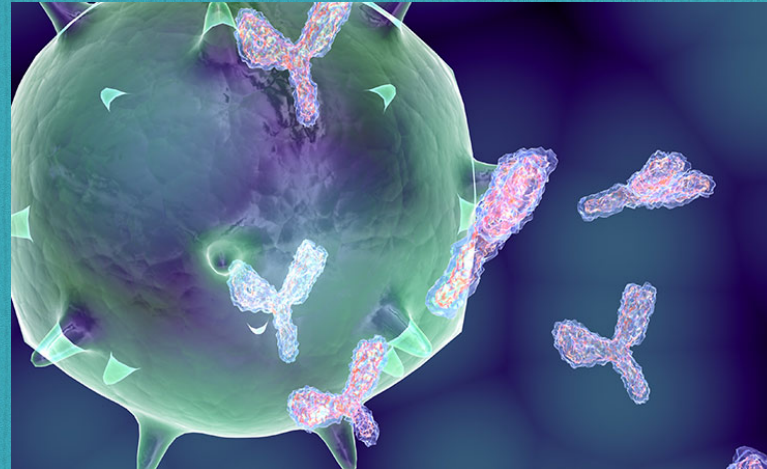
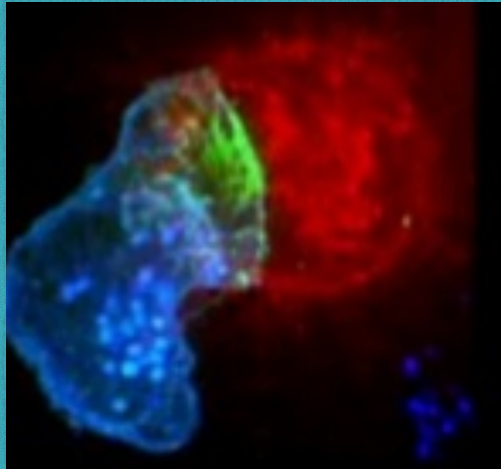


Curso de Ciências Biológicas
Disciplina BMI-296 – Imunologia básica

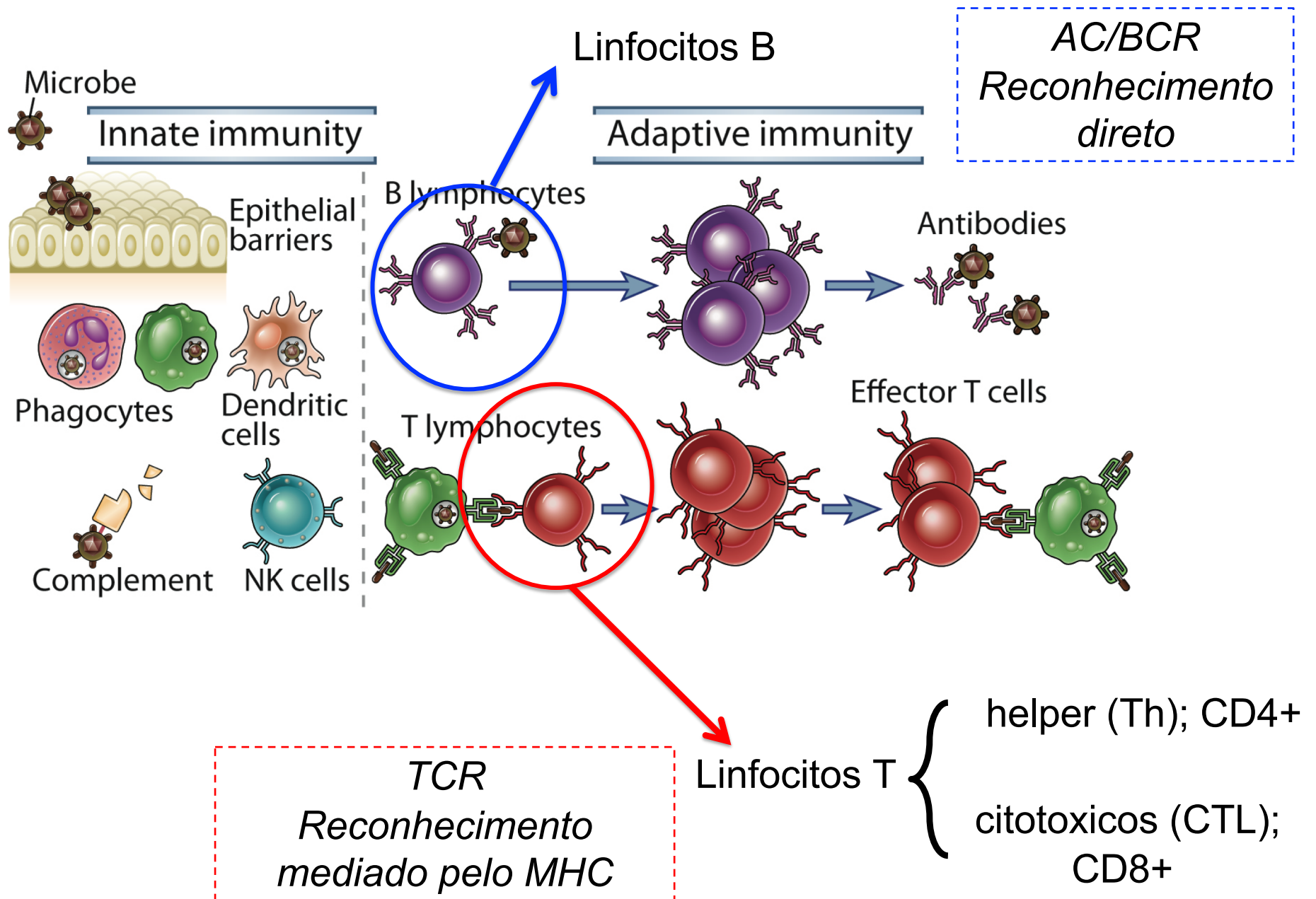


Aula 6 – Anticorpos & Receptores de linfocitos

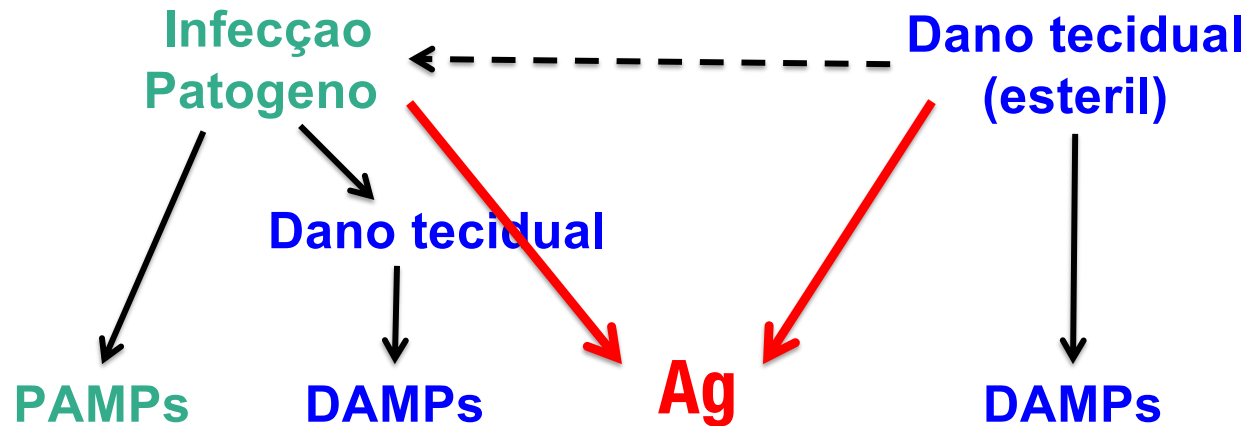
Alessandra Pontillo

Lab. Imunogenética/Dep.Imunologia/ICB/USP

Imunidade adquirida



Reconhecimento



Sistema imune adaptativo

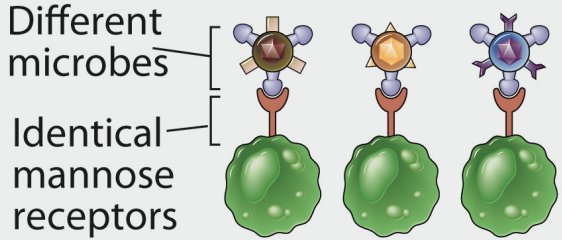
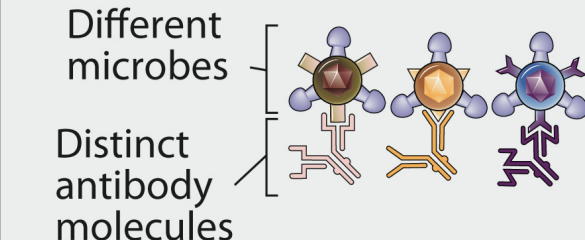
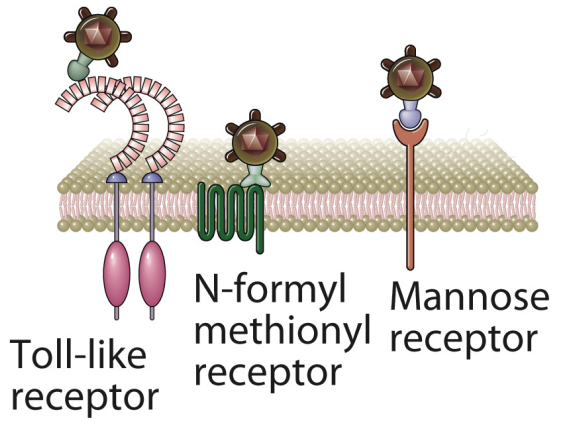
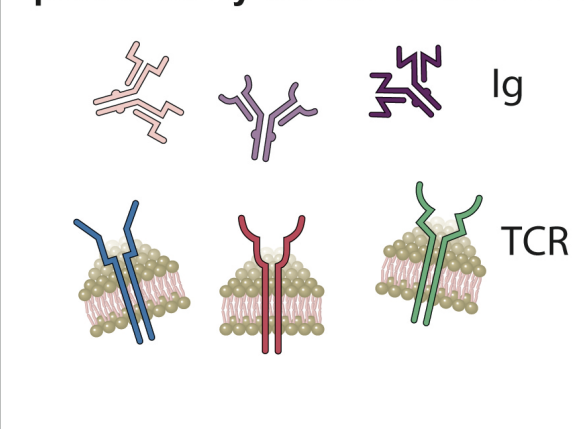
Reconhecimento altamente específico de antígenos/epitopos

