



Sinteza imunoglobulinskih lanaca

Raznolikost receptora

▶ Teorija zametne loze

- ▶ pretpostavlja da genom sadrži sve gene potrebne za stvaranje ogromnog broja različitih protutijela

▶ Teorija somatske mutacije

- ▶ pretpostavlja da genom sadrži relativno mali broj imunoglobulinskih gena koji su u somatskim stanicama podložni mutacijama, pa tako uz rekombinaciju nastaje velika različitost između molekula protutijela

▶ Teorija somatske rekombinacije

- ▶ pomiruje obje navedene teorije uvođenjem ideje o postojanju više gena za jedan lanac
- ▶ konstantni dijelovi lanca (domena) su kodirani jednim genom dok su varijabilni dijelovi lanca kodirani velikim brojem gena

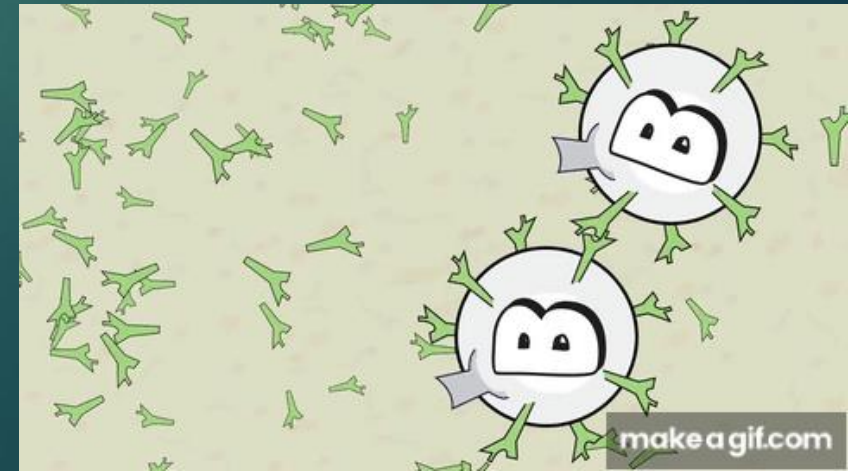
▶ Osnovna zakonitost: najmanje dva gena – jedan polipeptid

► **Imunoglobulini (Ig)** su bjelančevine koje proizvode B-limfociti

Postoje u dva osnovna oblika:

- **membranski oblik** → djeluje kao **B-stanični receptor (BCR)**
- **sekretorni oblik** → djeluje kao **slobodno proutijelo** u krvi i tjelesnim tekućinama

Oba oblika imaju istu **specifičnost za antigen**, ali različitu **ulogu**.



Sinteza imunoglobulina – ukratko

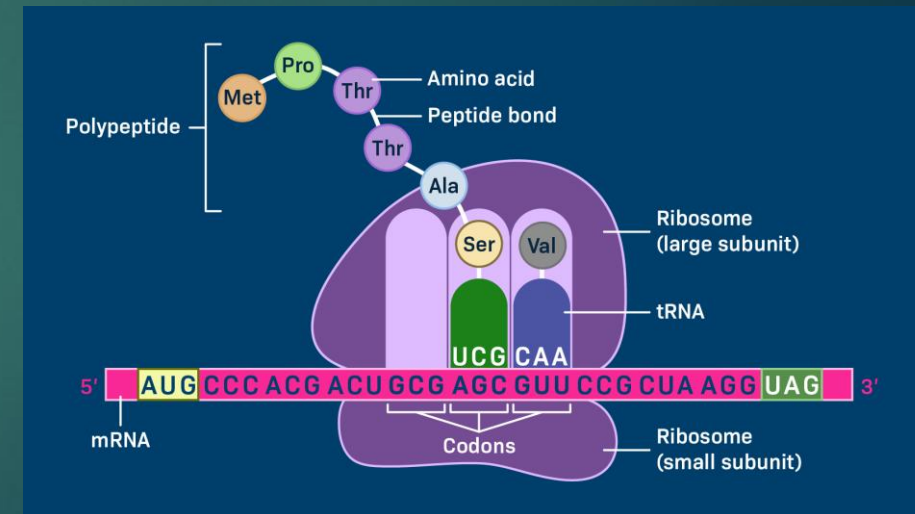
1. Genska rekombinacija (V(D)J rekombinacija)

- ▶ u koštanoj srži, tijekom sazrijevanja B-limfocita, dolazi do spajanja različitih genskih segmenata koji kodiraju varijabilne dijelove protutijela
- ▶ teški lanac (H lanac): spajanje V (*variable*), D (*diversity*) i J (*joining*) segmenata
- ▶ laki lanac (L lanac): spajanje samo V i J segmenata

Velika raznolikost protutijela!!!

2. Transkripcija i translacija

- ▶ nakon rekombinacije, DNA se prepisuje u mRNA
- ▶ mRNA se prevodi u polipeptidne lance:
 - teški (H) lanci
 - laki (L) lanci



- ovi se lanci sintetiziraju u endoplazmatskom retikulumu (ER)

