



Az összes komplex egyensúlyi koncentrációjának függése a teljes antigén-koncentrációtól és az adott arányú telítődés ideje antigén-antitest reakciókban

BSc szakdolgozat

Készítette: Lotz Gergő

Matematika BSc, Matematikai elemző szakirány

Témavezető: Pfeil Tamás

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar
Alkalmazott Analízis és Számításmatematikai Tanszék

Budapest, 2023.

NYILATKOZAT

Név: Lotz Gergő

ELTE Természettudományi Kar, szak: Matematika BSc

NEPTUN azonosító: F5A0KW

Szakedolgozat címe:

Az összes komplex egyensúlyi koncentrációjának függése a teljes antigén-koncentrációtól és az adott arányú telítődés ideje 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, 2023.06.07.



a hallgató aláírása

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Pfeil Tamásnak, a belém fektetett idejéért és a sok segítségéért, amivel lehetővé tette a szakdolgozatom létrejöttét.

Továbbá szeretném megköszönni Gustaf Söderlind professzornak, hogy az általa készített matlab-programot használhattam.

Végül szeretném megköszönni a családomnak, hogy mindig támogattak a tanulmányaim során.

Tartalomjegyzék

Bevezetés	5
1. Matematikai előismeretek	6
1.1. Lineáris algebra	6
1.2. Differenciálszámítás	6
1.3. Differenciálegyenletek	8
2. Biológiai előismeretek	11
2.1. Immunológiai áttekintés	11
2.2. Reakciókinetikai ismeretek	12
2.3. ELISA	13
3. A modell felállítása	16
3.1. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete monoklonális oldattal	16
3.2. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete poliklonális oldattal	17
3.3. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete poliklonális oldattal és az antitestek takaró hatásával	19
3.4. Adott arányú telítődés ideje monoklonális oldat esetén	20
4. Numerikus szimulációk	22
Irodalomjegyzék	31

Bevezetés

A matematika azért nagyon érdekes, mert számos másik tudományban felhasználható, mint például a biológiában. Az immunológiában sok olyan folyamat van, amelyet matematikai modellek segítségével tudunk leírni, majd vizsgálni, hogy ezáltal a valóságot minél pontosabban közelítsük. Ilyen folyamatok például a szakdolgozatomban részletezett monoklonális és poliklonális antigén-antitest reakciók, amelyben az összes komplex egyensúlyi koncentrációjának függését vizsgálom a teljes antigén-koncentrációtól, valamint az adott arányú telítődés idejét az oldat hígításának logaritmus függvényében. Az első fejezetben a differenciálegyenletek és egyenletrendszerek megértéséhez, illetve azoknak a vizsgálatához szükséges matematikai alapfogalmakat, definíciókat és tételeket gyűjtöm össze. A második fejezetben a dolgozat megértéséhez elengedhetetlen immunbiokémiai ismereteket mutatom be. A harmadik fejezetben a monoklonális és poliklonális oldat antigén-antitest reakciója során megvizsgálom az összes komplex egyensúlyi koncentrációját a teljes antigén-koncentráció függvényében, továbbá az adott arányú telítődés idejét, mint az oldat hígítása logaritmusának függvényét kinyomtatott antigén esetén. A negyedik fejezetben pedig Matlab szoftvert használva numerikus szimulációk segítségével illusztrálom a leírtakat. A bemutatott modellek, majd szimulációk célja, hogy segítsen az immunológiai folyamatok megismerését, amelyekhez nélkülözhetetlen a matematikai modellek használata.

1. fejezet

Matematikai előismeretek

Ebben a fejezetben a szakdolgozatomban ismertetett matematikai módszerek háttéréül szolgáló definíciókat és tételeket ismertetem.

1.1. Lineáris algebra

1. Definíció. A lineáris egyenletrendszer általános alakja m egyenlet és n ismeretlen esetén

$$\left. \begin{aligned} a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \dots + a_{1n}x_n &= b_1 \\ a_{21}x_1 + a_{22}x_2 + \dots + a_{2n}x_n &= b_2 \\ &\vdots \\ a_{m1}x_1 + a_{m2}x_2 + \dots + a_{mn}x_n &= b_m \end{aligned} \right\},$$

ahol x_1, x_2, \dots, x_n az ismeretlenek, a_{ij} az i . egyenletben az x_j ismeretlen együtthatóját jelöli, és b_i az i . egyenlet konstans tagja. Ha mindegyik egyenlet konstans tagja 0, homogén lineáris egyenletrendszerről beszélünk, ha csak egy is különbözik 0-tól, akkor inhomogénnek nevezzük az egyenletrendszert.

1. Tétel. A homogén lineáris egyenletrendszer mindig megoldható, mert az $(x_1, x_2, \dots, x_n) = 0_{\mathbb{R}^n}$, úgynevezett triviális megoldás mindig megoldás.

2. Tétel (Cramer-szabály). Legyen a lineáris egyenletrendszerben n egyenlet és n ismeretlen. Az egyenletrendszer felírható $Ax = b$ alakban, ahol

$$A = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \dots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \dots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \dots & a_{nn} \end{pmatrix}, \quad x = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{pmatrix}, \quad b = \begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_n \end{pmatrix}.$$

Ha $D = \det A \neq 0$, akkor az $Ax = b$ egyenletrendszernek pontosan egy megoldása van. A megoldás koordinátái $x_j = \frac{D_j}{D}$, ahol a D_j determinánst úgy kapjuk, hogy D -ben a j . oszlop helyére a jobb oldali konstansokat, azaz a b vektor koordinátáit írjuk.

3. Tétel. Ha az A mátrix invertálható, akkor az $Ax = b$ egyenletrendszer egyetlen megoldása $x = A^{-1}b$.

2. Definíció. Egy négyzetes mátrixot szingulárisnak (vagy elfajulónak) nevezünk, ha a determinánsa nulla, és regulárisnak (vagy nemelfajulónak), ha a determinánsa nem nulla.

1.2. Differenciálszámítás

3. 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: $f'(x_0)$, $\dot{f}(x_0)$, $\frac{df}{dx}(x_0)$.

4. Definíció. Egy intervallumon értelmezett f függvény differenciálható, ha az intervallum minden belső pontjában differenciálható, valamint az f' deriváltfüggvénynek véges (egy oldali) határértéke van az intervallum azon végpontjaiban, ahol f értelmezve van. Az f függvény folytonosan differenciálható, ha differenciálható és a deriváltfüggvénye folytonos.

4. 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 $f'(x) \leq 0$, 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.

5. Definíció. Legyen f egyváltozós valós függvény és $x_0 \in D(f)$. Az f függvénynek az x_0 helyen lokális minimuma [maximuma] van, ha van olyan $\delta > 0$ szám, melyre minden $x \in D(f) \cap (x_0 - \delta, x_0 + \delta)$ esetén $f(x) \geq f(x_0)$ [$f(x) \leq f(x_0)$]. Ekkor az x_0 pontot az f függvény lokális minimumhelyének [maximumhelyének] nevezzük. Ugyanezen feltételek teljesülése mellett, $f(x) > f(x_0)$ [$f(x) < f(x_0)$] esetén az f függvénynek az x_0 helyen szigorú lokális minimuma [maximuma] van. Ekkor az x_0 pontot az f függvény szigorú lokális minimumhelyének [maximumhelyének] nevezzük.

A lokális minimumot [maximumot] lokális szélsőértéknek, a szigorú lokális minimumot [maximumot] szigorú lokális szélsőértéknek nevezzük.

5. Tétel. Legyen az f függvény differenciálható x_0 -ban. Ha f -nek lokális szélsőértéke van x_0 -ban, akkor $f'(x_0) = 0$.

6. Tétel. Legyen az f függvény differenciálható x_0 -ban. Ha $f'(x_0) = 0$ és f' szigorúan lokálisan növekvő [csökkenő] az x_0 helyen, akkor f -nek az x_0 hely szigorú lokális minimumhelye [maximumhelye].

6. 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: $f''(x_0)$. Tehát

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

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 $f''(x)$.

7. Tétel. Legyen az f függvény kétszer differenciálható x_0 -ban. Ha $f'(x_0) = 0$ és $f''(x_0) < 0$, akkor f -nek x_0 -ban szigorú lokális maximuma van, ha $f'(x_0) = 0$ és $f''(x_0) > 0$, akkor pedig szigorú lokális minimuma van.

8. Tétel. Legyen az f függvény kétszer differenciálható egy I intervallumon. Az f függvény I -n akkor és csak akkor konvex, ha $f''(x) \leq 0$, és akkor és csak akkor konkáv, ha $f''(x) \geq 0$ minden $x \in I$ -re.

7. 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.

8. 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 $f'(t_0) = (f'_1(t_0), \dots, f'_n(t_0))$.

9. Definíció. A logisztikus függvény olyan szigmoid függvény, amit adott $a, b, k > 0$ esetén a következő képlettel lehet felírni:

$$L(x) = \frac{a}{1 + be^{-kx}}, \quad x \in \mathbb{R}.$$

10. Definíció. A szigmoid függvény olyan $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ folytonos szigorúan monoton növekvő függvény, melynek véges határértéke van $-\infty$ -ben és ∞ -ben is, és létezik olyan x_0 , hogy f konvex $(-\infty, x_0]$ -n és konkáv $[x_0, \infty)$ -n.

9. Tétel. A kétszer differenciálható $f : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ függvény szigmoid, ha véges határértéke van $-\infty$ -ben és ∞ -ben, $f' > 0$, továbbá létezik olyan x_0 , hogy $f'' \geq 0$ $(-\infty, x_0]$ -n és $f'' \leq 0$ $[x_0, \infty)$ -n.

1.3. Differenciálegyenletek

11. 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.

12. 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 , ezért a vektoregyenletet átírhatjuk egyenletrendszerre:

$$\dot{x}(t) = f(t, x(t)) \iff \left. \begin{array}{l} \dot{x}_1(t) = f_1(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t) = f_n(t, x_1(t), \dots, x_n(t)) \end{array} \right\}.$$

13. Definíció. Az $\dot{x}(t) = f(t, x(t))$ differenciálegyenlet megoldása az $x(t_0) = x_0$, $(t_0, x_0) \in D(f)$ kezdeti feltétellel globálisan egyértelmű, ha a differenciálegyenlet bármely φ és ψ megoldására, melyre $t_0 \in D(\varphi)$ és $t_0 \in D(\psi)$, érvényes $\varphi(t) = \psi(t)$, minden $t \in D(\varphi) \cap D(\psi)$ esetén.

14. 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.

