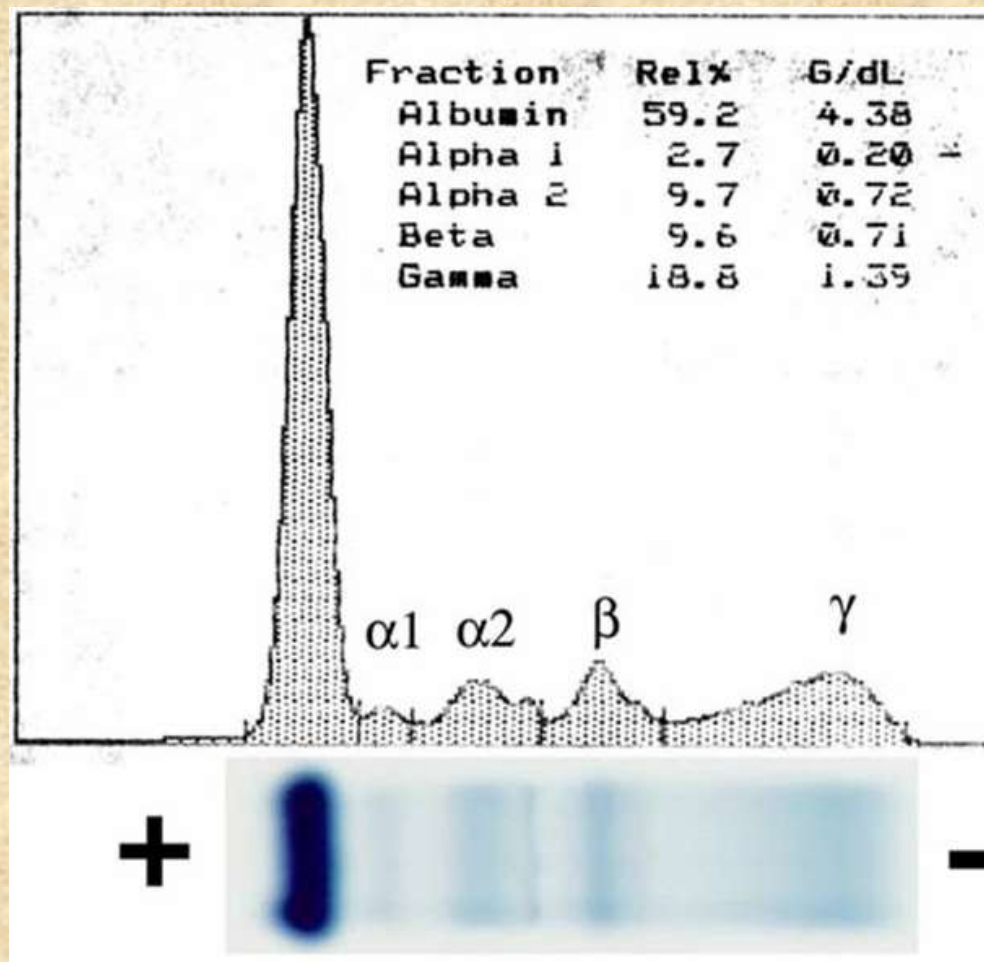


Антитела: Структура и функция

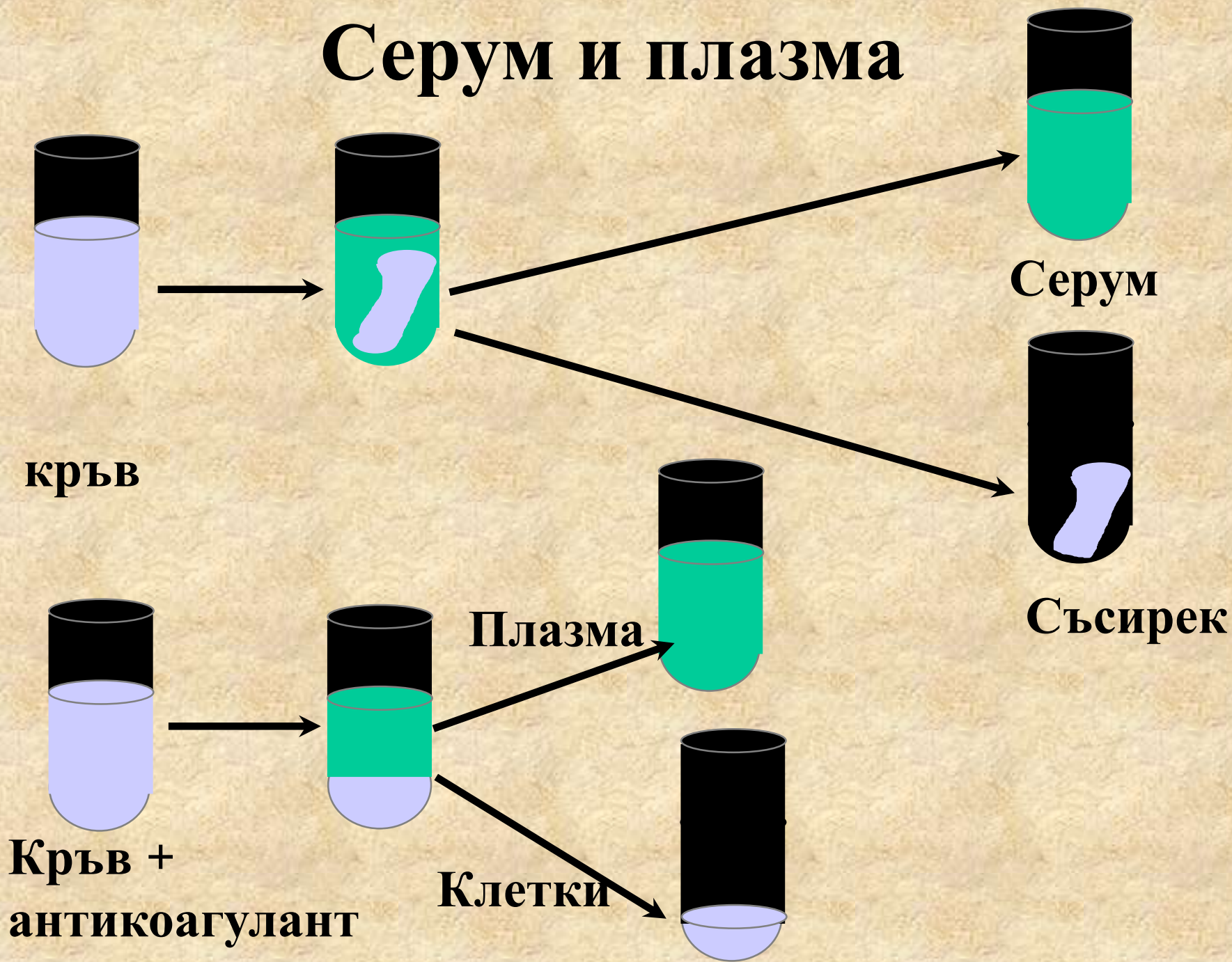
40. АНТИТЕЛА - СТРУКТУРА, ВИДОВЕ, ФУНКЦИЯ.
(РЕАКЦИЯ “АНТИГЕН-АНТИТЯЛО”).

Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор “Биология”
МУ-Плевен

- Определение: Гликопротеини, произвеждани и секретирани от плазматичните клетки в отговор на имуноген, които функционират като антитела



Серум и плазма



Разлика между плазма и серум?

серум = плазма – кръвосъсирващи фактори

Основни функции на имуноглобулините

- Аг-свързващи
 - Възможен резултат - защита
 - Различна валентност
- Ефекторни функции – обикновено изискващи свързване на Аг
 - Свързване на комплемента
 - Свързване към различни клетки

Имуноглобулините са бифункционални протеини

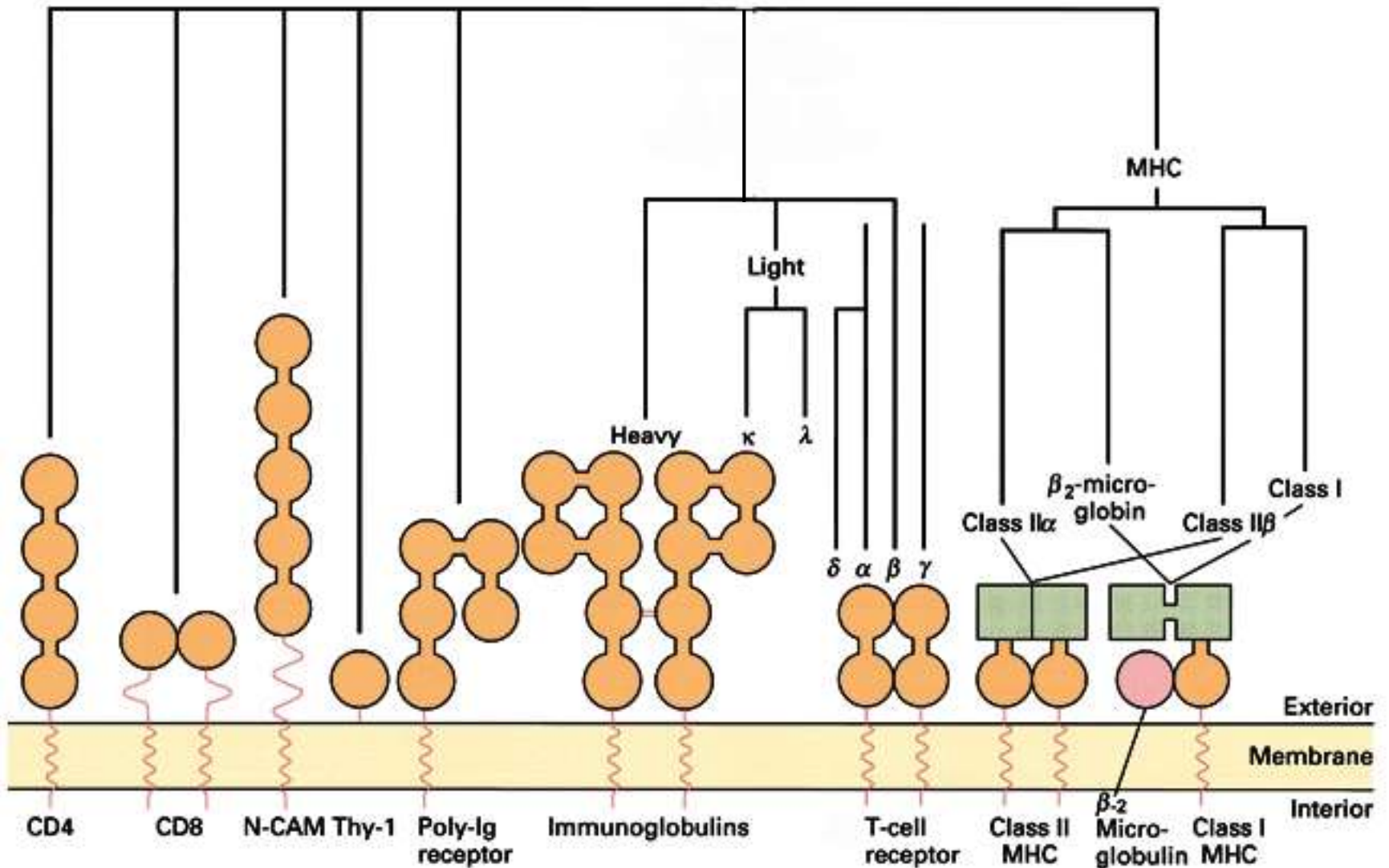
- **Взаимодействат с малко на брой специализирани молекули**
 - Fc рецептори върху клетките
 - Компоненти на комплемента
 - Молекули на вътреклетъчно сигнализиране
- **Същевременно разпознават и свързват определени антигенни детерминанти**

Ig СУПЕРСЕМЕЙСТВО

Ig са част от суперсемејство протеини наречени, Ig суперсемејство (IgSF)

