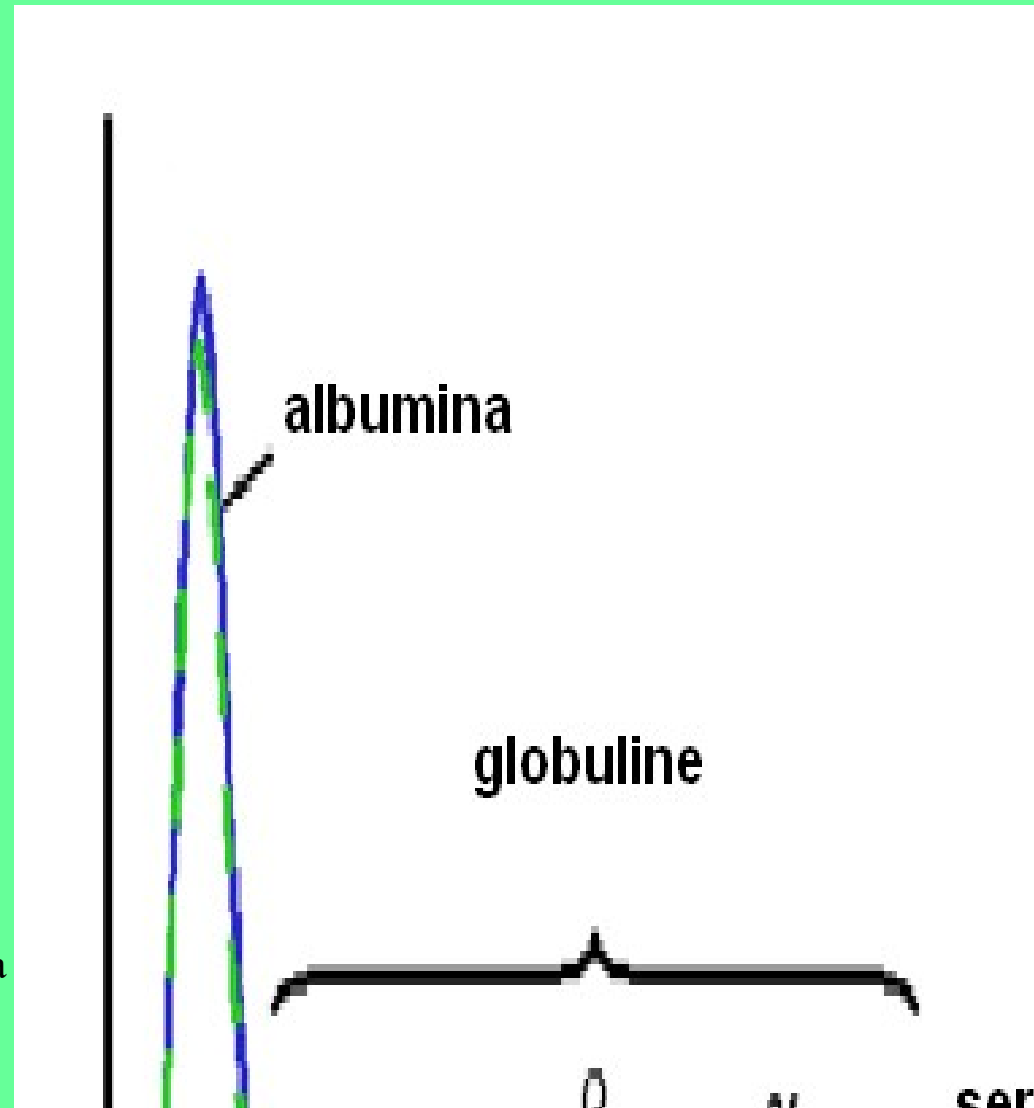
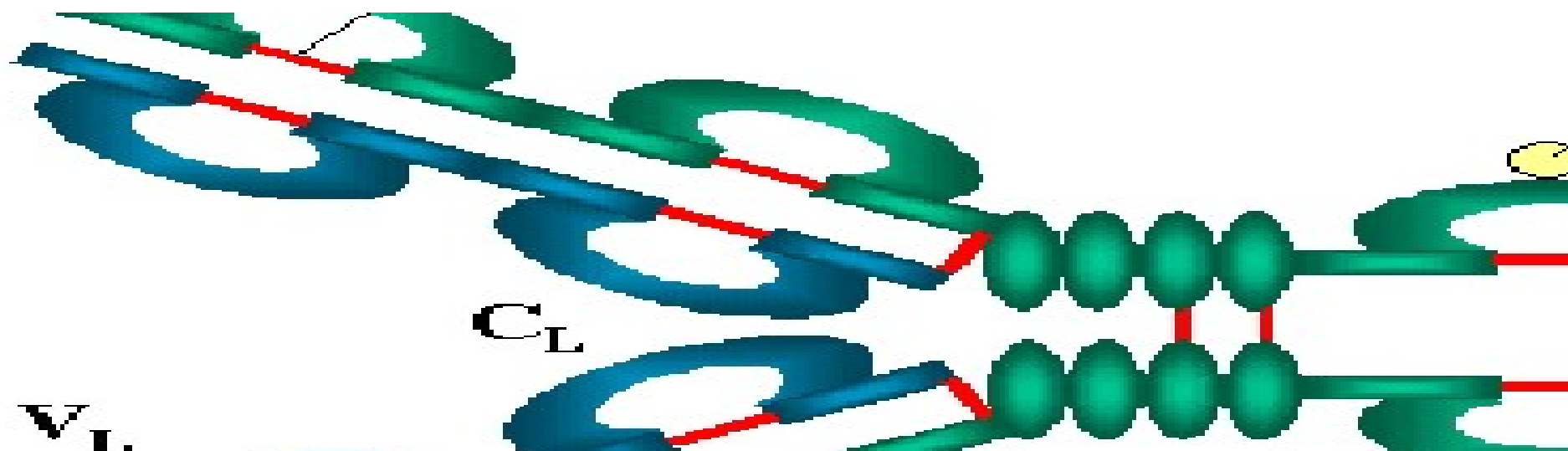


