

Imunitní systém

Imunitní systém (IS) - mechanismy zajišťující homeostázi organismu

- obranyschopnost - rozpoznání cizích složek a škodlivin (patogeny a jejich toxiny)
- autotolerance - poznání vlastních složek
- imunitní dohled - vnitřní škodliviny - odstraňuje staré, poškozené nebo nádorové buňky

Antigen = jakákoliv substance vyvolávající imunitní odpověď

Epitop = část antigenu rozpoznávaná imunitními receptory

Druhy imunity

a) **nespecifická (neadaptivní)** = vrozená, evolučně starší. Nemá imunologickou paměť.

- buněčná složka: fagocyty a cytotoxické látky

- humorální - komplement, interferony, lektiny, sér. proteiny

+ mechanické zábrany (kůže sliznice), pohyb řasinek, proudy vzduchu a tekutin

+ chemické - mastné kyseliny, pH, enzymy lysozym, pepsin, defensiny

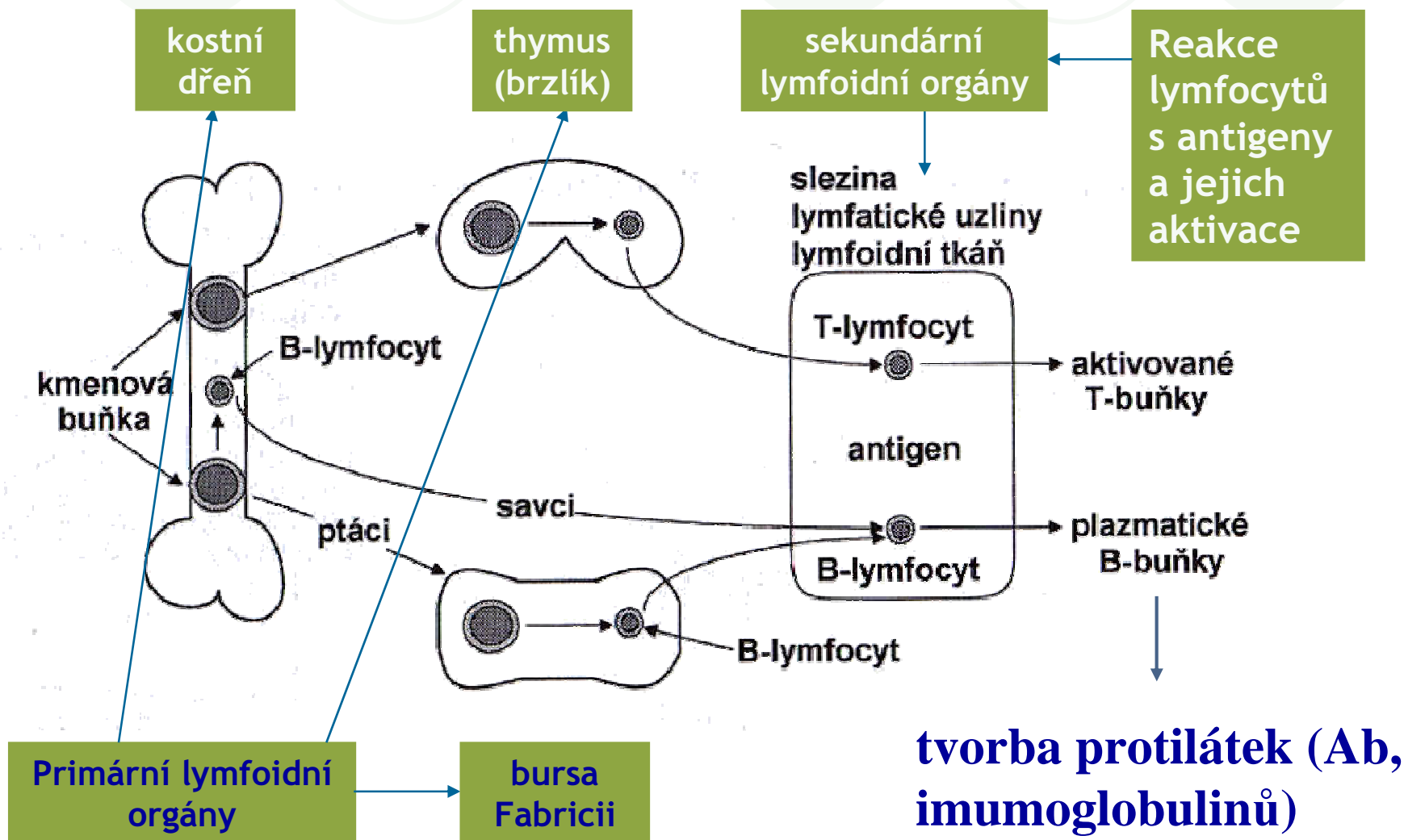
+ mikrobiální - přirozená flora, kompetice

b) **specifická (adaptivní)** - antigenně specifická, má imunologickou paměť, prostřednictvím protilátek a receptorů specifických pro Ag

- **humorální - Ab**

- buněčná - T-buňky

Vznik B-lymfocytů



Klonální selekce - diferenciacie B-lymfocytů

Kmenová buňka



Pre-B-lymfocyt - přeskupení subgenů pro H-řetězec, vznik IgM-cytoplazm.



Nezralé B-lymfocyty - přeskupení subgenů pro L-řetězec, vznik IgM-membr.



Zralé B-lymfocyty - první přesmyk tříd IgM - IgD (membr.)



+ Ag

Plazmatické b. + paměťové b. = primární odpověď

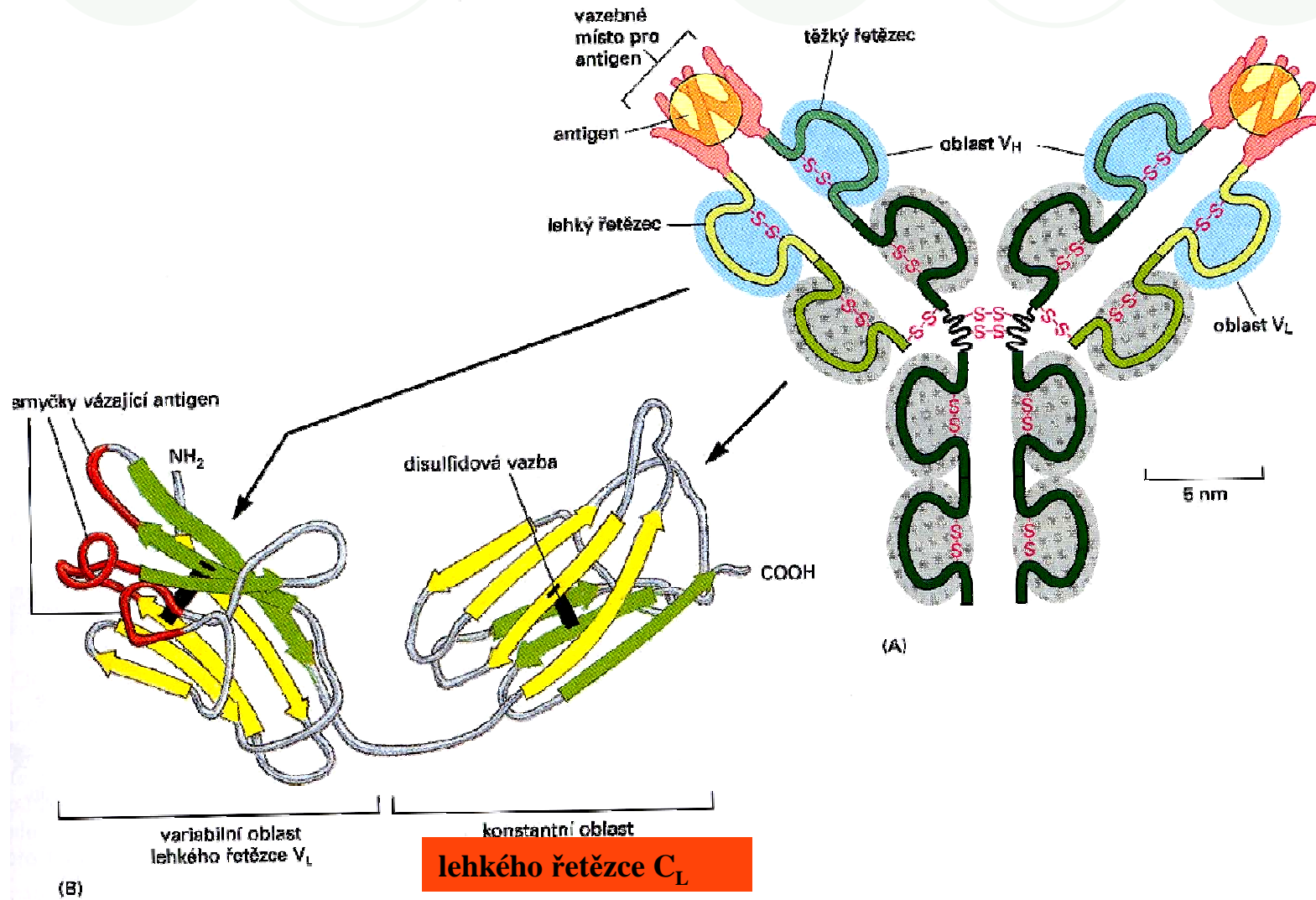
IgM, IgD
sekretované
(krátkodobě)

+ antigen

= sekundární odpověď

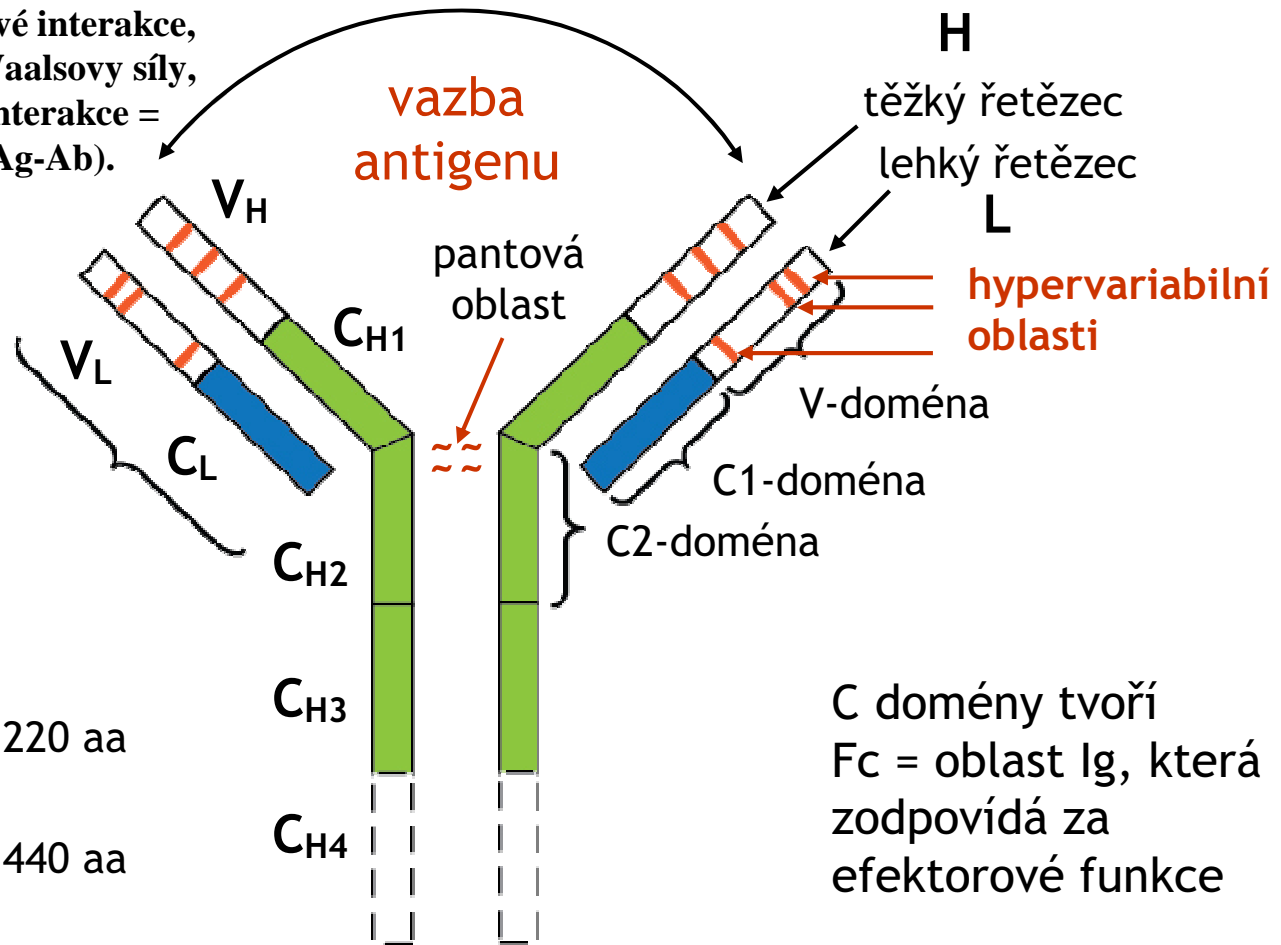
vysoká tvorba IgA, IgE, IgG

Struktura imunoglobulinů



Struktura protilátky

Charakter vazeb: iontové interakce, hydrofobní a van der Waalsovy síly, vodíkové můstky. Síla interakce = avidita (pevnost vazby Ag-Ab).



