

# Immunology

## Lecture (4)

النادي الطبي

Done by:

Ghaida Bani Irshaid

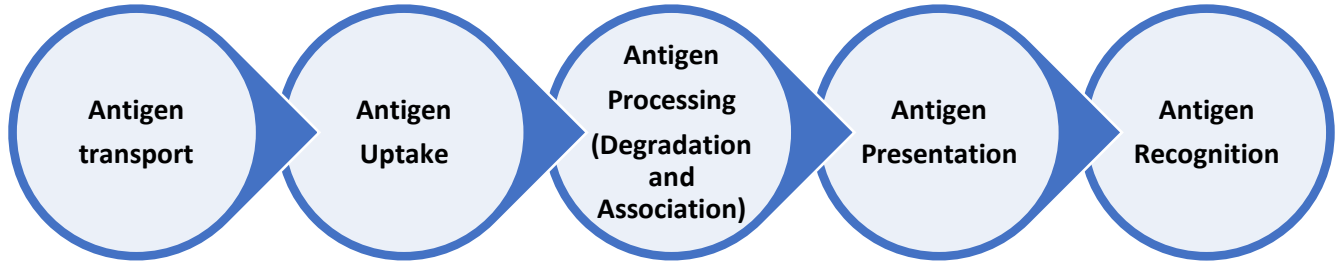
## Lecture 4

حكينا المحاضرة الماضية عن الantigen و الstructure تبعه و انواعه .. و حكينا عن الAPC ..  
و كمان بلسنا نحكي عن الMHC class I و الMHC class II .. و وصلنا عند الpreparation

### Steps in Antigen Preparation for T cells

We mentioned that T cells incapable to dealing with complex structures. So, the antigen must be prepared.

قبل ما ندخل بتفاصيل الsteps خرينا نحكي بشكل عام لحتى نثبّت الأساس و بعدها نحكي التفاصيل



حكينا المرة الماضية انو الantigen لازم هو اللي يروح عند أماكن تجمع الT cells .. و زي ما  
بنعرف انهم بتجمعوا بالLymph nodes .. لهيك هي أول خطوة ف سمينها **Antigen transport**  
تمام .. وصلوا الantigens و بعدين؟ هسا بدو يصيرلو phagocytosis عشان نبلس الشغل عليه  
ف سمينها الخطوة **Antigen Uptake** ، و لو ندقق شوي بهالخطوة بناقني انو

the microorganism has been engulfed into the cell as a complex structure

كلو هيك اخدناه وحدة واحدة ..

و حكينا كمان المحاضرة الماضية انو لازم الantigen يتكسّر و تيجي عليه الMHC تاخد المناطق  
المهمه فيه عشان تطلعها لبرا صح؟ هاد الحكي بأي خطوات بصير؟

بصير بعد ما خلصنا خطوة الuptake .. بتبلس خطوة ال**Antigen degradation** ، هون كسّرناه  
و أخذنا منه المناطق المهمة (determine certain important parts) و هدول المناطق اذا  
بتتذكروا سمينها epitopes ..

بعدين بدو يبلس عنا **MHC biosynthesis** يعني بدنا نكوّن MHC لحتى تيجي و تحملهم لبرا و

حكينا انها ما بترتبط الا بpeptides ..

ف لما اجت و ارتبطت فيهم و صاروا couple سميها الخطوة Peptide-MHC association ، يعني ركبنا ال peptide على الجروب تبع ال MHC اللي عادةً يحتوي عدد من ال amino acids و حكينا انو العدد مش كبير ..

(Antigen degradation + Antigen-MHC association = Antigen Processing)

تمام لهون ؟

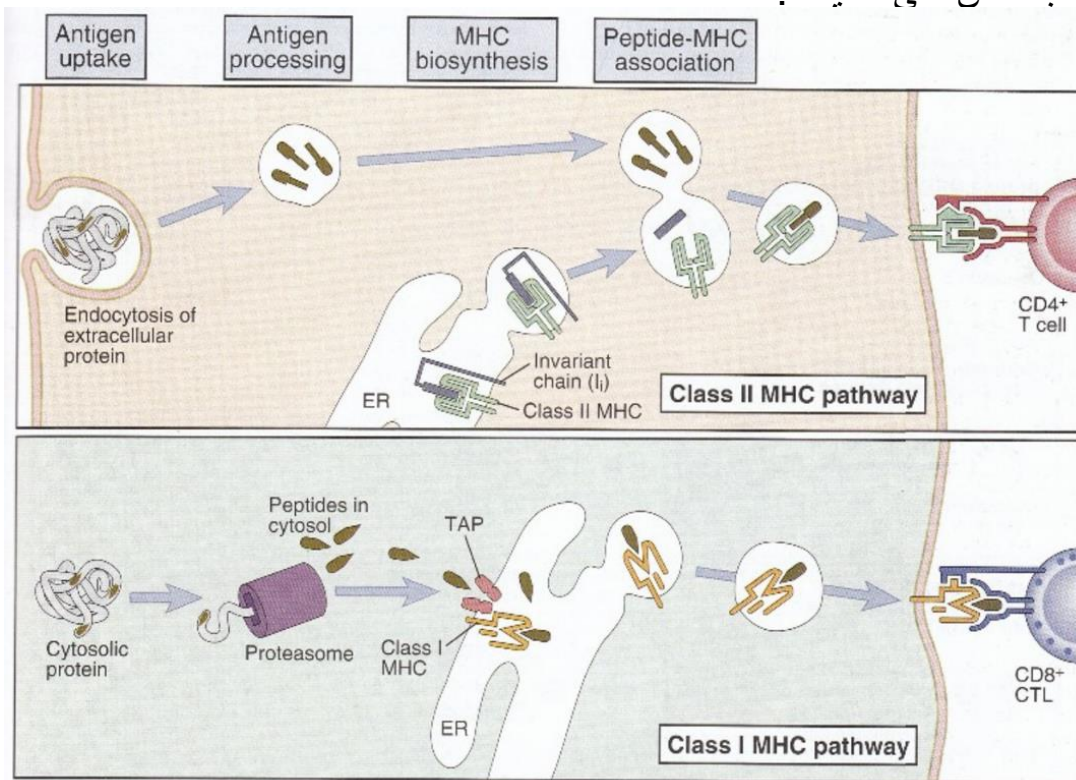
يعني دخل عل الخليه و تكسّر و اخدنا المهم منه و ربطناه بال MHC طيب و بعدين؟ رح ياخده ال MHC و يروح فيه على ال surface of the cell .. حتى يعطيه إما لل CD4+ أو لل CD8+ (حسب نوع ال MHC الموجود)

**\*\* Remember:**

MHC class I → CD8+ ( $1 \times 8 = 8$ )

MHC class II → CD4+ ( $2 \times 4 = 8$ )

و هالصورة بتلخص اللي حكيناها :



This figure is divided into two parts:

**Part 1:** Antigen preparing for CD4+ (T helper cells), so it is MHC class II pathway.

**Part2:** MHC class I for preparing the antigens to CD8+ (cytotoxic T lymphocytes).

إذا بننتبه على ال T cell على يمين الصورة بنلاقي عليها receptor يستقبل ال peptide-MHC couple بعد ما تعرفت عليها بخطوة ال **Antigen recognition** .. هاد ال receptor بنسميه TCR

**\*\*Remember:**

**TCR = T Cell Receptor**

بالتالي، من جهة عنا ال APC عليها ال MHC مع ال peptide ، و الجهة الثانية عنا ال CD4+ أو CD8+ (حسب نوع ال MHC) عليها ال TCR لحتى تاخذ هاد ال peptide و تنتقل للخطوة الثانية.

