

# Lidská imunogenetika a její aplikace.

Marie Klumplerová

# INTERAKCE HOSTITEL VS. PATOGEN

- Vyrovnání se s možnostmi patogenů:
  - Diferenciace imunitního systému, rozvoj komplexních imunitních reakcí
  - Lymfocyty – schopnost rychle se množit a do jisté míry se geneticky měnit v průběhu života
  - Fyzikální x chemické bariéry, přítomnost/absence receptorů
  - Etologické charakteristiky

# IMUNITNÍ ODPOVĚĎ

- Mimořádně komplikovaný jev
- Udržení stálosti vnitřního prostředí
- Rozpoznání škodlivého od neškodného (vlastního x cizího)
- Ochrana proti poškození zevního i vnitřního původu
  
- Účastní se: proteinové faktory (komplementová kaskáda, protilátky, cytokiny) a populace buněk (fagocyty, T a B lymfocyty, antigen prezentující buňky, plazmatické buňky, NK buňky, ...)
  
- Vznik a diferenciací buněčných populací a jejich vzájemné interakce – geneticky založené

# IMUNITNÍ ODPOVĚĎ

- Vrozená x získaná
- Humorální x buněčná
- Vrozená
  - Kůže, sliznice
  - Mechanická obrana (pohyb řasinek, kašel, průjem, ..)
  - Chemická – kyselé pH, lysozym
  - Buněčná – fagocytující buňky, NK buňky
  - Humorální komponenty – komplement, interferony
- Získaná
  - Buněčná – B a T lymfocyty
  - Humorální - protilátky

# ANTIGEN

- Obvykle bílkovinné povahy, svou potenciální škodlivostí provokuje imunitní systém k produkci protilátek
- Antigen – **antibody generator**
- Nyní širší význam – molekuly/molekulární fragmenty se kterými interaguje imunitní systém
- Epitop = antigenní determinanta – povrchový rys antigenu, na který se váže protilátka
- Nativní antigen x fragmentovaný peptid

# IMUNITA

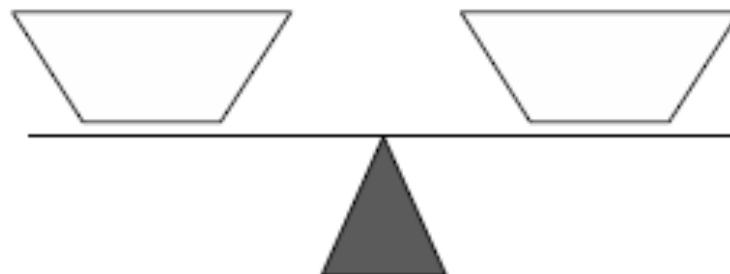
- Komplexní znak, uplatňují se:
  - Faktory vnějšího prostředí (patogeny, toxiny, ..)
  - Vnitřní prostředí organismu (aktuální zdrav.stav, imunokompetence,..)
  - Mnoho genů v genomu
- V populaci existuje přirozená variabilita imunitních funkcí (ovlivněná geneticky i prostředím) → Gaussova distribuce

# IMUNITA MEZI SKYLLOU A CHARYBDOU

The dilemma:  
too high/too low immune  
responses?

*Protective immunity*  
*Resistance to infection*

*Autoimmunity*  
*Inflammation*



# IMUNOGENOM

- Cca 1 tis. genů z 20 tis. genů kódujících proteiny v genomu se podílí na imunitní odpovědi = 5%
- Pravděpodobně řada dalších dosud nepopsaných (nekódujících) genů pro RNA (miRNA, lncRNA), které se podílí na regulaci imunitní odpovědi
- = IMUNOGENOM



# IMUNOGENOM

- Konkrétní geny imunogenomu vykazují znaky diverzifikující nebo purifikující selekce
- Vznik a rozrůznění alel (diverzifikující selekce) je důležité pro geny imunitní odpovědi (=IR), které slouží k postižení variability patogenů v mechanismech specifické imunity - tzv. IR geny typu I
- Přísné zachování funkcí a omezení počtu alel (purifikující selekce) je typické u genů receptorů (pro např. adhezní molekuly, protilátky, cytokiny) a pro mnohé geny jakožto složky signálních, efektorových a regulačních drah imunitního systému - tzv. IR geny typu II

# IMUNOGENOM

- Není soustředěn do jedné oblasti, naopak IR geny najdeme v celém genomu (bezpečnější „strategie“)
- Výjimka – např. MHC cluster – oblast bohatá na IR geny



# IMUNOGENETIKA

- Studium genetiky imunitní odpovědi
- Genetika a evoluce imunitního systému
- Genetická kontrola imunitní odpovědi
- Struktura imunologicky významných molekul
- Imunologie reprodukce
- Vnímatavost k onemocněním

# GENY IMUNITNÍ ODPOVĚDI (IR GENY)

## IR geny typu I

- Geny na rozhraní patogen x hostitel
- TLR, MHC, CD1, Ig, TCR

## IR geny typu II

- Ostatní IR geny
- Cytokiny (TNF, interleukiny, INF), NRAMB1

# IR GENY TYPU I

Vrozená imunita

Získaná / adaptivní imunita

Geny pro

TLR  
Toll-like receptory

CD1

Ig = Imunoglobuliny  
Protilátky

TCR a BCR  
T buněčný receptor  
B buněčný receptor

MHC molekuly

Molekuly rozpoznávají

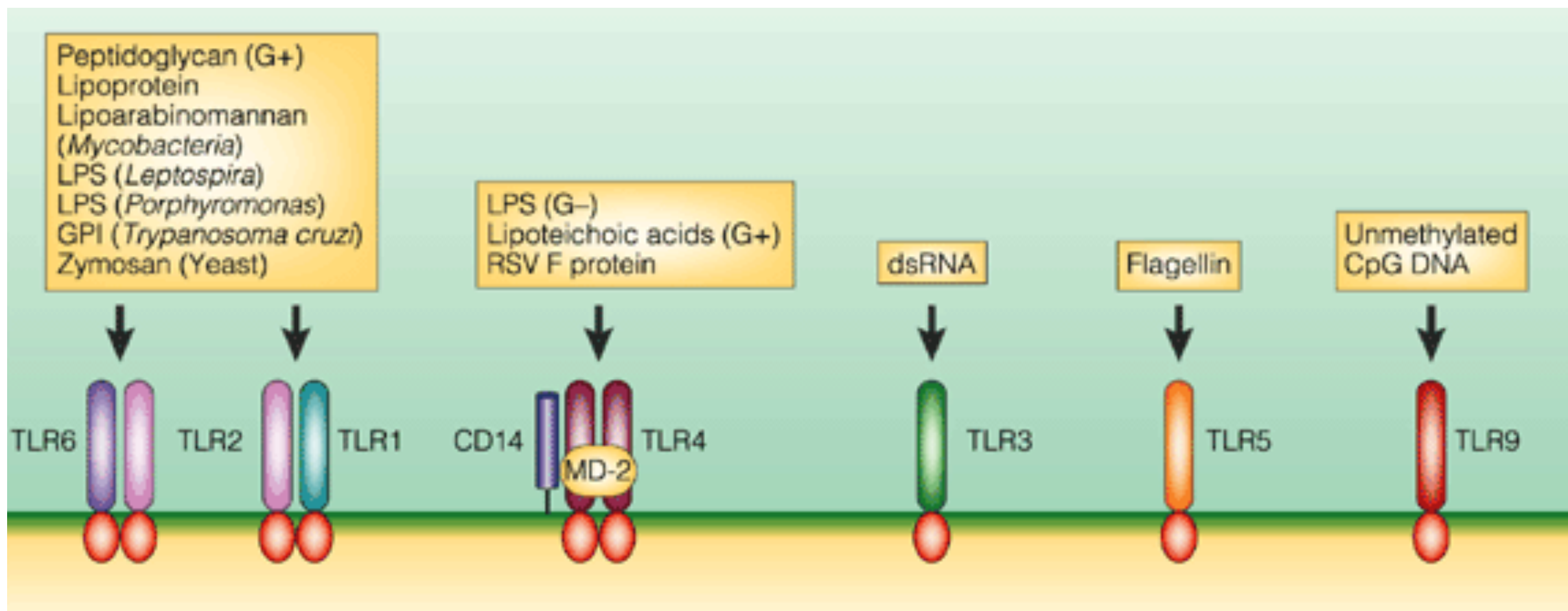
PAPMs - Pathogen associated  
molecular patterns

