



Антигены и паттерны

Антиген

- клетка или вещество, несущие признак генетической чужеродности и способные индуцировать иммунный ответ в организме.

Виды антигенов

- собственные клетки организма с генетическими мутациями
- отжившие клетки собственного организма
- клетки организмов других видов, включая микроорганизмы
- пищевые продукты
- белки организмов других видов
- различные молекулы, измененные какими-то факторами
- полисахариды, чуждые данному организму
- нуклеиновые кислоты

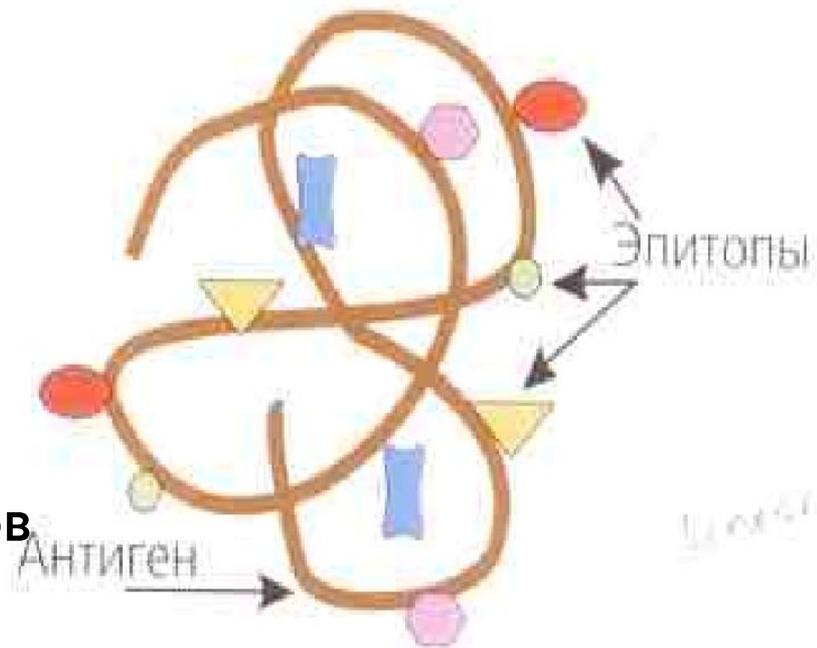
В практике понятие АГ имеет несколько значений

- первое — это генетически чужеродное для данного организма вещество или клетка
- второе — это препарат, используемый для диагностики (лабораторной или *in vivo*)
- третье — это молекулы, находящиеся в данном организме на разных клетках или в жидкостях (гликопротеиды), которые могут при введении в другой организм вызывать ИО, хотя в собственном организме не обладают иммуногенной активностью

Вся поверхность любой клетки организма «покрыта» этими антигенами — сайтами, которые обладают иммуногенностью для других организмов

Свойства антигенов

- Чужеродность - отличие данного АГ от АГ других организмов. Это - главное условие антигенности
- Иммуногенность АГ — способность индуцировать специфический иммунный ответ, в результате чего продуцируются АТ или иммунные лимфоциты
- Антигены, не обладающие иммуногенностью, носят название **гаптенов**.
- Специфичность АГ определяется эпитопом
- обуславливает специфичность АТ и эффекторных Т-лимфоцитов при ИО



Антигены по способу распознавания

- PAMP – патогенассоциированные молекулярные паттерны (образы)
 - распознаются клетками врожденного ИО
- Антигенные детерминанты (эпитоп) - высокомолекулярные соединения, стимулирующие только лимфоидные клетки
 - распознаются клетками адаптивного ИО
- молекулы клеточного стресса - собственные молекулы организма человека, сигнализирующие об опасности эндогенного происхождения
 - распознаются рецепторами NK, PAMP, нейрональными рецепторами

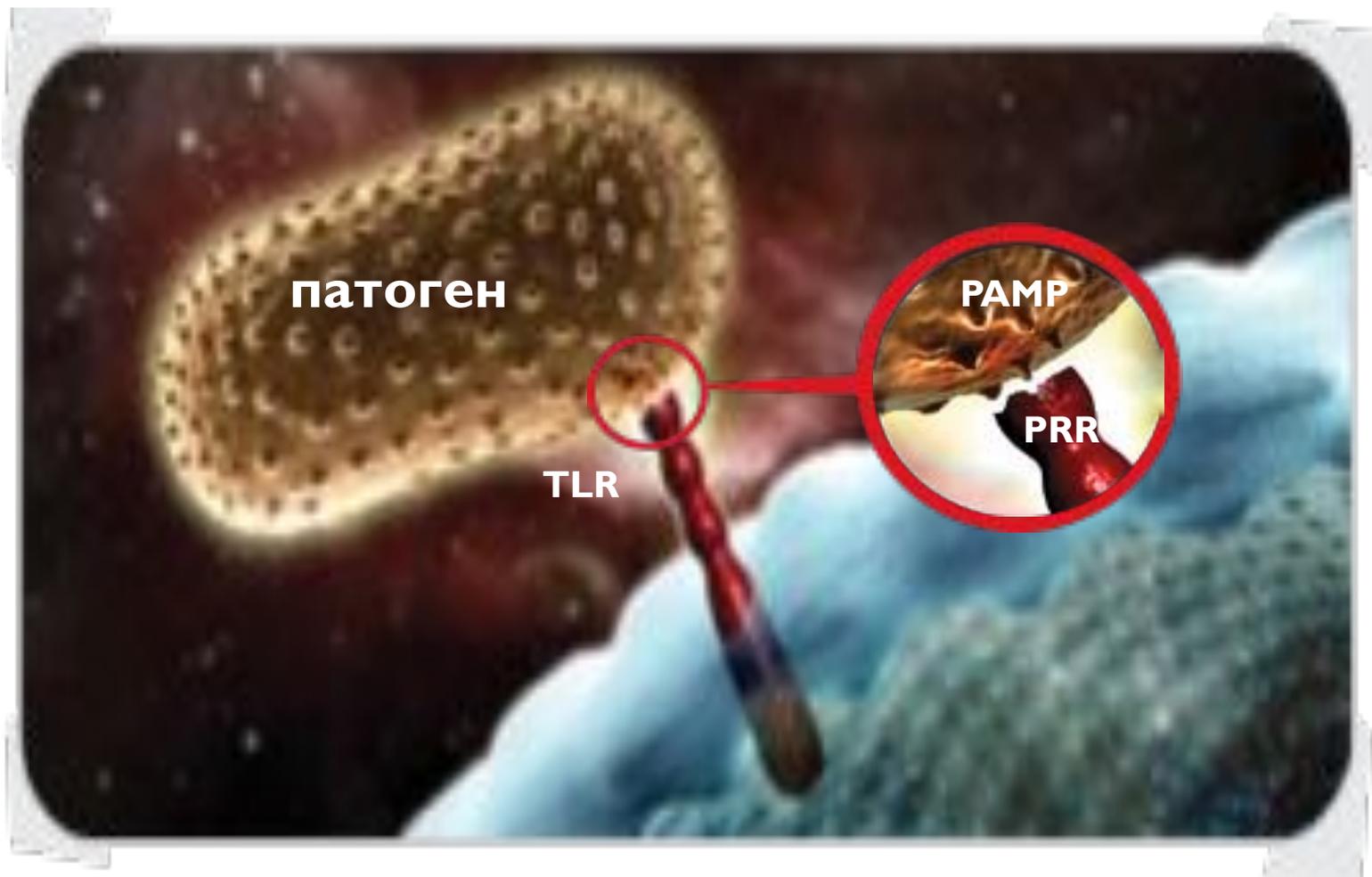
Патогенассоциированные молекулярные паттерны

- **Образы патогенности, или патогенассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen-associated molecular patterns— PAMP) —** группы молекул, как правило, отсутствующие в организме-хозяине, но характерные для патогенов (вирусов, бактерий, грибов, простейших, паразитов).
- **Рецепторы для PAMP (паттернраспознающие рецепторы) PRR**
 - малоспецифичны: один рецептор может распознавать несколько PAMP
 - представлены на дендритных клетках, моноцитах, макрофагах и др.

Рецепторы, распознающие патогены (PRR)

- Наибольшее количество и наиболее широкий спектр PRR экспрессируют миелоидные клетки врожденного иммунитета.
- Однако в той или иной степени эти рецепторы присутствуют и на (или в) других клетках, включая лимфоидные.
- PRR обладают сродством к PAMP и некоторым эндогенным образам опасности. Через эти рецепторы в клетку поступают сигналы, включающие «гены воспаления», что обуславливает последующее развитие воспалительного процесса и других реакций врожденного иммунитета.

TLR (toll-like receptor)

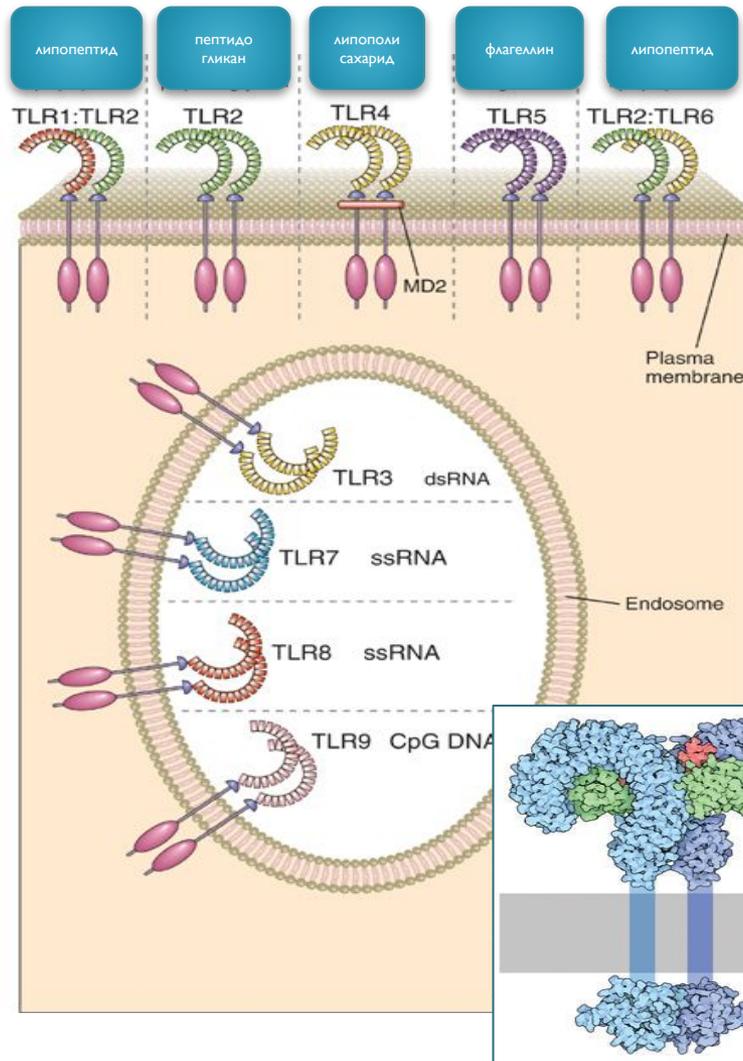


TLR (toll-like receptor)



| микробы | РАМР поверхности микробов | PRR |
|----------------------------|-----------------------------------|----------------|
| Вирусная РНК | Двунитевая РНК Однонитевая РНК | TLR3 TLR7,8 |
| Бактериальная ДНК | ДНК | TLR9 |
| Микобактерии | Липоарабиноманнан | TLR2 |
| Грамположительные бактерии | Пептидогликан | TLR2 |
| Грамотрицательные бактерии | Липопротеин Липополисахарид | TLR2 TLR4,6 |
| Жгутики бактерий | Белок жгутика (флагеллин) | TLR5 |
| Дрожжи и др. грибы | Маннан Зимозан | TLR2,4,6 |

TLR (toll-like receptor)

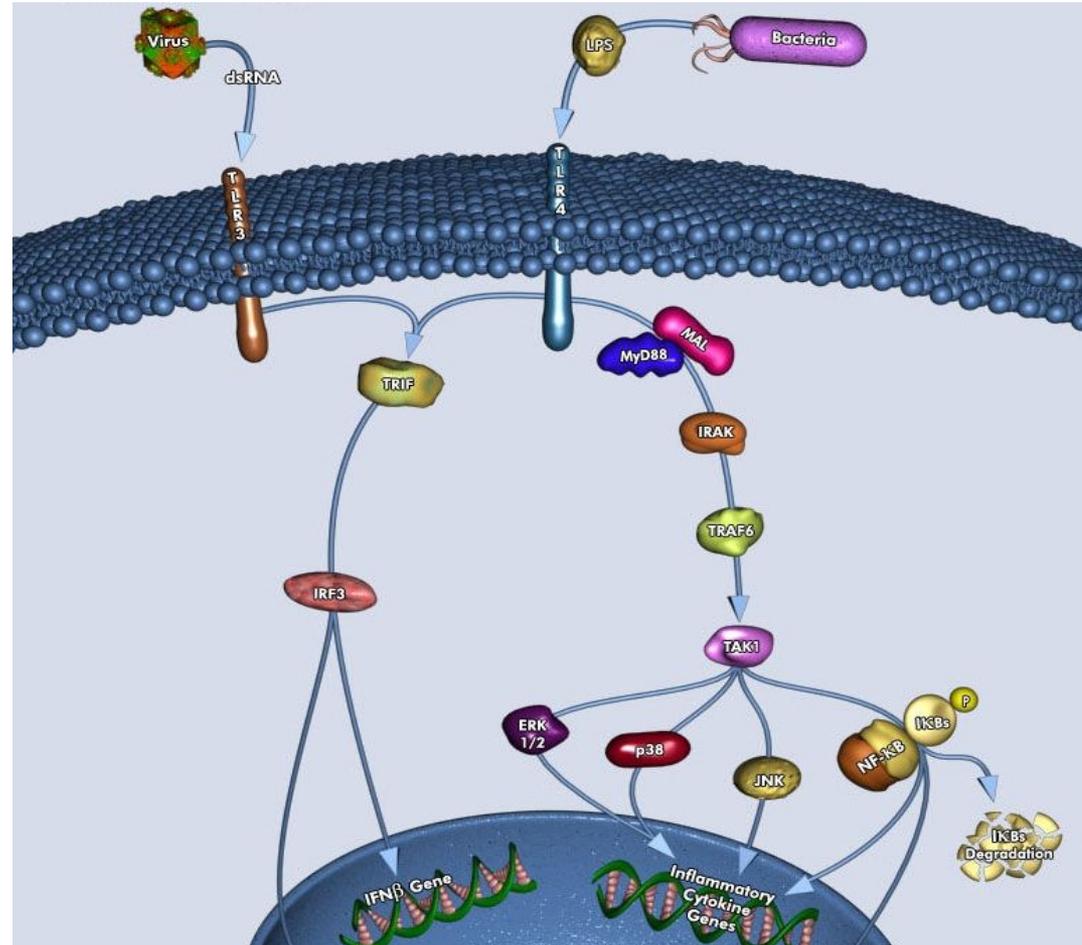


Структура TLR

внеклеточный домен

цитоплазматический домен (TIR)

Сигнальные пути TLR



Антигенные детерминанты

- Высокомолекулярные соединения, способны специфически стимулировать иммунокомпетентные лимфоидные клетки и обеспечивать тем самым развитие ИО.
- Распознавание антигенов происходит индивидуально (а не по группам, как в случае PAMP).
- АГ распознаются антигенспецифическими рецепторами, представленными на клетках одного типа — **лимфоцитах**.

