



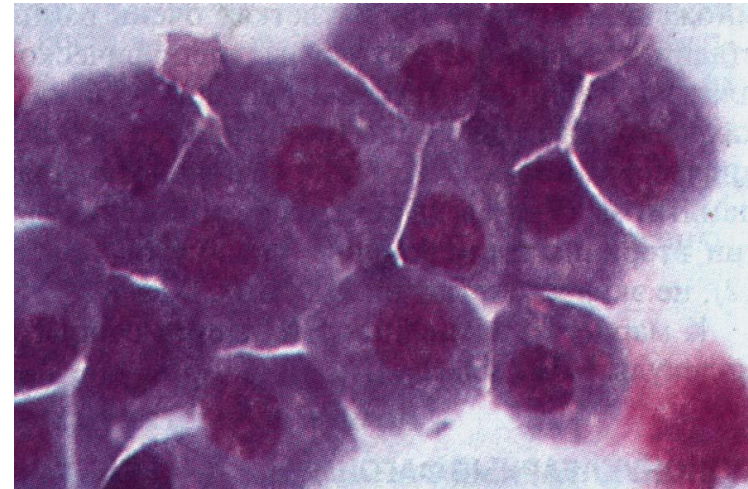
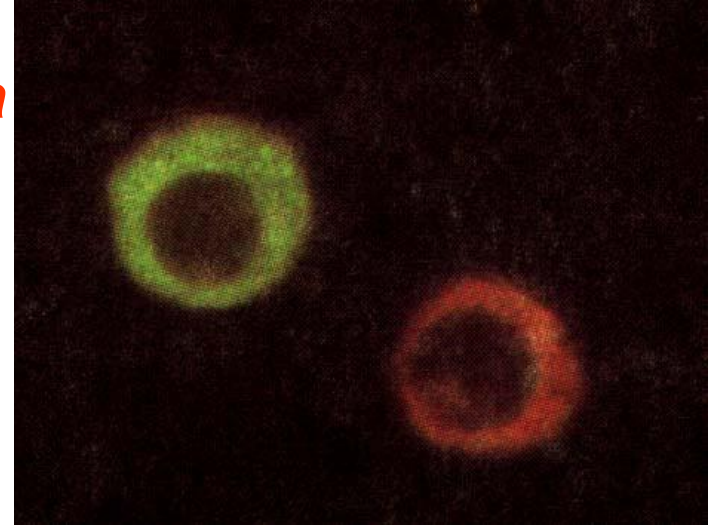
# ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

**М.Р. Карпова**

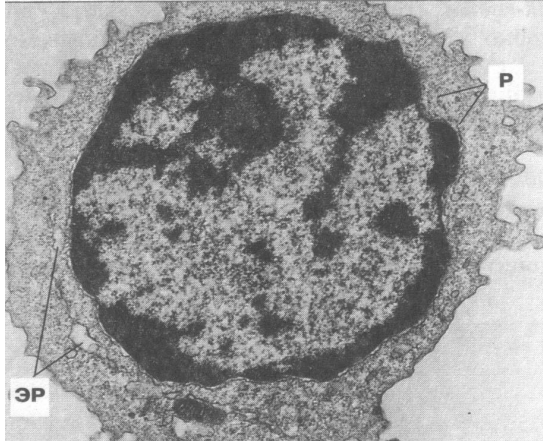
# Понятие об антителах

*АТ – это иммуноглобулины, вырабатываемые в ответ на введение АГ и способные специфически связываться с АГ и участвовать во многих иммунологических реакциях.*

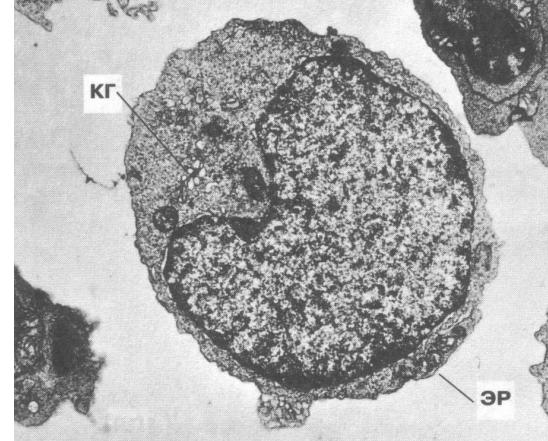
- АТ – **γ-глобулиновая фракция** белков сыворотки крови (15-25% белков сыворотки).
- АТ синтезируются **В-лимфоцитами**. Контакт с АГ → созревание В-клеток в антителобразующие клетки (**АОК**). **Плазматические клетки**.



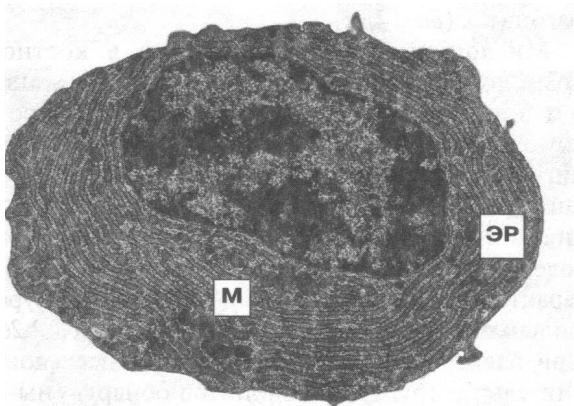
# Антителобразующие клетки



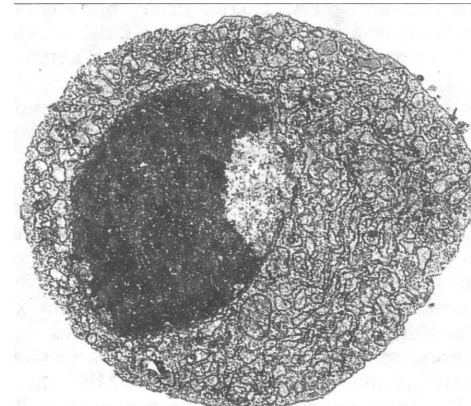
Покоящийся лимфоцит



Активирующийся лимфобласт



Плазматическая клетка



Апоптоз плазматической клетки

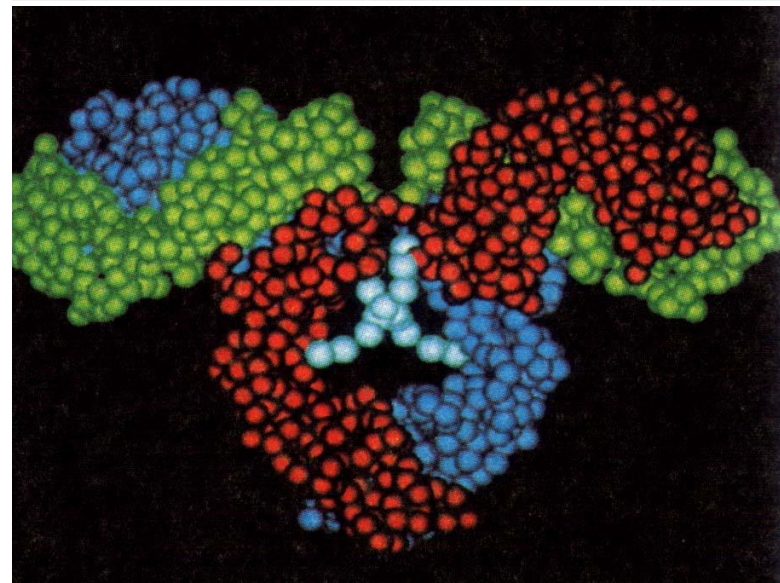
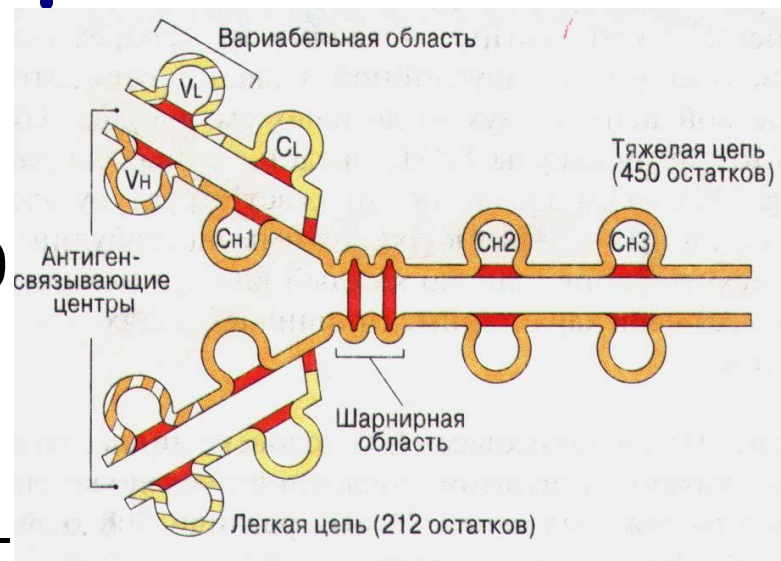
# Типы иммуноглобулинов

- **Иммуноглобулины:**
  - циркулирующие АТ (*сывороточные* и *секреторные*);
  - рецепторные молекулы на иммунных клетках;
  - миеломные белки (*белки Бенс-Джонса*).
- По структуре, антигенному составу и по выполняемым ими функциям Ig подразделяются на 5 классов: **IgG, IgM, IgA, IgE, IgD**.
- Использование: диагностика, лечение, профилактика инфекционных и соматических болезней.



