

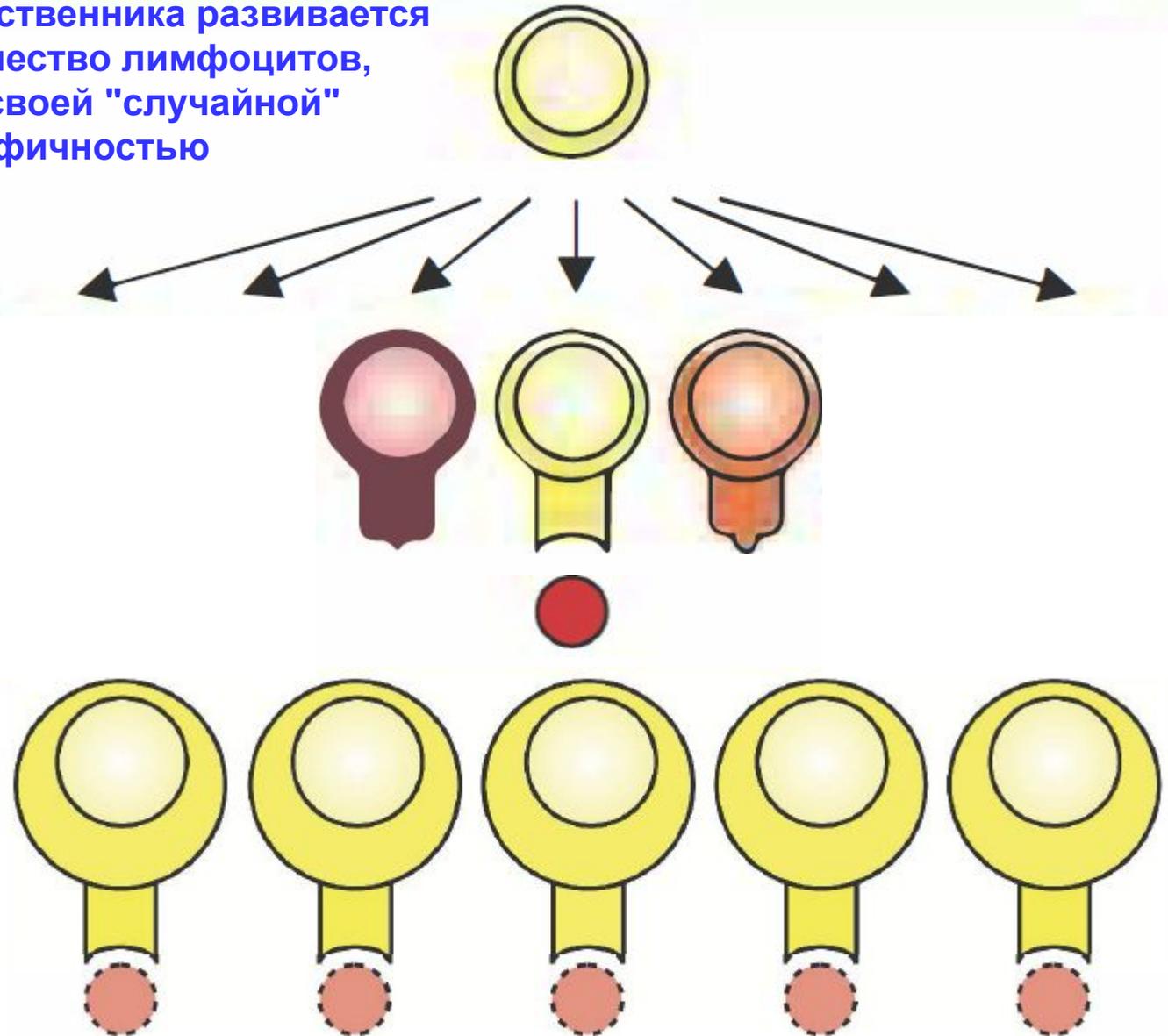
Соматический гипермутагенез

Клональная селекция лимфоцитов

Из клетки-предшественника развивается большое количество лимфоцитов, каждый - со своей "случайной" специфичностью

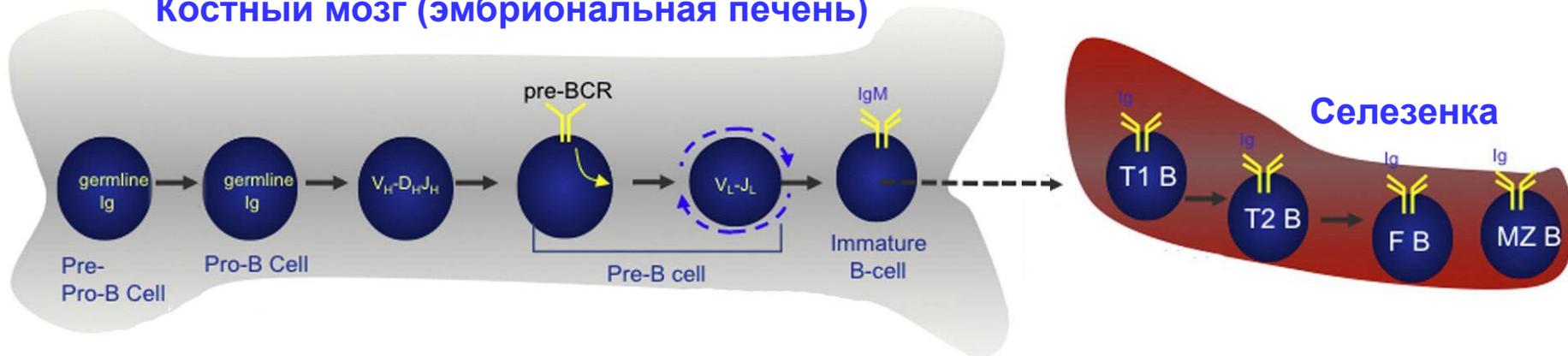
Аутореактивные лимфоциты удаляются в процессе клональной селекции

Лимфоциты, специфичные к чужеродным антигенам, активируются, пролиферируют и дифференцируются



Развитие эффекторных В лимфоцитов

Костный мозг (эмбриональная печень)



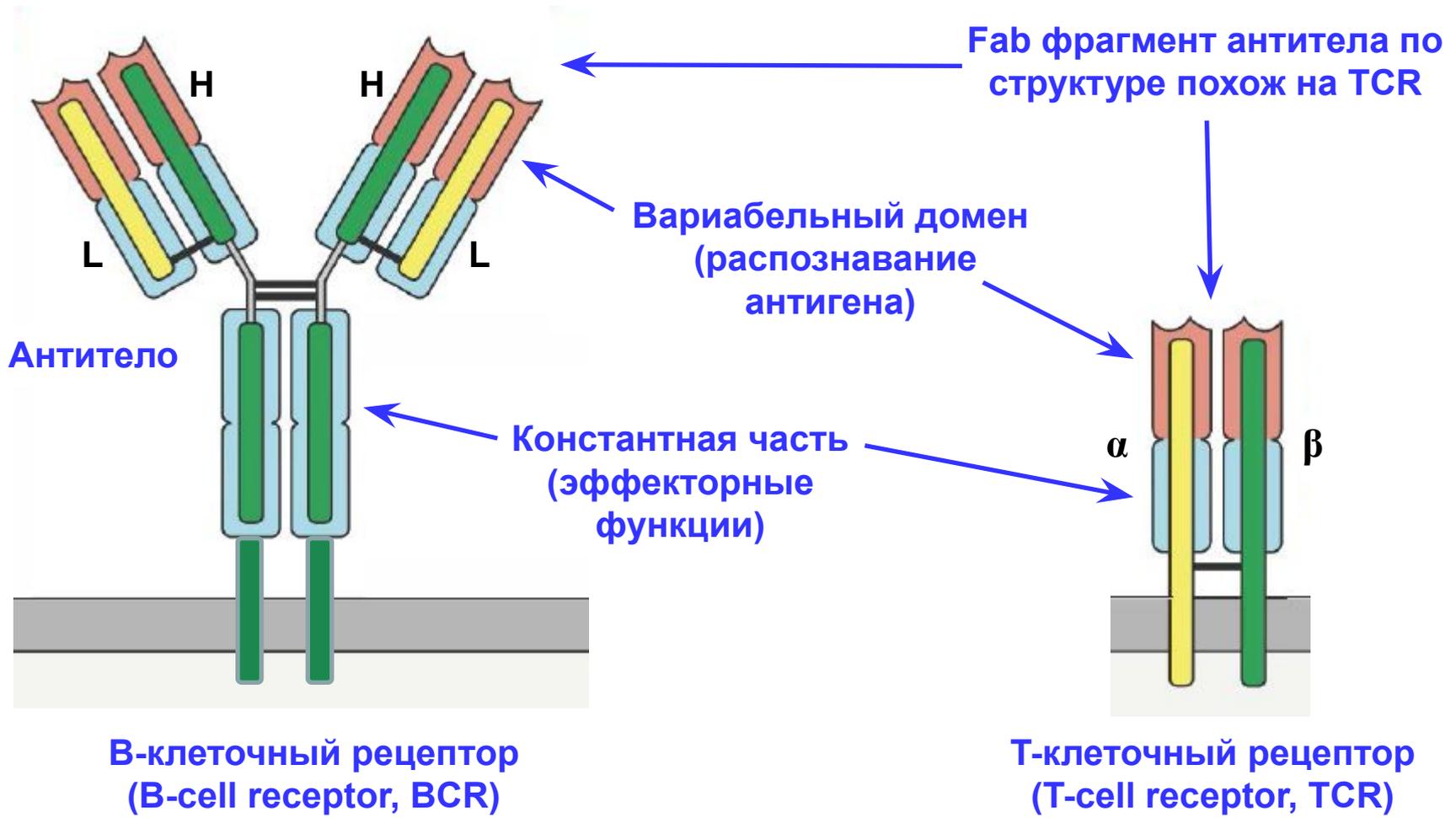
Формирование репертуара специфичностей лимфоцитарных рецепторов происходит в первичных лимфоидных органах (в случае В-лимфоцитов - в костном мозге). При этом в каждой клетке-предшественнике происходит последовательность генетических событий, которую можно разделить на молекулярно определяемые стадии. Костный мозг покидает незрелый В-лимфоцит, несущий на поверхности иммуноглобулин уникальной специфичности.

T1B, T2B - переходные (transitional) В-клетки; FB - фолликулярные В-клетки; MZB - В-клетки маргинальной зоны. Не показаны: B1 клетки.

