



Geração de Diversidade e Recombinação

Prof. Dr. Luiz Fernando Ferraz da Silva

burns@usp.br

burns@usp.br



MATT GROENING

Geração de Diversidade - Objetivos

Meta: Entender ao nível molecular o mecanismo envolvido na geração de anticorpos

Objetivos:

1. Entender o desafio biológico de gerar a diversidade de anticorpos/imunoglobulinas observada no sistema imune
2. Descrever a estrutura/função proteica das imunoglobulinas e a organização genômica dos loci que codificam imunoglobulinas
3. Entender como a estrutura genômica dos loci é afetada pela recombinação V(D)J
4. Entender os mecanismos moleculares da recombinação V(D)J e como eles geram diversidade.
5. Explicar como hipermutação somática contribui para a diversidade.
6. Descrever as possíveis consequências indesejáveis deste processo e levantar questões sobre como elas são evitadas

Antígenos e Anticorpos

Antígeno é um componente (frequentemente uma proteína) capaz de induzir uma resposta imune

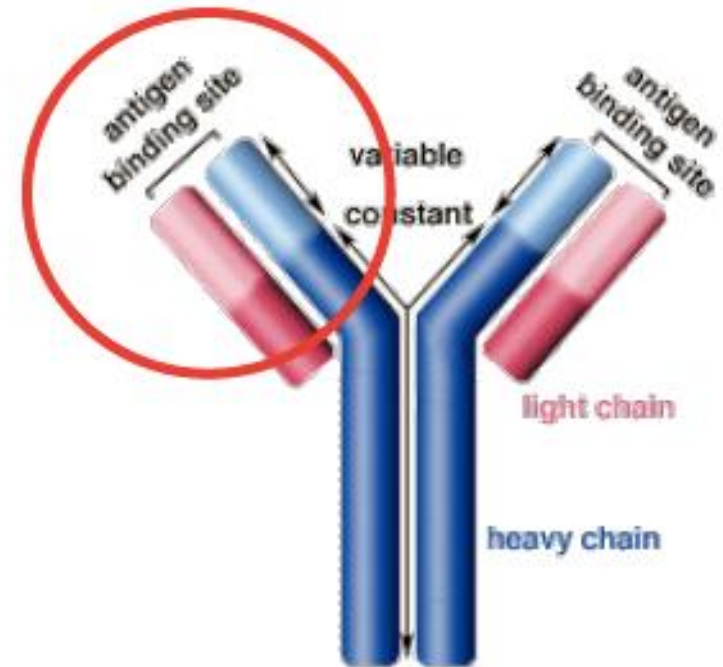
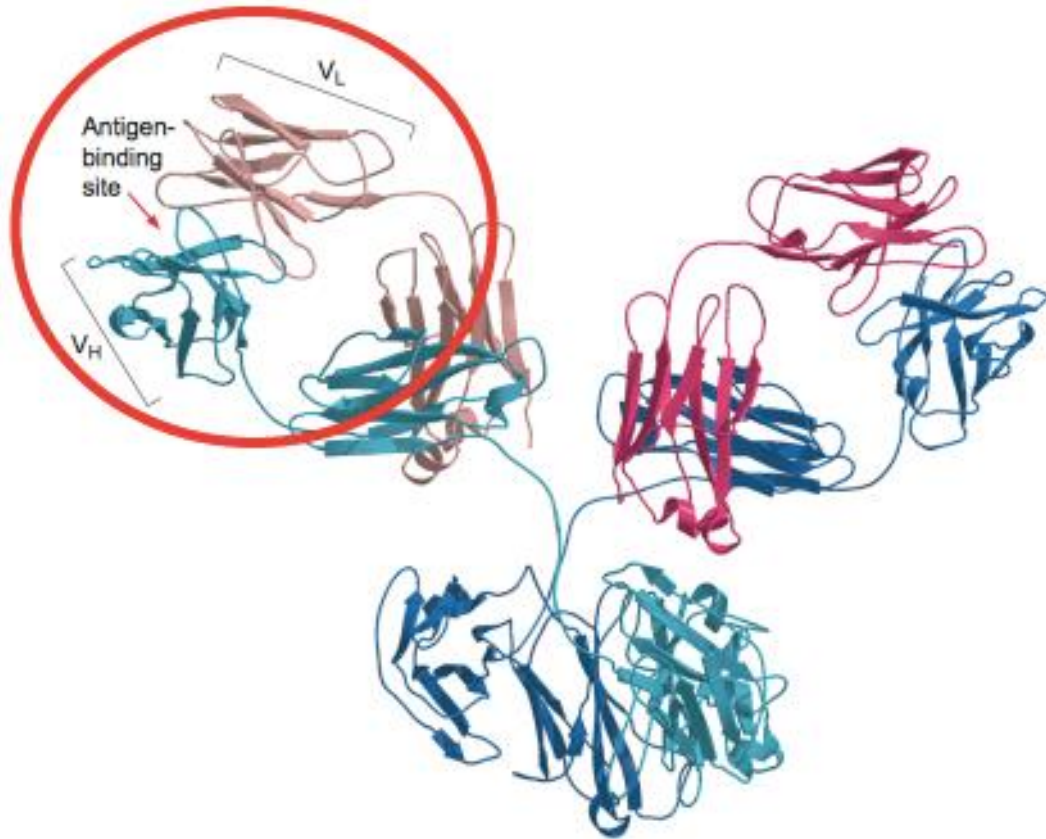
Na resposta imune humoral os antígenos são reconhecidos por **anticorpos** (imunoglobulinas)

A região do antígeno reconhecida pelo anticorpo é chamada de **epítopo** (geralmente composto por um oligopeptídeo de 10 a 12 aminoácidos)

Quantos possíveis oligopeptídeos de 10 aminoácidos existem no universo matemático?

