

Reakcije Ag - At

Između konfiguracije aktivnih mesta At i determinantnih grupa mora postojati podudarnost (odnos “ključa” i “brave”).

Na reakcije Ag-At značajno utiču fizičko-hemijski uslovi u kojima se one odvijaju:

1) Uticaj pH – zavisi od molariteta.

Vezivanje Ag i At se smanjuje kada se pH smanjuje (od 7-4), ili kada se molaritet rastvora pojačava.

2) Temperatura – utiče na brzinu Ag-At reakcije.

3) Veličina molekula i njihova koncentracija – utiču na kinetiku reakcija.

- Mnogo su brže reakcije između prostih haptena i njihovih antitela.

- PRIMARNE REAKCIJE – odnose se samo na direktne interakcije Ag i At, nezavisno od bioloških i biohemijskih pojava koje mogu nastati (Farrova proba, ravnotežna dijaliza, imunofluorescencija, radioimunološka proba);

- SEKUNDARNE REAKCIJE zasnovane su na pojavama koje su posledica primarnih reakcija: precipitacija, aglutinacija, neutralizacija toksina i virusa, reakcije zavisne od komplementa;
- TERCIJARNE REAKCIJE Ag-At – označavaju biološke posledice “*in vivo*”, primarnih reakcija: intravaskularna hemoliza, anafilaksija (anafilaktički šok, pasivna kožna anafilaksija), ARTUSOVA reakcija.

■ Primarne reakcije

- 1) Metoda imunofluorescencije (direktna, indirektna)
- 2) Imunoenzimska proba – ELISA
- 3) Farova proba (precipitacija Ag+At kompleksa)
- 4) Gašenje fluorescencije
- 5) Radioimunološka proba i
- 6) Ravnotežna dijaliza



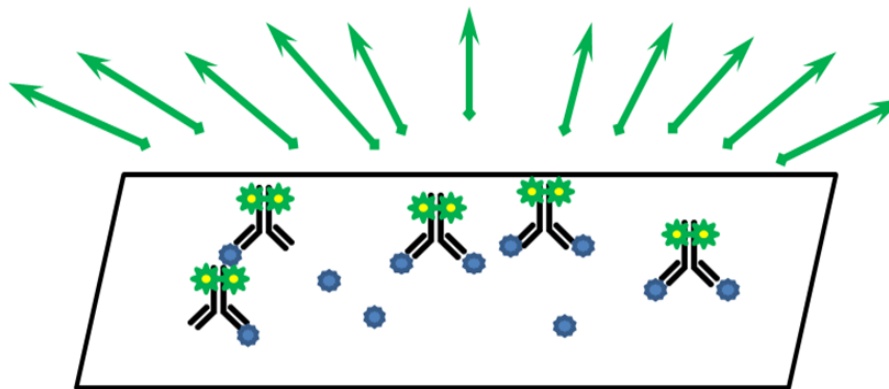
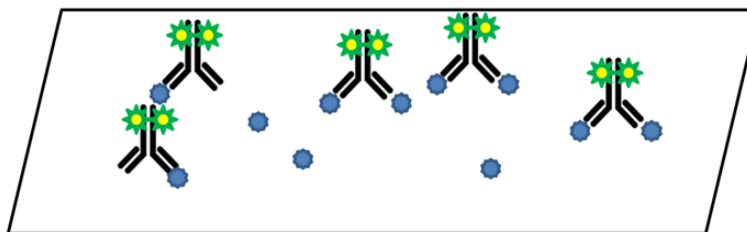
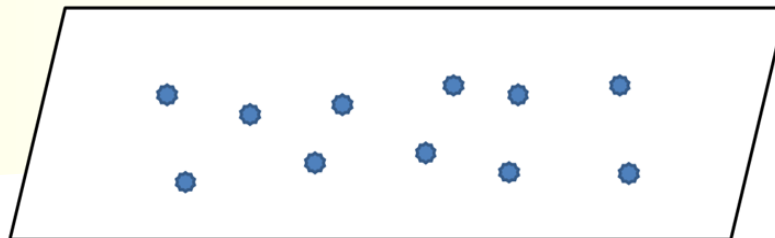
Antigen