1 célula = 1 especificidade

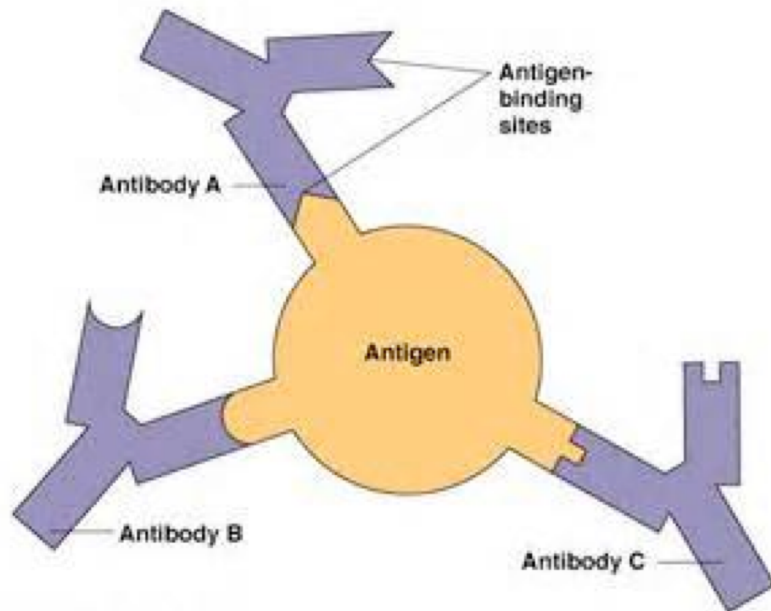
Afinidade ao antígeno pode ser “melhorada” durante a resposta

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

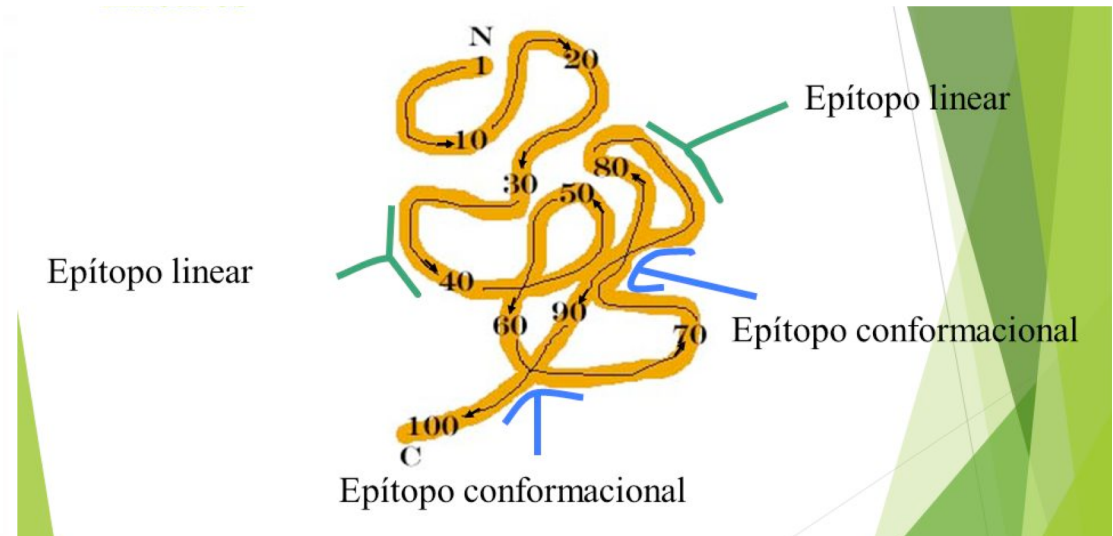
Reconhecimento na Imunidade adquirida

	Innate immunity	Adaptive immunity
Specificity	<p>For pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)</p> <p>Different microbes</p> <p>Identical mannose receptors</p> 	<p>For structural details of any molecules (antigens)</p> <p>Different microbes</p> <p>Distinct antibody molecules</p> 
Receptors	<p>Encoded in germline (pattern recognition receptors)</p>  <p>Toll-like receptor</p> <p>N-formyl methionyl receptor</p> <p>Mannose receptor</p>	<p>Encoded by lymphocyte genes produced by somatic recombination</p>  <p>Ig</p> <p>TCR</p>
Distribution of receptors	Non-clonal	Clonal

Antigenos & epitopos

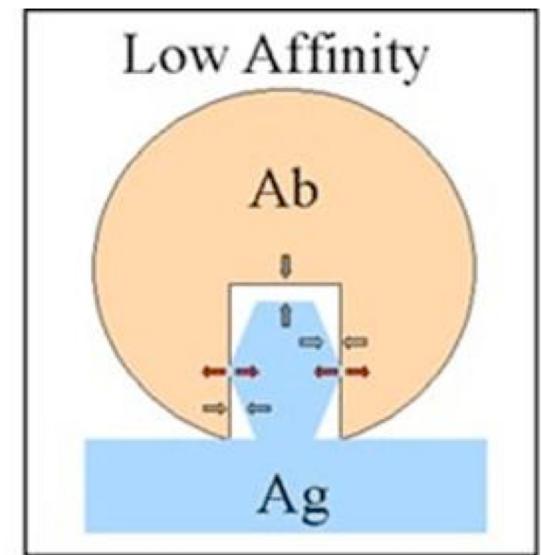
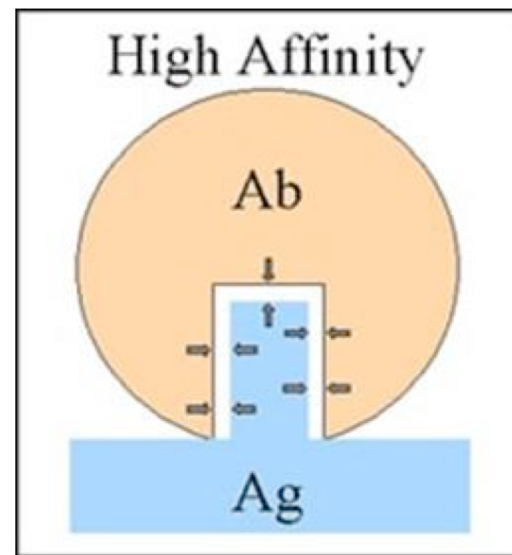


©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



AC/BCR reconhecem

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



Reconhecimento nos Linfocitos B

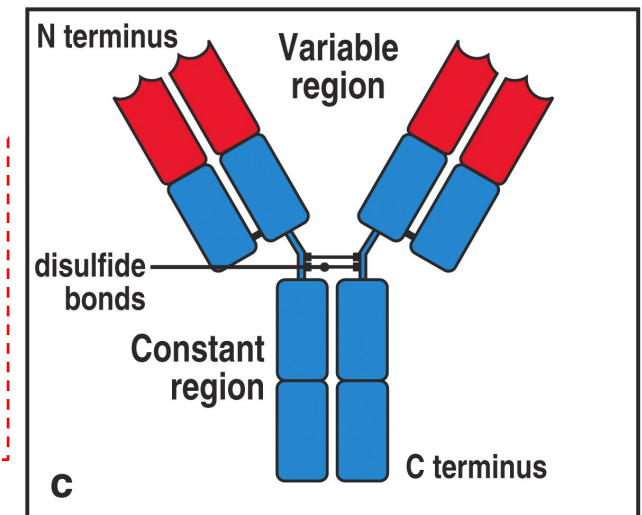
Linfocitos B

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



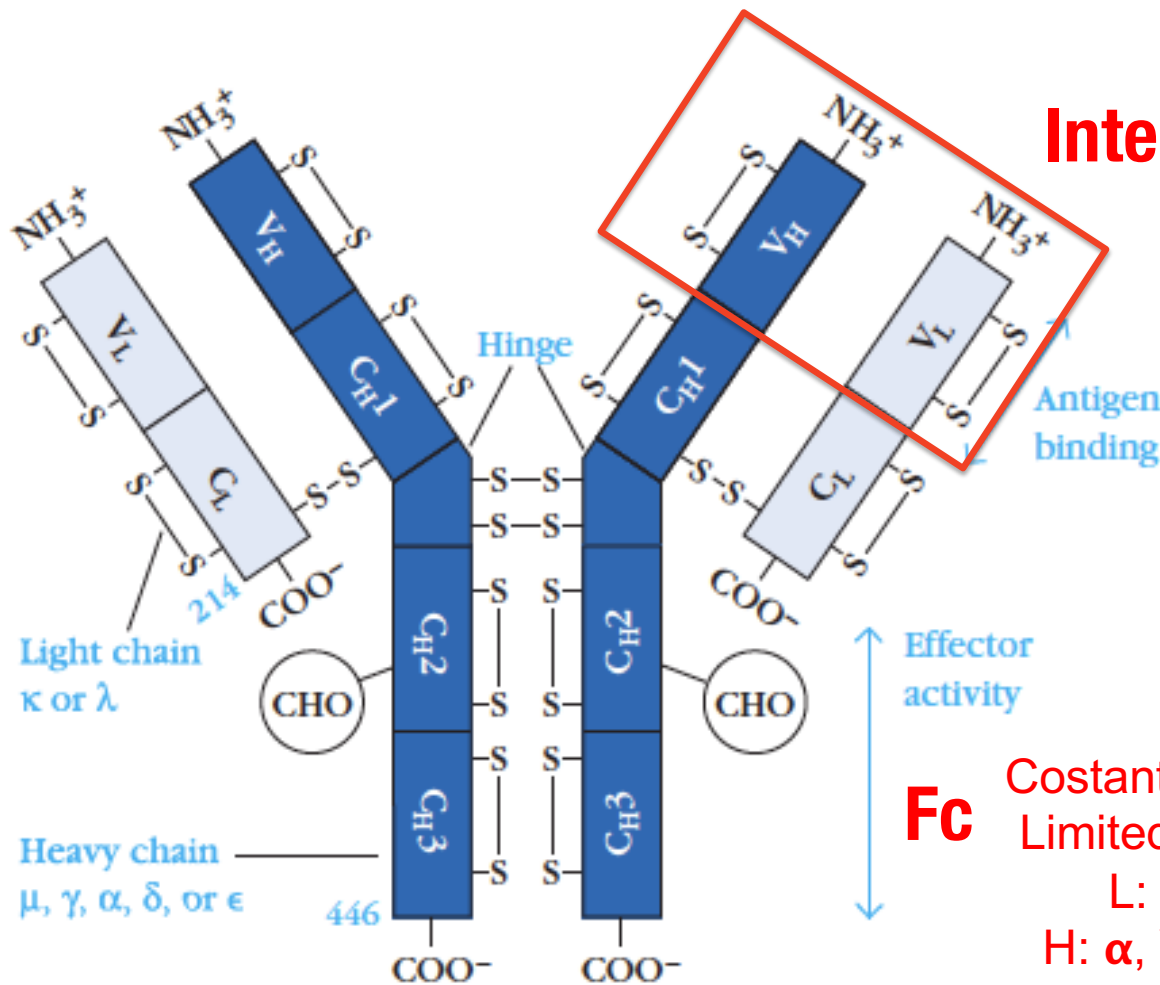
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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)