$10^{20}!!$

Anticorpos (Imunoglobulinas)



Desafios biológicos da produção de anticorpos

1) Como podemos produzir um anticorpo que reconheça um antígeno específico? Ex: vírus da polio?

Possibilidade: o genoma possui um gene que codifica uma região variável capaz de reconhecer o antígeno



2) Como os nossos genes sabem criar sítios de reconhecimento de antígeno para todas as viroses que nós vamos ter ao longo da vida?

Possibilidade: cada imunoglobulina é codificada por um gene diferente

Desafios biológicos da produção de anticorpos

Possibilidade: cada anticorpo é codificado por um gene diferente

Cada antígeno frequentemente possui vários epítopos reconhecidos por anticorpos diferentes

A quantidade de anticorpos que nós produzimos excede em muito os antígenos que iremos encontrar no nosso tempo de vida.



Como podemos montar uma resposta imune para um antígeno novo?

Desafios biológicos da produção de anticorpos

Possibilidade: cada anticorpo  é codificado por um gene diferente

Nosso corpo gera ~ 100.000.000 de anticorpos

Por outro lado o genoma humano contém ~ 25.000 genes

Como isto é possível??

3) Como o linfócito B produz esta variedade de anticorpos?

Cada linfócito B produz apenas uma espécie de imunoglobulina no que diz respeito a sua capacidade de reconhecer um único epítipo

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1987



Susumu Tonegawa

Prize share: 1/1

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1987 was awarded to Susumu Tonegawa *"for his discovery of the genetic principle for generation of antibody diversity"*.

O DNA não é estático

Transposição é uma classe de recombinação que move elementos genéticos móveis (transposons) para novos sítios genômicos.

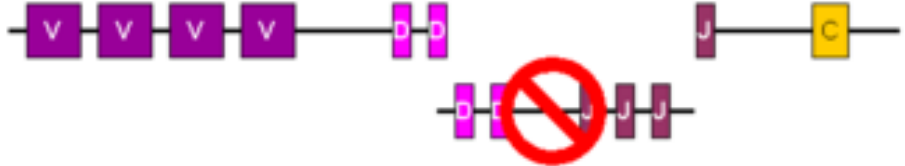
A recombinação ajuda a gerar diversidade – **Recombinação V(D)J** no sistema imune



Genes in heavy chain locus



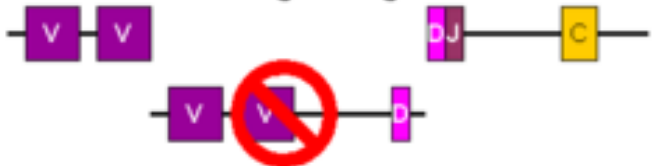
Removal of unwanted D and J gene segment



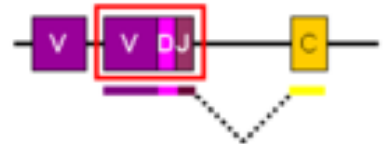
Recombination of D and J exons – DJ recombination



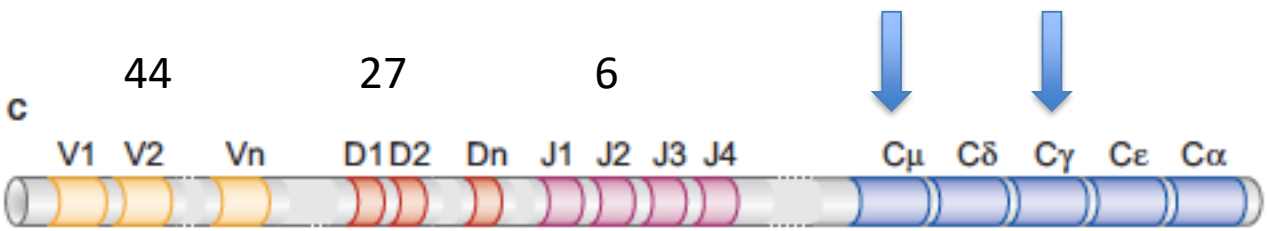
Removal of unwanted V and D gene segment