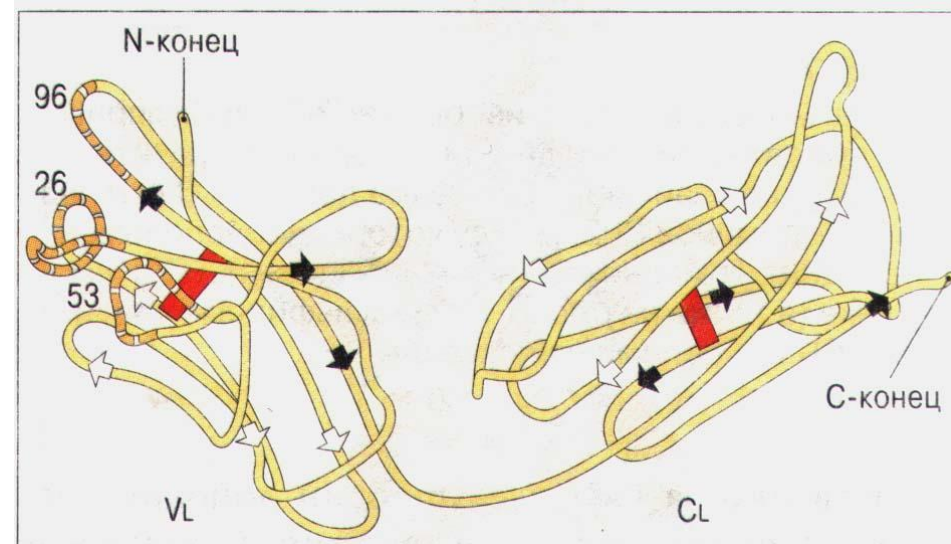
# Молекулярное строение АТ

- Ig – **гликопротеины**.
- **Две тяжелые** (550-660 аминокислотных остатков, 50-77 кДа) и **две легкие** (220 аминокислотных остатков, 25 кДа).
- **H-** (от англ. *heavy* – тяжелый) и **L-** (от англ. *light* – легкий) цепи.
- **(–S–S–)**.
- **«Шарнирный» участок.**
- Молекула Ig может легко менять свою конформацию в зависимости от окружающих условий и состояния.



# Молекулярное строение АТ

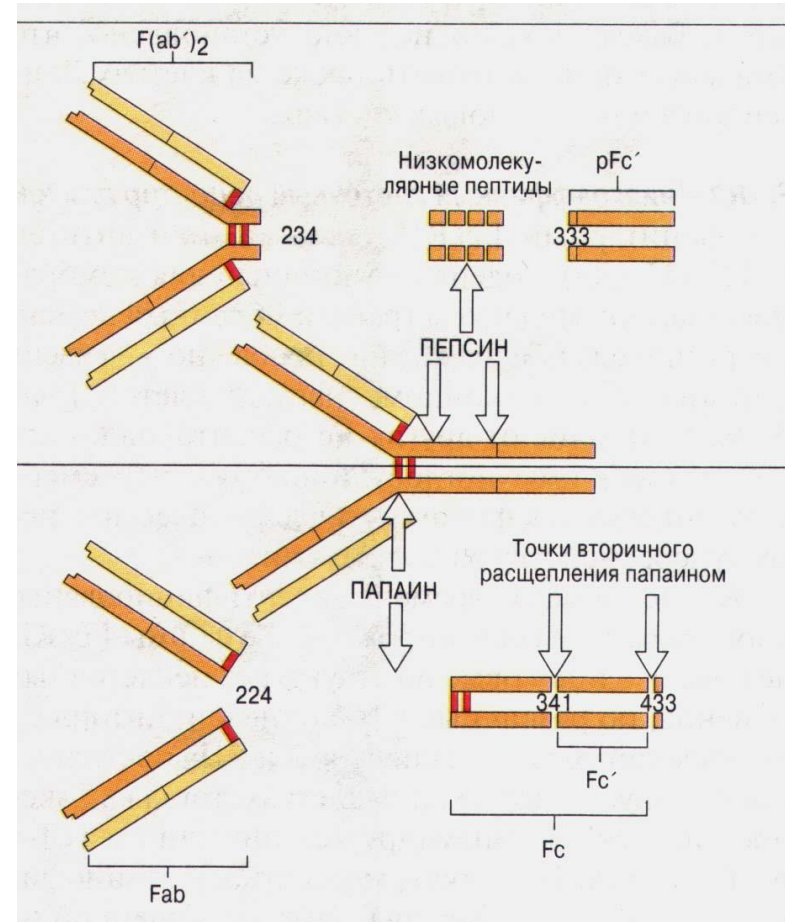
- Легкие цепи: **κ** и **λ**.
- Тяжелые цепи: **α, γ, μ, ε** и **δ**. Подтипы: α1- и α-2; γ1, γ2, γ3, γ4.
- Вторичная структура – **доменное строение**: H-цепи: 4-5, L-цепи: 2.
- Домен – 110 аминокислотных остатков.
- **С-домены** (от англ. *constant* – постоянный), и **V-домены** (от англ. *variable* – изменчивый).  
Легкая цепь: по одному V- и C-домену; тяжелая: один V- и 3-4 C-домена.



- **Гипервариабельная область** – 25 % V-домена.
- **Антигенсвязывающий центр (паратоп)**.

# Молекулярное строение АТ

- **Пепсин** → два фрагмента:  $F_c$  и  $F(ab)_2$ .
- **Папаин** → три фрагмента: два  $Fab$  и  $F_c$ .
- **Fab** – связывание с АГ;
- **Fc** – взаимодействие с C1 → активация компонента по классическому пути, **Fc-рецепторы**) на мембране клеток макроорганизма и некоторых микробов (белок А стафилококка).



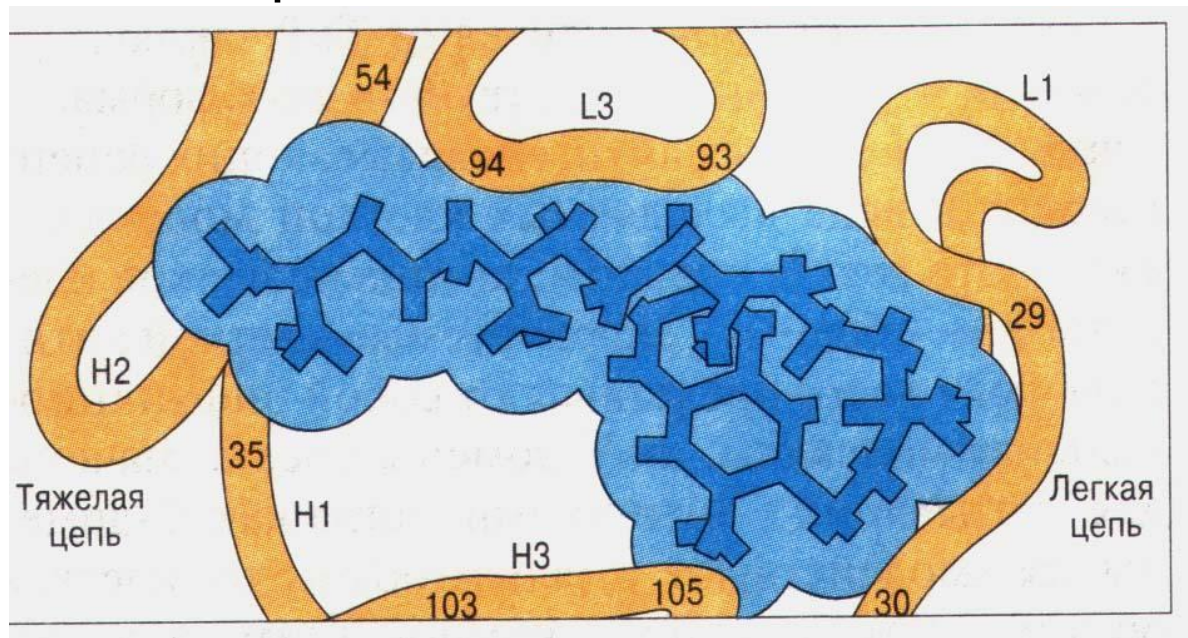
## Дополнительные полипептидные цепи Ig

- IgM, IgA – **J-пептид** (от англ. *join* – соединяю).
- Секреторные IgA – **S-пептид** (от англ. *secret* – секрет), секреторный компонент (71000,  $\beta$ -глобулин).
- Рецепторный иммуноглобулин – **M-пептид** (от англ. *membrane* – мембрана).
- J- и M-пептиды присоединяются к Ig в процессе биосинтеза. S-пептид синтезируется эпителиальными клетками и является их рецептором для IgA; присоединяется к молекуле IgA при его прохождении через эпителиальную клетку.

