

# НАСТАВНА ЈЕДИНИЦА 2



# Презентација антигена

Шта виде лимфоцити?

Функција APC

Функција молекула MHC

Обрада и презентација протеинских  
антигена

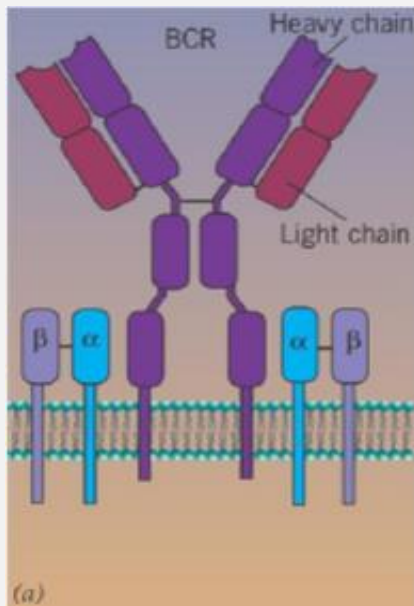
Стечени (специфични) имунски одговор...

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

# Рецептори за антиген на лимфоцитима

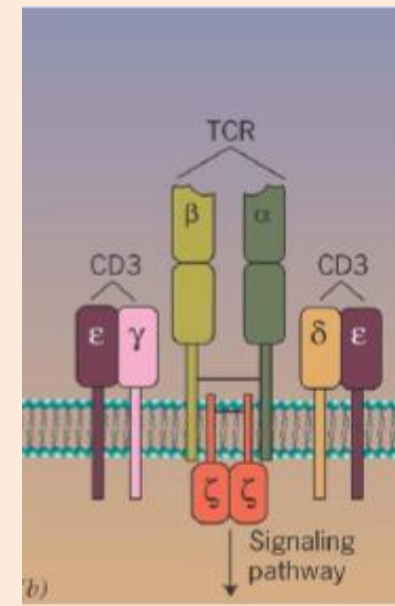
## В ћелијски рецептор (BCR)

- 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).



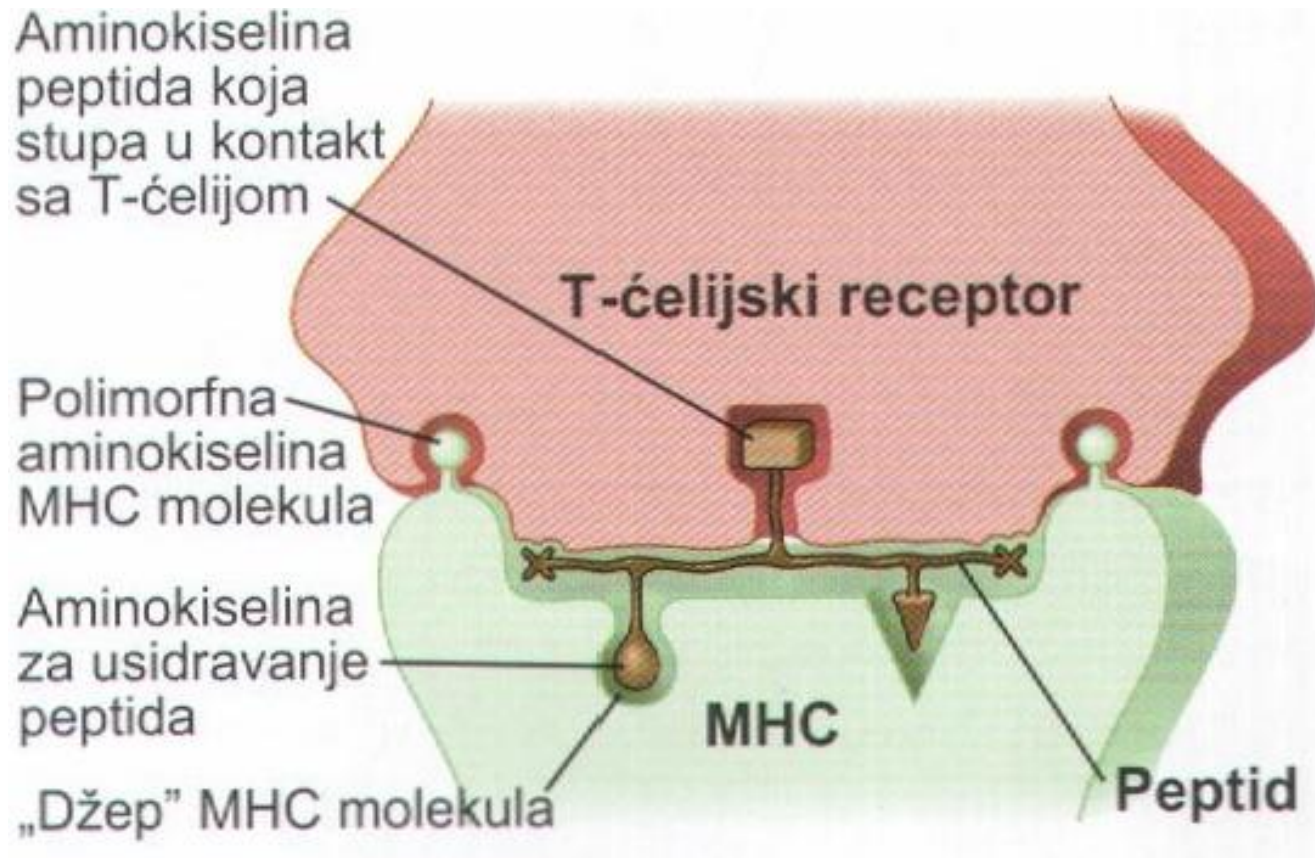
# Шта виде Т лимфоцити?

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

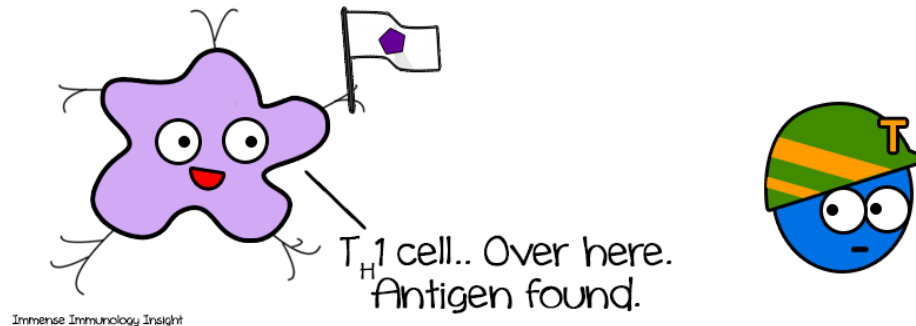
*Другим речима: Т лимфоцити виде пептидне делове антигена искључиво уколико су приказани у контексту продуката МНС који су исказани на нашим ћелијама.*

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)

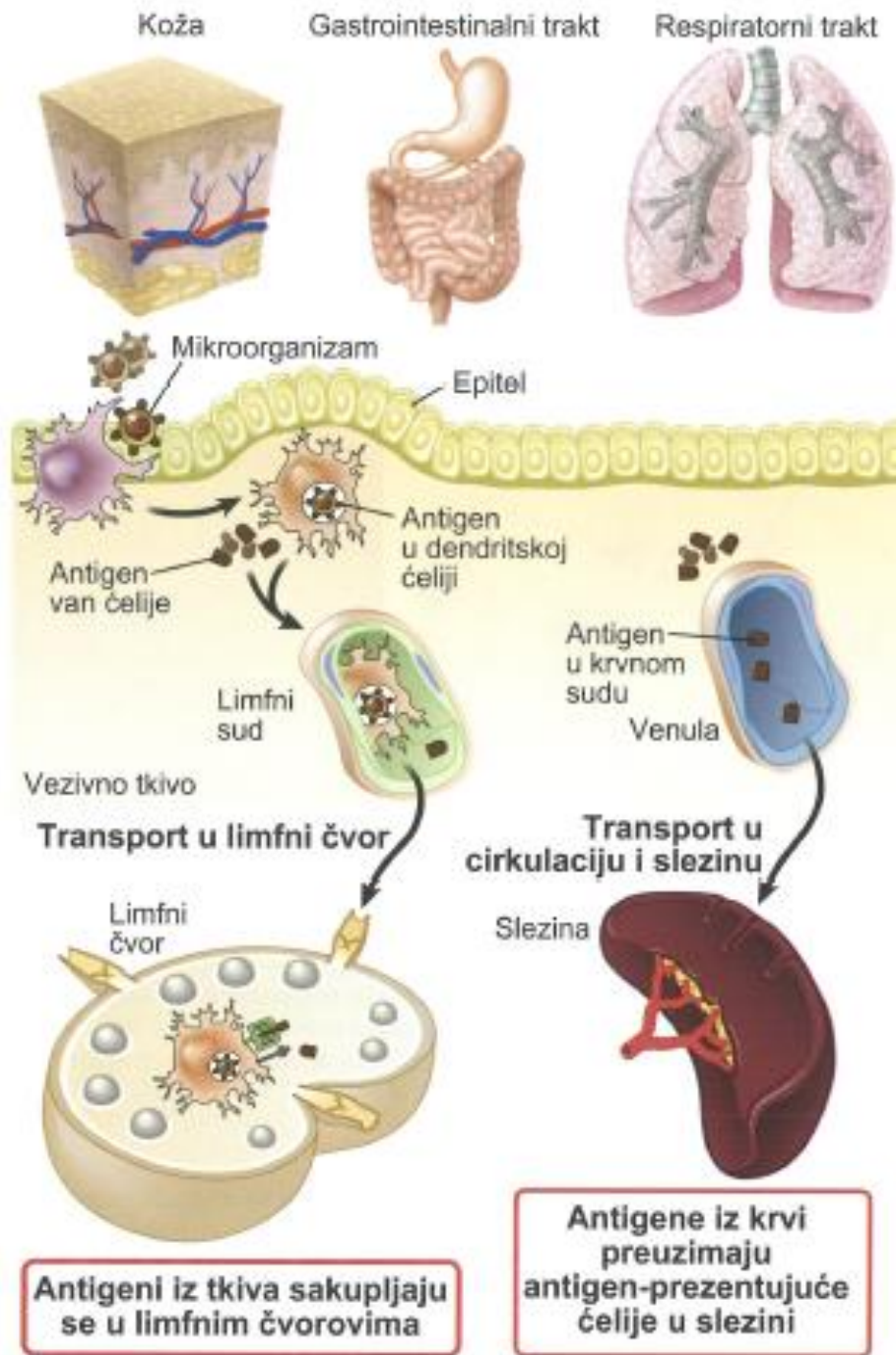
- приказују пептидне антигене, у склопу I класе MHC молекула ефекторским CD8<sup>+</sup> Т лимфоцитима.

То су све ћелије са једром.

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

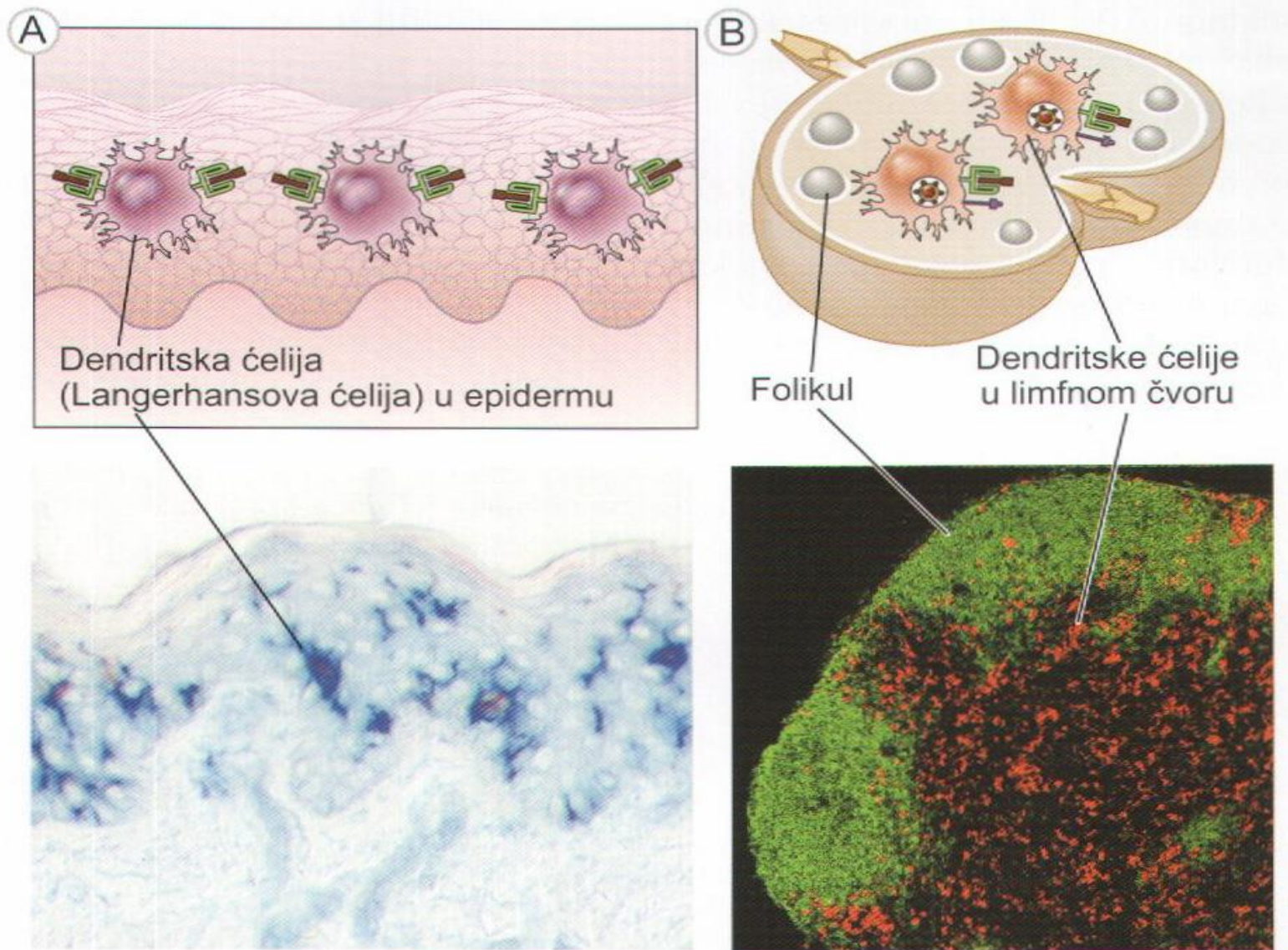


# Преузимање и презентација антигена микроорганизама

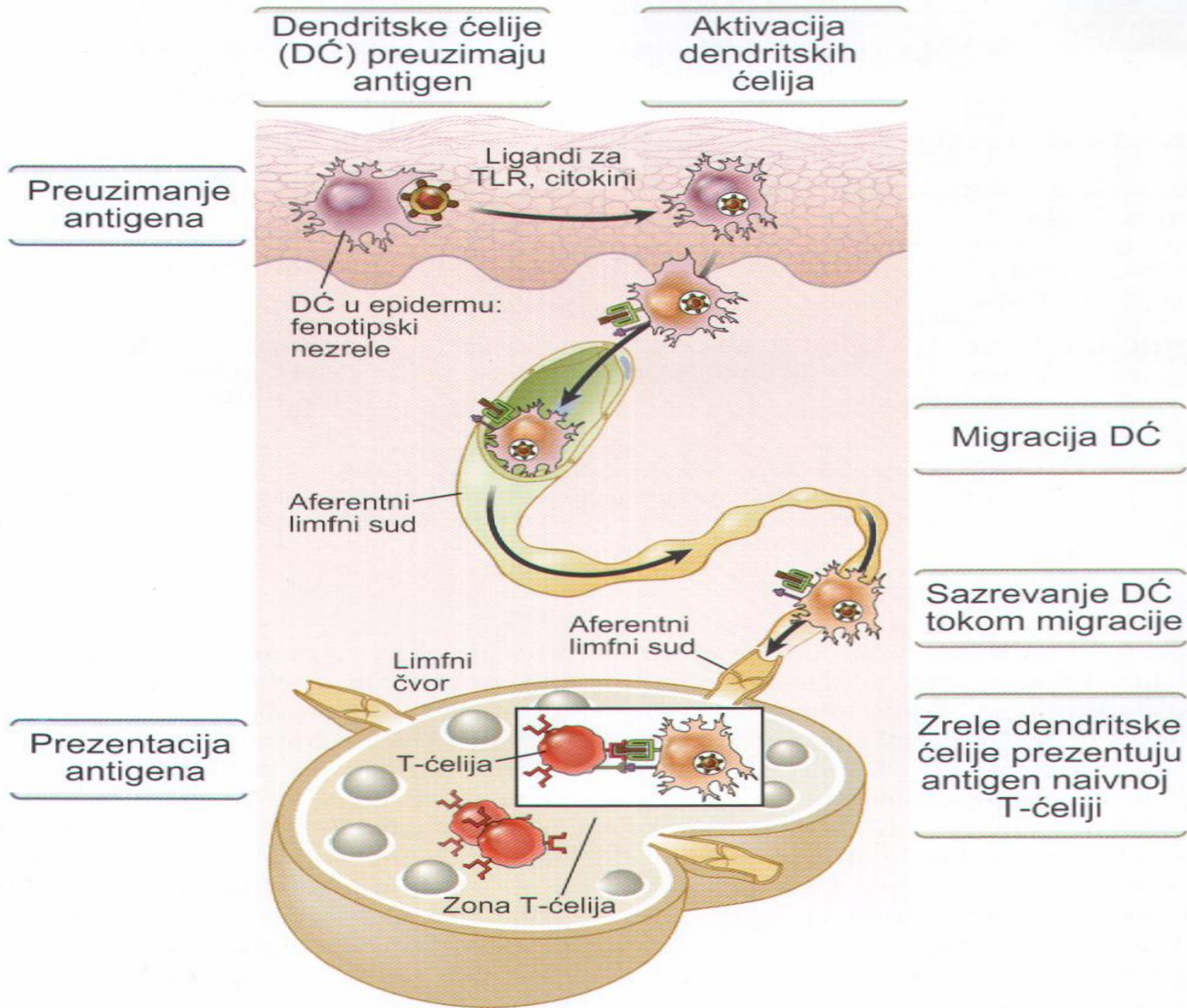




# Преузимање антигена и миграција дендритских ћелија



# 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	Visokoekspimiran CD11c Visokoekspimiran CD11b	Nisko ekspimiran CD11c Negativan CD11b
Glavna lokalizacija	Tkiva	Krv i tkiva
Ekspresija receptora sličnih Tollu	Visokoekspimirani TLR 4, 5, 8	Visokoekspimirani 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