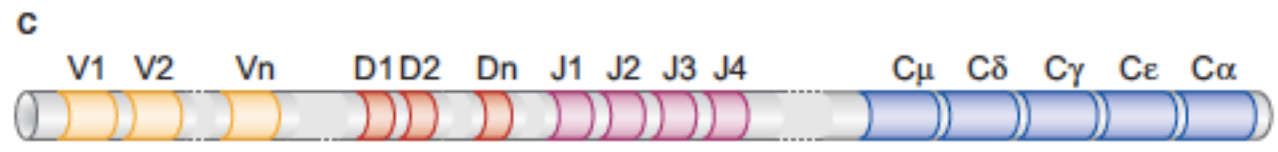
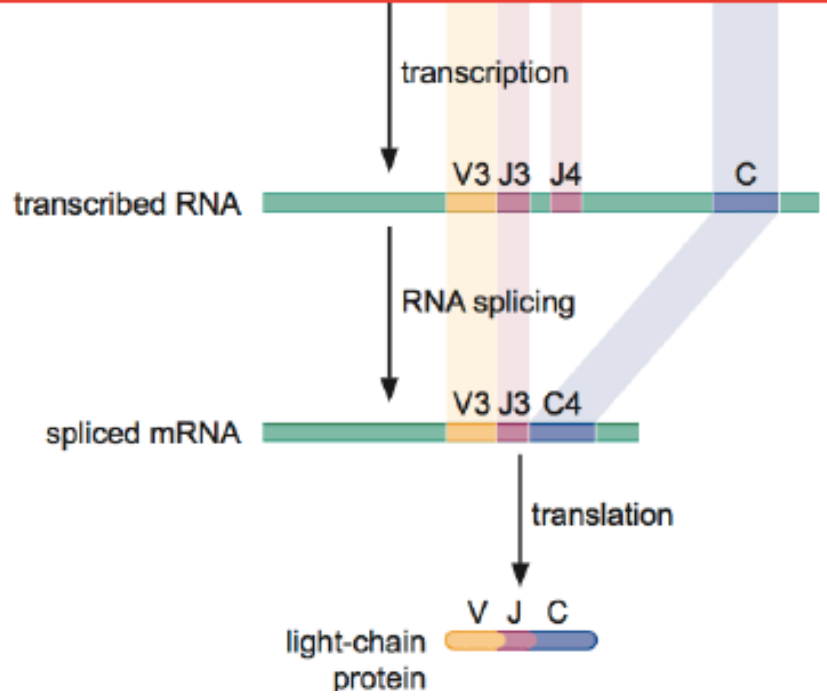
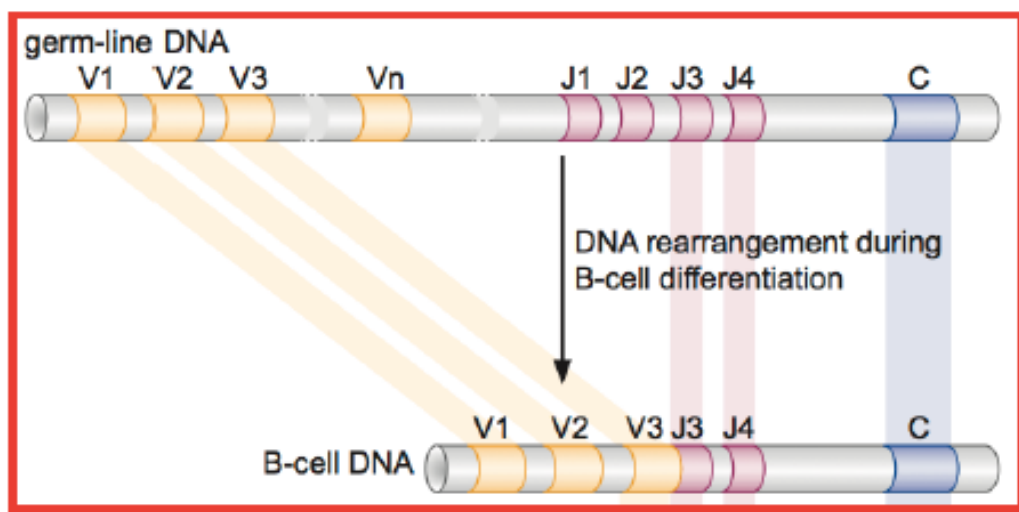


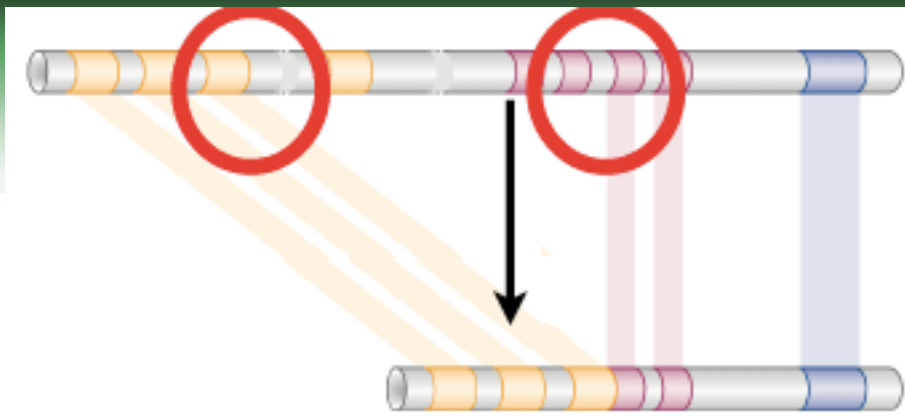
Recombination of V and DJ exons – VDJ recombination