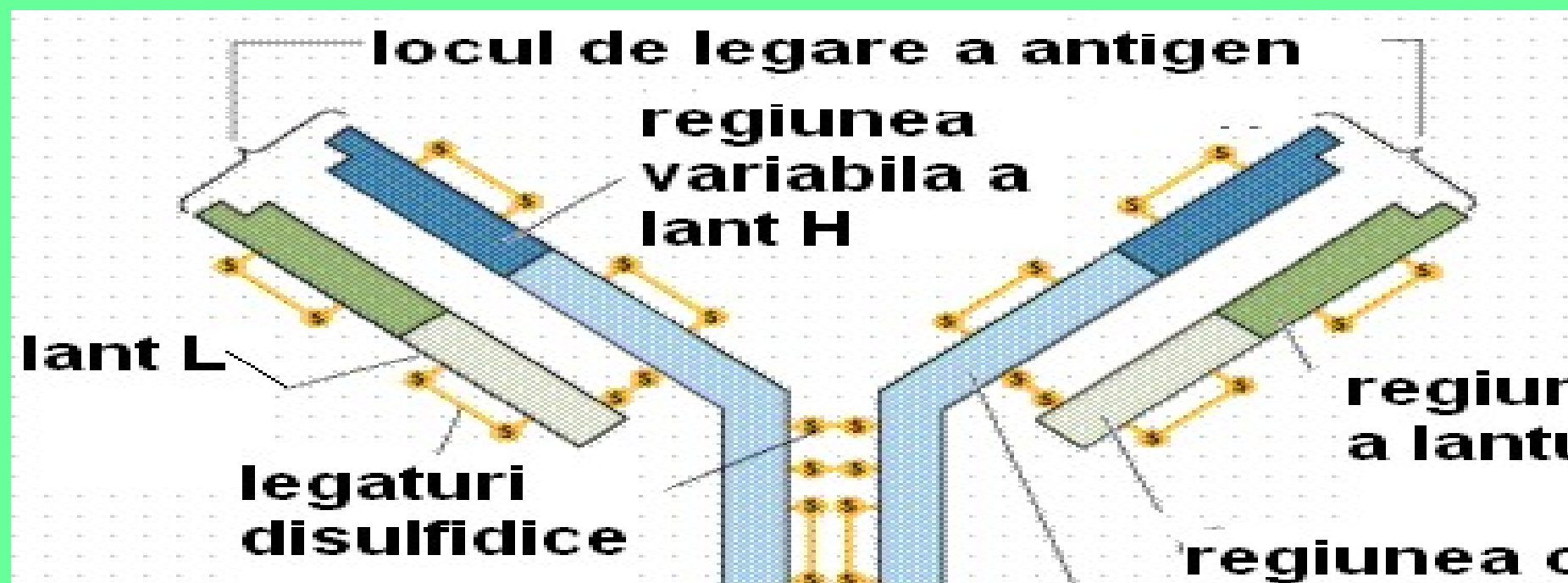
Imunoglobulinele

- ✓ molecule de natură *glicoproteică*,
- ✓ produse de plasmocite în răspunsul la un imunogen
- ✓ prezente în sange, umori și majoritatea tesuturilor
- ✓ electroforetic migrează în zonele beta și gama
- ✓ dotate cu *funcții biologice multiple*
- ✓ se caracterizează printr-o *dualitate structurală* (datorată celor două regiuni distincte pe care le include: Fab și Fc) care explică *bifuncționalitatea moleculei*:
 - recunoaște și leagă specific antigenul-funcția principală
 - are numeroase activități efectorii





STRUCTURA DE BAZA A IMUNOGLOBULINELOR



La baza structurii unei Ig sta unitatea **MONOMER**

-toate Ig prezinta urmatoarele doua tipuri de lanturi polipeptidice.

➤ 2 lanturi polipeptidice usoare L- Light- 23kD (de tip K sau Λ)

➤ 2 lanturi polipeptidice grele H- Heavy- 50-70kD
(Tipul de lanț greu : μ , δ , γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , α_1 , α_2 , ε definește clasa și subclasa de imunoglobuline)

-prezenta legaturilor disulfidice

○ legaturi disulfidice inter-lanturi H si L si interactiuni non-covalente, al caror numar difera in raport cu molecula de Ig

○ legaturi disulfidice intra-lant H sau L

Regiuni Variabile (V) si Constante (C)

In raport cu variabilitatea secventelor de amac lanturile L si H pot fi divizate in in 2 regiuni : variabila si constanta

1. Light Chain - V_L (110 amino acizi) si C_L (110 aminoacizi)

2. Heavy Chain - V_H (110 amino acids) si C_H (330-440 aminoacizi)

Domenii

Molecula Ig prezinta regiuni globulare prin plierea lanturilor denumite *domenii* fiecare continand o legatura disulfidica(-S-S-) intra-lant

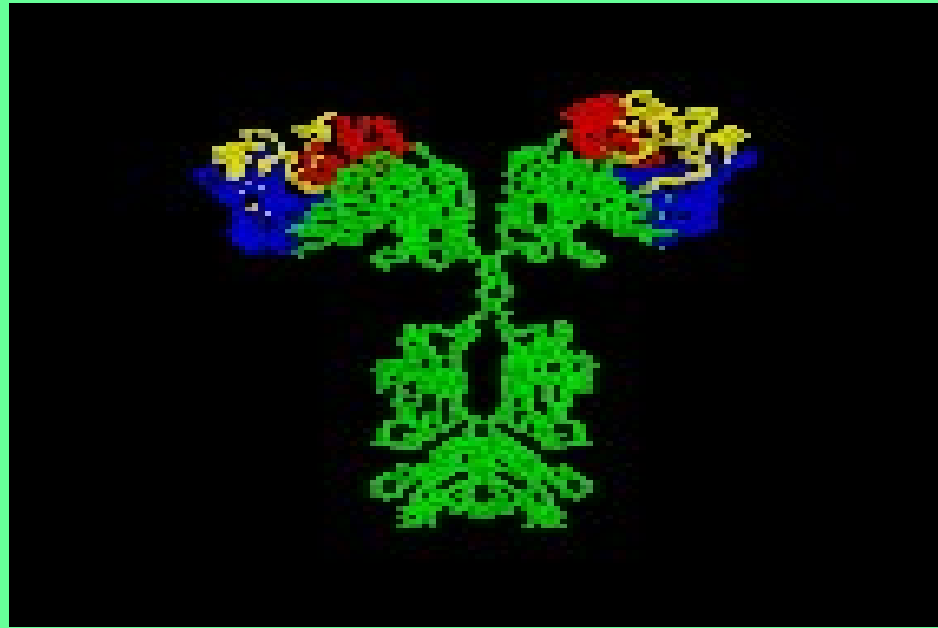
lantul H are 1 domeniu variabil V_H si 3 sau 4 constante C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} , C_{H4}

lantul L are 1 domeniu V_L si 1 C_L

Oligozaharidele

Carbohidratii sunt atasati domeniului C_{H2} la majoritatea imunoglobulinelor, desi uneori pot fi atasati si in alte locatii





Regiunea balama (Hinge)- regiunea care da forma Y moleculei Ig

- prezinta anumita flexibilitate care permite orientarea fragment Fab catre atg

Regiunea situată între domeniile C_H1 și C_H2 ale lanțurilor H este numită *regiunea balama*.

- *Acțiunea papainei* pe molecule de IgG eliberează două fragmente Fab ($V_L + V_H - C_{H1}$) monovalente și un fragment Fc

Fragmentele imunoglobulinelor relatii structura/functii

- Fab
 - legarea antigenului
 - valenta=1
 - specificitate determ.
de V_H și V_L



Pepsina scindează molecula Ig tot în zona balama și eliberează

- un fragment F(ab') bivalent și
- peptidul pFc.