*да се подсетимо...*

**Поред дендритских, постоје и друге  
професионалне АРС!!!**

# 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.

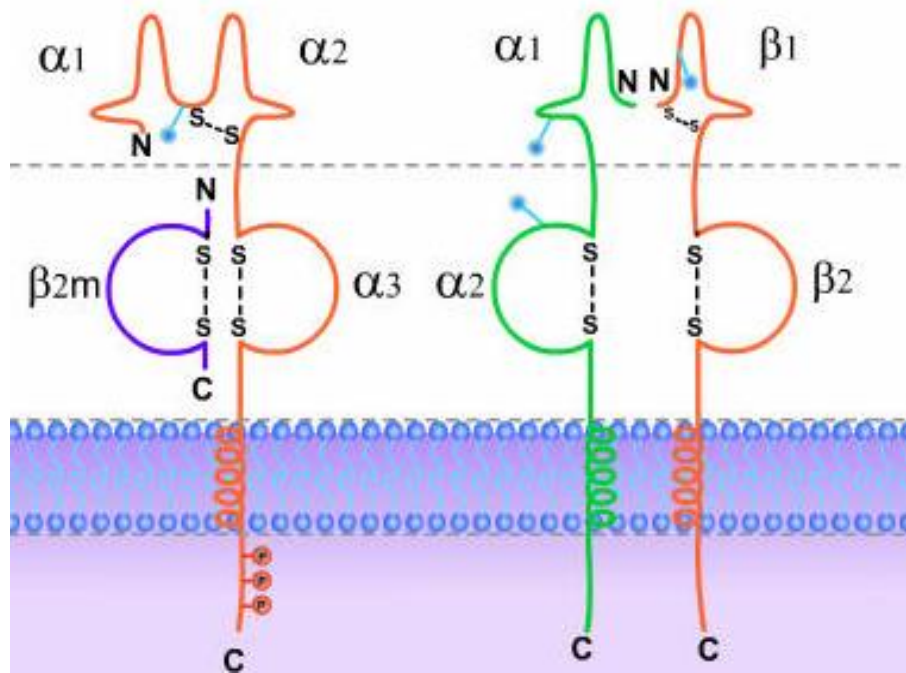
# Друге функције APC

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

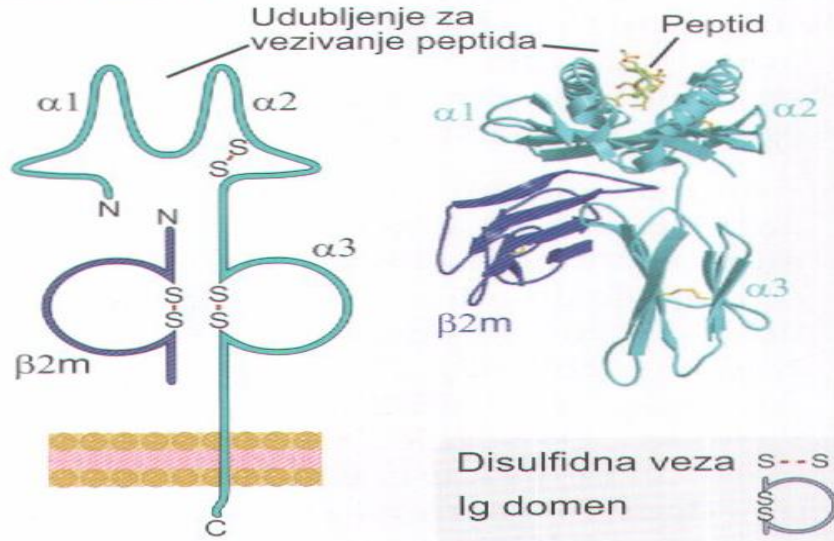
*... Други сигнал обезбеђују костимулаторни мембрански протеини и цитокини.*



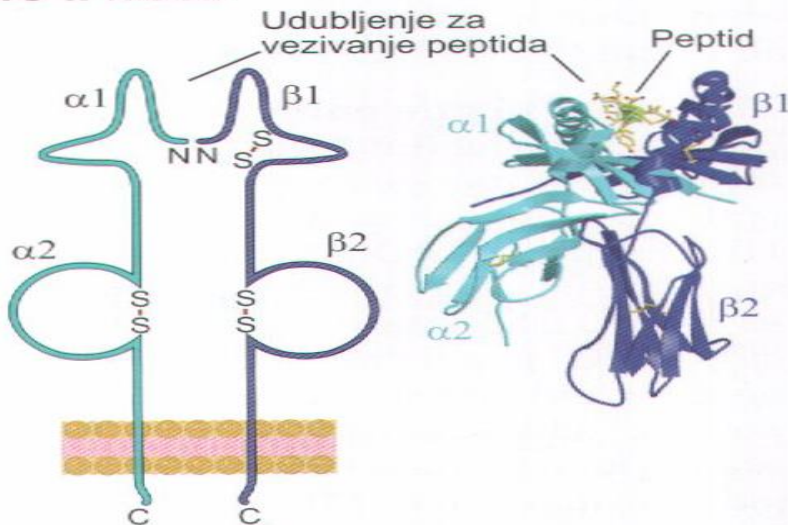
# Гени и продукты МНС



## MHC I klase



## MHC II klase



## Функција продукта МНС

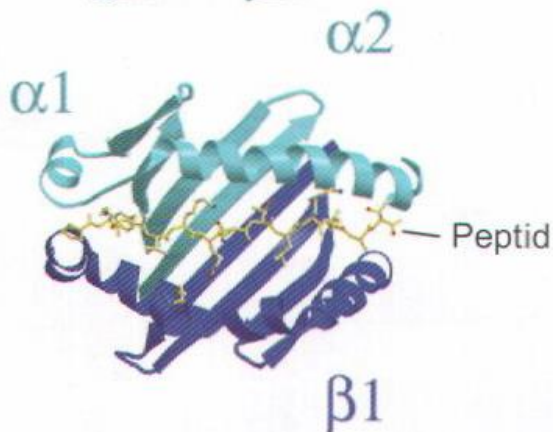
Молекули МНС су мембрански протеини чија је функција да приказују пептиде Т лимфоцитима.

Ⓐ

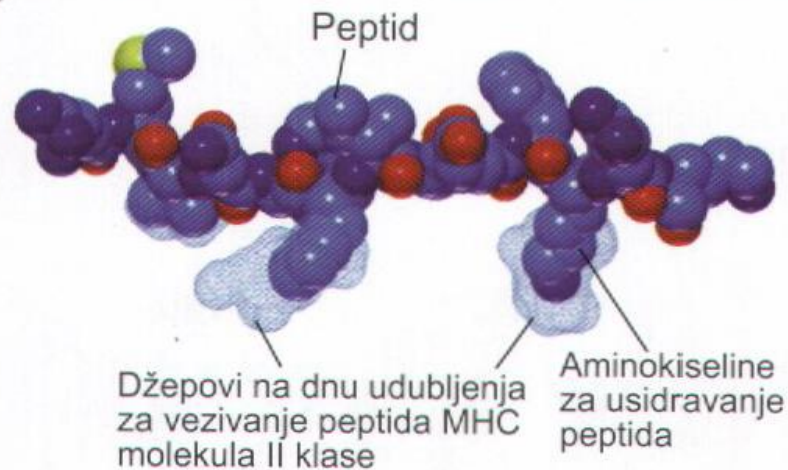
MHC  
molekul  
I klase



MHC  
molekul  
II klase



Ⓑ



MHC molekuli na svom  
N kraju imaju **udubљење**  
za чије дно се везују  
пептиди

## 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**.

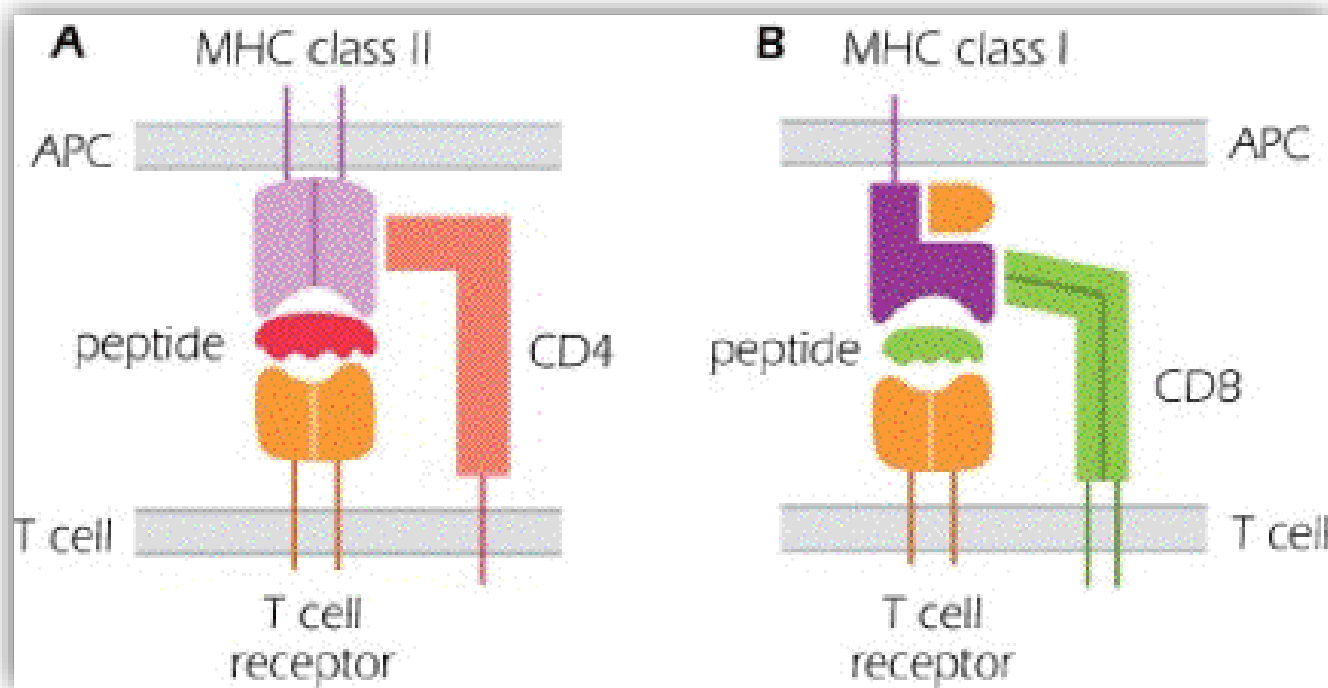
## Продукти II класе

- $\alpha 1$  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...

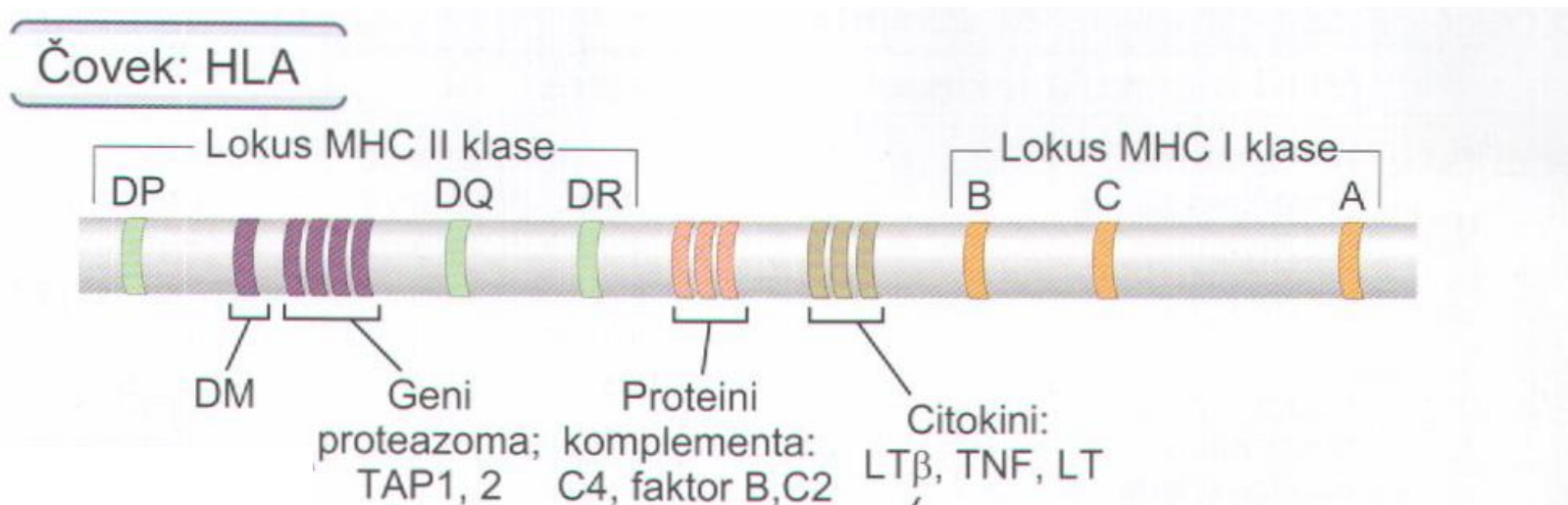
(1) МНС продукти І класе презентују антигене **CD8+Т** лимфоцитима



(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**.

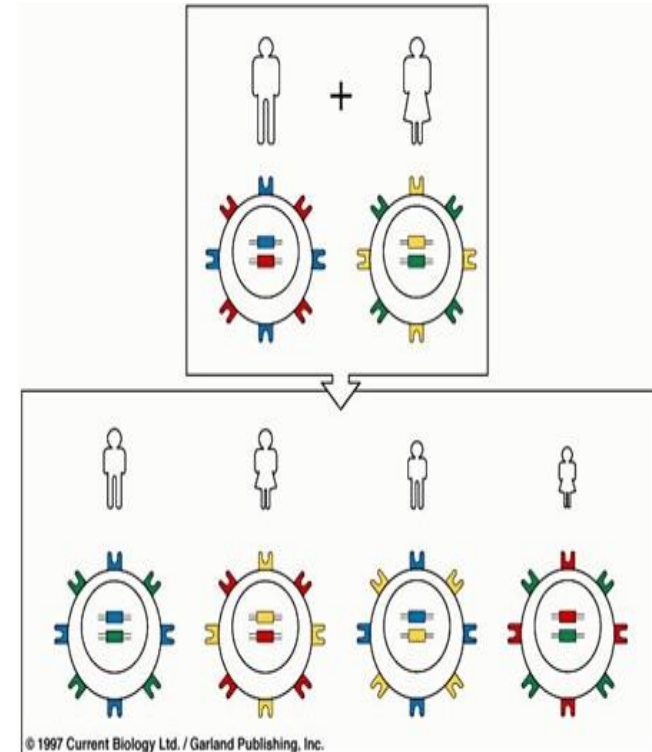
**БРОЈ** исказаних продуката:

- ✓ има по три гена – HLA-A, HLA-B, HLA-C за  $\alpha$  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  $\alpha$  ланац и три или четири гена за  $\beta$  ланац (који се могу комбиновати) II класе на оба хромозома:

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



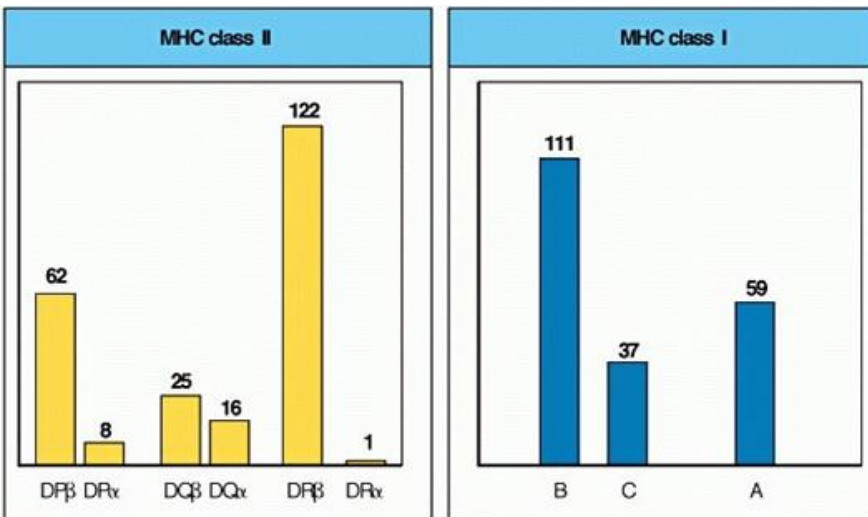


## 2. Спрегнуто наслеђивање...

...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.

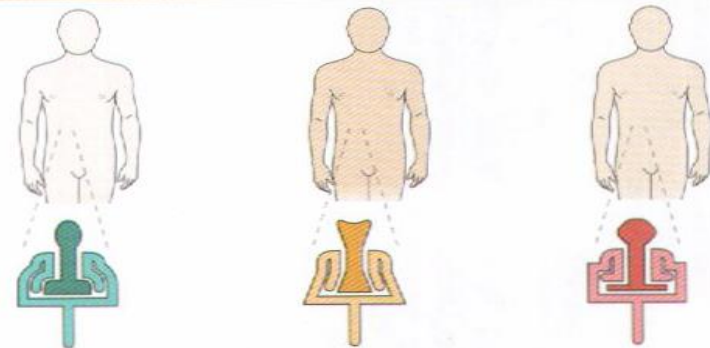
Важан је за селекцију унутар популације.

## Osobina

## Značaj

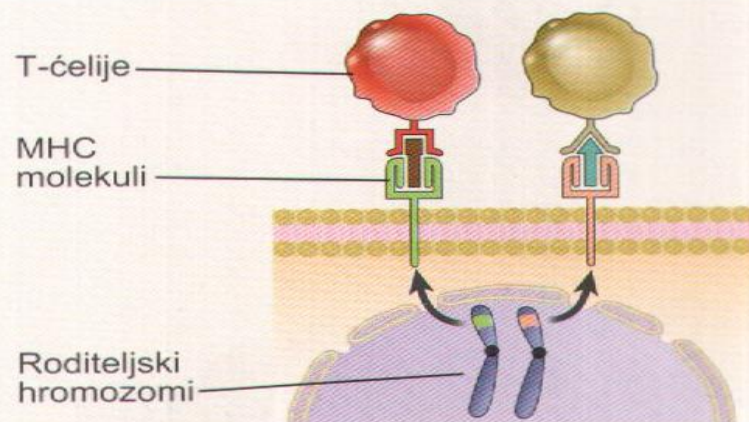
**Polimorfizam gena:**  
veliki broj različitih alela u populaciji

Obezbeđuje da različite jedinice prezentuju i odgovaraju na različite peptide patogena



**Kodominantna ekspresija:**  
Oba roditeljska alela svakog MHC gena su eksprimirana

Povećava broj različitih MHC molekula koji mogu da prezentuju peptide T-ćelijama



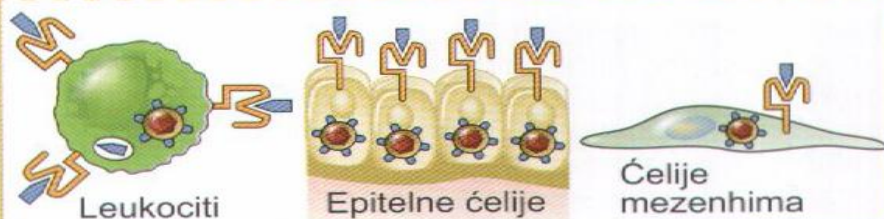
**Tipovi ćelija koje eksprimiraju MHC:**  
II klasa:  
dendritske ćelije, makrofagi, B-ćelije

CD4<sup>+</sup> pomoćnički T-limfociti stupaju u interakciju sa dendritskim ćelijama, makrofagima i B-limfocitima

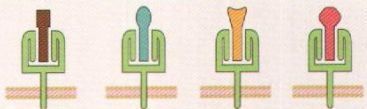
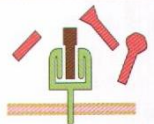

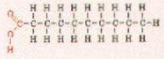
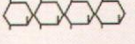




I klasa:  
sve ćelije sa jedrom

CD8<sup>+</sup> CTL mogu da ubiju svaku virusom zaraženu ćeliju





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><math>\alpha + \beta + I_i</math></div> <div>MHC II klase</div> <div><math>\beta_2\text{-mikroglobulin} + \alpha + \text{Citosolni peptid transportovan u ER}</math></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><math>\beta_2\text{-mikroglobulin} + \alpha + \text{Peptid}</math></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 ТCR-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.

