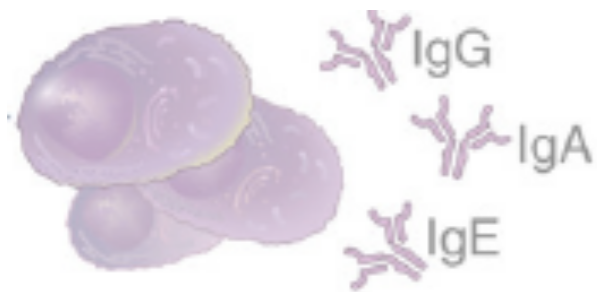


**Curso de Farmacia**  
**Disciplina 0420136 - Integrado MIP (Noturno)**

# **Os linfócitos: Geração de diversidade Desenvolvimento & Maturação**

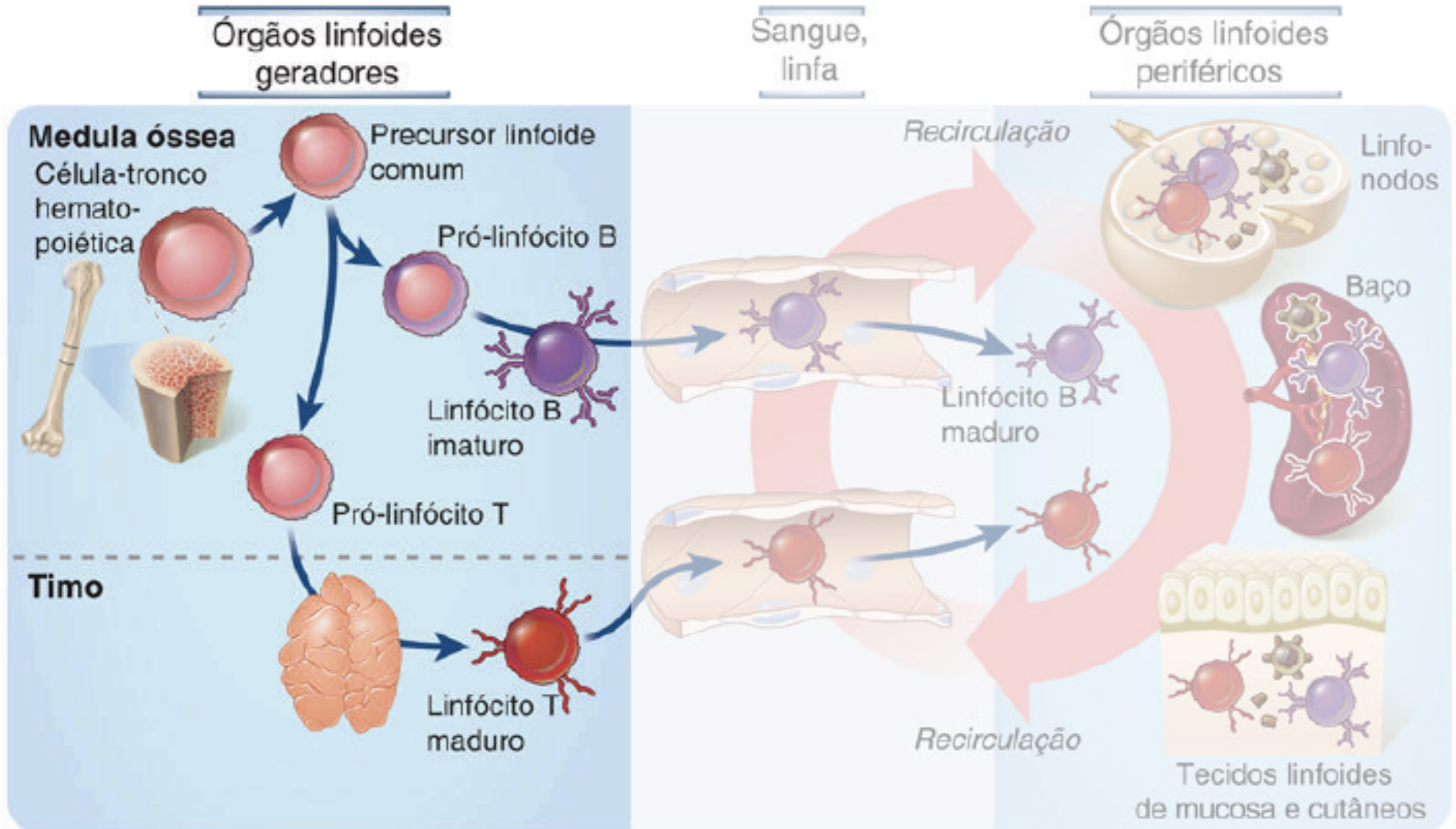


**Prof. Dr. Alessandra Pontillo**

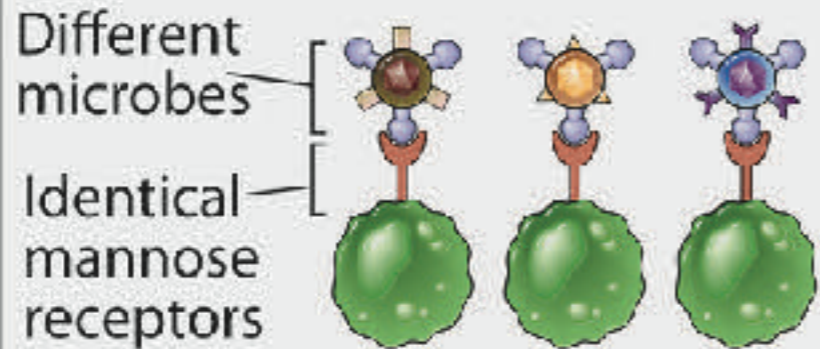
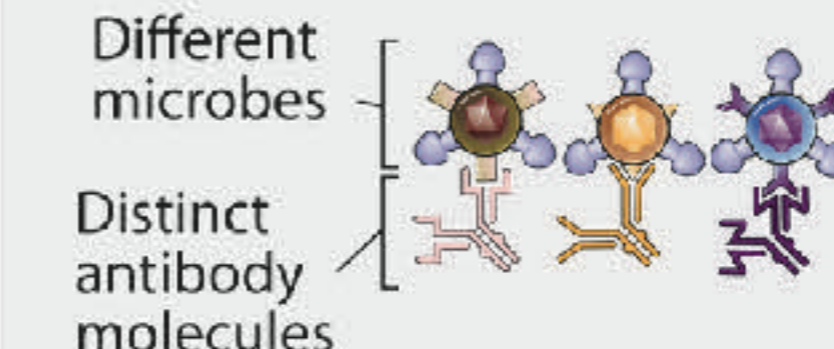
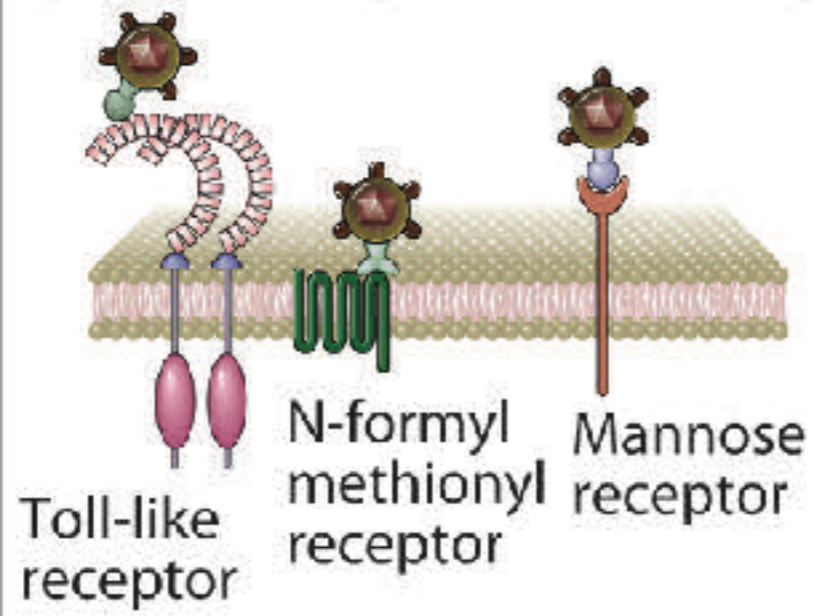
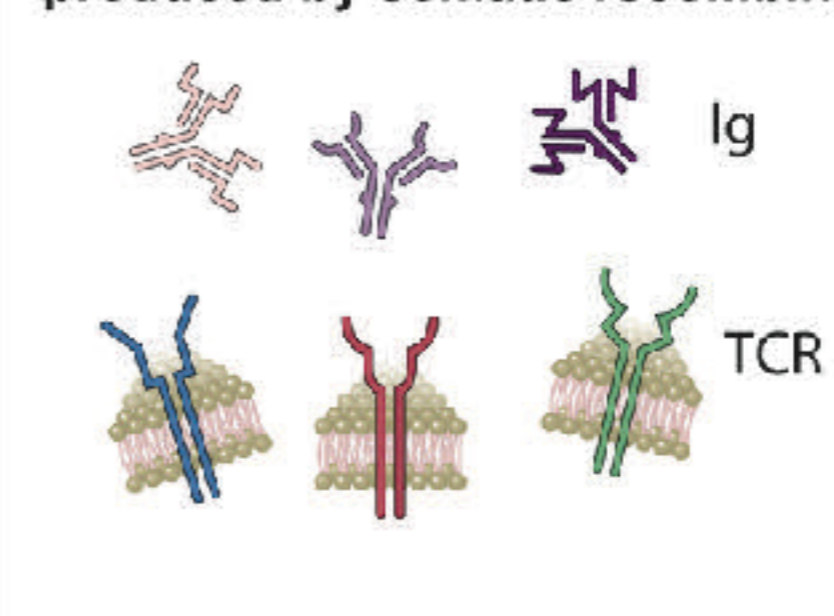
*Departamento de Imunologia  
Instituto de Ciências Biomédicas (ICB)  
Universidade de São Paulo (USP)*



# Linfócitos B e T



# Reconhecimento dos T & B

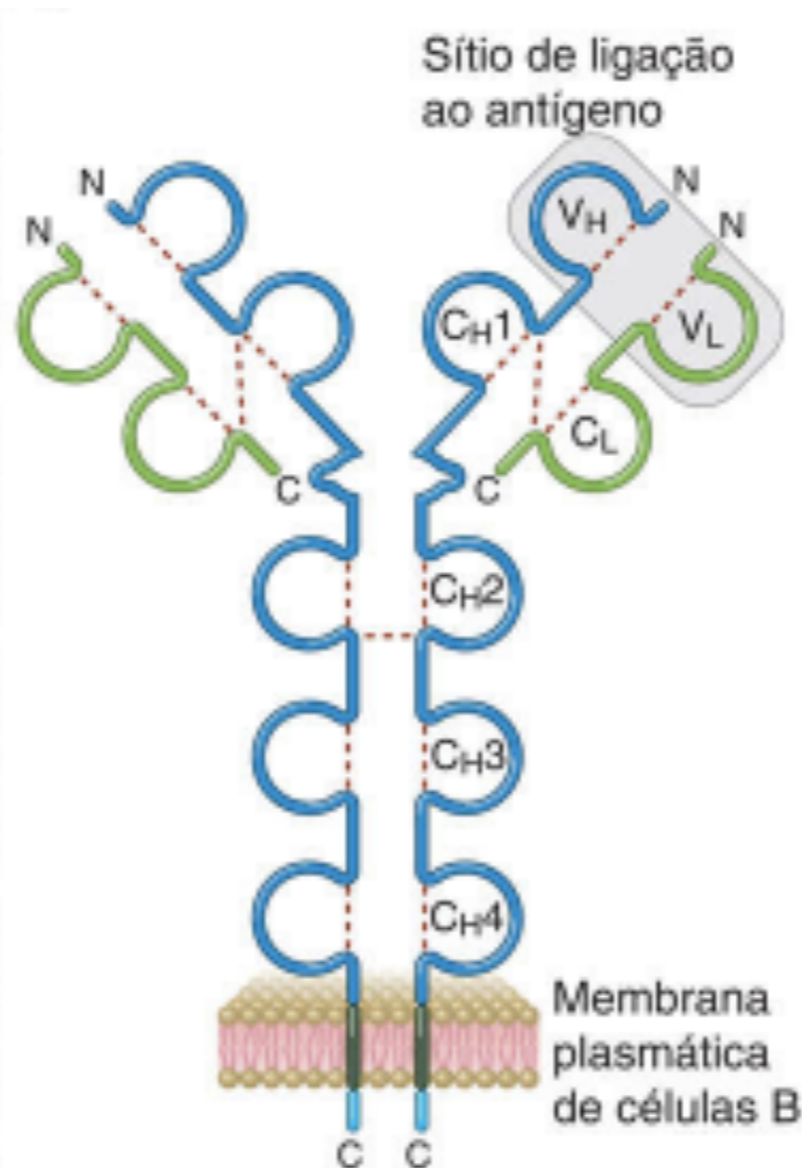
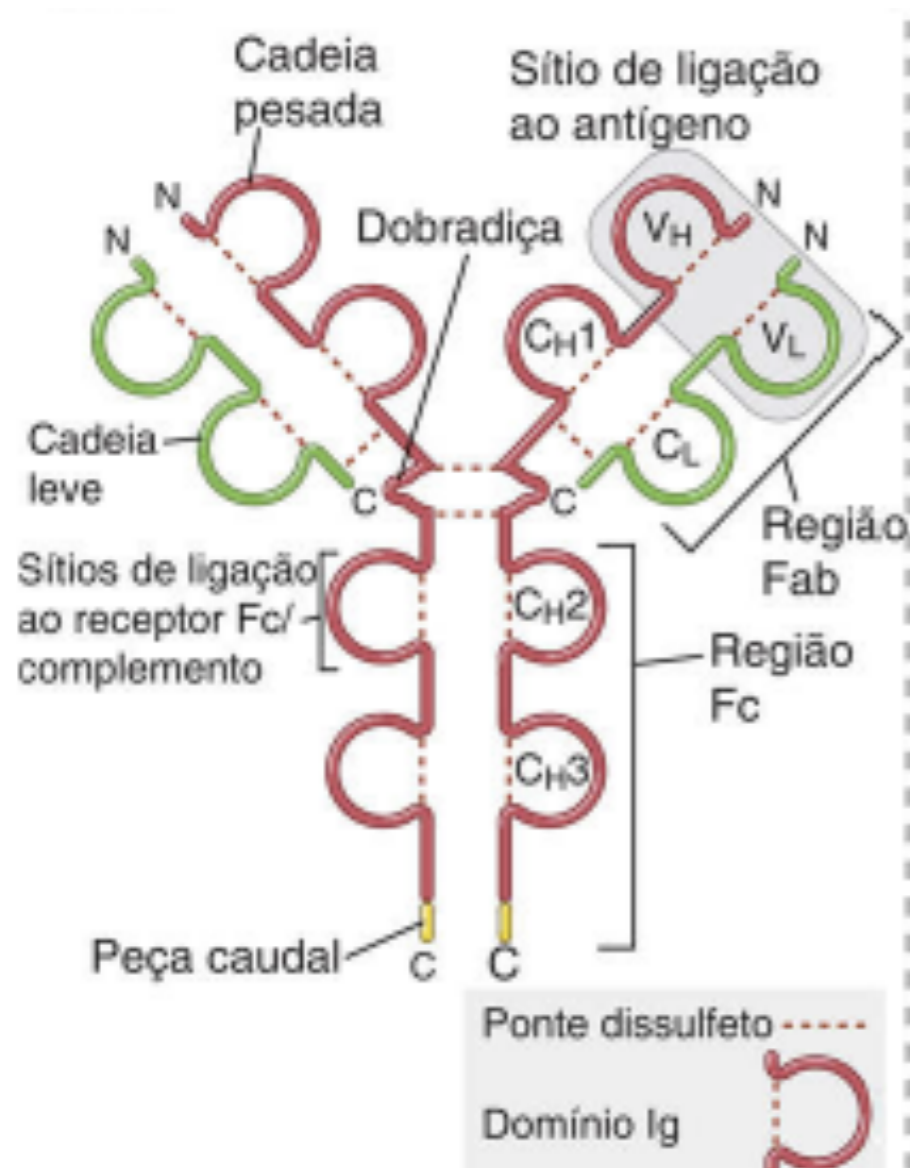
	Innate immunity	Adaptive immunity	
Especificidade	<p>For pathogen-associated molecular patterns (PAMPS)</p> <p>Different microbes</p> <p>Identical mannose receptors</p> 	<p>For structural details of any molecules (antigens)</p> <p>Different microbes</p> <p>Distinct antibody molecules</p> 	Ag
Receptores	<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>	BCR Ig/AC
Distribuição Rec/Cel	Non-clonal	Clonal	Clone

# Receptores dos T & B: TCR & BCR

## Linfócito B

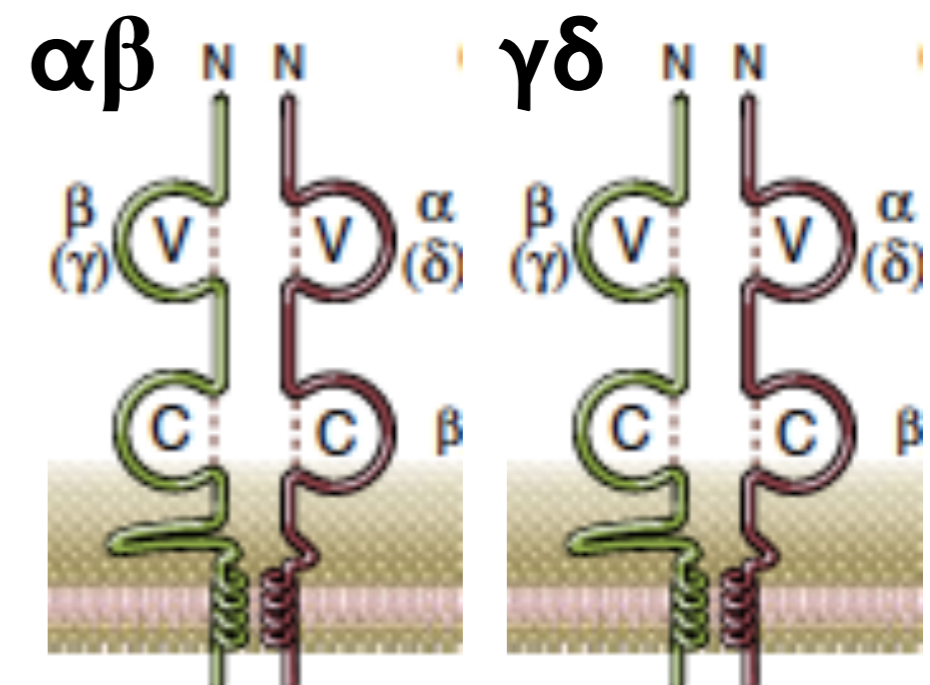
### Anticorpo (Ig/AC)

