EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM

TERMÉSZETTUDOMÁNYI KAR

Fedorszki Ádám

Matematika BSc, Matematikai elemző szakirány

Poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetitív ELISA immunesszében

Témavezető: Pfeil Tamás

Alkalmazott Analízis és Számításmatematikai Tanszék

Budapest, 2021

NYILATKOZAT

Név: Fedorszki Ádám

ELTE Természettudományi Kar, szak: Matematika BSc

NEPTUN azonosító: ASEOEA

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 utolsó sorban 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 tanáraimnak, 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 nagyszüleimtől 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 előismeretek **6**
1.1. A derivált és alkalmazásai . . . 6
1.2. Differenciálegyenletek . . . 8

2. Immunbiokémiai előismeretek **12**
2.1. Reakciókinetikai ismeretek . . . 12
2.2. Immunológiai áttekintés . . . 13
2.3. ELISA . . . 16

3. Az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldat esetén **18**
3.1. A modell felállítása . . . 19
3.2. Az immunkomplex képződés dinamikája monoklonális oldat és oldott antigén esetén . . . 20
3.3. Az immunkomplex képződés dinamikája a kompetitív ELISA második fázisában . . . 26

4. Az immunkomplex képződés dinamikája poliklonális oldat esetén **28**
4.1. Az immunkomplex képződés dinamikája a poliklonális oldat és oldott antigén esetén . . . 29
4.2. Az immunkomplex képződés 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 közelítő előrejelzést adni. Hasonlóképp ilyen eljárások a szakdolgozatomban részletezett immunológiai folyamatok elemzése, a mono- és poliklonális antigén-antitest reakciók vizsgálata a kompetetív ELISA immunesszében.
Az első fejezetben a differenciálegyenlet és egyenletrendszerek megértéséhez, illetve azoknak a vizsgálatához szükséges matematikai alapfogalmakat, definíciókat és tételeket gyűjtöm össze.
A második fejzetben 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 helyzeteit.
A negyedik fejezetben hasonlóan, mint az előzőben 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 segítsem az immunológiai folyamatok megismerését, amelyekhez nélkülözhetetlen a matematikai modellek használata.

1. fejezet

Matematikai előismeretek

Ebben a fejezetben a szakdolgozatomban alkalmazott matematikai módszerek hátteréül 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 *differenciálható*, ha a

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

véges határérték létezik. A határértéket az f függvény x_0 pontbeli deriváltjának vagy differenciálhányadosának nevezzük.
Az x_0 pontbeli deriváltat az alábbi módokon jelölhetjük: $f'(x_0)$, $\dot{f}(x_0)$, $\frac{\mathrm{d}f}{\mathrm{d}x}(x_0)$.

2. 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.

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

- *$[a,b]$-n f akkor és csak akkor monoton csökkenő, ha $f'(x) \leq 0$, és akkor és csak akkor monoton növekevő, 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 növekedő $[a,b]$-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 $x \neq x_0$ 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 differenciálható x_0-ban. Ha f-nek lokális szélsőértékhelye van x_0-ban, akkor $f'(x_0) = 0$.*
Az állítás nem megfordítható.

4. 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

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

Ha $f''(x_0)$ létezik és véges, akkor azt mondjuk, hogy f kétszer differenciálható x_0-ban. Az f függvény *második deriváltfüggvényének* nevezzük és f''-vel jelöljük azt a függvényt, amely azokban az x pontokban van értelmezve, ahol f kétszer differenciálható, és ott az értéke $f''(x)$.

3. Tétel. *Legyen f 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.*

4. Tétel. *Legyen f 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.*

5. Definíció. Legyen $f : \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}$ 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

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

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

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

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

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

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

7. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^m$ 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 $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos függvény, akkor az

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

egyenletet *n-edrendű explicit közönséges differenciálegyenlet*nek nevezzük, ahol $x\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}$ az ismeretlen függvény, amely intervallumon van értelmezve és folytonosan differenciálható.

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

Legyenek az x ismeretlen függvény koordinátafüggvényei $x_1, \ldots, x_n$, ekkor $x = \begin{pmatrix} x_1 \\ \vdots \\ x_n \end{pmatrix}$, melynek a deriváltfüggvénye $\dot{x} = \begin{pmatrix} \dot{x}_1 \\ \vdots \\ \dot{x}_n \end{pmatrix}$. A differenciálegyenlet-rendszert megadó $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}^n$ függvény koordinátafüggvényei legyenek $f_1, \ldots, f_n$, ekkor a vektoregyenletet átírhatjuk egyenletrendszerré:

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

10. Definíció. Az $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ függvény teljesíti a *Lipschitz-feltétel*t, ha létezik olyan $L > 0$, melyre

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

Az L számot *Lipschitz-konstans*nak hívjuk.
Az $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ 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.

5. Tétel (Egyértelműség tétele)**.** *Legyen $f\colon \mathbb{R}^{n+1} \to \mathbb{R}^n$ összefüggő nyílt halmazon értelmezett folytonos és a második változójában lokális Lipschitz-feltételt teljesítő függvény, továbbá legyenek $x, y\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}^n$ 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 $f\colon \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ 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.

11. Definíció. Az $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ differenciálegyenletet *elsőrendű lineáris differenciálegyenlet*nek 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 $\dot{x}(t) = a(t)x(t) + b(t)$ elsőrendű lineáris differenciálegyenlet megoldása*

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

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

12. Definíció. Az $\dot{x}(t) = a(t)x^2(t) + b(t)x(t) + c(t)$ közönséges, egyismeretlenes, elsőrendű differenciálegyenletet *Riccati-féle differenciálegyenlet*nek nevezzük, ahol $a(t), b(t), c(t)$ ugyanazon a nyílt intervallumon értelmezett folytonos függvények.