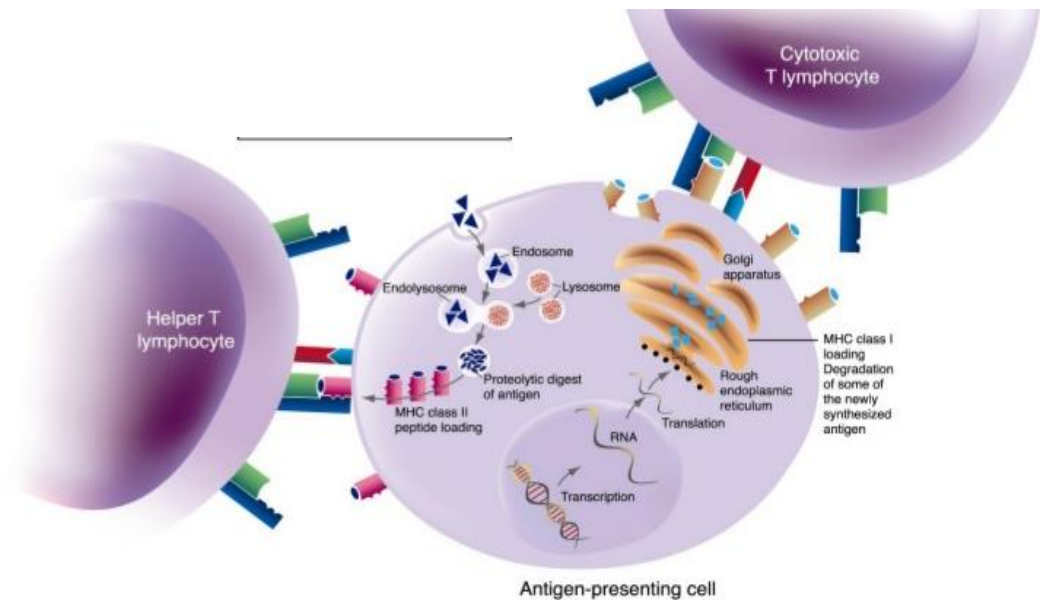
МНС молекули везују пептиде током своје синтезе и склапања унутар ћелије.

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.

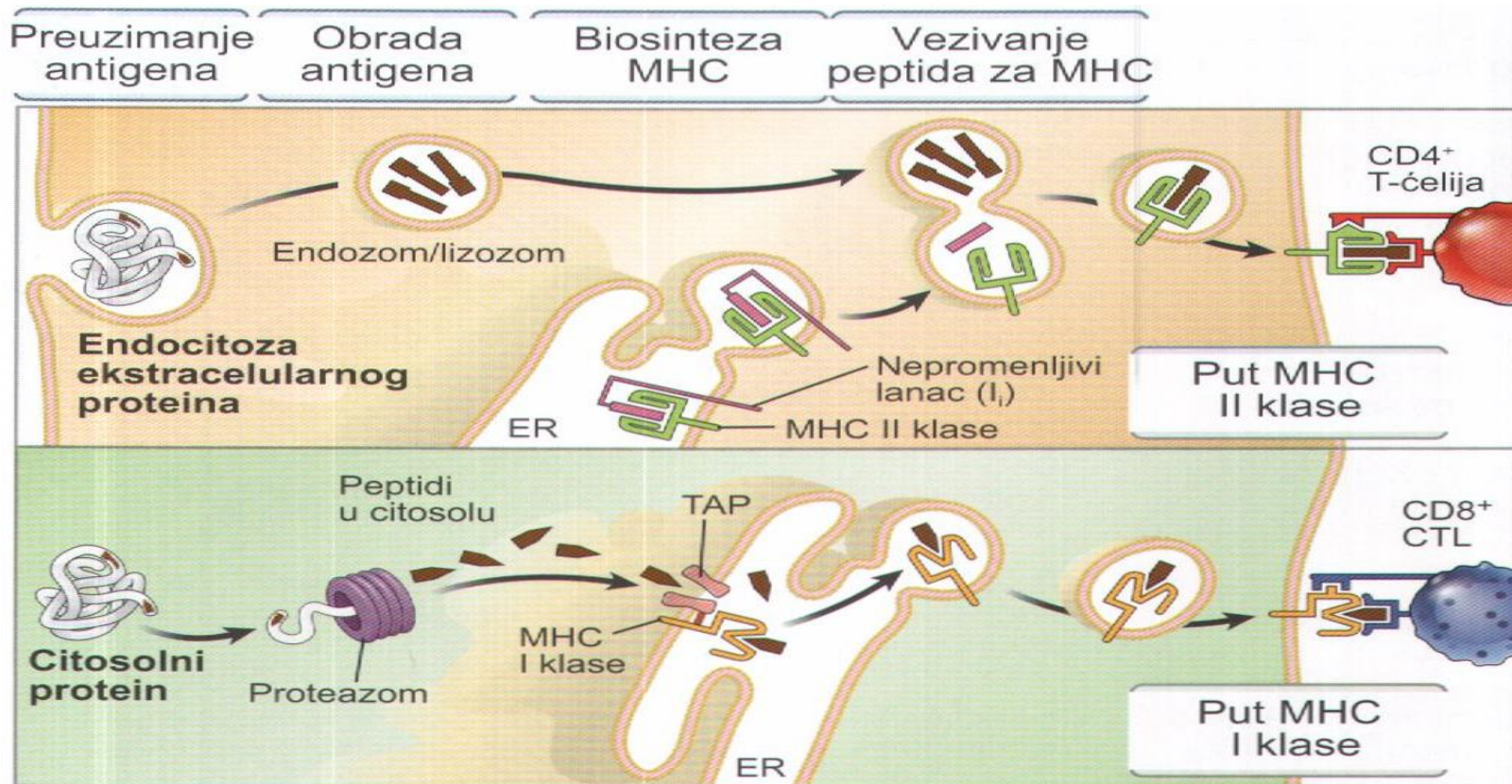
# Обрада и презентација протеинских антигена





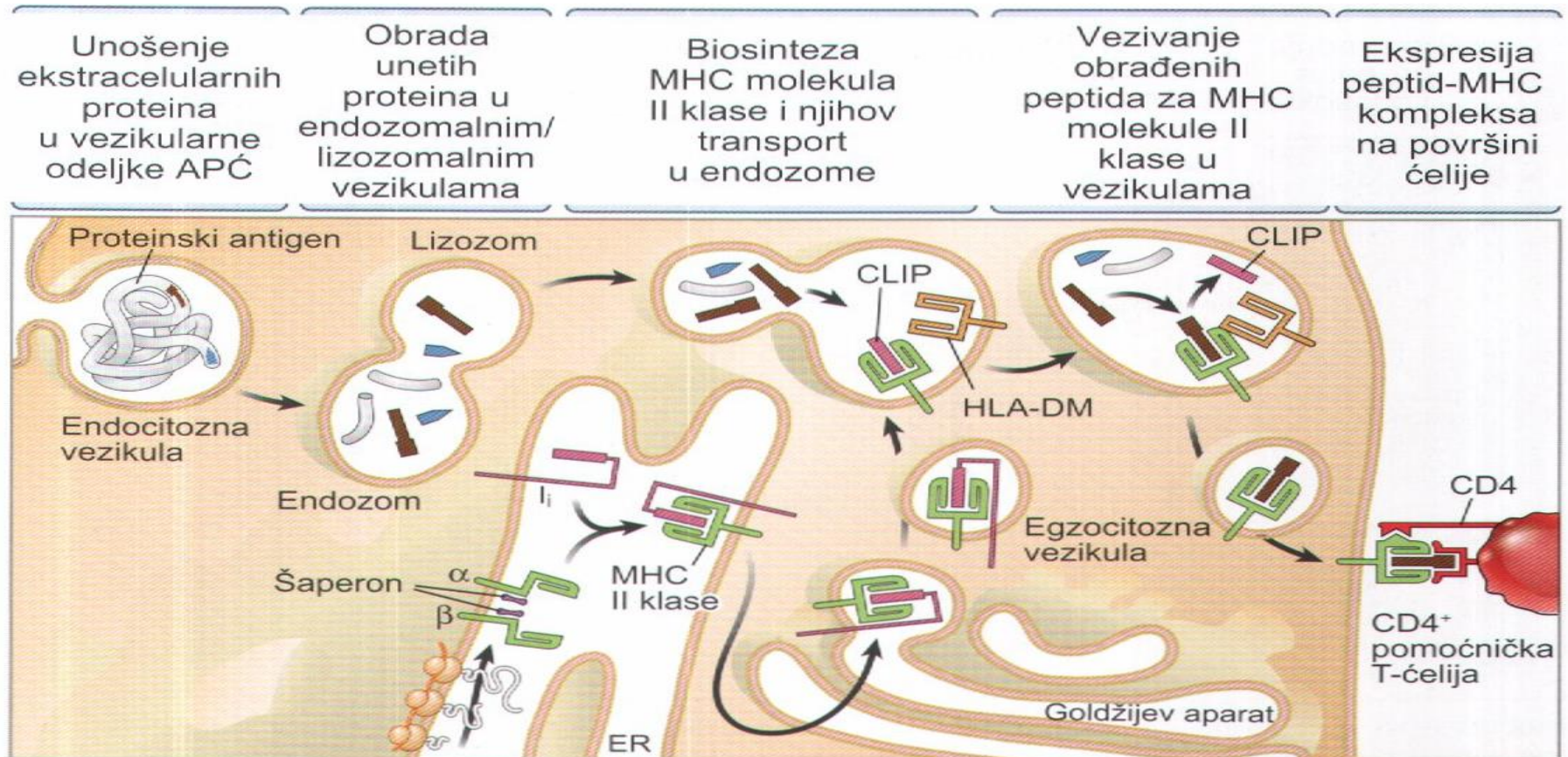
У зависности од порекла протеина постоје два пута његове обраде за приказивање Т лимфоцитима:

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



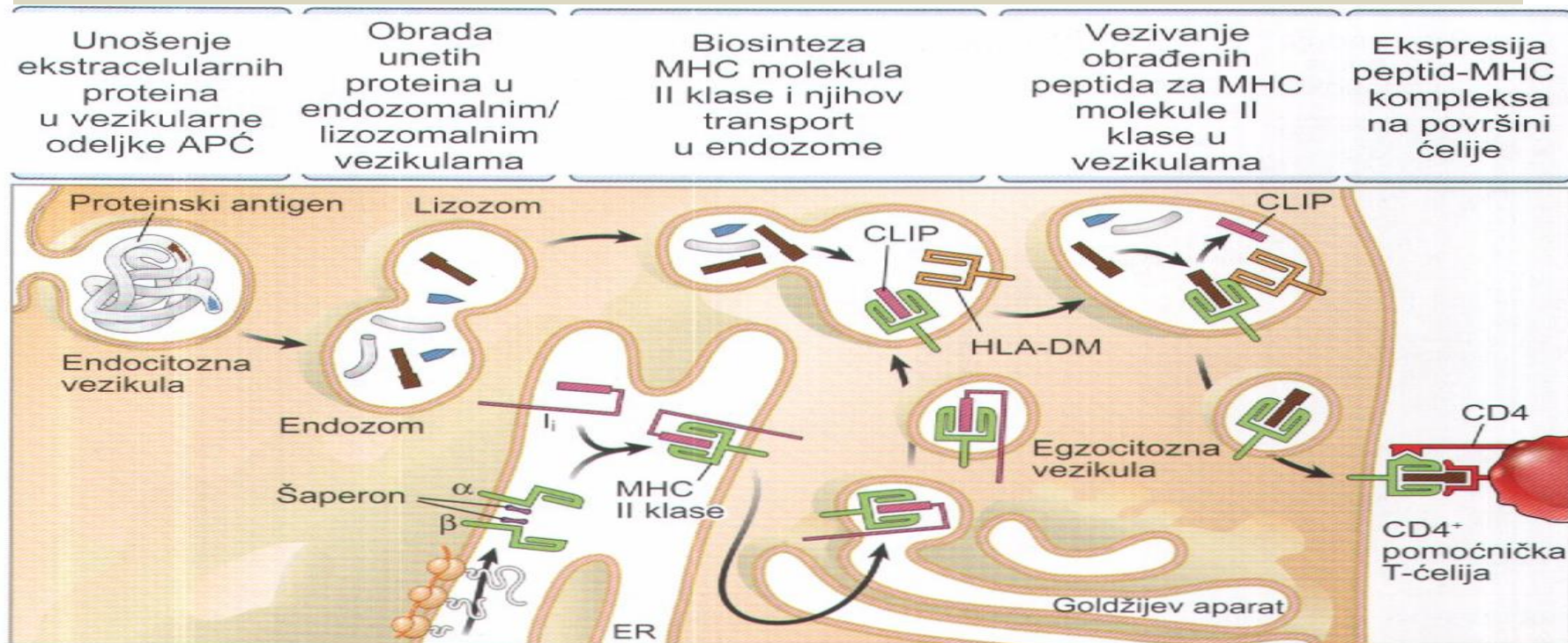
# Обрада и приказивање ендоцитованих антигена у склопу молекула II класе МНС

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.



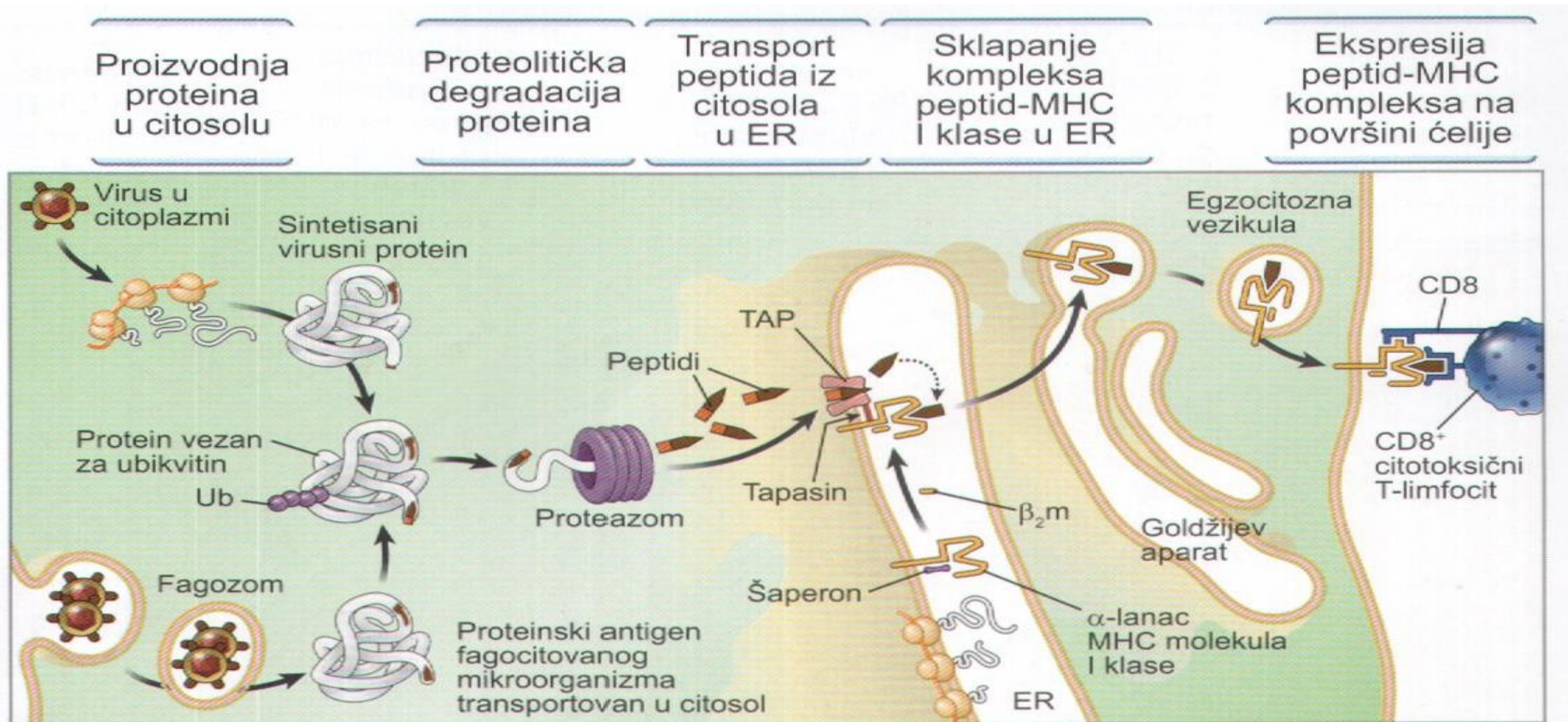


# Обрада и приказивање антигена у склопу молекула I класе МНС

Протеински антигени у цитоплазми потичу од:

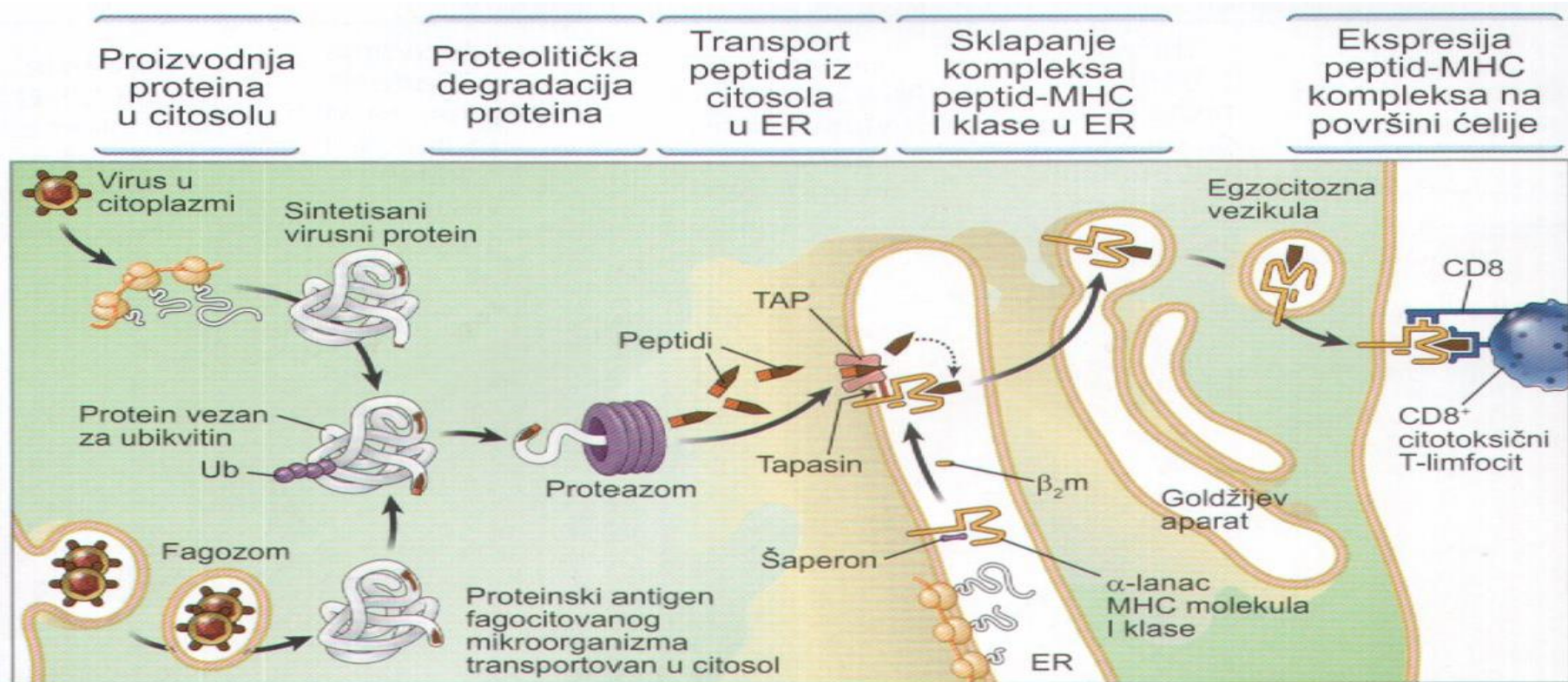
- вируса који се умножавају у цитоплазми;
- фагоцитованих микроба *побеглих* из везикула;
- онкопротеина насталих од измењених гена.

