Građa protutijela

Doc. dr. sc. Dyana Odeh, *spec. kvalitete i sigurnosti hrane*

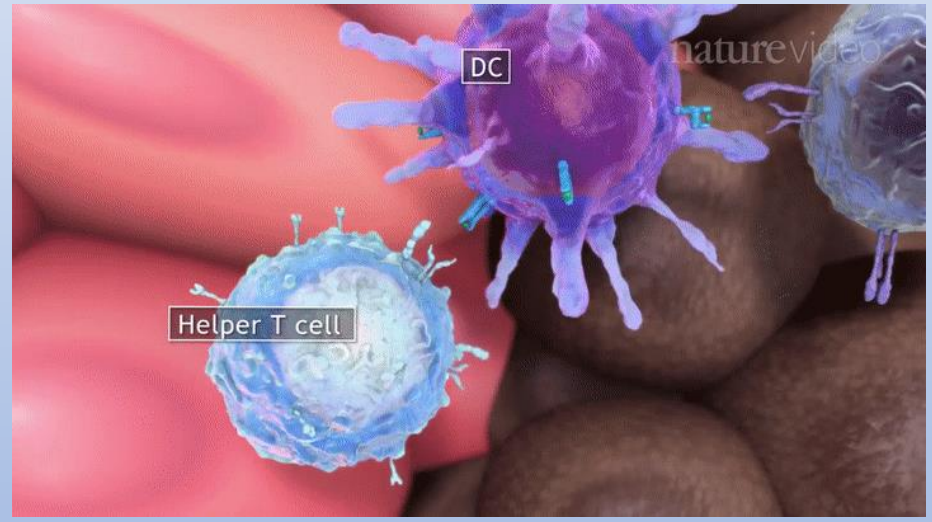
Imunosno prepoznavanje

- tri skupine proteinskih molekula vežu antigen i da na taj način obavljaju prepoznavanje u imunosnom sustavu

❑ **Površinski imunoglobulini** (Ig) - na limfocitima B služe kao receptori za antigen; nazvan BCR (engl. ***B Cell Receptor***)

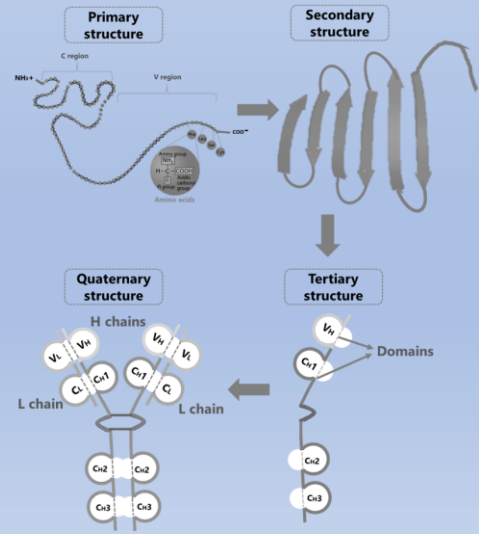
❑ **Receptori za antigen na limfocitima** T - nazvan TCR (engl. ***T Cell Receptor***) - prepoznaju antigene koji su prikazani na površini stanica uz MHC molekule

❑ **MHC molekule klase I i II** (engl. ***Major Histocompability Complex***) - prikazuju antigene na površini stanica i omogućuju prepoznavanje antigena T-limfocitima (klasa I – citotoksičnim T-limfocitima, klasa II – pomoćničkim T-limfocitima)

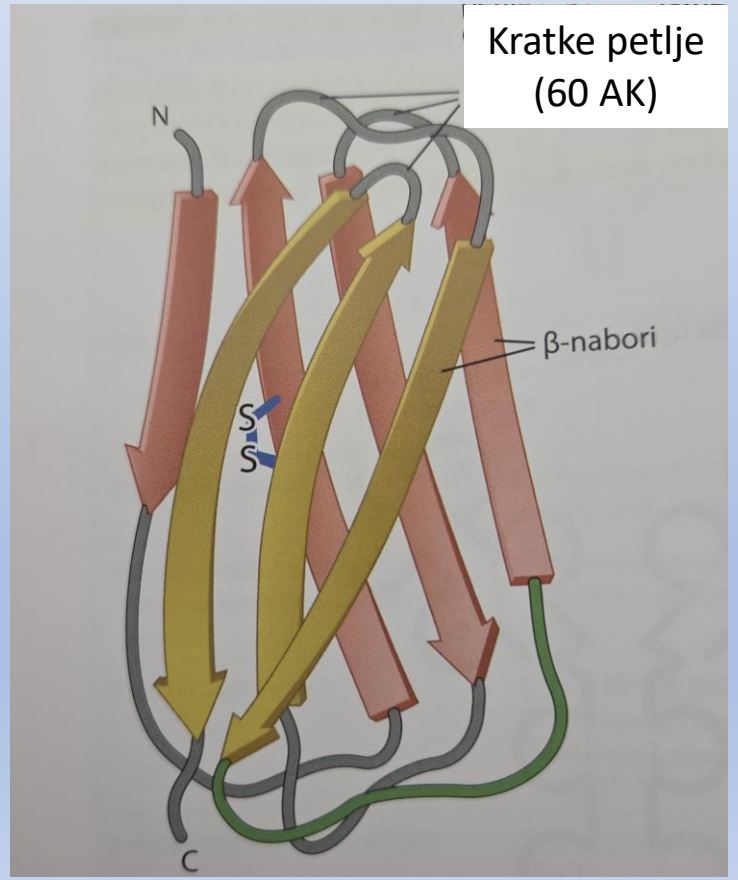


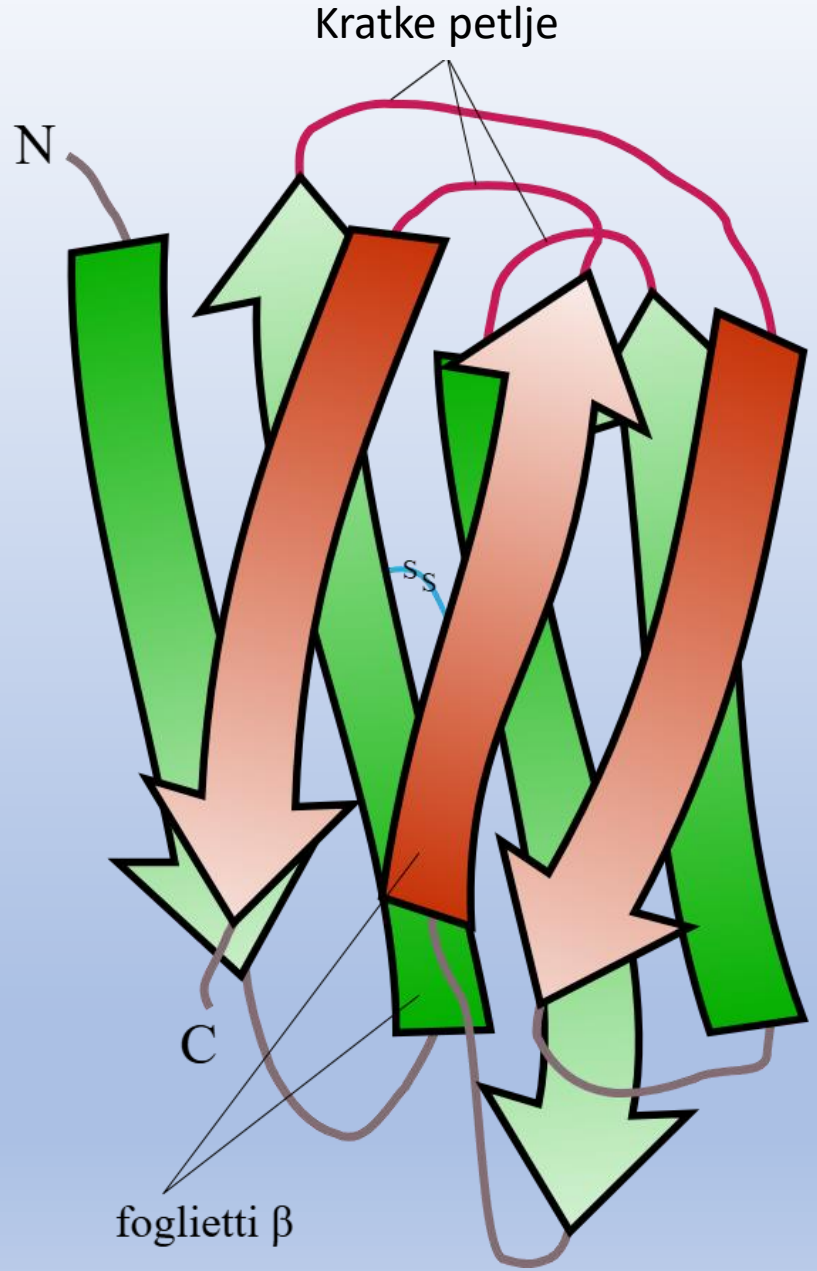
Obilježja

- strukturno homologne i evolucijski srodne molekule → ***superporodica imunoglobulinskih gena***
- važne za međusobno prepoznavanje i komunikaciju stanica
- sadrže jednu ili više homolognih jedinica – **domena (Ig domena)**
- Ig domena - trodimenzijska struktura tipična za imunoglobulinsku konformaciju



Imunoglobulinska domena
- sadrži evolucijski sačuvane sljedove aminokiselina (AK)
- 1 homologna jedinica sadrži 110 AK





Imunoglobulini (protutijela)

- glikoproteini koje proizvode isključivo B stanice
- postoje u 2 oblika:
  a) protutijela vezana za membrane na površini B limfocita (BCR)
  b) izlučena protutijela
- pripadaju skupini globulina – ***gama-globulini***
- sve molekule protutijela dijele ista osnovna svojstva → pokazuju varijabilnost u dijelovima koja vežu antigene

