

ЛЕКЦИЯ 7

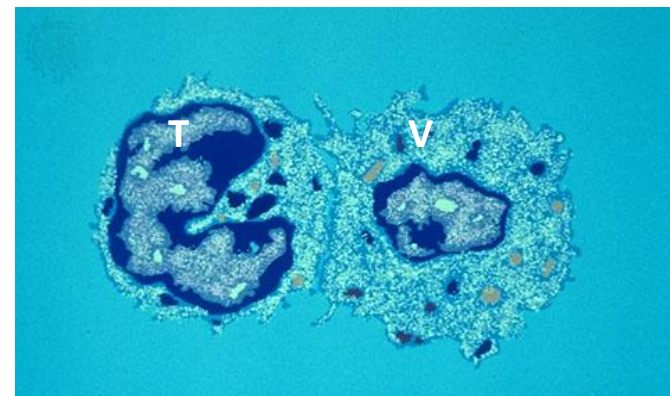
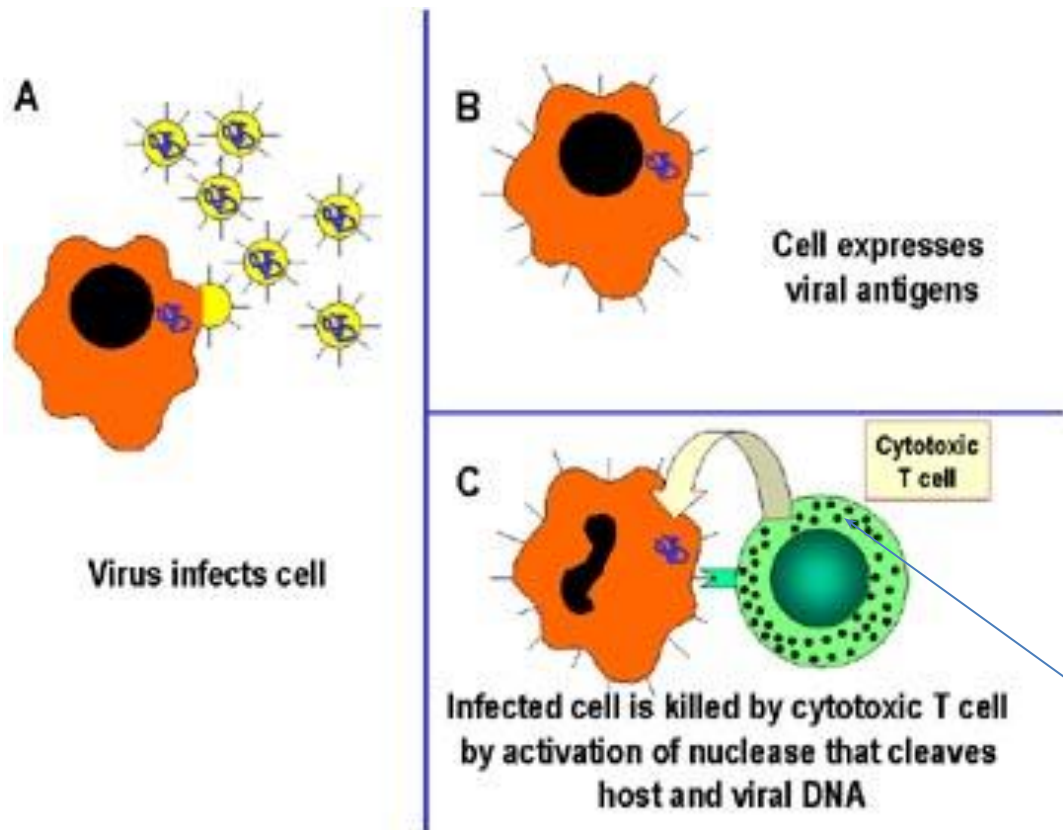
T-лимфоциты

Основная задача Т лимфоцитов - контролировать **внутриклеточные** патогены (АТ не могут этого делать) – те, что реплицируются внутри клетки, вирусы и внутриклеточные бактерии. Контроль внутриклеточных патогенов с помощью Т-клеток – клеточный иммунный ответ. Также могут участвовать в ответе на экстраклеточные патогены или их продукты, захваченные эндоцитозом из внеклеточной жидкости.

Две основные функции, два ко-рецептора и шесть субпопуляций Т-лимфоцитов:

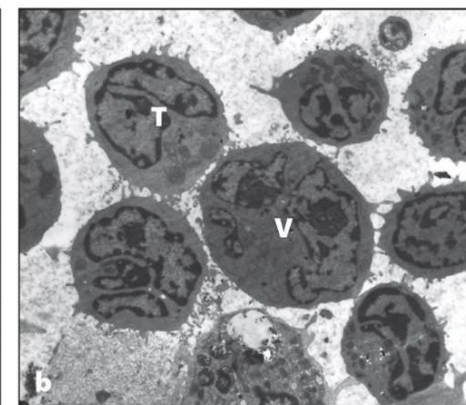
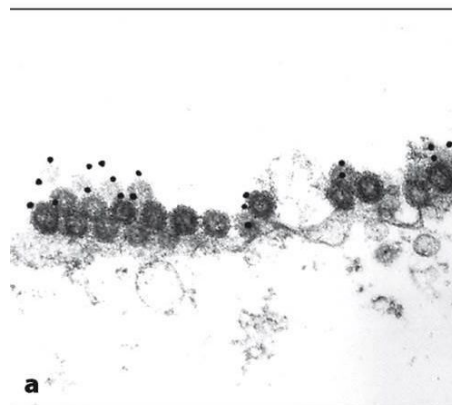
1. **Убивать** инфицированные вирусом клетки: **CD8+** Т лимфоциты, **CTL** – **cytotoxic** T lymphocytes.
2. **Помогать (Активировать)** тем клеткам, которые содержат или распознают АГ – **CD4+** Т лимфоциты или **Т-хелперы**. Субпопуляции отличаются профилем цитокинов:
 - Активируют **макрофаги** - субпопуляция **Th1**. “h” - от “helper”.
 - Активируют **В-клетки** – субпопуляция **T_{FH}** фолликулярные хелперные клетки
 - Переключают **В-клетки** на продукцию **IgE**, активируют эозинофилы и тучные клетки – все для контроля паразитов - **Th2**.
 - **T_H17** – секретируют IL-17, который стимулирует эндотелий на продукцию цитокинов, которые рекрутируют **нейтрофилы** в места воспаления.

CD8+ Т лимфоциты (CTL) убивают **вирус-инфицированные** клетки, распознавая вирусные АГ на поверхности инфицированных клеток



перфорин, гранзимы

Вирусные частицы выходят с поверхности зараженной клетки (а), зараженная вирусом клетка (V) в окружении Т-лимфоцитов (b)



CD4+Th1 активируют макрофаги

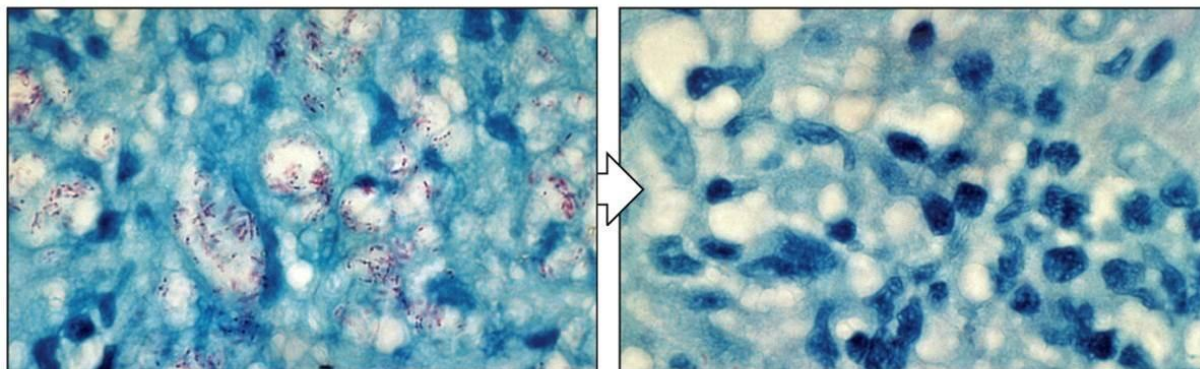
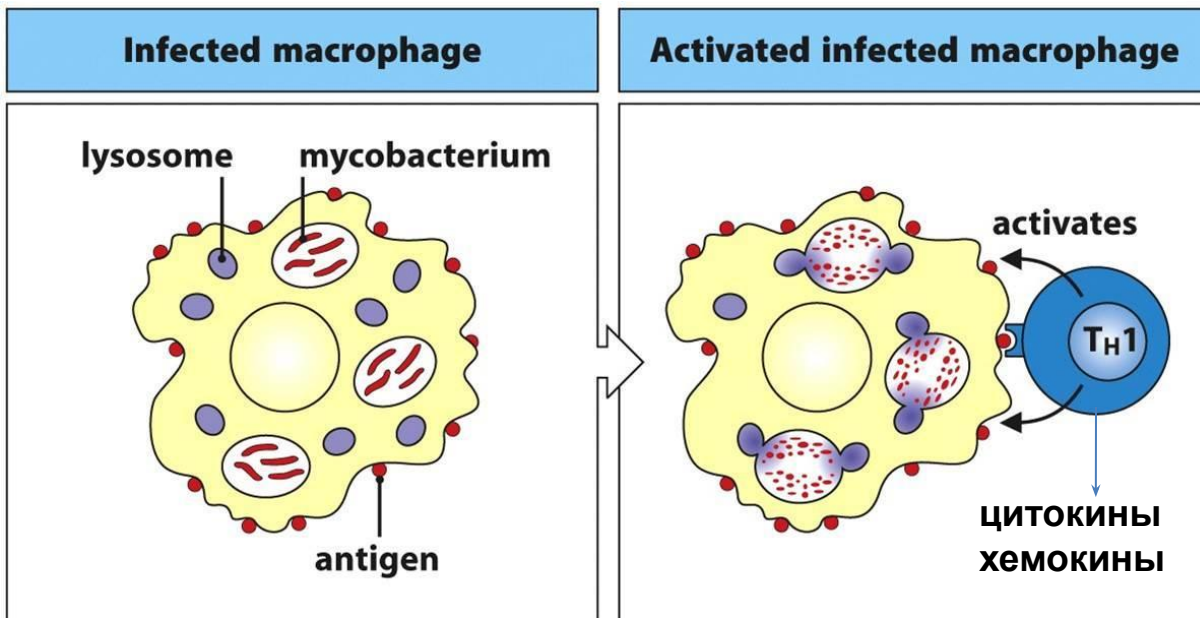


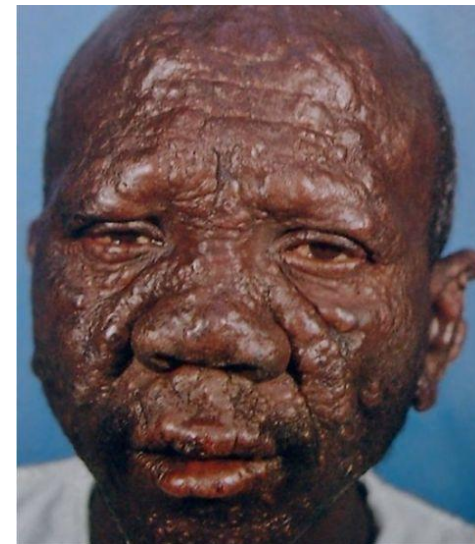
Figure 1.27 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

