



ГЕНЕТИКА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Лекция 2

Список сокращений

Ig – иммуноглобулины

MHC – главный комплекс гистосовместимости

TCR – рецептор Т-лимфоцитов

АГ – антиген

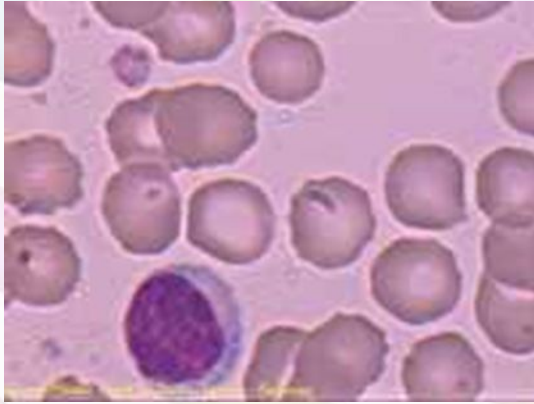
АТ – антитело



В-ЛИМФОЦИТЫ – продуценты Ig

ГЕНЕТИКА ИММУНИТЕТА. Лекция 2

Функции В-лимфоцитов



Противоинфекционная – активность направлена против внеклеточных вирусов и бактерий.

Регуляторная – через активность антител участвуют в активации системы комплемента, фагоцитов, клеток-киллеров.

Основная функция – в ответ на антигенный стимул делиться и дифференцироваться в АОК



Компоненты В-системы

КОСТНЫЙ МОЗГ

лимфоидный орган,
обеспечивающий
дифференцировку В-
лимфоцитов

В-КЛЕТКИ

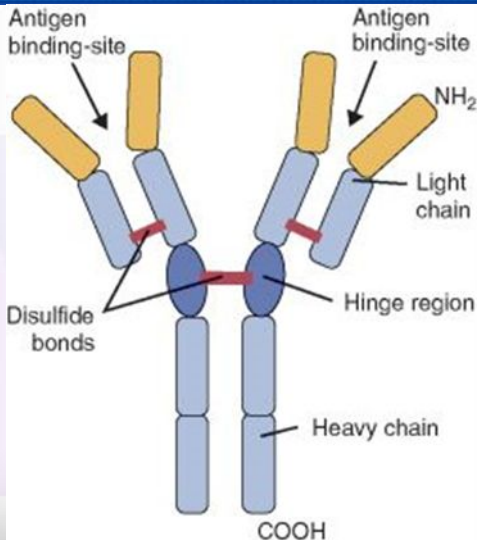
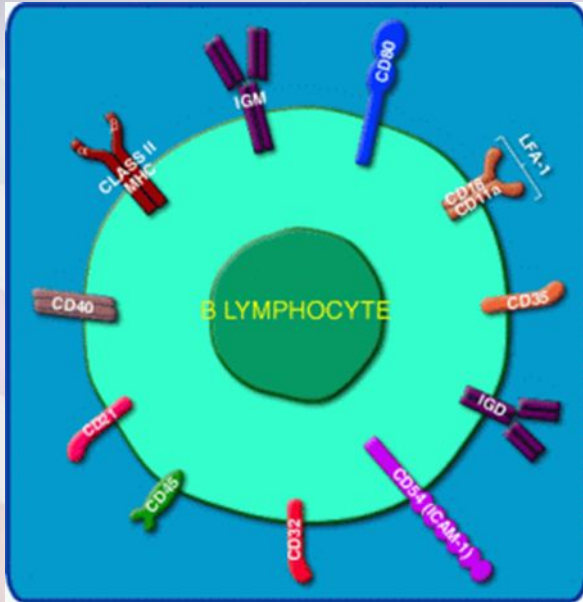
В-лимфоциты
Антителообразующие клетки
Клетки-памяти

ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

молекулы, продуцируемые
В-клетками

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ



1. В-клетки несут на мембране иммуноглобулины и секретируют их в плазму.
2. Иммуноглобулины (Антитела) обладают способностью специфически связывать антигены.
3. Связывание антител с антигенами – решающее звено в защите организма от внеклеточных вирусов и бактерий (они опознаются как «чужое» и уничтожаются).

*Весь процесс, приводящий к
иммунному ответу организма
на вторжение АГ, длится в
среднем **10-14 дней**.*

Именно через такой срок, **В-лимфоциты** начинают синтезировать **Ig** (АТ) против АГ.

На каждый антиген антитела воздействуют по разному:

агглютинины - микробов склеивают;

преципитины - осаждают;

лизины - растворяют;

опсонины - подсоединяются к микробу и делают его для фагов более доступным для уничтожения.





ПОЯВЛЕНИЕ И СОЗРЕВАНИЕ В-ЛИМФОЦИТОВ

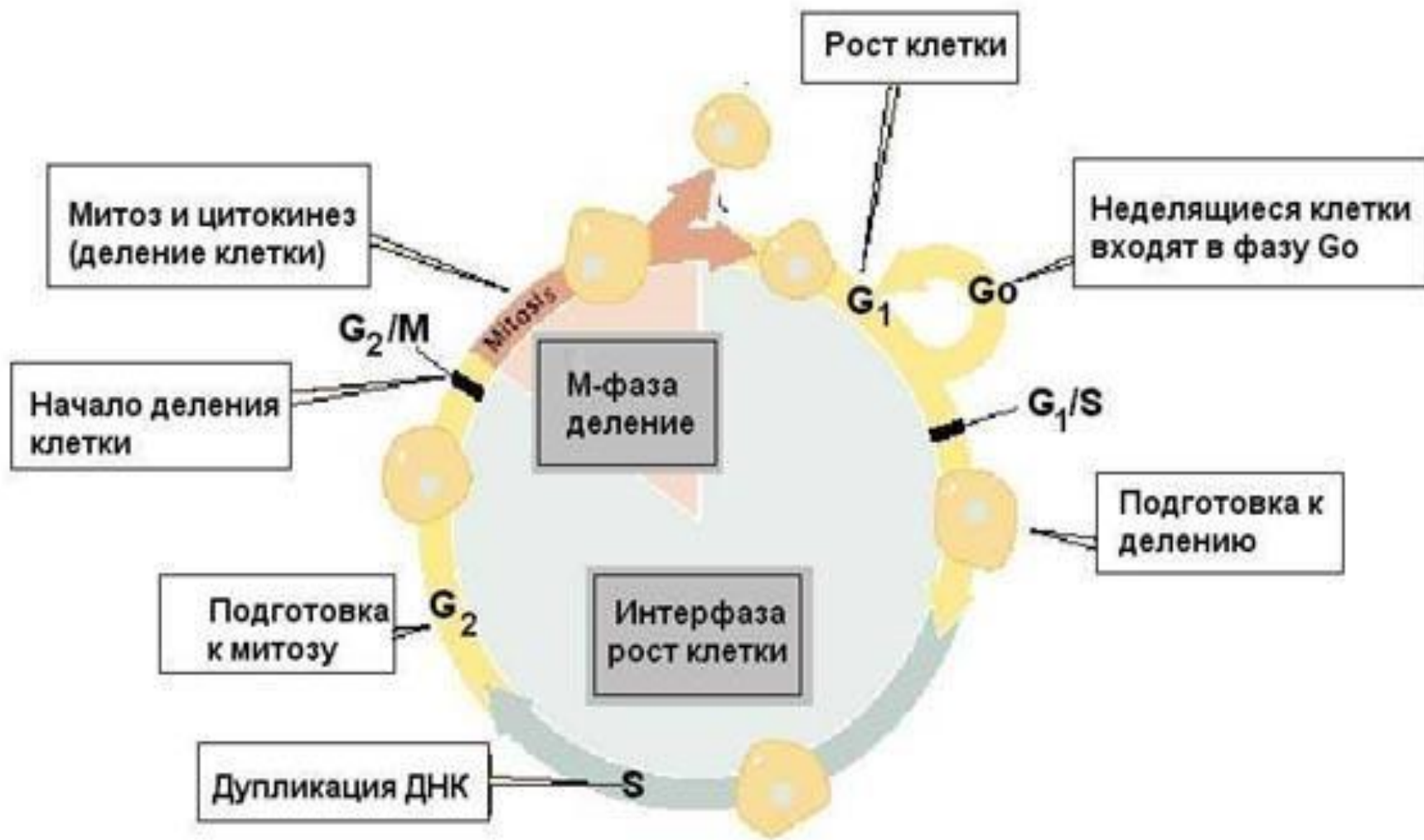
ГЕНЕТИКА ИММУНИТЕТА. Лекция 2

Схема дифференцировки лимфоцитов



Рис. 82. В-лимфоциты (а) и Т-лимфоциты (б) (по Pollack, 1978).





Клеточный цикл

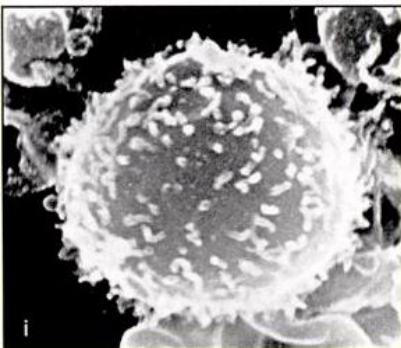
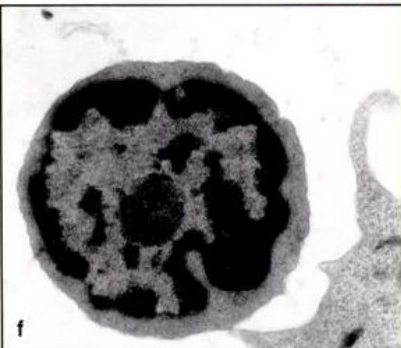
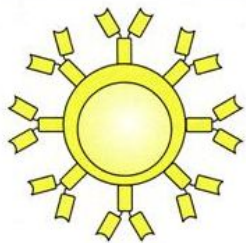
Этапы «жизни» В-лимфоцита

Активация

Пролиферация

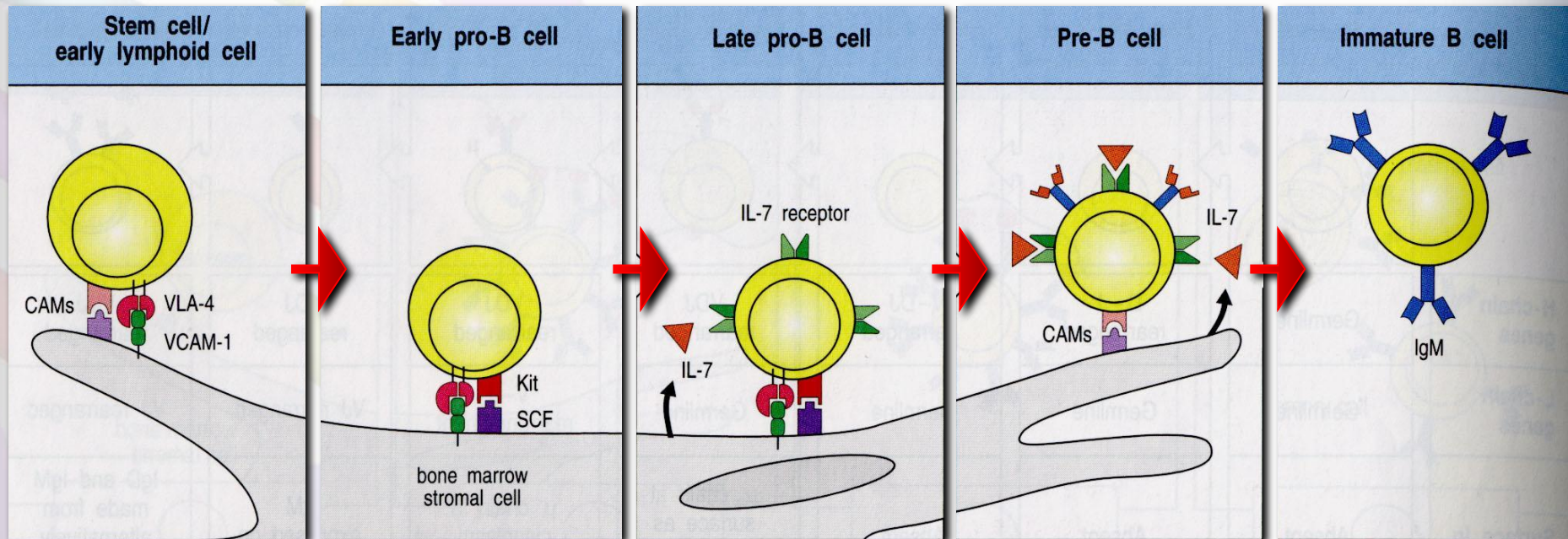
Дифференцировка

B lymphocyte



Костный мозг	Вторичные ЛО
СКК → В-кл	АОК клетка-памяти
Без АГ стимула	Под АГ стимуляцией

Схема дифференцировки В-лимфоцитов без АГ стимула



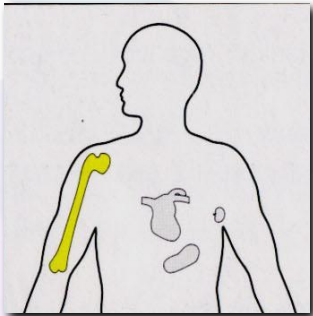
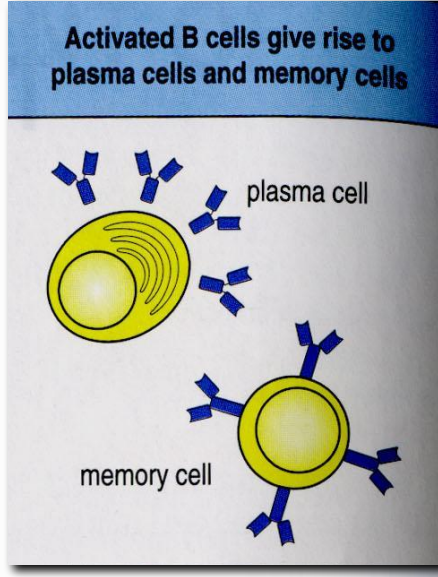
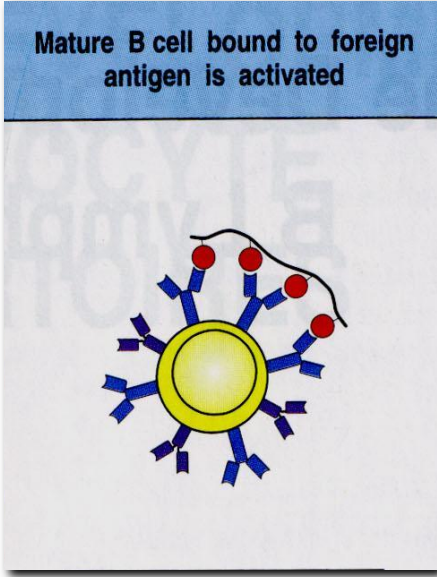
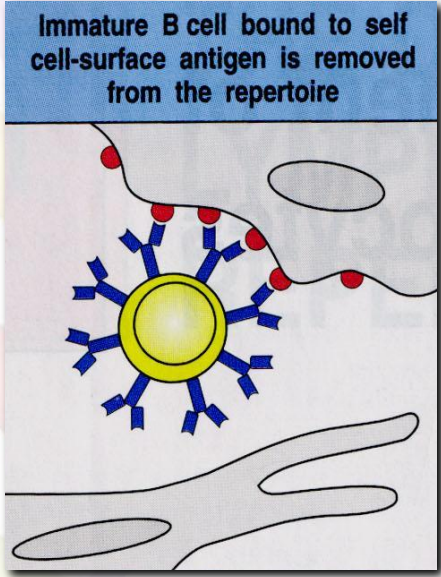
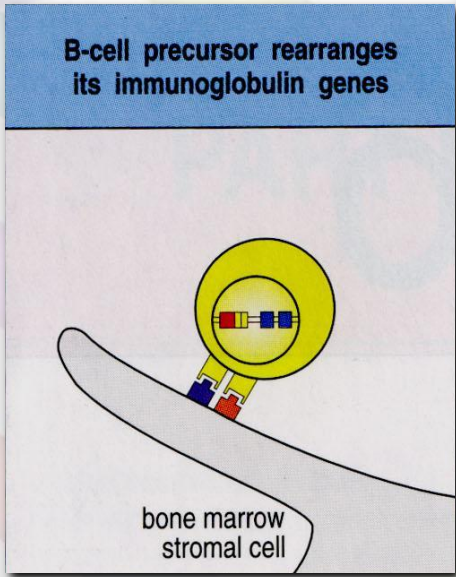
прямое контактное взаимодействие со стромальными элементами – адгезивными молекулами

воздействие гуморальных факторов – цитокинов (IL-7)

