

Antigene-Immunogeno

- **Antigene:** qualsiasi sostanza in grado di legare un anticorpo specifico o ad un recettore per l'antigene della cellula T
- **Immunogeno:** antigene che induce una risposta immunitaria e viene definita **immunogenica** qualsiasi sostanza che provoca una risposta immunitaria adattativa

**Non tutti gli antigeni sono immunogeni:
ex apteni**

APTENI: ANTIGENI INCOMPLETI

Composti chimici di piccole dimensioni

Per essere *immunogeni* devono essere coniugati con macromolecole
CARRIER

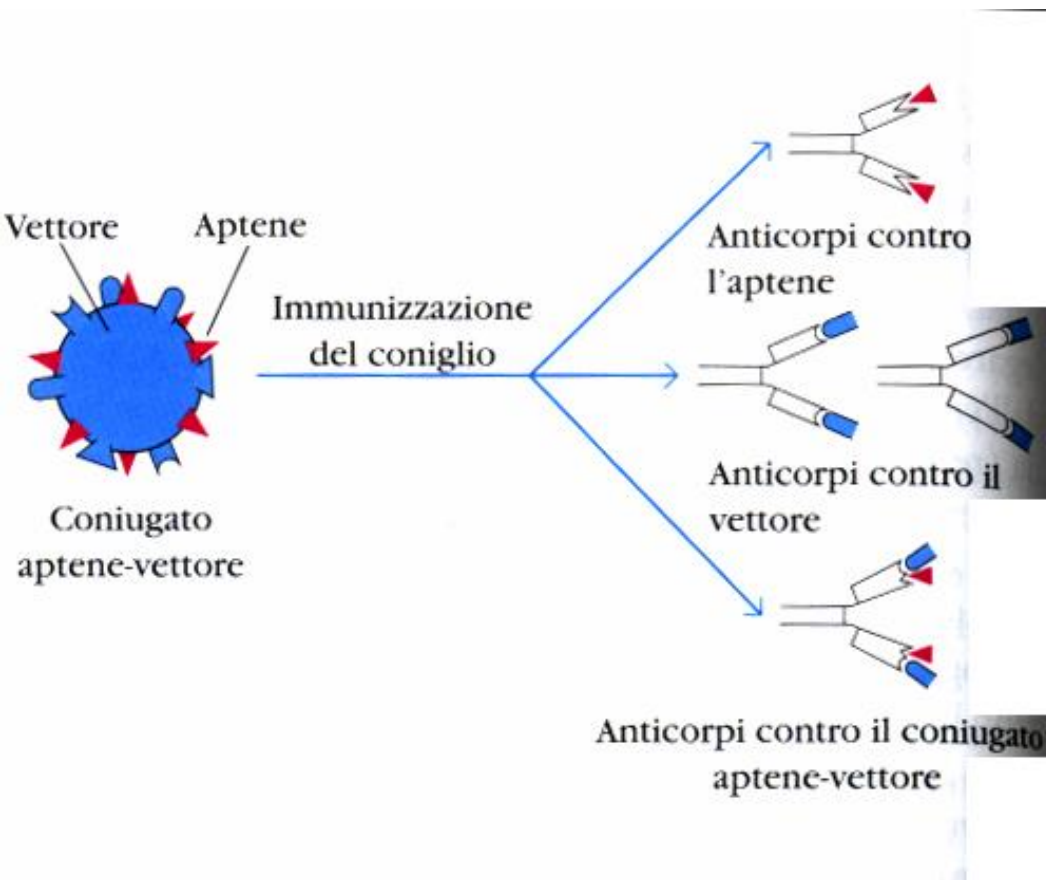


TABELLA 11-5 COMUNI CONIUGATI APTENE-VETTORE UTILIZZATI NELLA RICERCA IMMUNOLOGICA

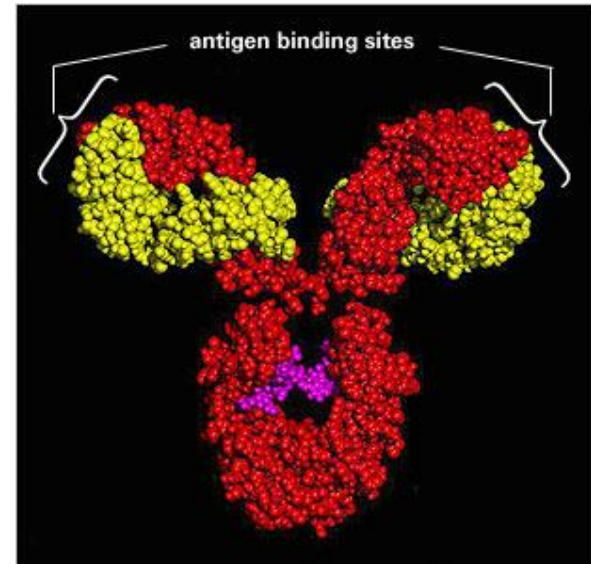
Acronimo del coniugato aptene-vettore	Aptene	Proteina vettrice
DNP-BGG	Dinitrofenolo	Gammaglobuline bovine
TNP-BSA	Trinitrofenolo	Albumina sierica bovina
NIP-KLH	Acido 5-nitrofenil acetico	Emocianina di patella
ARS-OVA	Azofenilarsonato	Ovalbumina
LAC-HGG	Fenillattoside	Gammaglobuline umane

EPITOPO

- **L'epitopo o determinante antigenico** è la regione specifica dell'antigene macromolecolare riconosciuta dall'anticorpo o dal TCR
- **Ag multivalenti o polivalenti** hanno lo stesso epitopo *ripetuto* per es. acidi nucleici, zuccheri

