

Biossíntese e Genética de Imunoglobulinas e Receptor para Ags em Linfócitos T (TCR):-

BCR e Acs / TCR e Linfs. T

Prof. Helio José Montassier

hjmonta@hotmail.com

Imunoglobulinas, BCR (Acs) e TCR

* Moléculas Receptoras p/ o reconhecimento de Antígenos

* Ligação (Ag-Ac) } ↑ Específica
(BCR-Ag / TCR-Ag+MHC)

* Marcadores Celulares

BCR-Ig → Linf. B

TCR → Linf. T

Bases da Especificidade do Sítio Combinatório dos Anticorpos



A superfície do sítio combinatório do Ac, especialmente ao nível das CDRs de VH e de VL são as partes mais importantes para conferir especificidade na interação específica com cada epítopo de um Ag

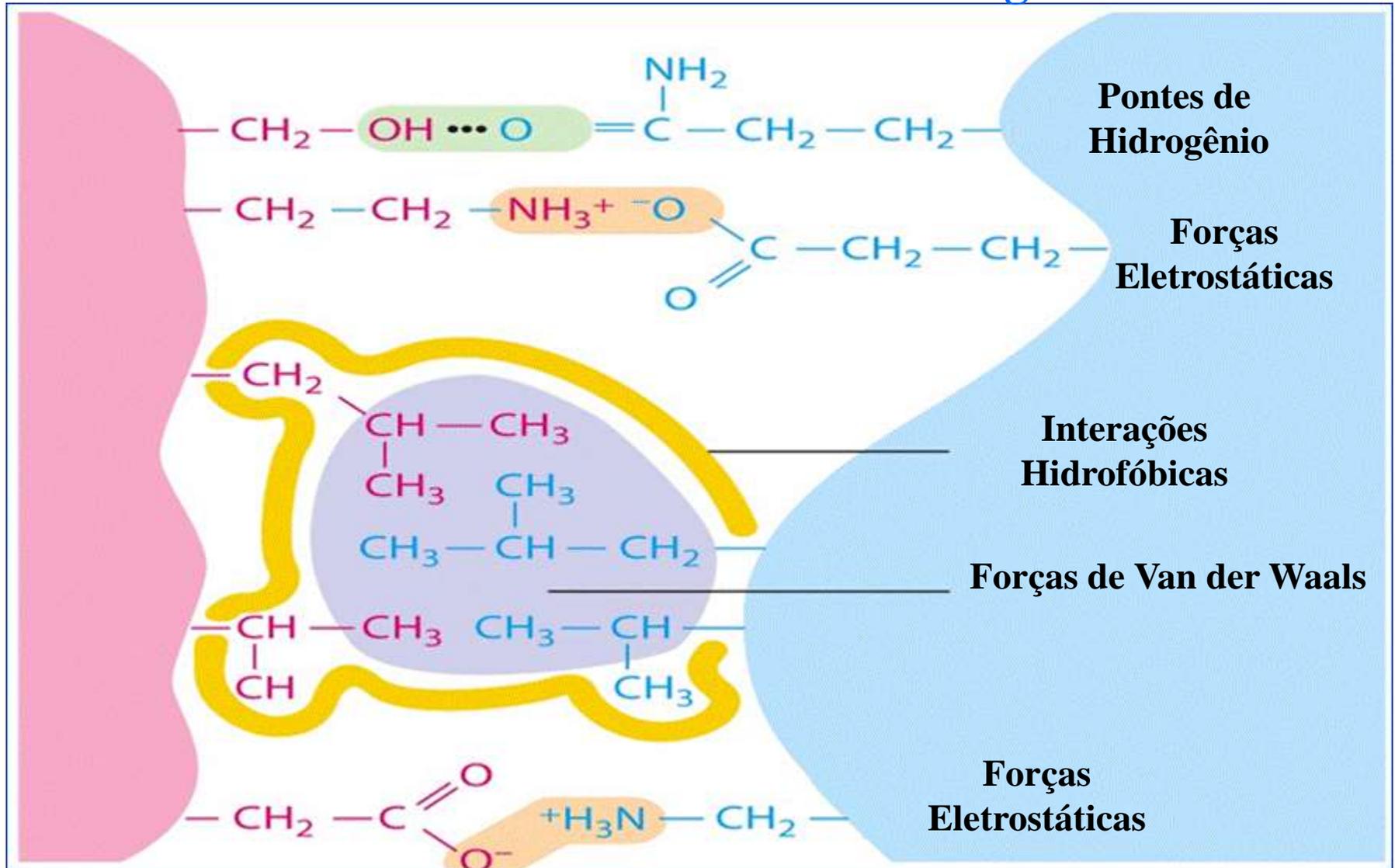
- A forma e as cargas elétricas e/ou sítios para estabelecer forças eletrostáticas, pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e de Van der Waals das CDRs de VH e de VL que constituem o sítio combinatório de um dado Ac, determinam qual o epítopo que será ligado pelo mesmo.
- A forma e as cargas elétricas dependem das sequências de Aminoácidos que compõem cada CDR para interagir com aminoácidos ou monossacarídeos que compõem os epítomos de Ags.
- Teoricamente cerca de 10^{13} especificidades (sítios combinatórios) diferentes de Acs para se combinar com cerca de 10^{13} epítomos diferentes de Ags;

O que confere Especificidade nas Interações entre Antígenos e Anticorpos / BCR

Parátopo do Anticorpo / BCR

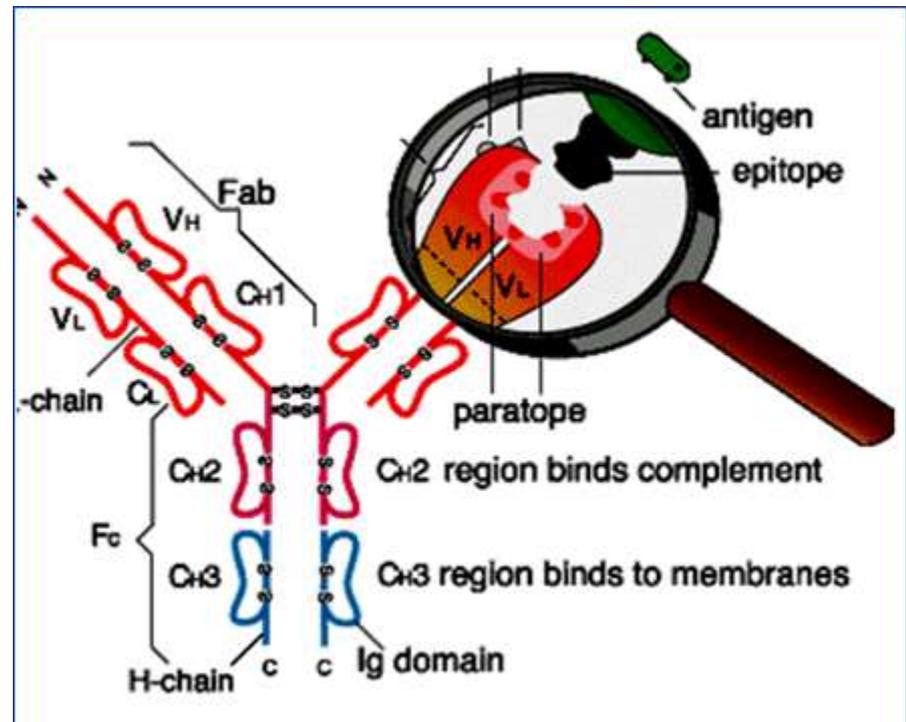
Regiões VH / VL

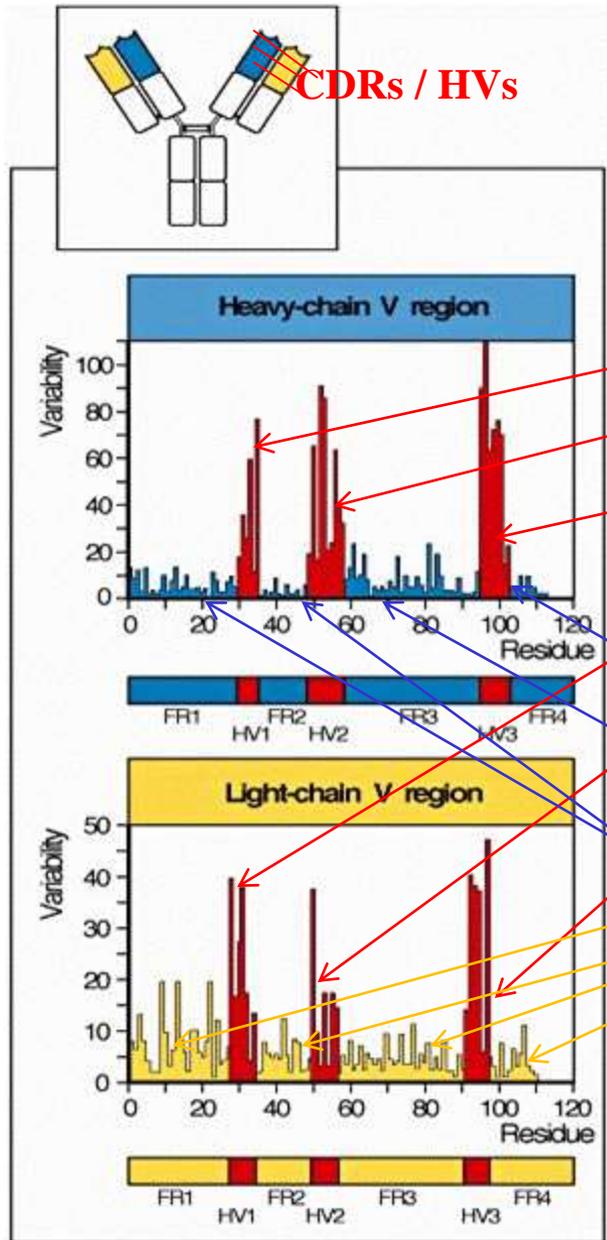
Epítopo do Antígeno



Bases da Especificidade do Sítio Combinatório dos Anticorpos

- Nos domínios variáveis de cadeia leve (VL) e pesada (VH) existem 3 regiões hipervariáveis (HV), que formam as regiões determinantes de complementariedade (CDR ou RDC) e são apresentadas na superfície de uma molécula de anticorpo.
- Estas CDRs formam a superfície de ligação para o antígeno.
- As CDRs são ladeadas por seqüências de aminoácidos mais conservados, chamadas de regiões “Framework”, responsáveis pela estabilidade estrutural do domínio de ligação do antígeno





CDRs / HVs

Fig. - Existem determinadas áreas de hipervariabilidade (CDRs) nos domínios variáveis das cadeias H e L das Igs (VH e VL).

Regiões mais conservadas – Frameworks – ladeando as regiões hipervariáveis

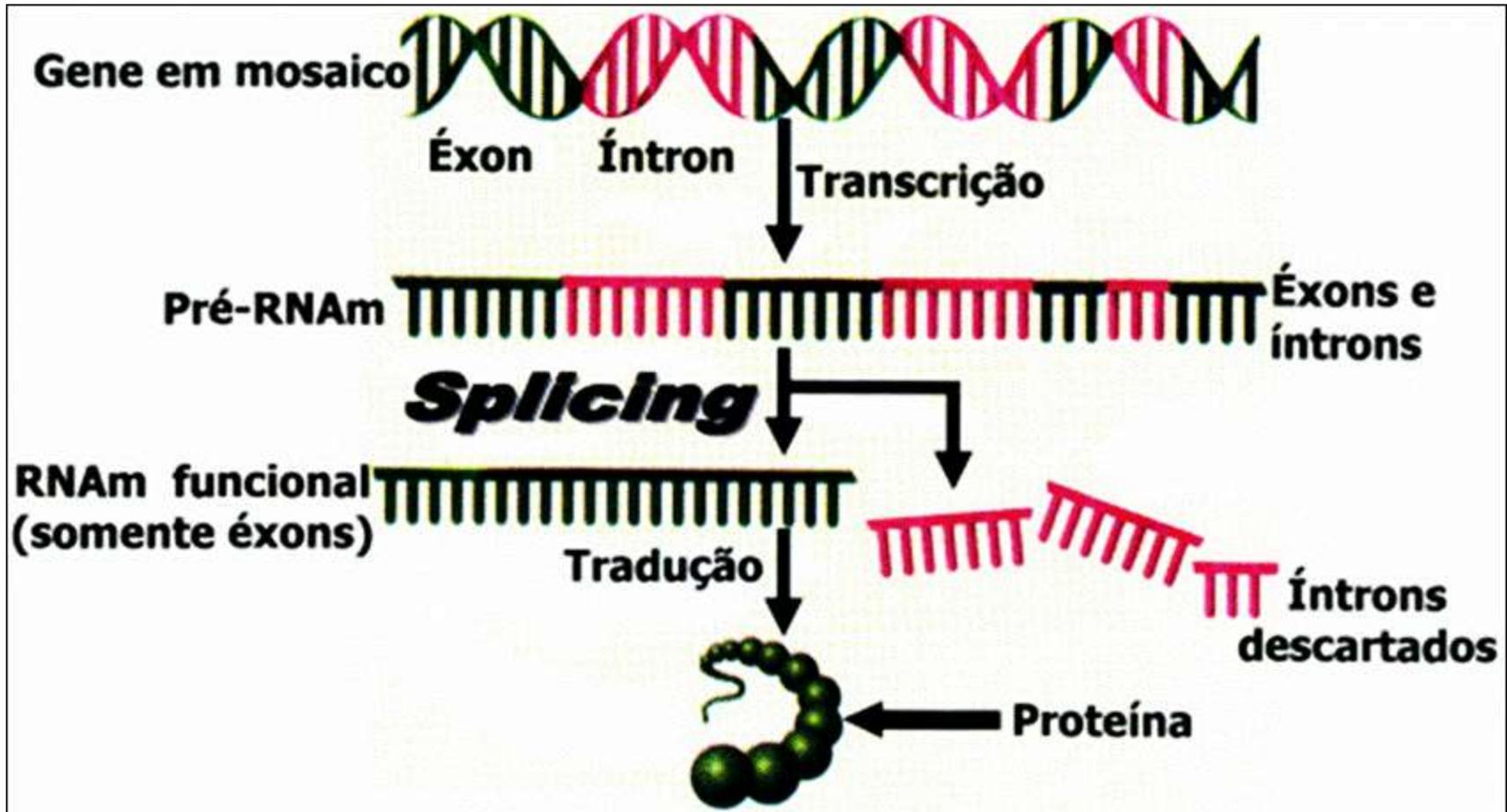
Diversidade dos Anticorpos (Acs)

- $\cong 10^{13}$ diferentes especificidades de Acs em um vertebrado.**
- Muito espaço no genoma seria utilizado se cada Ac fosse codificado por um gene contínuo.**
- Na verdade existem menos de 1000 genes codificando esse n° de Acs com diferentes especificidades.**

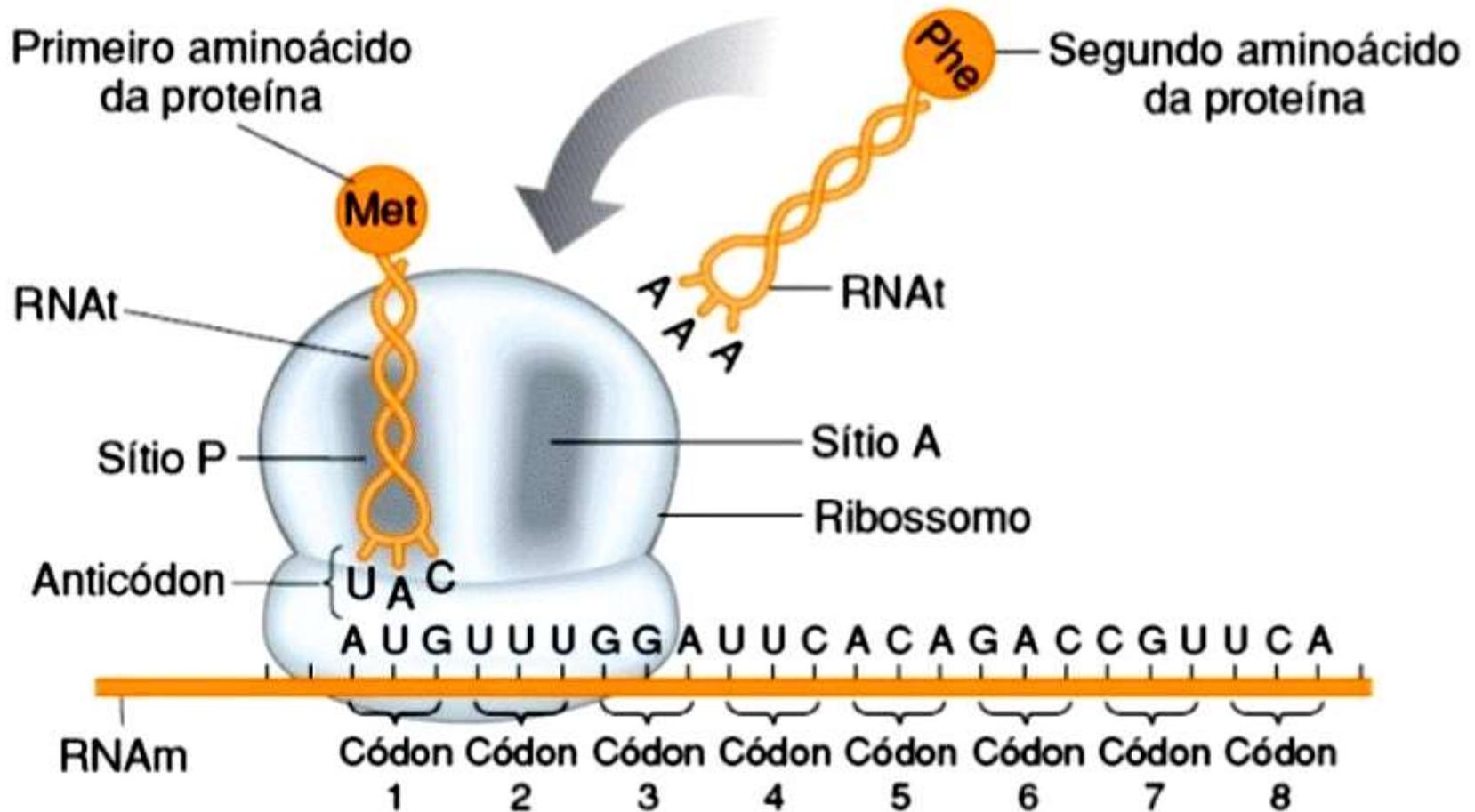
FLUXO DA INFORMAÇÃO GÊNICA

- ❖ A síntese de uma proteína é comandada por uma sequência de bases específica da molécula de DNA (gene).
- ❖ Uma molécula de RNA interpreta e executa a informação do DNA, através de dois eventos: **TRANSCRIÇÃO** e **TRADUÇÃO**.

