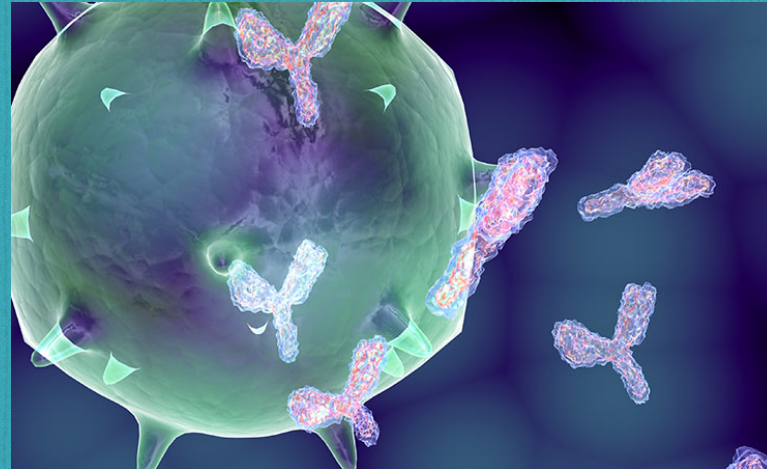
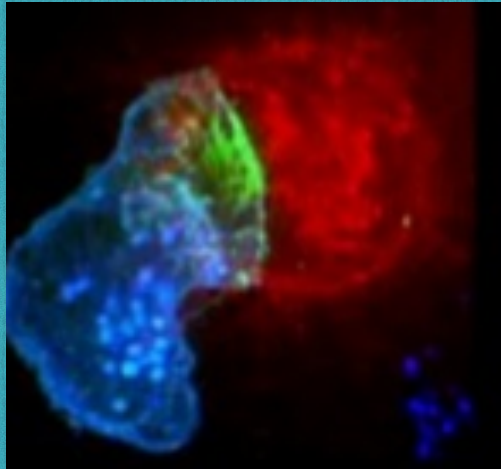


Curso de Ciencias Biologicas
Disciplina BMI-296 – Imunologia basica

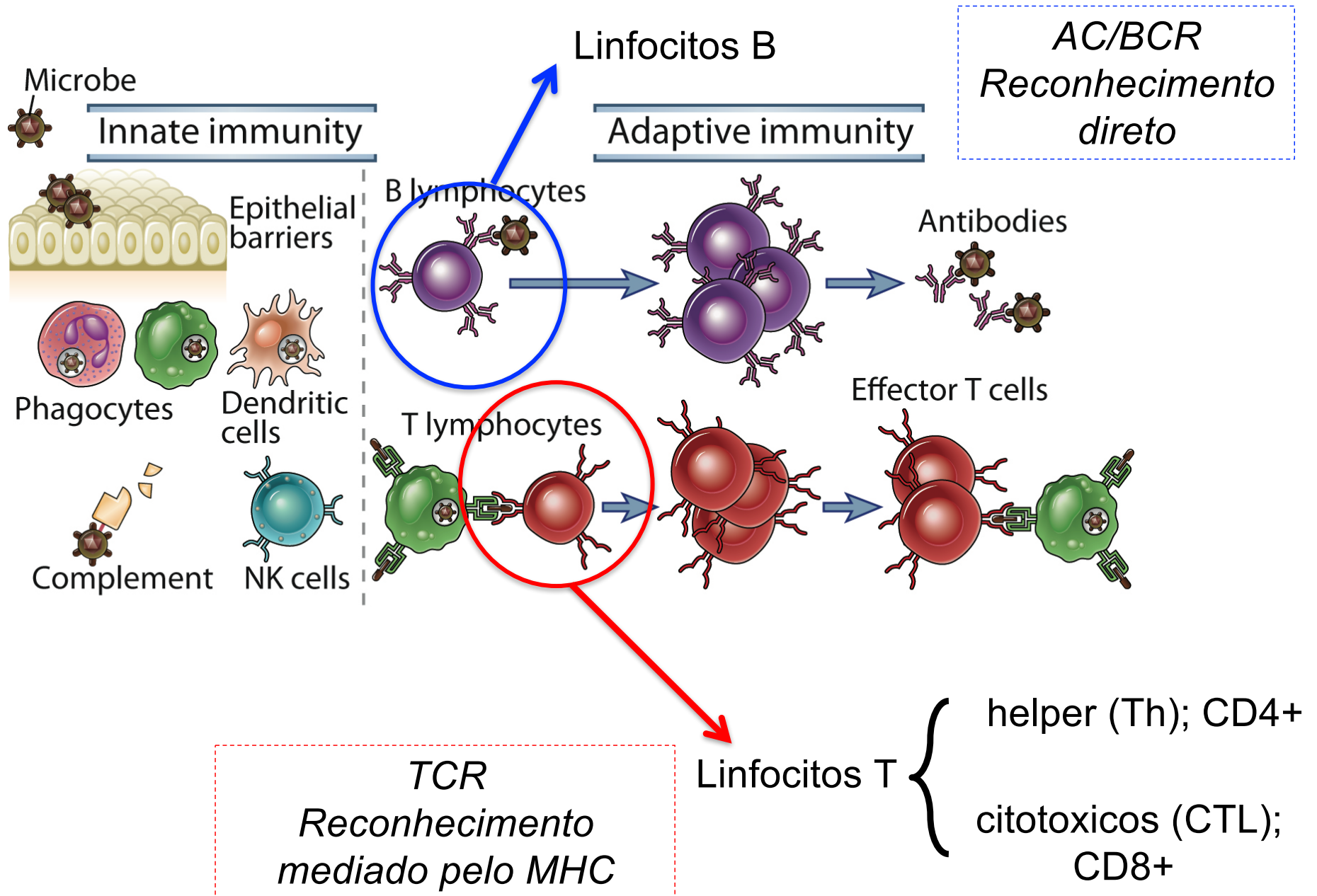


Aula 7 – Anticorpos & Receptores de linfocitos

Alessandra Pontillo

Lab. Imunogenetica/Dep.Imunologia/ICB/USP

Imunidade adquirida



Reconhecimento nos Linfocitos B

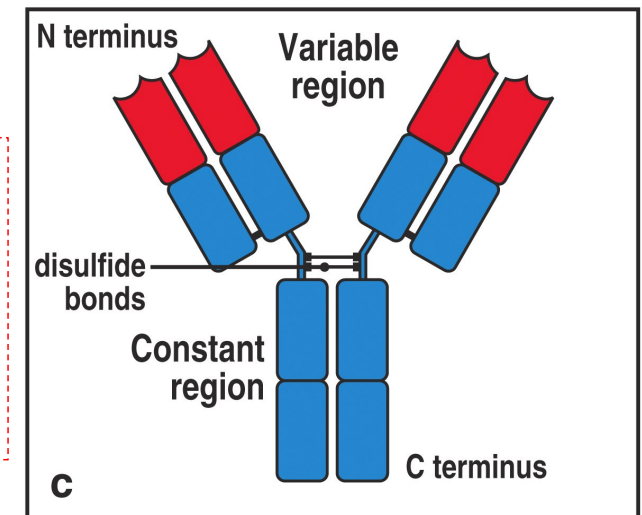
Linfocitos B

Ig Ligadas a membrana na superfície dos linfocitos B = receptor da célula B (BCR)

Ig Secretadas pelos linfocitos B (anticorpos) e residentes na circulação, nos tecidos e nas mucosas onde neutralizam toxinas, impedem a entrada e a disseminação de patógenos e eliminam micro-organismos = receptores de Ag + ação efetora

AC/BCR reconhecem

- proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos
- Epitopo linear ou conformacional
- Tamanho: 4-8 AA



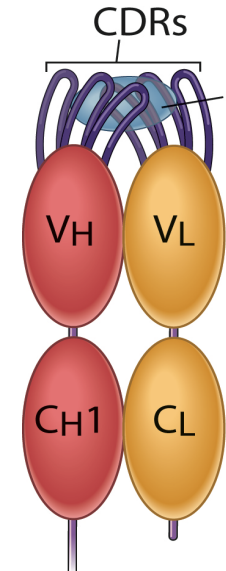
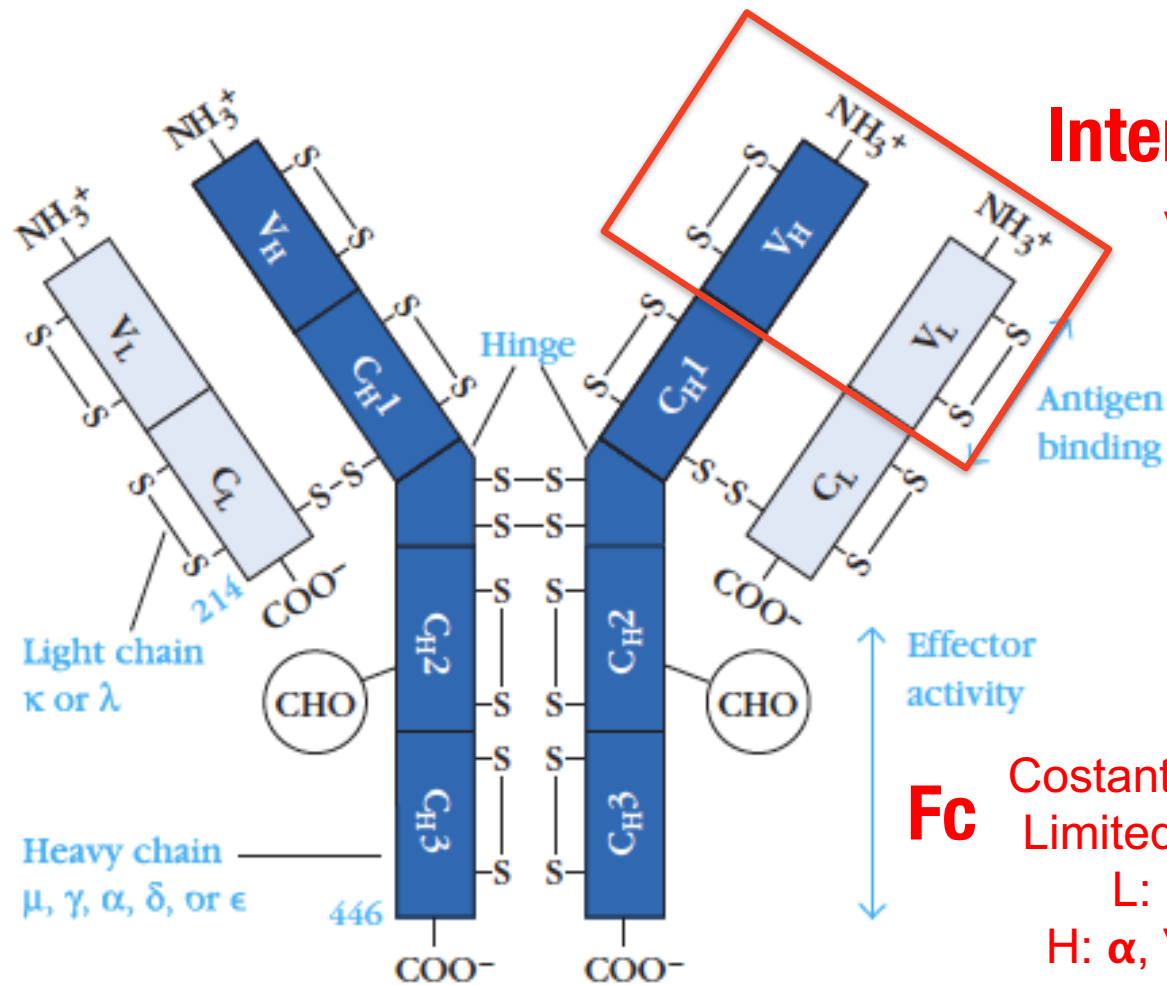
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

