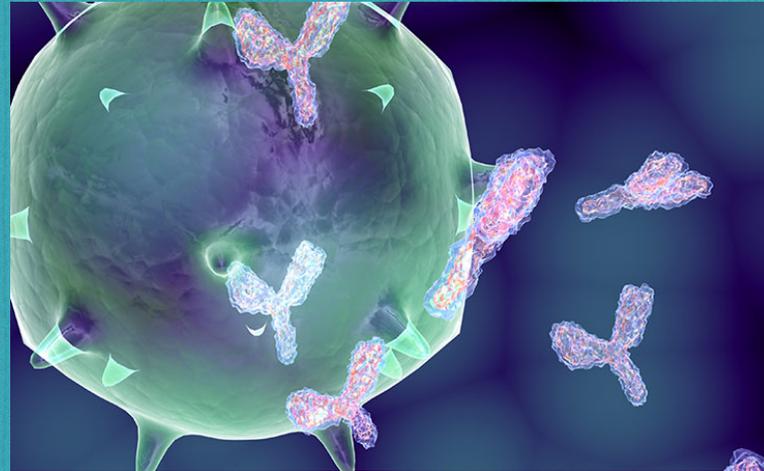
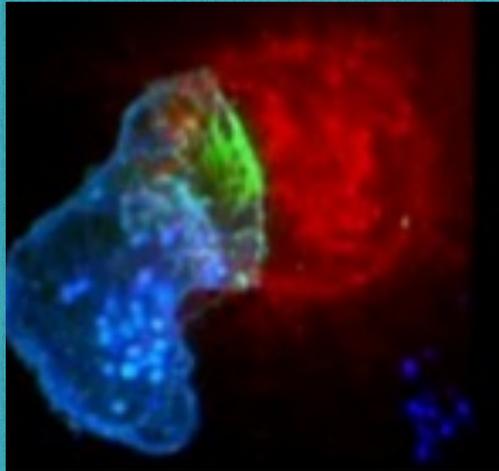


**Curso de Ciências Biológicas**  
**Disciplina BMI-296 – Imunologia básica**

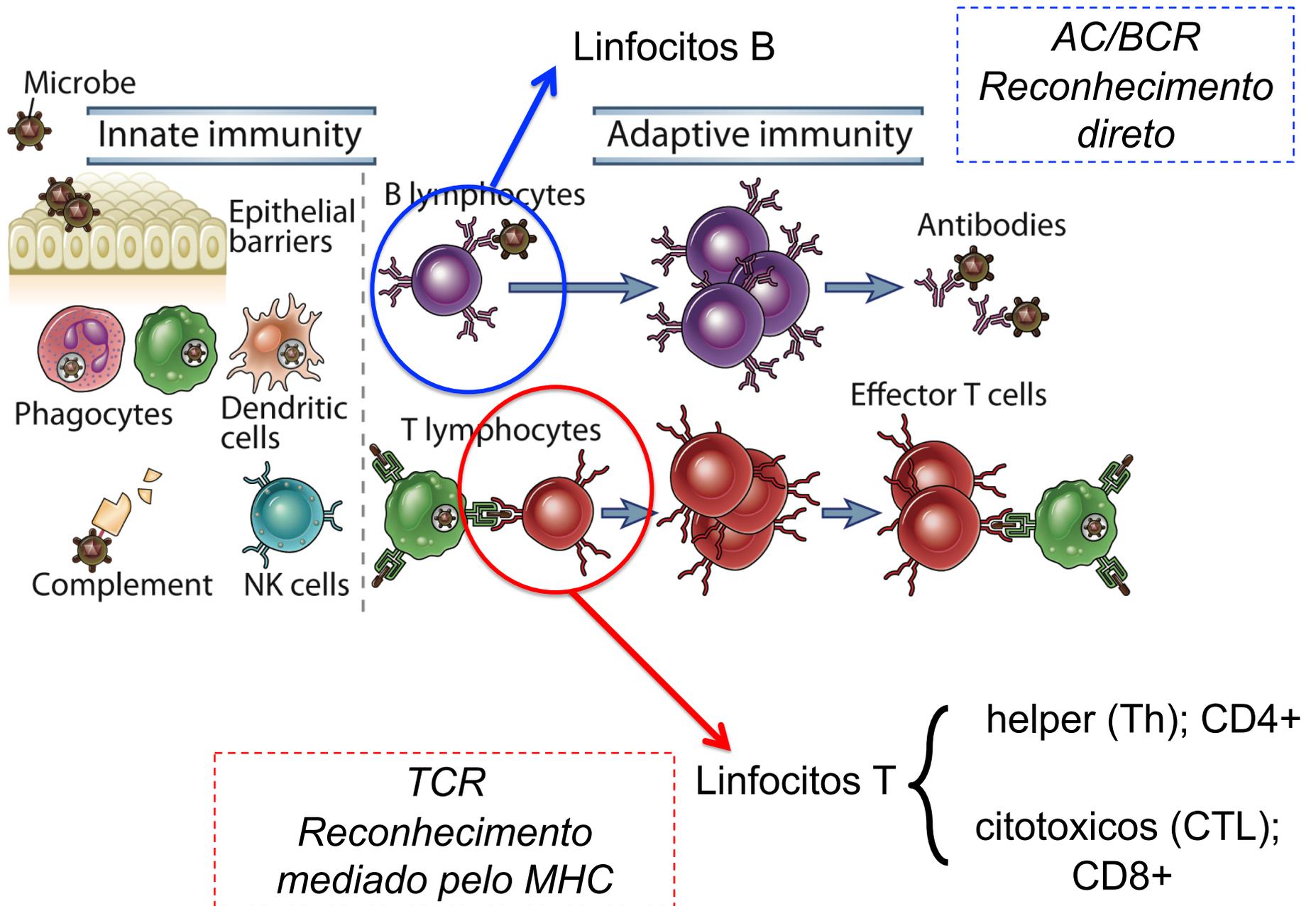


# **Aula 6 – Anticorpos & Receptores de linfocitos**

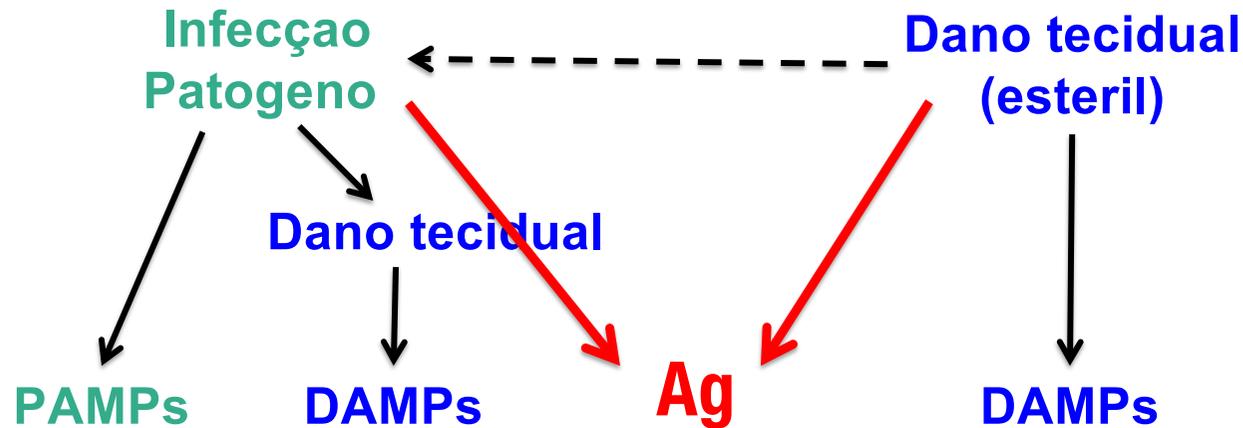
**Alessandra Pontillo**

**Lab. Imunogenética/Dep. Imunologia/ICB/USP**

# Imunidade adquirida



# Reconhecimento



## Sistema imune adaptativo

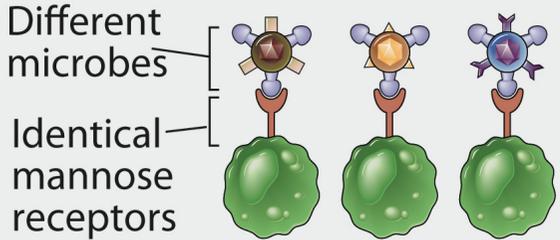
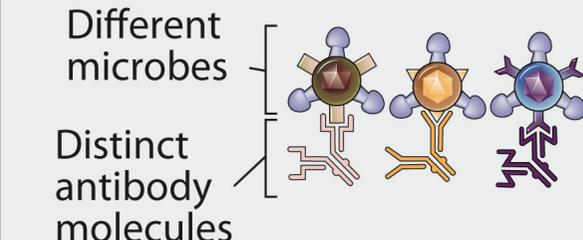
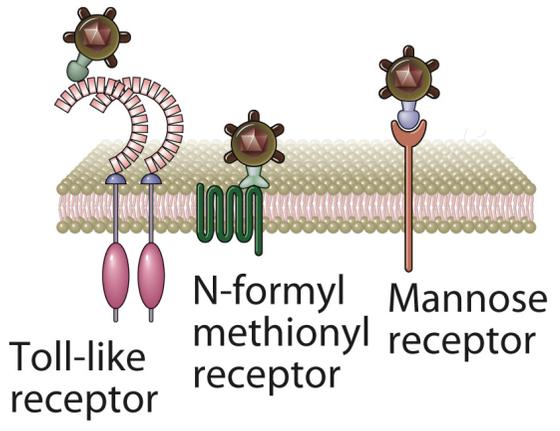
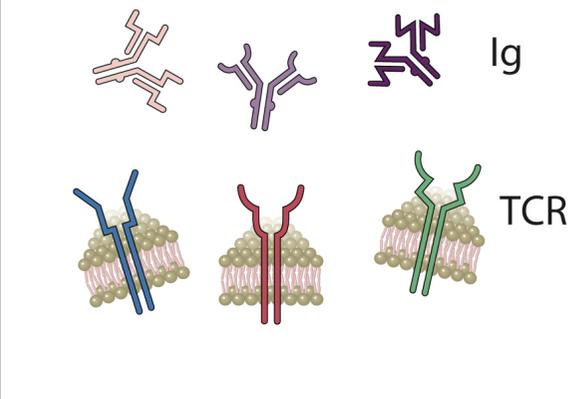
Reconhecimento altamente específico de antígenos/epitopos