8. Tétel. *Az általános Riccati-féle differenciálegyenlet integrálással nem oldható meg. Ha a Riccati-féle differenciálegyenletnek ismert egy partikuláris megoldása, akkor új ismeretlen függvény bevezetésével már az összes megoldás is előállítható.*

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

14. Definíció. Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ 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 megoldás*ának 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 $t \mapsto \varphi(t, q)$ a rendszer megoldását az $x(0) = q$ kezdeti feltétellel.

- A p egyensúlyi pontot *stabil*nak 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 stabil*nak nevezzük, ha stabil és a stabilitása definíciójában a feltételt teljesítő minden q-ra $\lim\limits_{t\to\infty} \varphi(t, q) = p$.

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

10. Tétel. *Legyen $f\colon \mathbb{R} \to \mathbb{R}$ 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.*

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

12. Tétel (Linearizálási tétel)**.** *Legyen $f\colon \mathbb{R}^n \to \mathbb{R}^n$ 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

Immunbiokémiai előismeretek

2.1. Reakciókinetikai ismeretek

Ebben a alfejezetben 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, *disszociáció*nak 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 *asszociáció*nak nevezzük. A folyamatok a következő reakcióegyenlettel szokás felírni:

$$ES \underset{a}{\overset{d}{\rightleftharpoons}} E + S,$$

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:

$$v_d = k_d[ES], \tag{2.1}$$

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 *elsőrendű kémiai reakció*nak nevezik. A reakció sebességi állandóját pedig *elsőrendű sebességi állandó*nak hívjuk.
Az asszociáció egymástól függetlenül mozgó molekulák összetalálkozása révén következik be, ekkor az asszociáció reakciósebessége arányos mindkét résztvevő molekula koncentrációjával:

$$v_a = k_a[E][S], \tag{2.2}$$

ahol k_a a reakció sebességi állandója. Minden ilyen bimolekuláris folyamatot *másodrendű reakció*nak, a reakció sebességi állandóját pedig *másodrendű sebességi állandó*nak 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:

$$K_D = \frac{k_d}{k_a}. \tag{2.3}$$

Ennek a reciproka a K_A asszociációs egyensúlyi állandó:

$$K_A = \frac{k_a}{k_d}. \tag{2.4}$$

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 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.

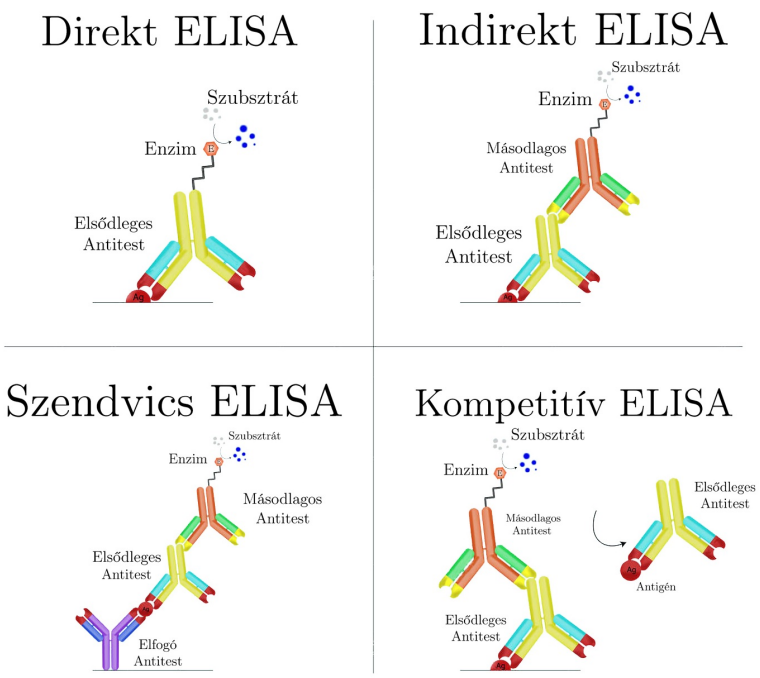
Az immundrendszer maga a szervezet védekező mechanizmusa. Az immunrendszer alapfunkciója, hogy megkülönböztesse a saját és nem saját, vagyis idegen anyagokat, valamint, ha idegen anyaggal találkozik, akkor azokra eltérő módon reagáljon, eltávolítsa vagy megsemmisítse azokat. Három fő feladata van, mint 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) *antigén*nek 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 *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 *velünkszületett immunitás* és *szerzett immunitás* (adaptív, specifikus). Az idegen anyag jelenlétére először a velünkszületett immunrendszer elemei aktiválódnak, míg a szerzett immunitás csak napokkal később ad immunválaszt. A velünk született 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 antigénekkel szemben, sejtes és nem sejtes módon. Nem képes a veleszületett immunitást pótolni, hiszen csak a már ismert kórokozók ellen „vethető be”. Egy nagyon fontos képessége az adaptív immunrendszernek az úgynevezett *immunológiai memória* kialakulása, azaz, hogy egy korábban felismert antigén tulajdonságait "megjegyezve" arra később az elsődleges 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 béltraktus egyes részei, mint például a mandula és máj, és a bőrhöz asszociált nyirokszövet (SALT). Valójában ezeken a területeken válnak antigén-specifikussá a limfociták, s itt történik az idegen anyagok kiszűrése. A limfocitáknak két típusát különböztetjük meg, a vörös csontvelőben termelődő őssejtekből kialakuló *B-limfocitá*kat, 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 *immunglobulin*ok 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 antigénekkel 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 *monoklonális*nak nevezzük, ha pedig többféle szerkezetűt, akkor *poliklonális*nak. Az előbbire 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 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 példáktól. 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 gyógyszercsoportok gyors feltételezett szűrésére. A legszámottevőbb 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 Johne-kór, tuberkulózisban lévő mycobacterium antitestek, székletben lévő rotavírus és E. coli enterotoxin, a szérumban lévő hepatitis B markerek, a szérumban lévő hepatitis C markerek, vérmintákban 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 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.



