

НАСТАВНА ЈЕДИНИЦА 2



Презентација антигена

Шта виде лимфоцити?

Функција APC

Функција молекула MHC

Обрада и презентација протеинских
антигена

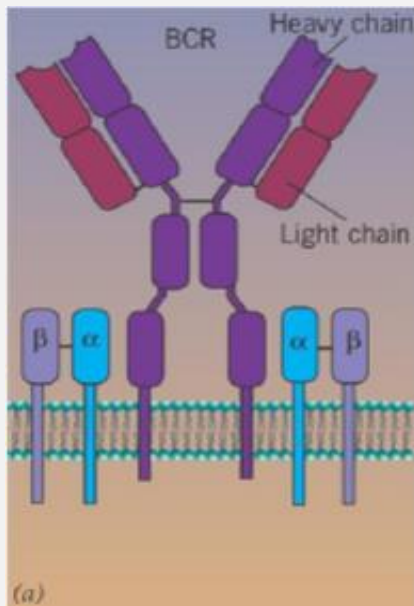
Стечени (специфични) имунски одговор...

... започиње када
рецептори за антиген на лимфоцитима
препознају (“виде”) антиген.

Рецептори за антиген на лимфоцитима

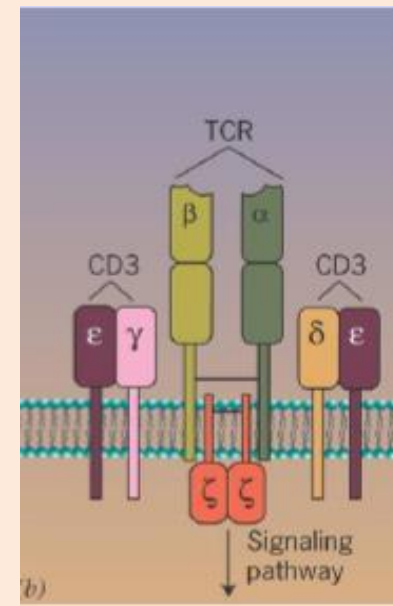
В ћелијски рецептор (BCR)

- BCR рецептор (мембранско антитело) препознаје макромолекуле (протеине, липиде, полисахариде, липополисахариде, нуклеинске киселине), као и мале молекуле у раствору или на површини корпускуларног антигена.



Т ћелијски рецептор (TCR)

- Већина Т лимфоцита својим TCR препознаје само пептидне фрагменте протеинских антигена када су приказани на површини APC (*Antigen Presenting Cells* = ћелије које приказују антиген).
- APC те пептиде приказују на мембрани у склопу посебних молекула специјализованих за приказивање пептида (MHC).



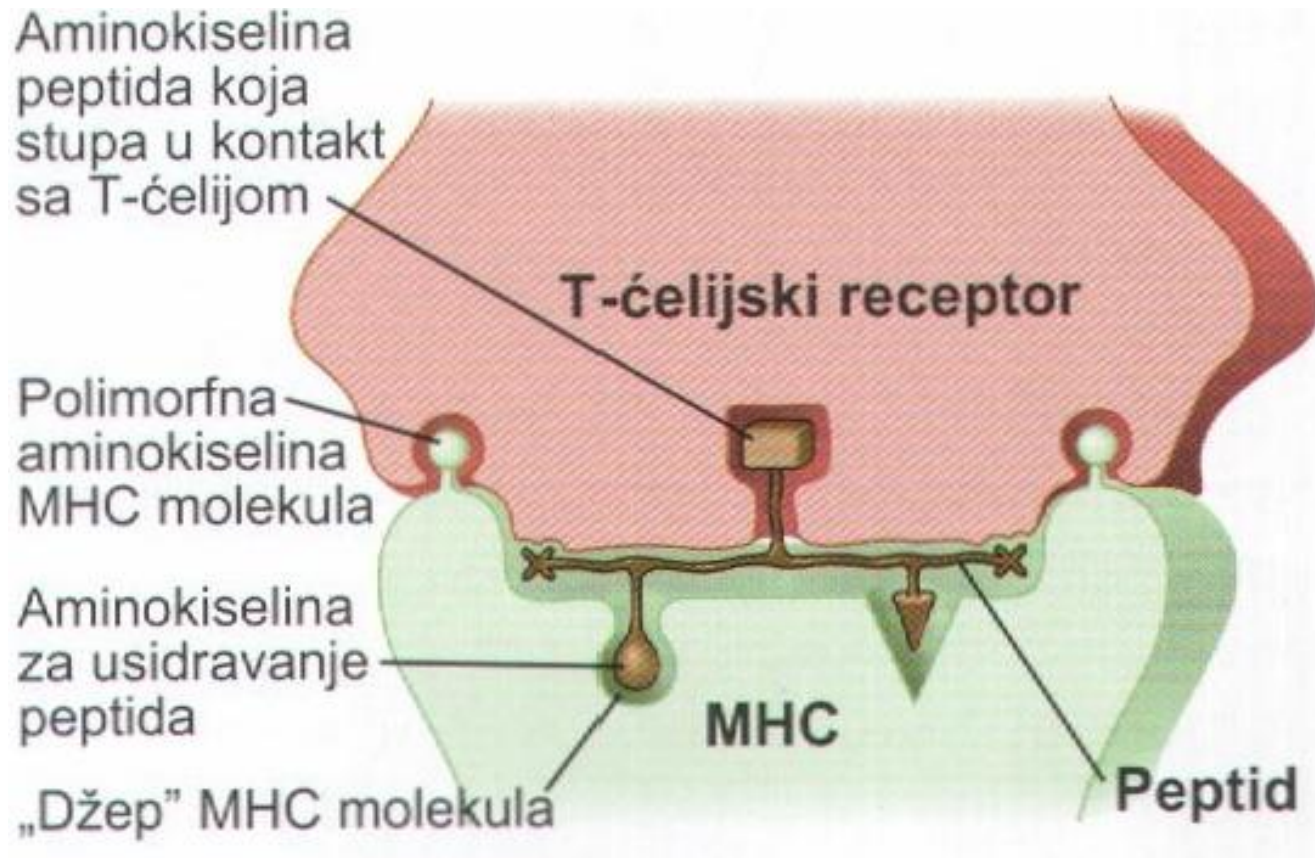
Шта виде Т лимфоцити?

Т лимфоцити *виде* (препознају) пептиде везане за молекуле МНС (од енгл. *Major Histocompatibility Complex* = главни комплекс ткивне подударности) на површини ћелија домаћина.

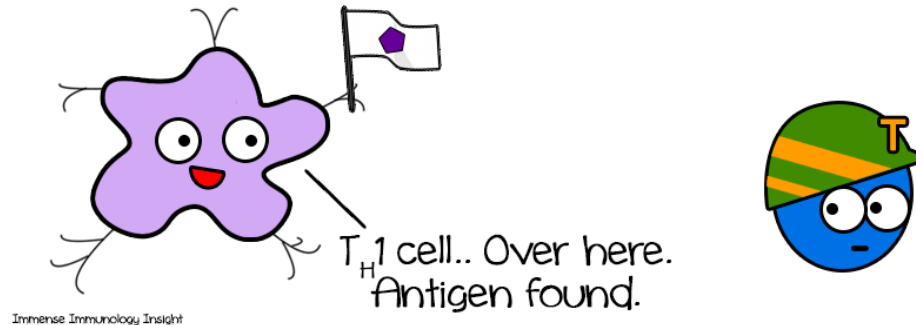
Другим речима: Т лимфоцити виде пептидне делове антигена искључиво уколико су приказани у контексту продуката МНС који су исказани на нашим ћелијама.

Т лимфоцити једне јединке препознају пептиде искључиво ако су они приказани у склопу МНС молекула карактеристичних за ту јединку – **МНС рестрикција**.

T лимфоцит препознаје **страно** или **измењено сопствено** у контексту **сопственог**



Ћелије које приказују антиген (APC, енгл. *Antigen Presenting Cells*)



× Професионалне APC (APC у ужем смислу)

- приказују пептидне антигене у склопу II али и I класе MHC молекула.

То су: дендритске ћелије, Мо/Mf ћелије, В лимфоцити.

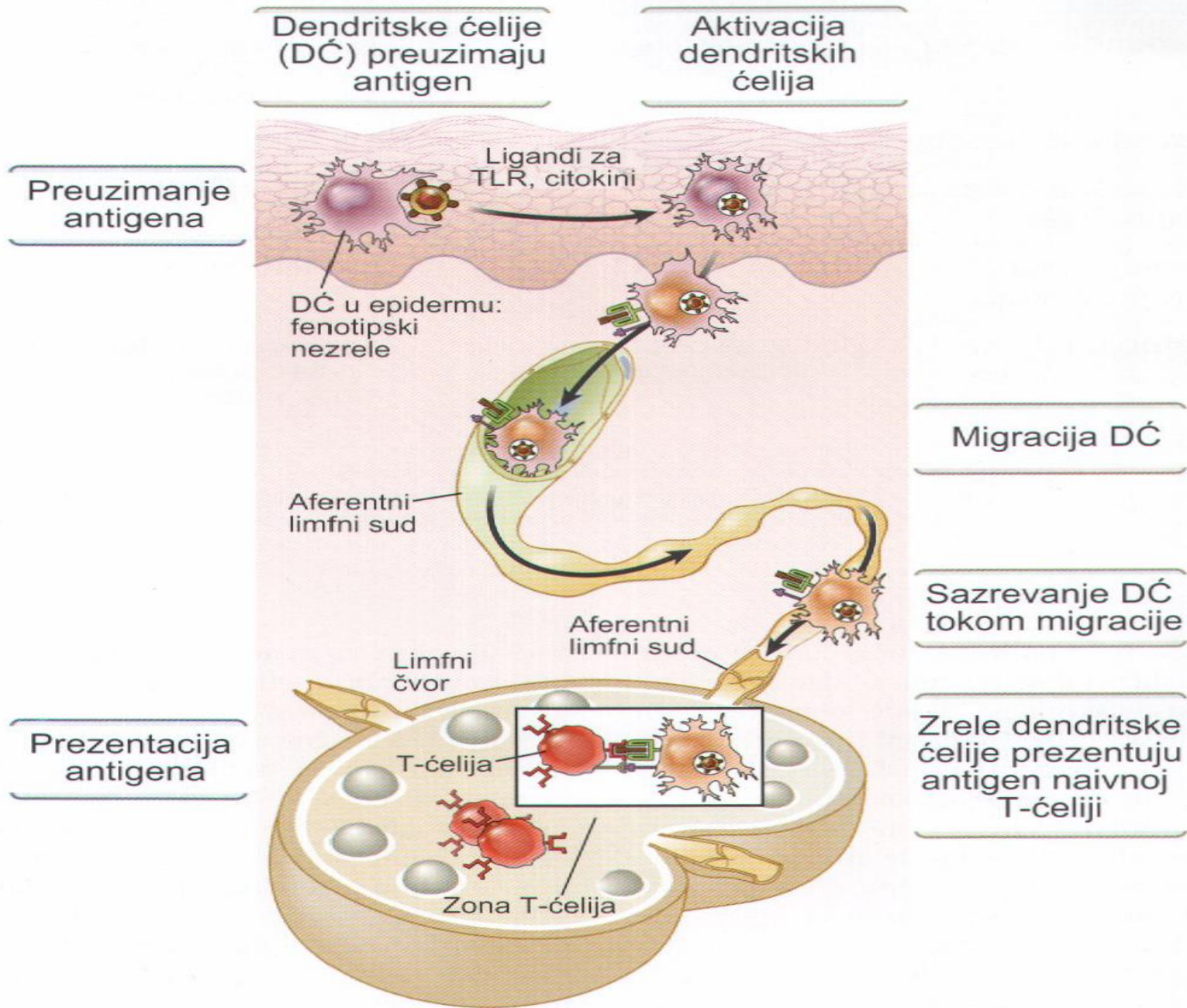
× Непрофесионалне APC (APC у ширем смислу)

- приказују пептидне антигене, у склопу I класе MHC молекула ефекторским CD8⁺ Т лимфоцитима.

То су све ћелије са једром.

Дакле, све ћелије осим еритроцита, сперматозоида и ћелија трофоблата су непрофесионалне APC.

Преузимање антигена и миграција дендритских ћелија



Како APC узимају протеинске антигене?

- ✓ Микроорганизме, који су ушли у тело, преузимају професионалне APC (незреле дендритске ћелије типа **Langerhans**) и уносе их у ендозоме.
 - Ово збивање (као и цитокини урођене имуности – TNF и IL-1), активира дендритске ћелије.
- ✓ **Активиране дендритске ћелије** губе способност адхеренције за епител и исказују рецепторе за оне хемокине који се продукују у лимфним чворовима (ЛЧ).
 - То их усмерава према регионалном ЛЧ и то у паракортекс (Т лимфоцитну зону).
- ✓ Током миграције дендритске ћелије се даље мењају: постају зреле (тј. исказују костимулаторне молекуле) и способне да активирају Т лимфоците.

Популације дендритских ћелија

Osobina	Konvencionalne dendritske ćelije	Plazmocitoidne dendritske ćelije
Površinski markeri	Visokoeksprimiran CD11c Visokoeksprimiran CD11b	Nisko eksprimiran CD11c Negativan CD11b
Glavna lokalizacija	Tkiva	Krv i tkiva
Ekspresija receptora sličnih Tollu	Visokoeksprimirani TLR 4, 5, 8	Visokoeksprimirani TLR 7, 9
Glavni citokini koje proizvode	TNF, IL-6, IL-12	Interferoni tip I
Pretpostavljene glavne funkcije	Indukcija odgovora T-ćelija protiv većine antigena	Antivirusna urođena imunost i indukcija odgovora T-ćelija protiv virusa

Професионалне APC

1. **Дендритске ћелије** су најпотентније у активацији наивних CD4+ Т лимфоцита.

Оне, такође, могу усмерити и диференцијацију наивних CD4+ Т лимфоцита у различитим правцима.

Дендритске ћелије приказују пептидне антигене и CD8+ Т лимфоцитима у склопу МНС молекула I класе – **УНАКРСНА ПРЕЗЕНТАЦИЈА**.

2. **Mo/Mf** су важне APC у ефекторској фази целуларног имунског одговора.

Презентују антигене фагоцитованих микоорганизама ефекторским CD4+ Т лимфоцитима.

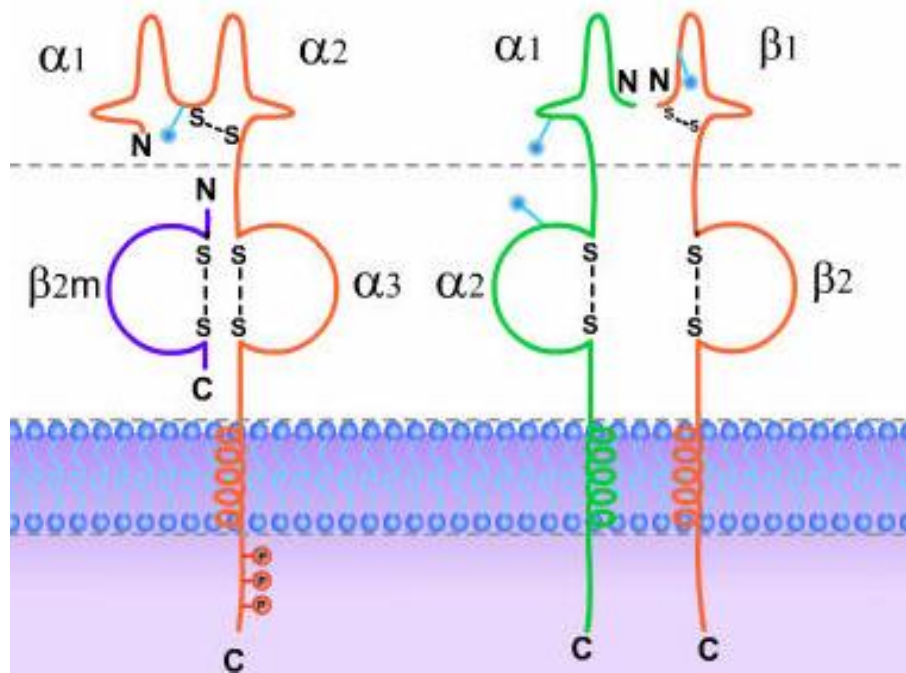
3. **В лимфоцити** су доминантне APC у хуморалном имунском одговору.

Друге функције APC

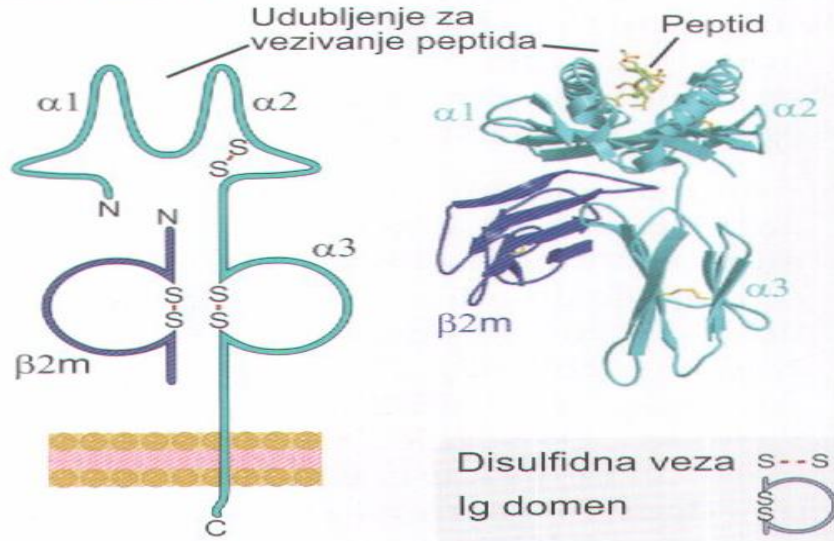
Осим презентације антигена APC обезбеђују Т лимфоцитима тзв. *други сигнал за активацију*...