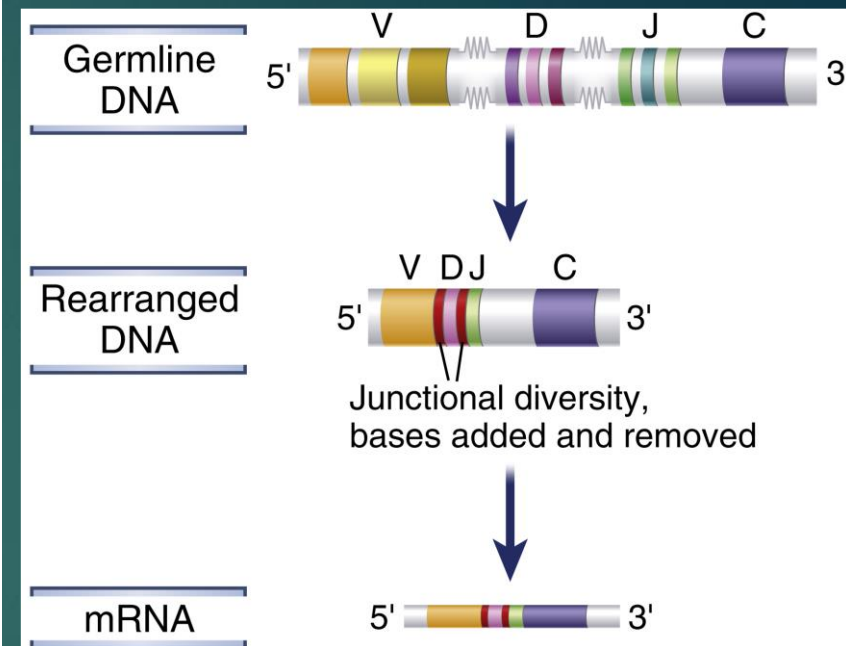
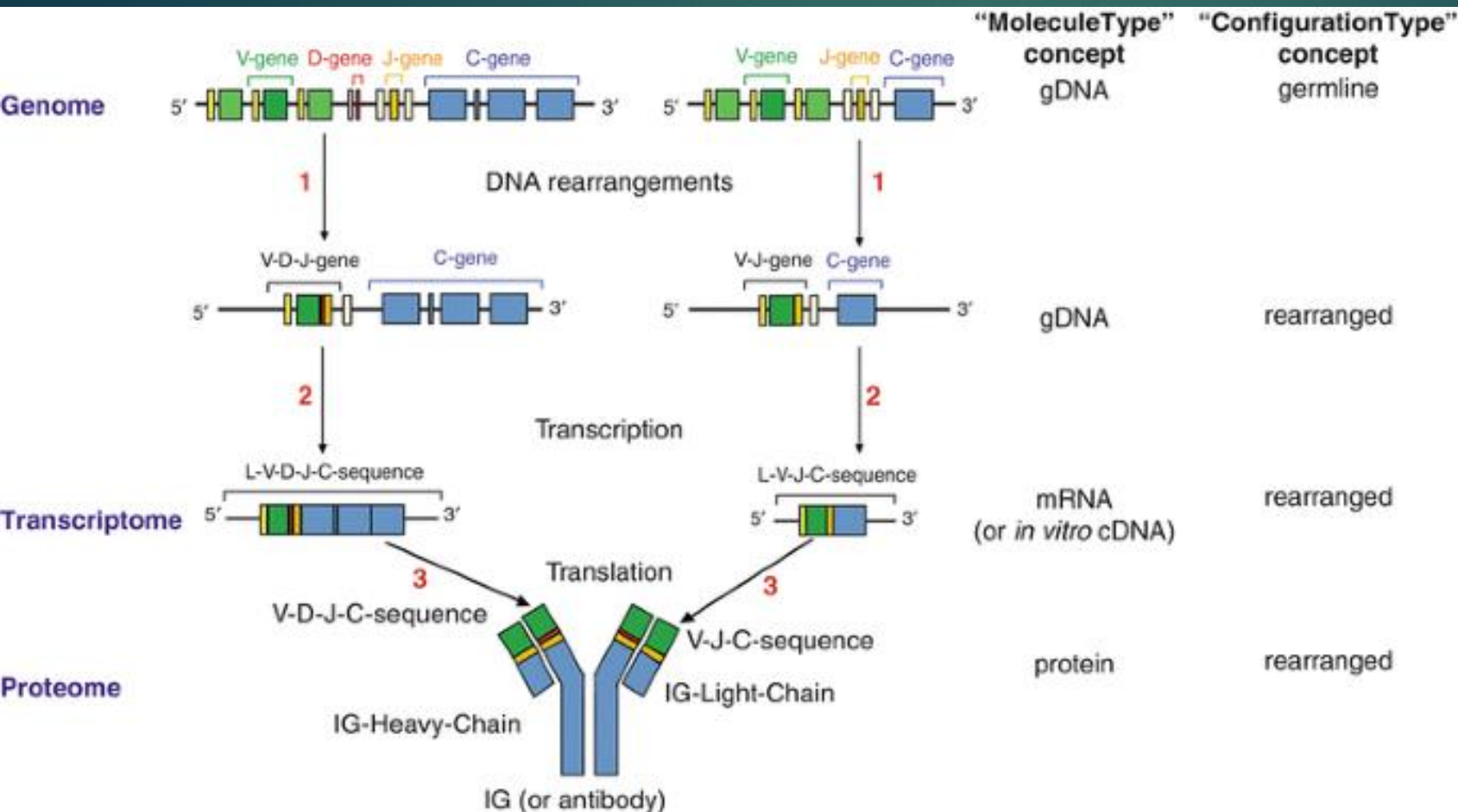
3. Sklapanje i modifikacija