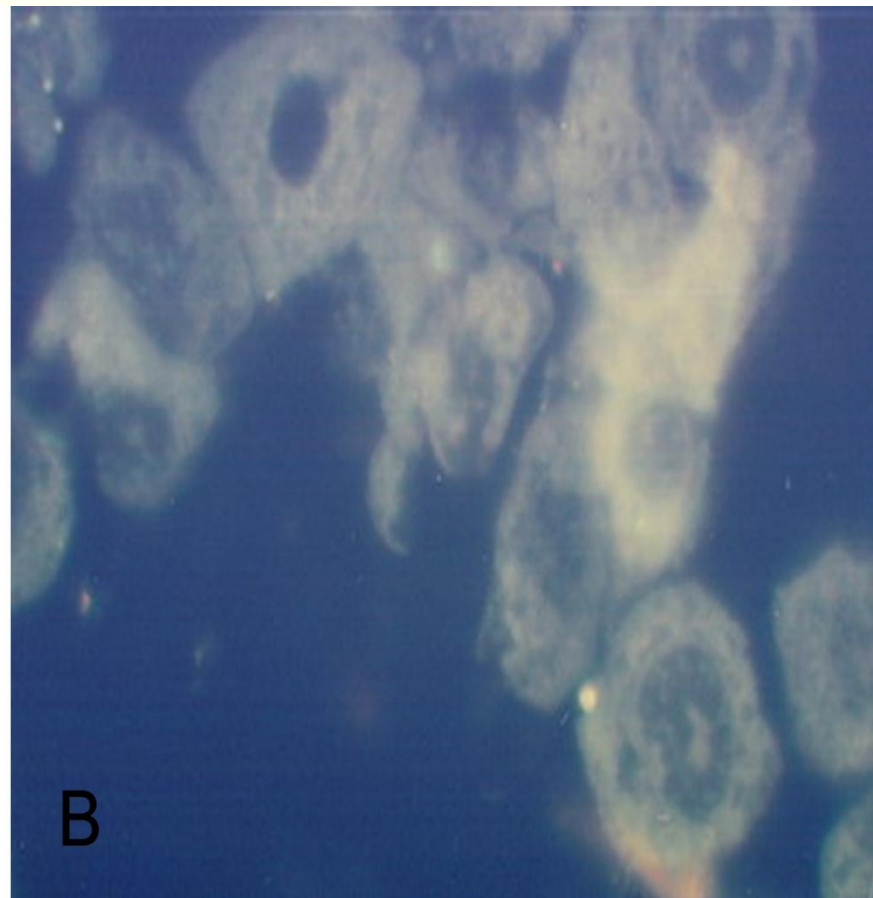
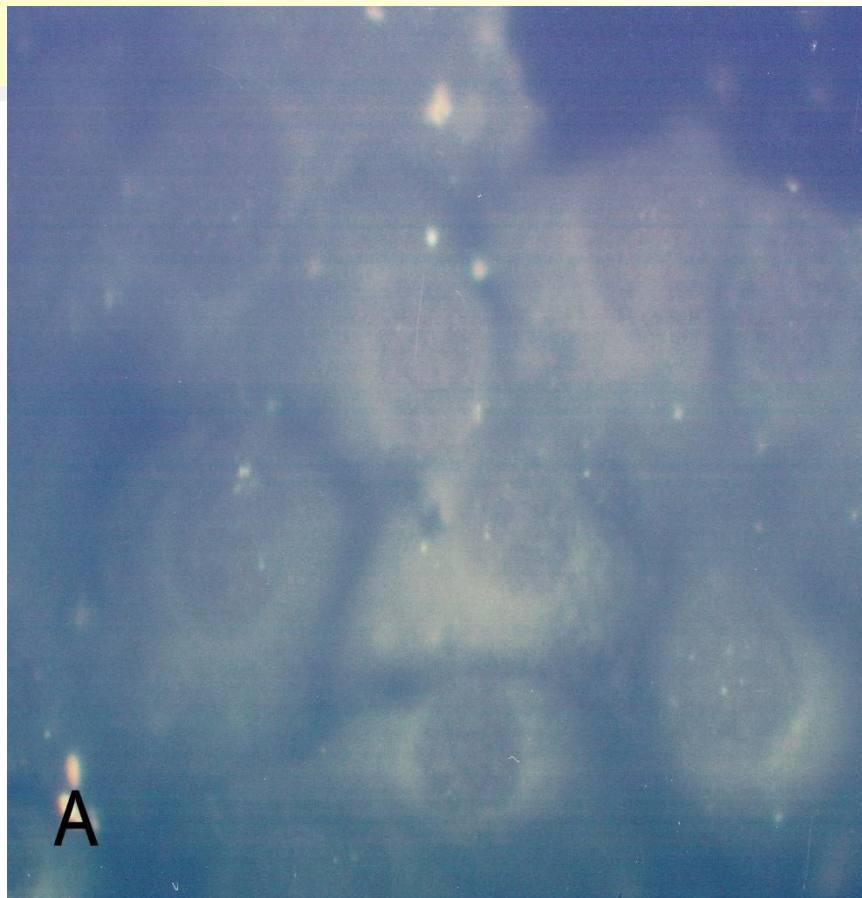
Antitelo obeleženo
fluorescentnom
bojom