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

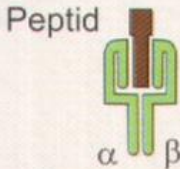





....И то тако што се прво расплету па се повежу са убиквитином и онда *провлаче* кроз протеазом.

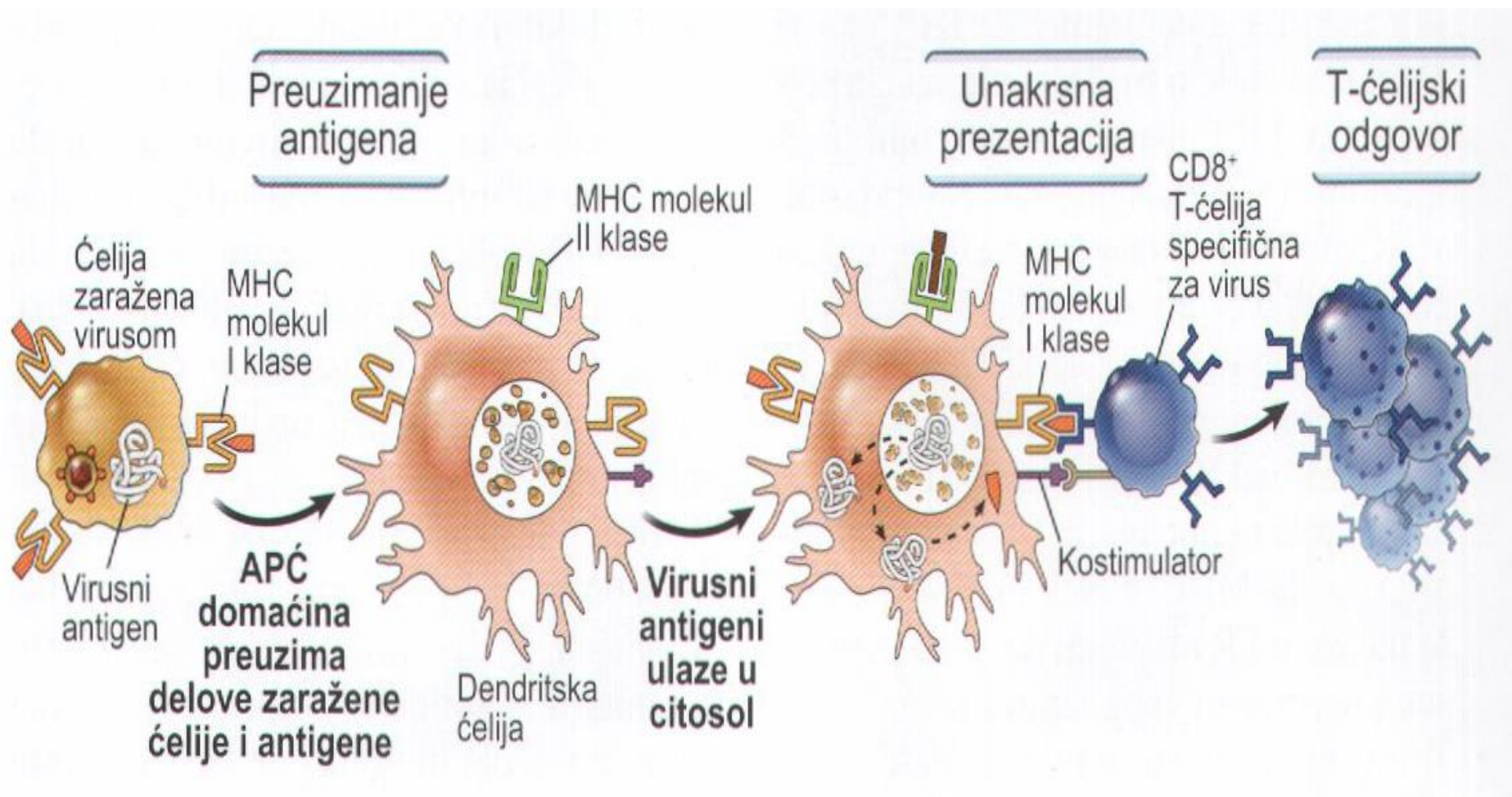
- **Протеазом** је протеолитичка органела у којој се протеини секу у пептиде погодне за повезивање са молекулима I класе МНС.
- **ТАР** (од енгл. *Transporter associated with Antigen Processing*) активним транспортом **убацује пептиде у ЕР**.
- МНС молекули I класе везују овако унете пептиде у ЕР.
-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





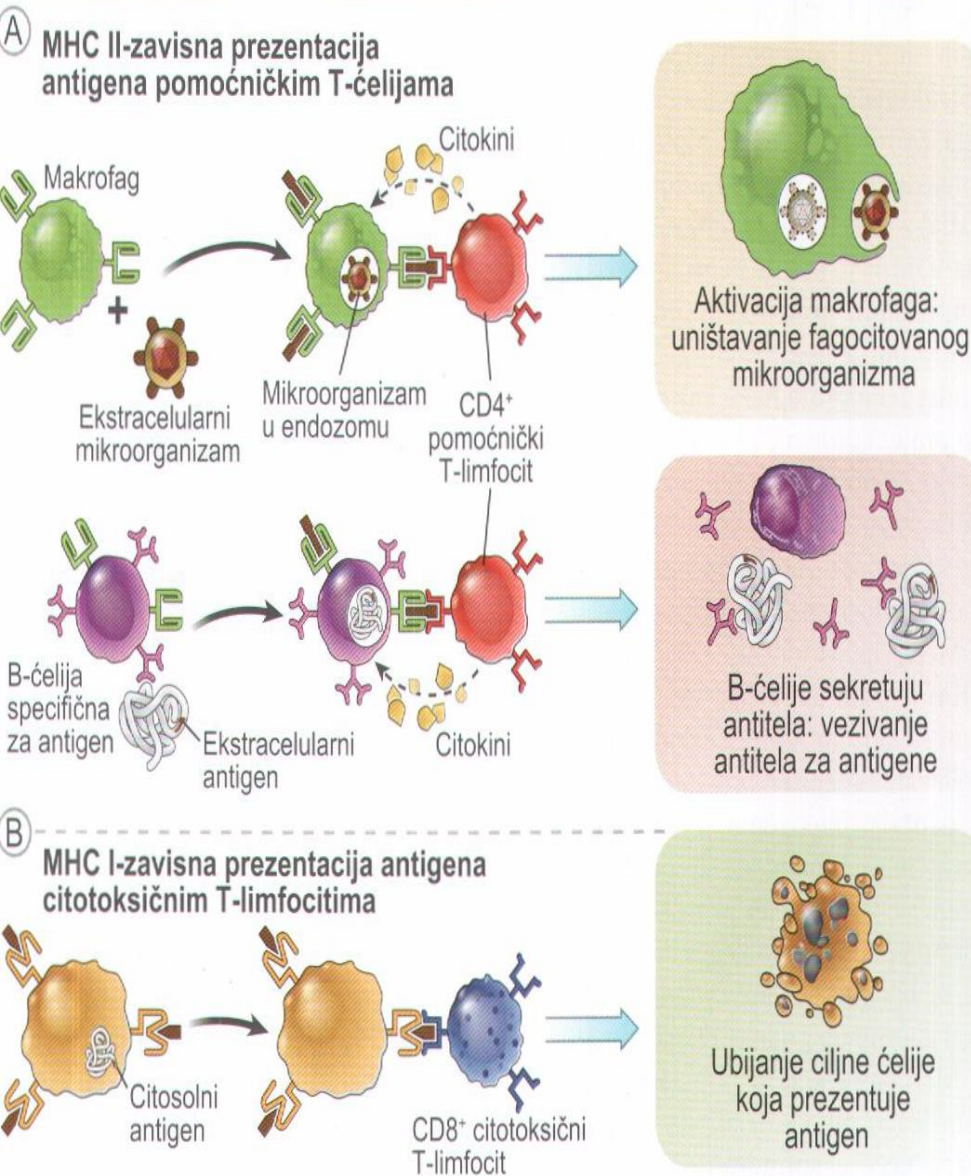
Osobina	Put MHC II klase	Put MHC I klase
Sastav stabilnog peptid-MHC kompleksa	Polimorfni $\alpha$ i $\beta$ -lanci MHC, peptid 	Polimorfni $\alpha$ -lanac MHC, $\beta$ 2-mikroglobulin, peptid 
Tipovi ćelija koje iskazuju MHC molekule	Dendritske ćelije, mononuklearni fagociti, B-limfociti; endotelne ćelije, epitel timusa	Sve ćelije sa jedrom
T-ćelije koje reaguju	CD4 <sup>+</sup> T-ćelije 	CD8 <sup>+</sup> 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

# Унакрсна презентација





## 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.

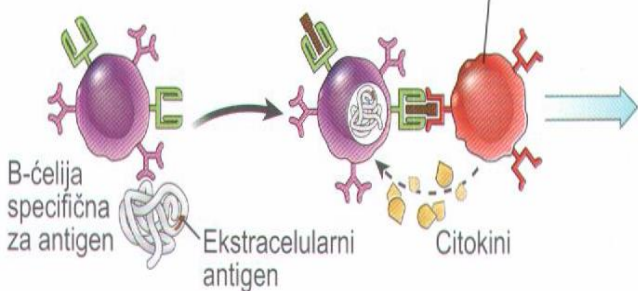
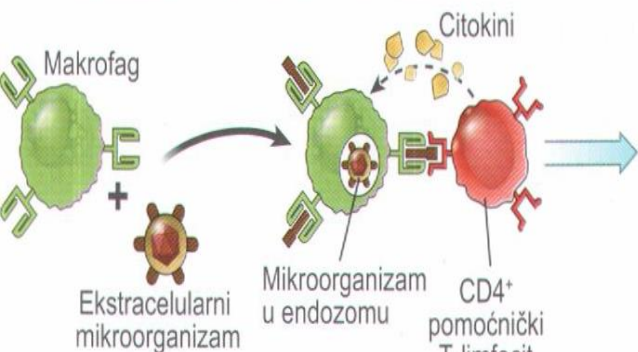


Unošenje ili  
sinteza antigena

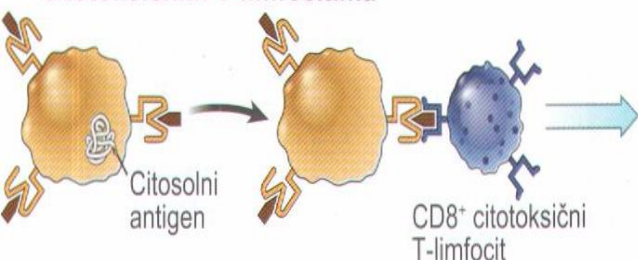
Prezentacija  
antigena

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.

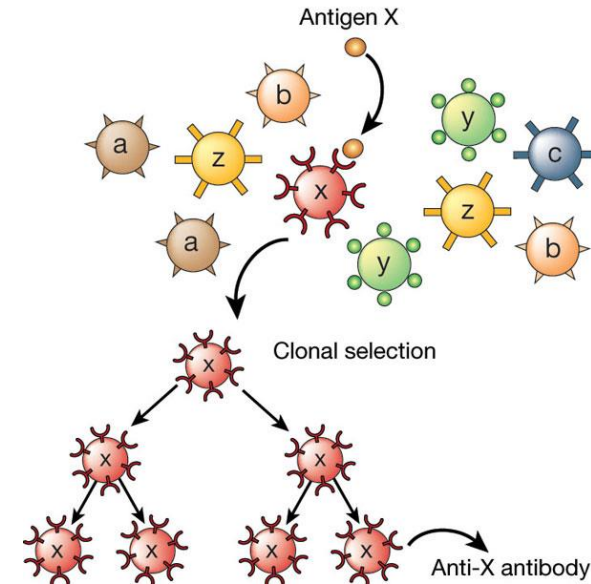
Ови рецептори су способни да **препознају, разликују и вежу** велики број антигена.



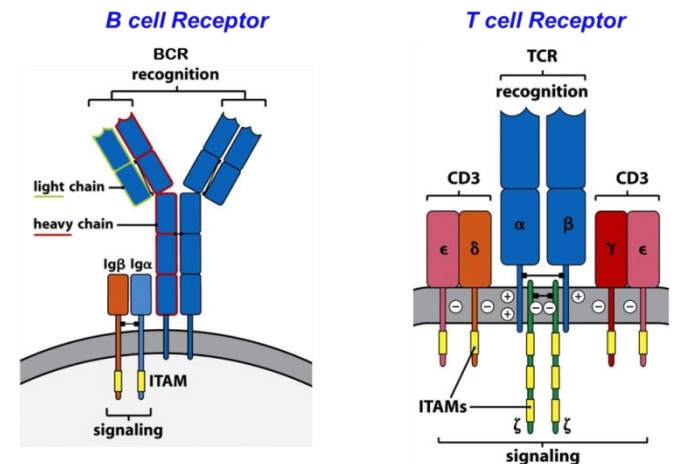
...да се подсетимо

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)

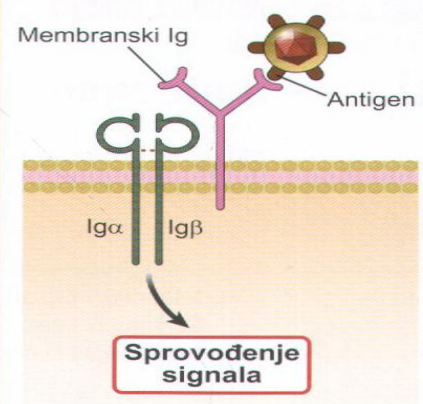
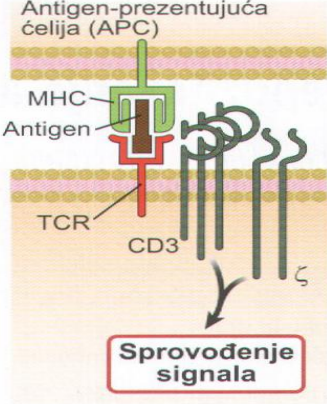


## *Питања на која данас треба одговорити...*

...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>Ig<math>\alpha</math> Ig<math>\beta</math></p> <p>Sprovođenje signala</p> <p>Sekretovano antitelo</p> <p>Efektorske funkcije: vezivanje komplementa, vezivanje za fagocite</p>	 <p>Antigen-prezentujuća ćelija (APC)</p> <p>MHC</p> <p>Antigen</p> <p>TCR</p> <p>CD3</p> <p><math>\zeta</math></p> <p>Sprovođenje signala</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 $\alpha$ i $\beta$ -lanca TCR
Signalnu funkciju obavljaju pomoću:	Proteini (Ig $\alpha$ i Ig $\beta$ ) pridruženi membranskom Ig	Proteini (CD3 i $\zeta$ ) pridruženi TCR
Efektorske funkcije vrše pomoću:	Konstantni (C) regioni sekretovanog Ig	TCR ne obavlja efektorske funkcije

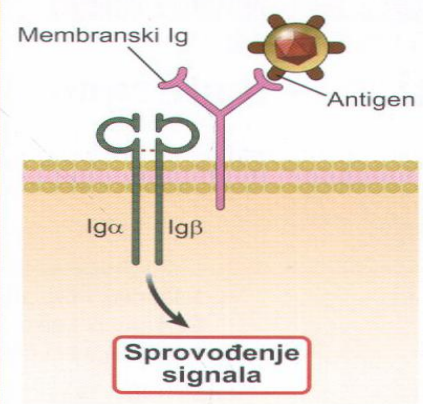
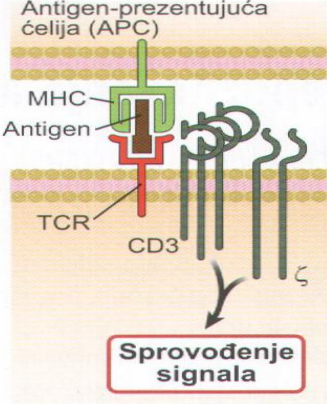

Антигенски рецептори В и Т лимфоцита препознају хемијски исте или различите структуре.

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 $\alpha$ i $\beta$ -lanca TCR
Signalnu funkciju obavljaju pomoću:	Proteini (Ig $\alpha$ i Ig $\beta$ ) pridruženi membranskom Ig	Proteini (CD3 i $\zeta$ ) 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.

