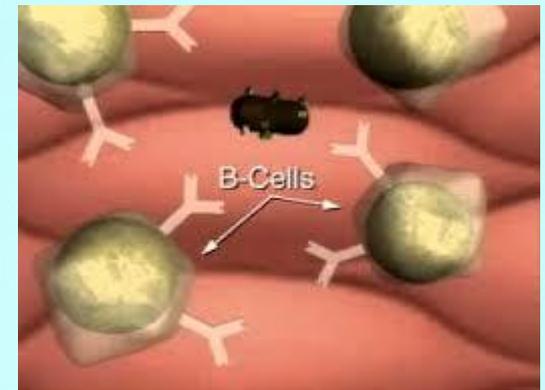


ИММУНОЛОГИЯ

Иммуноглобулины

Иммуноглобулины (Ig) – группа гликопротеинов, которые содержатся в сыворотке крови и тканевой жидкости у всех млекопитающих.

Некоторые иммуноглобулины встроены в мембрану В-клеток и являются антигенраспознающими рецепторами.



Другие – находятся в плазме в свободном состоянии (антитела).





Антитоксин
(антитело)

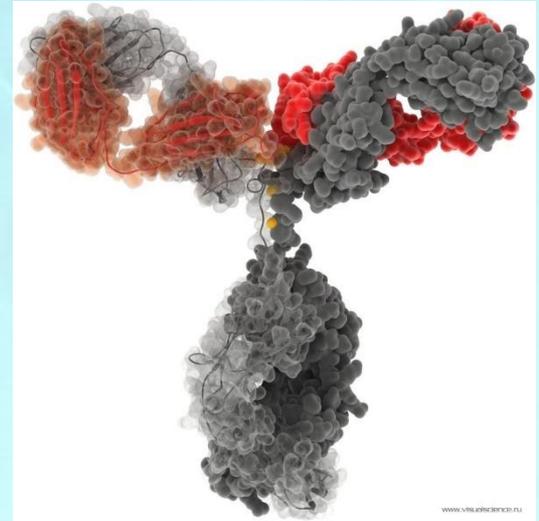
Эмиль фон Беринг*
Emil von Behring
(1856 - 1931),
Германия



Шибасабуро Китазато
Shibasaburo Kitasato
(1854 - 1917),
Япония

* Нобелевская премия 1901 г. «за работу по сывороточной терапии, главным образом за ее применение при лечении дифтерии, что открыло новые пути в медицинской науке и дало в руки врачей победоносное оружие против болезни и смерти»

Иммуноглобулины
СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ





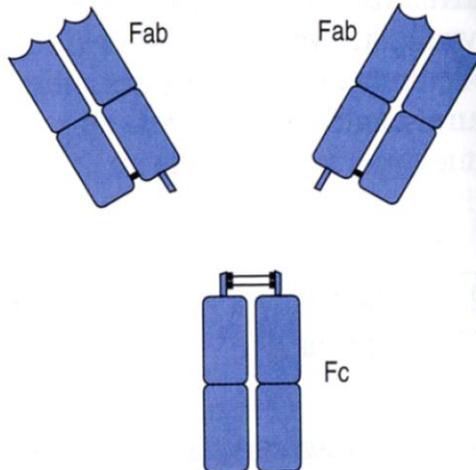
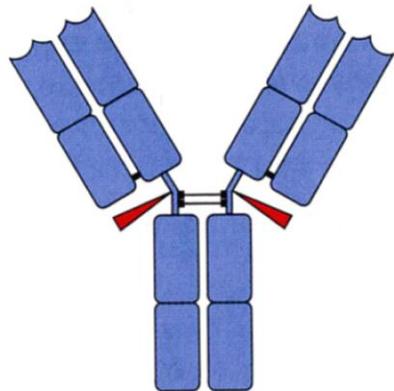
Родни Портер
Rodney R. Porter
(1917-1985),
Великобритания



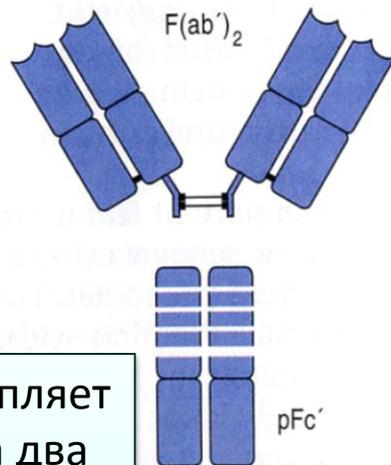
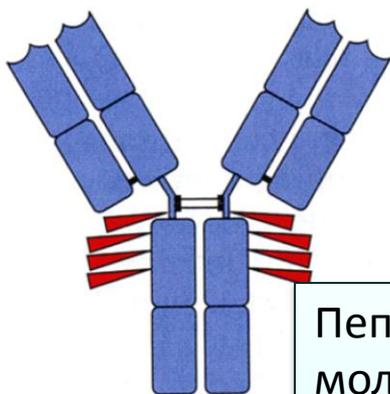
Джеральд Эдельман
Gerald M. Edelman
(1929-2014),
США

Нобелевская премия 1972 г. «за открытия,
касающиеся химической структуры антител»