CD4+Th1

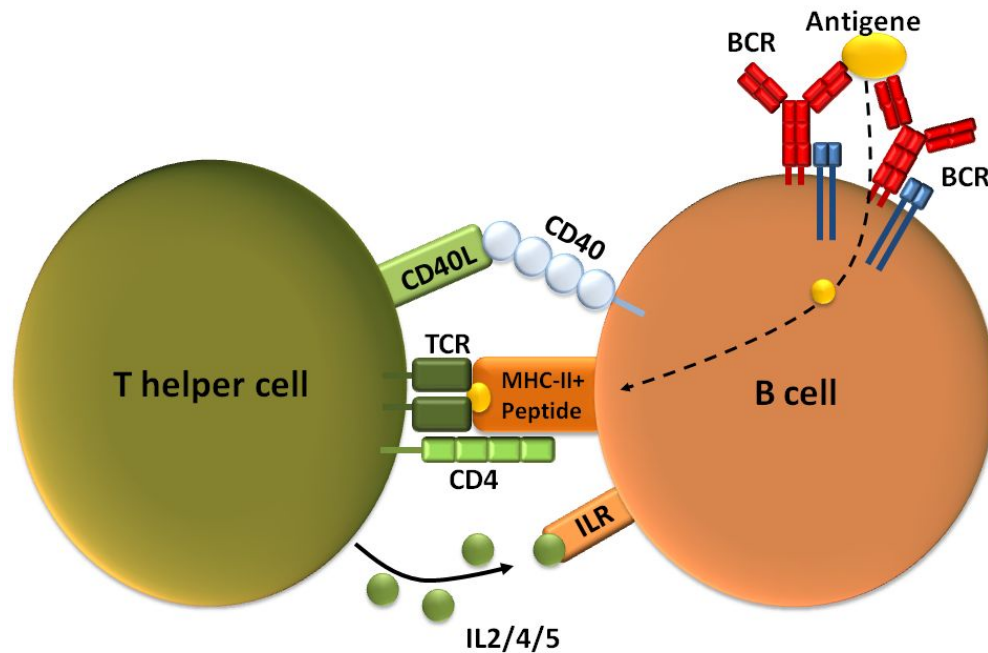
Контроль
внутриклеточных
бактериальных
инфекций

*Mycobacterium
tuberculosis*

M. leprae

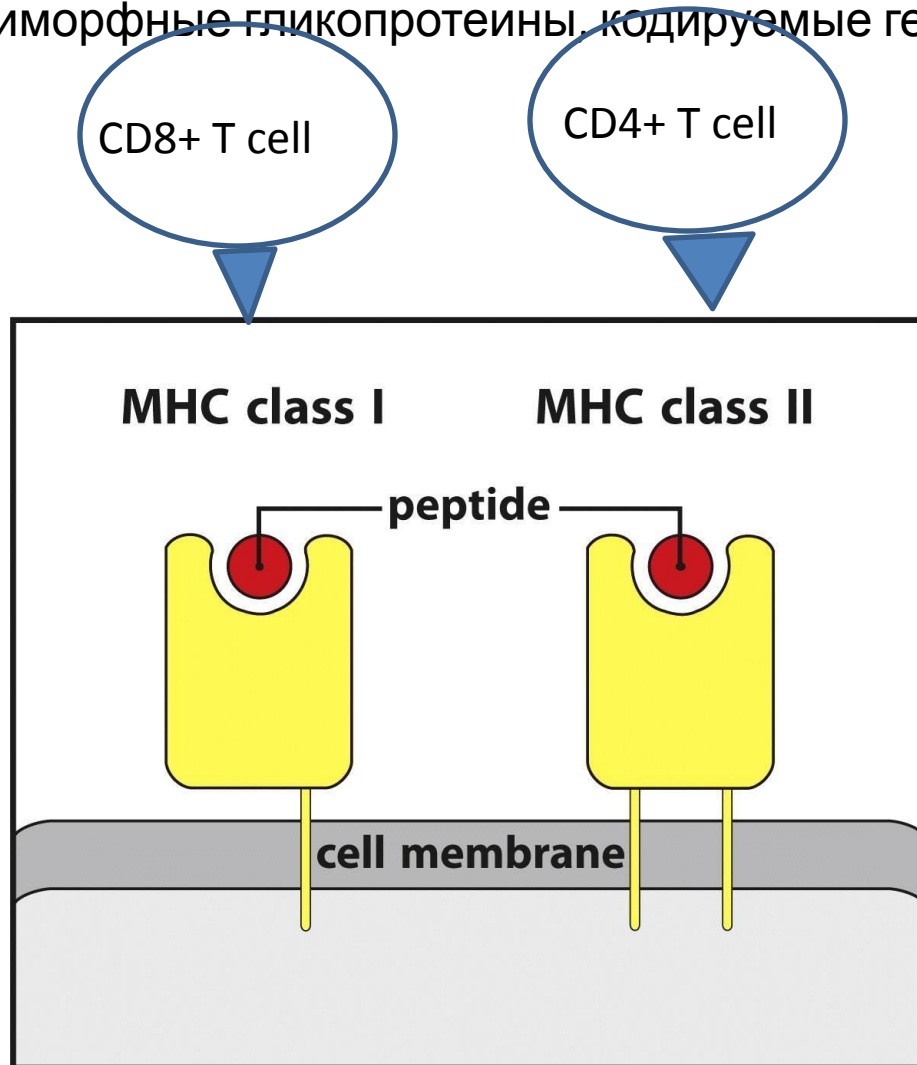


T_{FH} (и Th2) : «помощь» в активации В-клеток. Т-лимфоциты участвуют также и в элиминации внеклеточных патогенов.



Как Т-лимфоциты распознают АГ?

- через свой **Т-клеточный рецептор (TCR)**. АГ, опознаваемый Т-клеткой - это пептидный фрагмент, доставленный на поверхность клетки-хозяина и выставленный на ней молекулой **МНС** - белком главного комплекса гистосовместимости (**major histocompatibility complex**). МНС молекулы – высокополиморфные гликопротеины, кодируемые генами МНС.



???

Чем определяется избирательность CD8+ CD4+ Т-клеток в отношении молекул МНС I и МНС II?

Чем определяется избирательность CD8+ и CD4+ Т-клеток в отношении молекул МНС I и МНС II?

- 1. Природой АГ. МНС I и МНС II получают пептиды из разных клеточных компартментов.
- 2. Молекулы CD8+ и CD4+ входят в состав ко-рецепторного комплекса TCR, взаимодействующего с МНС I и МНС II, соответственно.

Т-клеточный рецептор TCR – АГ-сенсор Т-клеток

На каждой Т-клетке – до 30000 молекул TCR

Очень похож на Fab-фрагмент ИГ

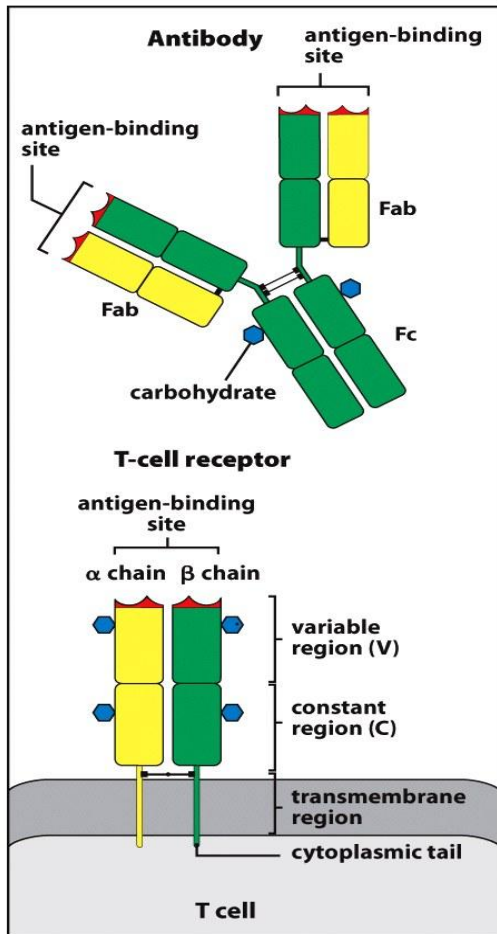


Figure 5.1 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

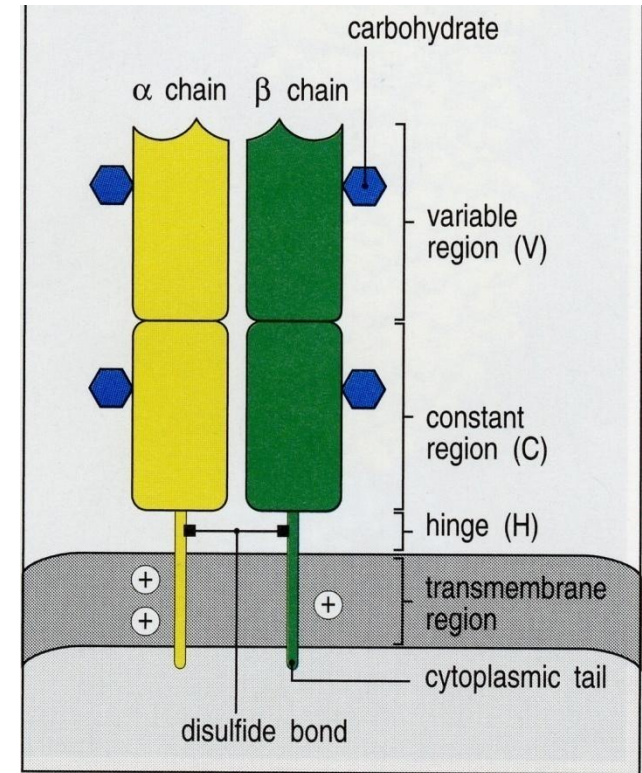
- дисульфид-связанный гетеродимер ($\alpha\beta$ или $\gamma\delta$)

- каждая цепь состоит из ИГ-подобных доменов: V-подобного и C-подобного домена

- V-домены разных цепей образуют АГ-связывающий сайт

- Три complementarity-determining regions (CDR)

