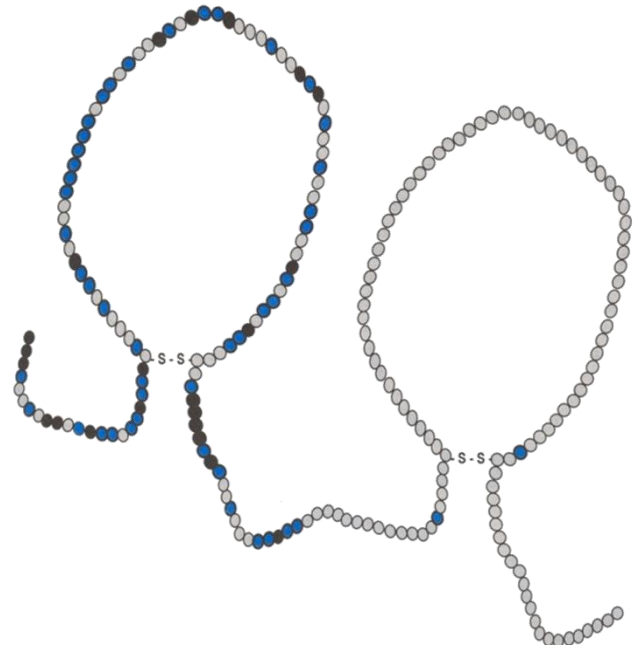
• κ:23-88(V) ,134-194 (C)



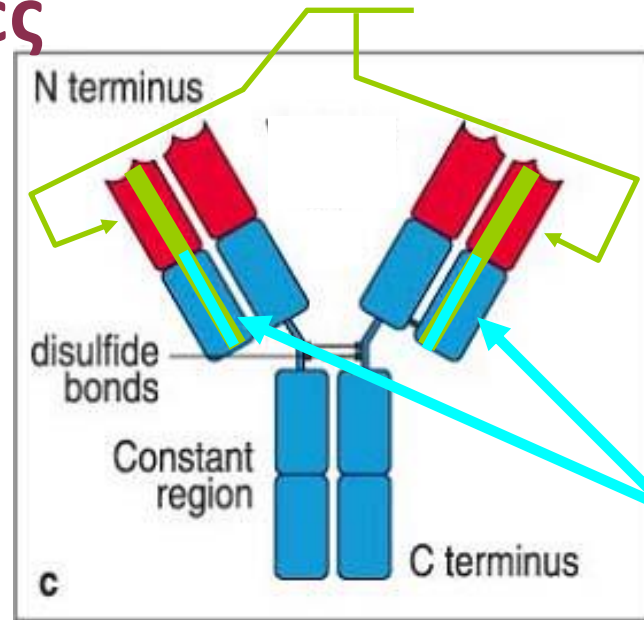
Αλληλουχία αμινοξέων ελαφριάς αλυσίδας

- Η διάκριση μεταξύ κ και λ αλυσίδας γίνεται με βάση τις διαφορετικές καθοριστικές ομάδες στο σταθερό τμήμα του μορίου

- Ελαφριές αλυσίδες
 - Καρρα -κ : 60%
 - Lambda-λ : 40%



Ελαφριές αλυσίδες

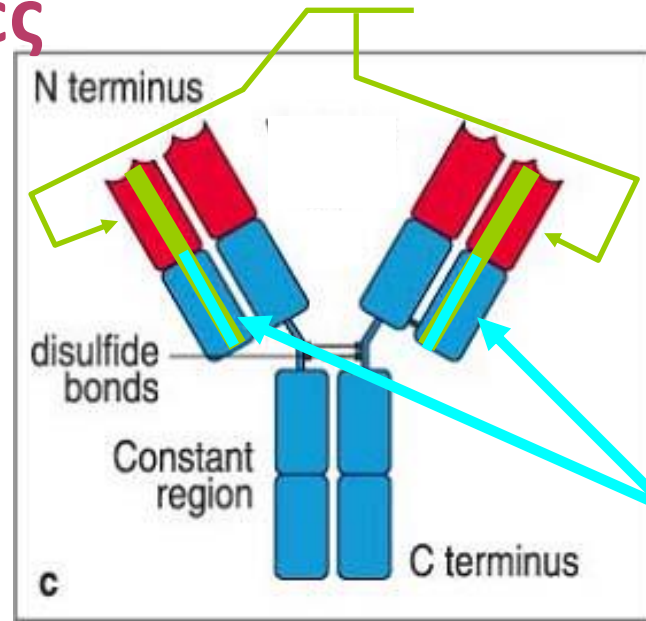


Constant region
of the light chain
= C_L

Σε κάθε μόριο Igs, η αλληλουχία των αμινοξέων των L αλυσίδων στο καρβοξυλικό άκρο (≥ 110 από ~ 220 aa) είναι ίδια όλες τις αλυσίδες που ανήκουν στον ίδιο τύπο, ανεξάρτητα από την ειδικότητα:

Σταθερή περιοχή της ελαφριάς αλυσίδας-
(light chain constant region).

Ελαφριές αλυσίδες



Constant region of the light chain = C_L

Υπάρχουν **δύο** είδη ελαφριάς αλυσίδας.

κ και **λ**

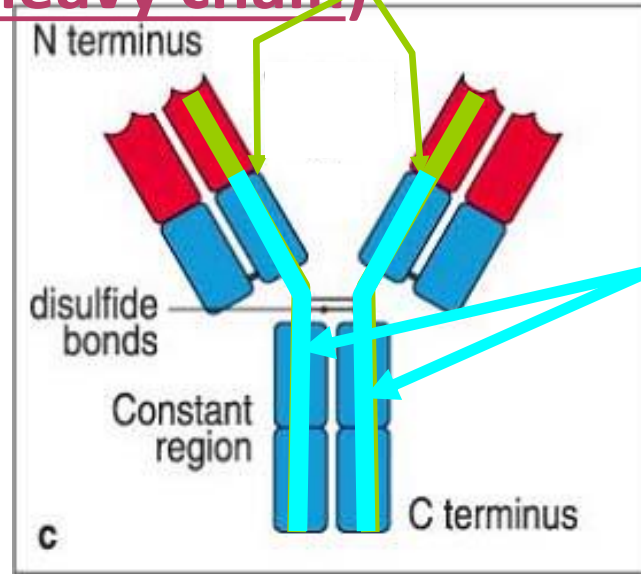
ΔΕΝ καθορίζουν τις τάξεις/ισότυπους των Ig

ΔΕΝ σχετίζονται με ειδικές λειτουργίες

Αλληλουχία αμινοξέων βαριάς αλυσίδας

- **Μεταβλητό (VH) τμήμα** : αμινοτελικό άκρο
 - 115 αμινοξέα
- **Σταθερό τμήμα (CH) : CH1, CH2, CH3**
 - 330 αμινοξέα
- **4 ενδοαλυσιδικοί δεσμοί :**
 - 4 σφαιρικές αναδιπλώσεις (60 a.a)

Βαριά αλυσίδα (heavy chain)



Constant region of
the heavy chain =
 C_H

Η αλληλουχία των αμινοξέων στο C-άκρο στις δύο βαριές αλυσίδες (≥ 330 από ~ 440 aa) είναι ίδια σε όλες τις Igs που ανήκουν στην ίδια τάξη, ανεξάρτητα από την ειδικότητα

Σταθερή περιοχή της βαριάς αλυσίδας

(heavy chain constant region).

Τάξεις ανοσοσφαιρινών

Η διάκριση των βαριών αλυσίδων σε πέντε είδη γίνεται με βάση τις διαφορετικές καθοριστικές ομάδες στο σταθερό τμήμα

- IgG - γ βαριές αλυσίδες
- IgM - μ βαριές αλυσίδες
- IgA - α βαριές αλυσίδες
- IgD - δ βαριές αλυσίδες
- IgE - ϵ βαριές αλυσίδες

Τάξεις ανοσοσφαιρινών

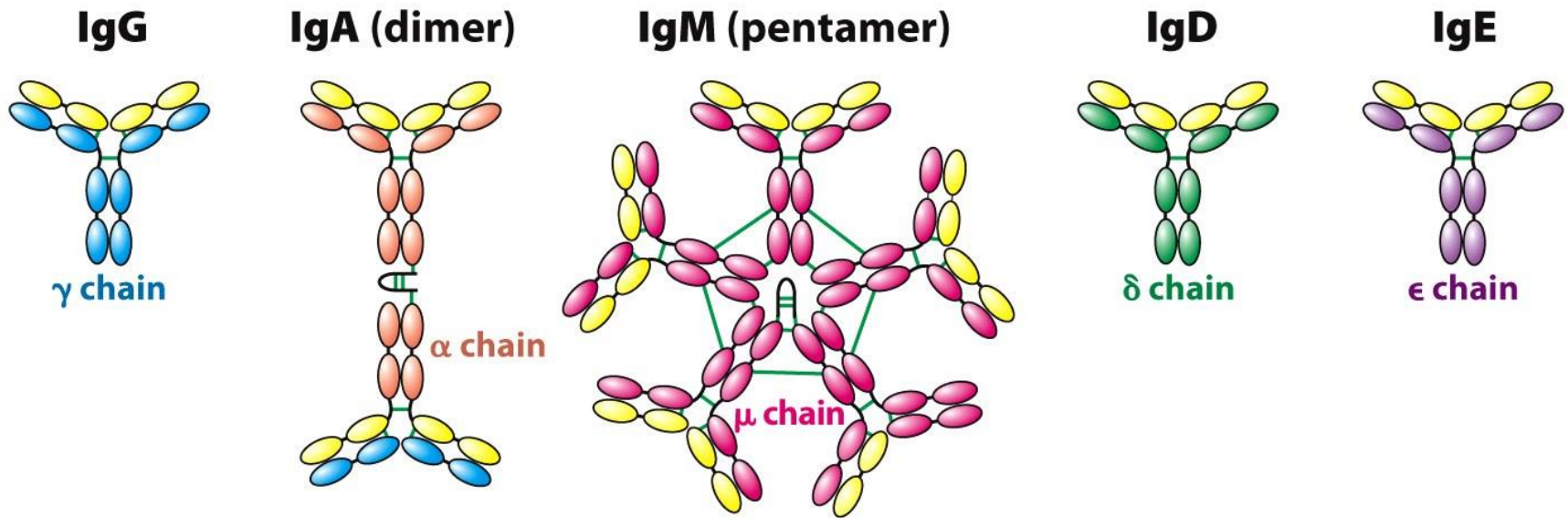


Figure 34.8
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

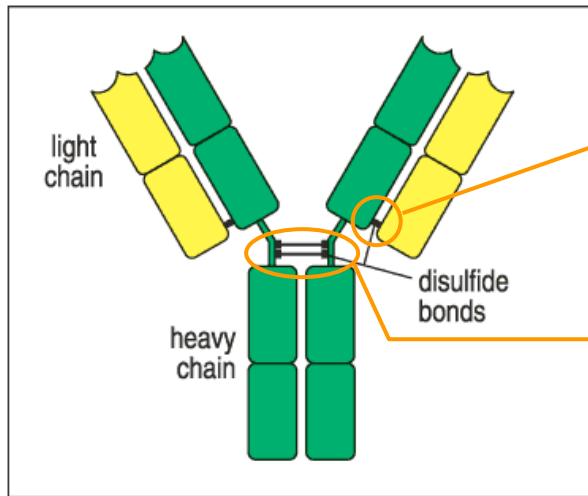
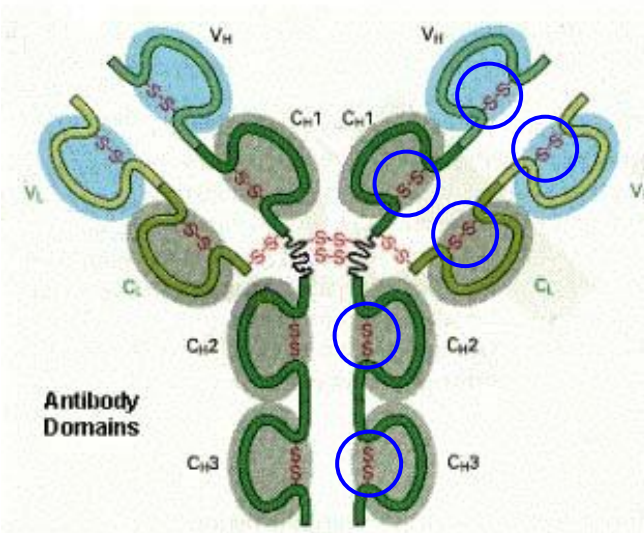


Fig 3.2 © 2001 Garland Science

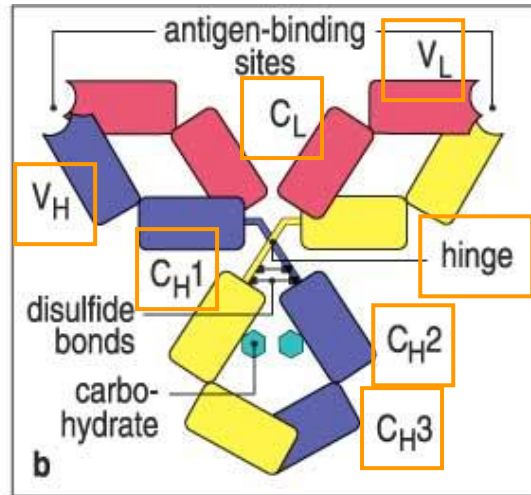
Οι βαριές και οι ελαφριές αλυσίδες συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς (interchain disulfide bond)

Οι βαριές αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς (interchain disulfide bond)

Κάθε αλυσίδα έχει ενδοαλυσιδικούς δεσμούς και σχηματίζουν σφαιρικές αναδιπλώσεις (loops-αγκύλες)

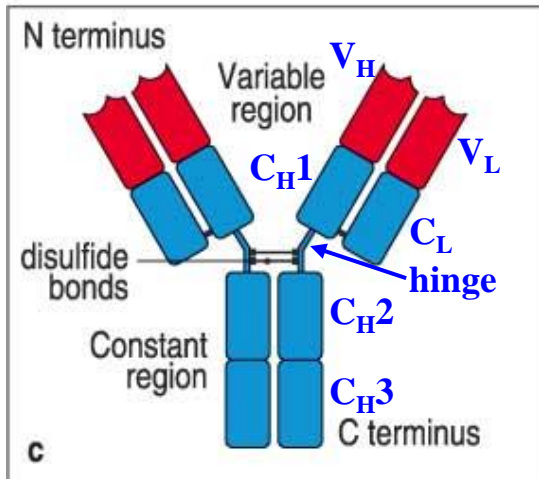


Κάθε αλυσίδα αποτελείται από περιοχές (domains)



Κάθε ελαφριά αλυσίδα αποτελείται από **2 domains**

Κάθε βαριά αλυσίδα αποτελείται από **4 ή 5 domains**



immunoglobulin domains

Πολλές άλλες πρωτεΐνες με την ίδια δομή ανήκουν στην **υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών**

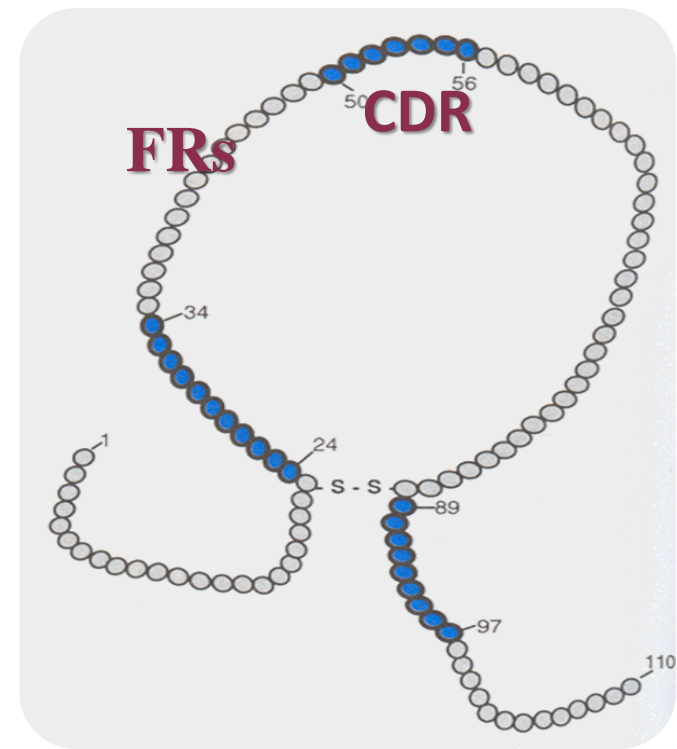
(immunoglobulin super family)

Fig 3.1 © 2001 Garland Science

Υπερμεταβλητά τμήματα (Complementarity Determining Regions- CDRs)

- Πολύ μεγάλου βαθμού διαφορές στην αλληλουχία α.α
(V τμήμα H και L αλυσίδων)
Θέση: 24-34,50-56,89-97 της L
Θέση: 31-35,50-65,95-102 της H
- **CDR1, CDR2, CDR3**

- Περιοχές πλαισίου
- (Framework Regions,FRs)

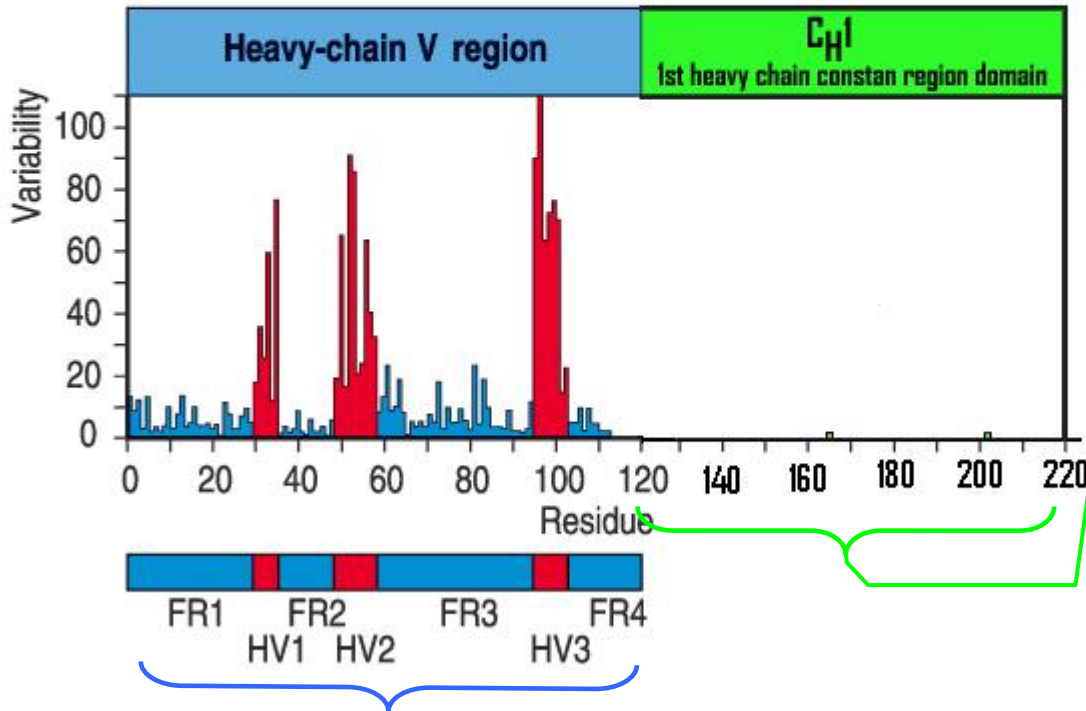
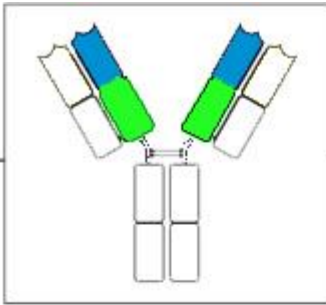


• Τα υπερμεταβλητά τμήματα αναδιπλώνονται σε μεγάλη έκταση έτσι ώστε να έρχονται σε πολύ μικρή απόσταση μεταξύ τους και σχηματίζουν τη **θέση σύνδεσης με την καθοριστική ομάδα του αντιγόνου**

Η θέση συνδέσεως του αντισώματος η οποία σχηματίζεται από 3 CDRs της L αλυσίδας και 3 CDRs της H αλυσίδας είναι **πανομοιότυπη για συγκεκριμένη ομάδα ανεξάρτητα από την τάξη της Ig και το είδος της L αλυσίδας**

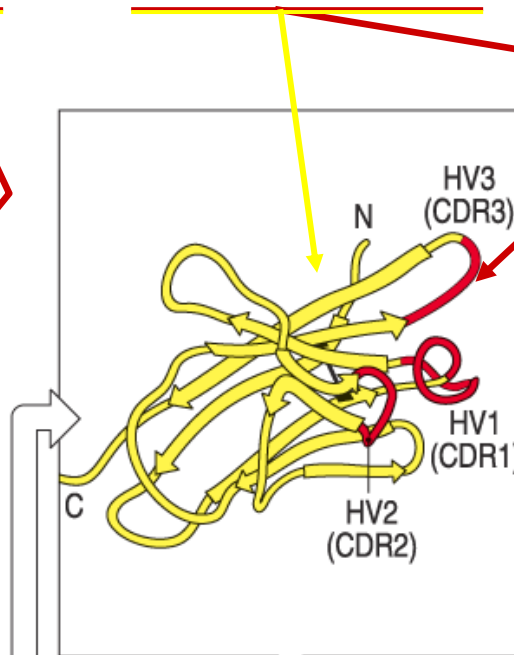
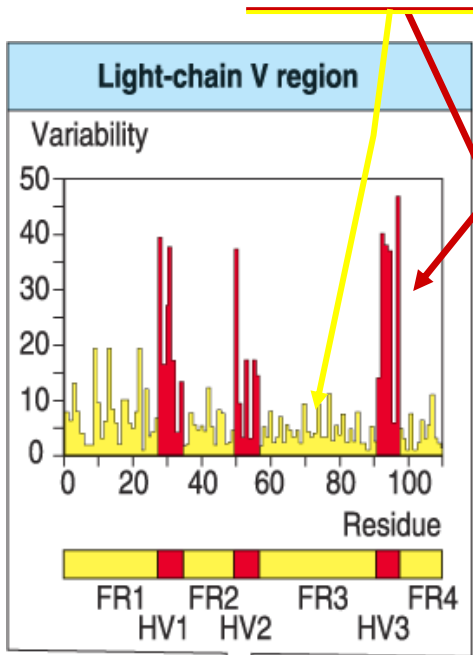
Επειδή το κάθε μόριο αντισώματος έχει **δύο βαριές και δύο ελαφριές αλυσίδες**, έχει **δύο θέσεις σύνδεσης με το αντιγόνο**

Σύγκριση αλληλουχίας αμινοξέων από διαφορετικούς ισότυπους ανοσοσφαιρινών.



Η σταθερή περιοχή δεν αλλάζει στις Ig του ίδιου ισότυπου (όπως σε όλες τις πρωτεΐνες).

Στη μεταβλητή περιοχή υπάρχουν τρεις περιοχές με έντονη μεταβλητότητα [hypervariable regions (HV)] και τέσσερις περιοχές με λιγότερη μεταβλητότητα [framework (FR)].



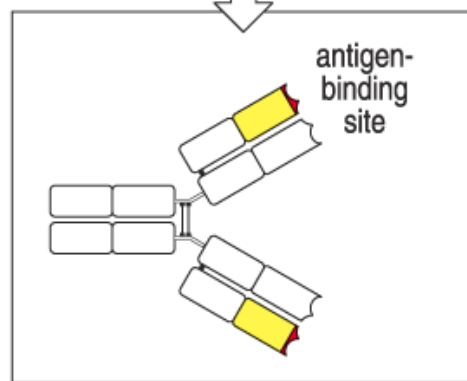
Η θέση δέσμευσης του αντιγόνου σχηματίζεται από τα 3 υπερμεταβλητά τμήματα της βαριάς αλυσίδας και 3 υπερμεταβλητά τμήματα της ελαφριάς

• Υπερμεταβλητά τμήματα

27 α.α. του VL

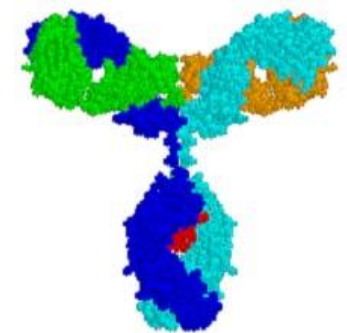
29 α.α. του VH

27χ29



Framework regions (FR) : σημαντικό ρόλο στη μορφή της θέσης δέσμευσης του αντιγόνου και μαζί με τις HV περιοχές καθορίζουν την ειδικότητα του αντιγόνου

Η θέση δέσμευσης του Ag σχηματίζεται από τα CDRs των H και L αλυσίδων



Antigen

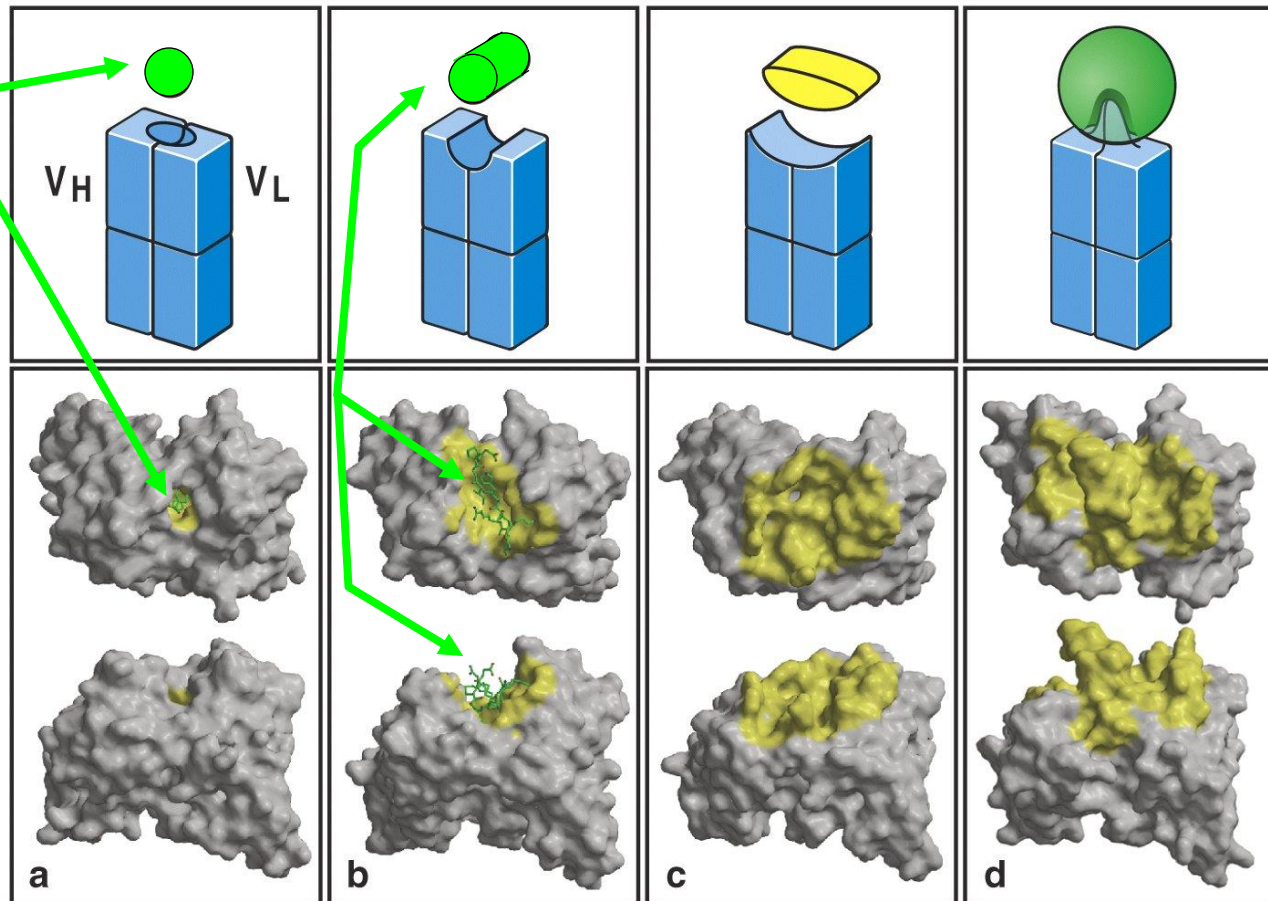


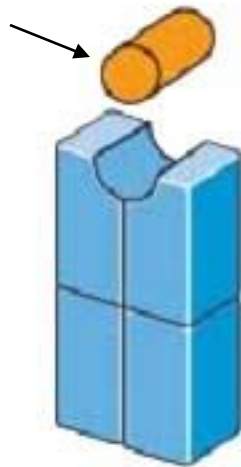
Figure 3-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Τα αντισώματα
αναγνωρίζουν **επίτοπους** ή
αντιγονικούς καθοριστές

* **Επίτοπος :**

~ 6 αμινοξέα ή

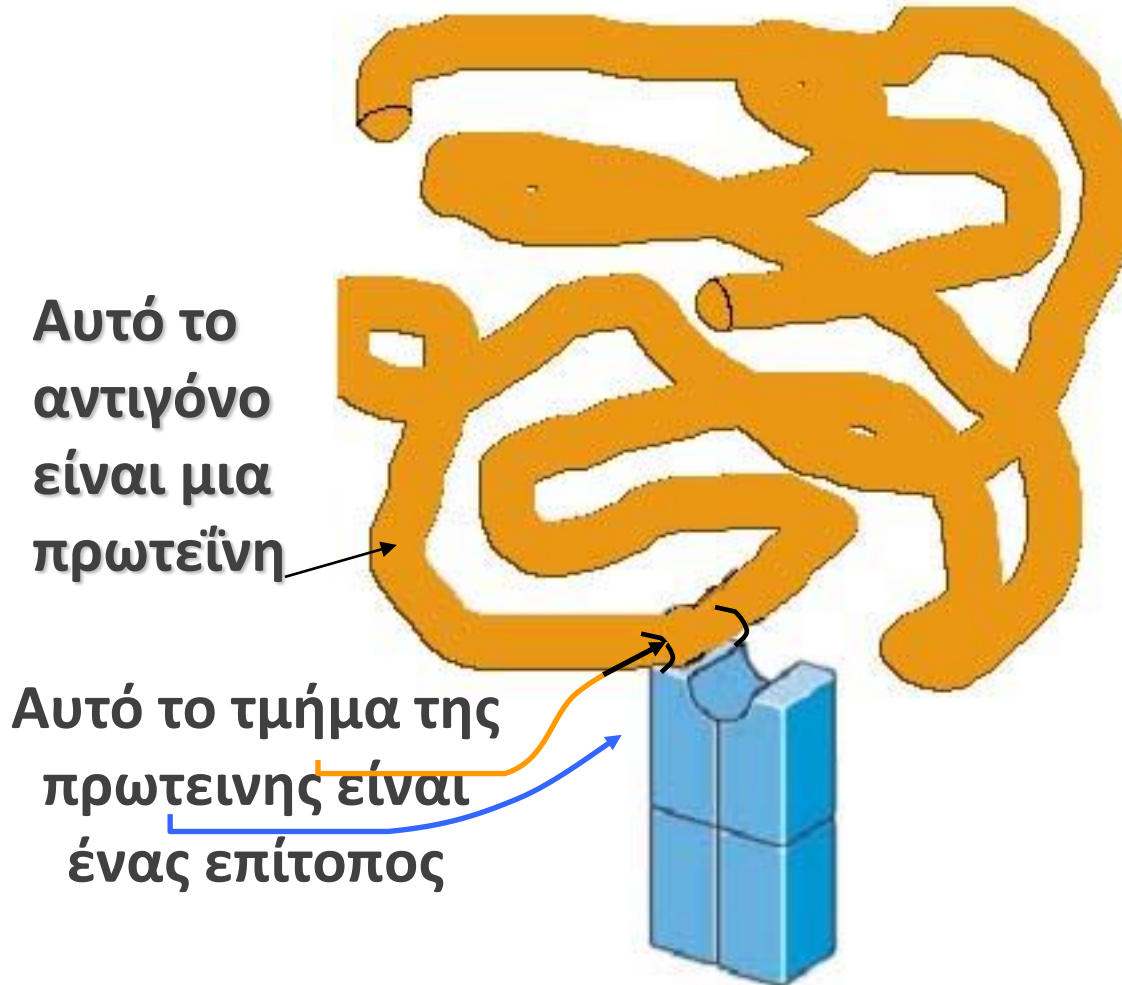
~ 6 σάκχαρα



Epitope = antigenic determinant

1. Ο BCR αναγνωρίζει **τριδιάστατα** αντιγόνα
2. **Δεν** απαιτείται **παρουσίαση** αντιγόνου
3. Τα B κύτταρα είναι δραστικά μόνο σε **εξωκυττάρια** βακτήρια