Fragmentele imunoglobulinei

- **F(ab)₂**
- **FC**



STRUCTURA REGIUNII VARIABLE

Compararea secvențelor de amac din regiunea variabilă din lanțurile H și L ale Ig arată cea mai înaltă variabilitate a reziduurilor în 3 regiuni numite

- *regiuni hipervariabile* “*regiuni care determină complementaritatea*” (CDR).

Atunci cu diferite specificități (cu situsuri combinate diferite) au regiuni hipervariabile diferite

- între regiuni hipervariabile se găsesc *regiuni numite framework* (de încadrare) - care determină divizarea Ig în grupe și subgrupe

Anumite *reziduuri de aminoacizi* din regiunile hipervariabile *interacționează specific* cu antigenul.

Restul reziduurilor au rol doar în constituirea *invaginării domeniilor V* prin care se prinde antigenul și în *menținerea integrității situsului de legare*.

.

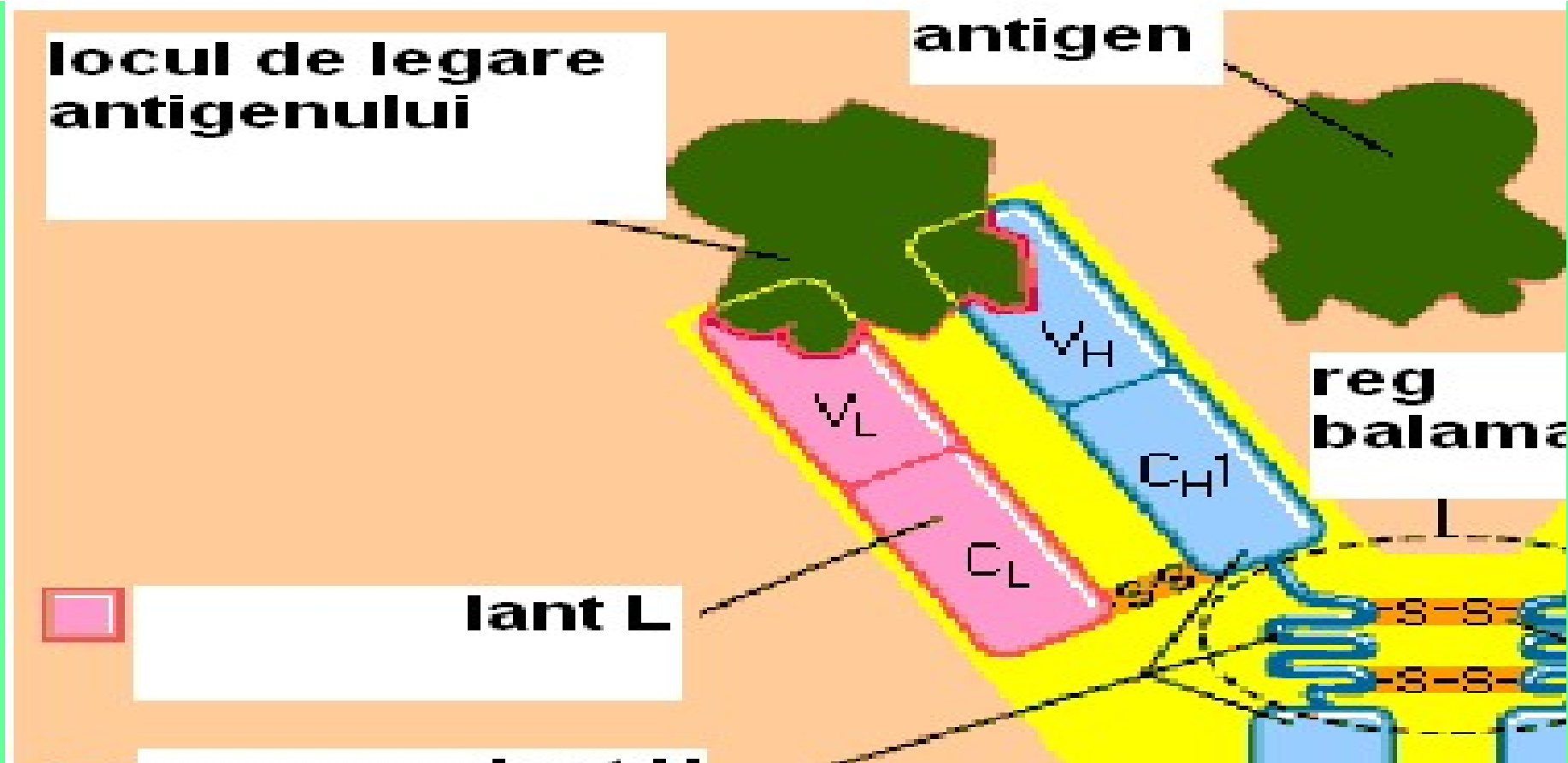
Paratopul (situsul combinativ) –

- reprezintă zona de recunoaștere a epitopului și de
- interacțiune moleculară a moleculei de Ig cu epitopul (determinantul antigenic);
- este format din juxtapunerea în spațiu a zonelor hipervariabile aparținând lanțurilor L și H.
- antigenele și anticorpii interacționează printr-o complementaritate spațială nu prin legături covalente

Structura regiunii variabile

- regiunile hipervariabile sau regiunile complementare determinante (CDRs)
- reg.framework(FR)

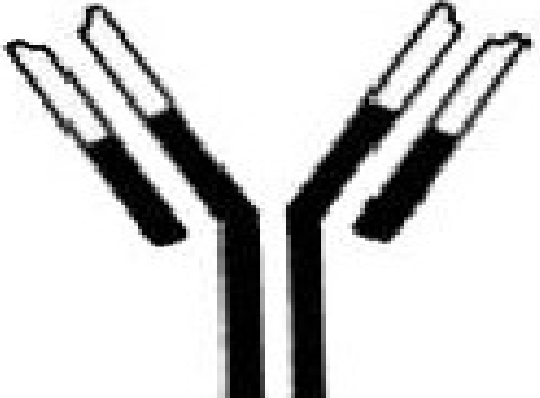
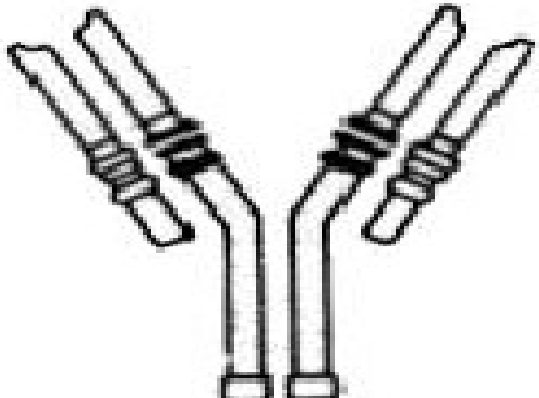




Valența anticorpilor - numărul de situsuri de combinare existente în molecula Ig, situsuri care nu sunt împiedicate steric să-și manifeste activitatea; Steric - aranjamentul spatial al atomilor într-o molecula

- **Afinitatea** (intrinsecă) - reprezintă forța de legare dintre un situs combinativ al unui anticorp) și un ligand - epitopul unui antigen;
- **Aviditatea** (afinitatea funcțională) - reprezintă forța de legare dintre două molecule (de exemplu antigen și anticorp) luând în seamă valența interacțiunii (se referă la toate situsurile de combinare active funcțional).