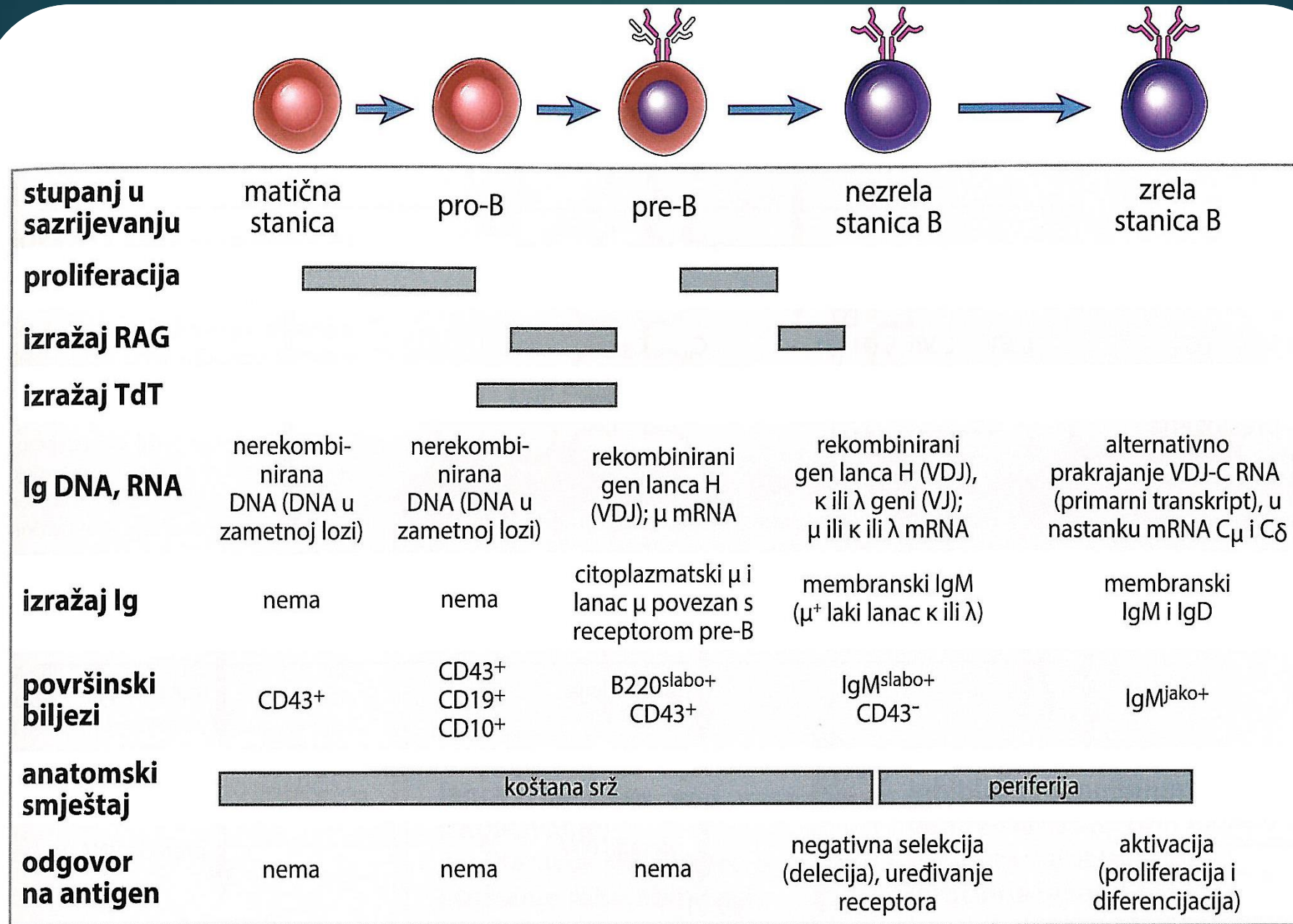
- ▶ u endoplazmatskoj mrežici - spajanje teških i lakih lanaca → funkcionalni imunoglobulin (2 H + 2 L lanca)
- ▶ dodavanje disulfidnih veza i ugljikohidratne skupine (glikozilacija)
- ▶ u tom obliku nastaje monomer Ig

4. Određivanje oblika (membranski ili sekretorni)

- ▶ na kraju transkripta teškog lanca nalazi se alternativni završetak koji određuje hoće li imunoglobulin:
 - ostati ugrađen u membranu kao BCR
 - biti izlučen kao slobodno protutijelo

Odluka o tome ovisi o obradi mRNA (alternativnom spajanju)!

