

**RNDr. Ivana Fellnerová, Ph.D.**

**Katedra zoologie, PřF UP Olomouc**

# 8. Variabilita Ig, BCR, TCR

Genes  
Chromosomes  
Bases

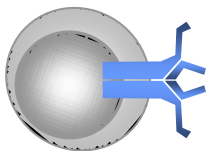
## 2011/4

Studijní materiály na: <http://www.zoologie.upol.cz/zam.htm>

## Receptory lymfocytů a imunoglobuliny

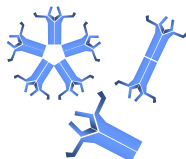
Membránové  
Receptory B lymfocytů

# BCR



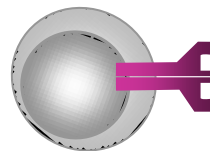
IMMUNOGLOBULINY  
[ protilátky ]

# Ig



Membránové  
Receptory T lymfocytů

# TCR



- **Při formování těchto molekul se uplatňují podobné mechanismy**
- **Probíhají na genové úrovni v primárních lymfatických orgánech**

## Mechanismus dosažení bohatého repertoáru

Přes genetický polymorfismus (široké spektrum alelických forem), nemůže být každý specifický receptor (protilátka) z kapacitních důvodů kódován samostatným genem.

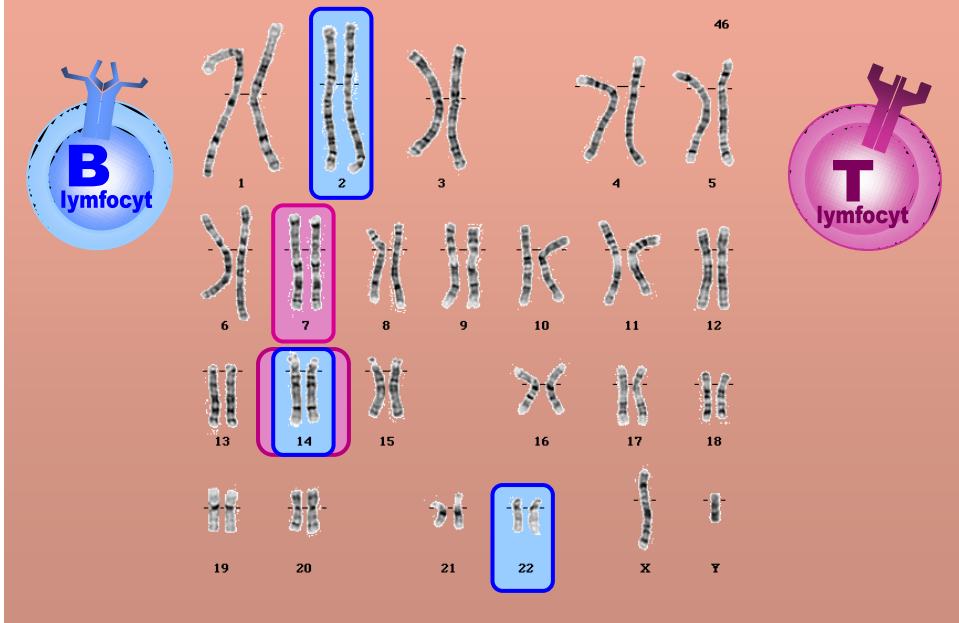
K odvození vysoce variabilních proteinů IS se evolučně vyvinuly speciální genetické mechanismy:

- 1. Přeskupování genových segmentů**  
( gene rearrangement )
- 2. Spojovací variabilita**
- 3. Alelická exkluze**
- 4. Somatická mutace ( jen u BCR )**

## 1. Přeskupování genových segmentů

- Náhodná somatická úprava genů zajišťující maximální diversitu podloženou relativně malým počtem genů v zárodečné DNA
- Probíhá v primárních lymfatických orgánech (kostní dřeň, thymus, fetálně játra)
- Probíhá ve dvou fázích:
  - Přeskupení a exprese genů pro těžký  $\mu$  řetězec (B-lymfocyt) resp.  $\beta$  řetězec (T-lymfocyt)
  - Přeskupení a exprese genů pro lehký  $\kappa$  řetězec (B-lymfocyt), resp.  $\alpha$  řetězec (T-lymfocyt)