- гликозилирование

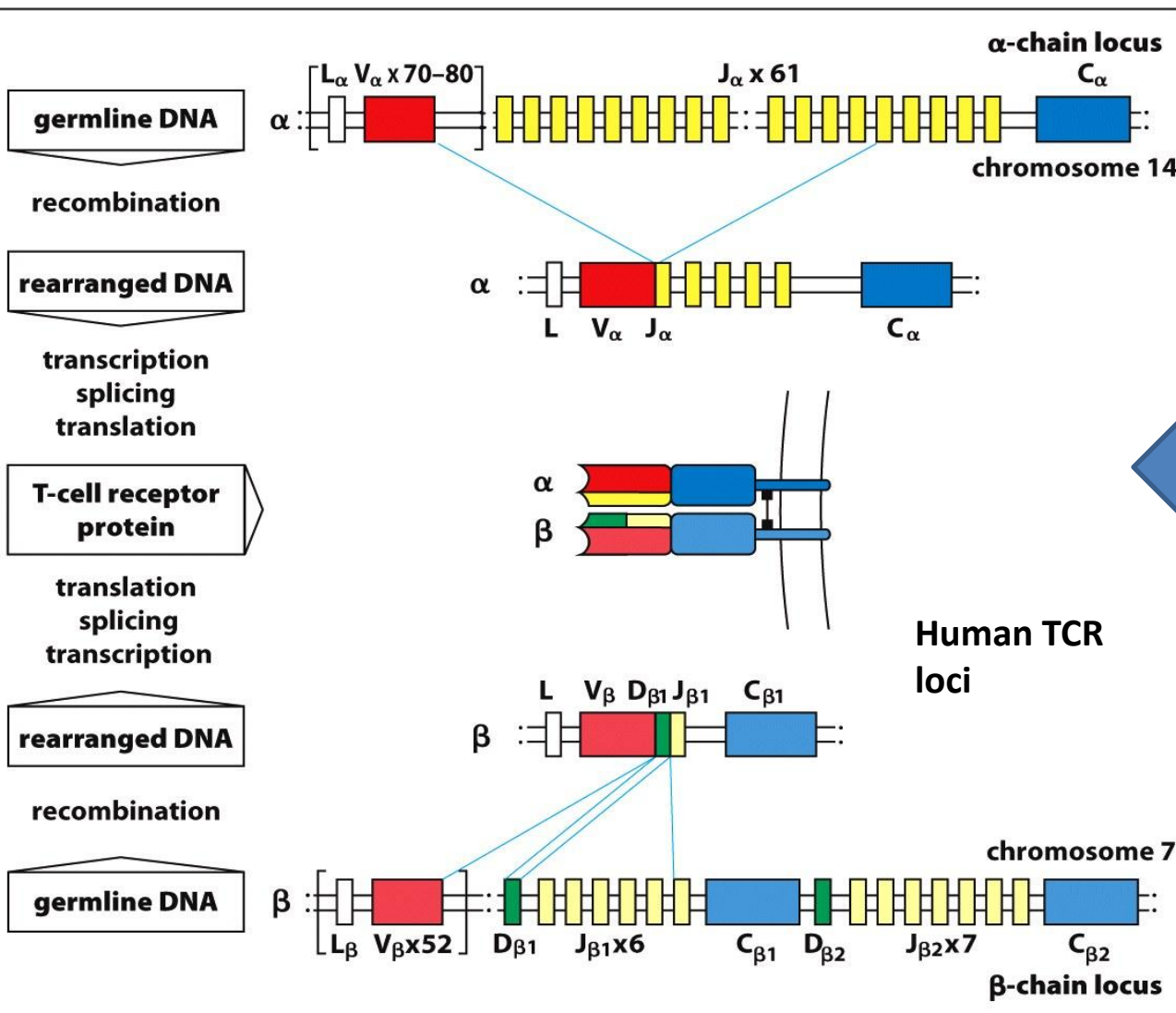
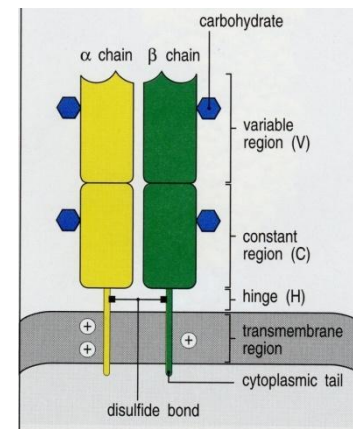


Отличия от BCR:

1. один сайт связывания с АГ
2. нет секретируемой формы

Как генерируется разнообразие TCR? $\sim 10^{18}$ (в CDR3)

- Соматической рекомбинацией подобно ИГ (комбинаторика сегментов V-J для V-гена α -цепи и V-D-J сегментов для β -цепи, junctional diversity – добавление нуклеотидов)

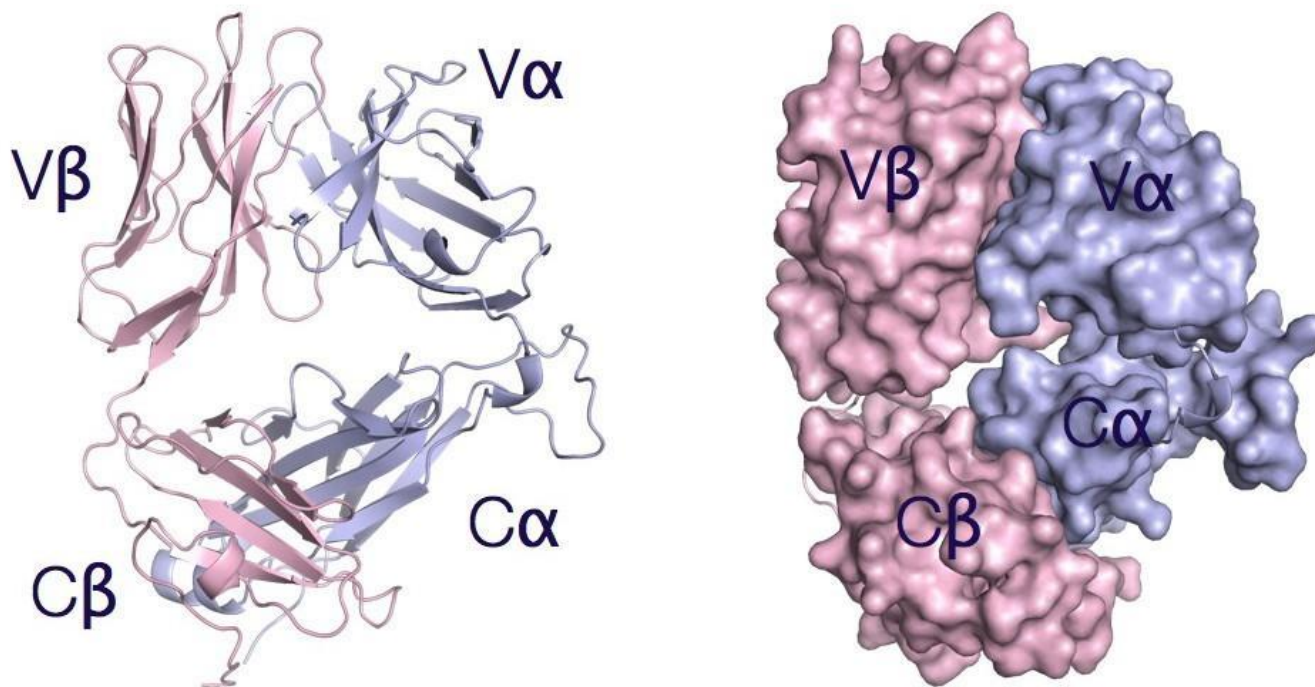


ТИМУС – Место формирования репертуара TCR

- Отличия с ИГ:
1. Нет разнообразия C-локусов, нет разницы эффекторных свойств
 2. Только трансмембранная форма
 3. Нет соматического гипермутагенеза

Figure 5.3 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Structure of a α/β T cell receptor ectodomain



Вид с места посадки TCR на клеточной поверхности

TCR распознает АГ в форме комплекса **пептида** (короткая аминокислотная цепь АГ), **связанного** с молекулой **МНС**.

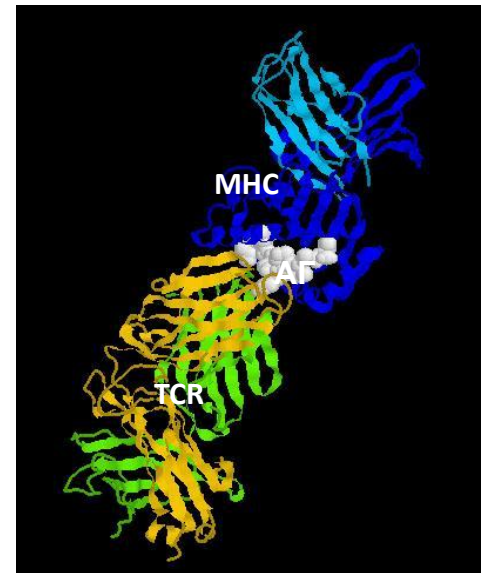
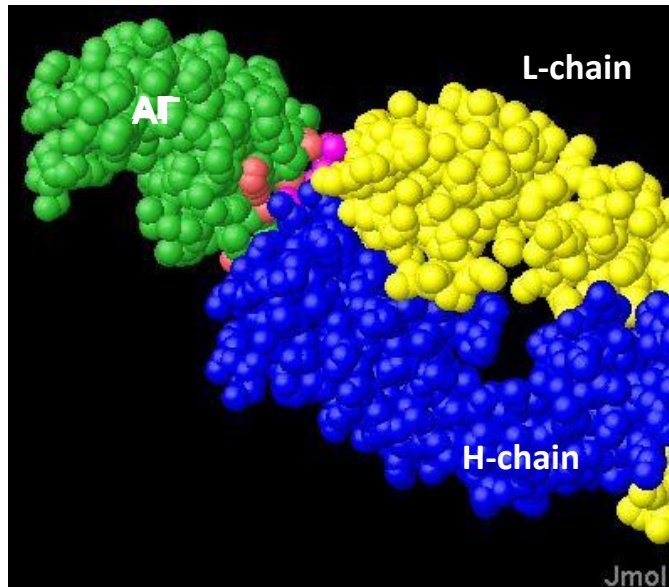
Распознавание через **BCR** и **TCR** отличается:

- интактный АГ (взаимодействие с поверхностью АГ м.б. прерывистый)
- лиганд = эпитоп АГ МНС
- АГ экстраклеточный

- процессированный (развернутый и порезанный, м.б. из внутренней части АГ)
- лиганд = комплекс пептид –молекула МНС

АГ «выставлен» на поверхности своих клеток и связан с ней через МНС **TCR**

Взаимодействие АГ с **BCR**



Т-лимфоциты с различными функциями отличаются по экспрессии на своей мембране молекул **CD8** и **CD4** и распознают пептиды, связанные с молекулами **MHCI** и **MHCII**, соответственно. Во время распознавания АГ **CD8** и **CD4** ассоциированы на поверхности Т-клетки с **TCR** и связываются с молекулой МНС: **CD8-MHCI** (любая клетка) и **CD4-MHCII** (APC).