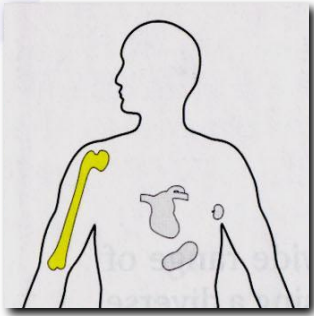
Главное различие между незрелой и иммунокомпетентной В-клеткой - способность синтезировать **МОЛЕКУЛЫ иммуноглобулинов**



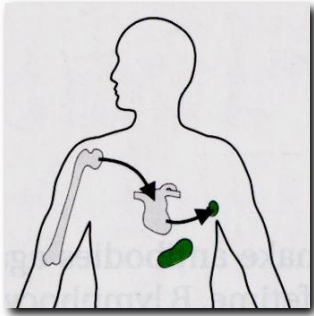
Схема дифференцировки лимфоцитов с АГ стимуляцией



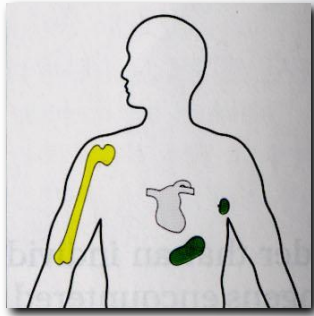
Generation of B-cell receptors in the bone marrow




Tolerance induction by self antigen in the bone marrow



B-cell activation by foreign antigen in the spleen or lymph node



Antibody secretion and memory cells in lymphoid tissue



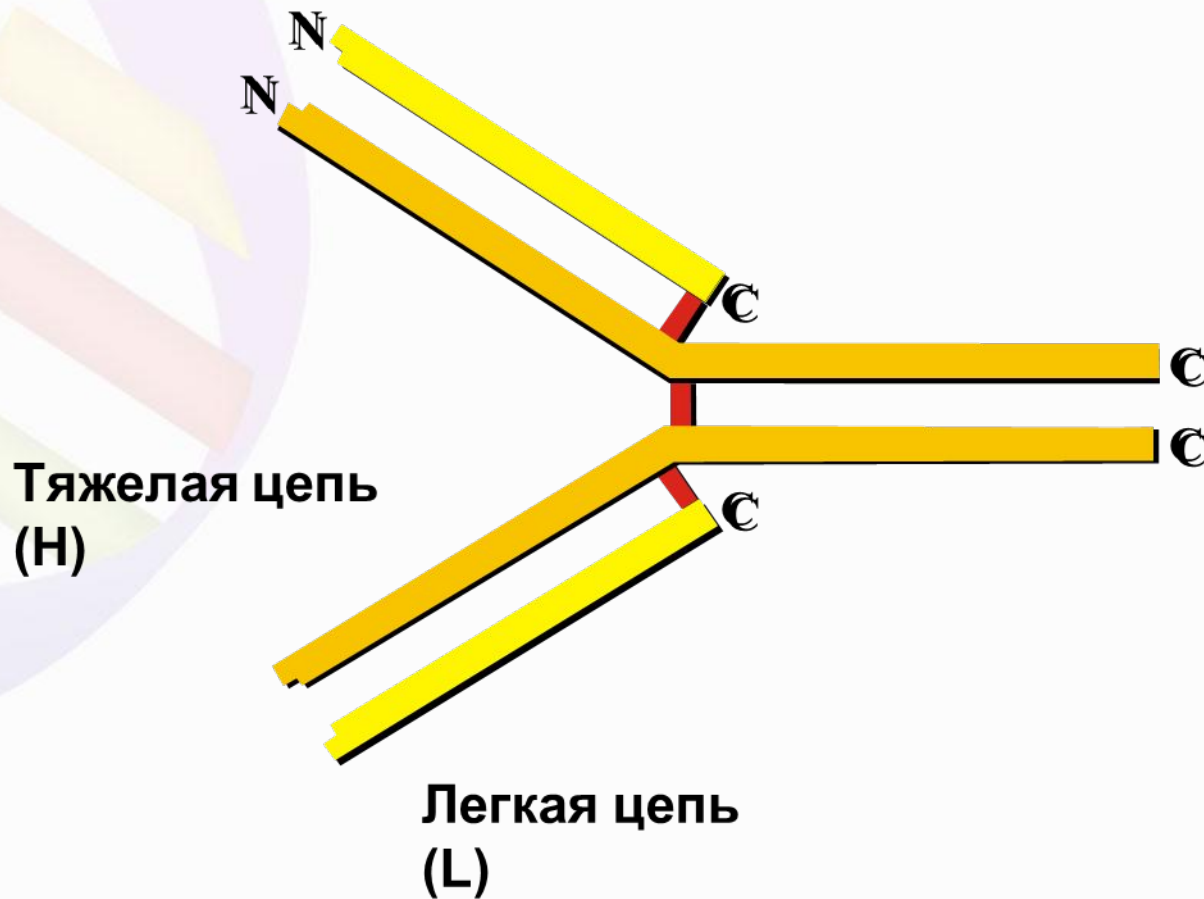
ИММУНОГЛОБУЛИНЫ: строение

ГЕНЕТИКА ИММУНИТЕТА. Лекция 2

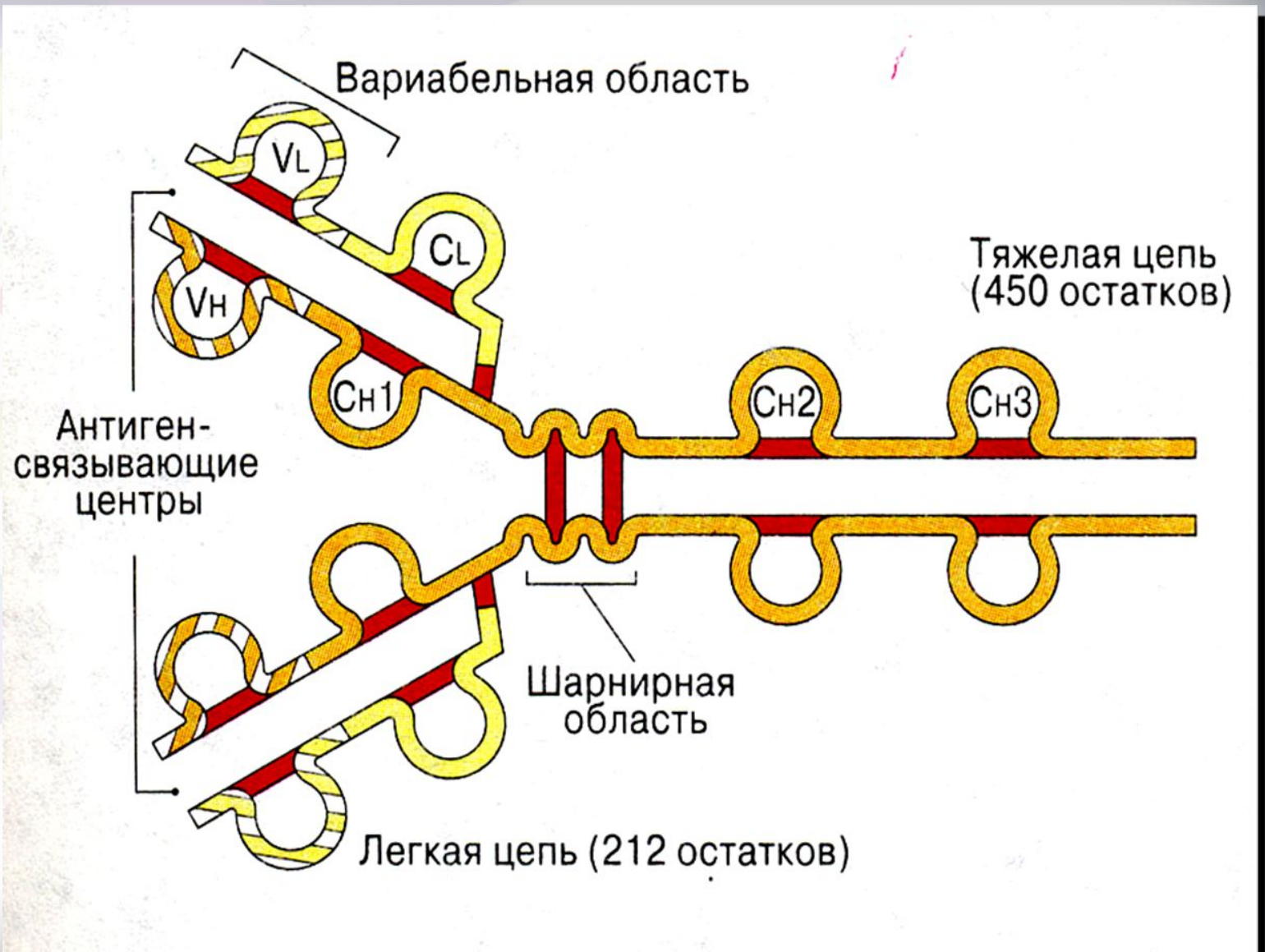
Иммуноглобулины выполняют в организме позвоночных функцию:

- гуморальных антител;
- антиген-связывающих рецепторов В-лимфоцитов.

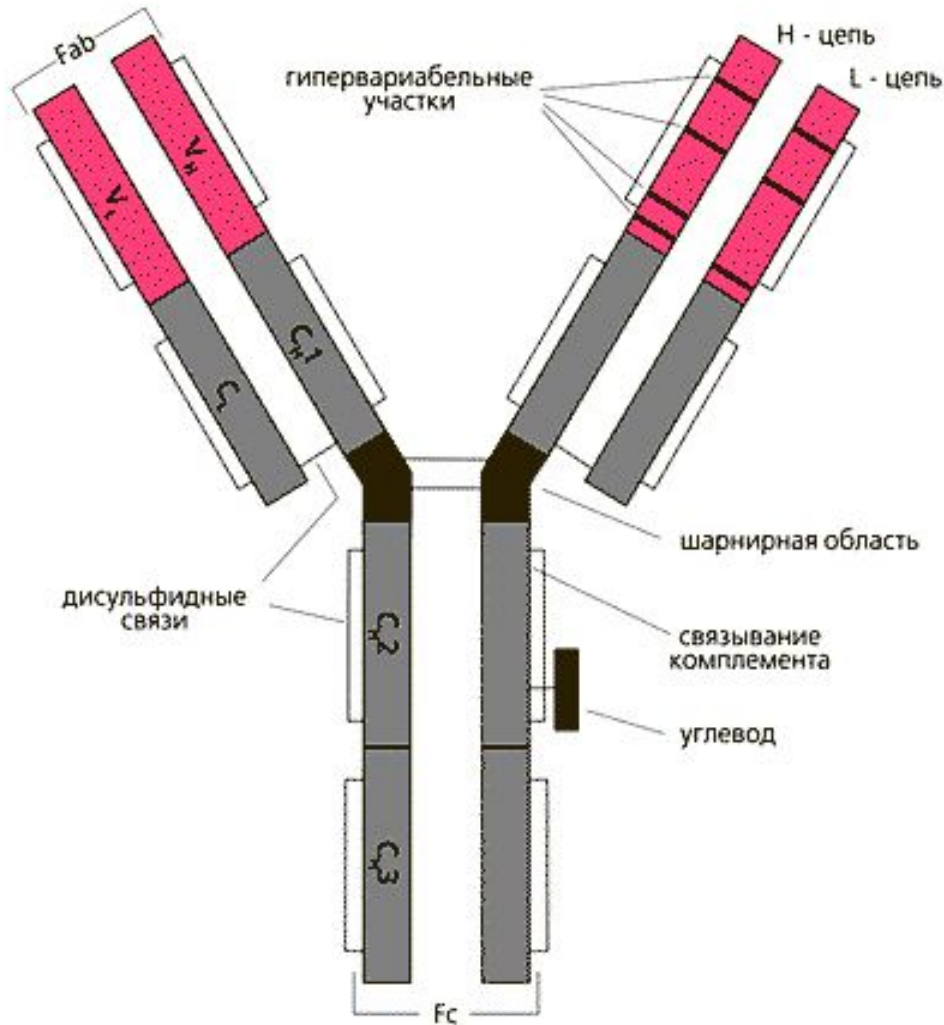
структура основной четырехцепочечной единицы иммуноглобулиновых молекул



Общая схема строения IgG1



Строение молекулы Ig G

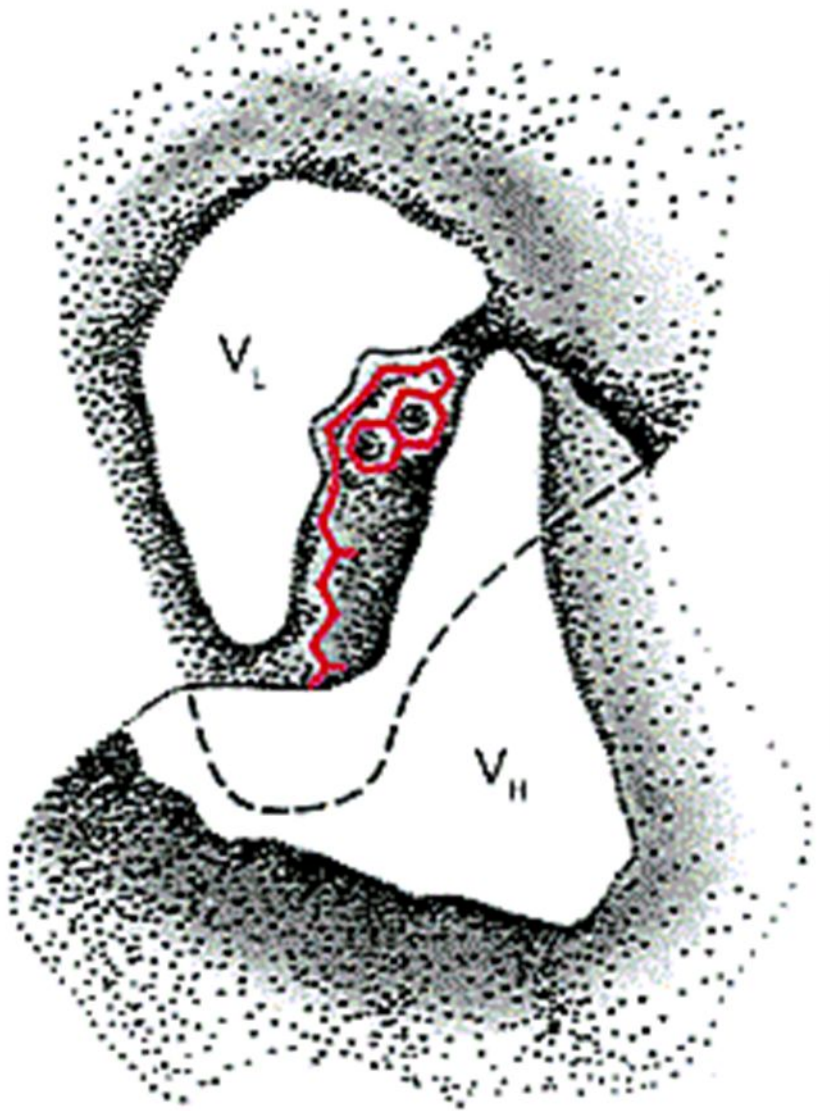


Тяжелые (H) и легкие (L) цепи объединены в единую молекулу с помощью ковалентных s-s связей.

Каждая цепь содержит переменную (V_L и V_H) и константную (C) область.