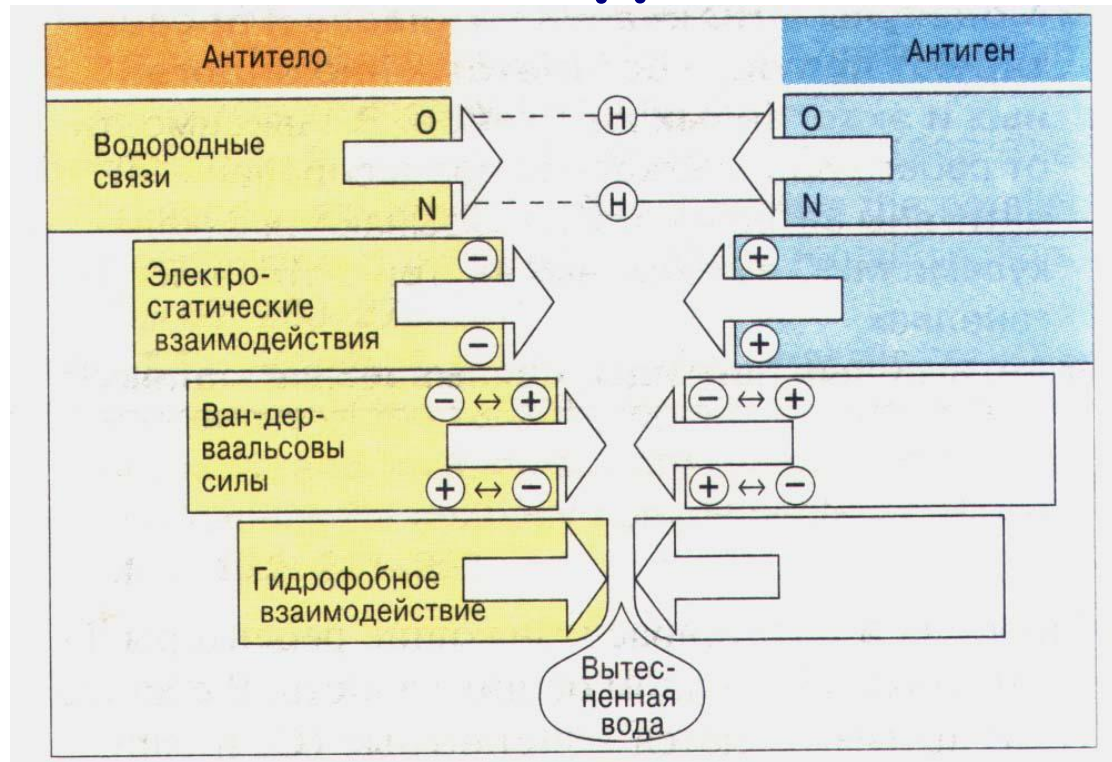


# Механизм взаимодействия АТ с АГ

- В процессе взаимодействия с АГ участвует **антигенсвязывающий центр** (паратоп) Fab-фрагмента.
- АТ взаимодействует лишь с **антигенной детерминантой** (эпитопом) АГ.
- АТ отличается **специфичностью** взаимодействия, т.е. способностью связываться со **строго определенной** антигенной детерминантой.



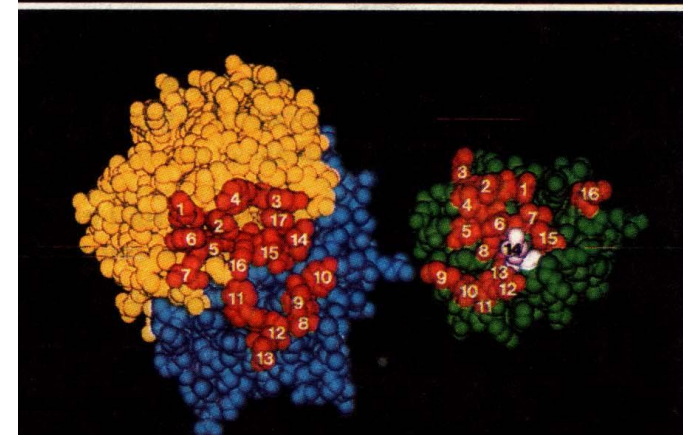
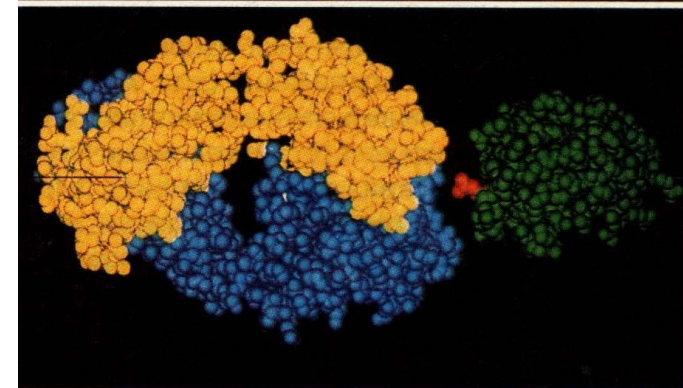
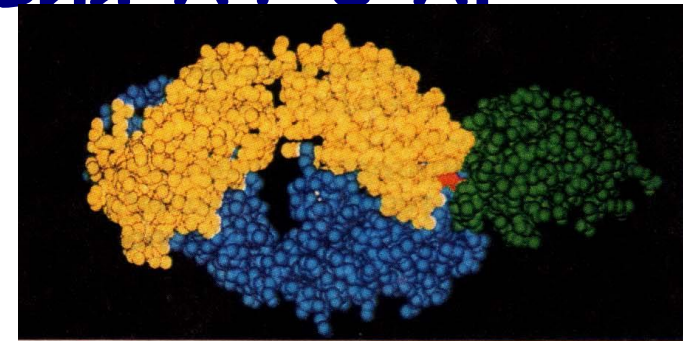
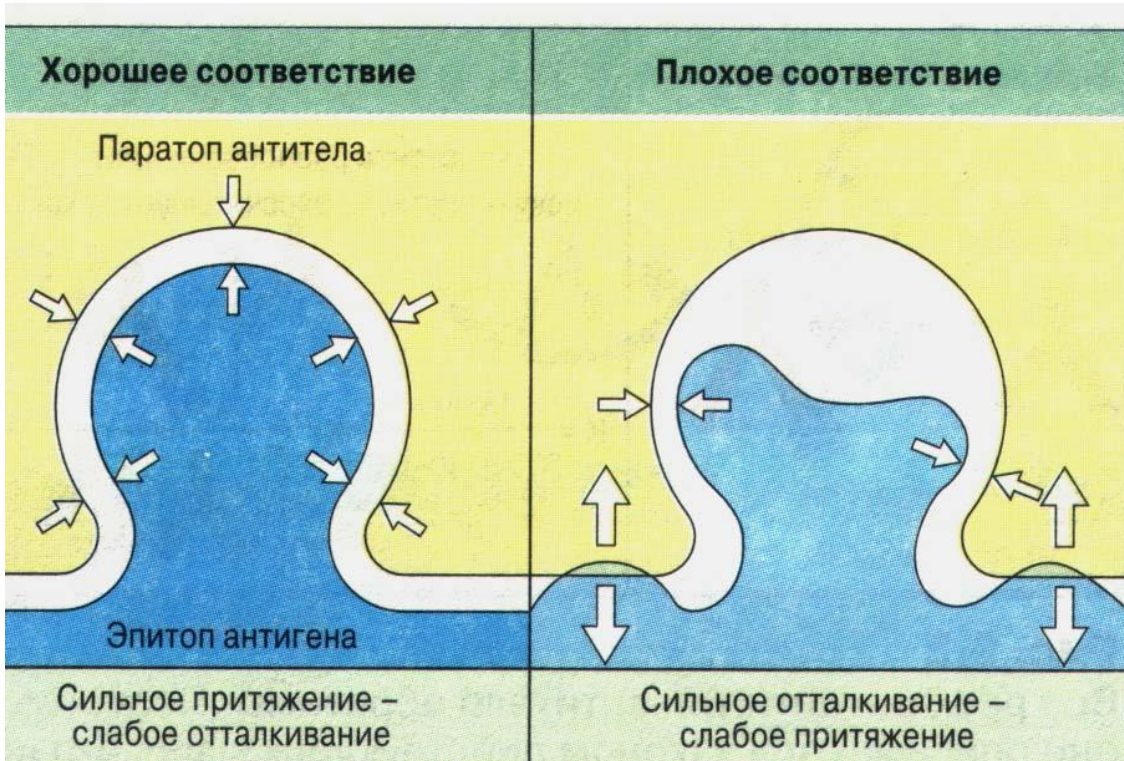
# Механизм взаимодействия АТ с АГ



- Сила нековалентной связи зависит прежде всего от **расстояния** между взаимодействующими химическими группами.