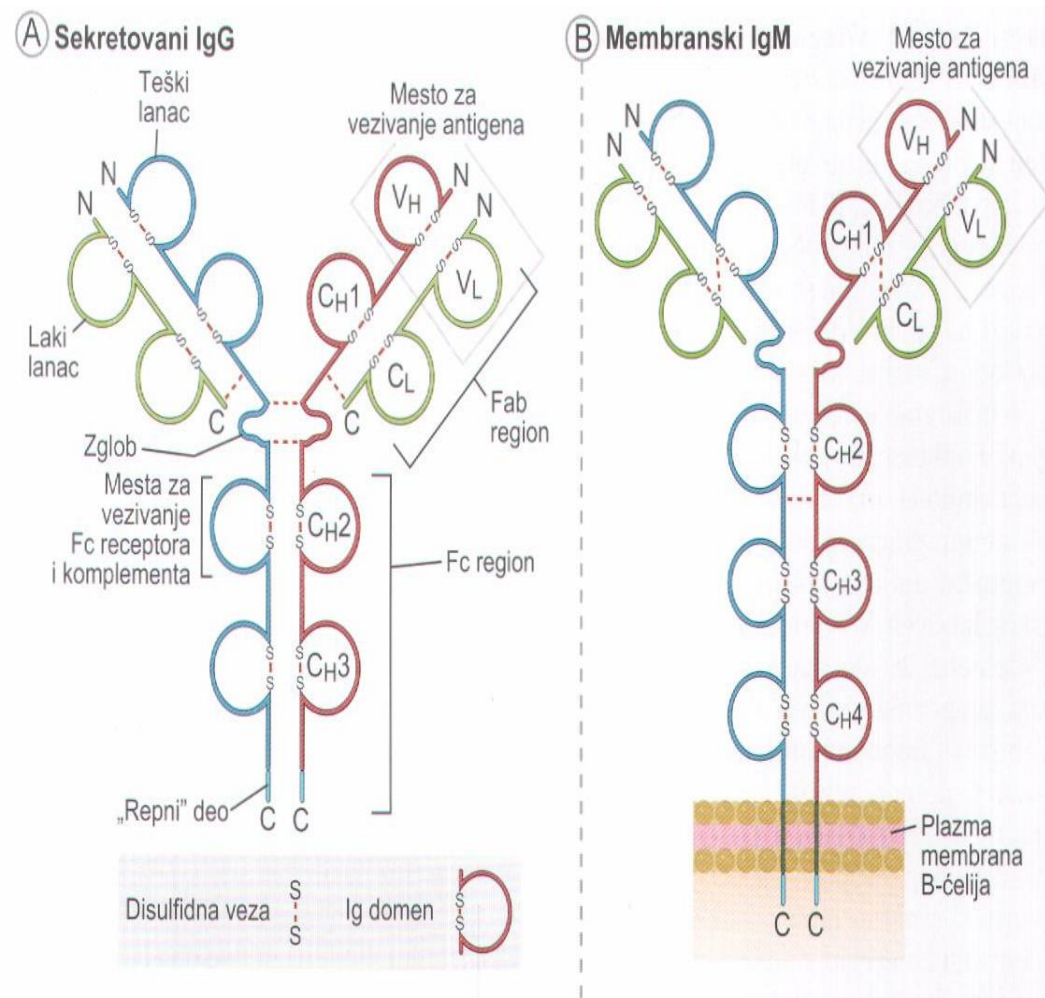
Рецептори су нековалентно везани за друге непроменљиве молекуле чији је задатак да испоруче ћелији сигнале покренуте препознавањем антигена – заједно са рецептором ови молекули носе назив **рецепторски комплекс (BCR и TCR комплекс)**.

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



# Антитела

Антитело (At) = имуноглобулин (Ig) =  $\gamma$  глобулин



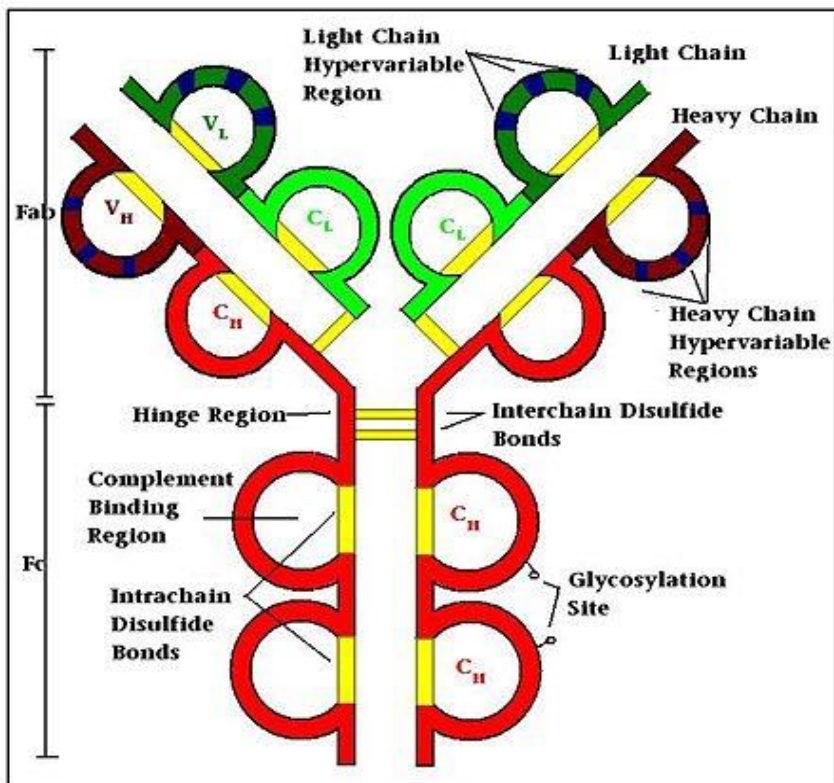
Молекул At састоји се од **два идентична тешка** (H од енгл. Heavy) и **два идентична лака** ланца (L од енгл. Light).

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

Међуланчане и унутар ланчане S-S везе држе ланце на окупу 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.

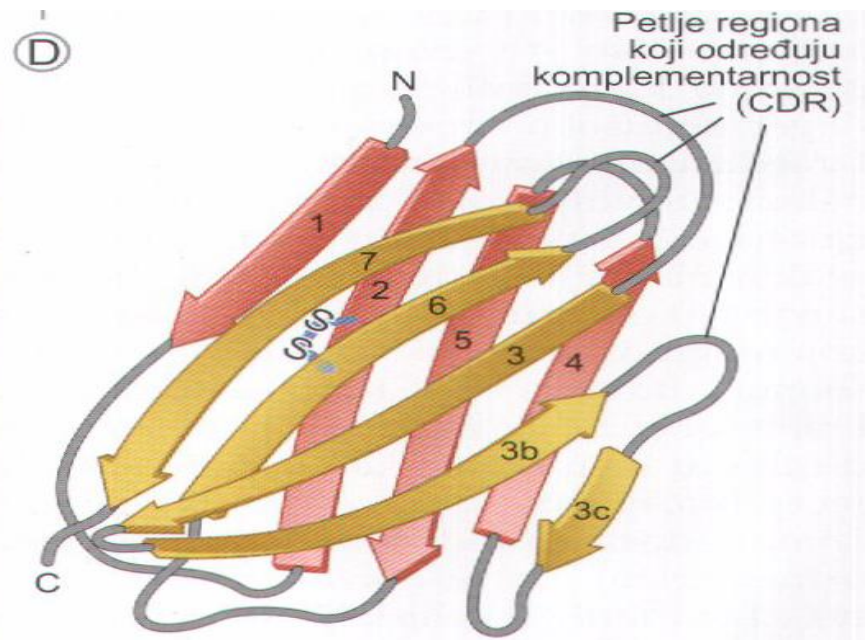
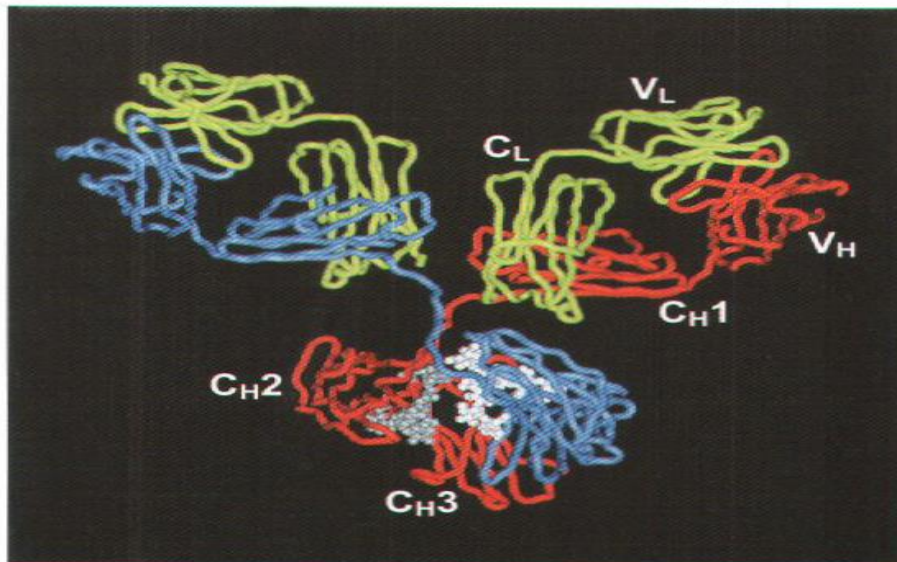


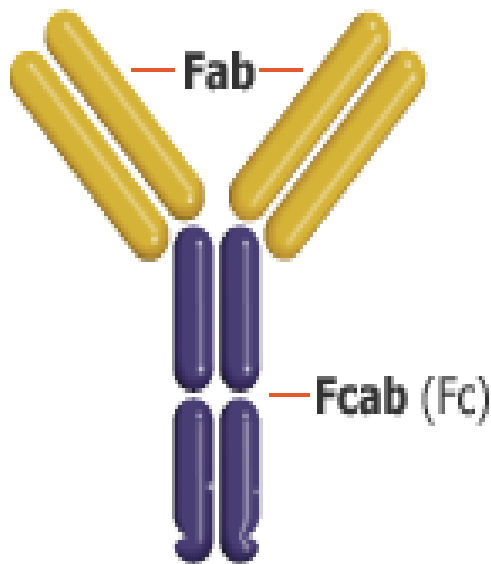
Варијабилни регион тешког ланца (V<sub>H</sub>) као и варијабилни регион лаког ланца (V<sub>L</sub>) садрже **по три хиперваријабилна региона (CDR\*)**.

**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*

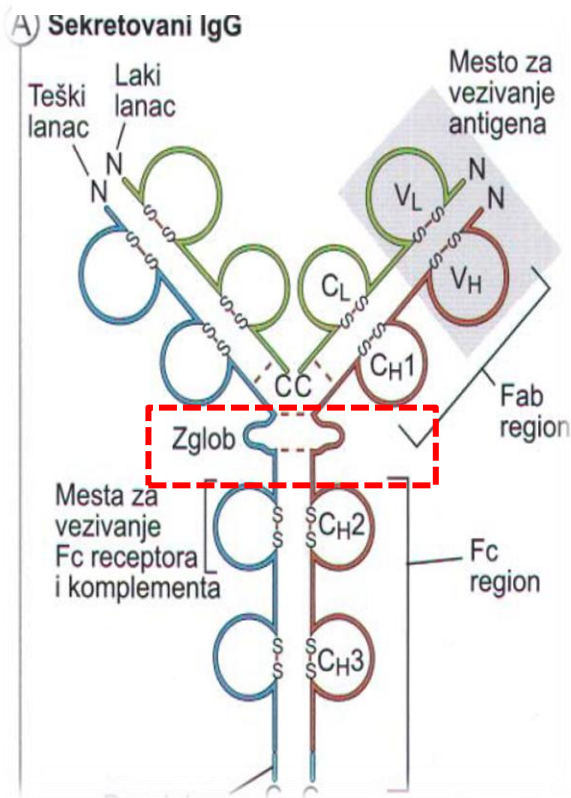
© Кристална структура секретованог IgG





**Fab<sup>\*\*</sup> регион** је одговоран за везивање антигена.

**Fc<sup>\*\*\*</sup> регион** је одговоран за биолошке активности и ефекторске функције.

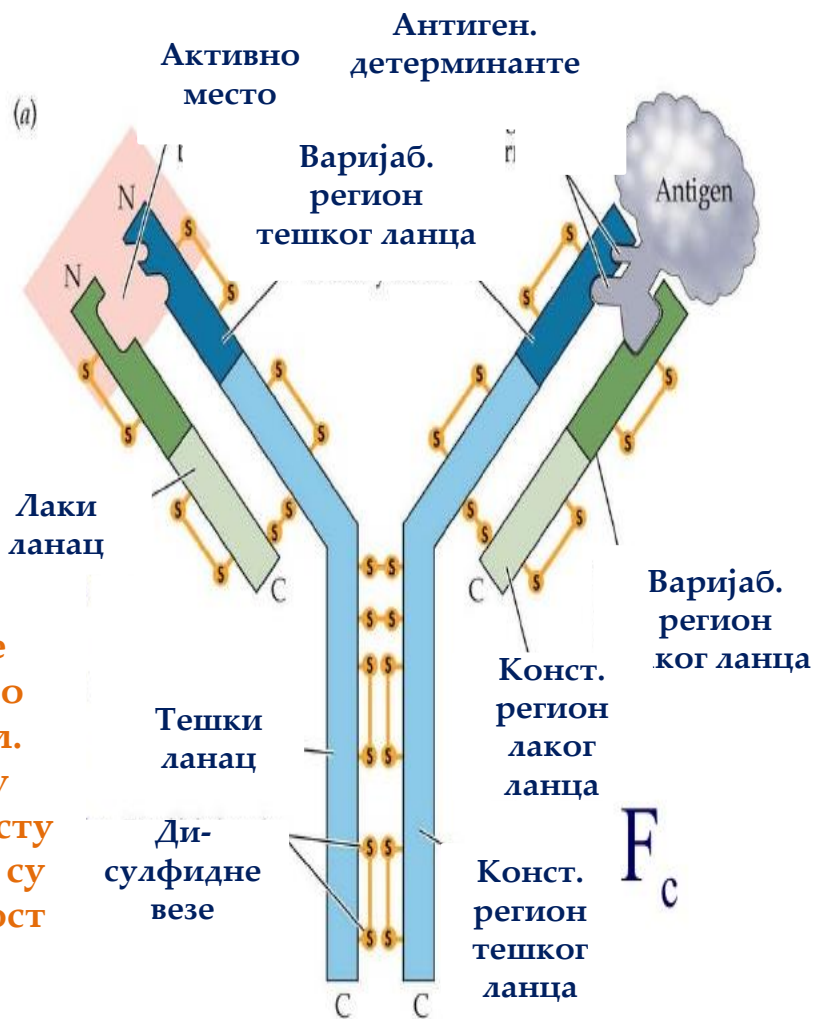


Између Fab и Fc је **регион зглоба** или **шарке**. Зглоб омогућава да се Fab региони сваког молекула антитела померају независно један од другог и тако вежу антигене који могу да се налазе на различитој међусобној удаљености.

<sup>\*\*</sup> од енгл. *Antigen Binding*  
<sup>\*\*\*</sup> од енгл. *Crystalline*



# Везивање антитела и антигена



Варијаб. региони се разликују по аминокисел. остацима у активном месту и одговорни су за разноликост антитела



<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.

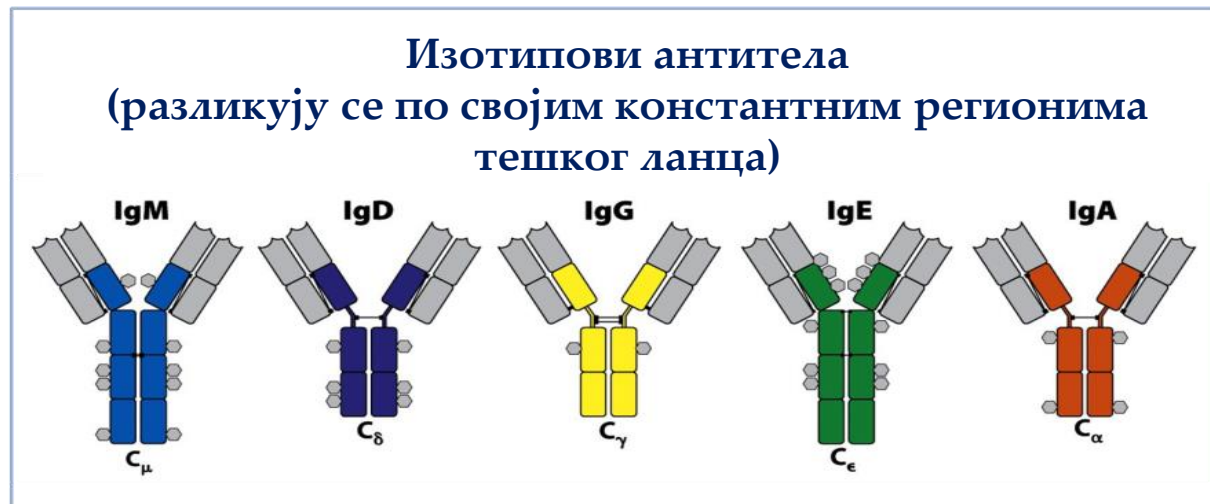
Постоји **5 типова тешких ланаца**: који се такође разликују по грађи С региона:  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  и  $\alpha$ .

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

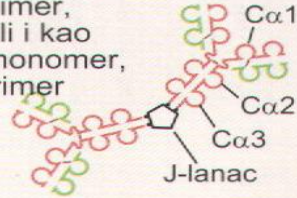
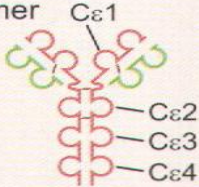
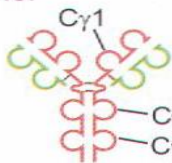
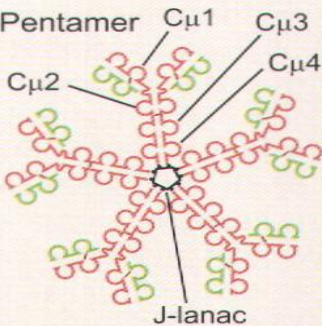
Класа тешког ланца дефинише изотип тј. класу антитела (имуноглобулина):

**IgM, IgD, IgG, IgE, IgA.**

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

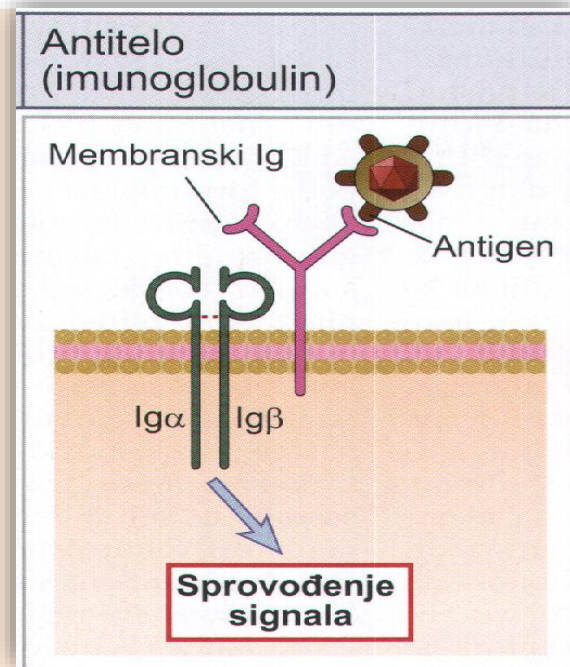


# Класе антитела

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 ( $\delta$ )	u tragovima	3	Monomer	Antigenski receptor naivnih B-ćelija
IgE	ne postoji ( $\epsilon$ )	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 ( $\mu$ )	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...