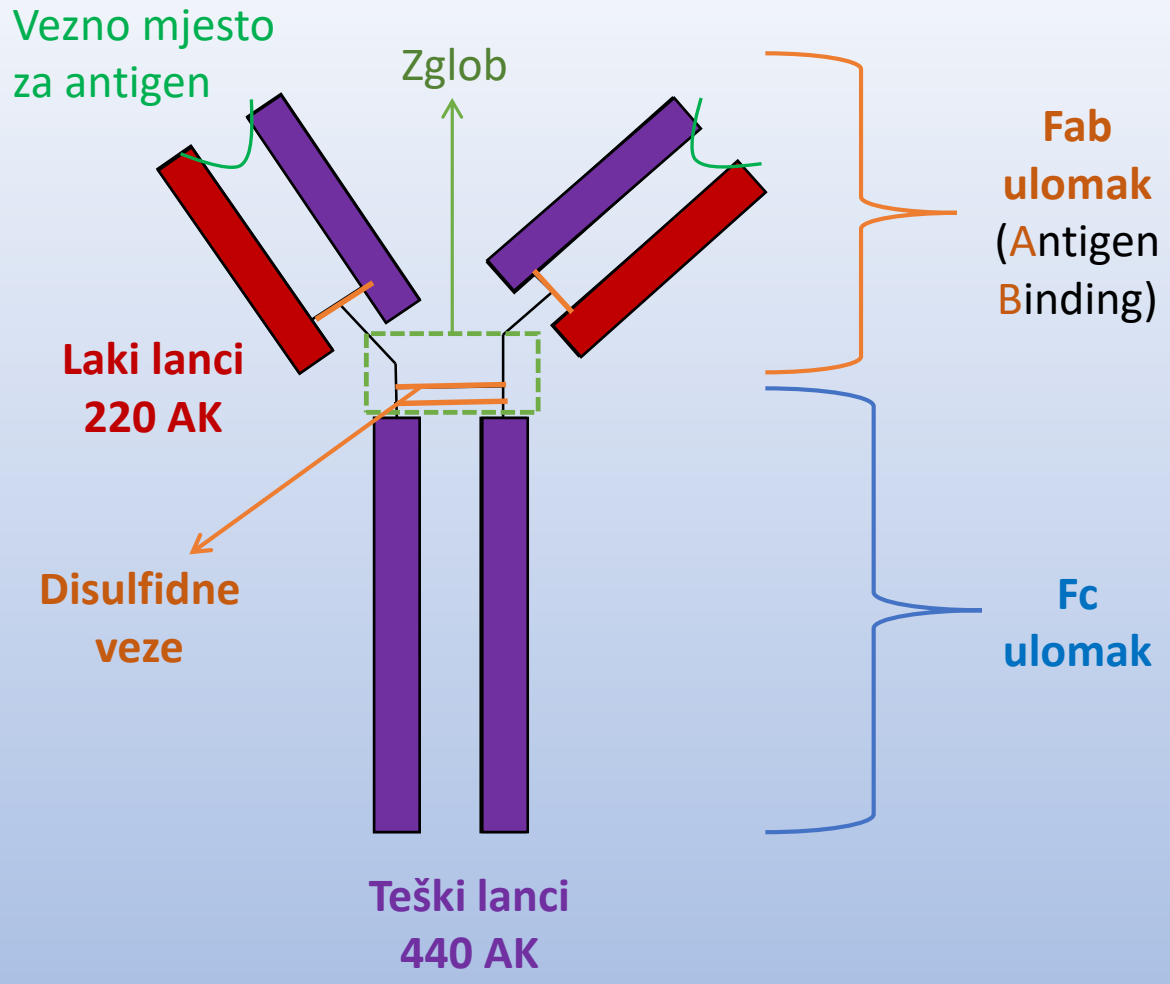
STRUKTURA

- dva funkcijska dijela:

a) **Fab ulomak** – funkcija prepoznavanja

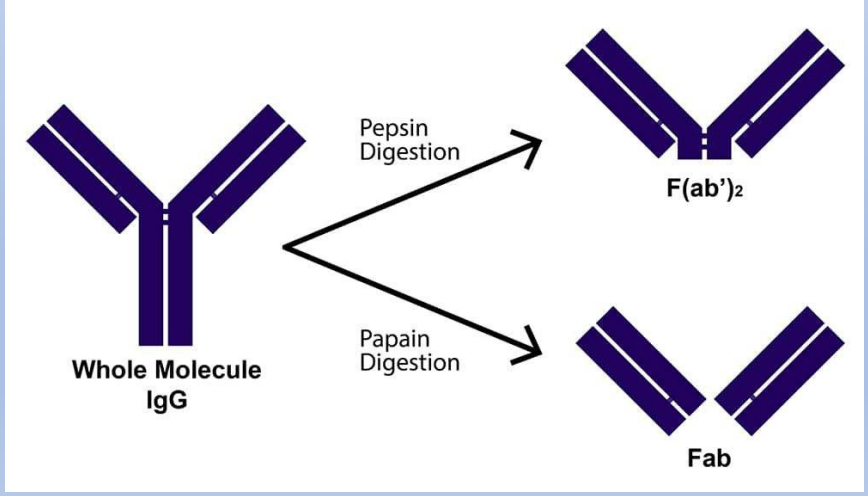
b) **Fc ulomak** – efektorska funkcija

- građeni od osnovne četverolančane jedinice (***monomer***)
- monomer – 2 laka (engl. *light*, L) i 2 teška (engl. *heavy*, H) lanca
- neki razredi Ig sastavljeno od nekoliko (2-5) takvih jedinica – Ig **polimeri**
- lanci su u molekuli međusobno povezani **disulfidnim vezama**
- disulfidne veze nastaju između cisteinskih ostataka; S-S veza između dva teška lanca, kao i S-S vezama između lakih i teških lanaca
- polipeptidni lanci vezani i nekovalentnim i kovalentnim međulančanim vezama



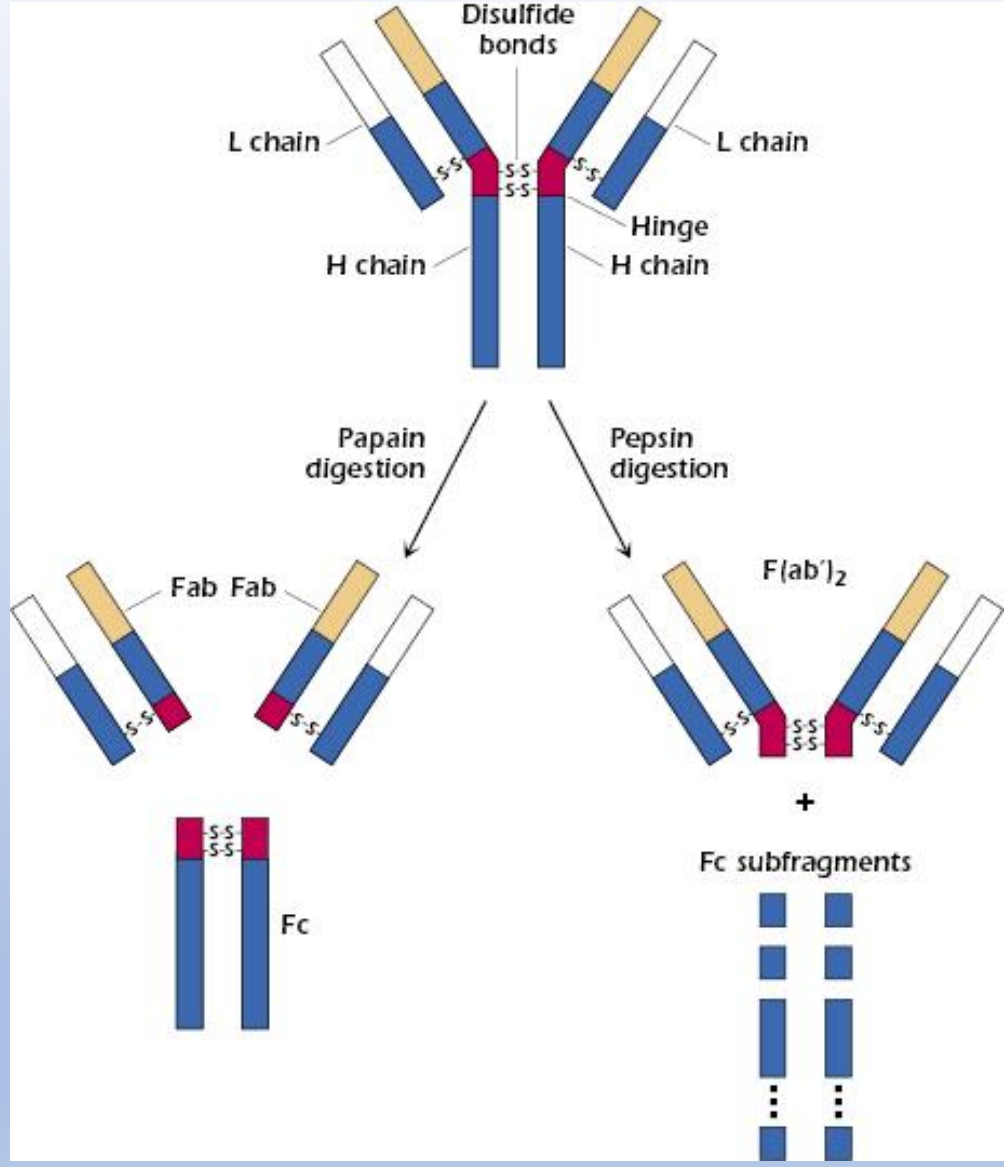
Fab ulomak

- sastavljen od cijelog lakog i polovice teškog lanca
- sadrži vezno mjesto za antigen
- savitljivi u zglobu – mogu mijenjati kut od 0 do 180 ◦C



Fc ulomak

- omogućuje vezanje za receptore na imunosnim stanicama (npr. makrofagi, NK stanice)
- aktivira sustav komplementa
- određuje razred protutijela (IgG, IgM, IgA, IgE, IgD) i njihove funkcije



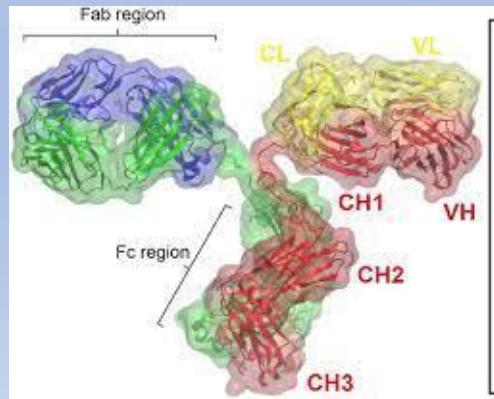
- I **teški** i **laki lanci** se sastoje od amino/ NH_2 (N)-terminalne **varijabilne** (V) domene i karboksi/ COOH (C)- terminalne **konstantne domene** (C)

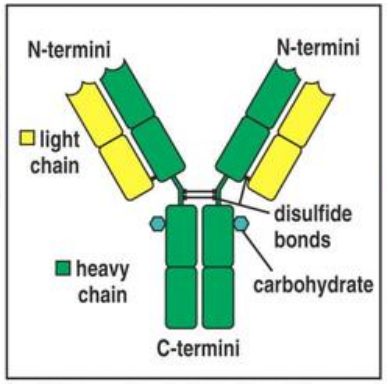
- varijabilna domena sudjeluje u prepoznavanju antigena → domene V_L i V_H na N-terminalnom kraju tvore vezno mjesto za antigen

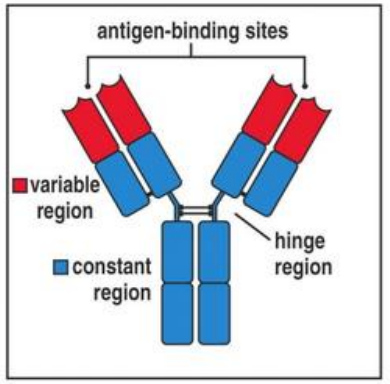
- konstantne domene teškog lanca imaju izvršne uloge