VARANTE ANTIGENICE ALE IMUNOGLOBULINELOR

izotipie	alotipie
izo=aceleasi	allo=diferite
	
C_H, C_L	V_H, V_L

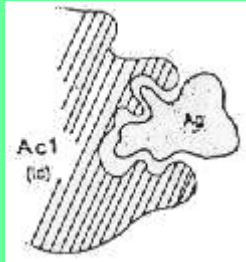
Izotipurile reprezintă epitopi

- codificați de segmente genetice identice la toți indivizii unei specii;
- localizați în principal pe *domeniile constante* CH, CL ale lanțurilor grele și ușoare

Allotipurile

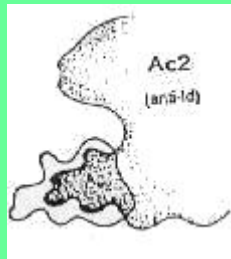
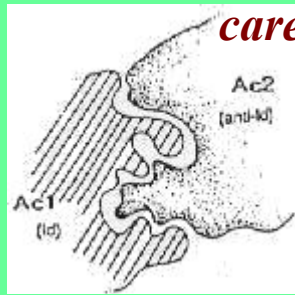
sunt epitopii corespondenți genelor alelice (formelor alternative ale anumitor gene), care codifică CL și CH ; de ex. *allotipul Gm* pe lanțurile H ale IgG, *allotipul Am* pe lanțurile H ale IgA și *Km* (Inv)

Idiotipurile sunt epitopii purtați de *domeniile hipervariabile* VL și VH ale Ig (ca și de *domeniile variabile ale lanțurilor care formează TCR*). Idiotipul este definit ca un set complet de *idiotopi* din regiunea variabilă a atc si din regiunea V/TCR.



épitopul este complementar paratopului

Idiotipul anticorpilor se comporta ca un atg , el este recunoscut de atc 2 , care este considerat ca un atc antiidiotipic



anticorpii anti-idiotipici se suprapun antigenului reprezentand imaginea interna a antigenului

CLASE, SUBCLASE, TIPURI, SUBTIPURI de IG

Ig se divid in 5 clase principale, pe baza diferentei in secvente de aminoacizi din regiunea C_H;
IgG, IgM, IgA, IgD, IgE

Tipul de lanț greu : μ , δ , γ_1 , γ_2 , γ_3 , γ_4 , α_1 , α_2 , ϵ definește clasa și subclasa de imunoglobuline

IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), *IgM*, *IgA* (IgA1 și IgA2), *IgD*, *IgE*

IgG subclase:

- a) IgG1 – lant H de tip γ_1
- b) IgG2 - lant H de tip γ_2
- c) IgG3 - lant H de tip γ_3
- d) IgG4 - lant H de tip γ_4

