

Corso di Immunologia - III anno
Prof. Rossella Paolini

Lezione 12/10/2023

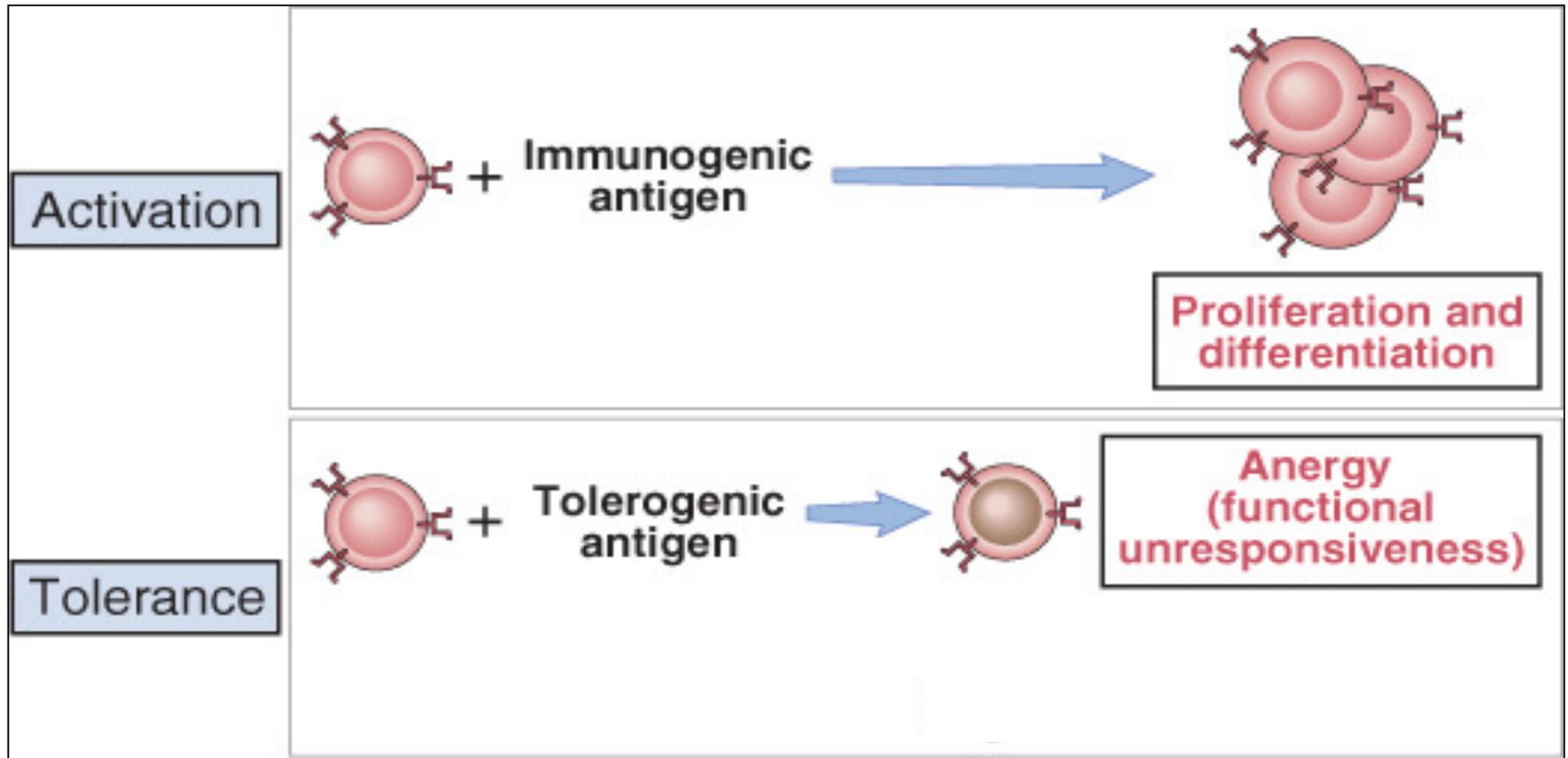
"Antigeni e recettori per l'antigene"
"Il sistema MHC"

Il materiale presente in questo documento viene distribuito esclusivamente ad uso interno e per scopi didattici.

La principale caratteristica dei componenti cellulari dell'immunità **ADATTATIVA** è la capacità di riconoscere l'**ANTIGENE**

Antigene: qualunque molecola riconosciuta da specifici recettori espressi sui linfociti B e T.

Il riconoscimento dell'antigene non sempre induce attivazione del linfocita!



L'antigene capace di promuovere una risposta immunitaria viene definito **immunogeno**

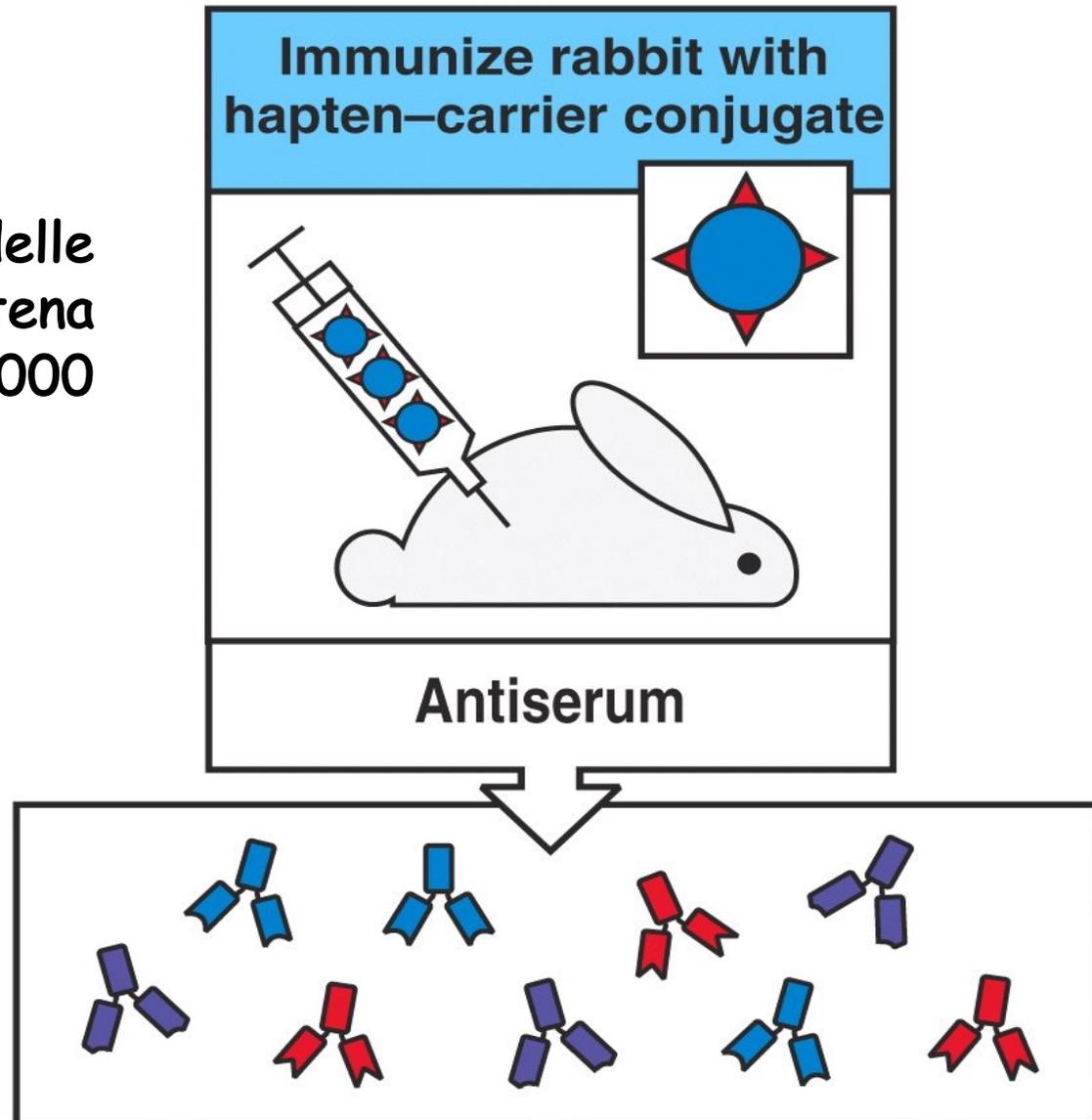
L'IMMUNOGENICITA' è legata ad alcune proprietà dell'antigene:

-l'**estraneità**. Per scatenare una risposta immunitaria una molecola deve essere riconosciuta come estranea, ossia non self.

-il **peso molecolare**. Gli immunogeni migliori hanno in genere un peso superiore a 10.000 Dalton.

Un esempio di antigene NON immunogenico è rappresentato dall'**APTENE** in grado di indurre una risposta immunitaria solo quando legato ad una proteina carrier

Aptene = piccola molecola delle dimensioni di una catena laterale della tirosina (< 4000 Dalton).



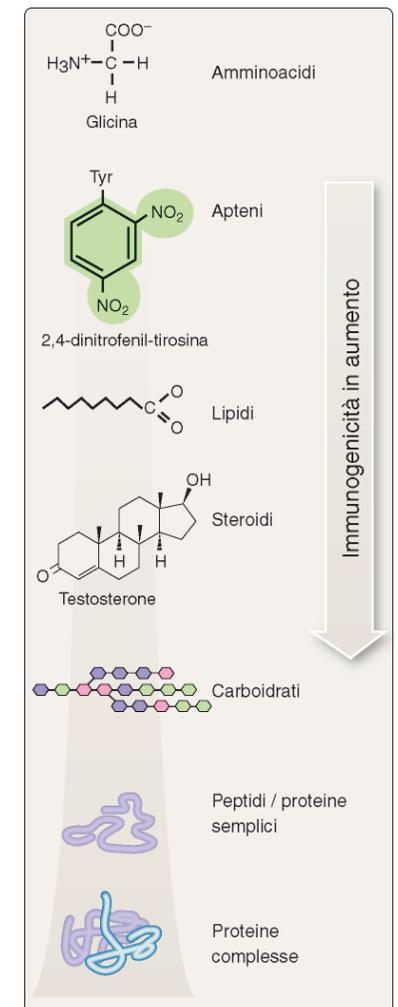
L'IMMUNOGENICITA' è legata ad alcune proprietà dell'antigene:

-**l'estraneità**. Per scatenare una risposta immunitaria una molecola deve essere riconosciuta come estranea, ossia non self.

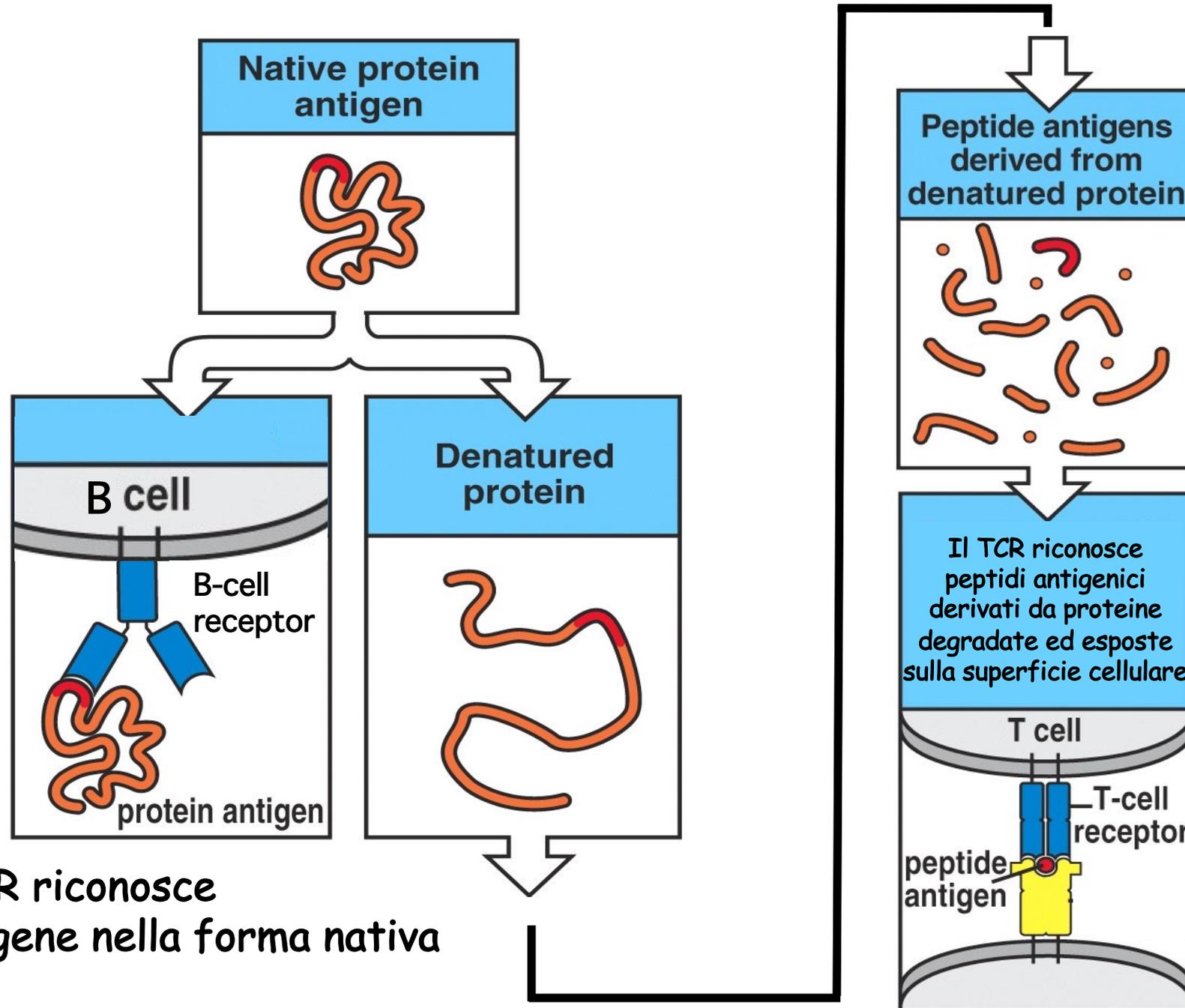
-**il peso molecolare**. Gli immunogeni migliori hanno in genere un peso superiore a 10.000 Dalton.

-**la natura chimica**. Le proteine e subito dopo i carboidrati sono tra gli immunogeni più potenti.

-**la suscettibilità alla processazione e presentazione**.



I linfociti B e T riconoscono l'antigene con modalità diverse!



Il BCR riconosce l'antigene nella forma nativa

Altri fattori che influenzano l'induzione di una risposta immunitaria:

-Dose di immunogeno.

-Modalità e via di penetrazione.

-Uso degli adiuvanti. Gli adiuvanti sono sostanze che, quando somministrate insieme all'antigene, potenziano la risposta immunitaria evocata nei confronti di quell'antigene.

Quali sono le molecole che riconoscono l'antigene?