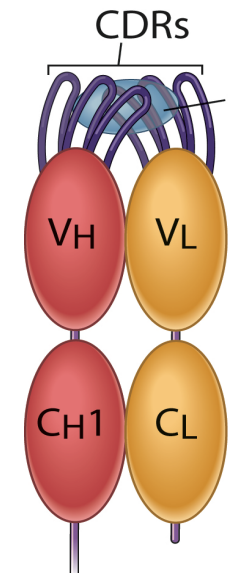


Interação com Ag

Variable region (V)
100-110 AA
High variable!
≠ in cada AC

através das CDR

Regiões de 10 AA
que determinam a
complementariedade
ao Ag



Fc Constant region (C)
Limited variation
L: κ or λ
H: α , γ , δ , ϵ , μ

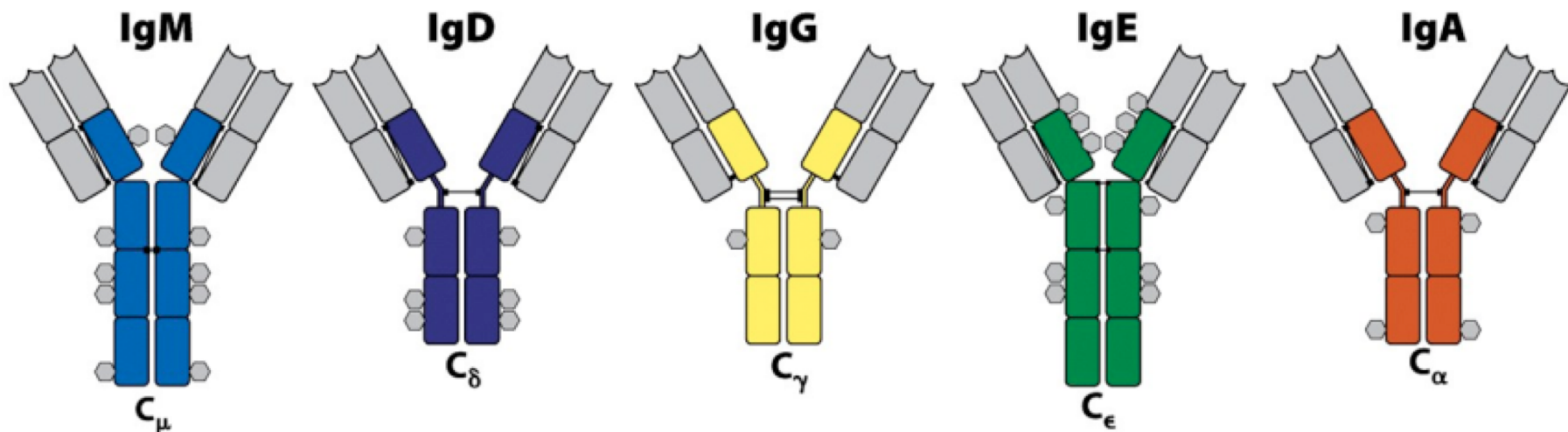
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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 (γ 1-4 \rightarrow IgG1-4)
- Cadeia ϵ \rightarrow IgE
- Cadeia α \rightarrow IgA (α 1=IgA1 e α 2=IgA2)

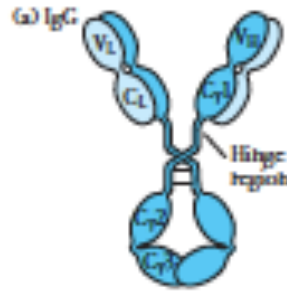
Isotipos \rightarrow classe do AC



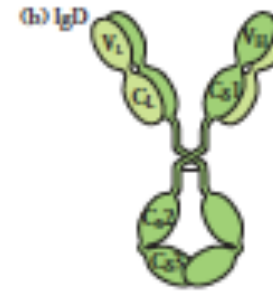
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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

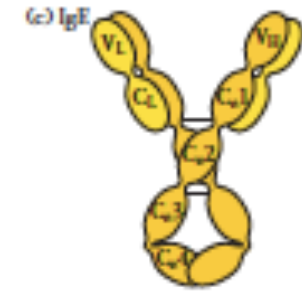
IgG



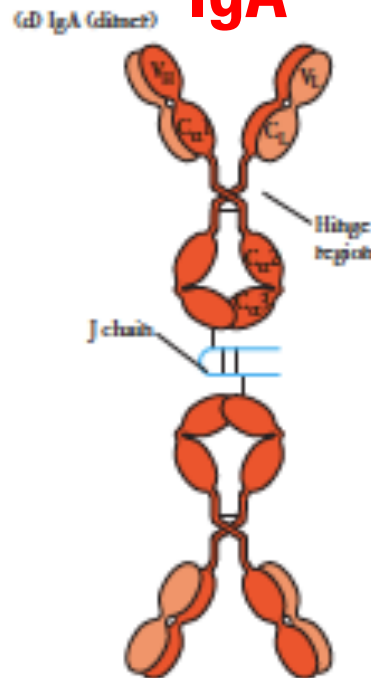
IgD



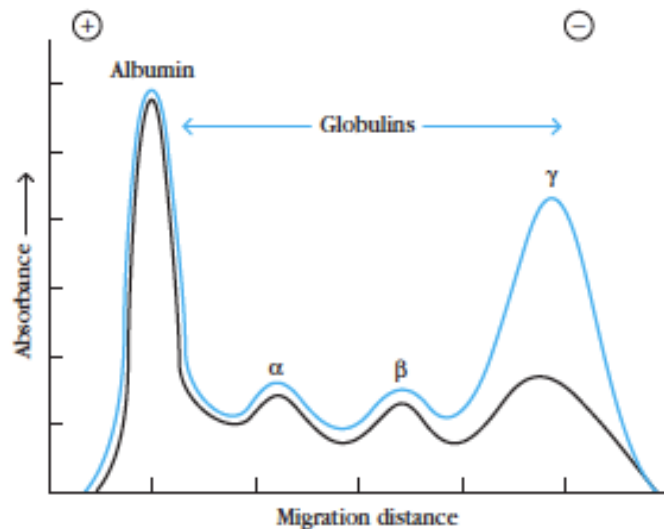
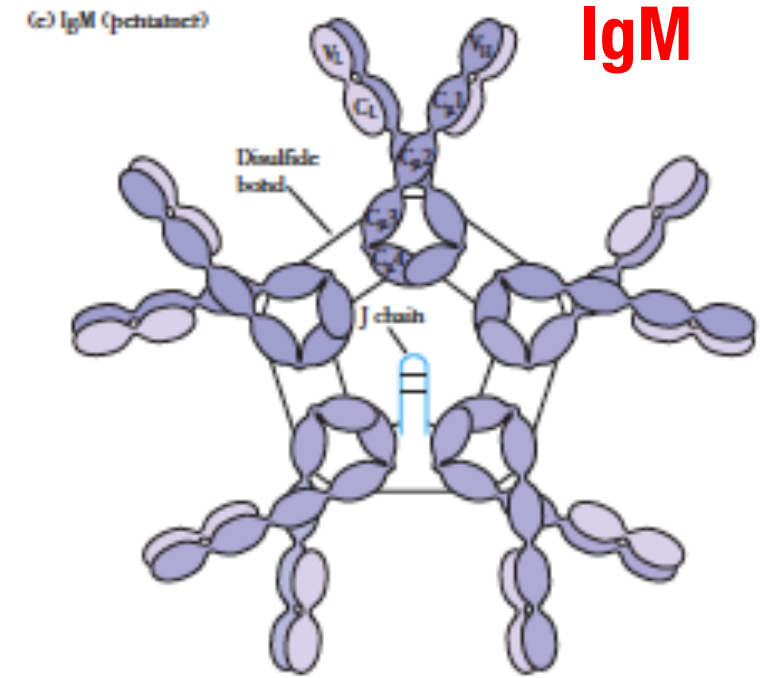
IgE