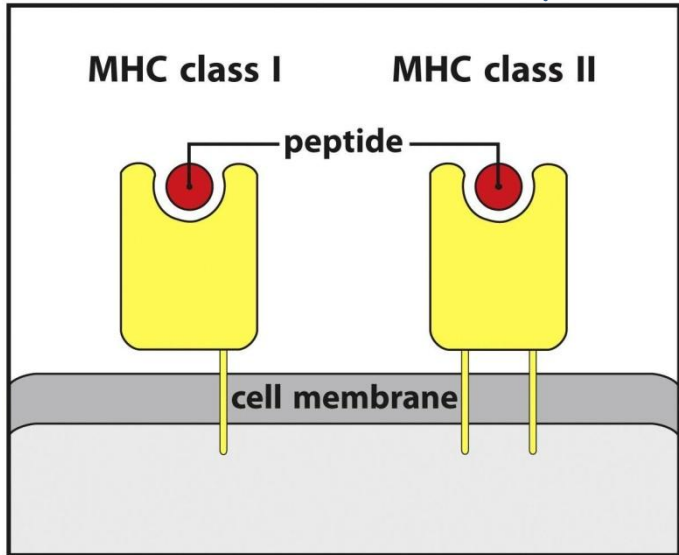
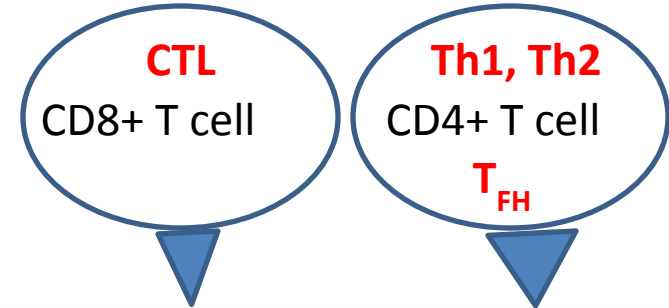


Figure 1.28 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

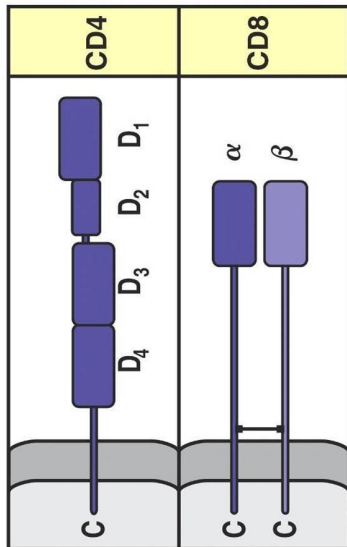
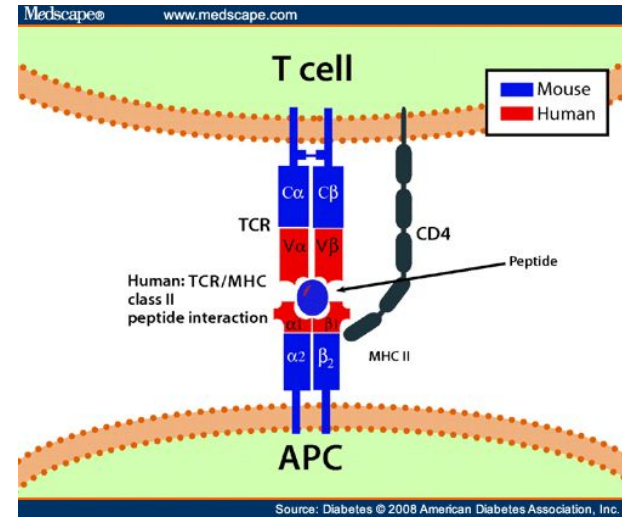
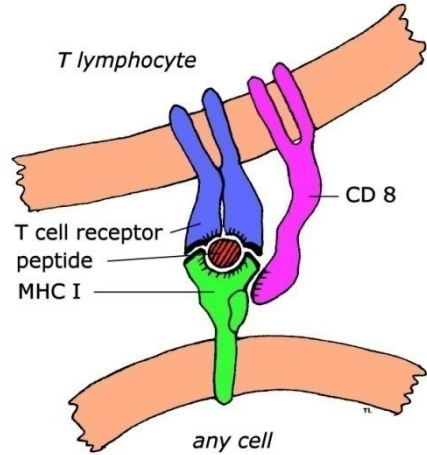
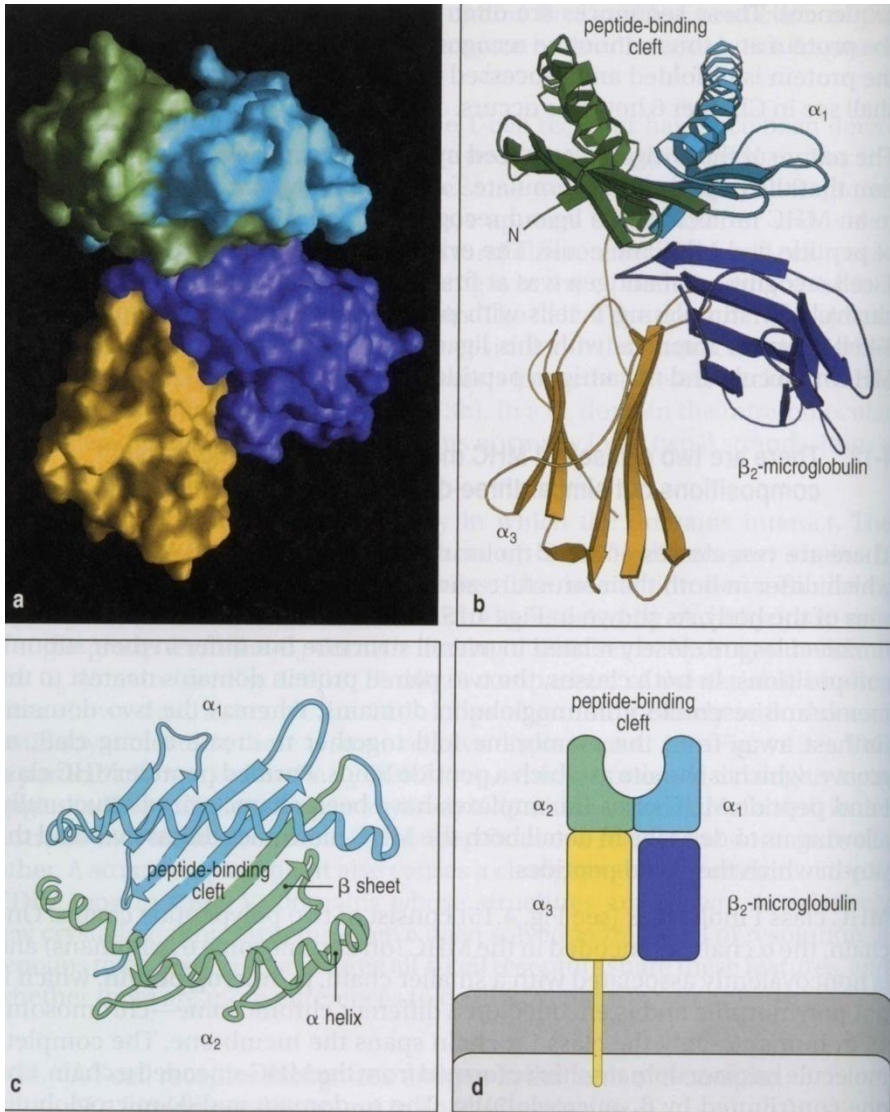


Figure 3-10 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

CD4 и CD8 – трансмембранные белки, состоят из ИГ-подобных доменов, первый домен похож на V-домен ИГ, но структура разная. Связывают молекулы МНС в одинаковых областях, далеко от места связывания с TCR. Цитоплазматические хвосты связаны с тирозин-киназу Lck, которая после активации фосфорилирует компоненты сигнального комплекса TCR. Усиливают чувствительность TCR в 100 раз – ко-рецепторы TCR.

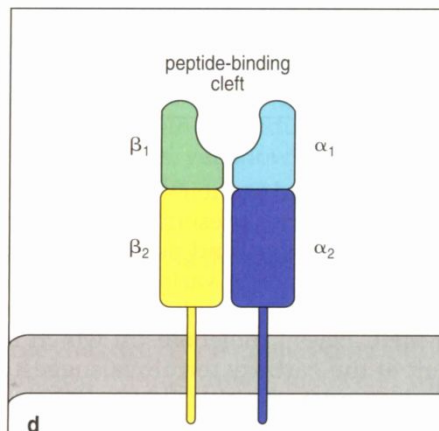
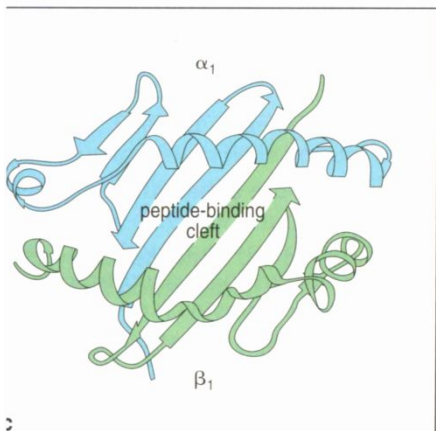
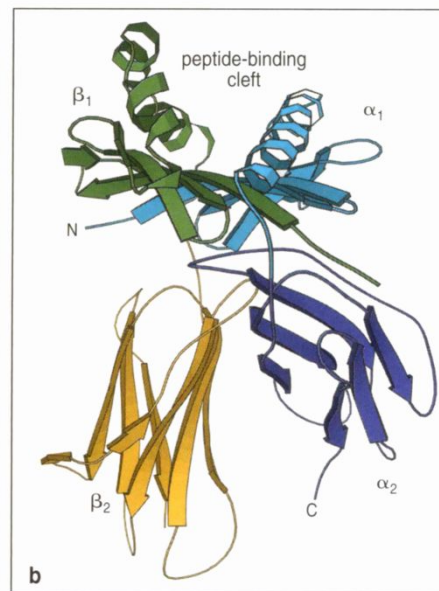
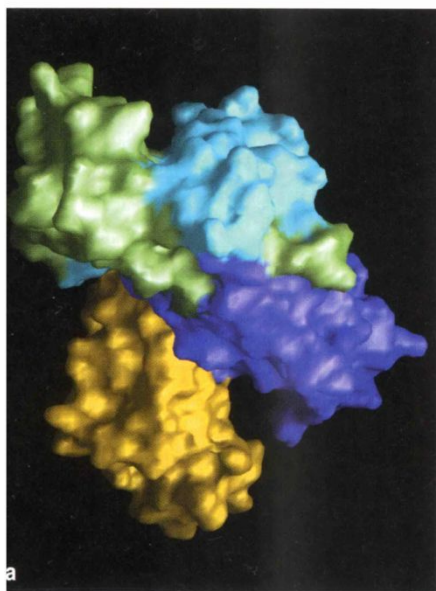


Строение молекулы МНС I – HLA-A2 человека.

Гетеродимер, полиморфная α -цепь и инвариантный β_2 -микроглобулин.

Домены α_3 и β_2 – ИГ (С-область)-подобные.

Домены α_1 и α_2 образуют щель на поверхности молекулы для связывания пептида – наиболее переменное место молекулы.



Строение молекулы МНСII – HLA-DR1 человека.