1 célula = 1 especificidade

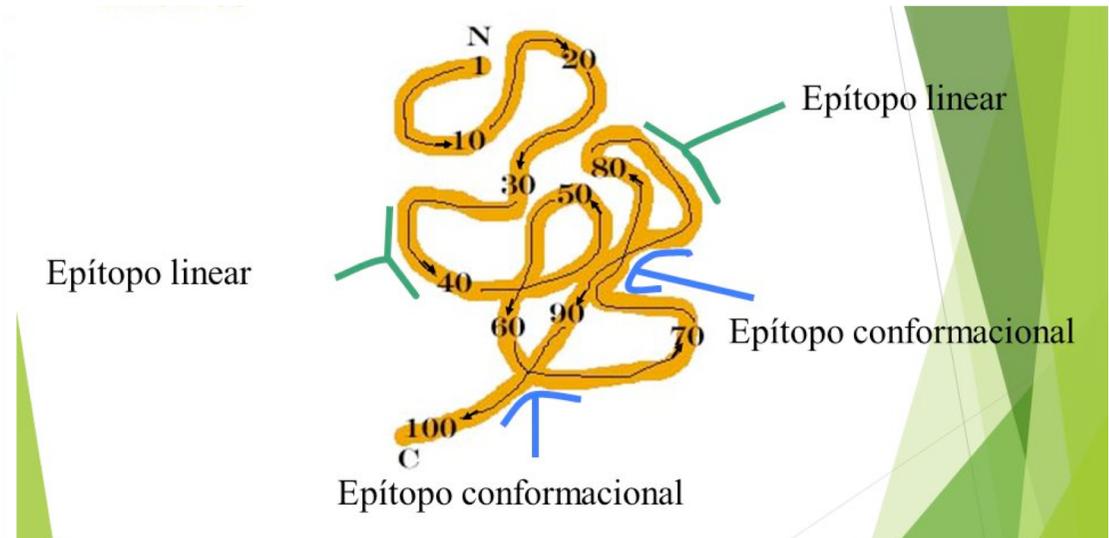
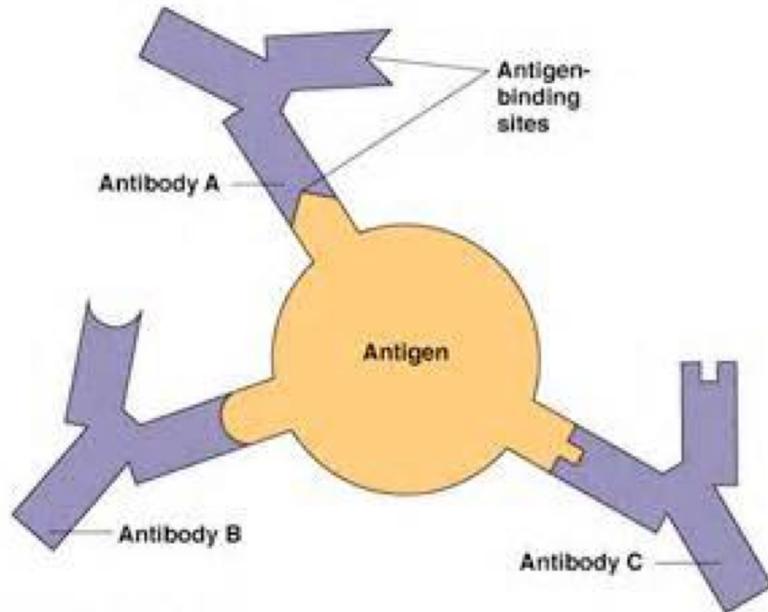
Afinidade ao antígeno pode ser “melhorada” durante a resposta

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

# Reconhecimento na Imunidade adquirida

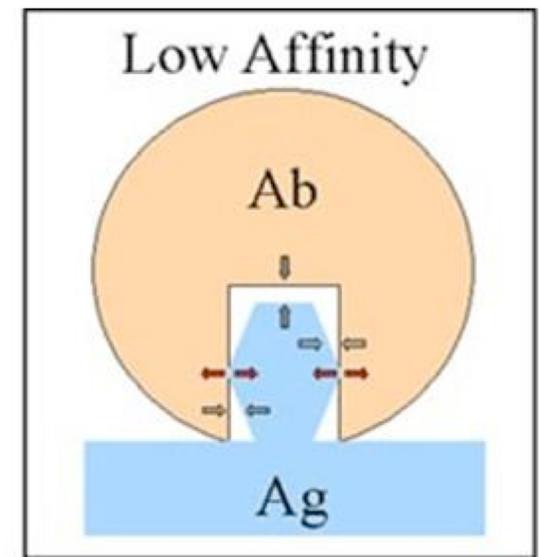
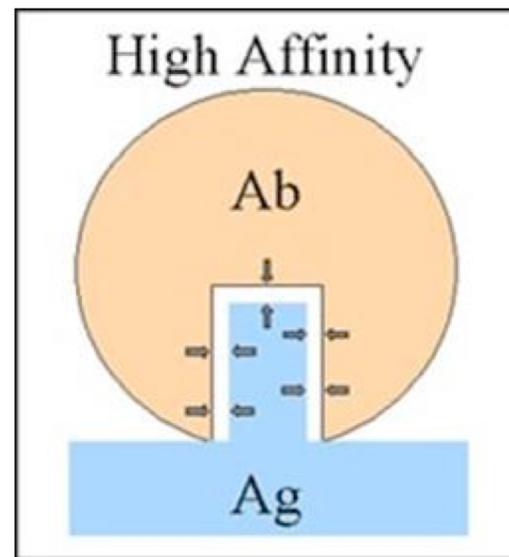
	Innate immunity	Adaptive immunity
Specificity	<p><b>For pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)</b></p> <p>Different microbes</p> <p>Identical mannose receptors</p> 	<p><b>For structural details of any molecules (antigens)</b></p> <p>Different microbes</p> <p>Distinct antibody molecules</p> 
Receptors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

# Antígenos & epítopos



## AC/BCR reconhecem

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







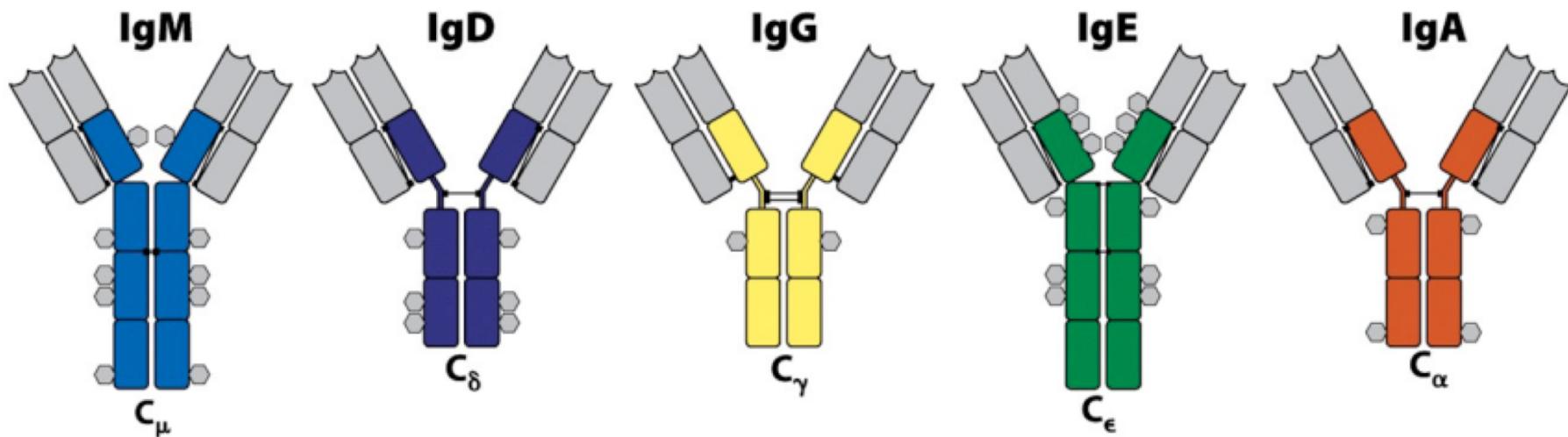
# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

## CADEIAS PESADAS e REGIAO CONSTANTE DO AC

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

- Cadeia  $\mu$   $\rightarrow$  IgM
- Cadeia  $\delta$   $\rightarrow$  IgD
- Cadeia  $\gamma$   $\rightarrow$  IgG ( $\gamma$ 1-4  $\rightarrow$  IgG1-4)
- Cadeia  $\epsilon$   $\rightarrow$  IgE
- Cadeia  $\alpha$   $\rightarrow$  IgA ( $\alpha$ 1=IgA1 e  $\alpha$ 2=IgA2)

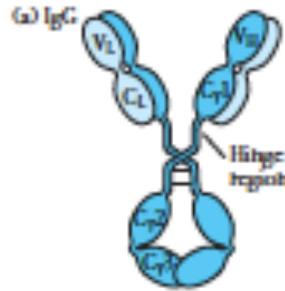
**Isotipos  $\rightarrow$  classe do AC**



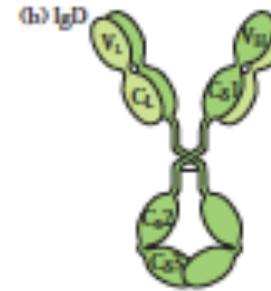
# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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