Протеолитическое расщепление папаином



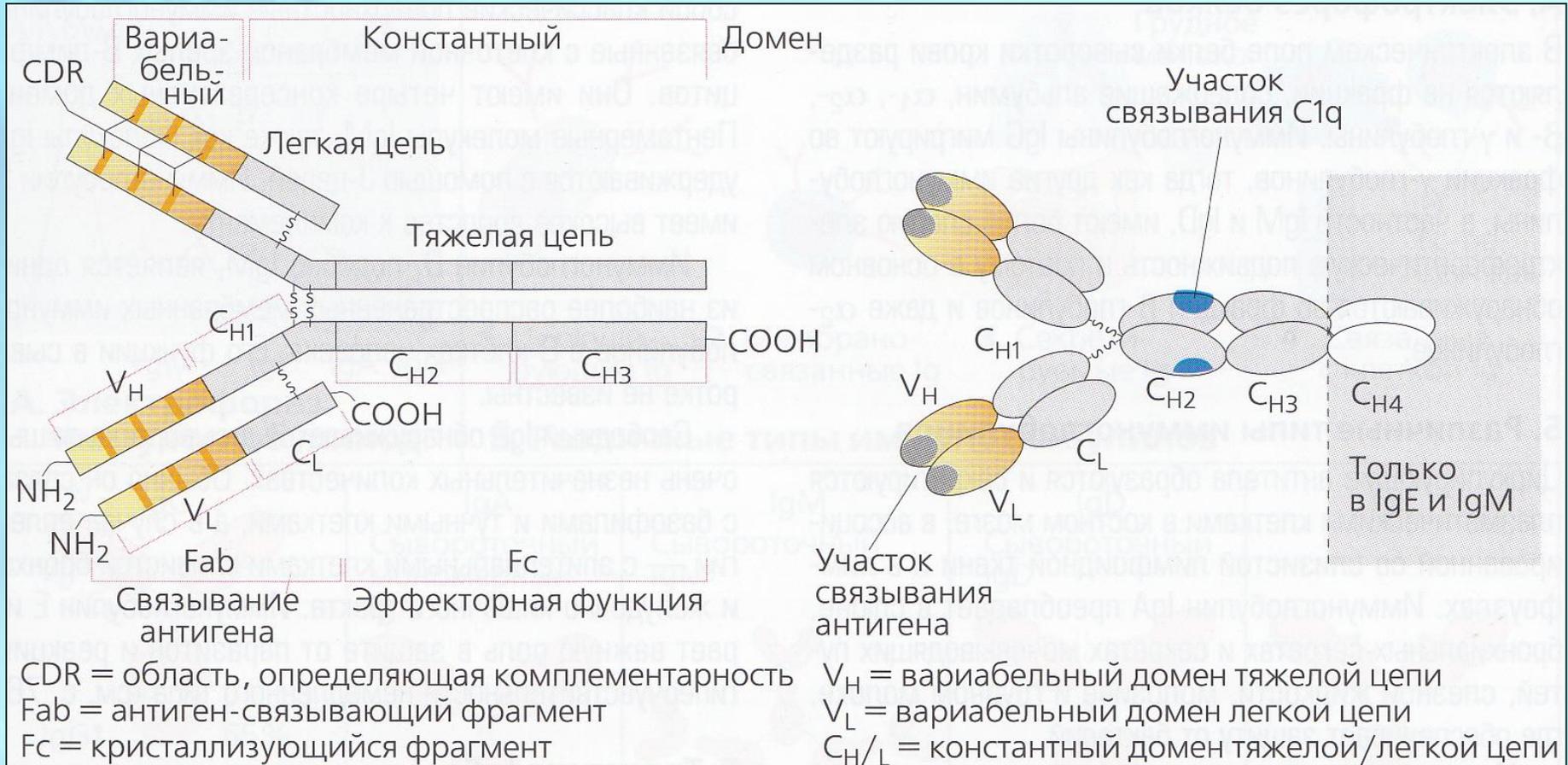
Протеолитическое расщепление пепсином



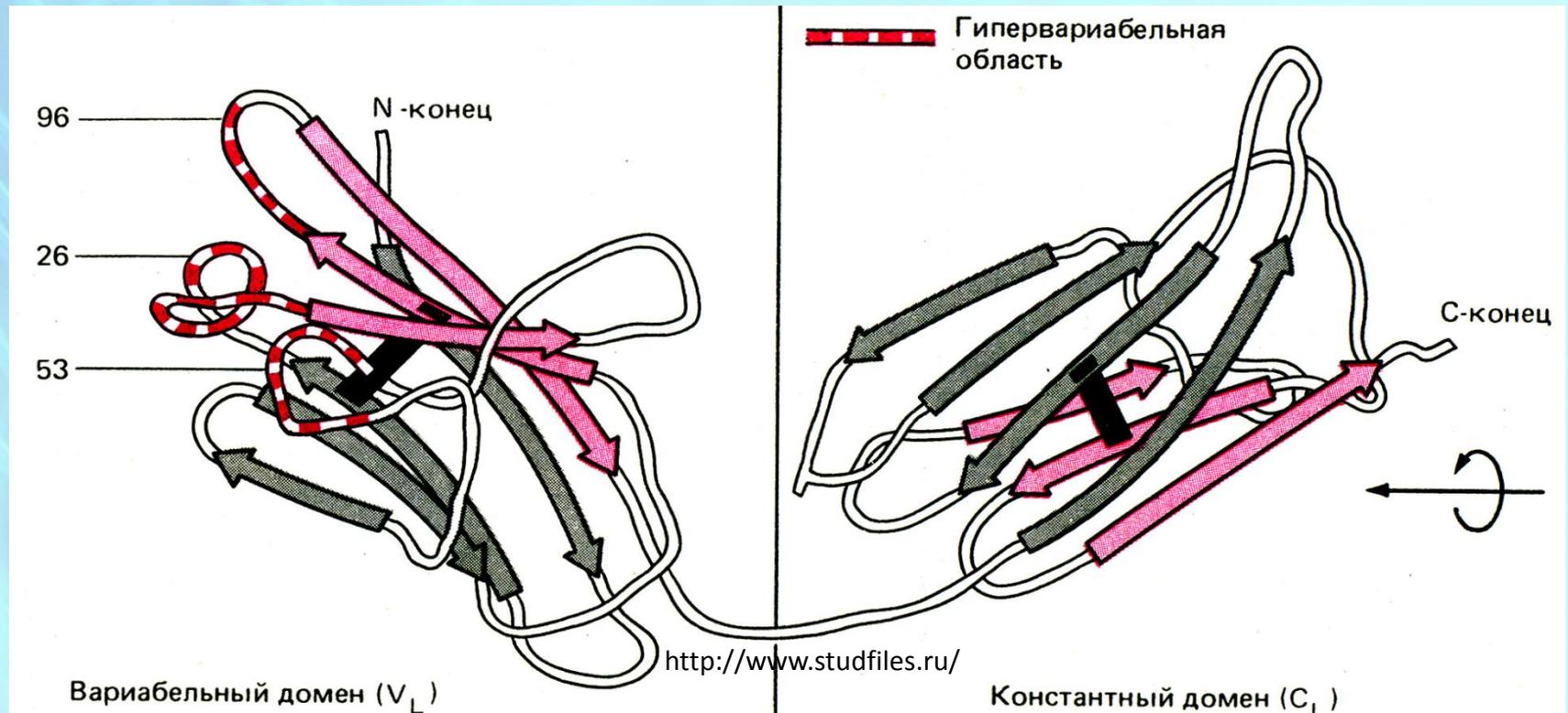
Пепсин расщепляет молекулу Ig на два фрагмента

Папаин расщепляет молекулу Ig на три фрагмента, два из них одинаковы, каждый состоит из легкой и половины тяжелой цепи и способен связывать антиген (содержит один антигенсвязывающий центр). Это **Fab-фрагмент** (англ. *Fragment antigen binding*). Он определяет антительную специфичность Ig. Третий фрагмент состоит из других половин тяжелых цепей и имеет постоянный аминокислотный состав. Это **Fc-фрагмент** (англ. *constant - постоянный*). Он выполняет эффекторные функции связывания Ig с тканями организма, различными клетками иммунной системы).

Общая схема строения иммуноглобулинов

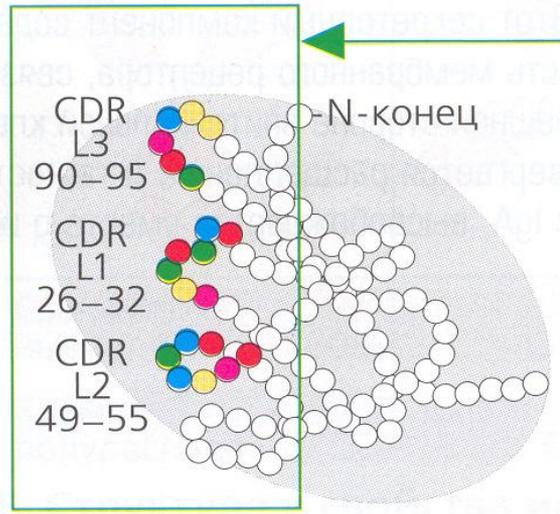


Доменная организация полипептидных цепей иммуноглобулинов (L-цепи)

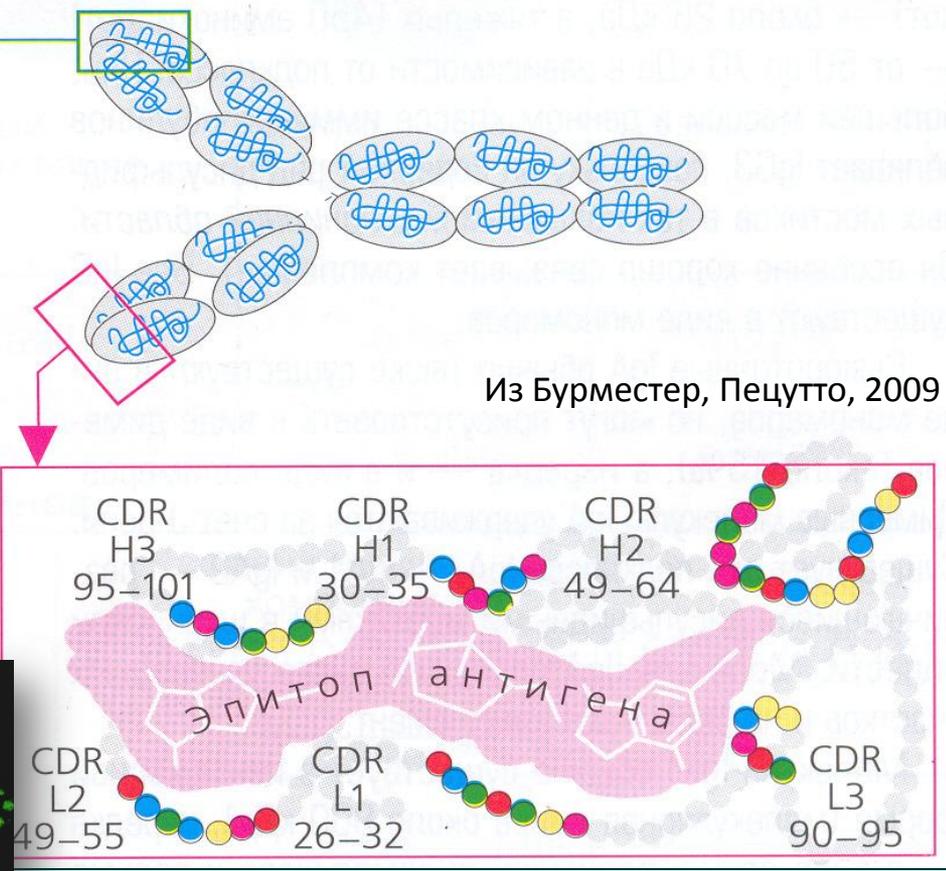
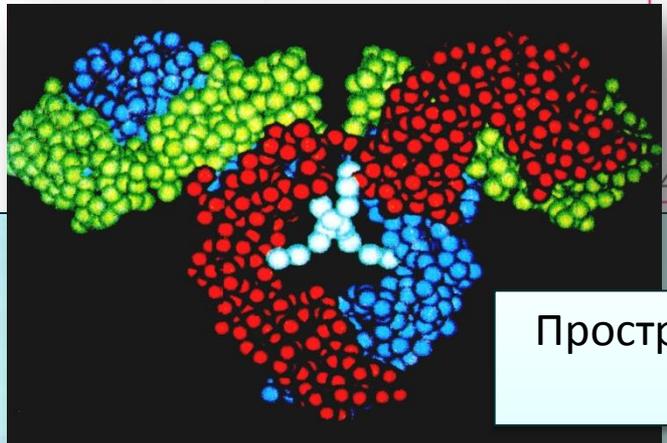


Стрелки разных цветов обозначают разные поверхности домена, они соединены между собой дисульфидными связями (черный прямоугольник).

Варибельные области тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов содержат участки с особенно изменчивой аминокислотной последовательностью – гиперварибельные области. Они определяют специфичность связывания антител и называются областями, определяющими комплементарность к антигену (CDR).

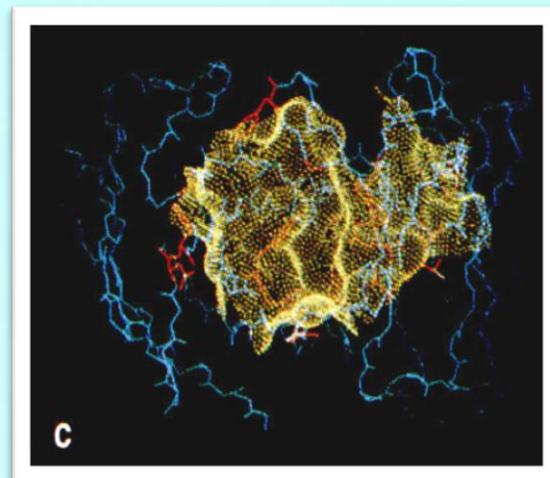
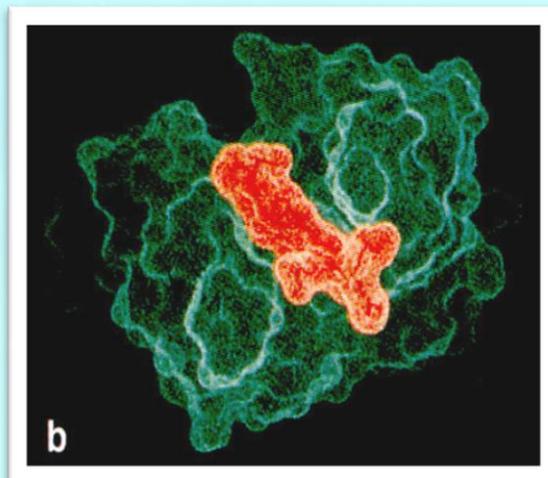
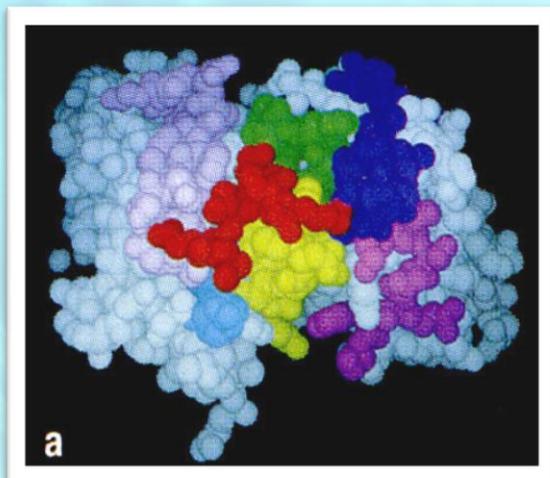
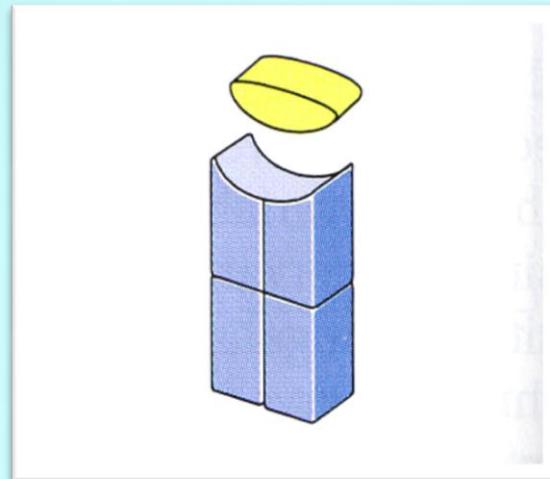
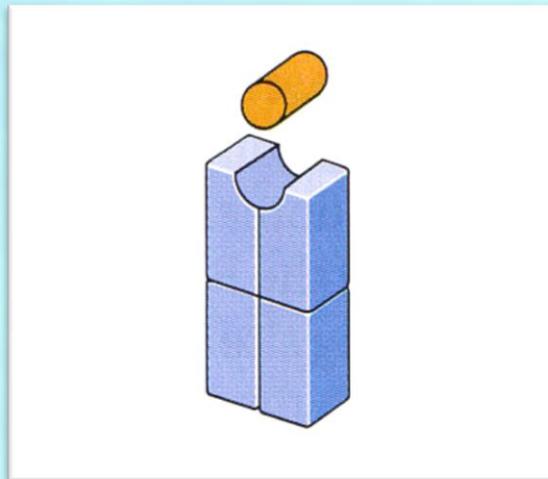
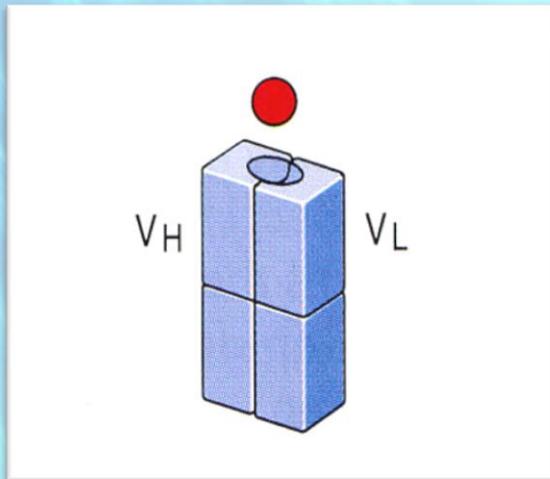