L'interazione Ag-Ab

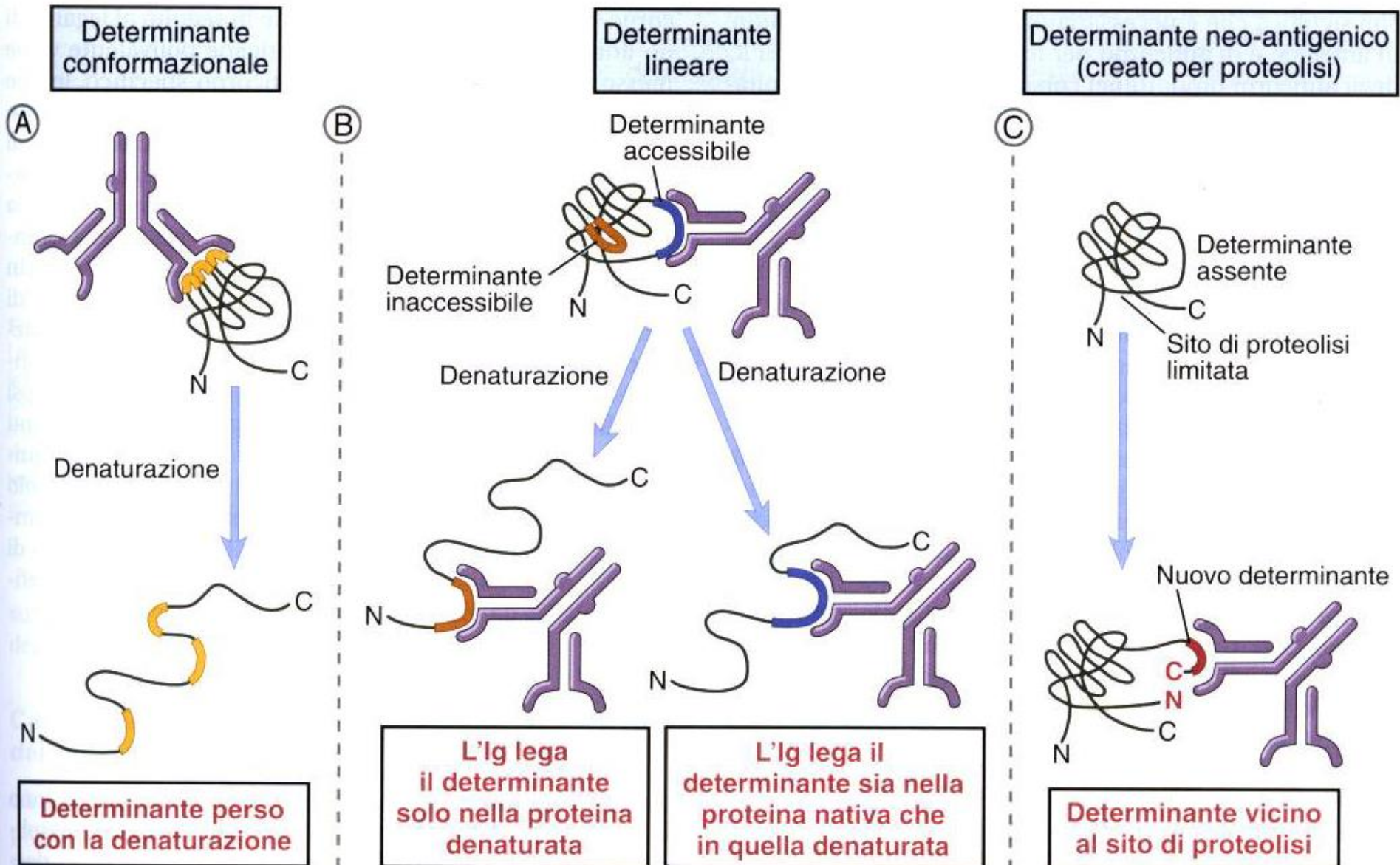
- Peptidi
- Zuccheri
- Lipidi
- Acidi nucleici



Ciascun anticorpo si lega solo ad una porzione delle macromolecole definita determinante antigenico o epitopo

Nel caso delle proteine l'epitopo può dipendere dalla sua struttura terziaria o conformazionale

Caratteristica degli epitopi proteici



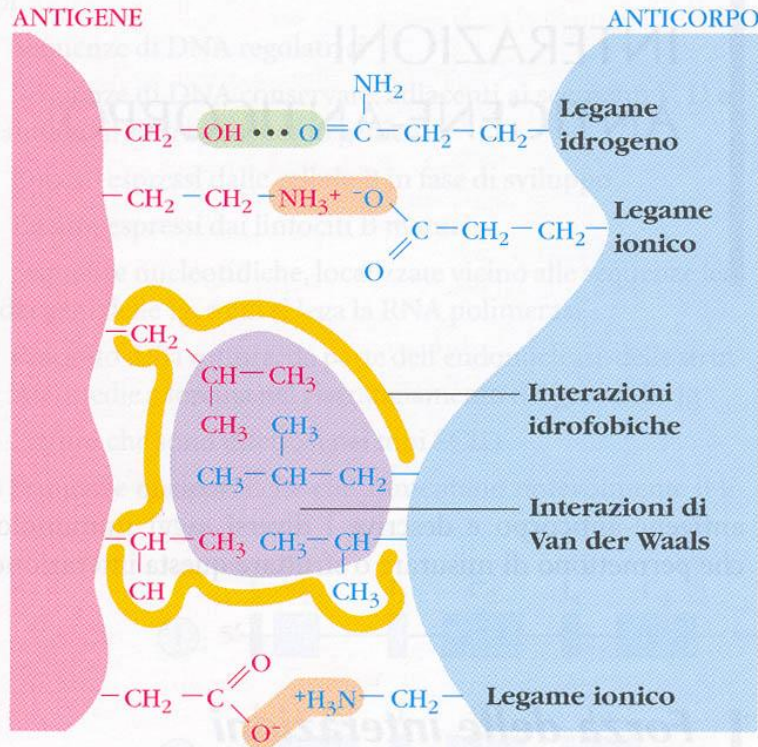
Ag e Ab

Affinità = forza di interazione tra un singolo sito di legame di una molecola con un particolare ligando