هيك شرحنا الخطوات و الصورة .. نيجي للتفاصيل

### 1. Antigen capture and transport to lymph node:

We mentioned that we need to transport the antigen to the lymph nodes, where T cells are usually present.

كيف بتبلش عملية ال transport؟

عن طريق ال immature DCs ، بكونوا موجودين بال site of infection عند ال epithelium ، بتمسك بال microbe و بتبلش تغادر من ال epithelium لل lymph nodes ..

**\*\*Remember:**

**DCs = Dandritic cells**

طيب هسا هدول ال immature DCs كيف عرفوا الطريق لل LNs؟

It is guided by **chemokines** (chemo-attractants).

من وين اجوا ال chemokines؟

لما صار عنا ال inflammation و اشتغل ال innate system و طلع عندي ال macrophages ، افرزت ال chemokines لحتى تعمل ال guiding لل DCs و توصل لل proper lymph node.

**Note:**

Innate system should start firstly.

(يعني ما بصير يشتغل ال adaptive بعدين ال innate)

هسا هدول ال DCs و همه ماشيين من مكان ال infection لل lymph node بتكون عم تتعرف على ال antigen و بتعمل maturation يعني بتستغل الوقت. و لما توصل لل lymph node بتبلش تشتغل الشغل اللي بدنا ياه انها تدخل ال antigen بخطوات ال presentation.

During maturation, DCs express different membrane proteins,

- **immature DCs**: express surface receptors for microbial binding and capture.
- **mature DCs**: express MHC molecules necessary for antigen processing.

شو معناه هاد الكلام؟

بيحكلك انو عملية ال maturation بصير فيها تغيير لل receptors .. كيف يعني؟  
لو نتطلع على ال immature DCs بنلاقي عليها receptors خاصة لتعمل binding مع ال microbe

و لو اجينا على ال mature DCs بنلاقي انو عليها MHC مش ال binding receptors فبالتالي كل ما زاد ال MHC و قل ال binding receptors بنعرف انها more mature و العكس بتكون immature  
تمام لهون؟

نيجي نعمل تلخيص سريع لترتيب الأحداث بهالمرحلة:

- immature DCs at the site of infection.
- capture the antigen.
- transport from the epithelium to the lymph nodes by the effect of chemokines.
- maturation during transportation.
- start the processing of presenting the antigen to T cells in the LNs.

## 2. Uptake of antigen:

كيف بتصير عملية ال uptake ؟

من اسمها يعني بدي ادخل اشئ ع الخلية .. معناها هاد رح يفيدني بال exogenous antigen .. لانو ال endogenous antigen هو already موجود inside the cell ما بحتاج اشئ يدخله .. أو مثلاً زي بعض انواع ال infections بتدخل الخلية by itself و أشهرها ال virus ..

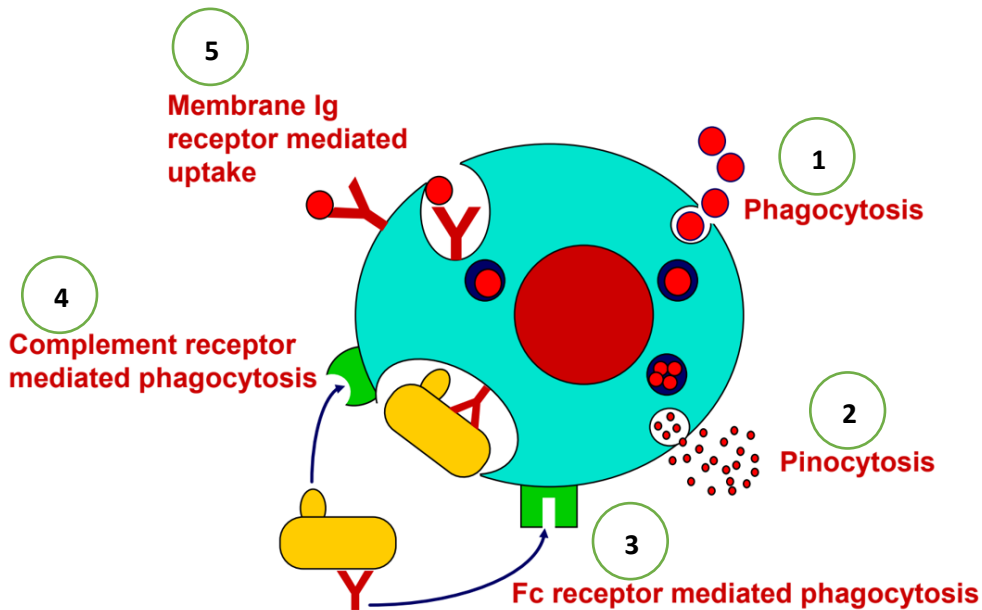
هسا هاد ال antigen انا بدي ادخله على الخلية اللي هي APC و حكينا اللي هي زي ال macrophages و ال DCs

### Note:

Phagocytosis and Pinocytosis are subsets of endocytosis.

نيجي نشرح ال mechanisms of uptake :

رح احط رسمة السلايد فيها 5 mechanisms و نحكي عنهم



### 1. Phagocytosis:

بتبلع ال antigen كامل زي مهبو .. و عادةً بكون large molecule

## 2. Pinocytosis:

نفس مبدأ اللي قبلها بس هادي لل small antigens او اذا كان liquid (شوفوا الفرق ع الرسمه بين حجم ال molecules اللي داخله بالاولى و حجم اللي داخله بالثانية)

## 3. Receptor-mediated antigen capturing (Fc receptor)

ال antigen عندو certain receptors ممكن تكون antibodies ، و عنا receptors على ال phagocyte كمان ، مثل ال Fc receptor يعني اجا antibody معه antigen بده يسلمه لل phagocyte ، ف يرتبط بال Fc receptor عن طريق ال Fc portion تبعته و بعدها يدخل .. (يعني الفكرة هون انو ال antigen يستخدم receptors عشان يدخل للخليه و عشان هيك سميها (receptor-mediated activation بالمثال اللي حكيناها هسا ، حكي الدكتور انو طالما في antibody معناها ال B cells صار لها .. activation و انتجت ال antibodies و عملوا opsonization و coating لل antigen .. ف اللي صار بهاد المثال general uptake برضو بنحكيو antibody-mediated و صار عن طريق ال antibody receptors.