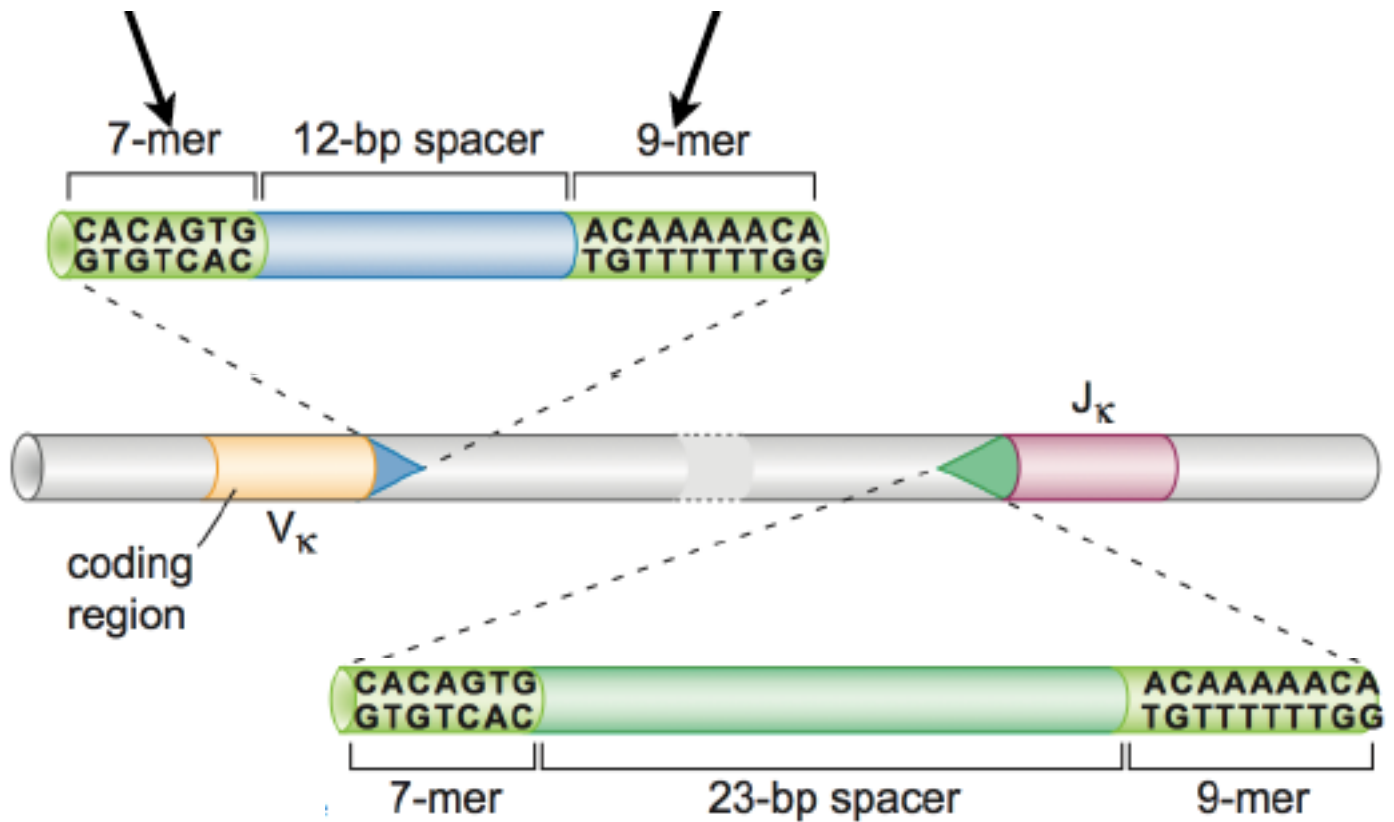
Antibody transcript will also include constant domain gene







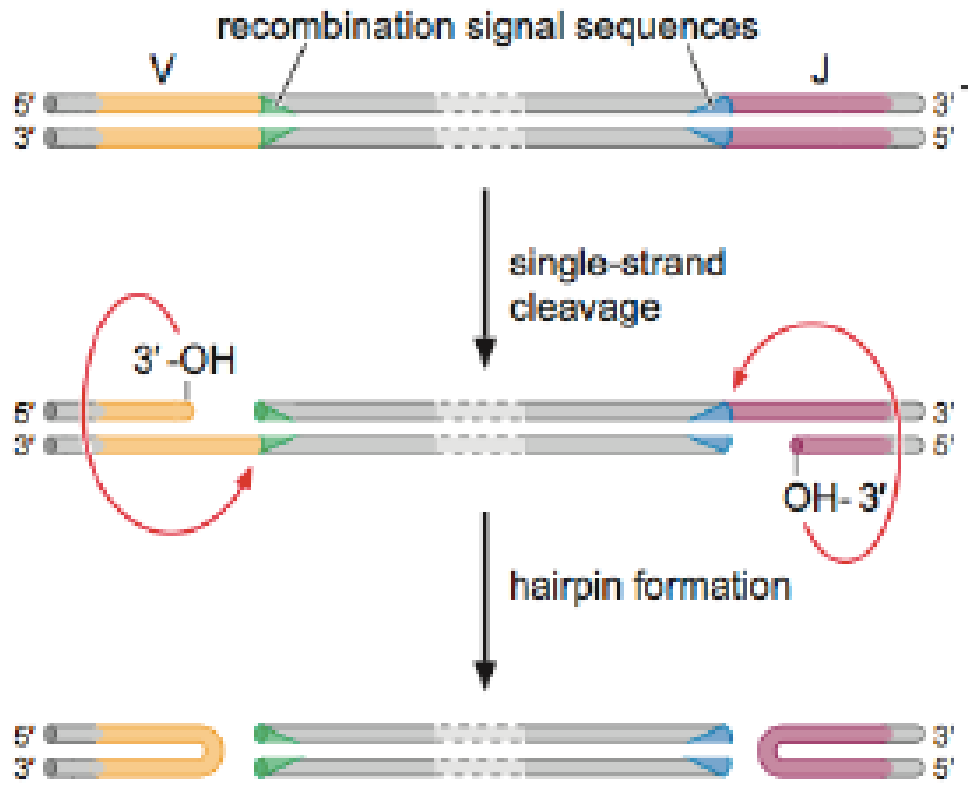
Sequência de reconhecimento de recombinases