10. Tétel (Egyértelműség tétele). Legyen $f : \mathbb{R}^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}^n$ 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.

11. 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.

15. 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.

12. Tétel. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ elsőrendű lineáris differenciálegyenlet megoldása

$$x(t) = e^{A(t)} \int b(t) e^{-A(t)} dt = C e^{A(t)} + x_p(t),$$

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

16. 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.

17. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény 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.

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

18. 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 $t \geq 0$ esetén).
- A p egyensúlyi pontot aszimptotikusan stabilnak nevezzük, ha stabil és a stabilitás definíciójában a feltételt teljesítő minden q -ra $\lim_{t \rightarrow \infty} \varphi(t, q) = p$.
- A p egyensúlyi pontot instabilnak nevezzük, ha nem stabil.

14. 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.

15. Tétel. Tekintsük az $\dot{x}(t) = Ax(t)$ homogén lineáris rendszert, ahol $A \in \mathbb{R}^{n \times n}$ mátrix. Tegyük fel, hogy A minden sajátértéke valós és van sajátvektorokból álló bázis. Ha a v_1, \dots, v_n sajátvektorok bázist alkotnak és rendre a $\lambda_1, \dots, \lambda_n$ sajátértékekhez tartoznak, akkor a homogén lineáris rendszer általános megoldása

$$x(t) = C_1 e^{\lambda_1 t} v_1 + \dots + C_n e^{\lambda_n t} v_n, \quad C_1, \dots, C_n \in \mathbb{R}.$$

16. 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 nem pozitív, 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 nulla valós részű többszörös sajátérték, akkor a $0_{\mathbb{R}^n}$ egyensúlyi pont instabil.

17. 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.

2. fejezet

Biológiai előismeretek

2.1. Immunológiai áttekintés

Az immunológia, vagy immunbiológia, a biológiának a szervezet integritása megőrzésének folyamataival és a szervezetben az idegennek felismert anyagok elleni védekezés mechanizmusával foglalkozik. A szó a latin eredetű "immunitas" szóból származik, amely mentességet, védettséget jelent. Kezdetben a fogalom alatt elsősorban a fertőzések elleni védettséget értették, azonban a tudomány előrehaladásával kiderült, hogy az immunfolyamatok biológiai jelentősége ennél jóval szélesebb körű. Az immunrendszer az immunfolyamatokat vezénylő, egy önmagát folyamatosan megújító, hálózatot alkotó felismerő rendszer a szervezetünkben. Az immunrendszer maga a szervezet védekező mechanizmusa. Az immunrendszer alapfunkciója, hogy megkülönböztesse a saját és nem saját, vagyis idegen anyagokat, valamint, ha idegen anyaggal találkozik, akkor azokra eltérő módon reagáljon, eltávolítsa vagy megsemmisítse azokat. Három fő feladata van, mint rendszernek: felismerni, információkat továbbítani és végrehajtó/pusztító (effektor) feladatokat ellátni. Az immunfolyamatok megértéséhez szükséges bevezetnünk az antigén fogalmát. Az immunrendszer által felismert és idegenként azonosított anyagokat (molekulák, sejtek, mikrobák) antigénnek nevezzük. A sajátként felismert struktúrákat az immunrendszer megtűri, velük szemben tolerancia alakul ki, míg az idegenként felismert anyagok immunválaszt váltanak ki, ami az azt előidéző antigén semlegesítéséhez, elpusztításához, majd szervezetből való eltávolításához vezet. Az immunválasz során az immunrendszer antitesteket (ellenanyagokat) termel, olyan fehérjéket, amelyek a külvilágból bekerülő anyagokat felismerik, majd közvetlen vagy közvetett úton elpusztítják. Az antitestek az antigének egyedi részét ismerik fel és ahhoz kötődnek. Az antitestek által megjelölt, tehát kötött antigént a szervezet már képes felismerni, és az antitestek által közvetített különböző információk értelmezésével reagálni tud az idegen anyag jelenlétére. Az immunrendszer működése az idegen anyagok ellen az immunválasz. Az immunválasz típusai lehetnek veleszületett immunitás és szerzett immunitás (adaptív, specifikus). Az idegen anyag jelenlétére először a velünk született immunrendszer elemei aktiválódnak, míg a szerzett immunitás csak napokkal később ad immunválaszt. A veleszületett védettség embrionális korban alakul ki. Nem igényel a kórokozóval való előzetes találkozást. Ez azt jelenti, hogy nem specifikus a kórokozóval szemben, viszont percek alatt reagál. A szerzett immunitásra születésünk után teszünk szert természetes (például fertőzés) vagy mesterséges (védőoltások) útján. Az immunrendszer felismeri a behatoló antigént és molekulái célzottan válaszolnak az antigénekkal szemben, sejtes és nem sejtes módon. Nem képes a veleszületett immunitást pótolni, hiszen csak a már ismert kórokozókra reagál. Egy nagyon fontos képessége az adaptív immunrendszernek az úgynevezett immunológiai memória kialakulása, azaz, hogy egy korábban felismert antigén tulajdonságait "megjegyezve" arra később a veleszületett immunválasznál erősebb, specifikus immunválaszt képes adni. Ennek a tulajdonságnak köszönhetően meg tudjuk határozni, hogy egy ember fertőzött-e vagy volt-e fertőzve egy bizonyos antigénnel.

A válaszreakcióban háromféle sejt vesz részt: az antigénprezentáló sejtek (APC), köztük a dendritikus sejtek; a T-limfociták, melyek a sejtes válaszért felelősek; és a B-sejtek, melyek a humorális immunválaszban vesznek részt, azaz antitesteket termelnek az antigének ellen. Az immunválasz során aktiválódó sejteket, azaz a limfocitákat a nyirokszervek termelik. Megkülönböztetünk elsődleges és másodlagos nyirokszerveket. Az elsődleges nyirokszervek (központi nyirokszervek) a csontokban található vörös csontvelő, valamint a csecsemőmirigy. A

másodlagos nyirokszervek közé tartozik a lép, nyirokcsomók, valamint a diffúz és organizált nyálkahártyához asszociált nyirokszövetek (MALT), azaz a légutak és a béltraktus egyes részei, mint például a mandula és máj, és a bőrhez asszociált nyirokszövet (SALT). Valójában ezeken a területeken válnak antigén-specifikussá a limfociták, és itt történik az idegen anyagok kiszűrése. A limfocitáknak két típusát különböztetjük meg, a vörös csontvelőben termelődő őssejtekből kialakuló B-limfocitákat, vagy más néven B-sejteket, melyek egy csoportja a csecsemőmirigybe vándorol, és T-limfocita lesz belőlük.

Az ellenanyagok vagy antitestek az immunrendszer humorális immunválasza során keletkeznek. Az immunglobulinok olyan fehérjék, amelyek ellenanyagként funkcionálnak. Az ellenanyag és immunglobulin elnevezéseket gyakran egymás helyettesítésére használjuk. Az ellenanyagokat az immunrendszer B-sejtjeiből származó plazmasejtek termelik és választják ki. A folyamat során a B-sejtek a másodlagos nyirokszervekbe vándorolnak, ahol specifikussá válnak egy ott talált antigénre. Az aktiválódáshoz rendszerint a T-sejtek támogatása is szükséges. Az immunglobulinokat öt osztályba sorolhatjuk: IgG, IgA, IgM, IgD és IgE. Az immunsejtek egy része ezekkel az immunglobulinokkal annak alapján tud kapcsolódni, hogy milyen, az IgG, IgA, IgM, IgD és IgE konstans részéhez kapcsolódó receptort fejez ki a sejt felszínén. Az aktiválódott B-sejtek differenciálódnak, és vagy plazmasejtekké, vagy memóriasejtekké válnak. A plazmasejtek oldható antitesteket választanak el, és a memóriasejtek évekig, vagy akár évtizedekig is túlélnek; így biztosítják, hogy az immunrendszer gyorsabban reagáljon az újabb fertőzésekre.

Az immunválasz során az antigén szervezetbe való bekerülése után a T-limfociták felismerik őket és beindítják a védekezési folyamatot, amely következtében az aktivált B-sejtek specifikus antitesteket termelnek. Ezen folyamat során keletkezett antitestek az antigénnel reakcióba lépnek és immunkomplexet alkotnak velük. A limfociták hatására felszabaduló anyagokat érzékelő falósejtek aktiválódnak, ezt követően bekebelezik, majd elpusztítják a képződött antigén-antitest komplexeket. Ezt követően az immunológiai memória folyamat mellett, az effektor funkciót ellátó B- és T-sejtek mellett memória B- és T-sejtek is keletkeznek. Ez azt jelenti, hogy az adott antigénnel való legközelebbi találkozáskor az immunrendszer már készen áll az antigén elleni specifikus immunválasszal, gyorsabban, intenzívebben és hatékonyabban reagál rá.

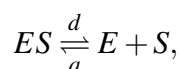
Elengedhetetlen a klonalitás definíciójának megismerése a következő fejezet megértéséhez. Adott plazmasejt egyféle kémiai szerkezetű antitesteket termel, ezért egy antigénre vonatkozó mindkét reakciósebességi állandója is közös. Ha egy oldat azonos szerkezetű antitesteket tartalmaz, azt monoklonálisnak nevezzük, ha pedig többféle szerkezetűt, akkor poliklonálisnak. Az előbbire példák a daganatok gyógyításában használatos monoklonális antitest oldatok, az utóbbira a szérum és a hígított szérum.

2.2. Reakciókinetikai ismeretek

Ebben a fejezetben bevezetjük a disszociáció és asszociáció fogalmakat, melyek ismerete elengedhetetlen a későbbi fejezetek megértéséhez.

Azt a kémiai folyamatot, amely során egy molekula vagy molekuláris komplexum (ES) szétbomlik két összetevőjére, E -re és S -re, disszociációnak nevezzük. Jelölje E az enzimet, az S pedig a szubsztrátumot, de általánosságban bármilyen két molekulát jelenthetnek. Ez esetben következzen a disszociáció megfordítottja, azaz amikor az E és S molekulák összeállnak és az ES komplexummá alakulnak, ezt a folyamatot asszociációnak nevezzük. A folyamatot a

következő reakcióegyenlettel szokás felírni:



ahol d a disszociációra, az a pedig az asszociációra utal. A reakciók sebességét a reakciósebességgel szokás jellemezni, amely az időegységenként és térfogategységenként lejátszódó reakciók számát adja meg. A disszociáció reakciósebessége arányos ES koncentrációjával abban az esetben, ha ES disszociációja függetlenül megy végbe a többi oldott anyagtól:

$$v_d = k_d[ES],$$

ahol k_d a reakció sebességi állandója, $[ES]$ pedig az ES komplexum koncentrációja. A szögletes zárójel a továbbiakban is a zárójelben lévő molekula vagy komplexum koncentrációját fogja jelölni. A v_d sebességgel lezajló bimolekuláris folyamatot elsőrendű kémiai reakciónak nevezik. A reakció sebességi állandóját pedig elsőrendű sebességi állandónak hívjuk.