Варибельный домен легкой цепи с тремя гиперварибельными областями



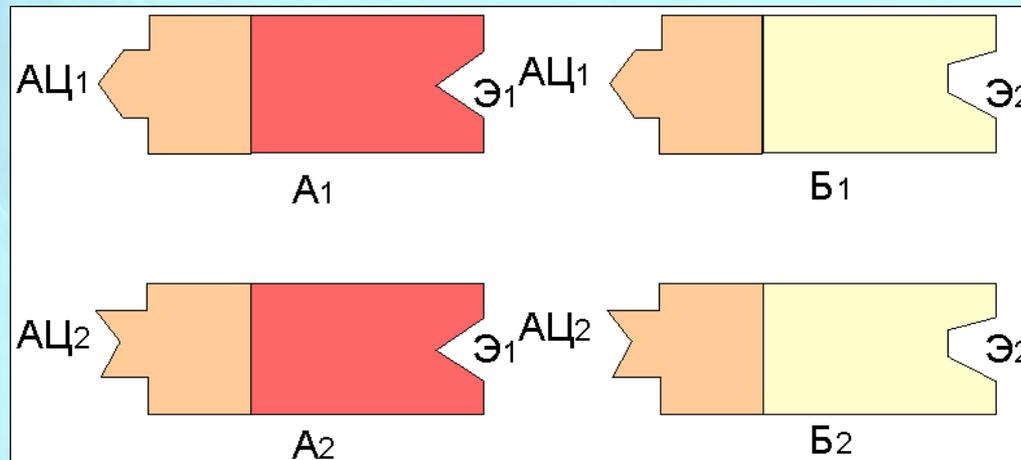
Пространственная организация молекулы иммуноглобулина

Взаимодействие антигена и антитела (принцип «ключ-замок»)



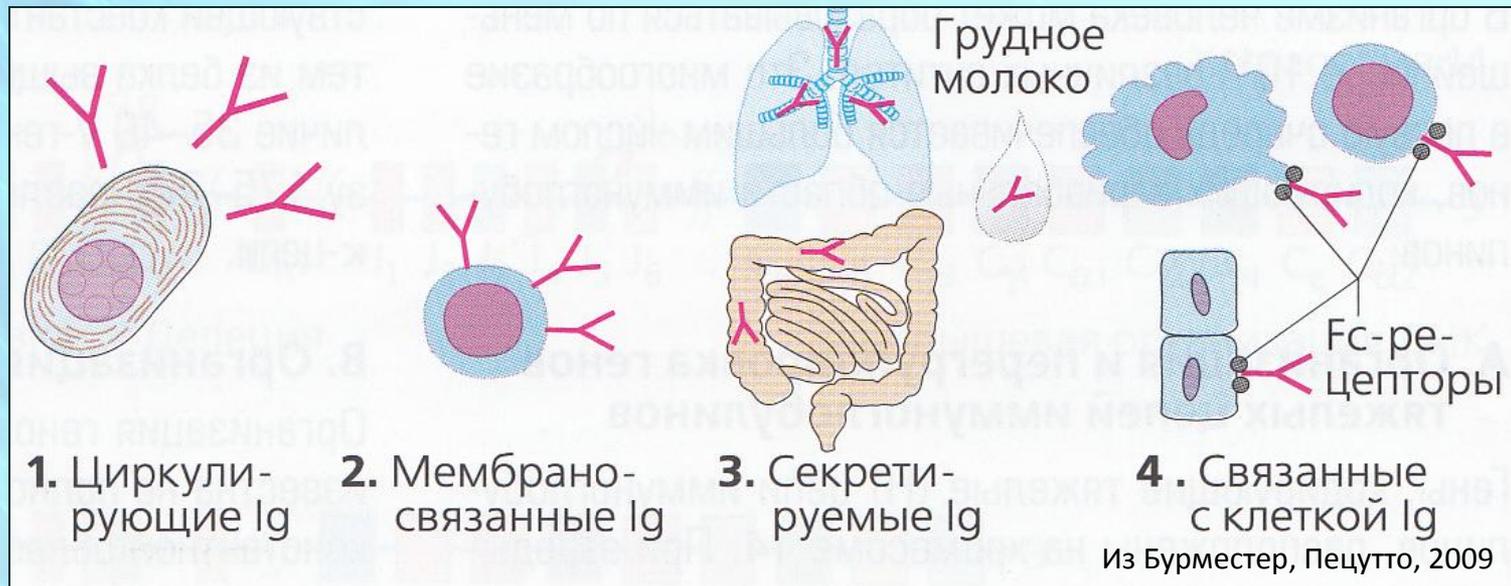
Функциональный дуализм иммуноглобулинов

Гетерогенность – свойство Ig, обусловленное строением константной части H-цепи молекулы. Гетерогенность определяет наличие разных классов и подклассов иммуноглобулинов.



Вариабельность – свойство Ig, обусловленное различиями в аминокислотной последовательности N-концевой части каждой конкретной молекулы и определяет специфичность антигенсвязывающего центра.

Различные типы иммуноглобулинов



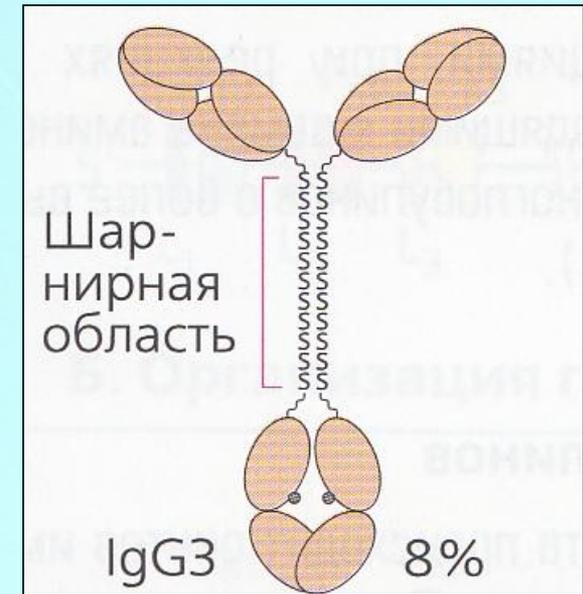
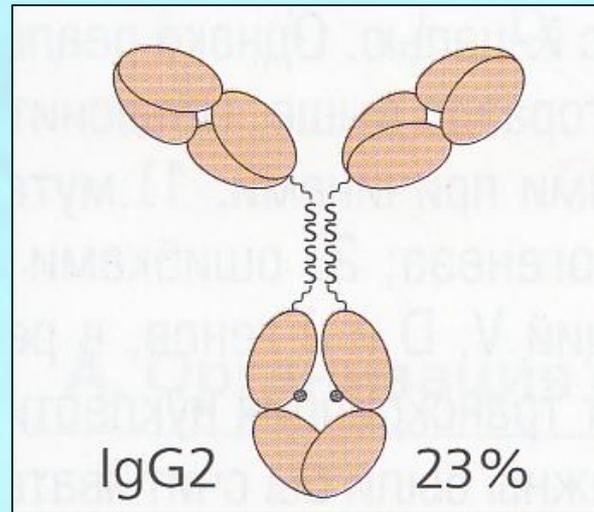
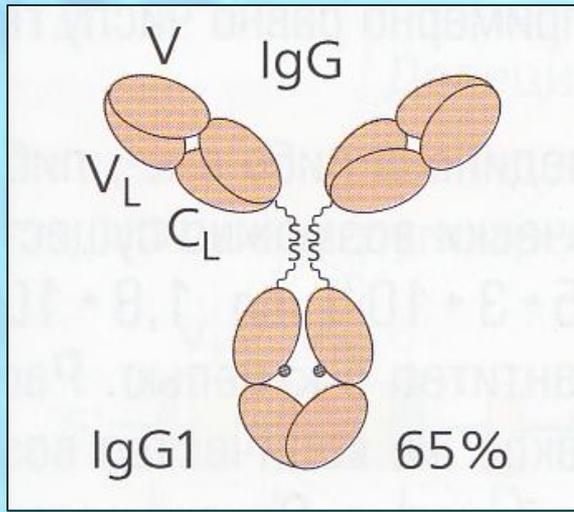
1. Циркулирующие антитела образуются и секретируются плазматическими клетками в костном мозге, ЛТС, лимфоузлах.
2. Мембраносвязанные – антигенраспознающие рецепторы.
3. IgA преобладают в слюне, бронхиальных секретах и секретах мочевыводящих путей, слезной жидкости, грудном молоке (обеспечивает защиту от бактерий).
4. Некоторые Ig связываются с другими клетками (гранулоцитами, тучными клетками, моноцитами/МФ, эпителиальными клетками (с помощью Fc-рецепторов))

Классы иммуноглобулинов

В зависимости от строения константной части тяжелой (H) цепи выделяют 5 классов иммуноглобулинов (у млекопитающих).

