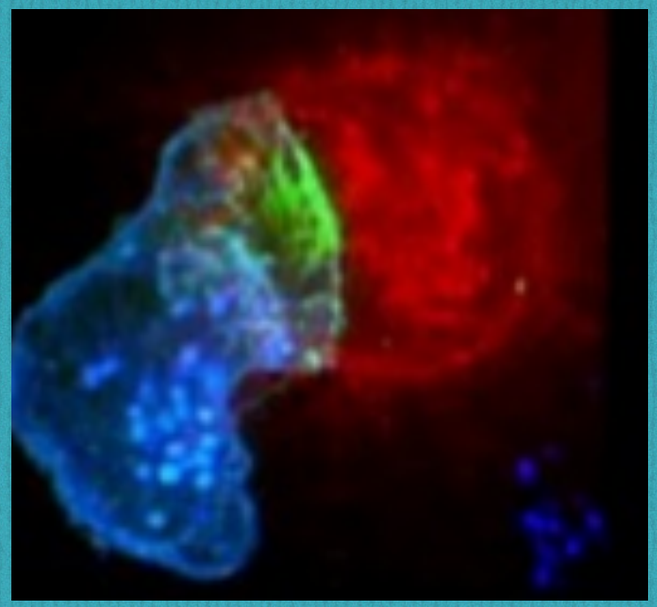
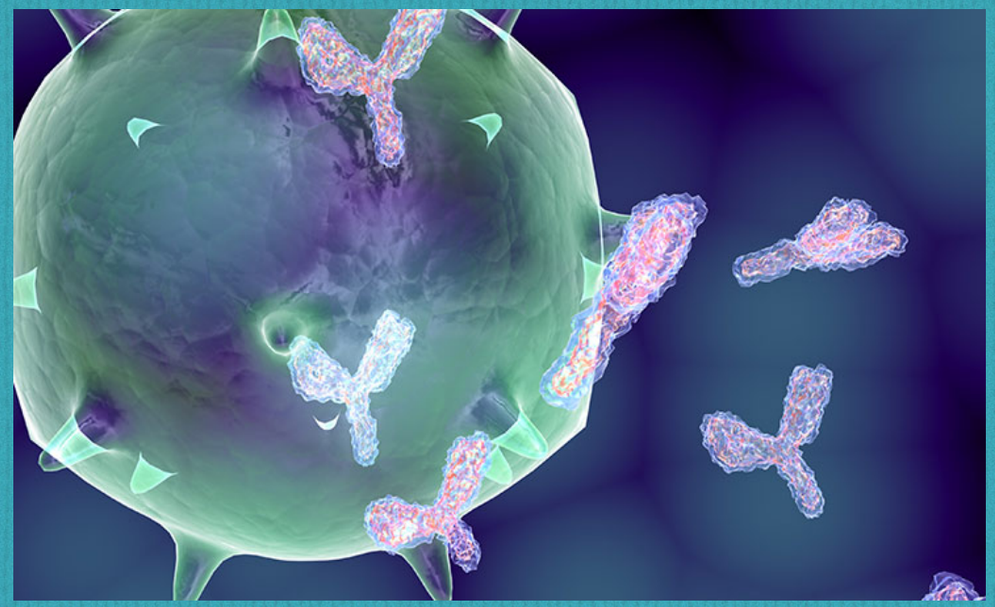
Curso de Ciencias Biologicas
Disciplina BMI-296 – Imunologia basica



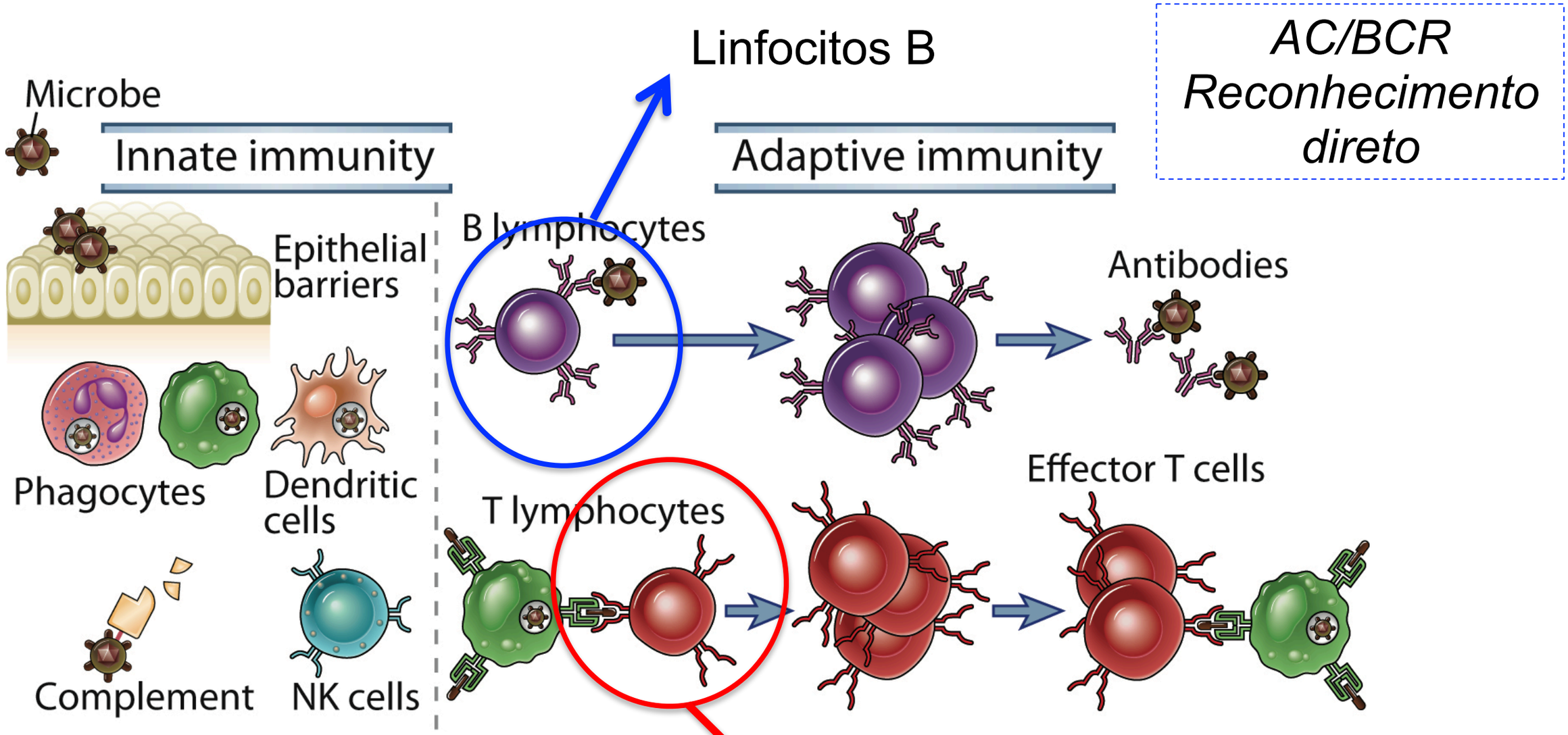


Aula 5 – Anticorpos & Receptores de linfocitos

Alessandra Pontillo

Lab. Imunogenetica/Dep.Imunologia/ICB/USP

Imunidade adquirida

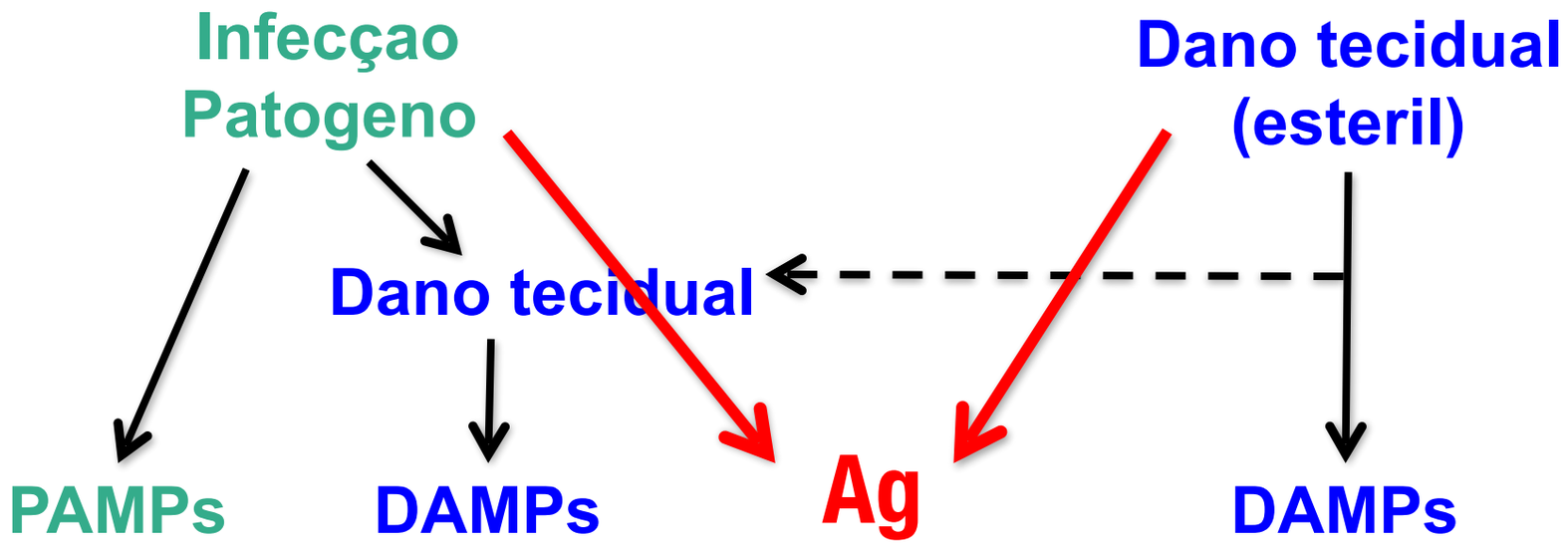


AC/BCR
Reconhecimento direto

TCR
Reconhecimento mediado pelo MHC

Linfocitos T
- helper (Th); CD4+
- citotoxicos (CTL); CD8+

Reconhecimento



Sistema imune adaptativo

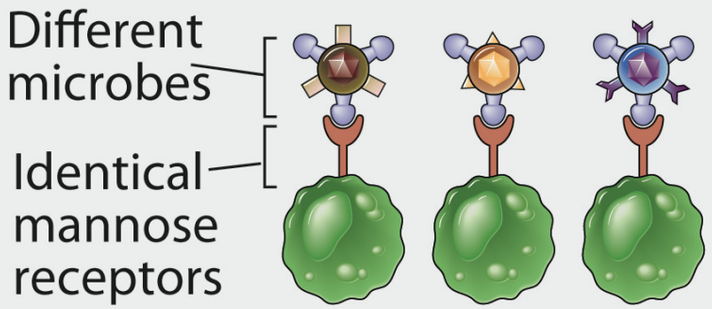
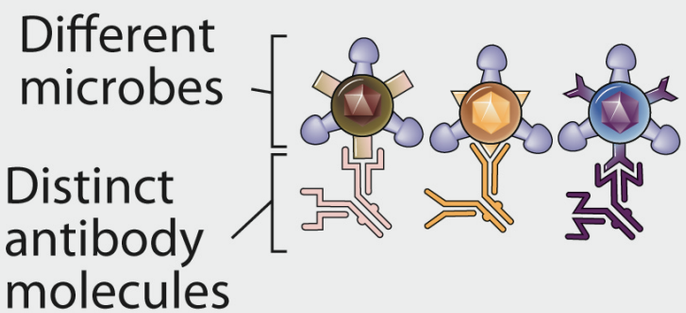
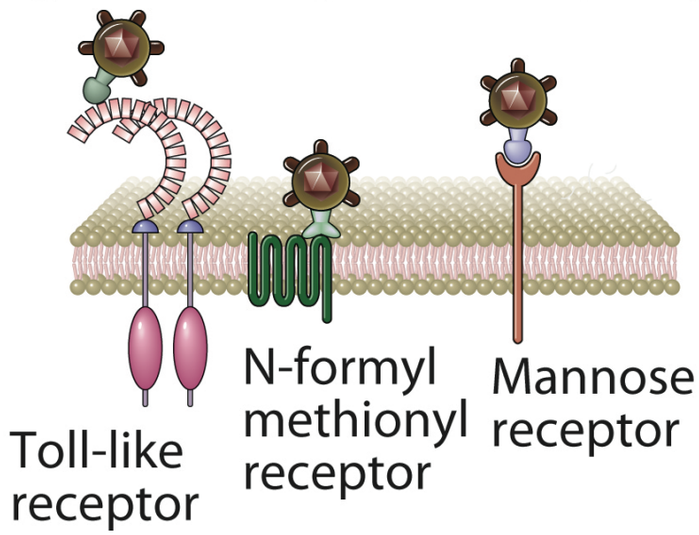
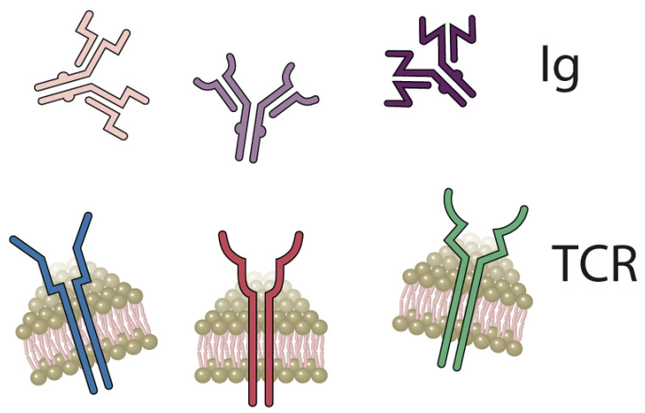
Reconhecimento altamente especifico de antigenos/epitopos

1 celula = 1 especificidade

Afinidade ao antigeno pode ser “melhorada” durante a resposta

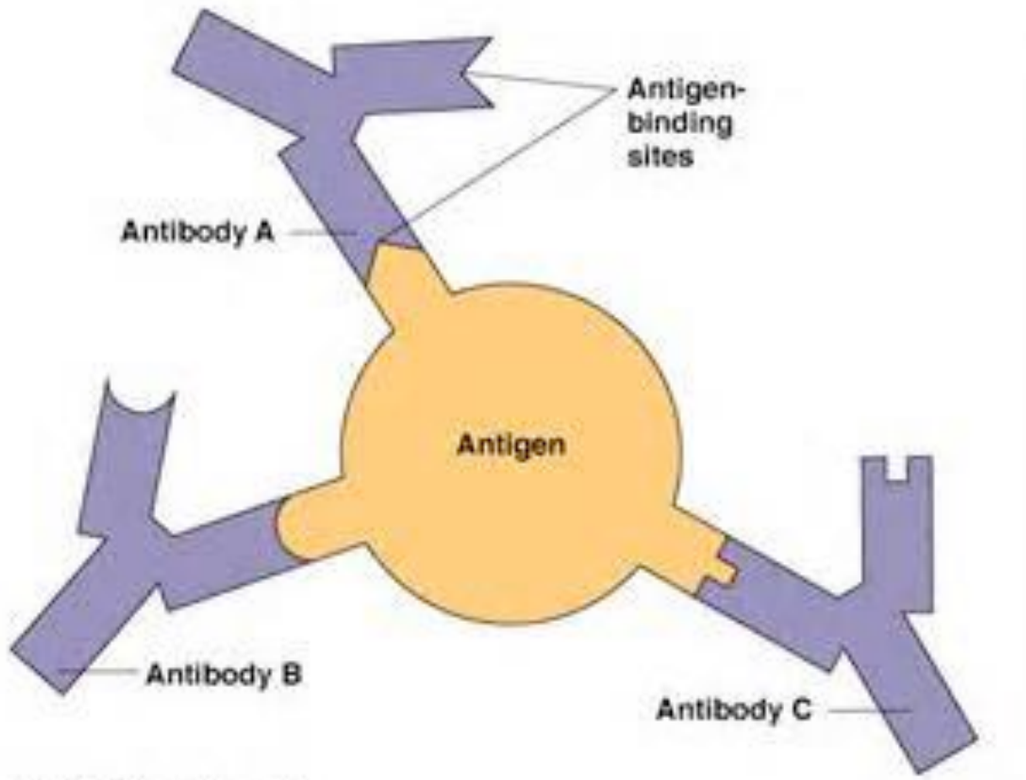
Receptores de reconhecimento de Ag: AC/BCR e TCR