Epitope = antigenic determinant



Αυτό το
αντιγόνο
είναι μια
πρωτεΐνη

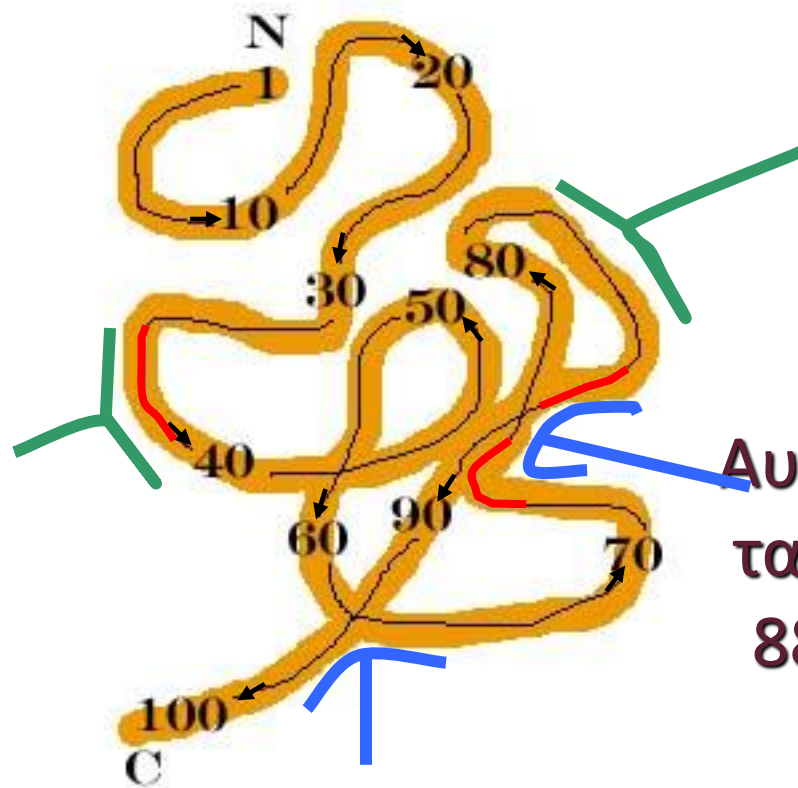
Αυτό το τμήμα της
πρωτεΐνης είναι
ένας επίτοπος

Τα αντισώματα
αναγνωρίζουν
επίτοπους ή
αντιγονικούς
καθοριστές

Για τα αντισώματα οι επίτοποι είναι μη συνεχόμενοι (conformational) ή συνεχόμενοι (linear)

Αυτό το ab δεσμεύει τα αα 34-40;

Δεσμεύει ένα συνεχόμενο επίτοπο



Αυτό το ab δεσμεύει τα αα 71-73 και 85-88; Δεσμεύει έναν αντιγονικό καθοριστή διαμόρφωσης

Ο TCR δεσμεύει μόνο συνεχόμενους επίτοπους

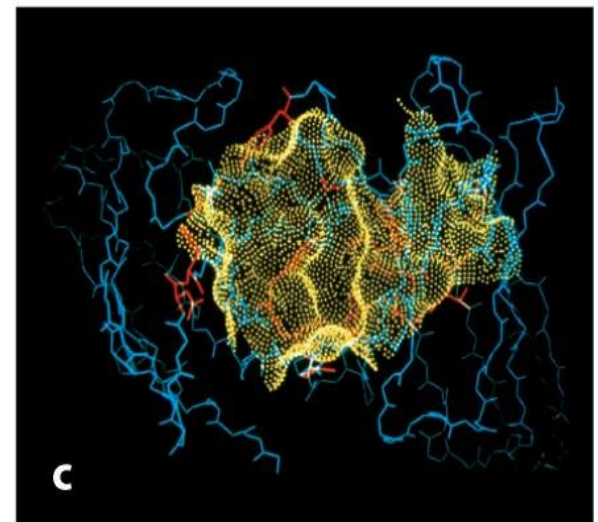
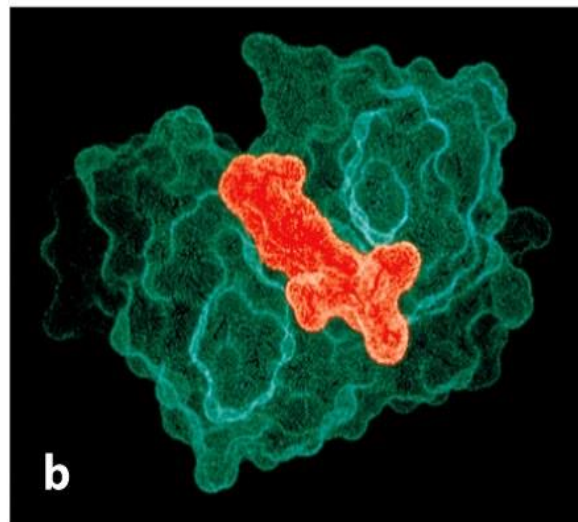
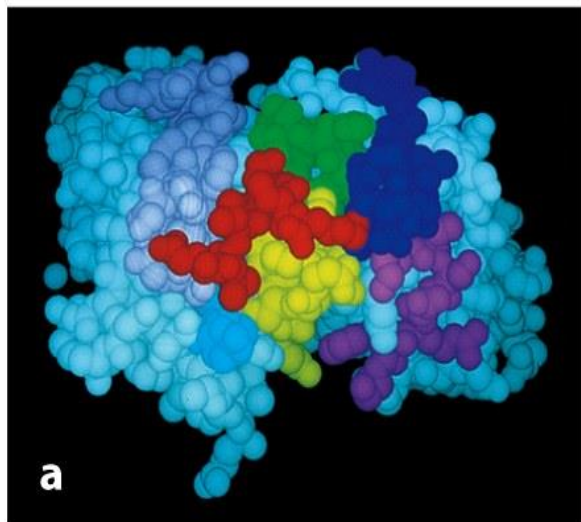
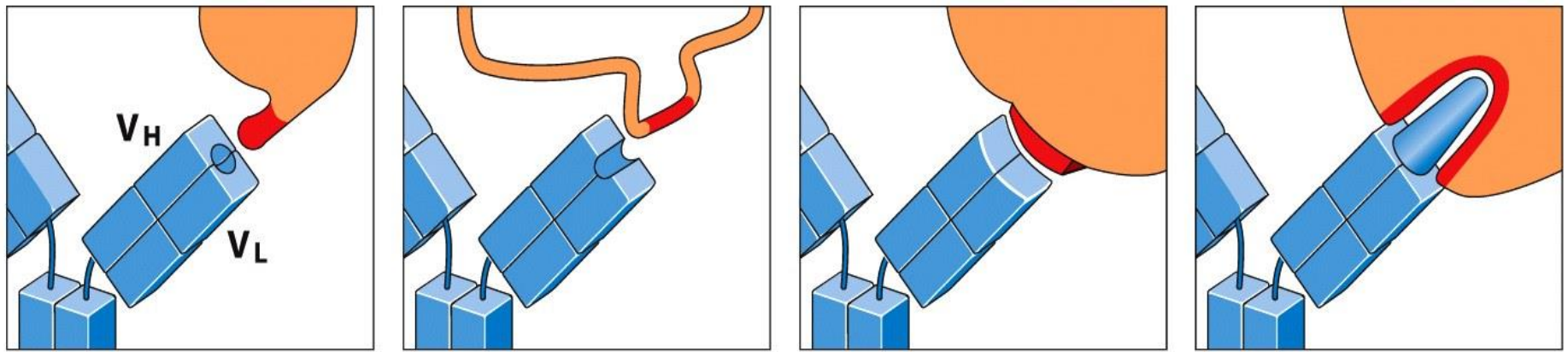
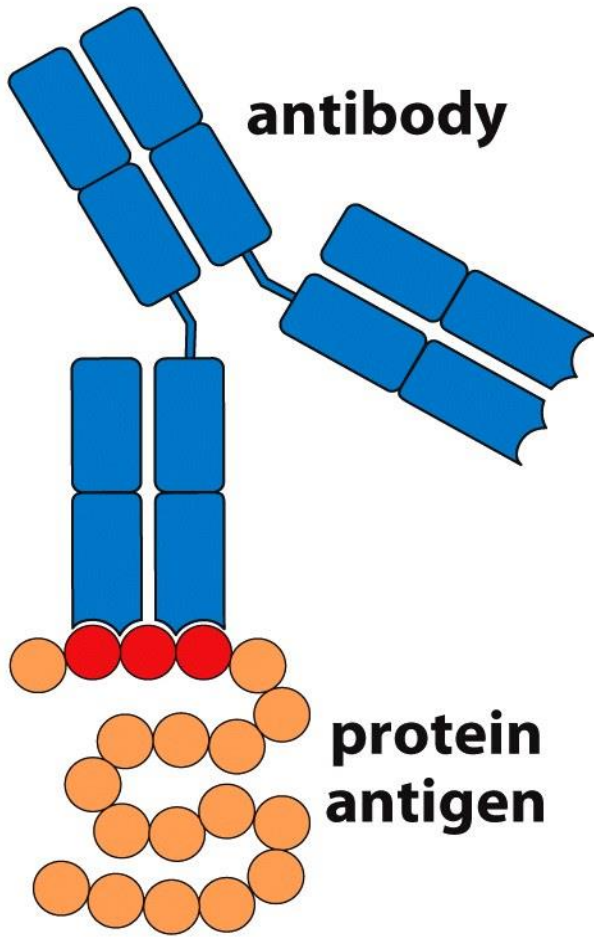


Figure 4.11 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Linear epitope



Discontinuous epitope

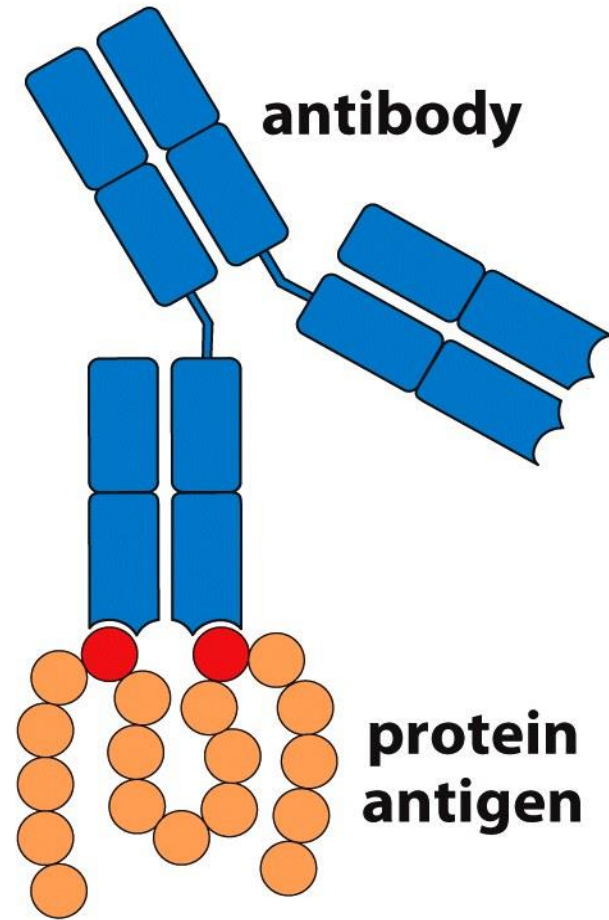


Figure 4.12 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Antigen-antibody complexes are held together by non-covalent forces (therefore, antigen binding by antibody is reversible)

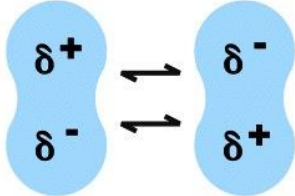
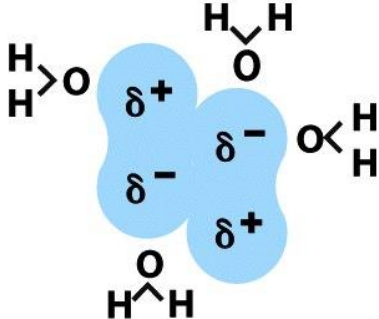
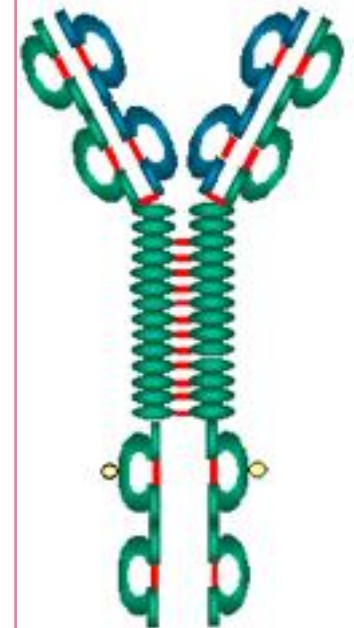
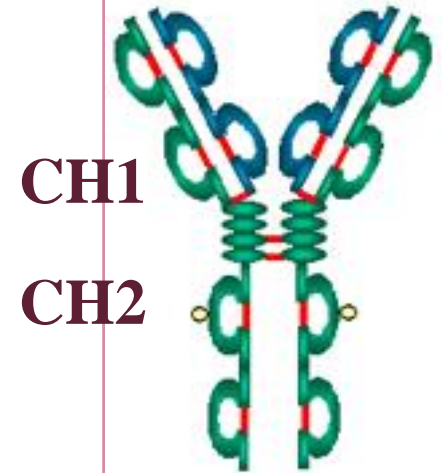
Noncovalent forces	Origin	
Electrostatic forces	Attraction between opposite charges	$-\overset{\oplus}{\text{N}}\text{H}_3 \quad \overset{\ominus}{\text{O}}\text{OC}-$
Hydrogen bonds	Hydrogen shared between electronegative atoms (N,O)	$\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{N} - \text{H} \cdots \text{O} = \text{C} \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
Van der Waals forces	Fluctuations in electron clouds around molecules oppositely polarize neighboring atoms	
Hydrophobic forces	Hydrophobic groups interact unfavorably with water and tend to pack together to exclude water molecules. The attraction also involves van der Waals forces	

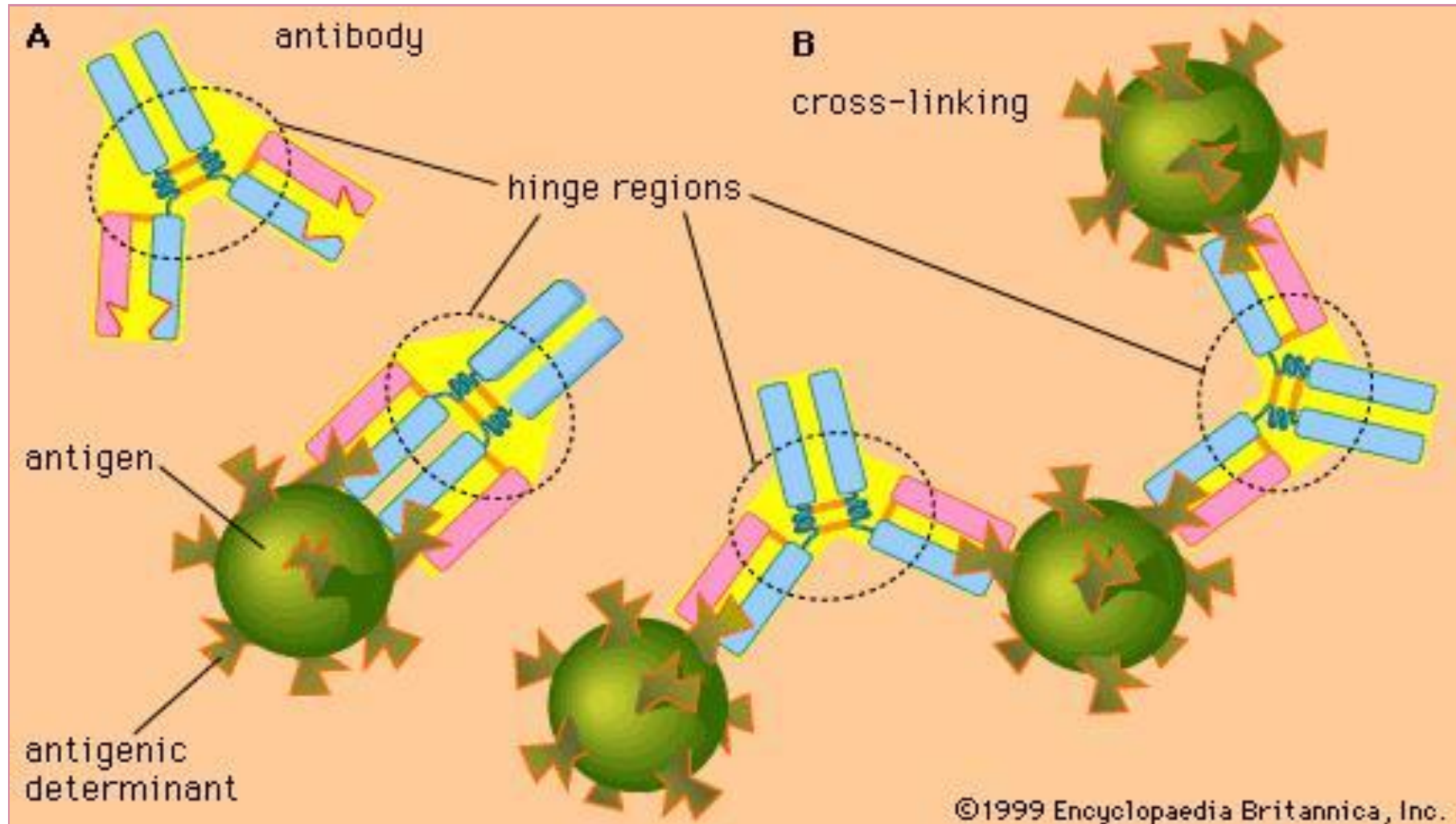
Figure 3-9 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Περιοχή αρμού

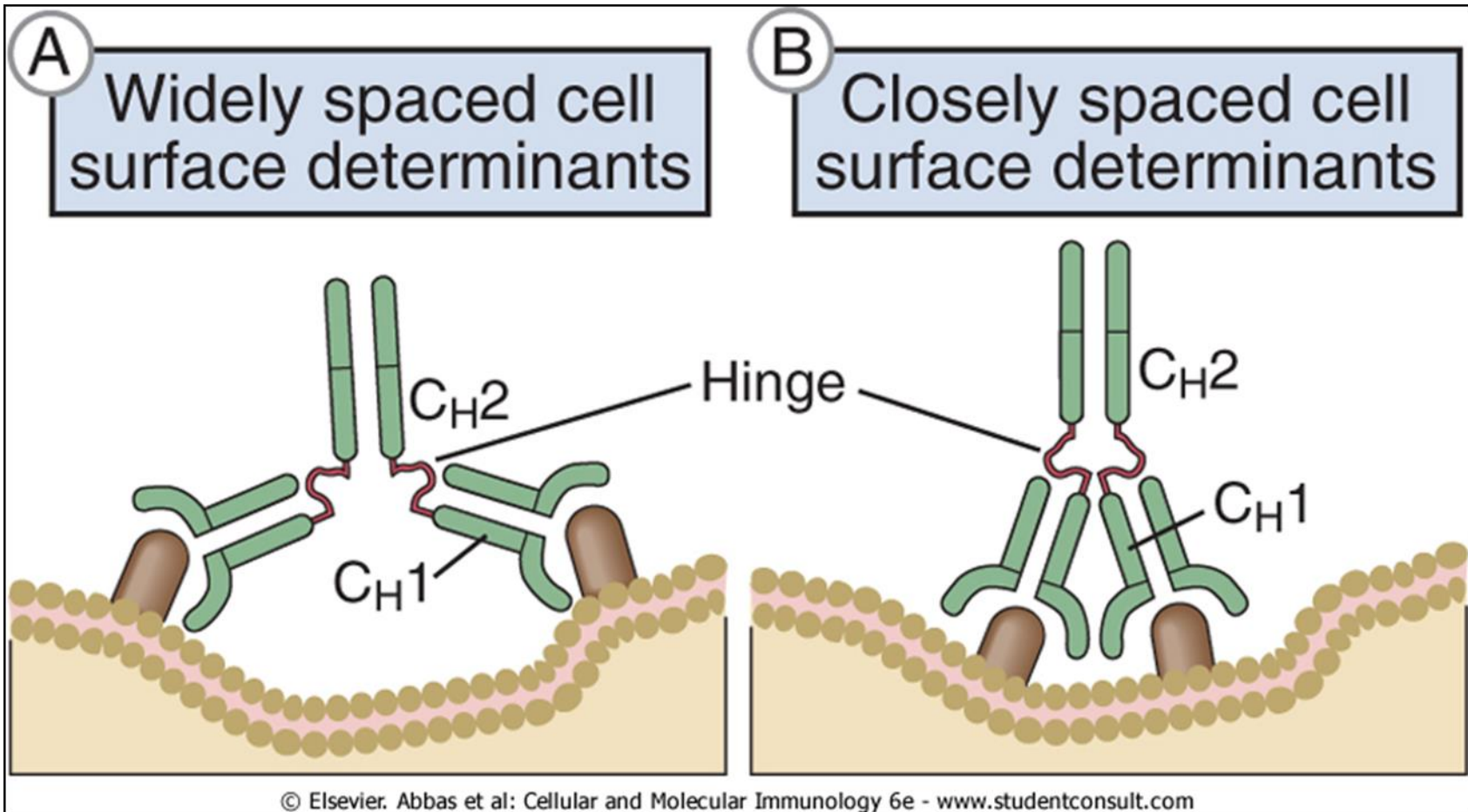
- Το μόριο του αντισώματος είναι **εύκαπτο**
 - **Περιοχή αρμού**
 - **10-60** αμινοξέα μεταξύ **CH1** και **CH2**
- **Δεν εμφανίζει ομολογία** αμινοξέων με τις άλλες περιοχές του σταθερού τμήματος
 - **Μόρια κυστεΐνης**
 - **Μόρια προλίνης**
- Αποτελεί το σημείο συνδέσεως των δύο βαριών αλυσίδων



Η ευκαμψία του αρμού επιτρέπει τη δέσμευση σε αντιγόνα με ποικίλες μορφές και προσανατολισμούς



Περιοχή αρμού-ευκαμψία



Περιοχή αρμού των ανοσοσφαιρινών του ανθρώπου

• Όχι η μ και ε

τάξη βαριάς αλυσίδας

αριθμός αμινοξέων του αρμού#

αριθμός μορίων κυστεΐνης

περιοχή του αρμού μεταξύ:

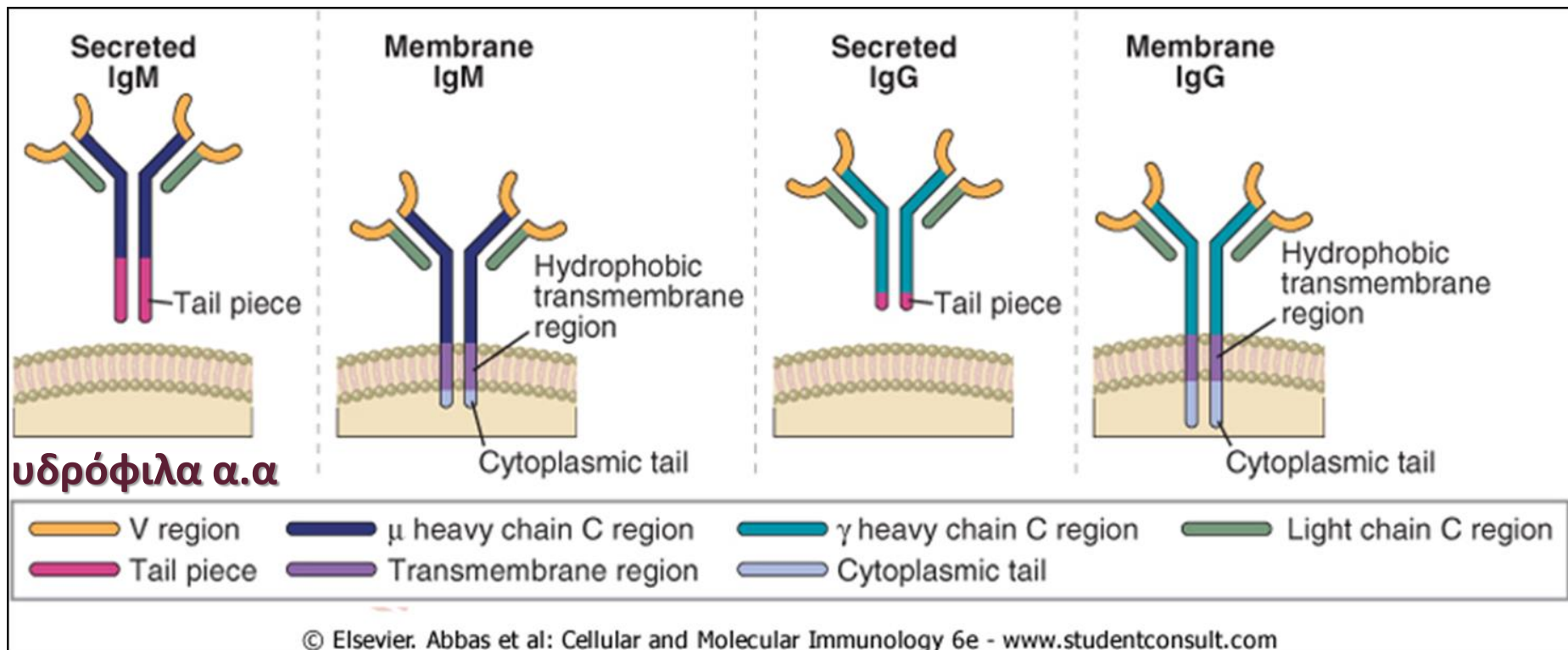
• Προλίνη

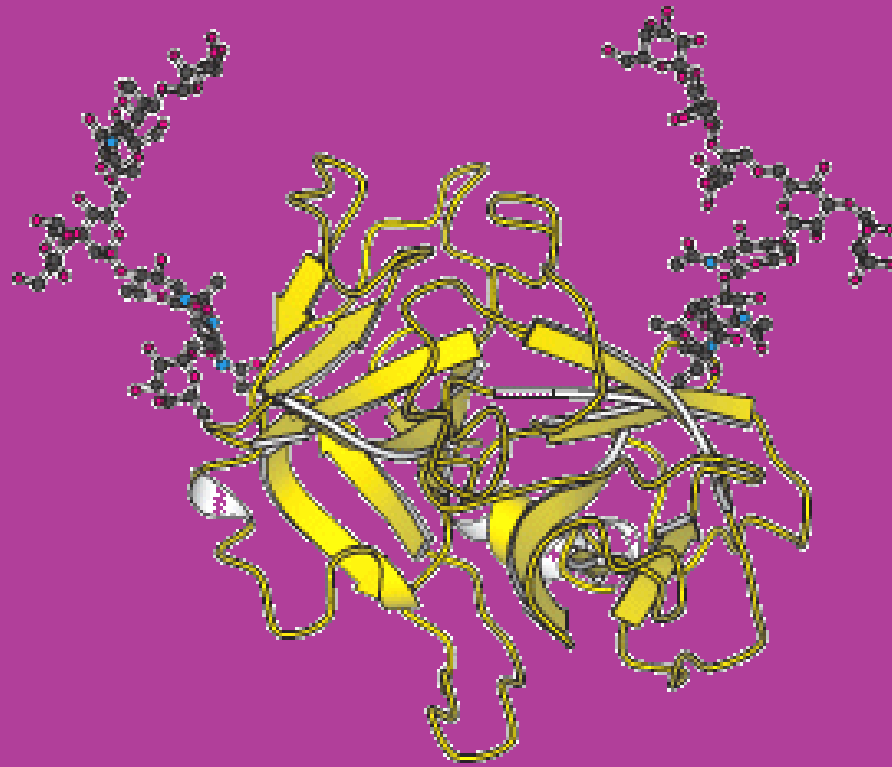
γ1	• 5	18	3	CH ₁ /CH ₂
γ2		15	4	CH ₁ /CH ₂
γ3	• 22	65	11	CH ₁ /CH ₂
γ4		15	2	CH ₁ /CH ₂
α1		26	3	CH ₁ /CH ₂
α2		13	3	CH ₁ /CH ₂
δ		58	-X	CH ₁ /CH ₂
μ		0*	-	CH ₂ /CH ₃ ⁺
ε		0*	-	CH ₂ /CH ₃ ⁺

Εκκριτική VS μεμβρανική μορφή

- Τα αντισώματα εκφράζονται σε **εκκριτική** και **μεμβρανική** μορφή
 - Διαφέρουν μόνο στο καρβοξυλικό άκρο της H αλυσίδας
- **Εκκριτική μορφή** : φορτισμένα και υδρόφιλα α.α
 - **-tail piece**
- **Μεμβρανική μορφή** : επί πλέον 26 α.α με υδρόφοβες πλευρικές αλυσίδες
 - **Διαμεμβρανικό τμήμα**
 - **Κυτταροπλασματικό τμήμα**
 - **Μεμβρανική IgM, IgD 3 α.α**
 - **Μεμβρανική IgG, IgD > 30α.α**

Εκκριτική VS μεμβρανικής μορφής





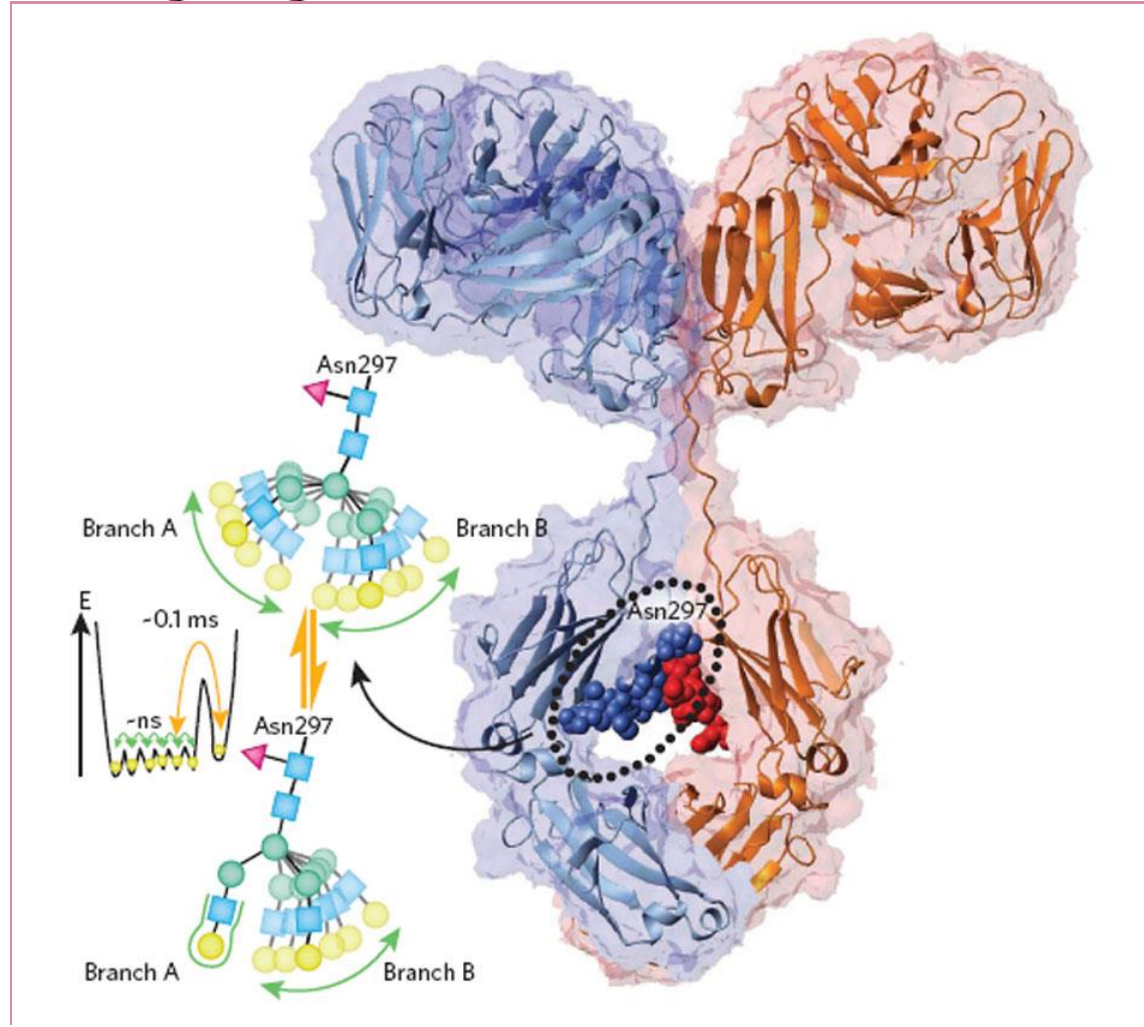
Οι ανοσοσφαιρίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες

Πλευρικές αλυσίδες υδατάνθρακα των ανοσοσφαιρινών

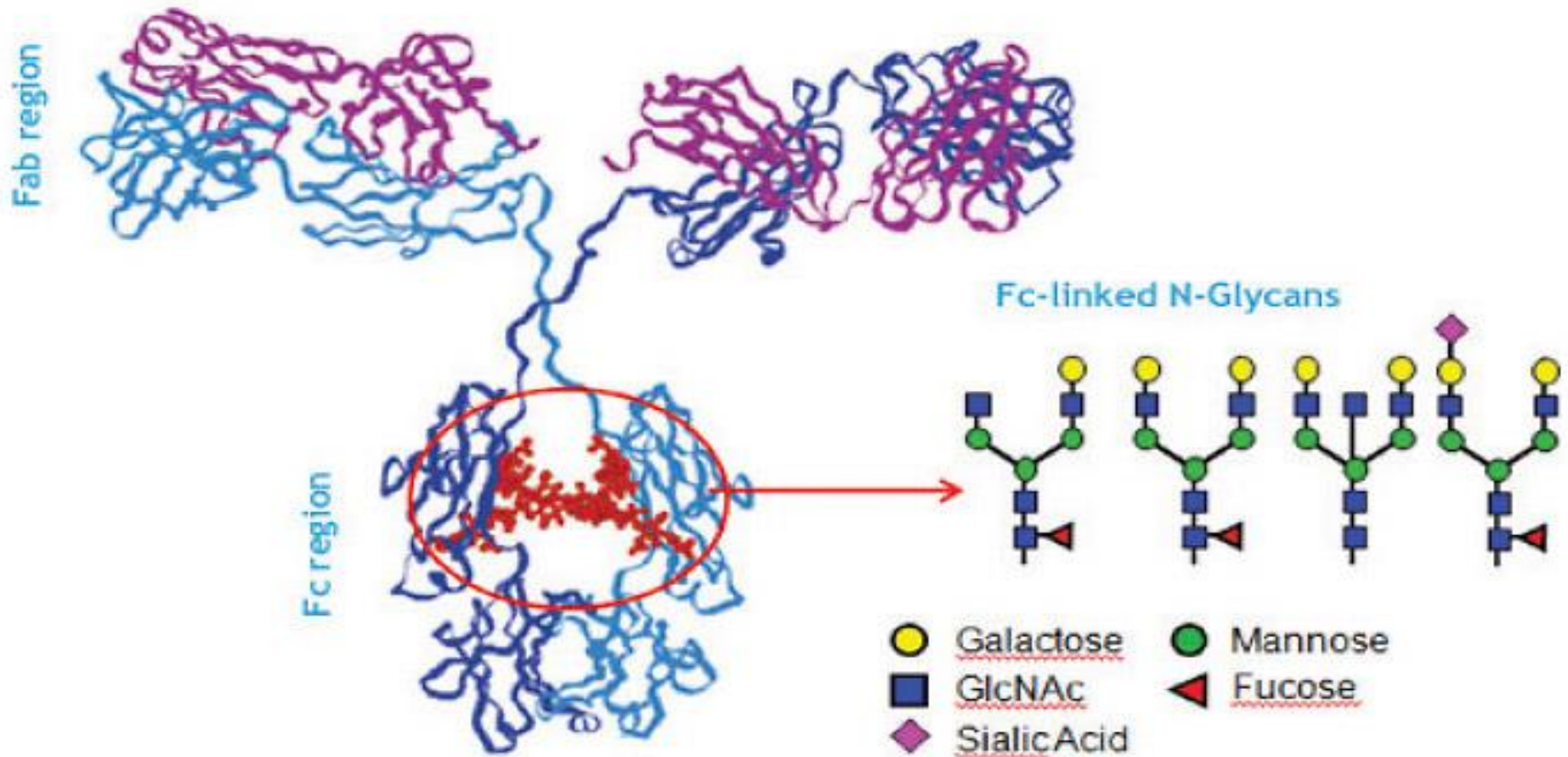
- **Ολιγοσακχαρίτες** που συνδέονται με το σταθερό τμήμα των ανοσοσφαιρινών (CH₂)
- Η σύνδεση γίνεται με **N-γλυκοζιδικό δεσμό** της N-ακέτυλο-D-γλυκοζαμίνης με το αμιδικό άζωτο της ασπαραγίνης σε αλληλουχία αμινοξέων Asn-x-Ser ή Thr
 - Η σύνδεση γίνεται με τις **τρανσφεράσες γλυκοζυλιώσεως**
- Ο υδατάνθρακας αντιπροσωπεύει το 3-12% του μορίου → **γλυκοπρωτεΐνες**

Πλευρικές αλυσίδες υδατάνθρακα των ανοσοσφαιρινών

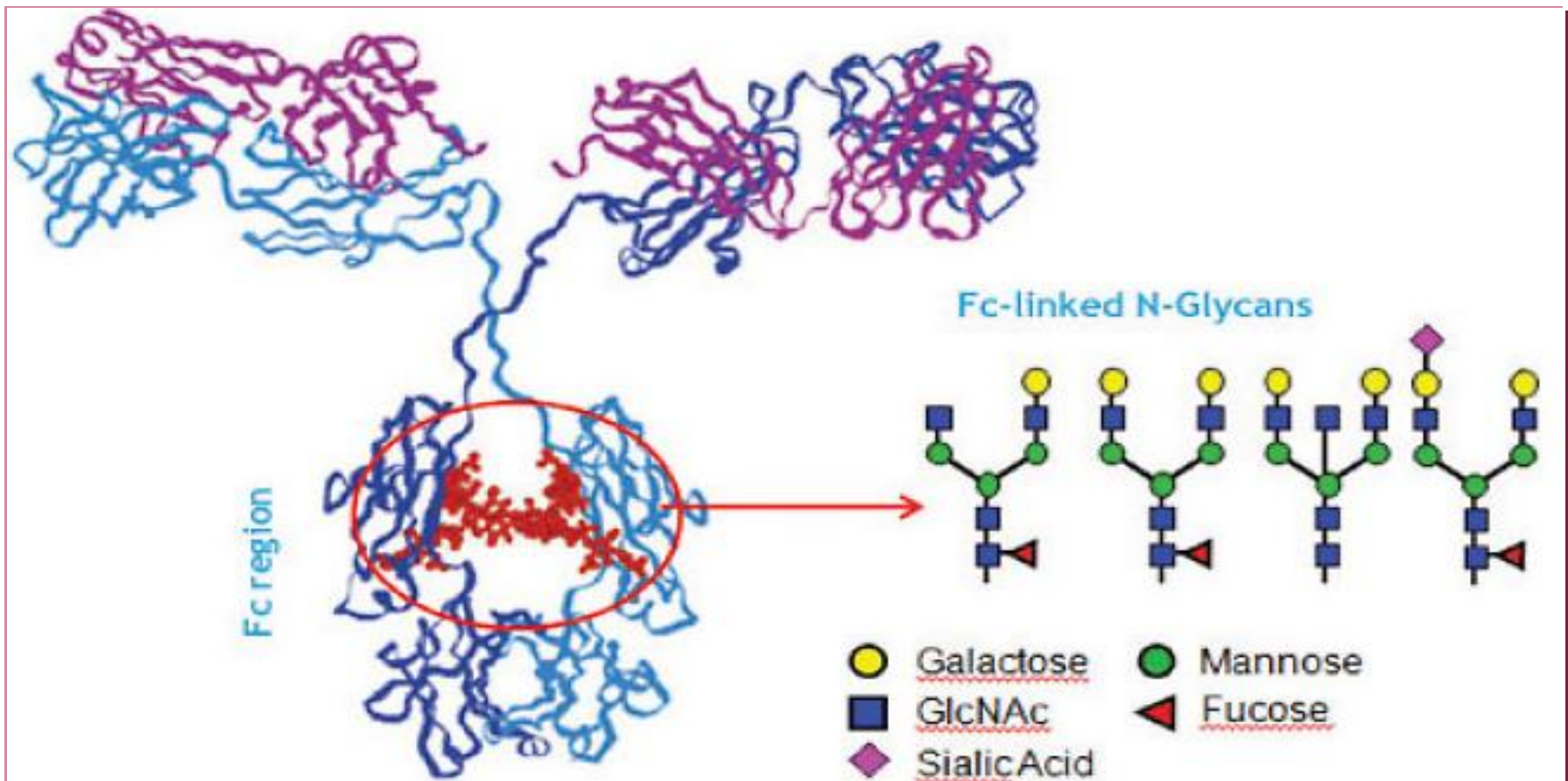
- N-γλυκοζιδικός δεσμός μεταξύ μορίων ασπαραγίνης και N-ακετυλογλυκοζαμίνης



Κοινό κεντρικό τμήμα από μόρια N-ακετυλο-γλυκοζαμίνης και
μαννόζης και πλευρικές αλυσίδες από N-ακετυλογλυκοζαμίνη,
μαννόζη, γαλακτόζη και N-ακετυλονευραμινικό οξύ



- Στην κυκλοφορία το **N-ακετυλονευραμινικό οξύ** απομακρύνεται με τη βοήθεια της **νευραμινιδάσης**
- Με την **τελική γαλακτόζη** η Ig συνδέεται σε υποδοχέα του ηπατοκυττάρου → **ενδοκυττάρωση** → **καταβολισμός**



- Διαφορετικός βαθμός γλυκοσυλίωσης μεταξύ των διαφόρων τάξεων των ανοσοσφαιρινών

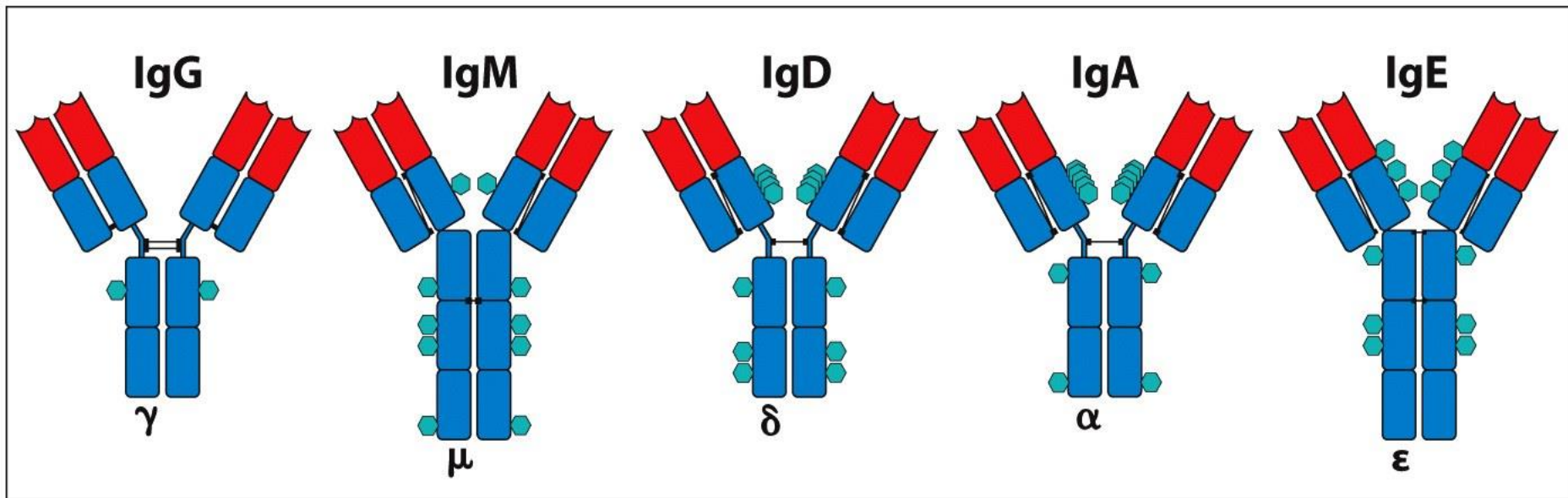


Figure 4.5 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Ανοσοσφαιρίνες

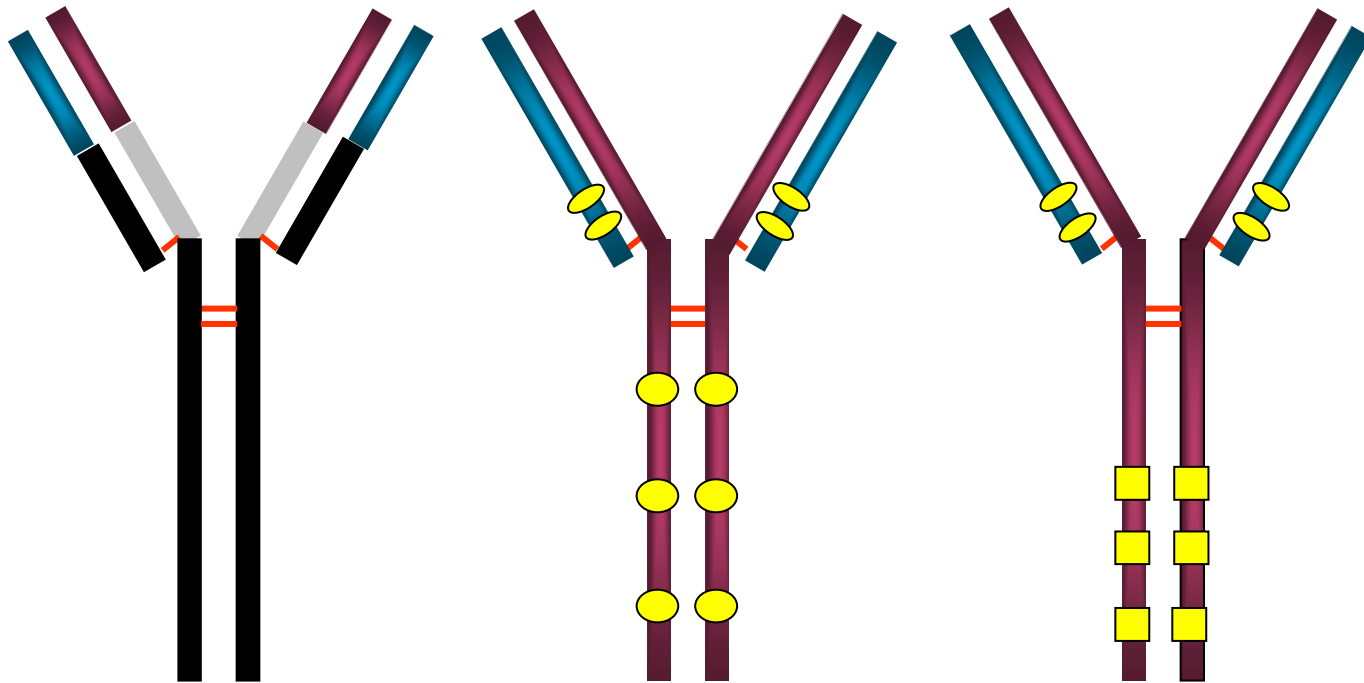
Ισότυποι, Αλλότυποι, Ιδιότυποι

Ισότυποι Ανοσοσφαιρινών

- **Ορισμός :** Αντιγονικοί καθοριστές οι οποίοι χαρακτηρίζουν τις τάξεις και τις υποτάξεις των βαριών αλυσίδων και τους τύπους και υποτύπους των ελαφριών αλυσίδων

Ισότυποι Ανοσοσφαιρινών

- Που εδράζονται;
- στο σταθερό τμήμα των βαριών αλυσίδων



IgG1 (kappa)

IgM (kappa)

Ισότυποι Ανοσοσφαιρινών

- Διαχωρίζουν τις τάξεις:
 - IgG, IgM, IgA, IgD, IgE
- Διαχωρίζουν τις υποτάξεις:

IgG1(65-70%)

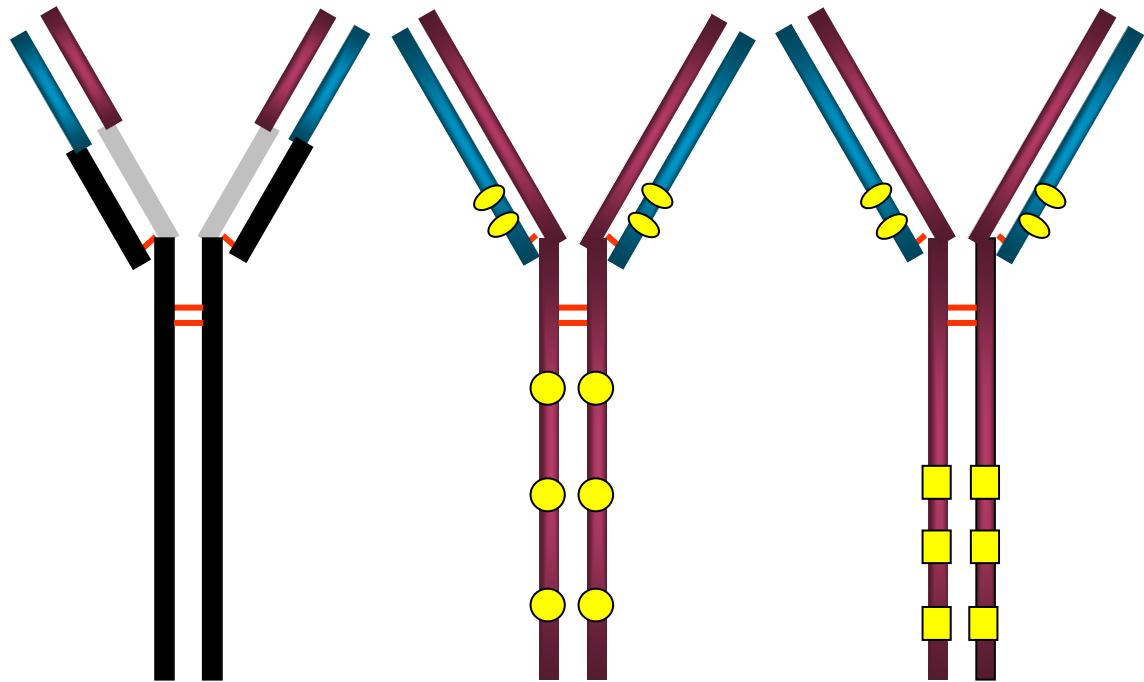
IgG2(23-28%)

IgG3(4-8%)

IgG4(3-4%)

IgA1

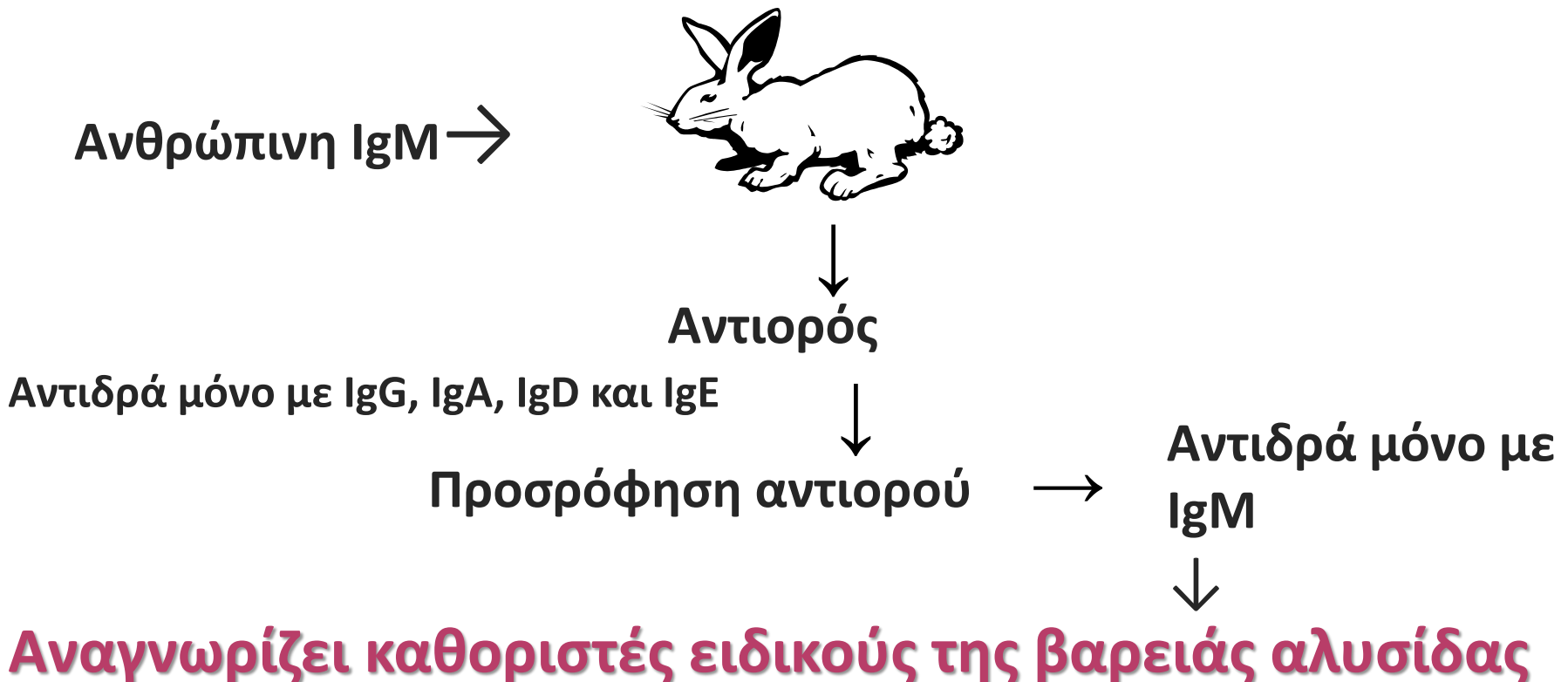
IgA2



IgG1 (kappa)

IgM (kappa)

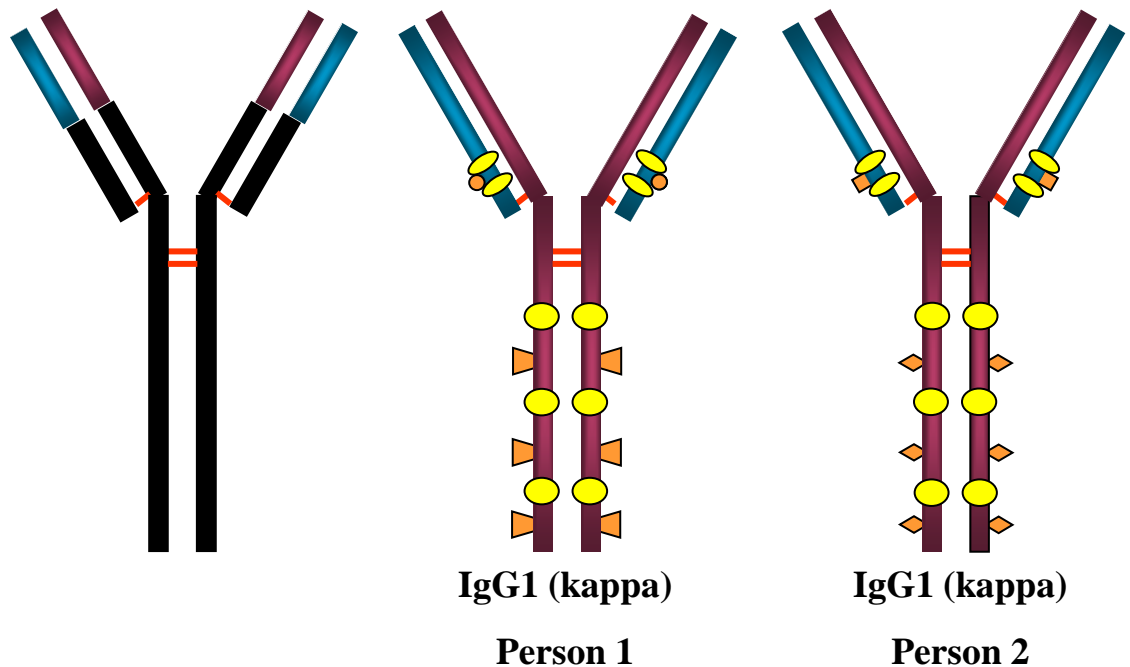
Οι ισότυποι απαντούν σε όλα τα άτομα ενός είδους ζώου, και **αντισώματα** για τους ισότυπους παράγονται μόνο εάν το μόριο χορηγηθεί σε άτομο άλλου είδους ζώου



Αλλότυποι ανοσοσφαιρινών

- Αντιγονικοί καθοριστές, οι οποίοι καθορίζονται από αλληλόμορφα συγκυριαρχούντα γονίδια των σωματικών χρωμοσωμάτων και κληρονομούνται με τους νόμους του Mendell.

- Σταθερό τμήμα



Αλλότυποι ανοσοσφαιρινών

• Ονοματολογία

• Gm

• Am

• Km

Chain	Domain	Allotype	Amino Acid	Position
IgG1	C _{H1}	G1m(f) = (3)	Arg	214
	C _{H1}	G1m(z) = (17)	Lys	214
	C _{H3}	G1m(a) = (1)	Arg, Asp, Glu, Leu	355-358
κ light chain	C _L	Km(1)	Val, Leu	153, 191
	C _L	Km(3)	Ala, Val	153, 191

Gm αλλότυποι

- Ο ειδικός αντορός αναγνωρίζει και αντιδρά με τον αλλότυπο μόνο όταν το μόριο της Ig βρίσκεται στην **τριτοταγή δομή**
- Ένα **ομόζυγο** άτομο ως προς ένα αλλότυπο θα έχει σε όλες τις π.χ. γ1 αλυσίδες **τον ίδιο αλλότυπο**
- Ένα **ετερόζυγο** άτομο θα έχει έναν αλλότυπο στις μισές γ1 αλυσίδες και άλλο στις άλλες μισές
- Η παραγωγή αντισωμάτων για έναν αλλότυπο επιτυγχάνεται όταν το μόριο χορηγηθεί σε άτομο του ίδιου είδους που δε φέρει τον ίδιο αλλότυπο

Αλλότυποι Ανοσοσφαιρινών

- Μερικές φορές μπορεί να παραχθούν **αντισώματα** έναντι των **αλλοτύπων**
 - από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της **εγκυμοσύνης** σε απόκριση στους πατρικούς **αλλοτυπικούς καθοριστές** των ανοσοσφαιρινών του εμβρύου
 - σε μεταγγίσεις αίματος.

Gm αλλότυποι

- Αλληλόμορφα συγκυριαρχούντα γονίδια Km(1)/Km(3)
X Km(1)/Km(1)



Km(1)/Km(1) και Km(1)/Km(3)

Στους ομοζυγώτες όλες οι βαριές αλυσίδες ενός ισοτύπου (IgG) έχουν τους ίδιους αλλότυπους ακόμα και αν η V περιοχή είναι διαφορετική

Οι C περιοχές ενός ισοτύπου κωδικοποιούνται από ένα γονίδιο και η V περιοχή από άλλο

Km αλλότυποι

- Διαφορετικά αμινοξέα στη θέση 153 και 191
- Οι δύο θέσεις στην τριτοταγή δομή του μορίου σχηματίζουν μία καθοριστική ομάδα στερεοδιατακτικής αλληλουχίας αμινοξέων
- Αλυσίδα α2 :
 - A2m(1)
 - A2m(2)
- Στο μόριο της A2m(1) οι βαριές αλυσίδες δεν συνδέονται με τις ελαφριές με δισουλφιδικό δεσμό

•

Ιδιότυποι ανοσοσφαιρινών

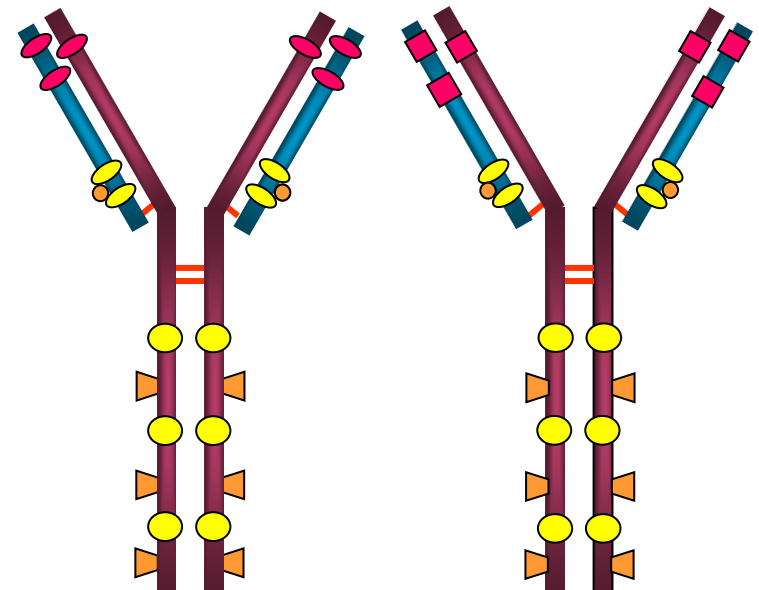
- Ορισμός : Μοναδικοί αντιγονικοί καθοριστές οι οποίοι απαντώνται σε αντισώματα με την ίδια ειδικότητα

Ιδιότυποι ανοσοσφαιρινών

- Η μοναδική αλληλουχία **αμινοξέων των VH και VL** περιοχών ενός αντισώματος μπορεί να λειτουργήσει **όχι μόνο ως θέση δέσμευσης του αντιγόνου, αλλά και ως αντιγονικός καθοριστής.**
-
- Κάθε αντιγονικός καθοριστής της μεταβλητής περιοχής αναφέρεται ως **ιδιότοπος (idiotope)**
- Κάθε αντίσωμα θα παρουσιάζει πολλαπλούς **ιδιοτόπους**, μερικοί από τους οποίους **αντιστοιχούν στη θέση δέσμευσης του αντιγόνου** και άλλοι σε αλληλουχίες της μεταβλητής περιοχής, εκτός της θέσης δέσμευσης του αντιγόνου.
- Το άθροισμα των επιμέρους ιδιοτόπων ονομάζεται **ιδιότυπος (idiotypic) του αντισώματος.**

Ιδιότυποι ανοσοσφαιρινών

- Εντόπιση:
- Υπερμεταβλητά τμήματα-CDRs



IgG1 (kappa)

Person 1

anti-A

IgG1 (kappa)

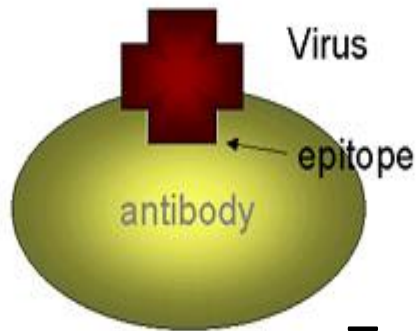
Person 1

anti-B

Ιδιότυποι

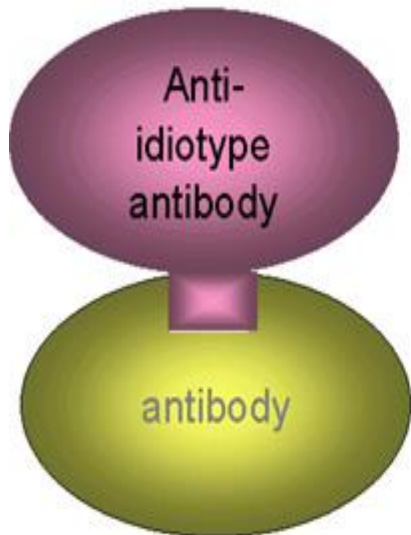
- Κάθε μόριο Igs φέρει ένα μοναδικό ιδιότυπο στη θέση συνδέσεως του Abs ο οποίος είναι κοινός **μόνο στα μόρια Igs που παράγονται από τα πλασματοκύτταρα ενός κλώνου Β-λεμφοκυττάρου**
- Οι ιδιοτυπικοί καθοριστές είναι ανοσογόνοι
- Κλώνοι Β-λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν τις καθοριστικές ομάδες των ιδιοτύπων και παράγουν abs (αντι-ιδιότυποι)
- Οι αντι-ιδιότυποι δρούν σαν Ags , διεγείρουν άλλους κλώνους Β-λεμφοκυττάρων και παράγονται abs ειδικά για τους αντι-ιδιότυπους(αντι-αντι-ιδιότυποι)

Anti-idiotypic vaccine



Τα αντι-ιδιοτυπικά αντισώματα είναι σημαντικά γιατί ο **παράτοπος** τους έχει το **ίδιο σχήμα** με το αντιγόνο και μπορεί να συνδεθεί με τον **υποδοχέα του αντιγόνου**

Antibody with epitope binding site

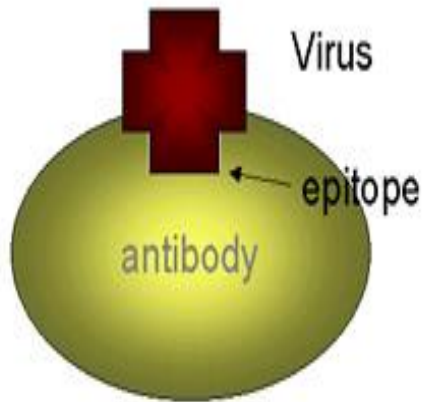


Make antibody against antibody idioytype

Anti-idiotypic antibody mimics the epitope



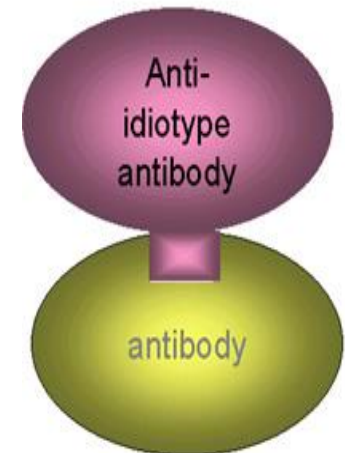
Anti-idiotypic vaccine



Id2=δομικά όμοια με την καθοριστική ομάδα του Ag

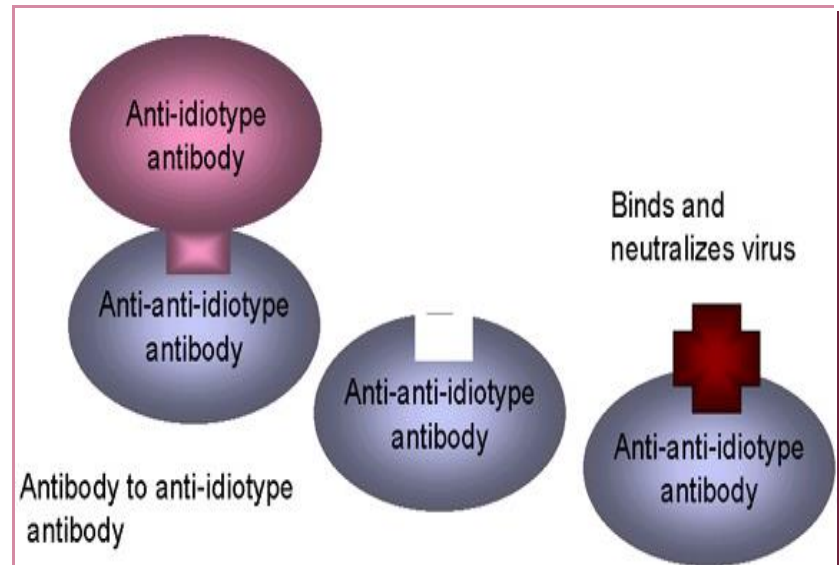
Ανοσοποίηση με Id2=αντισώματα που συνδέονται με τον υποδοχέα του Ag