	Тип H-цепи	Тип L-цепи	Структура
IgG	γ (гамма)	κ, λ (каппа, лямбда)	мономер
IgD	σ (дельта)	κ, λ	мономер
IgE	ε (епсилон)	κ, λ	мономер
IgA	α (альфа)	κ, λ	мономер (сыворотка), димер (слизистые)
IgM	μ (мю)	κ, λ	пентамер

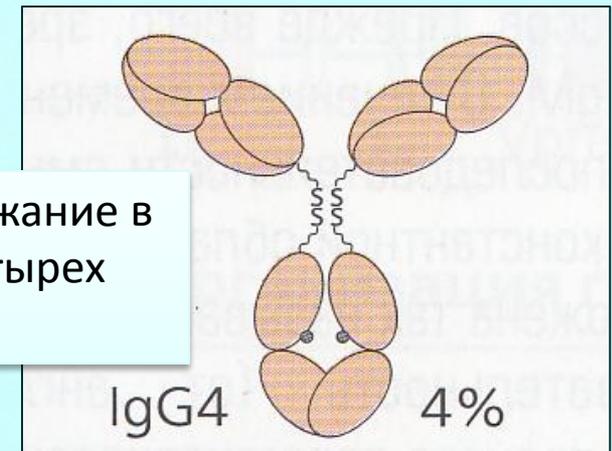
Структура IgG



Из Бурместер, Пецутто, 2009

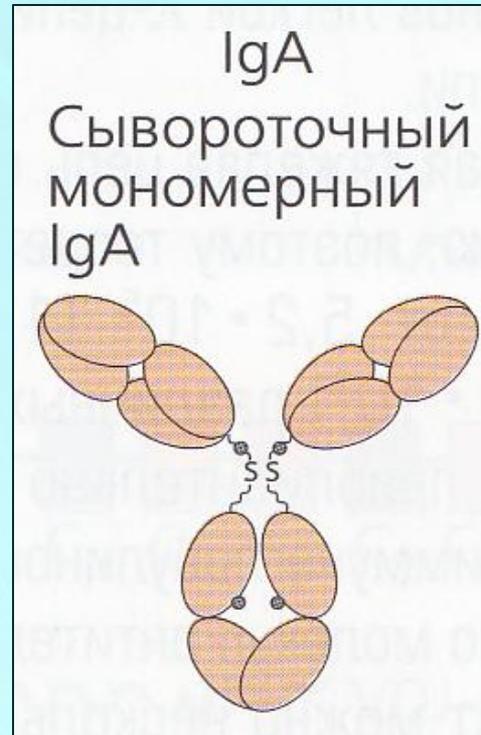
IgG составляет основную часть сывороточных иммуноглобулинов. Подразделяются на 4 подкласса, которые различаются своими γ -цепями. Тяжелые цепи имеют одну переменную область и три константные. IgG3 содержит ряд дисульфидных мостиков и особенно хорошо связывает комплемент. Все IgG существуют в виде мономеров.

Суммарное содержание в сыворотке IgG (четырех подклассов) – 80%



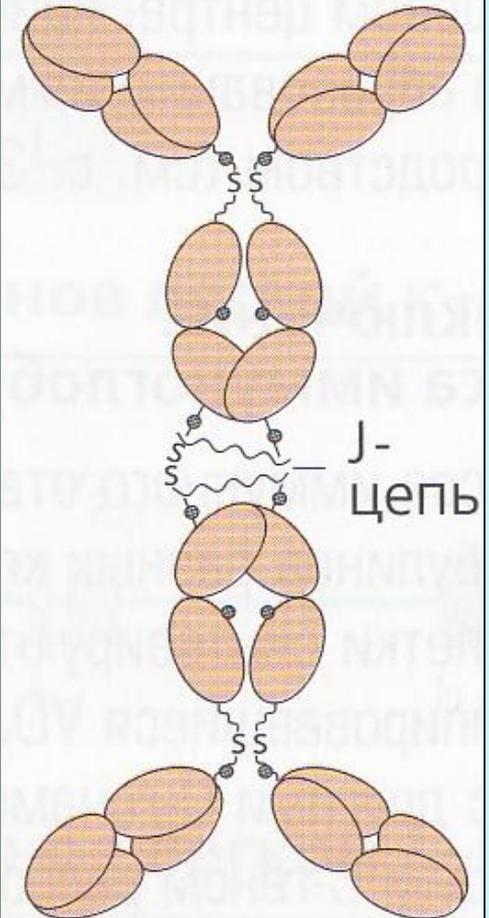
Структура IgA

Сывороточные IgA обычно существуют в виде мономеров, но могут присутствовать в виде димеров. Димерные молекулы удерживаются за счет J-цепи. Существуют 2 подкласса – IgA1 и IgA2, различаются дисульфидными мостиками в шарнирной области. Молекулы IgA содержат много углеводных участков и не связывают комплемент.



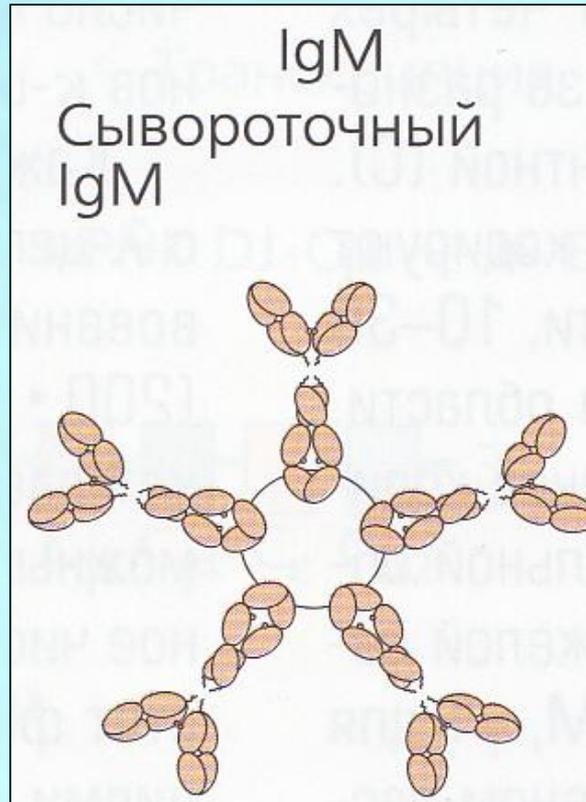
Содержание в
сыворотке – 13 %

Секретируемый
димер IgA



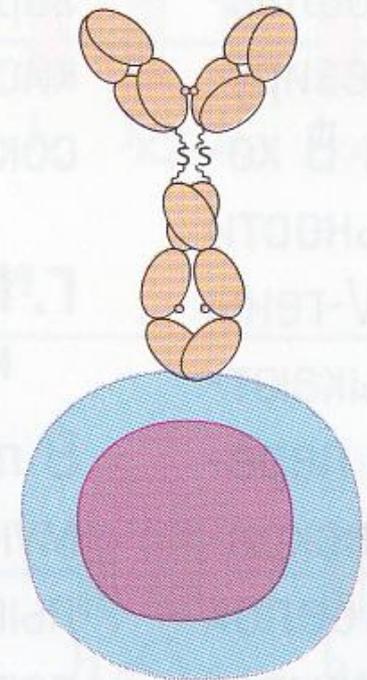
Структура Ig M

Молекула IgM обычно существует в пентамерной форме (удерживаются с помощью J-цепей). Молекулы IgM – это классические поверхностные иммуноглобулины, связанные с клеточной мембраной зрелых В-лимфоцитов. Они имеют 4 консервативных домена. IgM имеет высокое сродство к комплементу.



Содержание в сыворотке – 6 %

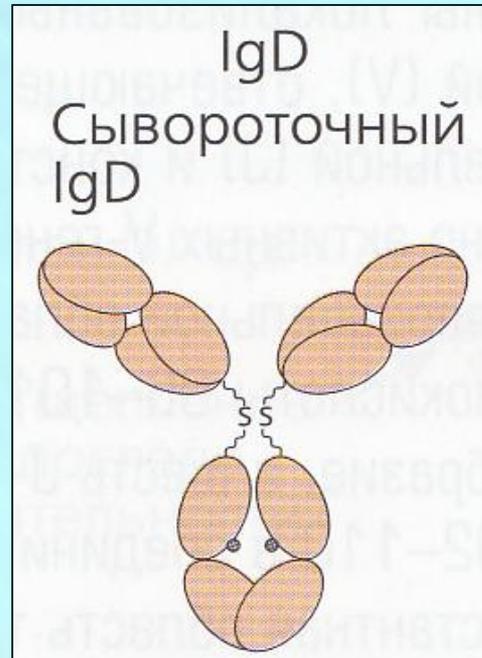
Мембрано-
связанный IgM



Зрелый
В-лимфоцит

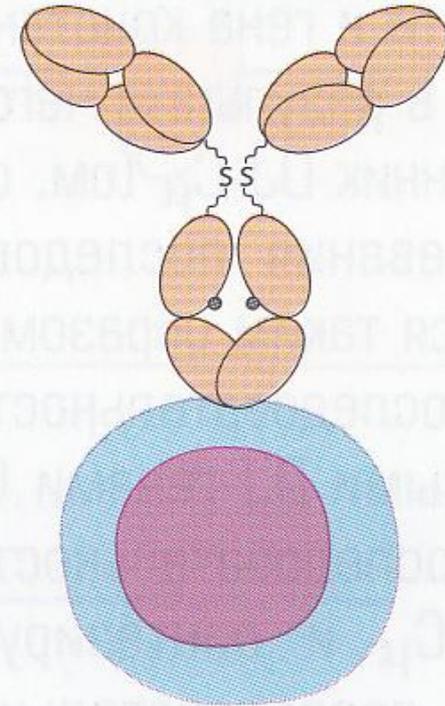
Структура IgD человека

Иммуноглобулин D, подобно IgM, является одним из наиболее распространенных мембранных иммуноглобулинов в В-клетках человека. Его функции в сыворотке не известны.