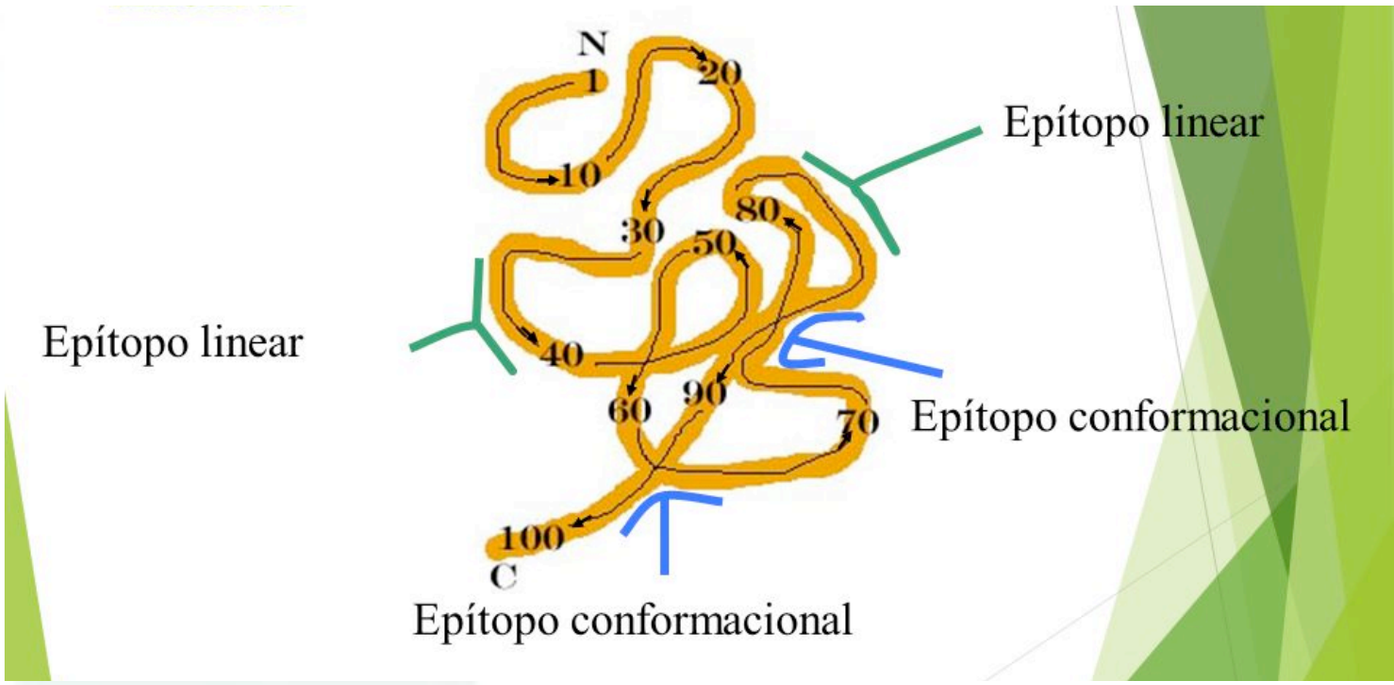
Reconhecimento na Imunidade adquirida

	Innate immunity	Adaptive immunity
Specificity	**For pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)** 	**For structural details of any molecules (antigens)** 
Receptors	**Encoded in germline (pattern recognition receptors)** 	**Encoded by lymphocyte genes produced by somatic recombination** 
Distribution of receptors	**Non-clonal**	**Clonal**

Abbas 7th

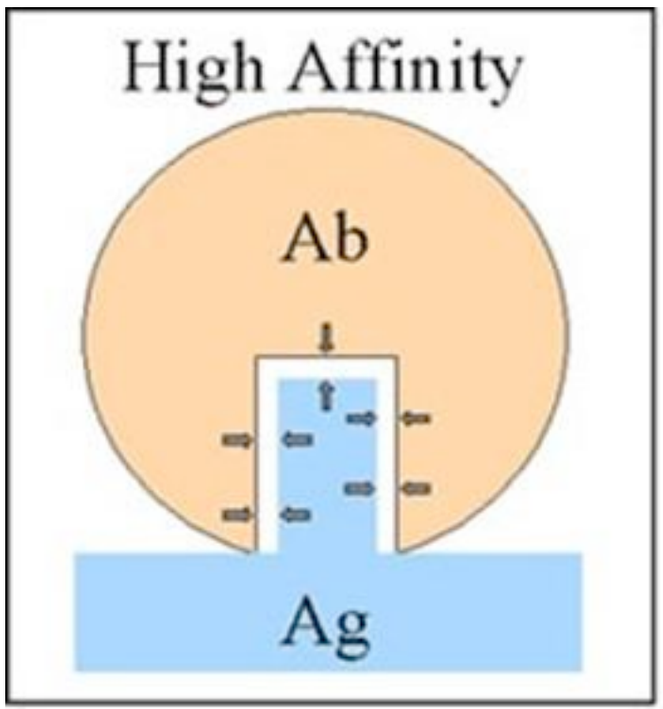
Antigenos & epitopos

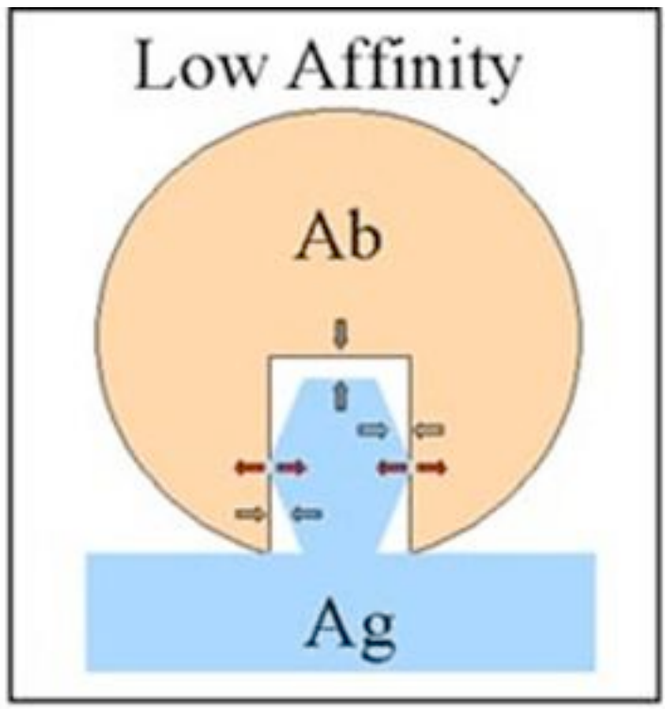




AC/BCR reconhecem

- proteinas, polissacarideos, acidos nucleicos
- Epitopo linear ou conformacional



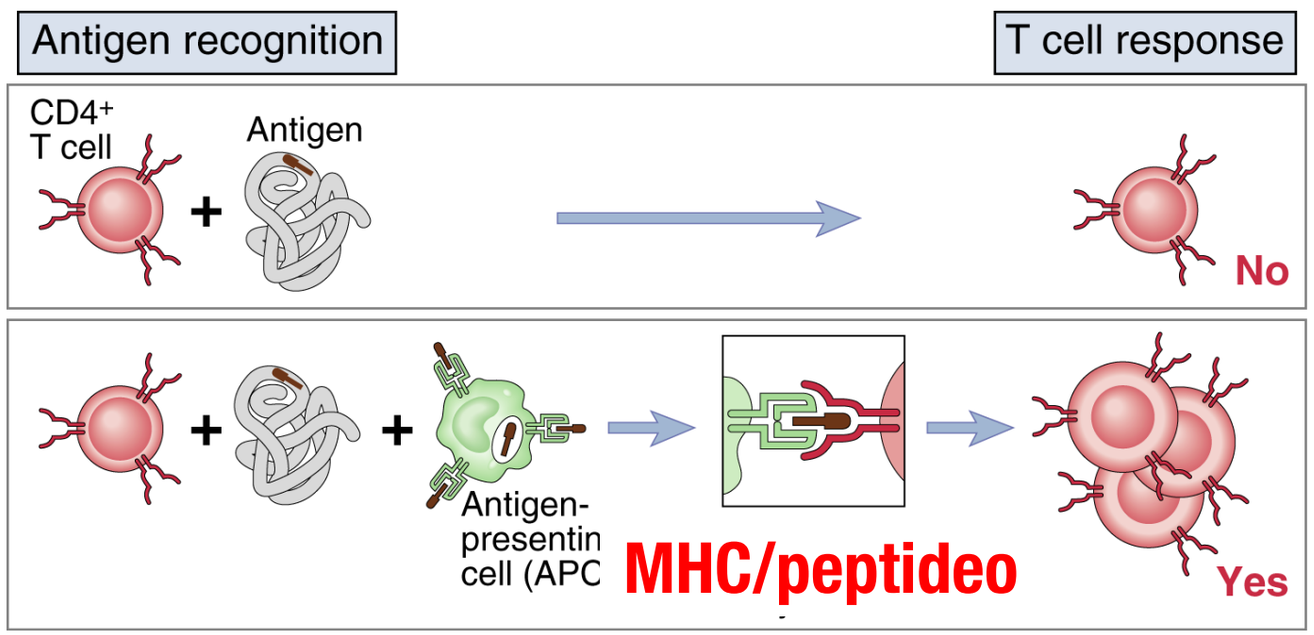


Reconhecimento nos Linfocitos T

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



Reconhecimento nos Linfocitos T

O TCR é um heterodimero: 2 cadeias polipeptidicas

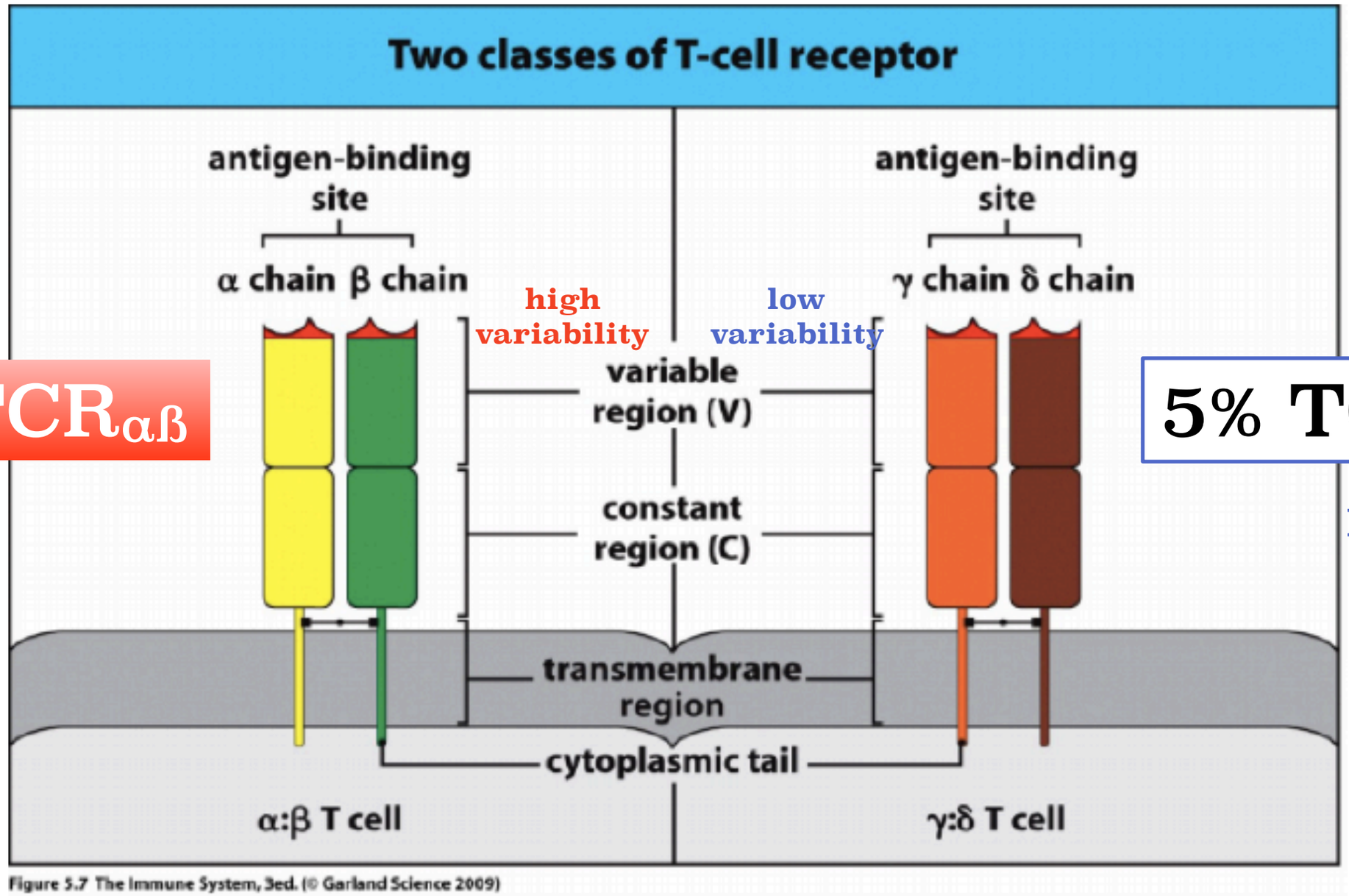


Figure 5.7 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

95% $TCR_{\alpha\beta}$

5% $TCR_{\gamma\delta}$

Epithelium Mucosas

$TCR_{\alpha\beta}$ (receptor da cell T tipo αß)

Heterodimero de superficie: 2 cadeias polipeptidicas (α e ß)

