

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM
TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

Fedorszki Ádám

Matematika BSc, Matematikai elemző szakirány

**Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA
immunességében**

Témavezető: Pfeil Tamás

Alkalmazott Analízis és Számításmatematikai Tanszék



Budapest, 2021

NYILATKOZAT

Név: Fedorszki Ádám

ELTE Természettudományi Kar, szak: Matematika BSc

NEPTUN azonosító: ASEOE A

Szakdolgozat címe:

Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA immunesszében

A **szakdolgozat** 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, 2021.12.31.



a hallgató aláírása

Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Pfeil Tamásnak, aki egyetemi tanulmányaim alatt megszerettette velem a differenciálegyenleteket, és megmutatta azok gyakorlati szerepét. Hálás vagyok neki a sok segítségért, a számos hasznos magyarázatért, hogy tanácsokkal szolgált és gondosan átnézte a dolgozatomat. Külön köszönettel tartozom a rengeteg belém fektetett időért, energiáért, nem utolsósorban végtelen türelméért, és hogy személyes találkozás hiányában is közvetlen módon segítette a munkámat. Számos olyan készséget sajátíthattam el tőle, melyeket a jövőben kamatoztatni tudok.

Továbbá köszönettel tartozom Havasi Ágnesnek a modellek szimulálásában nyújtott segítségéért, valamint Gustaf Söderlind professzornak, hogy az általa készített matlab-programot használhattam.

Szeretném megköszönni édesanyámnak és gimnáziumi matematika tanárainknak, hogy megszerettették velem a matematikát már gyerekként.

Hálásan köszönöm a családomnak és barátaimnak, amiért tanulmányaim alatt mindig töretlenül támogattak és ösztönöztek. A dolgozat biztosan nem készülhetett volna el néhai nagyszüleim től örökségbe kapott kitartás és hit nélkül.

Végezetül, hálával tartozom az ELTE valamennyi oktatójának, akik tudásukkal, szakértelmükkel és emberségükkel hozzájárultak, hogy a diplomámhoz szükséges tudást magamévá tegyem.

Tartalomjegyzék

Köszönetnyilvánítás	2
Bevezetés	5
1. Matematikai el ismeretek	6
1.1. A derivált és alkalmazásai	6
1.2. Differenciálegyenletek	8
2. Immunbiokémiai el ismeretek	12
2.1. Reakciókinetikai ismeretek	12
2.2. Immunológiai áttekintés	13
2.3. ELISA	16
3. Az immunkomplex képz és dinamikája monoklonális oldat esetén	18
3.1. A modell felállítása	19
3.2. Az immunkomplex képz és dinamikája monoklonális oldat és oldott antigén esetén	20
3.3. Az immunkomplex képz és dinamikája a kompetitív ELISA második fázisában	26
4. Az immunkomplex képz és dinamikája poliklonális oldat esetén	28
4.1. Az immunkomplex képz és dinamikája a poliklonális oldat és oldott antigén esetén	29
4.2. Az immunkomplex képz és dinamikája poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA második fázisában	31
5. Numerikus szimulációk	35
5.1. Numerikus szimulációk monoklonális oldat esetén	35
5.2. Numerikus szimulációk poliklonális oldat esetén	37

Irodalomjegyzék 49

Bevezetés

A matematika számomra azért is az egyik legérdekesebb szakterület, mert az élet számos területén hasznát vehetjük. A tudomány számtalan részén, mint a biológiában nagyon sok olyan folyamat van, amelyet matematikai modellek segítségével tudunk leírni, majd vizsgálni, annak érdekében, hogy a valóságot minél pontosabban közelíthessük. Ehhez nyújtanak segítséget például a folytonos modellek, melyek során differenciálegyenletek segítségével, adott feltételek mellett, egy jövőbeli időpontra tudnak közelítéssel jelezést adni. Hasonlóképp ilyen eljárások a szakdolgozatomban részletezett immunológiai folyamatok elemzése, a mono- és poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA immunesszében.

Az első fejezetben a differenciálegyenlet és egyenletrendszer 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 oldat antigén-antitest reakciója során megvizsgálom a komplexek képződésének dinamikáját. Meghatározom a kompetitív ELISA első és második fázisának egyensúlyi helyzetét.

A negyedik fejezetben hasonlóan, mint az előzőekben a komplexek képződésének dinamikáját írom le poliklonális oldat esetén.

Az ötödik 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 elismeretek

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

1.1. A derivált és alkalmazásai

1. Definíció. Legyen az f egyváltozós valós függvény, amely értelmezve van egy x_0 pont egy környezetében. Ekkor azt mondjuk, hogy az f függvény az $x_0 \in \mathbb{R}$ pontban *di erenciálható*, 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 *di erenciálhányadosának* nevezzük.

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

2. Definíció. Egy intervallumon értelmezett f függvény *di erenciálható*, ha az intervallum minden belső pontjában *di erenciálható*, valamint az f' deriváltfüggvénynek véges (egy oldali) határértéke van az intervallum azon végpontjaiban, ahol f értelmezve van.

Az f függvény folytonosan *di erenciálható*, ha *di erenciálható* és a deriváltfüggvénye folytonos.

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

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

3. Definíció. Legyen f egyváltozós valós függvény és $x_0 \in D(f)$, ahol $D(f)$ az f függvény értelmezési tartománya. 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, ha $f(x) > f(x_0)$ [$f(x) < f(x_0)$] minden $x \in (x_0 - \delta, x_0 + \delta)$ esetén, akkor 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.

2. Tétel. Tegyük fel, hogy f di erenciálható x_0 -ban. Ha f -nek lokális széls érték helye van x_0 -ban, akkor $f'(x_0) = 0$.

Az állítás nem megfordítható.

4. Definíció. Legyen az f függvény di erenciálható 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 di erenciálhányadosának*) 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 di erenciálható 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 di erenciálható, és ott az értéke $f''(x)$.

3. Tétel. Legyen f kétszer di erenciálható 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.

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

5. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}$ függvény, $x_0 \in D(f)$, k egész szám 1 és n között, valamint e_k a k -adik egységvektor \mathbb{R}^n standard bázisában.

Ha létezik a

$$\lim_{t \neq 0} \frac{f(x_0 + te_k) - f(x_0)}{t}$$

határérték, és ez valós szám, akkor f k -adik változó (x_k) szerinti *parciális deriváltjának* nevezzük, jele $\frac{\partial f}{\partial x_k}(x_0)$.

6. 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 első rendű parciális deriváltjait tartalmazó alábbi mátrixot az f függvény x pontbeli *Jacobi-mátrixának* nevezzük:

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

7. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^m$ egy nyílt halmazon értelmezett függvény. Ha f és minden koordinátafüggvényének minden változó szerinti parciális deriváltfüggvénye létezik és folytonos $D(f)$ -n, akkor f *folytonosan differenciálható*.

Ha f minden koordinátafüggvényének minden legfeljebb másodrendű parciális deriváltfüggvénye létezik és folytonos $D(f)$ -n, akkor f *kétszer folytonosan differenciálható*.

1.2. Differenciálegyenletek

8. 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 $x : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}$ az ismeretlen függvény, amely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

9. 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 első rend explicit közönséges differenciálegyenlet-rendszernek* nevezzük, ahol $x: \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^n$ az ismeretlen vektorérték függvény, amely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

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

váltfüggvénye $\dot{x} = \begin{pmatrix} \dot{x}_1 \\ \vdots \\ \dot{x}_n \end{pmatrix}$. A differenciálegyenlet-rendszert megoldó $f: \mathbb{R}^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}^n$ függvény koordináta-

függvényei legyenek f_1, \dots, f_n , ekkor a vektoregyenletet átírhatjuk egyenletrendszerre:

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

10. 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 $f|_U$ lesz kitétt függvény teljesíti a Lipschitz-feltételt.

5. 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.*

6. 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 $\dot{x}(t) =$*

$f(t, x(t))$ di erenciálegyenlet megoldása minden $x(t_0) = x_0$, $(t_0, x_0) \in D(f)$ kezdeti feltétellel létezik és globálisan egyértelmű.

11. Definíció. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ di erenciálegyenletet *első rendű lineáris di erenciálegyenletnek* 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.

7. Tétel. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ első rendű lineáris di erenciálegyenlet 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 di erenciálegyenlet egyik (partikuláris) megoldása.

12. Definíció. Az $\dot{x}(t) = a(t)x^2(t) + b(t)x(t) + c(t)$ közönséges, egyismeretlenes, első rendű di erenciálegyenletet *Riccati-féle di erenciálegyenletnek* nevezzük, ahol $a(t), b(t), c(t)$ ugyanazon a nyílt intervallumon értelmezett folytonos függvények.

8. Tétel. Az általános Riccati-féle di erenciálegyenlet integrálással nem oldható meg. Ha a Riccati-féle di erenciálegyenletnek ismert egy partikuláris megoldása, akkor új ismeretlen függvény bevezetésével már az összes megoldás is el állítható.

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

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

9. Tétel. 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 $t \in \mathbb{R}$ $\varphi(t, q)$ 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 $(\|p - q\| < \delta) \implies \|\varphi(t, q) - p\| < \varepsilon$ minden $t \geq 0$ esetén.)
- A p egyensúlyi pontot *aszimptotikusan stabilnak* nevezzük, ha stabil és a stabilitása definíciójában a feltételt teljesíti minden q -ra $\lim_{t \rightarrow \infty} \varphi(t, q) = p$.

- A p egyensúlyi pontot *instabilnak* nevezzük, ha nem stabil.

10. Tétel. Legyen $f: \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ 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.

11. 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 rész sajátértékek egyszeres gyökei a karakterisztikus polinomnak és van 0 valós rész 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 rész többszörös sajátérték, akkor a $0_{\mathbb{R}^n}$ egyensúlyi pont instabil.

12. 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 rész sajátértéke, akkor p instabil egyensúlyi pont.

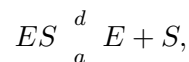
2. fejezet

Immunbiokémiai el ismeretek

2.1. 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 takarhatnak. 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 folyamatok a következő reakcióegyenlettel szokás felírni:



ahol d a disszociációra, az a pedig az asszociációra utal. A reakciók sebességét a reakciósebességgel szokás jellemezni, amely az idő egységenként 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:

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

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 (2.1)-beli

sebességgel lezajló bimolekuláris folyamatot *els rend kémiai reakciónak* nevezik. A reakció sebességi állandóját pedig *els rend sebességi állandónak* hívjuk.

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

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

ahol k_a a reakció sebességi állandója. Minden ilyen bimolekuláris folyamatot *másodrend reakciónak*, a reakció sebességi állandóját pedig *másodrend 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

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

amelybe I bevezetjük a K_D disszociációs egyensúlyi állandó fogalmát:

$$K_D = \frac{k_d}{k_a}. \quad (2.3)$$

Ennek a reciproka a K_A asszociációs egyensúlyi állandó:

$$K_A = \frac{k_a}{k_d}. \quad (2.4)$$

2.2. 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 elrehaladásával kiderült, hogy az immunfolyamatok biológiai jelentősége ennél jóval szélesebb körű. Az *immunrendszer* az immunfolyamatokat vezényli, egy önmagát folyamatosan megújító, hálózatot alkotó felismerő rendszer a szervezetünkben.

