

# **REACCIONES**

# **Antígeno- Anticuerpo**

**Alfredo De Ioannes**  
**Inmunología Básica**

**Facultad de Ingeniería**  
**Universidad de Chile**

**Septiembre 2007**

# Características de la Interacción Antígeno - Anticuerpo

---

- ✓ Específica
- ✓ Reversible
- ✓ Dependiente de pH
- ✓ Sensible a la Temperatura
- ✓ Sensible a la fuerza iónica

# Fuerzas implicadas en la Interacción Antígeno - Anticuerpo

---

- ✓ Puentes de hidrógeno
- ✓ Fuerzas electrostáticas (enlaces iónicos)
- ✓ Fuerzas de van der Waals
- ✓ Enlaces hidrófobicos

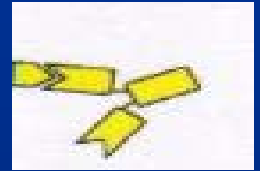


**AFINIDAD Y AVIDEZ**

# Afinidad y Avidéz de un anticuerpo por un epitopo

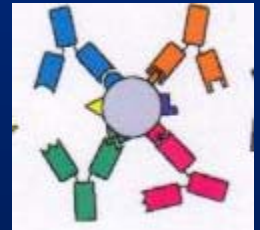
## Afinidad

Suma de todas las fuerzas atractivas y repulsivas entre un sitio de unión del anticuerpo (paratopo) y el correspondiente epitopo. Se define por una constante de equilibrio ( $K_a$ ), según la ley de acción de masas.



## Avidéz

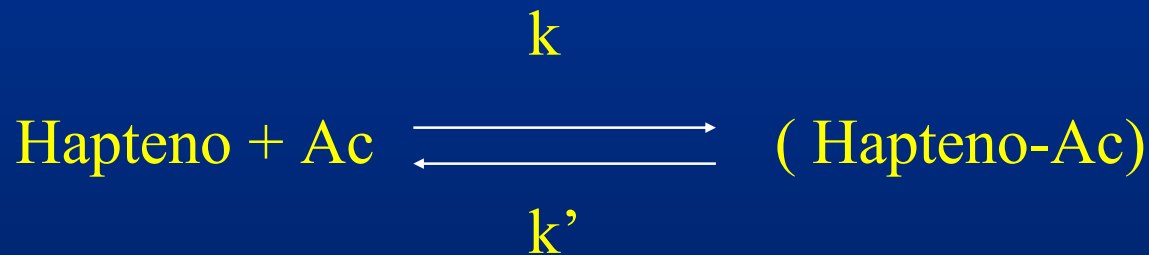
Fuerza con la que un anticuerpo multivalente se une a un Antígeno multivalente. Su valor es mucho mayor que la suma de las afinidades.



# Cinética de la Reacción

(ecuación válida solo para moléculas monovalentes)