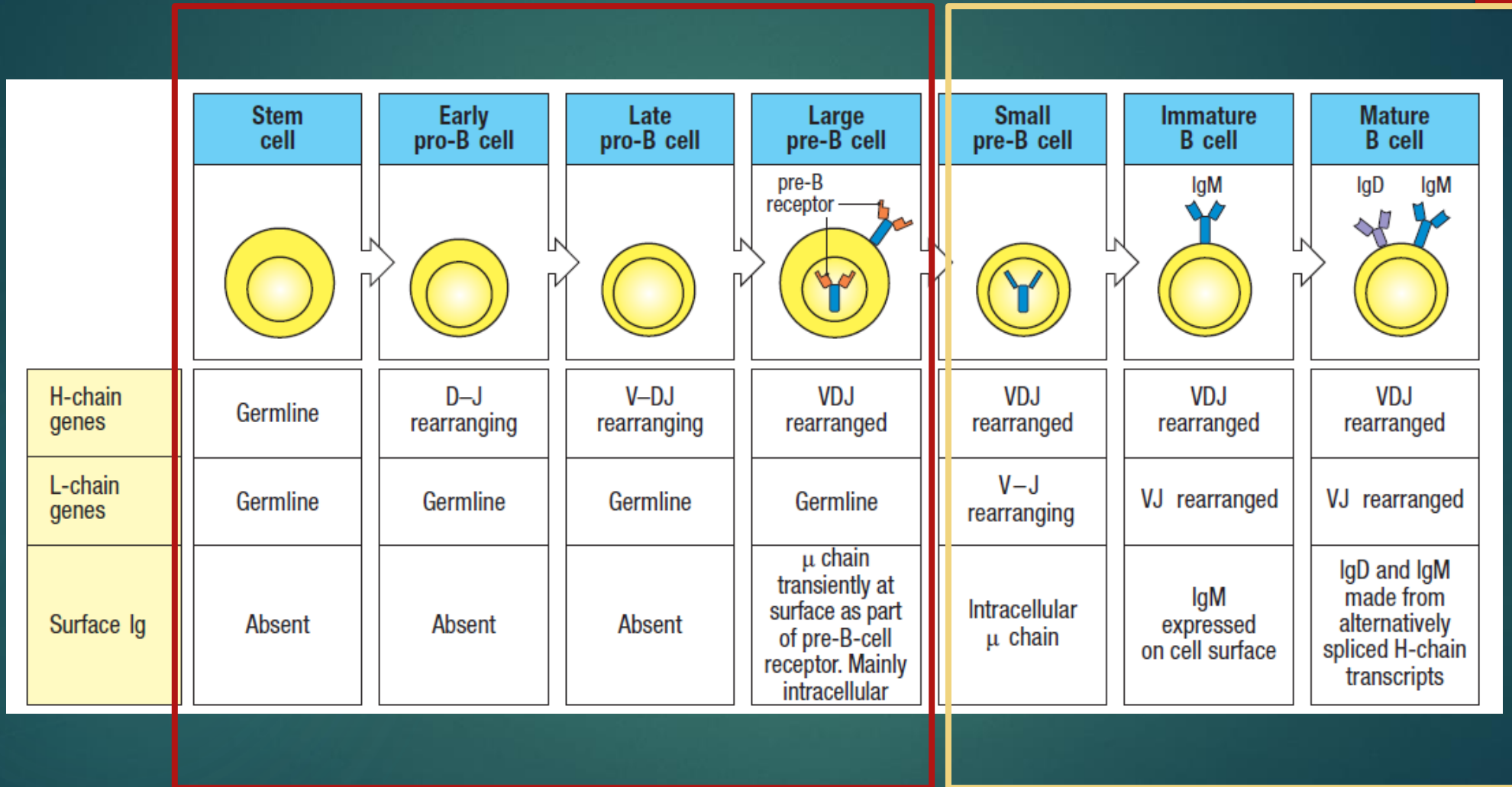




SLIKA 8-12. Stupnjevi sazrijevanja stanica B. Prikazani su svi stupnjevi sazrijevanja stanica B od matične stanice u koštanoj srži do zrelog limfocita B. Uz biljege prikazane na slici, brojni se površinski biljezi rabe za definiranje svakog stupnja u sazrijevanju stanica B.

Faza I: Preslagivanje teškog lanca

Faza II: Preslagivanje lakog lanca



Obilježja svih BCR (Ig) i TCR polipeptidnih lanaca

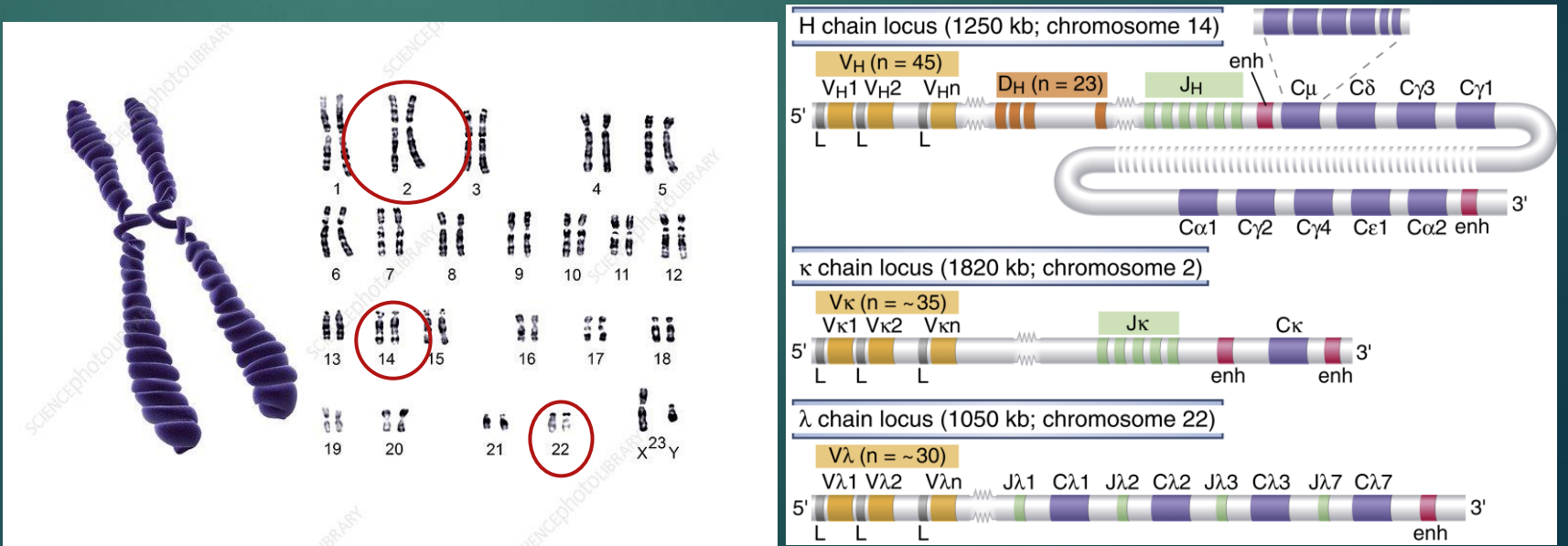
- njihovih funkcionalnih gena nema u DNA zametnoj lozi koja se nasljeđuje, kao što je to slučaj s drugim proteinima
- **funkcionalni geni** za BCR i TCR polipeptidne lance sklapaju se naknadno **tijekom razvoja** limfocita → nezavisno u svakom pojedinačnom B odnosno T limfocitu procesom **somatskog DNA preuređenja i nasumičnom rekombinacijom** naslijeđenih genskih segmenata
- svaki pojedinačni diferencirani B odnosno T limfocit, i njegovo potomstvo koje čini jedan **stanični klon**, posjeduje samo sebi svojstvene funkcionalne gene za BCR(Ig) odnosno TCR polipeptidne lance. Ti su geni nastali nasumično, putem jedne od mnogih mogućih **rekombinacija genskih segmenata**

- 
- somatsko DNA preuređenje **jedinstveno je za imunosni sustav**, odnosno za B i T limfocite u kojima jedino preuređeni i rekombinirani funkcionalni geni za BCR(Ig) odnosno TCR peptidne lance mogu vršiti svoj posao
 - proces somatskog DNA preuređenja u B i T limfocitima je važan za imunosni sustav koji na ekonomičan način i **korištenjem minimuma informacija zametne loze, nasumičnim rekombinacijama nefunkcionalnih dijelova gena omogućava stvaranje ogromnog broja funkcionalnih gena** neophodnih za stvaranje najraznolikijih imunosnih receptora