IgA subclase

- a) IgA1 - lant H de tip α_1
- b) IgA2 - lant H de tip α_2

IgA seric

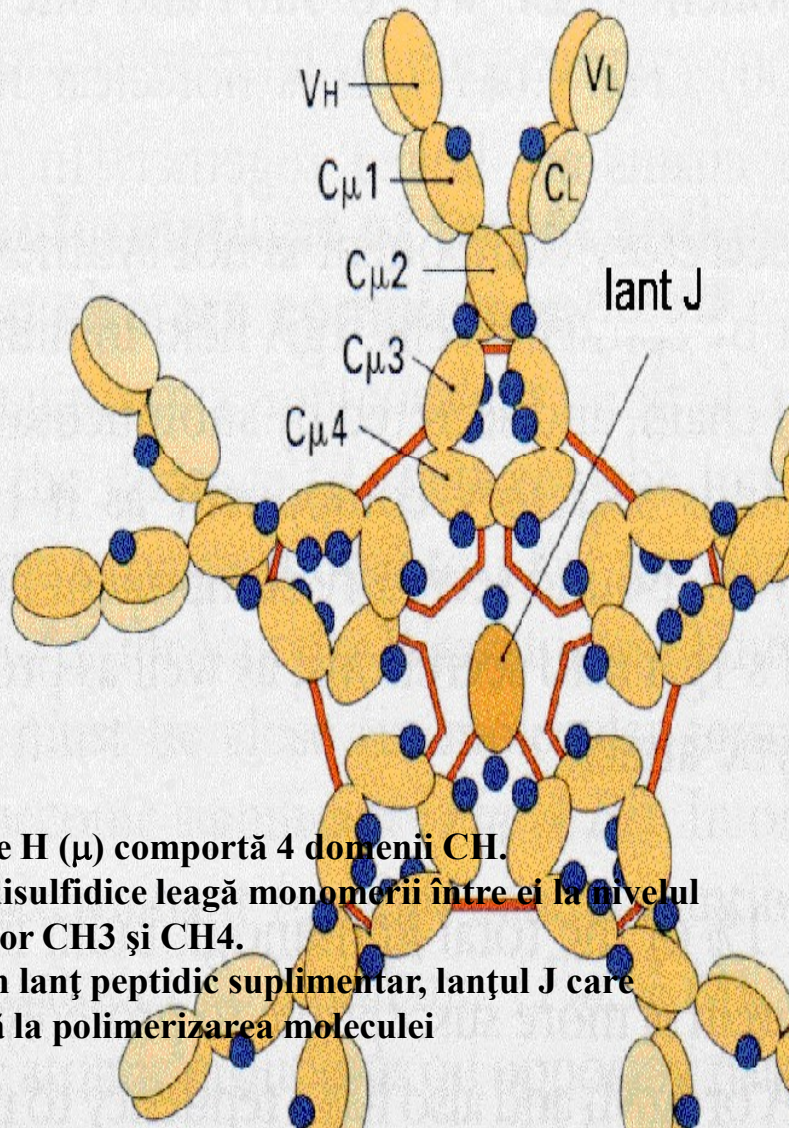
IgA secretor

<i>Caracterul</i>	<i>IgG</i>	<i>IgA</i>	<i>IgM</i>	<i>IgD</i>	<i>IgE</i>
coeficient de sedimentare	7 S	7S, 9S, 11S	19S	7S	8S
mobilitate electroforetică	γ	încet β	între α și β	γ și β	încet β
greutatea moleculară	150 000	160 000	970 000	184 000	188 000
nr.unităților tetrapeptidice	1	1,2	5	1	1
lanț greu (H)	γ	α	μ	δ	ϵ
lanț L (K, Λ)	K + Λ	K + Λ	K + Λ	K + Λ	K + Λ
formula moleculară	$\gamma_2K_2, \gamma_2\Lambda_2$	$(\alpha_2K_2)_{1-2}$ $(\alpha_2\Lambda_2)_{1-2}$ $(\alpha_2K_2)_2 \cdot S$ $(\alpha_2\Lambda_2)_2 \cdot S$	$(\mu_2K_2)_8$ $(\mu_2K_2)_8$	δ_2K_2 $(\delta_2\Lambda_2)$	$\epsilon_2K_2, \epsilon_2\Lambda_2$
Valența pentru legarea antigenului.	2	2,4	5(10)	2	2
Concentrația în serul normal (mg/ml)	8-16	1,4-4 0,05-IgAs	0,5-2	0-0,4	0,00005
% total imunoglobuline	80	13	6	0-1	0,002
% conținut carbohidrat	3	8	12	13	12
semiviața (zile)	23	6	5	3	2,5

**Proprietățile fizico-chimice pentru clasele de
imunoglobuline majore**

<i>Caracteristici biologice</i>	<i>IgG</i>	<i>IgA</i>	<i>IgM</i>	<i>IgD</i>	<i>IgE</i>
	cea mai abundentă Ig din fluidele corpului prezentă și extravascular	Ig majoră în secreții sero-mucoase	reprezintă anticorpi aglutinanti foarte eficienți, predominent intravascular	prezent pe suprafața unor limfocite	protecția suprafețelor externe
	reprezentativă pentru răspunsul imun secundar	apără suprafețele externe ale corpului	produse timpuriu în răspunsul imun	nu se găsesc pe celulele cu memorie	recrutează agenții anti-microbieni (chemotactic pt. eozinofile)
	combate microorganismele și toxinele lor	activează lizozimul (acțiune bactericidă)	efective în prima linie de apărare împotriva bacteriilor	factori de stimulare ai celulelor Th	crescute în inf. parazitare (se leagă de celulele parazitare) → citotoxicitate
	reprezintă izoaglutininele în sistemul Rh		ca monomer repr. receptor pt. atg. de pe celula B (BCR)		responsabile pt. simptomele din alergiile atopice (degranulare mastocitară)
	strabate placenta		reprezintă: izoaglutinine ABO sau - factor reumatoid		

IgM- molecula pentamerica



Lanțurile H (μ) comportă 4 domenii CH.
 Punțile disulfidice leagă monomerii între ei la nivelul
 domeniilor CH3 și CH4.
 Există un lanț peptidic suplimentar, lanțul J care
 participă la polimerizarea moleculei

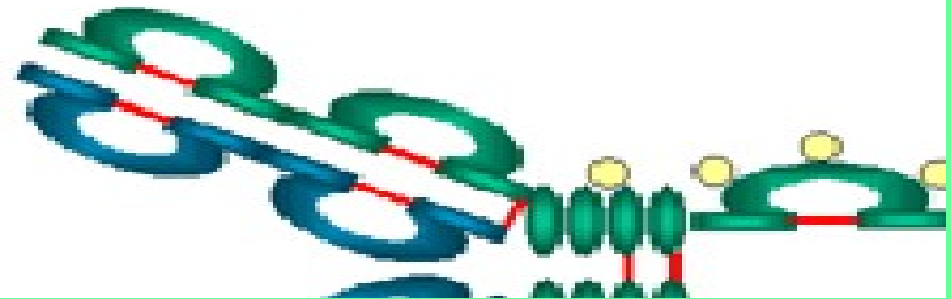
IgM monomeric

- prima Ig sintetizată de feto
- capacitate aglutinantă
- fixează complementul
- se leagă la celulele cu receptorii pentru Fc
- Ig de suprafață pe celula B



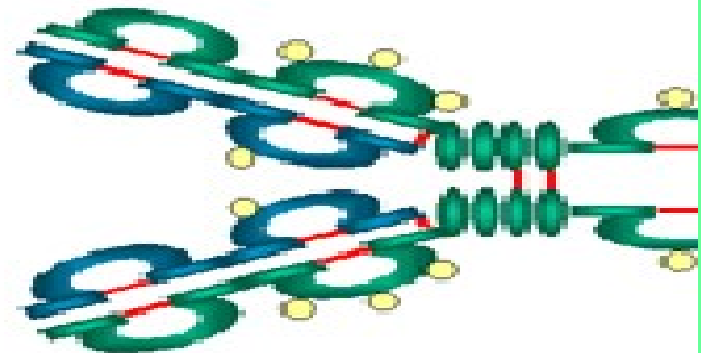
IgD

- Monomer



IgE

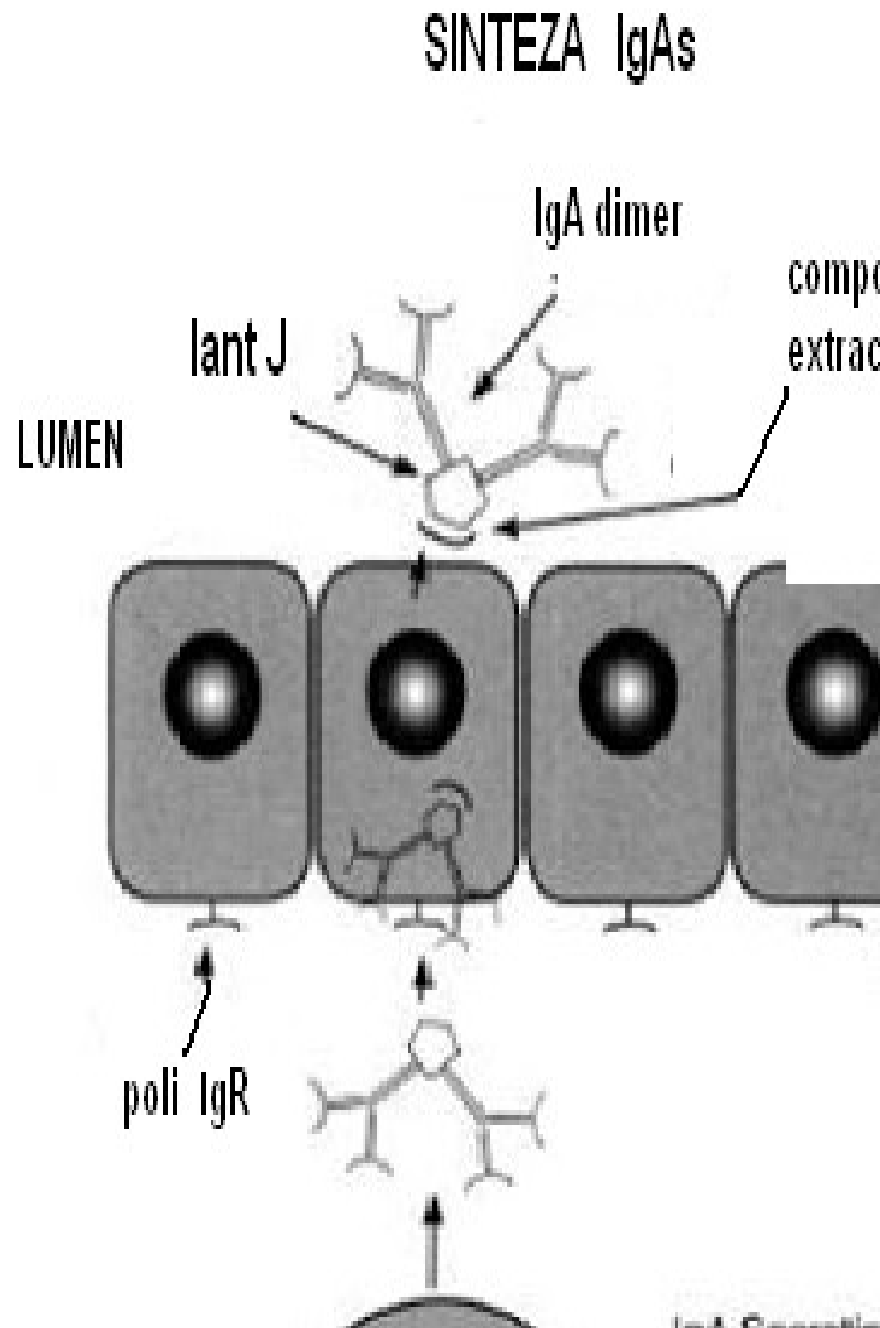
- Monomer
- Extra domain (C_{H4})



