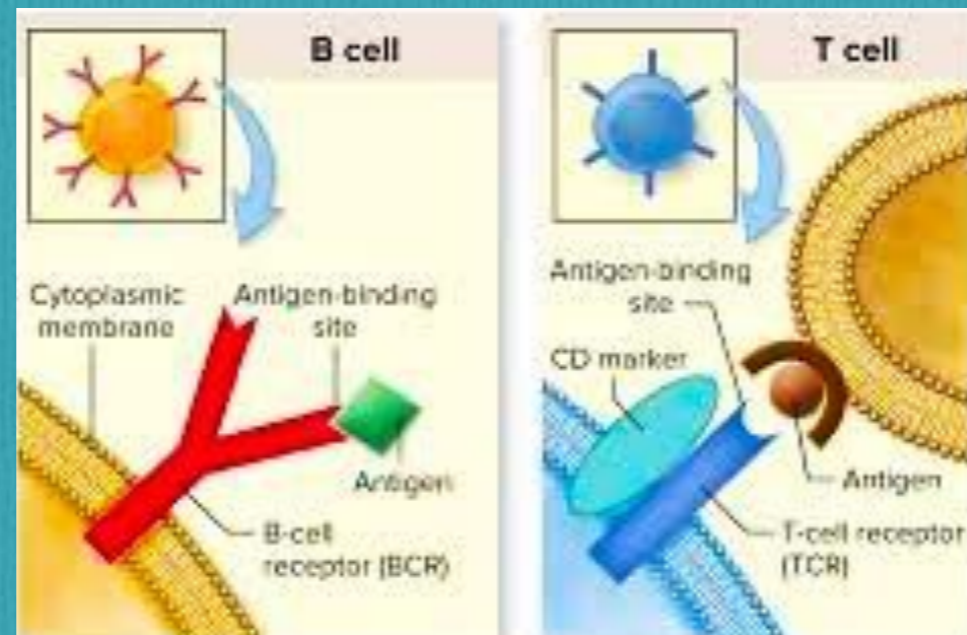


Programa de Pós-graduação em Imunologia ICB/USP

Disciplina BMI 5904
Reconhecimento no Sistema Imune



Aula 8 - TCR & BCR

Alessandra Pontillo

Lab. Immunogenetica/Dep.Imunologia/ICB/USP

Reconhecimento

SISTEMA IMUNE

“SELF”
ALTERADO

PADRÕES MOLECULARES
(MAMPs, PAMPs, NAMPs,
DAMPs, HAMPs, VAMPs....)

ANTIGENOS
ESPECIFICOS



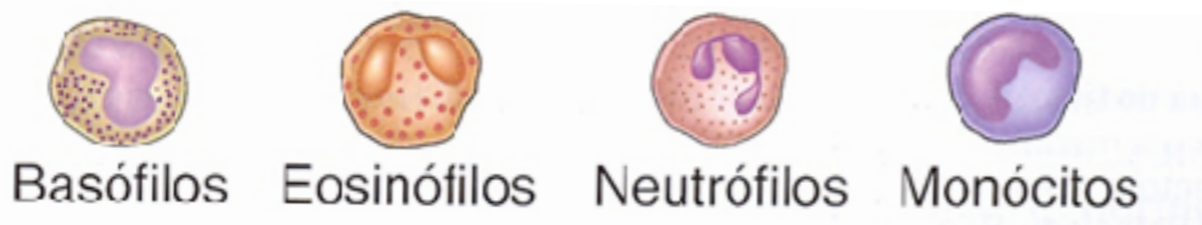
NK Rec



PRRs

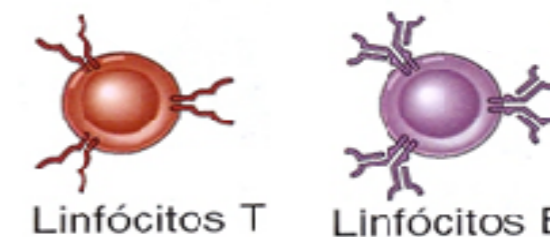


TCR, BCR, Ig



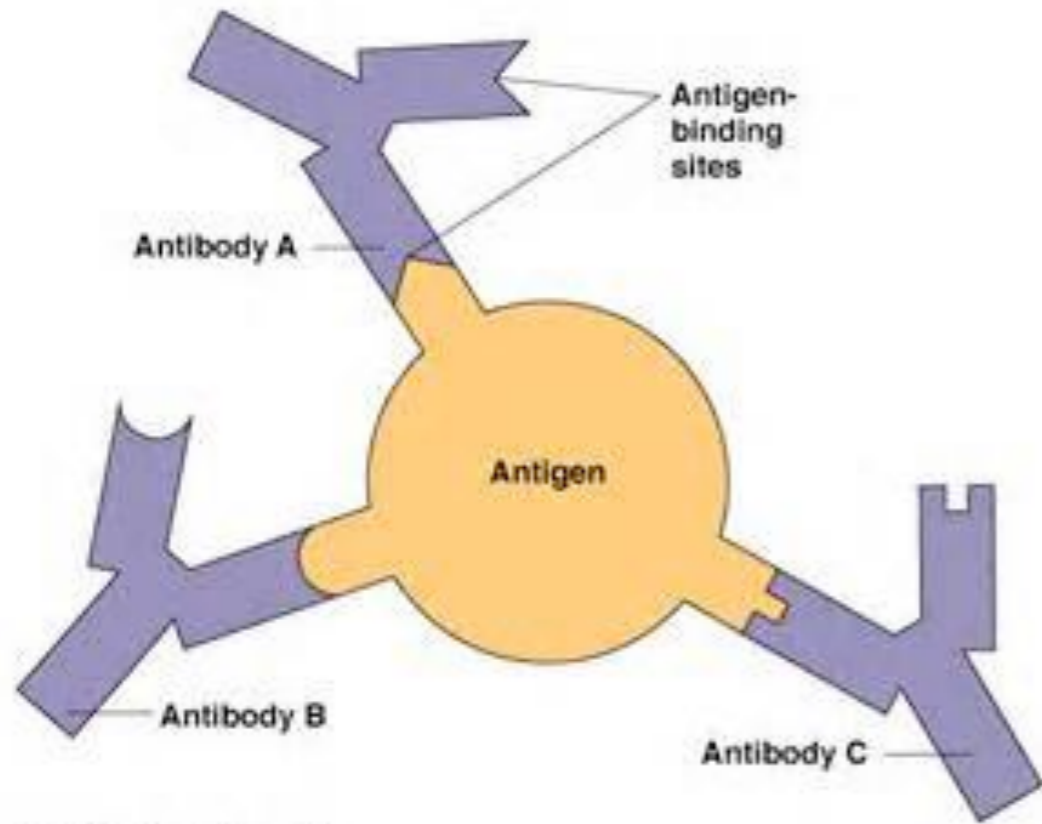
&...todas as outras células

*20-40 genes para reconhecer um limitado
numero de pattern "mais prevalentes e
conservados"*

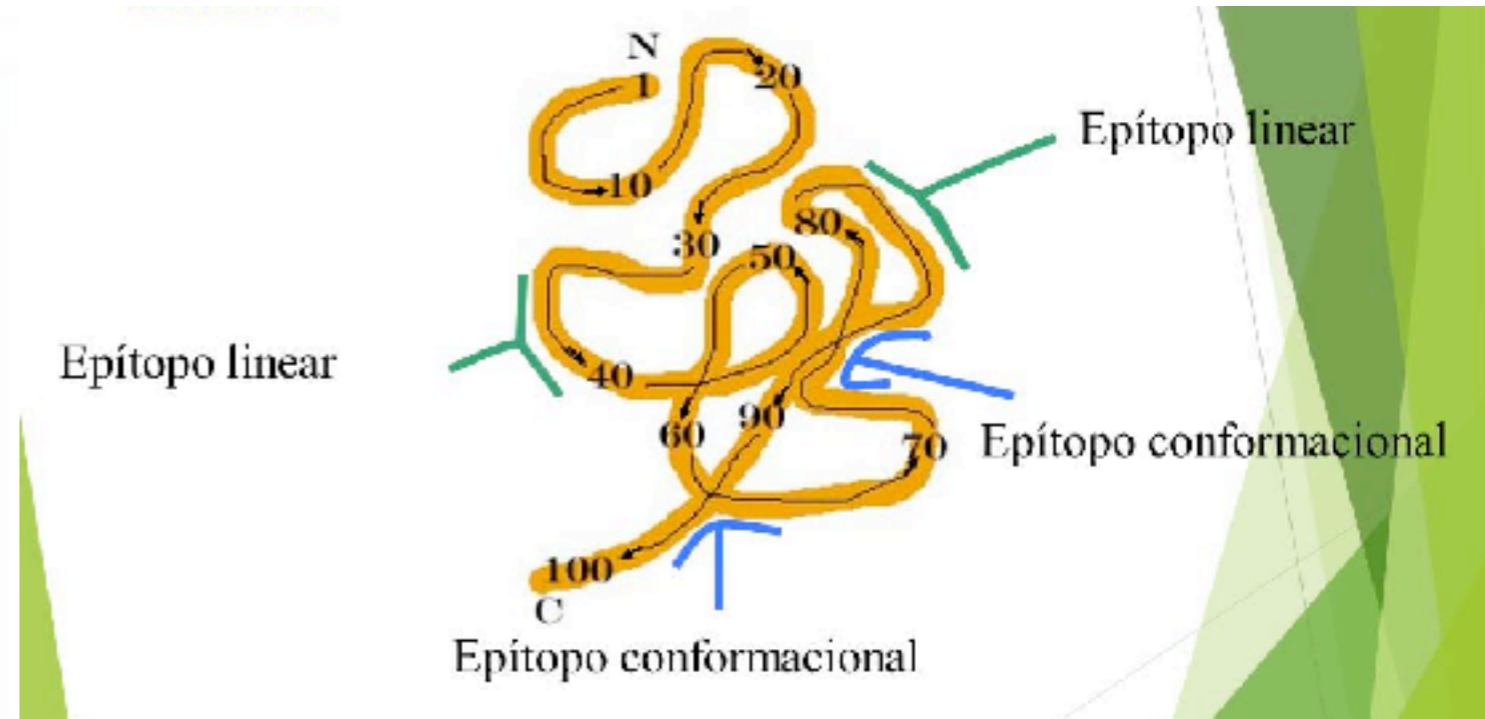


*Rec com potencial de
reconhecer um amplo leque
de antígenos (recombinação
somática randômica)*

Antígenos & epítopos

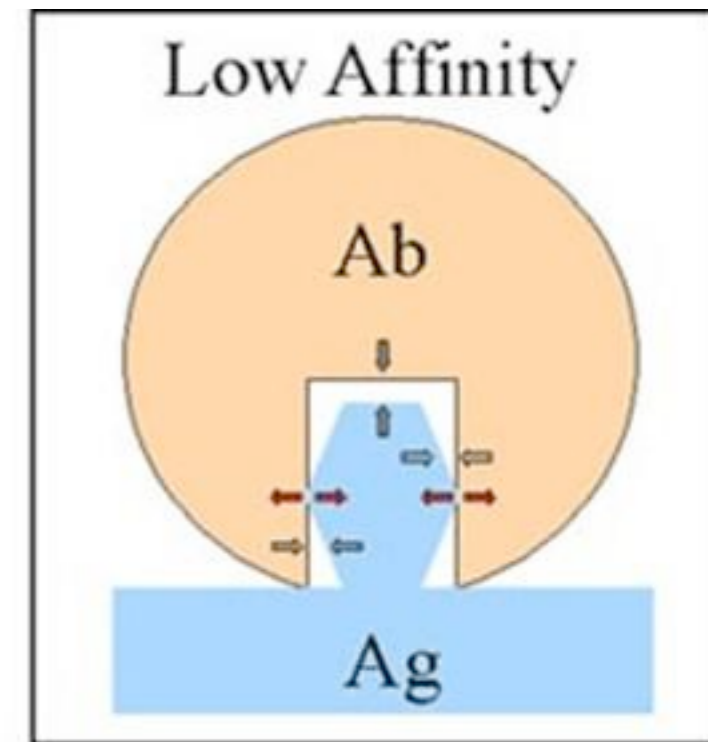
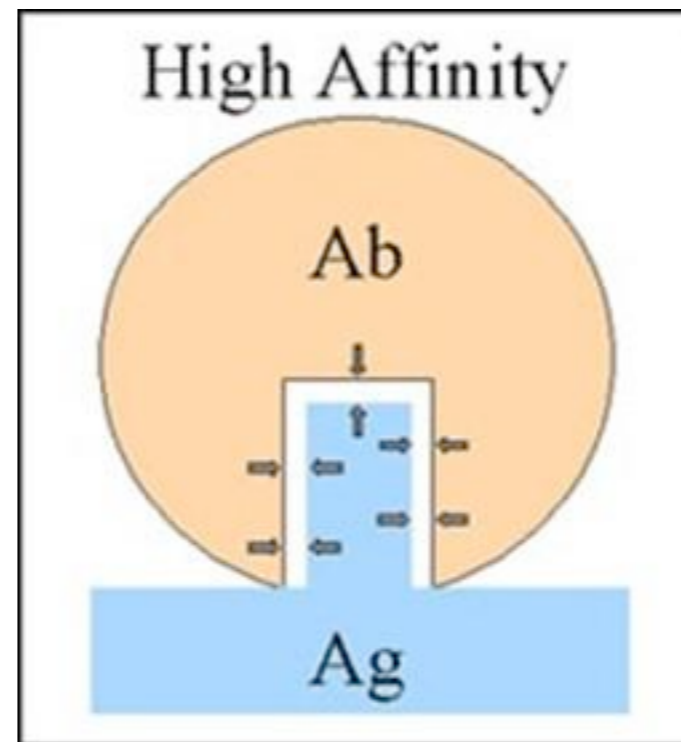