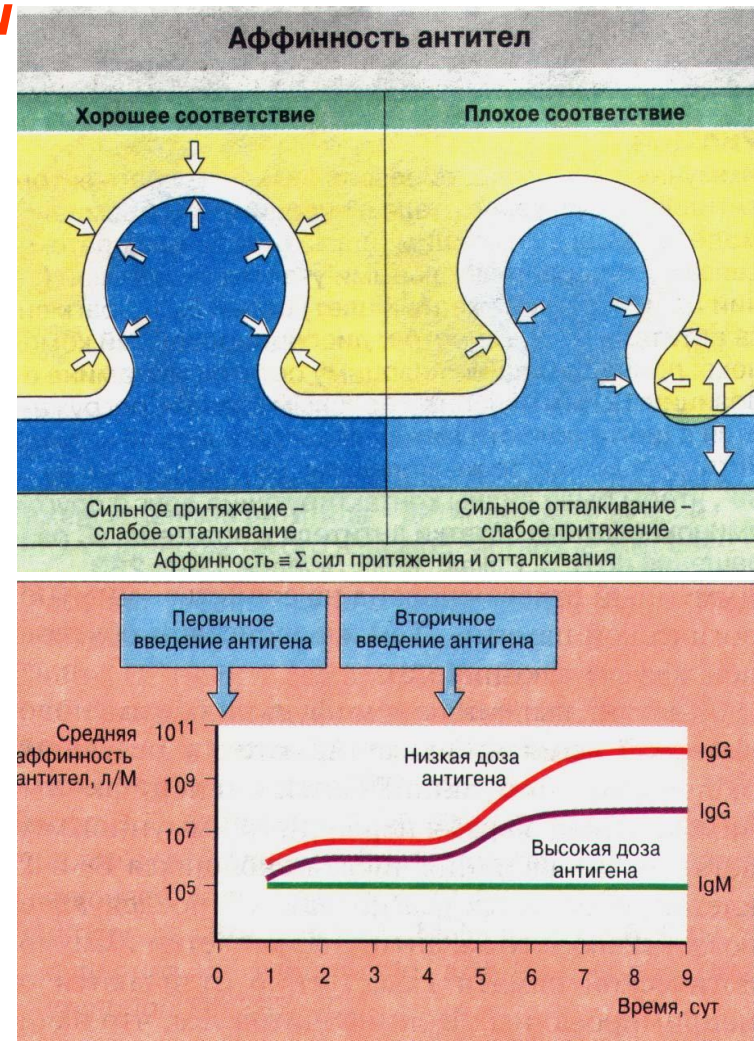


# Механизм взаимодействия АТ с АГ



# Аффинность АТ

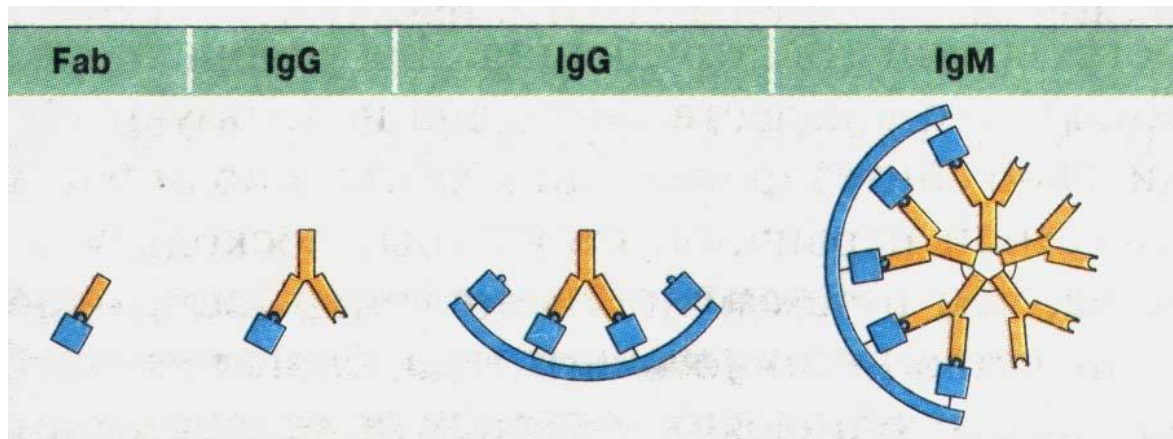
- **Аффинность** – **прочность связи одного антигенсвязывающего центра с индивидуальным эпитопом АГ.**
- Зависит от степени **комплементарности** антигенсвязывающего центра и эпитопа.
- Наибольшим аффинитетом обладают МКА, наименьшим – нормальные АТ.
- Аффинность антител повышается в процессе иммунного ответа в связи с селекцией наиболее специфичных клонов В-лимфоцитов.





# Авидность АТ

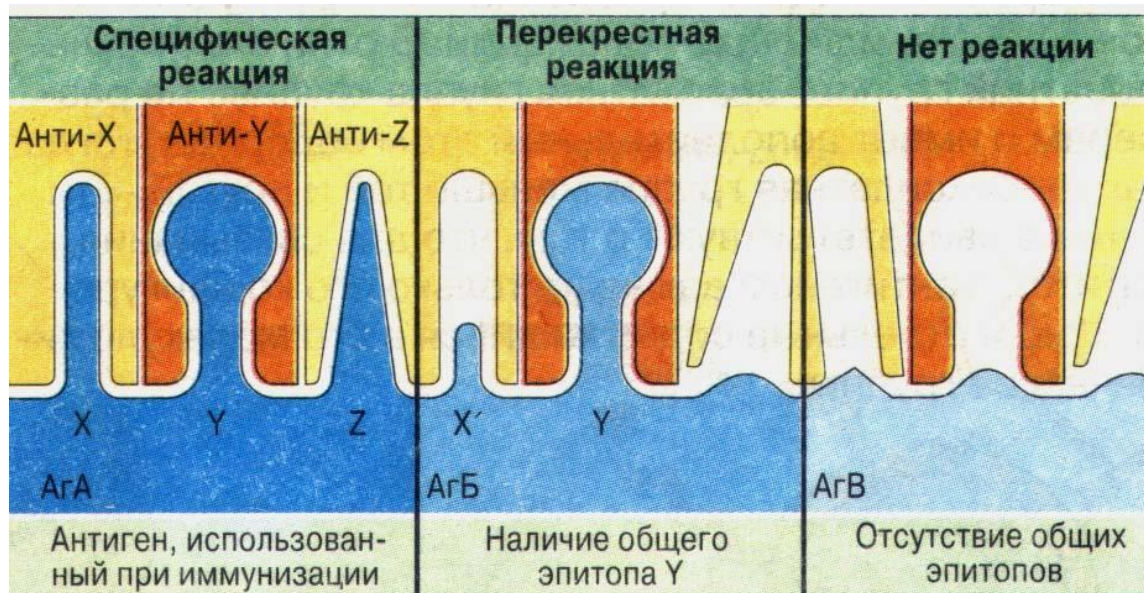
- **Авидность** – *прочность связывания АТ и АГ* (суммарная сила).
- Определяется аффинностью и числом антигенсвязывающих центров.
- Поливалентность АГ и АТ существенно усиливает прочность их соединения, поскольку для диссоциации иммунных комплексов необходим разрыв сразу всех связей.





# Эффективность взаимодействия АГ и АТ

- **Доступность** эпитопа для антигенсвязывающего центра Ig, число эпитопов в составе молекулы АГ.
- **Условия** реакции.
- **Специфичность** антисыворотки суммарно отражает специфичность содержащихся в ней АТ.
- **Перекрестная реактивность**: если АГ А имеет общие эпитопы с АГ В, часть АТ, специфичных к А, будет реагировать также и с В.



# Защитные механизмы гуморального иммунитета

## ■ Связывание с АГ :

- маркирование АГ, инактивация биологически активных молекул (токсинов), опсонизация АГ, антителоопосредованный лизис клеток, иммунный фагоцитоз, ГНТ;
- функция антигенспецифического рецептора на поверхности В-лимфоцитов;

## ■ Эффекторные функции:

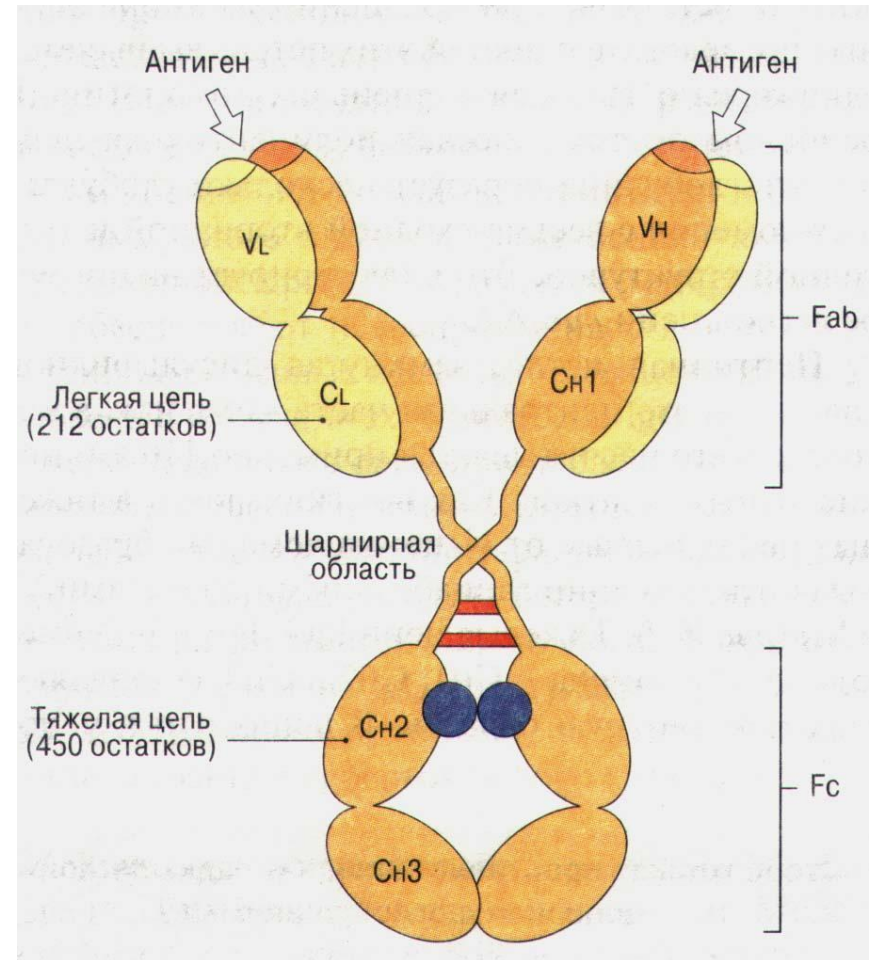
- связывание с различными клетками иммунной системы и компонентом комплемента С1q;
- инициация биологической активности клеток (**фагоцитоз**, зависимая от АТ клеточная **цитотоксичность**, высвобождение **медиаторов** и **презентация АГ**).

## Структурно-функциональные особенности иммуноглобулинов различных классов

- Молекулы, содержащие тяжелую цепь  $\alpha$ -типа, относят к изотипу A (сокращенно *IgA*), *IgD* обладает  $\delta$ -цепью, *IgE* —  $\epsilon$ -цепью, *IgG* —  $\gamma$ -цепью и *IgM* —  $\mu$ -цепью.

# Иммуноглобулин класса G

- **IgG** составляет **70 – 75 %** иммуноглобулинов сыворотки крови, 50 % содержится в тканевой жидкости. Период полураспада – **21** день.
- **IgG** – мономер, имеет два антигенсвязывающих центра, молекулярную массу – около **146 кДа** и константу седиментации – **7S**.
- Подтипы: G1, G2, G3 и G4.