2.3.1. ábra. Az ELISA négy típusa

3. fejezet

Az immunkomplex képződés 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, $K_D = \dfrac{k_d}{k_a}$.
- $[Ab]_T$, $[Ab]_{T,2}$: 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 képződés dinamikáját és egyensúlyi állapotát vizsgálom. Feltételezzük, hogy mindkét fázisban egy antigén- és egy antitest-molekula alkot immunkomplexet, a kinyomtatott antigén-molekulák egyrétegű 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

$$Ab + Ag \underset{k_d}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} AbAg$$

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 függnek a komplex koncentrációjától:

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

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 alfejezet alapján:

$$\frac{\mathrm{d}[AbAg]}{\mathrm{d}t} = k_a[Ab][Ag] - k_d[AbAg]. \tag{3.1}$$

Szintén az előző alfejezet 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

$$\frac{\mathrm{d}[AbAg]}{\mathrm{d}t} = k_a\left([Ab]_T - [AbAg]\right)\left([Ag]_T - [AbAg]\right) - k_d[AbAg],$$

innen

$$\frac{\mathrm{d}[AbAg]}{\mathrm{d}t} = k_a[AbAg]^2 - \left(k_a\left([Ab]_T + [Ag]_T\right) + k_d\right)[AbAg] + k_a[Ab]_T[Ag]_T. \tag{3.2}$$

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

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

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:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

A kisebbik gyök

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

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 együtthatós esetet igen.

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

$$\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = \alpha x^2 - \beta x + \gamma. \tag{3.5}$$

Legyen u olyan új ismeretlen függvény, melyre

$$x = -\frac{1}{\alpha u}\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t} \tag{3.6}$$

Adott x mellett a (3.6) elsőrendű 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

$$\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = \frac{1}{\alpha u^2}\left(\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t}\right)^2 - \frac{1}{\alpha u}\frac{\mathrm{d}^2u}{\mathrm{d}t^2},$$

mely szerint (3.5)-ból

$$\begin{aligned} \frac{1}{\alpha u^2}\left(\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t}\right)^2 - \frac{1}{\alpha u}\frac{\mathrm{d}^2u}{\mathrm{d}t^2} = \frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = \alpha\left(\frac{1}{\alpha u}\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t}\right)^2 + \beta\frac{1}{\alpha u}\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t} + \gamma, \\ \frac{\mathrm{d}^2u}{\mathrm{d}t^2} + \beta\frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}t} + \alpha\gamma u = 0. \end{aligned} \tag{3.7}$$

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 $K_D = \dfrac{k_d}{k_a} > 0$ miatt

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

és ezért a karakterisztikus egyenlet gyökei:

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

Így a (3.5) differenciálegyenlet megoldásai:

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

Ekvivalens átalakítással és felhasználva, hogy $K_D = \dfrac{k_d}{k_a}$, 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

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

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

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

ezért

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

$$= -\frac{1}{\alpha} \cdot \frac{\lambda_1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2}\lambda_2 e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}} = -\frac{\lambda_1}{k_a} \cdot \frac{1 - e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}. \tag{3.9}$$

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:

$$[AbAg] = -\frac{\lambda_1}{k_\alpha} \cdot \frac{1 - e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}} = -\frac{\lambda_1}{k_\alpha} \cdot \frac{1 + \frac{\lambda_2}{\lambda_1}\left(1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}\right) - \frac{\lambda_2}{\lambda_1}}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}} = -\frac{\lambda_1}{k_a}\left(\frac{\lambda_2}{\lambda_1} - \frac{\frac{\lambda_2}{\lambda_1} - 1}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}\right) = \tag{3.10}$$

$$= -\frac{\lambda_2}{k_a} + \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{k_a} \cdot \frac{1}{1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}.$$

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

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\left(\frac{1}{1-\frac{\lambda_1}{\lambda_2}e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}\right) = -\frac{\lambda_1\left(\lambda_2-\lambda_1\right)}{\lambda_2}\cdot e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}\cdot\left(-\frac{1}{\left(1-\frac{\lambda_1}{\lambda_2}e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}\right)^2}\right) =$$
$$= \lambda_1\lambda_2\left(\lambda_2-\lambda_1\right)\cdot\frac{e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}}{\left(\lambda_2-\lambda_1 e^{(\lambda_2-\lambda_1)t}\right)^2}.$$

Tehát

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

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

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

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

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

Tehát az $[AbAg]$ függvény szigorúan monoton növekvő és konkáv a $[0;\infty)$ intervallumon, ahogy egy telítődési függvénynél várjuk.