... Други сигнал обезбеђују костимулаторни мембрански протеини и цитокини.

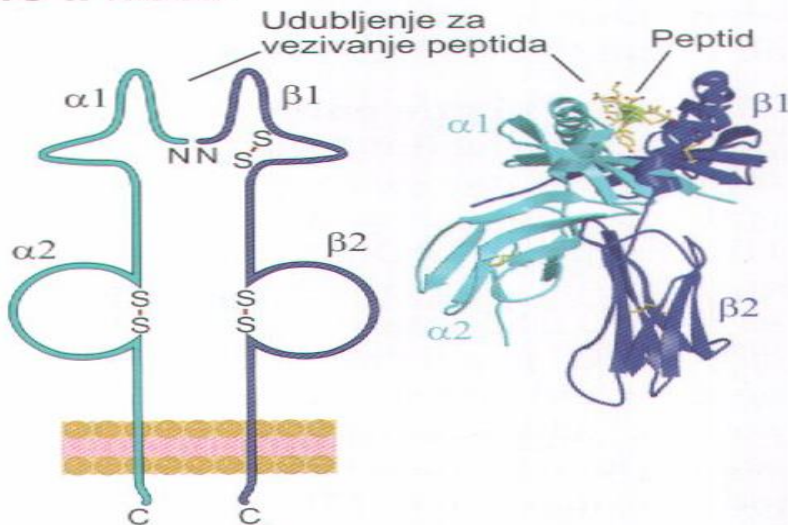
Гени и продукты МНС



MHC I klase



MHC II klase



Функција продукта МНС

Молекули МНС су мембрански протеини чија је функција да приказују пептиде Т лимфоцитима.

Продукти I класе

- $\alpha 1$ и $\alpha 2$ домени* граде **активно место**, односно, удубљење чије **дно** чине најполиморфнији делови молекула, за које се везује терминалним аминокиселинама пептид величине 8-11 а. к.
- На **врху** удубљења се налазе мање полиморфни делови молекула које препознају Т лимфоцити (карактеристични за сваки алел).
- $\alpha 3$ домен је неполиморфан (исти је код свих алела) и представља **место за везивање Т ћелијског корецептора CD8**.

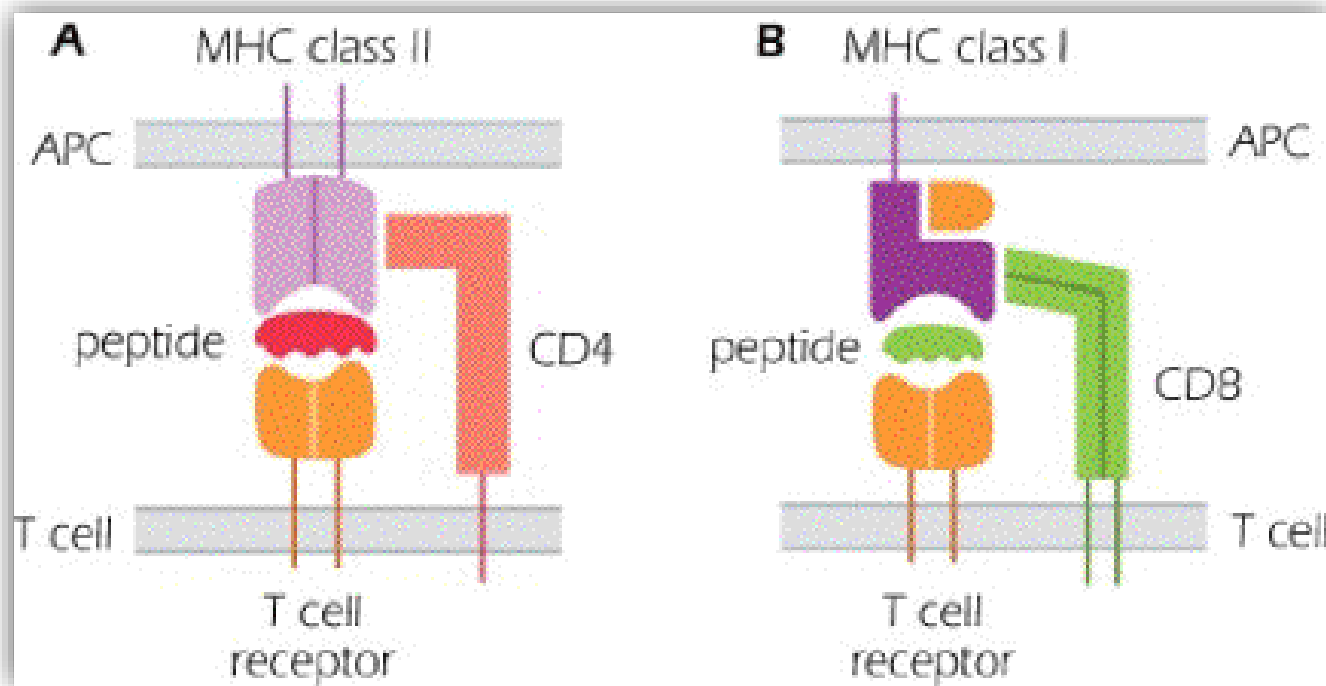
Продукти II класе

- $\alpha 1$ и $\beta 1$ домени чине зидове удубљења довољно великог да прими пептид величине 10 – 30 а. к.
- **Дно** удубљења чине најполиморфнији делови молекула.
- При **врху** удубљења налазе се мање полиморфни делови молекула које препознају Т лимфоцити (карактеристични за сваки алел).
- $\beta 2$ је неполиморфан и представља **место за везивање Т ћелијског корецептора CD4**.

* Домен (петљу, глобулу) чине аминокиселине увијене око једне S-S везе.

да запамтимо...

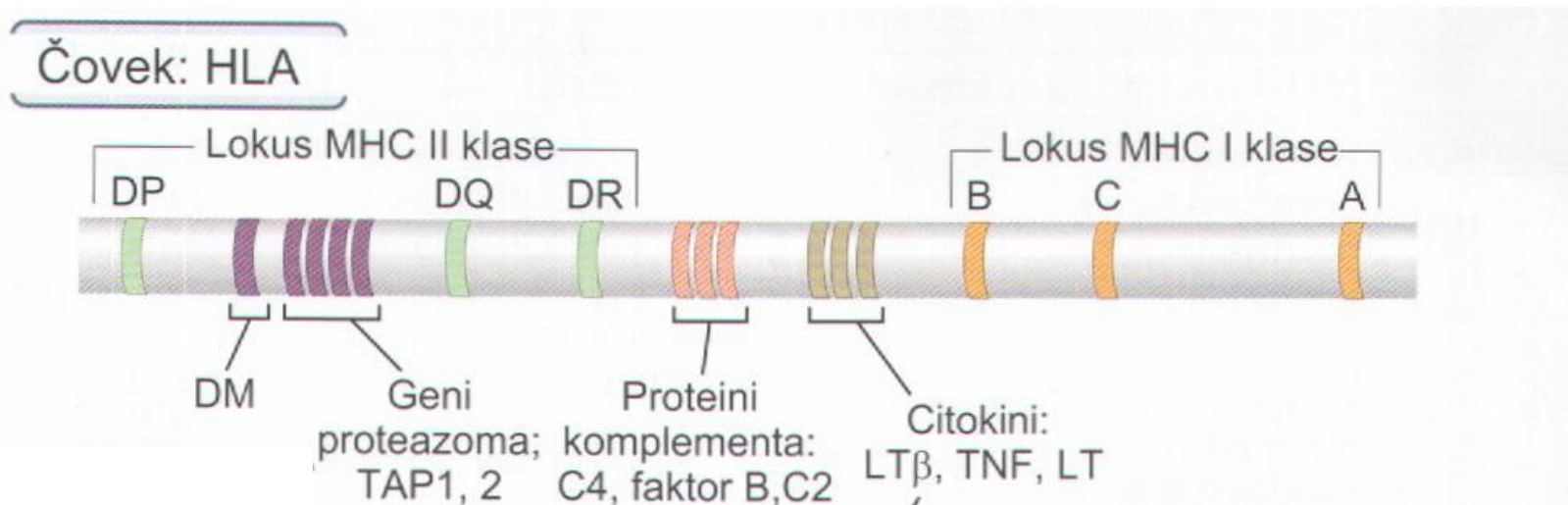
(1) МНС продукти І класе презентују антигене
CD8+Т лимфоцитима



(2) МНС продукти ІІ класе презентују антигене
CD4+Т лимфоцитима

Гени МНС:

- Полиморфизам
 - Спрегнуто наслеђивање (у блоку)
 - Кодоминантна експресија
- МНС локус (скуп спрегнутих гена на једном хромозому)
 - МНС човека = **HLA**
 - Гени I и II класе



Карактеристике гена МНС

1. Кодоминантна експресија...

...јесте обавезна истовремена експресија наслеђених алела са очевог и са мајчиног хромозома.

комбинација алела на једном од хромозома назива се **МНС хаплотип**.

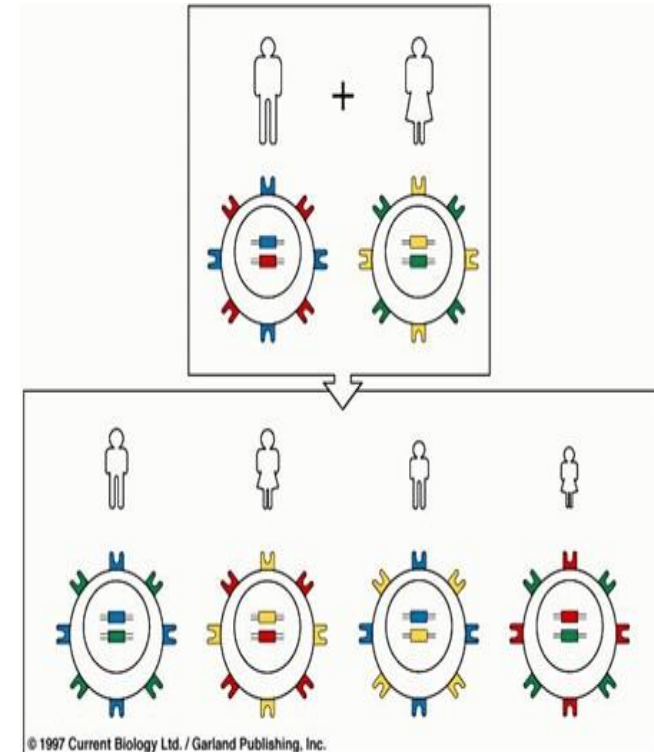
БРОЈ исказаних продуката:

- ✓ има по три гена – HLA-A, HLA-B, HLA-C за α ланац I класе на сваком од хромозома:

$3 \times 2 = 6$ продуката I класе на свакој ћелији.

- ✓ има по три гена – HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR за α ланац и три или четири гена за β ланац (који се могу комбиновати) II класе на оба хромозома:

$3 \times 3 \times 2 = 18$ продуката II класе на свакој професионалној APC

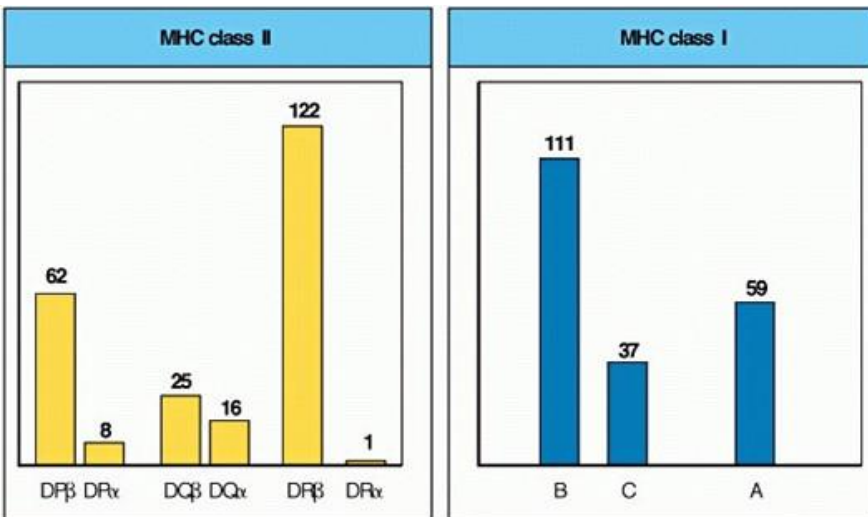


2. Спрегнуто наслеђивање...

...наслеђивање (у блоку) подразумева да:
нема *crossing over*-а у мејози.

То значи да се наслеђује
један очев и један мајчин хаплотип у целини
(једна мајчина и једна очева комбинација).

3. Полиморфизам...



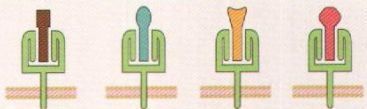
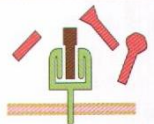

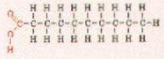
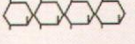


... подразумева велики број алела

сваког од ових гена
на нивоу популације.

Није последица генске
рекомбинације

већ су кодирани наслеђеним генима.

Важан је за селекцију унутар популације.

Osobina	Značaj	
Široka specifičnost	Različiti peptidi mogu da se vežu za isti MHC molekul	
Svaki MHC molekul prikazuje samo jedan peptid u određenom trenutku	Svaka T-ćelija odgovara samo na jedan peptid vezan za MHC molekul	
MHC molekuli vezuju samo peptide	T-ćelije odgovaraju uglavnom na proteinske antigene u MHC molekulima	<div>Proteini </div> <div>Lipidi </div> <div>Ugljeni hidrati </div> <div>Nukleinske kiseline </div> <div>Peptidi </div>
Peptidi se vezuju tokom sklapanja MHC molekula u ćeliji	MHC molekuli I i II klase prikazuju peptide poreklom iz različitih ćelijskih odeljaka	<div>Peptid u endocitnoj vezikuli</div> <div>$\alpha + \beta + I_i$</div> <div>MHC II klase</div> <div>$\beta_2\text{-mikroglobulin} + \alpha + \text{Citosolni peptid transportovan u ER}$</div> <div>MHC I klase</div>
Za stabilnu ekspresiju potrebno je da peptid bude vezan	Samo oni MHC molekuli u kojima se nalaze peptidi ekspimirani su i dostupni T-ćelijama za prepoznavanje	<div>MHC molekul sa vezanim peptidom</div> <div>„Prazan” MHC molekul</div>
Veoma spora disocijacija	MHC molekul prikazuje vezani peptid dovoljno dugo da ga T-ćelija pronađe	<div>$\beta_2\text{-mikroglobulin} + \alpha + \text{Peptid}$</div> <div>Dani</div>

Карактеристике МНС молекула

Сваки МНС молекул везује пептиде који потичу од **протеинских антигена** и приказује их Т лимфоцитима који их препознају својим TCR-ом.

Сваки МНС молекул у једном тренутку може да прикаже само један пептид али је способан да у различитим временима приказује велики број различитих пептида (**широко је специфичан**).

МНС молекули се непрестано синтетишу.

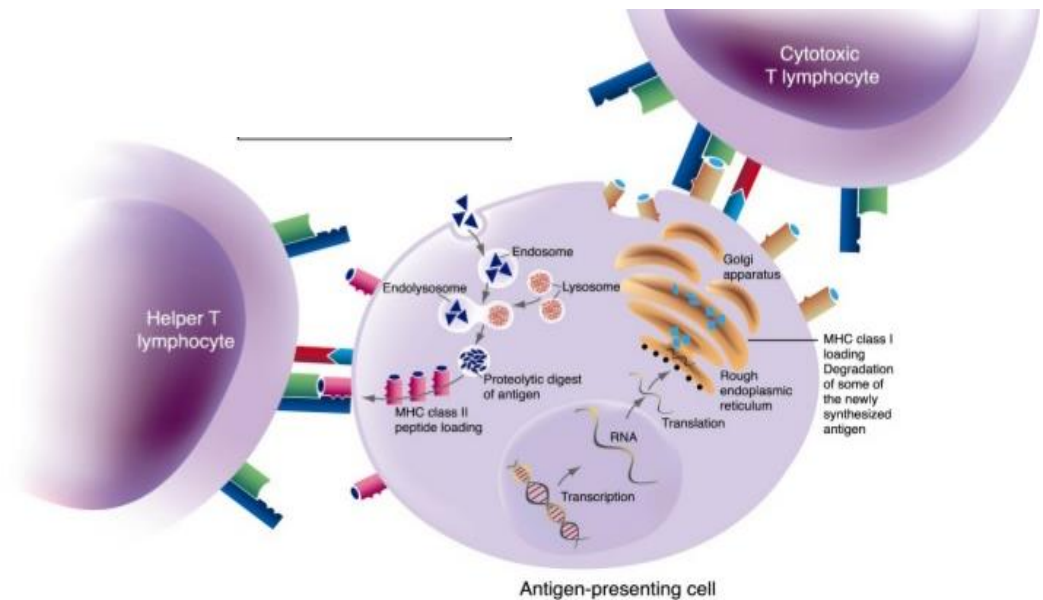
МНС молекули везују пептиде током своје синтезе и склапања унутар ћелије.

МНС молекули изразито су нестабилни – **стабилизују се**, опстају и могу да доспеју до мембране ћелије **тек кад вежу пептид**.

Сваког тренутка на ћелијама је експримиран огроман број МНС молекула.