Ex. Interazione tra un anticorpo ed il suo determinante antigenico

Ag e Ab

K_d 10^{-7} 10^{-11}

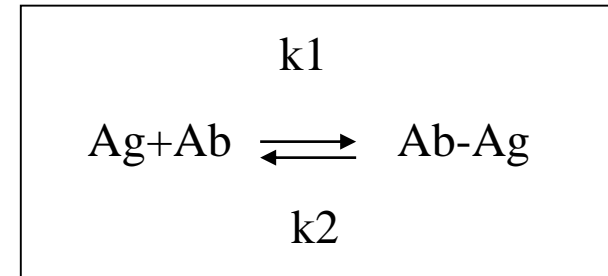
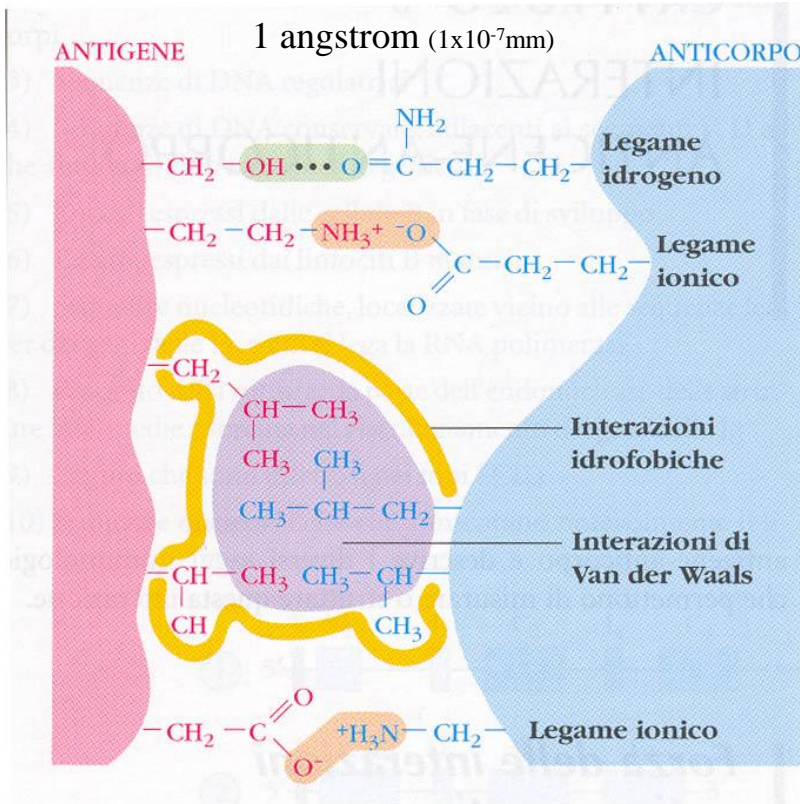


Forze non covalenti	Origine	
Forze elettrostatiche	Attrazione tra cariche opposte	$\text{—NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$
Legame ionico Legami ad idrogeno	Idrogeno condiviso tra atomi elettronegativi (N, O)	$\begin{array}{c} \diagup \text{N} \text{—} \text{H} \text{—} \text{O} \text{=C} \diagdown \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
Forze di Van der Waals	Oscillazioni delle nubi elettroniche attorno alle molecole polarizzano in modo opposto gli atomi adiacenti	$\begin{array}{c} \delta^+ \quad \delta^- \\ \delta^- \quad \delta^+ \end{array}$
Forze idrofobiche	I gruppi idrofobici interagiscono sfavorevolmente con l'acqua e tendono ad associarsi per escludere le molecole di acqua. L'attrazione avviene anche per le forze di Van der Waals	$\begin{array}{c} \text{H} > \text{O} & \text{H} & \text{O} < \text{H} \\ & \delta^+ & \delta^- & \delta^+ \\ & \delta^- & & \\ & \text{H} & \text{O} & \text{H} \end{array}$

Riconoscimento Ag-Ab è dato da interazioni NON covalenti e REVERSIBILI

Affinità somma forze attrattive e repulsive
singolo sito di legame e singolo epitopo

AFFINITA'



Legge di azione di massa

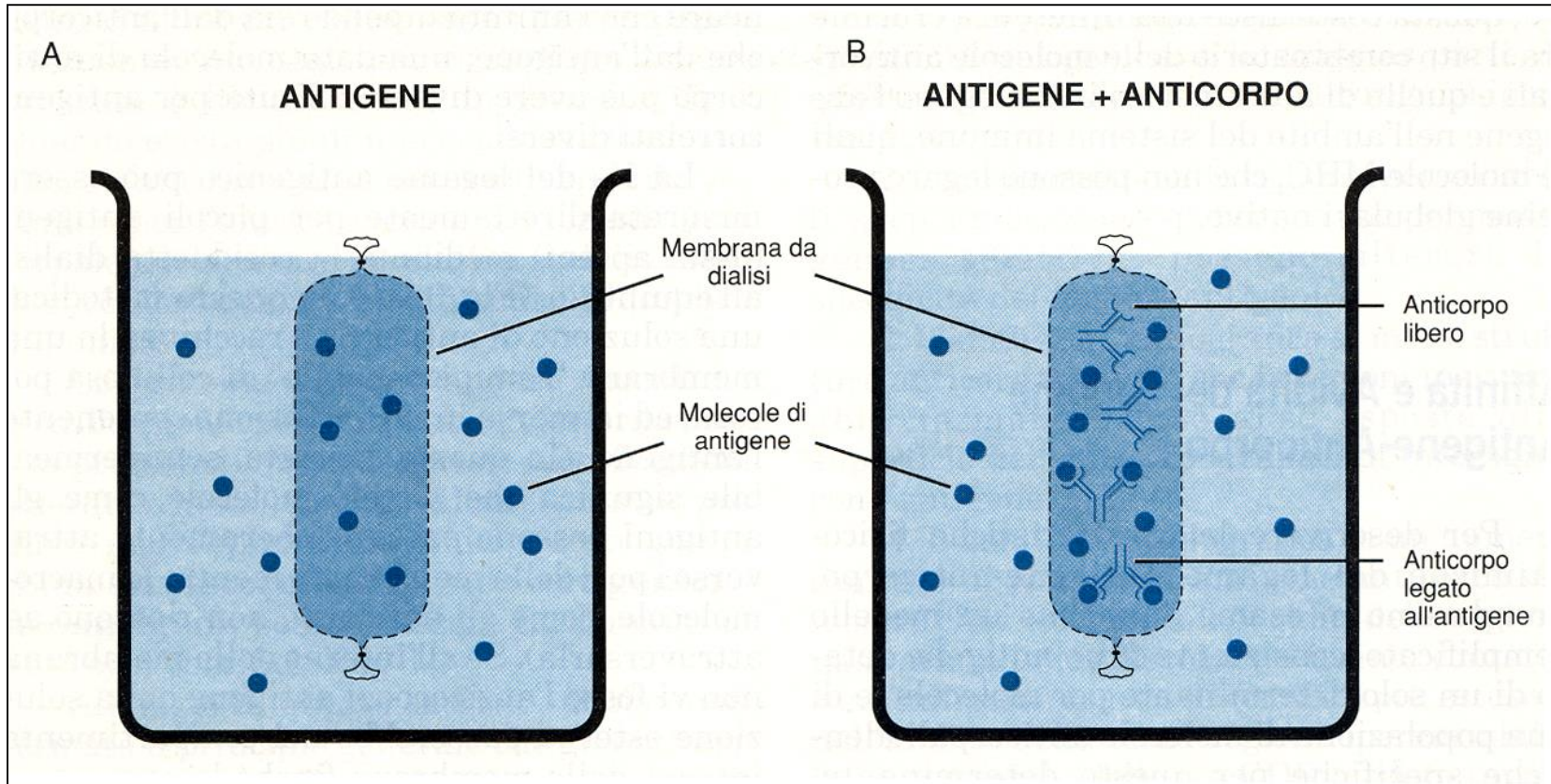
$$K_d = \frac{[\text{Ag}][\text{Ab}]}{[\text{Ag-Ab}]}$$