Az immunrendszer maga a szervezet védekezési 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) *antigén*nek nevezzük. A sajátként felismert struktúrákat az immunrendszer megéri, velük szemben tolerancia alakul ki, míg az idegenként felismert anyagok immunválaszt váltanak ki, ami az azt elidegenítő antigén semlegesítéséhez, elpusztításához, majd szervezetből való eltávolításához vezet. Az immunválasz során az immunrendszer *antitest*eket (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 *velünk született 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 velünk született védelem 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 antigénnel szemben, sejtes és nem sejtes módon. Nem képes a velünk született immunitást pótolni, hiszen csak a már ismert kórokozók ellen „vethet be”. Egy nagyon fontos képessége az adaptív immunrendszernek az úgynevezett *immunológiai memória* kialakulása, azaz, hogy egy korábban felismert antigén tulajdonságait "megjegyezve" arra később az elsőleges 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 *elsőleges* és *másodlagos* nyirokszerveket. Az elsőleges nyirokszervek (központi nyirokszervek) a csontokban található vörös csontvelő, valamint a

csecsem mirigy. A másodlagos nyirokszervek közé tartozik a lép, nyirokcsomók, valamint a di úz és organizált nyálkahártyához asszociált nyirokszövetek (MALT), azaz a légutak és béltraktus egyes részei, mint például a mandula és máj, és a b rhöz asszociált nyirokszövet (SALT). Valójában ezeken a területeken válnak antigén-specifikussá a limfociták, s itt történik az idegen anyagok kisz rése. A limfocitáknak két típusát különböztetjük meg, a vörös csontvel ben termel d ssejtekb l kialakuló *B-limfocitákat*, vagy más néven B-sejteket, melyek egy csoportja a csecsem mirigybe vándorol, és *T-limfocita* lesz bel lük.

Az ellenanyagok vagy antitestek az immunrendszer humorális immunválasza során keletkeznek. Az *immunglobulinok* olyan fehérjék, amelyek ellenanyagként funkcionálnak. Az ellenanyag és immunglobulin el-nevezéseket gyakran egymás helyettesítésére használjuk. Az ellenanyagokat az immunrendszer B-sejtjeib l származó plazmasejtek termelik és választják ki. A folyamat során a B-sejtek a másodlagos nyirokszervek-be 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 di erenciálódnak, 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 fert zésekre.

Az immunválasz során az antigén szervezetbe való bekerülése után a T-limfociták felismerik ket 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 érzékel falósejtek aktiválódnak, ezt követ en bekebelezik, majd elpusztítják a képz dött antigén-antitest komplexeket. Ezt követ en az immunológiai memória folyamat mellett, az e ektor 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 szerkezet antitesteket termel, ezért egy antigénre vonatkozó mindkét reakciósebességi állandója is közös. Ha egy oldat azonos szerkezet antitesteket tartalmaz, azt *monoklonálisnak* nevezük, ha pedig többféle szerkezet t, akkor *poliklonálisnak*. Az el bbire példák a daganatok gyógyításában használatos monoklonális antitest oldatok, az utóbbira a szérum és a hígított szérum.

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.

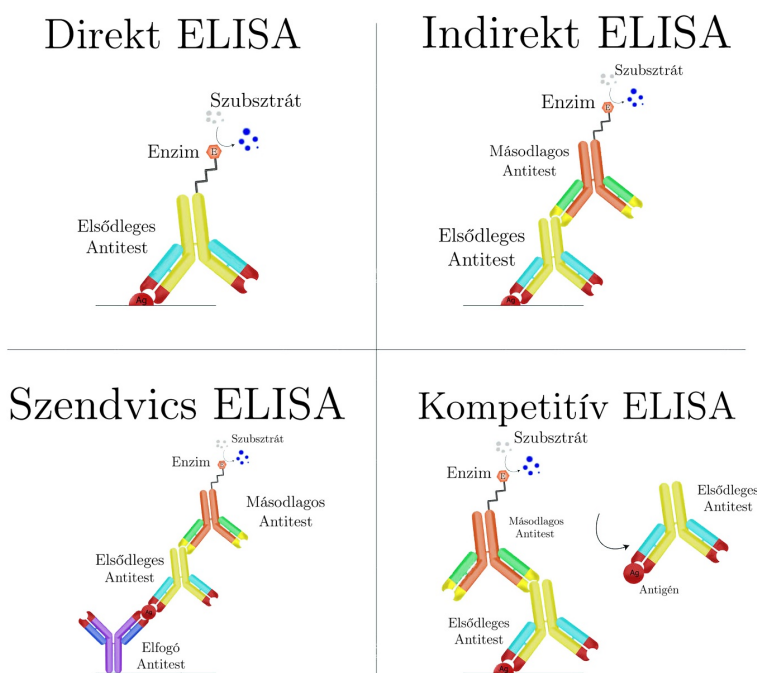
Az *indirekt* ELISA esetében az első lépésben jelöletlen elsőleges antitest köthetik a kinyomtatott antigénhez a vizsgált oldatból, majd az utóbbihoz a második lépésben egy enzimmel kapcsolódó másodlagos antitest.

A *szendvics* ELISA során olyan felületet készítünk, amelyhez ismert mennyiségű elfogó antitest köthetik. Így nem közvetlenül, hanem egy úgynevezett "elfogó" antitest felhasználásával rögzítjük az antigént a lemezen. Utána ehhez kapcsolódhat egy elsőleges 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 vérvizsgálatként a cöliákia kimutatására. Az ELISA a toxikológiában is használható bizonyos gyógyszer-csoportok gyors feltételezett szűrésére. A legszámtöbb használat az

orvostudományban van, egy-egy betegséget jelz 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 lév mycobacterium antitestek, székletben lév rotavírus és E. coli enterotoxin, a szérumban lév hepatitis B markerek, a szérumban lév hepatitis C markerek, vérmin-tákban HIV antitestek és 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 illet ben jelen van, vagy korábban volt a szervezetében a kórokozó, hiszen a vizsgálat kimutatta, hogy a vérében megjelenik a hozzá specifikusan kötöd antitest. Ha nem történik látható reakció, akkor a páciens negatív az adott betegségre vagy nem alakult ki a szervezetében immunválasz.



2.3.1. ábra. Az ELISA négy típusa

3. fejezet

Az immunkomplex képzés és dinamikája monoklonális oldat esetén

A következő fejezetben az alábbi jelöléseket fogom használni:

- $[Ab]$, $[Ab]_2$: szabad antitest klónok koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban.
- $[Ag]$, $[Ag]_2$: szabad antigének koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban.
- $[AbAg]$, $[AbAg]_2$: komplexek koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban.
- k_a , k_d : az $Ab + Ag \rightleftharpoons AbAg$ reakció asszociációs, illetve disszociációs reakciósebességi állandója.
- K_D : disszociációs egyensúlyi állandó, $K_D = \frac{k_d}{k_a}$.
- $[Ab]_T$, $[Ab]_{T,2}$: szabad antitestek kezdeti koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (mindkettő térfogati koncentráció).
- $[Ag]_T$, $[Ag]_{T,2}$: szabad antigének kezdeti koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).
- $[AbAg]_e$, $[AbAg]_{e,2}$: a komplex koncentrációjának egyensúlyi értéke az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).

3.1. A modell felállítása

A szakdolgozatom 3. fejezetében a kompetitív ELISA immunesszében monoklonális oldat esetén az immunkomplex képzés és dinamikáját és egyensúlyi állapotát vizsgálom. Feltételezzük, hogy mindkét fázisban egy antigén- és egy antitest-molekula alkot immunkomplexet, a kinyomtatott antigén-molekulák egyréteg felületet képeznek, az antigén molekulák irreverzibilis módon kötődnek a tartály aljához, az antigén-molekulák száma nagyságrendekkel kisebb az oldatbeli antitestek számához képest. Tekintsük az oldatban szereplő antitestek és szabad antigének eloszlását minden időpillanatban homogénnek.

Az első fázisban (oldott fázis) az ELISA immunesszében lezajló antigén-antitest reakciót vizsgáljuk abban az esetben, amikor a vizsgált oldathoz oldott antigént kevernek és megvárják az egyensúlyt. Az első, oldott antigént tartalmazó fázisban az antigénre vonatkozó anyagmegmaradás törvénye szerint $[Ag] = [Ag]_T - [AbAg]$, hiszen pontosan annyi antigén van kötött állapotban az oldatban, mint az antigén-antitest komplexek száma, és mivel az antigén oldott állapotban van jelen, ezért érvényes az $[Ab] = [Ab]_T - [AbAg]$ összefüggés is az antitestekre vonatkozó anyagmegmaradás szerint.

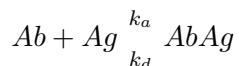
Az első fázisban oldott antigének vannak és az antitestek egy része komplexet alkot ezekkel, ezért a kompetitív ELISA második fázisában, a szilárd fázisban, már kisebb a szabad antitestek kezdeti mennyisége. A korábbi feltételezésünk szerint a komplexet egy-egy antitest és antigén molekula alkotja, így az előbbi miatt a komplex koncentrációja egyenlő a komplexben kötött antitestek koncentrációjával. Ha az első fázisban az antitestekre alkalmazzuk az anyagmegmaradás törvényéből következő koncentrációmegmaradást, akkor a szabad antitestek kezdeti $[Ab]_T$ koncentrációja az első fázisban képződött komplexek $[AbAg]_e$ koncentrációjának és az első fázis végén a szabad antitestek (ezek a második fázis kezdeti antitestjei is) $[Ab]_{T,2}$ koncentrációjának összege, tehát $[Ab]_T = [AbAg]_e + [Ab]_{T,2}$. Ezért a második fázisbeli szabad antitestek koncentrációja $[Ab]_T$ és $[AbAg]_e$ különbsége.

A második fázisban az indirekt ELISA immunesszé során is lezajló antigén-antitest reakciót vizsgáljuk abban az esetben, amikor a reakciótartály aljára van kinyomtatva ismert konstans koncentrációban az antigén, és a tartályt monoklonális antitesteket tartalmazó oldat tölti ki.

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 során az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja növekszik, míg a disszociáció során csökken.

A kompetitív ELISA első fázisában oldott antigént keverünk az oldathoz, jelen esetben a monoklonális

oldathoz, ahol az



reverzibilis reakció zajlik le.

A 2. fejezet (2.1) és (2.2) képletei alapján a fentebb felírt biokémiai folyamatok hatása az immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjára: az asszociáció másodrendű és hozzájárulása $k_a[Ab][Ag]$, a disszociáció pedig elsőrendű és hozzájárulása $k_d[AbAg]$, ahol k_a és k_d reakciósebességi állandó.