و زي ما بنعرف انو ال macrophage عندها قاعدة عامة ، أي شي عليه antibody بتعملو engulfment .. بس هون ما يرتبط بال antigen نفسه ، يرتبط بال antibody عند ال Fc و بعدها بتدخل ال antigen كلو جوا .

## 4. Complement receptor mediated phagocytosis:

هون اللي بصير .. lysis of the cell ال receptor اللي هون اذا شاف أي antigen يرتبط عليه أو اذا شاف أي antibody بروح يرتبط على ال antibody اللي على ال antigen و يشتغل شغلتين .. إما directly بحطم الخلية .. أو بيعطيها لل phagocyte عن طريق specific complement receptor .. و برضو هادي receptor-mediated engulfment

## 5. Membrane Ig receptor mediated uptake:

ممكن بال small antigens تعمل directly binding و تدخلها على ال macrophage

- هدول كلهم different mechanisms لحتى بالأخر ادخل ال antigen لداخل ال phagocyte.

### 3. Antigen Processing: (Digestion)

بعد ما خلىنا ال antigen يدخل على الخلية هون حكينا بصير شغلتين:

- Degradation

بنقصص هاد ال antigen لقطع صغيرة اللي هي peptides

- Association

بين بعض ال peptides اللي هم ال epitopes و بين ال MHC

و هذول الشغلتين صاروا عشان تقدر ال T cell تشوف ال antigen و تتعرف عليه

طيب كيف بصيروا؟ في عنا two pathways :

- MHC class I pathway

- MHC class II pathway

(اللي هم اللي بالصورة الاولى بالتلخيص)

و بالسلايدات في جدول للفروقات بين ال pathways هذول .. حفظ

	MHC class I	MHC class II
Major antigen sources	endogenous antigen	exogenous antigen
Processing machinery	proteasome	lysosomal enzymes
Cell type where active	all nucleated cells	professional APCs
Site of antigen-MHC binding	endoplasmic reticulum	lysosome and endosome
MHC utilized	MHC class I	MHC class II
Presents to	CD8+ T cell (Tc)	CD4+ T cells (Th)

عند ال antigen source حكينا انو وحده endo و الثانية exo .. هاد بشو خلاها تختلف؟ انو

ال MHC class II pathway يكون فيها خطوة زيادة اللي هي تبعت ال uptake.

**Note:** Tc = cytotoxic T cells / Th = helper T cells.



## Note:

حكينا المرة الماضية انو أغلب الviruses بتكون endogenous بالتالي رح تمشي  
MHC class I pathway  
و حكي الدكتور انو الvirus مثلا بيعمل infection بالrespiratory و الGI و الخ..  
و البكتيريا بتعمل نفس الشئ بس بتكون الcapability للphagocytosis انو يمسكها و يعملها  
processing اكبر.

## \*\* Remember:

Professional APCs = DCs / macrophages / B cells.

Non-professional APCs = activated T cells / endothelial cells / fibroblasts.

## 4. Antigen Presentation:

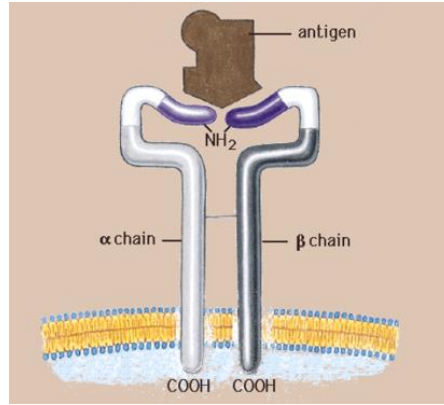
هون بدنا نطلع الantigen على الsurface of the cell .. و حكينا انها هادي وظيفة الMHC ..  
ف لازم نعرف انو الMHC ما يشتغل عشوائي ع السبحانية ، مش أي شئ بصيرلو proteolysis  
جوا الخلية بروح بمسكه و بطلعه ، لازم peptide و مش أي peptide  
مثلا ممكن نضل اسبوع شغالين على antigen و بالاخر بييجي الMHC يحكي لا هاد مبین زي كأنو  
self-antigen ما رح اطلعه .. (it has his own mind)  
مين بحدد هاد الmind ؟ الgenetics  
طيب في حال قرر انو ياخذ هاد الاشي اللي تحطم و يعمل الpresentation شو رح يصير عنا  
على ال surface ؟ MHC coupled with peptide (لازم يكونوا مع بعض ، ما بيطلع واحد  
منهم لحاله).  
و مين بكون يستقبلهم ع الجهة الثانية؟  
اما CD4+ او CD8+ .. عن طريق receptor اسمه TCR .. لما يرتبط مع الpeptide اللي على  
الMHC بصير عنا activation of T cell .  
و هاد كلو بس عشان نجهّز للخطوة الأخيرة :

## 5. Antigen recognition:

هسا ببش دور ال receptors اللي على خلايا B and T عشان يرتبطوا بالantigen  
(الT cell receptors هون بشتغلوا اكثر من ال B cell receptor)

### TCR = T cell Receptors

عندها  $\alpha$  و  $\beta$  وشكلها بشبه الMHC  
و لازم يصير في presentation عشان ترتبط  
و اذا بتنتبهوا ع الصورة من فوق بتشوفوا groove بصير فيه الارتباط بالpeptide



### BCR = B cell Receptors

هدول unlikely انهم يشتغلوا يعني مش كثير .. لسبب بسيط انو الproteins اختصاص الT cells.  
و عندهم شغلة انهم بقدروا يرتبطوا بدون presentation .. يعني بتقدر ترتبط directly مع  
الantigen بدون ما تعمل processing و قصص .. يعني بتكون already activated بتروح  
بترتبط دغري.

هسا هدول ال receptors اللي على الB cells هم اصلا عبارة عن antibodies  
(BCR: antibodies attached to the membrane of B cell)

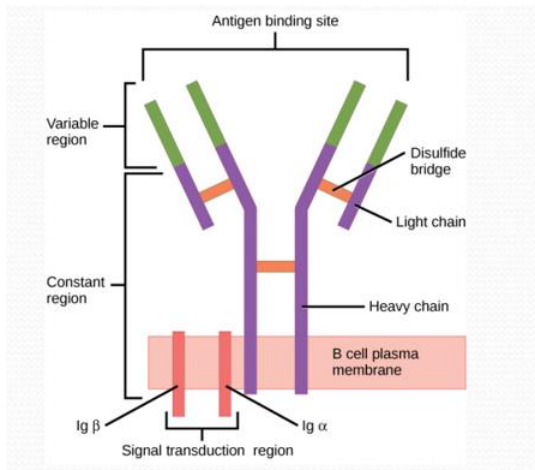
\* الantibodies نوعين :

1- Antibodies attached on B cells, we call them BCR (especially IgD and IgM).