Antibody with epitope binding site



Make antibody against antibody idiotypic

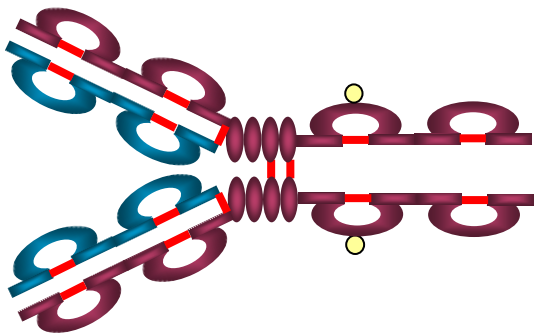
Anti-idiotypic antibody mimics the epitope



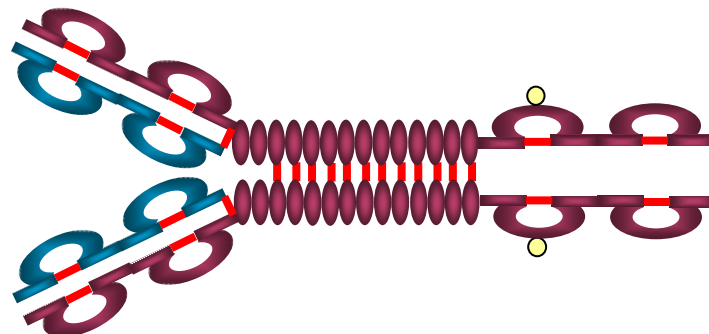
ΙΣΟΤΥΠΟΙ ΑΝΟΣΟΣΦΑΙΡΙΝΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

IgG

- Δύο Η αλυσίδες γ
 - ίδια υποτάξη
 - ίδιο ισότυπο
 - Ίδιους αλλότυπους
- Δύο L κ ή λ
- Μονομερές(7S), Μ.Β.150.000
- Υδατάνθρακας 3%
- Υποτάξεις(ισότυποι) : γ1, γ2, γ3, γ4
- Αλλότυποι : >20 Gm



IgG1, IgG2 and IgG4



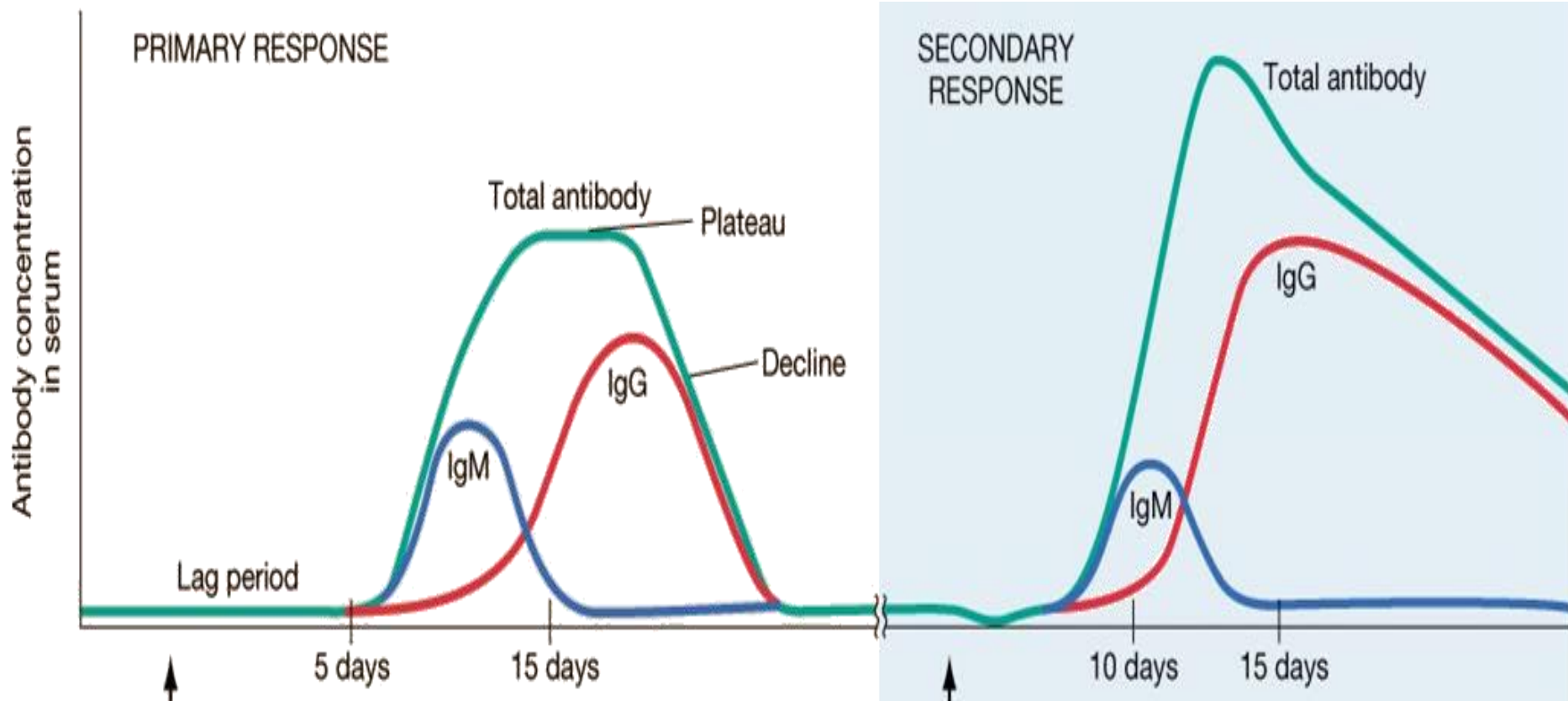
IgG3

IgG-Ιδιότητες

- Συγκέντρωση : 1.100mg/dl
- Παραγωγή : 28mg/kg/ημέρα
- Χρόνος ημ. ζωής : 21 ημέρες
- Παραγωγή : 12^η εβδ.
ενδομήτριας ζωής

Ανοσολογική μνήμη

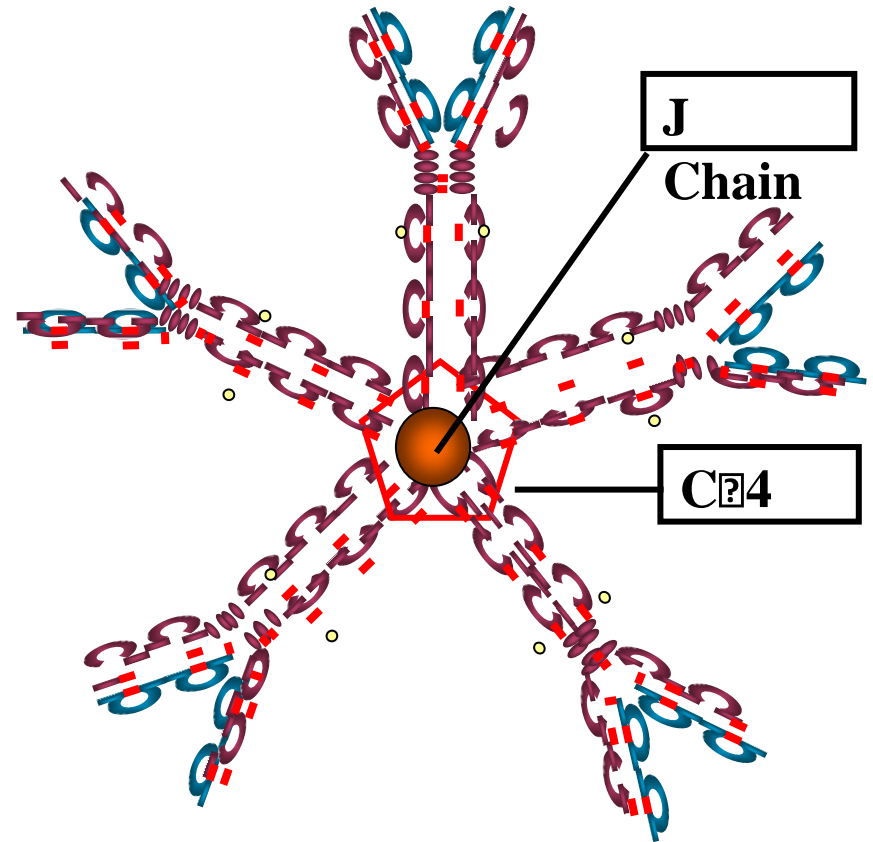
- Παράγεται σε αντιγονική διέγερση με θυμοεξαρτώμενο αντιγόνο



Heavy chains:	$\gamma 1$ IgG1	$\gamma 2$ IgG2	$\gamma 3$ IgG3	$\gamma 4$ IgG4
Χρόνος ημ. ζωής	21 - 24 days	21 - 24 days	7 - 8 days	21 - 24 days
Συγκ. ορού		1350mg/ml		
% των Ig στον ορό	45 - 53	11 - 15	3 - 6	1 - 4
Ενεργοποίηση συμπληρώματος	+++	+	++++	OXI
Δράση με άλλα κύτταρα	Μέσω των Fc υποδοχέων			
Μεταφορά δια μέσου του πλακούντα	++	+	++	++

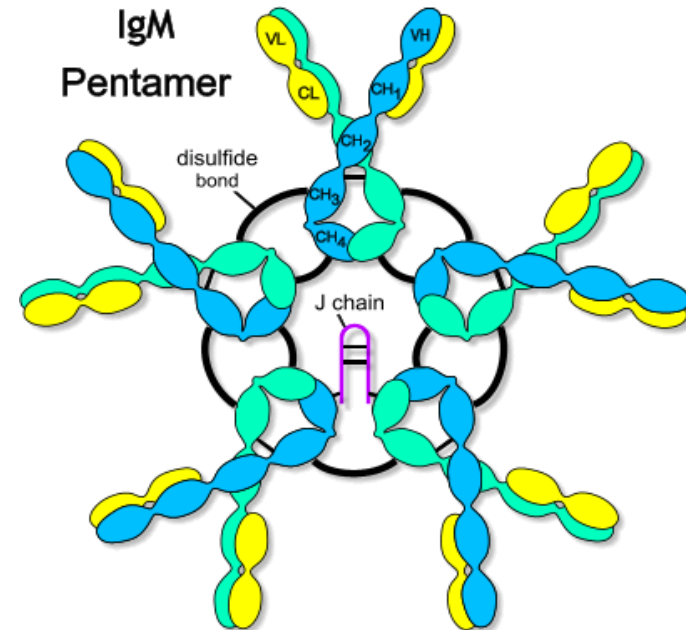
IgM

- Πενταμερές (19S)
 - 10 βαρειές αλυσίδες μ
 - 10 ελαφριές αλυσίδες $(\mu 2\kappa 2)5$ ή $(\mu 2\lambda 2)5$
 - J αλυσίδα
- M.B: 900.000
- Υδατάνθρακας :12%
- Ημερήσια παρ.: 5-8 mg/Kg
- Χρόνος ημ. Ζωής :10 μέρες



IgM

- **Βαριά αλυσίδα :570 α.α**
- **M.B. : 65.000-70.000**
- **Συγκέντρωση : 100mg/dl**
- **Περιοχές: VH, CH1, CH2, CH3, CH4**
 - Βαθμός ευκαμψίας μεταξύ CH2 και CH3
- Ο σχηματισμός πενταμερούς γίνεται με δισουλφιδικούς δεσμούς μεταξύ μορίων κυστεΐνης (σταθερό τμήμα)



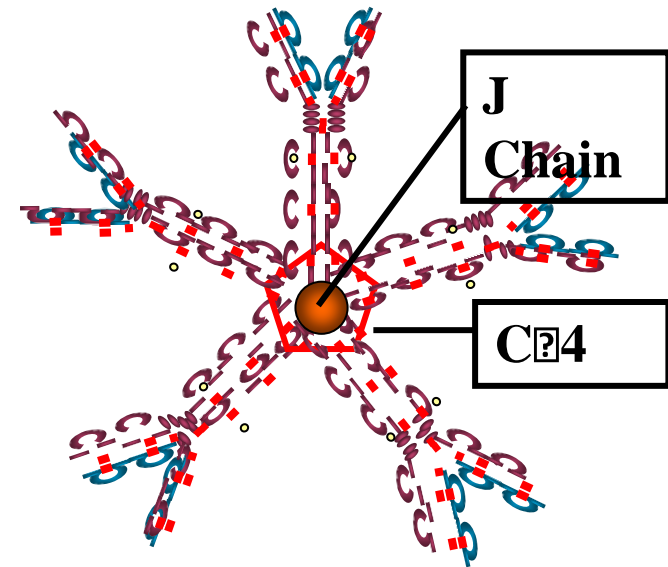
- **Αλυσίδα j (joining)**

- 118-125 a.a.
- M.B.15.000

- **Παράγεται από πλασματοκύτταρα**

- Έξι μόρια κυστεΐνης:

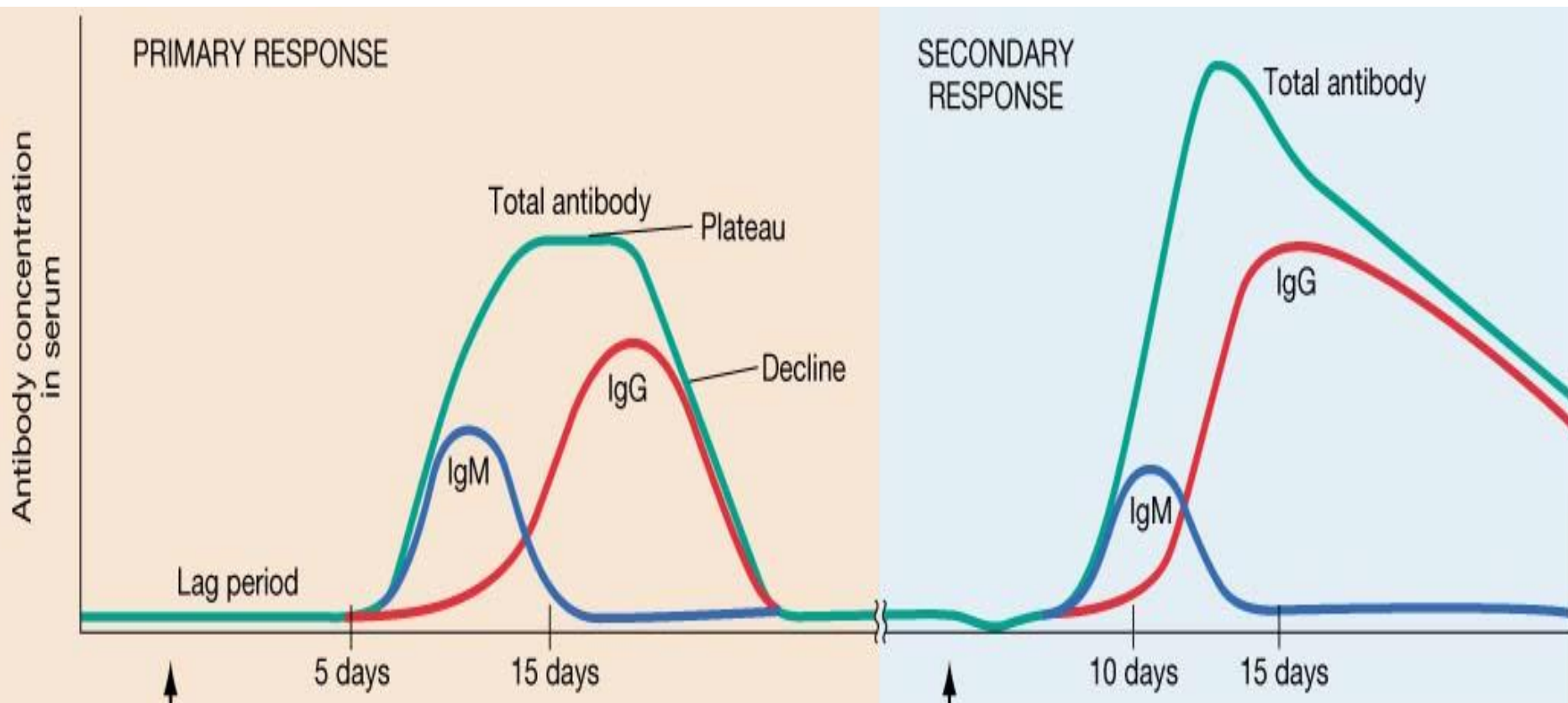
- 2 μόρια σχηματίζουν –S-S- δεσμό με 2 υπομονάδες του πενταμερούς
- 4 μόρια σχηματίζουν ενδοαλυσιδικούς –S-S- δεσμούς



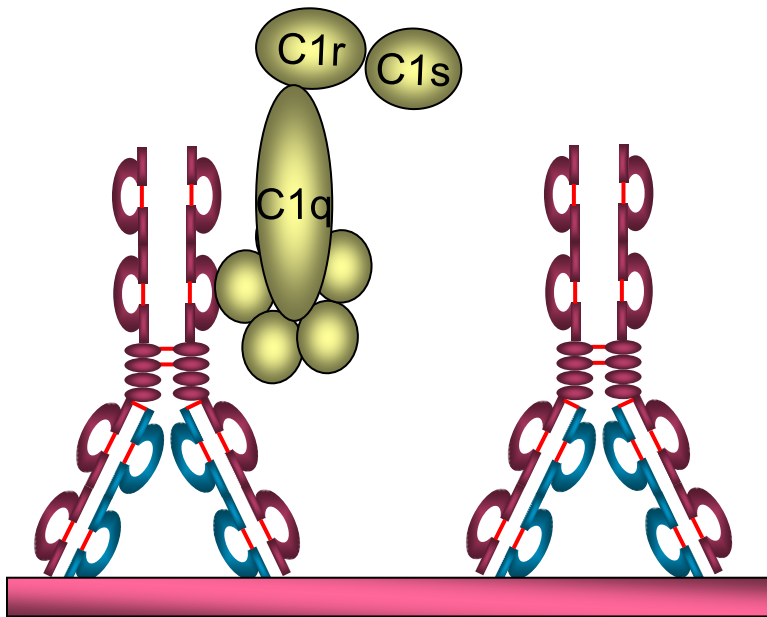
IgM-Ιδιότητες

- Σταθερή στους **56-60°C** και στους **4°C**
- Η παραγωγή της αρχίζει την **11η εβδομάδα της ενδομήτριας ζωής**
- Παράγεται **πάντοτε πρώτη** σε κάθε αντιγονικό ερεθισμό με **θυμοεξαρτώμενο αντιγόνο**
- Είναι η **μόνη** που παράγεται σε **θυμοανεξάρτητο αντιγόνο**
- **Δεν** προσφέρει **ανοσολογική μνήμη**

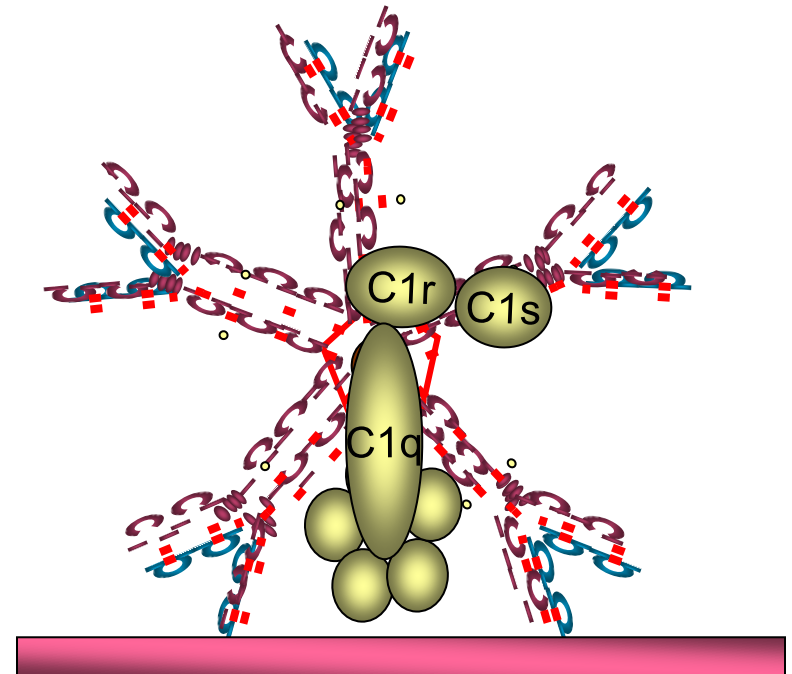
Η IgM παράγεται πρώτη σε κάθε αντιγονική
διέγερση αλλά δεν προσφέρει ανοσολογική
μνήμη



Σύνδεση του C1 από IgG και IgM Abs

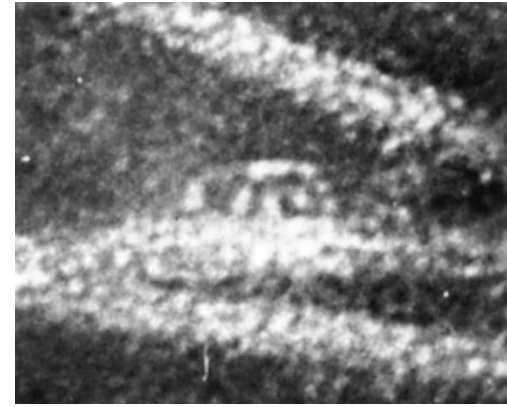
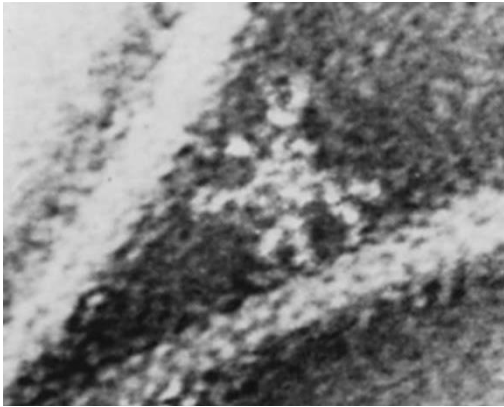
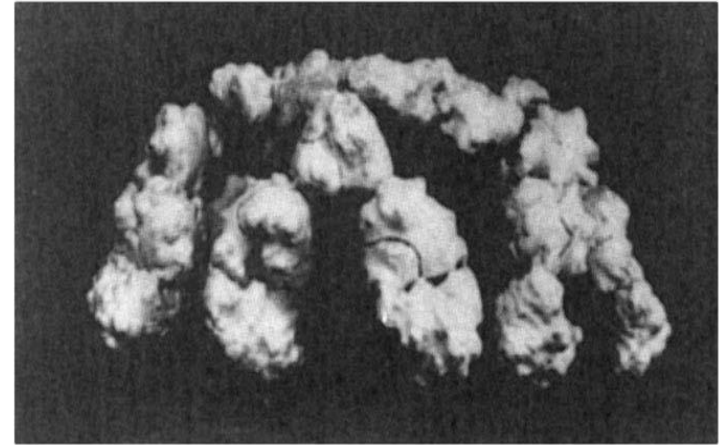
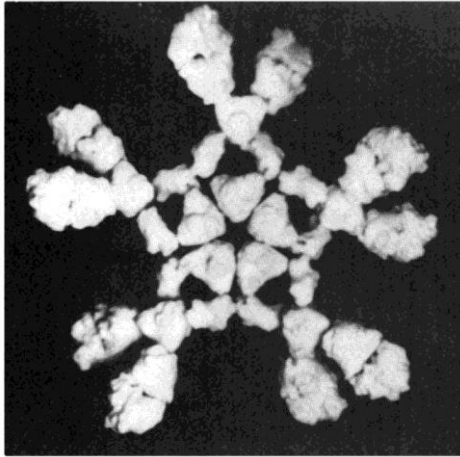


Όχι ενεργοποίηση



Ενεργοποίηση

Antigen-induced conformational changes in IgM



Planar or 'Starfish' conformation found in solution.

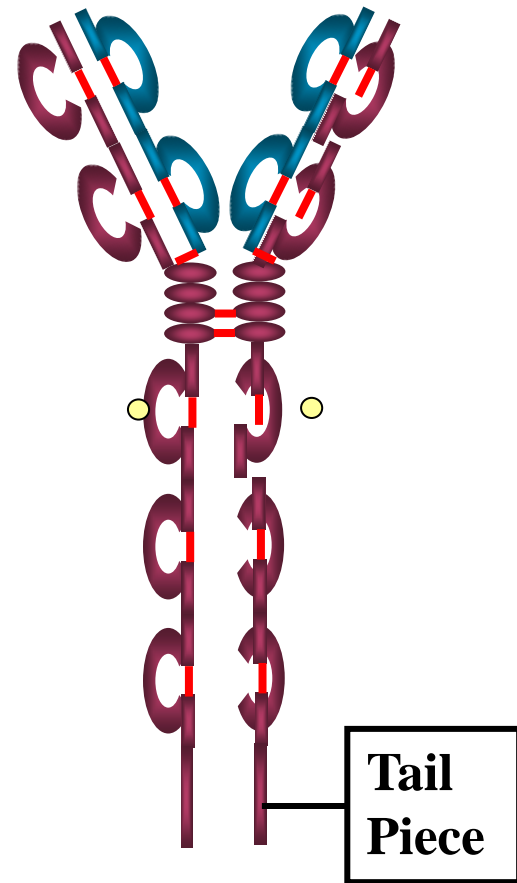
Does not fix complement

Staple or 'crab' conformation of IgM
Conformation change induced by binding to antigen.

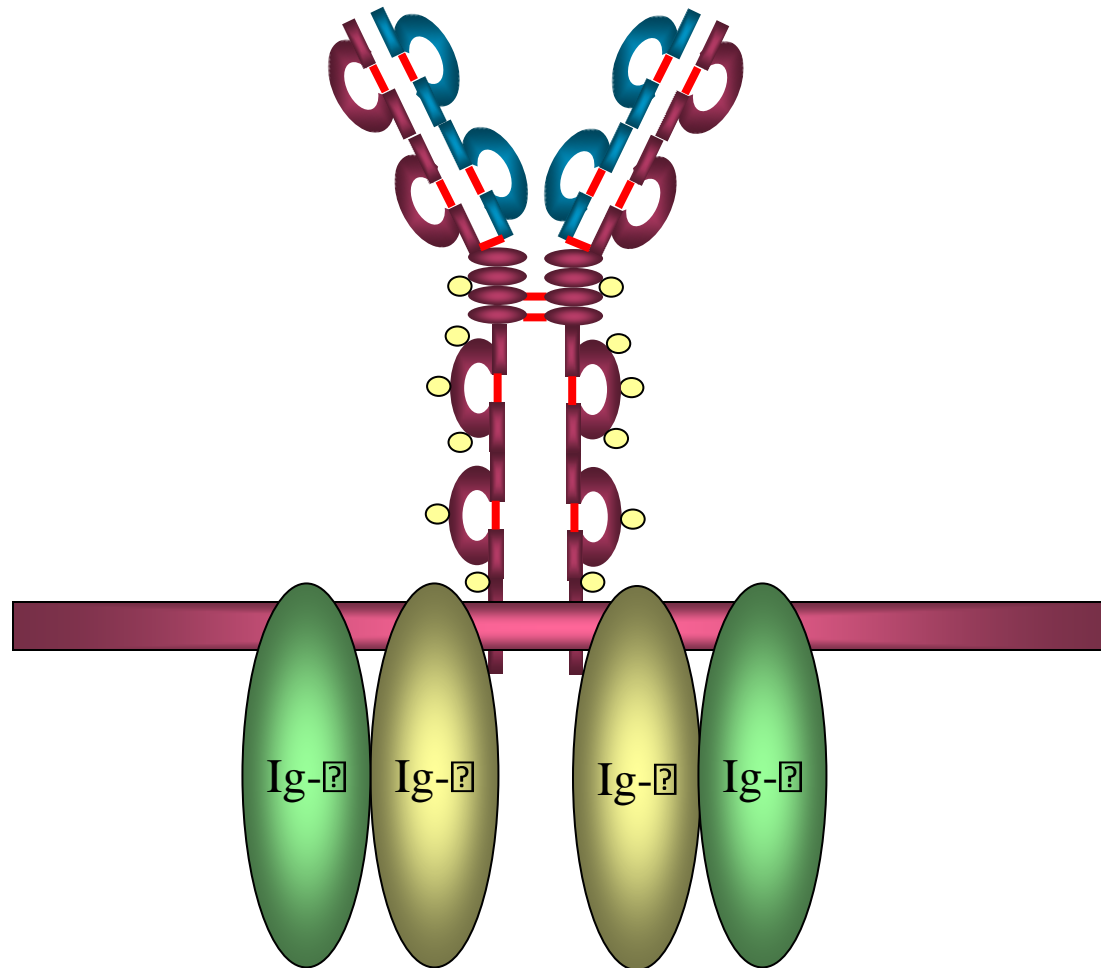
Efficient at fixing complement

Μονομερής IgM

- $\mu 2\kappa 2$ ή $\mu 2\lambda 2$
- Αποτελεί την κύρια ανοσοσφαιρίνη – υποδοχέα στη μεμβράνη των Β-λεμφοκυττάρων
 - 40 α.α περισσότερα
- Μικρά ποσά στον ορό
- Έχει μικρή affinity για το Ag
- Αυξάνει σε ασθενείς με μακροσφαιριναιμία Waldstrom και αυτοάνοσα νοσήματα



B Cell Antigen Receptor (BcR)

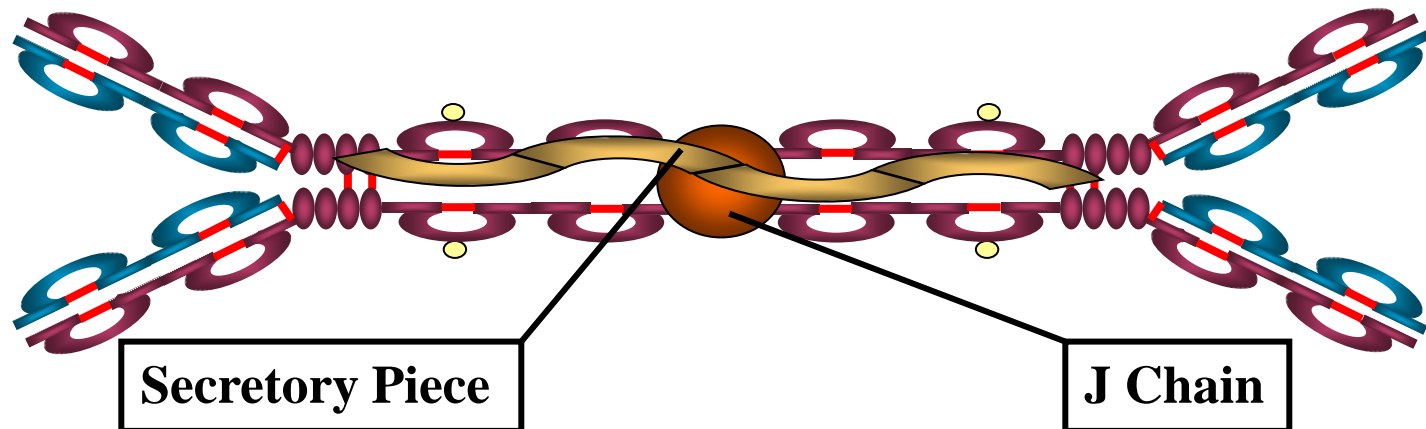


IgM

Βαριά αλυσίδα:	μ
Χρόνος ημίσειας ζωής:	5 με 10 μέρες
% των Ig του ορού:	0.25 - 3.1
Συγκέντρωση ορού:	150mg/dl
Ενεργοποίηση συμπληρώματος	κλασσική οδός++++
Διαπλακουντιακή μεταφορά	ΟΧΙ
Affinity για το Ag	Μονομερής IgM – χαμηλή affinity valency:2 Πενταμερής IgM – υψηλή avidity valency of 10

IgA

- Δομή
 - Ορός - μονομερές
 - Εκκρίσεις- (sIgA)- Διμερές (11S)
 - J αλυσίδα
 - Εκκριτικός παράγοντας (Secretory component)