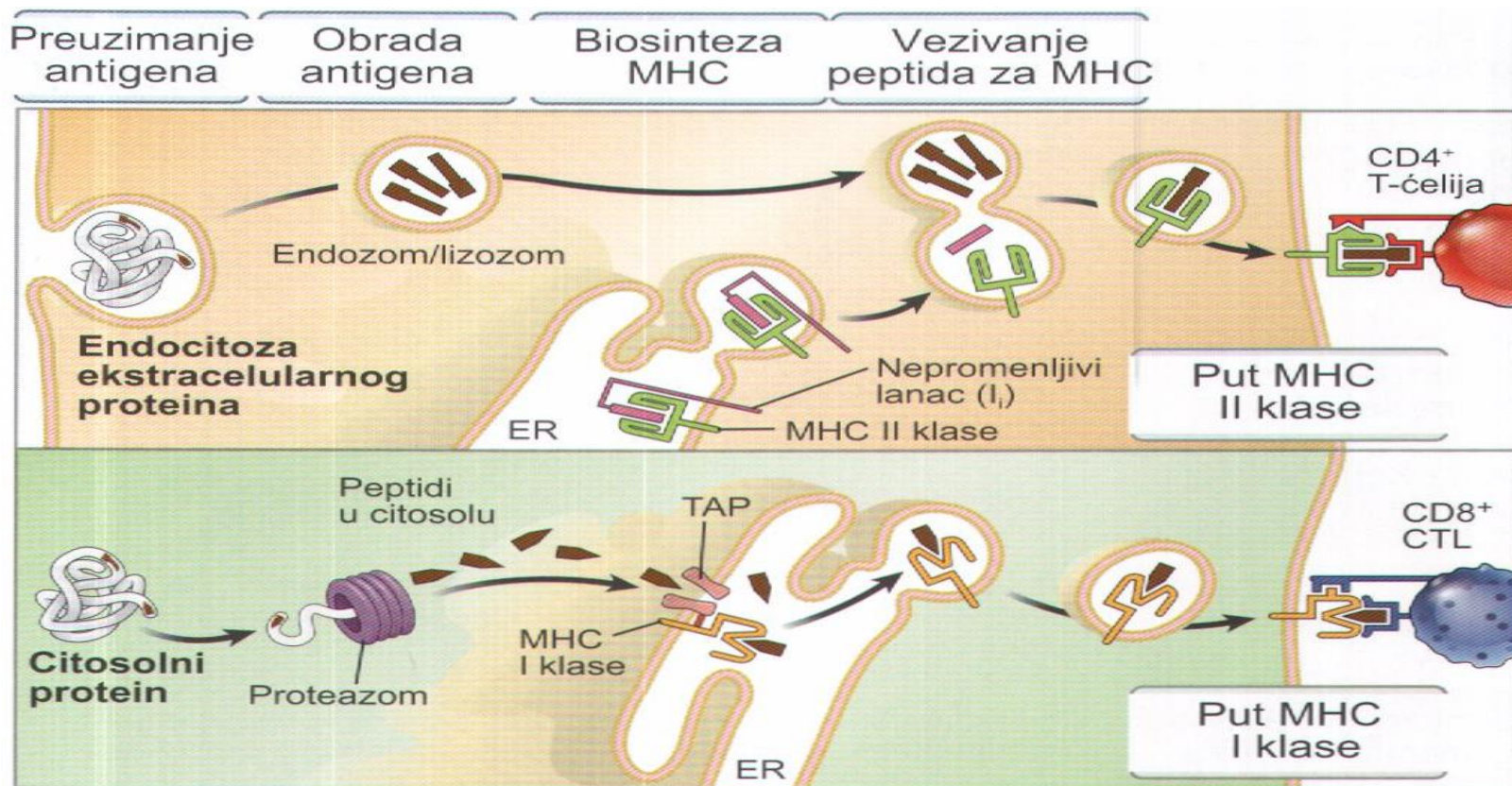
МНС молекули приказују и пептиде који воде порекло од протеина саме те јединке.

Обрада и презентација протеинских антигена



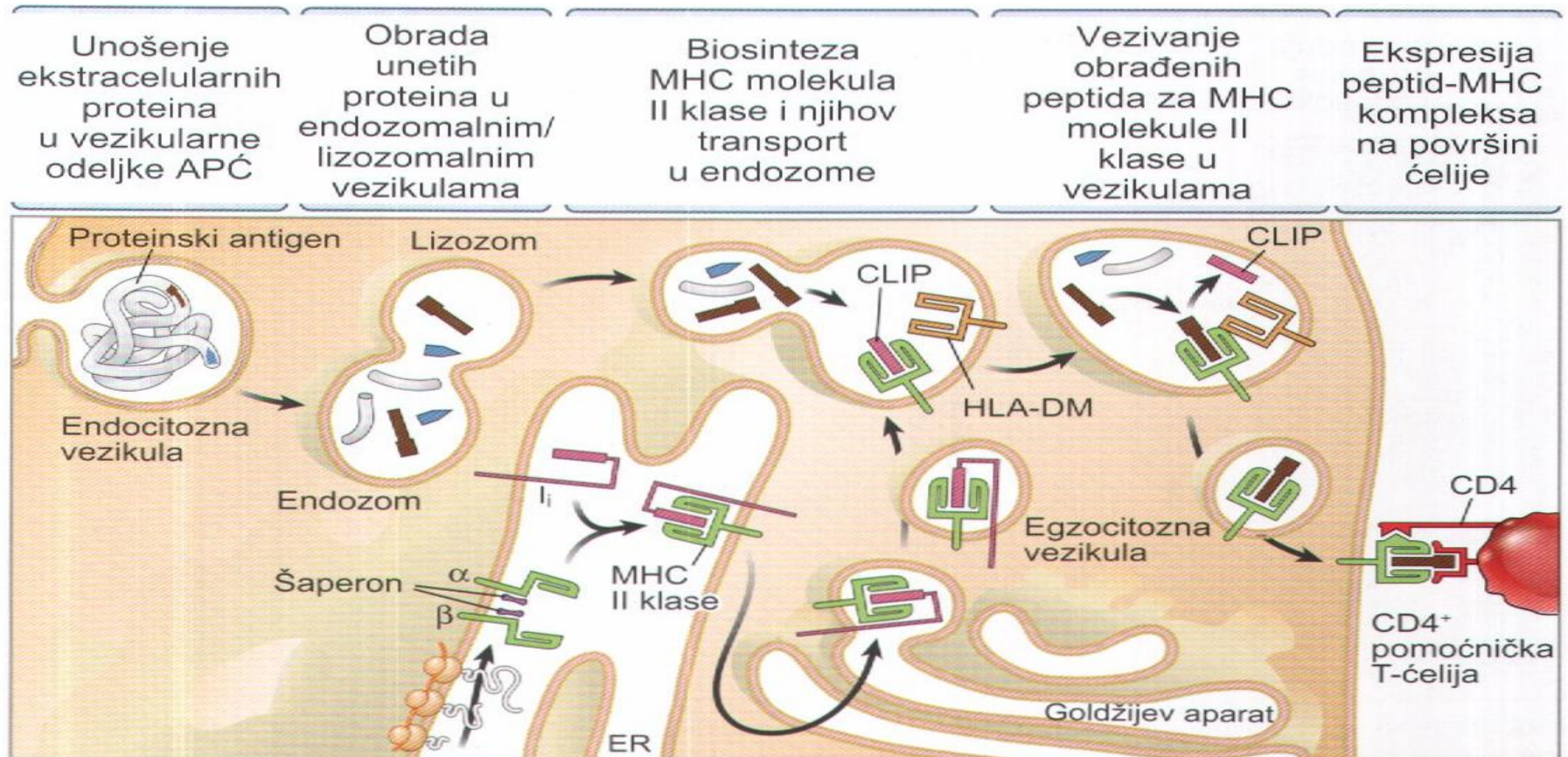
У зависности од порекла протеина постоје два пута његове обраде за приказивање Т лимфоцитима:

- Протеински антигени синтетисани изван наших ћелија, па потом унети у везикуле професионалних APC, бивају обрађени и приказани CD4⁺ Т лимфоцитима у склопу продукта II класе MHC.
- Протеински антигени синтетисани у било којој нашој ћелији бивају приказани CD8⁺ Т лимфоцитима у контексту продукта I класе MHC.

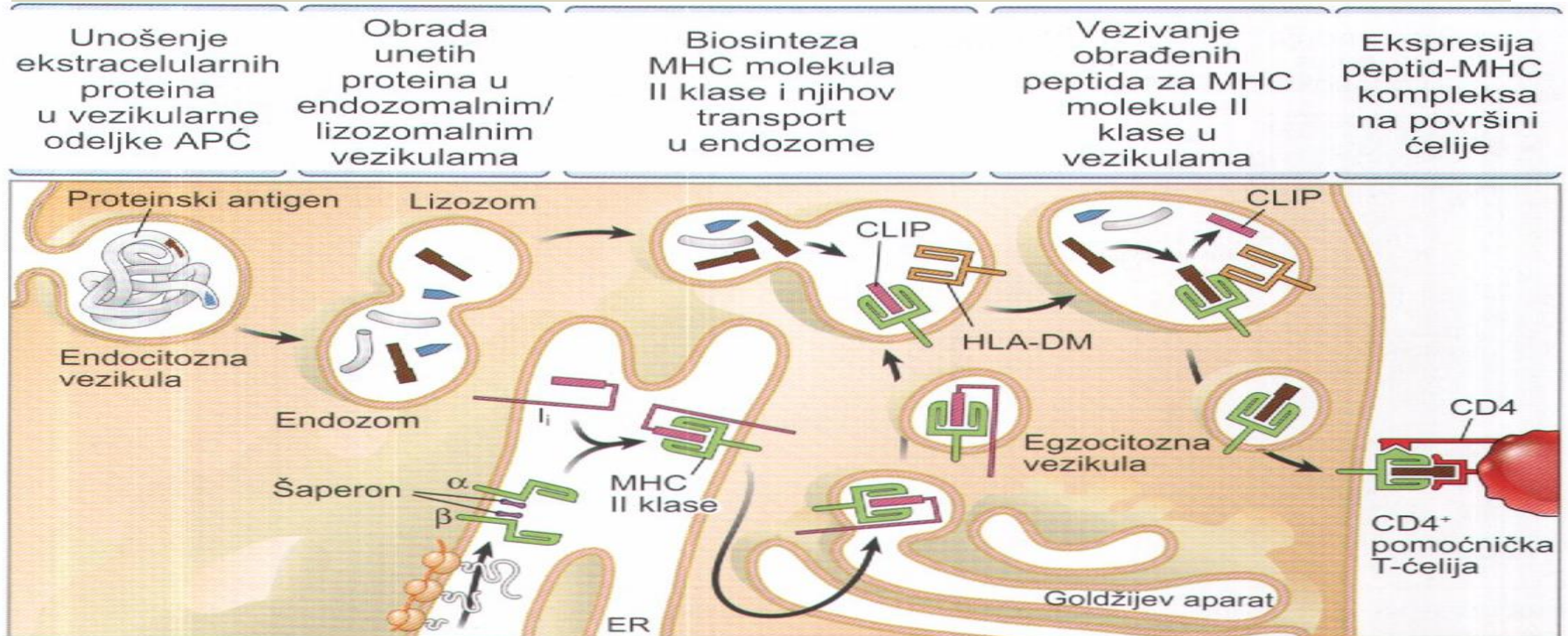


Обрада и приказивање ендоцитованих антигена у склопу молекула II класе МНС

Професионалне APC уносе различитим механизмима микроорганизме у ендозOME и фагозOME, који се затим спајају са лизозомима у којима се протеини микроорганизама ензимски разлажу до пептида различитих дужина.



- МНС се непретано синтетишу у ЕР у којем се повезују активно место МНС и **непроменљиви ланац (CLIP – од енгл. *class II invariant chain peptide*)**. CLIP привремено стабилизује МНС у новоформираном егзозому који се спаја са ендозомом. У ендозому се налазе пептиди настали разградњом.
- У ендозомалној везикули је и **DM – молекул** сличан продукту II класе МНС који сада преузима CLIP и ослобађа место за везивање пептида (**имунодоминантни пептиди**) што трајно стабилизује комплекс који се исказује на мембрани.

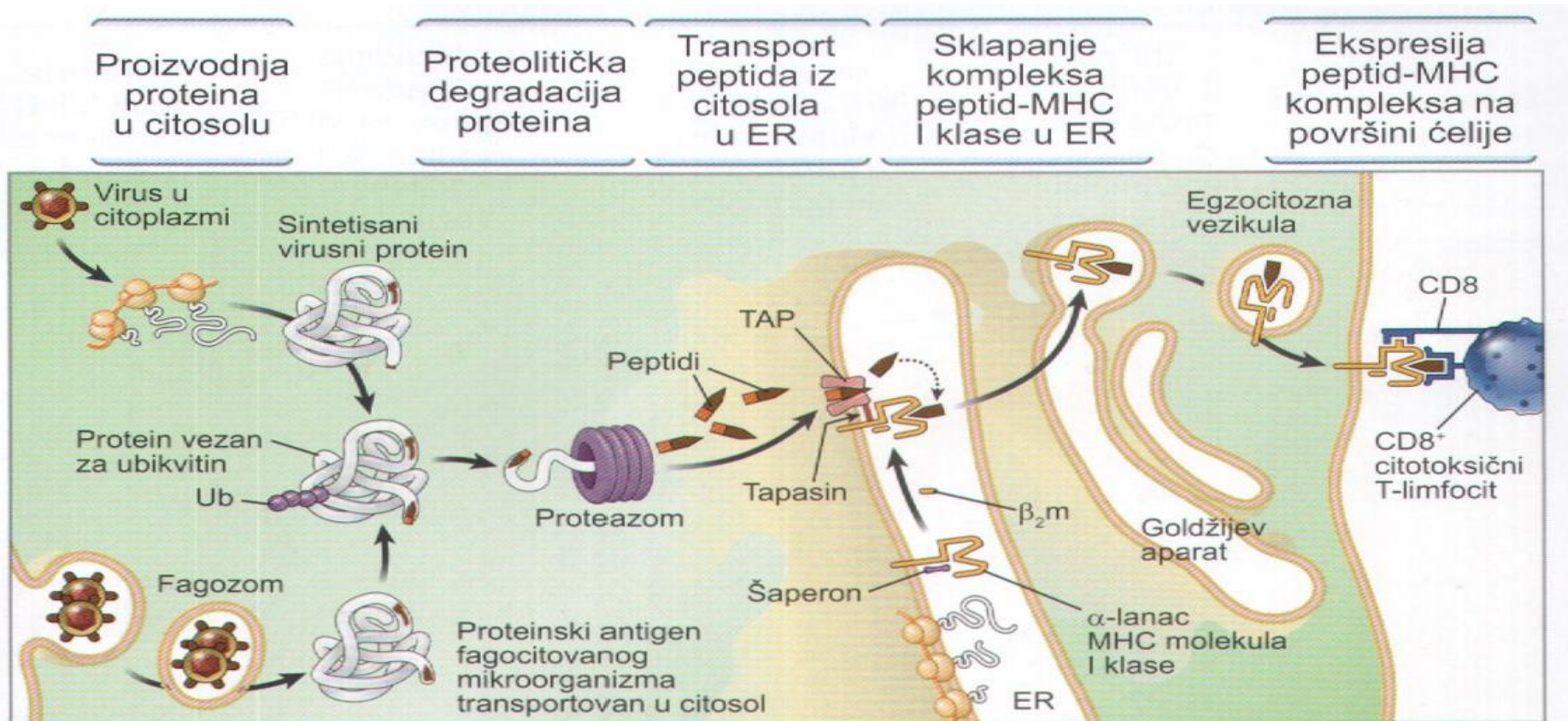


Обрада и приказивање антигена у склопу молекула I класе МНС

Протеински антигени у цитоплазми потичу од:

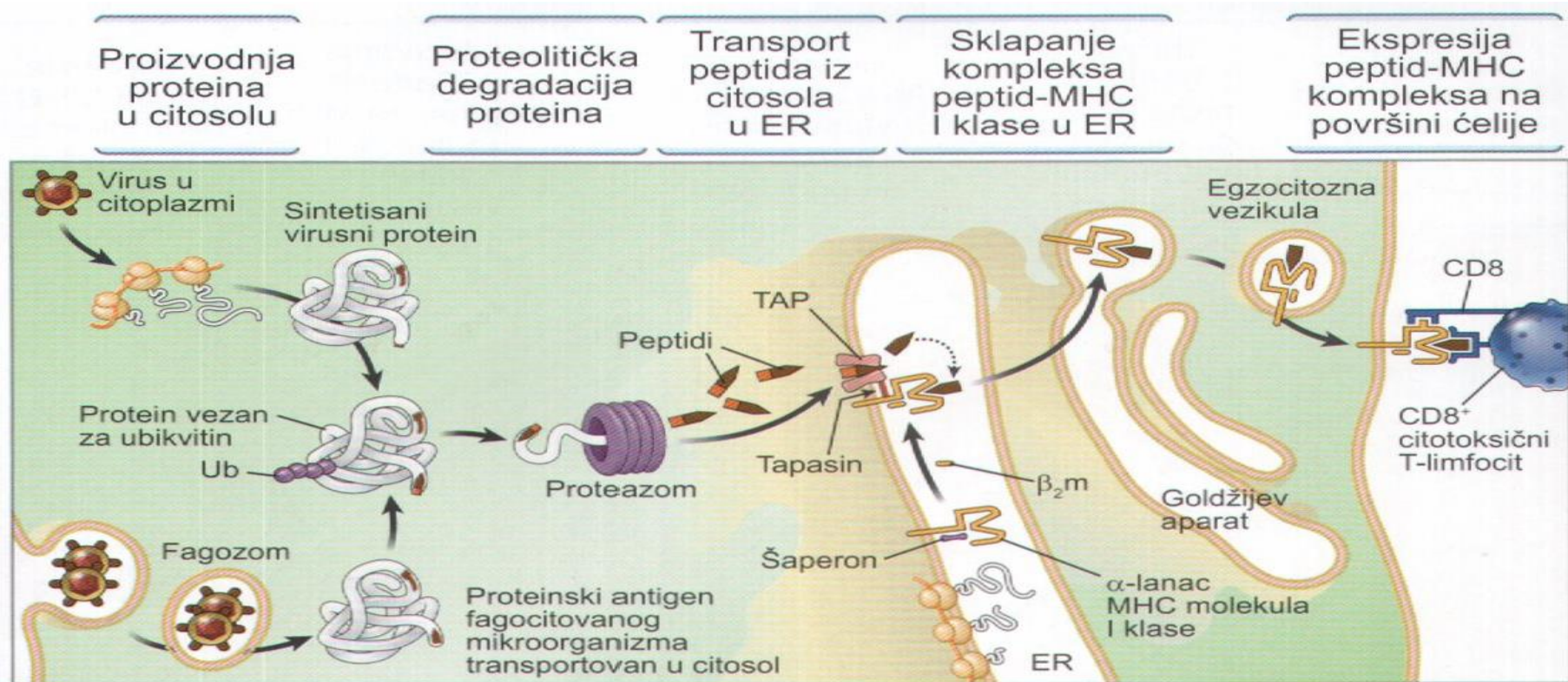
- вируса који се умножавају у цитоплазми;
- фагоцитованих микроба *побеглих* из везикула;
- онкопротеина насталих од измењених гена.

