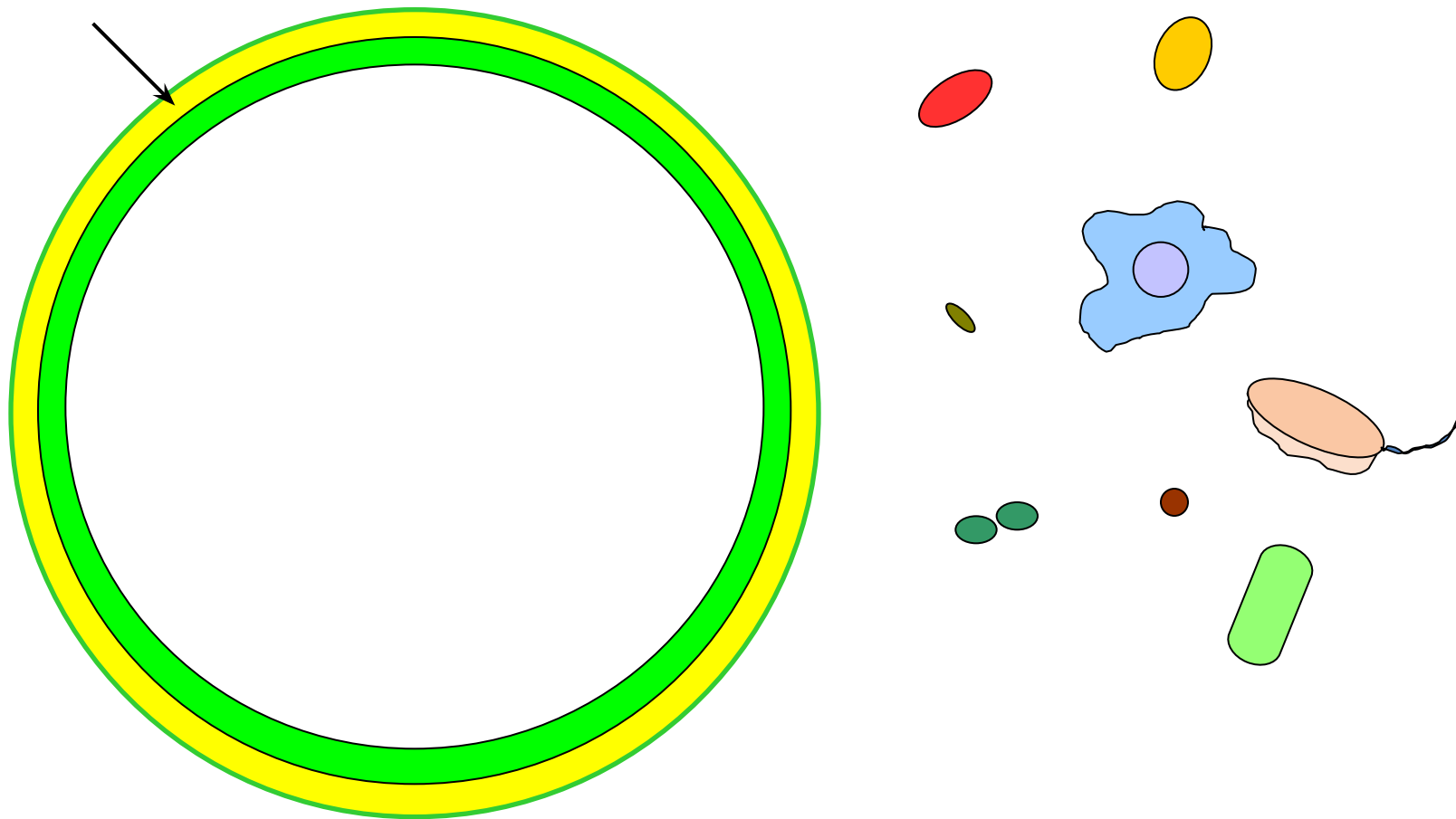


Защита границ в действии

Лекция 3

Многоклеточное защищено от вторжения других существ (вирусов, микробов, простейших, других многоклеточных)

Граница с внешним миром



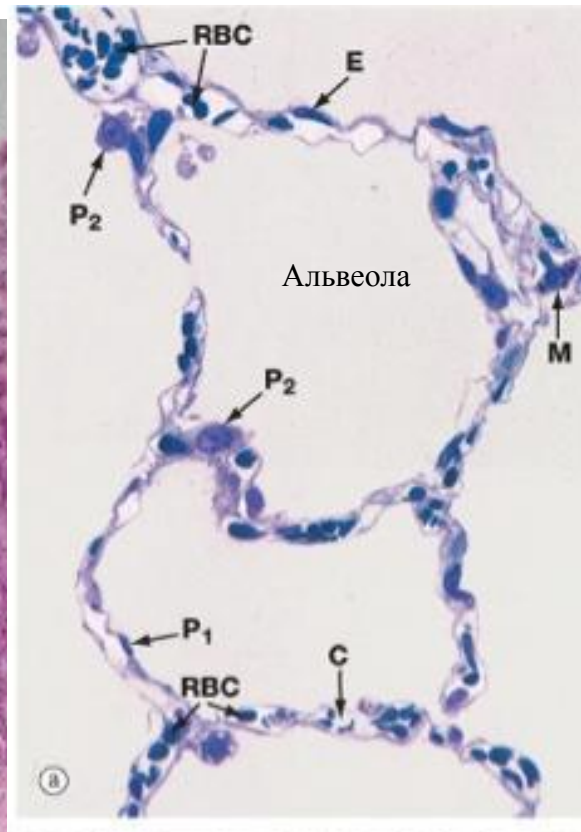
Границы с внешним миром

- огромные по площади (150 – 400 кв. м.)
- тонкие (один или несколько слоев клеток толщиной 1 – 50 мкм),
- гибкие
- прочные

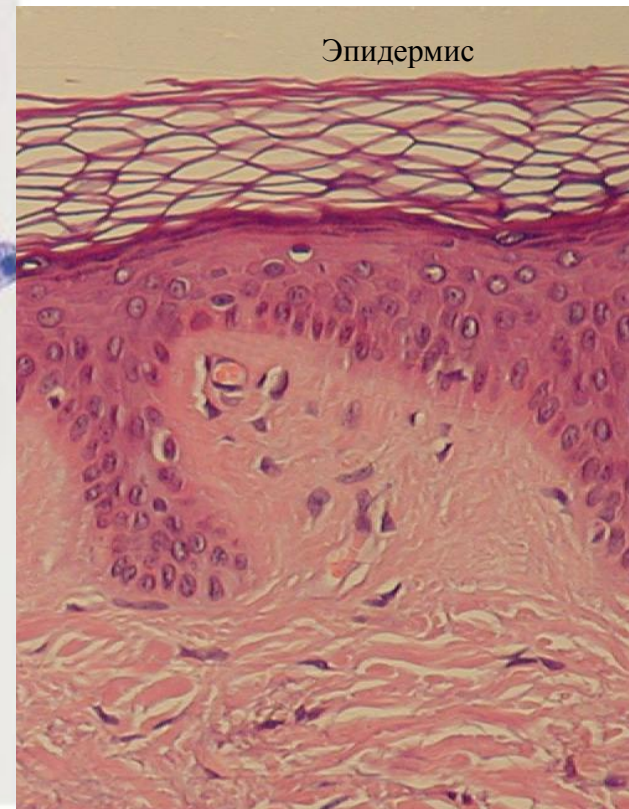
дополнительно защищены

- гликокаликсом (100 нм),
- слизью (50 – 500 мкм)
- эндогенными антибиотиками

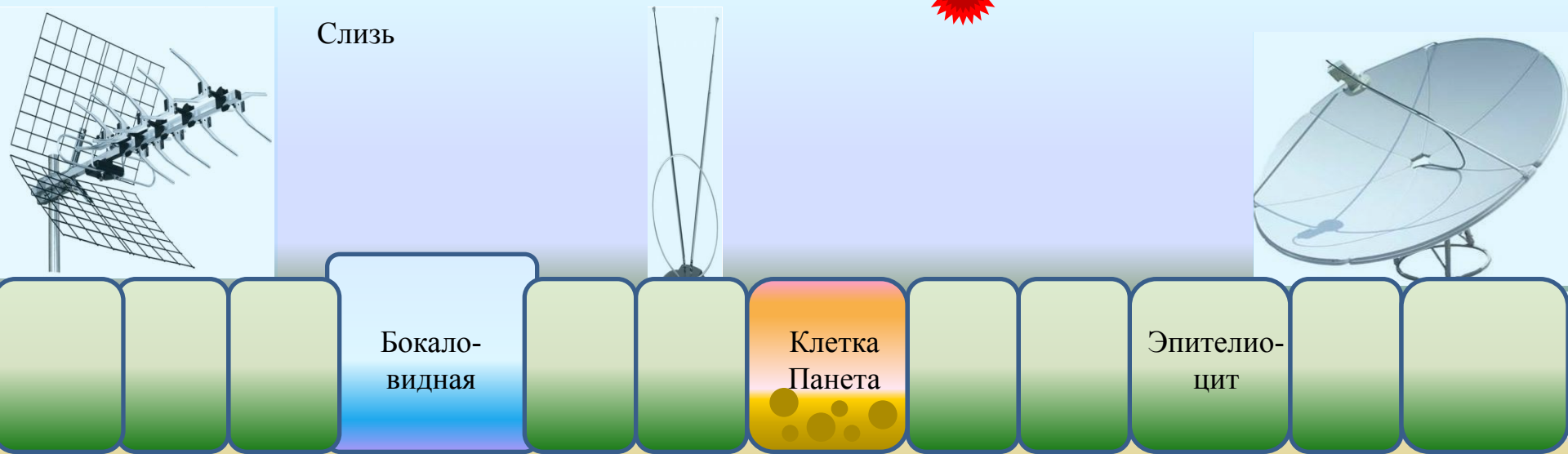
Ворсинки кишечника



Эпидермис



Детекция микроорганизмов



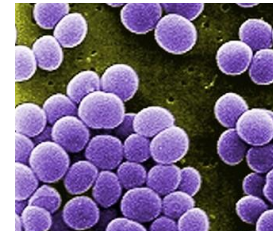
Живые существа мельче 1 мм (1000 мкм) не детектируются органами чувств

- нельзя увидеть,
- услышать,
- почувствовать на вкус,
- определить по запаху

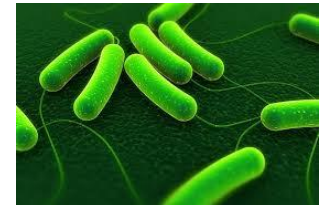


клещ *Dermatophagoides*

~100 мкм

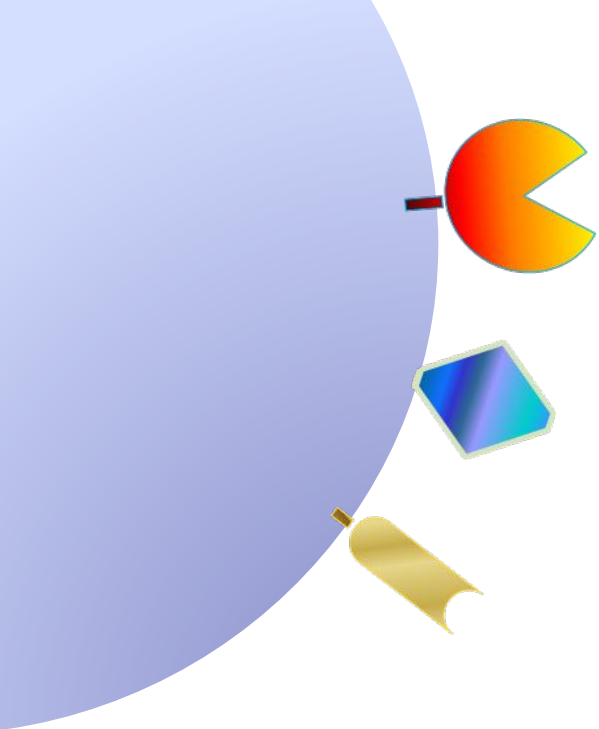


Staphylococcus aureus



Escherichia coli

~1 мкм



Клетки нашего организма снабжены молекулярными сенсорами инфекций.

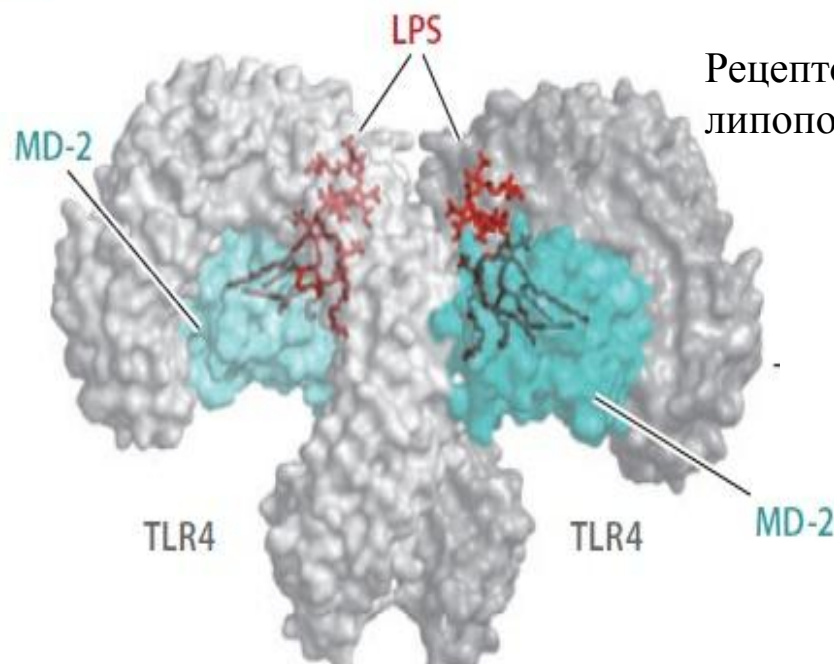
Разнообразие сенсорных молекул - многие десятки видов.

На каждом типе клеток представлена широкая палитра сенсоров.

Молекулярные сенсоры на наших клетках
могут детектировать невидимые существа.

Они распознают молекулы или небольшие части молекул
(от 0,1 до 10 нанометров – от простого сахара или дисахарида
до молекулы ЛПС)

Рецепторная молекула ~ в 100 раз меньше бактерии,
и узнает она очень маленькие структуры,
размером ~ 1/1000 часть бактерии



Рецептор для детекции
липополисахаридов бактерий

На всякого мудреца довольно простоты

Наши клетки распознают *консервативные признаки* микроорганизмов, то есть такие молекулярные свойства, которые присущи большим царствам микроорганизмов.

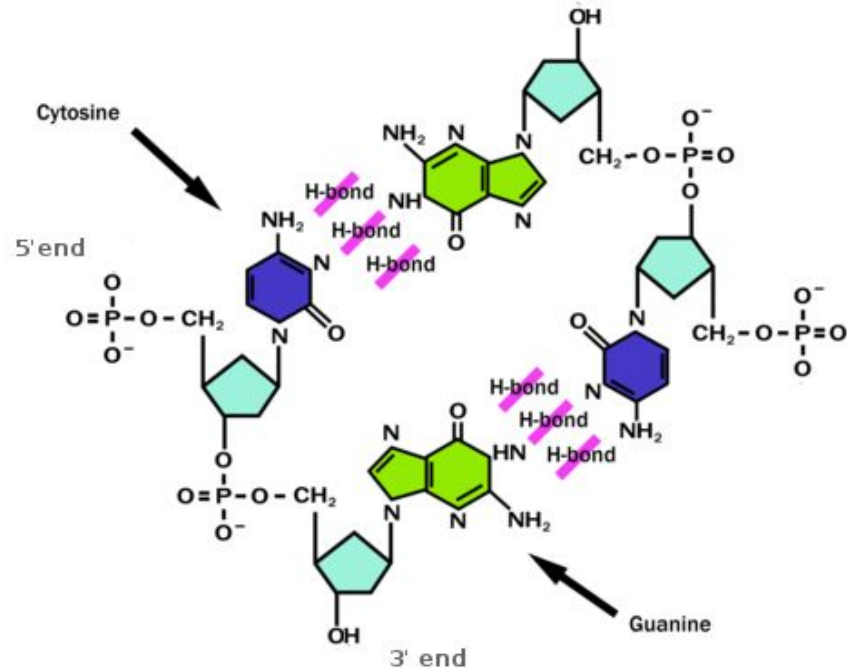
Например:

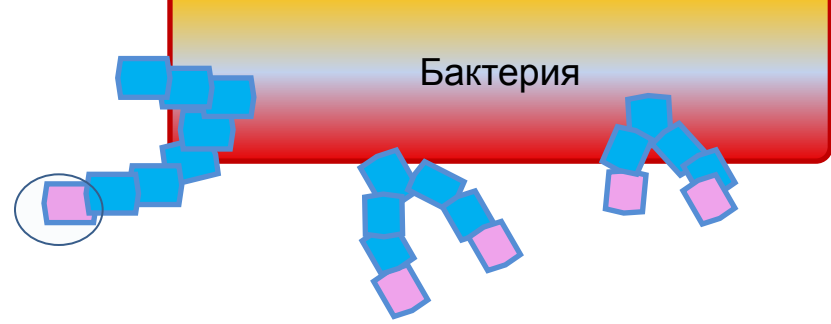
- общие свойства всех бактерий,
- общие свойства всех Грам-отрицательных бактерий
- общие свойства всех Грам-положительных бактерий
- общие признаки РНК-содержащих вирусов
- общие признаки ДНК-содержащих вирусов

Принцип распознавания *консервативных* (законсервированных в эволюции) молекулярных признаков позволяет относительно небольшим количеством рецепторов детектировать невероятно большое разнообразие бактерий, грибов, вирусов и других потенциально опасных существ микромира

Примеры общих молекулярных признаков всех бактерий:

- Олигосахаридные цепочки заканчиваются остатком маннозы
- N-концевой остаток метионина защищен формильной группой –СНО
- Бактериальная ДНК имеет много неметилованных тандемов цитозин-гуанин (CpG)





Маннозный рецептор



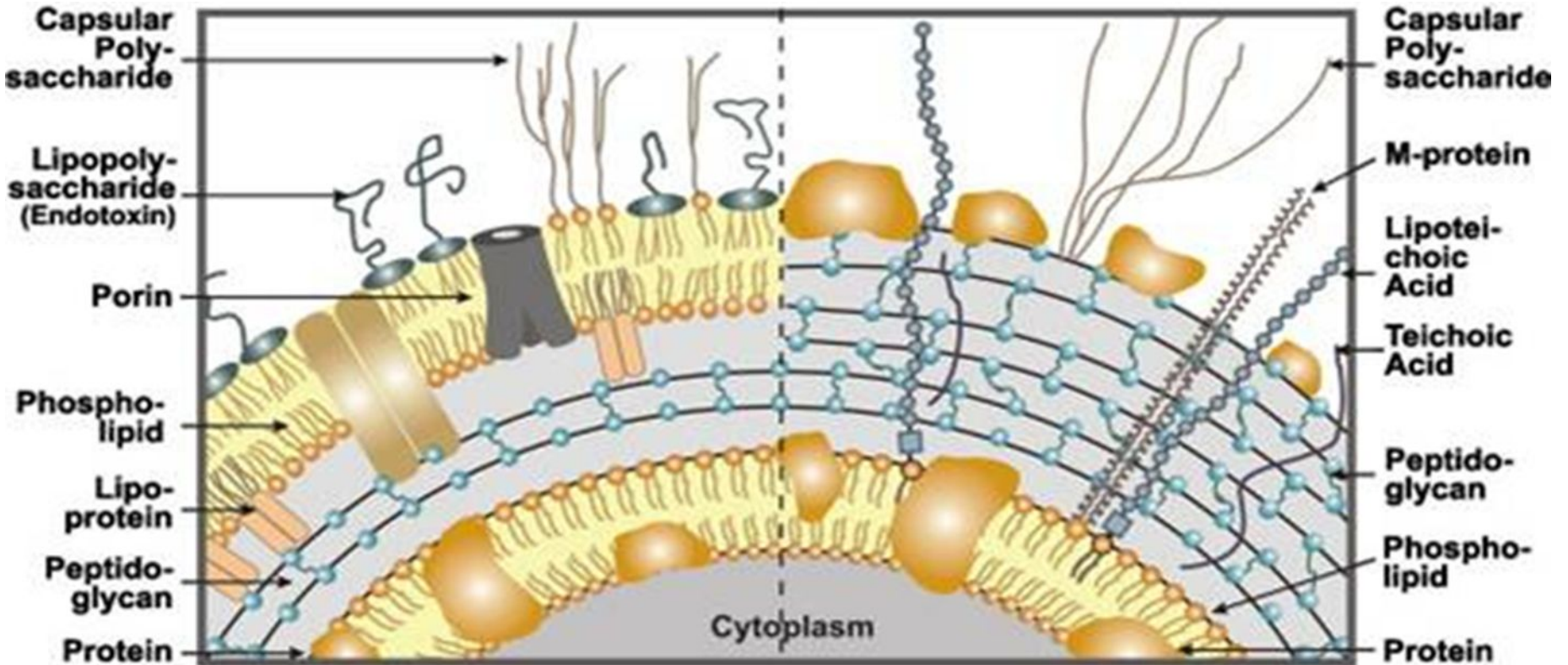
Олигосахаридные цепочки бактерий заканчиваются остатком маннозы.

Маннозные рецепторы на наших клетках могут легко обнаружить бактерию по многочисленным концевым остаткам маннозы

СТРОЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ

Грам-негативная

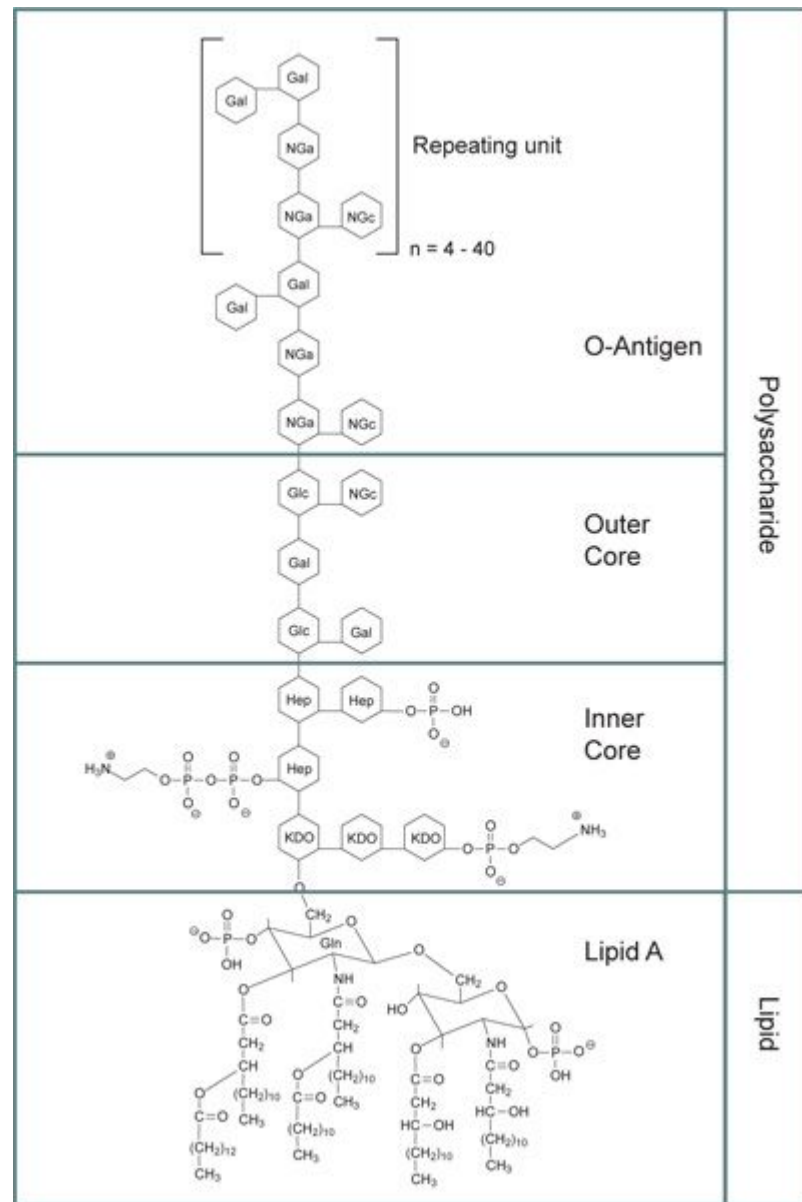
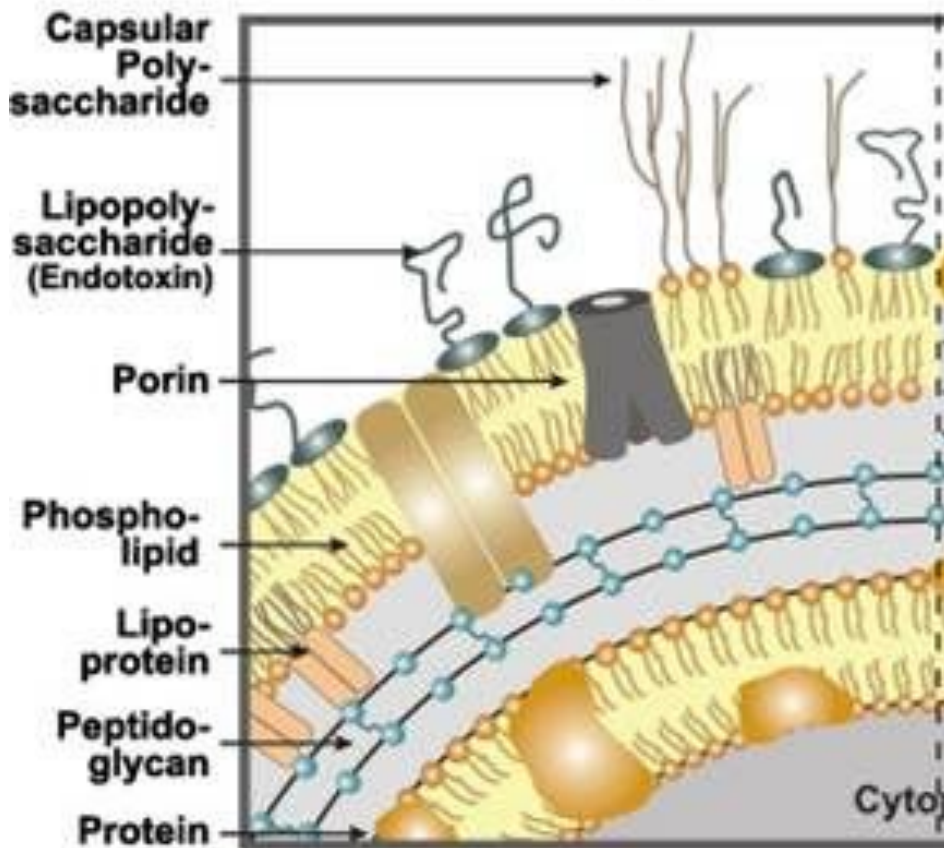
Грам-позитивная



Бактерия

**Бактериальный липополисахарид
является общим молекулярным признаком
всех Грам-отрицательных бактерий**

Гра́м-негати́вная



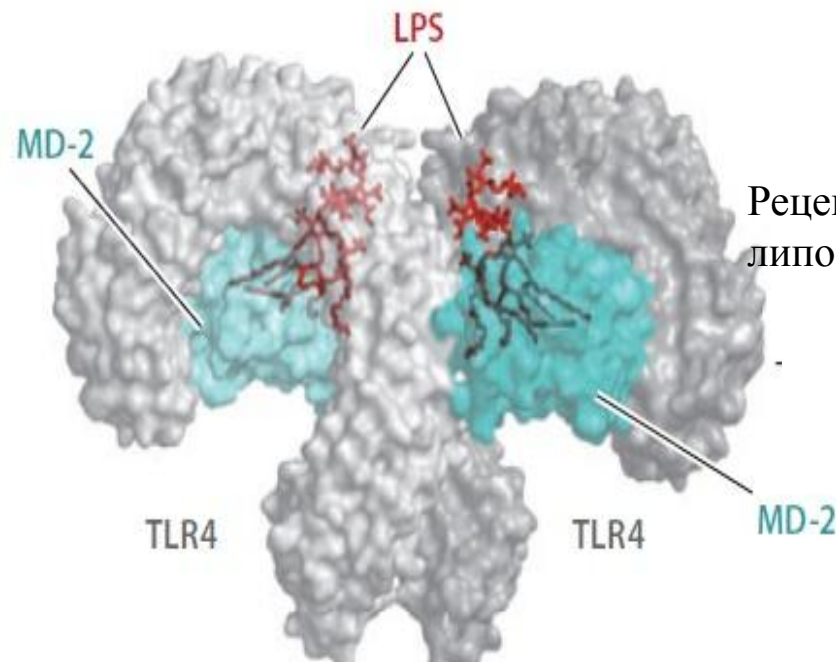
У нас есть рецепторы, распознающие бактериальный липополисахарид (LPS).
С помощью этого рецепторы наши клетки узнают любые Грам-отрицательные бактерии

Этот рецептор называется Toll-like receptor 4 (TLR4).

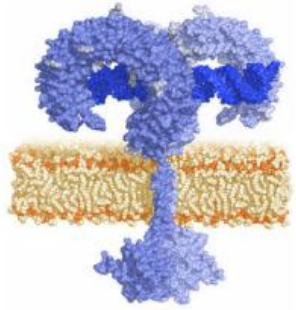
Он работает в комплексе с белком MD-2

На рисунке показано, как рецепторный комплекс [TLR4+MD-2] связывает молекулы бактериального липополисахарида.