Az asszociáció egymástól függetlenül mozgó molekulák összetalálkozása révén következik be, ekkor az asszociáció reakciósebessége arányos mindkét résztvevő molekula koncentrációjával:

$$v_a = k_a[E][S]$$

ahol k_a a reakció sebességi állandója. Minden ilyen bimolekuláris folyamatot másodrendű reakciónak, a reakció sebességi állandóját pedig másodrendű sebességi állandónak nevezik.

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

$$k_d[ES] = k_a[E][S].$$

Az egyenletet átrendezve azt kapjuk, hogy

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

amelyből bevezetjük a K_D disszociációs egyensúlyi állandó fogalmát:

$$K_D = \frac{k_d}{k_a}.$$

Ennek a reciproka a K_A asszociációs egyensúlyi állandó:

$$K_A = \frac{k_a}{k_d}.$$

2.3. ELISA

Az ELISA egy általánosan használt analitikai biokémiai vizsgálat. Az elnevezés az enzyme-linked immunosorbent assay rövidítése, amely enzimhez kötött ellenanyag-vizsgálatot jelent. A vizsgálat szilárd fázisú enzim-immunoassay-t (EIA) használ a ligandum (általában fehérje) jelenlétének kimutatására egy folyékony mintában. A cél, hogy bizonyos fehérjék (például antitestek) jelenlétét kimutassuk.

Az ELISA egyik legegyszerűbb formájában antigéneket, melyekre a mintában keresett antitestek specifikusak, egy felülethez rögzítjük, ami általában egy 96-lyukú polisztirol lemez (ún. mikrotiter lemez), majd ezen végezzük a vizsgálatot. Az ELISA folyamat több változatában első lépésben egy antigént rögzítünk a reakciótartály falára. Ezután az antigénre ráengedünk

egy oldatot, amely olyan antitesteket tartalmaz, amik megkötik a rögzített antigént. Ez antigén-antitest komplex kialakulásához vezet. A szabadon maradt molekulákat egy tisztító mosással távolítjuk el. A különböző ELISA-eljárások között megkülönböztetünk direkt, indirekt, szendvics és kompetitív módszereket.

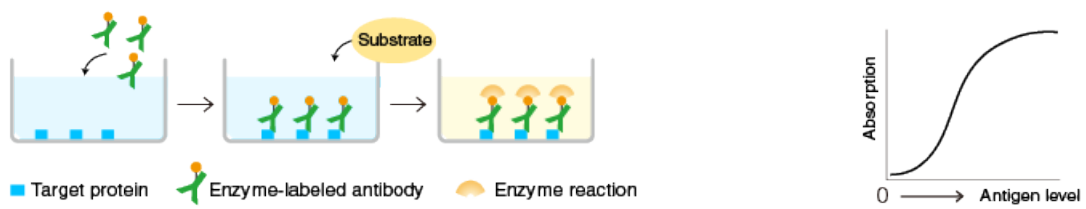
A direkt ELISA esetén a vizsgálandó antigént rögzítjük a mikrotiter lemezhez, majd hozzáöntjük a detektáló antitesteket tartalmazó oldatot.

Az indirekt ELISA esetében az első lépésben jelöletlen elsődleges antitest kötődik a kinyomtatott antigénhez a vizsgált oldatból, majd az utóbbihoz a második lépésben egy enzimmel kapcsolódó másodlagos antitest.

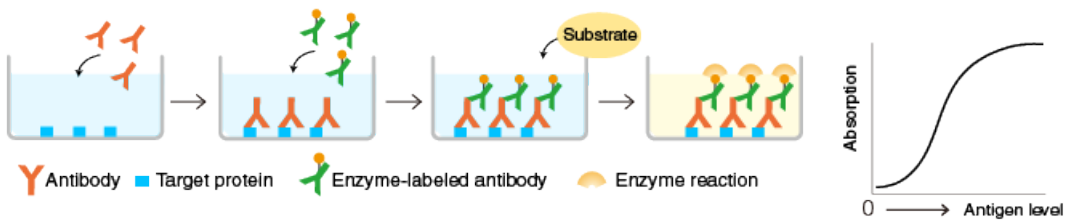
A szendvics ELISA során olyan felületet készítünk, amelyhez ismert mennyiségű elfogó antitest kötődik. Így nem közvetlenül, hanem egy úgynevezett "elfogó" antitest felhasználásával rögzítjük az antigént a lemezen. Utána ehhez kapcsolódhat egy elsődleges antitest, majd ahhoz egy enzimmel kapcsolódó másodlagos antitest.

A kompetitív ELISA különbözik az eddig említett példától. Ez esetben az antigén nemcsak a felszínhez rögzítve, hanem korábban oldott állapotban is reagálhat az antitestekkel. A kompetitív ELISA két lépésből áll, az elsőben (oldott fázis) a vizsgált oldathoz oldott antigént kevernek, majd megvárják az egyensúlyt. A másodikban (szilárd fázis) a kapott oldatot kinyomtatott antigénhez öntik, és ott is megvárják az egyensúlyt. Ezzel az ELISA módszerrel tesztelik leggyakrabban a HIV vírus jelenlétét a szervezetben.

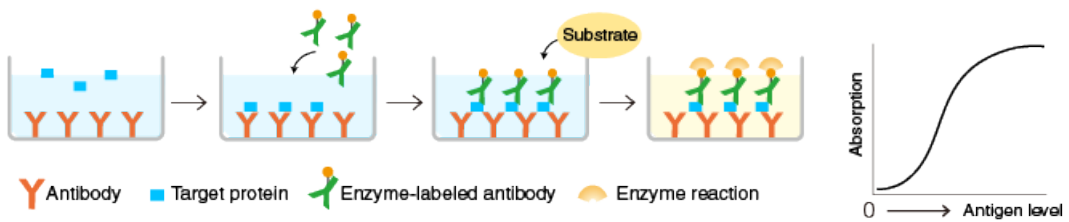
Az ELISA-vizsgálatokat diagnosztikai eszközként használják az orvostudományban, a növénypatológiában és a biotechnológiában, valamint minőség-ellenőrzésként különböző iparágakban. Az élelmiszeriparban is alkalmazzák a potenciális élelmiszer-allergén, mint például tej, földimogyoró, dió, mandula és tojás kimutatására, valamint szerológiai vizsgálatként a cöliákia kimutatására. Az ELISA a toxikológiában is használható bizonyos gyógyszercsoportok gyors feltételezett szűrésére. A legszámtalibb használata az orvostudományban van, egy-egy betegséget jelző antigén jelenlétének megállapítására, illetve annak eldöntésére is szolgál, hogy a páciens korábban átesett-e már az adott betegségen. Gyakran használt módszer az autoimmun betegségek nyomonkövetésére. Számos más betegség, mint például a dengue-láz, a malária, a Chagas-kór, a Johnne-kór, tuberkulózisban lévő mycobacterium antitestek, székletben lévő rotavírus és E. coli enterotoxin, a szérumban lévő hepatitis B markerek, hepatitis C markerek, HIV antitestek és a napjainkban sokat említett SARS-CoV-2 antitestek kimutatására is alkalmas. Ha a vizsgálat célja specifikus antitestek kimutatása, akkor a vizsgálat során az adott betegség specifikus antigénjét rögzítik a mikrotiter lemezre, majd ehhez adják a páciens hígított szérumát. Amennyiben a vizsgálat elvégzése után tapasztalnak színváltozást, az azt jelenti, hogy az illetőben jelen van, vagy korábban volt a szervezetében a kórokozó, hiszen a vizsgálat kimutatta, hogy a vérében megjelenik a hozzá specifikusan kötődő antitest. Ha nem történik látható reakció, akkor a páciens negatív az adott betegségre vagy nem alakult ki a szervezetében immunválasz.



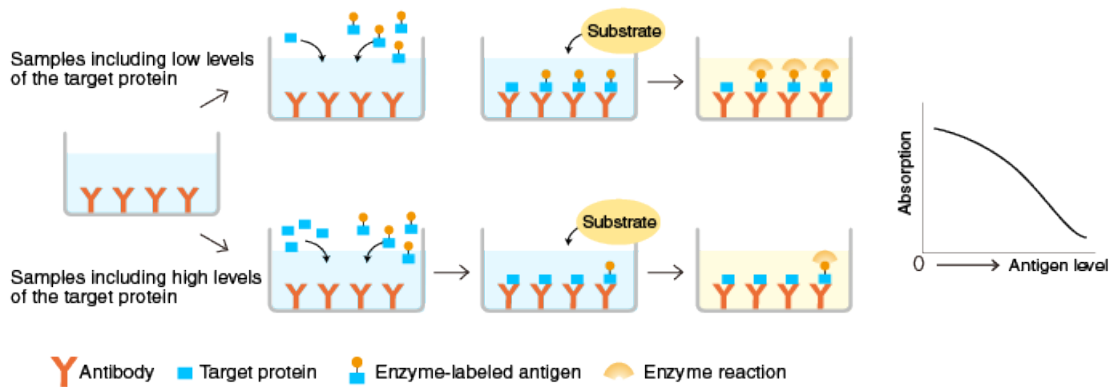
1. ábra. Direkt ELISA



2. ábra. Indirekt ELISA



3. ábra. Szendvics ELISA



4. ábra. Kompetitív ELISA

3. A modell felállítása

Ebben a fejezetben az alábbi jelöléseket használom:

- $[Ab]$: szabad antitestek koncentrációja
- $[Ag]$: szabad antigének koncentrációja
- $[AbAg]$: antigén-antitest komplex koncentrációja
- k_a, k_d : az $Ab + Ag \rightleftharpoons AbAg$ reakció asszociációs, illetve disszociációs reakciósebességi állandója
- K_A : asszociációs egyensúlyi állandó, $K_A = \frac{k_a}{k_d}$
- K_D : disszociációs egyensúlyi állandó, $K_D = \frac{k_d}{k_a}$
- $[Ab]_T$: szabad antitestek kezdeti koncentrációja
- $[Ag]_T$: szabad antigének kezdeti koncentrációja
- $[AbAg]_e$: antigén-antitest komplex egyensúlyi koncentrációja

3.1. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete monoklonális oldattal

A következőkben felteszem, hogy egy antigén- és egy antitest-molekula alkot immunkomplext, a kinyomtatott antigén-molekulák egyrétegű felületet képeznek (több rétegű antigén felület esetén csak a molekulák felső rétege léphet reakcióba), az antigén molekulák irreverzibilis módon kötődnek a tartály aljához, az oldat nem tartalmaz antigéneket és az antigén-molekulák száma nagyságrendekkel kisebb az oldatbeli antitestek számához képest, ezért a modellben azt feltételezzük, hogy az oldatbeli antitestek koncentrációja állandó.