Porção Variável (V) das 2 cadeias = Interaçao com MHC/Ag

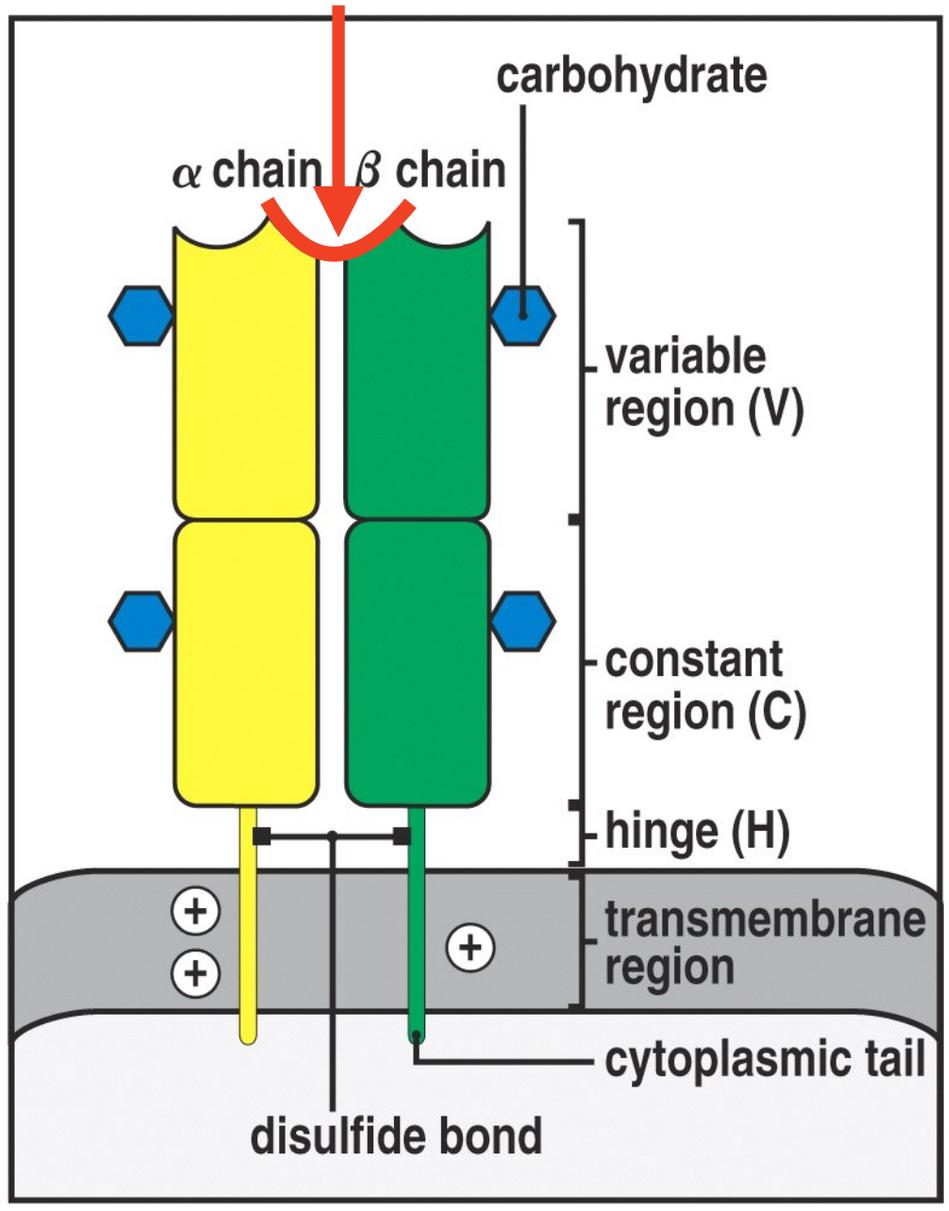


Figure 3-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

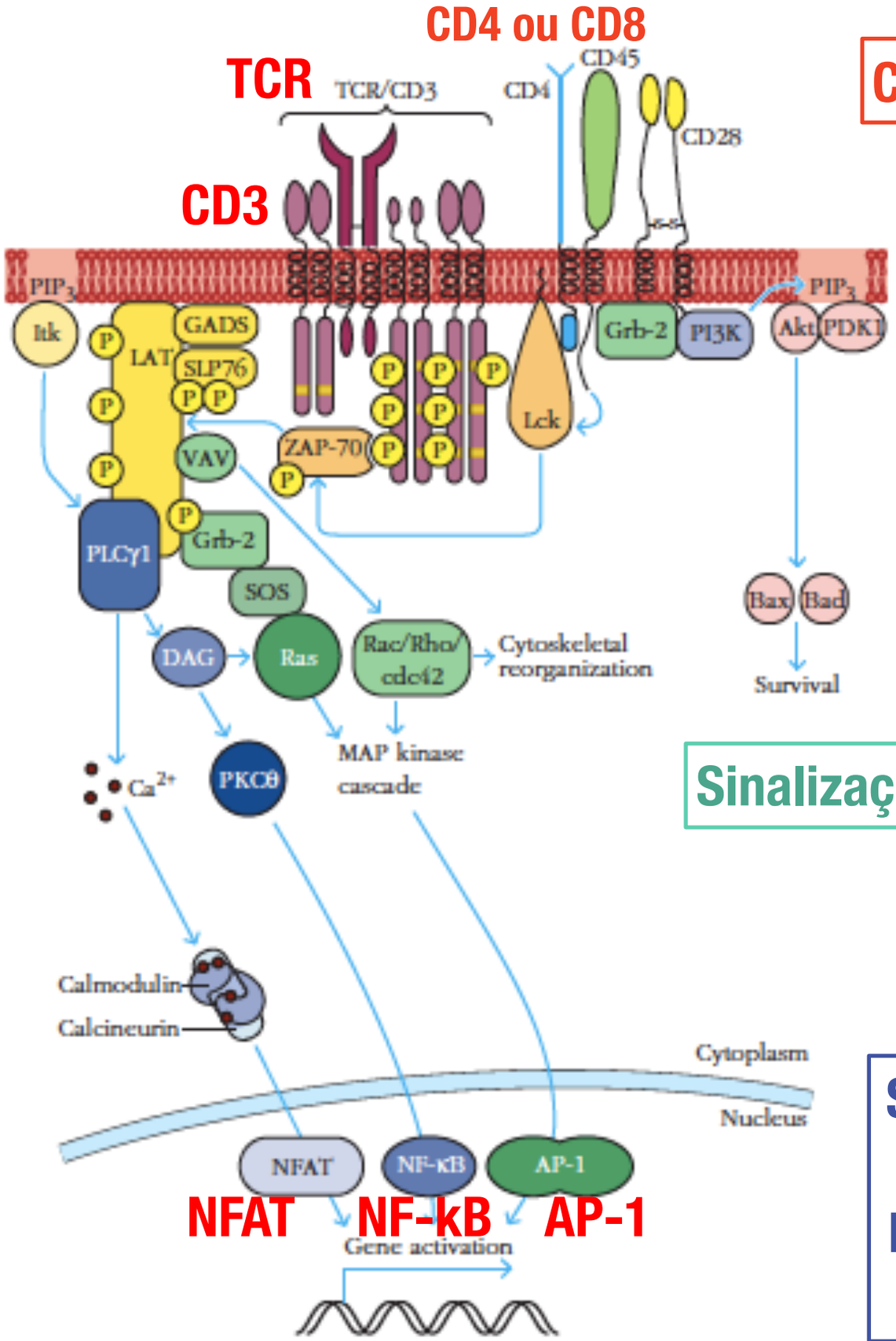
- ✓ Região variável =Sitio de ligação de MHC/Ag (único)
- ✓ Elevada variabilidade (aminoacidica) do sitio de ligação com MHC/Ag (10^{18} diferentes Ag!!) = elevada especificidade de reconhecimento
- ✓ Cada linfócito T possui apenas um TCR com uma especificidade de reconhecimento MHC/Ag

Complexo TCR$_{\alpha\beta}$

O TCR é sempre acompanhado da outras moléculas que auxiliam a sua função:

✓ **CD4** ou **CD8** reconhecem o tipo de MHC (-II ou -I, respectivamente)

✓ **CD3** e cadeia **ζ (zeta)** mediam a sinalização intracelular do linfócito T



Complexo TCR

Sinalização intracelular

Sobrevivência
Proliferação
Diferenciação
Migração

CD3 and ζ-chain accessory

Origem da especificidade do $TCR_{\alpha\beta}$

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do TCRαß (~10^{18} diferentes Ag!!)?

~ 2 x 10^4 genes que codificam para proteinas humanas

☞ **genoma humano não contem numero de genes suficiente...**

RECOMBINACAO SOMATICA DOS SEGMENTOS DE DNA CODIFICADORES PARA AS CADEIA α *(cr.14)* e ß *(cr.7)*

Organização dos *loci* α e ß do TCR

A região amino terminal variável (V) das cadeia **α** e ß é codificada em uma região do gene *TCRA* ou *TCRB* formada por vários segmentos genicos V, (D), J

Os segmentos genicos sofrem rearranjo (aleatório) durante o desenvolvimento do linfócito T para formar a sequencia codificadora da região V. Cada linfócito T maturo contem os genes *TCRA* e *TCRB* rearranjados para poder expressar apenas 1 tipo de região V.

TCRA (cromossomo14) —> Cadeia α

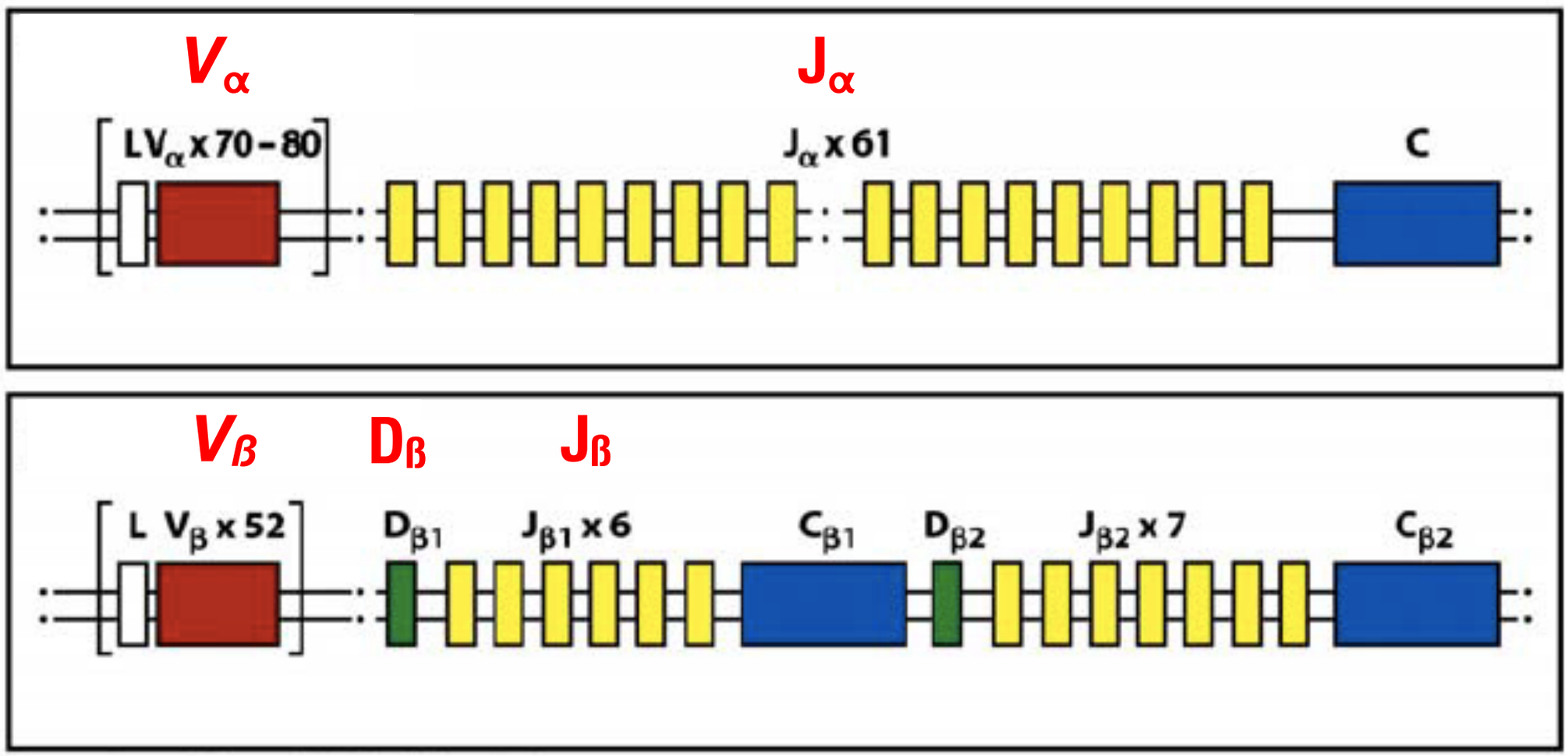


Figure 4-9 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

TCRB (cromossomo 7) —> Cadeia ß

Recombinação somatica do TCR$_{\alpha ß}$

Cadeia α

recombinaçao VJ

Cadeia ß

recombinaçao VDJ

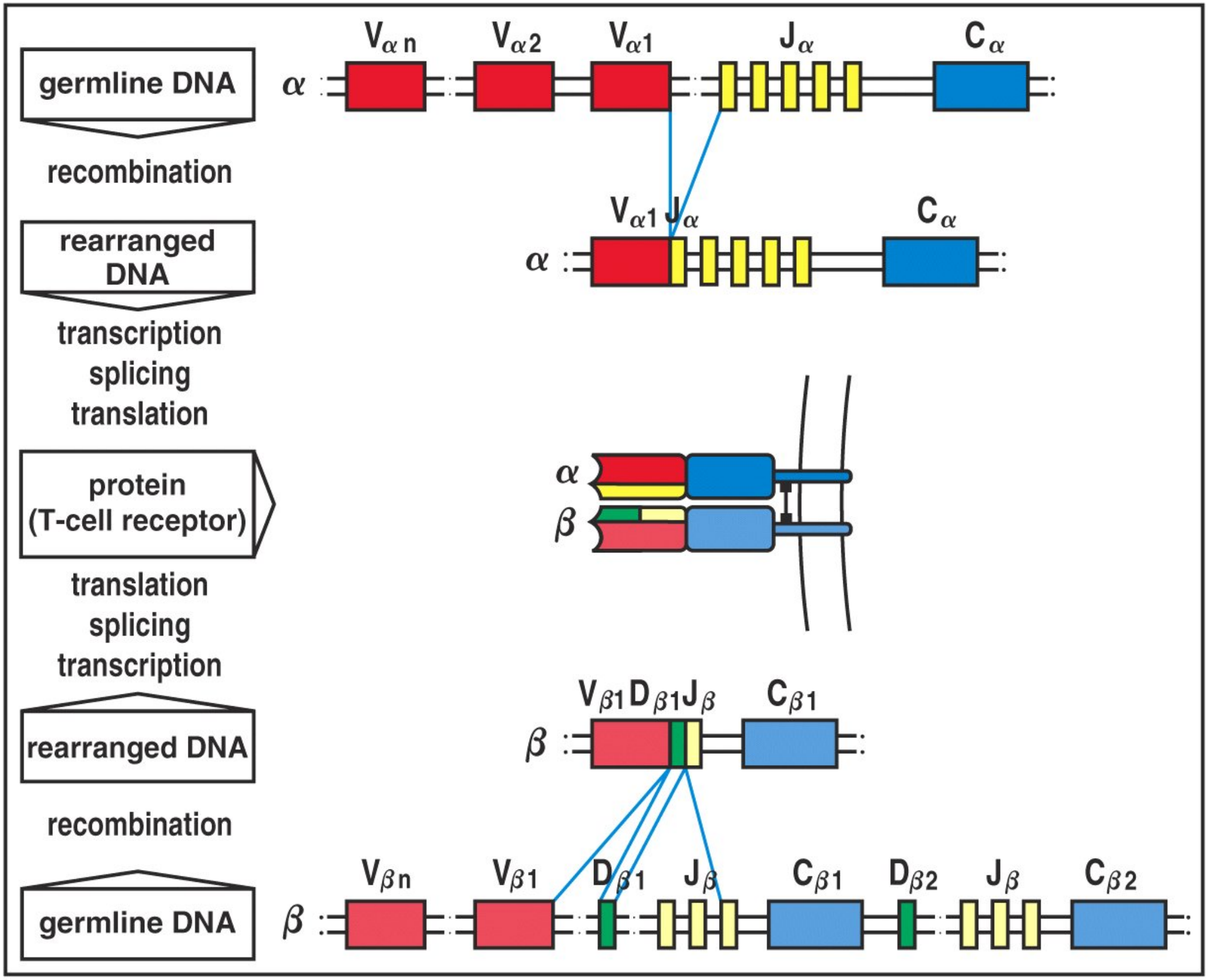


Figure 4-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Recombinação somatica