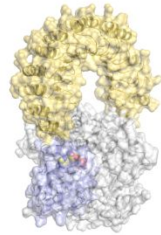
Жирные «хвосты» ЛПС проникают в гидрофобные карманы MD-2, а гидрофильная углеводная часть молекулы ЛПС связывается с участком молекулы TLR4



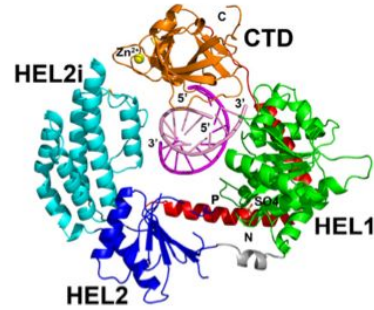
Молекулярные сенсоры инфекций и повреждений



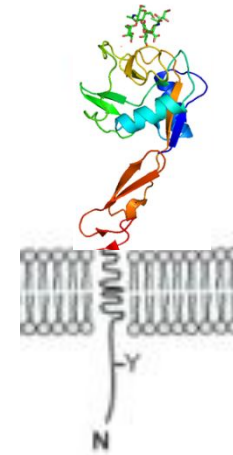
Toll-like receptors



NOD-like receptors



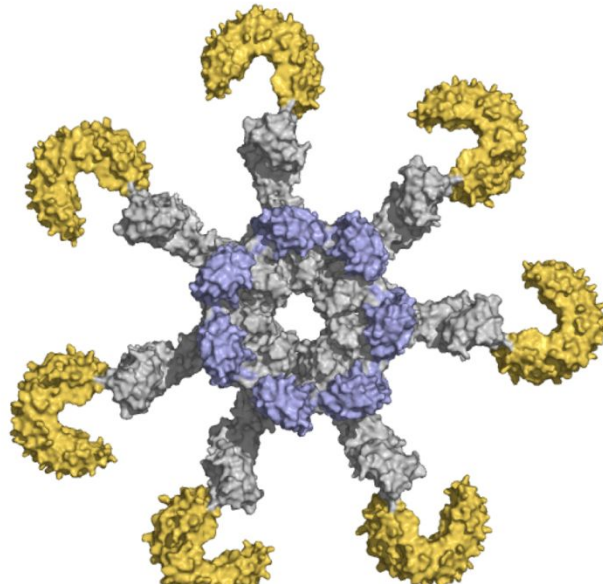
RIG-like receptors
(helicase, POL-III)



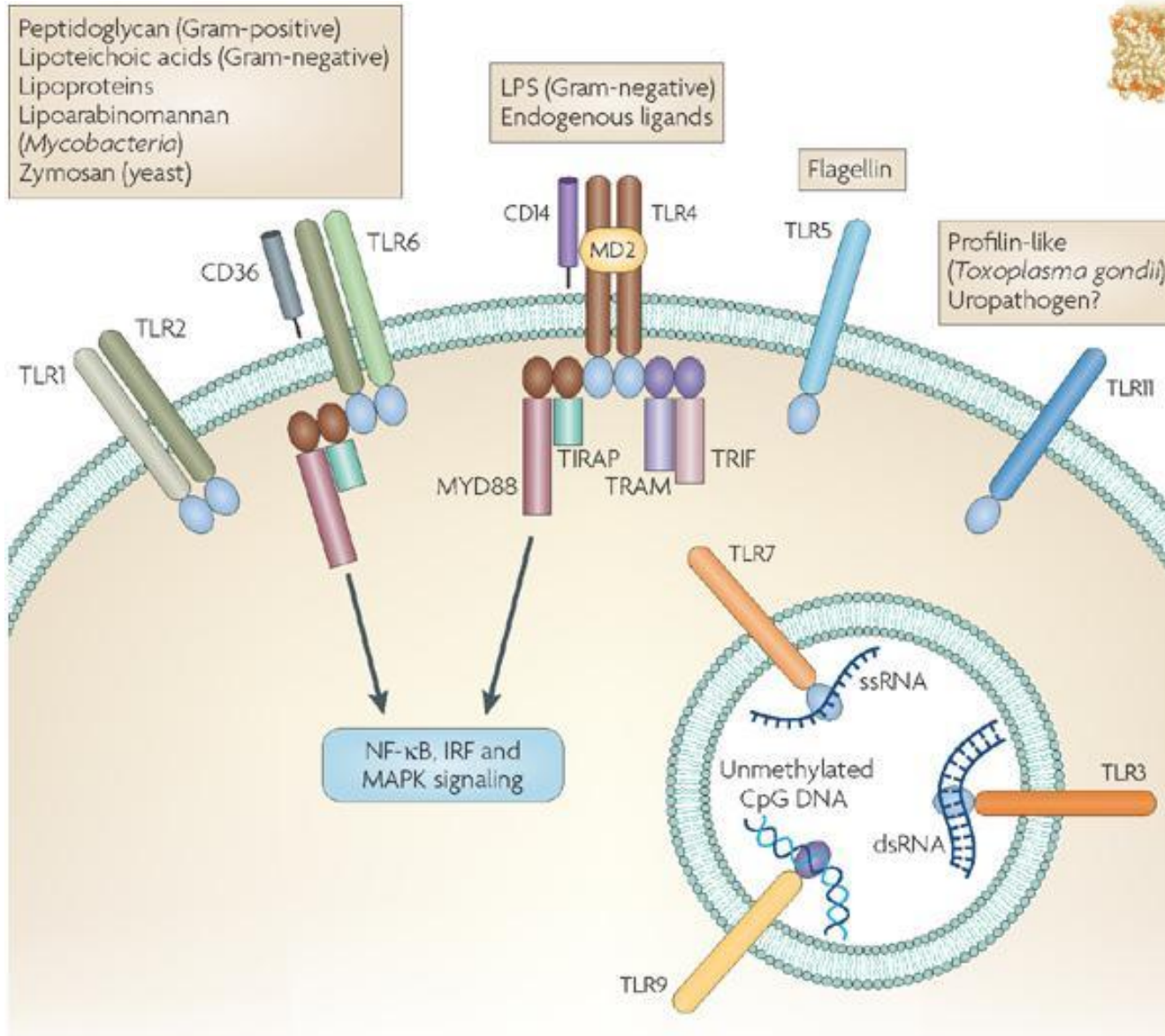
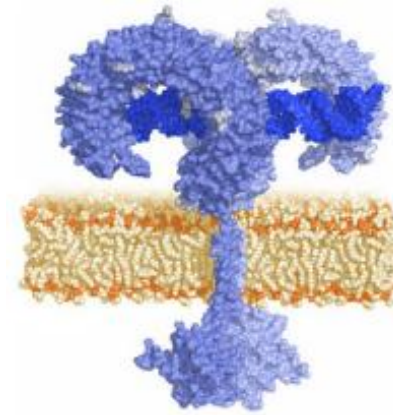
C-type lectins



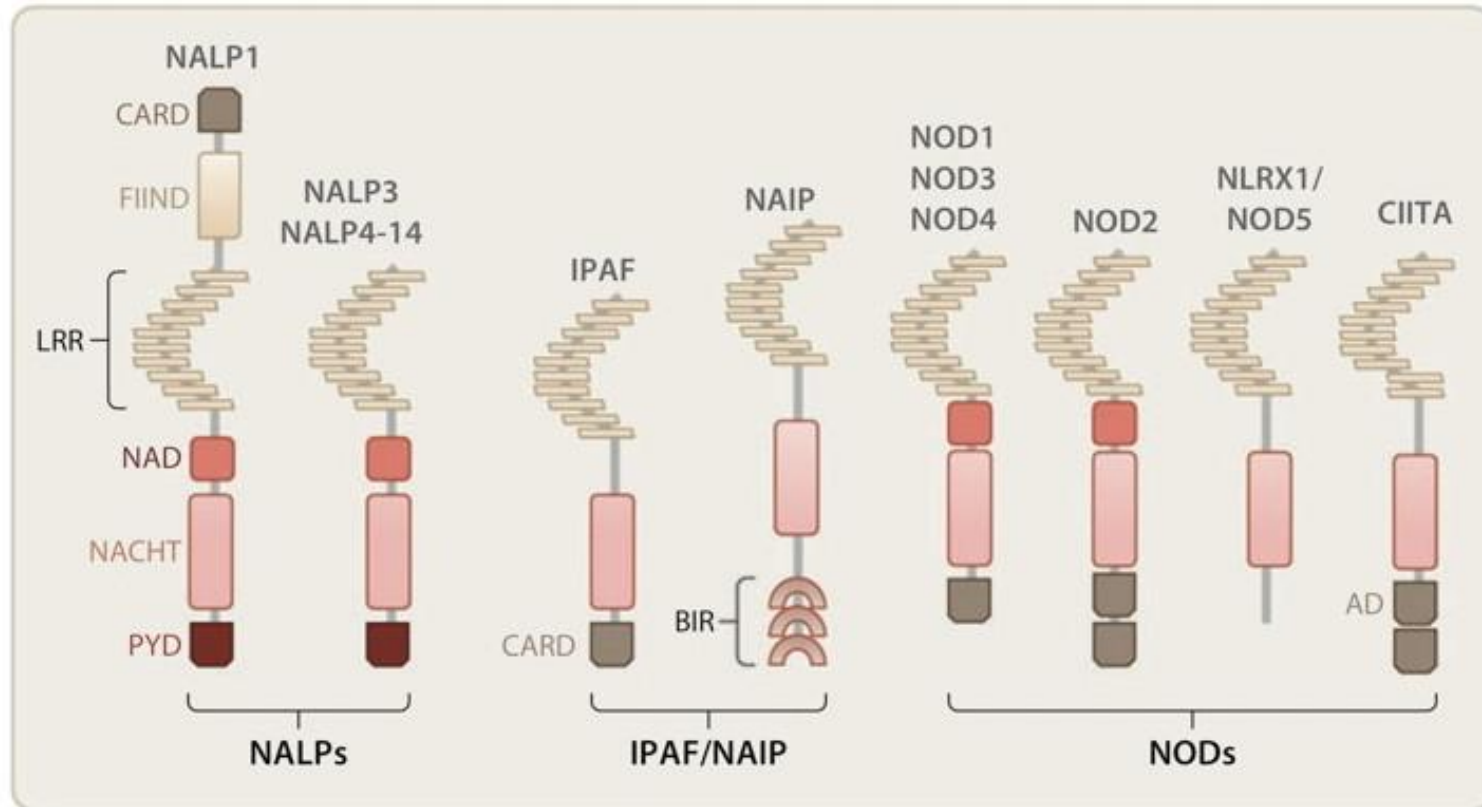
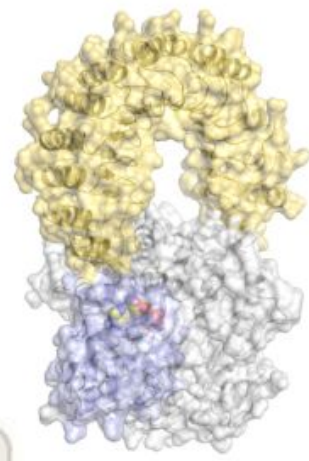
Scavenger
receptors



Toll-like receptors



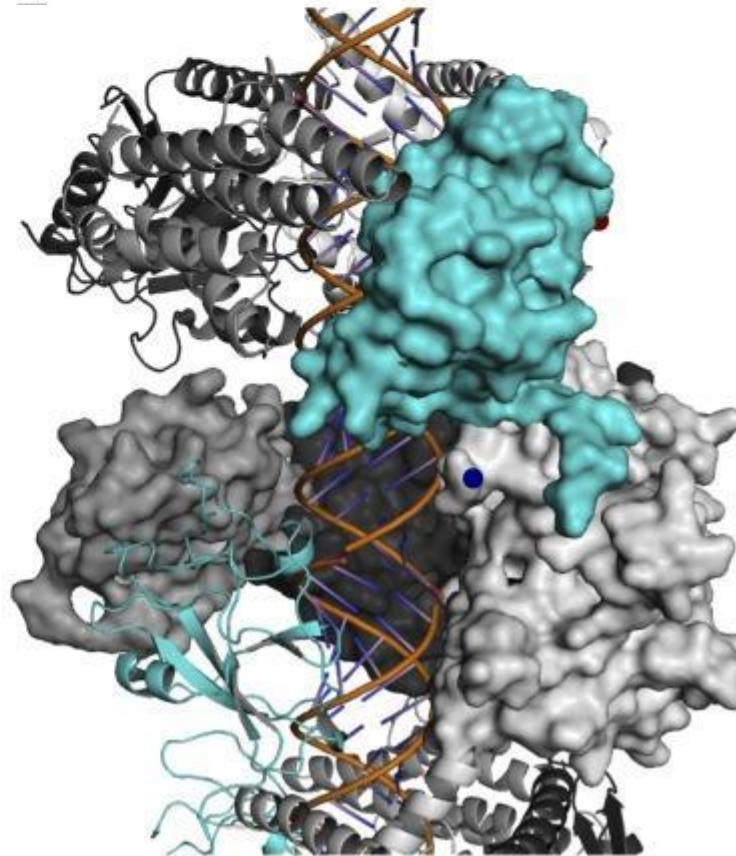
NOD-like receptors



RIG-like receptors and cytosolic DNA sensors

Рецептор	Лиганды
AIM2	Viruses: Vaccinia, mouse cytomegalovirus Bacteria: <i>F. tularensis</i> , <i>L.monocytogenes</i> Synthetic ligand: AT-rich B DNA
DAI	Viruses: Human cytomegalovirus, Herpes simplex 1 Bacteria: <i>S. pneumoniae</i>
DDX41	Synthetic ligand: AT-rich B DNA
IFI16	Viruses: Herpes simplex 1 Synthetic ligand: dsDNA sequence-independent 70>>50 bp
LRRFIP1	Viruses: Vesicular stomatitis Bacteria: <i>L. monocytogenes</i> Synthetic ligand: dsDNA, dsRNA, AT-rich B DNA , GC-rich Z-DNA
MDA-5	Viruses: Picornavirus, Encephalomyocarditis, Rabies, Sendai, Dengue, Rotavirus, murine hepatitis, murine norovirus I Synthetic ligand: Poly(I:C)
RIG-I	Viruses: Newcastle disease, Sendai, Influenza, Vesicular stomatitis, Japanese encephalitis, measles, Rabies, Hepatitis C, Dengue Synthetic ligand: 5'triphosphate double stranded RNA (5'ppp-dsRNA)
RNA pol III	Viruses: Adenovirus, Epstein Barr Bacteria: <i>L. pneumophila</i> Synthetic ligand: AT-rich B DNA

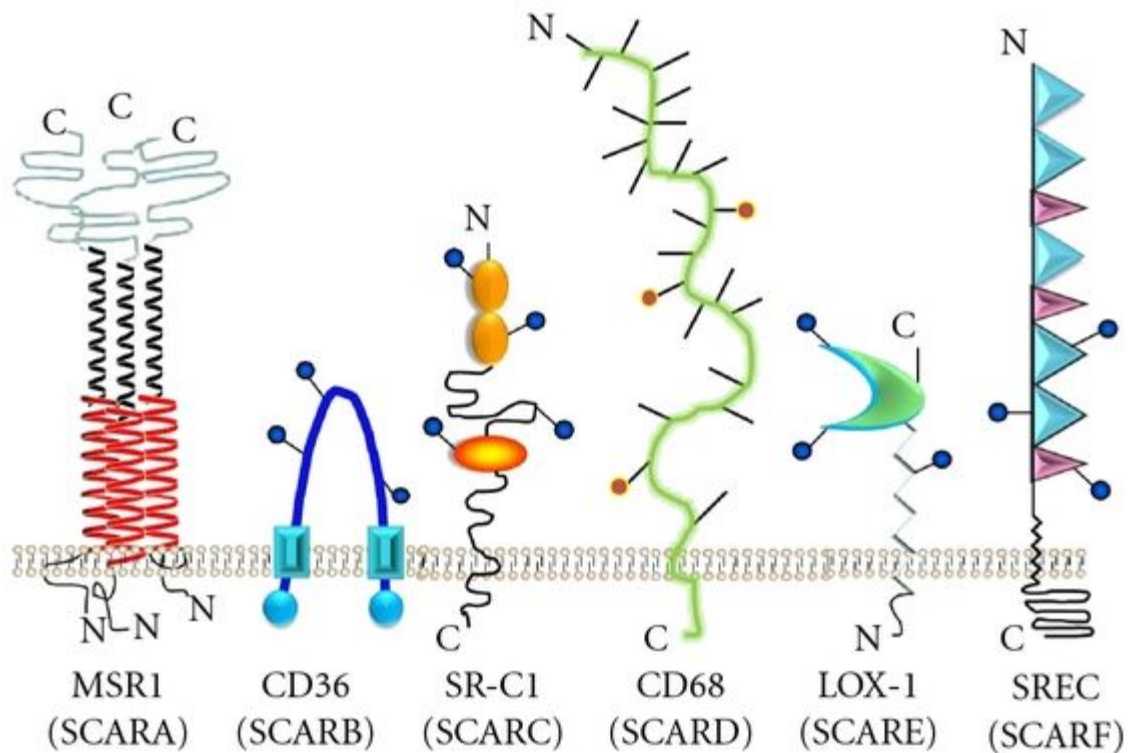
MDA-5 – один из сенсоров семейства RIG-like receptors



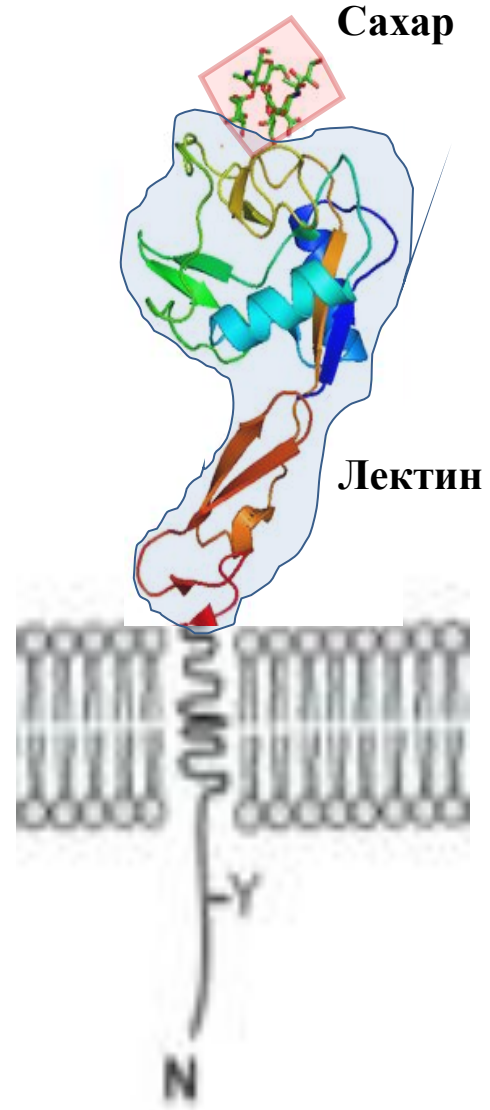
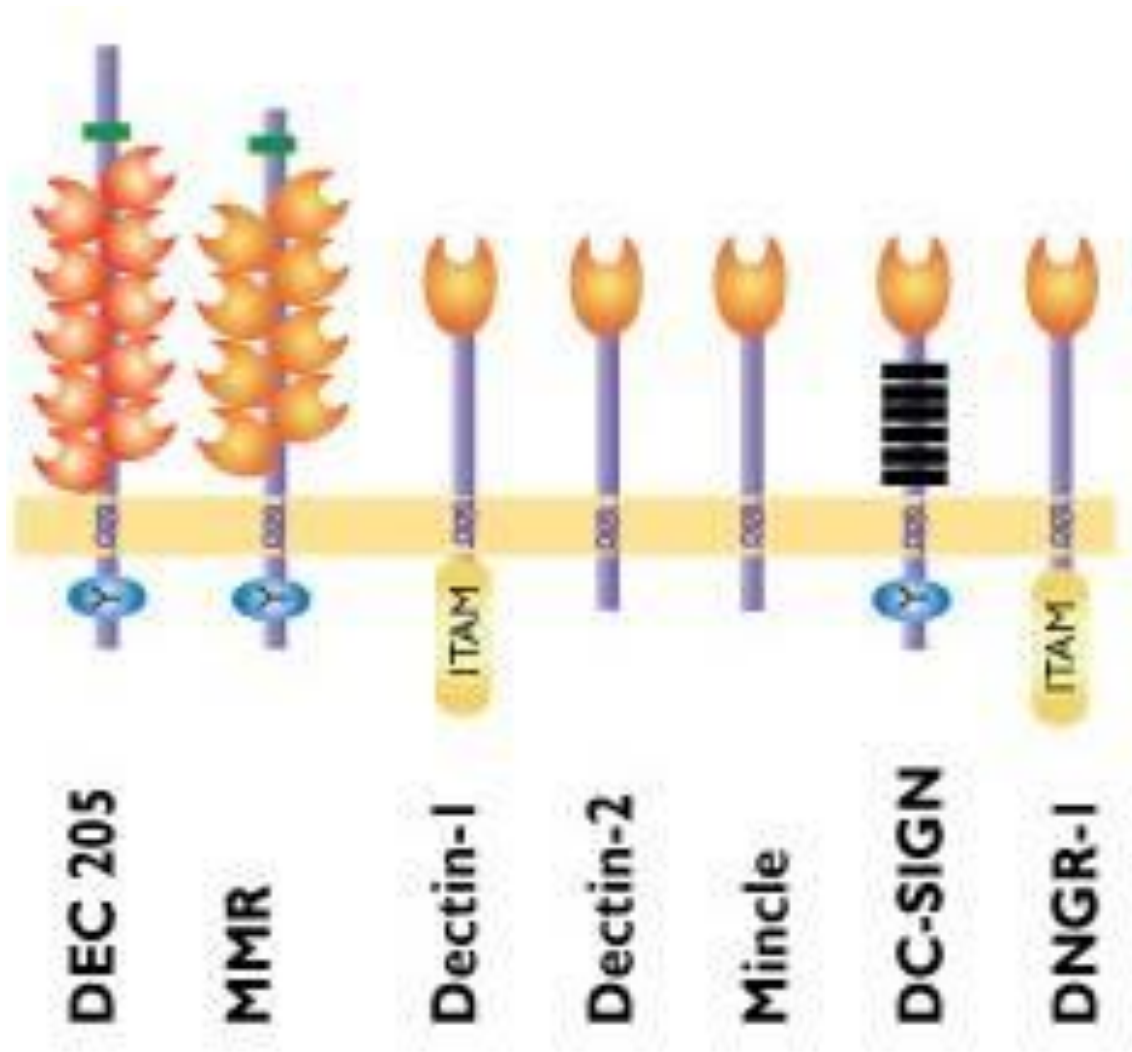
Одна молекула MDA-5 представлена в виде поверхности. Соседние молекулы – в виде ленточек
Домены этой молекулы окрашены светло-серым, голубым и темно-серым цветами.
Видна спираль двуцепочечной РНК (вирусная РНК), которую плотно обнимает MDA-5.

Рецепторы-мусорщики (scavenger receptors)

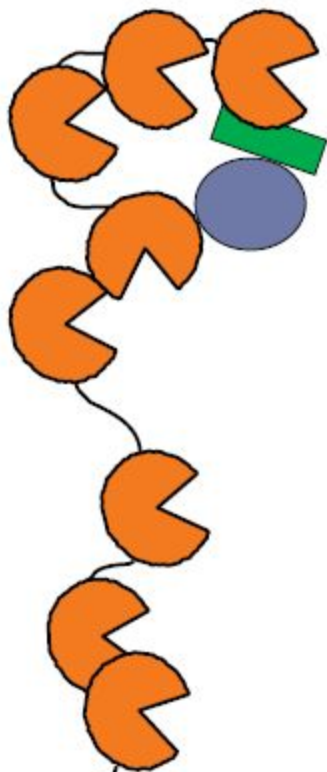
связывают различные вещества «свои» и «чужие»,
в частности, липид-содержащие комплексы различной структуры и состава



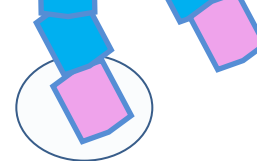
C-type lectins



Mannose receptor



Манноза на
конце
олигосахарида



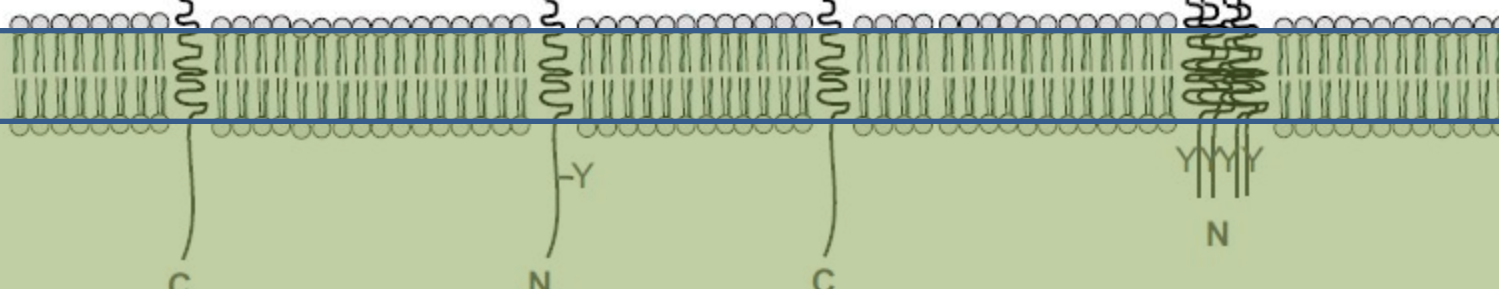
Dectin-1



DCL-1

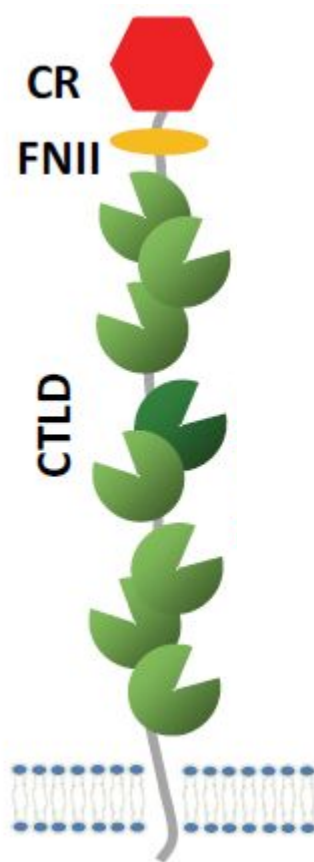


DC-SIGN



Клетка нашего организма

Коды рецептор-лиганд, как правило, сильно вырожденные (каждый рецептор связывает не один лиганд)



Вот что может связывать маннозный рецептор:

Патогены:

Вирусы: ВИЧ, Денге вирус, вирус гепатита В

Грибы: *Candida albicans*, *Pneumocystis carinii*

Бактерии: *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae* (LPS),
Streptococcus pneumoniae (капсульный полисахарид)

Гельминты: *Schistosoma mansoni* (soluble egg antigens),
Trichurus muris (secretory proteins)

Эндогенные лиганды:

лизосомальные гидролазы, миелопероксидаза,
тканевой активатор плазминогена, металлопротеиназа Adam-13,
ростовой фактор гепатоцитов, тироглобулин
Коллагены I, II, III, IV >>>> V типов

Figure 1. Structural properties of MR (Mannose Receptor).