IgA

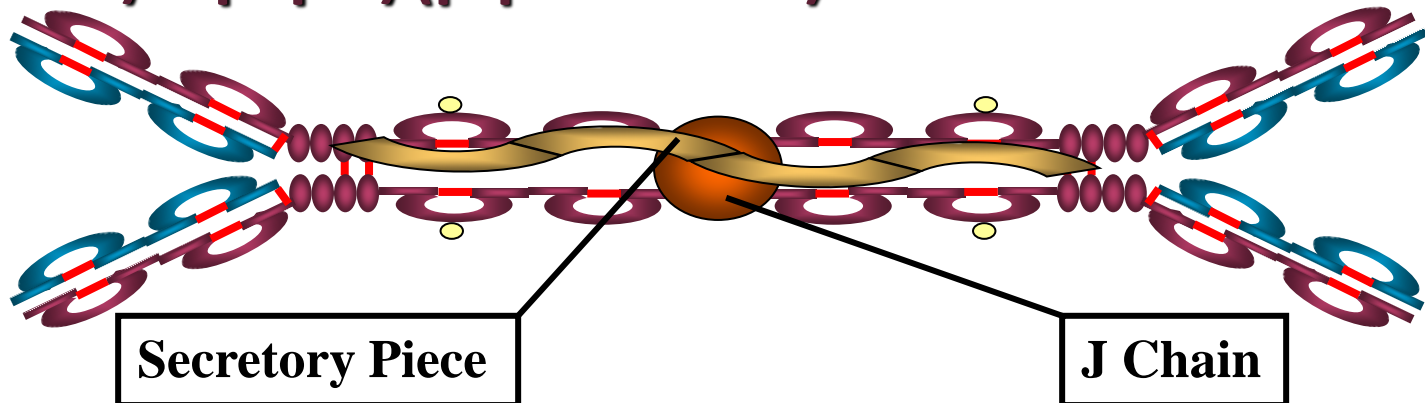
- **Δομή** : $\alpha_2\kappa_2$ ή $\alpha_2\lambda_2$
- **M.W.** :160.000(7S)
- **Υδατάνθρακας** :7%
- **Περιοχές**:
 - VH, Ca1, Ca2, Ca3
 -
- **Συγκέντρωση**: 250mg/dl
- **Παραγωγή**: 22mg/dl, χρ.ημ.ζωής 5 μέρες
- **Υποτάξεις**: α_1 , α_2
- **Αλλότυποι**:
 - $\alpha_2m(1)$ → όχι -S-S- δεσμό μεταξύ των H αλυσίδων
 - $\alpha_2m(2)$
-

IgA-ορού

- **Περιοχή αρμού(IgA1) :**
 - 26 α.α, συγκεκριμένη αλληλουχία, πλούσια σε μόρια προλίνης→ευαίσθητη σε πρωτεολυτικά ένζυμα βακτηρίων→ διάσπαση →απώλεια βιολογικής δράσης
- **Περιοχή αρμού (IgA2) :**
 - 13 α.α., ανθεκτικός στις πρωτεάσες
- **IgA1 : 80-90%** της IgA του ορού
IgA2 :10-20% της IgA του ορού

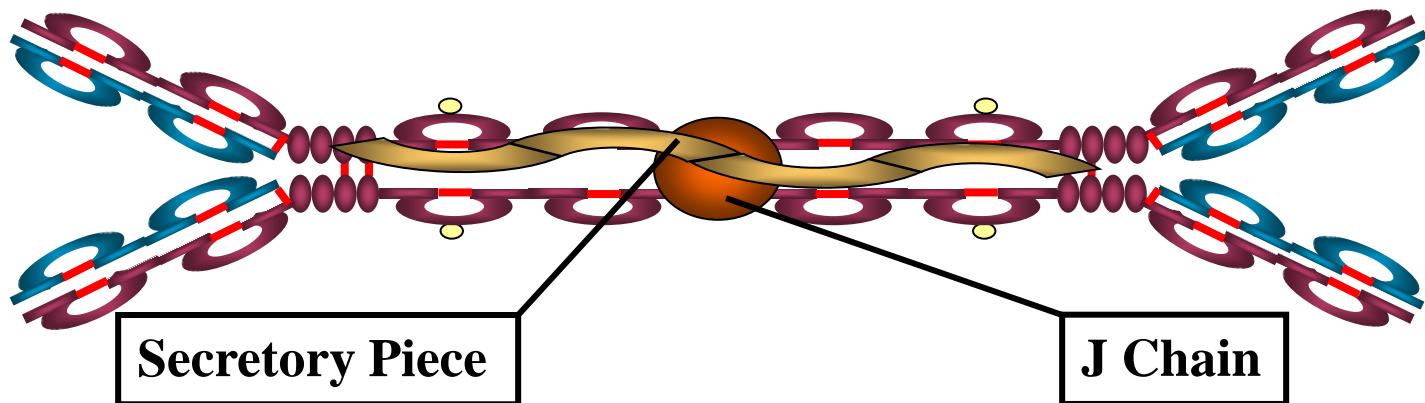
Εκκριτική IgA

- Κύρια Igs των εξωτερικών εκκρίσεων:
 - σίελος
 - δάκρυα
 - εκκρίσεις εντερικού βλεννογόνου
 - τραχεοβρογχικές εκκρίσεις κ.λ.π
- Πάντοτε ως διμερές (μ.β.405.000)



Εκκριτική IgA

- Αλυσίδα j : Σύνδεση των 2 υπομονάδων(-s-s-)
- Εκκριτικός παράγοντας:
 - Προστατεύει την IgA από πρωτεολυτικά ένζυμα (μ.β.71.000, 9%υδατάνθρακα)
 - Παράγεται από κύτταρα του εκκριτικού επιθηλίου



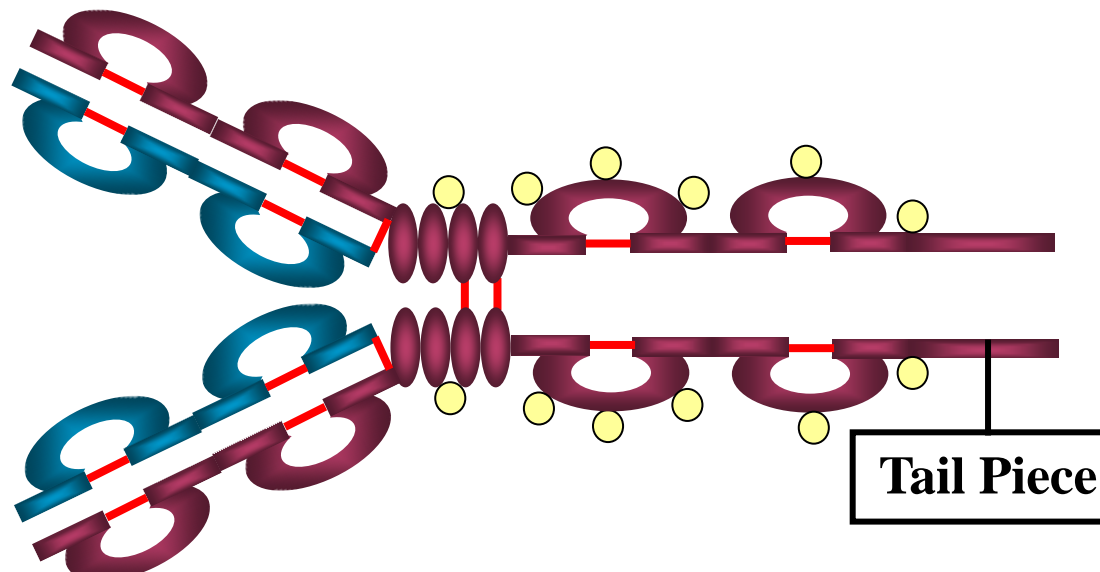
IgA

Βαριά αλυσίδα	A1 ή α2
Χρόνος ημίσειας ζωής	IgA1 : 5 - 7 μέρες IgA2 : 4 - 6 μέρες
% των ανοσοσφαιρινών του ορού	IgA1 : 11 - 14 IgA2 : 1 - 4
Συγκέντρωση ορού	350mg/ml
Ενεργοποίηση συμπληρώματος	IgA1 : Ε.Ο και λεκτίνης IgA2 : No
Δράση με άλλα κύτταρα	Επιθηλιακά κύτταρα : pIgR Φαγοκύτταρα : FcαR
Διαπλακουντιακή μεταφορά	ΟΧΙ

IgD

- Δομή : δ2κ2 ή δ2λ2
- Μ.Β.: 180.000(7S)
- Υδατάνθρακας :12%
- Συγκέντρωση 3mg/dl
- Χ.Η.Ζ.:3 μέρες
- Ημερήσια παρ. : 0,4 mg

- Περιοχές:
 - VH, CH1, CH2, CH3, CH4
- Θερμοευαίσθητη
- Διασπάται στους 4°C



IgD

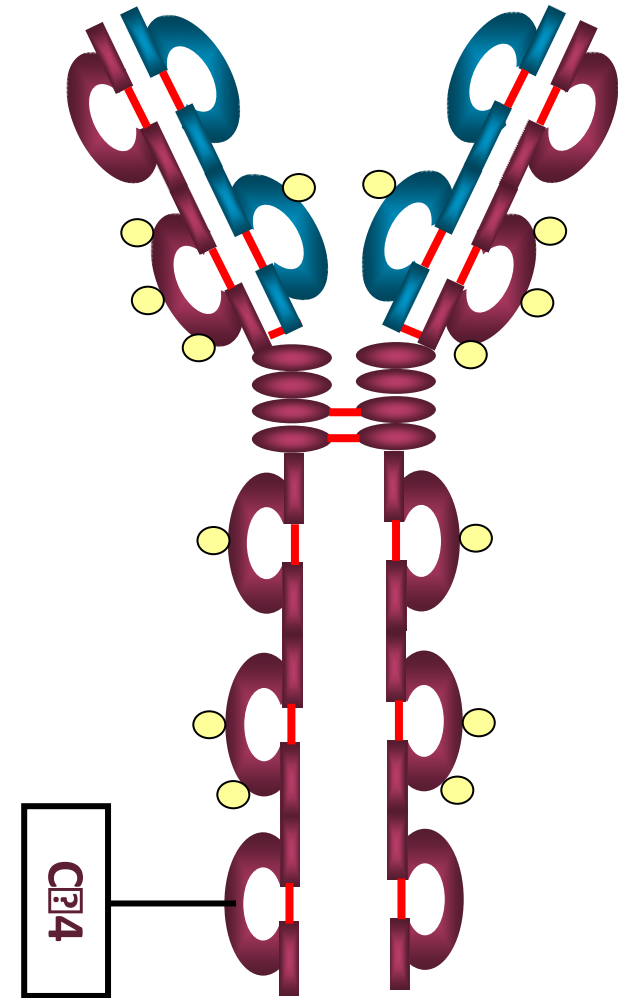
- Συνεκφράζεται με την **IgM** στα B λεμφοκύτταρα λόγω διαφορετικής επεξεργασίας του RNA
- Τα επίπεδα έκφρασης στο naïve B λεμφοκύτταρο υπερσχύουν της IgM
- Ο ρόλος της **IgD** στους αμυντικούς μηχανισμούς παραμένει άγνωστη
 - Η δέσμευση της IgD με αντιγόνο μπορεί να **ενεργοποιήσει**, να **απαλείψει** ή να οδηγήσει σε **ανεργία** το B λεμφοκύτταρο
- Εκτεταμένη περιοχή αρμού την καθιστά ευαίσθητη σε πρωτεολυτική αποικοδόμηση

IgD

Βαριά αλυσίδα	δ
Χρόνος ημίσειας ζωής	2-8 μέρες
% των ανοσοσφαιρινών του ορού	0,2
Συγκέντρωση ορού	ίχνη
Ενεργοποίηση συμπληρώματος	ΟΧΙ
Δράση με άλλα κύτταρα	T cells via lectin like IgD receptor
Διαπλακουντιακή μεταφορά	ΟΧΙ

IgE

- Δομή: ε2κ2 ή ε2λ2
- Μ.Β.:190.000 (8S)
- Υδατάνθρακας:12%
- Συγκέντρωση: 0,01mg/dl
- Θερμοευαίσθητη
 - χάνει τη βιολογική δράση στους 4°C
- Περιοχές: VH, CH1, CH2, CH3, CH4



IgE

- **Ιδιότητες**

- **Τελευταία σε συγκέντρωση Ig του ορού**

- **Παρασιτικές λοιμώξεις (Ελμινθες)**

- **Δεσμεύεται σε Fc (FceRI) υποδοχείς των ηωσινοφίλων**

- **Αλλεργικές αντιδράσεις**

- **Δεσμεύεται σε βασεόφιλα και mast κύτταρα → FceRI (Δεν απαιτεί δέσμευση σε Ag)**

- **Δεν δεσμεύει το συμπλήρωμα**

IgE

Βαριά αλυσίδα	
Χρόνος ημίσειας ζωής	1 - 5 days
% των ανοσοσφαιρινών του ορού	0.004
Συγκέντρωση ορού	5mg/ml
Ενεργοποίηση συμπληρώματος	ΟΧΙ
Δράση με άλλα κύτταρα	<ul style="list-style-type: none">• high affinity IgE receptors που εκφράζονται στα βασεόφιλλα, mast και ηωσινόφιλα• Low affinity IgE receptors στα B και μονοκύτταρα
Διαπλακουντιακή μεταφορά	ΟΧΙ

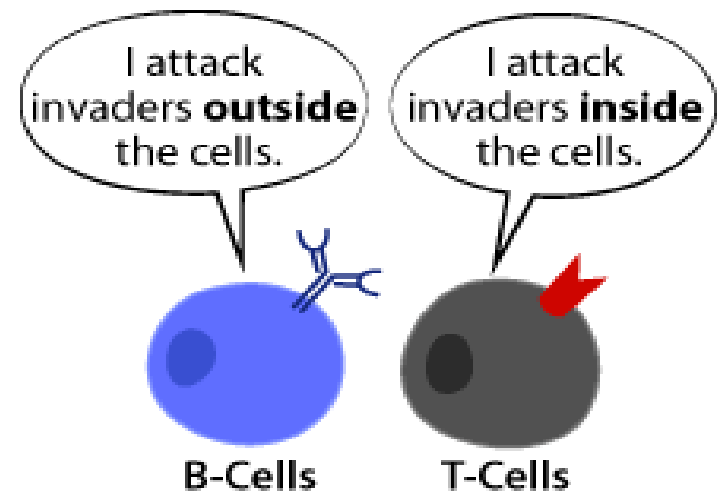
ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

1. Εξουδετέρωση μικροβίων και τοξινών

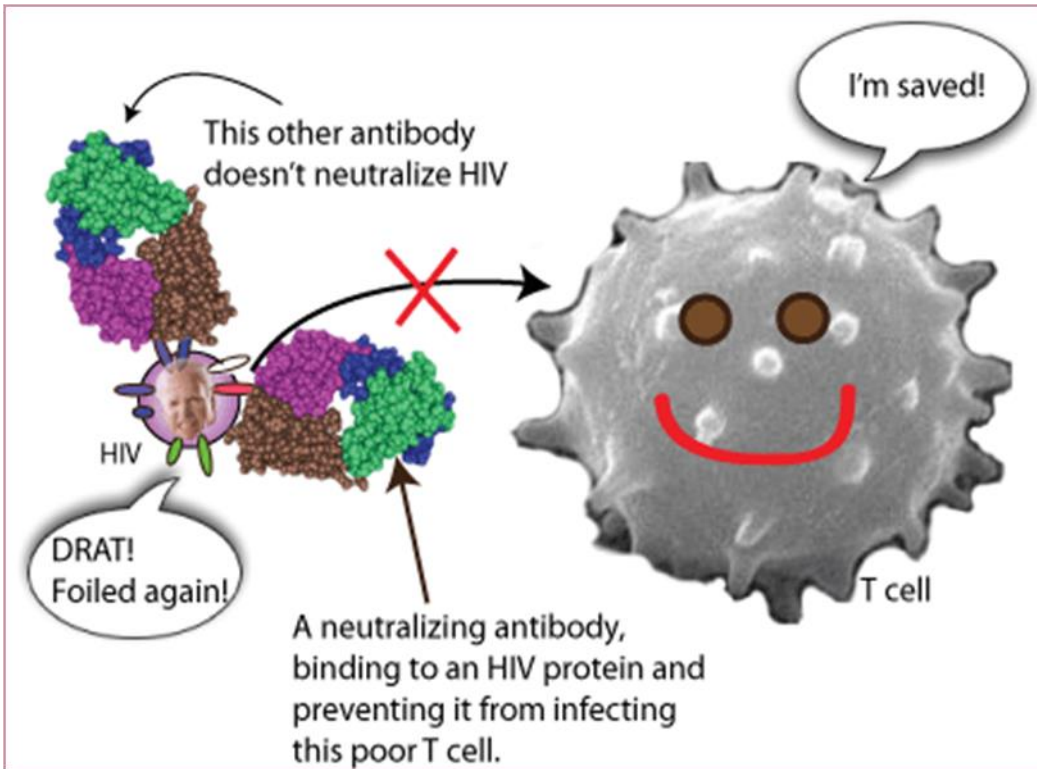
- Τα αντισώματα αναστέλλουν τη δέσμευση των μικροβίων και των τοξινών στα κύτταρα στόχους

Εξουδετερώνουν τη μολυσματικότητα των μικροβίων ή την τοξική δράση των τοξινών

Εξουδετερωτικά αντισώματα

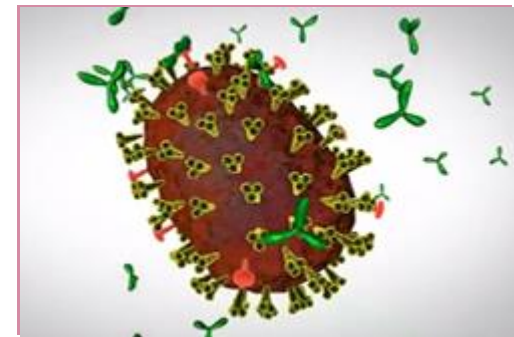


Εξουδετέρωση μικροβίων



1. Δέσμευση στους υποδοχείς

Influenzae virus - hemagglutinin
Gram negative - pilli



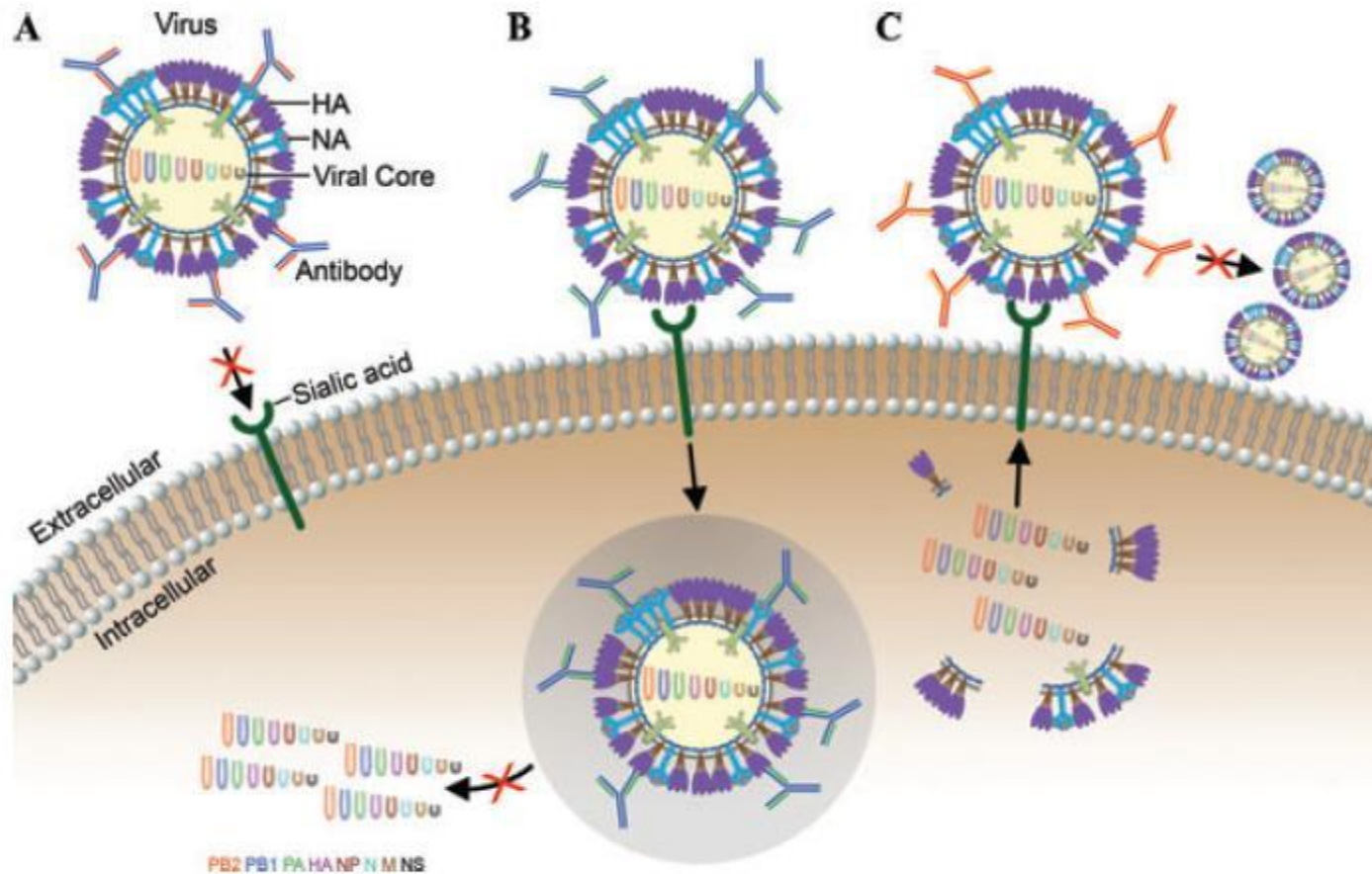
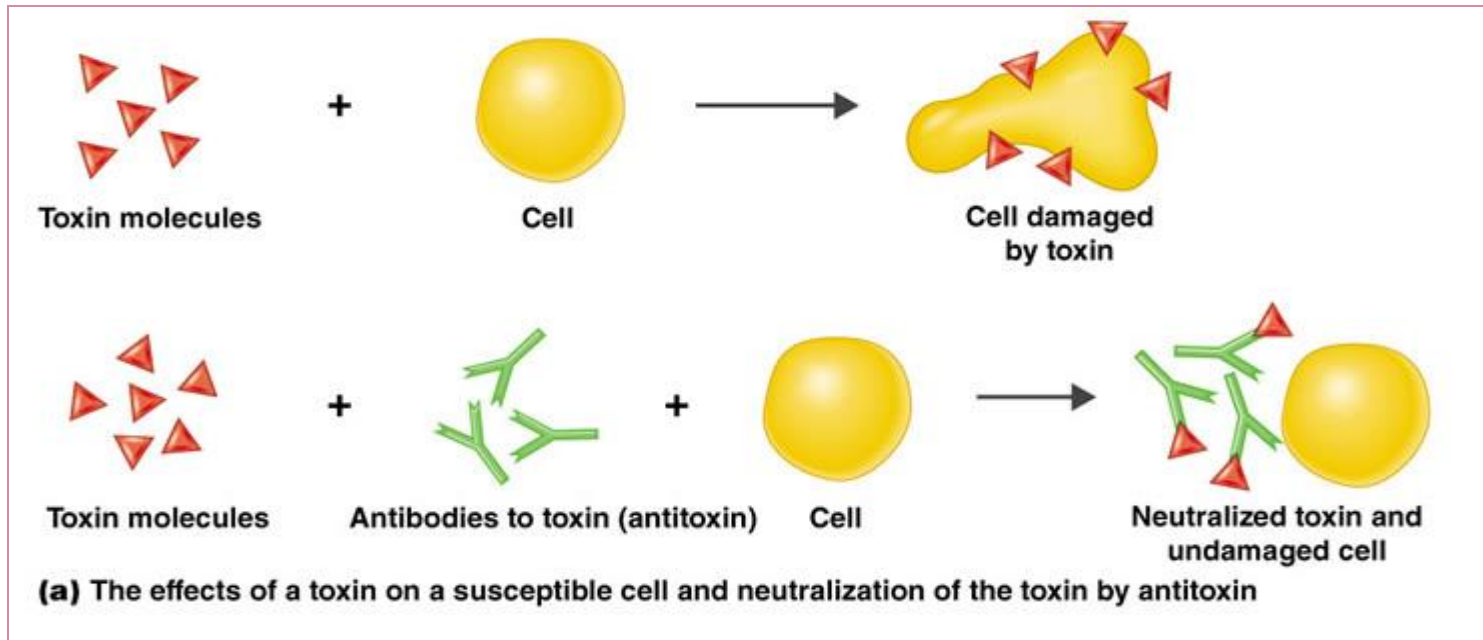


Figure 1. Mechanisms of antibody-mediated neutralization of the influenza virus. (A) Antibodies can block influenza HA1 glycoprotein binding to sialic acid residues of receptor proteins on host cells. (B) Antibodies specific to the HA2 glycoprotein of the virus can inhibit its low-pH triggered fusion activity in the endosome at the postbinding/prefusion stage, which inhibits replication of the virus. (C) Antibodies to surface neuraminidase can prevent the release of influenza virions from the infected cell surface.

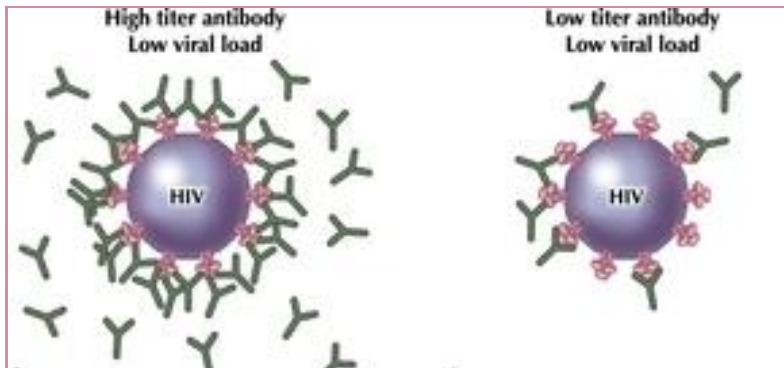
Εξουδετέρωση τοξινών



- Δέσμευση στους υποδοχείς τοξινών
- Τοξίνη τετάνου- υποδοχείς στους κινητικούς νευρώνες
- Τοξίνη διφθερίτιδας- αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης

Εξουδετέρωση μικροβίων και τοξινών

- Συμμετέχει μόνο το **antigen-binding** τμήμα
 - Από **όλους** τους ισότυπους
 - Στην κυκλοφορία : **IgG**
 - Στους βλεννογόνους: **IgA**
- Τα πιο **ισχυρά εξουδετερωτικά** είναι τα αντισώματα με **υψηλή affinity**

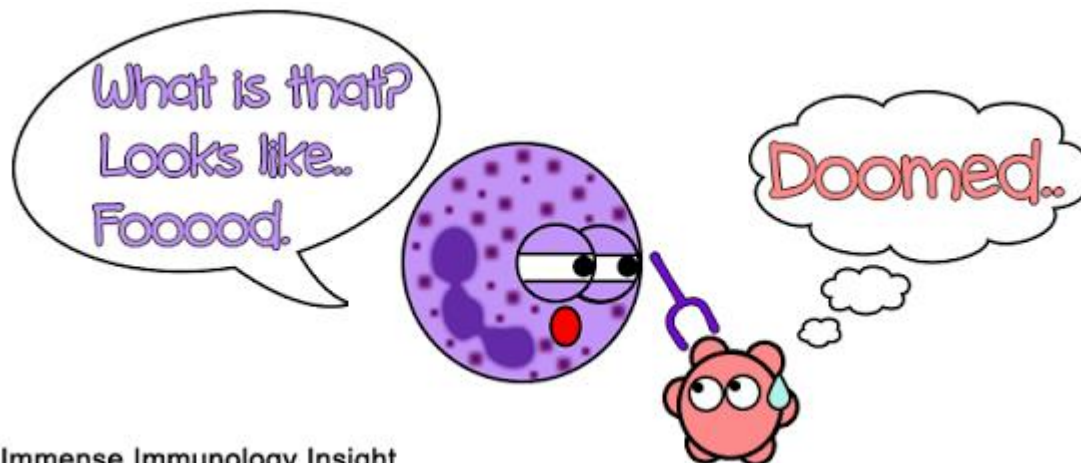


**Τρόπος δράσης πολλών
εμβολίων**

2. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΟΨΩΝΙΝΟΠΟΙΗΣΗ

Οψωνινοποίηση

- Τα αντισώματα της τάξης **IgG** καλύπτουν τα μικρόβια και επάγουν τη φαγοκυττάρωση τους
 - **Fc τμήμα**
- **Ενίσχυση** της φαγοκυττάρωσης που γίνεται και στη **φυσική ανοσία**



Οψωνινοποίηση

- Τα φαγοκύτταρα έχουν υποδοχείς (Fc) για το Fc κλάσμα των Igs
 - IgG1 και IgG3 δεσμεύονται καλύτερα
- Οι Fc υποδοχείς μετά τη δέσμευση με το Fc τμήμα των abs μεταδίδουν σήματα ενεργοποίησης των φαγοκυττάρων
- Οι Fc υποδοχείς εκφράζονται σε πολλά είδη κυττάρων και επιτελούν σημαντικές λειτουργίες

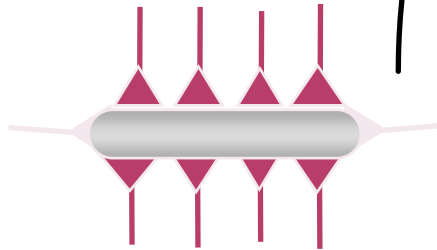
Οψωνινοποίηση

OPSONISATION

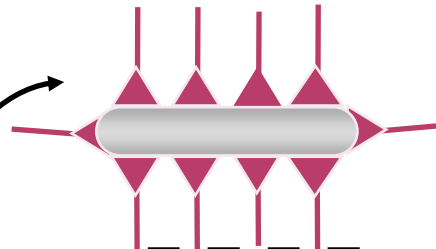
Βακτήριο στον εξωκυττάριο χώρο



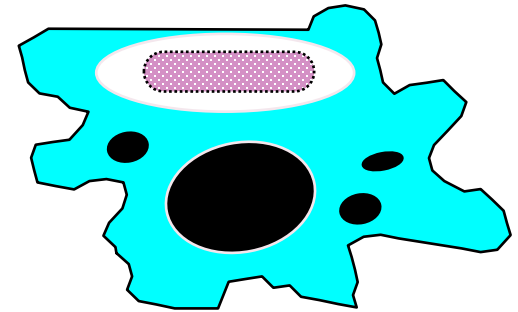
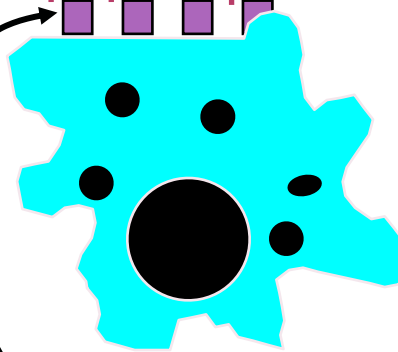
+