RAG1/2

fragmento de DNA excisso (TREC)

nucleotídeos

TdT

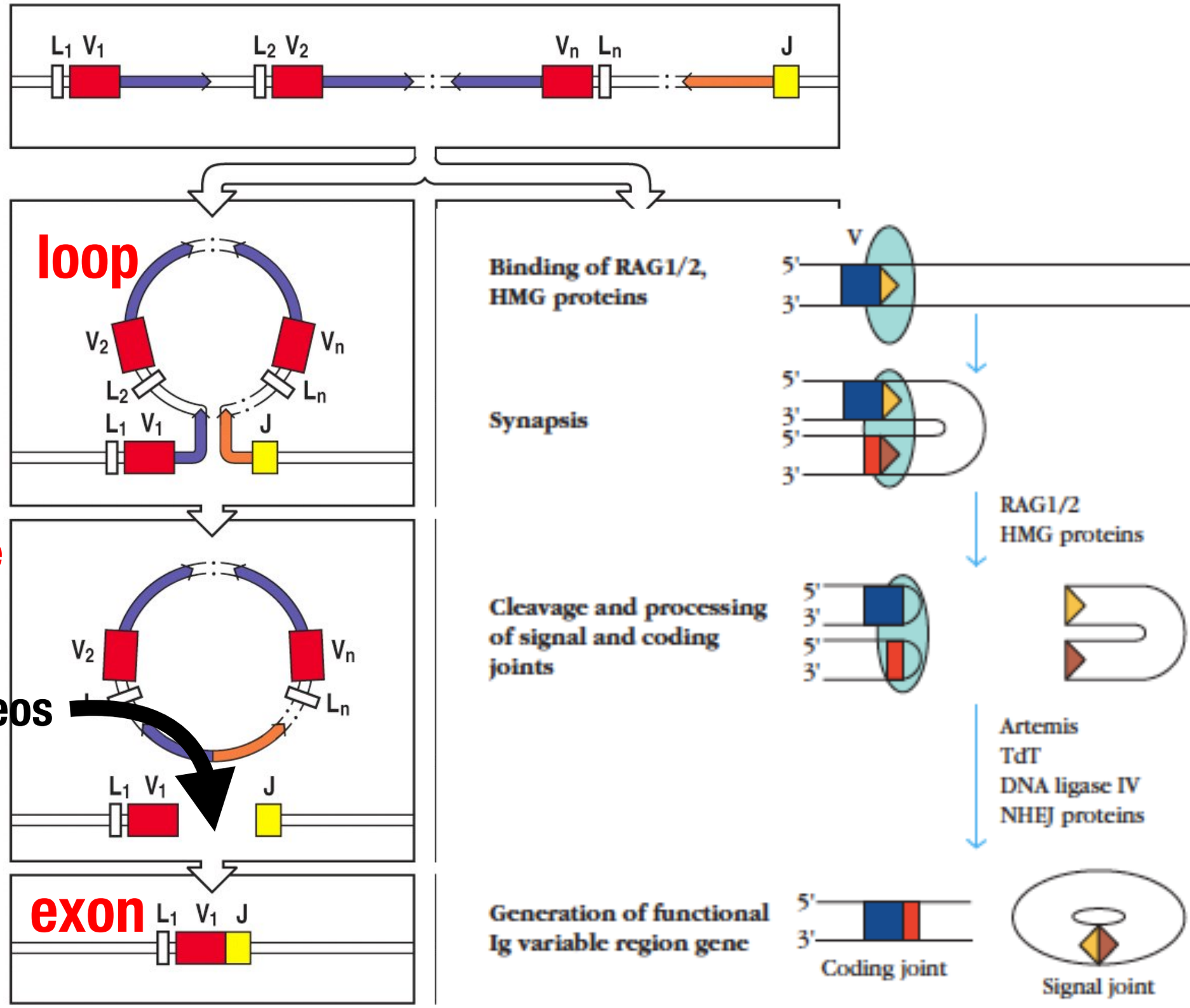


Figure 4-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Recombinação somatica

RAG 1/2

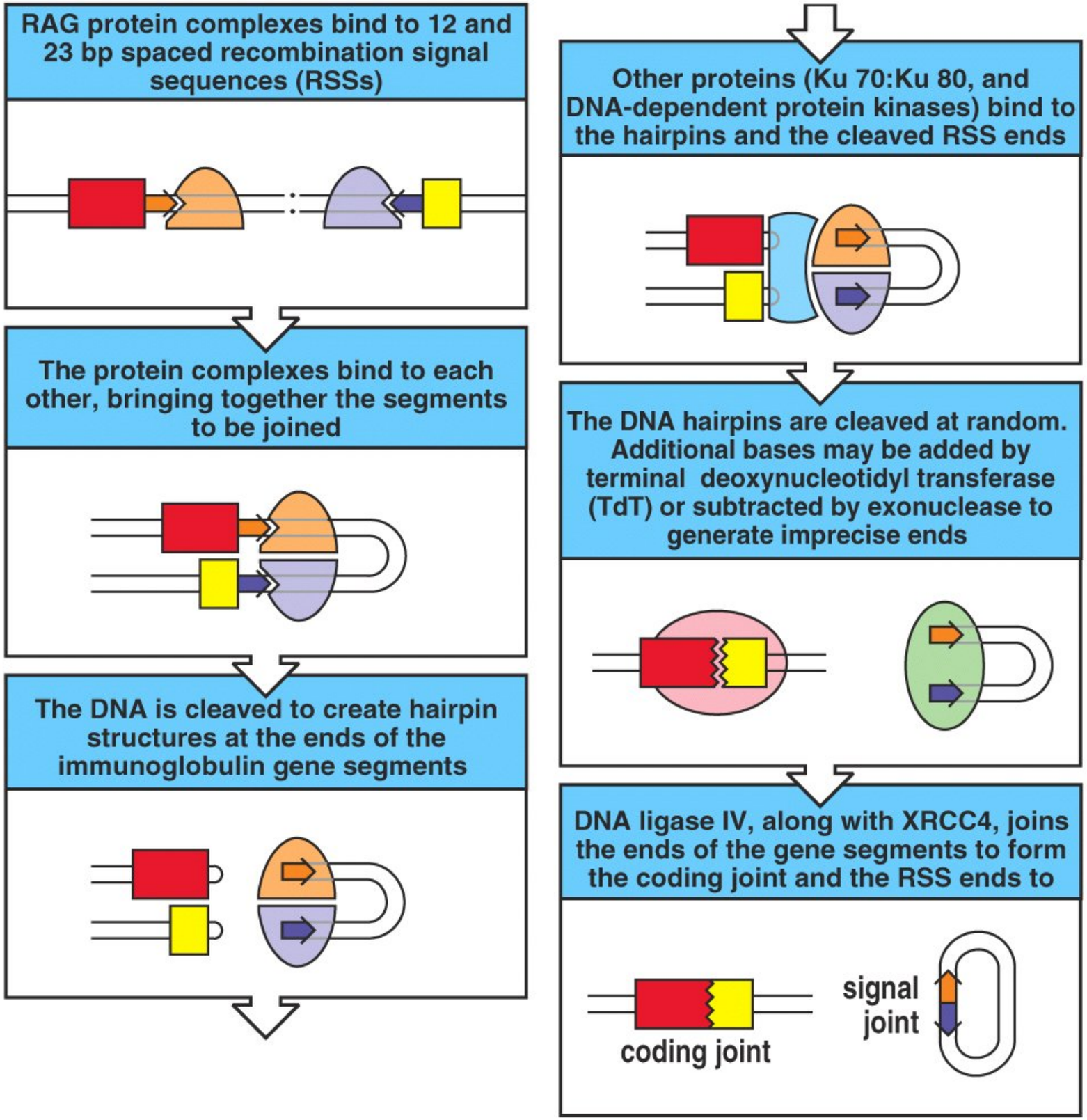


Figure 4-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Origem da especificidade do $TCR_{\alpha\beta}$

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do TCRαß (~10^{18} diferentes Ag!!)?

RECOMBINACAO SOMATICA DOS SEGMENTOS DE DNA CODIFICADORES PARA AS CADEIA α *(cr.14)* e ß *(cr.7)*

- **Recombinação V(D)J**
- **Junções com nucleotídeos**

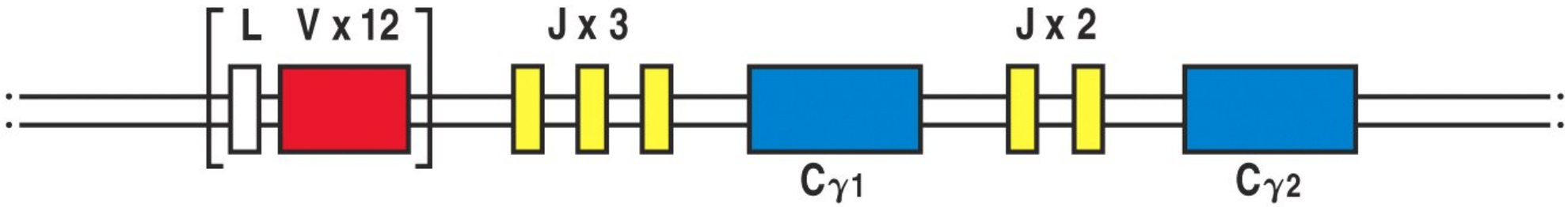
Variabilidade do $TCR_{\alpha\beta}$

Element	Immunoglobulin		α:β 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	$\sim 5 \times 10^{13}$		$\sim 10^{18}$	

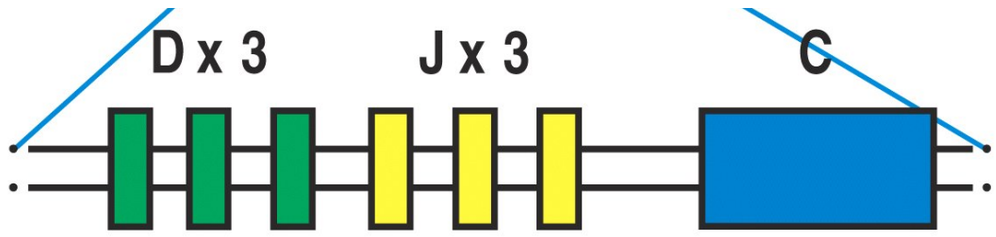
Figure 4-13 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Organização dos *loci* γ e δ do TCR

TCRG (cromossomo 7) —> Cadeia γ
(recombinaçao VJ)



TCRD (cromossomo 14) —> Cadeia δ
(recombinaçao DJ)



- Menor numero de segmentos genicos (menor variabilidade de reconhecimento)
- Recombinação VJ ou DJ
- Junções com nucleotídeos