Todos os AC compartilham uma estrutura comum de 4 cadeias polipeptídicas

2 cadeias leves (L) idênticas

2 cadeias pesadas (H) idênticas

Forma a Y com 2 sítios de ligação de Ag (formada por domínios N-terminais das L e H) e 1 região que não está envolvida na ligação de Ag mas na função efetora do AC ou na ligação a membrana no caso do BCR (formada por domínios C-terminais L e H)



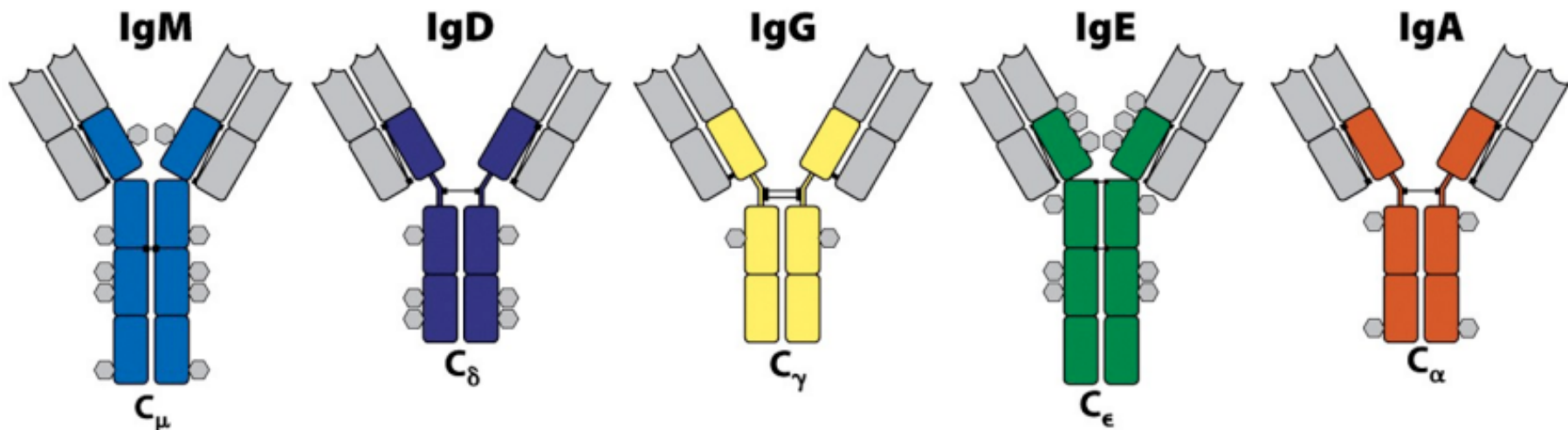
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

CADEIAS PESADAS e REGIAO CONSTANTE DO AC

Existem 5 diferentes estruturas (sequencias AA) das regioes C da cadeia pesada (C_H)

- Cadeia μ $\rightarrow$ IgM
- Cadeia δ $\rightarrow$ IgD
- Cadeia γ $\rightarrow$ IgG ($\gamma 1-4 \rightarrow$ IgG1-4)
- Cadeia ϵ $\rightarrow$ IgE
- Cadeia α $\rightarrow$ IgA ($\alpha 1 =$ IgA1 e $\alpha 2 =$ IgA2)

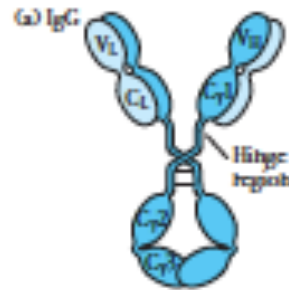
Isotipos $\rightarrow$ classe do AC



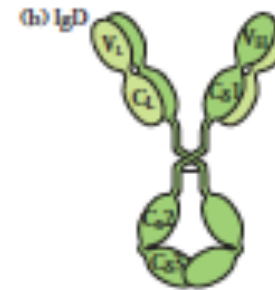
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

- Estrutura das 5 classes de AC
- Diferentes isotipos realizam diferentes funções efetoras

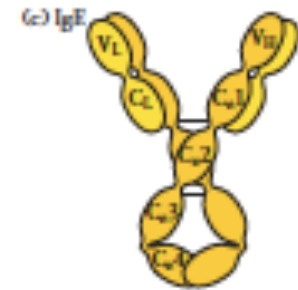
IgG



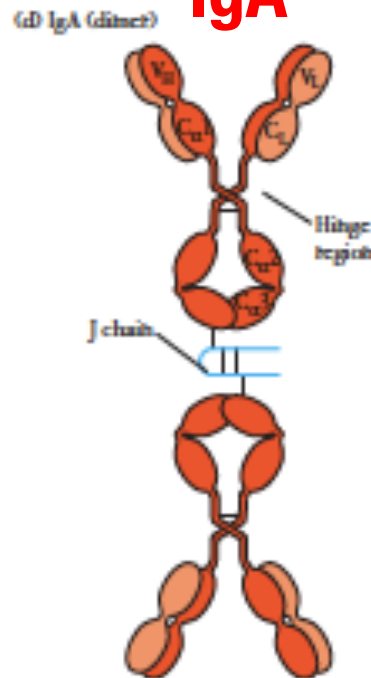
IgD



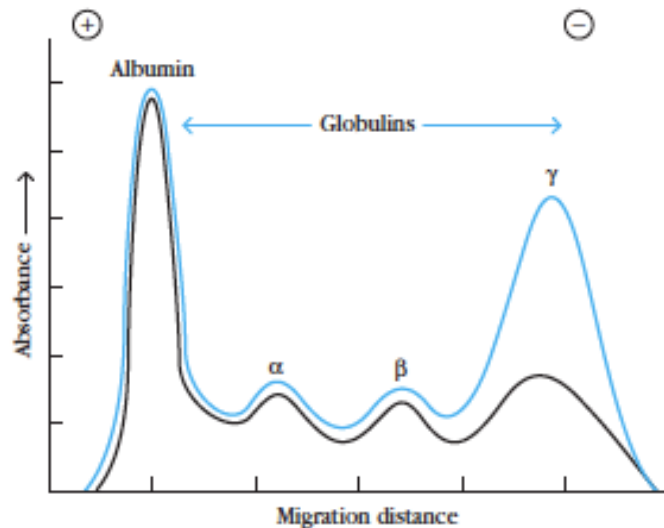
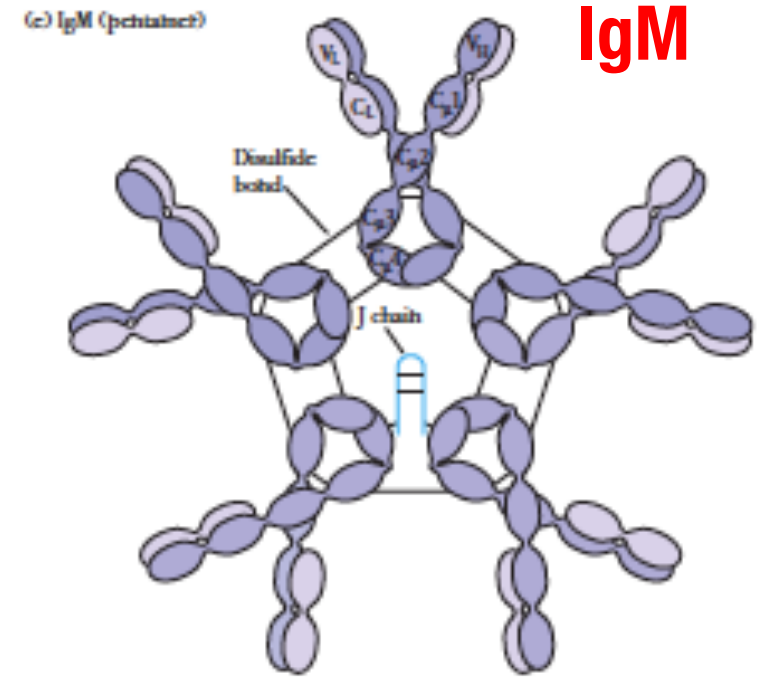
IgE