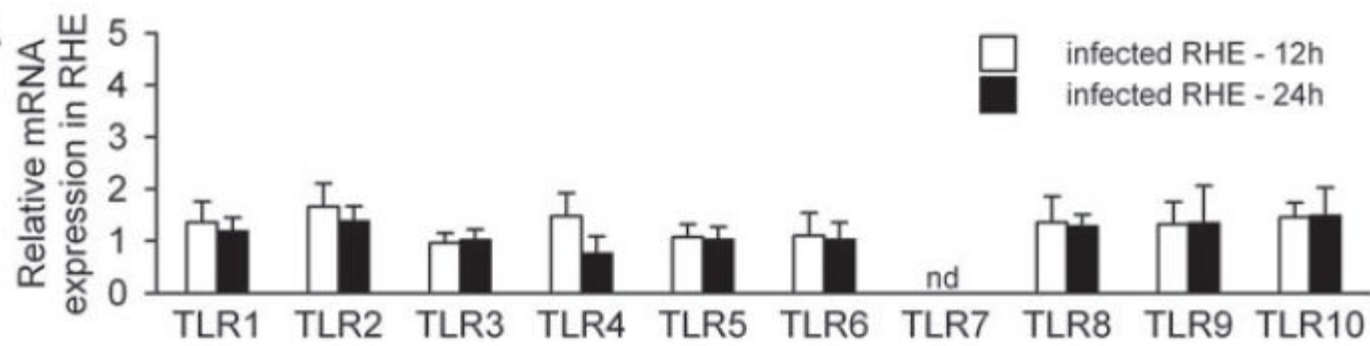
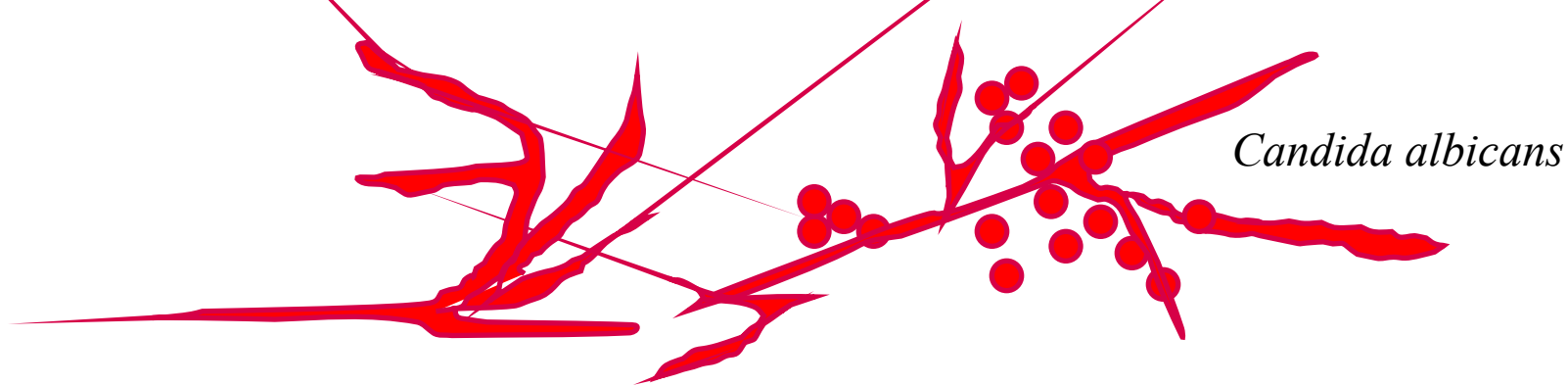
MR is a type I membrane molecule with three types of extracellular domains. Through the CR domain, MR binds sulfated glycans that can be found in lymphoid tissues (see text) and kidney [3], as well as the major cat allergen Fel d 1 and lutropin. The FNII domain binds collagens, and the CTLDs bind endogenous and exogenous molecules, including allergens and microbial products. M_, macrophage; HBV, hepatitis B virus; CPS, capsular polysaccharide; SEA, secreted egg antigen; Adam-13, a disintegrin and metalloprotease 13.

Любые типы клеток нашего организма (эпителиальные, мышечные, нервные, лейкоциты и др.) имеют рецепторы, распознающие инфекцию.

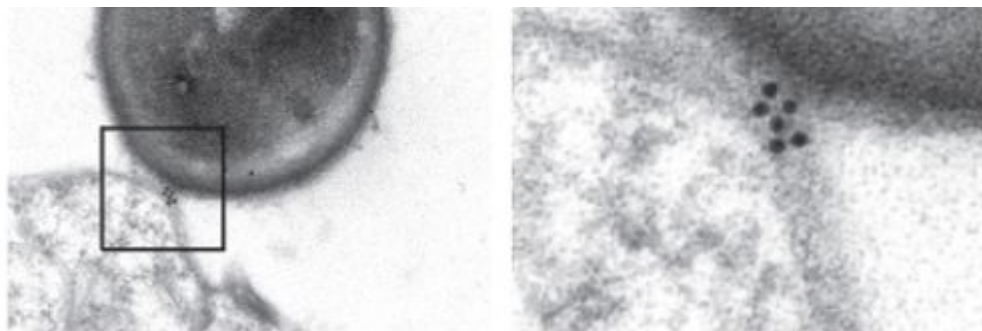
В качестве примера на следующем слайде дана таблица наличия Toll-like рецепторов на разных эпителиях.

Table 1 | TLR mRNA and protein expression in mucosal epithelial cells.

Tissue	TLR	
	mRNA	Protein
ORAL EPITHELIA		
Gingival	TLR1 (71, 72), TLR2 (73–75), TLR3 (73), TLR4 (73, 75, 76), TLR5 (71, 72), TLR6 (71, 72), TLR7 (73), TLR8 (71–73), TLR9 (71, 72)	TLR1 (71), TLR2 (71–73, 75–76), TLR3 (71, 73, 76), TLR4 (71–76), TLR5 (71, 77, 78), TLR6 (71, 72, 76), TLR7 (71, 73), TLR8 (71), TLR9 (71, 74, 75, 79)
Salivary	TLR1–TLR10 (80, 81)	TLR1–TLR4, TLR7 (80)
Tonsillar	TLR1–TLR6, TLR9, TLR10 (80, 82)	TLR2, TLR3 (82)
Ear epithelia	TLR2–TLR4, TLR9 (83–85)	TLR2–TLR4, TLR9 (83–86)
OCULAR EPITHELIA		
Corneal	TLR1 (87), TLR2 (8, 87–90), TLR3 (87–89), TLR4 (6, 87–89), TLR5 (87, 91), TLR6 (87), TLR7 (87, 88), TLR9 (87–89), TLR10 (87)	TLR1 (92), TLR2 (6, 87, 90, 92–96), TLR3 (6, 87–89, 92, 93), TLR4 (6, 88, 90, 93, 96–98), TLR5 (87, 91–95, 97), TLR6 (92), TLR9 (87, 89)
Conjunctival	TLR1 (87), TLR2, TLR3 (87, 88), TLR4 (87, 88, 93), TLR7 (87, 88), TLR9 (87, 88, 89), TLR10 (87)	TLR3 (88), TLR4 (88, 93), TLR9 (89)
Retinal	TLR1–TLR2, TLR9 (100)	TLR2–TLR4 (100)
Iris	TLR4 (98)	TLR4 (98)
AIRWAY EPITHELIA		
Nasal	TLR1–TLR10 (101, 102)	TLR2 (102, 103), TLR3 (102), TLR4 (103)
Tracheal/bronchial	TLR1 (7, 81, 104), TLR2 (7, 81, 104, 105), TLR3 (7, 81, 104), TLR4 (7, 81, 104, 106), TLR5–TLR10 (7, 81, 104)	TLR1, TLR2 (7, 104, 105, 107), TLR3 (7, 104, 107), TLR4 (7, 104, 106, 107), TLR5, TLR6 (7, 104, 107), TLR7, TLR9, TLR10 (7)
Lung	TLR1 (81, 108), TLR2 (81, 108–111), TLR4 (81, 101, 103, 109, 111, 112), TLR5, TLR6 (81, 108)	TLR2 (105, 109, 110), TLR4 (103, 109–112), TLR5 (108)
GUT EPITHELIA		
Esophageal	TLR1–TLR5 (113)	TLR1–TLR3 (113), TLR4 (113, 114), TLR5 (113)
Gastric	TLR2, TLR4, TLR5 (115–117)	TLR2, TLR4, TLR5 (115–117)
Intestinal	TLR1 (81), TLR2 (81, 118, 119), TLR3 (81), TLR4 (81, 118, 120–122), TLR5–TLR10 (81)	TLR2 (81, 118, 119), TLR3 (123), TLR4 (118, 120–122), TLR5 (119, 123), TLR9 (123)
M cells/Paneth cells		TLR2, TLR4, TLR5 (124)
GENITO-URINARY EPITHELIA		
Male		
Penile, urethra testis, prostate	TLR1, TLR2 (81), TLR3 (81, 125–127), TLR4–TLR7 (81), TLR8 (81, 125–127), TLR9, TLR10 (81)	TLR2 (81, 125–128), TLR3, TLR4 (126), TLR6 (125), TLR9 (81, 125–127)
Female		
Vagina	TLR1–TLR6, TLR9, TLR10 (129, 130)	TLR1 (129, 130), TLR2 (129–131), TLR3, TLR5, TLR6 (129–131)
Endocervix/endocervix	TLR1–TLR3, TLR5–TLR9 (130, 132)	TLR1–TLR3, TLR5, TLR6, TLR9 (130, 132)
Endometrium, uterus/fallopian tubes	TLR1–TLR6 (130), TLR7–TLR9 (130, 133, 134)	TLR1, TLR2 (130), TLR3 (130, 134), TLR4–TLR6 (130), TLR7–TLR9 (130, 132–134)
Urinary tract/renal	TLR1–TLR5, TLR9 (135, 136)	TLR2–TLR4 (135, 137–140), TLR5, TLR9 (137)



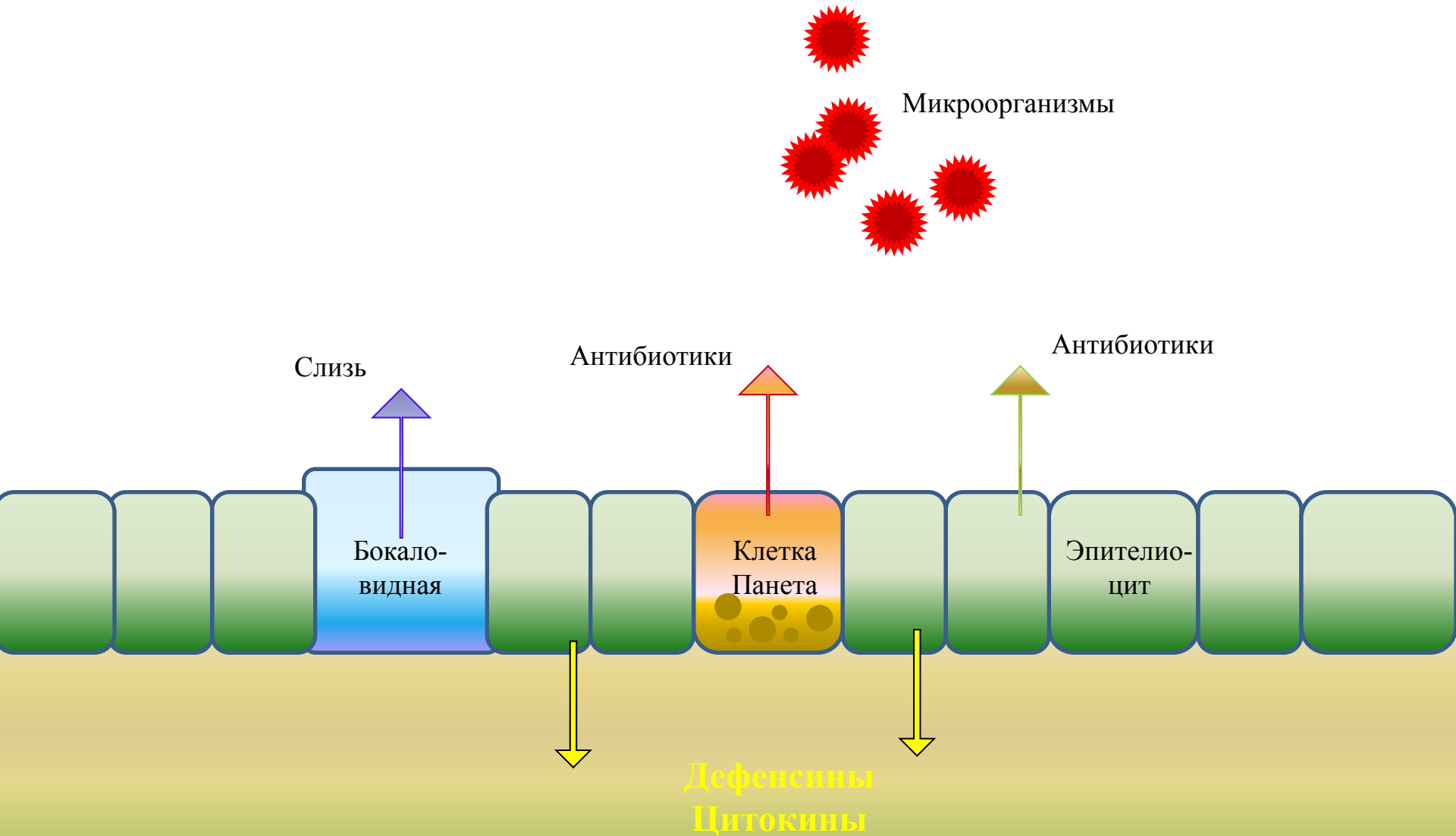
aginal
ium



TLR4 в месте контакта эпителия с *Candida albicans*

Реакции первой линии:

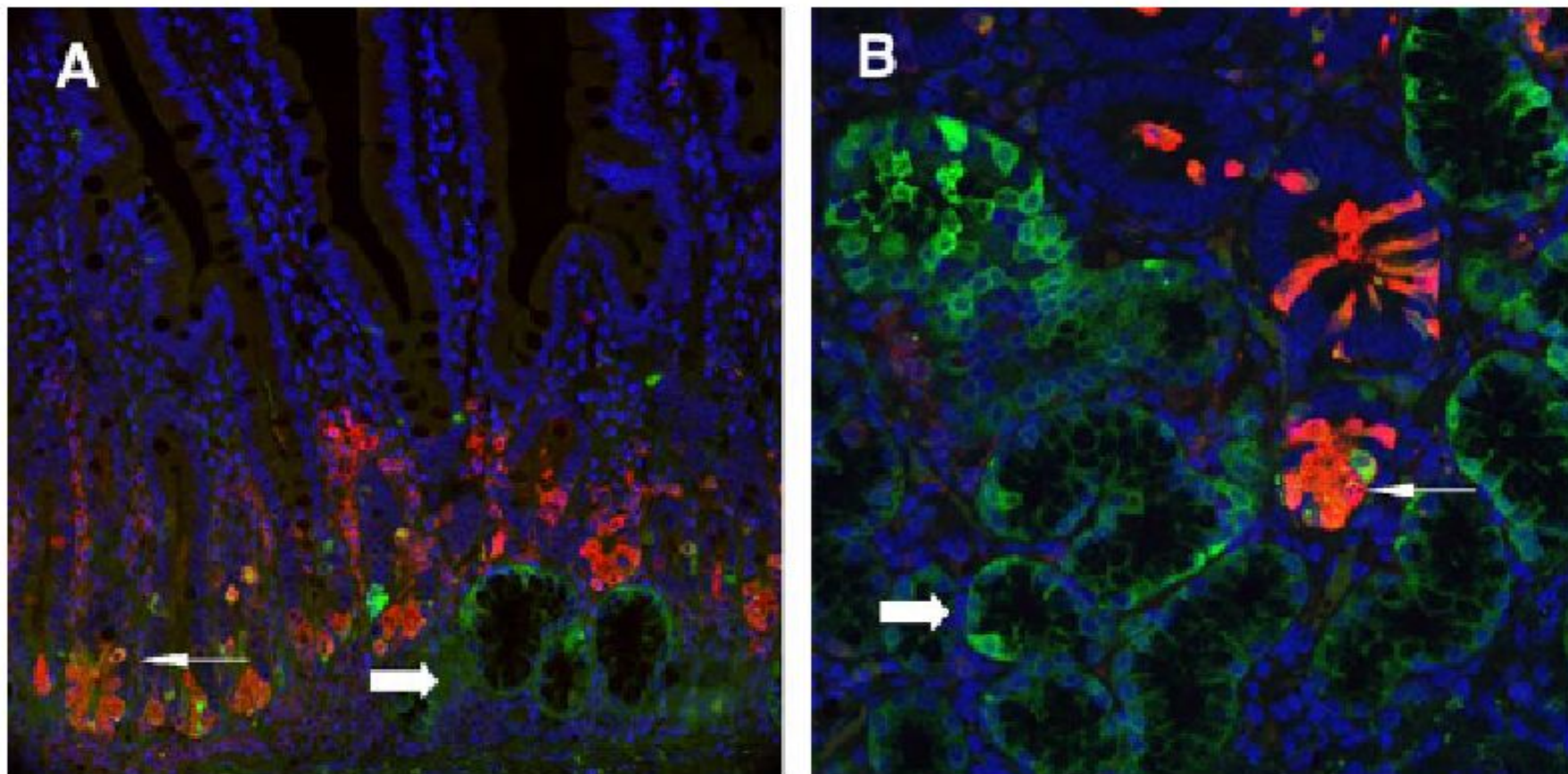
секреция слизи и антибиотиков в зоне контакта с инфекцией



**Эндогенные антибиотики –
защитные вещества белковой и пептидной природы:**

- дефенсины
 - кателицидины
 - гистатины
 - лактоферрин
 - лизоцим
 - псориазин
 - дермцидин
- и многие другие...

Продукция альфа-дефенсина в стенке тонкой кишки здорового человека



Дефенсин- $\alpha 5$ (красный) и лизоцим (зеленый) в слизистой кишки.

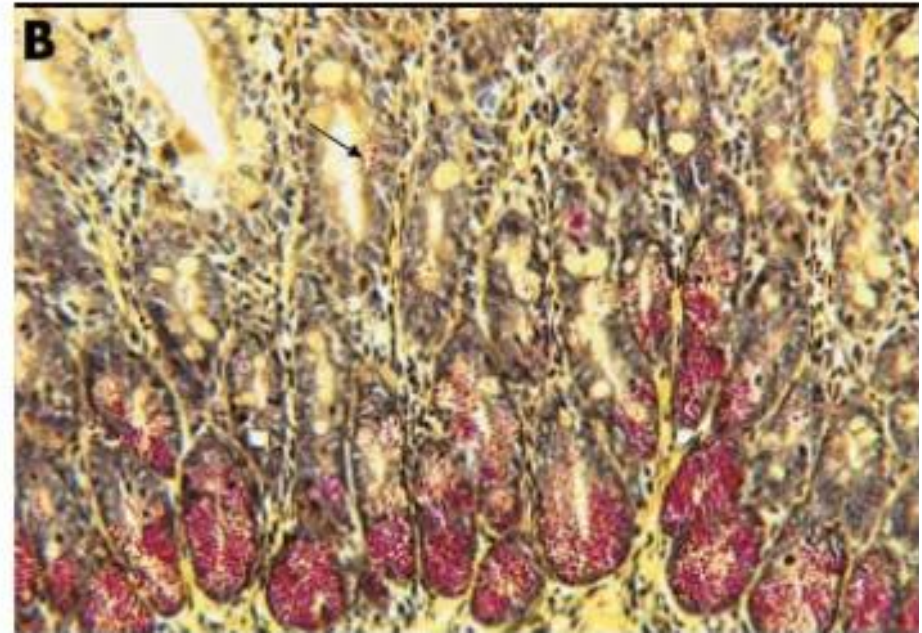
Широкие стрелки указывают клетки, в которых обнаруживается только лизоцим.

Узкие стрелки – клетки Панета, в которых дефенсин- $\alpha 5$ и лизоцим.

В клетках Панета в ответ на инфекцию нарастает количество и содержимое гранул

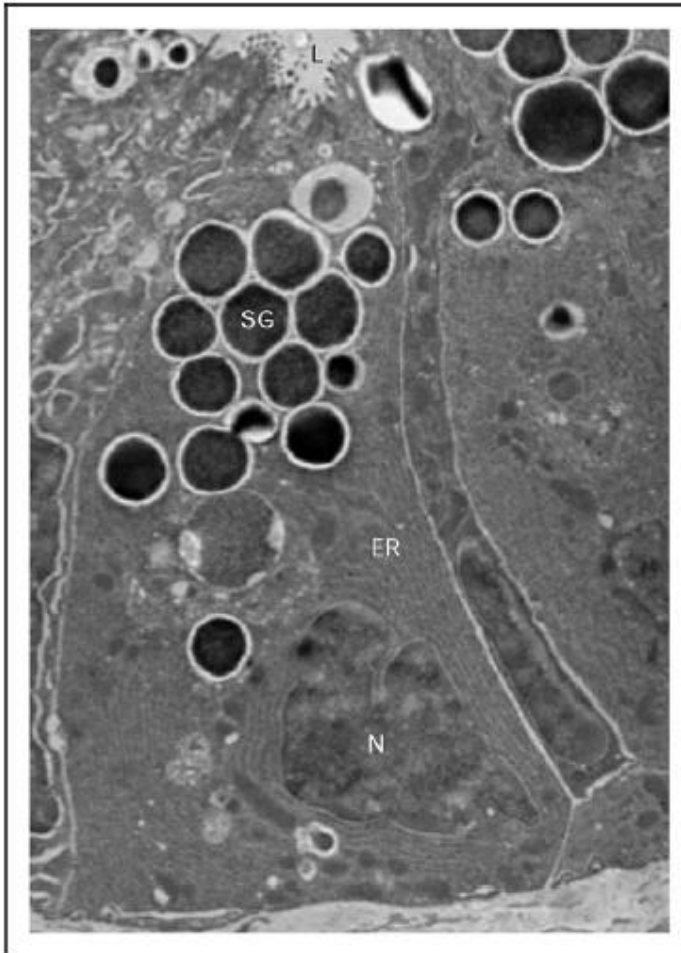


До инфекции



После инфицирования
(гранулы – красные)

Содержимое гранул клеток Панета



The figure illustrates the large electron dense secretory granules of Paneth cells that are directed toward the apical membrane for secretion into the crypt lumen (L). The extensive endoplasmic reticulum and basolaterally oriented nucleus (N), characteristic of this lineage, are indicated. ER, endoplasmic reticulum; SG, secretory granule. The electron micrograph was generously provided by Dr Susan J. Hagen, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, Massachusetts, USA.

Lysozyme

sPLA₂

IL-17A

TNF- α

RegIII- γ

α -defensins

Angiogenin-4

MMP-7

CD15

CD95 ligand

Xanthine oxidase

IgA

CRIP

Metallothionine

Leptin

Adiponectin

Serum amyloid A1

Haptoglobin

Complement factors D,I

α -1-antitrypsin

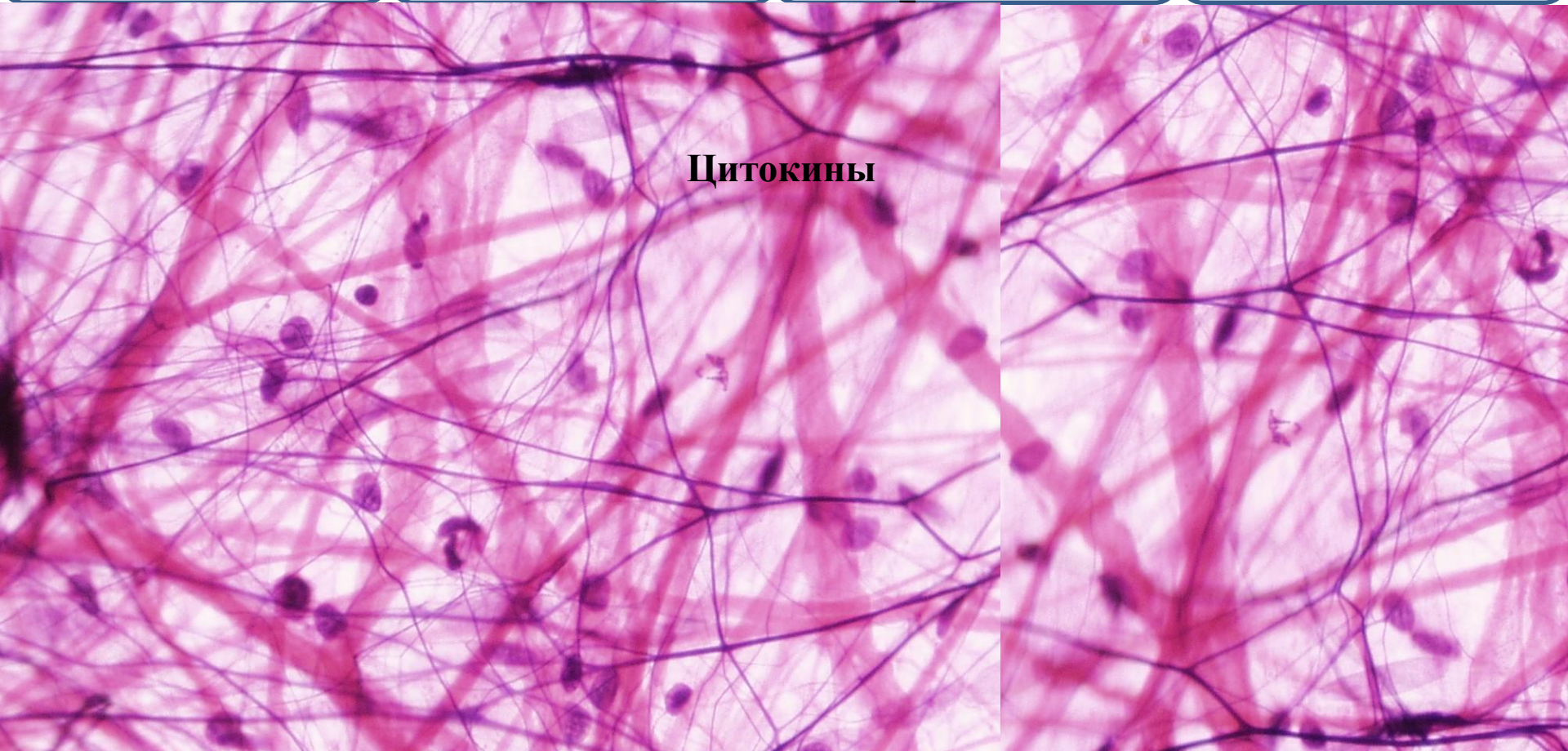
Что делают клетки эпителия, встретившись с инфекцией?

Защищаются – выделяют антимикробные вещества и слизь

Candida albicans

Oral or vaginal
epithelium

Цитокины

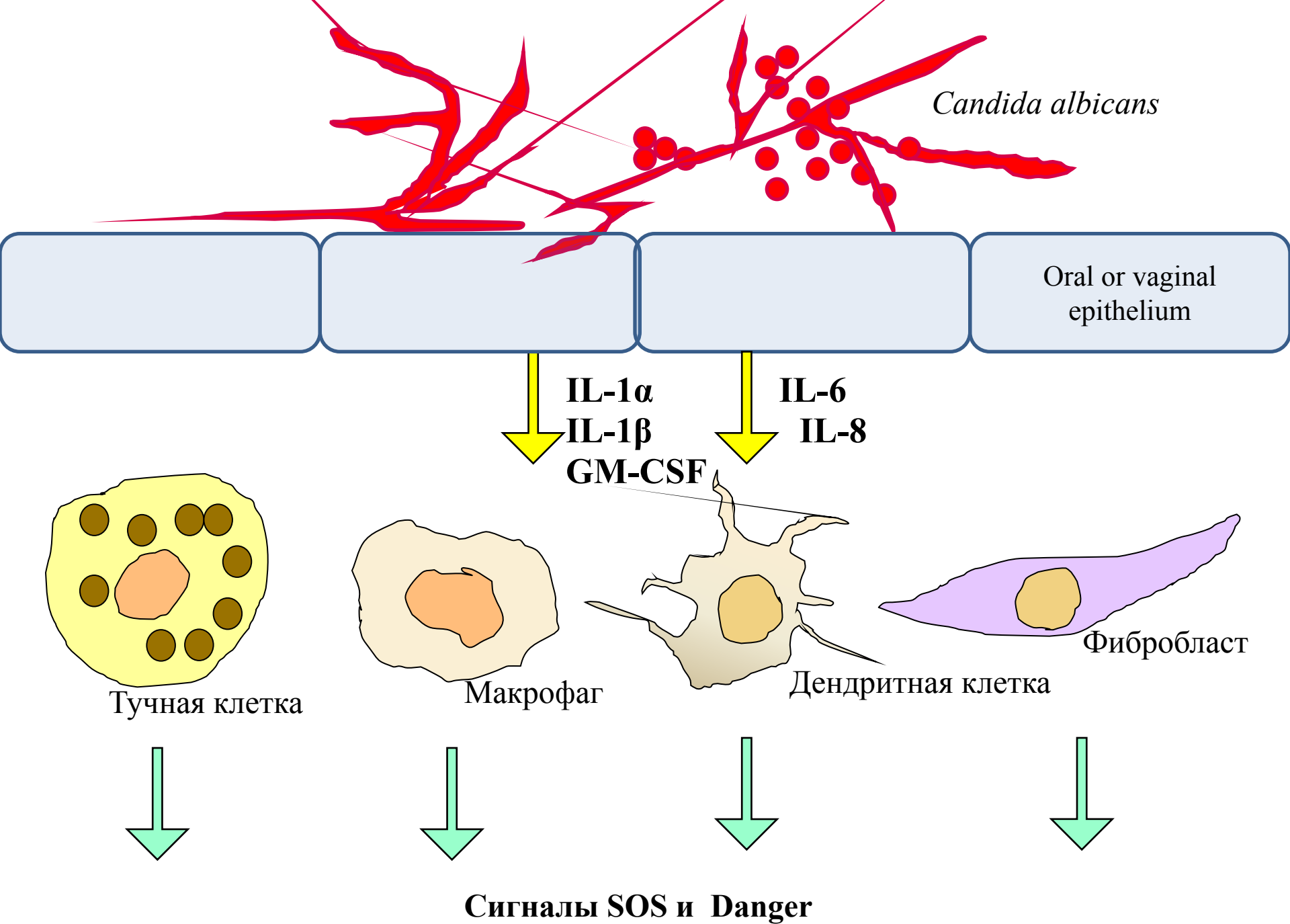


Реакции второй линии:

Клетки рыхлой соединительной ткани (макрофаги, дендритные, тучные, фибробласты) активируются:

(а) под влиянием цитокинов и дефенсинов эпителия

(б) в результате контакта с веществами инфекционной природы



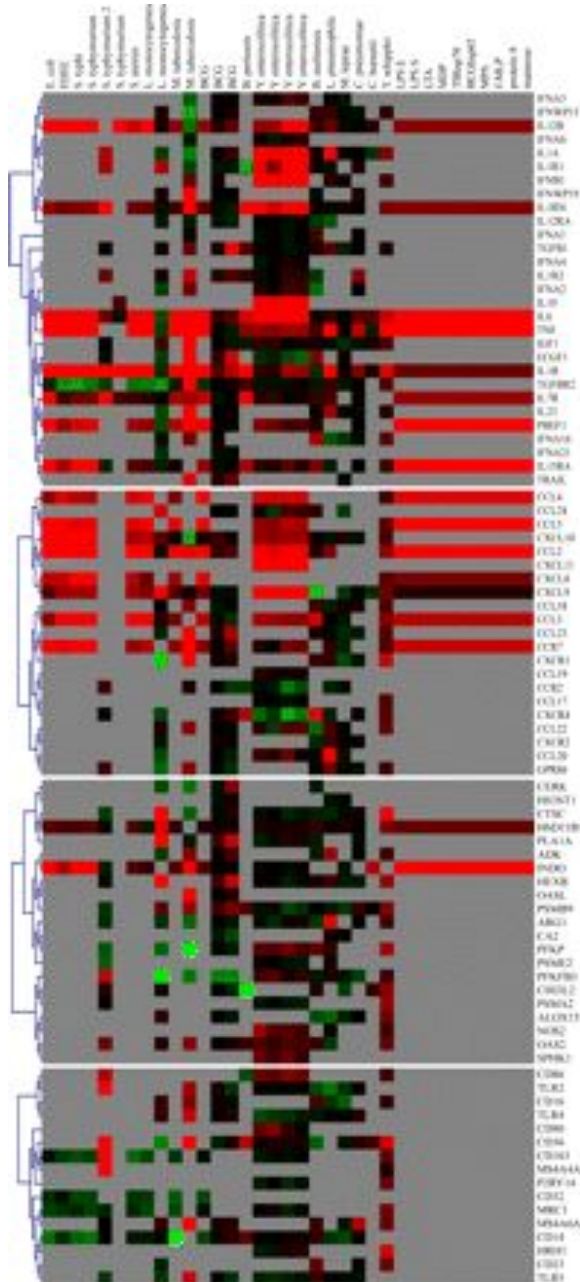
Сигналы danger - «Опасность! Готовьтесь к ее отражению!!»