Ezen összefüggések segítségével leírható a komplex térfogati koncentrációjának időbeli változása egy differenciálegyenlettel, amely magában foglalja a szabad antigén és a szabad antitestek koncentrációját is, melyek függenek a komplex koncentrációjától:

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

3.2. Az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldat és oldott antigén esetén

Az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldatot vizsgálva az első, oldott antigén fázis esetén az előző fejezet alapján:

$$\frac{d[AbAg]}{dt} = k_a[Ab][Ag] - k_d[AbAg]. \quad (3.1)$$

Szintén az előző fejezet alapján $[Ag] = [Ag]_T - [AbAg]$. Az első fázisban az antigén oldott állapotban van jelen, ezért érvényes az $[Ab] = [Ab]_T - [AbAg]$ összefüggés is, ezt (3.1)-be írva

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

innen

$$\frac{d[AbAg]}{dt} = k_a[AbAg]^2 - (k_a([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d)[AbAg] + k_a[Ab]_T[Ag]_T. \quad (3.2)$$

Egyensúlyban $\frac{d[AbAg]}{dt} = 0$, ebből a jobb oldalon k_a -val osztva $K_D = \frac{k_d}{k_a}$ szerint

$$[AbAg]_e^2 - ([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)[AbAg]_e + [Ab]_T[Ag]_T = 0,$$

ezért a következő két egyensúlyi pontot kapjuk:

$$[AbAg]_{e_{1,2}} = \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D \pm \sqrt{([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 - 4[Ab]_T[Ag]_T} \right).$$

Ekvivalensen alakítjuk a diszkriminánst:

$$([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 - 4[Ab]_T[Ag]_T = ([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ag]_TK_D.$$

A diszkrimináns nemnegatív, így az egyensúlyi egyenlet mindkét gyöke valós szám, melyek:

$$[AbAg]_{e_{1,2}} = \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D \pm \sqrt{([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ag]_TK_D} \right).$$

A nagyobbik gyök nyilvánvaló, hogy pozitív. Megmutatom, hogy $[Ag]_T > 0$ esetén a nagyobb

$$[AbAg]_{e_1} = \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D + \sqrt{([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ag]_TK_D} \right) \quad (3.3)$$

gyök $[Ag]_T$ -nál nagyobb, így nincs immunológiai jelentése.

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D + \sqrt{([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ag]_TK_D} \right) &> [Ag]_T \\ \sqrt{([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ag]_TK_D} &> [Ag]_T - [Ab]_T - K_D. \end{aligned}$$

Ha $[Ag]_T < [Ab]_T + K_D$, akkor az egyenlet mindig triviálisan igaz. Ha $[Ag]_T \geq [Ab]_T + K_D$, akkor az egyenlet négyzetre emelése ekvivalens művelet, azaz $2[Ag]_TK_D > 2[Ag]_TK_D$ egyenletet kapva igaz összefüggésre jutottunk. Mindkét esetben igaz egyenletet kaptunk. Így a kiinduló állításunk is igaz, miszerint $[AbAg]_{e_1} > [Ag]_T$.

A kisebbik gyök

$$[AbAg]_{e_2} = \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D - \sqrt{([Ab]_T - [Ag]_T + K_D)^2 + 4[Ab]_T[Ag]_T} \right), \quad (3.4)$$

ami pozitív, mert egy pozitív számból annál kisebbet vonunk ki. Mindkettő egyensúlyi értéke a (3.2) egyenletnek, ez utóbbi az első fázis egyensúlyi koncentrációja.

A (3.2) egyenlet Riccati differenciálegyenlet, amit általánosan nem lehet megoldani, de az állandó együttműködés esetén igen.

Legyen $x = [AbAg]$, $\alpha = k_a$, $\beta = k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d$, $\gamma = k_a [Ab]_T [Ag]_T$, akkor

$$\frac{dx}{dt} = \alpha x^2 - \beta x + \gamma. \quad (3.5)$$

Legyen u olyan új ismeretlen függvény, melyre

$$x = \frac{1}{\alpha u} \frac{du}{dt}, \quad (3.6)$$

Adott x mellett a (3.6) első rendű homogén lineáris differenciálegyenlet u -ra, melynek minden x folytonos függvényre és minden kezdeti feltétellel pontosan egy u megoldása van.

A (3.6) alapján a jobb oldalon a szorzatot deriválva

$$\frac{dx}{dt} = \frac{1}{\alpha u^2} \left(\frac{du}{dt} \right)^2 - \frac{1}{\alpha u} \frac{d^2u}{dt^2},$$

mely szerint (3.5)-ből

$$\begin{aligned} \frac{1}{\alpha u^2} \left(\frac{du}{dt} \right)^2 - \frac{1}{\alpha u} \frac{d^2u}{dt^2} &= \frac{dx}{dt} = \alpha \left(\frac{1}{\alpha u} \frac{du}{dt} \right)^2 + \beta \frac{1}{\alpha u} \frac{du}{dt} + \gamma, \\ \frac{d^2u}{dt^2} + \beta \frac{du}{dt} + \alpha \gamma u &= 0. \end{aligned} \quad (3.7)$$

Másodrendű lineáris állandó együtthatós ez a differenciálegyenlet, melynek a karakterisztikus egyenlete $\lambda^2 + \beta\lambda + \alpha\gamma = 0$, ahol λ_1 és λ_2 a gyökei. A karakterisztikus egyenlet gyökei egyszeresek és valósak, mert a másodfokú egyenlet diszkriminánsa $K_D = \frac{k_d}{k_a} > 0$ miatt

$$\begin{aligned} D &= \beta^2 - 4 \cdot 1 \cdot \alpha\gamma = (k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d)^2 - 4k_a^2 [Ab]_T [Ag]_T = \\ &= k_a^2 \left(([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 + 4K_D [Ag]_T \right) > 0, \end{aligned}$$

és ezért a karakterisztikus egyenlet gyökei:

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2} \left(- (k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d) \pm \sqrt{(k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d)^2 - 4k_a^2 [Ab]_T [Ag]_T} \right).$$

Így a (3.5) differenciálegyenlet megoldásai:

$$u(t) = C_1 e^{\lambda_1 t} + C_2 e^{\lambda_2 t}, \quad C_1, C_2 \in \mathbb{R}. \quad (3.8)$$

Ekvivalens átalakítással és felhasználva, hogy $K_D = \frac{k_d}{k_a}$, a karakterisztikus egyenlet két gyöke:

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2} k_a \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D \pm \sqrt{([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 + 4K_D[Ag]_T} \right).$$

Megmutatjuk, hogy

$$\lambda_1 = \frac{1}{2} k_a \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D + \sqrt{([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 + 4K_D[Ag]_T} \right)$$

negatív.

Ehhez azt kell igazolnunk, hogy

$$\sqrt{([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 + 4K_D[Ag]_T} < [Ab]_T + [Ag]_T + K_D.$$

Mivel egyik oldal sem nemnegatív, így a négyzetre emelés ekvivalens lépés, ezt elvégezve és némi átrendezéssel azt kapjuk, hogy $2[Ab]_T[Ag]_T < 2[Ab]_T[Ag]_T$, ami igaz. Így igazoltuk, hogy λ_1 negatív szám.

Nyilvánvaló, hogy a másodfokú egyenletben λ_2 , a kisebbik gyök, két negatív szám összege, azaz negatív. Tehát λ_1 és λ_2 negatív számok.

A $\lambda_2 < \lambda_1 < 0$, valamint a (3.6) és (3.8) alapján

$$[AbAg] = x(t) = \frac{C_1 \lambda_1 e^{\lambda_1 t} + C_2 \lambda_2 e^{\lambda_2 t}}{\alpha (C_1 e^{\lambda_1 t} + C_2 e^{\lambda_2 t})} = \frac{1}{\alpha} \frac{C_1 \lambda_1 + C_2 \lambda_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{C_1 + C_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}.$$

Mivel kezdetben még nem képződött komplex, ezért $x(0) = 0$. Ezzel a kezdeti feltétellel a megoldásban $C_1 \neq 0$, különben az $[AbAg] = x(t) = \frac{\lambda_2}{\alpha} \neq 0$ konstans megoldást kapnánk.

$$0 = x(0) = \frac{C_1 \lambda_1 + C_2 \lambda_2}{\alpha (C_1 + C_2)},$$

$$\frac{C_2}{C_1} = -\frac{\lambda_1}{\lambda_2},$$

ezért

$$\begin{aligned}
 [AbAg] &= \frac{1}{\alpha} \frac{C_1 \lambda_1 + C_2 \lambda_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{C_1 + C_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} = \frac{1}{\alpha} \frac{\lambda_1 + \frac{C_2}{C_1} \lambda_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{1 + \frac{C_2}{C_1} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} = \\
 &= \frac{1}{\alpha} \frac{\lambda_1 \frac{\lambda_1}{\lambda_2} \lambda_2 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{1 + \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} = \frac{\lambda_1}{k_a} \frac{1 - e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}. \tag{3.9}
 \end{aligned}$$

Az $[AbAg]$ nevezője pozitív, mert

$$\begin{aligned}
 1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} &= 0, \\
 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} &= \frac{\lambda_2}{\lambda_1}, \\
 (\lambda_2 - \lambda_1)t &= \ln\left(\frac{\lambda_2}{\lambda_1}\right),
 \end{aligned}$$

ezért $\lambda_2 < \lambda_1$ és $\frac{\lambda_2}{\lambda_1} > 1$ alapján a nevező egyetlen zérushelye negatív.

Megvizsgálom az $[AbAg]$ függvény monotonitását. Végezzünk némi átalakítást a függvényen:

$$\begin{aligned}
 [AbAg] &= \frac{\lambda_1}{k_a} \frac{1 - e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} = \frac{\lambda_1}{k_a} \frac{1 + \frac{\lambda_2}{\lambda_1} \left(1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}\right) - \frac{\lambda_2}{\lambda_1}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} = \frac{\lambda_1}{k_a} \left(\frac{\lambda_2}{\lambda_1} + \frac{\frac{\lambda_2}{\lambda_1} - 1}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} \right) = \\
 &= \frac{\lambda_2}{k_a} + \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{k_a} \frac{1}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}. \tag{3.10}
 \end{aligned}$$

Elször deriválom a (3.10) átalakított függvény második tagjának második tényezőjét t szerint.

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt} \left(\frac{1}{1 + \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}} \right) &= \frac{\lambda_1 (\lambda_2 - \lambda_1)}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} \left(\frac{1}{\left(1 + \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} \right)^2} \right) = \\ &= \lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1) \frac{e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^2}. \end{aligned}$$

Tehát

$$\frac{d[AbAg]}{dt} = \frac{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1)^2}{k_a} \frac{e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^2}.$$

Ez mindenütt pozitív, így az $[AbAg]$ függvény szigorúan monoton növekvő.