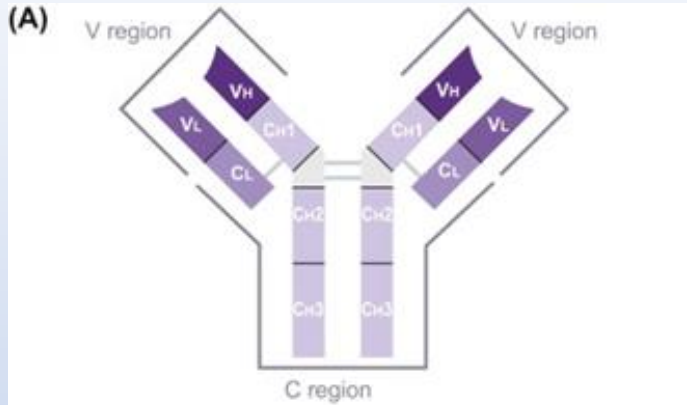
- teški lanac sadržava jednu varijabilnu domenu (V_H) i 3 (IgG, IgA, IgD) odnosno 4 (IgM, IgE) konstantne domene (C_H)

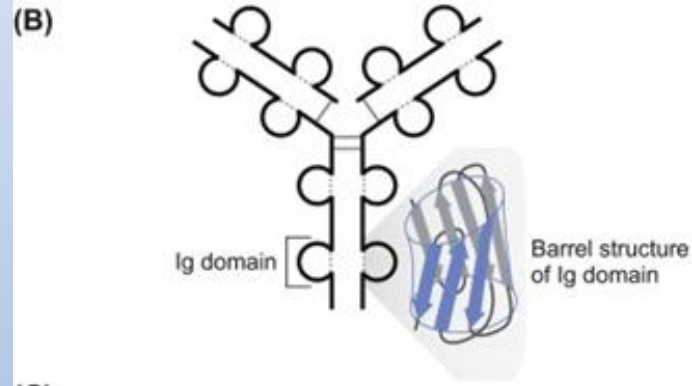
- konstantne domene teškog lanca označavamo s C_H1, C_H2, C_H3 i C_H4

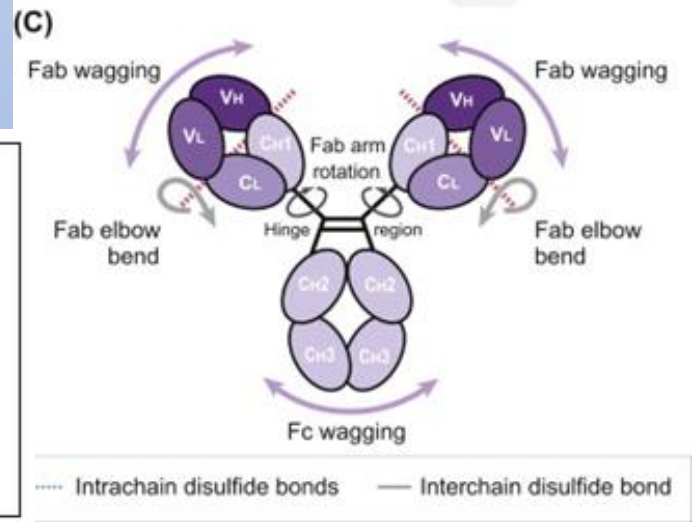




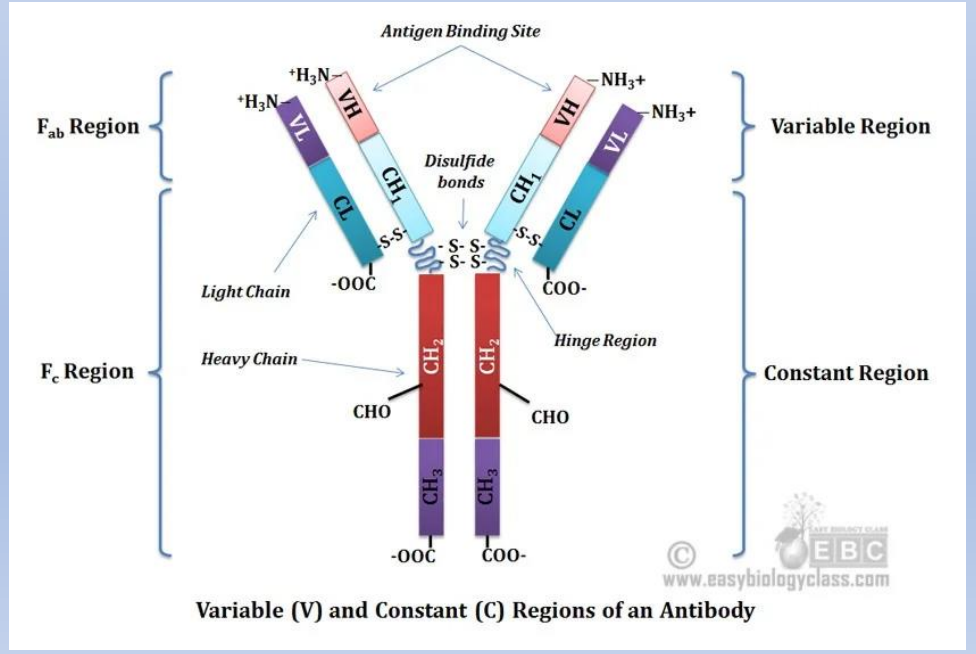




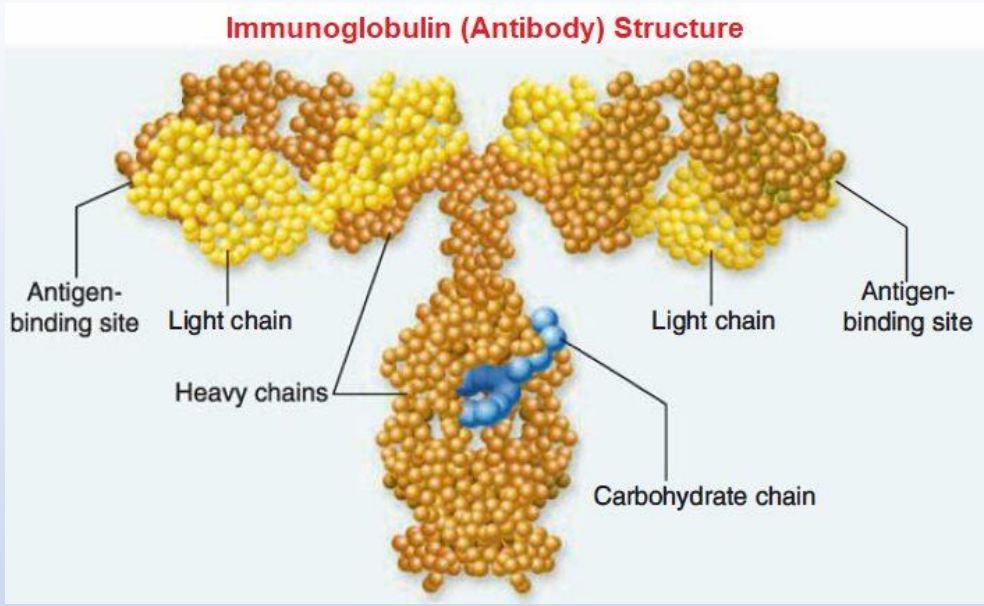


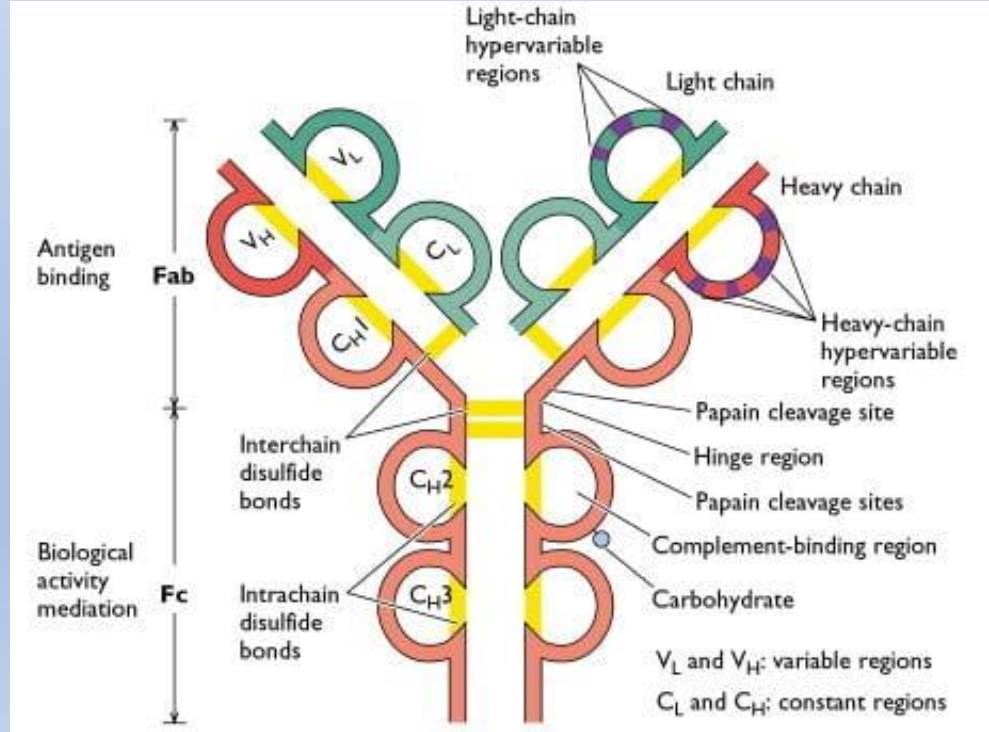


- Ig se sastoje i od ugljikohidrata (3 – 18%) → ne utječu na vezanje antigena
- jednostavni ili postranični lanci – kovalentno vezani za C_H lanac, J lanac ili za sekrecijsku komponentu
- nisu određeni genima – dodaju se Ig dok su u Golgijevu aparatu