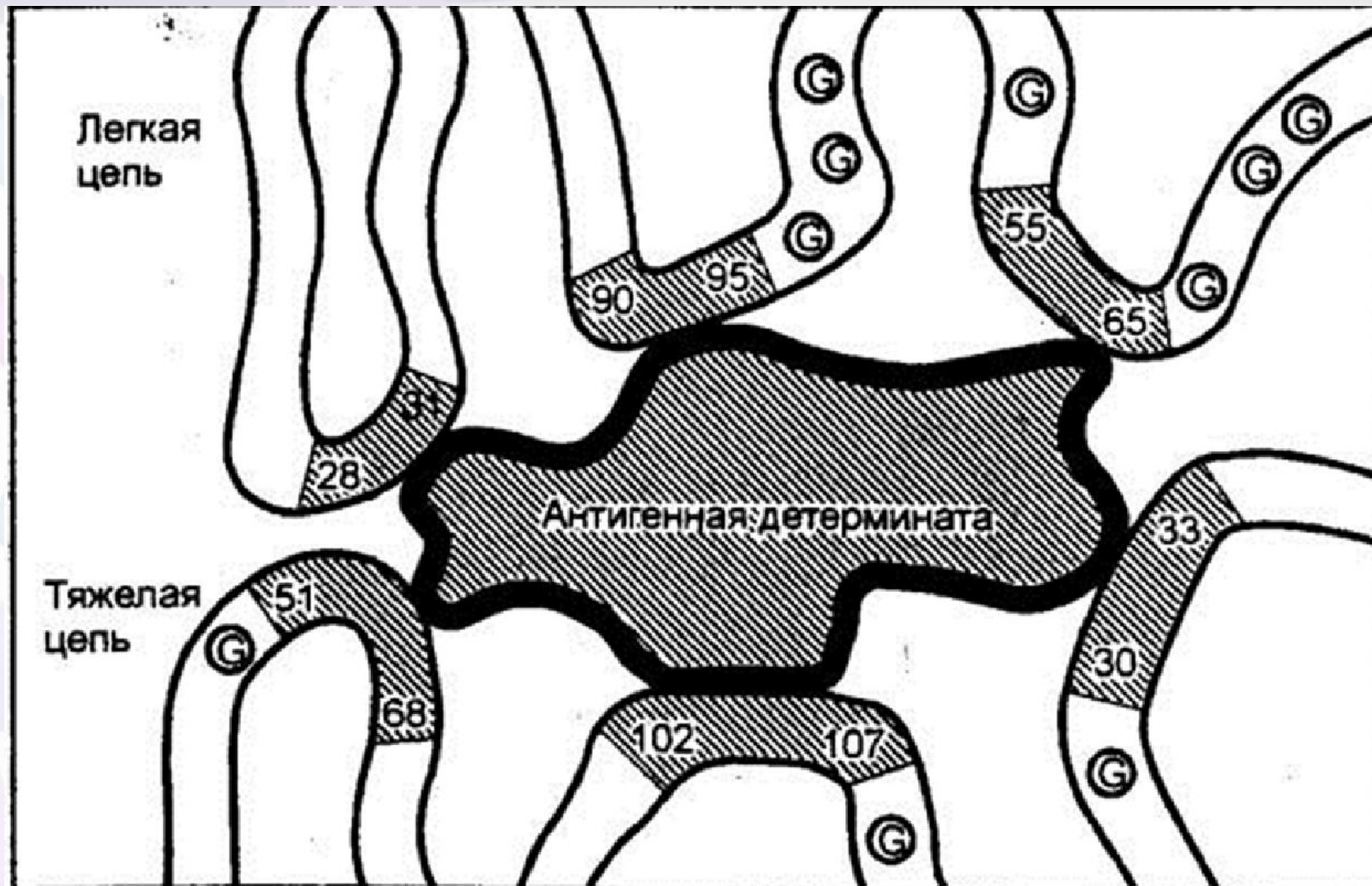
От взаимодействия V_H- и V_L-областей зависит специфичность иммуноглобулинов как антител.

Взаимодействие антигенсвязывающей области иммуноглобулина с антигеном

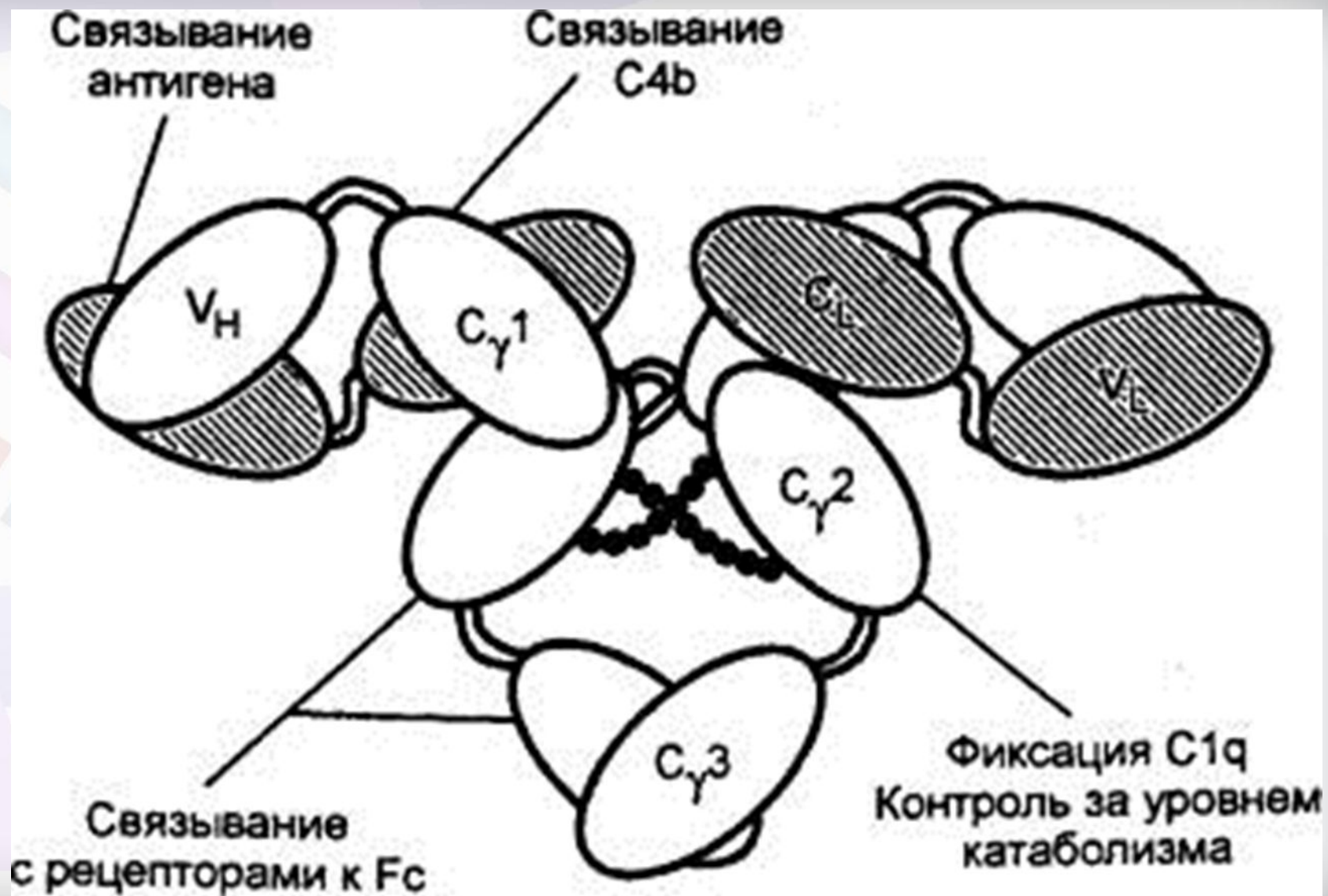


V-домены легкой и тяжелой цепей (V_L и V_H) образуют полость с которой связывается антиген (показан красным цветом).

Принцип АГ-связывающего центра «КЛЮЧ – ЗАМОК»



Биологические свойства доменов





ИММУНОГЛОБУЛИНЫ: классы, биологическая роль

ГЕНЕТИКА ИММУНИТЕТА. Лекция 2

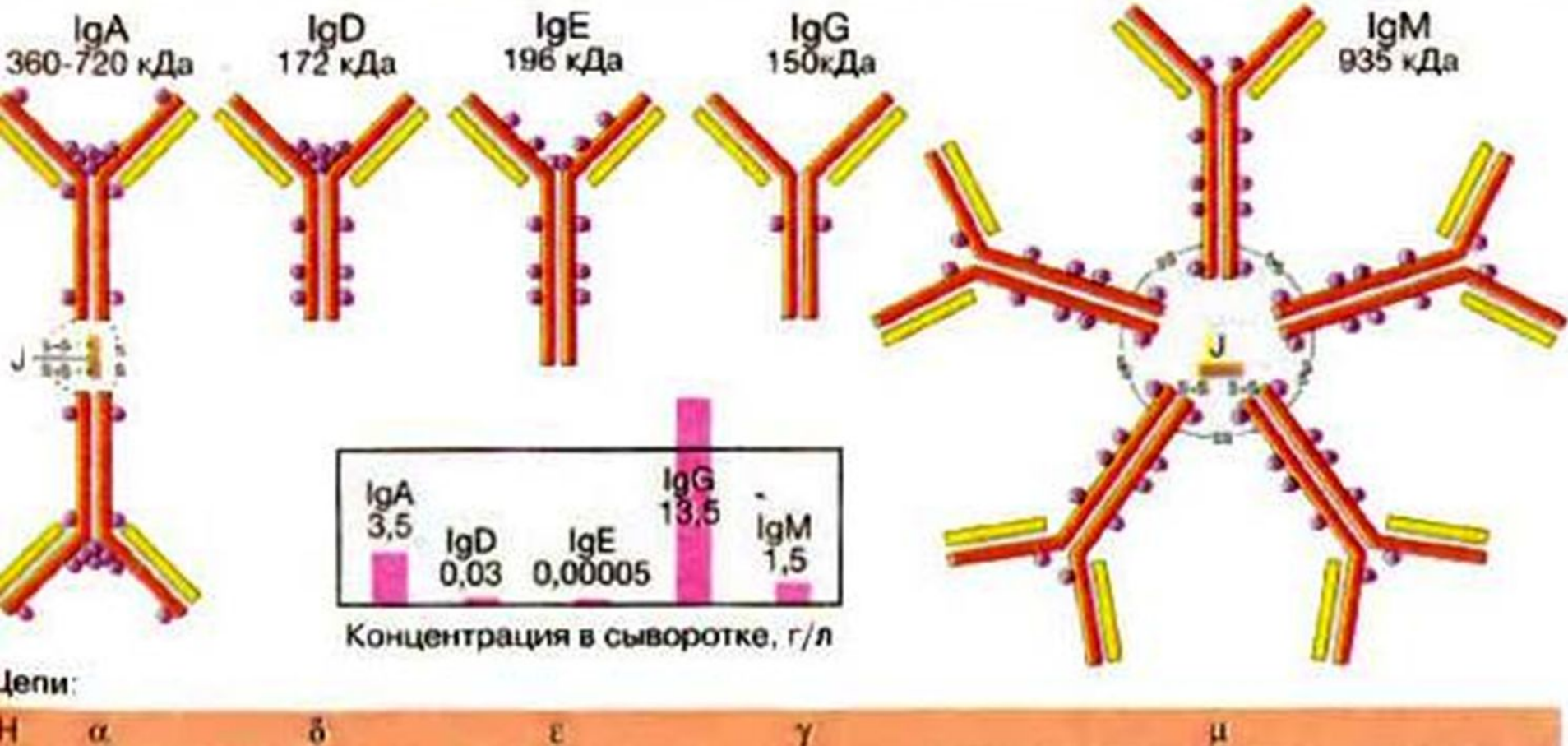
Есть две основные формы
иммуноглобулинов:

Мембрансвязанная (выполняет роль
рецептора В-клетки)

Секреторная (свободно
циркулирующие антитела)



Классы иммуноглобулинов

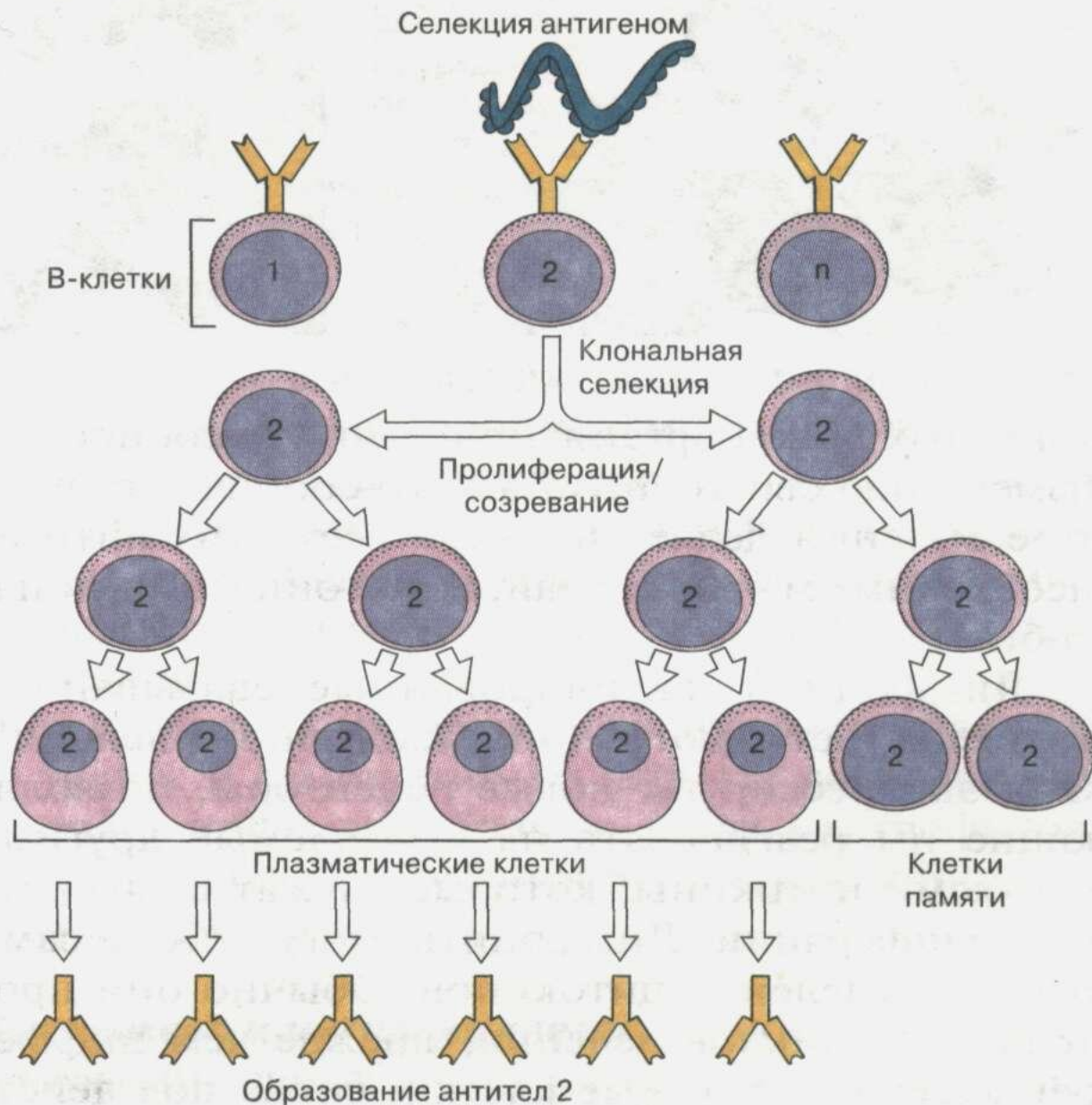


Класс	Тип тяжелой цепи	Активность
IgM	μ (мю)	Первый класс антител, появляющийся в сыворотке после введения антигена; начинает первичный иммунный ответ
IgG	γ (гамма): 1, 2, 3, 4	Основной класс антител в сыворотке; начинает вторичный иммунный ответ
IgA	α (альфа): 1, 2	Основной класс антител, выделяемых с такими секретами, как слюна, слезная жидкость, бронхиальная и кишечная слизь; составляет первую линию обороны организма против бактериальных и вирусных антигенов
IgD	δ (дельта)	Почти не секретируются; связаны с мембранами. АГ-связывающий рецептор зрелых В-клеток
IgE	ϵ (эпсилон)	Защита внешних слизистых оболочек организма путем индукции острой воспалительной реакции. Участвуют в развитии аллергических реакций

Функции иммуноглобулинов

Функциональная активность	IgM	IgG	IgG	IgG	IgG	IgA	IgE	IgD
		1	2	3	4			
Нейтрализация	+	++	++	++	++	++	-	-
Опсонизация	-	++ +	-	++	+	+	-	-
Активация системы комплемента	++ +	++	+	++	-	+	-	-
Сенсибилизация тучных клеток	-	-	-	-	-	-	++ +	-
Транспорт через эпителий	+	-	-	-	-	+++ (димер р)	-	-
Транспорт через плаценту	-	++ +	++ +	++ +	++ +	-	-	-
Диффузия в экстраваскулярные зоны	+/-	++ +	++ +	++ +	++ +	+++ (мономер р)	++	++


Клональная селекция В-клеток



При взаимодействии антигена и Ig-рецептора В-лимфоцита происходит отбор реагирующих В-лимфоцитов.