BCR

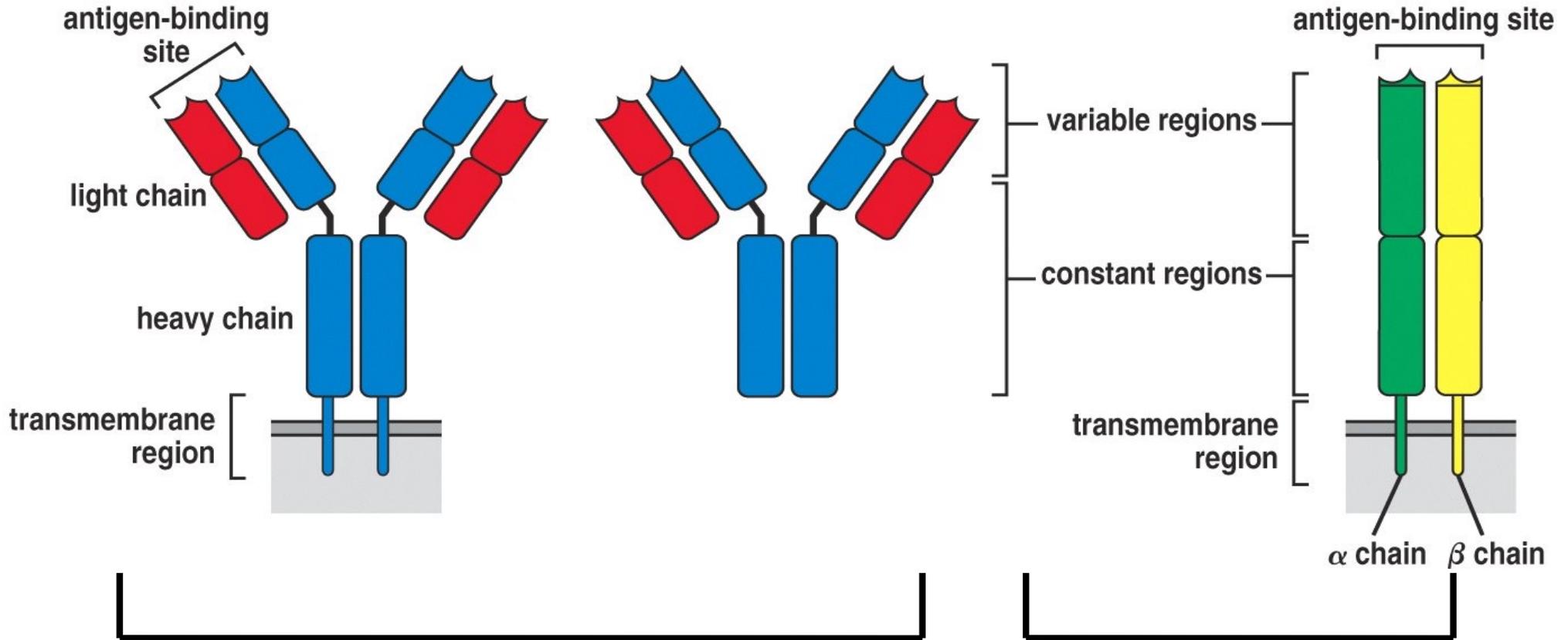
Surface immunoglobulin

Antibody

TCR

T-cell receptor

antigen-binding site



B cells

T cells

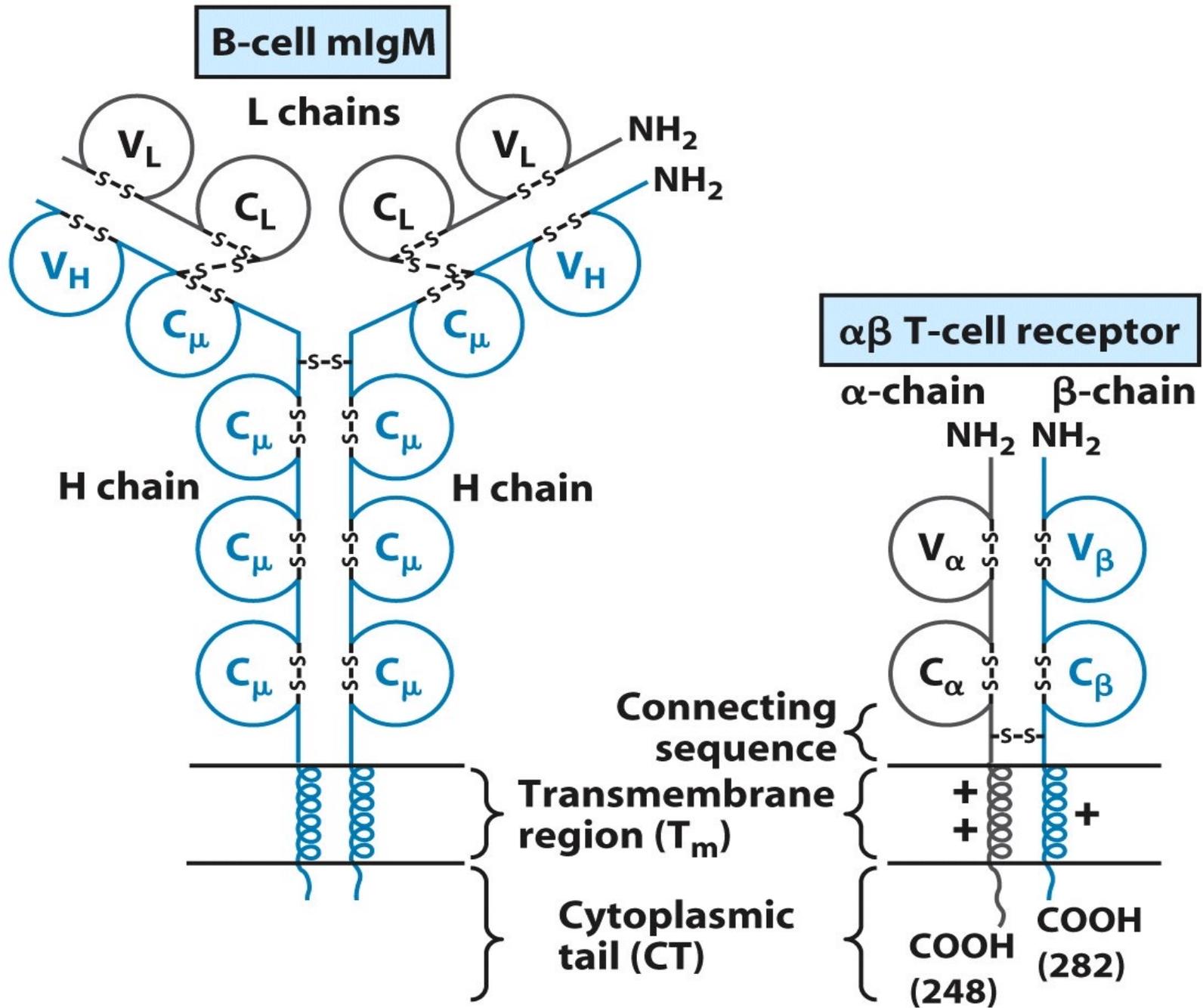


Figure 9-3
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

I domini immunoglobulinici

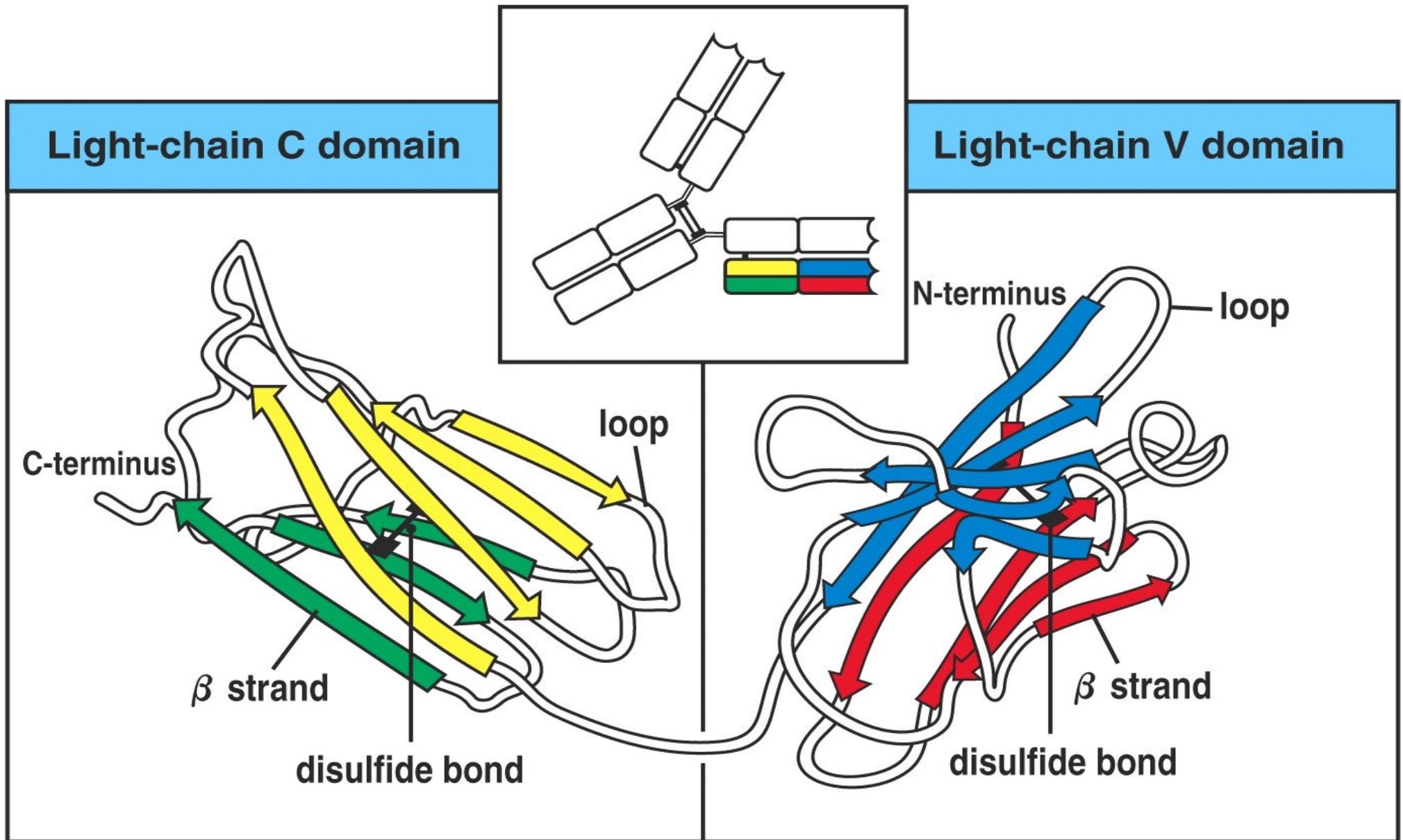
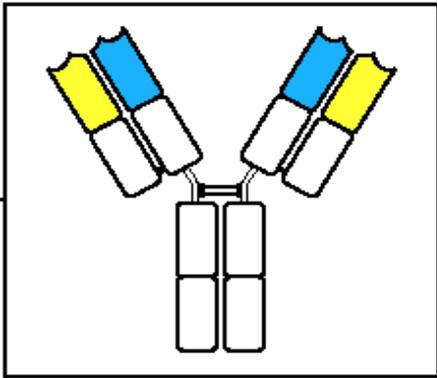
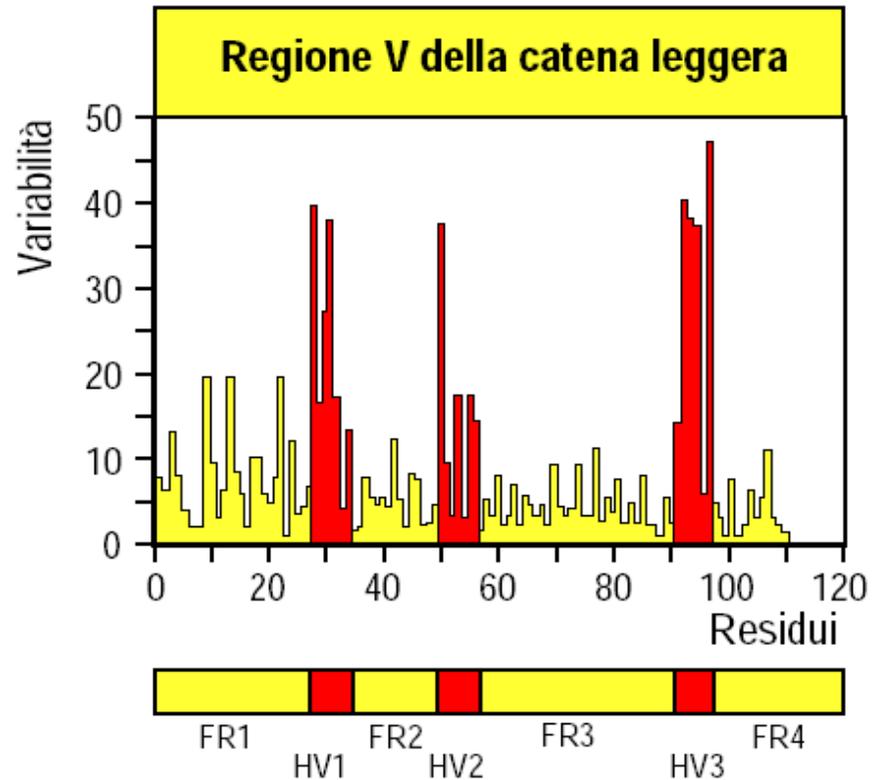
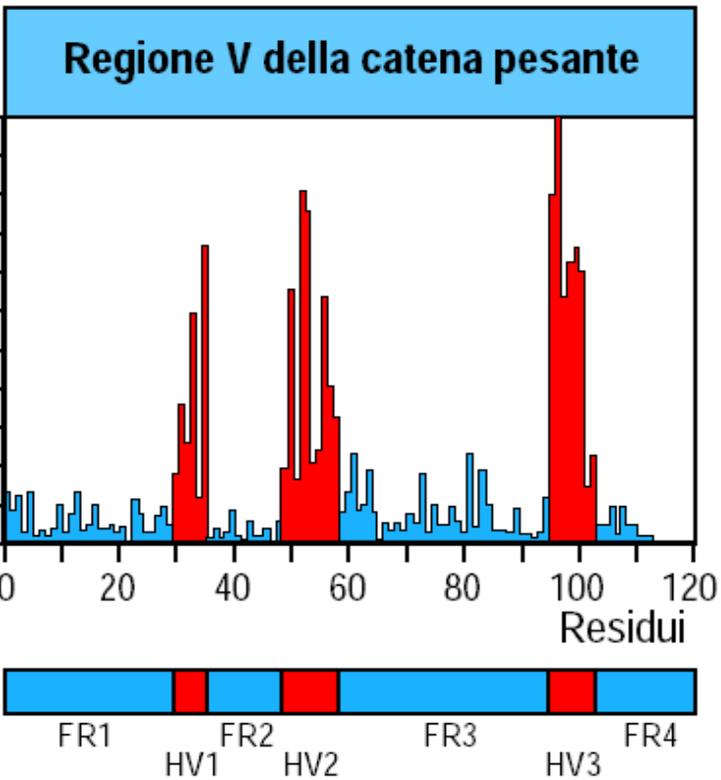


Figure 2-6 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

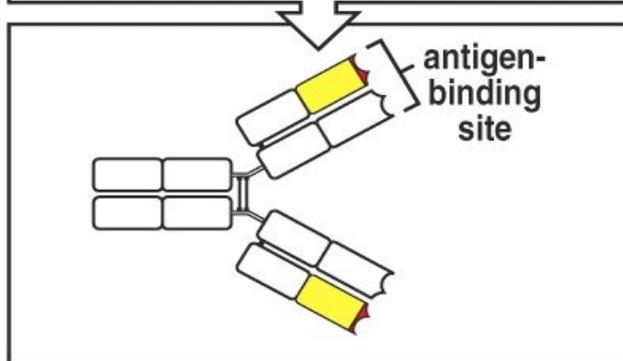
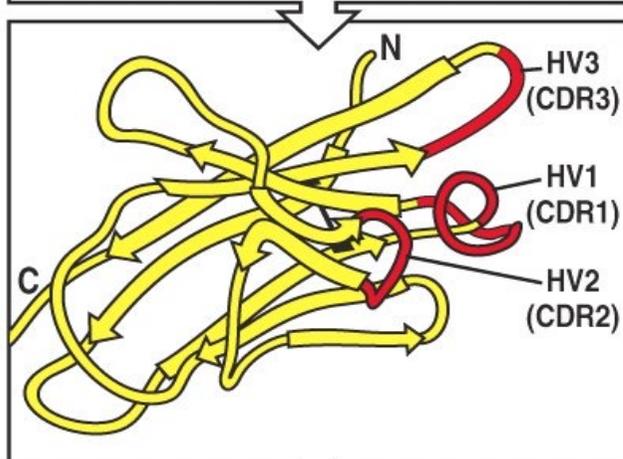
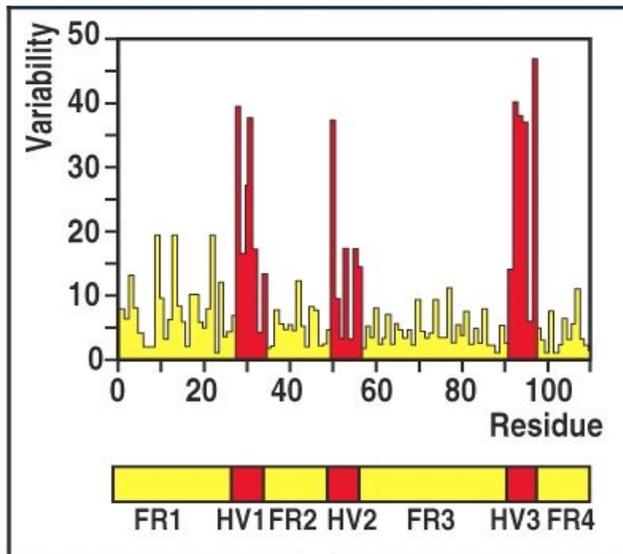


Ogni dominio V contiene
tre regioni ipervariabili chiamate **CDR**

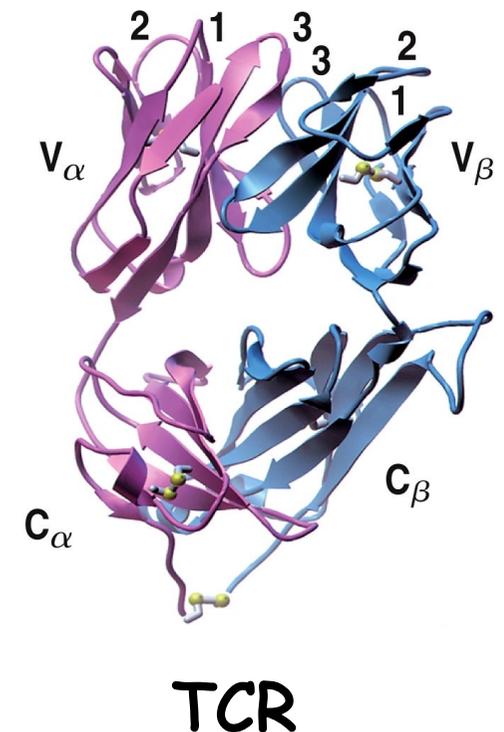
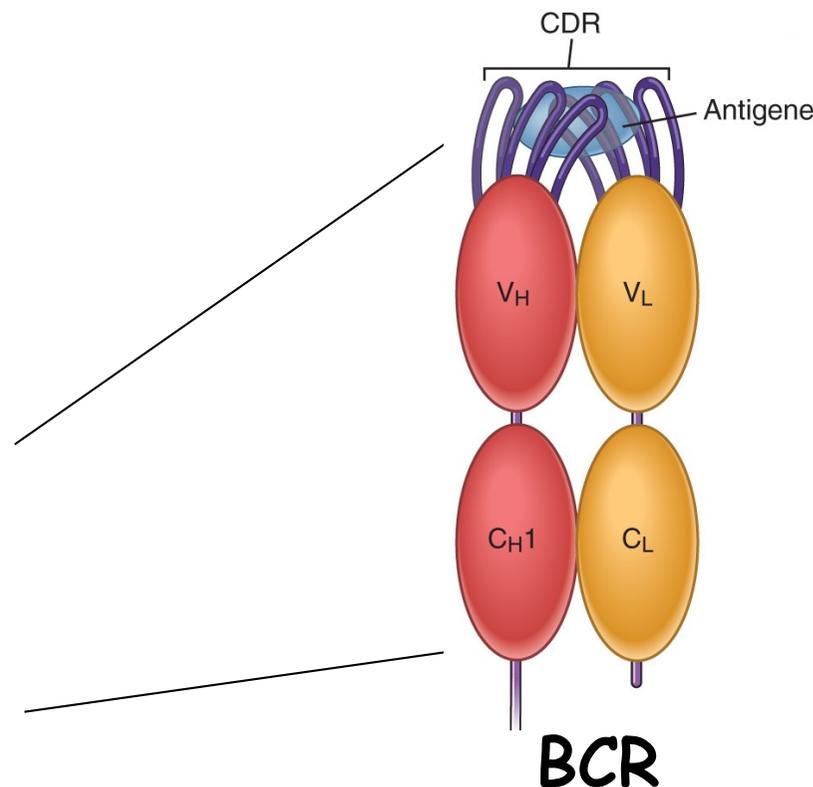


CDR

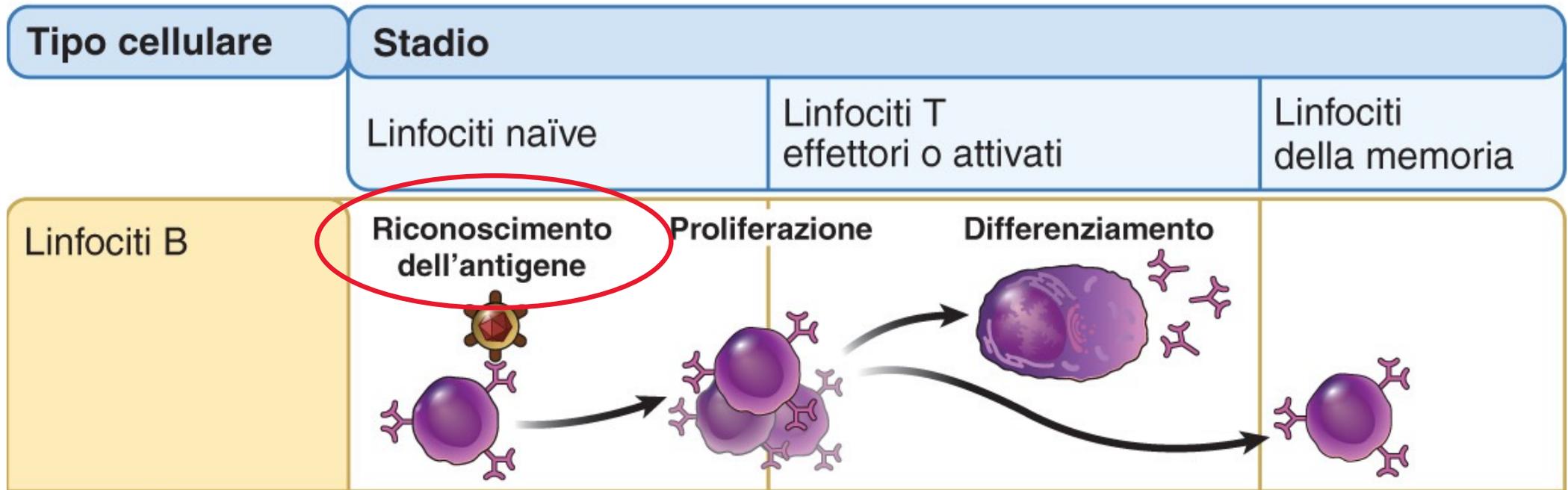
Regioni Determinanti la Complementarietà



A livello di ogni dominio **V** le tre regioni **CDR** si dispongono in modo da formare il sito combinatorio per l'antigene

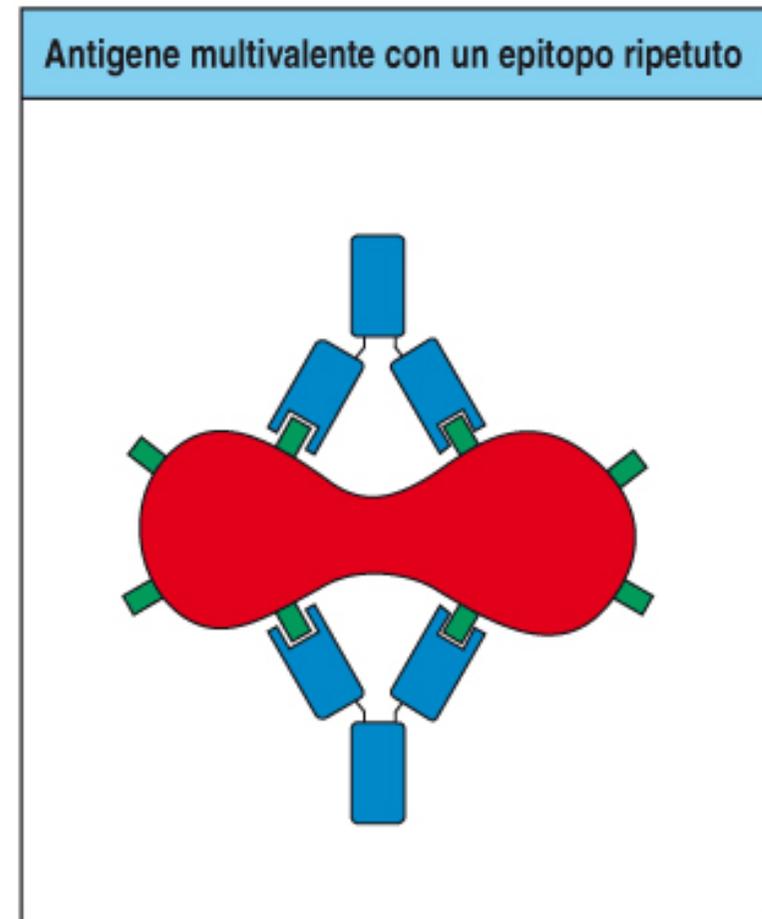
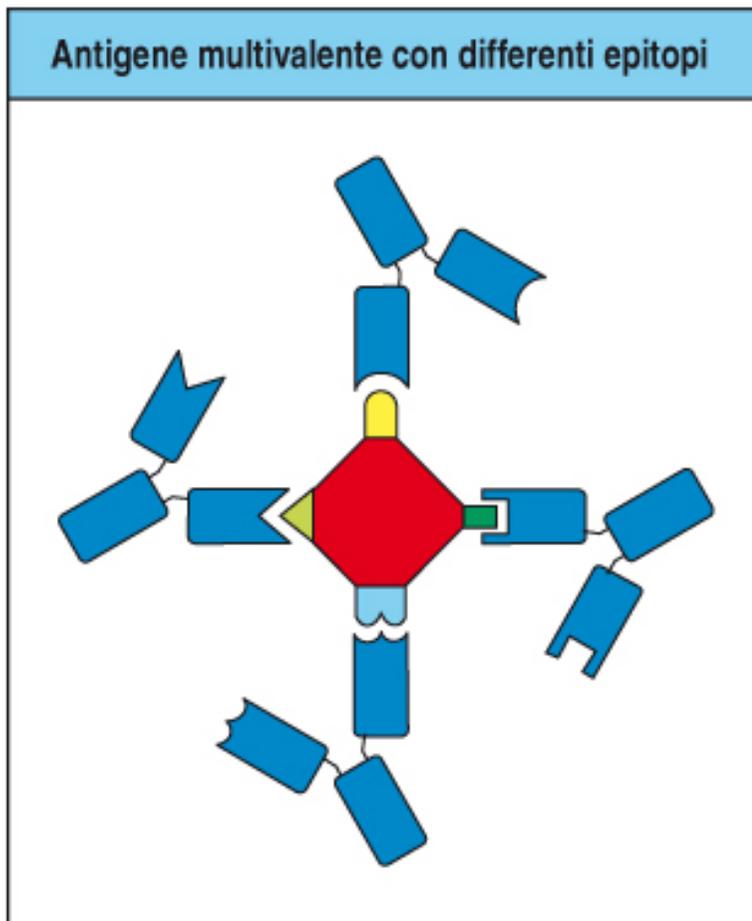