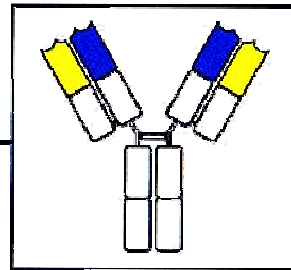
Lehký řetězec ~ 220 aa

Těžký řetězec ~ 440 aa

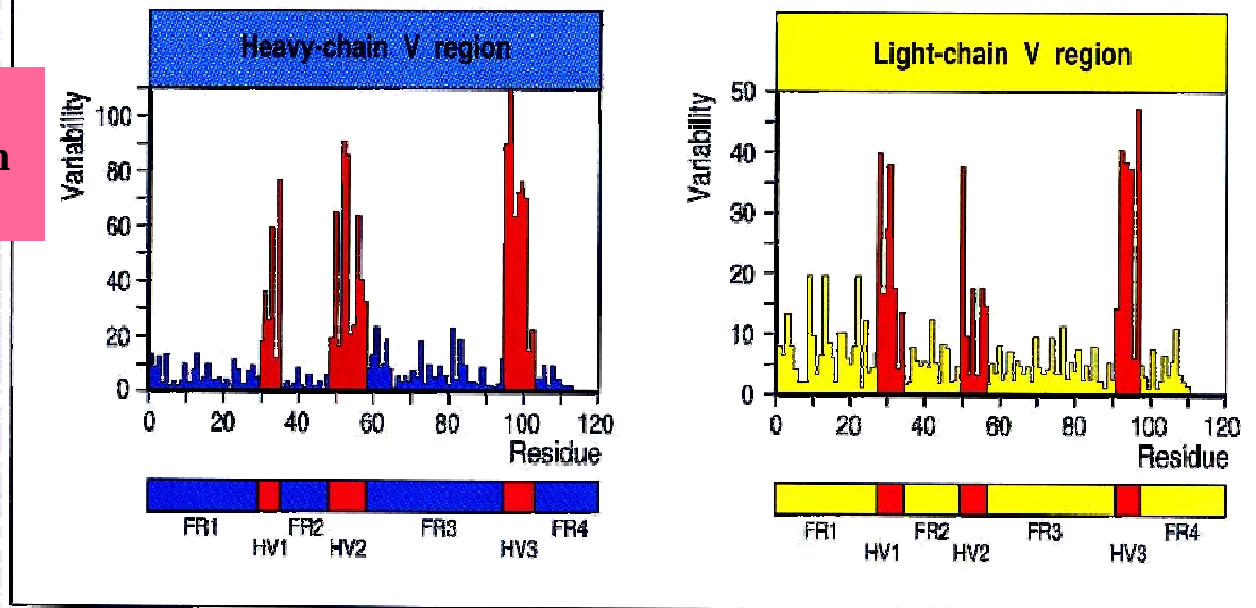
C domény tvoří Fc = oblast Ig, která zodpovídá za efektorové funkce

Oblasti hypervariability ve variabilních doménách

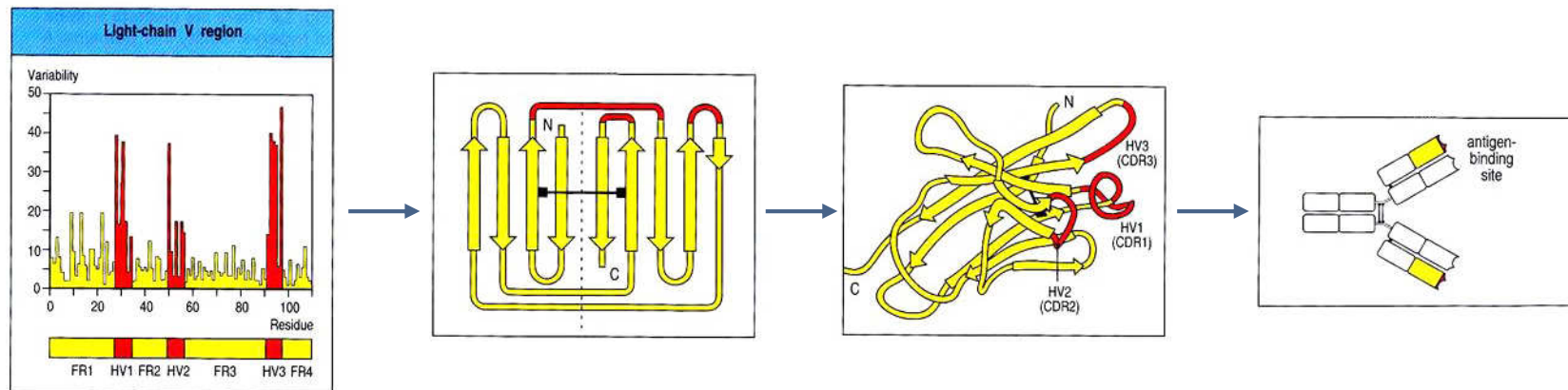
HV = hypervariabilní oblast;
FR = „framework regions“



Frekvence
výskytu různých
aminokyselin

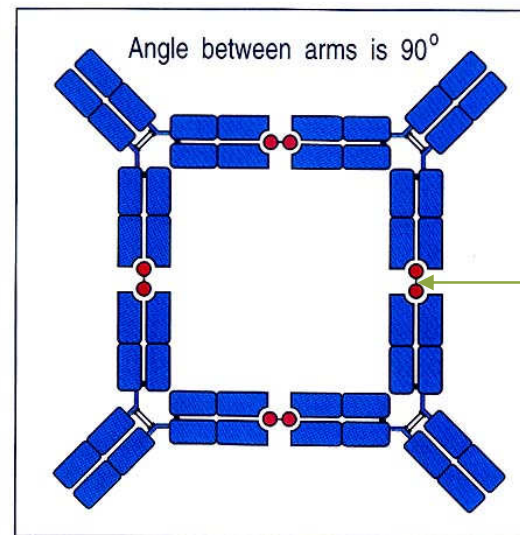
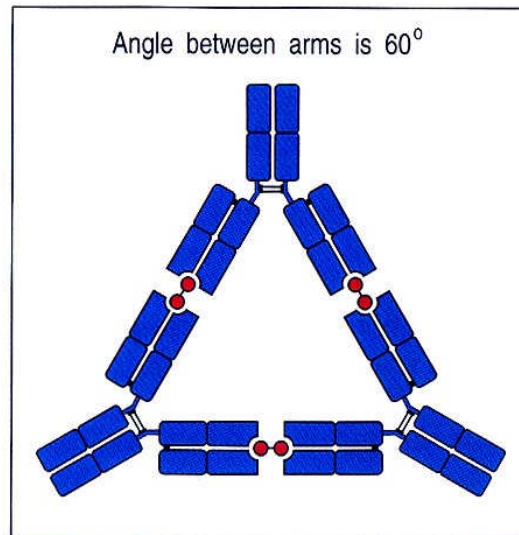
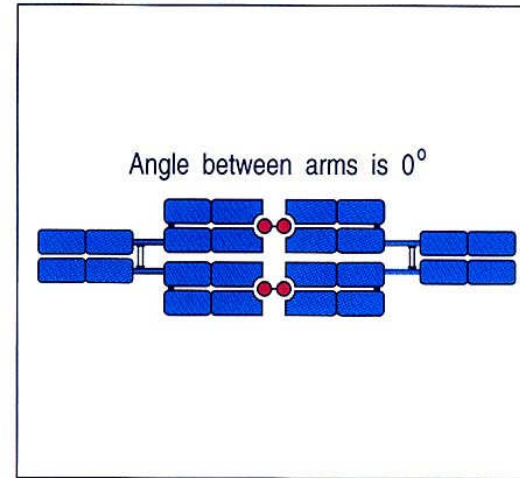


Lokalizace hypervariabilních oblastí na lehkém řetězci Ig



Každá hypervariabilní oblast má jen 5 až 10 aa, které se účastní vazby antigenu.

Interakce imunoglobulinů s antigeny



Antigen
(dva hapteny)

Typy imunoglobulinů a jejich funkce v organismu

Typy imunoglobulinů	Těžký řetězec	Funkce	Proporce
IgM	μ	aktivuje komplement	5%
IgD	δ	?	1%
IgG	γ	aktivuje komplement	80%
IgA	α	součást slin a sekretů	14%
IgE	ϵ	alergické reakce	<1%

Komplement - systém sérových proteinů aktivovaných komplexy protilátka-antigen nebo mikroorganismy. Pomáhá eliminovat patogenní mikroorganismy navozením jejich lyze nebo fagocytózy

Klasifikace imunoglobulinových řetězců

V = variabilní oblast , C = konstantní oblast

Lehké řetězce (light)

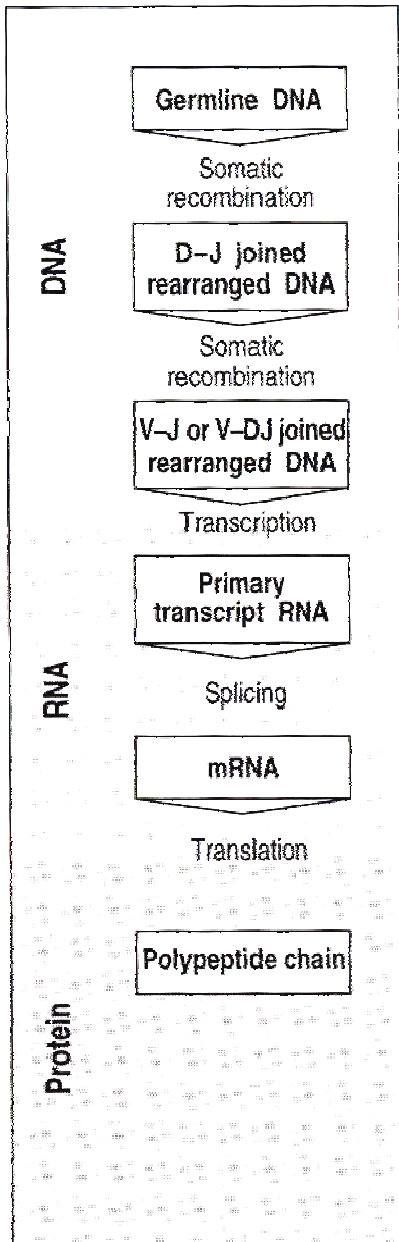
$V_L C_L$ $V_K C_K$ nebo $V_\lambda C_\lambda$ (tj. 2 typy lehkých řetězců)

Těžké řetězce (heavy)

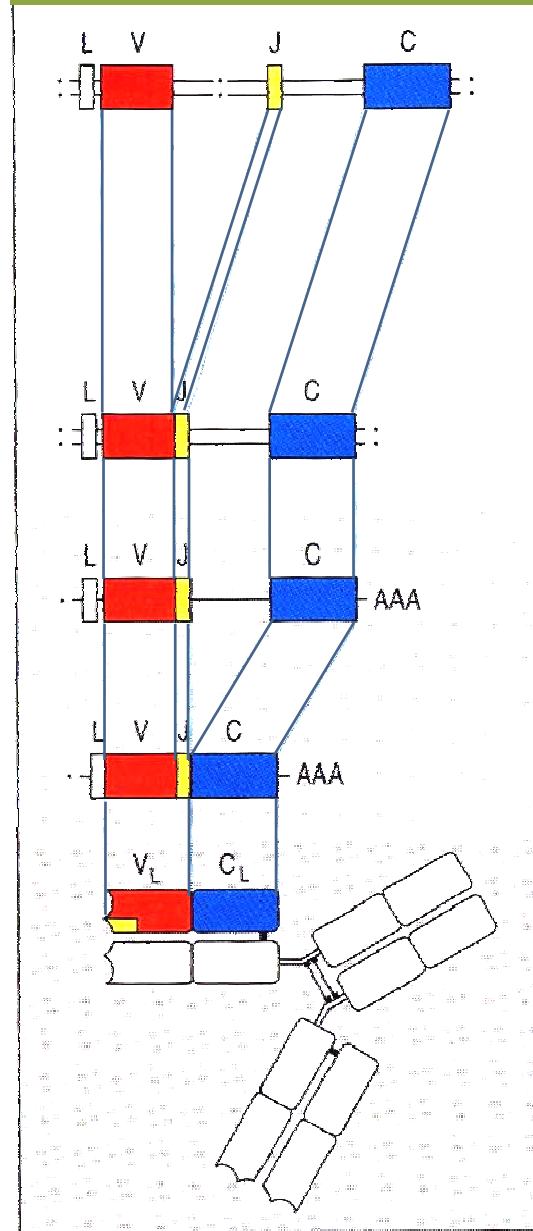
$V_H C_H$ $V_H C_\mu$ $V_H C_\gamma$ $V_H C_\alpha$ $V_H C_\delta$ $V_H C_\epsilon$ (tj. 5 typů těžkých řetězců)

