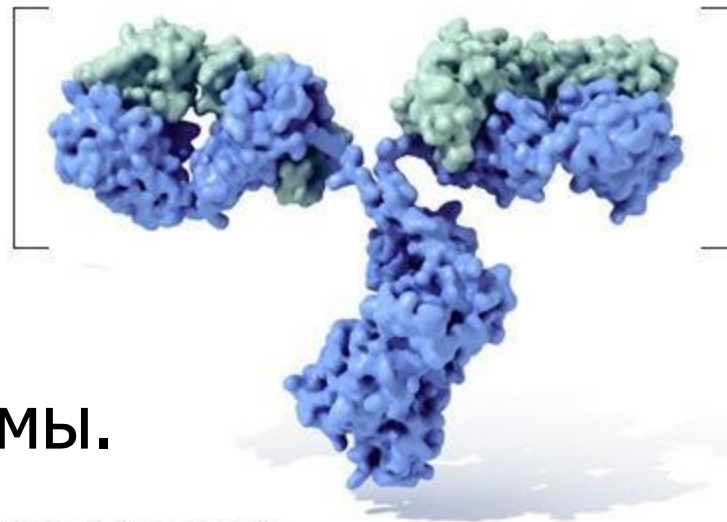


Лекция 1



Введение в иммунологию Эволюция иммунной системы.

Laboratory of Biocatalysis

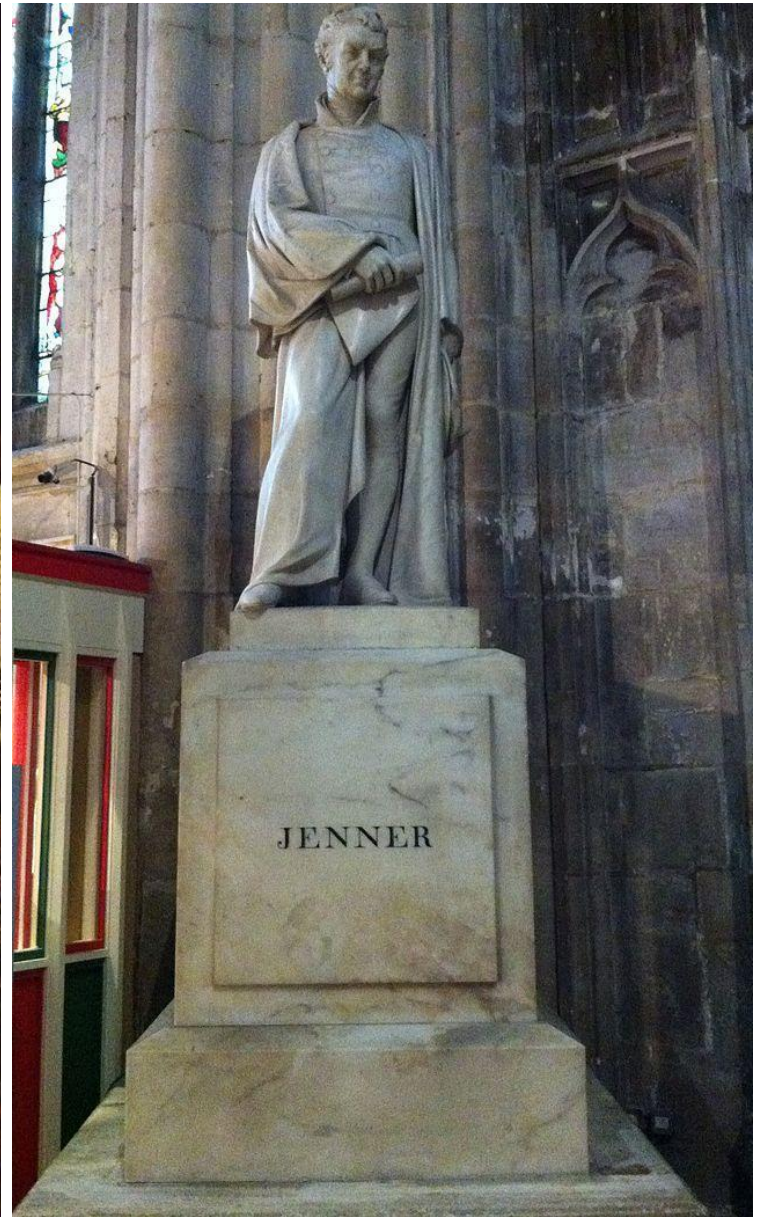
Лаборатория Биокатализа

Institute of Bioorganic Chemistry RAS

Институт Биоорганической химии РАН

Габибов А.Г.