I linfociti B riconoscono l'antigene nella sua conformazione nativa

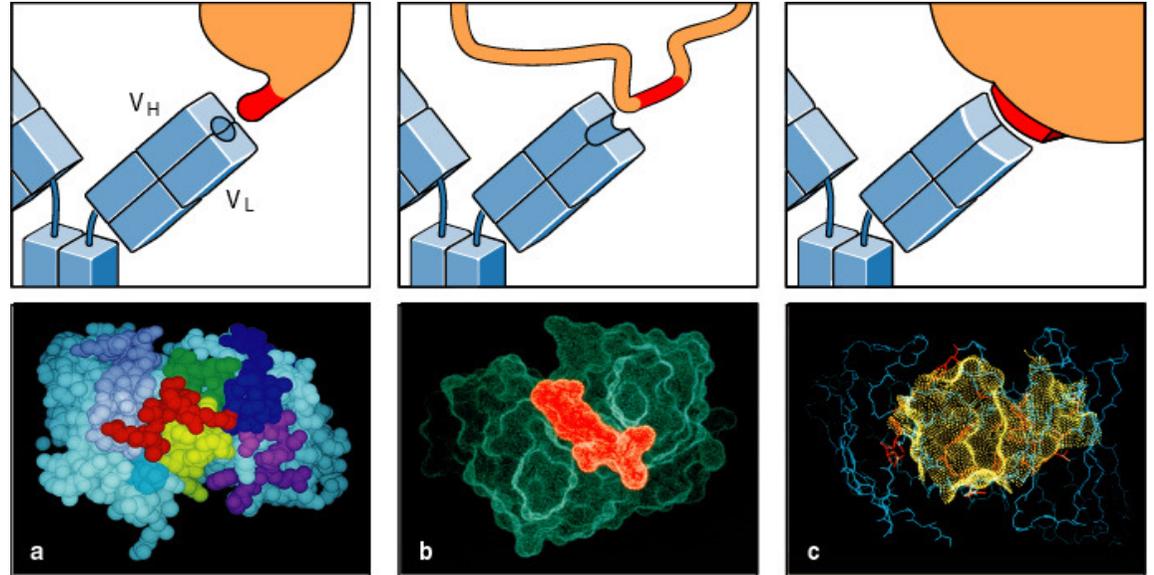
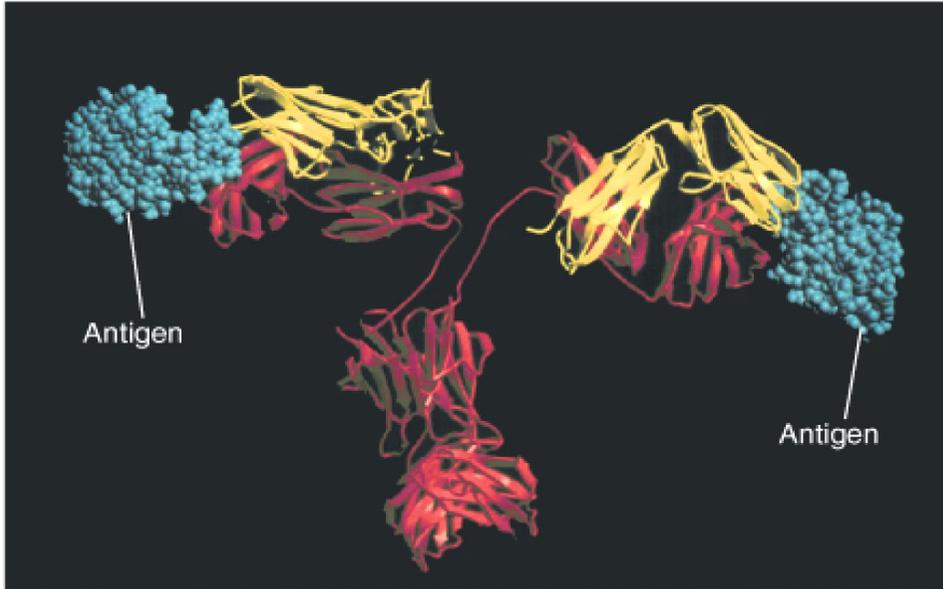


Gli anticorpi si legano a porzioni molecolari dell'antigene chiamate determinanti antigenici o **EPITOPI**

Spesso l'antigene è un mosaico di determinanti antigenici = **antigene multivalente**



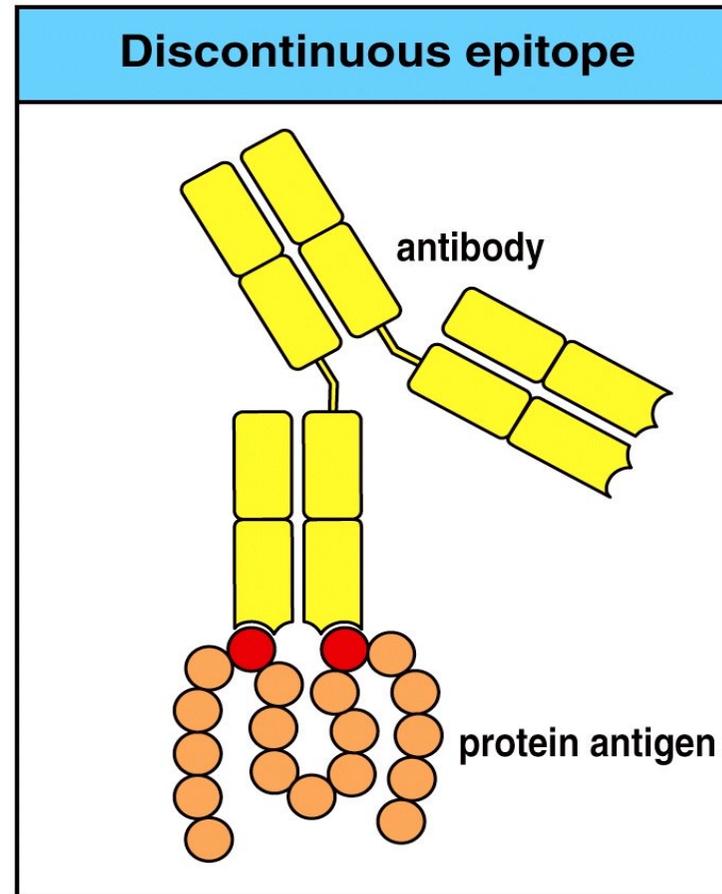
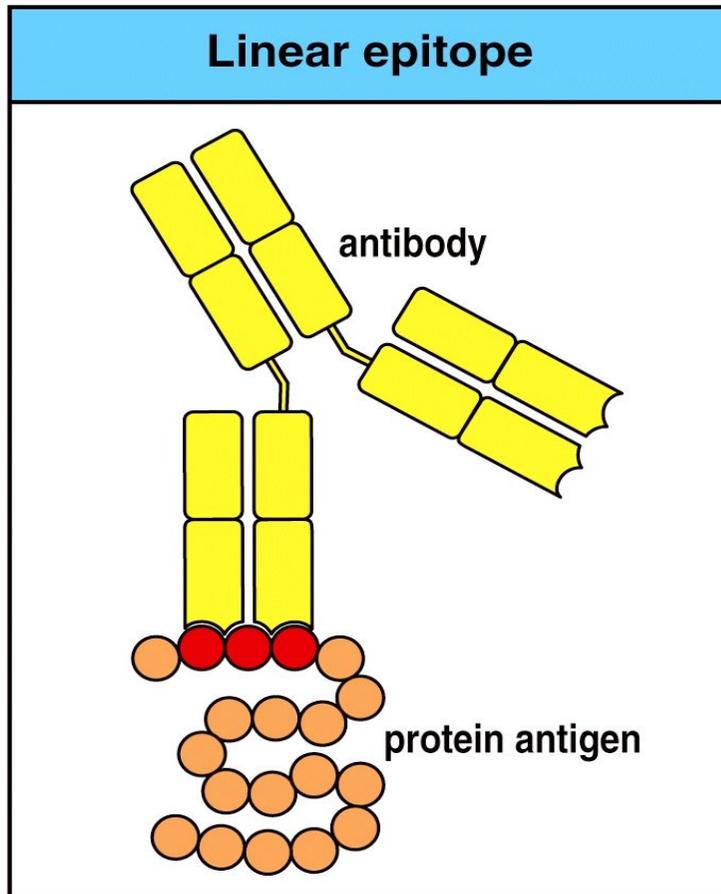
Gli epitopi posso avere forme e dimensioni diverse ...



... e il legame avviene sempre mediante forze non covalenti

Noncovalent forces	Origin	
Electrostatic forces	Attraction between opposite charges	$-\text{NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$
Hydrogen bonds	Hydrogen shared between electronegative atoms (N, O)	$\begin{array}{c} \diagup \text{N} - \text{H} \cdots \text{O} = \text{C} \diagdown \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
Van der Waals forces	Fluctuations in electron clouds around molecules polarize neighboring atoms oppositely	$\begin{array}{c} \delta^+ \quad \delta^- \\ \delta^- \quad \delta^+ \end{array}$
Hydrophobic forces	Hydrophobic groups interact unfavorably with water and tend to pack together to exclude water molecules. The attraction also involves van der Waals forces	$\begin{array}{c} \text{H} > \text{O} & \text{H} & \text{H} \\ & \delta^+ & \text{O} \\ & \delta^- & \delta^- \\ & \delta^- & \delta^+ \\ & \text{O} & \\ & \text{H} < \text{H} \end{array}$

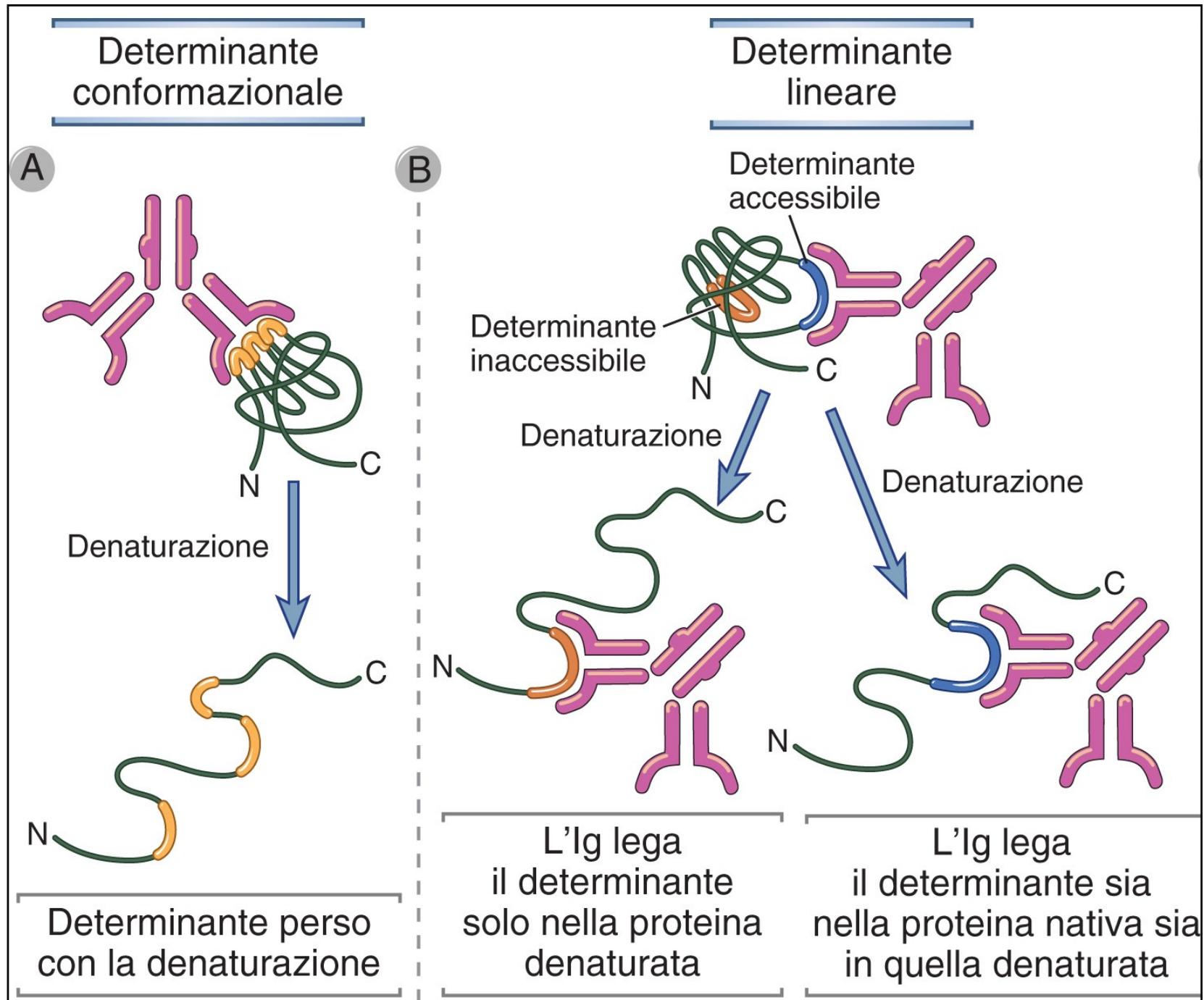
Gli epitopi possono essere lineari (continui) o conformazionali (discontinui)



Un epitopo lineare è formato da aminoacidi contigui, ossia disposti uno dopo l'altro nella struttura primaria.

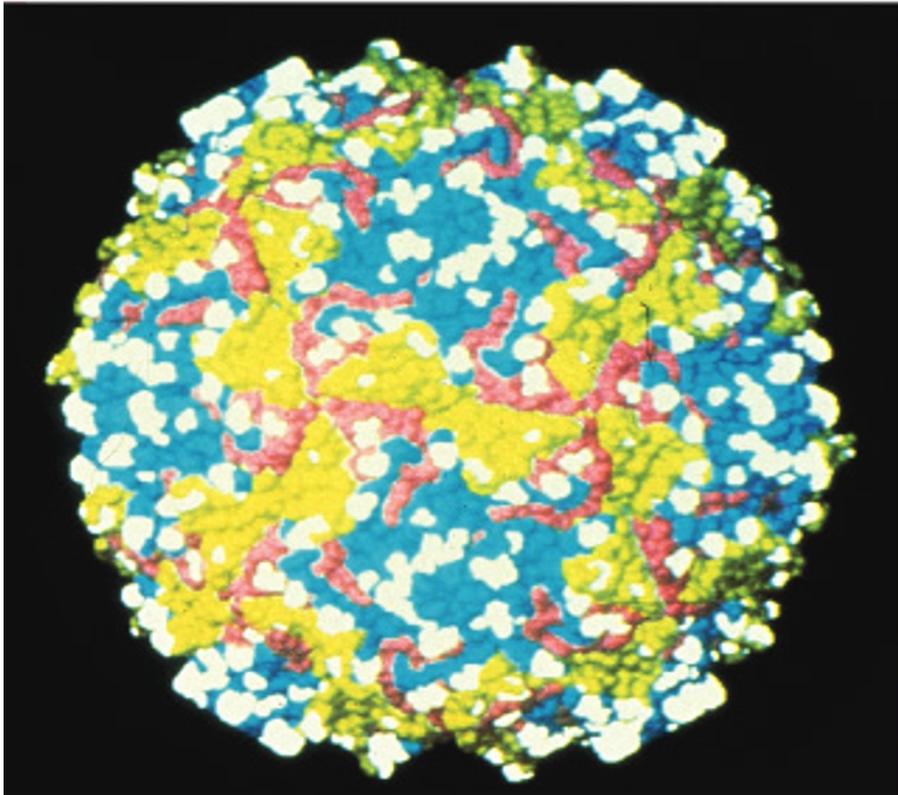
Un epitopo discontinuo è formato da residui aminoacidici che diventano contigui nella struttura terziaria.