---



$$K_a = \frac{k}{k'} = \frac{(\text{Hapteno-Ac})}{(\text{Hapteno})(\text{Ac})}$$

[Ac] la concentración de sitios libres de Ac

[Ac-H] la concentración de sitios ocupados del Ac

# Los anticuerpos como sondas para buscar antígenos de interés

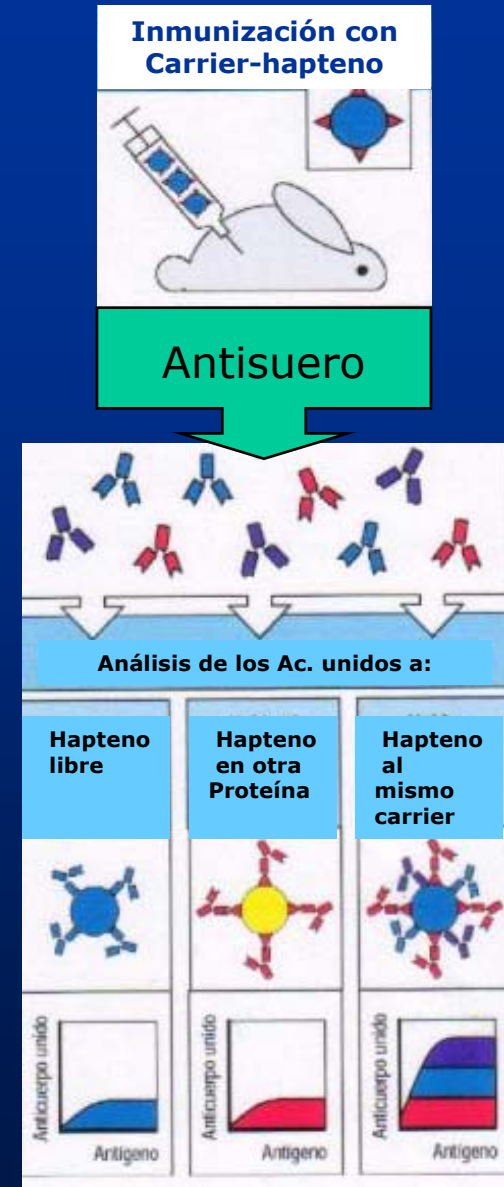
---

## Ventajas

- ✓ **Especificidad**
- ✓ **Sensibilidad**
- ✓ **Estabilidad**
- ✓ **Versatilidad en el diseño: ELISA, IFI, Western blot, etc.**
- ✓ **Tiempo de ejecución razonable: minutos a ~ hrs**
- ✓ **Costo conveniente**
- ✓ **Infraestructura mínima**

# Los anticuerpos como sondas para buscar antígenos de interés

Ej. Haptenos (drogas, toxinas, hormonas, etc).



# Técnicas Inmunoanalíticas

## - Reacción de precipitación

En medio líquido

- Floculación
- Nefelometría
- Precipitación de complejos Inmunes

En gel

- Inmunodifusión doble
- Inmunodifusión radial
- Inmunoelectroforesis
- Rocket electroforesis
- Contrainmunolectroforesis
- Inmunoelectroforesis cruzada bidimensional de Laurel