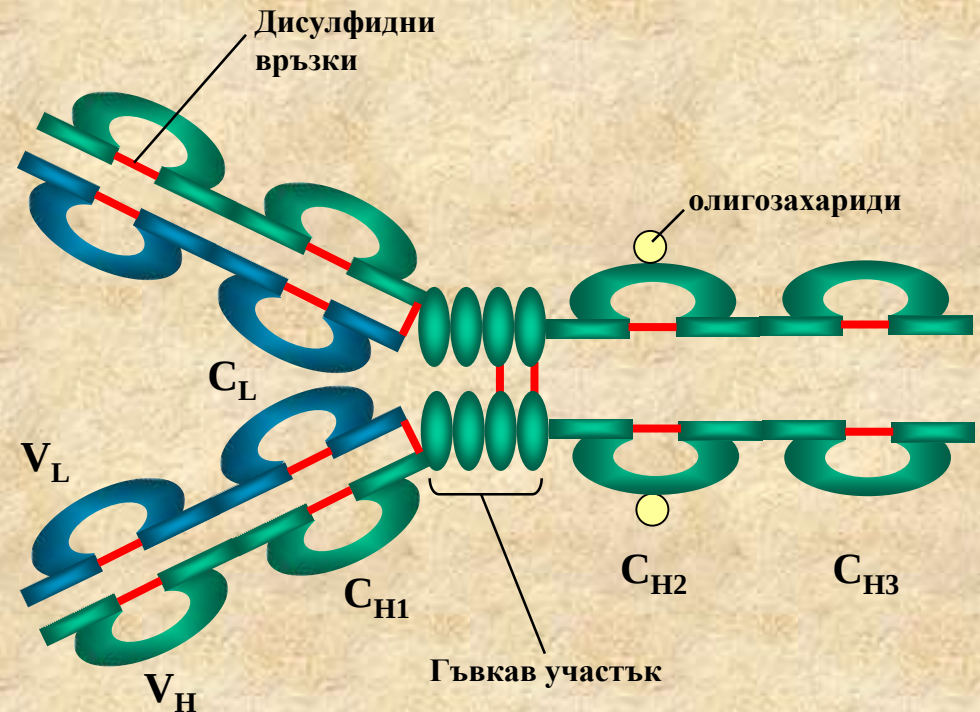
- Членовете на IgSF се определят от присъствието на повече от един район на хомоложност на основната структурна единица на Ig около 70 – 110 остатъци в дължина
- Консервирани участъци, съдържащи S-S мостове и заедно с други консервирани участъци формират третична структури – домени
- Две базични хомоложни единици, дефинирани чрез кристалографски анализ – V и C региони
- Третичната структура на V района имат 9 антипаралелни β структури; формират структура подобна на варел с 2 β -листа, стабилизирани от S-S мостове - глобуларни домени, сравнително устойчиви на протеолитични ензими

Ig SUPERFAMILY



Структура на антителата

- Тежки и леки вериги
- S-S мостове
 - междуверижни
 - вътреверижни

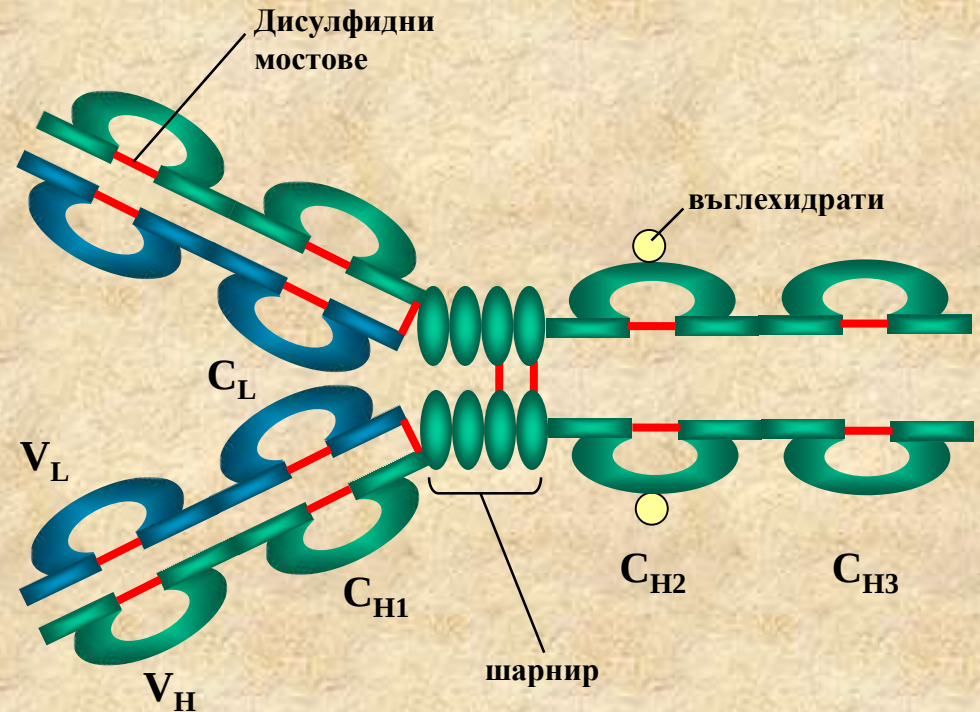


Имуноглобулинови домени

- Консервативността на структурата и възможността за определена вариабилност се осигуряват от доменния строеж на Ат молекула
- Ig домени произхождат от един древен ген предшественик, който е дублициран , придобил варианти и модифициран така, че да осигури разнообразие от функциониращи качествени варианти на една обща структура
- Ig домени не са ограничени само при Ат
- Характерна отличителна черта са дисулфидните мостове – свързват структури с дължина 110 АК