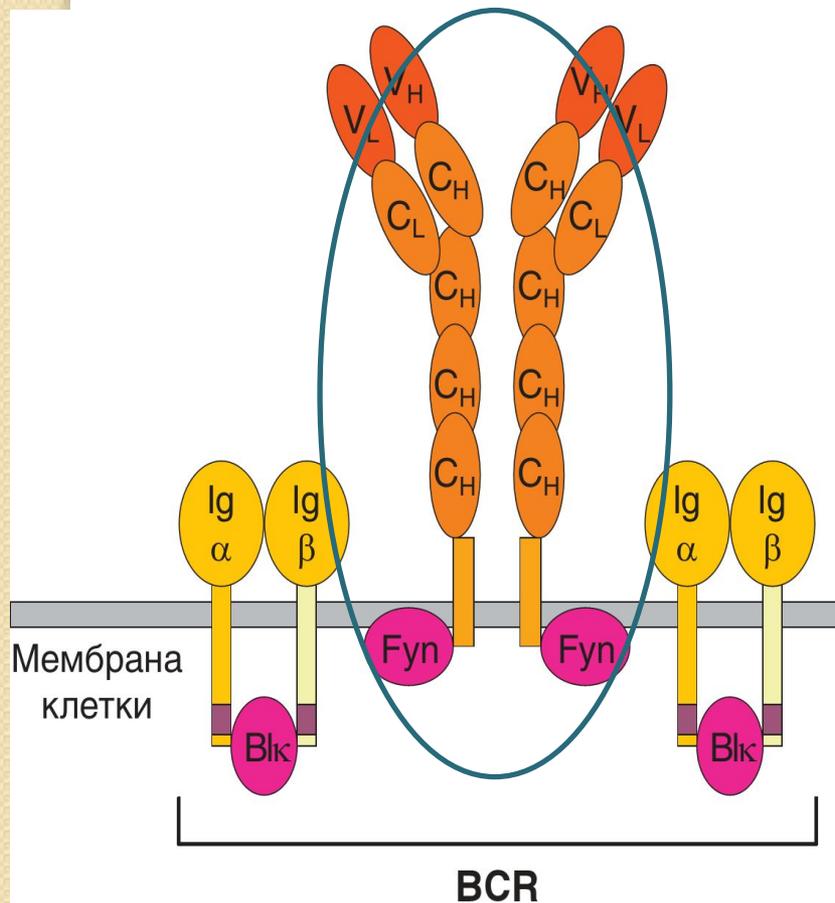
Антигенраспознающие рецепторы (ARR)

- представлены только на В- и Т-лимфоцитах. Важная особенность этих рецепторов — гигантская вариабельность их антигенраспознающих доменов
- Все варианты антигенраспознающих рецепторов не могут быть одновременно представлены на одной клетке
- Выделяют разновидности ARR:
- В-клеточные рецепторы (BCR — B-cell receptors),
- Т-клеточные рецепторы (TCR — T-cell receptor)

В-клеточные рецепторы

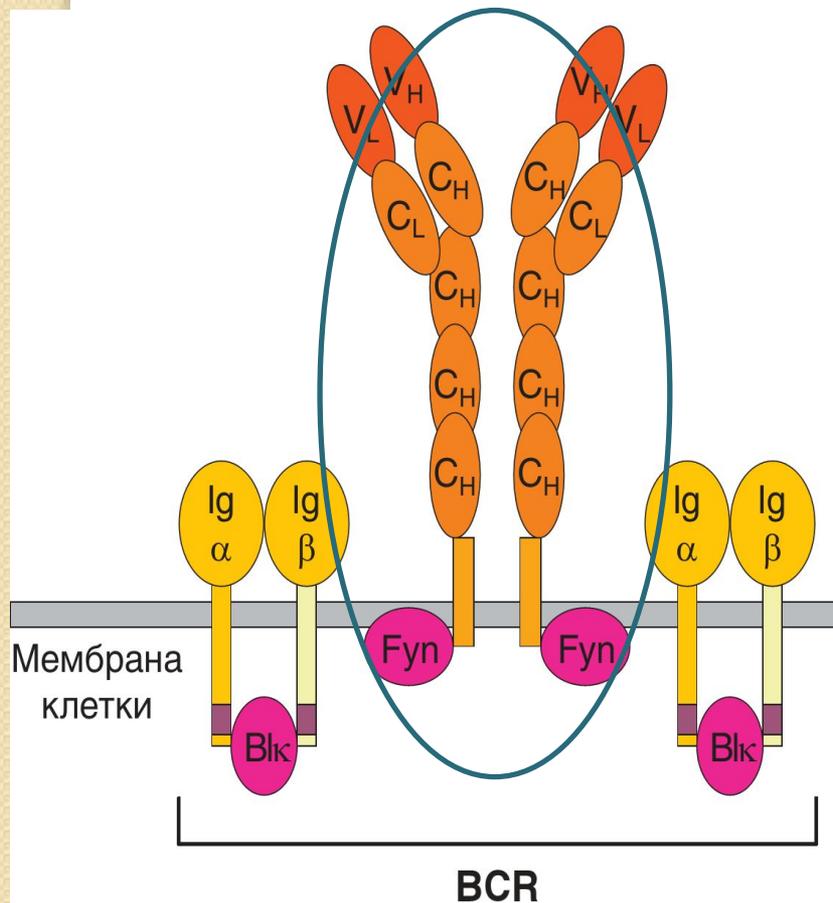
- На В-клетках представлены В-клеточные рецепторы (BCR — B-cell receptors), имеющие иммуноглобулиновую природу
- При дифференцировке В-лимфоцитов в плазматические клетки в ходе ИО эти рецепторы секретируются в растворимой форме, называемой антителами
- BCR распознают свободный и связанный с мембраной АГ (точнее, фрагмент молекулы антигена) называемый эпитопом
- BCR обеспечивает специфическое связывание антигена и обуславливает клональную принадлежность В-клетки

В –клеточный рецептор (BCR)



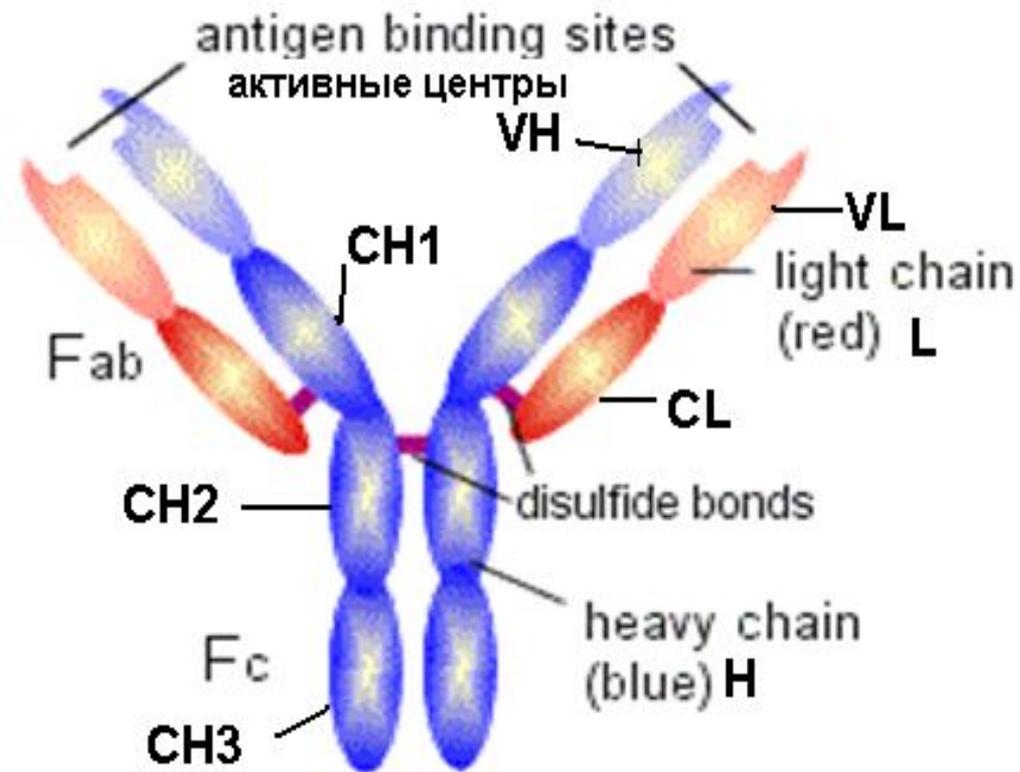
Состоит из мембранного иммуноглобулина (mIg) и белковых молекул, обеспечивающие передачу сигнала внутрь клетки.

В –клеточный рецептор (BCR)



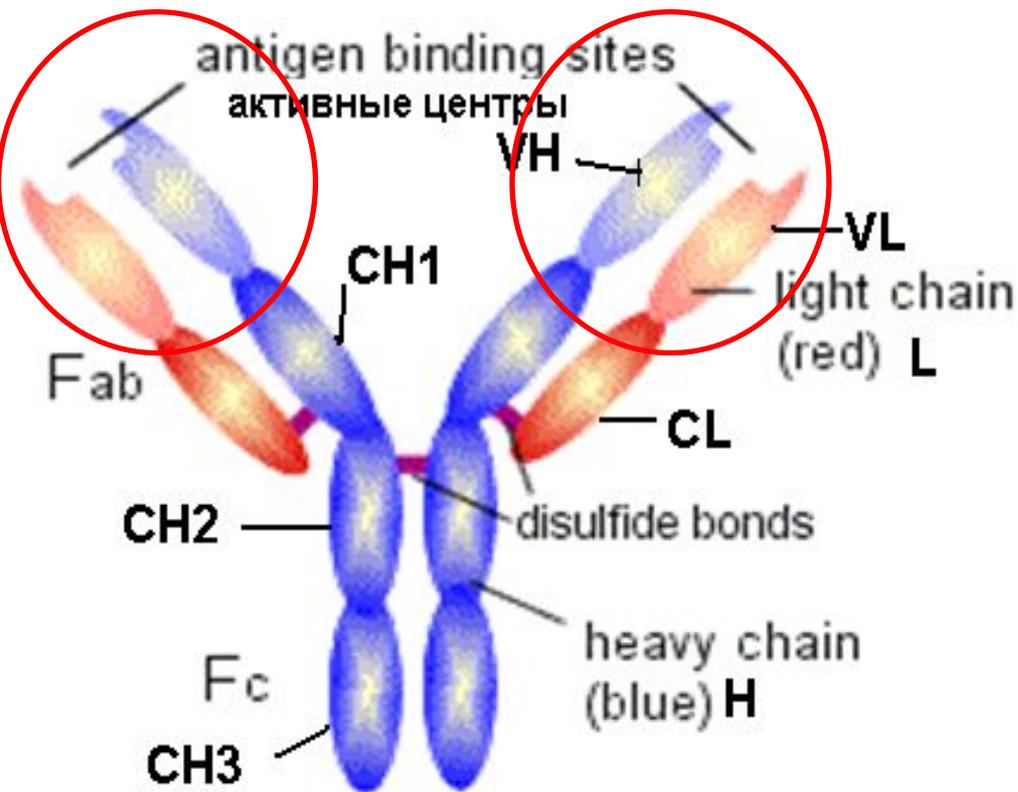
- mIg — специфический маркер В-клеток, экспрессирован на всех зрелых В-лимфоцитах
- Преобладающий класс mIg на наивных В-клетках - IgM.
- На зрелых наивных В-клетках наряду с IgM присутствует IgD.

Рецептор В-клеток для распознавания антигена – BCR (B cell receptor)



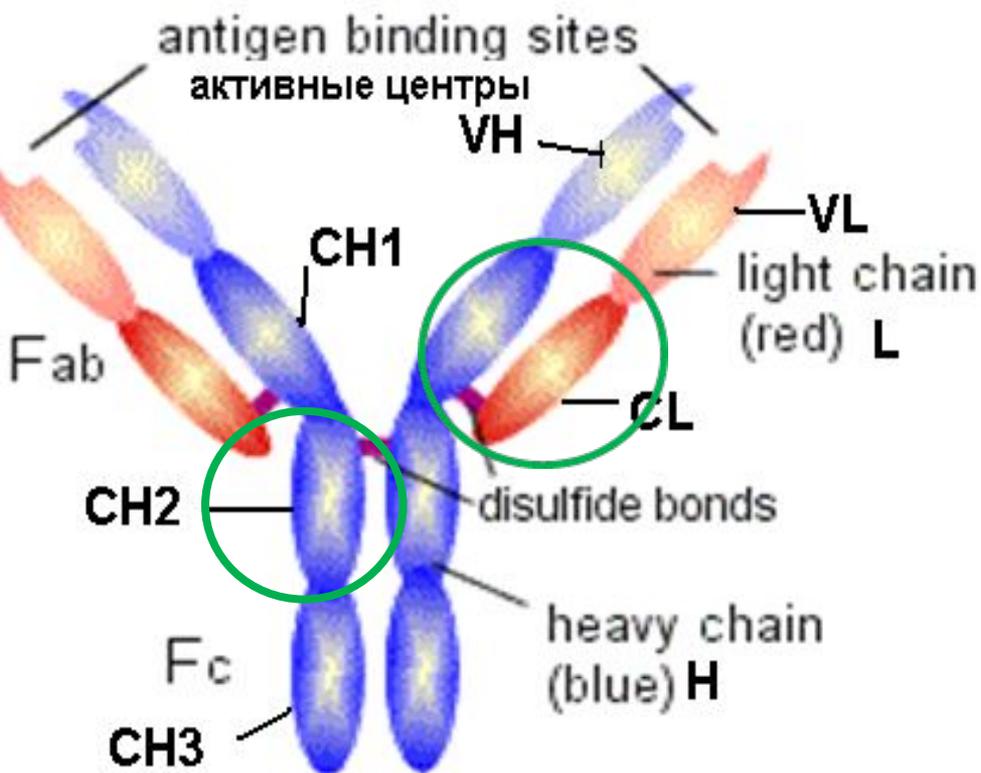
- Его главная часть – молекула иммуноглобулина, встроенная в мембрану – mlg и slg

Рецептор В-клеток для распознавания антигена – BCR (B cell receptor)



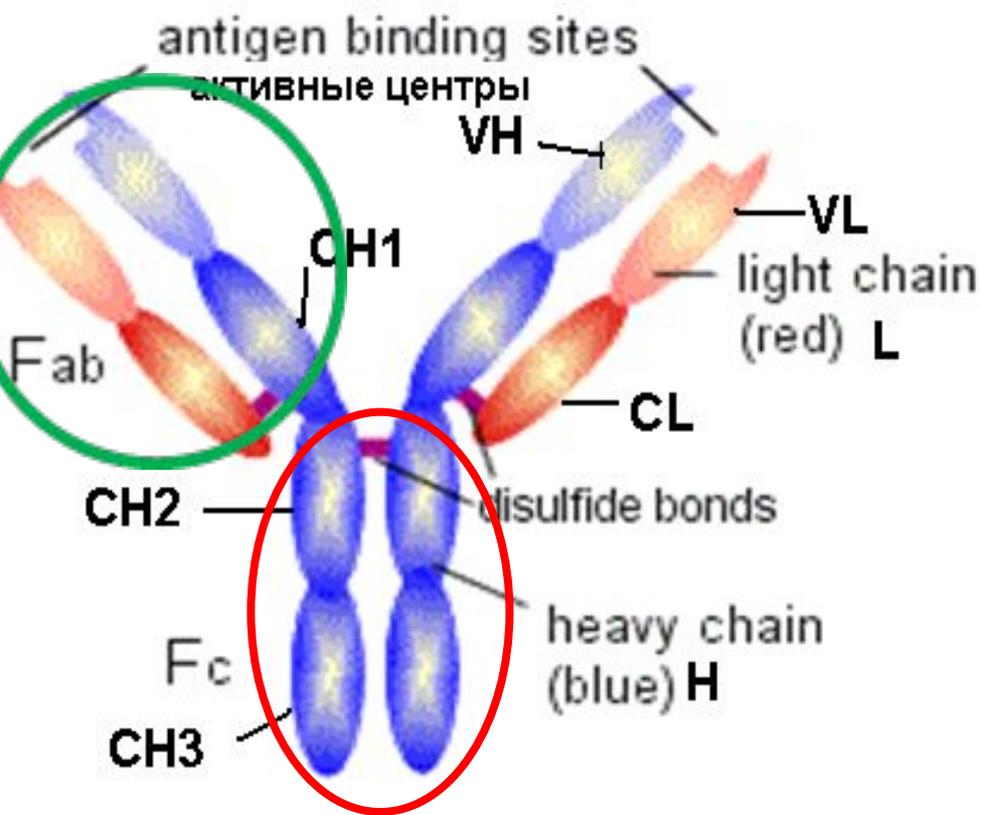
- Концевые домены - переменные – V доменами.
- При комбинации V-доменов L и H-цепей формируются антигенсвязывающие участки (активные центры) – распознают антигенные детерминант

Рецептор В-клеток для распознавания антигена – BCR (B cell receptor)



- С -домены -константы обеспечивают выполнение биологических функций Ig (связывание со спец. рецепторами на клеточных мембранах, с компонентами комплемента и т.д.).
- Обуславливают структурно-функциональные особенности L и H – цепей, определяющие изотип цепей.