$$K_d \quad 10^{-7} \quad 10^{-11}$$

Costante di dissociazione/ associazione = misura di affinità

Minore è la K_d maggiore è l'affinità dell'anticorpo per l'antigene

DIALISI ALL'EQUILIBRIO

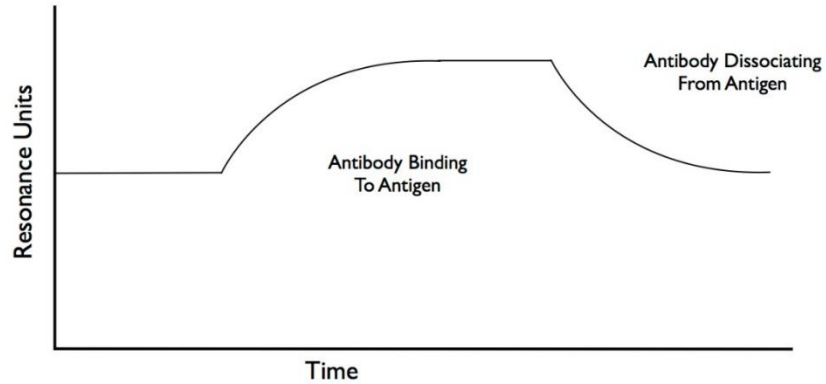


1000 dal

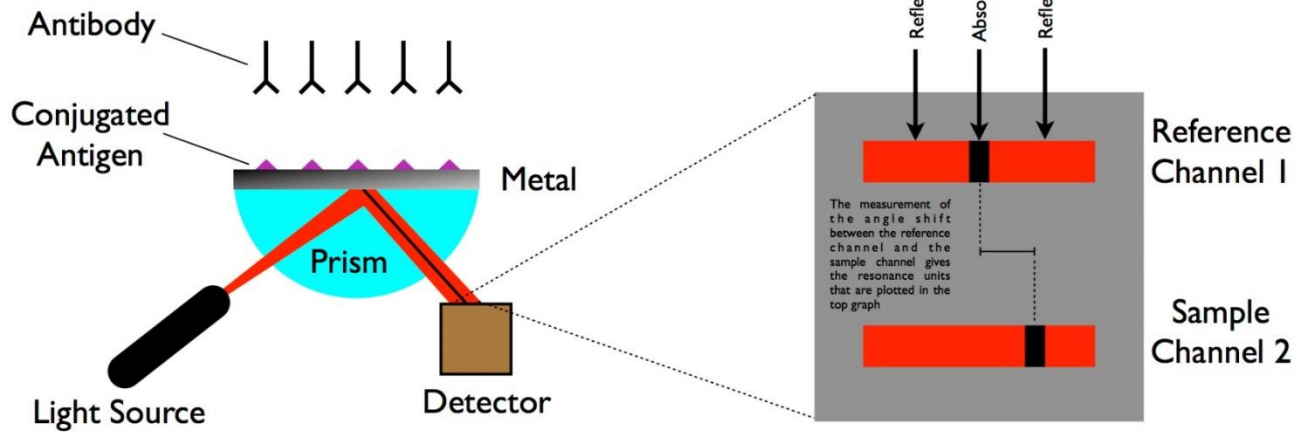
Per valutare l'affinità di un Ab per un Ag DIFFUSIBILE si usa il metodo della DIALISI ALL'EQUILIBRIO

MISURAZIONE DELL'AFFINITA' E ASSOCIAZIONE/DISSOCIAZIONE TRA RECETTORI E LIGANDI (PLASMON RESONANCE)