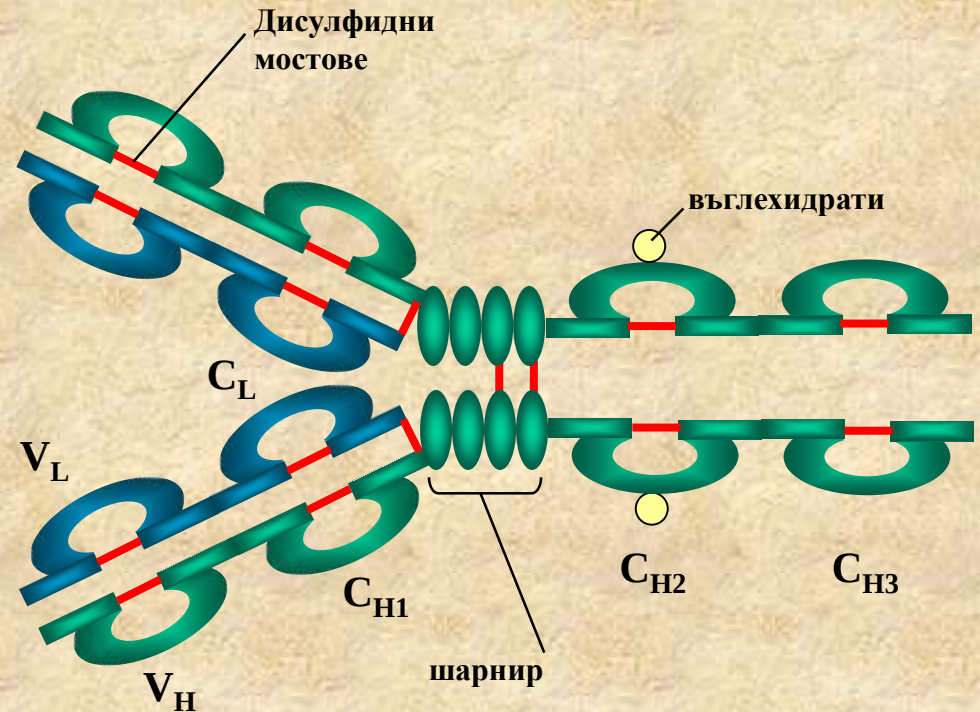
Структура на антителата

- Вариабилни и константни области
 - V_L & C_L
 - V_H & C_H
- Шарнирна област



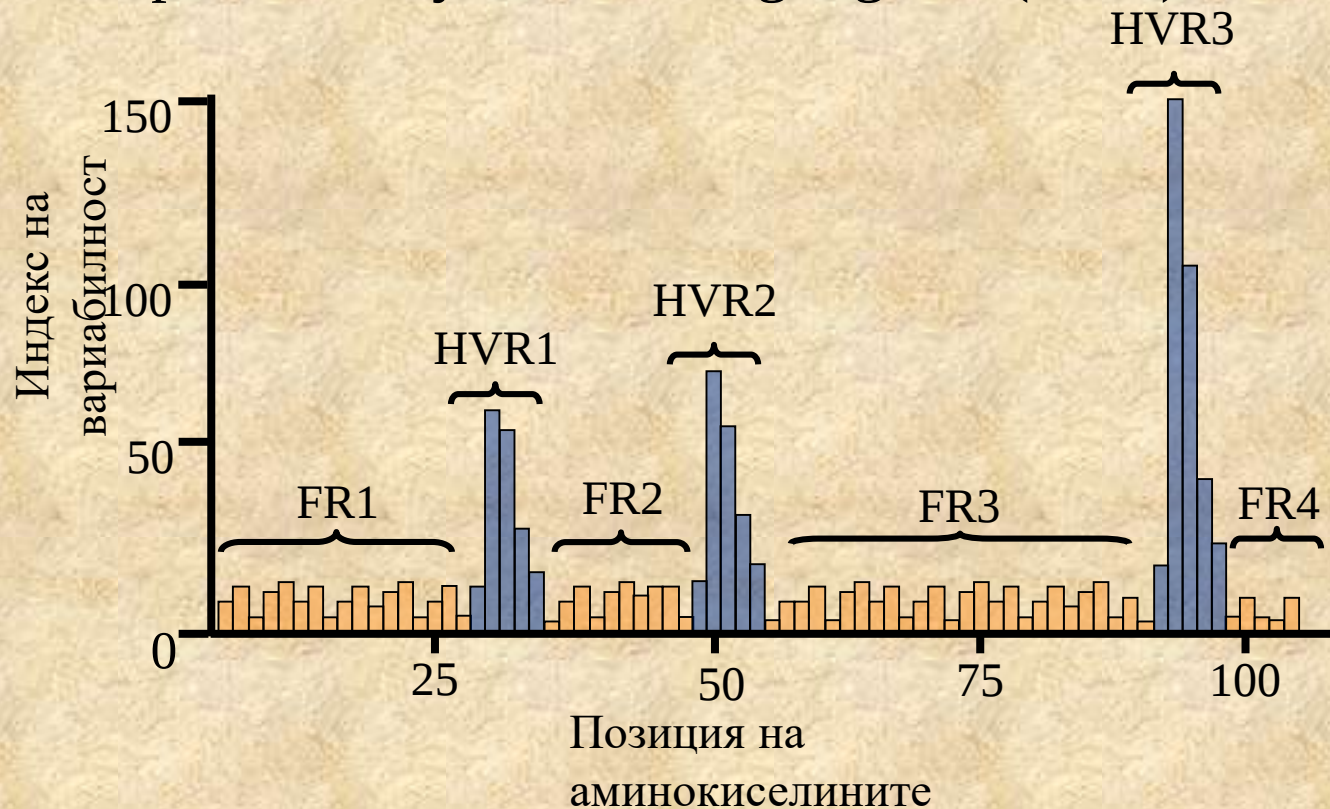
Структура на антителата

- Домени
 - V_L & C_L
 - V_H & $C_{H1} - C_{H3}$
(or C_{H4})
- Въглехидрати



Структура на вариабилните области

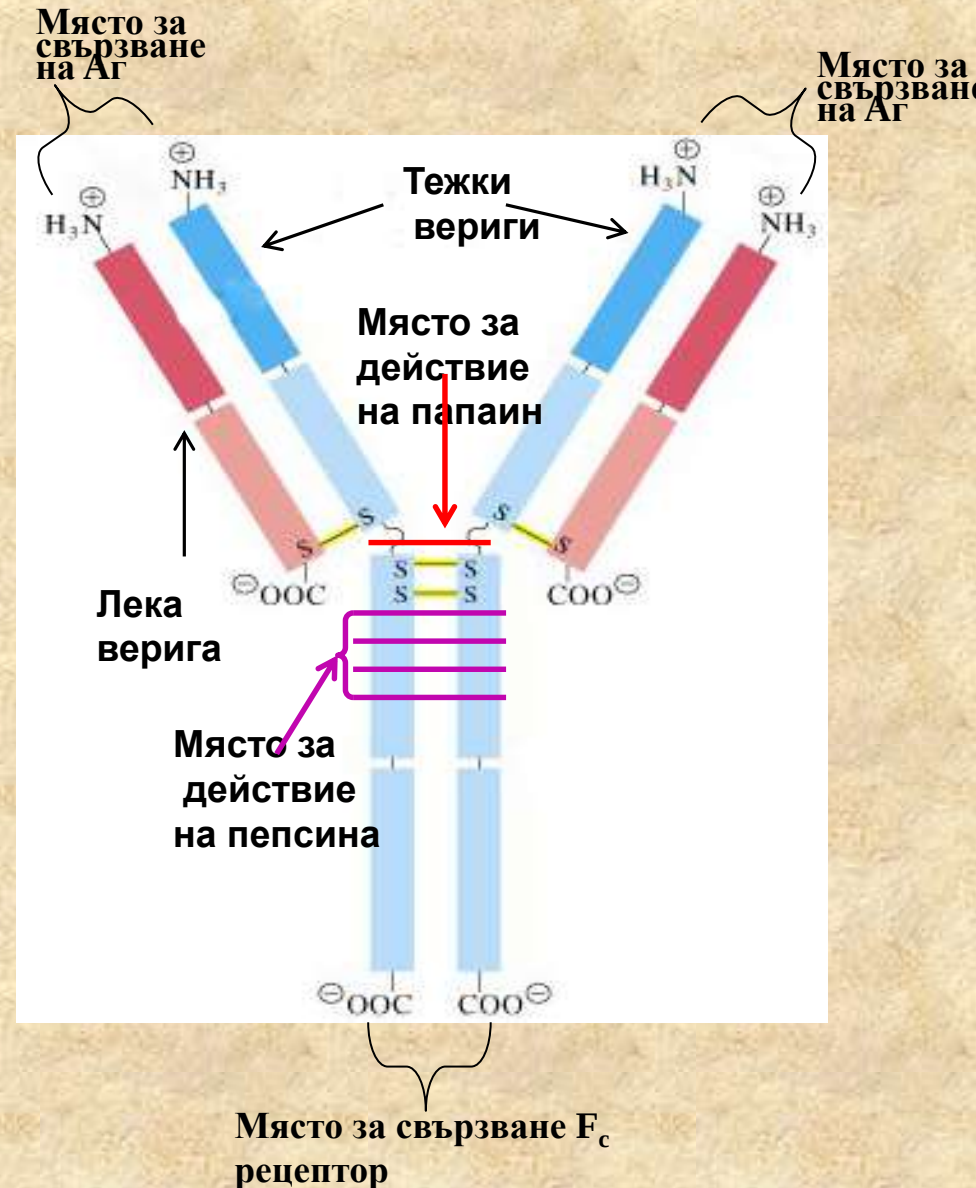
- Хипервариабилни области (Hypervariable (HVR) or complementarity determining regions (CDR))



- Структурни (рамкови - Framework regions)

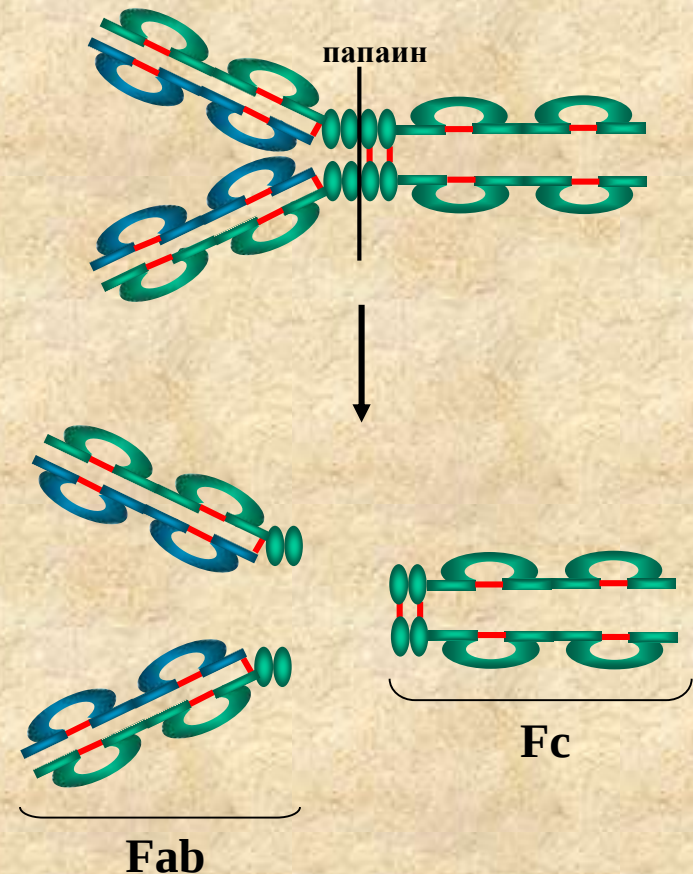
Ензимно разграждане на антителата

- Папаинът разделя Ат молекула на:
 - 3 фрагмента
 - 2 идентични Fab и 1 Fc
 - Fab свързва антигена (Antigen Binding)
 - Fc кристализира при съхранение при ниска T (Crystallize) е
- Пепсин
 - F(ab')₂
 - Fc се смила напълно
- Редукция от меркаптоетанол (Редуцира дисулфидните мостове)



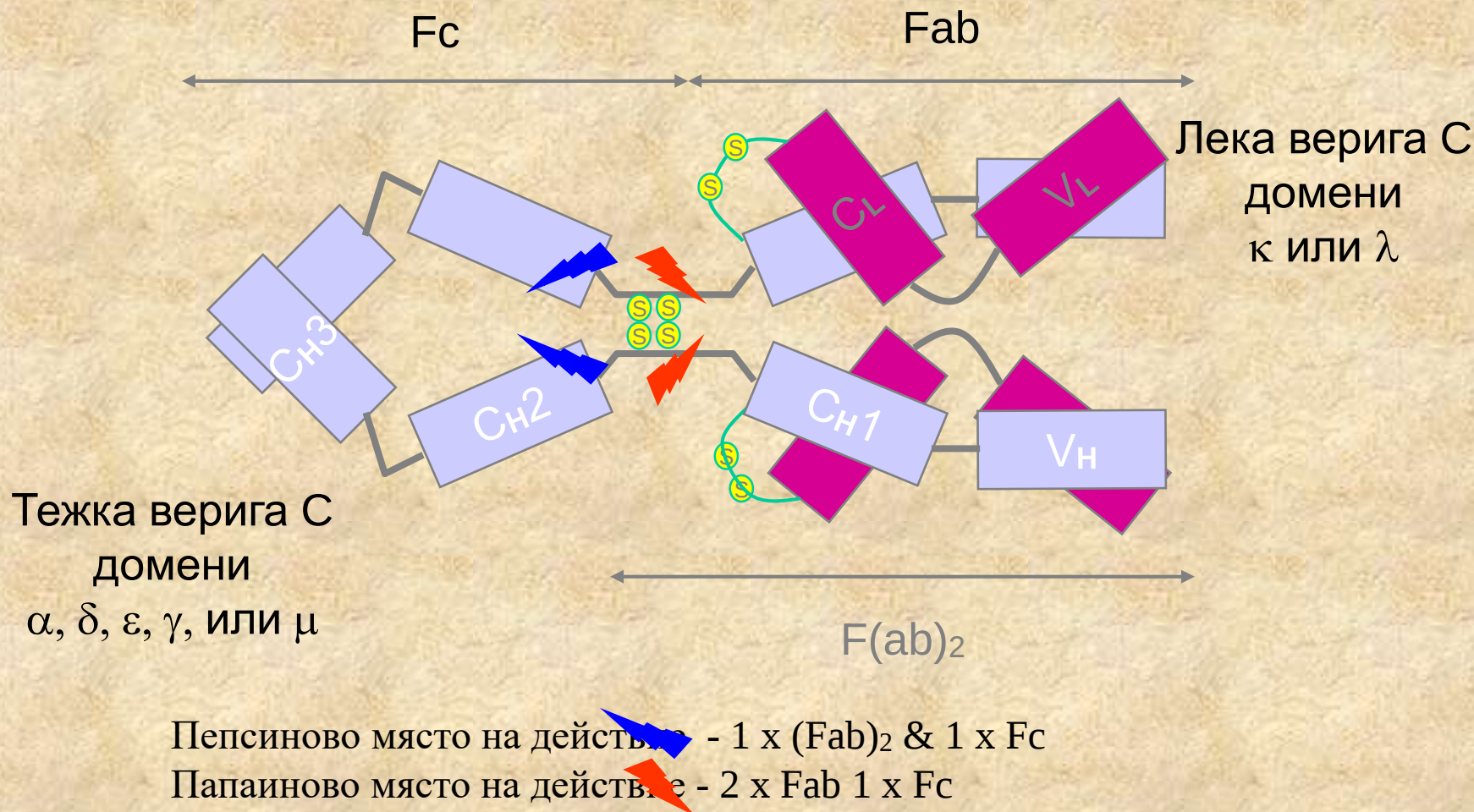
Функции на фрагментите от ензимното разграждане

- Fab
 - Аг свързващ
 - Валентност = 1
 - Специфичност, определена от V_H и V_L
- Fc
 - Ефекторни функции



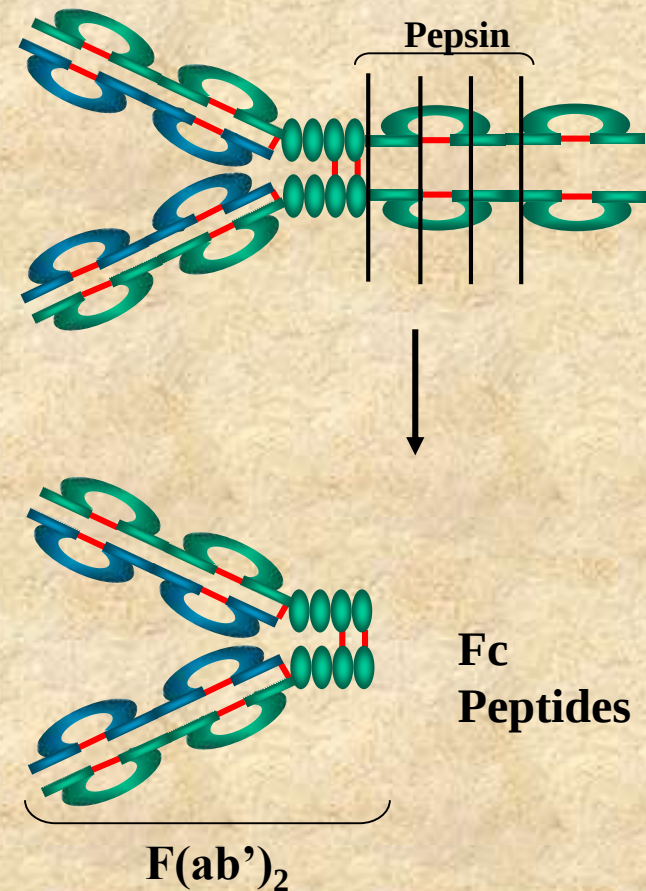
Доменна структура на Ат

Домените са нагънати, компактни, резистентни на протеази, глобуларни структури



Имуноглобулинови фрагменти: Връзки Структура/Функция

- Fab
 - Свързване на Аг
- Fc
 - Ефекторни функции
- $F(ab')_2$



Функции на Fc фрагмента

(Fab)₂ фрагментът може:

- Да свързва Аг
- Да преципитира Аг
- Да блокира активните центрове на токсините или патогенните структури
- Да блокира взаимодействията между гостоприемника и патогените

Но не може да активира:

- Възпалителни и ефекторни функции свързани с клетки
- Комплекмента
- Преработване и представяне на Аг

Ефекторните функции се медиират от образуването на Ig-FcR комплекс

- Ат не само трябва да разпознаят Аг, но и да предизвикат отговор – ефект– да премахнат Аг и да убият патогена
- Аг се свързва с вариабилните области на Ат
- C_{H2} и C_{H3} се свързва с други протеини (напр. компоненти на комплемента), клетки (елементи на вродения имунитет) и тъкани. В резултат се осъществяват ефекторните функции на хуморалния имунен отговор.
- Fc-рецепторът (FcR) разпознава Fc участъка на антитяловата молекула

Биологични свойства (ефекти) на имуноглобулините

- Аглутинация (струпване на микроорганизми или Аг)
- Преципитация (свързване с разтворими Аг)
- Неутрализация на токсини
- Имобилизация на микроорганизми
- Активиране на комплемента (С) – лизис
- Опсонизация – опосредства фагоцитозата
- АТ-зависима клетъчна цитотоксичност - лизис
- Преминаване през плацентата