Этапы гуморального ответа

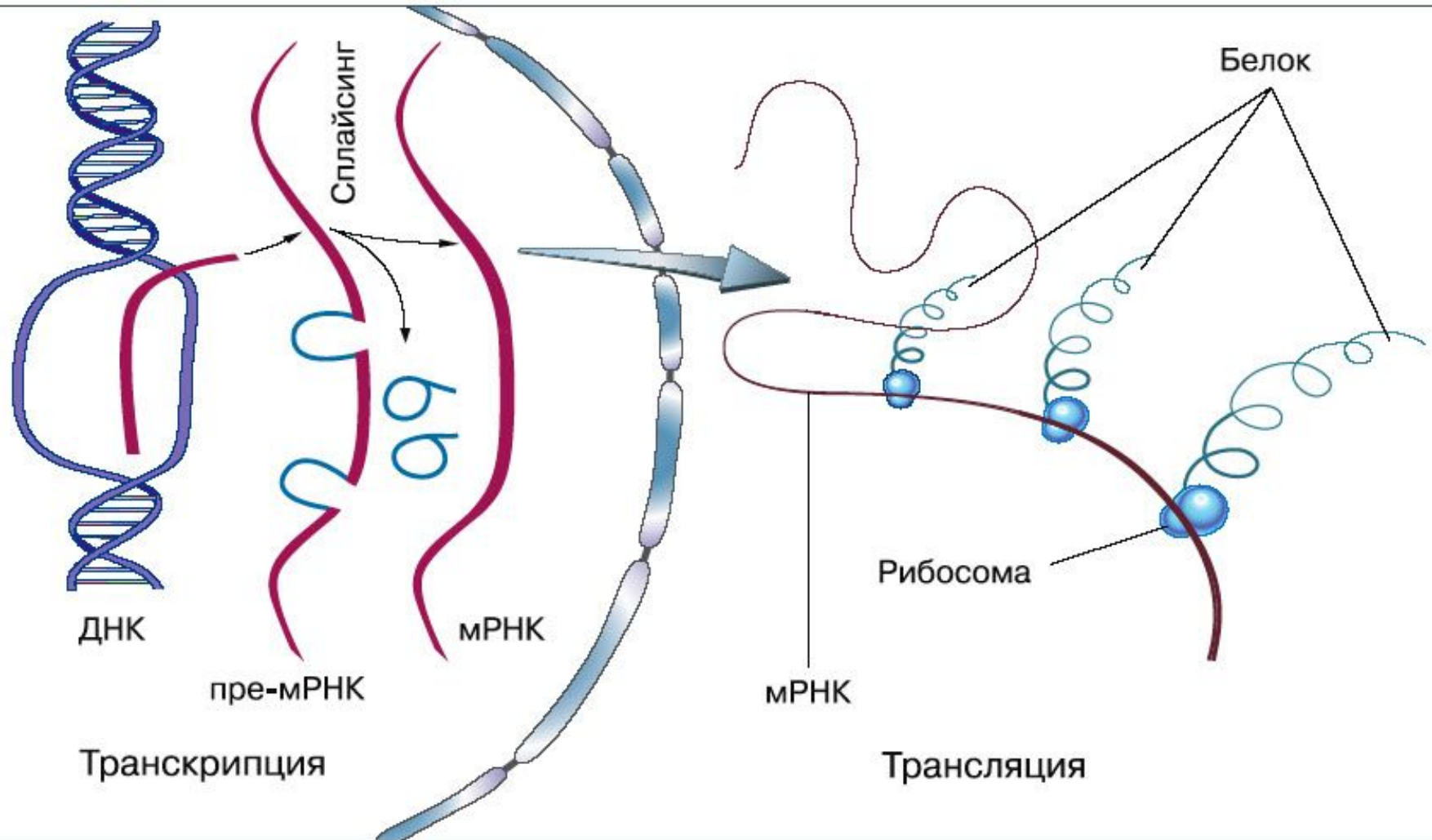
- В-лимфоциты захватывают антиген активируются и процессируют антиген на плазматической мембране в комплексе с белком МНС класса II.
- Зрелая Т-хелперная клетка, прошедшая активацию макрофагом с белком МНС класса II, связывается с активированным В-лимфоцитом, выделяет IL-2, под действием которого В-клетка делится и дифференцируется, превращаясь в плазматическую клетку.
- Зрелая плазматическая клетка секретирует антигенспецифичные иммуноглобулины (антитела).



ИММУНОГЛОБУЛИНЫ: генетическая организация

ГЕНЕТИКА ИММУНИТЕТА. Лекция 2

Реализация генетической информации: классическое представление



У животных гены Ig и TCR в классическом понимании этого термина отсутствуют.
Они возникают de novo во время онтогенеза.

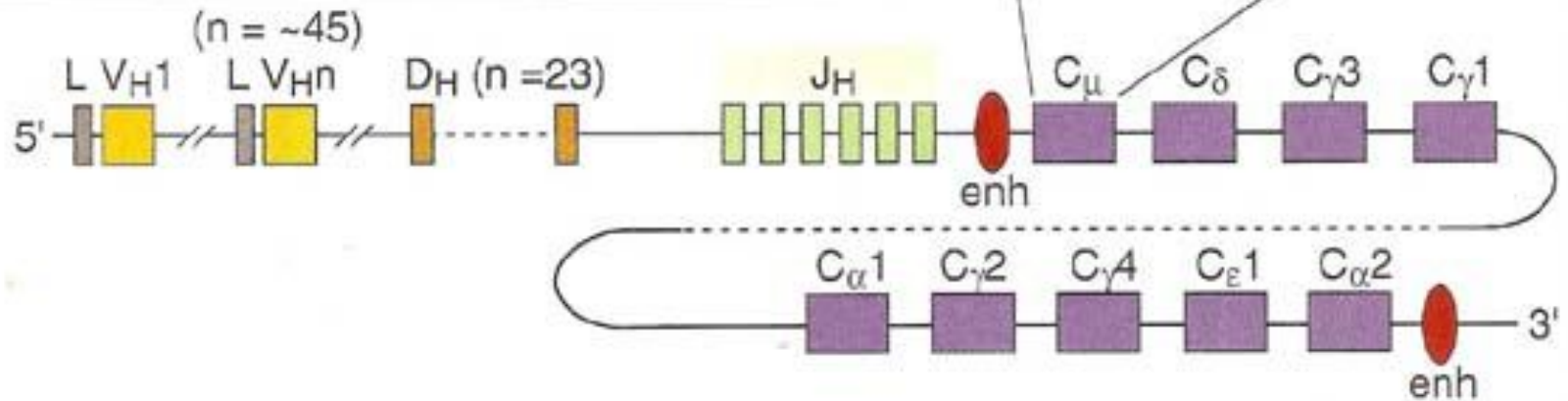


Локализация зародышевых генов Ig на хромосомах

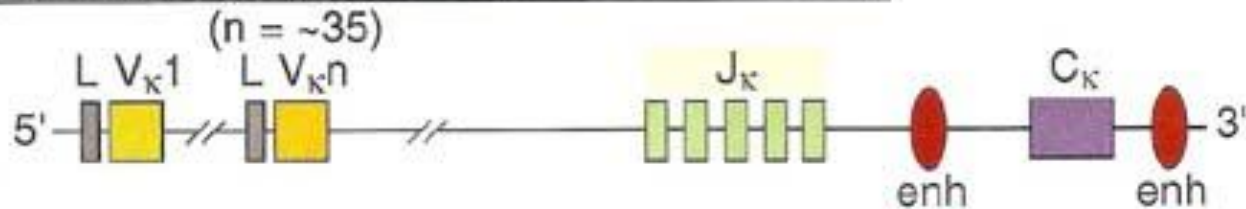
ГЕНЫ Ig	Номер хромосомы	
	человек	мышь
Легкая цепь κ	2	6
Легкая цепь λ	22	16
Тяжелые цепи	14	12

Сегментарная организация генов Ig

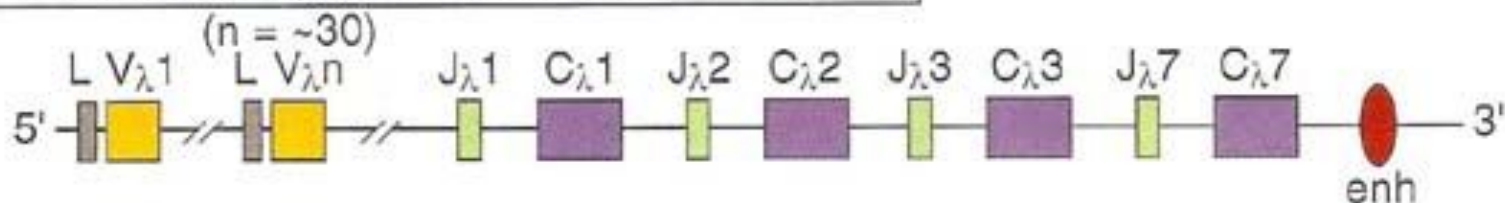
H chain locus (1250 kb; chromosome 14)



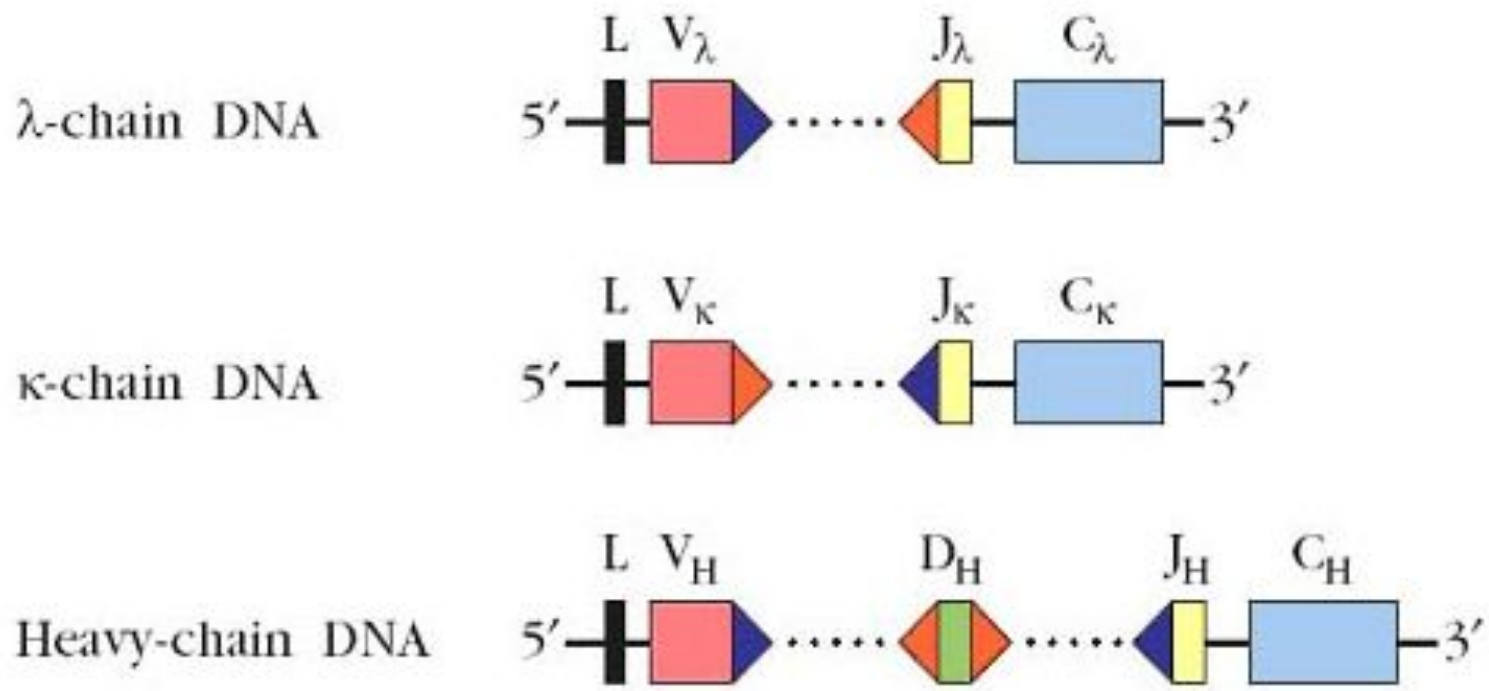
κ chain locus (1820 kb; chromosome 2)



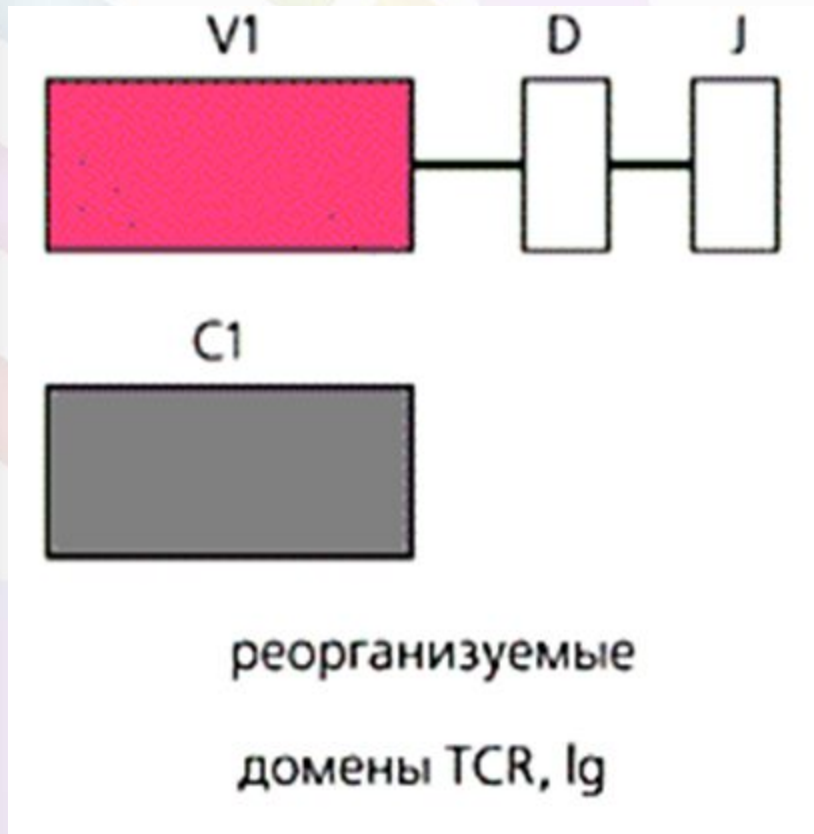
λ chain locus (1050 kb; chromosome 22)



Зрелые гены Ig



Основные варианты зародышевых генов Ig (сегментарная организация)



**В формировании
вариабельных V-доменов
Н-цепей участвуют три
генных сегмента**

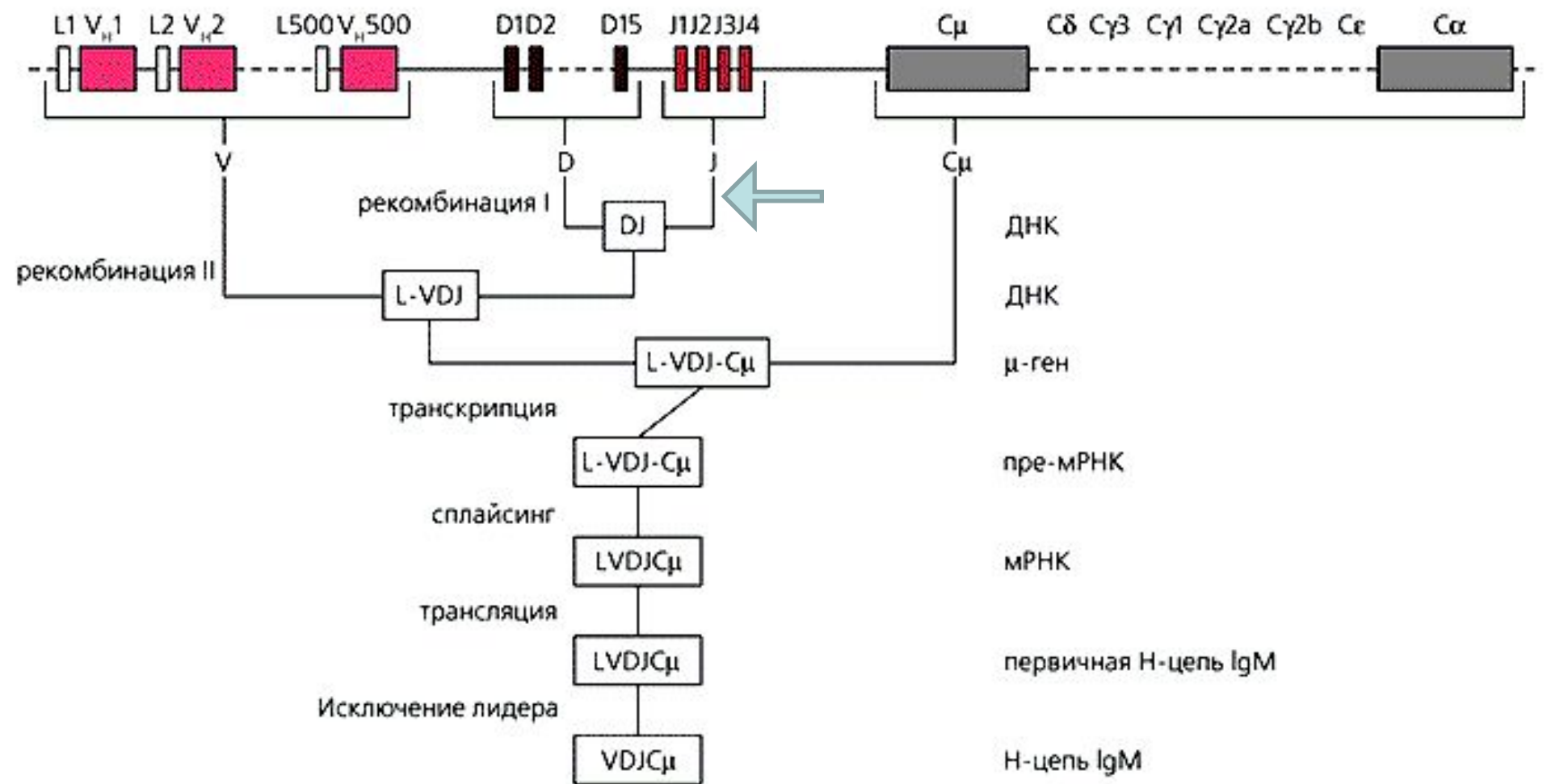
1. **вариабельный (V-сегмент)**
2. **D-сегмент** (*от англ. diversity - разнообразие*)
3. **j-сегмент** (*от англ. Joining - соединяющий*).