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

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

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.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ahonnan az egyensúlyi pont

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

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

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

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 képződés 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, $K_{D_i} = \dfrac{k_{d_i}}{k_{a_i}}$.
- K_{A_i}: asszociációs egyensúlyi állandó, $K_{A_i} = \dfrac{k_{a_i}}{k_{d_i}}$.
- $[Ab_i]_T$, $[Ab_i]_{T,2}$: 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).
- $[Ab_iAg]_e$, $[Ab_iAg]_{e,2}$: 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:

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

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:

$$\left.\begin{aligned} \frac{\mathrm{d}[Ab_1Ag]}{\mathrm{d}t} &= k_{a_1}[Ab_1][Ag] - k_{d_1}[Ab_1Ag] \\ &\vdots \\ \frac{\mathrm{d}[Ab_nAg]}{\mathrm{d}t} &= k_{a_n}[Ab_n][Ag] - k_{d_n}[Ab_nAg] \end{aligned}\right\}, \tag{4.1}$$

ahol $[Ab_1Ag], \ldots, [Ab_nAg]$ az n fajta antigén-antitest komplex térfogati koncentrációját, az $[Ab_1], \ldots, [Ab_n]$ 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 $[Ab_i] = [Ab_i]_T - [Ab_iAg]$, ahol $i = 1, \ldots, n$. Az $[Ag]$ a szabad antigén térfogati koncentrációját jelöli, mint a t idő függvényét. Tovább $k_{a_1}, \ldots, k_{a_n}$ az n fajta asszociáció és $k_{d_1}, \ldots, k_{d_n}$ az n fajta disszociáció reakciósebességi állandója. Jelölje $[Ag]_T$ az antigén kezdeti térfogati koncentrációját, ekkor

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

Ezek alapján a differenciálegyenlet-rendszer:

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

Alakítva, majd rendezve a

$$\begin{cases}
\dfrac{\mathrm{d}[Ab_1Ag]}{\mathrm{d}t} = k_{a_1}[Ab_1Ag]\sum_{i=1}^{n}[Ab_iAg] - k_{a_1}[Ab_1]_T\sum_{i=1}^{n}[Ab_iAg] - k_{a_1}[Ab_1Ag][Ag]_T - k_{d_1}[Ab_1Ag] + k_{a_1}[Ab_1]_T[Ag]_T \\
\qquad\vdots \\
\dfrac{\mathrm{d}[Ab_nAg]}{\mathrm{d}t} = k_{a_n}[Ab_nAg]\sum_{i=1}^{n}[Ab_iAg] - k_{a_n}[Ab_n]_T\sum_{i=1}^{n}[Ab_iAg] - k_{a_n}[Ab_nAg][Ag]_T - k_{d_n}[Ab_nAg] + k_{a_n}[Ab_n]_T[Ag]_T
\end{cases}$$

differenciálegyenlet-rendszert kapjuk.

A differenciálegyenlet-rendszer vektoregyenletként

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\begin{pmatrix}[Ab_1Ag]\\ \vdots \\ [Ab_nAg]\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}k_{a_1}[Ab_1Ag]\sum\limits_{i=1}^{n}[Ab_iAg]\\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_nAg]\sum\limits_{i=1}^{n}[Ab_iAg]\end{pmatrix} +$$

$$+\begin{pmatrix}-k_{a_1}[Ab_1]_T-k_{a_1}[Ag]_T-k_{d_1} & -k_{a_1}[Ab_1]_T & \dots & -k_{a_1}[Ab_1]_T\\ -k_{a_2}[Ab_2]_T & -k_{a_2}[Ab_2]_T-k_{a_2}[Ag]_T-k_{d_2} & \dots & -k_{a_2}[Ab_2]_T\\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots\\ -k_{a_n}[Ab_n]_T & -k_{a_n}[Ab_n]_T & \dots & -k_{a_n}[Ab_n]_T-k_{a_n}[Ag]_T-k_{d_n}\end{pmatrix}\begin{pmatrix}[Ab_1Ag]\\ \vdots \\ [Ab_nAg]\end{pmatrix} +$$

$$+\begin{pmatrix}k_{a_1}[Ab_1]_T\\ k_{a_2}[Ab_2]_T\\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T\end{pmatrix}[Ag]_T. \tag{4.3}$$

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:

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

Az előző alfejezet alapján az n fajta immunkomplex koncentrációjára érvényes n differenciálegyenlet,

amiből a következő differenciálegyenlet-rendszer adódik:

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

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

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

Alakítva, majd rendezve a

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

differenciálegyenlet-rendszert kapjuk.

A differenciálegyenlet-rendszer vektoregyenletként

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}t}\begin{pmatrix}[Ab_1Ag]_2\\ \vdots \\ [Ab_nAg]_2\end{pmatrix} =$$

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

$$\cdot \begin{pmatrix}[Ab_1Ag]_2\\ \vdots \\ [Ab_nAg]_2\end{pmatrix} + \begin{pmatrix} k_{a_1}[Ab_1]_T - k_{a_1}[Ab_1Ag]_e \\ k_{a_2}[Ab_2]_T - k_{a_2}[Ab_2Ag]_e \\ \vdots \\ k_{a_n}[Ab_n]_T - k_{a_n}[Ab_nAg]_e \end{pmatrix} [Ag]_{T,2}. \tag{4.4}$$

Legyen a rendszer mátrixa

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

Továbbá legyen $B = -A$.

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

differenciálegyenlet-rendszer jobb oldala nullvektor, azaz

$$B\begin{pmatrix}[Ab_1Ag]_{e,2}\\ \vdots\\ [Ab_nAg]_{e,2}\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}k_{a_1}[Ab_1]_T-k_{a_1}[Ab_1Ag]_e\\ \vdots\\ k_{a_n}[Ab_n]_T-k_{a_n}[Ab_nAg]_e\end{pmatrix}[Ag]_{T,2},$$

ahol $[Ab_1Ag]_{e,2}$, $i=1,\dots,n$ az i. fajta komplex felszíni koncentrációja az egyensúlyi helyzetben.
A (4.4) differenciálegyenlet-rendszer egyenlet egyensúlyi pontja [2] (3.5) képlete szerint

$$\begin{pmatrix}[Ab_1Ag]_{e,2}\\ \vdots\\ [Ab_nAg]_{e,2}\end{pmatrix}=\frac{[Ag]_{T,2}}{1+\sum\limits_{i=1}^{n}K_{A_i}\left([Ab_i]_T-[Ab_iAg]_e\right)}\begin{pmatrix}K_{A_1}\left([Ab_1]_T-[Ab_1Ag]_e\right)\\ \vdots\\ K_{A_n}\left([Ab_n]_T-[Ab_nAg]_e\right)\end{pmatrix}. \tag{4.5}$$