Οψωνινοποίηση



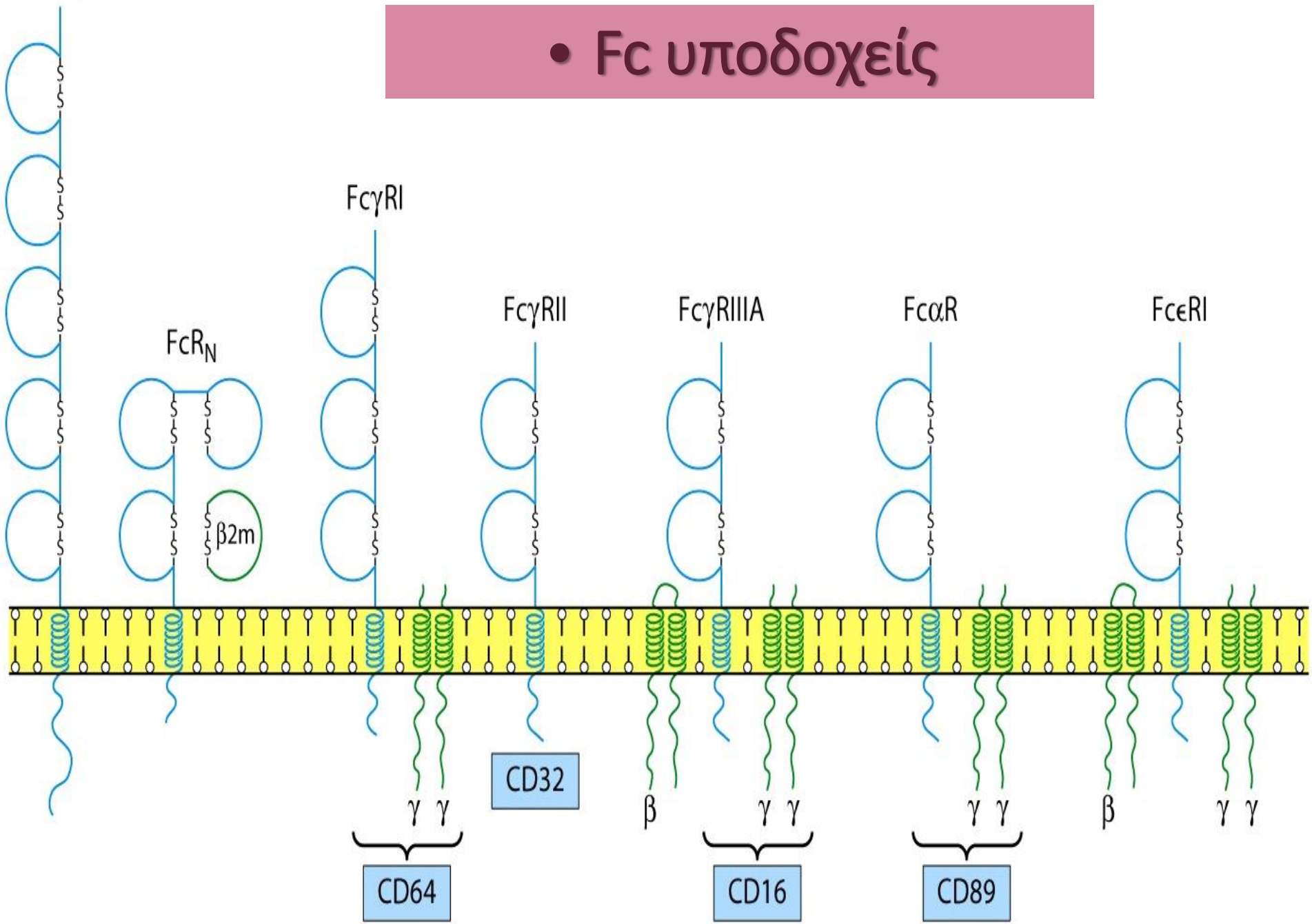
Δέσμευση στον Fc υποδοχέα



Φαγοκυττάρωση

Poly IgR

• Fc υποδοχείς



Fc γ RI

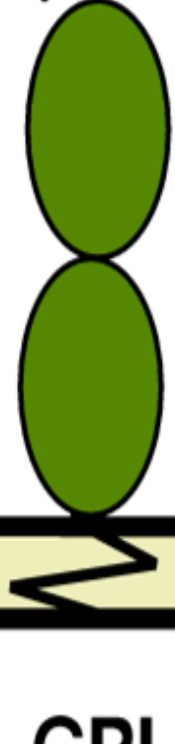
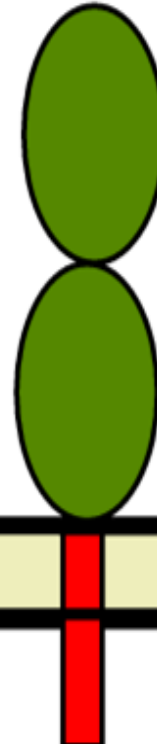
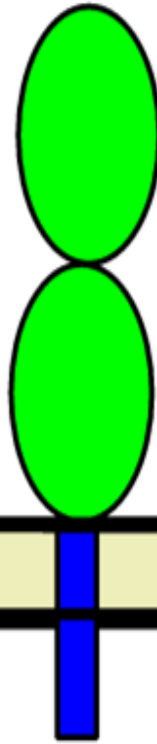
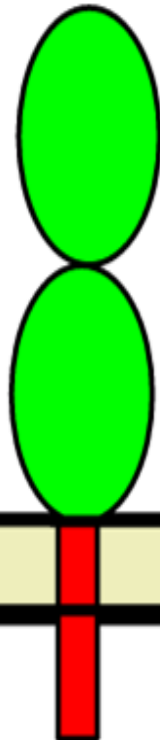
Fc γ υποδοχείς

Fc γ RIIa

Fc γ RIIb

Fc γ RIIIa

Fc γ RIIIb



ITAM

ITAM

ITIM

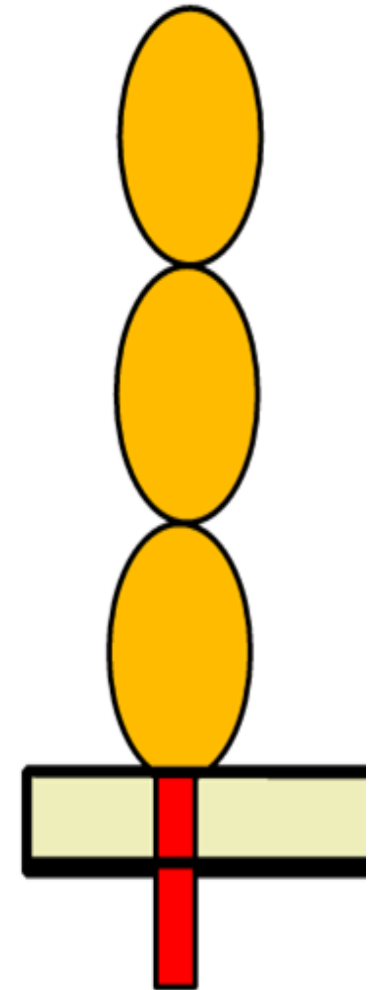
ITAM

GPI

FcγRI

FcγRI

- Ανήκει στην **υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών**:
 - **εξωκυττάριας** επικράτειας ομόλογες των V περιοχών των ανοσοσφαιρινών, 3 ανοσοσφαιρινοειδείς επικράτειες
- Η υπομονάδα που δεσμεύεται στην **IgG** είναι μια **πρωτεΐνη 40 kd**
- Δέσμευση με την **IgG1** και **IgG3** με **μεγάλη affinity** (και μονομερή)

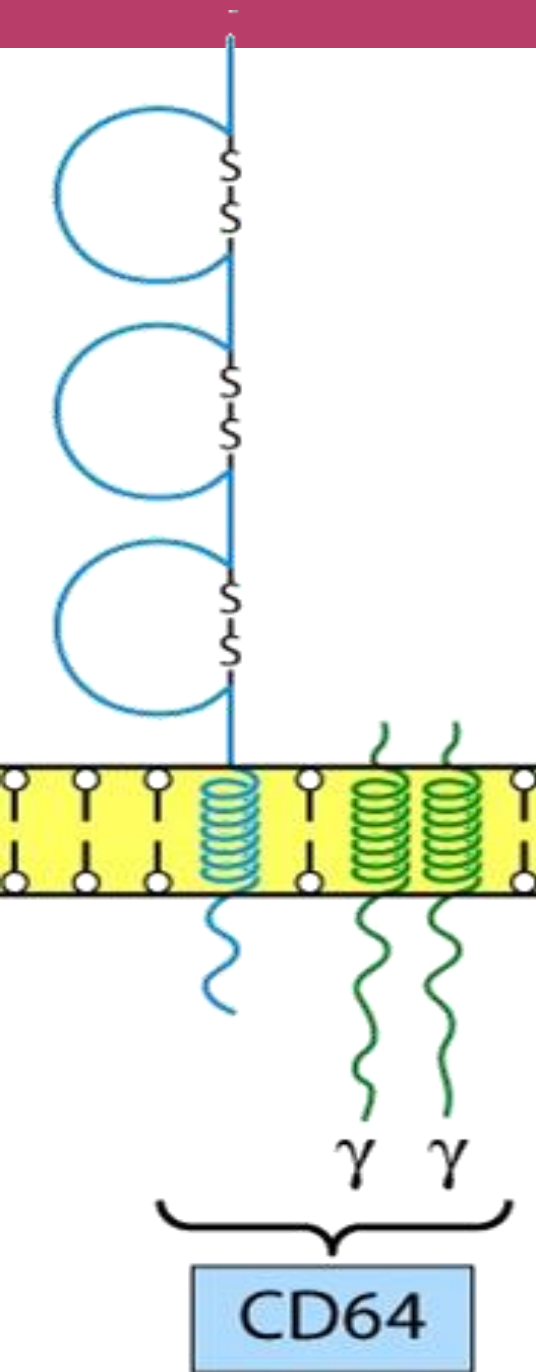


- **High affinity receptor**

ITAM

FcγRI

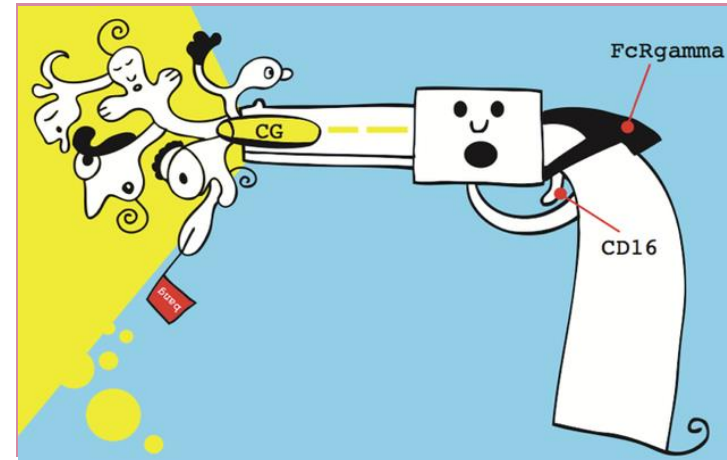
- Η έκφραση του FcγRI υποδοχέα εξαρτάται από την αλυσίδα γ
 - 7 kd
 - Μοιάζει με την ζ αλυσίδα του TCR
- Περιέχει ειδικές περιοχές μετάδοσης σήματος: immunoreceptor tyrosine activation motifs(ITAMS)
- Εκφράζεται μόνο σε διεγερμένα μακροφάγα



Οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση

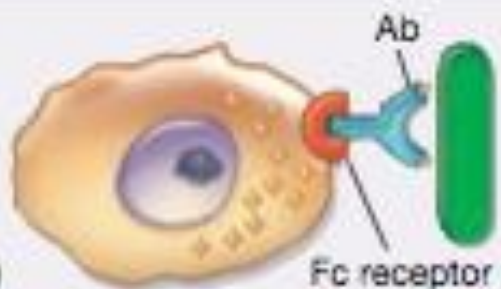
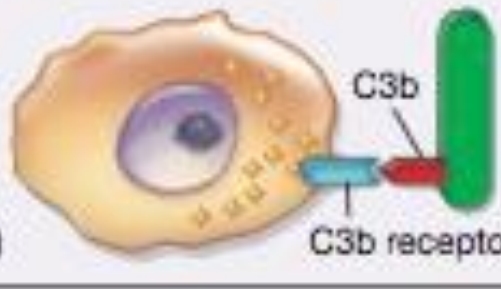

- Η δέσμευση των οψωνινοποιημένων σωματιδίων με τον **FcγRI** υποδοχέα σηματοδοτεί την ενεργοποίηση του φαγοκυττάρου
- Παραγωγή **οξειδάσης**, η οποία καταλύει την παραγωγή **δραστικών ριζών οξυγόνου**
 - Κυτταροτοξική για τα φαγοκυτταρωμένα βακτήρια
- **Υδρολυτικά ένζυμα** και δραστικές ρίζες οξυγόνου **εξωκυττάρια**
 - Δραστικά σε εξωκυττάρια βακτήρια
 - Βλάβη ιστών: υπερευαισθησία

Οψωνινοποίηση



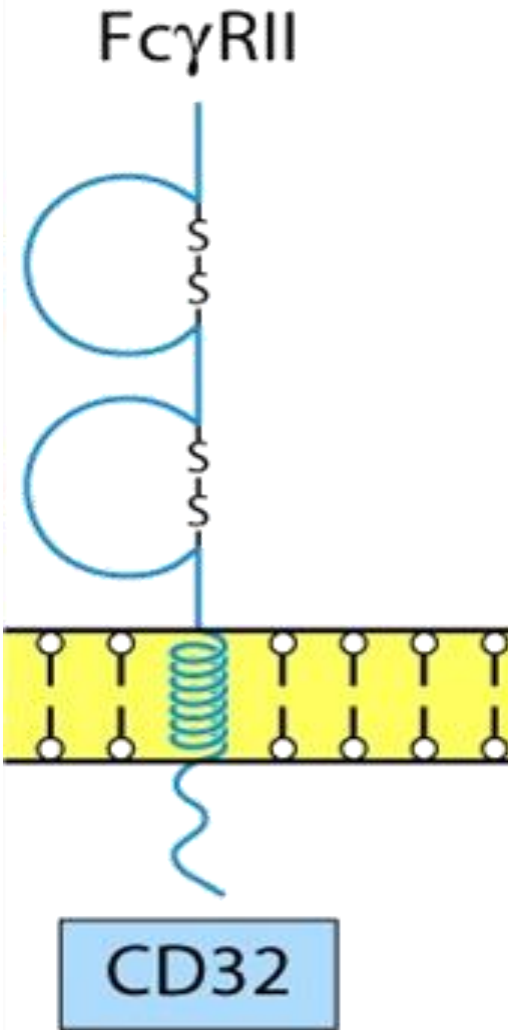
- Κύριος μηχανισμός άμυνας σε λοιμώξεις με ελυτροφόρα βακτήρια
 - Το πολυσακχαριδικό έλυτρο προστατεύει από τη φαγοκυττάρωση απουσία abs
 - Η οψωνινοποίηση ενισχύει τη φαγοκυττάρωση
 - Άτομα με σπληνεκτομή αυξημένες λοιμώξεις με ελυτροφόρα βακτήρια

Οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση

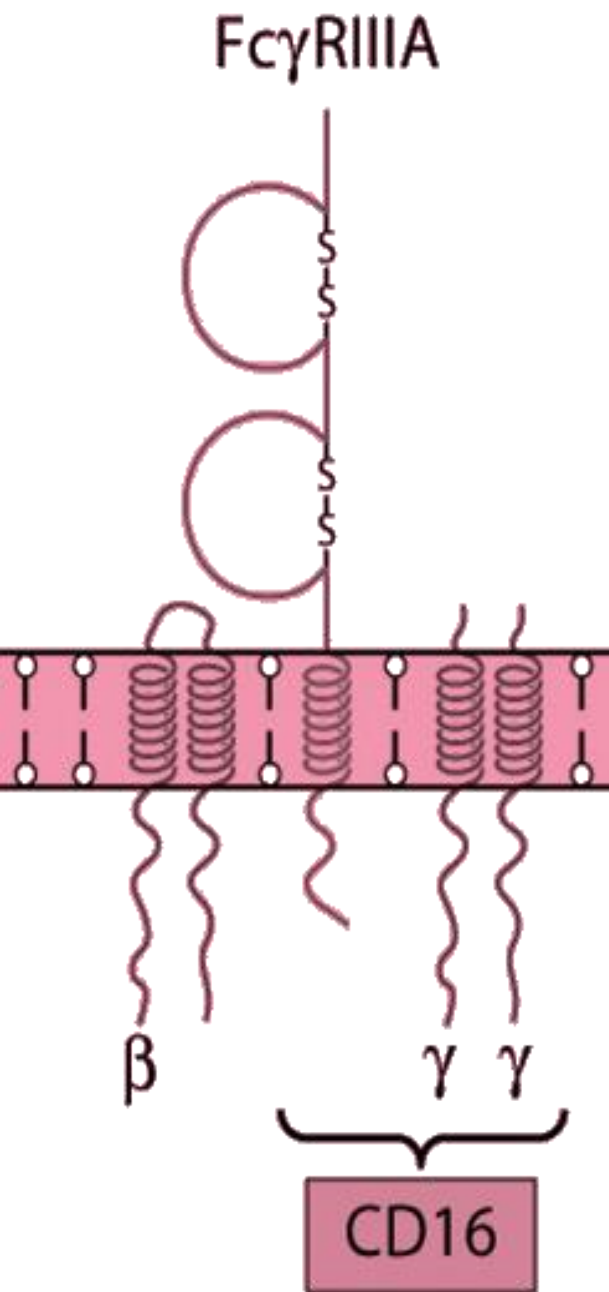
Phagocytic cell	Degree of binding	Opsonin
 <p>(a)</p>	+	Antibody
 <p>(b)</p>	++	Complement C3b
 <p>(c)</p>	++++	Antibody and complement C3b

Ισχυρότερη
σύνδεση
 $Ab+C3b > C3b > Ab$

FcγRII



- Δύο ανοσοσφαιρινοειδείς επικράτειες
- Δεσμεύεται στην IgG1 και IgG3 με χαμηλή affinity : μόνο με ανοσοσυμπλέγματα και οψωνινοποιημένα βακτήρια
- **FcγRIIA** : εκφράζεται σε φαγοκύτταρα και συμμετέχει στη φαγοκυττάρωση
- **FcγRIIB** : εκφράζεται αποκλειστικά στα λεμφοκύτταρα, κυρίως B



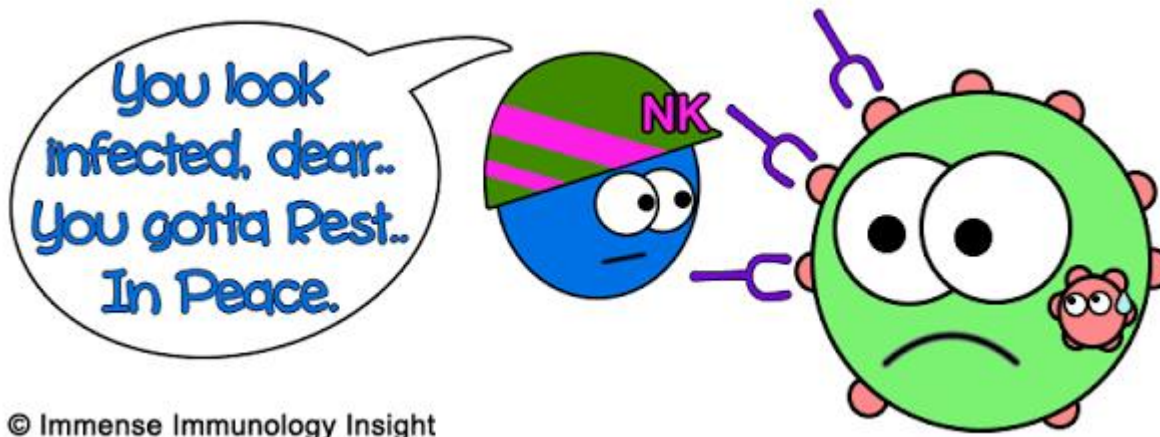
FcγRIII

- Όμοιος με τον FcγRII
- **FcγRIII A:**
 - Εκφράζεται στα **NK** κύτταρα
 - Συμετέχει στην **ADCC**
- **FcγRIII B:**
 - Εκφράζεται στα **ουδετερόφιλα**
 - Συμετέχει στη **φαγοκυττάρωση** και τη **διέγερση των ουδετεροφίλων**

3. ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟ-ΕΞΑΡΤΩΜΕΝΗ ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Αντισωματο-εξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα (ADCC)

- Τα NK και άλλα κύτταρα δεσμεύονται μέσω υποδοχέα στα Fc τμήματα των αντισωμάτων που έχουν επικαλύψει βακτήρια
 - NK κύτταρα : μέσω του FcγRIII

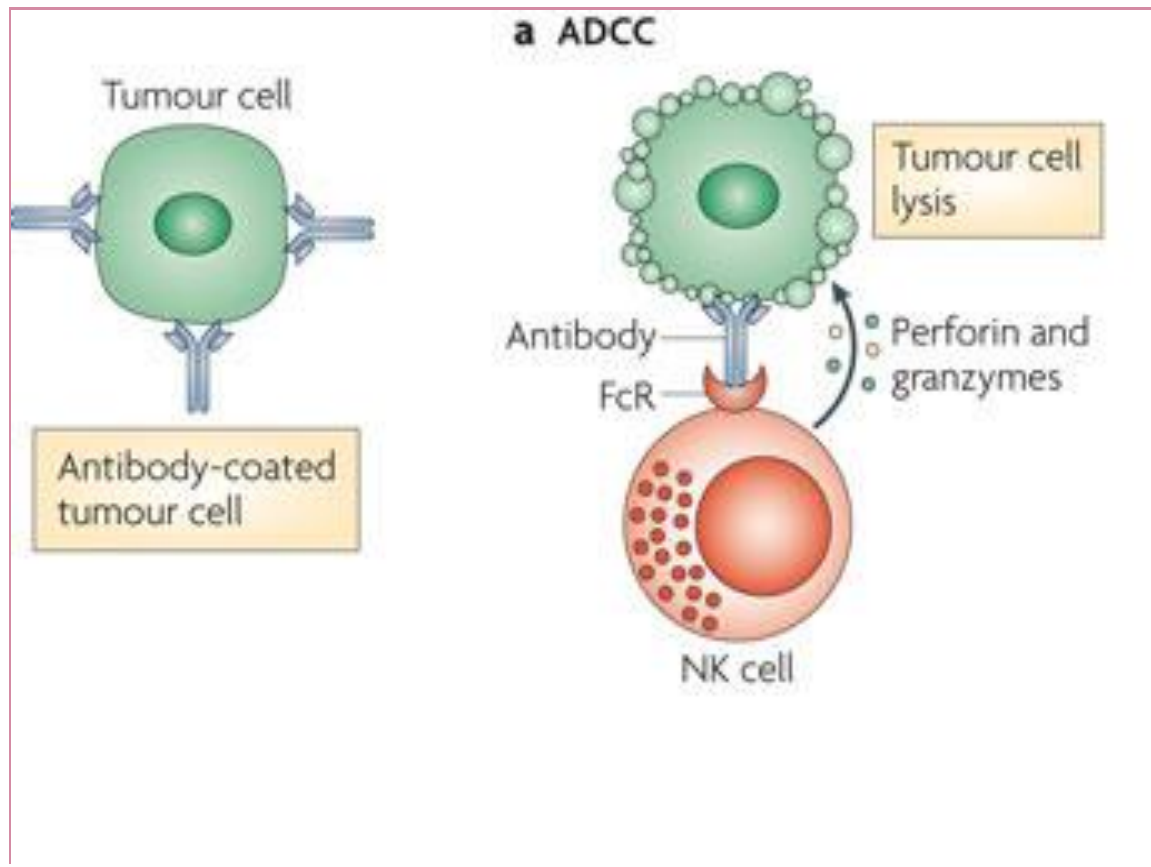


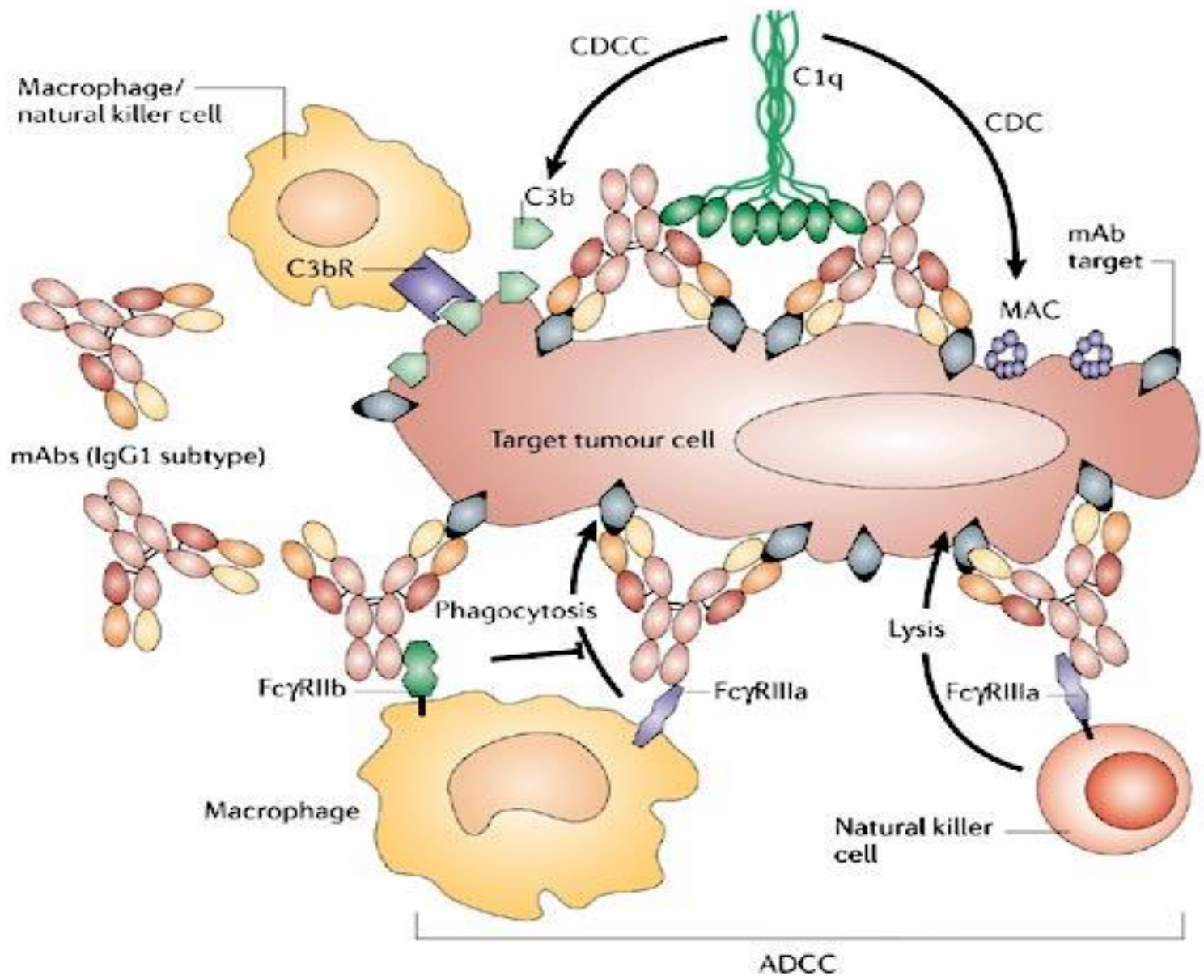
- Επειδή ο FcγRIII υποδοχέας είναι low-affinity, δεν δεσμεύεται με την μονομερή IgG του ορού αλλά μόνο με IgG ανοσοσυμπλέγματα

Αντισωματο-εξαρτώμενη κυτταροτοξικότητα (ADCC)

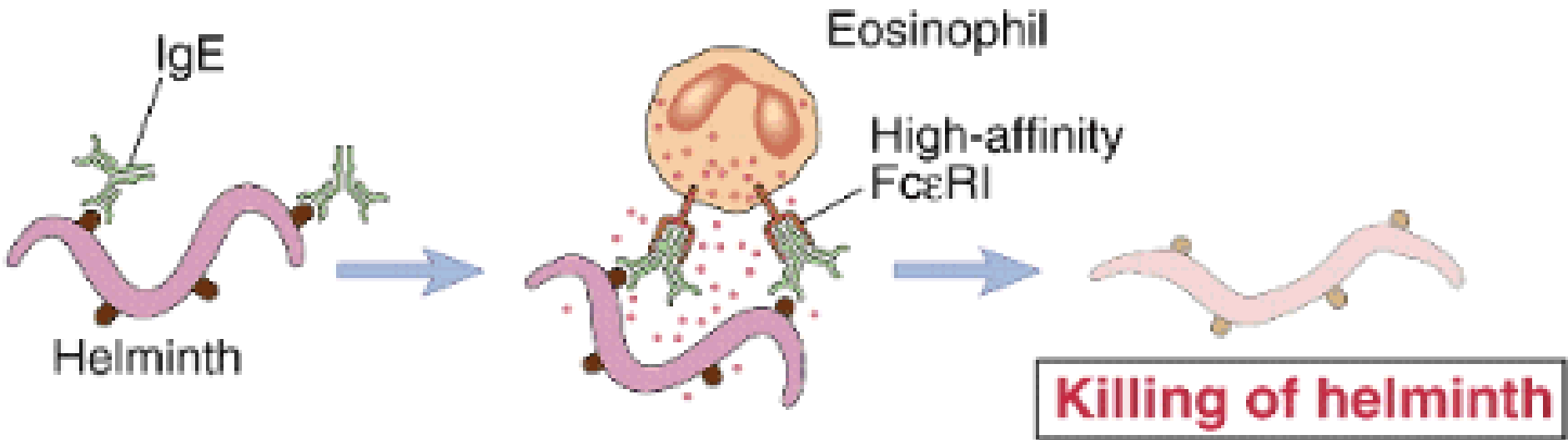
- Η σύνδεση του FcγRIII υποδοχέα με το Fc τμήμα του abs οδηγεί στην ενεργοποίηση του NK:
-
- **σύνθεση INF-γ**
 - φλεγμονώδης αντίδραση
- **απελευθέρωση ενζύμων**
 - perforin → κυτταρόλυση
 - Granzymes → απόπτωση

ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity



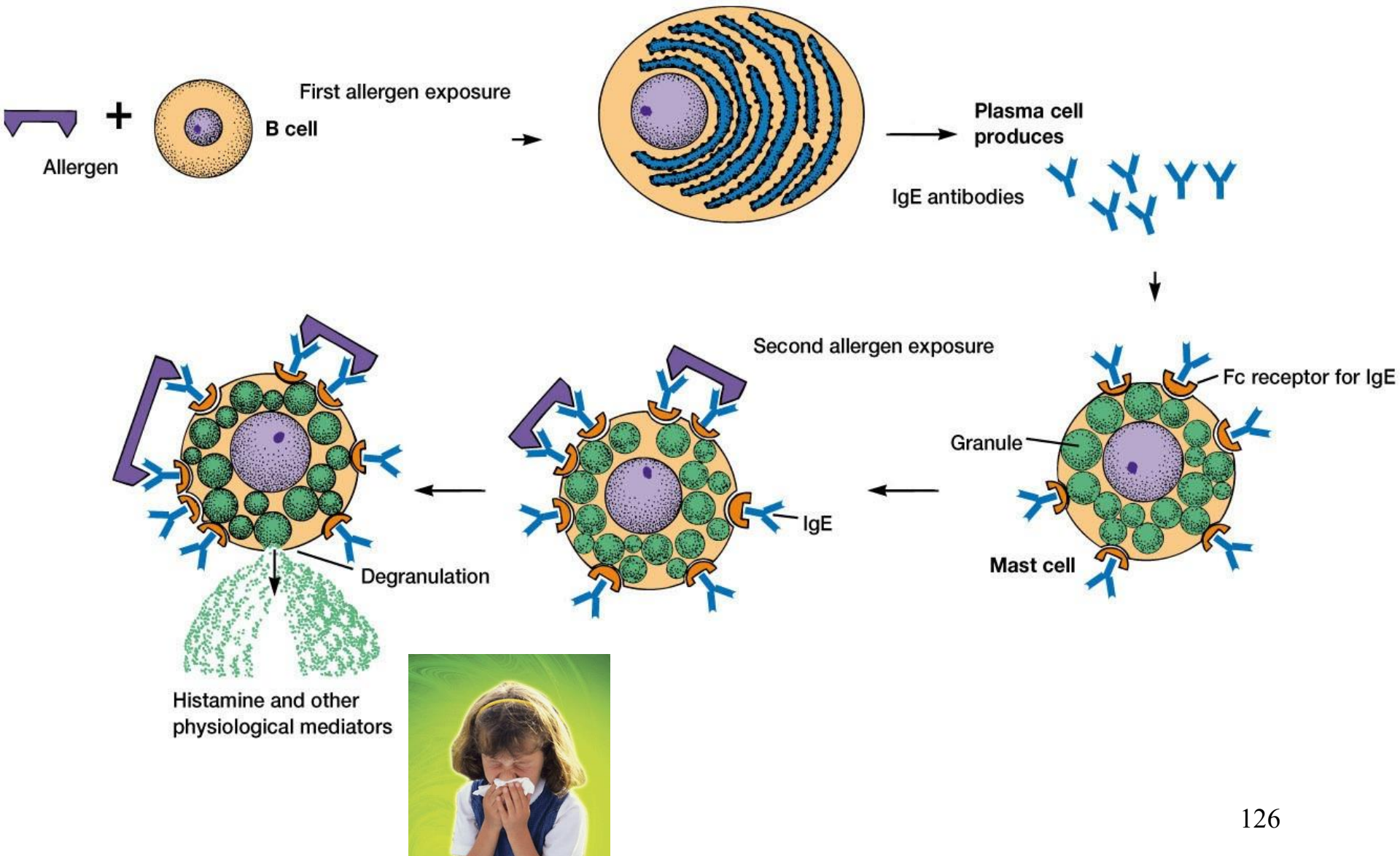


ADCC- μέσω της IgE

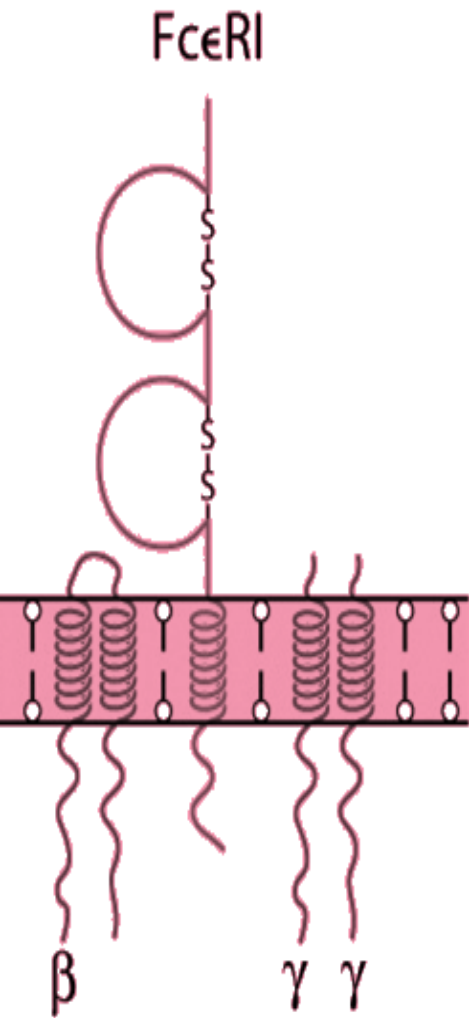


- Οι **έλμινθες** δεν μπορούν να φαγοκυτταρωθούν και είναι ανθεκτικοί στα βακτηριοκτόνα παράγωγα των φαγοκυττάρων
 - Καταστρέφονται από βασικές πρωτεΐνες των ηωσινοφίλων