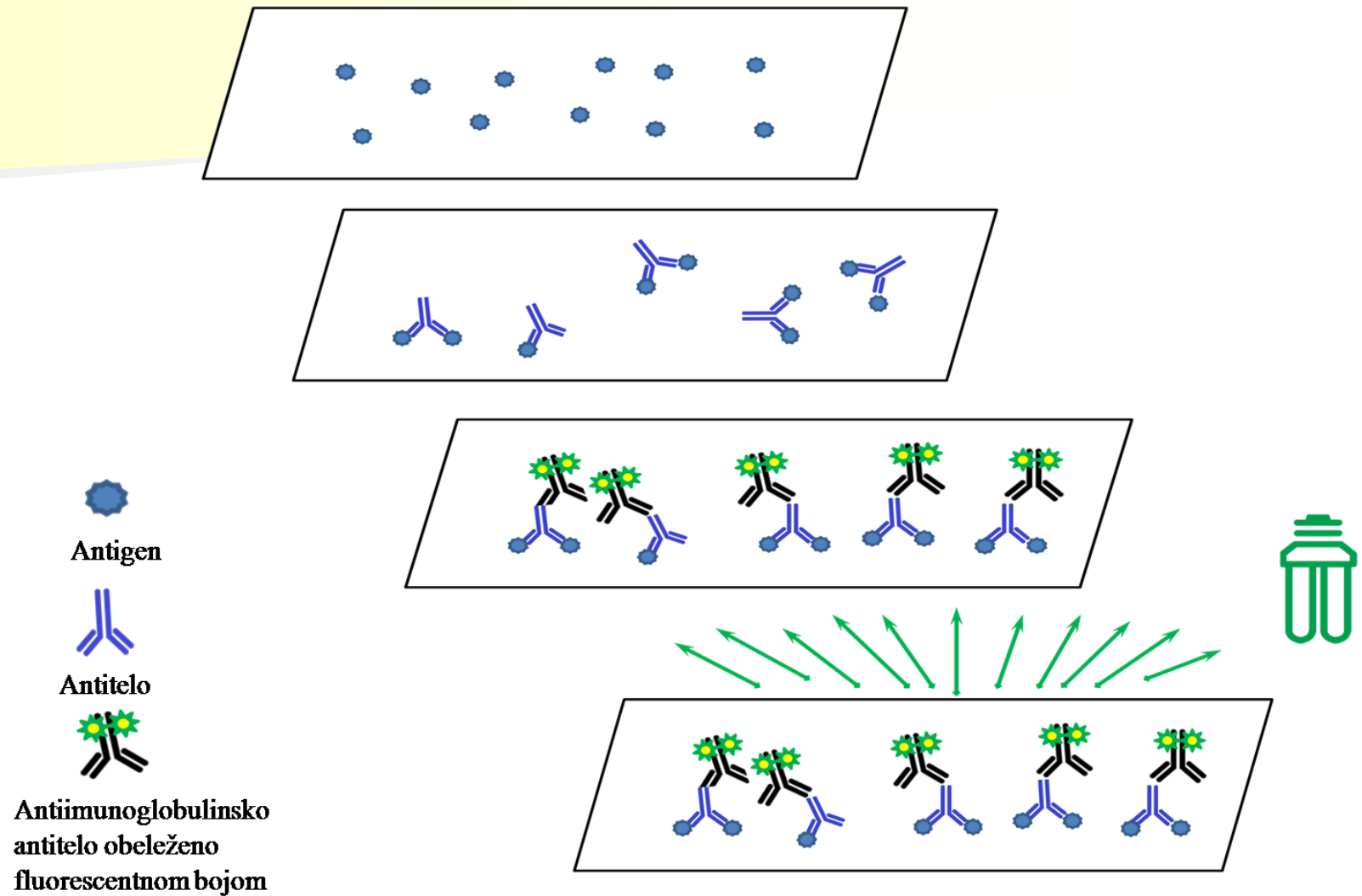
Izvor svetla za
fluorescenciju



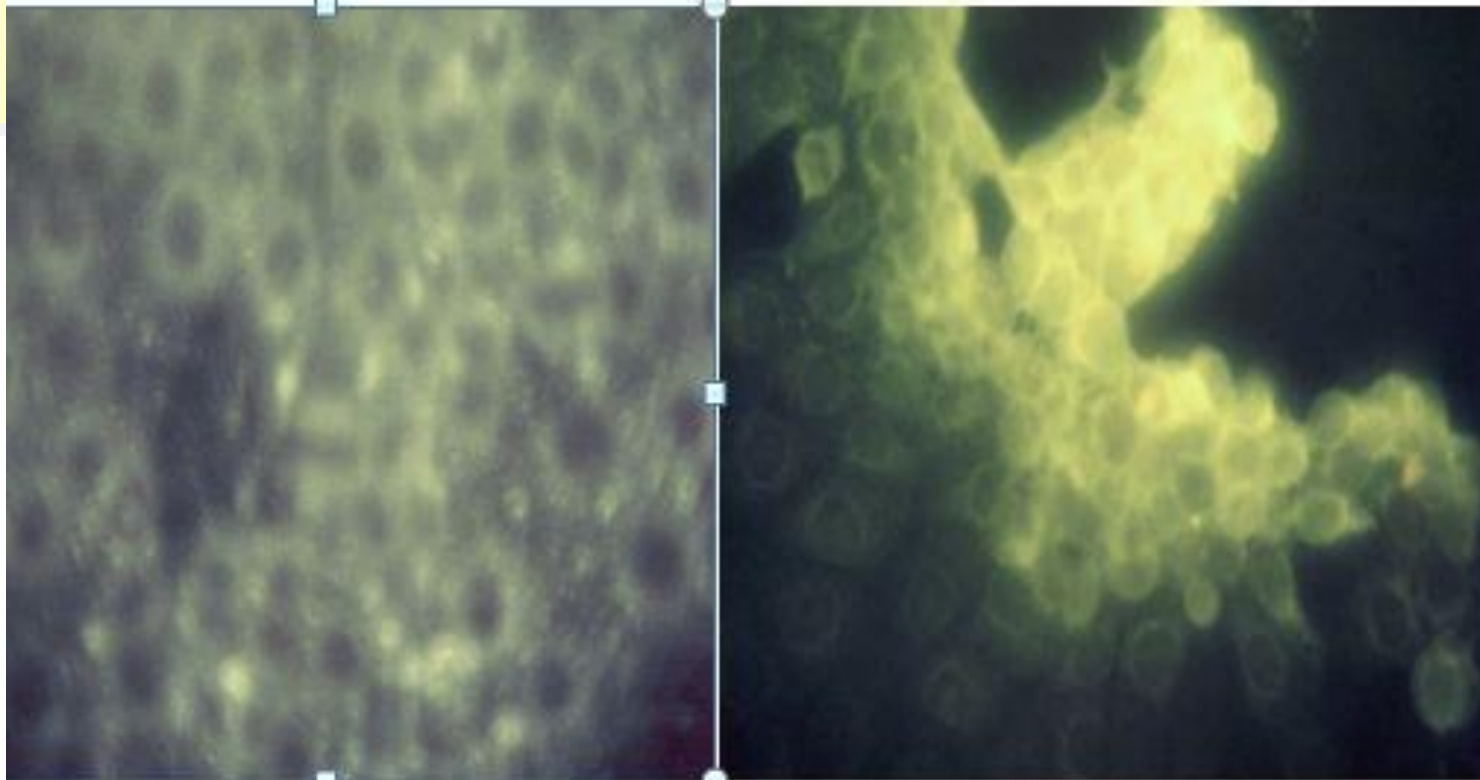
- Direktna imunofluorescencija



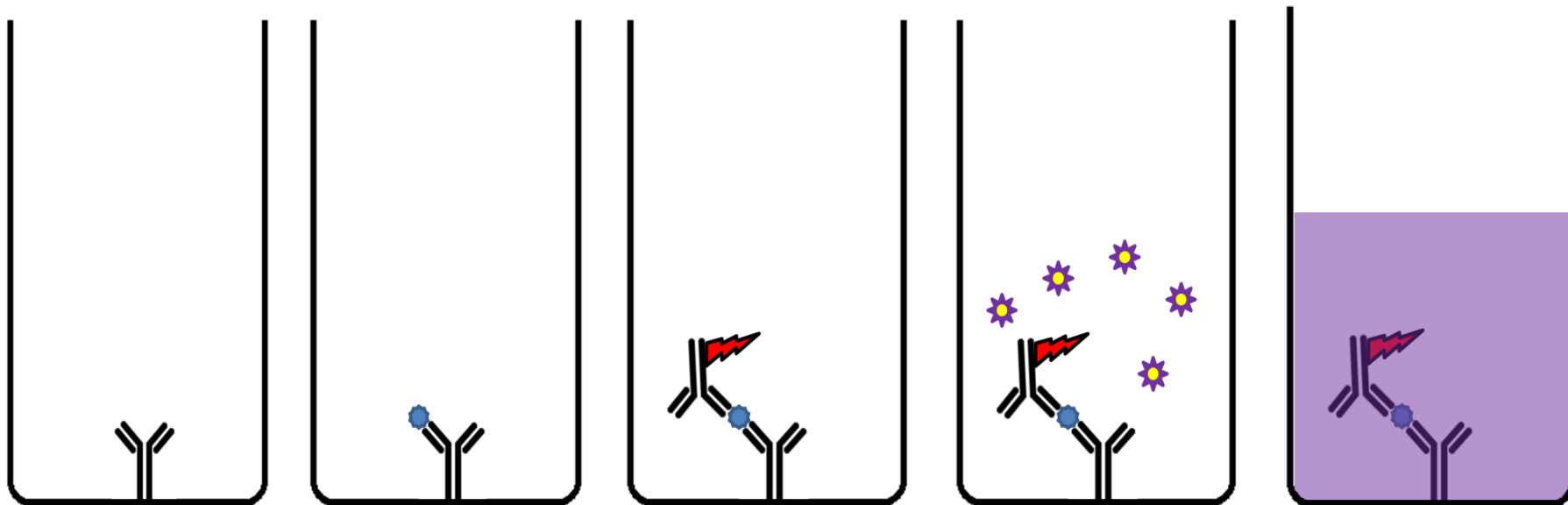
Indirektna imunofluorescencija



Indirektna imunofluorescencija



Direktna ELISA



Antitelo



Antigen

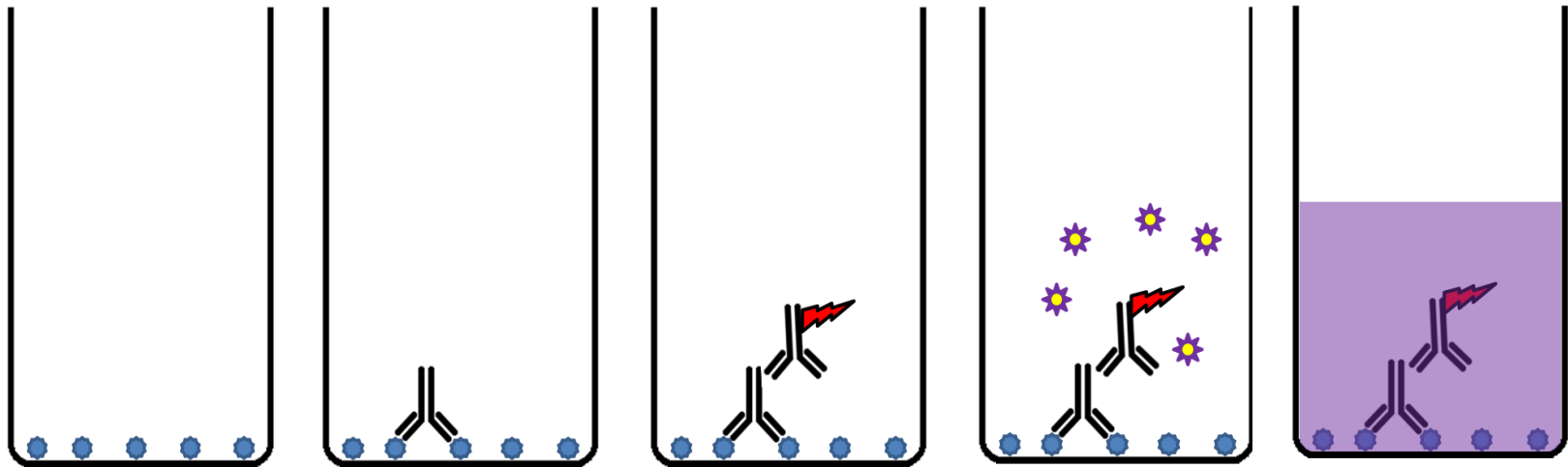


Antitelo obeleženo
enzimom



Supstrat za enzim

Indirektna ELISA



Antigen



Antitelo

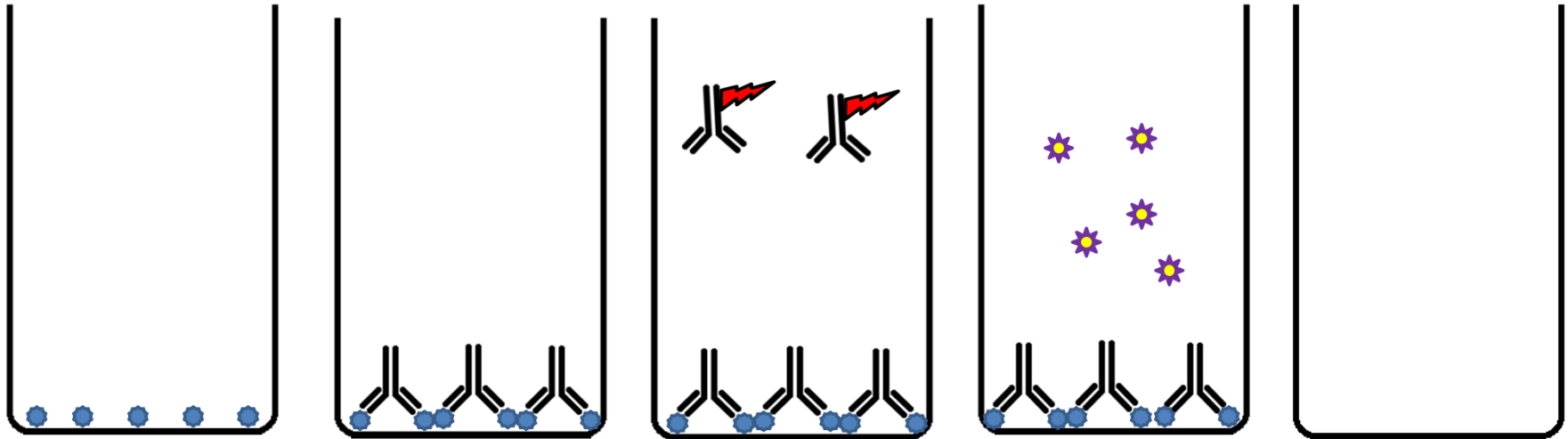


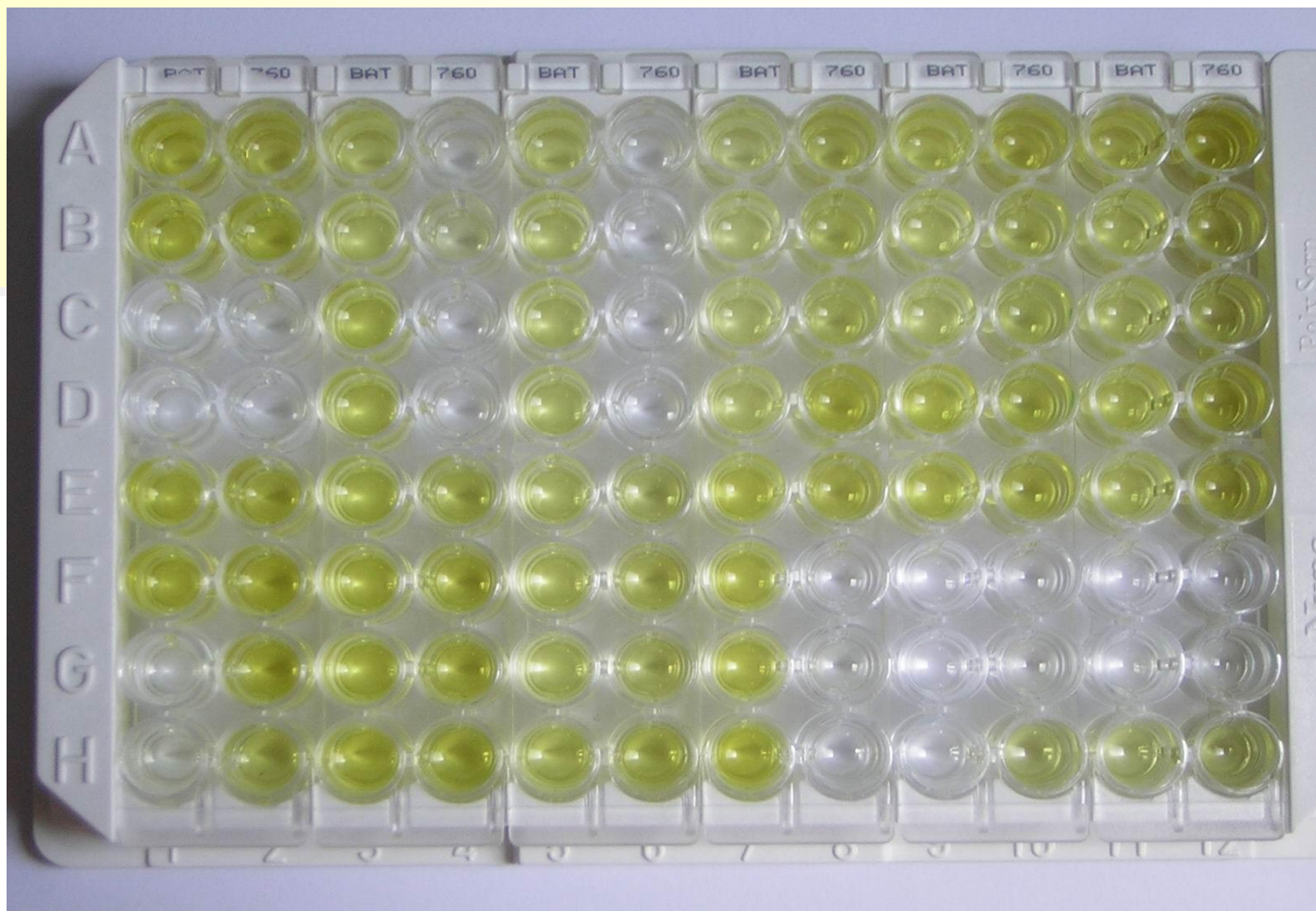
Antiimunoglobulinsko