IgA

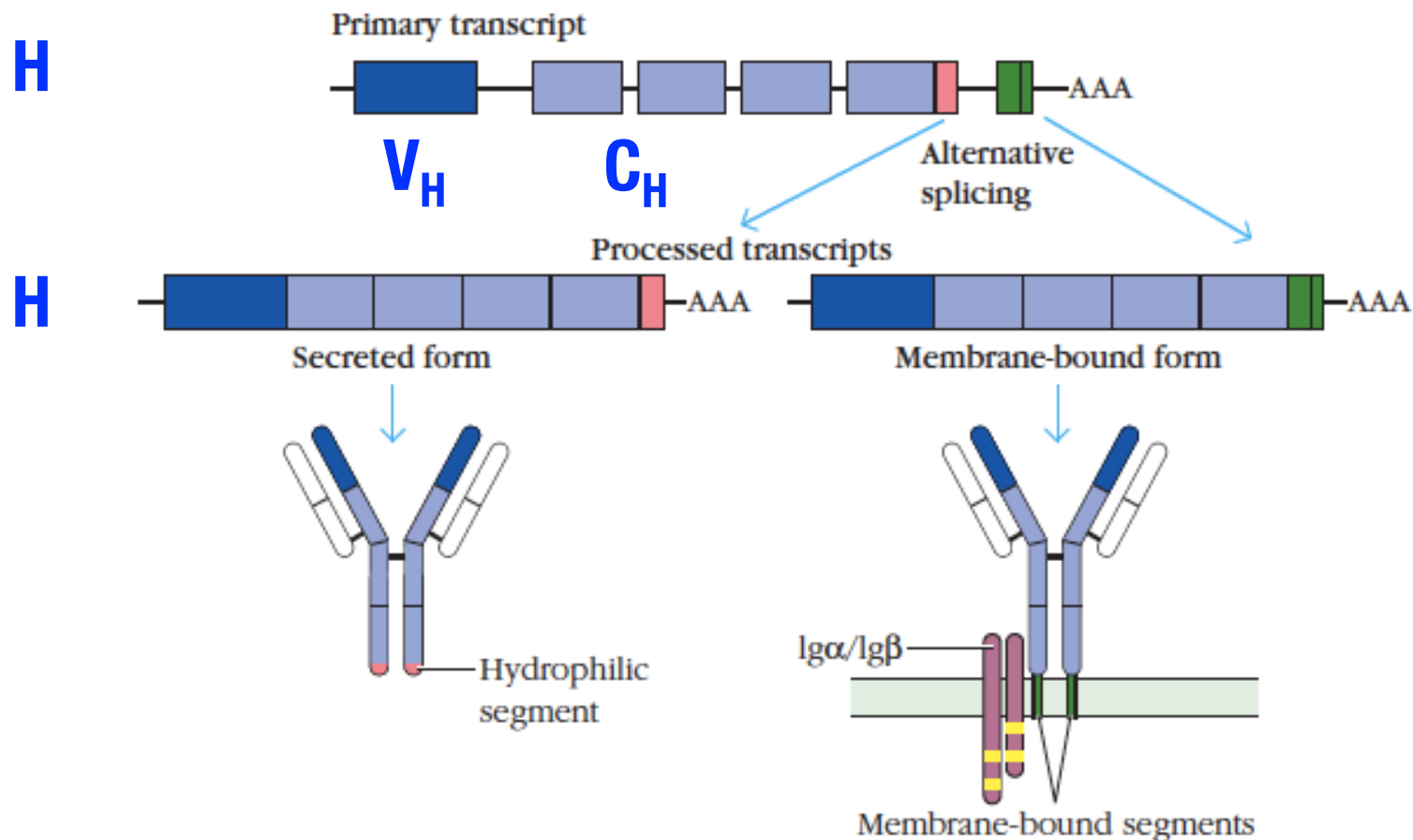


IgM

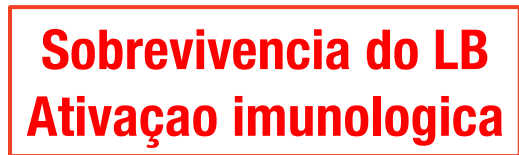


Anticorpos e BCR (linfocitos B)

Splicing alternativo do transcrito da cadeia pesada origina forma secretada ou de membrana do receptor



BCR



Origem da especificidade

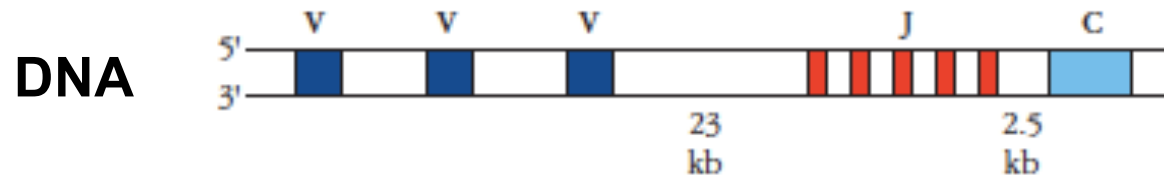
Como os rec com uma infinidade de especificidades são codificados por um n finito de genes?

1955-Jerne
1957-Burnet
1958-Nossal
1976-Tonegawa

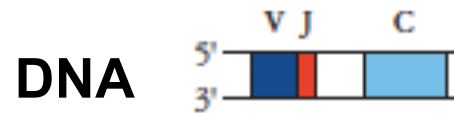
- ✓ Os genes para regiões variáveis de Igs são herdados como grupos de segmentos genéticos, cada um codificando uma parte da região variável de uma das cadeias polipeptídicas de Ig
- ✓ No desenvolvimento dos linfócitos esses segmentos genéticos são irreversivelmente ligados por uma recombinação do DNA para formar um segmento de DNA que codifica uma região variável completa
- ✓ A reunião de um n grande de diferentes segmentos genéticos é combinatória (10^8), aleatória e clone-específica

**RECOMBINACAO SOMATICA +
HIPERMUTACAO SOMATICA**

Anticorpos e BCR (linfocitos B)



Linfocito B em desenvolvimento



Linfocito B pronto

RECOMBINACAO SOMATICA DA CADEIA LEVE

O gene da cadeia leve codifica 3 famílias de segmentos de DNA (V, J e C)
A junção de 1 segmento V + 1 J com uma região C forma o GENE da cadeia leve

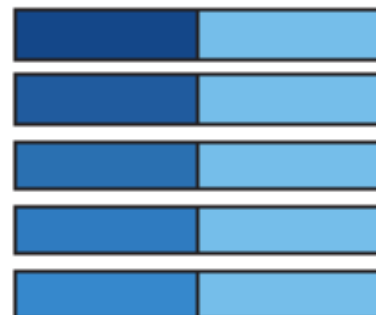
Muitos segmentos V
Poucas regiões C

V region (thousands, heavy and light chain)
C region (four, light chain; or eight, heavy chain)

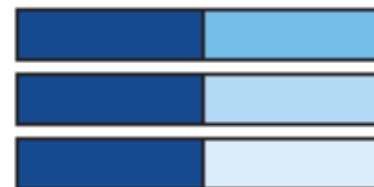
1000 V genes da C_H

30 genes da $V_{L(\lambda)}$

300 genes $V_{L(\kappa)}$



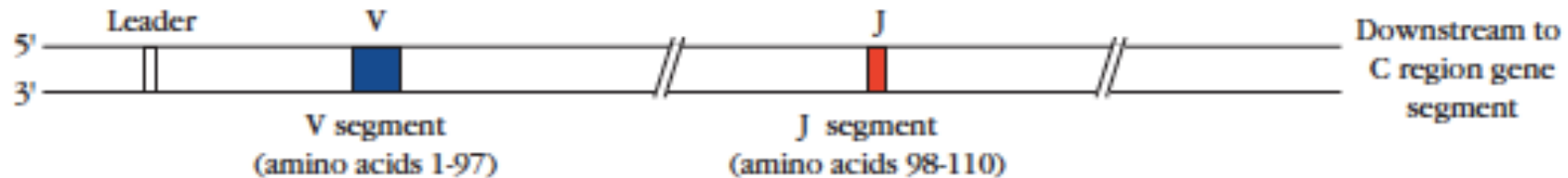
V region C region



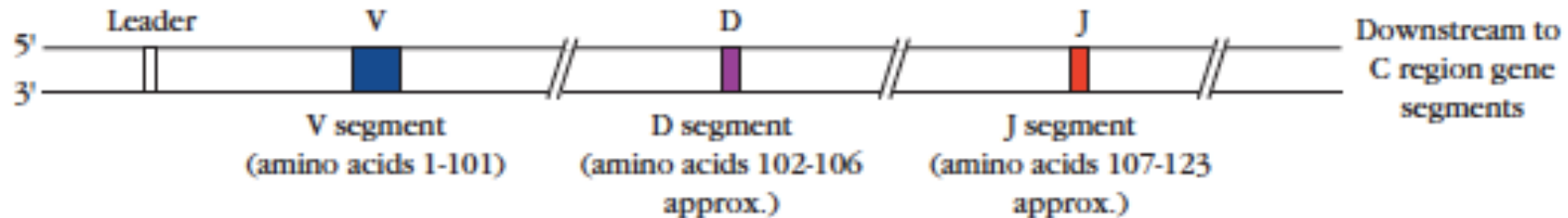
O mesmo segmento V pode ser encontrado conjunto a diferentes regiões C

Anticorpos e BCR (linfocitos B)

(a) Light chain V region gene segments in embryo (germline DNA)



(b) Heavy chain V region gene segments in embryo (germline DNA)



RECOMBINACAO SOMATICA CADEIA H

O gene da cadeia H codifica 4 famílias de segmentos de DNA (V, D, J e C)
A junção de 1 segmento V + + 1 D + 1 J com uma região C forma o GENE da cadeia pesada

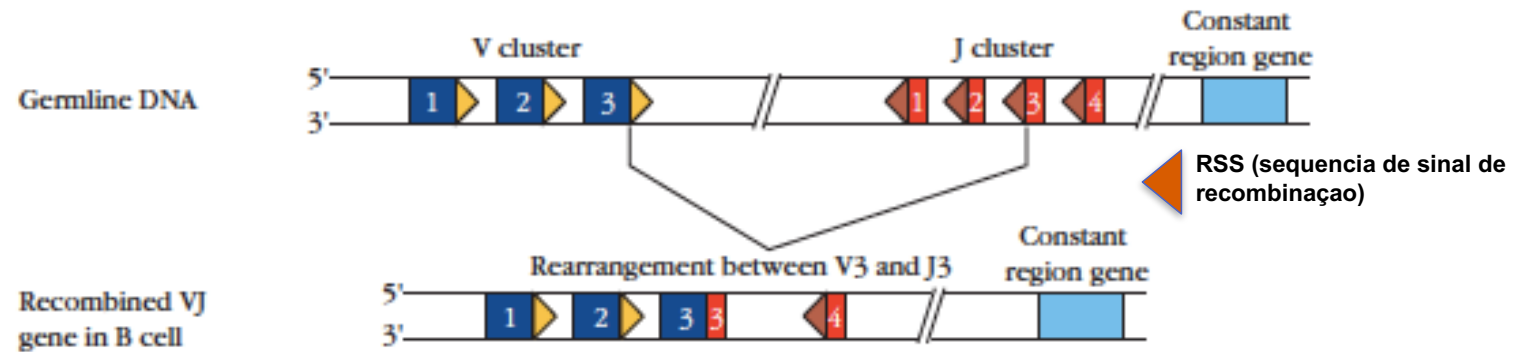
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