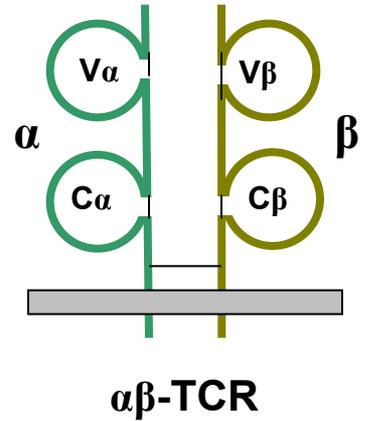
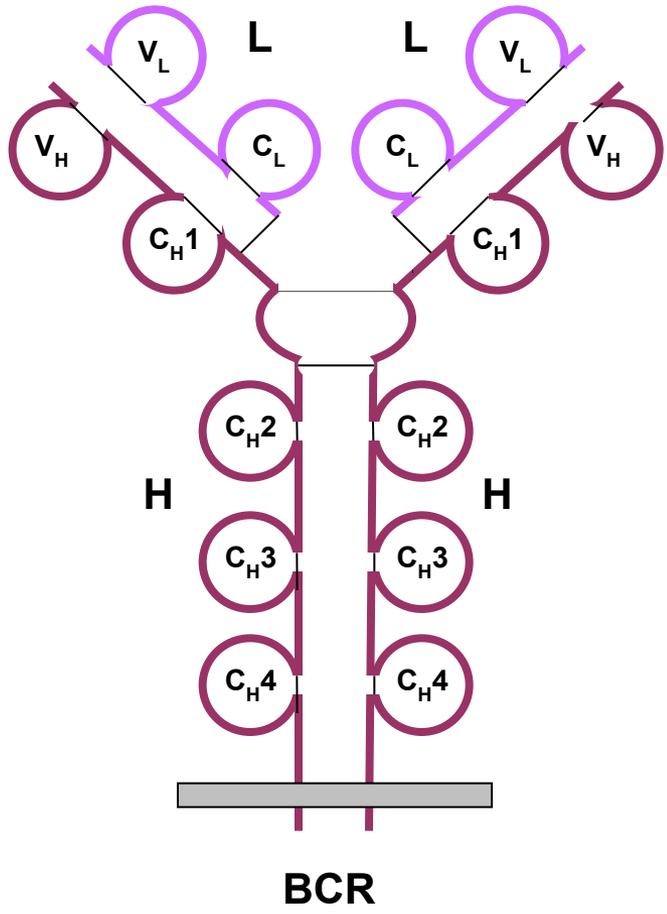
Постулаты теории клональной селекции

1. Каждый лимфоцит несет рецептор единственного типа и уникальной специфичности.
2. Высокоаффинное взаимодействие рецептора с чужеродной молекулой приводит к активации лимфоцита
3. Специфичность рецептора сохраняется в процессе пролиферации и дифференцировки
4. Лимфоциты с рецепторами, специфичными к собственным антигенам, удаляются на ранней стадии дифференцировки

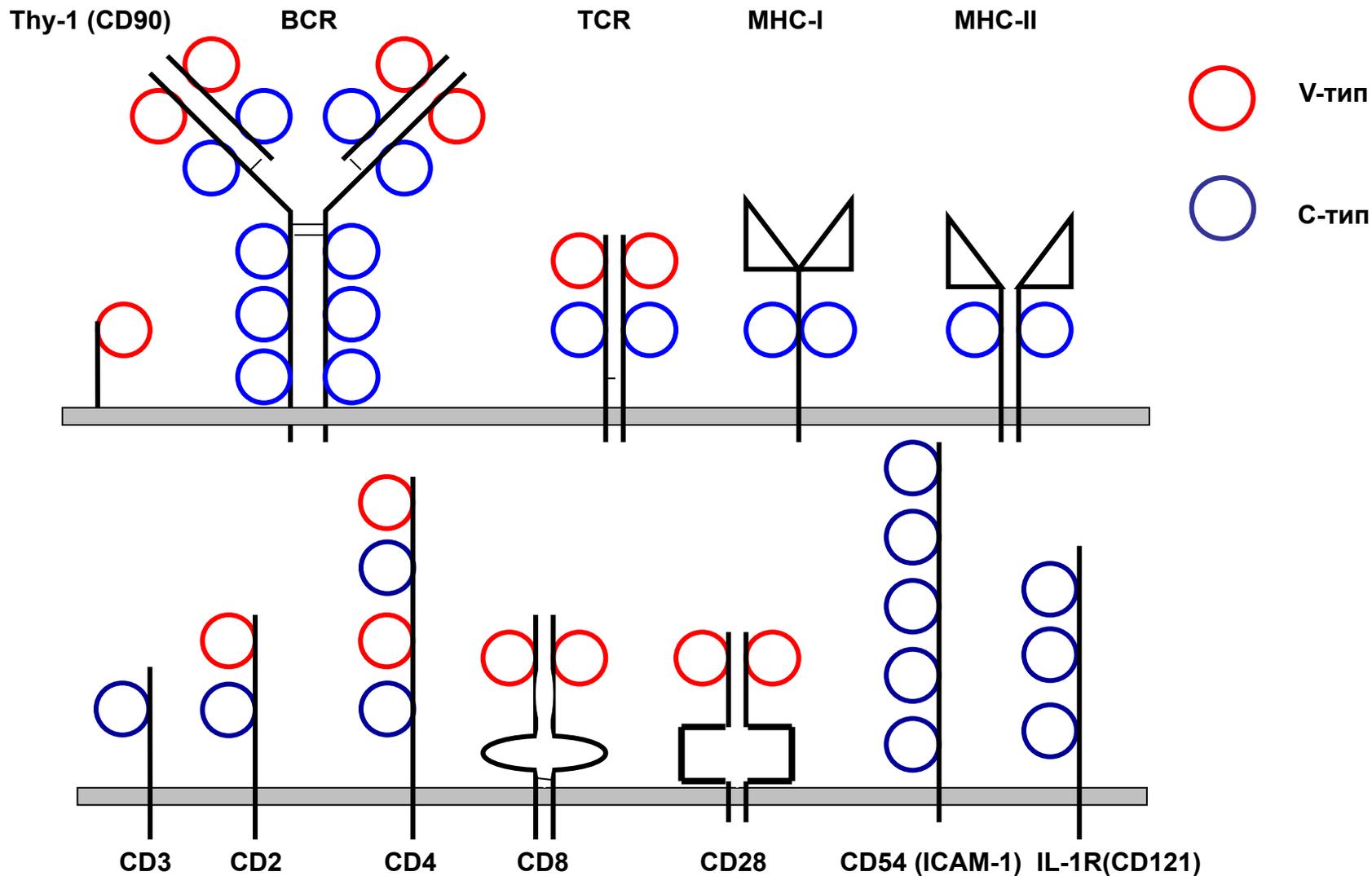
Антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов (структурная схема)



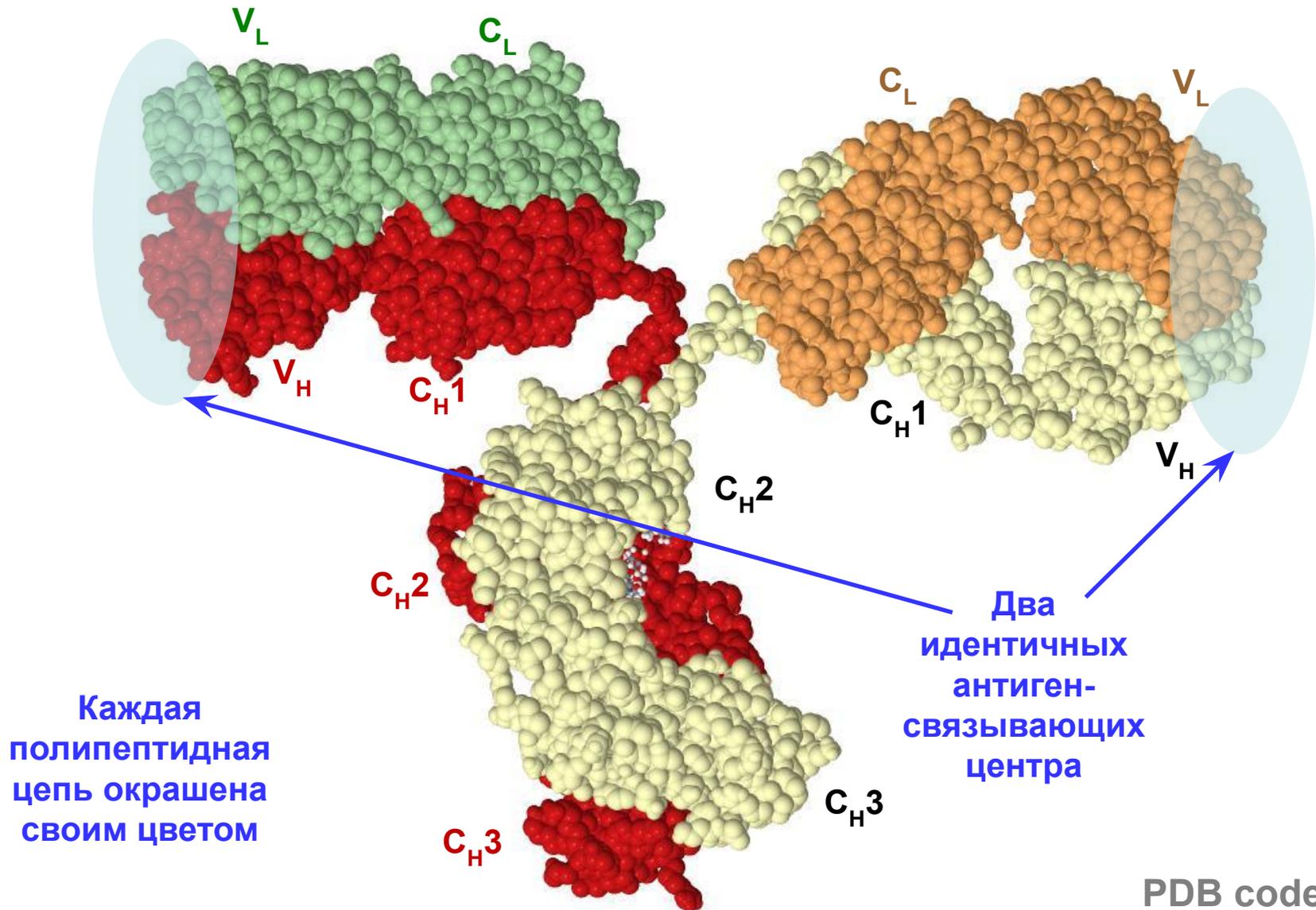
Антигенраспознающие рецепторы лимфоцитов (схема иммуноглобулиновых доменов)



СУПЕРСЕМЕЙСТВО ИММУНОГЛОБУЛИНОВ включает в себя не только антитела



3D структура антитела (на примере IgG)



Механизмы возникновения мутаций в V-цепях BCR

- При созревании В-лимфоцитов имеет место перегруппировка ДНК, приводящая к переносу одного из V-генов к одному из J-сегментов (в случае генов тяжёлых цепей предварительно протекает рекомбинация между D- и J-сег.). В результате происходит сближение переменных и константных участков и промоторов энхансеров).