Graph of Reference
Channel 2-1

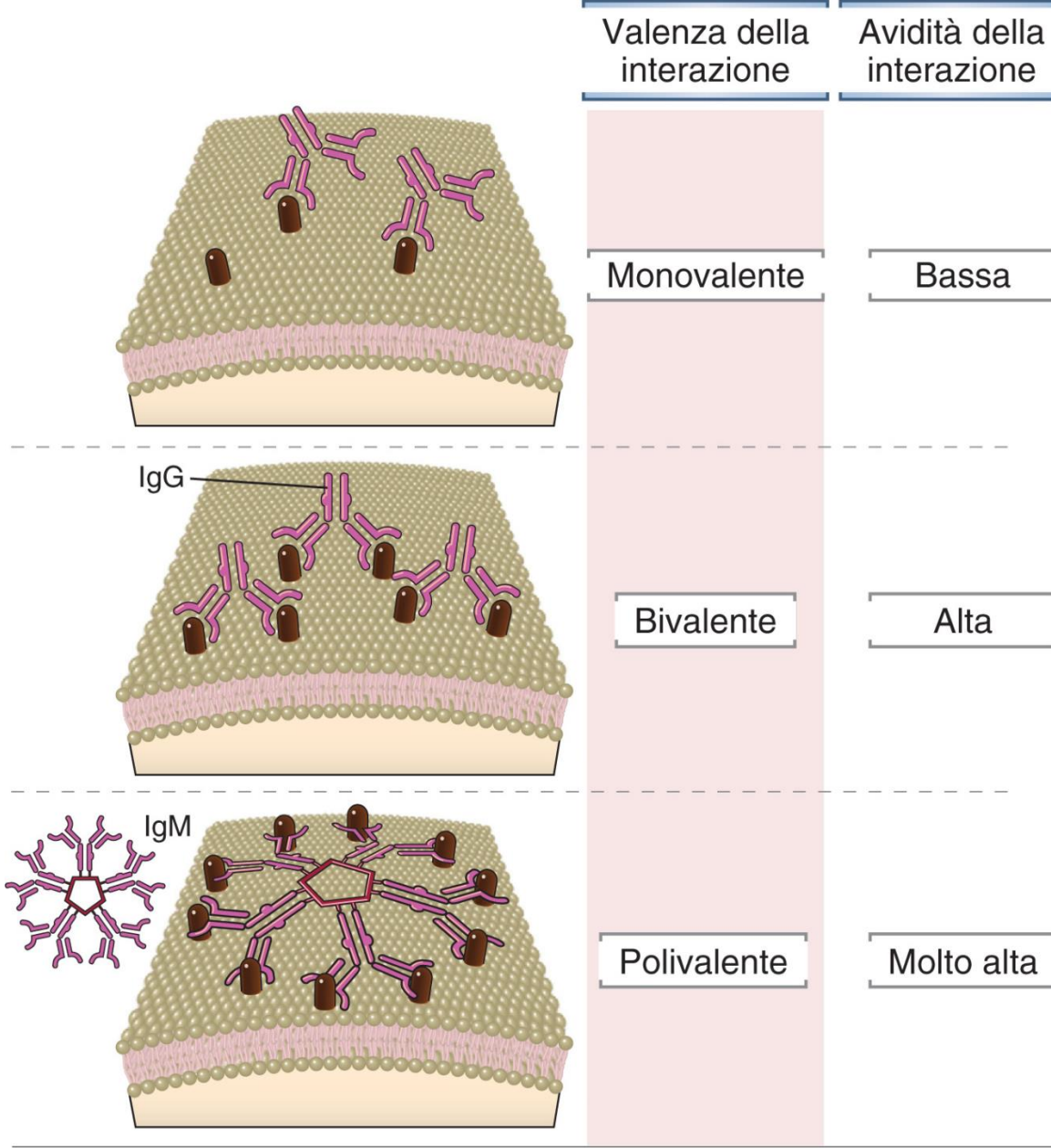


A



Ag e Ab

Avidità = forza complessiva di interazione tra un Ab multivalente e l'Ag polivalente, tiene conto delle affinità dei singoli siti di interazione e della quantità di siti di interazione presenti sull'Ab per l'Ag



g13.jpg

Immunologia cellulare e molecolare 7 ed

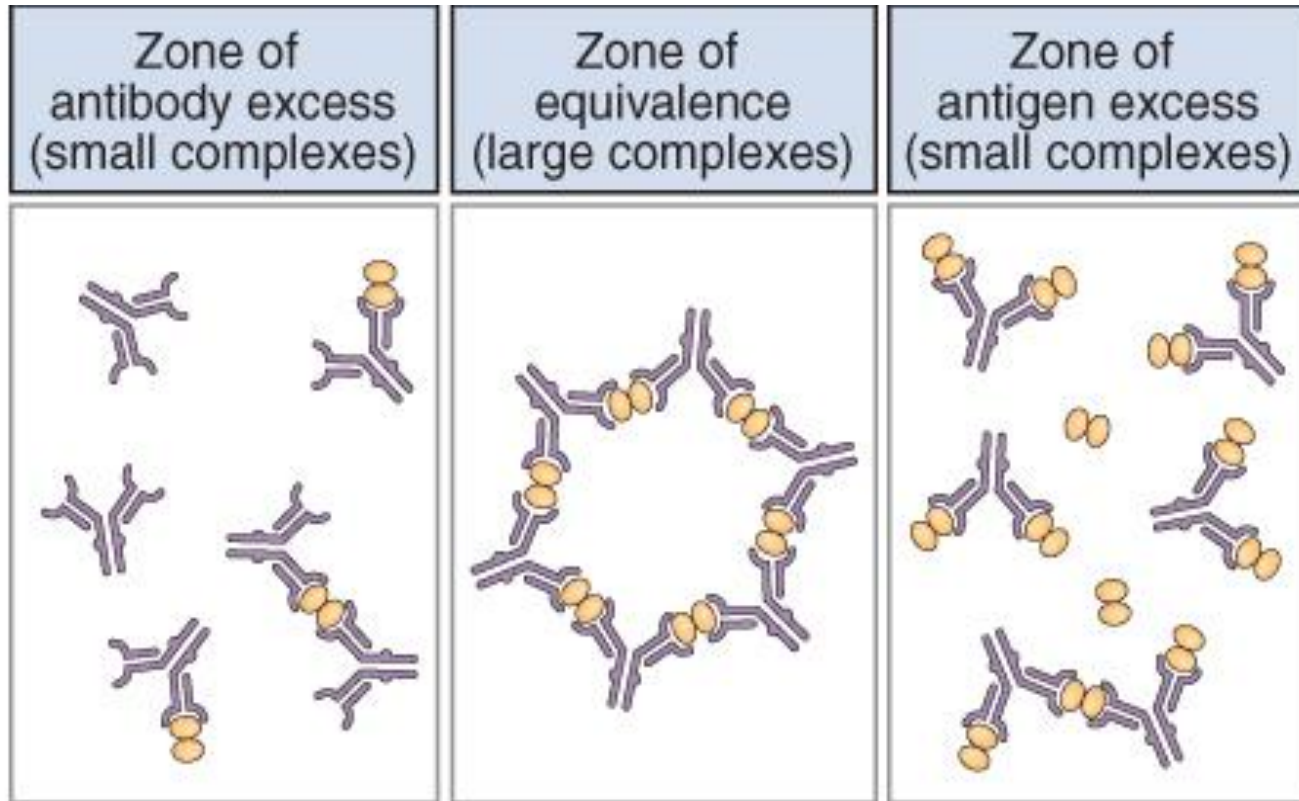
Valenza e avidità dell'interazione antigene-anticorpo. Gli antigeni monovalenti o gli epitopi separati sulla superficie cellulare interagiscono con un solo sito combinatorio di una molecola anticorpale. Nonostante l'affinità di questa interazione possa essere alta, il valore totale di avidità è relativamente basso. Quando determinanti ripetuti sono espressi in maniera abbastanza ravvicinata sulla superficie di una cellula, possono legarsi entrambi i siti combinatori di una IgG con un'interazione bivalente ad avidità maggiore. La regione cerniera delle IgG permette la modificazione strutturale necessaria per impegnare entrambi i siti leganti. Le molecole IgM possiedono dieci siti combinatori identici, che possono teoricamente legarsi simultaneamente a epitopi identici ripetuti sulla superficie di una cellula. L'interazione che ne risulterà sarà polivalente ed ad avidità molto elevata.