IgA

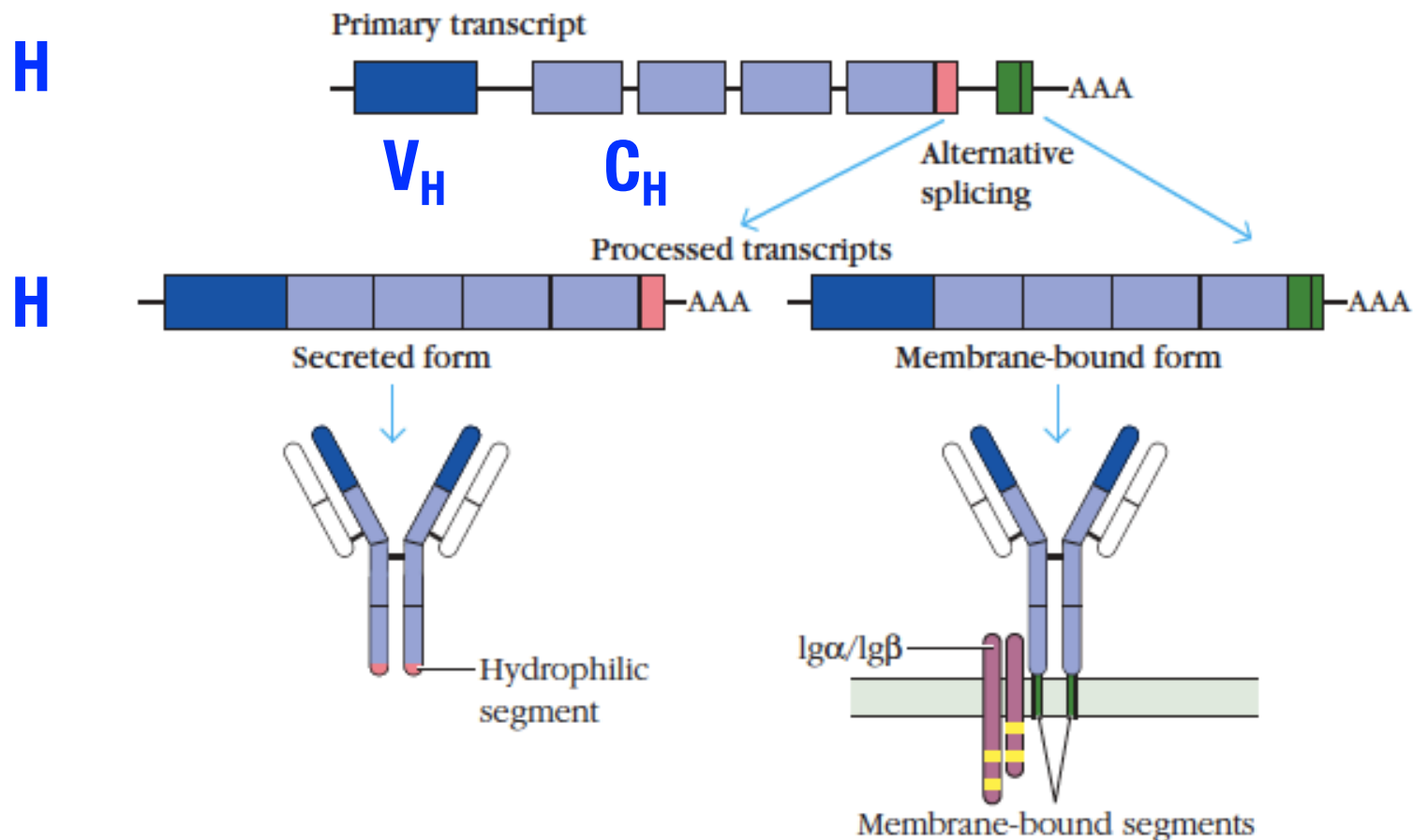


IgM

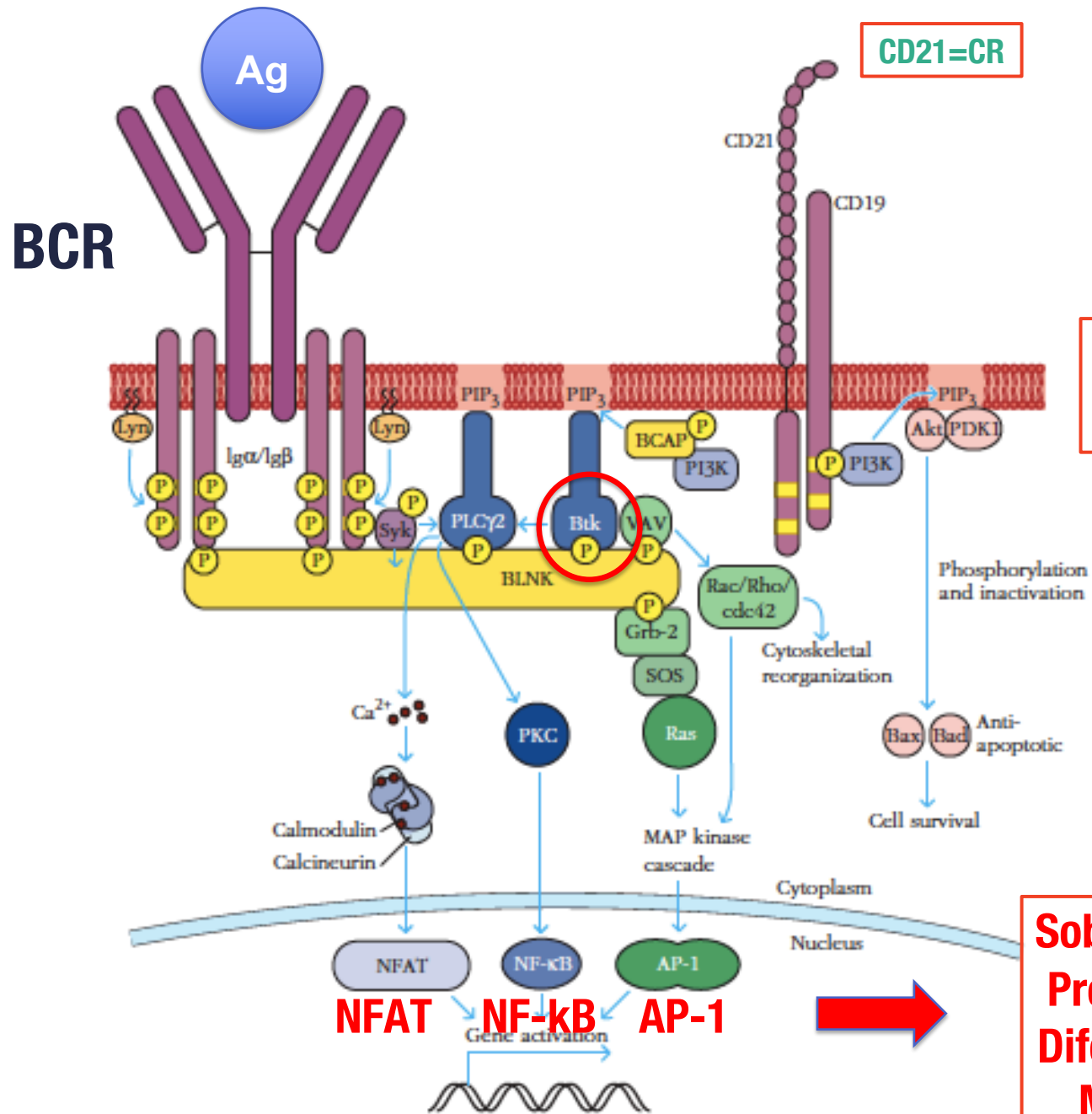


Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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



BCR (linfocitos B)



CD21=CR

Mutações em Btk
=>
Agamaglobulinemia

Sobrevivencia
Proliferação
Diferenciação
Migração

Origem da especificidade

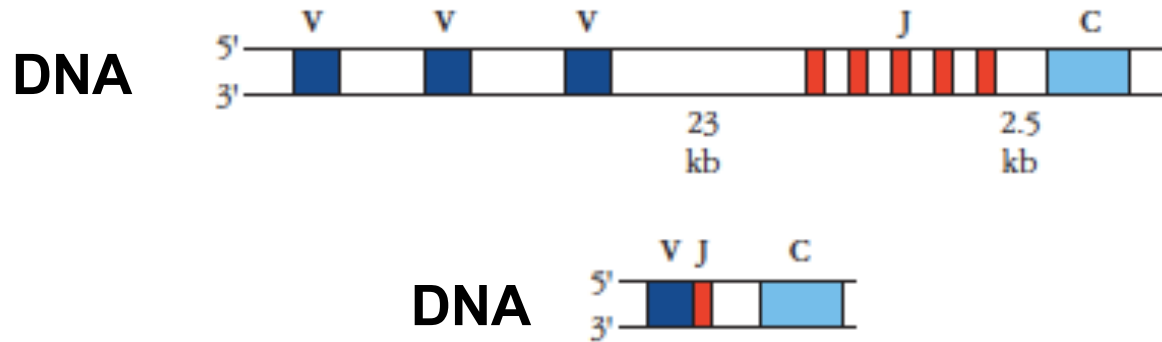
Como os rec com uma infinitude de especificidades são codificados por um n finito de genes?

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 combinatoria (10^8), aleatória e clone-específica

**RECOMBINACAO SOMATICA +
HIPERMUTACAO SOMATICA**

Anticorpos e BCR (linfocitos B)

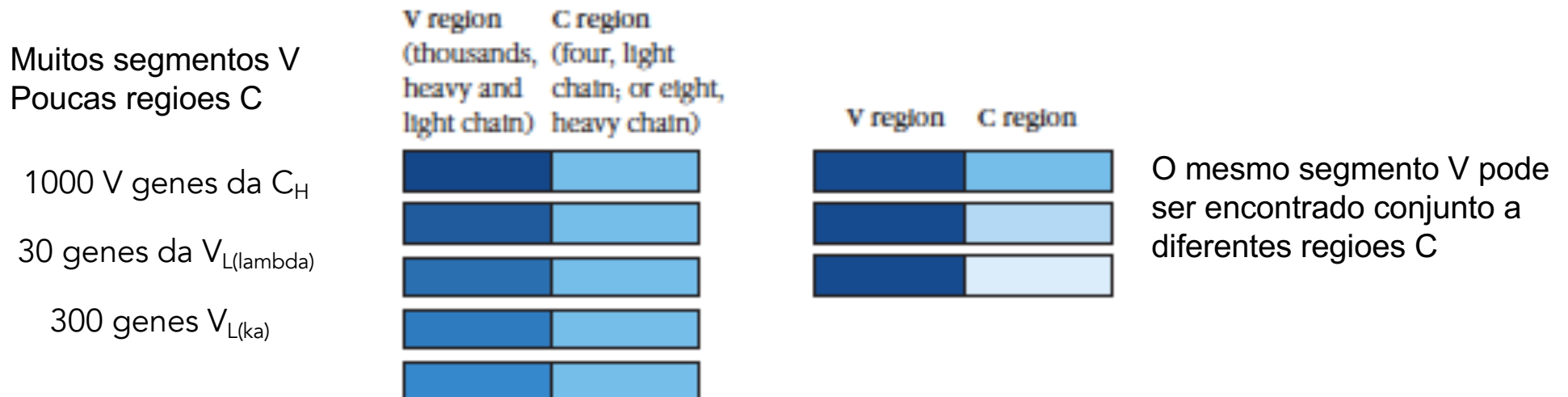


Linfocito B em desenvolvimento

Linfocito B pronto

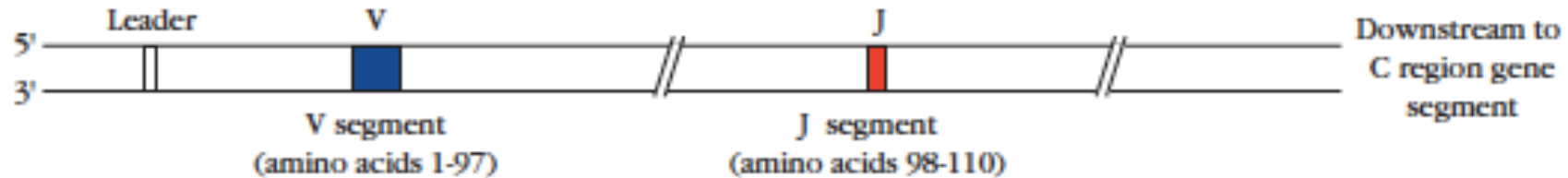
RECOMBINACAO SOMATICA DA CADEIA LEVE

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

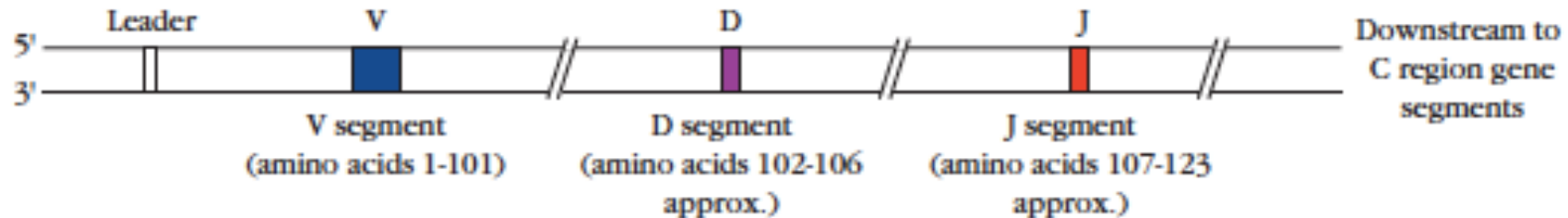


Anticorpos e BCR (linfocitos B)