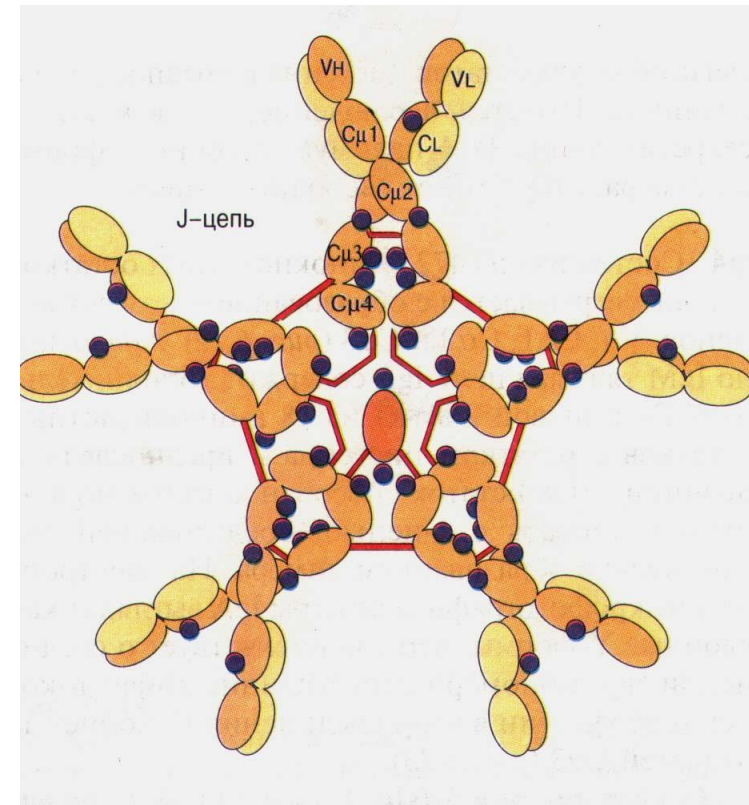
# Иммуноглобулин класса G

- IgG синтезируется зрелыми В-лимфоцитами (B<sub>γ</sub>) и плазматическими клетками, хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.
- IgG составляют большинство АТ вторичного иммунного ответа и **АНТИТОКСИНОВ**.
- IgG обладает **высокой аффинностью**, связывает комплемент, может быть неполным антителом.
- IgG легко проходит через **плацентарный барьер**, способен выделяться в секрет слизистых оболочек путем диффузии.
- **Обнаружение высоких титров IgG к АГ конкретного возбудителя указывает на то, что организм находится на стадии реконвалесценции или инфекционное заболевание перенесено недавно.**



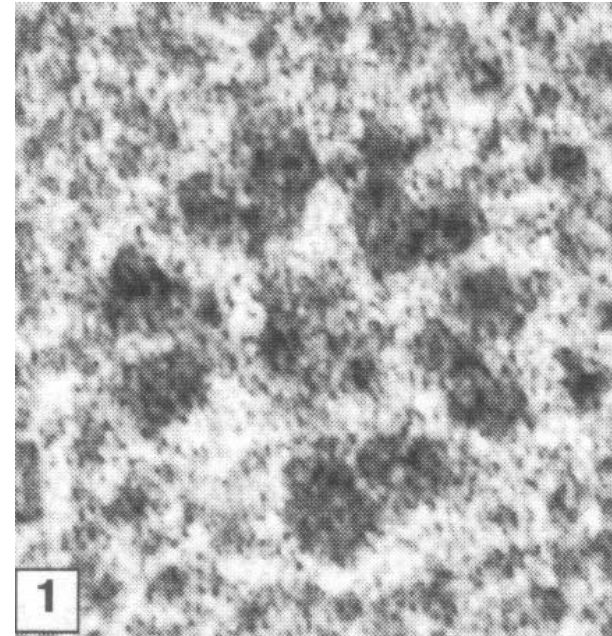
# Иммуноглобулин класса М

- **IgM – пентамер**, 10 антигенсвязывающих центров, молекулярная масса – около **970** кДа, константа седиментации **19S**.
- Н-цепи – из **5 доменов**. Период полураспада IgM – **5** дней.
- IgM – **10 %** всех сывороточных Ig.
- IgM синтезируется В<sub>μ</sub>.
- Образуется **в начале первичного иммунного ответа**, первым начинает синтезироваться в организме новорожденного (определяется уже на 20-й неделе внутриутробного развития).



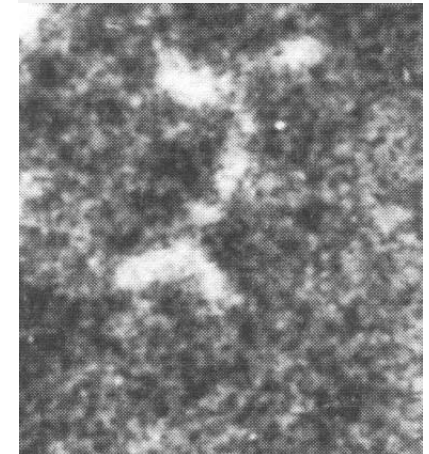
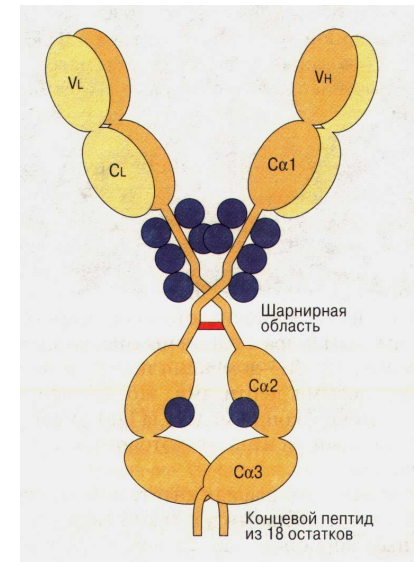
# Иммуноглобулин класса М

- IgM – **высокая авидность**, связывает комплемент, сывороточный и секреторный гуморальный иммунитет. Большая часть **нормальных АТ** и изоагглютининов относится к IgM.
- IgM не проходит через плаценту. IgM в сыворотке новорожденного → бывшая внутриутробная инфекция или дефект плаценты.
- **Наличие IgM к АГ конкретного возбудителя указывает на наличие острого инфекционного процесса.**



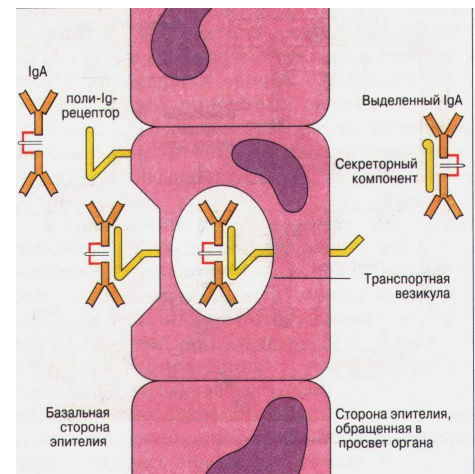
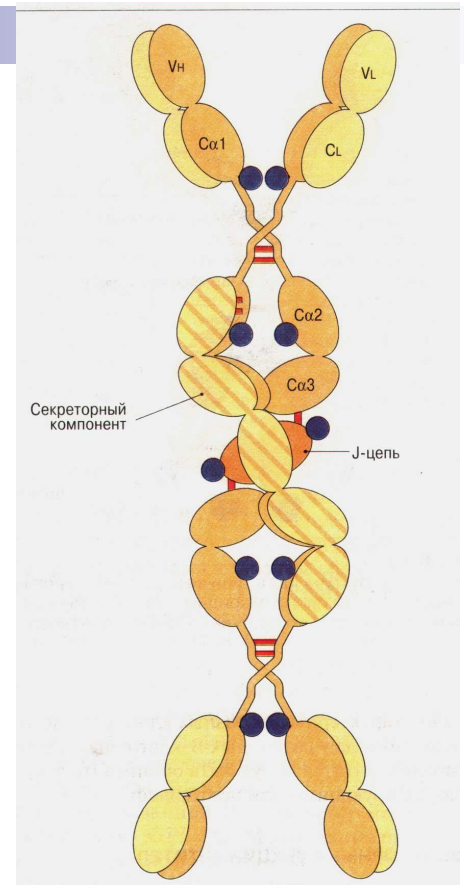
# Иммуноглобулин класса А

- **Сывороточный IgA**: около **15 – 20 %** всех сывороточных Ig. Период полураспада IgA – **6** дней.
- IgA – **мономер**, два антигенсвязывающих центра, молекулярная масса около **160 кДа**, константа седиментации **7S**.
- **A1** и **A2**. IgA синтезируется зрелыми В-лимфоцитами ( $B\alpha$ ) и плазматическими клетками. IgA хорошо определяется в сыворотке крови на пике первичного и при вторичном иммунном ответе.
- IgA обладает **высокой аффинностью**, может быть неполным АТ, не связывает комплемент, не проходит через плацентарный барьер.



# Иммуноглобулин класса А

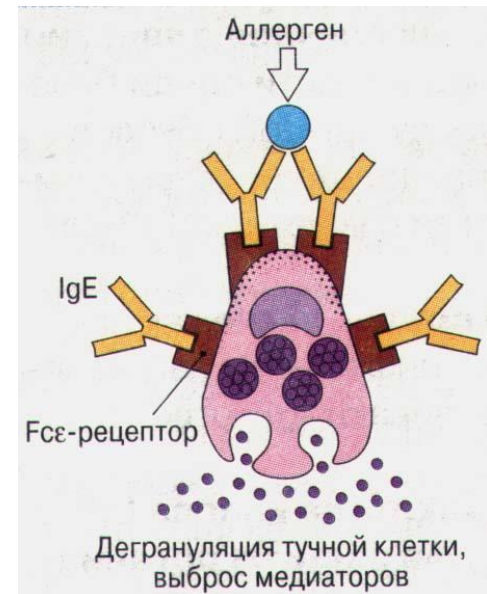
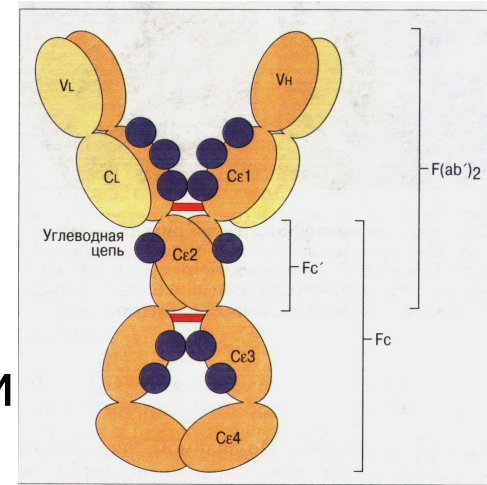
- **Секреторный (sIgA)**: ди-, три- или тетрамеры, содержит **J-** и **S-**пептиды.
- Молекулярная масса IgA **385 кДа** и более, константа седиментации **11S** и выше.
- Секреторный *IgA* – основной фактор **местного иммунитета** слизистых оболочек ЖКТ, мочеполовой системы и респираторного тракта.
- Секреторный *IgA* активирует комплемент и стимулирует фагоцитарную реакцию в слизистых оболочках.