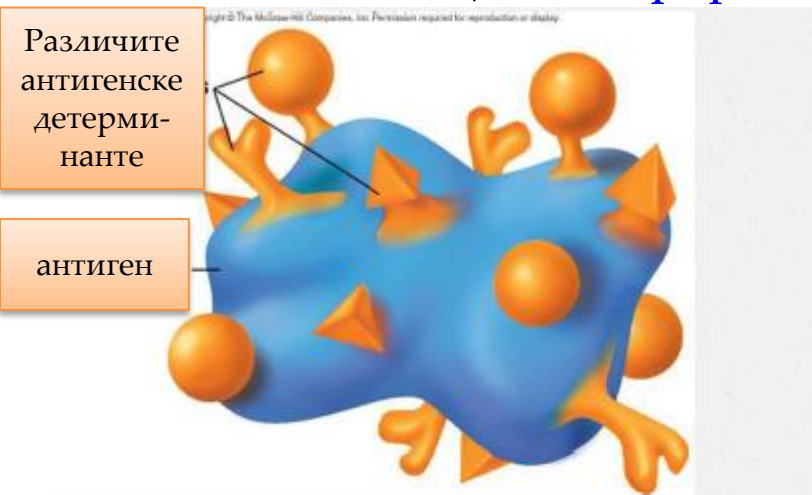
...Секретована антитела могу да буду класе IgM док потомци истих ћелија могу да секретију антитела других класа. Ова појава се означава као **промена или шалтовање класе (*class switching*)**. Уствари мења се само класа (само С регион) тешког ланца док тип лаког ланца остаје непромењен.

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

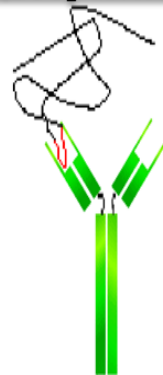


Делови антигена које препознају антитела названи су **епитопи** или **антигенске детерминанте**.

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



Линеарне детерминанте



Конформационе детерминанте



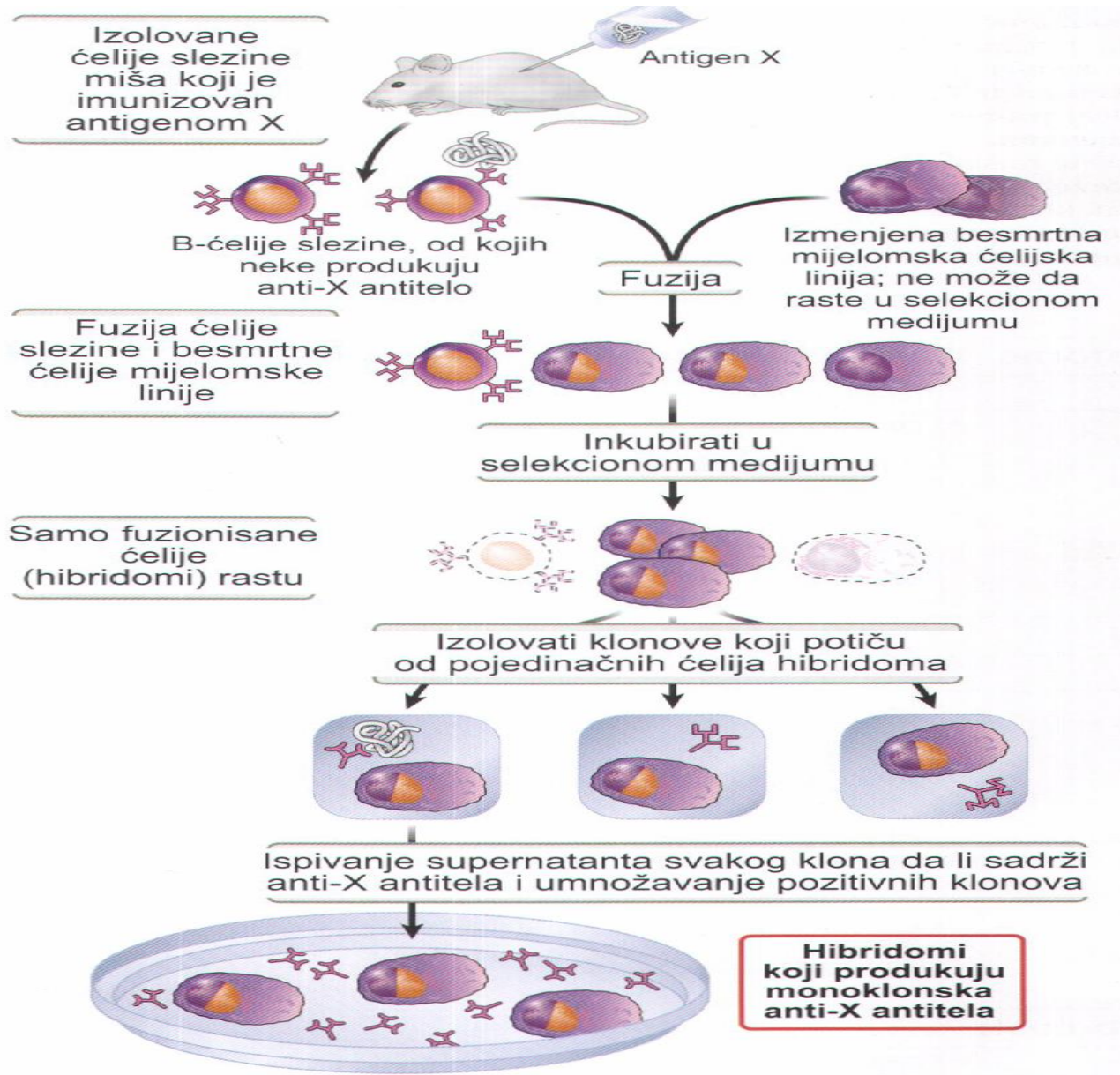
[http://glencoe.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::640::480::/sites/dl/free/0003292010/811363/Antigenic\\_Determinants\\_Epitopes.swf::Antigenic%20Determinants%20\(Epitopes\)](http://glencoe.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::640::480::/sites/dl/free/0003292010/811363/Antigenic_Determinants_Epitopes.swf::Antigenic%20Determinants%20(Ep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

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

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



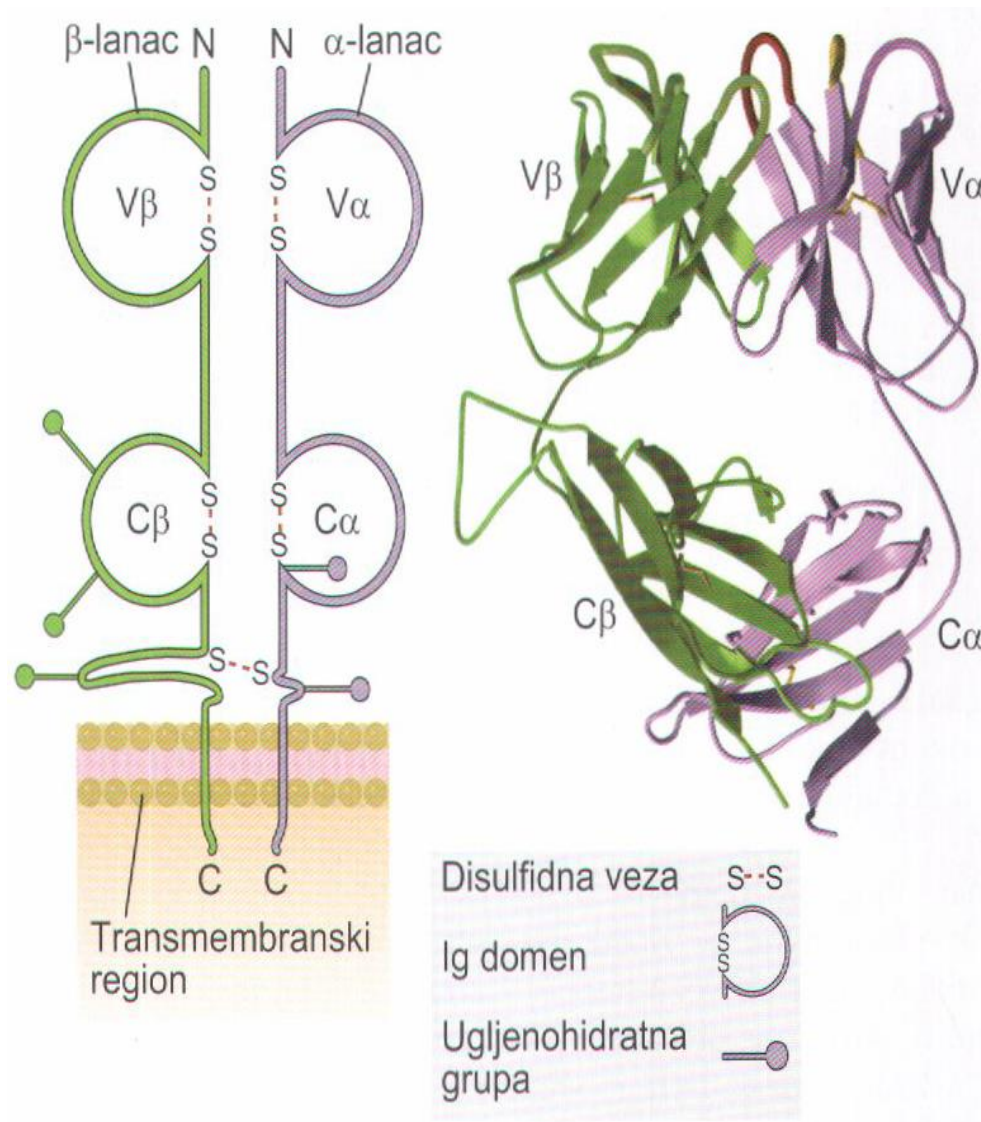
# Моноклонска антитела



Inflamatorne (imunološke) bolesi		
Meta	Efekat	Bolesi
CD20	Deplecija B-ćelija	Reumatoidni artritis, multipla skleroza, druge autoimunske bolesi; B-ćelijski limfom
IgE	Blokiranje funkcije IgE	Alergijska astma
IL-6 receptor	Blokiranje inflamacije	Reumatoidni artritis
TNF	Blokiranje inflamacije	Reumatoidni artritis, Kronova bolest, psorijaza
Tumori		
Meta	Efekat	Bolesi
CD52	Deplecija limfocita	Hronična limfocitna leukemija
CTLA-4	Aktivacija T-ćelija	Melanom
EGFR	Inhibicija rasta epitelnih tumora	Kolorektalni karcinom, karcinomi pluća, glave i vrata
HER2/Neu	Inhibicija EGF signalizacije; deplecija tumorskih ćelija	Karcinom dojke
PD-1	Aktivacija efektorskih T-ćelija	Melanom, drugi tumori
PD-L1	Aktivacija efektorskih T-ćelija	Melanom, drugi tumori
VEGF	Blokiranje angiogeneze tumora	Karcinom dojke, kolona, degeneracija makule povezana sa starenjem
Druge bolesi		
Meta	Efekat	Bolesi
Glikoprotein IIb/IIIa	Inhibicija agregacije trombocita	Kardiovaskularne bolesi



# TCR (енгл. *T cell receptor*)



TCR препознаје пептидне антигене у склопу молекула МНС.

TCR је хетеродимер састављен од  $\alpha$  и  $\beta$  ланца.

$\alpha$  и  $\beta$  ланац имају по један V и C регион.

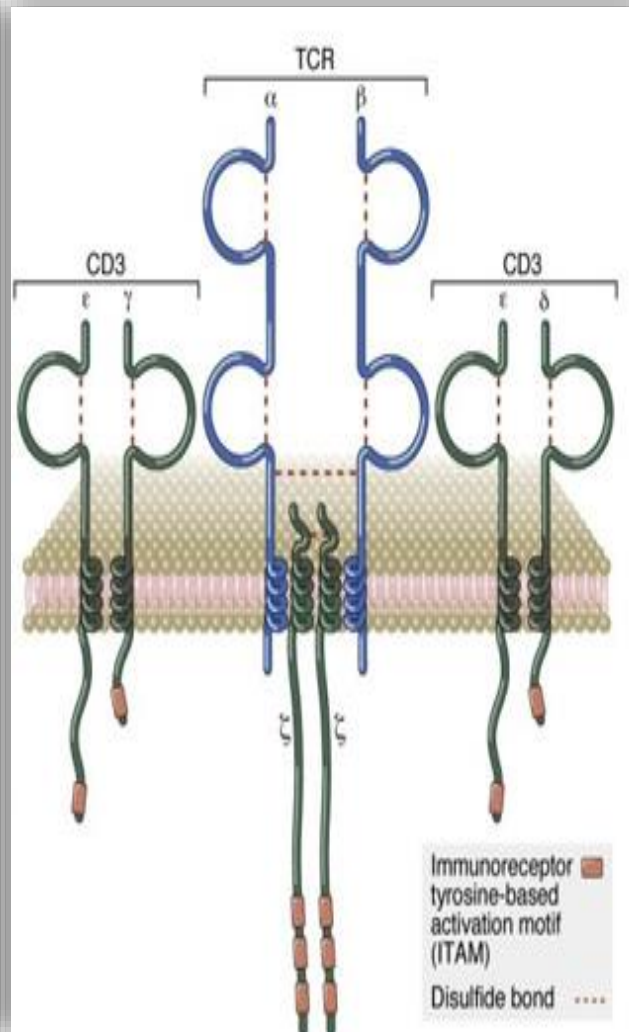
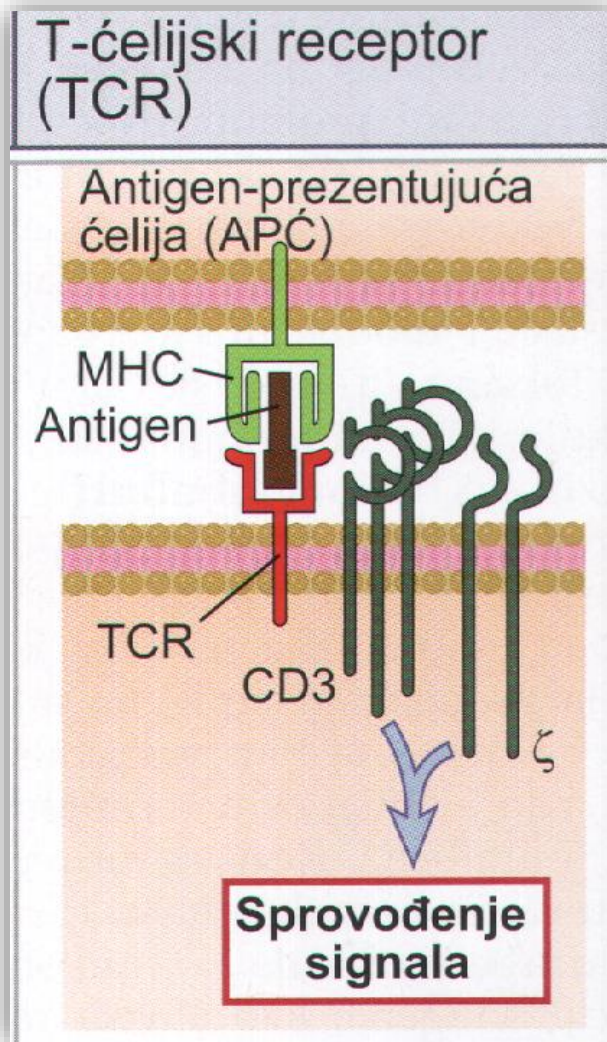
У V регионима оба ланца налазе се по три CDR-а.

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????

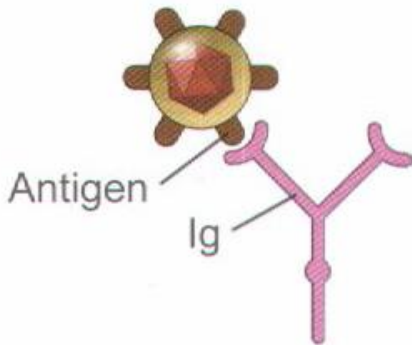
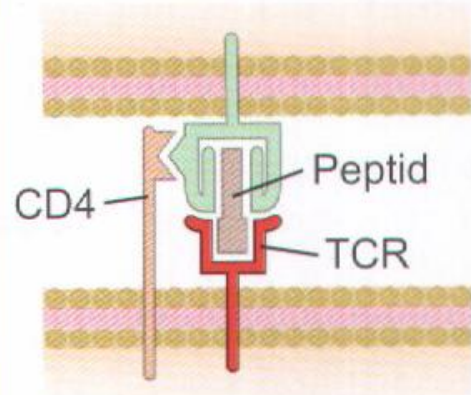
# TCR комплекс



Са TCR молекулом је удружен комплекс протеина назван **CD3**, као и **ζ (зета)** протеини, који сви заједно чине **TCR комплекс**.

Док TCR препознаје антиген, CD3 и ζ ланци учествују у спровођењу сигнала важних за активацију Т лимфоцита.