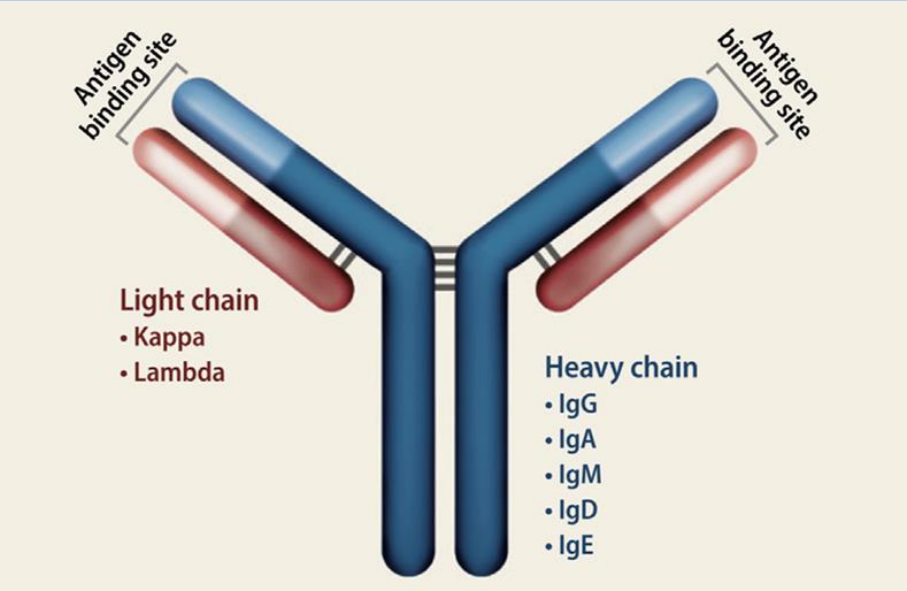
Variable (V) and Constant (C) Regions of an Antibody





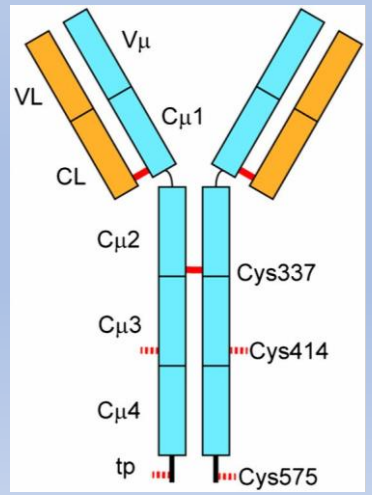
Laki lanac

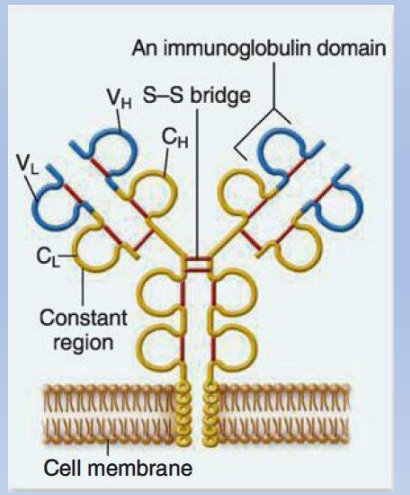
- 220 AK
- 110 AK čini varijabilnu domenu (V_L)
- ostalih 110 AK čini konstantnu domenu – ima stalan slijed AK za određenu vrstu
- konstantna domena lakog lanca – dvije vrste : κ (kapa) i λ (lambda)



Teški lanac

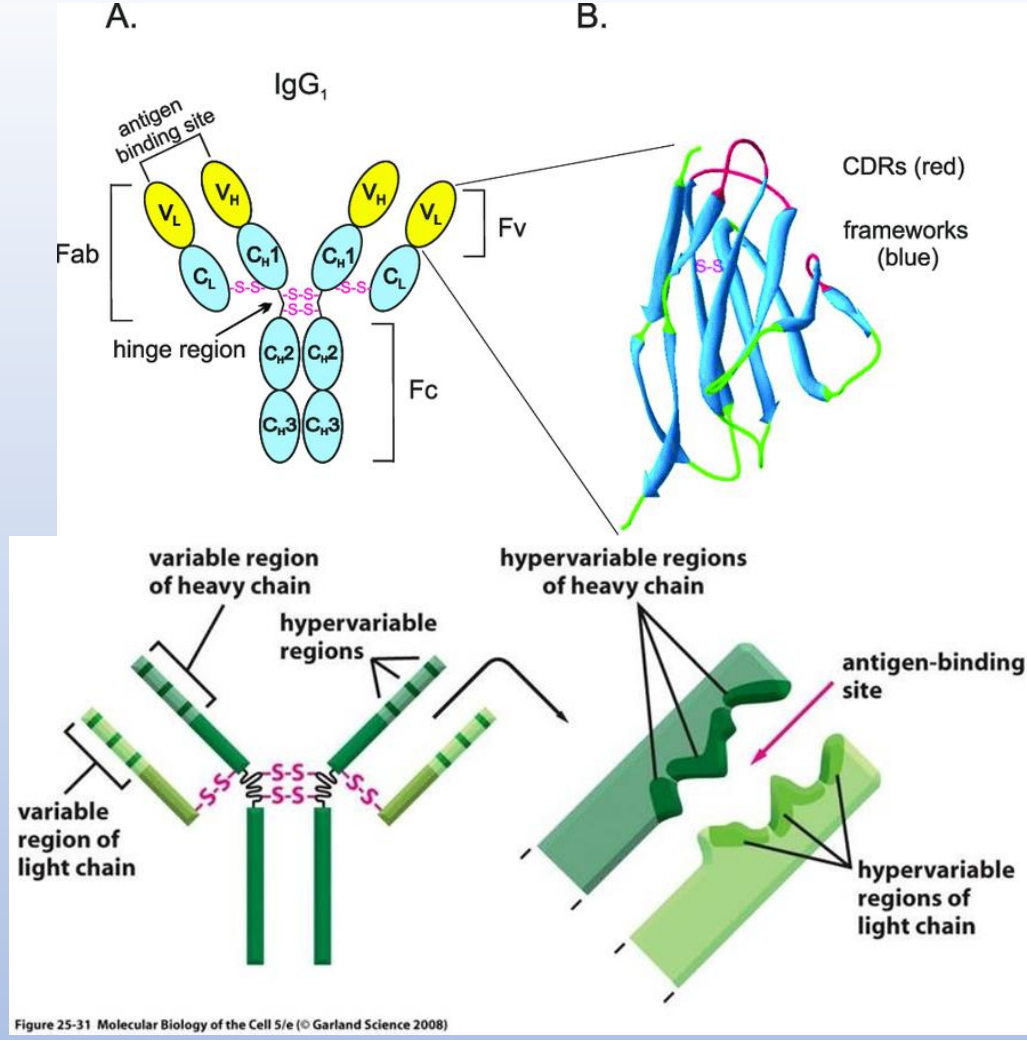
- 440 AK (550 AK IgM, IgE)
- 110 AK čini varijabilnu domenu (V_H)
- vrsta teškog lanca (γ, α, μ, δ, ε) određuje razred imunoglobulina: IgG, IgA,IgM,IgD,IgE
- tri ili četiri konstantne domene - CH1, CH2, CH3 (CH4 kod IgM i IgE) – određuju biološku funkciju protutijela





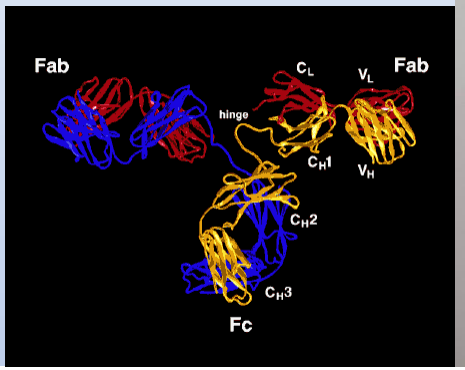
Varijabilna regija (V)

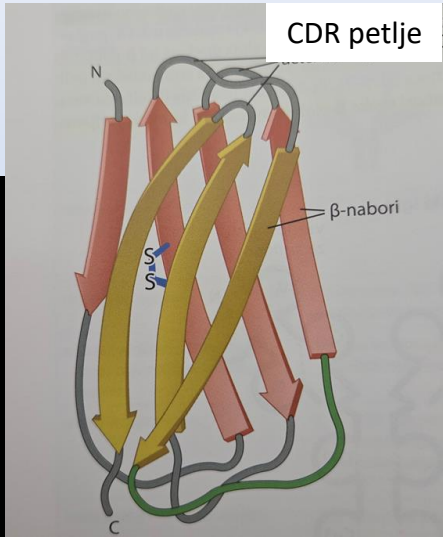
- dio molekule protutijela koji prepoznaje i veže antigen
- svako protutijelo ima dva identična mjesta vezanja za antigen → svako mjesto nastaje kombinacijom varijabilnih regija lakog (V_L) i teškog (V_H) lanca
- zauzima pola lakog i četvrtinu teškog lanca
- nalazi se **N-terminalnom dijelu** i lakog i teškog lanca i sastoji se od 110AK
- ima karakterističnu imunoglobulinsku domenu s β-plohom
- u toj domeni razlikuju se dva tipa regija:
  - **a)** **hipervarijabilne regije** (CDR1–CDR3) – tvore mjesto vezanja antigena i određuju specifičnost
  - **b)** **FR regija** (engl. *framework region*; FR1–FR4) – čine „okvir" i daju strukturnu potporu

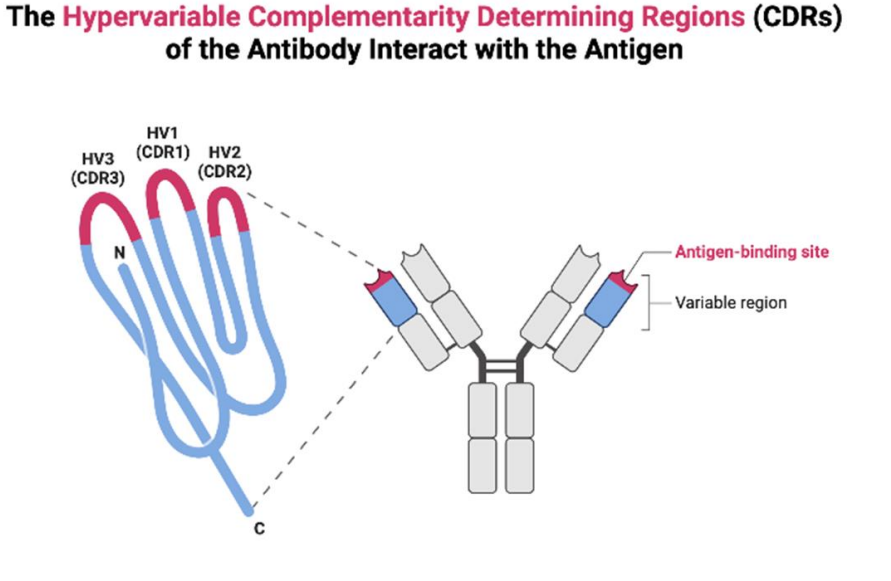


Hipervarijabilne regije (engl. Complementarity Determining Regions, CDR)

- kratke sekvence (oko 10 AK) unutar varijabilne regije koje imaju najveći stupanj varijabilnosti između različitih protutijela
- izravno sudjeluju u kontaktu s antigenom → oblikuju vezno mjesto za antigen
- u svakoj varijabilnoj domeni (bilo V_L ili V_H) postoje tri hipervarijabilne regije: **CDR1, CDR2, CDR3**
- **jedno vezno mjesto antigena** sastoji se od **6 CDR** regija: 3 iz lakog + 3 iz teškog lanca
- svaka CDR regija je petlja koja povezuje β-nabore u Ig domeni
- CDR3 - najvarijabilnija i najvažnija za prepoznavanje antigena
- aminokiseline u CDR regijama tvore trodimenzionalni džep ili površinu koja komplementira oblik antigena (tzv. paratop)