**C-области Н-цепей разных
классов кодируются
отдельными генами**

Программа сборки зрелых генов Ig

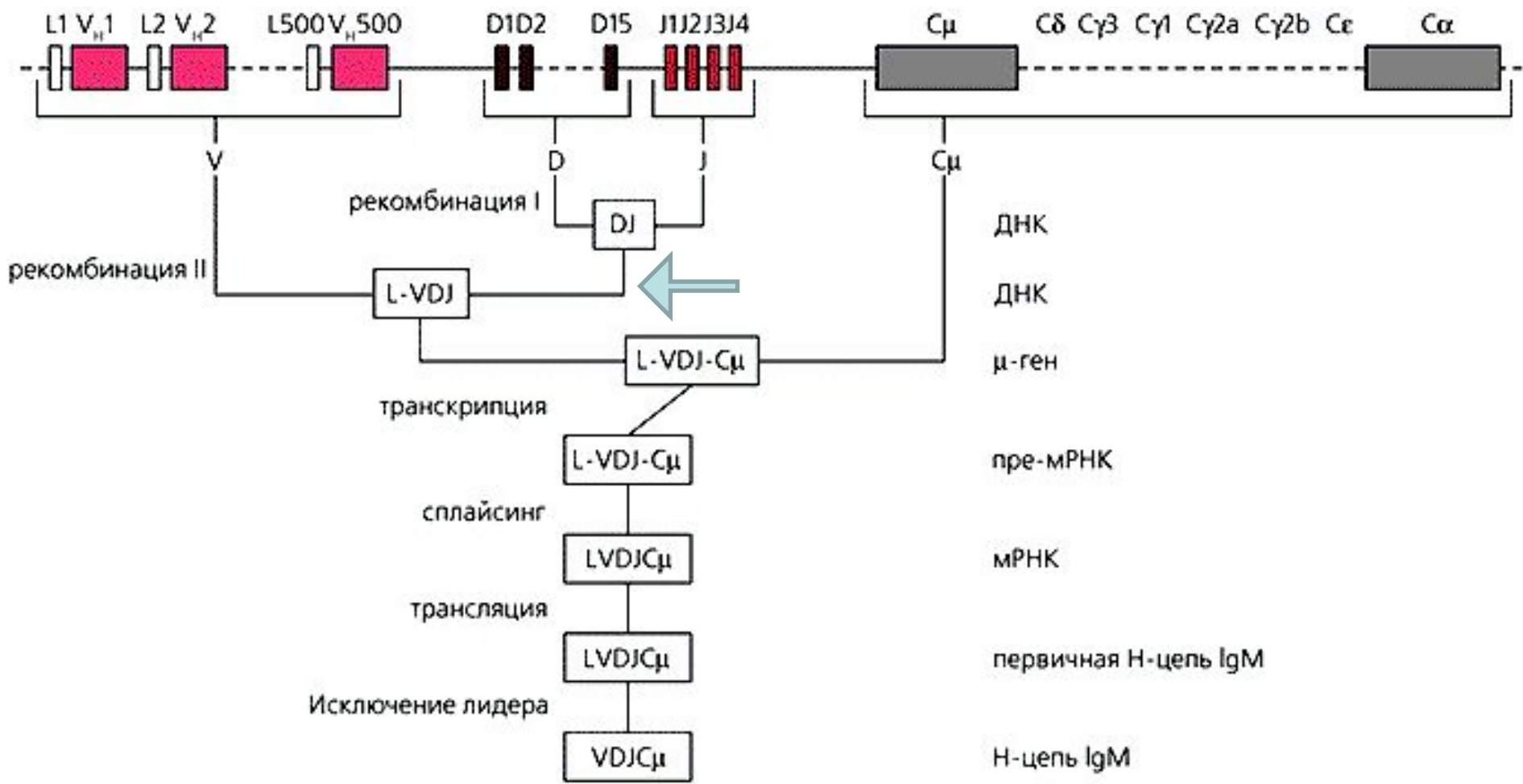
1. Перестройки в генах H-цепей
2. Перестройки генов L-цепей
3. Класс-переключающая перестройка

Рекомбинация генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов (V, D, J и C)



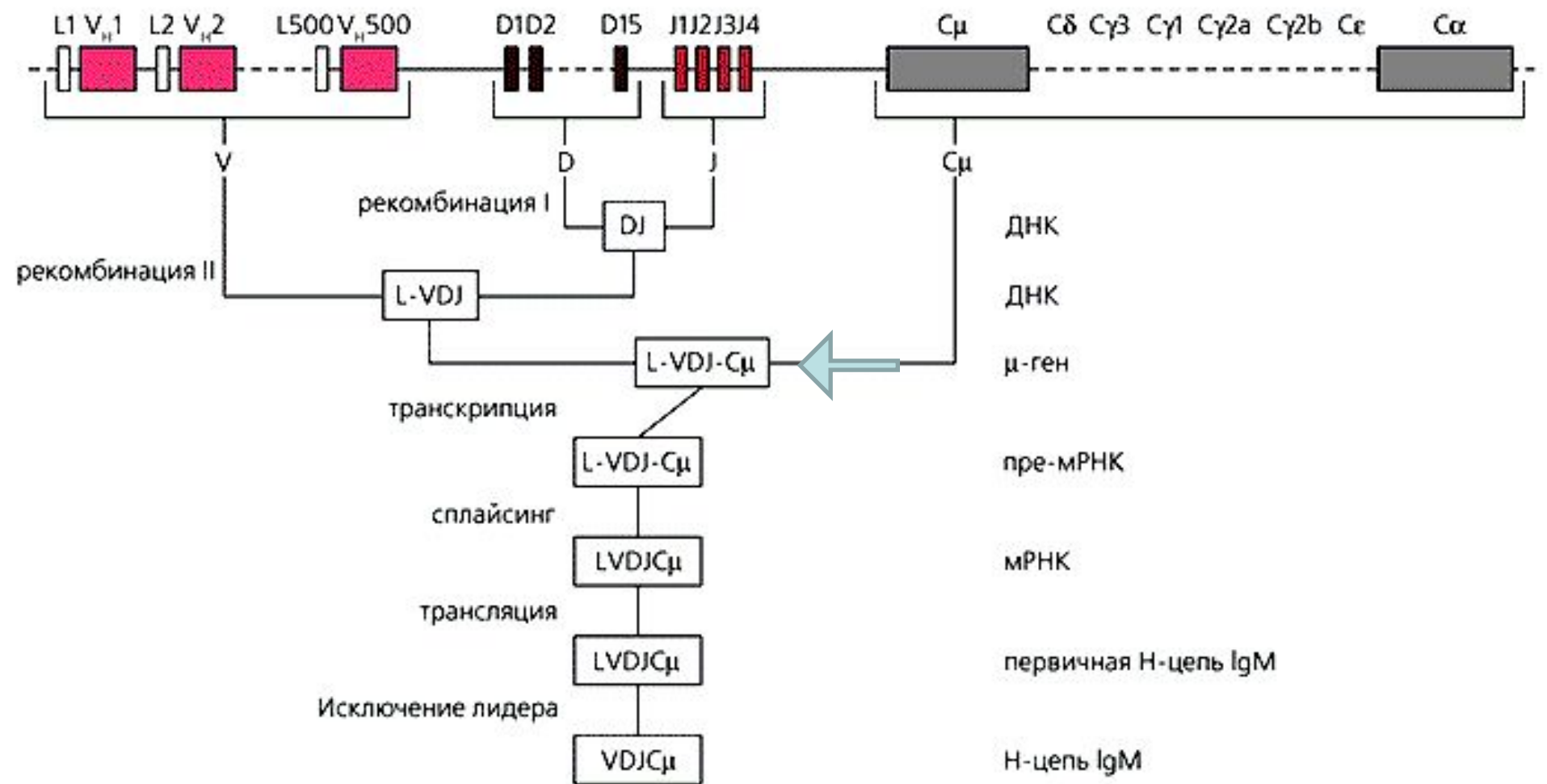
РЕКОМБИНАЦИЯ 1. объединение одного из 15 D-зародышевых генов с одним из 4 J-зародышевых генов

Рекомбинация генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов (V, D, J и C)

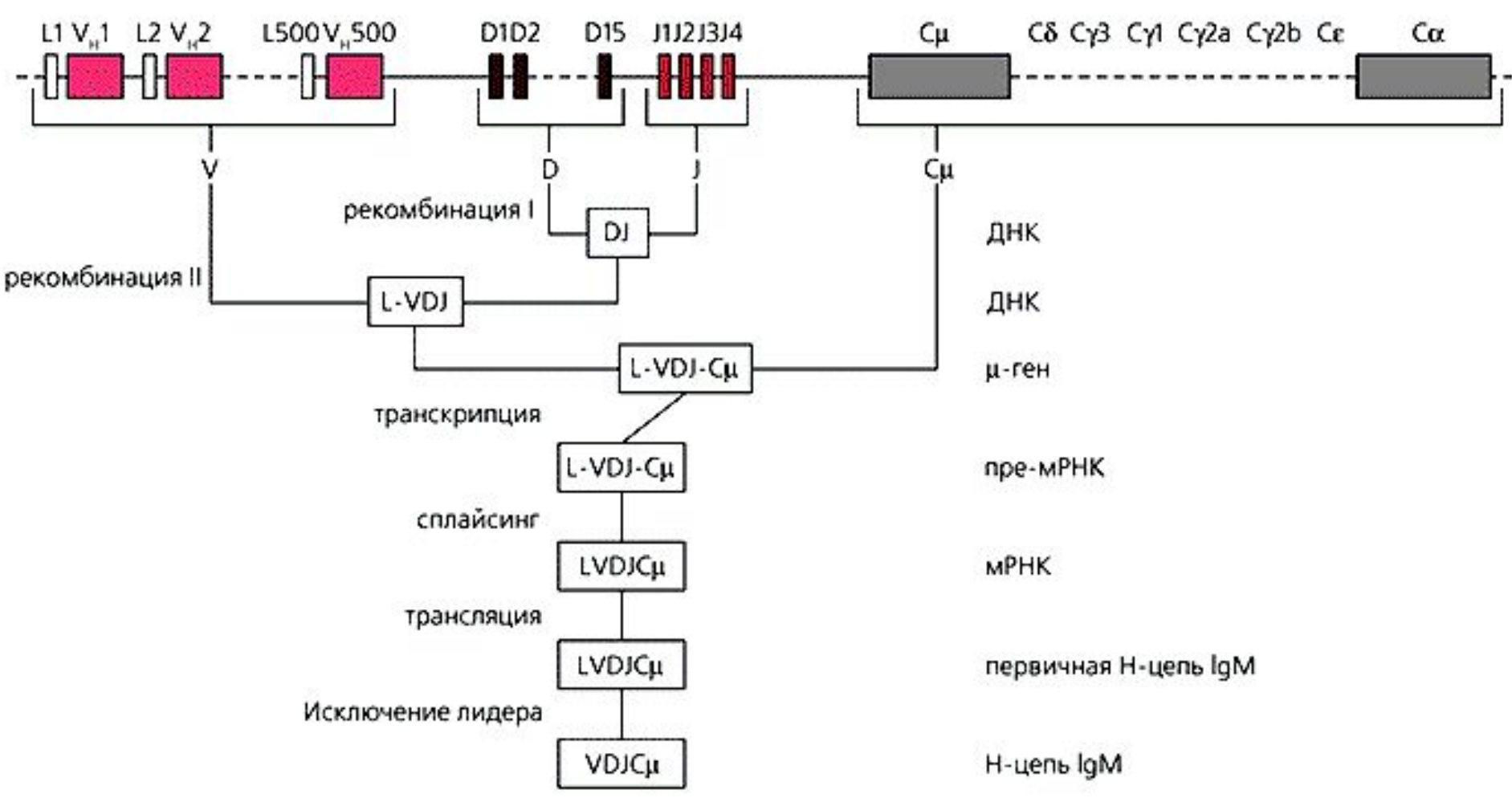


РЕКОМБИНАЦИЯ 2. объединение одного из 500 V_H-генов с DJ

Рекомбинация генов, кодирующих тяжелые цепи иммуноглобулинов (V, D, J и C)



РЕКОМБИНАЦИЯ 3. формирование VDJ-C_μ-локуса.



КЛАСС ПЕРЕКЛЮЧАЮЩАЯ ПЕРЕСТРОЙКА
 Особенность реорганизации генома В-клеток состоит в переключении контроля синтеза Ig одного класса на другой при сохранении контроля специфичности за счет реорганизованного VDJ-локуса

Сегментарная генетическая организация L-цепей Ig

æ-локус человека



В формировании зрелого гена L-цепи участвуют 3 генных сегмента:

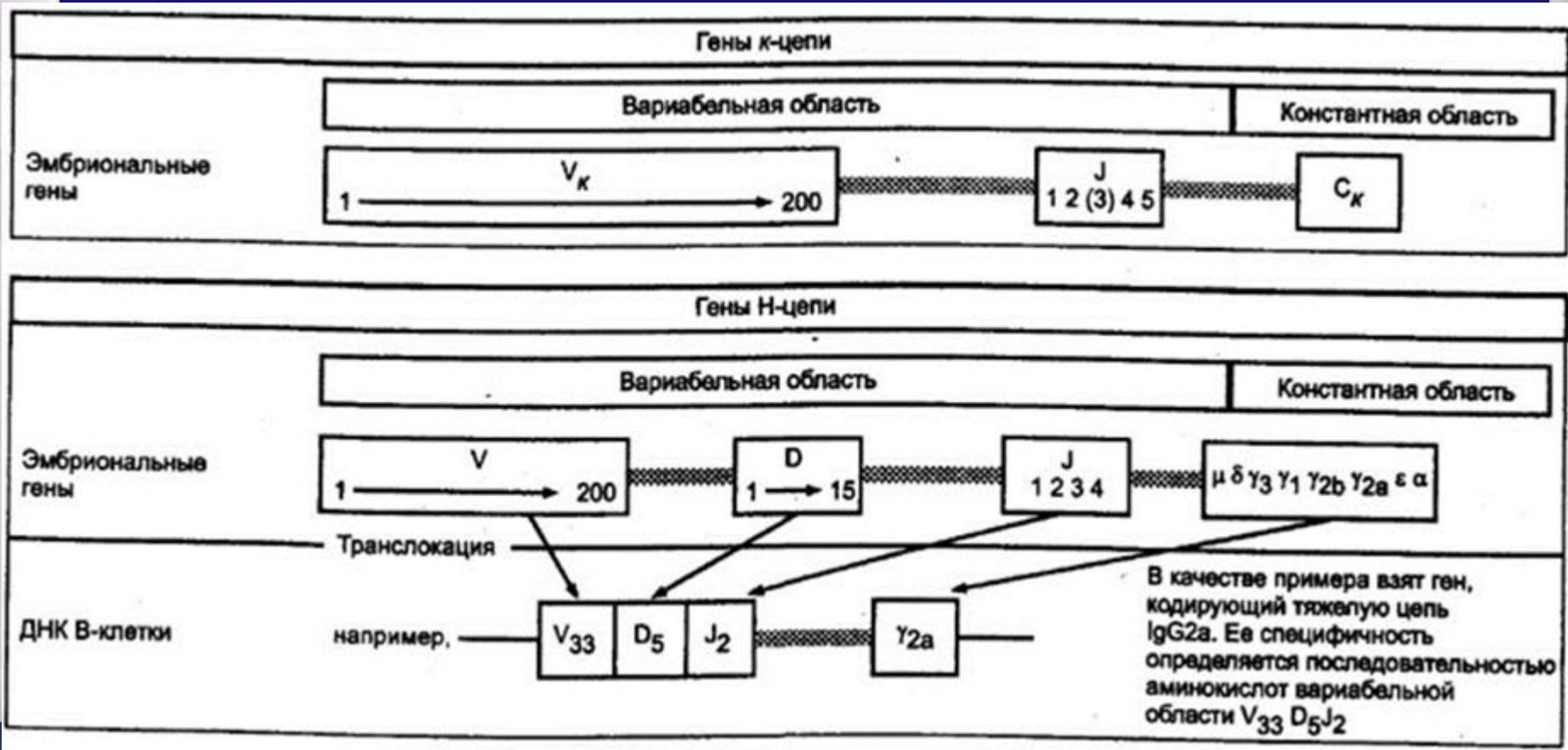
V-сегмент и J-сегмент кодируют V-домен,
C-сегмент кодирует константный C-домен

Каппа локус состоит из большого количества V_æ генных сегментов, собранных в группы, пяти J_æ и одного C_æ сегмента. Такой тип организации называется сегментарным

Лямбда локус содержит много V_λ сегментов и семь пар близкорасположенных J_λ - C_λ. Три из них являются псевдогенами (y).