(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

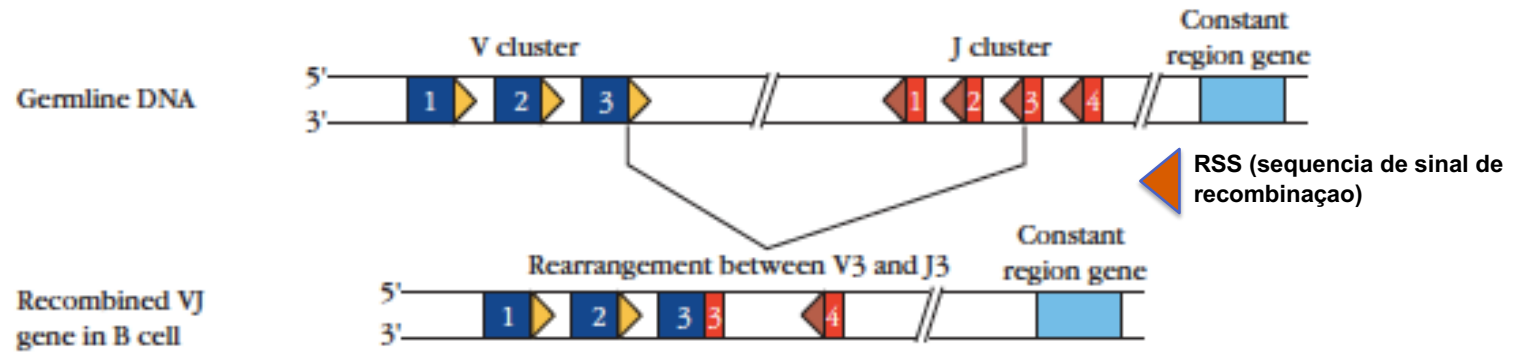
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

TABLE 7-4 Combinatorial antibody diversity in humans

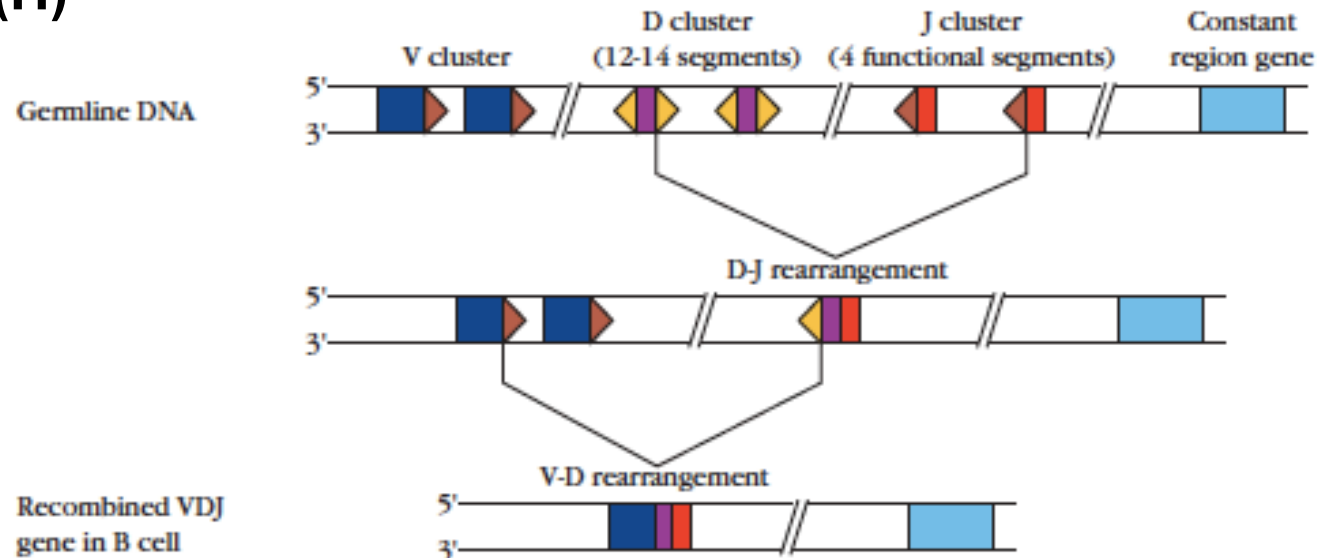
Nature of segment	Number of heavy-chain segments (estimated)	Number of κ -chain segments (estimated)	Number of λ -chain segments (estimated)
V	41	41	33
D	23		
J	6	5	5
Possible number of combinations	$41 \times 23 \times 6 = 5658$	$41 \times 5 = 205$	$30 \times 5 = 165$
Possible number of heavy-light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

Mecanismo de recombinação

Cadeia leve (L)

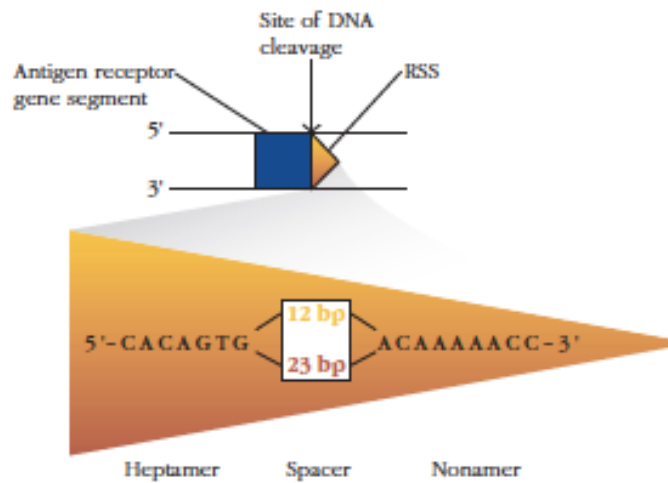


Cadeia pesada (H)

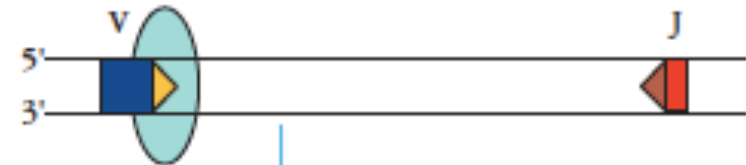


Mecanismo de recombinação

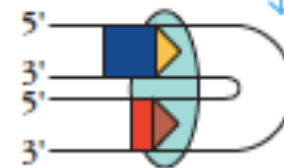
RSS (sequencia de sinal de recombinação)



Binding of RAG1/2, HMG proteins



Synapsis



RAG1/2

RAG1/2
HMG proteins

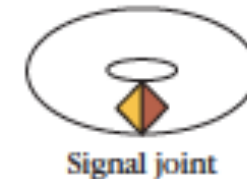
Cleavage and processing of signal and coding joints