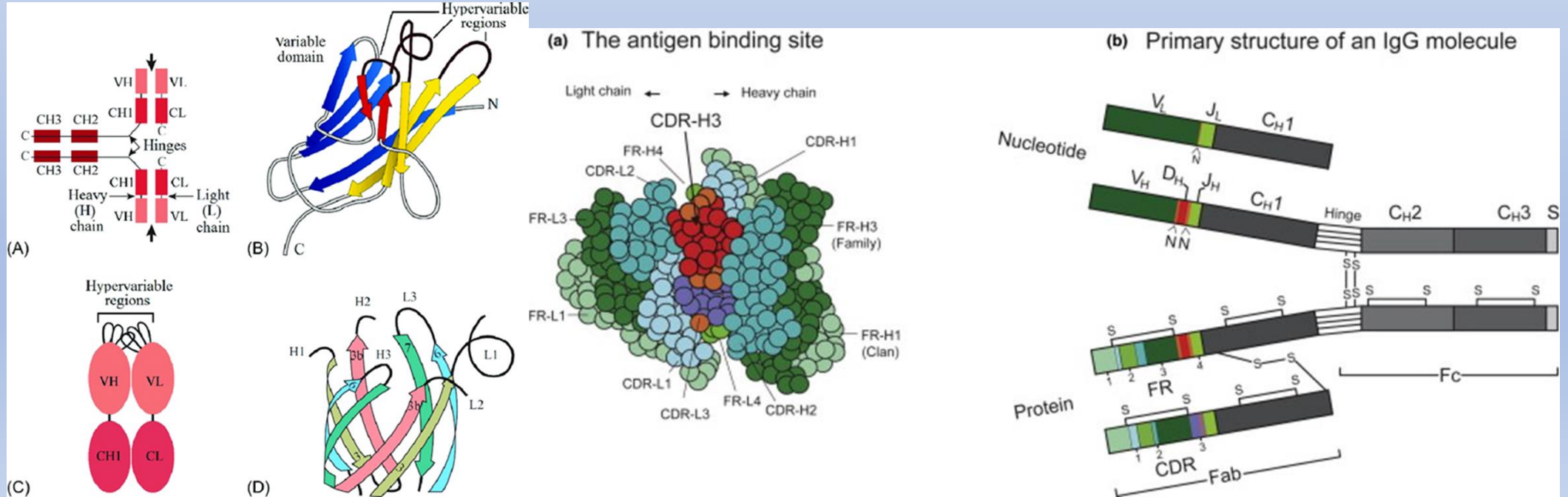




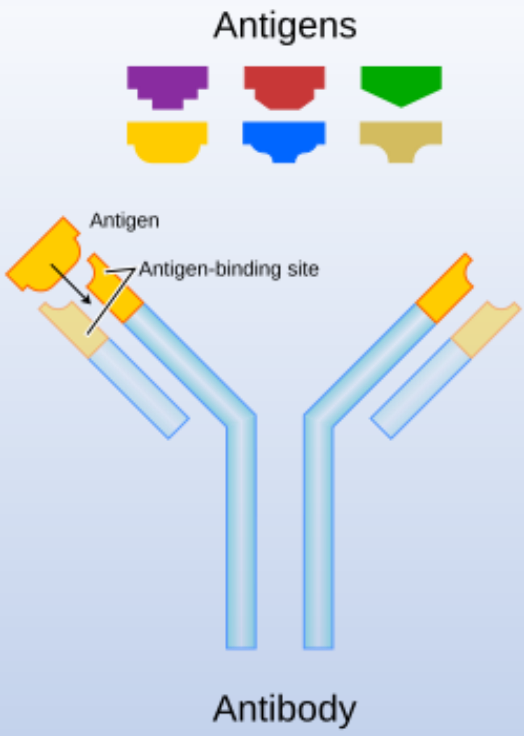


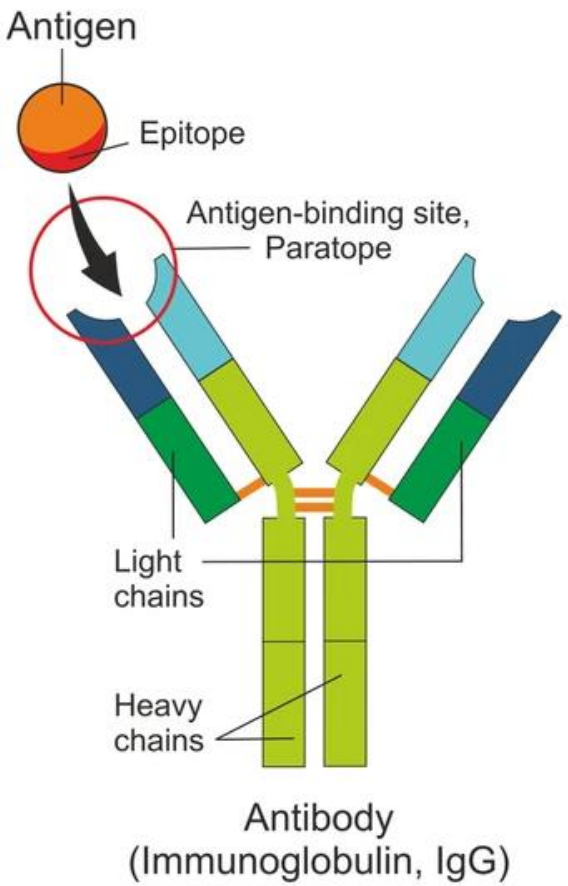
Odnos između varijabilne i hipervarijabilne regije

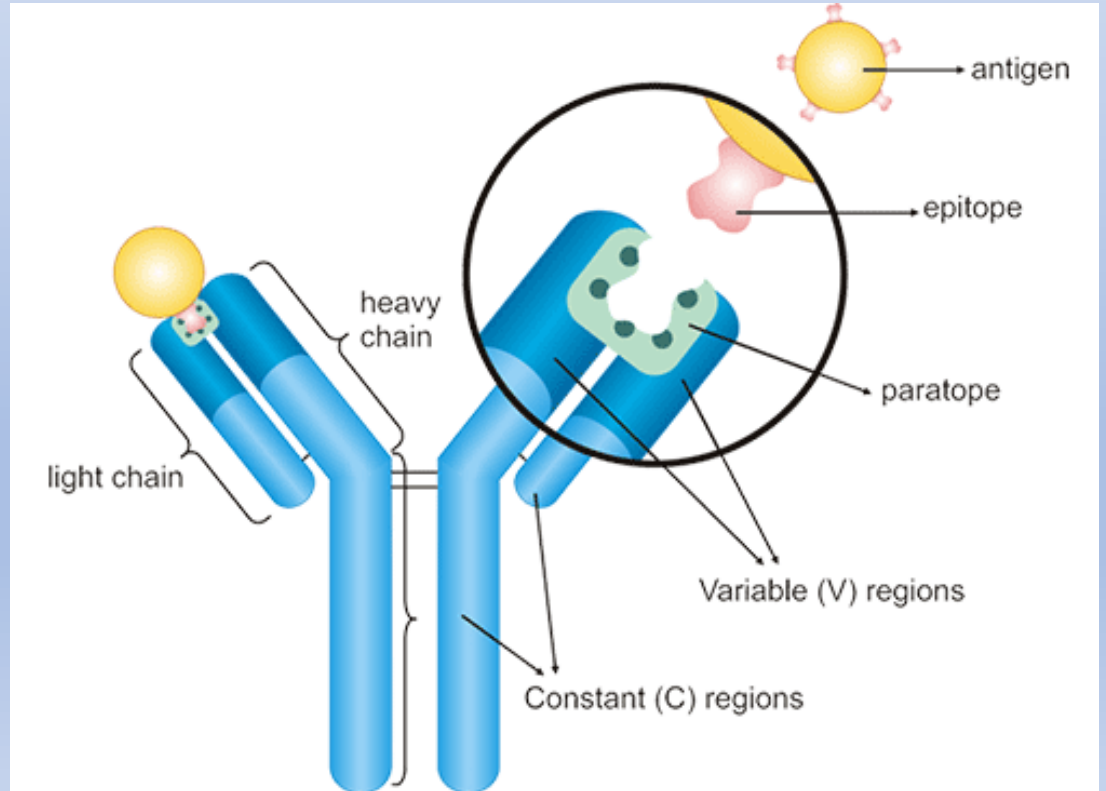
Opis	Dio	Funkcija
Varijabilna regija (V)	Cijela domena (oko 110 AK)	Daje ukupni oblik i potporu mjestu vezanja
***Framework* regije (FR1–FR4)**	Stabilne β-lančane strukture	Drže CDR regije u pravom prostornom položaju
Hipervarijabilne regije (CDR1–3)	Fleksibilne petlje unutar V regije	Izravno vežu antigen, određuju specifičnost

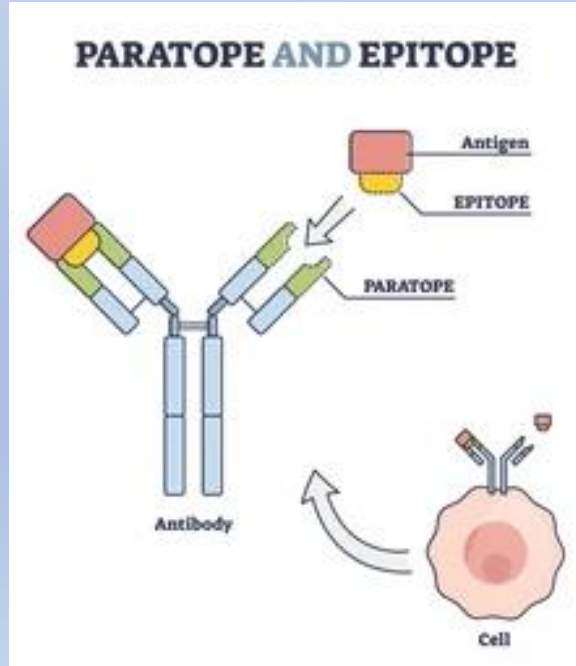


- **paratop** – vezno mjesto za antigen
- vezno mjesto za antigen oblikuju varijabilne domene obaju lanaca (V_L i V_H)
- paratop – površina u kojoj se nalazi žlijeb koji oblikuju 15 – 22 AK