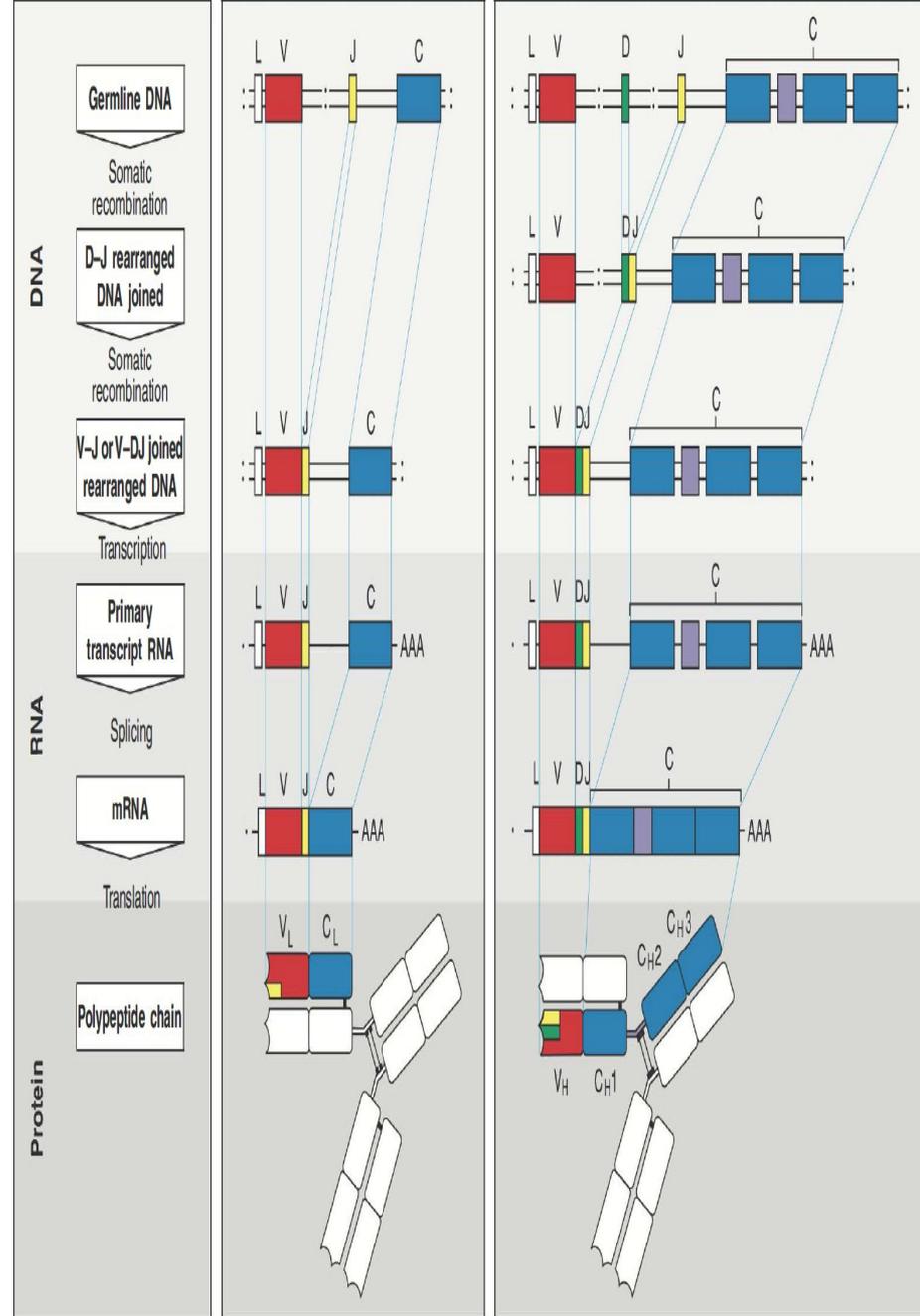
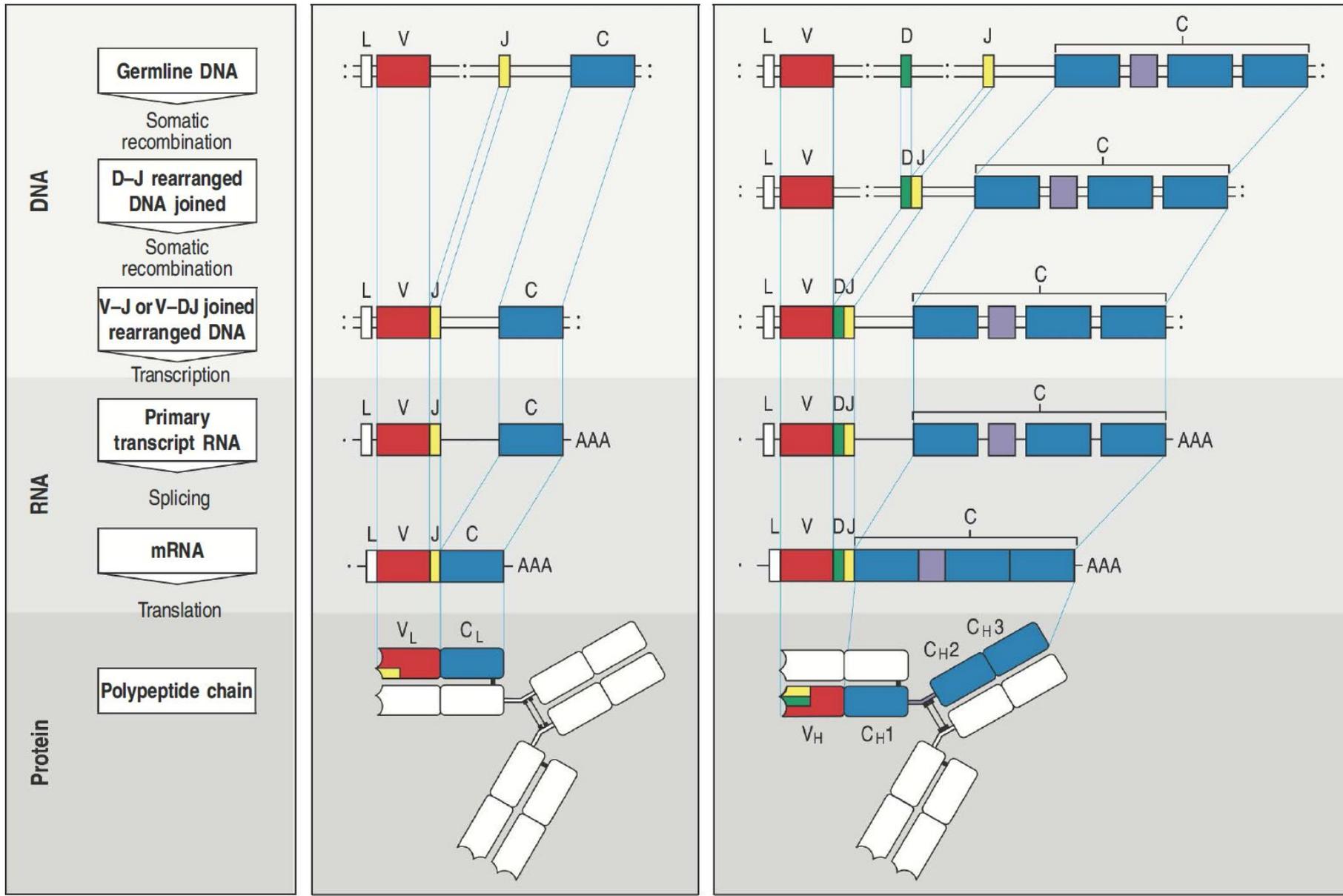


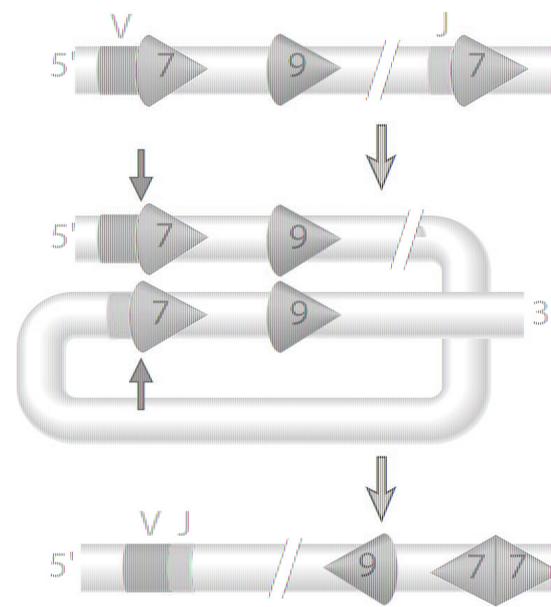
Схема перестройки генов иммуноглобулинов

Легкая цепь

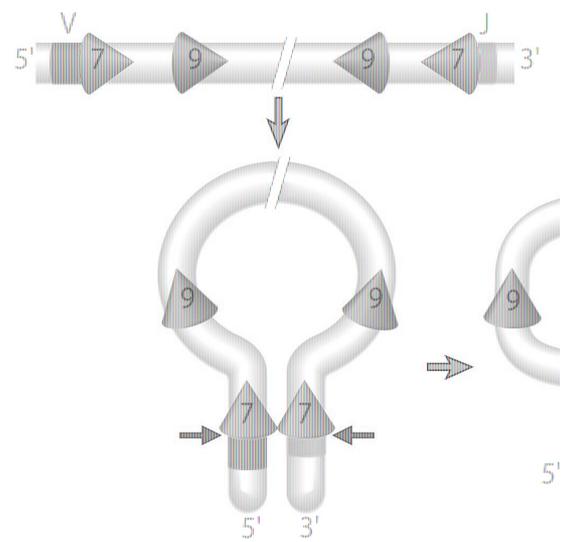
Тяжелая цепь



Inversion



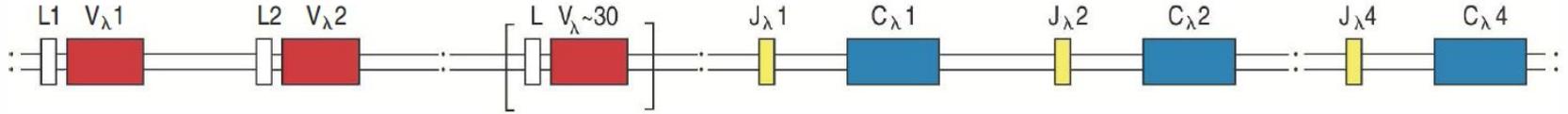
Deletion



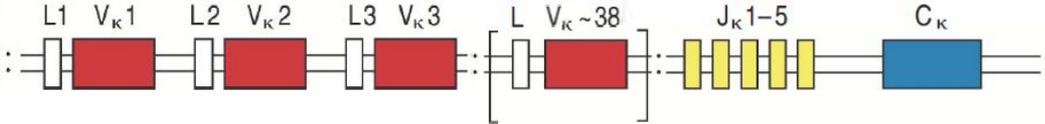
- Разнообразие ИГ(И) достигается перегруппировкой в ДНК. В геноме человека находятся три независимых локуса генов ИГ.
- Каждый из них включает набор генов, кодирующих переменные домены и единичные гены константных областей, причём эти группы генов находятся на значит. расстоянии друг от друга.
- Образование лёгкой и тяжёлой цепей происходит в результате рекомбинации одного из переменных генов (V) с геном, кодирующим константный участок (C).
- Перед каждым геном имеется участок ДНК, кодирующий лидерный пептид (L). Между V- и C-генами находятся последовательности (D-сегменты и J-сег.), кодирующие небольшие фрагменты полипептидной цепи, входящие в переменные области.