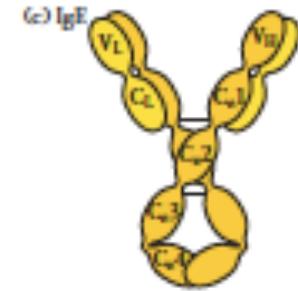
**IgG**



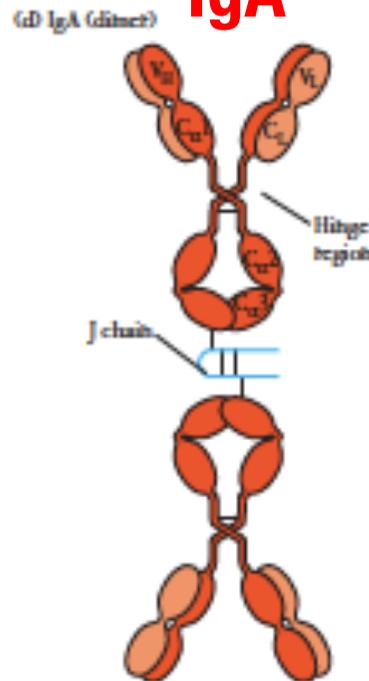
**IgD**



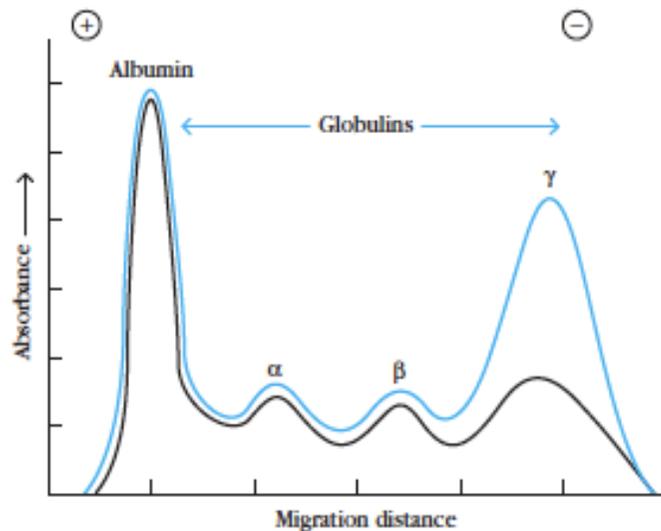
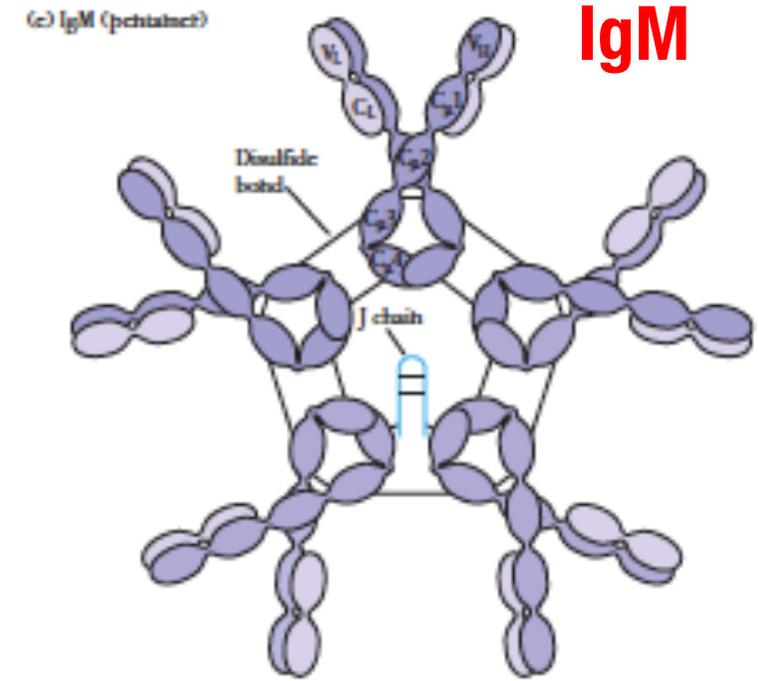
**IgE**



**IgA**

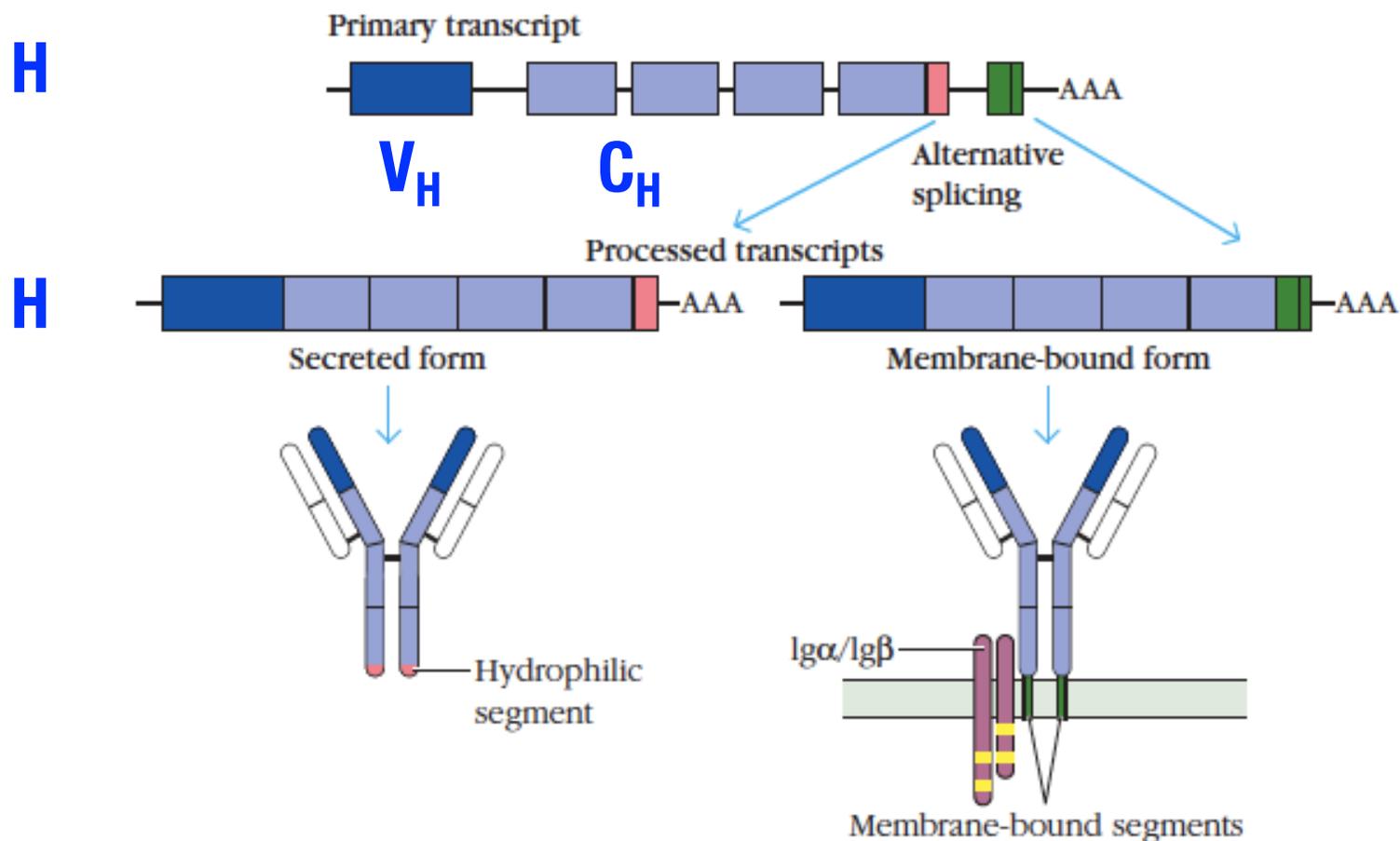


**IgM**

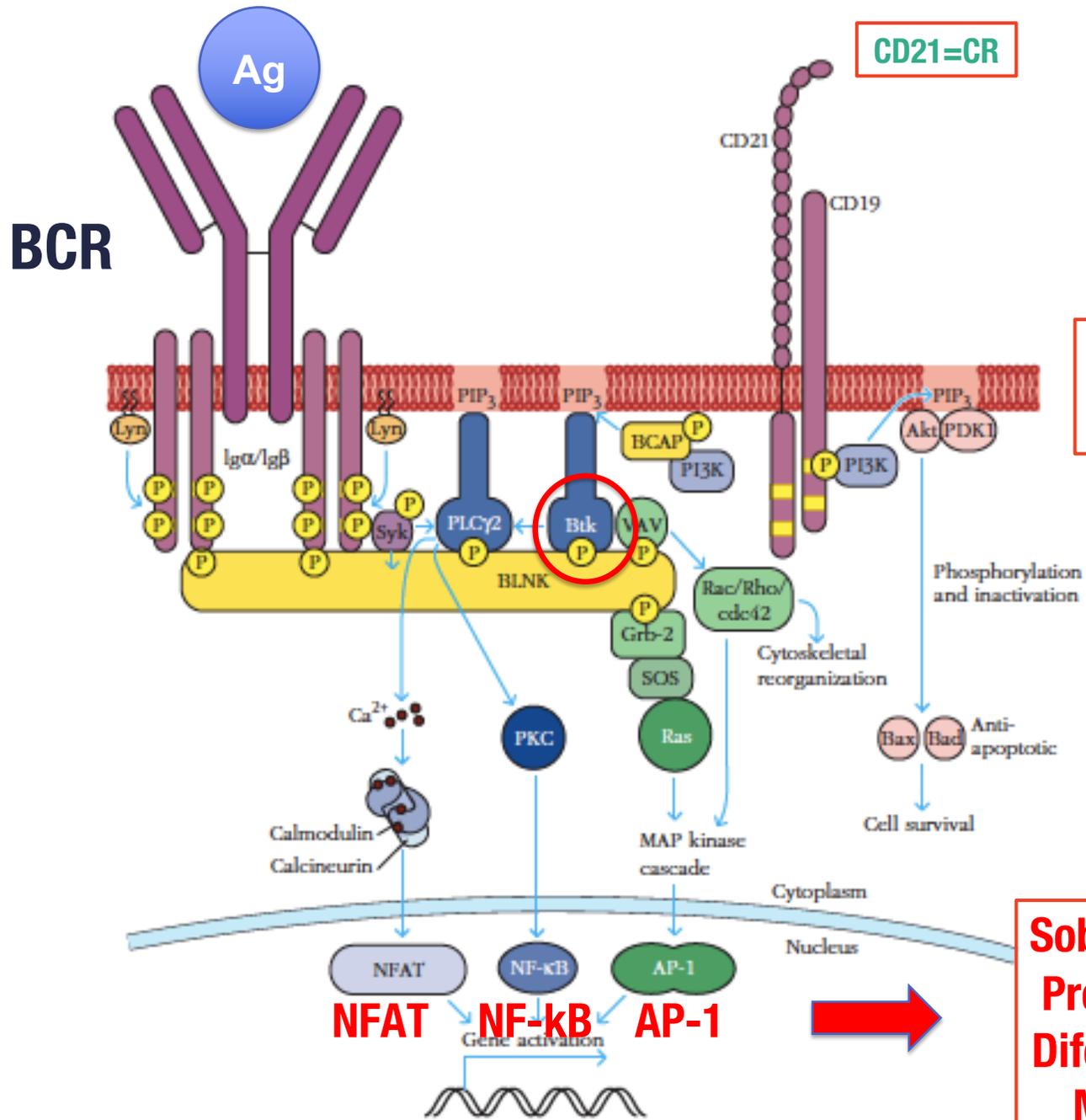


# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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