(glyko)LIPIDY

(glyko)PROTEINY a  
(glyko)PEPTIDY

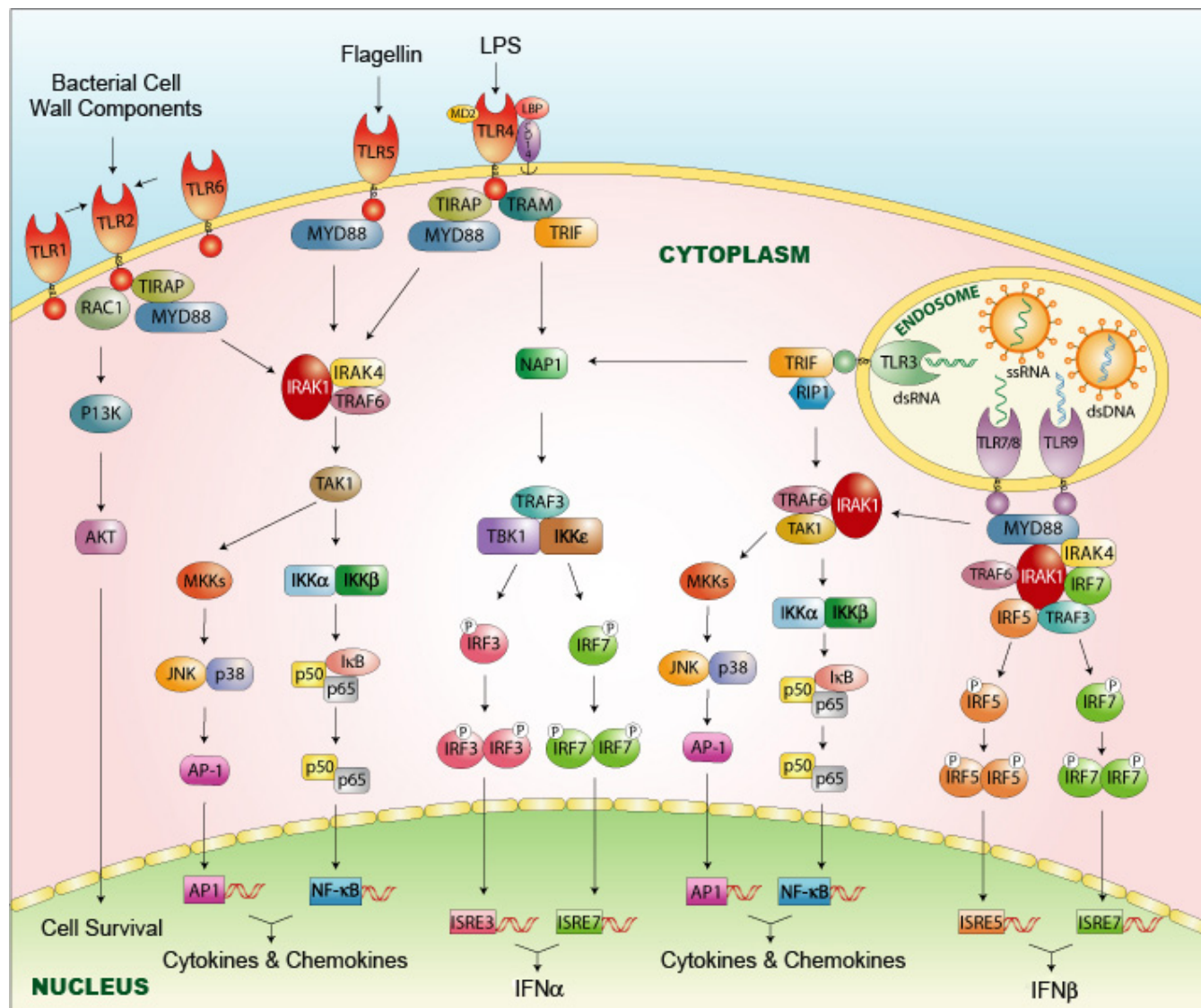
# TLRs - TOLL-LIKE RECEPTORY

Rozpoznání konzervovaných epitopů (patogen associated molecular patterns – PAMPs).



# TLRs - TOLL-LIKE RECEPTORY

Aktivace TLR – spouští složitou signální kaskádu – vede k produkci cytokinů a chemokinů, které aktivují další složky imunitního systému