Az antigén-antitest reakciót az antigénréteg felszínén az asszociációs és a disszociációs folyamatok határozzák meg, ahol az asszociáció elsőrendű, a disszociáció másodrendű kémiai reakció. Az asszociáció növeli az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációját, míg a disszociáció csökkenti. Jelölje $[AbAg]$ az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációját, $[Ag]$ a szabad antigén felszíni koncentrációját, melyekről a modellben feltesszük, hogy az antigén felszínén állandó, mindkettő csak az idő függvénye, továbbá $[Ab]_T$ a szabad antitestek állandó koncentrációját jelöli. Az immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjához az asszociáció $k_a[Ab]_T[Ag]$ -vel, a disszociáció pedig $-k_d[AbAg]$ -vel járul hozzá, ahol k_a és k_d a reakciók sebességi állandója. Ezek alapján a komplex felszíni koncentrációja az idő függvényében leírható a következő differenciálegyenlettel:

$$\frac{d}{dt}[AbAg] = k_a[Ab]_T[Ag] - k_d[AbAg].$$

Mivel $[Ag] = [Ag]_T - [AbAg]$, a dinamikát leíró egyenlet inhomogén lineáris differenciálegyenlet:

$$\frac{d}{dt}[AbAg] = -(k_a[Ab]_T + k_d)[AbAg] + k_a[Ab]_T[Ag]_T,$$

melynek összes megoldása

$$[AbAg] = \frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d} + Ce^{-(k_a[Ab]_T + k_d)t}, \quad C \in \mathbb{R}.$$

Megkeressük a differenciálegyenlet megoldását az $[AbAg]_{t=0} = 0$ kezdeti feltétellel. Ekkor $C = -\frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d}$, és azt kapjuk, hogy

$$[AbAg] = \frac{k_a[Ab]_T[Ag]_T}{k_a[Ab]_T + k_d} (1 - e^{-(k_a[Ab]_T + k_d)t}).$$

A differenciálegyenlet egyensúlyi pontja a jobb oldal zérushelye, ami

$$[AbAg]_e = \frac{[Ab]_T[Ag]_T}{[Ab]_T + K_D}.$$

A szakdolgozatomban először megvizsgálom, hogy az $[AbAg]_e$ egyensúlyi komplex koncentráció milyen függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek a különböző modellekben. A kísérletekben $[AbAg]_e \ln[Ag]_T$ szigmoid függvényének bizonyult, viszont monoklonális esetben az előző egyenletben $[AbAg]_e$ képletét átírva

$$[AbAg]_e = \frac{[Ab]_T}{[Ab]_T + K_D} e^{\ln[Ag]_T}.$$

Ebből látszik, hogy $[AbAg]_e$ exponenciális függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek, tehát nem szigmoid függvénye, ezért nem elég jó a fenti lineáris modell, mert a modellezett jelenség egy lényeges tulajdonságát nem adja vissza.

3.2. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete poliklonális oldattal

Ebben az alfejezetben a poliklonális oldat reakcióját vizsgáljuk állandó antitest koncentráció mellett az [1] szakdolgozat eredményeit felhasználva. Legyen n fajta antitest molekula az oldatban, ekkor a reakció során n fajta antigén-antitest komplex alakul ki. Az n fajta immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltja felírható a monoklonális esethez hasonlóan az asszociáció és a disszociáció alapján, amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d}{dt}[Ab_1Ag] &= k_{a_1}[Ab_1]_T[Ag] - k_{d_1}[Ab_1Ag] \\ &\vdots \\ \frac{d}{dt}[Ab_nAg] &= k_{a_n}[Ab_n]_T[Ag] - k_{d_n}[Ab_nAg] \end{aligned} \right\},$$

ahol $[Ab_1Ag], \dots, [Ab_nAg]$ az n fajta antigén-antitest komplex felszíni koncentrációját és $[Ag]$ a szabad antigén felszíni koncentrációját, mint a t idő függvényét, valamint $[Ab_1], \dots, [Ab_n]$ az n fajta szabad antitest állandó koncentrációját jelöli. Továbbá k_{a_1}, \dots, k_{a_n} az n fajta asszociáció és k_{d_1}, \dots, k_{d_n} az n fajta disszociáció sebességi állandója. Jelölje $[Ag]_T$ az antigén kezdeti felszíni koncentrációját, ekkor

$$[Ag] = [Ag]_T - \sum_{i=1}^n [Ab_iAg],$$

hiszen pontosan annyi antigén van kötött állapotban a felszínen, mint az antigén-antitest komplexek száma. Ezek alapján a differenciálegyenlet-rendszer

$$\left. \begin{aligned} \frac{d}{dt}[Ab_1Ag] &= k_{a_1}[Ab_1]_T([Ag]_T - [Ab_1Ag] - \dots - [Ab_nAg]) - k_{d_1}[Ab_1Ag] \\ &\vdots \\ \frac{d}{dt}[Ab_nAg] &= k_{a_n}[Ab_n]_T([Ag]_T - [Ab_1Ag] - \dots - [Ab_nAg]) - k_{d_n}[Ab_nAg] \end{aligned} \right\},$$

ezt átírva vektoregyenletté

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} = A \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T \end{pmatrix} [Ag]_T,$$

ahol a rendszer mátrixa

$$A = \begin{pmatrix} -k_{a_1}[Ab_1]_T - k_{d_1} & -k_{a_1}[Ab_1]_T & \dots & -k_{a_1}[Ab_1]_T \\ -k_{a_2}[Ab_2]_T & -k_{a_2}[Ab_2]_T - k_{d_2} & \dots & -k_{a_2}[Ab_2]_T \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ -k_{a_n}[Ab_n]_T & -k_{a_n}[Ab_n]_T & \dots & -k_{a_n}[Ab_n]_T - k_{d_n} \end{pmatrix}.$$

Ezután az egyensúlyi helyzet meghatározása a cél, ekkor az előző differenciálegyenlet-rendszer bal oldala nullvektor, azaz

$$A \begin{pmatrix} [Ab_1Ag]_e \\ \vdots \\ [Ab_nAg]_e \end{pmatrix} + b = 0,$$

ahol $[Ab_1Ag]_e, \dots, [Ab_nAg]_e$ az egyensúlyi pont koordinátái és

$$b = \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T \end{pmatrix} [Ag]_T.$$

Mivel A^{-1} létezik [1], ezért

$$\begin{pmatrix} [Ab_1Ag]_e \\ \vdots \\ [Ab_nAg]_e \end{pmatrix} = -A^{-1}b.$$

A homogén differenciálegyenlet-rendszer n -dimenziós, tehát a megoldások n -dimenziós vektorteret alkotnak. Az A mátrixnak minden sajátértéke valós és van sajátvektorokból álló bázis [1], így a homogén differenciálegyenlet összes megoldása

$$x_{hom}(t) = C_1 e^{\lambda_1 t} v_1 + \dots + C_n e^{\lambda_n t} v_n, \quad C_1, \dots, C_n \in \mathbb{R},$$

ahol $\lambda_1 \dots \lambda_n$ az A mátrix sajátértékei multiplicitással felsorolva, és $v_1 \dots v_n$ rendre egy-egy hozzá tartozó sajátvektor, melyek bázist alkotnak.

Az inhomogén differenciálegyenlet-rendszer összes megoldása

$$\begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} [Ab_1Ag]_e \\ \vdots \\ [Ab_nAg]_e \end{pmatrix} + C_1 e^{\lambda_1 t} v_1 + \dots + C_n e^{\lambda_n t} v_n, \quad C_1, \dots, C_n \in \mathbb{R}.$$

A differenciálegyenlet-rendszer egyetlen egyensúlyi pontjának koordinátái [1]

$$[Ab_iAg]_e = \frac{[Ag]_T K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}, \quad i = 1, \dots, n,$$

az egyensúlyi összes komplex koncentrációja

$$[AbAg]_e = \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_e = \frac{[Ag]_T \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}.$$

Az egyetlen egyensúlyi pont biológiai jelentése az, hogy a különböző fajta antitestekkel képzett komplexek felszíni koncentrációja egyenesen arányos az asszociációs állandójuk és az oldatbeli koncentrációjuk szorzatával [1]:

$$\frac{[Ab_iAg]_e}{[Ab_jAg]_e} = \frac{K_{A_i} [Ab_i]_T}{K_{A_j} [Ab_j]_T}.$$

Ennél az esetnél is azt a kérdést vizsgálom, hogy $[AbAg]_e = \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_e$ milyen függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek. Mivel

$$[AbAg]_e = \frac{[Ag]_T \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T} = \frac{\sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T} e^{\ln[Ag]_T},$$

ezért itt is exponenciális függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek $[AbAg]_e$, tehát poliklonális esetben sem kellően jó a most vizsgált lineáris modell az előző alfejezetben leírtak szerint. A monoklonális oldat vizsgálata után ezt is vártuk, mert a poliklonális modellben $n = 1$ esetén monoklonális oldatot kapunk.