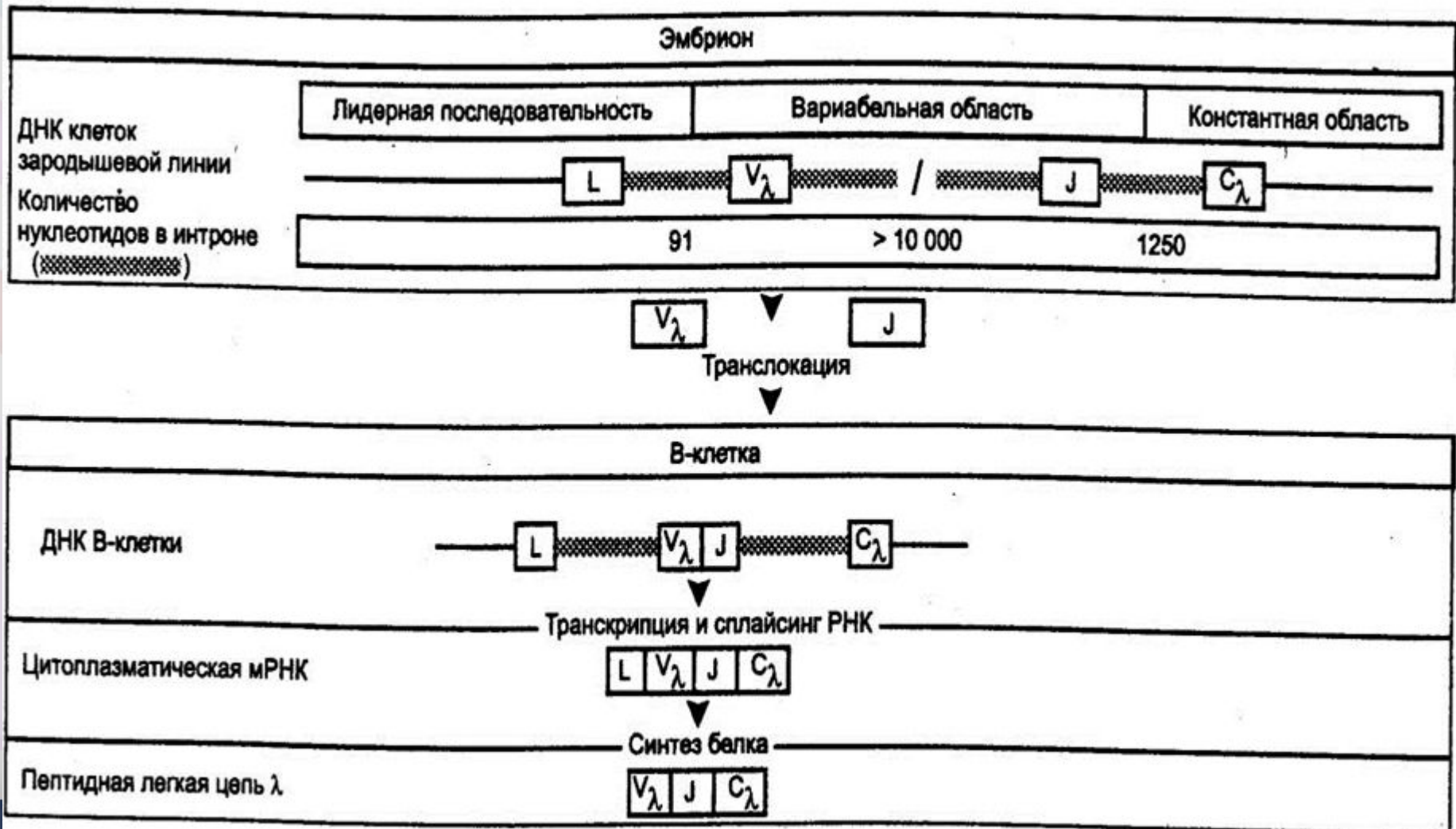
Этапы перестройки зародышевых генов L цепей

1. перестройка локуса каппа (κ) – κ -локус одного хромосомного гомолога перестраивается, если в перестройка оказалась нефункциональной, то есть не привела к появлению полноценного гена, то рекомбинация происходит в κ -локусе на гомологичной хромосоме



Этапы перестройки зародышевых генов L цепей

2. перестройки в лямбда (λ) локусе – начинаются при неудачной перестройке в æ-локусах.

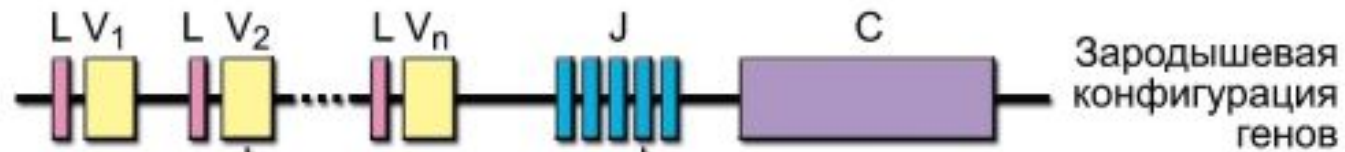


Этапы перестройки зародышевых генов L цепей

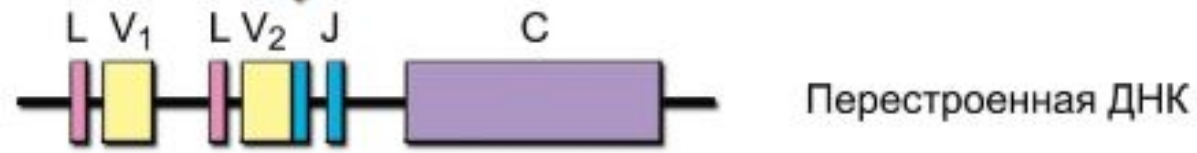
3. апоптоз – если все четыре локуса перестроились неудачно, то клетка превращается в 0-клетку и подвергается апоптозу.

Если перестройка одного из локусов привела к образованию функционального гена, то рекомбинация остальных локусов блокируется

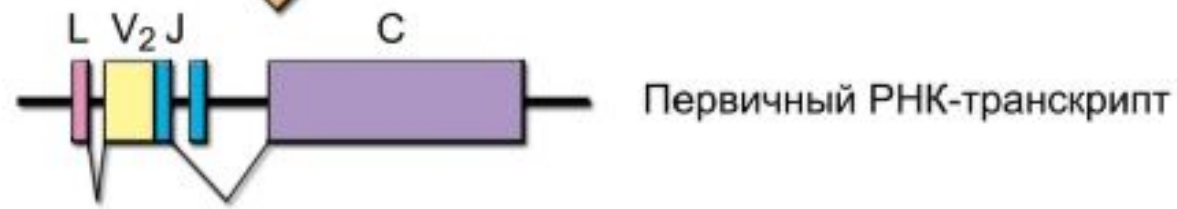
В лимфоците экспрессия гена происходит только на одной из двух гомологичных хромосом и синтезируется только один тип L-цепей (λ или κ). Этот феномен (**изотипического и аллельного исключения**) лежит в основе ключевого принципа функционирования иммунной системы – **принципа клональной селекции**



VJ-рекомбинация



Транскрипция



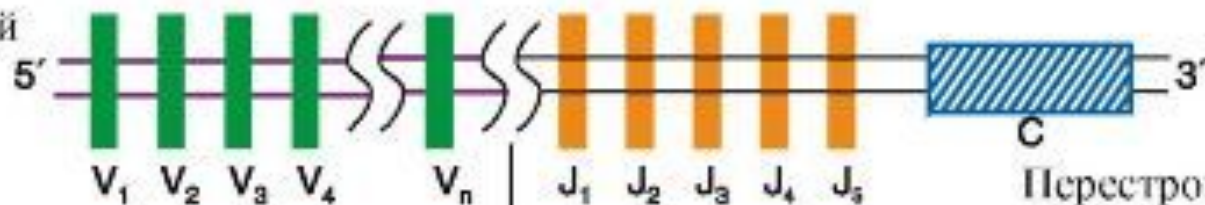
Сплайсинг РНК



Трансляция

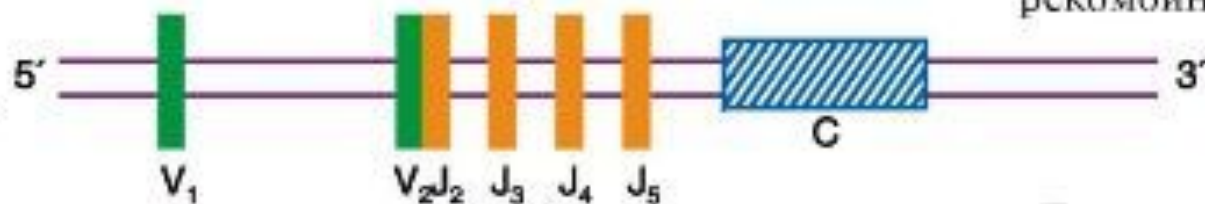


ДНК
в зародышевой
стволовой
клетке



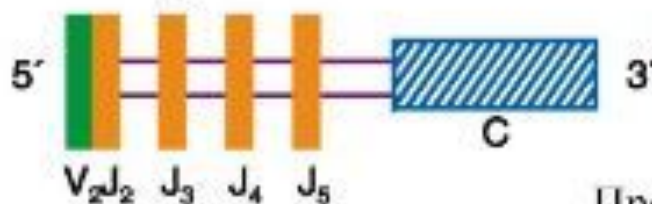
Перестройка генов
за счет соматической
рекомбинации

ДНК
В-лимфоцита



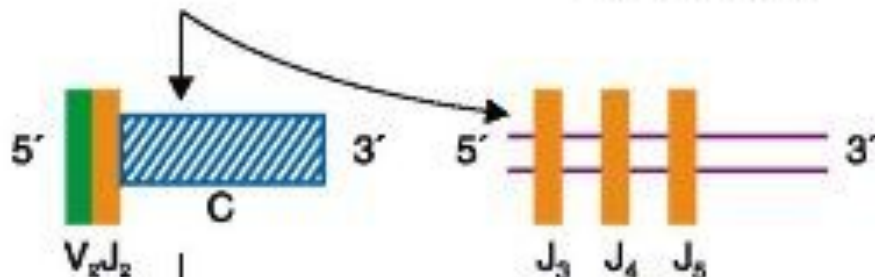
Транскрипция

Первичный
транскрипт
(пре-мРНК)