Fluxo da Informação Gênica em Células Eucariotas



Fluxo da Informação Gênica em Células Eucariotas



RESUMINDO:- Conceitos Básicos para Entender as Bases Genéticas da Diversidade dos BCRs e dos Anticorpos

- **Regiões variáveis e constantes** coexistem nas cadeias leves (L) e pesadas (H) de uma mesma molécula proteica de Imunoglobulina / Anticorpo / BCR e são codificadas por diferentes regiões gênicas (**exons**).
- **Genes das cadeias pesadas (H)** estão localizadas em **cromossomos diferentes** daqueles onde estão localizados **os genes codificadores das cadeias leves (L)**.
- Ocorrem **rearranjos** (recombinações somáticas) para reunir as **regiões gênicas codificadoras (exons)** dos genes codificadores das cadeias H e L dos BCRs / Anticorpos.
- As **cadeias polipeptídicas H e L dos Anticorpos** devem ser sintetizadas, nos ribossomos dos linfócitos B **separadamente** e depois **agrupadas por pontes dissulfeto**.

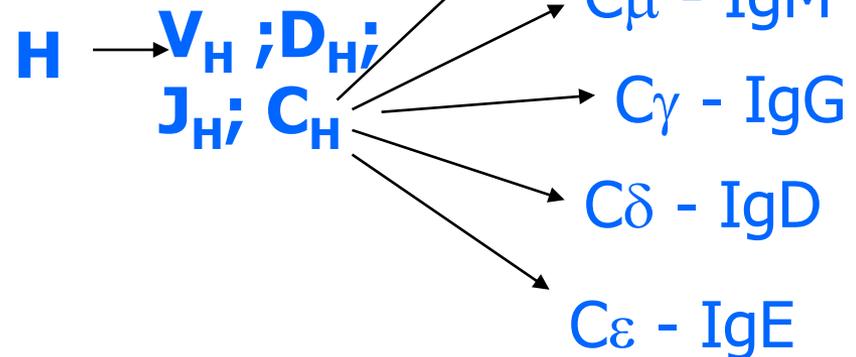
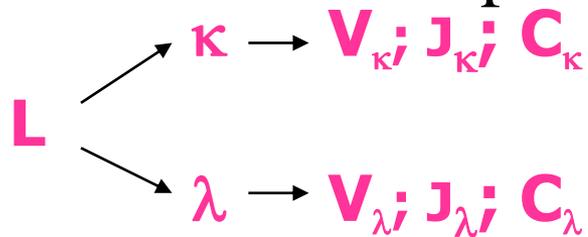
Estrutura dos genes/Ig

- Cadeias leves \Rightarrow L
- Cadeias pesadas \Rightarrow H
- Genes

Região variável – V

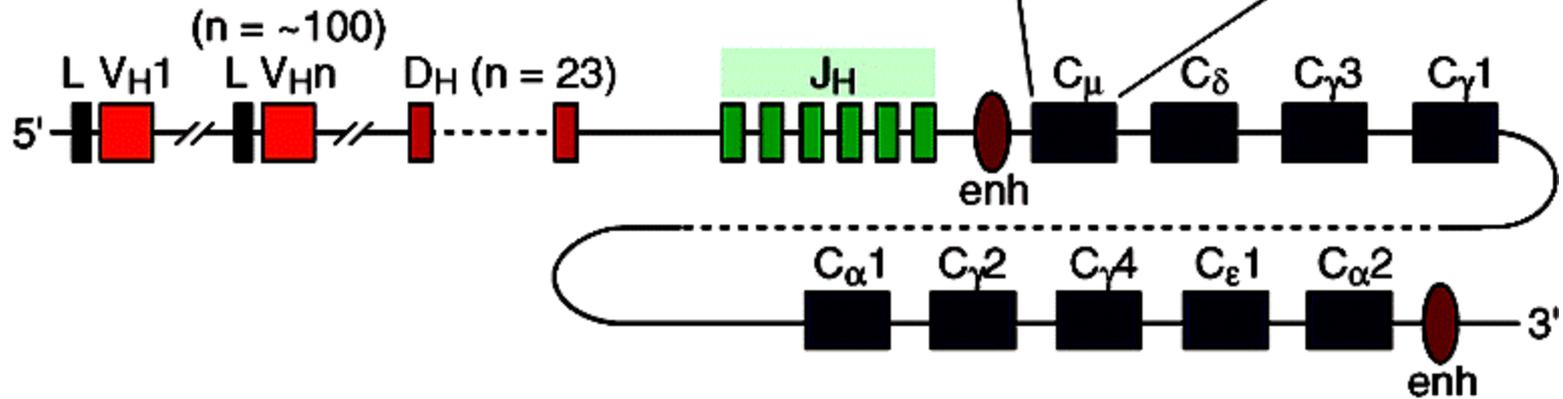
Região constante – C

– as regiões V e C e as cadeias L e H são codificadas por genes diferentes

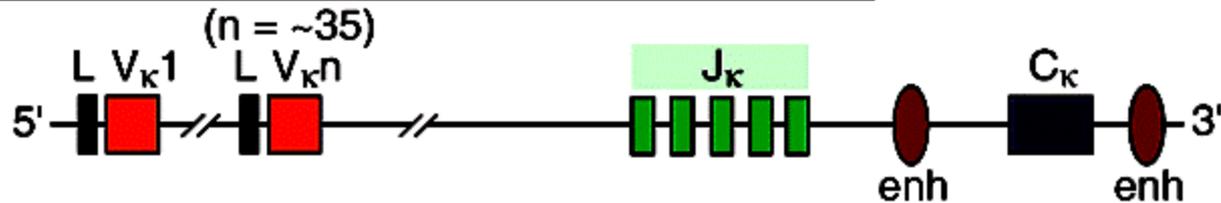


Organização dos loci das Ig

H chain locus (1250 kb; chromosome 14)



κ chain locus (1820 kb; chromosome 2)



λ chain locus (1050 kb; chromosome 22)

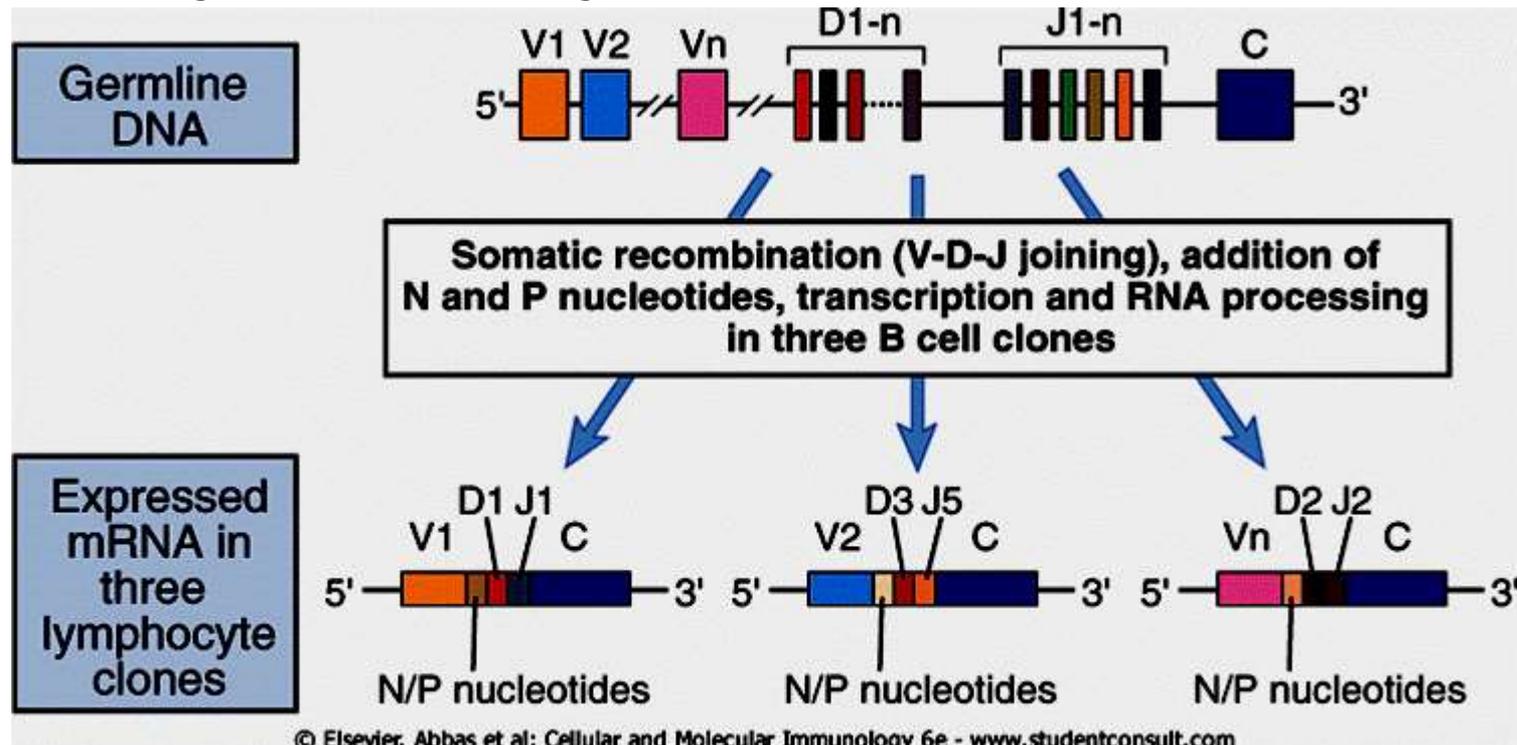


Organização dos genes de imunoglobulinas na linhagem germinativa

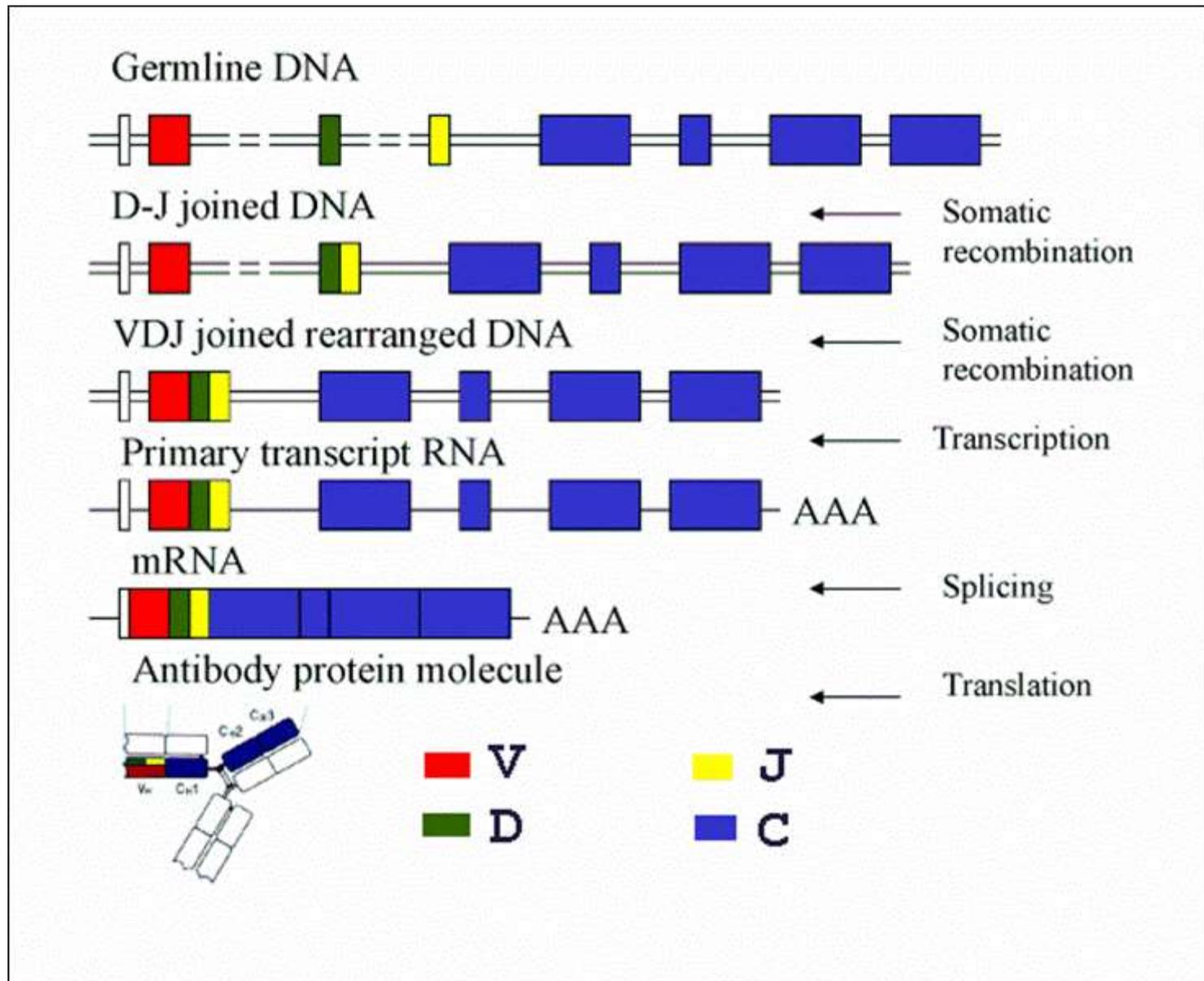
- 1- Múltiplos genes: V, D, J e C** para cadeia H e **genes V e J** para cadeia L, que estão separadas por regiões gênicas não codificadoras (Introns)
- 2- Diversidade combinatória:** aleatória V-D-J para cadeia H e V-J para cadeia L
- 3- Diversidade juncional:** gera códons diferentes
Rearranjo impreciso DNA: exonucleases.
Diversidade região N: T α T (dioxiribonucleotidil transferase terminal)
- 4 – Combinação de diferentes cadeias leves e cadeias pesadas das Igs**
- 5- Mutação somática:** ocorre no momento da duplicação do DNA em respostas imunes humorais secundárias

Recombinação V(D)J - Gene Cadeia H

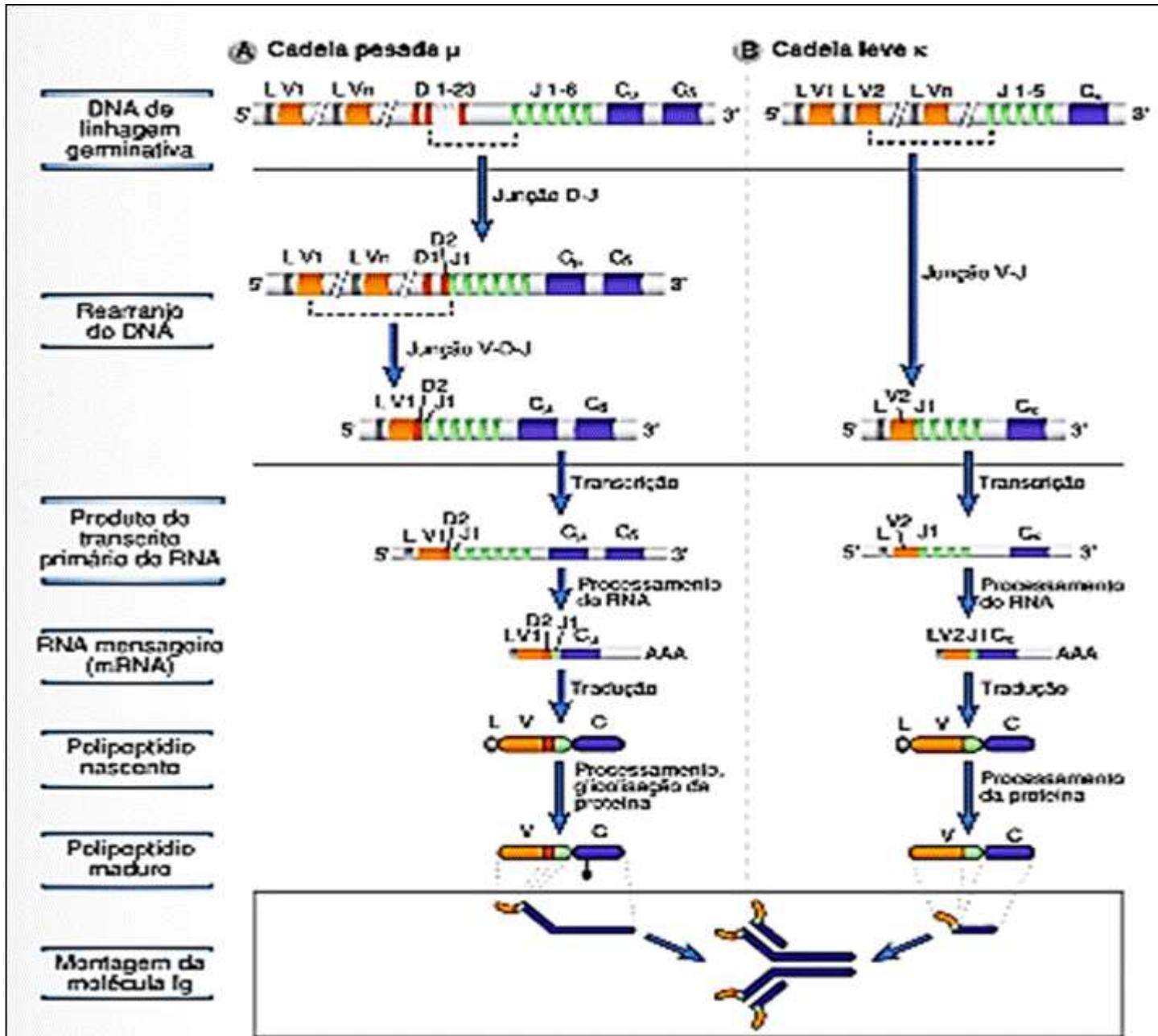
- Recombinação ao acaso
- Rearranjos de DNA tornam os genes V, D e J contíguos
- Quebra na dupla hélice do DNA
 - Adição ou remoção de nucleotídeos