3.3. Kinyomtatott antigén és állandó antitest koncentráció esete poliklonális oldattal és az antitestek takaró hatásával

Most az előző alfejezetbeli lineáris modellt a [3] cikk alapján kiegészítjük azzal, hogy figyelembe vesszük a kikötődött antitestek takaró hatását. Jelölje N_{Ab_iAg} az Ab_iAg komplexek számát, n_{Ab_iAg} pedig a mólszámukat. Tegyük fel, hogy minden megkötött antitest meggátolja a közepében egy S felszínhez tartozó antigéneket abban, hogy hozzájuk antitest kötődjön. Ez a kikötődött antitestek takaró hatása. Jelölje S_0 a kinyomtatott antigén felszínét és N_A az Avogadro számot. A geometriai valószínűsége annak, hogy egy szabad antigén takarásban van

$$P = \frac{S(N_{Ab_1Ag} + \dots + N_{Ab_nAg})}{S_0} = \frac{S(n_{Ab_1Ag} \cdot N_A + \dots + n_{Ab_nAg} \cdot N_A)}{S_0} = SN_A([Ab_1Ag] + \dots + [Ab_nAg]).$$

A rendelkezésre álló, azaz szabad és nem gátolt antigének koncentrációja

$$\begin{aligned} [Ag]_{av} &= [Ag]_T - ([Ab_1Ag] + \dots + [Ab_nAg]) - P[Ag]_T = \\ &= [Ag]_T - (1 + SN_A[Ag]_T)([Ab_1Ag] + \dots + [Ab_nAg]). \end{aligned}$$

Módosíthatjuk a poliklonális reakciót leíró differenciálegyenlet-rendszert, megváltoztatva a szabad antigén koncentrációt a rendelkezésre álló antigének koncentrációjára:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d}{dt} [Ab_1Ag] &= k_{a_1} [Ab_1] [Ag]_{av} - k_{d_1} [Ab_1Ag] \\ &\vdots \\ \frac{d}{dt} [Ab_nAg] &= k_{a_n} [Ab_n] [Ag]_{av} - k_{d_n} [Ab_nAg] \end{aligned} \right\},$$

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} = A \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1] \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n] \end{pmatrix} [Ag]_T,$$

ahol a módosított modell mátrixa

$$A = \begin{pmatrix} -k_{a_1}[Ab_1]W - k_{d_1} & -k_{a_1}[Ab_1]W & \dots & -k_{a_1}[Ab_1]W \\ -k_{a_2}[Ab_2]W & -k_{a_2}[Ab_2]W - k_{d_2} & \dots & -k_{a_2}[Ab_2]W \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ -k_{a_n}[Ab_n]W & -k_{a_n}[Ab_n]W & \dots & -k_{a_n}[Ab_n]W - k_{d_n} \end{pmatrix},$$

amelyben $W = 1 + SN_A[Ag]_T$. A rendszer az a takaró hatás nélküli modellben kapott rendszer, ahol az asszociációs reakciósebességi állandók $k_{a_i} \cdot W$, a teljes antigén-koncentráció $[Ag]_T/W$, a többi paraméter változatlan. Ezért az i -edik egyensúlyi komplex koncentrációja

$$[Ab_iAg]_e = \frac{[Ag]_T K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + (1 + SN_A[Ag]_T) \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T},$$

az összes komplexé pedig

$$[AbAg]_e = \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_e = \frac{[Ag]_T \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}{1 + (1 + SN_A[Ag]_T) \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T}.$$

A poliklonális oldat asszociációs egyensúlyi állandója

$$K_A = \frac{1}{[Ab]_T} \sum_{i=1}^n K_{A_i} [Ab_i]_T,$$

a teljes antitest koncentráció $[Ab]_T = \sum_{i=1}^n [Ab_i]_T$, így

$$[AbAg]_e = \frac{[Ag]_T K_A [Ab]_T}{1 + (1 + SN_A[Ag]_T) K_A [Ab]_T} = \frac{[Ag]_T [Ab]_T}{(K_D + [Ab]_T) + SN_A [Ag]_T [Ab]_T}.$$

Ezt átírva azt kapjuk, hogy $[AbAg]_e$ logisztikus függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek, mivel

$$[AbAg]_e = \frac{\frac{1}{SN_A}}{\frac{K_D + [Ab]_T}{SN_A [Ab]_T} \cdot \frac{1}{[Ag]_T} + 1} = \frac{\frac{1}{SN_A}}{1 + \frac{K_D + [Ab]_T}{SN_A [Ab]_T} e^{-\ln[Ag]_T}},$$

ahol a logisztikus függvény 1. fejezetben ismertetett alakjában $k = 1$, $a = \frac{1}{SN_A}$, $b = \frac{K_D + [Ab]_T}{SN_A [Ab]_T}$. Tehát ebben a modellben már $[AbAg]_e$ szigmoid függvénye $\ln[Ag]_T$ -nek.

3.4. Adott arányú telítődés ideje monoklonális oldat esetén

Ebben az alfejezetben azt vizsgáljuk meg, hogy az összes komplex $[AbAg]$ koncentrációja mikor éri el az egyensúlyi $[AbAg]_e$ értékének adott arányát, ha kezdetben a komplex koncentrációja 0. Jelölje p ezt az arányt, ahol $0 < p < 1$, tehát $[AbAg]_e$ mikor éri el $p \cdot [AbAg]_e$ -t. Jelölje ezt az

időpontot t_p . Azt szeretnénk meghatározni, hogy t_p milyen függvénye a $h = \frac{[Ab]_0}{[Ab]_T}$ hígításnak, ahol $[Ab]_0$ a szérum koncentrációját, $[Ab]_T$ pedig a hígított szérum koncentrációját jelöli. A p arányú telítődés t_p idejére vonatkozó egyenlet

$$p \cdot [AbAg]_e = [AbAg] = [AbAg]_e(1 - e^{-(k_a[Ab]_T + k_d)t_p}).$$

Ebből az következik, hogy $[AbAg]_e \neq 0$ esetén

$$\begin{aligned} e^{-(k_a[Ab]_T + k_d)t_p} &= 1 - p \\ -(k_a[Ab]_T + k_d)t_p &= \ln(1 - p) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} t_p &= -\frac{\ln(1 - p)}{k_a[Ab]_T + k_d} = -\frac{\ln(1 - p)}{k_d} \cdot \frac{k_d}{k_a[Ab]_T + k_d} = -\frac{\ln(1 - p)}{k_d} \cdot \frac{k_d}{k_a \frac{[Ab]_0}{h} + k_d} = \\ &= -\frac{\ln(1 - p)}{k_d} \cdot \frac{1}{K_A \frac{[Ab]_0}{h} + 1} = -\frac{\ln(1 - p)}{k_d} \cdot \frac{1}{1 + \frac{[Ab]_0}{K_D} e^{-\ln(h)}}, \end{aligned}$$

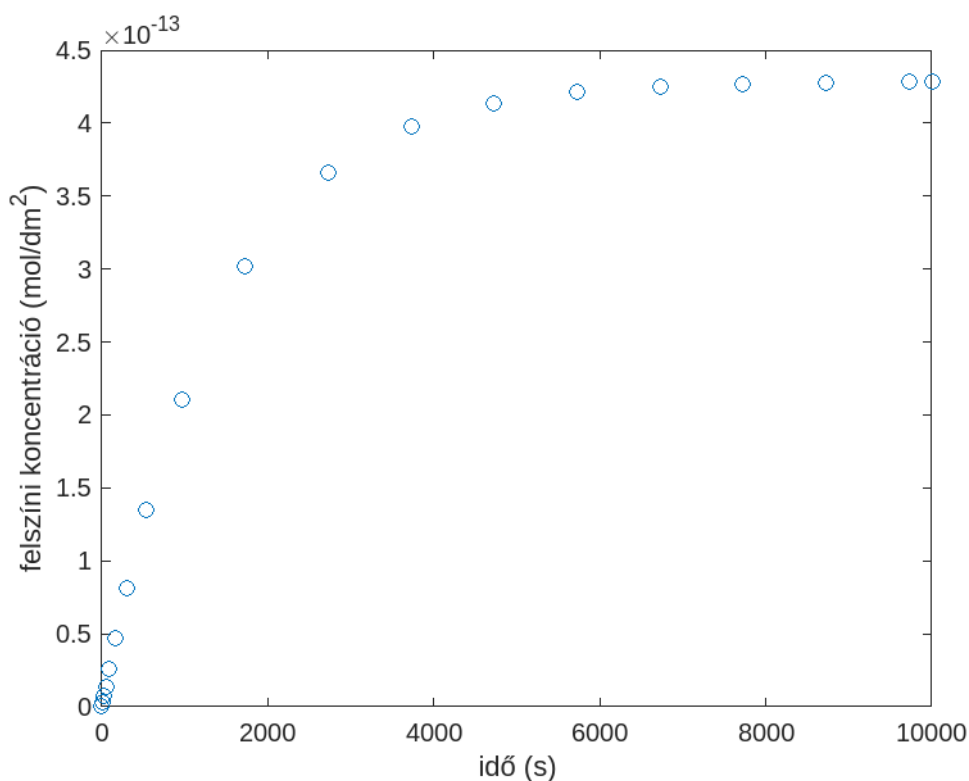
mégpedig a logisztikus függvény 1. fejezetben leírt képletében $k = 1$, $a = -\frac{\ln(1-p)}{k_d}$, $b = \frac{[Ab]_0}{K_D}$. Ezért megállapíthatjuk, hogy t_p logisztikus függvénye $\ln(h)$ -nak. Poliklonális esetben az adott arányú telítődés idejére nem ismerünk explicit alakot, ezért a következő fejezetben numerikus szimulációkkal vizsgáljuk.

4. Numerikus szimulációk

Ebben a fejezetben a Matlab szoftvert használva numerikus szimulációk segítségével illusztrálom az adott arányú telítődés idejét. A bemutatott jelenségek mind matematikai, mind immunológiai szempontból érdekesek. Munkám során végig Gustaf Söderlind professzor differenciálegyenlet megoldó `ode23sdc12` programját használom a Matlab beépített megoldóprogramja helyett. Konzulensemmel a programkódot közvetlenül a professzortól kaptuk tudományos kutatás céljából.

1. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza az 1. Szimulációbeli paramétereit. Az 1. Szimulációban a komplex koncentrációja látható az idő függvényében monoklonális oldat esetén. Ebben a táblázatban és később is $M = \text{mol}/\text{dm}^3$ a térbeli koncentráció mértékegysége, neve molaritás.