Natura dei determinanti antigenici



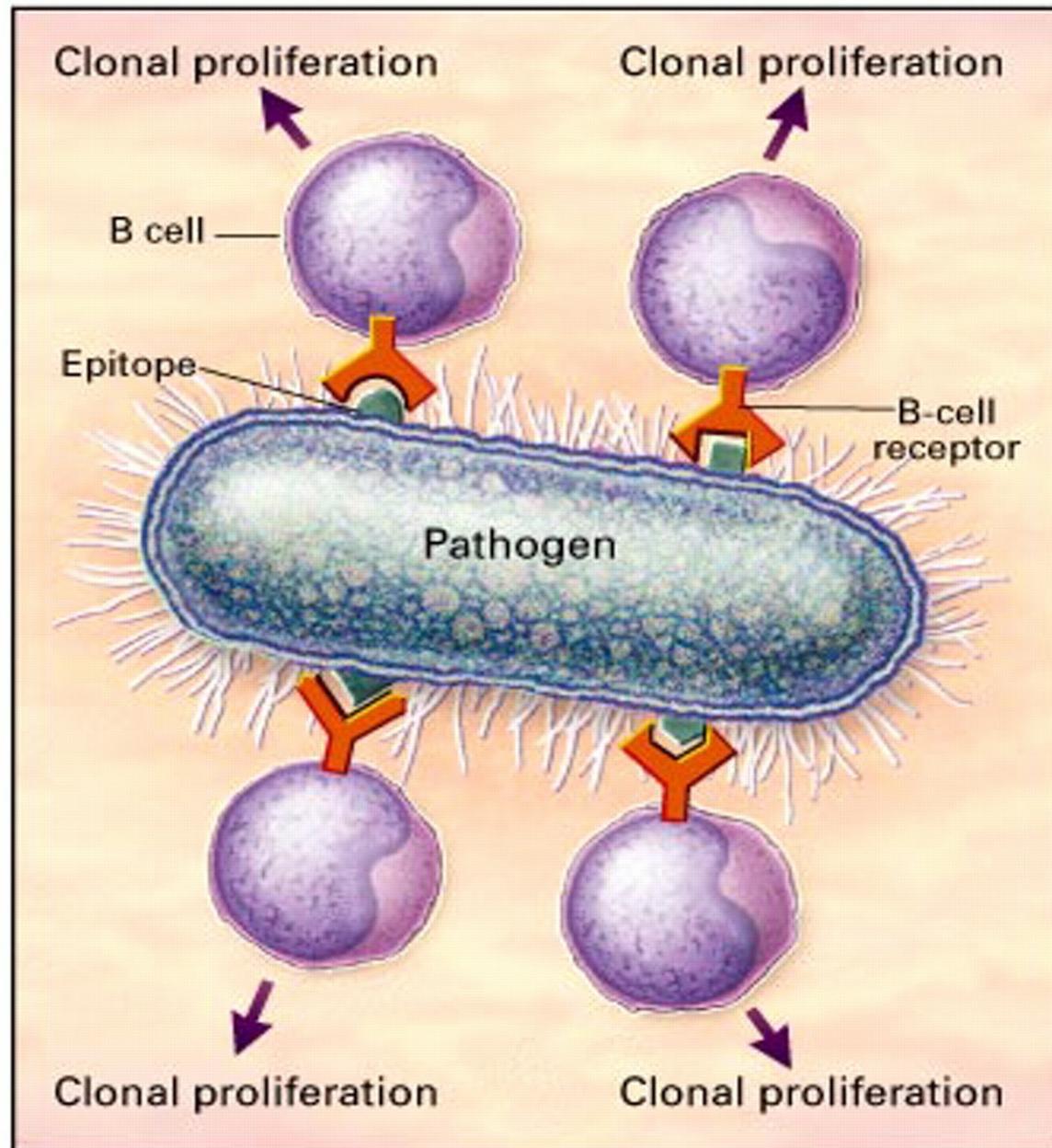
**Gli epitopi riconosciuti dagli anticorpi sono
idrofilici e accessibili**

Poliovirus

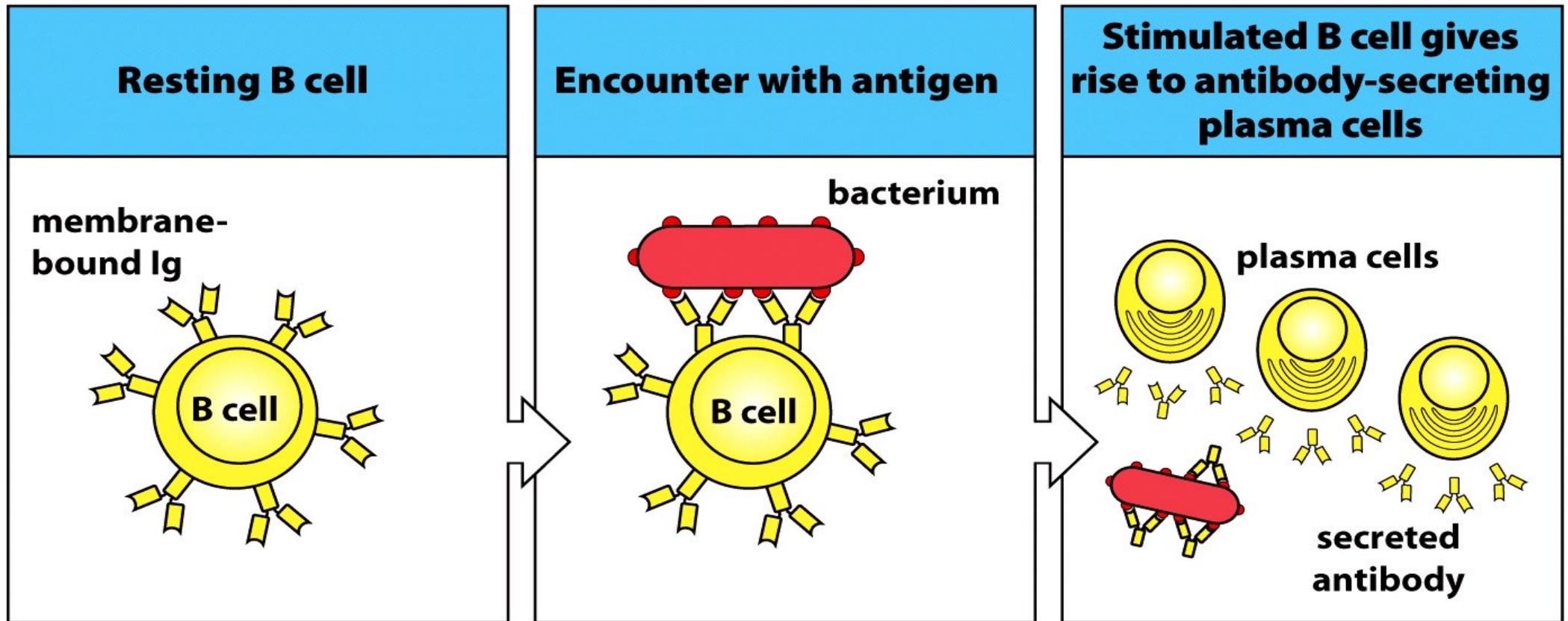


L'involucro virale è formato da diverse proteine strutturali (gialle, blu e rosa).
In bianco sono evidenziati gli epitopi antigenici.

Epitopi antigenici diversi esposti sulla superficie di uno stesso patogeno attiveranno linfociti B diversi

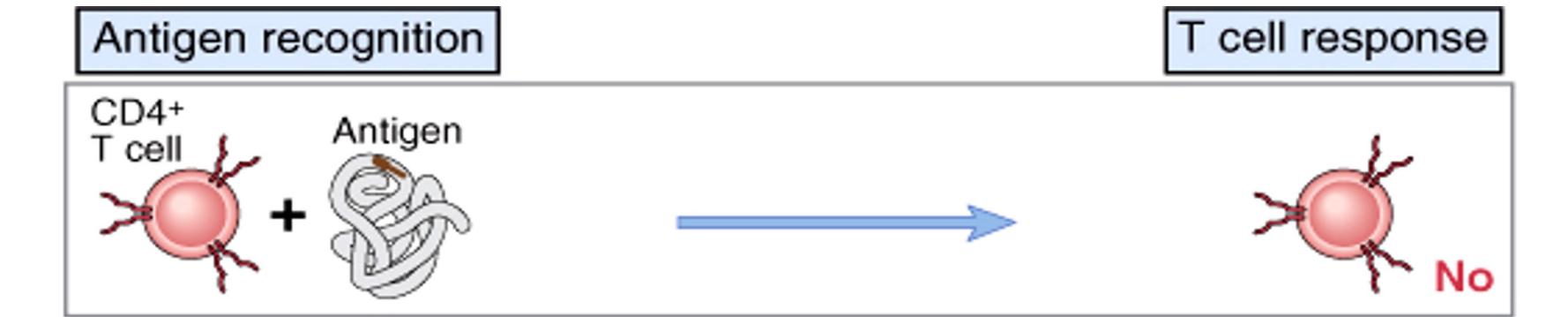


Il linfocita B in seguito al riconoscimento di un epitopo antigenico si attiva e differenzia in plasmacellula ...

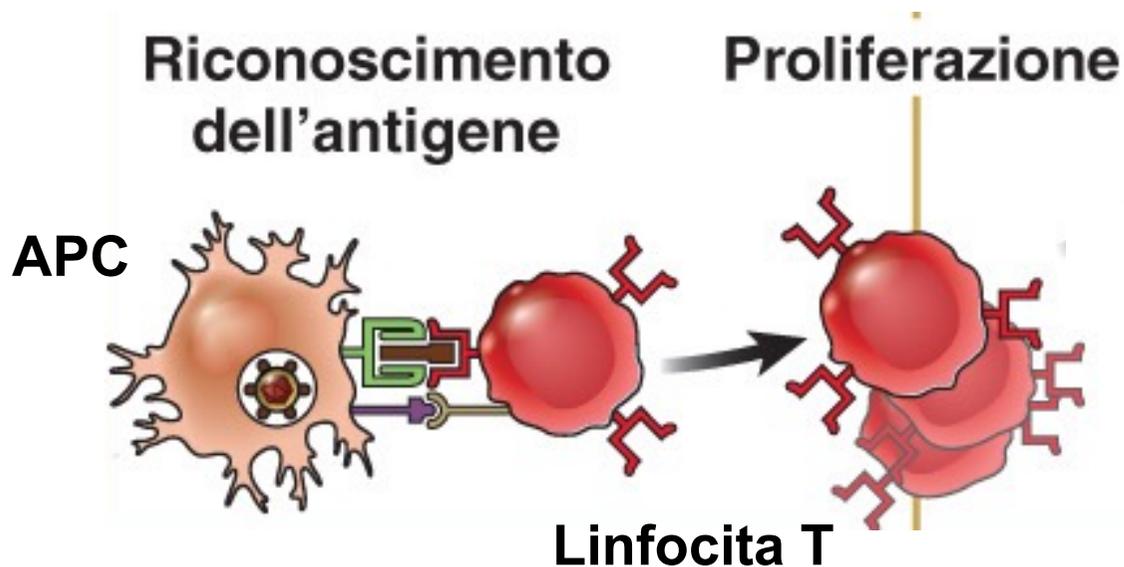


... che rilascerà anticorpi specifici per lo stesso epitopo

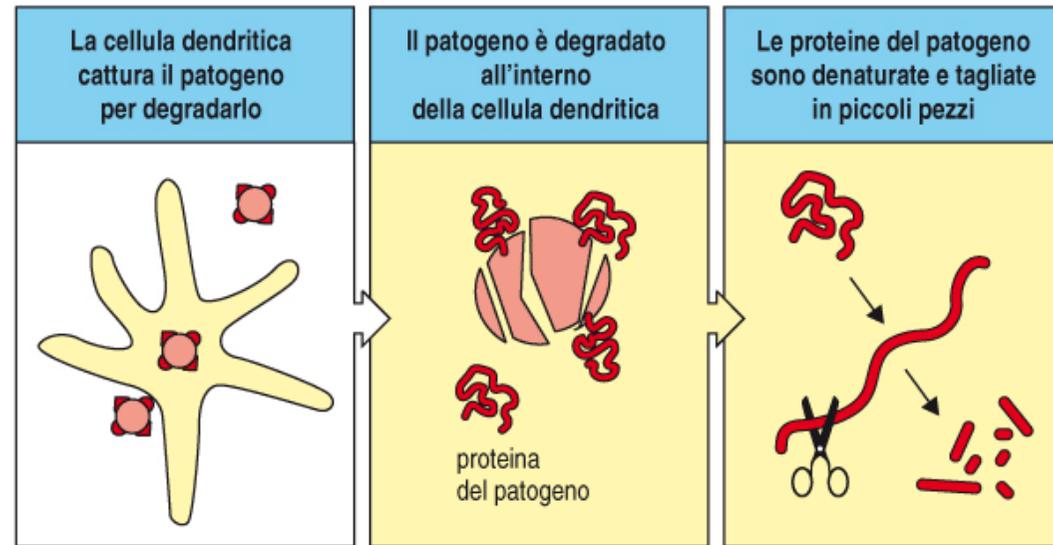
Il linfocita T riconosce solo antigeni proteici ma non nella loro conformazione nativa.....



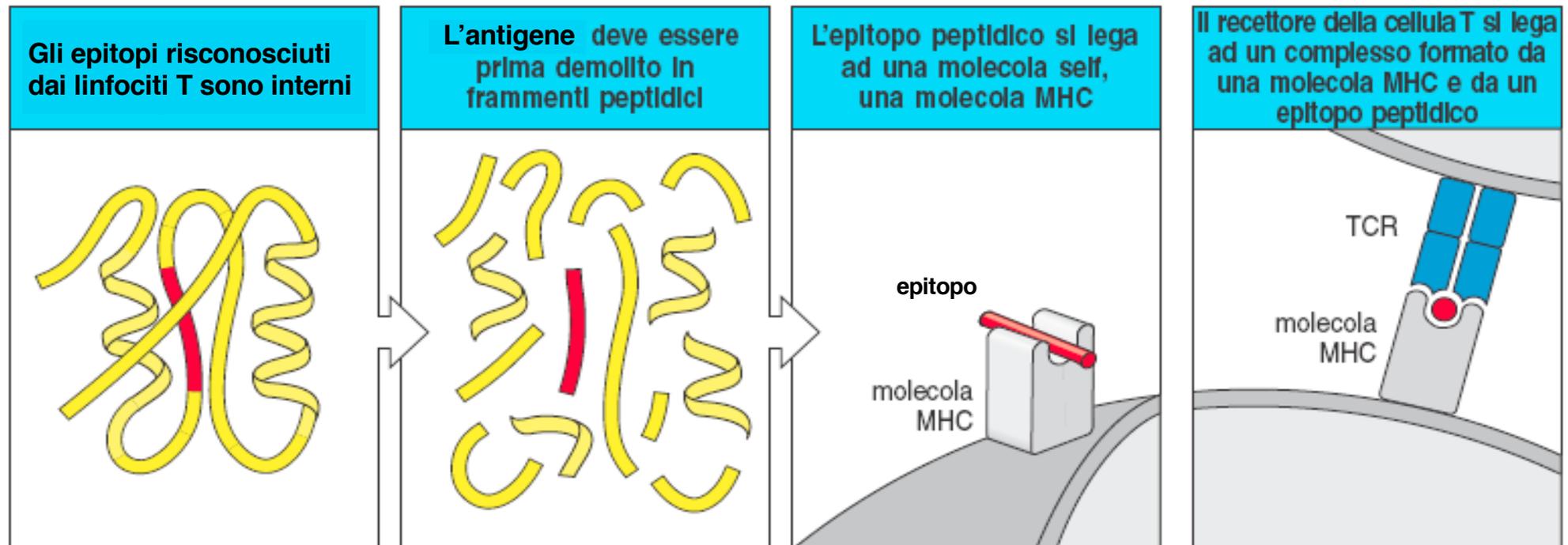
... ha bisogno dell'intervento di Cellule Presentanti l'Antigene!



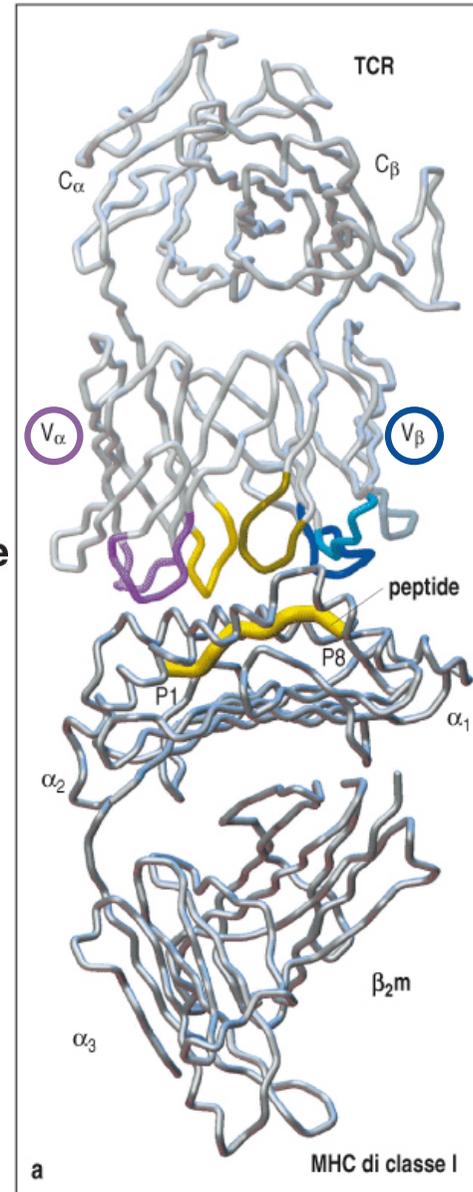
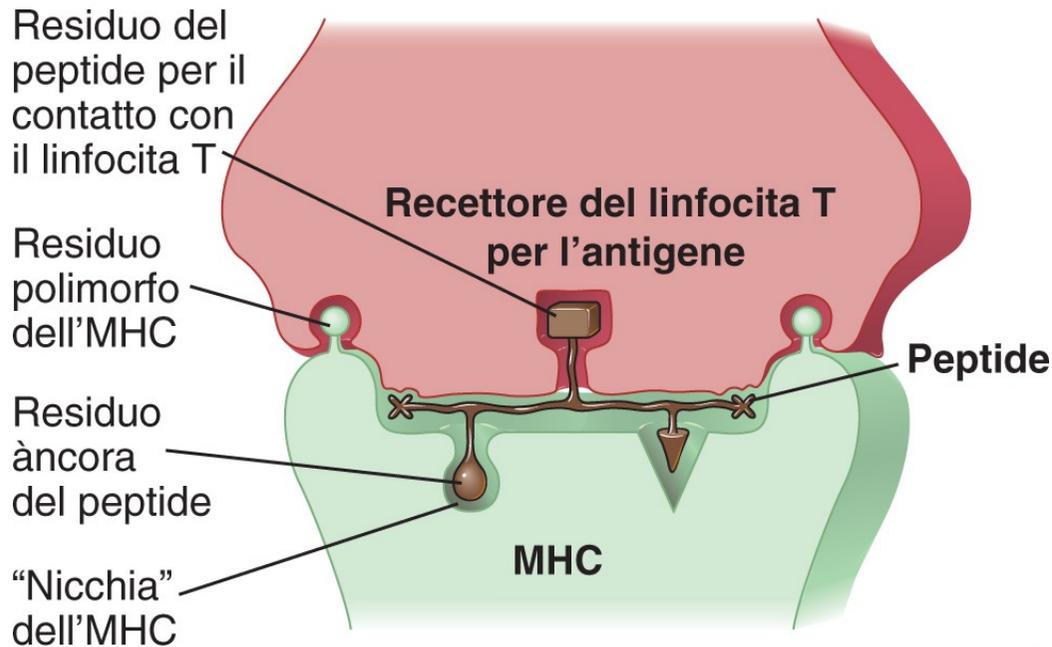
Le APC degradano l'antigene proteico in piccoli peptidi ...



... rendendo accessibili ai linfociti T epitopi lineari interni



Il TCR riconosce sia l'epitopo presente nel peptide che porzioni della molecola MHC



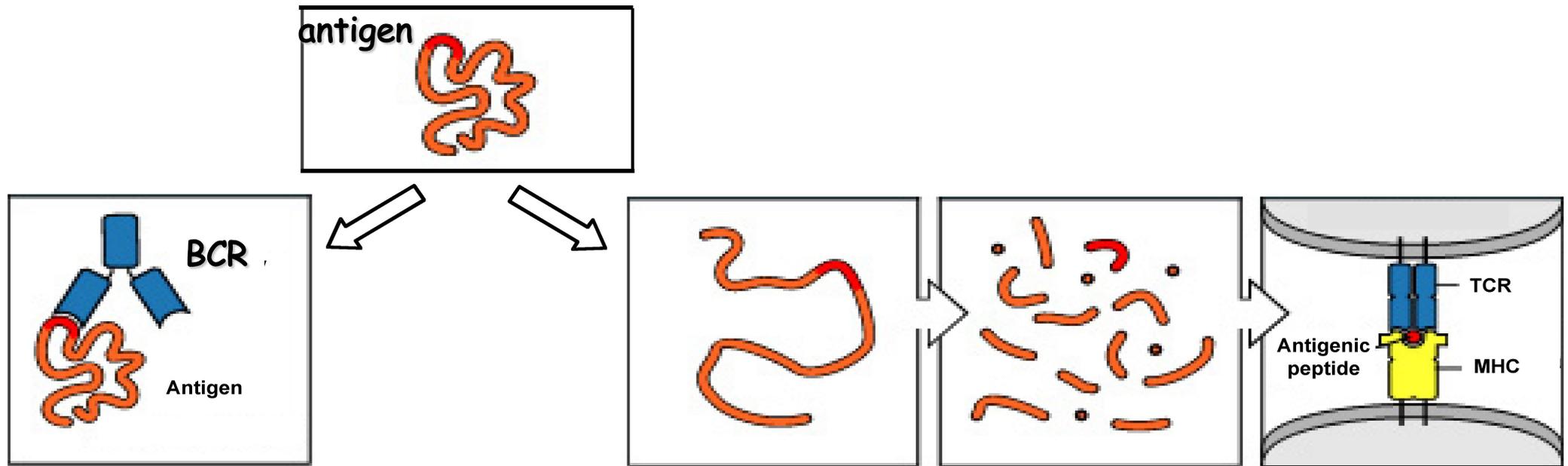
Le regioni CDR delle catene del TCR sono colorate: CDR1 e 2 della catena alfa in lilla/viola; CDR1 e 2 della catena beta in blu/azzurro; CDR3 giallo chiaro e scuro.

Il peptide è colorato in giallo e sono evidenziati i residui àncora (P1 e P8).

Le regioni CDR3 di entrambe le catene formano la parte centrale del sito di legame ed interagiscono con il peptide.

Le regioni CDR1 e 2 formano i margini del sito di legame e prendono contatto con la molecola MHC.

I linfociti B e T riconoscono l'antigene con modalità diverse!