و هاد اللي عم نحكي عنه هون

2- Free secreted antibodies

و هاد اللي بروح بمشي بالsystem و بروح للantigen و بعملو labeling



و هاد شكل الBCR .. اذا بتلاحظوا انو هو اصلا كمان  
شبه الantibody .. و برضو عندو binding site زي  
الTCR .

و هيك بعد اخر step بنكون وصلنا للT and B cells activation ..  
نيجي لقسم اسئلة الطلاب و الدكتور :

- في receptors ثانية غير هدول ؟

اه في receptors ثانية بتحتوي على غاما و دلتا ، و الprocessing يكون في جزء منهم بتحول  
من غاما و دلتا الى ألفا و بيتا .. و بعضهم بضل و بعمل الprocessing بطريقة مختلفة رح نيجليها  
لقدام بعدين لما نحكي عن الT cell receptors بسموها :

Delta negative and delta positive cells

- ال T cell التي ارتبطت بال peptide الموجود على ال MHC و صار لها activation ، هل في طرق ثانية يصير لها activation؟

أكيد .. مش كل ال T cells رح تضل تستنى دورها لتعمل binding .. لهيك عنا طريقتين ثانيين: الأولى: انو ال CD4+ اللي صار لهم activation بفرزوا cytokines بتعمل activation ل T cells ثانيين

(they can secrete cytokines to activate other T cells without binding to the peptide)

بس اجمالاً لازم يكون في cytokines بال system حتى بعملية ال binding (رح نيجيلها بمحاضرة ثانية بعدين)  
الثانية: انها تنسخ حالها.

- بناءً ع السؤال السابق، هل ارتباط ال peptide مع ال MHC بال TCR بيعمل activation of T cells by default ؟

مش شرط ، لانو لازم يكون في cytokines بال system ..

- من وين اجوا هدول ال cytokines؟

من ال macrophages اللي جايه as a result of innate response عند ال inflammation .  
(بالتالي ، ال innate ولو انو دوره انتهى لكن ما زال هو المحفز و حكينا انو بيعطيني chemokines و cytokines ، و هدول مهمين جدا).

- لو كان عنا مريض ما عندو APCs (بسبب مرض وراثي) ، هل ال adaptive system ممكن يشتغل؟ (يعني هاد المريض without effective phagocytosis) !

ممكن ، عن طريق ال MHC class I .. كونها بتشتغل ع ال endogenous ف هي ما بتحتاج لل phagocytosis

- بصير بال B cells directly ؟

لا لانو بلزمها cytokines كمان .. ف لا ال B ولا ال T رح يقدرُوا يشتغلُوا.

Keep in mind, if the innate system isn't working, so 70% to 80% of adaptive system won't be able to work too.

(بضل في شوية ال MHC class I و شويط ال B cells اللي عندهم القدرة يرتبطوا لحالهم)

هيك خلصنا هاد الجزء و الدكتور حكي نركز على ال main steps

## Antibodies (immunoglobulin)

We know that antibodies are special type of protein molecules secreted by plasma cells.

Antibodies specifically react with antigens, which stimulate the formation of antibodies.

في جملة بالاسلايد بتحكيالك :

Antibodies belong to a group of serum proteins called **immunoglobulins** (Ig).

نيجي نفهم ليش .. (شرحها مش مكتوب و ما حكاها الدكتور فمش مطلوب)

زي ما بنعرف انو ال antibodies موجودين بالدم ، بس بأي component من الدم بالتحديد؟  
يعتبر جزء من ال plasma proteins

### Note:

Plasma proteins:

1. Albumin
2. Globulin
3. fibrinogen

ال antibodies مع أي وحدة منهم؟ مع ال globulins .. تمام لهون؟

و ال globulins في منها  $\alpha$  و  $\beta$  و  $\gamma$  .. ال antibodies تحديداً عبارة عن  $\gamma$  globulins  
معناها طالما هم من ال globulins و شغلها بال immune system  
ف دمجناهم مع بعض لهيك صار الاسم "immunoglobulins" و اختصارها "Ig"

نيجي نعرف شو بميّز ال antibodies ؟

1. high specificity

(high capability of recognize and binding)

يعني ما بترتبط بحيات الله اشئ .. بترتبط بمكان معين بس

2. high affinity

قوة الارتباط عندها عالية .. مش زي ال MHC هداك ارتباطهم بال peptide كان low affinity

## Structure of Antibody

لازم نعرف انو ال antibodies عبارة عن glycoproteins و يكون tetrapeptide

\*\* Remember:

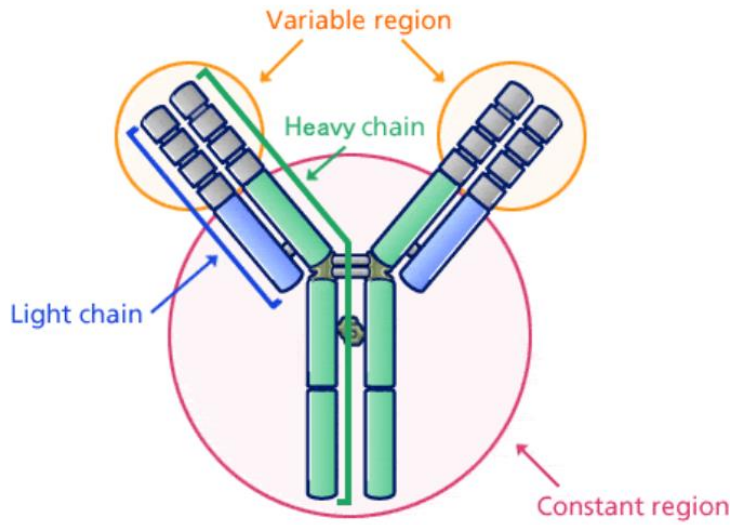
Glycoproteins = Proteins with little carbohydrate component.

Tetrapeptide = 4 polypeptide chains.