IgA

Structura

- monomer in ser
- IgAsecretor-in secretii
alcatuit din:
 - lantul J
 - piesa secretorie



Rolul IgAs la nivelul mucoaselor digestiva, respiratorie, genito-urinară

- actioneaza ca o prima linie de aparare
- fixeaza atg particulate
- favorizeaza fagocitoza opsonica
- favorizeaza activitatea macrofagelor
- impiedica colonizarea mucoaselor
- activitate antibacteriana prin fixarea lactoferinei
- pot realiza ADCC -fixarea prin Fc pe RFc al Mf, neutrofile, ly B

FUNCTIILE GENERALE ALE IMUNOGLOBULINELOR

Fragmentele *Fab* (V_L și V_H) poartă paratopii

– *Legarea anticorpului la antigen* (prin cooperarea celor 3 subzone hipervariabile de pe fiecare lanț H și L) poate declanșa:

- activarea sistemului complementului-liza celulelor si eliberarea de molecule active biologic
- activarea diferitelor celule (fagocite, limfocite, trombocite, mastocite, bazofile) care au pe membrana lor receptori pentru Fc.
- Unele Ig leaga receptori de pe trofoblastii placentei, asigurand transferul Ig prin placenta

Porțiunea Fc asigură proprietățile esențiale efectorii ale moleculei, diferite după clasele și subclasele de Ig:

- transferul placentar,
- traversarea epiteliilor prin legarea la un receptor poli-Ig,
- activarea complementului și
- legarea la membranele celulare prin Fc
- rata de catabolizare,

- *Legarea Ig la receptorii pentru Fc* poate induce următoarele semnale de activare celulară:

- citotoxicitatea prin celule NK;
- fagocitoza prin macrofage și polinucleare neutrofile;
- degranularea mastocitelor sau a plachetelor sanguine.

Anticorpri monoclonali

Anticorpri monoclonali reprezintă o categorie de anticorpi omogeni derivați dintr-o singură clonă de celule B identice *imunoglobuline omogene* sunt *proteinele mielomatoase* care apar în sângele pacienților cu mielom, ca rezultat al unor procese neoplazice instalate la nivelul celulelor sintetizatoare de anticorpi

OBTINERE IN VITRO

proces de hibridizare somatică -obținerea de hibridi celulari (de exemplu fuzionarea unor celule limfoide - capabile să sintetizeze anticorpi cu o specificitate cunoscută, cu celule dintr-o linie mielomatoasă (menținută în laborator) - cu capacitate de proliferare indefinită).

clonarea acestor hibridi somatici –astfel se obțin hibridoamele (derivate fiecare dintr-o singură celulă hibridă) care vor produce o singură specie moleculară de anticorpi, numiți anticorpi monoclonali.

**izolare de celule din splina
animalului imunizat**

imunizare

**amestec de celule din splina,
unele producătoare anti X**

**amestec celule
fuzionate și nefuzionate**

**celulele nefuzionate mor
în mediul
HAT(hipoxantina, amino-
pterina,timidina)**

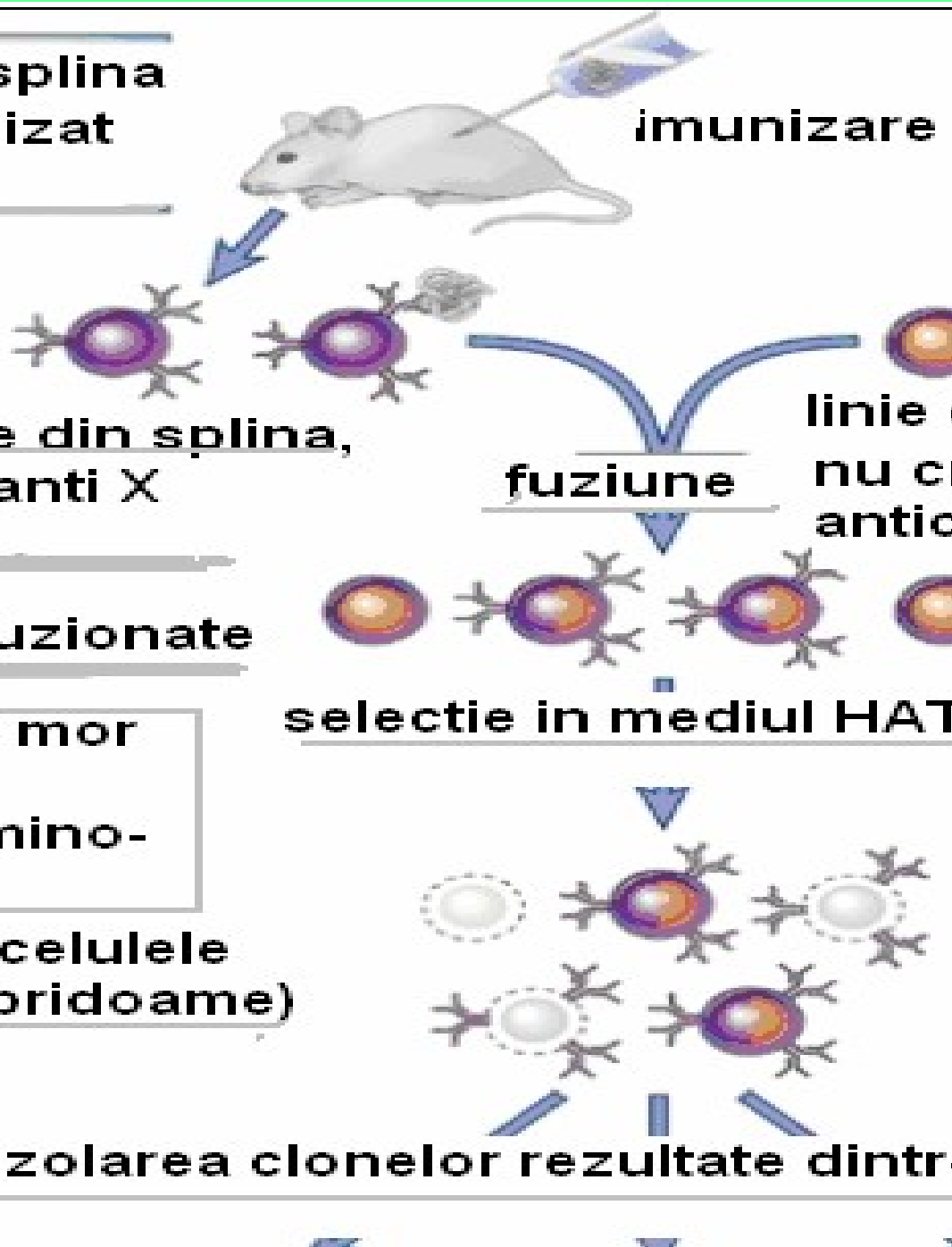
**cresc doar celulele
fuzionate(hibridoame)**