Процессинг

Зрелая мРНК

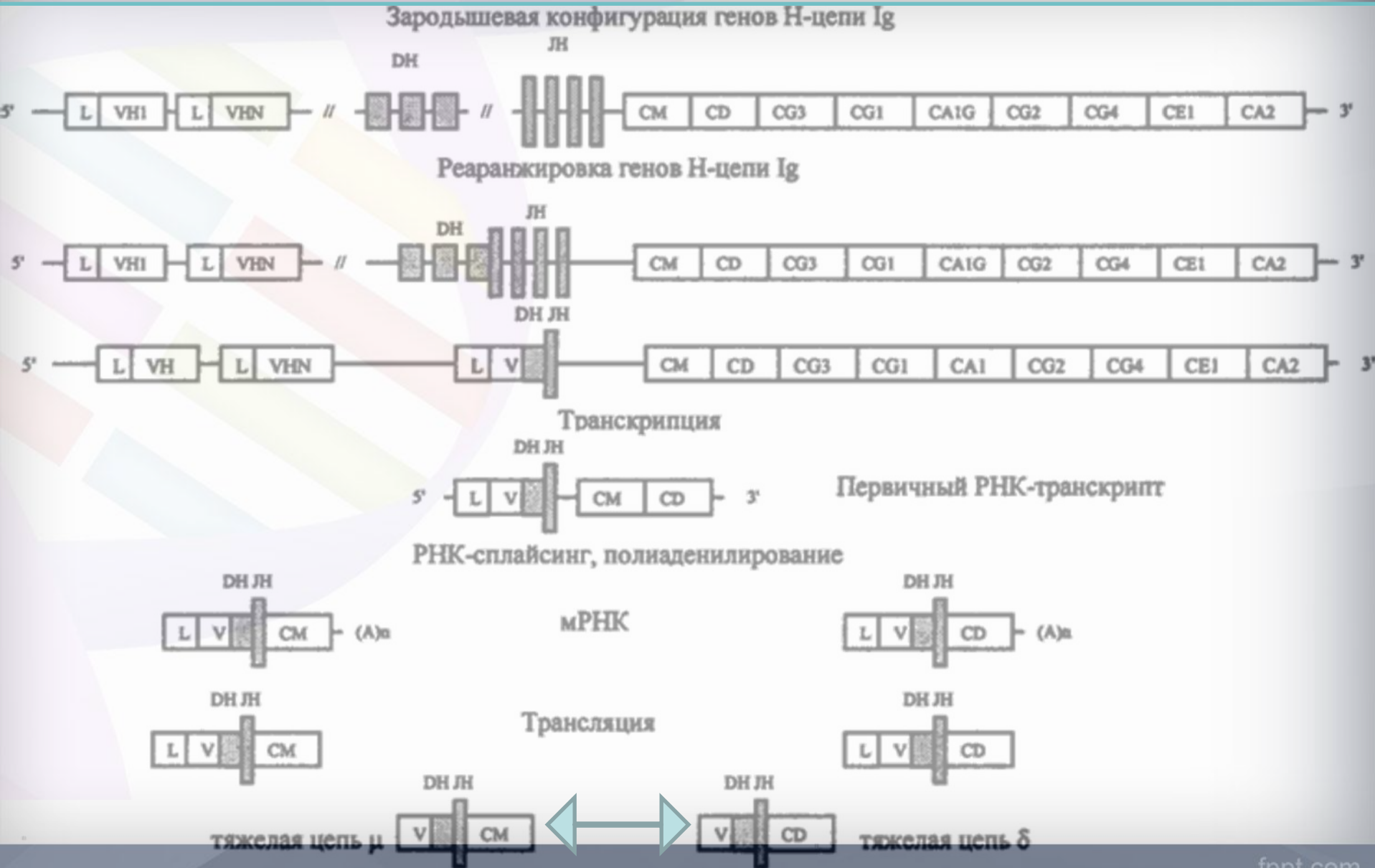


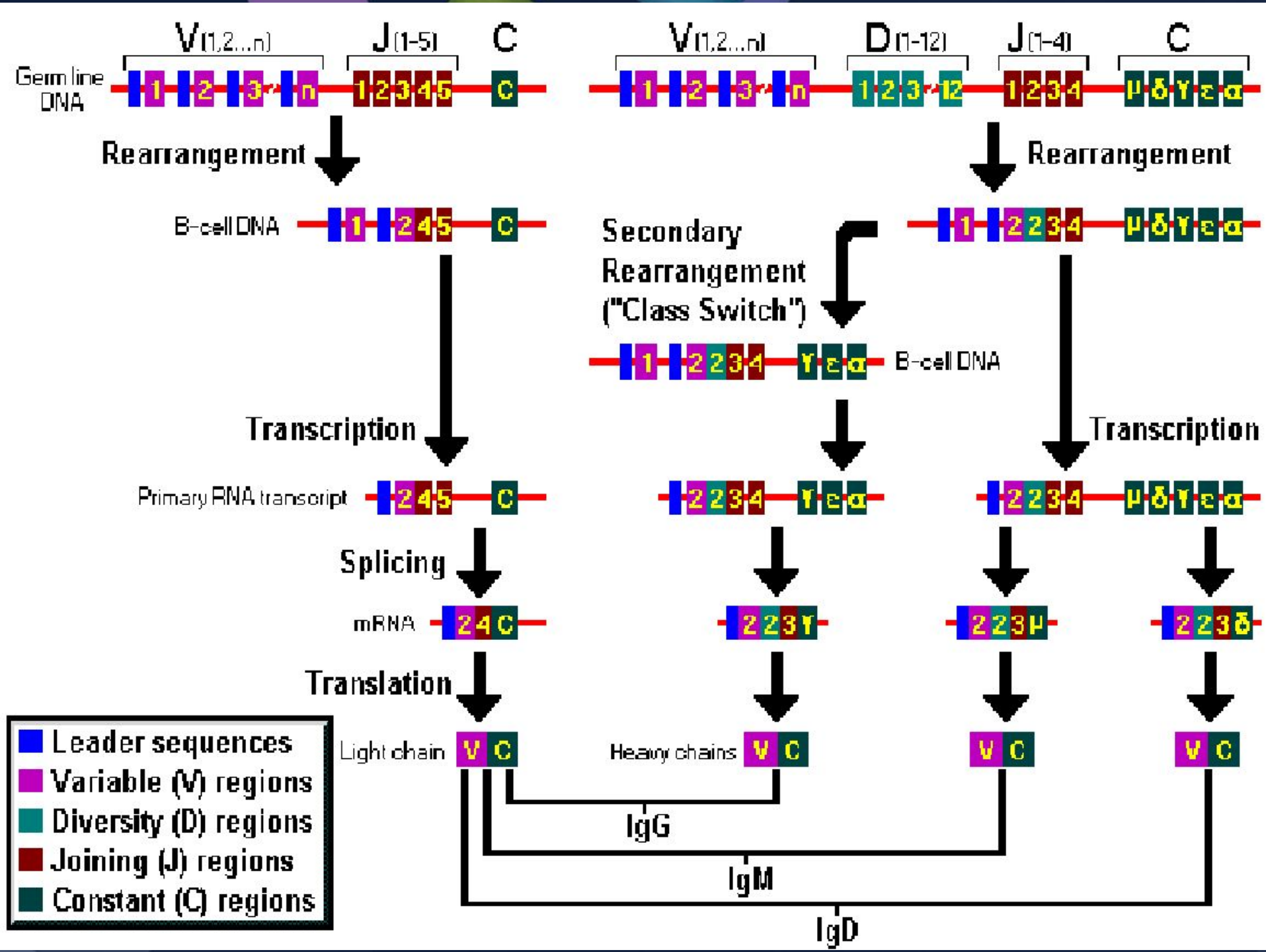
Трансляция

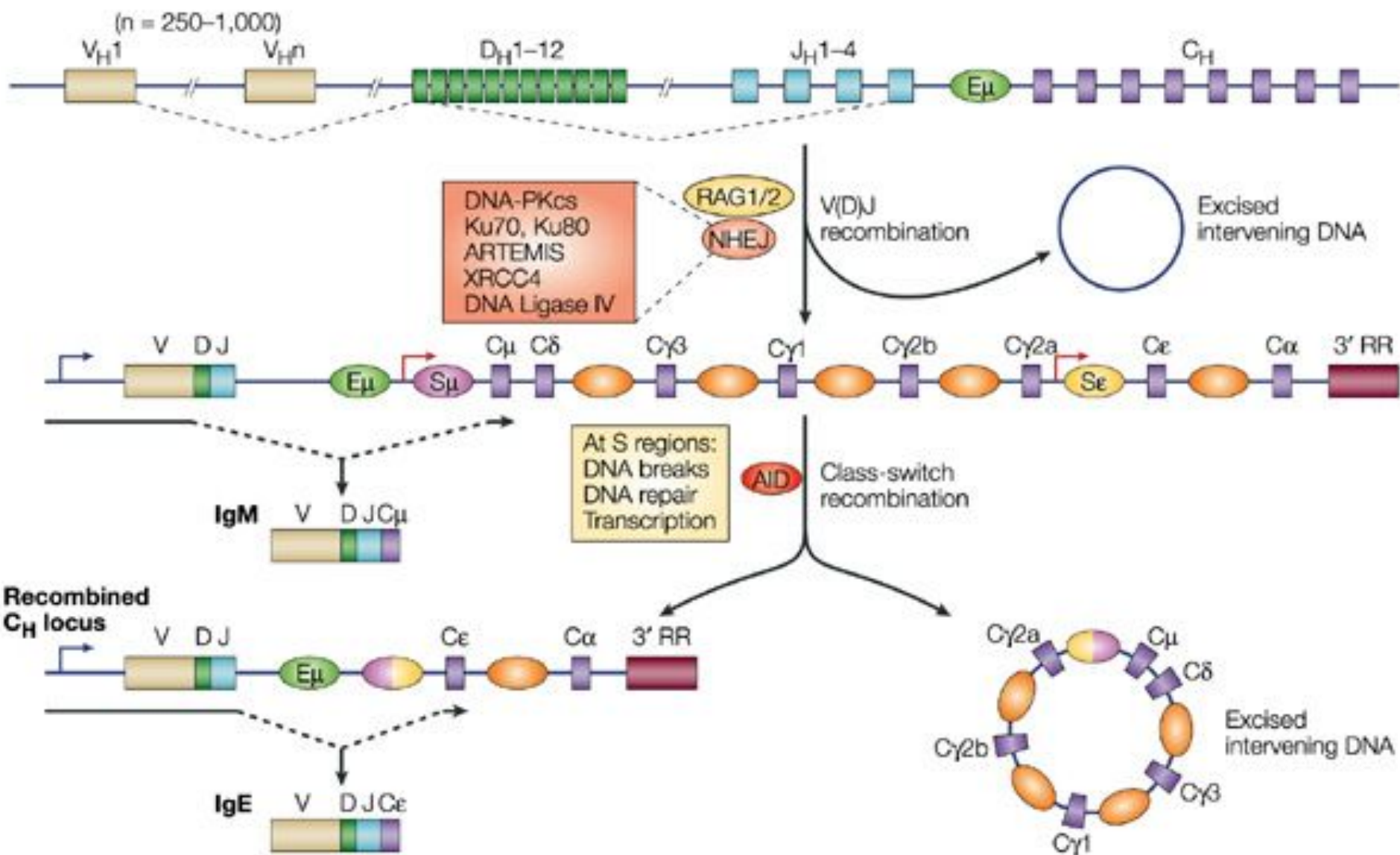
k-Цепь Ig



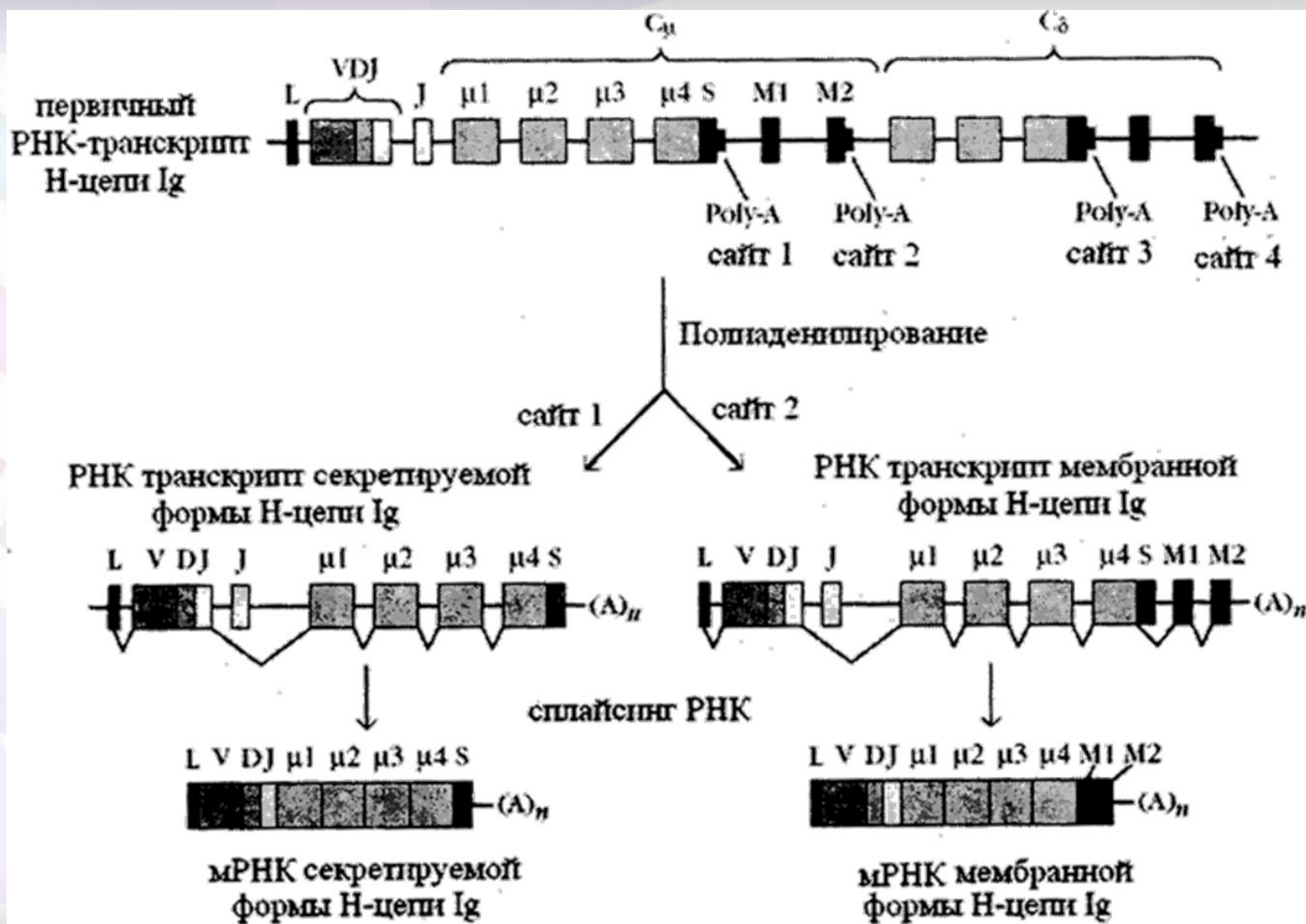
Класс-переключающая рекомбинация





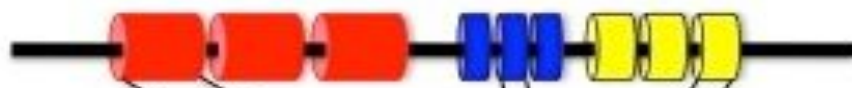


Формирование мембранных и секретиремых иммуноглобулинов

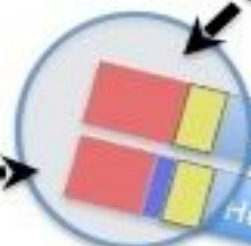


Heavy chain genome sequence (V, D, J)

Light chain genome sequence (V, J)



Rearranged DNA










Combined binding site

An antibody is made up of pairs of heavy and light chains



Этапы созревания В-лимфоцитов

Клетка	Перестройка Ig	Синтез Ig
СКК	D с J на 12 Xp	Нет
Пре-В-клетка	V с DJ и Cμ	μ-цепь
Незрелая В-клетка	V с J и κ или λ на 22 Xp	Полноценный Ig
Зрелая В-клетка	VDJ с $\mu, \sigma, \gamma, \alpha, \epsilon$	Мембранный Ig с H-цепью
АОК	Делеция промежуточных последовательностей	Синтез и секреция Ig

	Stem cell	Early pro-B cell	Late pro-B cell	Large pre-B cell	Small pre-B cell	Immature B cell	Mature B cell
							
H-chain genes	Germline	D-J rearranged	V-DJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged	VDJ rearranged
L-chain genes	Germline	Germline	Germline	Germline	V-J rearrangement	VJ rearranged	VJ rearranged
Surface Ig	Absent	Absent	Absent	μ chain at surface as part of pre-B receptor	μ chain in cytoplasm and at surface	IgM expressed on cell surface	IgD and IgM made from alternatively spliced H-chain transcripts

H-chain genes

L-chain genes

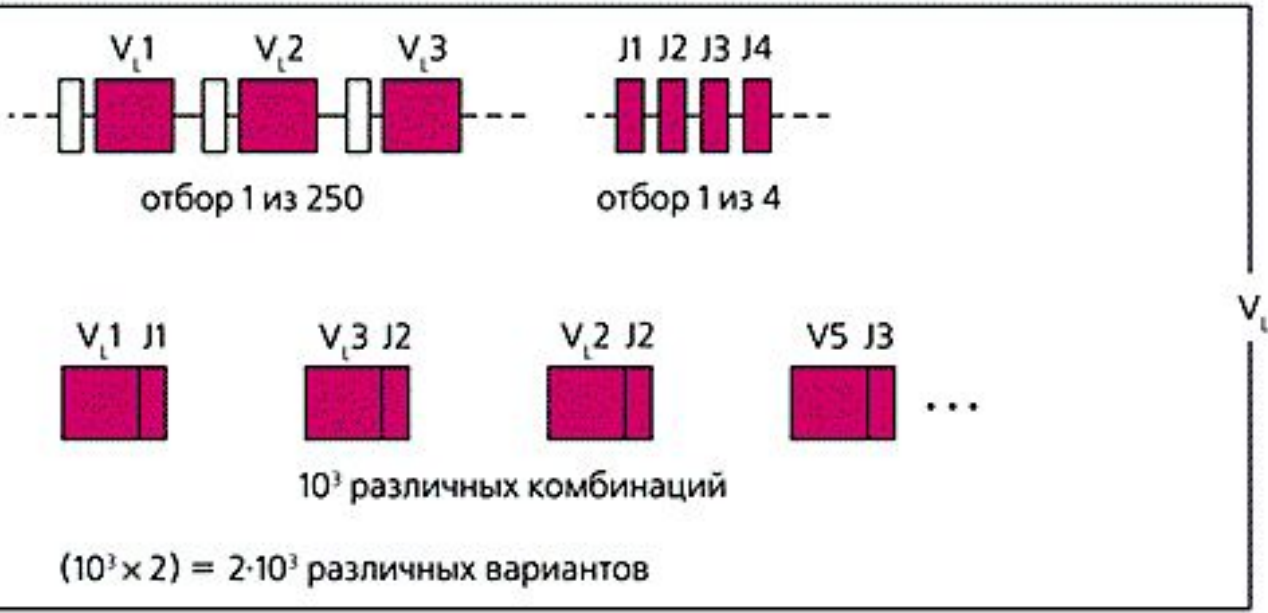
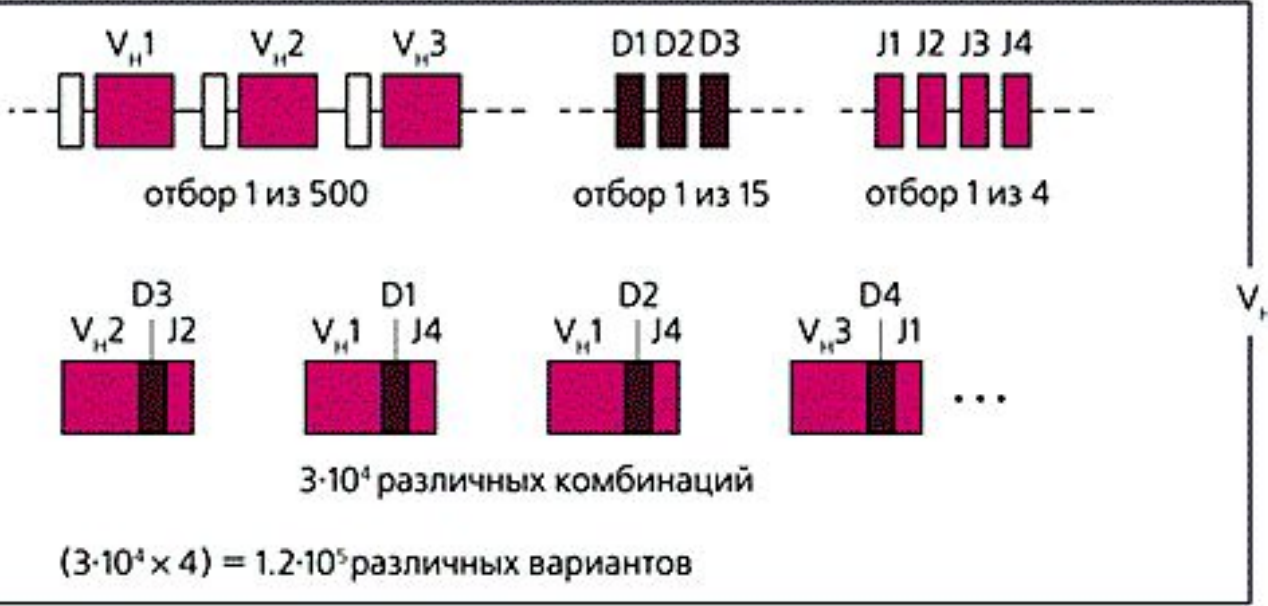
Surface Ig

Генерация разнообразия Ig

Основной механизм - комбинативное сочетание зародышевых сегментов.