## - Reacción de aglutinación

- Aglutinación pasiva
- Aglutinación directa

## - Fijación y actividad hemolítica del complemento

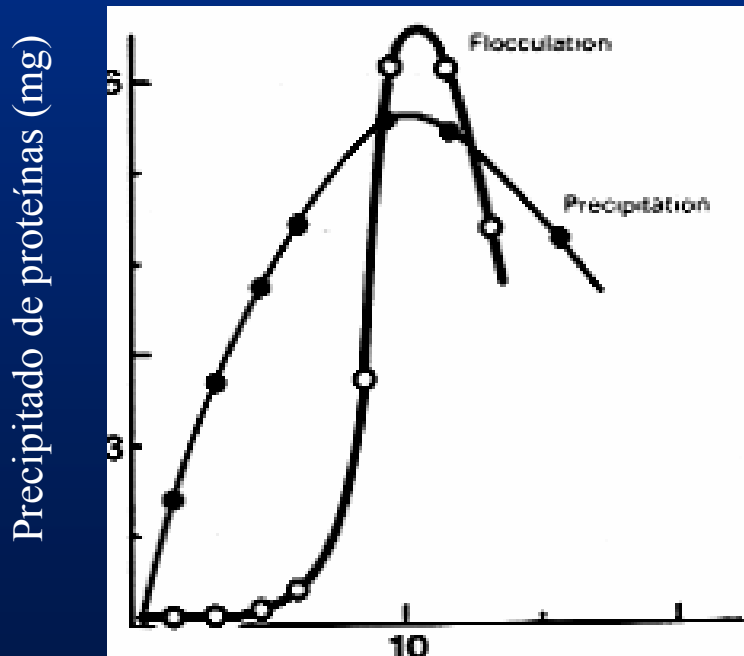
## - Reacciones en fase sólida

- ELISA
- Western blot

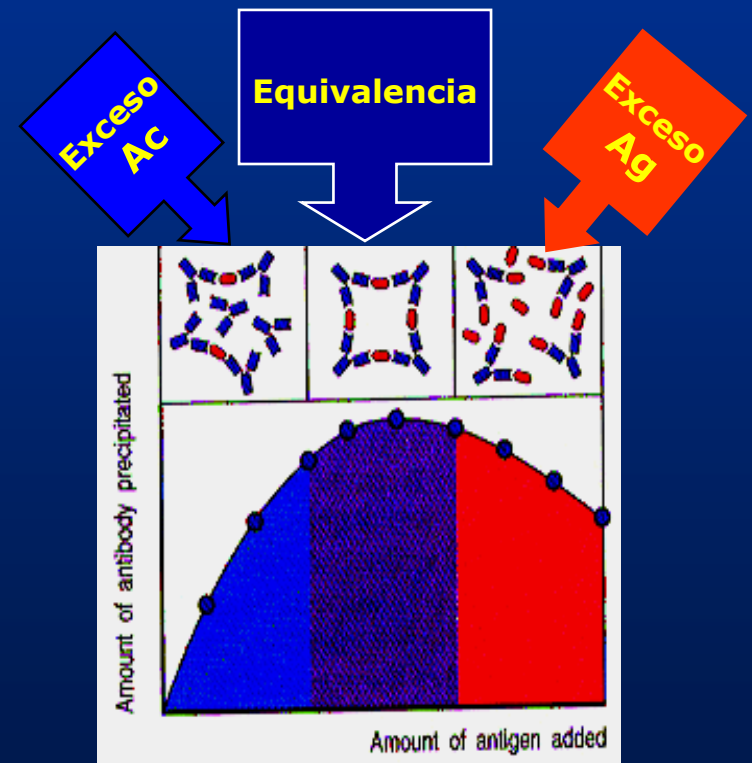


# Reacciones de Precipitación y Floculación en solución

Reacciones de sueros humanos de pacientes con Tiroiditis de Hashimoto autoinmune.



Tiroglobulina agregada (mg)



# Inmunodifusión Doble (o de Ouchterloni)

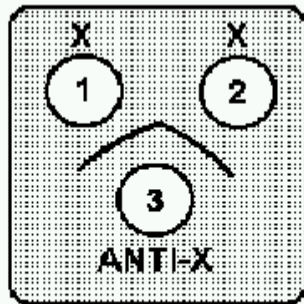


Figure 1: Reaction of Identity

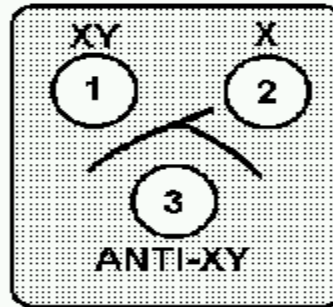


Fig. 2: Reaction of Partial Identity

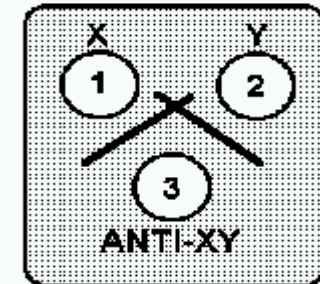
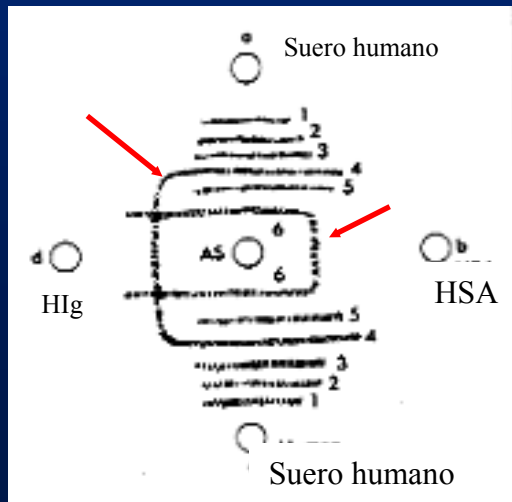