antitelo obeleženo enzimom



Supstrat za
enzim

Kompetitivna cELISA





Indirektna ELISA u mikrotitracionoj ploči

SEKUNDARNE REAKCIJE Ag-At

- Kada se At vezuju za rastvorljive Ag – PRECIPITACIJA;
- Kada se At vezuju za Ag u vidu uobličених čestica, dolazi do skupljanja Ag u gomilice (npr. bakterija) AGLUTINACIJA.

PRECIPITACIJA – vidljiva reakcija između imunog seruma i odgovarajućih Ag u kojoj se stvaraju kompleksi $Ag+At$ u vidu beličastog zamućenja – PRECIPITATA.

- At – PRECIPITINI
- Ag – PRECIPITINOGENI
- Pored pre pomenutih faktora, reakcije precipitacije zavise i od kvantitativnog odnosa Ag i At.
- Ako su količine antigena i antitela ujednačene stvaranje kompleksa $Ag+At$ je najviše moguće.
- Kada postoji višak antitela ili višak antigena reakcija se smanjuje jer nevezane grupe antigena i antitela blokiraju stvaranje imunih kompleksa.

Metode precipitacije

- 1) Imunodifuzija u pločama (odn. epruveti)
- 2) Radijalna imunodifuzija
- 3) Imunoelektroforeza
- 4) Ukrštena elektroforeza
- 5) Suprotna “counter” elektroforeza