Chains:

- Two light chains (L)
- Two heavy chains (H)

يعني تركيبته عبارة عن 4 chains مرتبطين ببعض عن طريق disulfide bonds



ال chain اللي لونها اخضر **heavy**  
و اللي لونها ازرق **light**

في كمان تقسيمة بال structure تبعه ..  
جزء **variable** و جزء **constant**  
رح نيجي لتفاصيلهم كمان شوي  
بس بشكل عام شو هدول؟

كل وحدة مبينه من اسمها .. ال variable منطقة متغيرة حسب شكل ال antigen .. و بنلاقي فيها antigen binding site .. و كلنا عارفين انو كل antibody بمسك ب antigen خاص الو .. ف أكيد هالمنطقة رح تختلف من antibody للثاني .. و كل واحد أقل شي لازم عندو مكانين للارتباط. أما ال constant لا .. هالمنطقة عندها biological function and signaling .. يعني ممكن تنادي ال phagocytes و ال complement و هكذا ..

So, antibodies which are directed against different antigens must be different in binding area (they are very specific).  
Specific antibody for specific antigen.

## Variable and Constant regions

ال H chain عليها variable و constant  
و ال L chain كمان عليها variable و constant

### Variable region (v)

- Variable region = antigen binding site = Fab portion.
- Fab → **F** for fragment, **ab** for antigen binding.
- It ends with amino acid.

## Constant region (c)

- Constant region = biological part = Fc portion.
- Fc → **F** for fragment, **c** for constant.
- It ends with carboxyl.
- effector function.

اذا متذكرون و احنا بنشرح بالmechanisms تبعون ال uptake حكيما في receptor على ال macrophage كان اسمه Fc receptor .. هاد عشان يرتبط بال Fc portion تبع ال antibody .. بالتالي ، ال macrophages لما بدها ترتبط بال antibody رح ترتبط بال constant مش بال variable .

## Antibody classes

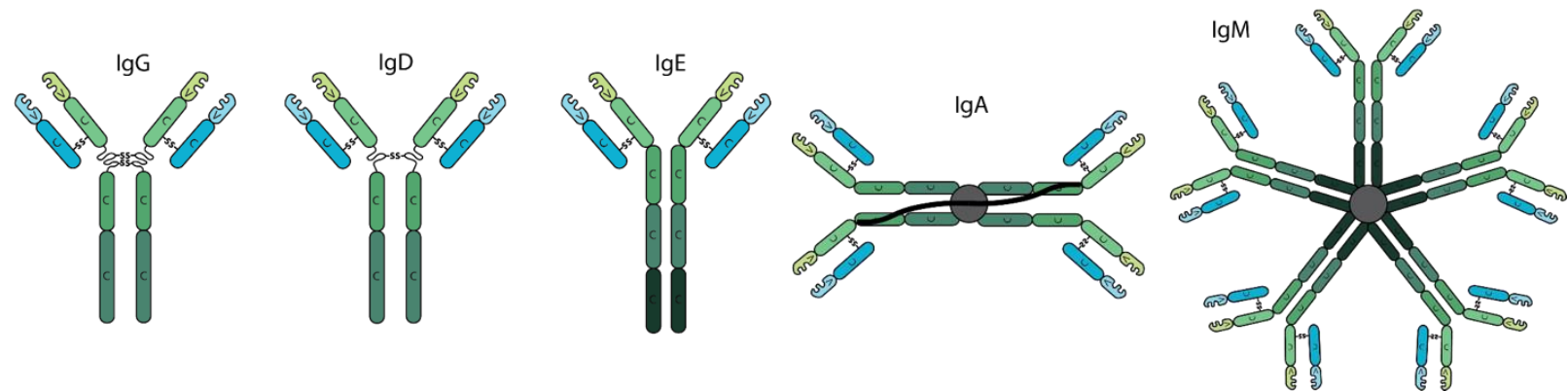
IgG, IgM, IgA, IgD, IgE

أمجد (AMGED) / ماجد (MAGED)

حكيما بالصفحات اللي قبل انو ال Antibodies نوعين :

1. membrane bound antibodies (BCR) ماشيين و همه already مرتبطين بال B cell receptor و همه ال IgM و ال IgD
2. free secreted antibodies

و همه ال 5 انواع كلهم .. IgG, IgD, IgE, IgA, IgM





طيب نحكي عنهم شوي بشكل عام بعدين بندخل بتفاصيلهم:  
شو ممكن يكون الفرق بينهم؟

They differ in:

- Shape.
- Number of binding sites (two at least).
  - G, E, D → 2
  - A → 4
  - M → 10
- Function.
- Fc portion.
- Site of secretion.
  - A → in respiratory epithelium and gastrointestinal.
  - M, G → in the circulation (in plasma).

مثلا بالشكل تبعهم ..

الIgG و الIgD تقريبا

نفس الشكل

الIgE نفس الIgG بس انو الFc تبعته اطول

الIgA كأنو 2 antibodies مرتبطين ببعض

الIgM كأنو 5 antibodies مرتبطين ببعض

و طريقة الارتباط عن طريق الjoining chain .. ممكن نكسرهما و نحولهم الى IgG

هسا نيجي لتفاصيلهم ... رح اكتب معلومات السلايدات مع شرح الدكتور بكل نقطة

## IgG

- \* Structure: Monomer. (with 2 binding sites)
- \* Percentage serum antibodies: 80% (the highest concentration).
- \* Location: Blood (mainly), **lymph, intestine.**
- \* Half- life in serum: 23 days.

هادي المعلومة بتهمنا فيهم كلهم .. بتخلينا نعرف انو أي شخص بصير عندو antigen presentation و B cell activation و طلعت عندو الantibodies رح تقعد فترة و تروح ، يعني بتكون transient ما بتضل طول عمره ..

مين اللي بضل فترة طويلة ؟ الmemory cells .. اما الantibodies فترة حياتهم قصيرة

- \* Complement fixation: Yes.

شو يعني complement fixation ؟

حكينا انو الantibody لما يكون ماسك antigen و يروح يسلمه للphagocytes يرتبط بالFc receptor و هادي كانت وحدة من طرق الuptake اللي حكيناهاهم أو في طريقة ثانية و هي انو ينادي الcomplement مباشرة و الcomplement اذا خبط بالantibody اللي موجود على الantigen شو بعمل بالخلية ؟ بكسرها (complement-mediated lysis)

So, complement fixation means that antibody can attach and call the complement system.

الIgG من الantibodies اللي عندهم هادي القدرة

- \* Placental transfer: Yes.

الIgG حجمه صغير فبقدر يمر من الplacenta يعني الام اللي عندها antibodies من IgG class بتقدر تنقلهم للطفل.

زي مثلا الRh (D) اللي بالRBCs

So, Rh (D): IgG class which can be transmitted through placenta.

اما مثلا الIgM حجمه كبير ما بقدر يمر .