# BCR (linfocitos B)



CD21=CR

Mutações em Btk  
=>  
Agamaglobulinemia

Sobrevivencia  
Proliferação  
Diferenciação  
Migração

# Origem da especificidade

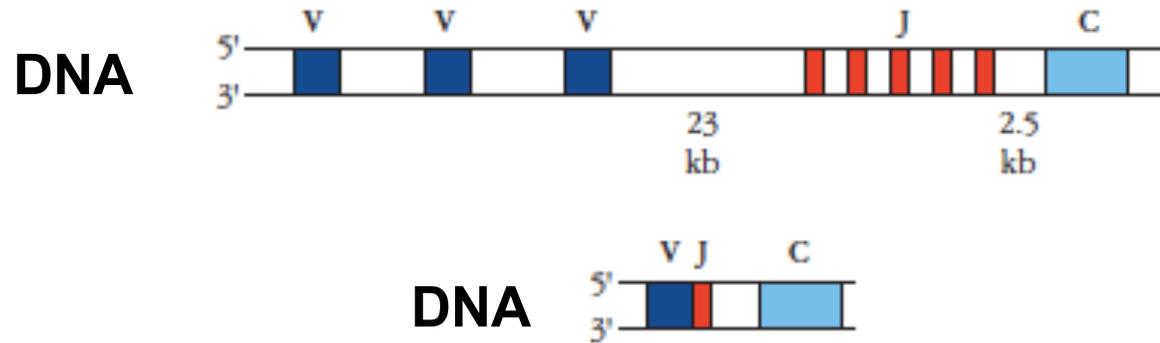
Como os rec com uma infinidade de especificidades são codificados por um n finito de genes?

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

**RECOMBINACAO SOMATICA +  
HIPERMUTACAO SOMATICA**

# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

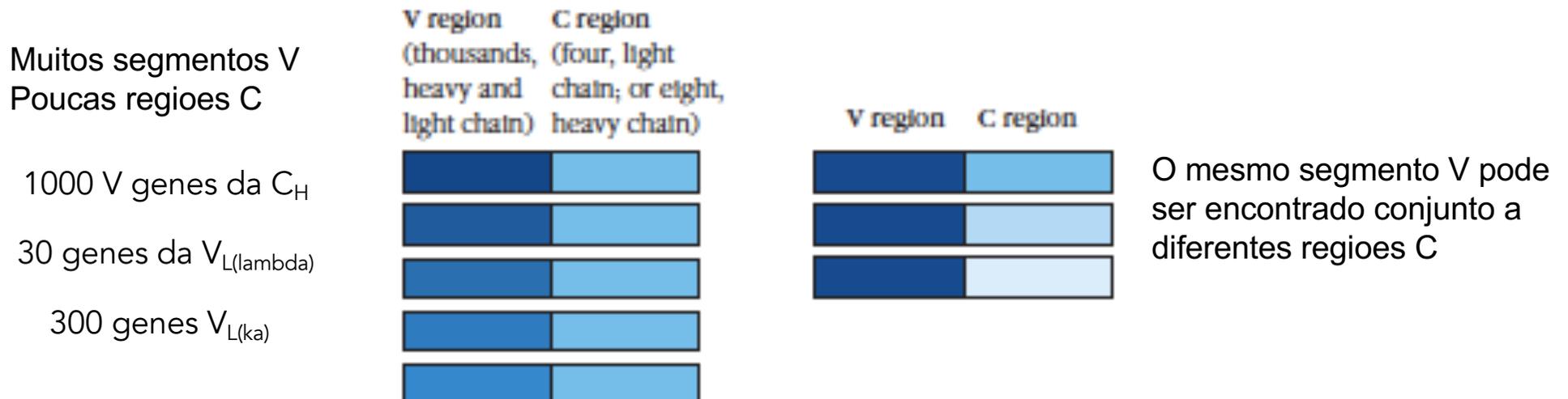


Linfocito B em desenvolvimento

Linfocito B pronto

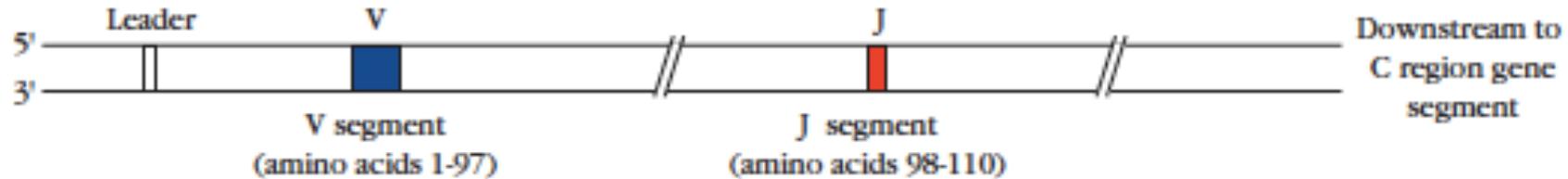
## RECOMBINACAO SOMATICA DA CADEIA LEVE

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

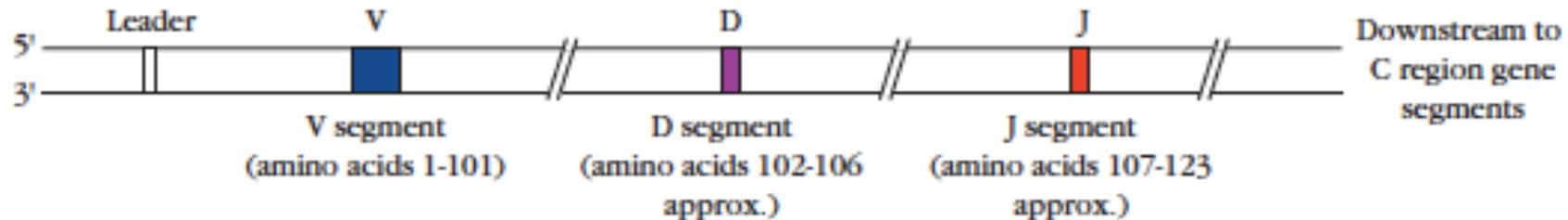


# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

(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

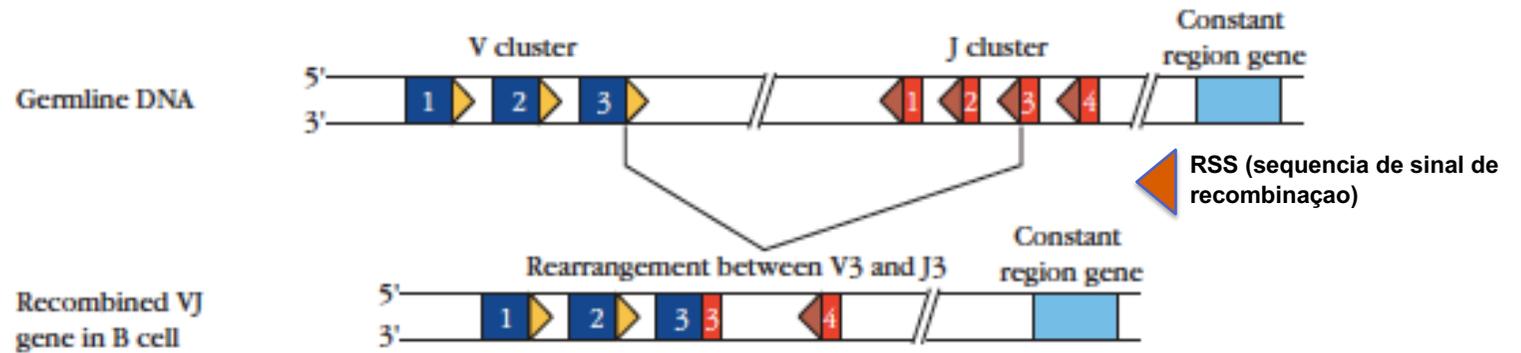
# Anticorpos e BCR (linfocitos B)