IMUNODIFUZIJA U EPRUVETI

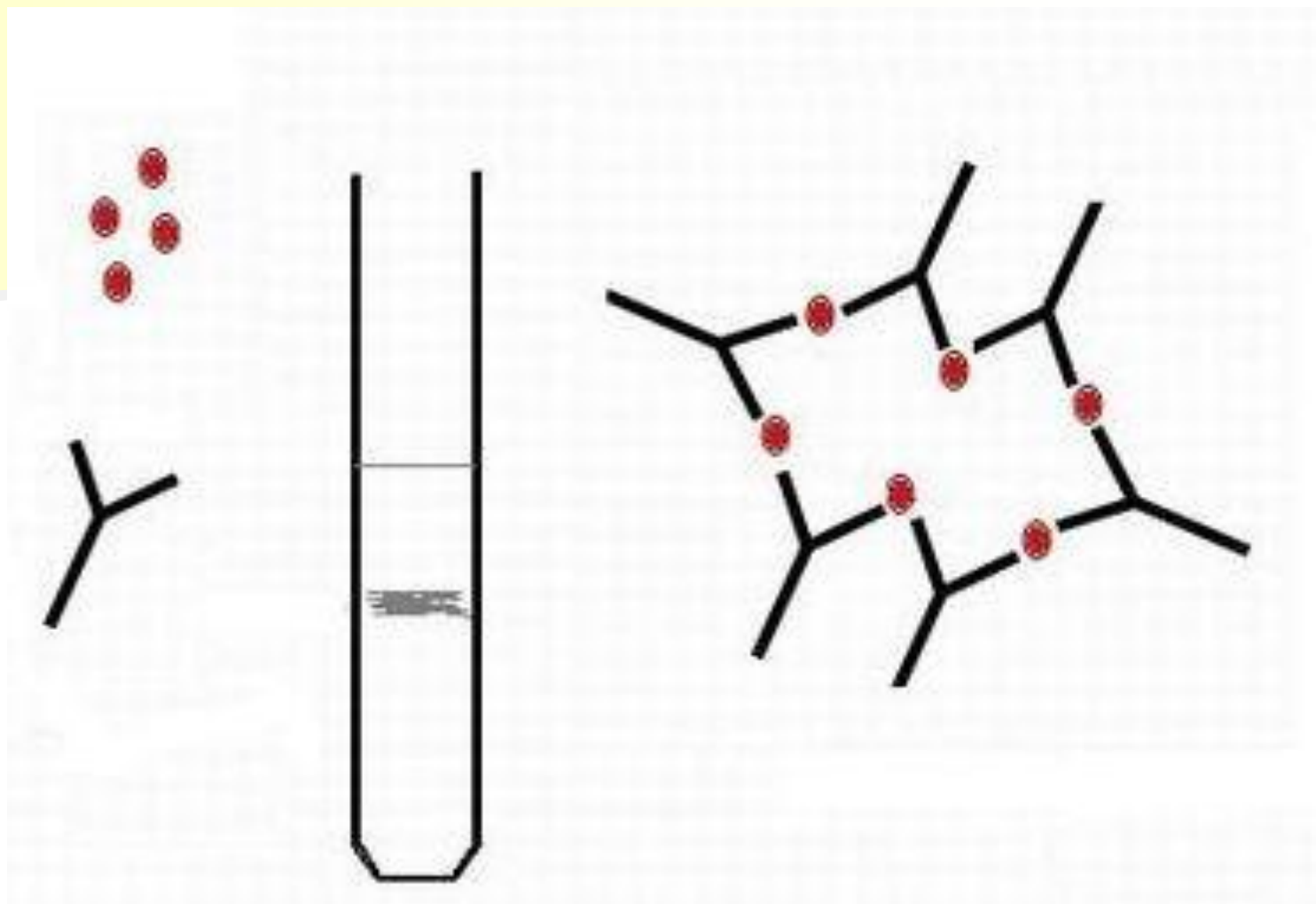
- ispunjenoj sa agarom u koji je inkorporisan imuni serum. Posle nalivanja Ag – ako je konc. At bila dovoljna, stvara se PRECIPITAT na nivou prodiranja Ag u agar.

IMUNODIFUZIJA U PLOČAMA

- Agar se razlije u ploče, a u njemu se naprave, na određenom rastojanju, udubljenja. U okolna udubljenja stave se Ag, a u centralno – imuni serum. Oba reagenta difunduju kroz agar i na mestu susreta (odn. dodirnom sloju) formiraju PRECIPITACIONE LUKOVE.

RADIJALNA IMUNODIFUZIJA

IMUNOELEKTROFOREZA



Imunoprecipitacija u epruveti

- REAKCIJE UOBLIČENIH Ag i At

a) Reakcije aglutinacije

b) Reakcije neutralizacije

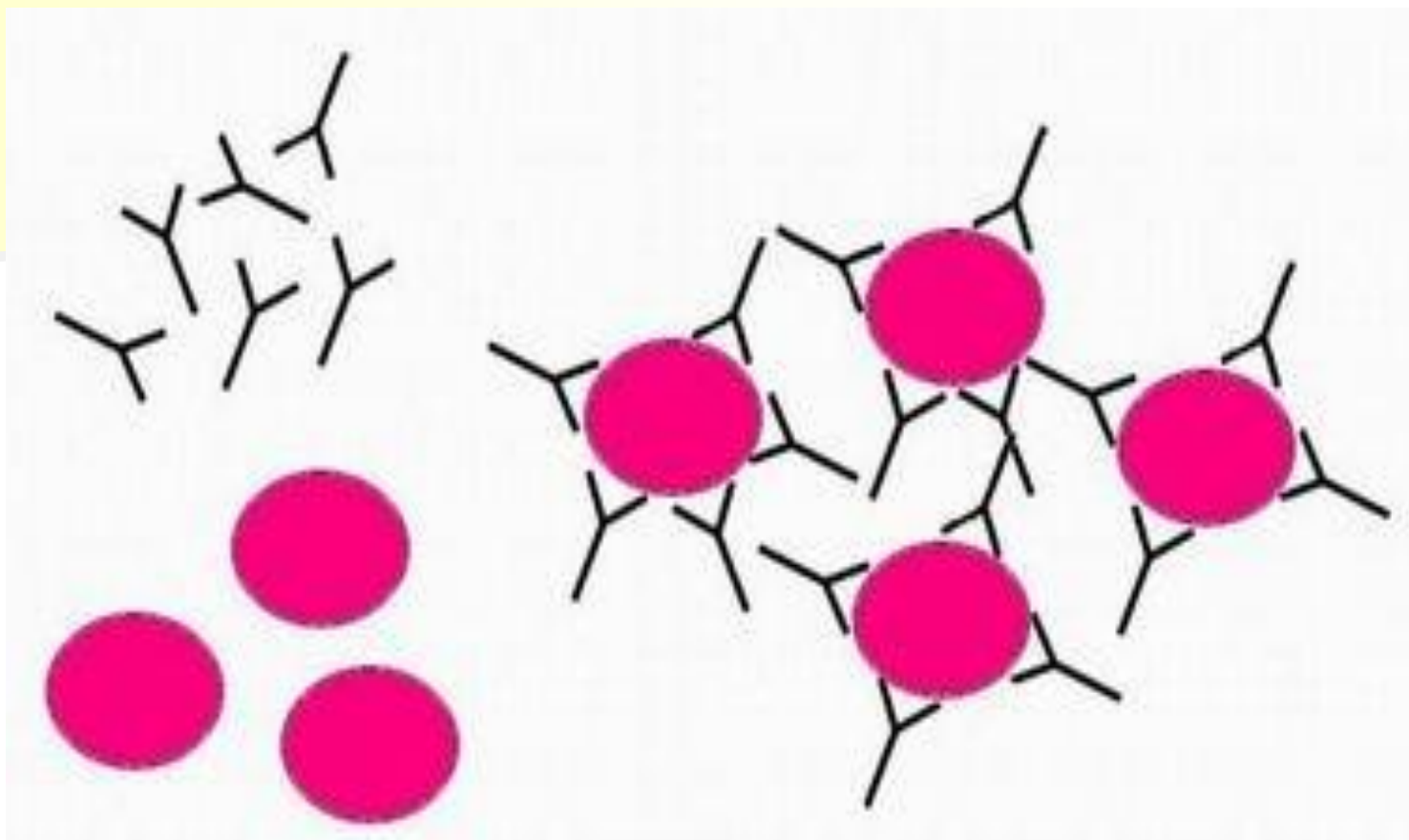
c) Reakcije u kojima se primenjuje komplement.