Схема геномного устройства локусов иммуноглобулинов

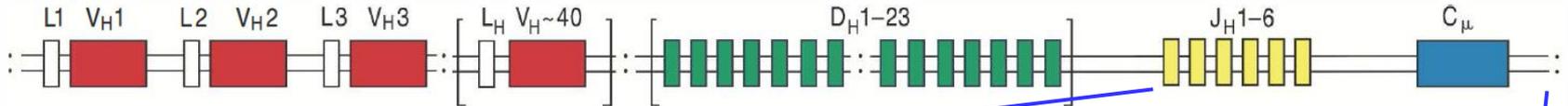
λ light-chain locus



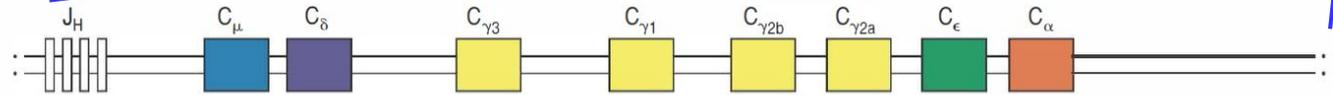
κ light-chain locus



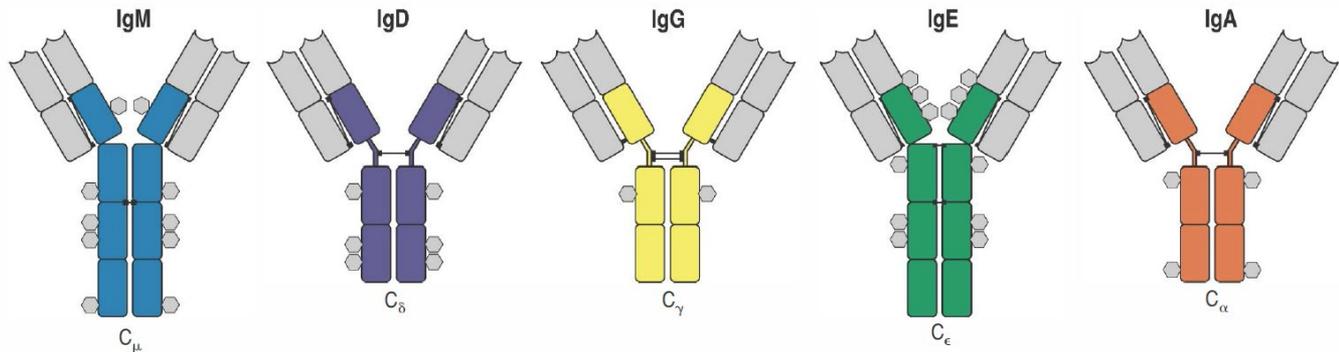
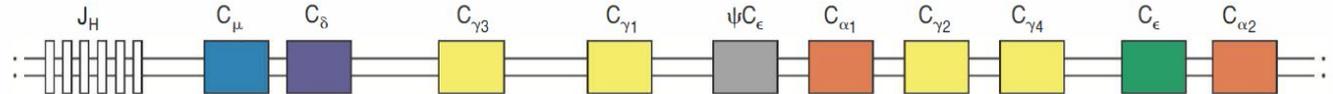
Heavy-chain locus



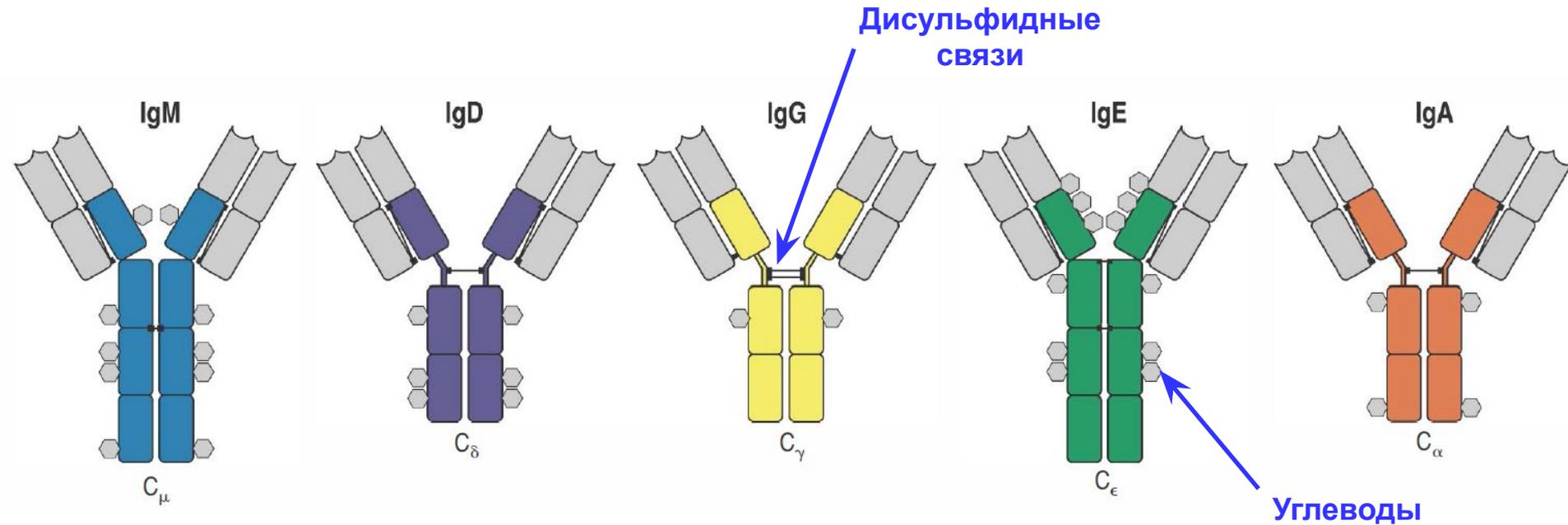
Mouse



Human



Классы иммуноглобулинов



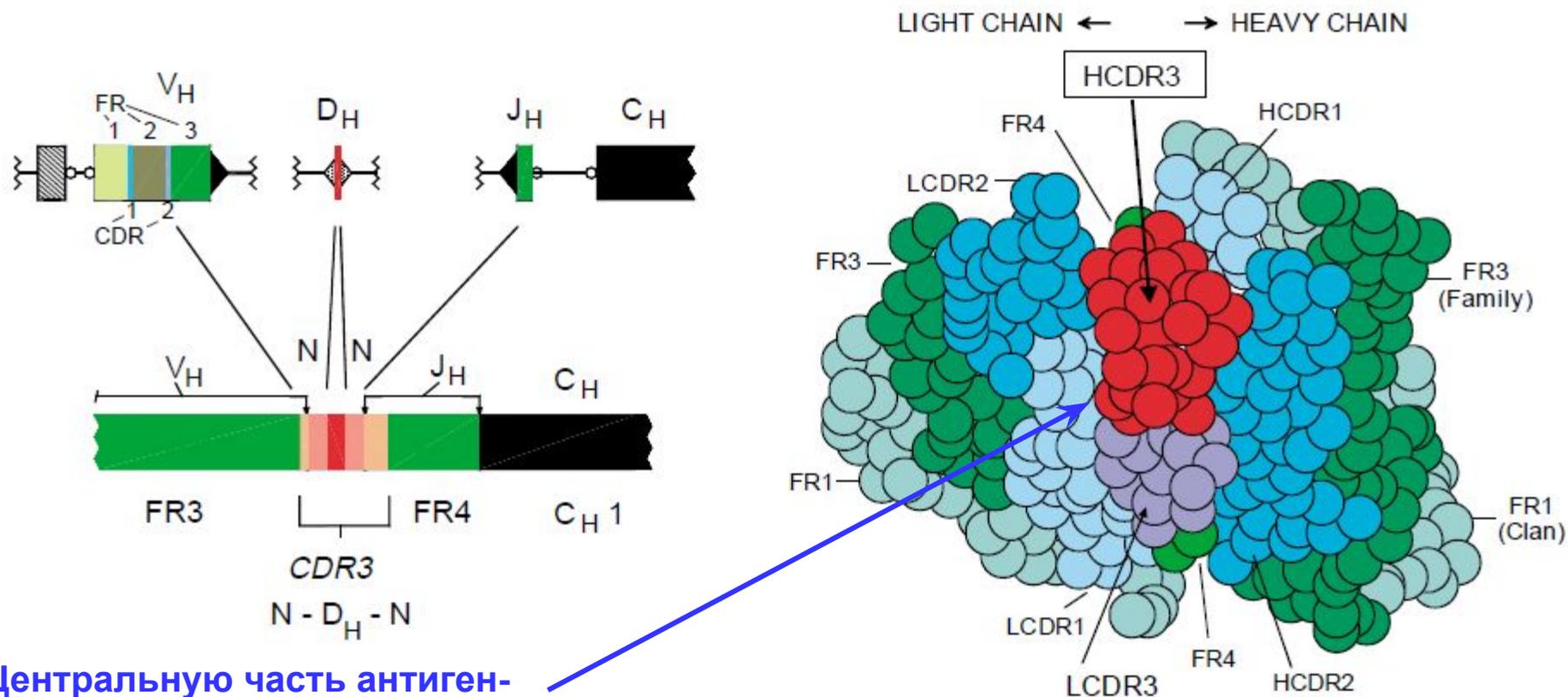
Человек: IgM, IgD, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgE, IgA1, IgA2

Изотип - набор антигенных детерминант иммуноглобулинов одного класса

Аллотип - аллельный вариант антитела, способный вызывать иммунную реакцию у особей того же вида

Идиотип - набор уникальных для каждого клона В-лимфоцитов детерминант антигенсвязывающего центра иммуноглобулинов