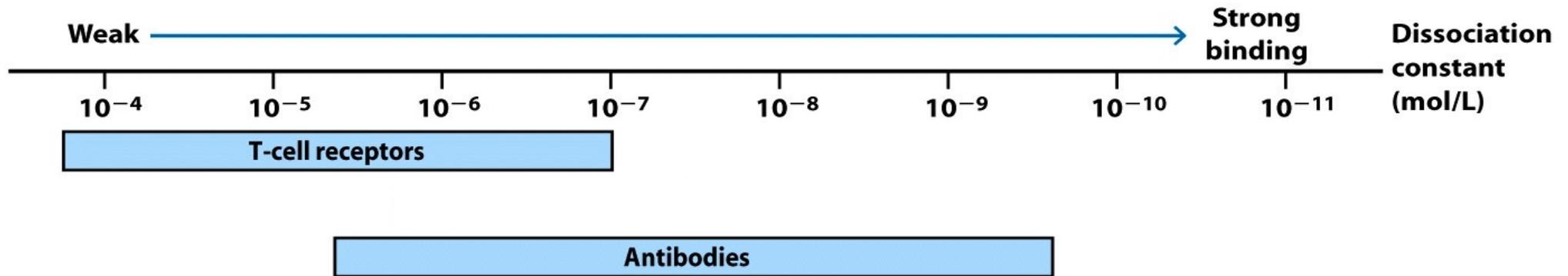
B

- Antigeni nativi, solubili
- Epitopi lineari o conformazionali
Idrofilici, accessibili
- Proteine, polisaccaridi
- Affinità' = 10^{-7} - 10^{-11} M

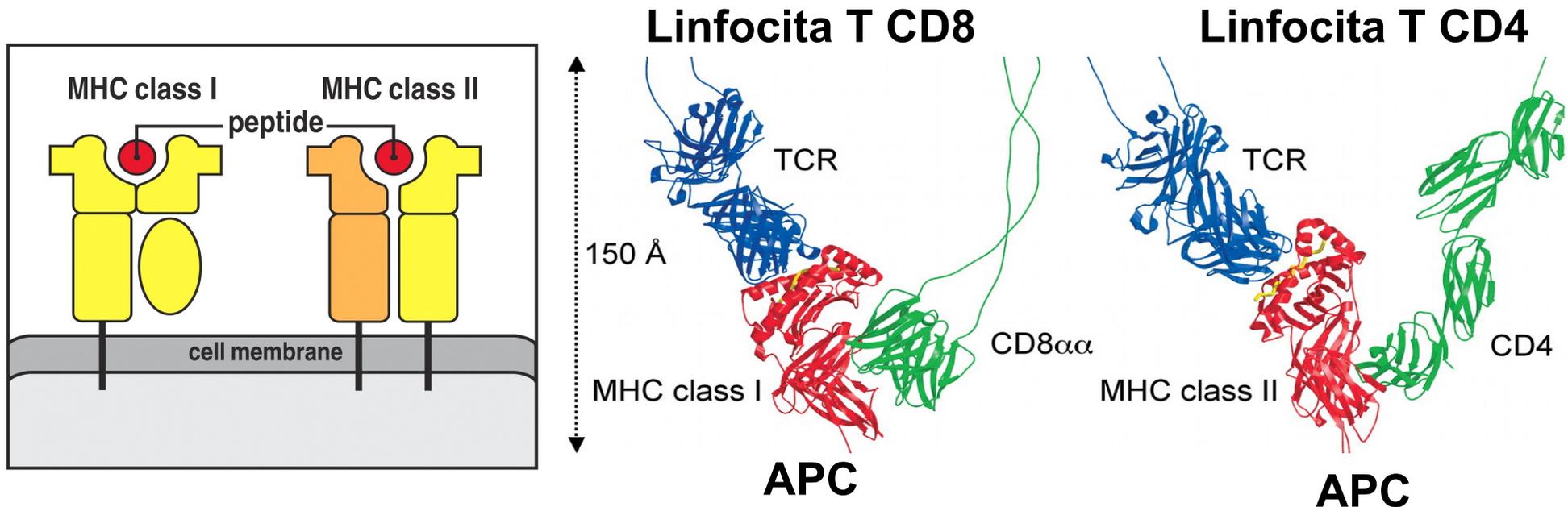
T

- Antigeni proteici, denaturati e associati a MHC. Richiede la processazione dell'antigene
- Epitopi lineari
- Proteine
- Affinità' = 10^{-5} - 10^{-7} M

Il legame tra TCR ed il complesso MHC/peptide è un legame a bassa affinità ..



... ma l'intervento dei co-recettori ne aumenta la forza:
il CD8 lega MHC di classe I mentre il CD4 lega MHC di classe II

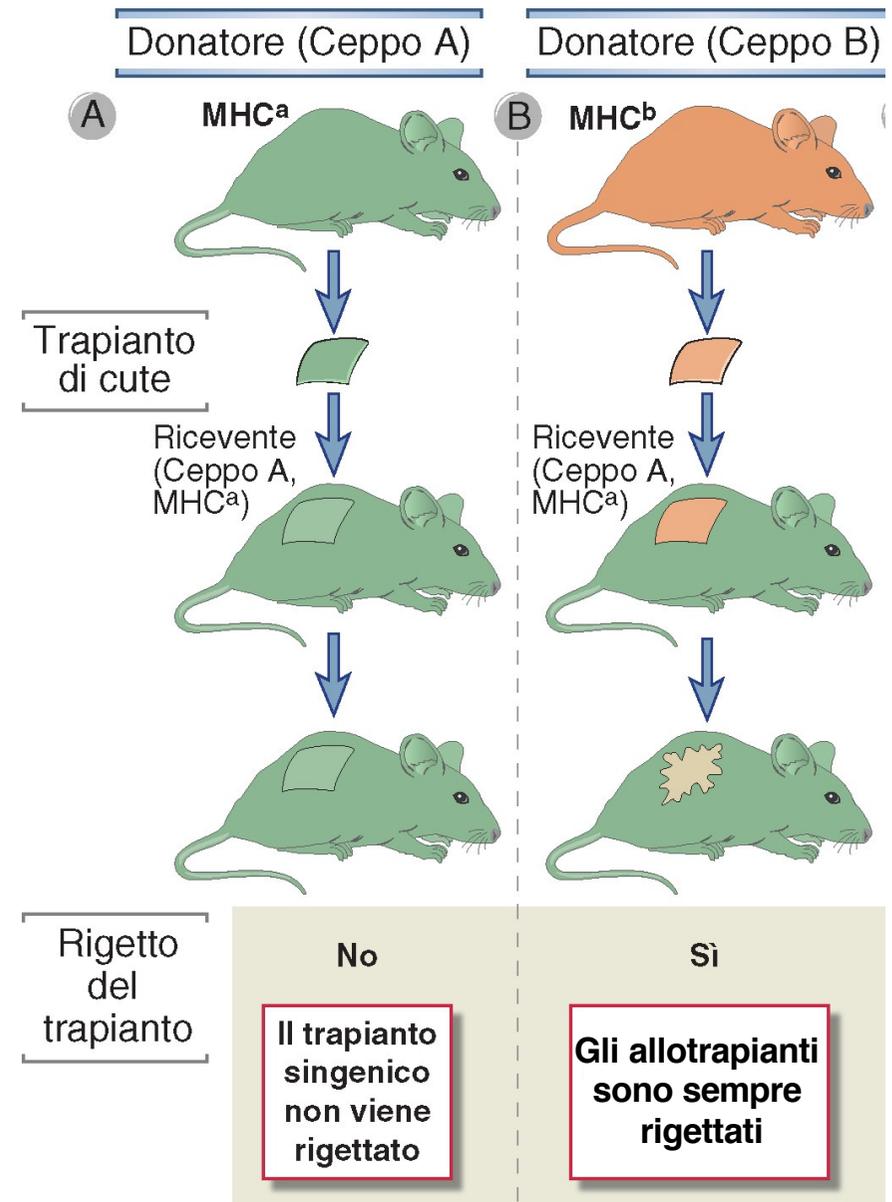
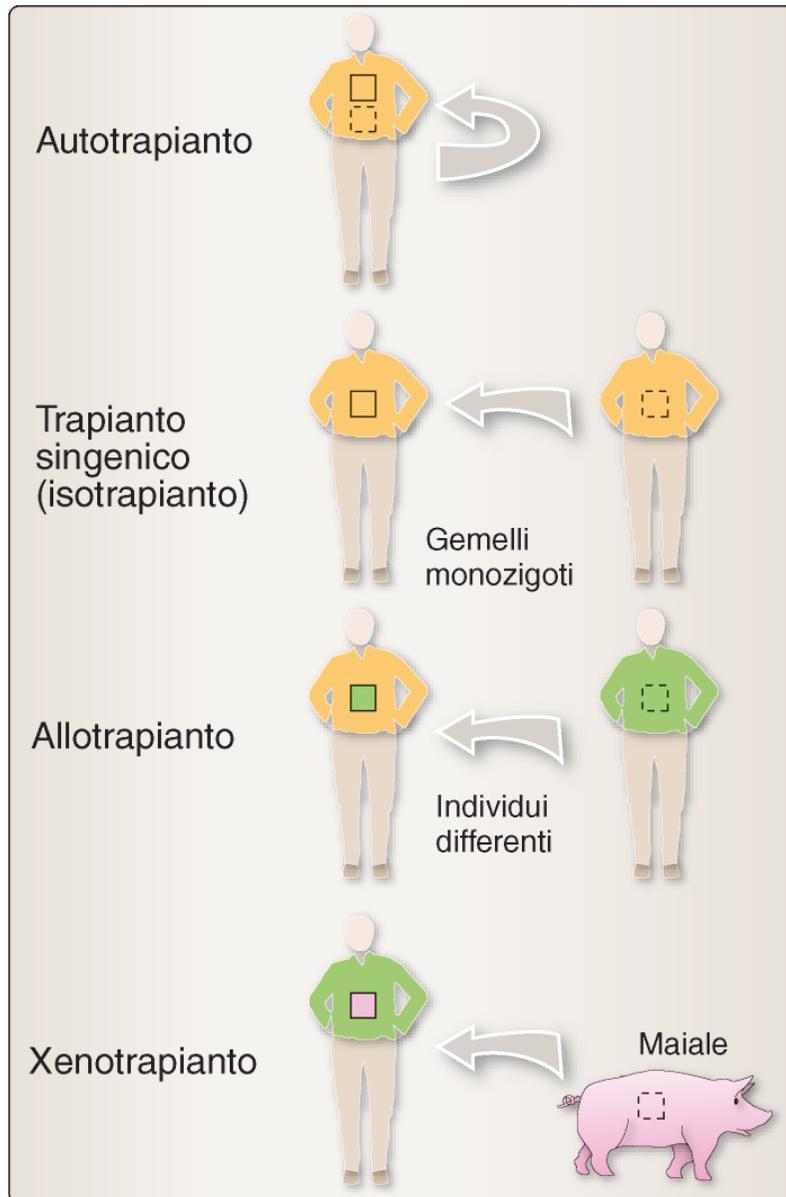


MHC

COMPLESSO MAGGIORE DI ISTOCOMPATIBILITA'

- E' costituito da glicoproteine espresse sulla superficie cellulare che conferiscono un'identità immunologica.
- È chiamato così perché storicamente è stato associato ai rigetti di trapianto.

Il rigetto di trapianto tra individui geneticamente non correlati è causato dagli antigeni maggiori di istocompatibilità!

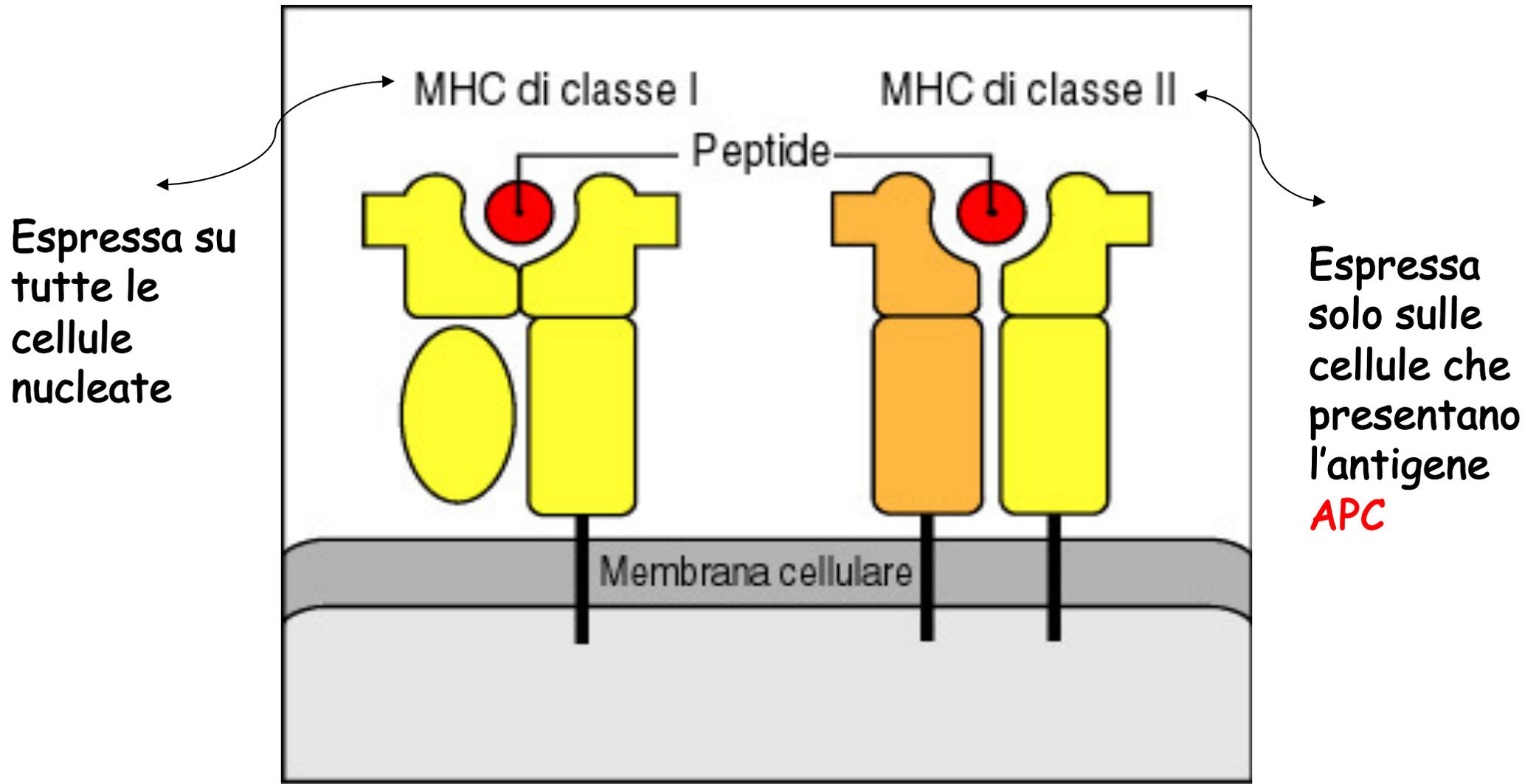


MHC

COMPLESSO MAGGIORE DI ISTOCOMPATIBILITA'

- E' costituito da glicoproteine espresse sulla superficie cellulare che conferiscono un'identità immunologica.
- È chiamato così perché storicamente è stato associato ai rigetti di trapianto.
- L'MHC ha il compito di segnalare ai linfociti T la presenza all'interno della cellula di antigeni alterati o estranei.

Le cellule esprimono due classi di molecole MHC....



... entrambe espresse sulla membrana delle **APC**

Antigen Presenting Cells

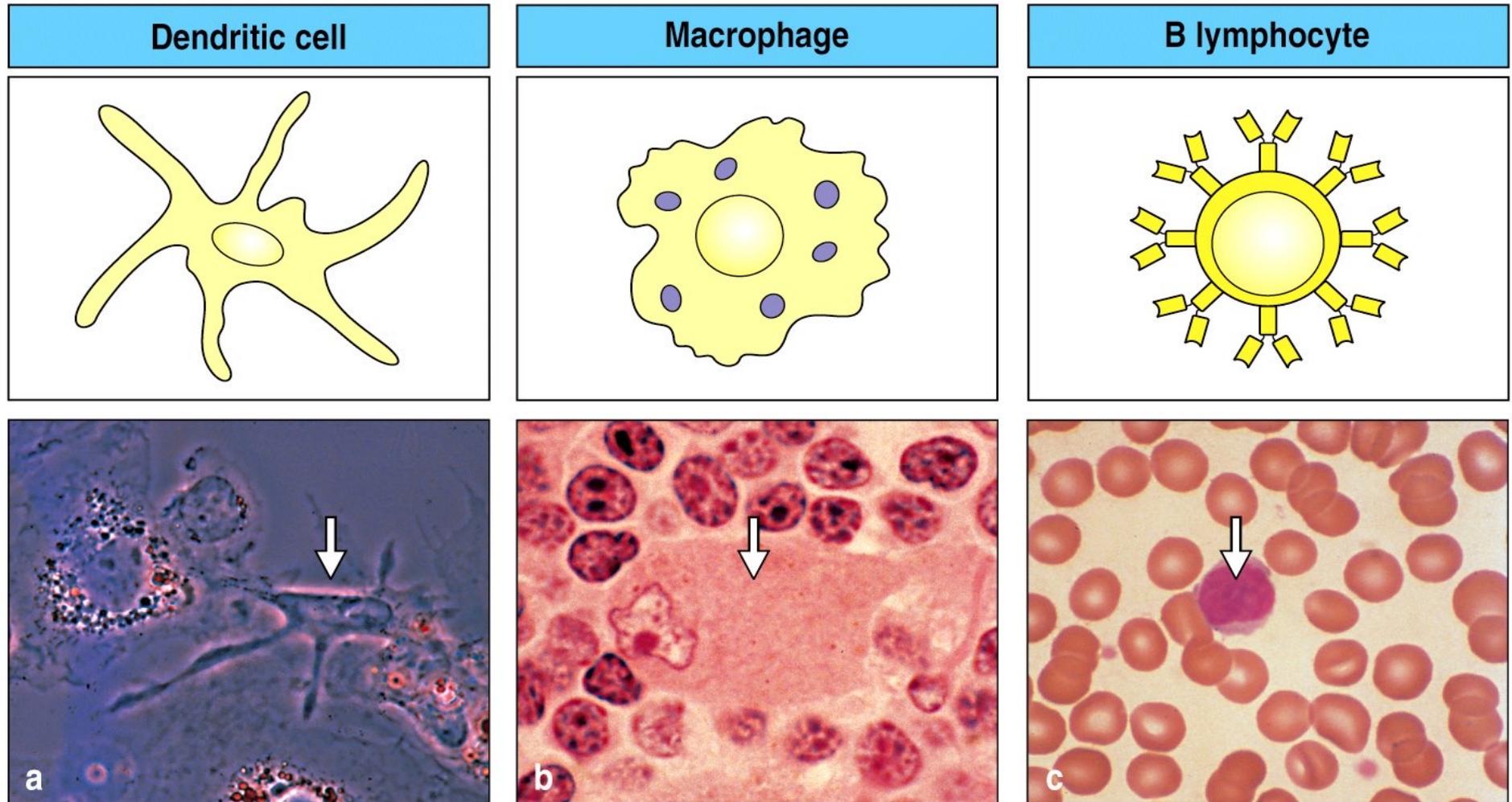
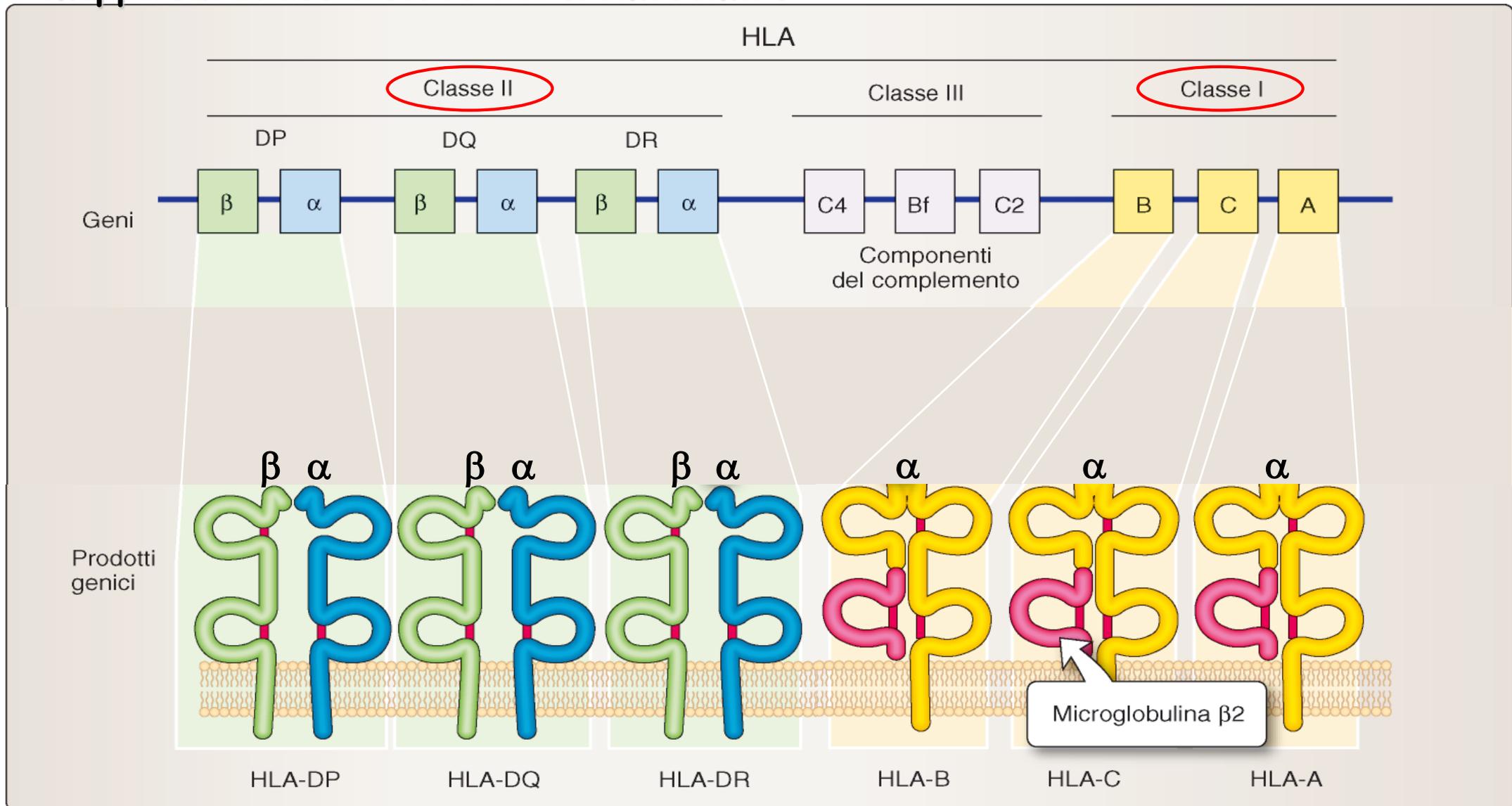