Имуноглобулинови класове (изотипове) – тежки вериги

- IgG - Gamma (γ)
- IgM - Mu (μ)
- IgA - Alpha (α)
- IgD - Delta (δ)
- IgE - Epsilon (ϵ)

Имуноглобулинови субкласове (изотипове)

- IgG субкласове – тежки вериги
 - IgG₁ - Gamma 1 (γ 1)
 - IgG₂ - Gamma 2 (γ 2)
 - IgG₃ - Gamma 3 (γ 3)
 - IgG₄ - Gamma 4 (γ 4)
- IgA субкласове – тежки вериги
 - IgA₁ - Alpha 1 (α 1)
 - IgA₂ - Alpha 2 (α 2)

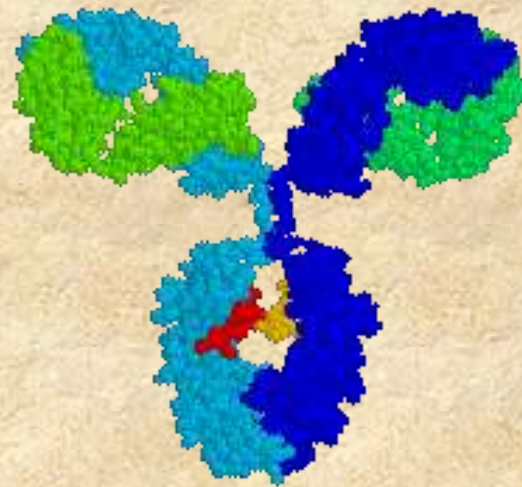
Леки вериги - типове

- Карра (κ)
- Lambda (λ)
 - Lambda леки вериги - 6 подтипа
 - Lambda 1 (λ_1)
 - Lambda 2 (λ_2)
 - Lambda 3 (λ_3)
 - Lambda 4 (λ_4)
 - Lambda 5 (λ_5)
 - Lambda 6 (λ_6)

Имуноглобулини

- Номенклатура
 - IgM (каппа)
 - IgA1(lambda 2)
 - IgG
- Хетерогенност

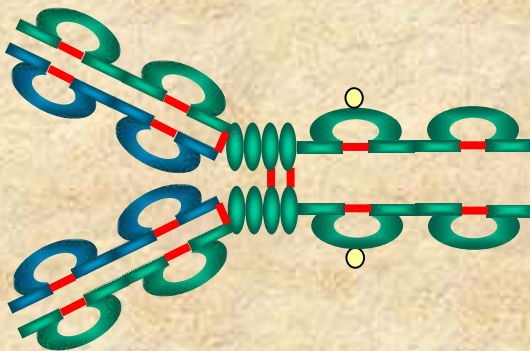
IgG молекула



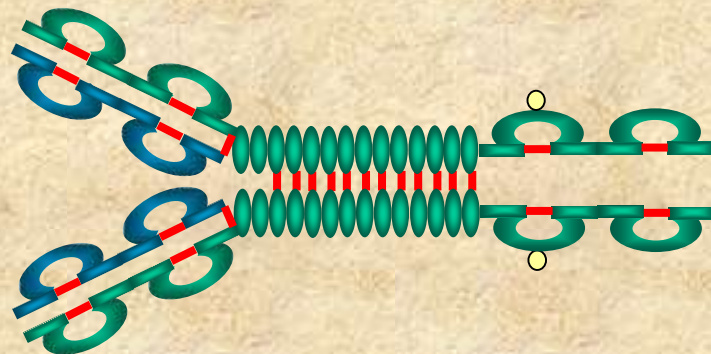
© 1996 Mike Clark

IgG

- Структура
 - Мономер (7S)



IgG1, IgG2 and IgG4



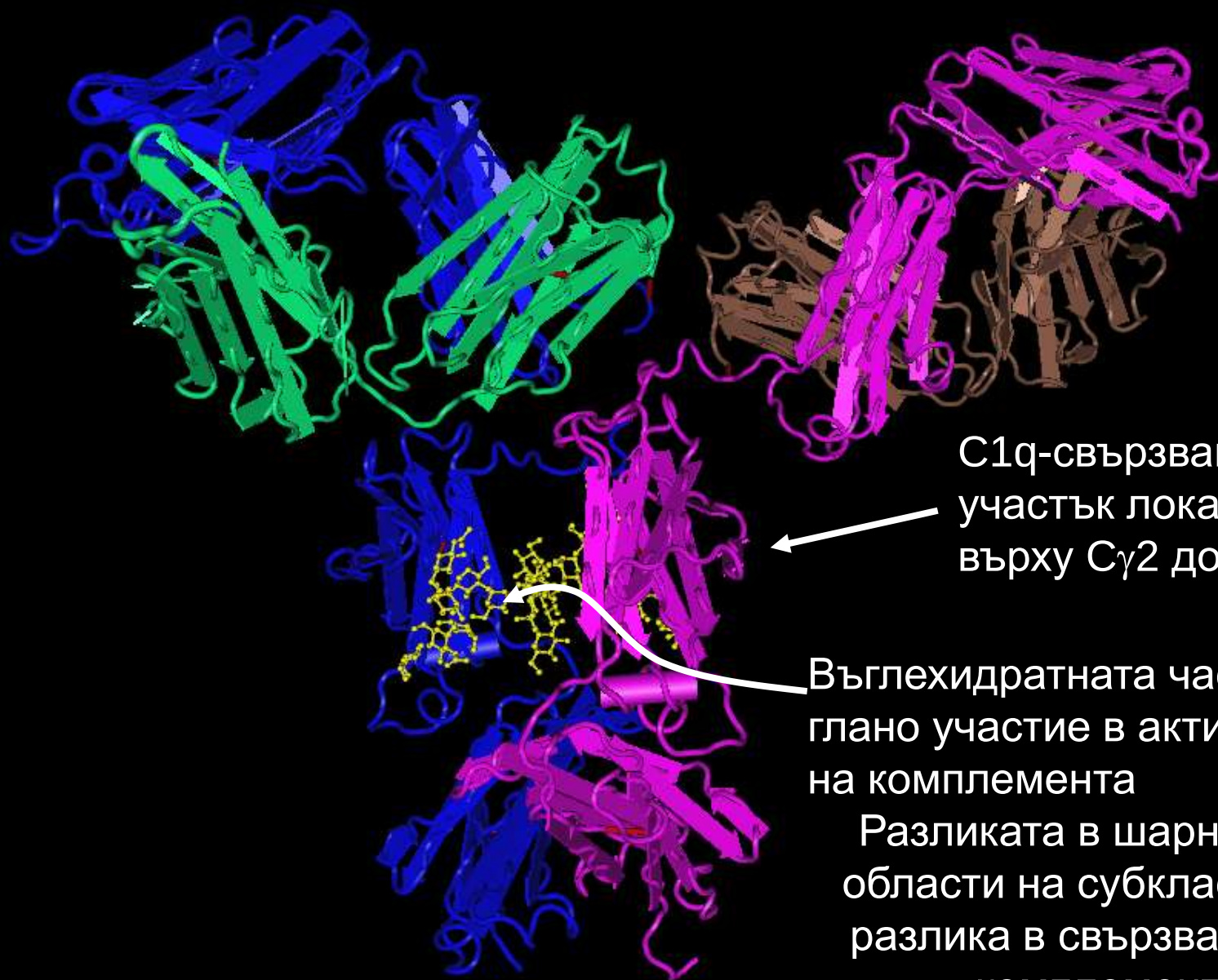
IgG3

IgG

- Структура
- Свойства
 - Най-голямо количество в серума
 - Основния Ig в екстраваскуларните тъкани
 - Премахва през плацентата – Не изисква свързване с Аг (най-слабо IgG₂)
 - Фиксира компонента (без IgG₄)
 - Свързва Fc рецептори
 - Върху фагоцити - опсонизация
 - NK клетки – ADCC (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)

IgG факти и цифри

Тежки вериги:	$\gamma 1 \ \gamma 2 \ \gamma 3 \ \gamma 4$ - Gamma 1 - 4			
полуживот:	IgG1	21 - 24 days	IgG2	21 - 24 days
	IgG3	7 - 8 days	IgG4	21 - 24 days
Нива в серума (mg/ml):	IgG1	5 - 12	IgG2	2 - 6
	IgG3	0.5 - 1	IgG4	0.2 - 1
% от общите Ig в серума:	IgG1	45 - 53	IgG2	11 - 15
	IgG3	3 - 6	IgG4	1 - 4
Активиране на: комплемента	IgG1	+++	IgG2	+
	IgG3	++++	IgG4	No
Взаимод-я с клетки:	Всички субкласове с IgG рецептори (FcR) върху макрофаги и фагоцити			
Преминаване през плацентата:	IgG1	++	IgG2	+
	IgG3	++	IgG4	++



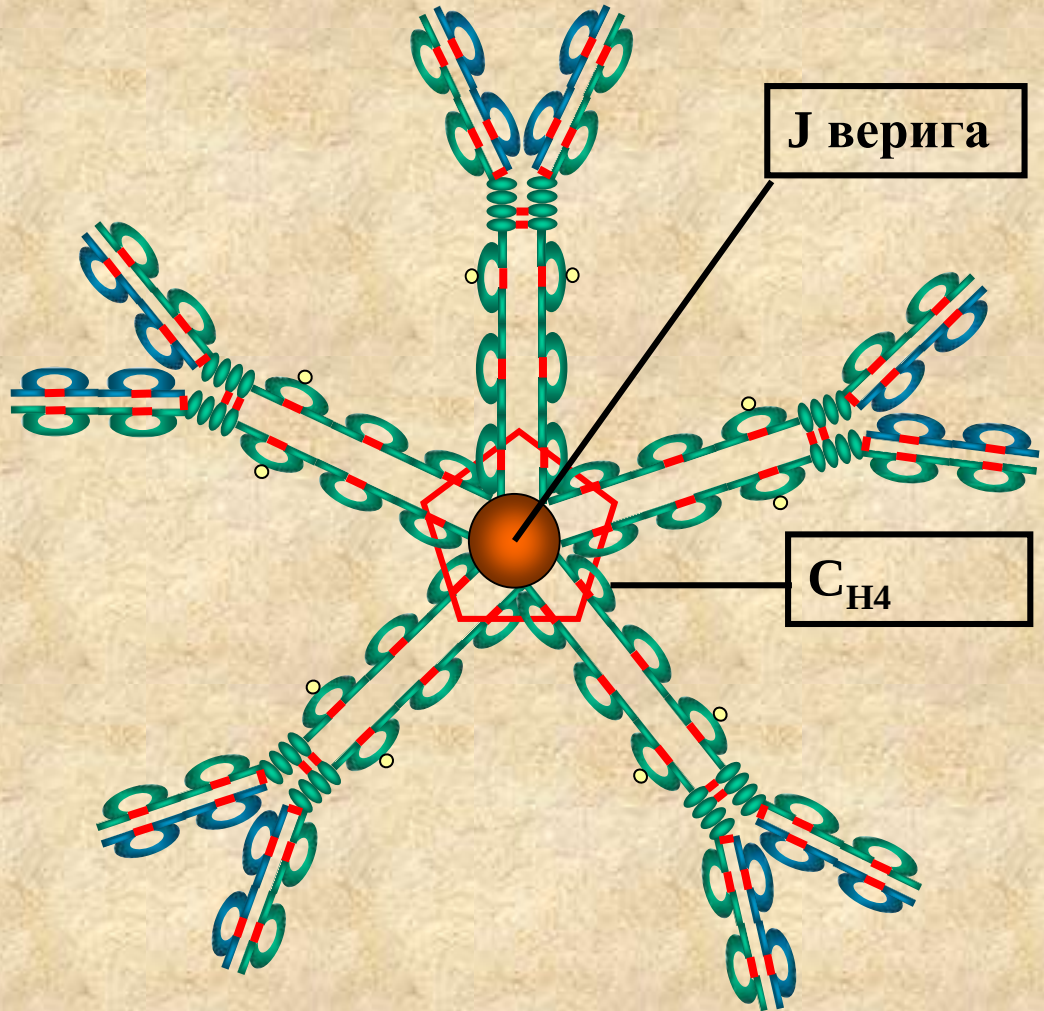
C1q-свързващ
участък локализиран
върху C γ 2 домена