Fig. 3: Reaction of Non-Identity

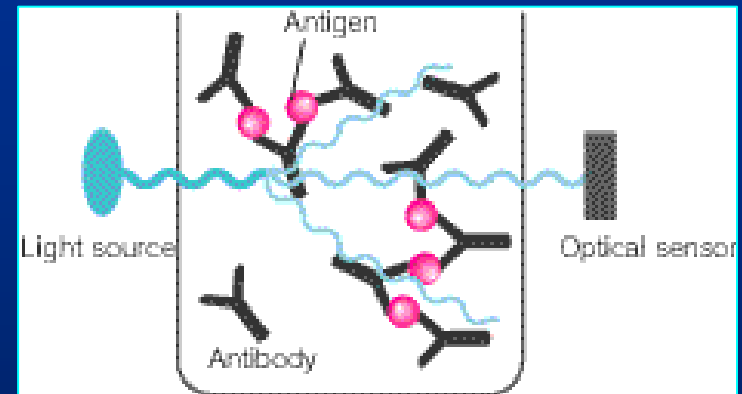


## Ej: Mezcla de antígenos y suero polivalente

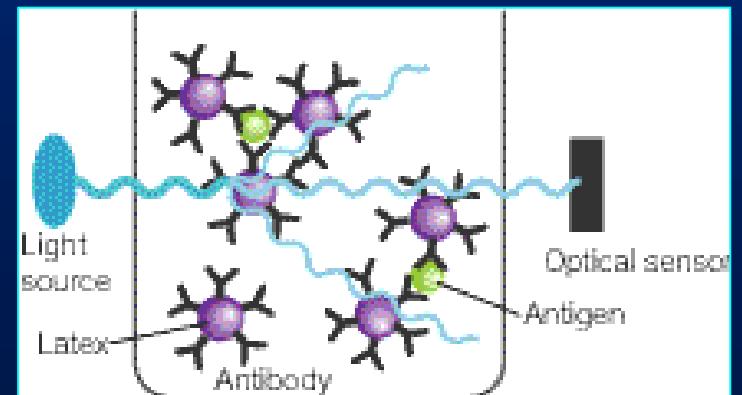
AS (pozo central) : Antisero de conejo anti-suero humano  
 HSA: Albúmina humana purificada  
 HIg: Inmunoglobulina humana purificada

# Ensayo Immunturbidimétrico

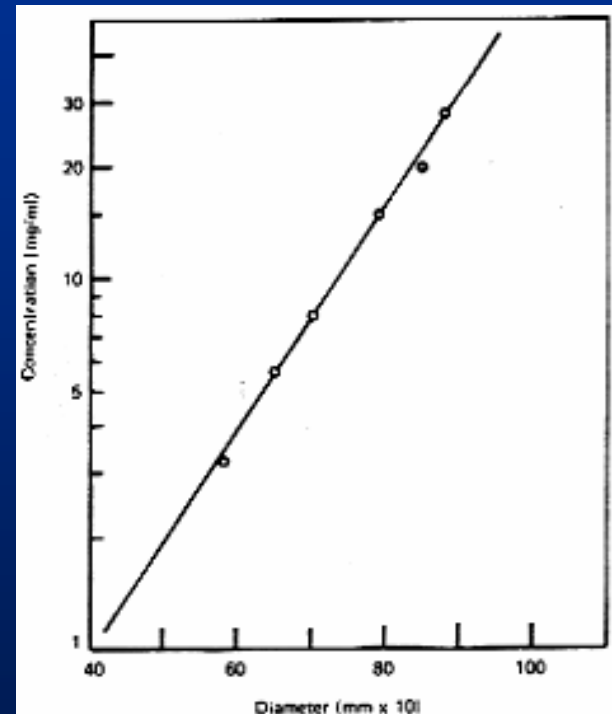
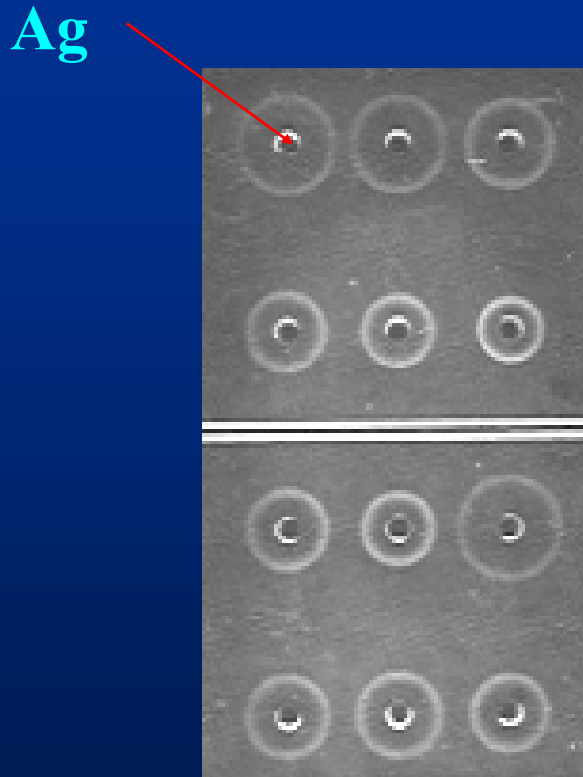
- ✓ Suero + Ag  $\longrightarrow$  complejos insolubles
- ✓ Aumenta turbidez de la solución y puede ser medida ópticamente
- ✓ Turbidez proporcional a la cantidad de proteínas en la muestra