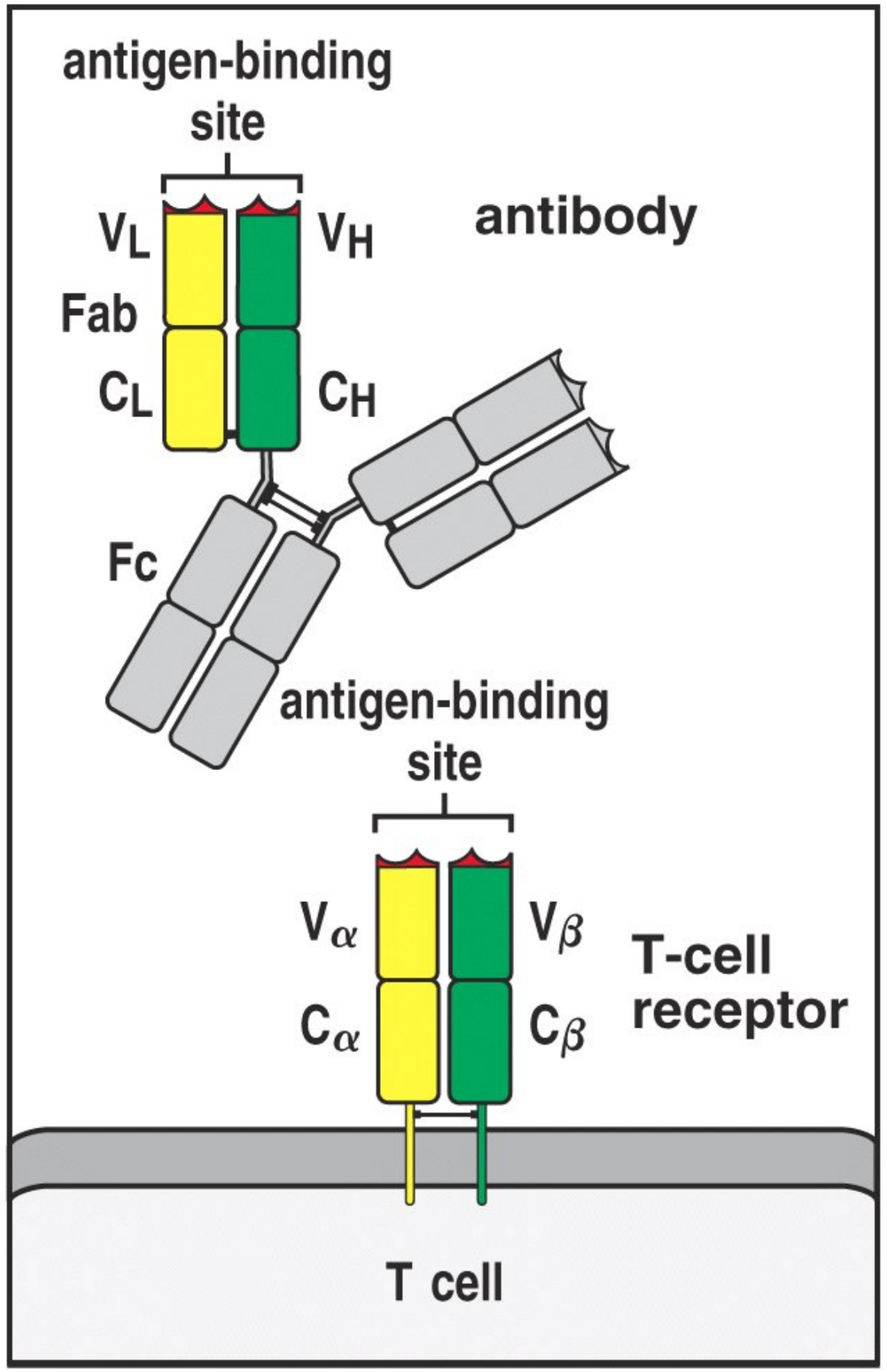


Figure 3-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

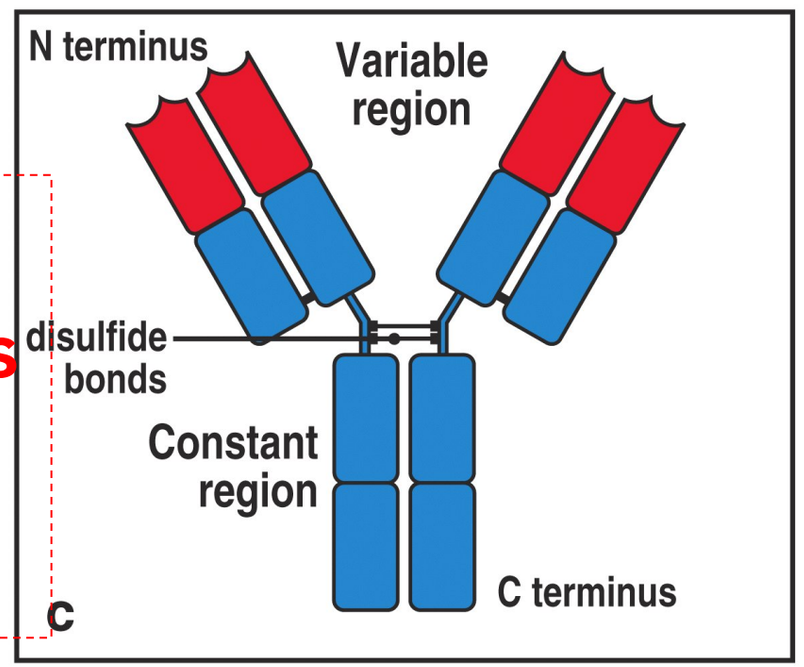
Reconhecimento nos Linfocitos B

Linfocitos B

- **Ig Ligadas** a membrana na superficie dos linfocitos B = receptor da celula B (**BCR**)
- **Ig Secretadas** pelos linfocitos B (**anticorpos**) e residentes na circulaçao, nos tecidos e nas mucosas onde neutralizam toxinas, impedem a entrada e a disseminaçao de patogenos e eliminam micro-orgamismos = receptores de Ag + açao efetora

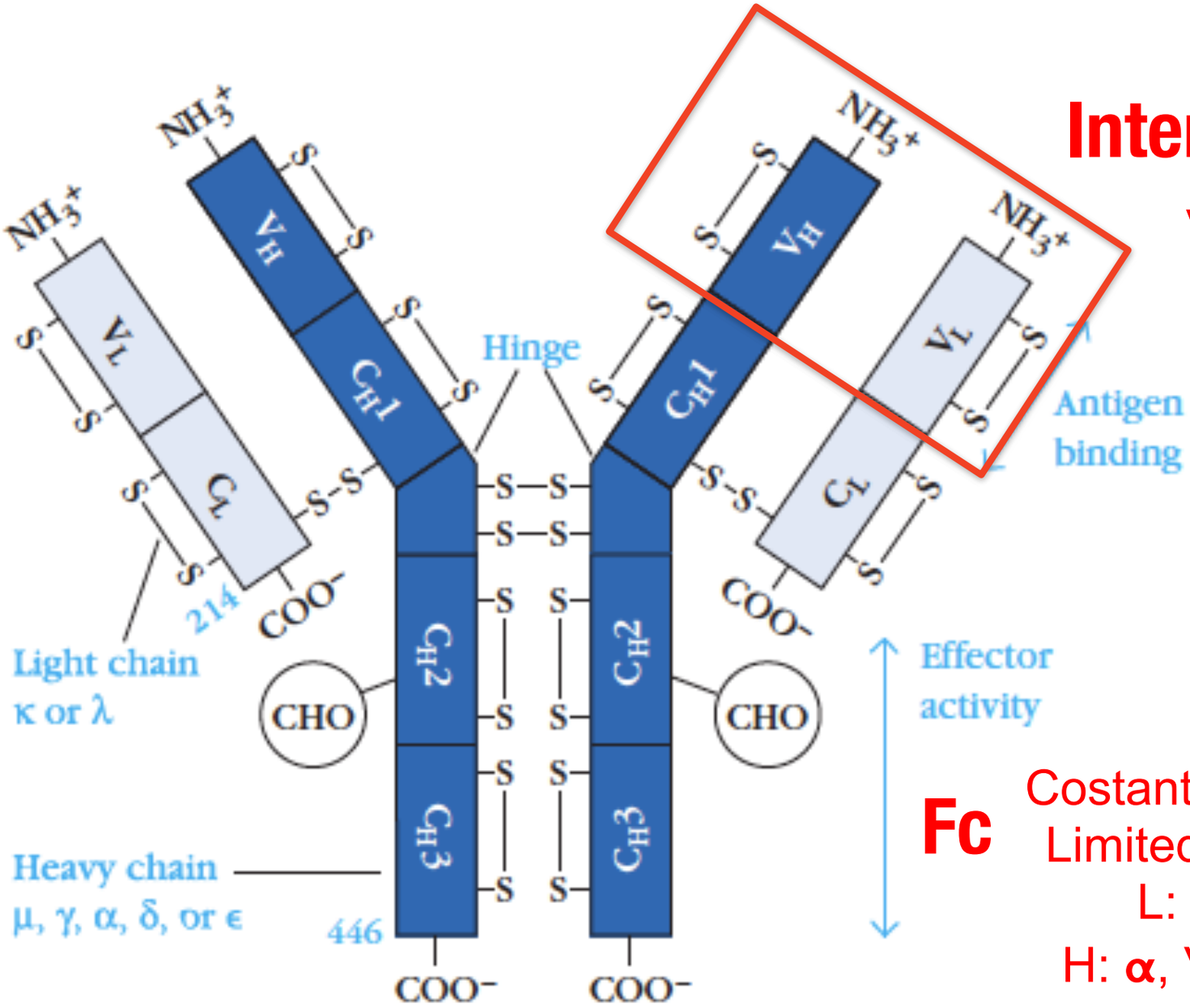
AC/BCR reconhecem

- **proteinas, polissacarideos, acidos nucleicos**
- **Epitopo linear ou conformacional**
- **Tamanho: 4-8 AA**



Anticorpos e BCR (linfocitos B)

Todos os AC compartilham uma estrutura comum de 4 cadeias polipeptidicas
2 cadeias leves (L) identicas
2 cadeias pesadas (H) identicas
Forma a Y com 2 sitios de ligaçao de Ag (formada por dominios N -erminal das L e H) e 1 regiao que não esta envolvida na ligaçao de Ag mas na funçao efetora do AC ou na ligaçao a membrana no caso do BCR (formada por dominios C-terminais L e H)

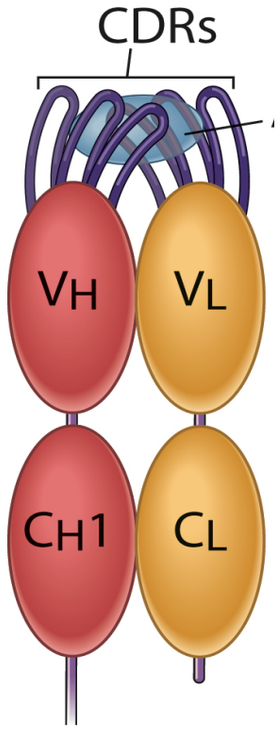


Interaçao com Ag

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

atraves das CDR

Regioes de 10 AA que determinam a complementariedade ao Ag

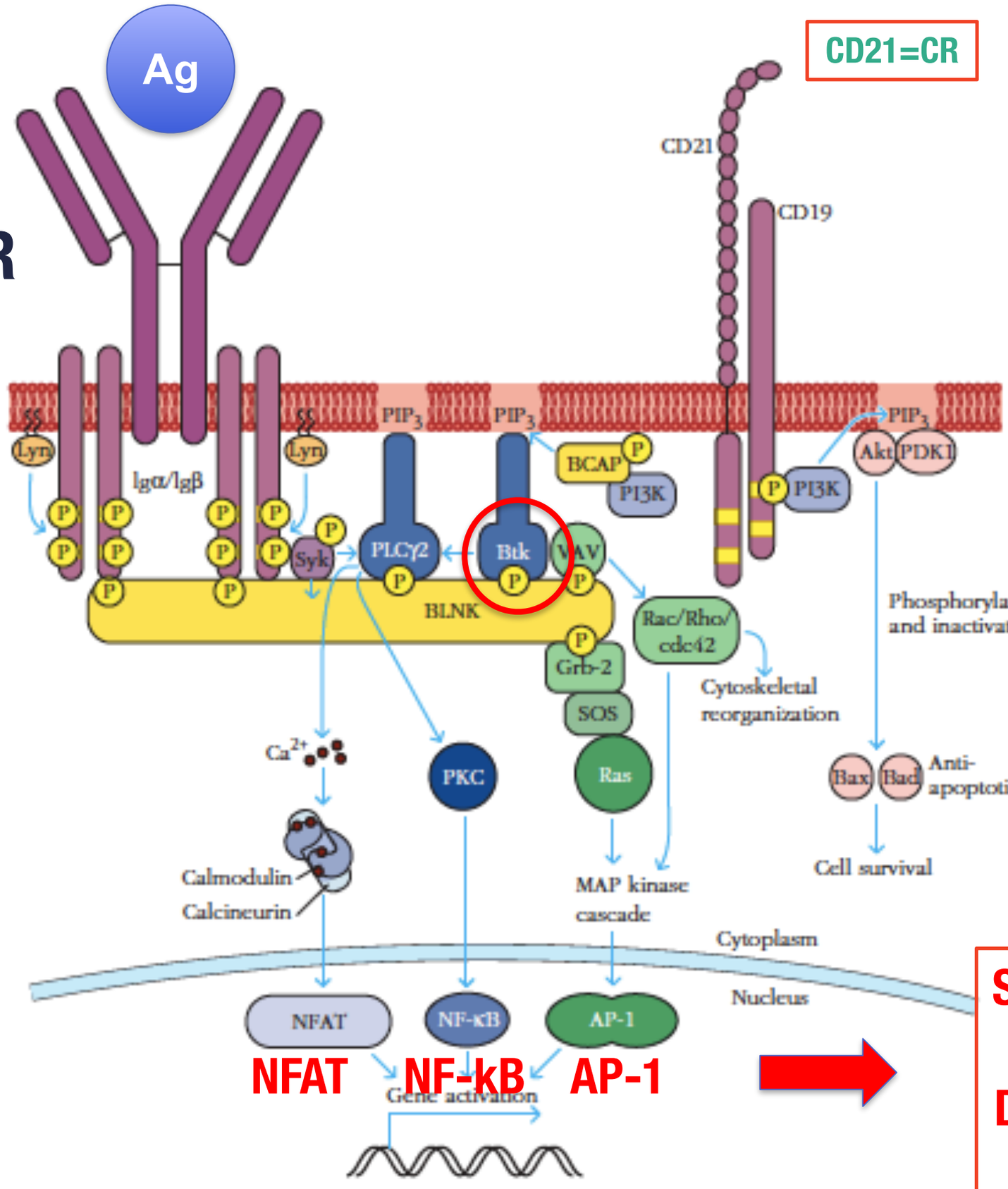


Fc

Costant region (C)
Limited variation
L: κ or λ
H: **α**, ɣ, δ, ε,, μ

BCR (linfocitos B)

BCR

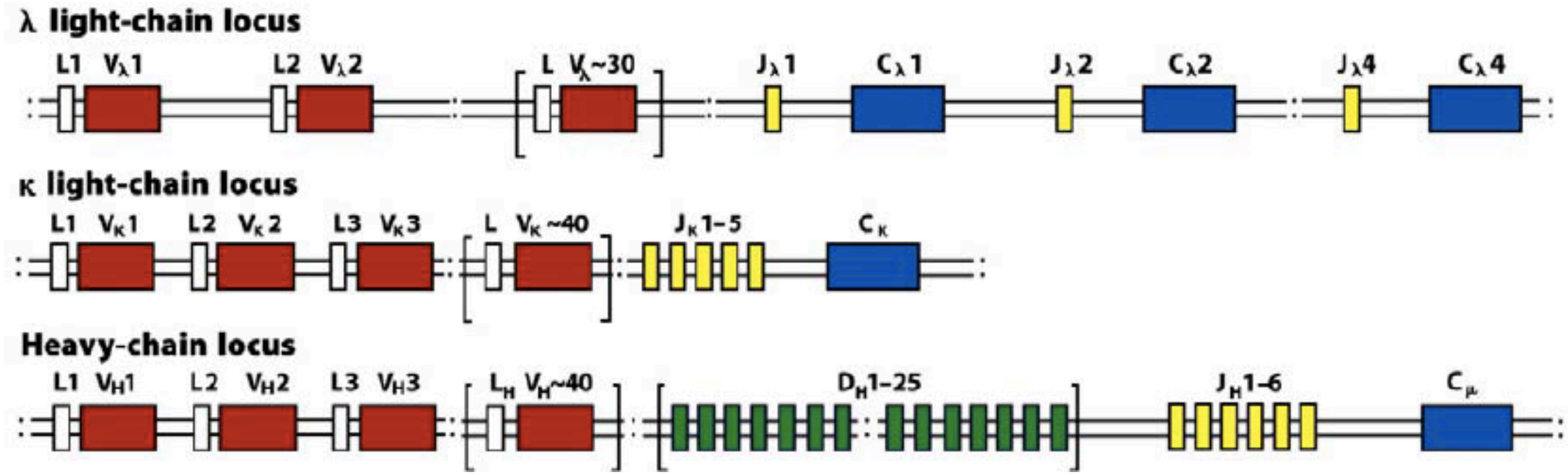


Mutaçoes em Btk
=>
Agamaglobulinemia

Sobrevivencia
Proliferaçao
Diferenciaçao
Migraçao

Organização dos *loci* H e L (λ, κ) do BCR/AC

λ, κ *(cromossomo 2 e 22)* —> Cadeia L



BCRH (cromossomo14) —> Cadeia H

A região amino terminal variável (V) das cadeia H e L é codificada em uma região genica formada por vários segmentos genicos V, (D), J

Os segmentos genicos sofrem rearranjo (aleatório) durante o desenvolvimento do linfócito B para formar a sequencia codificadora da região V. Cada linfócito B maturo contem os genes *para cadeia H e L* rearranjados para poder expressar apenas 1 tipo de região V.