Въглехидратната част има
глаго участие в активирането
на комплемента

Разликата в шарнирните
области на субкласовете -
разлика в свързването на
комплемента

IgM

- Структура
 - Пентамер (19S)
 - Допълнителен домен (C_{H4})
 - J верига

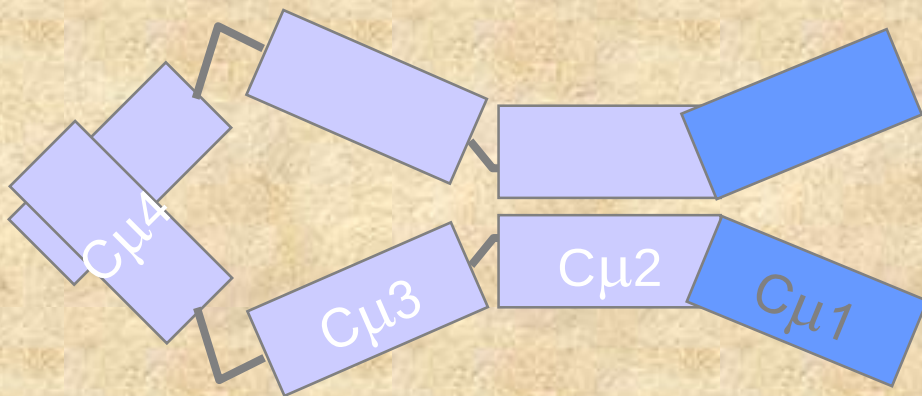


IgM

- Структура
- Свойства
 - Трети по количество в серума
 - Първият Ig произведен от фетуса и В клетките
 - Фиксира комплемента

Полимерен IgM

IgM образува пента- и хексамери



N.B. Показани
са само
константните
области на H-
веригите

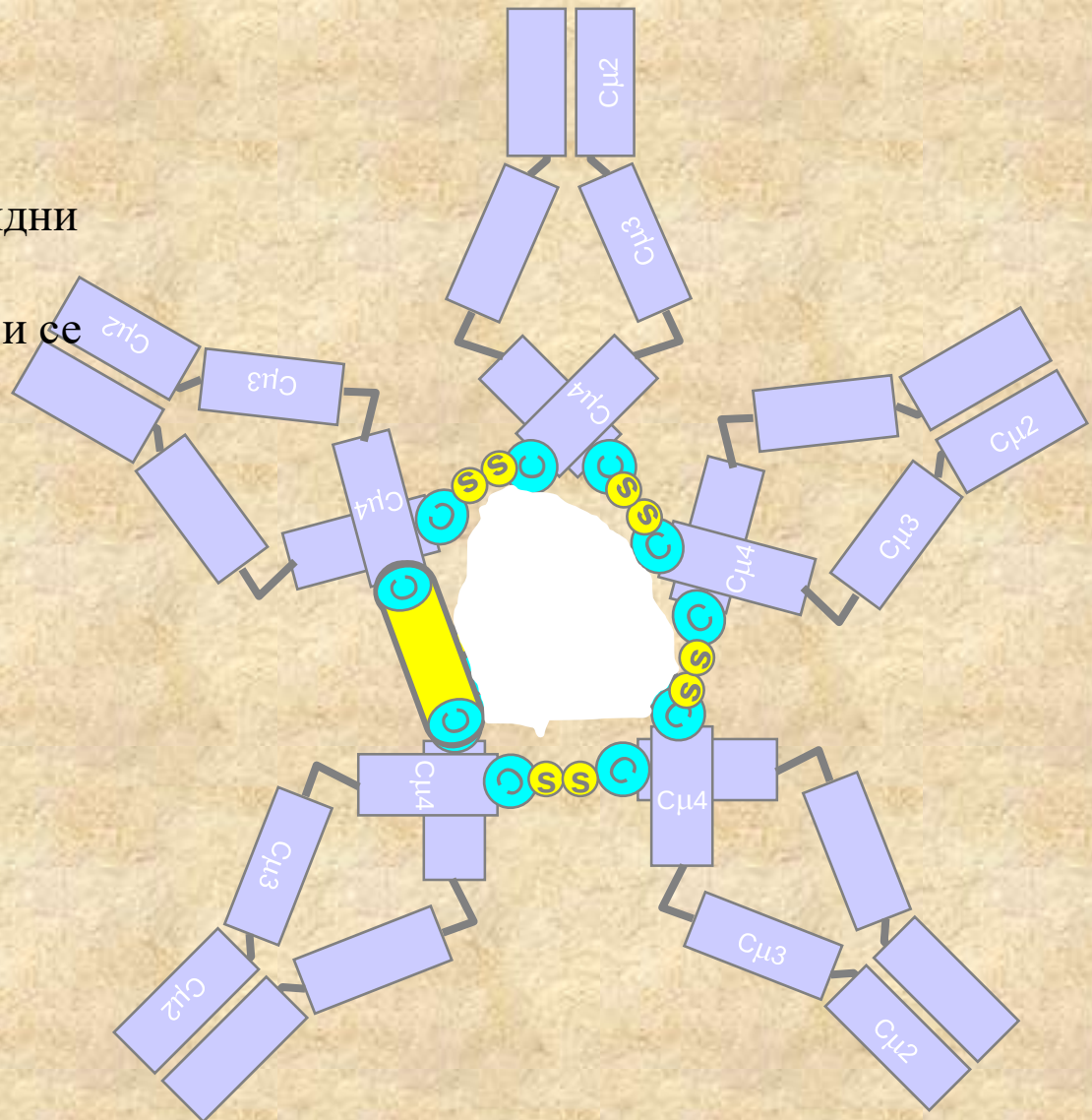
C μ 3 свързва C1q за начало на класическия път на активиране на комплемента

C μ 1 свързва C3b за опосредстване на поглъщането на опсонизирания антиген от макрофагите

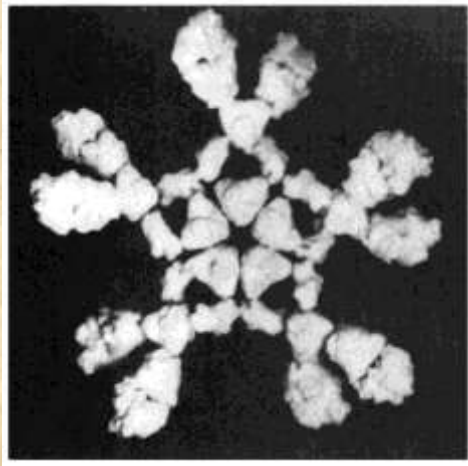
C μ 4 подпомага мултимеризацията (C μ 3 също може да участва)

Мултимеризация на IgM

1. Два IgM мономера в ER (само Fc са показани)
2. Цистеиновите остатъци в J веригата образуват дисулфидни мостове с цистеиновите остатъци от всеки мономер и се получава димер
3. J веригата се отделя от свързания с дисулфиден мост димер
4. J веригата свързва трети IgM мономер и го присъединява към димера
5. Цикълът се повтаря още два пъти
6. J веригата остава свързана за IgM пентамера

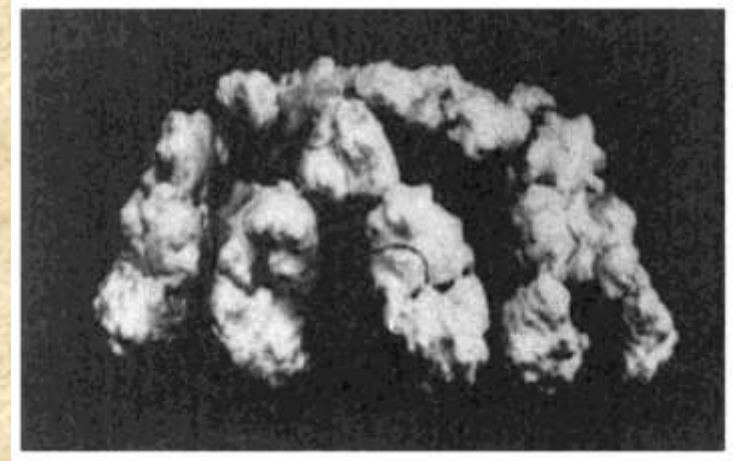


IgM



Планарна или 'Starfish' конформация
в разтвор.

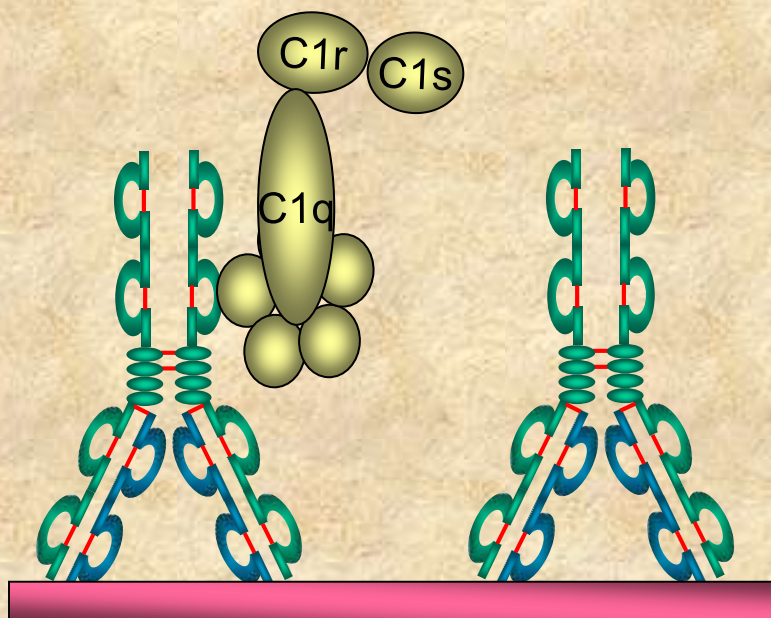
Не свързва комплемента.



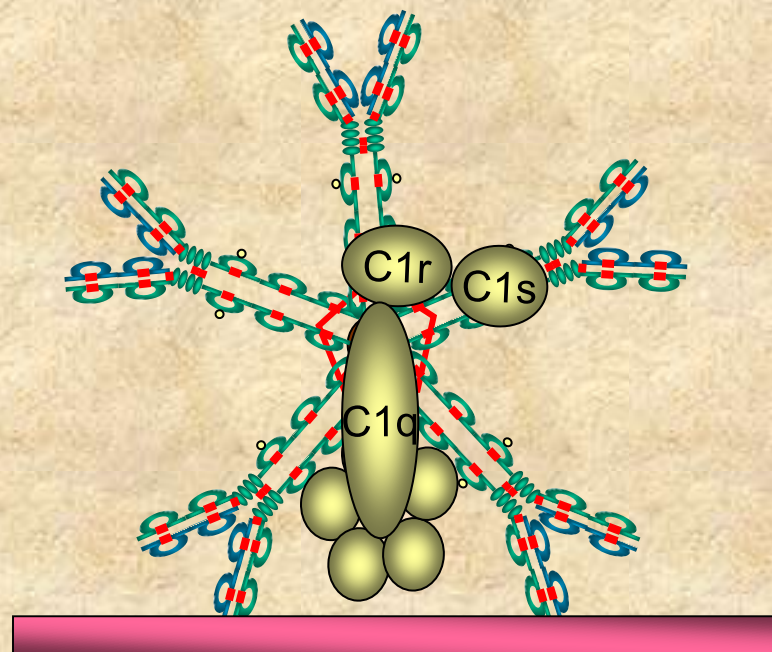
Конформационна промяна в
резултат на свързване на Аг.
Ефективно свързва комплемента.



