

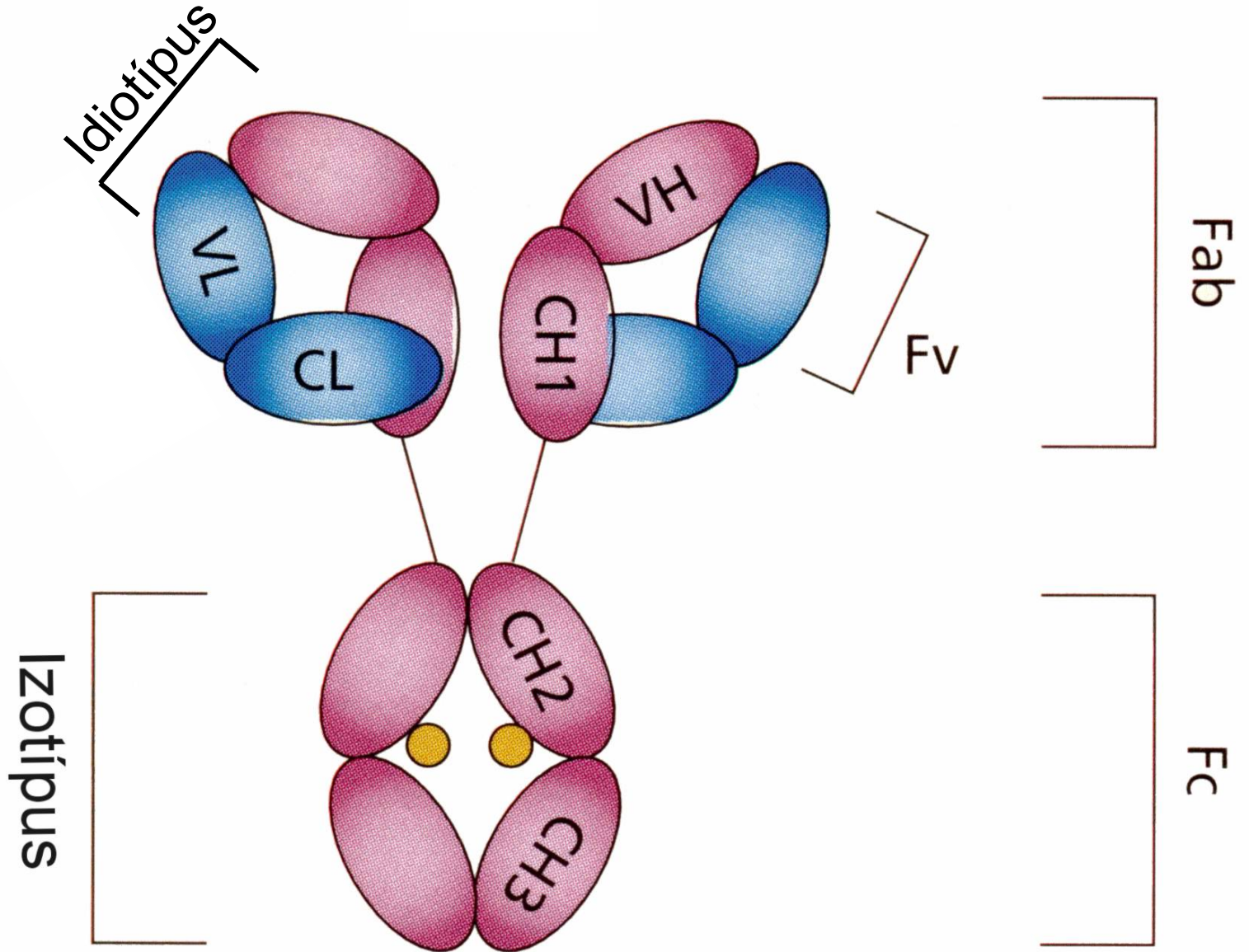
**Immunizálás.  
Poliklonális ellenanyag előállítása,  
tisztítás.**