# Иммуноглобулин класса E

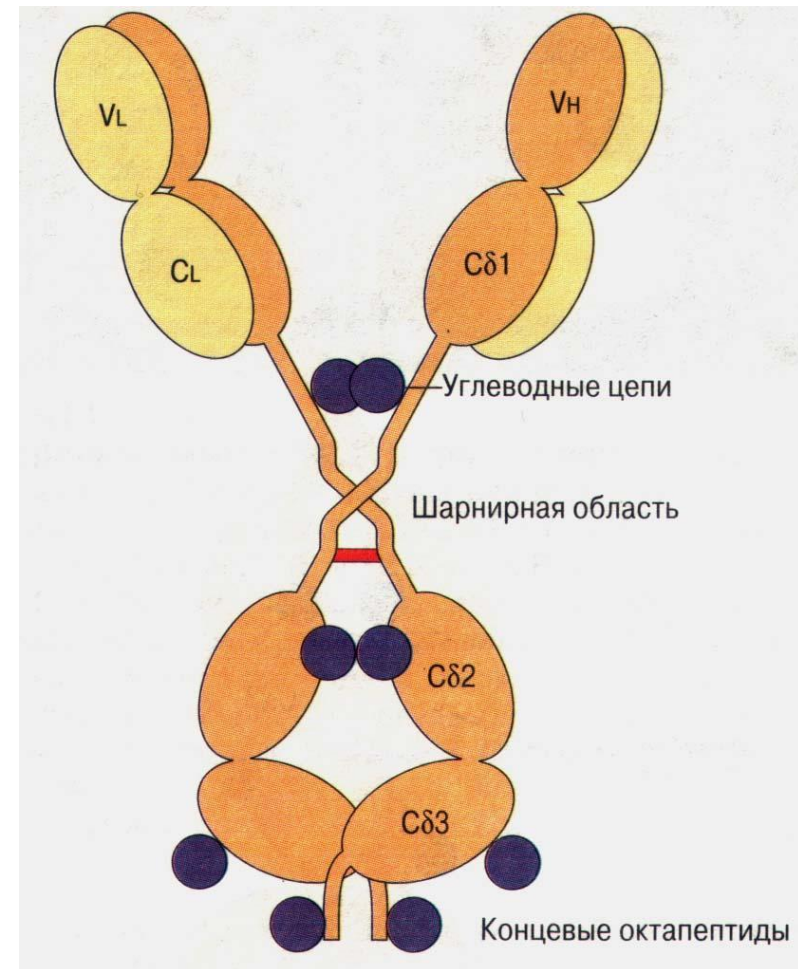
- **IgE – реакины** – около **0,002 %** всех циркулирующих Ig, молекулярная масса около **188 кДа**, константа седиментации примерно **8S**. IgE — **мономер**. Тяжелые цепи IgE построены из **5 доменов**.
- IgE синтезируется зрелыми В-лимфоцитами (B $\epsilon$ ) и плазматическими клетками преимущественно в лимфоидной ткани бронхолегочного дерева и ЖКТ. IgE не связывает комплемент, не проходит через плацентарный барьер.
- IgE – **цитофильность** (тропность к тучным клеткам и базофилам) → **аллергическая реакция I типа (анафилактическая)**.
- **Антигельминтозный иммунитет**.





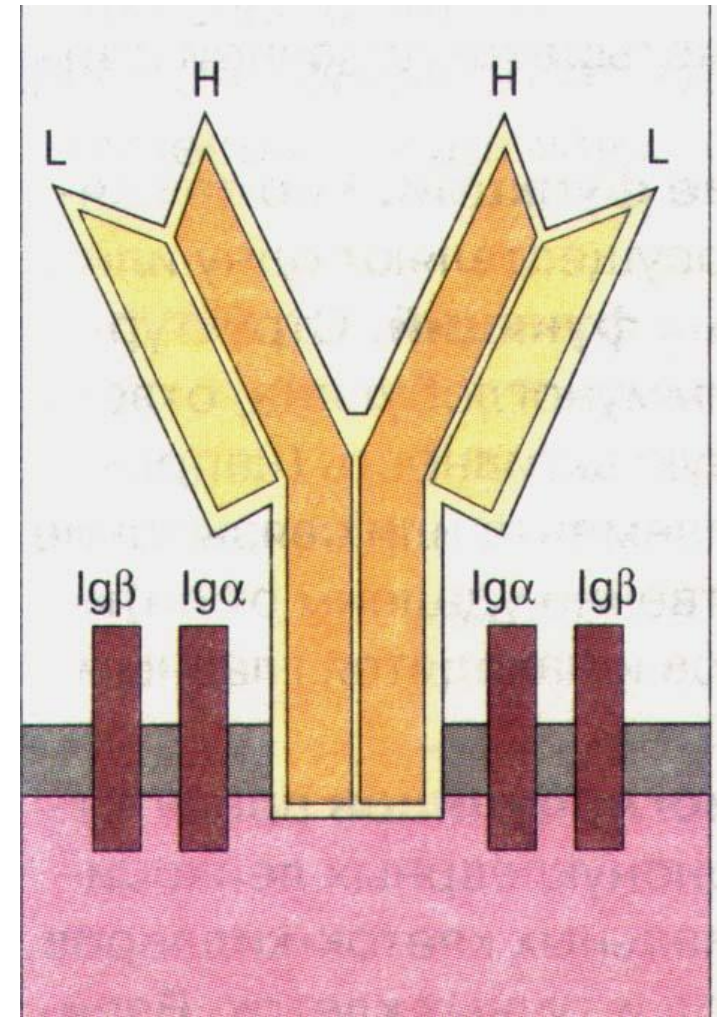
# Иммуноглобулин класса D

- IgD – **0,2 %** общего количества циркулирующих АТ, но обильно представлен на мембране В-клеток.
- Молекулярная масса около **184 кДа**, константа седиментации **7S, мономер**.
- IgD не связывает комплемент, не проходит через плаценту, является рецептором предшественников В-лимфоцитов.
- Антигензависимая дифференцировка лимфоцитов.



# Рецепторные иммуноглобулины

- Рецепторные (мембранные) Ig локализуются на ЦПМ В-лимфоцитов.
- **Антигенспецифические рецепторы.**
- Имеют тот же изотип и специфичность, что и синтезируемые в межклеточную среду АТ.
- **М-пептид** – фиксация в ЦПМ иммунокомпетентной клетки.



# Нормальные антитела

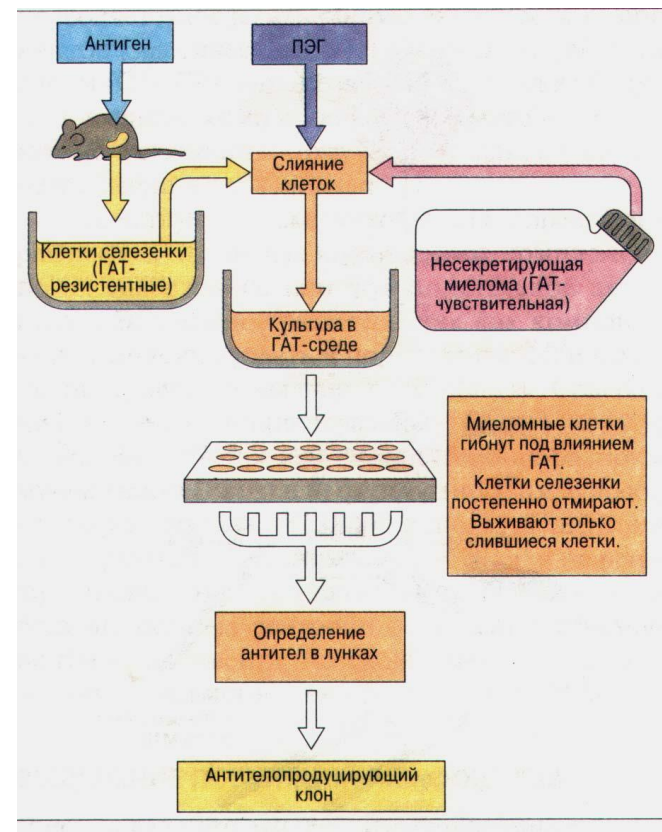
- Нормальные (естественные) АТ – базальный уровень иммуноглобулинов.
- **Изогемагглютинины** – АТ, направленные против эритроцитарных АГ групп крови (система АВО), а также против бактерий кишечной группы, кокков и некоторых вирусов.
- Нормальные АТ постоянно образуются в организме без явной антигенной стимуляции: отражают готовность макроорганизма к иммунному реагированию или свидетельствуют об отдаленном контакте с АГ.

- Каждый В-лимфоцит и его потомки (**клон**) → АТ строго определенной специфичности – **моноклональные**.

- **Д. Келлер** и **Ц. Мильштайн** (1975) → гибридные клетки (слияние иммунных В-лимфоцитов с миеломной клеткой). **Гибридомы**: синтезировали АТ; были «бессмертны».

- МКА широко применяются при создании диагностических и лечебных препаратов.