Reazione Ag-Ab

- in vitro è una reazione di tipo visibile che si distingue in
 - reazione di **precipitazione** quando l'antigene è solubile
 - reazione di **agglutinazione** quando l'antigene è corpuscolato.

Reazione di Precipitazione:

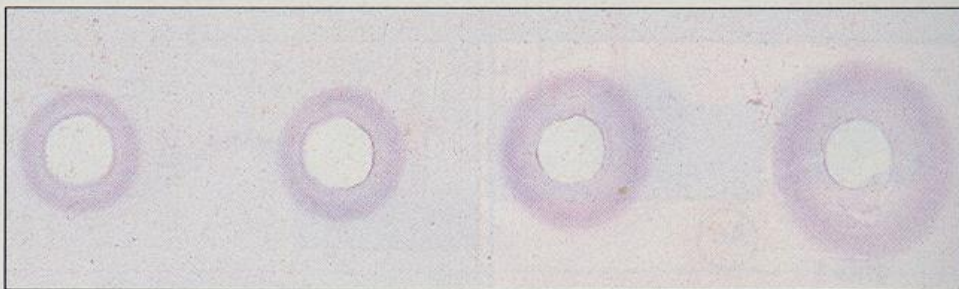
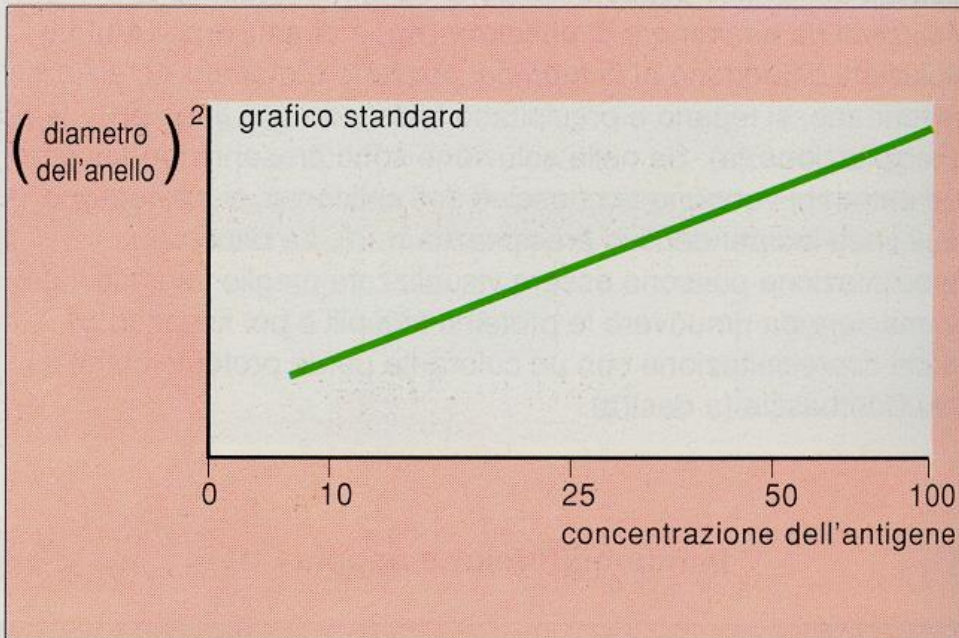
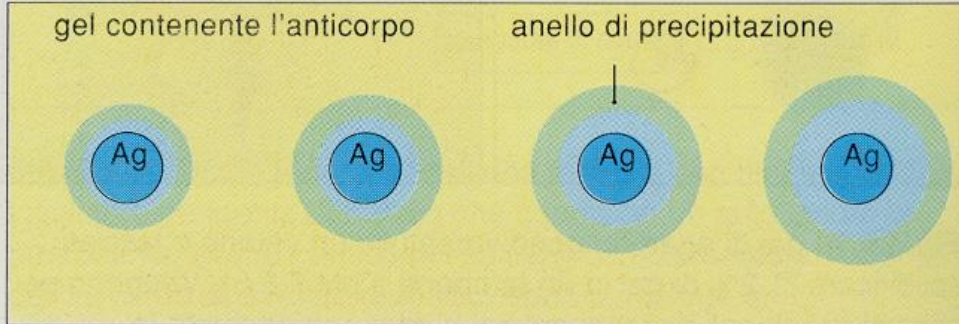
•Se in *soluzione* si aggiungono Ag e Ab specifici per quell'Ag, le due molecole si associano formando un precipitato=immunocomplesso



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

•Se la reazione avviene in *gel di agarosio* si vedranno gli aloni di precipitazione