Примеры: интерфероны, heat-shock proteins

Сигналы SOS - «Помогите! На меня напали!!»

Примеры: все хемокины и факторы, обладающие эффектами хемокинов (дефенсин)

Инфекция активирует в макрофагах транскрипцию многих генов:

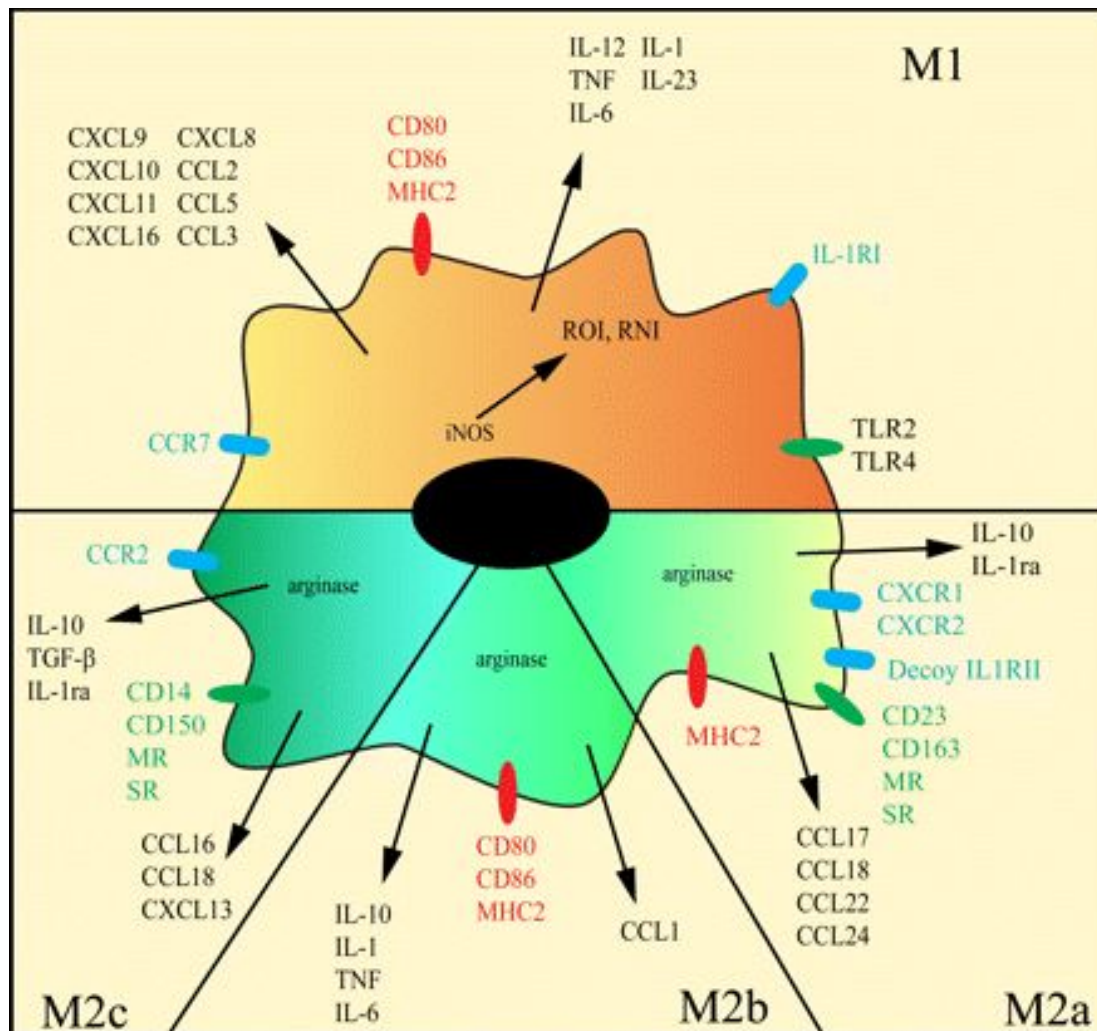


- Цитокины: TNF, IL-6, IL-12, IL-1 β
- Рецепторы цитокинов IL-7R and IL-15RA
- Хемокины CCL2, CCL5, and CXCL8
- Рецептор хемокина CCR7
- NO синтаза 2 (NOS2) – производство микробицидных веществ
- CD80 и CD86 ко-стимуляторные молекулы

FIGURE 2. Common transcriptional signature of macrophages in response to bacterial infections. Transcriptional data from 12 studies on the response of human and mouse macrophages to several bacteria and bacterial components were analyzed by hierarchical clustering analysis and represented by a color gradient from green (down-regulation) to red (up-regulation). Only genes involved in M1/M2 polarization that were modulated in at least one condition were included. Gray box represents unavailable data.

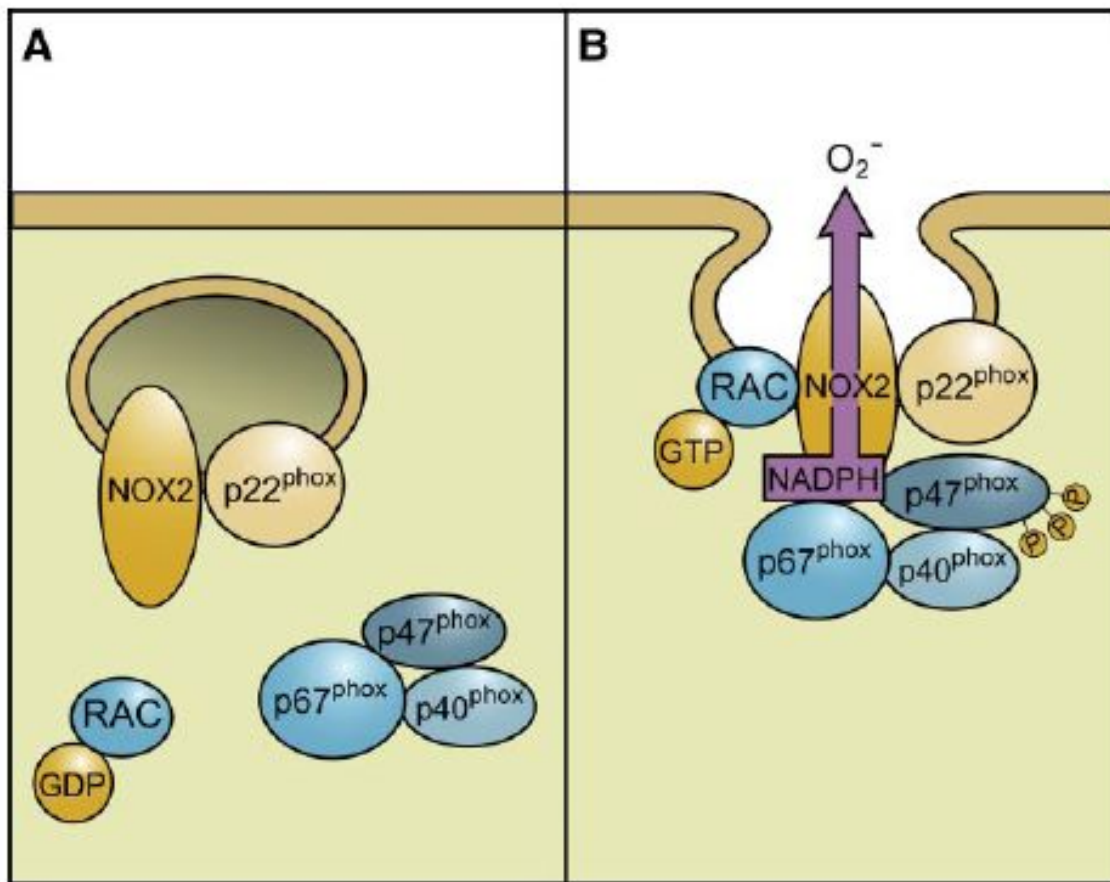
Abbreviations/designations not defined elsewhere: BCG, Bacillus Calmette-Guérin; BCGhsp65, BCG heat shock protein 65; *B. melitensis*, *Brucella melitensis*; *B. pertussis*, *Bordetella pertussis*; *C. pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*; EHEC, enterohemorrhagic *E. coli*; *L. pneumophila*, *Legionella pneumophila*; LPS E, *E. coli* LPS; LPS S, *Salmonella* LPS; LTA, lipoteichoic acid; MDP, muramyl dipeptide; *M. leprae*, *Mycobacterium leprae*; MPA, mycophenolic acid; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*; TBhsp70, tuberculosis heat shock protein 70.

**Макрофаг активируется при контакте с инфекцией (M2 → M1),
приобретает способность производить агрессивные вещества,
убивающие инфекцию**



В активированном фагоците происходит сборка NADPH-оксидазы

Везикулы с активным ферментом, где O_2 может трансформироваться в супероксид-анион O_2^- , сливаются с внешней мембраной.



Анти-микробные вещества, которые синтезируют фагоциты

Суперокси-д-анион

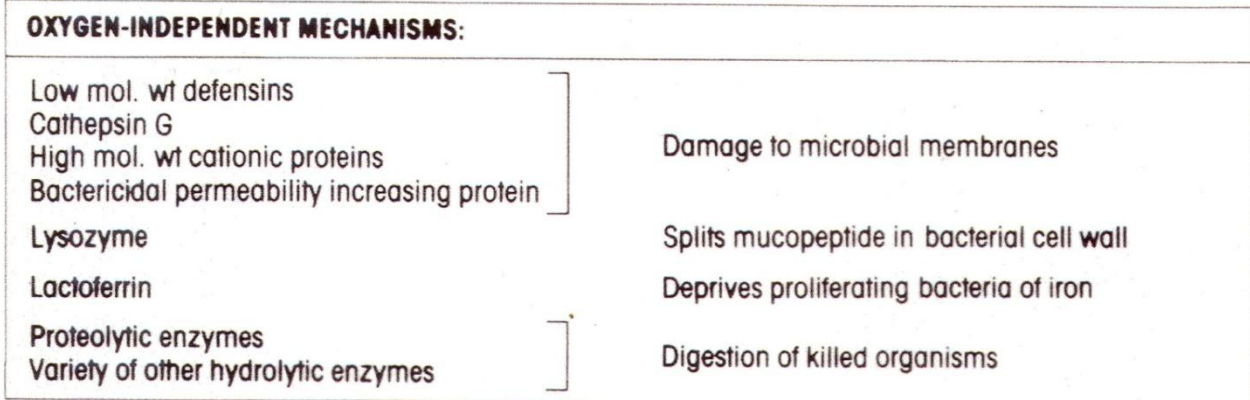
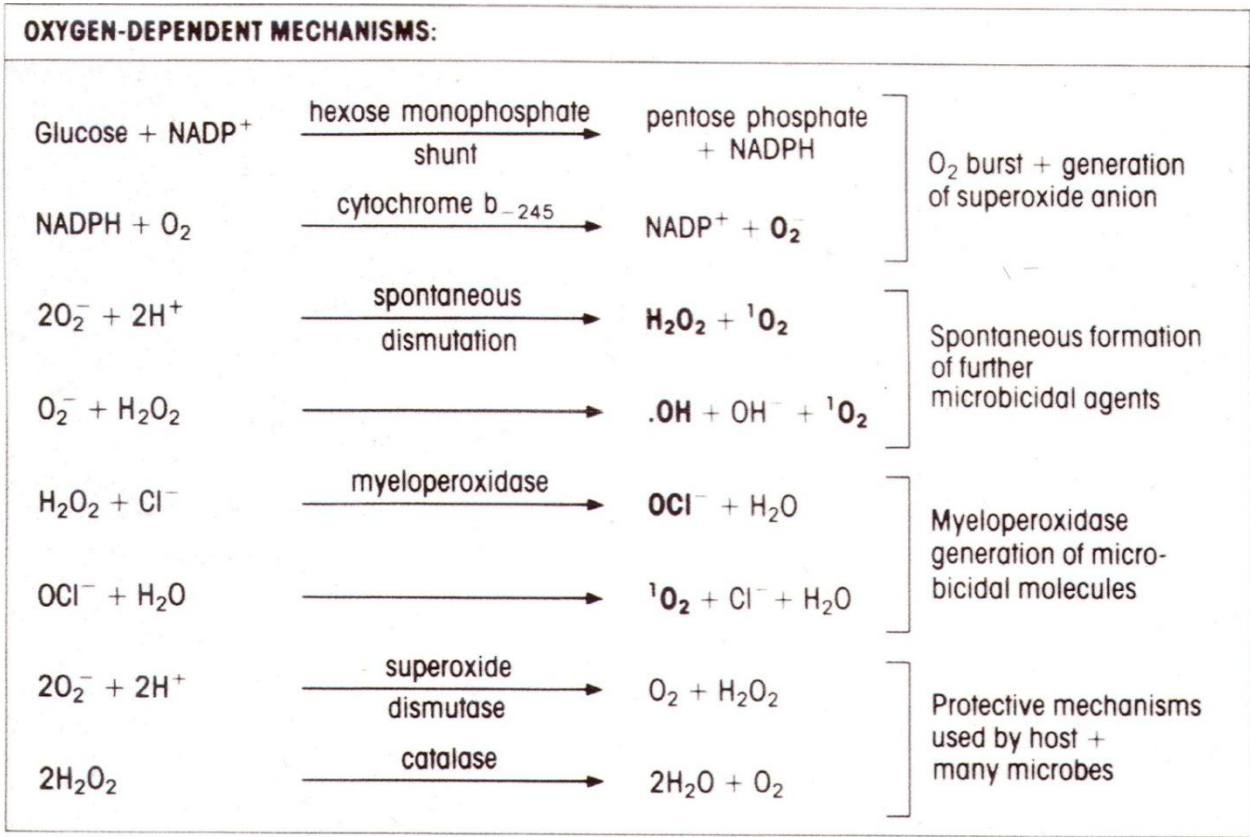
Синглетный кислород

Гидроксил-анион

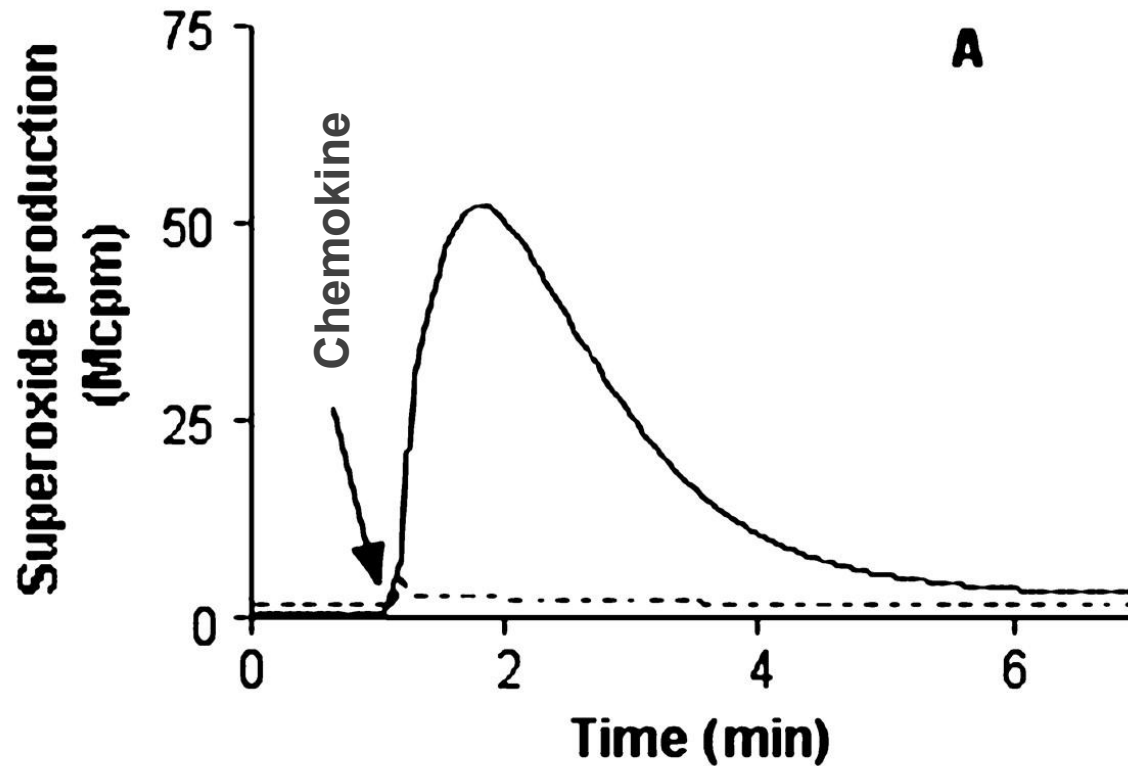
ОСl-анион

Cl-анион

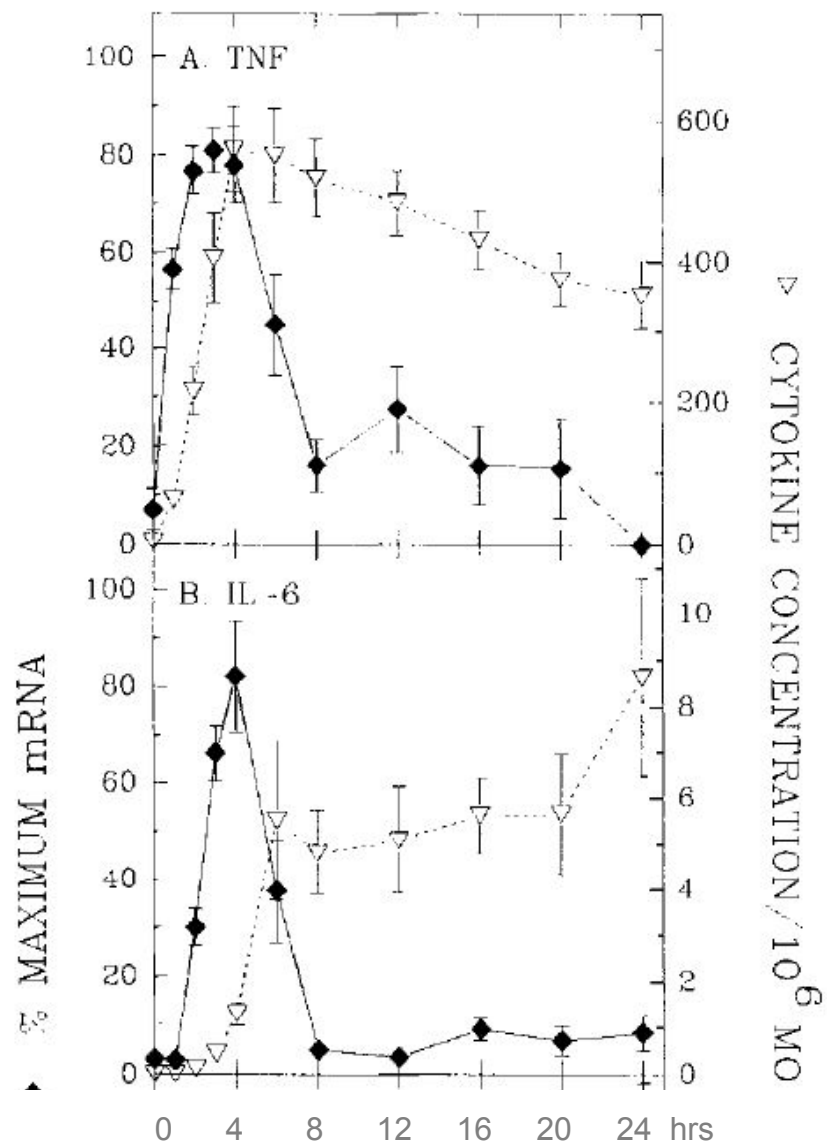
Перекись водорода



Продукция супероксида в фагоцитах в ответ на хемокин (активация NADPH-оксидазы)



Кинетика ответа клеток на инфекцию и/или цитокины



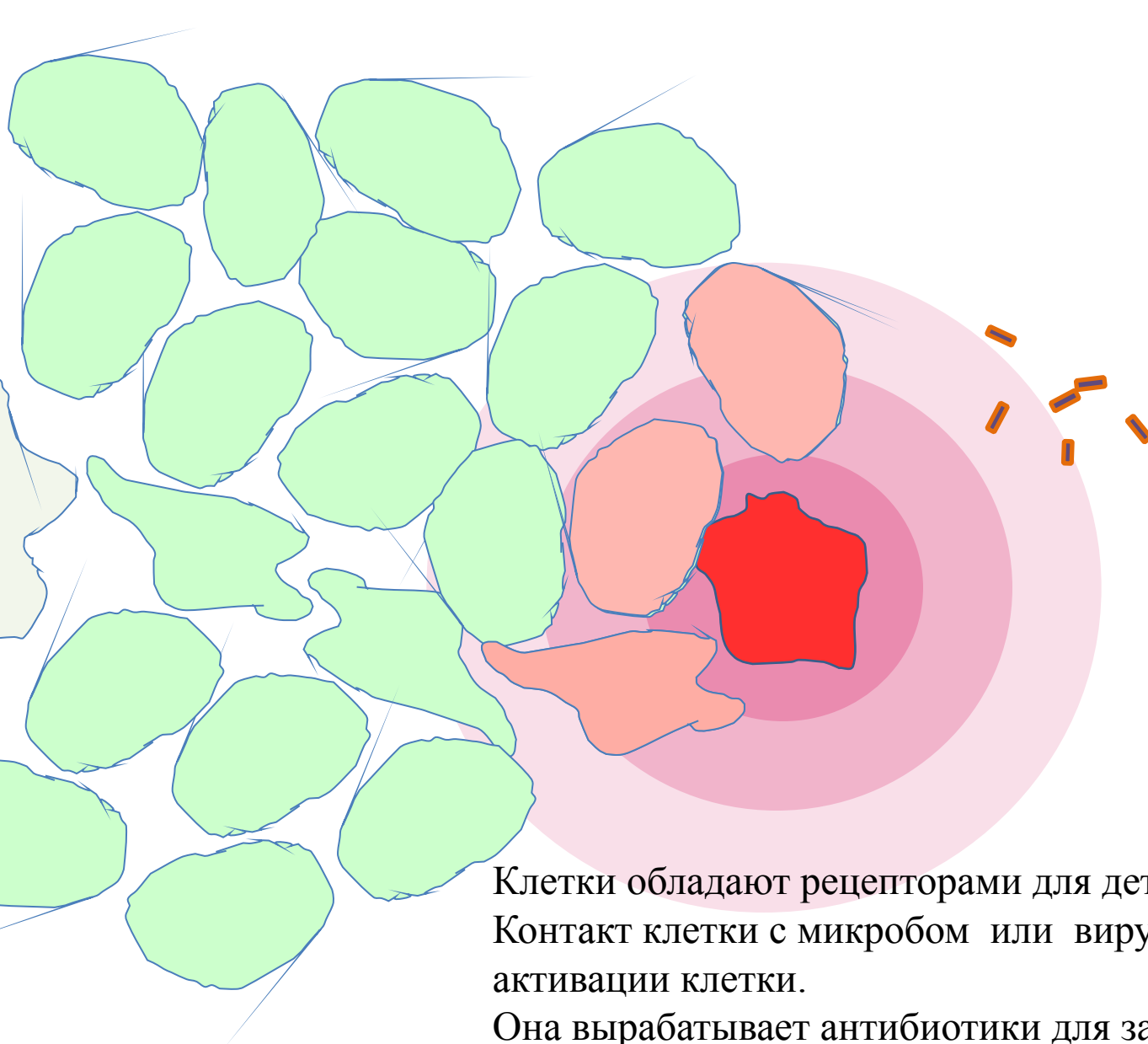
Как реагирует макрофаг на инфекцию или сигналы от других клеток, встретившихся с инфекцией

В течение первых минут макрофаг начинает выбрасывать готовые и синтезировать новые противомикробные вещества.

Кроме противомикробных веществ, вырабатываются сигнальные молекулы, задача которых активировать защитные свойства соседних клеток и привлечь в зону бедствия дополнительных бойцов

Макрофаг, реагирующий на инфекцию или сигналы других клеток, встретивших инфекцию, сильно меняется — в нем активируется транскрипция ~200-300 ранее молчавших генов



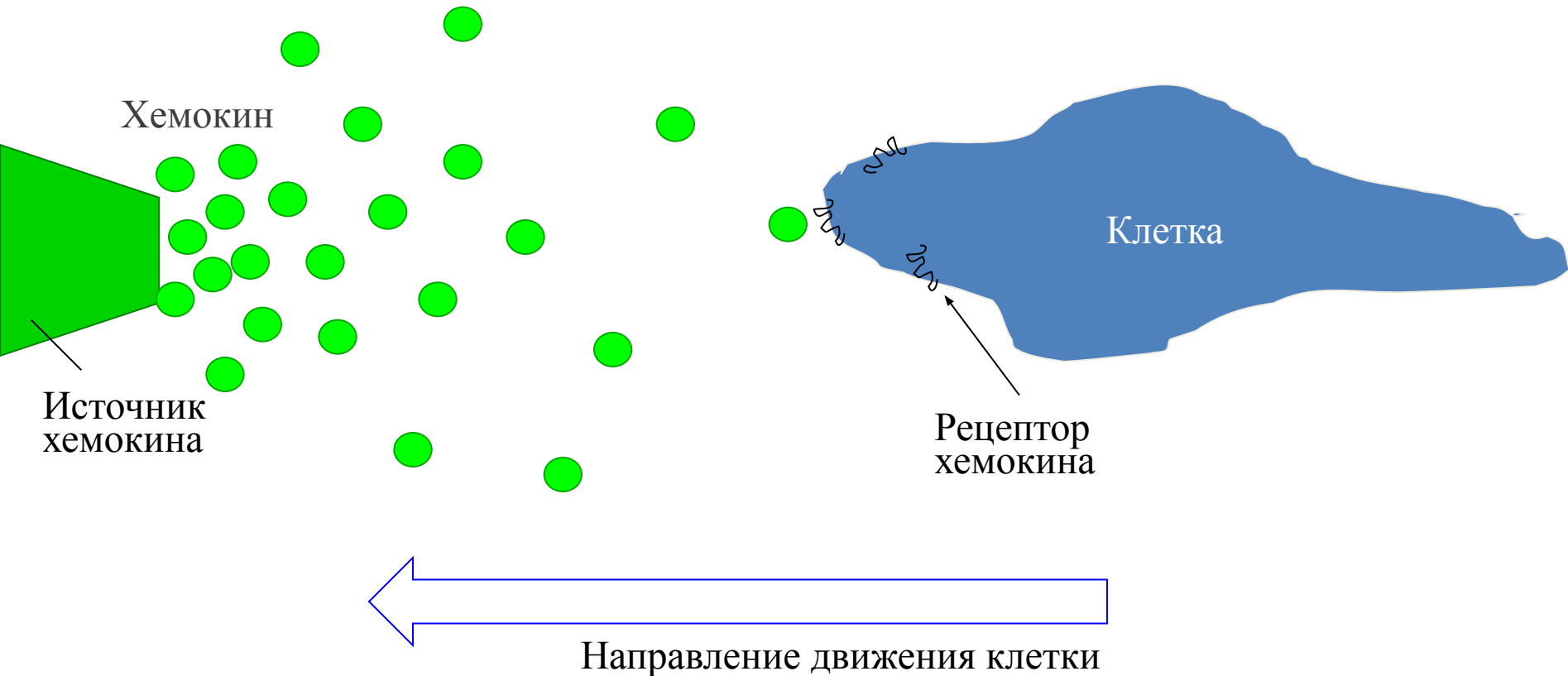


Клетки обладают рецепторами для детекции инфекций. Контакт клетки с микробом или вирусом приводит к активации клетки.