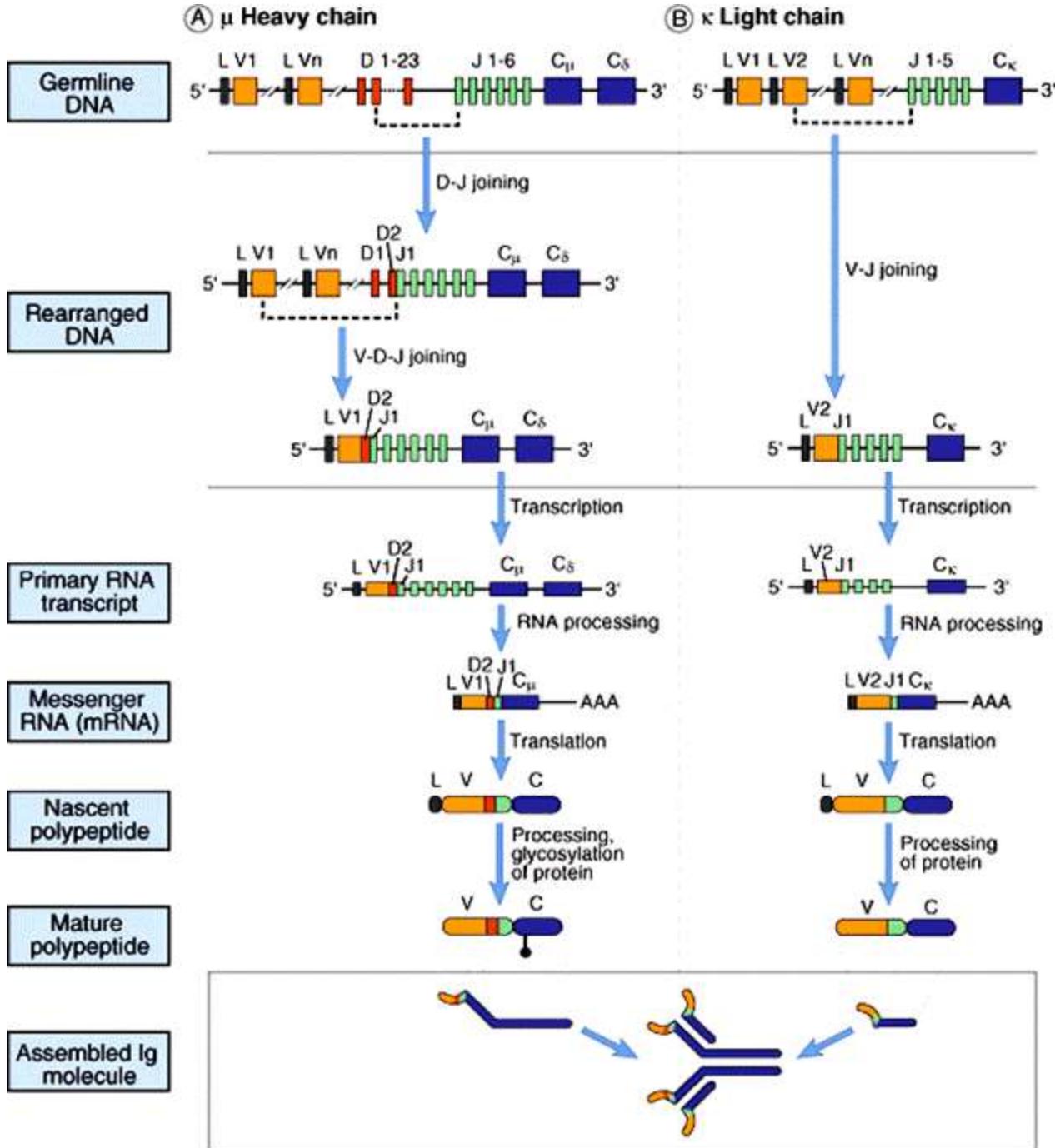


Resumo – Organização dos Genes de Imunoglobulinas



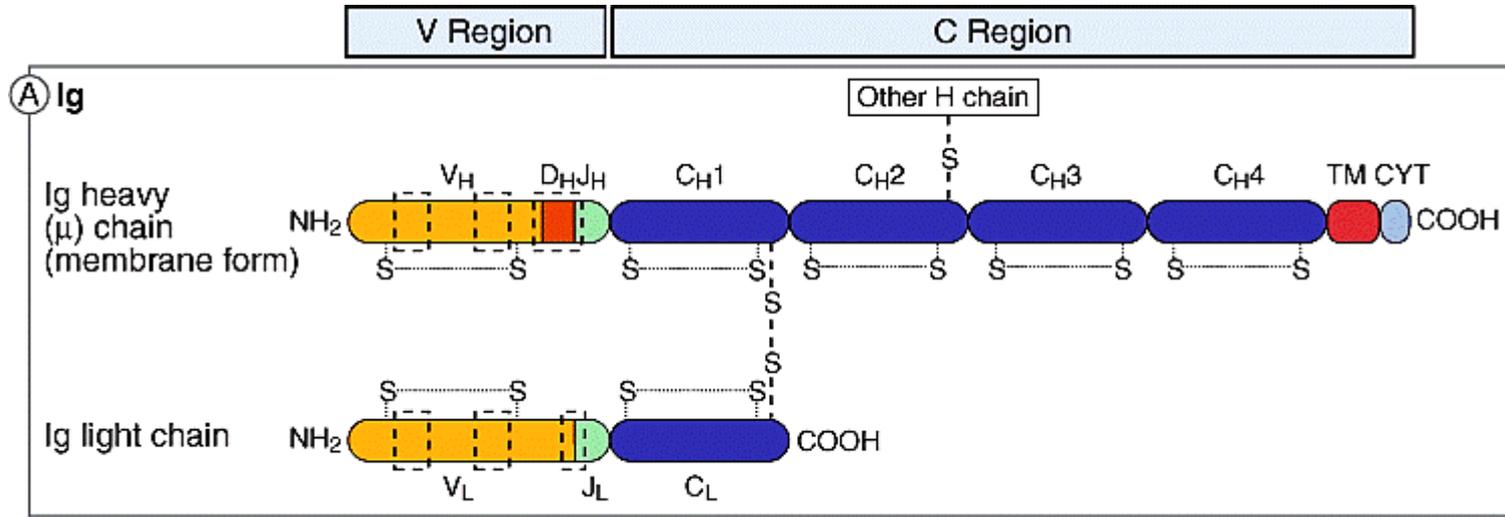
Recombinação e expressão dos genes da cadeia L e H das Ig





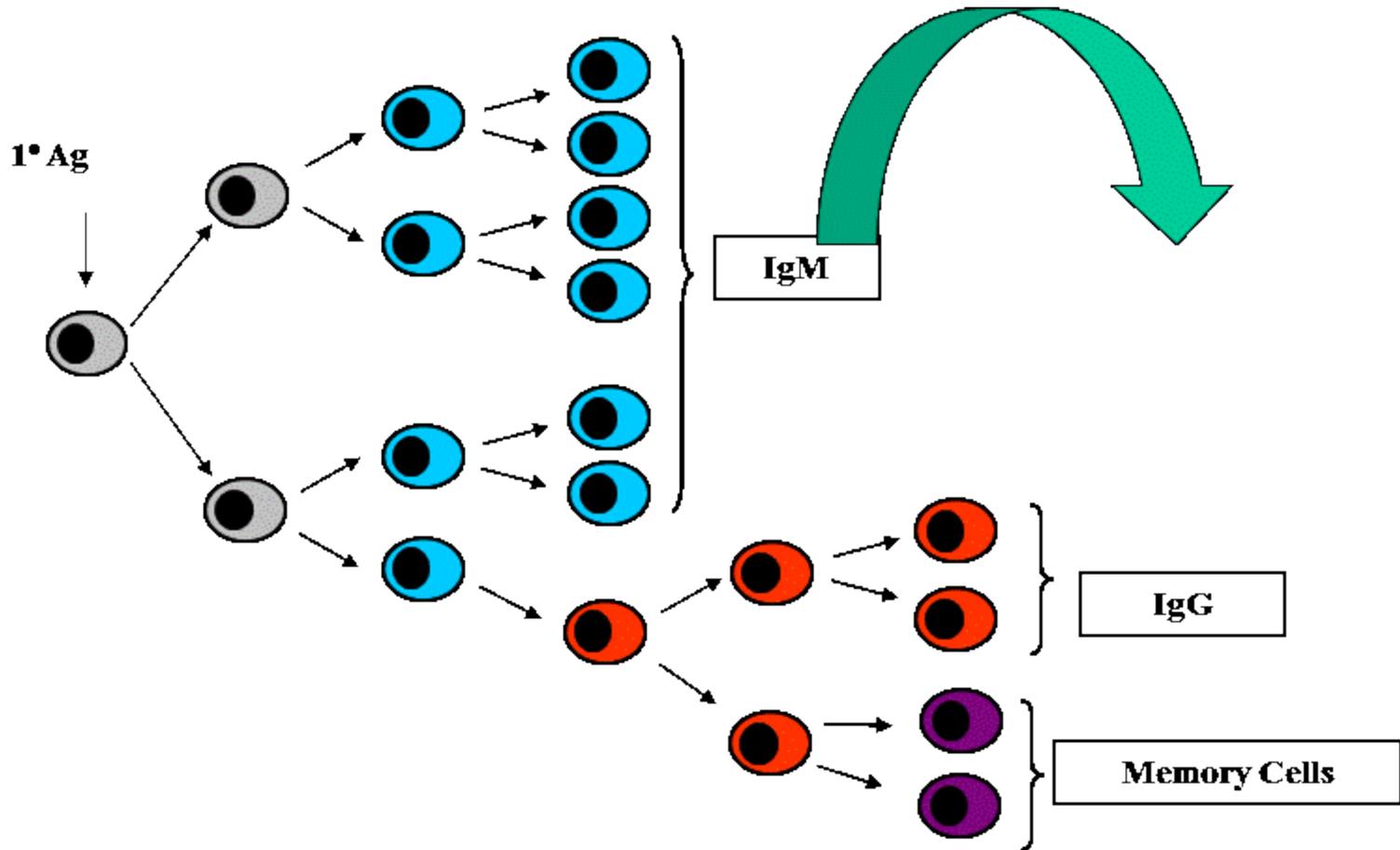
Recombinação e expressão dos genes da cadeia L e H das Ig

Relação entre Principais Genes Codificadores de cadeias H e L de Imunoglobulinas e as Regiões dessas Cadeias Polipeptídicas



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

"Switching" / Mudança de Isótipo / Classe de Ig / Ac



Indução da Produção e da Troca de Classes de Anticorpos

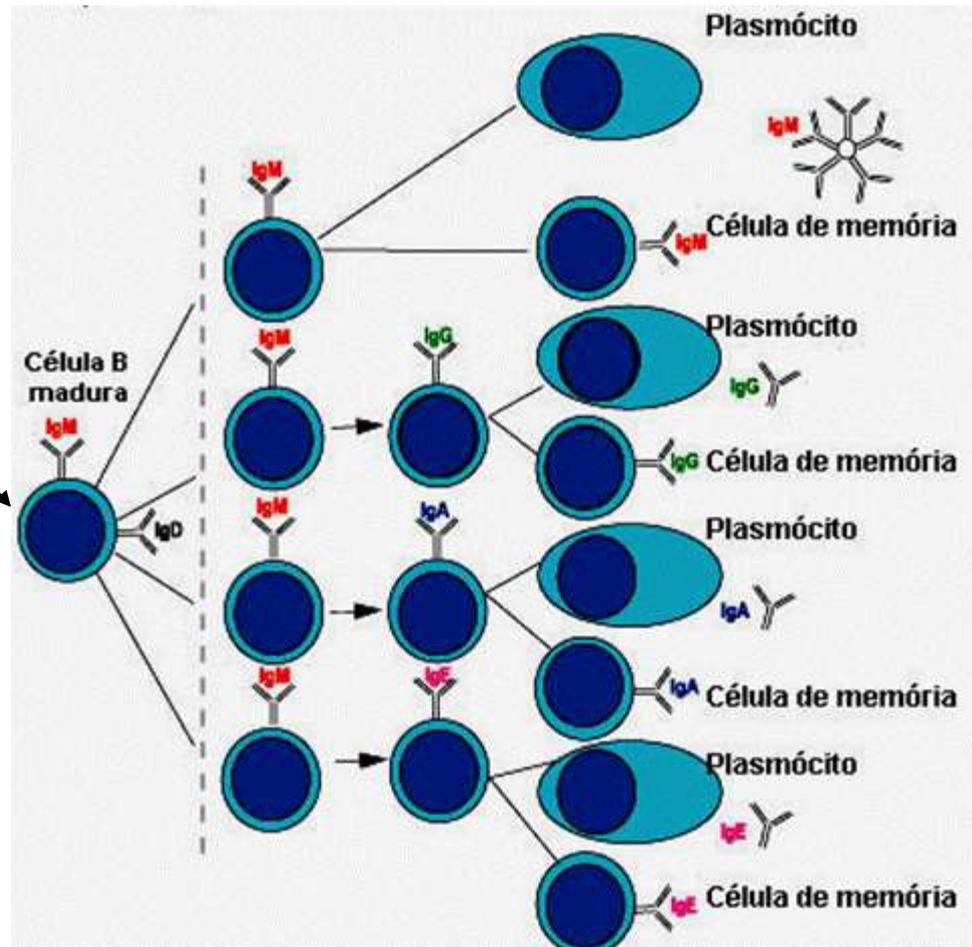
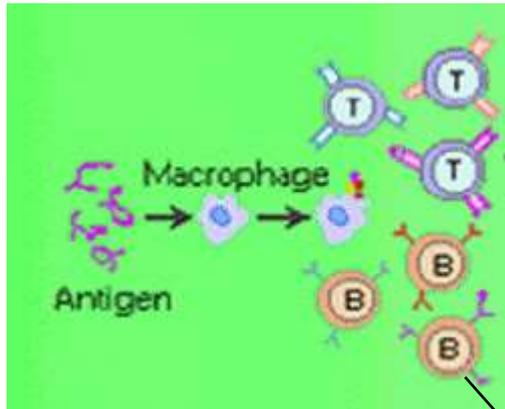
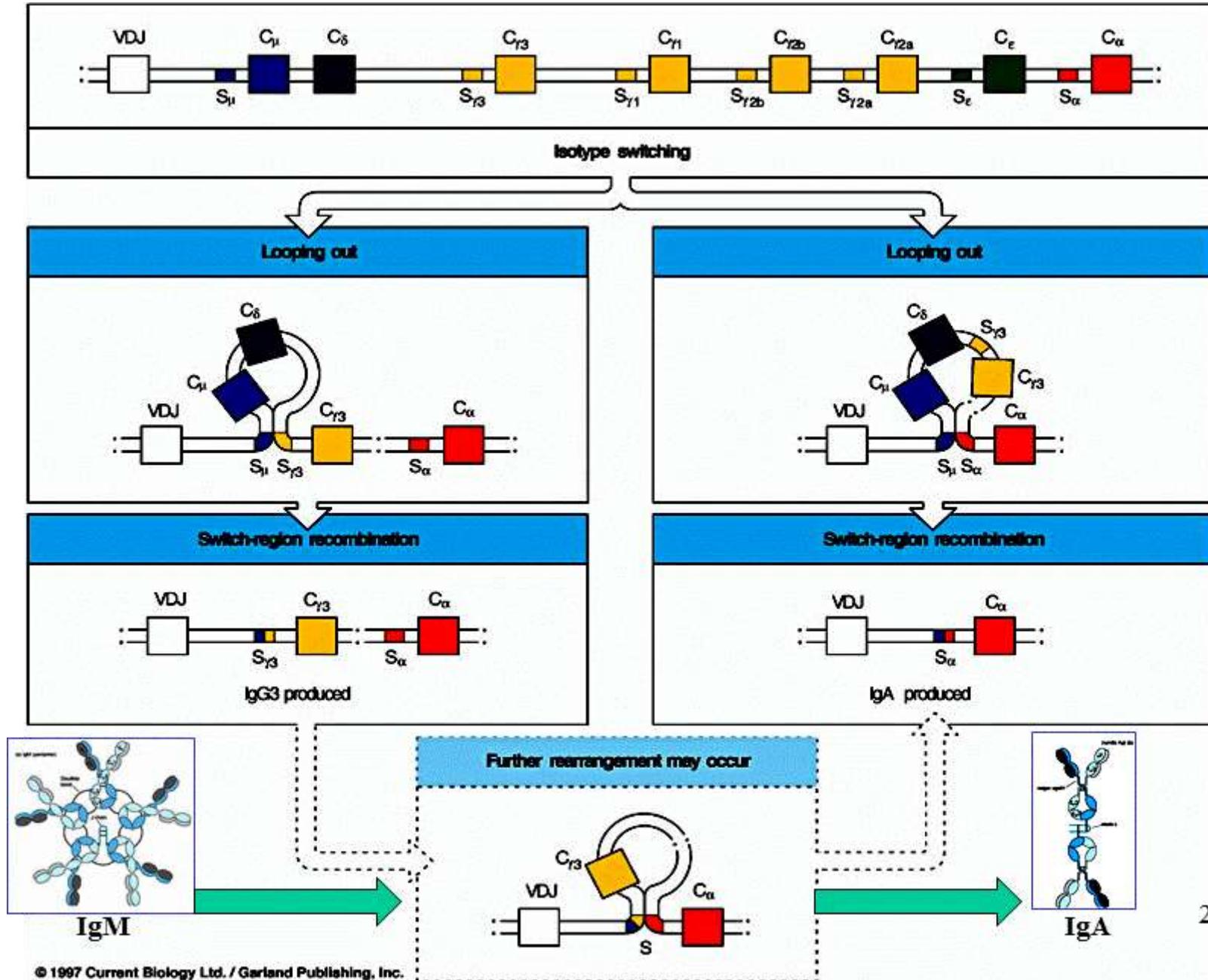


Fig. - Troca de classes (isótipos) de Igs depende de recombinação entre sinais específicos.