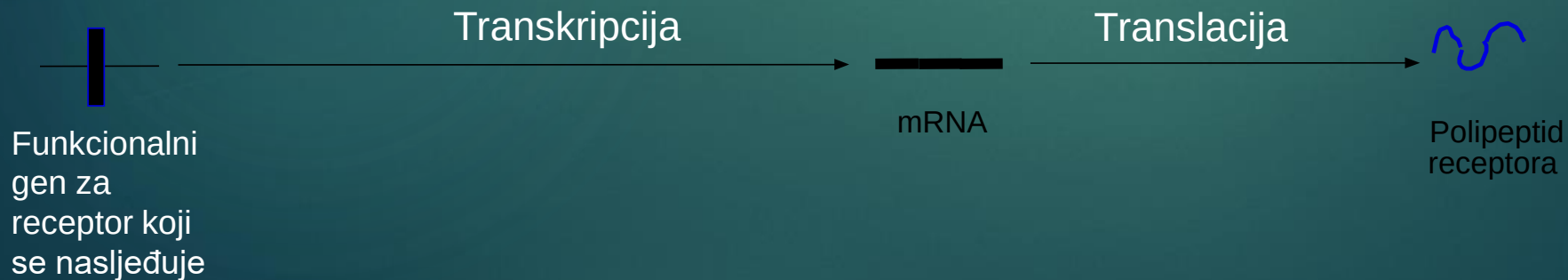
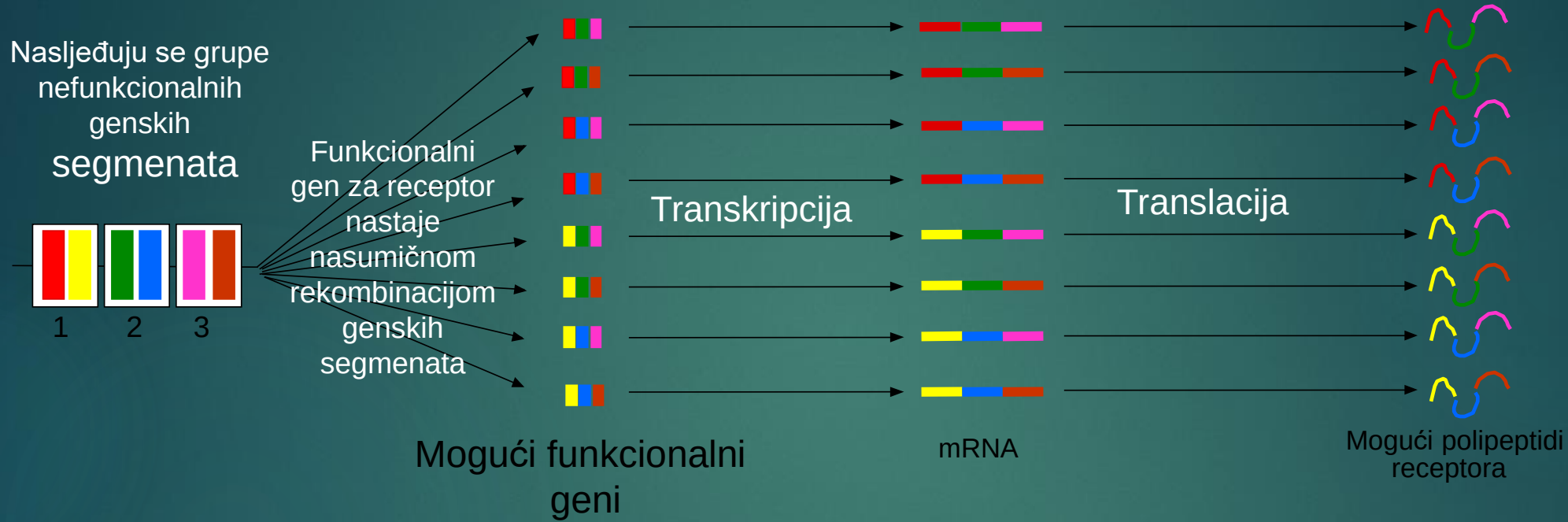
Organizacija imunoglobulinskih gena

- Genetski lokusi koji kodiraju imunoglobuline nalaze se na različitim kromosomima:

Lanac	Kromosom (čovjek)	Segmenti
Teški (H) lanac	14	V (variable), D (diversity), J (joining), C (constant)
Laki κ lanac	2	V, J, C
Laki λ lanac	22	V, J, C



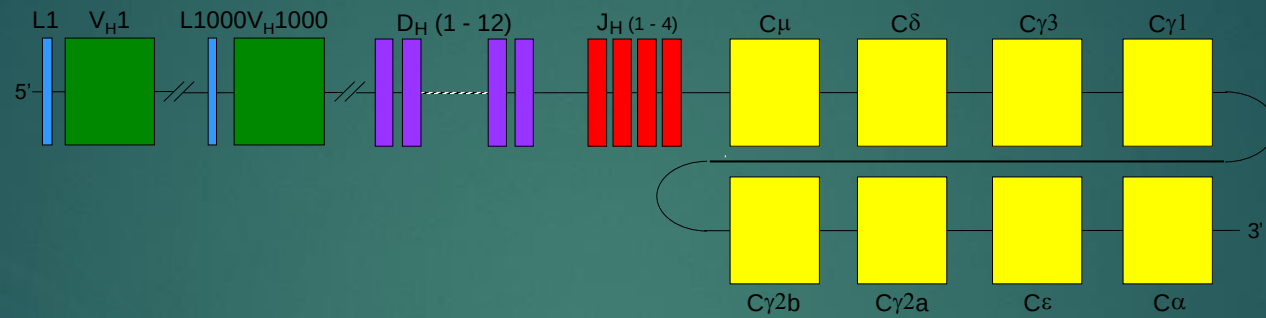
RECEPTORI ČIJI GENI NASTAJU SOMATSKIM REKOMBINACIJOM DNA (iskazani na B i T stanicama)



RECEPTORI ČIJI SE GENI NASLJEĐUJU
(iskazani na makrofagima i NK stanicama)