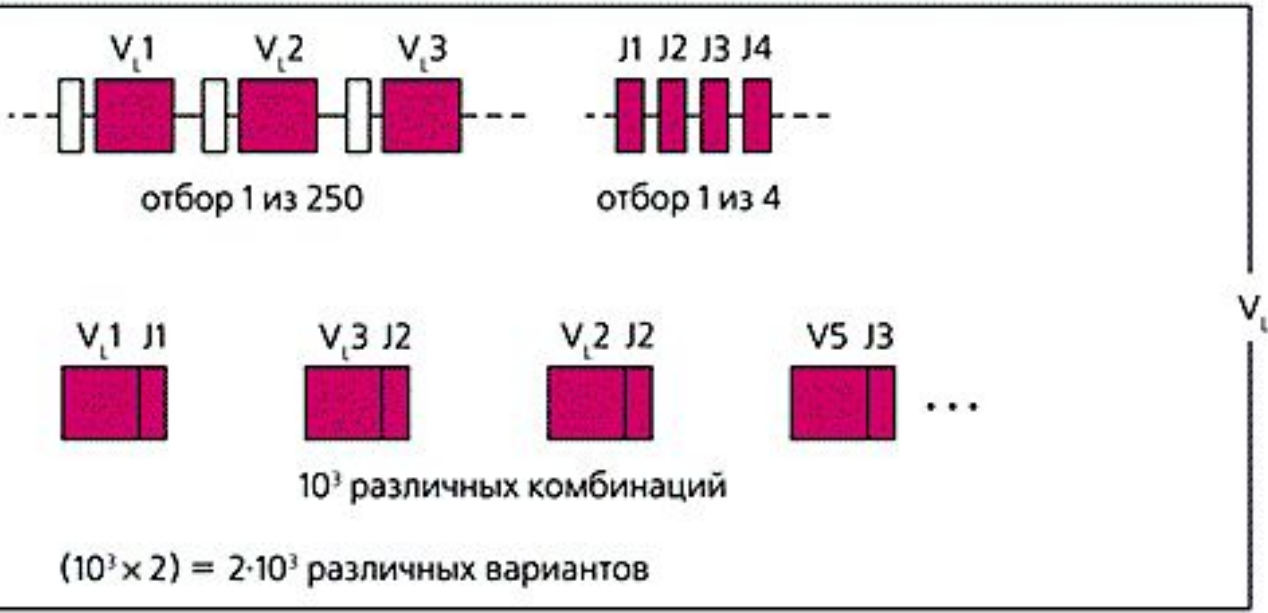
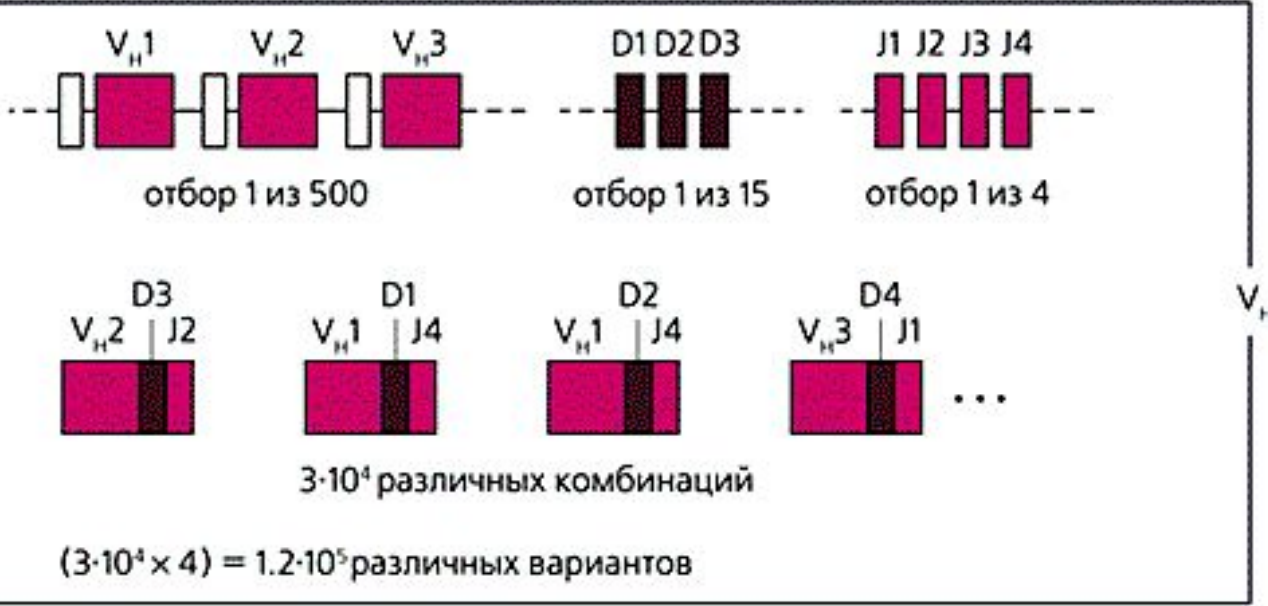
Дополнительные:

1. смещение рекомбинационной рамки в месте их соединения;
2. генная конверсия (v генные сегменты могут обмениваться участками ДНК с псевдогенами);
3. соматическое мутирование переменных генных сегментов



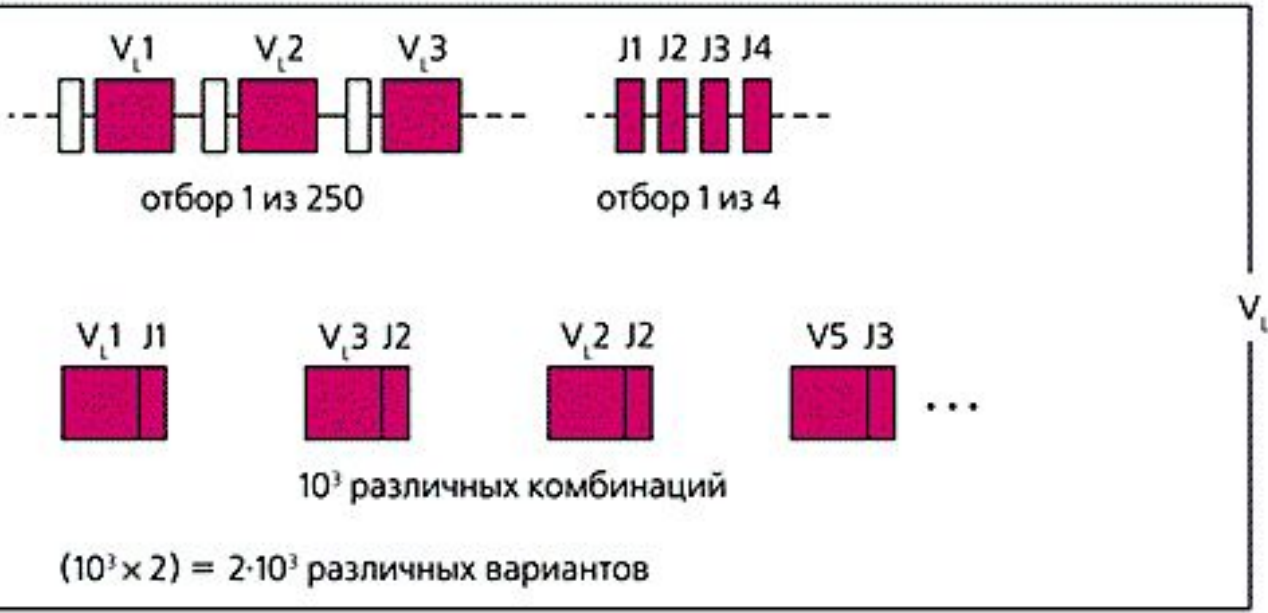
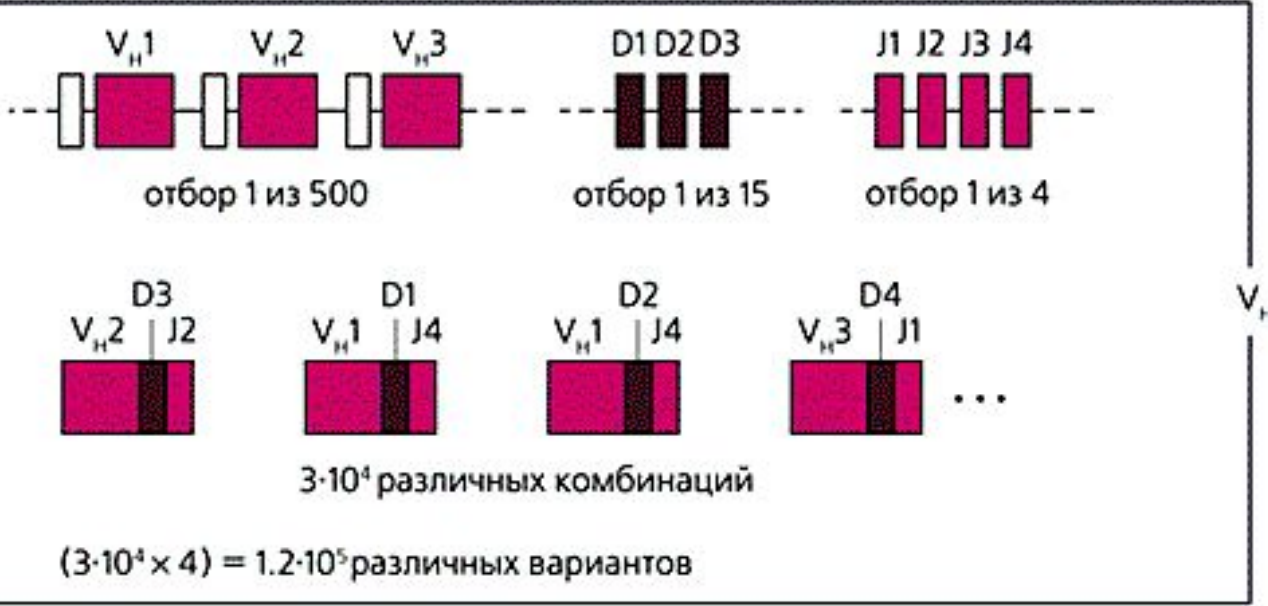
общая вариабельность иммуноглобулинов
 $1.2 \cdot 10^5 \times 2 \cdot 10^3 = 2.4 \cdot 10^8$

Схема случайных,
 разнообразных
 сочетаний генных
 сегментов,
 контролирующих V_H -
 домены тяжелых
 цепей
 иммуноглобулинов



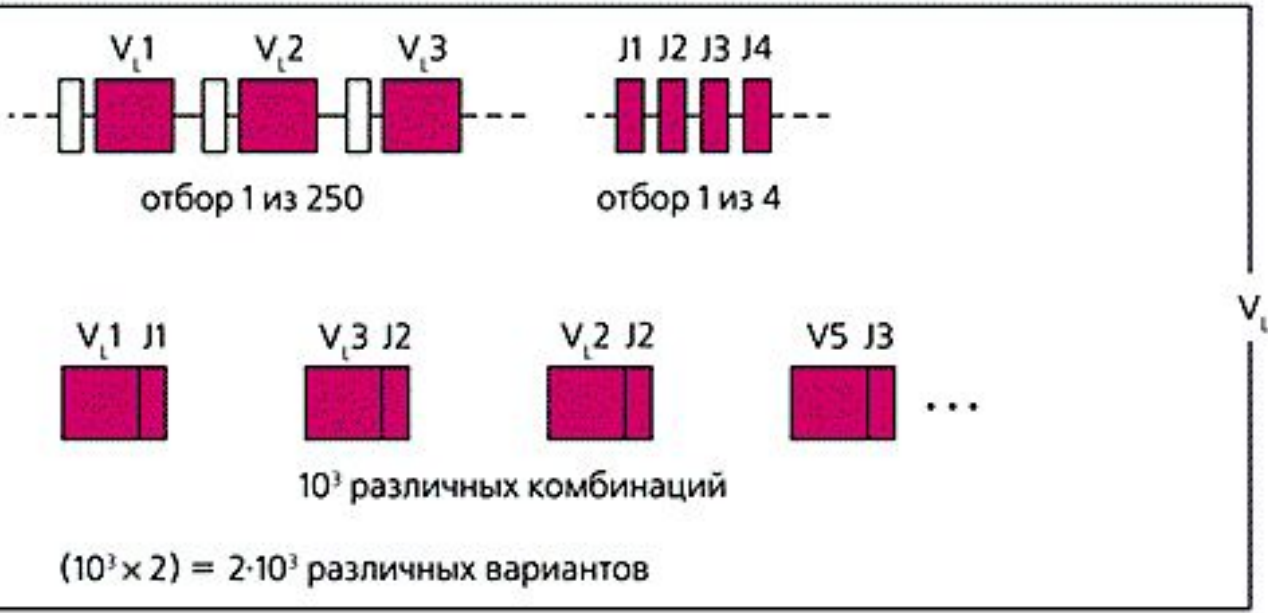
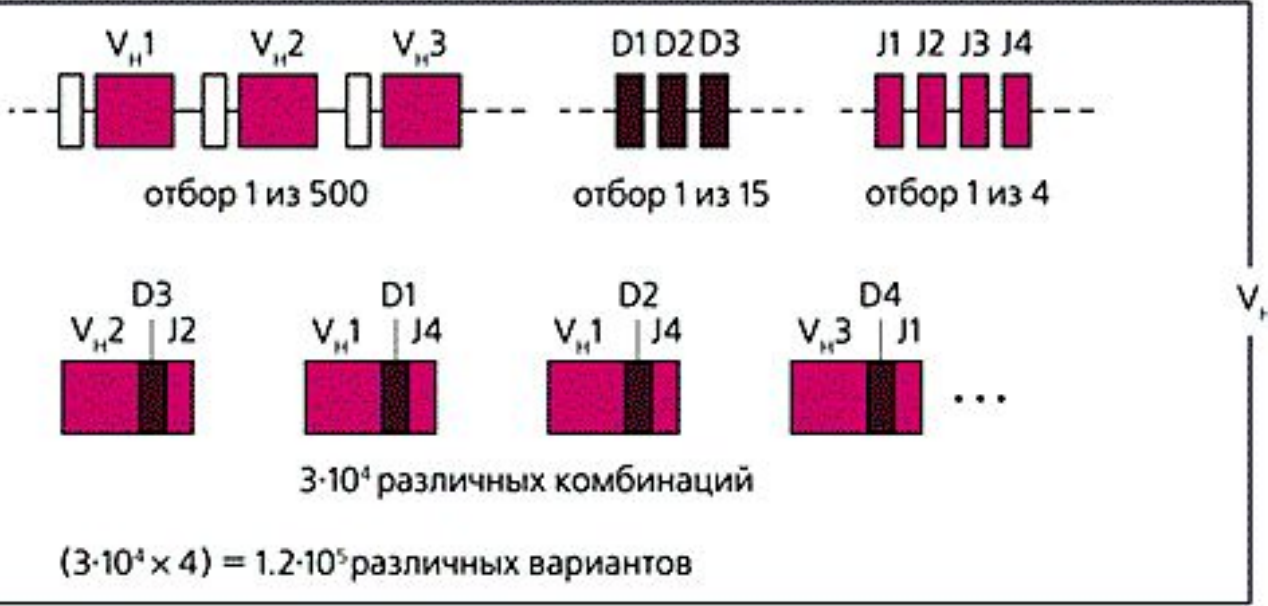
общая вариабельность иммуноглобулинов
 $1.2 \cdot 10^5 \times 2 \cdot 10^3 = 2.4 \cdot 10^8$

В результате рекомбинации сегментов возможно образование до 30 тыс. вариантов специфических антител.



общая вариабельность иммуноглобулинов
 $1.2 \cdot 10^5 \times 2 \cdot 10^3 = 2.4 \cdot 10^8$

С учетом нарушений при рекомбинации, связанных с включением пограничных нуклеотидов справа и слева от D- и J-мини-генов число вариантов тяжелых цепей увеличивается до 120 тыс.



общая вариабельность иммуноглобулинов
 $1.2 \cdot 10^5 \times 2 \cdot 10^3 = 2.4 \cdot 10^8$

Аналогичные расчеты касаются и генов для V_L . Общая вариабельность как результат взаимодействия V_H с V_L - $1.2 \cdot 10^5 \times 2 \cdot 10^3 = 2.4 \cdot 10^8$.