TABLE 7-4 Combinatorial antibody diversity in humans

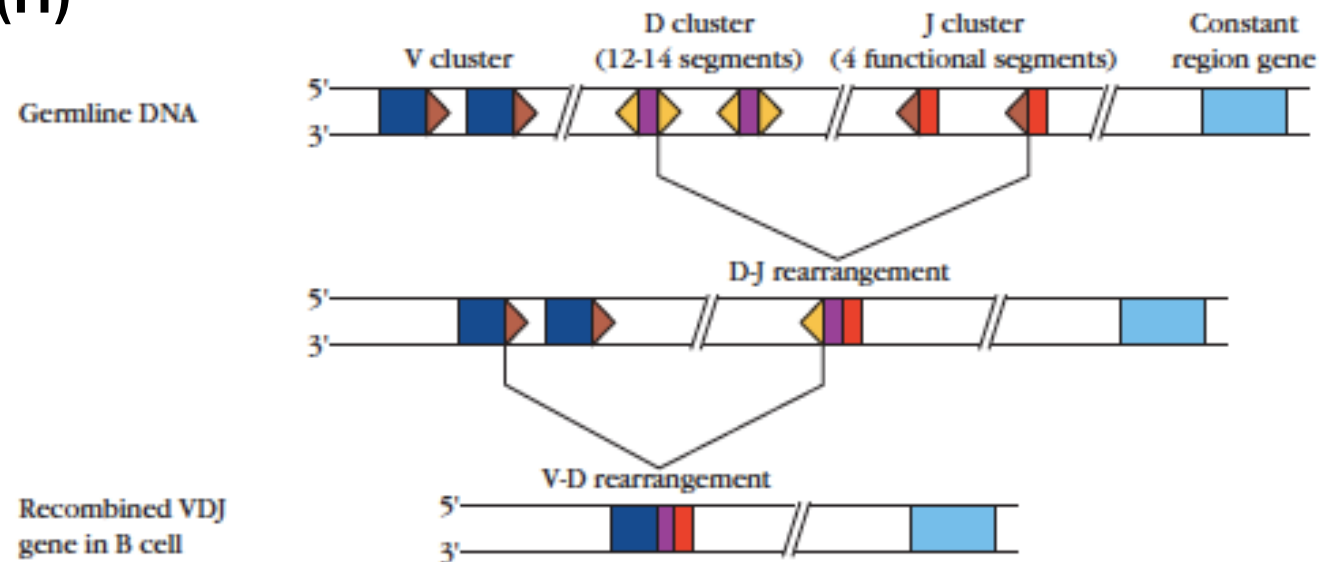
Nature of segment	Number of heavy-chain segments (estimated)	Number of κ -chain segments (estimated)	Number of λ -chain segments (estimated)
V	41	41	33
D	23		
J	6	5	5
Possible number of combinations	$41 \times 23 \times 6 = 5658$	$41 \times 5 = 205$	$30 \times 5 = 165$
Possible number of heavy-light chain combinations in the human = $5658 \times (205 + 165) = 2.09 \times 10^6$			

Mecanismo de recombinação

Cadeia leve (L)

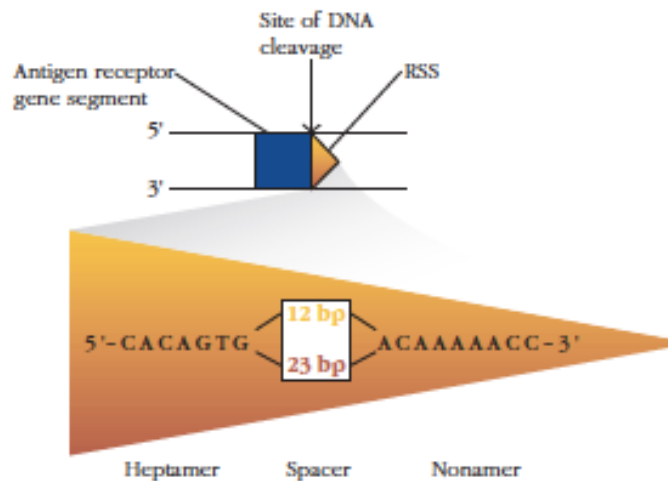


Cadeia pesada (H)

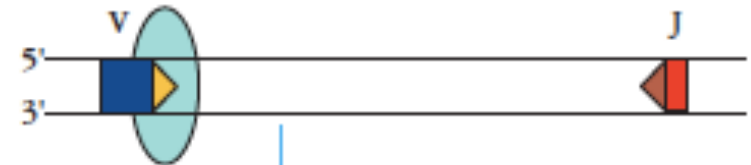


Mecanismo de recombinação

RSS (sequencia de sinal de recombinação)



Binding of RAG1/2, HMG proteins



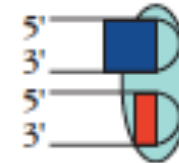
Synapsis



RAG1/2

RAG1/2 HMG proteins

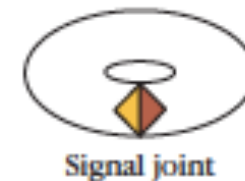
Cleavage and processing of signal and coding joints