©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



AC/BCR reconhecem

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



Reconhecimento nos Linfocitos T

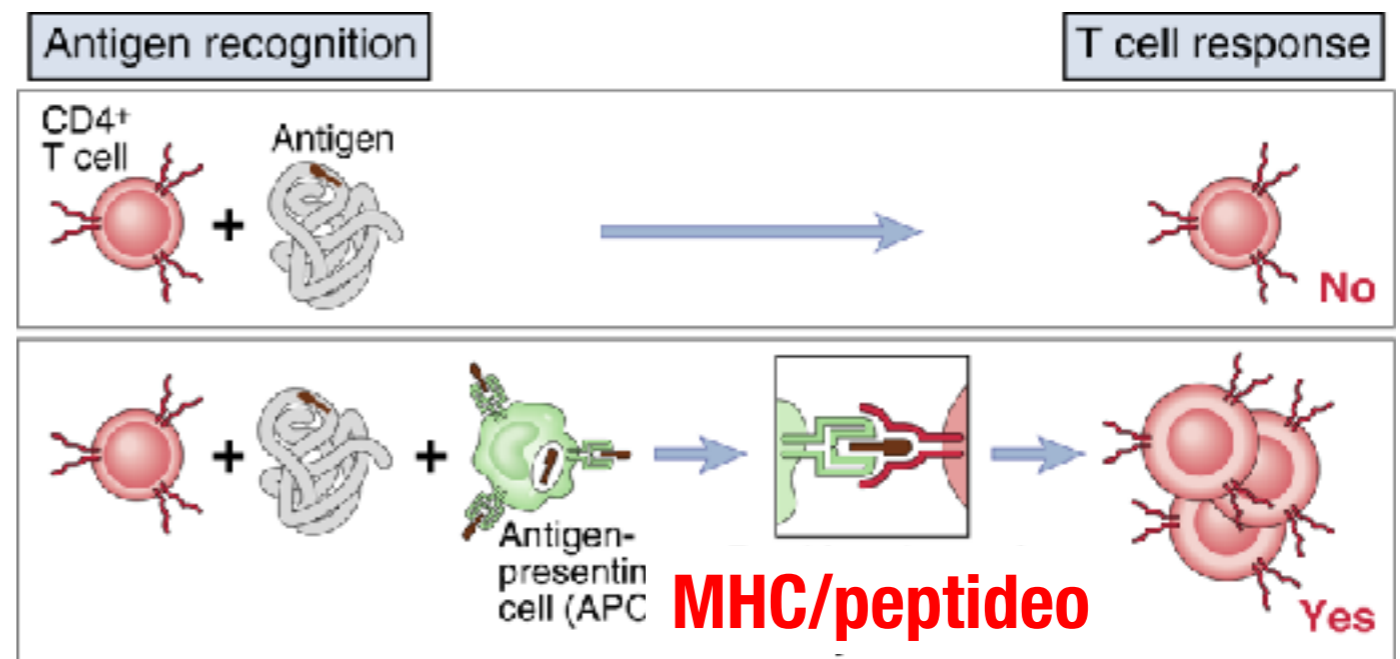
Linfocitos T

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



Reconhecimento nos Linfocitos T

O TCR é um heterodímero: 2 cadeias polipeptídicas

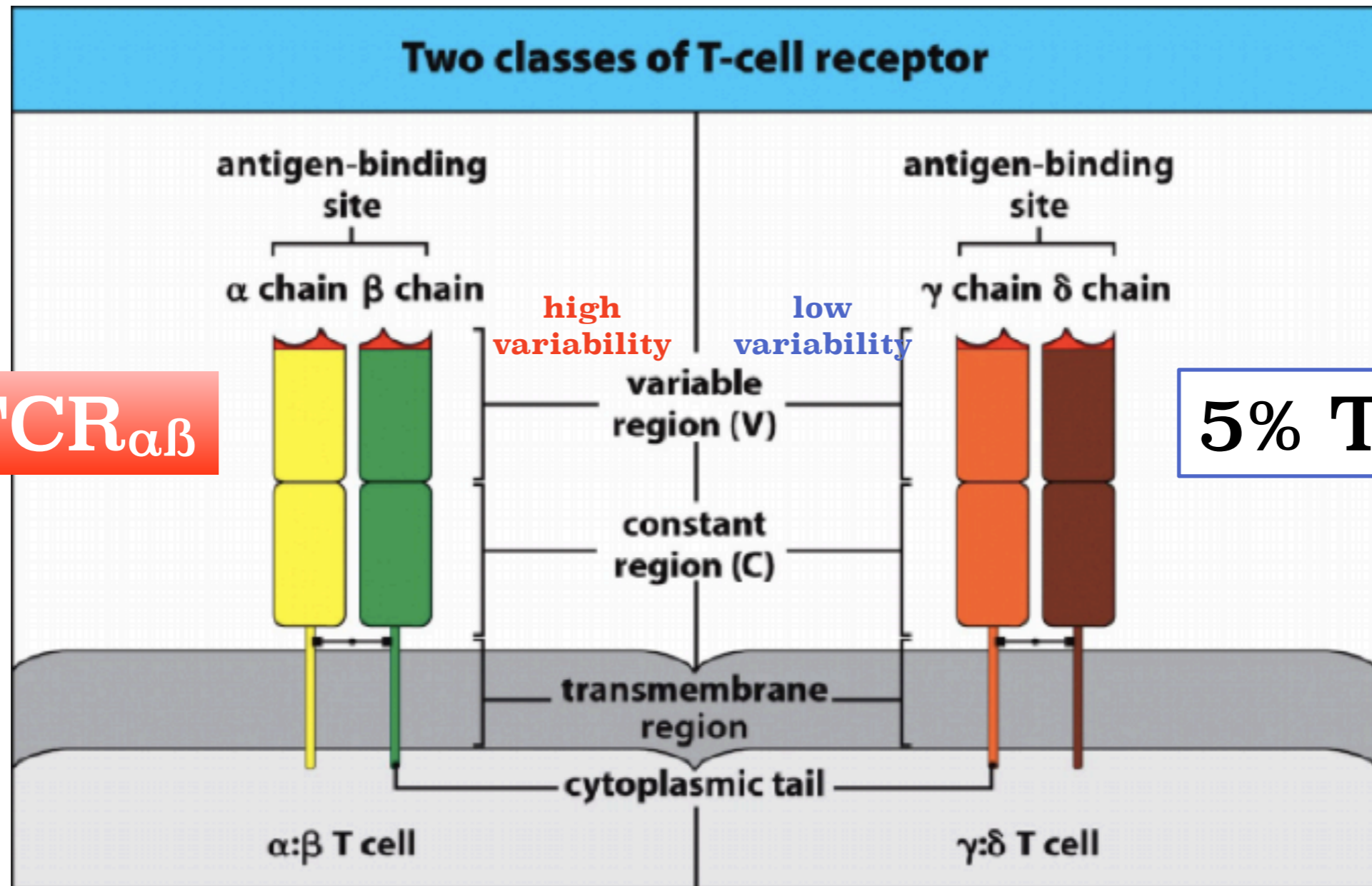


Figure 5.7 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

TCR $\alpha\beta$ (receptor da cell T tipo $\alpha\beta$)

Heterodimero de superfície: 2 cadeias polipeptídicas (α e β)

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

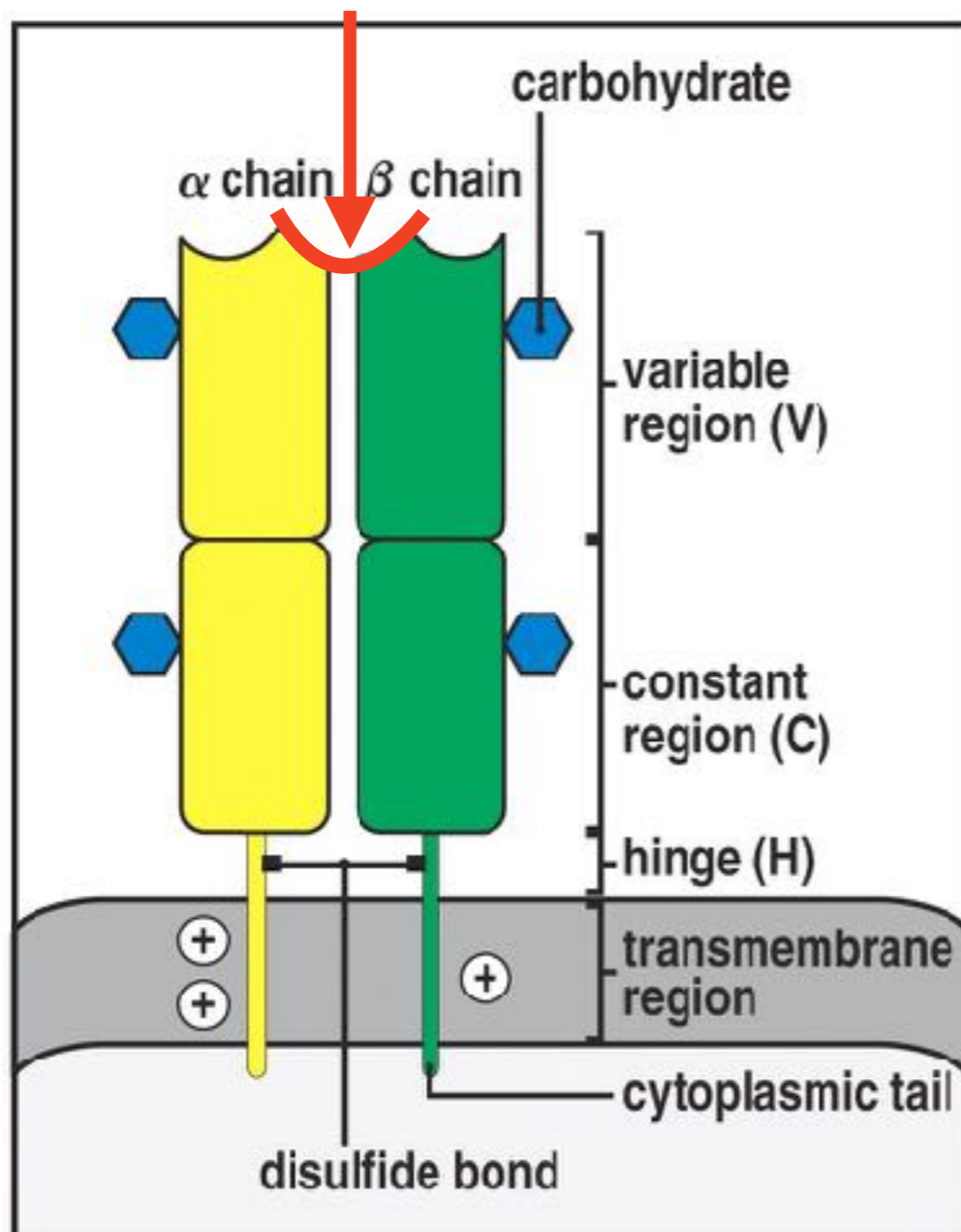


Figure 3-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

- ✓ Região variável = Sítio de ligação de MHC/Ag (único)
- ✓ Elevada variabilidade (aminoácida) do sítio 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 das outras moléculas que auxiliam a sua função:

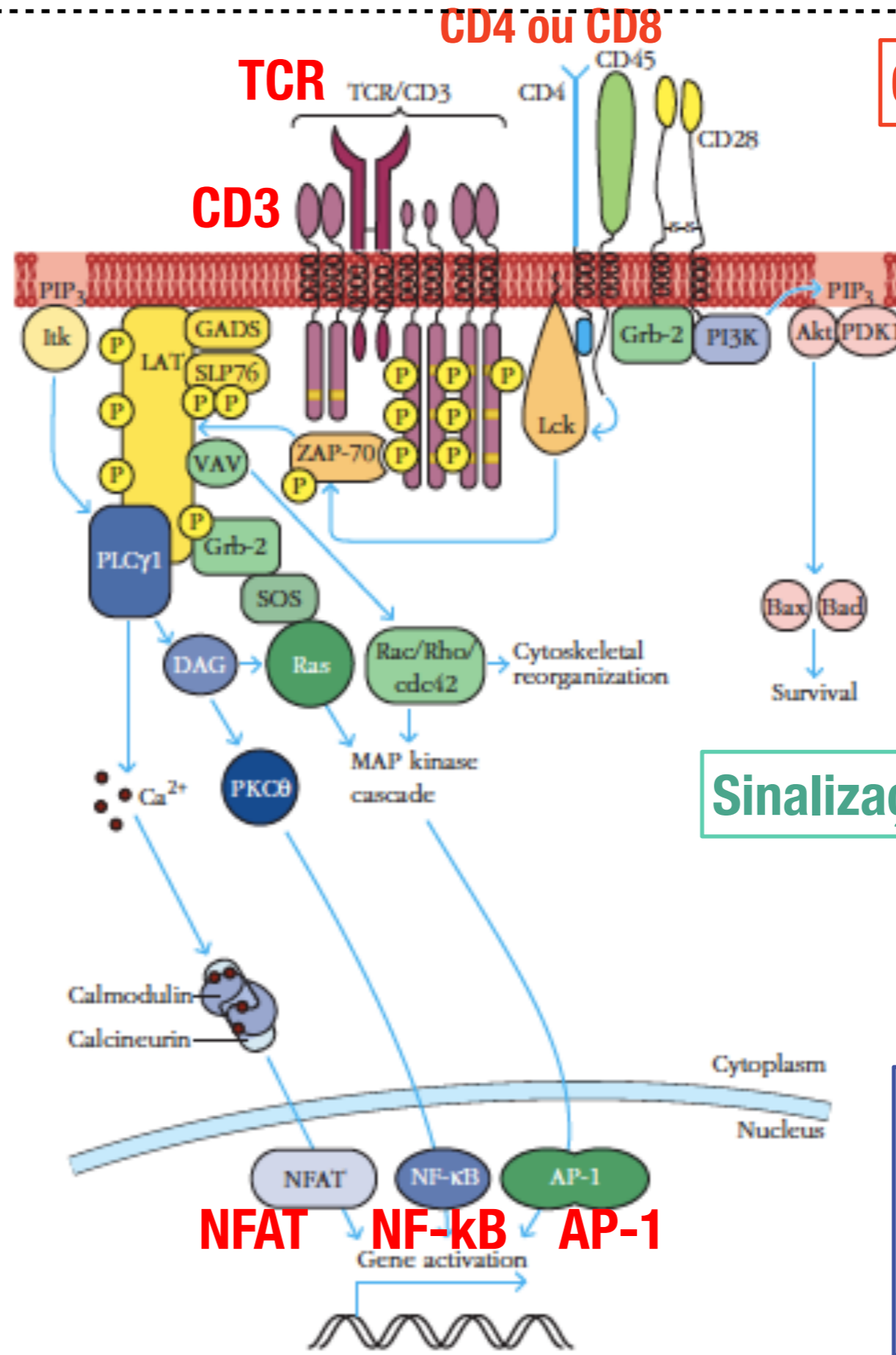
✓ **CD4** ou **CD8**

reconhecem o tipo de MHC (-II ou -I, respectivamente)

✓ **CD3** e cadeia ζ (zeta)

mediam a sinalização intracelular do linfócito T

[CD3](#) and ζ -chain accessory



Complexo TCR

Sinalização intracelular

**Sobrevivência
Proliferação
Diferenciação
Migração**

Origem da especificidade do TCR $\alpha\beta$

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do TCR $\alpha\beta$ ($\sim 10^{18}$ diferentes Ag!!)?



$\sim 2 \times 10^4$ genes que codificam para proteínas humanas

👉 genoma humano não contém número de genes suficiente...

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

Organização dos *loci* α e β do TCR

A região amino terminal variável (V) das cadeia α e β 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 (cromossomo 14) \rightarrow Cadeia α

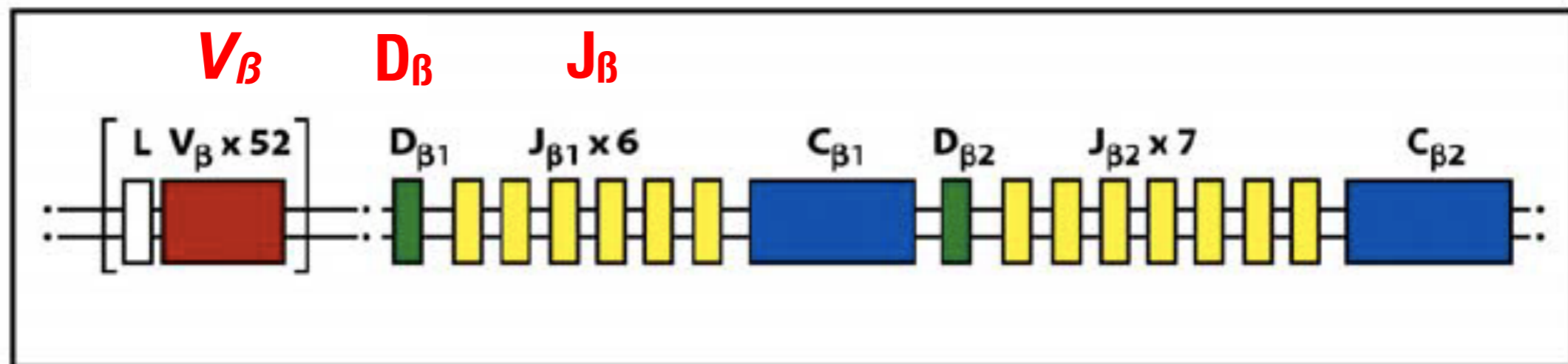
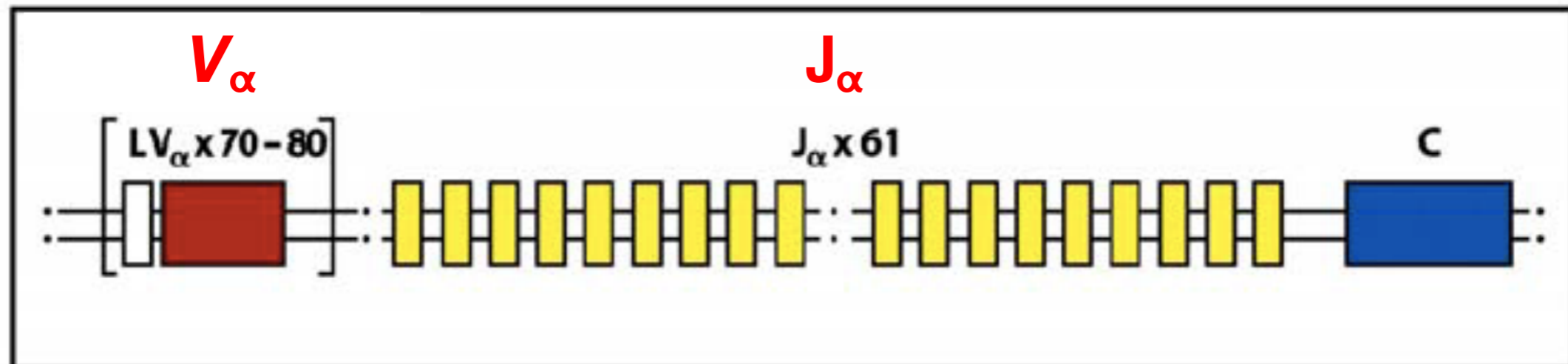