↓ ↓ ↓ ↓ ↓
IgM IgG IgA IgD IgE (5 Ig tříd)

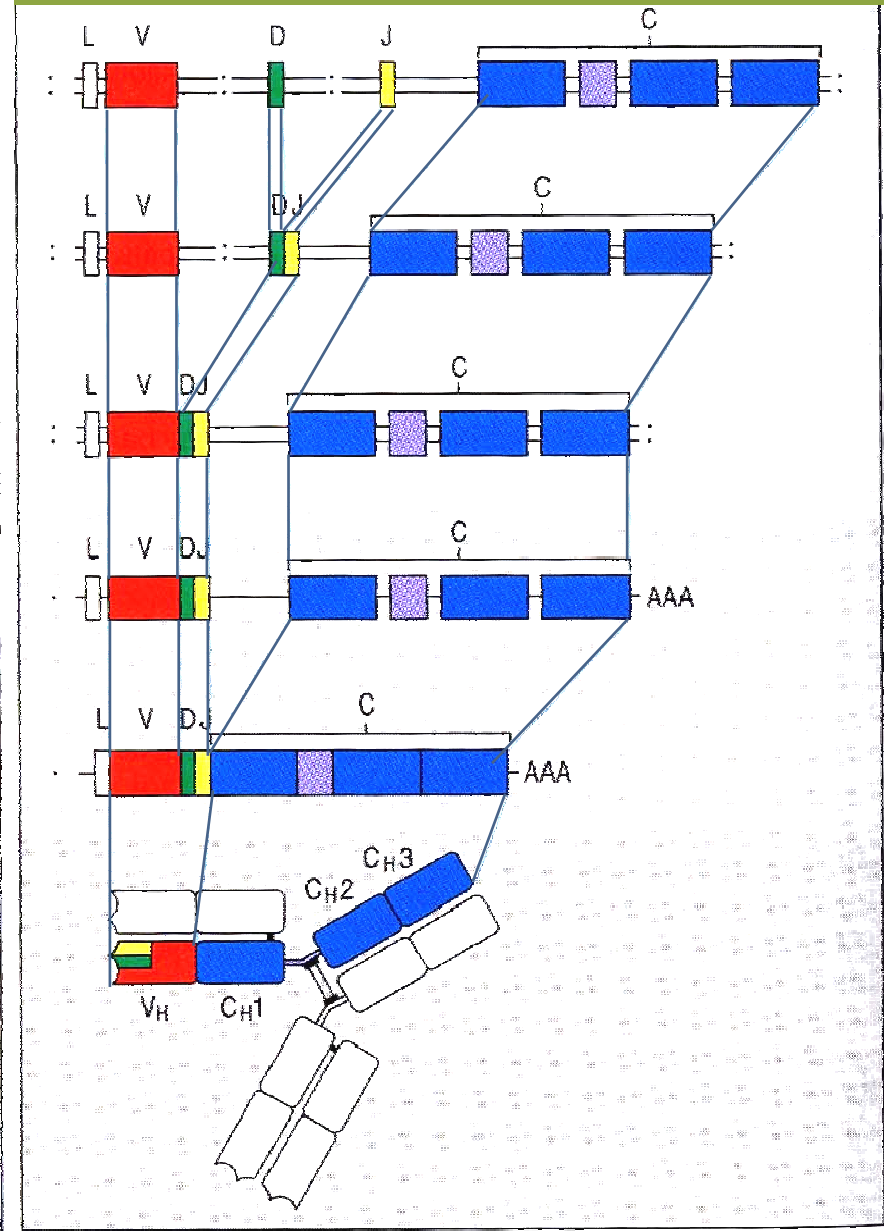
Skupina imunoglobulinů stejného typu těžkého řetězce tvoří imunoglobulinovou třídu



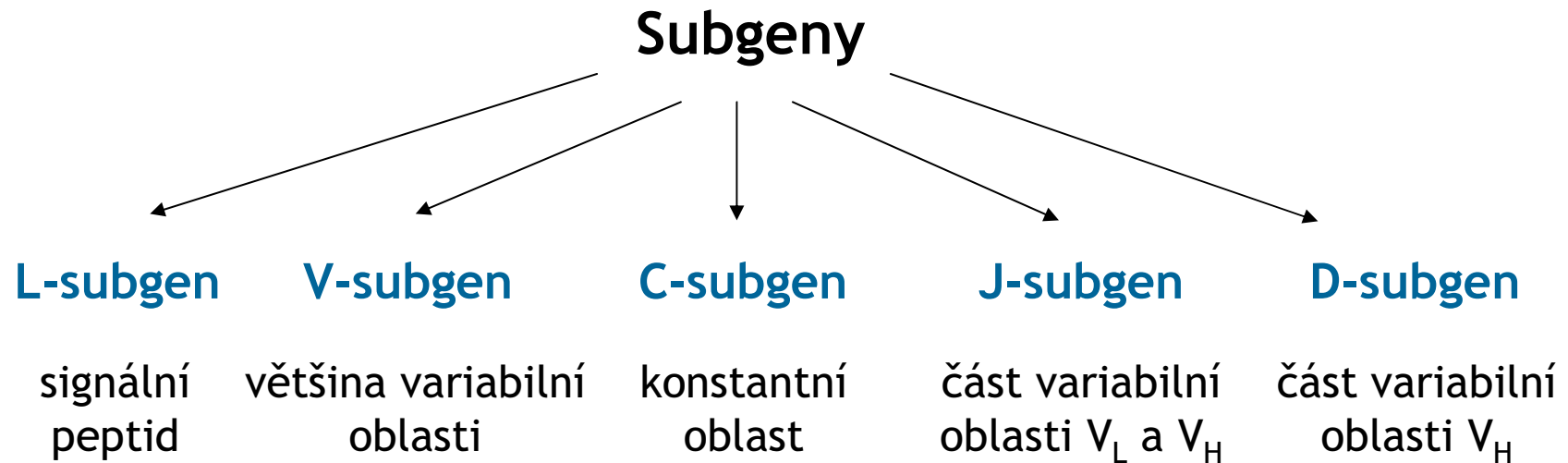
Lehký řetězec



Těžký řetězec



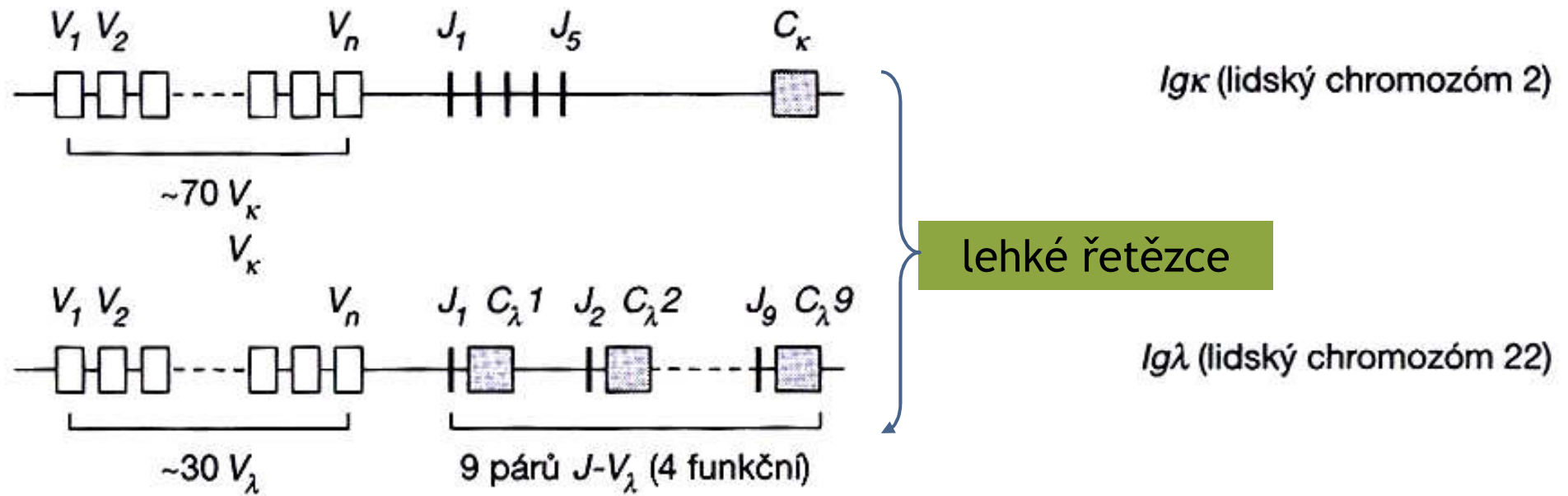
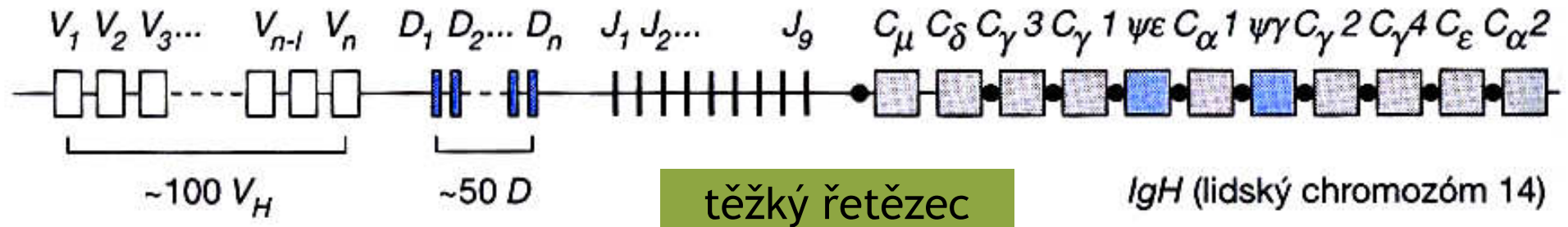
Subgeny = úseky genů pro imonoglobuliny