Sensibilidad de método se puede incrementar con los anticuerpos Unidos a látex: mayores agregados



# Inmunodifusión Radial



Anticuerpo incorporado al gel

**El tamaño de los halos es proporcional a la concentración del antígeno**



# Reacciones en fase sólida

---

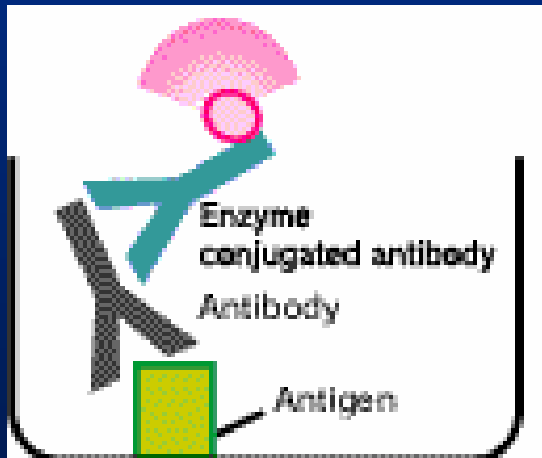
- ELISA
- Western bots
- Inmunofluorescencia
- Cromatografía de Afinidad

# ELISA

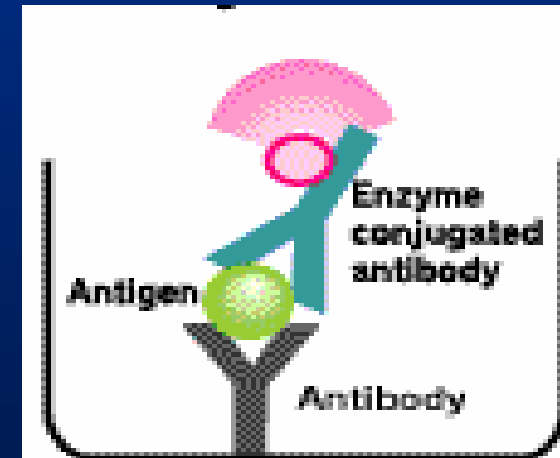
(Enzyme linked  
immunosorbent assay )