### BCR



## Linfócito T

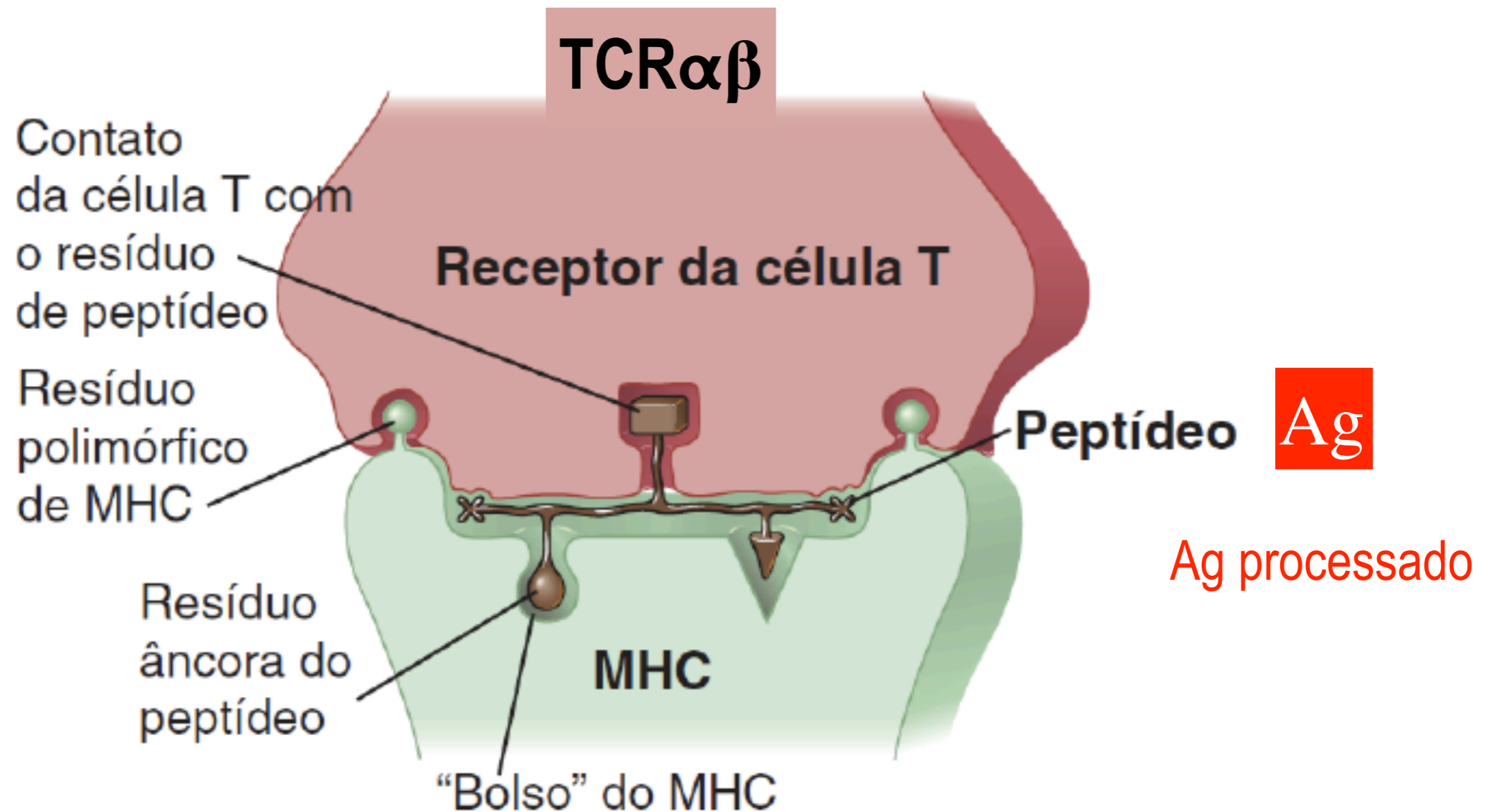
### TCR



# Reconhecimento dos T & B

**ANTÍGENO (Ag):** QUALQUER MOLÉCULA RECONHECIDA POR TCR E/OU BCR

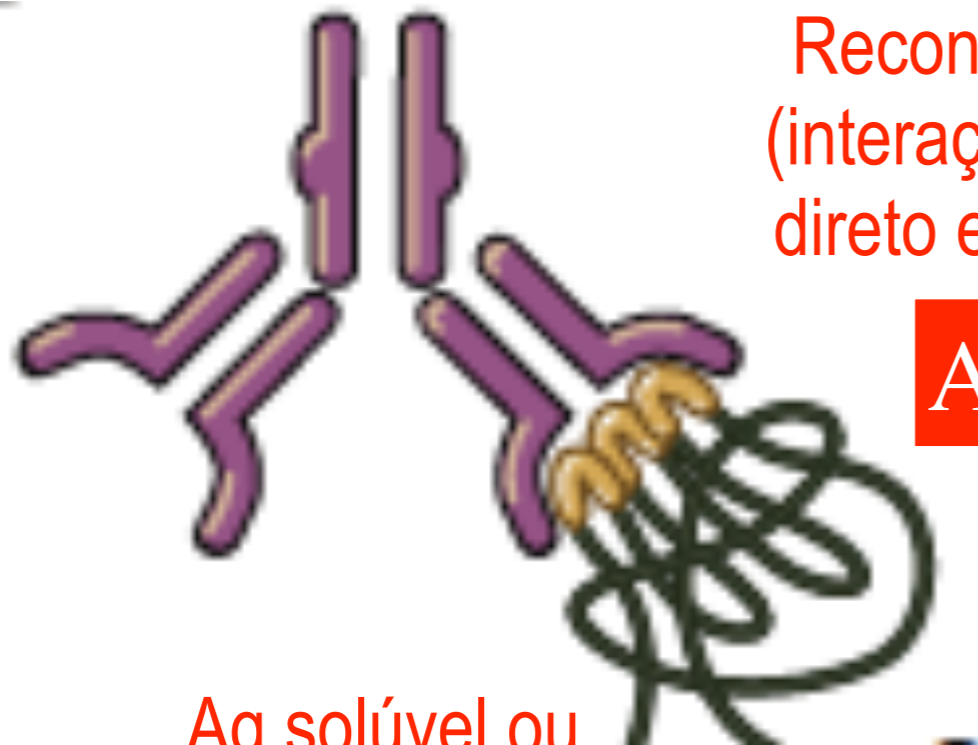
**TCR $\alpha\beta$ :** peptideos no contexto do MHC próprio



# Reconhecimento dos T & B

**BCR/Ig:** proteínas, carboidratos, lipídios, ácidos nucleicos  
macromoléculas tais como carboidratos complexos, fosfolipídeos  
metabólitos simples

**BCR/Ig**

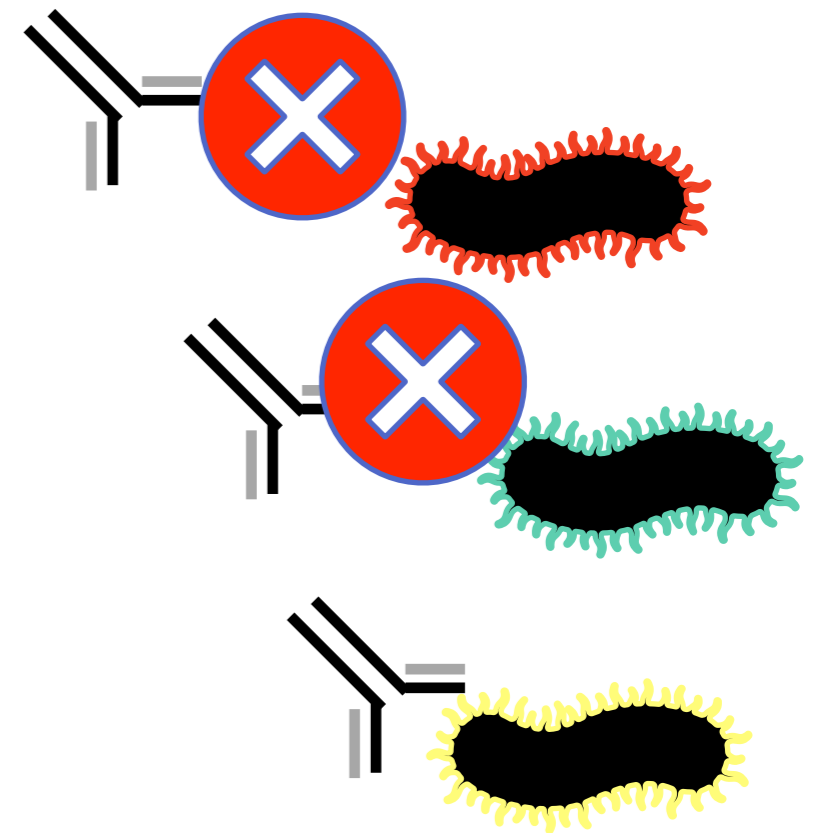


Reconhecimento  
(interação Rec/Ag)  
direto e específico

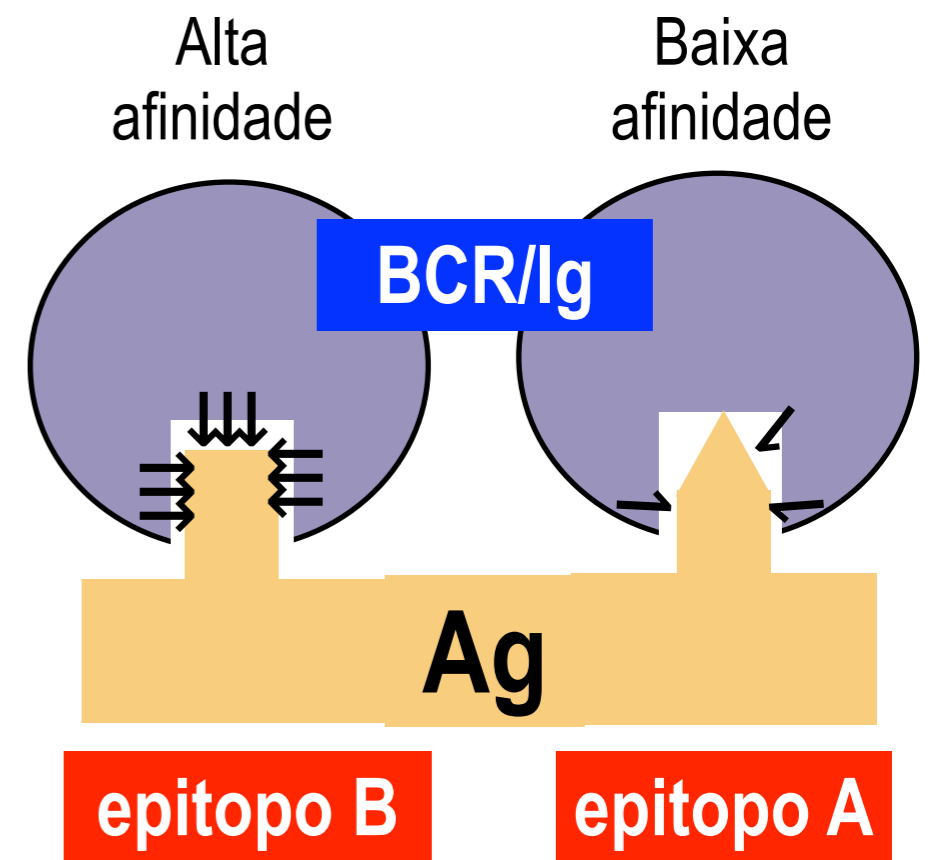
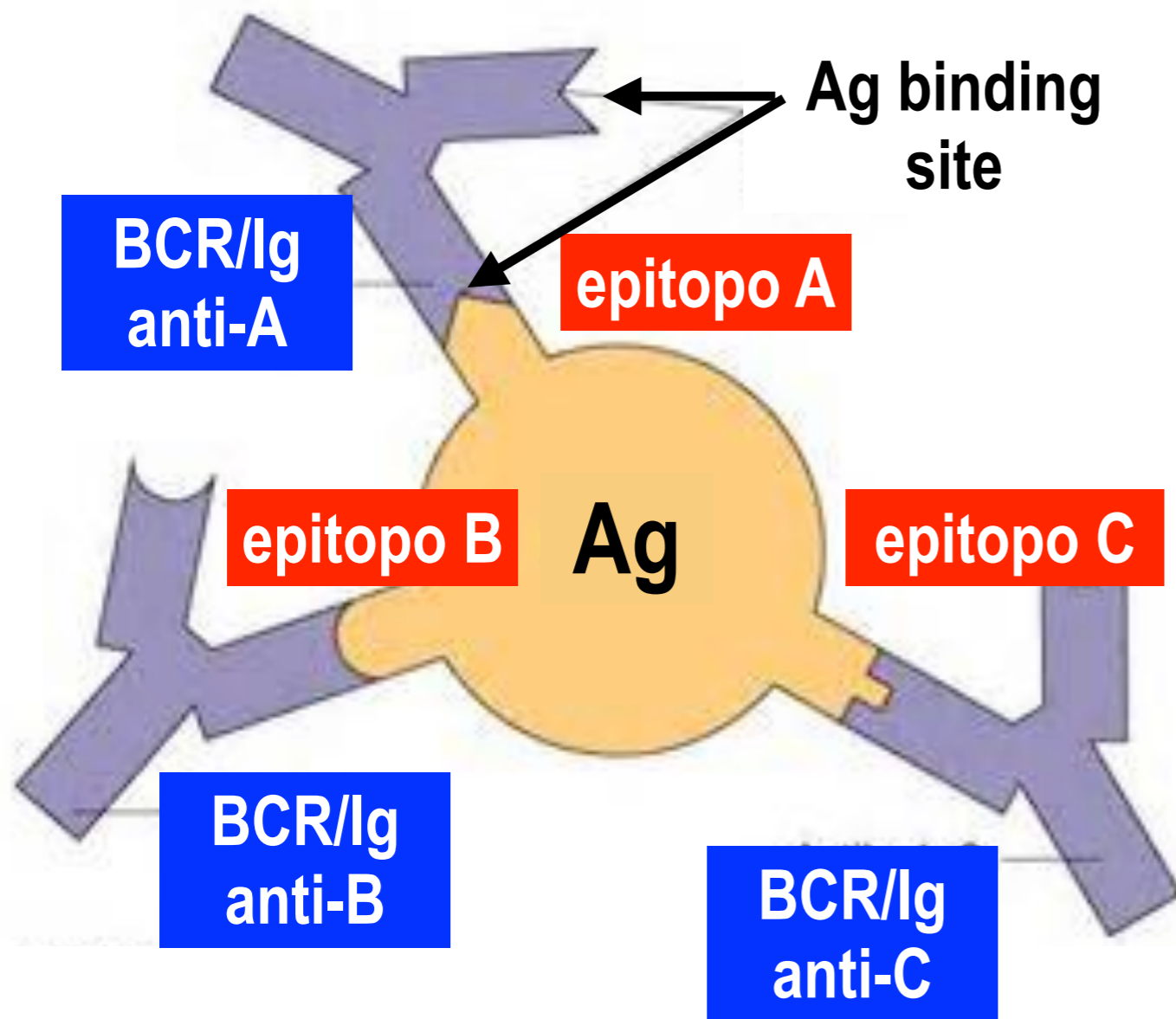
**Ag**