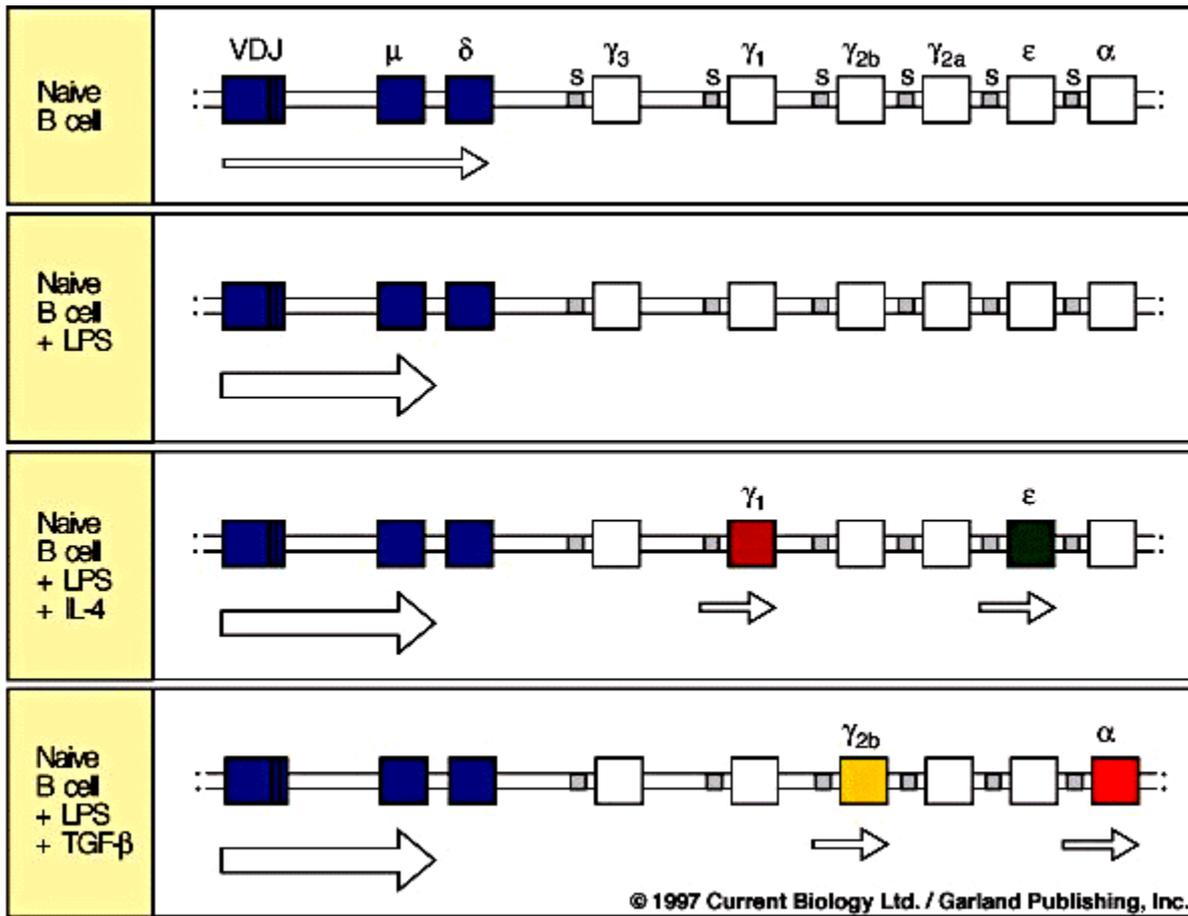


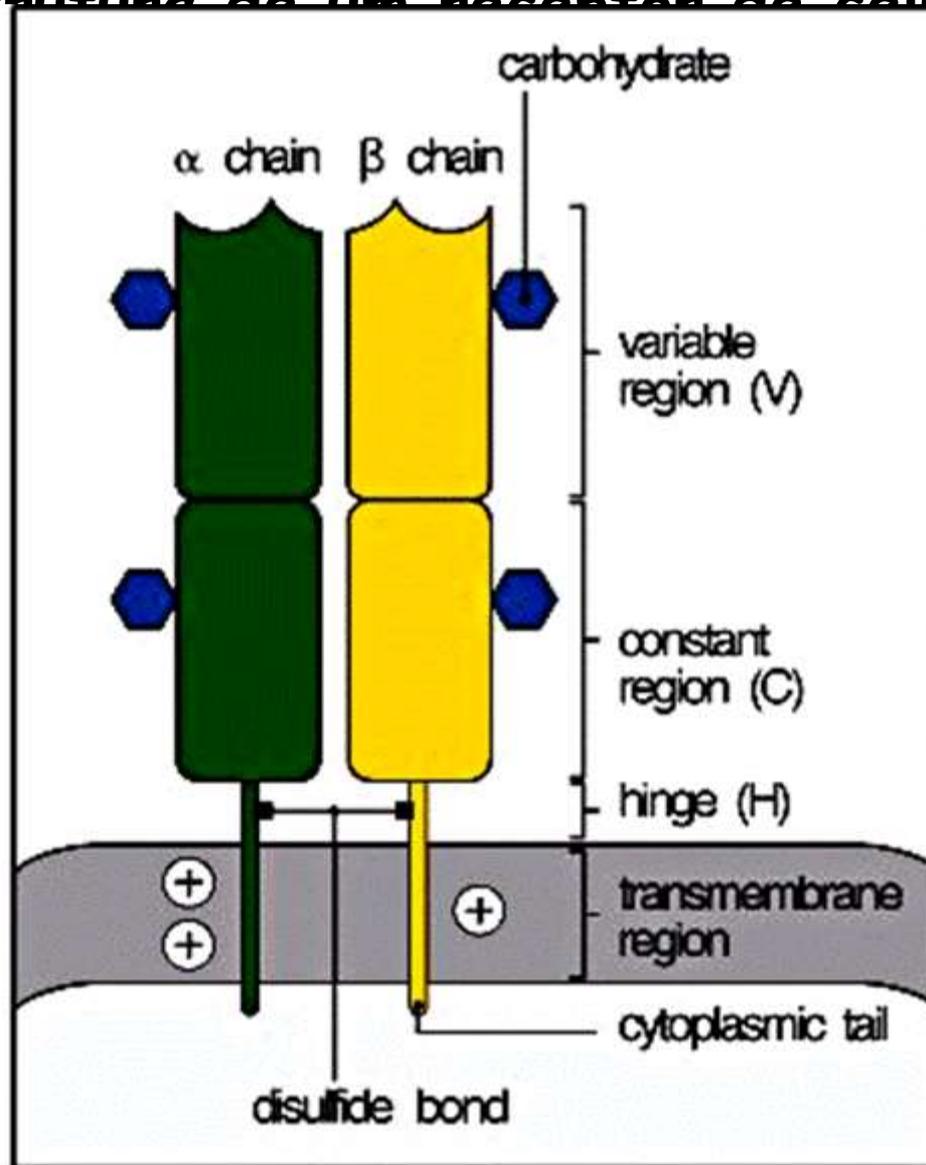
Fig. 8.9. Isotype switching is preceded by transcriptional activation of C_H genes.

Resting naive B cells transcribe the m and d loci at a low rate, giving rise to surface IgM and IgD. Bacterial lipopolysaccharide (LPS), which can activate B cells independently of antigen (see [Section 8-10](#)), induces IgM secretion. In the presence of IL-4, however, C_H1 and C_Hε are transcribed at a low rate, presaging switches to IgG1 and IgE production. The transcripts originate 5' of the region to which switching occurs, and do not code for protein. Similarly, TGF- β gives rise to C_H2b and C_Hα transcripts, and drives switching to IgG2b and IgA. It is not known what determines which of the two transcriptionally activated C_H gene segments undergoes switching. Arrows indicate transcription.

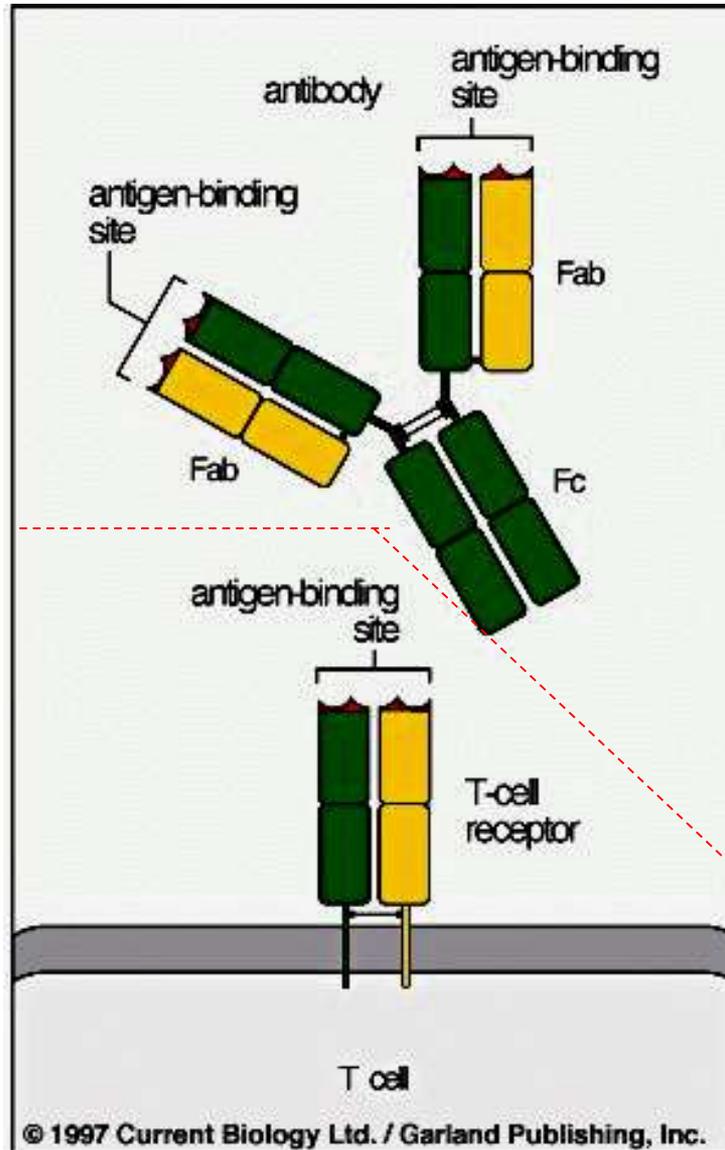
TCR -

**Receptor para
Reconhecimento de Ags
em Células T**

Estrutura de um receptor de célula T

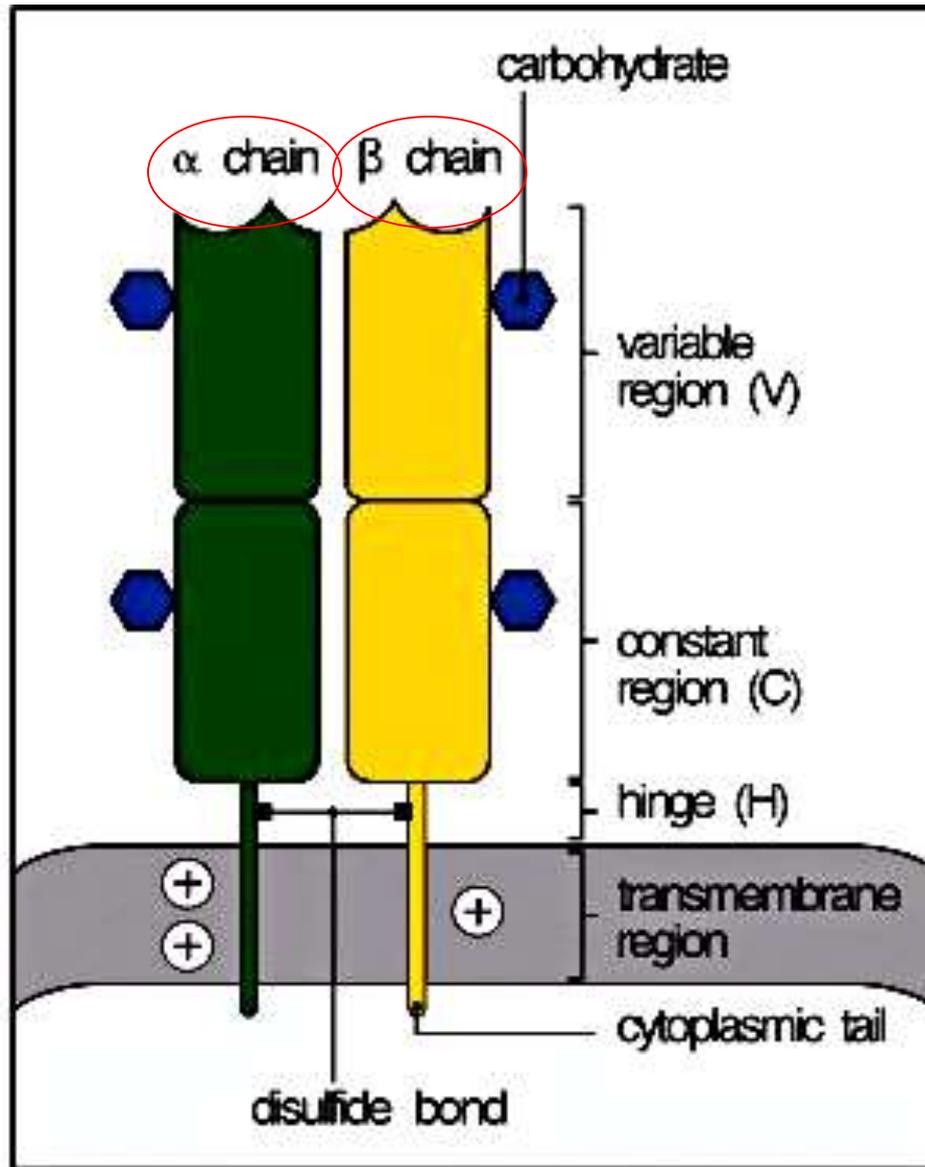


O receptor de célula T é semelhante a um fragmento Fab de imunoglobulina associado a membrana celular

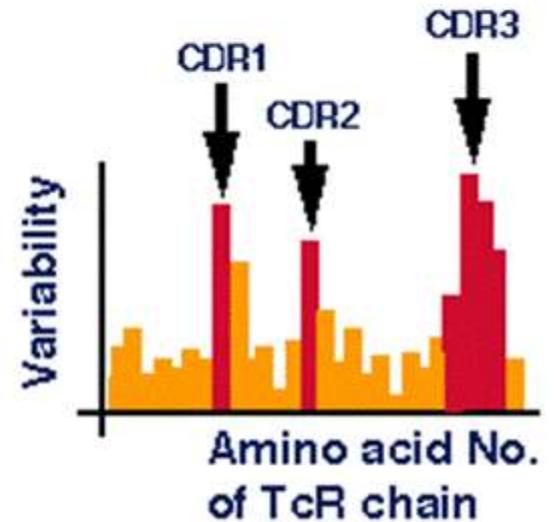
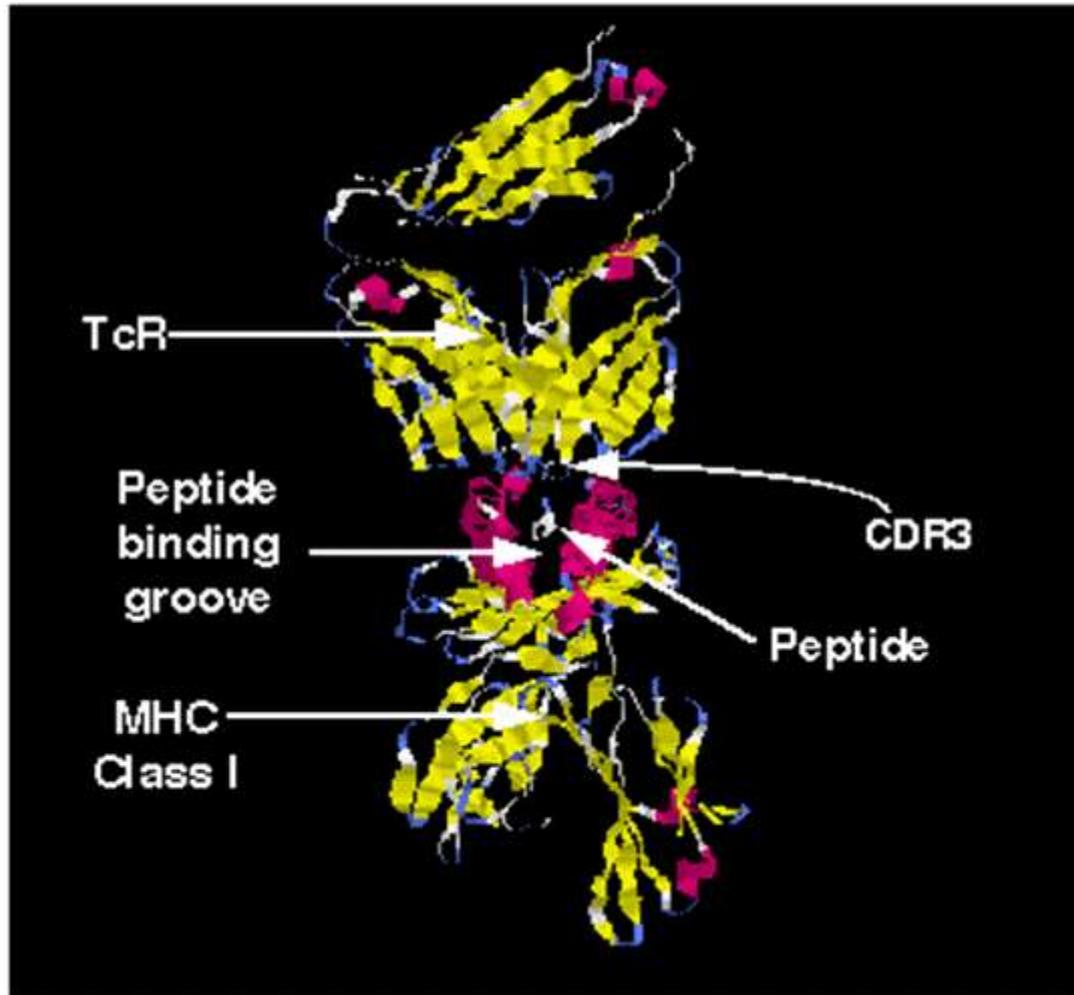