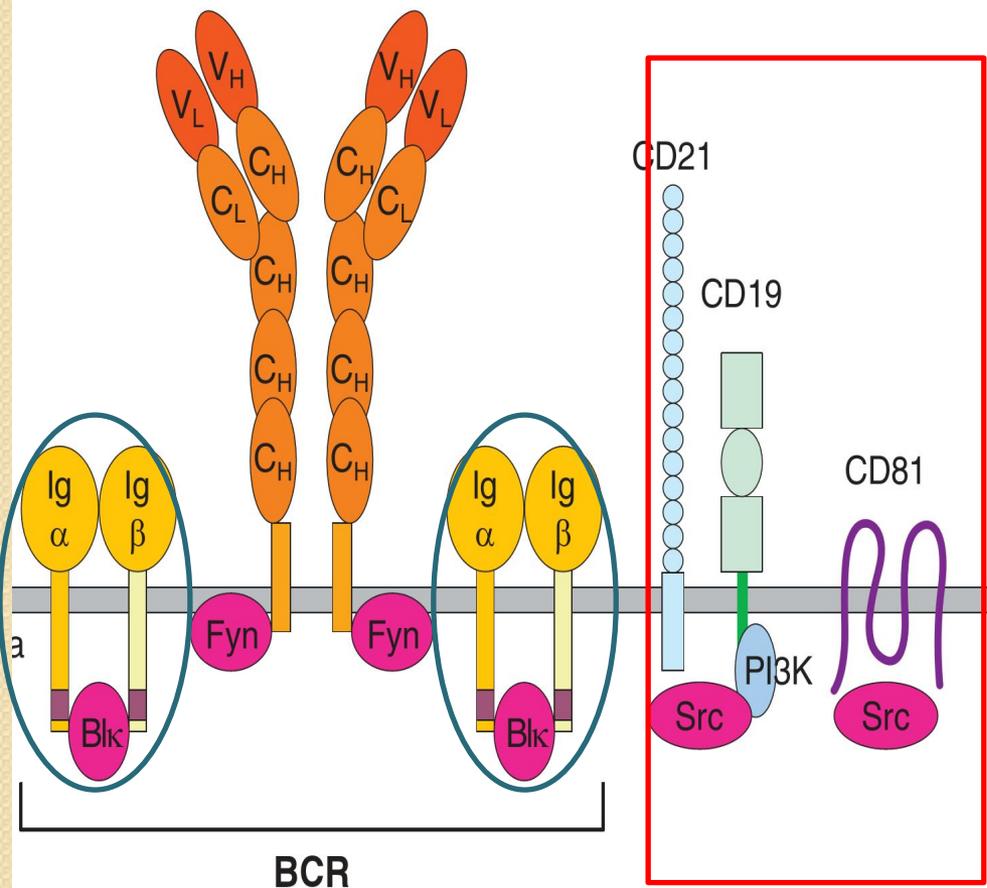
Рецептор В-клеток для распознавания антигена – BCR (B cell receptor)



Fab фрагмент - содержит антигенсвязывающие центры и легкие цепи V и C1 домены тяжелых цепей (L – цепь + концевая половина H – цепи)

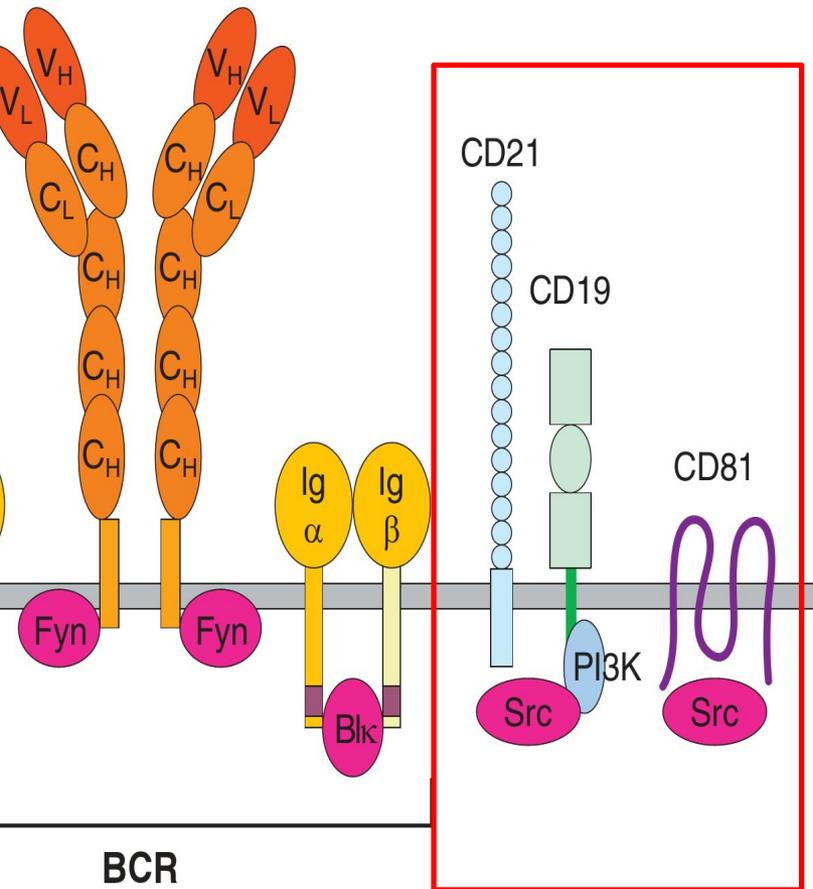
Fc фрагмент - хвостатая часть, лишенная антигенсвязывающей функции и включающие остальные константные домены (концевые половины H- цепи)

В –клеточный рецептор (BCR)



1. Два гетеродимера – **CD79a** и **b** (**Ig α** \b>Ig β) – передача сигнала и связывание антигена внутри клетки
2. Цитоплазматическая часть CD79a и b связана с Src-тирозинкиназами (Fyn, Lyn и BLK) – посредники между иммунорецепторами и компонентами внутриклеточных сигнальных цепей
3. Корецепторы – CD19, CD21, CD81 – усиливают активность сигнала, генерируемого BCR

В –клеточный рецептор (BCR)



1. CD19 связаны с Src-тирозинкиназами Fyn и Lyn, а также липидной киназой PI3K – обеспечение сигнальной функции
2. CD21 - рецептор компонентов комплемента C3b (распознавание комплексов АГ-АТ- C3b)
3. CD81 – четырехкратно пронизывает мембрану , также связана с Src-киназами

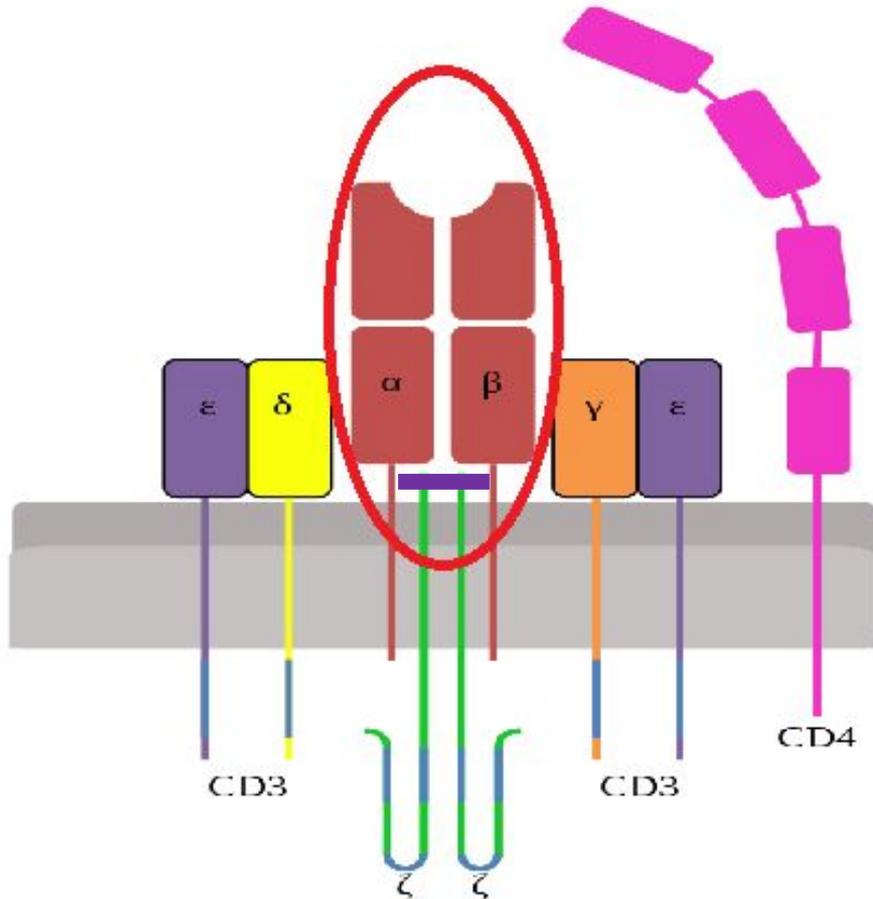
Особенность BCR

1. рецепторы равномерно располагаются на поверхности В-лимфоцитов;
2. рецепторы обладают подвижностью и могут перемещаться по поверхности В-лимфоцита (присоединение антигена ведет к концентрированию комплексов рецептор-антиген на одном из полюсов клетки в виде шапочки с последующим поглощением ее клеткой)
3. характеризуются высокой специфичностью

Т-клеточные рецепторы

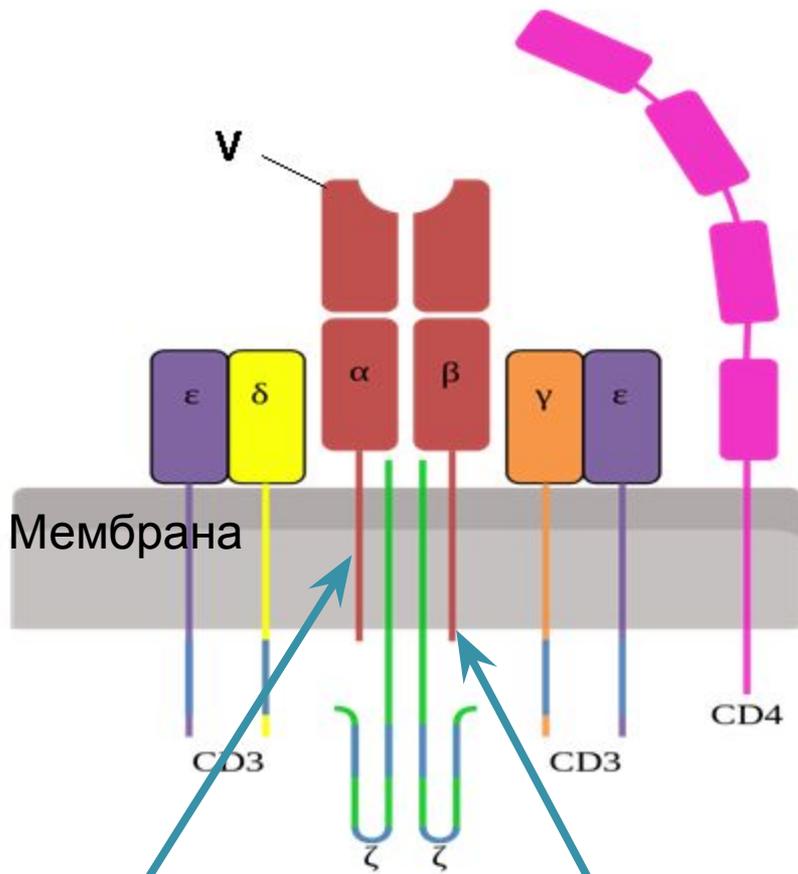
- Т-клеточные рецепторы (TCR — T-cell receptor) существуют в двух вариантах.
- По названию входящих в их состав полипептидных цепей: $\alpha\beta$ TCR и $\gamma\delta$ TCR.
- Представлены на мембране двух различных типов Т-клеток и не секретируются. $\alpha\beta$ TCR распознает фрагмент АГ (эпитоп), презентруемый в составе специализированных молекул главного комплекса гистосовместимости— МНС (Major histocompatibility complex), которые экспрессируются на поверхности клеток (АПК).

T-клеточный рецептор (TCR)



- Основа TCR - белок, состоящий из двух субъединиц — α и β
функция - распознавание АГ

T-клеточный рецептор (TCR)

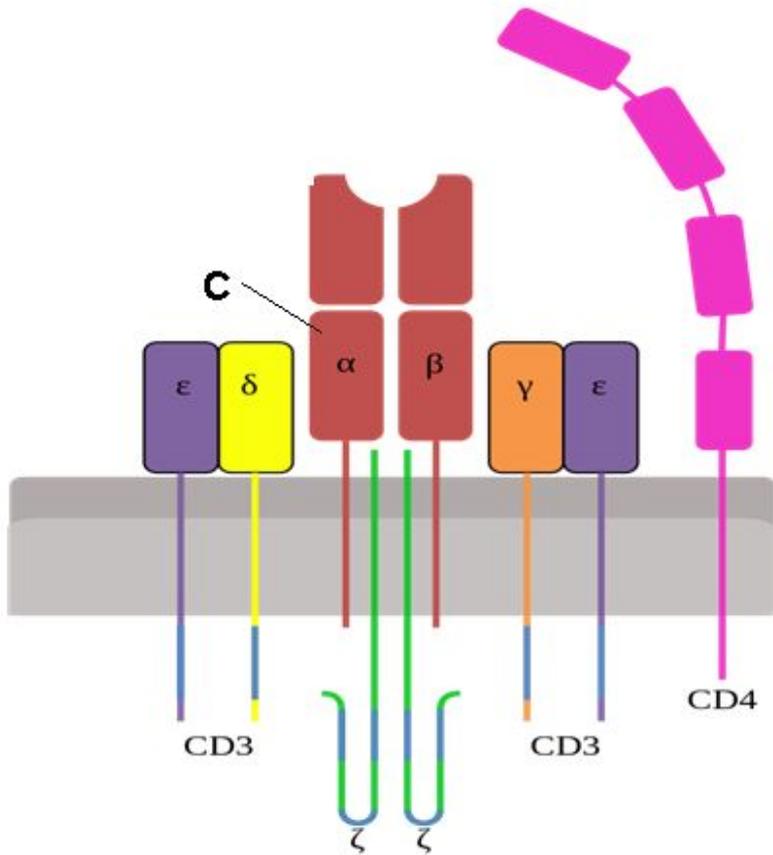


- N-концевые домены являются переменными (V) - отвечают за связывание антигена, презентируемого молекулами МНС
- Рецептор имеет трансмембранный участок (положительно заряженный) и короткий цитоплазматический участок

трансмембранный
участок

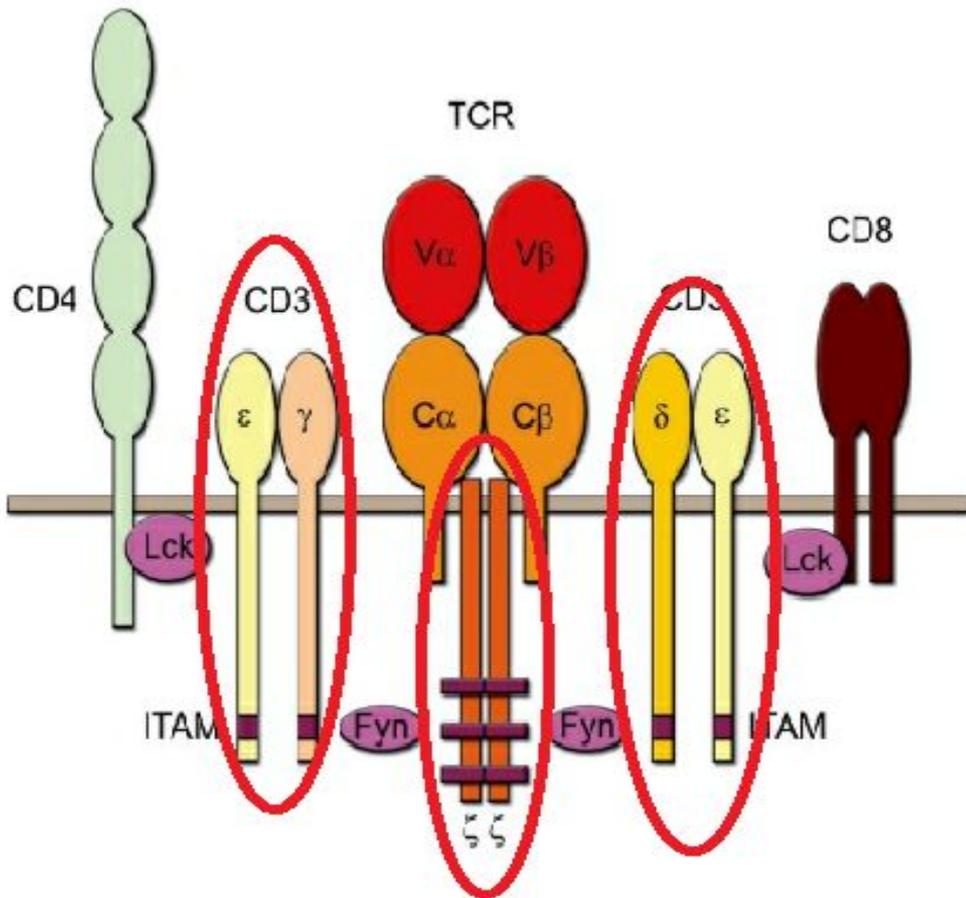
цитоплазматический
участок

T-клеточный рецептор (TCR)