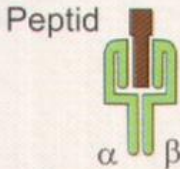



Сви ови протеини (као и остарели и истрошени протеини саме ћелије) се протеолитички разлажу...



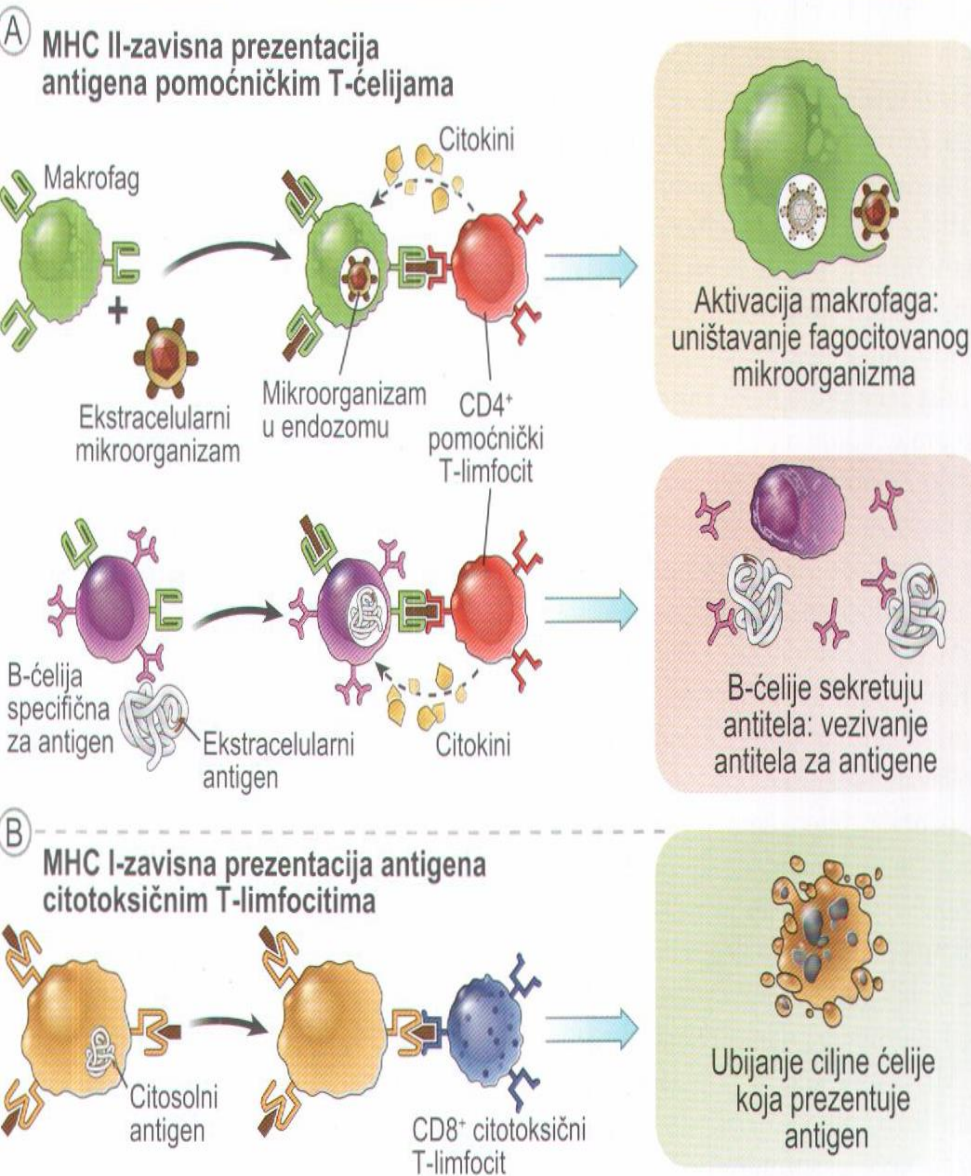
....И то тако што се прво расплету па се повежу са убиквитином и онда *провлаче* кроз протеазом.

- **Протеазом** је протеолитичка органела у којој се протеини секу у пептиде погодне за повезивање са молекулима I класе МНС.
- **ТАР** (од енгл. *Transporter associated with Antigen Processing*) активним транспортом **убацује пептиде у ЕР**.
- МНС молекули I класе везују овако унете пептиде у ЕР.
- **Егзоцитозном везикулом** се транспортују до мембране где исказују везани пептид.



Osobina	Put MHC II klase	Put MHC I klase
Sastav stabilnog peptid-MHC kompleksa	Polimorfni α i β -lanci MHC, peptid 	Polimorfni α -lanac MHC, β 2-mikroglobulin, peptid 
Tipovi ćelija koje iskazuju MHC molekule	Dendritske ćelije, mononuklearni fagociti, B-limfociti; endotelne ćelije, epitel timusa	Sve ćelije sa jedrom
T-ćelije koje reaguju	CD4 ⁺ T-ćelije 	CD8 ⁺ T-ćelije 
Izvor proteinskih antigena	Endozomalni/lizozomalni proteini (uglavnom uneti iz ekstracelularnog prostora)	Citosolni proteini (uglavnom sintetisani u ćeliji; mogu da uđu u citosol i iz fagozoma)
Enzimi koji učestvuju u nastanku peptida	Endozomalne i lizozomalne proteaze (npr. katepsini)	Enzimske komponente citosolnog proteazoma
Mesto u ćeliji gde se MHC puni peptidima	Kasni endozomi i lizozomi	Endoplazmatski retikulum
Molekuli koji transportuju peptide i ubacuju ih u MHC molekule	Nepromenljivi lanac, DM	TAP

Физиолошки значај приказивања антигена у склопу МНС



Екстрацелуларне микроорганизме преузимају професионалне APC и приказују њихове пептиде у склопу молекула II класе МНС. Овај комплекс препознају CD4⁺T лимфоцити, који су помагачке (хелперске) ћелије.

Помагачки CD4⁺T лимфоцити својим цитокинима помажу:

- **В лимфоцитима** да производе антитела и
- **фагоцитима** да унесу и униште микроорганизам.

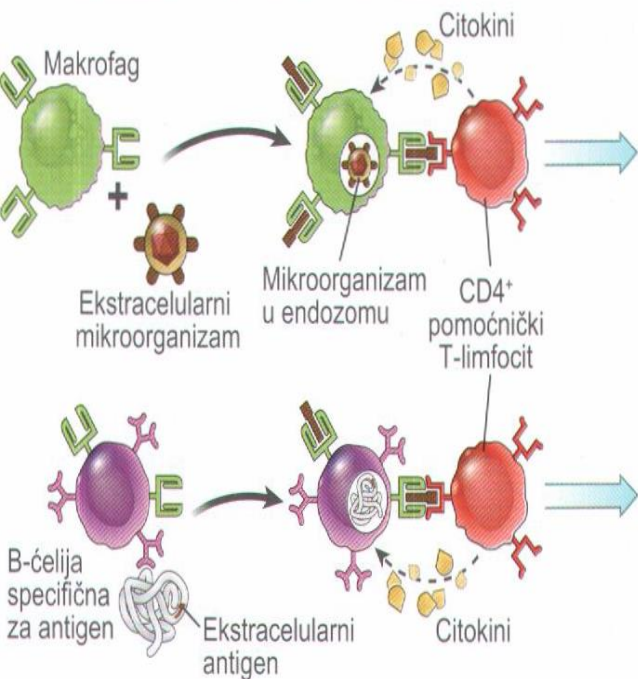
На овај начин активирају се два најефикаснија механизма за елиминацију екстрацелуларних и фагоцитованих микроба.

Unošenje ili
sinteza antigena

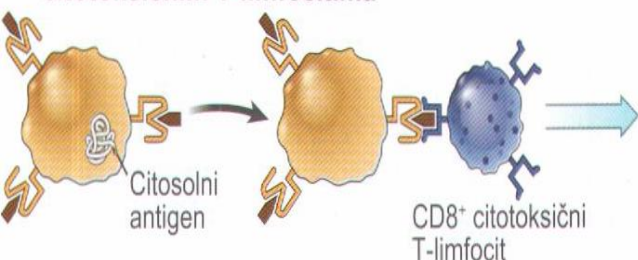
Prezentacija
antigena

Efektorske
funkcije T-ćelija

A MHC II-zavisna prezentacija
antigena pomoćničkim T-ćelijama



B MHC I-zavisna prezentacija antigena
citotoksičnim T-limfocitima



...Међутим:

Ниједан од ова два механизма није ефикасан против микроорганизама (углавном вируса), који паразитирају у цитоплазми заражених ћелија.

Пептиде ових цитоплазматских микроорганизама приказују молекули I класе МНС.

Ово препознају CD8+T лимфоцити који диференцирају у CTL способне да убију заражену ћелију и тако уклоне инфекцију.

Шта *виде* В лимфоцити?

- В лимфоцити препознају антигене на површини микроорганизама или солубилне антигене.
- Ове антигене В лимфоцити *виде* у нативној форми.
- FDC



Препознавање антигена у стеченој имуноности

Антигенски рецептори В- и Т- лимфоцита

Сазревање и селекција лимфоцита

...да се подсетимо

Стечени имунски одговор је увек **специфичан за антиген** који га је изазвао јер је активација лимфоцита **последица специфичног препознавања антигена.**

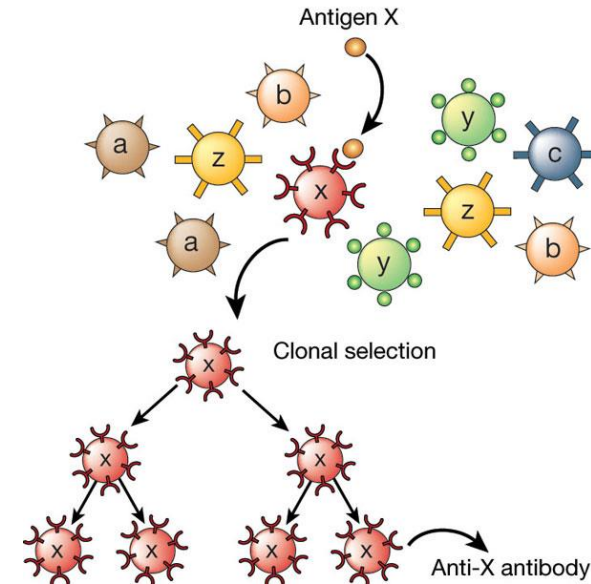
Ово препознавање обављају антигенски рецептори, који откривају сигнале (антигене) и активирају одговор ћелије на којој су исказани.

Ови рецептори су способни да **препознају, разликују и вежу** велики број антигена.

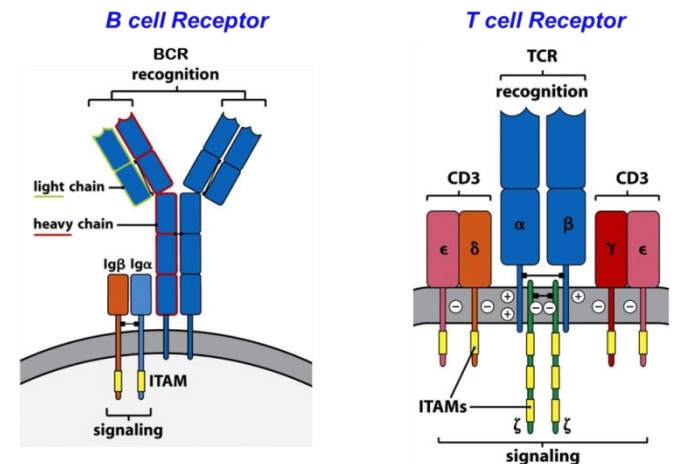
...да се подсетимо

Ови рецептори су **дистрибуирани клонски**, што значи да сваки клон лимфоцита има јединствен рецептор који се разликује од рецептора других клонова лимфоцита.

Иако сваки лимфоцит **препознаје други антиген**, антигенски рецептори **спровode исте активационе сигнале**.



T Cell and B Cell Antigen Receptors (TCR and BCR)

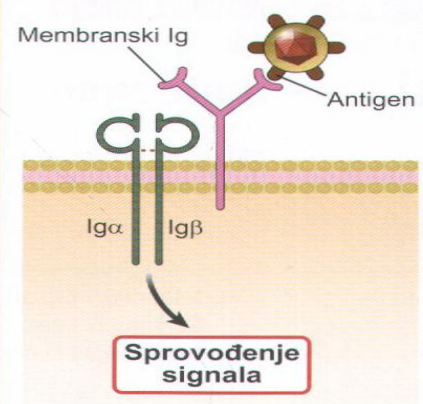
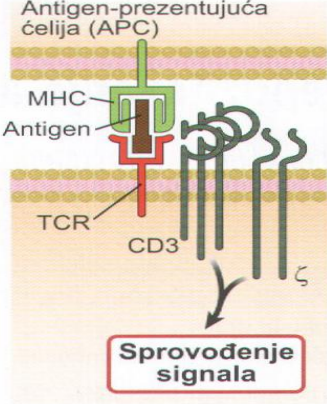



Питања на која данас треба одговорити...

...Како рецептори за антиген лимфоцита успевају да препознају екстремно различите антигене а да при том у ћелију испоруче исте активационе сигнале?

Како настаје огромна разноликост антигенских рецептора?

Особине BCR и TCR

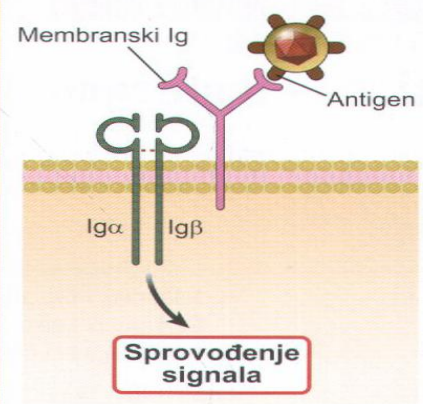
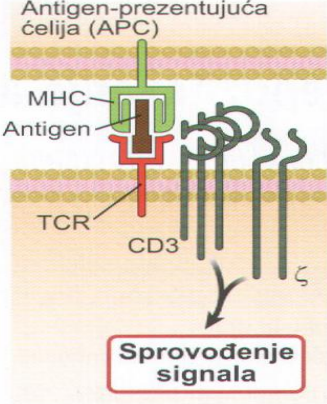

Svojstvo ili funkcija	B-ćelijski receptor (antitelo, Ig)	T-ćelijski receptor (TCR)
	 <p>Membranski Ig</p> <p>Antigen</p> <p>Igα</p> <p>Igβ</p> <p>Sprovođenje signala</p>	 <p>Antigen-prezentujuća ćelija (APC)</p> <p>MHC</p> <p>Antigen</p> <p>TCR</p> <p>CD3</p> <p>ζ</p> <p>Sprovođenje signala</p>
	 <p>Sekretovano antitelo</p> <p>Efektorske funkcije: vezivanje komplementa, vezivanje za fagocite</p>	
Vrste antigena koji se prepoznaju	Makromolekuli (proteini, polisaharidi, lipidi, nukleinske kiseline), mali molekuli Konformacioni i linearni epitopi	Uglavnom peptidi prikazani u sklopu MHC molekula na APC Linearni epitopi
Raznolikost	Svaki klon ima jedinstvenu specifičnost, potencijalno >10 ⁹ različitih specifičnosti	Svaki klon ima jedinstvenu specifičnost, potencijalno >10 ¹¹ različitih specifičnosti
Antigen prepoznaju pomoću:	Varijabilni (V) regioni teških i lakih lanaca membranskog Ig	Varijabilni (V) regioni α i β-lanca TCR
Signalnu funkciju obavljaju pomoću:	Proteini (Igα i Igβ) pridruženi membranskom Ig	Proteini (CD3 i ζ) pridruženi TCR
Efektorske funkcije vrše pomoću:	Konstantni (C) regioni sekretovanog Ig	TCR ne obavlja efektorske funkcije

Антигенски рецептори В и Т лимфоцита препознају хемијски исте или различите структуре.

В лимфоцити доминантно препознају конформационе антигенске детерминанте (различити макромолекули и хемијске групе).

Т лимфоцити препознају линеарне антигенске детерминанте (пептиде).