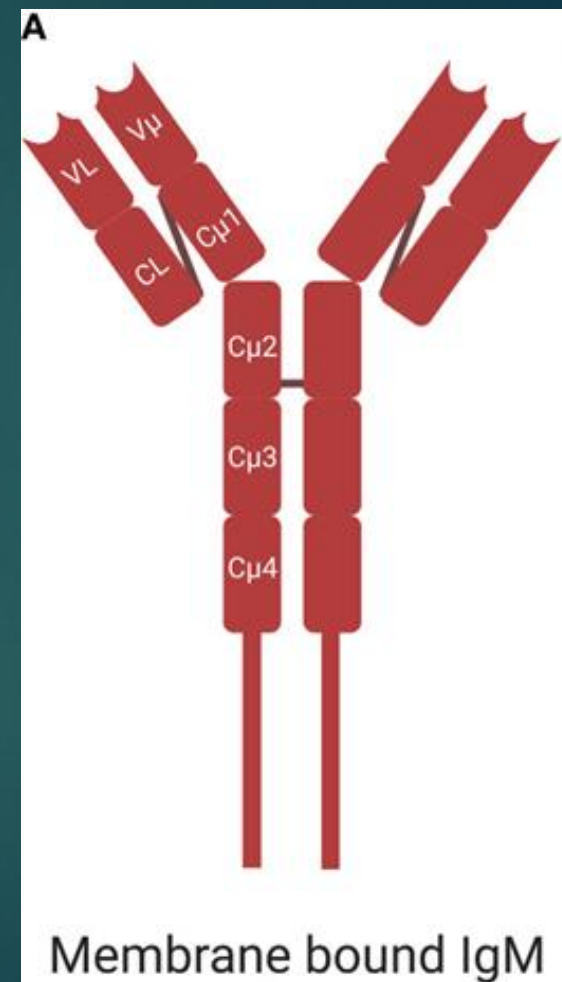
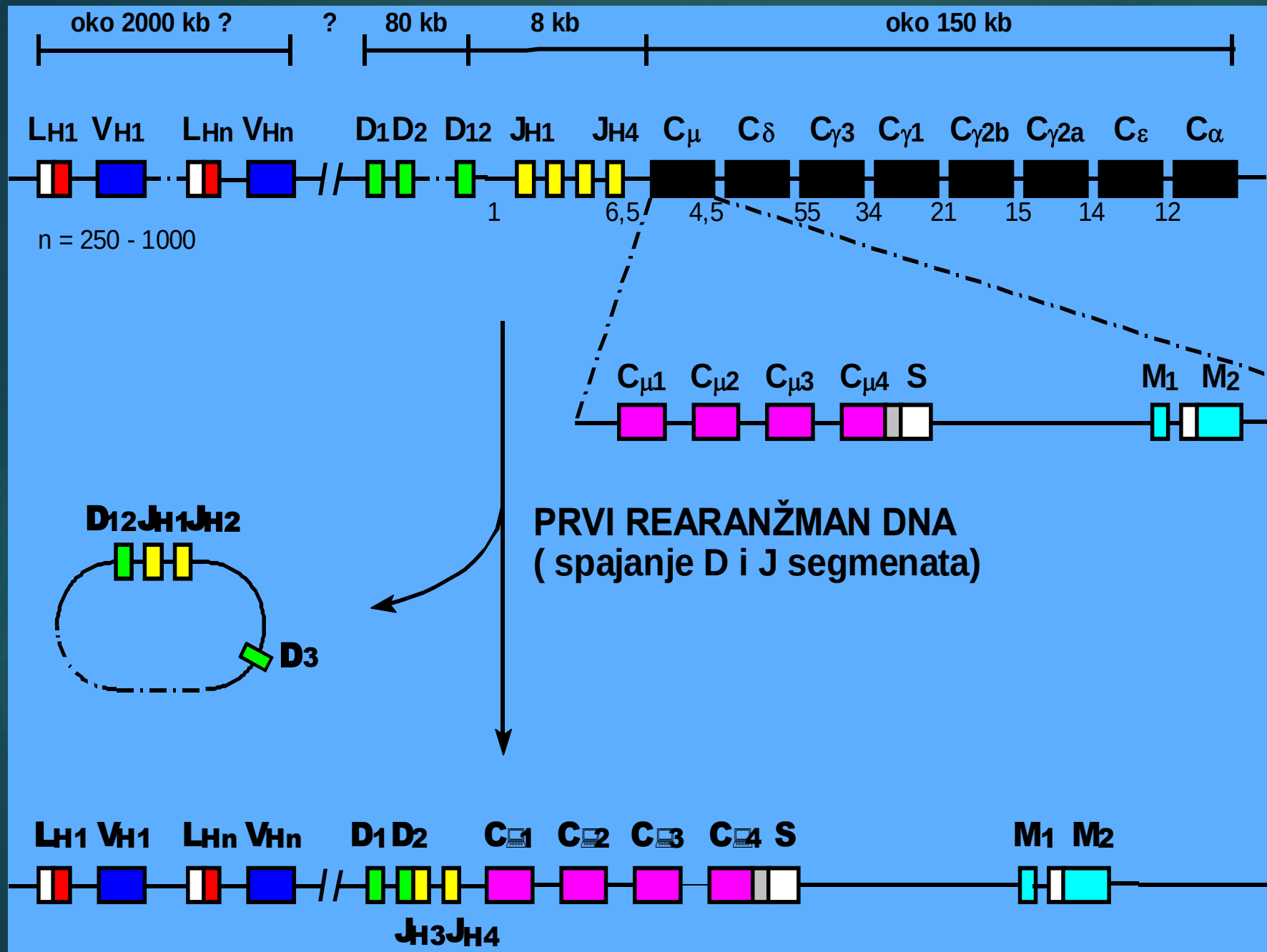
- geni koji kodiraju BCR(Ig) i TCR polipeptidne lance raspoređeni su u **sedam posebnih lokusa**: *IgH* za teške lance, *IgLκ* i *IgLλ* za lake lance, i *TCR α,β,γ,δ* za TCR lance
- genomska organizacija svih ovih genskih lokusa u konfiguraciji koja se nasljeđuje je veoma slična
- **svaki lokus sadrži više grupa genskih segmenata koji tek kada se spoje u niz, stvaraju funkcionalan gen koji je sposoban započeti i upravljati sintezom polipeptida**