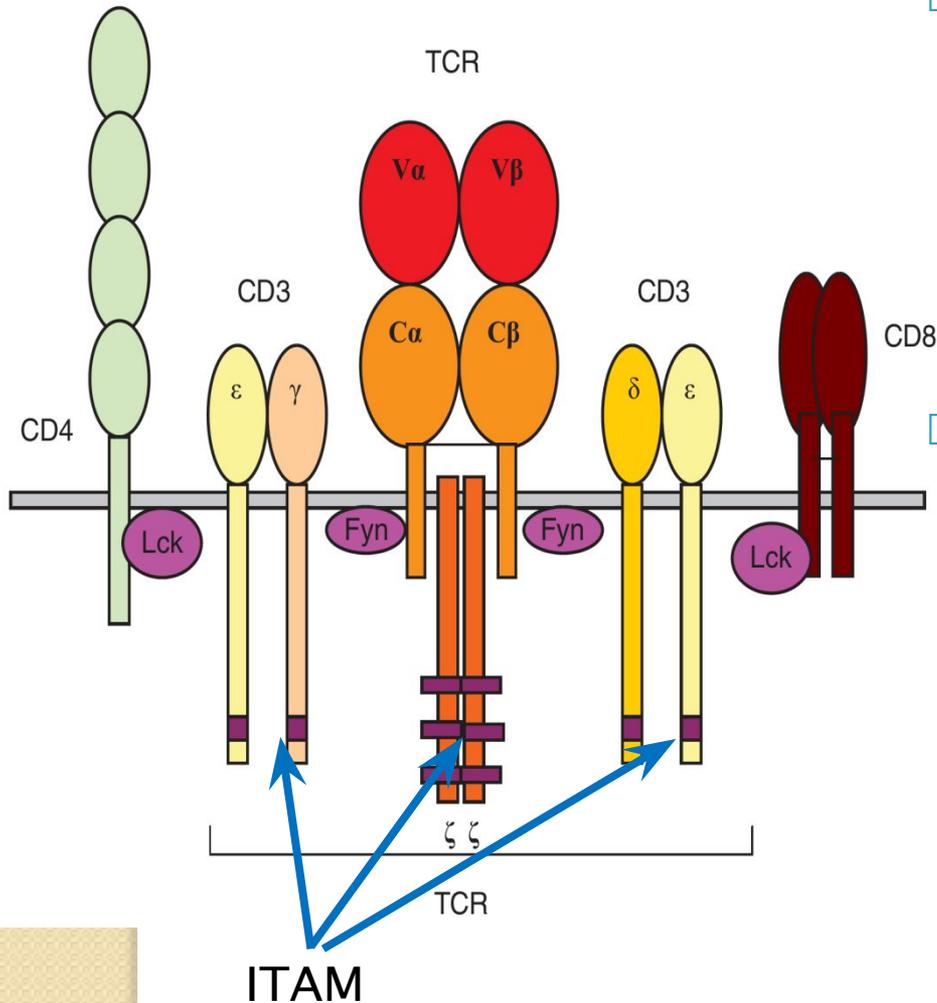
- Второй домен — константный (C) и его структура одинакова у всех субъединиц данного типа

T-клеточный рецептор (TCR)



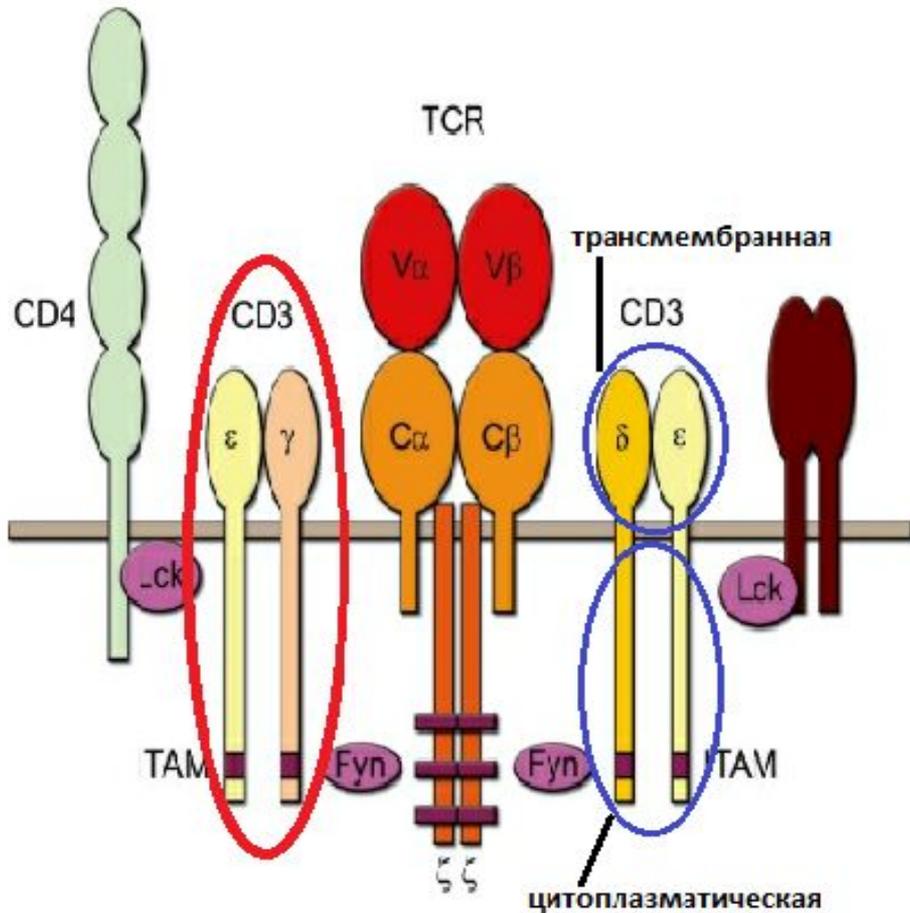
- вспомогательные молекулы для передачи сигнала - три димера – $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$, $\zeta\zeta$.
- имеющиеся дисульфидные связи между γ - и ζ -цепями и δ - и ζ -цепями связаны нековалентно

T-клеточный рецептор (TCR)



- В цитоплазматической части вспомогательных цепей содержится ITAM - ключевая структура для передачи сигнала.
- ITAM -использует тирозиназу Fyn - включение активационных сигналов

T-клеточный рецептор

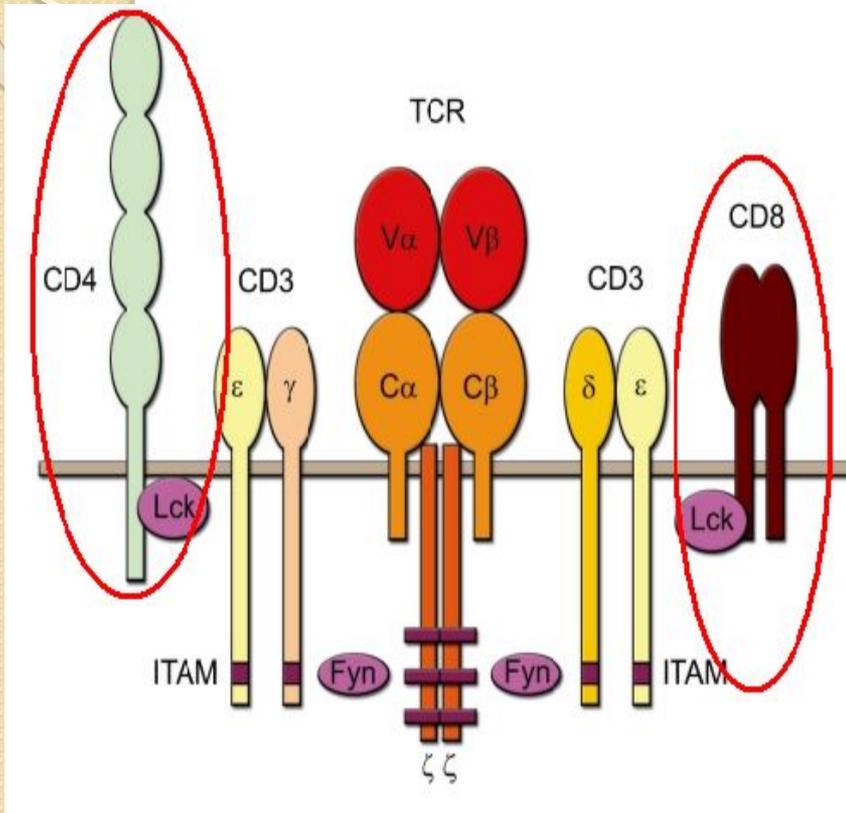


Комплекс CD3.

Функции:

- экспрессия α- и β-цепей,
- стабилизация
- проведение сигнала внутрь клетки

T-клеточный рецептор



- ▶ корецепторные молекулы - CD4 или CD8
- ▶ отсутствуют на клетках несущих TCR $\gamma\delta$
- ▶ на мембране TCR $\alpha\beta$ – связь устанавливается в процессе презентации АГ
- ▶ Функция: участвует в проведении сигнала внутрь клетки **при распознавании АГ**

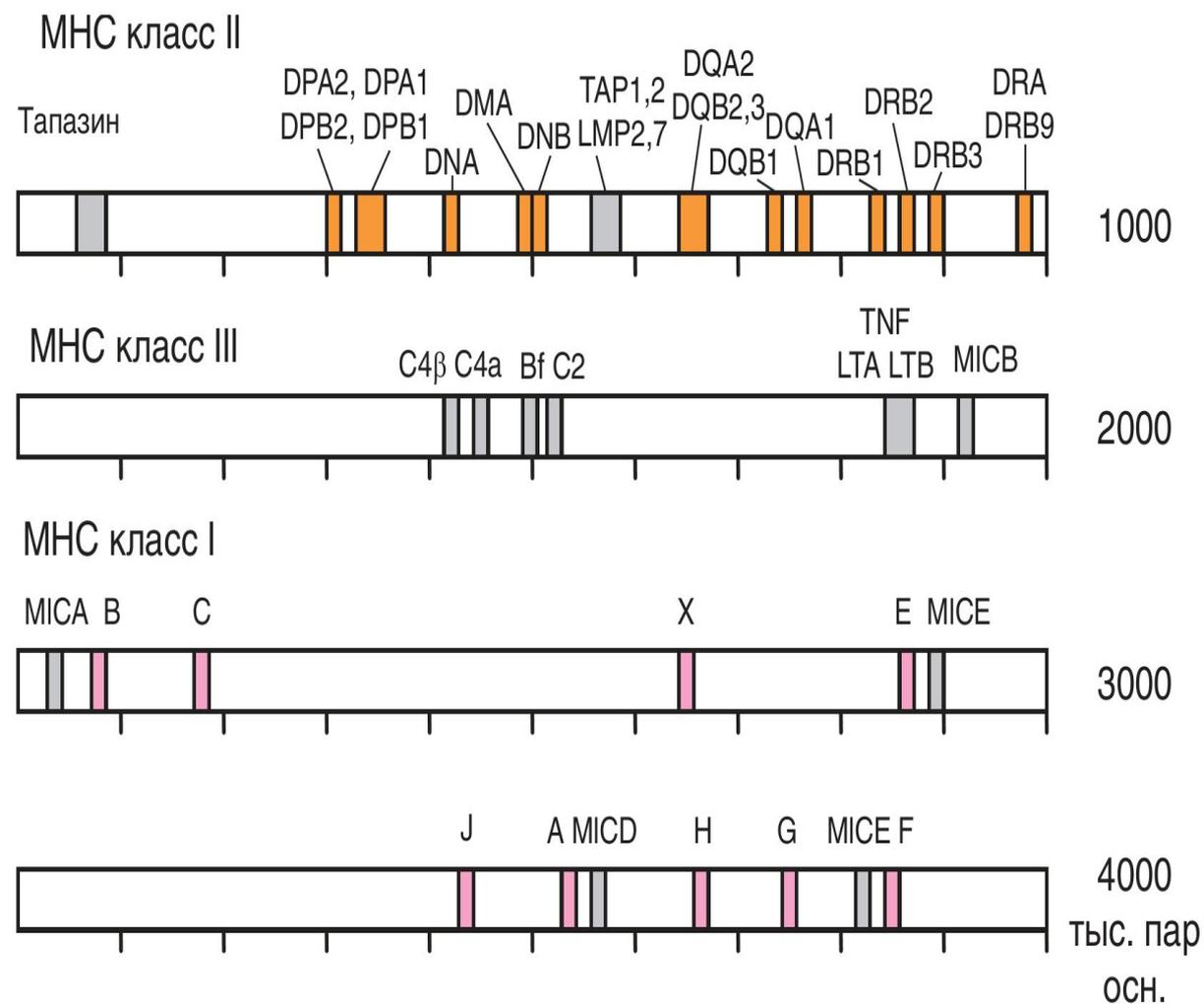
Сравнение рецепторов В- и Т-клеток

| Характеристика | В-клетки | Т-клетки |
|--|--|---|
| Название | BCR (распознающая часть — иммуноглобулин) | Комплекс TCR–CD3 (распознающая часть — TCR) |
| Число полипептидных цепей в распознающем комплексе | 4 цепи 2 типов (H и L) | 2 цепи (α и β или γ и δ) |
| Молекулярная масса, кДа | 160–190 | $\alpha\beta$ — 80–100, $\gamma\delta$ — 85–110 |
| Число и типы доменов | В H-цепях: V — 1, C — 3–4. В L-цепях: V — 1, C — 1 | В каждой цепи: V — 1, C — 1 |
| Ассоциированные молекулы | Два димера $Ig\alpha/g\beta$ | Комплекс CD3 ($\gamma\delta\epsilon_2$) |
| Аффинность (Kd, M) | 10^{-7} – 10^{-11} | 10^{-5} – 10^{-7} |
| Секретируемые формы | Есть (антитела) | Нет |

Главный комплекс гистосовместимости (МНС)