2011. / 2

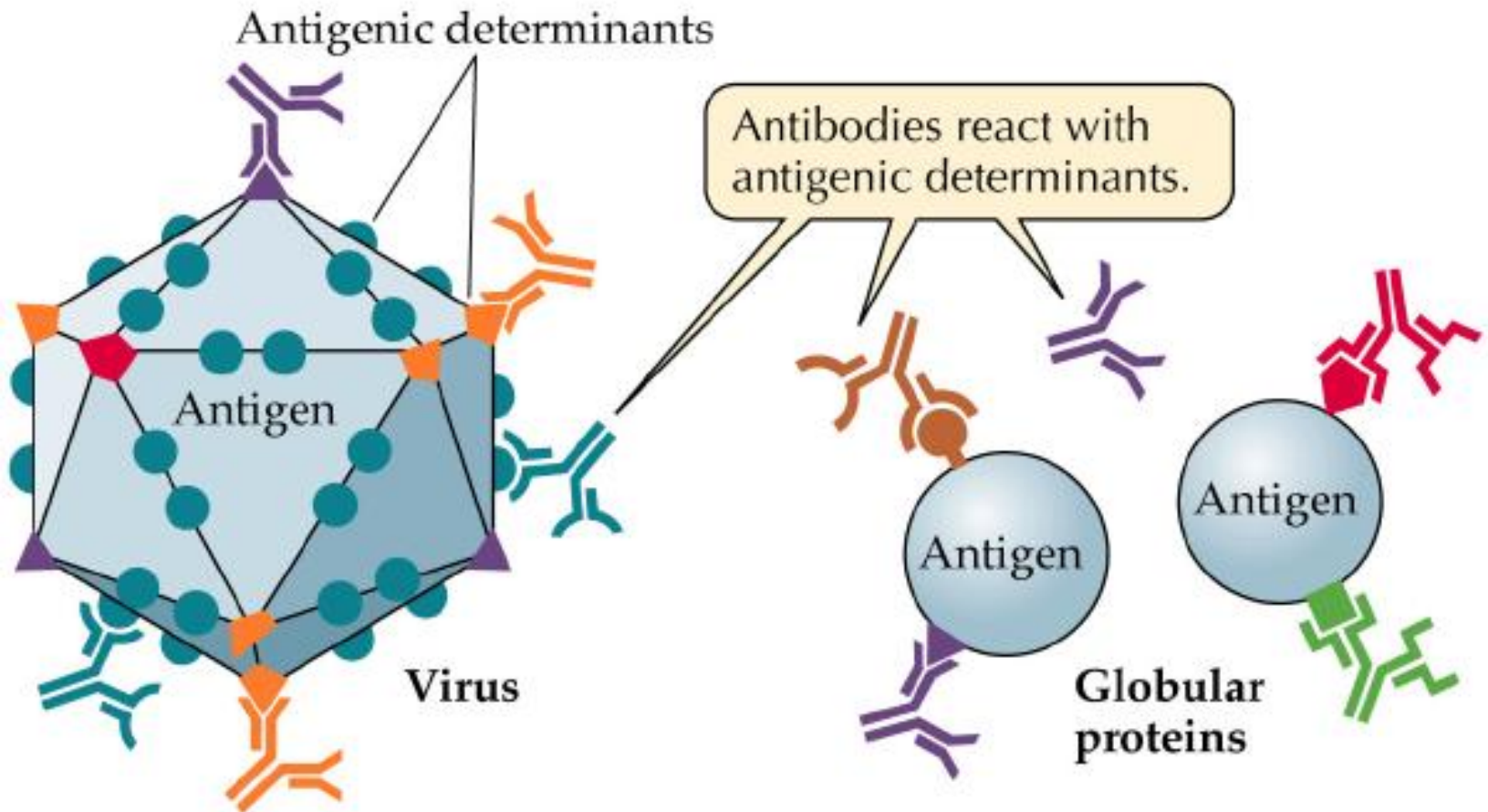
**Immunológiai és Biotechnológiai Intézet**