Особине BCR и TCR

Svojstvo ili funkcija	B-ćelijski receptor (antitelo, Ig)	T-ćelijski receptor (TCR)
		
		
Vrste antigena koji se prepoznaju	Makromolekuli (proteini, polisaharidi, lipidi, nukleinske kiseline), mali molekuli Konformacioni i linearni epitopi	Uglavnom peptidi prikazani u sklopu MHC molekula na APC Linearni epitopi
Raznolikost	Svaki klon ima jedinstvenu specifičnost; potencijalno $>10^9$ različitih specifičnosti	Svaki klon ima jedinstvenu specifičnost; potencijalno $>10^{11}$ različitih specifičnosti
Antigen prepoznaju pomoću:	Varijabilni (V) regioni teških i lakih lanaca membranskog Ig	Varijabilni (V) regioni α i β -lanca TCR
Signalnu funkciju obavljaju pomoću:	Proteini (Ig α i Ig β) pridruženi membranskom Ig	Proteini (CD3 i ζ) pridruženi TCR
Efektorske funkcije vrše pomoću:	Konstantni (C) regioni sekretovanog Ig	TCR ne obavlja efektorske funkcije

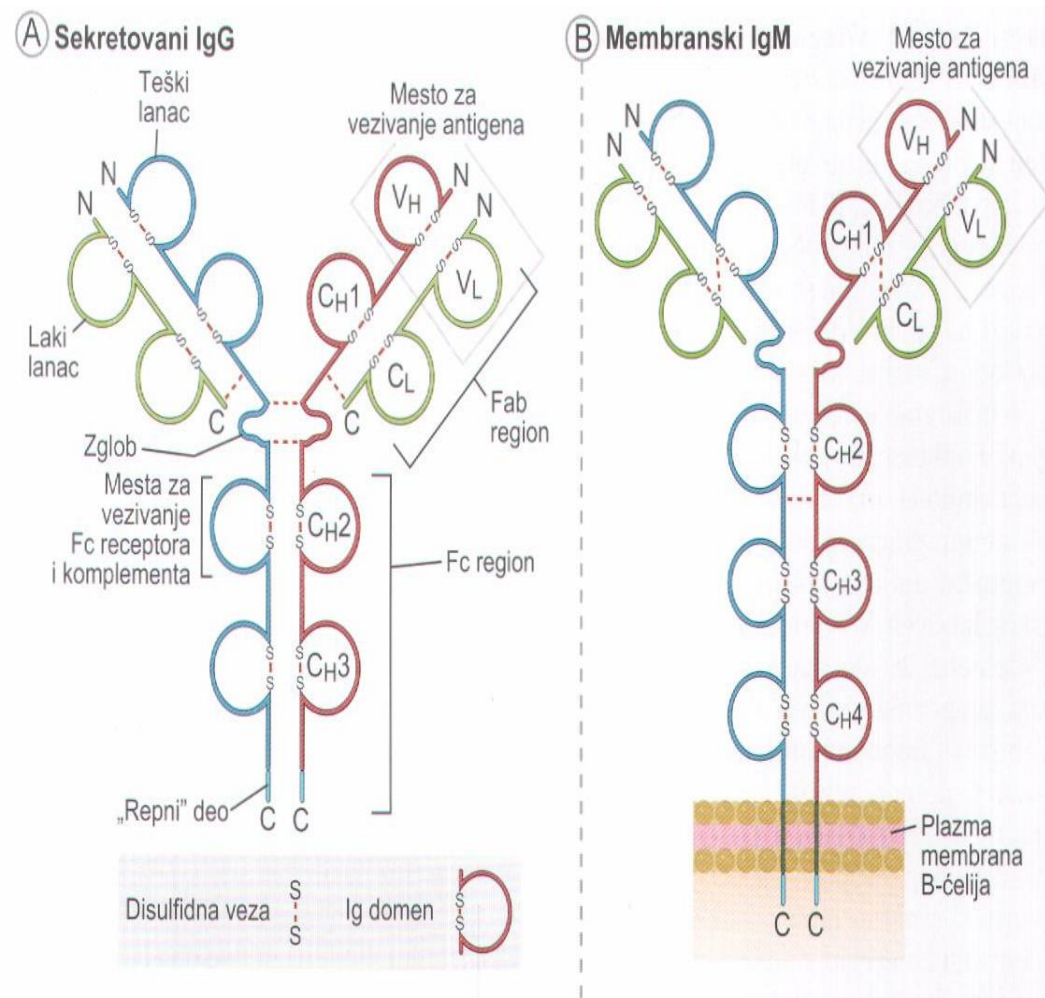
Рецептори се састоје из **варијабилних (V)** и конзервираних **константних** региона (**C**). Унутар V региона постоје **хиперваријабилни** региони **CDR** који су одговорни за препознавање антигена, тј. за повезивање са њим.

Рецептори су нековалентно везани за друге непроменљиве молекуле чији је задатак да испоруче ћелији сигнале покренуте препознавањем антигена – заједно са рецептором ови молекули носе назив **рецепторски комплекс (BCR и TCR комплекс)**.

Антитела постоје као мембранска (BCR) и као солубилна, док TCR постоји само као мембрански рецептор.

Антитела

Антитело (At) = имуноглобулин (Ig) = γ глобулин



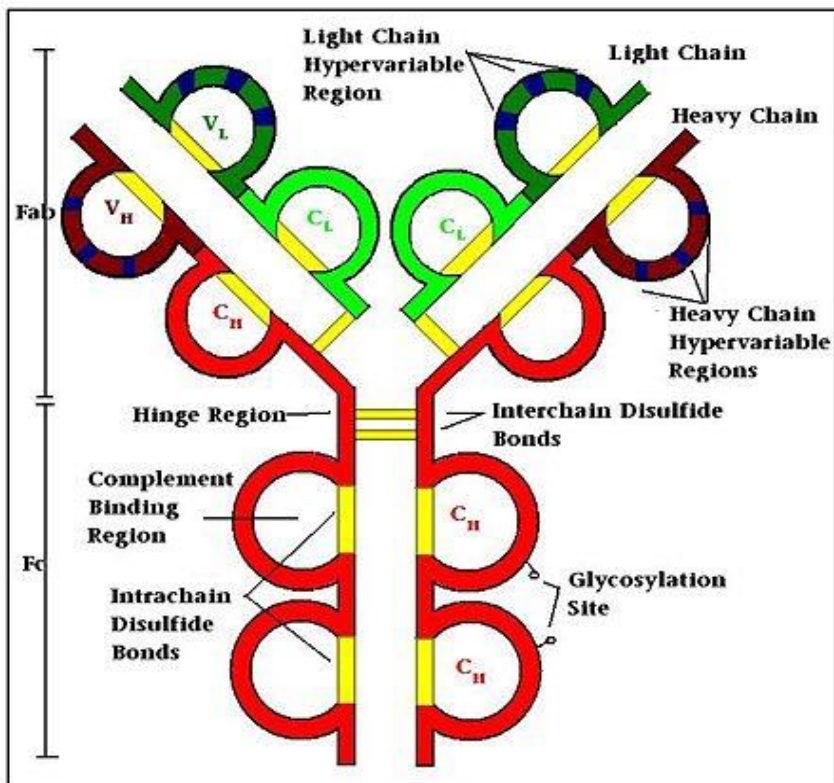
Молекул At састоји се од **два идентична тешка** (H од енгл. Heavy) и **два идентична лака** ланца (L од енгл. Light).

Сваки ланац има један **варијабилан** (V) и један **константни** (C) регион.

Међуланчане и унутар ланчане S-S везе држе ланце на окупку и дају основу терцијарне структуре - конформацију.

L ланац састоји се од једног V и једног C домена.

H ланац има један V и три или четири C домена.

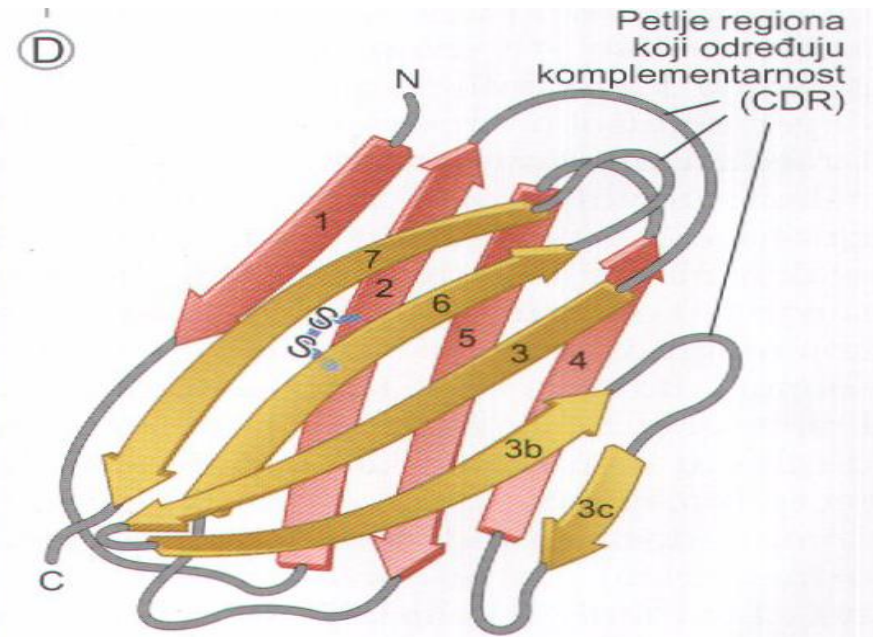
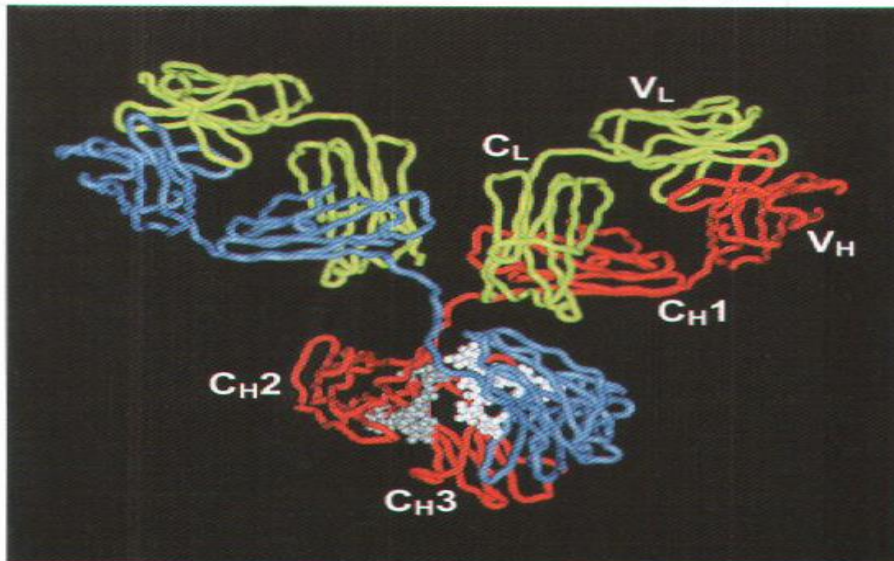


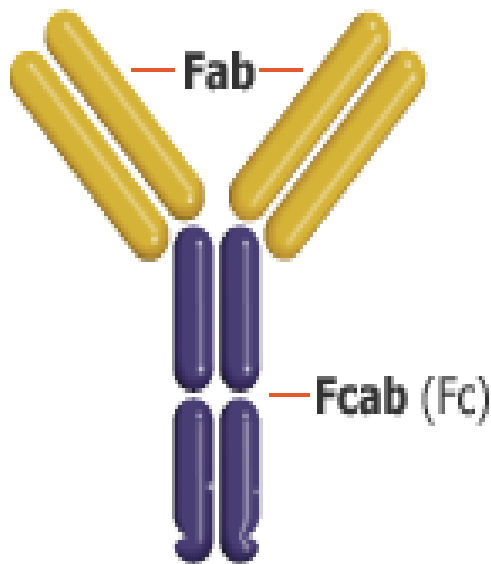
Варијабилни регион тешког ланца (V_H) као и варијабилни регион лаког ланца (V_L) садрже **по три хиперваријабилна региона (CDR*)**.

Највећу варијабилност исказује **CDR3** који се налази на споју V и C региона. CDR3 највише учествује у везивању антитела за антиген.

*од енгл. *Complementarity Determining Region*

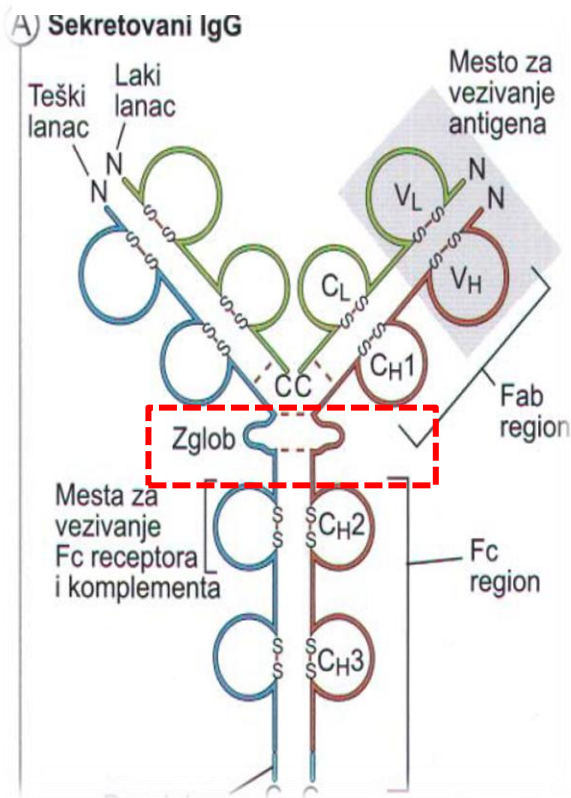
© Кристална структура секретованог IgG





Fab^{**} регион је одговоран за везивање антигена.

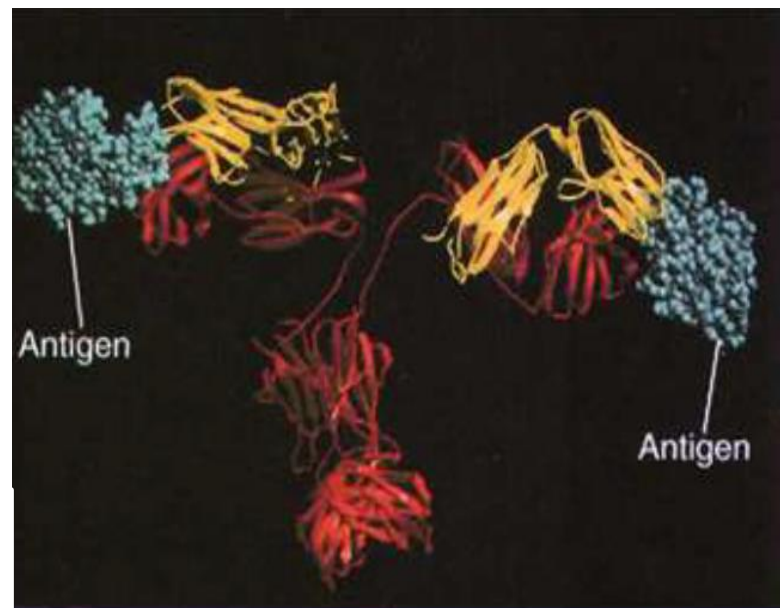
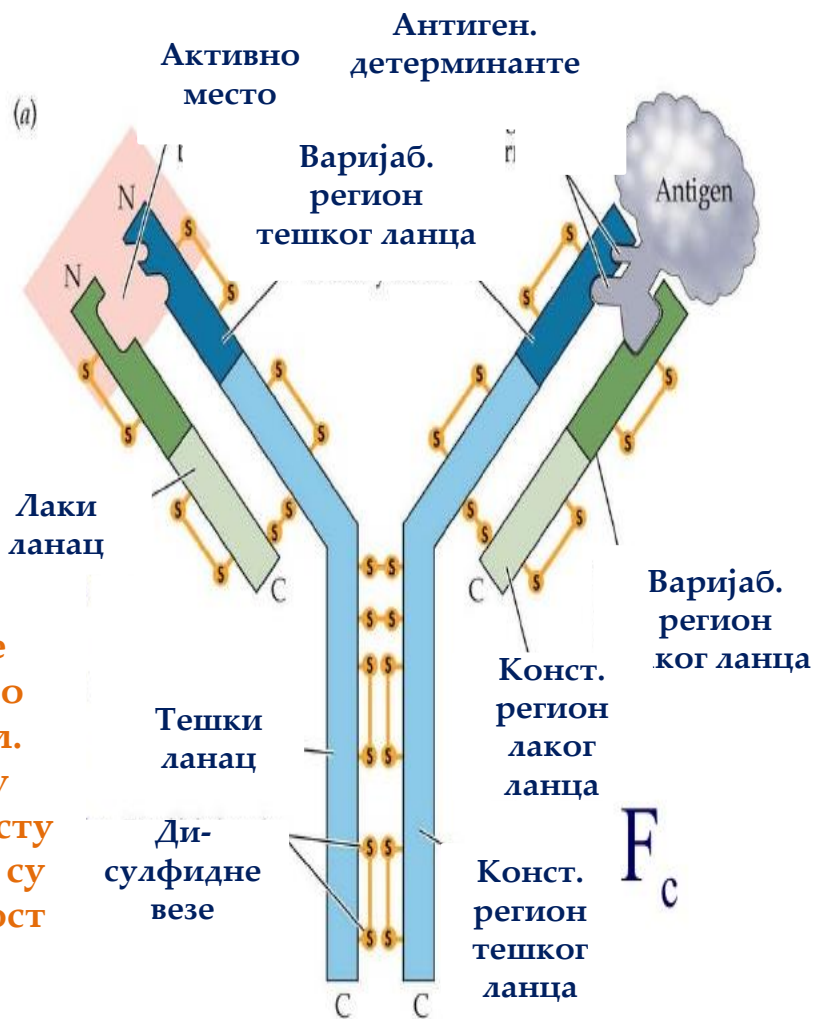
Fc^{***} регион је одговоран за биолошке активности и ефекторске функције.



Између Fab и Fc је регион зглоба или шарке. Зглоб омогућава да се Fab региони сваког молекула антитела померају независно један од другог и тако вежу антигене који могу да се налазе на различитој међусобној удаљености.

** од енгл. *Antigen Binding*
 *** од енгл. *Crystalline*

Везивање антитела и антигена



<https://www.youtube.com/watch?v=mIQBBgAcSdI>

Постоје **два типа лаких ланаца** који се разликују по својим С регионима: **κ** и **λ**. Један В лимфоцит синтетише увек само κ или само λ никада обадва.