## Geny kódující receptory B a T lymfocytů

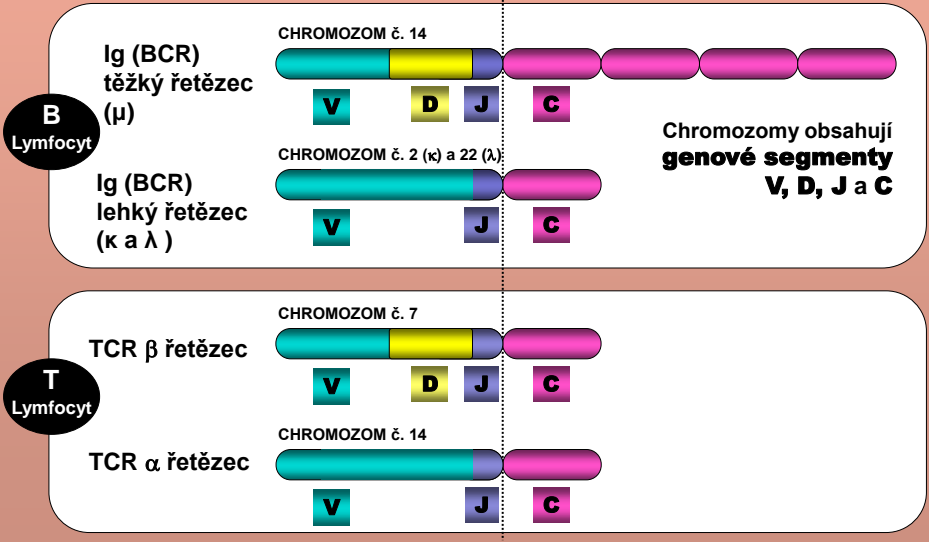


## GENY KÓDUJÍCÍ ŘETĚZCE IMUNOGLOBULINŮ (BCR) a TCR

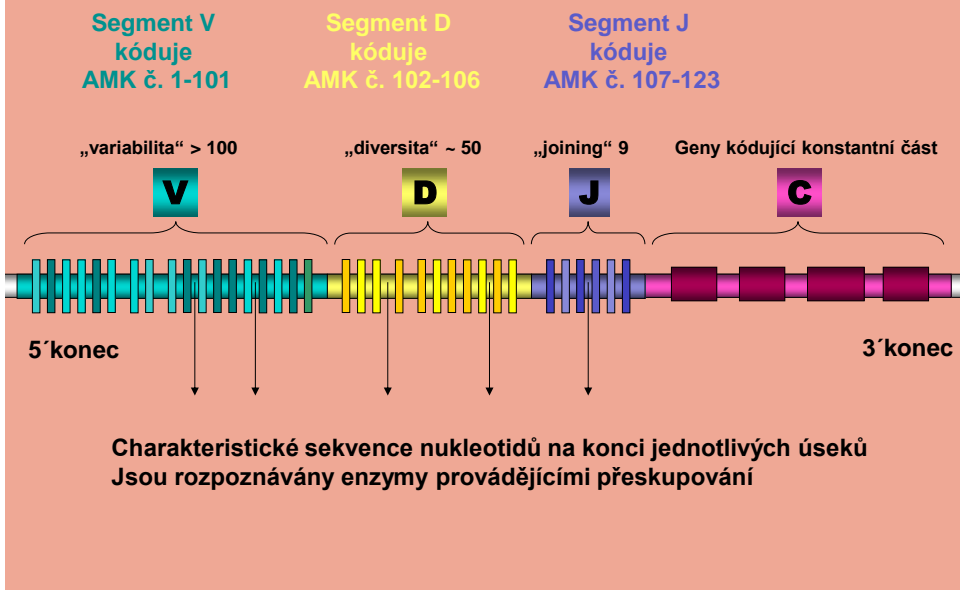
Chromozomy  
č. 2, 7, 14 a 22

Variabilní oblast

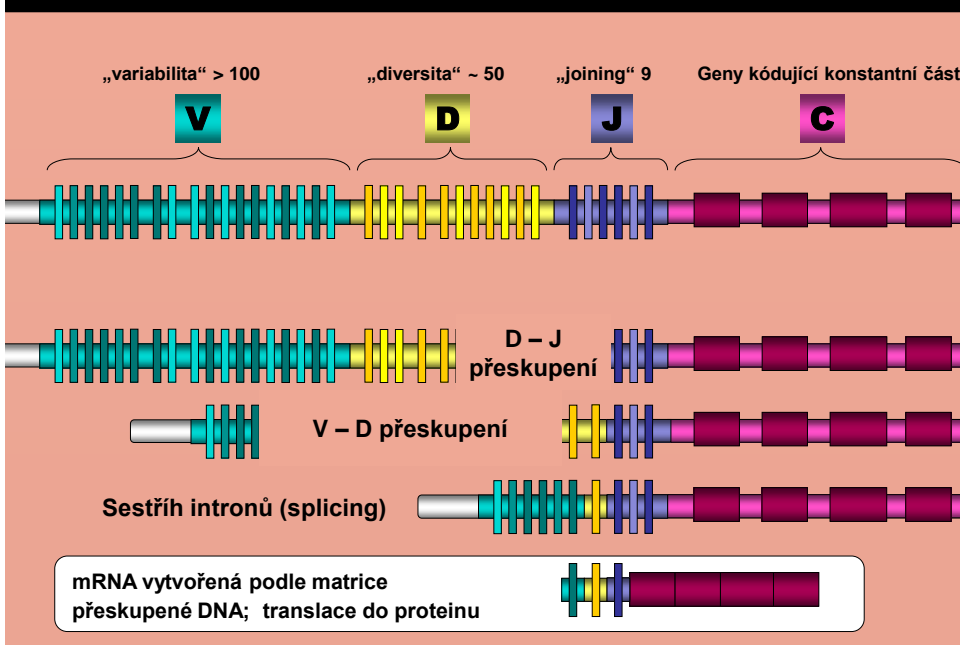
Konstantní oblast