LOKUS IgH μ LANCA

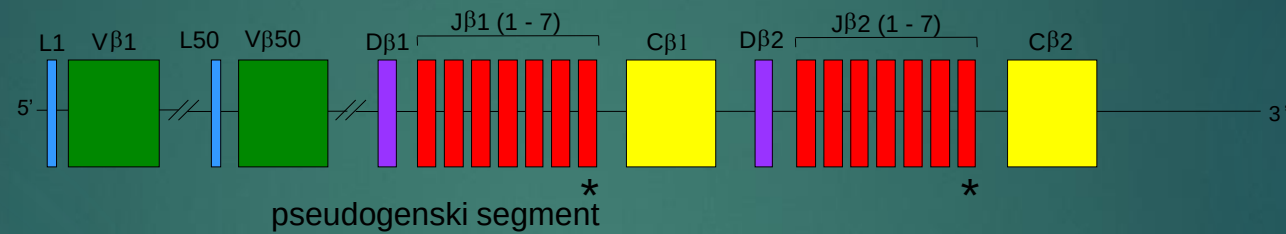


GENSKI SEGMENTI

L	Vodeći
v	Varijabilni
D	Raznolikost
J	Spojni
c	Konstantni



LOKUS TCR β LANCA



GENSKI SEGMENTI

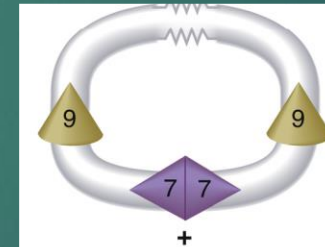
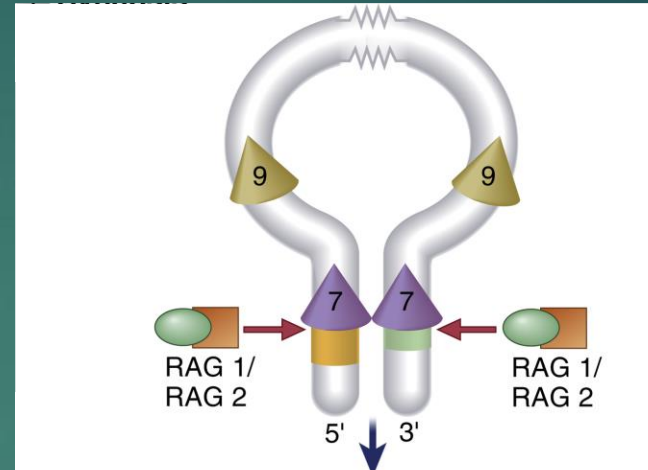
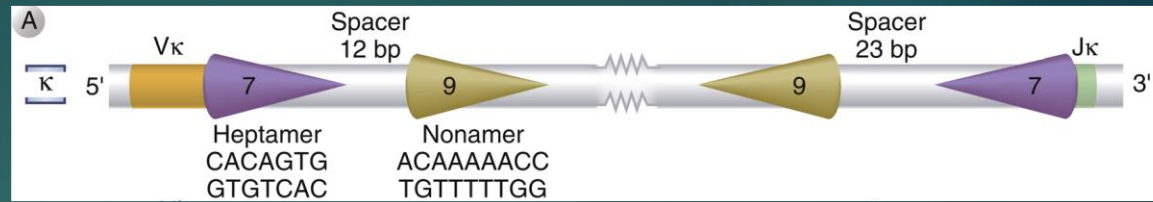
L	Vodeći
V	Varijabilni
D	Raznolikost
J	Spojni
C	Konstantni

- 
- ▶ S početkom od 5' kraja DNA lanca, svi lokusi sadrže brojne **varijabilne (V) genske segmente**, zatim grupu **spojnih (J)** genskih segmenata, kao i nekoliko **konstantnih (C) genskih segmenata** prema 3' kraju
 - ▶ Uz svaki V segment na njegovom 5' kraju, nalazi se **L** (engl. *leader*) **egzon** koji sadrži informaciju za vodeći peptid. Taj vodeći peptid usmjerava novonastali protein na pravo mjesto u stanici tijekom sinteze
 - ▶ IgH lokus, TCR β i TCR δ lokus sadrže i grupe genskih segmenata **raznolikosti - D genskih segmenata**

- 
- Somatsko preuređenje DNA kojim se tijekom razvoja limfocita sklapa funkcionalni gen za BCR ili TCR polipeptidne lance, odigrava se posredstvom **rekombinacije nefunkcionalnih V,D,J genskih segmenata**
 - Rekombinacija se obavlja aktivnošću zajedničkog tkivno specifičnog enzimskog sustava poznatog pod nazivom *VDJ rekombinaze*

- Rekombinacija V,D,J segmenata → **prepoznavanje signalnih evolucijski konzerviranih RS slijedova** na DNA molekulama koje se spajaju
- RS slijedovi se **nalaze bočno prema 3' kraju svakog V segmenta, prema 5' kraju svakog J segmenta i s obje strane svakog D genskog segmenta**
- **RS** slijed služi kao **mjesto prepoznavanja** za rekombinacijski sustav, čime se omogućuje da se samo odgovarajući genski segmenti rekombiniraju
- V segment se prvo spaja samo sa J ili sa D segmentom, ali se **nikad** ne spaja sa nekim drugim V segmentom!!!

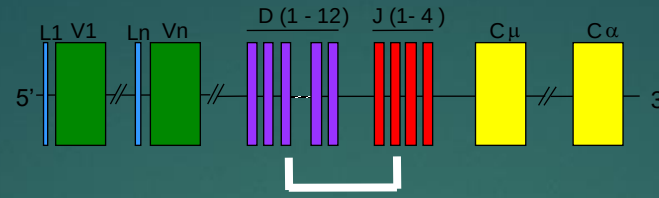
- Za V,D,J rekombinaciju od ključnog su značaja evolucijski izrazito konzervirani aktivacijski geni **rekombinaza, RAG-1** i **RAG-2** geni (engl. *recombinase activation gene*), koji omogućuju aktivnosti V,D,J rekombinaza.