**PTE KK**

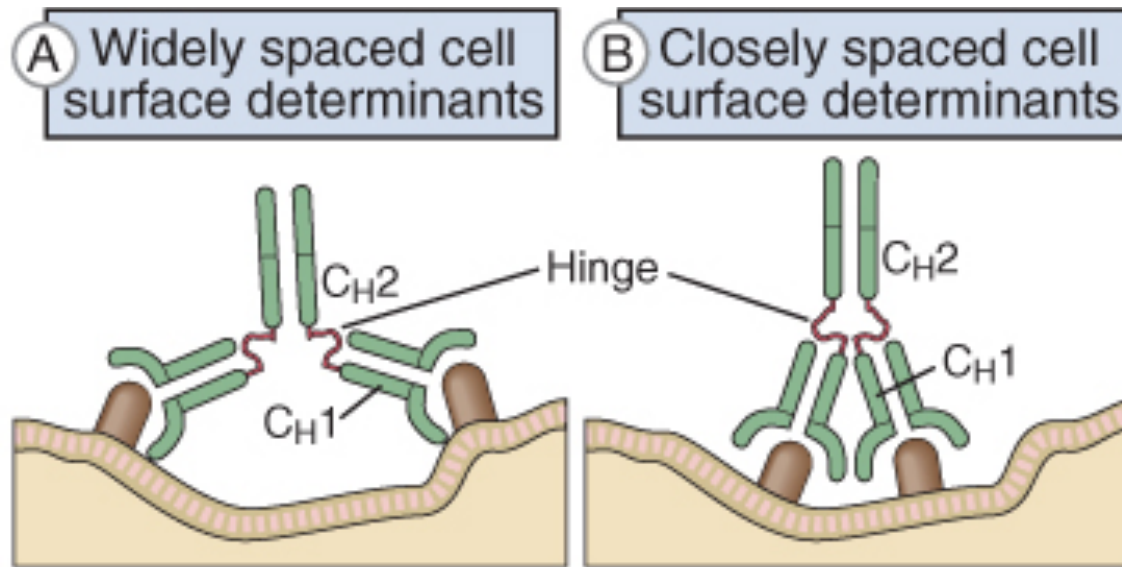
# Antitestek szerkezete



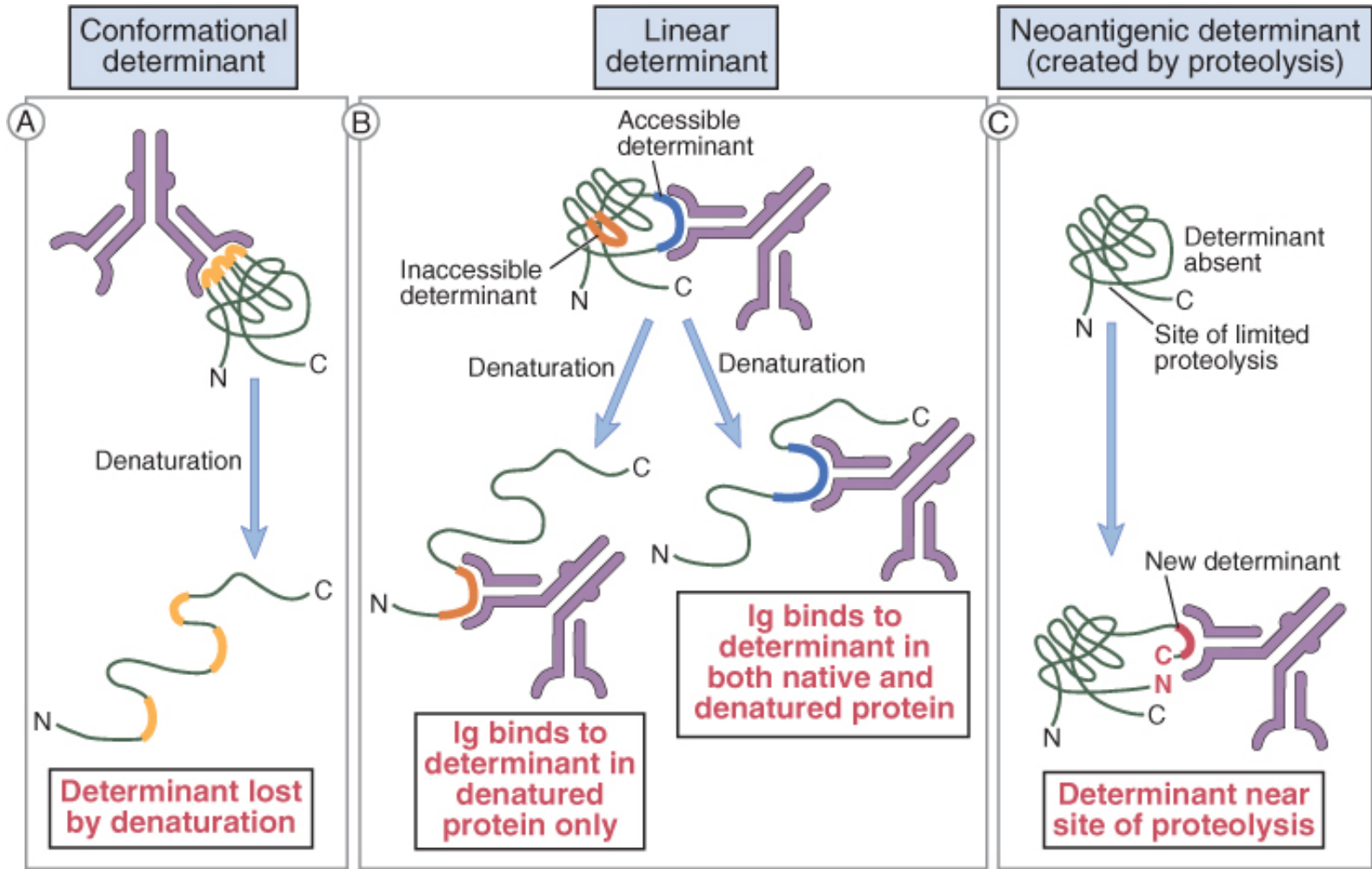
# Az antitest és az epitóp (antigéndetermináns)