Na recombinação V(D)J é importante que as sequências na região espaçadora não sejam idênticas

Por quê?

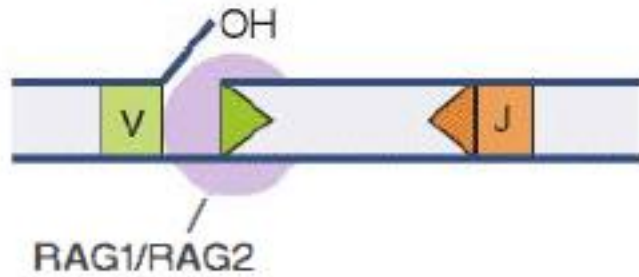
Recombinação V(D)J – primeiro passo



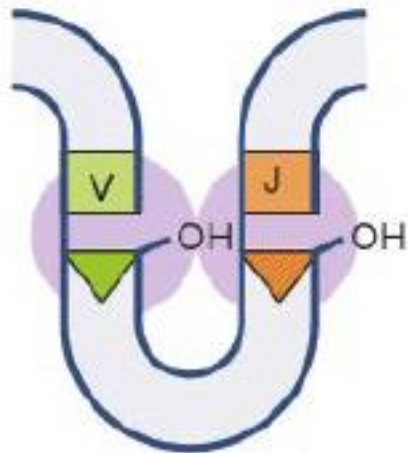
Recombinases

Recombinação V(D)J – primeiro passo

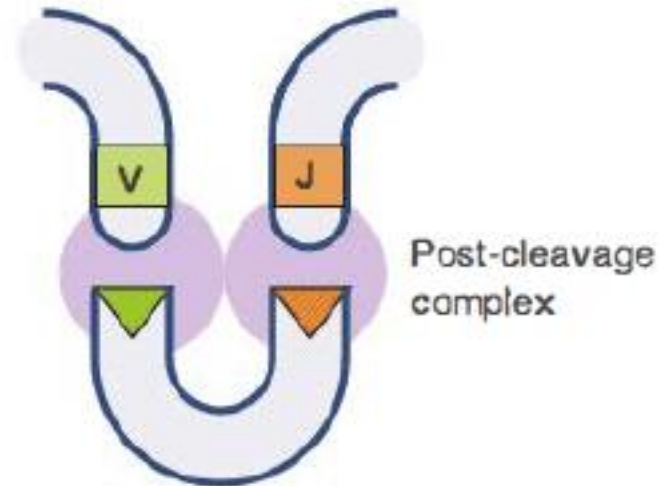
(a) RAG binding and nicking



(b) Synapsis



(c) Hairpin formation and cleavage



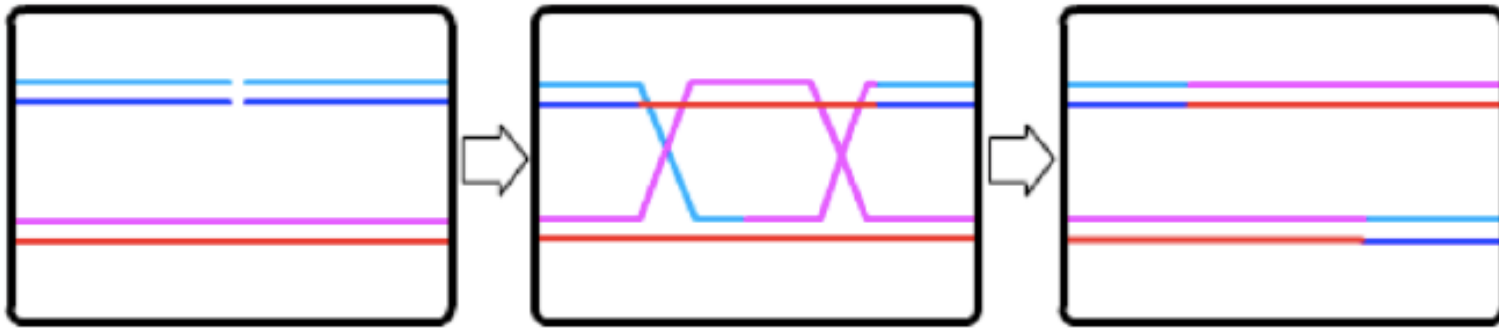
Recombinação V(D)J – segundo passo



Depende de um mecanismo de reparo de quebra de dupla fita chamado de Junção não homóloga de extremidades (JNHE)