Megvizsgálom az $[AbAg]$ függvény alakját is. Keressük az $[AbAg]$ függvény második deriváltját.

$$\begin{aligned} \frac{d^2[AbAg]}{dt^2} &= \frac{d}{dt} \left(\frac{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1)^2}{k_a} \frac{e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^2} \right) = \\ &= \frac{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1)^2}{k_a} \frac{d}{dt} \left(\frac{e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t}}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^2} \right) = \\ &= \frac{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1)^2}{k_a} \frac{(\lambda_2 - \lambda_1) e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} (\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^2 + 2\lambda_1 (\lambda_2 - \lambda_1) e^{2(\lambda_2 - \lambda_1)t} (\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^4} = \\ &= \frac{\lambda_1 \lambda_2 (\lambda_2 - \lambda_1)^3}{k_a} \frac{e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} (\lambda_2 + \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})}{(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^3}. \end{aligned}$$

Az itteni nevező a (3.9)-belinek a λ_2 -szöröse, ezért t semelyik nemnegatív értékére sem nulla. A $\frac{d^2[AbAg]}{dt^2}$ nevezője t folytonos függvénye és nem nulla a $[0; 1)$ intervallumon, valamint $t = 0$ -ban negatív, így $(\lambda_2 - \lambda_1 e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t})^3$ is negatív $[0; 1)$ -n. Ezért az összes $t \in [0; 1)$ értékre a vizsgált második derivált függvény negatív.

Tehát az $[AbAg]$ függvény szigorúan monoton növekvő és konkáv a $[0; 1)$ intervallumon, ahogy egy telítési függvényt várjuk.

Ha $t \neq 1$, akkor (3.9)-ben $[AbAg]$ határérték $e^{(\lambda_2 - \lambda_1)t} \neq 0$ miatt

$$\begin{aligned} \frac{1}{k_a} \lambda_1 &= \frac{1}{k_a} \frac{1}{2} \left((k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d) + \sqrt{(k_a ([Ab]_T + [Ag]_T) + k_d)^2 - 4k_a^2 [Ab]_T [Ag]_T} \right) = \\ &= \frac{1}{2} \left([Ab]_T + [Ag]_T + K_D - \sqrt{([Ab]_T + [Ag]_T + K_D)^2 - 4[Ab]_T [Ag]_T} \right), \end{aligned}$$

ami az egyensúlyt vizsgálva már kijött.

3.3. Az immunkomplex képződés dinamikája a kompetitív ELISA második fázisában

A második fázisban a felszínre kinyomtatott antigénhez adjuk az első fázisban kapott oldatot. A modell második fázisában $[Ab]_2$ állandó, az antigén- és antitest-molekulák számának nagyságrendbeli különbségéből adódóan, tehát az értéke egyenlő az $[Ab]_{T,2}$ értékével.

$$\frac{d[AbAg]_2}{dt} = k_a [Ab]_2 [Ag]_2 - k_d [AbAg]_2 = k_a [Ab]_{T,2} ([Ag]_{T,2} - [AbAg]_2) - k_d [AbAg]_2. \quad (3.11)$$

Az antitestek $[Ab]_{T,2}$ koncentrációja egyenlő $[Ab]_T$ és $[AbAg]_e$ különbségével. Ezzel a differenciálegyenlet

$$\frac{d[AbAg]_2}{dt} = k_a ([Ab]_T - [AbAg]_e) ([Ag]_{T,2} - [AbAg]_2) - k_d [AbAg]_2. \quad (3.12)$$

$[AbAg]_2$ -n kívül az egyenletben szereplő mennyiségek mind állandóak. A kapott

$$\frac{d[AbAg]_2}{dt} = (k_a [AbAg]_e - k_a [Ab]_T - k_d) [AbAg]_2 + k_a ([Ab]_T - [AbAg]_e) [Ag]_{T,2} \quad (3.13)$$

differenciálegyenlet egy első rendű lineáris egyenlet, amelynek megoldása a 7. Tétel alapján

$$[AbAg]_2 = \frac{k_a ([AbAg]_e - [Ab]_T) [Ag]_{T,2}}{k_a [AbAg]_e - k_a [Ab]_T - k_d} + C e^{(k_a [AbAg]_e - k_a [Ab]_T - k_d)t}. \quad (3.14)$$

Az immunreakció kezdetén (a $t = 0$ időpontban) immunkomplex még nem képződött, koncentrációja nulla. Az $[AbAg]_2|_{t=0} = 0$ kezdeti feltétellel a megoldás

$$[AbAg]_2 = \frac{k_a ([AbAg]_e - [Ab]_T) [Ag]_{T,2}}{k_a [AbAg]_e - k_a [Ab]_T - k_d} \left(1 - e^{(k_a [AbAg]_e - k_a [Ab]_T - k_d)t} \right).$$

Keressük meg a (3.12) differenciálegyenlet egyensúlyi pontját és vizsgáljuk meg a stabilitását! Az egyensúlyi pontban

$$(k_a[AbAg]_e - k_a[Ab]_T - k_d) [AbAg]_2 + k_a ([Ab]_T - [AbAg]_e) [Ag]_{T,2} = 0,$$

ahonnan az egyensúlyi pont

$$[AbAg]_{e,2} = \frac{k_a ([Ab]_T - [AbAg]_e) [Ag]_{T,2}}{k_a[AbAg]_e - k_a[Ab]_T - k_d}. \quad (3.15)$$

Az egyensúlyi helyzet stabilitását a 10. Tétel alapján a differenciálegyenlet jobb oldala $[AbAg]_2$ szerinti deriváltjának előjele dönti el, ami

$$\begin{aligned} \frac{d}{d[AbAg]_2} \left((k_a[AbAg]_e - k_a[Ab]_T - k_d) [AbAg]_2 + k_a ([Ab]_T - [AbAg]_e) [Ag]_{T,2} \right) = \\ = k_a[AbAg]_e - k_a[Ab]_T - k_d = k_a[Ab]_{T,2} - k_d < 0 \end{aligned}$$

konstansfüggvény. Tehát a derivált előjele az egyensúlyi pontban is negatív, így a tétel alapján a differenciálegyenlet egyensúlyi pontja aszimptotikusan stabil. A megoldások (3.14) képlete is megadja az egyensúlyi pontot és mutatja annak aszimptotikus stabilitását.

Tehát azt kaptuk, hogy a reakció második fázisában az antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja az időben exponenciálisan tart az aszimptotikusan stabil egyensúlyához.

4. fejezet

Az immunkomplex képzés és dinamikája poliklonális oldat esetén

A következő fejezetben az alábbi jelöléseket fogom használni:

- $[Ab_i]$, $[Ab_i]_2$: az i . szabad antitest klónok koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (mindkettő térfogati koncentráció).
- $[Ag]$, $[Ag]_2$: szabad antigének koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).
- $[Ab_iAg]$, $[Ab_iAg]_2$: az i . típusú komplex koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).
- k_{a_i} , k_{d_i} : az $Ab_i + Ag \rightleftharpoons Ab_iAg$ reakció asszociációs, illetve disszociációs reakciósebességi állandója.
- K_{D_i} : disszociációs egyensúlyi állandó, $K_{D_i} = \frac{k_{d_i}}{k_{a_i}}$.
- K_{A_i} : asszociációs egyensúlyi állandó, $K_{A_i} = \frac{k_{a_i}}{k_{d_i}}$.
- $[Ab_i]_T$, $[Ab_i]_{T,2}$: az i . szabad antitest klónok kezdeti koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (mindkettő térfogati koncentráció).

- $[Ag]_T$, $[Ag]_{T,2}$: az i . szabad antigének kezdeti koncentrációja az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).
- $[Ab_i Ag]_e$, $[Ab_i Ag]_{e,2}$: az i . komplex koncentrációjának egyensúlyi értéke az oldott fázisban, illetve a szilárd fázisban (az első térfogati, a második felszíni koncentráció).

4.1. Az immunkomplex képződés dinamikája a poliklonális oldat és oldott antigén esetén

A 3.1. alfejezet alapján az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldatot vizsgálva az első, oldott antigén fázis esetén:

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

Poliklonális esetben legyen n fajta antitest molekula az oldatban, akkor a reakció során n fajta antigén-antitest komplex alakul ki. Térben homogénnek tekintjük a reakcióban szereplő anyagokat, mert az ELISA reakció során a szérumot az immunológusok folyamatosan rázatják. Ellenkező esetben a reakciót parciális differenciálegyenlet írná le. Az n fajta immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjára felírható n differenciálegyenlet, amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1 Ag]}{dt} &= k_{a_1}[Ab_1][Ag] - k_{d_1}[Ab_1 Ag] \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_n Ag]}{dt} &= k_{a_n}[Ab_n][Ag] - k_{d_n}[Ab_n Ag] \end{aligned} \right\}, \quad (4.1)$$

ahol $[Ab_1 Ag], \dots, [Ab_n Ag]$ az n fajta antigén-antitest komplex térfogati koncentrációját, az $[Ab_1], \dots, [Ab_n]$ a szabad antitestek térfogati koncentrációit jelöli. Mivel az antigének oldott állapotban vannak jelen és vagy szabad egy Ab_i molekula, vagy komplexben kötött, ezért érvényes $[Ab_i] = [Ab_i]_T - [Ab_i Ag]$, ahol $i = 1, \dots, n$. Az $[Ag]$ a szabad antigén térfogati koncentrációját jelöli, mint a t idő függvényét. Továbbá k_{a_1}, \dots, k_{a_n} az n fajta asszociáció és k_{d_1}, \dots, k_{d_n} az n fajta disszociáció reakciósebességi állandója. Jelölje $[Ag]_T$ az antigén kezdeti térfogati koncentrációját, ekkor

$$[Ag] = [Ag]_T - \sum_{i=1}^n [Ab_i Ag].$$

Ezek alapján a d_i erenciálegyenlet-rendszer:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]}{dt} &= k_{a_1}([Ab_1]_T \quad [Ab_1Ag]) \left([Ag]_T \quad \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \right) \quad k_{d_1}[Ab_1Ag] \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_nAg]}{dt} &= k_{a_n}([Ab_n]_T \quad [Ab_nAg]) \left([Ag]_T \quad \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \right) \quad k_{d_n}[Ab_nAg] \end{aligned} \right\}. \quad (4.2)$$

Alakítva, majd rendezve a

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]}{dt} &= k_{a_1}[Ab_1Ag] \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \quad k_{a_1}[Ab_1]_T \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \quad k_{a_1}[Ab_1Ag][Ag]_T \quad k_{d_1}[Ab_1Ag] + k_{a_1}[Ab_1]_T[Ag]_T \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_nAg]}{dt} &= k_{a_n}[Ab_nAg] \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \quad k_{a_n}[Ab_n]_T \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \quad k_{a_n}[Ab_nAg][Ag]_T \quad k_{d_n}[Ab_nAg] + k_{a_n}[Ab_n]_T[Ag]_T \end{aligned} \right.$$

d_i erenciálegyenlet-rendszert kapjuk.