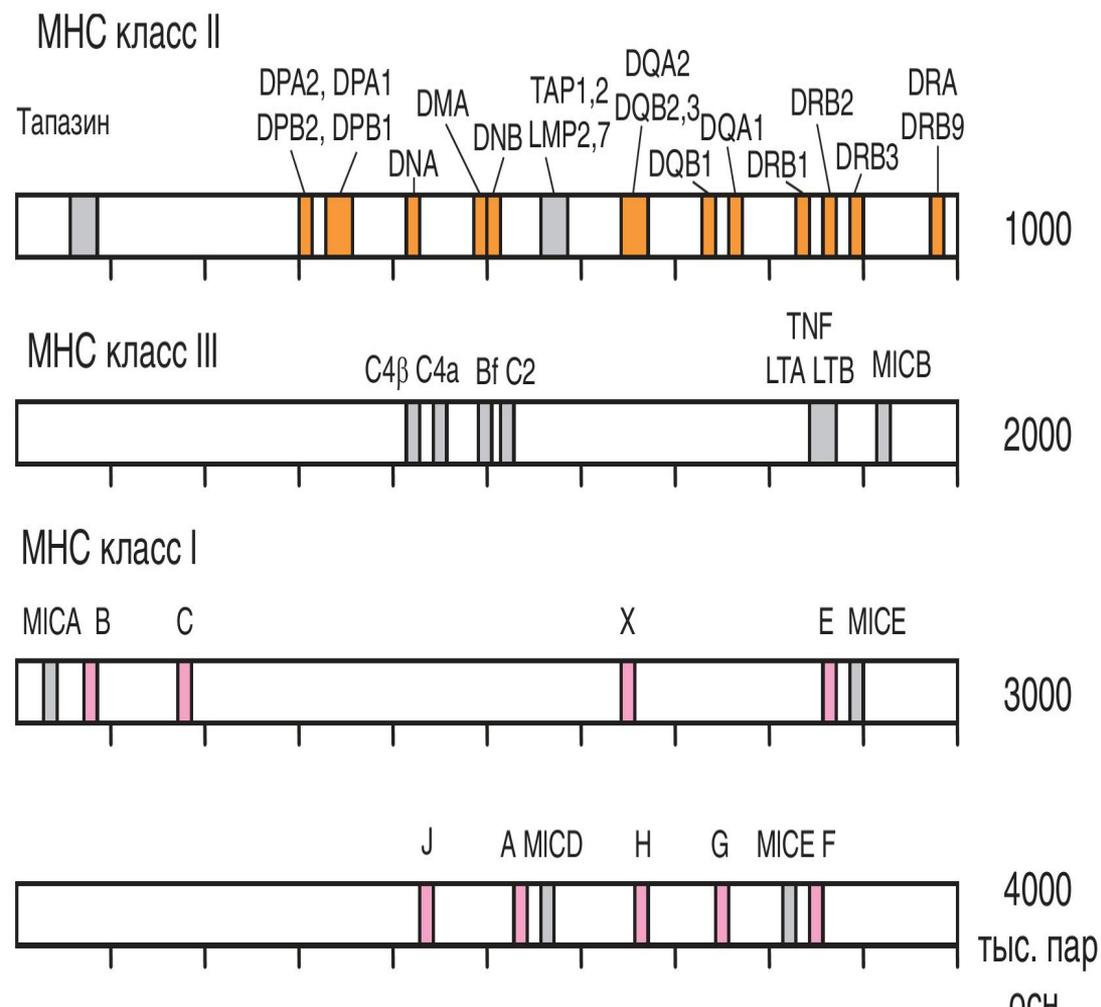
- МНС (Major histocompatibility complex) - главный комплекс гистосовместимости
- HLA (Human leukocyte antigens) - комплекс лейкоцитарных антигенов человека - МНС человека
- Т –ЛФ не распознают АГ **эпитопы** самостоятельно, только встроенные в специализированные молекулы **МНС**.
- Выделяют 3 класса генов МНС— I, II и III.
- В отторжении несовместимых трансплантатов и презентации антигена Т-клеткам участвуют продукты генов классов I и II.

Карта генов главного комплекса гистосовместимости



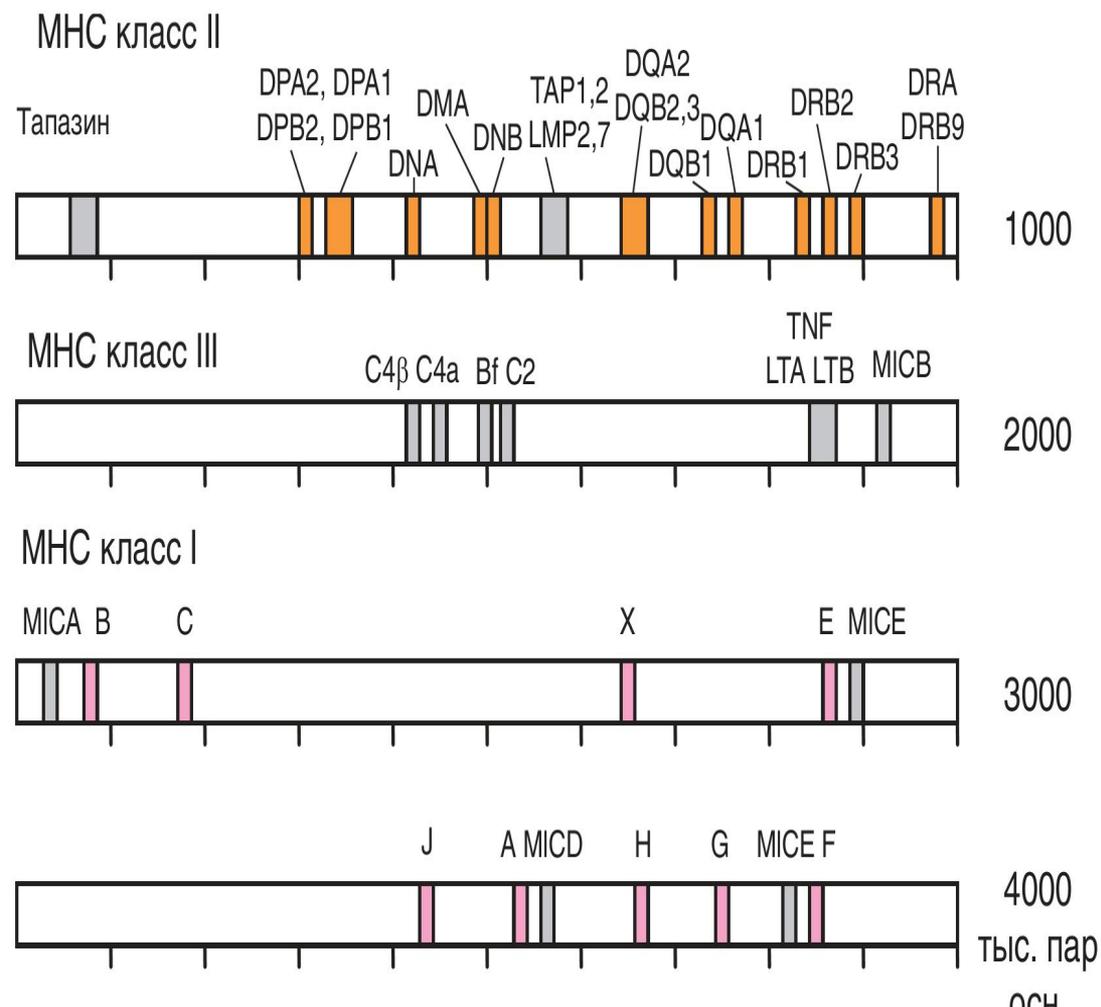
- HLA человека на хромосоме 6
- Содержит гены 3-х классов
- **HLA I класса** экспрессируются на **всех клетках** организма, распознаются Т-ц, при участии **CD 8**

Карта генов главного комплекса гистосовместимости



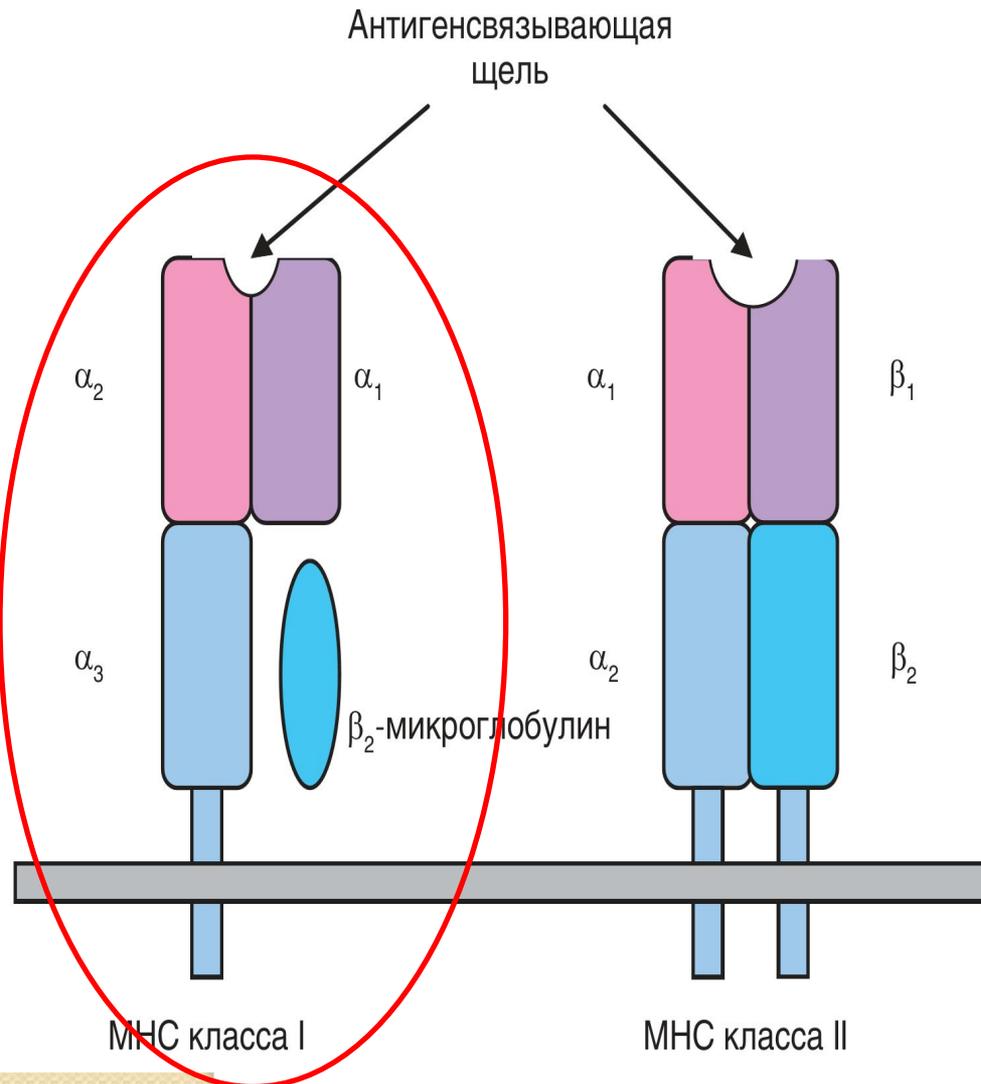
- **HLA II** класса экспрессируются **на антигенпредставляющих клетках** (макрофагах, ДК, В-л), распознаются Т-х, при участии корцептора **CD 4**
- Индуцируют реакцию гуморального ответа

Карта генов главного комплекса гистосовместимости



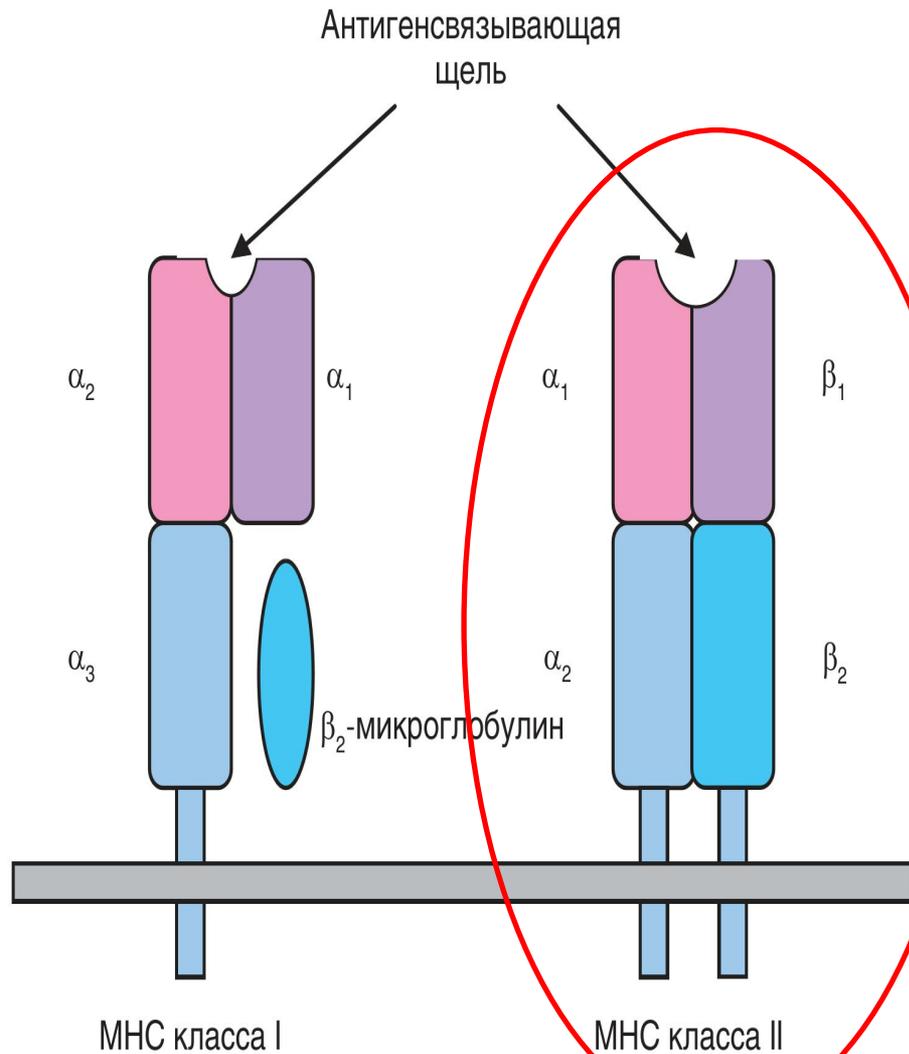
- HLA III класса контролируют некоторые компоненты системы комплемента, цитокины семейства ФНО и стрессорные белки, распознаваемые НК - клетками участия корцептора CD 4
- Индуцируют реакцию гумморального ответа

Строение молекул МНС



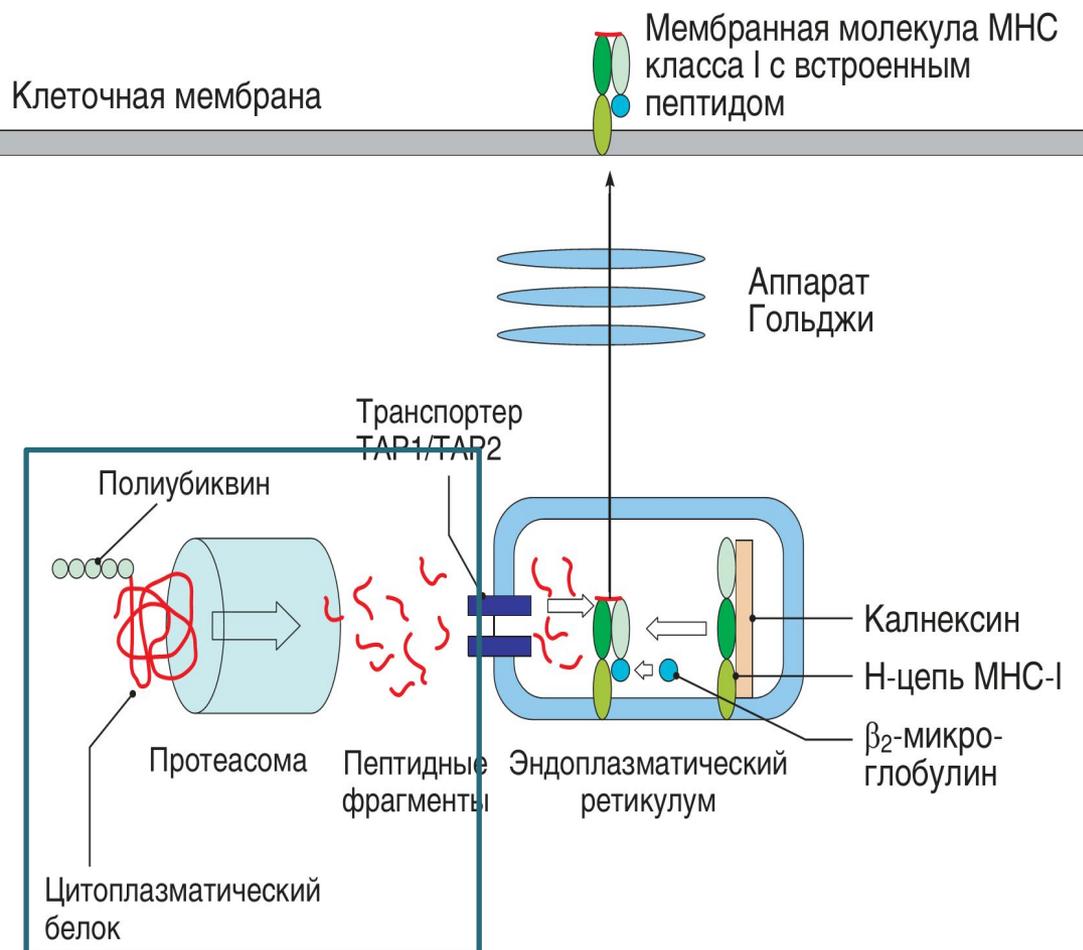
- МНС I (α - цепь) содержит три домена из которых 2 (α_1 и α_2) формируют щель для включения АГ-пептида.
- α -Цепь имеет трансмембранный и короткий цитоплазматический участки, не обладающий ферментативной активностью и не связанный с ферментами
- Дополнительная цепь β_2 – микроглобулин с локусом не связана

Строение молекул МНС



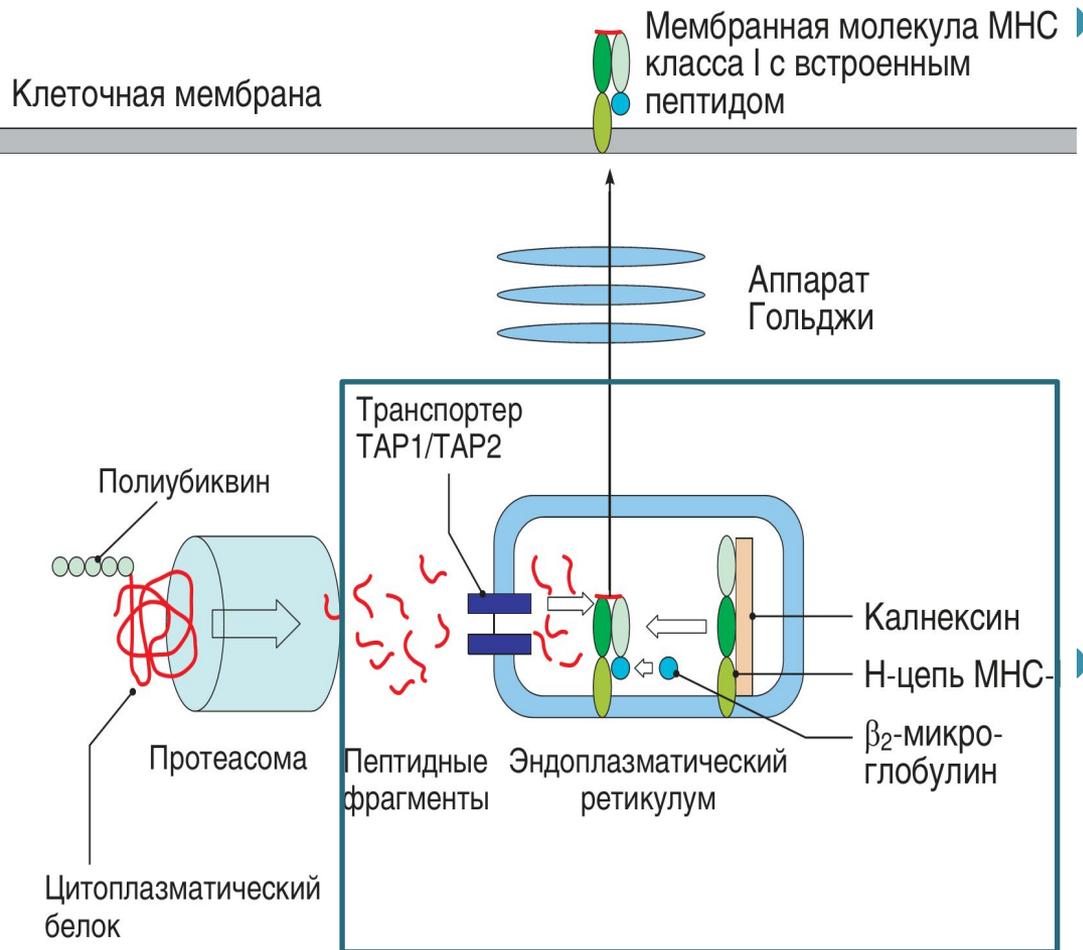
- МНС II содержит две цепи (α и β) по два домена цепи ($\alpha 1$ $\alpha 2$ и $\beta 1$ и $\beta 2$)
- щель для включения АГ-пептида сформирована наружными цепями ($\alpha 1$ и $\beta 1$)
- имеют трансмембранные и короткий цитоплазматический участки.
- Домены $\alpha 2$ и $\beta 2$, прилежащие к мембране, принадлежат к суперсемейству иммуноглобулинов

Процессинг молекул МНС I



- Синтез молекул МНС-I и встраивание пептида в эндоплазматическом ретикулуме
- Белки цитозоля, поступают в протеасомы, в которых расщепляются на пептидные фрагменты

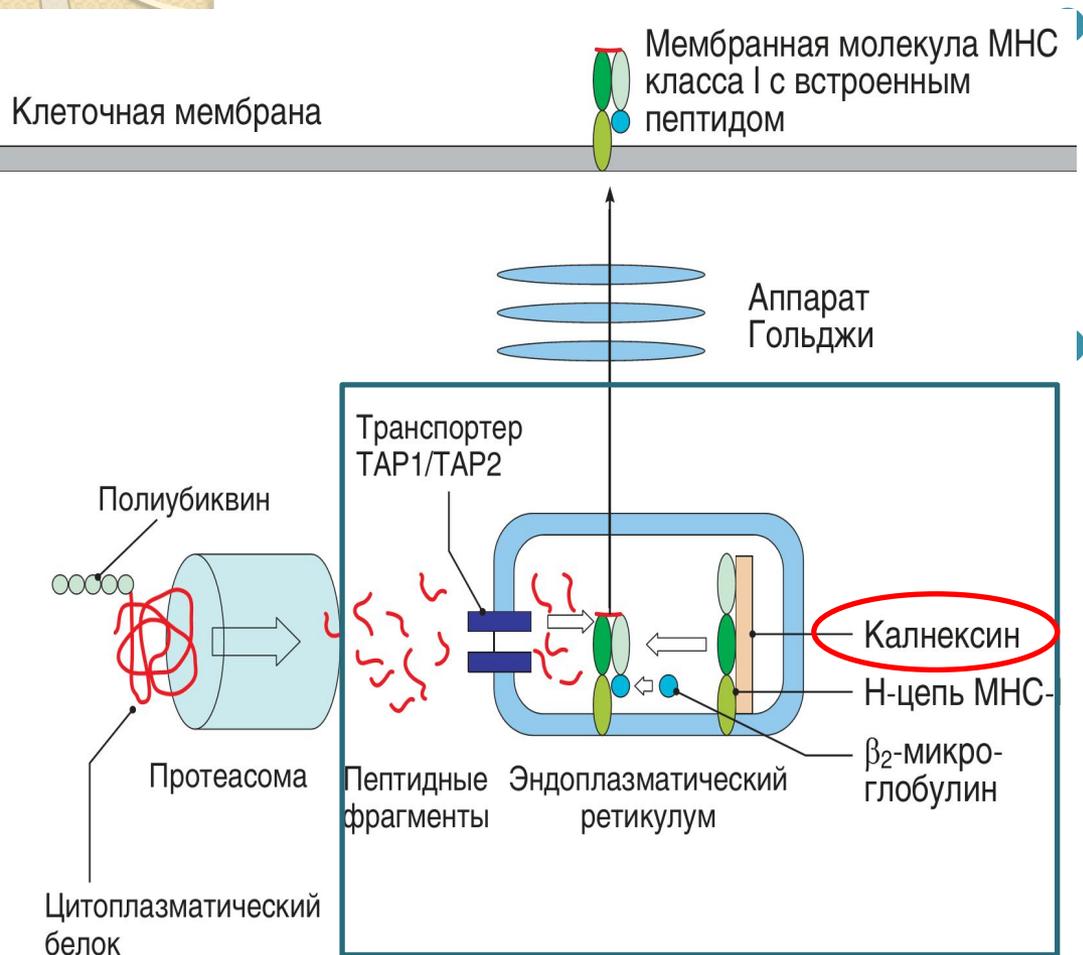
Процессинг молекул МНС I



Пептиды перемещаются из цитозоля в ЭР с помощью транспортных систем TAP (*Transporter associated with antigen processing*), кодируемых МНС-генами TAP1 и TAP2

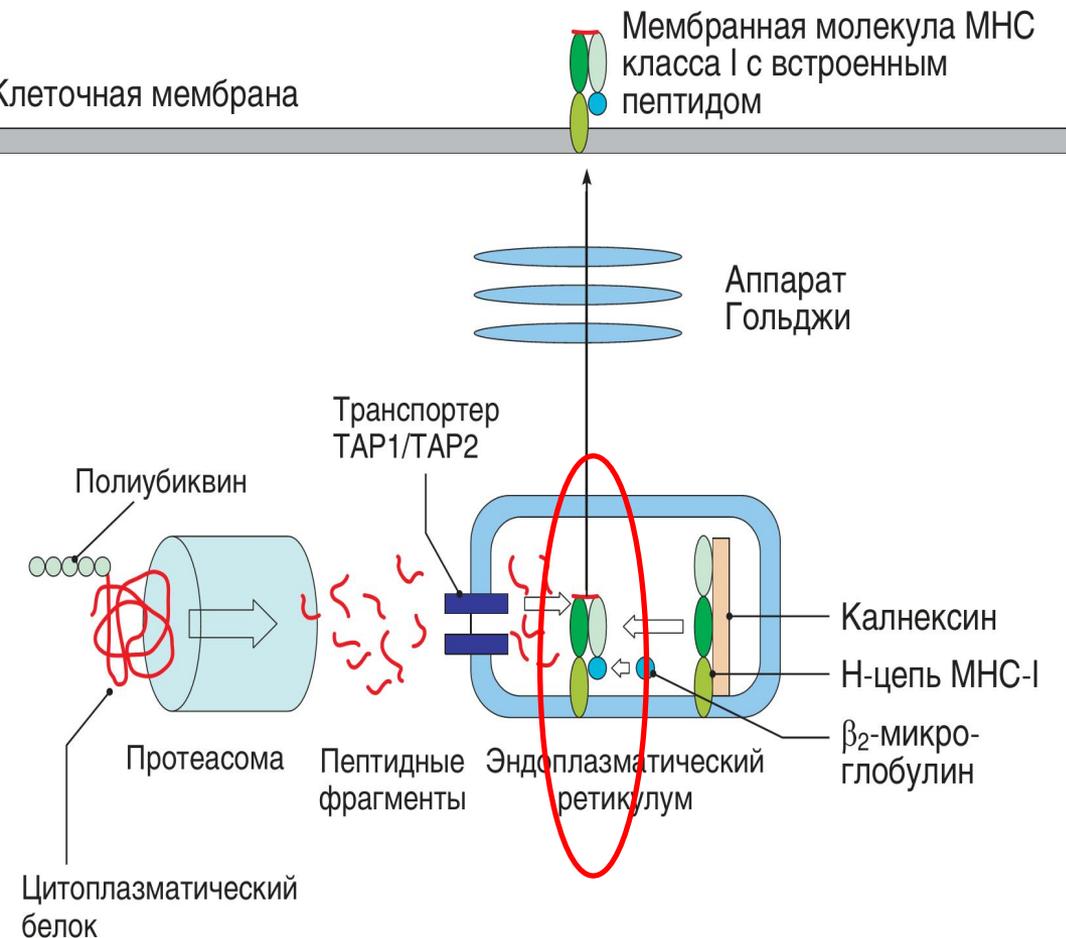
В ЭР происходит непрерывный синтез молекул МНС I.

Процессинг молекул МНС I



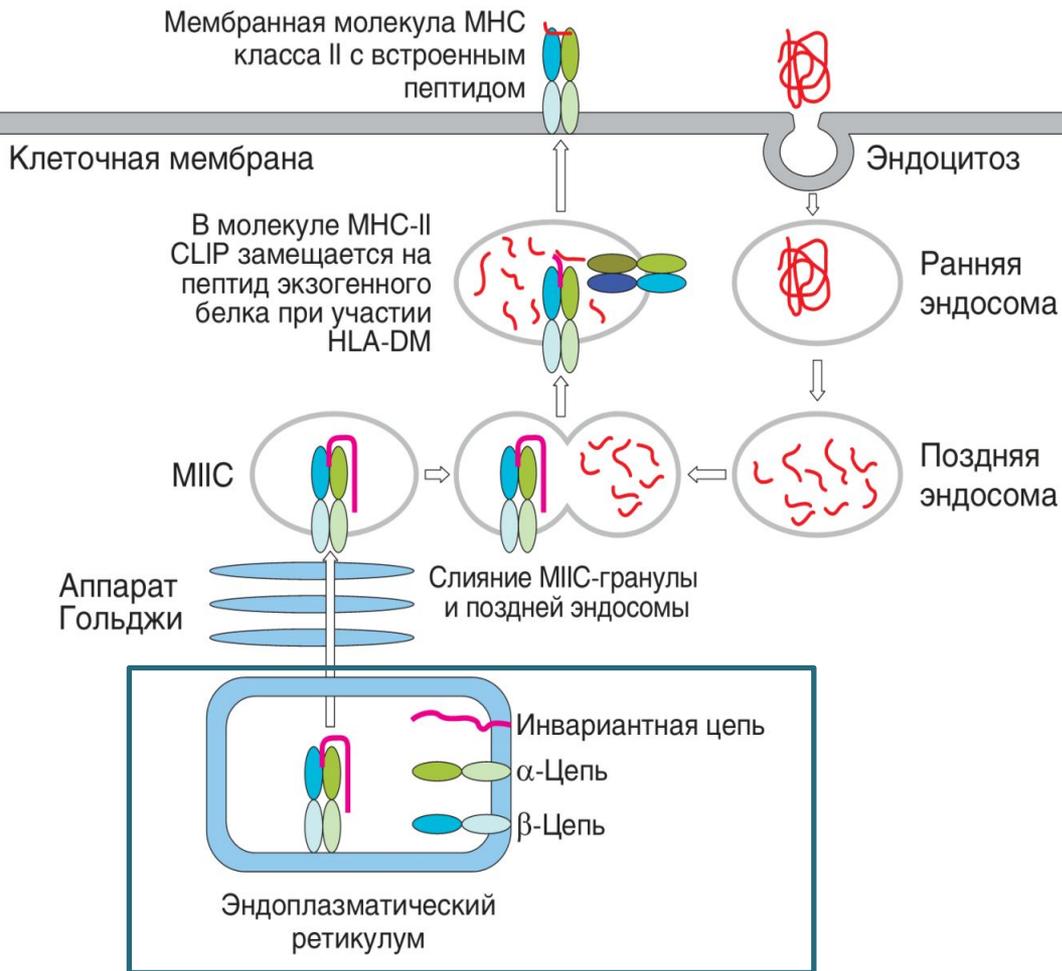
- α -цепь молекулы удерживается в нужной конфигурации с помощью шаперона калнексина.
- После присоединения β_2 – микроглобулина калнексин перестает быть связанным с молекулой и к ней присоединяются другие шапероны – калретикулин и типазин.