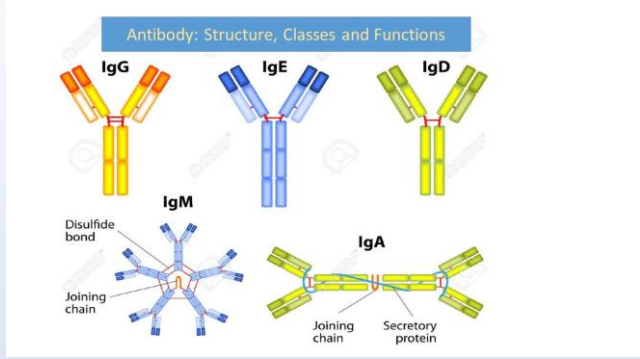






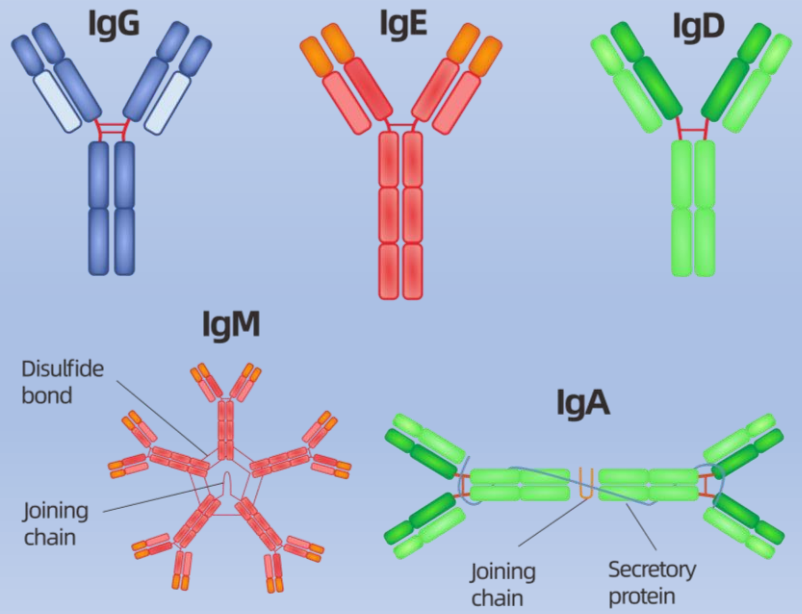


Višejedinična protutijela (polimeri)



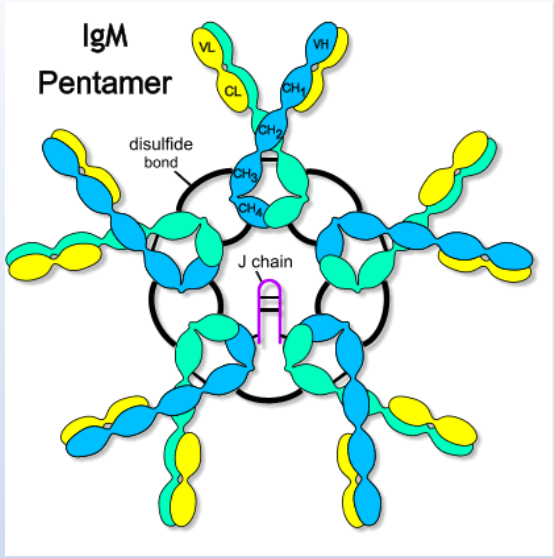
- Ig koji se sastoje od nekoliko osnovnih četverolančanih jedinica (monomera) i dodatnih neimunoglobulinskih lanaca
- IgM i IgA
- sadrže J lanac – mali glikopeptid vezan za Fc ulomke svih Ig polimera
- IgA, IgM sadrže i sekrecijsku komponentu
- sekrecijska komponenta

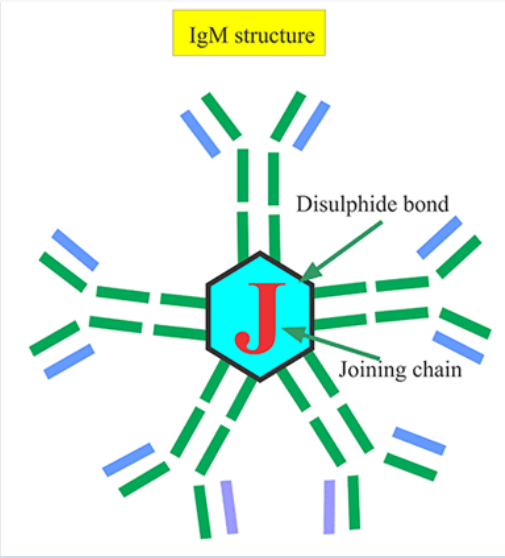
  - glikoprotein – 1 polipeptidni lanac koji se sastoji od 5 Ig domena koje se vežu uz Fc ulomak
  - njih proizvode epitelne stanice
  - dio poliimunoglobulinskih receptora – prenose IgA i IgM u lumen crijeva kroz sloj epitelnih stanica

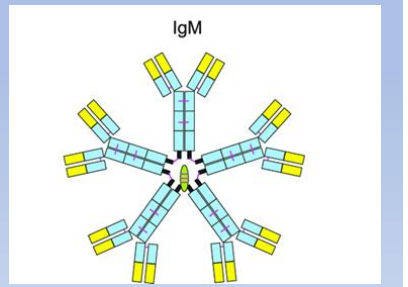


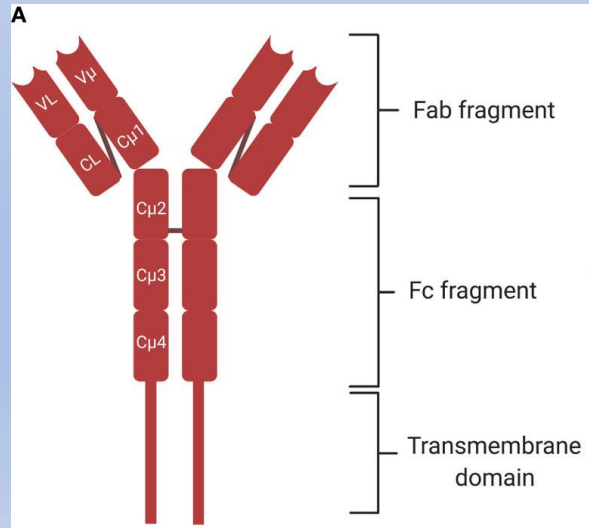
IgM

- postoji kao:
  a) monomer – na površini B-stanica (receptorski oblik)
  b) pentamer – u serumu (5 monomera + J-lanac)
- prvi Ig nakon izlaganja antigenu → ***primarni imunosni odgovor***
- vrlo učinkovit u aktivaciji komplementa
- djeluje kao “brza’’ linija obrane

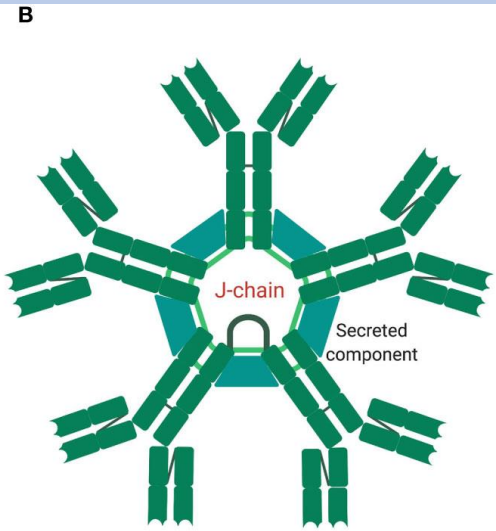






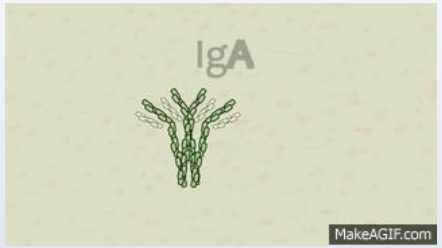


Membrane bound IgM

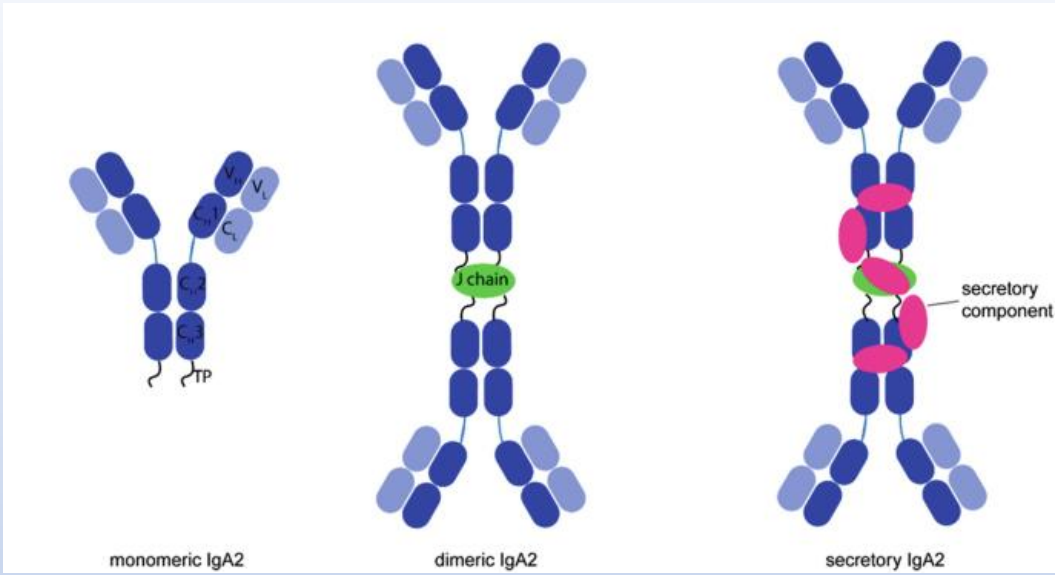


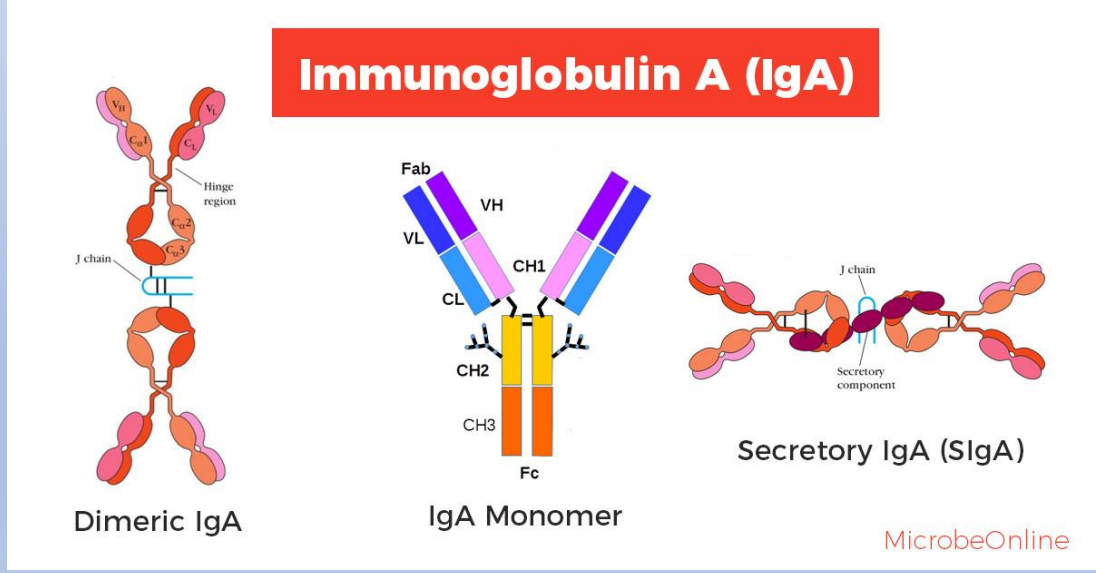
Secreted IgM

IgA



- postoji kao:
  a) monomer – u serumu
  b) dimer (sekretorni IgA) – u sluzi, suzama, slini, majčinom mlijeku, crijevima
- čini 10–15% protutijela u serumu
- sprječava vezanje mikroorganizama za epitelne stanice sluznice
- neutralizira viruse i toksine
- ne aktivira komplement
- prenosi se majčinim mlijekom → zaštita novorođenčadi