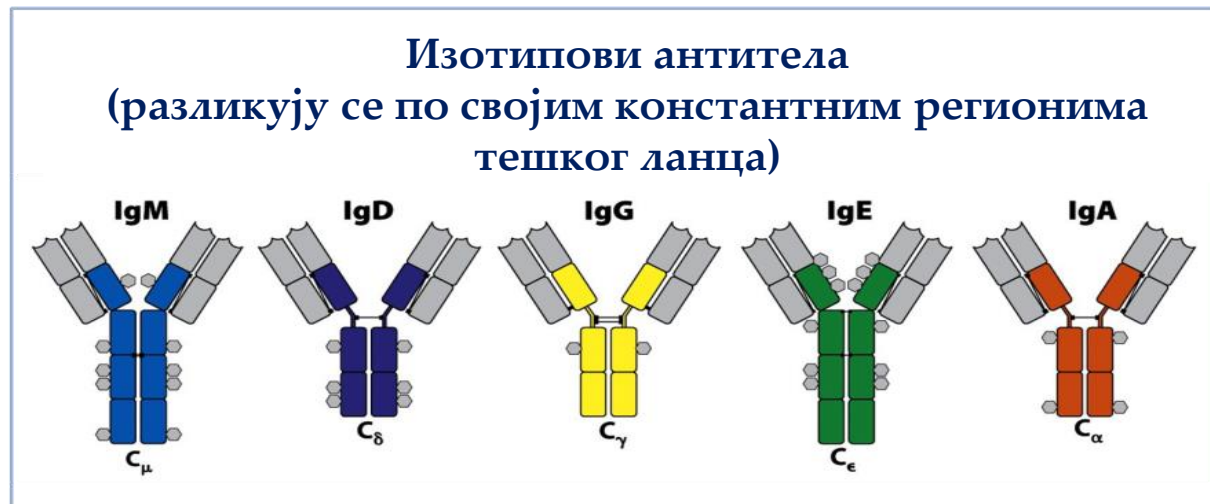
Постоји **5 типова тешких ланаца**: који се такође разликују по грађи С региона: μ , δ , γ , ϵ и α .

Сваки лаки ланац се може комбиновати са било којим тешким ланцем.

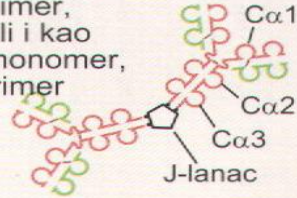
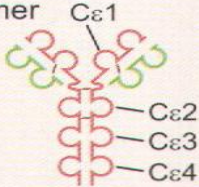
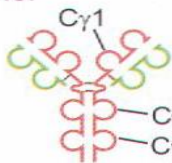
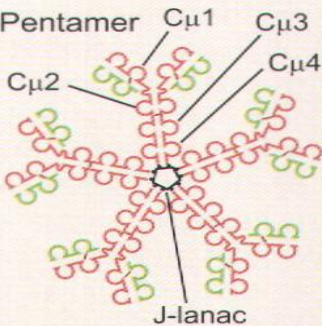
Класа тешког ланца дефинише изотип тј. класу антитела (имуноглобулина):

IgM, IgD, IgG, IgE, IgA.

Изотипови имуноглобулина се међусобом разликују по физичким и биолошким својствима, као и према ефекторским функцијама.

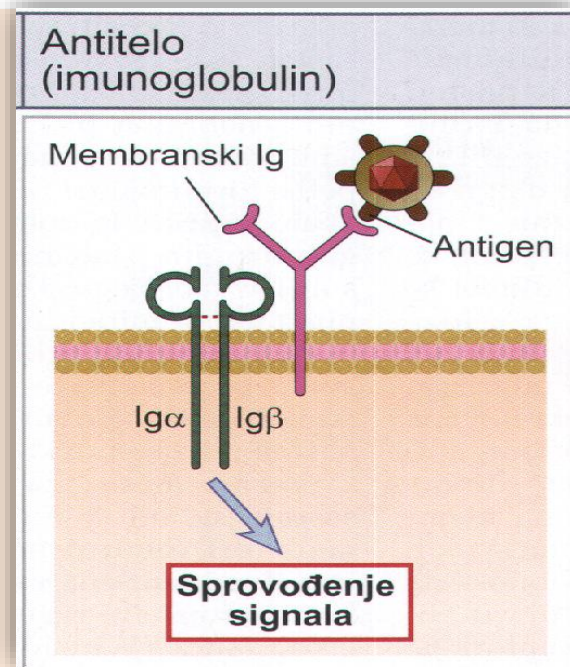


Класе антитела

Izotip antitela	Potklasa (teški lanac)	Koncentracija u serumu (mg/mL)	Poluživot u serumu (u danima)	Sekretovani oblik	Funkcije
IgA	IgA1,2 ($\alpha 1$ ili $\alpha 2$)	3,5	6	Uglavnom dimer, ali i kao monomer, trimer 	Mukozna imunost
IgD	ne postoji (δ)	u tragovima	3	Monomer	Antigenski receptor naivnih B-ćelija
IgE	ne postoji (ϵ)	0,05	2	Monomer 	Odbrana od parazita iz grupe helminata, rana preosetljivost
IgG	IgG1-4 ($\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ ili $\gamma 4$)	13,5	23	Monomer 	Opsonizacija, aktivacija komplementa, ćelijska citotoksičnost zavisna od antitela, neonatalna imunost, inhibicija B-ćelija povratnom spregom
IgM	ne postoji (μ)	1,5	5	Pentamer 	Antigenski receptor naivnih B-ćelija (u formi monomera), aktivacija komplementa

BCR наивних В лимфоцита су антитела
класе: IgM и IgD

BCR комплекс



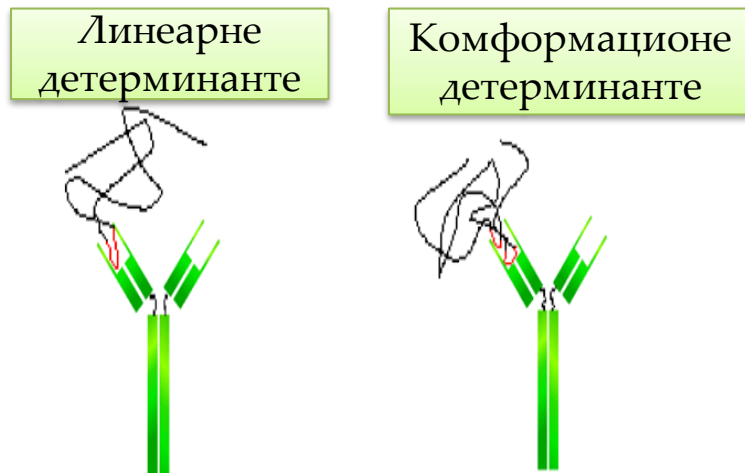
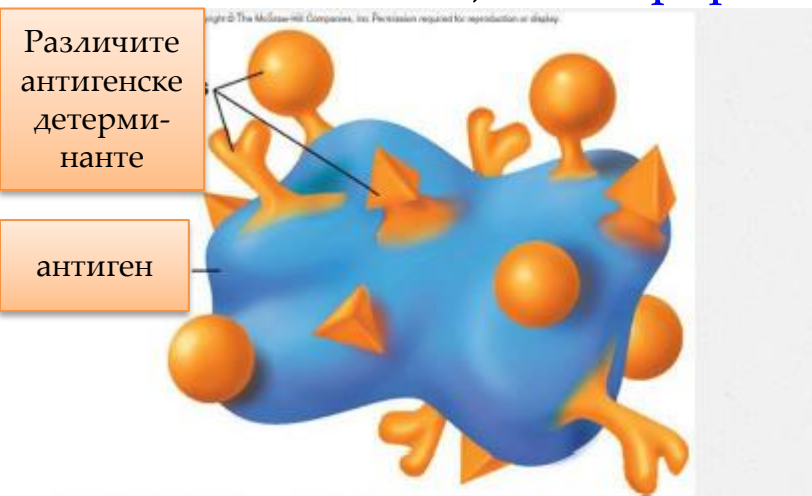
После стимулације антигеном и цитокинима пореклом из помагачких Т лимфоцита, специфични клон В лимфоцита експандира и диференцира у ћелије које секретију антитела...

...Секретована антитела могу да буду класе IgM док потомци истих ћелија могу да секретију антитела других класа. Ова појава се означава као **промена или шалтовање класе (class switching)**. Уствари мења се само класа (само С регион) тешког ланца док тип лаког ланца остаје непромењен.

Најважније је да специфичност за антиген остаје непромењена јер се V региони не мењају

Делови антигена које препознају антитела названи су **епитопи** или **антигенске детерминанте**.

Постоје **линеране** (антитела их препознају по секвенци аминокиселина) и **конформационе детерминанте**.

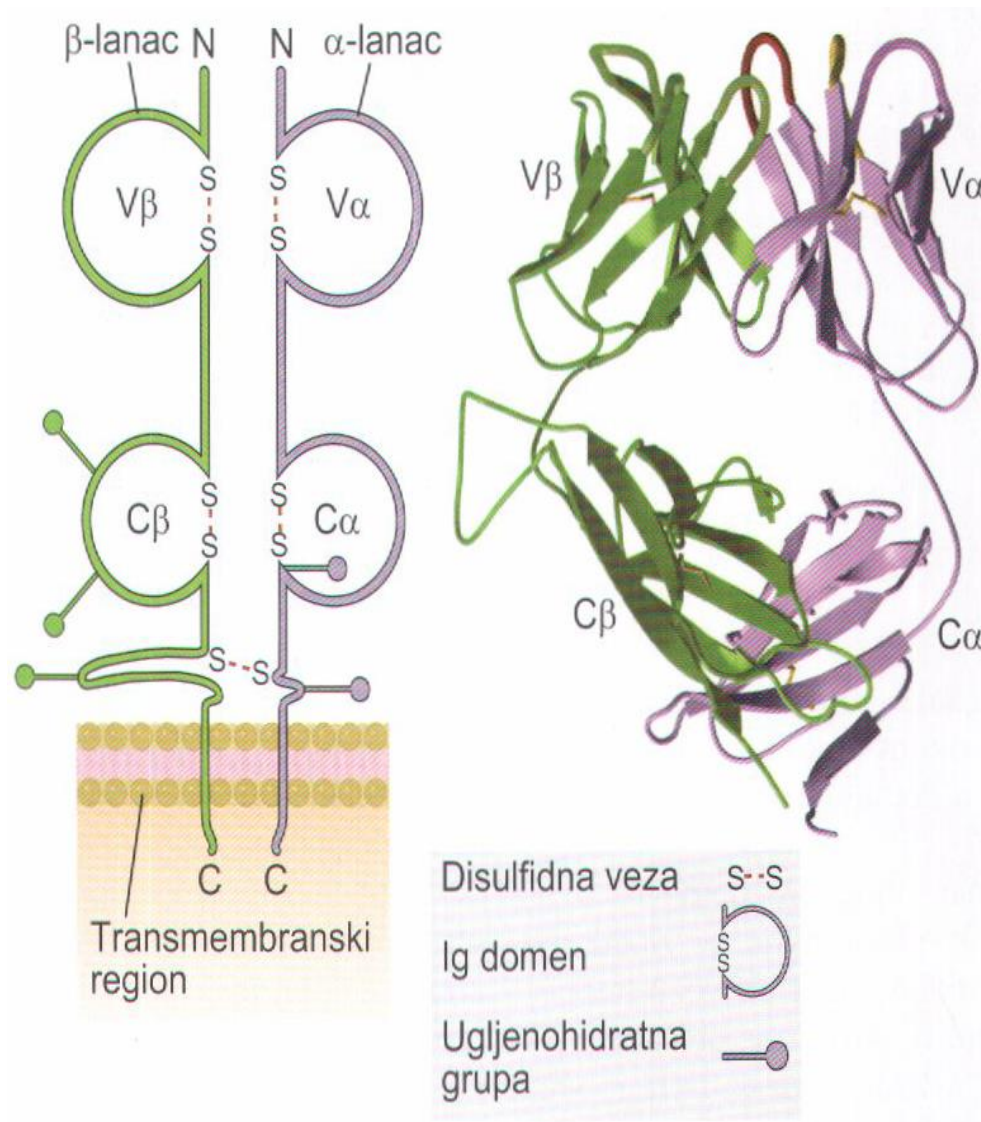


[http://glencoe.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::640::480::/sites/dl/free/0003292010/811363/Antigenic_Determinants_Epitopes.swf::Antigenic%20Determinants%20\(Epitopes\)](http://glencoe.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::640::480::/sites/dl/free/0003292010/811363/Antigenic_Determinants_Epitopes.swf::Antigenic%20Determinants%20(Epitopes))

Снага везе једне везане површине антитела и једног епитопа је **афинитет**.

Укупна снага везе једног молекула антитела и антигена је **авидитет**.

TCR (енгл. *T cell receptor*)



TCR препознаје пептидне антигене у склопу молекула МНС.

TCR је хетеродимер састављен од α и β ланца.

α и β ланац имају по један V и C регион.

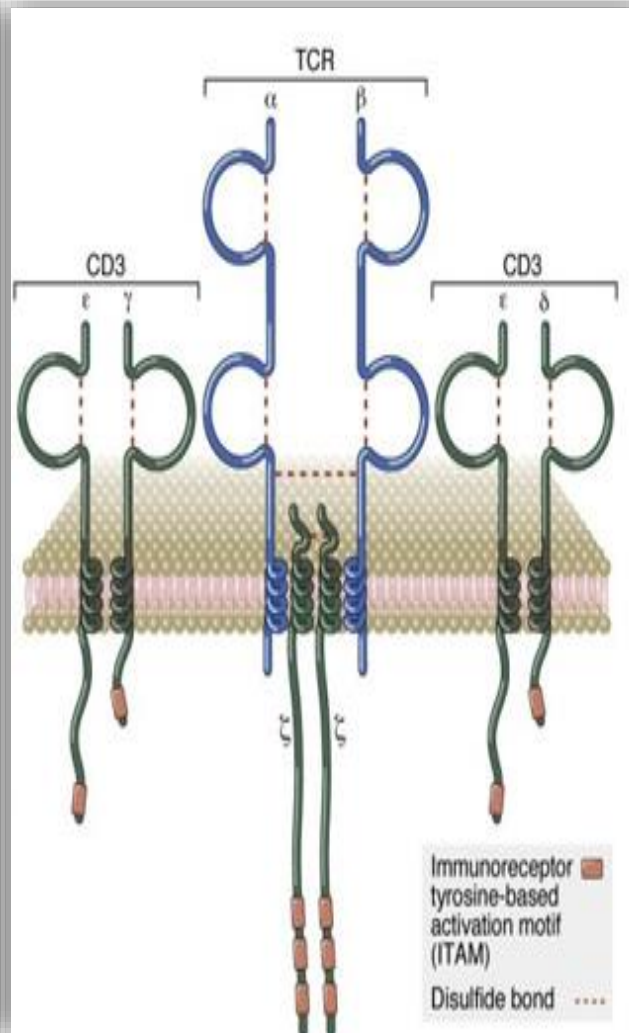
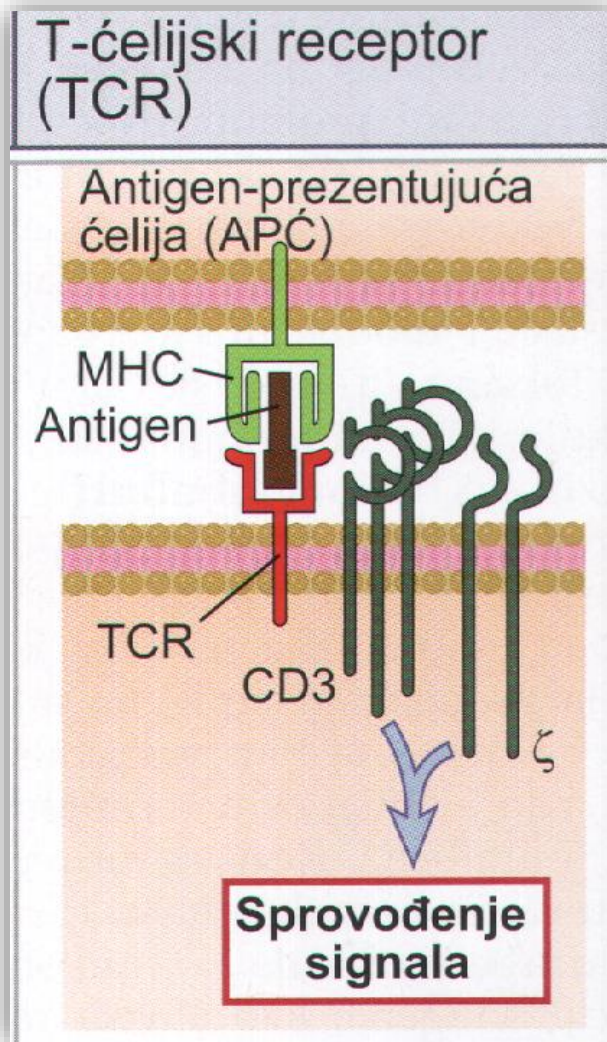
У V регионима оба ланца налазе се по три CDR-а.

Највеће разлике између различитих TCR молекула су у њиховим CDR3 регионима.

Оба ланца TCR молекула су усидрена у ћелијску мембрану и **TCR се не продукује у секретованом облику**. Током живота једног Т-ћелијског клона **TCR не подлеже промени класе и сазревању афинитета**.

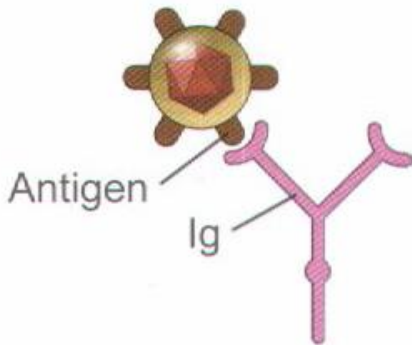
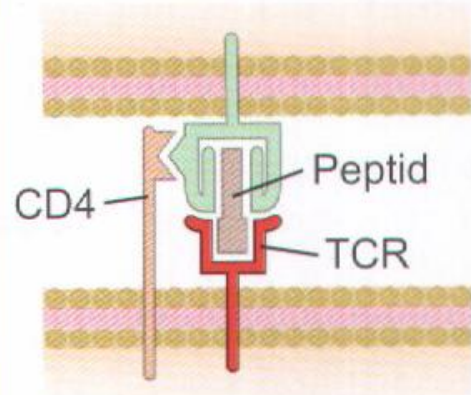
TCR препознаје једну до три аминокиселине у пептиду????