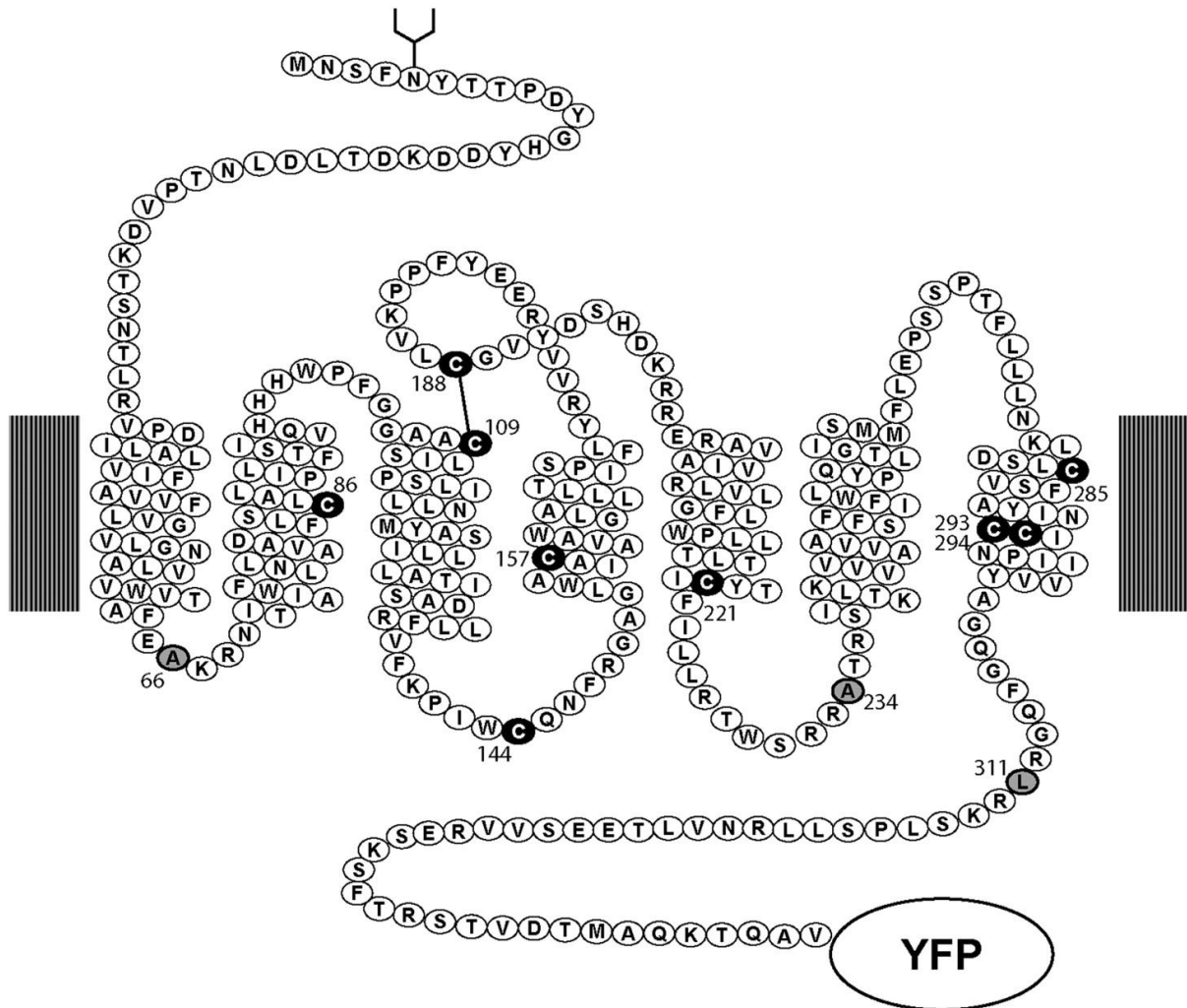
Она вырабатывает антибиотики для защиты от инфекций и сигналы SOS и danger для оповещения других клеток. На помощь приходят фагоциты.

ХЕМОТАКСИС

– движение клетки к источнику химического сигнала
(в направлении большей концентрации химического сигнала,
который называется хемокином)



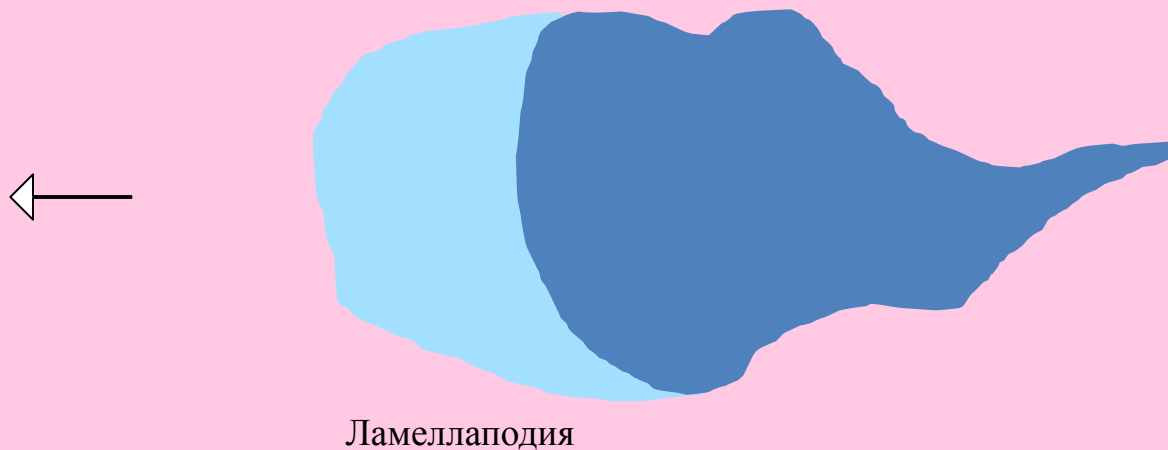
Рецептор хемокина



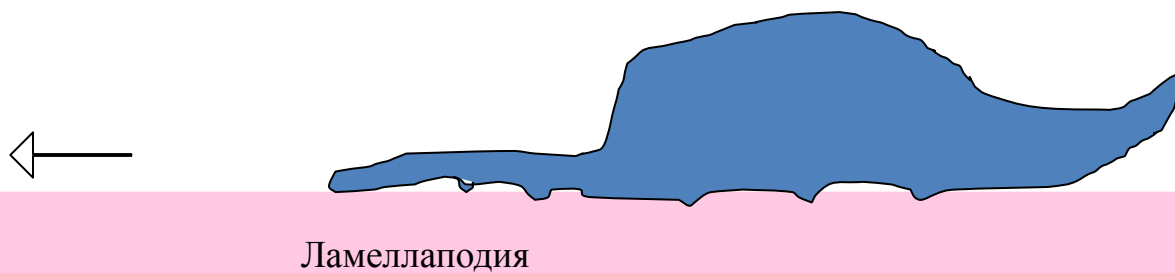
Kico, J. M. et al. J. Biol. Chem. 2003;278:35345-35353

Схема движущейся клетки

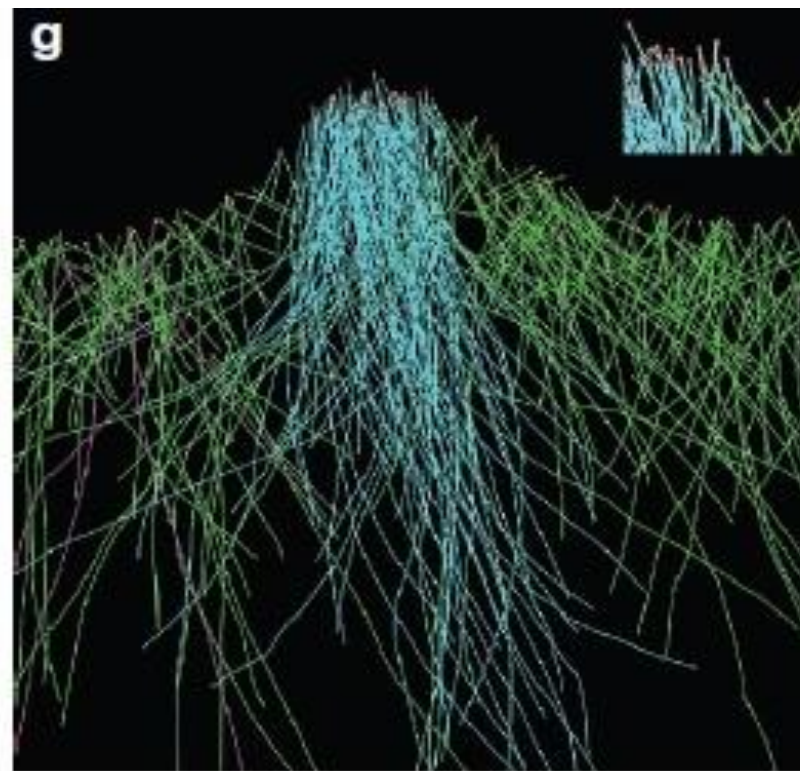
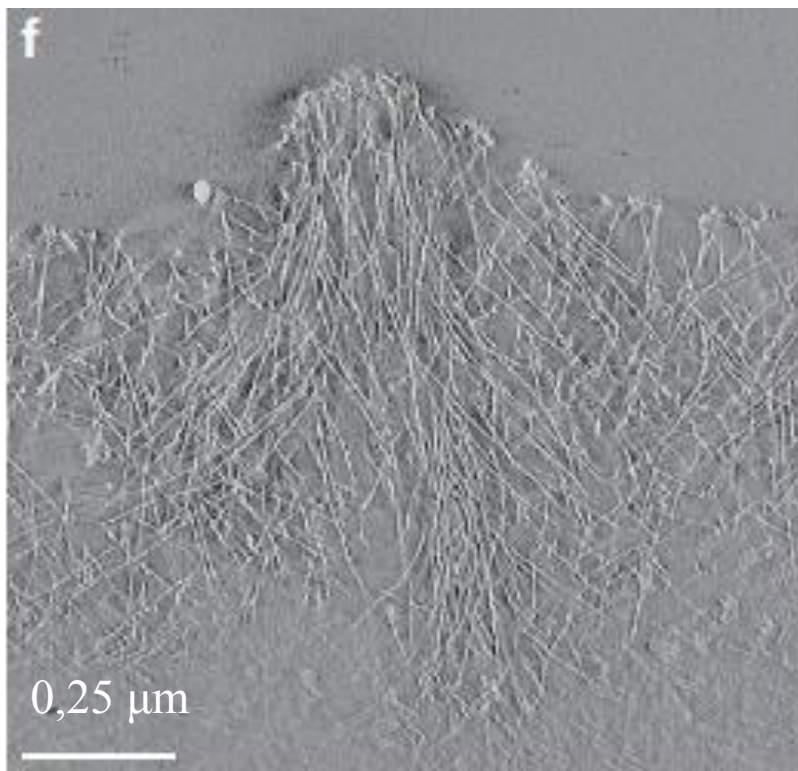
Вид сверху



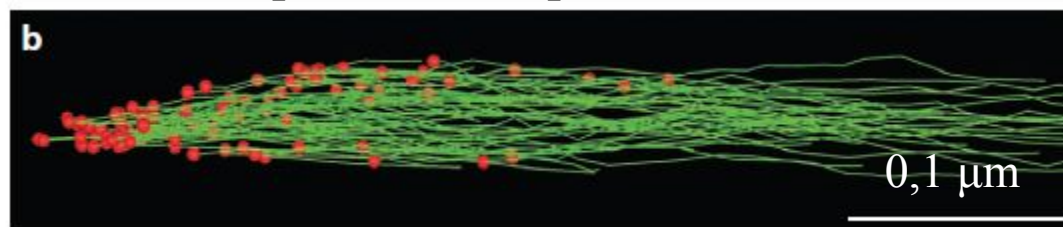
Вид сбоку



Ламеллоподия заполнена растущими актиновыми филаментами



Продольный срез ламеллоподии



Направление движения клетки

Направление движения клетки

**Филаменты из белка-актина (метка GFP)
удлиняются со скоростью 1 $\mu\text{m}/\text{min}$**

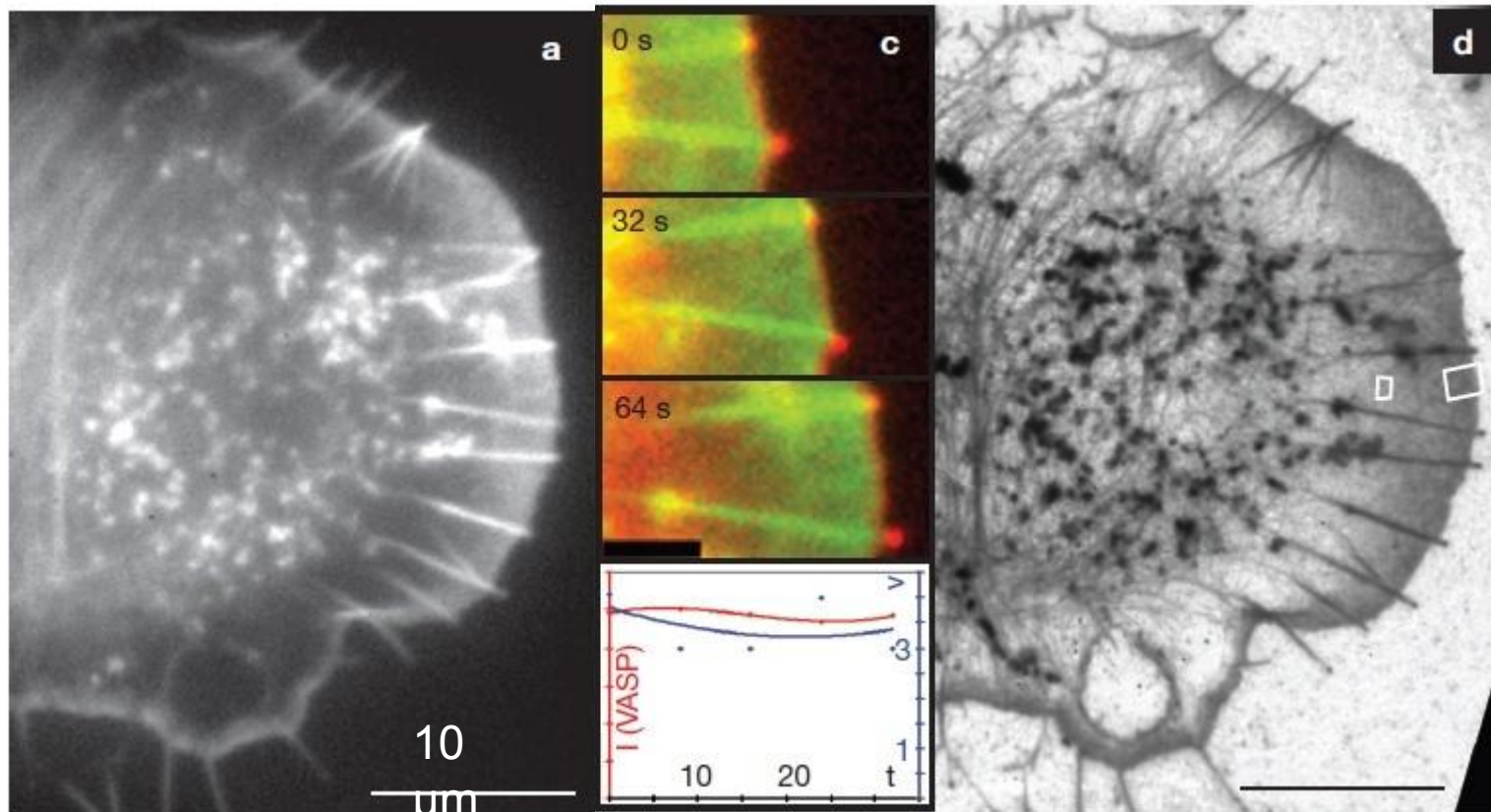


Figure 1 Arrest of a steadily protruding lamellipodium and preservation of the actin gradient. **(a)** Final frame (GFP channel) of a video sequence showing a B16 melanoma cell expressing GFP-actin and mCherry-VASP. **(b)** Actin-GFP image of a cell fixed within 3 s after the last video frame shown in **a**. The inset shows intensity scans (I (Actin)) across the lamellipodium (boxed region) before (green line) and after (red line) fixation; d in the inset is the distance. **(c)** Upper panels: video sequence leading to fixation of boxed region in **b** (green, GFP-actin; red, mCherry-VASP). Lower panel: protrusion rate over the terminal period (v , $\mu\text{m min}^{-1}$; blue) and the relative mCherry-VASP intensity at the front edge of the lamellipodium (I (VASP); red). **(d)** Overview electron micrograph of the cell after negative staining. Bars are 10 μm (**a**, **b**, **d**) and 3 μm (**c**).

Как актиновые филаменты вытягиваются внутри ламеллоподии на переднем фронте движущейся клетки

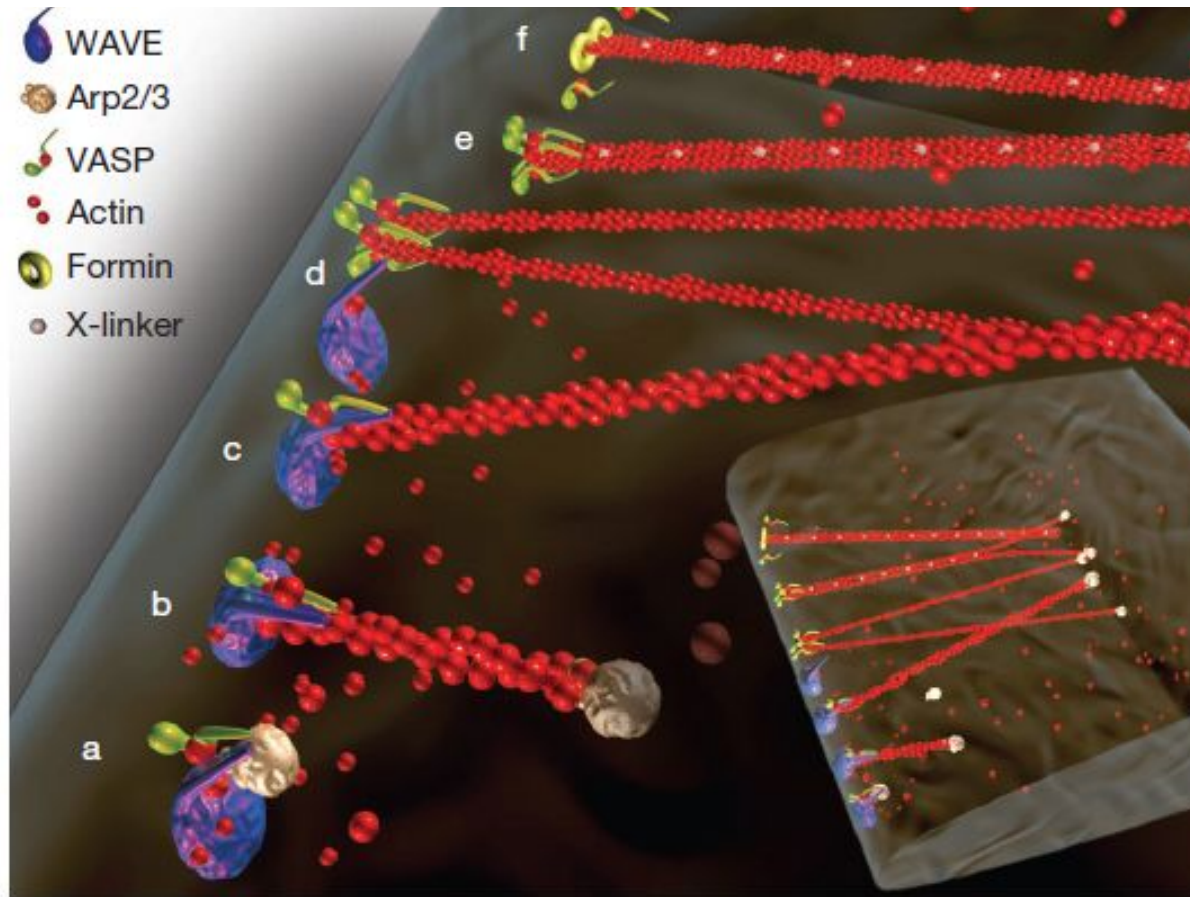
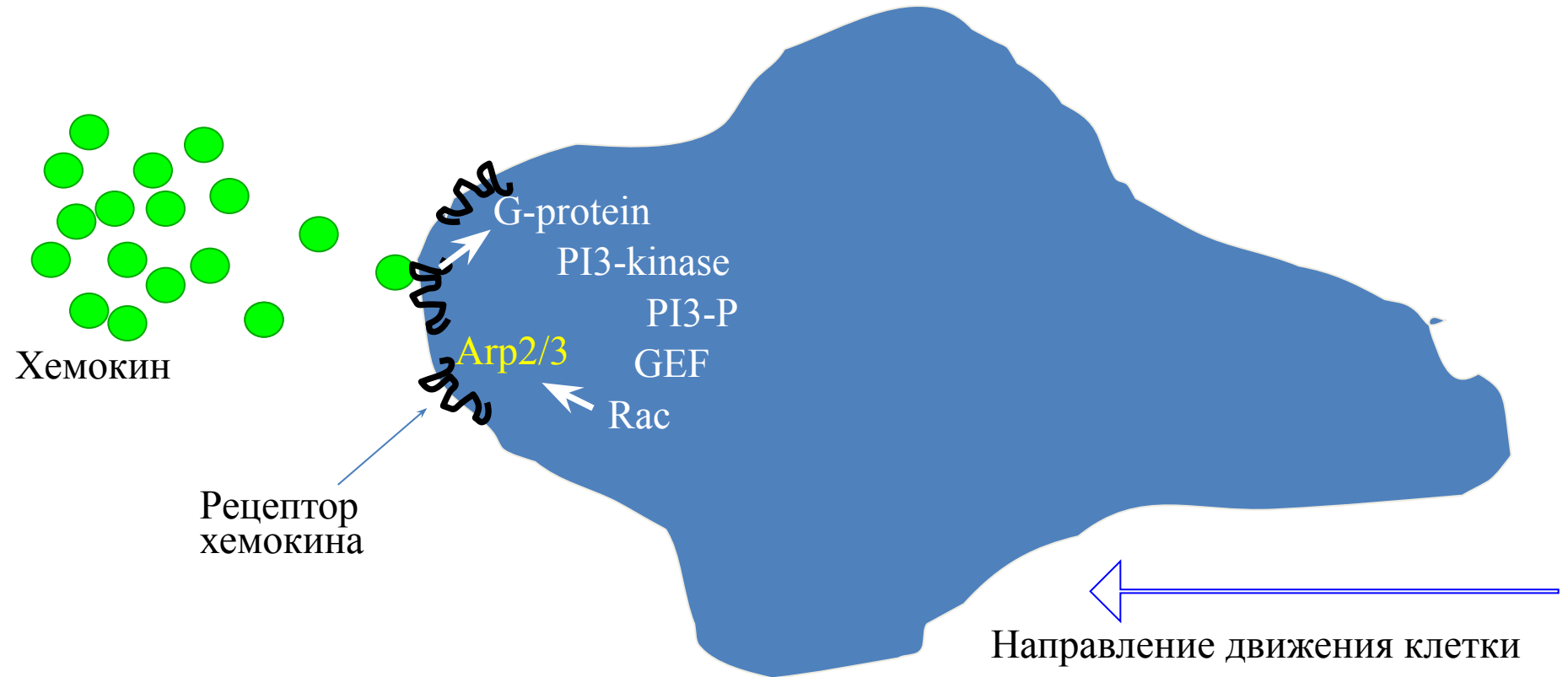


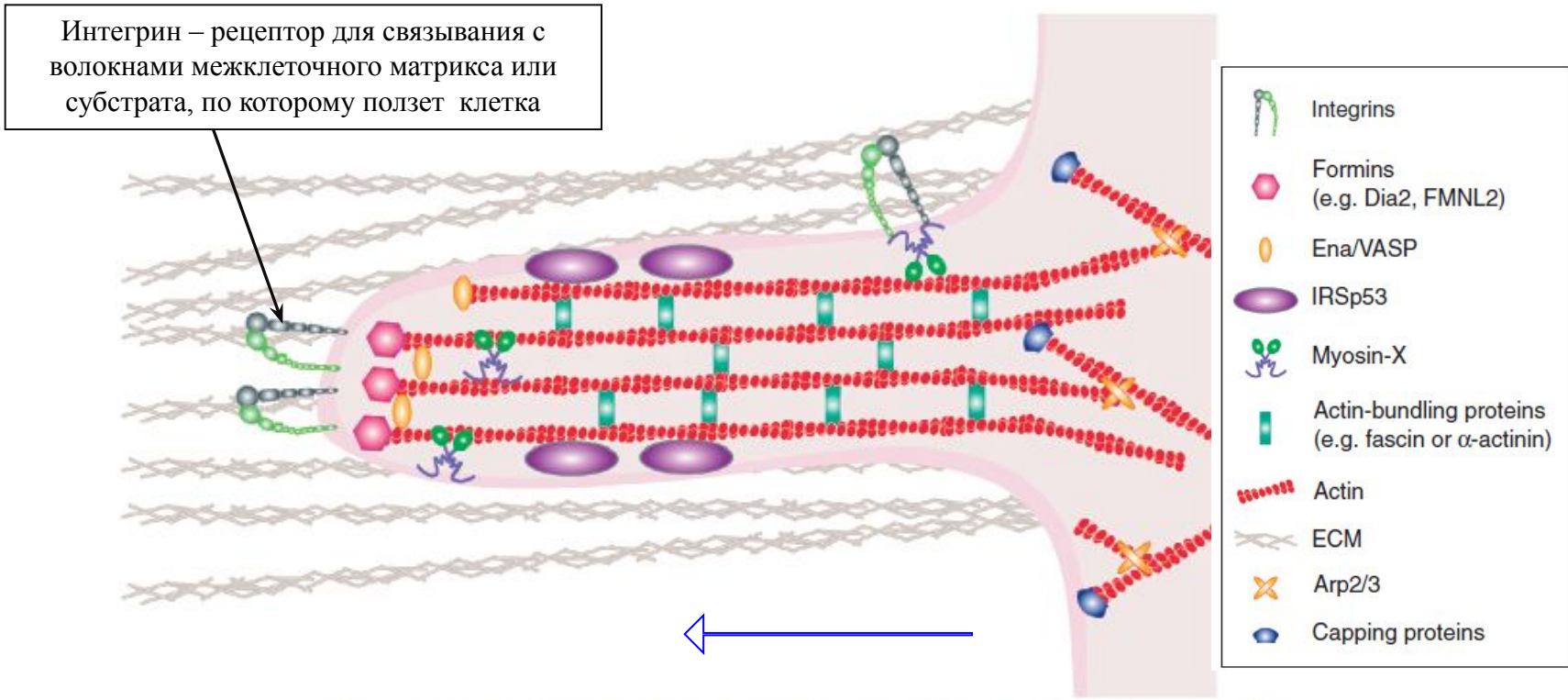
Figure 6 Hypothetical scheme of actin network generation in lamellipodia. In response to signalling events (including those downstream of Rac), nucleation-promoting factors (the WAVE complex), longation complexes (Ena/VASP proteins) and nucleator/elongators (formins) are recruited to the membrane. We suggest that WAVE, VASP and formins associate in different combinations in multimolecular complexes to regulate the balance between network and bundle formation. Possible schemes are indicated. **(a)** Single actin filaments are nucleated by the docking of the Arp2/3 complex onto the WAVE complex. **(b)** Filaments elongate, initially tethered via the WAVE WH2 domain, with the Arp2/3 complex on the filament minus end. **(c)** VASP molecules associated with the WAVE complex take over the role of filament elongation (as oligomers) through common binding partners, releasing WAVE for further nucleation events. **(d)** Some growing actin plus ends tethered by VASP oligomers and associated proteins come together by lateral flow in the membrane and **(e)** initiate the formation of a filament pair through recruitment of an actin-bundling protein (X-linker). **(f)** Filament pairs could also be nucleated and elongated directly by formins (a doublet making up one ring) in combination with a bundling protein. Finally, long cross-linking proteins (such as filamin and α -actinin) stabilize the network by forming filament interconnections (not shown). For clarity, the filament density in the scheme is lower than in the real cell.