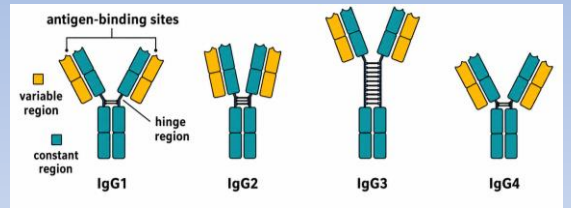




Obilježja i uloga ostalih razreda Ig

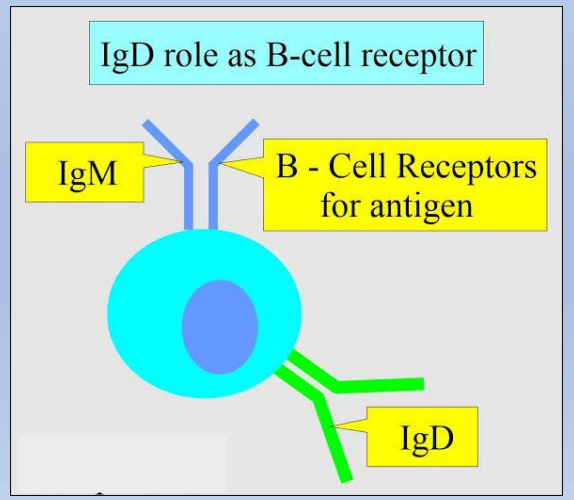
IgG

- najzastupljeniji imunoglobulin u serumu (~75–80% svih protutijela)
- monomerna struktura → lako prolazi kroz tkiva
- ima četiri podrazreda: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4
- prelazi kroz posteljicu → osigurava imunitet novorođenčetu
- djeluje u sekundarnom imunosnom odgovoru
- neutralizacija toksina i virusa
- opsonizacija – olakšava fagocitozu (veže se na Fc receptore fagocita); aktivacija komplementa



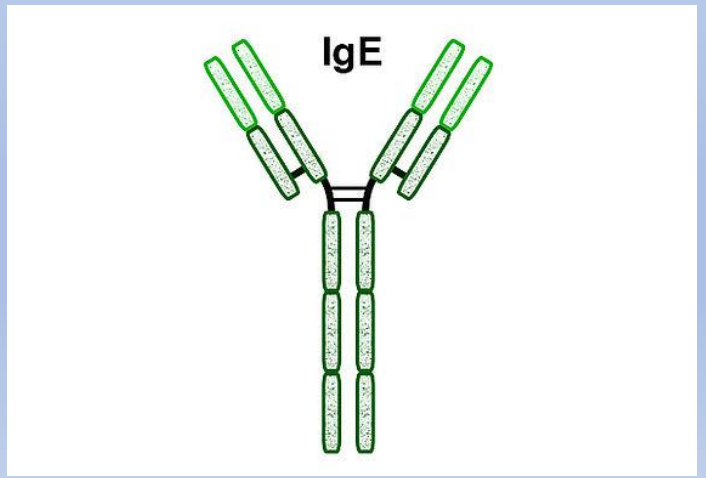
IgD

- mala koncentracija u serumu
- prisutan uglavnom na površini nezrelih B-stanica
- djeluje kao receptor za antigen na B-stanicama, zajedno s IgM
- sudjeluje u aktivaciji i diferencijaciji B-stanica nakon kontakta s antigenom

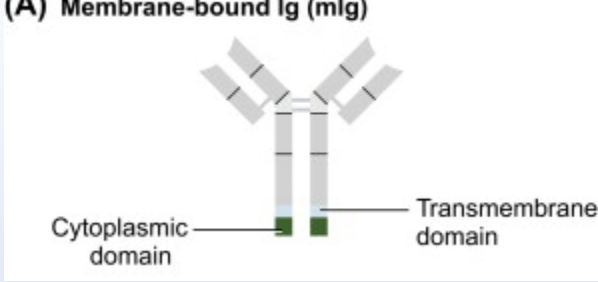


IgE

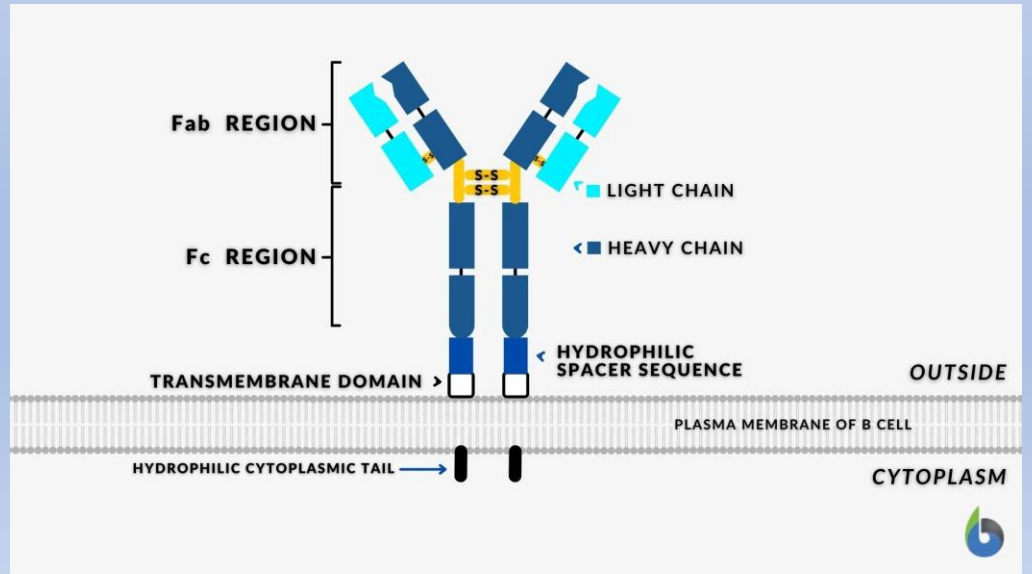
- niska koncentracija u serumu
- monomer → visoki afinitet za Fc receptore na mastocitima i bazofilima
- ključan u alergijskim reakcijama
- obrana od parazita (helminti) – aktivira eozinofile i mastocite



Membranski imunoglobulini (mIg)

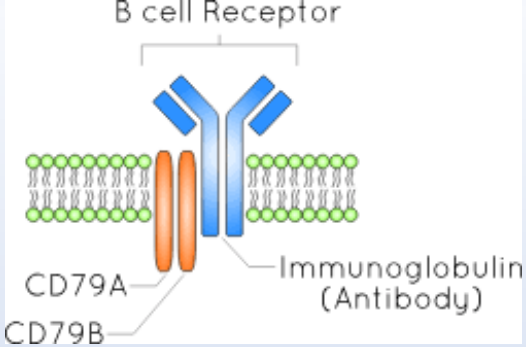


- oblik imunoglobulina (IgM, IgD)
- ima na C-kraju teškog lanca dodatne dijelove koji ga usidre u membranu B-limfocita:
  - **izvanstanični** hidrofilni **nastavak**
  - **transmembranski dio**
  - **kratki unutarstanični** (citoplazmatski) **dio** – sudjeluje u prijenosu signala

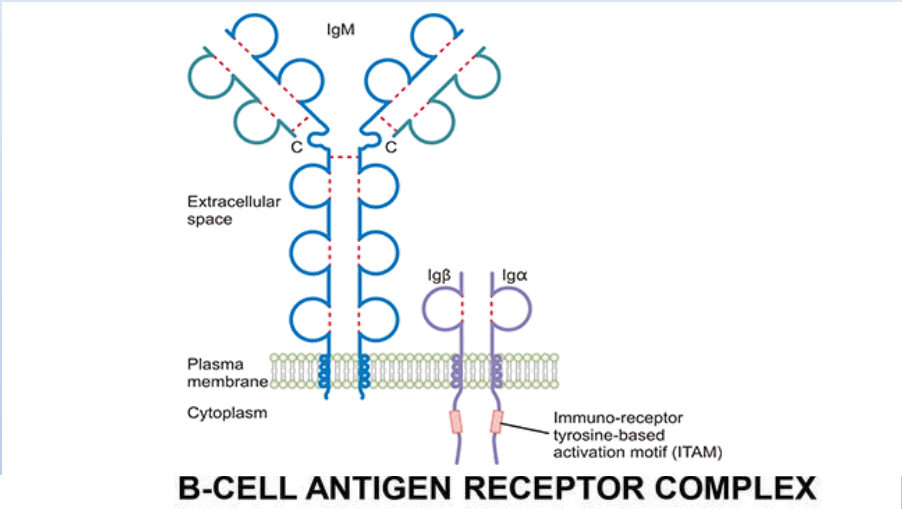


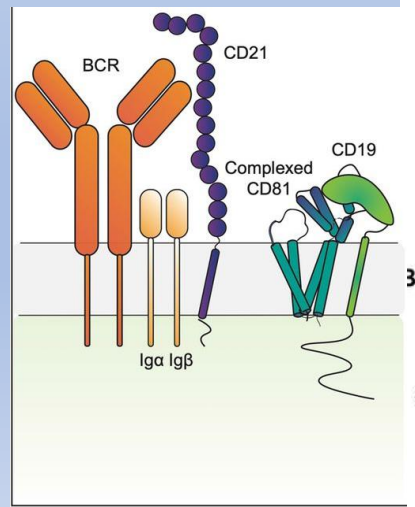
- imaju istu građu kao protutijela, ali sadrže **dodatni transmembranski** i **citoplazmatski dio** koji ih usidruje u membranu B-limfocita i omogućuje signalizaciju