A n di erenciálegyenlet-rendszer vektoregyenletként

$$\begin{aligned}
 \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} &= \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1Ag] \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_nAg] \sum_{i=1}^n [Ab_iAg] \end{pmatrix} + \\
 + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T & k_{a_1}[Ag]_T & k_{d_1} & & & & k_{a_1}[Ab_1]_T \\ & k_{a_2}[Ab_2]_T & & k_{a_2}[Ab_2]_T & k_{a_2}[Ag]_T & k_{d_2} & \dots & k_{a_2}[Ab_2]_T \\ & \vdots & & \vdots & \vdots & \ddots & & \vdots \\ & k_{a_n}[Ab_n]_T & & k_{a_n}[Ab_n]_T & & \dots & k_{a_n}[Ab_n]_T & k_{a_n}[Ag]_T & k_{d_n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag] \\ \vdots \\ [Ab_nAg] \end{pmatrix} + \\
 + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T \\ k_{a_2}[Ab_2]_T \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T \end{pmatrix} [Ag]_T.
 \end{aligned} \tag{4.3}$$

4.2. Az immunkomplex képződés dinamikája poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA második fázisában

A 3.3. alfejezet alapján az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldatot vizsgálva a második, szilárd antigénnel reagáló fázis során:

$$\frac{d[AbAg]_2}{dt} = k_a[Ab]_2[Ag]_2 - k_d[AbAg]_2.$$

Az el z alfejezet alapján az n fajta immunkomplex koncentrációjára érvényes n di erenciálegyenlet,

amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]_2}{dt} &= k_{a_1}[Ab_1]_2[Ag]_2 - k_{d_1}[Ab_1Ag]_2 \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_nAg]_2}{dt} &= k_{a_n}[Ab_n]_2[Ag]_2 - k_{d_n}[Ab_nAg]_2 \end{aligned} \right\},$$

ahol $[Ab_1Ag]_2, \dots, [Ab_nAg]_2$ az n fajta antigén-antitest komplex felszíni koncentrációja, $[Ab_1]_2, \dots, [Ab_n]_2$ a szabad antitestek konstans koncentrációi, melyeket az első fázis végén megkapott n fajta antitest klón koncentrációjából az $[Ab_i]_2 = [Ab_i]_T - [Ab_iAg]_e$ egyenlőséggel kapjuk meg, ahol $i = 1, \dots, n$. $[Ag]_2$ a szabad antigén felszíni koncentrációját jelöli, mint a t idő függvényét. Továbbra is legyen k_{a_1}, \dots, k_{a_n} az n fajta asszociáció és k_{d_1}, \dots, k_{d_n} az n fajta disszociáció reakciósebességi állandója. Jelölje $[Ag]_{T,2}$ az antigén kezdeti felszíni koncentrációját, ekkor

$$[Ag]_2 = [Ag]_{T,2} - \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_2.$$

Ezek alapján a differenciálegyenlet-rendszer:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]_2}{dt} &= k_{a_1} \left([Ab_1]_T - [Ab_1Ag]_e \right) \left([Ag]_{T,2} - \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_2 \right) - k_{d_1}[Ab_1Ag]_2 \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_nAg]_2}{dt} &= k_{a_n} \left([Ab_n]_T - [Ab_nAg]_e \right) \left([Ag]_{T,2} - \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_2 \right) - k_{d_n}[Ab_nAg]_2 \end{aligned} \right\}.$$

Átalakítva, majd rendezve a

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]_2}{dt} &= k_{a_1} \left([Ab_1]_T - [Ab_1Ag]_e \right) \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_2 - k_{d_1}[Ab_1Ag]_2 + k_{a_1} \left([Ab_1]_T - [Ab_1Ag]_e \right) [Ag]_{T,2} \\ &\vdots \\ \frac{d[Ab_nAg]_2}{dt} &= k_{a_n} \left([Ab_n]_T - [Ab_nAg]_e \right) \sum_{i=1}^n [Ab_iAg]_2 - k_{d_n}[Ab_nAg]_2 + k_{a_n} \left([Ab_n]_T - [Ab_nAg]_e \right) [Ag]_{T,2} \end{aligned} \right.$$

differenciálegyenlet-rendszert kapjuk.

A differenciálegyenlet-rendszer vektoregyenletként

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag]_2 \\ \vdots \\ [Ab_nAg]_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e & k_{d_1} & k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e & \dots & k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e \\ k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e & k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e & k_{d_2} & \dots & k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & \dots & k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & k_{d_n} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} [Ab_1Ag]_2 \\ \vdots \\ [Ab_nAg]_2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T & k_{a_1}[Ab_1Ag]_e \\ k_{a_2}[Ab_2]_T & k_{a_2}[Ab_2Ag]_e \\ \vdots & \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T & k_{a_n}[Ab_nAg]_e \end{pmatrix} [Ag]_{T,2}. \quad (4.4)$$

Legyen a rendszer mátrixa

$$A = \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e & k_{d_1} & k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e & \dots & k_{a_1}[Ab_1]_T + k_{a_1}[Ab_1Ag]_e \\ k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e & k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e & k_{d_2} & \dots & k_{a_2}[Ab_2]_T + k_{a_2}[Ab_2Ag]_e \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & \dots & k_{a_n}[Ab_n]_T + k_{a_n}[Ab_nAg]_e & k_{d_n} \end{pmatrix}.$$

Továbbá legyen $B = A$.

Célunk az egyensúlyi helyzet meghatározása, ezt a [2] szakdolgozat alapján végezzük. Egyensúlyban a

di erenciálegyenlet-rendszer jobb oldala nullvektor, azaz

$$B \begin{pmatrix} [Ab_1 Ag]_{e,2} \\ \vdots \\ [Ab_n Ag]_{e,2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} k_{a_1} [Ab_1]_T & k_{a_1} [Ab_1 Ag]_e \\ & \vdots \\ k_{a_n} [Ab_n]_T & k_{a_n} [Ab_n Ag]_e \end{pmatrix} [Ag]_{T,2},$$

ahol $[Ab_i Ag]_{e,2}$, $i = 1, \dots, n$ az i . fajta komplex felszíni koncentrációja az egyensúlyi helyzetben.

A (4.4) di erenciálegyenlet-rendszer egyenlet egyensúlyi pontja [2] (3.5) képlete szerint

$$\begin{pmatrix} [Ab_1 Ag]_{e,2} \\ \vdots \\ [Ab_n Ag]_{e,2} \end{pmatrix} = \frac{[Ag]_{T,2}}{1 + \sum_{i=1}^n K_{A_i} ([Ab_i]_T [Ab_i Ag]_e)} \begin{pmatrix} K_{A_1} ([Ab_1]_T [Ab_1 Ag]_e) \\ \vdots \\ K_{A_n} ([Ab_n]_T [Ab_n Ag]_e) \end{pmatrix}. \quad (4.5)$$

Tehát egyetlen egyensúlyi pont van, melynek biológiai jelentése az, hogy a különböző fajta antitestekkel képzett komplexek felszíni koncentrációja egyenesen arányos az asszociációs egyensúlyi állandójuk és a szabad antitestek második fázisbeli kezdeti koncentrációjának szorzatával az oldott fázisban:

$$\frac{[Ab_i Ag]_{e,2}}{[Ab_j Ag]_{e,2}} = \frac{K_{A_i} ([Ab_i]_T [Ab_i Ag]_e)}{K_{A_j} ([Ab_j]_T [Ab_j Ag]_e)}.$$

5. fejezet

Numerikus szimulációk

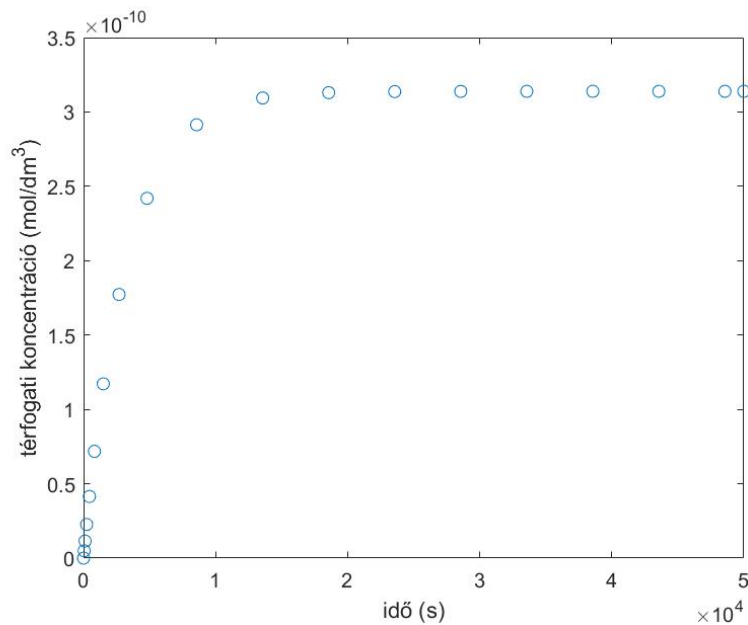
Ebben az fejezetben a Matlab szoftvert használva numerikus szimulációk segítségével illusztrálom az előző két fejezetben leírtakat. Munkám során végig Söderlind professzor differenciálegyenlet megoldó `ode23sdc12` programját használom a Matlab beépített megoldóprogramja helyett. Konzulensemmel a programkódot közvetlenül a professzortól kaptuk tudományos kutatás céljából. Az `ode23sdc12` program számos kiegészítő programot tartalmaz, ilyen például az, amely egy adott differenciálegyenletre meghatározza a megoldás során használandó helyes lépésközt, melyet az `ode23sdc12` programban paraméterként tudunk rögzíteni a szimuláció előtt. Ez fontos volt abban, hogy minél pontosabb numerikus megoldásokat kapjunk, mivel merev differenciálegyenleteket szerettünk volna megoldani, melyek megoldásának pontosságát nagyban meghatározza a helyes lépésköz. Ez a legfőbb oka annak, hogy nem a Matlab beépített `ode23s` merev differenciálegyenleteket is megoldó függvényt alkalmaztuk.

5.1. Numerikus szimulációk monoklonális oldat esetén

1. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza az 1. Szimulációbeli paramétereiket. Az 1. Szimuláció az immunkomplex képzés és dinamikáját írja le monoklonális oldat és oldott antigén esetén. Az alábbi táblázatban és később is $M = \text{mol}/\text{dm}^3$ a térfélf koncentráció mértékegysége, neve molaritás.