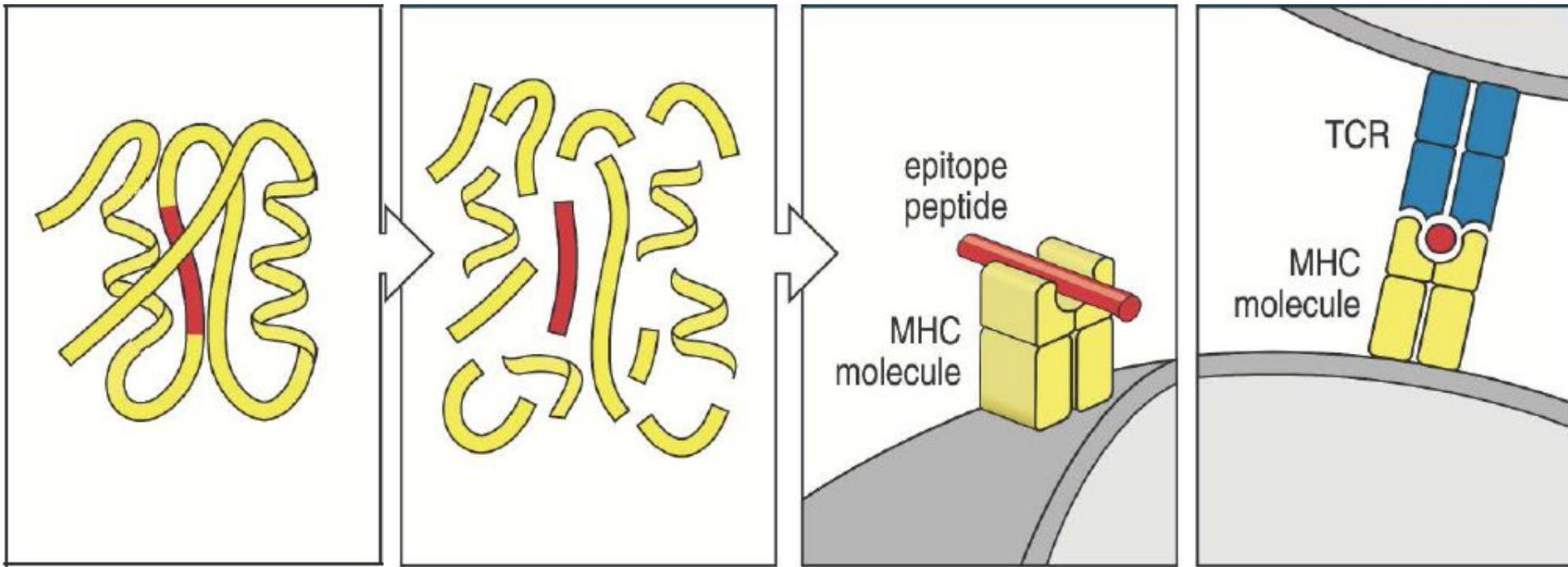
Вклад различных участков V-доменов H- и L-цепей в построение антигенсвязывающего центра антител



Центральную часть антигенсвязывающего центра создает участок CDR3, кодируемый вставками случайных нуклеотидов

**Размерность антигенсвязывающего участка:
длина – ок. 6 нм, ширина – 1,2 – 1,5 нм,
площадь поверхности – 7,2 нм**

Распознавание антигенов Т-клетками



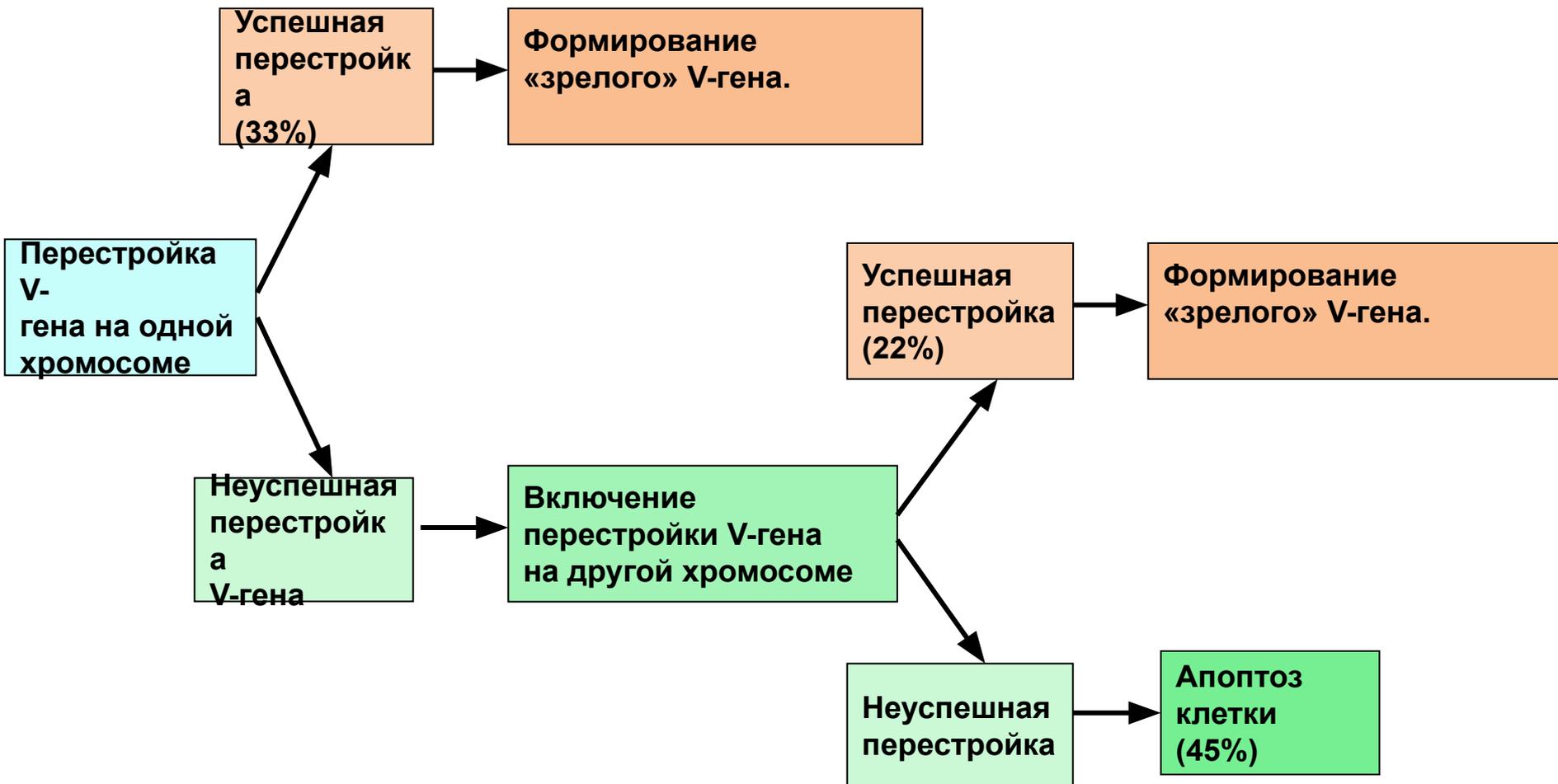
$\alpha\beta$ Т-клетки узнают линейные пептидные эпитопы, которые могут находиться в любой части молекулы белка, не обязательно на поверхности

Антигенный пептид образуется в ходе протеолитического расщепления молекулы белка

Пептид представляется на поверхности клетки в комплексе с молекулой МНС

Именно такой комплекс и является лигандом для $\alpha\beta$ TCR.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПЕРЕСТРОЙКИ V-ГЕНОВ,

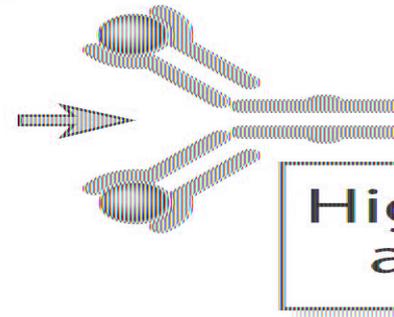
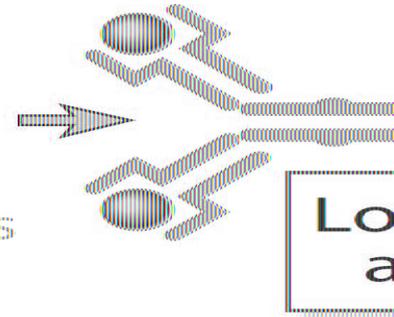




Somatic mutations
in Ig V genes →
Selection of
high-affinity B cells



Mutations



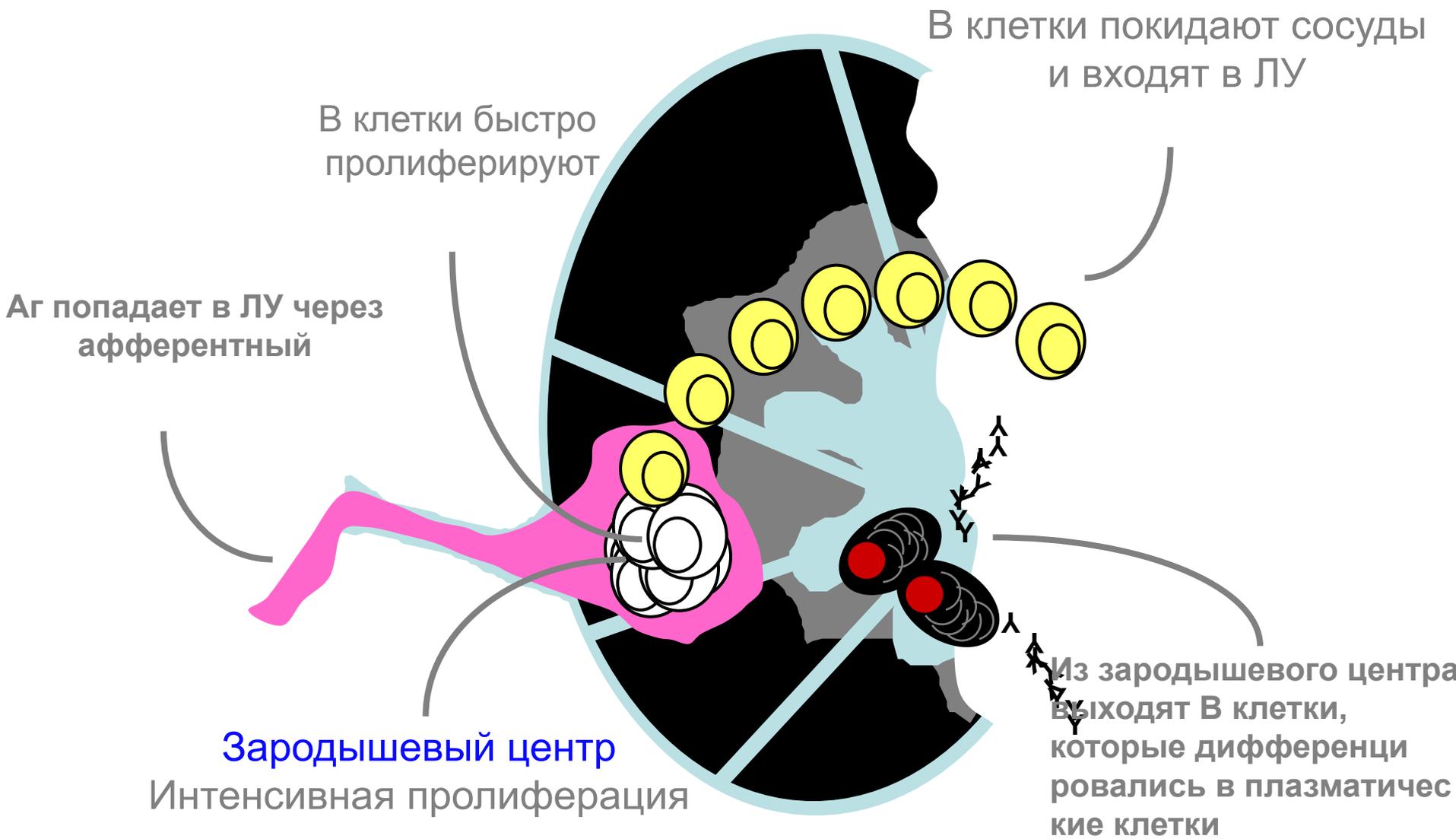
Property						
Intrinsic				Inducible		
B-lineage cell	Surface Ig	Surface MHC class II	High-rate Ig secretion	Growth	Somatic hypermutation	Class switch
 Resting B cell	High	Yes	No	Yes	Yes	Yes
 Plasmablast	High	Yes	Yes	Yes	Unknown	Yes
 Plasma cell	Low	No	Yes	No	No	No

Figure 9-8 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Центр размножения

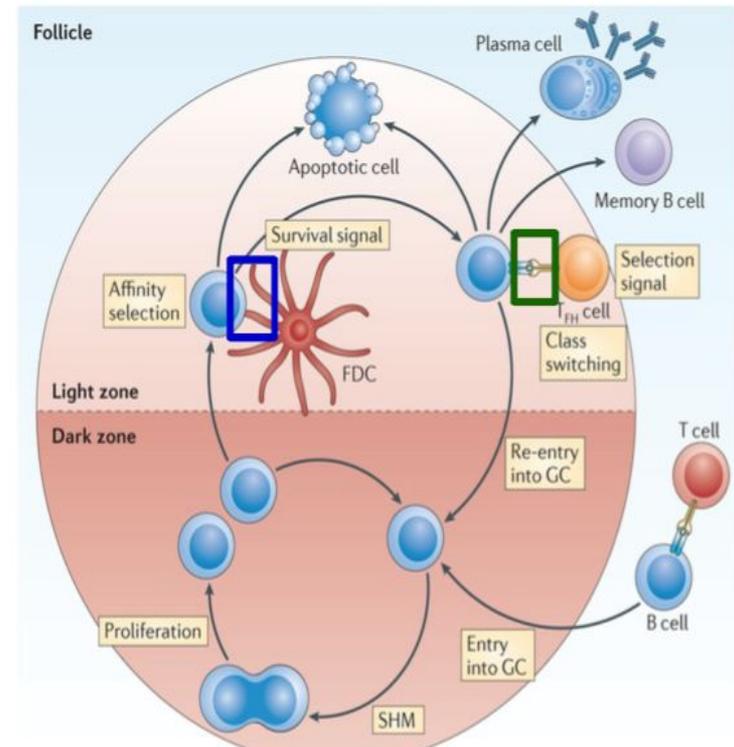
- Особая область в лимфатических узлах или селезенке, в которой обнаруживается интенсивная пролиферация (деление) и гибель (апоптоз) клеток.
- Большинство клеток в таком центре - это В-лимфоциты.
- Центры размножения являются местами *соматического гипермутирования* и *созревания аффинности*, вызываемых антигеном

Рециркулирующие В – клетки встречаются со «ИСКОМЫМ» антигеном в лимфоузле



Зародышевые центры – ЗЦ (дифференцировка и селекция В-лимфоцитов)

- ТЕМНАЯ ЗОНА:
- В-л связавшие АГ и получившие дополнительный сигнал от Т-лимфоцитов хелперов мигрируют в ЗЦ.
- Превращение в бласты (на поверхности только Ig M)
- СВЕТЛАЯ ЗОНА: Прекращение деления и мутагенеза. В-центроциты.
- *Цель: отобрать В-клетки несущие В-клеточный рецептор с максимальным сродством к АГ*
каждому АГ соответствует свой РАСПОЗНАЮЩИЙ рецептор на клетке.
- Фолликулярные дендритные клетки (фДК) несут на своей поверхности различные фиксированные Аг или иммунные комплексы, количество их ограничено.
- Поэтому происходит «здоровая» конкуренция В-л за контакт с ДК- сигнал к выживанию (нет апоптоза).
- *Самые быстрые В-лимфоциты и вырабатывающие «качественные» антитела выживают.*
-

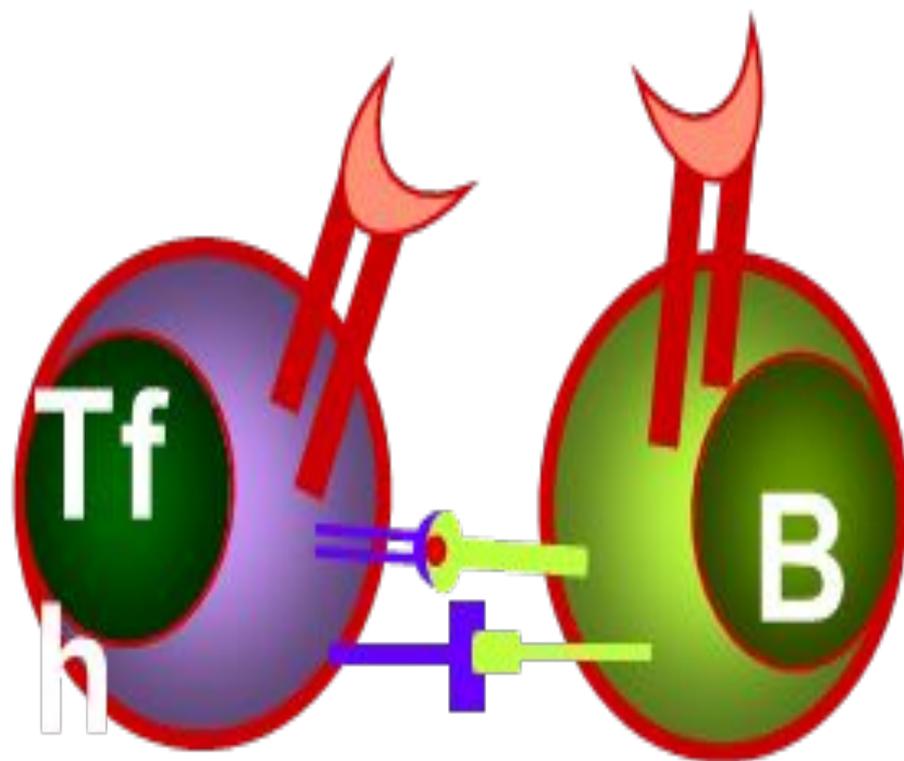


**Дополнительный сигнал
повышающий
жизнеспособность В-клетки
взаимодействие ее с
Т-фолликулярными
хелперами (ИЛ-21)**

роль Tfh (фолликулярных Т хелперов)

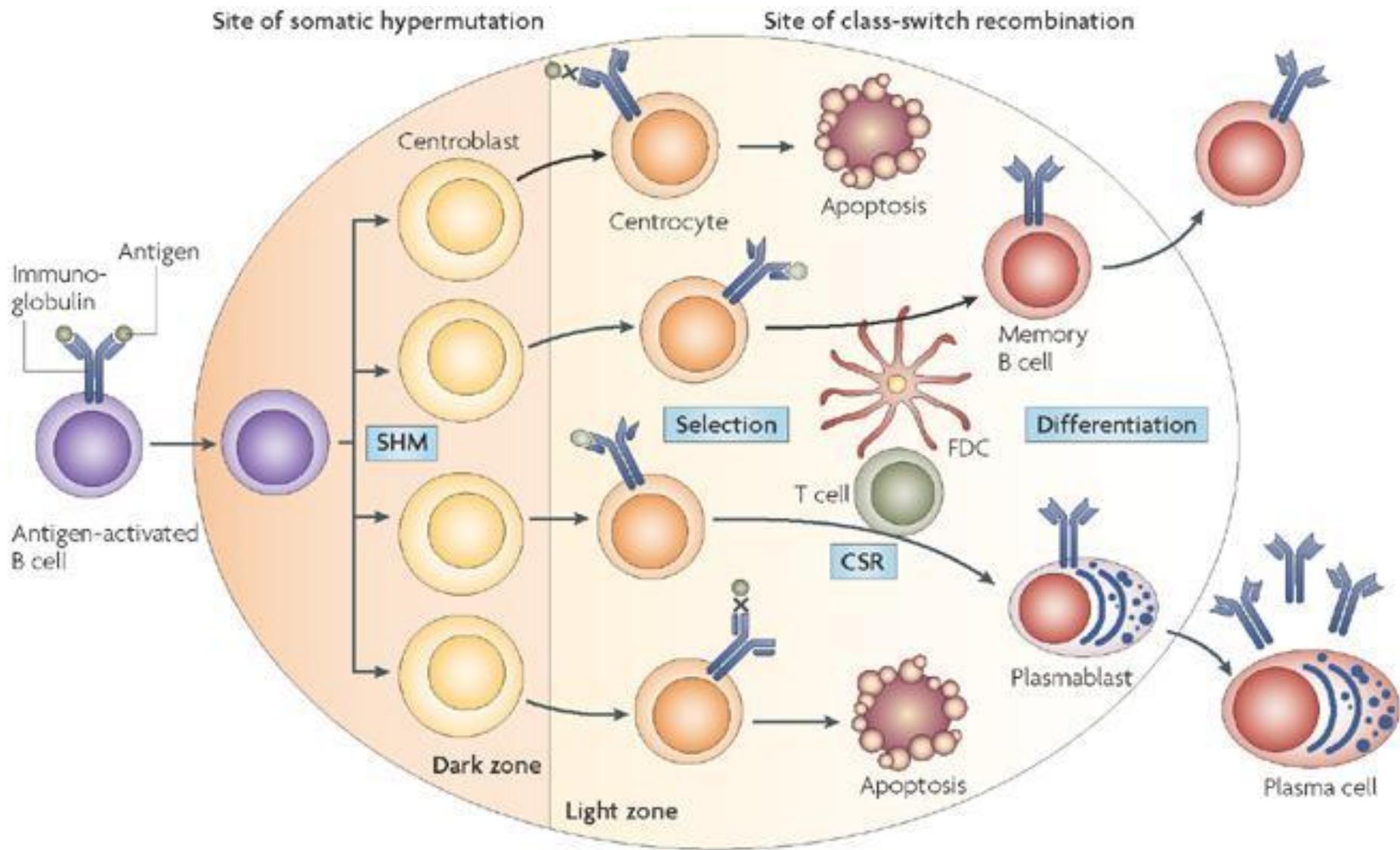
На территории лимфоидного фолликула в ЛУ под контролем Tfh происходит :

- 1) первичное распознавание антигена;
- 2) селекция и выживание В-клеток зародышевого центра;
- 3) дифференцировка В-клеток либо в короткоживущие плазматические клетки либо в В-клетки памяти зародышевых центров .