Reparando Quebras no DNA

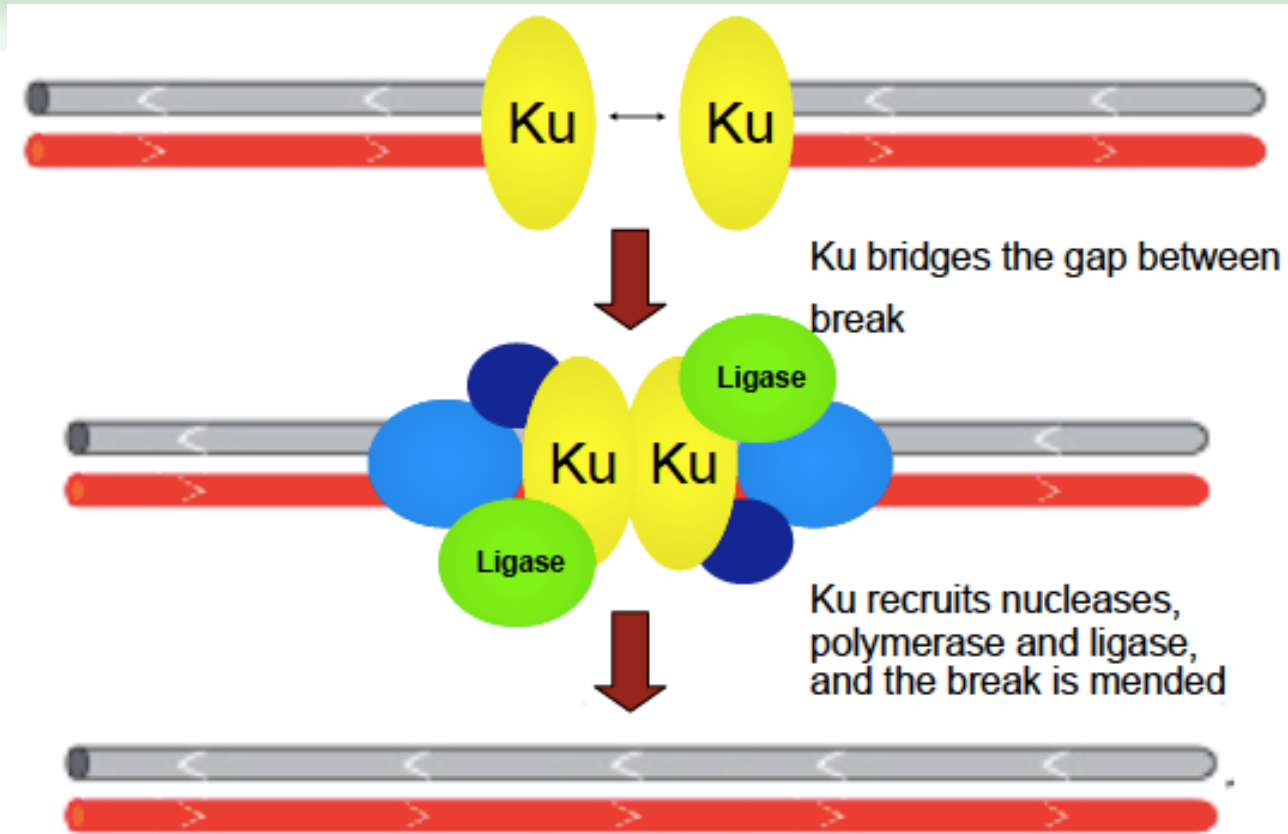
Recombinação Homóloga



Depende da cromátide irmã

Junção Não Homóloga de Extremidades

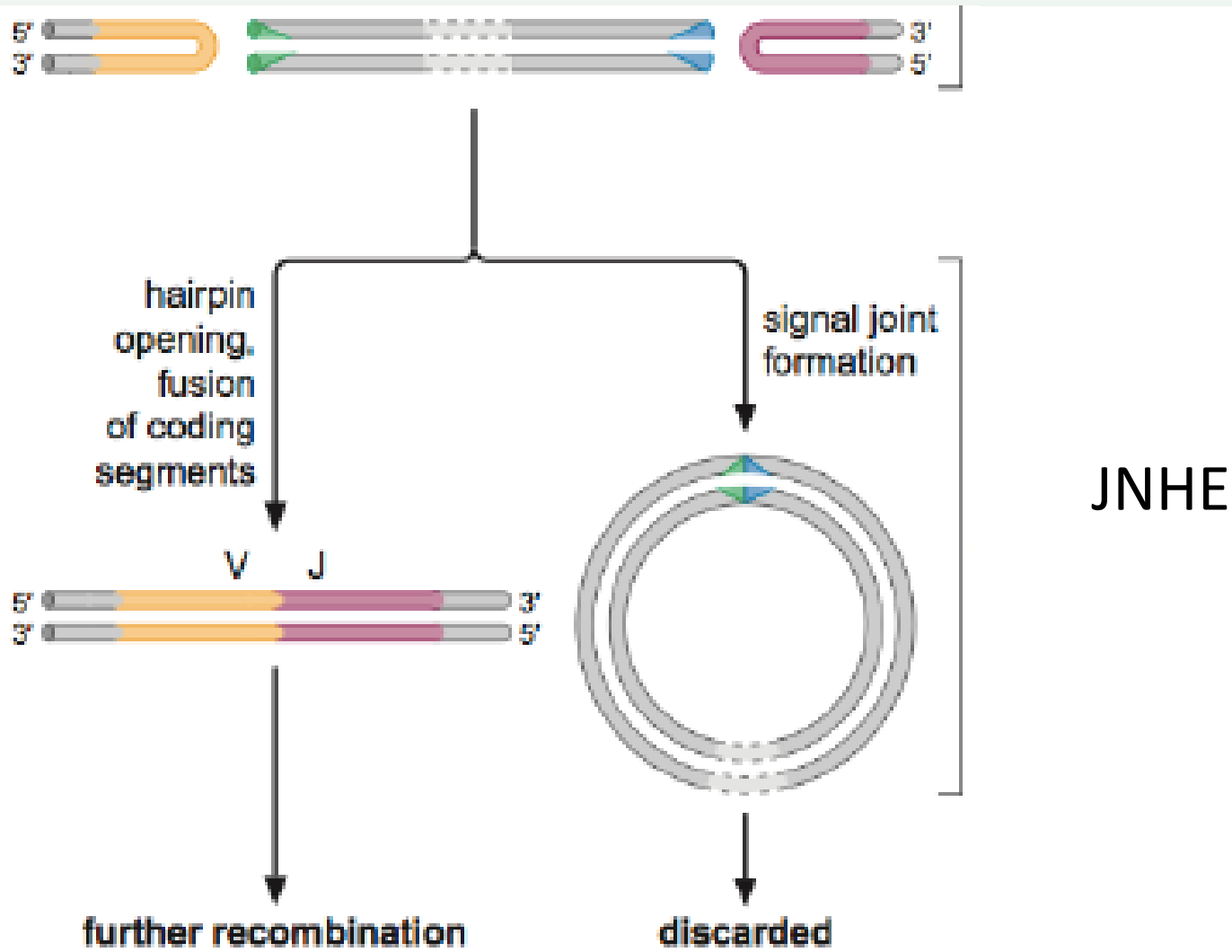
Junção Não Homóloga de Extremidades (JNHE)



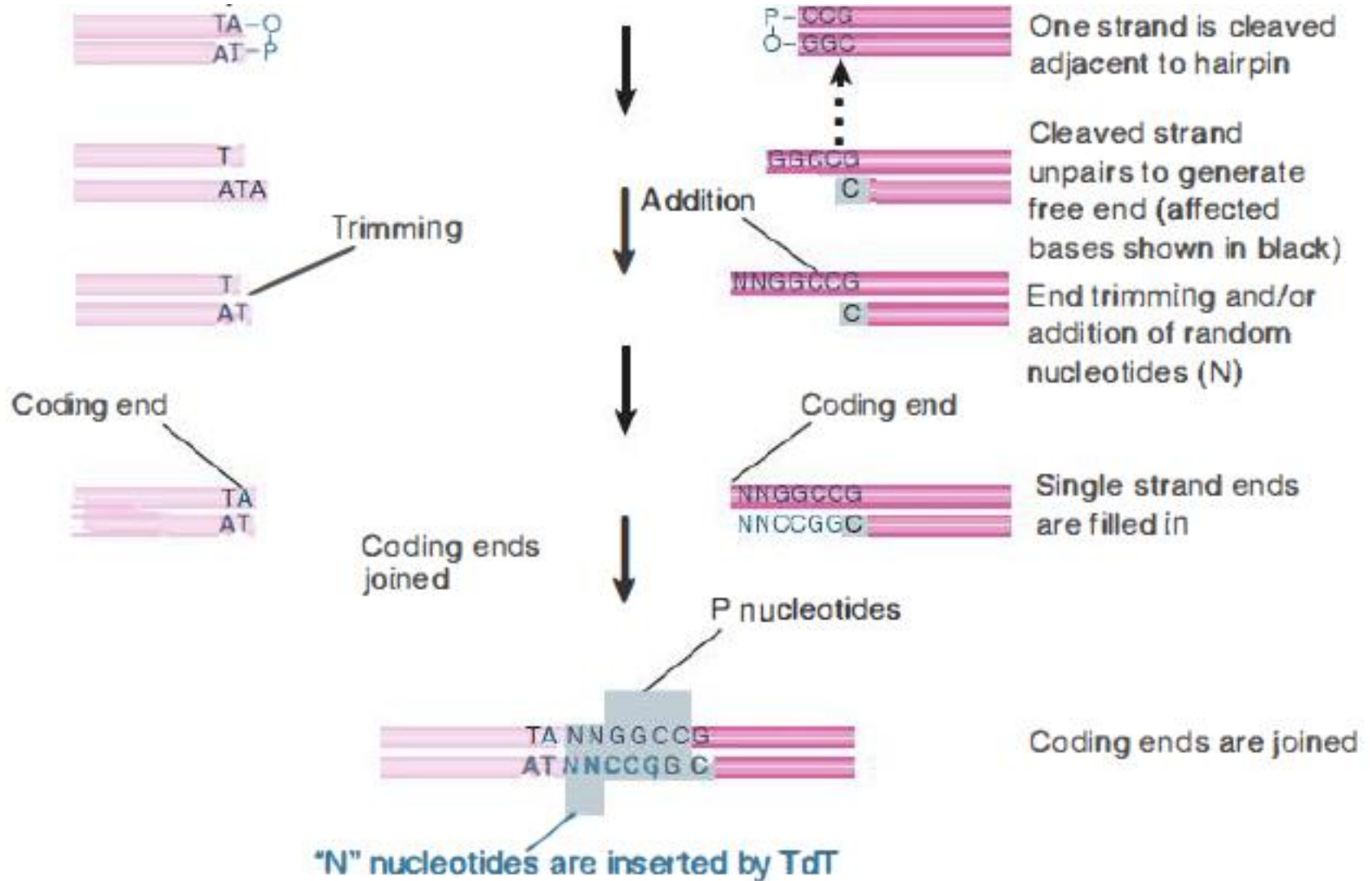
Tipicamente, nucleotídeos são perdidos no sítio de quebra durante JNHE