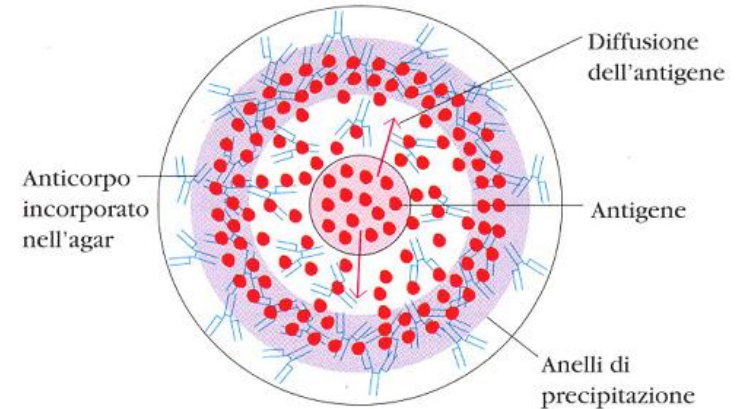
Immunodiffusione radiale singola



Serve per misurare la concentrazione di un Ag

Ex IgG nel siero

IMMUNODIFFUSIONE RADIALE

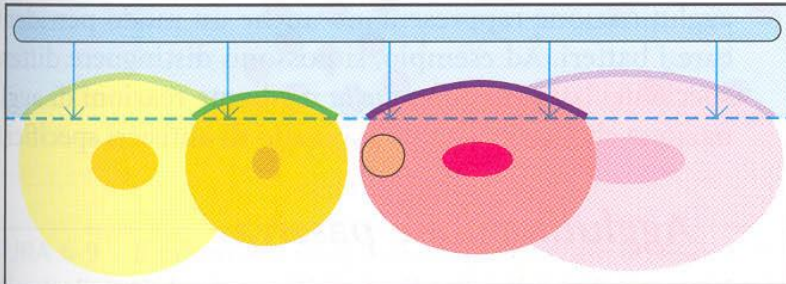
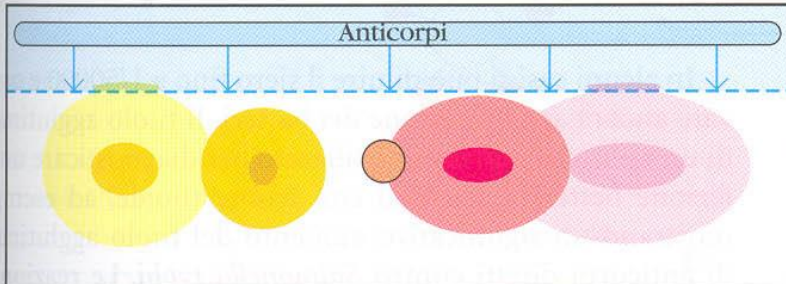
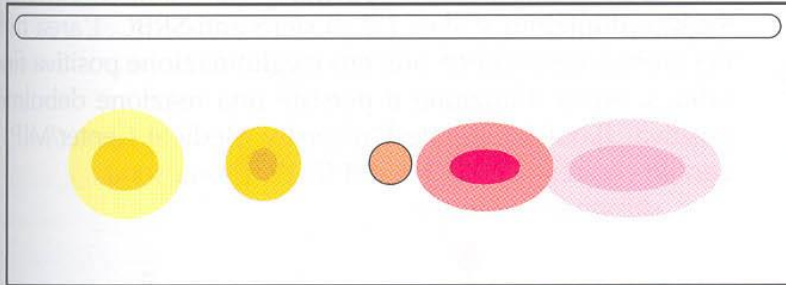
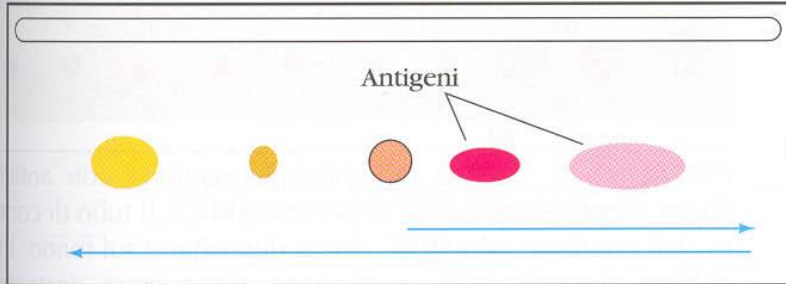


Secondo Mancini-Carbonara-Heremans

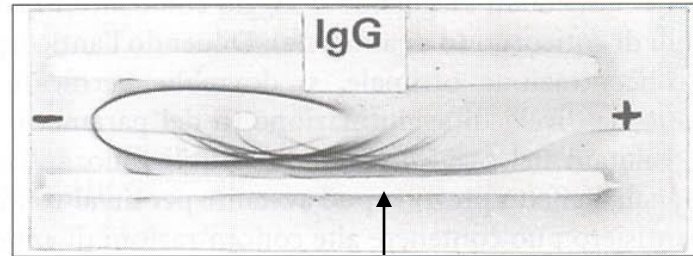
Immuno-elettroforesi

Ex applicazione: diagnosi mieloma multiplo (IgG, IgA, IgD o IgE) o Macroglobulinemia di Waldenstrom (IgM)

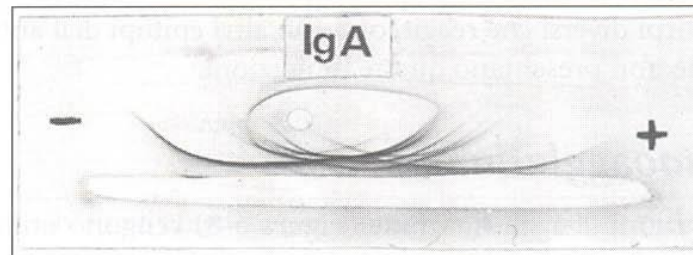
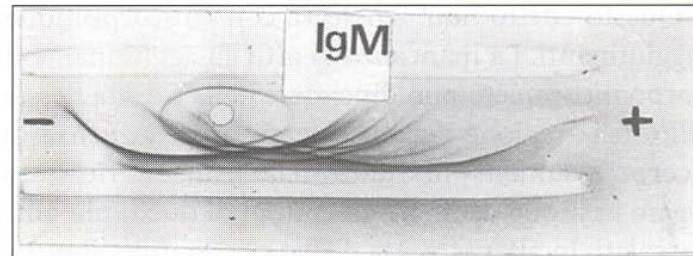
(a)



(b)