Почему актиновые филаменты растут в области лидирующего фронта клетки



Связывание хемокина с рецептором приводит к активации каскада событий внутри клетки. В конце каскада – активация белка Arp2/3, который запускает полимеризацию актиновых филамент

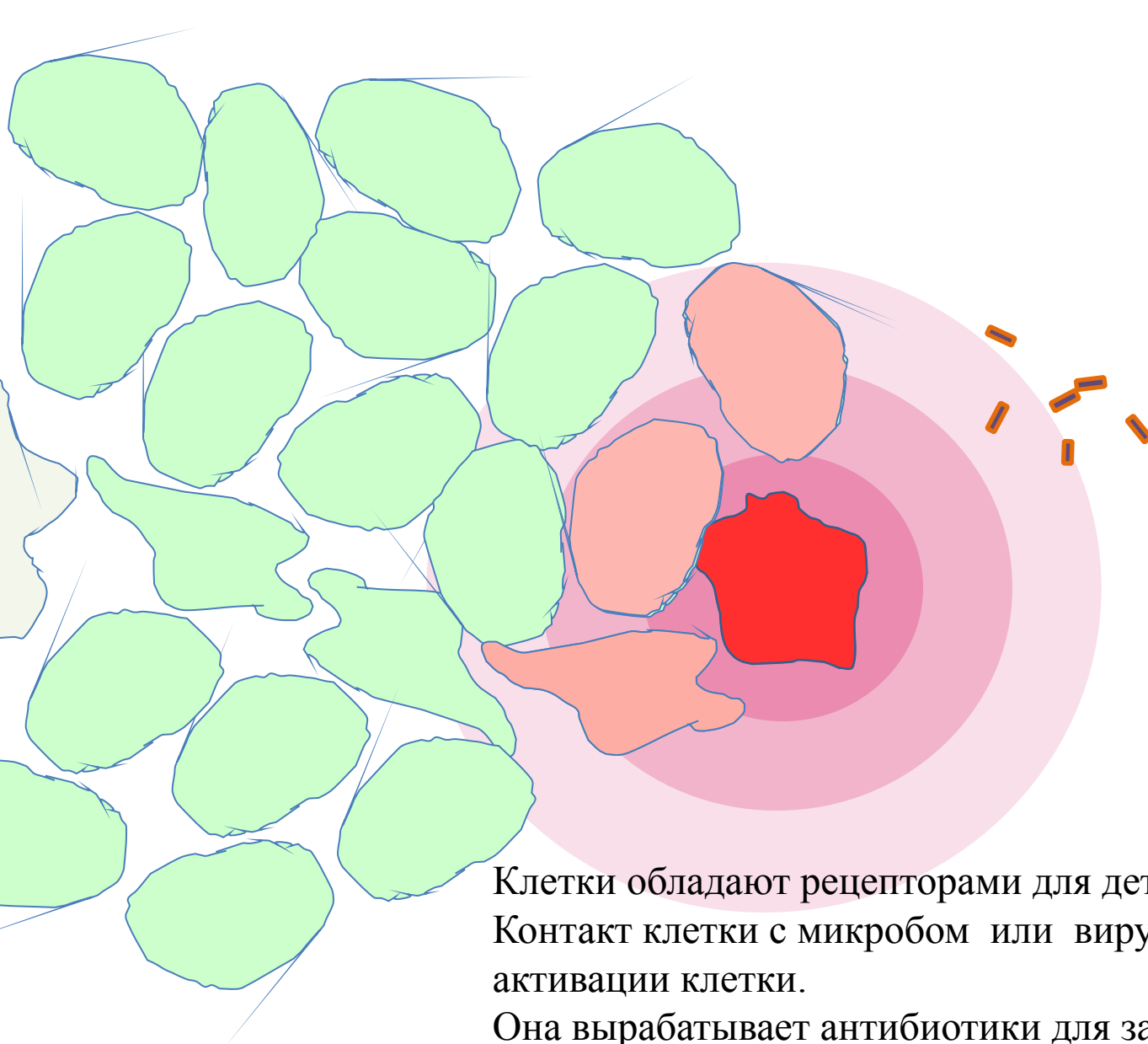
- Филоподия выпячивается пучком актиновых филамент.
- Каждая актиновая филамента прикрепляется к мембране.
- В этом месте на мембране расположены рецепторы (интегрины) для контакта с субстратом, по которому ползет клетка.



Schematic representation of filopodia during cell migration on a planar substrate. (a) During cell migration, receptor-mediated cell–ECM interactions induce the assembly of dynamic and heterogeneous cytoplasmic adhesion platforms, termed adhesion complexes. As cells migrate in 2D, different types of adhesion complexes (nascent adhesions, focal adhesions and fibrillar adhesions) can be discerned based on maturation stage, sub-cellular distribution and protein composition. These support cell–ECM adhesion and function as signaling platforms that tightly control cell behavior. In particular, adhesion-mediated signaling at the leading edge regulates Arp2/3-mediated actin remodeling and polymerization to drive lamellipodia membrane protrusions and forward cellular movement. In addition, linear actin polymerization leads to the formation of filopodia that explore the cell surroundings. (b) Filopodia probe the ECM by assembling specialized adhesion complexes at specific sub-filopodial locations, namely ‘tip adhesions’, ‘shaft adhesions’ and ‘base adhesions’. (c) Filopodia formation is facilitated by proteins such as the insulin-receptor substrate p53 (IRSp53) (or other inverse (I)-BAR domain-containing proteins) which deform and/or tubulate the plasma membrane, and by the motor activity of myosin-X which triggers actin fiber convergence at the cell periphery. Within a filopodium, actin crosslinking protein such as fascin or α -actinin bundle actin filaments together and formins including Dia2 (diaphanous-related formin-2) and/or actin regulators such as Ena/VASP (enabled/vasodilator-stimulated phosphoprotein) promote actin filament elongation. Myosin-X also transports various proteins to filopodia tips, including adhesion receptors such as integrins [22] or VE-cadherin, with key roles in filopodia maintenance, environment sensing, establishment of cell–cell junctions and long-distance transport.

Что важно для движения клетки:

- Вытягивать филоподии
- Закрепиться вытянутой филоподией за субстрат
- Из нескольких соседних филоподий образовать ламеллоподию
- Подтянуть тело клетки
- Вектор движения задается химическими сигналами хемотаксиса (хемокины, молекулы инфекционной природы) . Без вектора движение клетки будет беспорядочным.

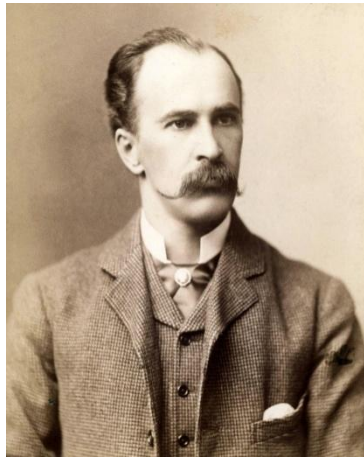


Клетки обладают рецепторами для детекции инфекций. Контакт клетки с микробом или вирусом приводит к активации клетки.

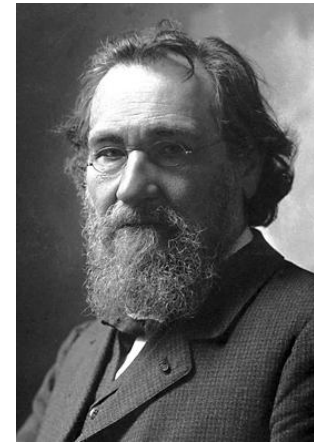
Она вырабатывает антибиотики для защиты от инфекций и сигналы SOS и danger для оповещения других клеток. На помощь приходят фагоциты.

Фагоцитоз – проглотить врага, убить его и переварить

Фагоцитоз – поглощение клеткой частицы или другой клетки



William Osler,
канадский врач и исследователь,
описал захват частиц угля
клетками легкого в 1876 г

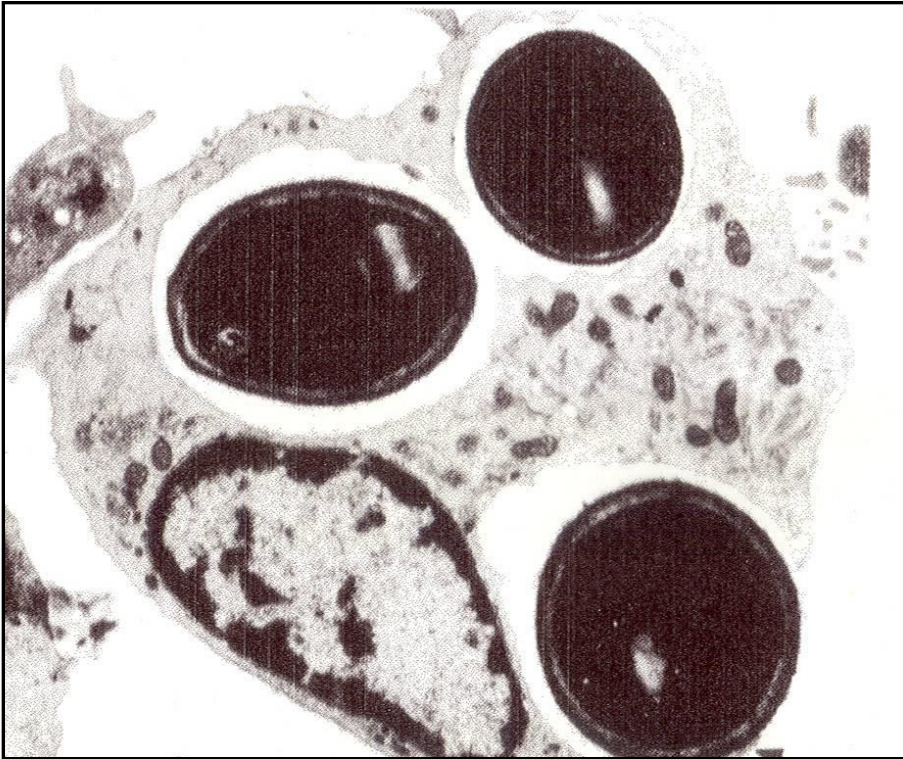


Илья Ильич Мечников

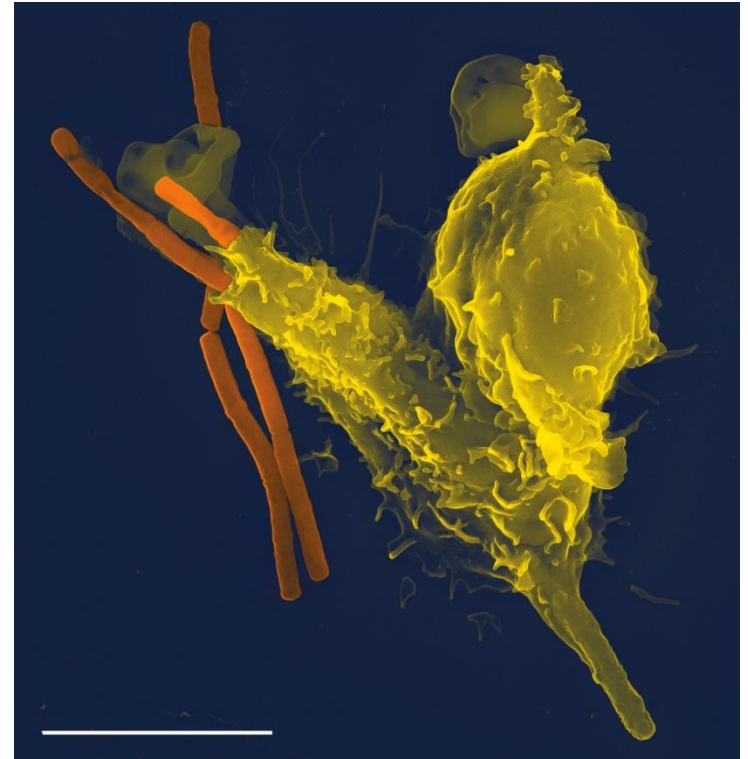
Явление фагоцитоза было открыто William Osler. Несколькими годами позже И.И.Мечников обнаружил этот процесс в опытах с морскими звездами и дафниями, вводя в их организмы инородные тела. Когда Мечников поместил в тело дафнии спору грибка, он заметил, что на нее нападают особые подвижные клетки. Когда он ввел слишком много спор, клетки не успели поглотить все споры, и животное погибло. Клетки, защищавшие организм от спор, бактерий и грибов, Мечников назвал фагоцитами.

Recently at the Medical Historical Museum of McGill University, Dr. Rick Fraser discovered a microscope slide prepared in 1876 from the lung of a patient with pneumoconiosis. Photomicrographs show the presence of coal dust particles in alveolar cells. This case and several related ones had been reported in 1875 by William Osler, who also had demonstrated the cellular uptake of carbon particles in kittens injected with India ink. In 1869 a Philadelphia physician described the uptake of bacteria by leukocytes in saliva and urine. Both investigators postulated a protective role for this cellular phenomenon. Neither of these reports has been generally cited in histories of immunology. These two papers are summarized here along with a short review of other reports describing phagocytosis which predating Metchnikoff's entrance into the field.

Клетки-пожиратели (фагоциты)

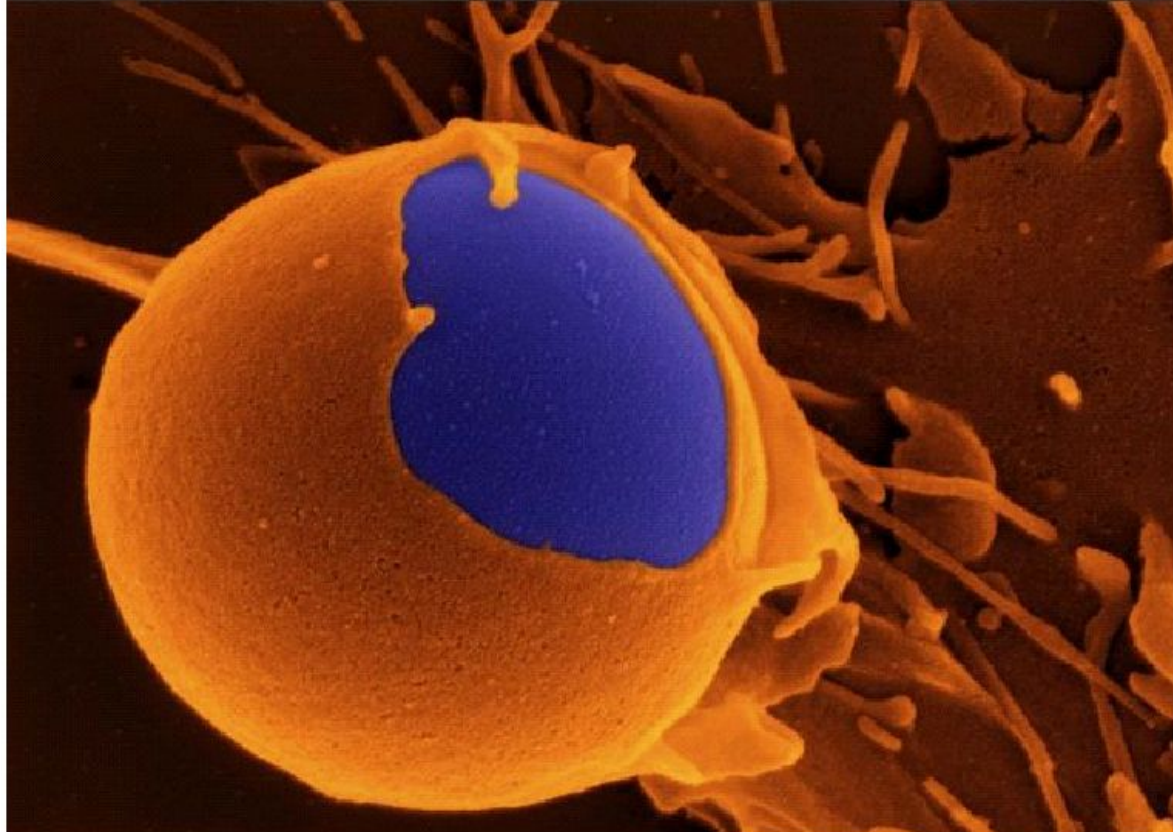


Макрофаг поглотил 3 клетки гриба *Candida*



Нейтрофил поглощает бактерии сибирской язвы (*Anthrax*)

Макрофаг фагоцитирует шарик



Фагоцитоз с помощью механизма «крюка и лопаты»

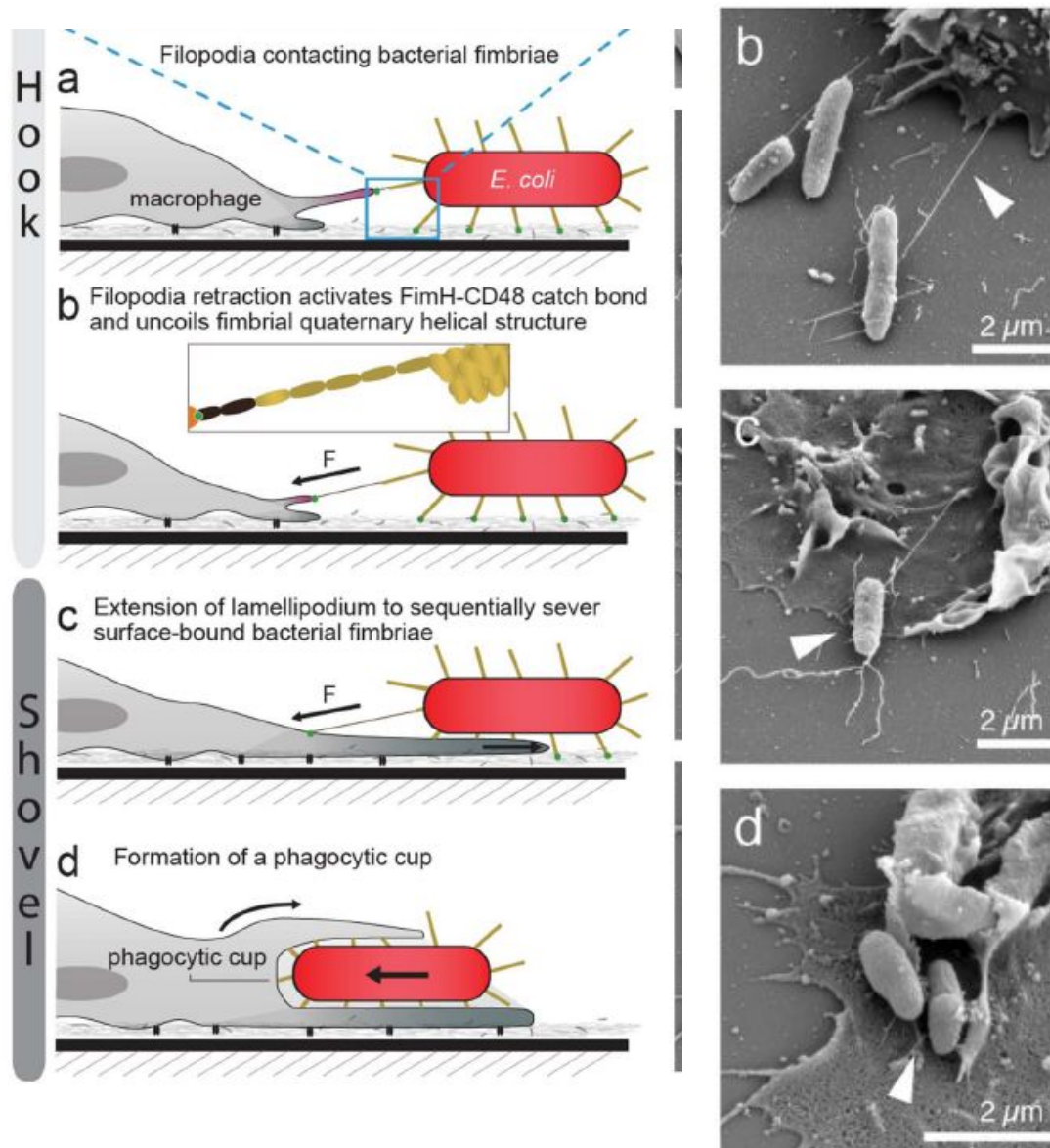


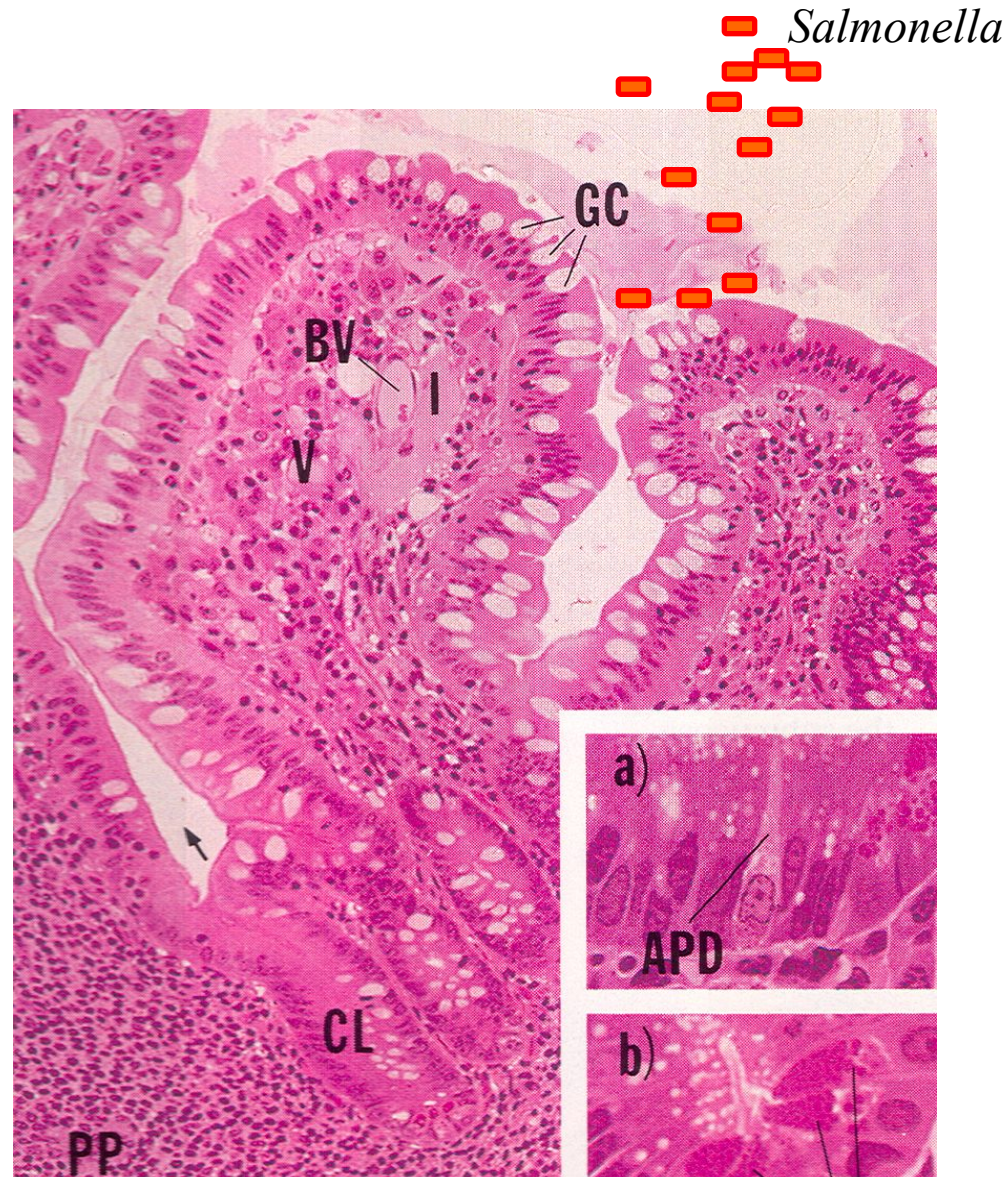
Figure 7 | Proposed “Hook-and-Shovel” mechanism for macrophage pick up of surface-bound type 1 fimbriated *E. coli*. (a) The mannoseylated membrane anchored surface receptor CD48 of macrophages specifically binds to the bacterial fimbrial tip adhesin FimH, which contains a single mannose-binding pocket in the lectin domain (Hook). (b) Due to filopodia retractions, the bacterial fimbriae are elongated. As bacteria adhere tightly to substrate surfaces via multiple bonds, the macrophages fail to pull bacteria off the surface via the hook alone. (c) To facilitate uptake, macrophages protrude lamellipodia towards the bacterium to sequentially break the bonds that anchor *E. coli* to the surface (Shovel). (d) Once the bacterium is completely lifted off the substrate and lying on the lamellipodium, a phagocytic cup is formed to internalize the bacterium.

Phago films

Chasing bacteria

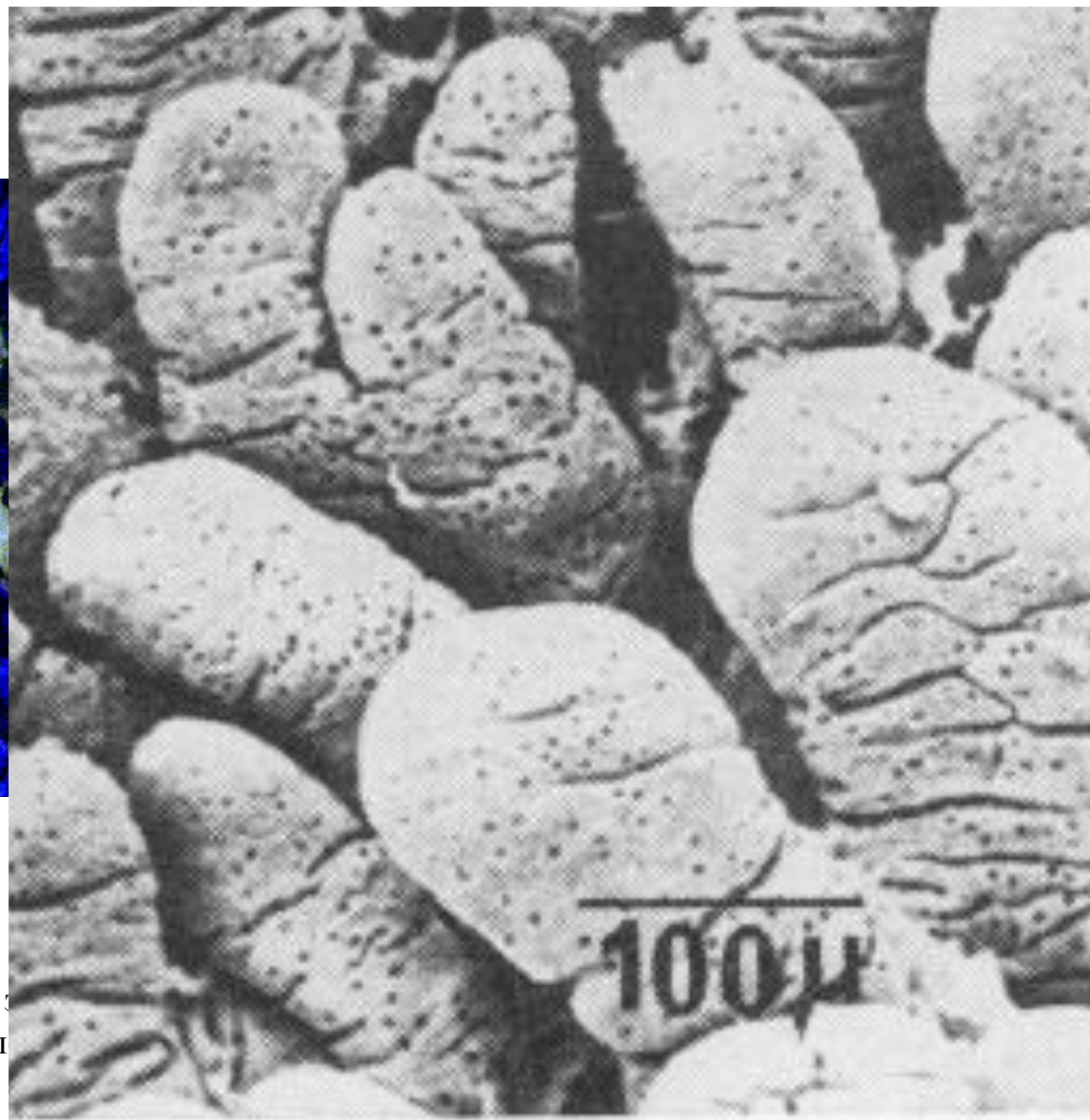
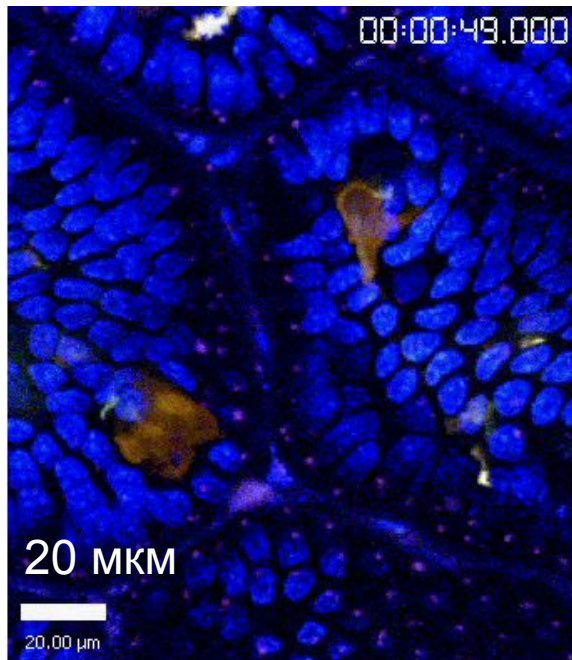
movie