\* Known functions:

1. Enhances phagocytosis.
2. Neutralizes toxins and viruses.
3. Protects fetus and newborn.

كيف بقدر يحمي الجنين؟ مثلا فايروس دخل للأم ، ممكن يدخل للجنين برضو.. وهو لسا ما عندو جهاز مناعة .. لهيك كونه ال IgG بقدر يعبر ال placenta ف بدخل و بحميه و حتى بعد الولادة يكون لسا مناعة الطفل ضعيفة ما عندها خبرة غير شوية ال IgG اللي اخدهم من الام (الدكتور اعطى مثال: ال Rubella ، عادي لو اصيبت فيه المرأة ، اما اذا بوقت الحمل يكون سيء!)

\* Subclasses: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4

الفرق بينهم : the number of disulfide bonds  
و يكون كل واحد متخصص أكثر ب function معينة..  
لو ننتبه على الصورة بالاسلايد بنلاقي انو 2 و 4 نفس الشئ ، معناها ليه فصلناهم؟  
لانو في فرق بينهم بال function .

## IgM

\* Structure: **Pentamer.** (with 10 binding sites)

حكينا زي كأنهم 5 IgG مرتبطين ببعض

\* Percentage serum antibodies: **5-10%**

\* Location: **Blood, Lymph, B cell surface** (monomer)

\* Half-life in serum: **5 days** (بطلع بسرعة و بروح بسرعة)

\* complement fixation: **Yes.**

(stronger than IgG as complement fixation)

و ال opsonization كمان تبعته اقوى.

\* Placental transfer: **No.**

حكينا حجمه كبير

\* known functions:

1. First antibodies produced during infection.

الIgM هو اول antibody بفرزه الجسم ..

لهيك اذا بتتذكروا لما كنا نقارن بين الacute infection و الchronic infection :

Acute → IgM

Chronic → IgG

2. Effective against microbes and agglutinating antigens.

Agglutination: can collect cells

- ممكن RBCs و ممكن viruses و ممكن bacteria ..

- الIgM حجمه كبير و مع هيك لما يبجي يعمل agglutination بعمل لcells 2 فقط !

- باللاب لما بناخد عينة دم عشان نعرف شو الblood group

شو ال antibody اللي لازم يكون عشان يعمل agglutination للRBCs ؟ IgM

حكي الدكتور انو كنا نحط reagent ثالث لحتى يعمل recoupling اسمه coombs reagent

بمسك الIgG و بربطهم مع بعض كأنو بحولهم الى الIgM

اما الIgG ما بيعمل agglutination لانو حجمه اصغر

يعني لو جبت عينة دم و حطيت عليها Anti-D بعمل agglutination ؟ لا ! فقط الIgM .

## IgA

\* Structure: **Dimer.** (with 4 binding sites)

\* Percentage serum antibodies: **10-15%**

\* Location: **secretions** (tears, saliva, intestine, milk) , **Blood** , **Lymph.**

حكينا انو بغطي الepithelium بالrespiratory و بالintestine

لهيك بحكوله **“Mucosal Antibody”**

و كمان طالما موجود بالmilk معناها بنتقل من الام للطفل بعد الولادة عن طريق الbreast milk.

\* Half-life in serum: **6 days.**

\* Complement fixation: **No.**

\* Placental transfer: **No.**

\* Subclasses: **IgA1, IgA2**

\* Known functions:

1. Localized protection of mucosal surfaces.
2. Provides immunity to infant digestive tract.

حكينا انو وصل للطفل عن طريق ال breast feeding .. ف بحميه من GI infections لانو  
ال IgA بغطي كل ال intestine و بعملها protection.

في حدا سأل الدكتور اذا ال IgA ممكن يعمل agglutination  
حكي ممكن يساعد فيها وهو dimer .. اما اذا تكسر ل monomer لا

## IgD

\* Structure: **Monomer.** (with 2 binding sites)

\* Percentage serum antibodies: **0.2%**

\* Location: **B cell surface, Blood, Lymph.**

\* Half-time in serum: 3 days.

\* Complement fixation: **No.**

\* Placental transfer: **No.**

\* Known functions:

1. In serum → unknown function.
2. On B cell surface → initiate immune response.

(يساعد بال binding لل antigen)

## IgE

- \* Structure: **Monomer**. (with 2 binding sites)
- \* Percentage serum antibodies: **0.002%** (the lowest concentration).  
الشخص الطبيعي ما لازم يكون عندو IgE .. لانو هو الوحيد اللي بعمل hyperreactivity .. يعني وجوده بيعمل allergy و هاد اشي مش كويس.
- \* Location: **Blood**, and bound to **mast cells and basophils** throughout body.
- \* Half-time in serum: **3 days**.
- \* Complement fixation: **No**.
- \* Placental transfer: **No**.
- \* Known functions:
  1. Allergic reactions.
  2. Possibly lysis of worms.
  3. Effective against parasites.

طريقة الاسئلة عليهم مثلا انو بيعطينا الصفة و احنا نعرف مين ال antibody :

- transfer through placenta? IgG.
- complement fixation? IgG and IgM.  
و اذا ما اعطانا ال 2 بالخيارات ، بنختار IgM لانو اقوى
- the best agglutinating antibody? IgM.
- the first secreted antibody? IgM.
- the strongest antibody? IgM.
- the highest concentration? IgG.
- the antibody which expected to be in new born or in breastfed? IgA.

**\*\* شو الفائدة من شغلة ال agglutination و انو ال IgM بربط الخلايا مع بعض احسن من ال IgG؟**  
- انو بجمعها بمكان واحد ، ف لما تمر ال phagocyte بدل ما تضل تشوف كل خلية اذا self ولا non-self ، لما بتلاقيهم هيك مجمعين بسهل عليها ..  
لهيك بنحكي انو ال IgM اقوى شي ، لانو بجمع كل الخلايا مع بعض بمكان واحد.

## Functions of Antibodies

1. Neutralization (mainly by IgA).
2. Opsonization (by IgG - macrophages).
3. Complement activation/fixation (by IgG and IgM).
4. ADCC – Antibody Dependent Cells mediated Cytotoxicity (by IgG - NKs).
5. Mast cells activation (by IgE).
6. Transcytosis/transport.

نشوفهم بالتفصيل:

### 1. Neutralization:

- Prevent binding / microbe's attachment.

اذا متذكرين اول خطوة بأي infection شو لازم يعمل ال microbe؟ بيعمل adhesion ..  
كل virus او bacteria عندو adhesive receptors يرتبط بال target tissue تبعه ..  
مثلاً ال infectious mononucleosis يرتبط على ال B cells.

ف ال neutralization معناها انو ال antibody بسكّر مكان ال binding بوجه ال antigen فما بصير infection.

طالما ال infections بدخلوا غالباً من ال respiratory او من ال GI معناها أكثر antibody رح يكون عندو القدرة على هادي ال function هو ال IgA لانو موجود فيهم أكثر شي ..