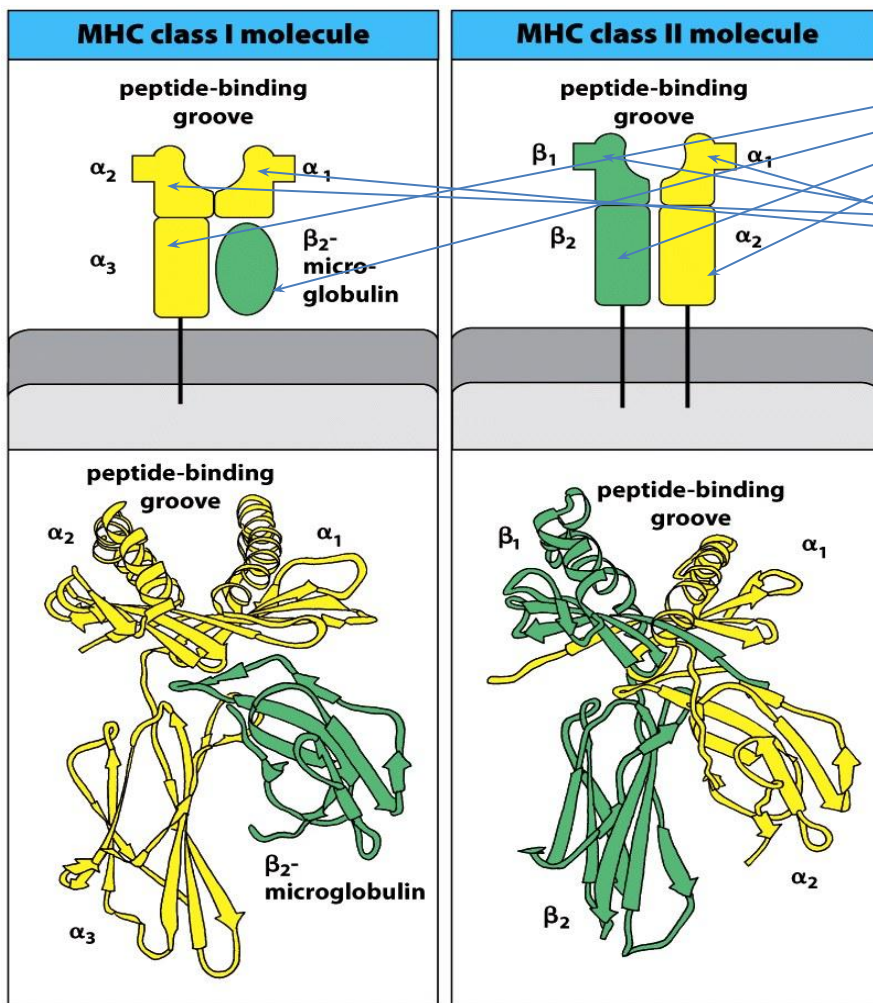
Похожа на МНСI.

Две цепи- α и β . α -цепь МНСII \neq α -цепи МНСI.

Домены α_2 и β_2 – ИГ-подобные, домены α_1 и β_1 образуют щель, связывающую пептид, наиболее полиморфны.

Молекулы МНС I и МНС II имеют различную субъединичную структуру, но их трехмерная структура похожа.

Пептид: 8-10 а.к. (обычно 9)



ИГ-подобные
домены

Полиморфные участки

На конце молекулы МНС – антиген-связывающая щель, куда погружен распознаваемый TCR пептид. TCR распознает поверхность, образованную а.к. остатками пептида и молекулы МНС.

Figure 5.13 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Молекулы МНСI и МНСII имеют разный паттерн экспрессии на разных типах клеток, что отражает функциональные особенности этих молекул

Differential distribution of MHC molecules

Tissue	MHC class I	MHC class II
T cells	+++	+/-
B cells	+++	+++
Macrophages	+++	++
Other APC	+++	+++
Thymus epithelium	+	+++
Neutrophils	+++	-
Hepatocytes	+	-
Kidney	+	-
Brain	+	-
Erythrocytes	-	-

Cell activation affects the level of MHC expression.

The pattern of expression reflects the function of MHC molecules:

- Class I is involved in the regulation of anti-viral immune responses
- Class II involved in regulation of the cells of the immune system

Эритроциты – нет молекул МНСI. Вирус – нет проблемы, т.к. нет репликации вируса. Виды *Plasmodium* – не видимы для Т-клеток

Экспрессия МНСI и МНСII усиливается под воздействием цитокинов, в особенности IFN- γ .

Пептиды стабильно связываются с молекулой МНС

Пептид-связывающий сайт каждой молекулы МНС может связать некоторое разнообразие пептидов (но ограниченное определенным а.к. мотивом).

Пептид связан с молекулой МНС как будто это ее составная часть. Без пептида молекула МНС не стабильна. Связывание с пептидом стабилизирует молекулу МНС на мембране клеток.

Связь с пептидом довольно сильная – в физиологических условиях выделяются всегда в виде комплекса МНС-пептид.

Пептиды связываются с молекулой **МНСI** своими концами, на которых содержатся инвариантные а.к. остатки – «**якорные**», связывающиеся с **инвариантными а.к.** в молекуле МНСI. Связи – водородные, в основном. Пептид полностью погружен в «карман» молекулы МНСI.

Eluted peptides from MHC molecules have different sequences but contain motifs

Peptides bound to a particular type of MHC class I molecule have conserved patterns of amino acids

A common sequence in a peptide antigen that binds to an MHC molecule is called a **MOTIF**

Amino acids common to many peptides tether the peptide to structural features of the MHC molecule
ANCHOR RESIDUES

Tethering amino acids need not be identical but must be related
Y & F are aromatic
V, L & I are hydrophobic

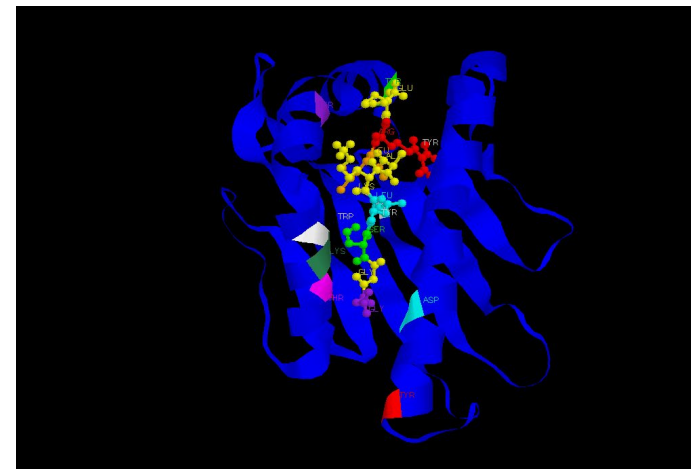
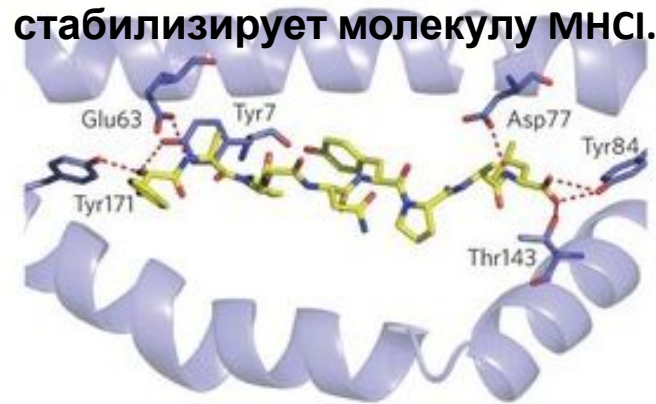
Side chains of anchor residues bind into **POCKETS** in the MHC molecule

Different types of MHC molecule bind peptides with different patterns of conserved amino acids



Размер пептида не больше 10 а.к.
(8-10).

Связывание с пептидом стабилизирует молекулу МНСI.



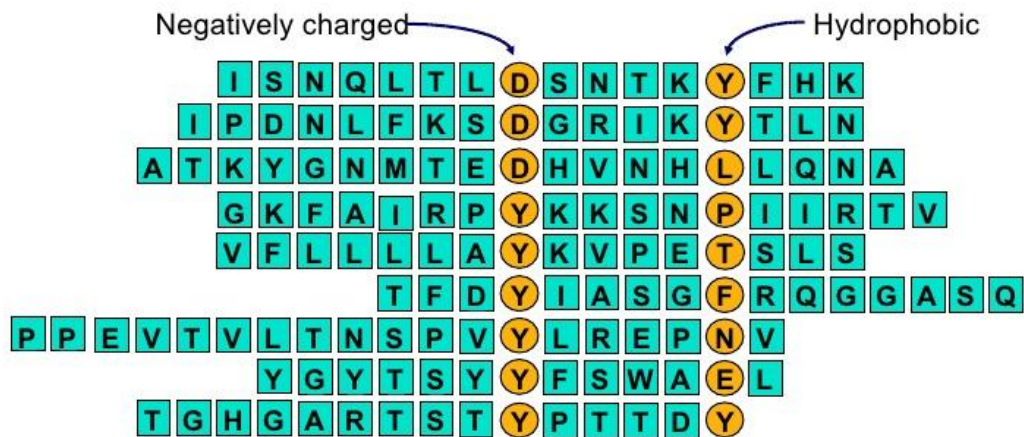
Пептиды, связавшиеся с двумя разными аллельными вариантами МНСI. Индивидуальная молекула МНСI может связать широкое разнообразие пептидов

Длина пептида, связанного с молекулой МНСII, не так ограничена по длине, как в случае МНСI.

- 13 а.к. и длиннее (13-17)
- нет инвариантных кластеров на концах пептида, концы пептида не связаны с МНСII
- якорные а.к. остатки распределены по всей длине пептида
- пептид-связывающий карман более «снисходителен» к размещаемым последовательностям, чем в МНСI

Peptide antigen binding to MHC class II molecules

HLA-DR3

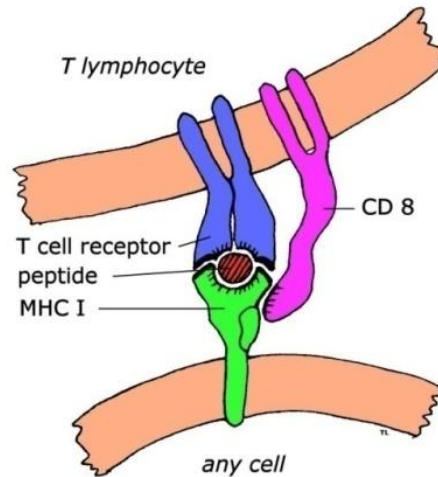


- Anchor residues *are not* localised at the N and C termini
- Ends of the peptide are in extended conformation and may be trimmed
- Motifs are less clear than in class I-binding peptides
- Pockets are more permissive



Молекула МНСII, как и молекула МНСI, нестабильна без связанного с ней пептида

Как обнаружить среди всех CD8+ Т-клеток организма клетки, специфичные к данному пептиду? Т.е. CD8+ Т-клетки с TCR, распознающий данный пептид?