Antitest klónok száma	$[Ab]_T$ (M)	$[Ag]_T$ (M)	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})
1	10^{-9}	10^{-9}	10^5	$1,5 \cdot 10^{-4}$

5.1.1. táblázat. Az 1. Szimuláció paramétereit



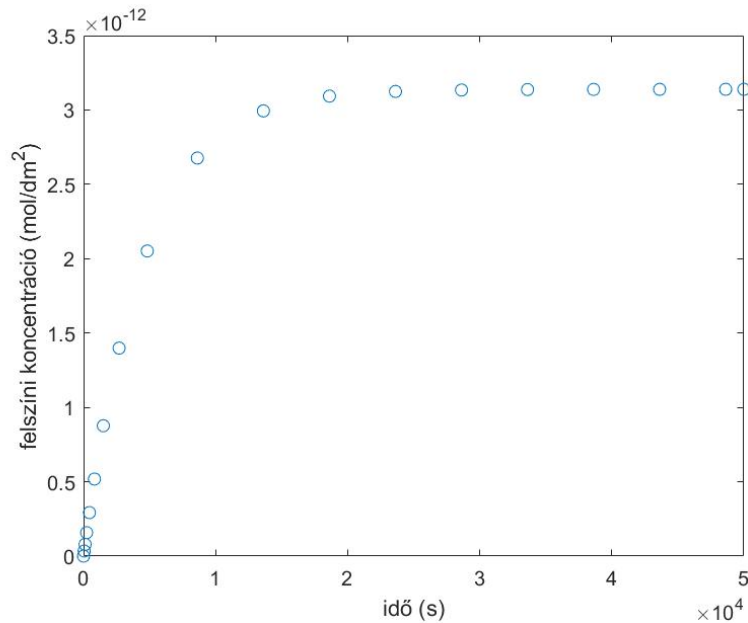
5.1.1. ábra. Komplex koncentráció az idő függvényében az 1. Szimulációban

Az 5.1.1. ábrán látható az immunkomplex képzés és dinamikája monoklonális oldat és oldott antigén esetén az idő függvényében. Az immunkomplex határértéke a (3.2)-es egyenlet immunológiailag értelmes egyensúlyi pontja. A (3.4) egyensúlyi képlet által adott értéket közelíti az ábrán látható komplex koncentráció, amint $t \rightarrow \infty$. Az egyensúlyi koncentráció az 1. Szimulációban $[AbAg]_e = 3,1385 \cdot 10^{-10} \text{ mol/dm}^3$

2. Szimuláció. Az alábbi táblázat tartalmazza a 2. Szimulációbeli paramétereit. A 2. Szimuláció az immunkomplex képzés és dinamikáját írja le a kompetitív ELISA második fázisában.

Antitest klónok száma	$[Ab]_{T,2}$ (M)	$[Ag]_{T,2}$ (M)	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})
1	$6,8615 \cdot 10^{-10}$	10^{-11}	10^5	$1,5 \cdot 10^{-4}$

5.1.2. táblázat. A 2. Szimuláció paraméterei



5.1.2. ábra. Komplex koncentráció az idő függvényében a 2. Szimulációban

Az 5.1.2. ábrán látható az immunkomplex képzés dinamikája monoklonális oldat és felszínre kinyomtatott antigén esetén a kompetitív ELISA második fázisában az idő függvényében. Az immunkomplex határértéke a (3.13)-es egyenlet immunológiailag értelmes egyensúlyi pontja. A (3.15) egyensúlyi képlet által adott értéket közelíti az ábrán látható komplex koncentráció határértéke, ami a 2. Szimulációban $[AbAg]_{e,2} = 3,1386 \cdot 10^{-12} \text{ mol/dm}^2$.

5.2. Numerikus szimulációk poliklonális oldat esetén

A következőkben tesztként szeretném megvizsgálni a poliklonális oldat esetén fennálló modellt három és négy klón esetén annak ellenére a valósághoz képest nem reálisak. Ezeket a teszt példákön keresztül azt

szeretném szemléltetni, hogy ilyen kis klónszám esetén is már megmutatkoznak azok a jelenségek, amik a valós esetben is.

Megvizsgálom, hogy mi történik a reakció során, ha 3 fajta antitest molekula van az oldatban, ekkor 3 féle antigén-antitest komplex alakul ki. A 3 fajta immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjára felírható 3 differenciálegyenlet, amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik (4.2) alapján:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]}{dt} &= k_{a_1} ([Ab_1]_T - [Ab_1Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^3 [Ab_iAg] \right) - k_{d_1} [Ab_1Ag] \\ \frac{d[Ab_2Ag]}{dt} &= k_{a_2} ([Ab_2]_T - [Ab_2Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^3 [Ab_iAg] \right) - k_{d_2} [Ab_2Ag] \\ \frac{d[Ab_3Ag]}{dt} &= k_{a_3} ([Ab_3]_T - [Ab_3Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^3 [Ab_iAg] \right) - k_{d_3} [Ab_3Ag] \end{aligned} \right\}. \quad (5.1)$$

Egyensúlyban a $\frac{d[Ab_iAg]}{dt} = 0$, ahol $i = 1, 2, 3$ egyenletrendszert oldjuk meg. A nemlineáris egyenlet-rendszer megoldását szimbolikusan végezzük a Matlab program *solve* beépített függvényének segítségével. A megoldás során immunológiai szempontból csak azokat a valós gyökeket keressük, amelyek mindegyik koordinátája pozitív. Az így kapott szimbolikus eredményeket pedig numerikussá alakítjuk.

3. Szimuláció. *Három klónt tartalmazó oldat esetén vizsgáljuk a kompetitív ELISA első fázisát. A következő táblázatban a szimuláció paramétereinek értékét foglaltam össze.*

(a)		(b)		
Komplexek száma	$[Ag]_T$ mol/dm ²	k_{a_i} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{d_i} (s ⁻¹)	$[Ab_i]_T$ (M)
3	10 ⁻¹²	10 ⁵	1,5 · 10 ⁻⁴	5 · 10 ⁻¹⁰
		2 · 10 ⁵	2 · 10 ⁻⁴	6 · 10 ⁻¹⁰
		3 · 10 ⁵	5 · 10 ⁻⁴	8 · 10 ⁻¹⁰

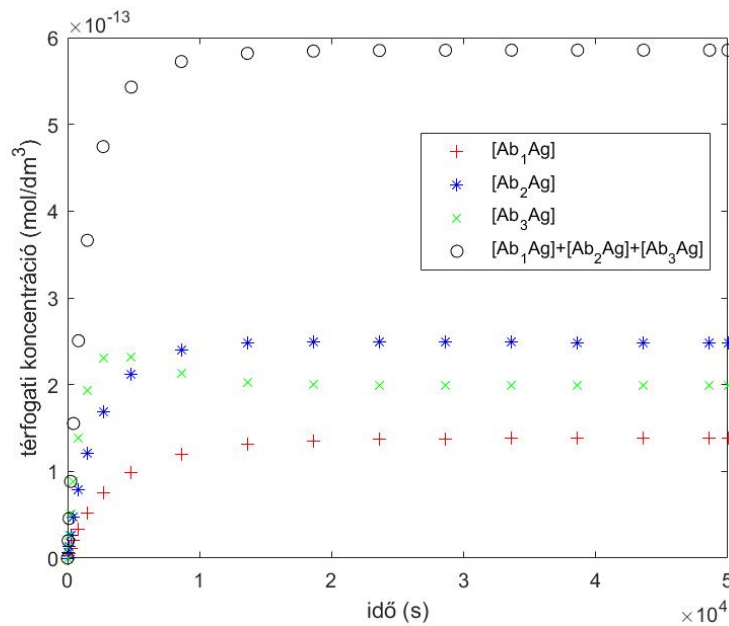
5.2.1. táblázat. Az (5.1) differenciálegyenlet-rendszer és a 3. Szimuláció paramétereit

A szimbolikus módon kapott egyensúlyi komplex koncentrációkat az 5.2.2. táblázatban foglaltam össze.

$[Ab_1Ag]_e$	$1,3811 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$	$9,0518 \cdot 10^{-10} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_2Ag]_e$	$2,4857 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$	$8,5519 \cdot 10^{-10} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_3Ag]_e$	$1,9888 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$	$1,5916 \cdot 10^{-9} \text{ mol/dm}^3$

5.2.2. táblázat. Egyensúlyi komplex koncentrációk poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA első fázisában 3 komplex esetén szimbolikus módon kiszámolva

A második megoldás esetén a háromféle komplex koncentrációjának összege nagyobb, mint $[Ag]_T$, így nincs immunológiai jelentése.



5.2.1. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 3. Szimulációban

Az 5.2.1. ábrán látható a különböző antitest klónokkal képzett komplexek koncentrációja az idő függvényében. Az egyes immunkomplexek határértéke az egyensúlyi pont megfelelő koordinátája. Az ábrán látható egyensúlyi értékek egyeznek az egyensúly esetén kapott nemlineáris egyenletrendszer Matlab segítségével kapott megoldásával.

A harmadik komplex koncentrációjánál megfigyelhet egy kiugrás, az értéke meghaladja az egyensúlyi értéket, majd visszatér hozzá. Nagy a klónhoz tartozó asszociációs együttható, ezért gyorsan képez komplexet, de a disszociációs együttható is nagy, így nagyobb eséllyel le is válhat az antigénr l. A reakció elején még csak az asszociáció a számottev , mert akkor még kevés a komplex, kés bb már a disszociáció is, mert akkor már kell en sok komplex képz dött.

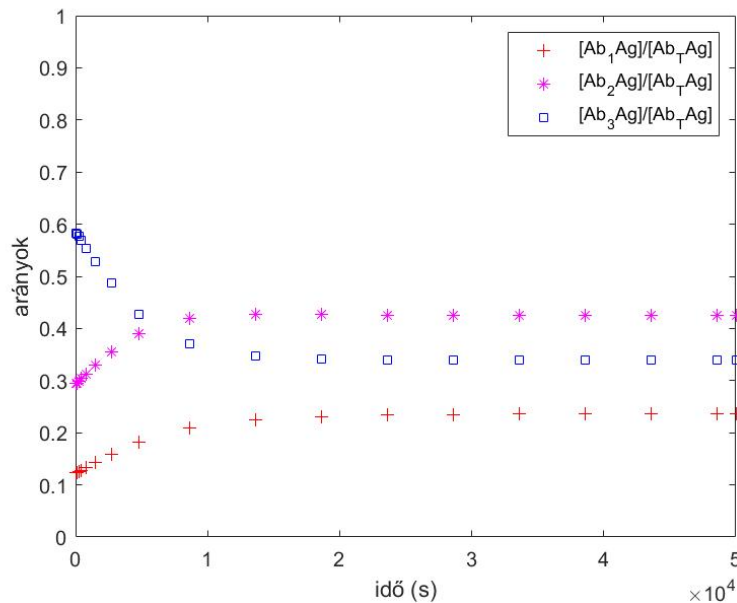
A numerikus szimuláció során kapott egyensúlyi értékeket a következ táblázatban foglaltam össze.

$$[Ab_1Ag]_e \quad 1,38091 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$$

$$[Ab_2Ag]_e \quad 2,4857 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$$

$$[Ab_3Ag]_e \quad 1,9886 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^3$$

5.2.3. táblázat. Egyensúlyi komplex koncentrációk a poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA els fázisában 3 komplex estén a kezdeti érték feladatot numerikusan megoldva



5.2.2. ábra. Komplex koncentráció arányok az idő függvényében a 3. Szimulációban, az ábrán $[Ab_TAg] = [Ab_1Ag] + [Ab_2Ag] + [Ab_3Ag]$

Az 5.2.2. ábrán látható, hogy az egyes komplex koncentrációk és az összes komplex koncentráció összegének hányadosa nem állandó.