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:

$$\frac{[Ab_iAg]_{e,2}}{[Ab_jAg]_{e,2}}=\frac{K_{A_i}\left([Ab_i]_T-[Ab_iAg]_e\right)}{K_{A_j}\left([Ab_j]_T-[Ab_jAg]_e\right)}.$$

5. fejezet

Numerikus szimulációk

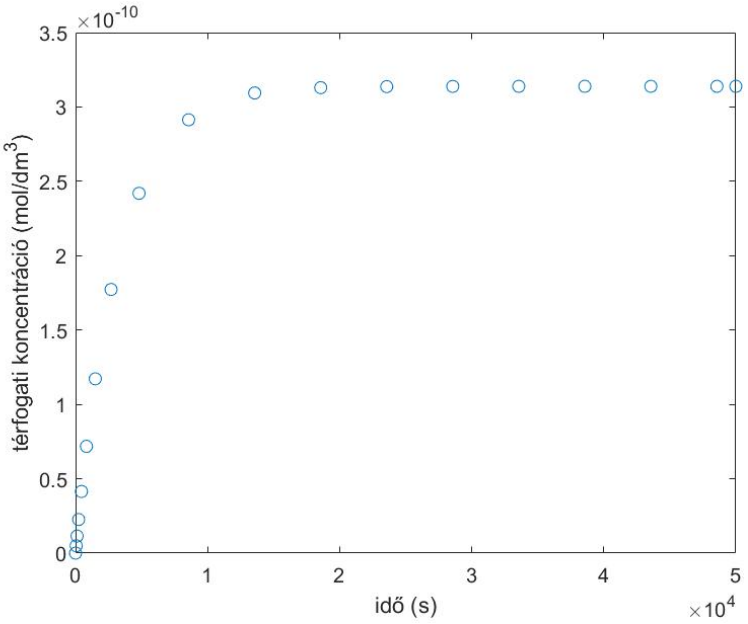
Ebben az fejezetben a Matlab szoftvert használva numerikus szimulációk segítségével illusztrálom az előző két fejezetben leírtakat. Munkám során végig Söderlind professzor differenciálegyenlet megoldó *ode23sdc12* programját használom a Matlab beépített megoldóprogramja helyett. Konzulensemmel a programkódot 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 tudtunk rögzíteni a szimulálás 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 paramétereket. Az* 1. *Szimuláció az immunkomplex képződés dinamikáját írja le monoklonális oldat és oldott antigén esetén. Az alábbi táblázatban és később is* $\mathrm{M} = \mathrm{mol/dm^3}$ *a térbeli 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 paraméterei



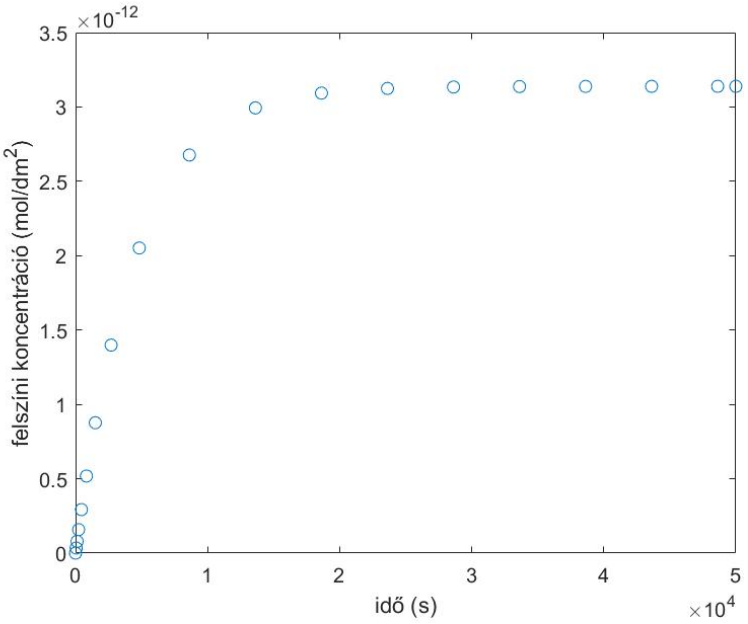
5.1.1. ábra. Komplex koncentráció az idő függvényében az 1. Szimulációban

Az 5.1.1. *ábrán látható az immunkomplex képződés 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* $t \to \infty$. *Az egyensúlyi koncentráció az* 1. *Szimulációban* $[AbAg]_e = 3{,}1385 \cdot 10^{-10}$ mol/dm^3

2. Szimuláció. *Az alábbi táblázat tartalmazza a* 2. *Szimulációbeli paramétereket. A* 2. *Szimuláció az immunkomplex képződés 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 képződés 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* $[AbAg]_{e,2} = 3{,}1386 \cdot 10^{-12}$ 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. Ezeken a tesztpéldákon 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:

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

Egyensúlyban a $\frac{\mathrm{d}[Ab_iAg]}{\mathrm{d}t} = 0$, ahol $i = 1, 2, 3$ egyenletrendszert oldjuk meg. A nemlineáris egyenletrendszer 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)

Komplexek száma	$[Ag]_T$ mol/dm^2
3	10^{-12}

(b)

	k_{a_i} (M^{-1}s^{-1})	k_{d_i} (s^{-1})	$[Ab_i]_T$ (M)
Ab_1	10^5	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-10}$
Ab_2	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-10}$
Ab_3	$3 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-10}$