Artemis
TdT
DNA ligase IV
NHEJ proteins

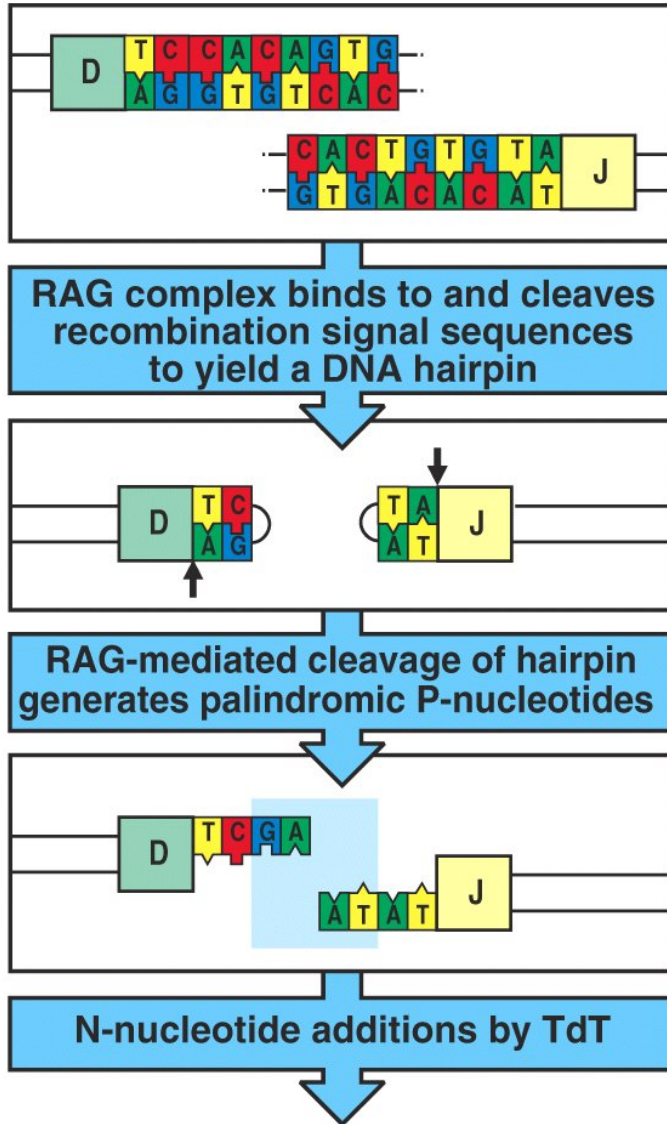
TdT

Generation of functional Ig variable region gene



Mecanismo de recombinação

RAG1/2



TdT

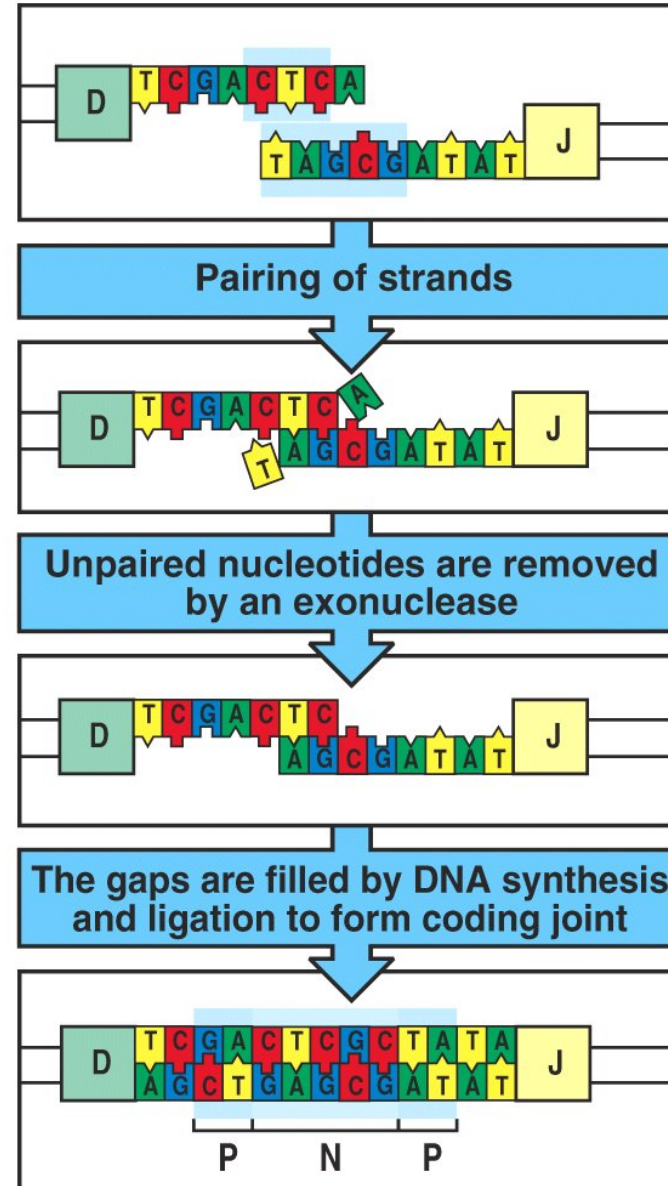
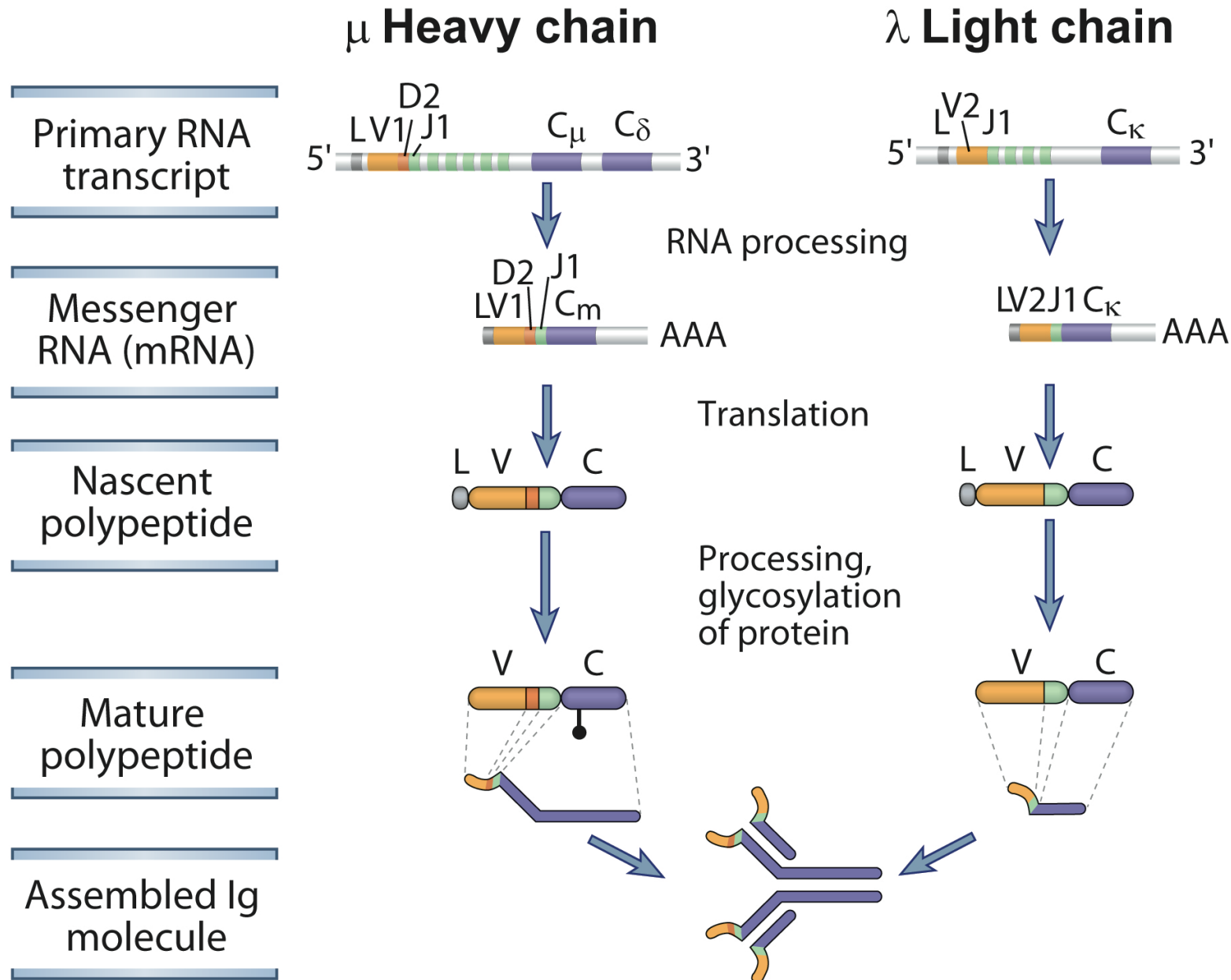


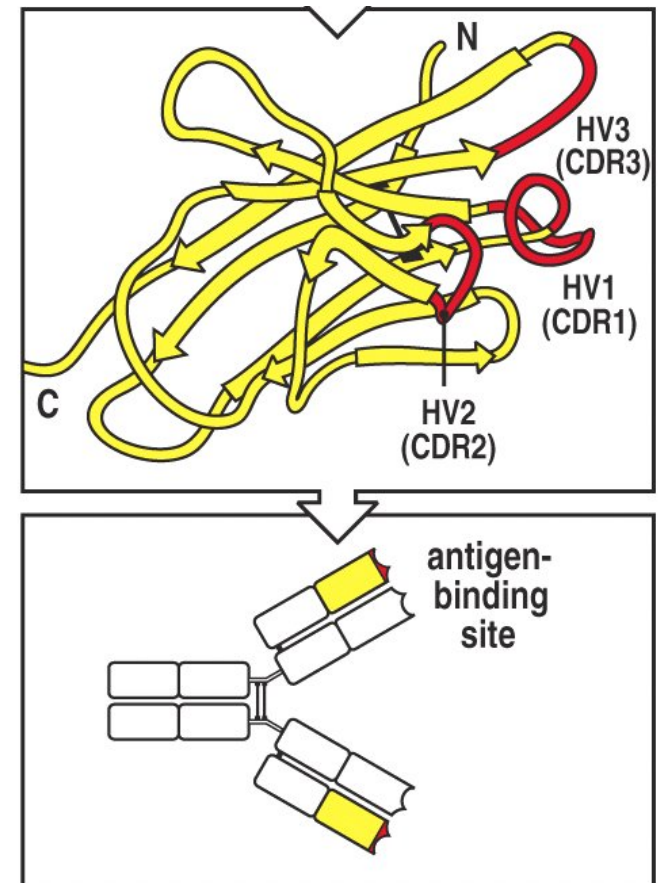
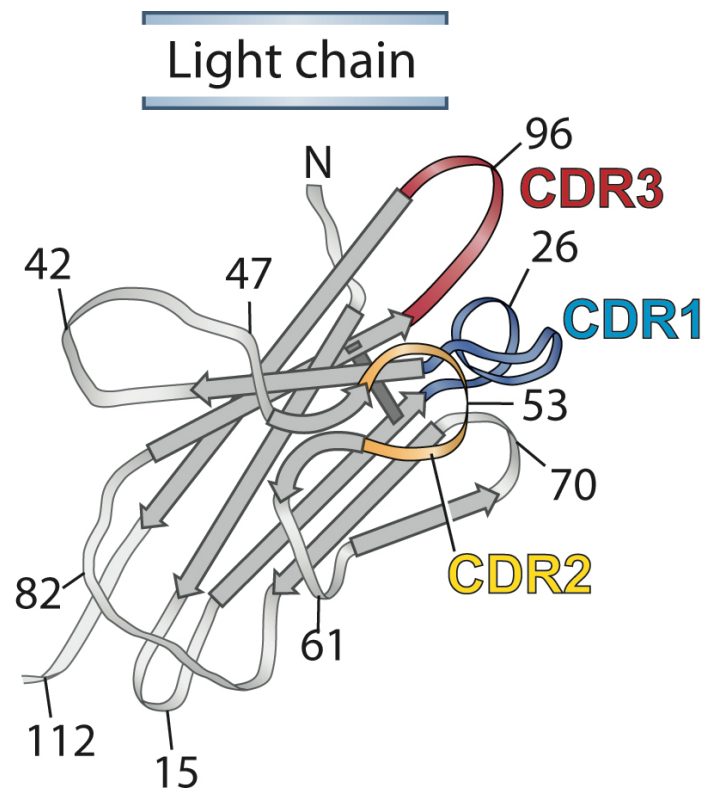
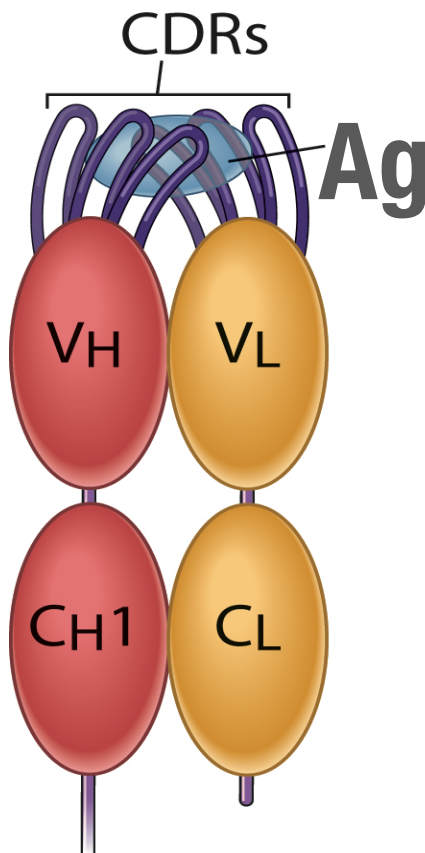
Figure 4-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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) dentro de V_H e V_L