Figure 4-9 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

TCRB (cromossomo 7) \rightarrow Cadeia β

Recombinação somática do TCR $\alpha\beta$

Cadeia α

recombinação VJ

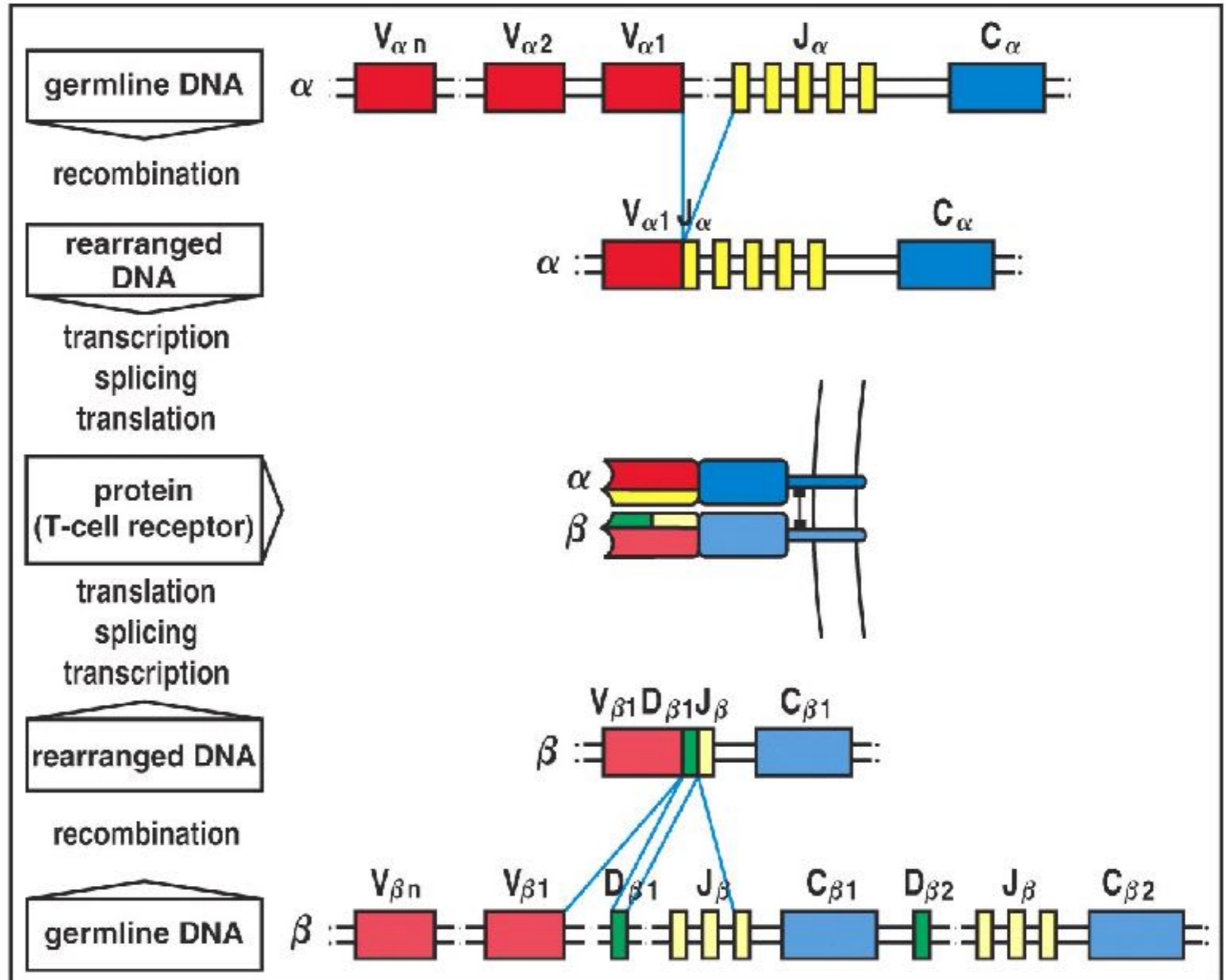


Figure 4-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Cadeia β

recombinação VDJ

Recombinação somática

RAG1/2

fragmento de DNA excisso (TREC) nucleotídeos TdT

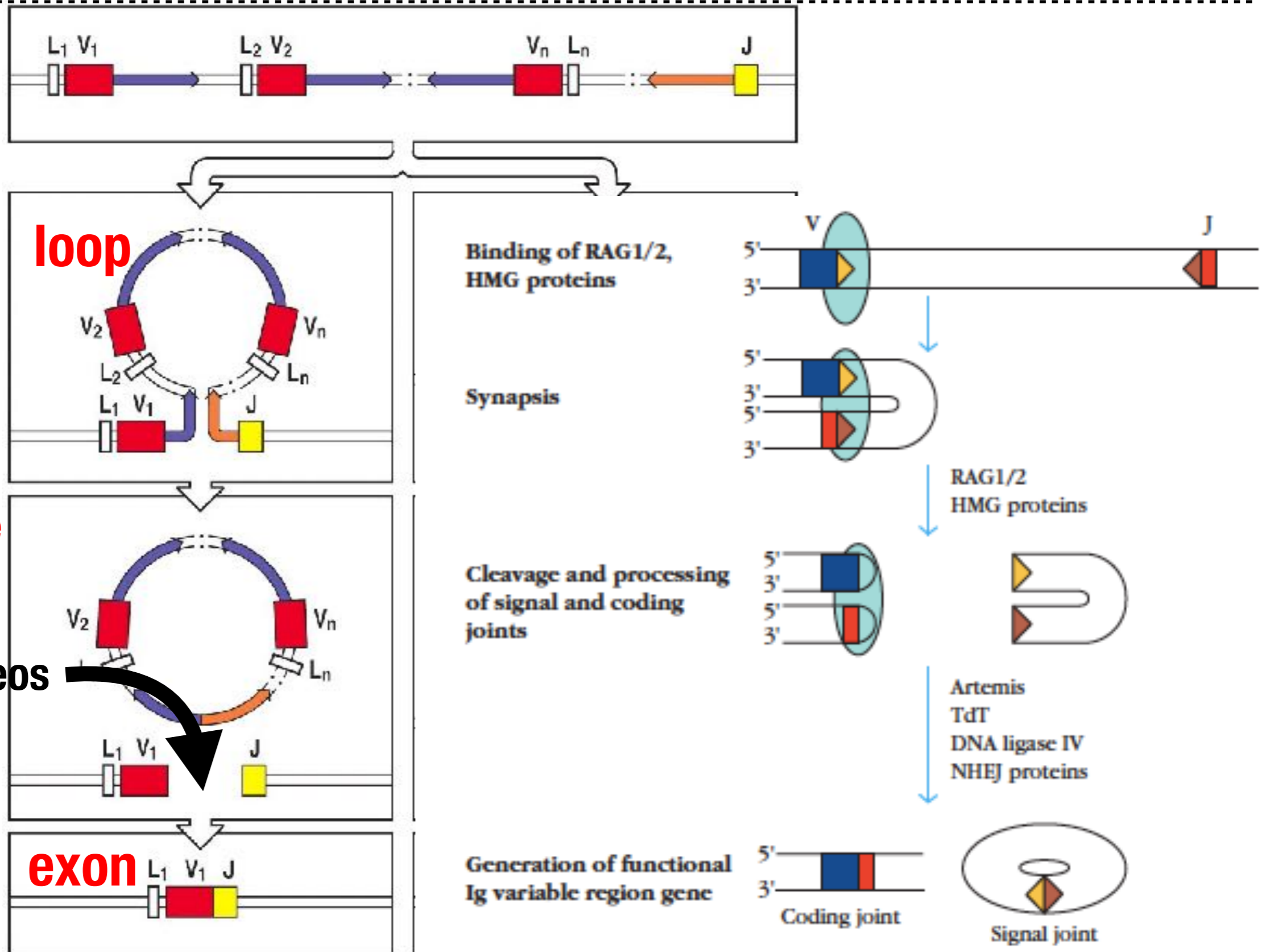


Figure 4-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Recombinação somática

RAG 1/2

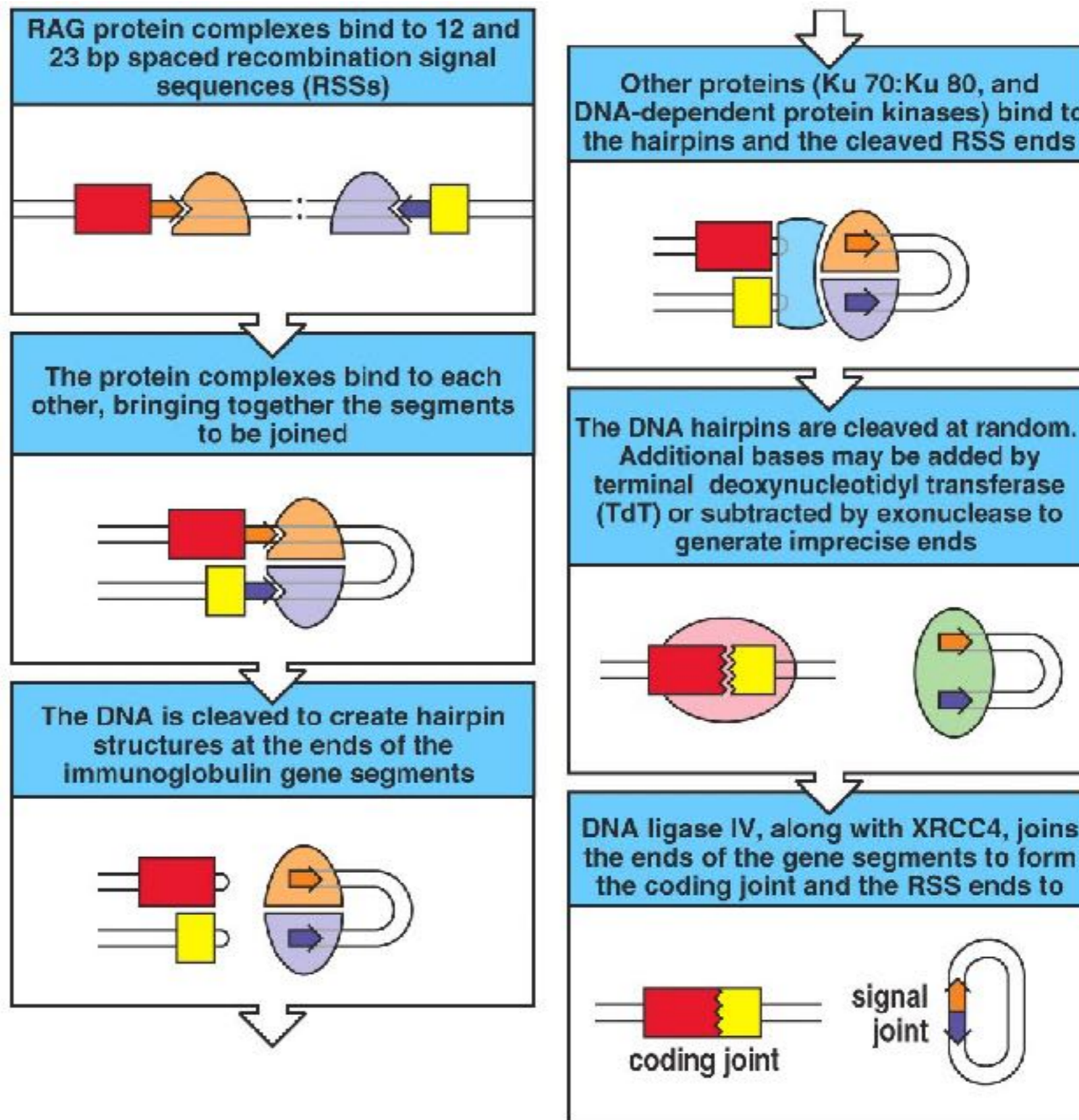


Figure 4-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Origem da especificidade do TCR $\alpha\beta$

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do TCR $\alpha\beta$ ($\sim 10^{18}$ diferentes Ag!!)?

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



- Recombinação V(D)J
- Junções com nucleotídeos

Variabilidade do TCR $\alpha\beta$

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	

Desenvolvimento dos linfocitos T

Test do TCR

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

SIM

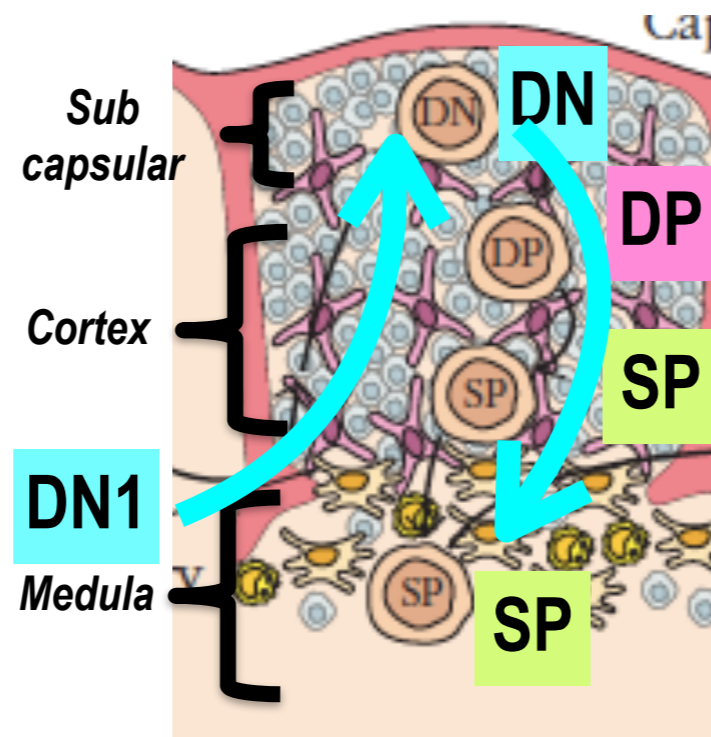
SIM

sinal de sobrevivência
dependendo do MHC
ligado a DP vira SP

Seleção
positiva

indução de apoptose

Seleção
negativa



Ag-dependente

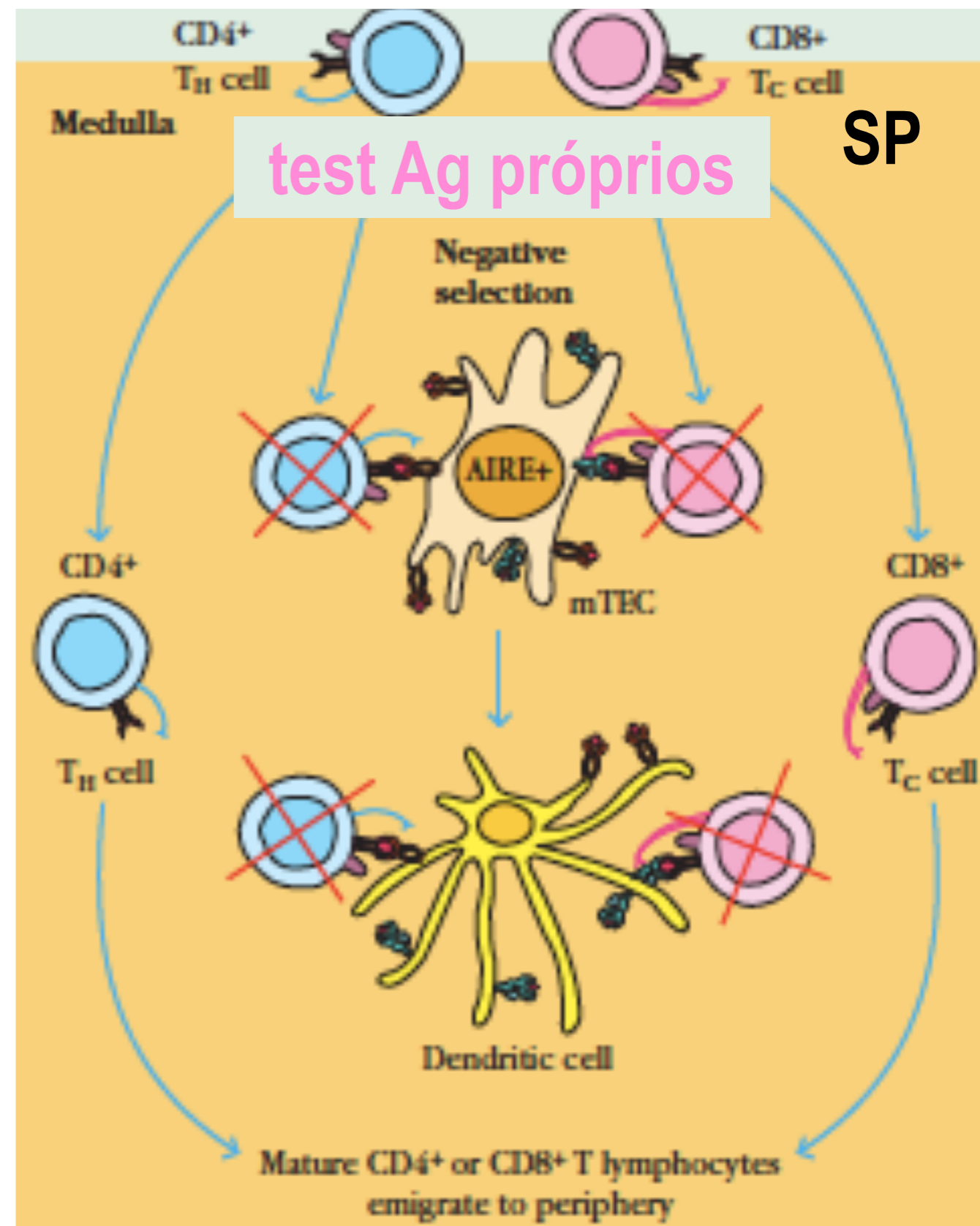
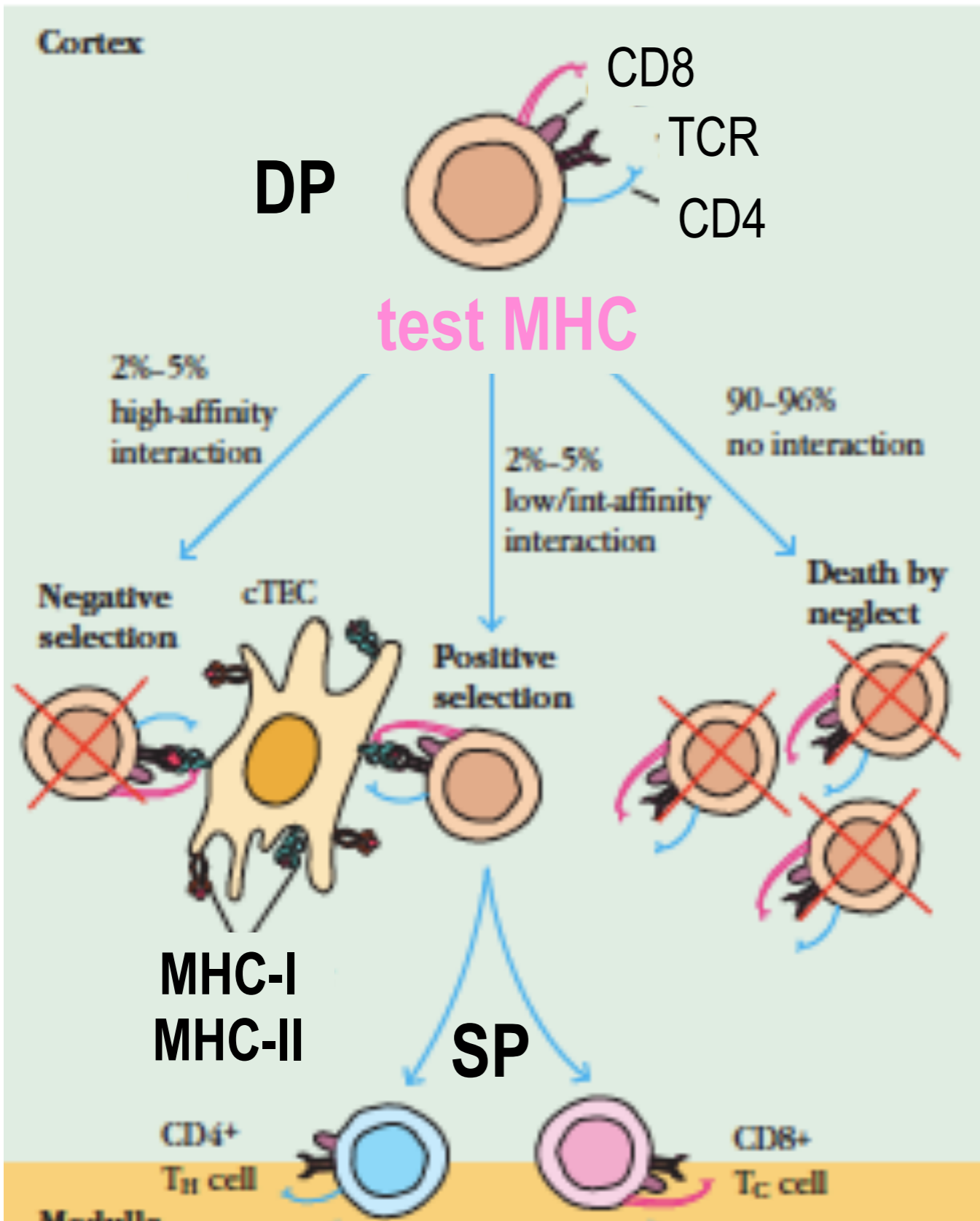
Seleção
positiva

cTEC (Cortex)

Seleção
negativa

mTEC
mDC (Medula)

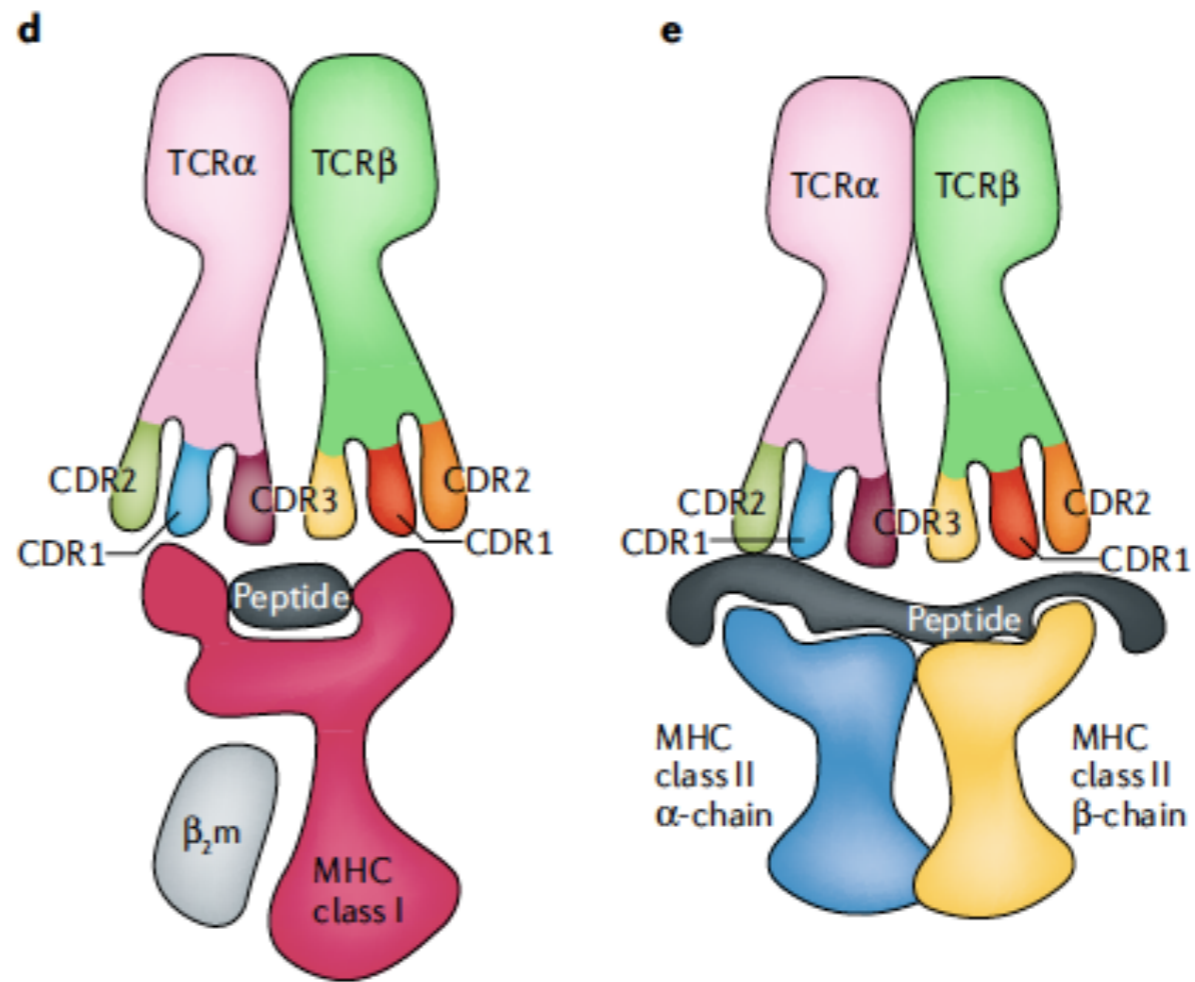
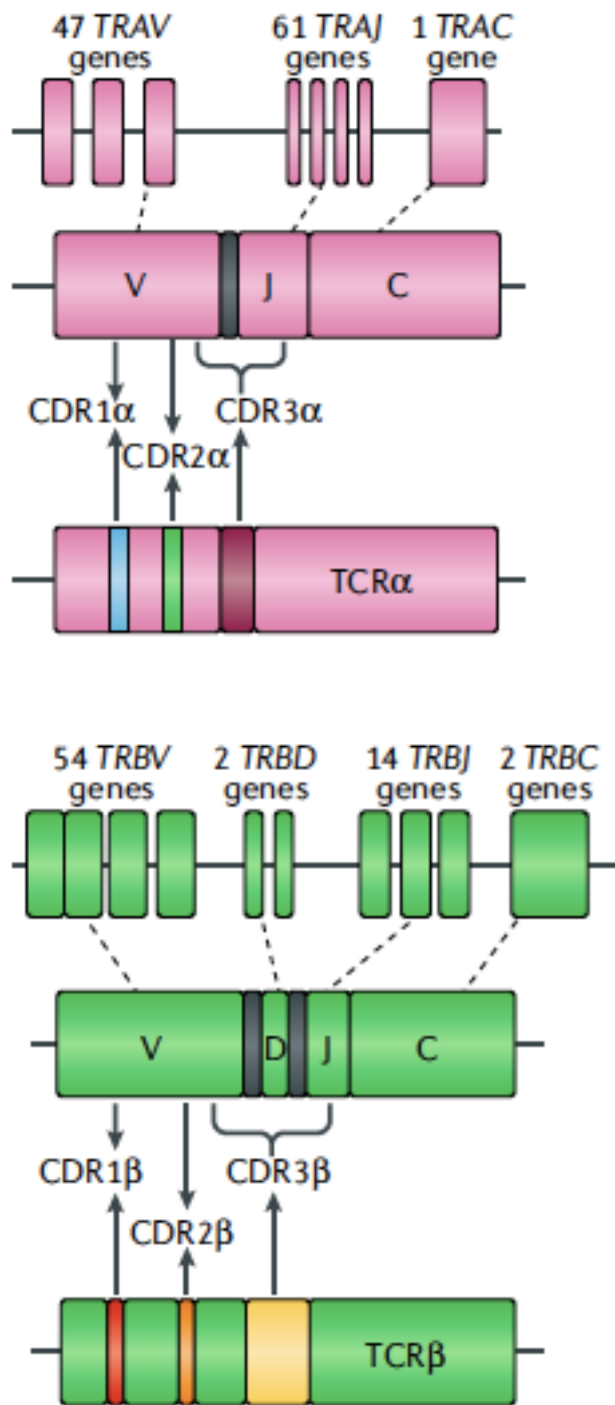
Desenvolvimento dos linfócitos T



Repertório TCR $\alpha\beta$

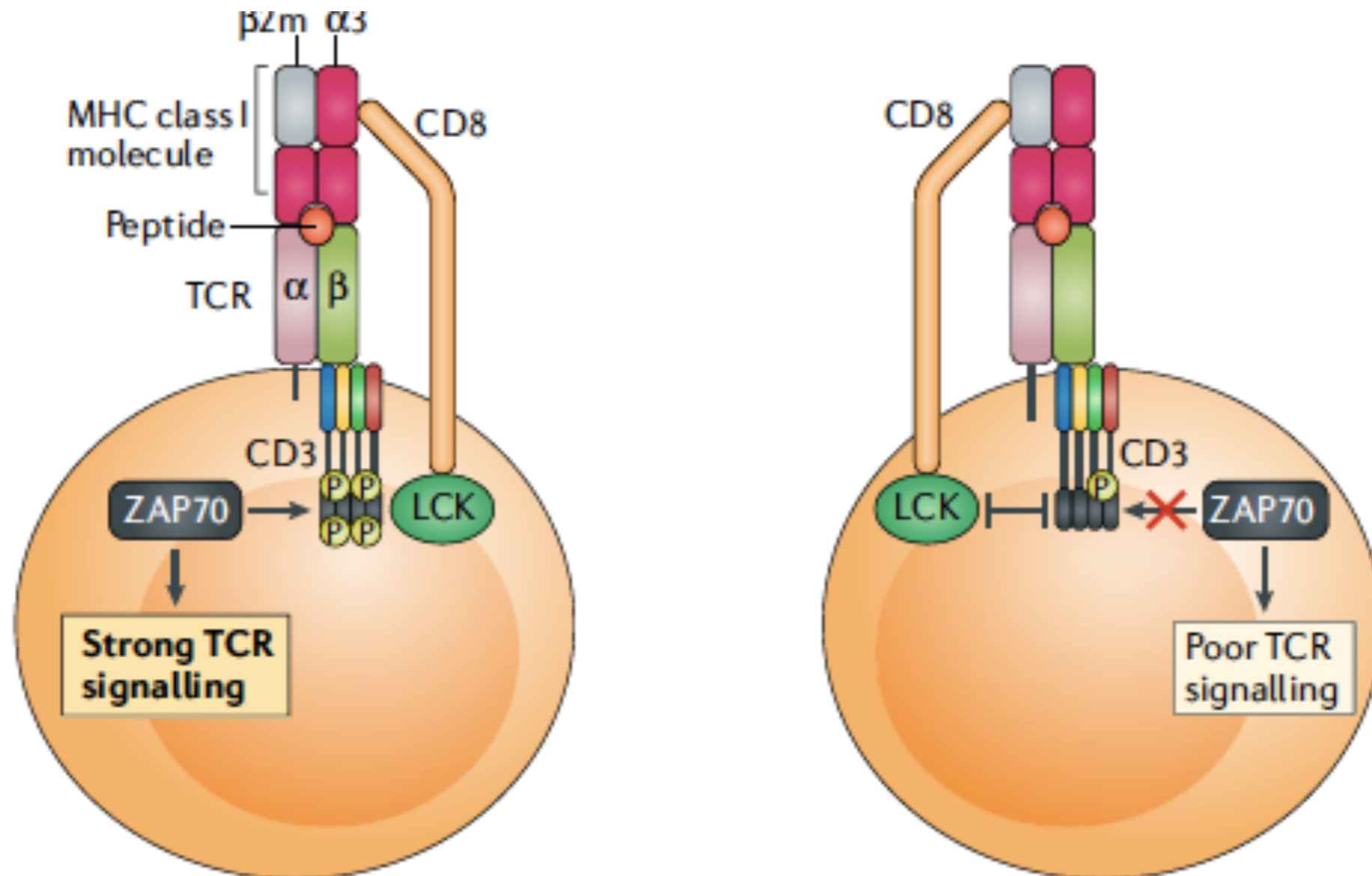
Recombinação genica estocástica

MHC “seleciona” o repertório TCR

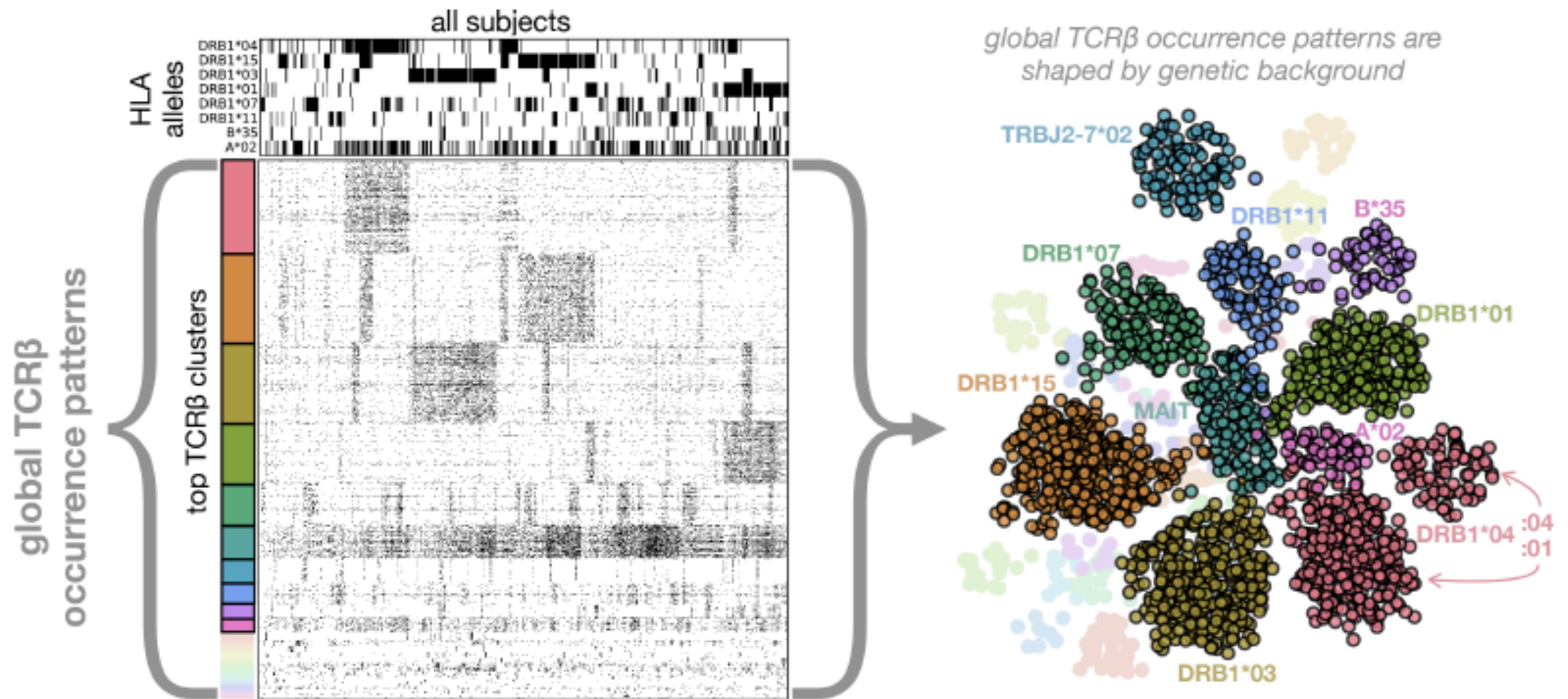


Repertório $\text{TCR}_{\alpha\beta}$

Sinal de ativação & capacidade de resposta



Repertorio TCR $\alpha\beta$



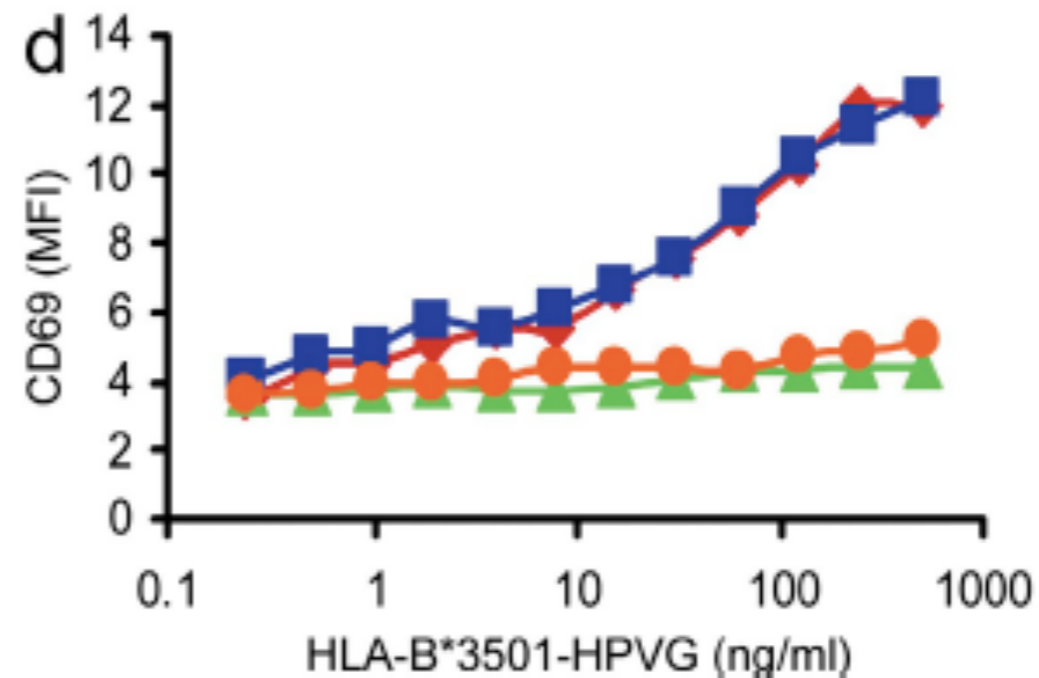
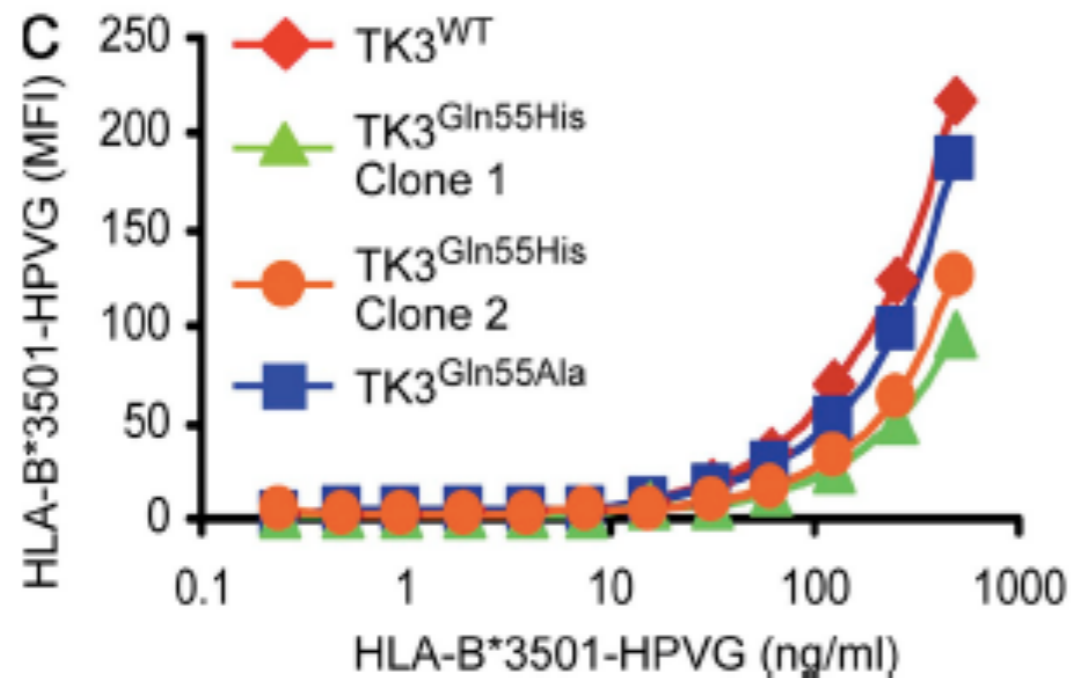
Repertorio TCR $\alpha\beta$

Allelic polymorphism in the T cell receptor and its impact on immune responses

Stephanie Gras,¹ Zhenjun Chen,² John J. Miles,⁴ Yu Chih Liu,¹
Melissa J. Bell,⁴ Lucy C. Sullivan,² Lars Kjer-Nielsen,²
Rebekah M. Brennan,^{4,5} Jacqueline M. Burrows,⁴ Michelle A. Neller,⁴
Rajiv Khanna,⁴ Anthony W. Purcell,³ Andrew G. Brooks,²
James McCluskey,² Jamie Rossjohn,¹ and Scott R. Burrows⁴

HLA-B*3501

TRBV9*01+ public TCR (TK3).

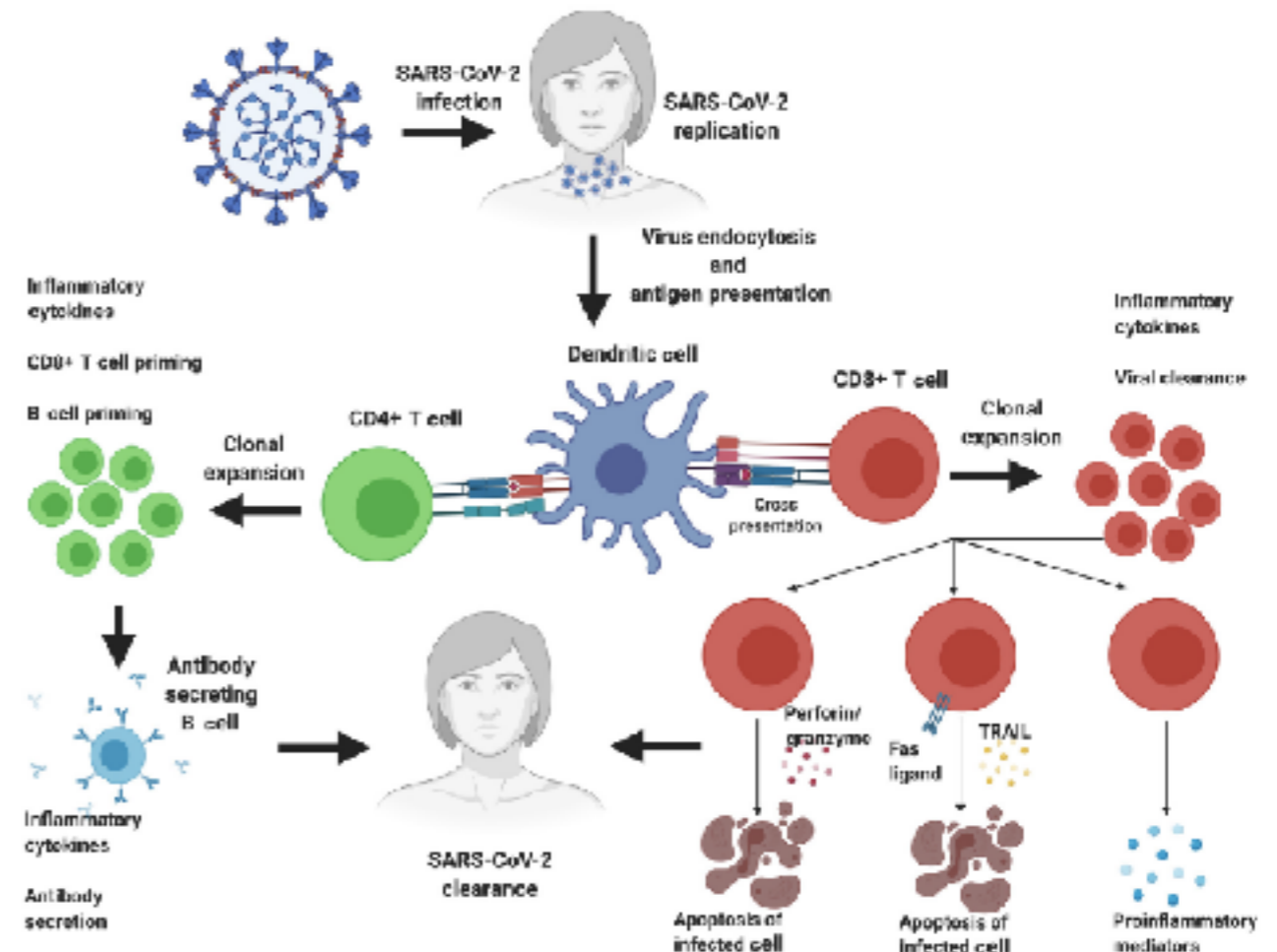


Repertorio TCR $\alpha\beta$

Deciphering the TCR Repertoire to Solve the COVID-19 Mystery

Lucas Gutierrez,¹ John Beckford,¹ and Houda Alachkar ^{1,*}

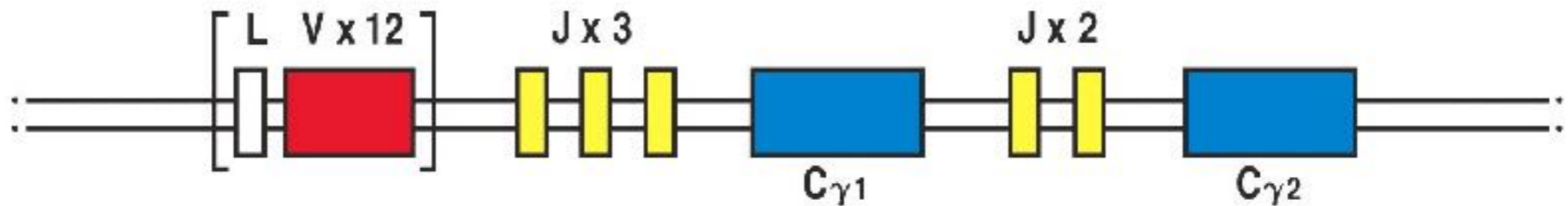
HLA-B*46:01 low chance binding
HLA-B*15:03 high chance binding
TRAV8-6-TRAJ45:
TRAV7-8-TRBJ2-1
enhanced expansion
in recovered patients



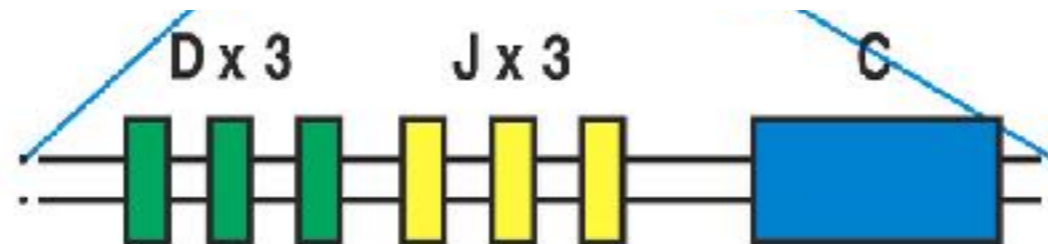
HLA allomorph (effect on disease)	Autoimmune disease	Molecular mechanism of action
<i>Alternate docking</i>		
HLA-DR15 (risk)	Multiple sclerosis	<ul style="list-style-type: none"> • Alternate docking of a TCR may allow MBP peptide-specific T cells to escape thymic selection • In the periphery, such cells may be cross-reactive with microbial peptides
<i>Low-affinity-mediated thymic escape</i>		
HLA-A*02:01 (risk)	T1D	<ul style="list-style-type: none"> • Low affinity of a TCR for preproinsulin signal peptide–HLA may allow autoreactive T cells to escape thymic selection • This mechanism may depend on the thymic expression level of the autoantigen • In the periphery, these cells may bind microbial peptides with a high affinity
<i>TCR stabilization of weak peptide–HLA complexes</i>		
HLA-DR4 (risk)	Multiple sclerosis	<ul style="list-style-type: none"> • Weak MBP peptide–HLA-DR4 interaction is stabilized by binding of a patient-derived TCR • Low autoantigen density in the thymus may enable escape of autoreactive T cells from negative selection • Higher autoantigen density in the periphery could trigger an autoreactive response
<i>Altered register</i>		
HLA-DQ2 and HLA-DQ8 (risk)	T1D	<ul style="list-style-type: none"> • Insulin B-chain peptide binds HLA-DQ2 and HLA-DQ8 with a low-affinity peptide register • Low affinity may allow autoreactive T cells to escape thymic selection • In the periphery, autoreactive T cells may be cross-reactive with microbial peptides via molecular mimicry
HLA-DR15 (risk) HLA-DR1 (dominant protection)	Goodpasture disease	<ul style="list-style-type: none"> • HLA-DR15 and HLA-DR1 both bind an $\alpha 3$-chain of type IV collagen peptide ($\alpha 3_{135-145}$) but with a different binding register • When HLA-DR1 is present, this promotes the generation of autoantigen-specific regulatory T cells as opposed to effectors
<i>'Hotspot' molecular mimicry</i>		
HLA-DR15 (risk)	Multiple sclerosis	<ul style="list-style-type: none"> • The probability of aberrant, off-target TCR reactivity induced by pathogen-derived peptides is increased for autoreactive TCRs with a highly focused footprint that predominantly binds only a small area of peptide • Patient TCRs have been identified that cross-react with HLA-DR15-restricted MBP and <i>Escherichia coli</i> or EBV-derived peptides

Organização dos *loci* γ e δ do TCR

***TCRG* (cromossomo 7) \rightarrow Cadeia γ
(recombinação VJ)**

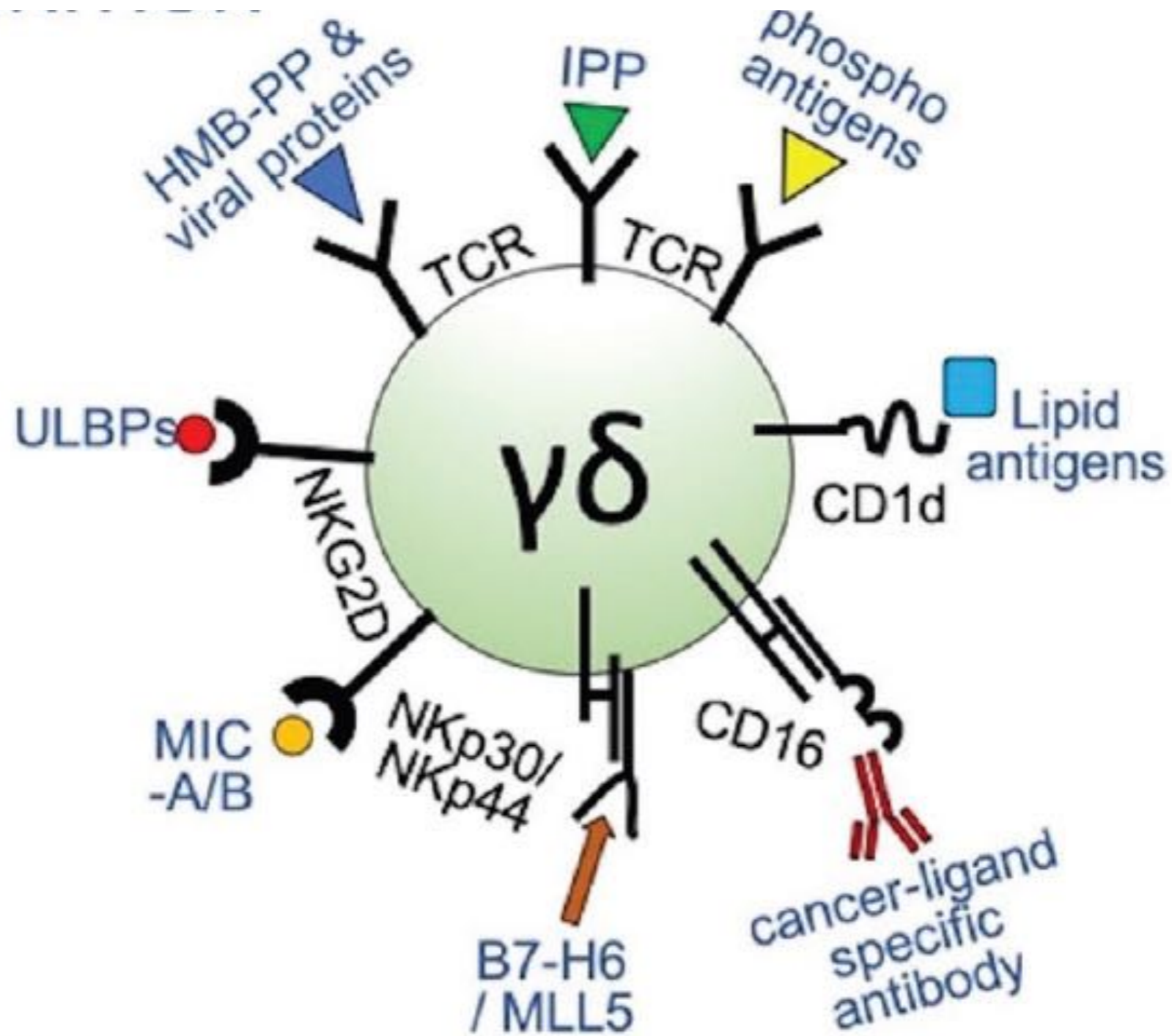


***TCRD* (cromossomo 14) \rightarrow Cadeia δ
(recombinação DJ)**



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

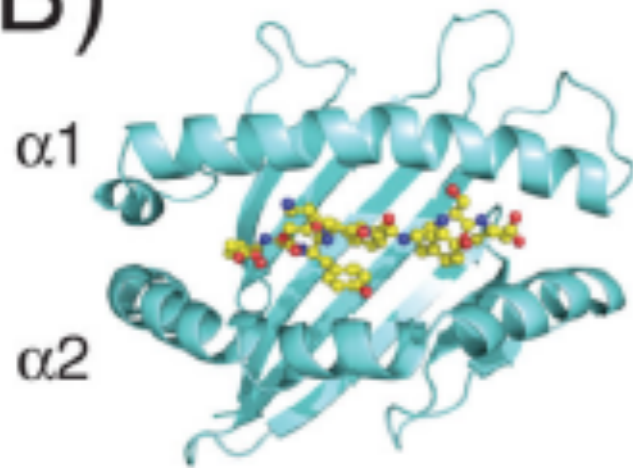
TCR $\gamma\delta$ Ligands



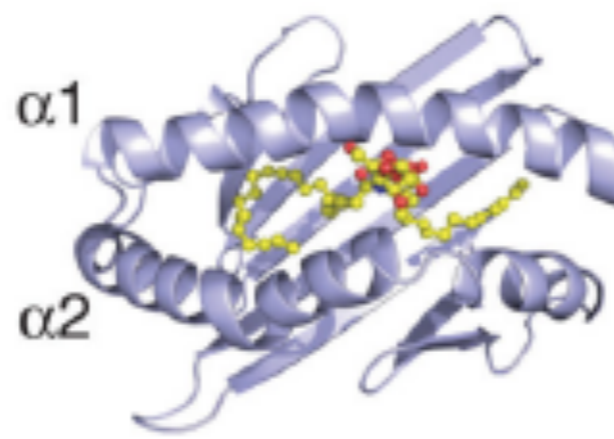
TCRs & T cells

	Nonclassical class I molecules	T cel subsets
Human	CD1a CD1b CD1c CD1d CD1e MR1	$\alpha\beta$ T cells $\gamma\delta$ T cells iNKT cells Type II NKT cells MAIT cells

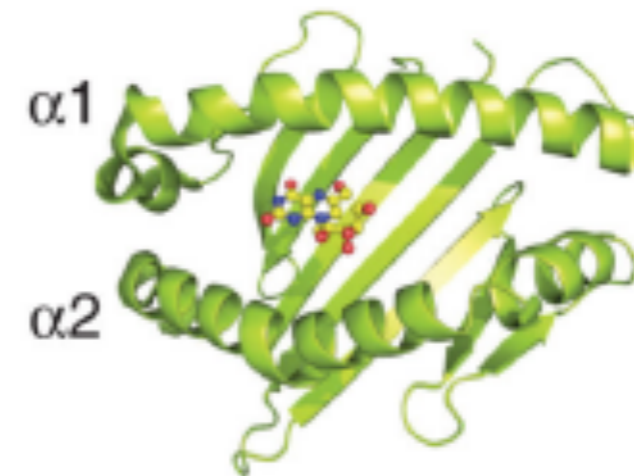
B)



MHC
peptide

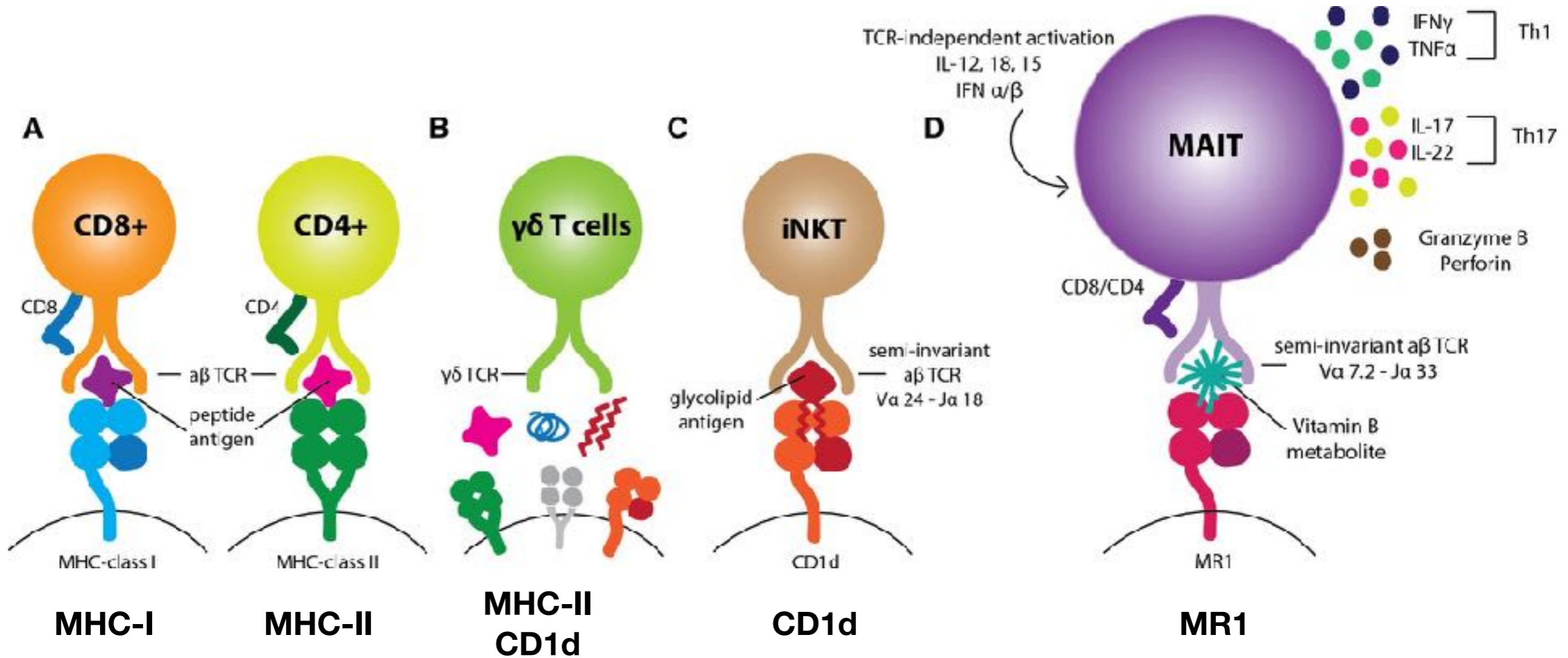


CD1d
lipid



MR1
metabolite

TCRs & T cells



TCR & BCR/AC

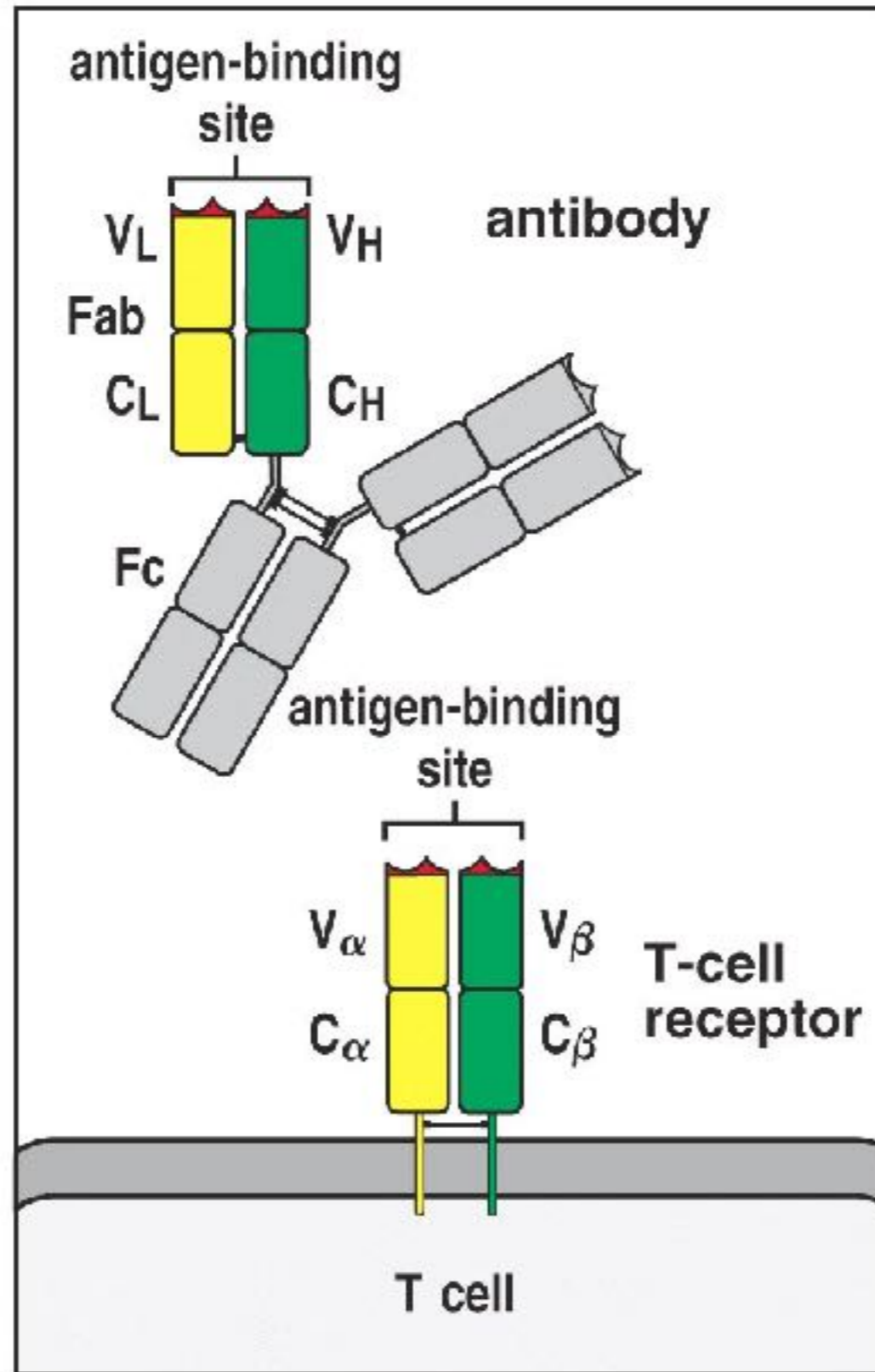


Figure 3-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Reconhecimento nos Linfocitos B

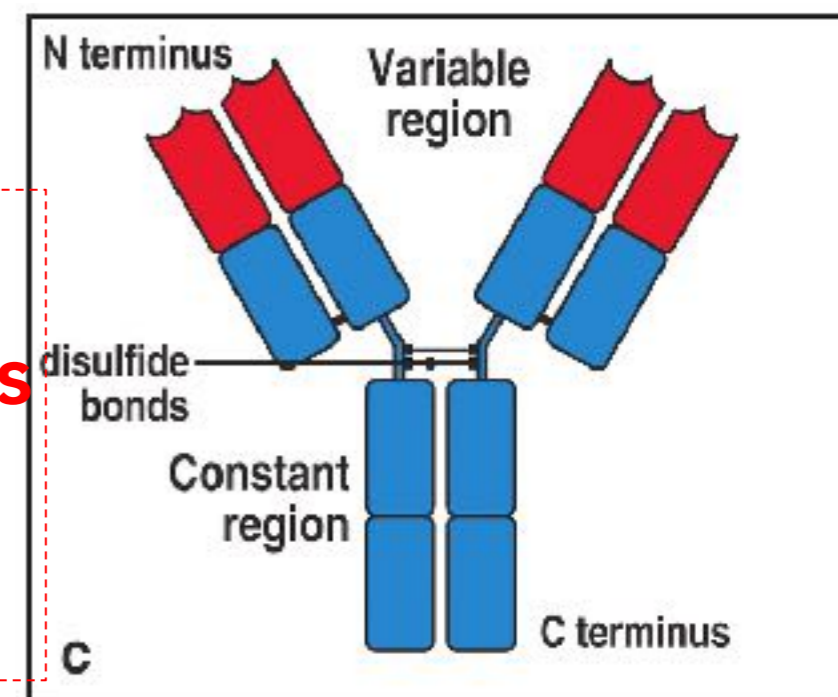
Linfocitos B

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



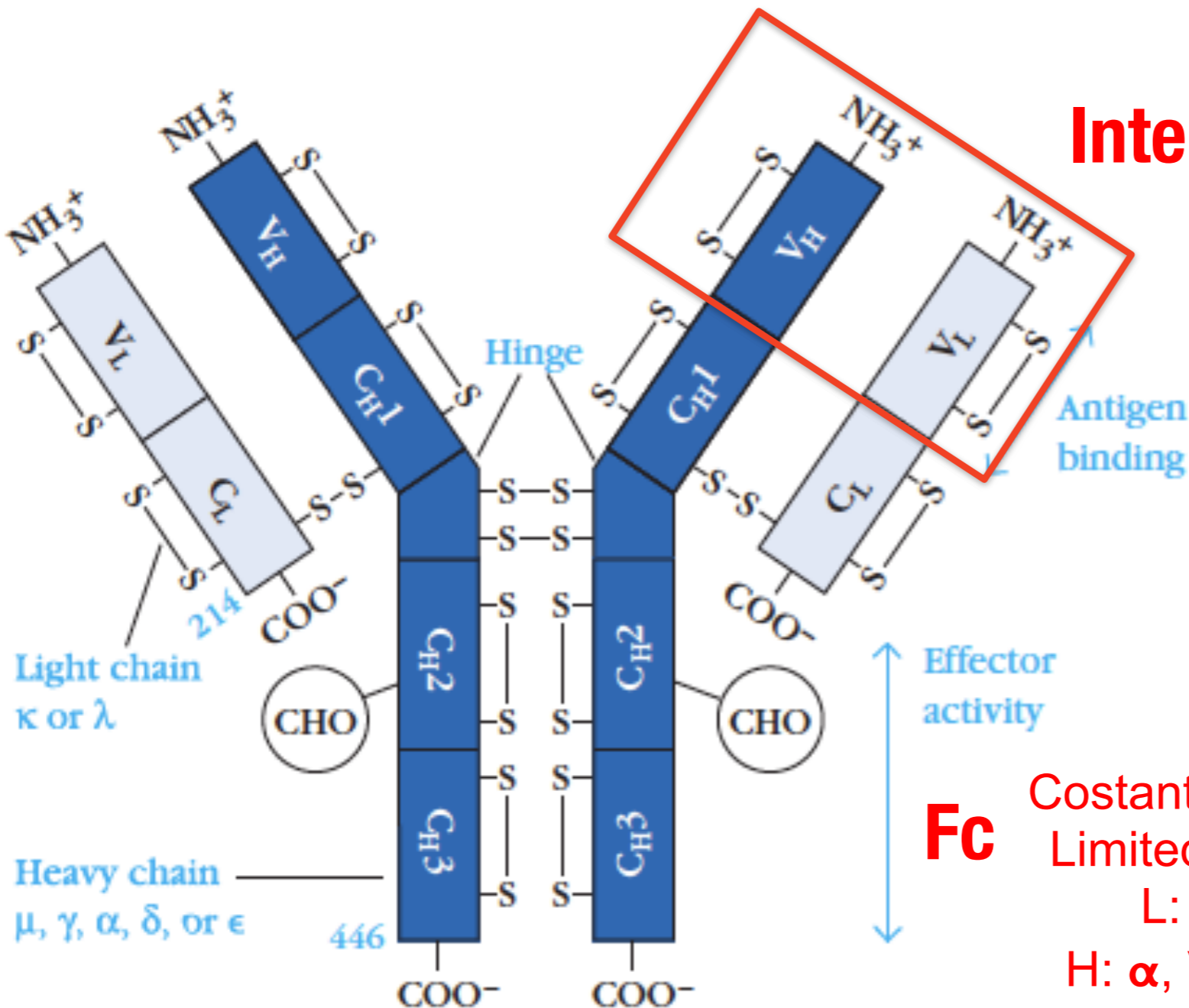
Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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-termais 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)

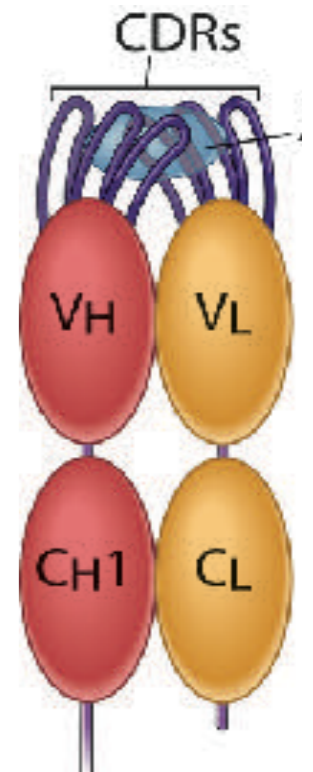


Interação com Ag

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

atraves das CDR

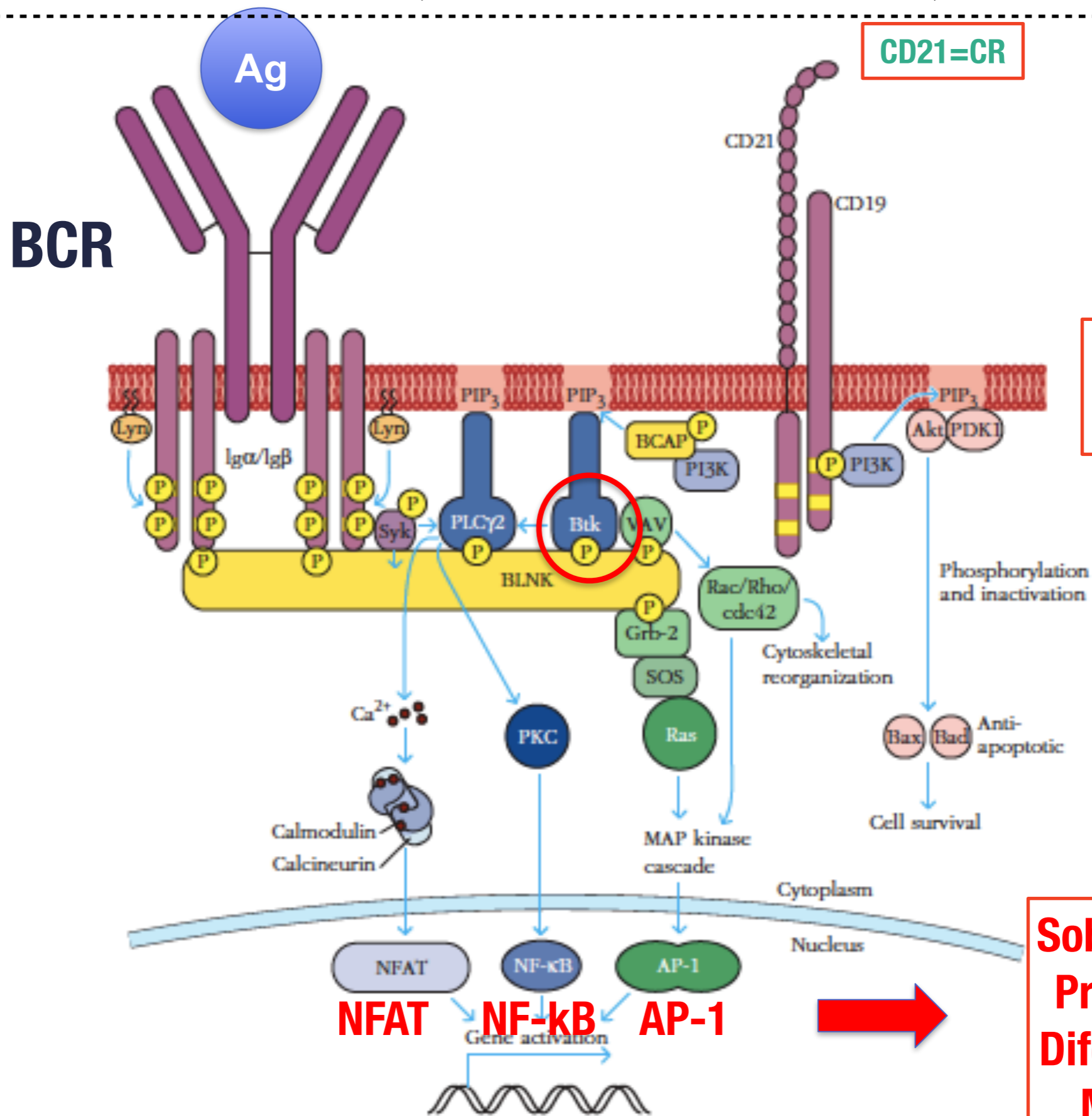
Regiões de 10 AA que determinam a complementariedade ao Ag



Fc

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

BCR (linfocitos B)



CD21=CR

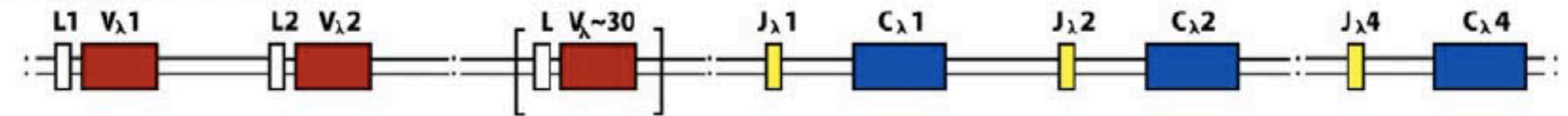
Mutações em Btk
=>
Agamaglobulinemia

Sobrevivencia
Proliferação
Diferenciação
Migração

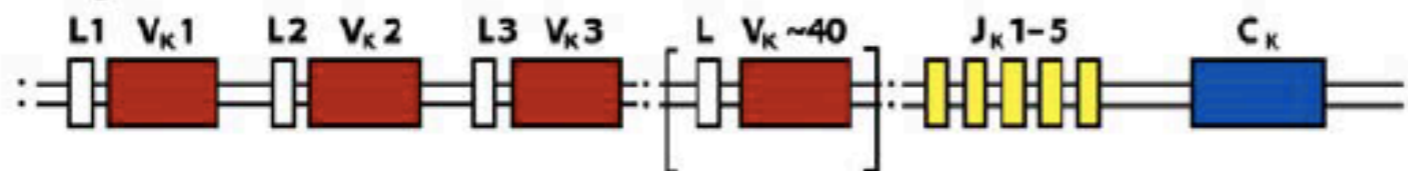
Organização dos *loci* H e L (λ , κ) do BCR/AC

λ , κ (cromossomo 2 e 22) \rightarrow Cadeia L

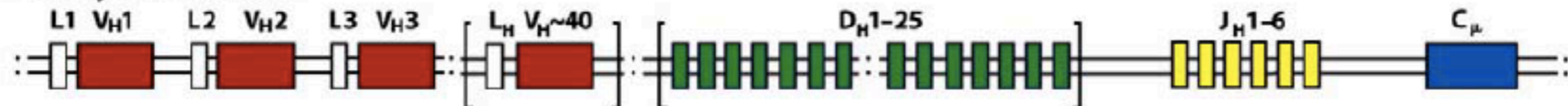
λ light-chain locus



κ light-chain locus



Heavy-chain locus



***BCRH* (cromossomo 14) \rightarrow 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 somática do BCR/AC

Cadeia L

recombinação VJ

Cadeia H

recombinação VDJ

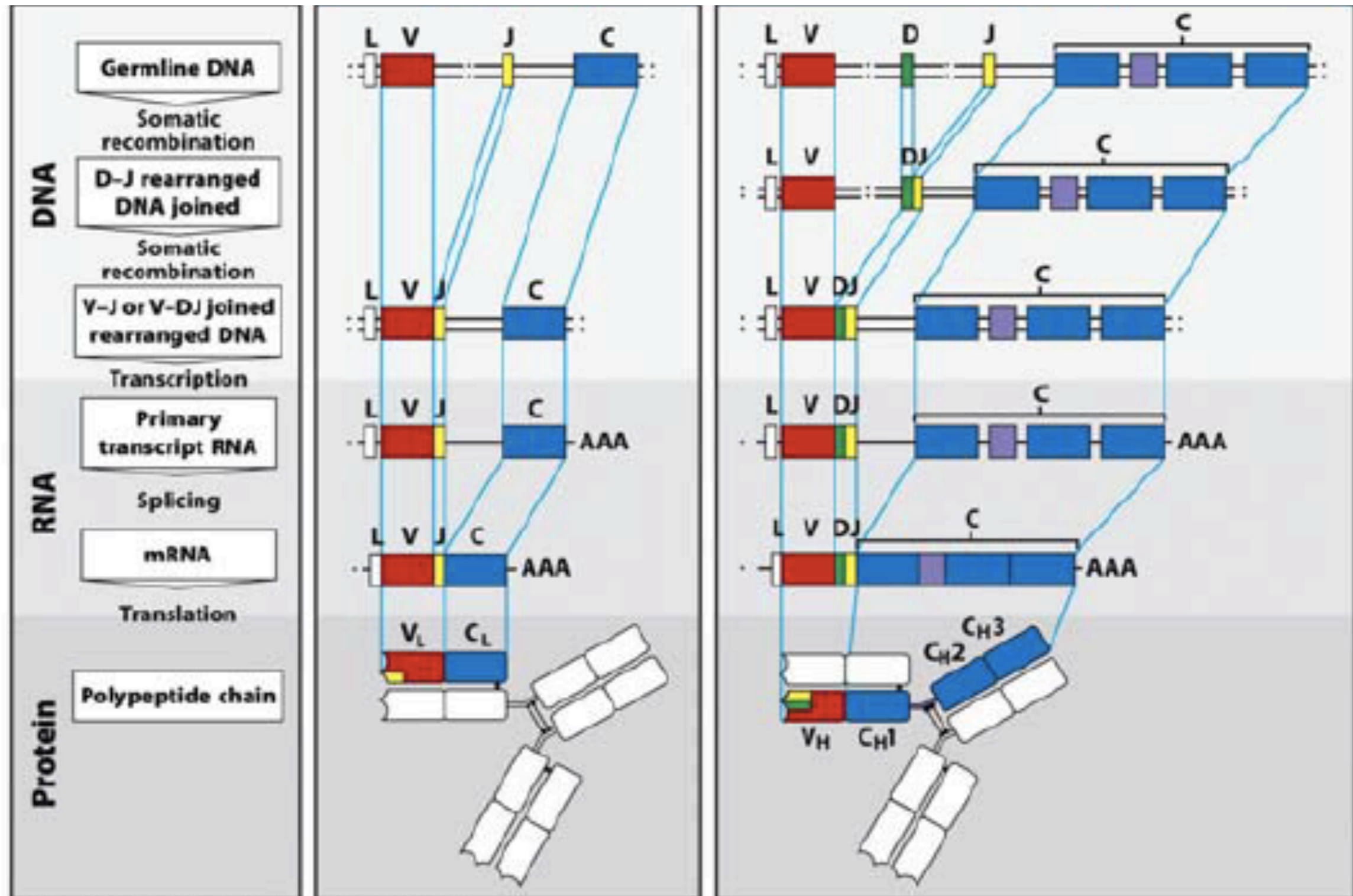
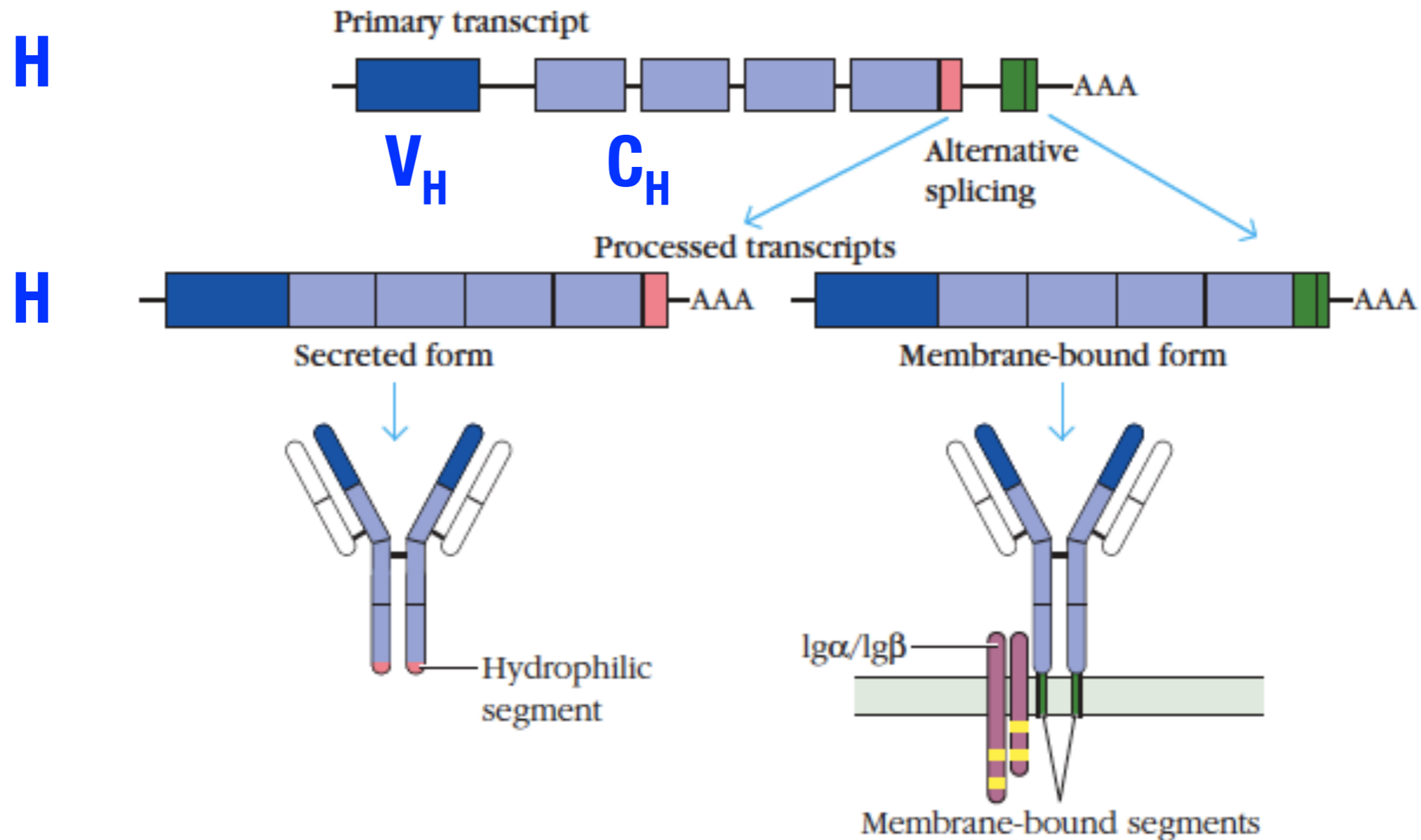


Figure 4-2 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Anticorpos e BCR (linfocitos B)

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



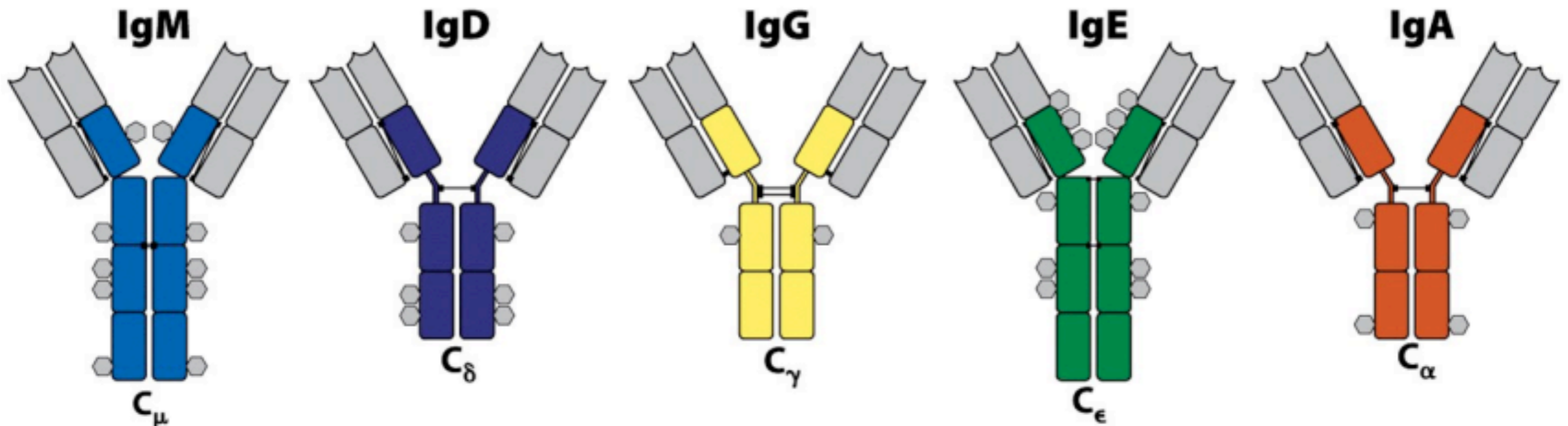
Isótopos dos anticorpos

CADEIAS PESADAS e REGIAO CONSTANTE DO AC

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

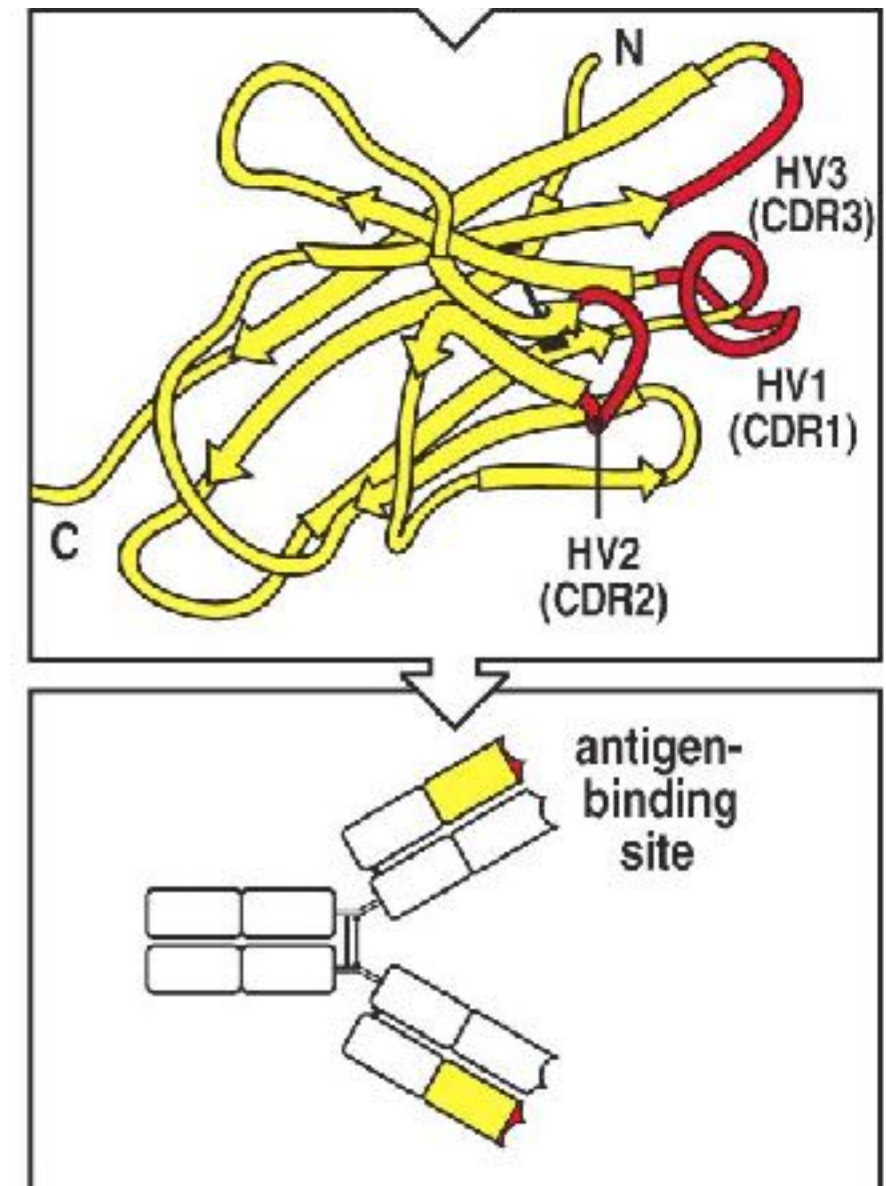
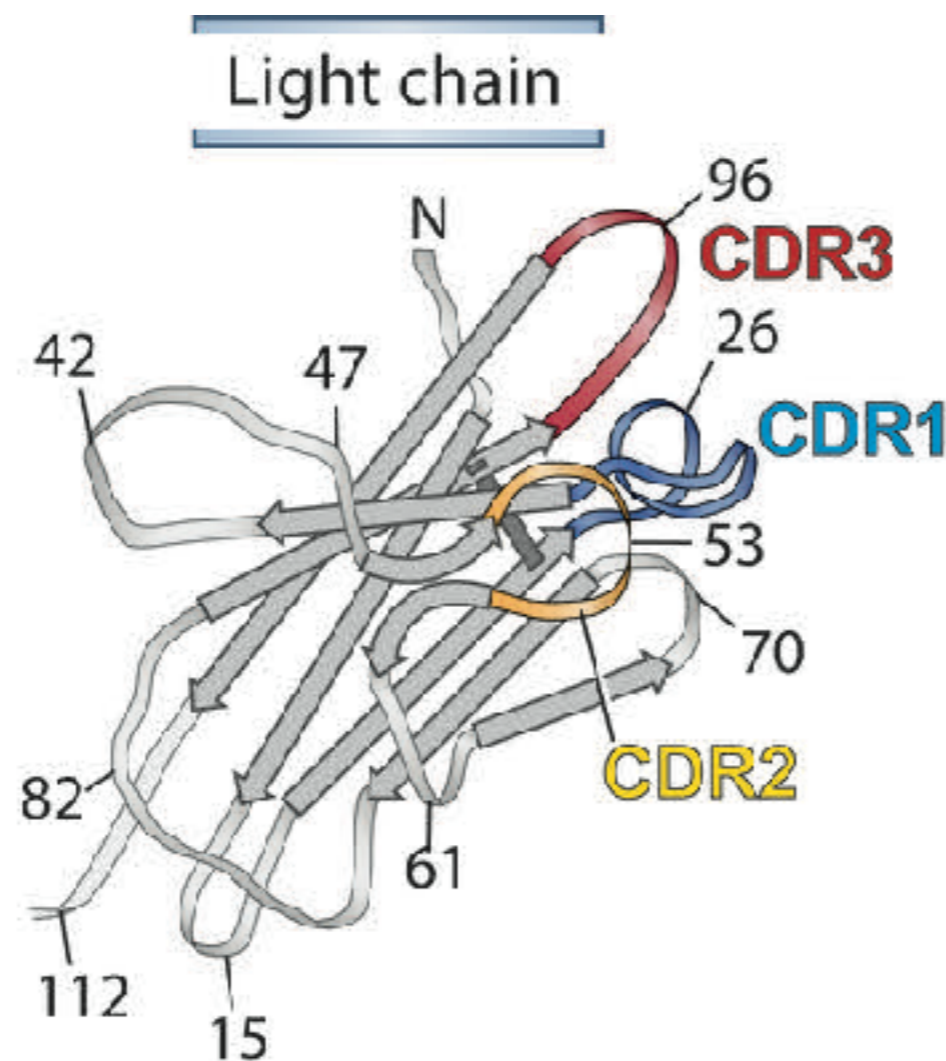
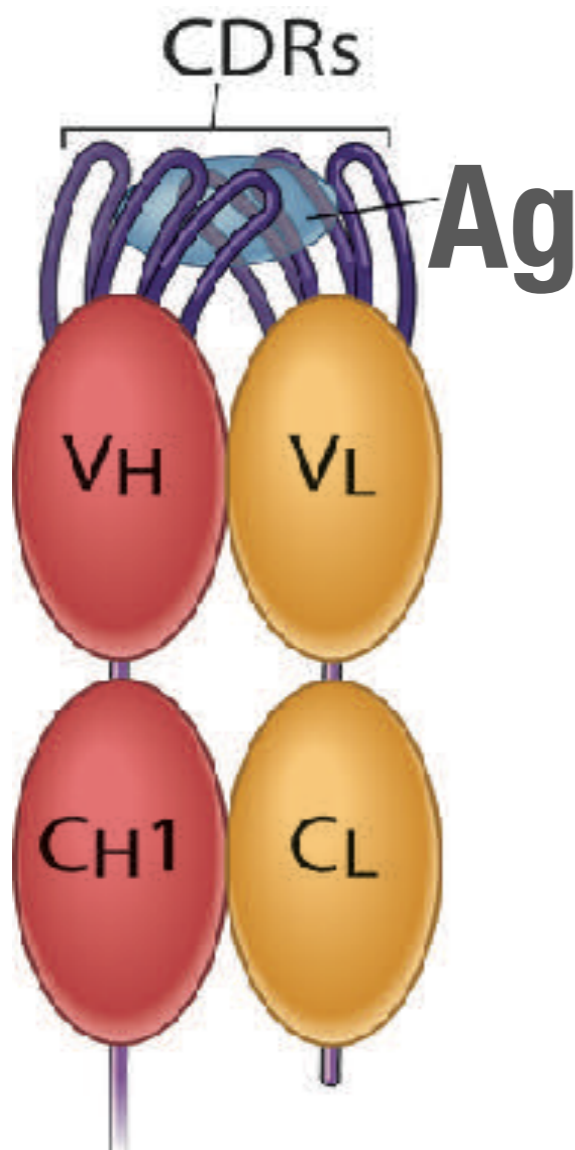
- Cadeia μ \rightarrow IgM
- Cadeia δ \rightarrow IgD
- Cadeia γ \rightarrow IgG ($\gamma 1-4 \rightarrow$ IgG1-4)
- Cadeia ϵ \rightarrow IgE
- Cadeia α \rightarrow IgA ($\alpha 1 =$ IgA1 e $\alpha 2 =$ IgA2)

Isotipos \rightarrow classe do 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

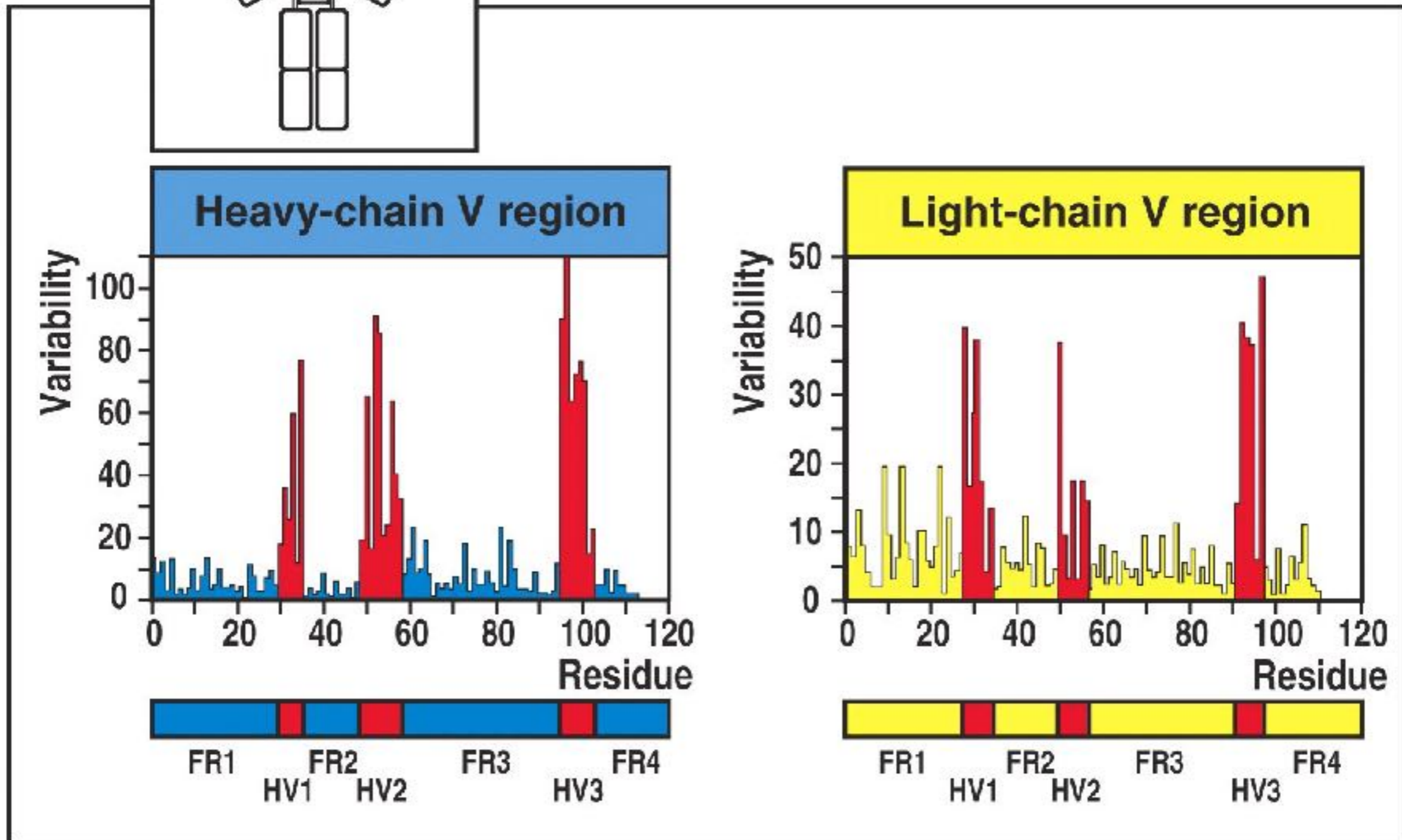
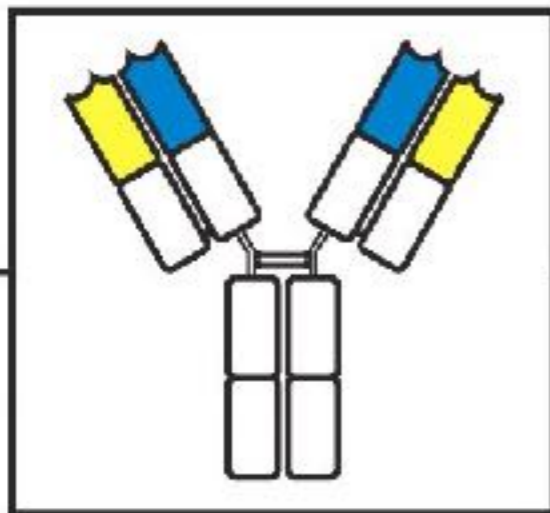
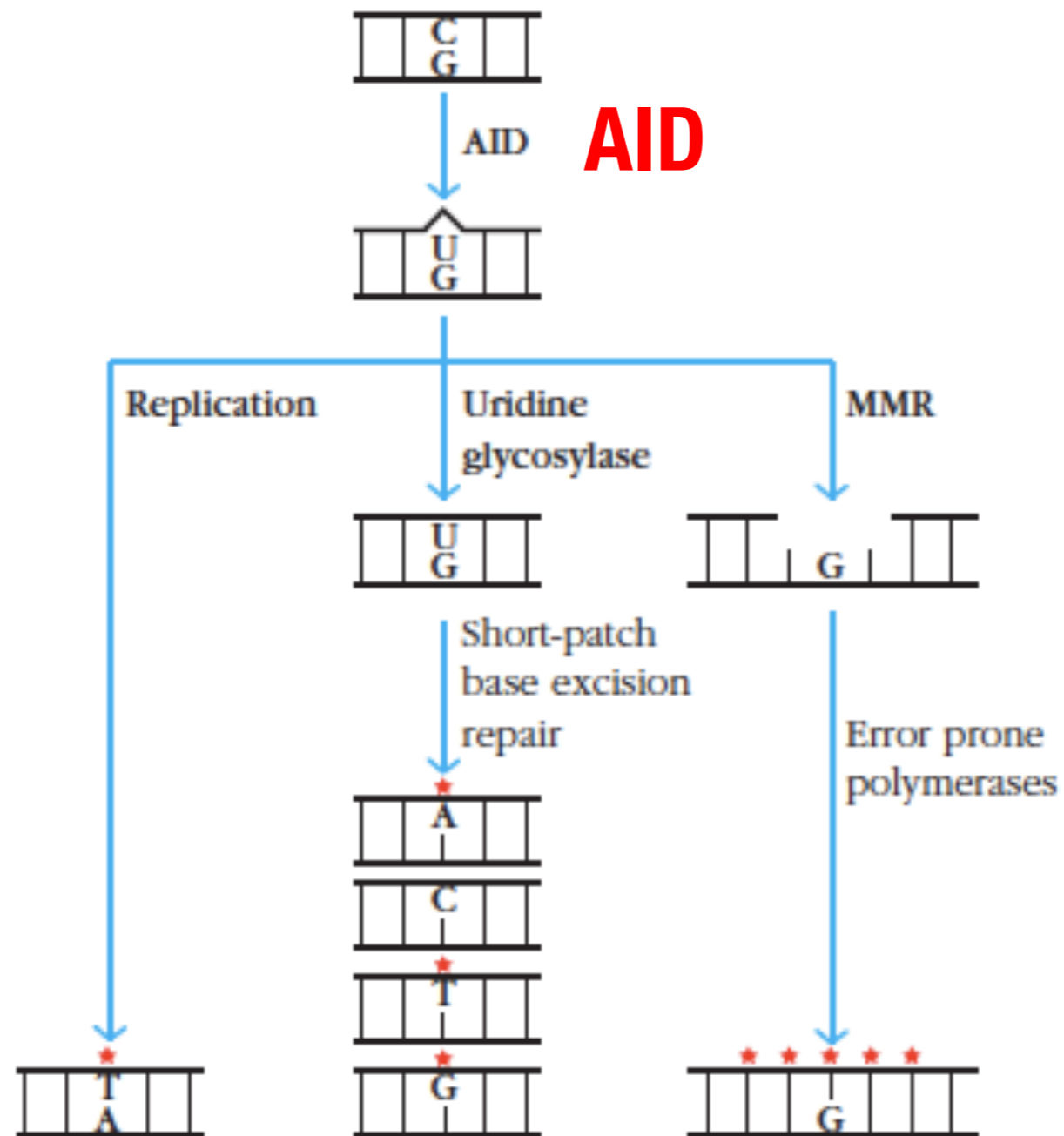


Figure 3-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Hipermutação somática

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



Variabilidade do BCR/AC

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)

Origem da especificidade do BCR/AC

De onde vem a elevada especificidade de reconhecimento do BCR/AC ($\sim 10^{13}$ 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
- **Hipermutação somática**

desenvolvimento
ativação