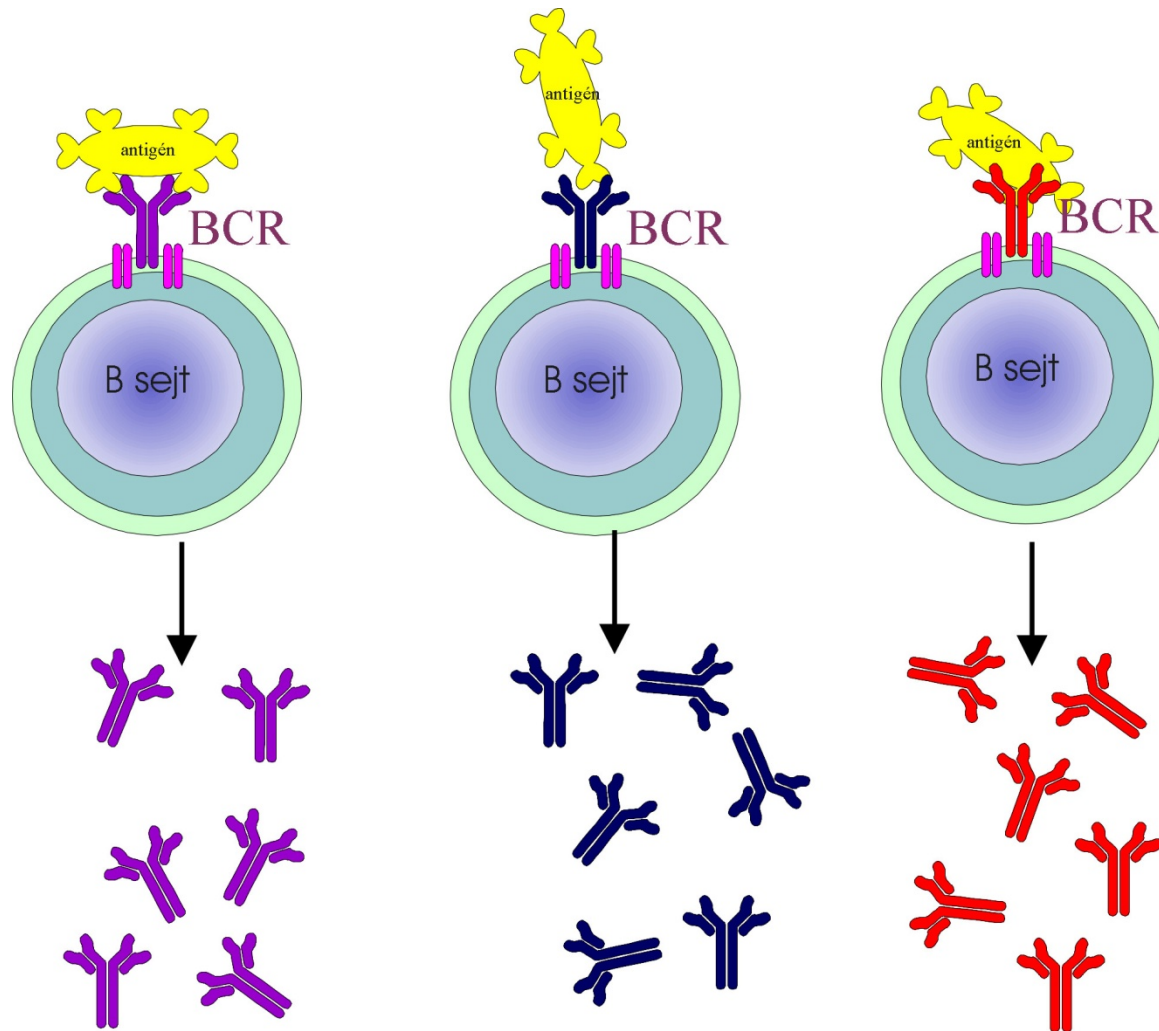
# Az antitest és az epitóp (antigéndetermináns)