fuziune

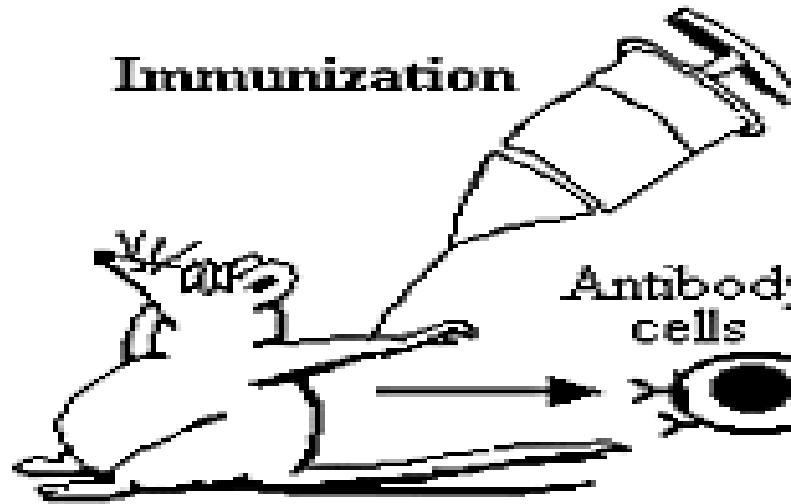
**linie
nu
antic**

selectie în mediul HAT

izolarea clonelor rezultate dintr-



Immunization



Antibody-forming
cells



Fusion

Hybridomas

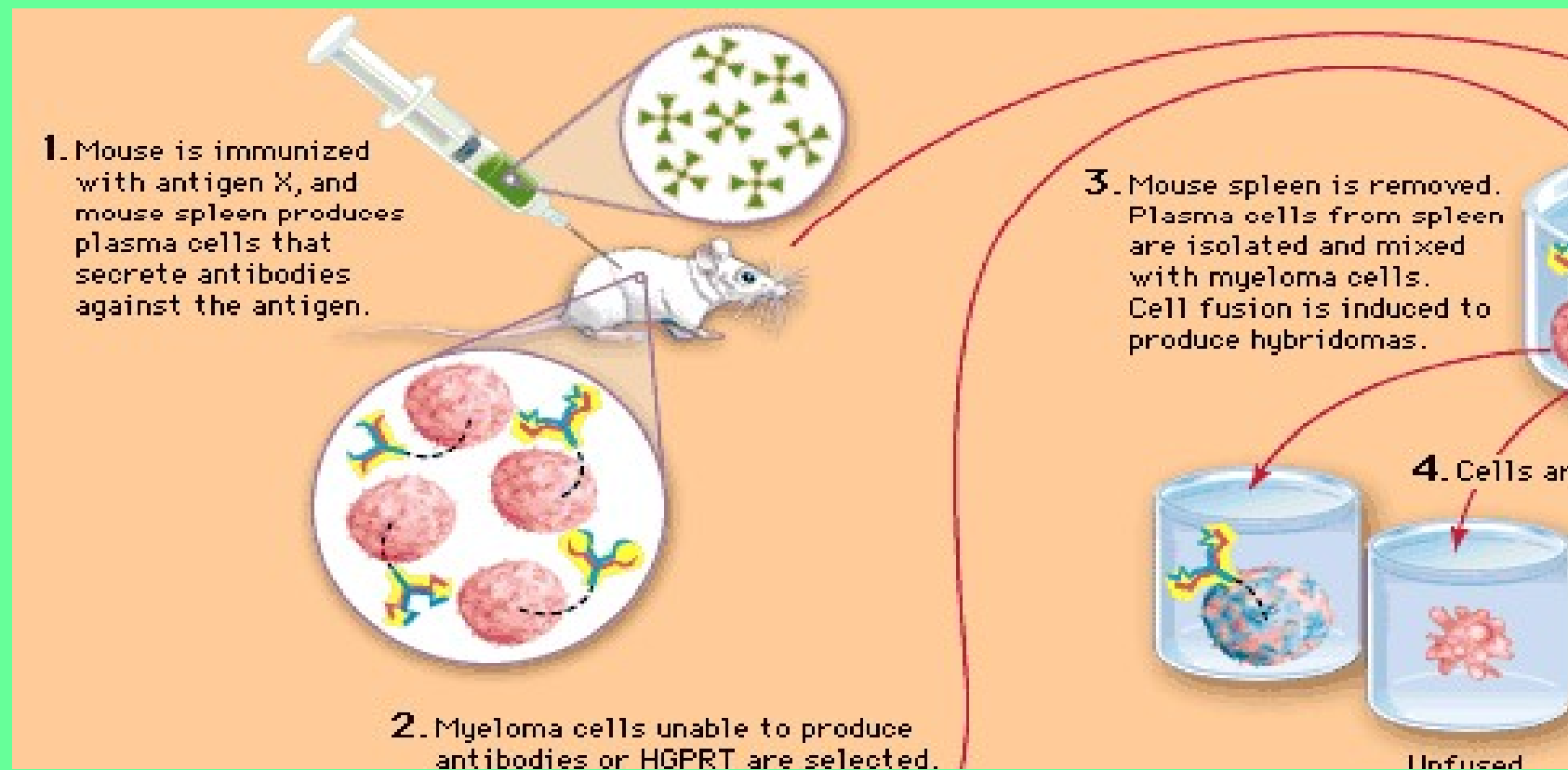


Polyethylene glycol is used to fuse of adjacent plasma membranes, but the success rate is low so a selective medium is used in which only fused cells can grow

HAT medium because it contains:

- Hypoxanthine
- Aminopterin
- Thymidine

CARE NU PERMIT CRESTEREA CELULELOR NEHIBRIDIZATE.