في صورة بالاسلايد بتقارن بين وجود ال antibody و عدم وجوده .. اذا مش موجود ، رح يبجي ال microorganism و يعمل attachment للخليه و يدخل و يحطمها .. اما اذا موجود رح يرتبط على ال receptors اللي بتعمل binding مع ال antigen و تمنعه .. نفس الشي الخطوة الثانية .. حتى لو ال antigen قدر يدخل ، بما انو ال antibody موجود ف رح يمنع انو ينتقل ال antigen للخلايا الثانية.. و حتى ال toxins ممكن نعملهم neutralization بنمسك ال toxin و بنخليه Free بدل ما يروح على ال cell و يكسرها .

## 2. Opsonization:

أغلب ال bacteria عليها capsule .. و ال structure تبع ال capsule هو polysaccharide (سكر/كربوهيدرات) و بما انها كربوهيدرات معناها صعب نعملها phagocytosis .. Polysaccharides: sugar residues which are repeated (not complex). ف ال B cells بترتبط مع ال microbe مباشرة و بتفرزله antibody (بكون IgG) ليش IgG ؟ لانو بيقدر يرتبط بال Polysaccharide .. بعدين بنتيجي ال macrophage بترتبط بال IgG اللي ماسك البكتيريا .. مش بالبكتيريا نفسها .. كيف بترتبط بال IgG؟ عن طريق **Fc-γ receptor** و هاد الارتباط عمل signaling ف سمح انو يصير phagocytosis لل antigen و تكسر ..

## 3. Complement activation:

حكينا انو ال IgM و ال IgG بيعملوا complement activation و حكينا انو ال IgM أقوى .. و الفكرة انو ال antibodies بفعّلوا ال complement system بالجسم (بالوضع الطبيعي ما يكون مفعّل) .. و هو عبارة عن cascade بتبلس ب C1 و بتنتهي ب C9 .. و C9 وظيفته انو بيعمل perforation (ثقوب) بالخلية .. حتى لو كانت normal cell و حتى لو كانت RBC. (باقي الشغلات بالاسلايد ما حكاها الدكتور)

**Ex:** Lysis of RBCs due ABO compatibility occurs by:

1. Complement system / 2. Macrophages / 3. Natural killer cells.



#### 4. Mast Cell Activation:

- this is non-favorable function.

حكينا انو هاد شغل ال IgE .. الفكرة انو ال IgE بروح يرتبط بال mast cell و بيعملها activation عن طريق receptor اسمه **Fc-ε receptor** برضو حكينا انو ال IgE بالوضع الطبيعي ما بتكون موجودة بالجسم .. معناها هاد المريض عندو allergy أدى لتكوين ال IgE .. ف اجت و ارتبطت بال receptor على ال mast cell و عملتها degranulation .. يعني خلتها تطلع كل شي جواتها .. زي ال histamine .. بالتالي رح يصير عند هاد الشخص كل ال allergic symptoms (احمرار، حكة، الخ...) لهيك المرضى اللي عندهم allergies بنعطيهم anti-histamine

في اشي اسمه cross-linking ..

ال IgE لما ارتبطت بال Fc-ε receptor عمل cross-linking لأكثر من واحد يعني (4،3،..10) receptors مسكهم و ضمهم لبعض و عصرهم عشان يطلع كل ال granules اللي جوا و بصير ال response.

#### 5. ADCC – Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity:

هون شغل ال IgG بروح يرتبط على receptor اسمه **Fc-γR receptor** على ال natural killer cells .. ف بخليها تفرز perforin/protease .. بعملوا تحطيم للخلية اذا كانت cancer cell او عندها viral infection ..

#### 6. Transcytosis / Transport:

##### **Transport:**

مثال عليها ال placental transport .. الأم كوّنت ال antibody و أعطته لل baby ف صار عندو مناعة مؤقتة .. و ما عندو activation لل B and T cells ولا memory cells .. لهيك بعد 3-6 شهور بتختفي ال antibodies (بنتهي ال half-life لل IgG).

## Transcytosis:

هون يكون الinfection بمكان معين يعني جزء منه بالtissue و جزء بالlymph nodes ..  
و الantibody خاصة الIgG مكانه الرئيسي بالplasma ..  
ف بدي اعمل transcytosis للantibody و ادخله على الfollicles of lymph nodes  
و أربطه على الantigen جوا حتى أعطي مجال للkilling inside the tissue

## Artificial Antibodies:

كل اللي حكيناه عن الantibodies بالimmune system مع الfunctions تبعونهم .. كلهم  
كانوا secreted inside the body ..

لو حدا صار عندو selective defect in B cells و المريض ما عم بكوّن antibodies  
بنلاقي انو أكثر microorganisms رح تكون موجودة هي البكتيريا .. تحديداً capsulated  
bacteria .. لانو حكيناه قبل شوي انو الB cells هي اللي بتتعامل معهم.

طيب الartificial antibodies مبين من اسمهم .. احنا بنصنعهم outside the body

أبسط مثال عليها:

مثلا لا سمح الله اجانا hepatitis C انتشر ببلد معين .. ف حكوا بدل ما يدخل الhepatitis C  
ويعمل مشاكل خلينا نساعد الناس بantibodies جاهزة ..  
يا اما بنروح على شخص مصاب بالhepatitis C ف الimmune system عندو رح يفرز  
بالاول IgM و بعدين IgG ، بنستناه لحتى يفرز كمية كبيرة ، بناخذ منه عينة دم و بناخذ منها الIgG  
و بنروح نعطيهم لمريض جديد بأول المرض .. ف الantibody بكسر الantigen من البداية ..

كيف بنعمل الartificial antibodies؟

بنجيب مثلا الhepatitis C بنحقنه بفأر أو أرنب أو أي حيوان .. رح يعمل antibodies ، بناخذهم  
و بنعالجهم بطريقة معينة لحتى يتقبلهم جسم الانسان ،  
بنسميها "humanization of animal Antibodies" و بنعطيها للمريض

هاد الحكي زمان .. هسا صار في اشي اسمه genetic engineering

احنا عارفين الantigen ، بنتعرّف على الstructure تبع الantibody ، كيف شكل ال binding sites .. و بكوّن الantibody تبعي و بروح بعطيه لcancer cell .. و ال cancer cell زي ما بنعرف انها رح تعمل reproduction و بتعمل production of metabolite .. زي مثلا الmyeloma بنتنتج عدد كبير من الantibodies .. بناخداهم و بنتأكد انو ما في cancer cells و بنروح نعطيهم للمريض.. هادي هي الartificial antibodies

الها فوائد بالtreatment و كمان الها فوائد بالdiagnosis زي مثلا بدي أعرف اذا هاد المريض عندو HIV بناخد عينة و باخد الantibodies للHIV و بعمللو detection .. و برضو اذا بدي اعرف وجود cancer cells .. و اذا في مثلا CD4 .. و هكذا ..