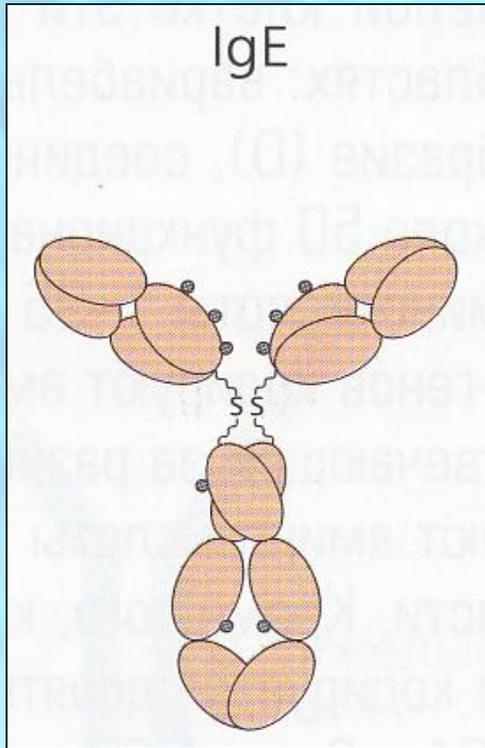
Содержание в сыворотке – 0,1 %

Мембрано-связанный IgD



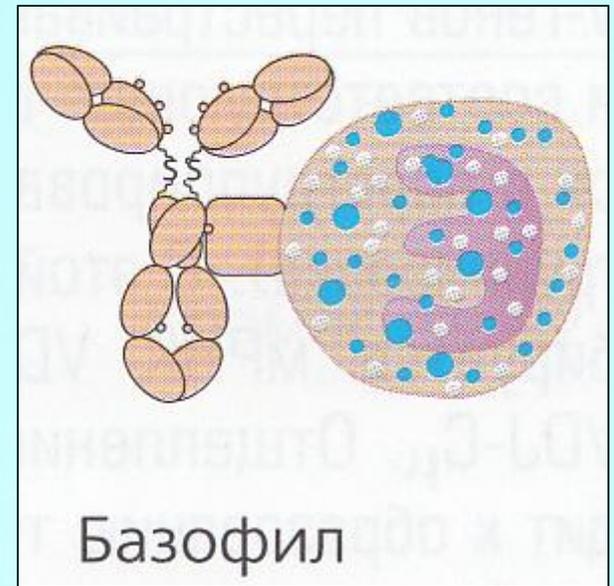
Зрелый В-лимфоцит

Структура IgE человека



Содержание в сыворотке – 0,002 %

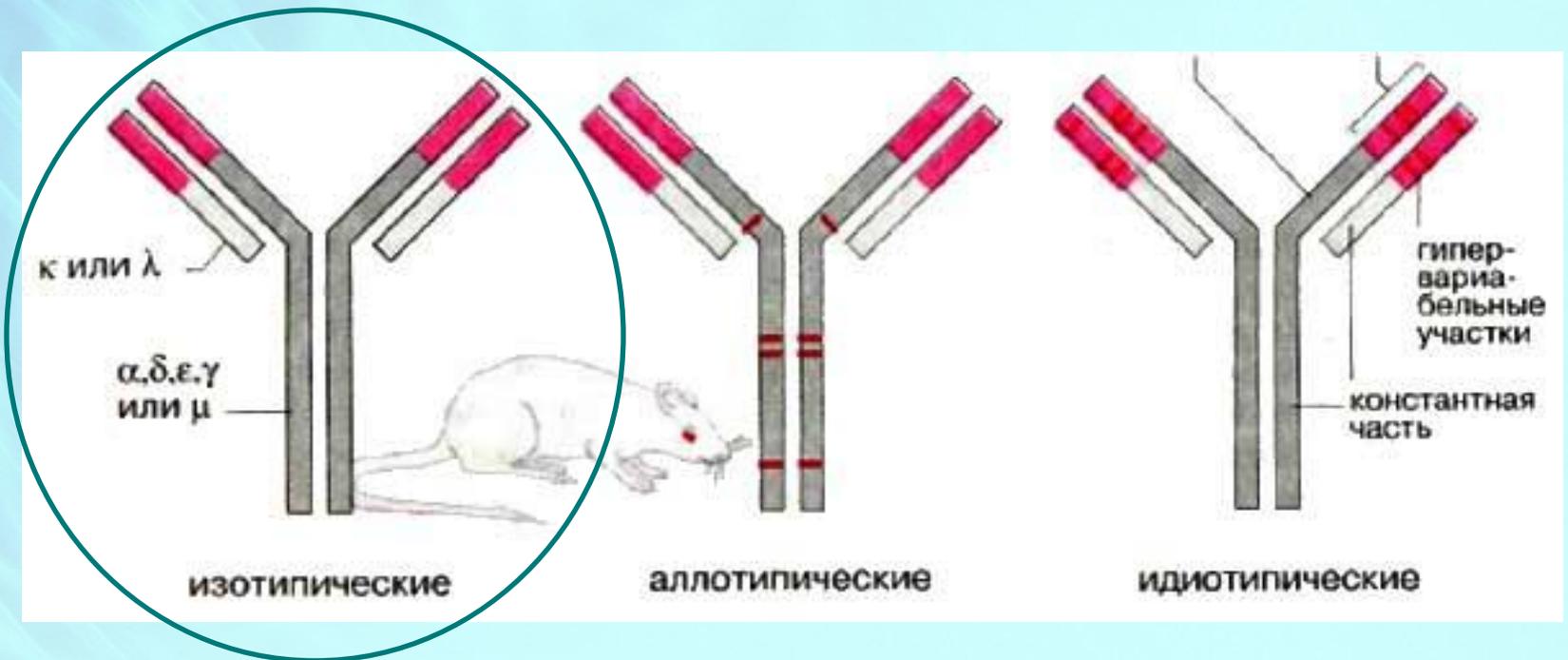
Свободный IgE в сыворотке обнаруживается в очень незначительных количествах. Обычно он связан с базофилами и тучными клетками, а в случае аллергии – с эпителиальными клетками слизистой бронхов и ЖКТ. IgE играет важную роль в защите от паразитов и реакциях гиперчувствительности немедленного типа.





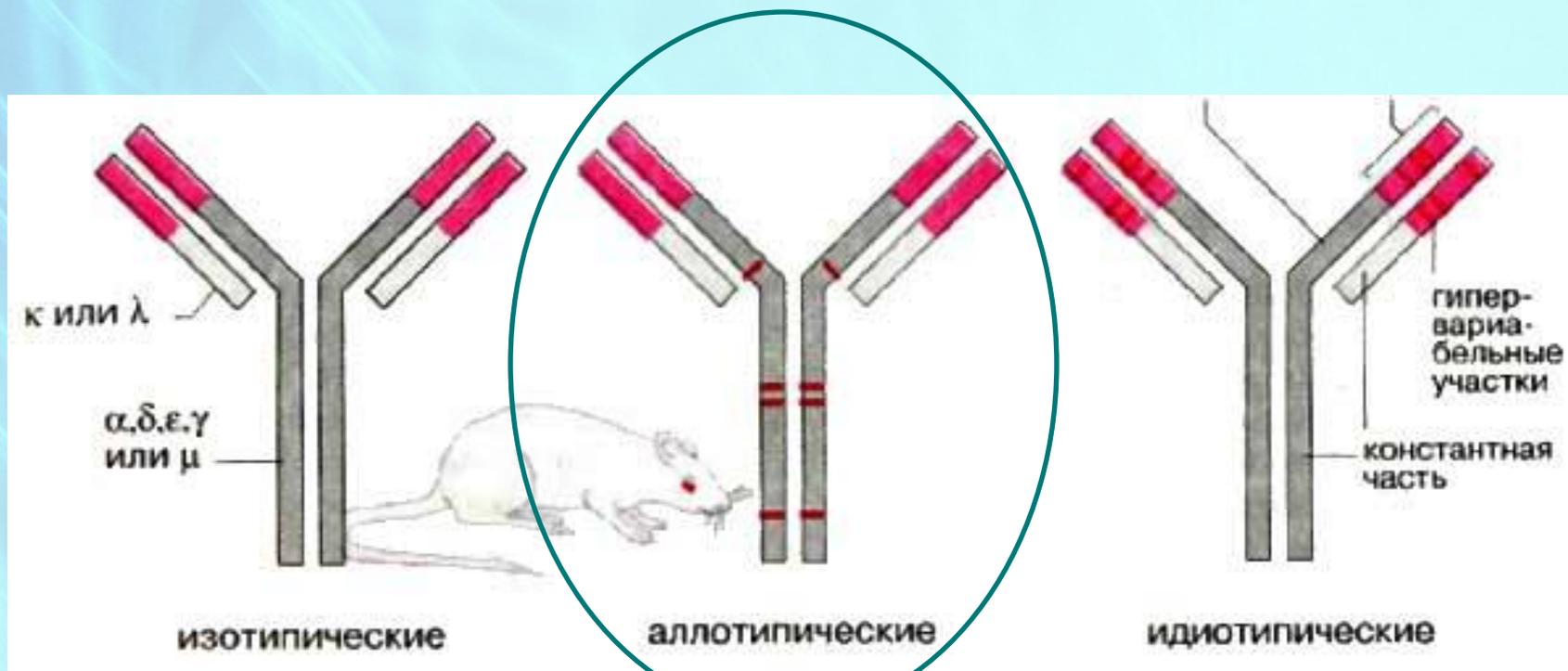
Будучи белками иммуноглобулины могут действовать как антигены, они имеют изотипические, аллотипические и идиотипические детерминанты

Изотипы – различные варианты тяжелых и легких цепей, которые определяют принадлежность антител к разным классам, подклассам и типам. Например, варианты молекул IgG1 κ , IgG2 λ являются изотипами.





Аллотипы – варианты иммуноглобулинов, кодируемые аллельными генами одного локуса. Аллельные варианты имеют от одной до четырех замен аминокислот на одну цепь.