Αλλεργικές αντιδράσεις

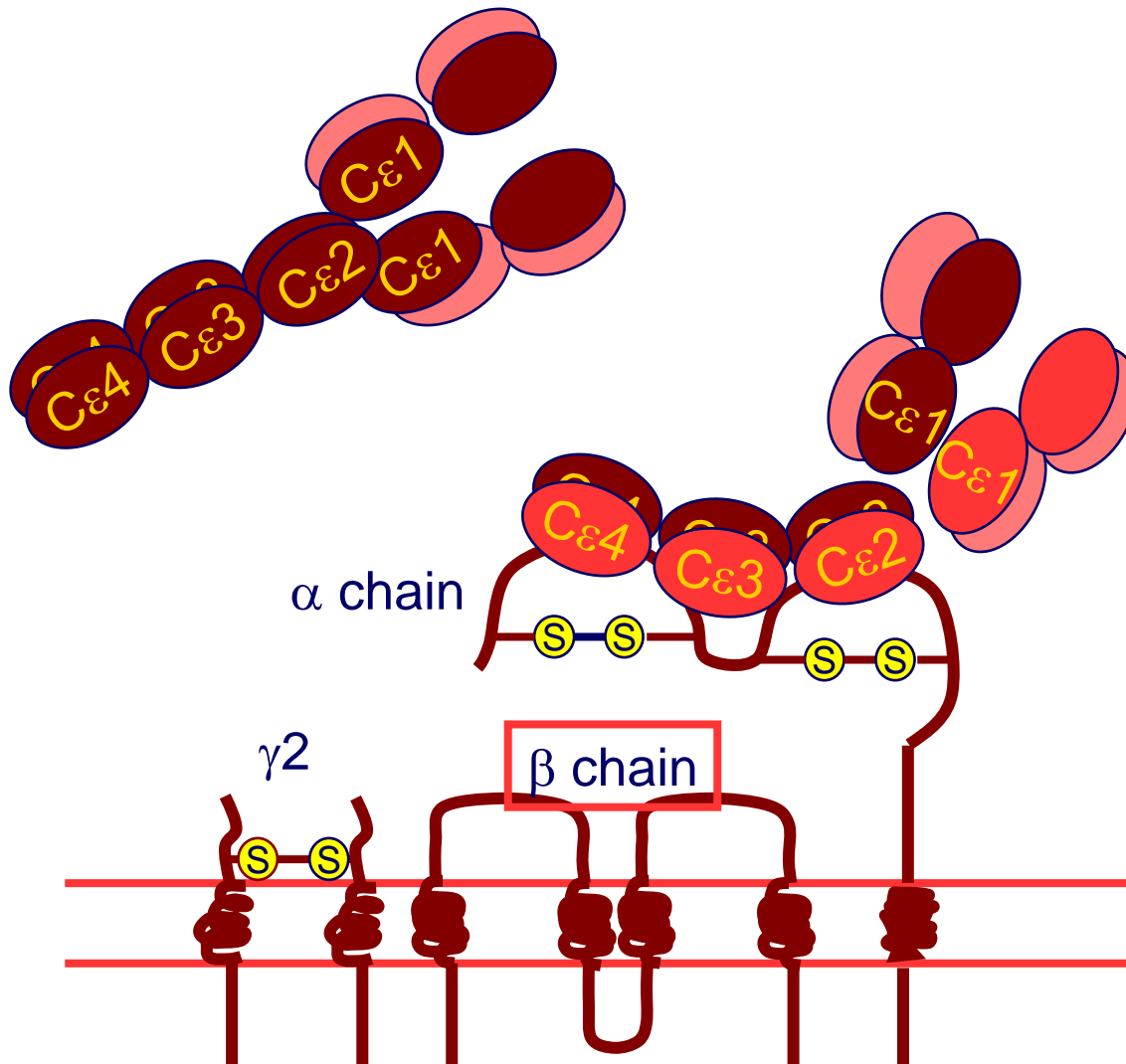


FcεRI-



- Υψηλής affinity
- Εκφράζεται σε βασεόφιλλα και mast κύτταρα και ηωσινόφιλα
- Αλυσίδα α και δύο αλυσίδες γ
- Η ενεργοποίηση-αποκοκκίωση των βασεοφίλων και mast κυττάρων προκαλείται μετά από την γεφύρωση των μορίων της IgE από αντιγόνα

The high affinity IgE receptor (FcεRI)



Η δέσμευση IgE - FcεRI έχει την **υψηλότερη affinity** από όλους τους Fc υποδοχείς

Η δέσμευση της IgE στον FcεRI αυξάνει το **χρόνο ημίσειας ζωής της IgE**

IgG

Σύνδεση με mast κύτταρα ινδοχοίρου (όχι ανθρώπου)

- 6. Σύνδεση με mast κύτταρα ινδοχοίρου (όχι ανθρώπου)
 - ➔ ευαισθητοποίηση
 - ➔ αφυλαξία

 ετεροκυτταροτροπικά αντισώματα

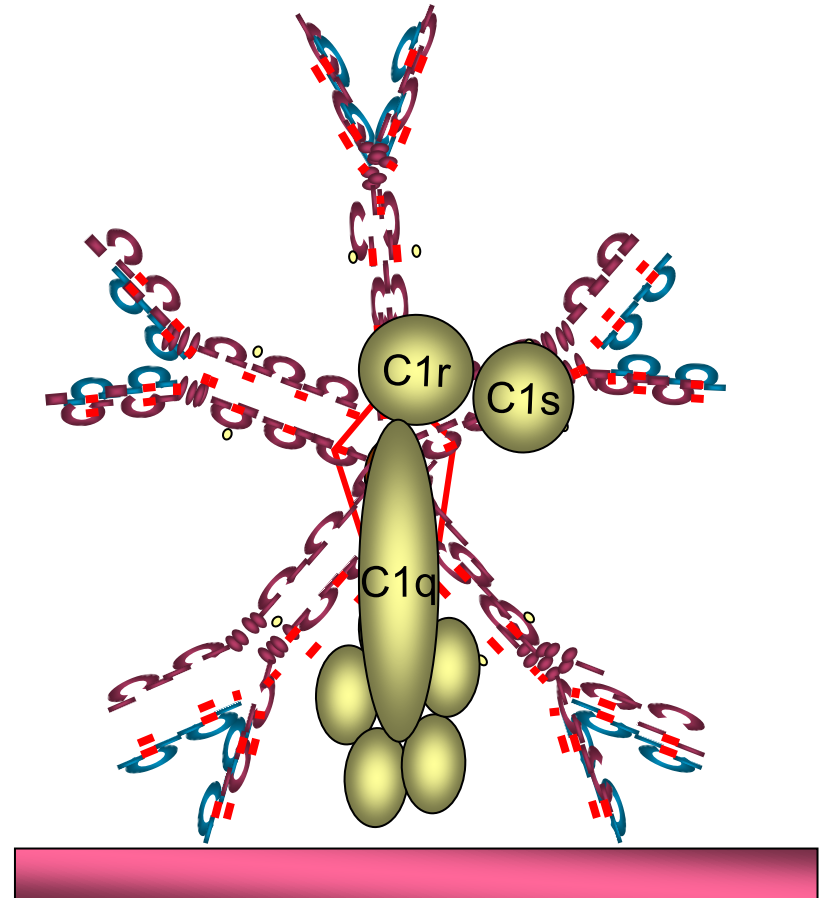
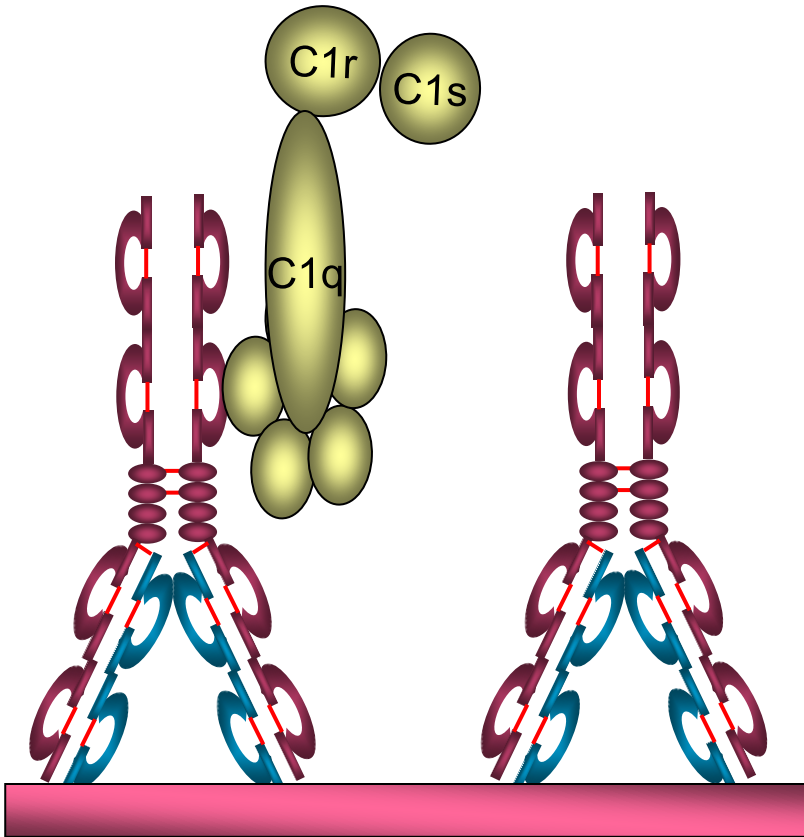
4. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΟΣ

Ενεργοποίηση συμπληρώματος

- Κλασική οδός

- IgM

- IgG Όχι η IgG4

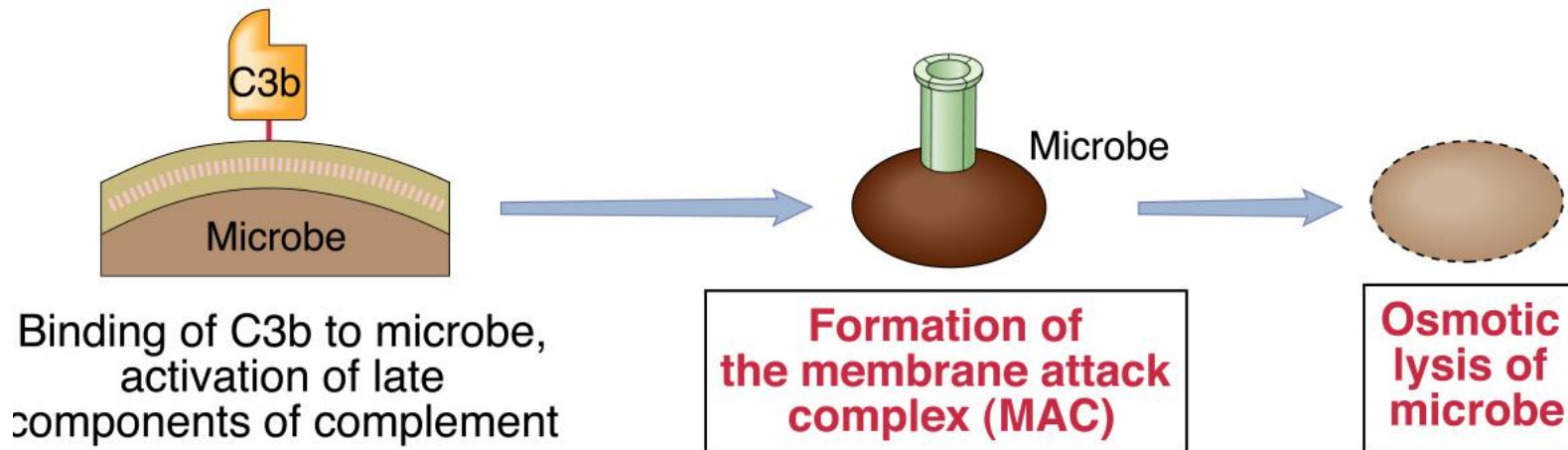


Ενεργοποίηση συμπληρώματος

1. Λύση των κυττάρων

- Από το σύμπλεγμα MAC

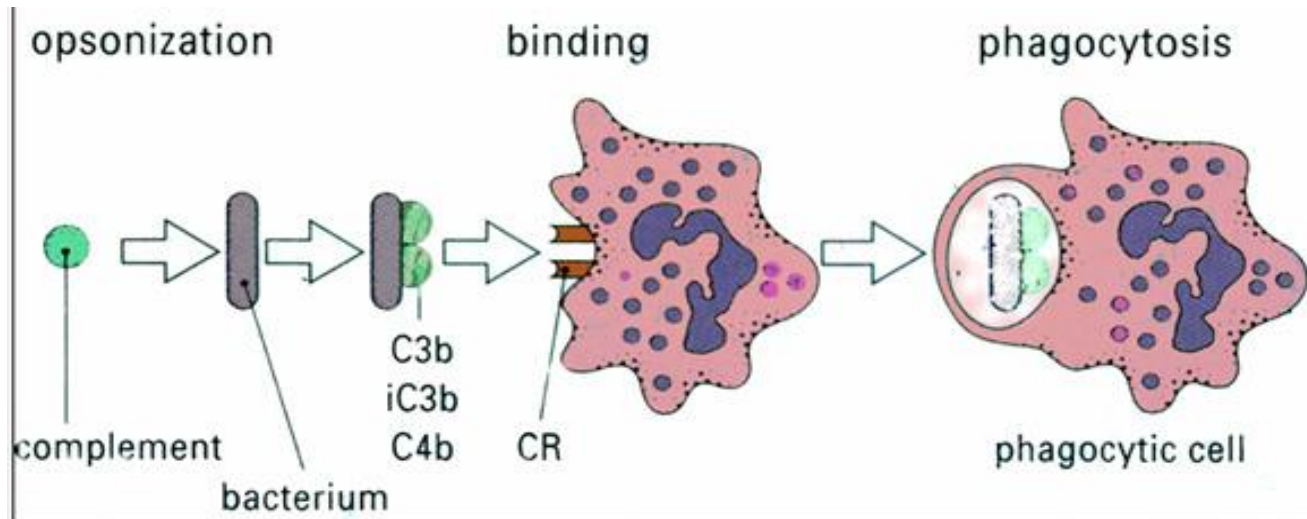
Complement-mediated cytolysis



Ενεργοποίηση συμπληρώματος

2. Οψωνινοποίηση και φαγοκυττάρωση

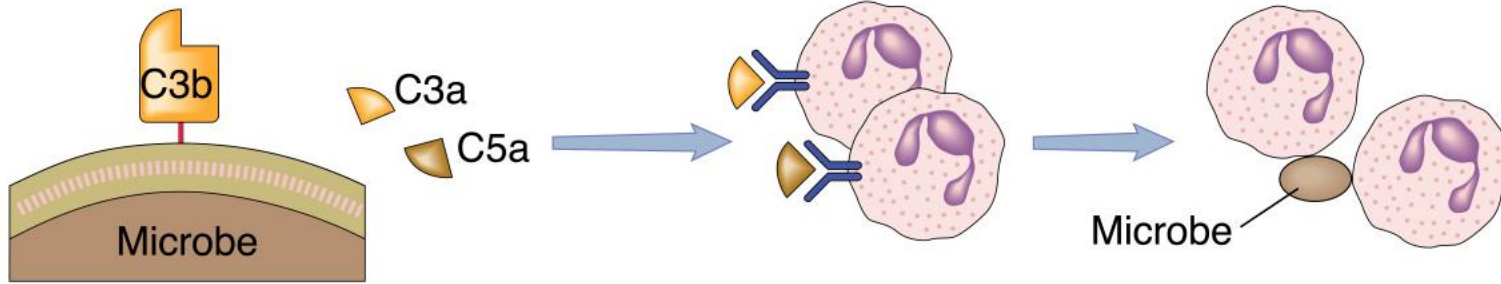
- C3b, iC3b, C4b



Ενεργοποίηση συμπληρώματος

3. Ενεργοποίηση της φλεγμονώδους αντίδρασης

Stimulation of inflammatory reactions

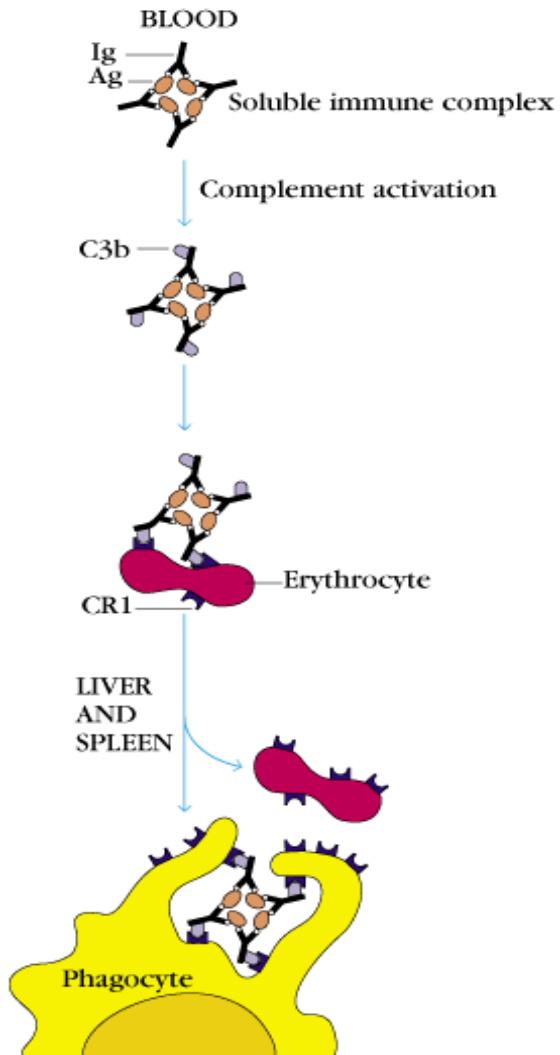


Binding of C3b to microbe,
release of C3a; proteolysis
of C5, releasing C5a

**Recruitment and
activation of
leukocytes by C5a, C3a**

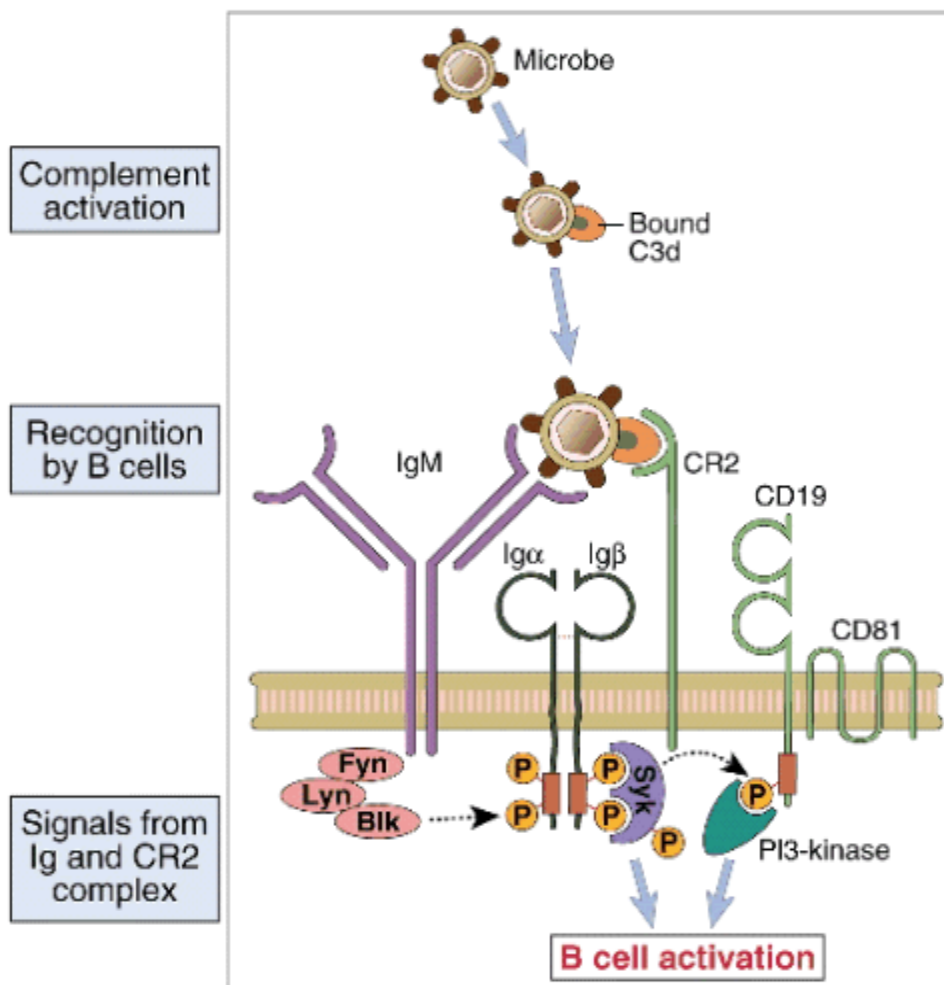
**Destruction
of microbes
by leukocytes**

4. Κάθαρση από ανοσοσυμπλέγματα



Ενεργοποίηση συμπληρώματος

5. Ρύθμιση της χυμικής ανοσιακής απάντησης



ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ ΣΕ ΕΙΔΙΚΕΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ

ΑΝΟΣΙΑ

ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΩΝ

Εκκριτική IgA

- Κύρια ανοσοσφαιρίνη στις **πύλες εισόδου** :
 - **Αναπνευστικό**
 - **Γαστρεντερικό**
- Παράγεται από το **λεμφικό ιστό των βλεννογόνων** και εκκρίνεται στον αυλό
- **Εξουδετερώνει μικρόβια και τοξίνες στον αυλό**

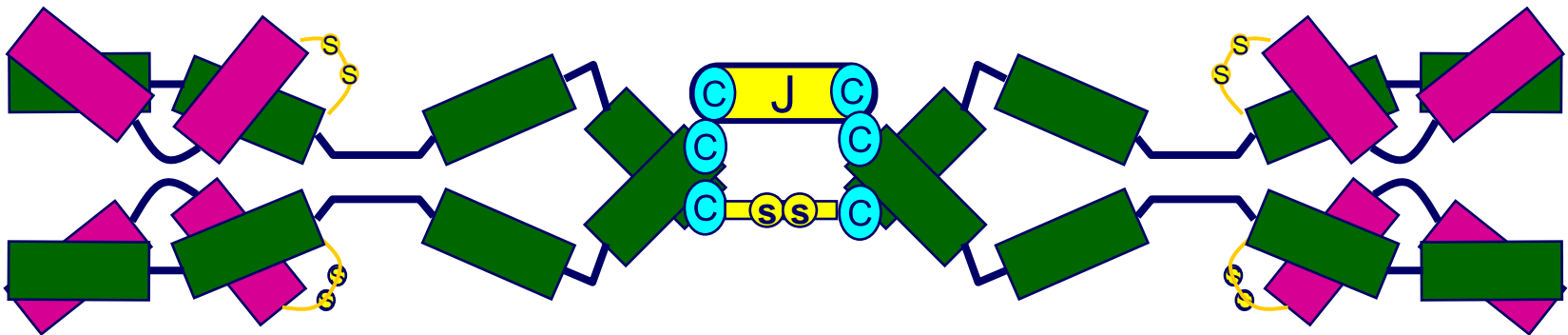
- **Λεμφικός ιστός βλεννογόνων**
 - Λεμφοκύτταρα και βοηθητικά κύτταρα τα οποία οργανώνονται σε ανατομικές δομές που θυμίζουν λεμφοζίδια

Εκκριτική IgA

IgA : δύο υποτάξεις

IgA1 κυρίως στον ορό : B cells μυελού των οστών

IgA2 εκκρίσεις, μητρικό γάλα: B cells των βλεννογόνων



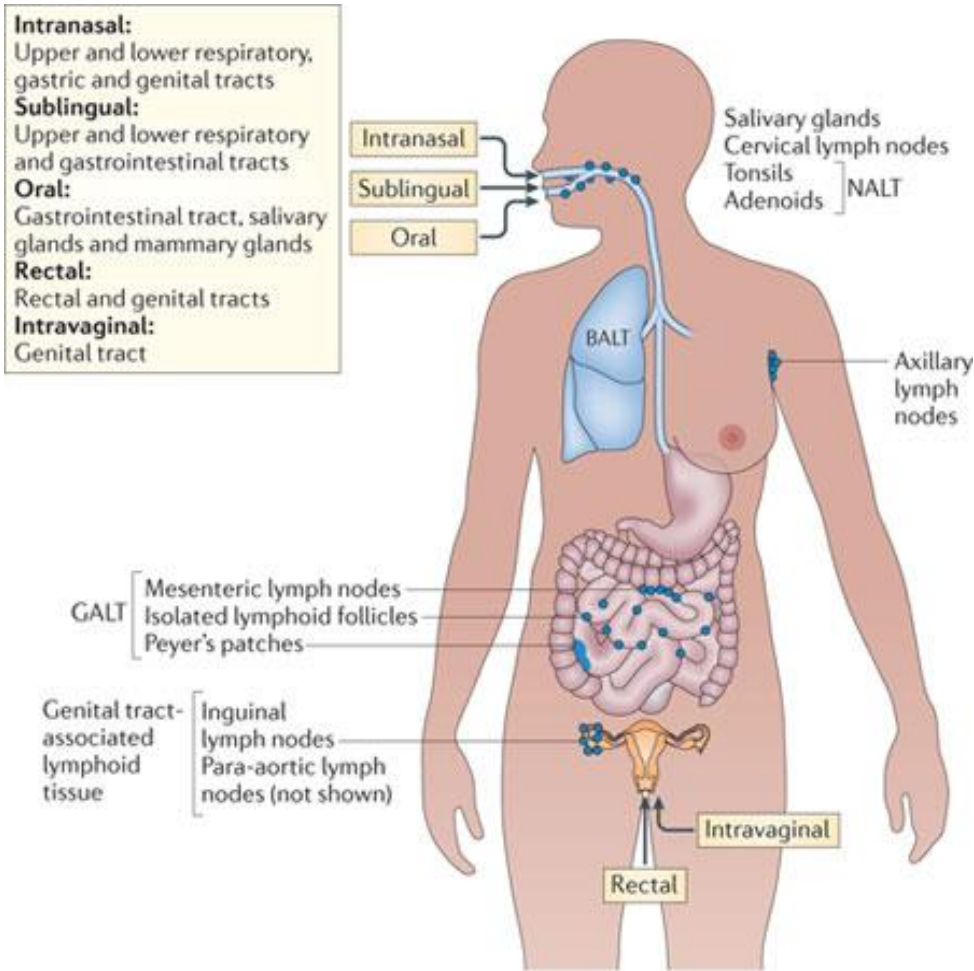
Ένα άτομο εκκρίνει 2gr IgA/day : 60%-70% των ολικών ads

Η μεγαλύτερη παραγωγή γίνεται στον λεμφικό ιστό των βλεννογόνων

TGF-β, IL-5

Λεμφικός ιστός βλεννογόνων

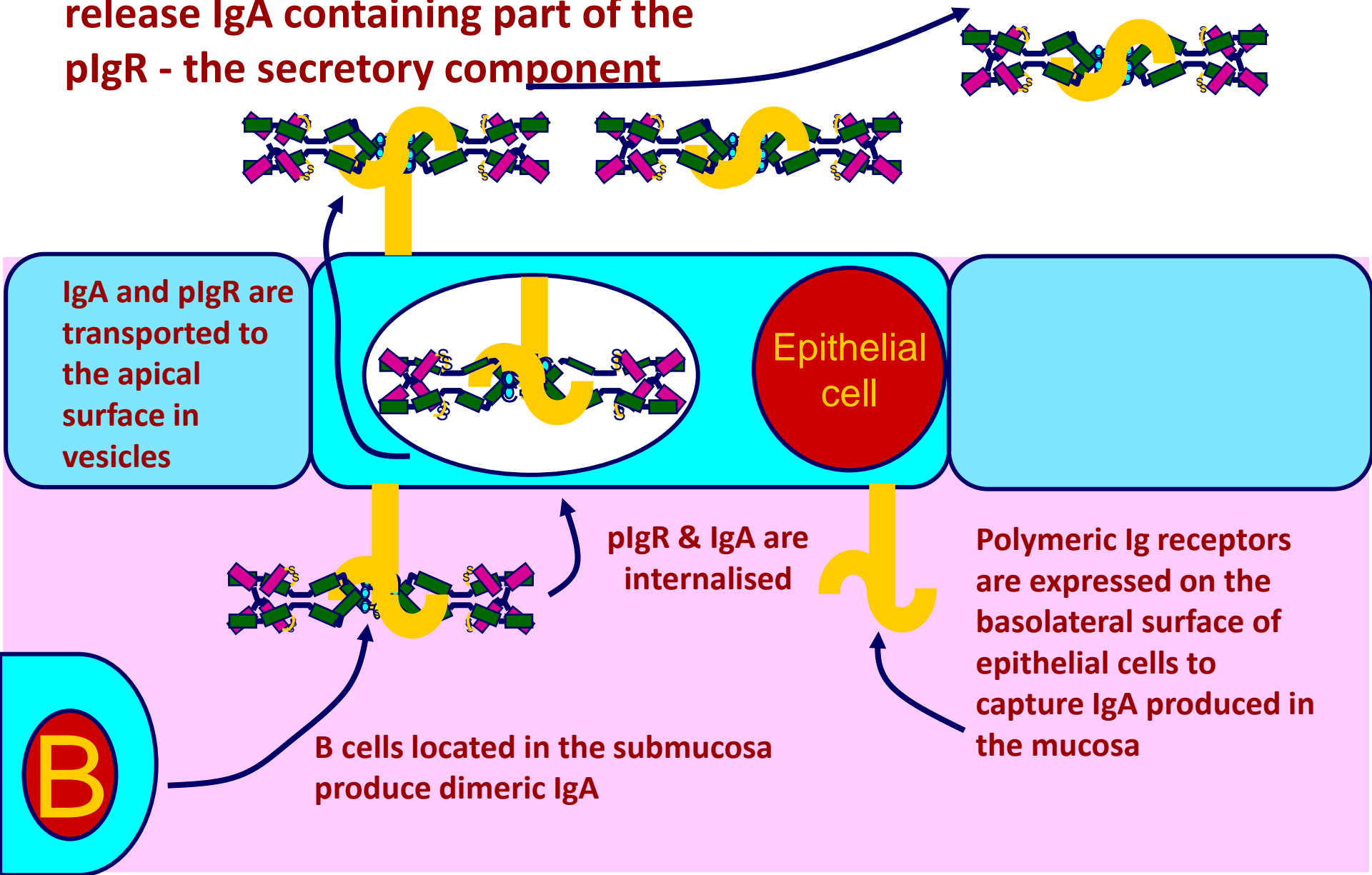
Mucosa-Associated Lymphoid tissue (MALT),



- **Nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT)**
- **Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT)**
- **Gut-associated lymphoid tissue (GALT) and**
- **Genital tract-associated lymphoid tissue**

Εκκριτική IgA

‘Stalk’ of the pIgR is degraded to release IgA containing part of the pIgR - the secretory component



ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΝΕΟΓΝΟΥ

Νεογνική ανοσία

- Τα νεογνά προστατεύονται από
 - Abs τα οποία μεταφέρονται μέσω του πλακούντα
 - IgG
 - Abs από το μητρικό γάλα
 - IgG, IgA
- Το νεογνό έχει την ίδια ποσότητα IgG αντισωμάτων με τη μητέρα
- Δεν απαιτείται δέσμευση με αντιγόνο
- Η ιδιότητα οφείλεται στο Fc κλάσμα

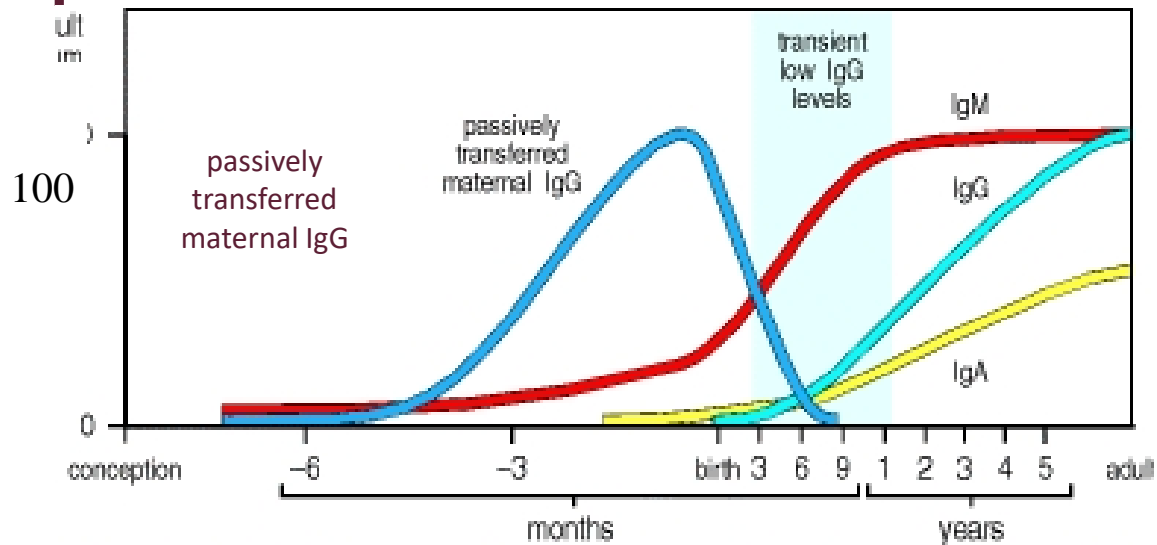


Immunity is transferred from mother to fetus through placental transfer of IgG.