Aplicațiile practice ale anticorpilor monoclonali

Anticorpilor monoclonali sunt utilizați în cadrul variatelor *proceduri de diagnostic* (tehnica de imunofluorescență, ELISA, RIA, citometria în flux) care servesc la:

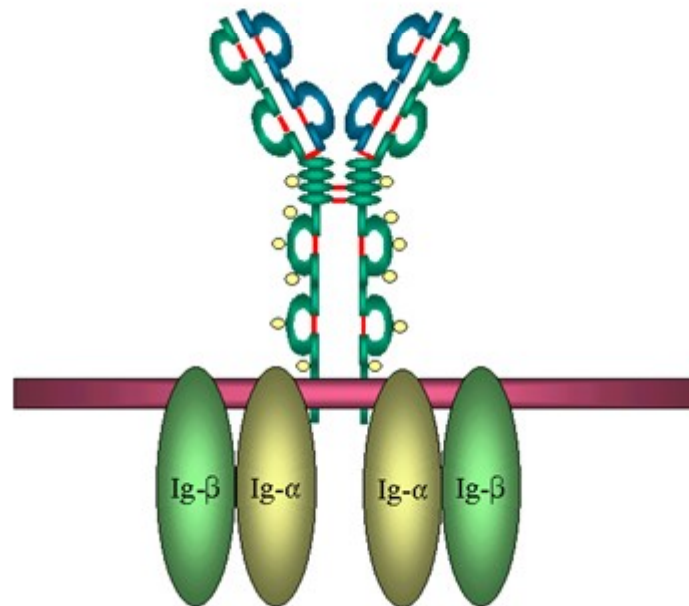
- evidențierea unor importante **antigene** (markeri ai unor afecțiuni) cum sunt α fetoproteina, antigenul carcino-embrionar;
- evidențierea subpopulațiilor limfocitare;
- caracterizarea specificităților HLA;
- detectarea unor imunopatii;
- studiul structurii unor proteine antigenice specifice (toxine);
- detectarea grupelor sanguine;
- stabilirea idiotipului limfocitar;

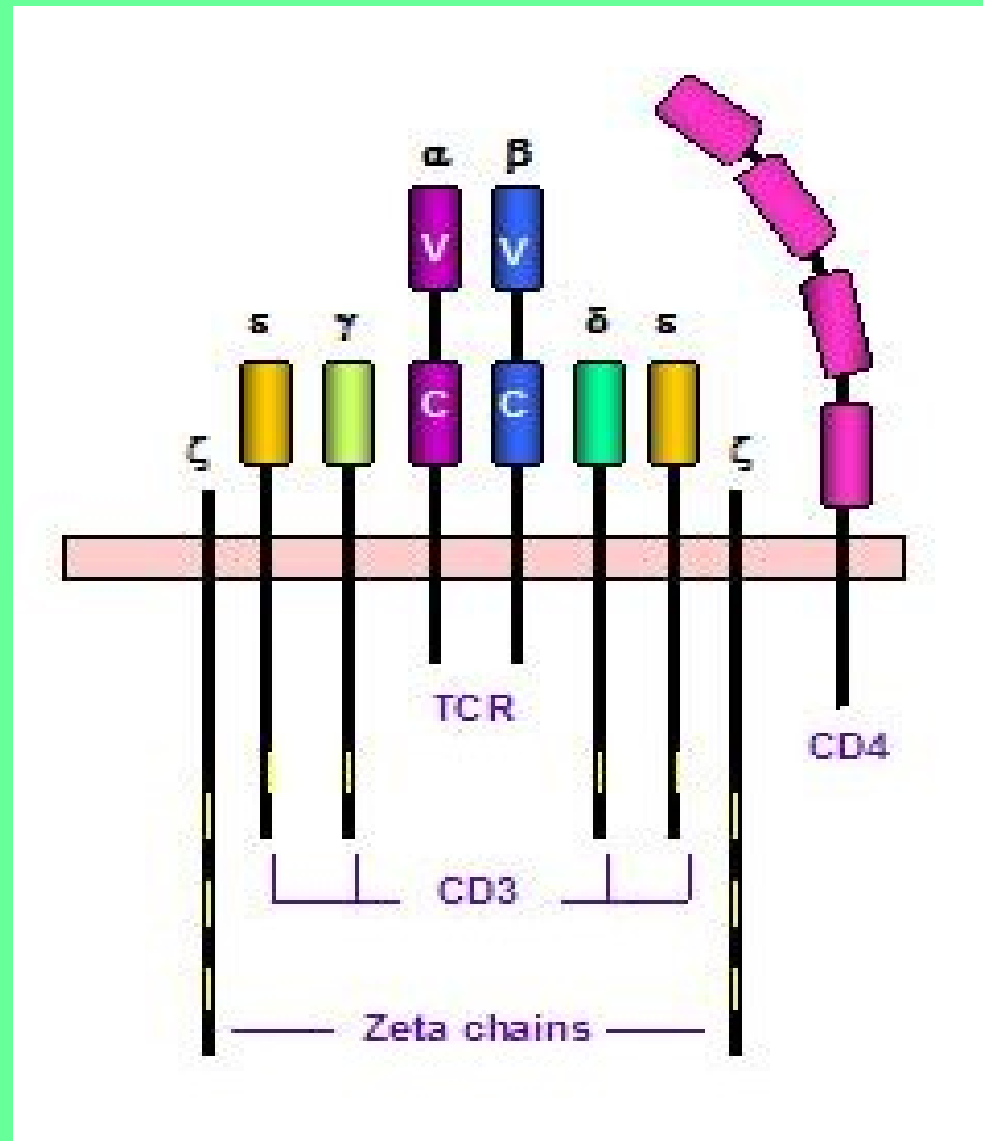
Se încearcă utilizarea anticorpilor monoclonali în scop:

- *profilactic* (obținerea unor IgG anti-RhD pentru prevenirea anemiei hemolitice la nou născut, protecția împotriva infecțiilor cu virusuri (varicella-zoster, citomegalic), cu bacterii (streptococi β hemolitici);
- *terapeutic* (tratamentul tumorilor prin legarea celulelor tumorale acoperite cu anticorpi specifici de celulele ucigașe-Natural killer).

RECEPTORII PENTRU ANTIGEN

B Cell Antigen Receptor (BcR)





Complex TCR