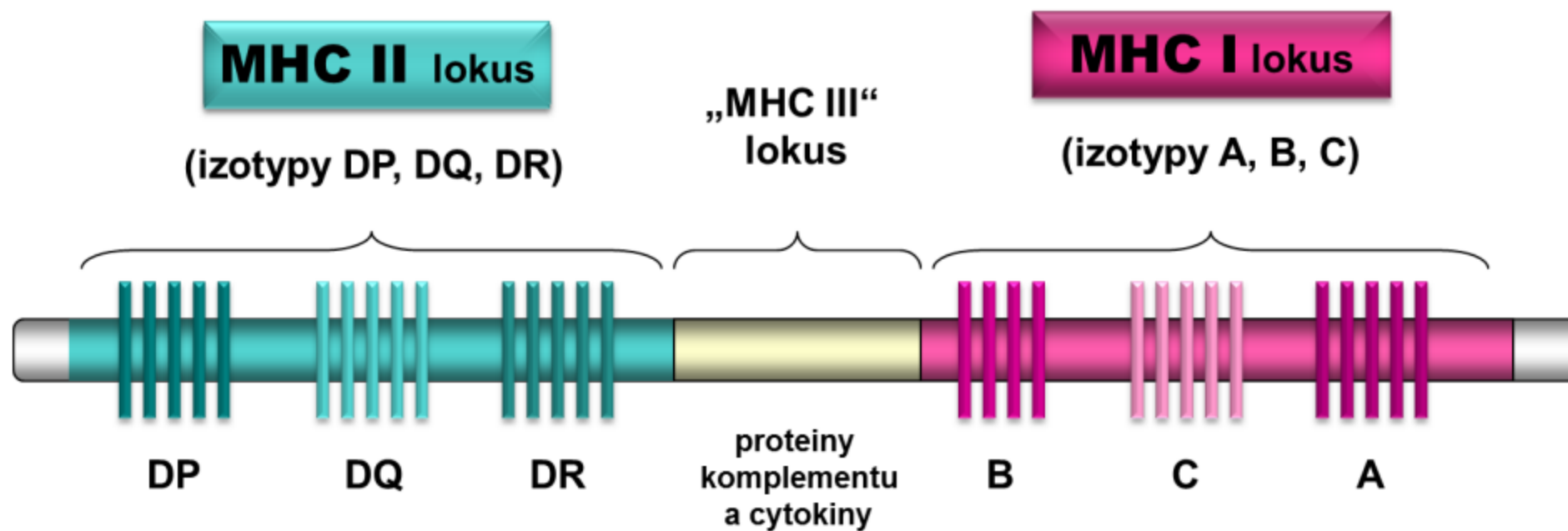


# MHC – HLAVNÍ HISTOKOMPATIBILITNÍ KOMPLEX

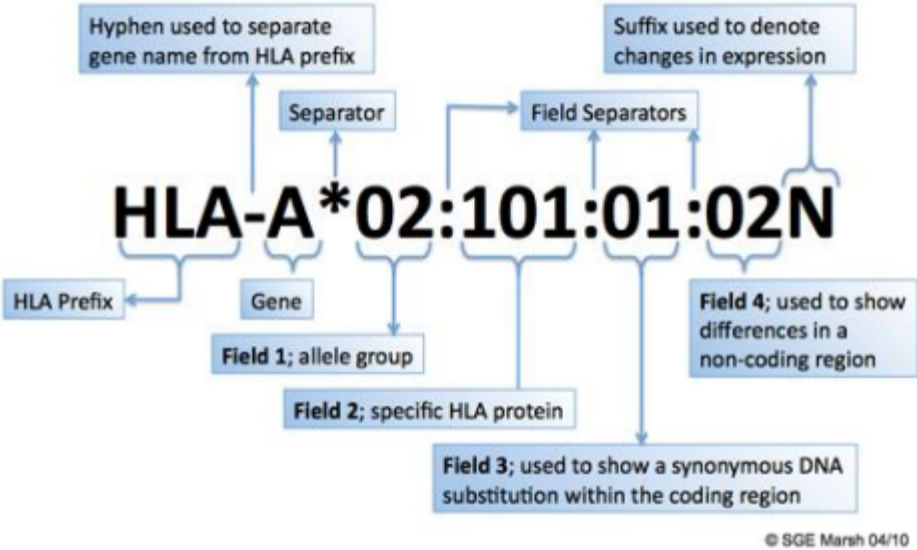
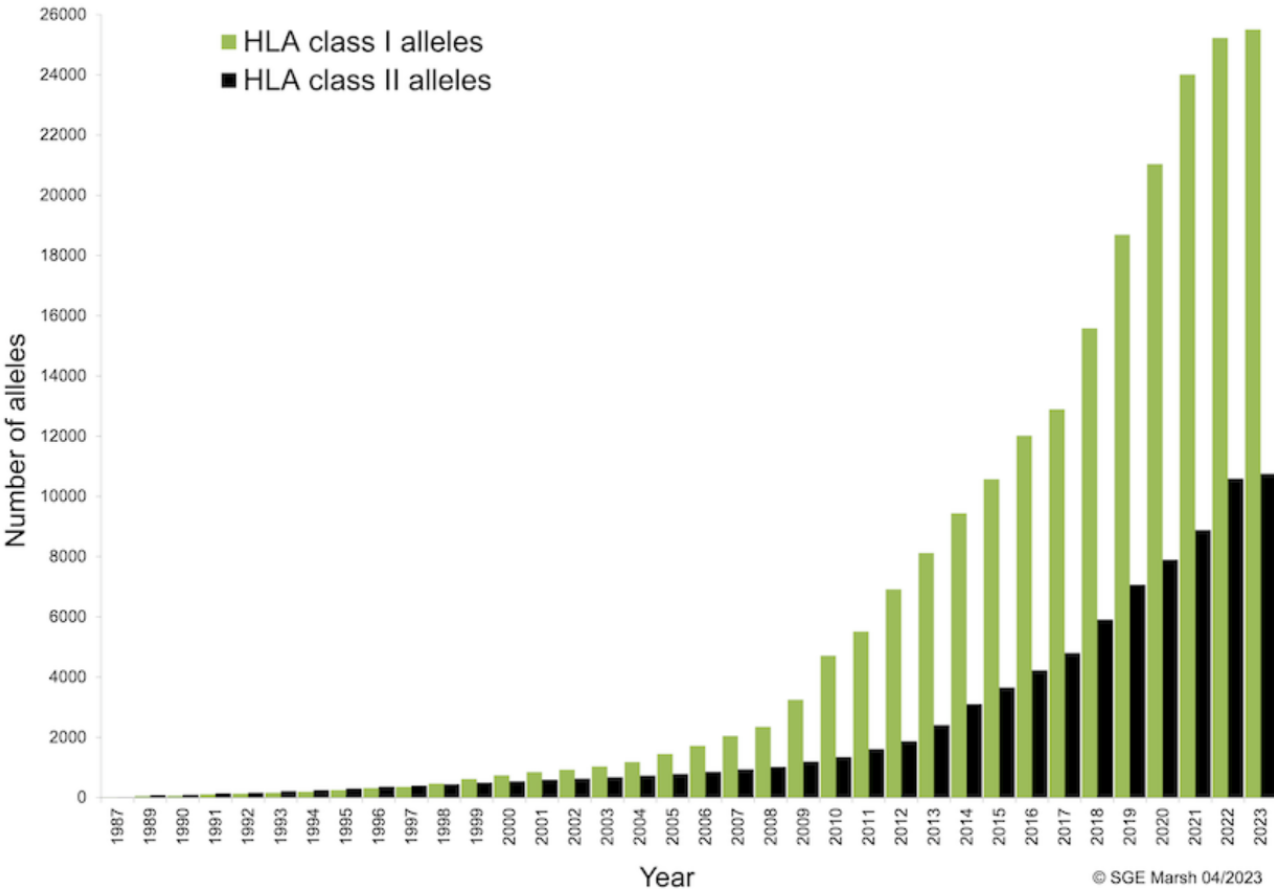
- Major histocompatibility complex / Human leucocyte antigen – HLA
- Antigen prezentující molekuly
- Peptidový antigen (protein + proteolýza = peptid)
- Váží antigen intracelulárního (MHC třídy I) nebo extracelulárního (MHC třídy II) původu a prezentují jej T lymfocytům



# MHC – HLAVNÍ HISTOKOMPATIBILITNÍ KOMPLEX



# MHC



*nomenclatura*

Graph showing the number of alleles named by year from 1987 to the end of March 2023.

# MHC / HLA

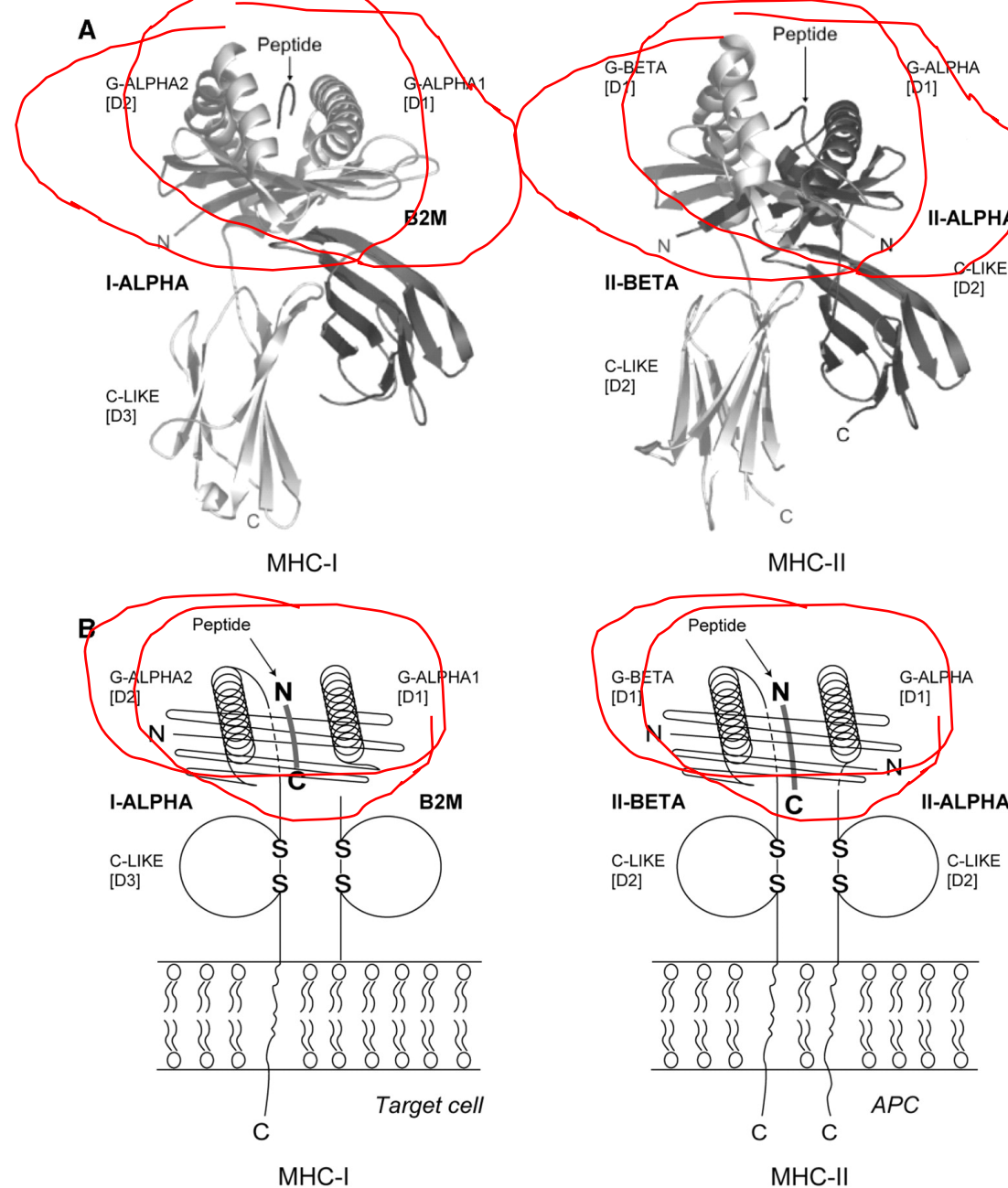
## Žlábek

Proteolýzou složitého proteinu na peptid dojde k omezení počtu variant – mechanismus jak se vyrovnat s obrovskou variabilitou patogenů.