Свързване на C1 от IgG и IgM



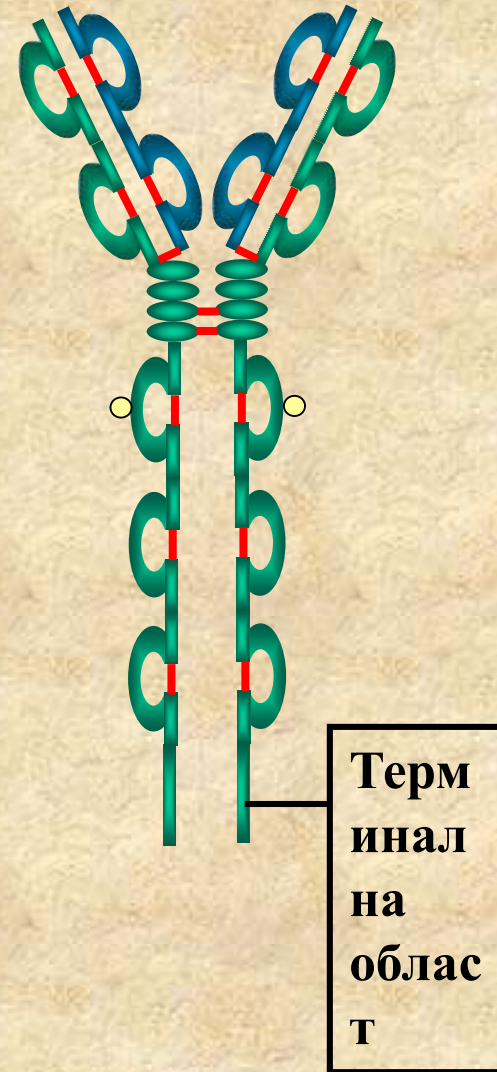
Не активира



Активира се

IgM

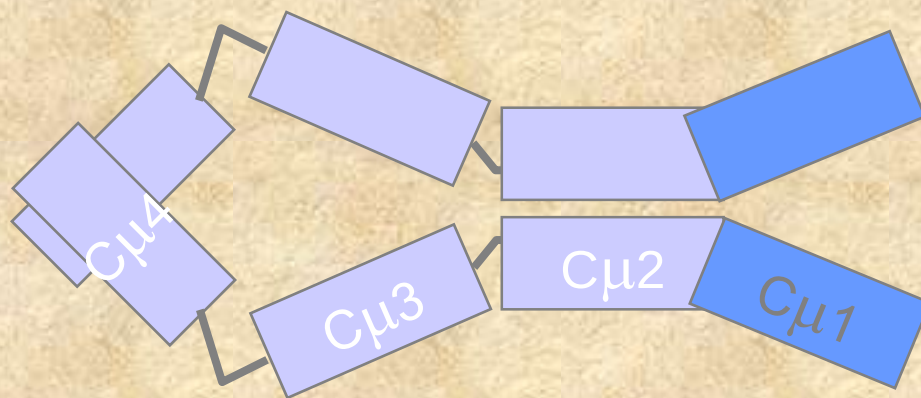
- Структура
- Свойства
 - 3^{ти} по количество в серума
 - Първият Ig произвеждан от фетусът и В-клетките
 - Фиксира комплемента
 - Аглутиноген
 - Свързва Fc рецептори
 - По повърхността на В-клетките



Мономерния IgM

IgM мономер само върху повърхността на В-клетките

Мономерния IgM има нисък афинитет за антигена

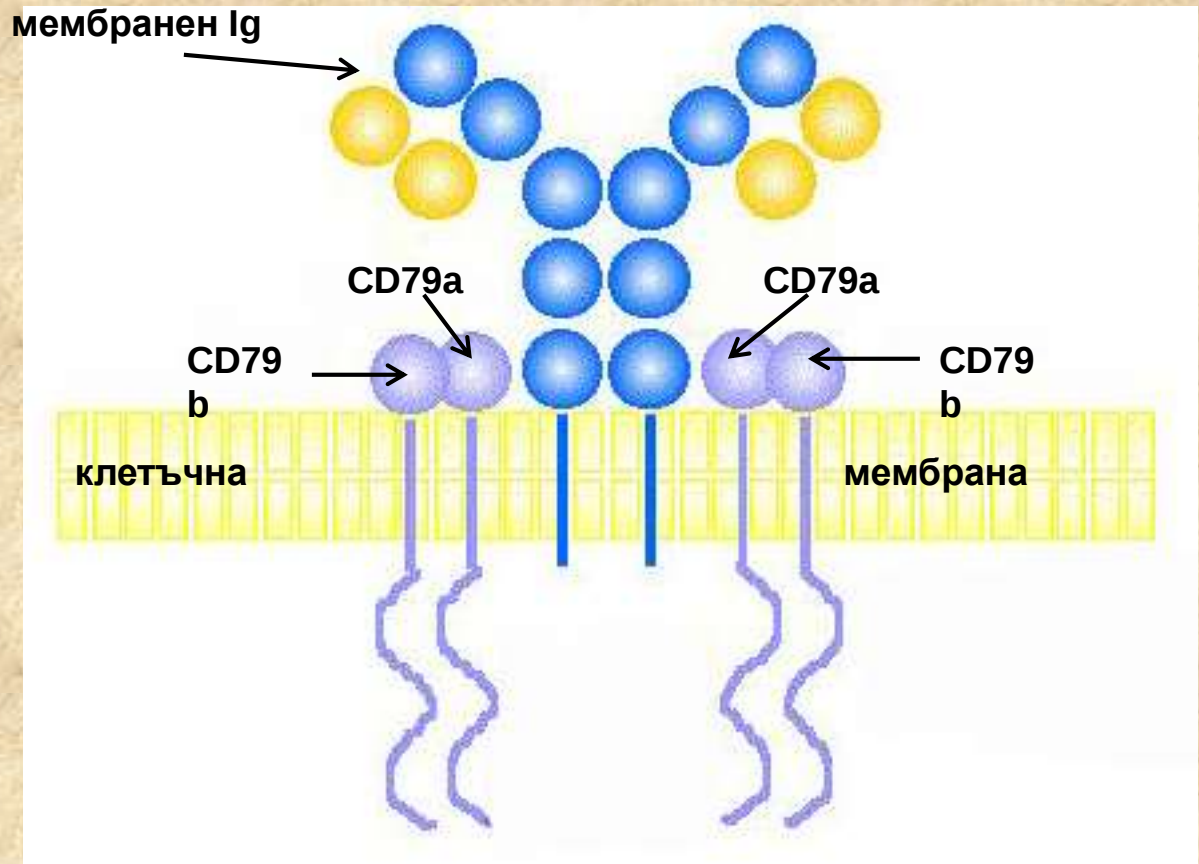


N.B. Показани
са само
константните
области на H-
веригите

Cμ4 съдържа трансмембранни и цитоплазмени участъци. Те се премахват посредством РНК-сплайсинг за да се произведе серумен IgM

В-клетъчен рецепторен комплекс

Всяка мембранна Ig молекула се придружава от 2 хетеродимерни аксесорни молекули CD79a и CD79b. И двете принадлежат към суперсемейството на Ig. CD79a (Ig α) и CD79b (Ig β). При свързване на Аг към В-клетъчния рецептор предават сигнал към вътрешността на клетката.

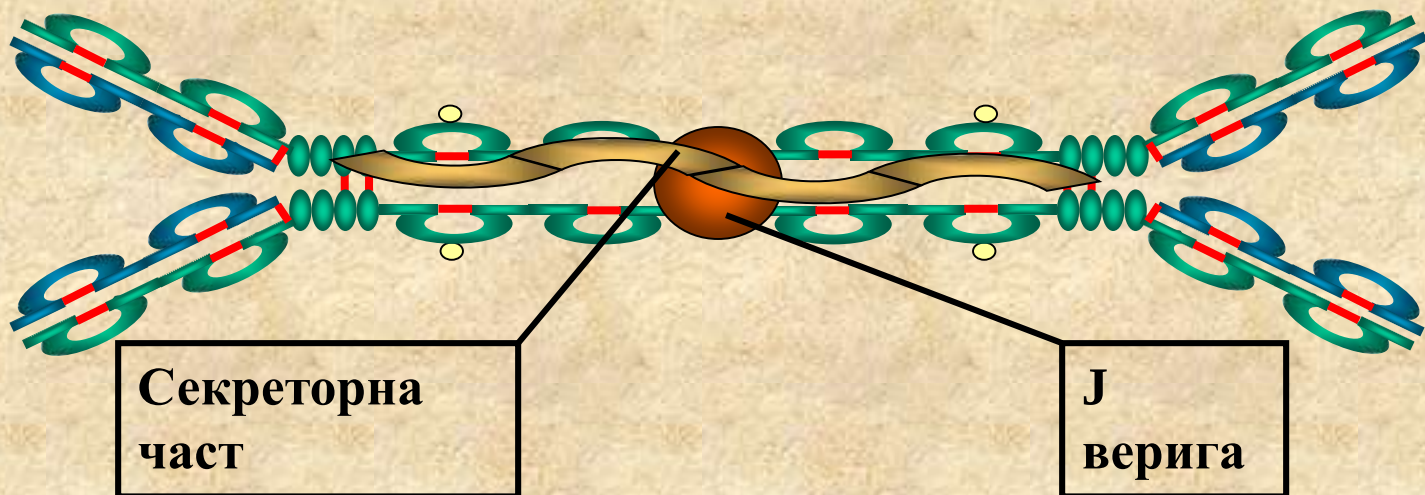


IgM факти и цифри

Тежка верига:	μ - $M\mu$
Полуживот:	5 - 10 дни
% от общите Ig в серума:	10
Серумни нива (mg/ml):	0.25 - 3.1
Активация на C:	++++ по класическия път
Взаимод-я с клетки:	Фагоцити чрез C3b рецептори Епителни клетки чрез полимерен Ig-рецептор
Преминаване през плацента:	Не
Афинитет към Ag:	Мономерен IgM - нисък – II валентност Пентамерен IgM - висок – X валентност

IgA

- Структура
 - Серум - Мономер
 - Секрети (sIgA)
 - Димер (11S)
 - J верига
 - Секреторен компонент

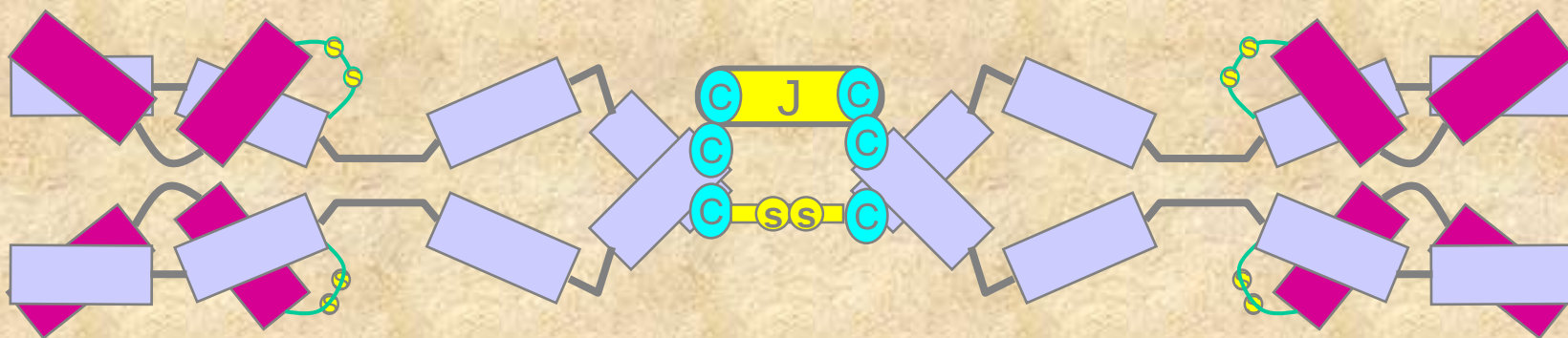


IgA - свойства

- II по количество в серума Ig
- Главен секреторен Ig (Лигавичен и локален имунитет)
 - Сълзи, слюнка, стомашни сокове, белодробен секрет, коластра и мляко
- Аглутиниращи, опсонизиращи и неутрализиращи свойства
 - Свързва Fc рецепторите на някои клетки
 - Алтернативен и лектинов път на комплемента (в агрегирано състояние)
 - Бактерицидни свойства към Г(-) бактерии в присъствие на лизозим

IgA димеризация и секреция

IgA е главния изотип върху мукозните повърхности под формата на димер свързан с J верига, образуван по начин, подобен при образуването на IgM пентамерите.