A következőkben megvizsgálom, hogy mi történik a reakció során, ha 4 fajta antitest molekula van az oldatban, ekkor 4 féle antigén-antitest komplex alakul ki. A 4 fajta immunkomplex koncentrációjának idő szerinti deriváltjára felírható 4 differenciálegyenlet, amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik (4.2) alapján:

$$\left. \begin{aligned} \frac{d[Ab_1Ag]}{dt} &= k_{a_1} ([Ab_1]_T - [Ab_1Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^4 [Ab_iAg] \right) - k_{d_1} [Ab_1Ag] \\ \frac{d[Ab_2Ag]}{dt} &= k_{a_2} ([Ab_2]_T - [Ab_2Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^4 [Ab_iAg] \right) - k_{d_2} [Ab_2Ag] \\ \frac{d[Ab_3Ag]}{dt} &= k_{a_3} ([Ab_3]_T - [Ab_3Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^4 [Ab_iAg] \right) - k_{d_3} [Ab_3Ag] \\ \frac{d[Ab_4Ag]}{dt} &= k_{a_4} ([Ab_4]_T - [Ab_4Ag]) \left([Ag]_T - \sum_{i=1}^4 [Ab_iAg] \right) - k_{d_4} [Ab_4Ag] \end{aligned} \right\} \quad (5.2)$$

Hasonlóan, mint korábban, egyensúlyban a $\frac{d[Ab_iAg]}{dt} = 0$, ahol $i = 1, 2, 3, 4$ egyenletrendszert oldjuk meg. A nemlineáris egyenletrendszer megoldásához újra a Matlab programot használom.

4. Szimuláció. Négy klónt tartalmazó oldat esetén vizsgáljuk a kompetitív ELISA első fázisát. A következő táblázatban a szimuláció paramétereinek értékét foglaltam össze.

(a)		(b)			
			$k_{a_i} \text{ (M}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$k_{d_i} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$[Ab_i]_T \text{ (M)}$
Komplexek száma	$[Ag]_T \text{ mol/dm}^2$	Ab_1	10^6	$2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-10}$
4	10^{-12}	Ab_2	$6 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-10}$
		Ab_3	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-10}$
		Ab_4	10^5	$2 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-10}$

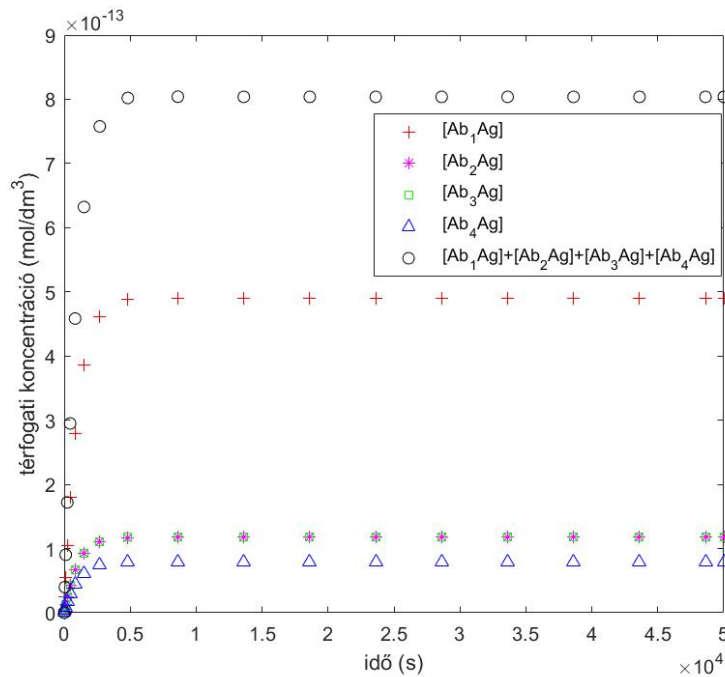
5.2.4. táblázat. Az (5.2) differenciálegyenlet-rendszer és a 4. Szimuláció paramétereit

A szimbolikus módon kapott egyensúlyi komplex koncentrációkat az 5.2.5. táblázatban foglaltam össze.

$[Ab_1Ag]_e$	$4,9001 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$	$5,3233 \cdot 10^{10} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_2Ag]_e$	$1,1765 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$	$2,2253 \cdot 10^{10} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_3Ag]_e$	$1,1765 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$	$5,0154 \cdot 10^{10} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_4Ag]_e$	$7,8470 \cdot 10^{14} \text{ mol/dm}^3$	$2,0375 \cdot 10^9 \text{ mol/dm}^3$

5.2.5. táblázat. Egyensúlyi egyenletrendszer megoldásai poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA első fázisában 4 komplex esetén szimbolikus módon kiszámolva

A második megoldás esetén a négyféle komplex koncentrációjának összege nagyobb, mint $[Ag]_T$, így nincs immunológiai jelentése.



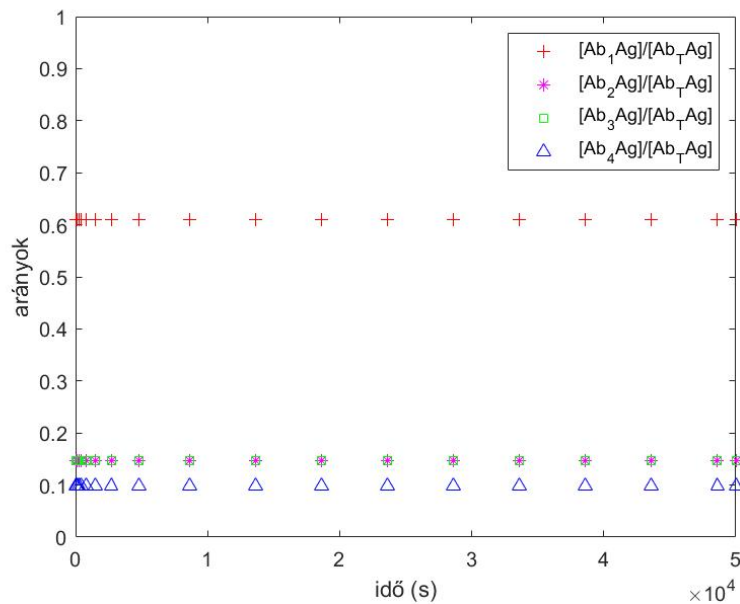
5.2.3. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 4. Szimulációban

Az 5.2.3. ábrán látható a különböző antitest klónokkal képzett komplexek koncentrációja az idő függvényé-

ben. Az egyes immunkomplexek határértéke az egyensúlyi pont megfelel koordinátája. Az ábrán látható egyensúlyi értékek egyeznek az egyensúly esetén kapott nemlineáris egyenletrendszer Matlab segítségével kapott megoldásával.

$[Ab_1Ag]_e$	$4,90006 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_2Ag]_e$	$1,17682 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_3Ag]_e$	$1,17682 \cdot 10^{13} \text{ mol/dm}^3$
$[Ab_4Ag]_e$	$7,84701 \cdot 10^{14} \text{ mol/dm}^3$

5.2.6. táblázat. Egyensúlyi koncentrációk a poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA els fázisában 4 komplex esetén a kezdeti érték feladatot numerikusan megoldva

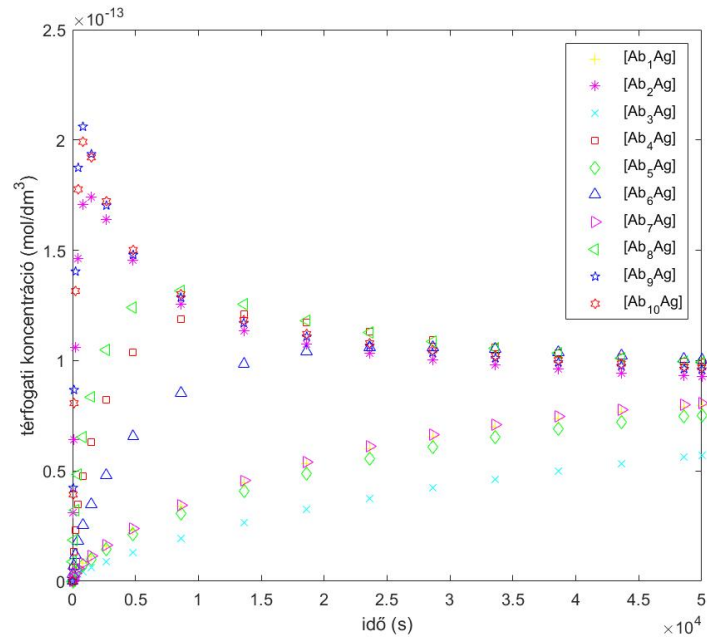


5.2.4. ábra. Komplex koncentráció arányok az idő függvényében a 4. Szimulációban, az ábrán $[Ab_TAg] = [Ab_1Ag] + [Ab_2Ag] + [Ab_3Ag] + [Ab_4Ag]$

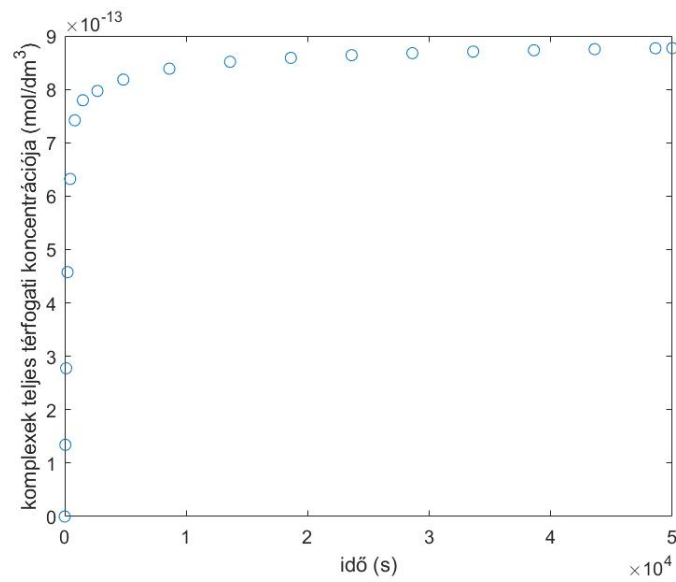
5. Szimuláció. Az 5. Szimulációban a nyugodt immunrendszert szimulálom 10 klón esetén, amely akkor reális, amikor nem a teljes antigén-molekulát nyomtatják ki, csak egy részét, ami tartalmazza azt az epitópot, ahová az antitestek kötődnek. A (2.3)-ban definiált K_D értékek természetes alapú logaritmusuk legyen $\ln(10^{-9})$ várható érték és $\frac{\ln(10)}{5}$ szórású normális eloszlású. Az asszociációs reakciósebességi állandók természetes alapú logaritmusuk, azaz $\ln(k_a)$ értékei kerüljenek ki egyenletes eloszlásból és véletlenszerűen vegyenek fel értéket az $[\ln(10^4), \ln(10^6)]$ intervallumból, továbbá $[Ab_i]$ értékeit válasszuk véletlenszerűen a $\left[\frac{3}{4} K_{D_i}, \frac{4}{5} K_{D_i}\right]$ intervallumból, ahol $i = 1, \dots, 10$. $[Ag]_T$ értéke szintén legyen 10^{-12} mol/dm³. Az 5.2.7. táblázat tartalmazza az egyes klónok paramétereit, az 5.2.5. ábra az egyes komplexek térfogati koncentrációját ábrázolja az idő függvényében, az 5.2.6. ábra pedig a összes komplex térfogati koncentrációját ábrázolja.