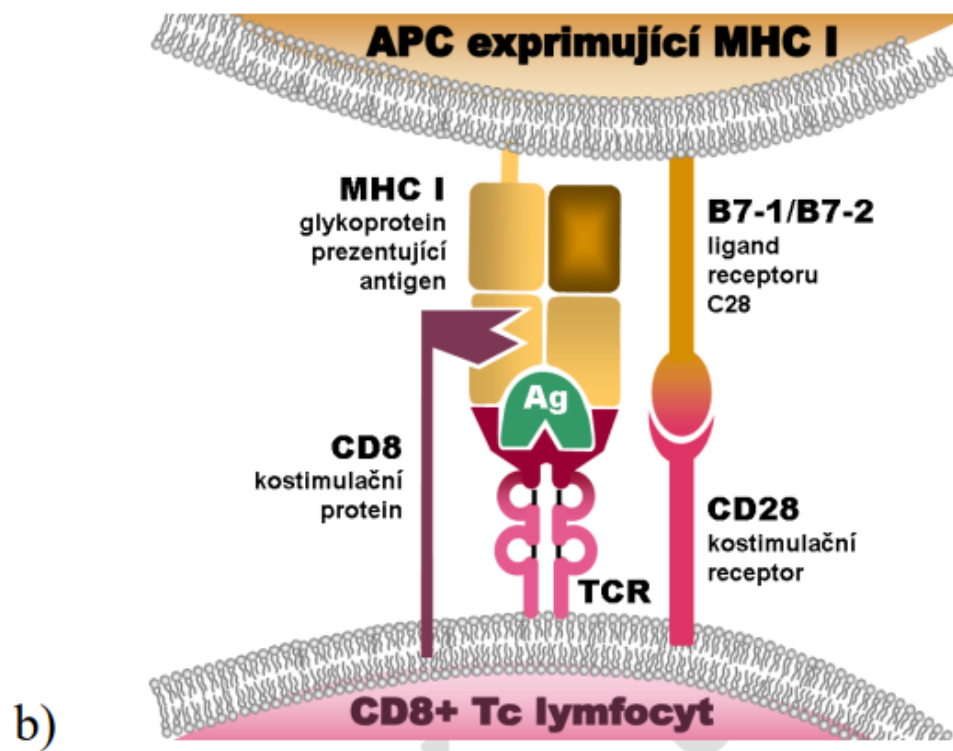
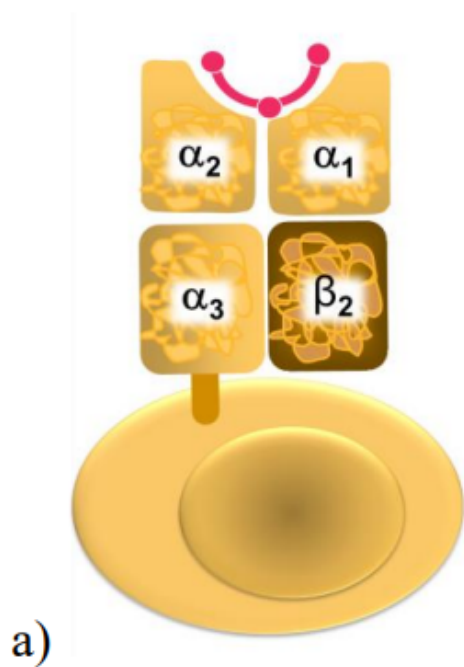
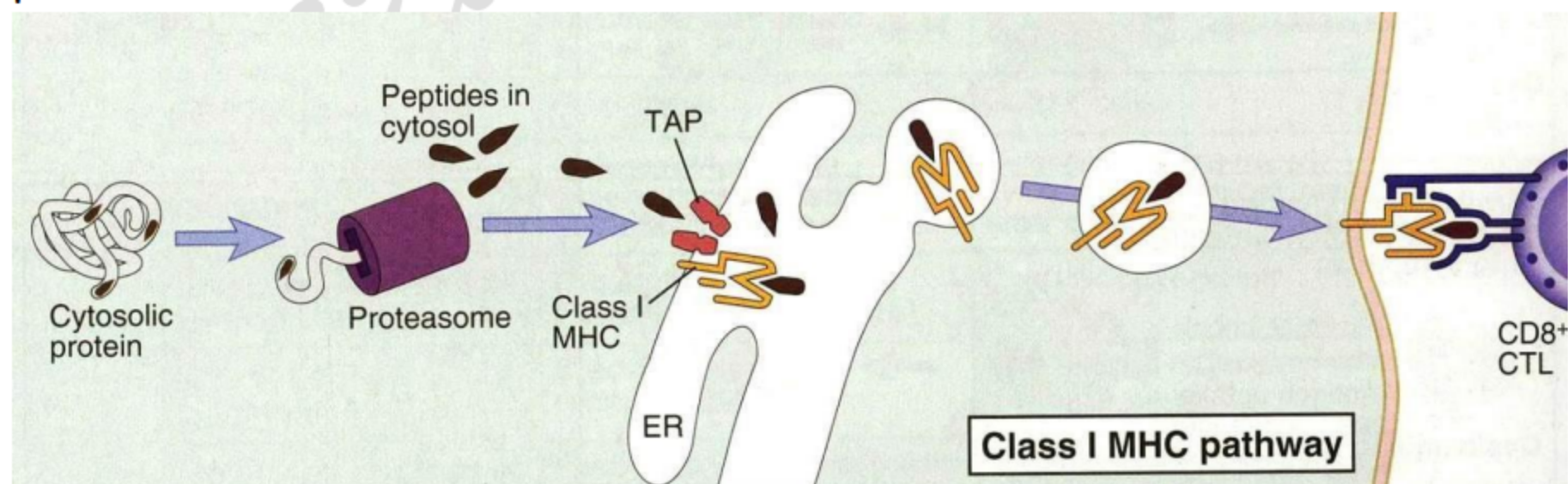
Jaký peptid je konkrétní molekula MHC schopna prezentovat je dáno nevazebnými interakcemi mezi peptidem a bílkovinnými rezidui, které se podílí na tvorbě žlábků.

Pro jedince je tedy výhodné mít více různých variant HLA molekul = **heterozygote advantage**, je pak schopen prezentovat širší spektrum peptidů než homozygot. Alely u heterozygota jsou ve vztahu kodominance, uplatňují se obě dvě.

V populaci je variabilita genů pro MHC/HLA obrovská, jsou to nejpolymorfnější geny v genomu (= mají nejvíce alelických variant). MHC geny jsou typickým příkladem **diverzifikující selekce + balancující selekce**.

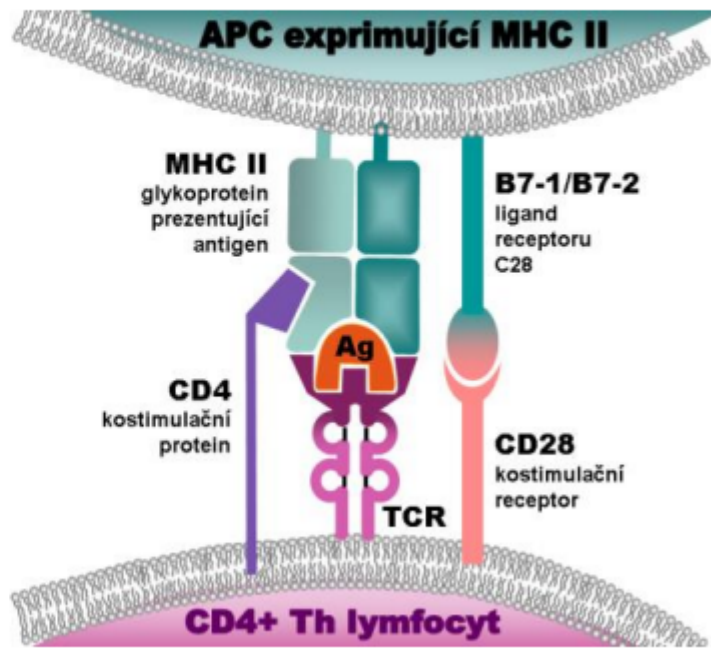
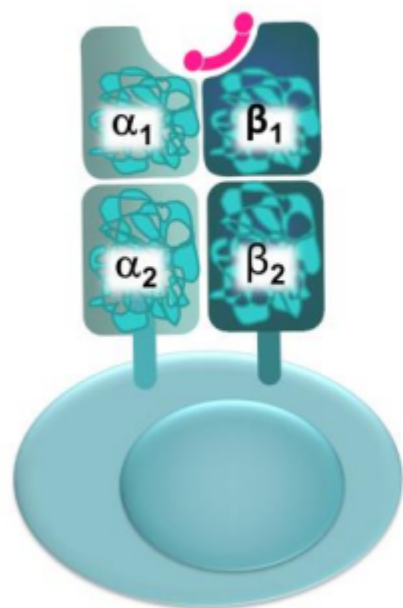
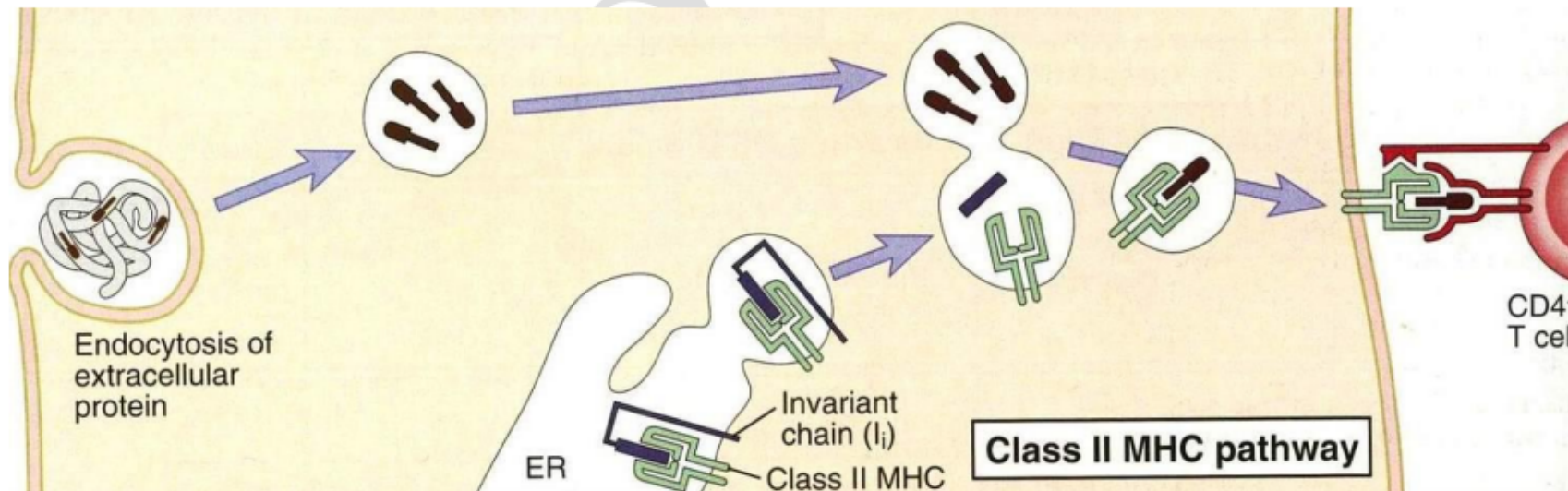