**TABLE 7-4** Combinatorial antibody diversity in humans

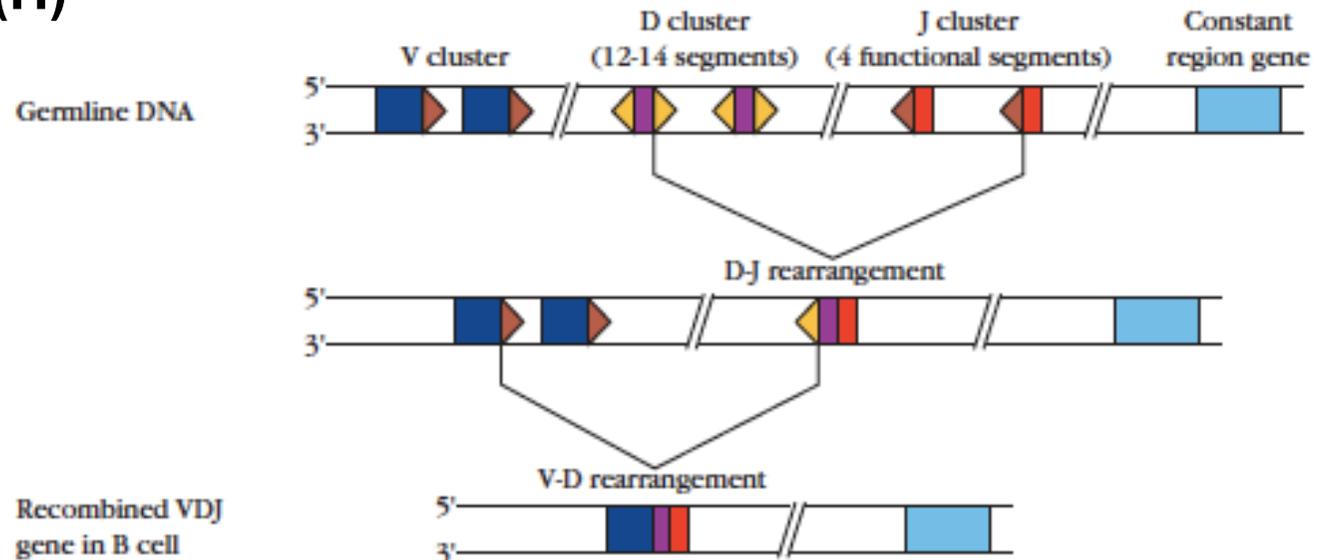
Nature of segment	Number of heavy-chain segments (estimated)	Number of $\kappa$ -chain segments (estimated)	Number of $\lambda$ -chain segments (estimated)
V	41	41	33
D	23		
J	6	5	5
Possible number of combinations	$41 \times 23 \times 6 = 5658$	$41 \times 5 = 205$	$30 \times 5 = 165$
Possible number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

# Mecanismo de recombinação

## Cadeia leve (L)

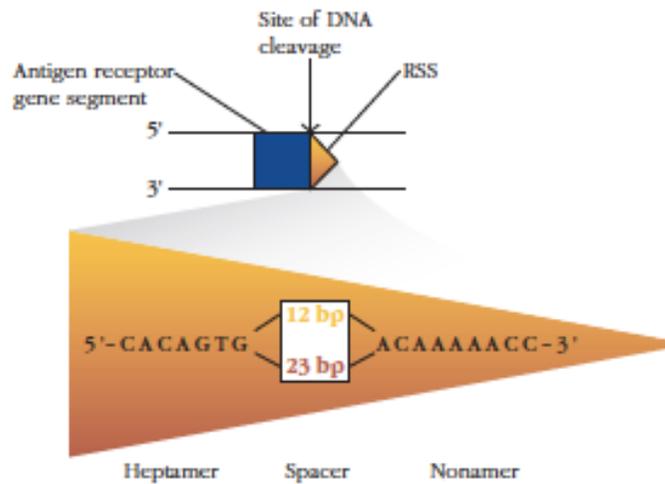


## Cadeia pesada (H)

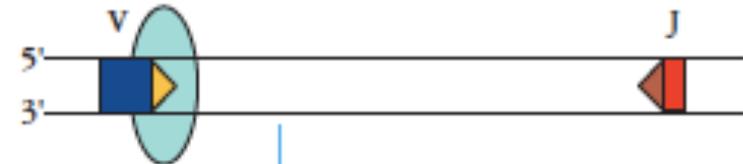


# Mecanismo de recombinação

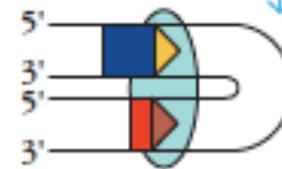
RSS (sequencia de sinal de recombinação)



Binding of RAG1/2, HMG proteins



Synapsis



**RAG1/2**

RAG1/2  
HMG proteins

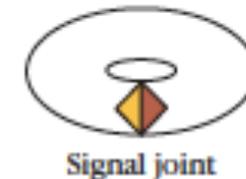
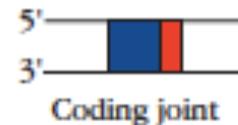
Cleavage and processing of signal and coding joints



Artemis  
TdT  
DNA ligase IV  
NHEJ proteins

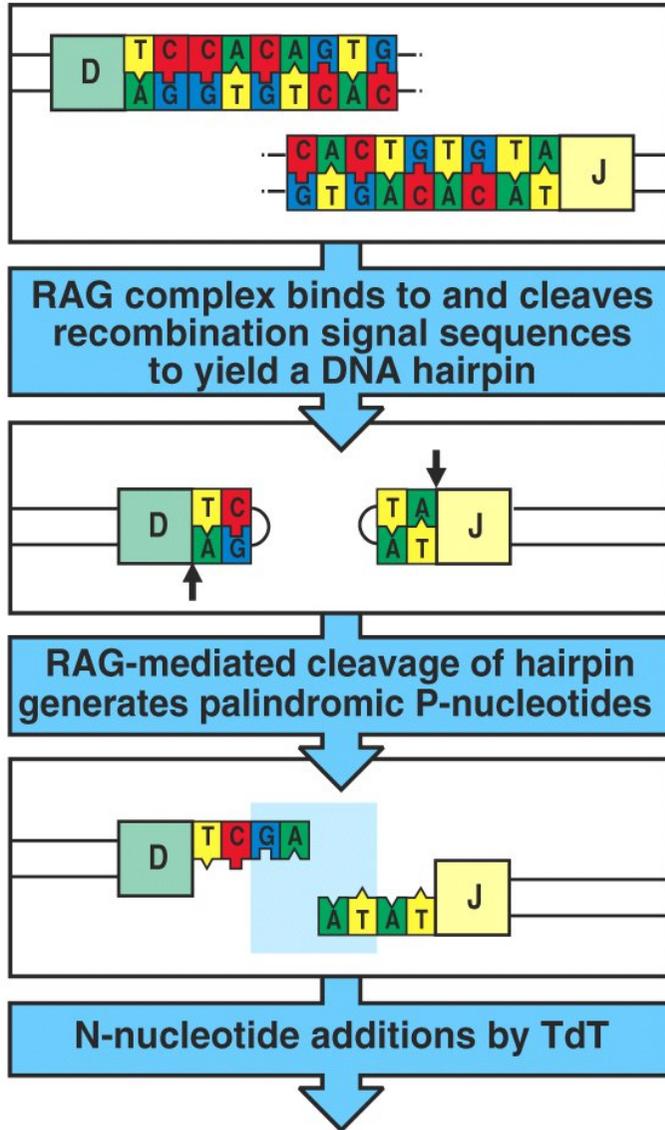
**TdT**

Generation of functional Ig variable region gene



# Mecanismo de recombinação

**RAG1/2**



**TdT**

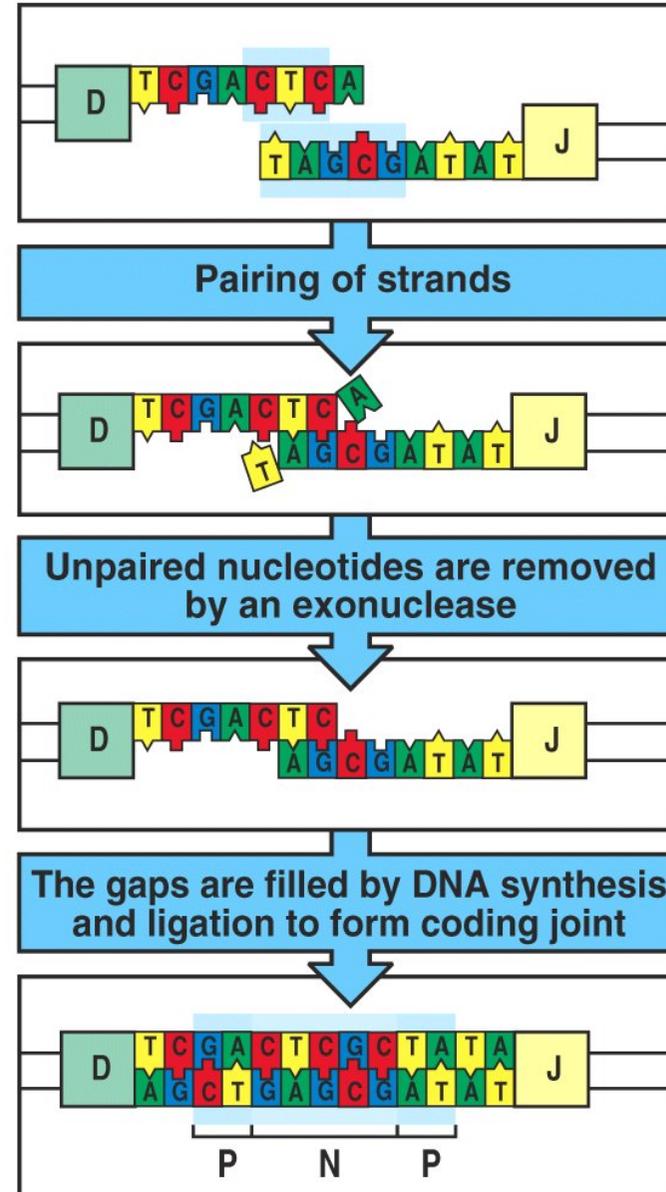
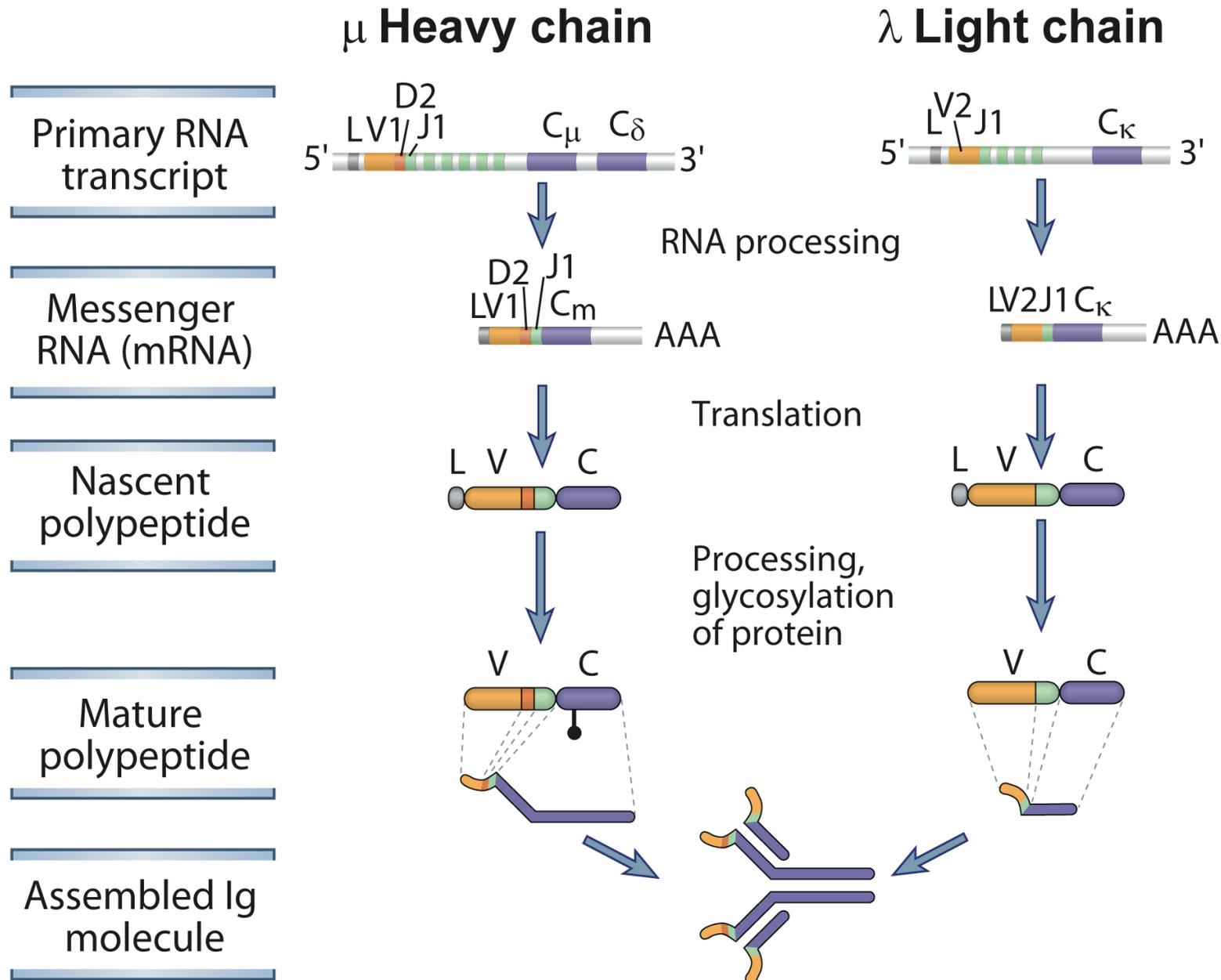