**Artemis
TdT
DNA ligase IV
NHEJ proteins**

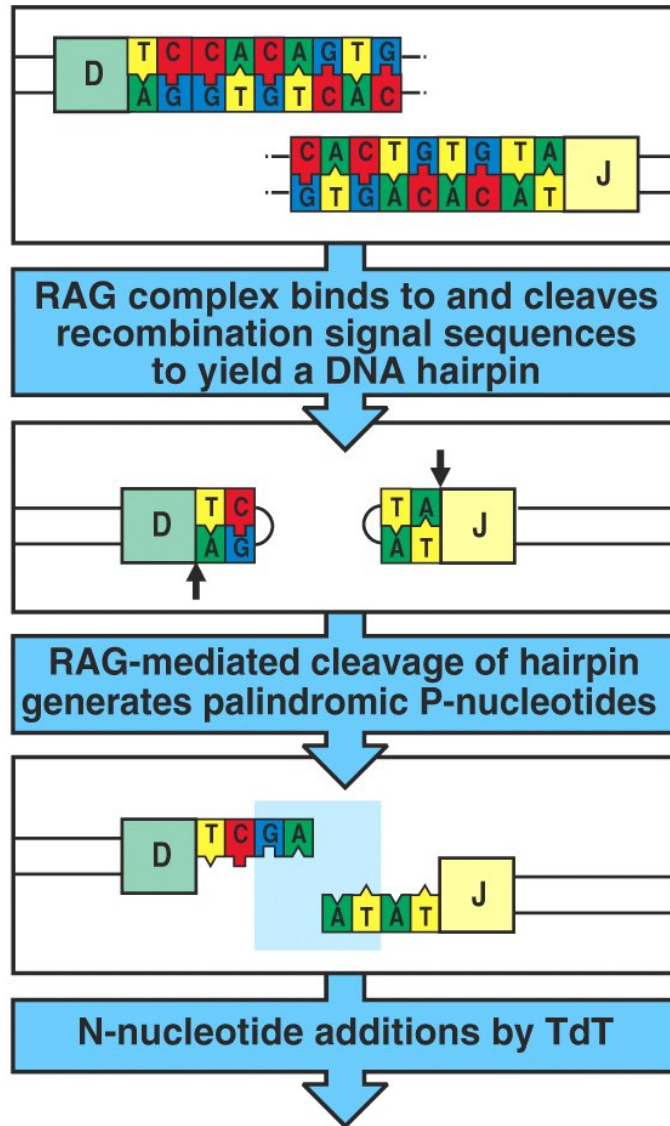
TdT

Generation of functional Ig variable region gene



Mecanismo de recombinação

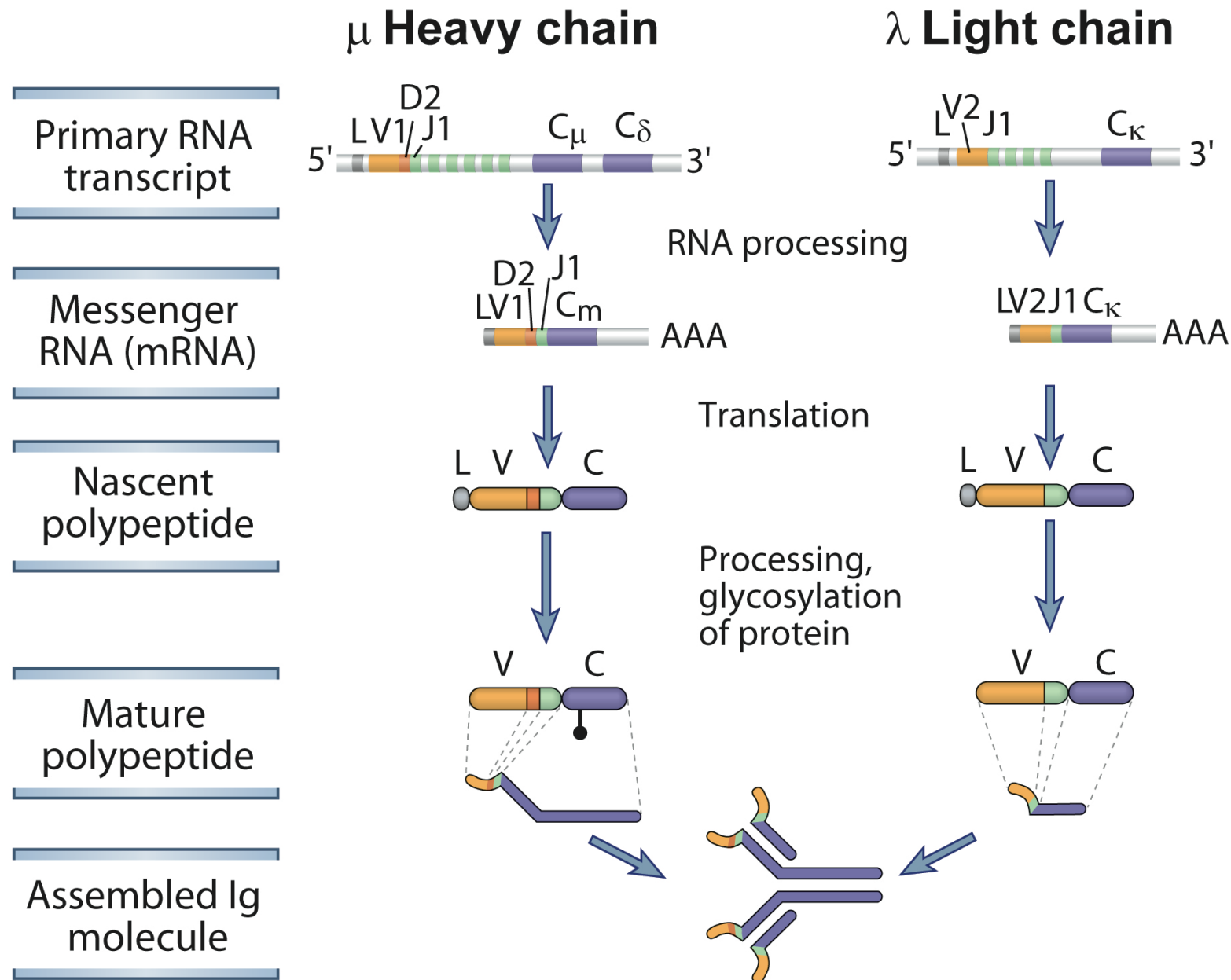
RAG1/2



TdT

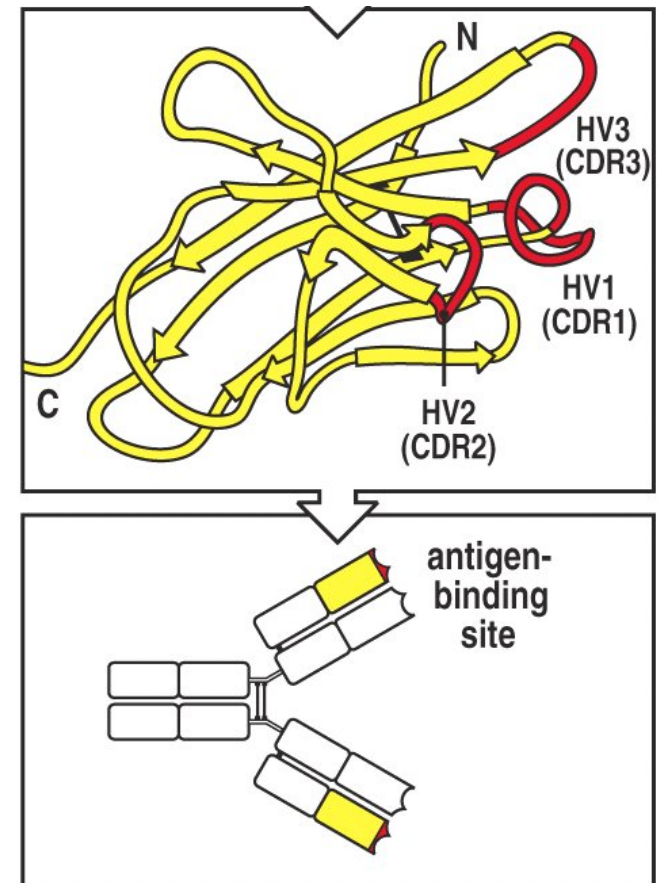
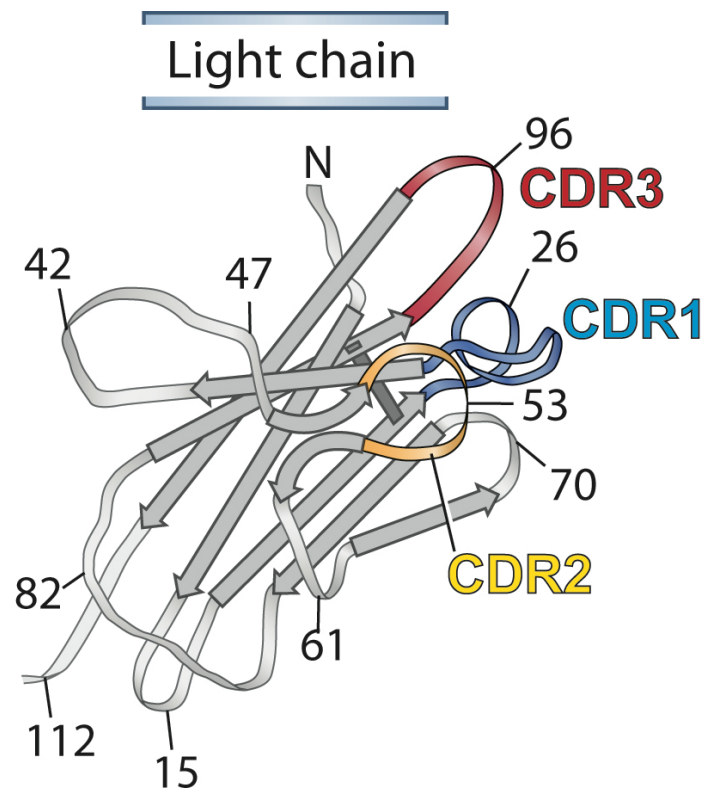
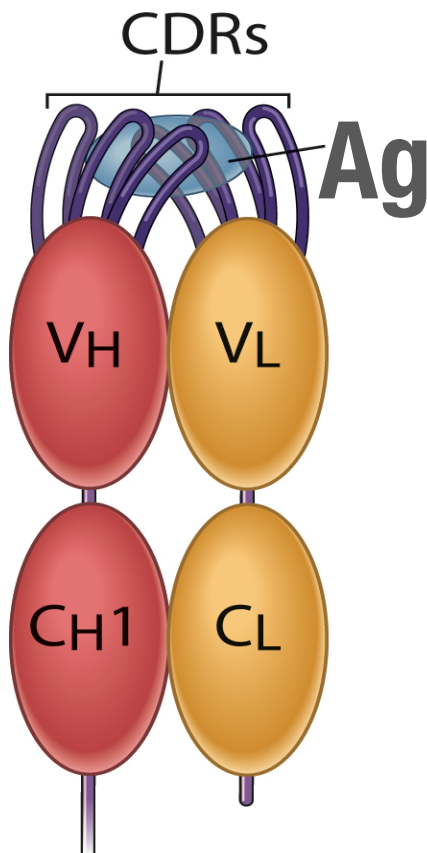
Figure 4-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Recombinação & síntese de AC



CDRs e hipervariabilidade

Segmentos hipervariáveis (≈ 10 AA) ou Regiões Determinantes de Complementariedade (**CDRs**) dos domínios V das cadeias pesada (V_H) e leve (V_L) geram o sítio de ligação ao Ag



CDRs e hipervariabilidade

Os CDR são as regiões mais variáveis
(diferentes AA) dentre de V_H e V_L

Os CDR3 são os mais variáveis entre os CDR

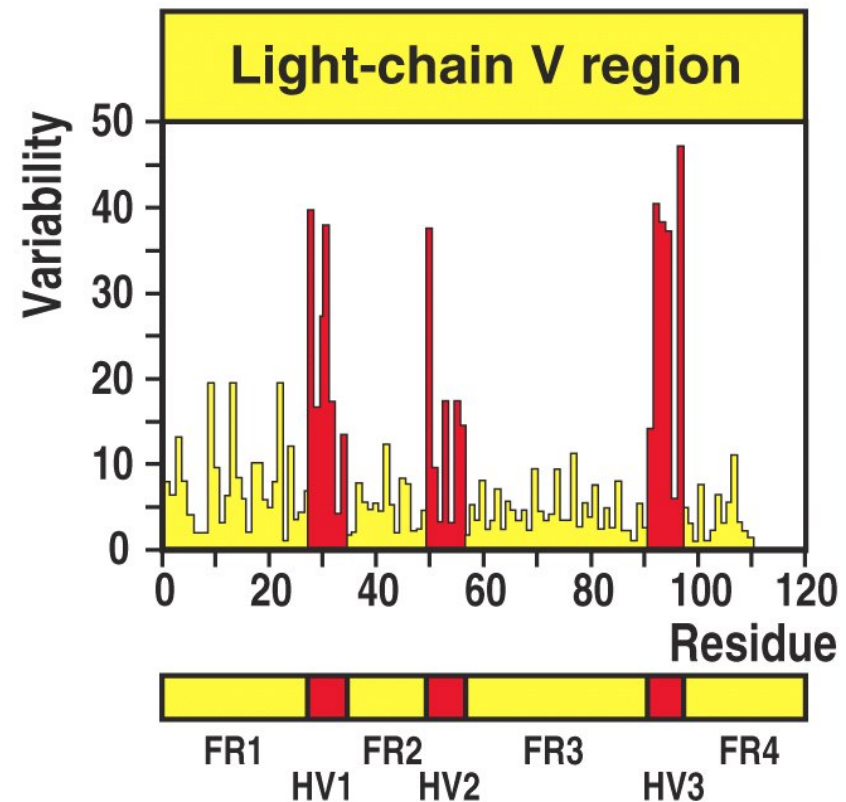
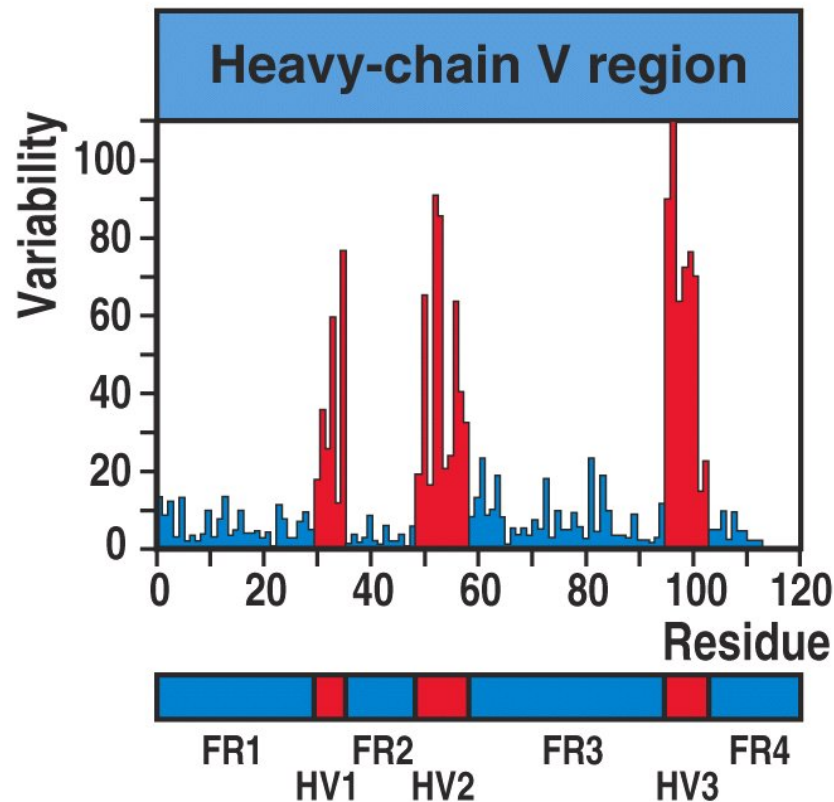
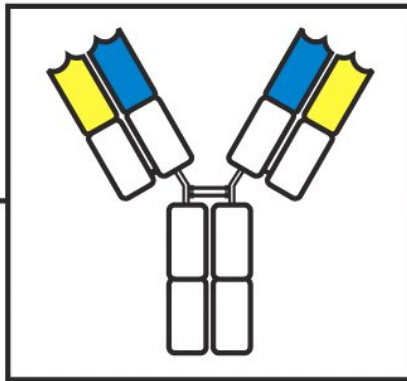
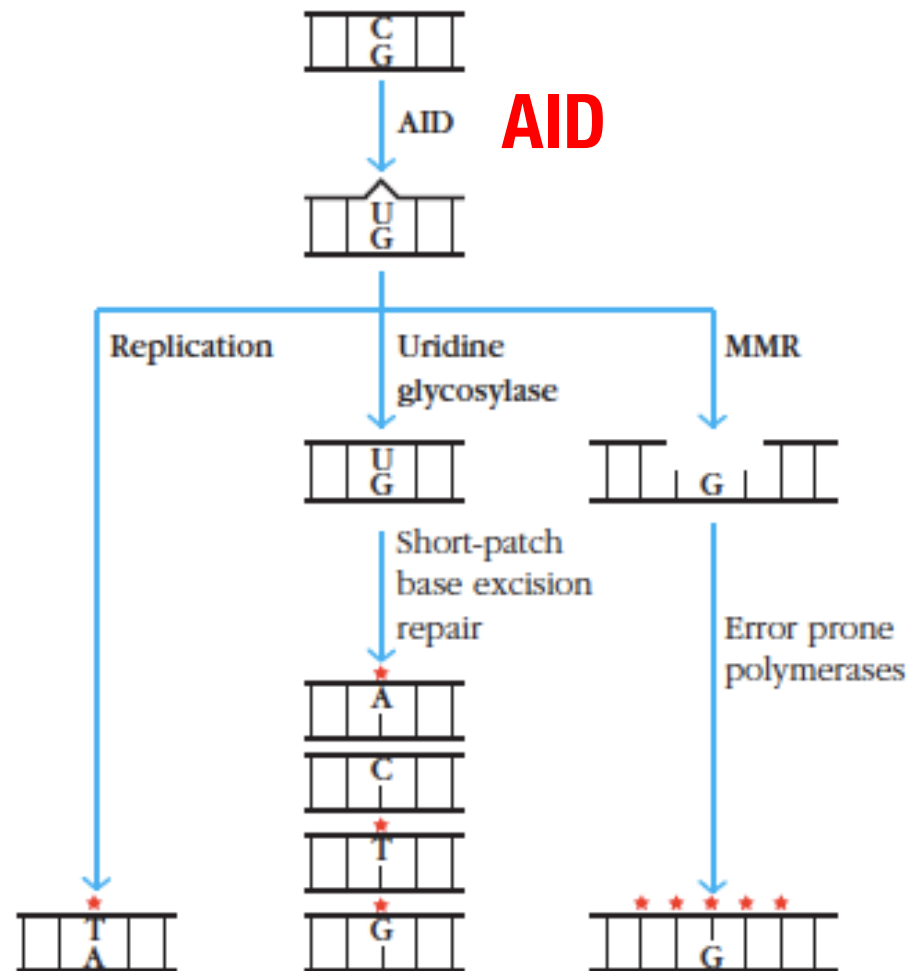