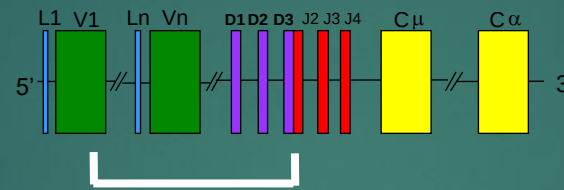
Shematski prikaz rekombinacije genskih
segmenata u funkcionalni gen

Nasljeđena DNA
(nefunkcionalni genski segmenti)



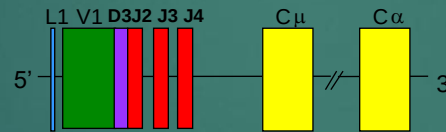
D - J SPAJANJE

Prvo preuređenje DNA
(spajanje D3 - J2)

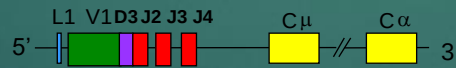


V - D J SPAJANJE

Drugo preuređenje DNA
(spajanje V1 - D3J2)

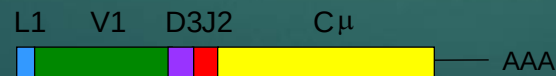


Funkcionalni gen koji se prepisuje



**STVARANJE PRIMARNOG
TRANSKRIPTA RNA**

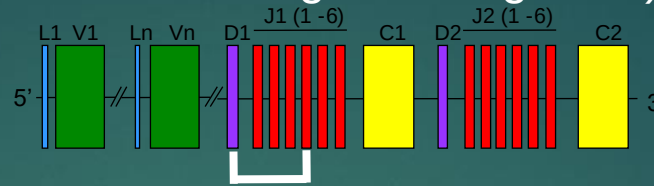
Obrada RNA



**STVARANJE
mRNA
OBRADOM**

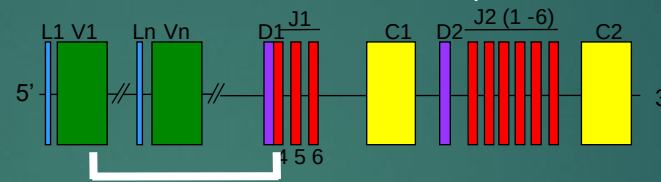
mRNA za IgHμ lanac

Nasljeđena DNA (nefunkcionalni genski segmenti)



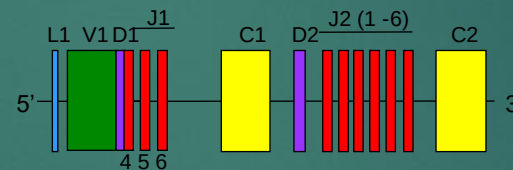
D - J SPAJANJE

Prvo preuređenje DNA (spajanje D1 - J1₄)

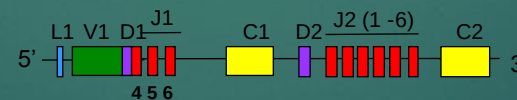


V - D J SPAJANJE

Drugo preuređenje DNA (spajanje V1 - D1J1₄)

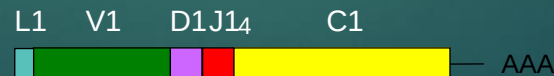


Funkcionalni gen koji se prepisuje



**STVARANJE PRIMARNOG
TRANSKRIPTA RNA**

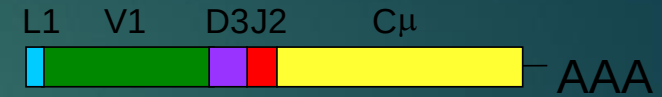
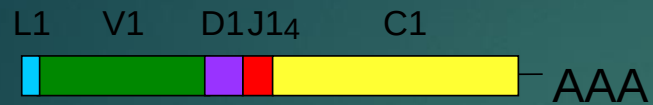
Obrada RNA



**STVARANJE
mRNA
OBRADOM**

mRNA za TCRβ lanac

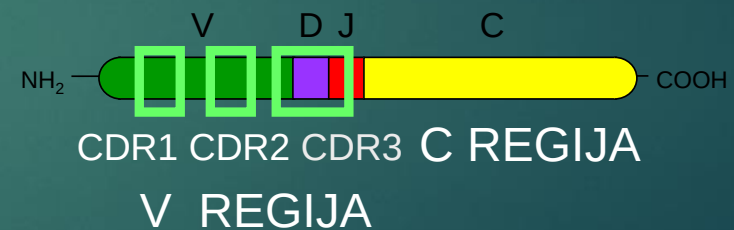
mRNA



TRANSLACIJA RNA U PRIMARNI POLIPEPTID



PROCESIRANJE I GLIKOZILACIJA U ZRELI SEKUNDARNI POLIPEPTID



TCR β LANAC

IgH μ LANAC

	BCR MOLEKULA		TCR MOLEKULA	
	Ig H μ lanac	Ig L κ lanac	TCR α lanac	TCR β lanac
Broj V segmenata	250 -1000	250	75	25
Broj D segmenata	12	0	0	2
Broj J segmenata	4	4	50	12
Rekombinacijsko spajanje segmenata	$1-5 \times 10^4$	10^3	4×10^3	6×10^2
Kombinacijsko sparivanje V domena		10^7		10^6
Ukupni potencijal uključujući spojnu raznolikost		10^{11}		10^{16}

Aelsko isključivanje

- ▶ genetski proces u kojem se u jednoj stanici izražava samo jedan alel određenog gena, dok je drugi alel tih gena isključen ili neizražen
- ▶ osigurava da samo jedna kopija gena (alel) bude funkcionalno aktivna → važno za specifičnost i funkciju imunosnih receptora i proteina
- ▶ događa se u procesu preslagivanja gena za imunoglobuline (teški i laki lanci protutijela) i za T-stanične receptore (TCR)
- ▶ **Važnost: osigurava klonalnu specifičnost stanica i sprječava dvosmisleni funkciju receptora**