Geny pro lehké řetězce: L-VJC

Geny pro těžké řetězce: L-VDJC

Organizace lidských genů kódujících imunoglobulinové řetězce



Přeskupování subgenů a kombinace řetězců jako zdroj variability Ig

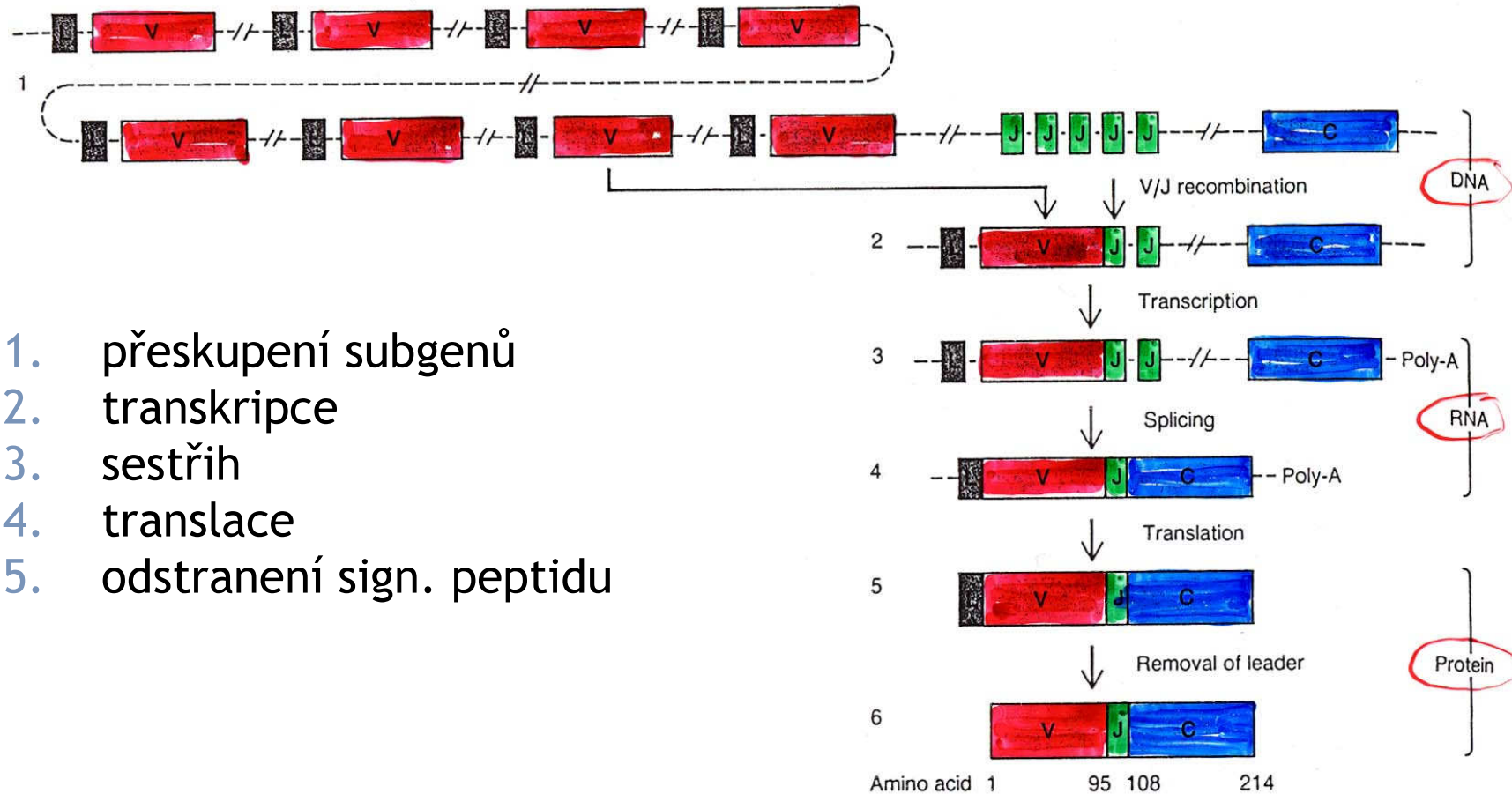
Lehký řetězec kappa: 250 V-subgenů + 4 J-subgeny + 1 C-subgen
 $250 \times 4 \times 1 = 1\,000$ kombinací (lehkých řetězců)

Těžký řetězec: 1000 V-subgenů + 15 D-subgenů + 4 J-subgeny +
+ 8 C-subgenů
 $1\,000 \times 15 \times 4 \times 8 = 480\,000$ kombinací (těžkých řetězců)

Celkem možných kombinací obou typů řetězců:
 $1\,000 \times 480\,000 = 480\,000\,000$ kombinací (kompletních řetězců)

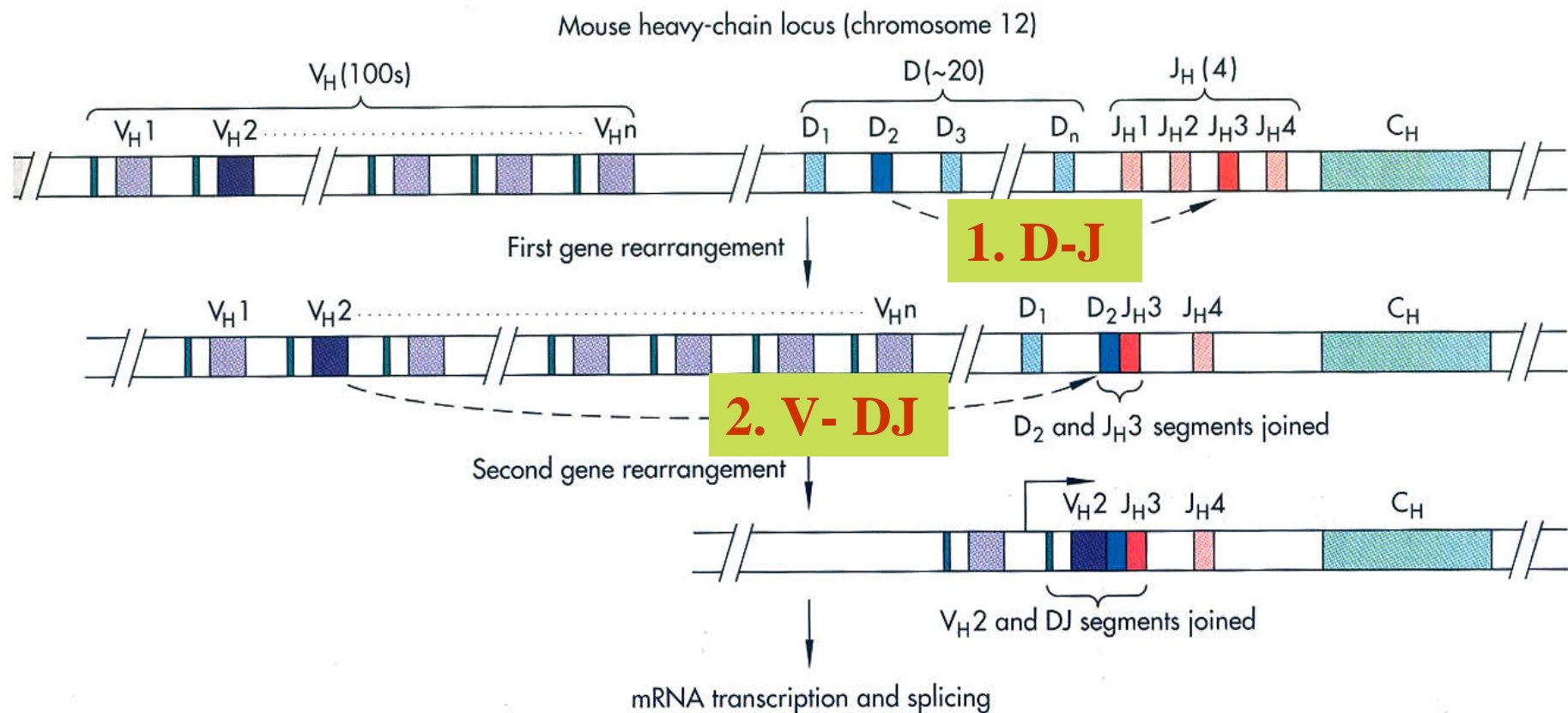
nahodilost kombinací - dvojčata

Expresse genu pro lehký imunoglobulinový řetězec



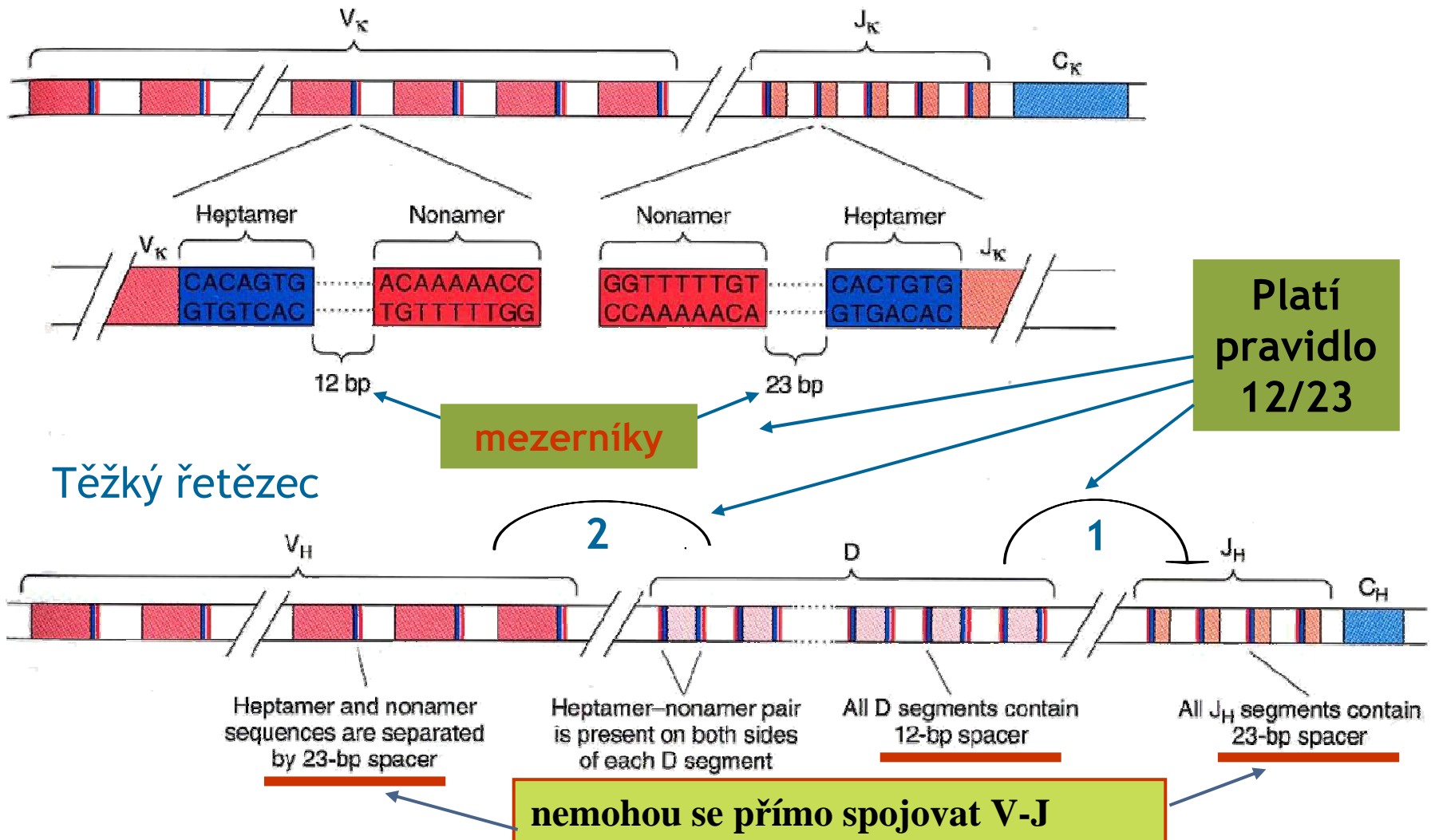
1. přeskupení subgenů
2. transkripce
3. sestřih
4. translace
5. odstranění sign. peptidu

Přeskupování subgenů pro těžký imunoglobulinový řetězec

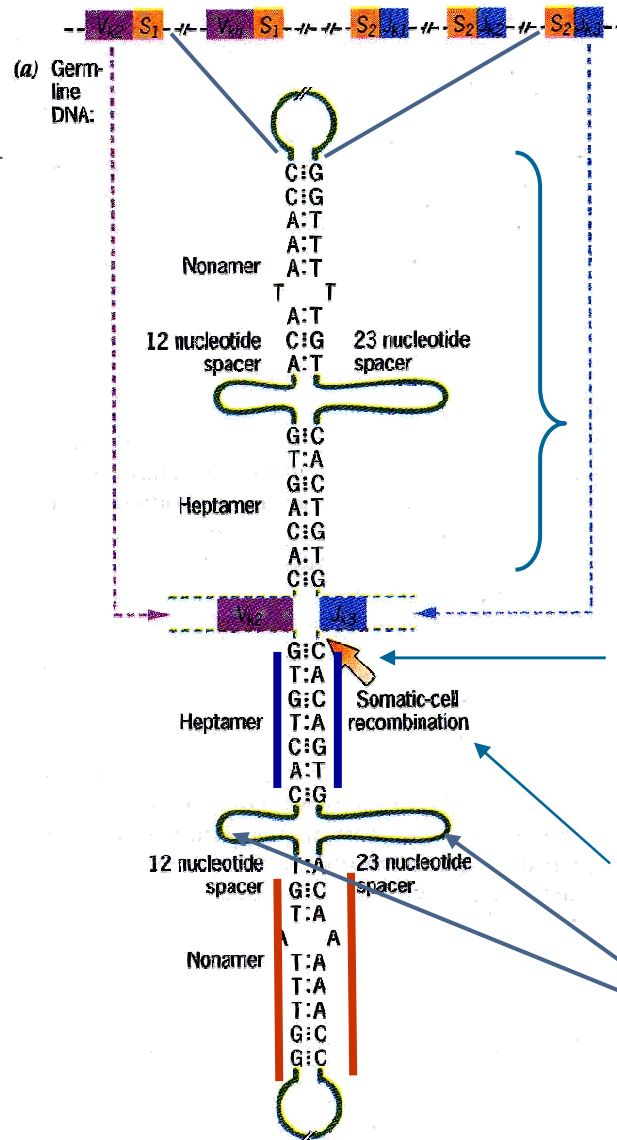


Molekulární mechanismus přeskupování subgenů

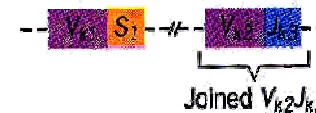
Lehký řetězec kappa v zárodečné linii



Přeskupení subgenů procesem V-J somatické rekombinace



(b) Hypothetical "stem-and-loop" intermediate with known heptameric and nonameric signal sequences:



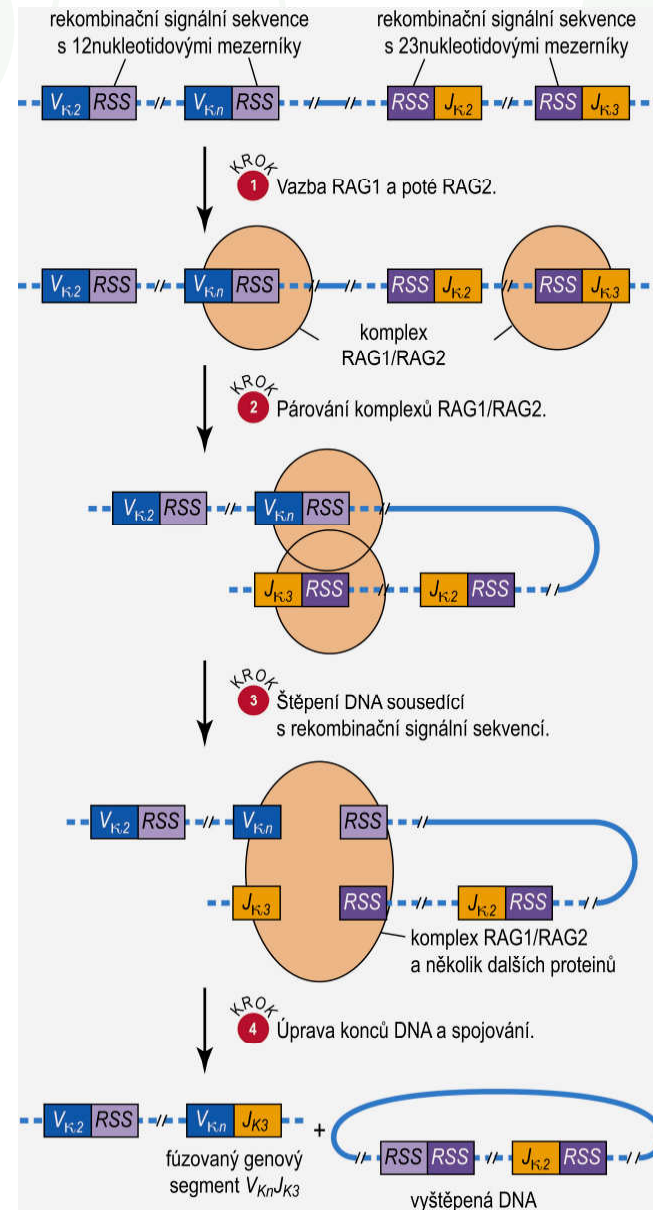
Heptamer-mezerník-nonamer
= recombinational signal sequence (RSS)

RAG1 a RAG2 proteiny = **V(D)J rekombináza**
(recombination-activating gene)

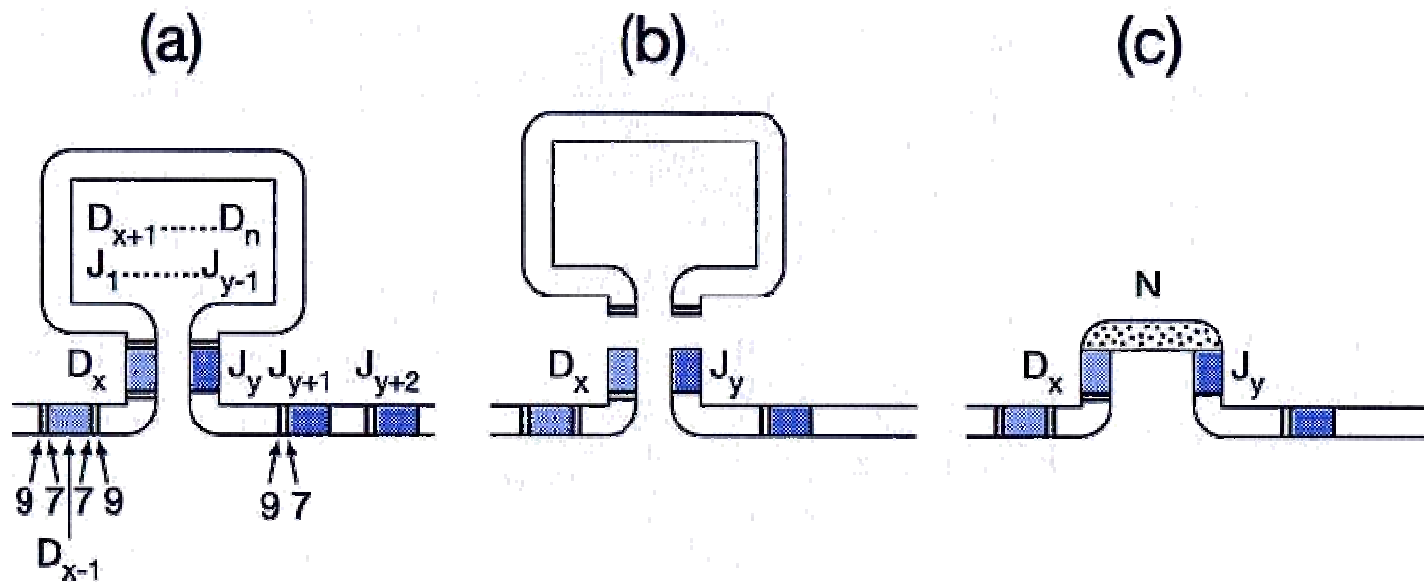
vznik nepřesných spojení

12 a 23 bp mezerníky

Spojování genových segmentů J a V

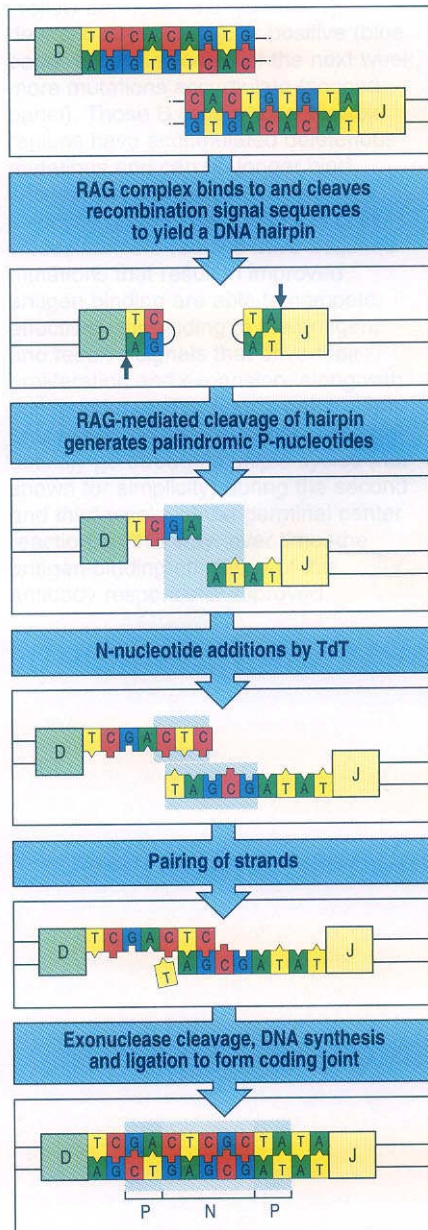


Schematické znázornění vzniku nepřesných spojení mezi D a J



- vytvoření smyčky po spárování nonamerů a heptamerů
- vyštěpení smyčky rekombinázou
- působením **terminální transferázy, DNA-polymerázy a ligázy** se konce D a J spojí - v místě spojení je krátká náhodná (nově vytvořená) sekvence

Průběh spojování subgenů D a J – vznik variabilních spojení



komplex rekombinázy RAG vytváří na heptamerových sekvencích vlásenky, které následně štěpí

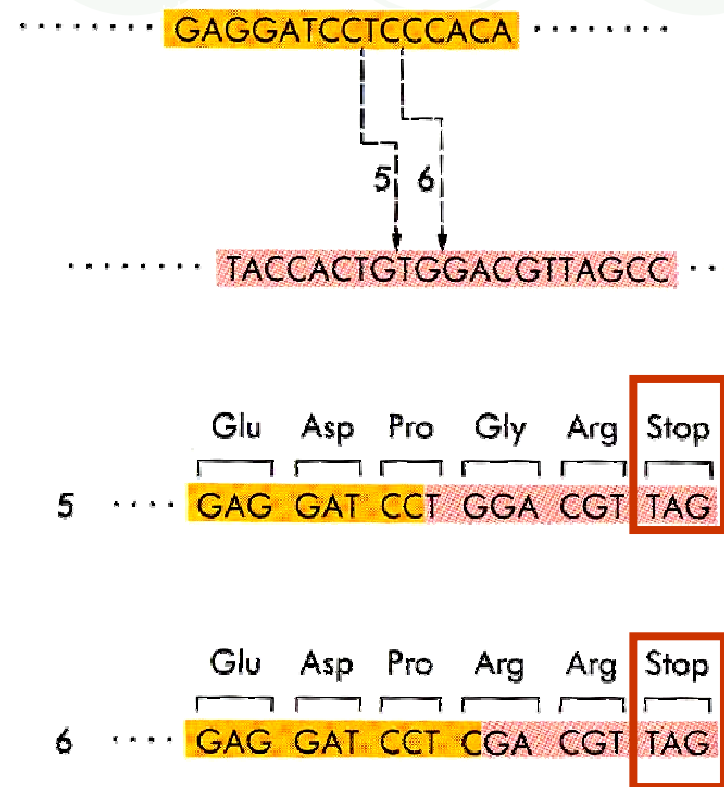
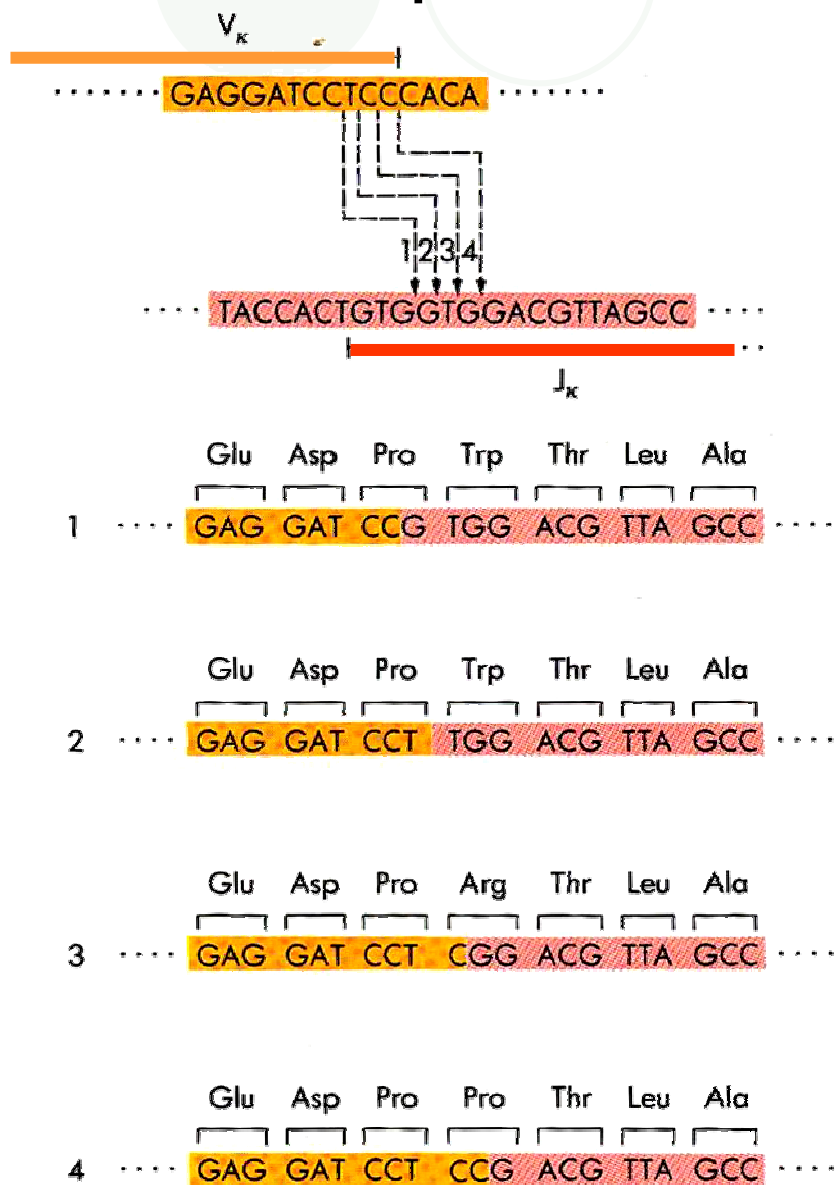
Terminální deoxynukleotidyl transferáza připojuje náhodně nukleotidy (N) na konce jednořetězců

