

ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТИ СПОРІДНЕНOSTІ РЕАКЦІЇ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ З АНТИГЕНАМИ ЗА ДОПОМОГОЮ ТВЕРДОФАЗНОГО ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

*І. Проць (кафедра біології НаУКМА),
С. Бобровнік (Інститут біохімії НАНУ)*

Визначення та вивчення афінності антитіл є дуже важливим для розуміння реакції антиген — антитіло та її функціонального значення в біології, оскільки афінність є основним чинником та рушійною силою реакції взаємодії антитіл з антигенами. А досконале знання цього процесу дає нам змогу краще зрозуміти механізми захисних реакцій організму, які протікають в ході імунної відповіді; відкриває можливості вдосконалення лікувальних заходів при ураженні організму та дає можливість використання антитіл для різних практичних цілей.

Найпопулярнішим методом визначення афінності антитіл на сьогодні є метод Фріге та співавторів, який базується на використанні непрямого твердофазного імуноферментного аналізу для визначення концентрації вільних антитіл в рівноважному розчині антигенів з антитілами. Але як показав Стівенс, цей метод не враховує бівалентність молекул антитіл, і виміряні за допомогою цього методу значення афінності повинні бути, в крайньому випадку, в два рази нижчі, ніж істинні значення цих величин. Хоча багато літературних даних свідчать, що метод Фріге та співавторів дає досить точні значення афінності.

Метою даної роботи було узгодити протиріччя між теоретичними викладками і практичними результатами, що стосуються визначення афінності за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу. Для цього слід було вирішити такі завдання:

1. Знайти величини афінності деяких моноклональних антитіл методом Фріге та співавторів.

2. Пояснити та порівняти отримані результати.

3. Визначити область використання поправки Стівенса при оцінці афінності антитіл методом Фріге та співавторів.

В даних експериментах вимірювали афінність для двох систем антиген — антитіло:

- 1) моноклональні антитіла анти-BSA — макромолекулярні антигени BSA;

- 2) моноклональні антитіла анти-Der p1 — низькомолекулярні антигени Der p1.

Для першої досліджуваної системи була отримана лінійна залежність між оберненими концентраціями антигена і виміряними в досліді значеннями відносного інгібування антитіл даними концентраціями антигена. Це повністю відповідає даним Фріге та свідчить, що анти-BSA в даній суміші поводити себе як одновалентні молекули, що дає змогу обчислювати величину афінності в даному випадку методом Фріге та співавторів, не використовуючи поправку Стівенса.

Однак для системи анти-Der p1 — Der p1 була отримана параболічна залежність між вищевказаними величинами, а значення квадратних коренів лягли на пряму. Це відповідає теоретичним даним Стівенса і свідчить, що анти-Der p1 поводити себе як двовалентні інтактні молекули антитіл. Отже, при визначенні афінності в даному випадку слід враховувати поправку Стівенса.

На основі отриманих результатів були зроблені такі висновки:

1. Метод, запропонований Фріге та співавторами для вивчення рівноважного стану реакції між моноклональними антитілами та їх антигенами, який базується на використанні твердофазного імуноферментного аналізу, дає точні значення афінності антитіл.

2. Для систем з макромолекулярними і низькомолекулярними антигенами метод Фріге та співавторів дає різну похибку у визначенні афінності антитіл. Це відбувається через те, що в залежності від молекулярної ваги антигена його зв'язування з одним із паратопів молекули антитіла може призводити (або не призводити) до блокування другого паратопу цієї молекули. Тому антитіла можуть поводити себе в подібних реакціях або як одновалентні (взаємодіючи з макромолекулярними антигенами), або як двовалентні (взаємодіючи з низькомолекулярними антигенами).

3. Для отримання точних значень афінності реакції взаємодії антитіл з макромолекулярними антигенами можна використовувати метод Фріге та співавторів, тоді як при взаємодії антитіл з низькомолекулярними антигенами необхідно враховувати поправку Стівенса.

Отже, отримані результати мають як теоретичне, так і практичне значення, і їх необхідно враховувати при визначенні афінності антитіл за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу.