

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

BIVALENS KÖTŐDÉS ANTIGÉN-ANTITEST
REAKCIÓKBAN

Szakdolgozat

Készítette: *Kincses Eszter Rita*

Matematika BSc

Matematikai elemző szakirány

Témavezető: *Pfeil Tamás*

Alkalmazott Analízis és Számításmatematikai Tanszék



BUDAPEST, 2022

NYILATKOZAT

Név: Kincses Eszter Rita

ELTE Természettudományi Kar, szak: Matematika BSc

NEPTUN azonosító: IGI6FL

Szakedolgozat címe:

Bivalens kötődés antigén-antitest reakciókban

A **szakedolgozat** szerzőjeként fegyelmi felelősségem tudatában kijelentem, hogy a dolgozatom önálló szellemi alkotásom, abban a hivatkozások és idézések standard szabályait következetesen alkalmaztam, mások által írt részeket a megfelelő idézés nélkül nem használtam fel.

Budapest, 2022.05.13.

Kincses Eszter Rita

a hallgató aláírása

Köszönetnyilvánítás

Elsősorban köszönetet szeretnék mondani a témavezetőmnek, Pfeil Tamásnak. A Tanár úr az évek alatt a legkiválóbb oktatóm volt, neki köszönhetem, hogy megszerettem igazán a matematika szakot. Rámutatott a matematika szépségeire és alkalmazhatóságára, elmélyítette az érdeklődésemet, és megalapozta a tudásom a kalkulus és differenciálegyenletek terén. Közös munkánk során végtelen türelmével, tudásával és kedvességével támogatta munkámat, a tőle kapott segítség messze túlmutatott azon, ami egy konzulensstől elvárható lenne, éppen ezért nem tudok elég hálás lenni neki, hogy a témavezetőm volt.

Szeretném megköszönni Orsinak, hogy jóban-rosszban a legjobb barátomként volt jelen az elmúlt három évben, és aki nélkül valószínűleg el sem jutok addig, hogy szakdolgozatot írjak.

Köszönöm a családomnak, hogy mindent megteremtettek nekem, hogy tanulhassak, és köszönöm Kendének, hogy a támaszom volt az elmúlt években.

Tartalomjegyzék

Bevezetés	5
1. Matematikai előismeretek	6
1.1. Differenciálszámítás	6
1.2. Differenciálegyenletek	8
2. Immunbiokémiai előismeretek	11
2.1. Immunológiai ismeretek	11
2.2. Reakciókinetikai ismeretek	13
2.3. Az ELISA immunesszé	14
3. Mono- és bivalens kötődés antigén-antitest reakciókban monoklonális oldat esetén	16
3.1. Alapmodell a takaróhatás figyelembevétele nélkül	17
3.2. Egyszerűbb modell a takaróhatás részleges figyelembevételével	19
3.3. ELISA-reakció a takaróhatás részleges figyelembevételével	24
3.4. A kikötődött antitestek takaróhatását teljesen figyelembe vevő modell ELISA immunesszé esetén	27
4. Mono- és bivalens kötődés antigén-antitest reakciókban poliklonális oldatban ELISA immunesszé esetén	30
4.1. Egyszerűbb modell a takaróhatás részleges figyelembevételével	30
4.2. A kikötődött antitestek takaróhatását teljesen figyelembe vevő modell	31
5. Numerikus szimulációk	34
5.1. Numerikus szimulációk monoklonális oldat esetén	34
5.2. Numerikus szimulációk poliklonális oldat esetén	45
Összefoglalás	50
Irodalomjegyzék	51

Bevezetés

A matematika világa széles kiterjedésű más tudományterületekre is. Az interdiszciplináris tudományok még inkább teret kaptak az utóbbi időben. A számítógépek elterjedésével és fejlődésével matematikai modellek egyre precízebben és pontosabban tudják visszaadni a valóságot. A legtöbb tudományterületben elengedhetetlen a matematikai szemlélet, ugyanis a matematikai számolásokkal sokszor könnyen lehet alátámasztani, vagy éppen megcáfolni egy adott állítást. Éppen ezért gondolom, hogy szakdolgozatom témája rendkívül érdekes és aktuális.

Szakdolgozatom központjában az antigén-antitest reakciók állnak, ezeken belül a bivalensen kötődő antitesteken van a hangsúly. Bivalensen kötöttek nevezzük azokat az antitesteket, amelyek egy időben két antigénnel is kapcsolódnak.

Szakdolgozatom első fejezetében ismertetem azokat a matematikai fogalmakat, amik szükségesek a későbbiek megértéséhez.

A második fejezetben egy kis betekintést nyújtok az immunológiába, többek között bevezetem az antigén és antitest fogalmát, és ismertetem az immunrendszer működését. Utána általánosan írok a lejátszódó reakciókról. Végül szót ejtek az ELISÁ-ról, ami a szakdolgozatomban tárgyalt reakciók egyike.

A harmadik fejezetben ismertetem a szakdolgozatom központjában álló, egy antitest klónos reakciók matematikai leírását különböző modellek segítségével.

A negyedik fejezetben röviden felvázolom a reakciókat több antitest klón esetén.

Végül az utolsó, ötödik fejezetben bemutatom a korábban taglalt folyamatok szimulációit Matlab szoftver segítségével.

1. Matematikai előismeretek

Ebben a fejezetben ismertetem a szakdolgozatom megértéséhez szükséges matematikai alapfogalmakat, definíciókat és tételeket.

1.1. Differenciálszámítás

1. Definíció. Legyen az f egyváltozós függvény értelmezve az x_0 pont egy környezetében. Azt mondjuk, hogy az f függvény az $x_0 \in \mathbb{R}$ pontban *differenciálható*, ha a

$$\lim_{x \rightarrow x_0} \frac{f(x) - f(x_0)}{x - x_0}$$

véges határérték létezik. A határértéket az f függvény x_0 pontbeli deriváltjának vagy differenciálhányadosának nevezzük.

Az x_0 pontbeli deriváltat az alábbi módokon jelölhetjük: $f'(x_0)$, $\dot{f}(x_0)$, $\frac{df}{dx}(x_0)$.

2. Definíció. Az f függvény *deriváltfüggvényének* nevezzük és f' -vel jelöljük azt a függvényt, amely értelmezve van mindazon x helyen, ahol f differenciálható, és ott értéke $f'(x)$.

3. Definíció. Egy intervallumon értelmezett f függvény *differenciálható*, ha az intervallum minden belső pontjában differenciálható, valamint az $\frac{f(x) - f(x_0)}{x - x_0}$ különbségi hányados függvénynek véges (egy oldali) határértéke van az intervallum azon x_0 végpontjaiban, ahol f értelmezve van. Az f függvény folytonosan differenciálható, ha differenciálható és a deriváltfüggvénye folytonos.

1. Tétel. Legyen f folytonos egy $[a, b]$ intervallumon és differenciálható (a, b) -n. Ekkor

- $[a, b]$ -n f akkor és csak akkor monoton csökkenő, ha $f'(x) \leq 0$ minden $x \in (a, b)$ -re, és akkor és csak akkor monoton növekvő, ha $f'(x) \geq 0$ minden $x \in (a, b)$ -re.
- ha $f'(x) < 0$ minden $x \in (a, b)$ -re, akkor f szigorúan monoton csökkenő $[a, b]$ -n, és ha $f'(x) > 0$ minden $x \in (a, b)$ -re, akkor f szigorúan monoton növekvő $[a, b]$ -n

4. Definíció. Legyen f egyváltozós valós függvény és $x_0 \in D(f)$.

- Az f függvénynek az x_0 helyen *lokális minimuma* van, ha van olyan $\delta > 0$ szám, melyre minden $x \in D(f) \cap (x_0 - \delta, x_0 + \delta)$ esetén $f(x) \geq f(x_0)$. Ekkor az x_0 pontot az f függvény *lokális minimumhelyének* nevezzük. Ha $f(x) > f(x_0)$, $x \neq x_0$, akkor az x_0 pontot az f függvény *szigorú lokális minimumhelyének* nevezzük.
- Az f függvénynek az x_0 helyen *lokális maximuma* van, ha van olyan $\delta > 0$ szám, melyre minden $x \in D(f) \cap (x_0 - \delta, x_0 + \delta)$ esetén $f(x) \leq f(x_0)$. Ekkor az x_0 pontot az f függvény

lokális maximumhelyének nevezzük. Ha $f(x) < f(x_0)$, $x \neq x_0$, akkor az x_0 pontot az f függvény szigorú lokális maximumhelyének nevezzük.

2. Tétel. Tegyük fel, hogy f differenciálható x_0 -ban. Ha f -nek lokális szélsőértéke van x_0 -ban, akkor $f'(x_0) = 0$.

5. Definíció. Legyen az f függvény differenciálható az x_0 pont egy környezetében. Ha az f' deriváltfüggvénynek létezik a deriváltja x_0 -ban, akkor f' x_0 -beli deriváltját az f függvény x_0 -beli második deriváltjának (vagy második differenciálhányadosának) nevezzük.

Jelölése: $f''(x_0)$.

Azaz

$$f''(x_0) = \lim_{x \rightarrow x_0} \frac{f'(x) - f'(x_0)}{x - x_0}.$$

Ha $f''(x_0)$ létezik és véges, akkor azt mondjuk, hogy f kétszer differenciálható x_0 -ban.

Az f függvény második deriváltfüggvényének nevezzük és f'' -vel jelöljük azt a függvényt, amely azokban az x pontokban van értelmezve, ahol f kétszer differenciálható, és ott az értéke $f''(x)$.

3. Tétel. Legyen az f függvény kétszer differenciálható x_0 -ban. Ha $f'(x_0) = 0$ és $f''(x_0) < 0$, akkor f -nek az x_0 hely (szigorú) lokális minimumhelye, ha $f'(x_0) = 0$ és $f''(x_0) > 0$, akkor f -nek az x_0 hely (szigorú) lokális maximumhelye.

6. Definíció. Legyen I intervallum, akkor az $f : I \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény koordinátafüggvényeinek nevezzük azokat az $f_1, \dots, f_n : I \rightarrow \mathbb{R}$ függvényeket, amelyekre $f(t) = (f_1(t), \dots, f_n(t))$ minden $t \in I$ esetén.

7. Definíció. Legyen I intervallum és $f : I \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény. Ha f minden koordinátafüggvénye differenciálható a $t_0 \in I$ pontban, akkor az f függvényt differenciálhatónak mondjuk a t_0 pontban, és az ottani deriváltja $f'(t_0) = (f_1'(t_0), \dots, f_n'(t_0))$.

8. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^m$ egy vektorértékű függvény, melynek koordinátafüggvényeit jelölje rendre f_1, \dots, f_m . Ekkor minden $(x_1, \dots, x_n) \in D(f)$ esetén

$$f(x_1, x_2, \dots, x_n) = (f_1(x_1, x_2, \dots, x_n), f_2(x_1, x_2, \dots, x_n), \dots, f_m(x_1, x_2, \dots, x_n)).$$

Ha f minden koordinátafüggvényének mindegyik változó szerinti parciális deriváltja létezik az $x \in D(f)$ pontban, akkor a függvény elsőrendű parciális deriváltjait tartalmazó alábbi mátrixot az f függvény x pontbeli Jacobi-mátrixának vagy deriváltmátrixának nevezzük:

$$f'(x) = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(x) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m}{\partial x_1}(x) & \dots & \frac{\partial f_m}{\partial x_n}(x) \end{pmatrix}.$$

1.2. Differenciálegyenletek

9. Definíció. Ha $f : \mathbb{R}^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az

$$x^{(n)}(t) = f(t, x(t), \dot{x}(t), \dots, x^{(n-1)}(t))$$

egyenletet *n-edrendű explicit közönséges differenciálegyenletnek* nevezzük, ahol $x : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^n$ az ismeretlen függvény, amely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

10. Definíció. Ha $f : \mathbb{R}^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az $\dot{x}(t) = f(t, x(t))$ vektoregyenletet *n-dimenziós elsőrendű explicit közönséges differenciálegyenlet-rendszernek* nevezzük, ahol $x : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^n$ az ismeretlen vektorértékű függvény, amely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

Legyenek az x ismeretlen függvény koordinátafüggvényei x_1, \dots, x_n , ekkor $x = \begin{pmatrix} x_1 \\ \vdots \\ x_n \end{pmatrix}$, mely-

nek a deriváltfüggvénye $\dot{x} = \begin{pmatrix} \dot{x}_1 \\ \vdots \\ \dot{x}_n \end{pmatrix}$. A differenciálegyenlet-rendszert megadó $f : \mathbb{R}^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény koordinátafüggvényei legyenek f_1, \dots, f_n , ekkor a vektoregyenletet átírhatjuk egyenletrendszerre.

$$\dot{x}(t) = f(t, x(t)) \iff \begin{cases} \dot{x}_1(t) = f_1(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t) = f_n(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \end{cases}$$

11. Definíció. Az $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény teljesíti a *Lipschitz-feltételt*, ha létezik olyan $L > 0$, melyre

$$|f(x) - f(y)| \leq L|x - y|, \quad x, y \in D(f).$$

Az L számot *Lipschitz-konstansnak* hívjuk.

Az $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény teljesíti a *lokális Lipschitz-feltételt*, ha $D(f)$ minden pontjának létezik olyan U környezete, melyre az $f|_U$ leszűkített függvény teljesíti a Lipschitz-feltételt.

4. Tétel (Egyértelműség tétele).

Legyen $f : \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos és a második változójában lokális Lipschitz-feltételt teljesítő függvény, továbbá legyenek $x, y : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^n$ olyan megoldásai az $\dot{x}(t) = f(t, x(t))$ differenciálegyenletnek, melyekre létezik olyan $t_0 \in \mathbb{R}$, hogy $x(t_0) = y(t_0)$. Ekkor $x(t) = y(t)$ minden $t \in D(x) \cap D(y)$ esetén.

5. Tétel (Picard-Lindelöf-tétel).

Legyen $f : \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény. Ha $f =$

$f(t, x)$ a második vektorváltozójában teljesíti a lokális Lipschitz-feltételt, akkor az $\dot{x}(t) = f(t, x(t))$ differenciálegyenlet megoldása minden $x(t_0) = x_0, (t_0, x_0) \in D(f)$ kezdeti feltétellel létezik, és globálisan egyértelmű.

12. Definíció. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ differenciálegyenletet *elsőrendű lineáris differenciálegyenletnek* nevezzük, ahol a és b ugyanazon a nyílt intervallumon értelmezett folytonos függvény. Ha $b(t) = 0$ konstansfüggvény, akkor az egyenlet *homogén*, ha nem, akkor *inhomogén*.

6. Tétel. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t), t \in I$ elsőrendű lineáris differenciálegyenlet megoldásai

$$x(t) = e^{A(t)} \int b(t)e^{-A(t)} dt = Ce^{A(t)} + x_p(t), \quad x \in I, \quad (1.1)$$

ahol A az a függvény egyik primitív függvénye és x_p a differenciálegyenlet egyik (partikuláris) megoldása.

13. Definíció. Ha az $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett függvény teljesíti a lokális Lipschitz-feltételt, akkor az $\dot{x}(t) = f(x(t))$ vektoregyenletet *autonóm rendszernek* nevezzük.

14. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ és $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm rendszer. Ha a $p \in D(f)$ értékű konstansfüggvény megoldás, akkor ezt az autonóm rendszer *stacionárius megoldásának* nevezzük, a $p \in \mathbb{R}^n$ pontot pedig a rendszer *egyensúlyi pontjának*.

7. Tétel. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$. Az $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm rendszernek akkor és csak akkor *egyensúlyi pontja* p , ha $f(p) = 0_{\mathbb{R}^n}$.

15. Definíció. Legyen $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm rendszer és legyen p egyensúlyi pont. Jelölje $t \mapsto \varphi(t, q)$ a rendszer megoldását az $x(0) = q$ kezdeti feltétellel.

- A p egyensúlyi pontot *stabilnak* nevezzük, ha minden $\varepsilon > 0$ számhoz létezik olyan $\delta > 0$ szám, melyre minden $q \in D(f)$ esetén $|p - q| < \delta \Rightarrow |\varphi(t, q) - p| < \varepsilon$ (minden $t \geq 0$ -ra).
- A p egyensúlyi pontot *aszimptotikusan stabilnak* nevezzük, ha stabil és a stabilitása definíciójában a feltételt teljesítő minden q -ra $\lim_{t \rightarrow \infty} \varphi(t, q) = p$.
- A p egyensúlyi pontot *instabilnak* nevezzük, ha nem stabil.

8. Tétel. Legyen $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ olyan differenciálható függvény, melyre $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm egyenlet és annak p egyensúlyi pontja.

- Ha $f'(p) < 0$, akkor p aszimptotikusan stabil.
- Ha $f'(p) > 0$, akkor p instabil.

9. Tétel. Egy A $n \times n$ -es mátrix $\det(A - \lambda I)$ karakterisztikus polinomjának gyökei a mátrix sajátértékei, jelölje ezeket multiplicitással $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$. E sajátértékek összege a mátrix nyoma,

vagyis a főátlóban álló elemek összege: $\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_n = \text{Tr}A$. E sajátértékek szorzata pedig a mátrix determinánsa, azaz $\lambda_1 \cdot \lambda_2 \cdot \dots \cdot \lambda_n = \det A$.

Minden 2×2 -es mátrixra

$$\det(A - \lambda I) = \lambda^2 - \text{Tr}A\lambda + \det A,$$

$$\lambda_{1,2} = \frac{\text{Tr}A \pm \sqrt{\text{Tr}^2 A - 4 \det A}}{2}.$$

10. Tétel. Tekintsük az $\dot{x}(t) = Ax(t)$ állandó együtthatós homogén lineáris rendszert, ahol $A \in \mathbb{R}^{n \times n}$ mátrix.

- Ha minden sajátérték valós része negatív, akkor a $0_{\mathbb{R}^n}$ egyensúlyi pont aszimptotikusan stabil.
- Ha minden sajátérték valós része nempozitív, a 0 valós részű sajátértékek egyszeres gyökei a karakterisztikus polinomnak és van 0 valós részű egyszeres sajátérték, akkor a $0_{\mathbb{R}^n}$ egyensúlyi pont stabil, de nem aszimptotikusan stabil.
- Ha van olyan sajátérték, melynek valós része pozitív vagy van 0 valós részű többszörös sajátérték, akkor a $0_{\mathbb{R}^n}$ egyensúlyi pont instabil.

Ha $f : \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett kétszer folytonosan differenciálható függvény, akkor az $\dot{x}(t) = f(t, x(t))$ kétdimenziós nemlineáris differenciálegyenlet-rendszer egyensúlyi pontjainak típusa meghatározható az egyensúlyi pontbeli Jacobi-mátrix karakterisztikus polinomja nyomának, determinánsának és diszkriminánsának előjeléből, ha egyik sajátérték valós része sem nulla.

n -dimenzióban az egyensúlyi pont stabilitási típusát állapíthatjuk meg a deriváltmátrixot felhasználva a következő tétel szerint:

11. Tétel (Linearizálási tétel).

Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett kétszer folytonosan differenciálható függvény, és legyen p az $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm rendszer egyensúlyi pontja.

- Ha az $f'(p)$ mátrix minden sajátértékének valós része negatív, akkor p aszimptotikusan stabil egyensúlyi pont.
- Ha az $f'(p)$ mátrixnak létezik pozitív valós részű sajátértéke, akkor p instabil egyensúlyi pont.

16. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ folytonos függvény. A $V : D(f) \rightarrow \mathbb{R}$ függvényt az $\dot{x}(t) = f(x(t))$ autonóm rendszer első integráljának nevezzük, ha a rendszer minden x megoldására $t \mapsto V(x(t))$, $t \in D(x)$ konstansfüggvény.

2. Immunbiokémiai előismeretek

2.1. Immunológiai ismeretek

Az immunbiológia, vagy immunológia, a biológiának az a része, ami a szervezetben lejátszódó védekező folyamatokkal foglalkozik. A szó eredete a latin *immunitas* szó, melynek jelentése mentesség, védettség. A modern orvoslással az immunfolyamatokról is bebizonyosodott, hogy összetett, széleskörű, biológiailag nagy jelentőségű folyamatok, melyek kerete egy önmagát megújító, hálózatot alkotó felismerő rendszer, az *immunrendszer*.

Az immunrendszer 3 különböző alapfunkciót lát el: felismerés, információk továbbítása és effektor (végrehajtó, pusztító) funkciók. A felismerés során a szervezetnek különbséget kell tennie a szervezet saját és nem saját struktúrái között és ezekre eltérően szükséges reagálnia. A saját anyagokkal szemben toleranciának kell kialakulnia, az idegen anyagokkal szemben azonban szükséges immunválasz. Ezeket az anyagokat semlegesíteni kell, elpusztítani, végül eltávolítani a szervezetből.

Hogy a folyamatokat megértsük, szükséges először tisztázni az antigén fogalmát. *Antigénnek* nevezzük azokat az anyagokat, melyeket az immunrendszer bizonyos sejtjei specifikus módon felismernek. Az antigén molekula azon részlete, amely felismerésre kerül, az antigén determináns, vagy más néven epitóp. Egy antigén akár tartalmazhat több epitópot is. A felismert antigének indukálhatnak immunválaszt és toleranciát egyaránt. Az antigének nem feltétlen kórokozók, lehetnek a saját szervezetünk részei is. Egészséges esetben az immunrendszer a szervezet saját anyagaival szemben toleranciát mutat, azonban autoimmun folyamatok esetén felléphet immunválasz a saját szervezettel szemben is. Immunválasz során az immunrendszer antitesteket, más néven ellenanyagokat termel, amelyek olyan fehérjék, amik képesek a szervezetbe bekerülő idegen anyagokat közvetlen inaktiválni vagy közvetett úton elpusztítani. Az antitestek felismerik az antigének egyedi részét és kötődnek hozzájuk a Fab-régióikkal. Ebben a kötött (*komplex*) állapotban a szervezet már képes felismerni az idegen anyagot, így létrejöhet *immunválasz*.

Az immunválaszban többféle sejt játszik szerepet: az antigén prezentáló sejtek, a T-limfociták, illetve B-limfociták. A sejteken kívül kulcsszerepet játszhatnak még bizonyos szervek, ezeket nevezzük *limfoid szerveknek*, vagy más néven nyirokszerveknek. A limfoid szervek között megkülönböztetünk elsődleges és másodlagos limfoid szerveket. Az elsődleges nyirokszervek (központi nyirokszervek) fő feladata a fehérvérsejtek, más néven *limfociták* képzése, illetve a szervezet itt tanulja meg, hogy milyen anyagokat ismerjen fel sajátjaként. A másodlagos nyirokszervek a B- és T-limfocitáknak biztosítják a helyszínt ahhoz, hogy az antigénnel találkozassanak. Elsődleges limfoid szerv a vörös csontvelő, illetve a csecsemőmirigy (tímusz). Másodlagos nyirokszervek közé tartozik például a lép vagy a nyirokcsomók. Két típusát különböztetjük meg a limfocitáknak: a vörös csontvelőben őssejtekből kialakuló B-limfocitákat, illetve a B-sejtek egy a tímuszba elvándorolt csoportját nevezzük T-limfocitáknak. Ekkor ezeket a a sejteket *naivnak* nevezzük, ugyanis még nem találkoztak a specifikus antigénjükkel. Aktiválódás után nevezzük

őket *effektor* sejteknek.

Az ellenanyagok vagy antitestek az immunrendszer humorális immunválasza során keletkeznek. Elterjedt elnevezés még az *immunglobulinok*, melyek olyan fehérjék, amik ellenanyagként funkcionálnak. Ezeket a fogalmakat gyakran szinonimaként használják. Az immunglobulinokat öt osztályba soroljuk: IgG, IgA, IgM, IgD és IgE. Ezek közül amiket kiemelnék az IgG és az IgA. Az IgG a legfontosabb immunglobulin, ugyanis a vérben és az szövetközi folyadékban található ellenanyagok túlnyomó többsége ebbe az osztályba tartozik. A vírusok, baktériumok és gombák elleni védekezésben van nagy szerepe. Az IgA a vérbeli antitestek 15-20%-át teszi ki, főleg a nyálkahártyák felszínén található. Fő feladata a testfelszínre jutott, lenyelt vagy belélegzett patogénekkal szembeni védekezés.

Az immunrendszer működése

B-sejtek a másodlagos nyirokszervbe mennek, ahol egy antigénre specifikussá válnak. Mikor egy antigén bekerül a szervezetbe, a T-limfociták felismerik őket és elindítják a védekezési folyamatot. Ezután a B-sejtekből származó plazmasejtek elkezdik termelni az antitesteket. (A T-sejtek segítségével tudja a szervezet, hogy milyen antigénre specifikus B-sejtnek szükséges antitesteket termelnie.) A termelt antitestek reakcióba lépnek az antigénnel és kialakul az immunkomplex. A limfociták hatására felszabaduló anyagokat érzékelve falósejtek (vagy más néven fagociták) aktiválódnak és elpusztítják, majd bekebelezik a komplexet. Végül a korábbi effektor B- és T-sejtek mellett kialakulnak B- és T-memóriasejtek, amik segítségével kialakul az immunmemória, ami az antigénnel való következő találkozáskor sokkal gyorsabb és specifikusabb immunválaszt eredményez.

Kétféle immunválaszt különböztetünk meg. A *veleszületett immunitás* embrionális korban alakul ki és nem igényel találkozást a kórokozóval korábban. Éppen ezért ez az immunválasz nem specifikus a kórokozóra, azonban rendkívül gyorsan, percek alatt lép működésbe. A *szerezett immunitás*ra születésünk után teszünk szert, természetes (például fertőzések), vagy mesterséges (védőoltások) úton. Ez az immunválasz lassabban lép életbe (pár nap alatt), azonban hatékonyabb, ugyanis az immunrendszer felismeri a behatoló antigént és molekulái célzottan válaszolnak az antigénnel szemben, sejtes és nem sejtes módon. A két immunválasz együttes működése kell az egészséges védekező mechanizmushoz. A szerzett immunitás nagy előnye, hogy általa *immunológiai memória* alakul ki. Egy korábban már felismert antigén ellen erősebb, gyorsabb, specifikus immunválaszt képes adni a szervezet, illetve ennek segítségével tudjuk meghatározni, hogy az adott személy fertőzött-e vagy átesett-e már a fertőzésen.

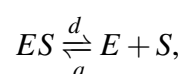
Szükséges még bevezetnünk a *klonalitás* fogalmát. Adott plazmasejt egyféle kémiai szerkezetű antitesteket termel, ezért azok egy antigénre vonatkozó mindkét reakciósebességi állandója is közös. Ha egy oldat csak azonos szerkezetű antitesteket tartalmaz, azt *monoklonálisnak* nevezük, ha pedig többféle szerkezetűt, akkor *poliklonálisnak*.

2.2. Reakciókinetikai ismeretek

Ebben a fejezetben bevezetem a disszociáció és az asszociáció fogalmakat, amik elengedhetetlenek ahhoz, hogy a következő fejezeteket megértsük.

*Disszociáció*nak nevezzük azt a folyamatot, amely során egy molekula vagy molekuláris komplexum szétbomlik két összetevőjére, E-re és S-re. A betűk az enzim, illetve szubsztrát szóra utalnak, azonban más típusú résztvevői is lehetnek egy ilyen folyamatnak. Ez a folyamat reverzibilis, azaz megfordítható. Megfordítottját *asszociáció*nak, vagy rekombinációnak hívjuk, amely során E és S összeáll ES komplexummá.

A folyamatokat a következő reakcióegyenlettel írhatjuk le:



ahol a az asszociáció, d a disszociáció rövidítése. A reakciók gyorsaságát a reakciósebességgel szokás jellemezni, amely az időegységenként és térfogategységenként lejátszódó reakciók számát adja meg. A disszociáció reakciósebessége (v_d) arányos ES koncentrációjával abban az esetben, ha ES disszociációja függetlenül megy végbe a többi oldott anyagtól:

$$v_d = k_d[ES], \quad (2.1)$$

ahol k_d a reakció sebességi állandója, $[ES]$ pedig az ES koncentrációja. A szögletes zárójel a továbbiakban is a zárójelben lévő molekula vagy komplexum koncentrációját fogja jelölni. *Elsőrendű kémiai reakciónak* nevezzük a (2.1)-beli sebességgel lezajló folyamatot. A reakció sebességi állandóját pedig *elsőrendű sebességi állandónak* hívjuk.

Asszociáció akkor következik be, amikor molekulák találkoznak, ekkor az asszociáció reakciósebessége (v_a) arányos mindkét résztvevő molekula koncentrációjával:

$$v_a = k_a[E][S], \quad (2.2)$$

ahol k_a a reakció sebességi állandója. *Másodrendű kémiai reakciónak* nevezzük a (2.2)-beli sebességgel lezajló folyamatot. A reakció sebességi állandóját pedig *másodrendű sebességi állandónak* hívjuk.

Az asszociációs-disszociációs folyamat egyensúlyi helyzetre vezet, ahol $v_d = v_a$, azaz

$$k_d[ES] = k_a[E][S]. \quad (2.3)$$

Az egyenletet átrendezve a következő összefüggésre jutunk:

$$\frac{k_d}{k_a} = \frac{[E][S]}{[ES]}.$$

Ebből bevezethető a K_D disszociációs egyensúlyi állandó fogalma:

$$K_D = \frac{k_d}{k_a}, \quad (2.4)$$

illetve ennek reciprokaként a K_A asszociációs egyensúlyi állandó fogalma:

$$K_A = \frac{k_a}{k_d}. \quad (2.5)$$

A reakciók és az egyenletek kapcsán tapasztalhatjuk, hogy egyes adatok, mennyiségek térfogati, míg mások felszíni koncentrációban állnak a rendelkezésünkre. Ezeket a következőképpen tehetjük egyenértékűvé. Jelölje $[X]$ az X anyag oldatbeli, $[X]_S$ a felszíni koncentrációját. Legyen X mólszáma n_X . Vegyünk egy A felszínt, amelyre X homogén módon kikötődött. Ha innen X anyag felszabadul, és belekerül V térfogatú oldatba, szintén homogén módon, akkor a következők lesznek igazak:

$$n_X = [X]_S A = [X] V.$$

Az egyenletet átrendezve láthatjuk, hogy $\frac{A}{V}$ -vel való szorzással térhetünk át felszíni koncentrációból térfogati koncentrációba:

$$[X] = \frac{A}{V} [X]_S.$$

2.3. Az ELISA immunesszé

Az ELISA egy széles körben használt biokémiai módszer a laboratóriumi analitika és diagnosztika terén. A elnevezés az *enzyme-linked immunosorbent assay* rövidítése, ami enzimhez kötött ellenanyag-vizsgálatot jelent. A módszer feladata az, hogy észleljen és mennyiségileg meghatározzon egyéb anyagok között lévő peptideket, fehérjéket, antitesteket és hormonokat.

A szilárd fázisú ELISA folyamatnak több változatát fogom most ismertetni. Ami ezekben közös, hogy első lépésben egy antigént rögzítünk a reakciótartály falára. Ez a felület általában egy 96-lyukú polisztirol lemez (mikrotiter lemez). Ezután az antigénre ráengedünk egy oldatot, amely olyan antitesteket tartalmaz, amik megkötik a rögzített antigént. Ez antigén-antitest komplex kialakulásához vezet. A szabadon maradt antitest molekulákat egy tisztító mosással távolítjuk el.

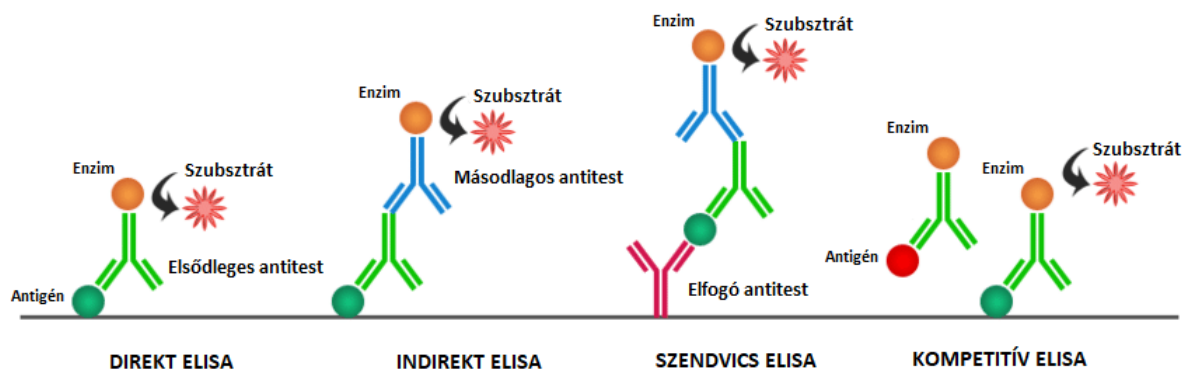
A *direkt* ELISA esetén a rögzített antigént egy olyan antitest köti meg, amely egy enzimmel közvetlenül kapcsolódik. Miután kialakulnak a komplexek, az oldathoz olyan szubsztrátot adunk,

amely reakcióba lép az antitesthez kötött enzimmel, ezt az esetek többségében színreakció jelzi. A színreakció intenzitásából következtethetünk a kikötődött antitestek koncentrációjára.

Az *indirekt* ELISA esetén két lépésben kapcsolódnak antitestek. Első lépésben az antigénhez jelöletlen antitestek kapcsolódnak. Második lépésben az elsődleges antitesthez kapcsolódnak az enzimmel megjelölt másodlagos antitestek.

A *szendvics* ELISA esetében egy úgynevezett „elfogó” antitest felhasználásával rögzítjük az antigént a lemezen. Utána ehhez kapcsolódhat egy elsődleges antitest, majd ahhoz egy enzimmel kapcsolódó másodlagos antitest.

A *kompetitív* ELISA annyiban különbözik társaitól, hogy itt az antigén nem csak felszínhez kötött, hanem korábban oldott állapotban is reagálhat az antitestekkel.



Az ELISA-vizsgálatokat diagnosztikai eszközként használják különböző területeken, legszámtottevőbben az orvostudományban. Alkalmazzák egy-egy betegséget jelző antigén jelenlétének megállapítására, illetve annak eldöntésére is szolgál, hogy a páciens korábban átesett-e már az adott betegségen. Számos betegség detektálására alkalmas, többek között a malária, HIV vírus, hepatitis C és B, vagy éppen a SARS-CoV-2 víruséra. Ezenkívül gyakran használt módszer az autoimmun betegségek nyomonkövetésére is. Ha a vizsgálat célja specifikus antitestek kimutatása, akkor a vizsgálat során az adott betegség specifikus antigénjét rögzítik a felületre, majd ehhez adják a páciens hígított szérumát. Amennyiben a vizsgálat elvégzése után tapasztalnak színváltozást, az azt jelenti, hogy az illető szervezetében jelen van, vagy korábban jelen volt a kórokozó, hiszen a vizsgálat kimutatta, hogy a vérben megjelenik a hozzá specifikusan kötődő antitest. Ha nem történik látható reakció, akkor a páciens negatív az adott betegségre vagy nem alakult ki a szervezetében antitestes immunválasz.

3. Mono- és bivalens kötődés antigén-antitest reakciókban monokloniális oldat esetén

Ebben a fejezetben az immunkomplex képződés dinamikáját és egyensúlyi állapotait vizsgálom. A folyamat során egy antigén csak egy antitesthez kötődhet, míg egy antitest kötődhet csak egy, illetve mindkettő Fab-régiójával is antigénhez. Feltesszük, hogy a vizsgált térfogati koncentrációk térben, a felszíni koncentrációk pedig az antigén felületen homogének.

A reakciók során a kikötődött antitestek takaróhatást okozhatnak, ami jelen esetben azt jelenti, hogy a komplex egy környezetében más antitestek nem tudnak kötést kialakítani antigénnel, ugyanis az antitest miatt nem férnek hozzájuk. Háromféleképpen fogjuk emiatt megvizsgálni a reakciókat: az első esetben nem vesszük figyelembe az antitestek takaróhatását, a másodikban csak részben, ekkor egy egyszerűbb, könnyebben kezelhető modellt kapunk, míg a harmadik esetben számolunk vele, így egy pontosabb, de kicsit bonyolultabb modellre jutunk.

A reakciók leírásához az alábbi jelöléseket fogom használni.

$[Ab]_T$: antitestek kezdeti (összes) koncentrációja, pozitív konstans.

$[Ag]_T$: felszínre kinyomtatott antigén kezdeti (összes) koncentrációja, pozitív konstans.

Ab : oldatbeli szabad antitest.

Ag : kinyomtatott szabad antigén.

$AbAg$: monovalensen kötődő antitesttel képzett komplex.

$AbAg_2$: bivalensen kötődő antitesttel képzett komplex.

k_{a1} : egy Fab-régió és egy antigén asszociációjának reakciósebességi állandója, pozitív konstans.

k_{a2} : $AbAg$ és Ag asszociációs reakciósebességi állandója, pozitív konstans.

k_d : egy Fab-régió és egy antigén disszociációjának reakciósebességi állandója, pozitív konstans.

K_{D1} : Ab egy Fab-régiója és Ag disszociációs egyensúlyi állandója, $K_{D1} = \frac{k_d}{k_{a1}}$.

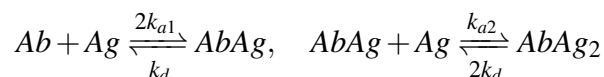
K_{D2} : $AbAg$ és Ag disszociációs egyensúlyi állandója, $K_{D2} = \frac{k_d}{k_{a2}}$.

V : az oldat térfogata.

A : a kinyomtatott antigén felszíne.

N : Avogadro-szám.

A következő reakciók játszódnak le:



Ekkor az asszociáció másodrendű, a disszociáció elsőrendű kémiai reakció. A reakciósebességi állandók attól függően változhatnak, hogy az antitesteknek hány szabad, illetve kötött Fab-régiója van. Az első reakció asszociációs reakciósebességi állandója $2k_{a1}$, mivel az antitest bármely Fab-régiójával kötődhet. A második reakció disszociációs reakciósebességi állandója $2k_d$, mert a bivalensen kötött antitest bármely Fab-régiójával leválhat.

3.1. Alapmodell a takaróhatás figyelembevétele nélkül

A komplexek, illetve a szabad antitestek koncentrációjára vagyunk kíváncsiak, éppen ezért a reakciókat a következő differenciálegyenlet-rendszer írja le:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[AbAg]}{dt} &= 2k_{a1}[Ab][Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag] \\ \frac{d[AbAg_2]}{dt} &= k_{a2}[AbAg][Ag] - 2k_d[AbAg_2] \\ \frac{d[Ab]}{dt} &= \frac{A}{V}(k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag]) \end{aligned} \right\}. \quad (3.1)$$

A differenciálegyenlet-rendszer megértéséhez a következőket kell végiggondolnunk. Mikor az $[AbAg]$ változását vizsgáljuk, az egyenlet első tagja jelenti azt, hogy a szabad antitestek, illetve szabad antigének koncentrációjától függően $2k_{a1}$ reakciósebességi állandóval alakulhatnak ki a komplexek. Emellett az egyszerűen kötött komplexek koncentrációja akkor is nő, amikor egy kétszeresen kötött komplex valamelyik Fab-régiójáról k_d reakciósebességi állandóval leválik egy antigén, ezt látjuk a harmadik tagban. Az egyszerűen kötött komplexek akkor fogyhatnak, mikor egy komplex k_d disszociációs állandóval felbomlik, vagy k_{a2} asszociációs állandóval bivalensen kötött komplex lesz belőle. Az utóbbi a monovalensen kötött antitestek és a még szabad antigének koncentrációjától függ.

A második egyenletben a bivalensen kötött antitestek koncentrációját vizsgáljuk. Ezek akkor alakulhatnak ki, ha egy korábbi monovalensen kötött antitest megköt még egy antitestet: ennek sebessége függ a már meglévő egyszerű komplexek és a szabad antigének koncentrációjától, illetve a második antigén megkötésének k_{a2} asszociációs reakciósebességi állandójától. A kétszeres komplexek száma negatívan változik, ha bármelyik Fab-régiójáról leválik az antigén, ennek sebessége a $2k_d$ reakciósebességi állandónak és a bivalensen kötött antitestek koncentrációjának szorzata.

A harmadik egyenlet jobb oldalának első tagja szerint a szabad antitestek koncentrációja akkor nő, ha egy korábbi monovalensen kötött antitestről leválik az antigén. Azonban egy komplex kialakulásakor - ami függ a szabad antitestek és szabad antigének koncentrációjától - a szabad antitestek koncentrációja csökkenni fog. Mivel nekünk a szabad antitestek koncentrációjának változása térfogati koncentrációban szükséges, és az egyenlet jobb oldalán $k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag]$ felszíni koncentrációban adott, ezért az ekvivalens térfogati koncentrációba $\frac{A}{V}$ -vel való szorzás viszi át.

A (3.1) rendszer összefüggő, ugyanis az utolsó egyenletet $\frac{V}{A}$ -val szorozva az egyenletek összegének jobb oldala 0, így a rendszer első integrálját kapjuk.

$$\begin{aligned}\frac{d}{dt}([AbAg] + [AbAg_2] + \frac{V}{A}[Ab]) &= 0, \\ [AbAg] + [AbAg_2] + \frac{V}{A}[Ab] &= C \in \mathbb{R}.\end{aligned}$$

Nyilvánvalóan zárt rendszerről beszélünk, ezért a teljes antigén és a teljes antitest koncentráció is állandó, csak a kötött és nem kötött antigén, illetve antitest arány fog változni. Éppen ezért láthatjuk, hogy kezdetben, azaz a $t = 0$ időpillanatban, amikor még nem alakultak ki komplexek, $[AbAg]$ és az $[AbAg_2]$ koncentrációja nulla, illetve a szabad antitestek koncentrációja megegyezik az összes antitest koncentrációjával, tehát $[AbAg]_{t=0} = [AbAg_2]_{t=0} = 0$ és $[Ab]_{t=0} = [Ab]_T$. Ezért

$$A[AbAg] + A[AbAg_2] + V[Ab] = V[Ab]_T. \quad (3.2)$$

Az antigének anyagmegmaradásával egyetemben megmarad a felszíni koncentrációjuk is, ami kezdetben $[Ag]_T$, ezért

$$[Ag]_T = [Ag] + [AbAg] + 2[AbAg_2]. \quad (3.3)$$

A (3.1) egyenletrendszer egyensúlyi helyzetei

Az egyenletrendszer egyensúlyi pontjai a differenciálegyenlet-rendszer jobb oldalának zérushelyei:

$$\left. \begin{aligned}2k_{a1}[Ab][Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag] &= 0 \\ k_{a2}[AbAg][Ag] - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ \frac{A}{V}(k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag]) &= 0\end{aligned}\right\}. \quad (3.4)$$

Megfigyelhetjük, hogy egyensúly esetén $[Ab] \neq 0$ és $[Ag] \neq 0$. Ha bármelyik is 0 lenne, akkor a (3.4) egyenletrendszer utolsó egyenletéből következne, hogy $[AbAg] = 0$, ebből viszont a második egyenleten keresztül az is következne, hogy $[AbAg_2] = 0$. Ez azt eredményezné, hogy a korábbi (3.2) és (3.3) antitest és antigén koncentráció megmaradás miatt $[Ab]_T = 0$ vagy $[Ag]_T = 0$, amivel ellentmondásra jutnánk.

Az egyenletrendszert egyszerűsítjük egy vele ekvivalens 2 egyenletből álló egyenletrendszerre:

$$\left. \begin{aligned}k_{a2}[AbAg][Ag] - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag] &= 0\end{aligned}\right\}.$$

A szabad antitestek, illetve antigének koncentrációját kifejezhetjük az összes antigén, illetve

antitest koncentrációjával és a komplexek koncentrációival:

$$[Ab] = [Ab]_T - \frac{A}{V}[AbAg] - \frac{A}{V}[AbAg_2], \quad [Ag] = [Ag]_T - [AbAg] - 2[AbAg_2]. \quad (3.5)$$

Az összefüggéseket beírva az egyszerűsített egyenletrendszerbe, a következőket kapjuk:

$$\left. \begin{aligned} k_{a2}[AbAg]([Ag]_T - [AbAg] - 2[AbAg_2]) - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ k_d[AbAg] - 2k_{a1} \left([Ab]_T - \frac{A}{V}[AbAg] - \frac{A}{V}[AbAg_2] \right) ([Ag]_T - [AbAg] - 2[AbAg_2]) &= 0 \end{aligned} \right\}. \quad (3.6)$$

(3.6) első egyenletéből kifejezve $[AbAg_2]$ -t:

$$[AbAg_2] = \frac{k_{a2}[AbAg]([Ag]_T - [AbAg])}{2(k_{a2}[AbAg] + k_d)}. \quad (3.7)$$

$[AbAg_2]$ -t behelyettesítve (3.6) második egyenletébe, negyedfokú egyenletet kapnánk $[AbAg]$ -re, azonban a negyedfokú tagok kiesnek, így egyszerűsítések és kiemelések után a következő egyenletet kapjuk:

$$\begin{aligned} & \left(k_{a2}^2 k_d + 4k_{a1} k_{a2}^2 [Ab]_T - \frac{4A}{V} k_{a1} k_{a2}^2 [Ag]_T - \frac{A}{V} k_{a1} k_{a2} k_d \right) [AbAg]^3 \\ & + \left(2k_{a2} k_d^2 - 4k_{a1} k_{a2}^2 [Ab]_T [Ag]_T + 6k_{a1} k_{a2} k_d [Ab]_T - \frac{2A}{V} k_{a1} k_d^2 \right) [AbAg]^2 \\ & + \left(k_d^3 - 6k_{a1} k_{a2} k_d [Ab]_T [Ag]_T + 2k_{a1} k_d^2 [Ab]_T + \frac{2A}{V} k_{a1} k_d^2 [Ag]_T + \frac{A}{V} k_{a1} k_{a2} k_d [Ag]_T^2 \right) [AbAg] \\ & - 2k_{a1} k_d^2 [Ab]_T [Ag]_T = 0 \end{aligned}$$

Immunológiailag azok a megoldások lesznek értelmesek, amelyek valóságosak, pozitívak, illetve kisebbek, mint a kezdeti $\frac{V}{A}[Ab]_T$, illetve $[Ag]_T$.

Látjuk, hogy ebben az esetben egy bonyolult, legfeljebb harmadfokú egyenletet kapunk. A modell módosításával azonban ez nagyban leegyszerűsödik.

3.2. Egyszerűbb modell a takaróhatás részleges figyelembevételével

De Michele és szerzőtársai [4] cikkének ötlete szerint az egyszerűen kötött antitestek szabad Fab-régiója olyan szabad antigént próbál megkötni, ami a szóban forgó antitest által eltakart antigén felszínén van. Feltesszük, hogy az eltakart felszínén nincs más kötött antigén, így ott a szabad antigének koncentrációja megegyezik $[Ag]_T$ -vel. Ebben a köztes esetben az egyszerű komplexek képződésekor nem számolunk azzal, hogy a kikötődött antitestek takaróhatására

csökken a szabad antigének koncentrációja. Az egyenletrendszerben a különbséget az alapeset-
hez képest az jelenti, hogy az első, illetve a második egyenletben a kétszeres komplex képződé-
sére vonatkozó tagban $[Ag]$ helyett $[Ag]_T$ -vel számolunk. Ekkor a helyzetünk jóval leegyszerű-
södik, amit a következő számolásokban láthatunk.

A módosított differenciálegyenlet-rendszer a következő:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[AbAg]}{dt} &= 2k_{a1}[Ab][Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag]_T \\ \frac{d[AbAg_2]}{dt} &= k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] \\ \frac{d[Ab]}{dt} &= \frac{A}{V}(k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag]) \end{aligned} \right\}. \quad (3.8)$$

A (3.8) egyenletrendszer egyensúlyi helyzetei

A differenciálegyenlet-rendszer jobb oldalának zérushelyei:

$$\left. \begin{aligned} 2k_{a1}[Ab][Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag]_T &= 0 \\ k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ \frac{A}{V}(k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag]) &= 0 \end{aligned} \right\}. \quad (3.9)$$

Megfigyelhetjük, hogy egyensúly esetén $[Ab] \neq 0$ és $[Ag] \neq 0$, mint ahogy (3.4)-nél láttuk.

Az egyenletrendszert most is egyszerűsítjük egy vele ekvivalens 2 egyenletből álló egyenlet-
rendszerre:

$$\left. \begin{aligned} k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ k_d[AbAg] - 2k_{a1}[Ab][Ag] &= 0 \end{aligned} \right\}.$$

A szabad antitestek, illetve antigének koncentrációját (3.5) szerint kifejezhetjük az összes anti-
gén, illetve antitest koncentrációjával és a komplexek koncentrációival.

Ezeket az összefüggéseket beírva az egyszerűsített egyenletrendszerbe, a következőket kapjuk:

$$\left. \begin{aligned} k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \\ k_d[AbAg] - 2k_{a1} \left([Ab]_T - \frac{A}{V}[AbAg] - \frac{A}{V}[AbAg_2] \right) ([Ag]_T - [AbAg] - 2[AbAg_2]) &= 0 \end{aligned} \right\}. \quad (3.10)$$

(3.10) első egyenletéből kifejezve $[AbAg_2]$ -t:

$$[AbAg_2] = \frac{k_{a2}[AbAg][Ag]_T}{2k_d}. \quad (3.11)$$

Az egyenletek egyszerűségért vezessük be a következő jelöléseket. Legyen $q = \frac{A}{V}$ és $\gamma = \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d}$, illetve

$$x = [AbAg], \quad y = [AbAg_2]. \quad (3.12)$$

Ezeket a jelöléseket alkalmazva $y = \gamma x$.

Behelyettesítve y -t (3.10) második egyenletébe a következő másodfokú egyenletet kapjuk:

$$k_d x - 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy)([Ag]_T - x - 2y) = 0$$

$$k_d x - 2k_{a1}([Ab]_T - q(1 + \gamma)x)([Ag]_T - (1 + 2\gamma)x) = 0$$

$$2k_{a1}q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)x^2 - (2k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T + 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)x + 2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T = 0. \quad (3.13)$$

Láthattuk, hogy az alapmodellben, ahol a kétszeresen kötött komplexek keletkezéséhez szükséges $[Ag]$ koncentrációt nem állandó $[Ag]_T$ -nek tekintettük, az egyensúlyi helyzetek számolásakor egy bonyolultabb, harmadfokú egyenletre jutottunk. Ez a módosítás egy egyszerűbb, másodfokú egyenletre vezet.

Legyen a (3.13) egyenlet bal oldala $P(x)$ másodfokú polinom. Ennek a diszkriminánsa

$$\begin{aligned} & (2k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T + 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)^2 - 16k_{a1}^2q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)[Ab]_T[Ag]_T \\ & = (2k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T - 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)^2 + 8k_{a1}k_dq(1 + \gamma)[Ag]_T > 0, \end{aligned}$$

így két valós gyöke lesz. A Viète-formulákat felhasználva megvizsgáljuk a gyökök előjelét.

A gyökök szorzatára vonatkozó Viète-formula:

$$x_1 \cdot x_2 = \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)} > 0.$$

Mivel a szorzatuk pozitív, ezért a gyökök előjele megegyezik.

A gyökök összegére vonatkozó Viète-formula:

$$x_1 + x_2 = -\frac{(k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T + 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)}{2k_{a1}q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)} > 0.$$

A gyökök előjeléről a korábbi Viète-formulából tudjuk, hogy megegyeznek, ezért az összegük akkor lehet csak pozitív, ha mindkettő gyök pozitív.

A (3.10) egyenletrendszer immunológiailag értelmes ($[AbAg]$, $[AbAg_2]$) megoldásait keressük.

Egy megoldás immunológiailag akkor értelmes, ha mind a kettő koordináta nemnegatív és

$$[AbAg] + 2[AbAg_2] \leq [Ag]_T \iff (1 + 2\gamma)x \leq [Ag]_T \iff x \leq \frac{[Ag]_T}{1 + 2\gamma}, \quad (3.14)$$

valamint

$$[AbAg] + [AbAg_2] \leq \frac{V}{A}[Ab]_T \iff (1 + \gamma)x \leq \frac{1}{q}[Ab]_T \iff x \leq \frac{[Ab]_T}{q(1 + \gamma)}. \quad (3.15)$$

Ezekre a feltételekre azért van szükség, mert ezek garantálják azt, hogy nem képződött több komplex annál, mint amennyi a kezdeti antigén és antitest mennyiségéből lehetséges.

A két egyenlőtlenséget megvizsgáljuk, hogy teljesülnek-e P polinom gyökeire. $P(x)$ polinomba behelyettesítjük a maximum értékeket, amiket x felvehet egy immunológiailag értelmes megoldásban, és vizsgáljuk az előjelüket.

(3.14) vizsgálata:

$$P\left(\frac{[Ag]_T}{1 + 2\gamma}\right) = 2k_{a1}q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)\left(\frac{[Ag]_T}{1 + 2\gamma}\right)^2 - (2k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T + 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)\frac{[Ag]_T}{1 + 2\gamma} + 2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T = -\frac{k_d[Ag]_T}{1 + 2\gamma} < 0.$$

$P(0) > 0$ miatt ez csak akkor lehetséges, ha kisebbik gyökre $P < 0$, a nagyobbra $P > 0$. így következik, hogy a két gyökből az egyik kisebb lesz, mint $\frac{[Ag]_T}{1 + 2\gamma}$, a másik pedig nagyobb.

(3.15) vizsgálata:

$$P\left(\frac{[Ab]_T}{q(1 + \gamma)}\right) = 2k_{a1}q(1 + \gamma)(1 + 2\gamma)\left(\frac{[Ab]_T}{q(1 + \gamma)}\right)^2 - (2k_{a1}(1 + 2\gamma)[Ab]_T + 2k_{a1}q(1 + \gamma)[Ag]_T + k_d)\frac{[Ab]_T}{q(1 + \gamma)} + 2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T = -\frac{k_d[Ab]_T}{q(1 + \gamma)} < 0.$$

A korábbihoz hasonlóan az immunológiai értelmességhez szükséges, hogy a két pozitív gyök egyike kisebb, mint $\frac{[Ab]_T}{q(1 + \gamma)}$, és ez $P(0) > 0$ miatt teljesül. Látjuk, hogy a gyökök közül a kisebbik immunológiailag értelmes, a nagyobbik azonban nem.

Stabilitásvizsgálat

Mivel a (3.2)-beli első integrál az ismeretlen függvények lineáris kombinációja, ezért a (3.8) rendszer stabilitásvizsgálatát elég a (3.8) első két egyenletéből álló kétdimenziós rendszerre elvégezni.

Írjuk be (3.8) első két egyenletébe (3.5) két képletét, használva a (3.12)-beli jelöléseket.

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy)([Ag]_T - x - 2y) - k_d x + 2k_d y - k_{a2}x[Ag]_T \\ \dot{y} &= k_{a2}x[Ag]_T - 2k_d y \end{aligned} \right\}. \quad (3.16)$$

Legyen (3.16) két egyenletének jobb oldala $f(x,y)$, illetve $g(x,y)$, majd az így kapott függvényeket parciálisan deriváljuk x , illetve y szerint.

$$\begin{aligned} f(x,y) &= 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy)([Ag]_T - x - 2y) - k_d x + 2k_d y - k_{a2}[Ag]_T x, \\ g(x,y) &= k_{a2}[Ag]_T x - 2k_d y. \end{aligned}$$

A parciális deriváltak:

$$\begin{aligned} \frac{\partial f}{\partial x} &= -2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) - 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) - k_d - k_{a2}[Ag]_T, \\ \frac{\partial f}{\partial y} &= -2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) - 4k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) + 2k_d, \\ \frac{\partial g}{\partial x} &= k_{a2}[Ag]_T, \\ \frac{\partial g}{\partial y} &= -2k_d. \end{aligned}$$

Az

$$\begin{pmatrix} f \\ g \end{pmatrix}' = \begin{pmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} & \frac{\partial f}{\partial y} \\ \frac{\partial g}{\partial x} & \frac{\partial g}{\partial y} \end{pmatrix}$$

deriváltmátrix nyomára, illetve determinánsára vagyunk kíváncsiak az immunológiailag értelmes egyensúlyi pontban. Ha ott $\text{Det} > 0$ és $\text{Tr} < 0$, akkor az egyensúlyi pont aszimptotikusan stabil, ha azonban $\text{Det} > 0$ és $\text{Tr} > 0$, akkor az egyensúlyi pont instabil.

Az előjeleket könnyen beláthatjuk, a következő összefüggéseket felhasználva.

Tudjuk, hogy

$$[Ag]_T - x - 2y = [Ag] > 0, \quad [Ab]_T - qx - qy = [Ab] > 0, \quad x, y \geq 0$$

illetve, hogy mindkét asszociációs és a disszociációs reakciósebességi állandó pozitív.

$$\begin{aligned}\text{Tr} &= \frac{\partial f}{\partial x} + \frac{\partial g}{\partial y} \\ &= -2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) - 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) - k_{a2}[Ag]_T - 3k_d < 0.\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Det} &= \left(-2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) - 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) - k_d - k_{a2}[Ag]_T \right) \left(-2k_d \right) \\ &\quad - \left(k_{a2}[Ag]_T \right) \left(-2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) - 4k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) + 2k_d \right) \\ &= \left(2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) + 2k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) + k_d \right) \cdot 2k_d \\ &\quad + \left(2k_{a1}q([Ag]_T - x - 2y) + 4k_{a1}([Ab]_T - qx - qy) \right) \cdot k_{a2}[Ag]_T > 0.\end{aligned}$$

Mivel $\text{Tr} < 0$ és $\text{Det} > 0$, az immunológiaiailag értelmes egyensúlyi pont aszimptotikusan stabil.

3.3. ELISA-reakció a takaróhatás részleges figyelembevételével

Az ELISA immunesszében az oldatbeli antitestek száma nagyságrendekkel nagyobb a kinyomtatott antigén molekuláknál, így a reakció során $[Ab] \approx [Ab]_T$, ezért a modellben feltesszük, hogy $[Ab] = [Ab]_T$ konstansfüggvény, amivel a reakció leírása lényegesen egyszerűsödik, ugyanis $[Ab]$ nem változik, így a differenciálegyenlet-rendszer két egyenletre módosul. Ekkor az egyszerűbb differenciálegyenlet-rendszer lineáris:

$$\left. \begin{aligned}\frac{d[AbAg]}{dt} &= 2k_{a1}[Ab]_T[Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag]_T \\ \frac{d[AbAg_2]}{dt} &= k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2]\end{aligned}\right\}. \quad (3.17)$$

Ez (3.8)-nak az a speciális esete, mikor $\frac{A}{V} = 0$.

Ennek az egyenletrendszernek az egyensúlyi pontját keressük. A differenciálegyenletek jobb oldalát egyenlővé tesszük nullával, és megoldjuk az egyenletrendszert.

$$\left. \begin{aligned}2k_{a1}[Ab]_T[Ag] - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag]_T &= 0 \\ k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0\end{aligned}\right\} \quad (3.18)$$

A (3.18) egyenletrendszert egy vele ekvivalens, egyszerűbb alakra hozzuk:

$$\left. \begin{aligned}2k_{a1}[Ab]_T[Ag] - k_d[AbAg] &= 0 \\ k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0\end{aligned}\right\}. \quad (3.19)$$

Láthatjuk, hogy egyensúlyban $[Ag] \neq 0$, mivel $[Ag] = 0$ azt eredményezné, hogy mind $[AbAg]$,

mind pedig $[AbAg_2]$ nulla lenne a (3.19) egyenlet szerint, ami pedig ellentmond az $[Ag]_T > 0$ feltevésnek.

(3.19) második egyenletéből kifejezzük $[AbAg_2]$ -t, mint (3.11)-ben:

$$[AbAg_2] = \frac{k_{a2}[AbAg]}{2k_d}[Ag]_T. \quad (3.20)$$

Láthatjuk, hogy egyensúlyban $[Ag]_T$ -nek homogén lineáris függvénye lesz $\frac{[AbAg_2]}{[AbAg]}$.

A (3.12)-ben bevezetett jelöléseket alkalmazva $y_e = \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d}x_e$. Felhasználva (3.5) második egyenletét helyettesítsünk be (3.19) második egyenletébe.

$$2k_{a1}[Ab]_T \left([Ag]_T - x_e - \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d}x_e \right) - k_dx_e = 0,$$

$$x_e = \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T + \frac{2k_{a1}k_{a2}[Ab]_T[Ag]_T}{k_d} + k_d} = \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) + k_d}. \quad (3.21)$$

A 3.2 alfejezetbeli esethez képest még jobban egyszerűsödik az egyenlet, az egyensúlyi pontra egy elsőfokú egyenletet kapunk.

Az egyensúlyi helyzetet vizsgáljuk olyan szempontból, hogy immunológiailag reális-e. Azt tudjuk a képletből, hogy x_e és y_e nemnegatív, így azt kell vizsgálnunk, hogy a kezdeti antigén koncentrációval milyen viszonyban van. Vizsgáljuk meg $[Ag]_T$ -hez képest:

$$[AbAg] + 2[AbAg_2] = x_e + 2y_e = \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) x_e$$

$$= \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) + k_d} < [Ag]_T.$$

Mivel az egyenlőtlenség teljesül, ezért az egyensúlyi pont immunológiailag értelmes.

Vizsgáljuk meg az összes komplex koncentrációját. Immunológusok mérései szerint az összes komplex egyensúlybeli koncentrációja szigmoid függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek. Vizsgáljuk meg, hogy $[Ag]_T$ növelésével milyen függvénye lesz a komplexeknek.

$$[AbAg] + [AbAg_2] = x_e + y_e = \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) x_e$$

$$= \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) + k_d}.$$

Ha $[Ag]_T \rightarrow \infty$, akkor $[AbAg] + [AbAg_2]$ is a végtelenbe tart, ami immunológiaiilag nem reális, mert egy szigmoid függvény felső aszimptotájához kellene tartania $\ln[Ag]_T$ függvényében [6].

Differenciálegyenlet-rendszer

A differenciálegyenlet-rendszer lineáris:

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= 2k_{a1}[Ab]_T([Ag]_T - x - 2y) - k_d x + 2k_d y - k_{a2}[Ag]_T x \\ \dot{y} &= k_{a2}[Ag]_T x - 2k_d y \end{aligned} \right\}, \quad (3.22)$$

ennek mátrixa:

$$D = \begin{pmatrix} -2k_{a1}[Ab]_T - k_{a2}[Ag]_T - k_d & -4k_{a1}[Ab]_T + 2k_d \\ k_{a2}[Ag]_T & -2k_d \end{pmatrix}.$$

Szükségünk van a mátrix nyomának és determinánsának előjelére, hogy meghatározzuk az egyensúlyi pont stabilitását.

Nyom:

$$\text{Tr}D = -2k_{a1}[Ab]_T - k_{a2}[Ag]_T - 3k_d < 0.$$

Determináns:

$$\begin{aligned} \det D &= (-2k_{a1}[Ab]_T - k_{a2}[Ag]_T - k_d)(-2k_d) - (-4k_{a1}[Ab]_T + 2k_d)(k_{a2}[Ag]_T) \\ &= 2k_d(2k_{a1}[Ab]_T + k_d) + 4k_{a1}k_{a2}[Ab]_T[Ag]_T > 0. \end{aligned}$$

Mivel $\text{Tr}D < 0$ és $\det D > 0$, ezért az egyensúlyi pont aszimptotikusan stabil.

3.4. A kikötődött antitestek takaróhatását teljesen figyelembe vevő modell ELISA immunesszé esetén

[4] alapján a komplex állapotba kikötődött antitestek eltakarják egy bizonyos környezetükben a szabad antigéneket. Éppen ezért a többi antitest számára elérhető antigének mennyisége csökken. A modell felállításakor két dolgot feltételezünk: a Fab-régiók teljesen flexibilisek, illetve, hogy az egyszeresen kötött antitest S , a kétszeresen kötött antitest ρS ($\rho \geq 2$) antigénfelületet takar el, és ezek a különböző antitestek által eltakart felületek diszjunktak.

Egy egyszeresen kikötődött antitest által eltakart antigének mólszáma $[Ag]_T S$, kétszeresen kötöttnél $[Ag]_T \rho S$. Ekkor a szabad, más antitestek által hozzáférhető antigének felszíni koncentrációja a következőképpen változik a (3.5) képlet alapján. Először az összes antigén koncentrációjából kivonjuk a már kialakult komplexbeli antigének koncentrációját - az ezekben talált antigének jelenleg kötésben vannak. Az utolsó tagban azt látjuk, hogy a kialakult komplexek által kitakart S , illetve ρS felületeken található antigéneket is kivonjuk az összes antigén koncentrációjából. A hozzáférhető antigéneket h indexszel jelöltem, az átlagos koncentrációjuk az antigén felületen

$$\begin{aligned} [Ag]_h &= [Ag]_T - [AbAg] - 2[AbAg_2] - [Ag]_T NS([AbAg] + \rho[AbAg_2]) \\ &= [Ag]_T - (1 + NS[Ag]_T)[AbAg] - (2 + \rho NS[Ag]_T)[AbAg_2]. \end{aligned}$$

A takaróhatással számolt differenciálegyenlet-rendszer a következő:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[AbAg]}{dt} &= 2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_h - k_d[AbAg] + 2k_d[AbAg_2] - k_{a2}[AbAg][Ag]_T \\ \frac{d[AbAg_2]}{dt} &= k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] \end{aligned} \right\}. \quad (3.23)$$

Az egyensúlyi helyzet megtalálásához a jobb oldalt egyenlővé tesszük nullával, majd az egyenletrendszert a (3.19)-hez hasonlóan egyszerűbb alakra hozzuk:

$$\left. \begin{aligned} 2k_{a1}[Ab]_T \left([Ag]_T - (1 + NS[Ag]_T)[AbAg] - (2 + \rho NS[Ag]_T)[AbAg_2] \right) - k_d[AbAg] &= 0 \\ k_{a2}[AbAg][Ag]_T - 2k_d[AbAg_2] &= 0 \end{aligned} \right\}. \quad (3.24)$$

A második egyenletből

$$[AbAg_2] = y = [AbAg] \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d},$$

majd (3.24)-ből kifejezve $[AbAg] = x$ -et, a következő egyenletre jutunk:

$$2k_{a1}[Ab]_T \left([Ag]_T - (1 + NS[Ag]_T)x - (2 + \rho NS[Ag]_T) \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} x \right) - k_d x = 0.$$

Az egyenletet megoldva az egyensúlyi pont a következő lesz:

$$x_e = \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + NS[Ag]_T + (2 + \rho NS[Ag]_T) \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) + k_d}. \quad (3.25)$$

Ekkor x_e és y_e nemnegatív, így azt kell még bizonyítanunk, hogy a keletkezett komplexekben lévő antigének mennyisége nem haladja meg a kezdeti $[Ag]_T$ -t.

$$[AbAg] + 2[AbAg_2] \leq [Ag]_T \iff \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) x_e \leq [Ag]_T \iff x_e \leq \frac{[Ag]_T}{1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d}}. \quad (3.26)$$

(3.20)-at, (3.25)-öt illetve a harmadik sorban (3.26)-ot felhasználva a következő összefüggést kaphatjuk a kötött antigének koncentrációjára:

$$\begin{aligned} [AbAg] + 2[AbAg_2] &= x_e + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} x_e \\ &= \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + NS[Ag]_T + (2 + \rho NS[Ag]_T) \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) + k_d} \\ &\leq \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} + k_d} \\ &\leq \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d} \right) \left(\frac{[Ag]_T}{1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{k_d}} \right) \leq [Ag]_T. \end{aligned}$$

ezért az egyensúlyi pont immunológiailag értelmes.

Az összes komplex koncentrációja egyensúlyi helyzetben

$$\begin{aligned} [AbAg] + [AbAg_2] &= x_e + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} x_e \\ &= \left(1 + \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) \frac{2k_{a1}[Ab]_T[Ag]_T}{2k_{a1}[Ab]_T \left(1 + NS[Ag]_T + (2 + \rho NS[Ag]_T) \frac{k_{a2}[Ag]_T}{2k_d} \right) + k_d}. \end{aligned}$$

Ez $[Ag]_T$ -nek egy olyan racionális törtfüggvénye, ahol mind a számláló, mind a nevező egy másodfokú polinomja $[Ag]_T$ -nek. Ezért az összes komplex koncentrációjának $[Ag]_T$ és így $\ln[Ag]_T$ függvényében is véges határértéke van $[Ag]_T \rightarrow \infty$ esetén.

Differenciálegyenlet-rendszer

Az egyszerűbb modellhez hasonlóan a differenciálegyenlet-rendszer lineáris. Bevezetve az $x = [AbAg]$ és $y = [AbAg_2]$ jelöléseket a következő:

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= 2k_{a1}[Ab]_T \left([Ag]_T - (1 + NS[Ag]_T)x - (2 + \rho NS[Ag]_T)y \right) - k_d x + 2k_d y - k_{a2}[Ag]_T x \\ \dot{y} &= k_{a2}[Ag]_T x - 2k_d y \end{aligned} \right\}.$$

Az egyenlet egyszerűbb alakra hozására vezessük be a következő jelöléseket:

$$\alpha = 1 + NS[Ag]_T,$$

$$\beta = 2 + \rho NS[Ag]_T.$$

Ekkor a differenciálegyenlet-rendszer:

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= 2k_{a1}[Ab]_T \left([Ag]_T - \alpha x - \beta y \right) - k_d x + 2k_d y - k_{a2}[Ag]_T x \\ \dot{y} &= k_{a2}[Ag]_T x - 2k_d y \end{aligned} \right\}.$$

A stabilitás megállapításához szükséges tudnunk a rendszer mátrixa nyomának és determinánsának előjelét.

A rendszer mátrixa

$$D = \begin{pmatrix} -2\alpha k_{a1}[Ab]_T - k_d - k_{a2}[Ag]_T & -2\beta k_{a1}[Ab]_T + 2k_d \\ k_{a2}[Ag]_T & -2k_d \end{pmatrix},$$

ennek nyoma

$$\text{Tr}D = -2\alpha k_{a1}[Ab]_T - k_{a2}[Ag]_T - 3k_d < 0,$$

illetve a determinánsa

$$\begin{aligned} \det D &= (-2\alpha k_{a1}[Ab]_T - k_d - k_{a2}[Ag]_T)(-2k_d) - (k_{a2}[Ag]_T)(-2\beta k_{a1}[Ab]_T + 2k_d) \\ &= 2k_d(2\alpha k_{a1}[Ab]_T + k_d) + 2\beta k_{a1}k_{a2}[Ab]_T[Ag]_T > 0. \end{aligned}$$

Mivel $\text{Tr}D < 0$ és $\det D > 0$, ezért az egyensúlyi pont a teljes takaróhatás figyelembevételével is aszimptotikusan stabil lesz.

4. Mono- és bivalens kötődés antigén-antitest reakciókban poliklonális oldatban ELISA immunesszé esetén

A poliklonális esetben az antitesteknek több klónja van, amelyek az elérhető antigénekért versengenek. A különböző klónok különböző reakciósebességi állandókkal képesek kötést kialakítani az antigénnel. A reakciókat ELISA immunesszében vizsgáljuk, először a takaróhatást részlegesen, majd teljesen figyelembe véve. A reakciók leírásához a következő jelöléseket használom:

- $[Ag]_T$: felszínre kinyomtatott antigén kezdeti (összes) koncentrációja, pozitív konstans.
- $[Ab_i]_T$: az i -edik antitest klón kezdeti (összes) koncentrációja, pozitív konstans.
- Ag : kinyomtatott szabad antigén.
- Ab_i : i -edik klónból származó szabad antitestek az oldatban.
- Ab_iAg : monovalensen kötődő i -edik klónbeli antitesttel képzett komplex.
- Ab_iAg_2 : bivalensen kötődő i -edik klónbeli antitesttel képzett komplex.
- k_{a1i} : az i -edik klónbeli antitest egy Fab-régiója és egy antigén asszociációjának reakciósebességi állandója, pozitív konstans.
- k_{a2i} : Ab_iAg és Ag asszociációs reakciósebességi állandója, pozitív konstans.
- k_{di} : egy Fab-régió és egy antigén disszociációjának reakciósebességi állandója az i -edik antitest klón esetén, pozitív konstans.
- N : Avogadro-szám.

4.1. Egyszerűbb modell a takaróhatás részleges figyelembevételével

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_iAg]}{dt} &= 2k_{a1i}[Ab_i]_T[Ag] - k_{di}[Ab_iAg] + 2k_{di}[Ab_iAg_2] - k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T, \quad i = 1, 2, \dots, n \\ \frac{d[Ab_iAg_2]}{dt} &= k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T - 2k_{di}[Ab_iAg_2], \quad i = 1, 2, \dots, n \end{aligned} \right\} \quad (4.1)$$

$[Ag]$ -t kifejezhetjük $[Ag]_T$ és a komplexek segítségével:

$$[Ag] = [Ag]_T - [Ab_1Ag] - [Ab_2Ag] - \dots - [Ab_nAg] - 2[Ab_1Ag_2] - 2[Ab_2Ag_2] - \dots - 2[Ab_nAg_2].$$

Ekkor az egyenletrendszer a következőre módosul:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_iAg]}{dt} &= 2k_{a1i}[Ab_i]_T \left([Ag]_T - [Ab_1Ag] - \dots - [Ab_nAg] - 2[Ab_1Ag_2] - \dots - 2[Ab_nAg_2] \right) \\ &\quad - k_{di}[Ab_iAg] + 2k_{di}[Ab_iAg_2] - k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T \quad i = 1, 2, \dots, n \\ \frac{d[Ab_iAg_2]}{dt} &= k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T - 2k_{di}[Ab_iAg_2] \quad i = 1, 2, \dots, n \end{aligned} \right\} \quad (4.2)$$

(4.2) egyenletrendszert a következő mátrixos alakra hozhatjuk:

$$d \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \\ [Ab_1Ag_2] \\ \vdots \\ [Ab_nAg_2] \end{pmatrix} = \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} A & B \\ k_{a21}[Ag]_T & \mathbf{0} & -2k_{d1} & \mathbf{0} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots \\ \mathbf{0} & k_{a2n}[Ag]_T & \mathbf{0} & -2k_{dn} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ [Ab_2Ag] \\ \vdots \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \\ [Ab_1Ag_2] \\ [Ab_2Ag_2] \\ \vdots \\ \vdots \\ [Ab_nAg_2] \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 2k_{a11}[Ab_1]_T[Ag]_T \\ 2k_{a12}[Ab_2]_T[Ag]_T \\ \vdots \\ \vdots \\ 2k_{a1n}[Ab_n]_T[Ag]_T \\ 0 \\ 0 \\ \vdots \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix}.$$

A -val és B -vel a következő részmatrixokat jelöltem:

$$A = \begin{pmatrix} -2k_{a11}[Ab_1]_T - 2k_{d1} - k_{a21}[Ag]_T & -2k_{a11}[Ab_1]_T & \dots & -2k_{a11}[Ab_1]_T \\ & & \ddots & \\ & -2k_{a1n}[Ab_n]_T & -2k_{a1n}[Ab_n]_T & \dots & -2k_{a1n}[Ab_n]_T - 2k_{dn} - k_{a2n}[Ag]_T \end{pmatrix},$$

$$B = \begin{pmatrix} -4k_{a11}[Ab_1]_T + 2k_{d1} & -4k_{a11}[Ab_1]_T & \dots & -4k_{a11}[Ab_1]_T & -4k_{a11}[Ab_1]_T \\ & & \ddots & & \\ -4k_{a1n}[Ab_n]_T & -4k_{a1n}[Ab_n]_T & \dots & -4k_{a1n}[Ab_n]_T & -4k_{a1n}[Ab_n]_T + 2k_{dn} \end{pmatrix}.$$

4.2. A kikötődött antitestek takaróhatását teljesen figyelembe vevő modell

Az egy klónos esethez hasonlóan ekkor is egy egyszeresen kikötődött antitest S , a kétszeresen kötődött antitest ρS ($\rho \geq 2$) antigénfelületet takar el. Ekkor egy klón számára hozzáférhető antigének koncentrációja a következőre módosul.

$$\begin{aligned}
[Ag]_h &= [Ag]_T - [Ab_1Ag] - 2[Ab_1Ag_2] - [Ab_2Ag] - 2[Ab_2Ag_2] - \dots - [Ab_nAg] - 2[Ab_nAg_2] \\
&\quad - [Ag]_T NS([Ab_1Ag] + \rho[Ab_1Ag_2]) - [Ag]_T NS([Ab_2Ag] + \rho[Ab_2Ag_2]) - \dots \\
&\quad - [Ag]_T NS([Ab_nAg] + \rho[Ab_nAg_2]) \\
&= [Ag]_T - (1 + NS[Ag]_T)[Ab_1Ag] - (2 + \rho NS[Ag]_T)[Ab_1Ag_2] - \dots \\
&\quad - (1 + NS[Ag]_T)[Ab_nAg] - (2 + \rho NS[Ag]_T)[Ab_nAg_2].
\end{aligned}$$

A poliklonális esetben is a következő jelöléseket alkalmazom:

$$\alpha = 1 + NS[Ag]_T, \quad \beta = 2 + \rho NS[Ag]_T.$$

Ekkor

$$[Ag]_h = [Ag]_T - \sum_{i=1}^n \left(\alpha [Ab_iAg] + \beta [Ab_iAg_2] \right).$$

Többklónos esetben az egyenletrendszer a következő lesz:

$$\left. \begin{aligned}
\frac{d[Ab_iAg]}{dt} &= 2k_{a1i}[Ab_i]_T \left([Ag]_T - \alpha [Ab_1Ag] - \beta [Ab_1Ag_2] - \alpha [Ab_2Ag] - \beta [Ab_2Ag_2] - \dots \right. \\
&\quad \left. - \alpha [Ab_nAg] - \beta [Ab_nAg_2] \right) - k_{di}[Ab_iAg] + 2k_{di}[Ab_iAg_2] - k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T \\
\frac{d[Ab_iAg_2]}{dt} &= k_{a2i}[Ab_iAg][Ag]_T - 2k_{di}[Ab_iAg_2] \quad i = 1, 2, \dots, n
\end{aligned} \right\} \quad (4.3)$$

A $2n$ számú egyenletből álló (4.3) egyenletrendszert a következő mátrixos alakba írhatjuk:

$$d \frac{\begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \\ [Ab_1Ag_2] \\ \vdots \\ [Ab_nAg_2] \end{pmatrix}}{dt} =$$

$$= \left(\begin{array}{cc|cc} & & & \\ & \mathbf{A}^* & & \mathbf{B}^* \\ & & & \\ \hline k_{a21}[Ag]_T & \mathbf{0} & -2k_{d1} & \mathbf{0} \\ & \ddots & & \\ \mathbf{0} & & \mathbf{0} & -2k_{dn} \\ & k_{a2n}[Ag]_T & & \end{array} \right) \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ [Ab_2Ag] \\ \vdots \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \\ [Ab_1Ag_2] \\ [Ab_2Ag_2] \\ \vdots \\ \vdots \\ [Ab_nAg_2] \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 2k_{a11}[Ab_1]_T[Ag]_T \\ 2k_{a12}[Ab_2]_T[Ag]_T \\ \vdots \\ \vdots \\ 2k_{a1n}[Ab_n]_T[Ag]_T \\ 0 \\ 0 \\ \vdots \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix}.$$

A^* -gal és B^* -gal a következő részmatrixokat jelöltem:

$$A^* = \begin{pmatrix} -2k_{a11}[Ab_1]_T\alpha - 2k_{d1} - k_{a21}[Ag]_T & -2k_{a11}[Ab_1]_T\alpha & \dots & -2k_{a11}[Ab_1]_T\alpha \\ & & \ddots & \\ -2k_{a1n}[Ab_n]_T\alpha & -2k_{a1n}[Ab_n]_T\alpha & \dots & -2k_{a1n}[Ab_n]_T\alpha - 2k_{dn} - k_{a2n}[Ag]_T \end{pmatrix},$$

$$B^* = \begin{pmatrix} -2k_{a11}[Ab_1]_T\beta + 2k_{d1} & -2k_{a11}[Ab_1]_T\beta & \dots & -2k_{a11}[Ab_1]_T\beta \\ & & \ddots & \\ -2k_{a1n}[Ab_n]_T\beta & -2k_{a1n}[Ab_n]_T\beta & \dots & -2k_{a1n}[Ab_n]_T\beta + 2k_{dn} \end{pmatrix}.$$

5. Numerikus szimulációk

Ebben az fejezetben numerikus szimulációkkal illusztrálom az előző fejezetekben leírtakat a Matlab szoftver segítségével. Munkám során végig Gustaf Söderlind professzor (Lundi Egyetem) differenciálegyenlet megoldó *ode23sdc12* programját használom a Matlab beépített megoldóprogramja helyett. Konzulensem keresztül a programkódot közvetlenül a professzortól kaptam tudományos kutatás céljából és Fedorszki Ádám segített a használatában, megértésében. A MatLab beépített *ode23s* függvényével szemben az *ode23sdc12* program számos kiegészítő programot tartalmaz. Többek között azzal is gazdagabb, hogy egy adott differenciálegyenletre meghatározza a megoldás során használandó megfelelő lépésközt, amelyet később a programban paraméterként tudunk rögzíteni a szimulálás előtt. Így pontosabb numerikus megoldásokat kaphattunk, mivel merev differenciálegyenleteket szeretünk volna megoldani, melyek megoldásának pontosságát nagyban meghatározza az alkalmas lépésköz. A szimulációkban számolt egyensúlyi pontokhoz is a MatLab szoftvert használtam.

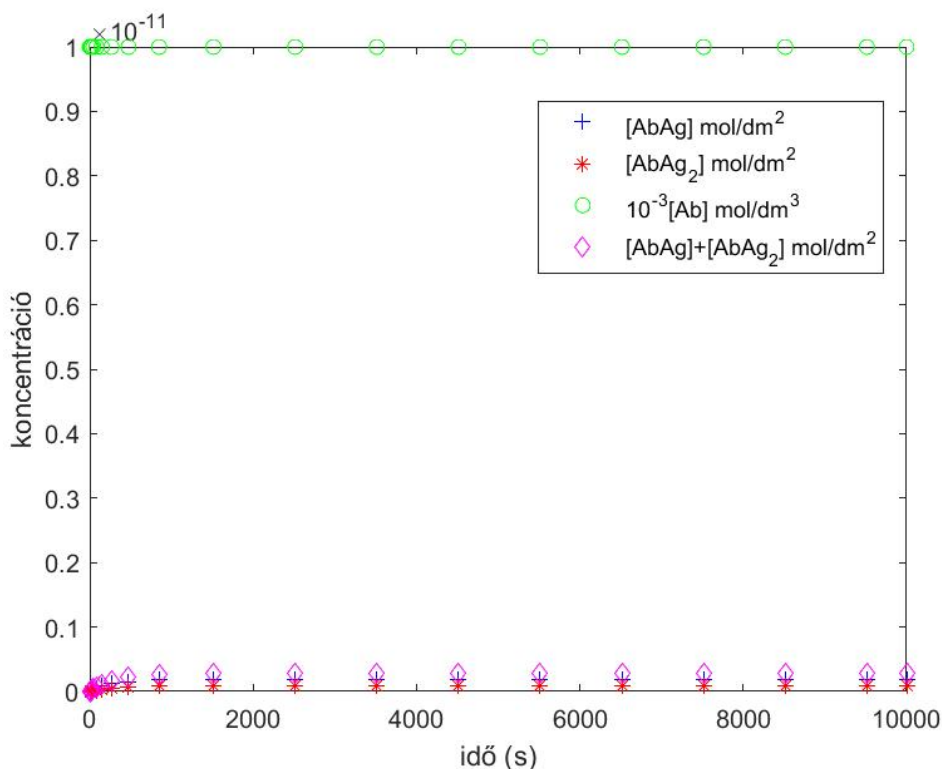
5.1. Numerikus szimulációk monoklonális oldat esetén

A szimulációkkal az immunkomplexek képződésének dinamikáját mutatom be. A szimulációkban használt $M = \text{mol}/\text{dm}^3$ a térfelti koncentráció mértékegysége, neve molaritás.

1. Szimuláció. *Az első szimulációban azt az általános monoklonális esetet vizsgálom, ahol egyáltalán nem vesszük figyelembe a takaróhatást. Ekkor a (3.1) a szimulált differenciálegyenletrendszer, a felszín és térfogat adat a szilárd fázisú ELISÁ-ban használatos.*

Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)	k_{a1} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{a2} (M ⁻¹ s ⁻¹ dm ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	A (dm ²)	V (dm ³)
1	10 ⁻⁸	10 ⁻¹¹	5 · 10 ³	0,5 · 10 ⁹	5 · 10 ⁻³	1,96 · 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴

5.1.1. táblázat. Az 1. Szimuláció paraméterei



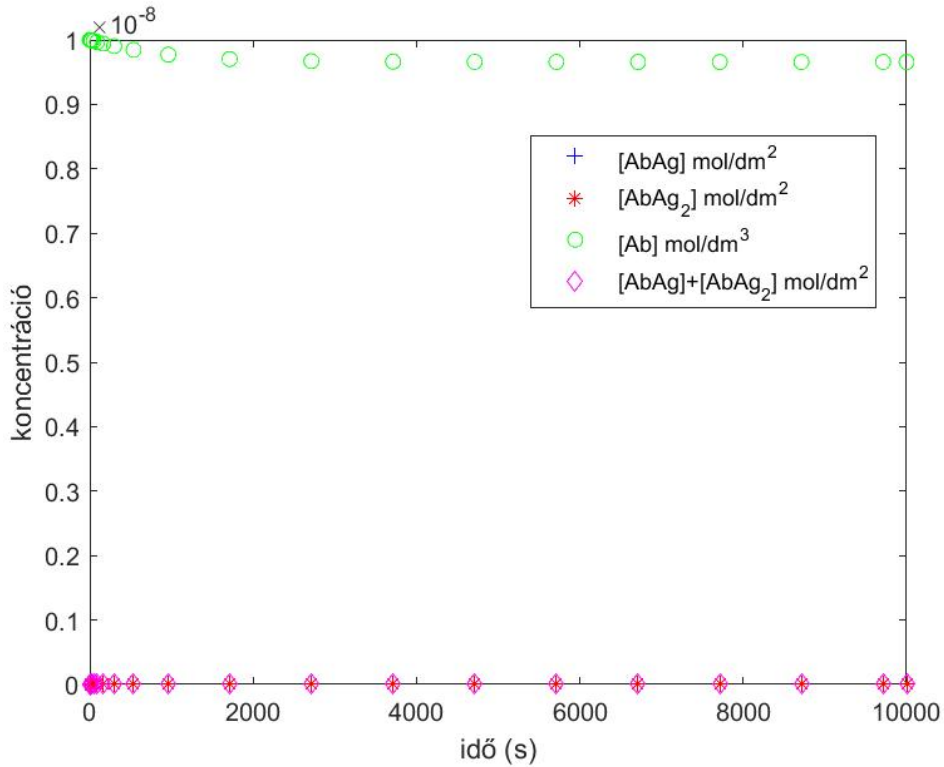
5.1.1. ábra. A komplexek és az antitestek koncentrációja az idő függvényében az 1. Szimulációban

Már az adatokon is látjuk, hogy a reakcióban résztvevő antigének mólszáma nagyságrendekkel kevesebb, mint a rendelkezésre álló antitest. Ha minden antigénhez kötődne antitest, akkor sem változna számottevően $[Ab]$, éppen ezért tűnik konstansnak. Ezt demonstrálja az 5.1.1 ábránk.

2. Szimuláció. A második szimulációban azonos nagyságrendű antigén is antitest molekulaszámmal dolgoztam, hogy $[Ab]$ változása jól látható legyen.

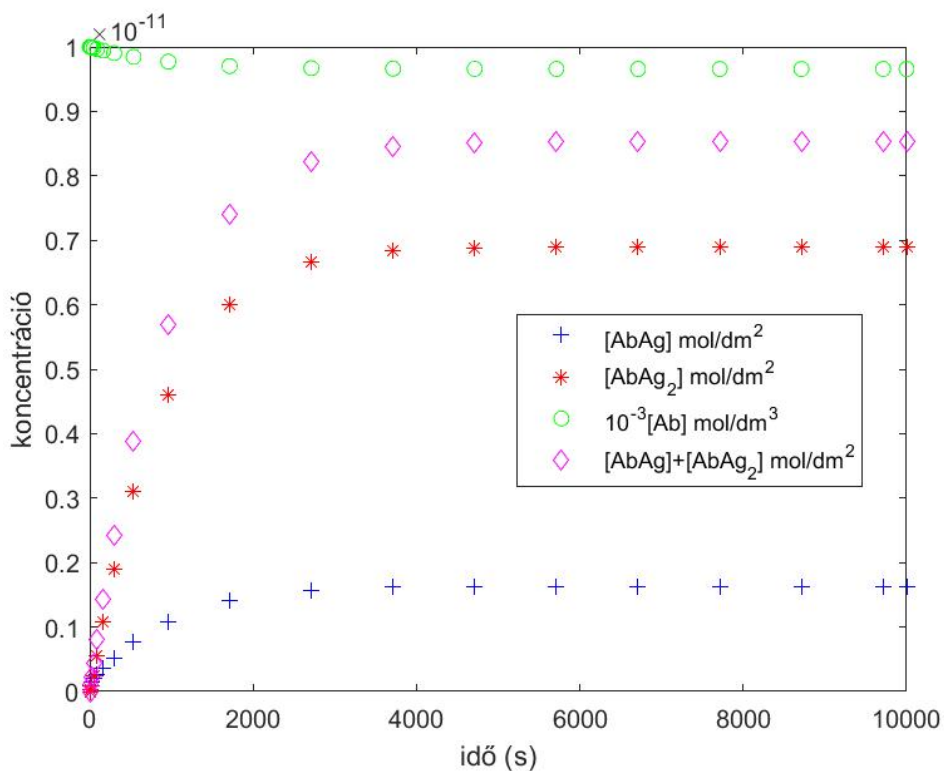
Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)	k_{a1} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{a2} (M ⁻¹ s ⁻¹ dm ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	A (dm ²)	V (dm ³)
1	10 ⁻⁸	10 ⁻¹⁰	5 · 10 ³	0,5 · 10 ⁹	5 · 10 ⁻³	4 · 10 ⁻³	10 ⁻⁴

5.1.2. táblázat. Az 2. Szimuláció paraméterei



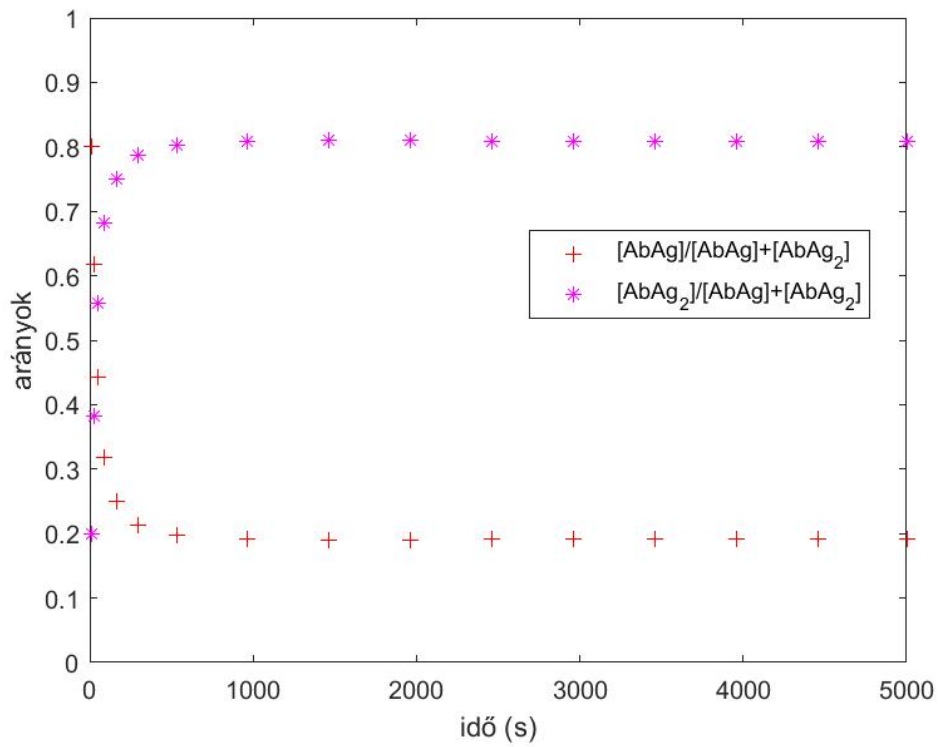
5.2.1. ábra. A komplexek és az antitestek koncentrációja az idő függvényében a 2. Szimulációban

Az 5.2.1. ábrán már szemmel látható $[Ab]$ csökkenése. Körülbelül $[Ab]$ -nek a 3%-a kerül kötött állapotba. A komplexek koncentrációja mol/dm²-ben nagyságrendekkel kisebb, mint a szabad antitestek koncentrációja M-ben, ezért az előbbit az ábrán közelítőleg nullának látjuk.

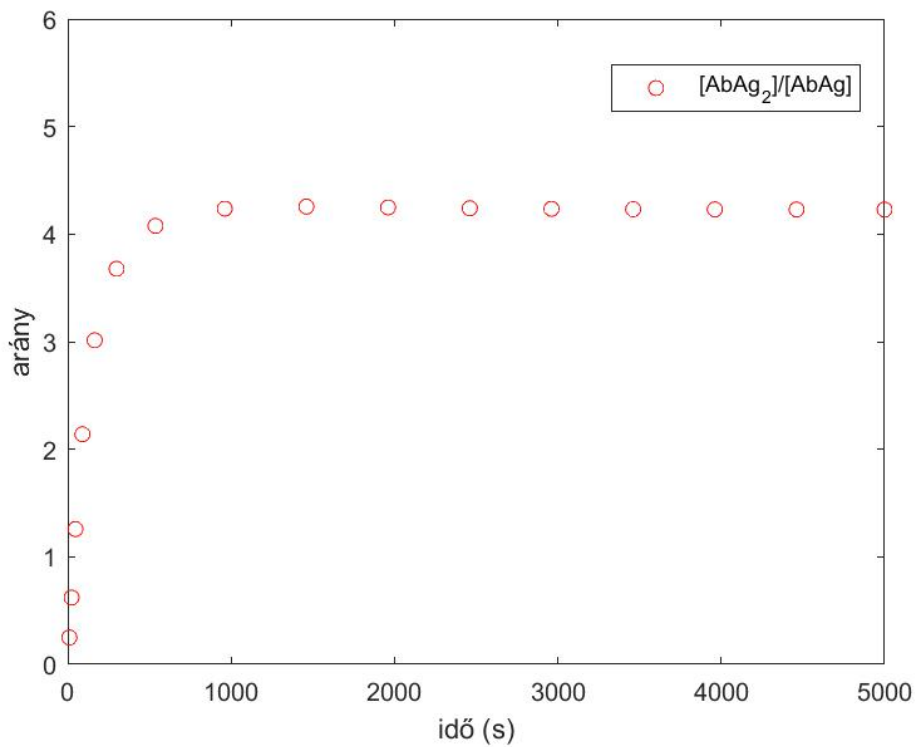


5.2.2. ábra. A komplexek és az antitestek koncentrációja az idő függvényében a 2. Szimulációban, egységes nagyságrendben

5.2.2. ábrán egységessé tettem az antitestek és a komplexek nagyságrendjét. Látjuk, hogy körülbelül kétszer annyi lesz az egyszeresen kötött, mint a kétszeresen kötött antitest. Az ábráról leolvashatjuk, hogy a két egyensúlyi érték $[AbAg] \approx 1,63 \cdot 10^{-12} \text{ mol/dm}^2$, illetve $[AbAg_2] \approx 6,91 \cdot 10^{-12} \text{ mol/dm}^2$.



5.2.3. ábra. A komplexek koncentrációjának az összes komplex koncentrációjához viszonyított aránya a 2. Szimulációban



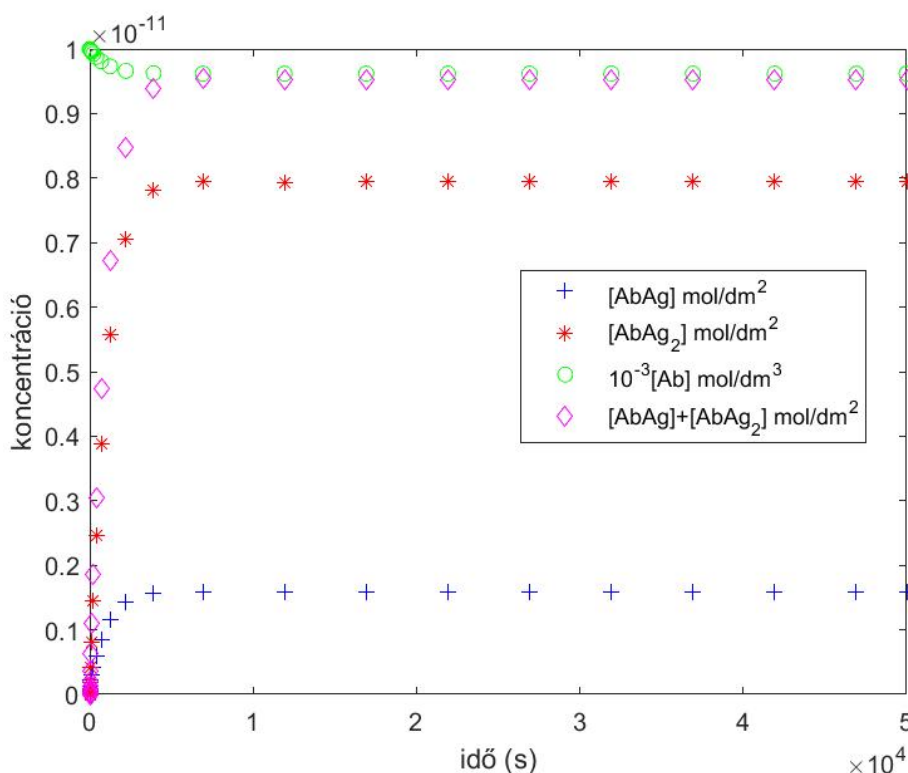
5.2.4. ábra. A komplexek egymáshoz viszonyított aránya a 2. Szimulációban

Az 5.2.3. és az 5.2.4. ábrákon is láthatjuk, illetve az egyensúlyi pontokból kiszámolhatjuk, hogy 4,22-szor annyi lesz a kétszeresen kötött antitestek koncentrációja, mint az egyszeresen kötötteké.

3. Szimuláció. Ebben a szimulációban a [4] alapján módosított, részlegesen figyelembe vett takaróhatással felírt (3.8) differenciálegyenlet-rendszert szimulálom. Ehhez a 2. Szimuláció adatait használom.

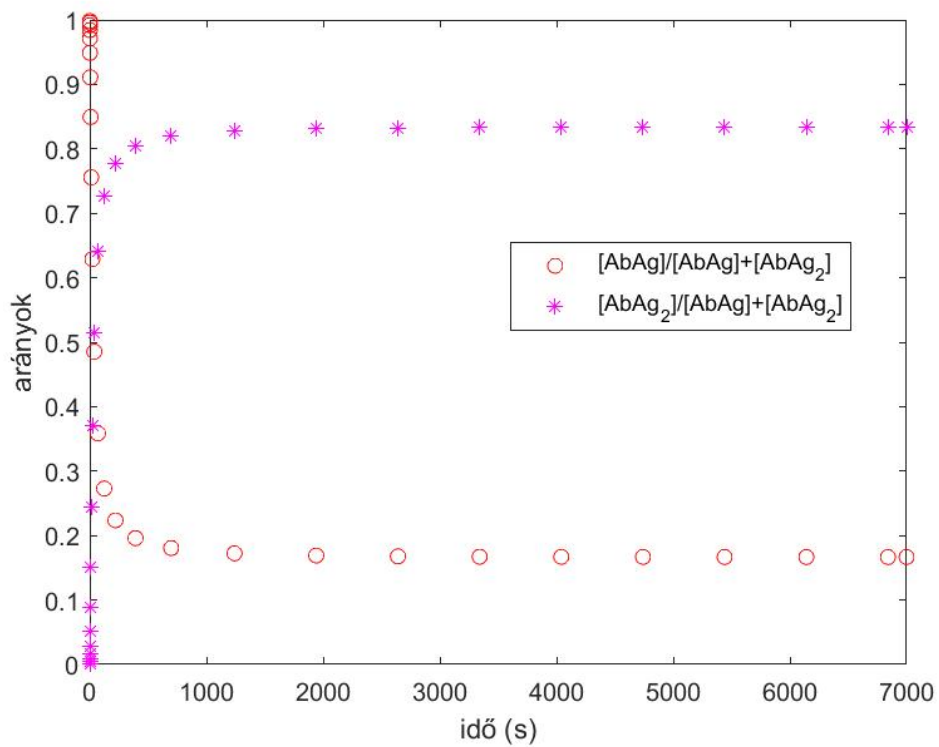
Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)	k_{a1} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{a2} (M ⁻¹ s ⁻¹ dm ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	A (dm ²)	V (dm ³)
1	10 ⁻⁸	10 ⁻¹⁰	5 · 10 ³	0,5 · 10 ⁹	5 · 10 ⁻³	4 · 10 ⁻³	10 ⁻⁴

5.1.3. táblázat. Az 3. Szimuláció paraméterei

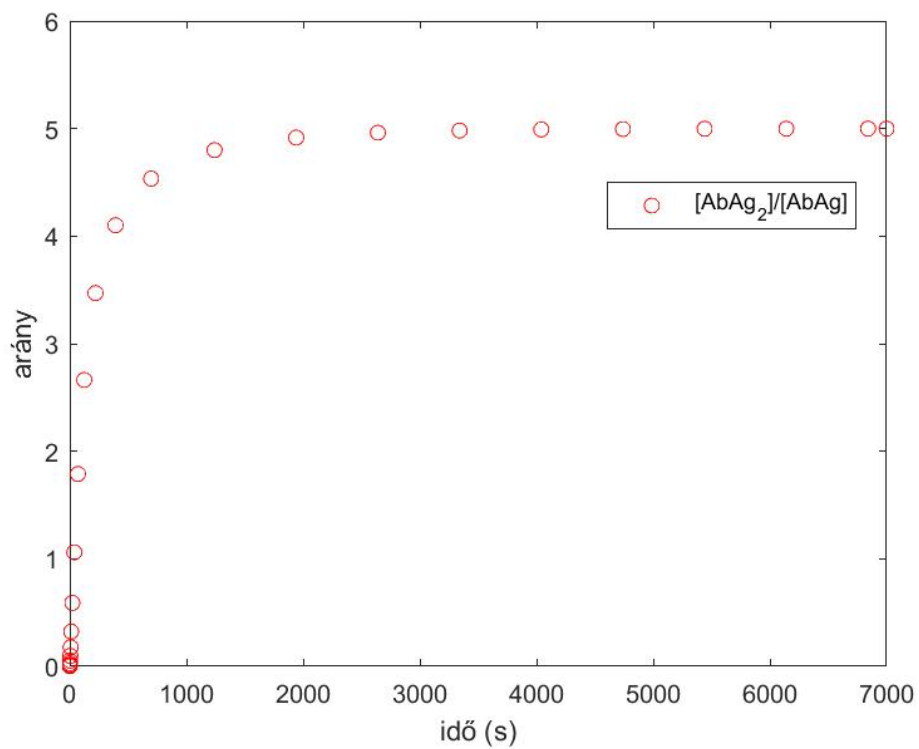


5.3.1. ábra. A komplexek és az antitestek koncentrációja az idő függvényében a 3. Szimulációban, egységes nagyságrendben

Az 5.3.1. ábrán jól látjuk a komplexek és az antitestek koncentrációváltozását is. Ebben az esetben is a kétszeresen kötött antitestek lesznek jelen nagyobb részben, körülbeül 80%-ban. Az immunkomplexek határértéke a (3.13)-as másodfokú egyenlet immunológiailag értelmes megoldása. A számítás által adott értékeket közelítik az ábrán látható komplexek koncentrációi, amikor $t \rightarrow \infty$. Az egyensúlyi értékek $[AbAg] \approx 1,59 \cdot 10^{-12}$ mol/dm² és $[AbAg_2] \approx 7,94 \cdot 10^{-12}$ mol/dm².



5.3.2. ábra. A komplexek koncentrációjának az összes komplex koncentrációjához viszonyított aránya a 3. Szimulációban



5.3.3. ábra. A komplexek egymáshoz viszonyított aránya a 3. Szimulációban

Ebben az esetben egyensúlyi helyzetben 4,99 lesz a kétszeresen és az egyszeresen kötött antitestek aránya, amelyet az 5.3.2. és 5.3.3. ábrákon is láthatunk.

Egyensúlyi helyzetben	2. Szimuláció	3. Szimuláció
$[AbAg](\text{mol}/\text{dm}^2)$	$1,63 \cdot 10^{-12}$	$1,59 \cdot 10^{-12}$
$[AbAg_2](\text{mol}/\text{dm}^2)$	$6,91 \cdot 10^{-12}$	$7,94 \cdot 10^{-12}$
$[AbAg_2]/[AbAg]$	4,24	4,99

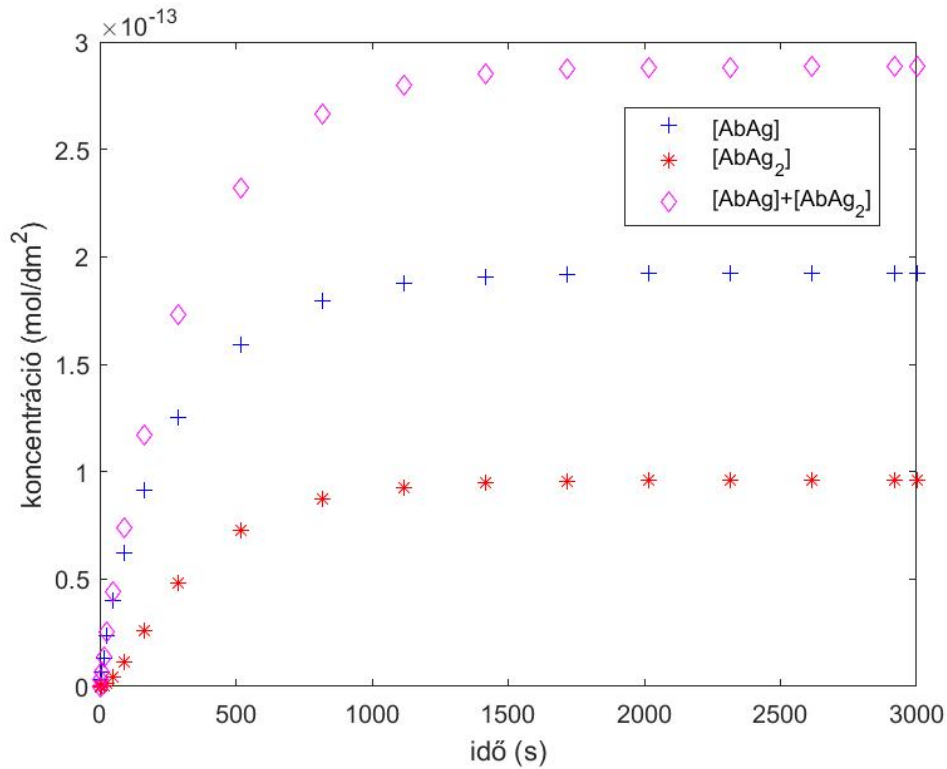
5.1.4. táblázat. A 2. és a 3. Szimuláció egyensúlyi helyzeteinek összehasonlítása

Az 5.1.4. táblázatban összehasonlítva a 2. és 3. Szimulációt látjuk, hogy a részlegesen figyelembe vett takaróhatással számolt modellben, ezekkel az adatokkal, valamennyivel nagyobb lesz a kétszeresen kötött antitestek aránya. Ez reálisnak is tűnik, ugyanis itt a kétszeres komplexek kialakulását leíró reakciósebességi tagban $[Ag]$ helyébe a nála nagyobb $[Ag]_T$ került.

4. Szimuláció. Ebben a szimulációban áttértek az ELISA reakció vizsgálatára. Ekkor azt feltételezzük, hogy a kezdeti antitestek száma nagyságrendekkel több, mint a kezdeti antigének száma. Ehhez a (3.17) differenciálegyenlet-rendszert szimuláljuk. A szimulációban felhasznált adatok a következők:

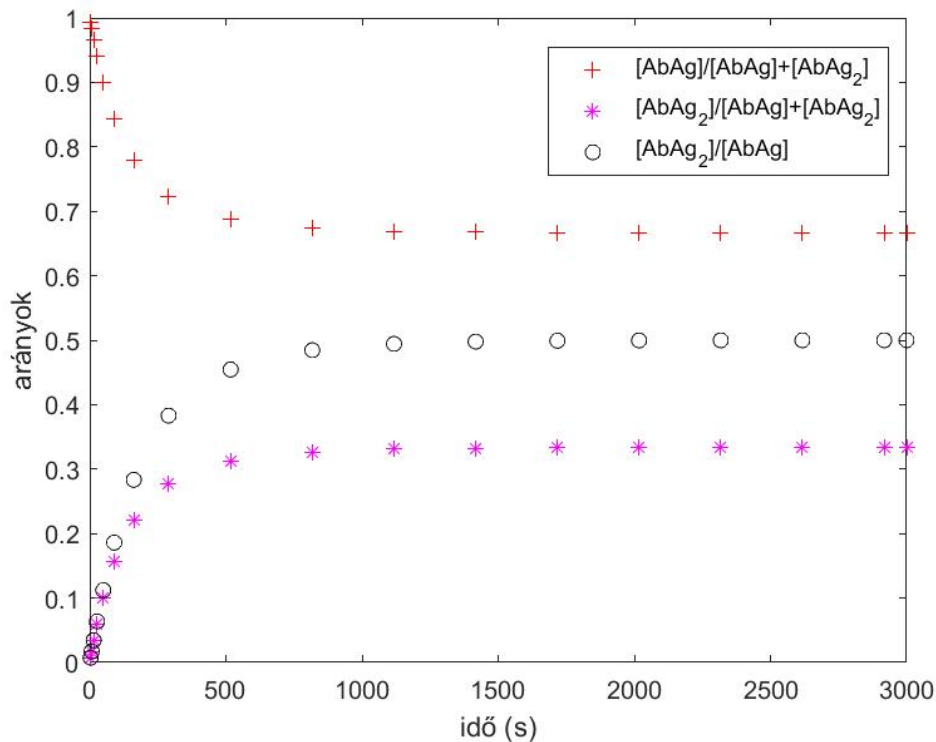
Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)	k_{a1} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{a2} (M ⁻¹ s ⁻¹ dm ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)
1	10^{-8}	10^{-11}	$5 \cdot 10^3$	$0,5 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^{-3}$

5.1.5. táblázat. A 4. Szimuláció paraméterei



5.4.1. ábra. A komplexek koncentrációja az idő függvényében a 4. Szimulációban

5.4.1. ábrán látható az immunkomplexek képződésének dinamikája monoklonális oldat esetén, ELISA reakciót feltételezve. Az immunkomplexek határértéke a (3.18)-as egyenlet egyensúlyi pontja. A (3.21) egyensúlyi pont számítás által adott értékeket közelítik az ábrán látható komplexek koncentrációi, amikor $t \rightarrow \infty$. Az egyensúlyi pontok $[AbAg] \approx 1,92 \cdot 10^{-13}$ mol/dm², illetve $[AbAg_2] \approx 9,61 \cdot 10^{-14}$ mol/dm². A 4. szimulációban láthatjuk, hogy valóban ezekhez az értékekhez tartanak a koncentrációk. Az határértékek 98%-át körülbelül 23 perc alatt érik el.

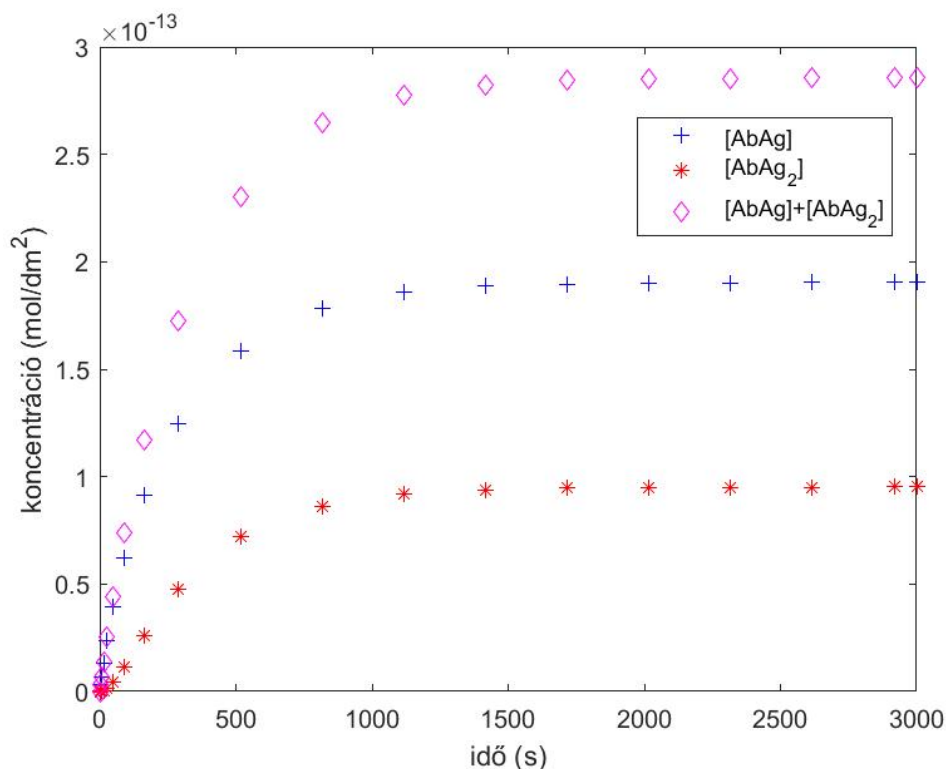


5.4.2. ábra. A komplexek koncentrációjának egymáshoz és az összes komplex koncentrációjához viszonyított aránya a 4. Szimulációban

5. Szimuláció. Ebben a szimulációban azt a monoklonális esetet vizsgálom meg, mikor ELISA reakciót feltételezünk, és számolunk a komplexek takaró hatásával. Ekkor egy egyszeresen kötött antitest által kitakart területet a következőképpen számolhatjuk. A [4]-es forrás alapján az antitest Fab-régióinak hossza 6 – 7 nm között mozog. A szimulációim alatt a számtani középkel, 6,5 nm-rel számoltam. Teljes rugalmasságot feltételezve legnyitottabb állapotban a karok 135°-os szöveget zárnak be. Ekkor a háromszögből a szinusz tételt használva meghatározható az általuk kitakart körfelület 12 nm hosszú sugara. Átváltva az értékeket dm^2 -be, egy egyszeresen kötött antitest által kitakart felület $S = 1,44\pi 10^{-14} \approx 4,52 \cdot 10^{-14} \text{ dm}^2$. Feltételezzük, hogy egy kétszeresen kötött antitest $2S$ felületet takar el. Ekkor (3.23) a szimulált differenciálegyenlet-rendszer.

Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)	k_{a1} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{a2} (M ⁻¹ s ⁻¹ dm ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	S (dm ²)
1	10^{-8}	10^{-11}	$5 \cdot 10^3$	$0,5 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^{-3}$	$4,52 \cdot 10^{-14}$

5.1.6. táblázat. Az 5. Szimuláció paraméterei



5.5.1. ábra. A komplexek koncentrációja az idő függvényében az 5. Szimulációban

Az 5.5.1. ábrán láthatjuk, hogy komplexek a megszokott módon monoton növekedéssel tartanak a (3.25)-ben számolt egyensúlyi értékhez, $[AbAg] \approx 1,90 \cdot 10^{-13}$ mol/dm² és $[AbAg_2] \approx 9,52 \cdot 10^{-14}$ mol/dm².

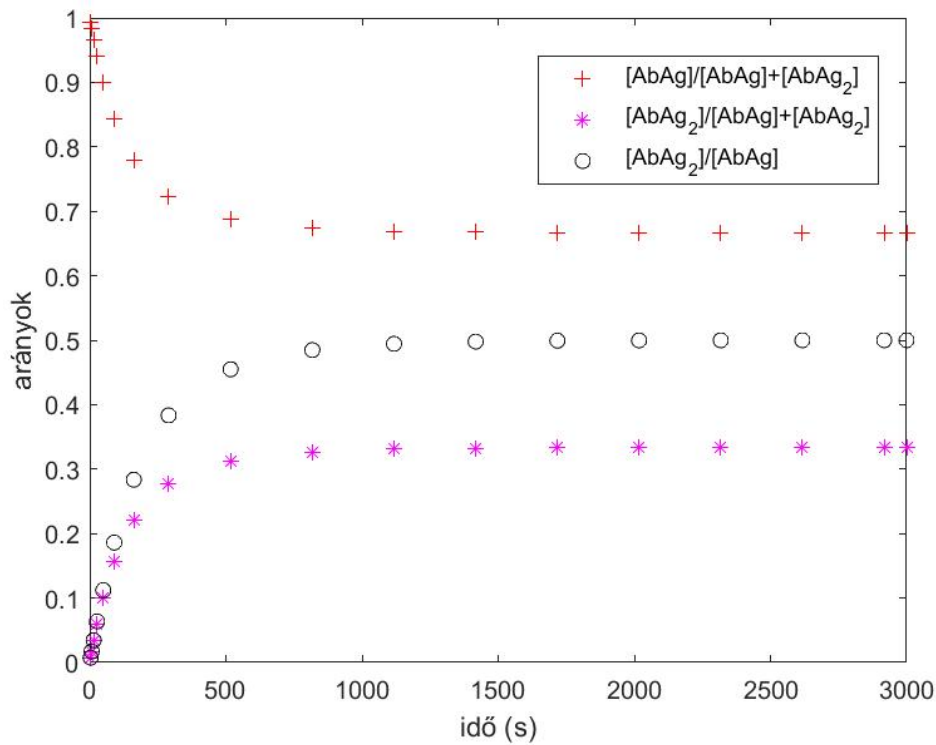
Egyensúlyi helyzetben	Részlegesen figyelembe vett takaróhatás	Teljesen figyelembe vett takaróhatás
$[AbAg]$ (mol/dm ²)	$1,9231 \cdot 10^{-13}$	$1,9032 \cdot 10^{-13}$
$[AbAg_2]$ (mol/dm ²)	$9,6155 \cdot 10^{-14}$	$9,5161 \cdot 10^{-14}$
$[AbAg_2]/[AbAg]$	0,5	0,5

5.1.7. táblázat. Takaróhatás figyelembevételében különböző ELISA modellek egyensúlyi helyzeteinek összehasonlítása

Látjuk, hogy a teljesen és a részlegesen figyelembe vett takaróhatással számolt ELISA esetén az egyszeresen a kétszeresen kötött antitestek aránya mindkét esetben $1/2$, mert mindkét modell egyensúlyi egyenletrendszerének második egyenlete szerint

$$\frac{[AbAg_2]}{[AbAg]} = \frac{k_{a2}}{2k_d} \cdot [Ag]_T = \frac{1}{2}.$$

A szimuláció adatai mellett jó közelítés csak részlegesen számolni a takaróhatással.



5.5.2. ábra. A komplexek koncentrációjának egymáshoz és az összes komplex koncentrációjához viszonyított aránya az 5. Szimulációban

5.2. Numerikus szimulációk poliklonális oldat esetén

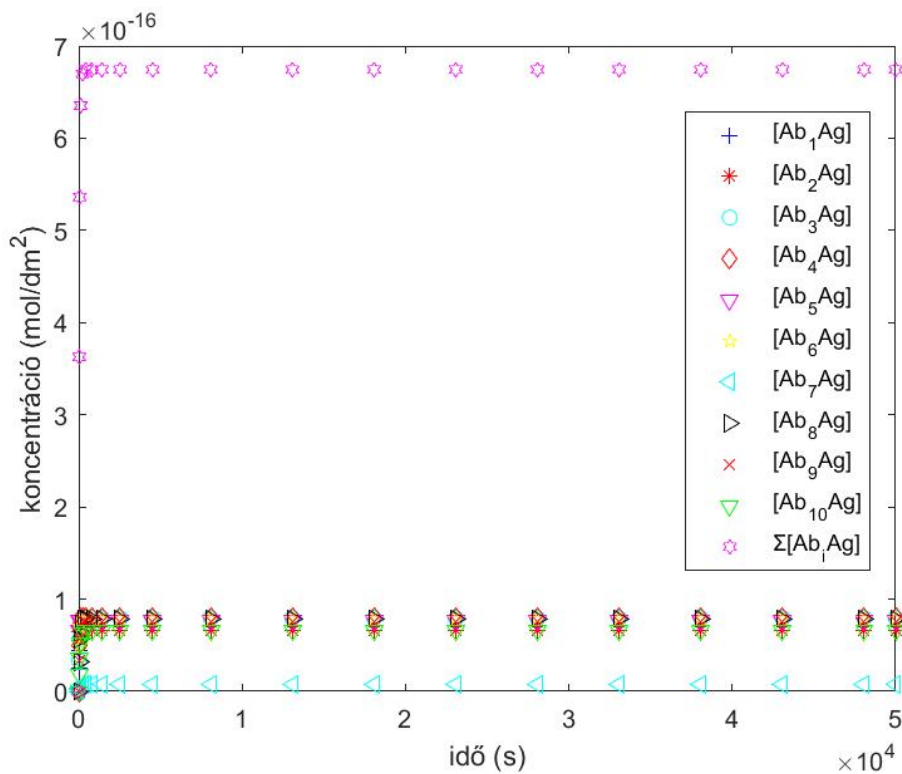
Ebben a fejezetben szimulálom az immunrendszert 10 specifikus klón esetén. A (2.4)-ben definiált K_D értékek természetes alapú logaritmus (azaz $\ln(K_D)$) legyen $\ln(2,5 \cdot 10^{-5})$ várható értékű és 0,2 szórású normális eloszlású. A különböző klónok esetén egy Fab-régió és egy antigén asszociációjának reakciósebességi állandójának a természetes alapú logaritmus (azaz $\ln(k_{a1i})$) kerüljön ki egyenletes eloszlásból és véletlenszerűen vegyen fel értéket a $[0,8 \cdot \ln(10^3); 1,2 \cdot \ln(10^3)]$ intervallumból.