O receptor de célula T se assemelha a um fragmento Fab ligado a membrana

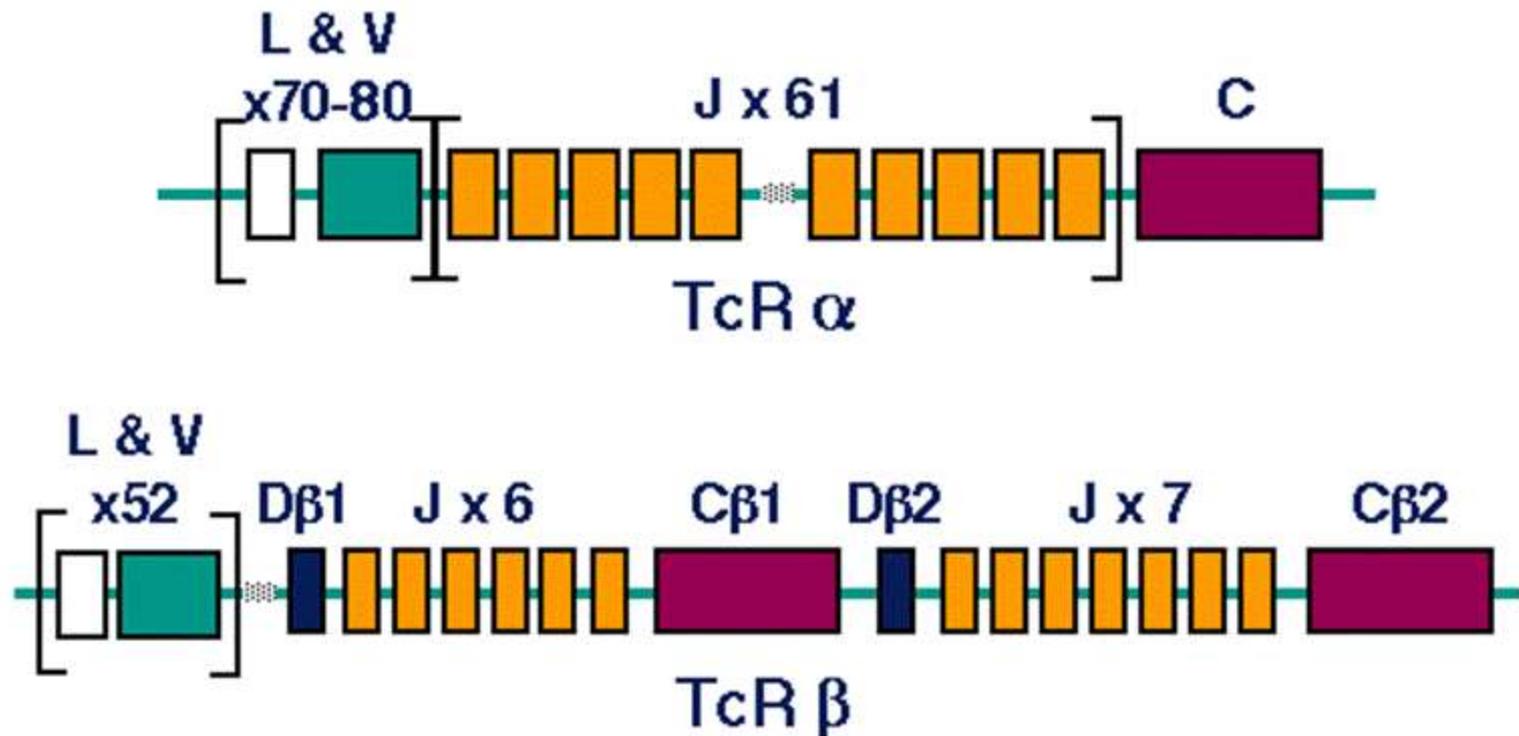
Estrutura de um receptor de célula T



TcR-MHC-peptide complex

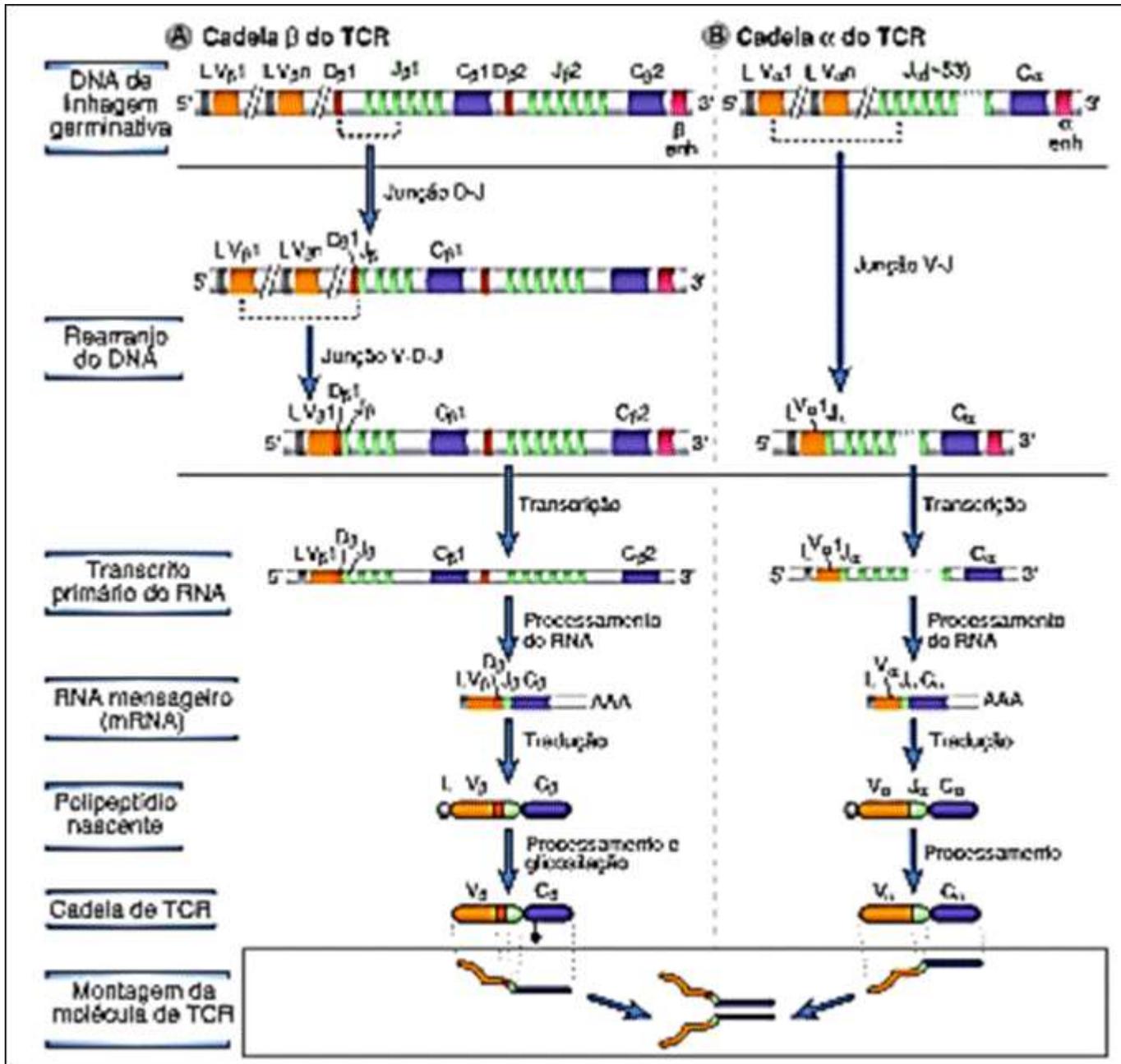


Organisation of mouse TcR genes

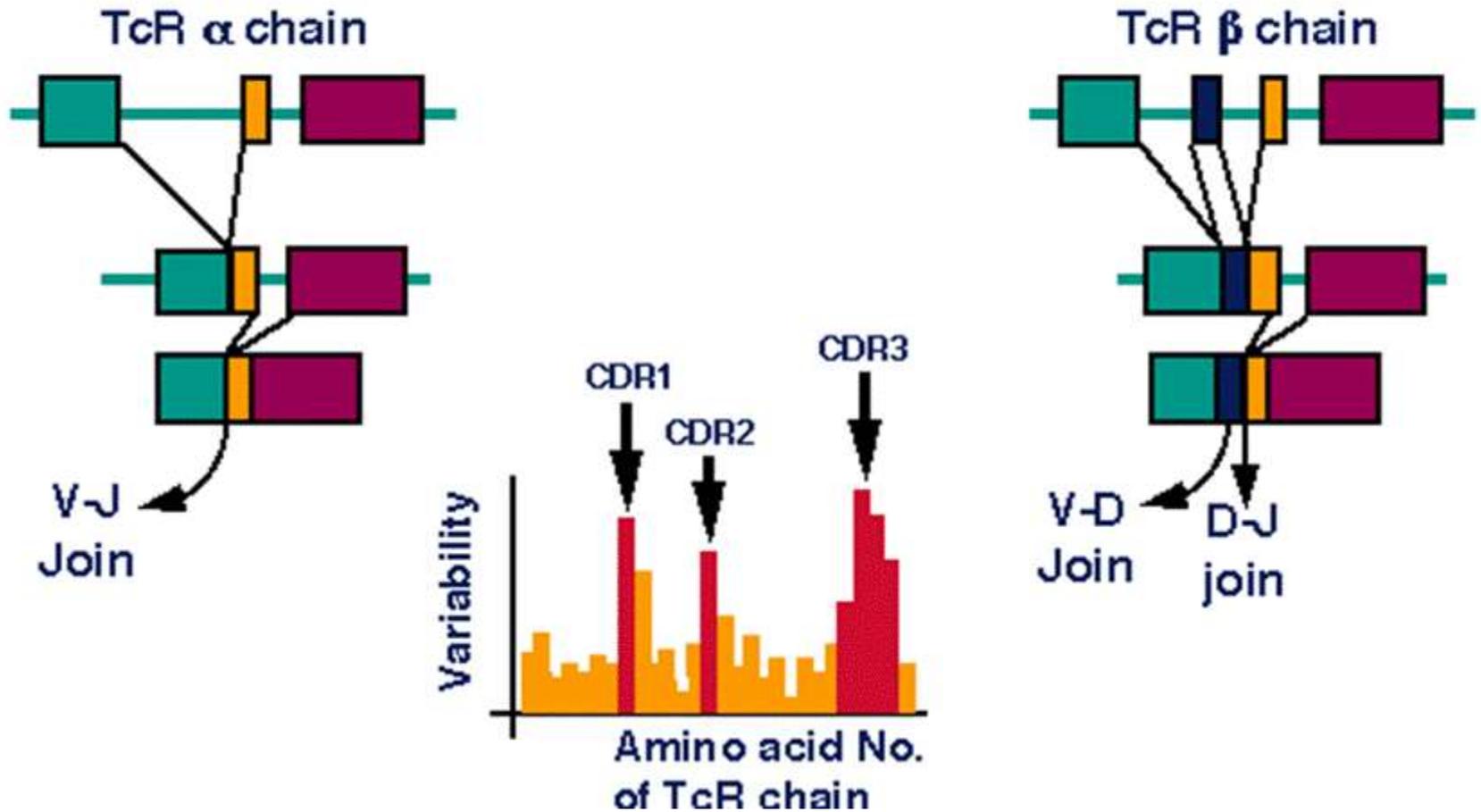


Segmentation of TcR genes into V, D, J & C
(VARIABLE, DIVERSITY, JOINING & CONSTANT)
resembles Ig genes

Genes das Cadeias α e β do TCR



Sites of junctional diversity



Números dos segmentos gênicos do receptor de célula T e suas fontes de diversidade em comparação aos receptores BCR de imunoglobulinas nos seres humanos.

Elemento	Imunoglobulina		Receptores de células T $\alpha:\beta$	
	H	$\kappa+\lambda$	β	α
Segmentos variáveis (V)	40	70	52	~70
Segmentos de diversidade (D)	25	0	2	0
Segmentos D lidos em três fases	Raramente	-	Frequentemente	-
Segmentos de junção (J)	6	5(κ) 4(λ)	13	61
Junções com nucleotídeos N e P	2	50% das junções	2	1
Número de pares de genes V	1,9 x 10 ⁶		5,8 x 10 ⁶	
Diversidade juncional	~3 x 10 ⁷		~2 x 10 ¹¹	
Diversidade total	~5 x 10 ¹³		~10 ¹⁶	

Complexo Principal de Histocompatibilidade - CPH / MHC

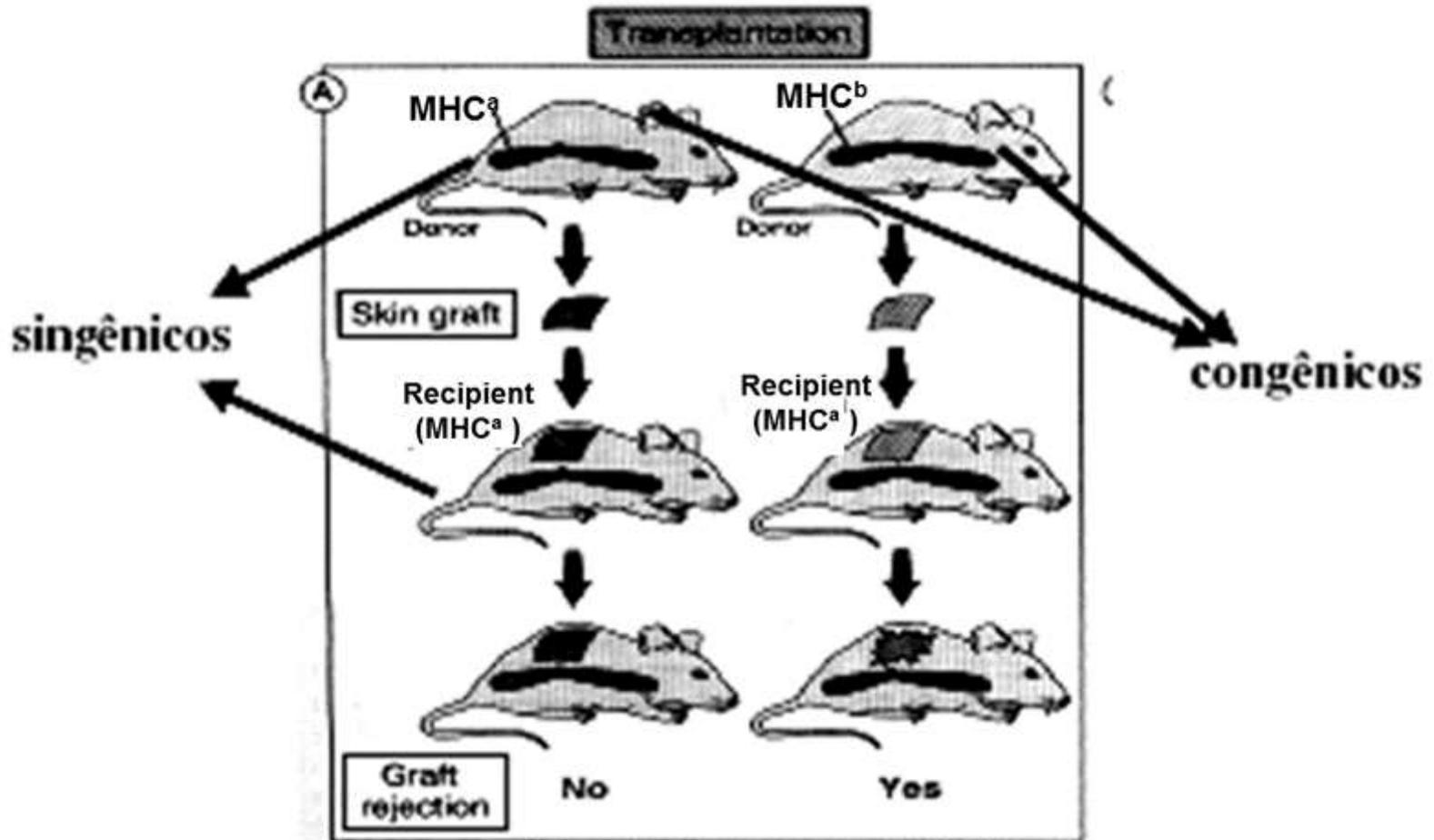
Complexo Principal de Histocompatibilidade -MHC

- Descoberta
- Histórico

Inbred strains of mice



A DESCOBERTA DO MHC DE CAMUNDONGO- George Snell e colaboradores- 1940



Base Genética das Reações de Rejeição de Transplantes

Linhagens de camundongos isogênicos – todos os genes são idênticos!