# Az antigéndeterminánsok tulajdonságai



**A komplex antigén poliklonális immunválaszt vált ki,  
ami eltérő specificitású ellenanyagok termelődéséhez  
vezet**



# Immunizálás

## Megfelelő állat kiválasztása:

- **Monoklonális antitest – egér v. patkány**
- **Poliklonális antitest – nyúl, birka, kecske**

## Antigén:

- **haptén (5-10 kD >) – carrier**
- **natív v. módosított molekulák, sejtek**
- **beadás: musculárisan, subcután vagy intracután**

# Immunizálás

**Adjuvánsok:** lassítják az antigén felszívódását és az immunrendszer nem specifikus stimulációja (makrofág aktiváció) révén fokozzák az ellenanyag termelést.

**Leggyakoribbak:**

- **Ásványolaj-alapú, inkomplett adjuvánsok (pl.: inkomplett Freund)**
- **Komplett Freund: ásványolaj keverékben szuszpendált, hővel előlt *Mycobacterium tuberculosis***
- **Aluminium-hidroxid gél**
- **Muramil-dipeptid (*Mycobacterium tbc.*)**
- **Bakt. vakcinák egyidejű adása fokozza az immunogénekkal szembeni antitest termelést. Pl.: *Bordetella pertussis***
- **Liposzóma**



# **Poliklonális antitestek tisztítása**

**Az antitesteket az immunizált állatok szérumból nyerik ki**

- **IgM**
  - **kémiai módszerekkel, molekulatömeg és oldhatóság alapján**
  - **„euglobulin precipitation”**
  - **További tisztítás gélkromatográfiával**
  - **Koncentráció-gradiens centrifugálás**

# Poliklonális antitestek tisztítása

- **IgG:**
  - **Ioncserélő-kromatográfia**
  - **Affinitás kromatográfia (*Staphylococcus aureus* protein A, *Streptococcus* protein G)**

## **Poliklonális antitestek tisztítása**

- **IgA, D, E: többlépéses módszerekkel**

**IgA:** kicsapás cinkkel; Ioncserélő-kromatográfia, gélfiltráció

**IgE:** Affinitáskromatográfia

### **Immunoszorbens technikák:**

antigénspecifikus izolálás Sepharose-, cellulóz- vagy poliakrilamid-gél felszínén

# Szérum IgG frakció izolálása Protein G affinitás kromatográfiás eljárással egér szérumból

- Az oszlop átmosása 2x oszlop-térfogatnyi PBS-sel
- A hígított minta (5 ml szérum) felvitele és lassú átfolytatása
- Az oszlop átmosása 3x oszlop-térfogatnyi PBS-sel
- Eluálás 0,1M glicin-HCl (pH:2,7) pufferrel, neutralizálás 1 M TRIS-sel (70  $\mu$ l/ml)