Процессинг молекул МНС I



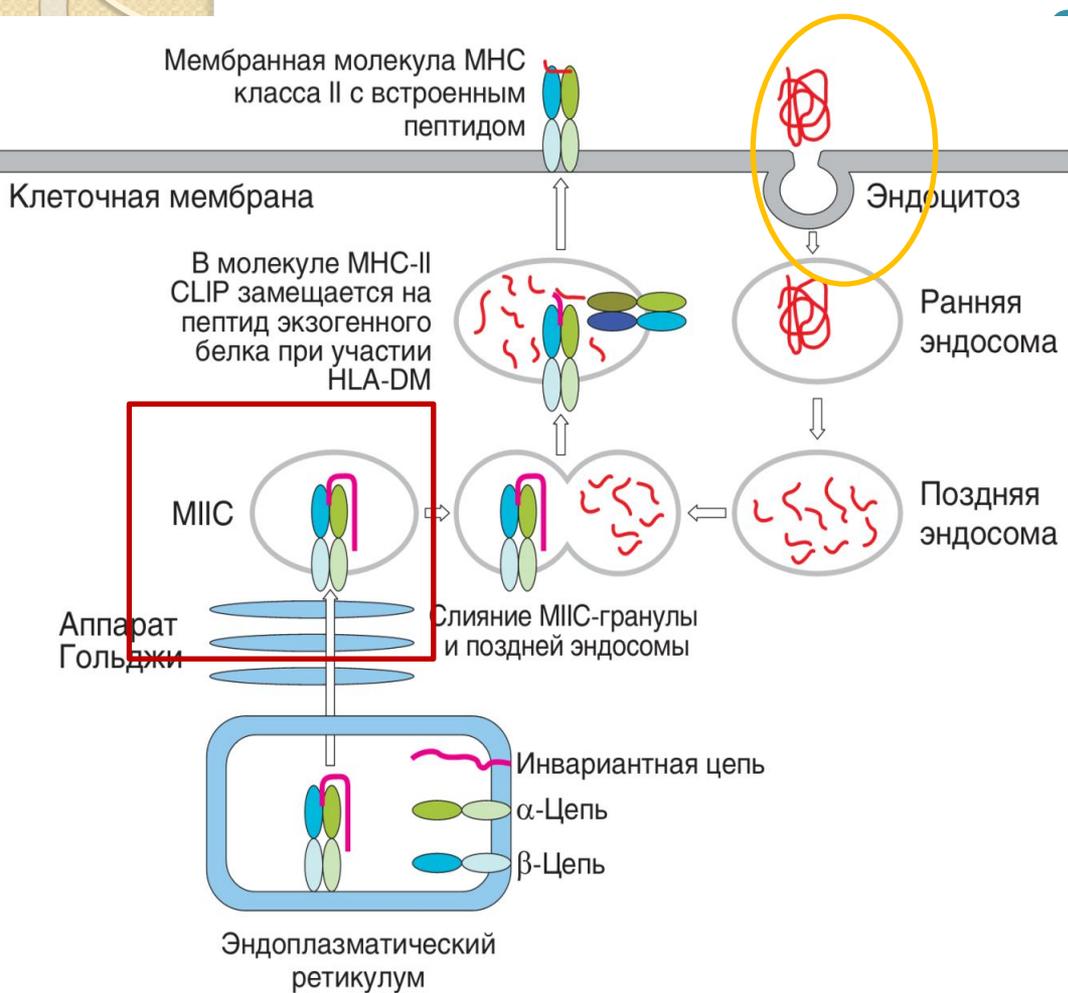
- После встраивания пептида шапероны отделяются от полностью собранной молекулы
- Молекула приобретает стабильную форму
- Готовая молекула в составе мембраны перемещается в аппарат Гольджи и выносится на поверхность клетки.

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов



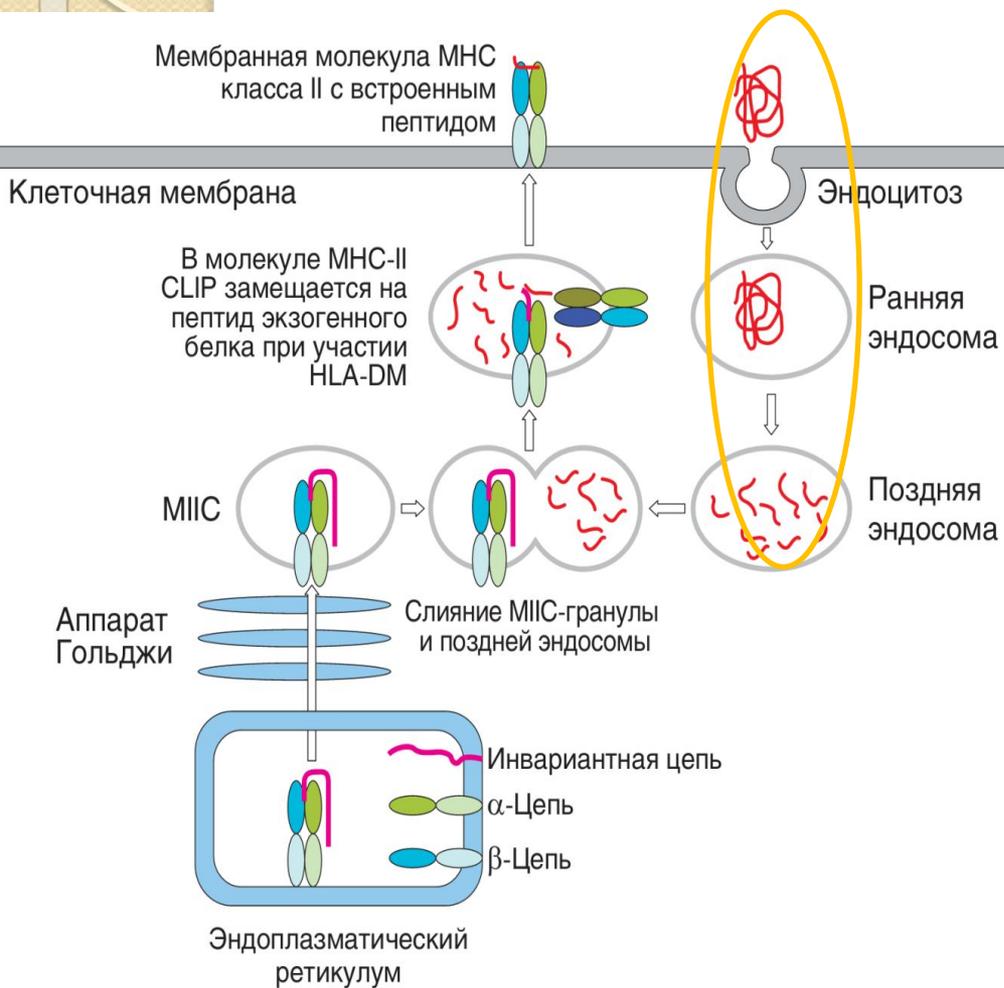
- Полипептидные цепи молекул МНС II синтезируются в ЭР антигенпрезентирующей клетки и встраиваются в его мембрану
- При сборке молекулы для ее стабилизации включается третья цепь – Ii (Invariant chain) (инвариантная)

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов



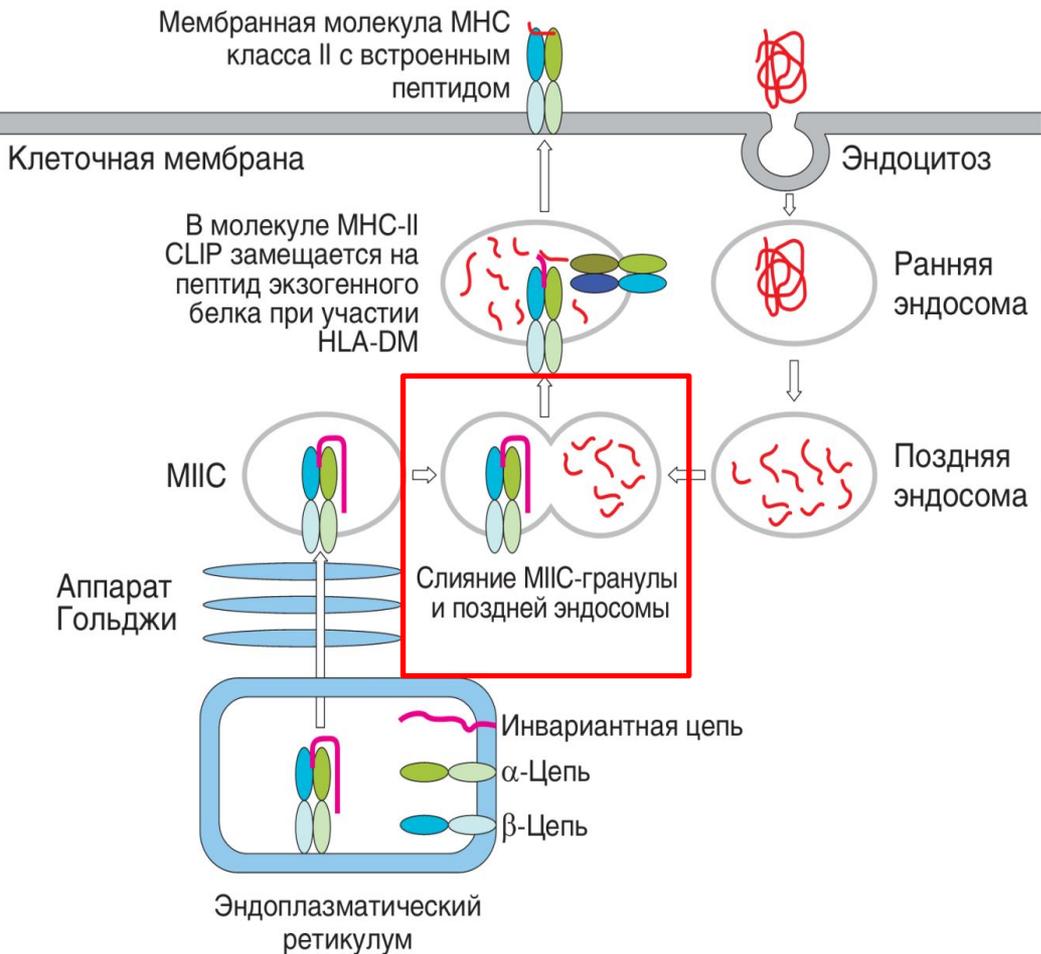
- Фрагмент мембраны ретикулума, содержащий эти молекулы отшнуровывается и образуется компартмент молекулы МНС II - MIIC (MHC class II compartment).
- Параллельно формируются эндосомы, за счет эндоцитоза клеткой молекул ее окружения (среди них м.б. АГ)

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов



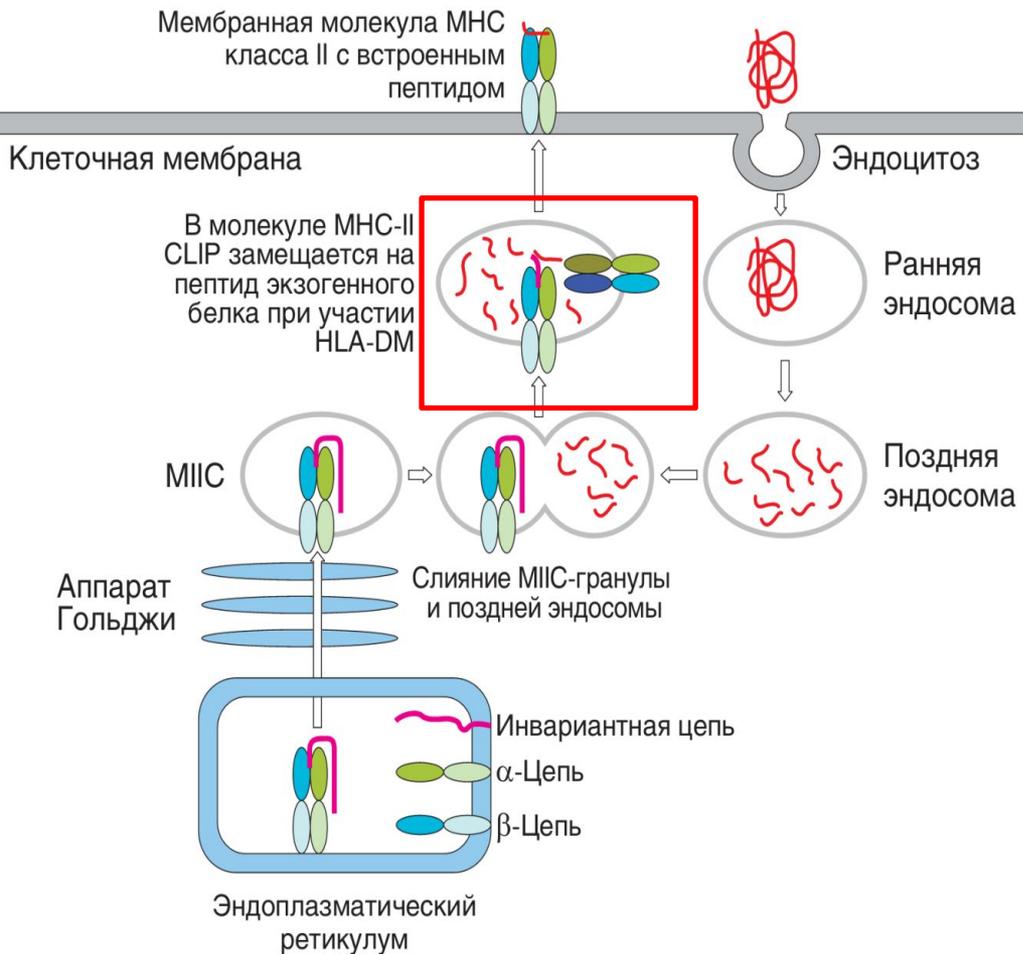
- По мере превращения ранней эндосомы в позднюю (погружение эндосомы внутрь клетки) происходит закисление его содержимого и активация катепсинов
- Катепсины расщепляют поглощенные белки до пептидных фрагментов

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов



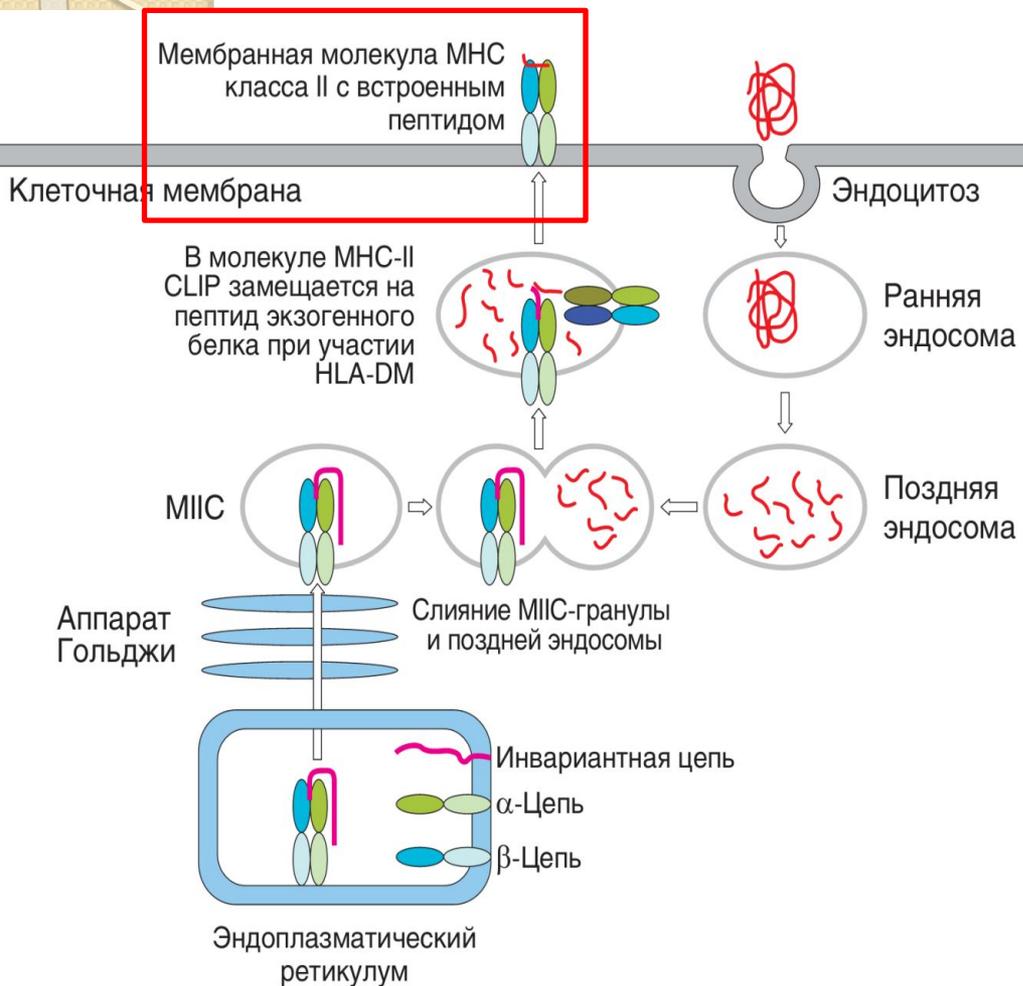
- Поздние эндосомы сливаются с гранулами МНС, содержащими молекулы МНС II
- Катепсины расщепляют белки, содержащиеся в эндосоме, с образованием пептидов.
- Одновременно, катепсины расщепляют Ii-цепь - в составе молекулы остается только фрагмент Ii-цепи, встроенный в пептидсвязывающую щель - CLIP (Class II associated invariant chain peptide).