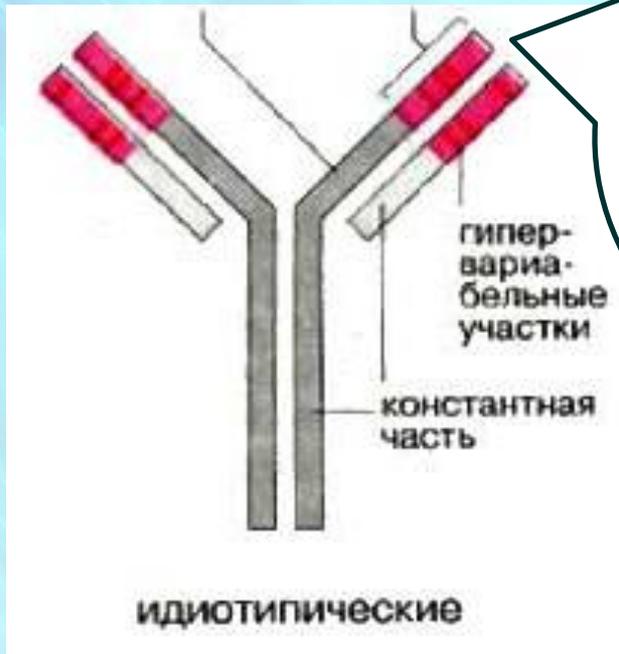


<http://www.chem.msu.su/>

Хорошо изучены в настоящее время аллотипы γ -цепей IgG человека («Gm-маркер»), тяжелых (α) цепей IgA («Am») и легких κ -цепей («Km»). Аллотипические варианты $\alpha 1$ -, δ -, ϵ - и λ -цепей пока не обнаружены.



Идиотип – антигенная характеристика V-области антител, обусловлена различиями аминокислотной последовательности V-доменов.



Функции иммуноглобулинов

Эффекторные

активация комплемента

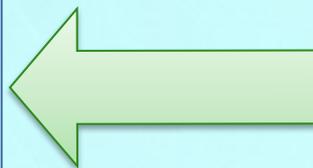
опсонизация

проникновение через плаценту, эпителий

взаимодействие с клетками при участии рецепторов

Основная

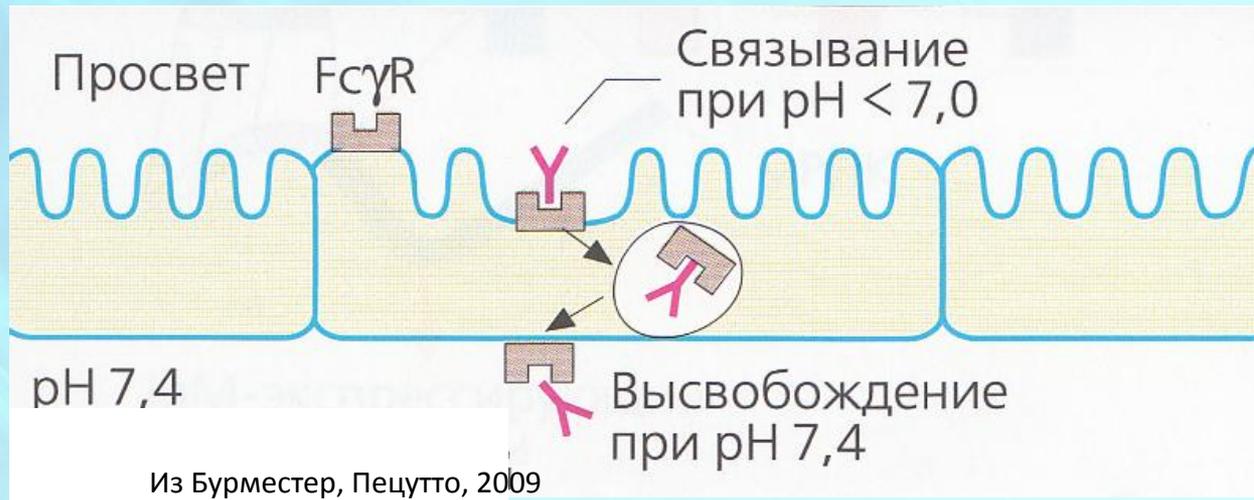
- Распознавание и связывание антигена



Эффекторные функции иммуноглобулинов

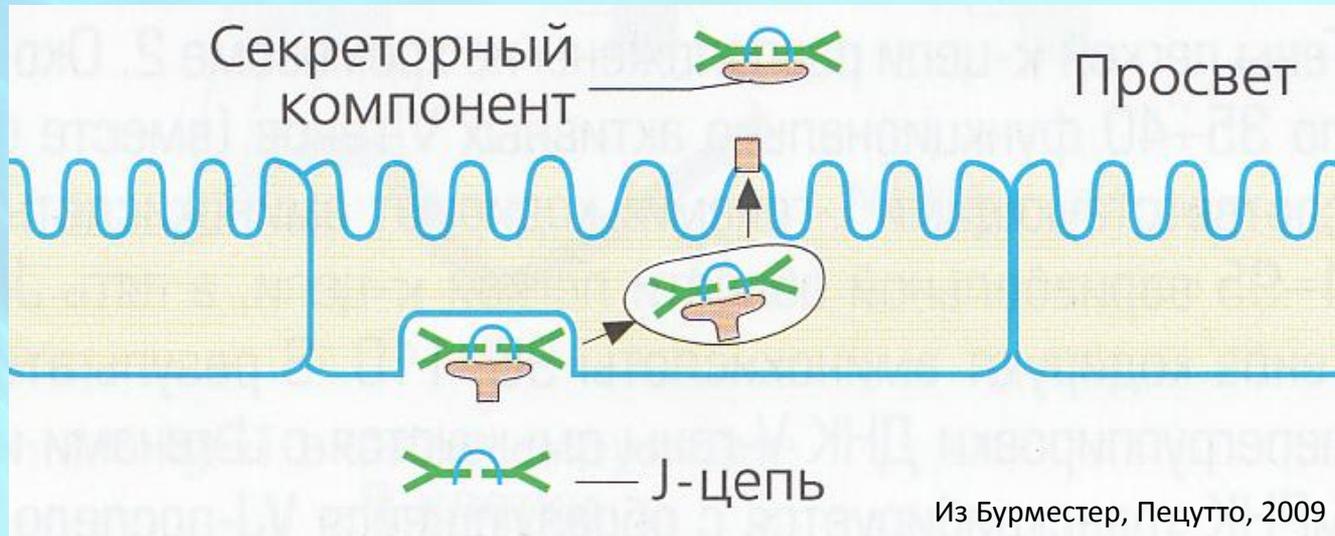
Функциональная активность	IgM	IgG ₁	IgG ₂	IgG ₃	IgG ₄	IgA	IgE	IgD
Нейтрализация	+	++	++	++	++	++	-	-
Опсонизация	-	+++	-	++	+	+	-	-
Активация системы комплемента	+++	++	+	++	-	-	-	-
Сенсибилизация тучных клеток	-	-	-	-	-	-	+++	-
Транспорт через эпителий	+	-	-	-	-	+++ (sIgA)	-	-
Транспорт через плаценту	-	+++	+++	+++	+++	-	-	-

Транспорт IgG через кишечный эпителий



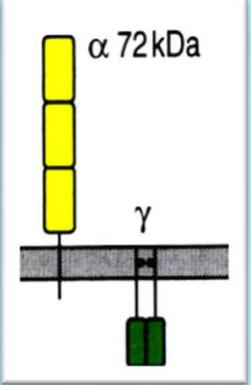
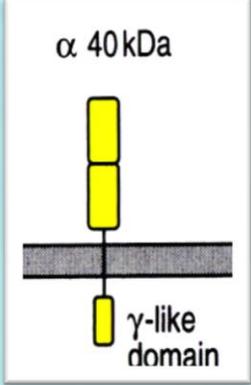
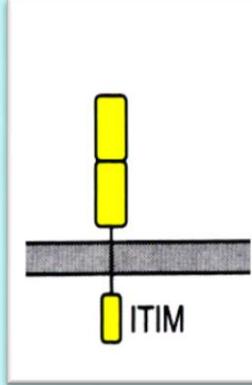
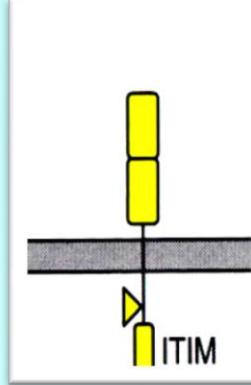
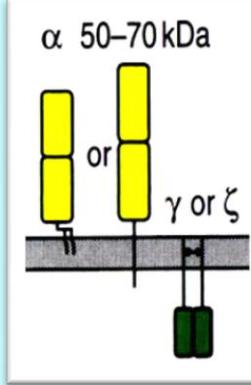
У новорожденных синтез собственных иммуноглобулинов начинается только в шестимесячном возрасте. До этого момента защитные функции осуществляются за счет материнских антител (IgG проникает через плаценту). Кроме того, источником антител является грудное молоко. Молекулы IgG всасываются специализированными эпителиальными клетками кишечника ребенка и проникают в кровь благодаря градиенту рН.

Секреция IgA



Эпителиальные клетки слизистой синтезируют иммуноглобулиновый рецептор (Ig-рецептор), который встраивается в мембрану базальной поверхности клетки. Димер IgA связывается с этим рецептором, путем эндоцитоза, проникает внутрь клетки и транспортируется к ее поверхности. Затем через мембрану путем экзоцитоза выводится на поверхность слизистой оболочки. При расщеплении рецептора на поверхности слизистой оболочки высвобождается IgA, который связан с частью рецептора (секреторный компонент).