Детектирование антиген-специфичных Т-клеток с помощью МНС-тетрамеров

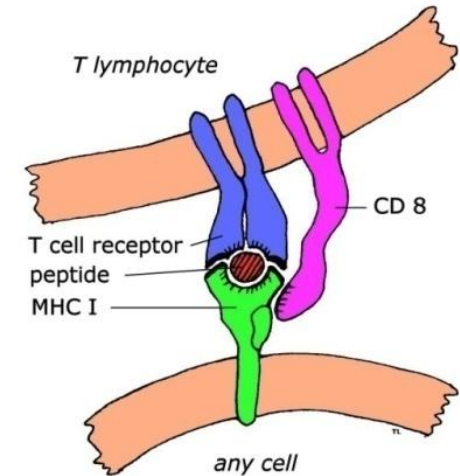
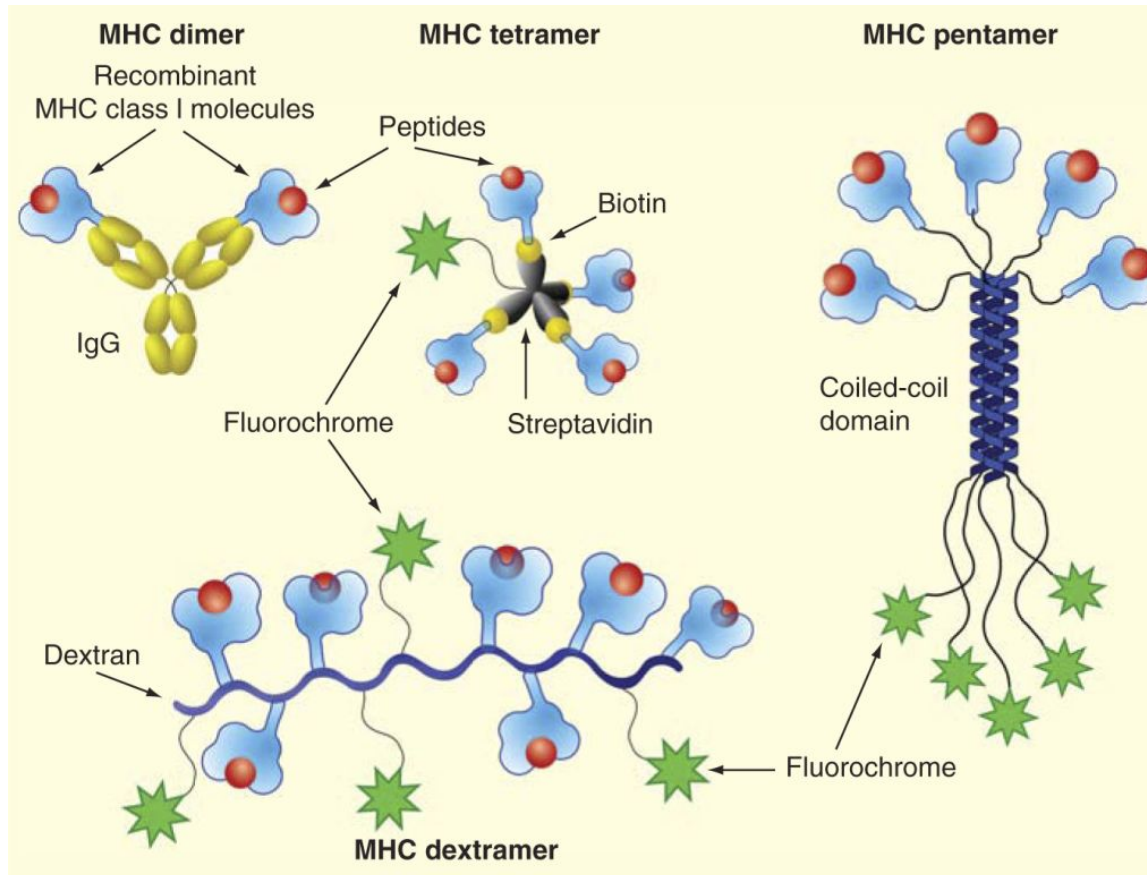


Figure 1. Examples of existing pMHC complexes.

Ограничение метода – пациенты должны быть типированы по генам МНС

Как генерируются лиганды для TCR?

Лиганды (пепиды) для TCR генерируются внутри собственных клеток и выставляются на поверхность в комплексе с собственными молекулами MHC = antigen processing + antigen presentation

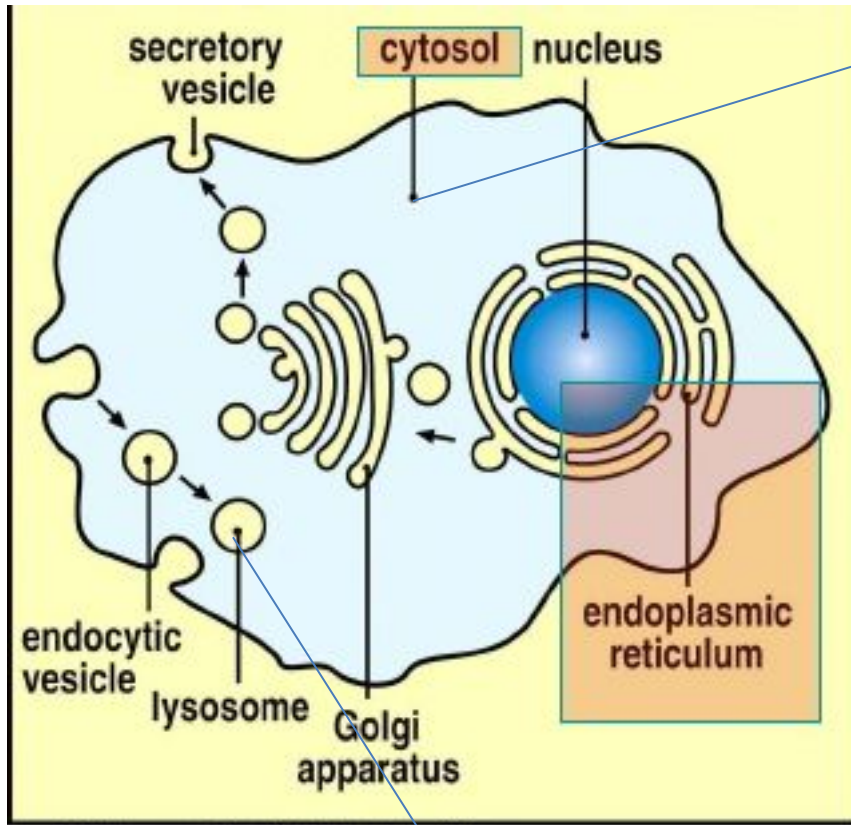


Figure 3-16 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

MHCI

CD8+ T-клетка = CTL

Внутриклеточные патогены реплицируются в двух основных клеточных компартментах – цитозоле (+ядро) или везикулярной системе.

Пептиды, образованные в цитозоле, доставляются к мембране молекулами MHC I, а пептиды из везикул – молекулами MHC II.

MHCII

Как и где встречаются **экзогенные** пептиды с **эндогенными** молекулами MHC!
CD4+ T-клетка = Тхелпер

Молекулы **МНС I** представляют на мембране пептид, образующийся в **ЦИТОЗОЛЕ**.

Молекулы **МНС I** - во всех клетках организма, важный компонент защиты от

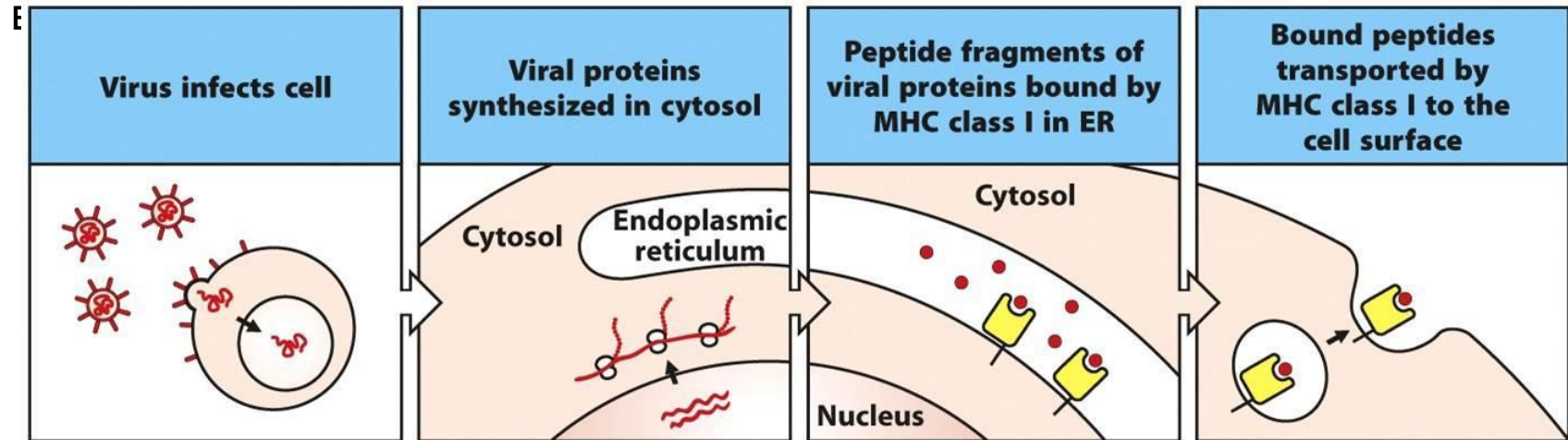


Figure 1.29 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

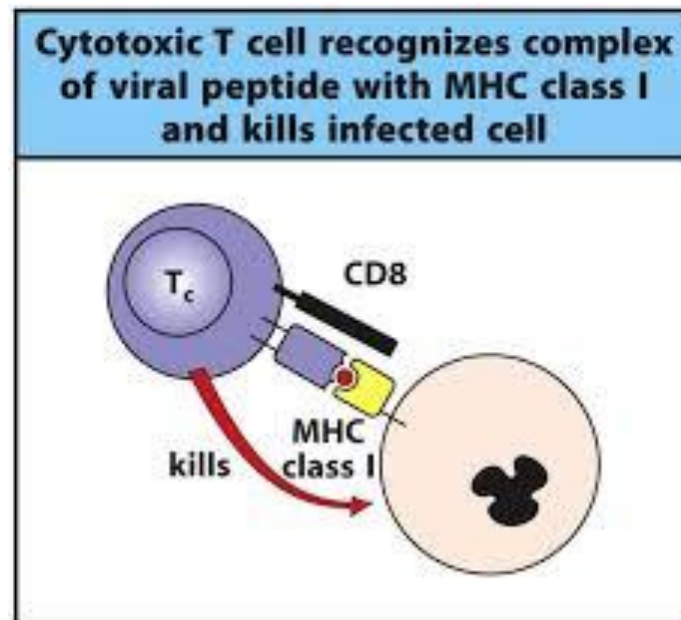


Figure 1.30 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

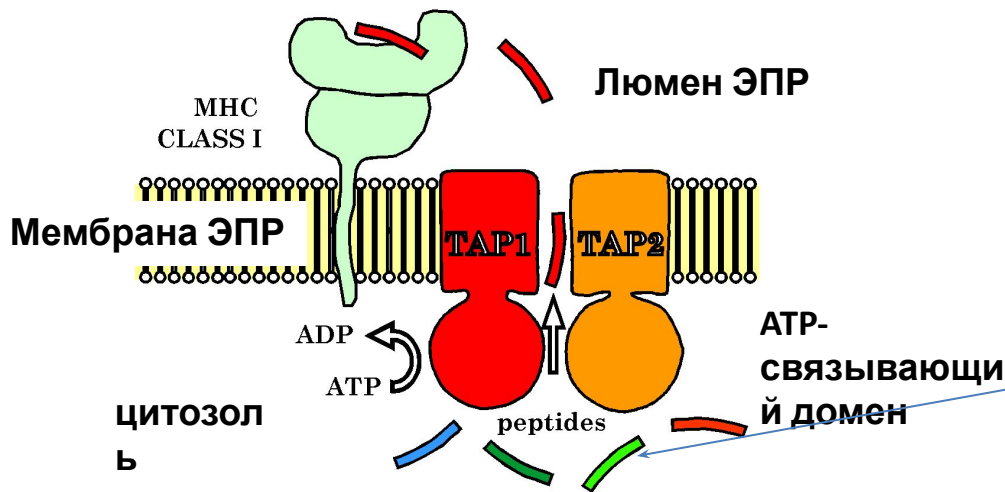
Пептиды, доставляемые к поверхности молекулами МНСI, **активно** транспортируются из цитозоля в люмен ЭПР, где собирается молекула МНСI.