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов



- Пептиды, образующиеся из экзогенных белков, вытесняют CLIP из щели, за счет инвариантной молекулы HLA-DM (продукт гена МНС класса II), присутствующей в везикуле.
- HLA-DM катализирует высвобождение CLIP из щели и поступление в нее антигенного пептида.

Процессинг молекул МНС II и экзогенных пептидов

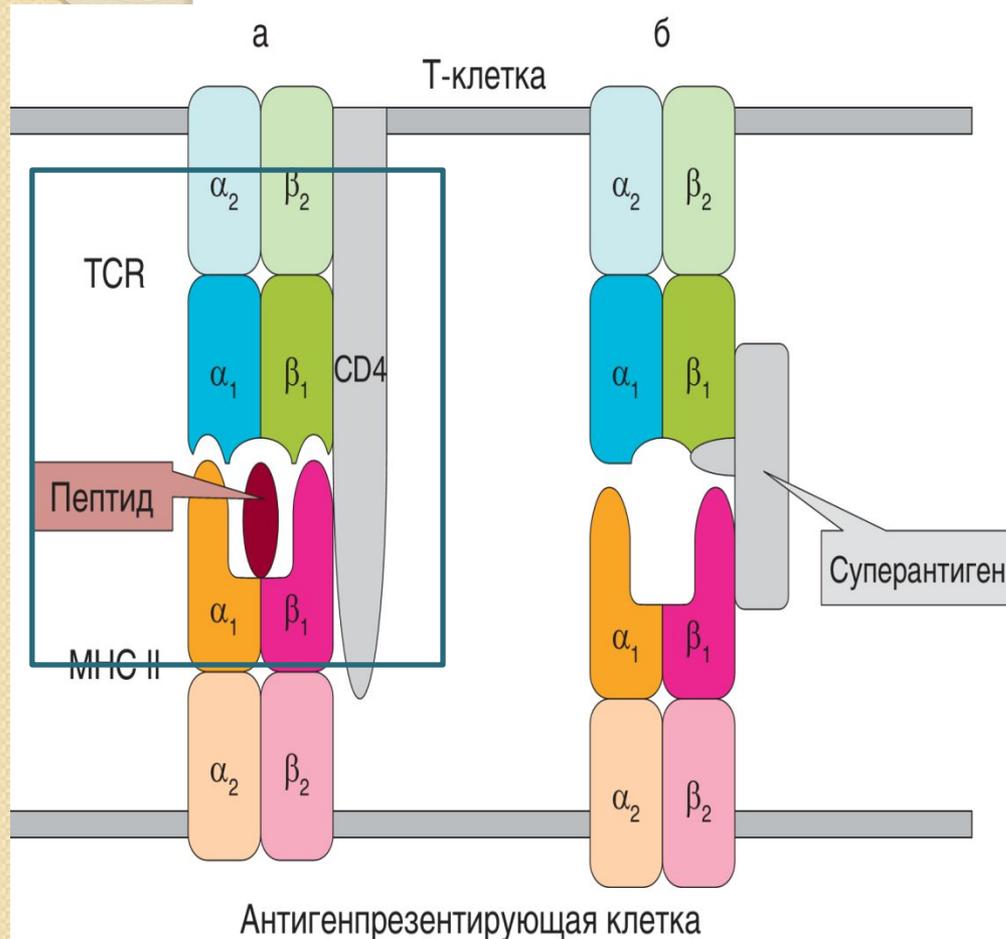


- Гранулы, содержащие встроенные в мембрану полностью собранные МНС II, перемещаются к поверхности клетки.
- Содержимое гранул выводится наружу, а мембрана объединяется с клеточной мембраной, в результате чего молекулы МНС II оказываются на поверхности клетки.

Суперантигены

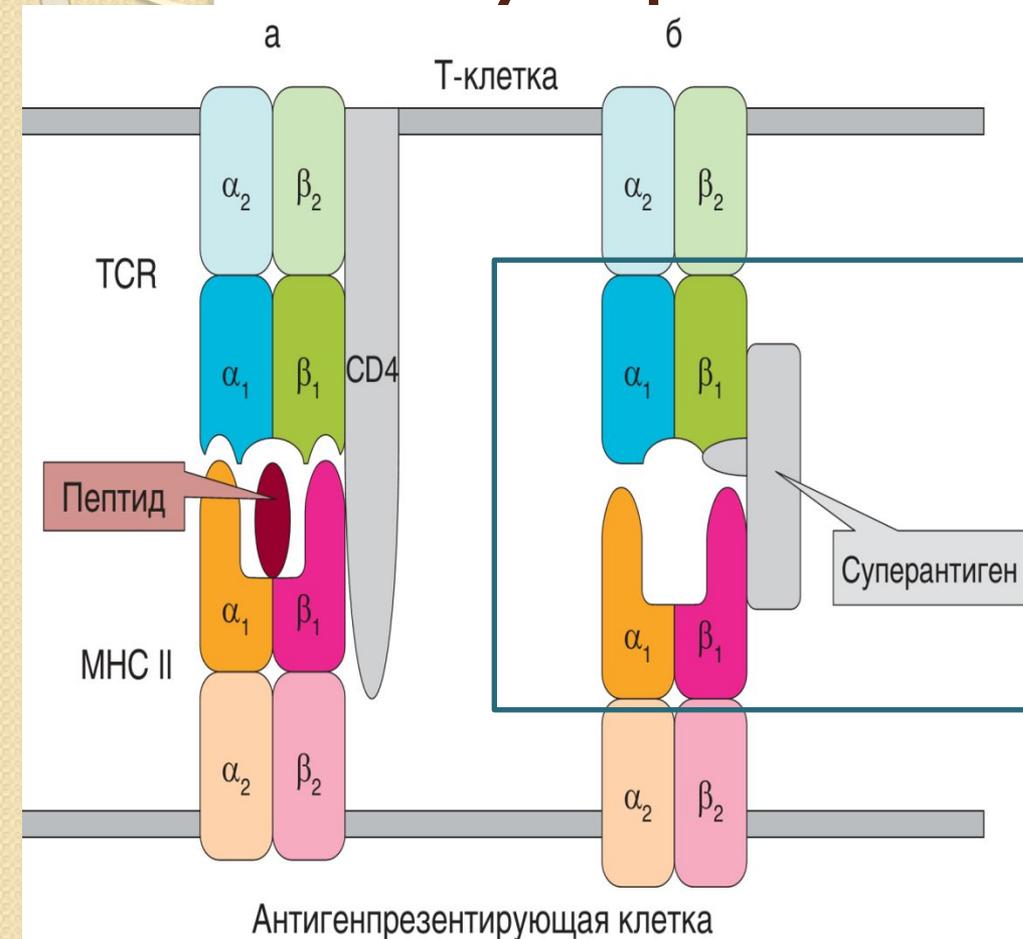
- Суперантигены - продукты патогенов (экзотоксины, белковые компоненты вирусов)
- распознаются Т-ЛФ с помощью TCR, но без участия его активного центра.
- АПК презентируют суперантигены Т-клеткам, но не поглощают и не процессируют их.
- Суперантигены обладают сродством к молекулам MHC-II (но не MHC-I) и связываются с их «боковой» поверхностью.
- CD4 Т-лимфоциты распознают суперантигены при помощи TCR, но во взаимодействие вовлекается участок V-домена β -цепи, не связывающий антиген

Стерические основы распознавания Т-клетками комплекса МНС – антигенный пептид и суперантигенов



- Пространственное соответствие м/у АГ распознающим TCR и молекулой МНС антигенпредставляющей клетки
- CD 4 участвует в распознавании, взаимодействуя с МНС II, к которой он обладает сродством

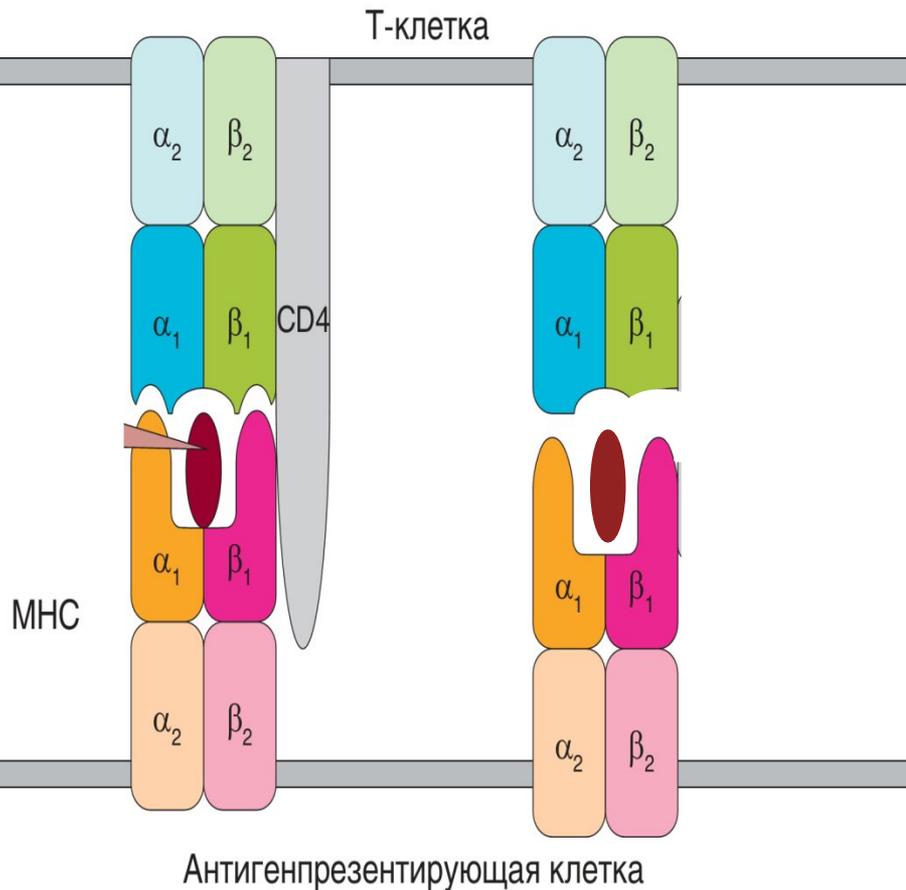
Стерические основы распознавания Т-клетками комплекса МНС – антигенный пептид и суперантигенов



- Суперантиген не встраивается в пептидосвязывающую щель, а соединяется с его боковой поверхностью
- Распознавание рецептором CD4 за счет сродства суперантигена с β_1 – цепью
- Т.е. суперантиген распознается целиком, а нерасщепленный до пептидов

МНС – ограничение (рестрикция) Т-клеточное распознавание

- Условием распознавания Т-клеток является сингенность молекул МНС



Главный комплекс гистосовместимости (МНС)

- Выделяют 3 класса генов МНС— I, II и III.
- В отторжении несовместимых трансплантатов и презентации антигена Т-клеткам участвуют продукты генов классов I и II.
- Выделяют 2 группы генов I класса.
- гены A, B и C, отличающиеся беспрецедентно высоким - это классические гены I класса.
- Гены E, F, G, H (гены с ограниченным полиморфизмом).
- Только продукты классических генов I класса участвуют в презентации антигена Т-лимфоцитам.

Молекулы клеточного стресса

- Собственные молекулы организма - экспрессируются при клеточном стрессе
- Предотвращают необратимые повреждения организма
- Когда клетка гибнет, из неё наружу выходят специальные белки, которые срабатывают как **дополнительные активаторы иммунитета**
- Эндогенные сигнальные молекулы повреждения были названы аларминами

Алармины (M. E. Bianchi, 2007)

- SIOOs,
- HDGF,
- HSPs (белки теплового шока),
- IL-1a,
- Кателицидины,
- Дефенсины,
- EDN,
- Галектины,
- Тимозины,
- Нуклеолин,
- Аннексины
- Мочевая кислота;
- Белок HMGBi.

Молекулы клеточного стресса

- собственные молекулы организма, экспрессируемые на мембране при клеточном стрессе и сигнализирующие преимущественно об опасности эндогенного происхождения.
- Алармины – особая группа веществ запускающая эндогенные сигналы опасности, представлены в клетках, и усиленно экспрессируются при некротическом (но не апоптотическом) повреждении клеток и клеточном стрессе.
- Алармины воздействуют на ИС (обычно активируя ДК), через рецепторы PAMP. Иногда молекулы, воспринимаемые организмом как сигналы опасности, называют (по аналогии с PAMP) образцами опасности, или DAMP — Danger-associated molecular patterns.

Молекулы клеточного стресса

- Алармины — белки теплового шока (HSP), белок HMGB1 (High mobility group bpx I), мочева кислота, бактерицидные белки дефензины и кателицидины, галектины, тимозины, аннексины, из цитокинов — цитоплазматический и мембранный IL-1 α .
- HSP в норме выполняют функцию шаперонов. В условиях клеточного стресса усиливается их экспрессия. HSP способны взаимодействовать с различными рецепторами, в том числе с TLR (TLR-2, TLR-4).
- белок HMGB1, выделяемый при некротической гибели клеток, секретруется в условиях клеточного стресса (обладает хемотаксической активностью, активирует макрофаги, ускоряет созревание ДК. Другой
- мочева кислота, выделяется при повреждении клеток и образующая кристаллы моноватриевой соли урата, стимулирует выработку цитокинов и т.д.

Молекулы клеточного стресса

Белки теплового шока (*heat shock factor*)

- Hsp60, Hsp70 и Hsp90 относятся к семействам белков с молекулярными массами 60, 70 и 90 кДа, соответственно.
- Действуют как **шапероны** и играют важную роль в сворачивании белков, внутриклеточном транспорте белков и ренатурации белков, изменивших конформацию после теплового шока
- функция **шаперонов**: восстановление правильной нативной третичной или четвертичной структуры белков, образование и диссоциация белковых комплексов

Молекулы клеточного стресса

- Передача сигналов от экзогенных факторов к патогенраспознающими рецепторами (прежде всего TLR), и от эндогенных факторов (аларминов) через собственные рецепторы или PRR (TLR, NOD и т.д.)
- Выброс аларминов и их восприятие рецепторами клеток приводит к массовой гибели клеток
- Стрессорные белки (особенно HSP) при попадании в межклеточное пространство подают сигнал опасности окружающим клеткам
- Экзогенные и эндогенные сигналы опасности воспринимаются миелоидными клетками (МФ, ДК), развиваются реакции ВИО и формирование воспаления, а несколько позже — усиление реакций АИО.

Рецепторы, распознающие стрессорные молекулы

- представлены преимущественно на естественных киллерах (NK-клетках), еще на $\gamma\delta$ T-клетках, реже — на других T-л.
- NK-клетки экспрессируют также группу рецепторов, распознающих молекулы МНС
- Рецепторы, распознающие стрессорные молекулы, нередко генерируют не активирующий, а ингибирующий сигнал.

Роль антигенов

- Антигены играют роль инициаторов ИО и активаторов защитных механизмов.
- Так антигены, прежде всего, непатогенных и условно-патогенных микроорганизмов, которые обитают в окружающей среде, постепенно заселяя организм новорожденного ребенка, играют роль пускового механизма для активации его иммунной системы.

Роль антигенов

- Контакт с МО способствует становлению ИС, ее развитию, активизации процессов распознавания «Я» и «НЕ Я».
- АГ регуляторы ИО, поскольку от их состава зависит характер ответной реакции ВИ и АИ, накопление клеток памяти (КП).
- АГ распознаются первоначально клетками и рецепторами врожденной защиты, а позже и специфическими АРР, Т- и В-ЛФ.

Роль антигенов

- Все клетки в процессе распознавания и передачи информации об АГ между собой продуцируют разнообразные молекулы коммуникации (цитокины, хемокины, интерлейкины, факторы роста, компоненты комплемента и т. д.), регулируют и координируют работу друг друга через эти растворимые факторы и рецепторы к ним.
- Это механизмы саморегуляции в ИС, которые включают в себя и регулирующие влияния гормонов КМ, и вилочковой железы. К тому же ИС регулируют нервной и эндокринной системами .