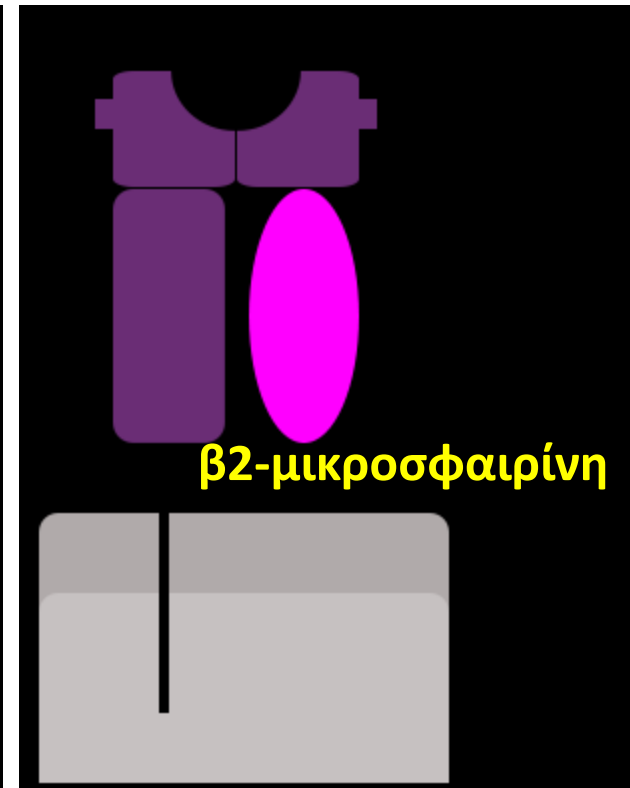
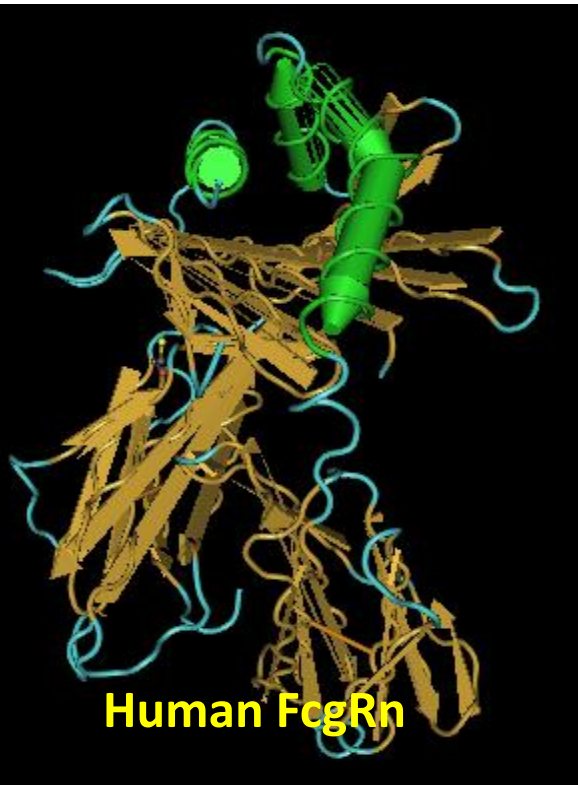
Νεογνική ανοσία

- Παθητική ανοσοποίηση του νεογνού
- Διάρκεια προστασίας 3-4 μήνες (~5 IgG half-lives)
 - Υψηλή συχνότητα λοιμώξεων μετά από αυτή τη χρονική περίοδο
- Η προστασία του νεογνού εξαρτάται από τον τίτλο των IgG (και IgA) της μητέρας έναντι συγκεκριμένου μικροοργανισμού

Fraction of adult level of serum immunoglobulins

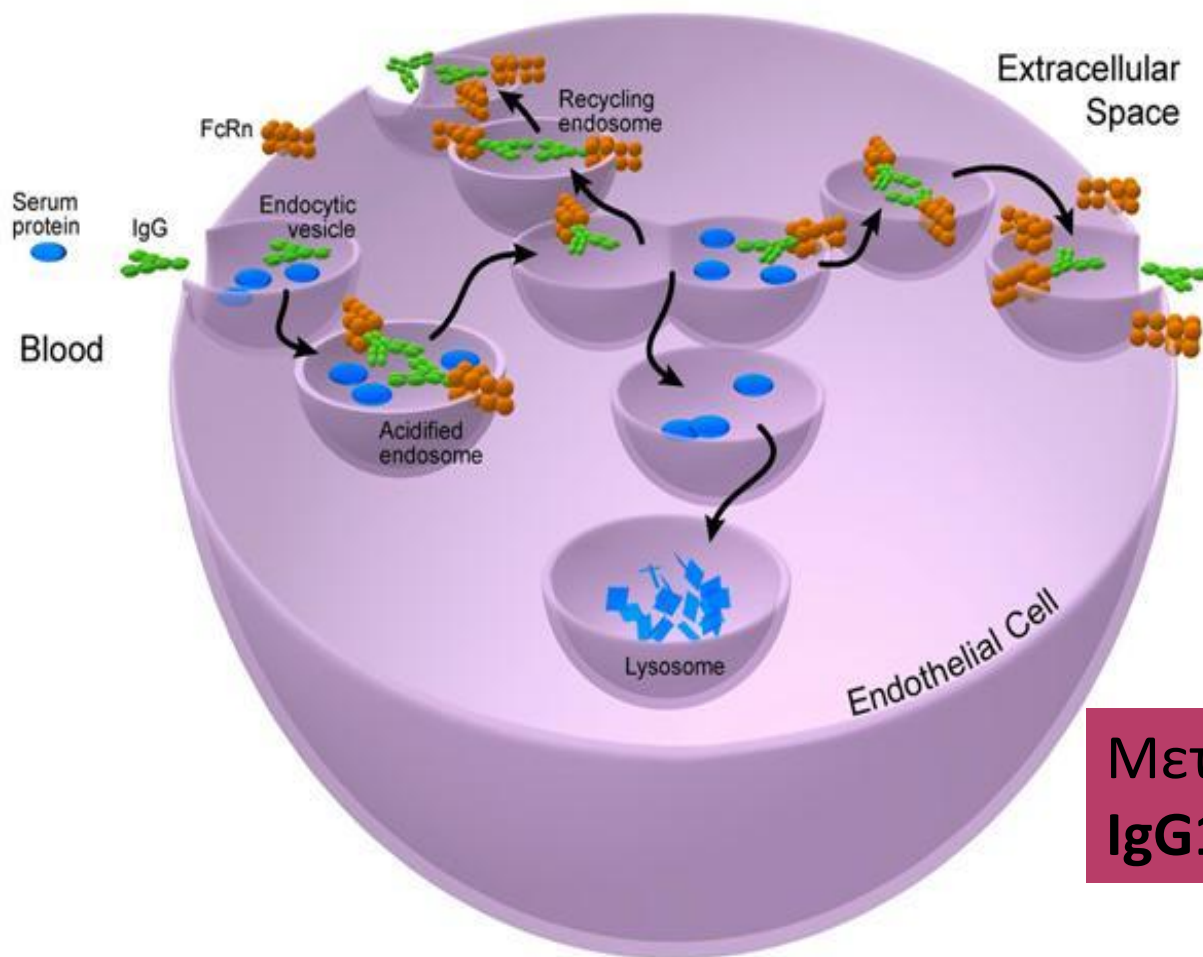


Η μεταφορά της **IgG** μέσω του πλακούντα και μέσω του επιθηλίου του εντέρου στο νεογνό γίνεται με τον **FcγRn υποδοχέα**



Ο FcγRn δομικά σχετίζεται με τα μόρια MHC class I
Διαμεμβρανική βαριά αλυσίδα μη ομοιοπολικά συνδεδεμένη
με β2- μικροσφαιρίνη

Fc υποδοχέας ανάλογος του FcRn στους ενήλικες Ανακυκλώνει την IgG



Μεταφορά μέσω του FcRn
IgG1 > IgG4 > IgG3 > IgG2

**Knockout mice στη β2-μικροσφαιρίνη
10 φορές μικρότερη συγκέντρωση ανοσοσφαιρίνης IgG στον ορό**

Σχέση δομής και λειτουργίας των αντισωμάτων

Μεταβλητή περιοχή

Έννοιες που σχετίζονται με την αναγνώριση Ag

- Ειδικότητα

- Είναι απόλυτα ειδικά για το Ag
- Έχουν την ικανότητα να διακρίνουν ελάχιστες διαφορές στη χημική δομή του Ag

- Διασταυρούμενη αντίδραση (cross-reaction)

- Αντισώματα που παράγονται έναντι ενός αντιγόνου μπορεί να προσδένονται και με άλλα, δομικά όμοια αντιγόνα

Ποικιλότητα-repertoire

- Ορισμός:

- **Ποικιλία (repertoire) αντισωμάτων:** είναι ο συνολικός αριθμός όλων των ειδικοτήτων των αντισωμάτων που μπορεί ένας οργανισμός να εκφράσει και αντικατοπτρίζει όλους τους κλώνους των Β-λεμφοκυττάρων που είναι ικανοί να συνθέσουν και να εκκρίνουν αντίσωμα

>10⁹

- **Πρωτογενές repertoire :** όλα τα αντισώματα τα οποία μπορεί να συνθέσει ένα άτομο σαν απάντηση στην πρώτη επαφή με τα αντιγόνα
- Η πληροφορία για τη σύνθεση της τεράστιας ποικιλίας των αντισωμάτων βρίσκεται στο DNA κάθε ατόμου

Συγγένεια-Affinity

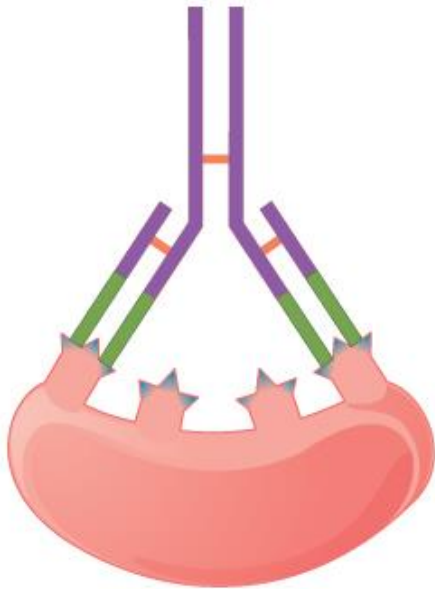
- **Συγγένεια** : Είναι η **ισχύς** με την οποία συνδέεται η επιφάνεια πρόσδεσης του αντισώματος **με έναν αντιγονικό επίτοπο**
 - **K_d** : **μοριακή συγκέντρωση** του αντιγόνου που απαιτείται για να καταληφθούν **τα μισά** από τα διαθέσιμα **μόρια αντισώματος** σε ένα διάλυμα
 - Όσο **χαμηλότερη** είναι η **K_d** τόσο **μεγαλύτερη** είναι η **συγγένεια**
 - Πρωτογενή απάντηση : **K_d = 10⁻⁶ μέχρι 10⁻⁹**
 - Δευτερογενής απάντηση : **K_d = 10⁻⁸ μέχρι 10⁻¹¹**
 - **ωρίμανση συγγένειας (affinity maturation)**

Συνάφεια-Avidity

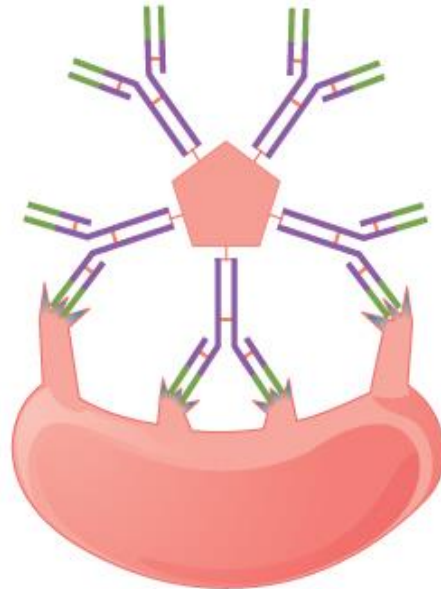
- **Avidity** : Η ολική ισχύς πρόσδεσης αντιγόνου-αντισώματος
 - Ένα αντίσωμα μπορεί να προσδέσει από **δύο** μέχρι **δέκα επιτόπους** ενός αντιγόνου εφόσον οι όμοιοι επίτοποι βρίσκονται αρκετά κοντά

Affinity – Avidity - Cross-reaction

(a) Affinity versus avidity

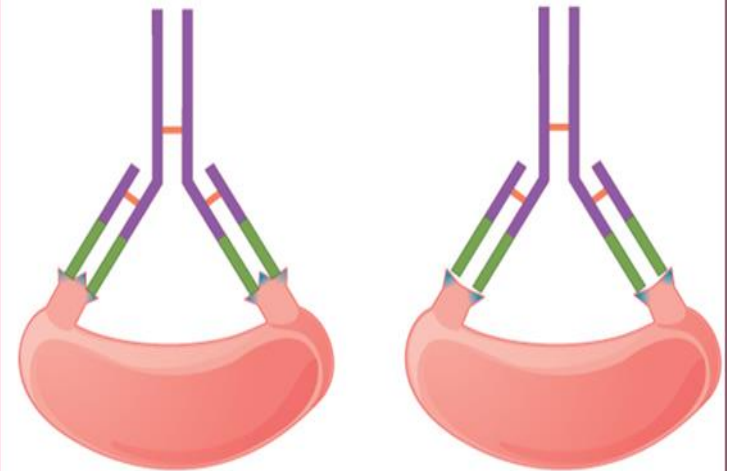


Affinity refers to the strength of a single antibody–antigen interaction. Each IgG antigen binding site typically has high affinity for its target.



Avidity refers to the strength of all interactions combined. IgM typically has low affinity antigen binding sites, but there are ten of them, so avidity is high.

(b) Cross reactivity



An antibody may react with two different epitopes.

Υβριδώματα μονοκλωνικά αντισώματα

Reduced S-S bonds
myeloma hybrid

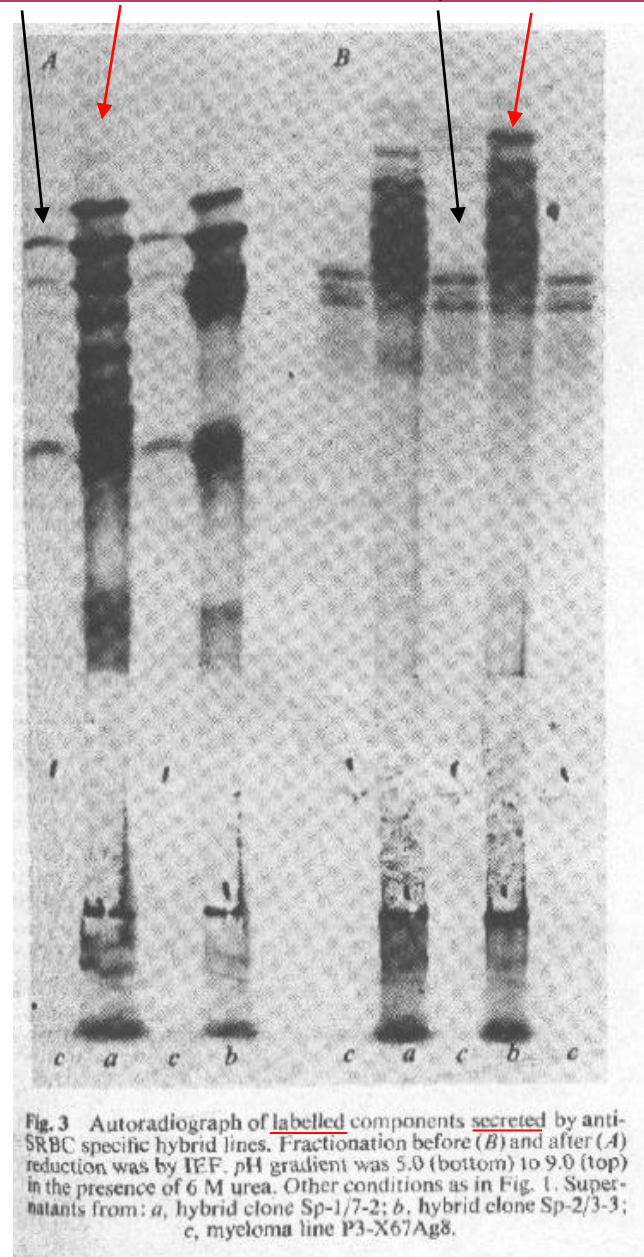
Unreduced
myeloma hybrid



Cesar Milstein



Georges Kohler



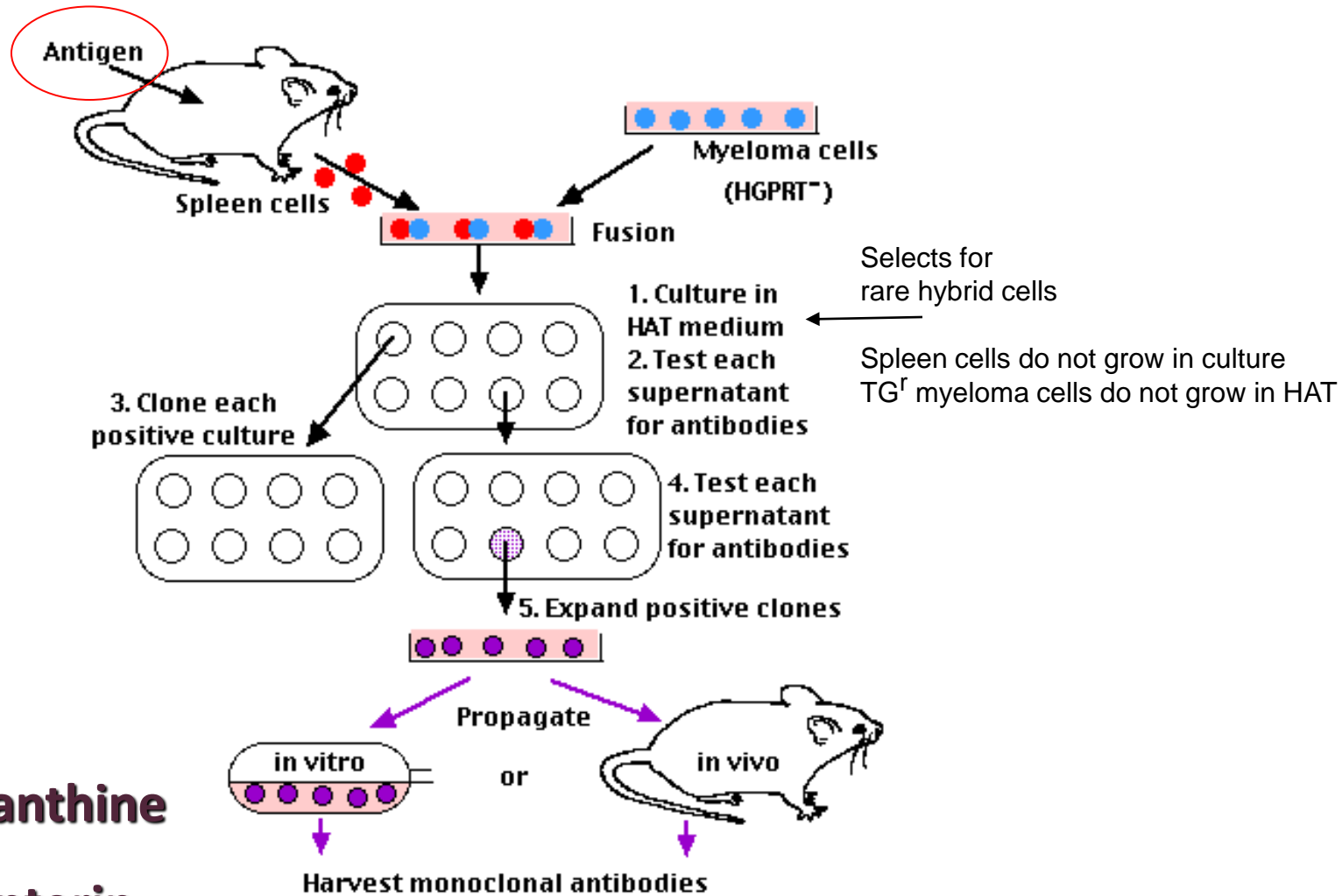
Kohler, G., and C. Milstein (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256: 495-497.

Established cell lines (hybridomas) that secrete any antibody that can be raised in a mouse.

Use of myeloma parent obviated extinction (shut-off) of Ig genes.

Isoelectric focusing of immunoglobulins made in hybridoma cells

Monoclonal antibodies via cell hybridization



- **H: Hypoxanthine**
- **A: Aminopterin**
- **T: Thymidine**

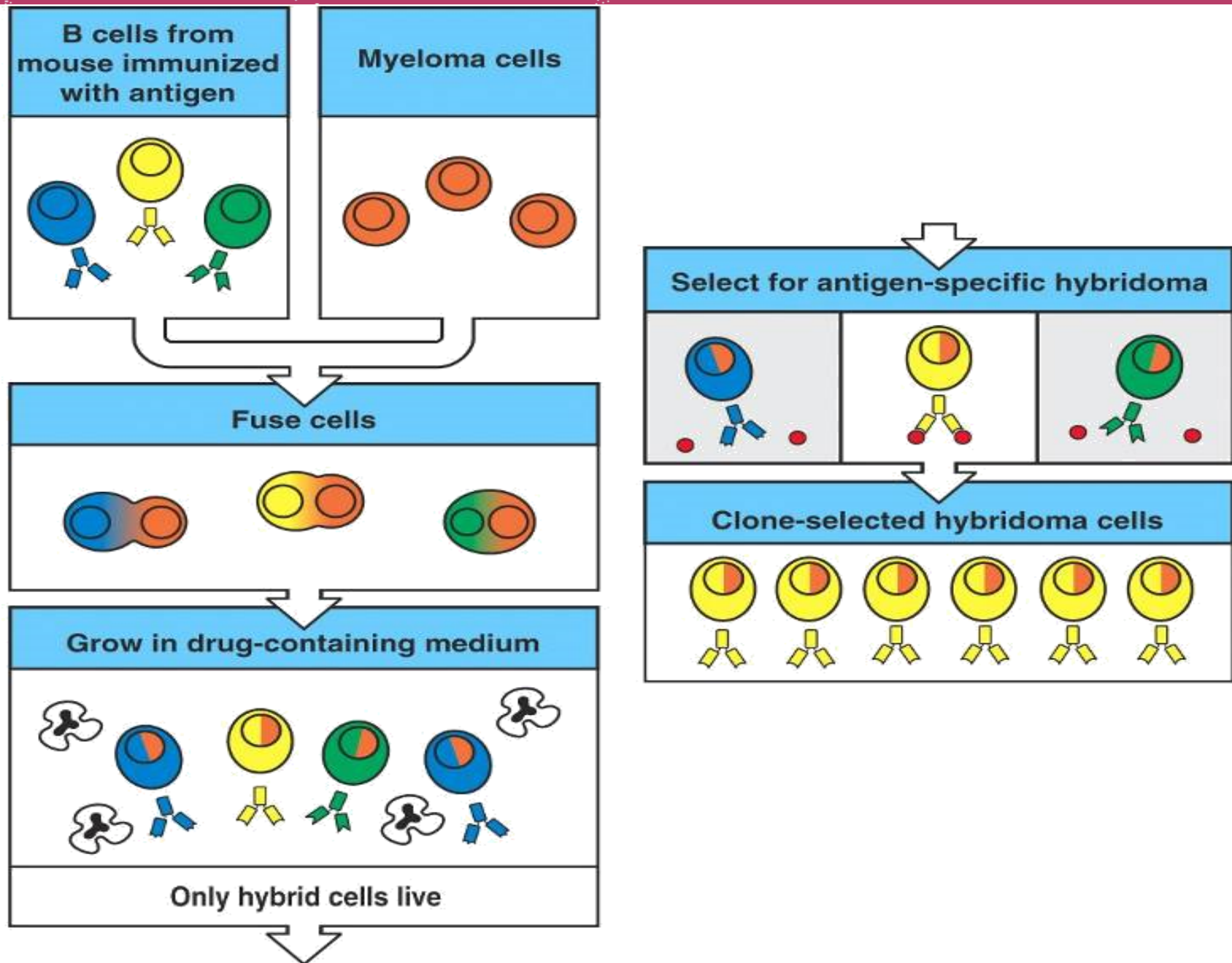


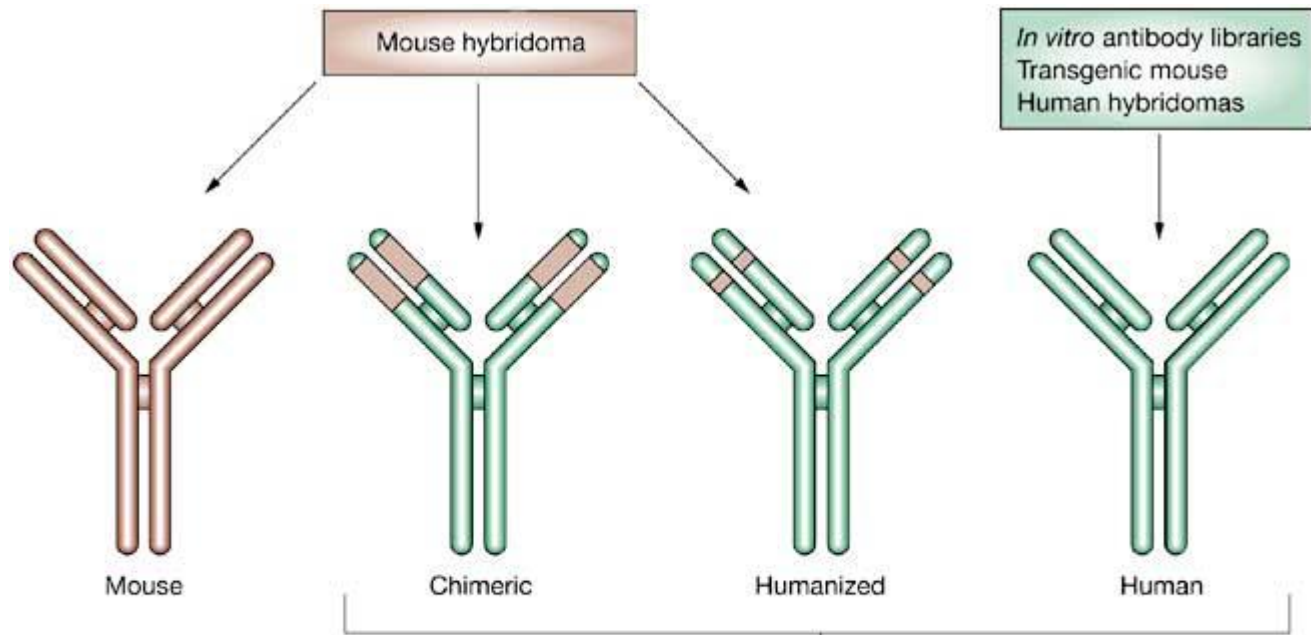
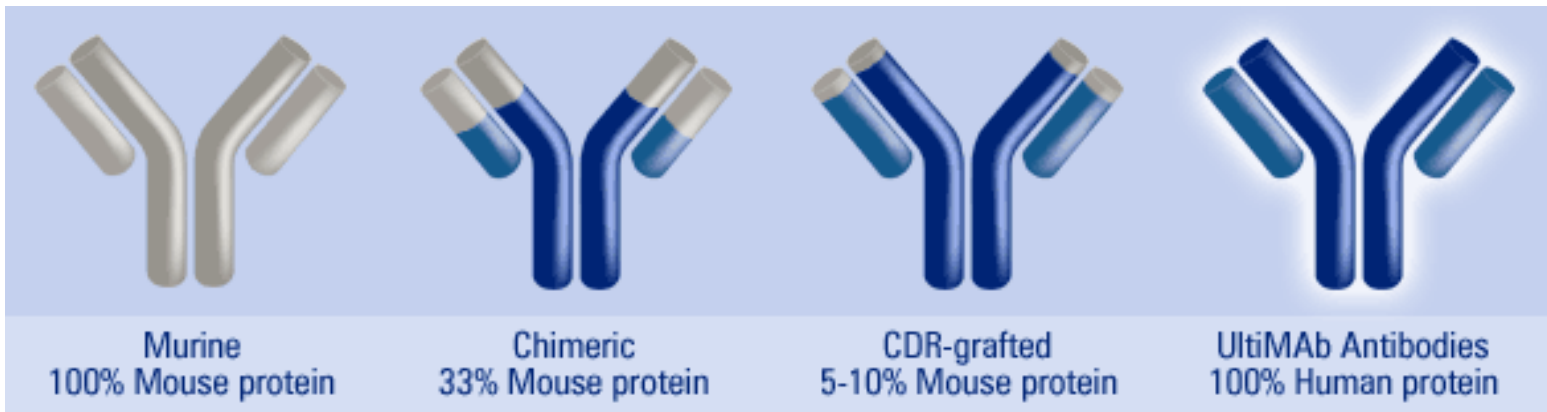
Figure 2-12 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Τύποι μονοκλωνικών Ab

- ❖ **Murine mAbs:** μέθοδος υβριδωμάτων
 - ❖ HAMA(human anti murine antibody) response
 - ❖ Αλλεργικές αντιδράσεις ή υπερευαισθησία από ανοσοσυμπλέγματα
- ❖ **Chimeric mAbs:** Σταθερή περιοχή ανθρώπου με μεταβλητές περιοχές ποντικού—***ximab***
 - ❖ HAMA(30% murine)
- ❖ **Humanized mAbs:** Περιέχουν μόνο τις CDRs από ποντικό—***umab***

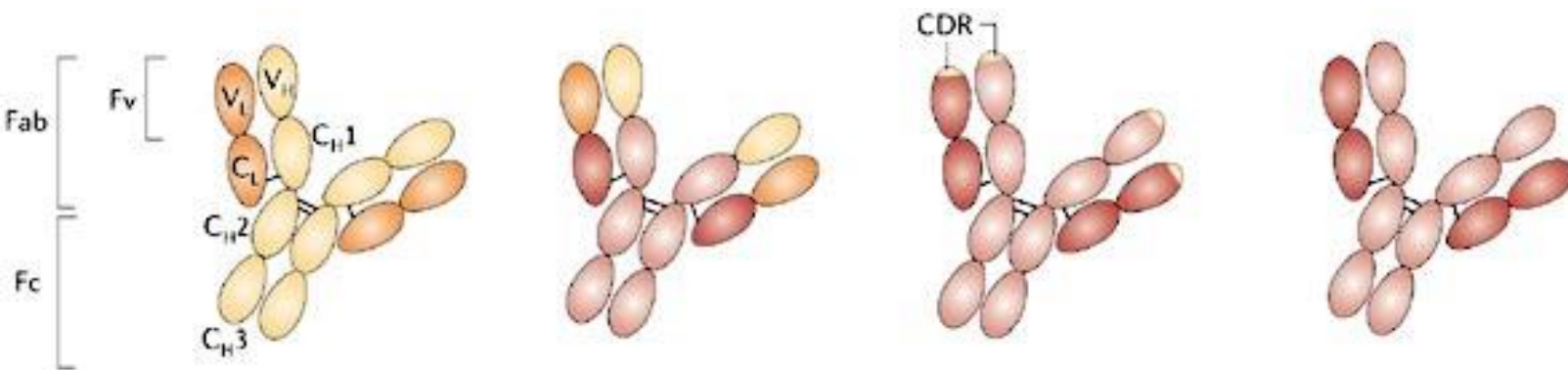
Εφαρμογές

- **Φαινοτυπικοί markers** διαφόρων κυττάρων
 - CD markers
- **Ανοσοδιάγνωση**
- **Διάγνωση καρκίνου και θεραπεία**
- **Λειτουργική ανάλυση** των κυτταρικών και εκκριντικών μορίων
 - Αντισώματα που δεσμεύουν και εξουδετερώνουν κυτταρικές βοήθησαν στη μελέτη των λειτουργικών ρόλων των κυτταροκινών



Genetic engineering
V gene cloning
CDR grafting
Eukaryotic expression

cDNA των CDRs



Type of mAb	Murine	Chimeric	Humanized	Human
	Ibritumomab tiuxetan (CD20); IgG1κ [*] Tositumomab- ¹³¹ I (CD20); IgG2aλ [*]	Cetuximab (EGFR); IgG1κ Rituximab (CD20); IgG1κ	Trastuzumab (ERBB2); IgG1κ Bevacizumab (VEGF); IgG1 Alemtuzumab (CD52); IgG1κ Gemtuzumab ozogamicin (CD33); IgG4κ [*]	Panitumumab (EGFR); IgG2