Os CDR3 são os mais variáveis entre os CDR

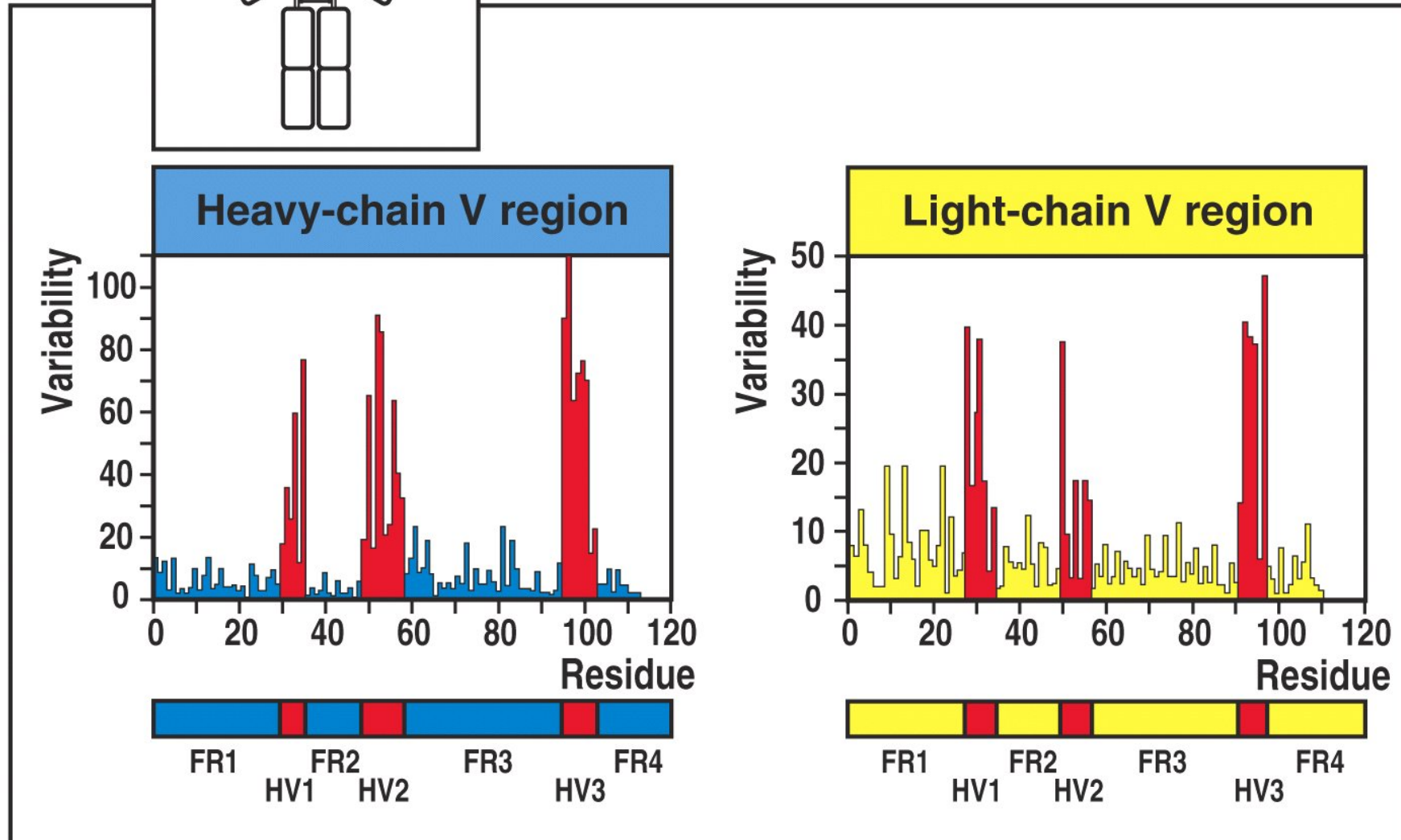
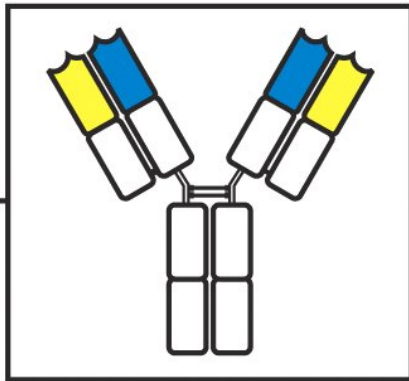
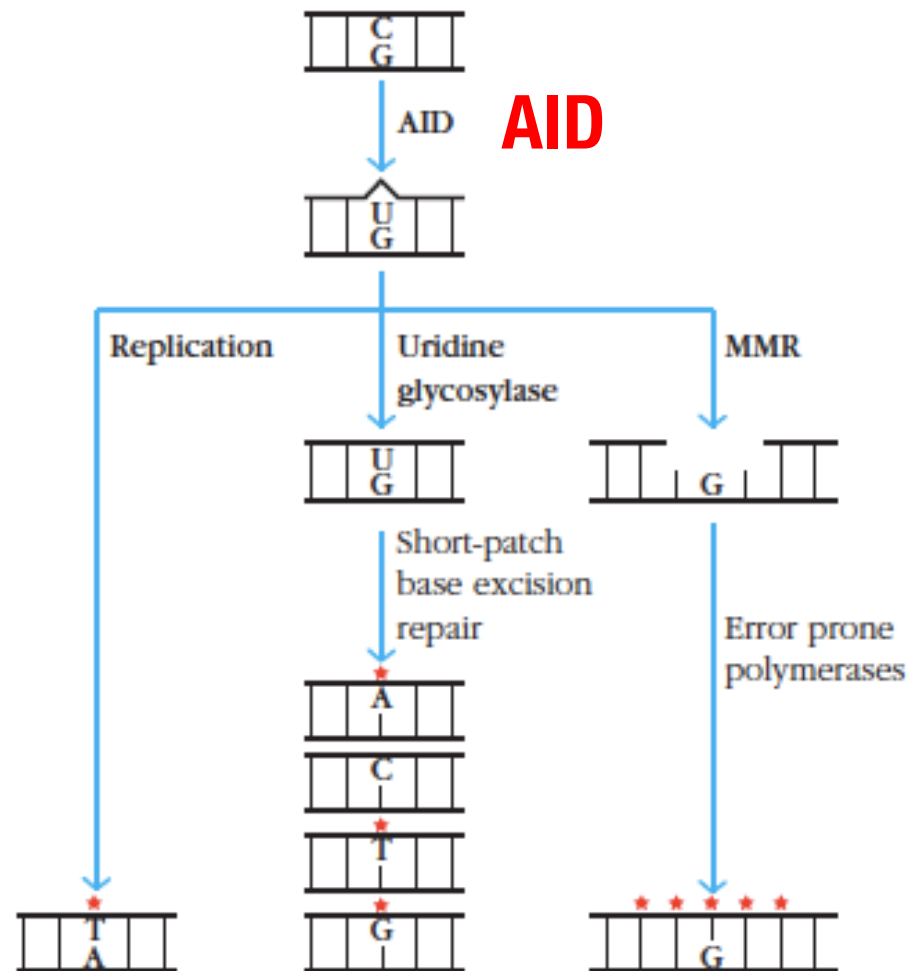


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Hipermutação somática

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



Origem da especificidade

RECOMBINACAO SOMATICA

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

+

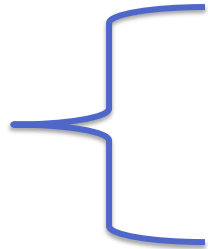
HIPERMUTACAO SOMATICA

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

Amplio repertorio de linfocitos B Ag-especificos

Reconhecimento nos Linfocitos T

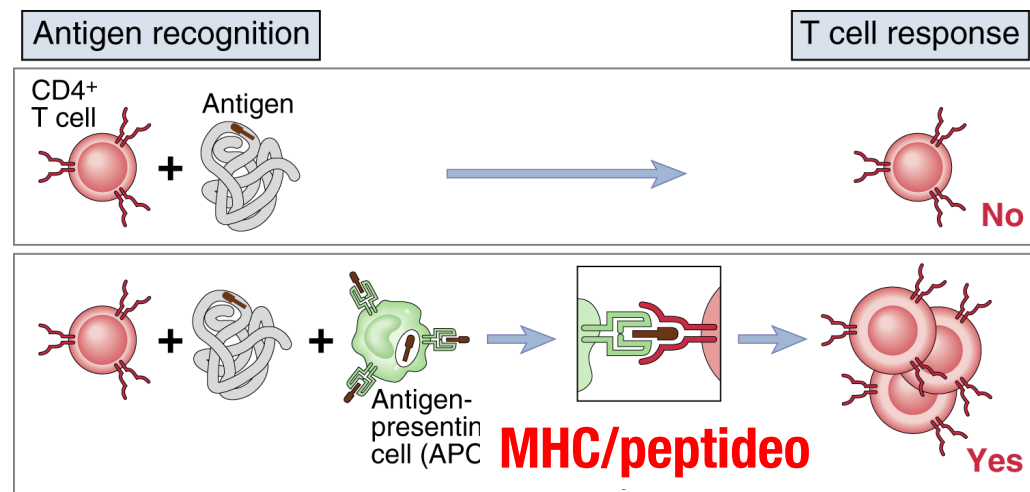
Linfocitos T



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

CD8+ (citotoxicos) TCR reconhece peptideos derivados de Ag processados nas celulas e apresentados no contexto do **MHC-I** (8-10 AA)