klónok	K_D (M ⁻¹)	k_{a_i} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{d_i} (s ⁻¹)	$[Ab_i]_T$ (M)
Ab_1Ag	$0,1281 \cdot 10^8$	$0,2110 \cdot 10^5$	$2,7034 \cdot 10^5$	$9,8931 \cdot 10^{10}$
Ab_2Ag	$0,2327 \cdot 10^8$	$3,8777 \cdot 10^5$	$9,0233 \cdot 10^4$	$1,7550 \cdot 10^9$
Ab_3Ag	$0,0353 \cdot 10^8$	$0,4192 \cdot 10^5$	$1,4798 \cdot 10^5$	$2,6879 \cdot 10^{10}$
Ab_4Ag	$0,1487 \cdot 10^8$	$1,1404 \cdot 10^5$	$1,6958 \cdot 10^4$	$1,1832 \cdot 10^9$
Ab_5Ag	$0,1158 \cdot 10^8$	$0,2144 \cdot 10^5$	$2,4832 \cdot 10^5$	$8,7732 \cdot 10^{10}$
Ab_6Ag	$0,0548 \cdot 10^8$	$1,5994 \cdot 10^5$	$8,7648 \cdot 10^5$	$4,3363 \cdot 10^{10}$
Ab_7Ag	$0,0819 \cdot 10^8$	$0,3357 \cdot 10^5$	$2,7493 \cdot 10^5$	$6,3630 \cdot 10^{10}$
Ab_8Ag	$0,1171 \cdot 10^8$	$2,0331 \cdot 10^5$	$2,3808 \cdot 10^4$	$9,3657 \cdot 10^{10}$
Ab_9Ag	$0,5196 \cdot 10^8$	$2,3902 \cdot 10^5$	0,0012	$3,9173 \cdot 10^9$
$Ab_{10}Ag$	$0,3580 \cdot 10^8$	$3,1355 \cdot 10^5$	0,0011	$2,7642 \cdot 10^9$

5.2.7. táblázat. Disszociációs állandók, reakciósebességi állandók és antitest koncentrációk az 5. Szimulációban



5.2.5. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében az 5. Szimulációban



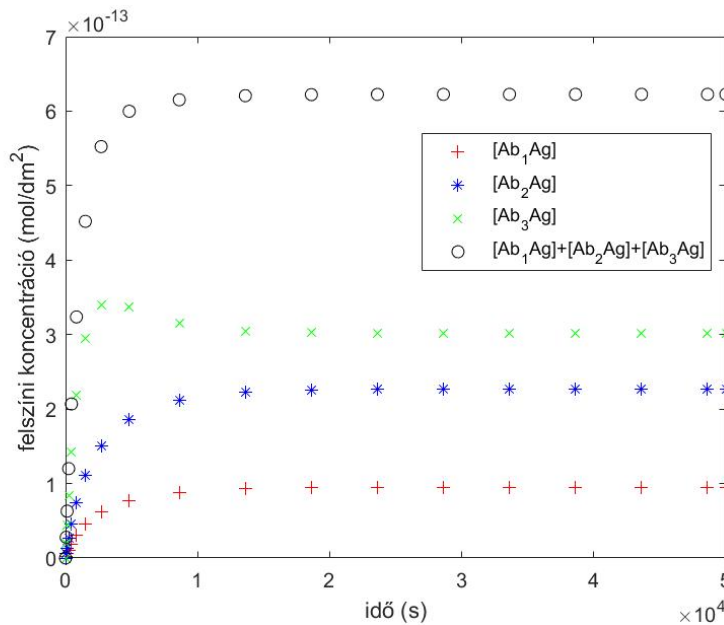
5.2.6. ábra. Összes komplex koncentrációja az idő függvényében az 5. Szimulációban

6. Szimuláció. A 6. Szimuláció az immunkomplex képzés és dinamikáját írja le poliklonális oldat és szilárd antigén esetén 3 antitest klón jelenlétében. Az alábbi táblázat tartalmazza a 6. Szimulációbeli paramétereket, emellett még felhasználom az 5.2.3. táblázat adatait.

Komplexelek száma	$[Ag]_{T,2}$ mol/dm ²
3	10^{-12}

	k_{a_i} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{d_i} (s ⁻¹)	$[Ab_i]_{T,2}$ (M)
Ab_1	10^5	$2 \cdot 10^{-4}$	$4,9986 \cdot 10^{-10}$
Ab_2	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$5,9975 \cdot 10^{-10}$
Ab_3	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^{-4}$	$7,9980 \cdot 10^{-10}$

5.2.8. táblázat. A 6. Szimuláció paraméterei



5.2.7. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 6. Szimulációban

Az 5.2.7. ábrán látható az immunkomplex képzés és dinamikája poliklonális oldat és szilárd antigén esetén 3 komplex jelenlétében az idő függvényében. Az immunkomplex határértéke az egyensúlyi pont megfelelő koordinátája. Az ábrán látható egyensúlyi értékek közelítik a (4.5) egyensúlyi képlet által adott értékeket. A

harmadik komplex koncentrációjánál megfigyelhet egy kiugrás, az értéke meghaladja az egyensúlyi értéket, majd visszatér hozzá.

$$[Ab_1Ag]_{e,2} = 9,43319 \cdot 10^{-14} \text{ mol/dm}^2$$

$$[Ab_2Ag]_{e,2} = 2,26365 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^2$$

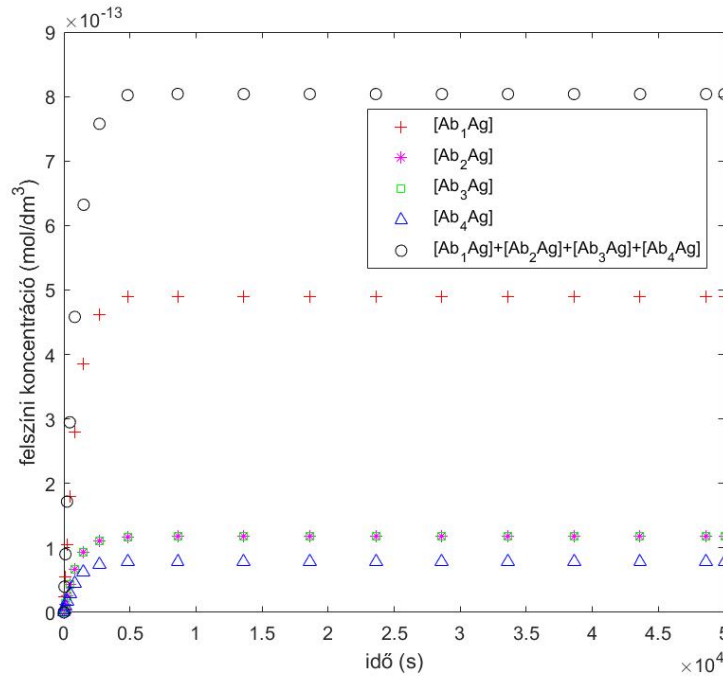
$$[Ab_3Ag]_{e,2} = 3,01871 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^2$$

5.2.9. táblázat. Egyensúlyi koncentrációk a 6. Szimulációban

7. Szimuláció. A 7. Szimuláció az immunkomplex képzés és dinamikáját írja le poliklonális oldat és szilárd antigén esetén 4 antitest klón jelenlétében. Az alábbi táblázat tartalmazza a 7. Szimulációbeli paramétereket, emellett még felhasználom az 5.2.6. táblázat adatait.

(a)		(b)		
Komplexek száma	$[Ag]_{T,2} \text{ mol/dm}^2$	$k_{a_i} (\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$k_{d_i} (\text{s}^{-1})$	$[Ab_i]_{T,2} (\text{M})$
4	10^{-12}	10^6	$2 \cdot 10^{-4}$	$4,9951 \cdot 10^{-10}$
		$6 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1,9988 \cdot 10^{-10}$
		$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$3,9988 \cdot 10^{-10}$
		10^5	$2 \cdot 10^{-4}$	$7,9992 \cdot 10^{-10}$

5.2.10. táblázat. A 7. Szimuláció paraméterei



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

Az 5.2.8. ábrán látható az immunkomplex képzés dinamikája poliklonális oldat és szilárd antigén esetén 4 komplex jelenlétében az idő függvényében. Az immunkomplex határértéke az egyensúlyi pont megfelelő koordinátája. Az ábrán látható egyensúlyi értékek közelítik a (4.5) egyensúlyi képlet által adott értékeket.

$$[Ab_1Ag]_{e,2} = 4,90006 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^2$$

$$[Ab_2Ag]_{e,2} = 1,17682 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^2$$

$$[Ab_3Ag]_{e,2} = 1,17682 \cdot 10^{-13} \text{ mol/dm}^2$$

$$[Ab_4Ag]_{e,2} = 7,84701 \cdot 10^{-14} \text{ mol/dm}^2$$

5.2.11. táblázat. Egyensúlyi koncentrációk a 7. Szimulációban

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] Laczkovics Miklós, T. Sós Vera, *Analízis I-II.*, Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, 2006-2007.
- [4] Tóth János, Simon L. Péter, *Di erenciálegyenletek, Bevezetés az elméletbe és az alkalmazásokba*, Typotex Kiadó, Budapest, 2005.
- [5] Pfeil Tamás, *Di erenciálegyenletek*, kézirat, Budapest 2020.
- [6] Pfeil Tamás, *Az immunképzés és dinamikája oldott antigén és monoklonális oldat esetén, a kompetitív ELISA egyensúlyi állapota*, kézirat, Budapest, 2021.
- [7] Gustaf Söderlind, *Automatic control and adaptive time-stepping*, Numerical Algorithms 31 (1-4), 281-310, 2002.
- [8] Gustaf Söderlind, *Digital filters in adaptive time-stepping*, ACM Transactions on Mathematical Software (TOMS) 29 (1), 1-26, 2003.
- [9] Gustaf Söderlind, Laurent Jay, Manuel Calvo: *Stiffness 1952-2012: Sixty years in search of a definition*, BIT Numerical Mathematics 55, 531-558 (2015)
- [10] Erdei Anna, Sármay Gabriella, Prechl József, *Immunológia*, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2012.

- [11] *Immunológia*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunológia>
- [12] *Immunológia Alapjai*
<http://immuntananyag.pte.hu/#intro>
- [13] *B-limfocita*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/B-limfocita>
- [14] *T-limfocita*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/T-limfocita>
- [15] *Immunrendszer*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Immunrendszer#Antitest>
- [16] *Ellenanyag*
<https://hu.wikipedia.org/wiki/Ellenanyag>
- [17] Derényi Imre, *A biofizika alapjai*, ELTE TTK, Budapest, 2013.
http://derenyi.web.elte.hu/A_biofizika_alapjai.pdf
- [18] *Overview of ELISA*, ThermoFisher Scientific,
<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#2>
- [19] *ELISA*,
<https://en.wikipedia.org/wiki/ELISA>
- [20] *ELISA ábra*, (angolul), Image ID: 440200820
<https://hu.depositphotos.com/440200820/stock-illustration-type-elisa-laboratory-direct-indirect.html>
- [21] *Riccati-féle di erenciálegyenlet*,
<https://math24.net/riccati-equation.html>