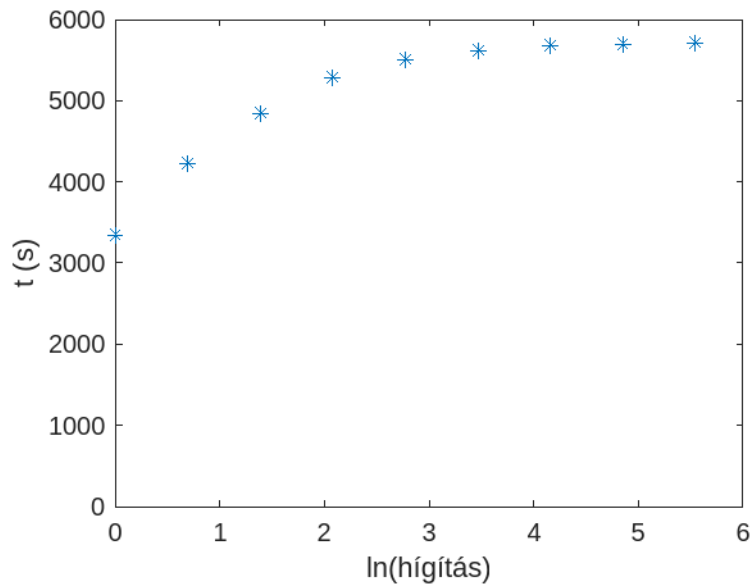
Klónok száma	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)		
1	10^{-12}		
	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	$[Ab]_T$ (M)
<i>Ab</i>	$5 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-10}$



5. ábra. Komplex koncentráció az idő függvényében az 1. Szimulációban

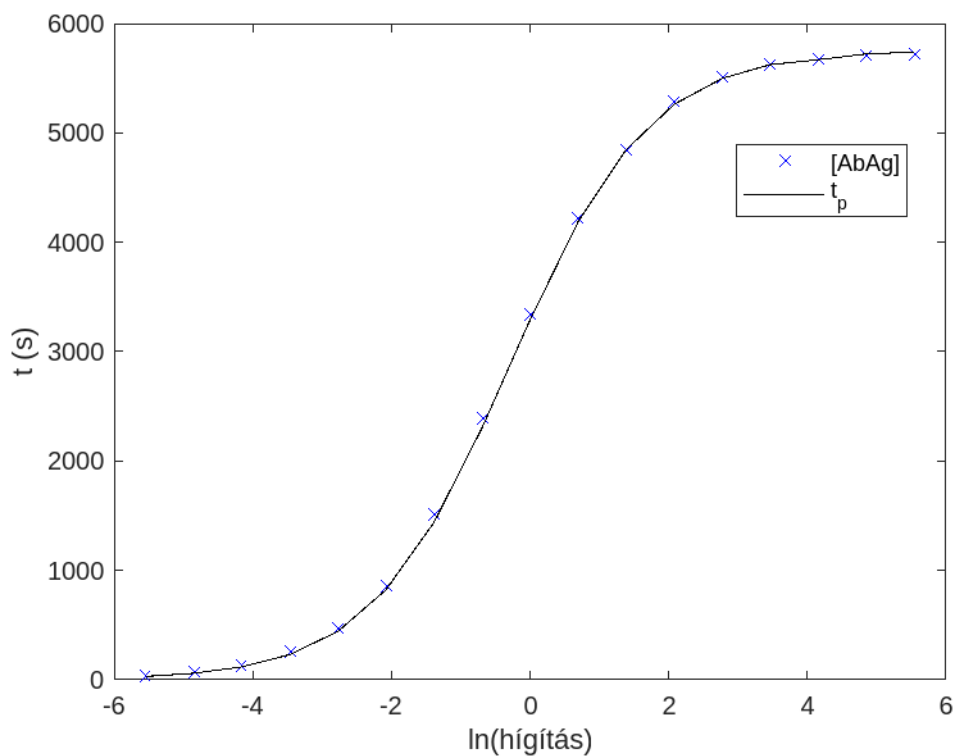
2. Szimuláció. A 2. Szimulációban azt vizsgálom, hogy a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra monoklonális oldat esetén az 1. Szimulációbeli paraméterekkel.

A kémiai folyamatokban a koncentrációt sokszor logaritmus skálán veszik, vagyis a változó nem a koncentráció, hanem annak a logaritmusa. Ennek alapján a telítődéshez szükséges időt a hígítás természetes alapú logaritmusa függvényében ábrázolom a következő ábrán.



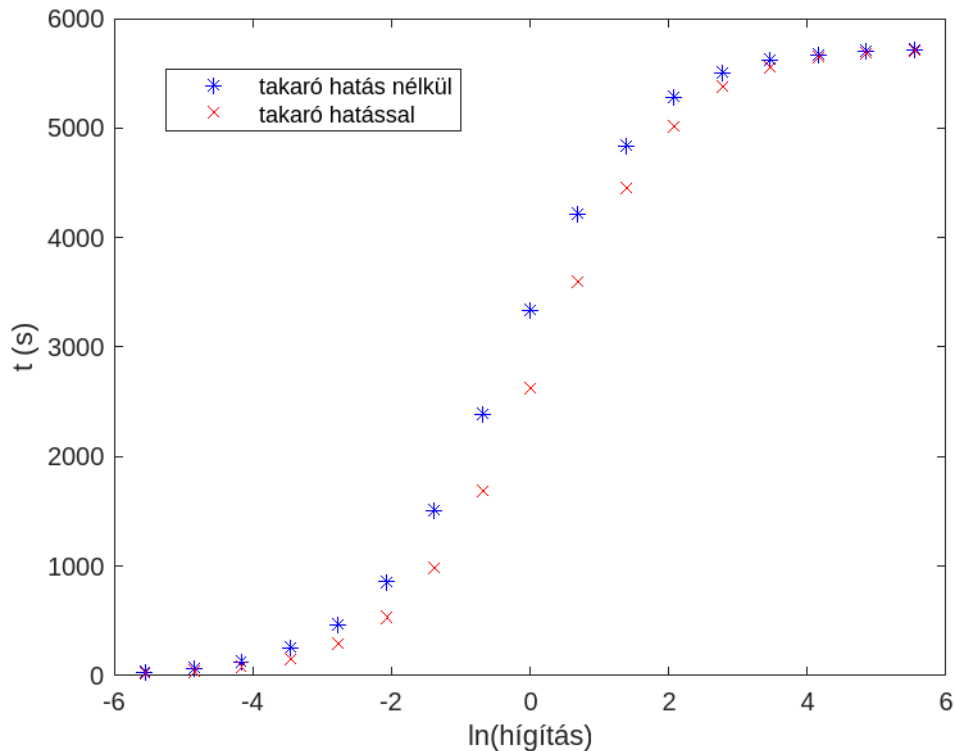
6. ábra. A $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának függvényében az 1. Szimulációbeli paraméterekkel

3. Szimuláció. Az előző ábra még nem mutatja, hogy milyen függvénye a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának, ezért a következő ábrán nagyobb intervallumon, az eredetnél tömönyebb oldatokra is kiszámoltam és ábrázoltam a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges időt. Ezután ábrázoltam t_p-t az $\ln(\text{hígítás})$ függvényében. Az összevetés szerint a numerikus szimuláció jól visszaadja a logisztikus függvényt, amelynek az inflexiós pontja 0.



7. ábra.

4. Szimuláció. A 4. Szimulációban azt vizsgálom, hogy a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra monoklonális oldat esetén az 1. Szimulációbeli paraméterekkel. Összehasonlítom a takaró hatás nélküli, és a takaró hatást figyelembe vevő esetet, a 3.3 alfejezetben leírtak szerint $S = 10^{-14}$ dm^2 -rel számolva.



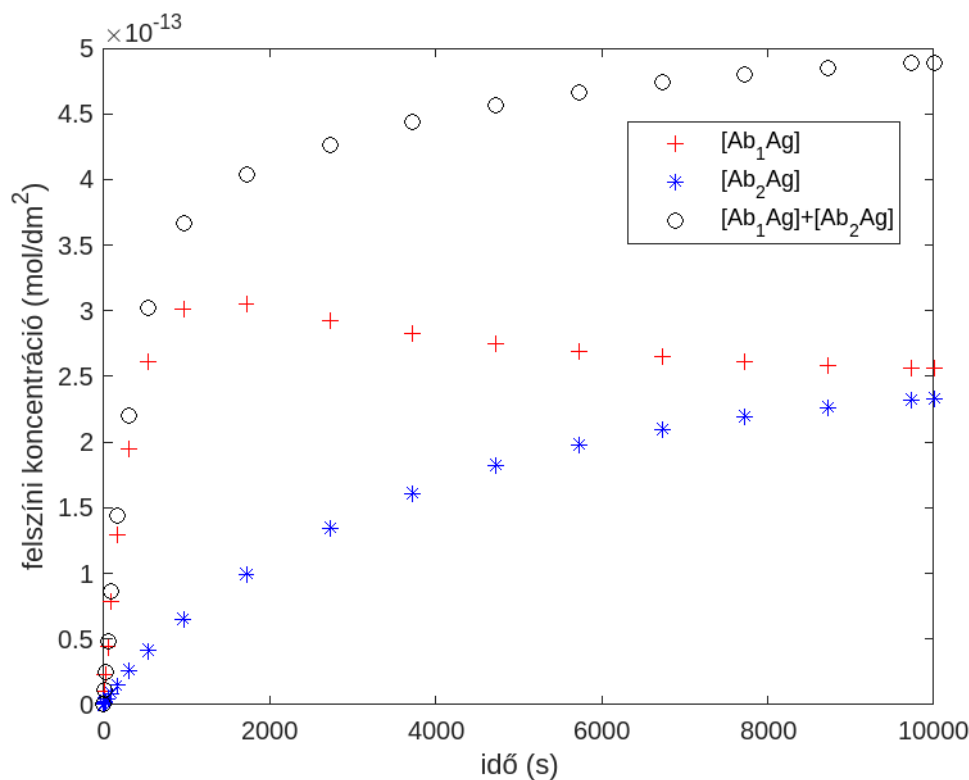
8. ábra.

Az ábrán látszik, hogy a takaró hatás csökkenti az adott arányú telítődés idejét, és a görbe szigmoid marad. Az előbbi két ellentétes hatású változás eredője: a kikötődött antitestek takaró hatása lassítja a komplexképződést, viszont a takaró hatással az egyensúlyi összes komplex koncentrációja kisebb, mint a takaró hatás nélkül. Az utóbbi a jelentősebb, mert csökkent az adott arányú telítődés ideje.

A következőkben poliklonális oldatok reakcióját szimulálom. Ilyenkor az adott arányú telítődés idejére a hígítás logaritmus függvényében nem ismerünk képletet.

5. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza a 5. Szimulációbeli paramétereket. Az 5. Szimulációban a komplex koncentrációja látható az idő függvényében kettő klónt tartalmazó oldat esetén.