O transplante de enxertos de pele entre linhagens de camundongos demonstram que a rejeição ou aceitação é dependente da genética de cada linhagem

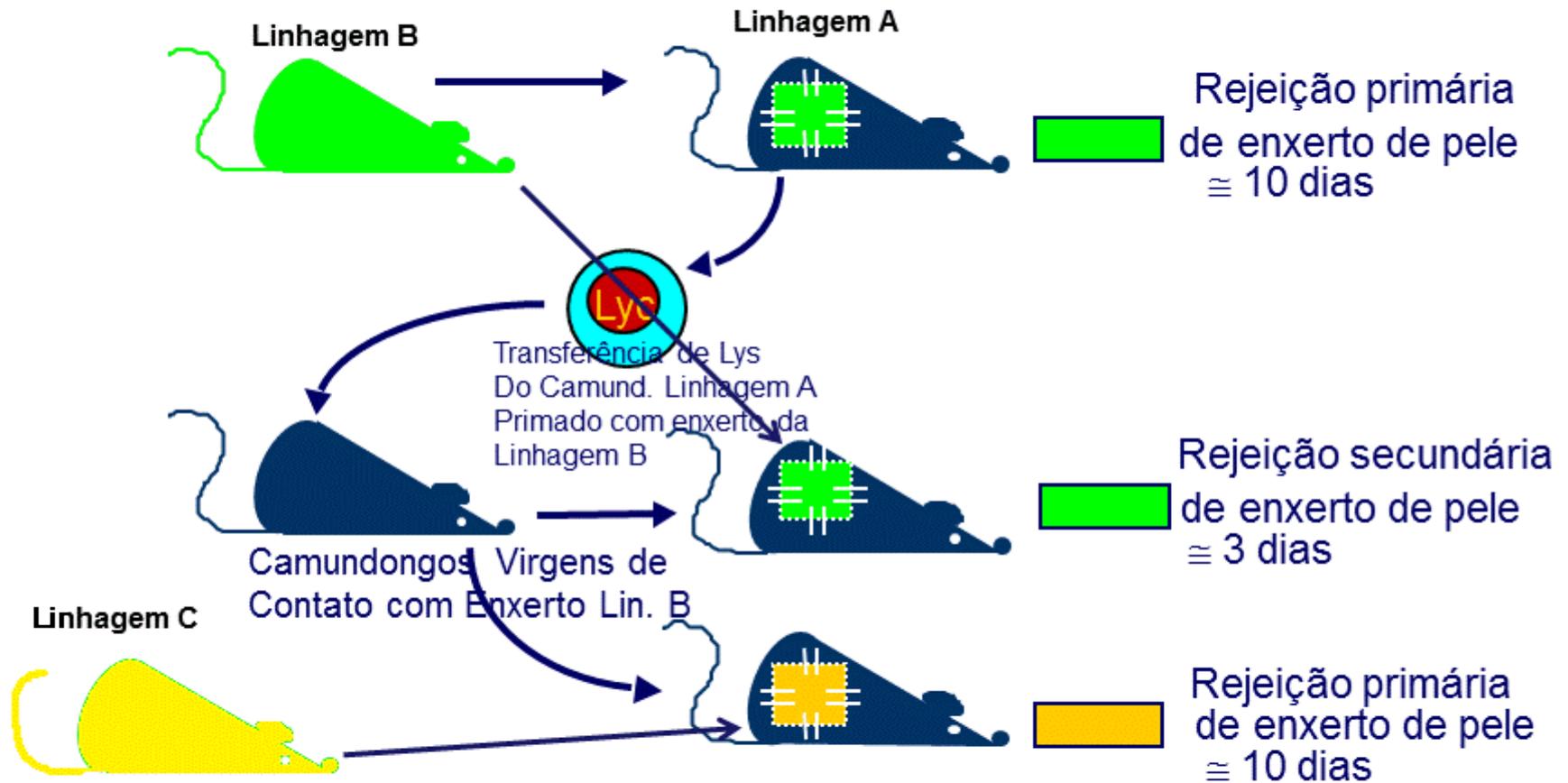


Enxerto de pele de uma linhagem isogênica (A) é transplantado para um camundongo da mesma linhagem (A)



Enxerto de pele de uma linhagem isogênica (B) é transplantado para um camundongo de uma linhagem geneticamente diferente (A)

Base Imunológica das Reações de Rejeição de Transplantes

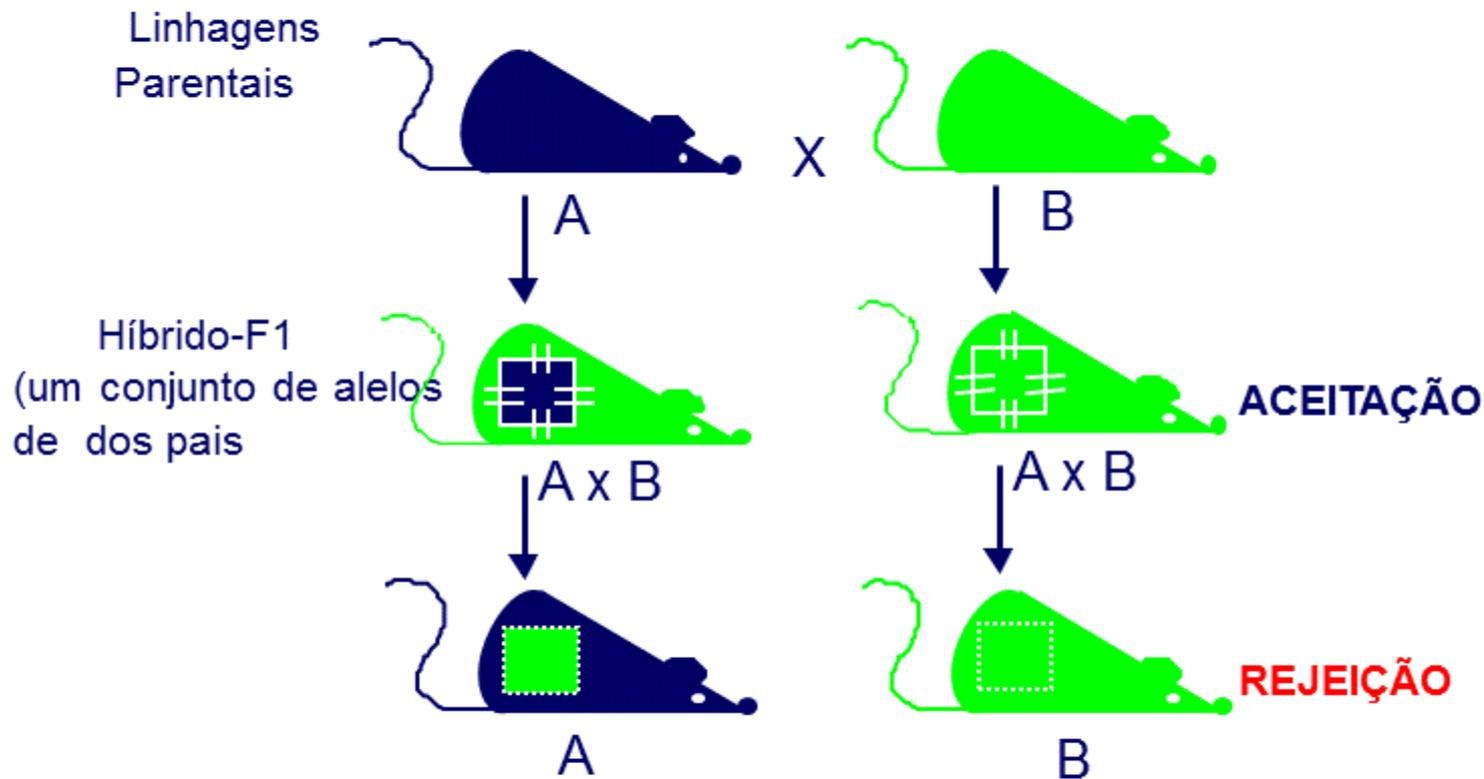


A rejeição a transplantes é mediada por respostas imunes Ag-específicas
Com o desenvolvimento de memória imunológica.

CONCLUSÕES

- O RECONHECIMENTO DE UM ENXERTO COMO PRÓPRIO OU ESTRANHO É UMA CAPACIDADE – GENÉTICA
2. O GENE RESPONSÁVEL FOI CHAMADO DE GENE DE HISTOCOMPATIBILIDADE
 3. GENE DE HISTOCOMPATIBILIDADE LIGADO AO ANTÍGENO POLIMÓRFICO II - CROMOSSOMA 17 → H-2 EM CAMUNDONGOS.

Immunogenética da Reação de Rejeição de Enxertos



Camundongos F1 (A x B) são tolerantes a enxertos de pele de A ou de B
Enxertos de pele de animais (A x B) apresentam Ags que são reconhecidos como estranhos pelas linhagens parentais (A ou B)

Major Histocompatibility Complex – MHC

Complexo Principal de Histocompatibilidade

Em camundongos o MHC é chamado H-2

Animais (Receptor e Doador) de Linhagens idênticas em H-2 não desenvolvem reação de rejeição de enxertos de pele, enquanto que Animais de Linhagens diferentes em H-2 desenvolvem reação de rejeição de enxertos de pele.

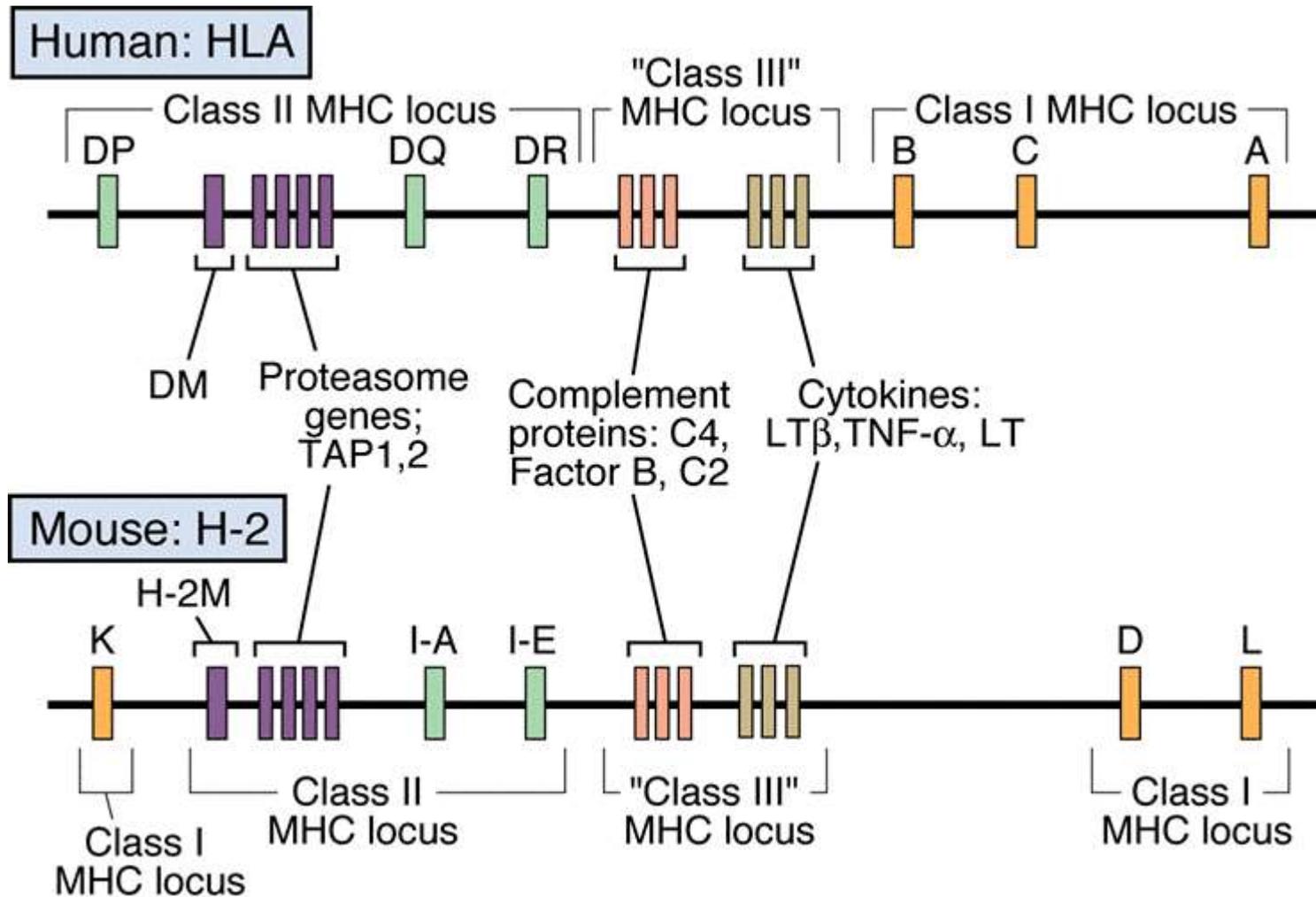
Em humanos o MHC é chamado Antígeno de Leucócitos Humanos
- HLA

Somente gêmeos monozigóticos humanos têm idênticos HLA

A população humana é extensivamente heterozigota

A genética do MHC em humanos é extremamente complexa

Os genes do locus MHC



Os Genes no loci MHC codificam a maioria das proteínas que fazem parte da maquinaria do processamento e apresentação de Ags.