# Antitest-tesztelés

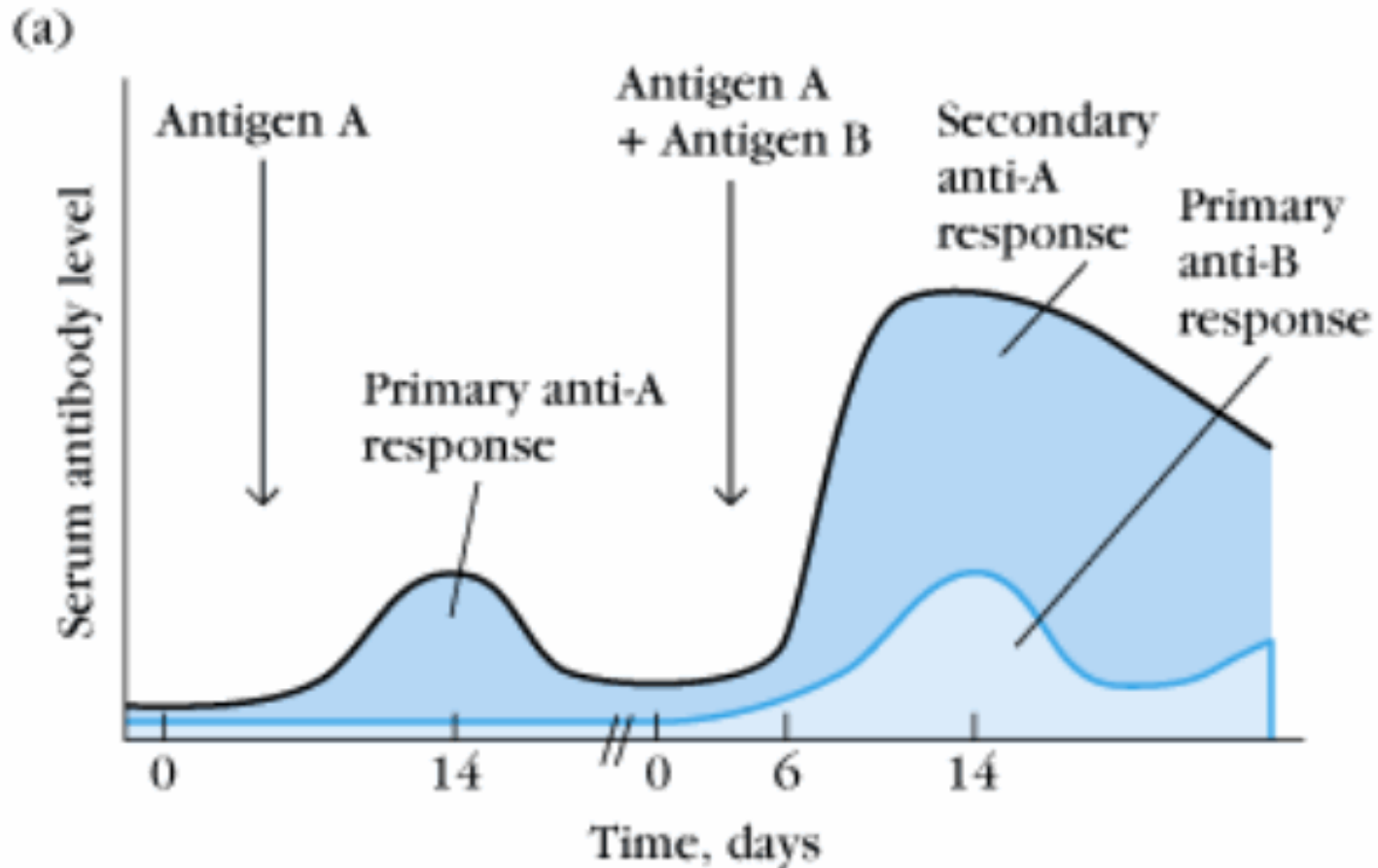
**Titer ill. specifitás meghatározása az antigén segítségével ugyanabban a rendszerben, ahol a felhasználás történni fog**

**pl.: ELISA**

**áramlási citometria**

**immunhisztokémia**

# Elsődleges és másodlagos (memória) immunválasz I.



# Elsődleges és másodlagos (memória) immunválasz II.

**TABLE 11-4** COMPARISON OF PRIMARY AND SECONDARY ANTIBODY RESPONSES

Property	Primary response	Secondary response
Responding B cell	Naive (virgin) B cell	Memory B cell
Lag period following antigen administration	Generally 4–7 days	Generally 1–3 days
Time of peak response	7–10 days	3–5 days
Magnitude of peak antibody response	Varies depending on antigen	Generally 100–1000 times higher primary response
Isotype produced	IgM predominates early in the response	IgG predominates
Antigens	Thymus-dependent and thymus-independent	Thymus-dependent
Antibody affinity	Lower	Higher

# T-dependens vs. T-independens antigének

- **T-dependens (TD) antigének:**  
általában fehérjék  
T-sejtek is aktiválódnak, T-B kooperáció  
Hatékony memória, magas affinitású antitestek
- **T-independens (TI) antigének**  
általában poliszacharidok  
csak a B-sejtek aktiválódnak  
alacsony szintű celluláris immunválasz  
memória nem hosszú távú
- **Példa:** Pneumococcus vakcina: PPV vs. PCV