Klónok száma	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)		
2	10^{-12}		
	k_{a_i} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{d_i} (s ⁻¹)	$[Ab_i]_T$ (M)
Ab_1	10^6	$2 \cdot 10^{-3}$	10^{-9}
Ab_2	10^5	$2 \cdot 10^{-4}$	10^{-9}

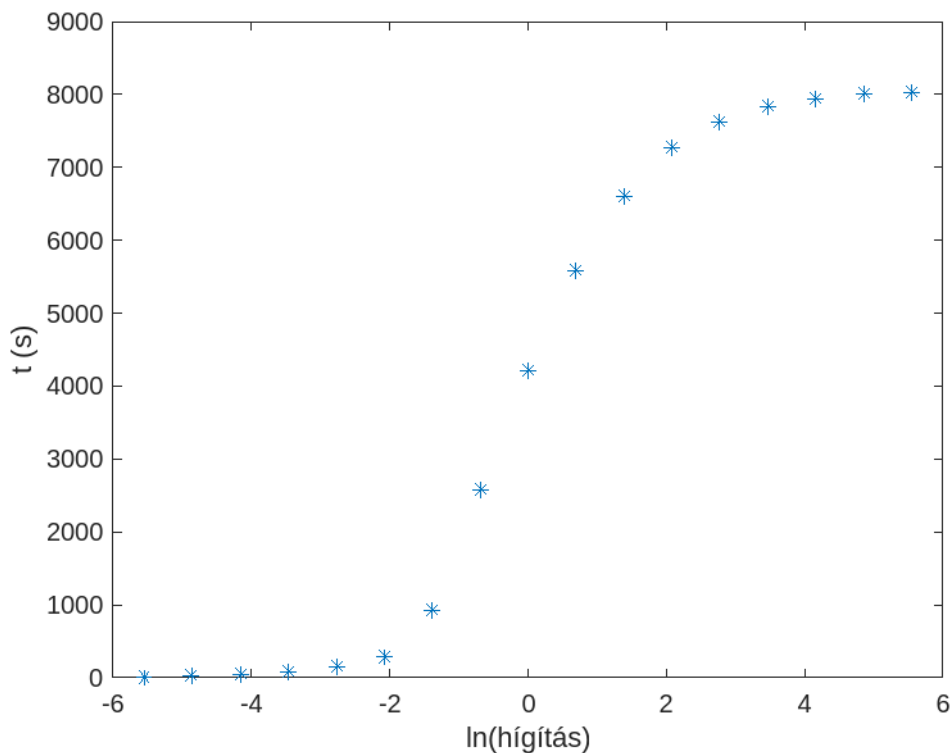


9. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 5. Szimulációban

Ez az ábra a különböző antitest klónokkal képzett komplexek koncentrációját mutatja az idő függvényében. A két klón disszociációs egyensúlyi állandója és a koncentrációjuk is egyenlő, ezért a két klón egyensúlyi komplex koncentrációja is egyenlő. Mivel az első klón asszociációs és disszociációs reakciósebességi állandója is nagyobb, mint a másodiké, ezért az első klón antitestjei több komplexet képeznek, de azok könnyebben is disszociálnak.

6. Szimuláció. A 6. Szimulációban azt vizsgálom, hogy a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra kettő klónt tartalmazó oldat esetén a 4. Szimulációbeli paraméterekkel.

A telítődéshez szükséges időt ennél a szimulációnál is a hígítás természetes alapú logaritmusában ábrázolom.

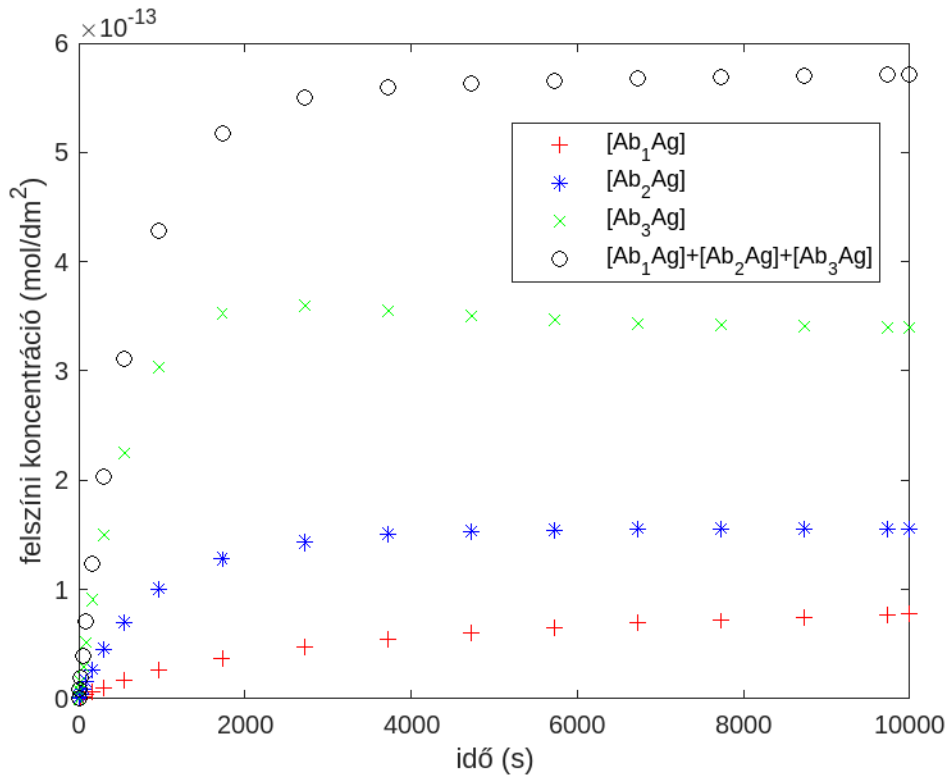


10. ábra. A $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának függvényében az 5. Szimulációbeli paraméterekkel

Ezen az ábrán az eredetinél töményebb oldatokra is kiszámoltam és ábrázoltam a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges időt. Az látható, hogy a görbe szigmoid, az inflexiós pontja a 0 közelében van.

7. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza a 7. Szimulációbeli paramétereket. A 7. Szimulációban a komplex koncentrációja látható az idő függvényében három klónt tartalmazó oldat esetén.

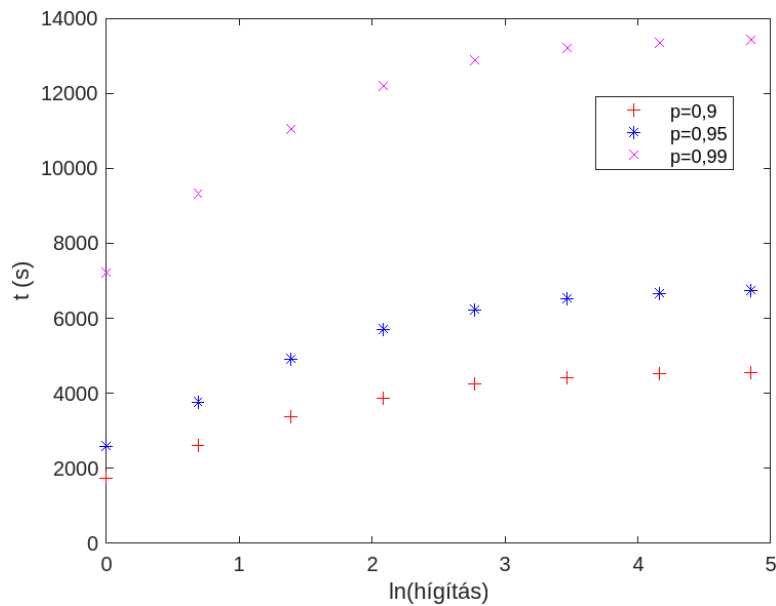
Klónok száma	$[Ag]_T$ (mol/dm ²)		
3	10^{-12}		
	k_{a_i} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{d_i} (s ⁻¹)	$[Ab_i]_T$ (M)
Ab_1	10^5	$2 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-10}$
Ab_2	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-10}$
Ab_3	$7 \cdot 10^5$	$8 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-10}$



11. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 7. Szimulációban

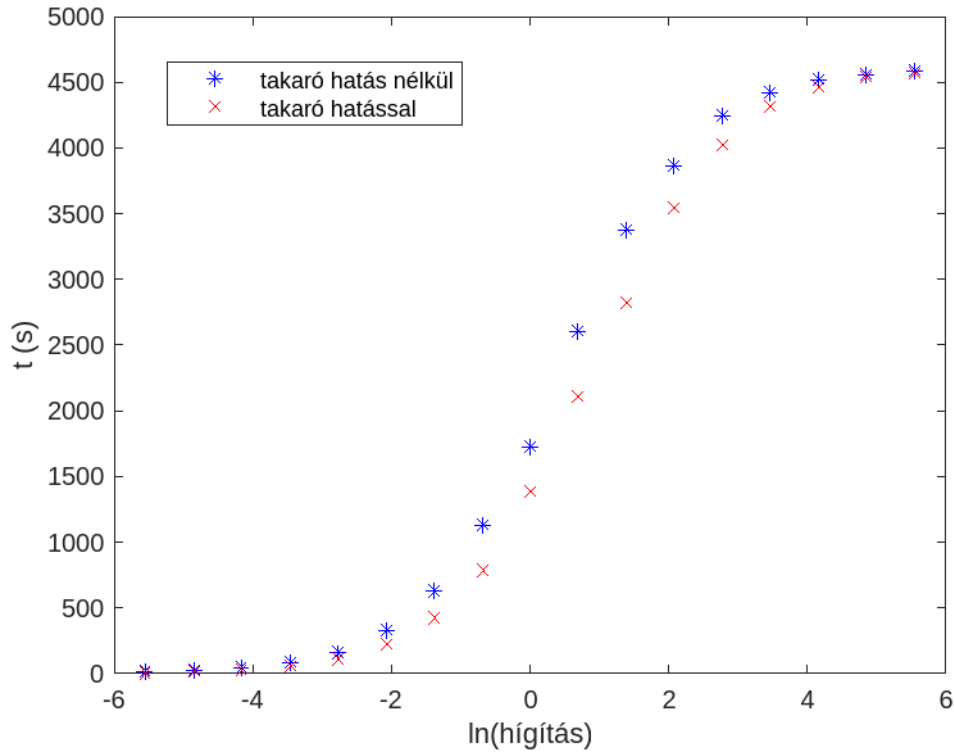
Itt látható a különböző antitest klónokkal képzett komplexek koncentrációja az idő függvényében. Az egyes immunkomplexek határértéke az egyensúlyi pont megfelelő koordinátája.

8. Szimuláció. Ezután azt vizsgálom, hogy az adott arányú (0,9, 0,95, 0,99) telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra a 7. Szimuláció paramétereivel.



12. ábra. Adott arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának függvényében

9. Szimuláció. A 9. Szimulációban azt vizsgálom, hogy a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra három klónt tartalmazó oldat esetén a 7. Szimulációbeli paraméterekkel. Összehasonlítom a takaró hatás nélküli, és a takaró hatást figyelembe vevő esetet, legyen $S = 10^{-14} \text{ dm}^2$.