TCR комплекс



Sa TCR molekulom je udružen kompleks proteina nazvan **CD3**, kao i **ζ (zeta)** proteini, koji svi zajedno čine **TCR kompleks**.

Dok TCR prepoznaје antigen, CD3 i ζ lanci učestvuју u sprovoђењу signala važnih za aktivaciju T limfocita.

Osobina	Molekul koji vezuje antigen	
	Imunoglobulin (Ig)	T-ćelijski receptor (TCR)
		
Vezivanje antigena	Vezno mesto čine tri CDR u V-regionu teškog lanca i tri CDR u V-regionu lakog lanca	Vezno mesto čine tri CDR u V-regionu α -lanca i tri CDR u V-regionu β -lanca
Promene u konstantnim regionima	Promena izotipa teškog lanca i promena iz membranskog u sekretovani Ig	Nema
Afinitet vezivanja antigena	K_d 10^{-7} – 10^{-11} M; prosečan afinitet Ig raste tokom imunskog odgovora na proteinske antigene	K_d 10^{-5} – 10^{-7} M; nema promene tokom imunskog odgovora
Brzina asocijacije i disocijacije	Brza asocijacija, promenljiva disocijacija	Spora asocijacija, spora disocijacija

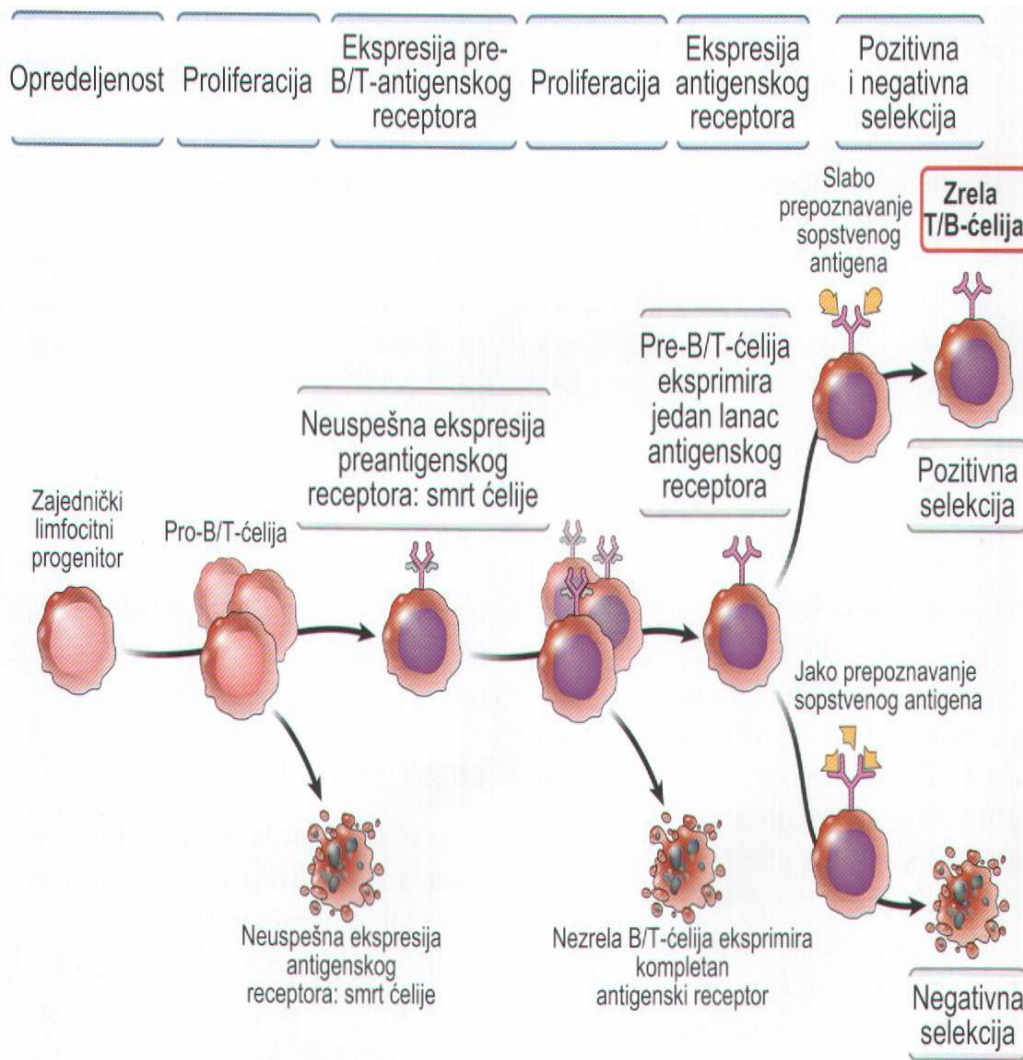
Имунски репертоар

Постоји много клонова лимфоцита различитих специфичности, и сви ови клонови настају пре сусрета са антигеном.

Настанак овако различитих рецептора се дешава током процеса сазревања лимфоцита...

Сазревање лимфоцита

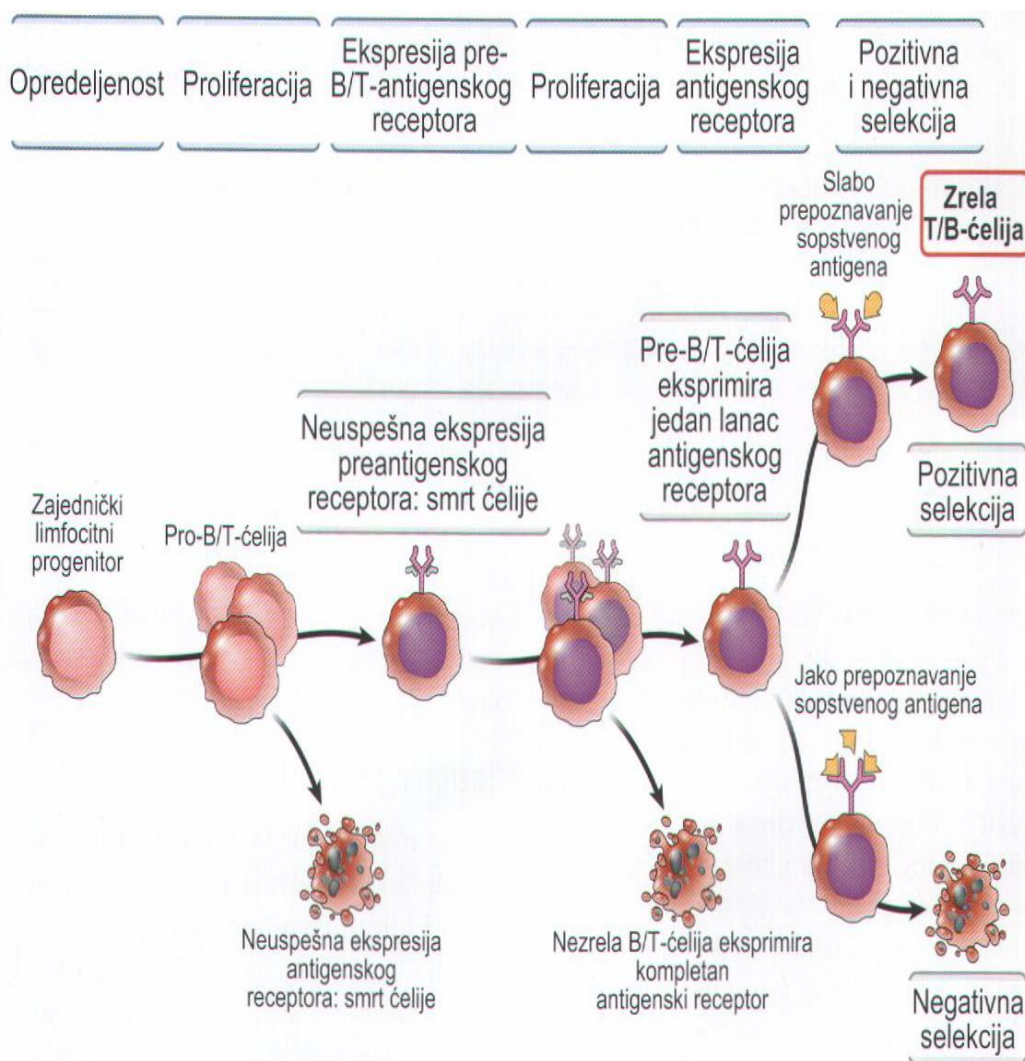
Лимфоцити потичу од матичне ћелије костне сржи.



Сазревање лимфоцита подразумева:

- **Пролиферацију**
- **Диференцијацију** (преустројавање гена за рецепторе)
- **Селекцију**

1. Пролиферација



Пролиферација у фази најранијих прекурсорских ћелија зависи од **IL-7**. То је фактор раста којег продукују стромалне ћелије костне сржи и који подстиче пролиферацију и Т- и В- прекурсора.

Кад се експримирају, **антигенски рецептори** преузимају функцију спровођења пролиферативних сигнала, што обезбеђује експанзију само оних клонова који су исказали функционалне рецепторе.

2. Диференцијација (преустројавање гена за рецепторе)

Антигенске рецепторе кодира неколико генских сегмената које раздвајају интрони (клицина линија).

Током сазревања ови делови генома подлежу преустројавању (реаранжирању) тј. спајању егзона (стварају се **функционални гени**).

Разноликост настаје током рекомбинације јер се случајним процесом спајају различити егзони из генских група.

Ово је централни догађај у сазревању лимфоцита.

Механизми настајања разноликости рецептора

Разноликост антигенских рецептора настаје:

1. коришћењем различитих V-D-J комбинација у различитим лимфоцитима

(КОМБИНАТОРНА РАЗНОЛИКОСТ)

...а још и више

2. грешкама у V-D-J спојевима када се мења редослед нуклеотида

(СПОЈНА РАЗНОЛИКОСТ)

N/P нуклеотиди

	Imunoglobulin			T-ćelijski receptor	
	Teški lanac	κ	λ	α	β
Broj varijabilnih (V) genskih segmenata	~45	35	30	45	48
Broj genskih segmenata raznolikosti (D)	23	0	0	0	2
Broj spojnih (J) genskih segmenata	6	5	4	50	12

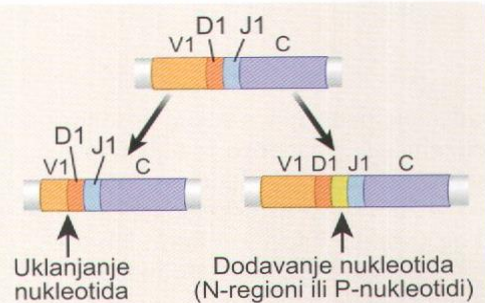
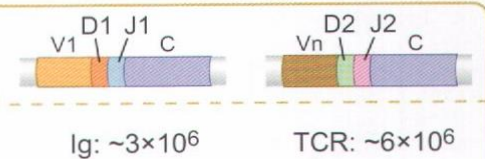
Mehanizam

Kombinatorna raznolikost

Broj mogućih V(D)J kombinacija

Spojna raznolikost

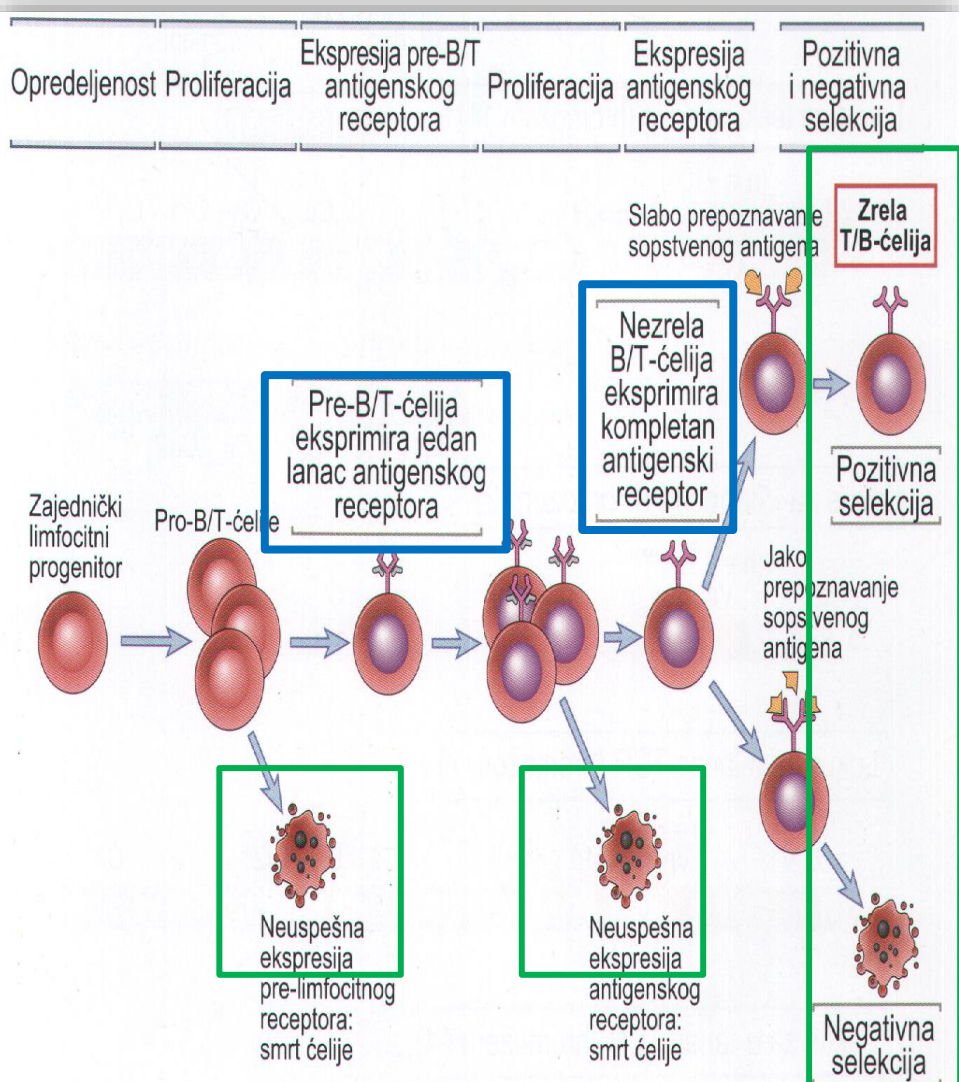
Ukupan potencijalni repertoar uključujući spojnu raznolikost



Ig: $\sim 10^{11}$

TCR: $\sim 10^{16}$

3. Селекција



Лимфоцити током сазревања пролазе неколико фаза селекције:

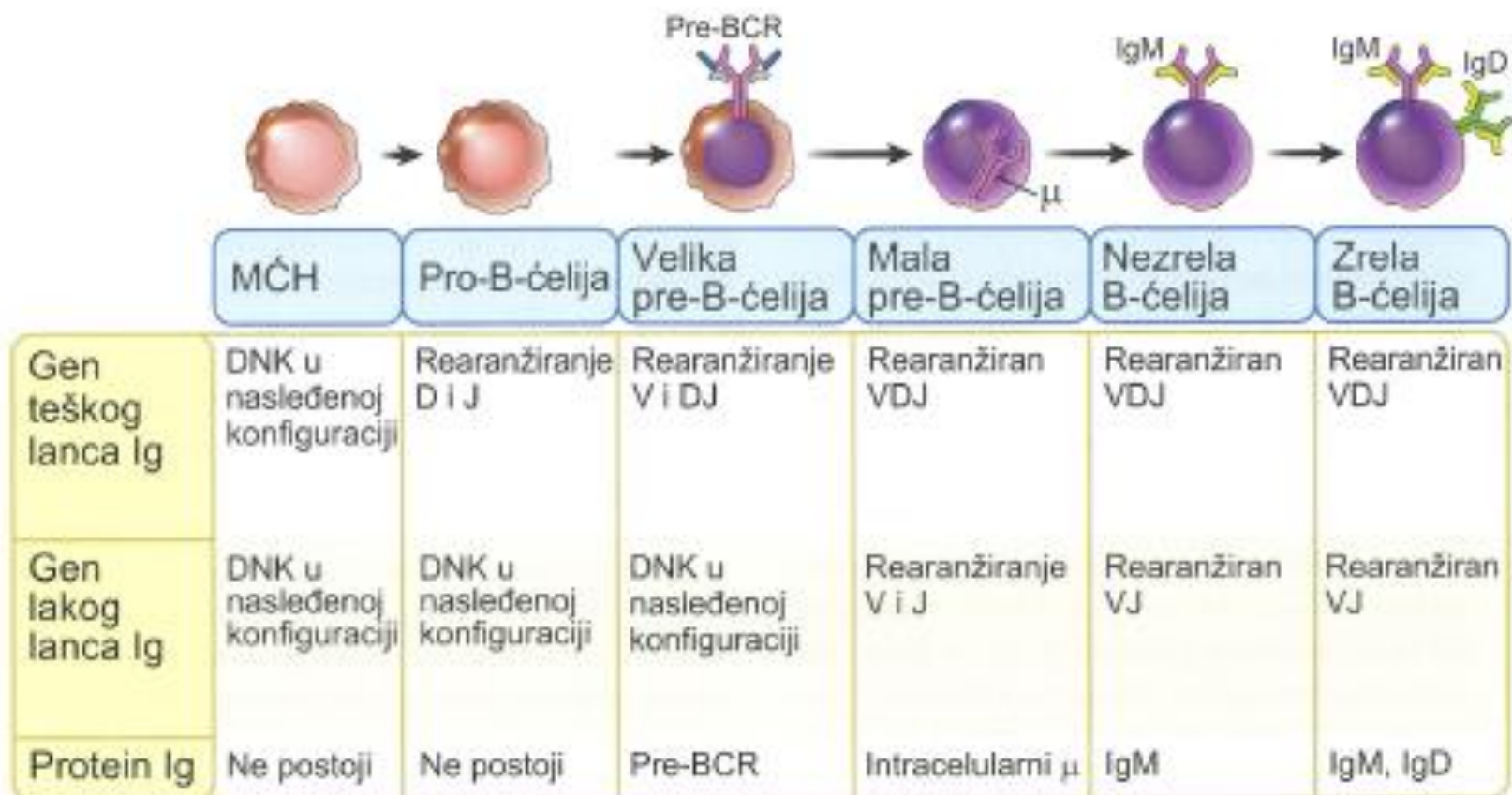
Позитивна и негативна селекција Т и В лимфоцита.