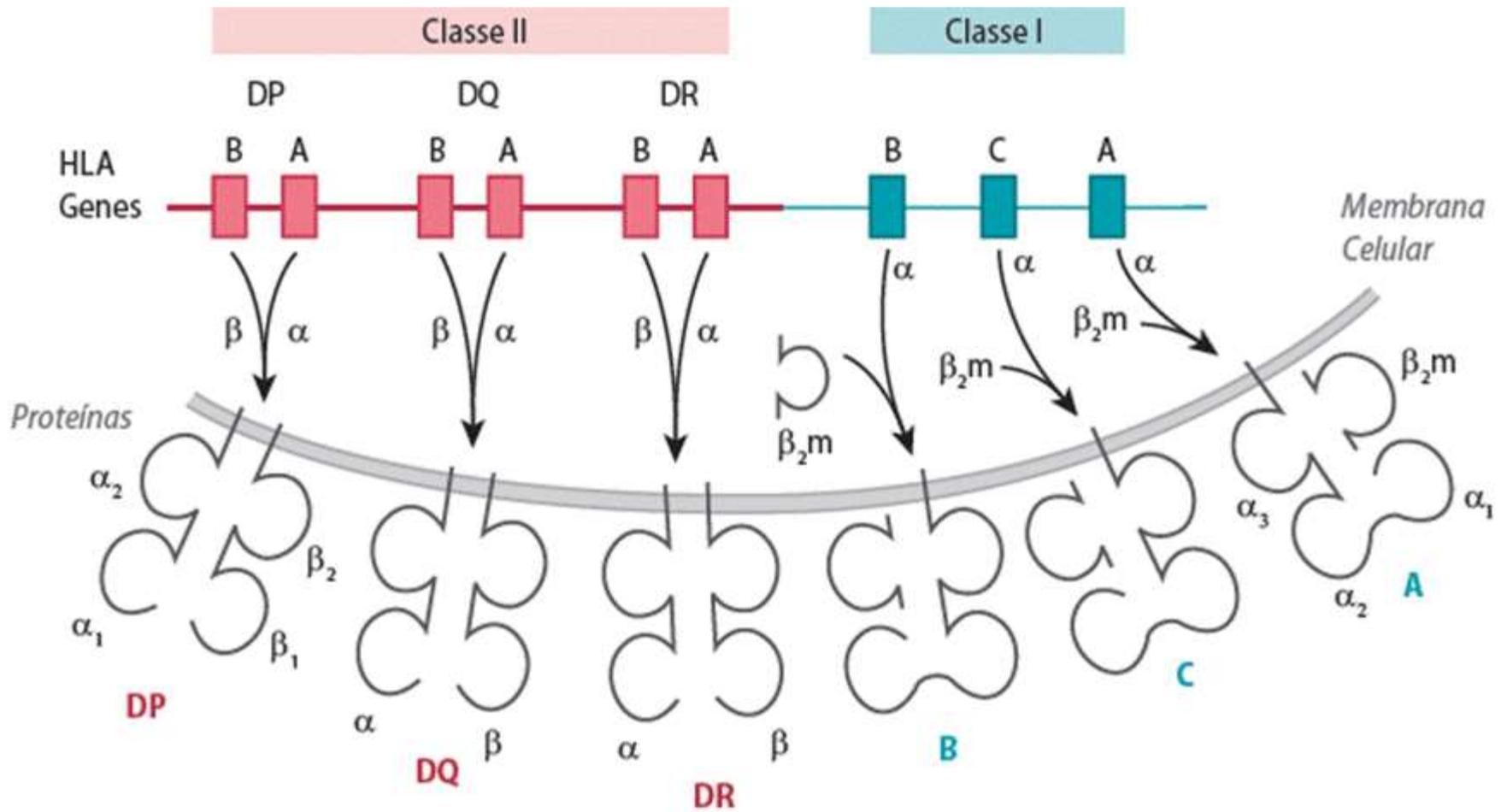
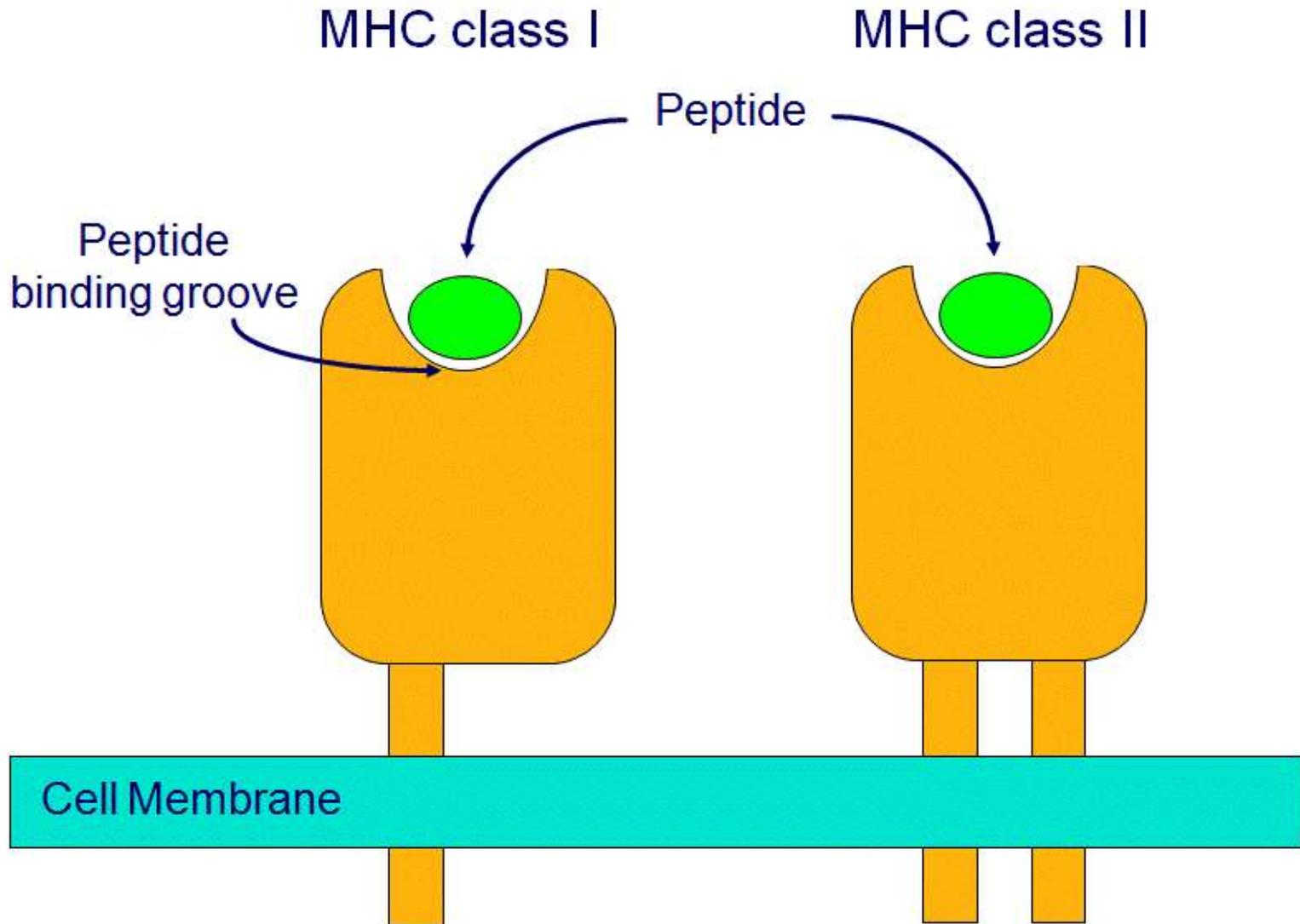
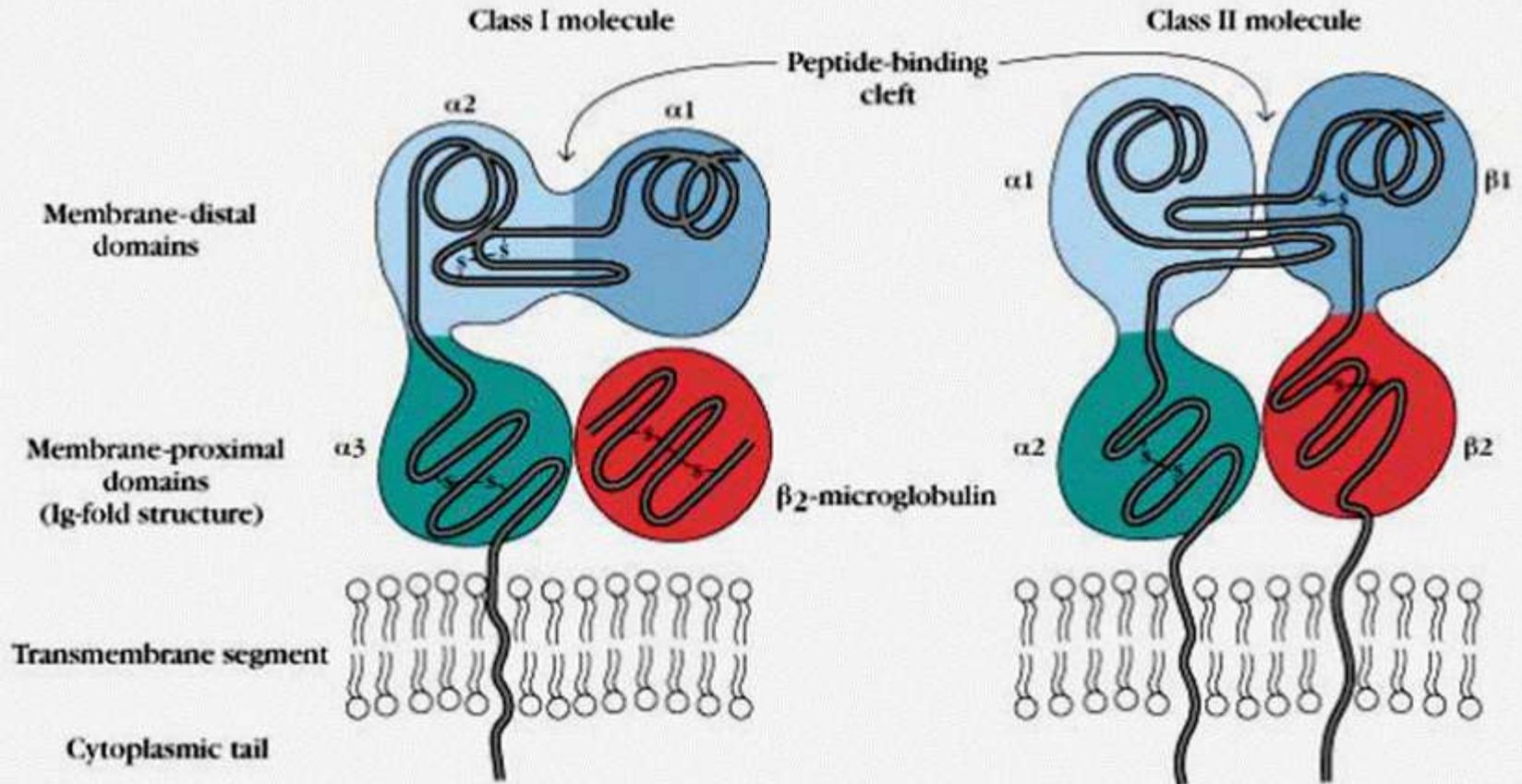


Figura 4.7 – Representação esquemática do MHC humano. (Adaptado de COICO e SUNSHINE, 2009, p. 119).

MHC molecules



MHC class I and class II Molecules



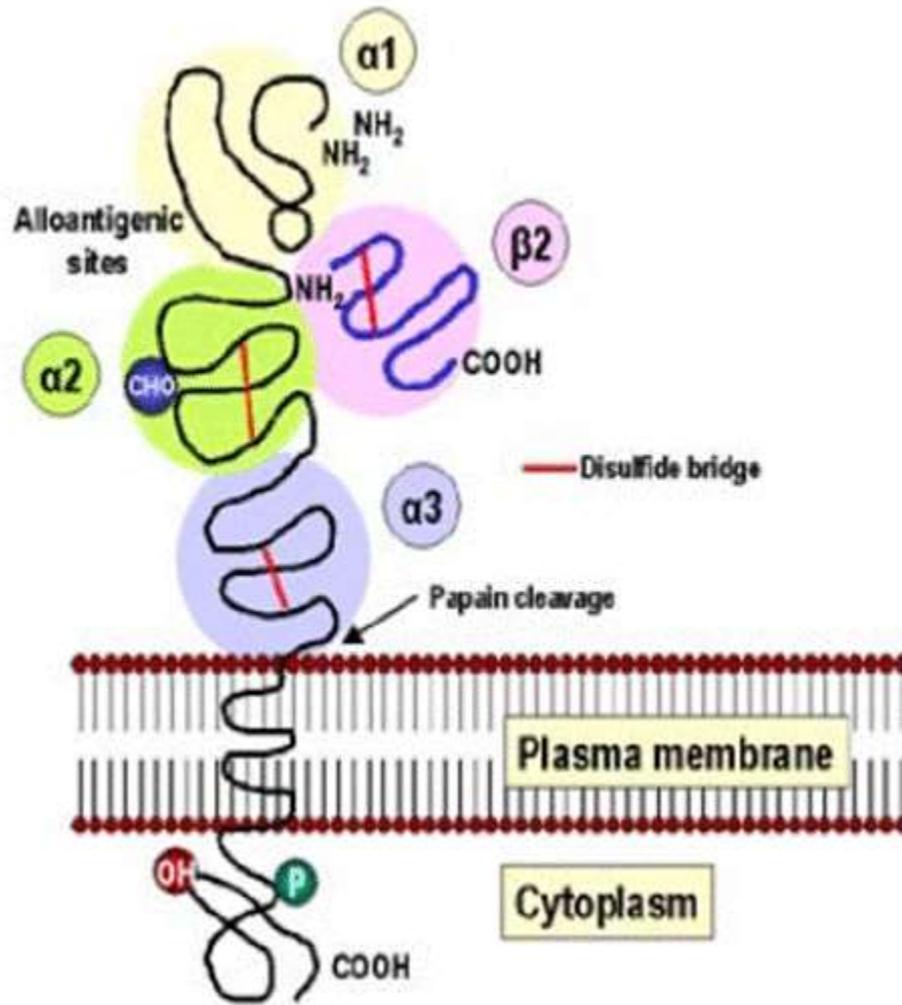
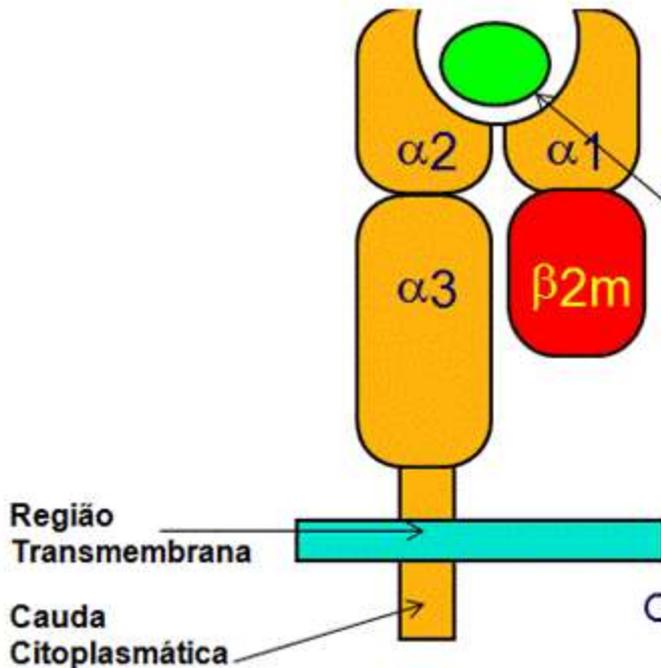


Fig. - Estrutura Molecular do MHC de Classe I

Estrutura Geral das Moléculas de MHC de classe I



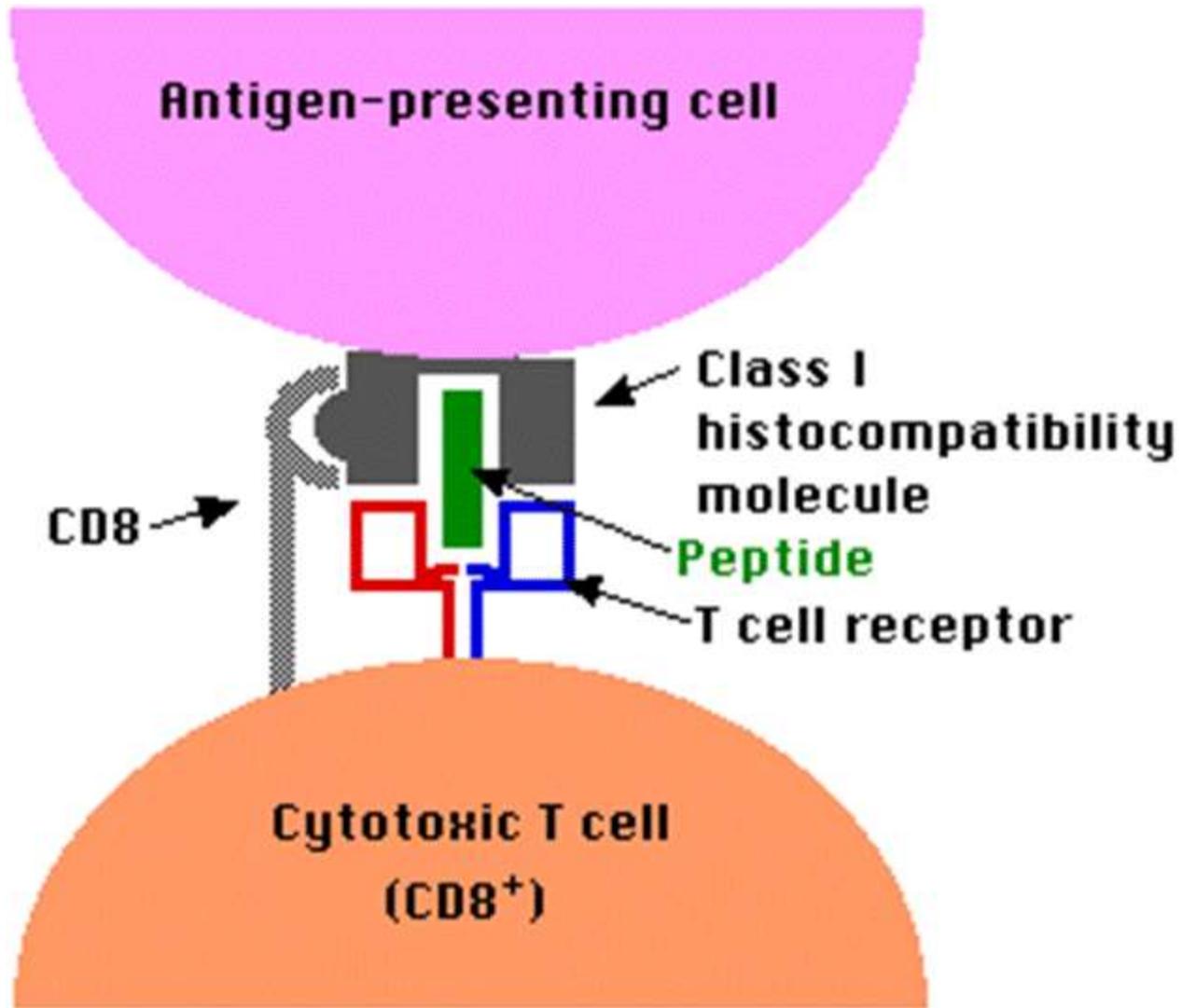
Cadeia α de 43kDa codificada pelo MHC

Cadeia α está ancorada na membrana celular

Peptídeo antigênico presente em uma fenda formada por um par de α -hélices no assoalho β -folhas anti-paralelas

β 2-microglobulin, tem 12kDa, não codificada pelo MHC não-tem parte transmembrana, não covalentemente ligada a cadeia α

Os domínios α 3 & β 2m apresentam homologia estrutural e na Sequência de aminoácidos com os domínios C de Igs
SUPERFAMILIA - GENE de Ig



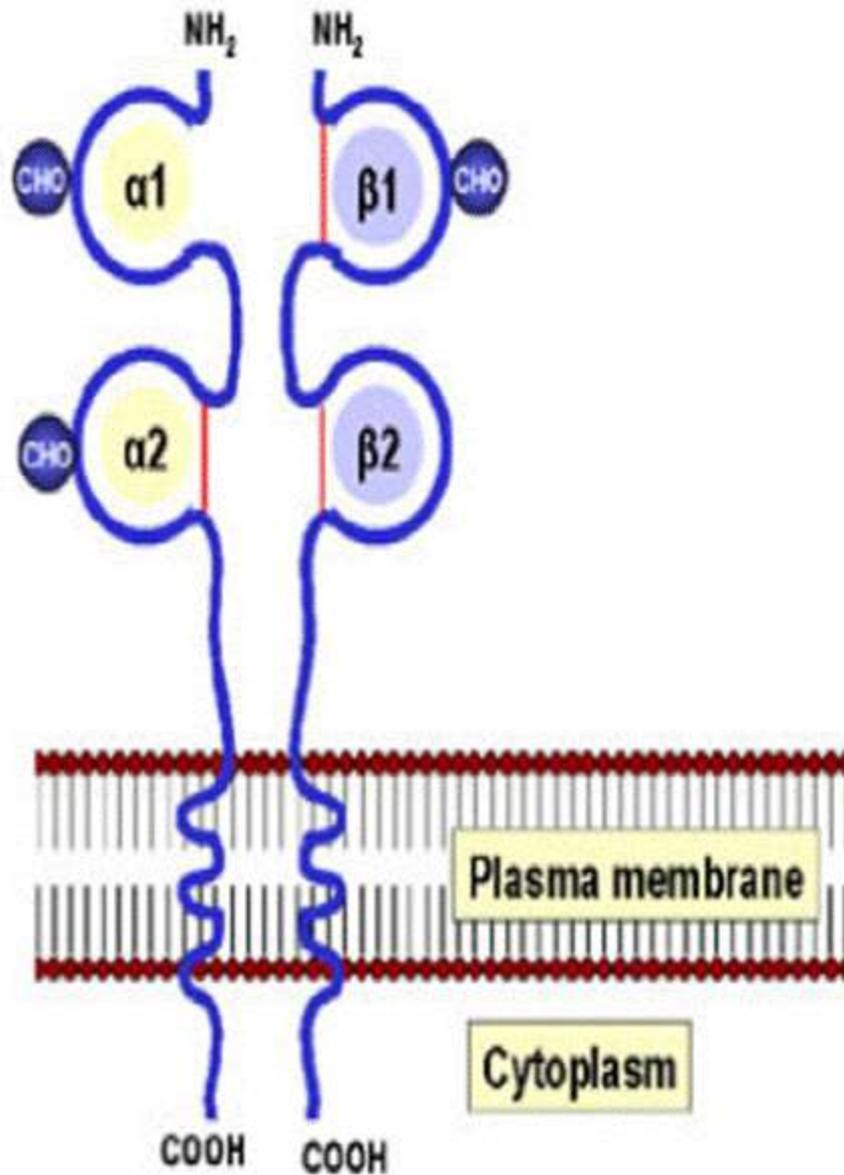
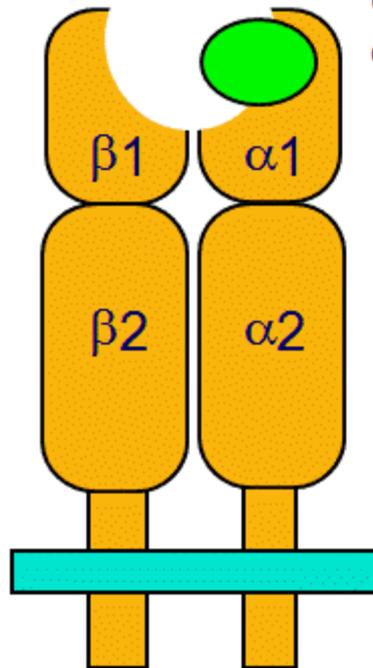