Minden klón esetén Ab_iAg és Ag asszociációs reakciósebességi állandója (k_{a2i}) legyen az [5]-beli mérési eredmény alapján a következő aránnyal számítva: $\frac{k_{a2i}}{k_{a1i}} = 2 \cdot 10^5$ 1/dm. Az $[Ab_i]_T$ minden esetben K_{Di} -vel arányos, a következő összefüggéssel leírva: $[Ab_i]_T = 4 \cdot 10^{-5} \cdot K_{Di} \cdot c_i$, ahol c_i véletlenszerűen vesz fel értéket a $[0,8; 1]$ intervallumból. Legyen $[Ag]_T = 10^{-12}$ mol/dm². Ezen feltételek mentén véletlenszerűen generált értékek az alábbi táblázatban láthatók.

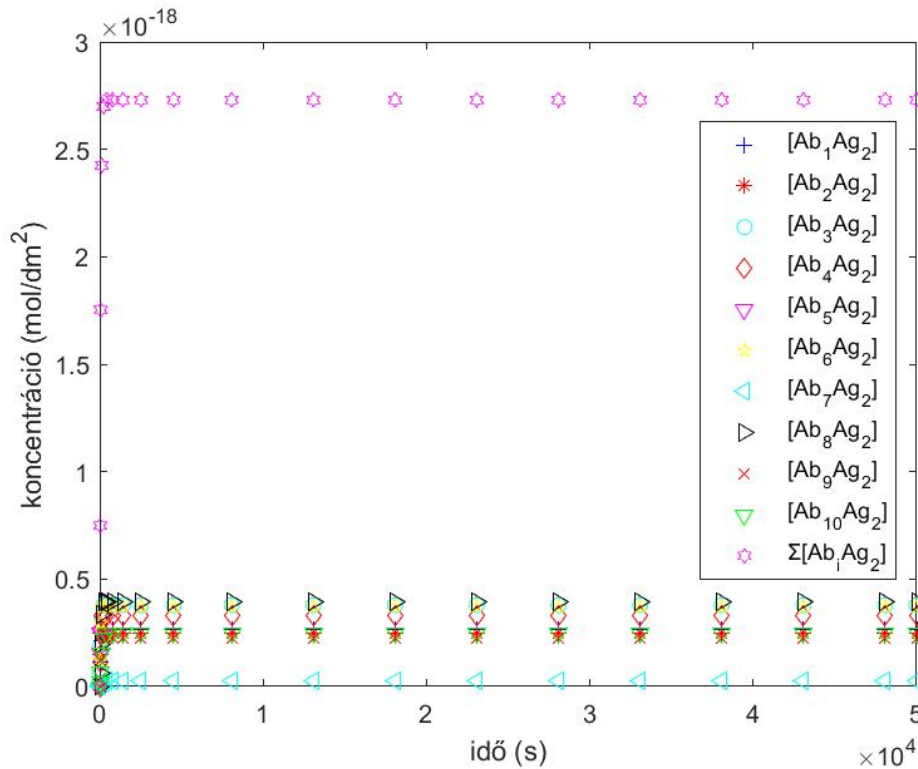
Klónok	$[Ab_i]_T$ (M)	$[K_{Di}]$ (M)	k_{a1i} ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{a21} ($M^{-1}s^{-1}dm^{-1}$)	k_{di} (s^{-1})
Ab_1	$8,0869 \cdot 10^{-10}$	$2,4494 \cdot 10^{-5}$	$7,2089 \cdot 10^2$	$1,4417 \cdot 10^8$	$1,77 \cdot 10^{-2}$
Ab_2	$8,7352 \cdot 10^{-10}$	$2,6648 \cdot 10^{-5}$	$2,2607 \cdot 10^3$	$4,5214 \cdot 10^8$	$6,02 \cdot 10^{-2}$
Ab_3	$8,3401 \cdot 10^{-10}$	$2,1029 \cdot 10^{-5}$	$9,7211 \cdot 10^2$	$1,9442 \cdot 10^8$	$2,04 \cdot 10^{-2}$
Ab_4	$9,6185 \cdot 10^{-10}$	$2,4189 \cdot 10^{-5}$	$1,4982 \cdot 10^3$	$2,9964 \cdot 10^8$	$3,62 \cdot 10^{-2}$
Ab_5	$1,1947 \cdot 10^{-9}$	$3,1110 \cdot 10^{-5}$	$2,0213 \cdot 10^3$	$4,0426 \cdot 10^8$	$6,29 \cdot 10^{-2}$
Ab_6	$8,2714 \cdot 10^{-10}$	$2,1034 \cdot 10^{-5}$	$1,6430 \cdot 10^3$	$3,2860 \cdot 10^8$	$3,46 \cdot 10^{-2}$
Ab_7	$1,0499 \cdot 10^{-10}$	$2,8191 \cdot 10^{-5}$	$3,9367 \cdot 10^2$	$7,8734 \cdot 10^7$	$1,11 \cdot 10^{-2}$
Ab_8	$7,8979 \cdot 10^{-10}$	$2,0009 \cdot 10^{-5}$	$9,9549 \cdot 10^2$	$1,9909 \cdot 10^8$	$1,99 \cdot 10^{-2}$
Ab_9	$1,2888 \cdot 10^{-9}$	$3,3967 \cdot 10^{-5}$	$6,4337 \cdot 10^2$	$1,2867 \cdot 10^8$	$2,19 \cdot 10^{-2}$
Ab_{10}	$8,9854 \cdot 10^{-10}$	$2,6928 \cdot 10^{-5}$	$4,6620 \cdot 10^2$	$9,3240 \cdot 10^7$	$1,26 \cdot 10^{-2}$

5.2.1. táblázat. A különböző klónok paramétereit

6. Szimuláció. Ebben a szimulációban 10 klón esetén vizsgálom a reakciókat részlegesen figyelembe véve a takaróhatást, ELISA immunesszében. A klónok adatait az 5.2.1. táblázat tartalmazza. A szimulált differenciálegyenlet-rendszer a (4.2), ahol $n = 10$, illetve $[Ag]_T = 10^{-12} \text{ mol/dm}^2$.

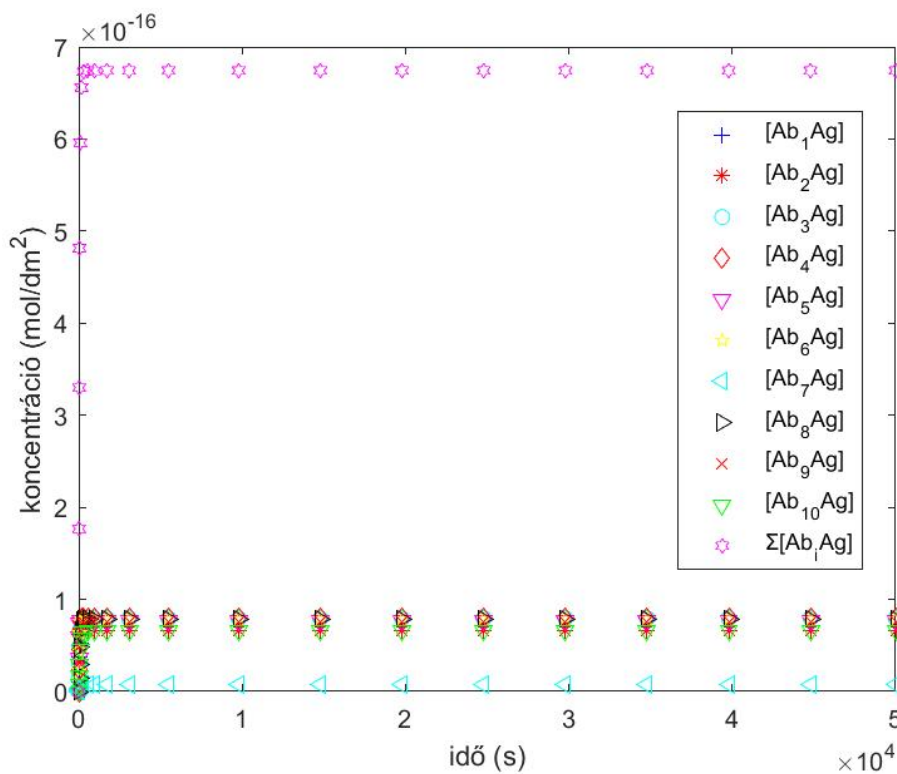


5.6.1. ábra. Az egyszerűen kötött antitestek koncentrációváltozása az idő függvényében a 6. Szimulációban

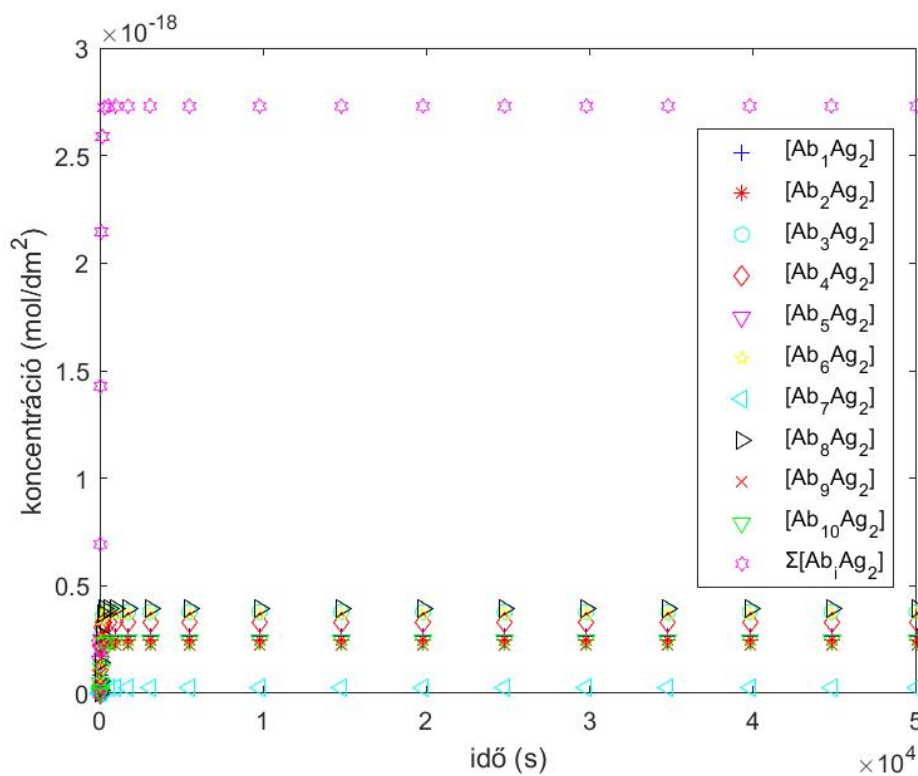


5.6.2.ábra. A kétszeresen kötött antitestek koncentrációváltozása az idő függvényében a 6. Szimulációban

7. Szimuláció. Ebben a szimulációban komplexek takaróhatását teljesen figyelembe vesszük. A szimulált differenciálegyenlet-rendszer a (4.3), $n = 10$ esetén. Ekkor továbbra is a 5.2.1. táblázat adatait használjuk, kiegészítve azzal, hogy egy kikötődött antitest által kitakart felület hasonlóan a monoklonális esethez $S = 4,52 \cdot 10^{-14} \text{ dm}^2$, illetve $[Ag]_T = 10^{-12} \text{ mol/dm}^2$ -rel számolva, $\rho = 2$ esetén $\alpha = 1,0271$ és $\beta = 2,0542$.



5.7.1.ábra. Az egyszeresen kötött antitestek koncentrációváltozása az idő függvényében a 7. Szimulációban



5.7.1.ábra. A kétszeresen kötött antitestek koncentrációváltozása az idő függvényében a 7. Szimulációban

A részlegesen figyelembe vett takaróhatással számolt modell a teljesen figyelembe vett takaróhatással számolt modellnek egy olyan speciális esete, ahol $\alpha = 1$ és $\beta = 2$. Látjuk, hogy kis $[Ag]_T$ esetén a 7. Szimulációban α és β alig több, mint a 6. Szimulációbeli $\alpha = 1$ és $\beta = 2$. Az ábrákon is azt tapasztaljuk, hogy szinte nincs eltérés a két eset között. Ez is megerősíti azt, hogy kis $[Ag]_T$ esetén reális csak részlegesen figyelembe venni a takaróhatást.

Összefoglalás

A szakdolgozatomban összesen 6 modellen keresztül vizsgáltam a bivalens kötődést antigén-antitest reakciókban.

Ezek között hangsúlyosabbak voltak a monoklonális reakciók, itt bonyolultabb modellekkel kezdtem a vizsgálatot, majd lépésenként egyszerűsítettem, így immunológiailag még reális, de könnyebben kezelhető modellekre jutottam. Bár ebben a szakdolgozatomban a poliklonális reakciókat csak felvázoltam, szükséges ezeket is megérteni, ugyanis az immunrendszerünkben ez a gyakoribb jelenség.

A vizsgált példákban azt tapasztaltuk, hogy egy modell bonyolítása, hiába volt indokolt biológiai szempontból, a pontosságon nagy mértékben nem javított, cserébe a számolási folyamatot hosszadalmassá és körülményessé tette. Egyes modelleken alkalmaztuk az ELISA feltételeit, miszerint állandónak tekintettük azokat a változókat, amelyek változása eltörpült a többi résztvevő módosulása mellett. Ezeken a modelleken keresztül mi is tapasztaltuk, hogy reális és célszerű az ilyen megközelítése egyes problémáknak.

Láthattuk, hogy ezen a téren is szükség van matematikai szemléletre, illetve a számítógépes szimulációkra. Ezek segítségével könnyebb prognosztizálni a lejátszódó reakciókat.

Irodalomjegyzék

- [1] Juhos Eszter, *Kompartment-modell alkalmazása antigén-antitest reakciók vizsgálatára*, szakdolgozat, ELTE TTK, Budapest, 2019.
- [2] Herbály Blanka Anna, *Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata*, szakdolgozat, ELTE TTK, Budapest, 2020.
- [3] Fedorszki Ádám, *Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA immunesszében*, szakdolgozat, ELTE TTK, Budapest, 2021.
- [4] Cristiano De Michele, Paolo De Los Rios, Giuseppe Foffi, Francesco Piazza, *Simulation and Theory of Antibody Binding to Crowded Antigen-Covered Surfaces*, PLoS Computational Biology 12(3): e1004752. doi:10.1371/journal.pcbi.1004752, 2016.
- [5] Tinglu Yang, Olga K. Baryshnikova, Hanbin Mao, Matthew A. Holden, Paul S. Cremer, *Investigations of Bivalent Antibody Binding on Fluid-Supported Phospholipid Membranes: The Effect of Hapten Density*, Journal of the American Chemical Society, 2003.
- [6] J. David Beatty, Barbara G. Beatty, William G. Vlahos and L. Robert Hill, *Method of analysis of non-competitive enzyme immunoassays for antibody quantification*, Journal of Immunological Methods, 100 (1987) 161-172.
- [7] Erdei Anna, Sármay Gabriella, Prechl József *Immunológia*, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2012.
- [8] Pfeil Tamás, *Differenciálegyenletek*, kézirat, Budapest 2021.
- [9] Pfeil Tamás, *Antigén-antitest reakció bivalensen is kötődő antitestek és felszínhez kötött antigén esetén az antitestek takaró hatásának figyelembevételével*, kézirat, Budapest 2022.
- [10] Laczkovics Miklós, T. Sós Vera, *Analízis I-II.*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2006-2007.
- [11] Gustaf Söderlind, *Automatic control and adaptive time-stepping*, Numerical Algorithms 31 (1-4), 281-310, 2002.
- [12] Gustaf Söderlind, *Digital filters in adaptive time-stepping*, ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS) 29 (1), 1-26, 2003.
- [13] Gustaf Söderlind, Laurent Jay, Manuel Calvo: *Stiffness 1952-2012: Sixty years in search of a definition*, BIT Numerical Mathematics 55, 531-558, 2015.
- [14] Derényi Imre, *A biofizika alapjai*, ELTE TTK, Budapest, 2013.
http://derenyi.web.elte.hu/A_biofizika_alapjai.pdf

[15] *ELISA*

<https://www.abcam.com/kits/elisa-principle>

[16] *ELISA ábra* (angolul),

<https://microbenotes.com/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa/>

[17] *Immunrendszer*,

<https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunrendszer>