

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

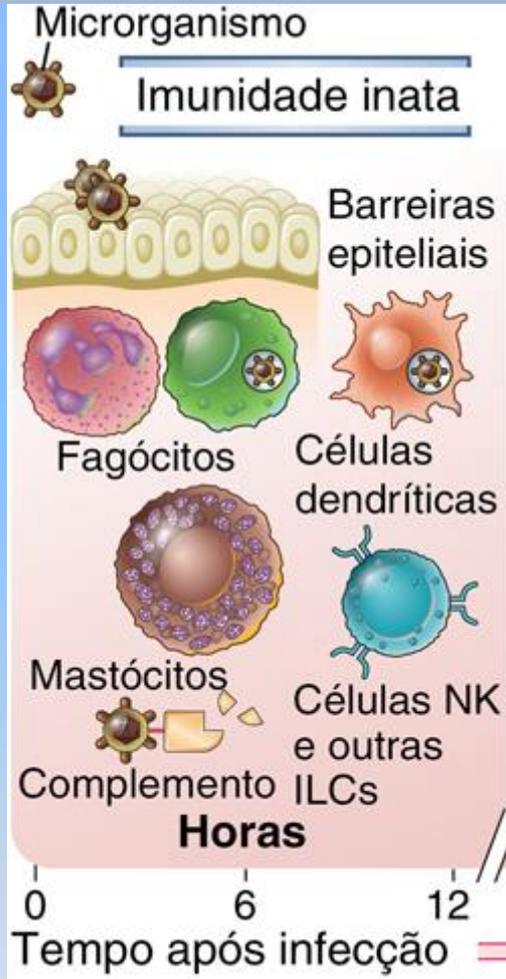
***Desenvolvimento e Mecanismos  
de Diversidade dos Receptores  
de Linfócitos T e B***

***Prof. Anderson de Sá Nunes***

***Departamento de Imunologia  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo***

# Imunidade inata e suas características

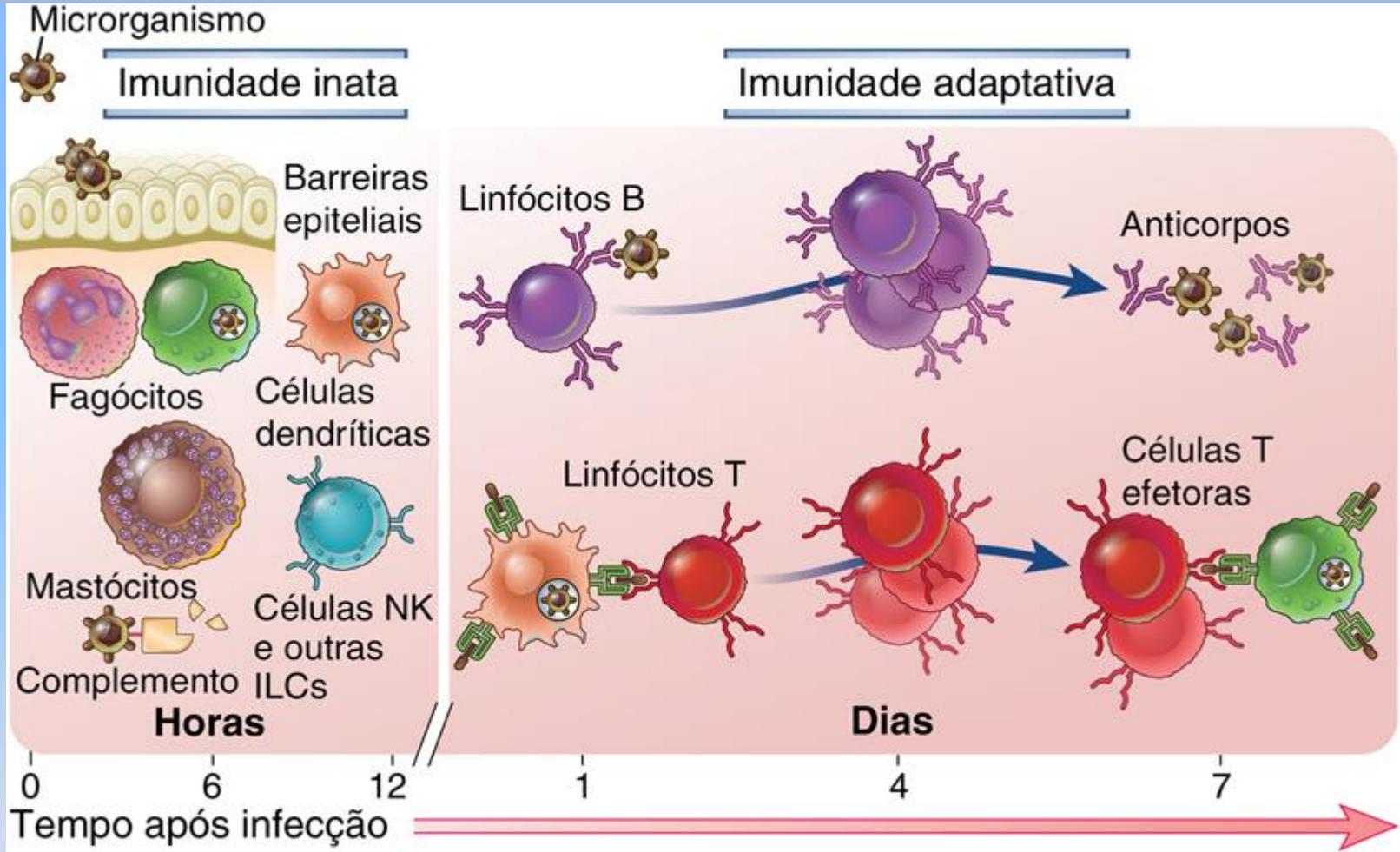
Abbas, Lichtman, Pillai, 9a. Edição, 2019.



- diversidade codificada pela linhagem germinativa
- dirigida contra estruturas compartilhadas
- não possui memória
- auto-tolerância



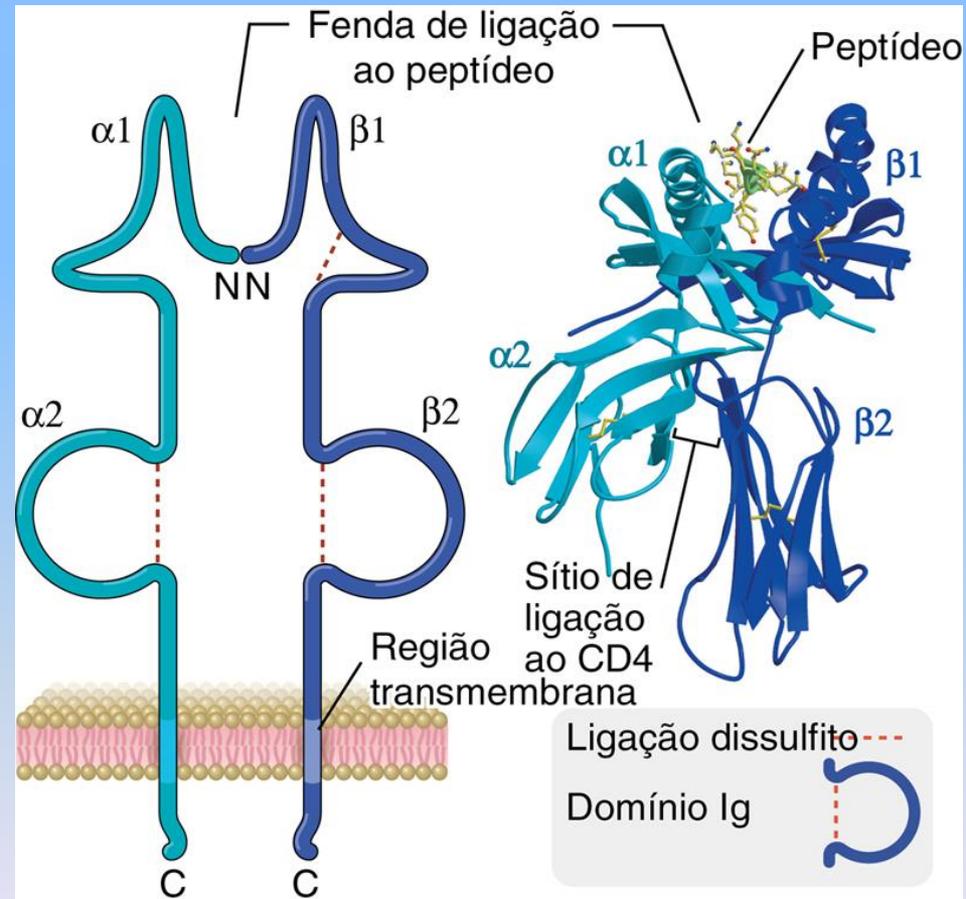
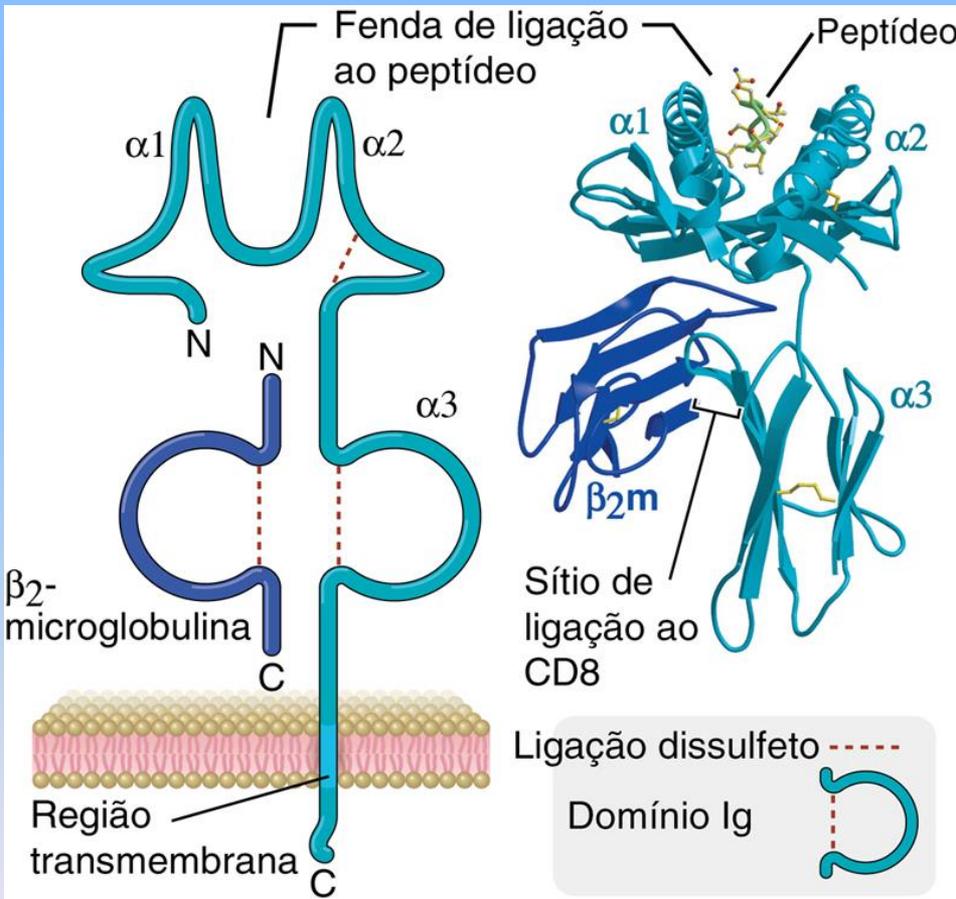
# Imunidade inata e adaptativa se complementam



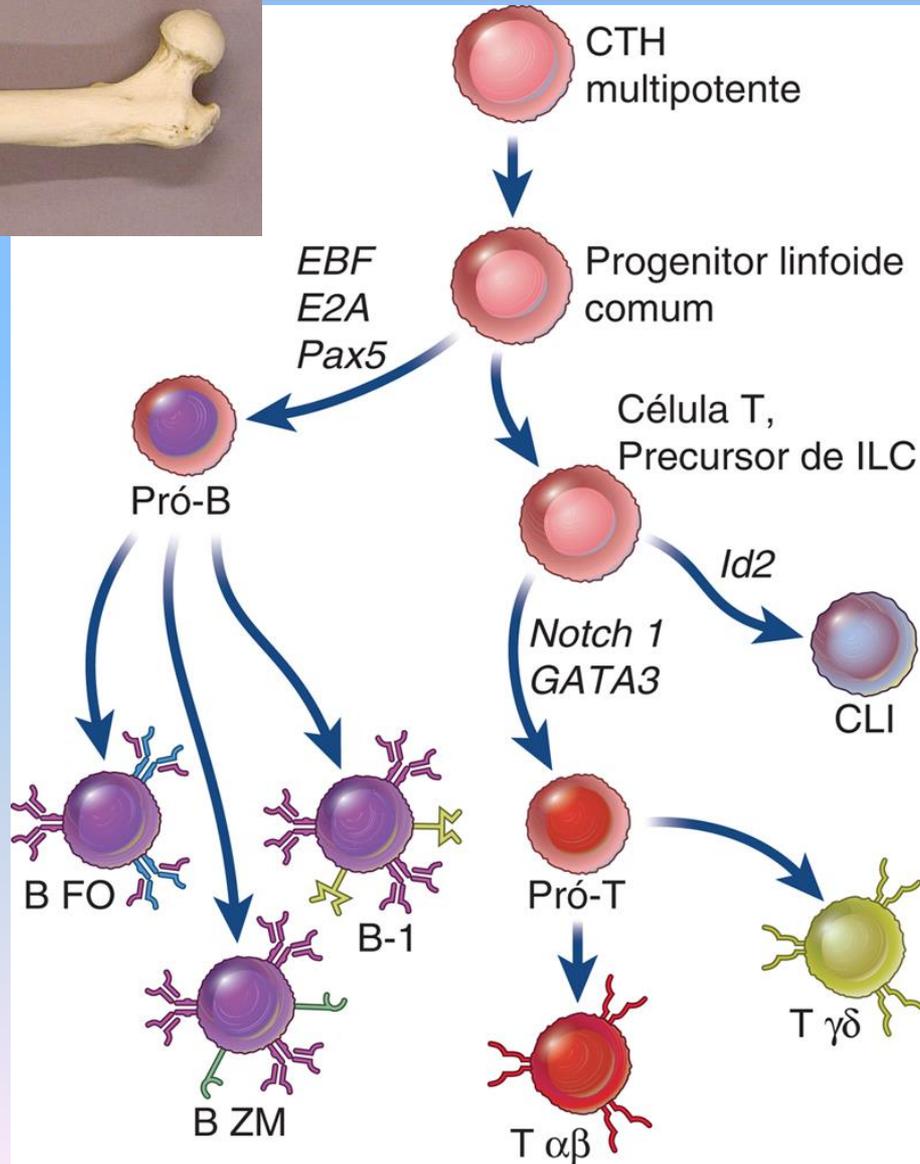
# ***Tópicos Essenciais da Aula***

- 1. Conhecer a estrutura do TCR e do BCR***
- 2. Revisar a organização dos genes responsáveis pela codificação dos TCRs e dos BCRs, bem como os princípios da recombinação somática V(D)J dos genes de TCRs e BCRs***
- 3. Reconhecer os mecanismos de geração de diversidade dos TCRs e BCRs: diversidade combinatória, diversidade juncional e hipermutação somática***
- 4. Discutir os isotipos/classes dos anticorpos, suas características e funções***

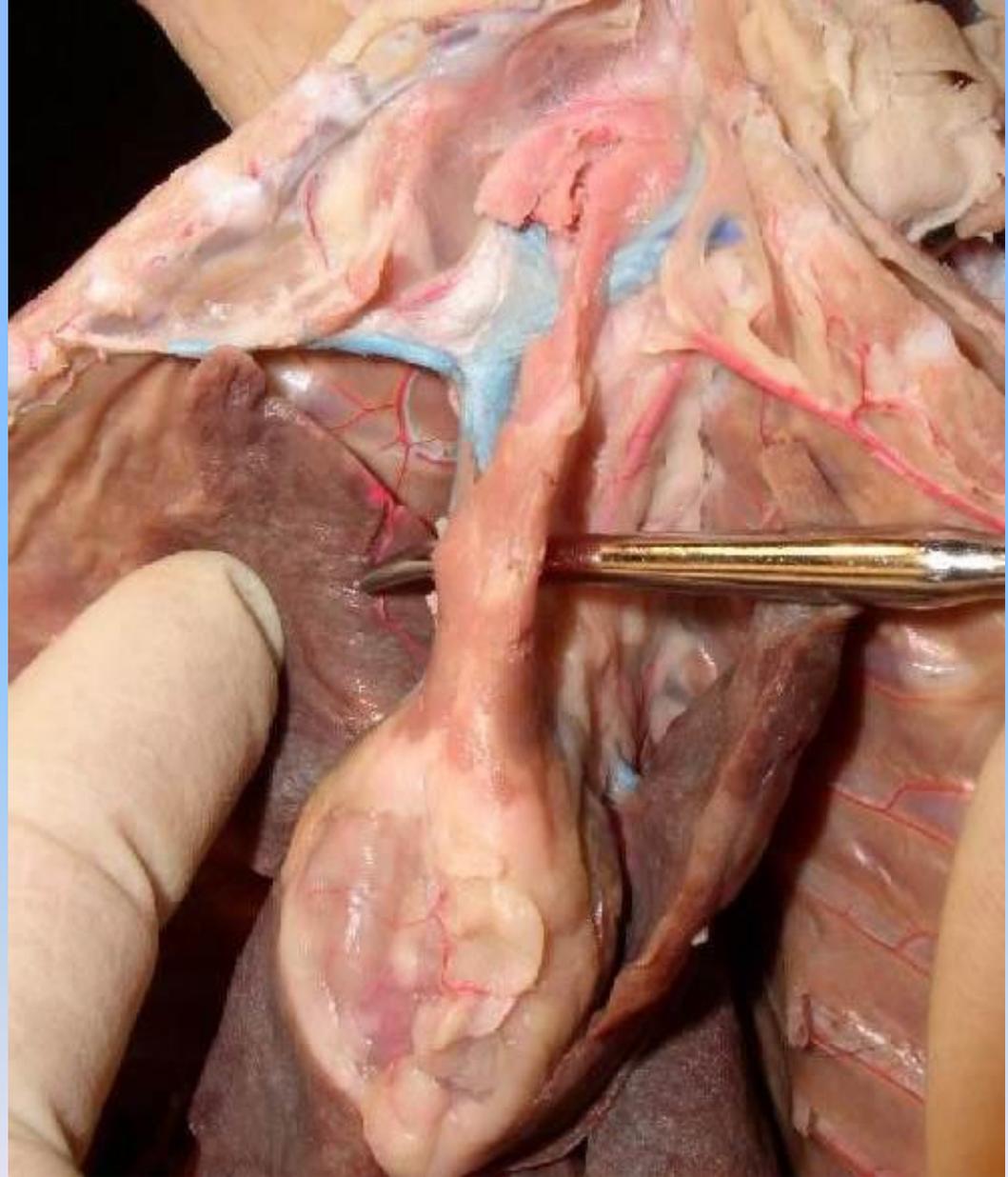
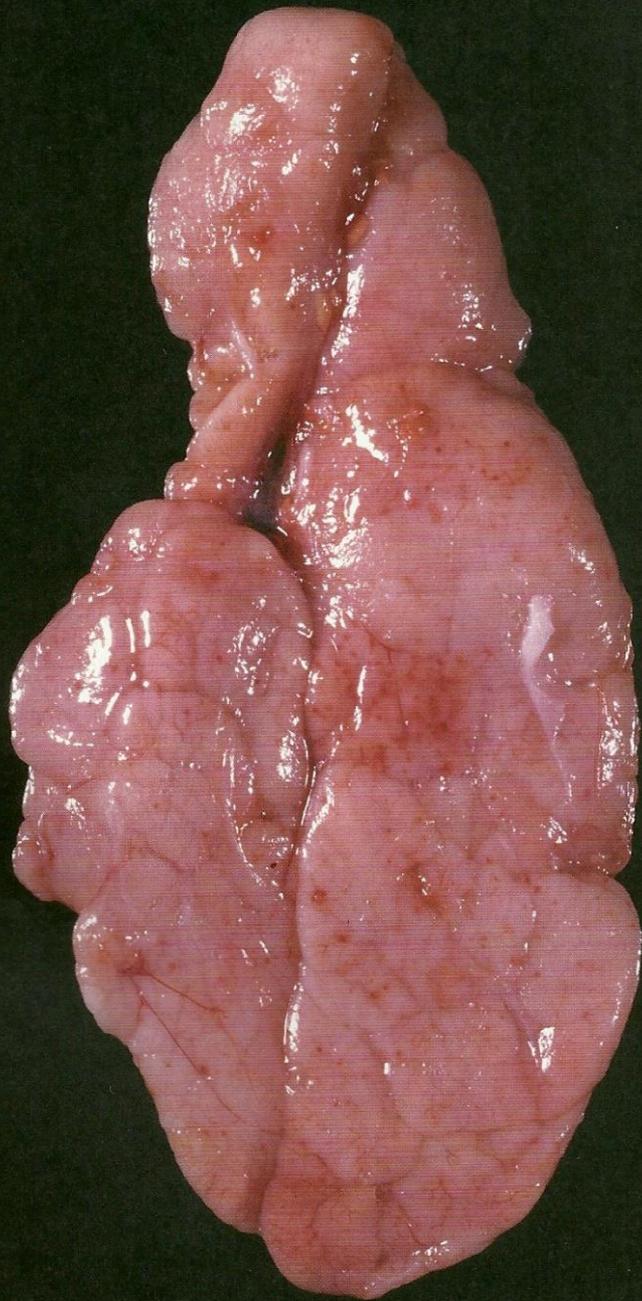
# Aula passada: processamento e apresentação de antígenos



# Tipos Celulares Derivados do Progenitor Linfóide Comum

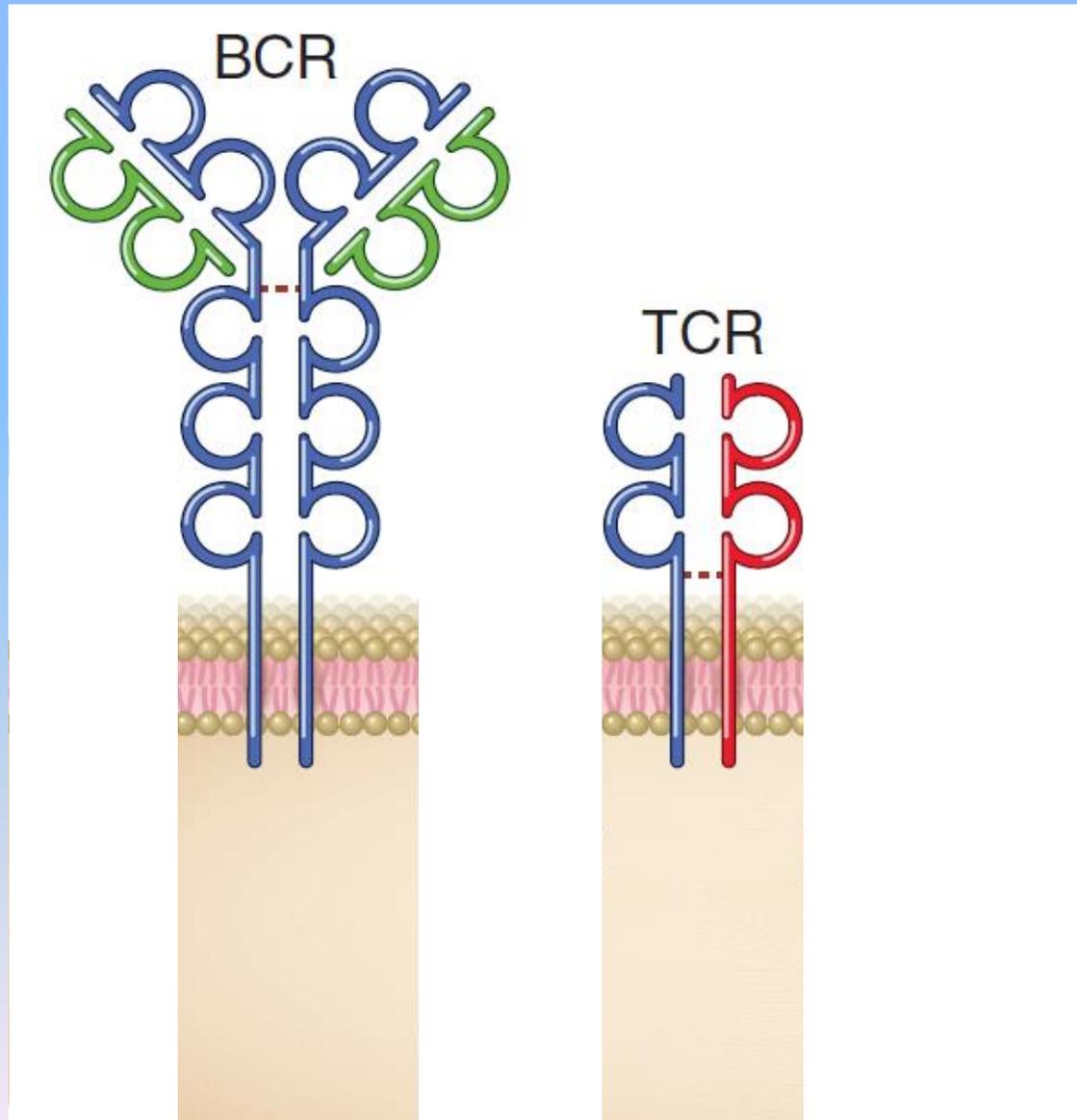




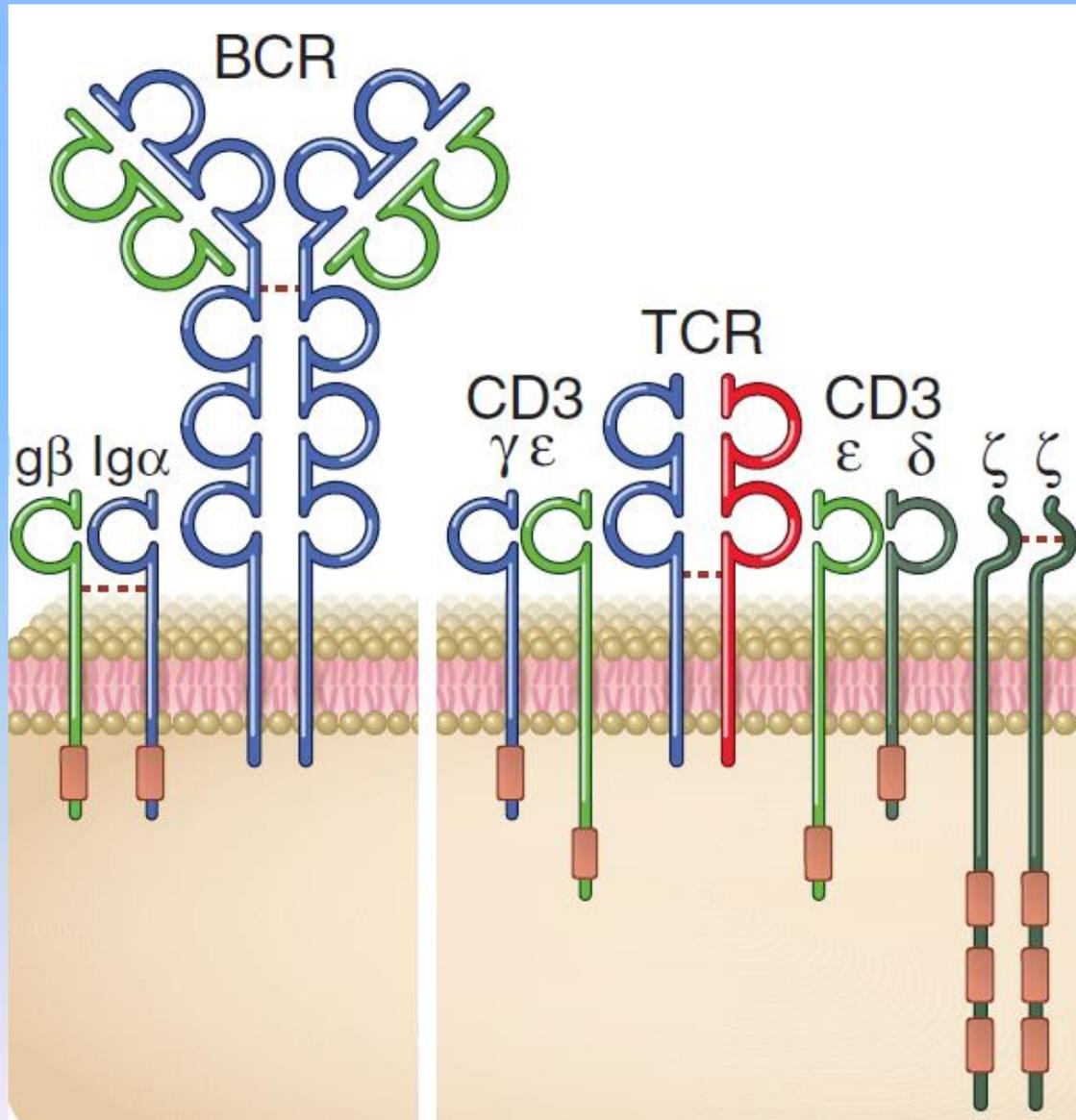


<http://aahsanatomy.pbworks.com/w/page/1181407/silver9%20endocrine>

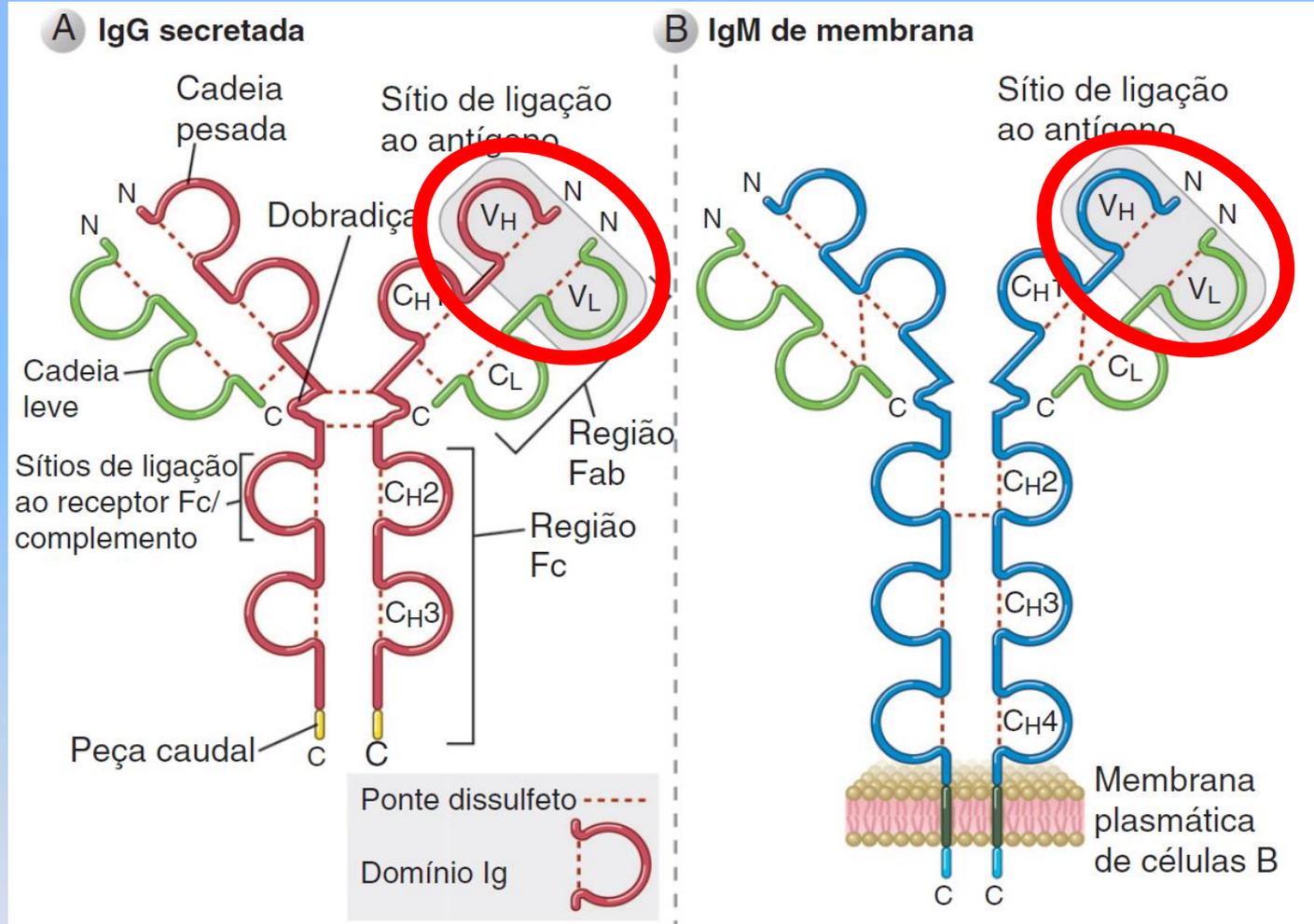
# Receptores Antigênicos da Imunidade Adquirida



# Receptores Antigênicos da Imunidade Adquirida



# Anticorpos: estrutura



## Cadeias

- Leve:  $\kappa, \lambda$
- Pesada:  $\mu, \delta, \gamma, \alpha, \epsilon$  (classes ou isotipos)

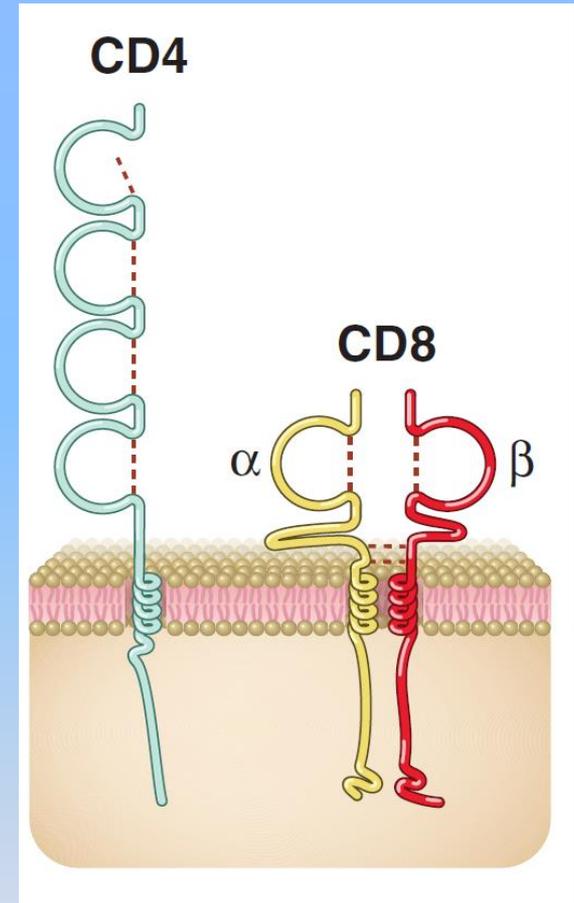
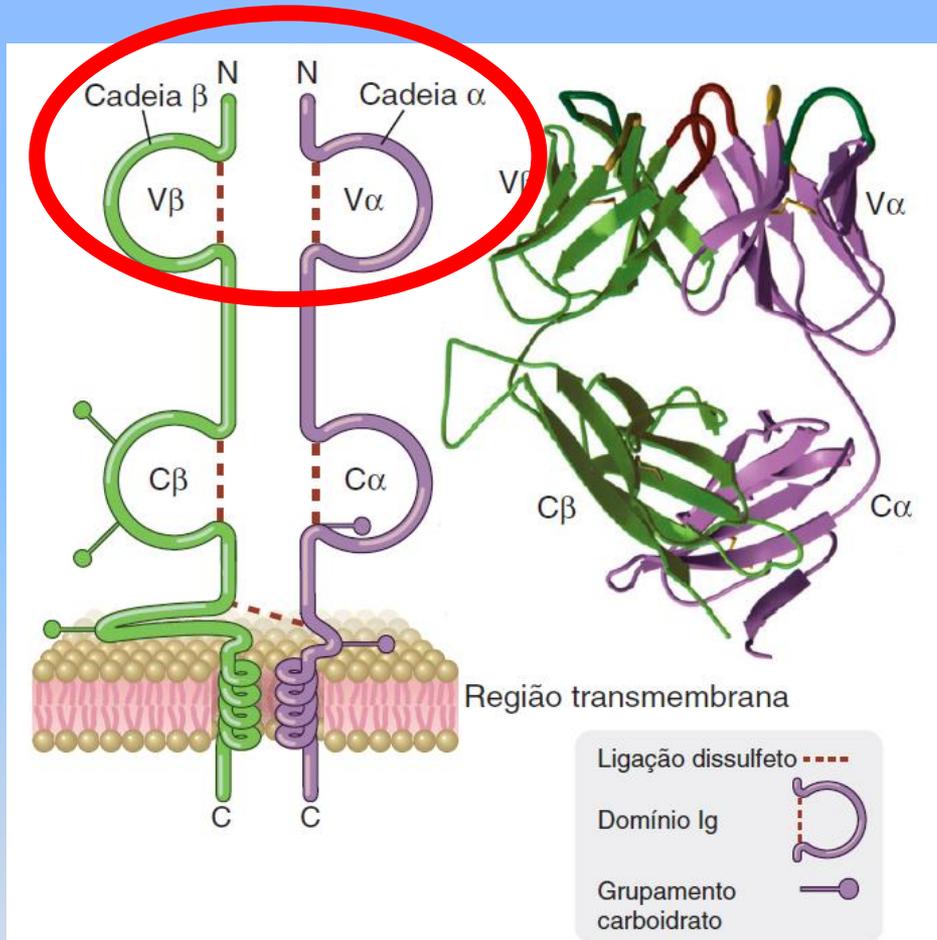
## Dobradiça:

- Flexibilidade

## Funções:

- Ligação ao antígeno
- Efectoras

# TCR e co-receptores: estrutura



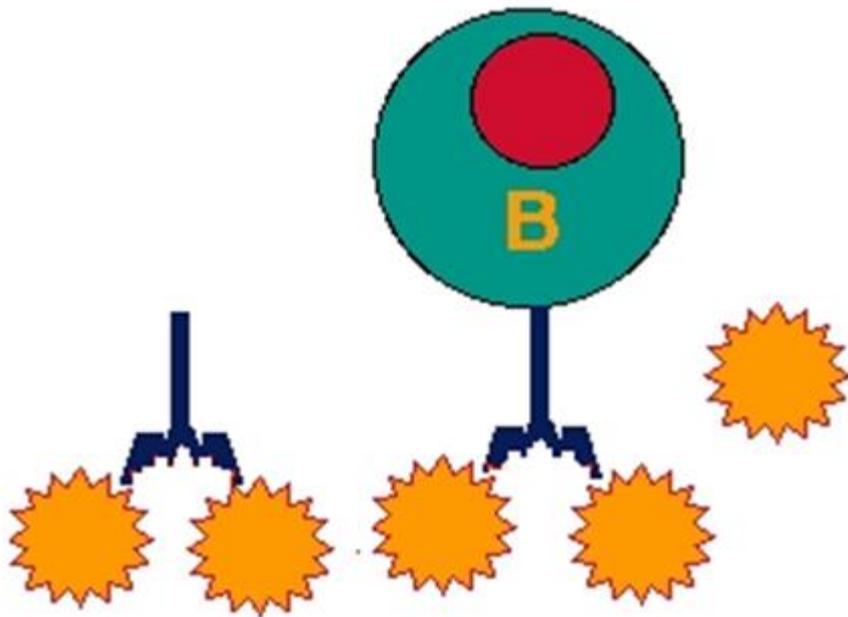
## Cadeias

- $\alpha/\beta$ : células T clássicas
- $\gamma/\delta$ : células T não convencionais

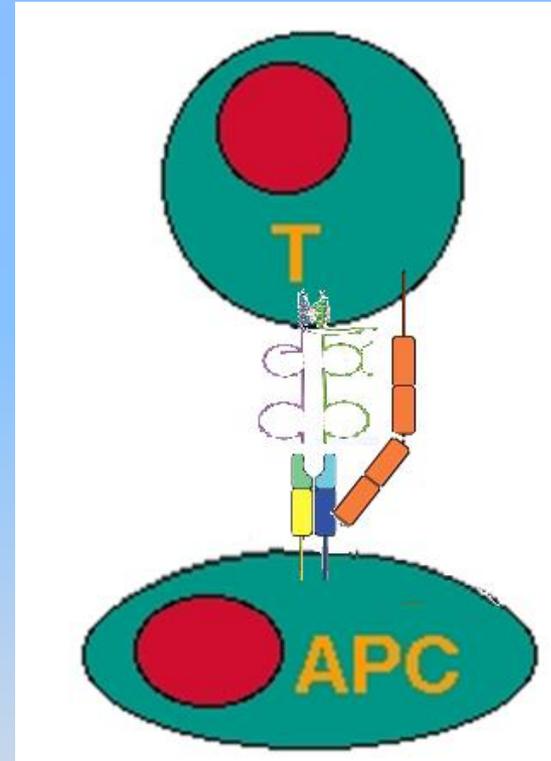
**Nunca são secretados**

- **CD4: reconhece MHC de classe II**
- **CD8: reconhece MHC de classe I**

# ***Reconhecimento de Antígenos pelos Linfócitos***

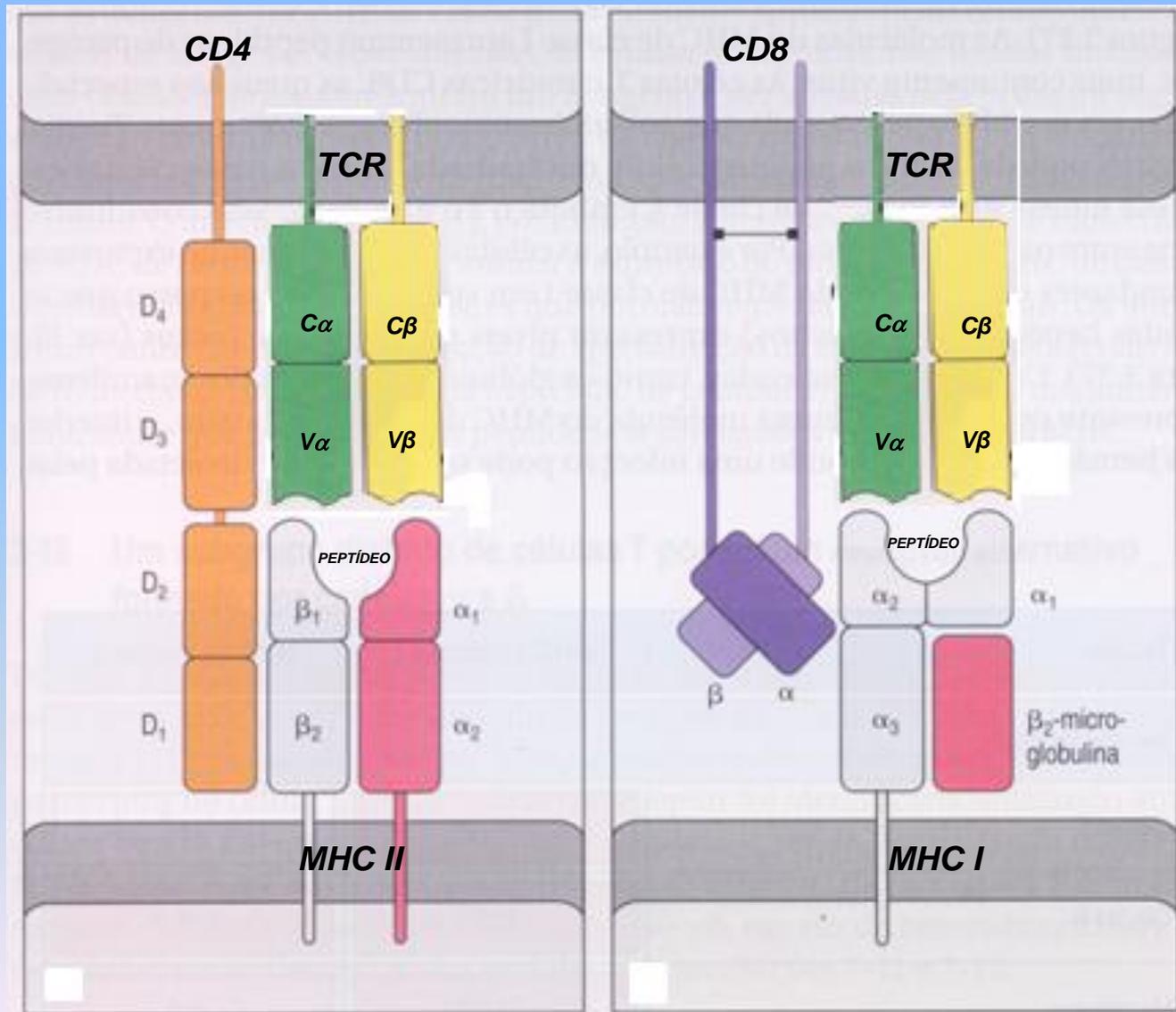


***Antígenos na conformação nativa são reconhecidos pelos linfócitos B***

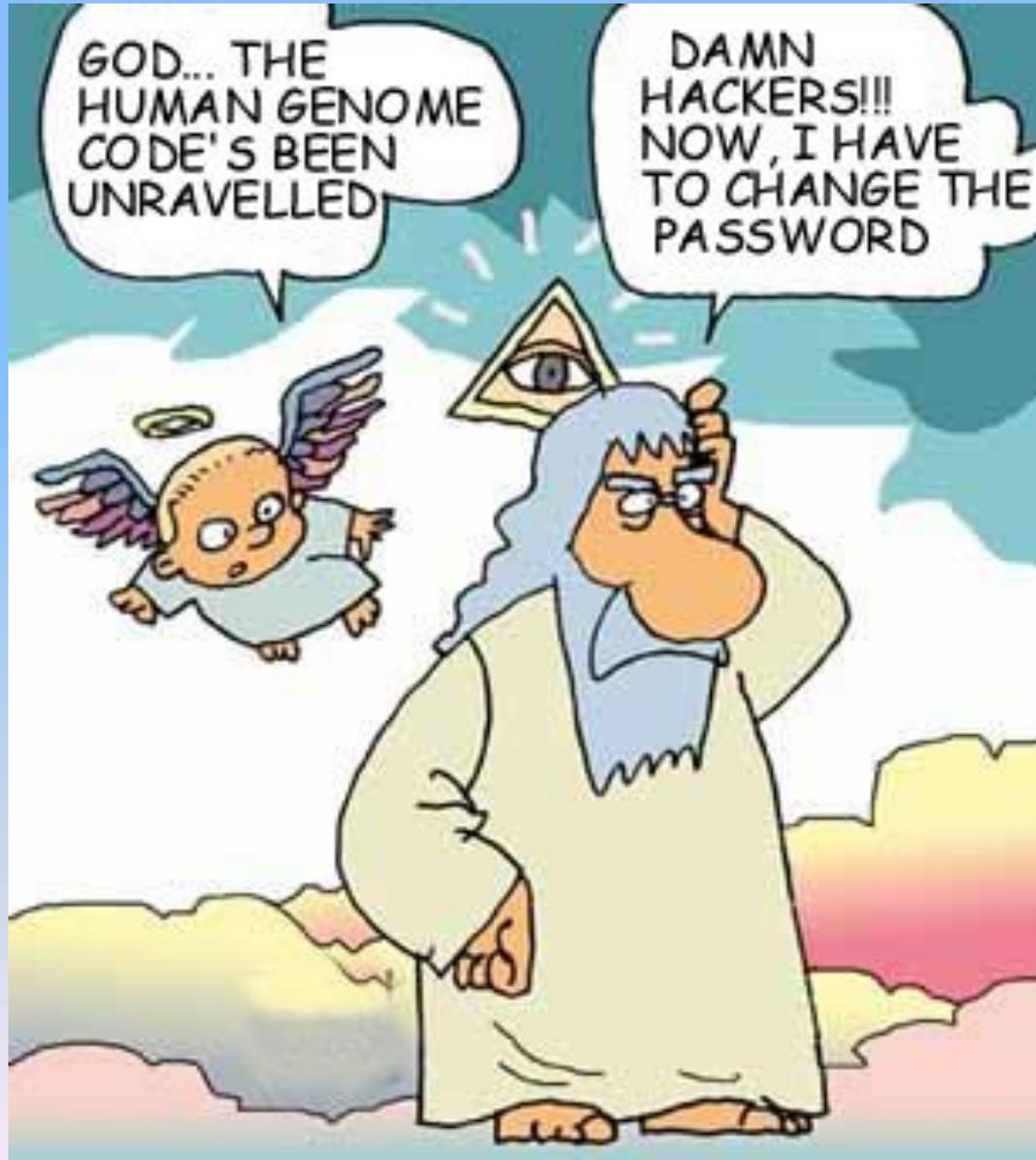


***Linfócitos T não reconhecem antígenos diretamente. Os antígenos precisam ser “processados” e “apresentados” pelas células apresentadoras de antígenos***

# Ligação MHC-peptídeos/TCR-CD4 ou CD8



# ***Projeto Genoma Humano***





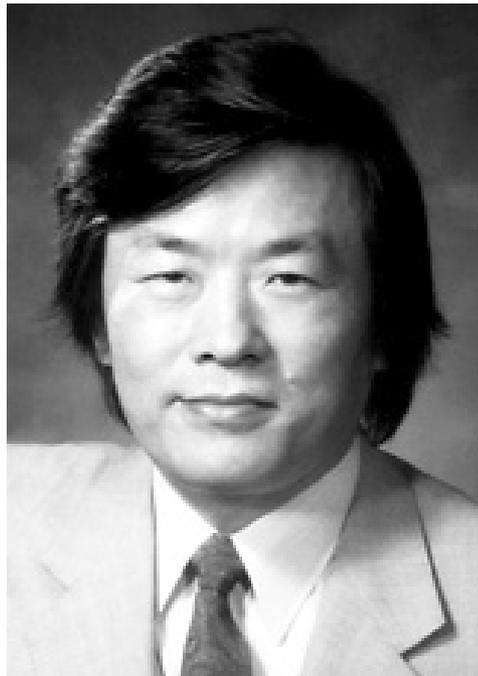
# The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1987

Susumu Tonegawa

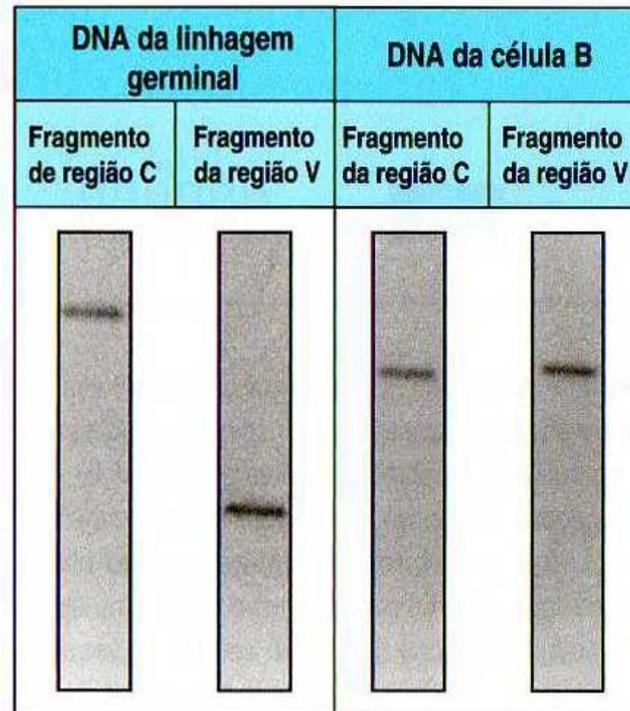
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1987

Nobel Prize Award Ceremony

Susumu Tonegawa

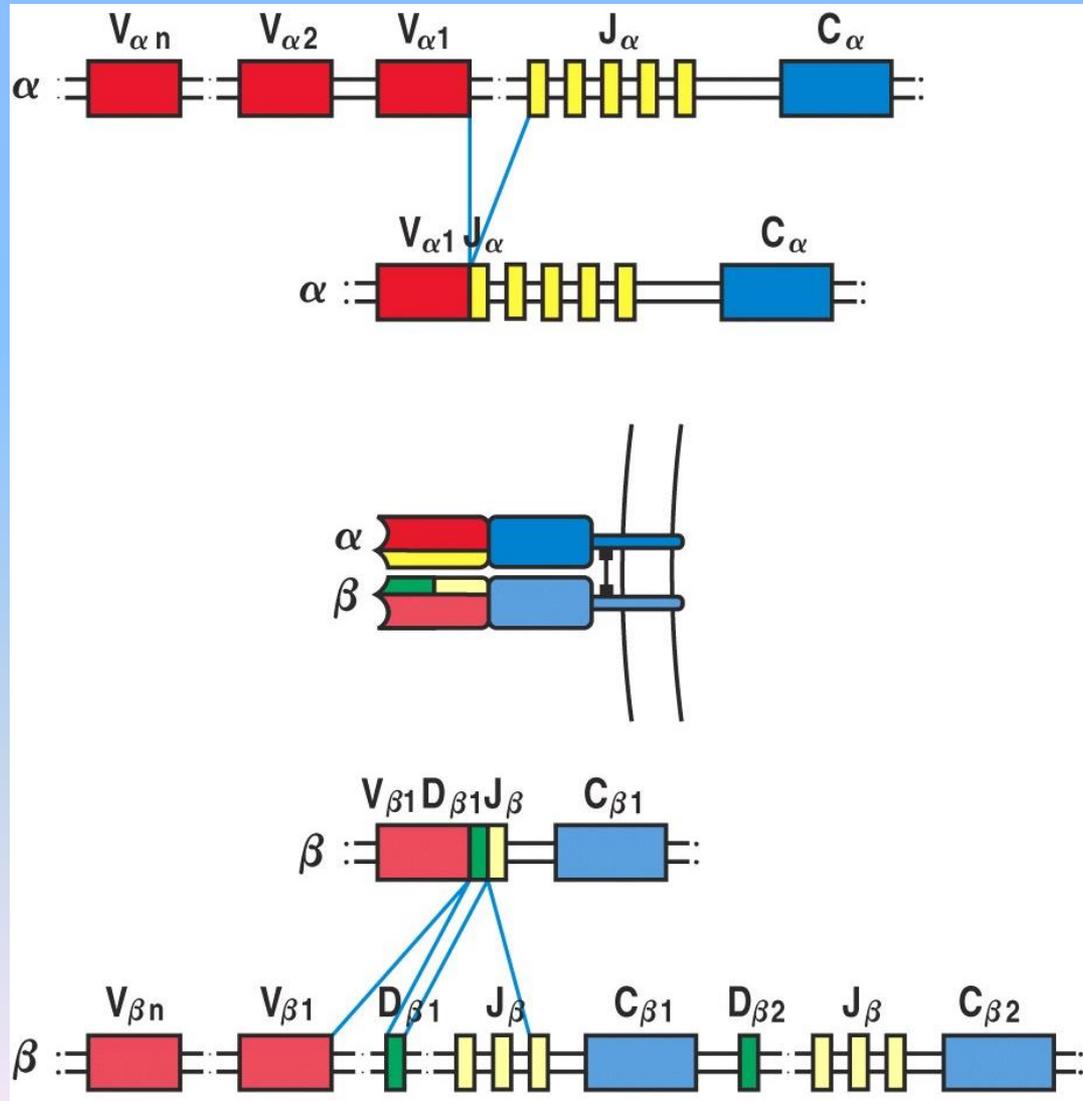


Susumu Tonegawa



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"*.

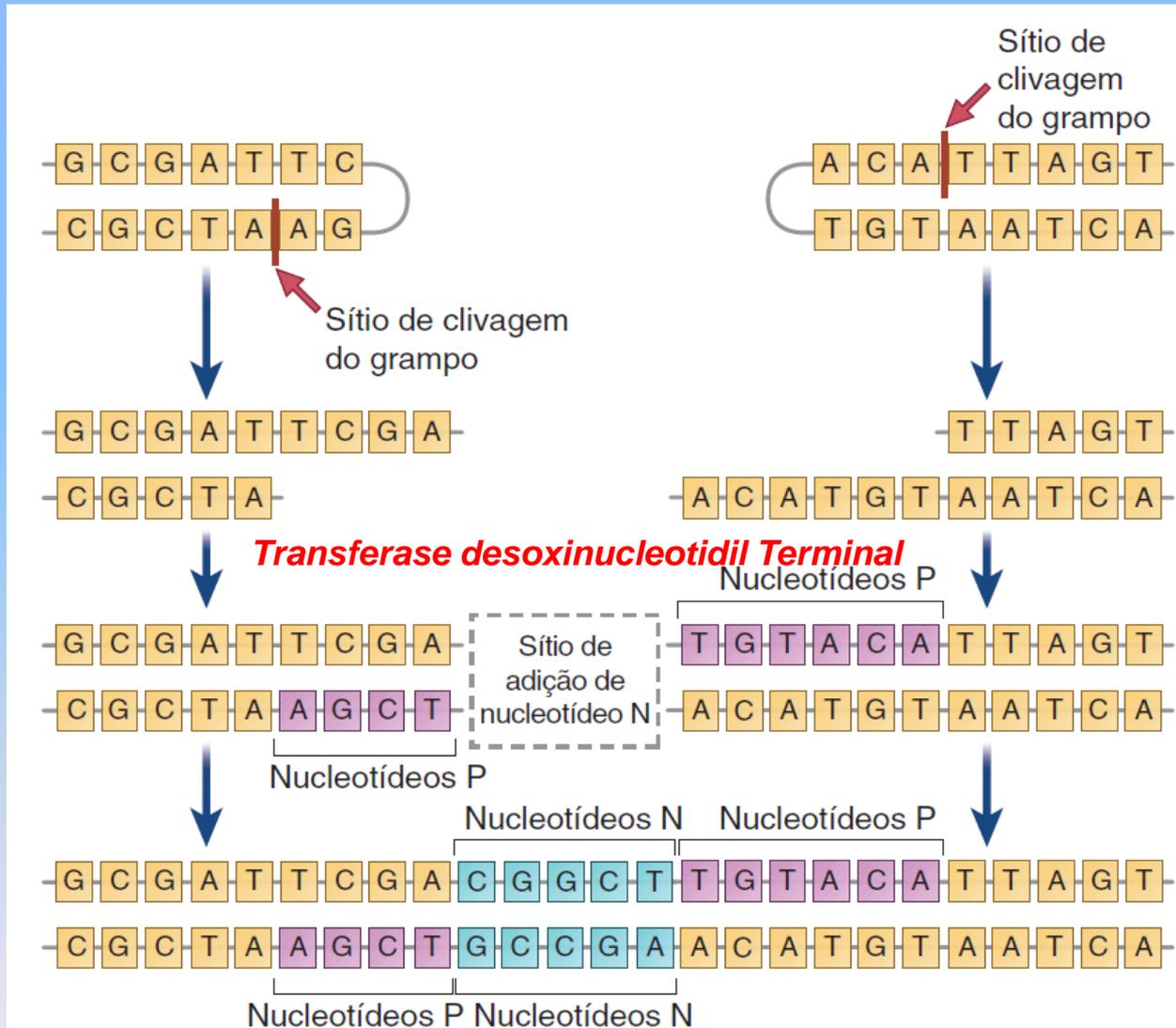
# Expressão dos segmentos gênicos de TCR



## ***Número de segmentos gênicos***

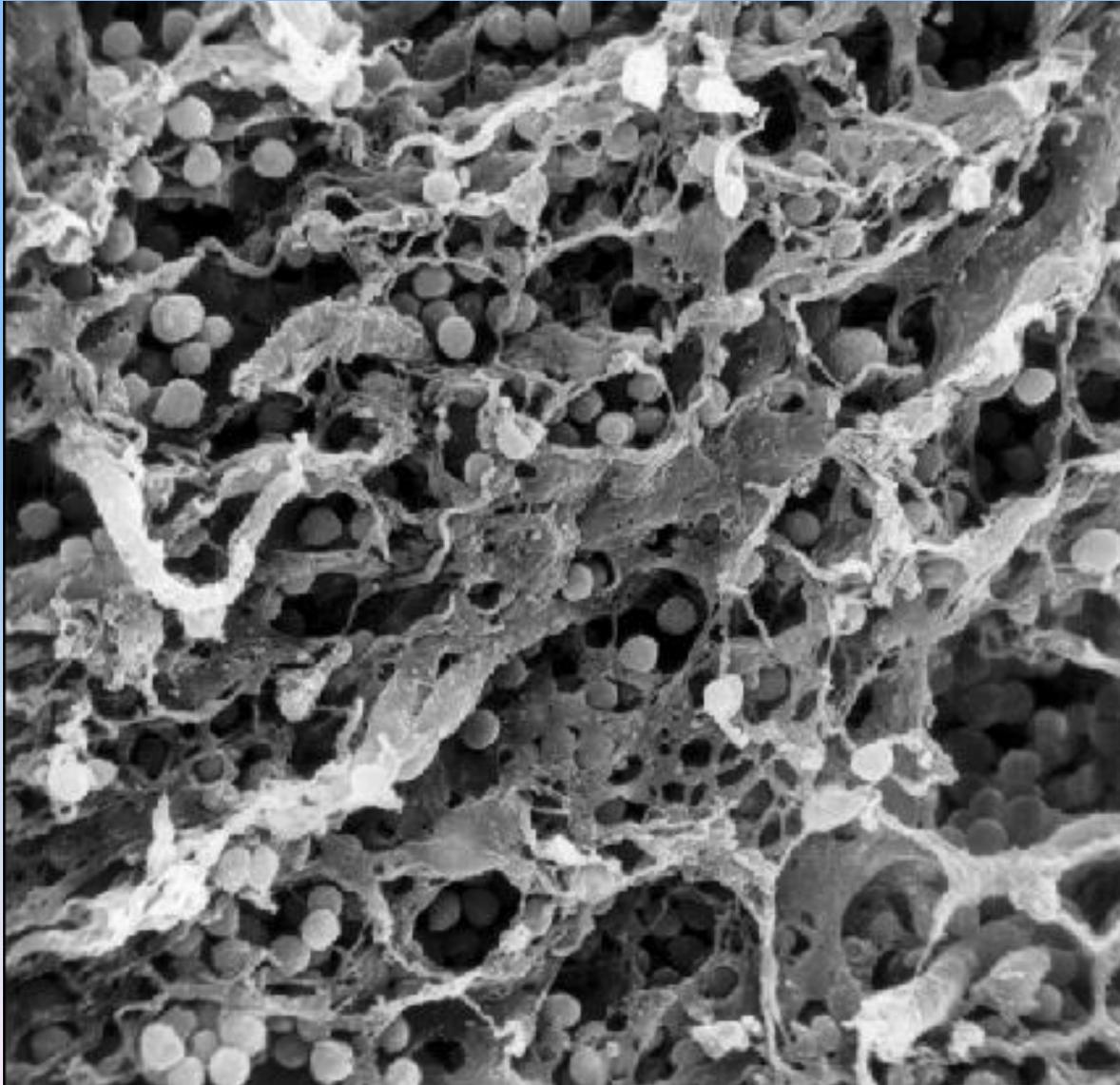
<b>Elemento</b>	<b>Receptores <math>\alpha:\beta</math></b>	
	<b><math>\beta</math></b>	<b><math>\alpha</math></b>
Segmentos variáveis (V)	52	~70
Segmentos de diversidade (D)	2	0
Segmentos D lidos em três fases	freqüentemente	—
Segmentos de junção (J)	13	61

# Recombinação V(D)J



## Diversidade Juncional

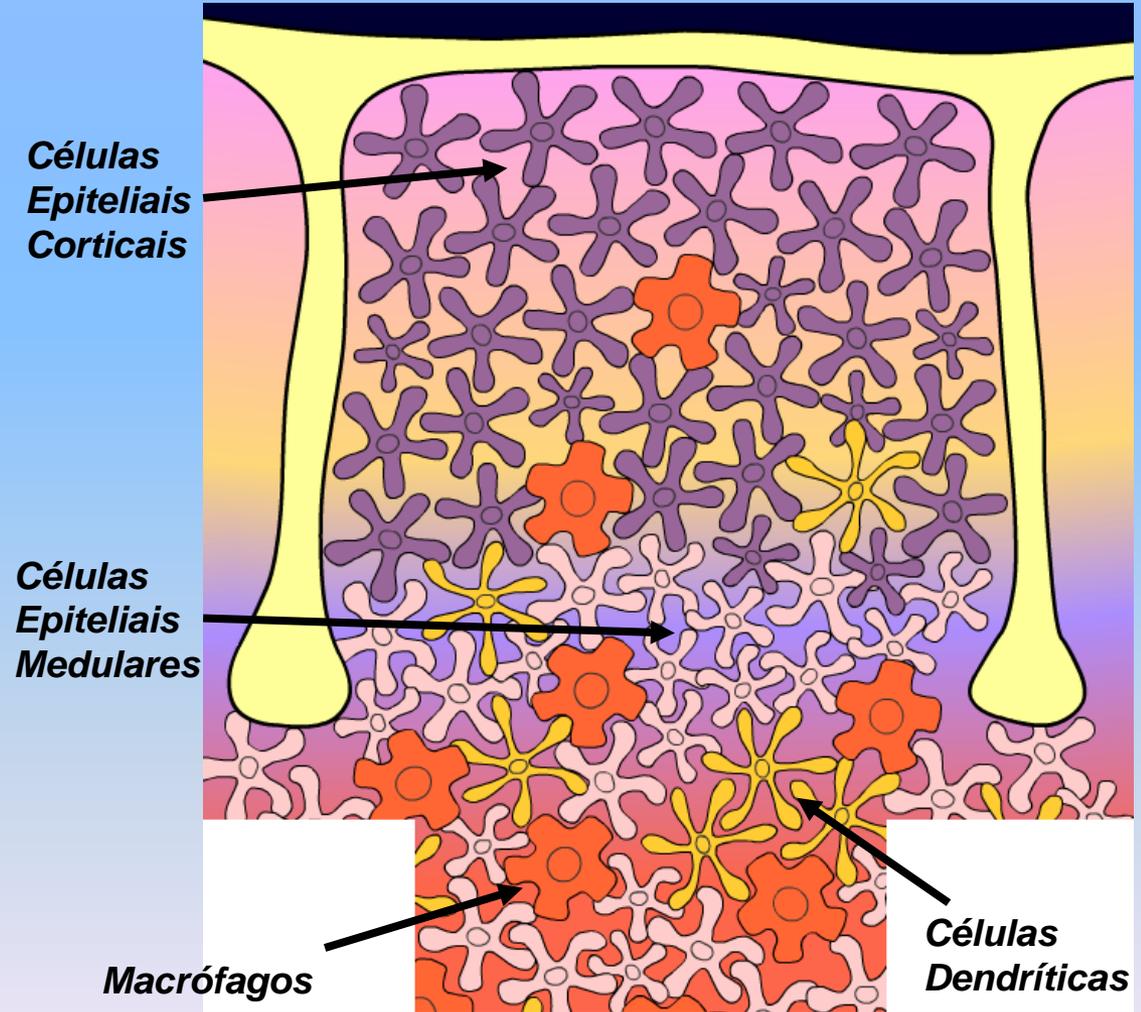
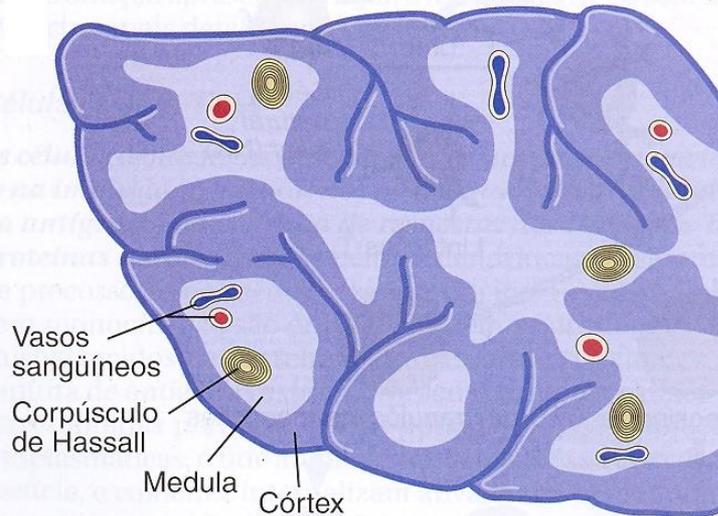
# ***Anatomia do Timo***



***Timo de camundongos:***

- ***1-2 x 10<sup>8</sup> células totais***
- ***5 x 10<sup>7</sup> novas células diariamente***
- ***1-2 x 10<sup>6</sup> deixam o timo diariamente (2-4% do total)***

# Anatomia do Timo



# Estágios de Desenvolvimento dos Timócitos

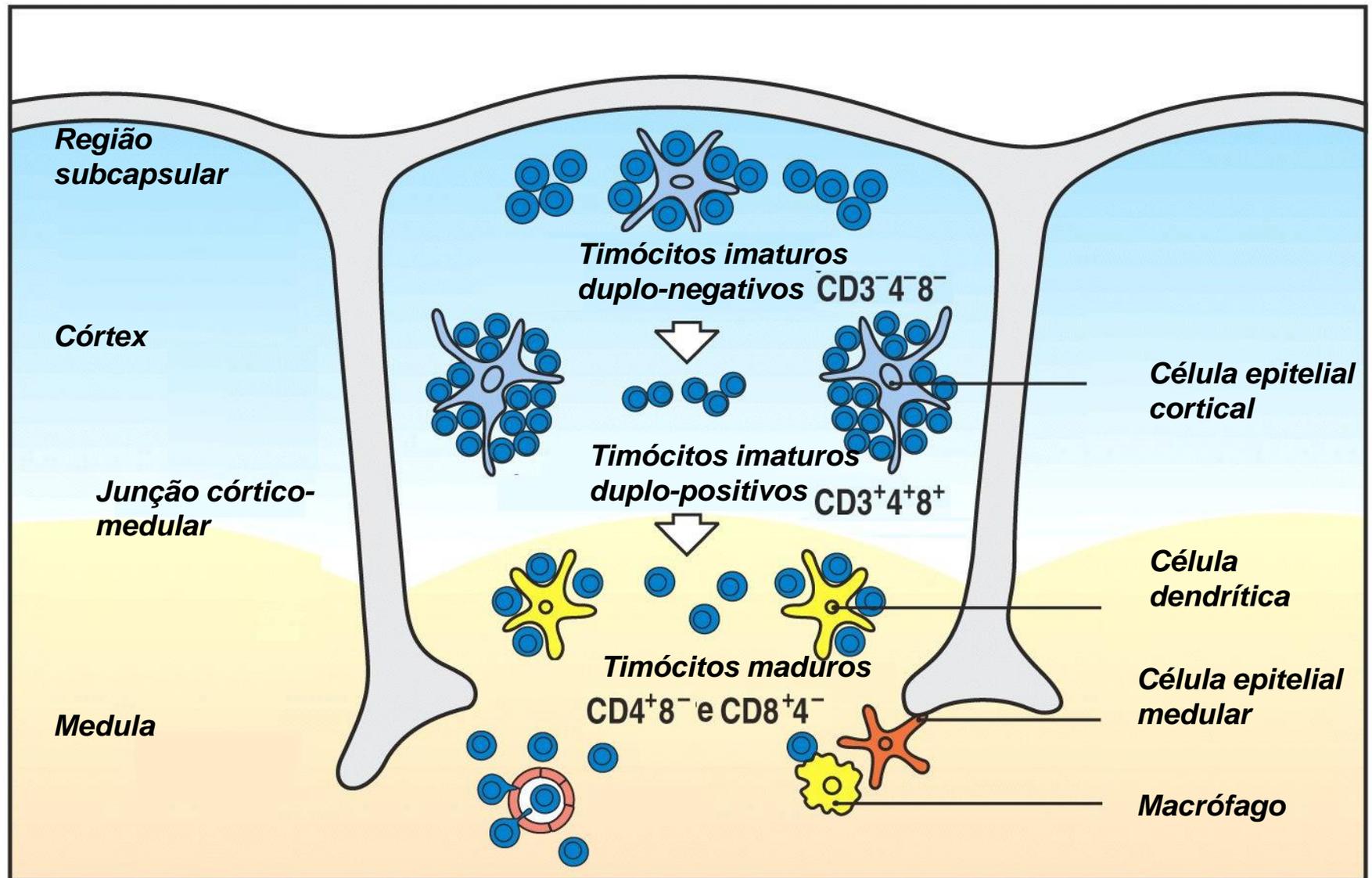
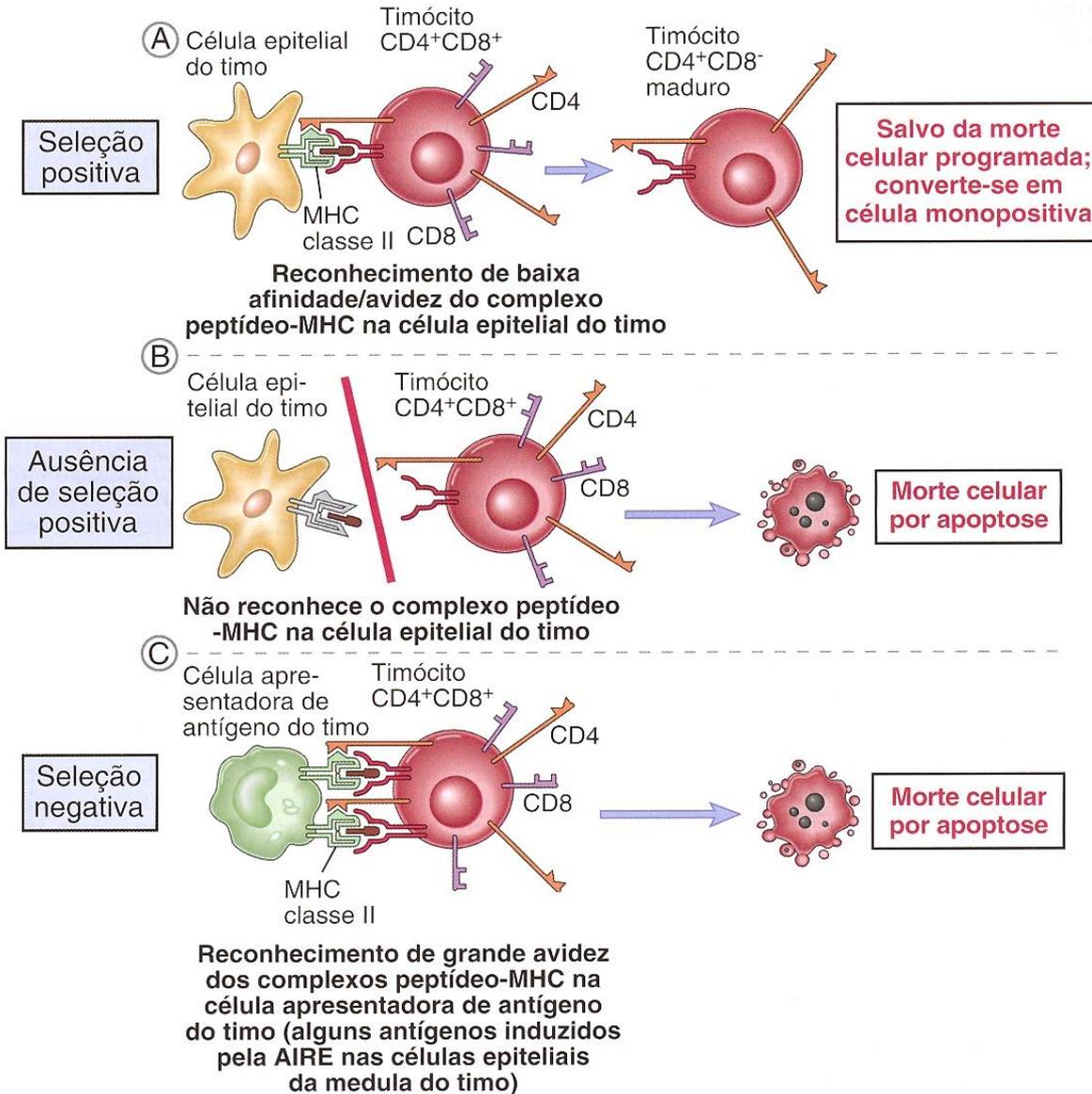


Figure 7-14 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Processos de Seleção no Timo



**O que ocorre na ausência de MHC classe I ?  
ou  
MHC classe II ?**

# Expressão dos segmentos gênicos de Ig

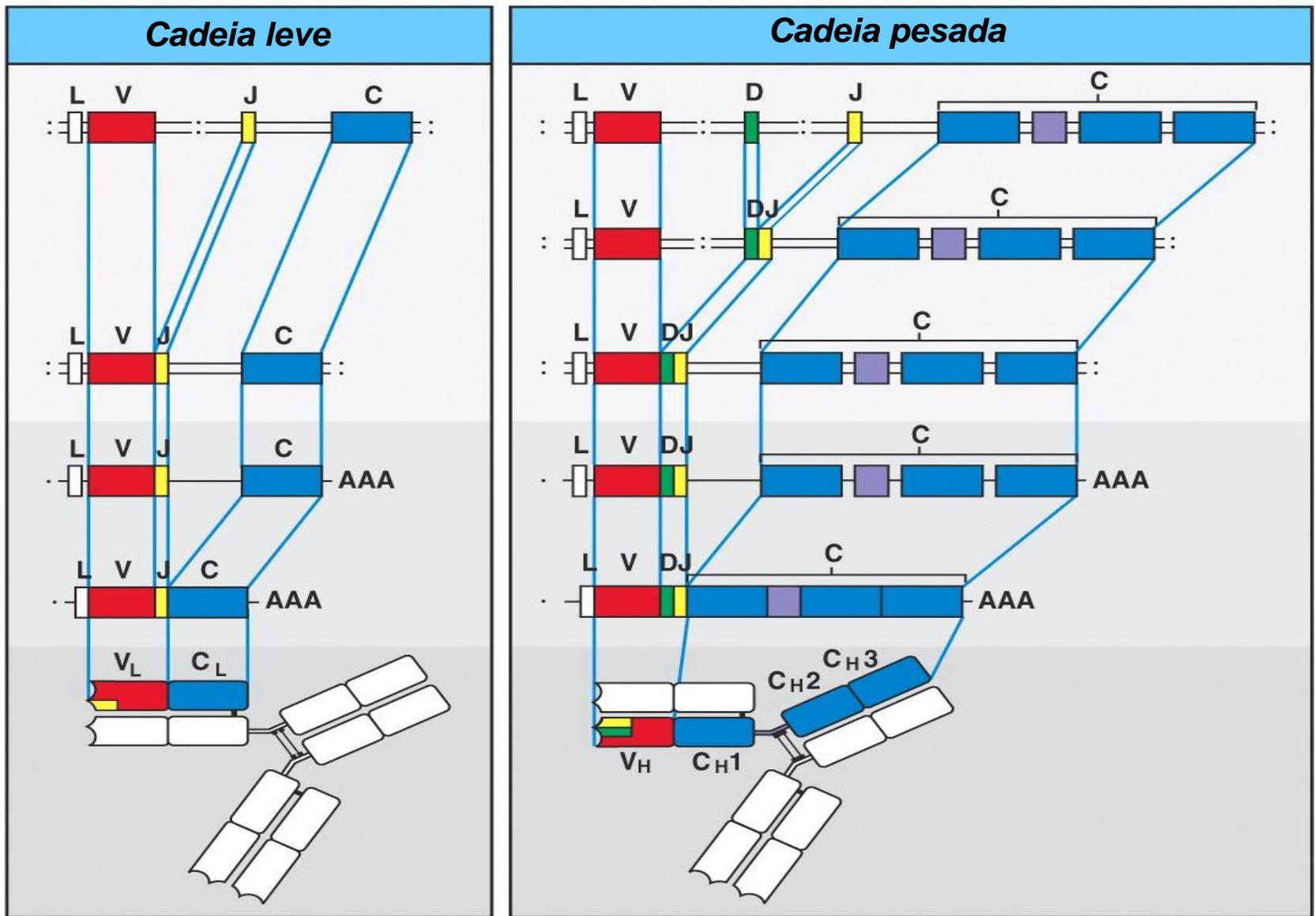


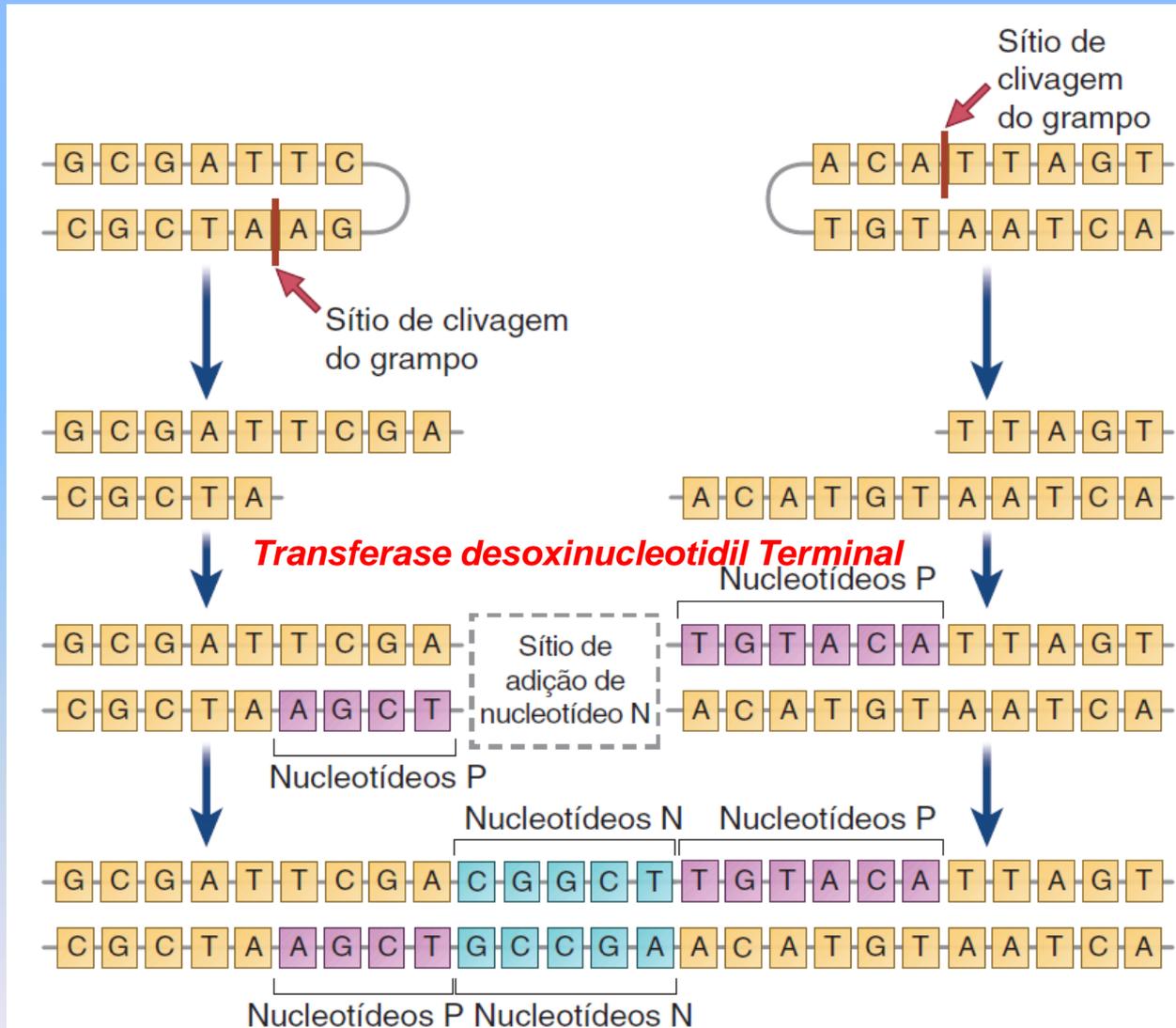
Figure 4-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

## ***Número de segmentos gênicos funcionais nos loci de imunoglobulina humana***

Segmento	Cadeias leves		Cadeia pesada
	$\kappa$	$\lambda$	H
Variável (V)	40	30	40
Diversidade (D)	0	0	25
Junção (J)	5	4	6

***Diversidade Combinatória***

# Recombinação V(D)J



## Diversidade Juncional

# Seleção Positiva e Negativa dos Linfócitos B

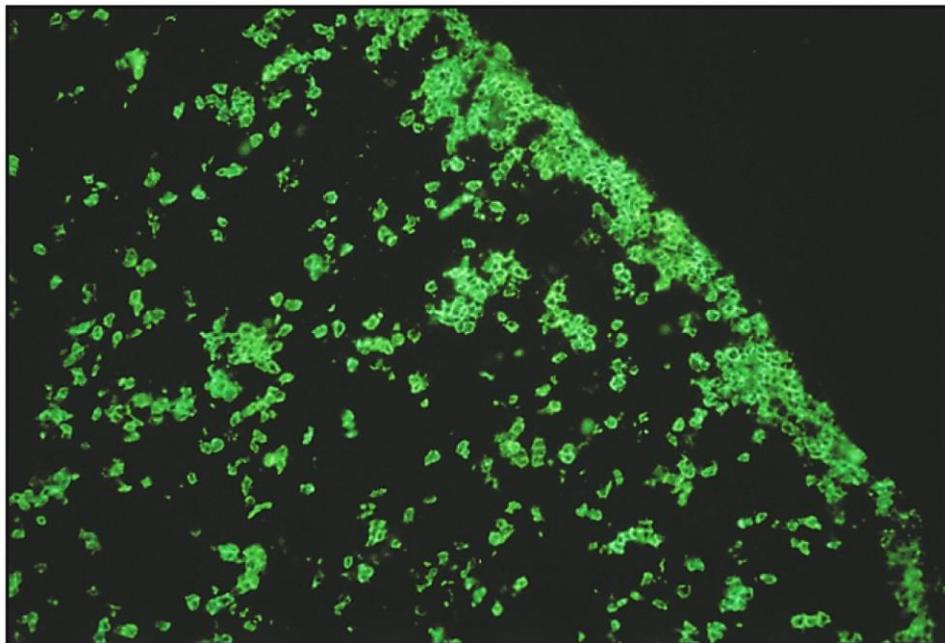


Figure 7-5 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

**Microscopia de Fluorescência de um corte transversal de fêmur**

**Marcação para Transferase desoxinucleotidil Terminal (TdT)**

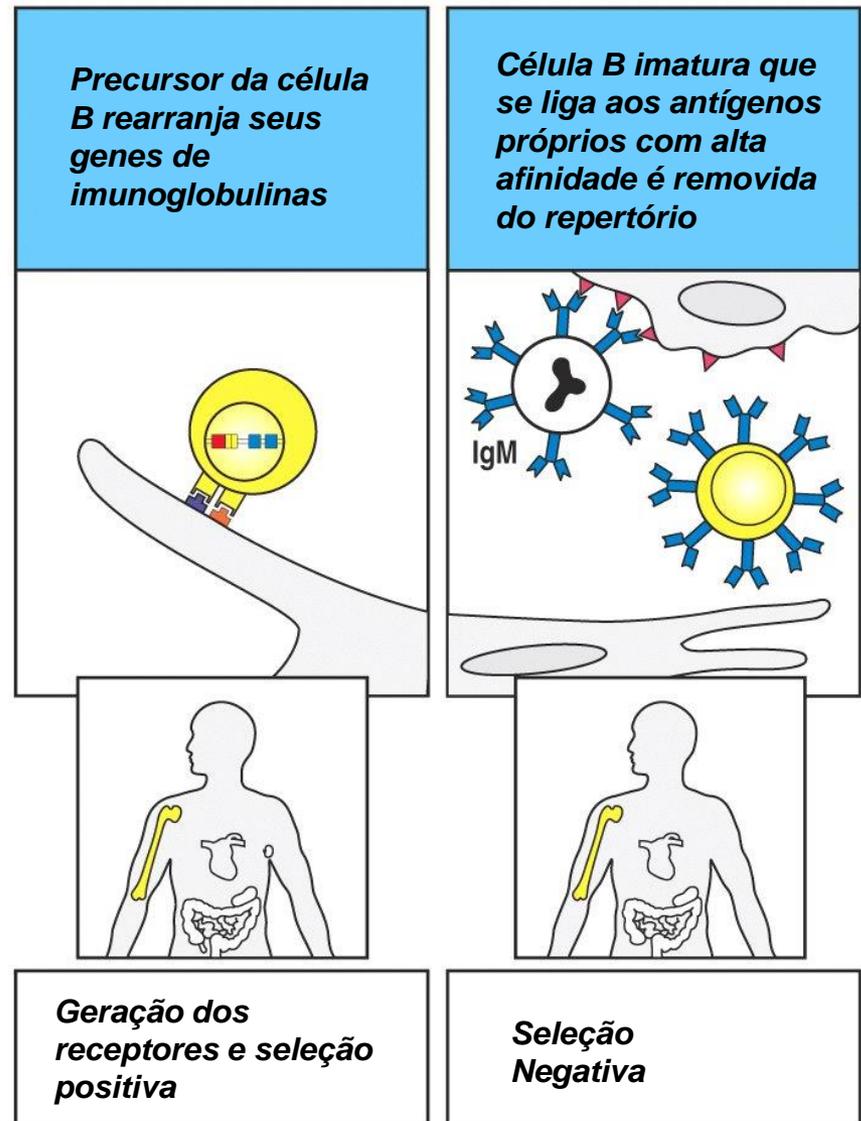
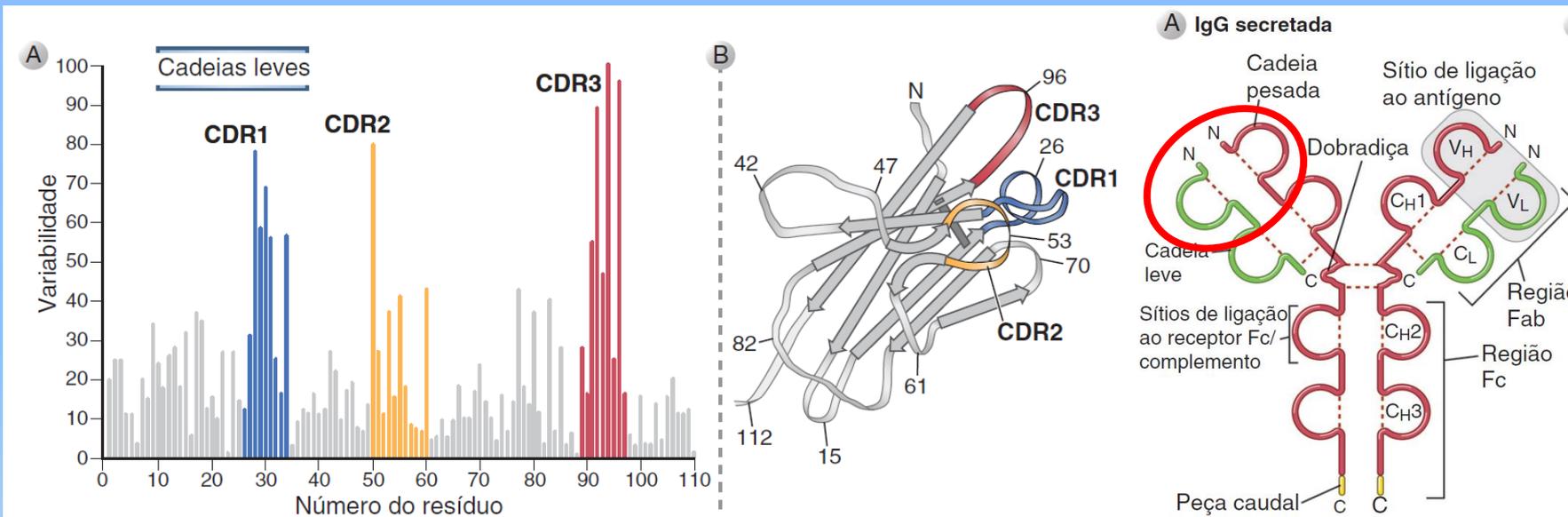
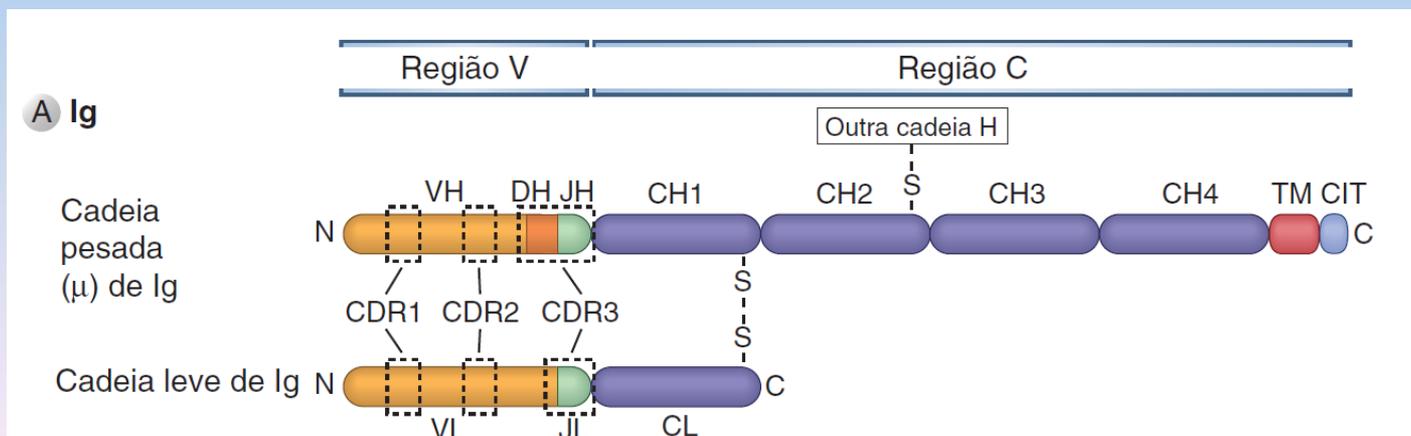


Figure 7-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# CDR3 – maior diversidade



## Regiões Determinantes de Complementaridade (CDRs)



# Diversidade Total Potencial

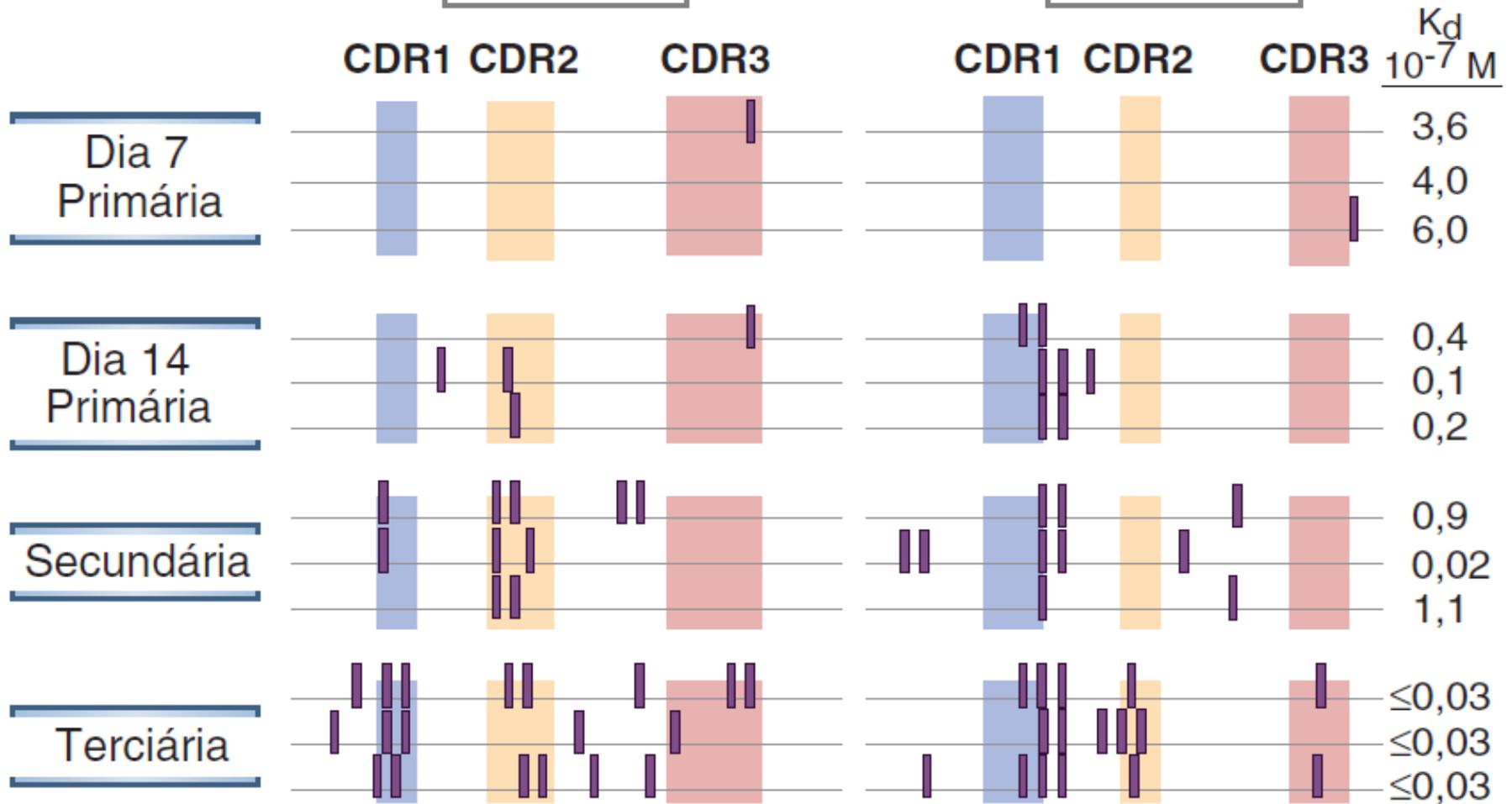
Elemento	Imunoglobulina		Receptores $\alpha:\beta$	
	H	$\kappa+\lambda$	$\beta$	$\alpha$
Segmentos variáveis (V)	40	70	52	~70
Segmentos de diversidade (D)	25	0	2	0
Segmentos D lidos em três fases	raramente	—	freqüentemente	—
Segmentos de junção (J)	6	5( $\kappa$ ) 4( $\lambda$ )	13	61
Junções com nucleotídeos N e P	2	50% das junções	2	1
Número de pares de genes V	1,9 x 10 <sup>6</sup>		5,8 x 10 <sup>6</sup>	
Diversidade juncional	~3 x 10 <sup>7</sup>		~2 x 10 <sup>11</sup>	
Diversidade total	~5 x 10 <sup>13</sup>		~10 <sup>18</sup>	

# Hipermutações somáticas

▬ Mutação pontual

Regiões V de  
cadeia pesada

Regiões V de  
cadeia leve



# *Isotipos/Classes de Imunoglobulinas*

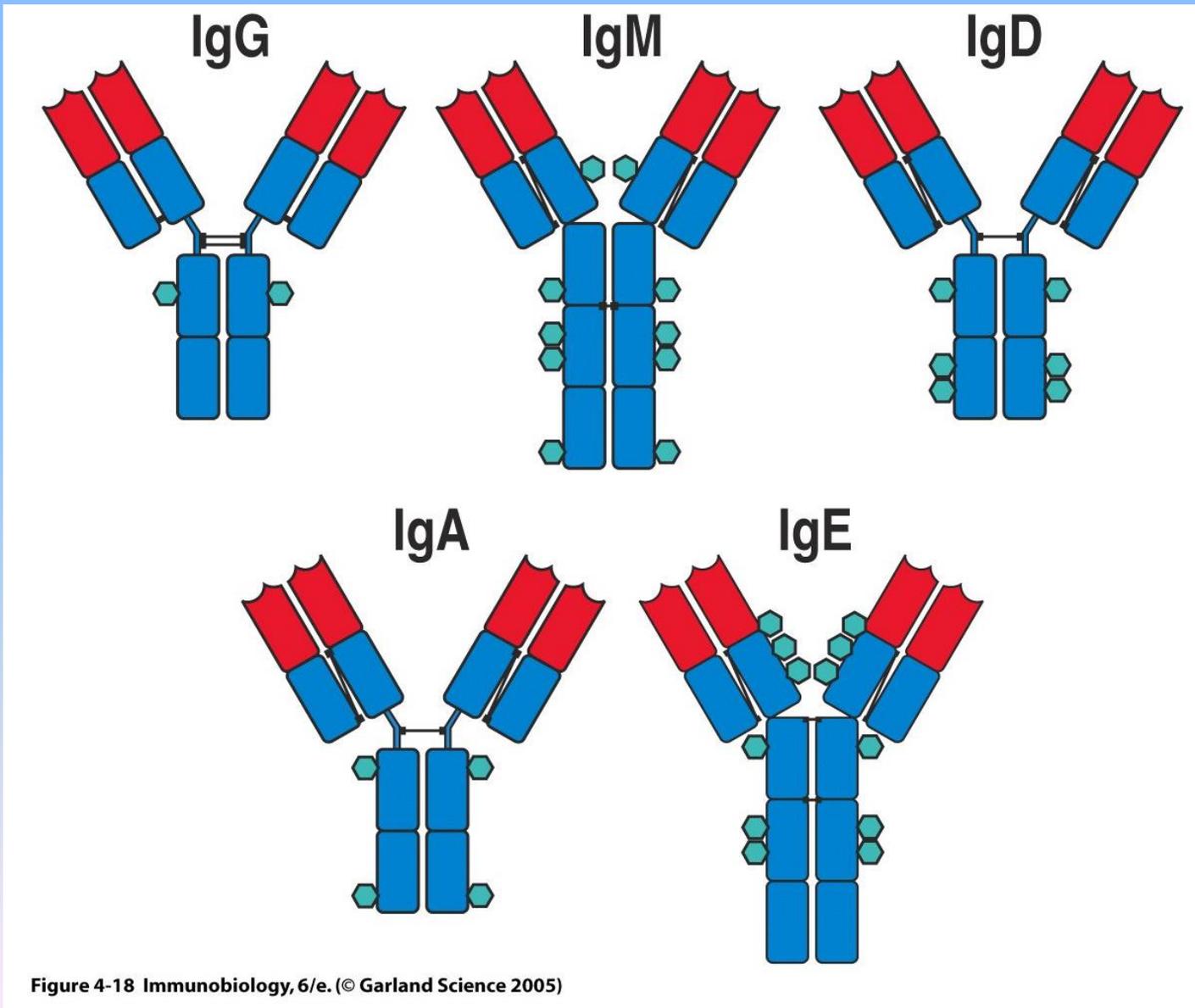


Figure 4-18 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Eventos Específicos

Evento	Processo	Natureza da mudança	Processos ocorrem em:	
			Células B	Células T
Ligação da região V	Recombinação somática do DNA	Irreversível	Sim	Sim
Diversidade juncional	Junção imprecisa, inserção da seqüência N no DNA	Irreversível	Sim	Sim
Ativação transcricional	Recombinação somática do DNA	Irreversível, mas regulada	Sim	Sim
Recombinação de troca	Ativação do promotor pela proximidade do ativador	Irreversível	Sim	Não
Hipermutação somática	Mutação de ponto no DNA	Irreversível	Sim	Não
Expressão de IgM e IgD na superfície	Processamento diferencial do RNA	reversível, mas regulada	Sim	Não
Forma de membrana vs secretada	Processamento diferencial do RNA	reversível, mas regulada	Sim	Não

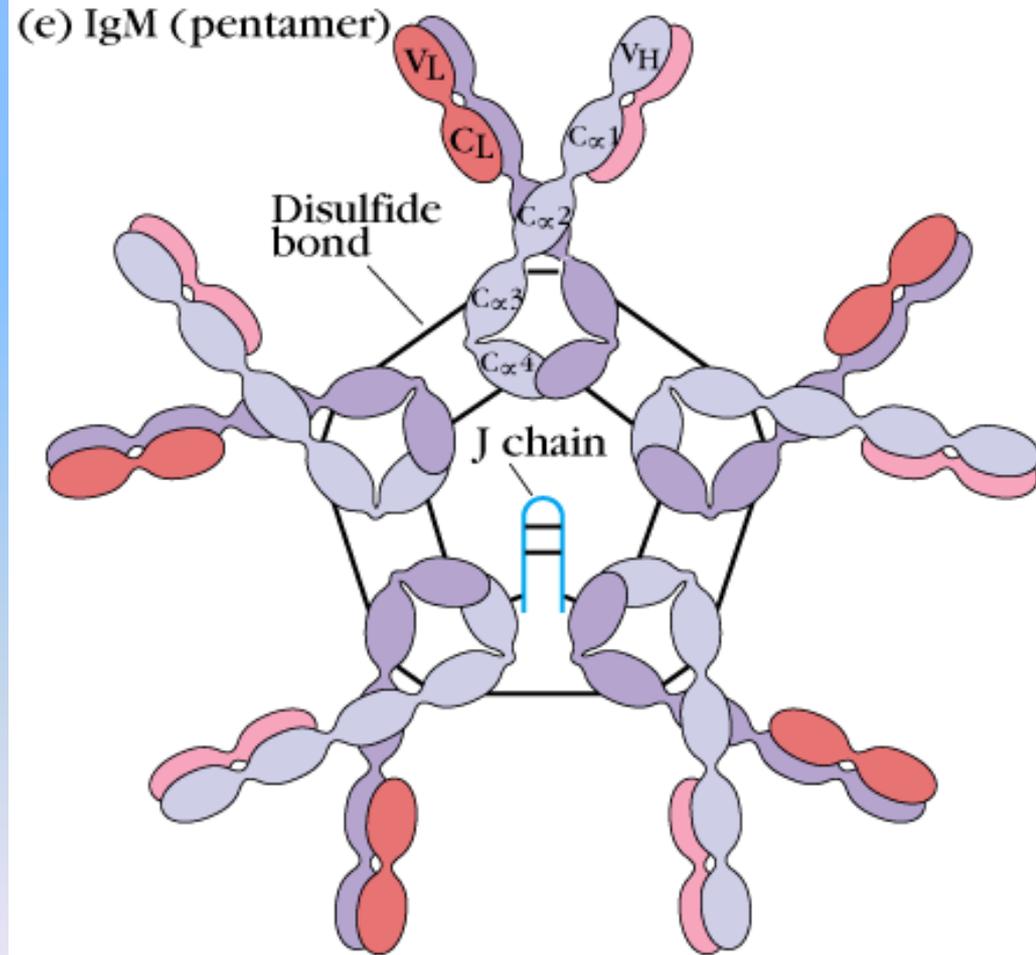
# Anticorpos: isotipos

## IgM

- **Pentâmero e Hexâmero (monômero na membrana)**
- **cadeia pesada  $\mu$**
- **concentração serica: 0,5-2 mg/mL**
- **receptor de células B virgens (naïve)**
- **1º isotipo secretado**

### Funções:

- **neutralização**
- **agregação**
- **ativação do complemento**



# ***Anticorpos: isotipos***

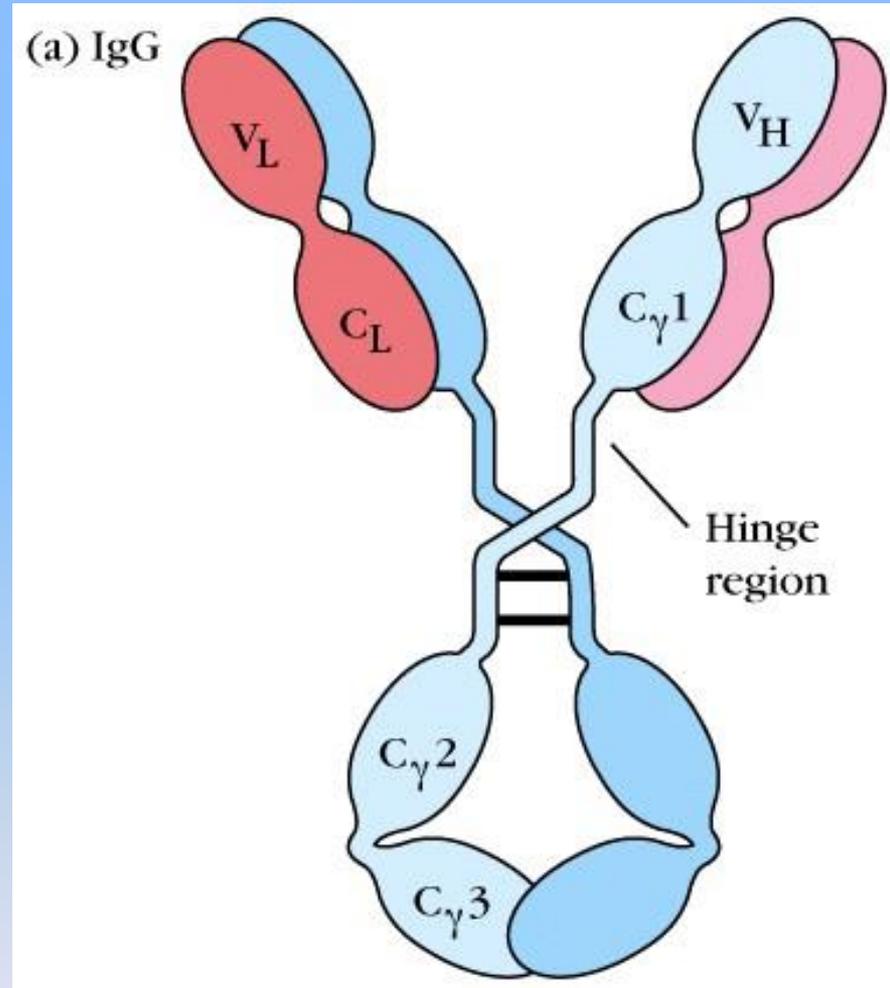
## ***IgD***

- ***monômero não secretado***
- ***cadeia pesada  $\delta$***
- ***concentração sérica: 0-0.4 mg/mL***
- ***receptor de células B virgens (naïve)***

# Anticorpos: isotipos

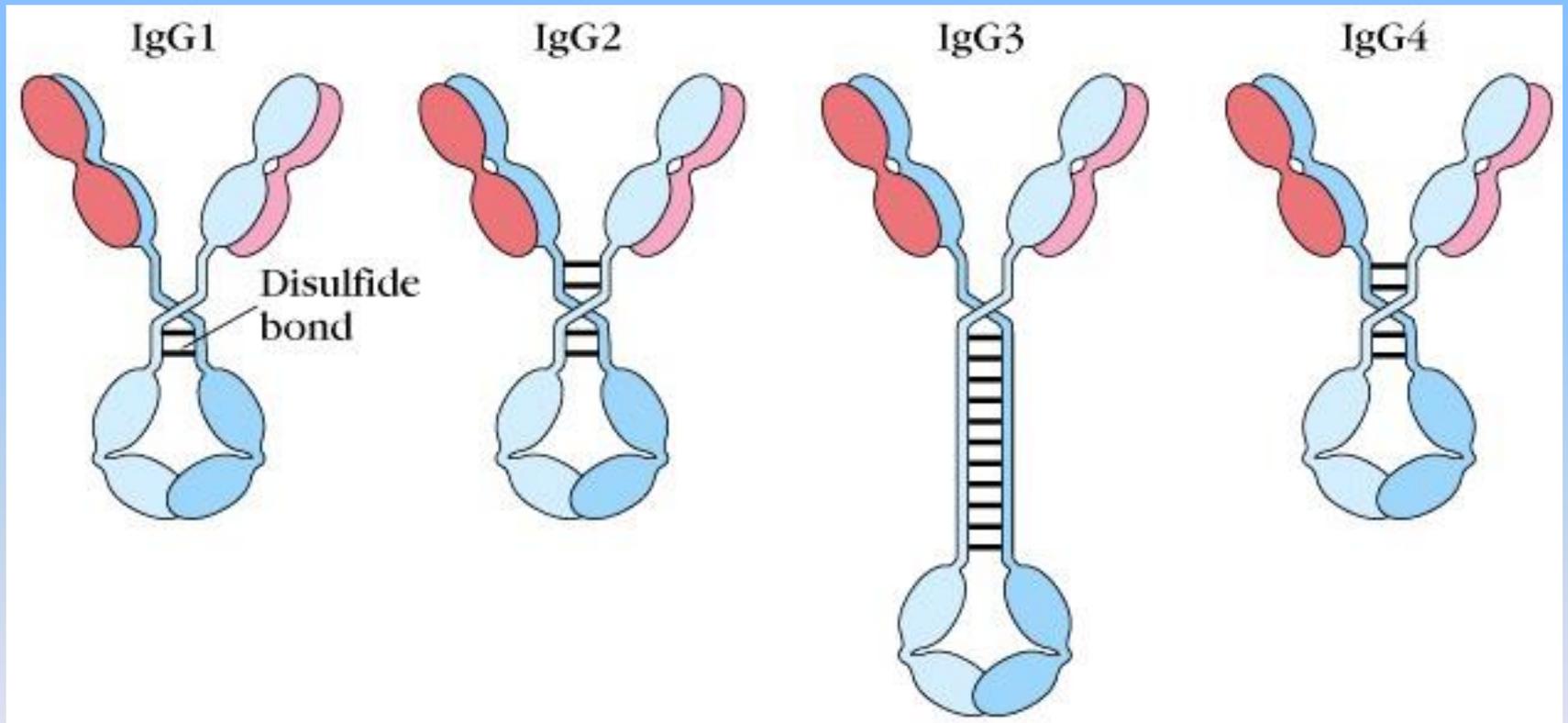
## IgG

- Monômero
- IgG1, IgG2, IgG3, IgG4
- cadeia pesada  $\gamma$  (1 a 4)
- IFN-  $\gamma$  e IL-4
- concentração sérica: 8-16 mg/mL
- secretado em respostas secundárias
- Funções:
  - opsonização
  - ativação do complemento
  - citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC)
  - imunidade neonatal
  - inibição por feedback das células B



# ***Anticorpos: isotipos***

## ***Subclasses de IgG***

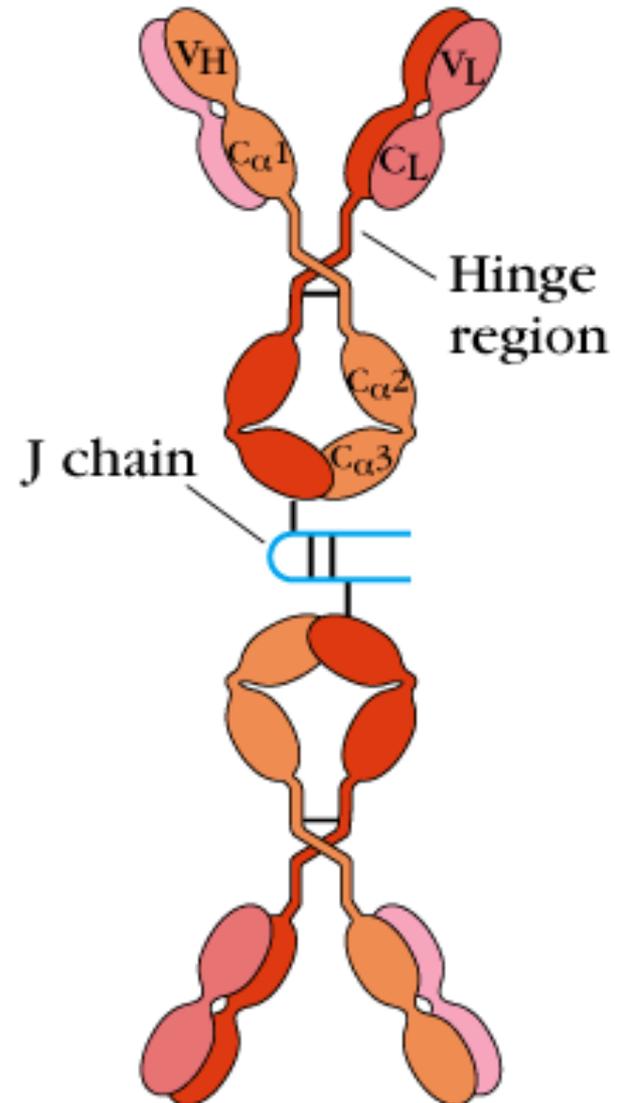


# Anticorpos: isotipos

## IgA

- *monômero, dímero, trímero*
- *IgA1, IgA2*
- *cadeia pesada  $\alpha$  (1 ou 2)*
- *TGF- $\beta$ , BAFF e outras*
- *concentração sérica: 1-4 mg/mL*
- *fluídos biológicos (imunidade mucosa)*

(d) IgA (dimer)



# Secreção de IgA

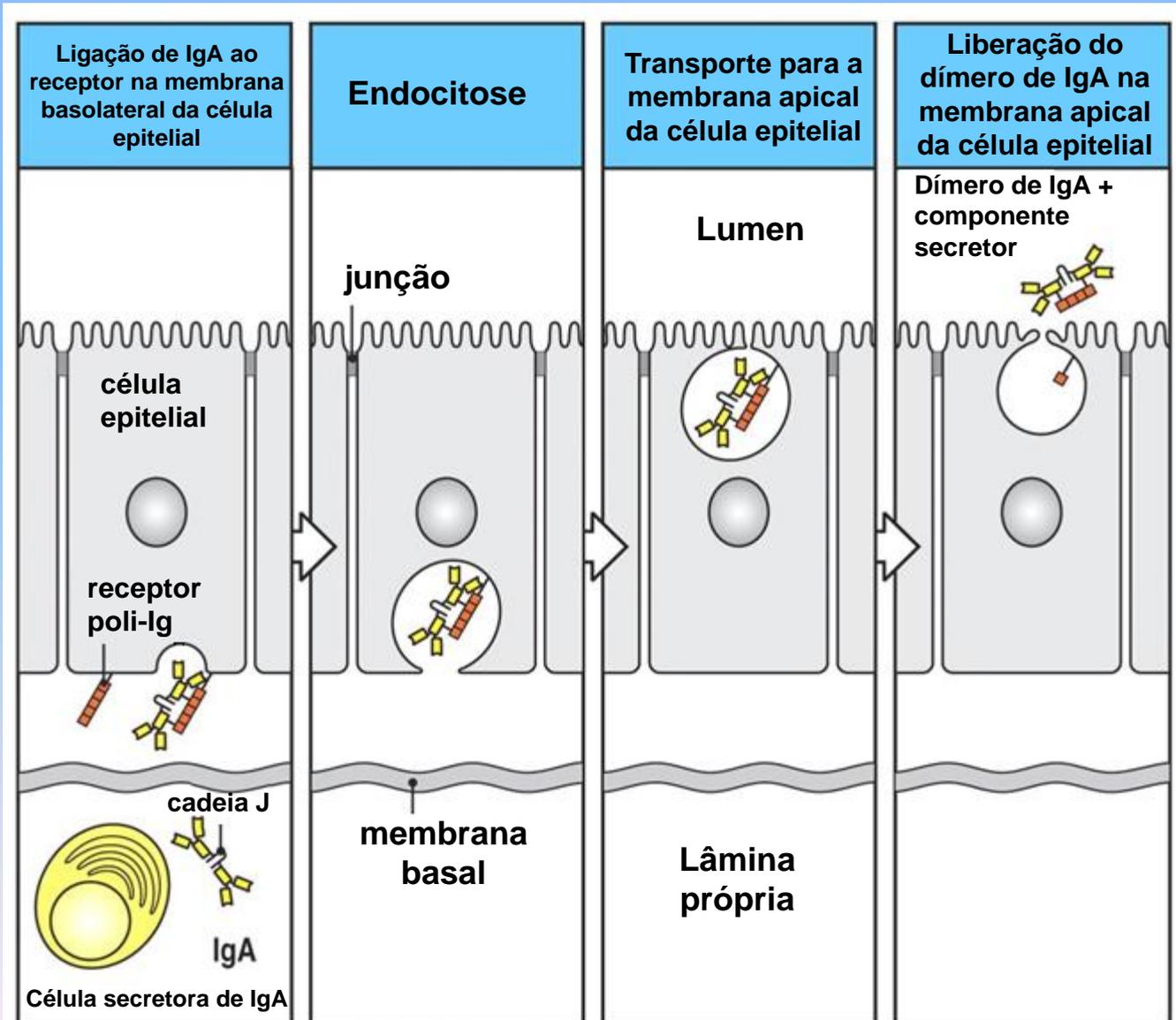
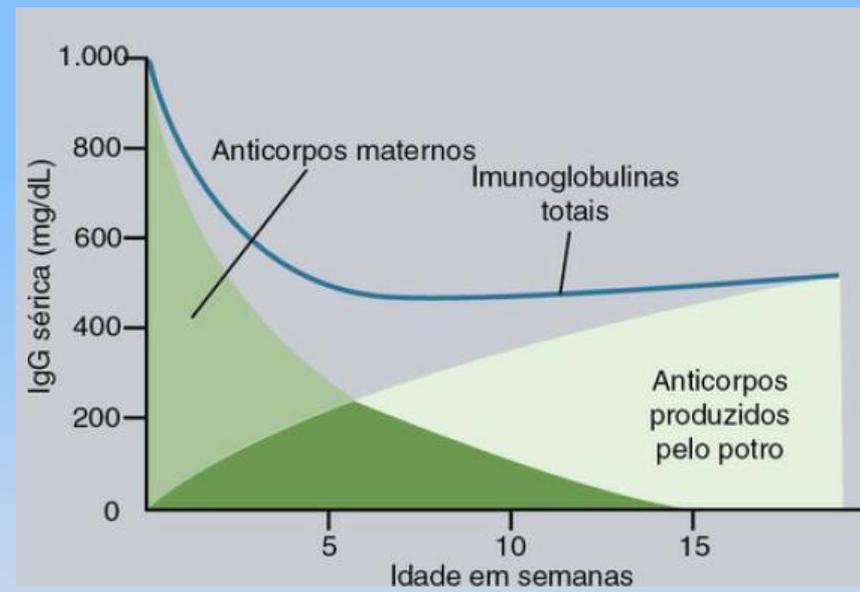
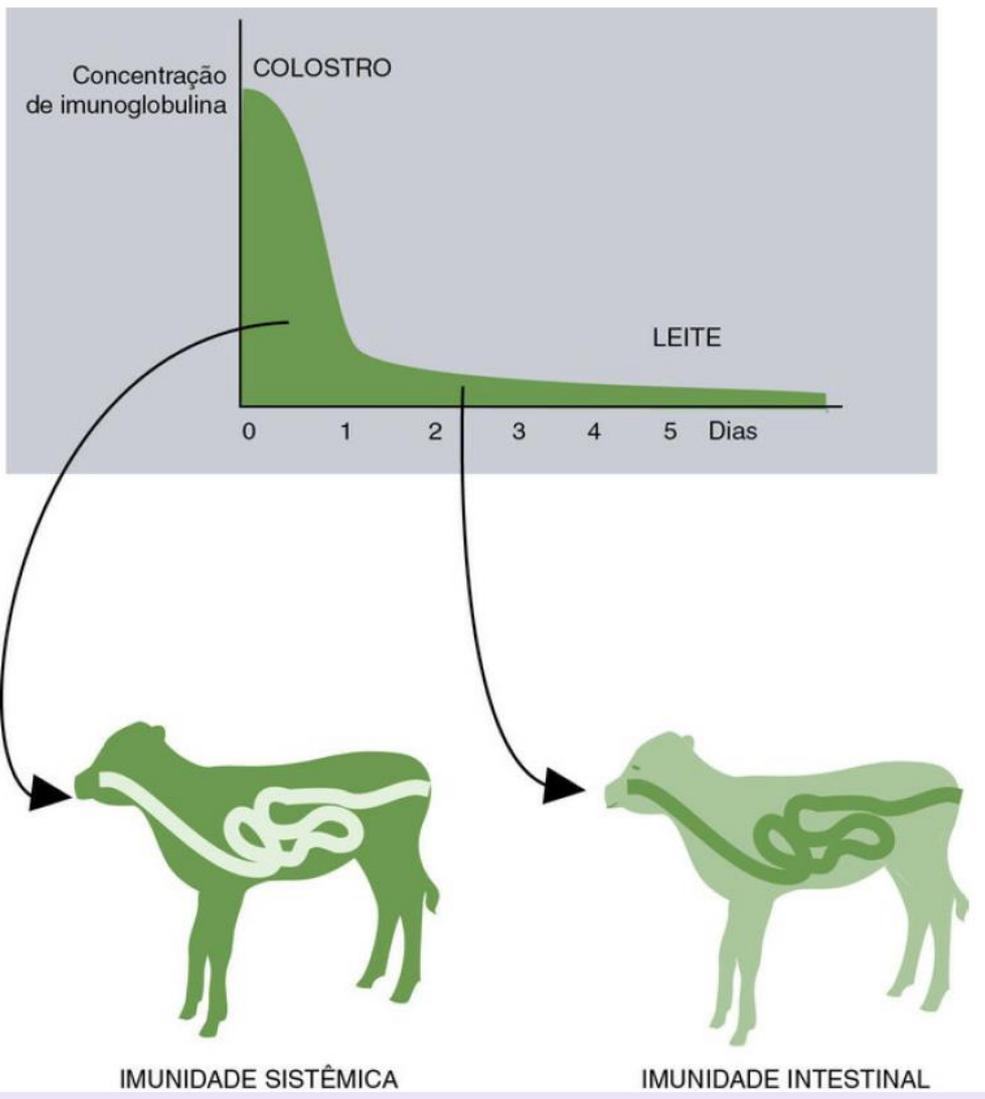


Figure 9-20 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

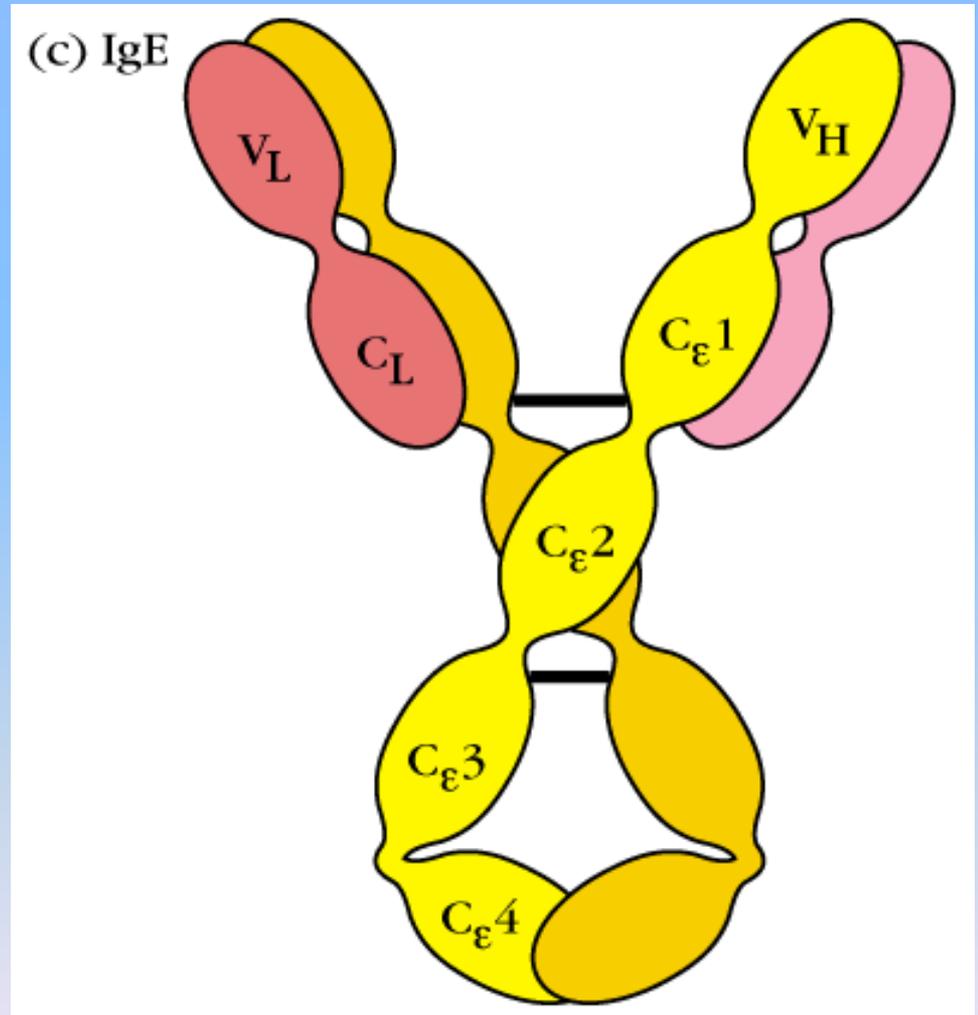
# Transição de Anticorpos Maternos e Produção Própria



# Anticorpos: isotipos

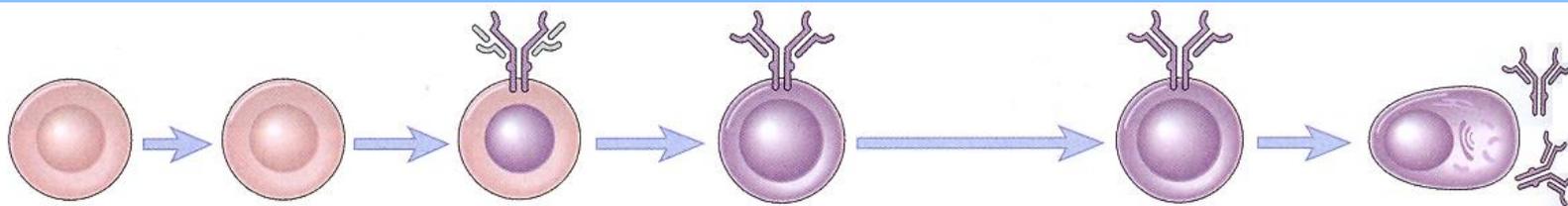
## IgE

- monômero
- cadeia pesada  $\epsilon$
- IL-4
- concentração sérica: 10-400 ng/mL
- imunidade contra parasitas (?),  
hipersensibilidade imediata



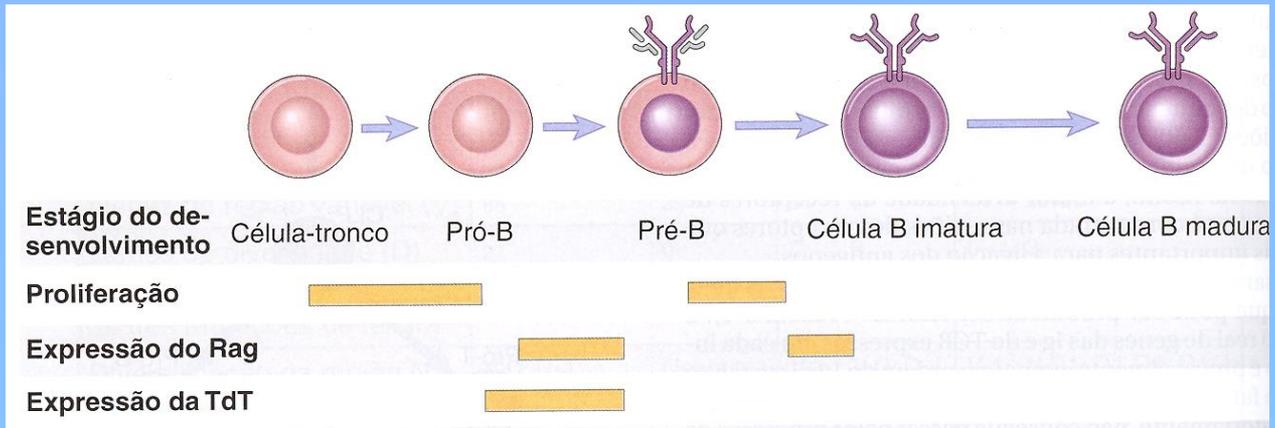
***Fim!***

# Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos

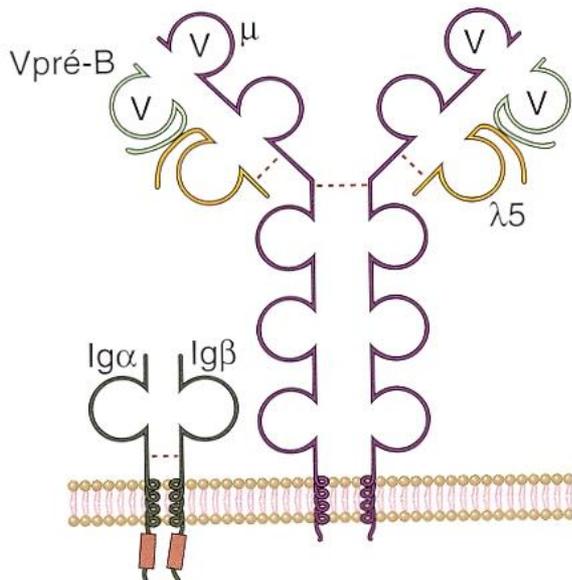


Estágio de Desenvolvimento	Célula-tronco	Pró-linfócito	Pré-linfócito	Linfócito imaturo	Linfócito maduro	Linfócito efetor diferenciado
Eventos Principais		Expansão e comprometimento mediados pelo fator de crescimento; início do rearranjo dos genes do receptor de antígenos	Seleção das células que expressam receptores pré-antigênicos	Seleção do repertório e aquisição de competência funcional	Primeiros a responder	Desempenho de funções efetoras
Local Anatômico			Órgão gerador (medula óssea ou timo)			Órgão ou tecido linfóide periférico
Dependência do Antígeno			Não	Auto-antígeno		Antígeno estranho

# Estágios de Desenvolvimento dos Linfócitos B



Receptor da célula pré-B



- Sobrevivência e proliferação das células pré-B
- Inibição da recombinação da cadeia pesada (exclusão alélica)
- Estimulação da recombinação da cadeia leve  $\kappa$
- Inibição da transcrição da substituta da cadeia leve

# Papel das Células Estromais para o Desenvolvimento dos Linfócitos B

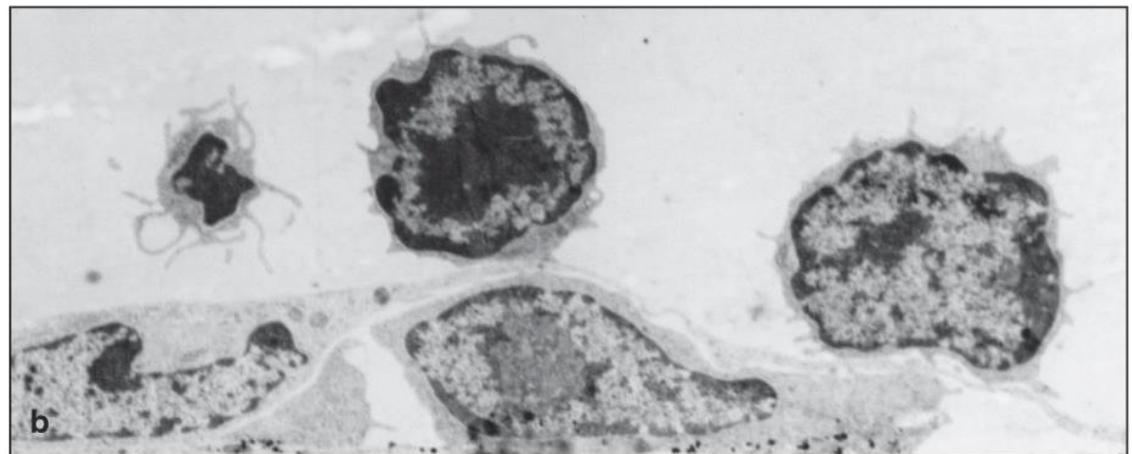
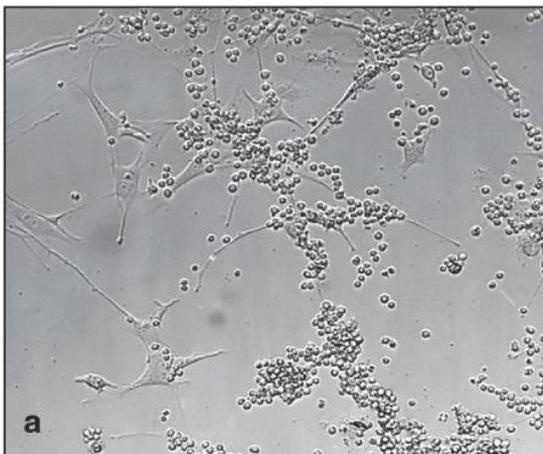
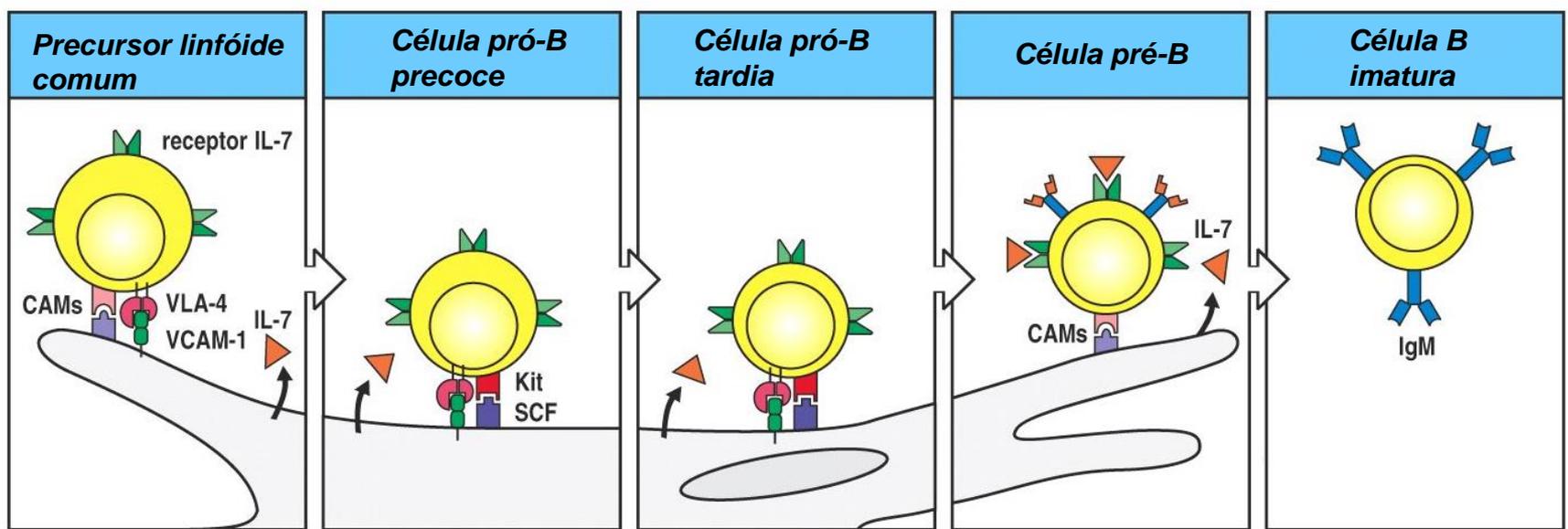


Figure 7-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Estágios de Desenvolvimento da célula B

Estágio do desenvolvimento	Célula-tronco	Pró-B	Pré-B	Célula B imatura	Célula B madura
Proliferação					
Expressão do Rag					
Expressão da TdT					
DNA, RNA Ig	DNA não re-combinado (linhagem germinativa)	DNA não re-combinado (linhagem germinativa)	Gene da cadeia H re-combinado (VDJ); RNAm $\mu$	Gene da cadeia H (VDJ), genes $\kappa$ ou $\lambda$ (VJ) re-combinados; RNAm $\mu$ , $\kappa$ ou $\lambda$	"Splicing" alternativo do RNA primário para formar RNAm <i>m</i> ou <i>d</i>
Expressão da Ig	Nenhuma	Nenhuma	$\mu$ citoplasmática e $\mu$ associada ao receptor pré-B	IgM ligada à membrana ( $\mu$ + cadeia leve $\kappa$ ou $\lambda$ )	IgM ou IgD ligada à membrana
Marcadores de superfície	CD43 <sup>+</sup>	CD43 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> CD10 <sup>+</sup>	B220 <sup>lo</sup> CD43 <sup>+</sup>	IgM <sup>lo</sup> CD43 <sup>-</sup>	IgD <sup>+</sup> IgM <sup>+</sup> CD23 <sup>+</sup>

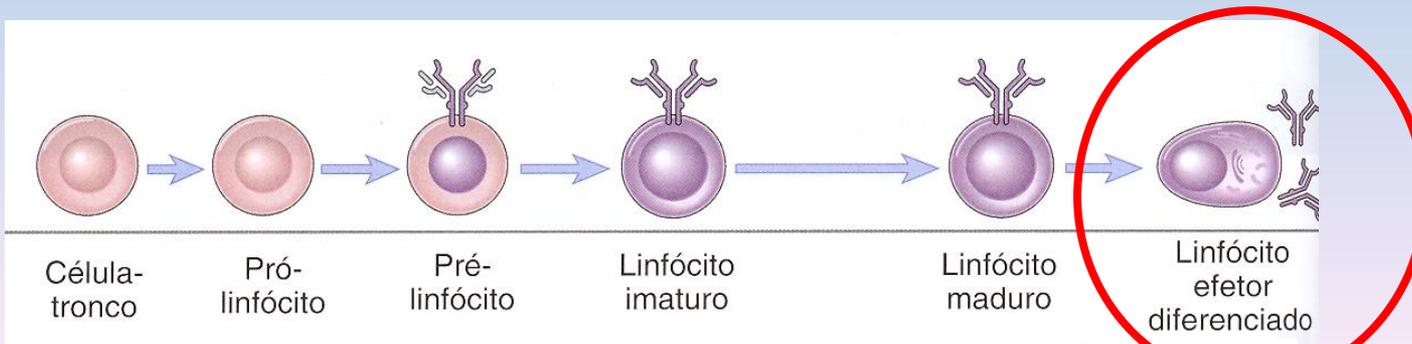
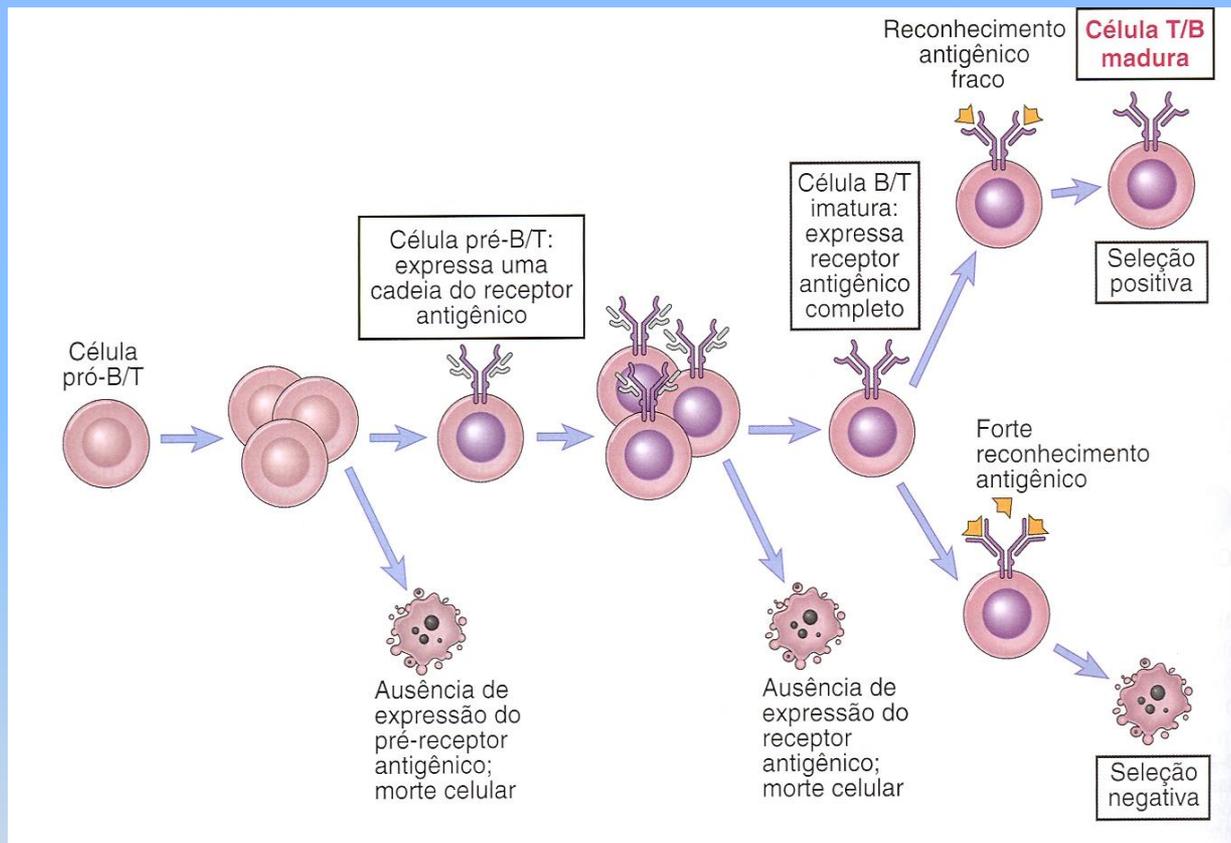
# Linfócitos B: seleção positiva e negativa

**Desenvolvimento de clones de linfócito B:**

- **produza um receptor antigênico adequado**

- **capaz de reconhecer antígenos**

- **não reaja fortemente com os antígenos próprios expressos na medula óssea e periferia (tolerância)**



**Maturação da Afinidade**

# Organização genômica dos loci de cadeia leve e pesadas no genoma

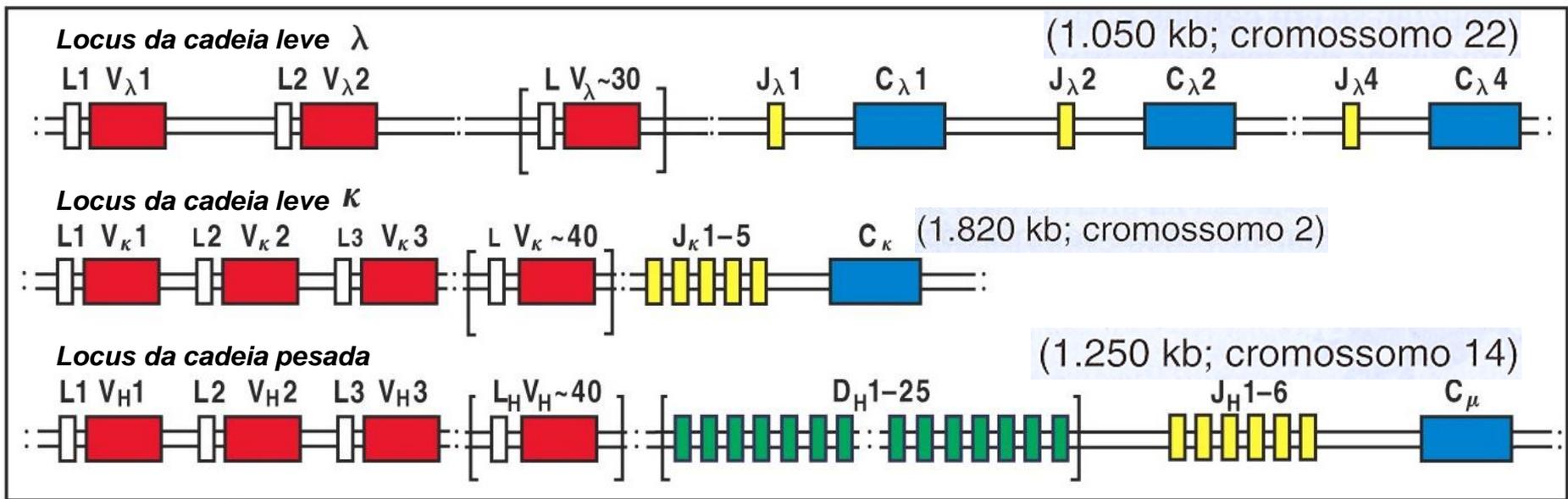
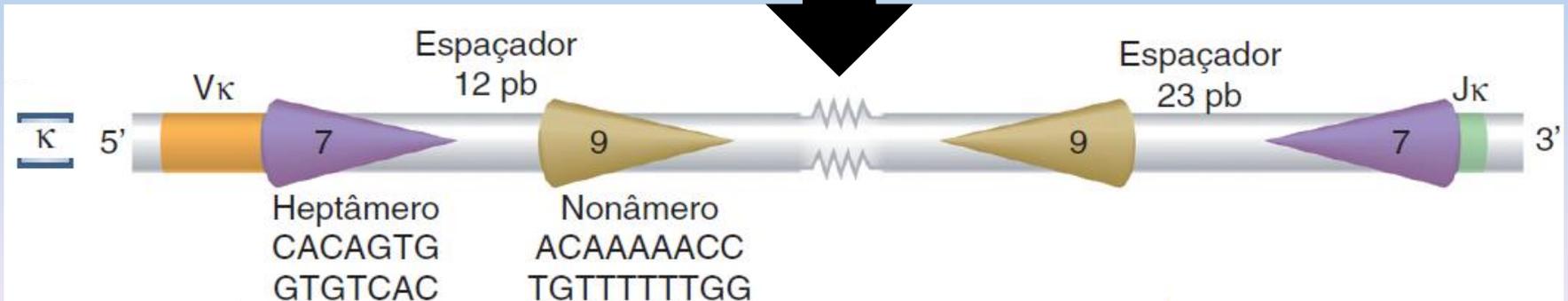
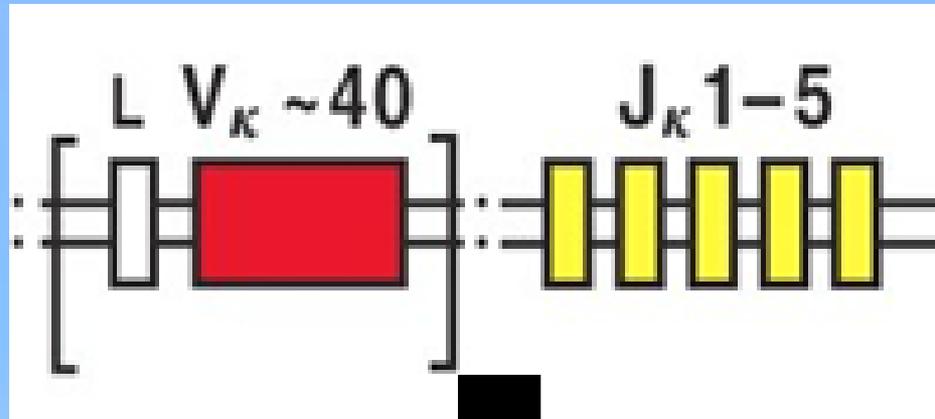


Figure 4-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



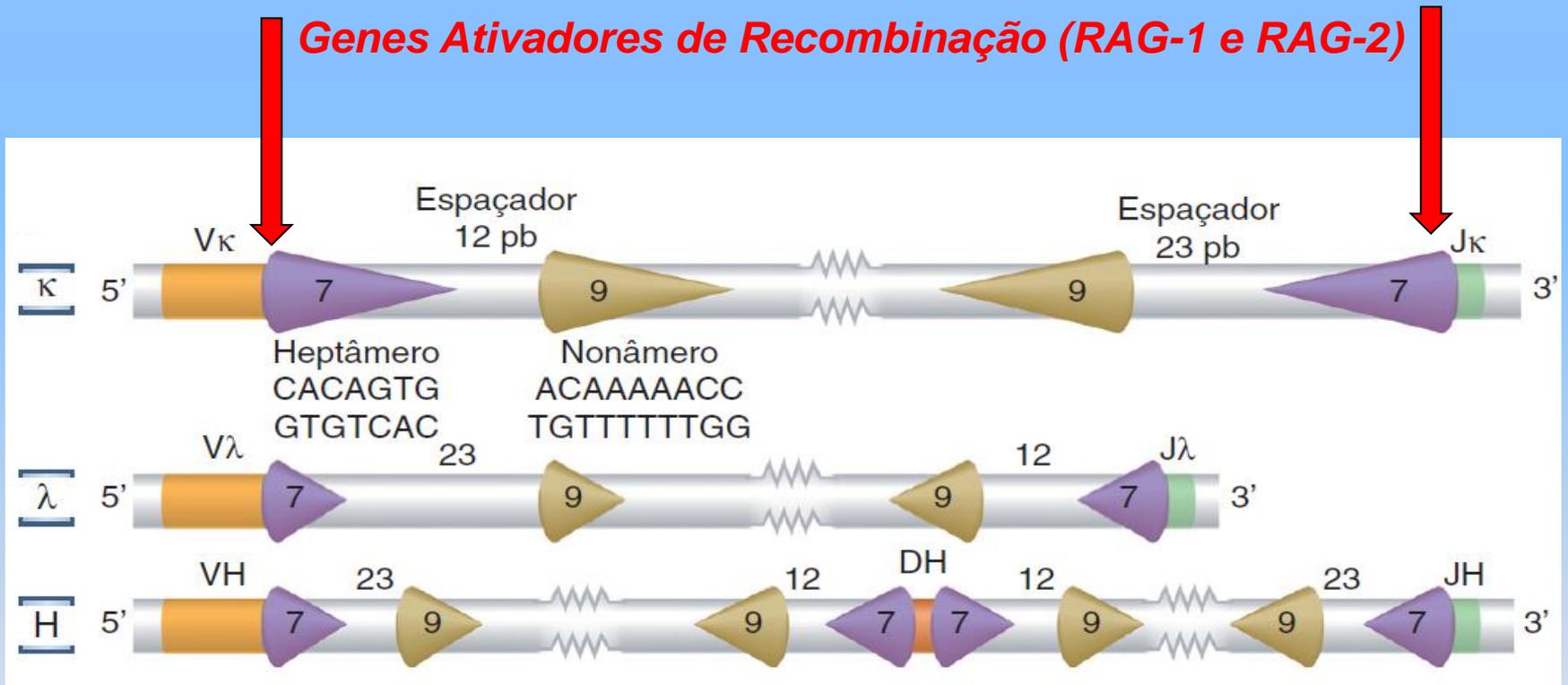
# Sequência Sinal de Recombinação (RSS) da Cadeia Leve



Adaptado de:  
Janeway, Travers, Walport, *Imunobiologia*, 6a. Edição, 2007.  
Abbas, Lichtman, Pillai, *9a. Edição*, 2019.

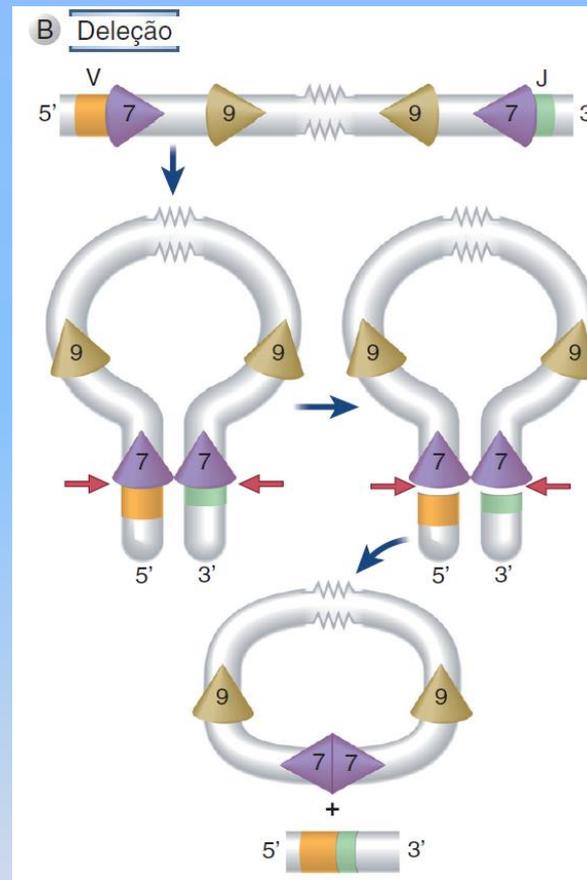
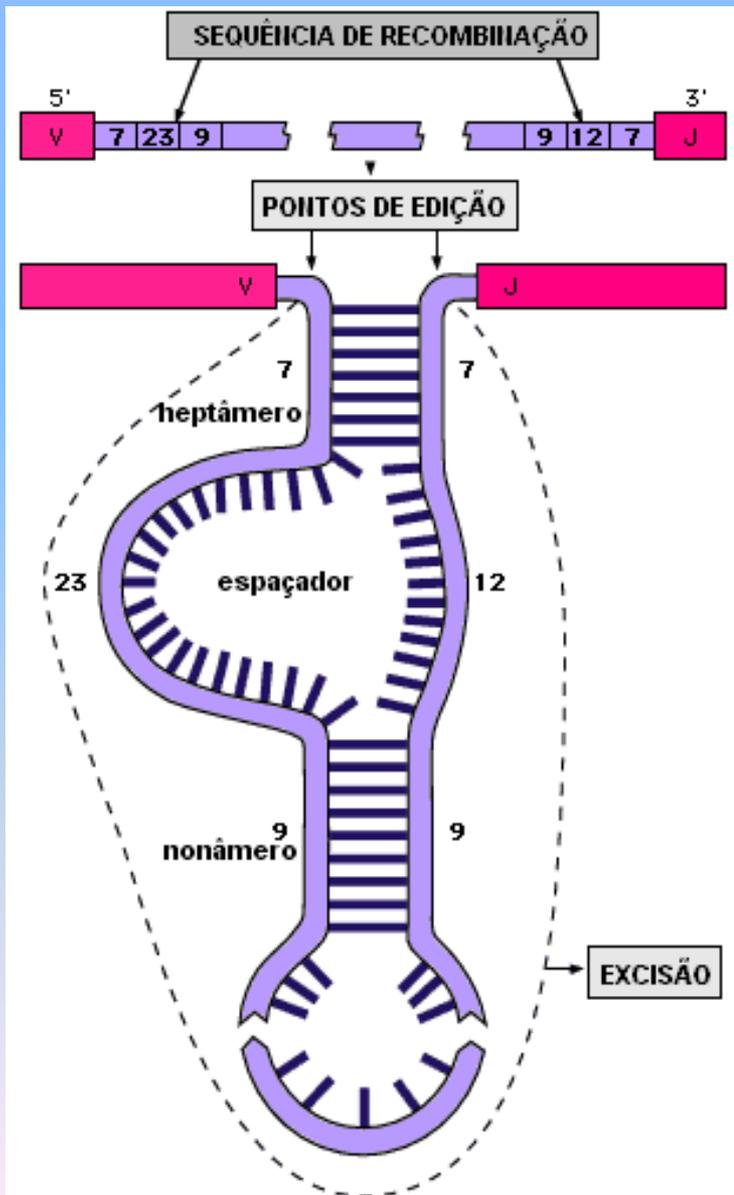
# Sequências Sinais de Recombinação (RSSs)

**Genes Ativadores de Recombinação (RAG-1 e RAG-2)**

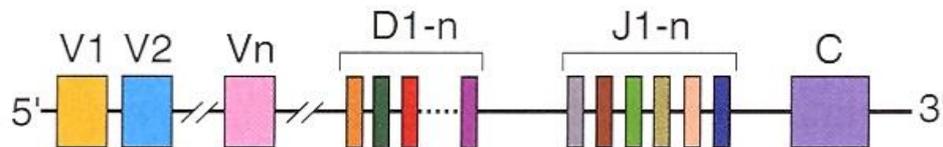


**Sequências Sinais de Recombinação: regra 12/23**

# Recombinação V(D)J

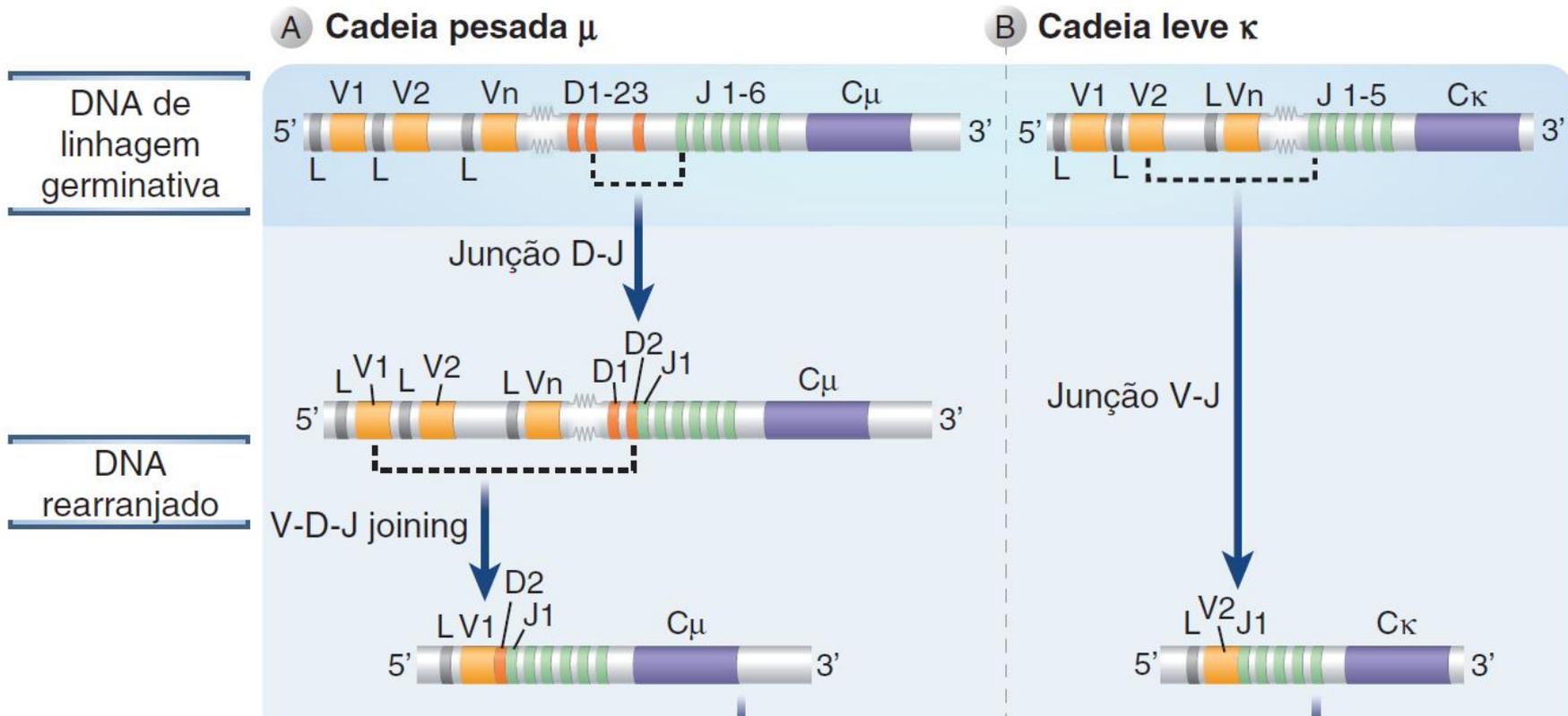


## Diversidade Combinatória





# Recombinação e Expressão



# Recombinação e Expressão

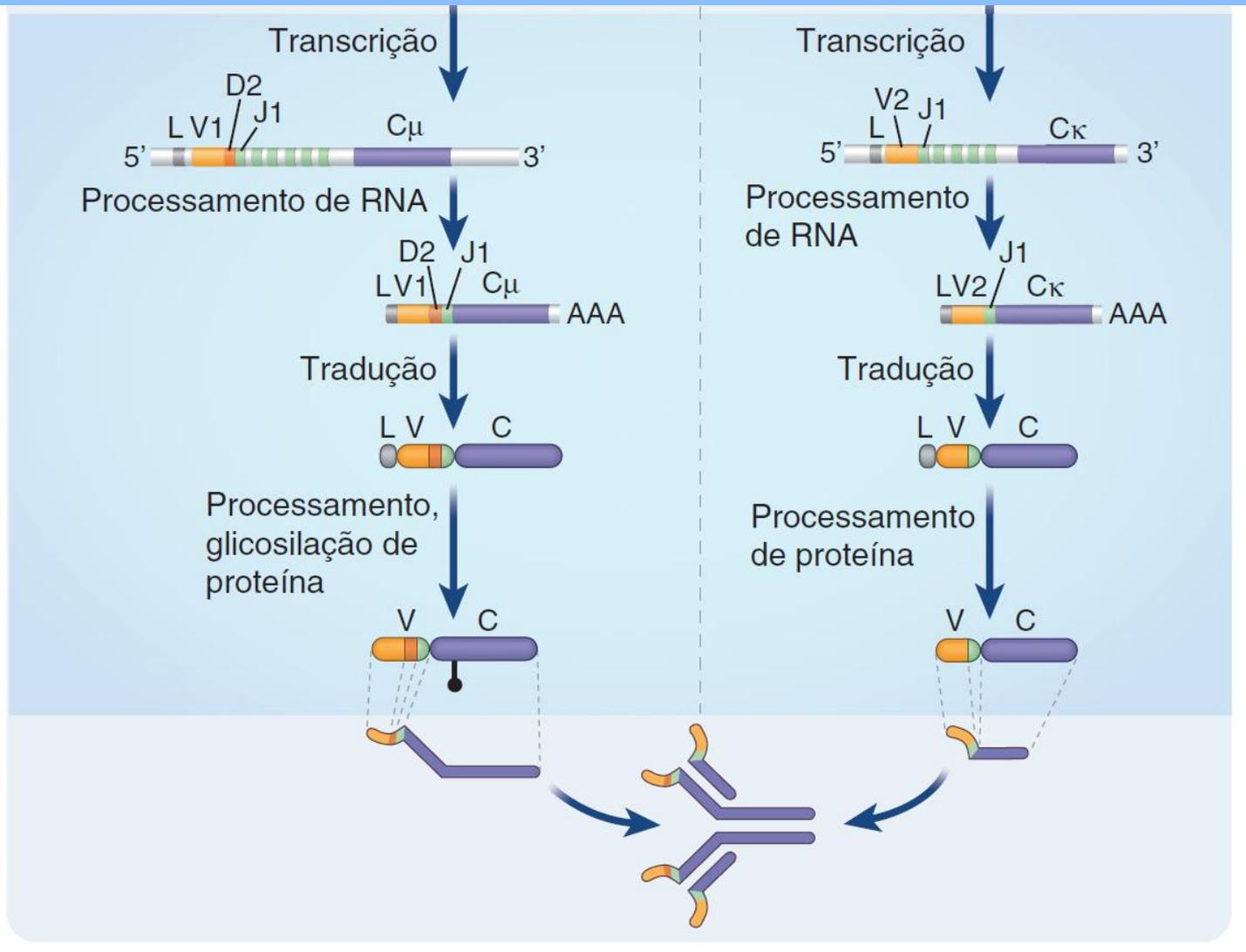
Transcrito primário de RNA

RNA mensageiro (mRNA)

Polipeptídeo nascente

Polipeptídeo maduro

Molécula de Ig montada



# Organização genômica dos loci de cadeia $\alpha$ e $\beta$ do TCR

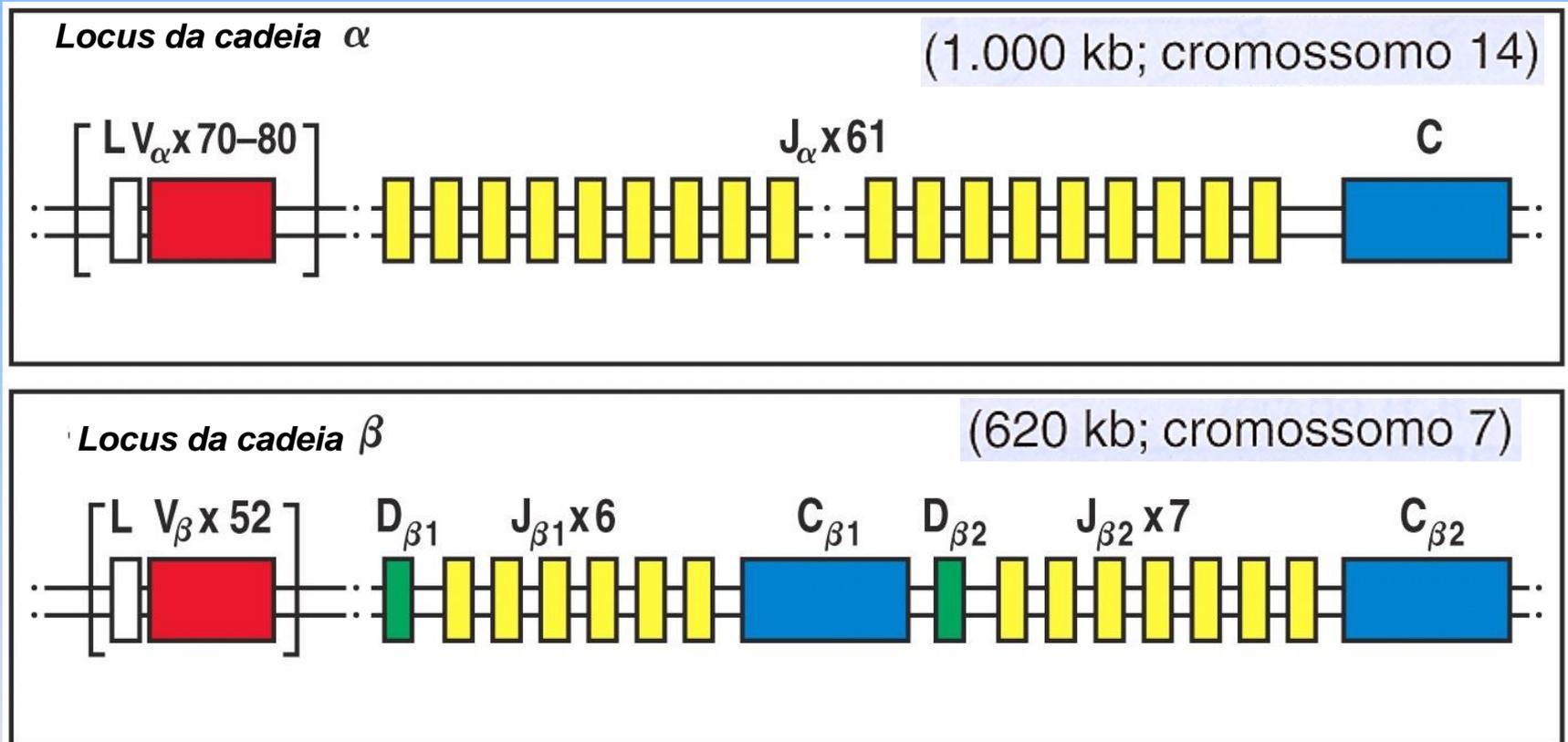
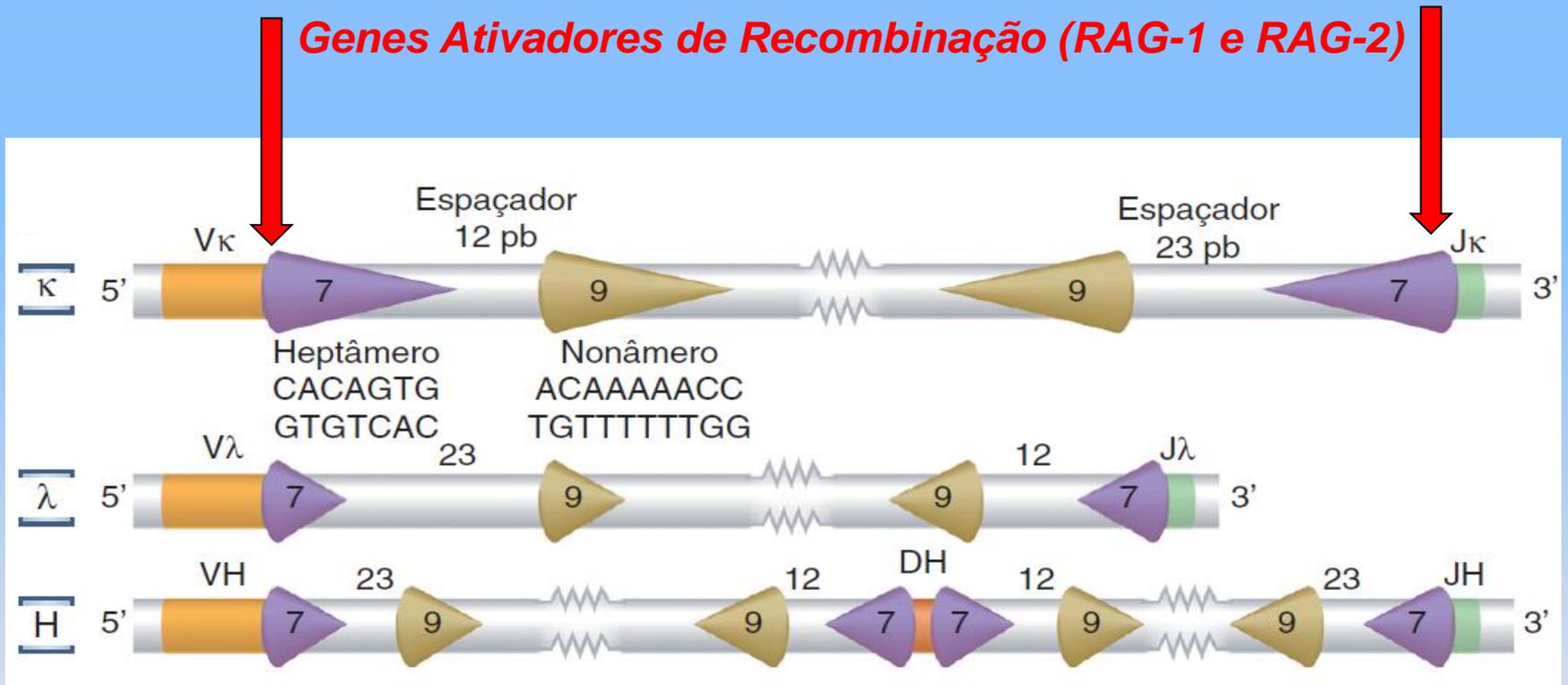


Figure 4-11 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

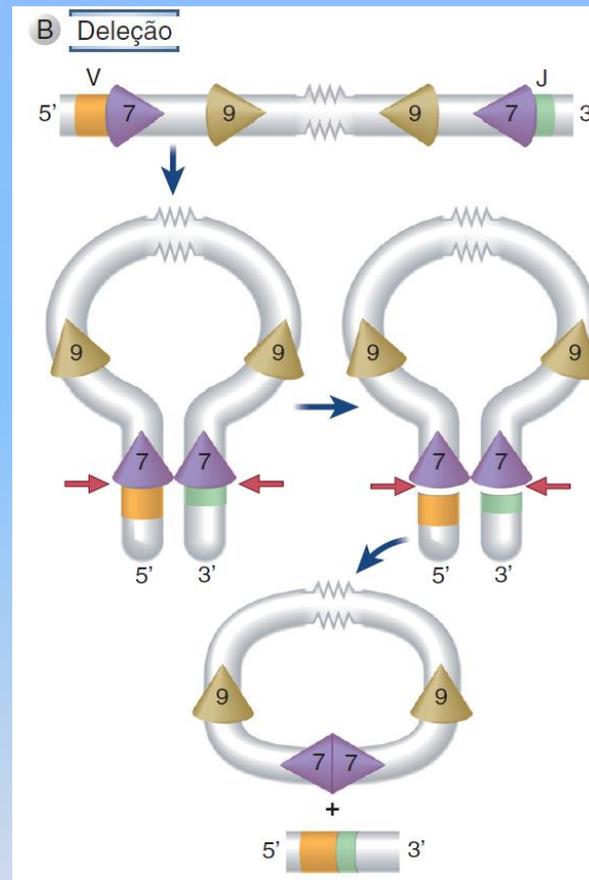
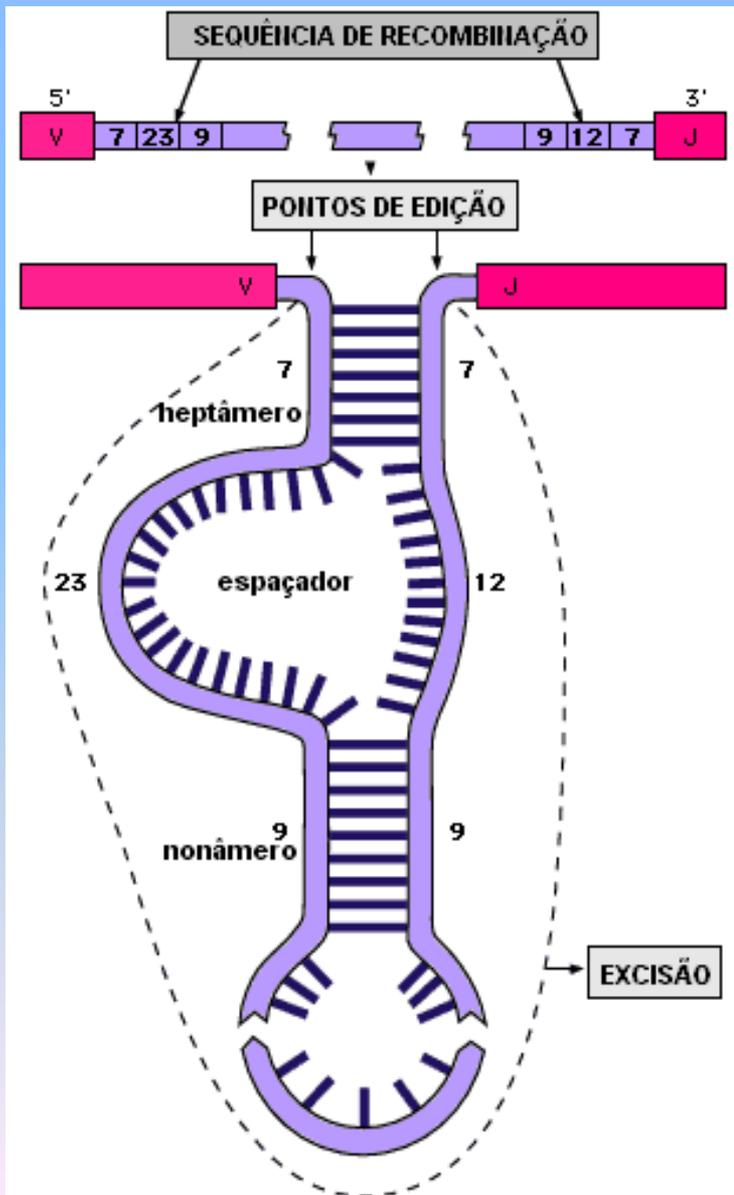
# Sequências Sinais de Recombinação (RSSs)

**Genes Ativadores de Recombinação (RAG-1 e RAG-2)**

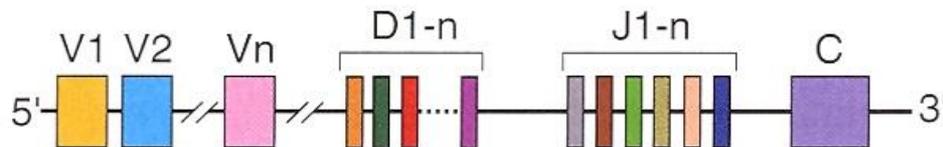


**Sequências Sinais de Recombinação: regra 12/23**

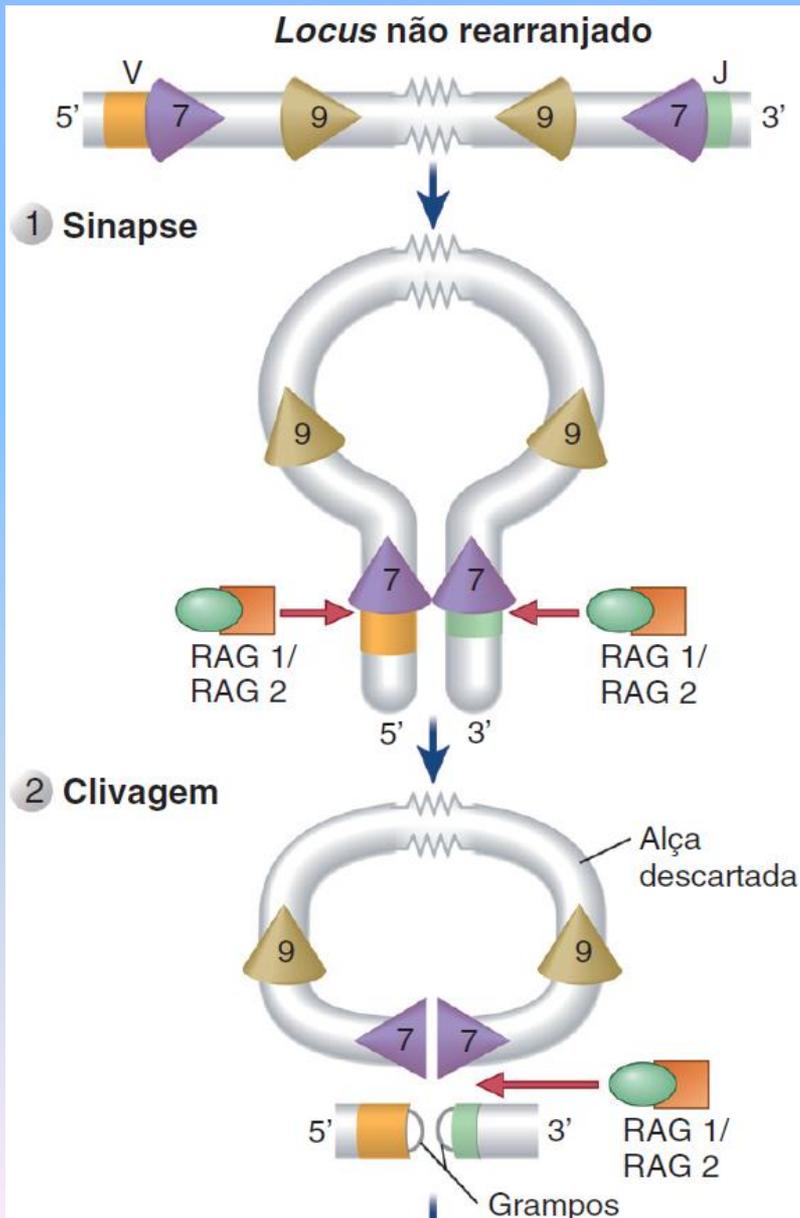
# Recombinação V(D)J



## Diversidade Combinatória



# Eventos da Recombinação V(D)J



**3 Abertura do grampo e processamento final**

Artemis/DNA PK,  
exonucleases, TdT

Ku70/Ku80/DNA-PK

**4 Junção**

Nucleotídeos N e P



# Recombinação e Expressão

Transcrito primário de RNA

RNA mensageiro (mRNA)

Polipeptídeo nascente

Polipeptídeo maduro

Molécula de Ig montada