- AGLUTINACIJA - Ag (aglutinogeni)

- At (aglutinini)

- proizvod AGLUTINAT

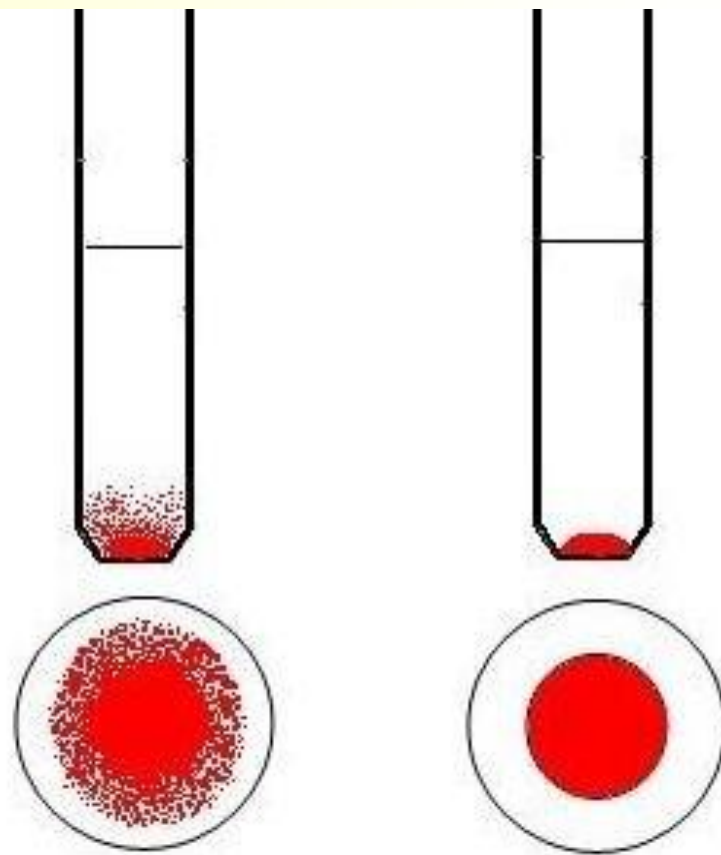
- Aglutinini, vezani za površinu uobličenog Ag, slepljuju ih u golim okom vidljive gomilice (agglutinate).



Aglutinacija



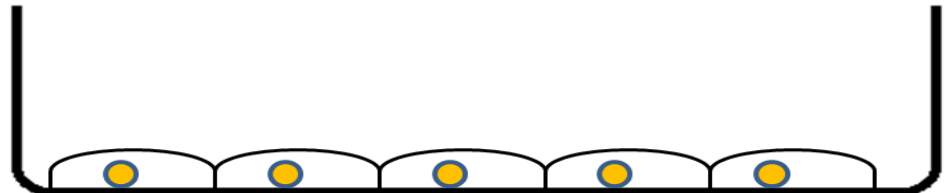
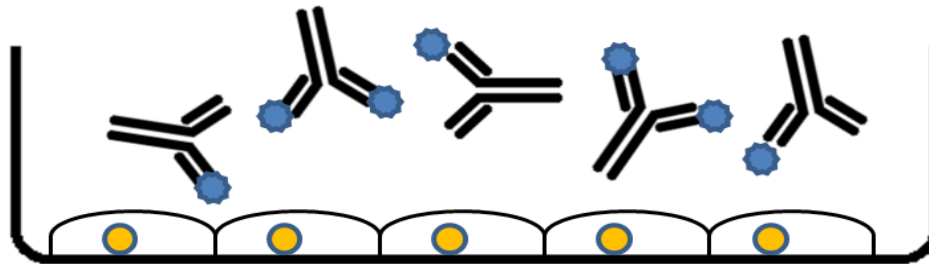
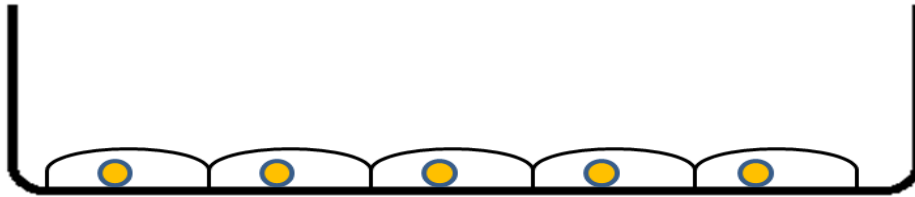
Brza aglutinacija brucela (BAB) ili Rose Bengal, levo pozitivna reakcija, a desno negativna reakcija



Aglutinacije u epruveti, levo pozitivna reakcija, a desno negativna

- REAKCIJE NEUTRALIZACIJE TOKSINA I VIRUSA su reakcije u kojima se vezivanjem specifičnih At sa odgovarajućim Ag sprečavaju izvesne funkcije molekula koje učestvuju u tim reakcijama.
- REAKCIJA VEZIVANJA KOMPLEMENTA