# MHC tř. I



- Molekuly MHC třídy I se vyskytují téměř na všech buňkách v těle

# MHC tř. II





- Molekuly MHC třídy II se vyskytují pouze na specializovaných buňkách – antigen prezentujících buňkách

a)

b)

# MHC

	MHC-I	MHC-II
struktura	Polymorfní řetězec $\alpha$ (3 domény) a mikroglobulin $\beta$ 	Dva polymorfní řetězce $\alpha$ a $\beta$ 
výskyt	Všechny jaderné buňky	Profesionální fagocyty (dendritické buňky, monocyty, makrofágy)
stimulovaný lymfocyt	CD8 <sup>+</sup> cytotoxický T <sub>c</sub> lymfocyt	CD4 <sup>+</sup> pomocný T <sub>h</sub> lymfocyt
typ prezentovaného antigenu	Endogenně syntetizovaný protein v cytosolu (typicky virus, nádorové proteiny)	Exogenní fagocytovaný protein (typicky bakteriální)
Místo vazby MHC-Ag	Endoplazmatické retikulum	Vezikula vzniklá splynutím fagosomu a transportního váčku z Golgiho aparátu
Pomocné interagující proteiny	TAP v endoplazmatickém retikulu (transportuje antigenní fragmenty z cytosolu do ER)	Invariantní protein dočasně blokuje vazebné místo u MHC-II před splynutím s fagosomem obsahujícím Ag

# MHC / HLA

HLA vykazuje asociace s autoimunitními i infekčními onemocněními

**Table 1. Summary of the Major Associations Within the HLA Class II and Class I Region with Common Autoimmune Diseases**

HLA Class II Effects		AUTOIMMUNE DISEASE	HLA Class I Effects	
Predisposing	Protective		Predisposing	Protective
∅	∅	Ankylosing spondylitis	B*2701 B*2704 B*2705	B*2706 B*2709
DR3 DRB1*08	DR7	Graves' disease	C*07 B*08	C*16 C*03 B*44
DR4 DR3	DR7	Hashimoto's thyroiditis	∅	∅
DR3	∅	Myasthenia Gravis	∅	∅
DR3	∅	Addison's disease	∅	∅
Shared epitope = DRB1*0101 DRB1*0102 DRB1*0401 DRB1*0404 DRB1*0405 DRB1*0408 DRB1*1001 DRB1*1402	DRB1*0103 DRB1*07 DRB1*1201 DRB1*1301 DRB1*1501	Rheumatoid arthritis	∅	∅
DQ2 DQ8	∅	Celiac disease	∅	∅
DR15	DR14	Multiple sclerosis	C*05 C*15	C*01
DR3 DR4 DQB1 position β57	DR15 DR14	Type 1 diabetes	B*39 B*18 A*24	A*01 A*11 A*31
DR3 DR8 DR15	∅	Systemic lupus erythematosus	∅	∅

# MHC / HLA

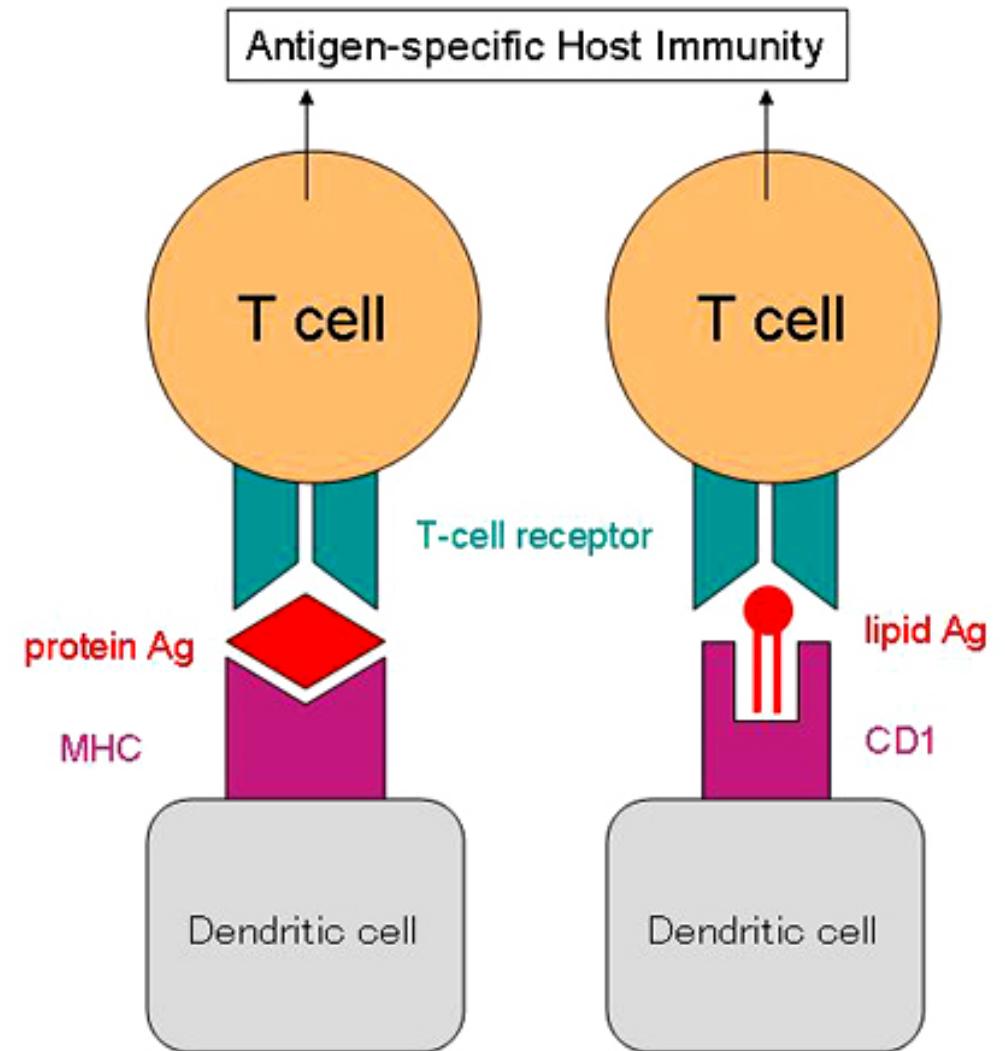
Table 2. Loci strongly associated with infectious disease susceptibility. For each gene–disease pair the table indicates whether the association was identified by, or confirmed by, a genome-wide association study (GWAS), whether the association should be detectable by exome sequencing studies and whether the minor allele is associated with protection or susceptibility (or whether different alleles are associated with protection and susceptibility = ‘both’).

gene	disease	GWAS?	exomic?	minor allele	reference
haemoglobin S	malaria		yes	protective	[1]
<i>SLC4A1</i> (ovalocytosis)	malaria		yes	protective	[30]
<i>CCR5</i>	HIV/AIDS		yes	protective	[2]
<i>PRPN</i>	vCJD		yes	protective	[29]
<i>FUT2</i>	norovirus		yes	protective	[31]
Duffy blood group	vivax malaria		no	protective	[4]
<i>HLA-DR/DQ</i>	leprosy	confirmatory	yes	both	[32]
<i>HLA-B</i>	HIV/AIDS	confirmatory	yes	both	[33]
<i>HLA-DQ/DP</i>	HBV	yes	yes	both	[34]
<i>HLA-C</i>	HIV/AIDS	confirmatory	yes	both	[33]
blood group O	malaria		yes	protective	[35]
<i>G6PD</i>	malaria		yes	protective	[36]
<i>CFH</i>	meningococcus	confirmatory	yes	protective	[37]
<i>MAL</i>	bacteraemia		yes	protective	[38]
<i>TLR1</i>	leprosy	confirmatory	yes	protective	[39]
<i>IL-28B</i>	HCV	yes	yes	susceptible	[40]
<i>MBL2</i>	pneumococcus		yes	susceptible	[41]
<i>C13orf31</i>	leprosy	yes		susceptible	[32]
<i>CCDC122</i>	leprosy	yes		protective	[32]