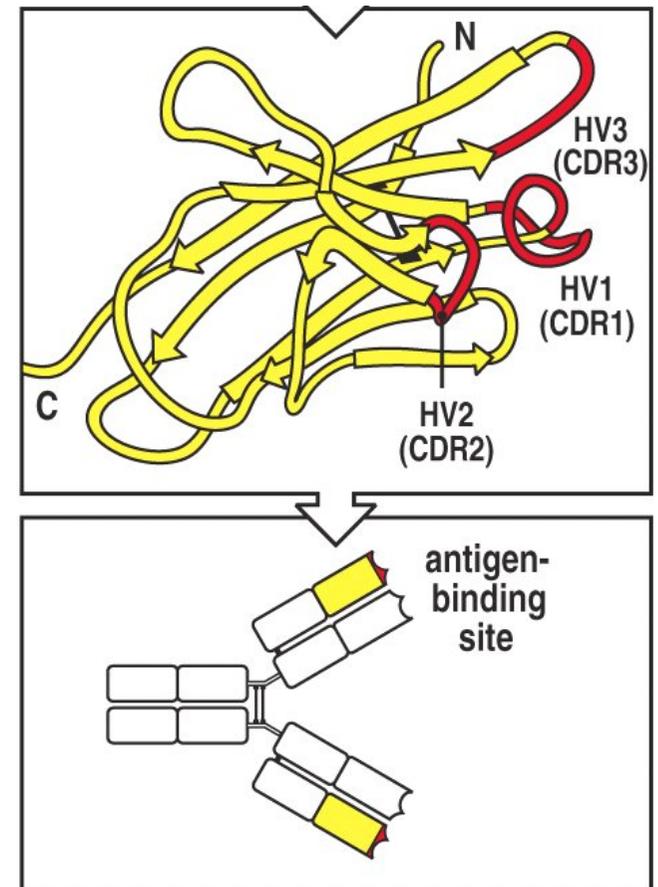
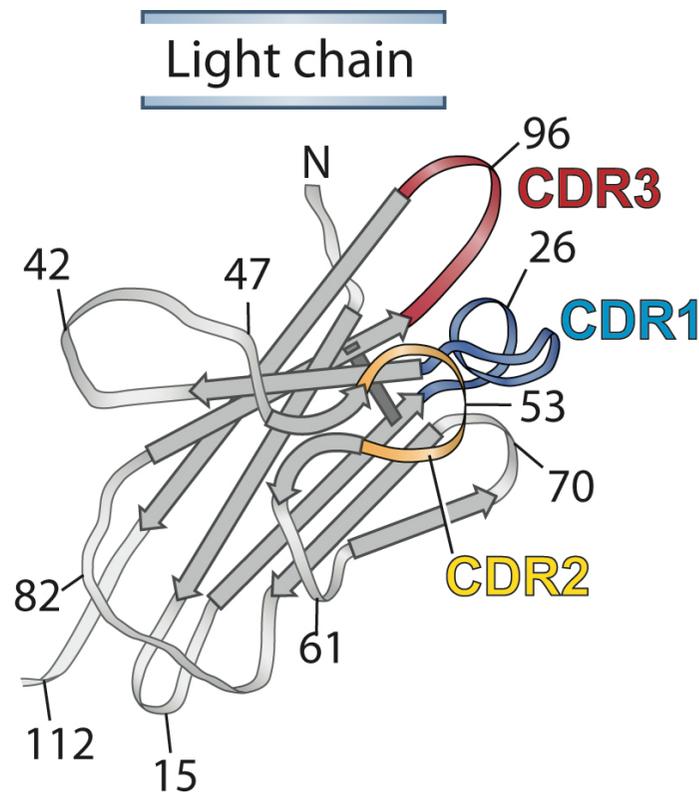
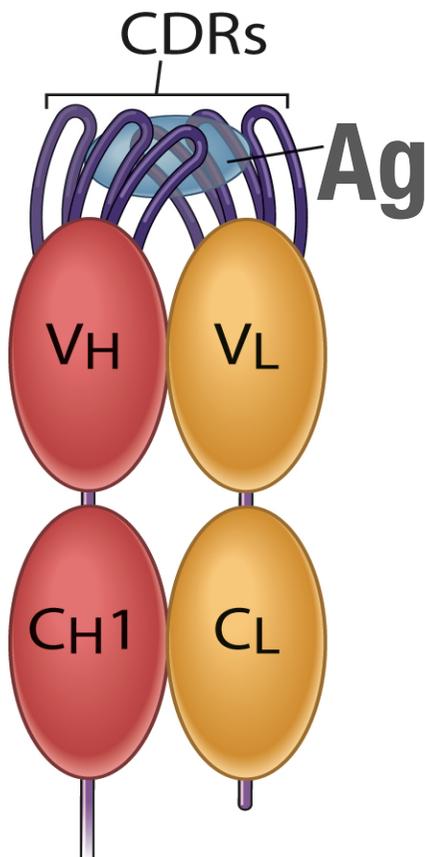
Figure 4-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Recombinação & síntese de AC



# CDRs e hipervariabilidade

Segmentos hipervariáveis ( $\approx 10$  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