## GENY KÓDUJÍCÍ ŘETĚZCE IMUNOGLOBULINŮ (BCR) a TCR

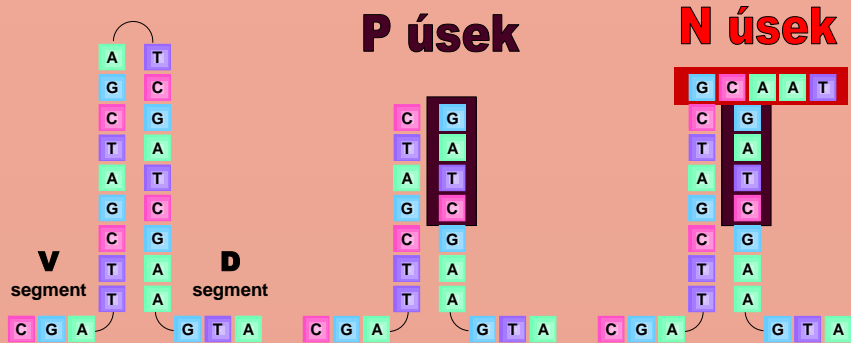


## PŘESKUPOVÁNÍ GENOVÝCH SEGMENTŮ



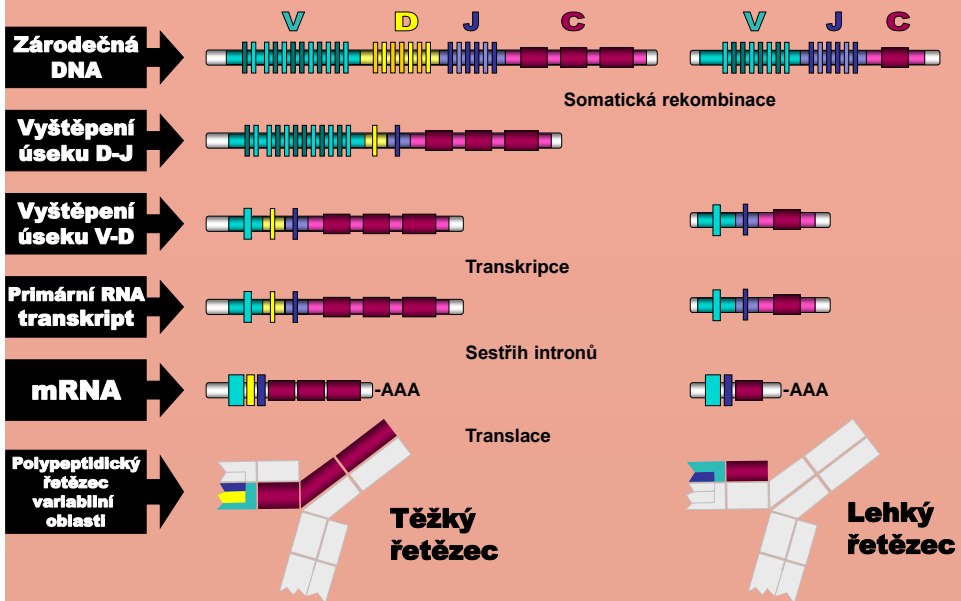
## 2. SPOJOVACÍ VARIABILITA

- Lymfocyt-specifická rekombináza (recombination-activating gene Rag-1, Rag-2) odstříhne část DNA mezi určitými úseky



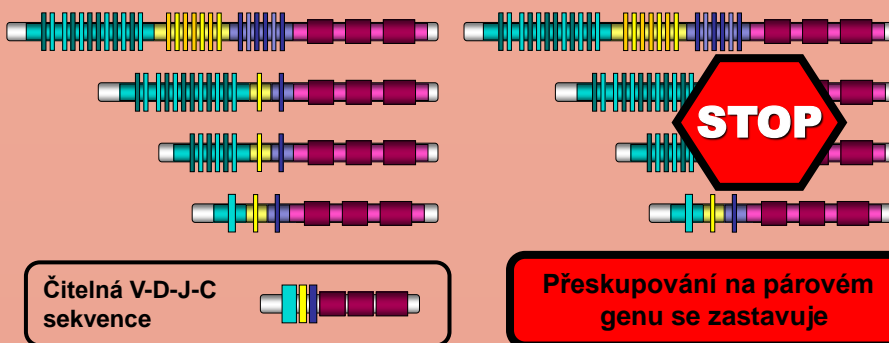
- V případě asymetrie je podle delšího vlákna DNA syntetizováno vlákno komplementární – tzv. P úsek
- Další nukleotidy (bez komplementárního vlákna) mohou být náhodně vloženy mezi spojované části zárodečné DNA – tzv. N úsek (TdT – terminal deoxynucleotidyl transferase)

## Rekombinace a exprese genů těžkého ( $\mu$ ) a lehkého ( $\kappa$ ) řetězce imunoglobulinů



### 3. ALELICKÁ EXKLUZE

Přeskupování genových segmentů kódujících řetězce imunoglobulinů probíhá současně na **obou homologních chromozomech**



Po dosažení čitelné sekvence u jedné alely, dochází k zastavení procesu u homologního chromozomu (proteinový produkt první úspěšně rekombinované alely zastavuje rekombinaci na homologním chromozomu)

### SELEKCE během zrání lymfocytárních receptorů

Sekvence variabilních oblastí BCR  
resp. TCR vznikají

**náhodnou kombinací**

Velká pravděpodobnost vzniku autoreaktivních klonů

Nutnost jejich eliminace z repertoáru

**NEGATIVNÍ a POZITIVNÍ  
SELEKCE**

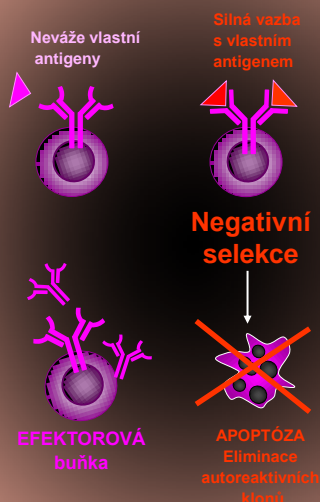
## Pozitivní a negativní selekce

**Většina nově vzniklých lymfocytů zaniká ještě v primárních lymfatických orgánech**  
(jejich receptor je testován buď jako autoreaktivní nebo nefunkční)

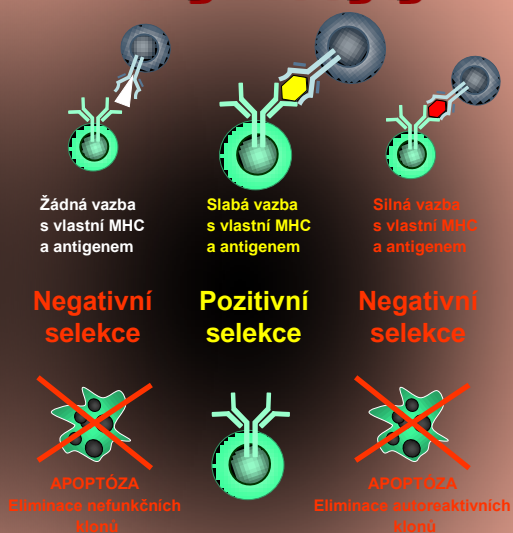
- ❑ **Eliminace potenciálních autoreaktivních resp. nefunkčních klonů lymfocytů**
- ❑ **Testování síly vazby lymfocytu s vlastními antigeny a MHC molekulami**