Fig. - Estrutura Molecular do MHC de Classe II

Estrutura Geral das Moléculas de MHC de classe II



Cadeia α com 34kDa e cadeia β com 29 kDa codificadas pelo MHC-II

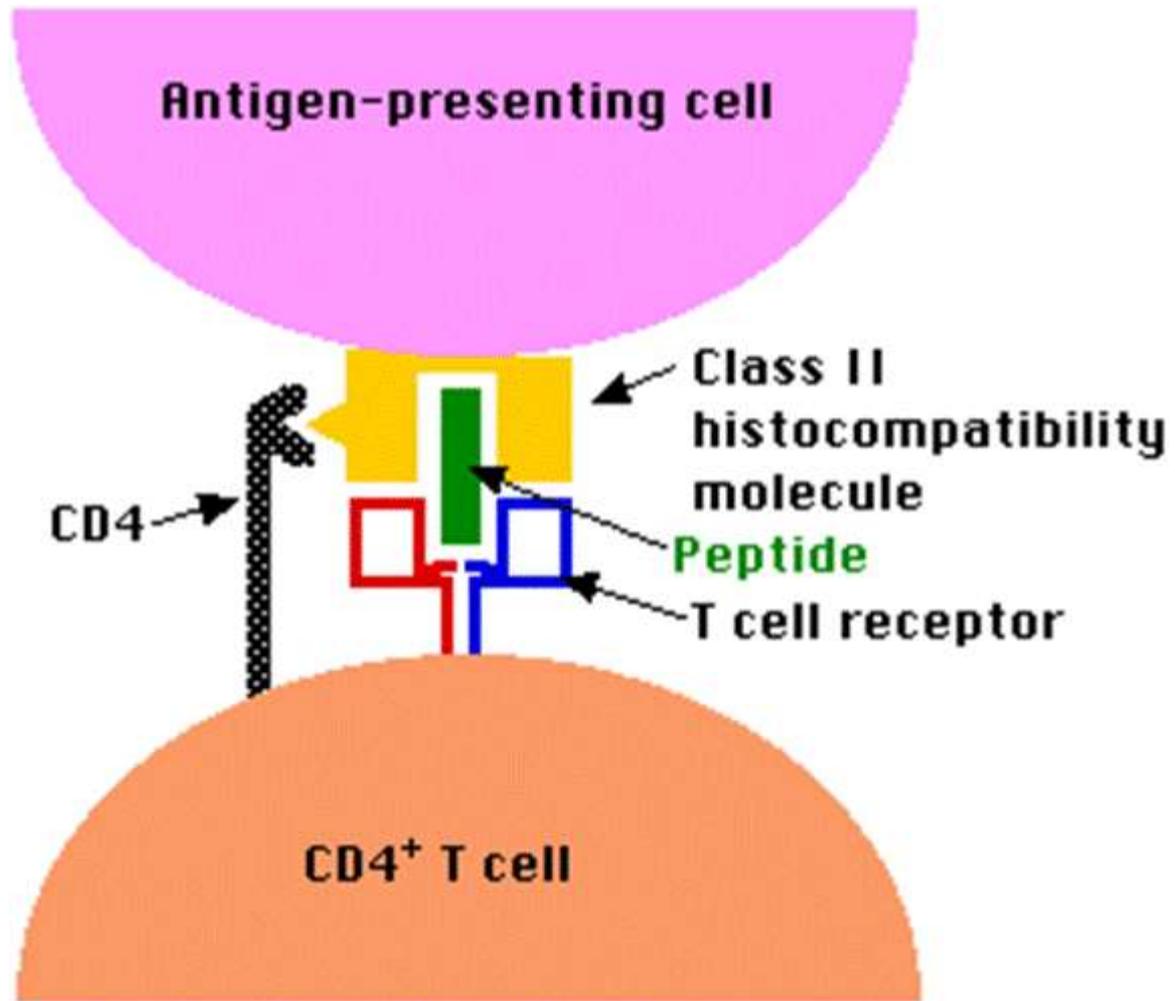
As cadeias α e β estão ancoradas na membrana celular

Não há β 2-microglobulina

Peptídeo antigênico presente em uma fenda formada por um par α -hélices no assoalho de estruturas em β -folha anti-paralela

Os domínios α 2 e β 2 apresentam homologia estrutural e na Sequência de aminoácidos com os domínios de Ig

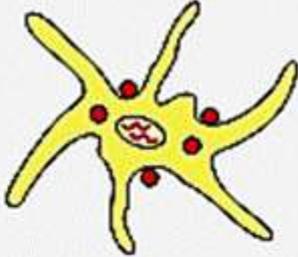
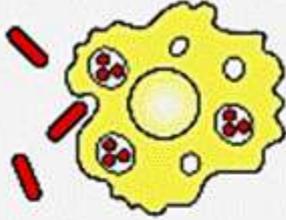
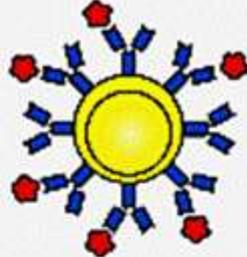
SUPERFAMÍLIA GENE Ig



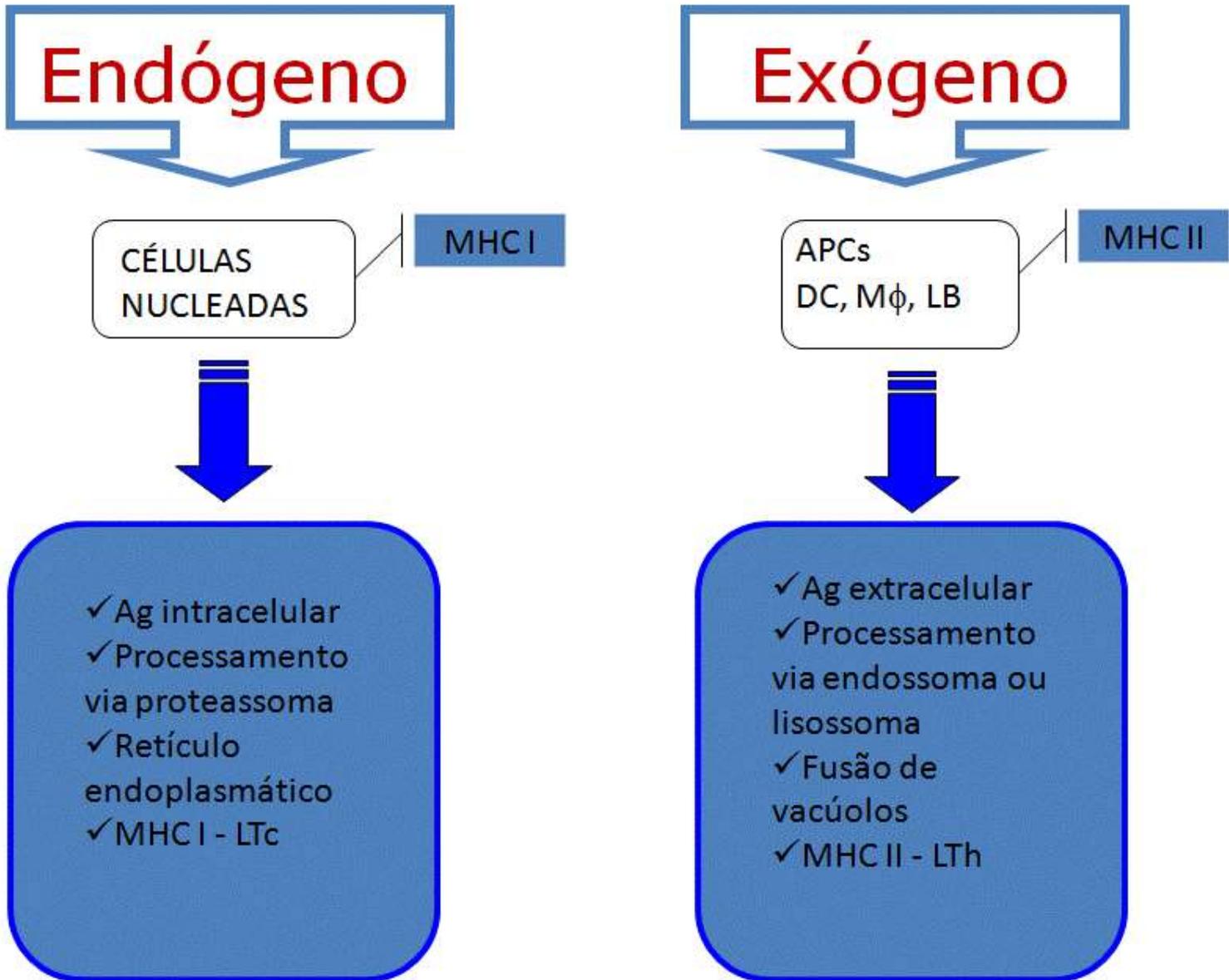
A EXPRESSÃO DAS MOLÉCULAS DO MHC DIFERE ENTRE OS TECIDOS.

Tecido	MHC de classe I	MHC de classe II
Tecidos linfoides		
Células T	+++	+*
Células B	+++	+++
Macrófagos	+++	++
Células dendríticas	+++	+++
Células epiteliais do timo	+	+++
Outras células nucleadas		
Neutrófilos	+++	-
Hepatócitos	+	-
Células renais	+	-
Células nervosas (cérebro)	+	-†
Células não-nucleadas		
Hemácias	-	-

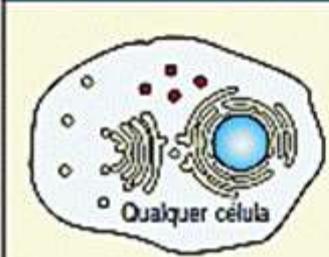
Células Apresentadoras Profissionais de Ags

	Células dendríticas	Macrófagos	Células B
			
Aquisição de antígeno	+++ Macropinocitose e fagocitose por células dendríticas teciduais, infecção viral	Fagocitose	Receptor antígeno-específico (Ig) ++++
Expressão do MHC	Baixa nas células dendríticas teciduais, alta nas células dendríticas dos tecidos linfóides	Induzível por bactérias e citocinas - para +++	Constitutiva; aumenta com a ativação +++ para ++++
Fornecimento de coestimulo	Constitutiva por células dendríticas linfóides não-fagocíticas maduras	Induzível - para +++	Induzível - para +++
Antígeno apresentado	Peptídeos, antígenos virais, alérgenos	Antígenos particulados e patógenos intra e extracelulares	Antígenos solúveis, toxinas, vírus
Localização	Ubíqua pelo corpo	Tecido linfóide, tecido conjuntivo, cavidades corporais	Tecido linfóide, sangue periférico

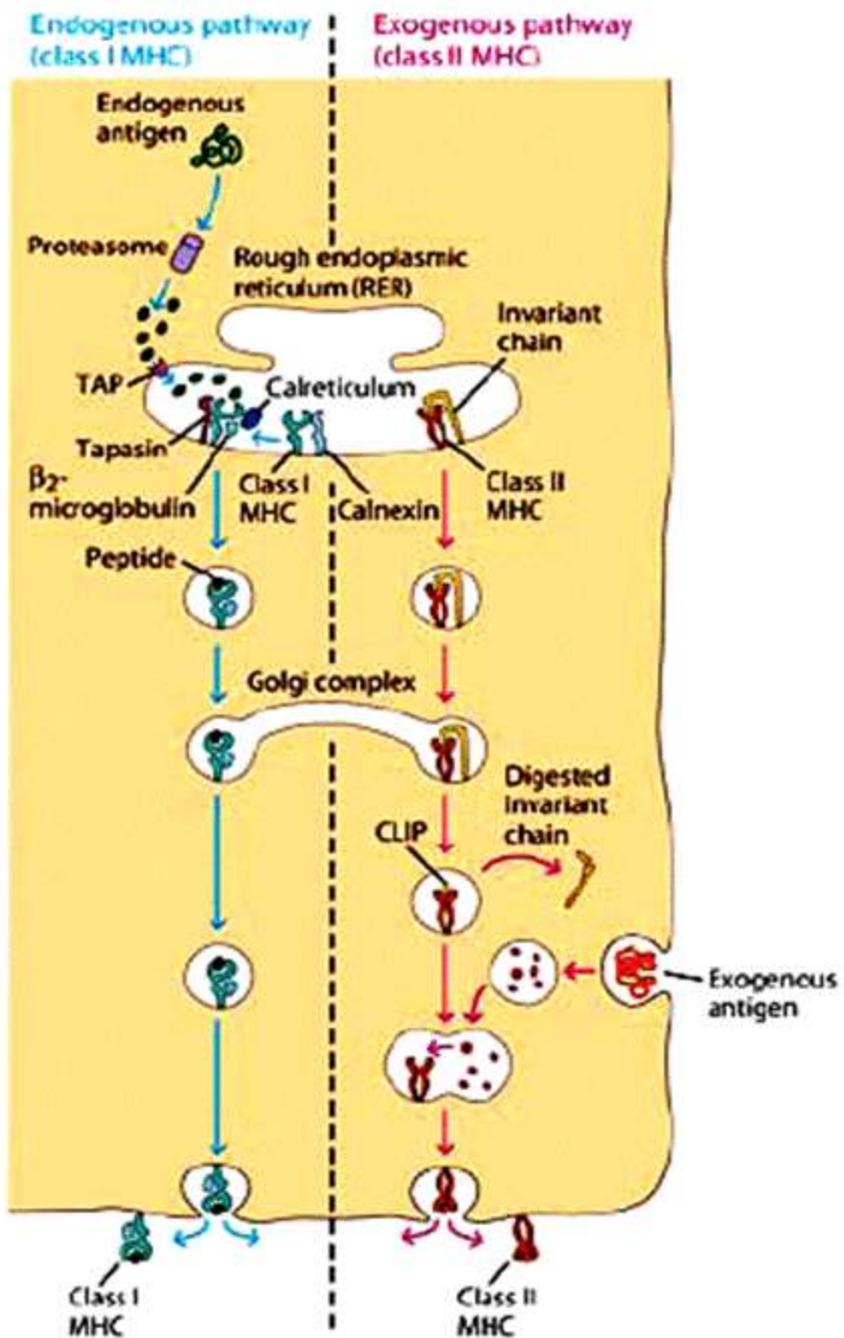
Processamento do Ag



Patógenos e seus Ags podem ser encontrados nos Compartimentos Citosólico (Patógeno Endógeno) ou Vesicular (Patógenos Exógenos) das Células Apresentadoras de Ags

	Patógenos citosólicos	Apresentação cruzada de antígenos exógenos	Patógenos intravesiculares	Patógenos e toxinas extracelulares
				
Degradado no	Citosol	Citosol (por retrotranslocação)	Vesículas endocíticas (baixo pH)	Vesículas endocíticas (baixo pH)
Peptídeos ligam-se a	MHC de classe I	MHC de classe I	MHC de classe II	MHC de classe II
Apresentado a	Células T CD8 efetoras	Células T CD8 virgens	Células T CD4 efetoras	Células T CD4 efetoras
Efeito sobre a célula apresentadora	Morte celular	A célula apresentadora, normalmente uma célula dendrítica, ativa a célula T CD8	Ativação para destruir bactérias e parasitas intravesiculares	Ativação de células B para a secreção de Ig para eliminação de bactérias e toxinas extracelulares

Demarcation between MHC class I and class II Processing Pathways



RESUMO - MHC

- A rejeição a transplantes ocorre como resultado de respostas imunes anti-MHC.
- O MHC foi descoberto em experimentos com linhagens isogênicas de camundongos.
- As Cels. T reconhecem antígenos no contexto das moléculas do MHC.
- As moléculas de MHC se ligam a antígenos peptídicos.
- A estrutura das moléculas de MHC está diretamente relacionada a suas funções na apresentação de antígenos para o TCR dos Linfócitos T.
- Polimorfismo e poligenismo nos genes e moléculas do MHC garante uma grande diversidade e uma maior capacidade de resistência / sobrevivência entre a população de organismos hospedeiros contra os mecanismos de virulência ou de evasão de um grande diversidade de agentes infecciosos.