Portanto, a JNHE frequentemente leva a mutações (e variabilidade!!)

Recombinação V(D)J – segundo passo



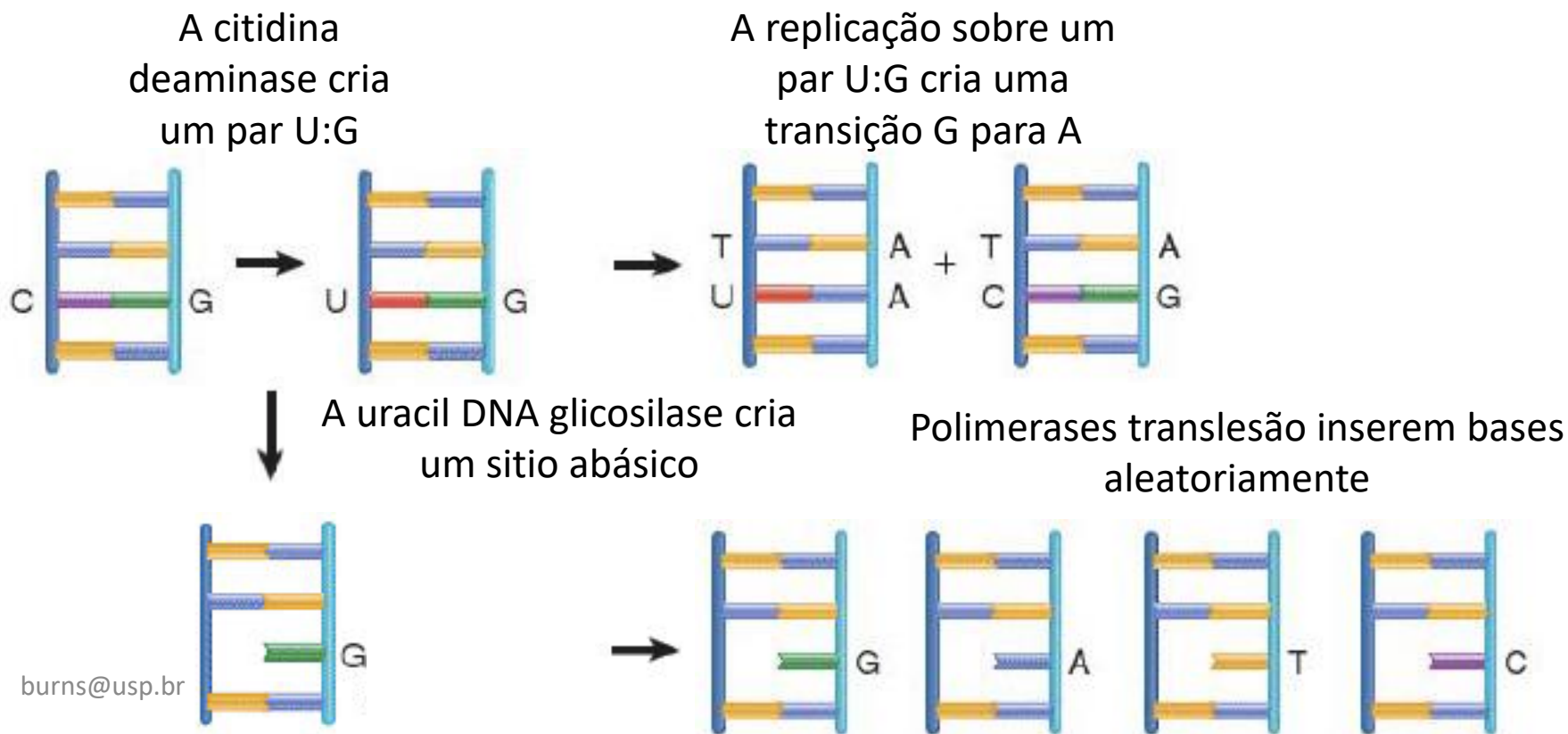
A Recombinação V(D)J é imprecisa



A hipermutação somática aumenta a dimensão da diversificação

Ocorre durante a expansão clonal das células B ativadas

A sequência da região variável é mutada por enzimas. Ex: citidina deaminase → **otimização dos anticorpos**



Possíveis consequências indesejadas deste processo de geração de diversidade?

Células B que não vão produzir anticorpos ou que não vão produzir anticorpos com estrutura funcional

Células B que vão produzir anticorpos que reconhecem antígenos próprios



Como estas células são filtradas?