Figure 1-22 part 1 of 3 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

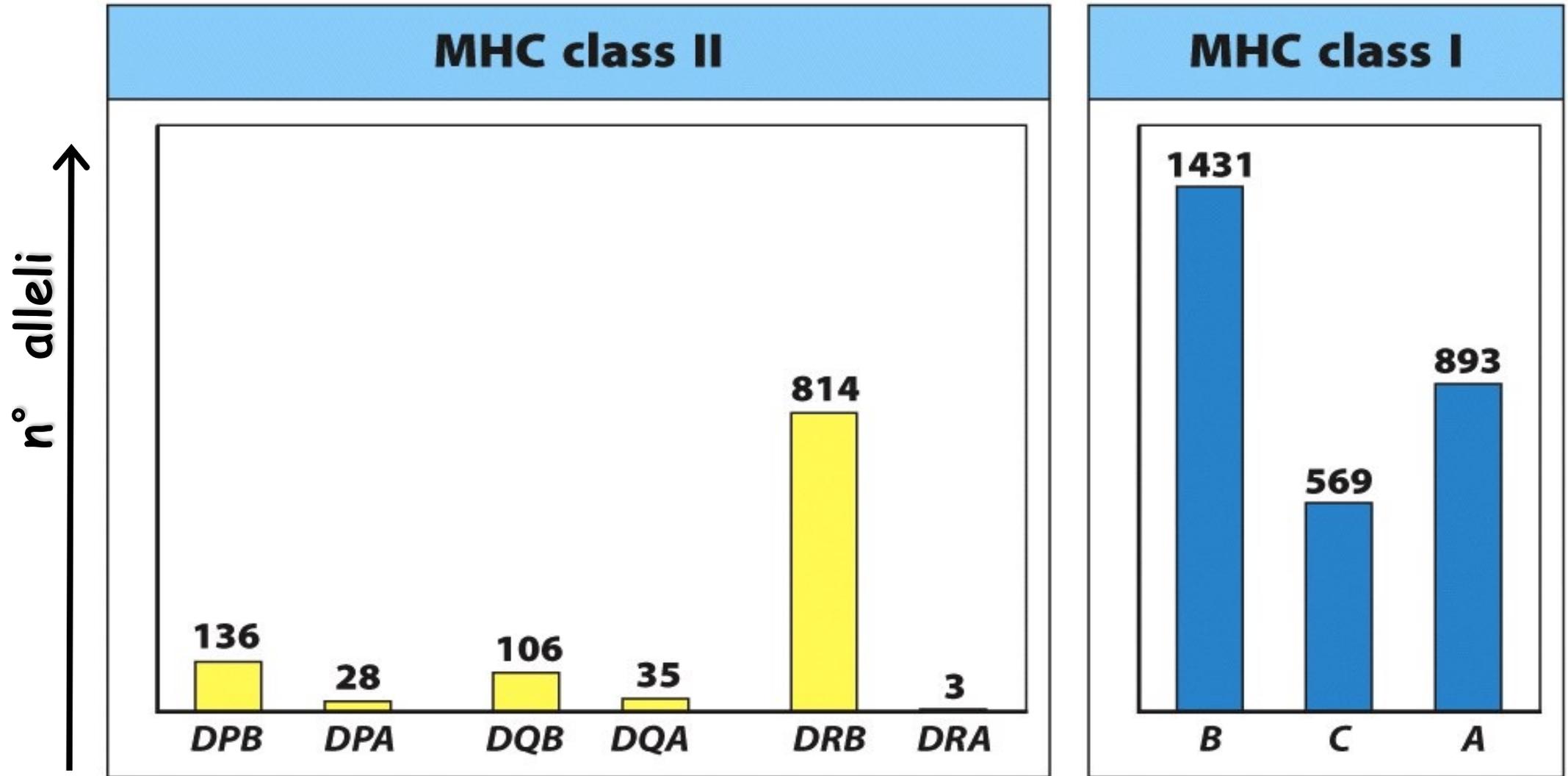
Cellule dendritiche, macrofagi e linfociti B sono **APC professionali**, ossia sono cellule specializzate nel presentare gli antigeni ai linfociti T

Organizzazione del locus MHC nell'uomo

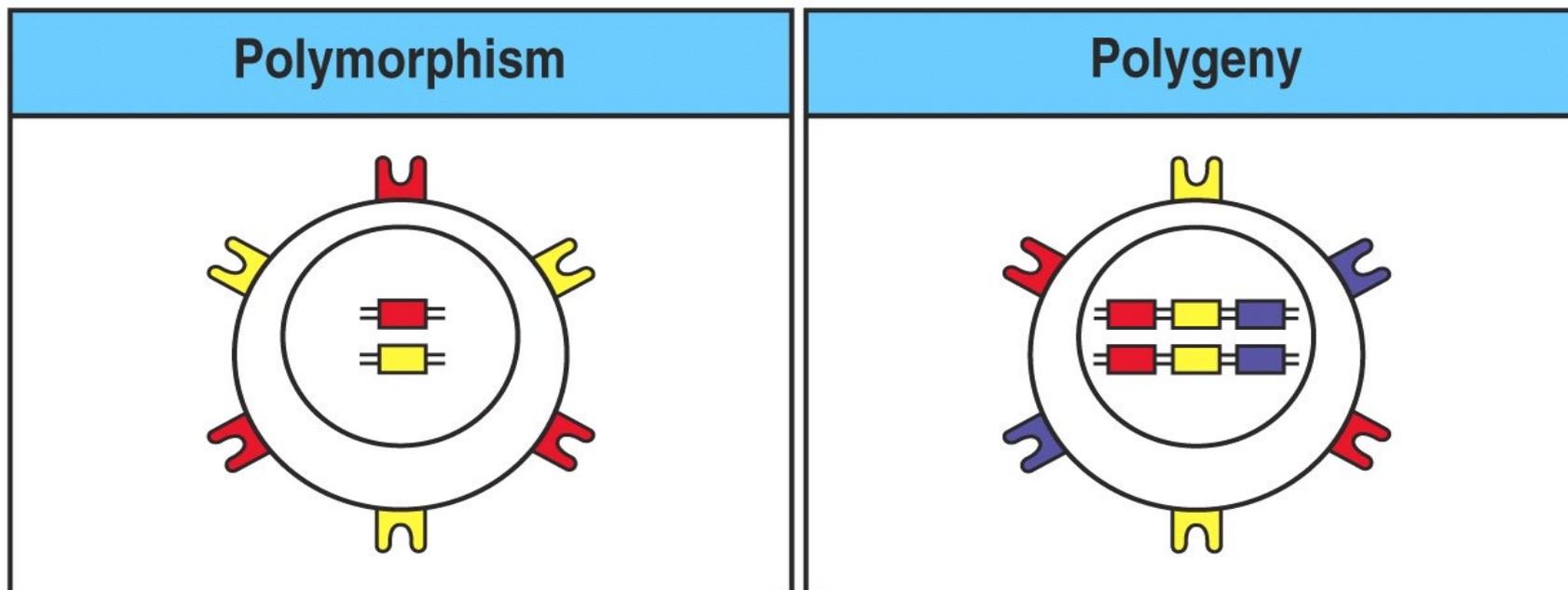
Il complesso MHC umano è anche detto **HLA** = **H**uman **L**eukocyte **A**ntigens e mappa sul braccio corto del cromosoma 6



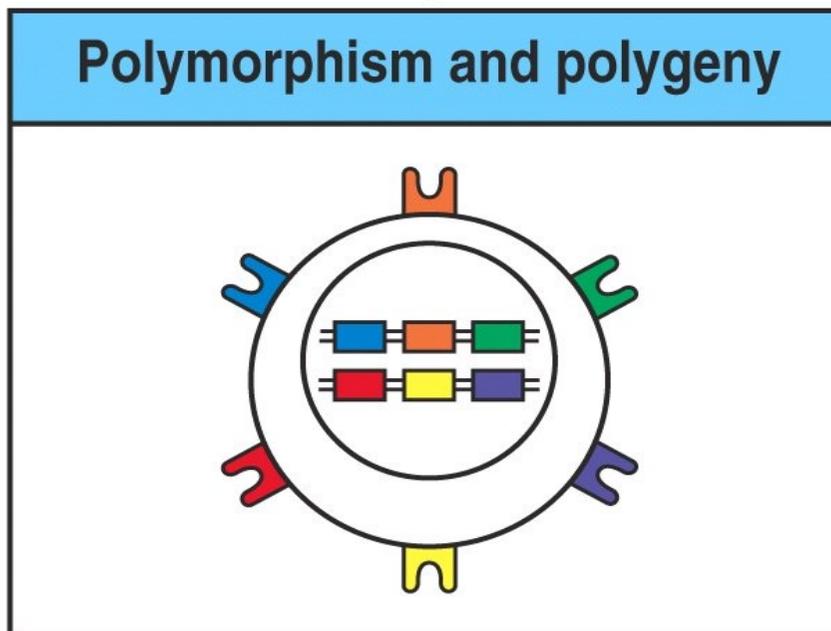
I geni del locus HLA sono altamente polimorfici



L'azione combinata di poligenia e polimorfismo determina un'espressione eterogenea di molecole MHC su una stessa cellula



...inoltre
l'espressione
degli alleli HLA
è **codominante!**

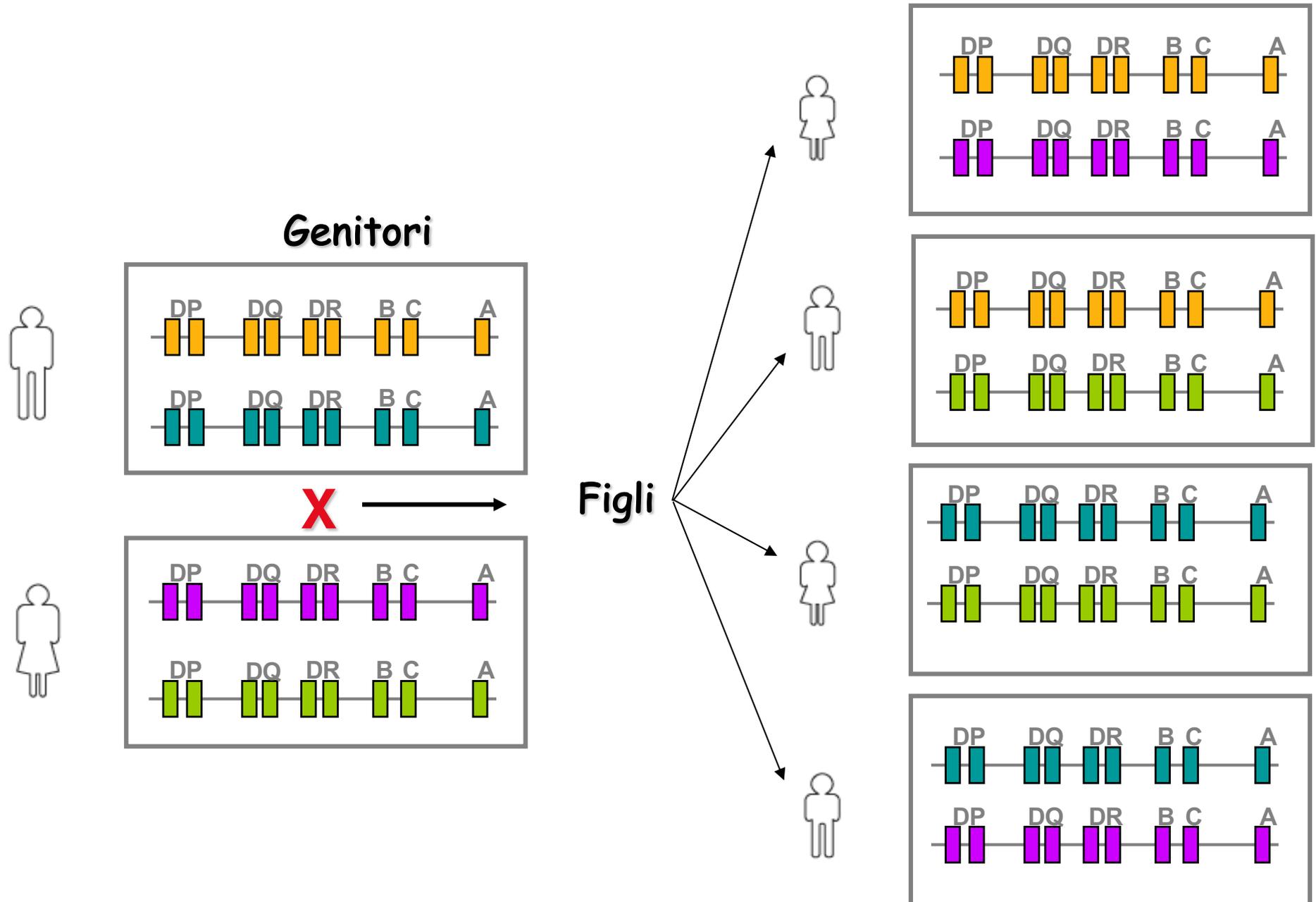


Ogni cellula esprime un massimo di **6** molecole MHC di classe I differenti

$$3 \text{ geni} \times 2 \text{ alleli} = 6$$

(per la classe II il numero è maggiore!)

- ❖ I geni MHC sono strettamente associati ed in genere ereditati in blocco
- ❖ La combinazione degli alleli MHC su ogni cromosoma è definita **APLOTIPO**



Struttura delle molecole MHC

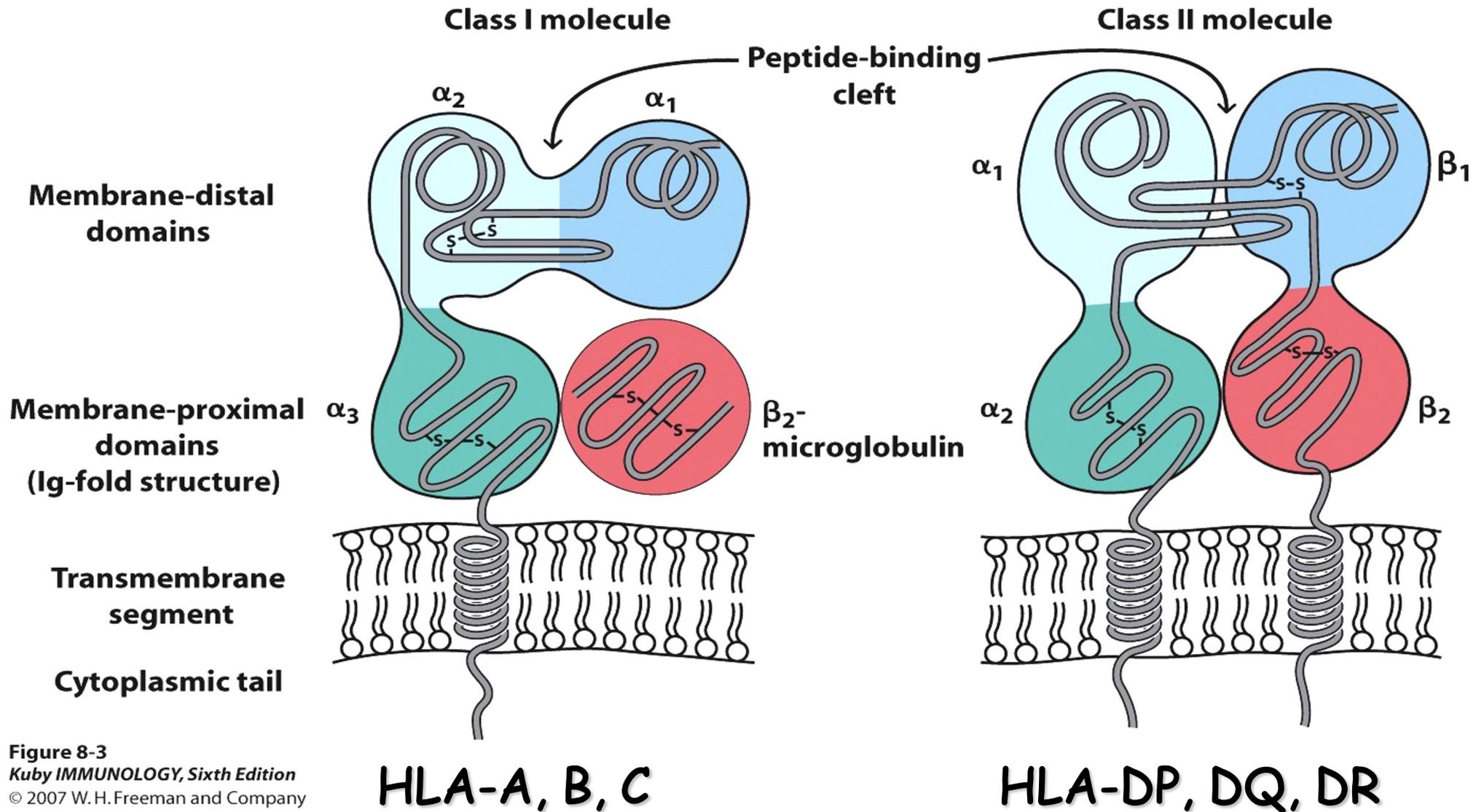


Figure 8-3
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

- 2 catene polipeptidiche α e β
- associate non covalentemente
- con strutture secondarie costituite da nastri β e α -eliche.