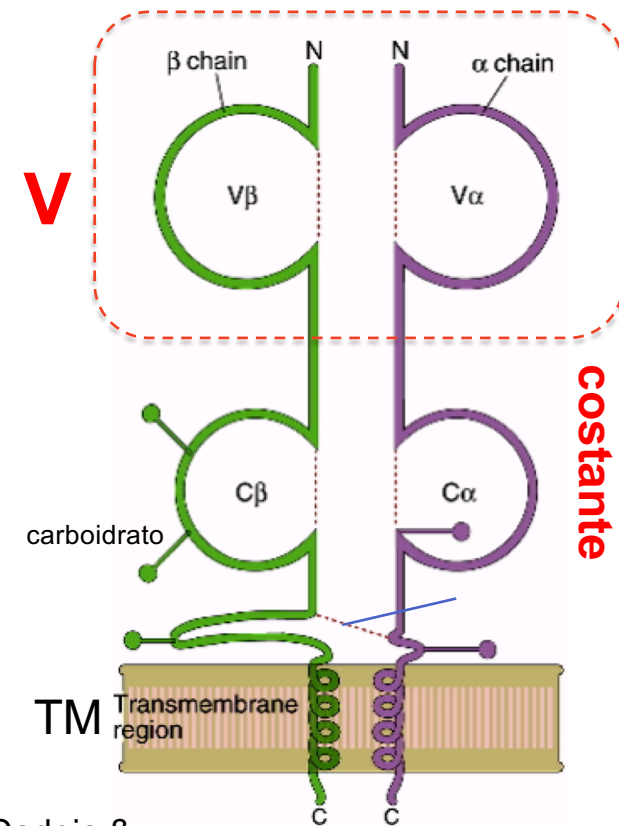
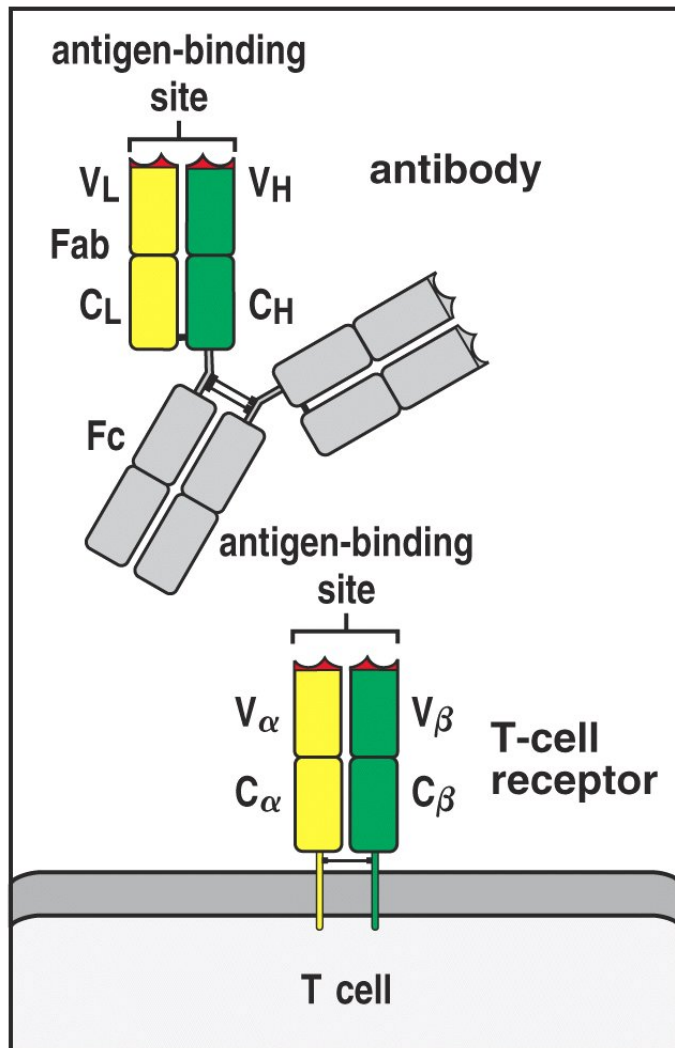
- TCR reconhece
- indiretamente
- Peptideos no MHC
- Epitopo linear



TCR (linfocitos T)

Heterodimero de superficie

V=Interação com Ag



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

Recombinação somática do TCR

Cadeia α

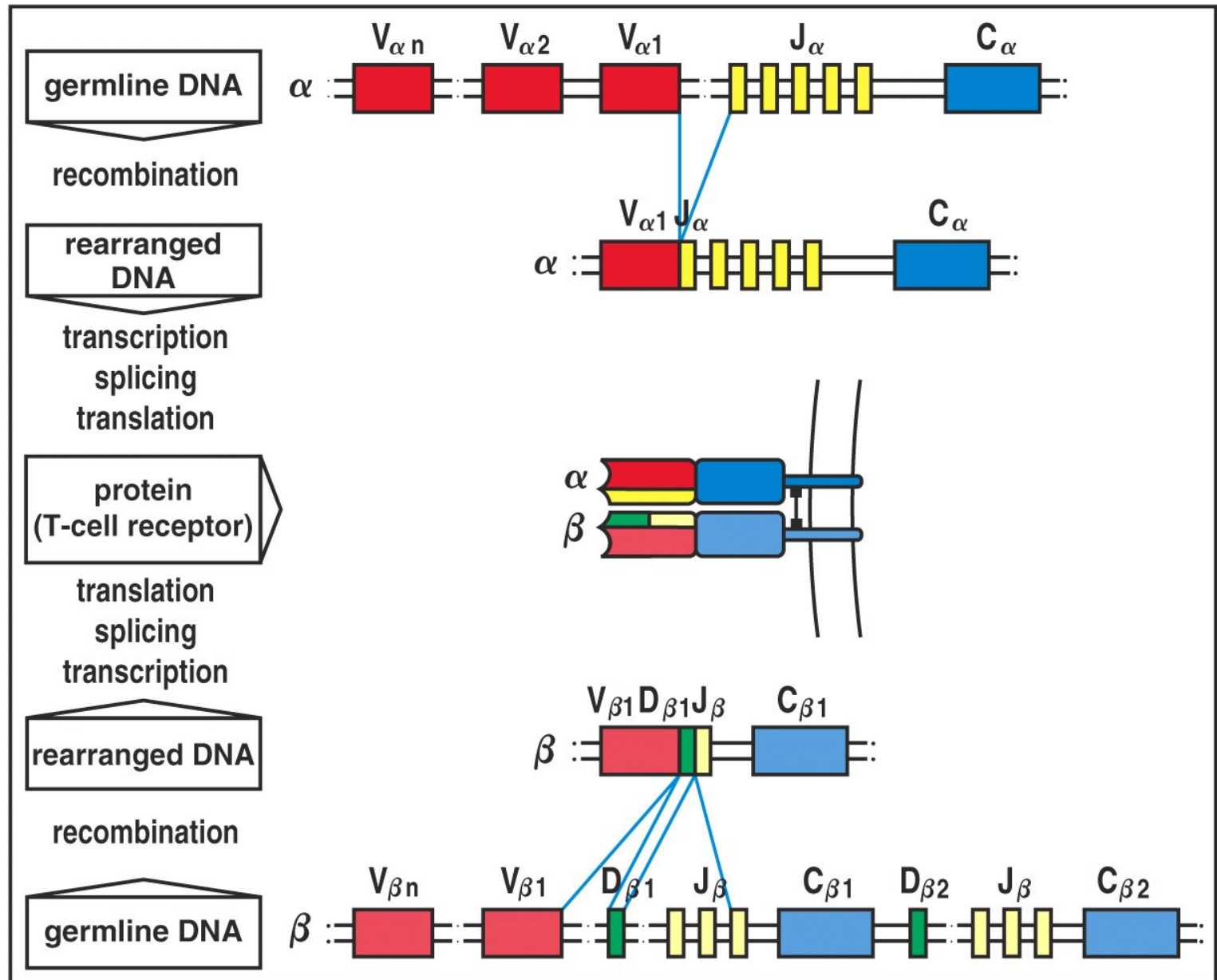


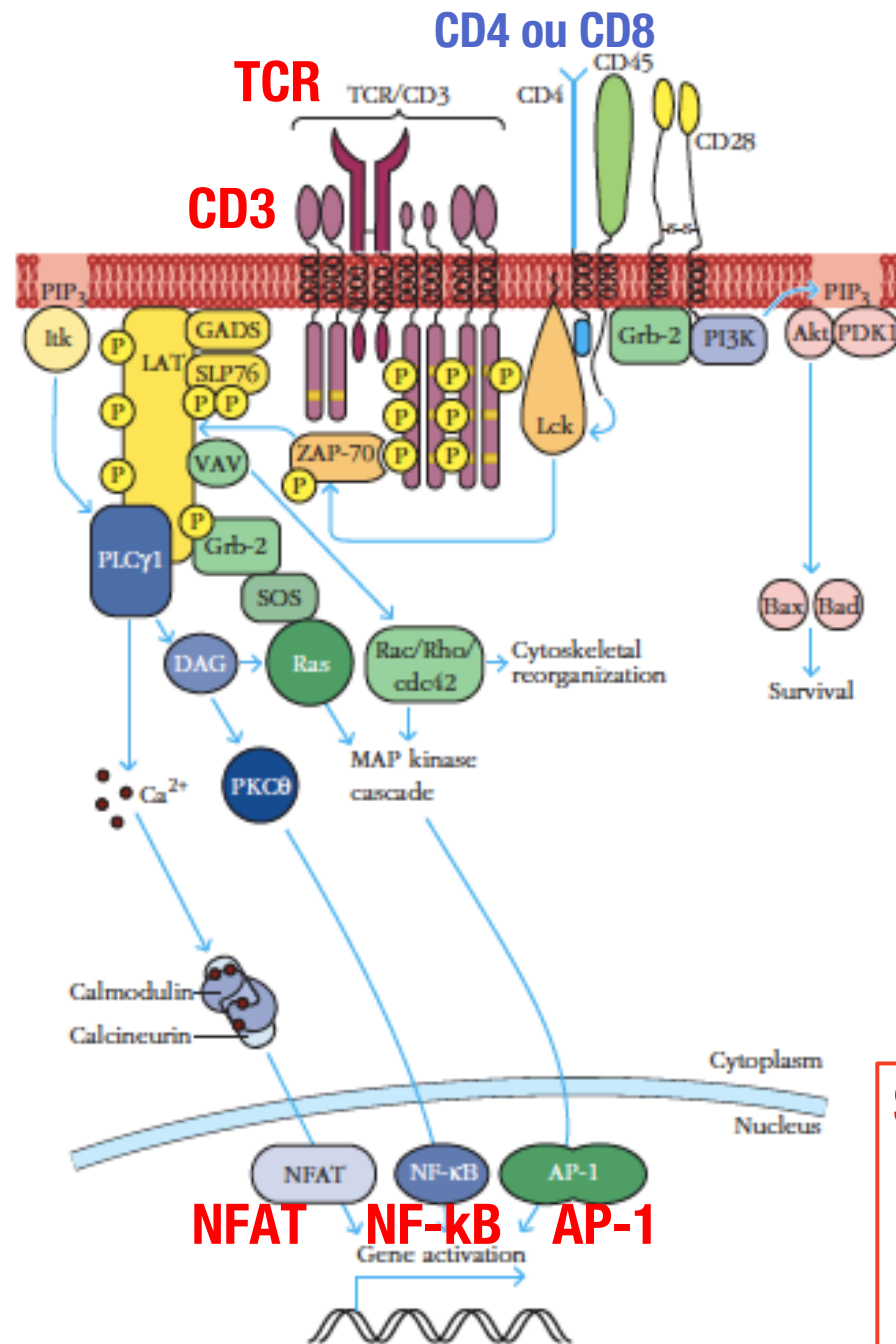
Figure 4-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

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 x 10 ⁶		5.8 x 10 ⁶	
Junctional diversity	~3 x 10 ⁷		~2 x 10 ¹¹	
Total diversity	~5 x 10 ¹³		~10 ¹⁸	

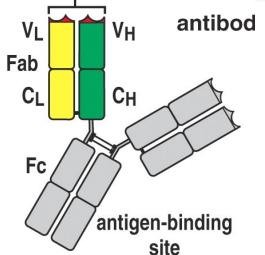
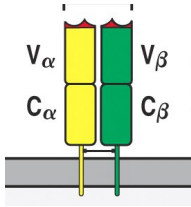
Figure 4-13 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

TCR (linfocitos T)



Sobrevivencia
Proliferação
Diferenciação
Migração

Receptores de linfocitos

	<p>BCR</p> 	<p>TCR</p> 
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, polisacarídeos) e pequenos químicos	Complexos peptídeo-MHC
Natureza do epítipo reconhecido	Lineares 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