CD40L-CD40

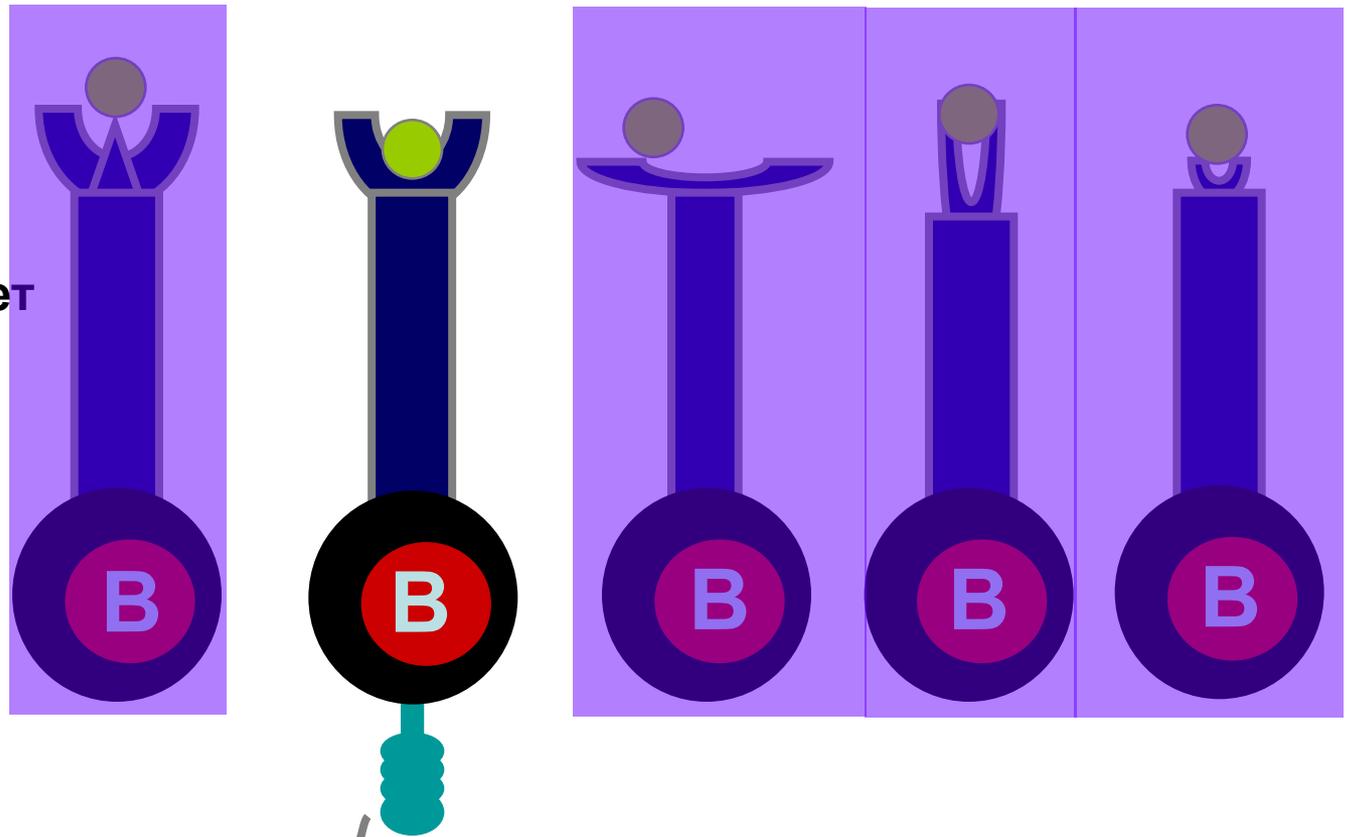
Соматический гипермутация и переключение изотипов



Герминальный центр
(в селезенке или в лимфоузле)

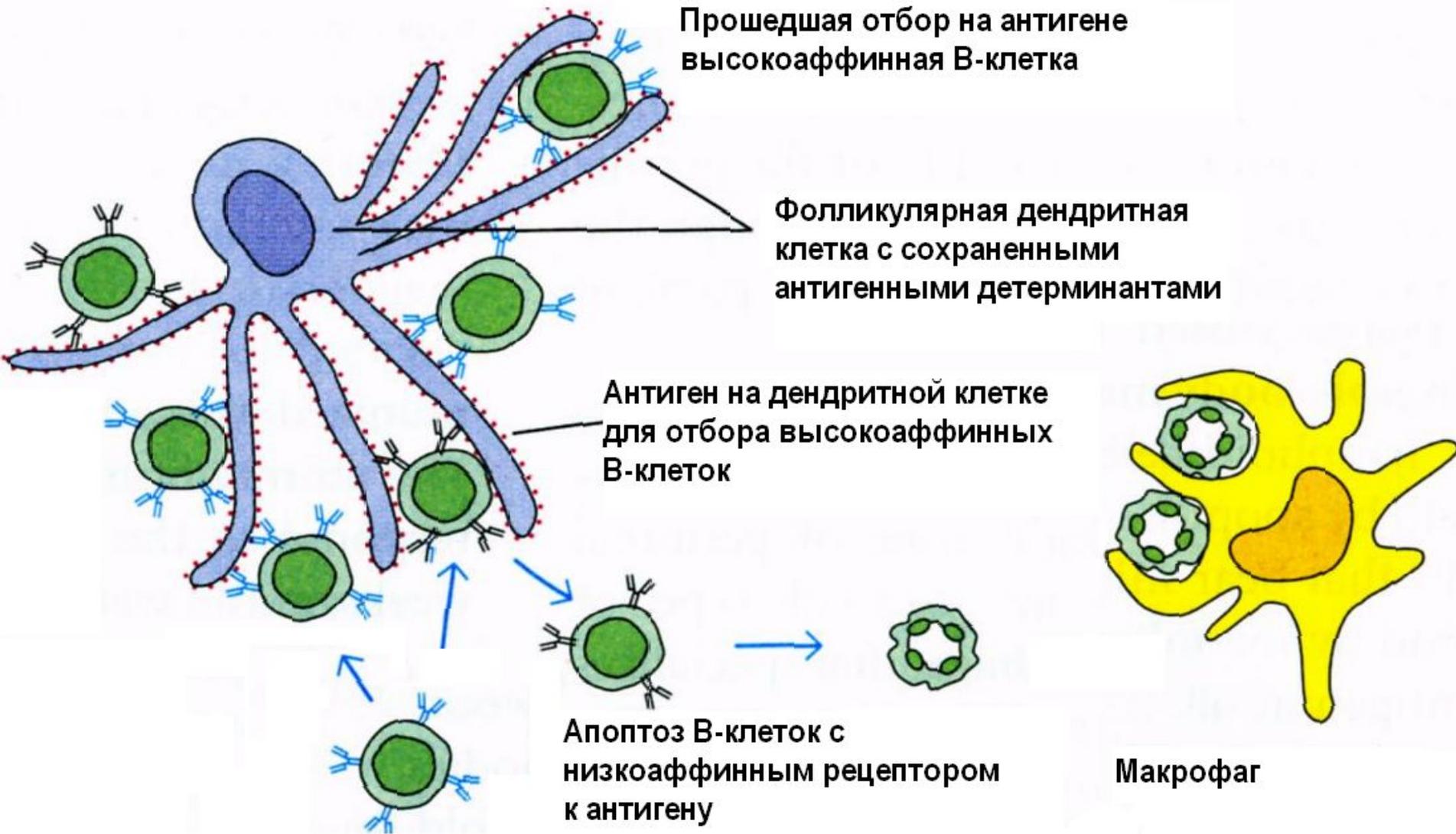
Контроль аффинитета связи АГ с АТ

Все эти 5 В клеточных рецепторов специфичны для аг , но аффинитет связи различается вследствие соматической гипермутации генов Ig в зародышевом центре



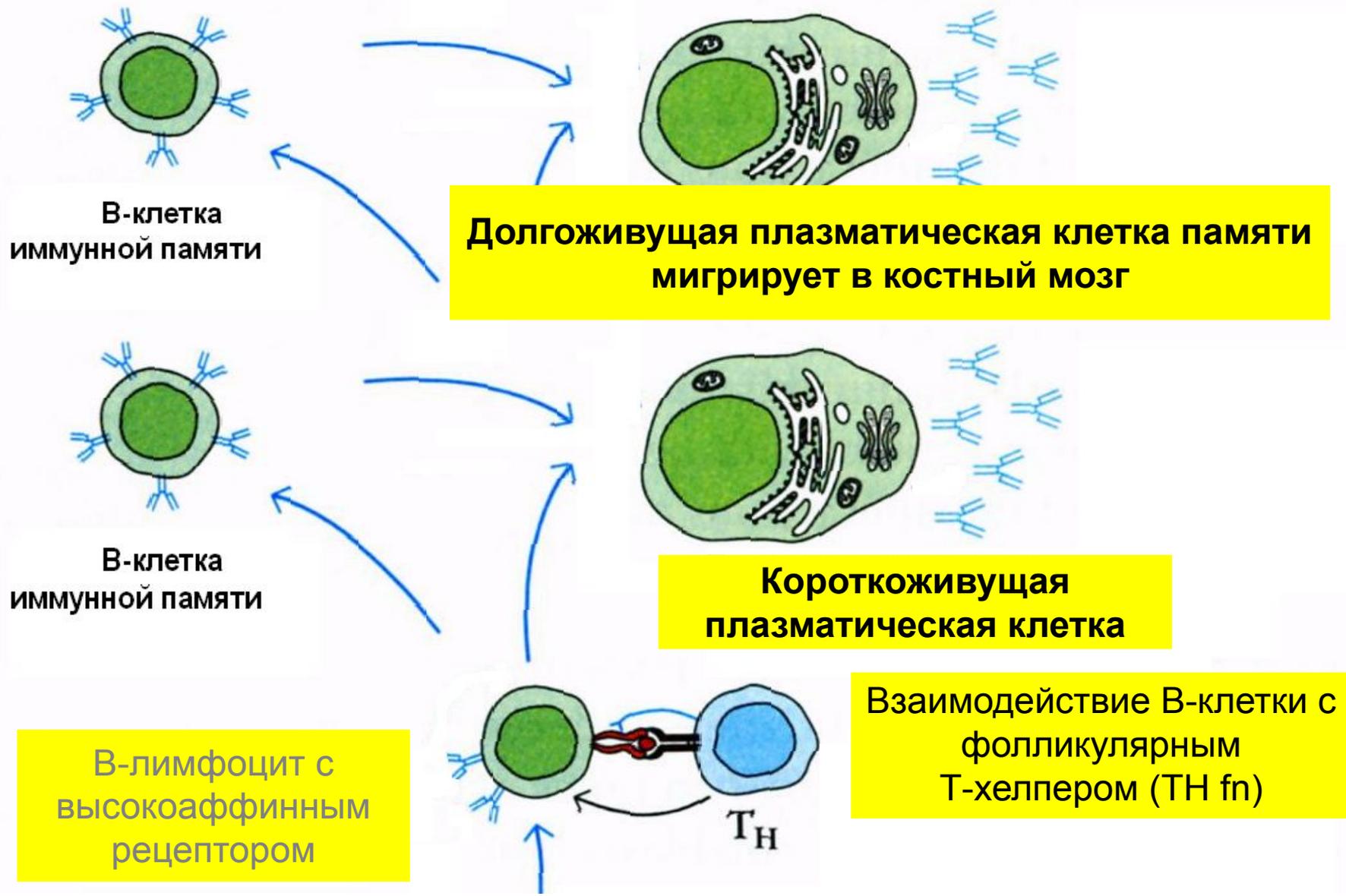
Только эта клетка, чей рецептор в результате соматических гипермутаций приобрел максимальную «подгонку» к антигену и стал обладать наибольшей аффинностью (силой связи) к антигену сможет :экспрессировать CD40 молекулы; получить сигнал 2 от Т-хелпера;избежать апоптоза. Только эта клетка подвергнется клональной селекции, все ее потомки превратятся в плазматические клетки и в клетки памяти, (все остальные клетки погибнут путем апоптоза, так как их рецептор не плотно связан с антигеном, такой иммунный ответ был бы не продуктивным)