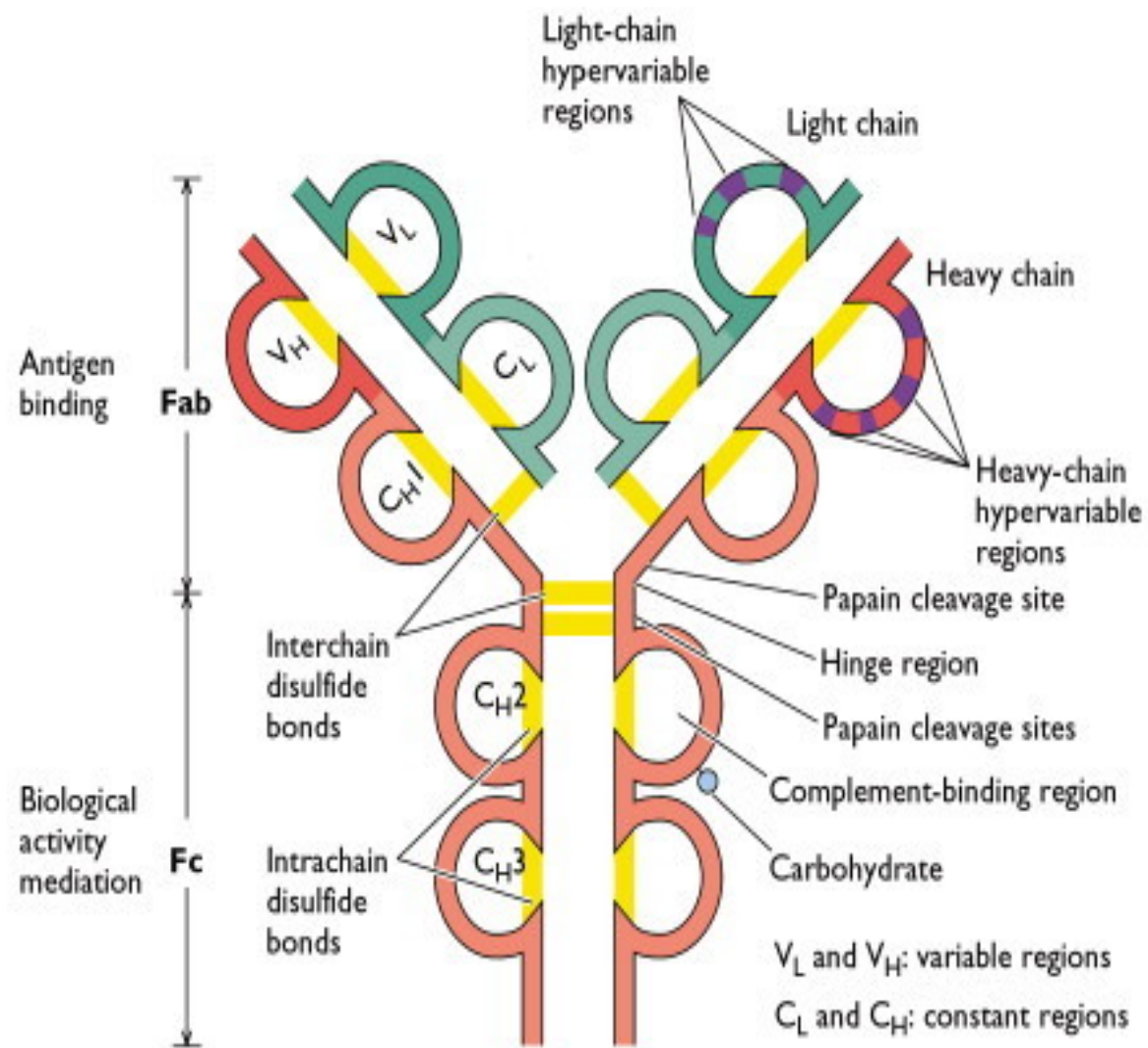
# CD1

- CD1 receptory se vyskytují na antigen prezentujících buňkách
- Jsou podobné MHC třídy I a prezentují antigeny lipidové povahy

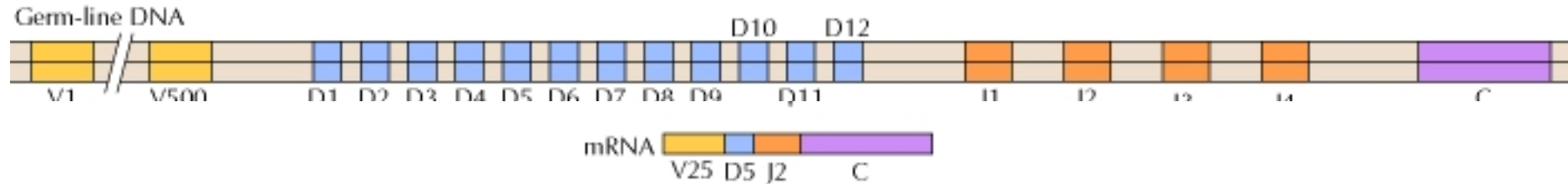


# IMUNOGLOBULINY - PROTILÁTKY

- Jedinec je schopný vyprodukovat  $10^{11}$  různých protilátek
- Znamená to, že má  $10^{11}$  genů pro protilátky?