Detección de anticuerpos

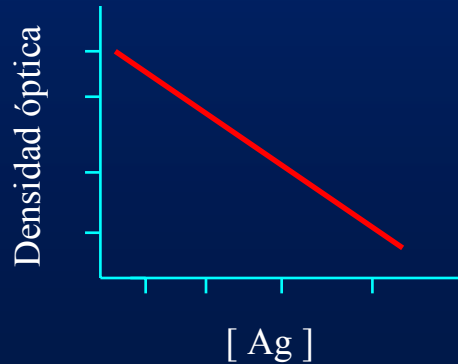
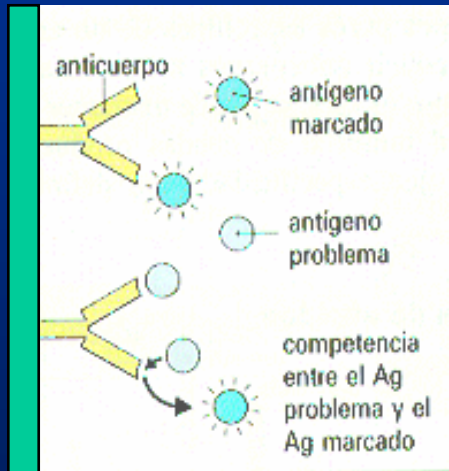


Detección de Antígeno



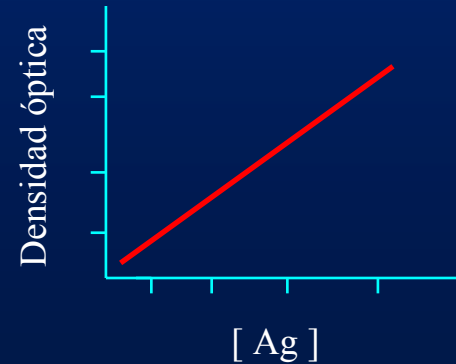
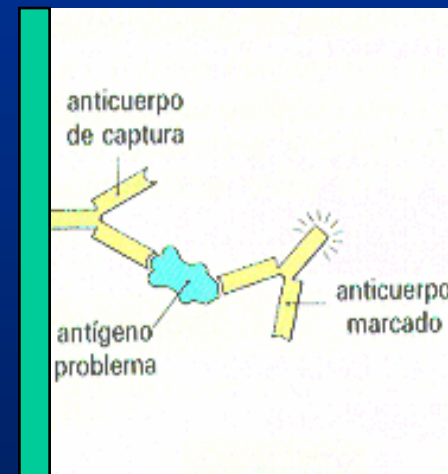
# Determinación de antígenos por ELISA