Ag solúvel ou  
na superfície

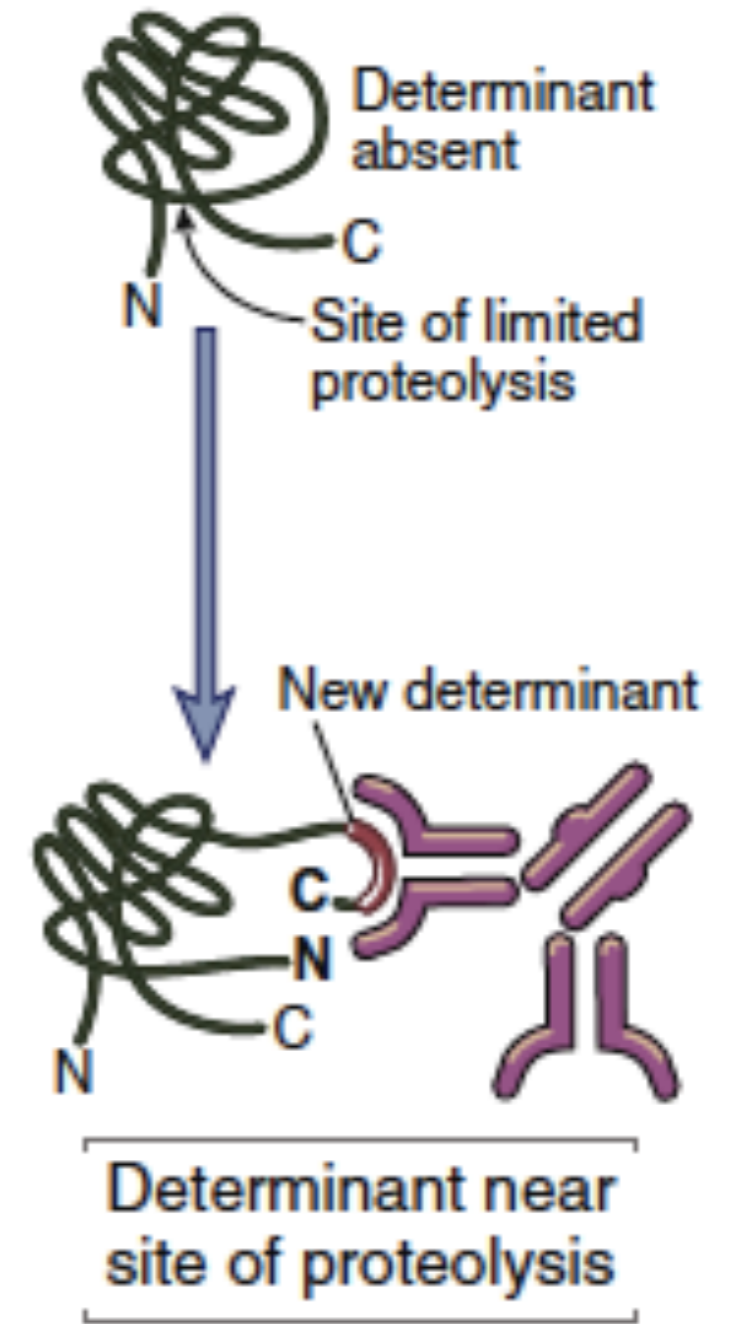
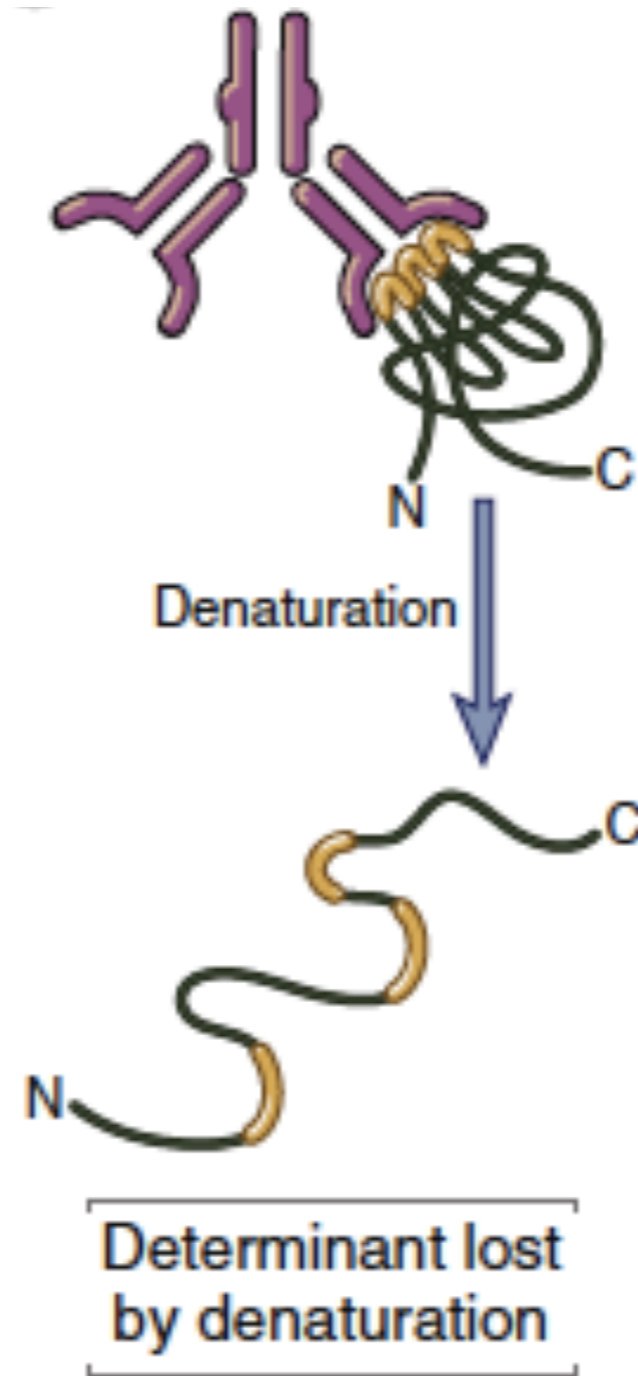
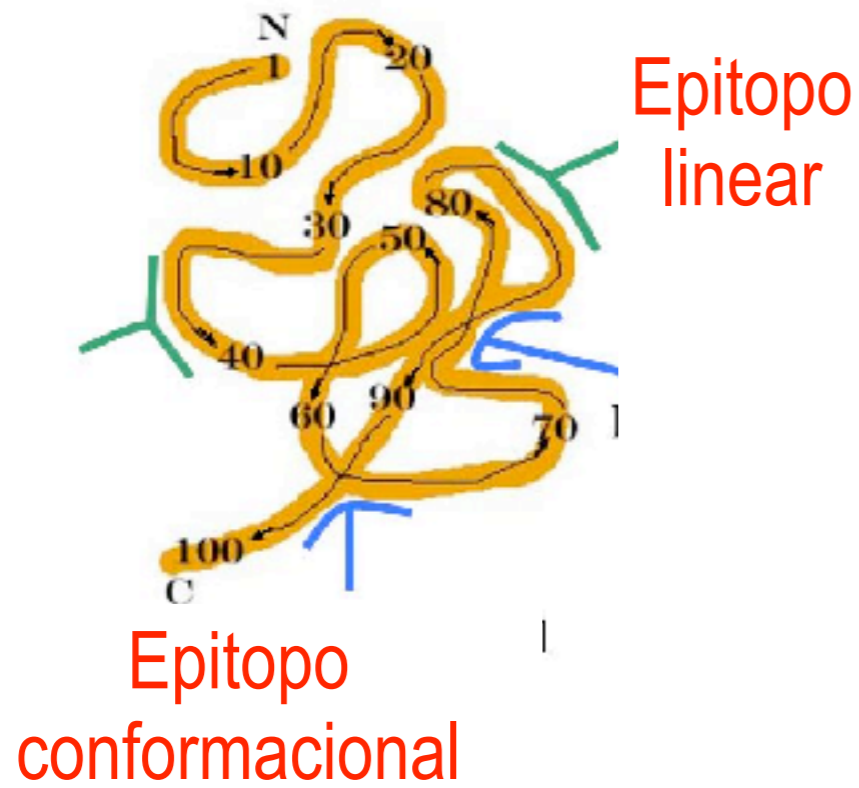
Cada BCR/Ig interage  
especificamente com um Ag



# Antígeno e Epitopos



# Antígeno e Epitopos

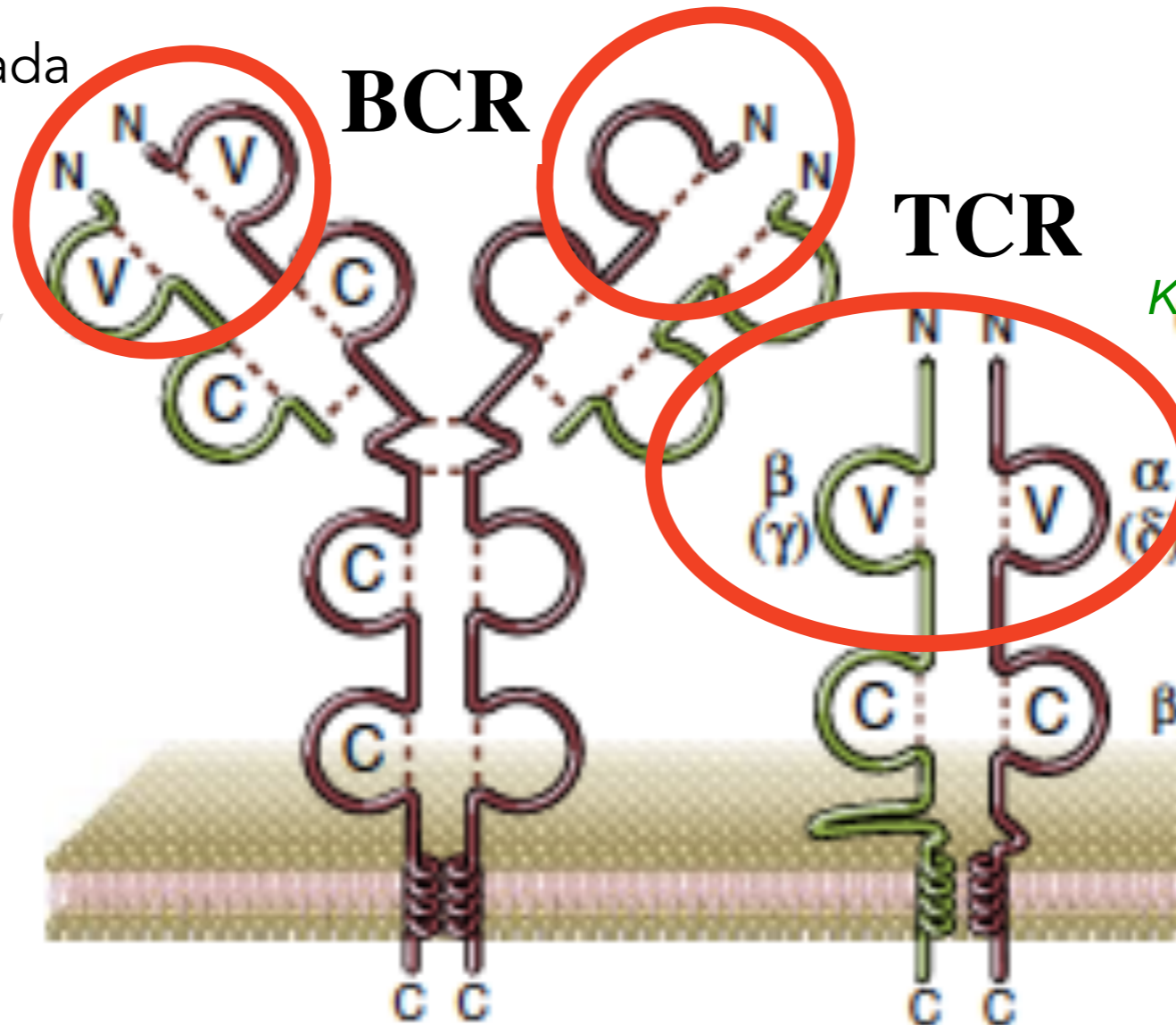




# Receptores dos T & B: TCR & BCR

**Porção variável (V, 100 AA)**  
 sitio de ligação com Ag  
 contem regiões de elevada  
 variabilidade  
 (CDR; ~10 AA)

$K_d = 10^{-7} - 10^{-11} M$

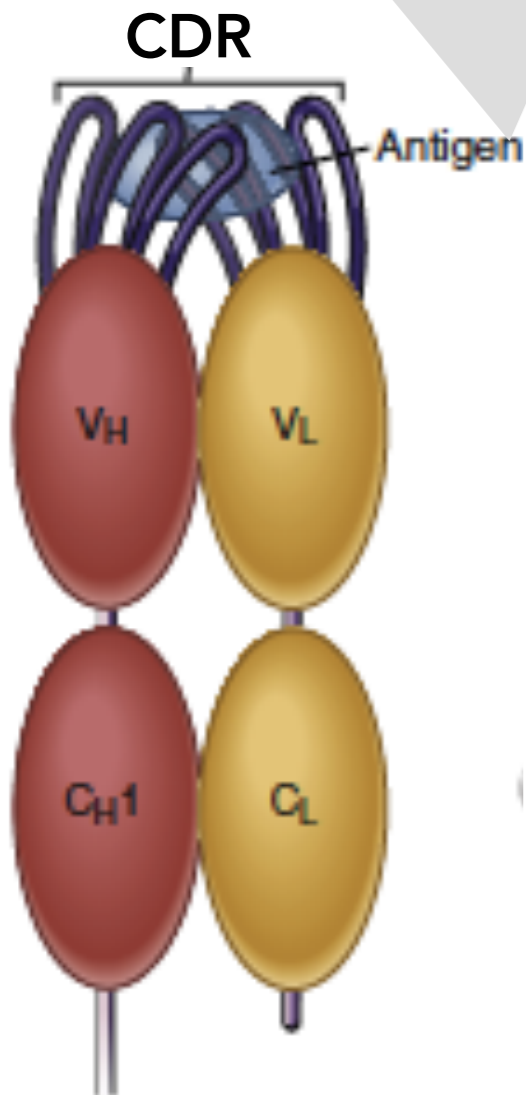


**BCR**

**TCR**

$K_d = 10^{-5} - 10^{-7} M$

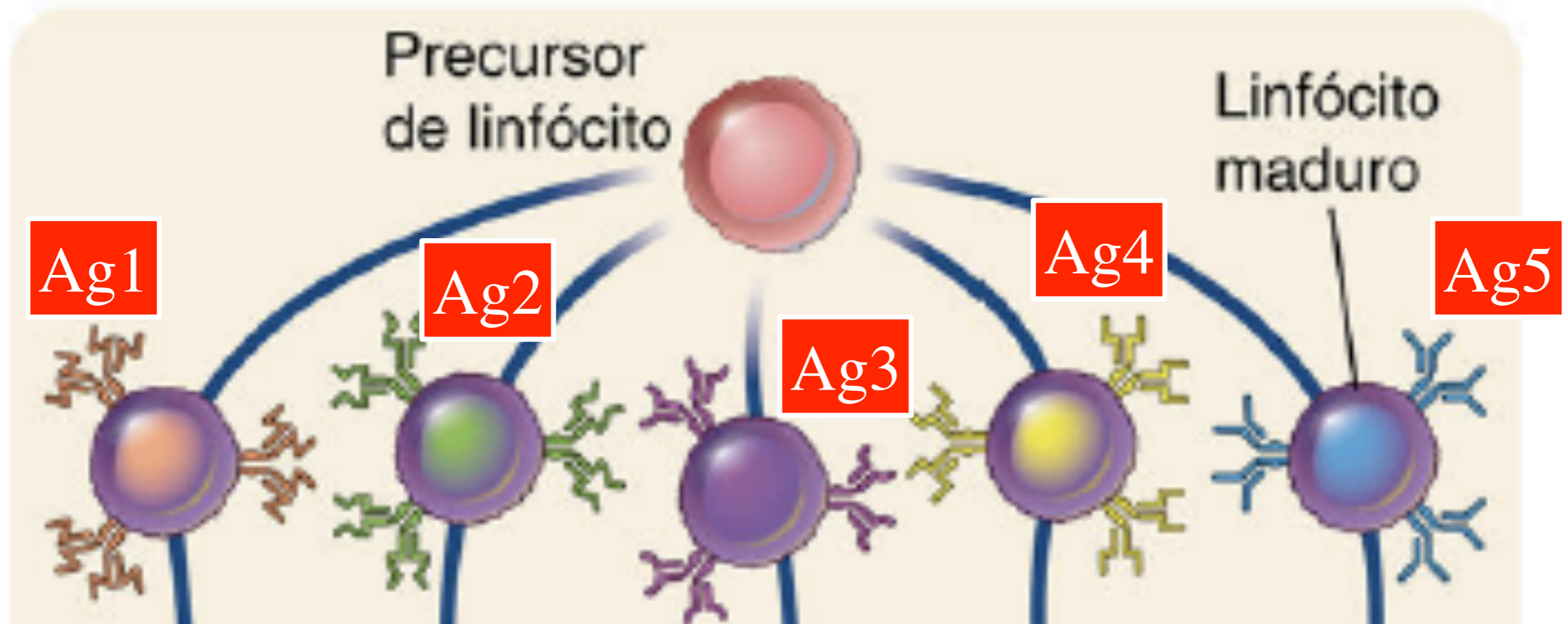
**Porção constante (C)**



**2 cadeias pesadas (H):**  
 4 domínios Ig (1 V, 2 C)  
**2 cadeias leve (L)**  
 2 domínios Ig (1V, 1C)

**2 cadeias ( $\alpha$  e  $\beta$ ):**  
 2 domínios Ig (1V, 1C)

# Receptores dos T & B: TCR & BCR



Linfócitos com um Receptor específico para um determinado Ag

=

Repertório de linfócitos (ou de BCR/TCR)

BCR/Ig  $\sim 5 \times 10^8$

TCR  $\sim 10^{13}$

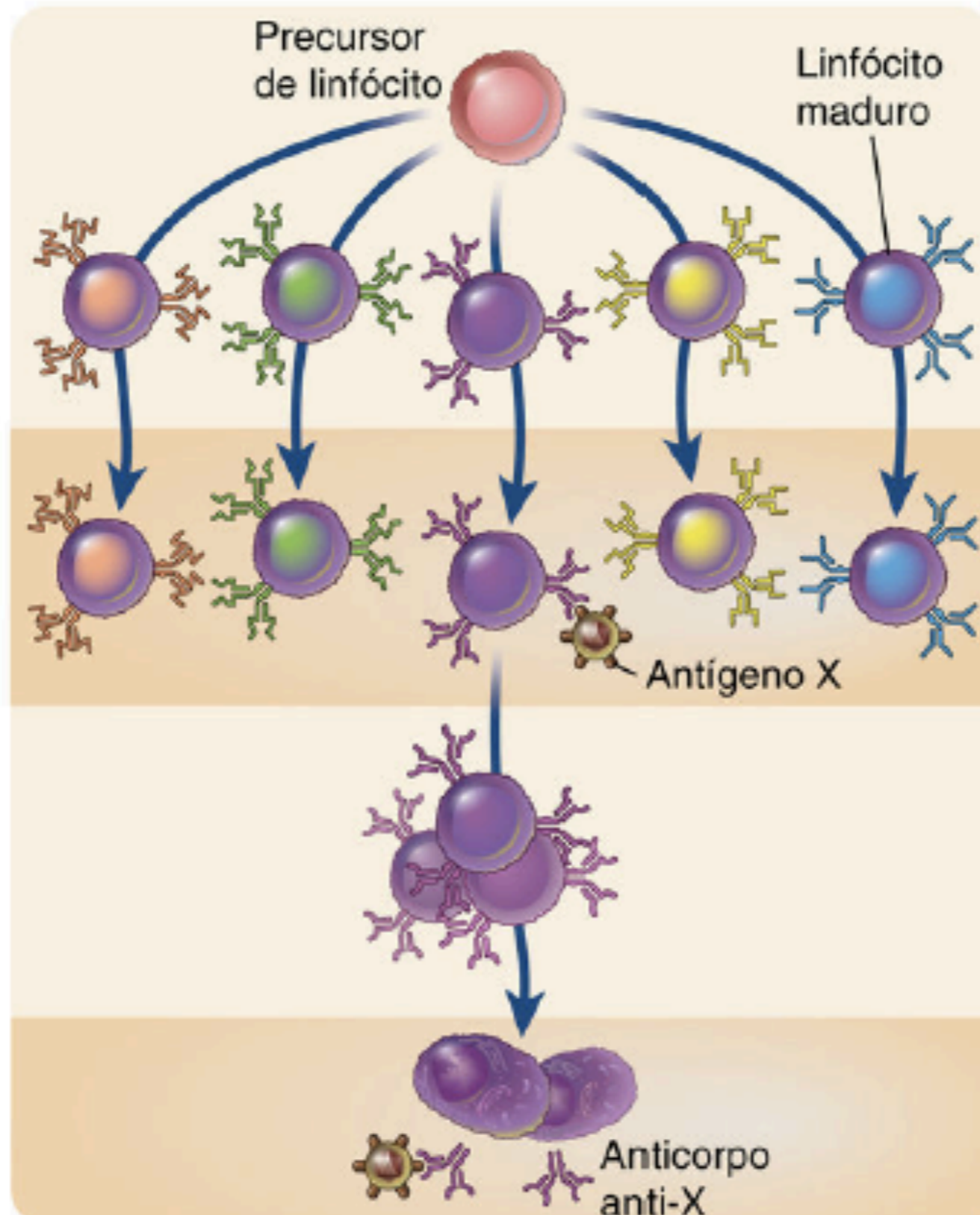
# Repertório de linfócitos T e B

Clones de linfócitos maduros nos órgãos linfoides geradores, na ausência de antígenos

Clones de linfócitos maduros específicos para diversos antígenos entram nos tecidos linfoides

Clones antígeno-específicos são ativados ("selecionados") pelos antígenos

Respostas imunes antígeno-específicas ocorrem



Cada linfócito T ou B maduro pode expressar TCR ou BCR com uma única especificidade (domínio variável)