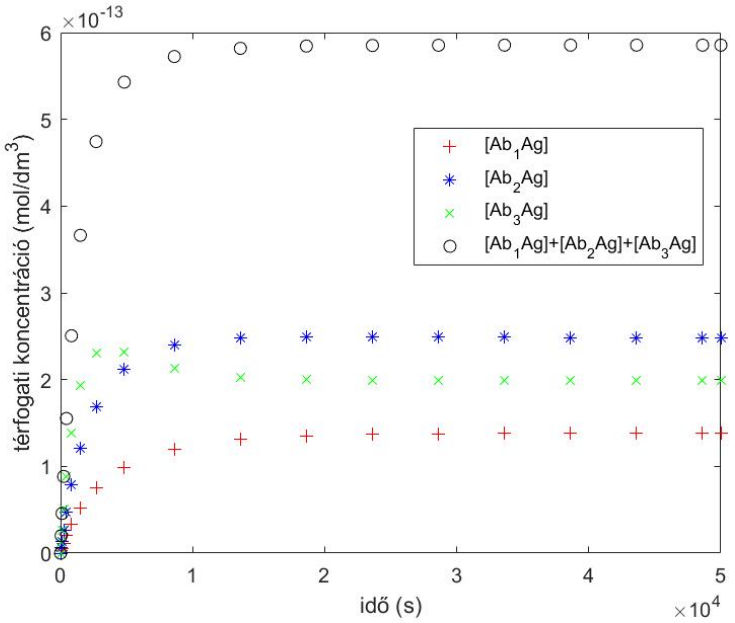
5.2.1. táblázat. Az (5.1) differenciálegyenlet-rendszer és a 3. Szimuláció paraméterei

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

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

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

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



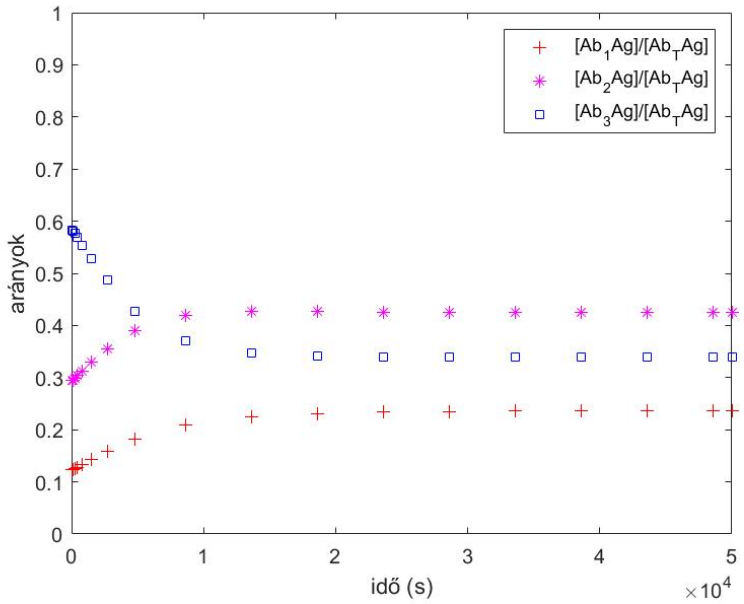
5.2.1. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 3. Szimulációban

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 megfigyelhető 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 antigénről. A reakció elején még csak az asszociáció a számottevő, mert akkor még kevés a komplex, később már a disszociáció is, mert akkor már kellően sok komplex képződött.
A numerikus szimuláció során kapott egyensúlyi értékeket a következő táblázatban foglaltam össze.

$[Ab_1Ag]_e$	$1{,}38091 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^3
$[Ab_2Ag]_e$	$2{,}4857 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^3
$[Ab_3Ag]_e$	$1{,}9886 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^3

5.2.3. táblázat. Egyensúlyi komplex koncentrációk a poliklonális oldat esetén a kompetitív ELISA első 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:

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

Hasonlóan, mint korábban, egyensúlyban a $\frac{\mathrm{d}[Ab_iAg]}{\mathrm{d}t} = 0$, 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)

Komplexek száma	$[Ag]_T$ mol/dm^2
4	10^{-12}

(b)

	k_{a_i} (M^{-1}s^{-1})	k_{d_i} (s^{-1})	$[Ab_i]_T$ (M)
Ab_1	10^6	$2 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-10}$
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	$2 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-10}$

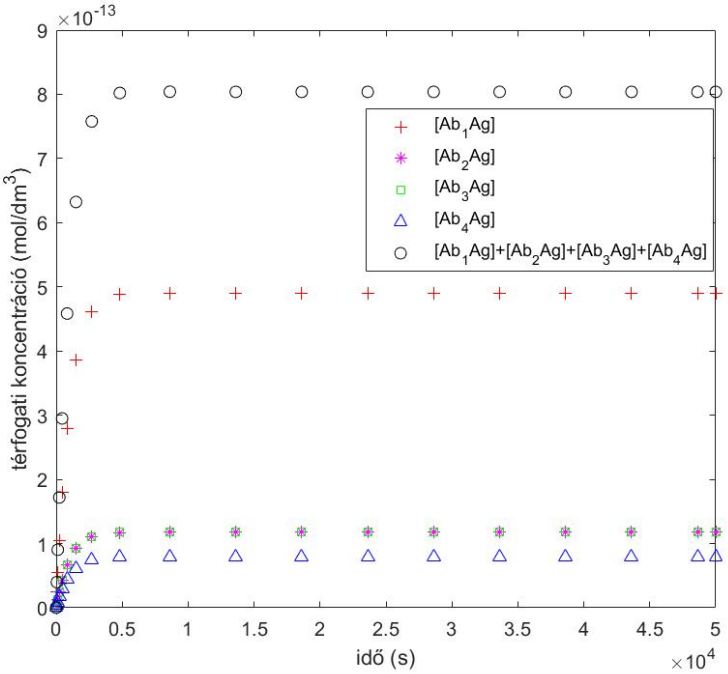
5.2.4. táblázat. Az (5.2) differenciálegyenlet-rendszer és a 4. Szimuláció paraméterei