Nespárované nukleotidy jsou odstraněny exonukleázou a jsou nahrazeny reparační syntézou

P = palindromové nukleotidy tvořící vlásenku,

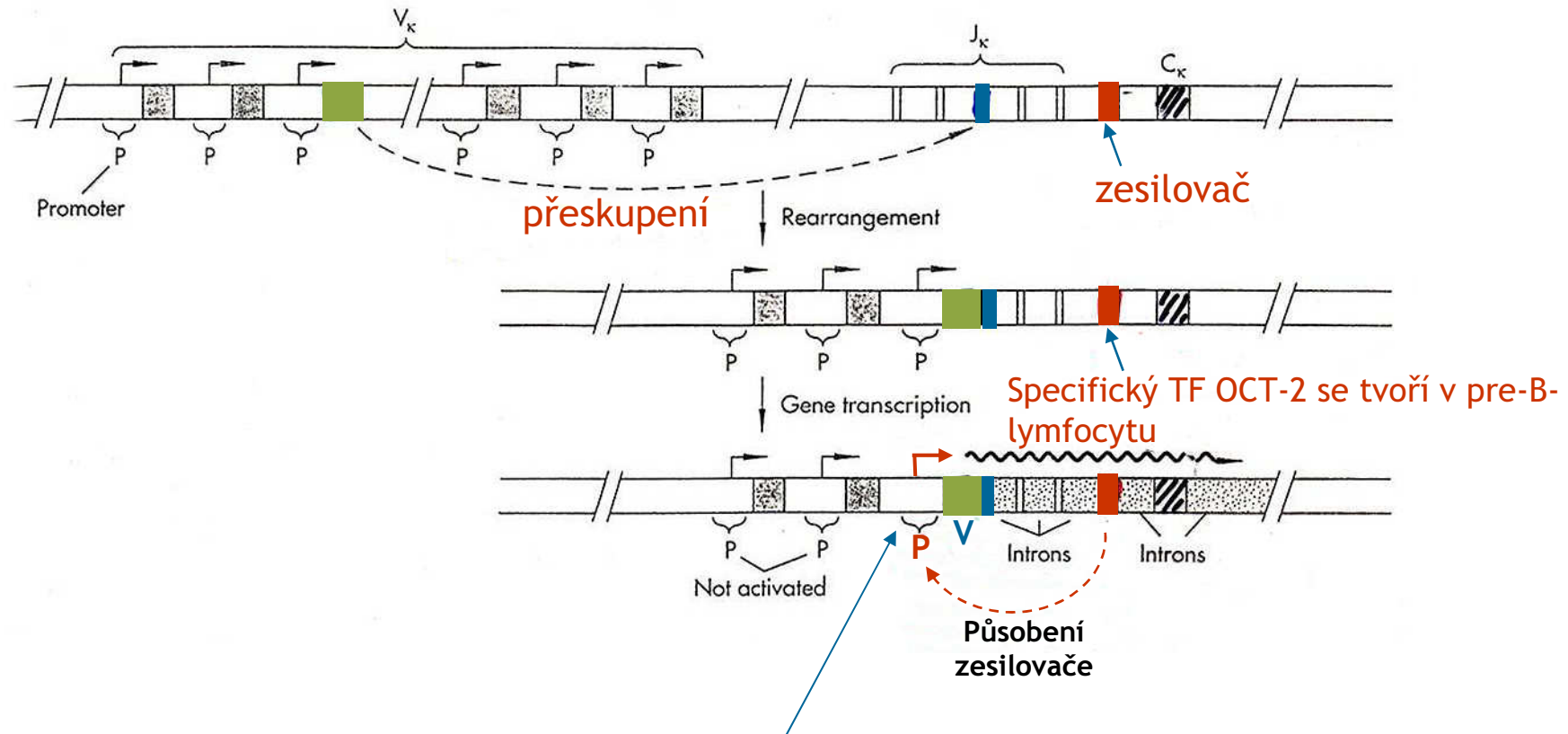
N = „netemplátové“ nukleotidy

Nepřesná spojení mezi V a J subgeny vytvářejí další zdroj rozmanitosti protilátek



Produktivní
a neproduktivní
spojení

Aktivace transkripce po přeskupení subgenů



Transkripce probíhá jen z promotoru toho V subgenu, který je nejbliže zesilovači

Izotypový přesmyk

Přesmyk tříd = přechod Ig z jedné třídy do jiné

Probíhá na úrovni těžkých řetězců

Variabilní oblast těžkého řetězce zůstává zachována, mění se konstantní oblast, zodpovědná za efektorové funkce

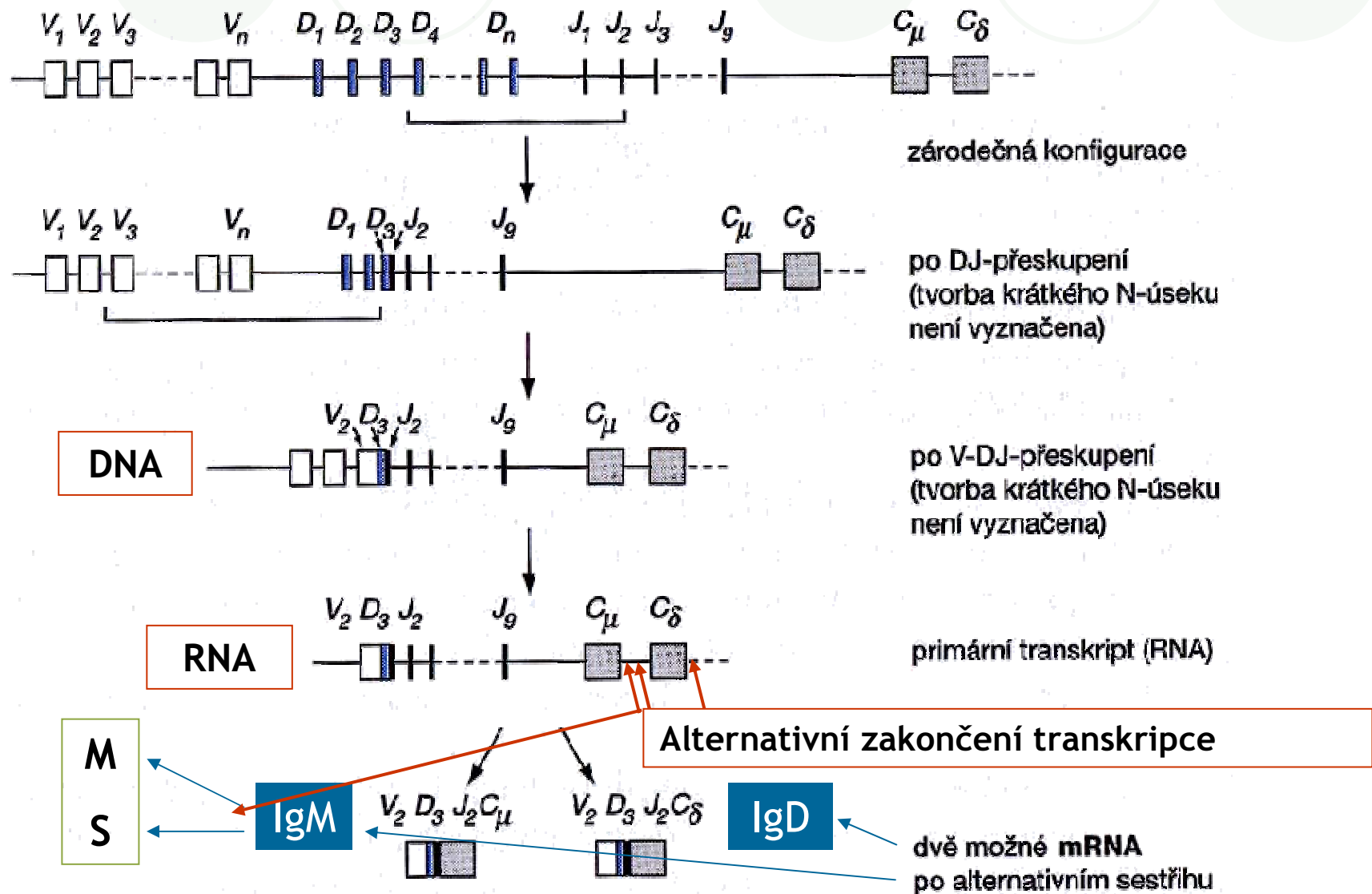
A. Přesmyk na úrovni transkripce

- přechod z IgM z membránového na sekretovaný
 - přechod z IgM na IgD
- přepis překrývajících se transkripčních jednotek ze stejného promotoru, končících různými polyadenylačními signály

B. Přesmyk na úrovni DNA

- vytvořený exon L-VDJ_H se připojuje k různým subgenům C po delecii mezi J a některými C
- přesmyk je řízen signály přesmyku (S) = sekvence na 5' konci C_H subgenů za účasti enzymů

Průběh přeskupování subgenů a alternativní sestřih hnRNA u těžkých řetězců



Formy protilátek (imunoglobulinů)

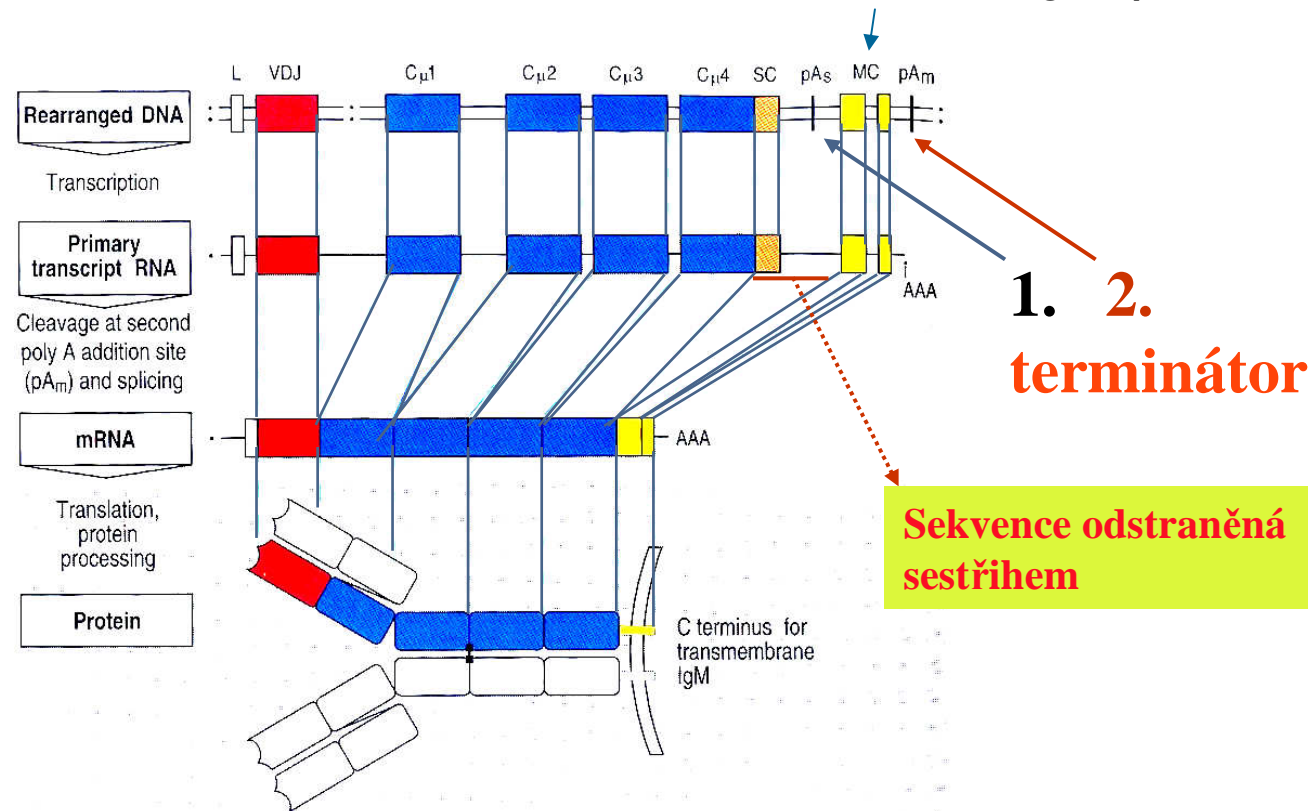
Dvě formy protilátek (imunoglobulinů)

- **Povrchové n. transmembránové** = BCR-receptor (B-lymfocytový receptor) = receptor pro antigeny, zajišťuje přenos signálu do buňky
- **Sekretované** = uvolňované do prostředí