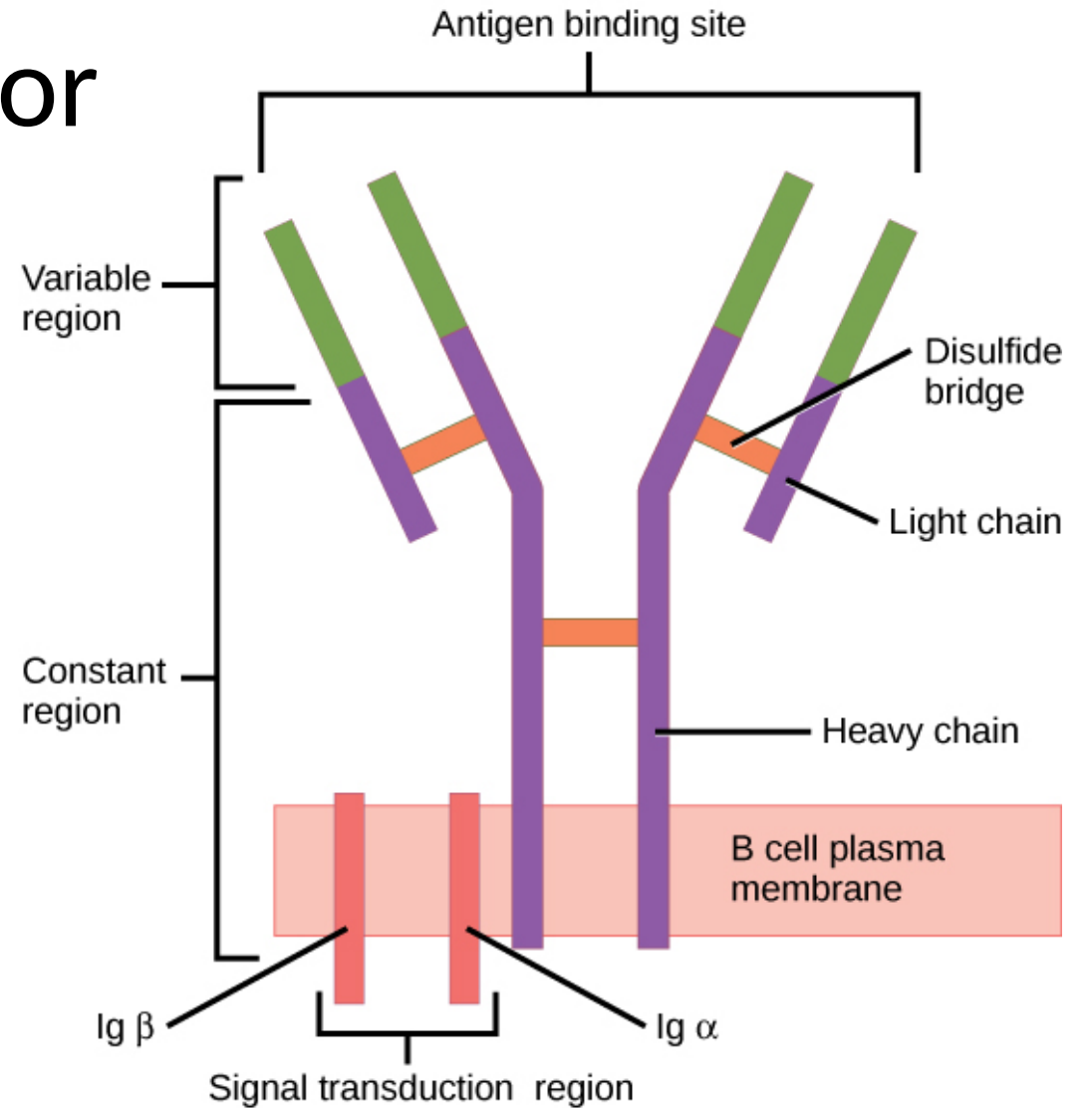
# IMUNOGLOBULINY - PROTILÁTKY



- Variabilita je generována několika mechanismy: V(D)J rekombinace, somatická hypermutace
- VDJ rekombinace:
  - Genový komplex pro těžký řetězec: 250-1000 VH segments, 12 DH segments, 4 JH segments, 1 CH segment
  - = 48000 různých kombinací (pouze těžký řetězec) + k tomu kombinace pro lehký řetězec a vzájemné kombinace těžkého a lehkého řetězce
- Somatická hypermutace
  - Je buněčný mechanismus, který zahrnuje mutace variabilních částí genů, jež kódují imunoglobuliny. SHM probíhá v germinálním centru s izotypovým přesmykem a jejím výsledkem je zvýšení afinity a funkce protilátky

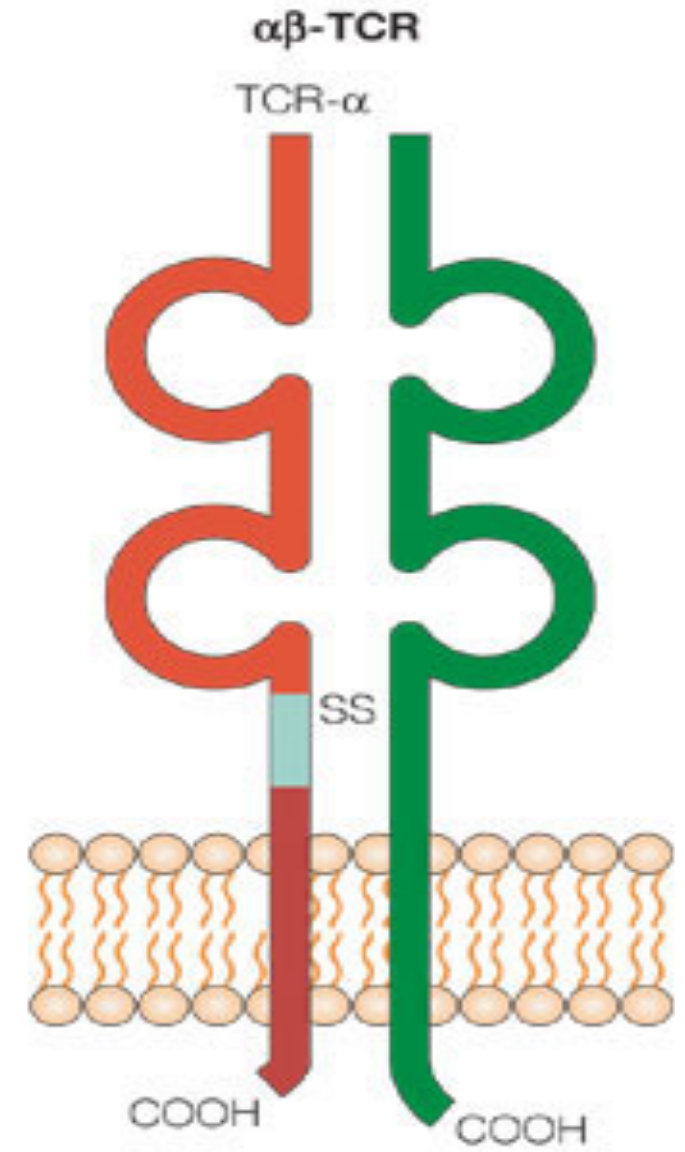
# BCR – B buněčný receptor

- Je tvořen protilátkou a signálními molekulami  $Ig\alpha$  a  $Ig\beta$



# TCR – T BUNĚČNÝ RECEPTOR

- Zdrojem variability je také VDJ rekombinace jako u B buněčného receptoru.
- Ale není zde somatická hypermutace!



# IR geny typu II

- Různorodá skupina genů – pro signální dráhy, cytokiny, jejich receptory
- TNF (tumor necrosis factor) , INF (interferon), interleukiny, ...
- Variabilita těchto genů je srovnatelná s jinými funkčně významnými geny v organismu
- SNPs (polymorfismy) se v těchto genech mohou vyskytovat v exonech (většinou 1-3 proteinové sekvence) a častěji v intronech
- SNPs vykazují asociace s onemocněními
- SNPs v intronech mohou ovlivňovat úroveň exprese

# MUTACE IR GENŮ

## Mutace velkého účinku

- Jedná se o poruchy genů na různých úrovních imunitního systému
- V závislosti na postavení proteinu v diferenciaci buněk nebo v jejich funkcích mohou vznikat primární imunodeficiency
- postihující jak buněčnou tak humorální složku (kombinované imunodeficiency) nebo jen některé složky imunitní odpovědi (defekt T-lymfocytů, B-lymfocytů, defekt protilátkové odpovědi, fagocytózy, komplementu atd.)
- SCID – severe combined immunodeficiency – těžká kombinovaná imunodeficiency

# MUTACE IR GENŮ

## Mutace malého účinku

- Neprojeví se klinicky díky existenci záložních mechanismů nebo díky podprahovému účinku v daném genomu (a prostředí)
- Hromaděním takových mutací (nejčastěji ve formě SNPs) se v konkrétním genomu zvyšuje míra jejich vlivu na obranné mechanismy a odolnost/vnímatost k nemocem.
- Na rozdíl od mutací velkého účinku se dědí jako komplexní znak

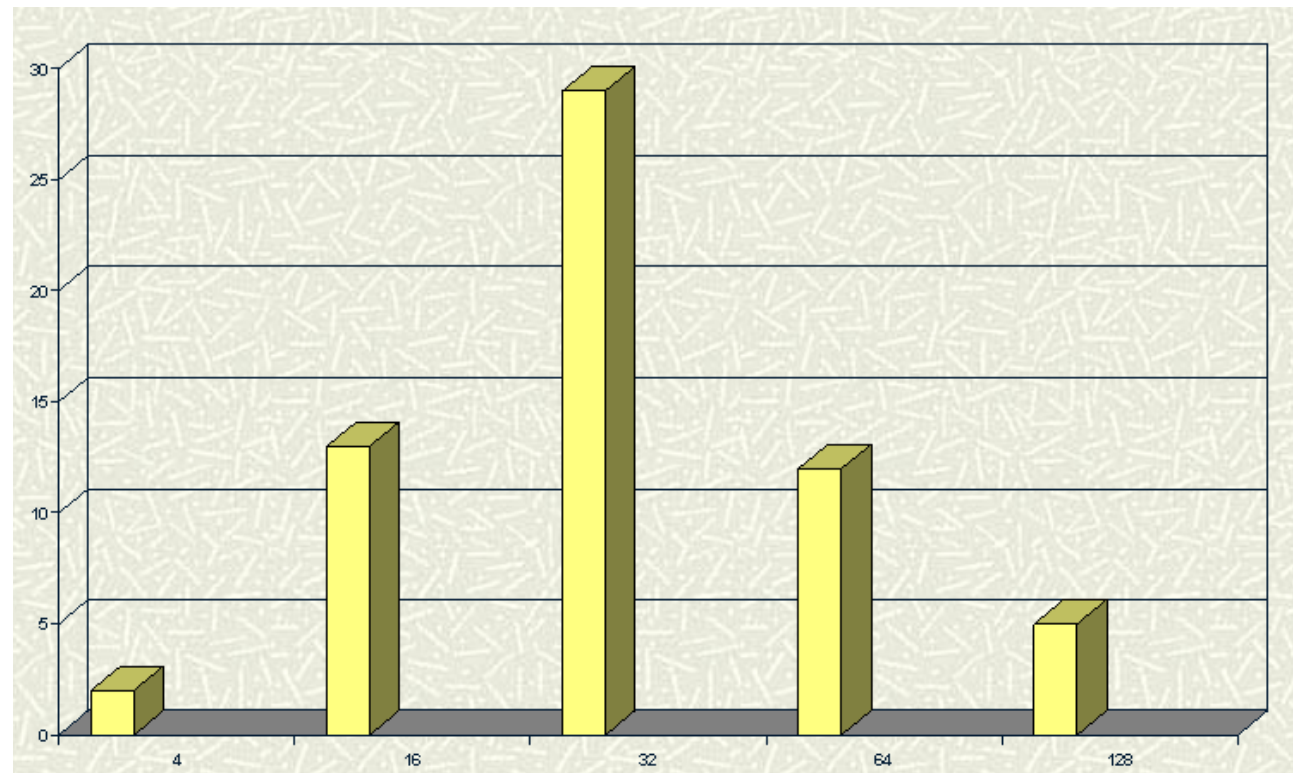
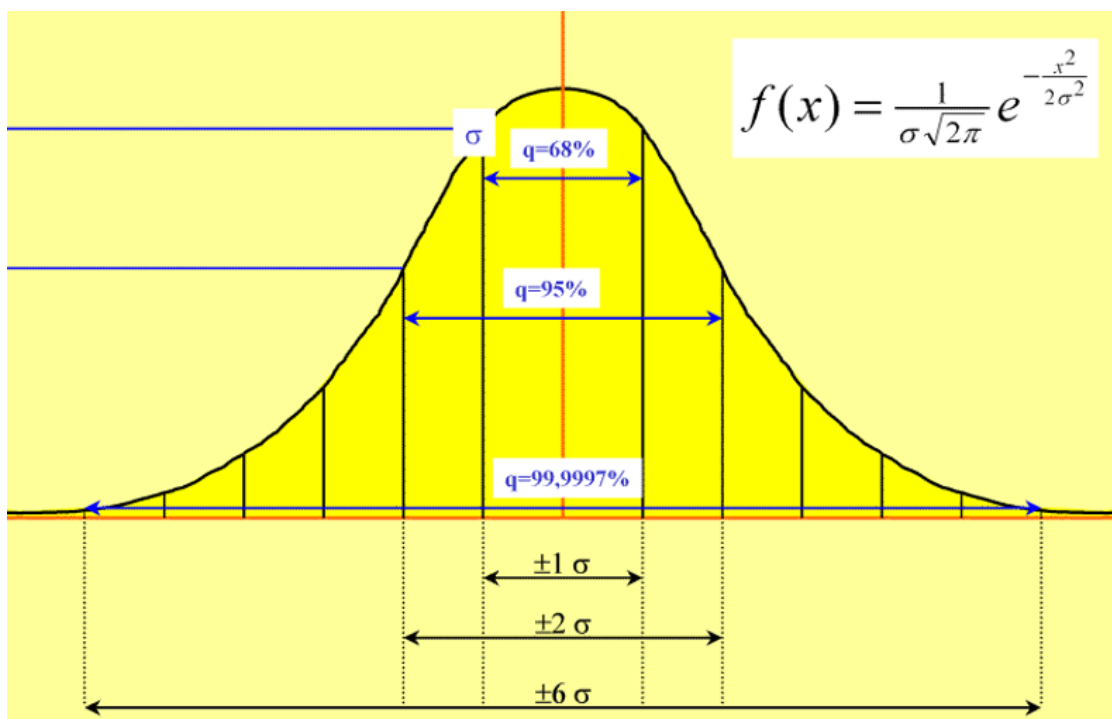