## Моноклональные антитела



ГАТ:  
гипоксантин,  
аминоптерин,  
тимидин

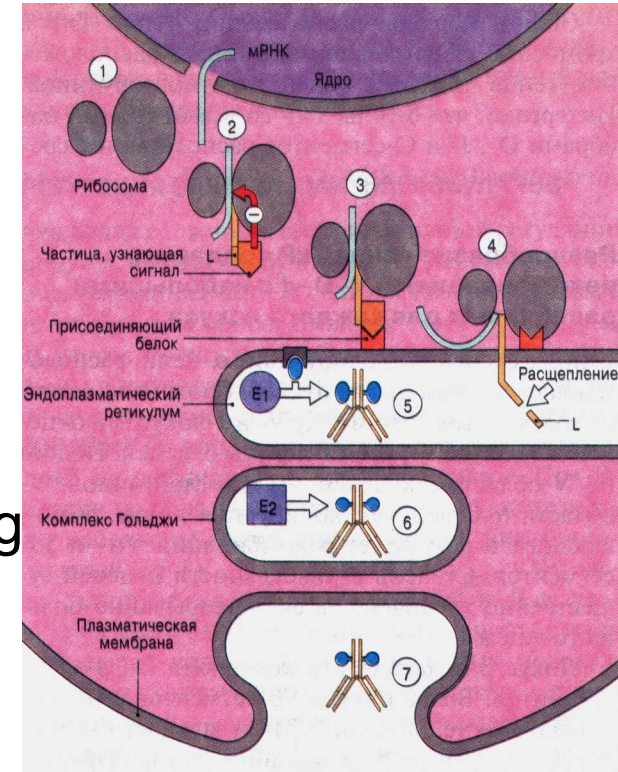
# Полные и неполные антитела

- **Полные АТ** – способны образовывать в РА или РП хорошо различимую глазом макромолекулярную структуру гигантского иммунного комплекса. Полимерные молекулы IgM, некоторые IgA и IgG.
- **Неполные антитела** лишены такой способности несмотря на то, что они специфически связываются с АГ (непреципитирующие или блокирующие АТ).
- Причины: **экранирование** или **дефект** второго антигенсвязывающего центра, недостаточное число или экранирование антигенных детерминант на молекуле АГ.
- Выявление – **реакция Кумбса** (использование «вторых», антииммуноглобулиновых АТ).

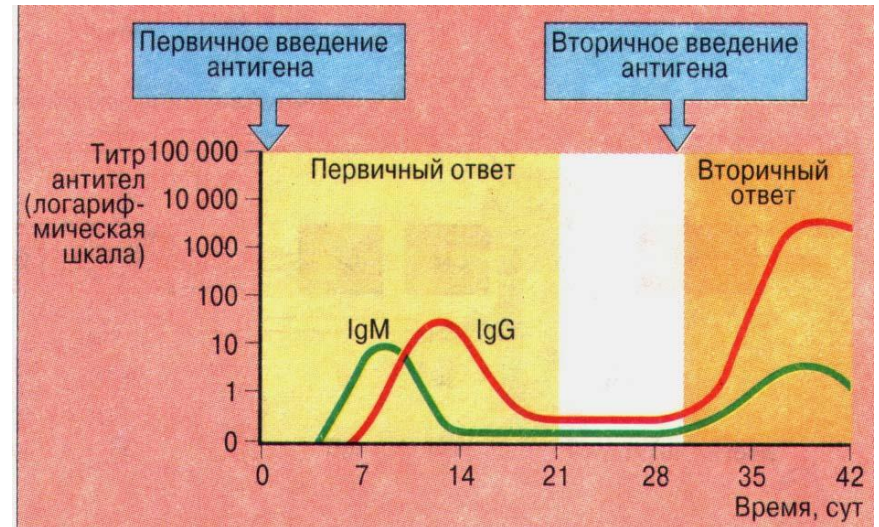
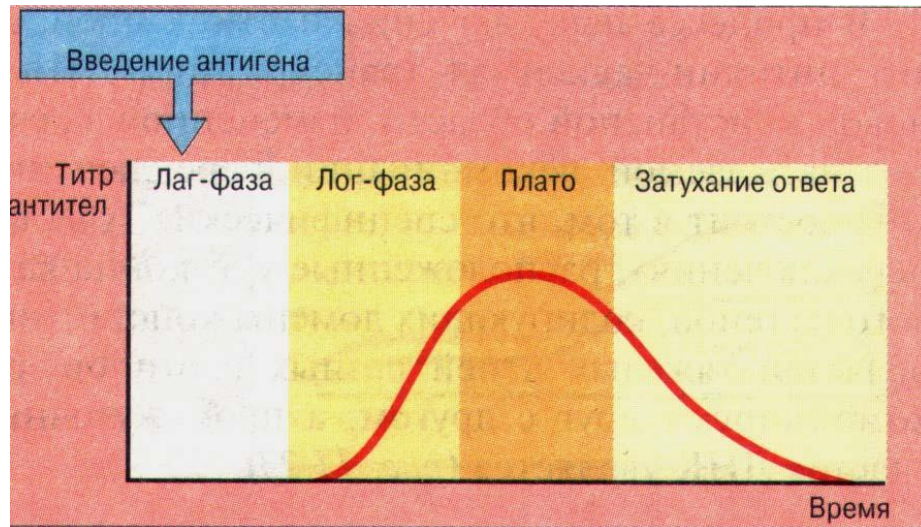


# Генетика иммуноглобулинов

- Структура Ig контролируется **большим числом** генов, которые имеют **фрагментарную организацию**, располагаются на 3 различных хромосомах и наследуются независимо.
- При созревании В-лимфоцитов в их генетическом аппарате происходят произвольное сближение отдельных фрагментированных генов и сборка единых функциональных генов, которые кодируют всю молекулу Ig – **сплайсинг** (англ. *splicing* — сращивание).
- В отдельных участках V-сегментов генов Ig наблюдается мутации – **гипермутабельные области**.
- Дальнейшая дифференцировка В-лимфоцитов сопровождается рекомбинационными перестройками в пределах генов Ig → смена класса АТ.

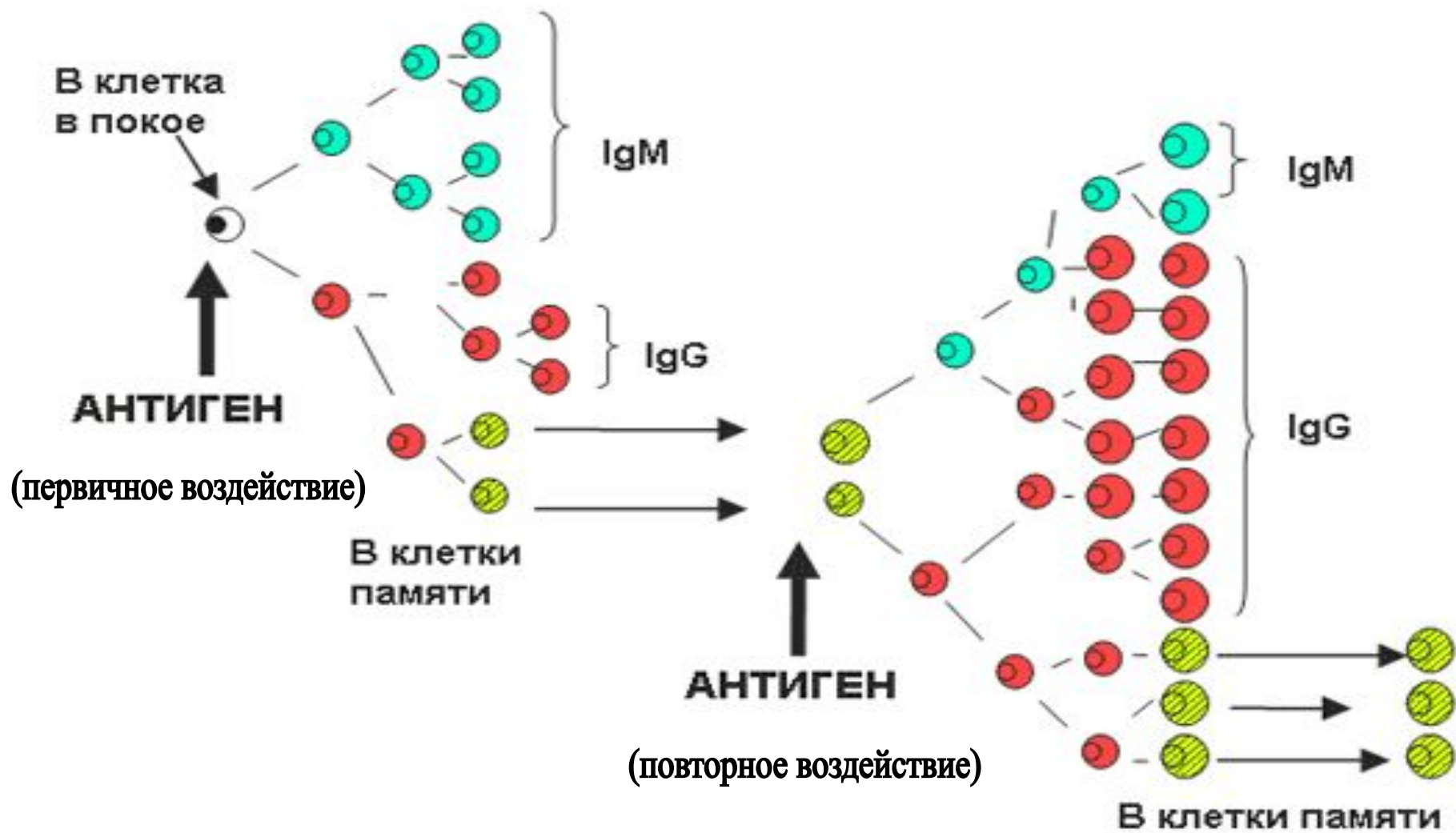


# Динамика антителопродукции



- **Первичный иммунный ответ:** длительная латентная (3 – 5 сут) и логарифмическая (7 – 15 сут) фазы. Первые диагностически титры АТ регистрируются на 10 – 14-е сутки. Стационарная фаза – 15 – 30 сут, а фаза снижения – 1 – 6 мес. **В-лимфоциты иммунологической памяти**, накопление специфических IgM→IgG, IgA.
- **Вторичный иммунный ответ:** укороченная латентная фаза – от нескольких часов до 1 – 2 сут., более интенсивная логарифмическая фаза, более высокие титры АТ. Стационарная фаза и фаза снижения затяжные (несколько месяцев или даже лет). IgG.