Recombinação somatica do BCR/AC

Cadeia L

recombinaçao VJ

Cadeia H

recombinaçao VDJ

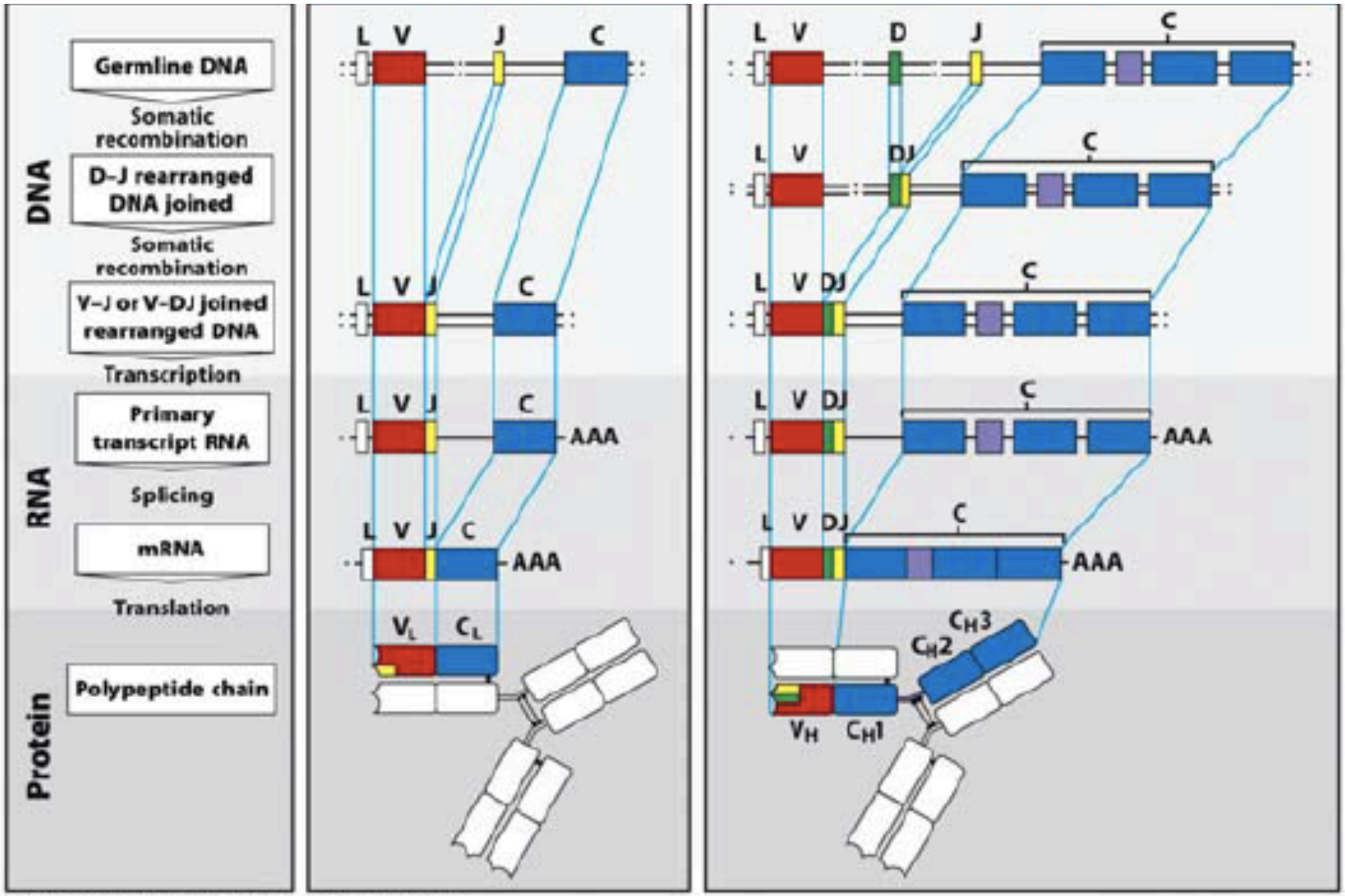
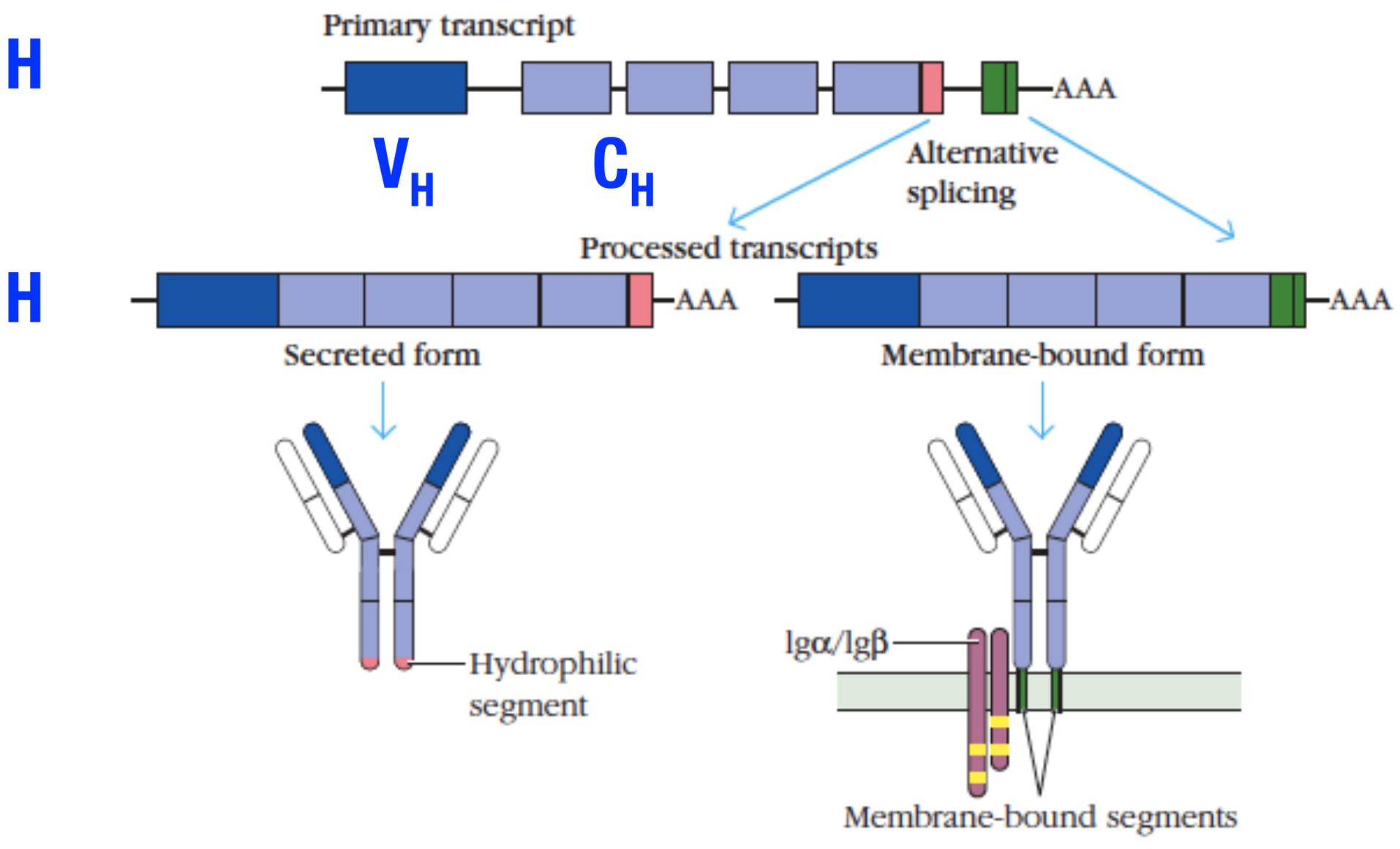


Figure 4-2 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

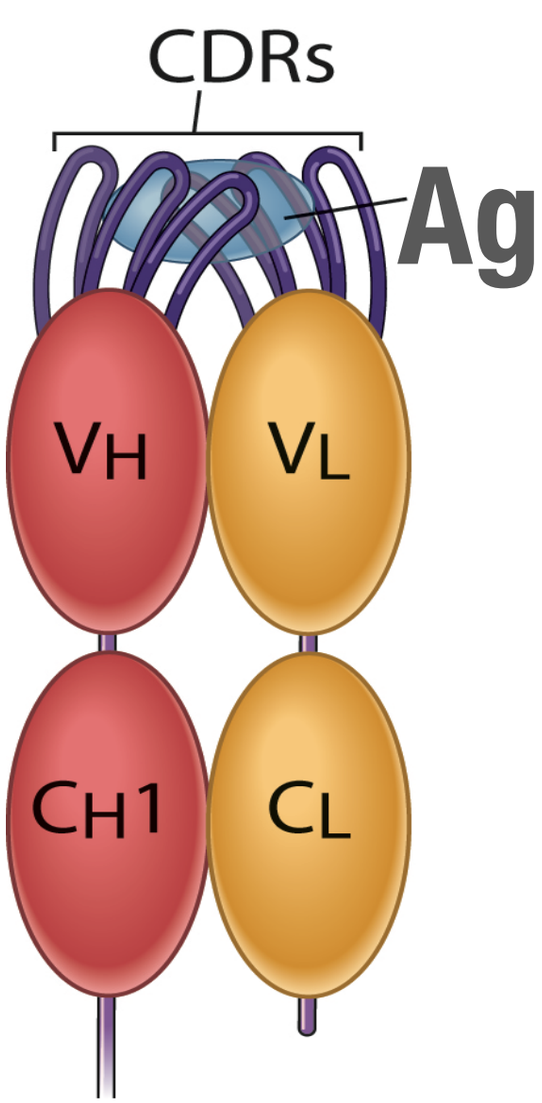
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

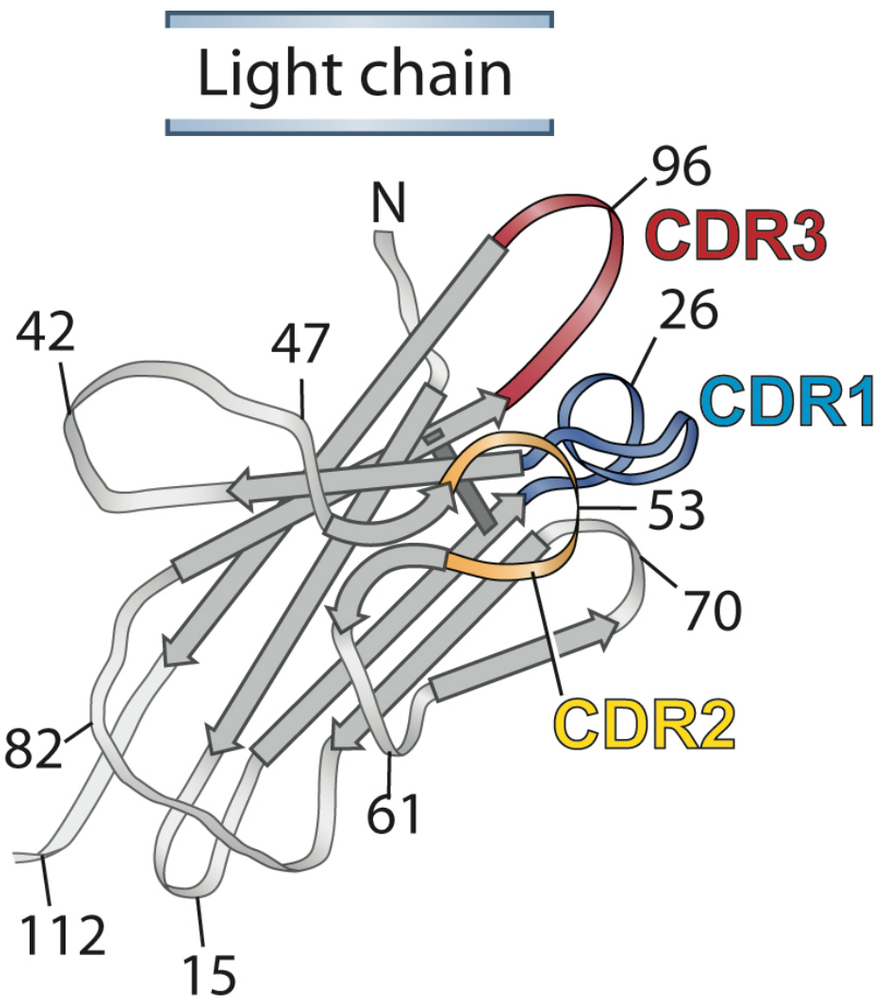
Splicing alternativo do transcrito da cadeia pesada origina forma secretada ou de membrana do receptor

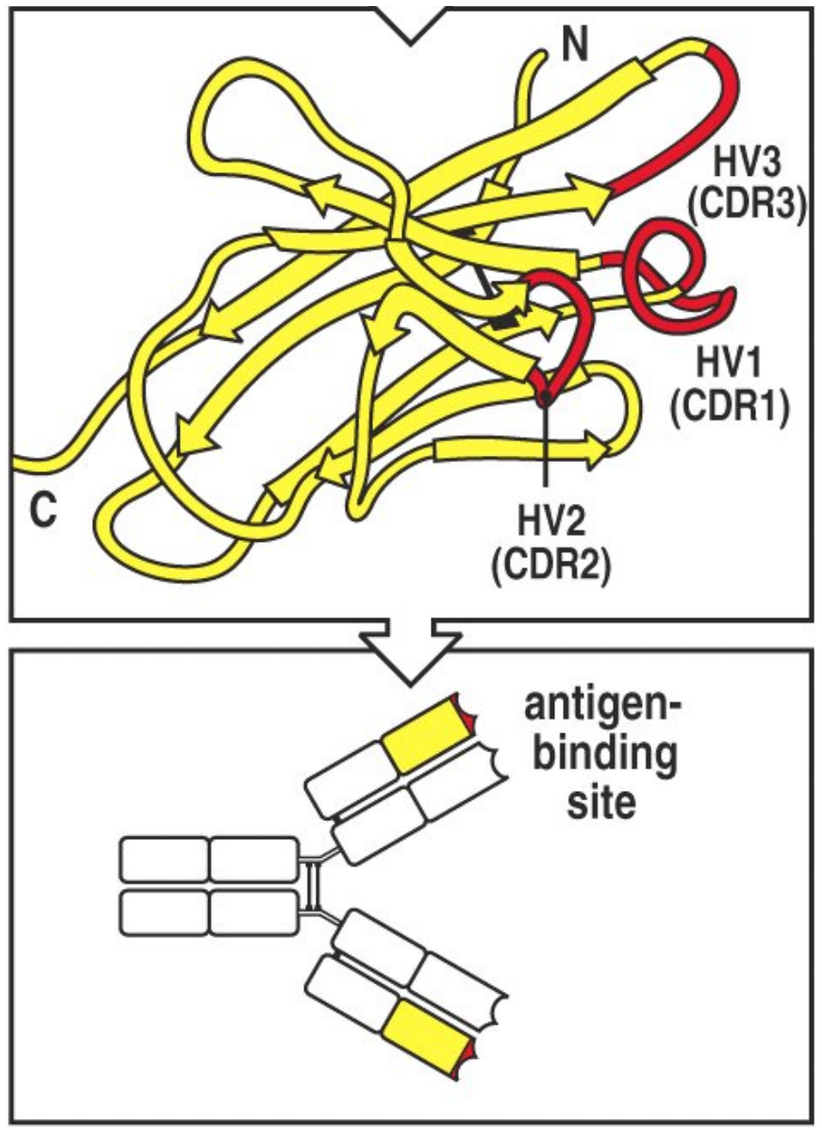


CDRs e hipervariabilidade

Segmentos hipervariaveis (≈ 10 AA) ou Regioes Determinantes de Complementariedade (**CDRs**) dos dominios V das cadeias pesada (V_H) e leve (V_L) geram o sitio de ligaçao ao Ag