## Negativní a pozitivní selekce B a T lymfocytů

### B lymfocyty



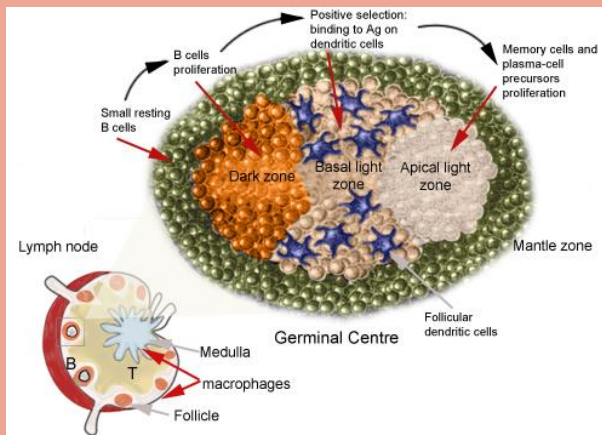
### T lymfocyty



## 4. SOMATICKÁ MUTACE (jen u BCR)

### Proces selektování mutantů s vysokou afinitou B lymfocytů k danému antigenu

Probíhá v lymfoidních folikulech, po aktivaci zralého B lymfocytu antigenem na povrchu folikulárních dendritických buněk.



## 4. SOMATICKÁ MUTACE (jen u BCR)

### Aktivace naivních B lymfocytů dendritickými buňkami ve folikulech lymfatických uzlin



### Transkripce úseku genů kódující variabilní část Ig řetězců

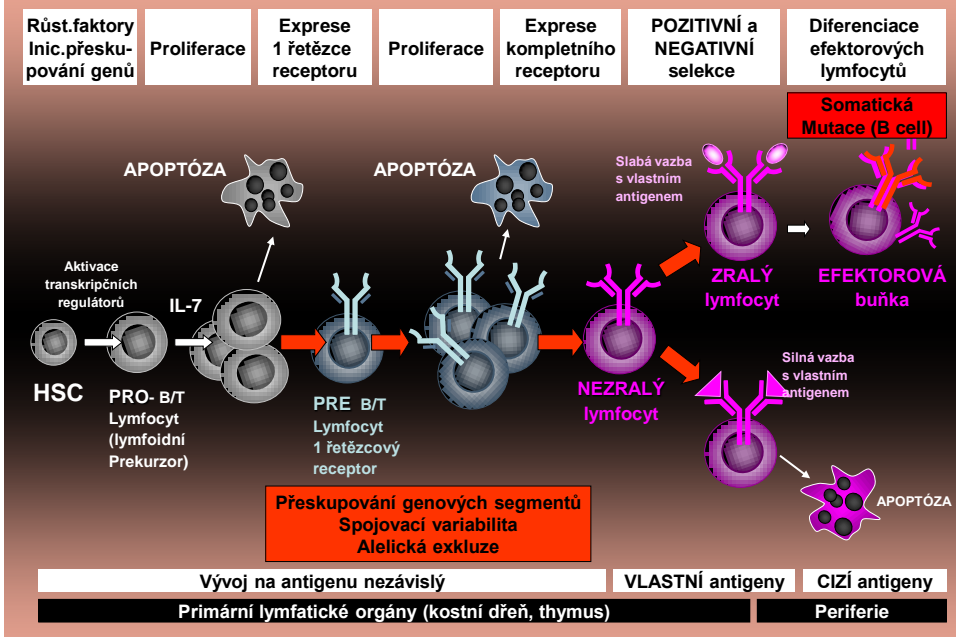
1. Deaminace transkribovaného vlákna DNA je nahrazován **C** → **U**  
**Aktivací indukovaná cytidin deamináza (AID)**

2. Přeměna **U** → **T** resp. odstraňování **U**  
**Uracyl N-glykosylázou (UNG)**





# PŘEHLED VÝVOJE LYMFOCYTŮ



# CELKOVÁ VARIABILITY BCR a TCR

Podíl jednotlivých mechanismů na formování diversity BCR a TCR:  
(zdroj: Abul K. Abbas: Cellular and Molecular Immunology 6th ed. 2007)

MECHANISMUS	Imunoglobulin		TCR ( $\alpha\beta$ , $\gamma\delta$ )			
	těžký řetězec	$\kappa$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
<b>V segment</b>	85	35	54	67	14	20-30
<b>D segment</b>	27	0	0	2	0	3
<b>J segment</b>	6	5	61	4	5	4
<b>N úsek</b> (spojovací variabilita)	V-D, V-J	-	V-J	V-D D-J	V-J	V-D D-J
<b>Celková diversity</b>	<b>~ 10<sup>11</sup></b>		<b>~ 10<sup>16</sup></b>		<b>~ 10<sup>18</sup></b>	