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Hipermutação somática

E' possível aumentar ainda a variabilidade da V introduzindo mutações aleatorias nas CDR



Origem da especificidade

RECOMBINACAO SOMATICA

Cada molecula de AC è codificada por multiplos segmentos genicos da regio V presentes na linhagem germinal

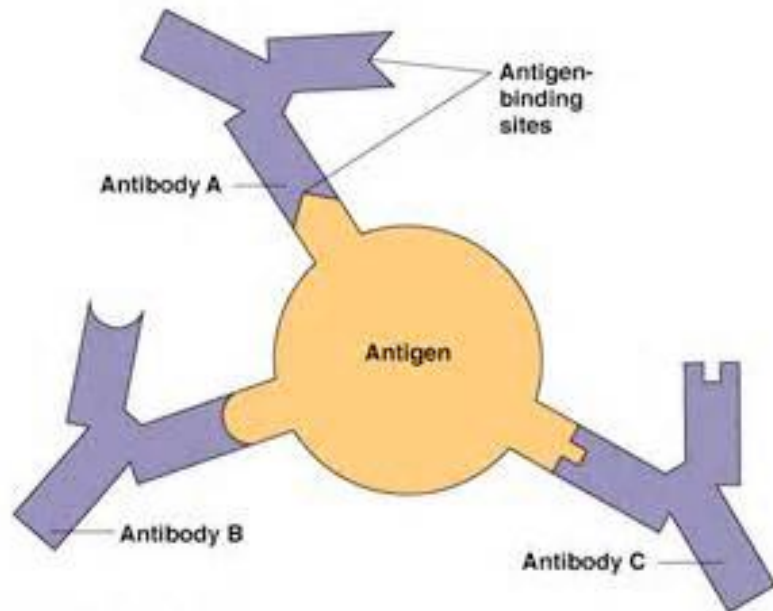
+

HIPERMUTACAO SOMATICA

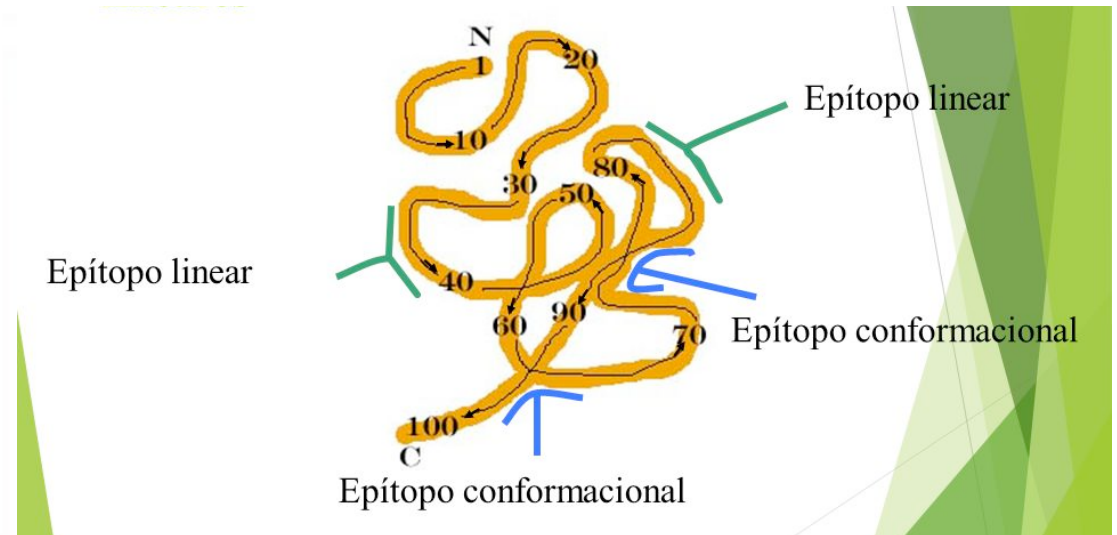
Os genes reorganizados dos AC são ainda modificados após o encontro com o Ag por hipermutação somática e seleção antígenica

Ampla repertório de linfócitos B Ag-específicos

Antigenos & epitopos

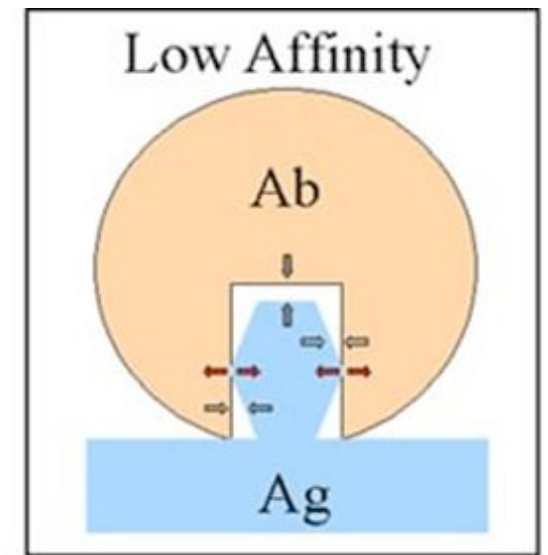
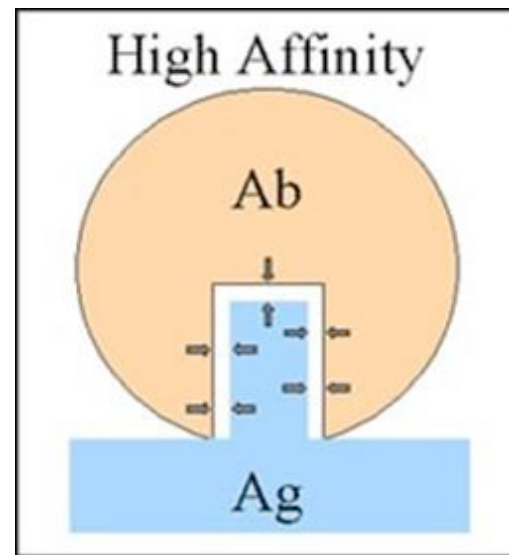


©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



AC/BCR reconhecem

- proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos
- Epítopo linear ou conformacional
- Afinidade $\neq$



Reconhecimento nos Linfocitos T

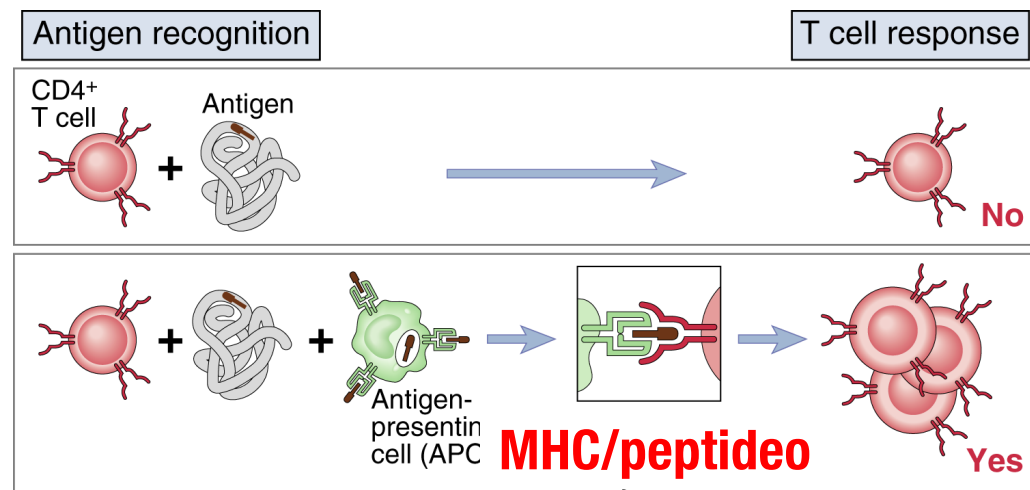
Linfocitos T

CD4+ (helper) TCR reconhece peptídeos derivados de Ag processados em células apresentadoras de Ag (APC) e apresentados no contexto do **MHC-II** (12-16 AA)

CD8+ (citotóxicos) TCR reconhece peptídeos derivados de Ag processados nas células e apresentados no contexto do **MHC-I** (8-10 AA)