Osobina	Molekul koji vezuje antigen	
	Imunoglobulin (Ig)	T-ćelijski receptor (TCR)
	 <p>Antigen</p> <p>Ig</p>	 <p>CD4</p> <p>Peptid</p> <p>TCR</p>
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 $\alpha$ -lanca i tri CDR u V-regionu $\beta$ -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

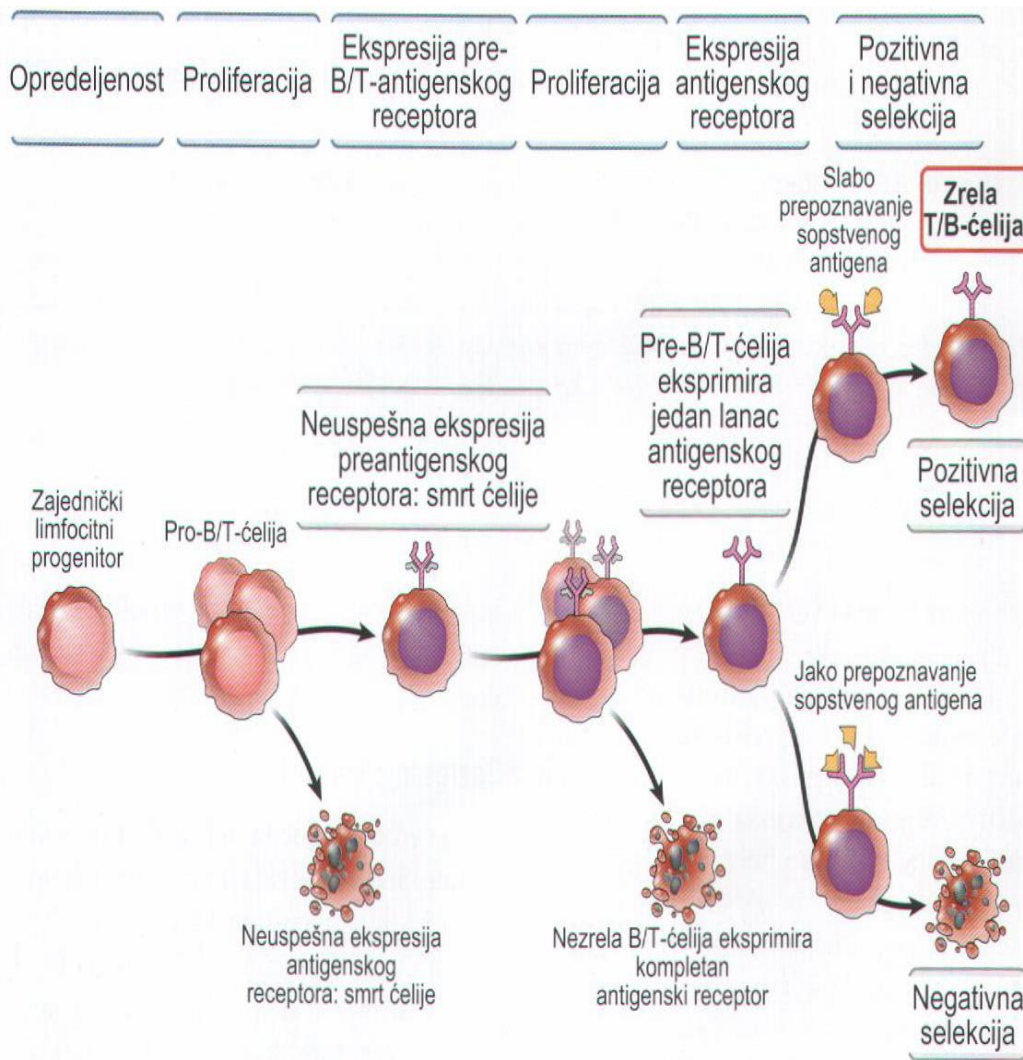
# Имунски репертоар

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.

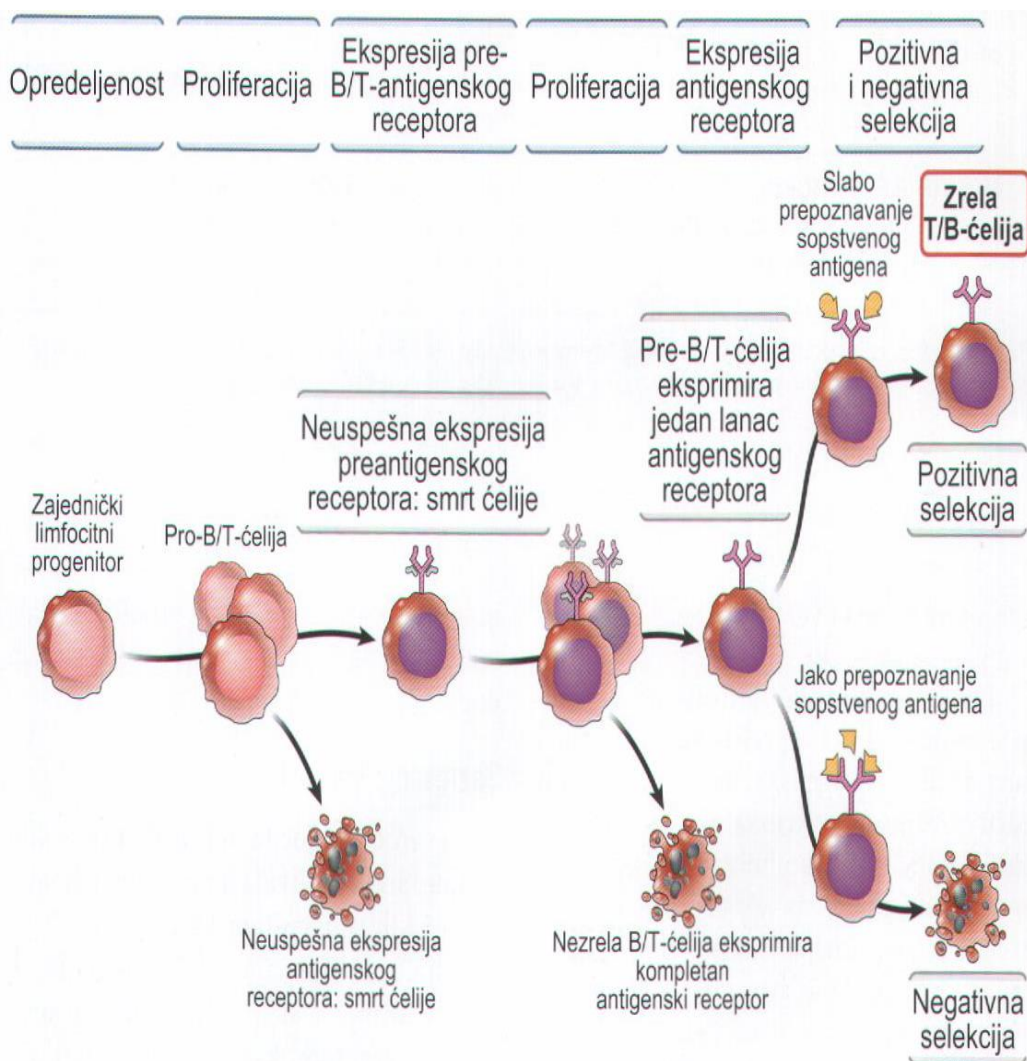


Сазревање лимфоцита подразумева:

- **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.

# Генерисање разноликости рецептора (**GOD**, енгл. **Generation Of Diversity**)

## Нефункционални гени

## Формација клицине линије (germ line)

**V** варијабилни

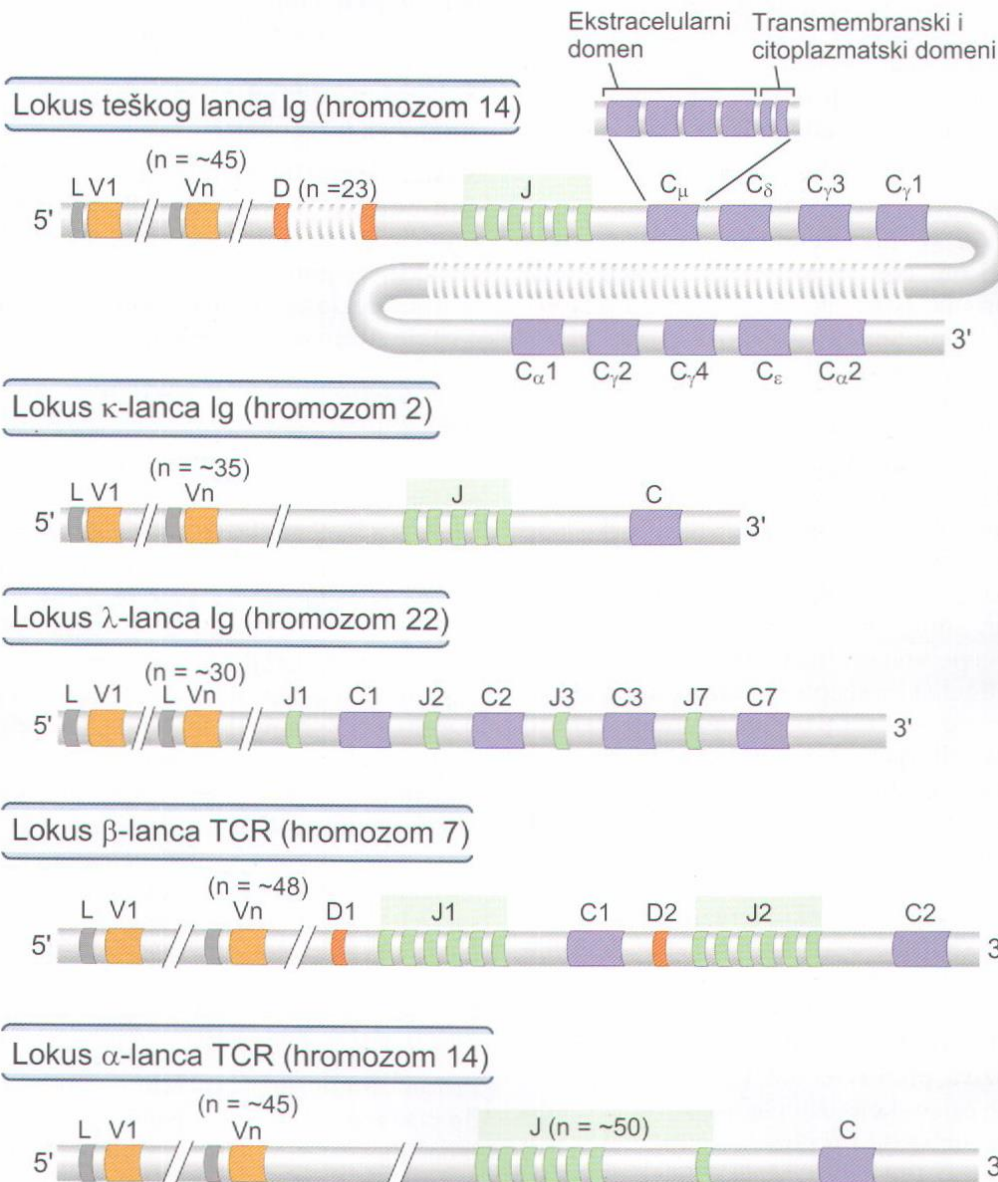
**J** спојни (joining)

**D** разноликост (diversity)

Гени за  
варијабилни  
регион

**C** КОНСТАНТНИ

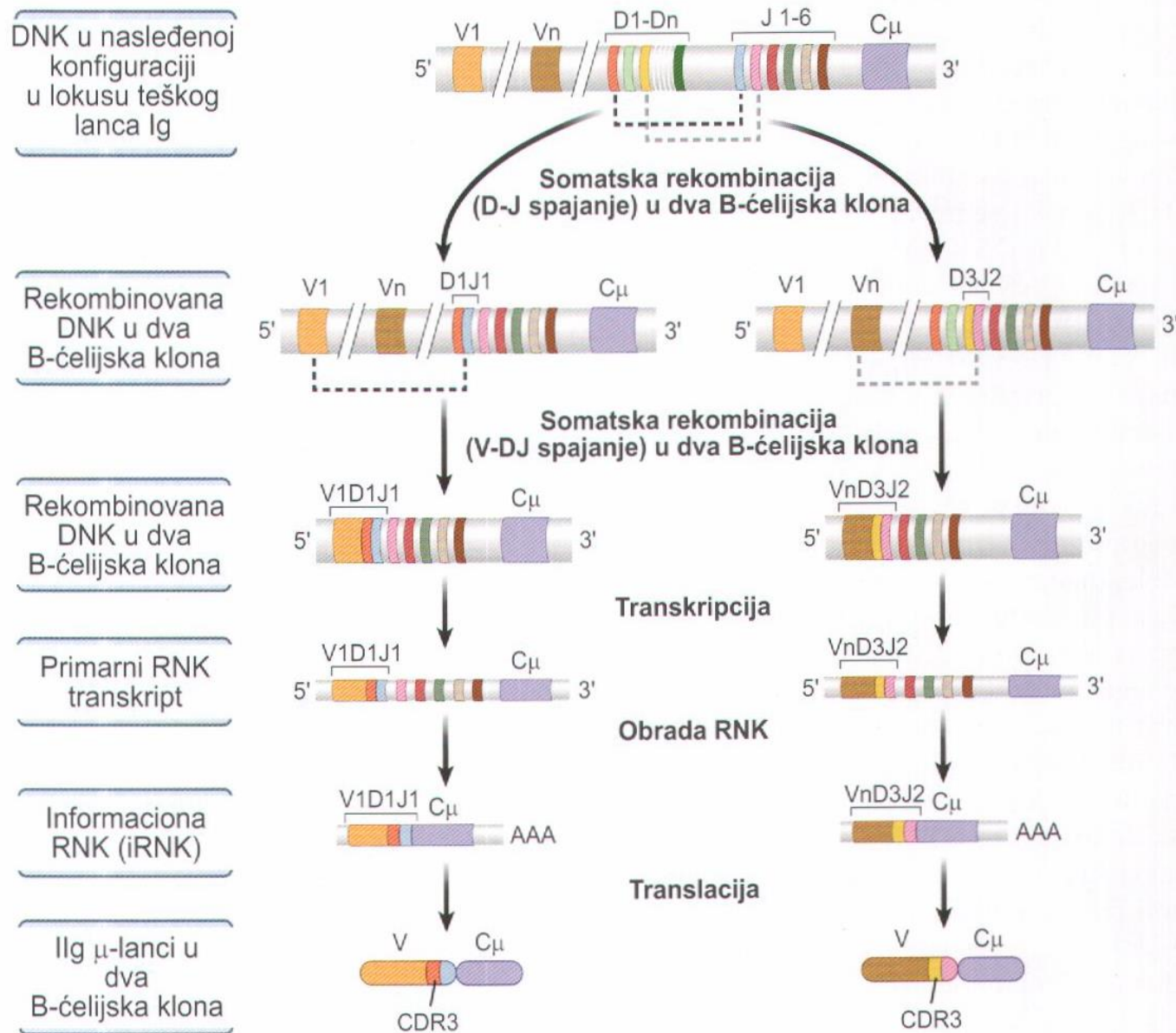
Гени за  
константни  
регион



# Рекомбинација и експресија гена за имуноглобулине

Настајање  
функционалних  
гена за тешке  
ланце

Соматску  
рекомбинацију  
обавља група  
ензима, VDJ  
рекомбиназе.  
Компонента VDJ  
рекомбиназе су  
**RAG1 и RAG2.**





# 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

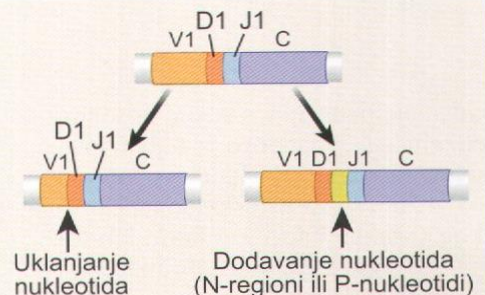
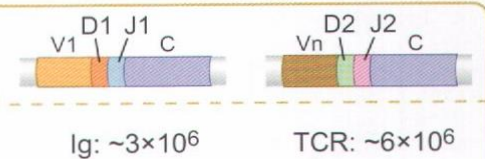
## Mehanizam

Kombinatorna raznolikost

Broj mogućih V(D)J kombinacija

Spojna raznolikost

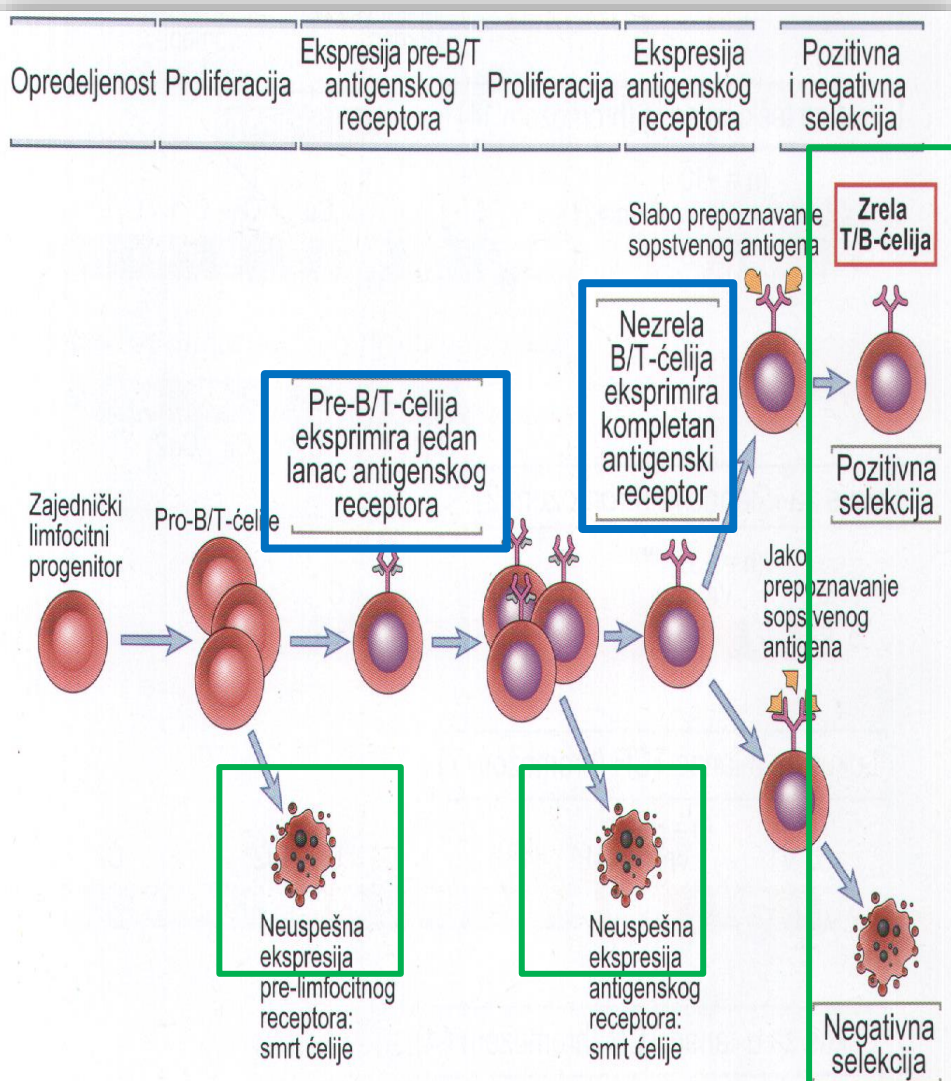
Ukupan potencijalni repertoar uključujući spojnu raznolikost



Ig:  $\sim 10^{11}$

TCR:  $\sim 10^{16}$

# 3. Селекција



Лимфоцити током сазревања пролазе неколико фаза селекције:

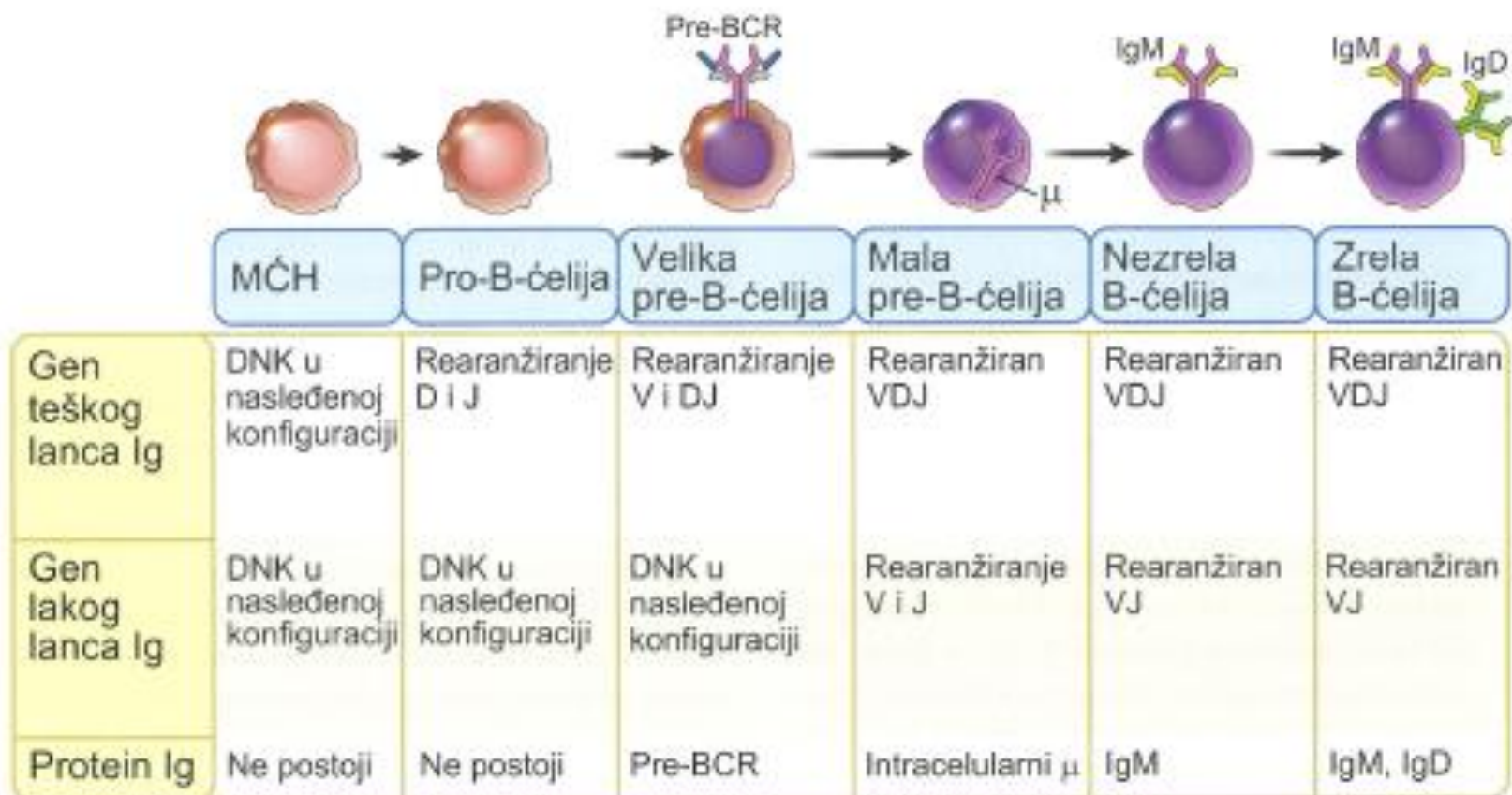
**Позитивна и негативна** селекција Т и В лимфоцита.

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  $\mu$  ланац. По неки од тих ланаца се испољава на мембрани са константним *сурогатима* лаквих ланаца на мембрани.

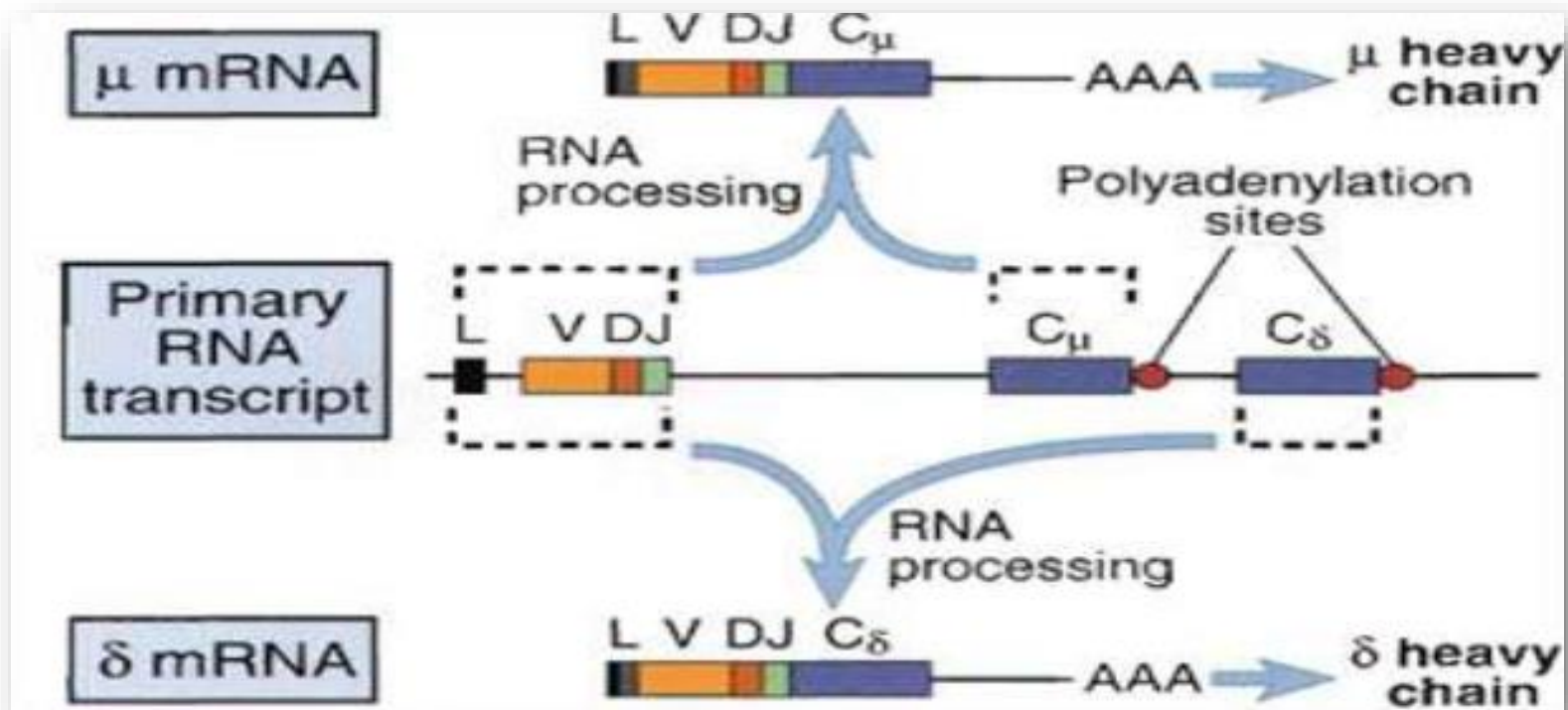
$\mu$  ланац и *сурогат* ланац се повезују са  $Ig\alpha$  и  $Ig\beta$  ланцима и чине **пре-BCR комплекс**, који је важан за:

- испоручивање пролиферативних и антиапоптозних сигнала

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

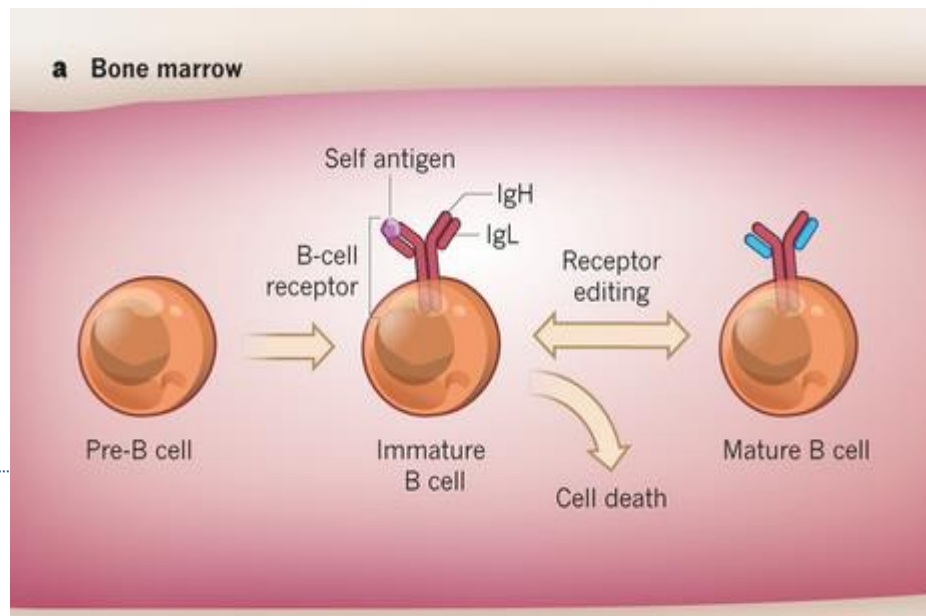
- покреће рекомбинацију гена за лаке ланце (прво за  $\kappa$  а потом за  $\lambda$  ако прво не успе)

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.

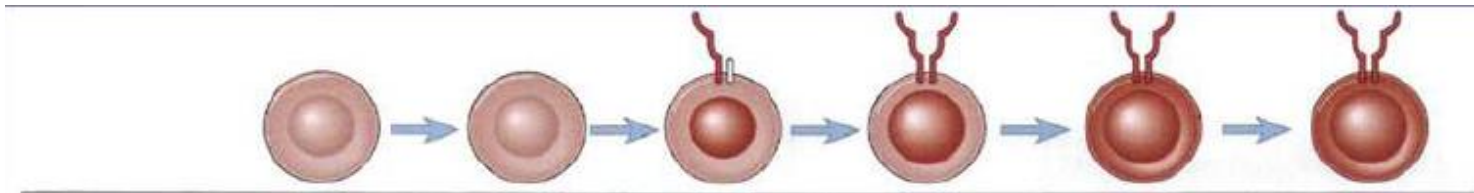
Ако В лимфоцит **високим афинитетом** препозна неки антиген у костној сржи онда се **подвргава апоптози** или **преуређује рецептор (*receptor editing*)** тако што активирањем рекомбиназа синтетише нови лаки ланац. Дакле, негативна селекција уклања потенцијално опасне ћелије које могу да препознају сопствене 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 $\beta$ ланца	Рекомбиновани ген $\beta$ и $\alpha$ ланца	Рекомбиновани ген $\beta$ и $\alpha$ ланца	Рекомбиновани ген $\beta$ и $\alpha$ 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  $\beta$  ланац TCR-а.

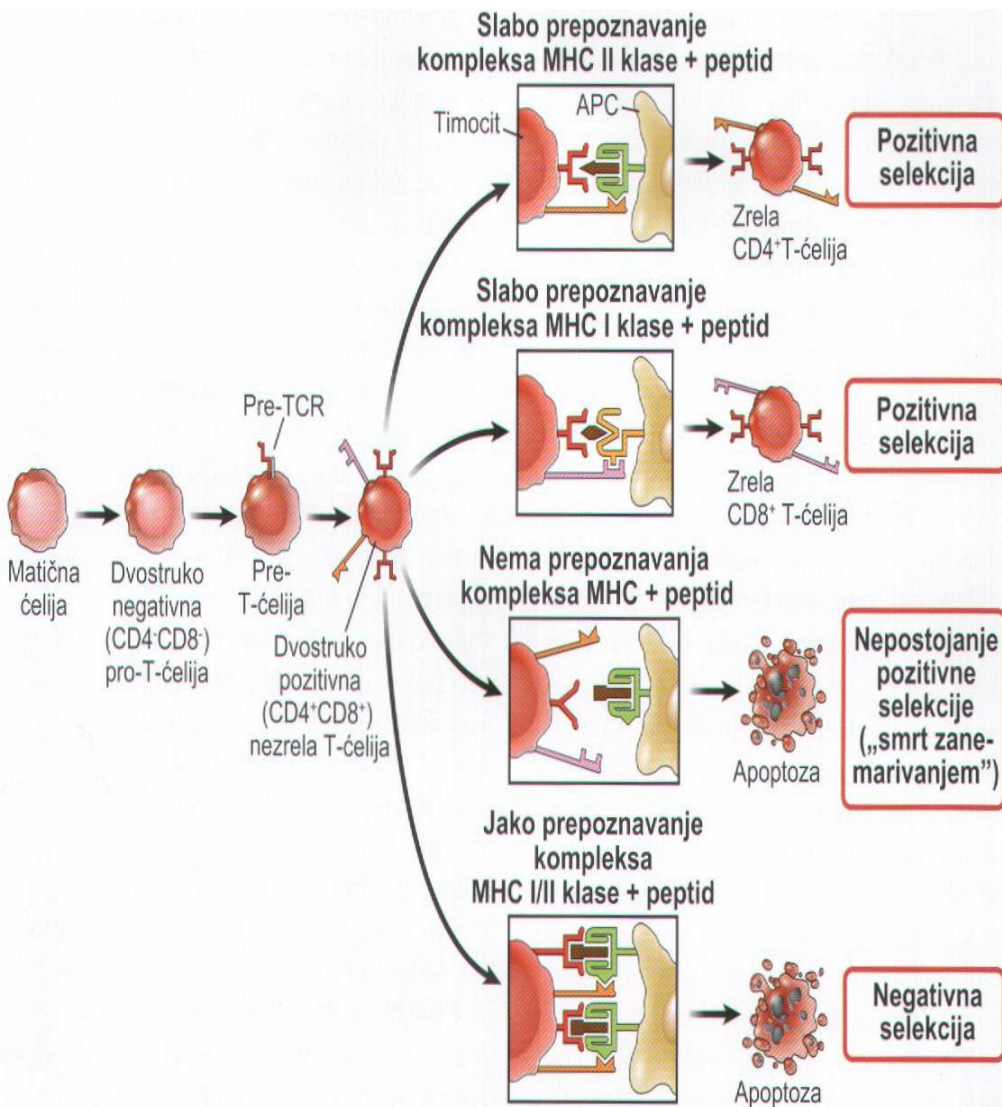
$\beta$  ланац и *пре*  $T\alpha$  чине **пре-TCR комплекс**, који је важан за:

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

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

# Селекција Т лимфоцита

## ТИМУС

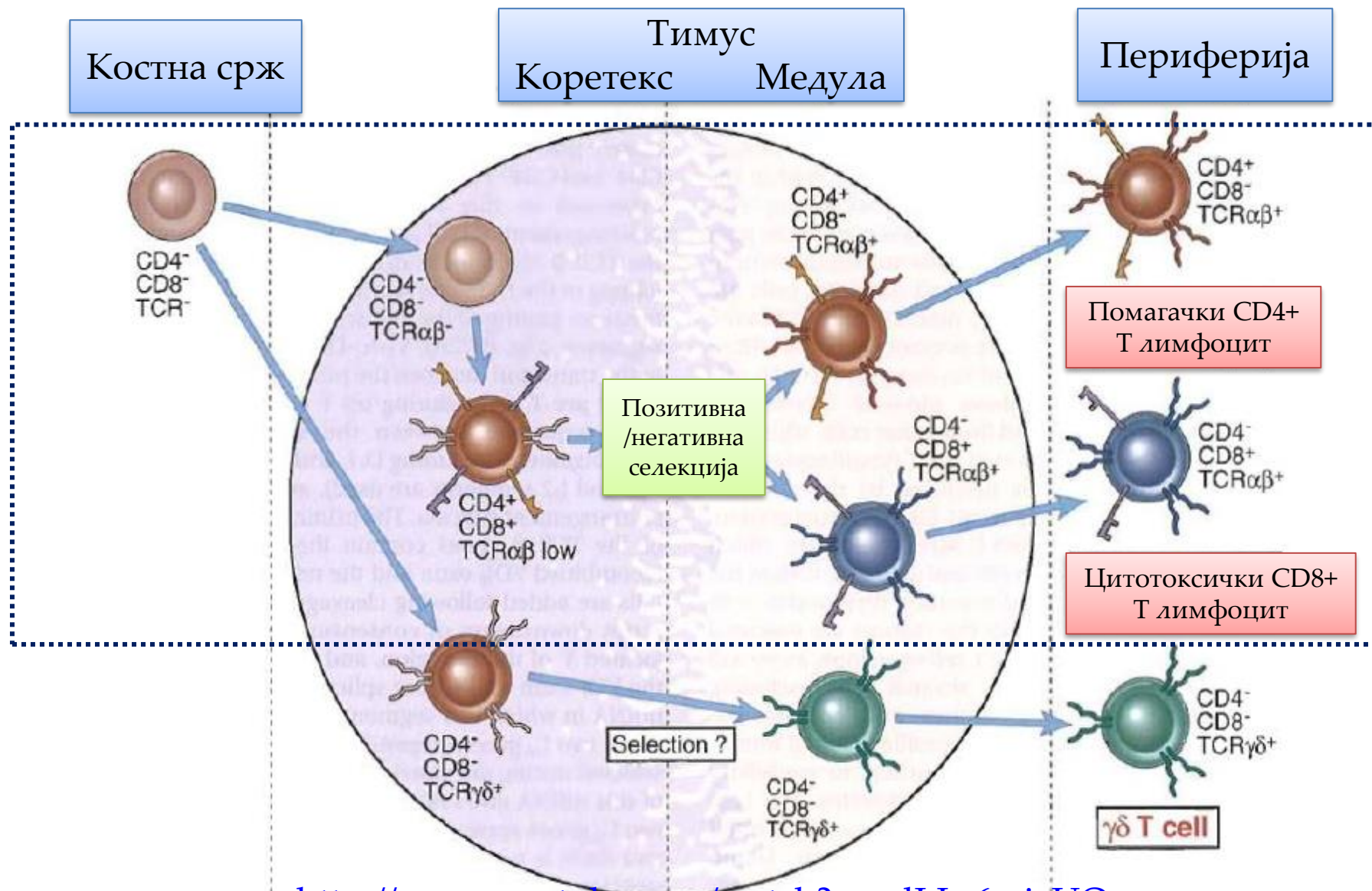


Ако у тимусу Т лимфоцит TCR препозна сопствени MHC молекул који презентује сопствени пептид, ова ћелија бива одабрана да преживи-**позитивна селекција**.

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>