Рецепторы для иммуноглобулинов (IgG)

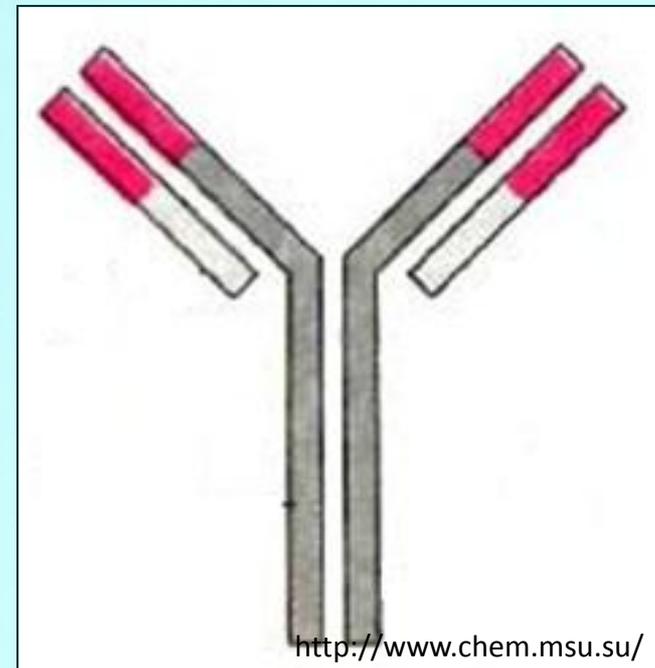
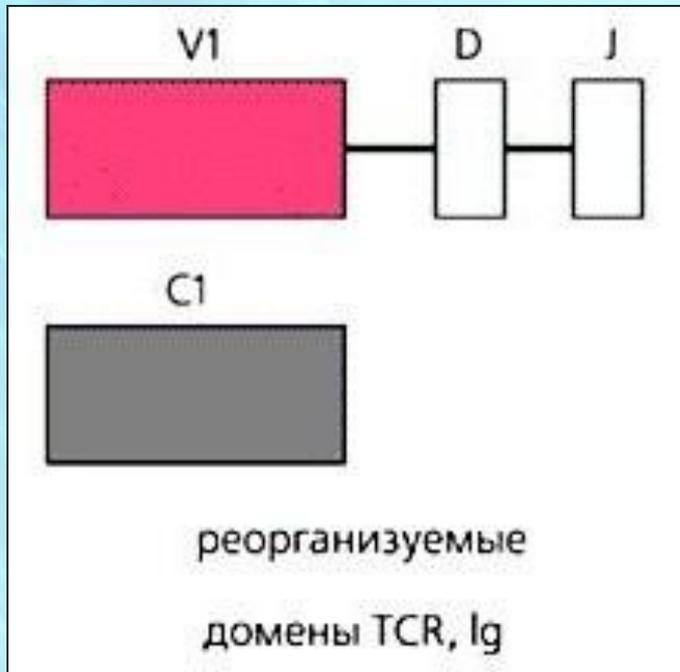
Рецептор	FcγRI (CD64)	FcγRII-A (CD32)	FcγRII-B2 (CD32)	FcγRII-B1 (CD32)	FcγRIII (CD16)
Структура	 <p>α 72 kDa γ</p>	 <p>α 40 kDa γ-like domain</p>	 <p>ITIM</p>	 <p>ITIM</p>	 <p>α 50-70 kDa γ or ζ</p>
Связывание	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
Клеточный тип	моноциты	моноциты, гранулоциты, В-лимфоциты, эозинофилы			НК, МФ, ПМЯЛ
Эффект	эндоцитоз, кислородный взрыв, индукция киллинга	эндоцитоз, дегрануляция эозинофилов	эндоцитоз, подавление стимуляции	подавление стимуляции	индукция киллинга



Иммуноглобулины

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ СИНТЕЗА

В 1965 г. У. Дрейер и Дж. Беннет (США) выдвинули гипотезу «двух генов», один из которых контролирует синтез константной части полипептидной цепи иммуноглобулина, другой – переменной.



В 1976 г. в Базельском институте иммунологии (Швейцария) С. Тонегава с сотрудниками установили, что при созревании В-клеток происходит реорганизация генома, так что пространственно удаленные генные сегменты оказываются в непосредственной близости друг от друга, образуя единый информационный участок.

Происходит перестройка генного материала, в результате которой в разных клетках оказывается разный генетический материал.

Этот процесс перестройки генетического материала получил название ***соматической рекомбинации***.

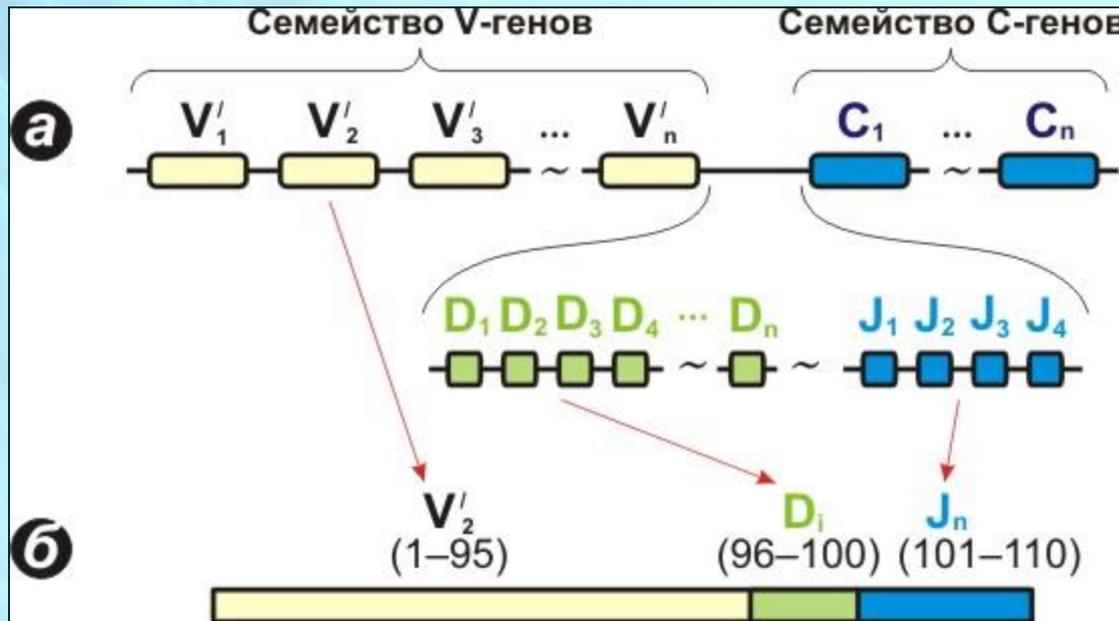


Тонегава Судзуми
(1939)

Нобелевская премия 1987 года
«за открытие генетического
принципа образования
разнообразия антител»

Организация генов иммуноглобулинов

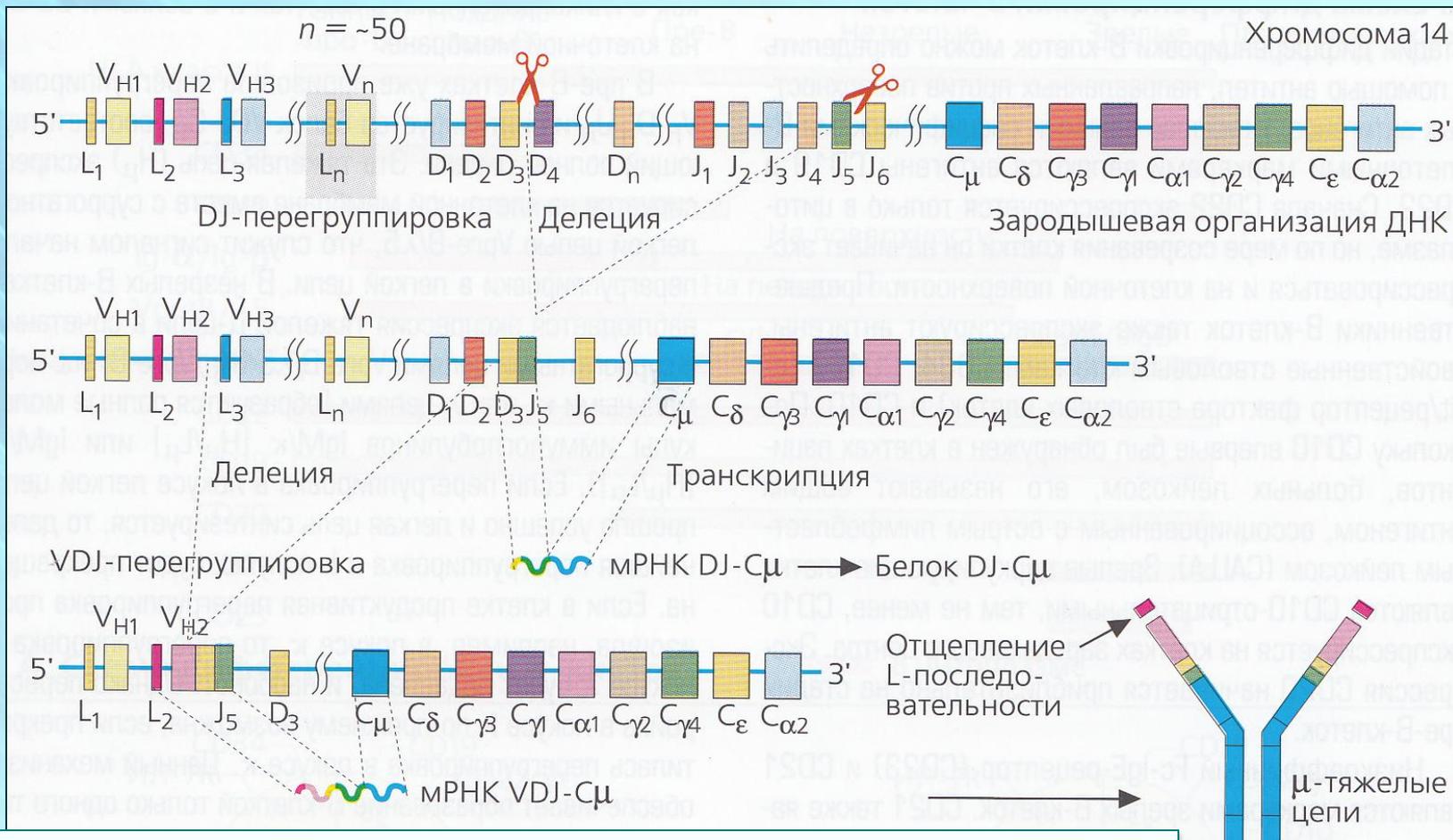
Гены, контролирующие структуру одной полипептидной цепи, объединены в семейства, расположенные в одном участке хромосомы. При этом гены, контролирующие переменные области «разорваны» на 2 или три фрагмента – основной (V) и 1 или 2 дополнительных (D и J).