CDRs e hipervariabilidade

Os CDR sao as regioes mais variaveis (diferentes AA) dentre de V_H e V_L

Os CDR3 sao os mais variaveis entre os CDR

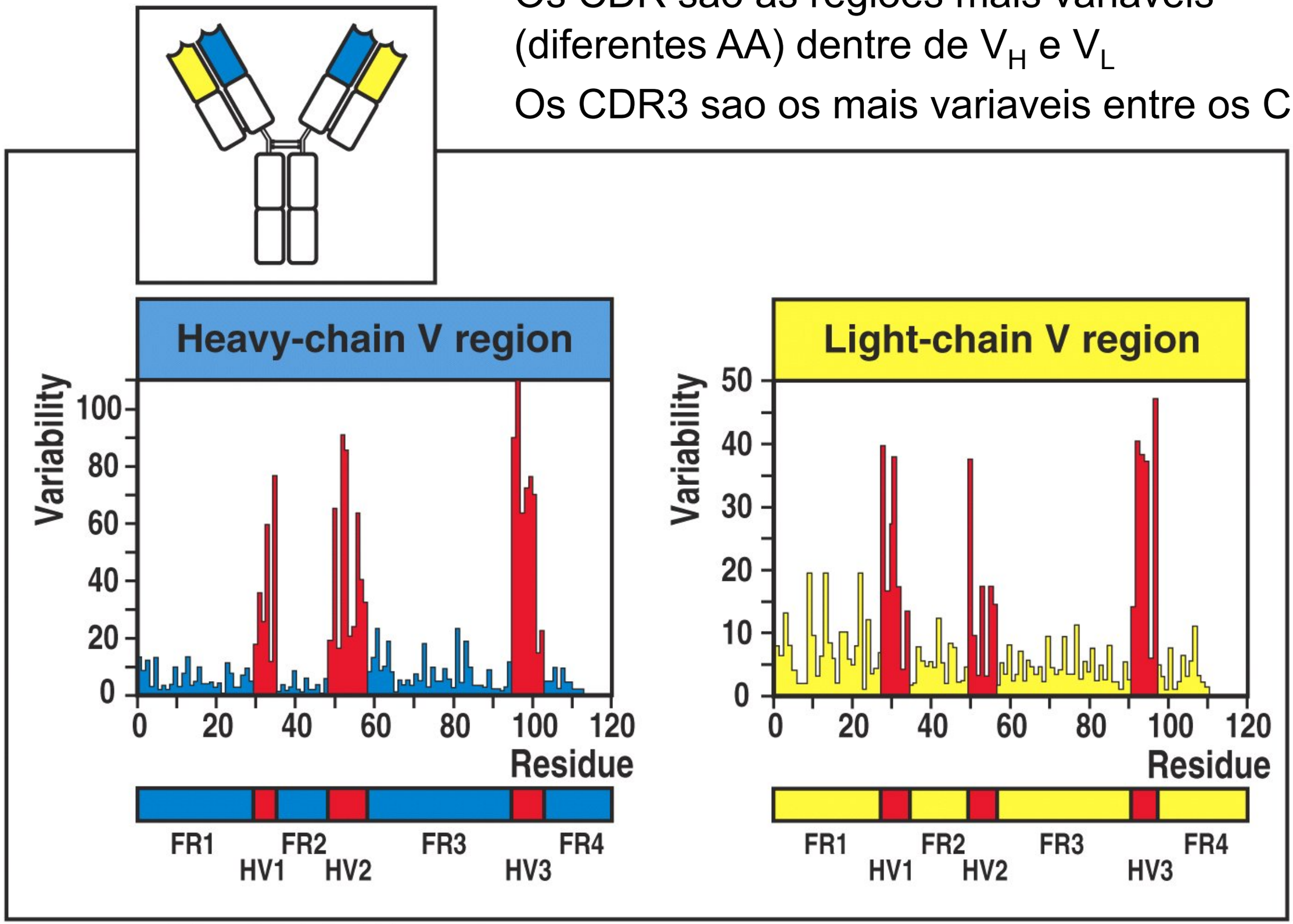
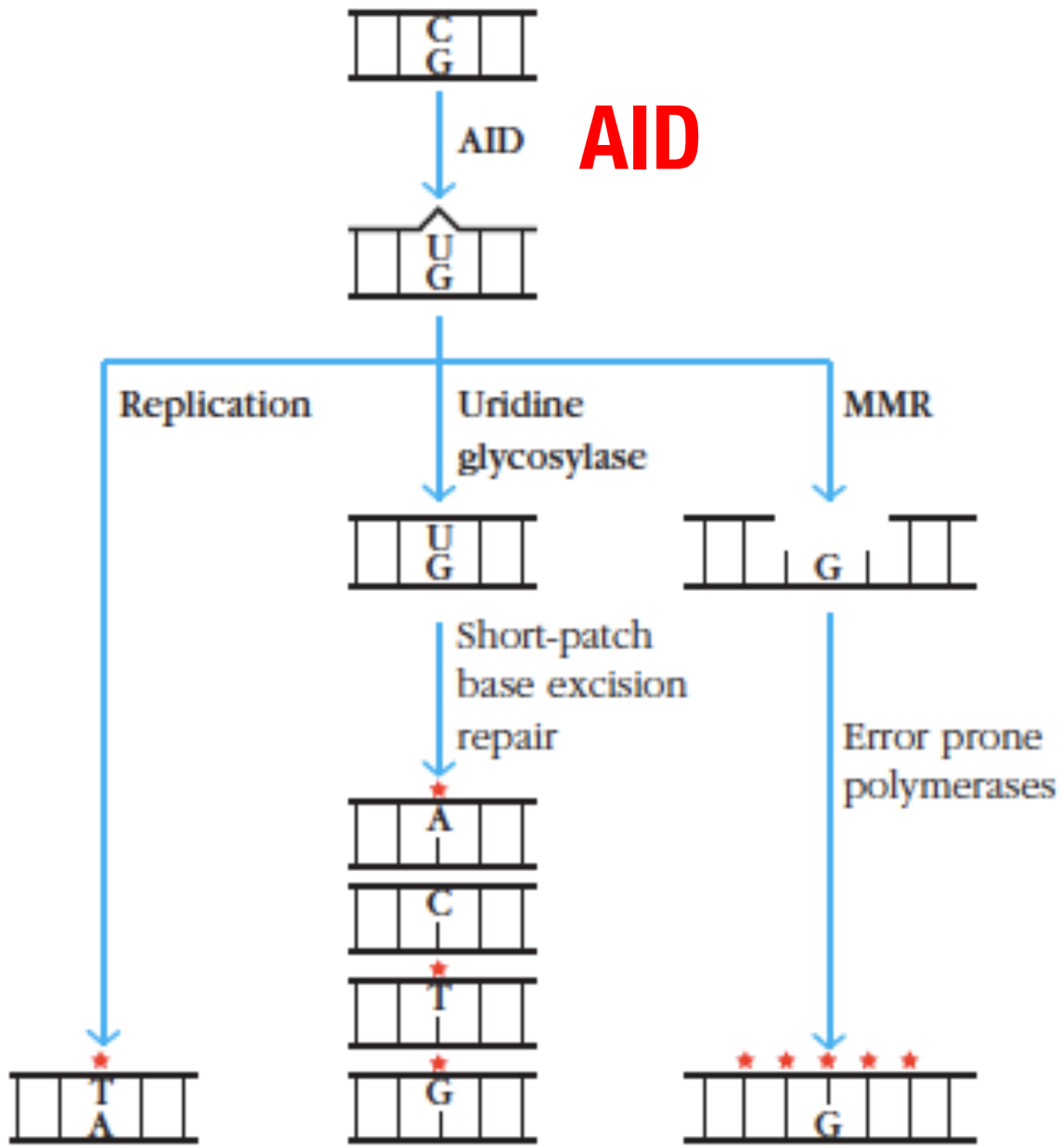


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Hipermutaçao somatica

E’ possivel aumentar ainda a variabilidade da V introduzindo mutaçoes aleatorias nas CDR



Variabilidade do BCR/AC

Element	Immunoglobulin		α:β T-cell receptors	
	H	κ+λ	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)

Origem da especificidade do BCR/AC

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do BCR/AC (~10^{13} diferentes Ag!!)?

RECOMBINACAO SOMATICA DOS SEGMENTOS DE DNA CODIFICADORES PARA AS CADEIA H *(cr.14)* e L *(cr.2, 22)*

- **Recombinação V(D)J**
- **Junções com nucleotídeos**

desenvolvimento

- **Hipermutação somatica**

ativação

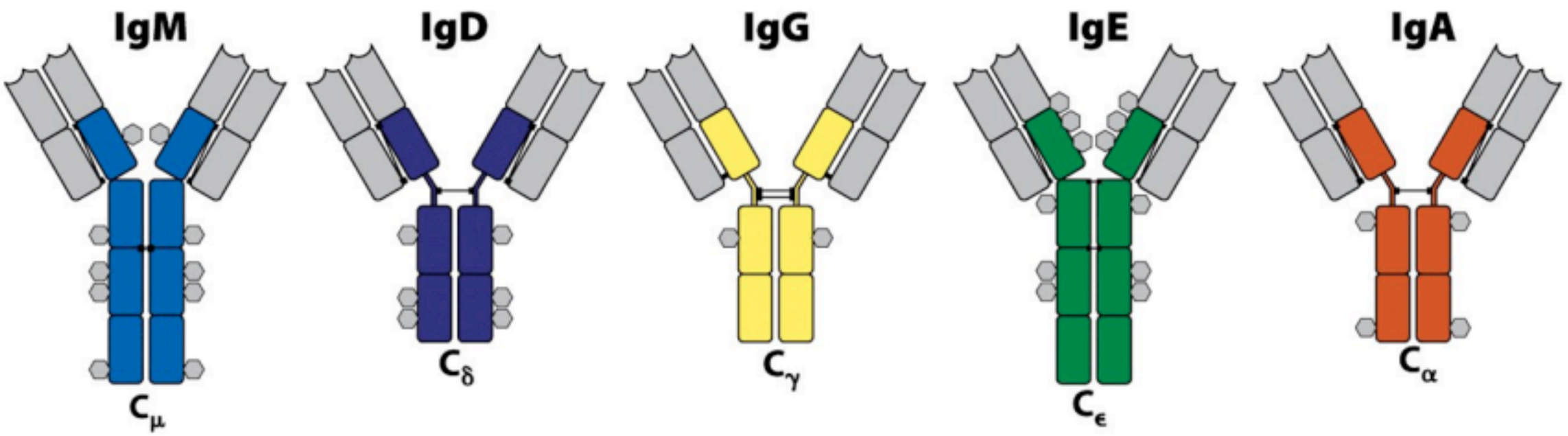
Isótopos e função dos anticorpos

CADEIAS PESADAS e REGIAO CONSTANTE DO AC

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

- Cadeia μ → IgM
- Cadeia δ → IgD
- Cadeia γ → IgG (γ1-4 → IgG1-4)
- Cadeia ε → IgE
- Cadeia α → IgA (α1=IgA1 e α2=IgA2)

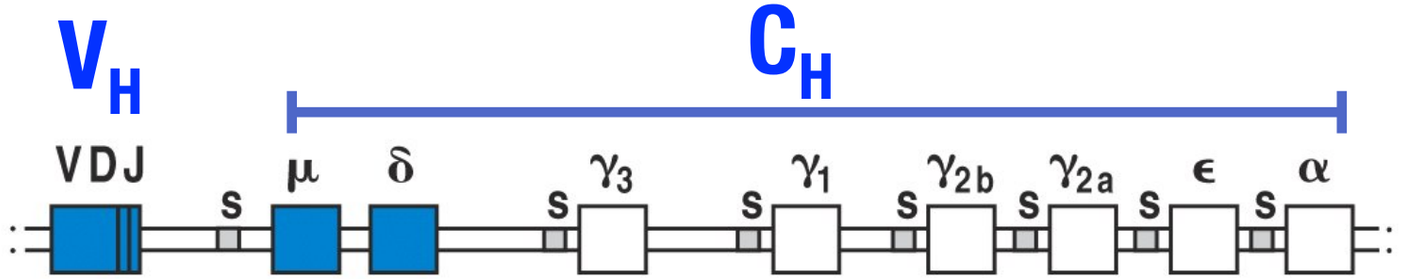
Isotipos → classe do AC



Splicing alternativo e isótopos

linfocito B maduro

cadeia H
(DNA rearranjado)

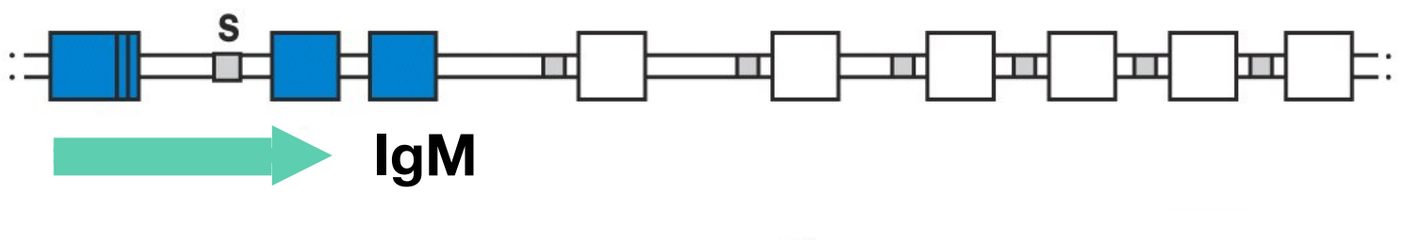


"naive"