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

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



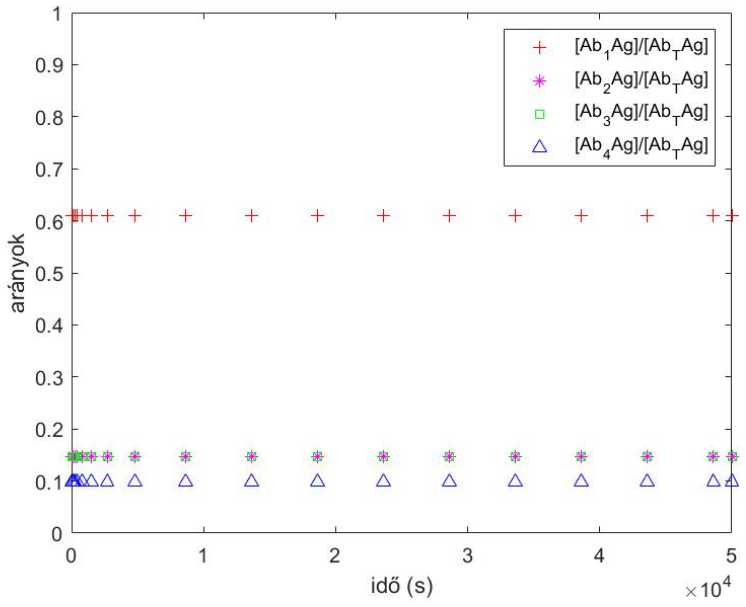
5.2.3. ábra. Komplex koncentrációk az idő függvényében a 4. Szimulációban

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

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

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

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

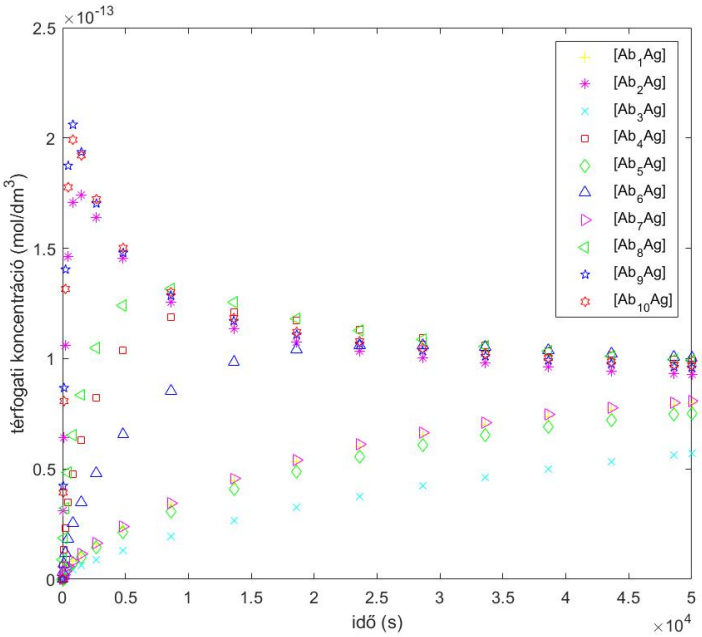


5.2.4. ábra. Komplex koncentráció arányok az idő függvényében a 4. Szimulációban, az ábrán $[Ab_TAg] = [Ab_1Ag] + [Ab_2Ag] + [Ab_3Ag] + [Ab_4Ag]$

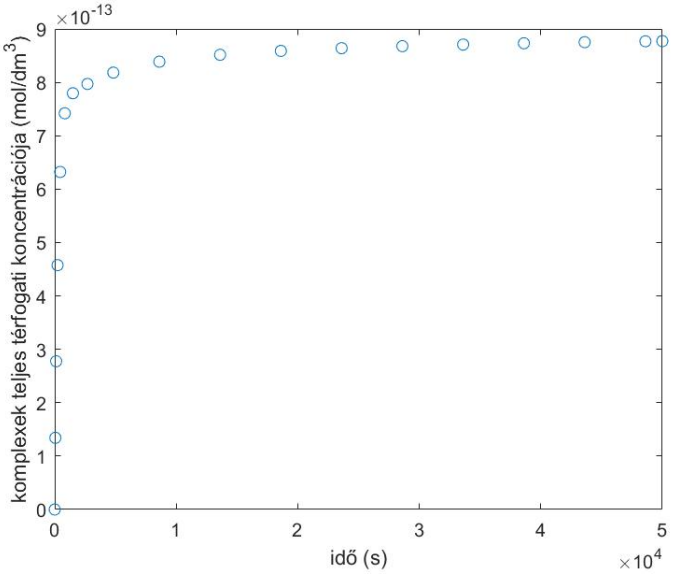
5. Szimuláció. *Az* 5. *Szimulációban a nyugodt immunrendszert szimulálom* 10 *klón esetén, amely akkor reális, amikor nem a teljes antigén-molekulát nyomtatják ki, csak egy részét, ami tartalmazza azt az epitópot, ahová az antitestek kötődnek. A* (2.3)*-ban definiált* K_D *értékek természetes alapú logaritmusa legyen* $\ln(10^{-9})$ *várható értékű és* $\frac{\ln(10)}{5}$ *szórású normális eloszlású. Az asszociációs reakciósebességi állandók természetes alapú logaritmusa, azaz* $\ln(k_a)$ *értékei kerüljenek ki egyenletes eloszlásból és véletlenszerűen vegyenek fel értéket az* $\left[\ln(10^4), \ln(10^6)\right]$ *intervallumból, továbbá* $[Ab_i]$ *értékeit válasszuk véletlenszerűen a* $\left[\frac{3}{4} \cdot K_{D_i}, \frac{4}{5} \cdot K_{D_i}\right]$ *intervallumból, ahol* $i = 1, \ldots, 10$. $[Ag]_T$ *értéke szintén legyen* 10^{-12} mol/dm^2.
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 képződés 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.*