Vznik membránové formy IgM

membránová forma

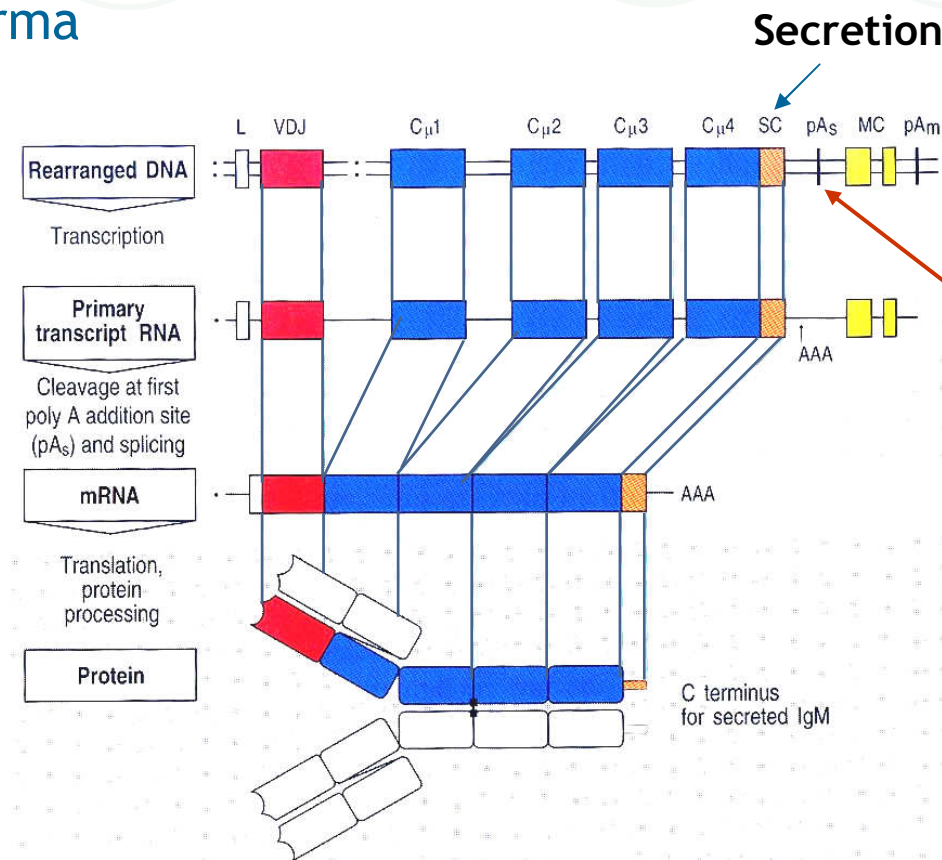
Membrane-coding sequence



Transkripce končí na druhém (vzdálenějším) terminátoru a sestřihem je odstraněn úsek RNA kódující hydrofilní aminokyseliny (SC). Vytváří se protilátka, která je ukotvena v membráně.

Vznik sekretované formy IgM

sekretovaná forma



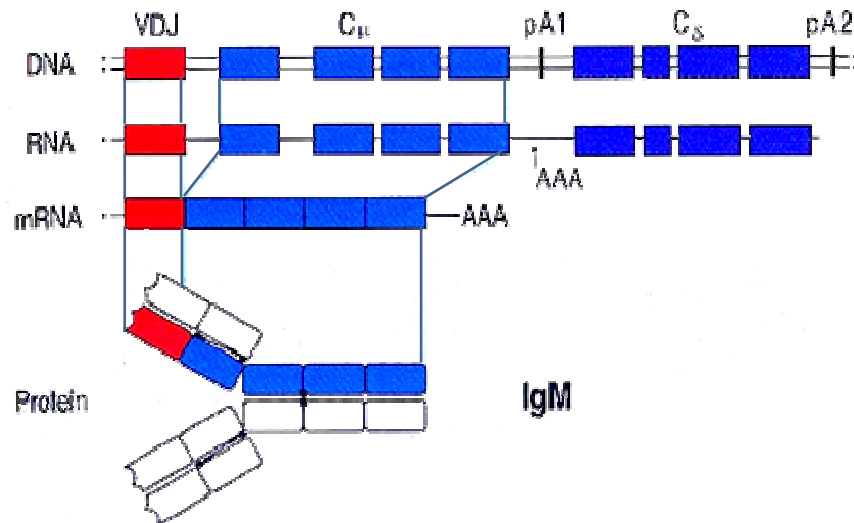
Secretion-coding sequence

1. terminátor

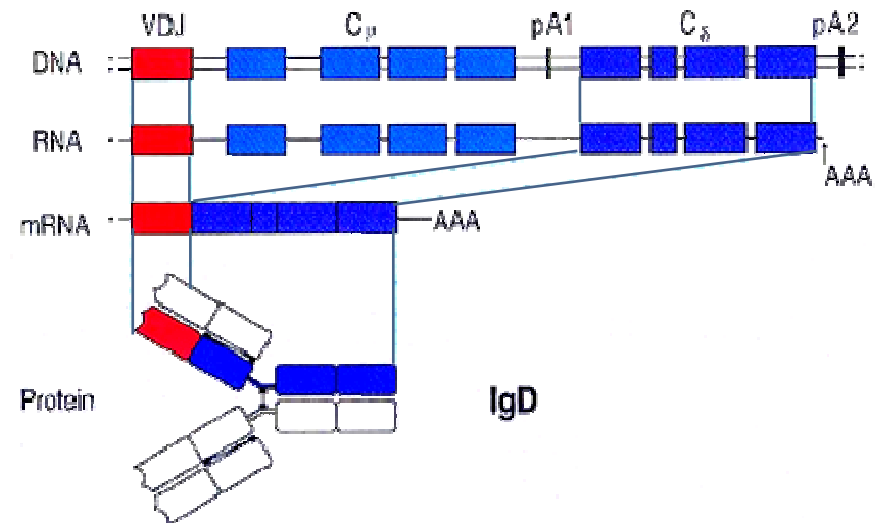
Transkripce končí na prvním terminátoru, vzniklý transkript neobsahuje část kódující hydrofobní aminokyseliny (MC) a vzniká protilátka, která se uvolňuje z buňky

Koexprese IgM a IgD regulovaná úpravou transkriptu

Exprese IgM



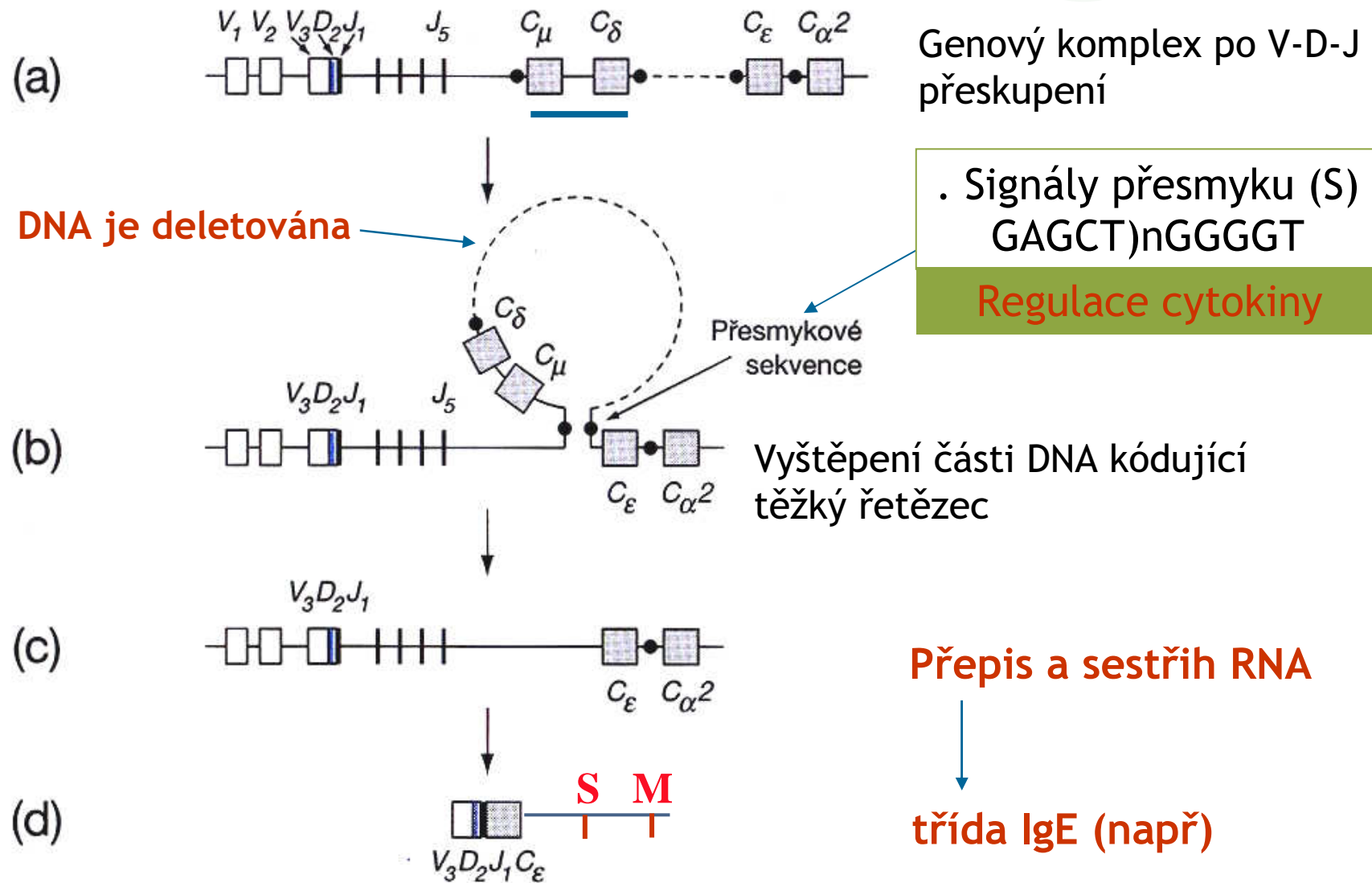
Exprese IgD



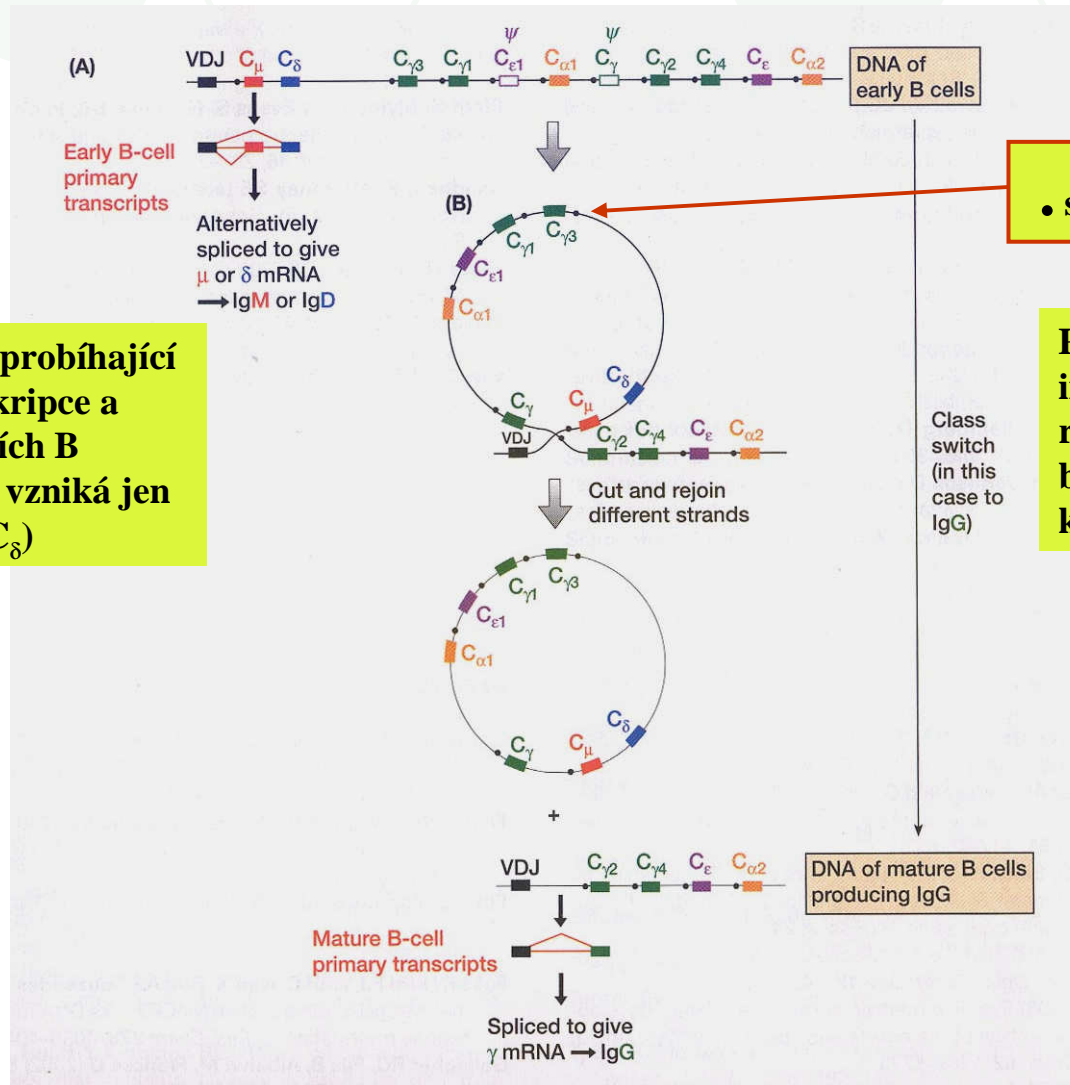
Ve zralých B-buňkách začíná transkripce na promotoru V_H a pokračuje přes exony C_μ a C_δ . Ukončení transkripce v pA1 a následný sestřih vede k tvorbě mRNA kódující těžký řetězec μ , zatímco ukončení transkripce v pA2 a následný odlišný způsob sestřihu odstraní exony C_μ a vzniklá mRNA pak kóduje těžký řetězec δ .