IgM

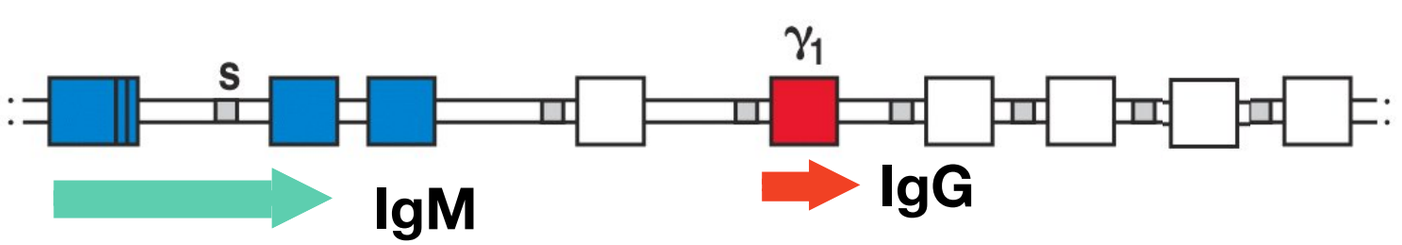
IgD

+ LPS



IgM

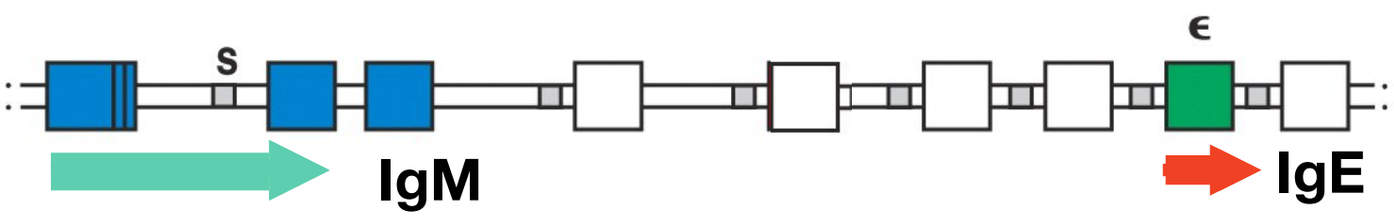
+ LPS
+ IFN-γ



IgM

IgG

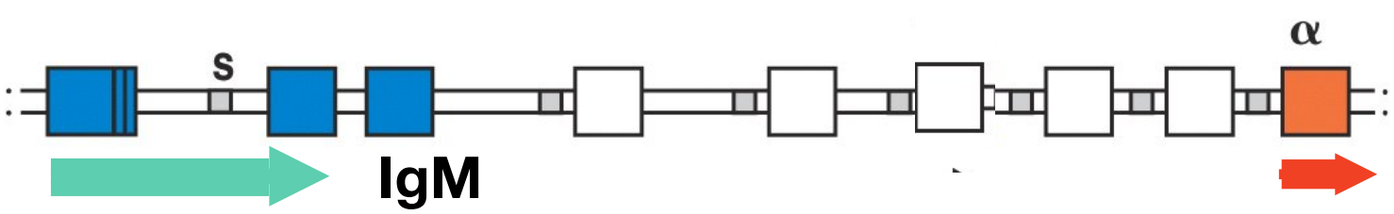
+ LPS
+ IL-4



IgM

IgE

+ LPS
+ TGFß

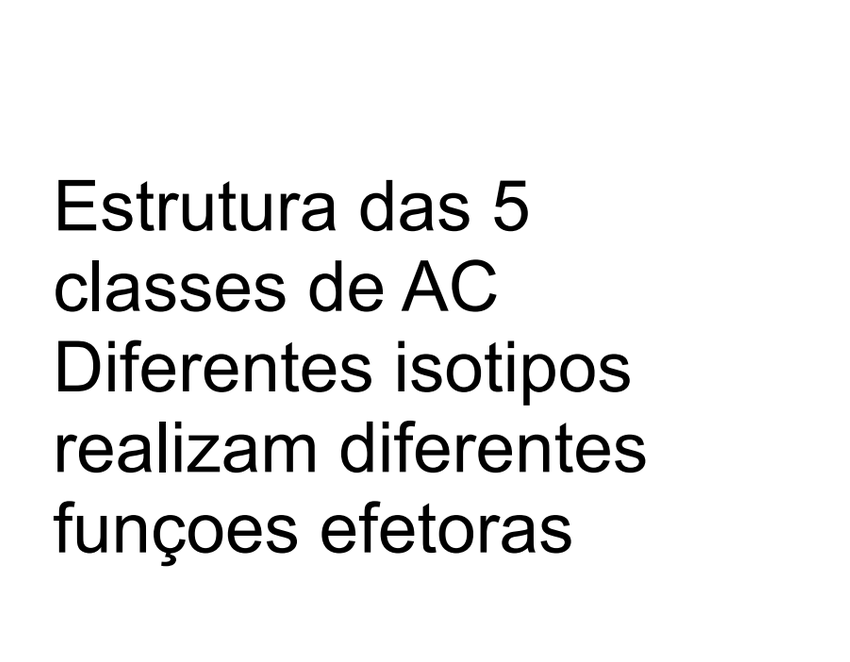


IgM

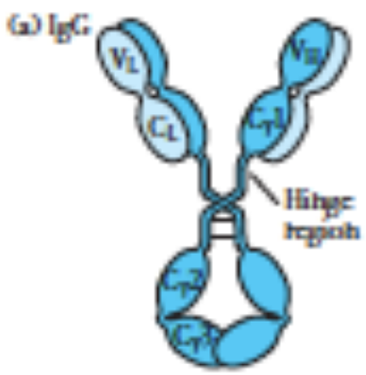
IgA

Isótopos e função dos anticorpos

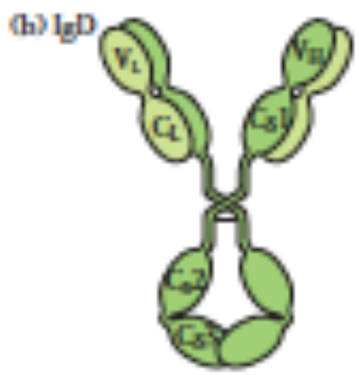
- Estrutura das 5 classes de AC
- Diferentes isotipos realizam diferentes funçoes efetoras



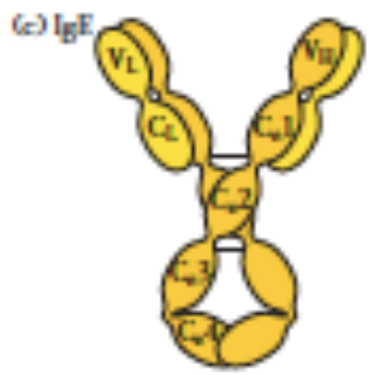
IgG



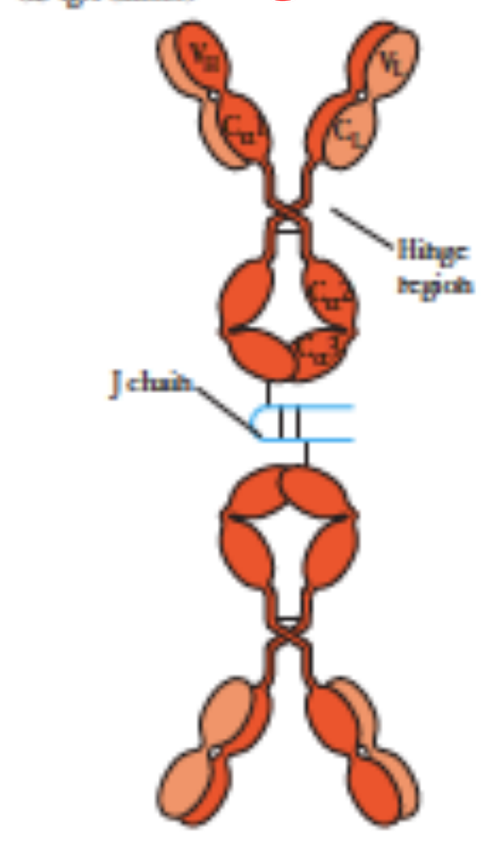
IgD



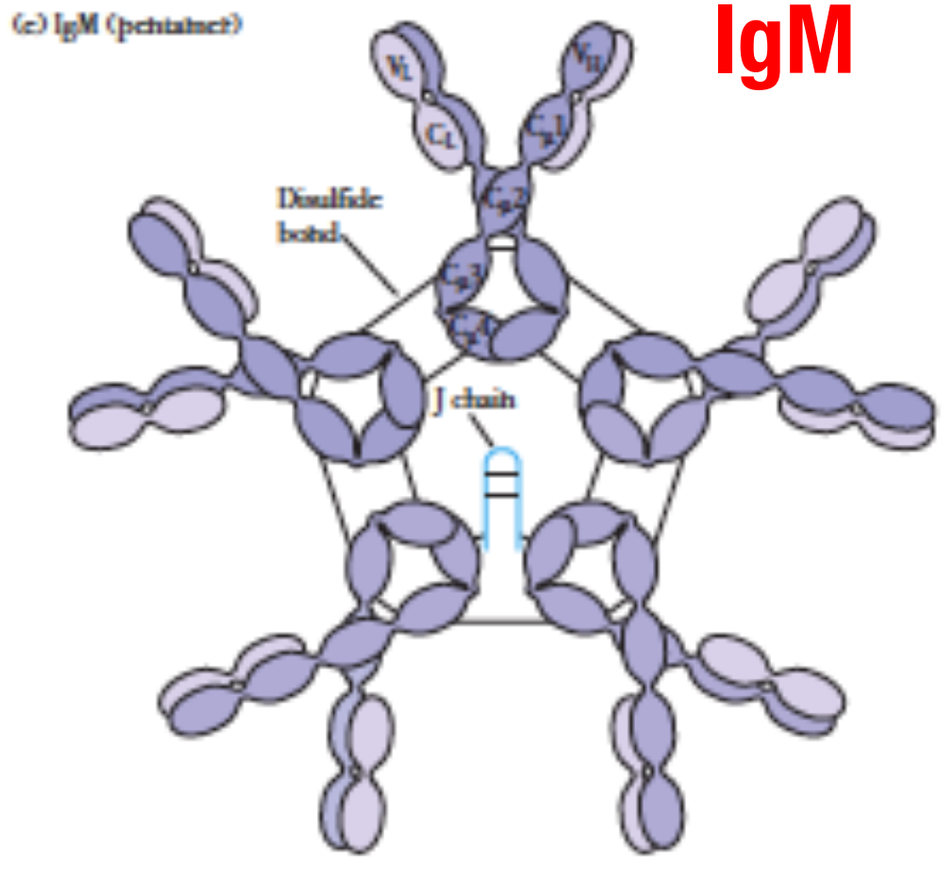
IgE



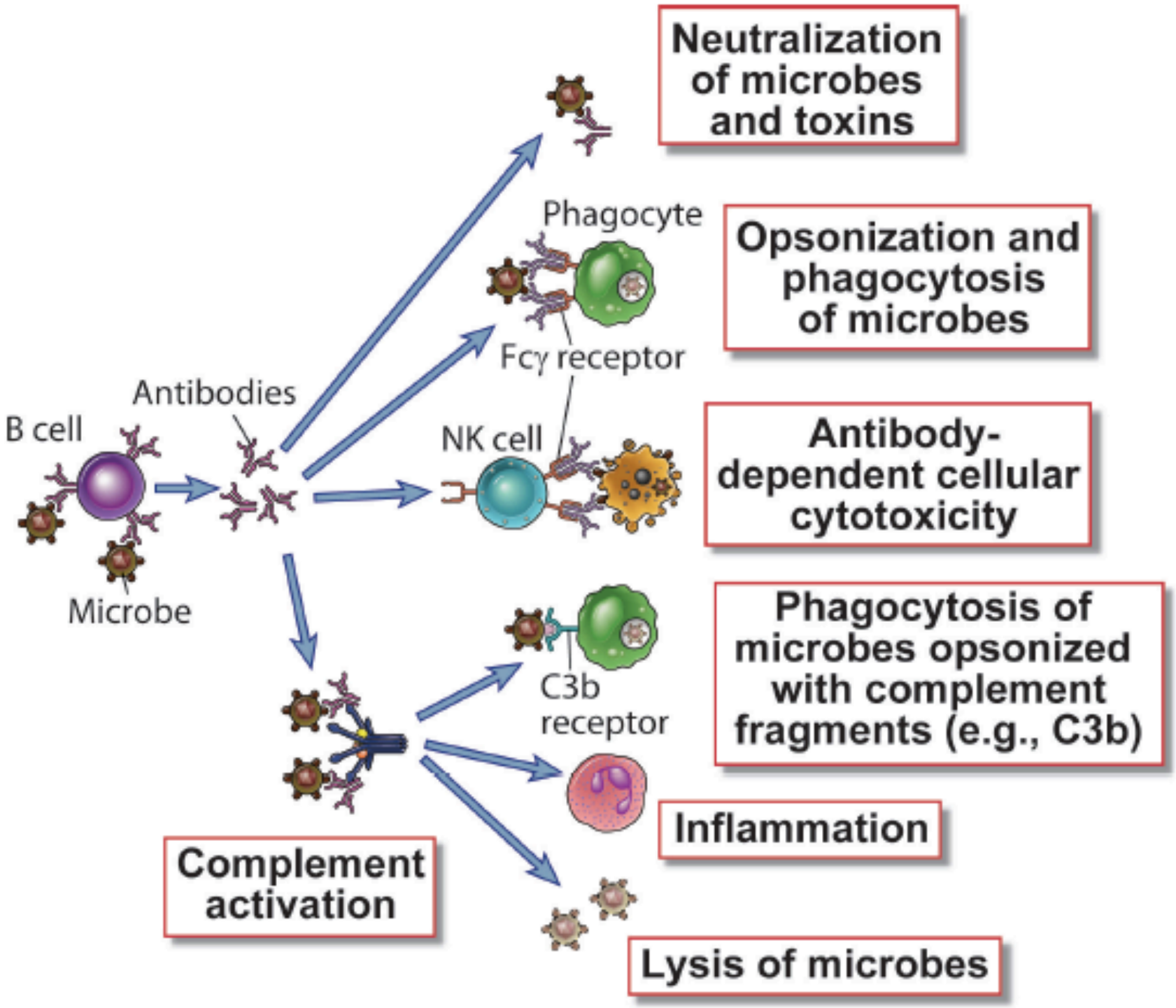
IgA



IgM

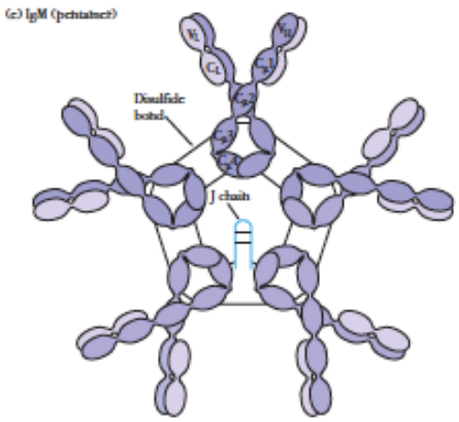


Função efetuar dos anticorpos



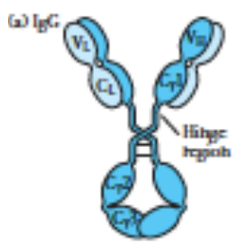
Isótopos e função dos anticorpos

IgM



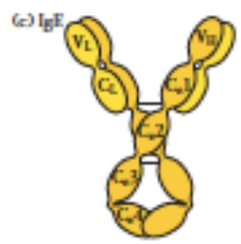
- 1 AC a ser expressado (BCR) e produzido
- monomero ou pentamero
- meia vida: 5 dias
- ativaçao complemento (via classica)

IgG



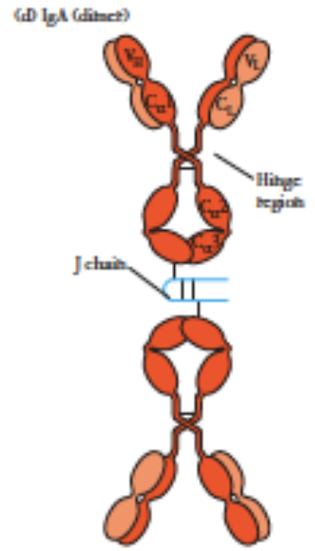
- monomero
- AC mais comum em sangue, linfa, CSF
- meia vida: 23 dias
- osponizçao
- aglutinaçao
- neutralizaçao de virus/toxinas
- ADCC
- passa a placenta

IgE



- monomero
- meia vida: 20 dias (aumenta quando ligado a mastocitos/ eosinofilos)
- o Fc tem elevada afinidade para o FC-R na membrana de mastocitos/ eosinofilos
- ativa desgranulaçao dos mastocitos/ eosinofilos

IgA



- monomero ou dimero
- meia vida: 5 dias
- presente nas mucosas (passa no lumen por transcitose)
- aglutinaçao
- neutralizaçao de virus/toxinas