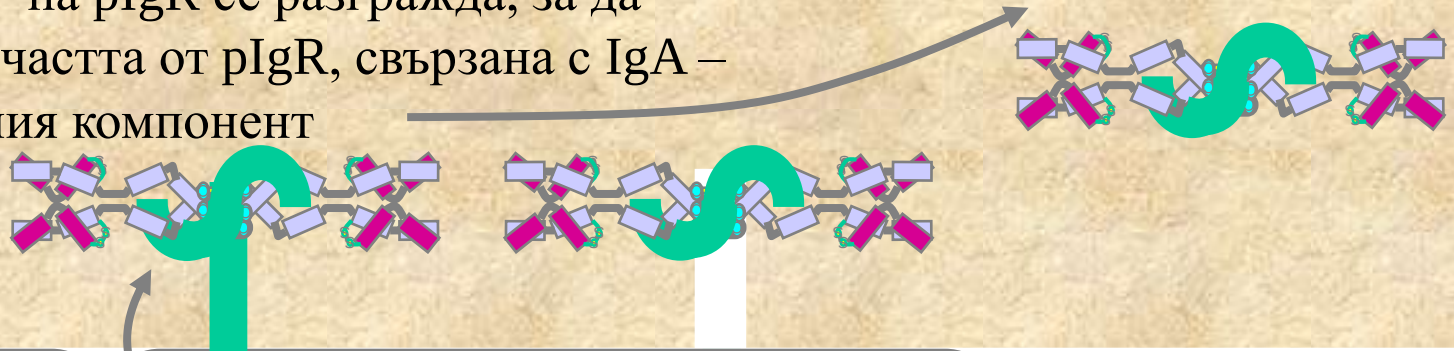
IgA има два субкласа

IgA₁ главно в серума и се произвежда от костномозъчни В клетки

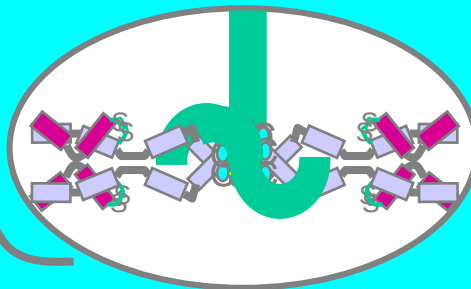
IgA₂ главно в мукозни секрети, коластрата и млякото и се произвежда от В-клетките в мукозата.

Секреторен IgA транспорт към лумена

‘Стъблото’ на pIgR се разгражда, за да освободи частта от pIgR, свързана с IgA – секреторния компонент



IgA и pIgR се транспортират до апикалната повърхност в мехурчета



Епителни клетки

pIgR и IgA навлизат в епителните клетки



Плазматични клетки в субмукозния епител произвеждат димерен IgA

В

Полимерните Ig рецептори (S, T, Polymeric Ig receptors pIgR) се експресират върху базолателарната повърхност на епителните клетки за да свържат IgA, произведен в мукозата

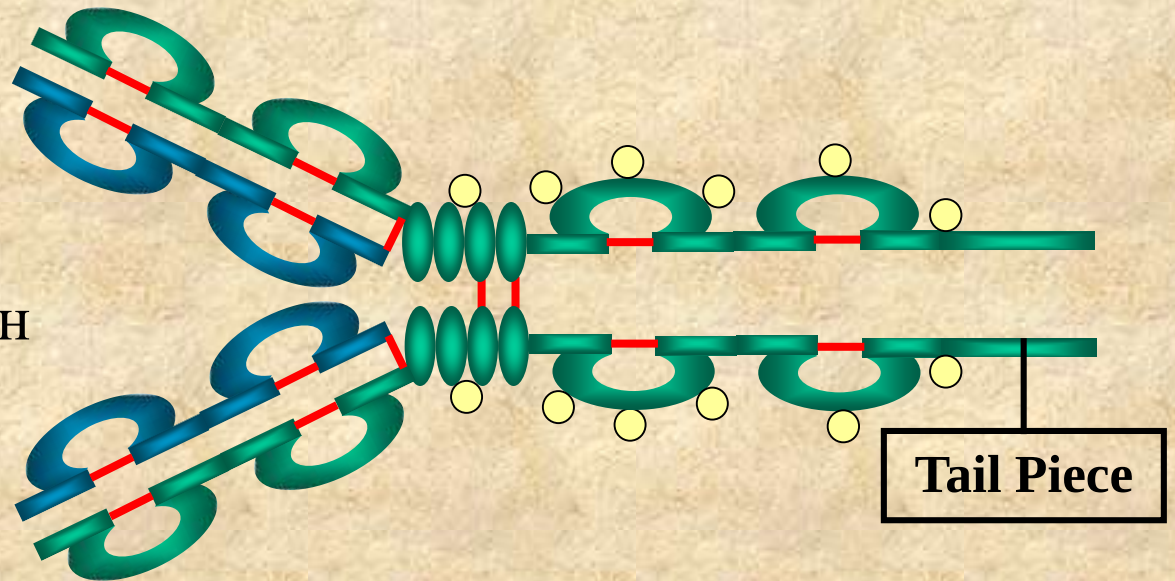
IgA факти и цифри

Тежки вериги:	<i>$\alpha 1$ или $\alpha 2$ - Alpha 1 or 2</i>
полуживот:	<i>IgA1 5 - 7 дни IgA2 4 - 6 дни</i>
Серумни нива (mg/ml):	<i>IgA1 1.4 - 4.2 IgA2 0.2 - 0.5</i>
% от общите Ig в серума:	<i>IgA1 11 - 14 IgA2 1 - 4</i>
Активиране на С:	<i>IgA1 – алтернативен и лектинов път IgA2 - He</i>
Взаимодействие с клетки:	<i>Епителни клетки с pIgR Фагоцити с IgA рецептор</i>
Пренос през плацента:	<i>He</i>

- За да се намали чувствителността към микробиалните протеази, шарнирът на IgA2 е скъсен, а при IgA1 е силно гликозилиран.

IgD

- Структура
 - Мономер
 - Терминален трансмембранен участък



IgD

- Структура
- Свойства
 - 4ти серумен Ig
 - В клетъчен повърхностен Ig
 - Не свързва C

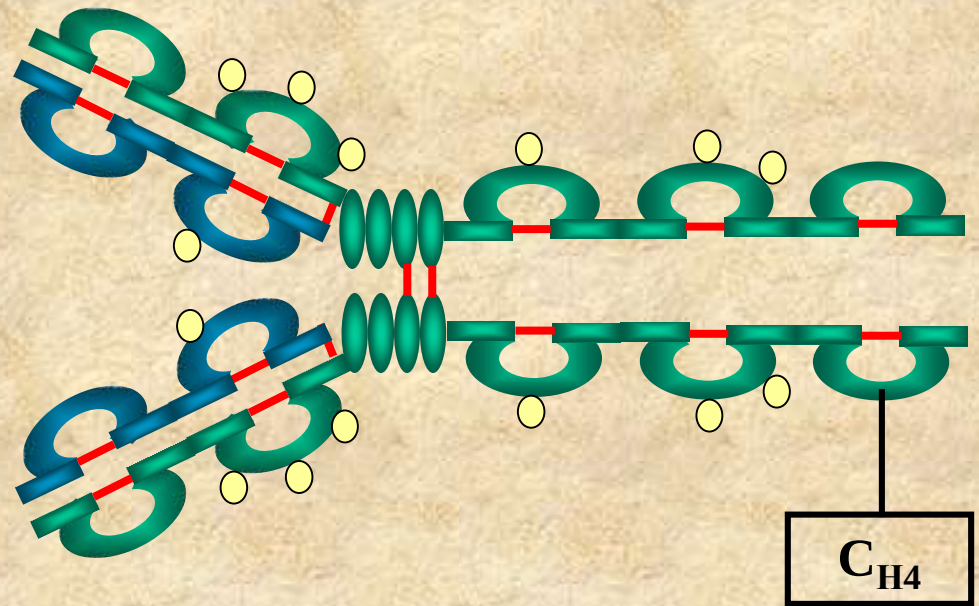
IgD факти и цифри

Тежка верига:	δ - Delta
Полуживот:	2 - 8 дни
% Ig в серума:	0.2
Серумни нива (mg/ml):	0.03 - 0.4
Активация на С:	He
Взаимодейства с: Т кл.	ч/з лектиноподобен IgD рец.
Пренос през плацента:	He

- IgD се коекспресира с IgM в/у В клетките и е резултат на алтернативен сплайсинг на иРНК
- IgD плазмоцити се намират в назалната мукоза но не е измвестна функцията им там
- Свързването на IgD с Аг може да активира, убие или анергизира В клетката
- Удължен шарнир и поради това увеличена чувствителност към микробиалните протеази

IgE

- Структура
 - Мономер
 - Допълнителен домен (C_{H4})



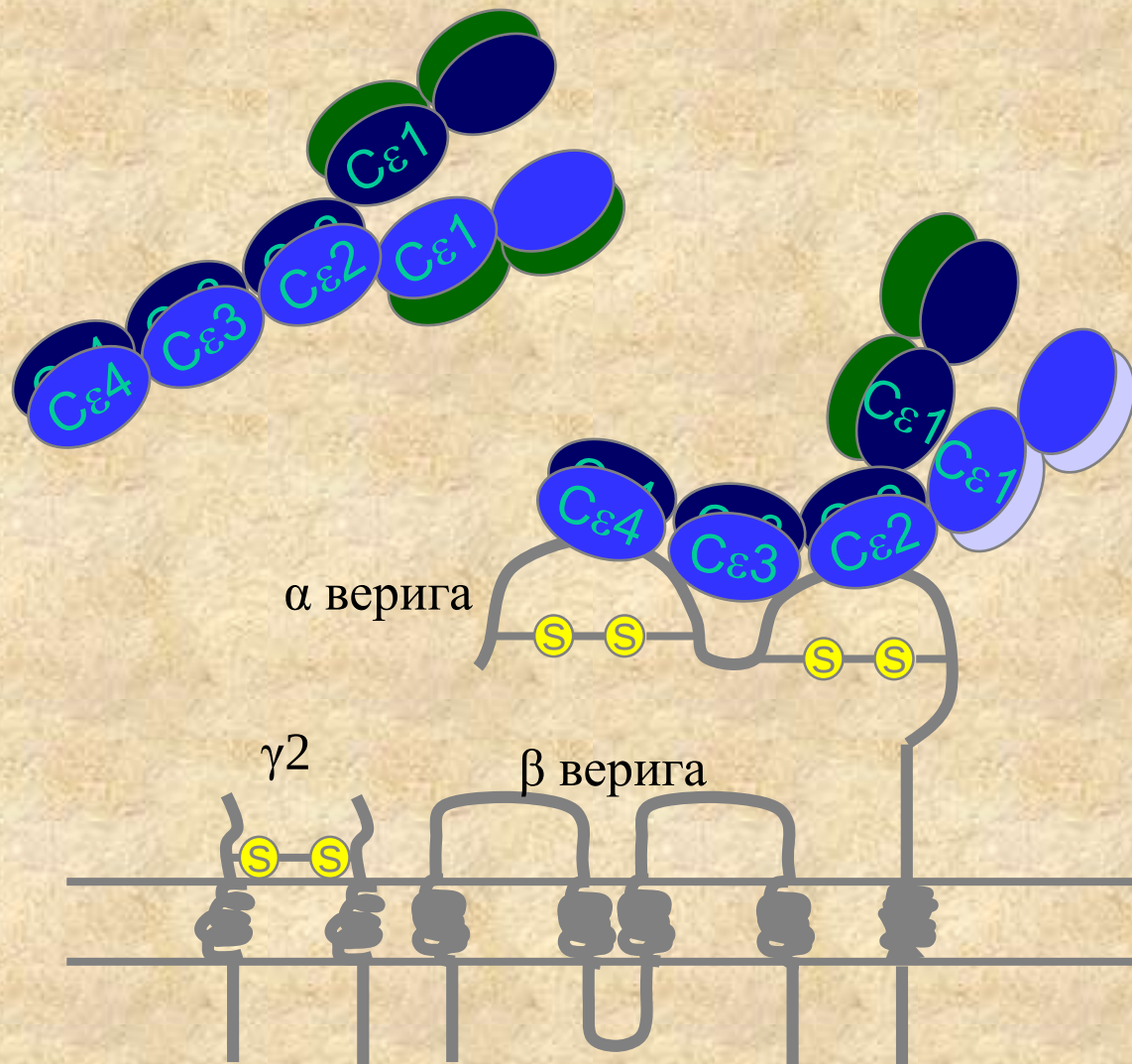
IgE

- Структура
- Свойства
 - Най-ниска концентрация в серума
 - Слаб синтез
 - Свързва се към базофилите и мастните клетки (Не изисква свързване на Ag)
 - Алергични реакции - реакции на свръхчувствителност
 - Паразитни инфекции (Хелминтози) IgE се появява по-късно в еволюцията във връзка с ролята му при паразитните инфекции
 - Свързва FcR върху еозинофилите
- Не свързва C

IgE факти и цифри

Тежка верига:	ε - <i>Epsilon</i>
Полуживот:	1 - 5 дни
Серумни нива (mg/ml):	0.0001 - 0.0002
% от общия Ig в серума:	0.004
Активиране на С:	Не
Взаимодействие с кл:	Високоафинитетни IgE R в/у мастни клетки, еозинофили, вазофили и Лангерхансови клетки Нискокоафинитетни IgE R в/у В-клетки и моноцити
Пренос през плацента:	Не

Високоафинтетен IgE рецептор(FcεRI)



Взаимодействието между IgE и FcεRI е смного висок афинитет с изключително ниска дисоциационна константа.