Как подвижные макрофаги и дендритные клетки работают в стенке кишечника



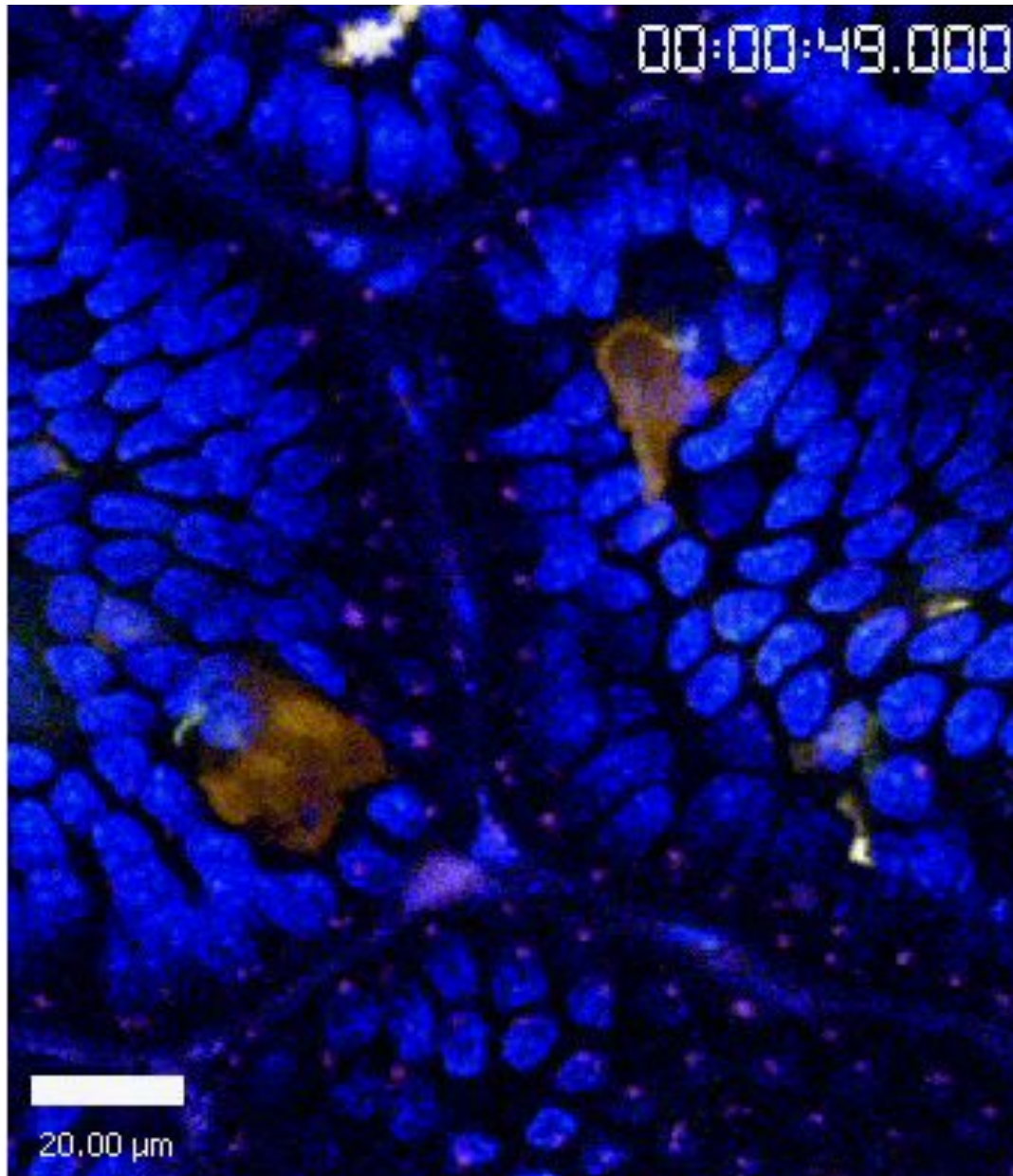
Прижизненная световая микроскопия ворсинок кишечника

Апикальная поверхность ворсинки



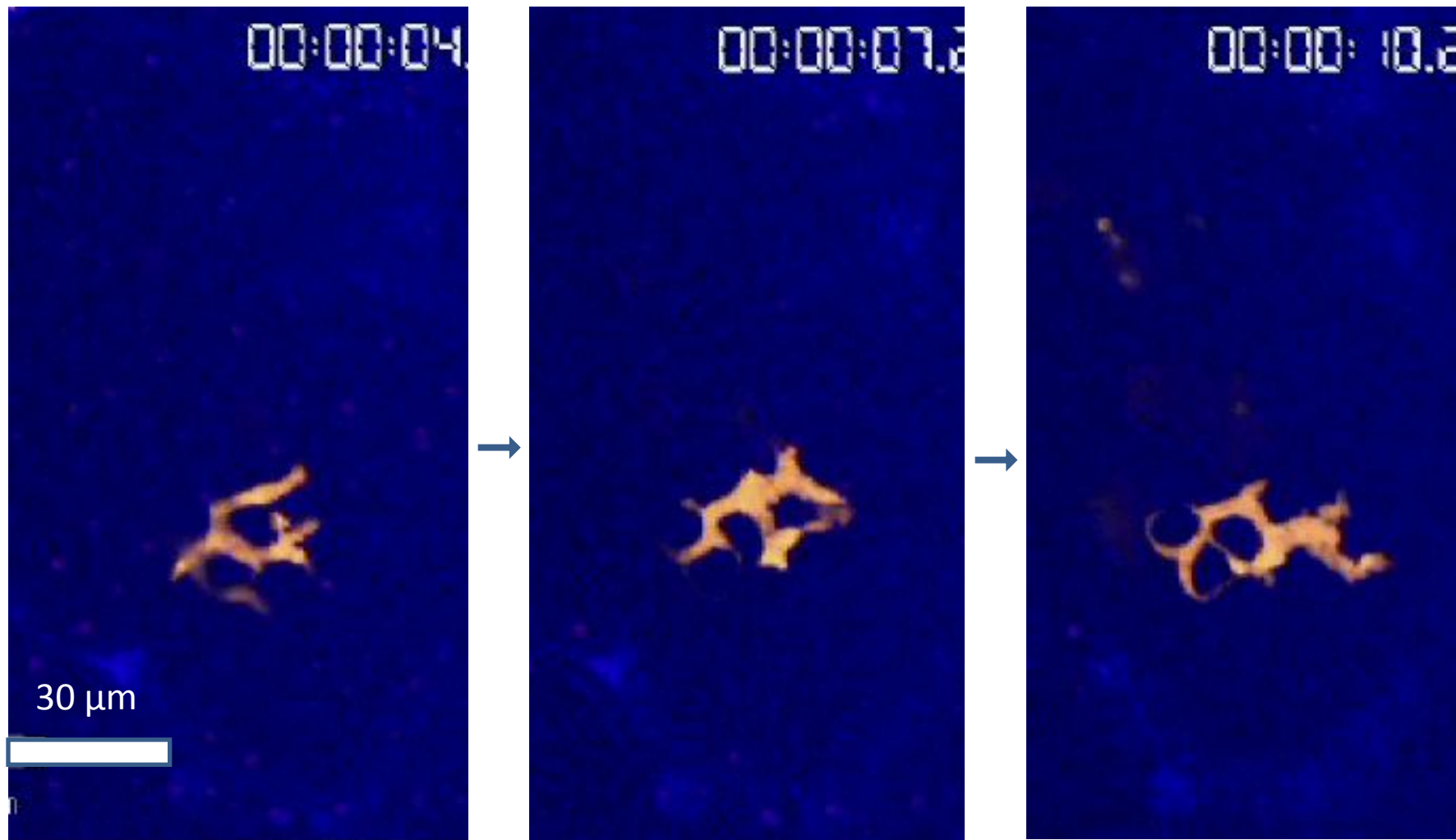
Слева и посредине : синие - ядра
Справа : зеленые – дендритные кл

На поверхности ворсинок кишки видны одиночные дендритные клетки



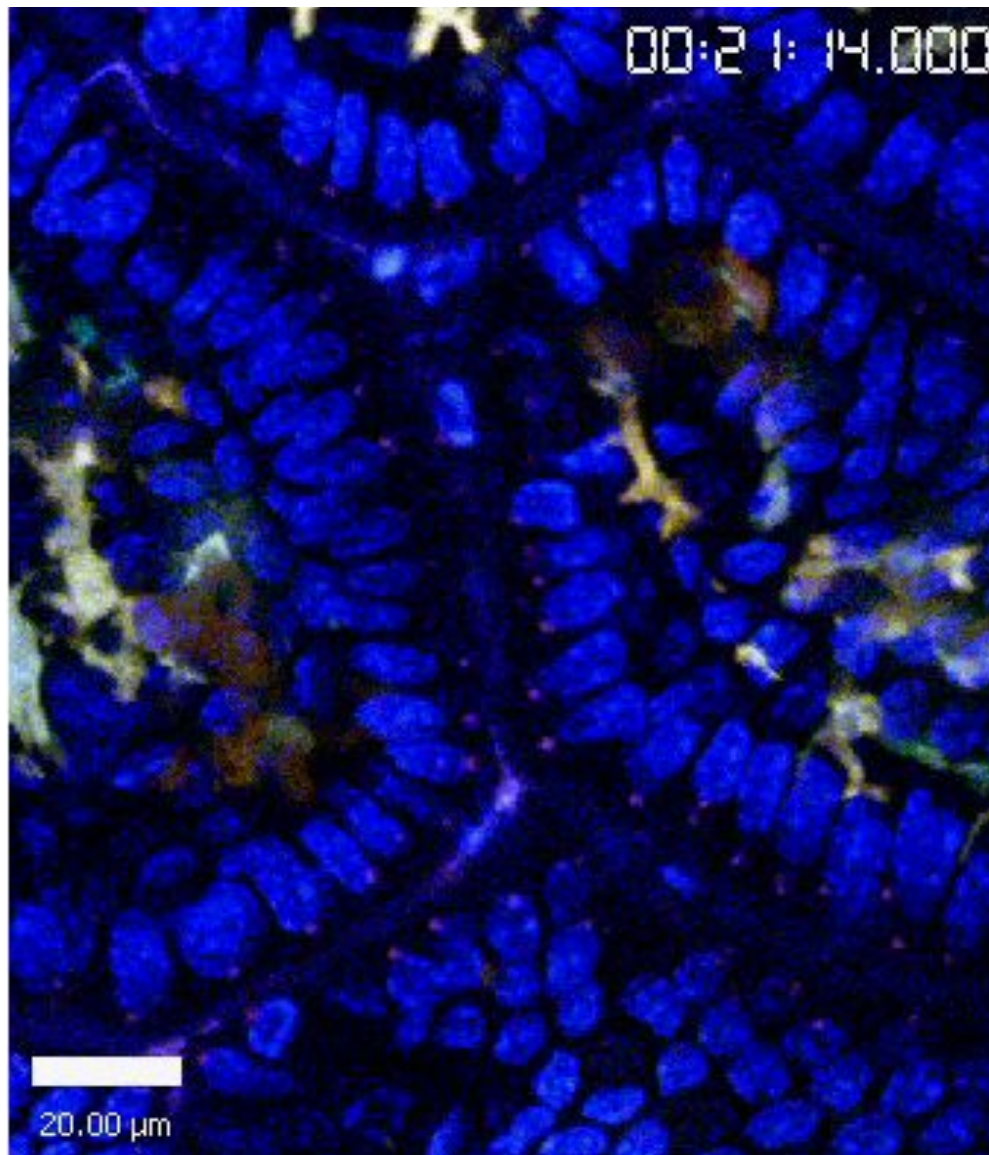
Кадр из Movie S3.
Поверхность нескольких ворсинок подвздошной кишки. Ядра эпителиальных клеток (энтероцитов) окрашены синим. Коричневый цвет имеют CD103⁺ дендритные клетки. Они находятся среди энтероцитов в самом поверхностном слое. Кроме того, их много под эпителием, в основной пластинке (на этом слайде этого не видно).

Дендритная клетка движется между эпителиальными клетками ворсинки

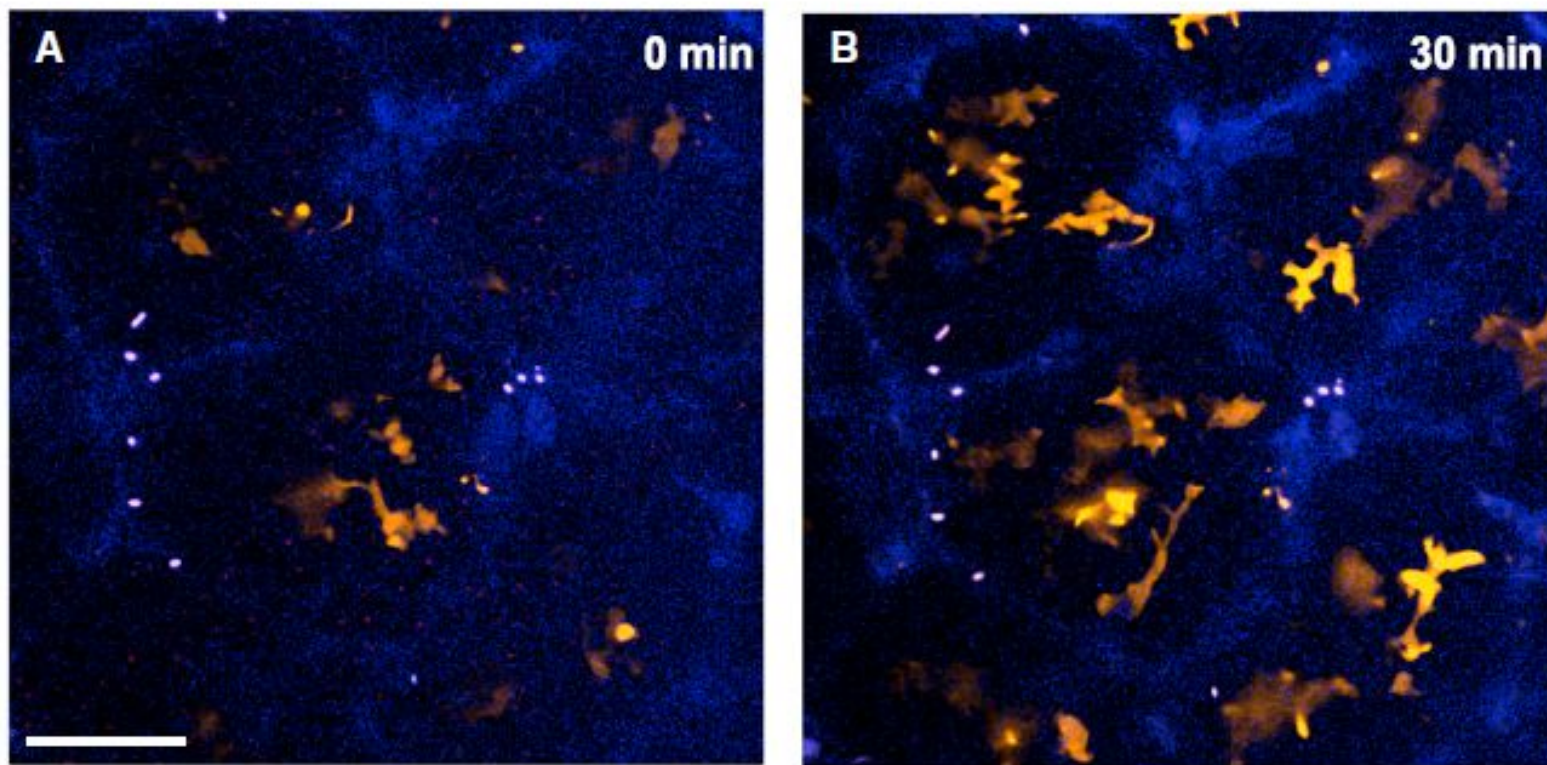


Стоп-кадры с интервалом 3 сек из видеозаписи

Дендритные клетки выглядят амебоидными и активно ползают, а макрофаги предпочитают вытягивать длинные дендритные выросты, проникающие в самый поверхностный слой эпителия

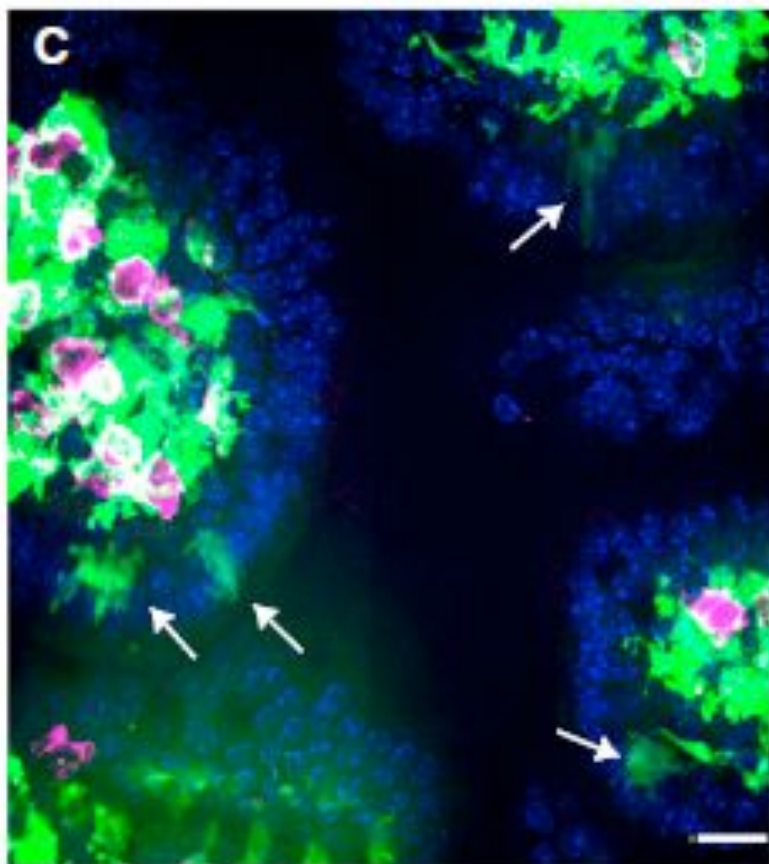


Через 30 минут после внесения в просвет кишки инвазивных сальмонелл дендритные клетки вышли на инфицированную поверхность эпителия

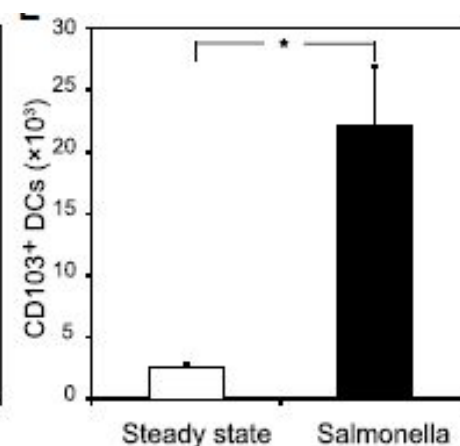
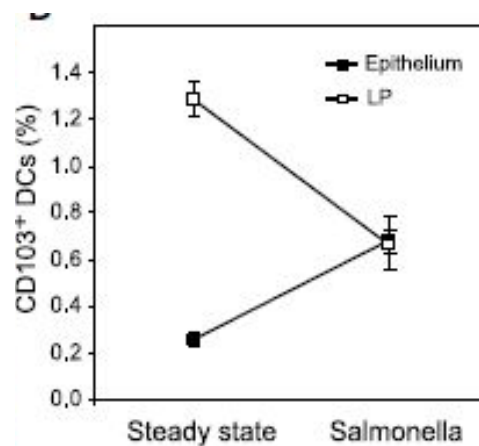


■ CD103⁺ DCs ■ Salmonella ■ Autofluorescence

В ответ на инфекцию дендритные клетки накапливаются в поверхностном слое эпителия



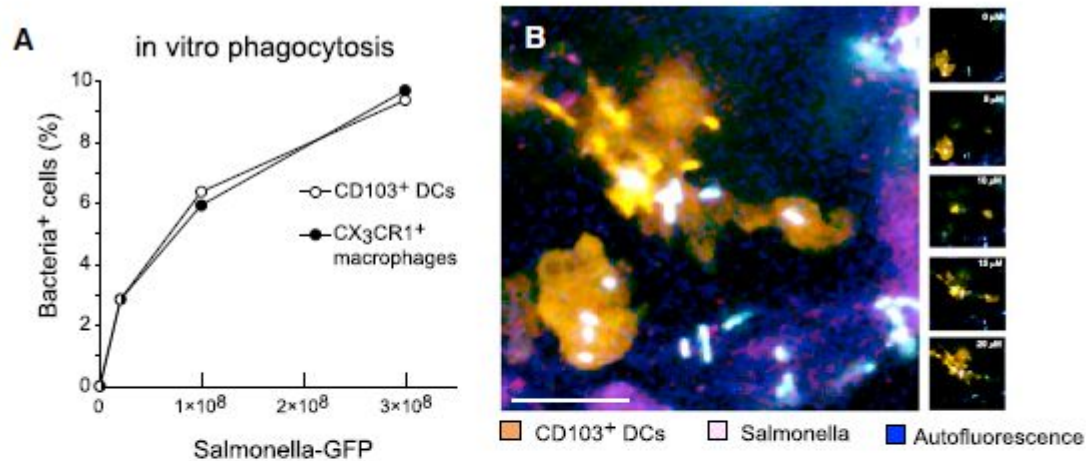
- CD11c-YFP⁺ cells
- anti-CD4 and CD8
- Nuclei (Hoescht)



Обозначения:

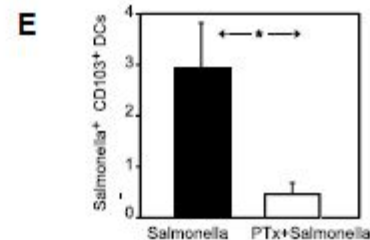
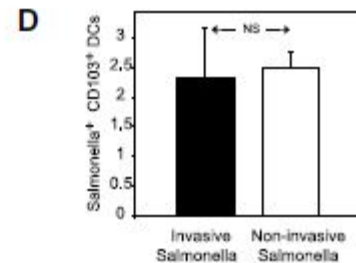
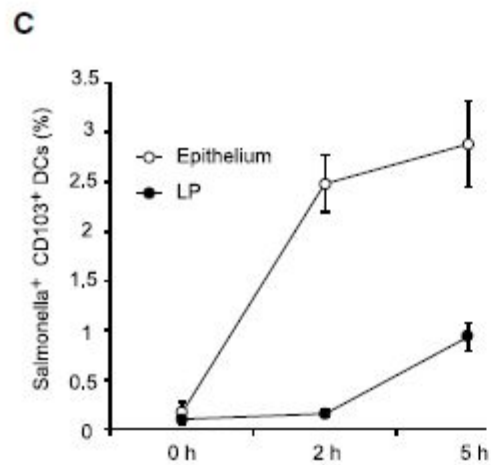
Epithelium – это самый поверхностный слой эпителиальных клеток
LP (lamina propria) – ткань под эпителием, внутренняя ткань ворсинки, где обитает большое количество макрофагов и дендритных клеток

In vitro дендритные клетки и макрофаги одинаково активно фагоцитируют сальмонелл

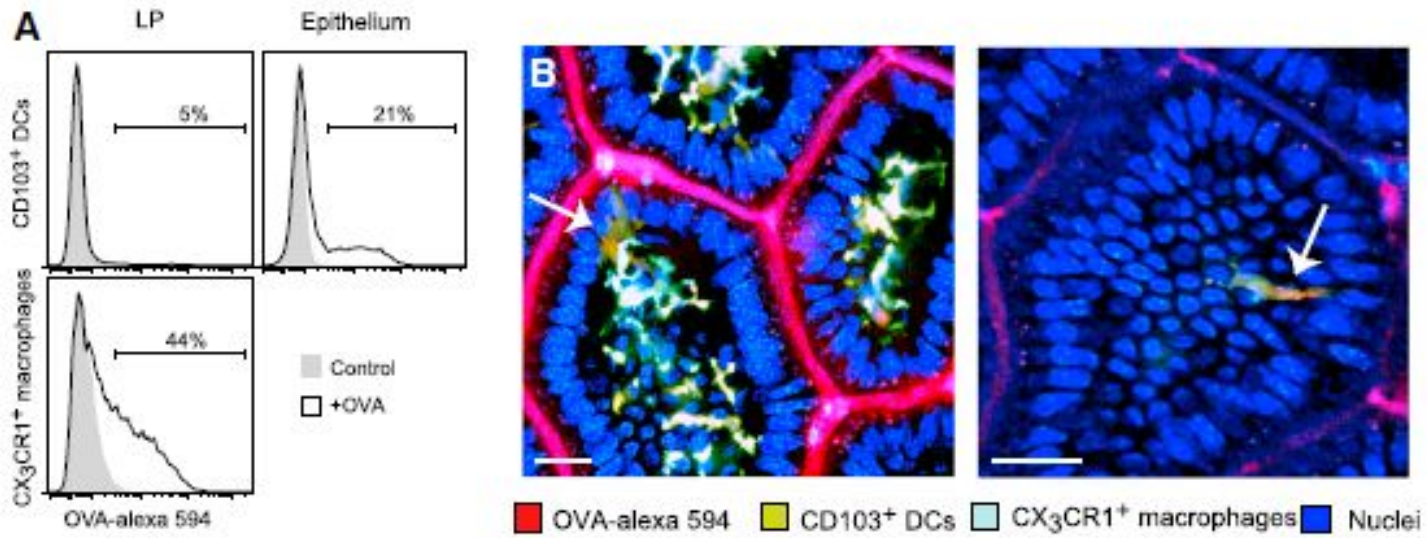


В ткани кишечника фагоцитирующие дендритные клетки собираются в самом поверхностном слое эпителия.

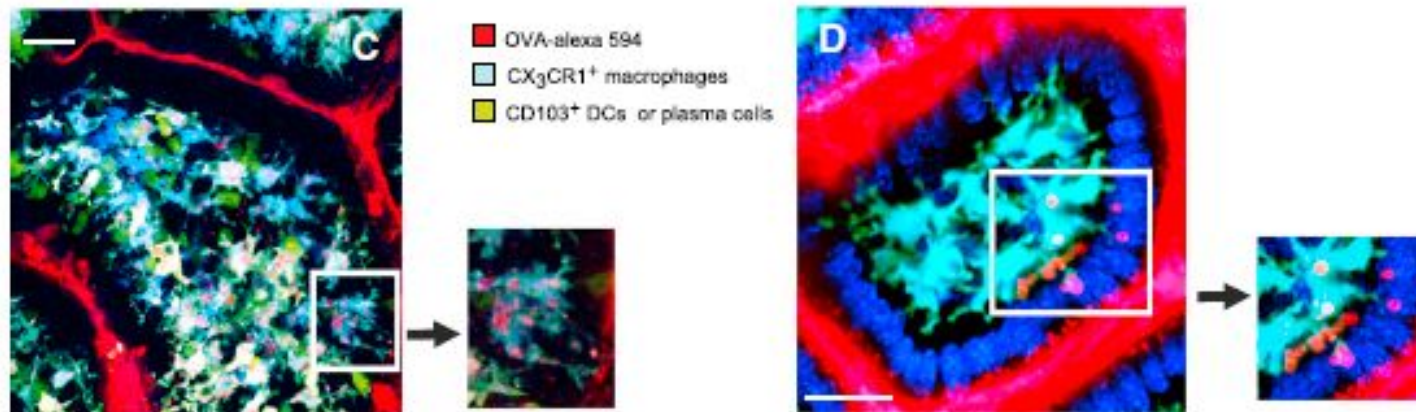
Они выходят на инфицированную поверхность, благодаря хемотаксису



Дендритные клетки и макрофаги захватывают растворимые вещества из просвета кишки (OVA-Alexa 594)



Макрофаги накапливают вакуоли с захваченным OVA-Alexa 594



Макрофаги и дендритные клетки эндоцитируют растворимые вещества и фагоцитируют микробные клетки

Дендритные клетки уносят захваченный материал в лимфатические узлы

Волна «возбуждения»

Клетки первой линии реагирования - эпителий



Клетки второй линии реагирования – тучные, макрофаги, дендритные и др.



Клетки третьей линии реагирования – новые макрофаги (хемотаксис), эндотелий сосудов и др.



Что дальше?

Если активация распространится на все клетки организма, то наступит смерть!

Почему волна активации клеток, начавшись в очаге инфекции, не распространяется по всему организму?

Должны быть «тормоза»,
и они есть:

1. Вслед за активаторами производятся ингибиторы
2. Рецепторы активационных лигандов сбрасываются или заменяются на рецепторы-ингибиторы
3. После активации клетка вступает в фазу ареактивности (например, эпигенетические изменения закрывают транскрипцию)
4. Активируются специальные «тормозные» типы клеток (супрессоры) или цитокины (SOCS и др.).

Рассмотрели пограничную защиту в действии

Оптимальный сценарий – **локальный**. Инфекция удалена силами пограничников.
Это происходит несметное количество раз, и мы никогда об этом не знаем.