# GENETIKA VAKCINACE

- Variabilita v odpovědi na vakcinaci  
Gaussovo rozložení
- Využití genomických přístupů při  
produkci nových vakcín  
(farmakogenomika)

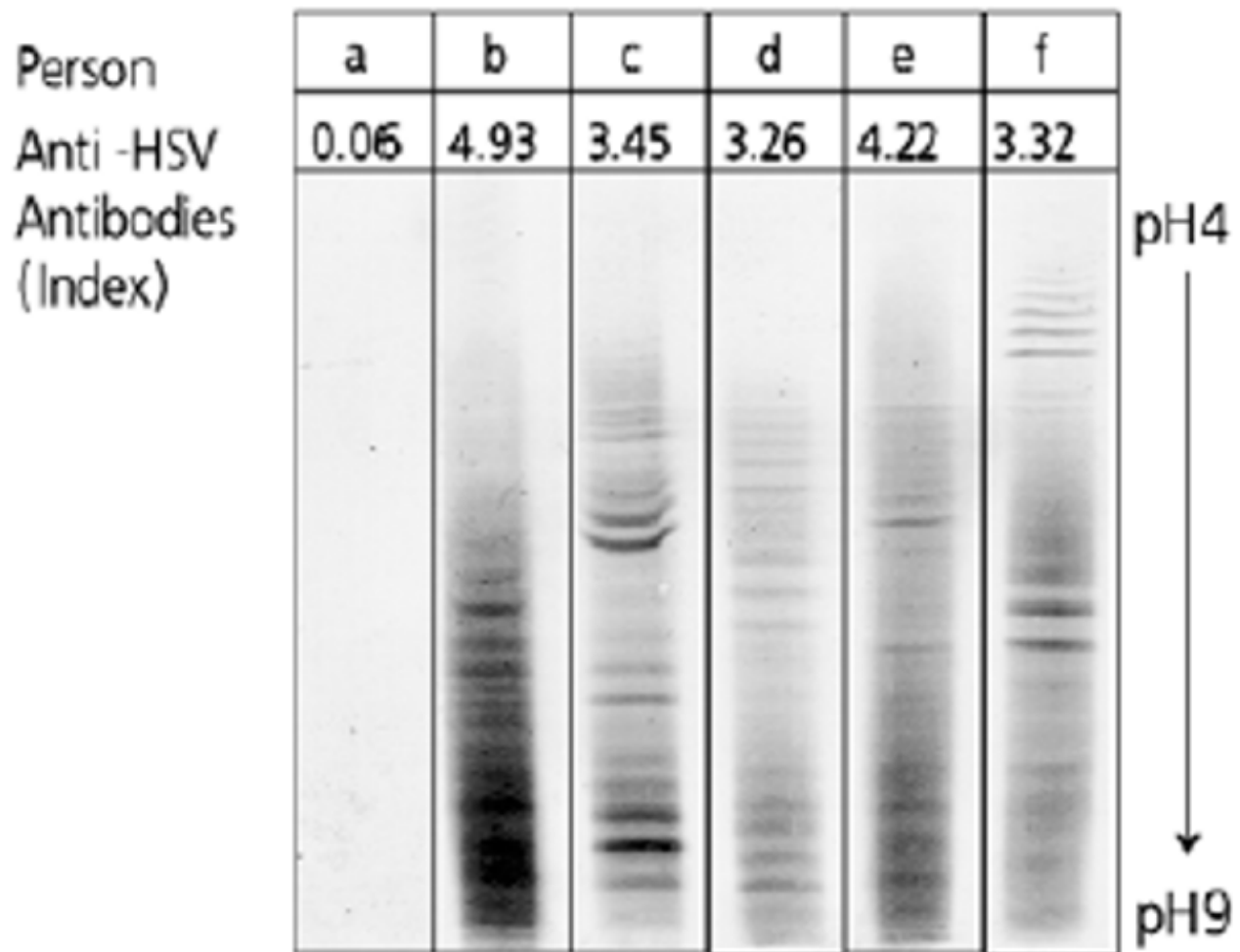


# GENETIKA VAKCINACE



Postvaccinační titry anti-EHV-1 neutralizačních protilátek

# GENETIKA VAKCINACE



Variabilita antiinfekční imunitní odpovědi u člověka

# GENETIKA VAKCINACE

Associations between HLA gene polymorphisms and humoral (IgG antibody) and cellular (lymphoproliferation) immune responses to measles vaccine			
HLA gene	Variant	Effect	Reference
Class I allele	B*8, B*13, B*44	Decreased antibody (single dose)	[14]
Class I allele	B*7	Increased antibody (single dose)	
Class II allele	DRB1*03, DQA1*0201	Decreased antibody (single dose)	[15]
Class II allele	DRB1*08, DQA1*0104, DPA1*0202	Increased antibody (single dose)	[16]
Class I supertype	B7	Increased antibody (two doses)	[17]
Class I supertype	B44	Decreased antibody (two doses)	
Class I supertype	B58	Decreased antibody (two doses)	
Class I haplotype	A*24-C*03-B*15	Decreased antibody (two doses)	[18]
Class II haplotype	DRB1*07-DQB1*03-DPB1*04	Decreased antibody (two doses)	[18]
Class II haplotype	DRB1*07-DQB1*02-DPB1*02	Decreased antibody (two doses)	
Class II haplotype	DRB1*15/16-DQB1*06-DPB1*04	Increased antibody (two doses)	
Class I haplotype	A*26-C*12-B*38	Increased cellular (two doses)	[18]
Class II haplotype	DRB1*04-DQB1*03-DPB1*03	Increased cellular (two doses)	[18]
Class II haplotype	DRB1*03-DQB1*02-DPB1*04	Increased cellular (two doses)	

# GENETIKA VAKCINACE

- Princip vakcinace: Ostranění / snížení patogenity při zachování imunogenity
- Využití genomických přístupů při produkci nových vakcín (farmakogenomika)
- Typy vakcín:
  - 1. generace
  - 2. generace - rekombinantní
  - 3. generace – DNA/mRNA vakcíny