Свързването на IgE към FcεRI увеличава полуживота му.

Cε3 на IgE взаимодейства с α веригата на FcεRI, предизвиквайки конформационни промени

Афинитет и авидитет

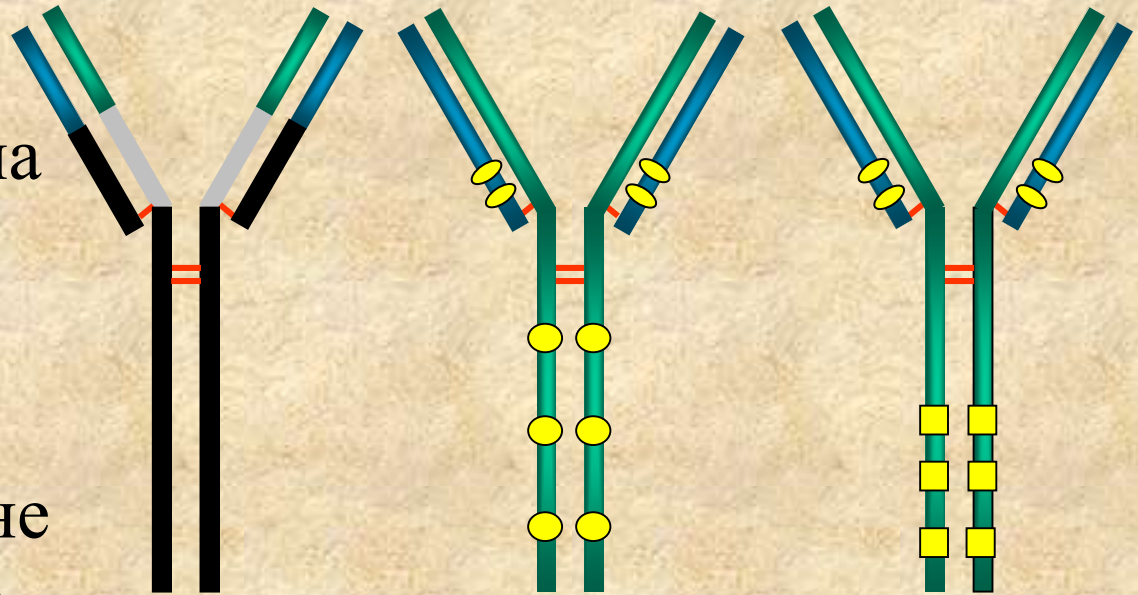
- **Афинитет:** силата на свързване между едно Аг-свързващо място и лиганда (Аг) .
- **Авидитет:** силата на свързване между молекула и комплексен лиганд, т.е. ако има поливалентни свързващи места, то техният авидитет ще се увеличи с увеличаване на броя на свързващите места или чрез увеличаване на афинитета на тези свързващи места.
- IgM се произвежда най-рано при ИО, когато афинитетът за Аг обикновено е нисък. При продължаване на ИО Аг афинитет се увеличава и това е свързано с “превключване на класа” към по-малки молекули (IgG, IgE and IgA). По-високият афинитет компенсира намалението на свързващите места в поддържането на общата авидност за Аг.

Аг детерминанти на Ат

- Ат – гликопротеини – въведени в друг организъм играят ролята на Аг
- Организмът-гостоприемник реагира с производството на Ат, разпознаващи различни Аг детерминанти от молекулата на инжектираното Ат
- Три типа антигенни различия при Ат

Ig Изотипове

- Аг детерминанти, характеризиращи класа и субкласа на тежките вериги и субтипа на леките вериги
- Алелно изключване при леките вериги



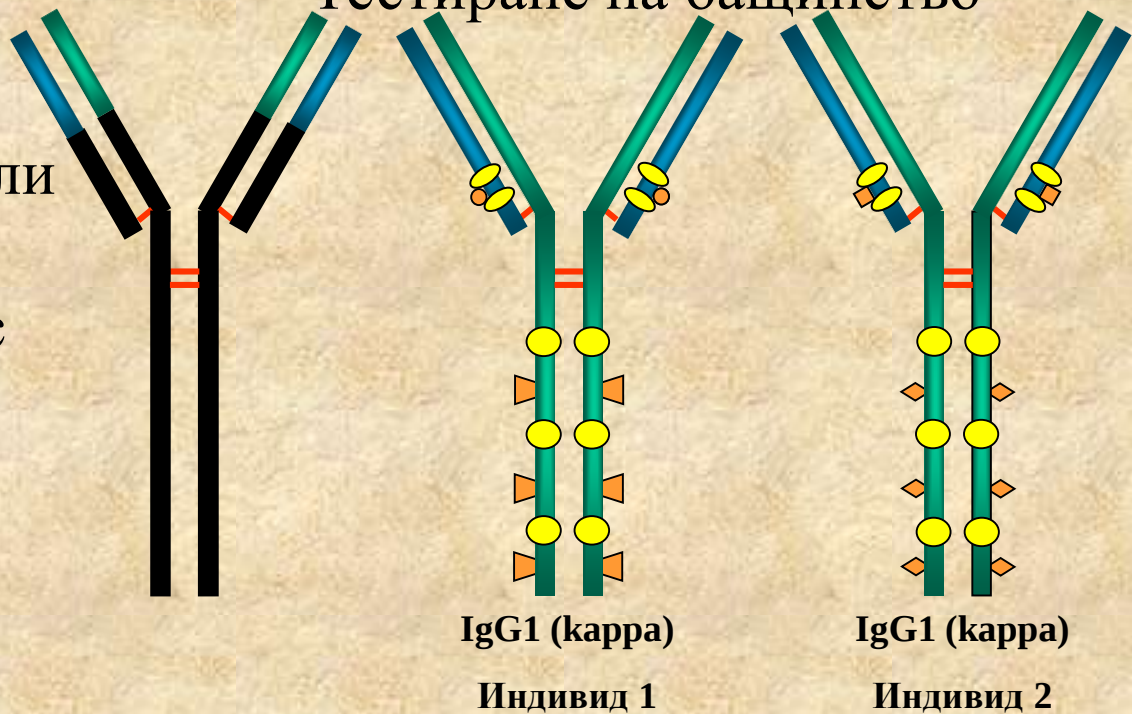
IgG1 (kappa)

IgM (kappa)

Ig АЛОТИПОВЕ

- Аг детерминанти определени от съществуването на алелни форми на Ig гени
- Източник на анти-алотипни Ат
- Промени само в една или две АК
- Не засяга свързването с Аг
- Маркер за анализ на Менделовата наследственост

- Значение
 - Мониторинг на костно-мозъчни присадки
 - Съдебна медицина
 - Тестиране на бащинство



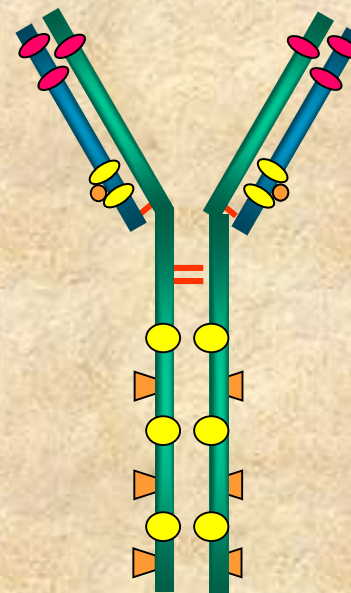
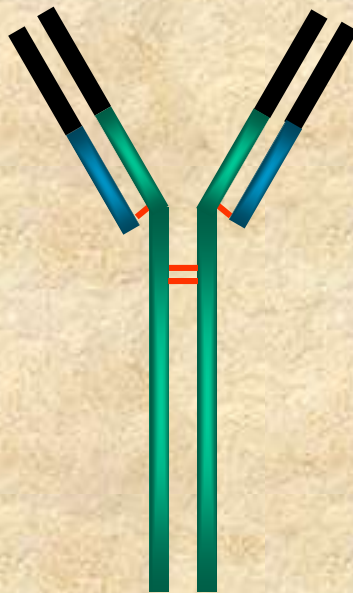
Човешки имуноглобулинови алотипове

- Номенклатура
 - G1m(3)
 - Km(1)

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
⌘ light chain	C _L	Km(1)	Val, Leu	153, 191
	C _L	Km(3)	Ala, Val	153, 191

Ig Идиотипове

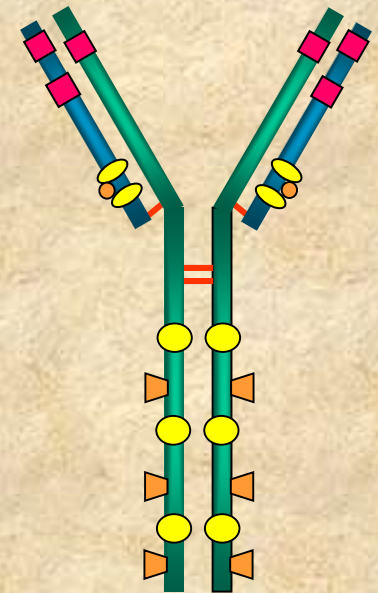
- Уникални антигенни детерминанти върху всяка отделна Ат молекула или върху молекули с еднаква специфичност



IgG1 (kappa)

Индивид 1

анти-А



IgG1 (kappa)

Индивид 1

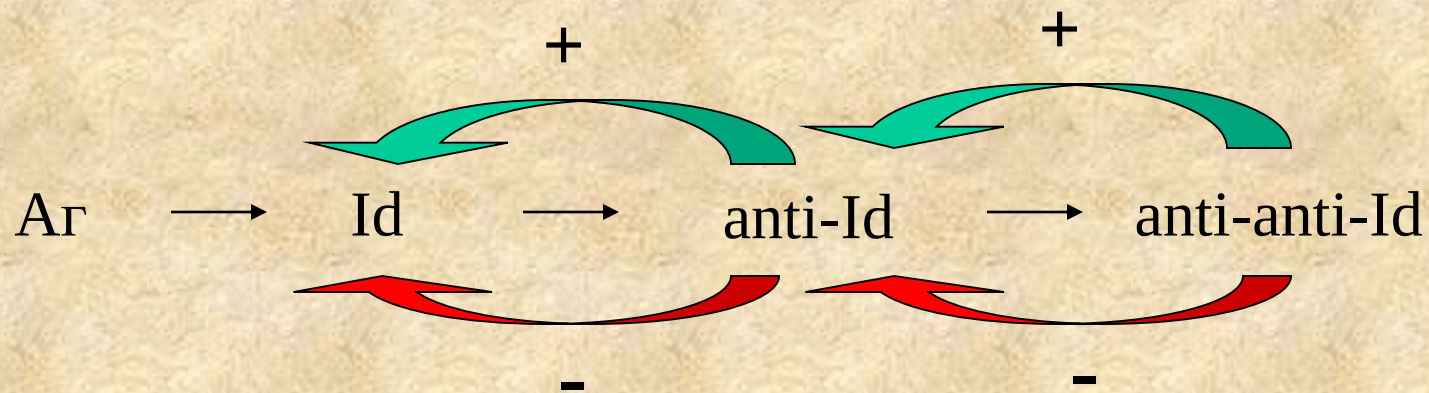
анти-В

- Значение на идиотипа

- маркер за V областта

- ваксини

- регулация на ИО



Регулация идиотип/антиидиотип