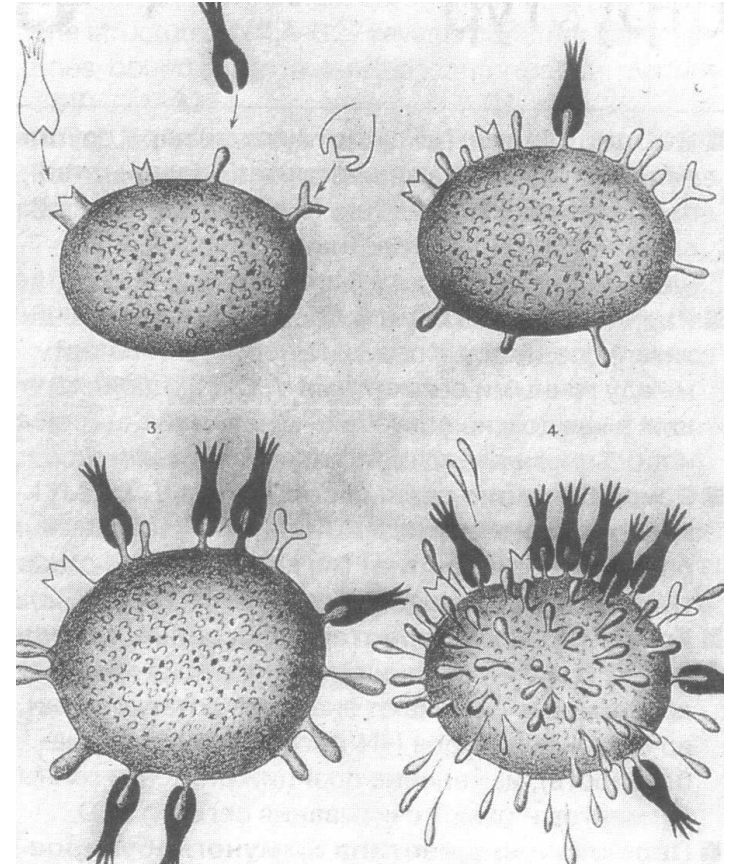
# Формирование первичного и вторичного иммунного ответа





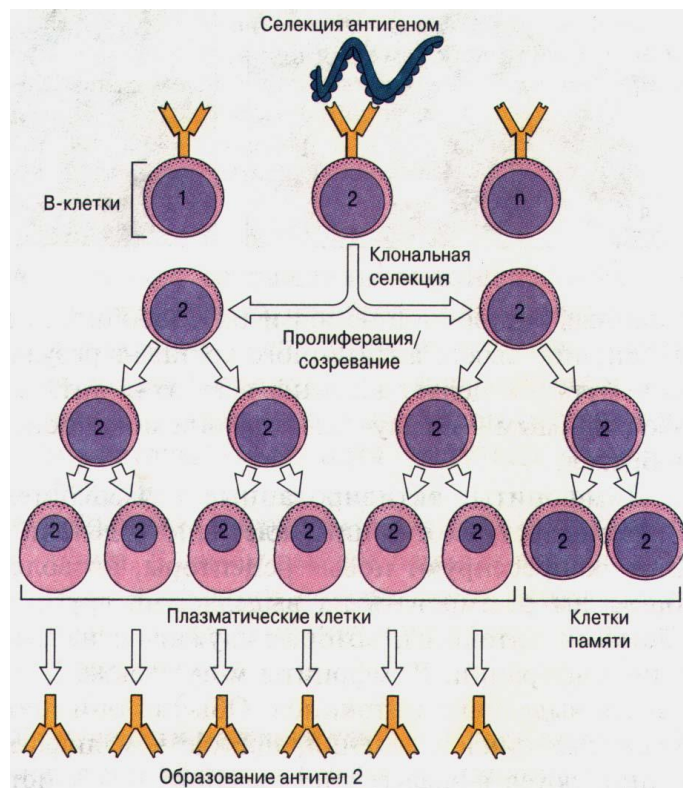
# Теории разнообразия антител

- **Теория «боковых цепей» П. Эрлиха (1898)** заложила основные представления о гуморальном иммунитете и рецепторах иммунокомпетентных клеток.
- **«Инструктивные» (или «матричные») теории.** Ф. Брейнль и Ф. Гауровитц (1930), Л. Полинг (1940), оказались тупиковыми в связи с открытием Д. Уотсоном и Ф. Криком (1953) механизма кодирования в ДНК генетической информации.



# Теории разнообразия антител

- «Клонально-селекционная» теория Ф. Бернета.
- Лимфоидная ткань состоит из огромного числа клонов лимфоцитов, которые специализируются на продукции АТ к разнообразным АГ.
- АГ → специфичный клон лимфоцитов → пролиферация, дифференцировка → АТ.
- Большая доза АГ → клон элиминируется из организма → формированию в эмбриональном периоде иммунологической толерантности к собственным АГ.





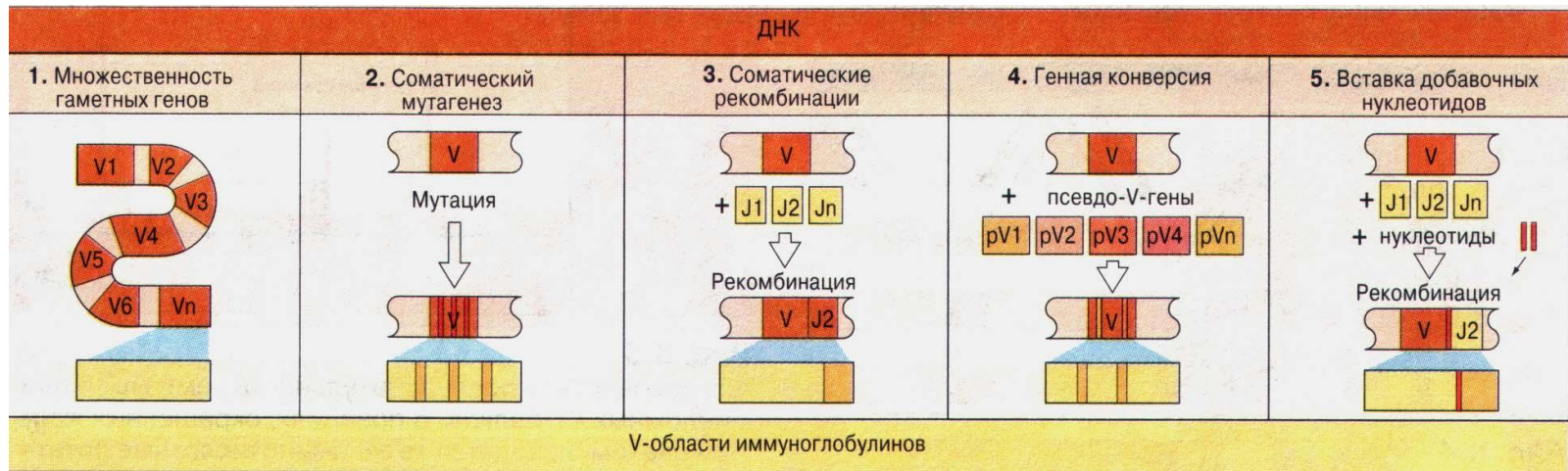
# Теории разнообразия антител

- Молекулярно-генетическая теория С. Тонегавы.
- Теория сетевой регуляции иммунной системы. В основе Н. идея Эрне (1974) **идиотип-антиидиотипического взаимодействия**. Можно понять формирование иммунологической памяти и возникновение аутоиммунных реакций, но не объясняет механизм иммунологического распознавания «свой – чужой», управление каскадом идиотип-антиидиотипических реакций.

# Теории разнообразия антител

- В 60-е годы **П.Ф. Здродовский** → **физиологическая концепция иммуногенеза – гипоталамо-адреналовая теория регуляции иммунитета.**
- **Драйер и Беннетт:** переменные и константные области кодируются отдельными генами, существует множество генов для переменных (V) и один или весьма ограниченное число генов для константных (C) областей.
- **Идея соматического мутагенеза** (из относительно небольшого числа гаметных генов в течение жизни возникает множество модифицированных генов). Источник разнообразия переменных областей – **генная конверсия** с участием набора псевдогенов.

# Источники разнообразия АТ



- Множественность гаметных генов V-областей.
- Соматический мутагенез.
- Соматические рекомбинации между сегментами, образующими полный V-ген.
- Генные конверсии: отрезки ДНК, принадлежащие ряду псевдо-V-генов, могут копироваться в функциональном V-гене, меняя его исходную нуклеотидную последовательность.
- Вставки добавочных нуклеотидов.

# Иммунодиагностика инфекций

- **Прямые методы:** преципитация, агглютинация, прямая гемагглютинация.
- **Реакции пассивной агглютинации:** реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), латексагглютинации, коагглютинации, агглютинации частиц бентонита, желатиновых капсул, частиц сефарозы и др.
- **Индикаторные методы** основаны на использовании меток для выявления реакции антиген—антитело: ИФА, РИФ, РИА.
- **Иммуносенсоры** основаны на изменении физико-химических свойств мембраны или другого носителя, связанного с АТ или АГ.