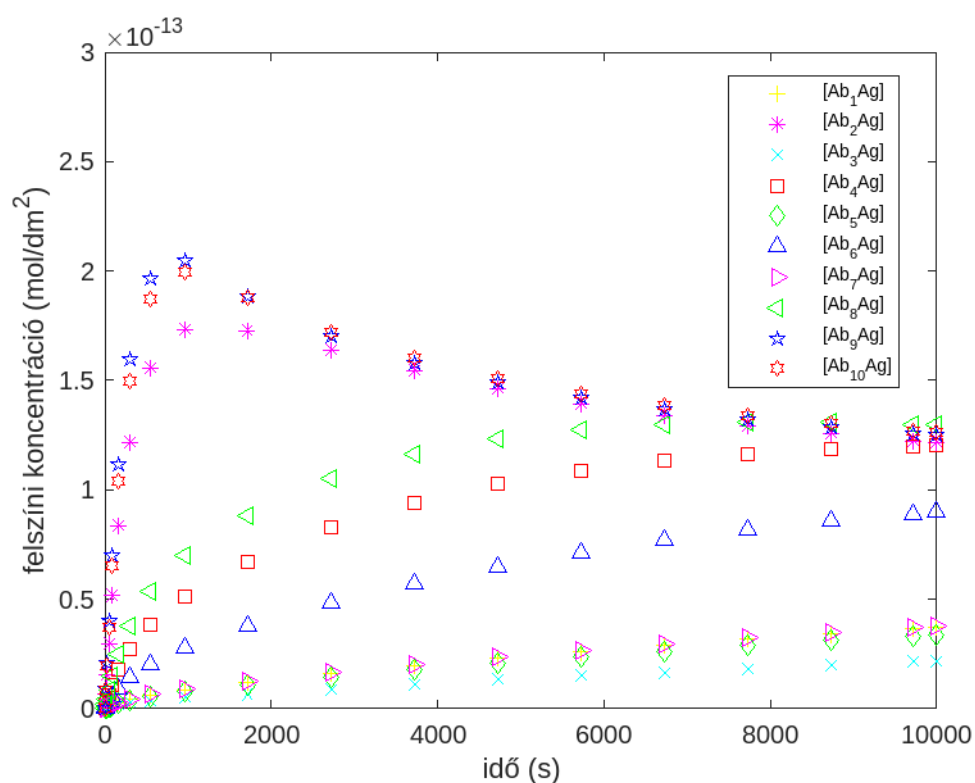


13. ábra. A $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának függvényében a 7. Szimulációbeli paraméterekkel

Ezen az ábrán is látszik, hogy a takaró hatás csökkenti az adott arányú telítődés idejét, és a görbe szigmoid marad, ahogy azt a monoklonális esetenél is tapasztaltuk.

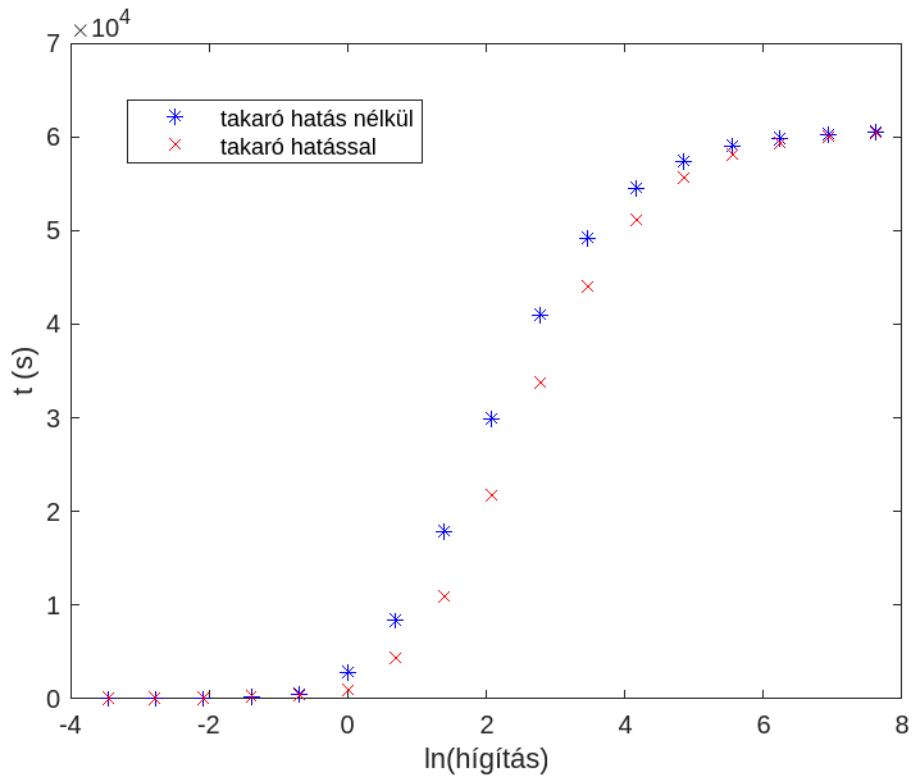
10. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza a 10. Szimulációbeli paramétereket [2] alapján. A 10. Szimulációban a nyugodt immunrendszert szimulálom 10 klón esetén, amely akkor reális, amikor nem a teljes antigén-molekulát nyomtatják ki, csak egy részét, ami tartalmazza azt az epitópot, ahová az antitestek kötődnek. Az asszociációs reakciósebességi állandók természetes alapú logaritmusai, azaz $\ln(k_a)$ értékei egyenletes eloszlásúak és véletlenszerűen vesznek fel értéket az $[\ln(10^4), \ln(10^6)]$ intervallumból, továbbá $[Ab_i]$ értékeit véletlenszerűen választjuk a $[\frac{3}{4}K_{D_i}, \frac{4}{5}K_{D_i}]$ intervallumból, ahol $i = 1, \dots, 10$. $[Ag]_T$ értéke legyen $10^{-12} \text{ mol/dm}^2$.

	$k_{d_i} \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$k_{d_i} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$[Ab_i]_T \text{ (M)}$
Ab_1	$0,2110 \cdot 10^5$	$2,7034 \cdot 10^{-5}$	$9,8931 \cdot 10^{-10}$
Ab_2	$3,8777 \cdot 10^5$	$9,0233 \cdot 10^{-4}$	$1,7550 \cdot 10^{-9}$
Ab_3	$0,4192 \cdot 10^5$	$1,4798 \cdot 10^{-5}$	$2,6879 \cdot 10^{-10}$
Ab_4	$1,1404 \cdot 10^5$	$1,6958 \cdot 10^{-4}$	$1,1832 \cdot 10^{-9}$
Ab_5	$0,2144 \cdot 10^5$	$2,4832 \cdot 10^{-5}$	$8,7732 \cdot 10^{-10}$
Ab_6	$1,5994 \cdot 10^5$	$8,7648 \cdot 10^{-5}$	$4,3363 \cdot 10^{-10}$
Ab_7	$0,3357 \cdot 10^5$	$2,7493 \cdot 10^{-5}$	$6,3630 \cdot 10^{-10}$
Ab_8	$2,0331 \cdot 10^5$	$2,3808 \cdot 10^{-4}$	$9,3657 \cdot 10^{-10}$
Ab_9	$2,3902 \cdot 10^5$	0,0012	$3,9173 \cdot 10^{-9}$
Ab_{10}	$3,1355 \cdot 10^5$	0,0011	$2,7642 \cdot 10^{-9}$



14. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 10. Szimulációban

11. Szimuláció. A 11. Szimulációban azt vizsgálom, hogy a $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő hogyan változik az egyes hígításokra tíz klónt tartalmazó oldat esetén a 10. Szimulációbeli paraméterekkel. Összehasonlítom a takaró hatás nélküli, és a takaró hatást figyelembe vevő esetet, legyen $S = 10^{-14} \text{ dm}^2$.



15. ábra. A $p=0,9$ arányú telítődéshez szükséges idő a hígítás logaritmusának függvényében a 10. Szimulációbeli paraméterekkel

Itt is látszik, hogy a takaró hatás csökkenti az adott arányú telítődés idejét, és a görbe szigmoid marad, ahogy azt a többi szimulációban is tapasztaltuk.

A szigmoid grafikonok minden pontját úgy kaptam, hogy az adott hígítás mellett elvégeztem a szimulációt, kiszámoltam az egyensúlyt, majd meghatároztam a p -edrészéhez szükséges időt.

Irodalomjegyzék

- [1] Herbály Blanka Anna, *Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata*, szakdolgozat, ELTE TTK, Budapest, 2020.
- [2] Fedorszki Ádám, *Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA immuneszében*, szakdolgozat, ELTE TTK, Budapest, 2021.
- [3] Krisztián Papp, Ágnes Kovács, Anita Orosz, Zoltán Hérincs, Judit Randek, Károly Liliom, Tamás Pfeil, József Prechl, *Absolute Quantitation of Serum Antibody Reactivity Using the Richards Growth Model for Antigen Microspot Titration, Supplementary text S1*, *Sensors* 22 (10), 3962, 2022.
<https://www.mdpi.com/article/10.3390/s22103962/s1>
- [4] Laczkovich Miklós, T. Sós Vera, *Analízis I-II.*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2006-2007.
- [5] Tóth János, Simon L. Péter, *Differenciálegyenletek, Bevezetés az elméletbe és az alkalmazásokba*, Typotex Kiadó, Budapest, 2005.
- [6] Pfeil Tamás, *Differenciálegyenletek*, kézirat, 2020.
- [7] Erdei Anna, Sármay Gabriella, Prechl József, *Immunológia*, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2012.
- [8] Derényi Imre, *A biofizika alapjai*, ELTE TTK, Budapest, 2013.
- [9] *Immunológia*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunológia>
- [10] *Immunrendszer*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunrendszer>
- [11] *Ellenanyag*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Ellenanyag>
- [12] *ELISA*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/ELISA>
- [13] *ELISA*
<https://www.thermofisher.com/hu/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-elisa.html>
- [14] *ELISA ábrák*
<https://www.mblbio.com/bio/g/support/method/elisa.html>
- [15] Gustaf Söderlind, *Automatic control and adaptive time-stepping*, *Numerical Algorithms* 31 (1-4), 281- 310, 2002.

[16] Gustaf Söderlind, *Digital filters in adaptive time-stepping*, ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS) 29 (1), 1-26, 2003.

[17] Gustaf Söderlind, Laurent Jay, Manuel Calvo: *Stiffness 1952-2012: Sixty years in search of a definition*, BIT Numerical Mathematics 55, 531-558 (2015)