I residui polimorfici sono localizzati nella zona che forma la tasca

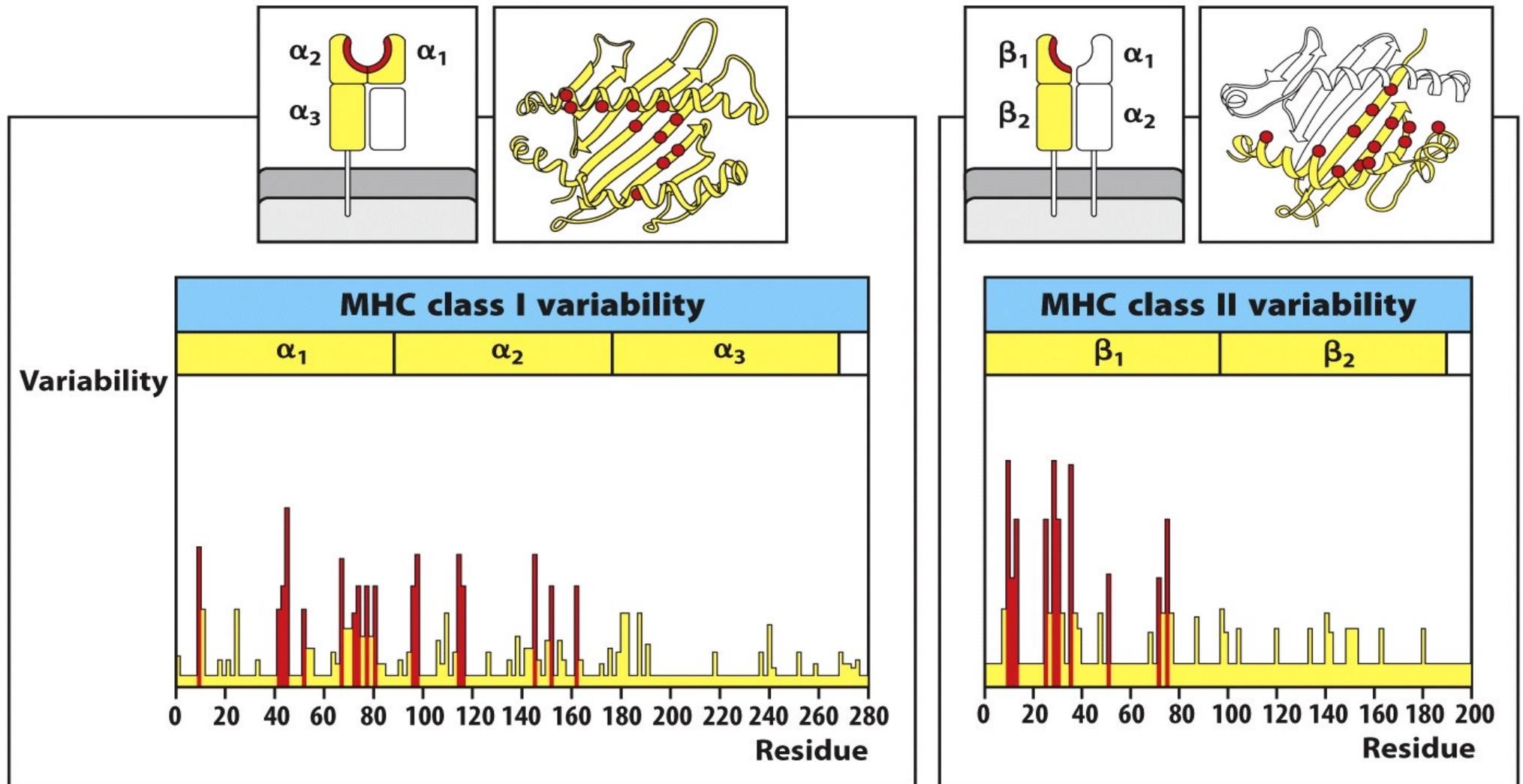
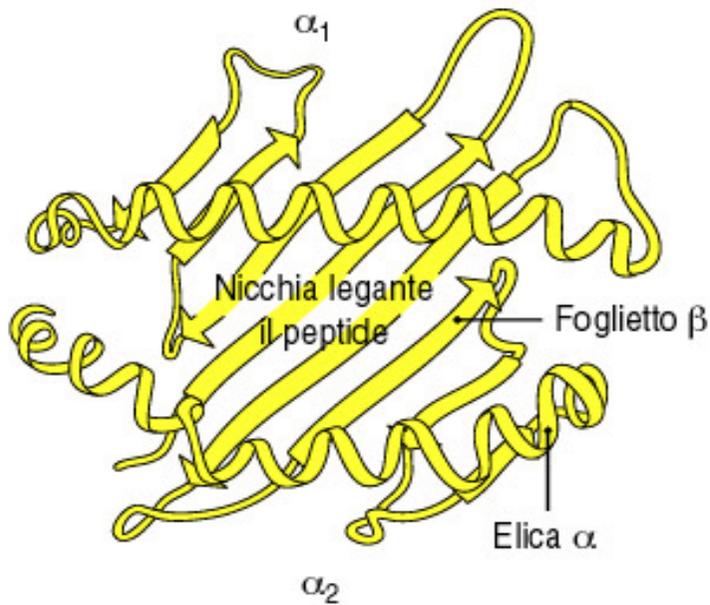


Figure 6.19 Janeway's Immunobiology, 8ed. (© Garland Science 2012)

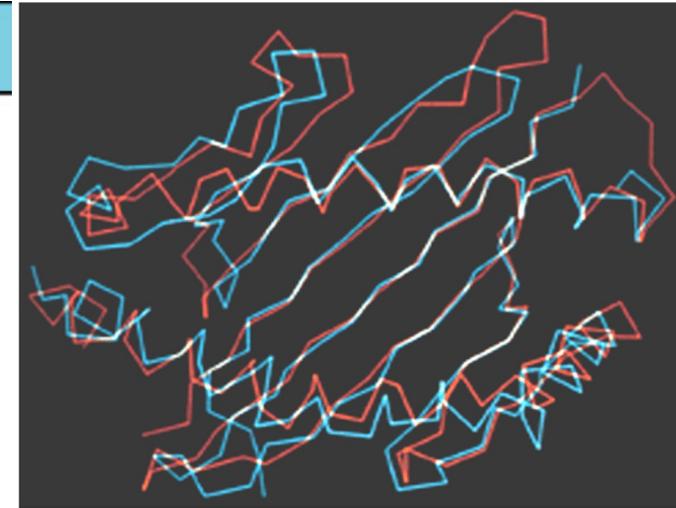
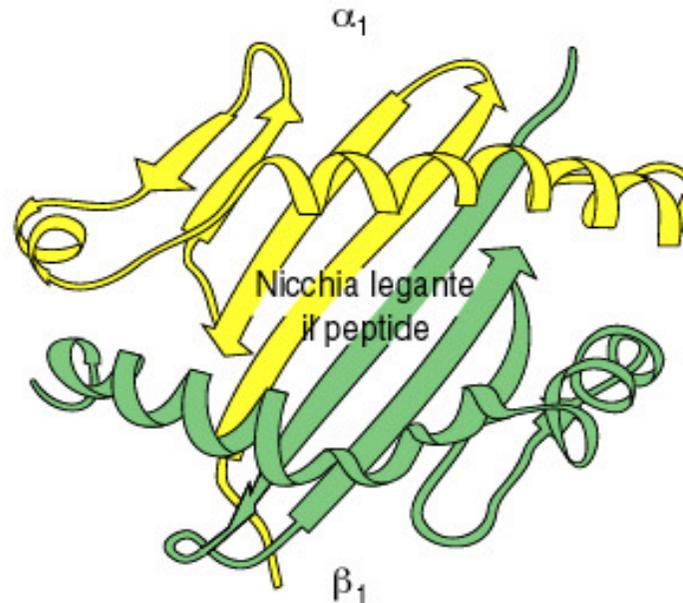
.... quindi condizionano fortemente il legame con il peptide

Le molecole MHC I e II legano saldamente il peptide all'interno delle loro rispettive tasche che presentano elevata omologia strutturale

MHC di classe I

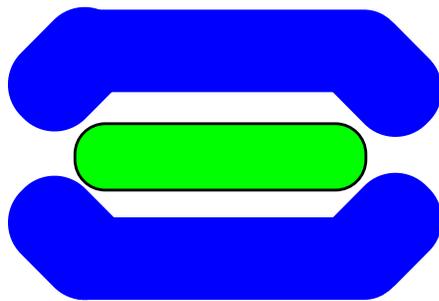
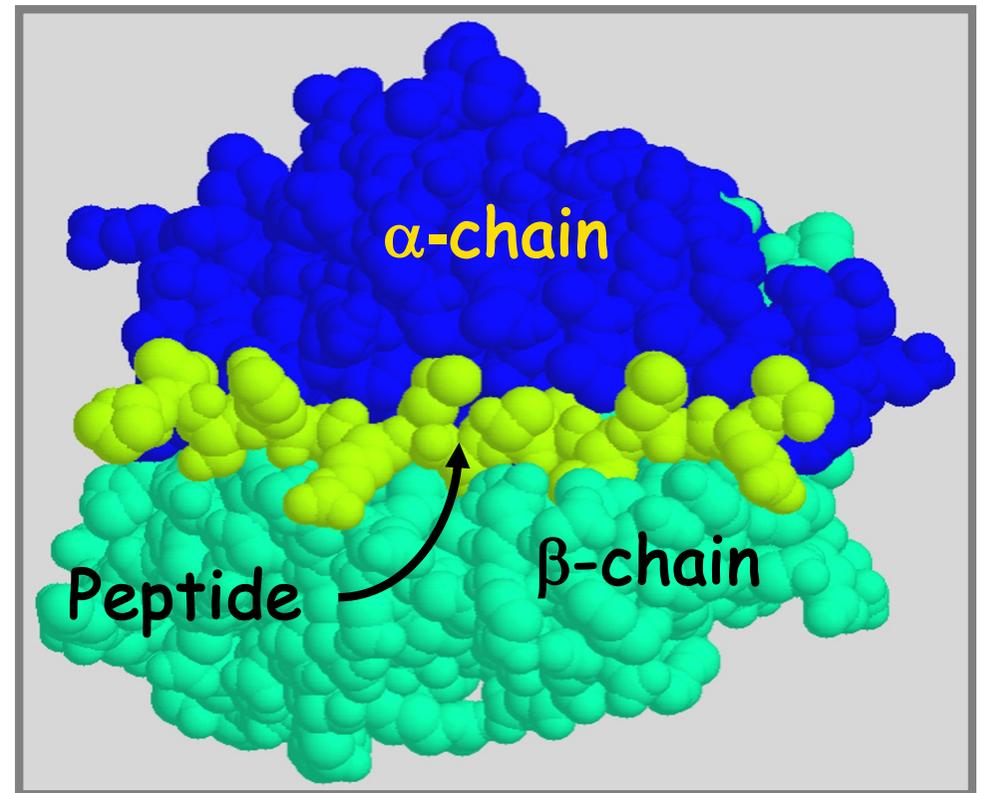
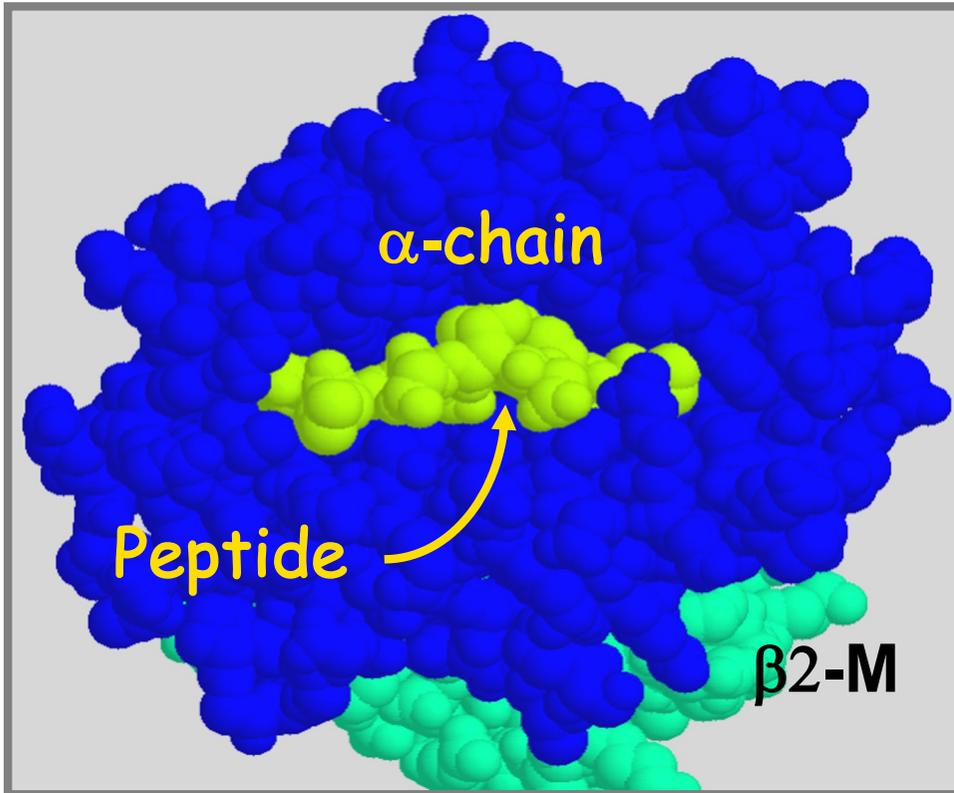


MHC di classe II

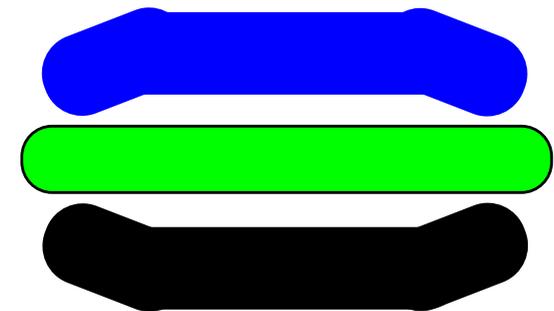


Tasca peptidica di una molecola MHC di classe I (rossa) sovrapposta a quella corrispondente di una molecola MHC di classe II (blu).

Geometria della tasca di legame



La tasca MHC I è chiusa ed accoglie peptidi di 8-12 aa



La tasca MHC II è aperta ed accoglie peptidi di 12-16 aa

Le molecole MHC di classe I legano i peptidi a livello di pochi residui (residui àncora)

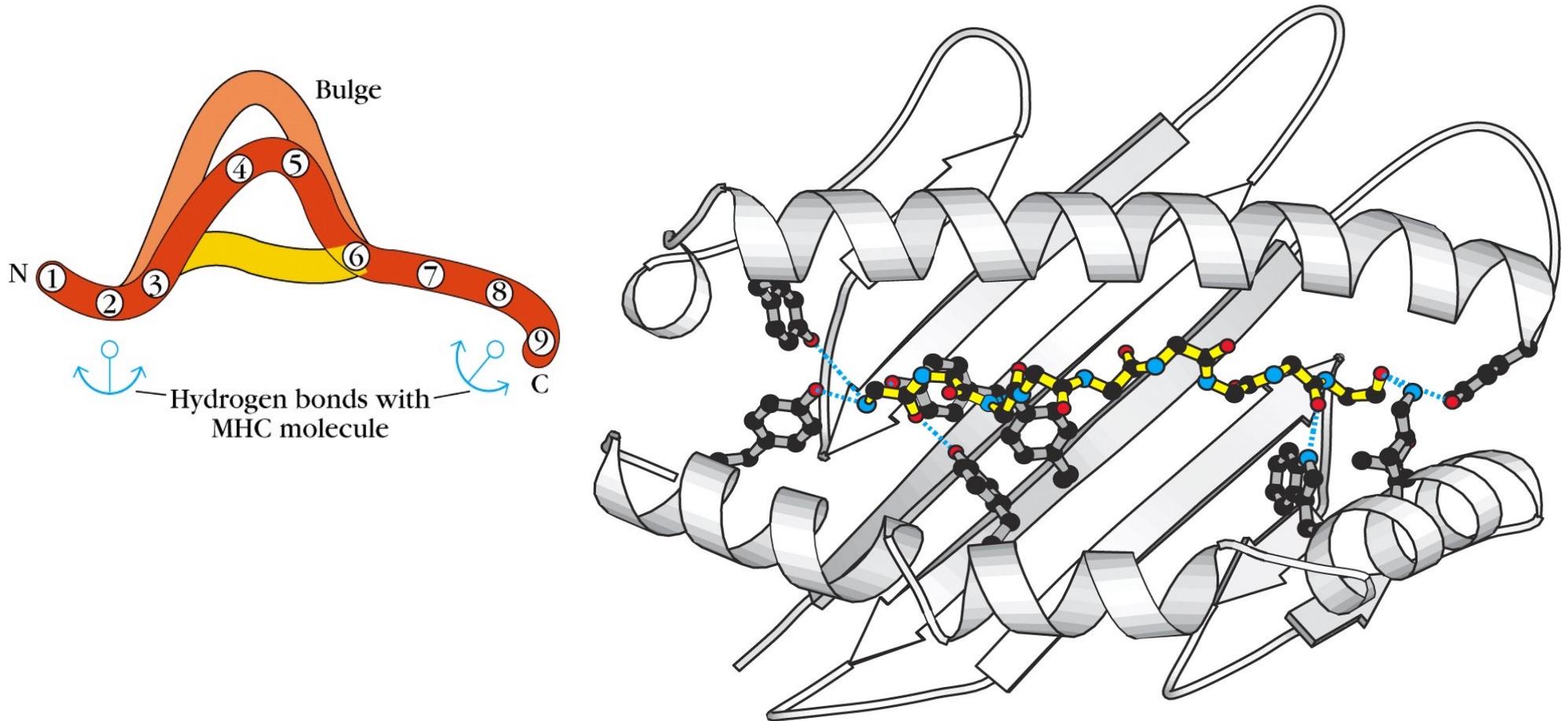
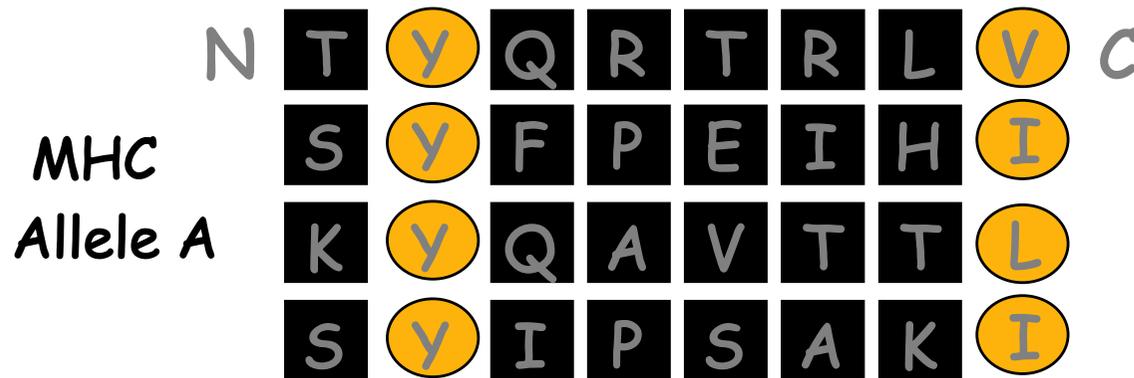


Figure 3-23 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Le sequenze aa disposte tra i residui di ancoraggio
possono cambiare →

Le molecole MHC sono promiscue perchè possono legare peptidi diversi (purchè essi abbiano gli stessi residui di ancoraggio)

Uno stesso MHC I può legare peptidi diversi purchè dotati degli stessi residui àncora



I residui àncora in genere sono residui idrofobici (L, I e V)

A = alanine	K = lysine	R = arginine
E = glutamic acid	L = leucine	S = serine
F = phenylalanine	N = asparagine	T = threonine
G = glycine	P = proline	V = valine
H = histidine	Q = glutamine	Y = tyrosine
I = isoleucine		

Le molecole MHC di classe II interagiscono con residui di ancoraggio distribuiti lungo tutto il peptide

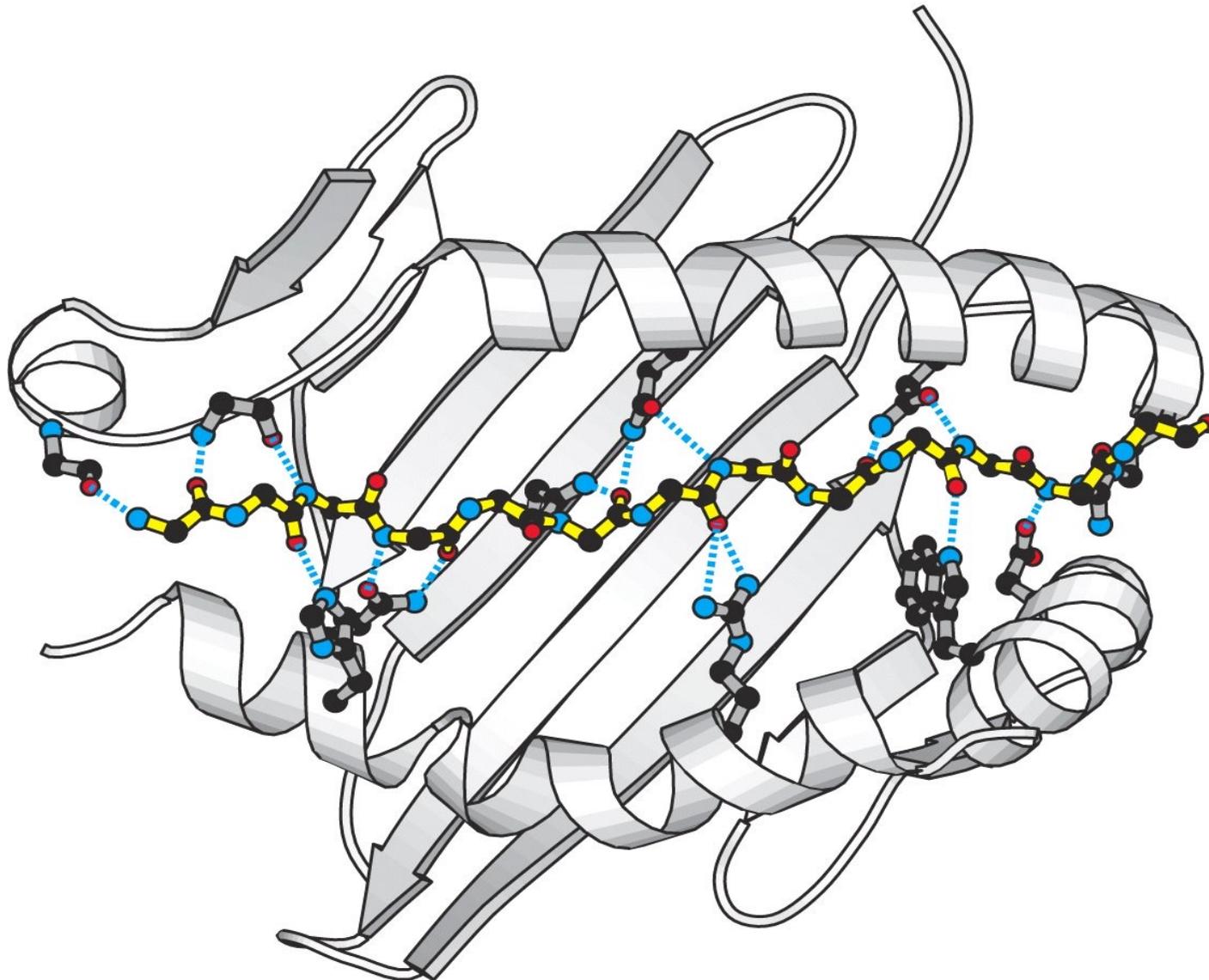


Figure 3-25 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

I peptidi legano le molecole MHC di classe II utilizzando residui àncora localizzati in posizione centrale

Carichi negativamente

Idrofobici



- I residui àncora non sono presenti e livello dell'estremità N e C
- Le estremità infatti sporgono dalla tasca e possono subire ulteriori tagli proteolitici
- Il legame è più permissivo

Le molecole MHC-I e MHC-II completamente assemblate sono eterotrimeri, composti da:

1. una catena α ;
2. una catena β ;
3. il peptide antigenico legato nella tasca.