Отбор В-лимфоцитов с высокоаффинными рецепторами в лимфоузлах



После контакта с антигеном в В-клетках происходят гипермутации в генах тяжелых и легких цепей и изменяется аффинность рецепторов к антигену

Взаимодействие В-лимфоцитов с высокоаффинными рецепторами с фолликулярными Т-хелперами (Т_н) в лимфоузлах



Взаимодействие В-клеток с микроокружением

○ **Итог:** ОТБОР КЛЕТОК
АНТИТЕЛОПРОДУЦЕНТОВ

- 1. гибель клеток несущих
низкоафинный рецептор ИГ или
- 2. выживание клеток несущих
высокоафинный рецептор ИГ.

В результате контакта активированных В-лимфоцитов и Т-хелперов происходит дальнейшая дифференцировка В-клеток в 2-х направлениях-превращение в:

- короткоживущие плазматические клетки (большинство клеток),
- или в
- долгоживущие клетки памяти – зародышевых центров

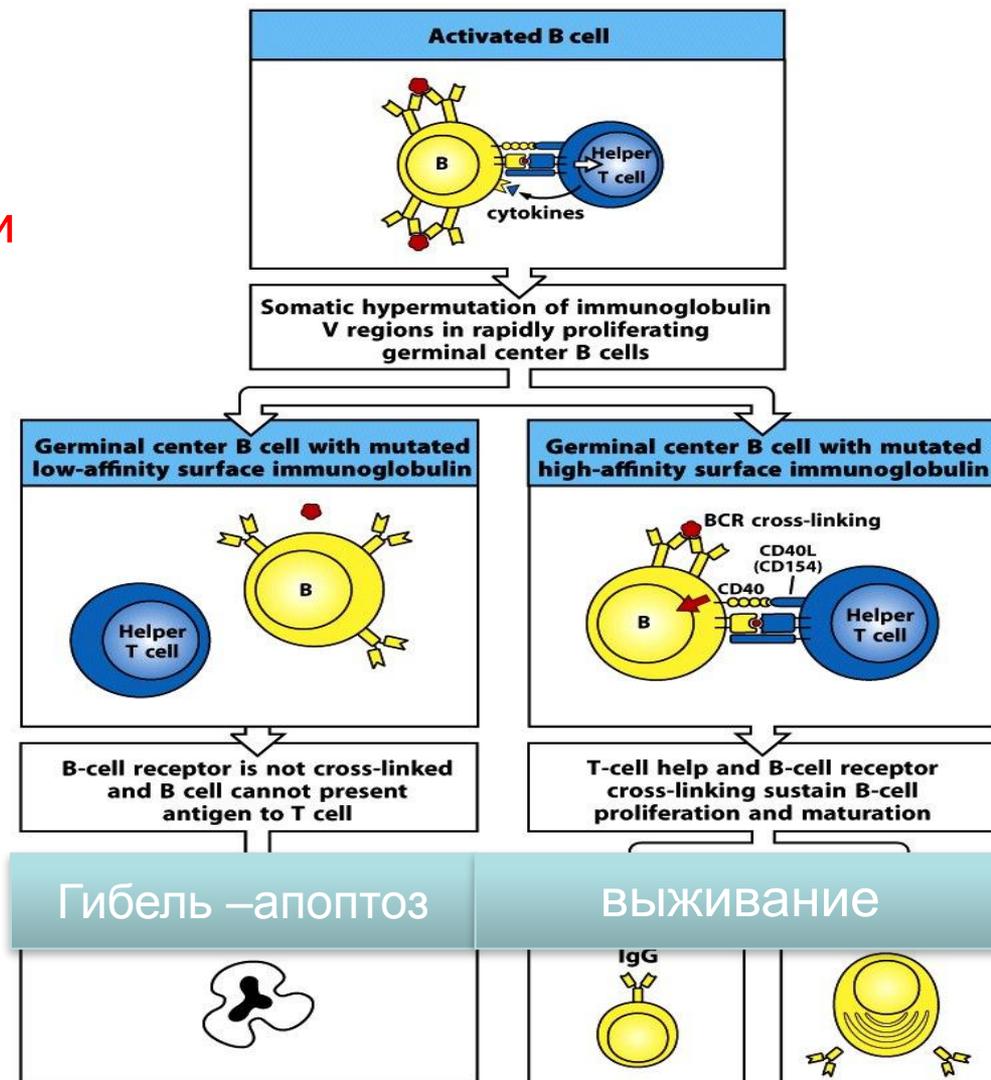
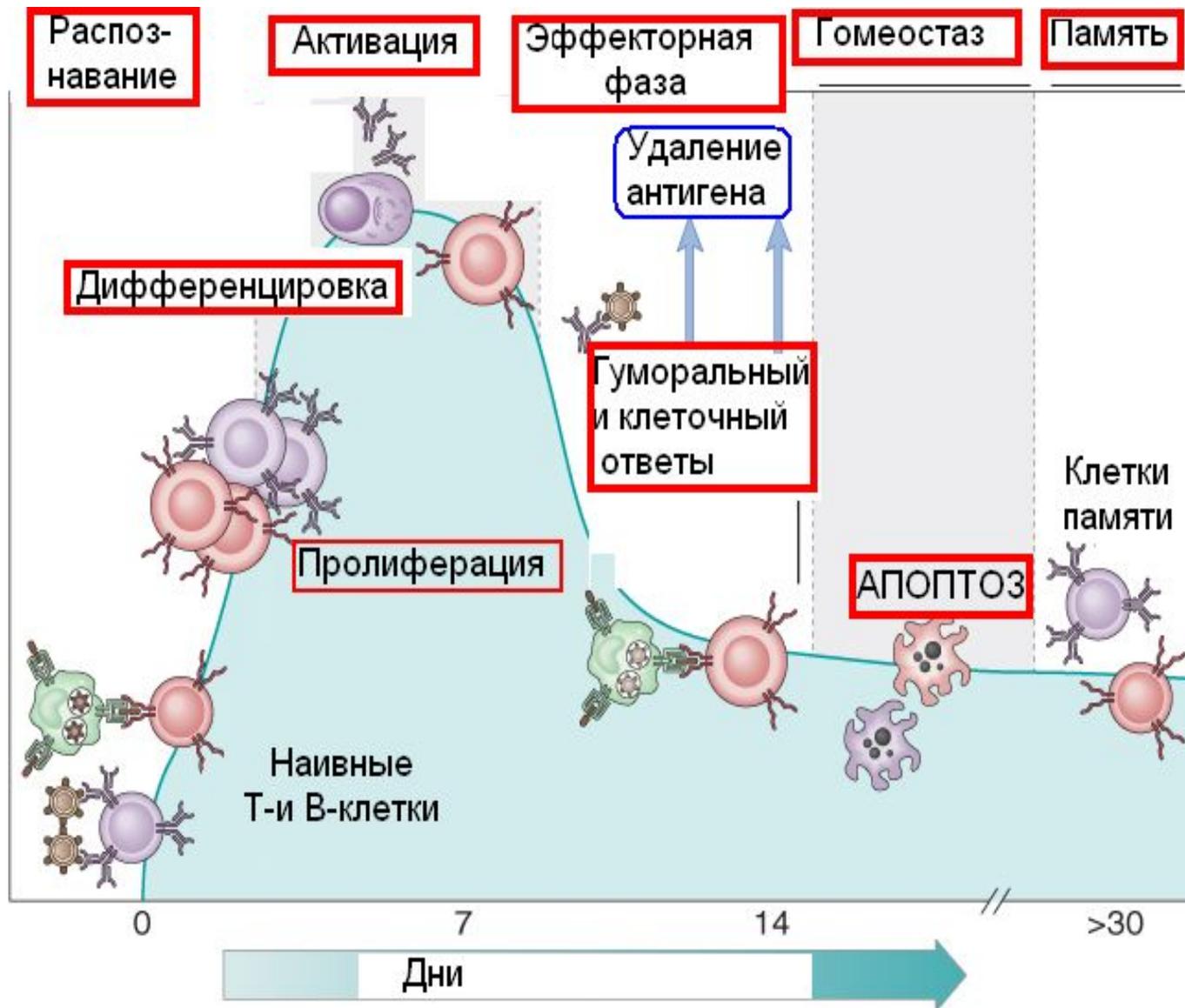


Figure 9-11 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Роль цитокинов в гуморальном иммунитете

цитокин	эффект
ИЛ-21	Пролиферация – сигнал к выживанию Th-fn
ИЛ-2	Индуктор активации Т и В клеток.
ИЛ-4	Повышение уровня экспрессии молекул МНС II класса, Fc-рецепторов и рецепторов к ИЛ-2 на поверхности Т- и В-лимфоцитов. Способствует переключению классов Ig на IgE-изотип.
ИЛ-6	Созревание и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов

Стадии иммунного ответа : остаются клетки памяти, их популяция не является однородной



- **распознавание антигена**
- клональная экспансия Т- и В-лимфоцитов.
- дифференцировка эффекторных клеток
- продукция антител
- активация комплемента, активация фагоцитоза
- цитотоксичность
- **элиминация патогена**
- удаление ставших ненужными эффекторных клеток
- **сохранение клеток иммунологической памяти.**

Роль цитокинов в переключении изотипов Ig

Т-клеточные цитокины, освобождаемые в непосредственной близости к В-клеткам, определяют новый изотип молекулы иммуноглобулина

- Интерлейкин-21 активирует переключение изотипов на IgG3, IgG1 и IgA.
- IL-4 – активирует процесс переключения изотипа с IgG1 на IgE, одновременно ингибируя переключение и синтез IgG2.
- Трансформирующий ростовой фактор бета (TGF β) – способствует переключению на IgA и IgG2.
- Интерферон – гамма (IFN- γ) – переключает изотип на IgG2.