Биолошка сврха селекције је да сачува оне лимфоците чија је антигенска специфичност потенцијално корисна а није опасна за антигене сопствених ткива.

Услов за селекцију је експресија функционалног антигенског рецептора

Сазревање и селекција В лимфоцита

КОСТНА СРЖ



У пре В ћелијама се експримира интрацелуларни μ ланац. По неки од тих ланаца се испољава на мембрани са константним *сурогатима* лаквих ланаца на мембрани.

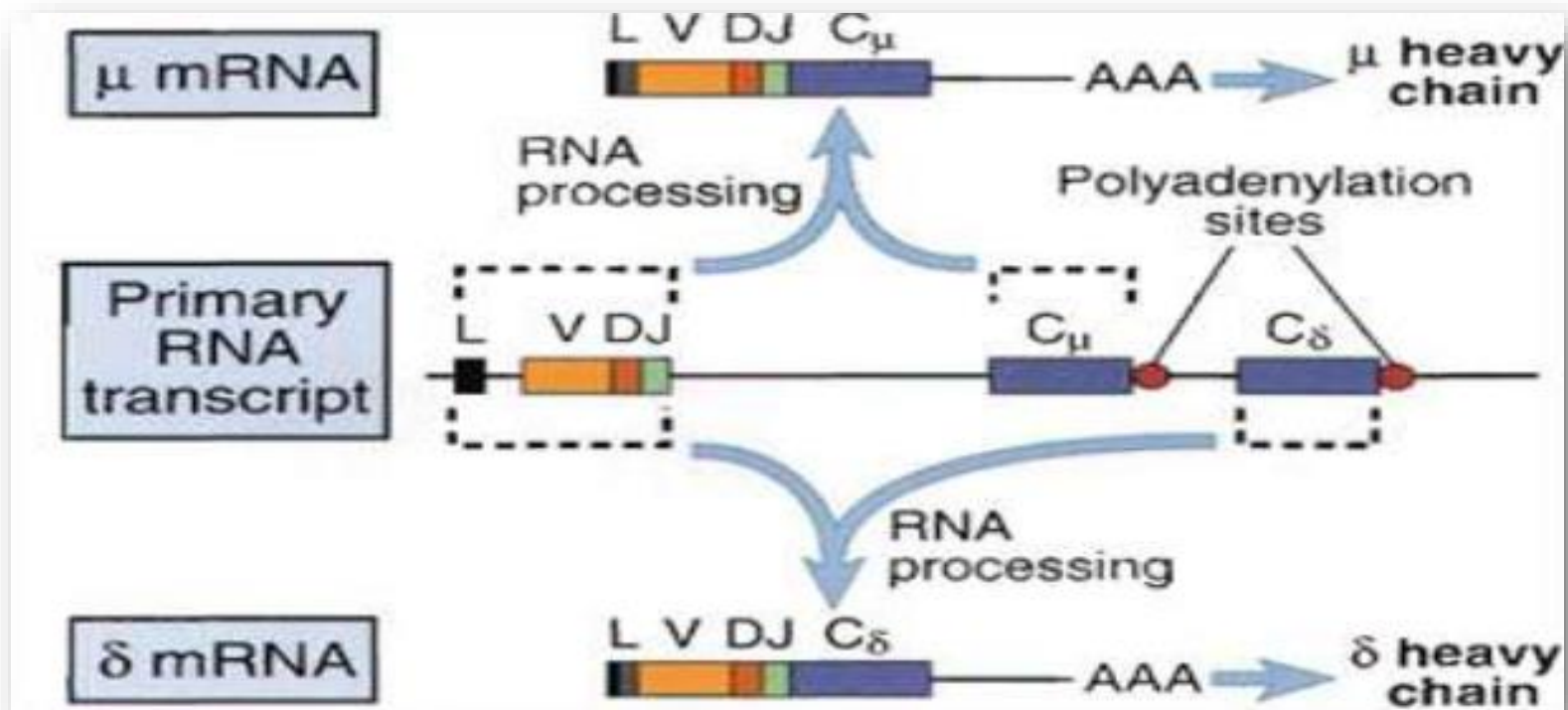
μ ланац и *сурогат* ланац се повезују са $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ ланцима и чине **пре-BCR комплекс**, који је важан за:

- испоручивање пролиферативних и антиапоптозних сигнала

- алелску ексклузију (тј. закључавање гена за тешке ланце на другом хромозому)

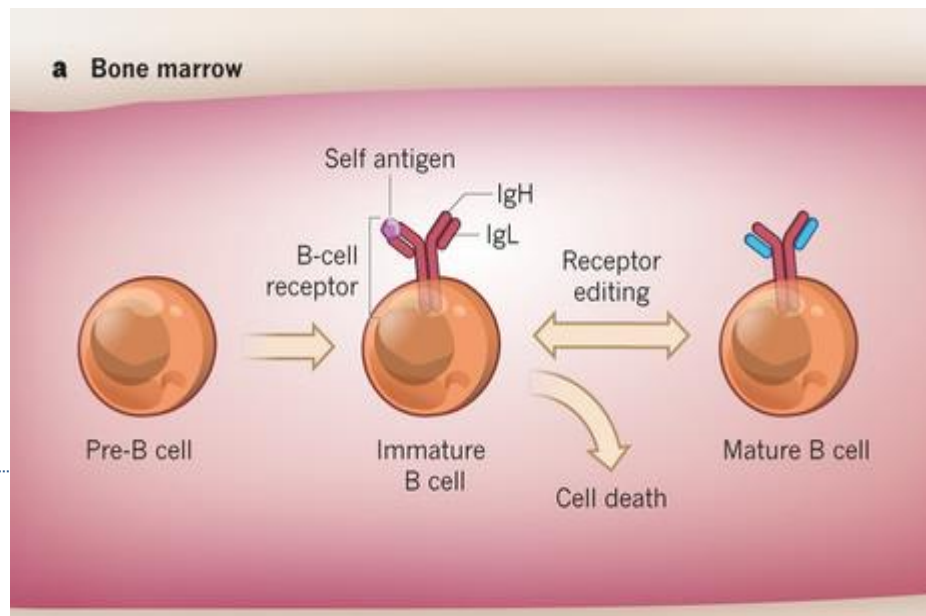
- покреће рекомбинацију гена за лаке ланце (прво за κ а потом за λ ако прво не успе)

Када ћелија алтернативним *splicing*-ом успе да синтетише и IgM и IgD постаје зрели лимфоцит.



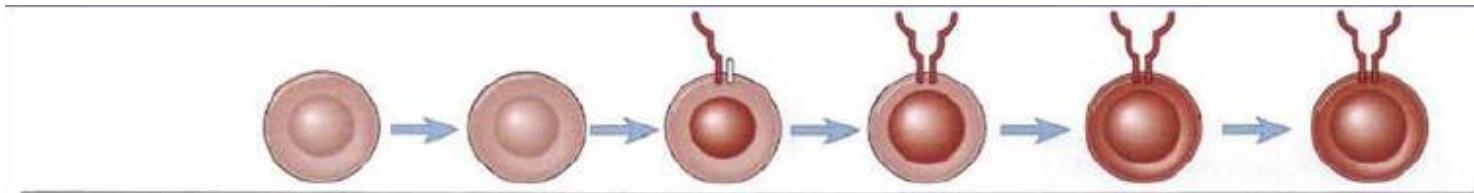
После случајног процеса настанка В-лимфоцитног репертоара **позитивно се селекују** оне ћелије које експримирају комплетне рецепторе, док се **негативно селекују** оне ћелије које јако препознају сопствене антигене.

Ако В лимфоцит **високим афинитетом** препозна неки антиген у костној сржи онда се **подвргава апоптози** или **преуређује рецептор (*receptor editing*)** тако што активирањем рекомбиназа синтетише нови лаки ланац. Дакле, негативна селекција уклања потенцијално опасне ћелије које могу да препознају сопствене антигене и да реагују против њих.



Сазревање и селекција Т лимфоцита

ТИМУС



	Матична ћелија	Про-Т	Пре-Т	Двоструко позитиван	Једноструко позитиван	Зрео Т лимфоцит
TCR ДНК, РНК	ДНК у наслеђеној конфигурацији	ДНК у наслеђеној конфигурацији	Рекомбинован ген β ланца	Рекомбиновани ген β и α ланца	Рекомбиновани ген β и α ланца	Рекомбиновани ген β и α ланца
Експресија TCR и корецептора	Не постоји	Не постоји	Пре-Т рецептор	Мембран. $\alpha\beta$ TCR, CD4 и CD8 корецептор	Мембран. $\alpha\beta$ TCR, или CD4 или CD8 корецептор	Мембран. $\alpha\beta$ TCR, или CD4 или CD8 корецептор

У пре Т лимфоцитима на мембрани се експримира β ланац TCR-а.

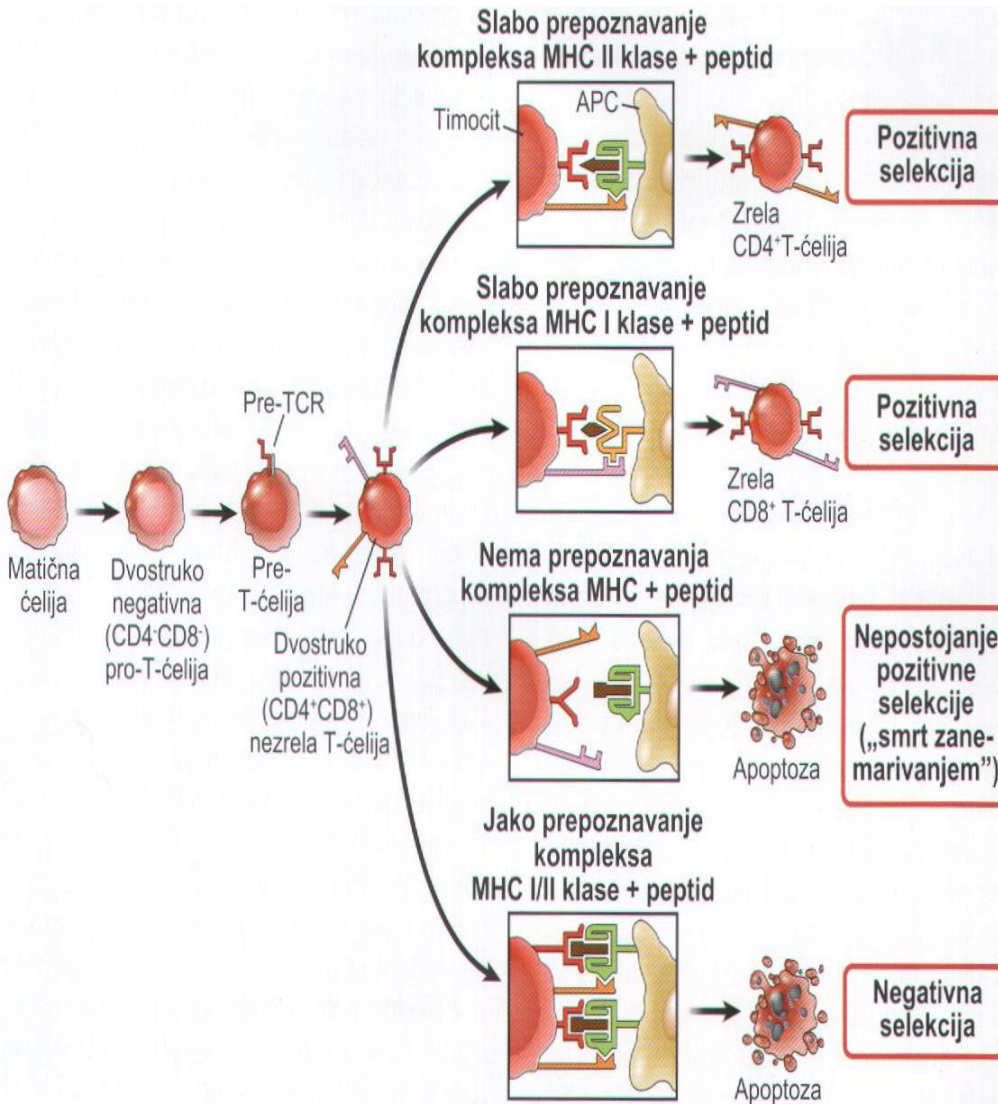
β ланац и *пре* $T\alpha$ чине **пре-TCR комплекс**, који је важан за:

- испоручивање пролиферативних и антиапоптозних сигнала
- алелску ексклузију (тј. закључавање гена за тешке ланце на другом хромозому)
- покретање рекомбинације гена за α ланац

- Двоструко позитивни CD4+CD8+ Т лимфоцити
- Позитивна и негативна селекција

Селекција Т лимфоцита

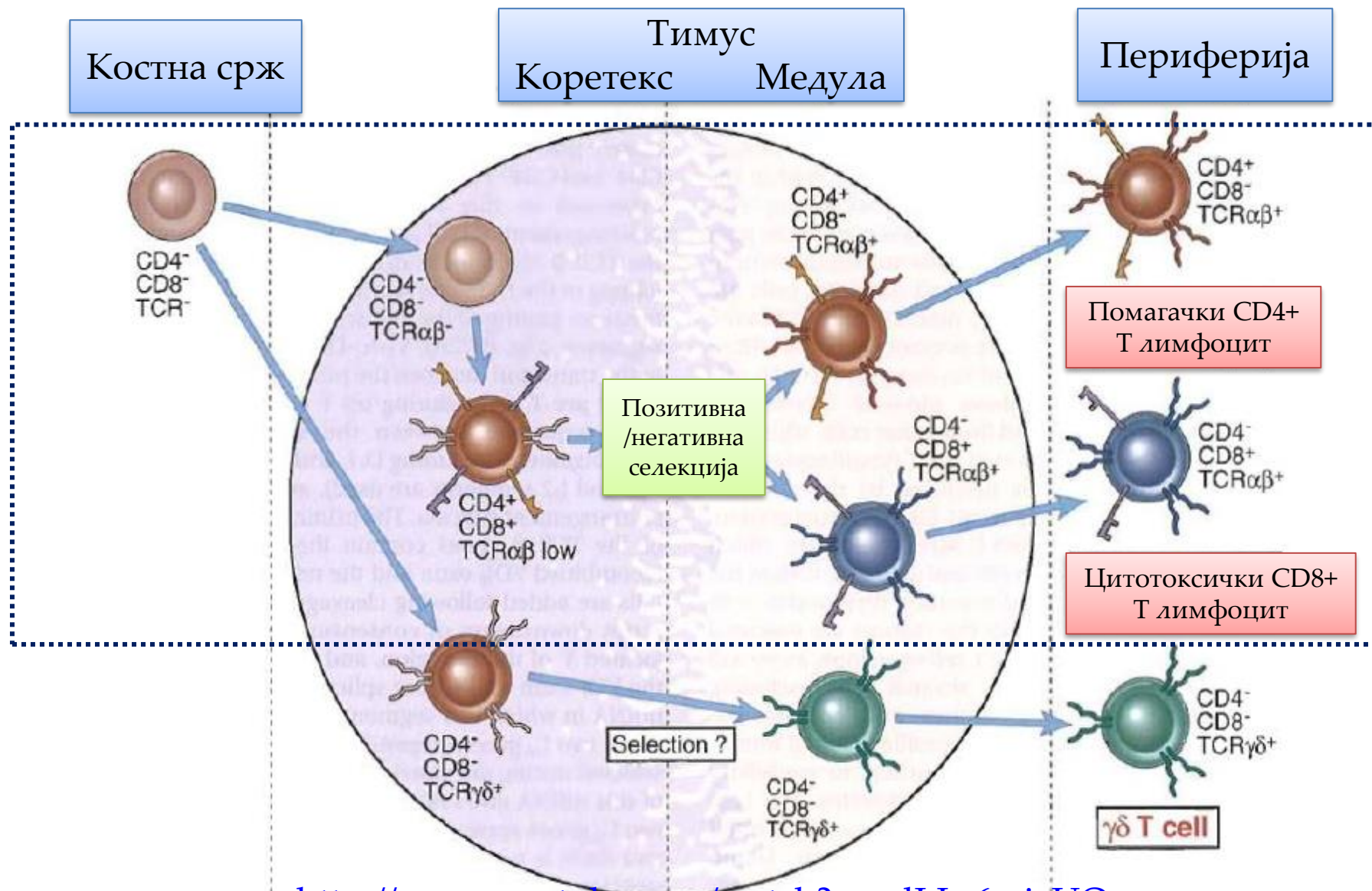
ТИМУС



Ако у тимусу Т лимфоцит TCR препозна сопствени MHC молекул који презентује сопствени пептид, ова ћелија бива одабрана да преживи-
позитивна селекција.

Они Т лимфоцити чији рецептори снажно препознају сопствени MHC у контексту сопственог пептида умиру процесом апоптозе-
негативна селекција. На тај начин се у тимусу уклањају се потенцијално опасни Т лимфоцити који на периферији могу да реагују против сопствених протеина

да запамтимо...



<http://www.youtube.com/watch?v=odLLr6mjaUQ>