Молекула МНСI, собираемая в люмене ЭПР, **нестабильна без связанного с ней пептида, редко выходит на мембрану клетки.**

TAP1 and TAP2 – Transporters associated with Antigen processing

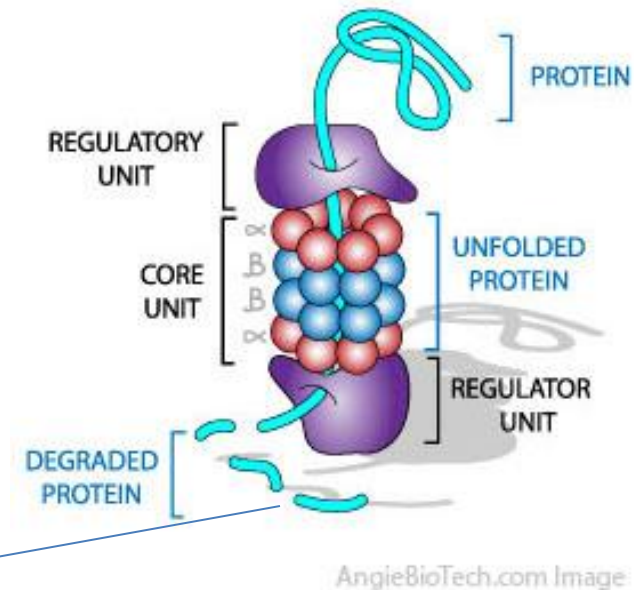
-обладают определенной селективностью в отношении пептидов размером около 9 а.к с гидрофобными или основными а.к. в С-конце

- индуцируются интерферонами



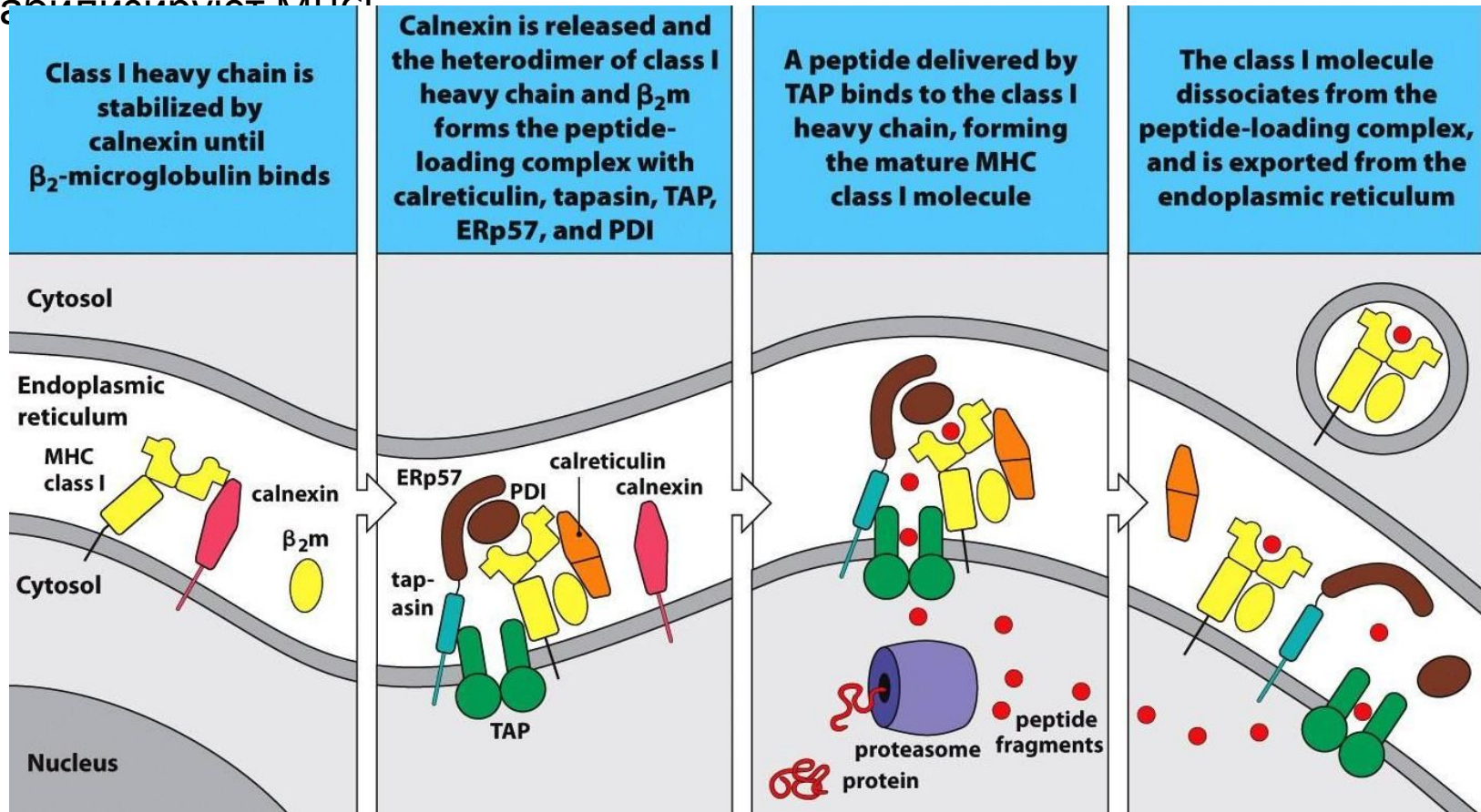
Пептиды для МНСI генерируются в цитозоле в **протеасомах** – больших протеазных мультисубъединичных комплексах.

Начало деградации – присоединение к белку другого белка – убиквитина, который направляет белок в протеасому.



Протеасома, возможно, не единственная структура для деградации белков для МНСI.

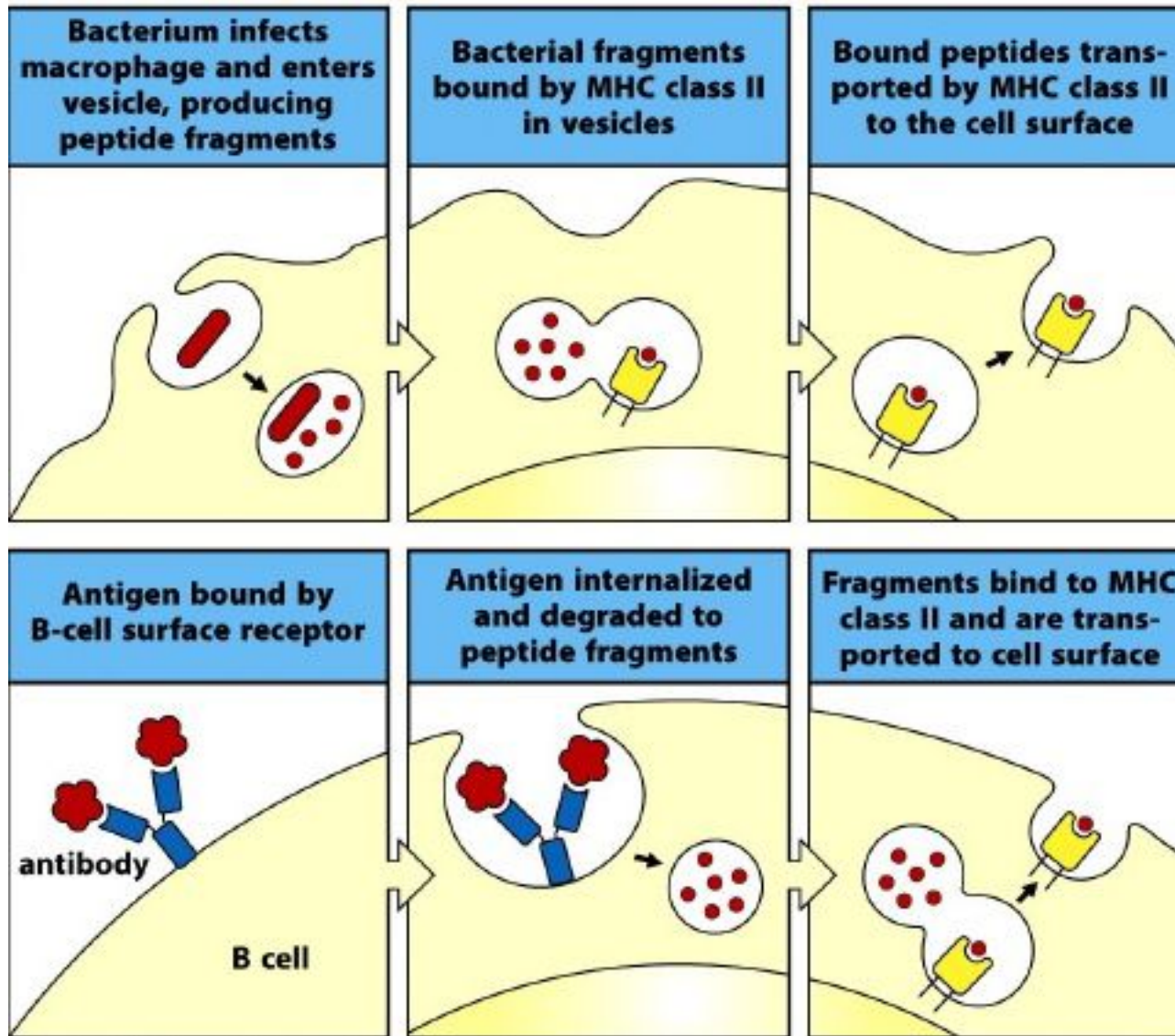
Вновь синтезированные молекулы МНСI не покидают в ЭПР до тех пор, пока они не свяжутся с пептидом. До этого момента белки-шапероны стабилизируют МНСI.