Ab di capra anti siero umano totale



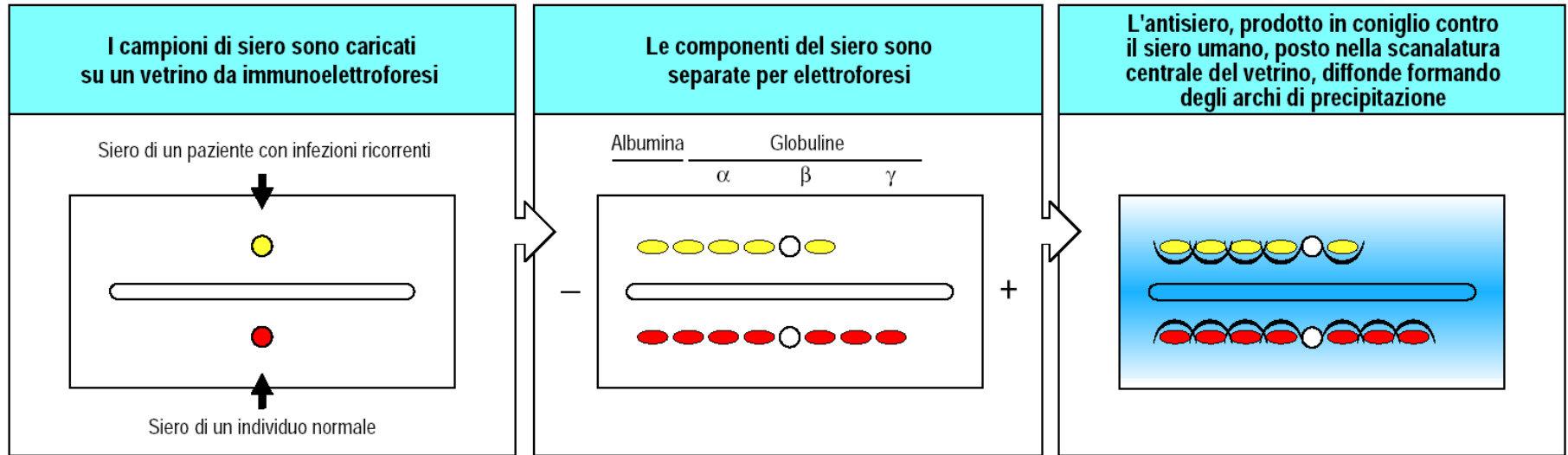
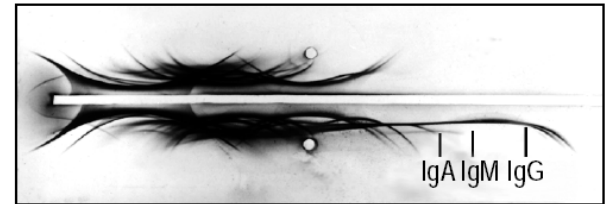


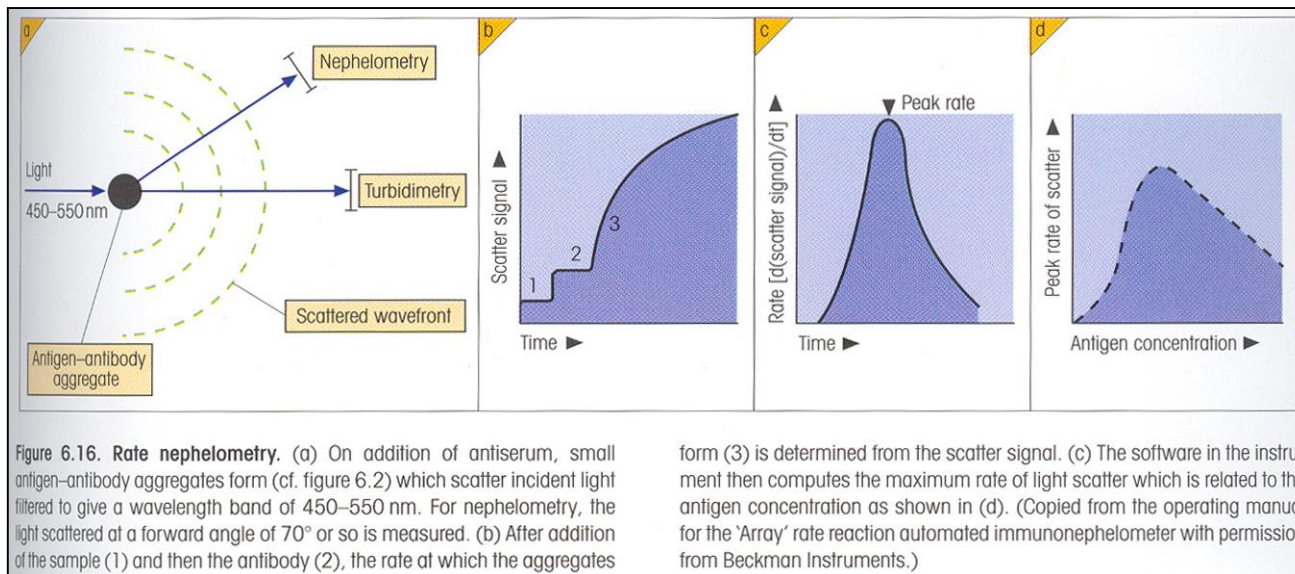
Fig. 11.10 Con l'immuno-elettroforesi, si può vedere che nel siero di un paziente con agammaglobulinemia legata all'X (XLA) mancano molti isotipi di immunoglobuline. Su un vetrino rivestito di agar si fanno separare per elettroforesi le proteine del siero di un controllo e di un paziente con ricorrenti infezioni batteriche, dovute all'assenza di anticorpi, che si traduce in un'assenza di gamma globuline. Successivamente l'antisiero, prodotto contro l'intero siero umano normale e contenente anticorpi contro molte delle sue differenti proteine, è posto in una scanalatura centrale; ciascun anticorpo for-

ma un arco di precipitazione con la proteina che riconosce. La posizione dell'arco è determinata dalla mobilità elettroforetica delle proteine del siero; le immunoglobuline migrano con le gamma globuline. Nella fotografia in basso è riportata l'immuno-elettroforesi di un paziente che ha agammaglobulinemia legata all'X, dove mancano parecchi archi di immunoprecipitazione (set superiore). Nel siero del paziente mancano IgA, IgM e parecchie sottoclassi di IgG, ognuna riconosciuta nel siero normale di controllo (set inferiore) dagli anticorpi contenuti. *Fotografia dalla raccolta dell'ultimo C.A. Janeway Snr.*



Nefelometria e turbidimetria

La presenza di IC in una soluzione forma una soluzione torbida che può essere misurata con delle metodiche ottiche: la turbidimetria e la nefelometria



Laser
luce
monocromatica

l'assorbimento/diffusione

Possono essere misurati campioni molto piccoli 1-10ml
Ex Immunoglobuline, C3, C4, aptoglobina, ceruloplasmina, CRP

Reazione di agglutinazione:

quando l'Ag è corpuscolato: 1- GLOBULI ROSSI

2- BATTERI

Ab

Ag

Mezzo ambiente Potenziale z