VN test



Ćelija

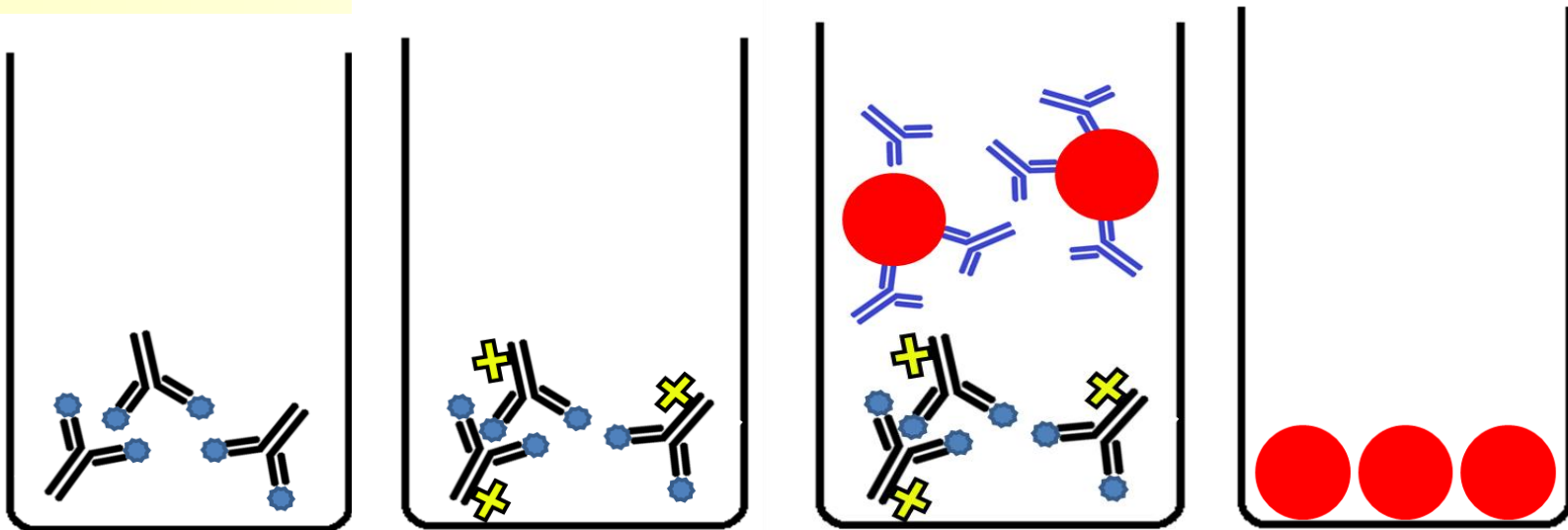


Antitelo



Virus

RVK



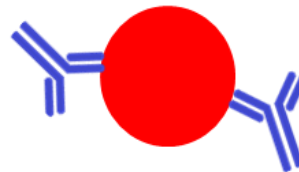
Antigen



Antitelo



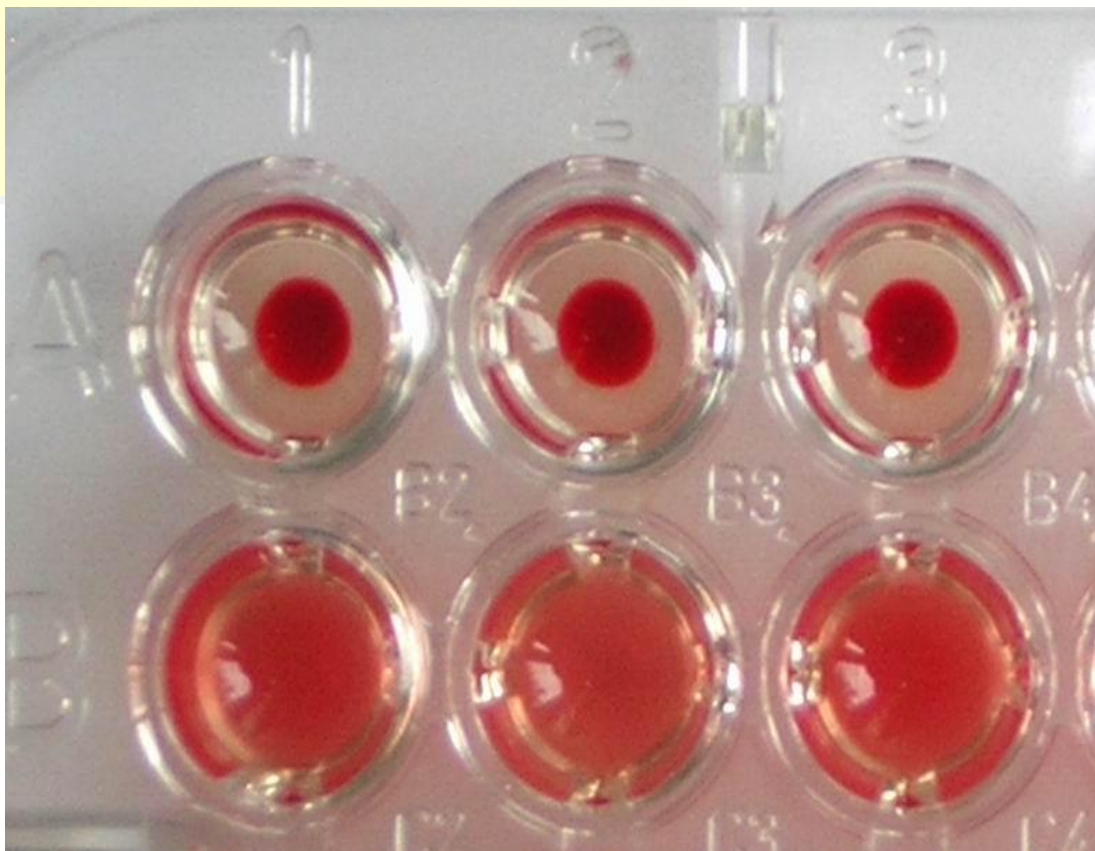
Komplement
zamorca



Hemolitični
indikatorski sistem



Eritrocit



Prikaz pozitivne i negativne RVK u mikroploči