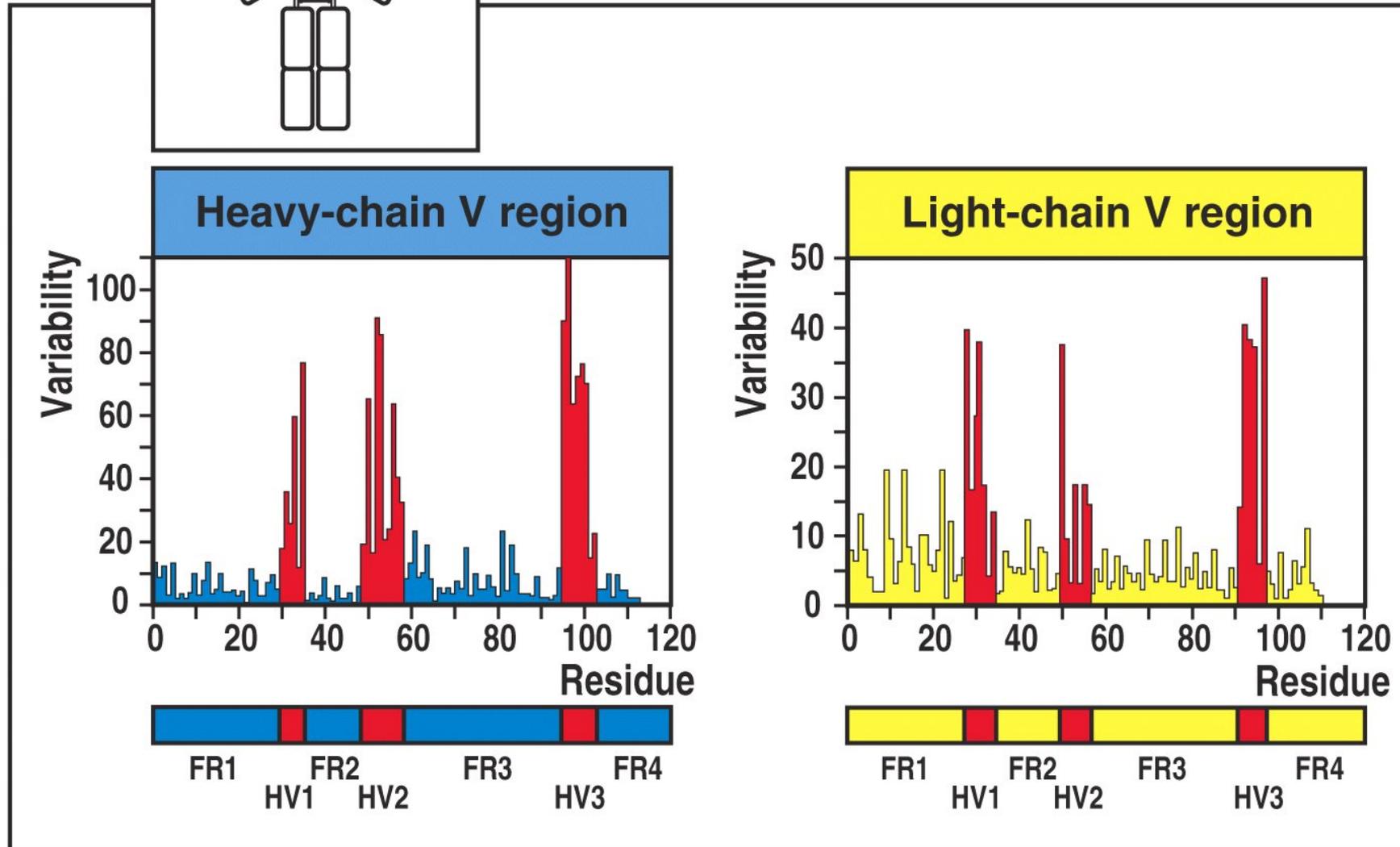
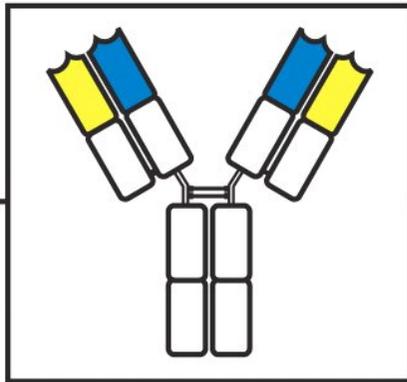
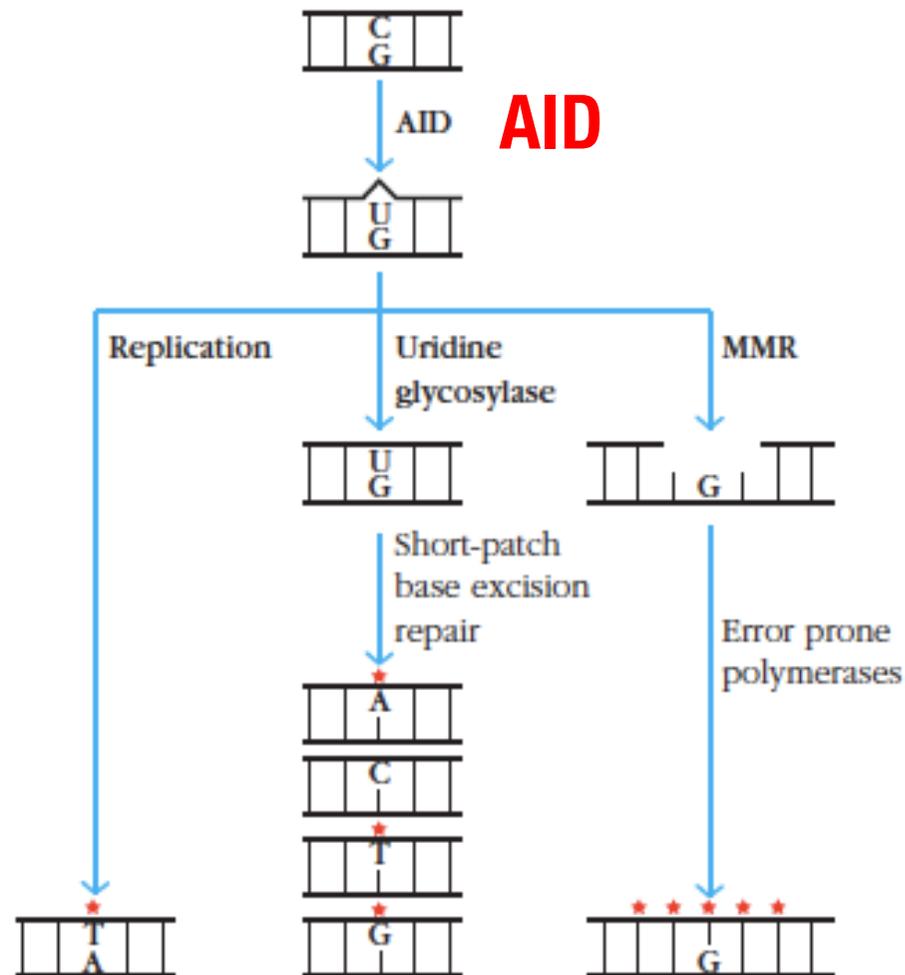


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# 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

**+**

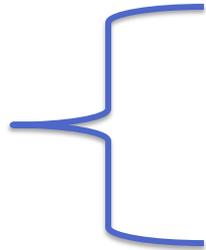
## **HIPERMUTACAO SOMATICA**

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

**Ampla repertório de linfocitos B Ag-específicos**

# Reconhecimento nos Linfocitos T

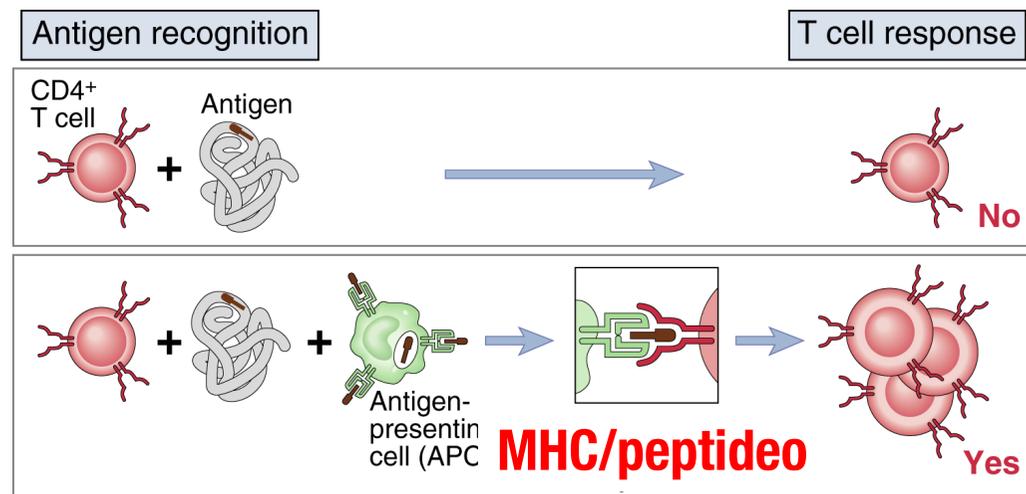
Linfocitos T



**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)

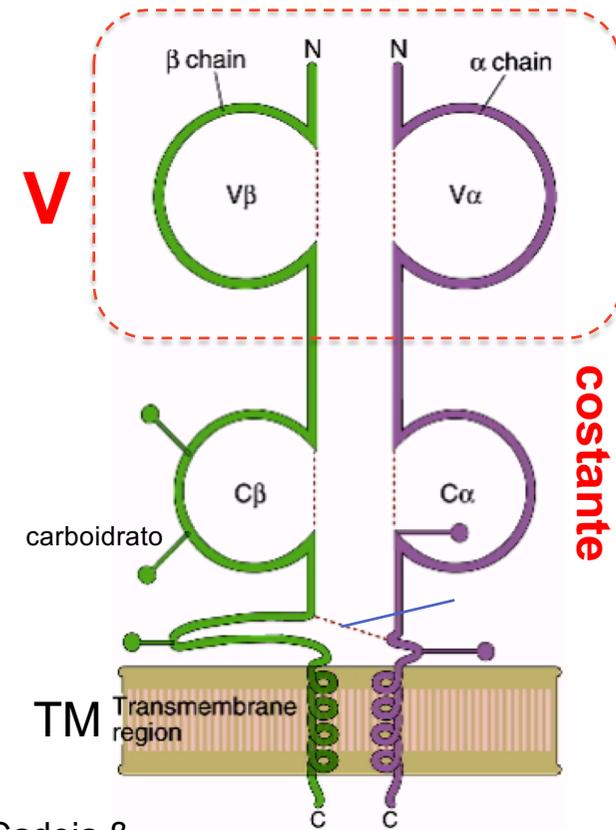
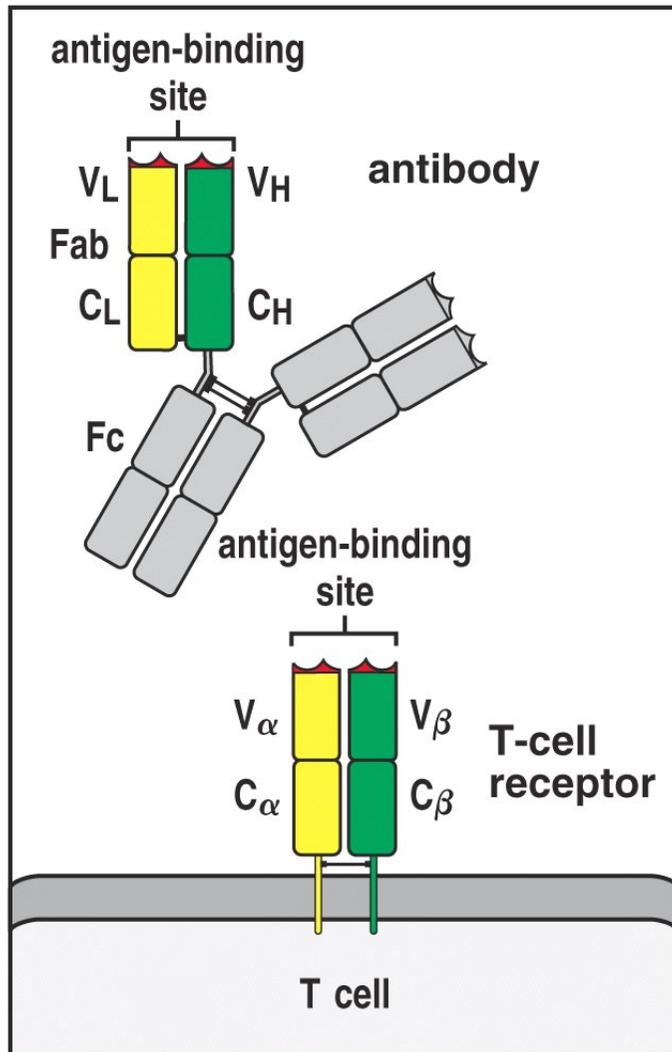
- TCR reconhece
- indiretamente
- Peptideos no MHC
- Epitopo linear