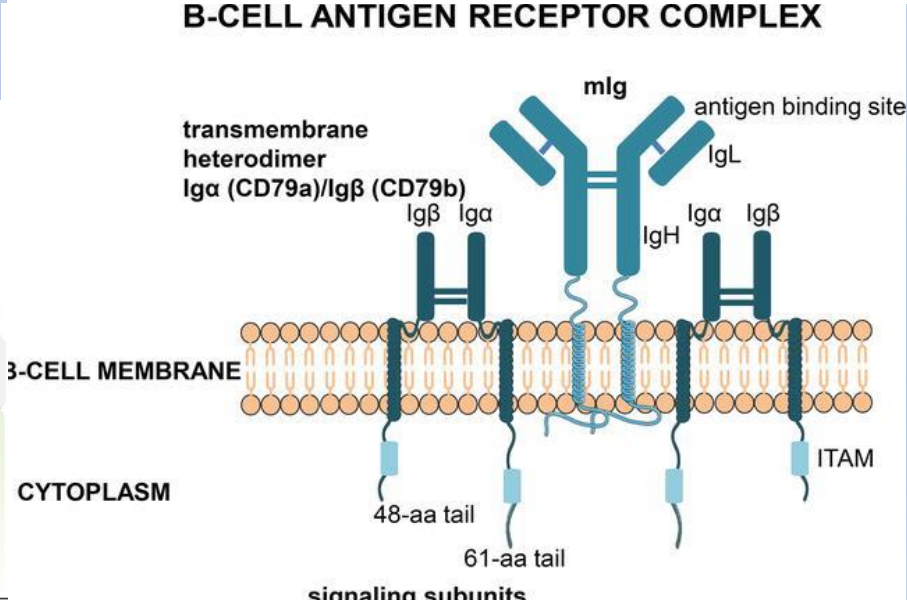
Antigenski receptor limfocita B (BCR)



- kompleks koji uključuje **membranski imunoglobulin** (mIg) + **signalne proteine** (Igα/Igβ)
- membranski Ig → velik dio molekule odgovara onom protutijelu koje će stvarati plazma stanice
- djevičanski limfociti B nose najčešće Ig receptor razreda IgM i IgD
- Ig receptor tvori kompleks s dvije **Ig-α/ Ig-β (CD79α i CD79β)** heterodimerne molekule → prenose signal u stanicu
- u citoplazmatskom dijelu Ig-α/ Ig-β – ITAM (engl. *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) – pokretanje signala
- BCR surađuje s koreceptorskim kompleksom: **CD19, CD21 (CR2), CD81** → pojačavaju vezu receptora s antigenom i sudjeluju u prijenosu signala

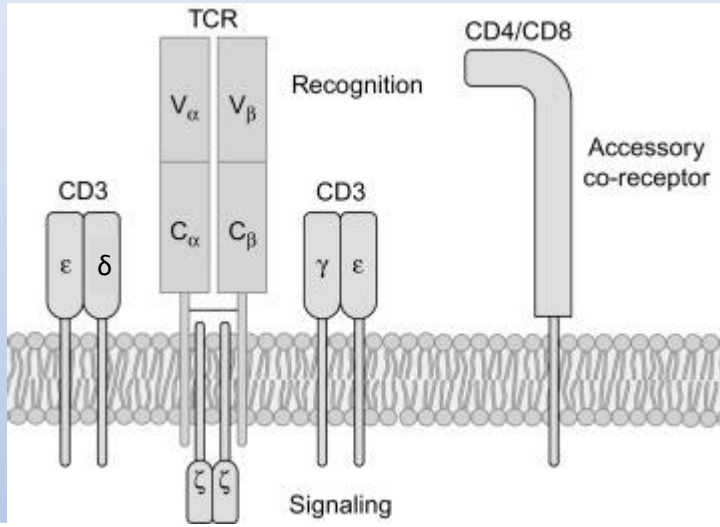


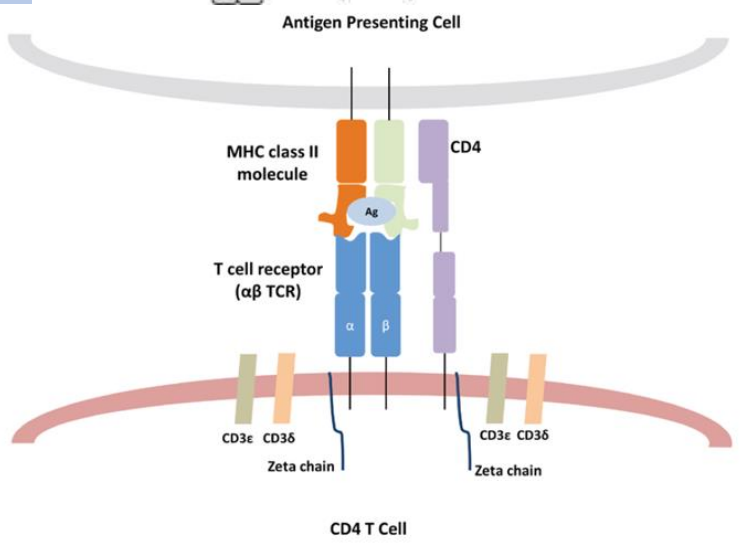


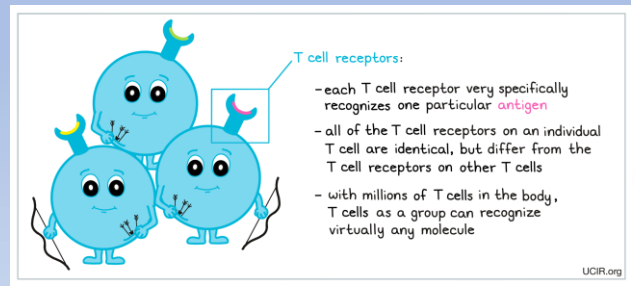


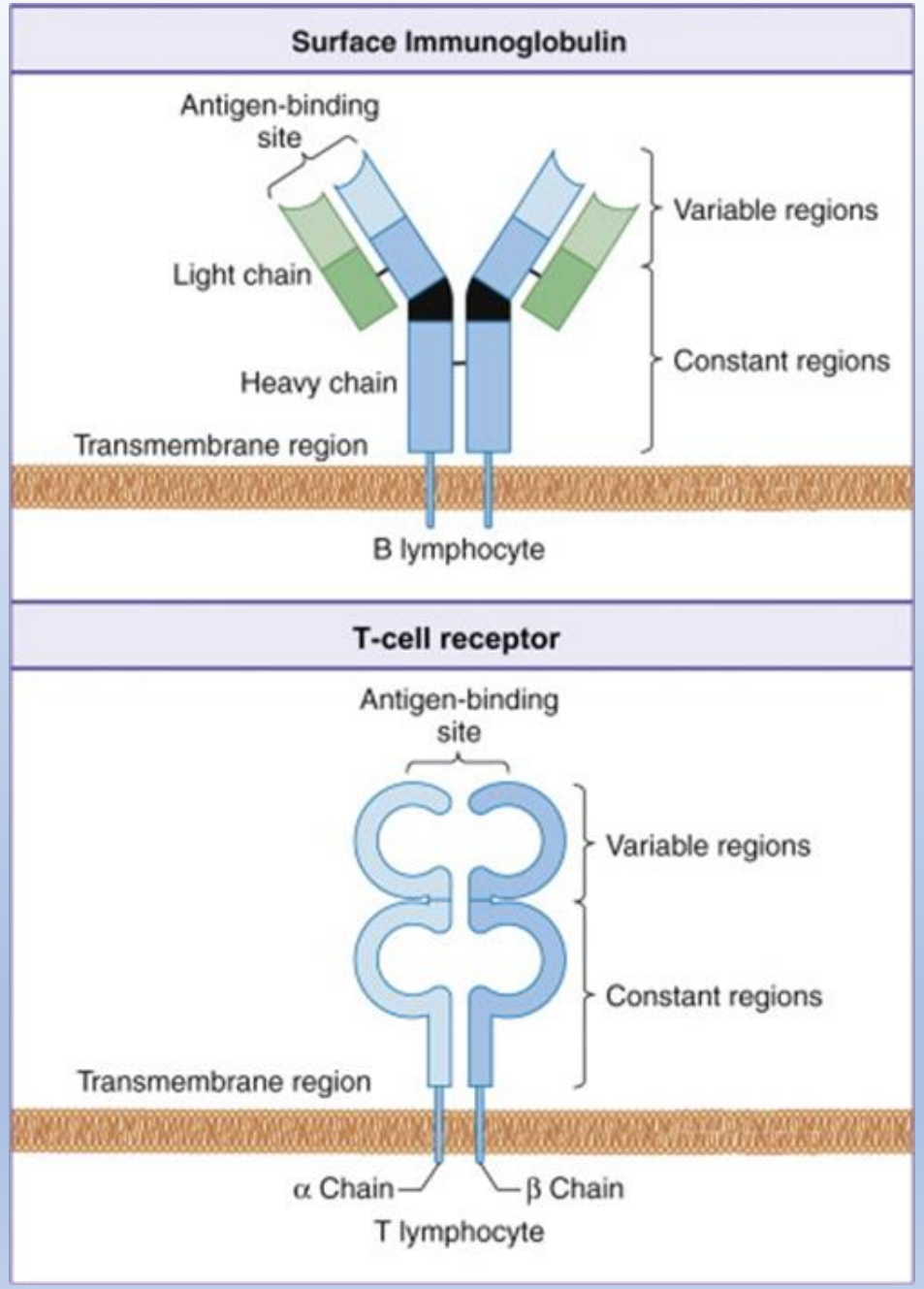
Antigenski receptor limfocita T (TCR)

- heterodimer građen od dva polipeptidna lanca
- dvije vrste receptora
  - **a)** **TCR-αβ** → najčešći tip, prepoznaje antigen prezentiran na MHC I ili II
  - **b)** **TCR-γδ** → rjeđi tip, često prepoznaje antigen neovisno o MHC-u
- signalne molekule: molekule **CD3**-kompleksa i molekula **ζ** → prenosi signal unutar stanice nakon što TCR prepozna antigen
- CD3 kompleks – tri polipeptidna lanca (γ, δ i ε) koji tvore heterodimere (ε:γ i ε: δ)
- lanci ζ se udružuju u homodimere ζ:ζ
- svaki lanac sadrži ITAM motive koji se fosforiliraju i pokreću signalni put
- koreceptorske molekule: CD4, CD8 - povećavaju afinitet vezanja TCR-a za antigen








Surface Immunoglobulin
Antigen-binding site
Light chain
Heavy chain
Transmembrane region
Variable regions
Constant regions
B lymphocyte
T-cell receptor
Antigen-binding site
Variable regions
Constant regions
Transmembrane region
α Chain
β Chain
T lymphocyte

Supergenska porodica imunoglobulina - (natporodica imunoglobulina)

- glavni kompleks gena tkivne podudarnosti (MHC)
- imunoglobulini
- antigenski receptori limfocita T
- poliimunoglobulinski receptor
- β2-mikroglobulin
- limfocitni biljezi (CD2, CD4, CD8, itd.)
- adhezijske molekule (ICAM-1, -2,-3, VCAM-1, LFA-3; PECAM)
- čimbenici rasta