TCR reconhece

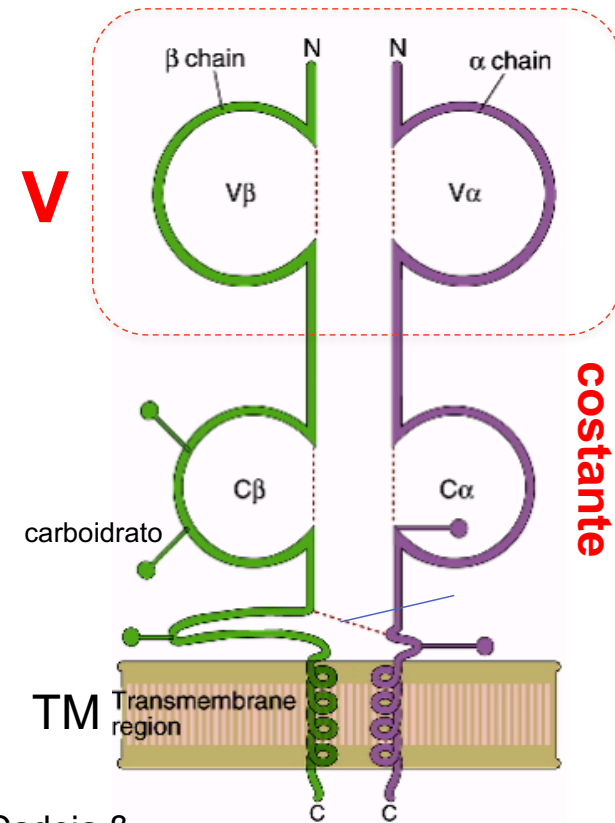
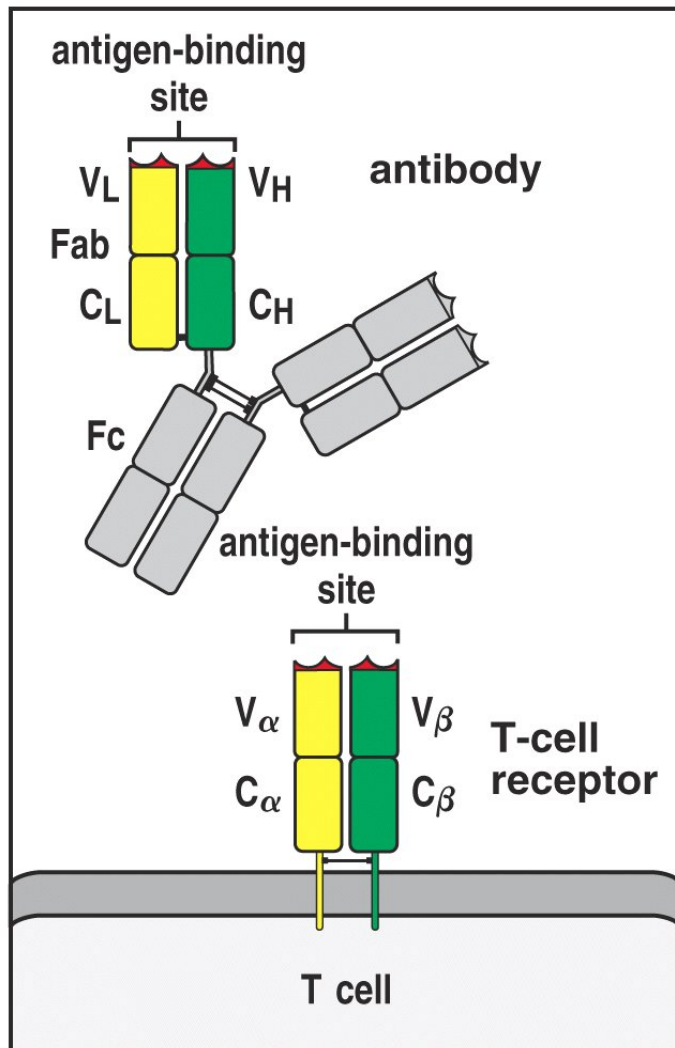
- indiretamente
- Peptídeos no MHC
- Epitopo linear



TCR (linfocitos T)

Heterodimero de superficie

V=Interação com Ag



- ✓ Cadeia α e Cadeia β
- ✓ Região variável=Sítio de ligação de Ag (único)
- ✓ 3 **CDRs** cada cadeia
- ✓ Cada linfócito T possui apenas um TCR com uma especificidade de reconhecimento MHC/Ag

Recombinação somática do TCR

Cadeia α

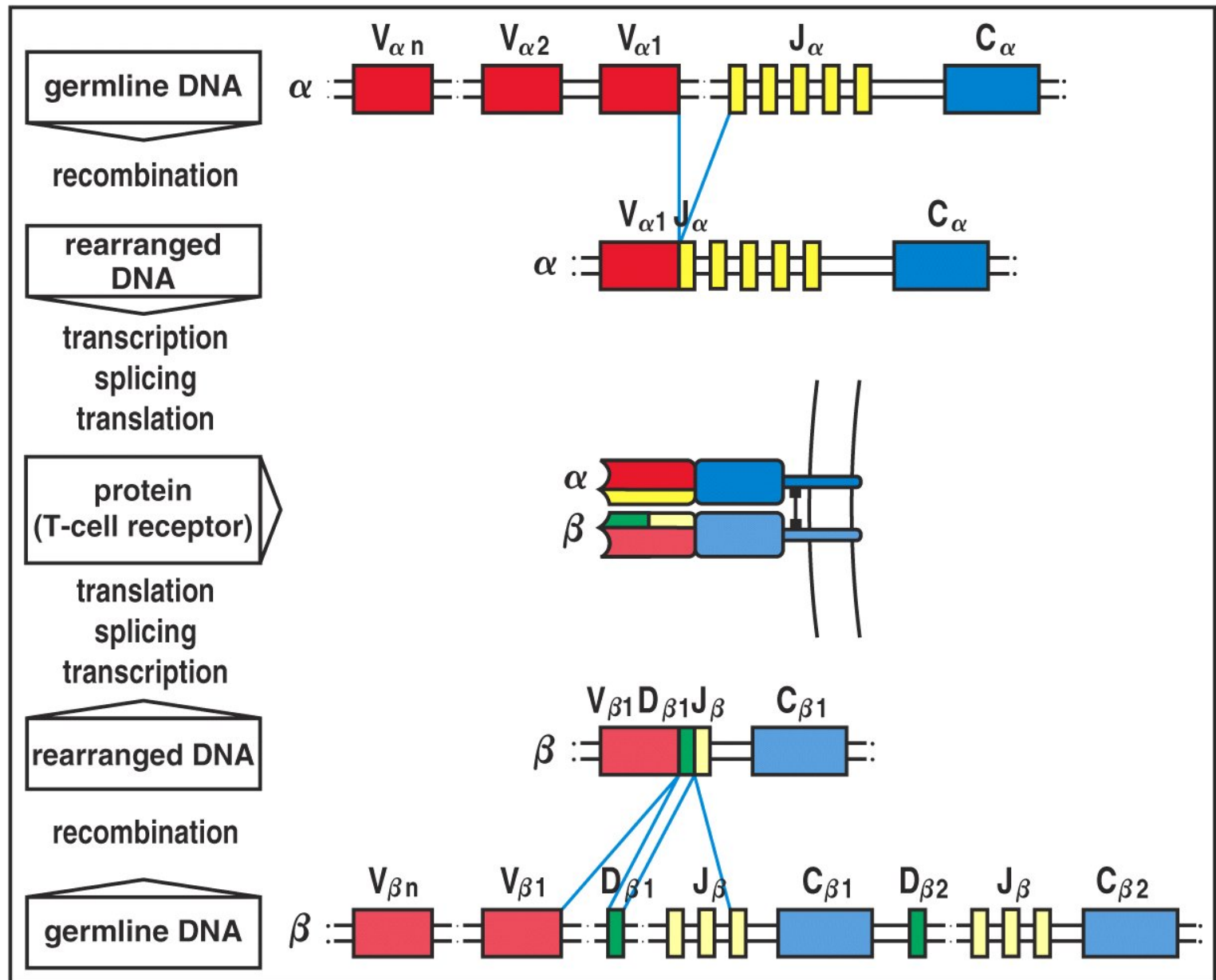


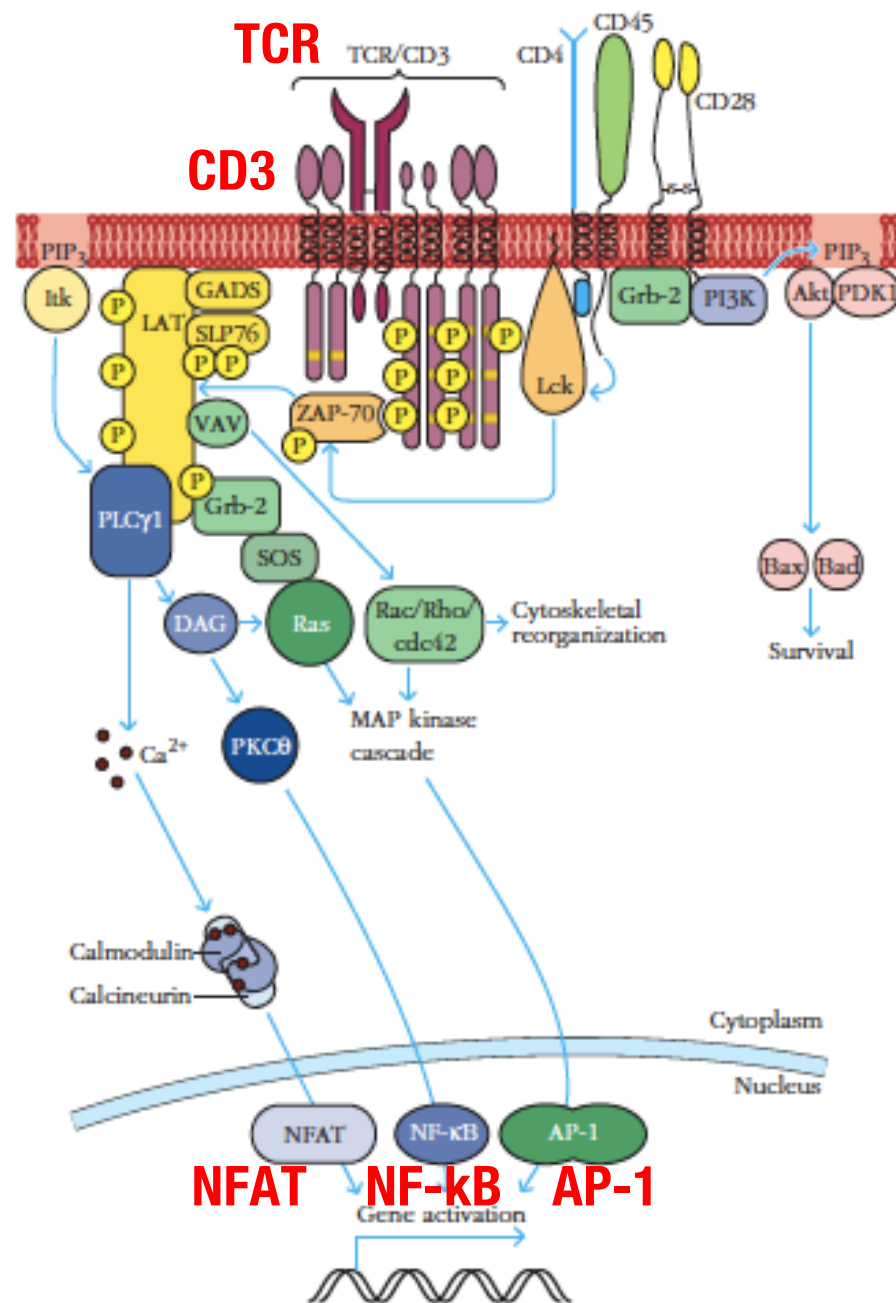
Figure 4-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