V (variable) –
переменный
J (joining) – связующий
D (diversity) –
отвечающий за
разнообразие

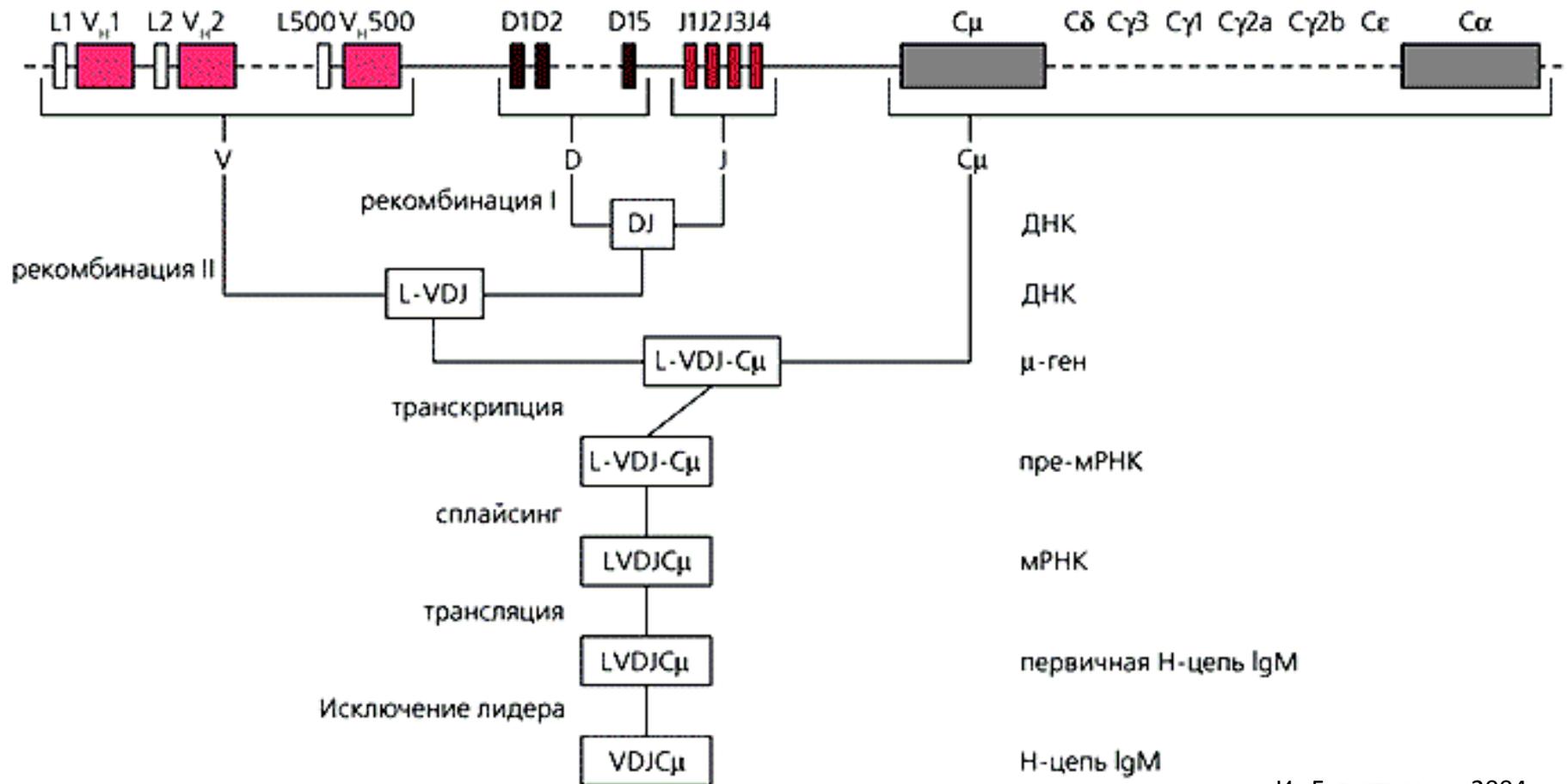
*Цифрами в скобках
указаны кодируемые
аминокислоты в белке.*

Организация и перегруппировка генов тяжелых цепей иммуноглобулинов

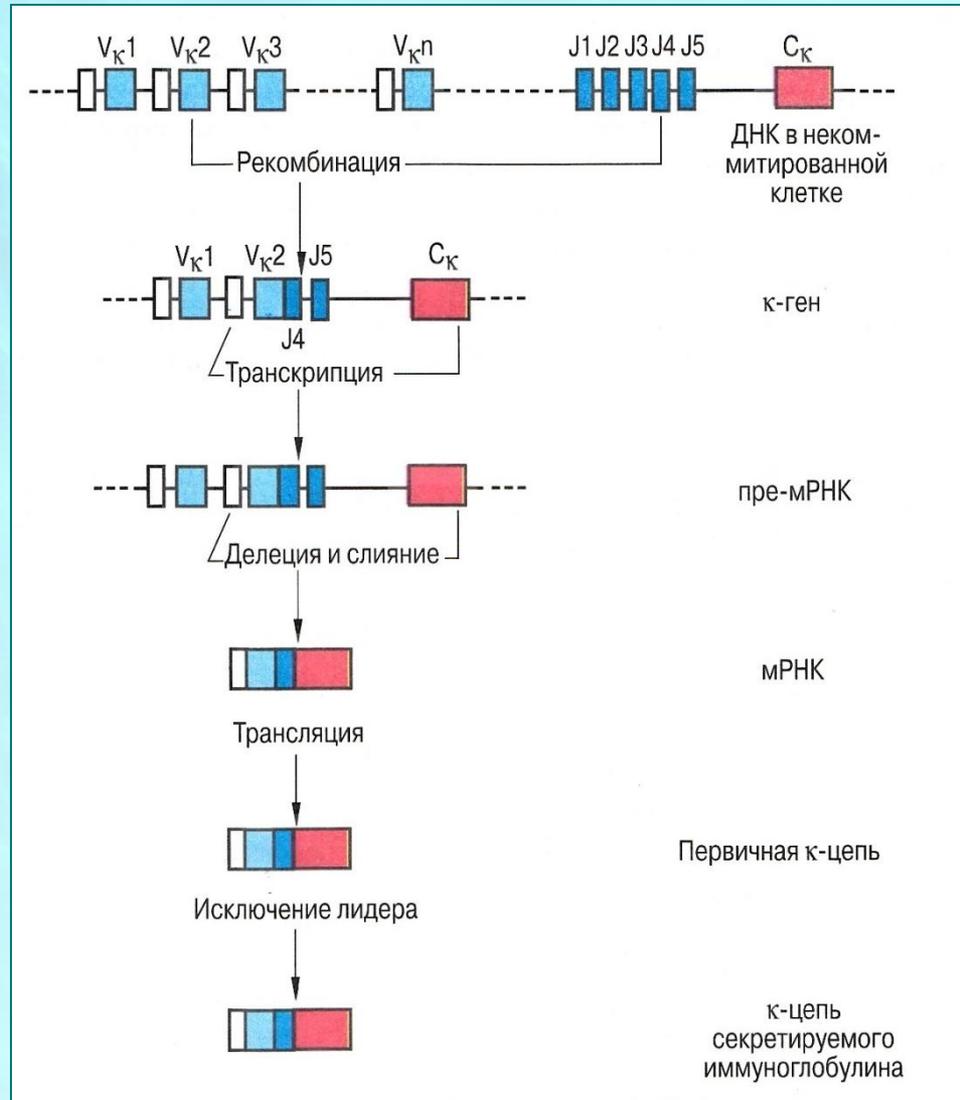


V – около 50 «мини»-генов; D – 10-30; J – 6.
 Рекомбинационный потенциал – $50 \cdot 10 \cdot 30 \cdot 6 = 3 \cdot 10^3 - 9 \cdot 10^3$
 аминокислотных последовательностей.

Организация и перегруппировка генов тяжелых цепей иммуноглобулинов



Рекомбинация генов, кодирующих L-цепь (к-типа) иммуноглобулинов

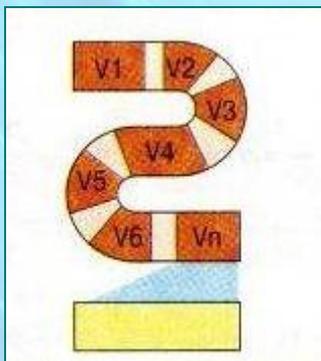


Вариабельность иммуноглобулинов

Генный кластер и другие характеристики	Тяжелые цепи	Легкие цепи	
		κ-тип	λ-тип
V	50	40	30
D	30	-	-
J	6	5	4
Вариантов перестроек	9000	200	120
Спаривание цепей	$9000 \cdot 320 = 3 \cdot 10^6$		

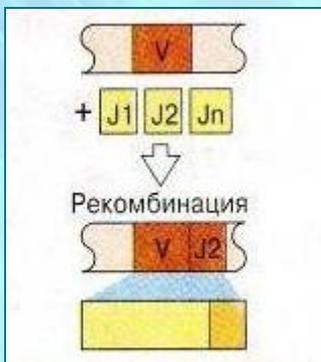
Общая вариабельность иммуноглобулинов человека - 10^{11}

Источники разнообразия антител



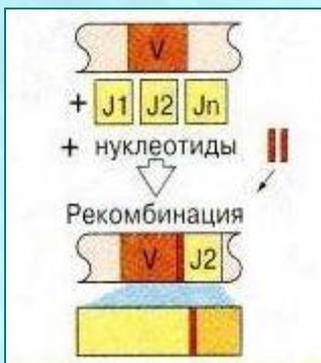
1. Множественность гаметных генов;

Каждый ген кодирует V-домен отдельной специфичности



2. Соматическая рекомбинация

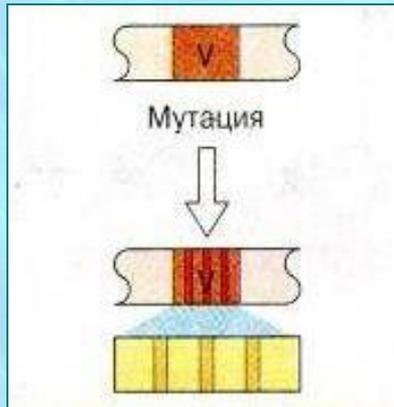
В результате синтезируется белок, отдельные элементы которого кодируются разными генными сегментами.



3. Рекомбинантные неточности

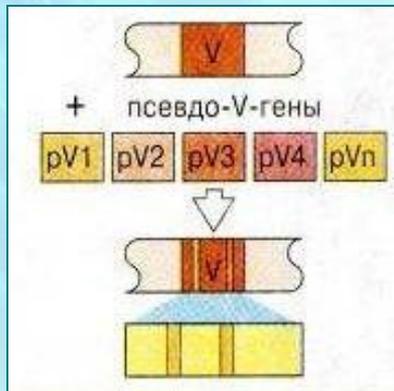
Включение пограничных нуклеотидов при рекомбинации.

Источники разнообразия антител



4. Соматический мутагенез

В онтогенезе В-клеток в результате мутаций гаметного V-гена в разных В-клеточных клонах возникают различные V-гены.



5. Генная конверсия

Отрезки ДНК, принадлежащие ряду псевдо-V-генов могут копироваться в функциональном V-гене, меняя его исходную нуклеотидную последовательность.

6. спаривание H- и L-цепей

Дополнительное разнообразие достигается при случайном объединении тяжелых и легких цепей в процессе сборки мономерной молекулы иммуноглобулина.