L'espressione stabile sulla membrana cellulare richiede la presenza di tutti e tre i componenti.

L'espressione delle molecole MHC è diversa a seconda dei tessuti

Tissue/cell	MHC	
	class I	class II
Hematopoietic		
T cells	+++	+*
B cells	+++	+++
Macrophages	+++	++
Dendritic cells	+++	+++
Neutrophils	+++	—
Erythrocytes	—	—
Non-hematopoietic		
Thymic epithelium	+	+++
Liver hepatocytes	+	—
Kidney epithelium	+	—
Brain	+	— †

L'espressione delle molecole MHC può essere modulata:

$IFN_{\alpha/\beta}$ ↑ i livelli di MHC I

IFN_{γ} ↑ i livelli di MHC II

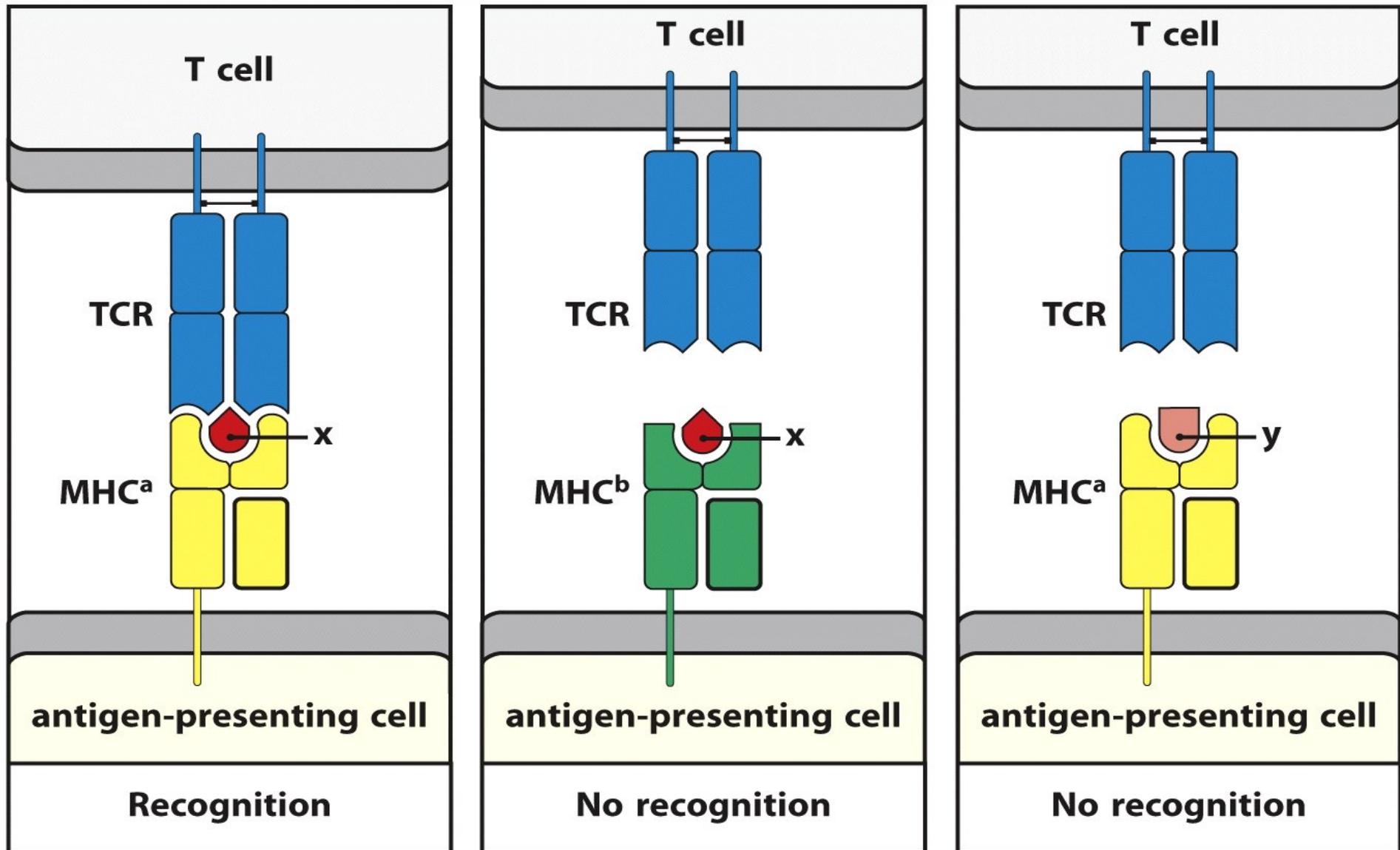
Alcuni patogeni riducono l'espressione delle molecole MHC!

Figure 5.23 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

Caratteristiche delle interazioni MHC/peptide

- Ogni molecola MHC-I o -II possiede una sola tasca di legame con il peptide, che può ospitare, in momenti diversi, molti peptidi differenti (legame promiscuo), ma con alcune caratteristiche strutturali in comune;
- il legame dei peptidi alle molecole MHC è un'interazione non covalente tra residui AA del peptide e residui AA della tasca della molecola MHC, a bassa affinità, con bassi tassi di associazione e di dissociazione;
- le molecole MHC di un individuo non distinguono tra peptidi estranei (es. da Ag microbici) e peptidi self (derivati da proteine proprie);
- bastano pochi complessi MHC/peptide (circa 100) per attivare il linfocita T specifico
- la fine specificità del riconoscimento antigenico è dovuta prevalentemente alla selettività del TCR.

Il TCR riconosce in maniera specifica sia il peptide non self che la molecola MHC self



I corecettori CD4 e CD8 legano una regione conservata dell'MHC e stabilizzano l'interazione TCR/MHC..

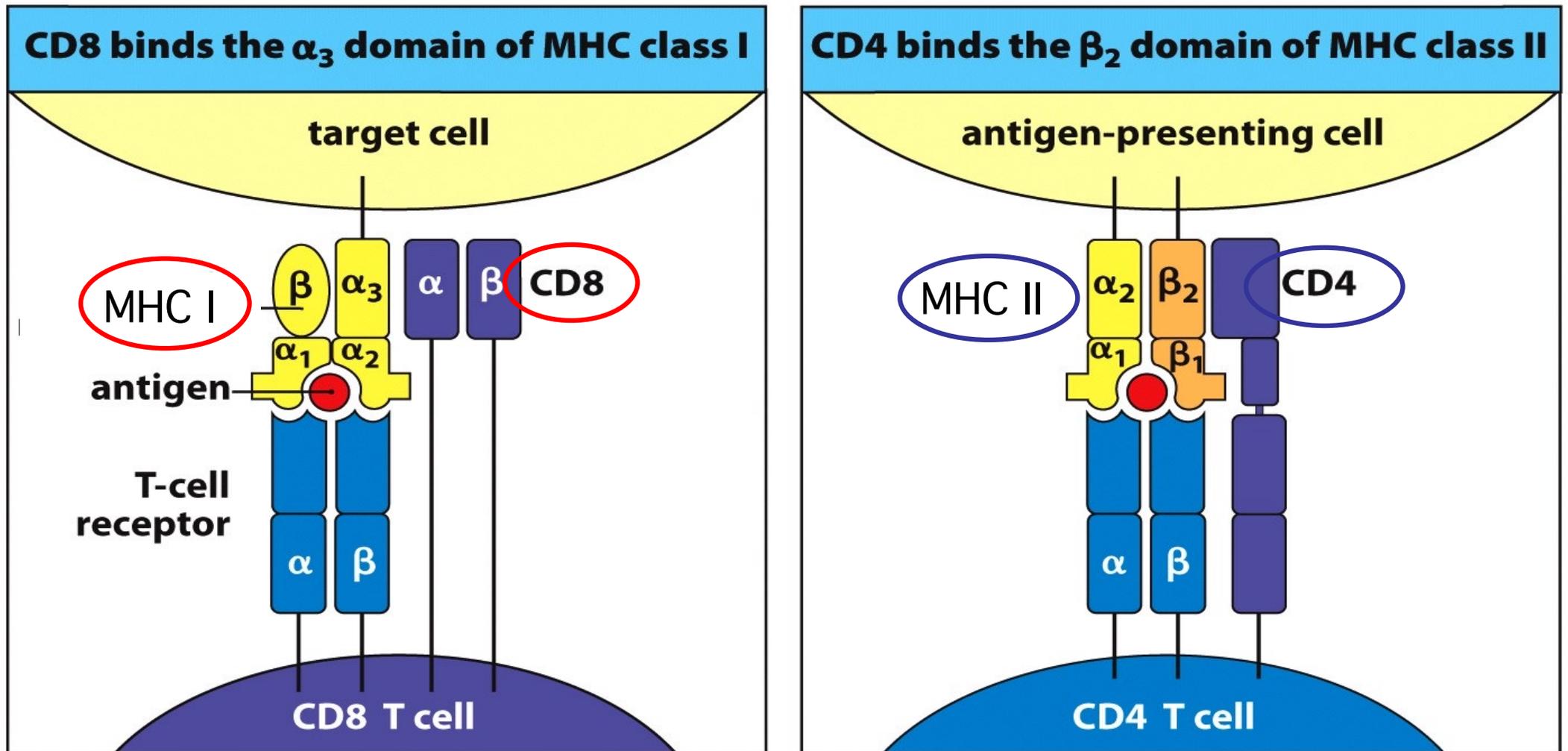
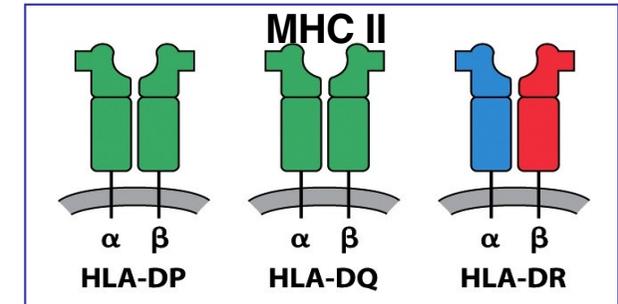
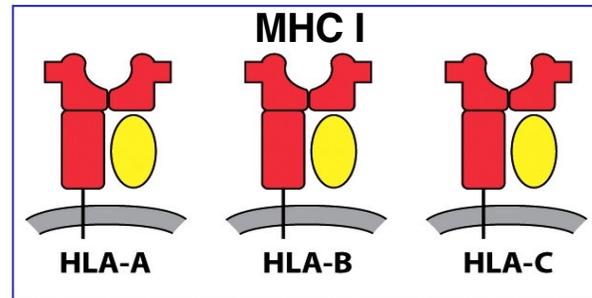


Figure 5.14 The Immune System, 3ed. (© Garland Science 2009)

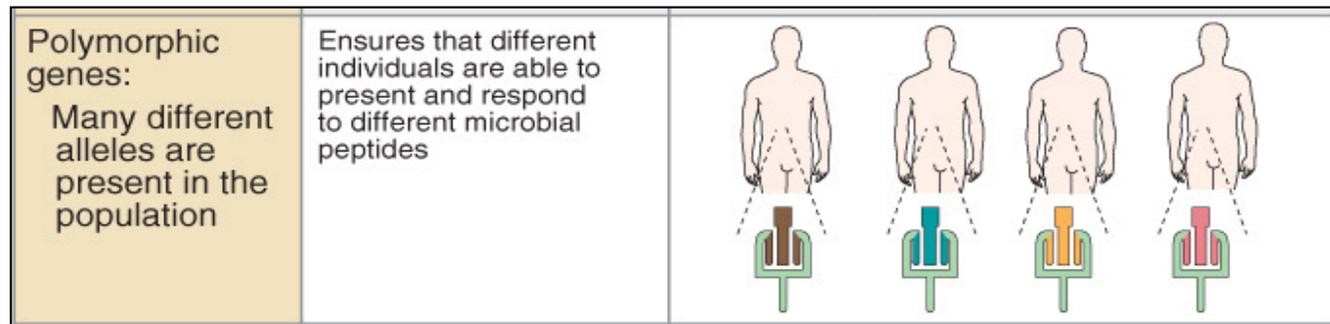
....inoltre restringono il riconoscimento delle due sottopopolazioni di linfociti T

CARATTERISTICHE DEI GENI DEL SISTEMA HLA

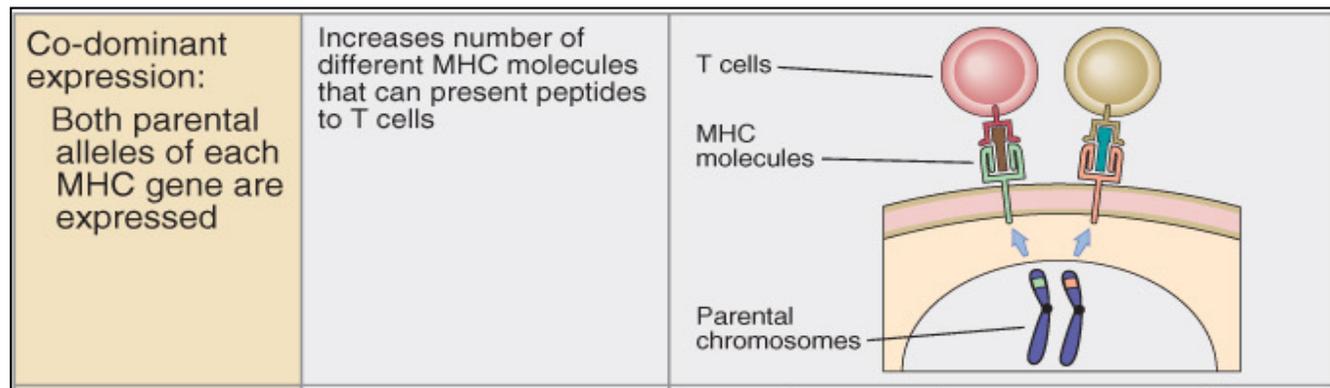
- **Poligenia:** vi sono numerosi geni che codificano per le molecole MHC di classe I e II.



- **Polimorfismo:** esistono numerosi alleli per ogni gene.



- **Codominanza:** in ogni individuo sono espressi i prodotti degli alleli ereditati da entrambi i genitori.



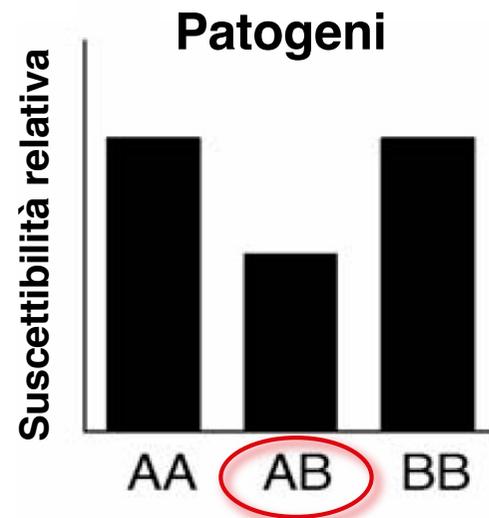
L'**HLA** è un sistema poligenico e polimorfico di geni codominanti.

Problema genetico:

Come mantenere il polimorfismo ?

Per mantenere l'elevato grado di polimorfismo è necessario l'intervento di due meccanismi:

- **la selezione naturale** operata dai patogeni che favorisce la situazione di eterozigosi nei loci MHC.



- **la selezione sessuale** attraverso scelte sessuali che privilegiano incroci MHC dissimili.

Il sistema MHC condiziona i comportamenti sociali

Gli studi iniziali effettuati nei topi hanno dimostrato che nei roditori il maschio rilascia nelle urine molecole olfattive diverse che forniscono informazioni circa il suo MHC influenzando la scelta sessuale della femmina.



Nella maggior parte dei casi la scelta e' per maschi con geni MHC diversi dai propri.

Lo studio delle T-shirt "sudate"

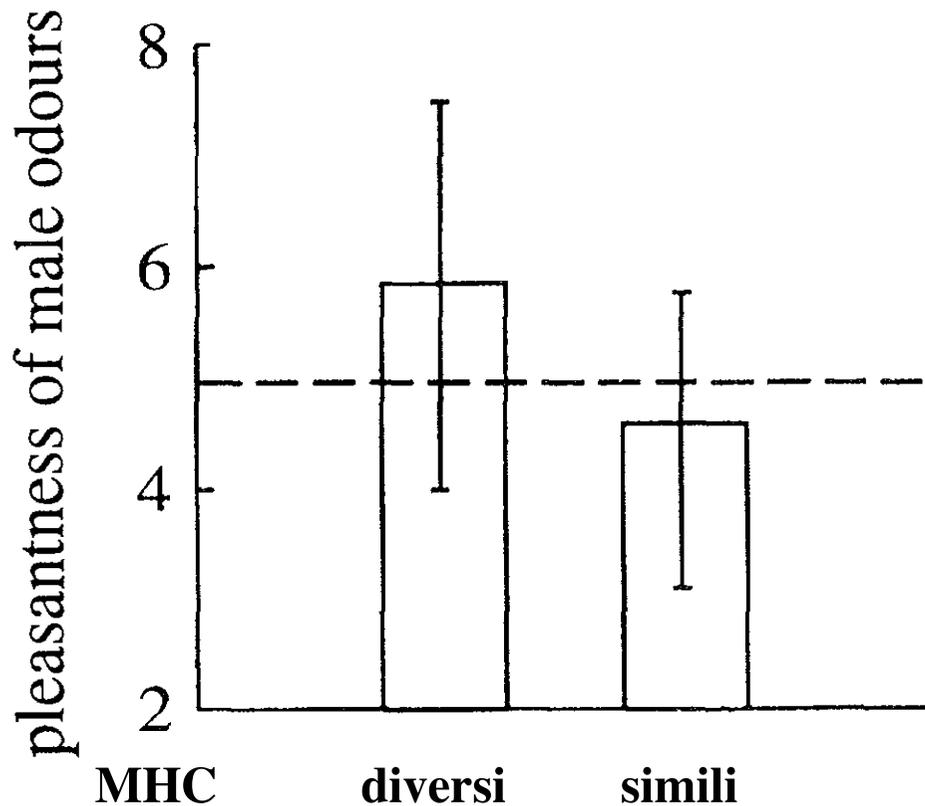
Wedekind, C., T. Seebeck, F. Bettens, and A. Paepke. 1995. MHC-dependent mate preferences in humans. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 260:245-249.



- 49 studentesse e 44 studenti universitari sono stati tipizzati per i loci MHC (HLA-A, -B e -DR)
- ogni studente ha indossato per tre notti consecutive la stessa maglietta
- ad ogni studentessa e' stato chiesto di scegliere tra sei magliette diverse (3 MHC-simili, 3 MHC dissimili) quella che aveva l'odore piu' piacevole.

Lo studio delle T-shirt

L'odore che piace di più appartiene alla persona con i geni MHC diversi dai propri!



Qual è il significato funzionale di questa scelta?

- Evitare l'accoppiamento tra consanguinei
- Generare una prole eterozigote per i loci MHC

Dal punto di vista evolutivo significa privilegiare la scelta di un partner che possa garantire figli con ridotti livelli di infezioni o di malattie genetiche