# 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  $\alpha$**

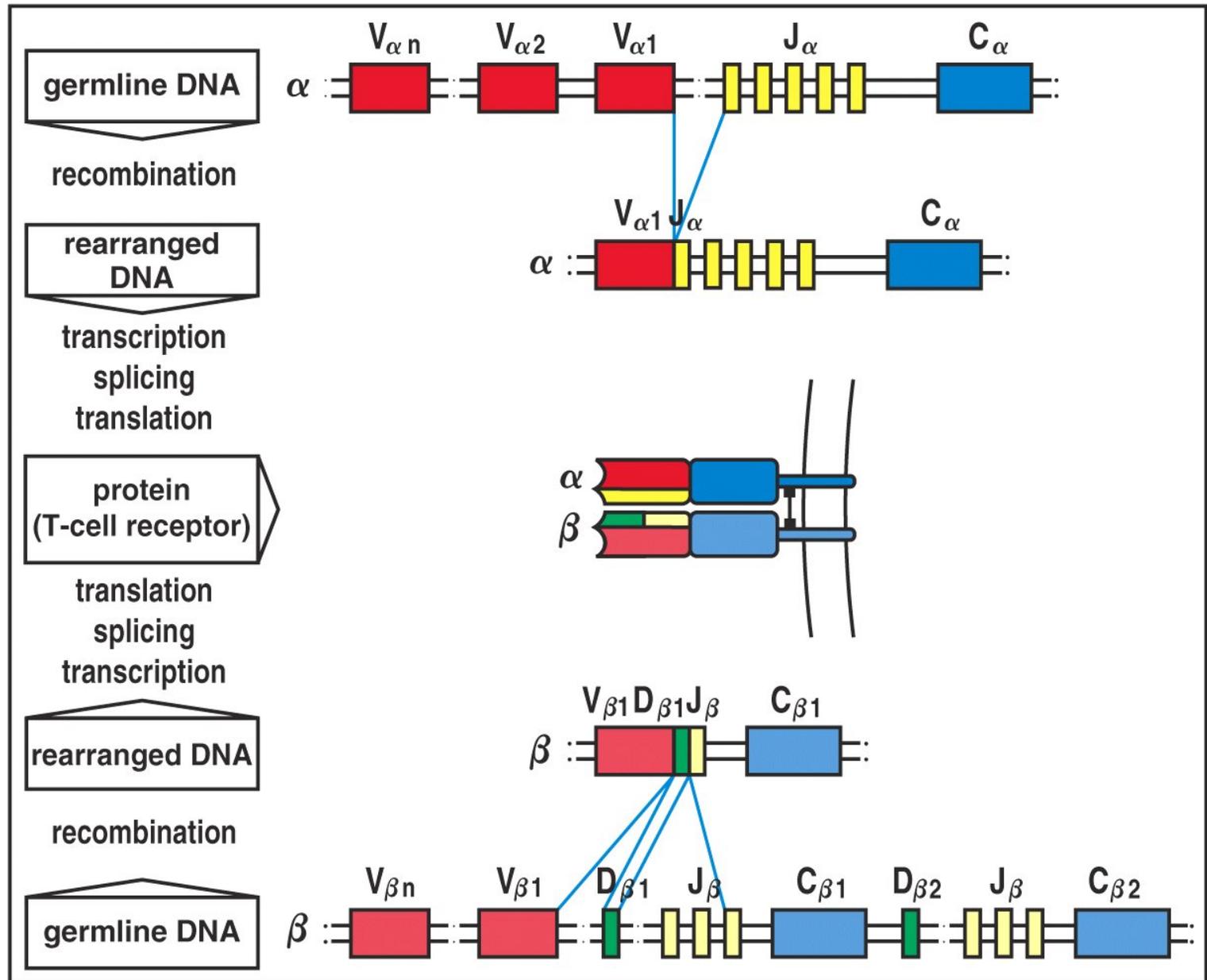


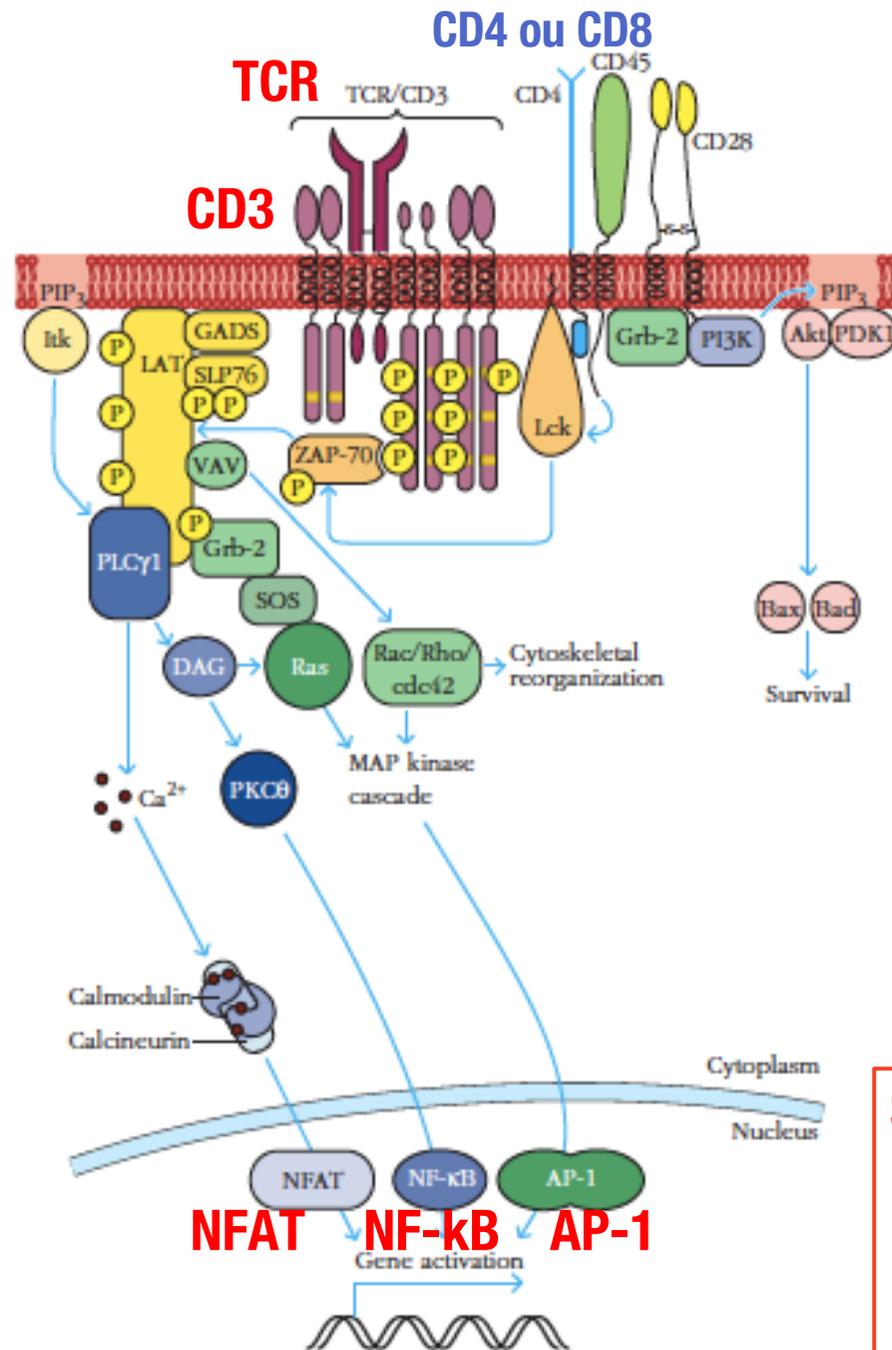
Figure 4-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# TCR (linfocitos T)

Element	Immunoglobulin		$\alpha:\beta$ T-cell receptors	
	H	$\kappa + \lambda$	$\beta$	$\alpha$
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( $\kappa$ ) 4( $\lambda$ )	13	61
Joints with N- and P-nucleotides	2	50% of joints	2	1
Number of V gene pairs	1.9 x 10 <sup>6</sup>		5.8 x 10 <sup>6</sup>	
Junctional diversity	~3 x 10 <sup>7</sup>		~2 x 10 <sup>11</sup>	
Total diversity	~5 x 10 <sup>13</sup>		~10 <sup>18</sup>	

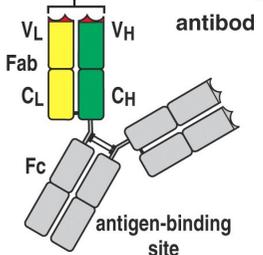
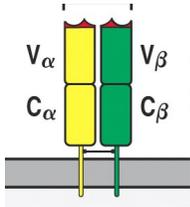
Figure 4-13 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# TCR (linfocitos T)



**Sobrevivencia**  
**Proliferação**  
**Diferenciação**  
**Migração**

# Receptores de linfocitos

	<p><b>BCR</b></p> 	<p><b>TCR</b></p> 
<b>Sítio de ligação do Ag</b>	Constituído por 3 CDRs em V <sub>H</sub> 3 CDRs em V <sub>L</sub>	Constituído por 3 CDRs em V <sub>α</sub> 3 CDRs em V <sub>β</sub>
<b>Natureza do Ag reconhecido</b>	Macromoléculas (proteínas, lipídeos, polisacarídeos) e pequenos químicos	Complexos peptídeo-MHC
<b>Natureza do epítipo reconhecido</b>	Lineare e determinantes conformacionais de várias macromoléculas e químicos	Determinantes lineares de peptídeos; apenas 2 ou 3 AA do peptídeos ligam o MHC
<b>Afinidade de ligação</b>	K <sub>d</sub> =10 <sup>-7</sup> -10 <sup>-11</sup> M Afinidade aumenta durante a resposta imune	K <sub>d</sub> =10 <sup>-5</sup> -10 <sup>-7</sup> M