## Competencia



Caso de Haptenos

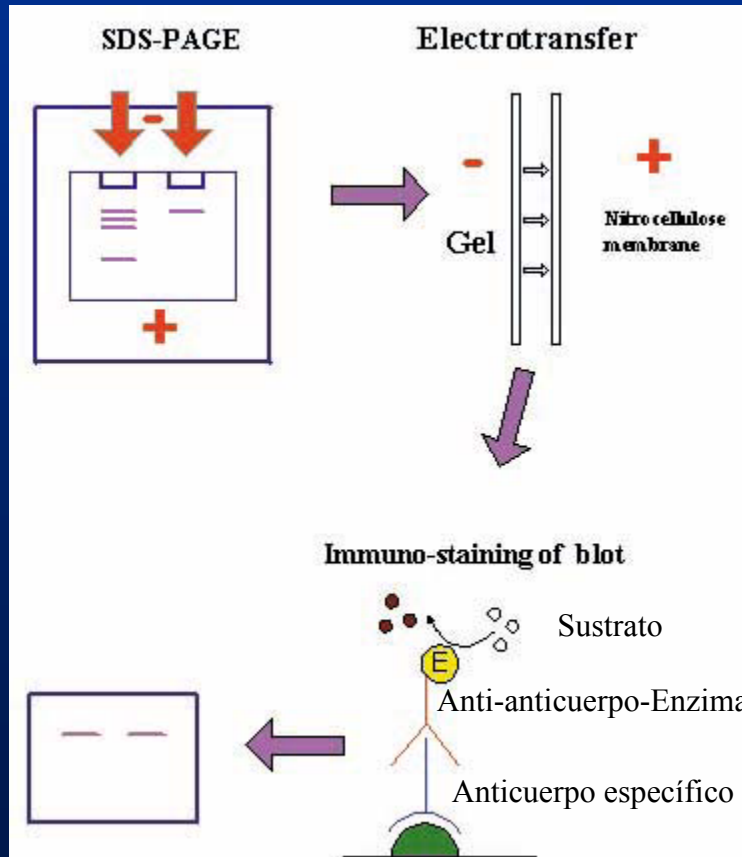
## Sándwich



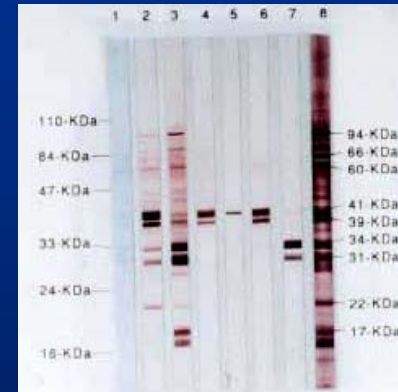
Caso de Proteínas



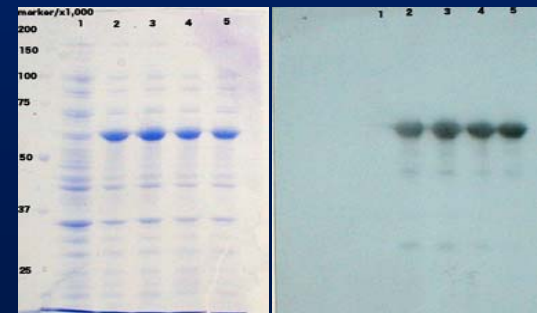
# Western blot



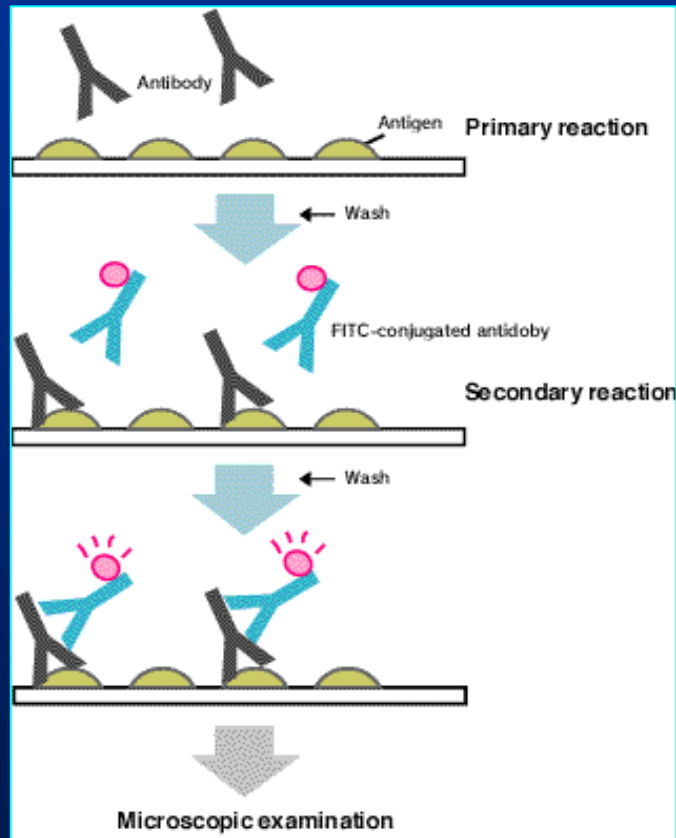
Precipitado producto enzimático



Quimioluminiscencia



# Inmunofluorescencia indirecta



Se puede hacer con células vivas o fijadas,  
con o sin permeabilizar.



# Cromatografía de Afinidad

- ✓ Ej: Purificación de un anticuerpo uniendo el antígeno a una resina (sp). Sin embargo, también se puede hacer lo contrario.