Oba způsoby transkripce mohou probíhat paralelně, takže v buňkách dochází k současné produkci IgM a IgD

Přesmyk tříd (izotypový přesmyk) při diferenciaci B lymfocytů



Přesmyky tříd probíhající u těžkých řetězců

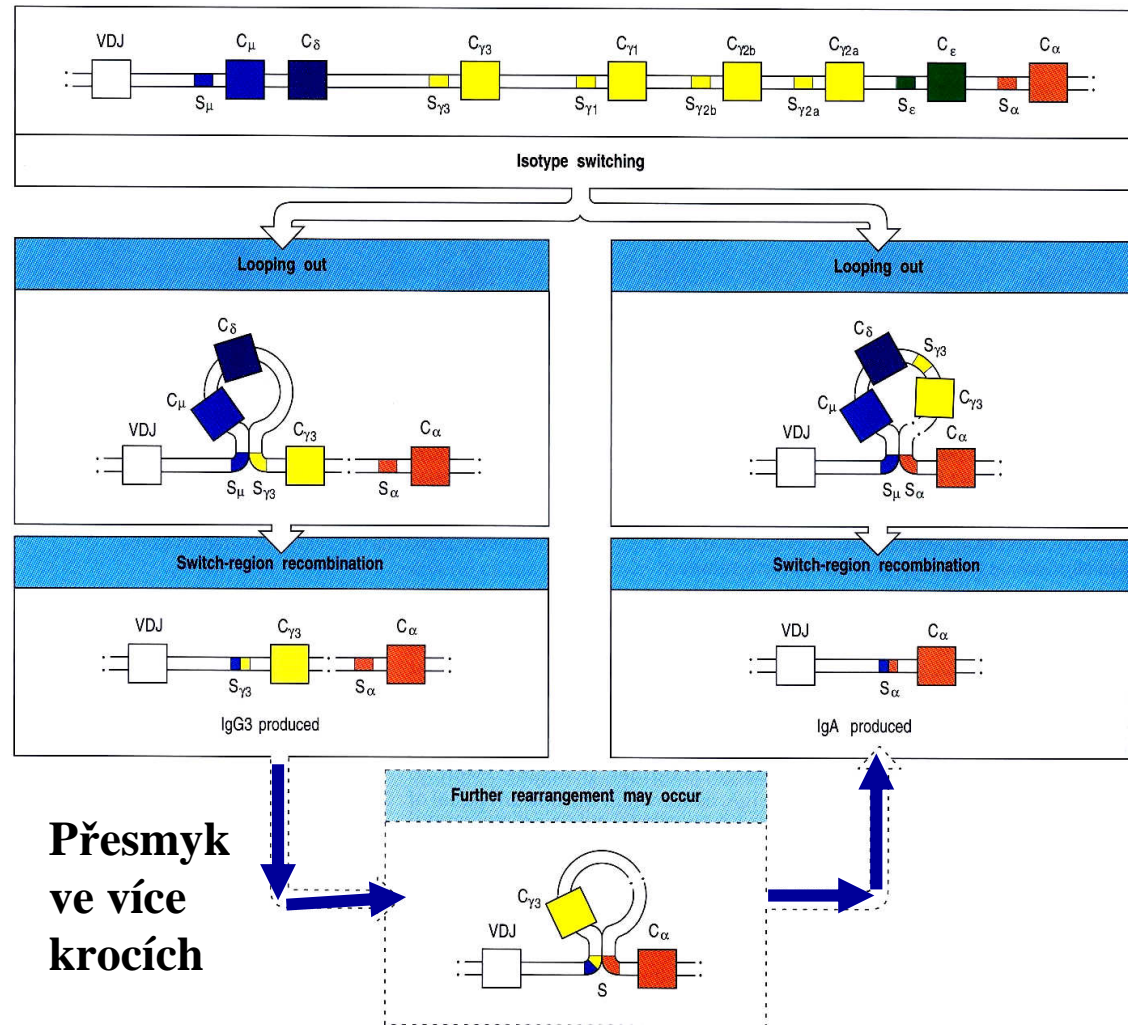


• signály přesmyku

Pozdní přesmyk probíhající intrachromatidovou rekombinací během zrání B buněk (v jednom nebo více krocích))

Časný přesmyk probíhající na úrovni transkripce a sestřihu u naivních B buněk (nejdříve vzniká jen C_μ, později též C_δ)

Izotypové přesmyky mohou probíhat sekvenčně, dokud je možné zatím nevyštěpené C subgeny eliminovat



Přesmyk v jednom kroku

Přesmyk ve více krocích

Alelická a izotypová exkluze

Alelická exkluze

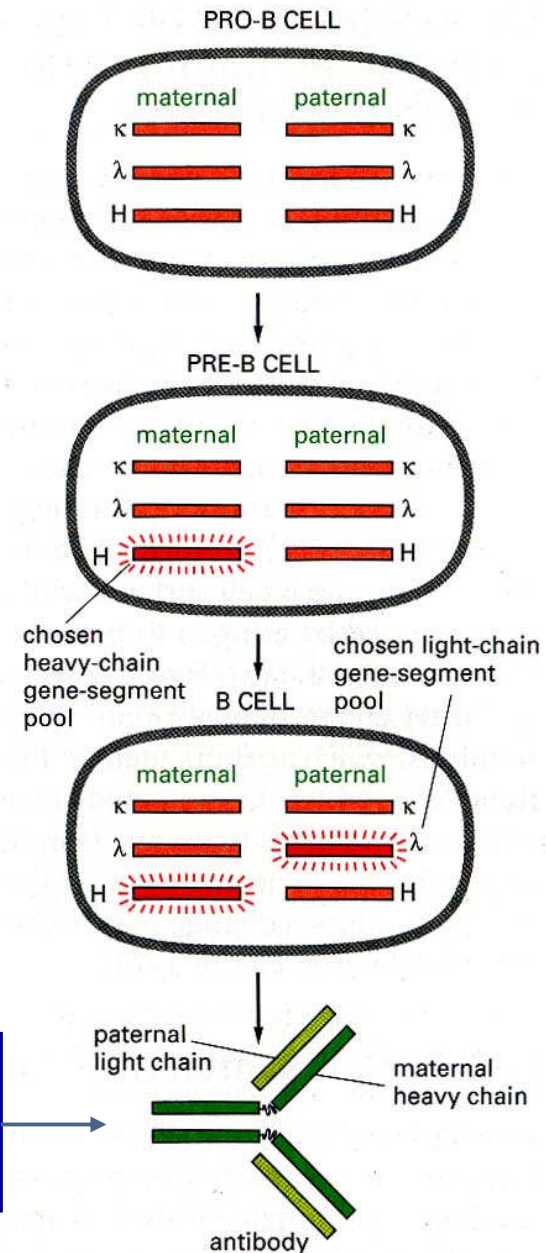
Během vývoje B-buňky jsou aktivovány pouze geny jednoho z rodičů (nejasný mechanismus)

Izotypická exkluze

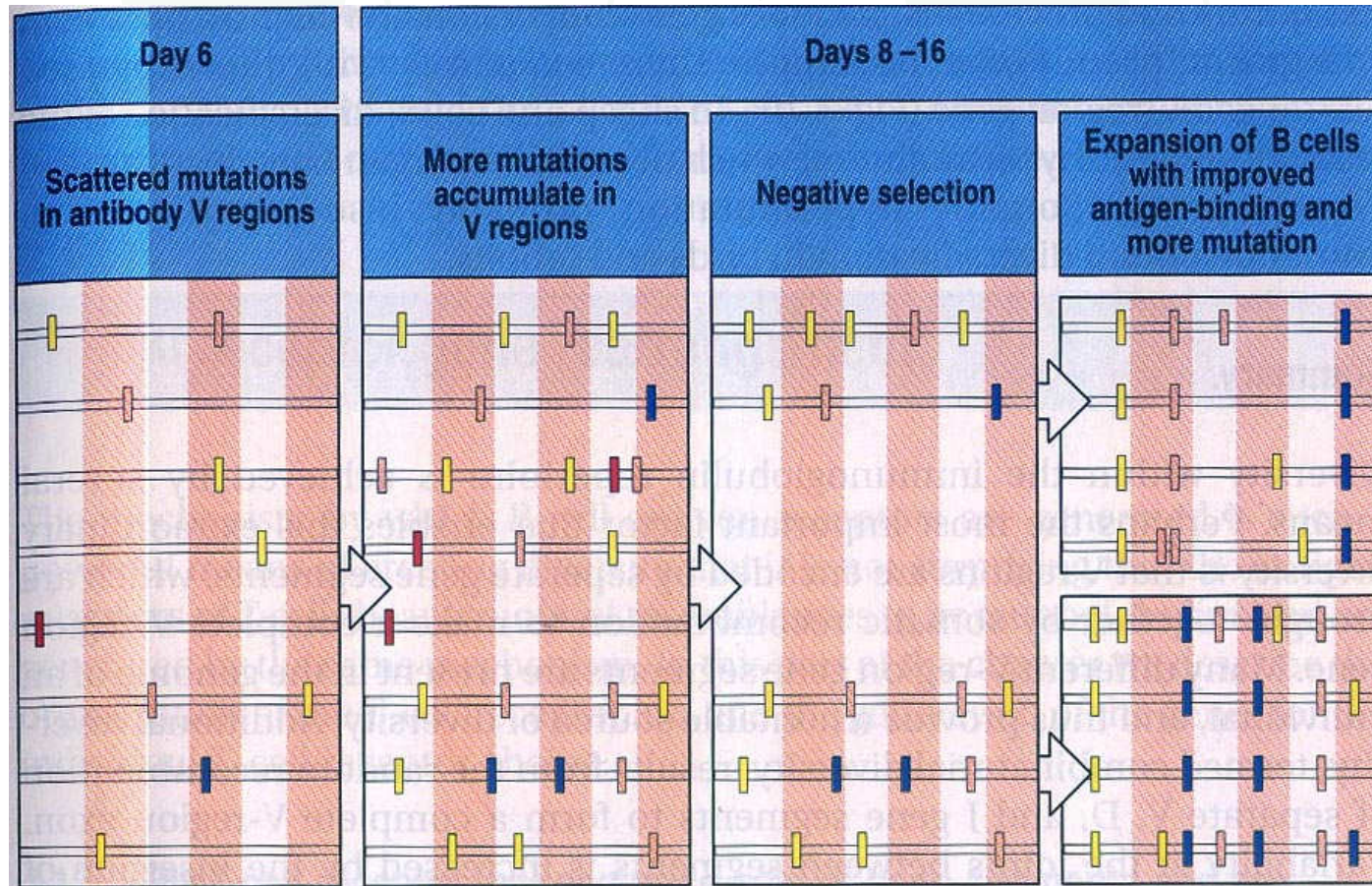
Z lehkých řetězců je aktivován pouze jeden z možných typů: lambda nebo kappa

Výsledná buňka tvoří protilátku obsahující jedinečné vazebné místo pro antigen

**Monospecifická
protilátka**



Vznik somatických hypermutací v přeskupené variabilní oblasti imunoglobulinového řetězce



Vznikají různé typy mutací, z nichž některé vedou k zesílení vazby antigenu protilátkou – buňky, které takové protilátky tvoří, proliferují

Příčina rozmanitosti protilátek



1. Přeskupování V-D-J-subgenů
2. Kombinace lehkých a těžkých řetězců
3. Nepřesná spojení V-J (V-D-J)
4. Somatické mutace v okolí V