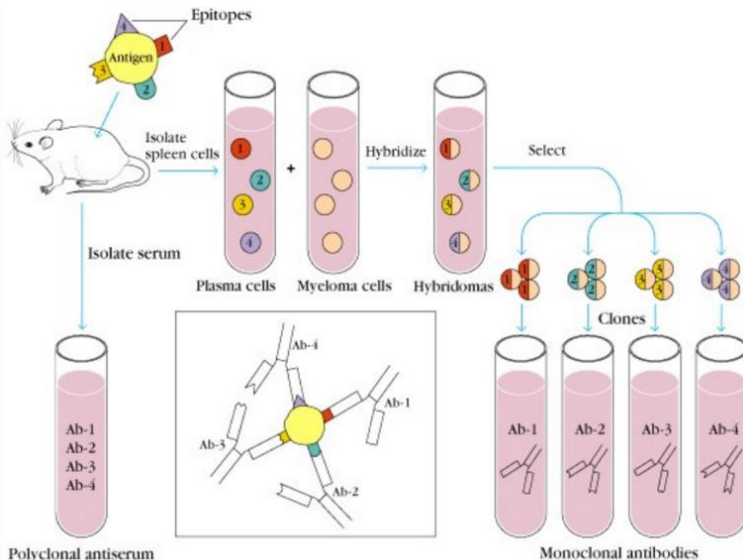
## Types of artificial antibodies:

### 1. Polyclonal antibodies:

من اسمها .. الantibodies اللي جاينين بهالطريقة بكون عندهم different specificities و different binding sites و different affinities .. ليش؟ لانهم عبارة عن mixture antibodies .. (من كل قبيلة رجل و دمجانهم سوا)

### 2. Monoclonal antibodies:

عكس اللي قبلها .. هون single specificity و single affinity لانو جاي من مكان واحد (hybridomas = cancer cell)



الدكتور بالأول راح على الصورة والفروقات و بعدين رجع للapplications

جينا mice و أعطيناها (x) antigen .. عليه different epitopes .. ف ال immune system عمل detection ل 4 epitopes .. كل واحد structure مختلف و حطيناهم بالمice .. رح يصير فيه كل اللي حكيناه قبل ، لحد ما يوصل لل production of antibodies ف لو اخدنا ال serum من ال mice و حطيناه ب tube ، ها ال tube يكون polyclonal - mixture of antibodies against different epitopes with different specificity).

طب لو مسكنا antibody واحد و حطيناه ب tube و كثرناه .. هيك بصير monoclonal - bind to one antigen.

\*\* باللاب ال monoclonal أحسن ..

\*\* بال natural response يكون ال polyclonal أحسن ..

### Differences:

**Polyclonal** → from different B cells.

**Monoclonal** → from single B cell.

هاد الفرق عرفناه ما فيه اشئ جديد

\*\*\*\*\*

**Polyclonal** → batch to batch variation affecting antibody reactivity & titer.

كونه في عندي different specificities لهيك ال activity تبع هاد ال antibody رح يكون بختلف كل مره شكل .. و برضو لو حطيناه ب tube رح يختلف ال concentration لقدام.

**Monoclonal** → mAb (monoclonal antibodies) offer Reproducible, Predictable & Potentially inexhaustible supply of antibody with exquisite specificity.

هاد ال specificity تبعته دقيقة جدا لانها وحدة .. و بتضل على طول ما بتنتهي ، يعني حطهم ب tube ، طالما هي من hybridoma وحدة معناها بضلوا يعطوا نفس ال antibody لفترات طويلة و بتضل ال specificity ثابتة و ال effect ثابت.

\*\*\*\*\*

**Polyclonal** → NOT Powerful tools for clinical diagnostic tests.

حكينا لانو عندو اكثر من specificity ف كل مرة بشتغل شكل .. رح يعطيني مرة negative و مرة positive فما بقدر استخدمه بال diagnosis.

**Monoclonal** → Enable the development of secure immunoassay systems.

هون حكينا انو ال specificity فيها دقيقة جداً فبقدر استخدمها

**Immunoassay**: procedure for detecting or measuring proteins or other substances (ex: antibodies).

## Monoclonal Antibody Applications:

### 1. Diagnostic tests

حكينا انو الهم دور مهم ال immune system و هسا بنحكي انهم كمان مهمين بال diagnosis لكثير أمراض .. نص التشخيص بيعتمد على ال antigen-antibody interaction ..

- they are capable to detect tiny amounts of molecules.

أي antigen بدي احدد وجوده بعمله antibody عشان يعمل detection

- used in pregnancy test

( $\beta$ -HCG).

### 2. Diagnostic Imaging

- monoclonal antibodies that recognize tumor antigens are radiolabeled.

حكي انو مشكلة السرطان انو الاغلب بنلاقيه بمراحل متقدمه

و لو لقينا طرق تساعدنا بال early detection بكون الموضوع كثير اسهل

ف وحدة من الطرق اللي بشتغلوا عليها هيا انهم يعطوا antibodies ، مجرد ما تبش خلية تغير

شكلها و تتحول لخليط سرطانية رح يروحها ال antibody و يعملها بتضوي "radiolabel".

### 3. Immunotoxins

### 4. Clear pathogens

## 5. for Treatment

حتى برضو ممكن نستخدمهم كـ treatment ، ممكن IV  
لدرجة صار الو تطبيقات جديدة بالـ drugs .. لقوا انو:

Monoclonal antibodies are specific, selective, effective, constant

ف ليش لحتى ما نستخدمه كـ treatment ؟

يعني مثلا علاج الـ cancer بالـ chemotherapy والـ radiotherapy مشكلته انو non-specific  
بأثر على كل خلايا الجسم و هاد الو side effects كبيرة كثير .. و حتى لما نحاول نعمل  
targeting برضو بضل cytotoxic و بعمل killing للـ human cells ..  
حكينا قبل شوي انو الـ cancer cells بتعمل production of metabolites ، بندرسها و بنعملها  
antibodies و بنعطهم لمريض cancer .. ف بتروح الـ antibodies على الـ cancer cells  
بدون ما تآثر على أي normal tissue .. ف لو يتم تطوير هاد الاشئ بالسنوات القادمة رح يكون  
تقدم كثير كبير و مفيد.

حكي الدكتور مثال على antibodies-dependent drug :

**Cetuximab** (successful for treating lymphoma).

ناجح جدا و صرلو حوالي 10 سنين بالأردن و بعمل recovery للمريض لـ 20-30 سنة لقدام ..  
برضو الو side effects بس فرق كثير كبير بينهم و بين الـ side effects تبعون  
الـ chemotherapy.

**Good Luck**