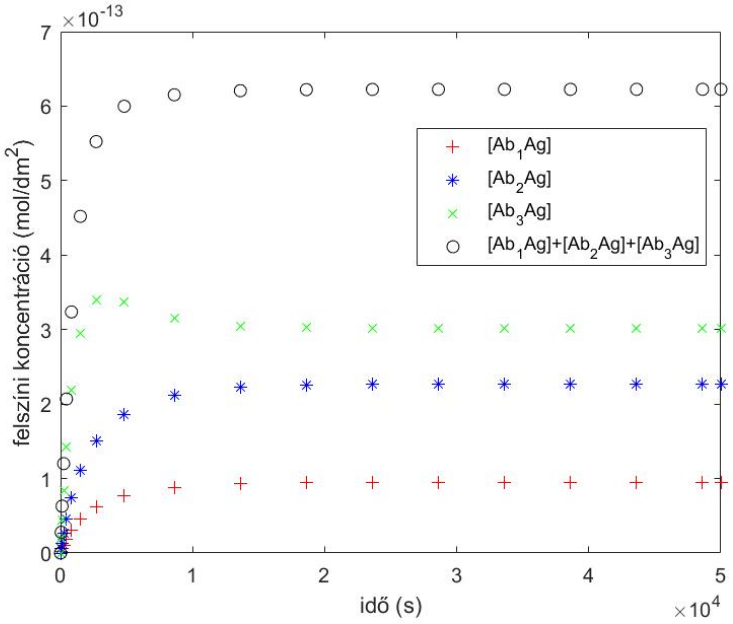
(a)

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

(b)

	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 képződés 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 megfigyelhető egy kiugrás, az értéke meghaladja az egyensúlyi értéket, majd visszatér hozzá.

$[Ab_1Ag]_{e,2}$	$9{,}43319 \cdot 10^{-14}$ mol/dm^2
$[Ab_2Ag]_{e,2}$	$2{,}26365 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^2
$[Ab_3Ag]_{e,2}$	$3{,}01871 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^2

5.2.9. táblázat. Egyensúlyi koncentrációk a 6. Szimulációban

7. Szimuláció. *A* 7. *Szimuláció az immunkomplex képződés 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.*

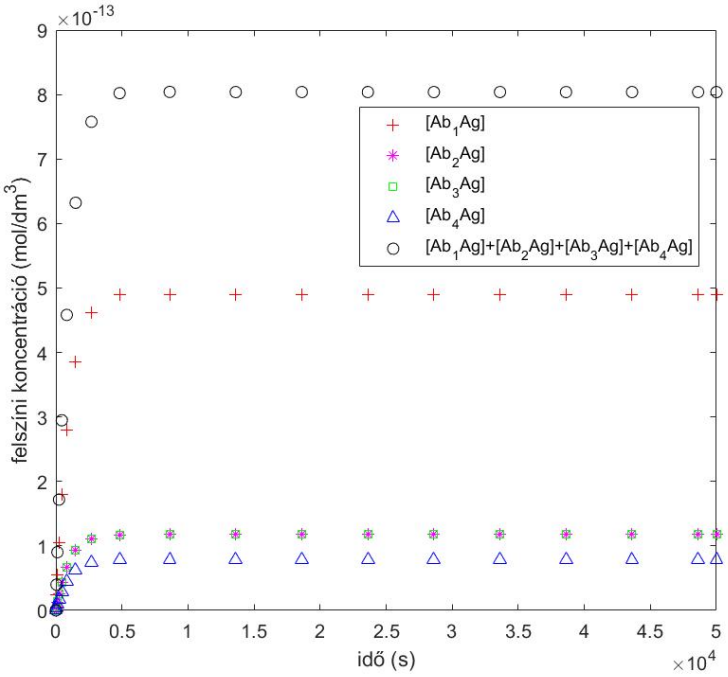
(a)

Komplexek száma	$[Ag]_{T,2}$ mol/dm^2
4	10^{-12}

(b)

	k_{a_i} (M^{-1}s^{-1})	k_{d_i} (s^{-1})	$[Ab_i]_{T,2}$ (M)
Ab_1	10^6	$2 \cdot 10^{-4}$	$4{,}9951 \cdot 10^{-10}$
Ab_2	$6 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}9988 \cdot 10^{-10}$
Ab_3	$3 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{-4}$	$3{,}9988 \cdot 10^{-10}$
Ab_4	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 képződés 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.*

$[Ab_1Ag]_{e,2}$	$4{,}90006 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^2
$[Ab_2Ag]_{e,2}$	$1{,}17682 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^2
$[Ab_3Ag]_{e,2}$	$1{,}17682 \cdot 10^{-13}$ mol/dm^2
$[Ab_4Ag]_{e,2}$	$7{,}84701 \cdot 10^{-14}$ 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, *Differenciálegyenletek, Bevezetés az elméletbe és az alkalmazásokba*, Typotex Kiadó, Budapest, 2005.

[5] Pfeil Tamás, *Differenciálegyenletek*, kézirat, Budapest 2020.

[6] Pfeil Tamás, *Az immunképződés 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-indirec
html

[21] *Riccati-féle differenciálegyenlet*,
https://math24.net/riccati-equation.html