Clone

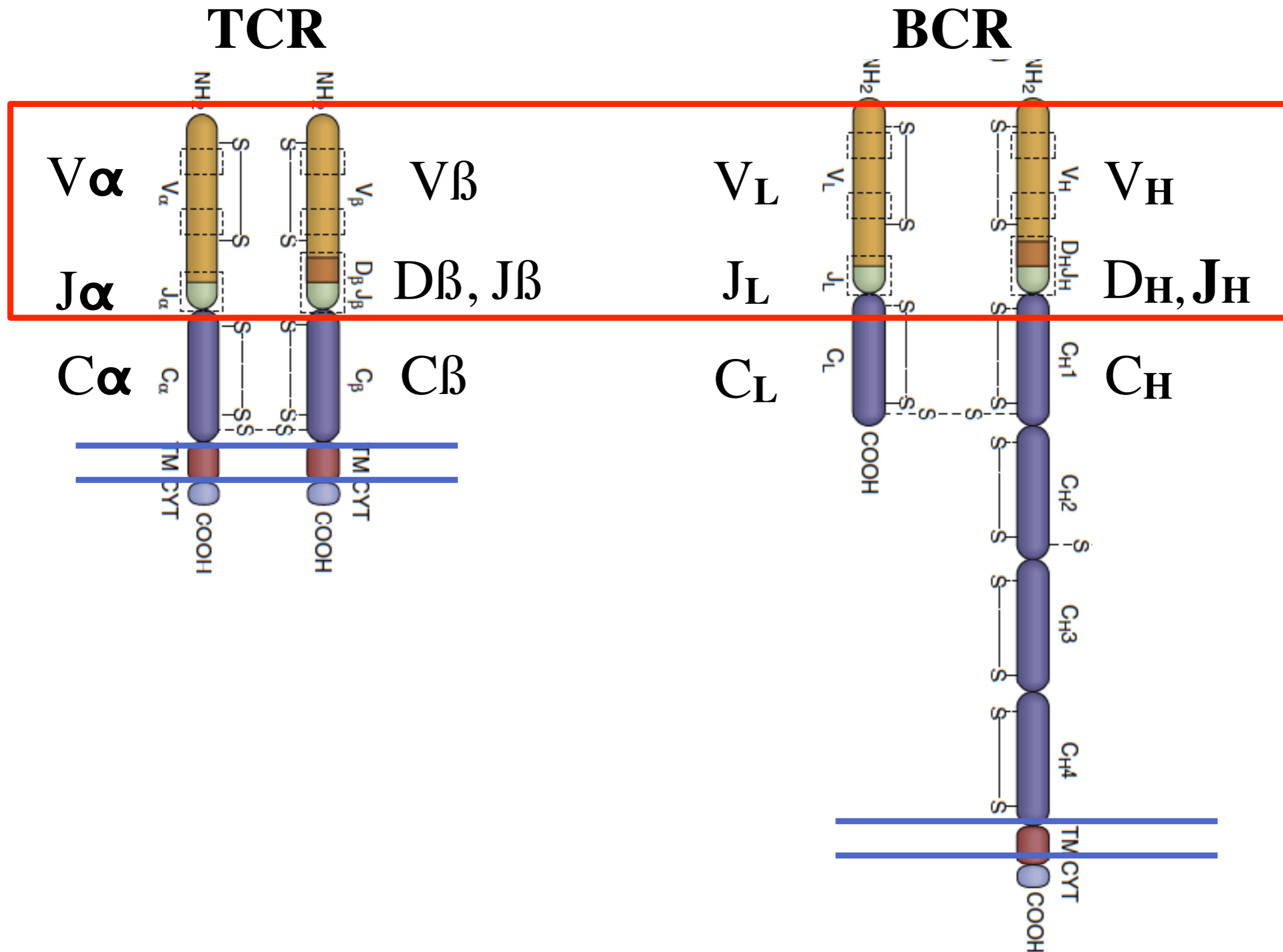
# TCR & BCR: origem da especificidade

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

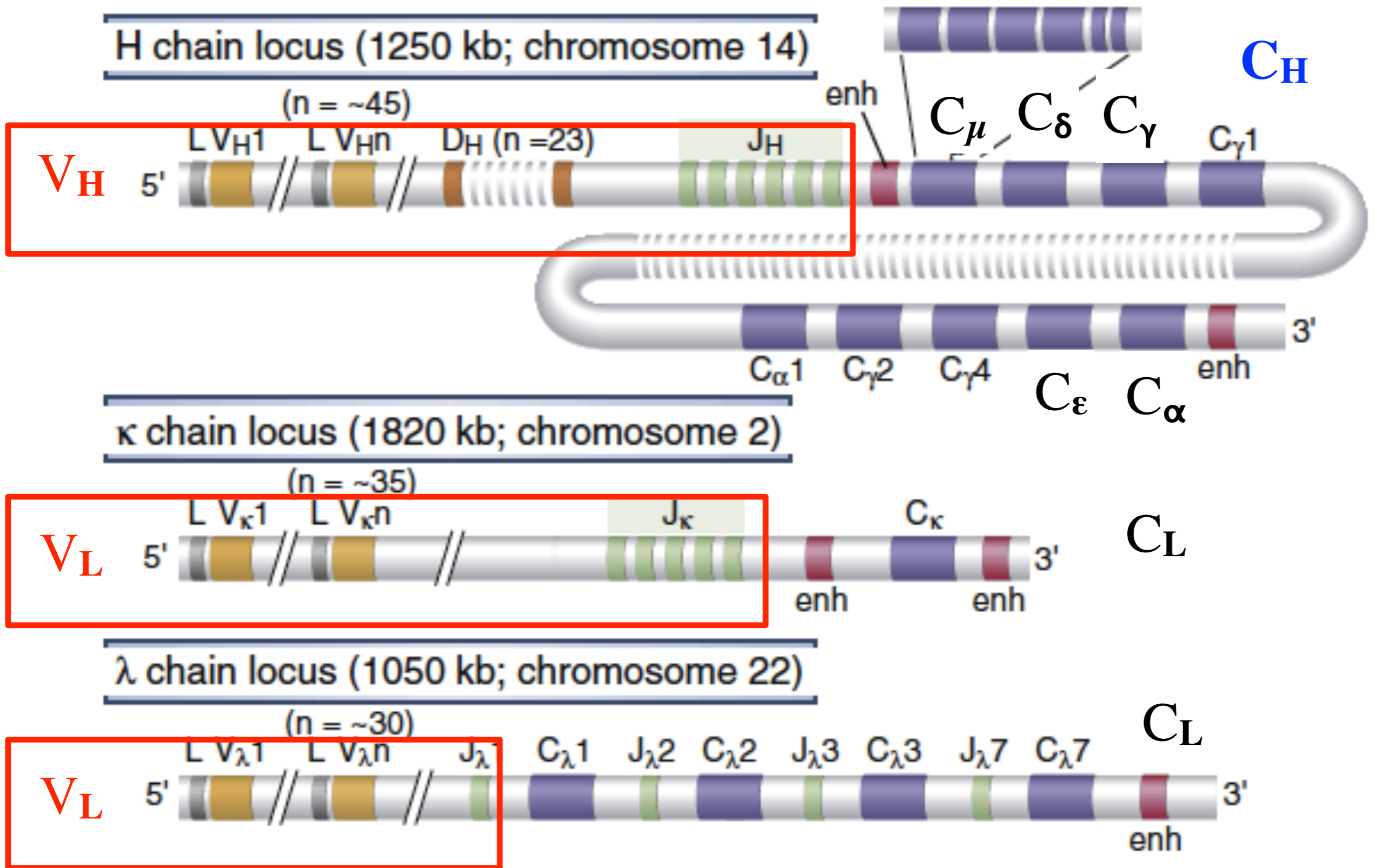
1955-Jerne  
1957-Burnet  
1958-Nossal  
1976-Tonegawa

- ✓ Os genes para **regiões variáveis** dos BCR e TCR são herdados como **grupos de segmentos genicos**
- ✓ No desenvolvimento dos linfócitos esses segmentos genicos são irreversivelmente ligados por uma **recombinação somática do DNA** para formar um segmento de DNA que codifica uma região variável completa
- ✓ A recombinação somática do DNA em cada linfócito é **combinatória ( $10^8$ ), aleatória e clone-específica**
- ✓ A ativação dos linfócitos B pode levar a aumento da especificidade do BCR através da **hipermutação somática**

# TCR & BCR: regiões & domínios



# Locus do BCR



# Recombinação somática do BCR

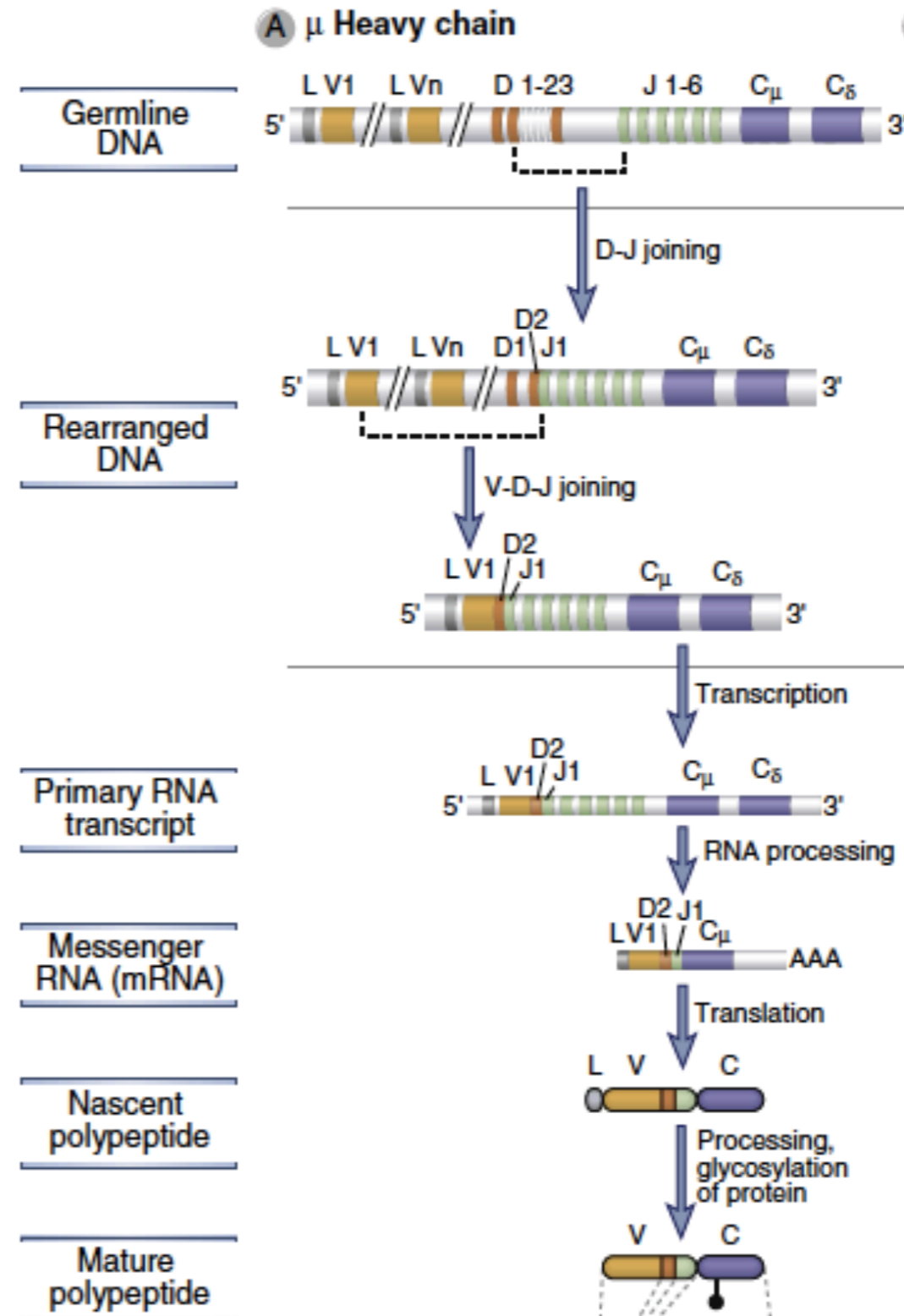
**V<sub>H</sub>**

segmentos **V**: 45  
 segmentos **D**: 23  
 segmentos **J**: 6

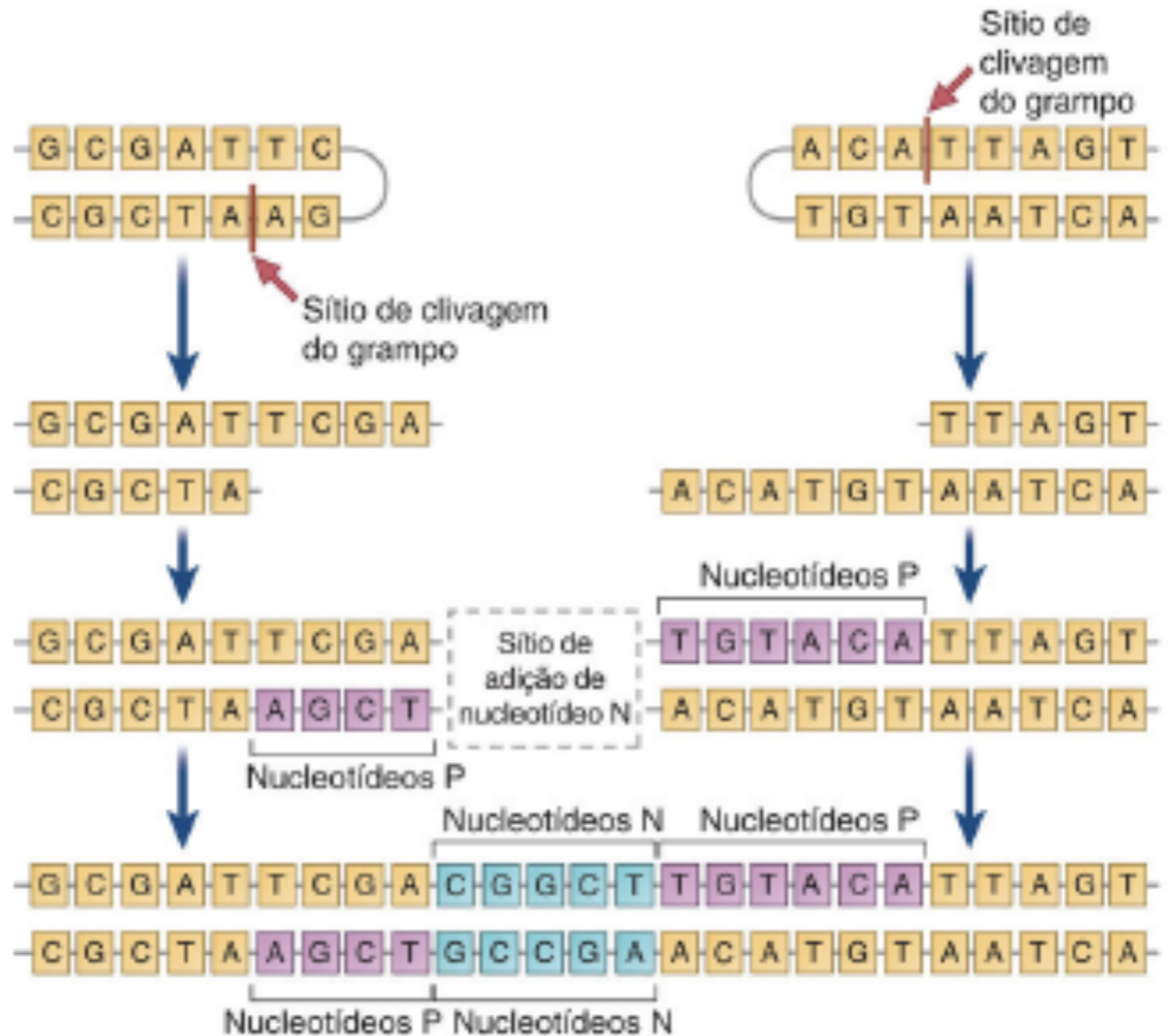
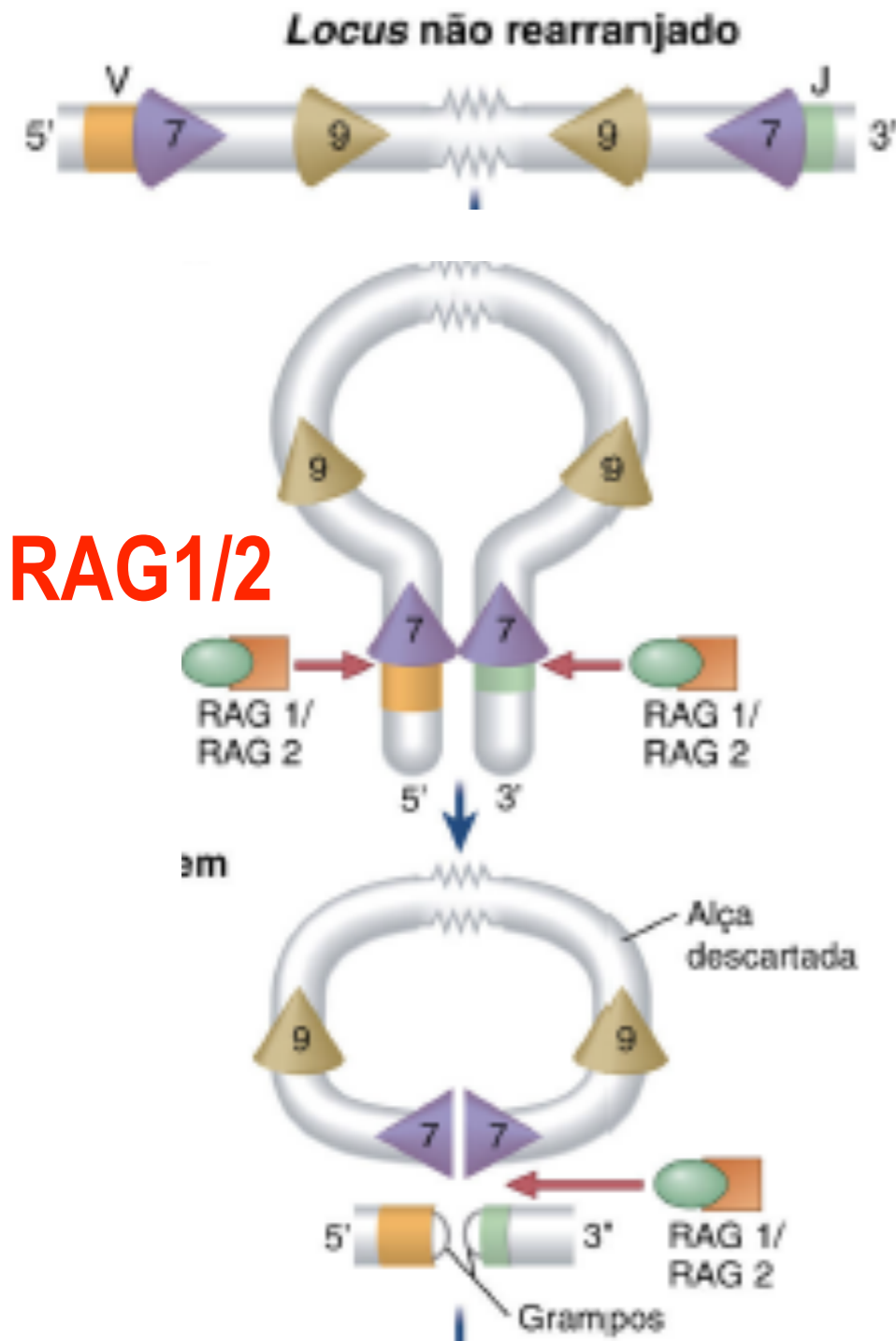
regiões de diversificação (N): V-D, D-J

$$1 V (n=45) \times 1 D (n=23) \times 1 J (n=6) = 6210$$

regiões de diversificação (N): V-D, D-J



# Geração de diversidade junctional





# Recombinação somática do BCR

$V_L$

Cadeia  $\kappa$ :

segmentos **V**: 35

segmentos **J**: 5

Cadeia  $\lambda$ :

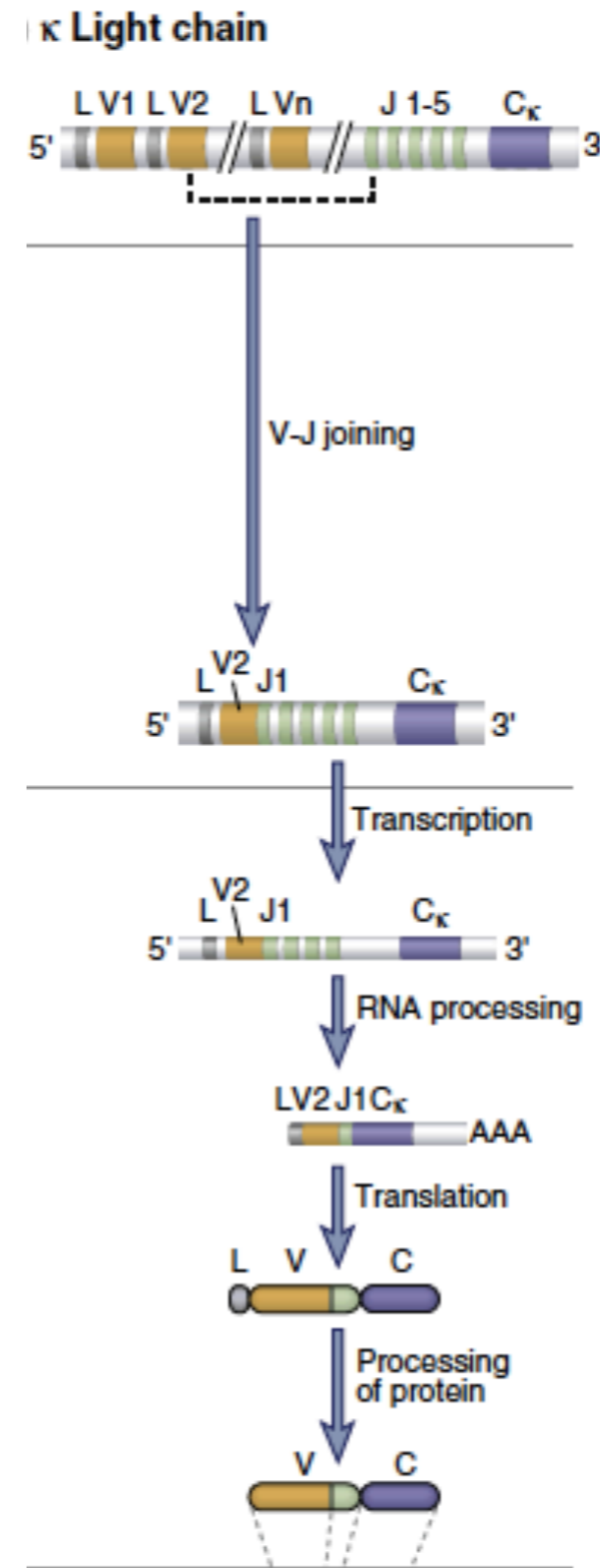
segmentos **V**: 30

segmentos **J**: 4

$$1 V (n=35) \times 1 J (n=5) = 175$$

ou

$$1 V (n=30) \times 1 J (n=4) = 120$$



# Geração de diversidade do BCR

$V_H$   $V_L$

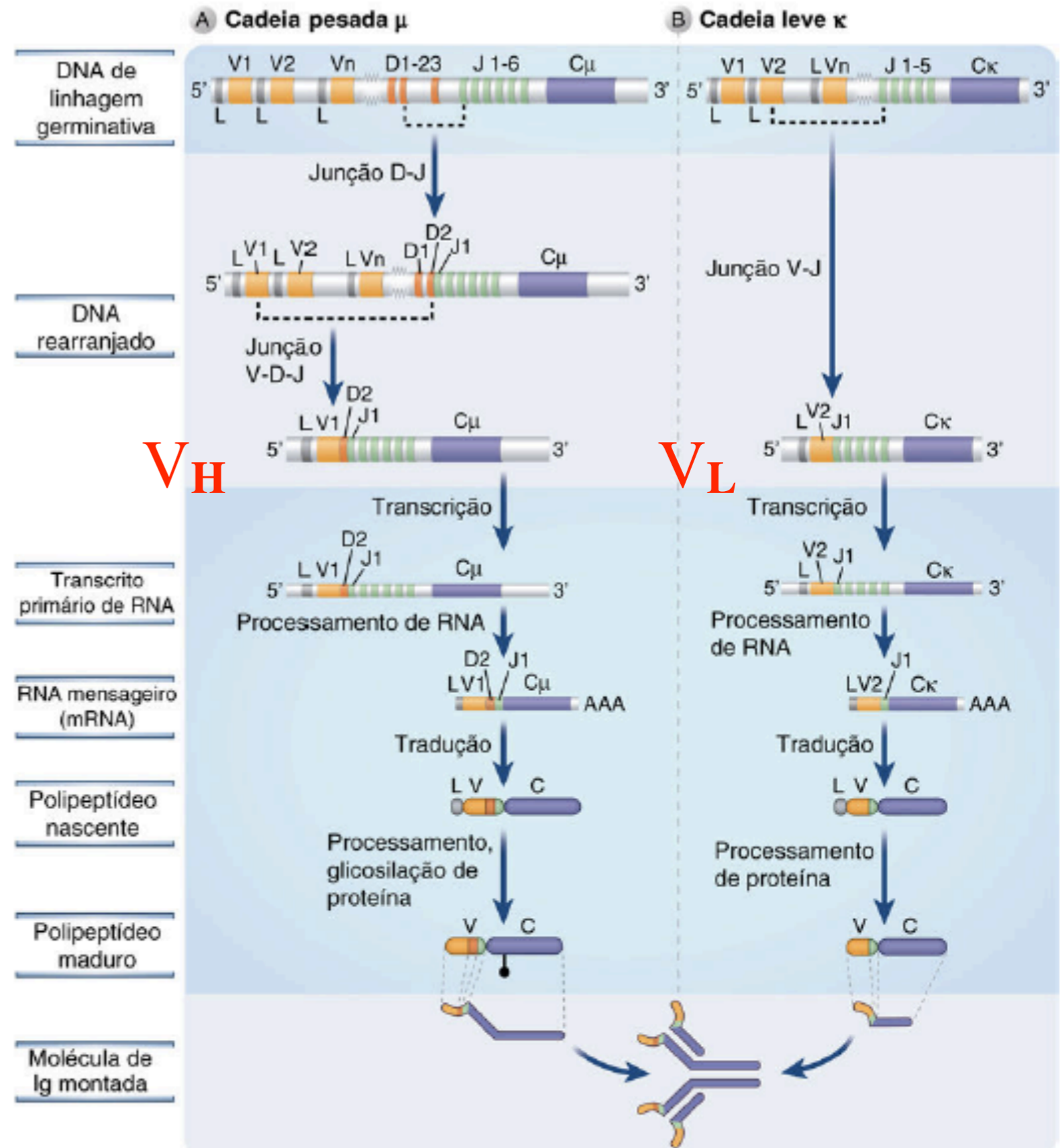
**DOMÍNIO DE  
LIGAÇÃO DO Ag  
DO BCR**

$$V_H 6210 \times V_L (175 \text{ ou } 120) = 1086750 + 745200 = 1831950$$

$$\sim 2 \times 10^6$$

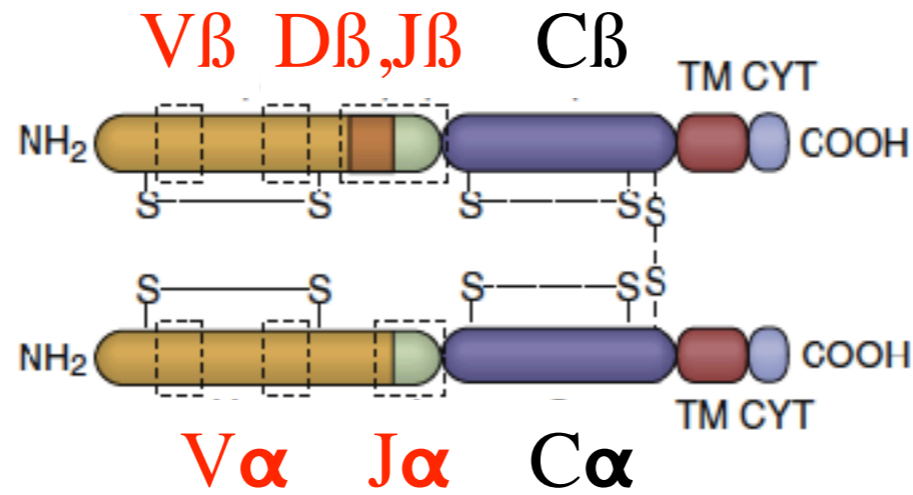
Diversidade total incluindo a diversidade Junctional (N)

$$\sim 10^{11}$$

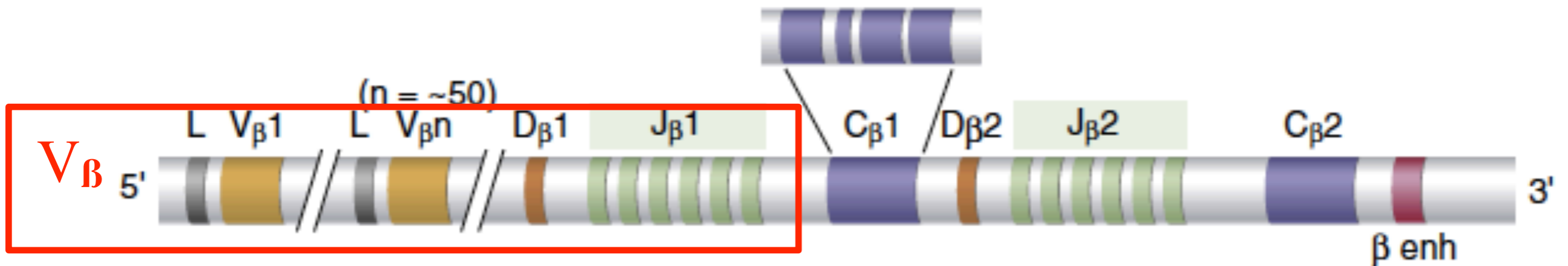


# Locus do TCR $\alpha\beta$

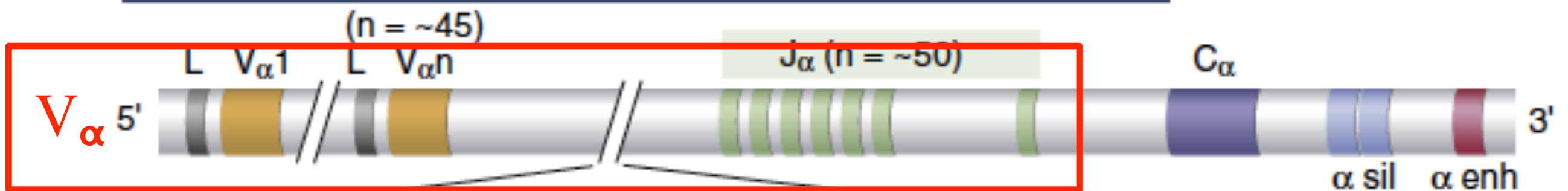
TCR



Human TCR  $\beta$  chain locus (620 kb; chromosome 7)



Human TCR  $\alpha$ ,  $\delta$  chain locus (1000 kb; chromosome 14)



# Recombinação somática do TCR

**V<sub>β</sub>**

segmentos **V**: 50

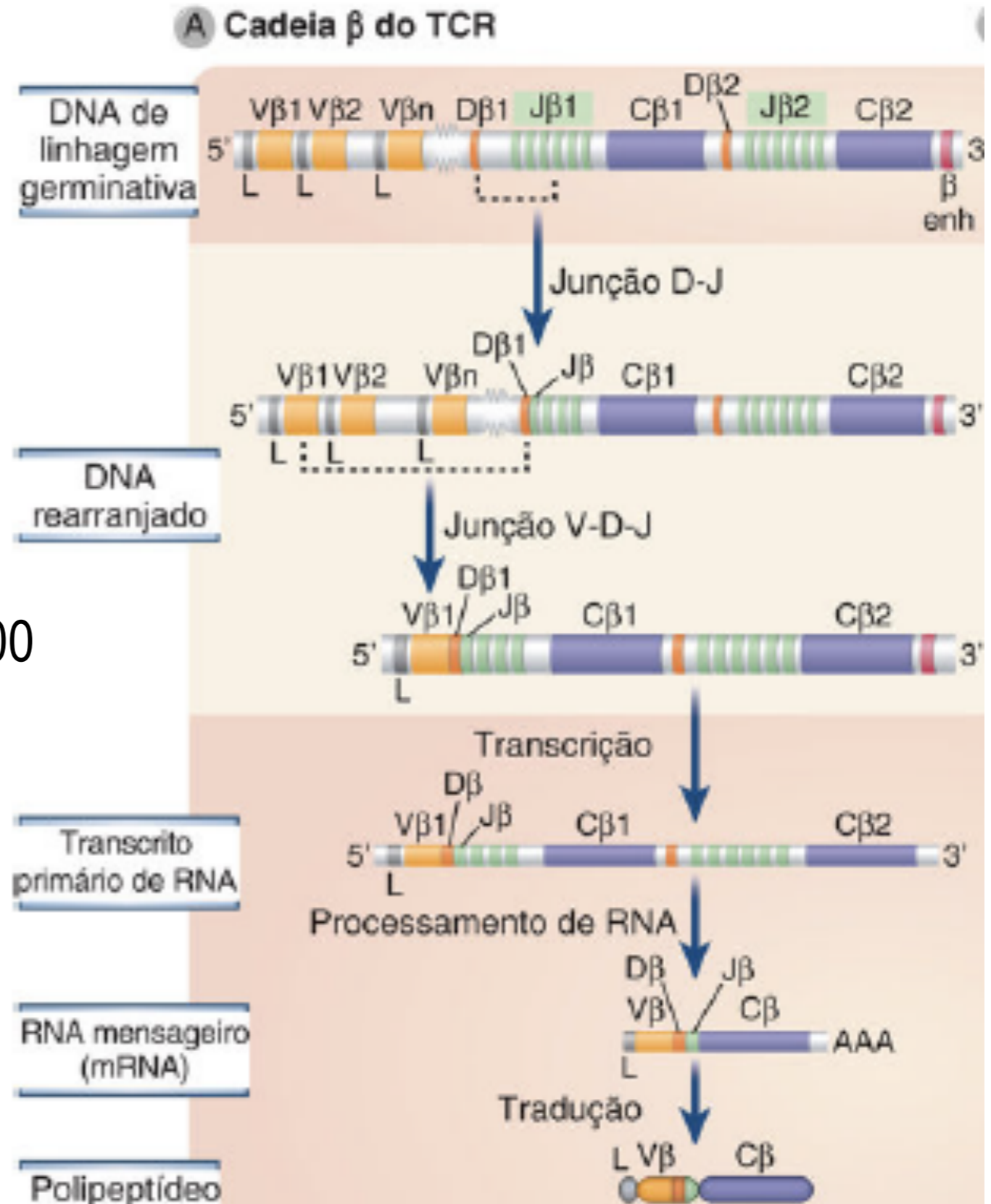
segmentos **D**: 2

segmentos **J**: 12

regiões de diversificação (N): V-D, D-J

$$1 V (n=50) \times 1 D (n=2) \times 1 J (n=12) = 1200$$

regiões de diversificação (N): V-D, D-J



# Recombinação somática do TCR

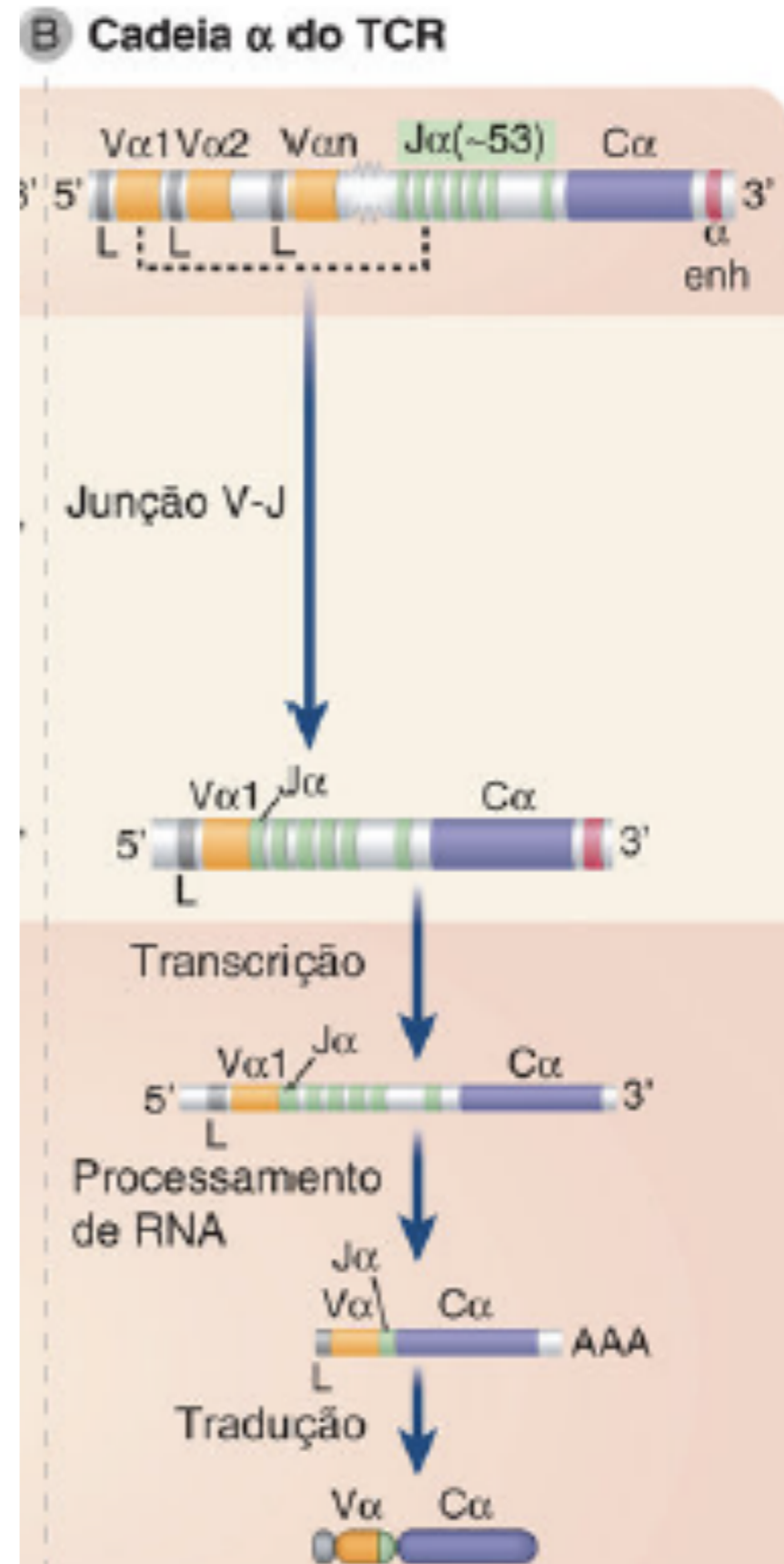
$V_{\alpha}$

segmentos **V**: 45  
segmentos **D**: 0  
segmentos **J**: 55

regiões de diversificação (N): V-J

$$1 V (n=45) \times 1 J (n=55) = 2475$$

regiões de diversificação (N): V-J



# Geração de diversidade do TCR

$V_{\alpha}$   $V_{\beta}$

**DOMÍNIO DE LIGAÇÃO DO Ag DO TCR**

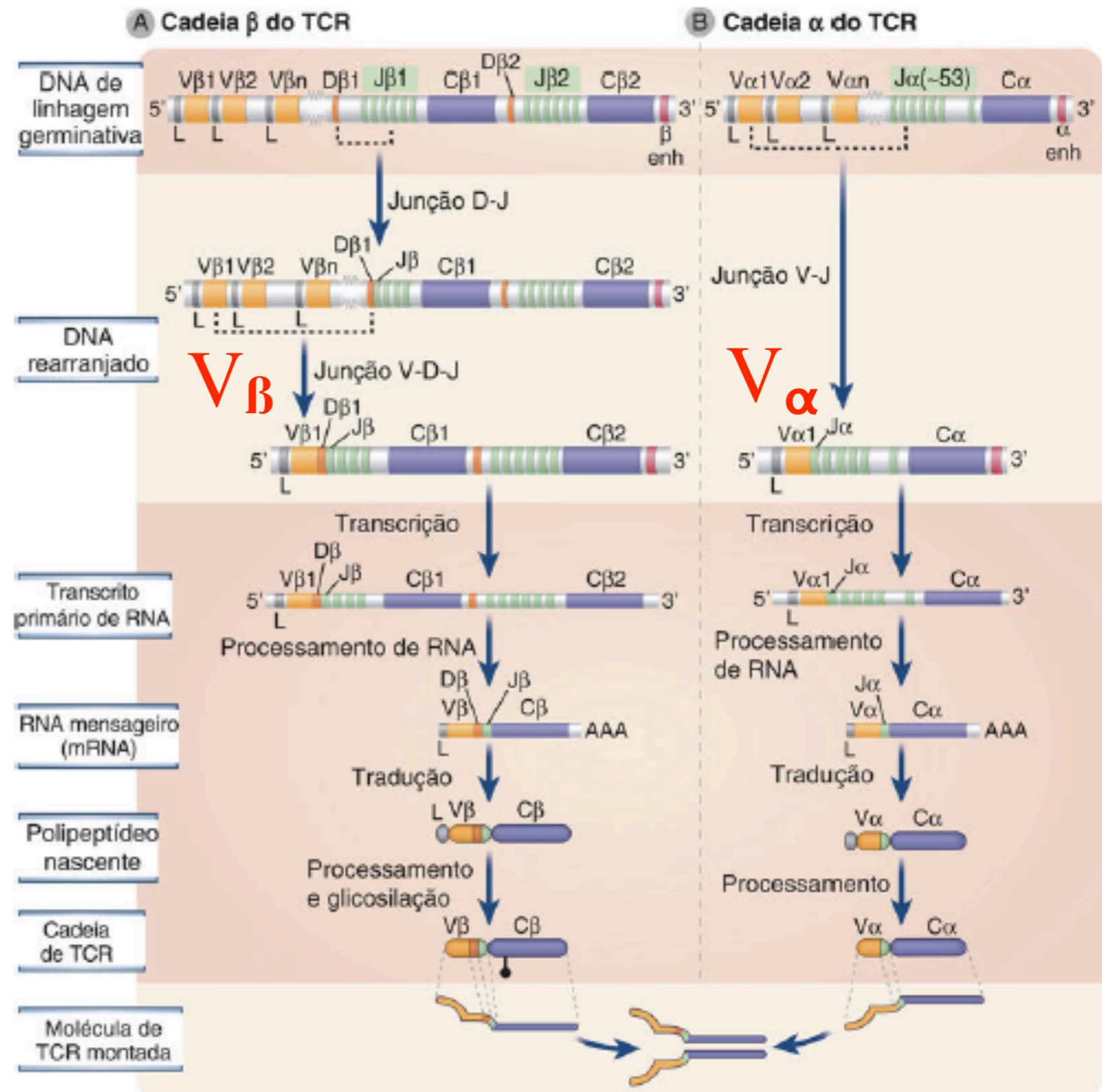
$V_{\beta}$  1200 x  $V_{\alpha}$  2475

= 2970000

~  $3 \times 10^6$

Diversidade total incluindo a diversidade Junctional (N)

~  $10^{16}$

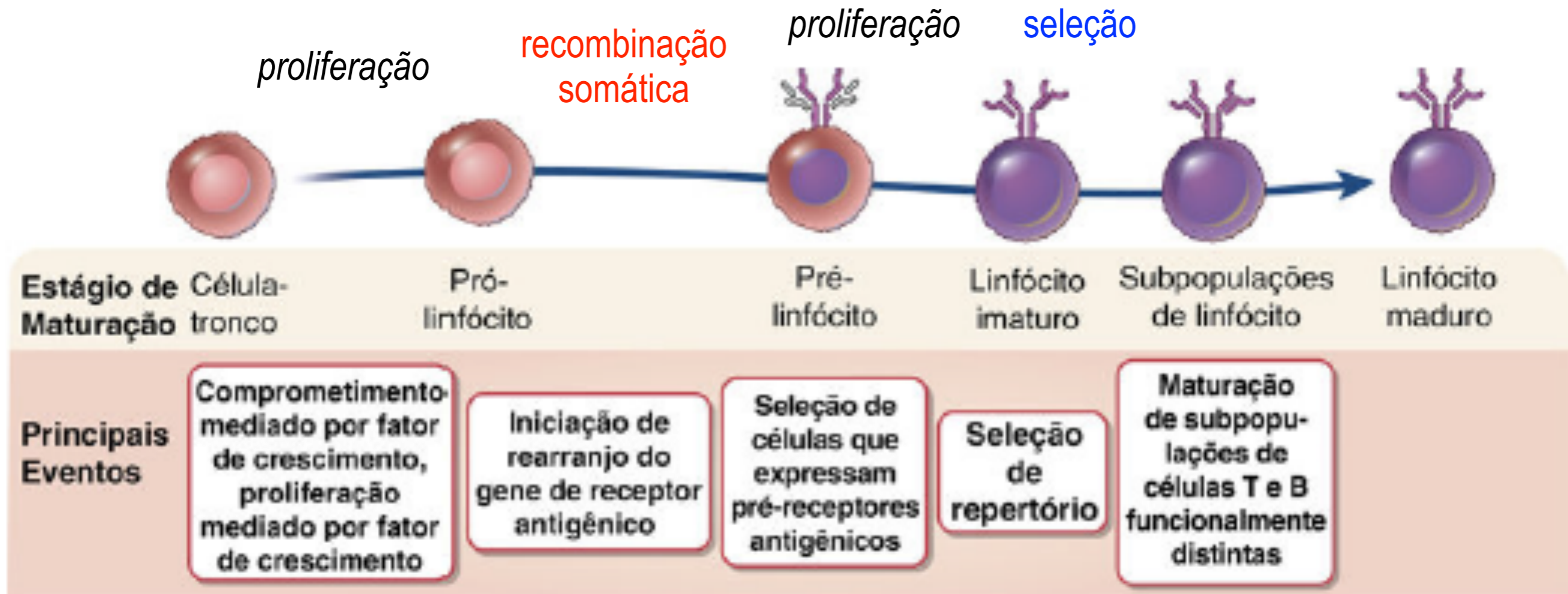


# Geração de diversidade do BCR/TCR



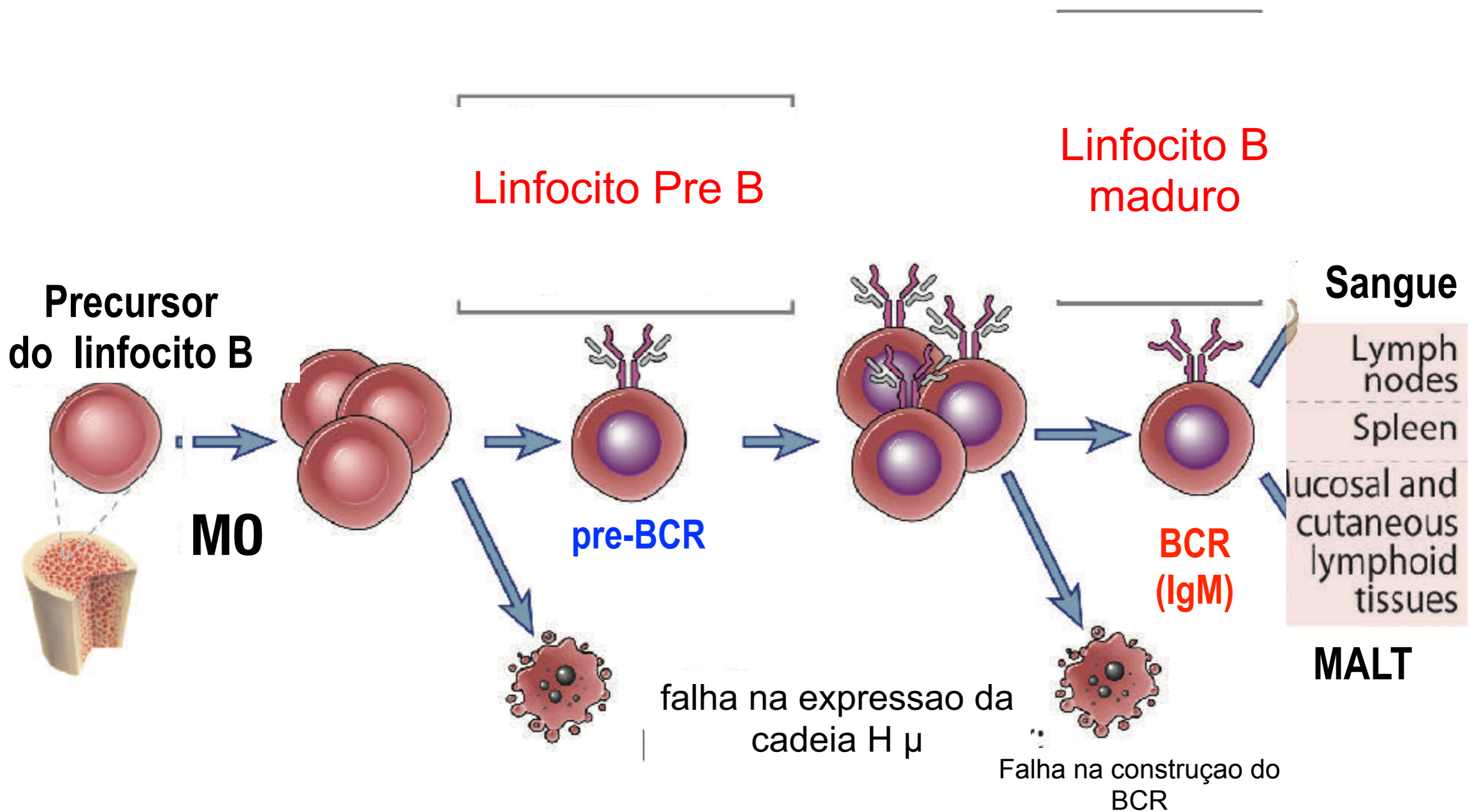
combinatória ( $10^8$ ),  
aleatória e  
clone-específica

# Desenvolvimento dos linfócitos





# Desenvolvimento dos linfocitos B



# Desenvolvimento dos linfócitos B

## Edição do BCR

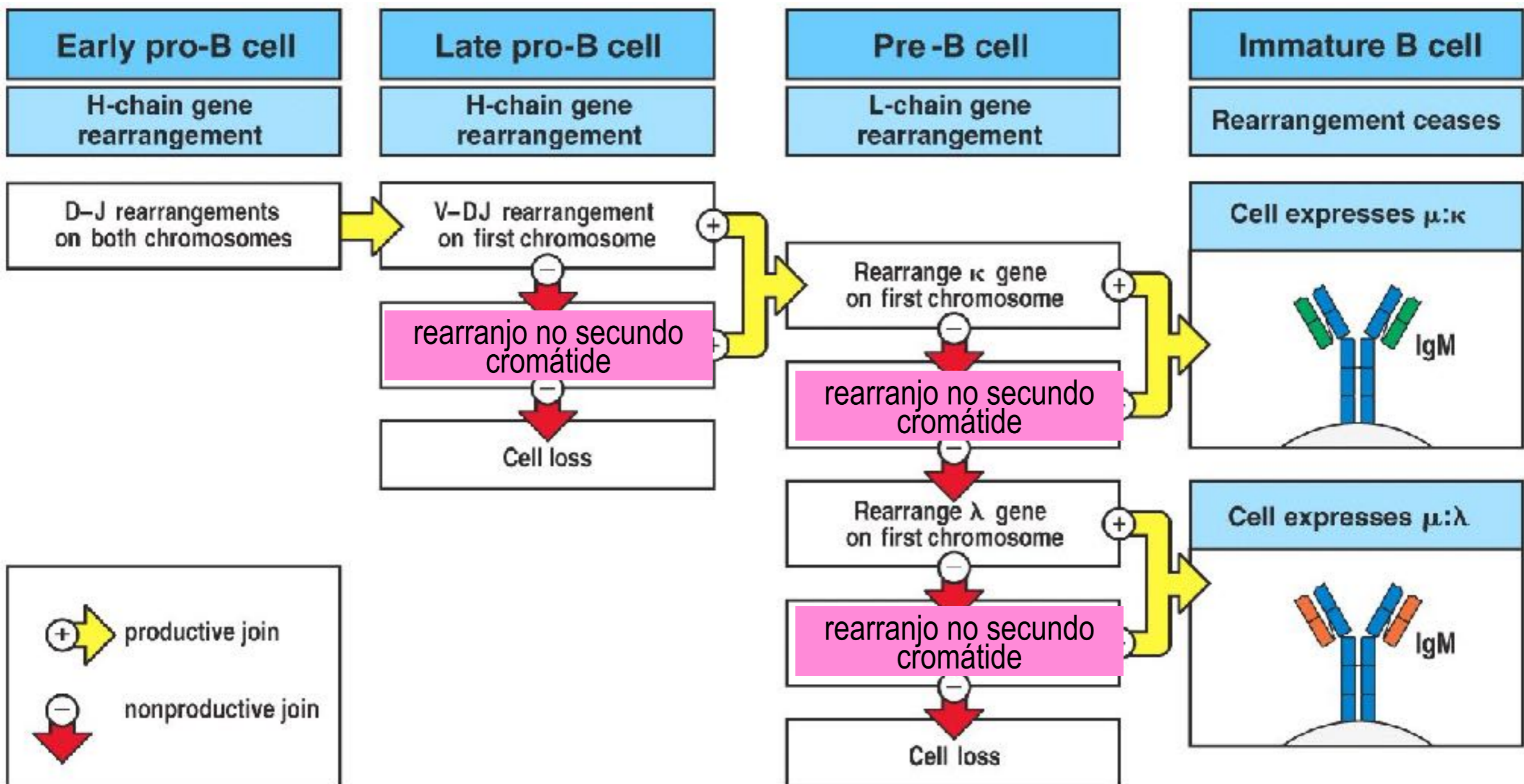
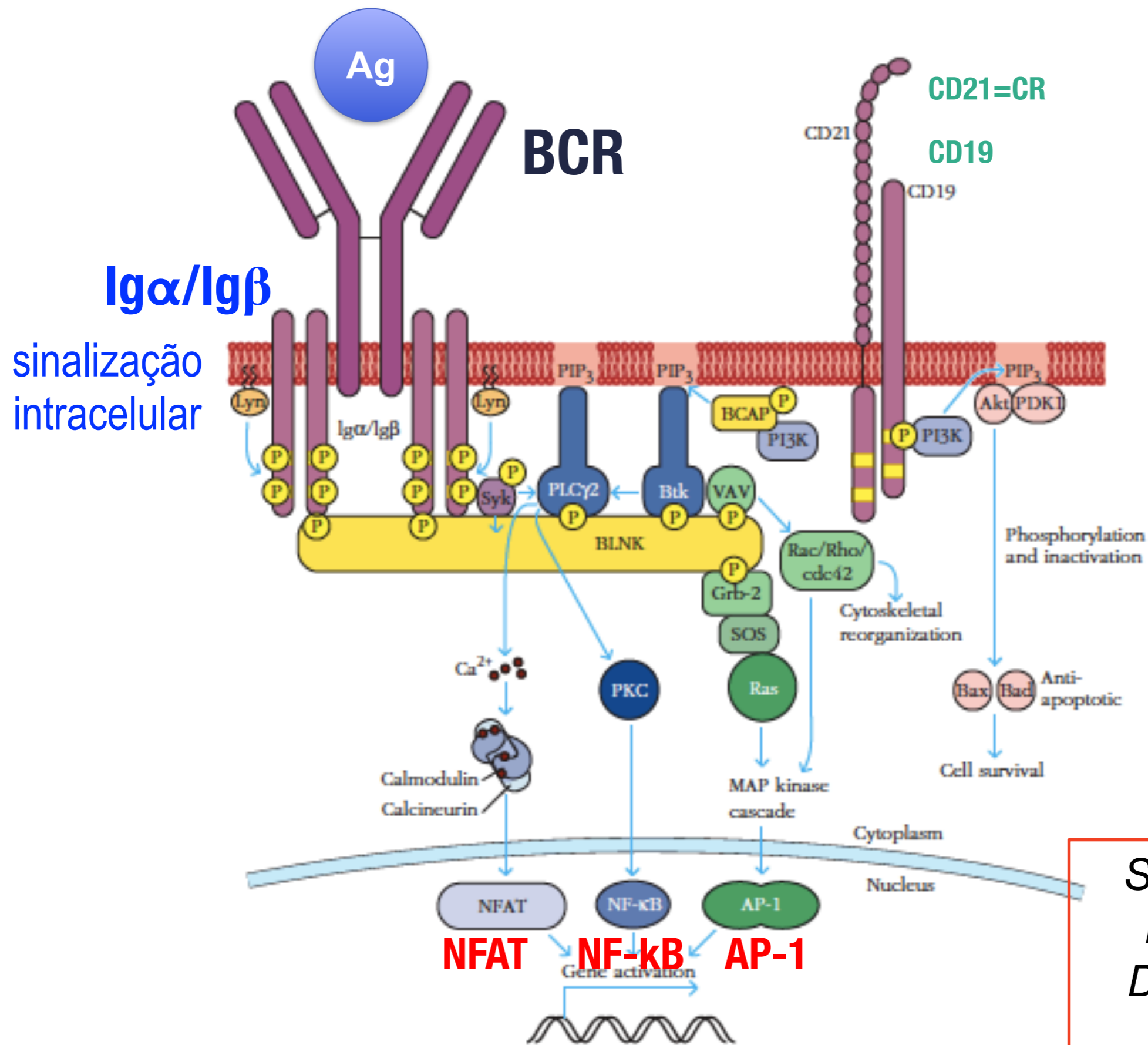


Figure 7-15 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

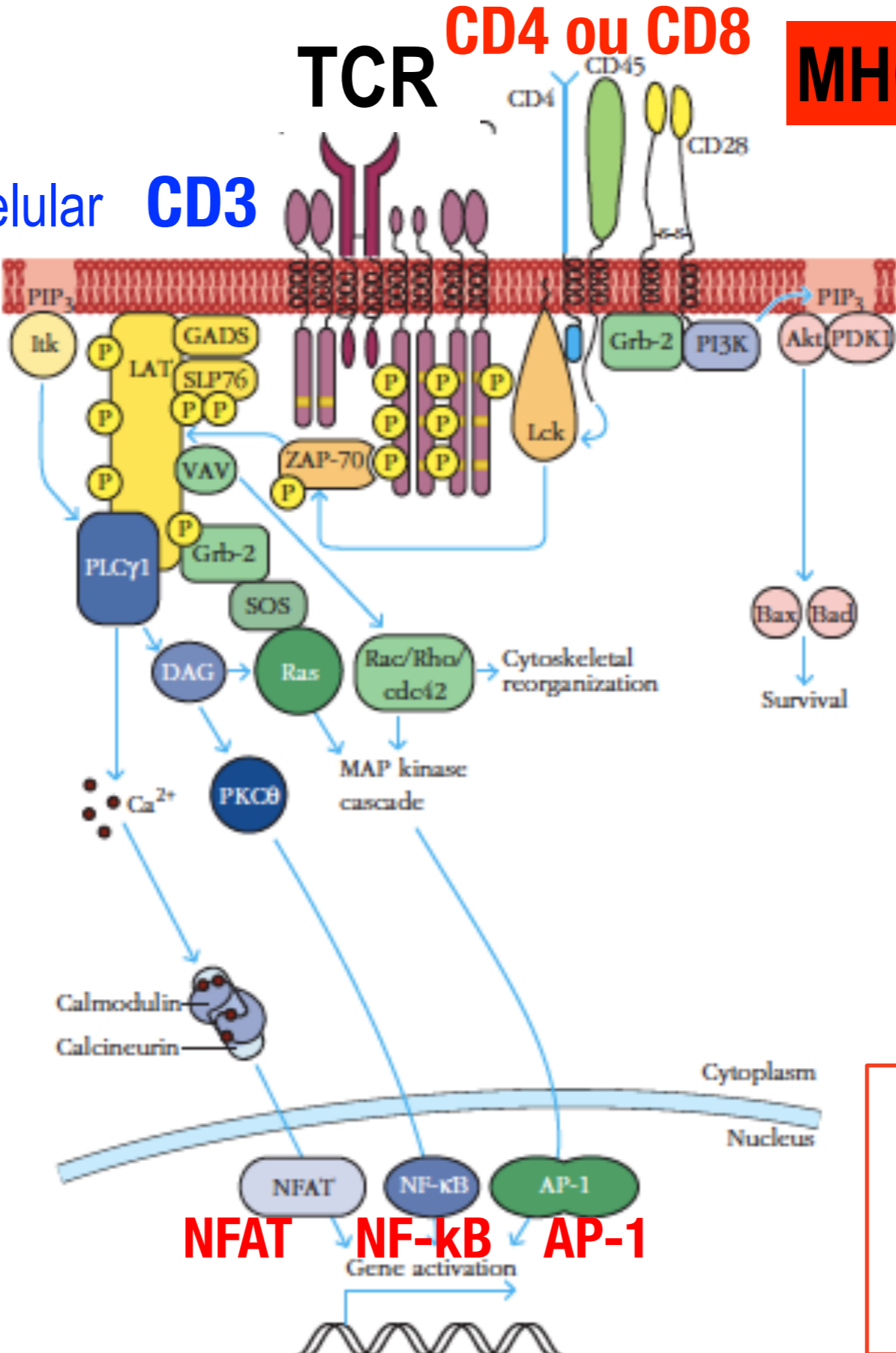
# Complexo receptorial da célula B



Sobrevivência  
Proliferação  
Diferenciação  
Migração

# Complexo receptorial da célula T

sinalização intracelular **CD3** **CD4 ou CD8** **MHC**



Sobrevivência  
Proliferação  
Diferenciação  
Migração

# Linfócitos T

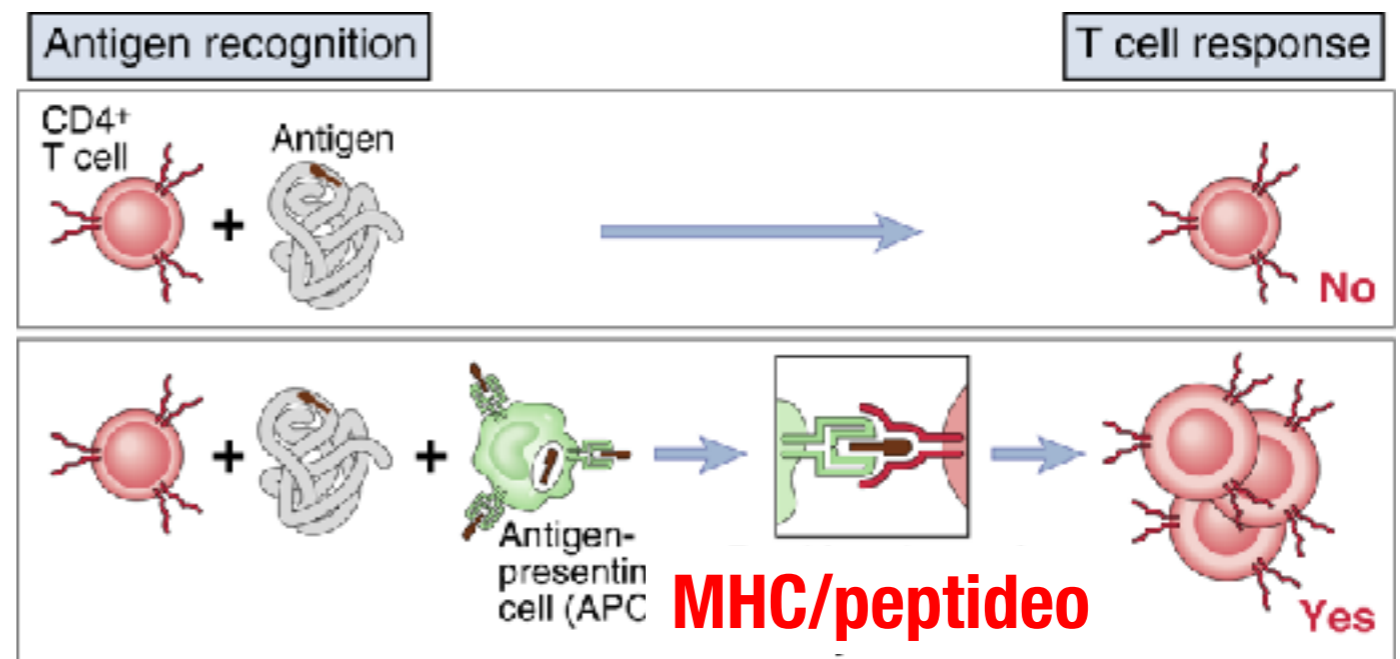
## Linfócitos T

**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)

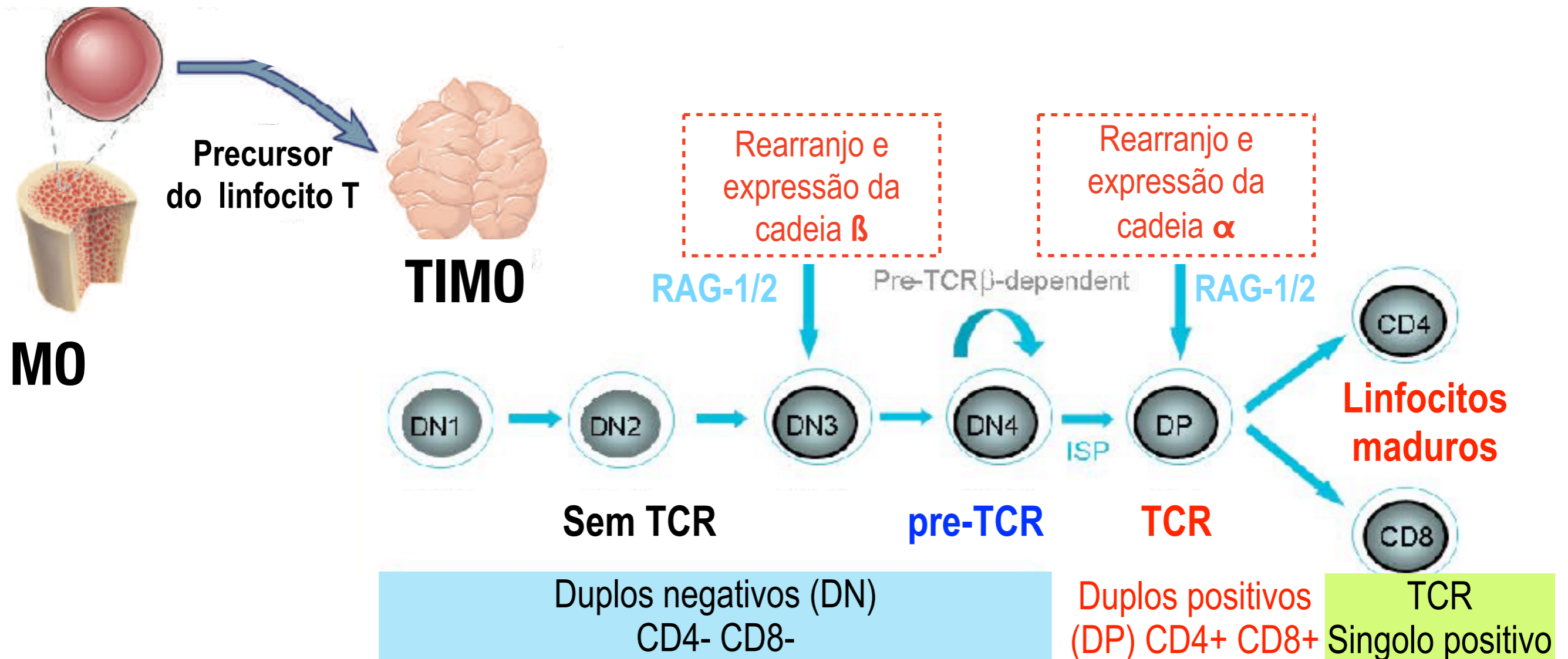
**CD8+ (citotóxicos) TCR** reconhece peptídeos derivados de Ag processados nas células e apresentados no contexto do **MHC-I** (8-10 AA)

**TCR reconhece**

- indiretamente
- Peptídeos no MHC
- Epitopo linear



# Desenvolvimento dos linfócitos T

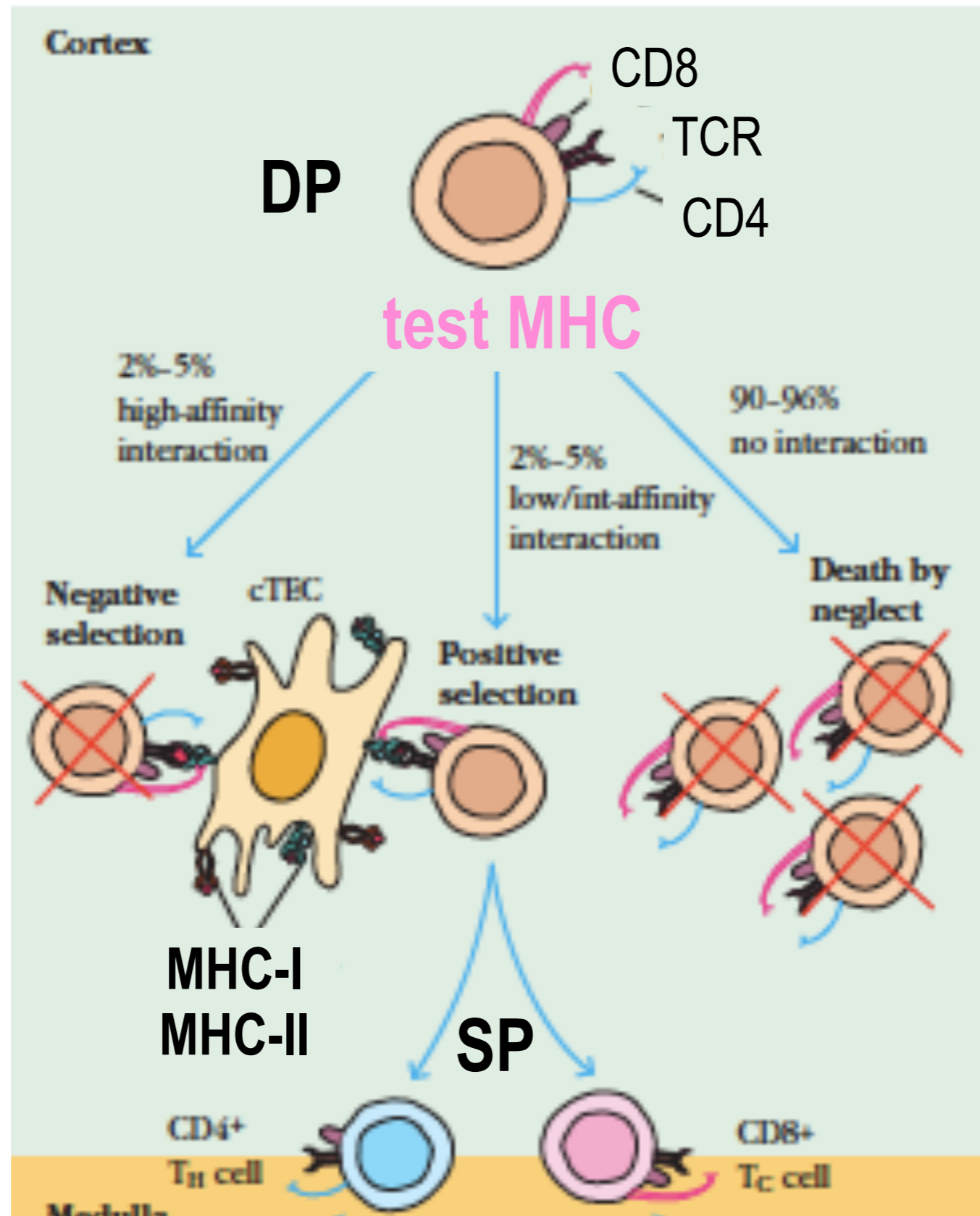


## Test do MHC

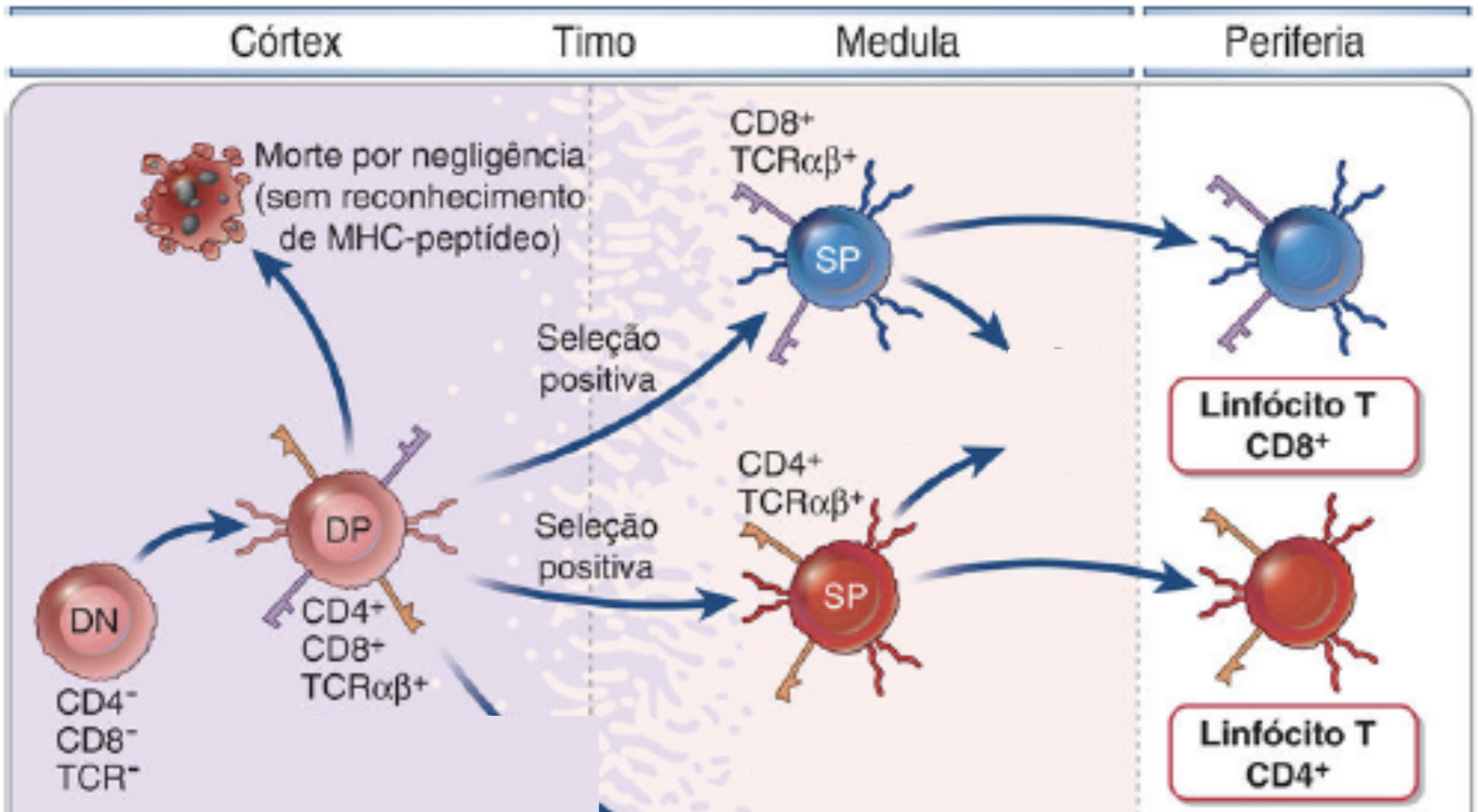
Nesta fase de desenvolvimento sobrevivem apenas os linfócitos que sintetizam TCR adequados (Recebem sinal de sobrevivência)

Nesta fase de desenvolvimento o TCR é testado

# Desenvolvimento dos linfocitos T

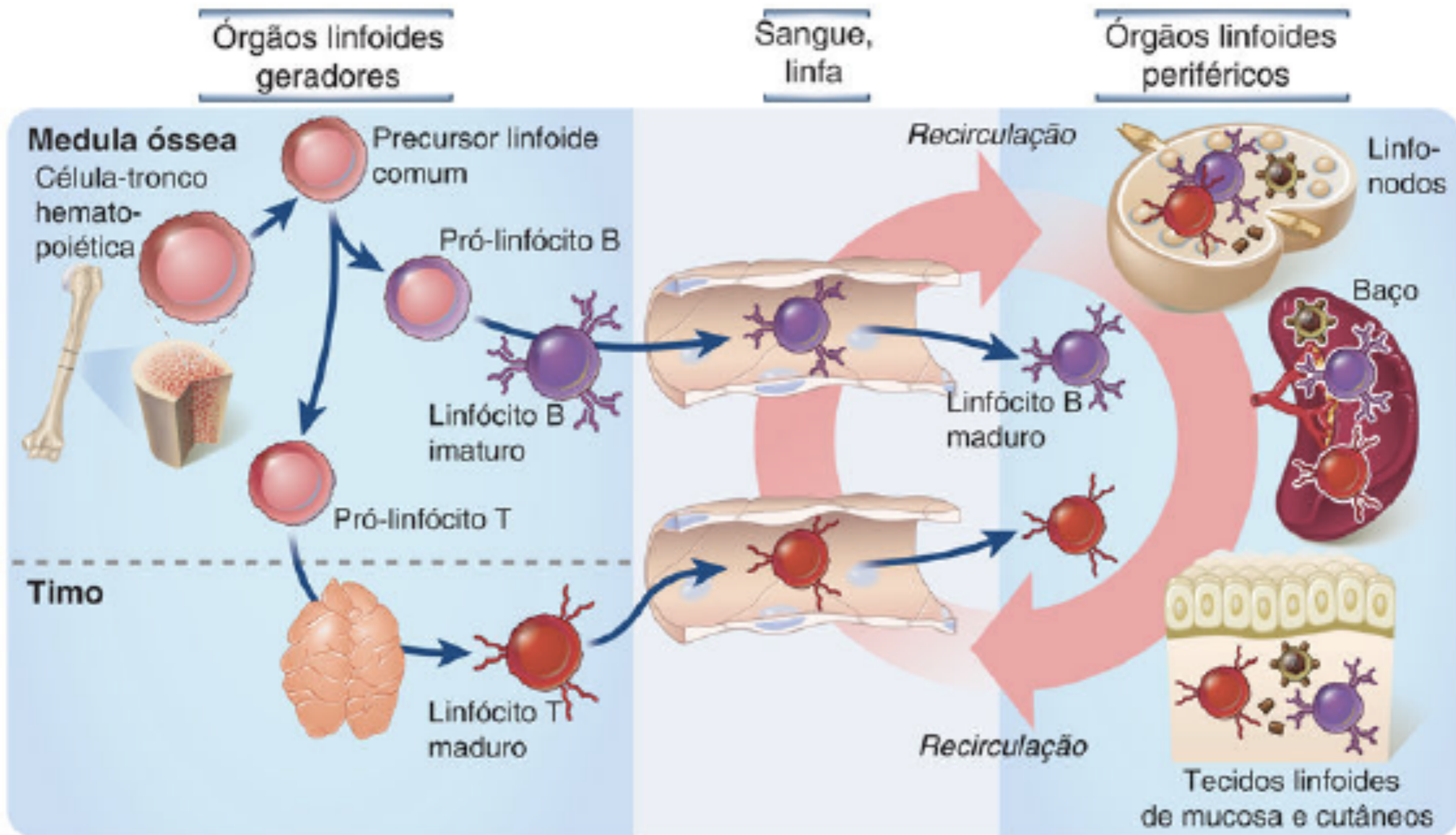


# Desenvolvimento dos linfócitos T





# Desenvolvimento e Maturação



# Tópicos Essenciais da Aula

- 1. Os linfócitos expressam receptores antigênicos altamente diversificados que são capazes de reconhecer uma ampla variedade de moléculas*
- 3. Entender como se origina a especificidade de reconhecimento dos linfócito T e B nos órgãos linfóides primários*
- 4. Conhecer os mecanismos de recombinação somática de DNA que levam a construção dos receptores TCR e BCR*
- 5. Entender como os linfócitos T e B se desenvolvem e maduram nos órgãos linfóides primários*



# Seleção dos linfocitos T

## Test do TCR

- ligar ao MHC próprio
- ligar a complexos MHC/Ag próprios

SIM

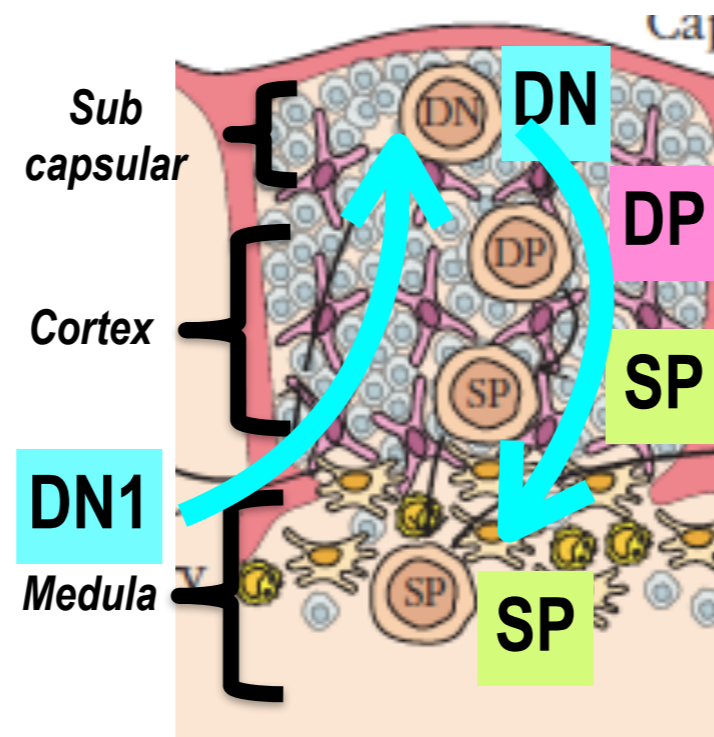
SIM

sinal de sobrevivência  
dependendo do MHC  
ligado a DP vira SP

Seleção  
positiva

indução de apoptose

Seleção  
negativa



Ag-dependente

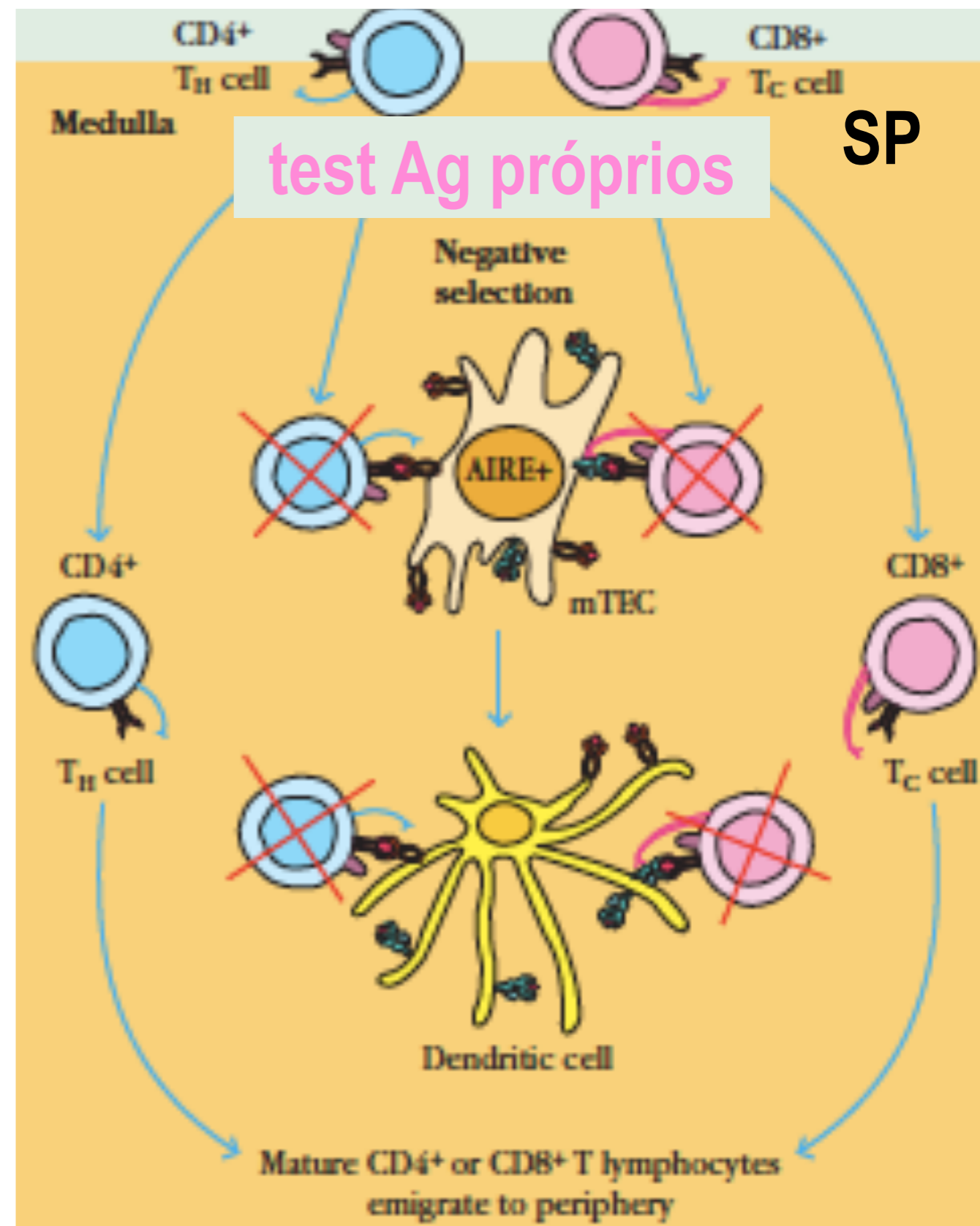
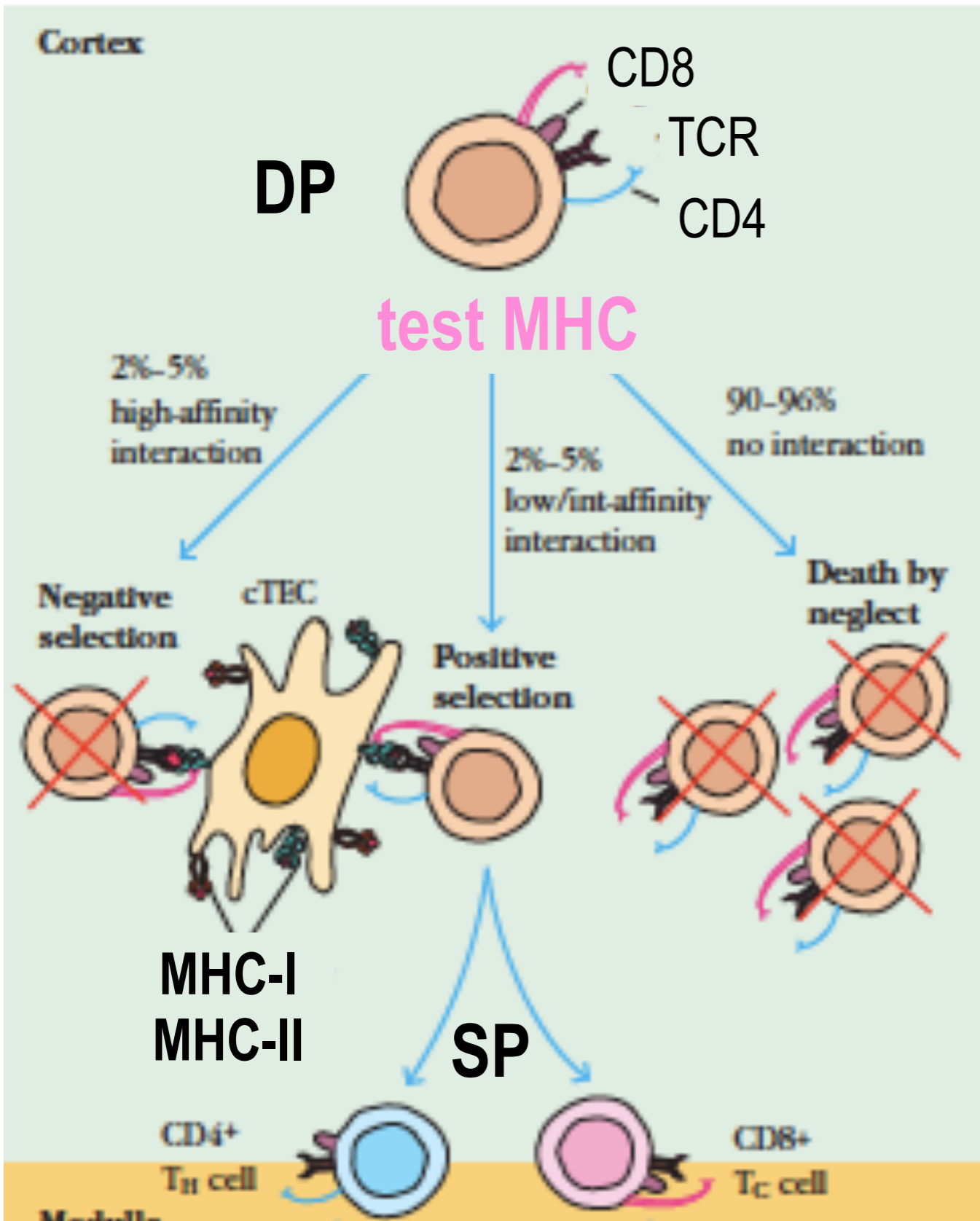
Seleção  
positiva

*cTEC (Cortex)*

Seleção  
negativa

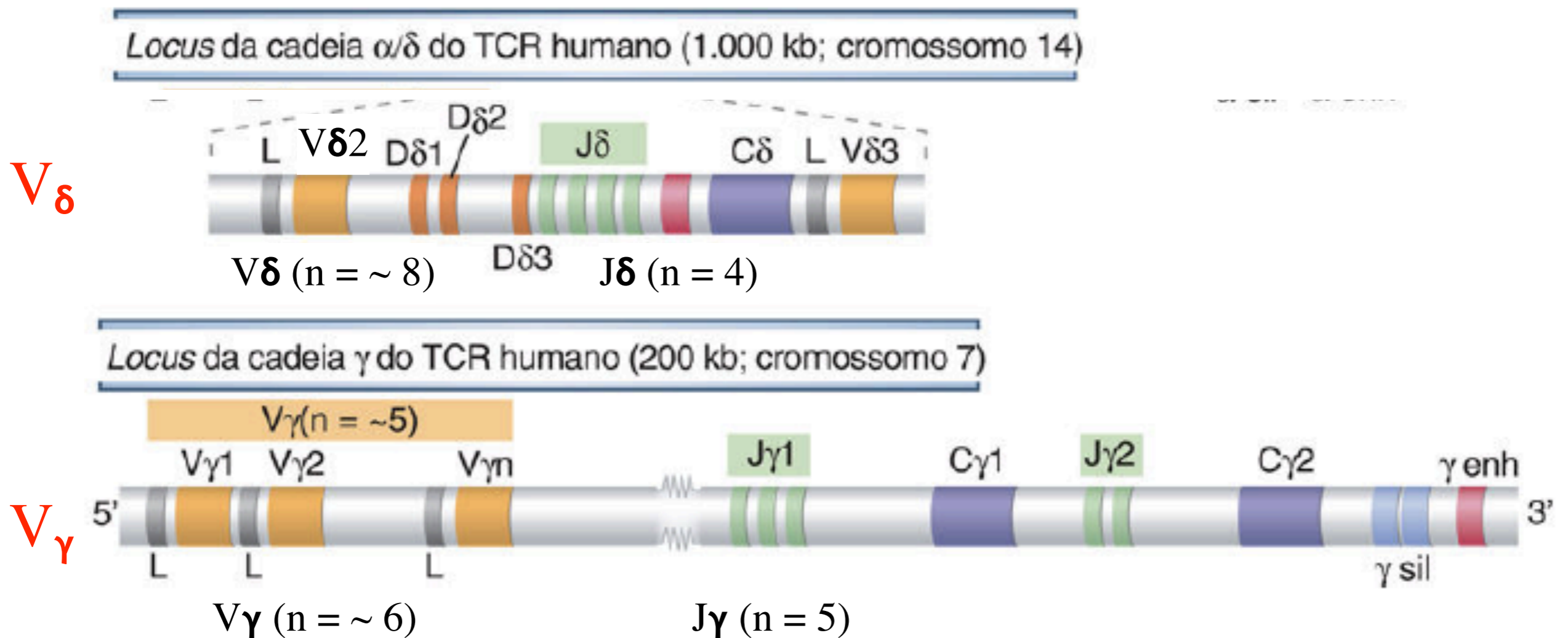
*mTEC (Medula)*  
*mDC (Medula)*

# Seleção dos linfócitos T



# Locus do TCR $\gamma\delta$

Linfócitos T $\gamma\delta$  ~ 3-10% T circulantes, residentes nos tecidos



mais frequente  $V_{\gamma 9}$   $V_{\delta 2}$