TCR (linfocitos T)

Element	Immunoglobulin		$\alpha:\beta$ T-cell receptors	
	H	$\kappa + \lambda$	β	α
Variable segments (V)	40	70	52	~70
Diversity segments (D)	25	0	2	0
D segments read in three frames	rarely	—	often	—
Joining segments (J)	6	5(κ) 4(λ)	13	61
Joints with N- and P-nucleotides	2	50% of joints	2	1
Number of V gene pairs	1.9×10^6		5.8×10^6	
Junctional diversity	$\sim 3 \times 10^7$		$\sim 2 \times 10^{11}$	
Total diversity	$\sim 5 \times 10^{13}$		$\sim 10^{18}$	

Figure 4-13 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

TCR (linfocitos T)

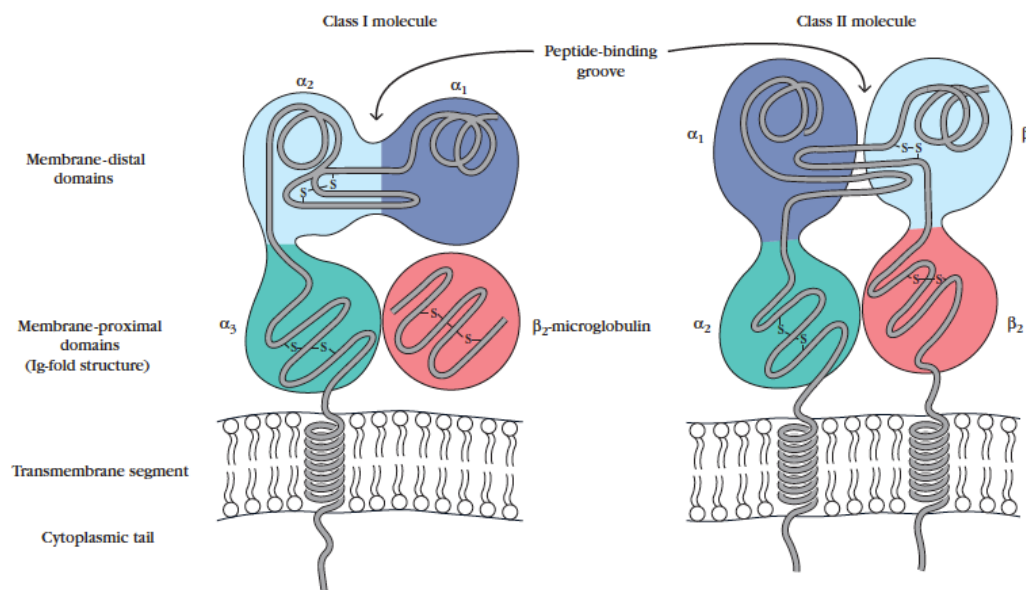
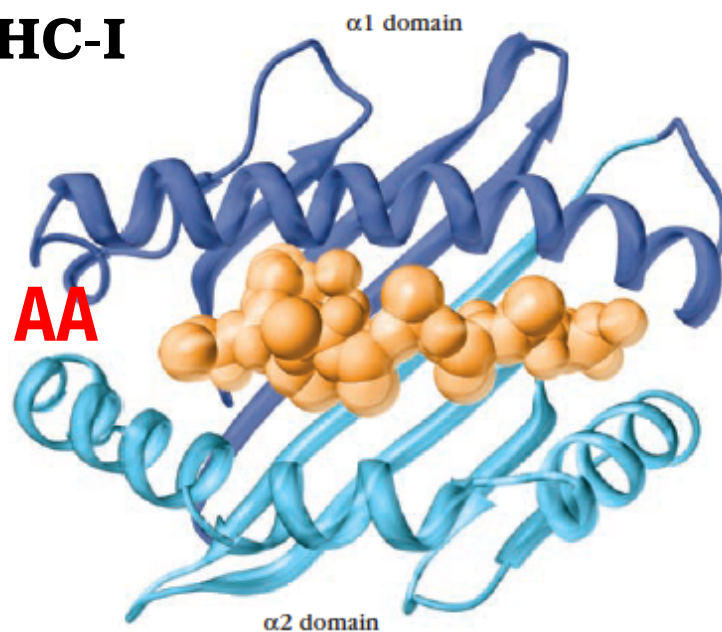


Sobrevivencia do LT
Ativação imunológica

MHC/TCR

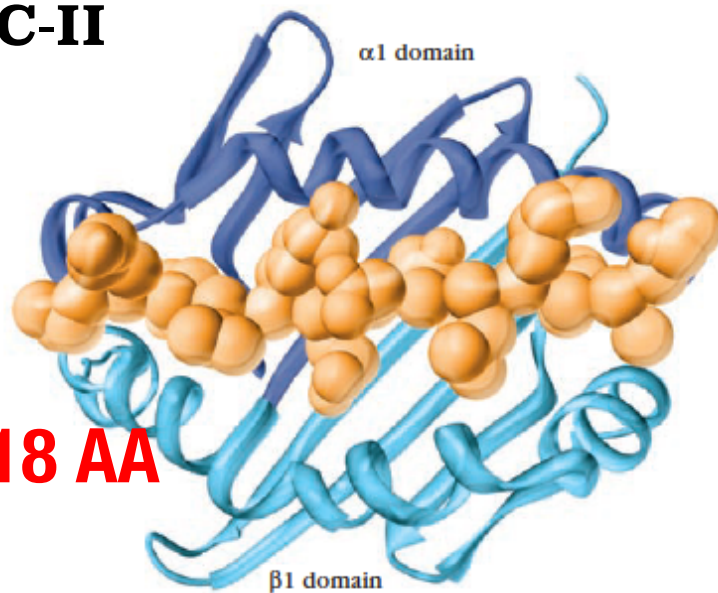
MHC-I

8-10 AA



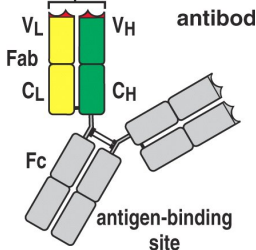
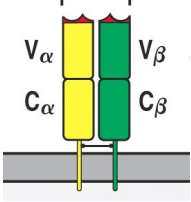
MHC-II

13-18 AA

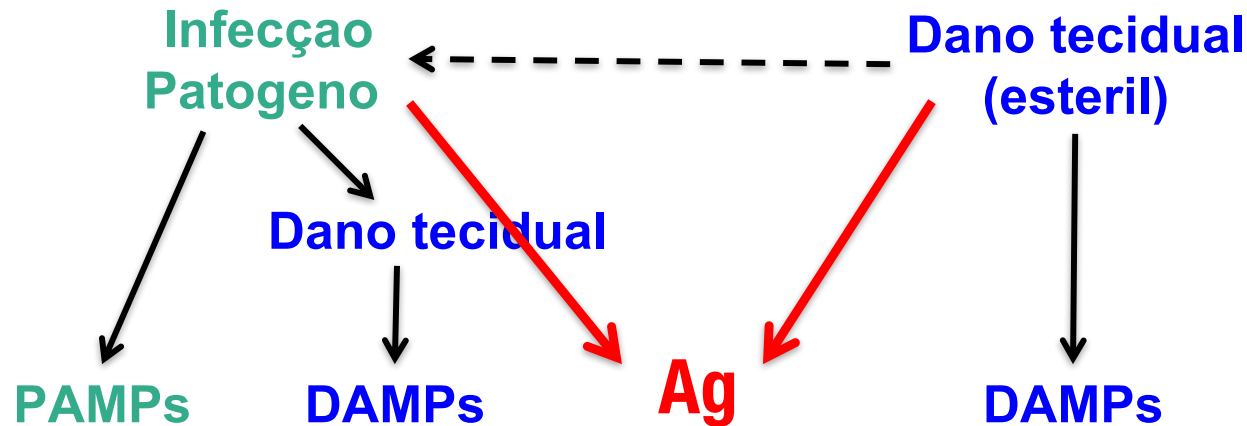


		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Eluted from MHC protein 1	H ₃ N	V	G	P	Q	K	N	E	N	L	COO ⁻
	H ₃ N	S	G	P	R	K	A	I	A	L	COO ⁻
	H ₃ N	V	G	P	S	G	K	Y	F	I	COO ⁻
	H ₃ N	S	G	P	E	R	I	L	S	L	COO ⁻
Eluted from MHC protein 2	H ₃ N	S	Y	F	P	E	I	T	H	I	COO ⁻
	H ₃ N	T	Y	Q	R	T	R	A	L	V	COO ⁻
	H ₃ N	S	Y	I	G	S	I	N	N	I	COO ⁻

Receptores de linfocitos

	BCR 	TCR 
Sítio de ligação do Ag	Constituído por 3 CDRs em V _H 3 CDRs em V _L	Constituído por 3 CDRs em V _α 3 CDRs em V _β
Natureza do Ag reconhecido	Macromoléculas (proteínas, lipídeos, polissacarídeos) e pequenos químicos	Complexos peptídeo-MHC
Natureza do epítopo reconhecido	Lineare e determinantes conformacionais de várias macromoléculas e químicos	Determinantes lineares de peptídeos; apenas 2 ou 3 AA do peptídeos ligam o MHC
Afinidade de ligação	K _d =10 ⁻⁷ -10 ⁻¹¹ M Afinidade aumenta durante a resposta imune	K _d =10 ⁻⁵ -10 ⁻⁷ M

Reconhecimento



Sistema imune adaptativo

Reconhecimento altamente específico de antígenos/epitopos

1 célula = 1 especificidade

Afinidade ao antígeno pode ser “melhorada” durante a resposta

**Receptores de reconhecimento de Ag:
AC/BCR e TCR**