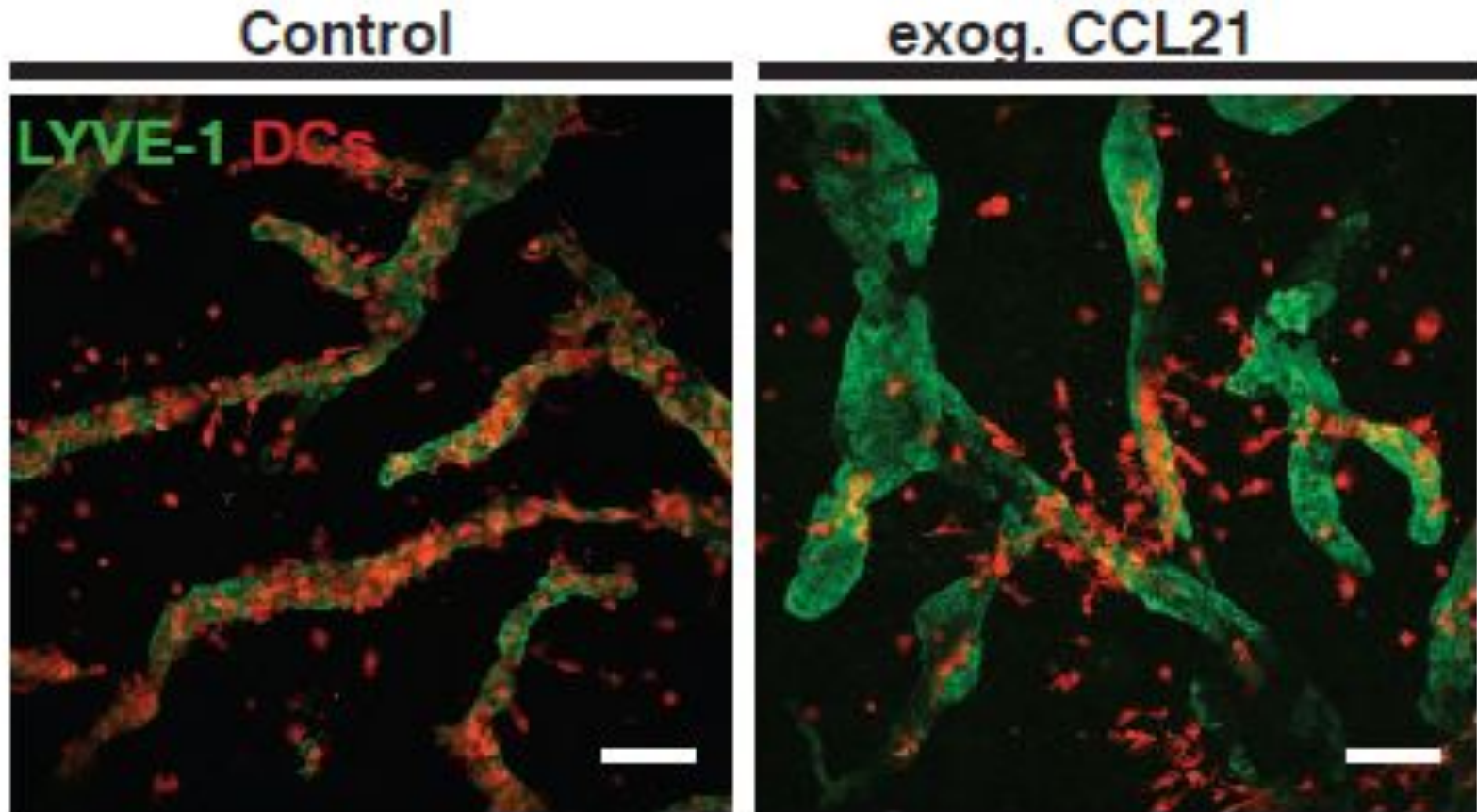
Не очень благоприятный сценарий – **генерализованный**. Пограничники не справились даже с помощью дополнительных приграничных сил (хемотаксис).
Для удаления инфекции придется прибегнуть к помощи всего организма
(это - болезнь).

Защита по этому сценарию будет рассматриваться в следующих лекциях

Активированные инфекцией дендритные клетки принесут в лимфатический узел инфекционные антигены.

Здесь они выступят в роли пускового механизма, начинающего адаптивную иммунную реакцию против данной инфекции.

Эндотелий лимфатических капилляров вырабатывает CCL21, что вызывает хемотаксис дендритных клеток к источнику CCL21

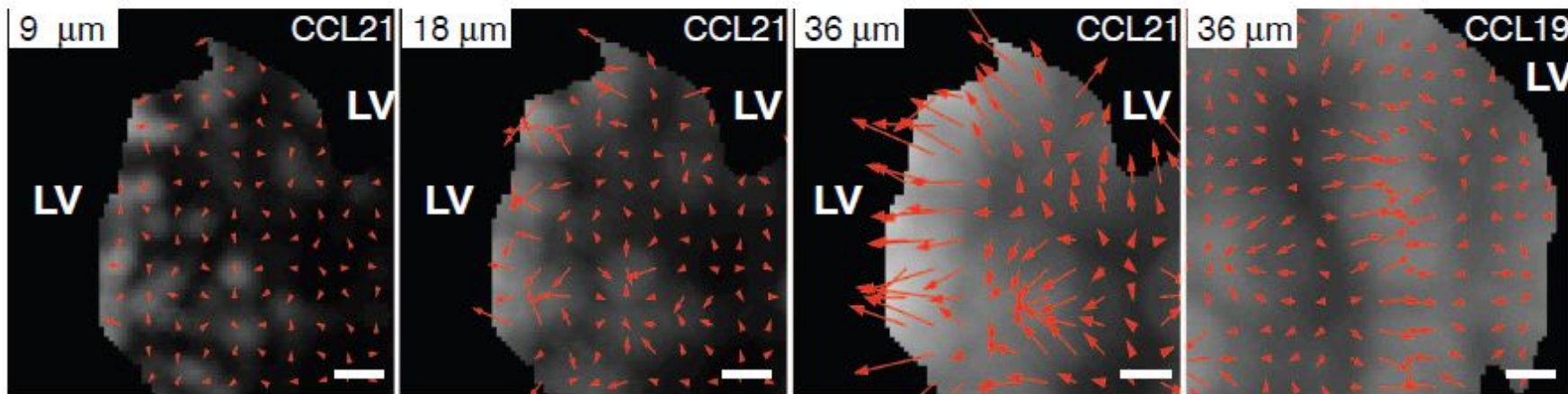


DC облепили лимфатические капилляры (слева),
DC собрались в зону введенного экзогенного хемокина CCL21 (справа)

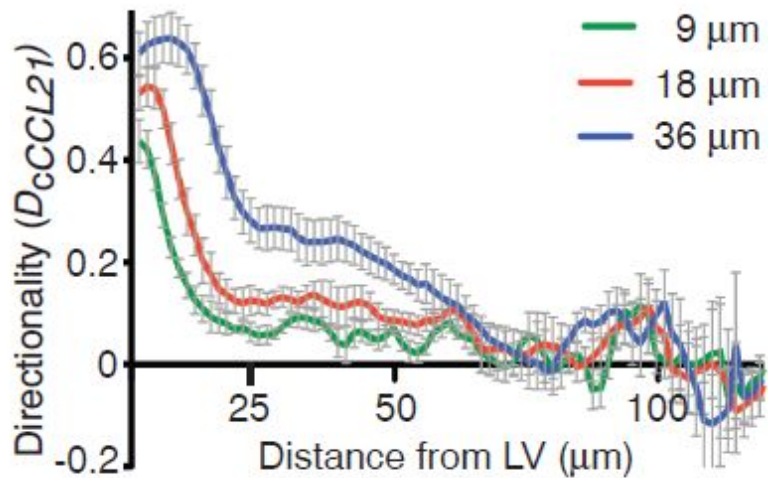
Чем ближе к лимфатическому капилляру, тем точнее направление хемотаксиса дендритных клеток.

Хемотаксис начинается на расстоянии 60-70 мкм от лимфатического капилляра

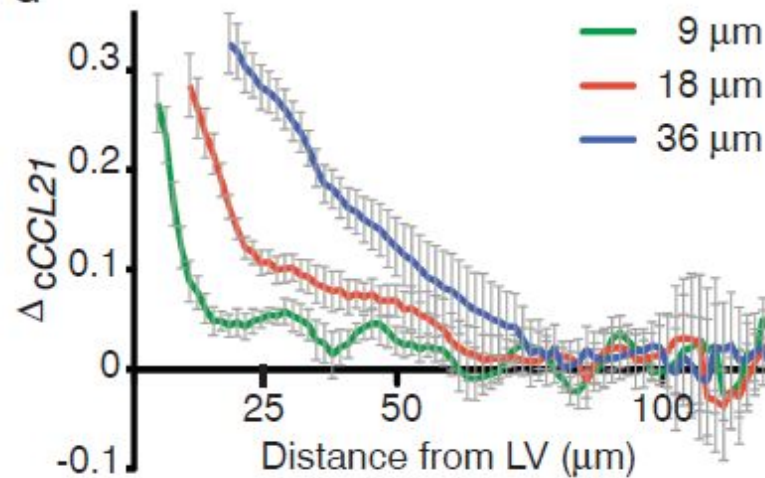
E



F

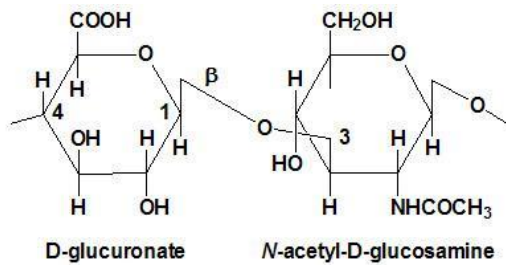
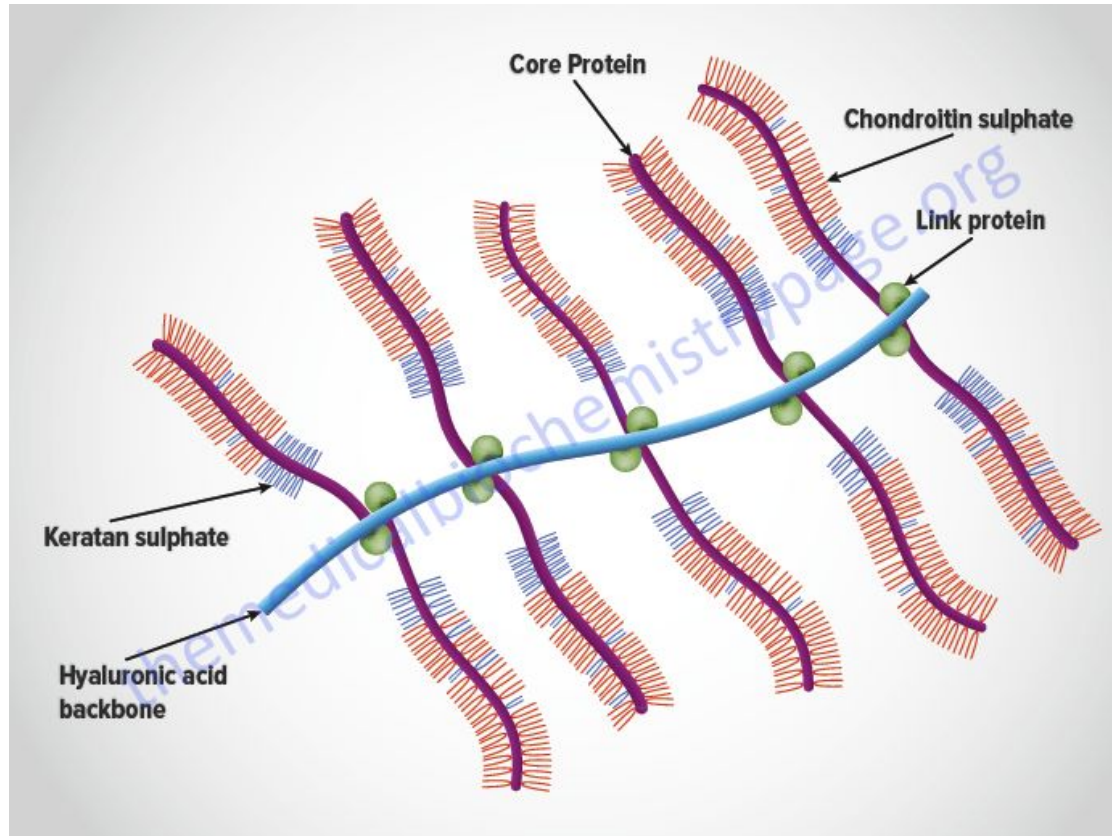


G



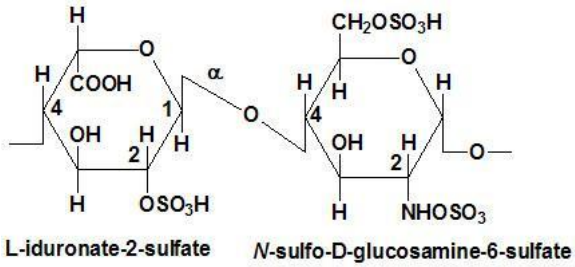
Хемокин CCL21 выделяется клетками эндотелия лимфатических капилляров и иммобилизуется на гепарансульфате внеклеточного матрикса. То есть градиент хемокина - в виде градиента концентрации иммобилизованного вещества

Строение протеогликанов внеклеточного матрикса

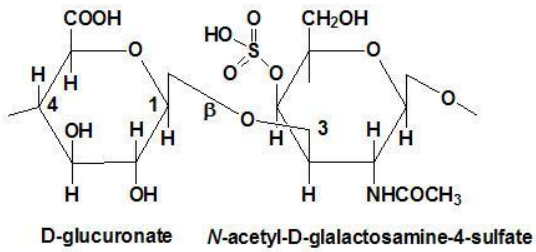


Гиалуроновая кислота – гигантский полисахарид от 1 до 10 млн Дальтон

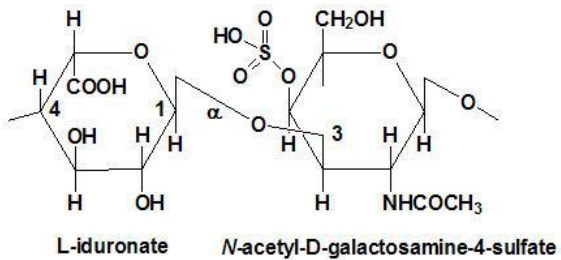
Структура гликановой щеточки протеогликанов



Гепаран-сульфат

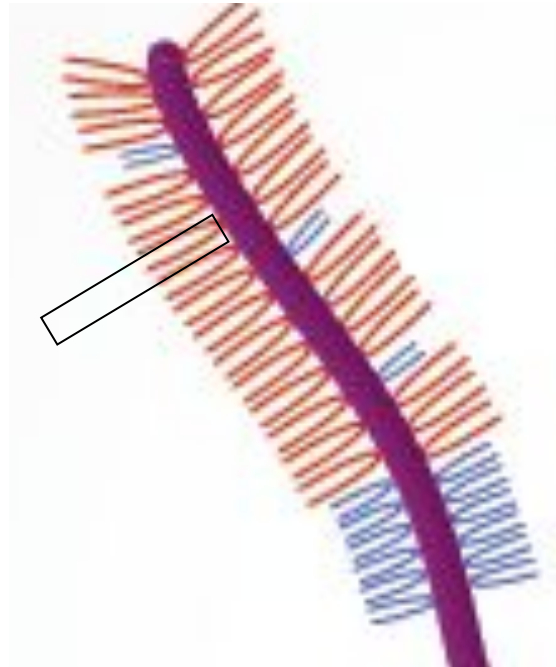


Хондроитин-сульфат



Дерматан-сульфат

glycosaminoglycan

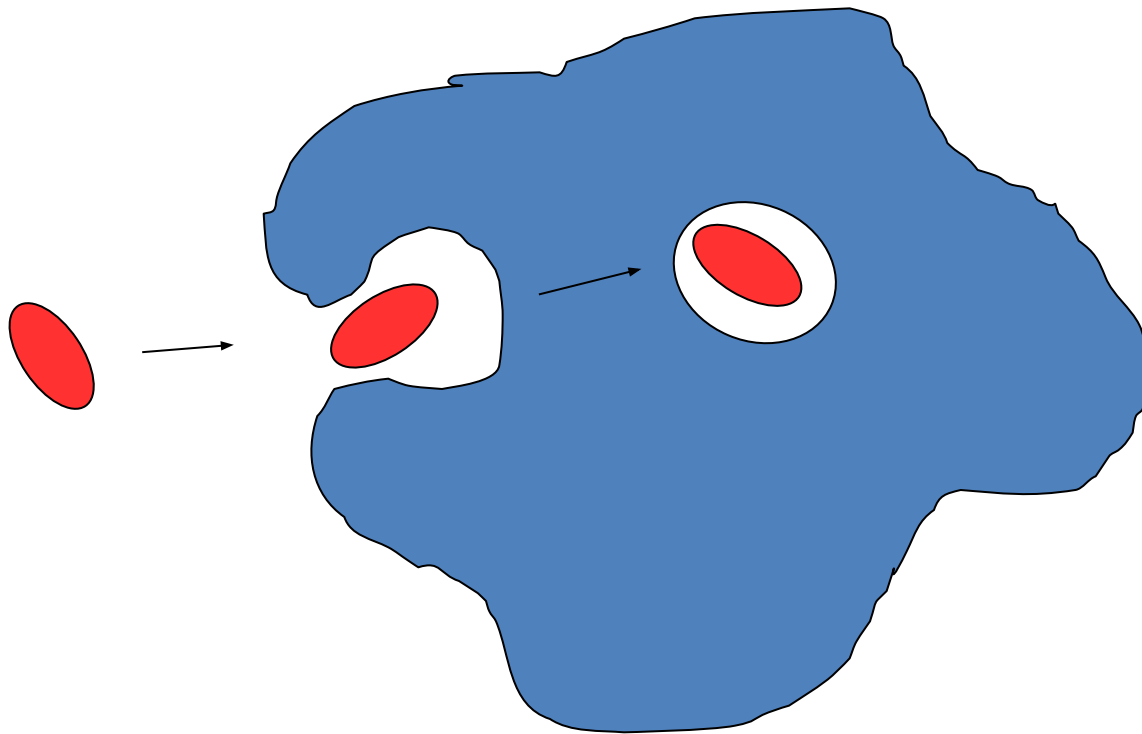


Appendix

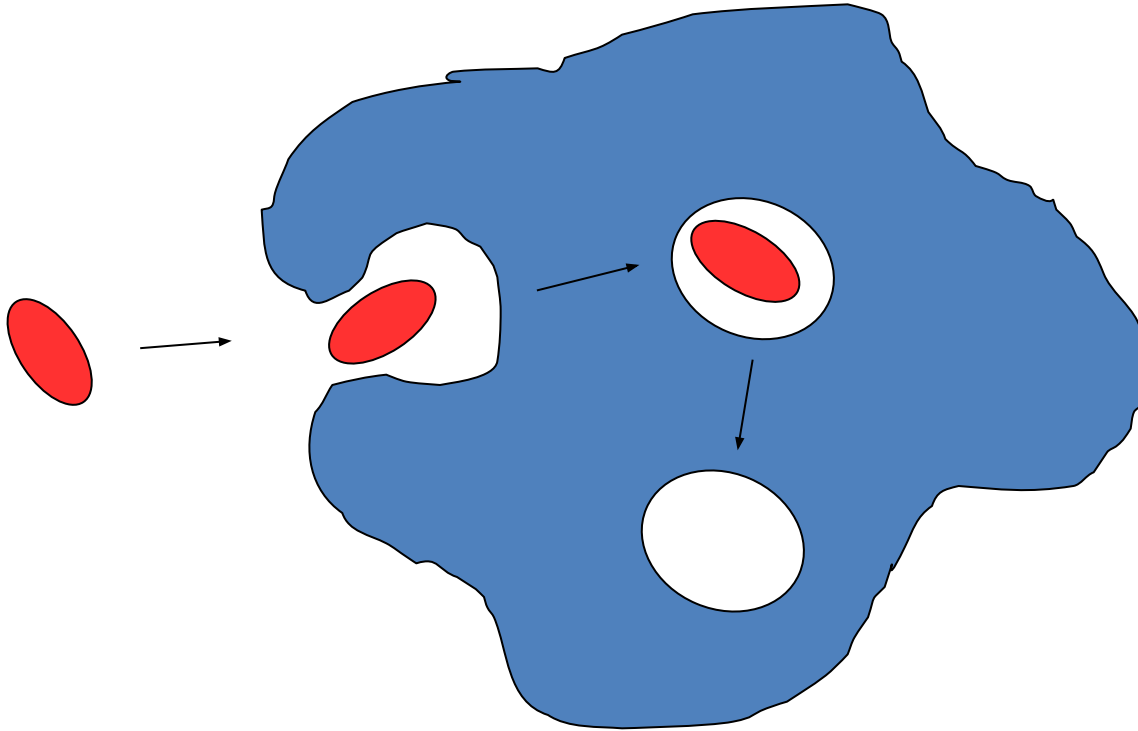
Типы ответов клеток на инфекцию
или цитокины, индуцированные инфекцией:

- Активация транскрипции
- Изменение трансляции
- Пост-трансляционные изменения белка
- Секреция
- Экспрессия мембранных молекул
- Деление клетки
- Движение клетки
- Изменение формы и адгезионных свойств клетки

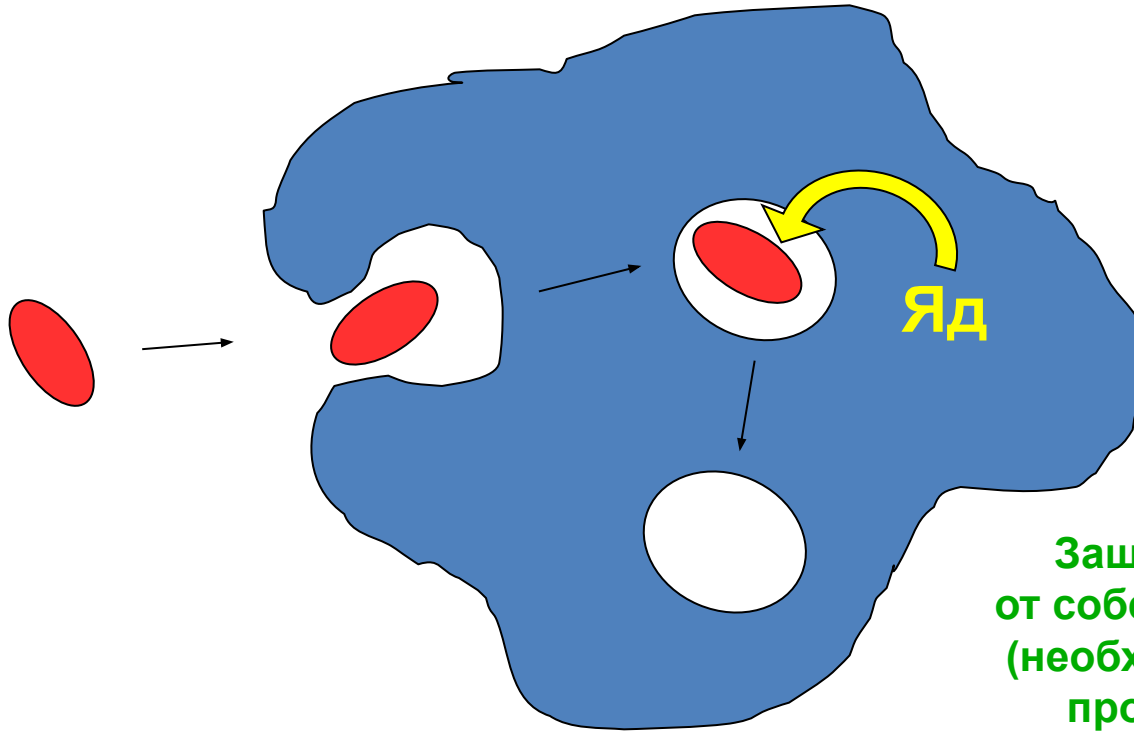
Макрофаг съел микроба. Кто победил?



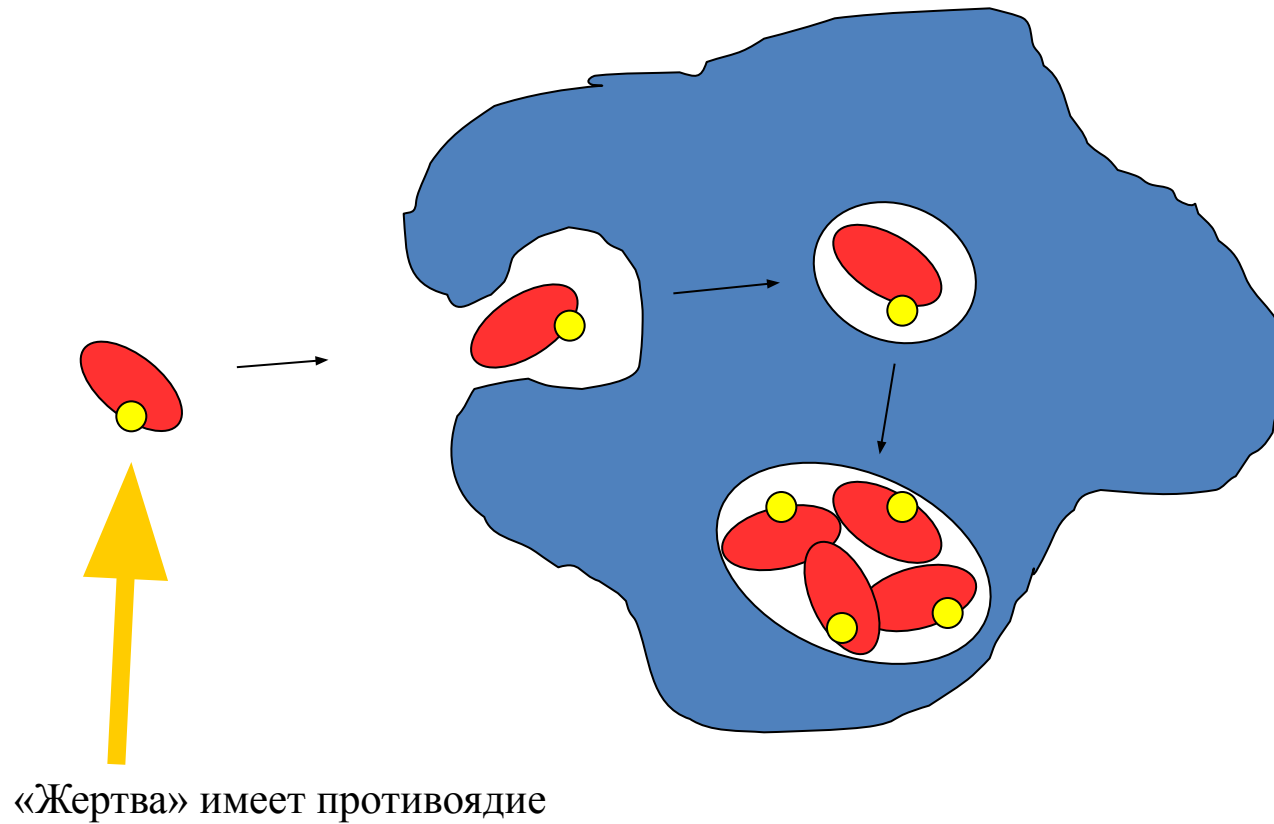
Съел -> переварил



Съел -> убил -> переварил

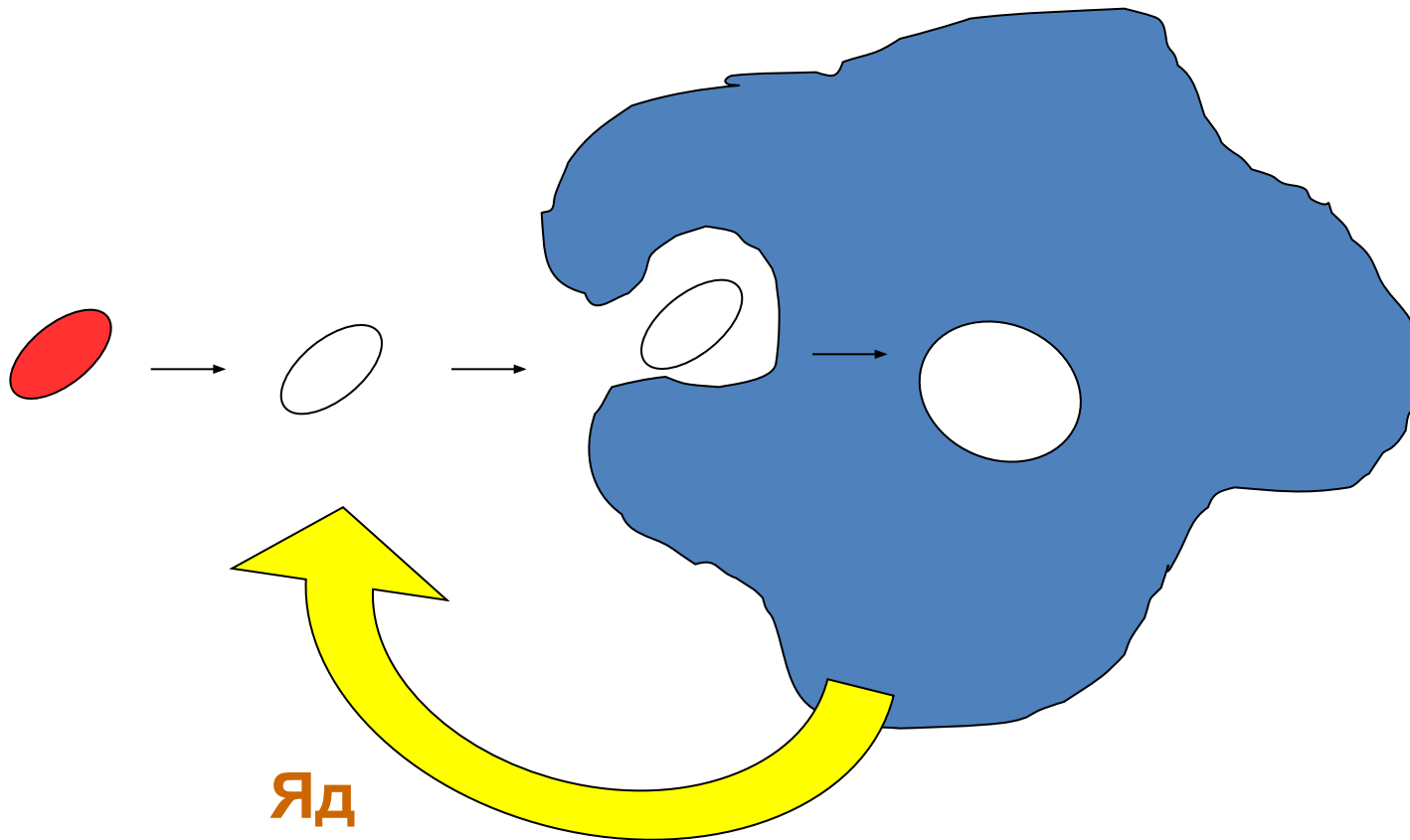


Съел -> не убил -> «жертва» стала агрессором



«Жертва» имеет противоядие

Убил -> съел -> переварил



Это самый надежный сценарий для макрофага,
потому-то очень полезна секреция антимикробных веществ