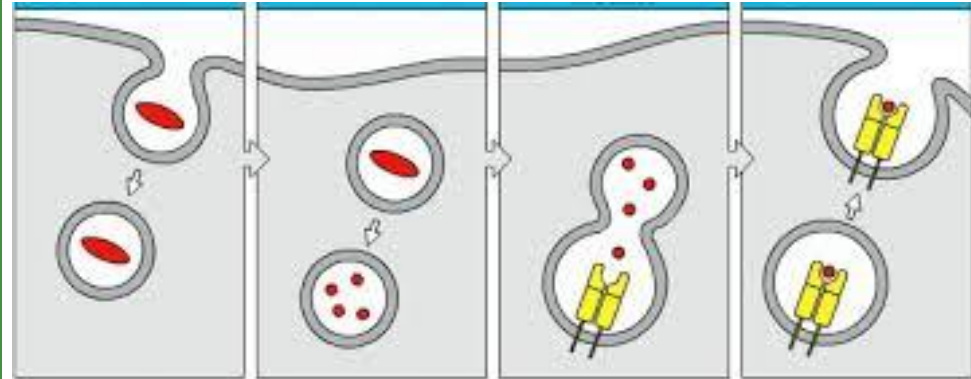
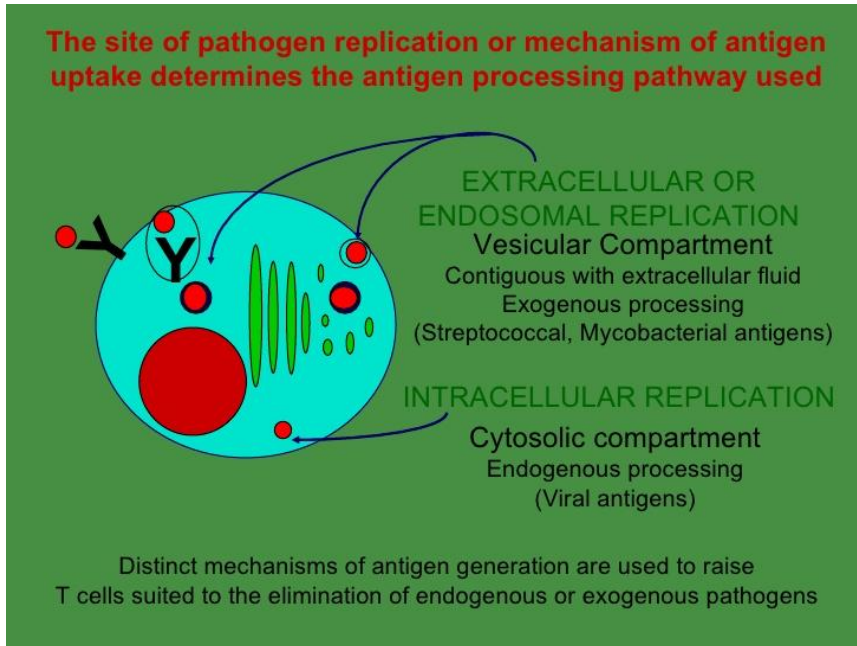
Калнексин, кальретикулин, ERp57, тапасин – шапероны. Контроль связывания пептидов с МНСI, «редактирование» пептидов

У человека – мутации *TAP1* и *TAP2* → мало МНСI на поверхности клеток, большая часть МНСI транспортируется обратно в цитозоль и деградирует, иммунодефицит. В отсутствие патогена МНСI связывается, по-видимому, с пептидами своих белков.

Молекулы **MHC II** представляют на мембране пептид, образующийся во **внутриклеточных везикулах**. Клетки – АГ-представляющие: макрофаги, В-клетки, дендритные клетки.



Пептиды, представляемые молекулами **МНСII**, образуются в кислых эндосомах с помощью **кислых протеаз**



Везикула с вновь синтезированной молекулой МНСII сливается с кислой эндосомой, содержащей пептиды.

Как молекула МНСII попадает в кислые эндосомы из ЭПР и как загружается там пептидами? Почему она не загружается пептидами в люмене ЭПР?

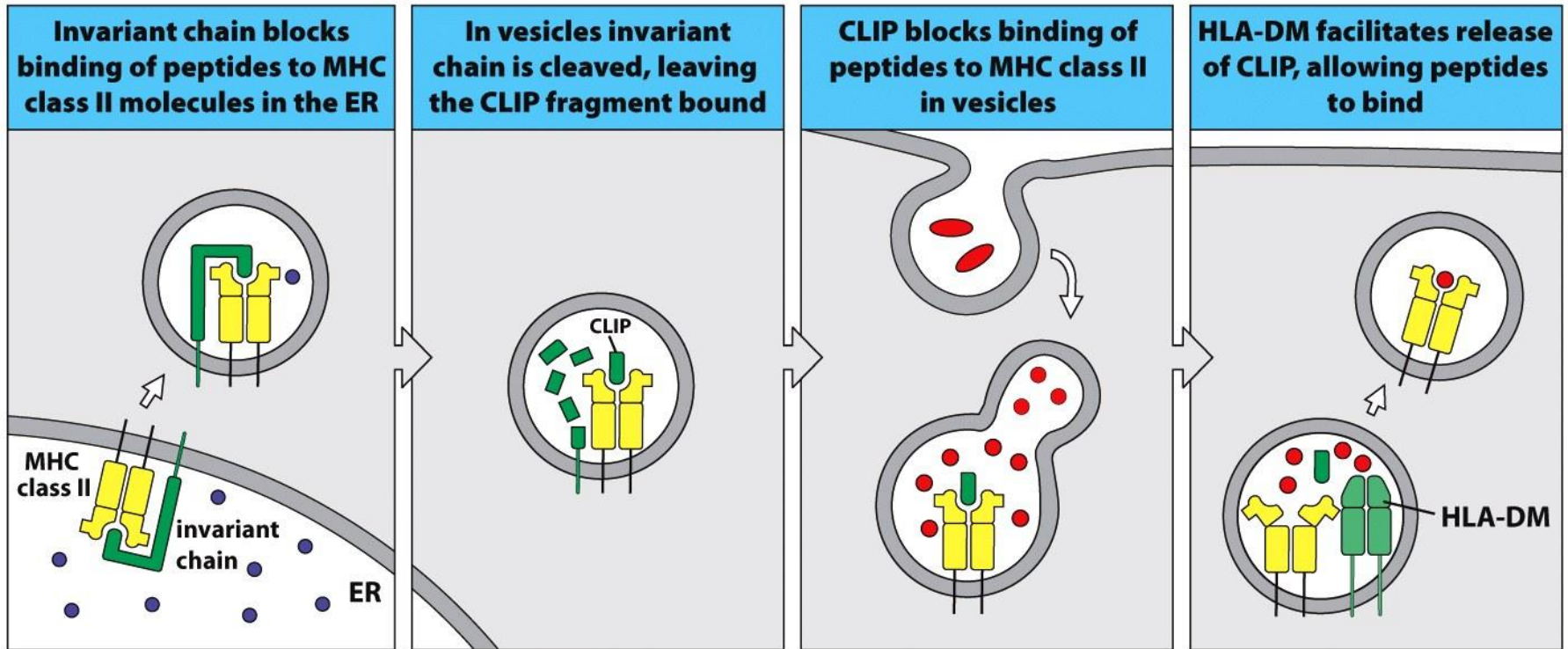


Figure 5.21 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Инвариантная цепь блокирует связывание пептидов с МНСII в ЭПР и направляет вновь синтезированную молекулу МНСII из ЭПР в кислые эндосомы. HLA-DM – роль похожа на TAP в случае МНСI, сидит на мембране эндосом, но не на клеточной поверхности, стабилизирует «пустую» молекулу МНСII, а также «проверяет» силу взаимодействия МНС II и пептида, разрывая взаимодействие, если оно слабое, и пептид заменяется на новый.

CD4+ T-хелперы распознают антиген в комплексе с молекулой **MHCII** на поверхности **АГ-представляющей** клетки и активируют эту клетку

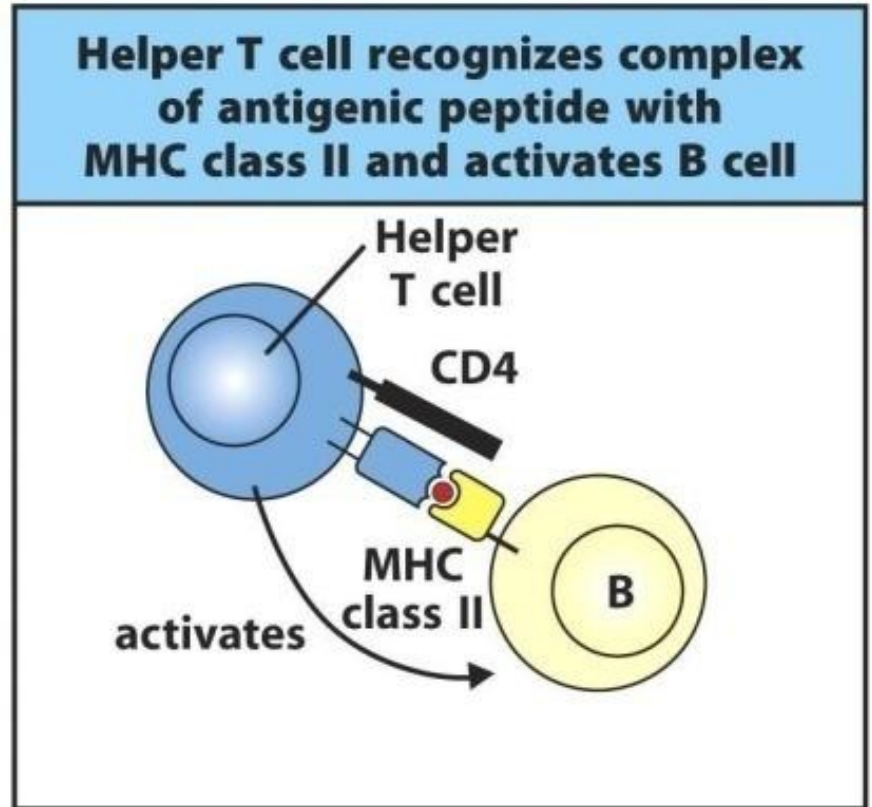
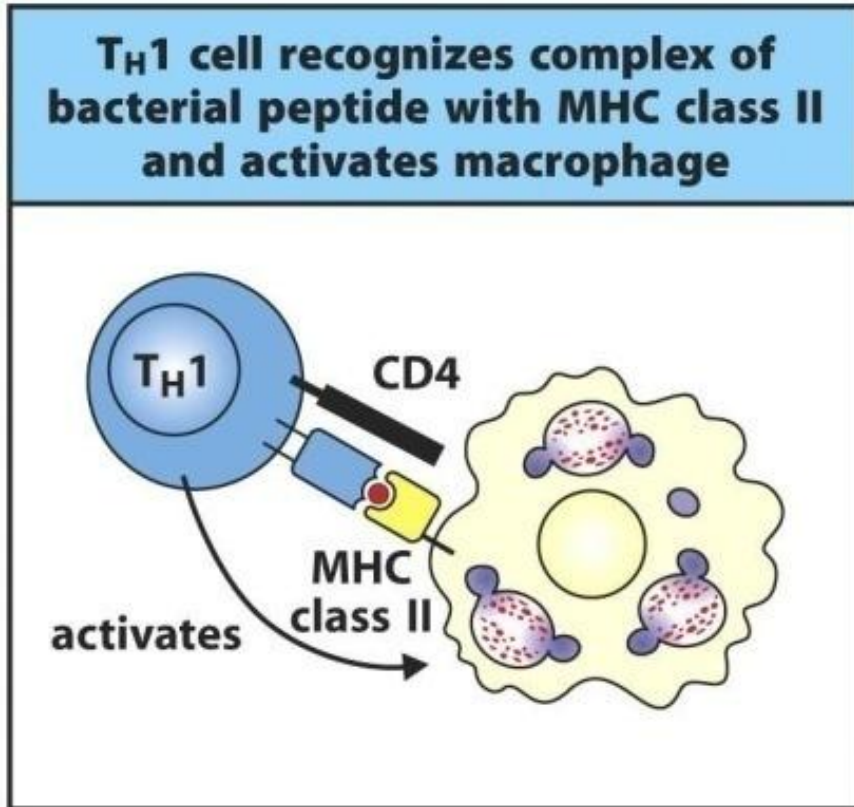


Figure 1.31 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)