Edward Jenner "the father of immunology"



smallpox vaccine, the world's first vaccine.



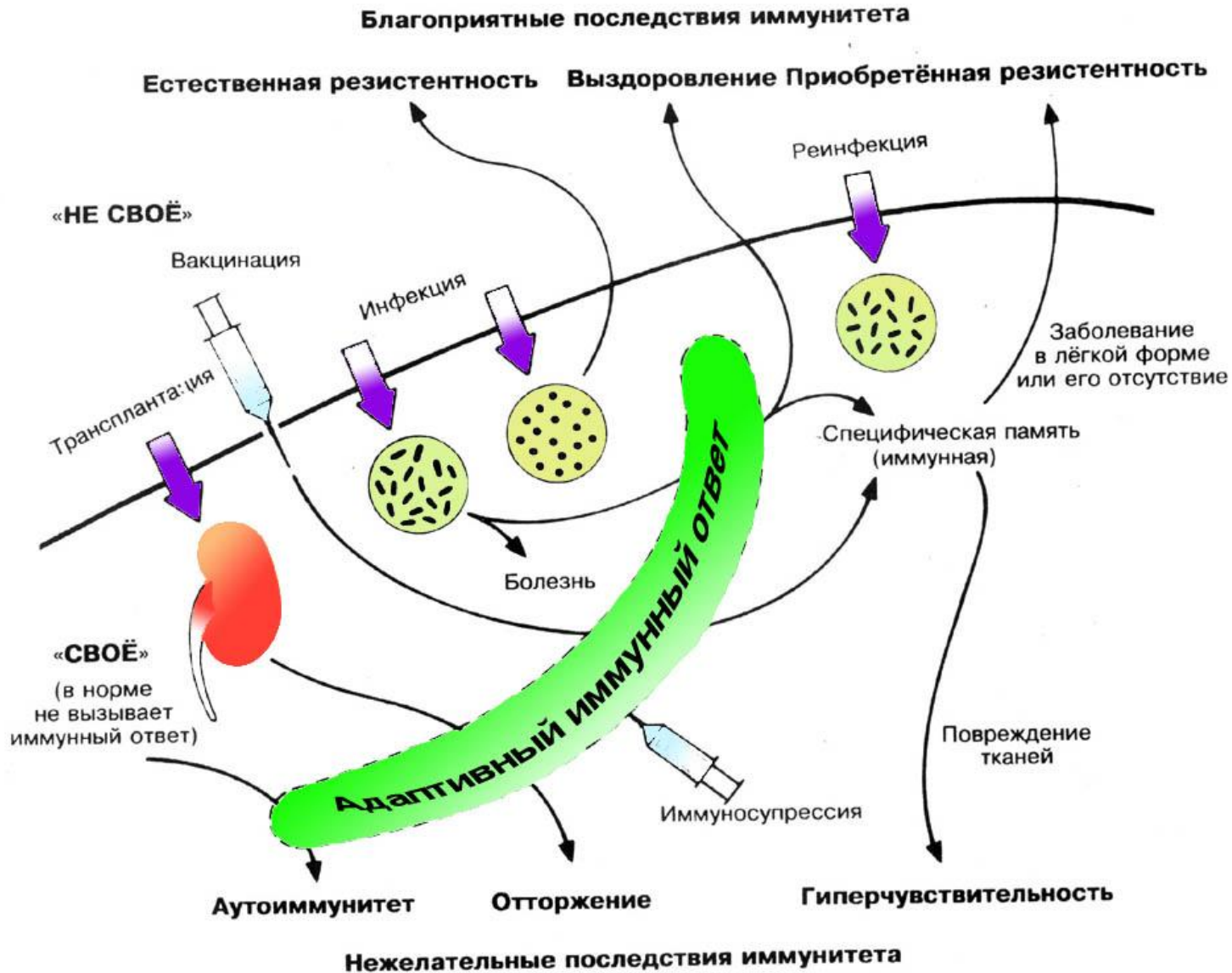
Louis Pasteur



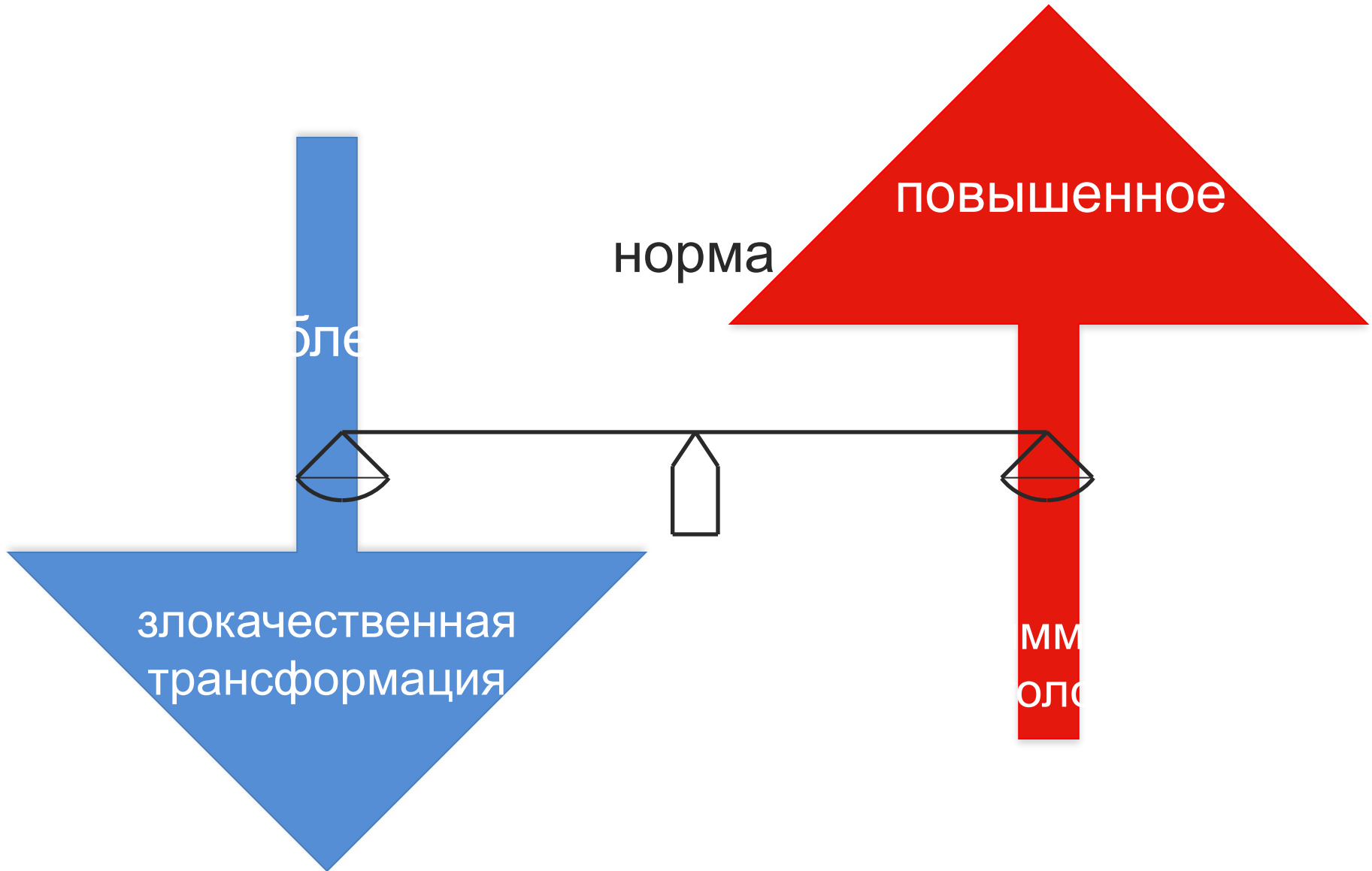
Emil Adolf von Behring



Определение иммунологии



Главная функция иммунной системы – распознавание «свой-чужой»



Эволюция иммунных механизмов

Одноклеточные

Простейшие
лимфоциты,



Фагоцитоз

Бактерии

Ферменты

Многоклеточные

Отторжение транс-
антительный ответ



Кораллы

Губки



Специфическая
агрегация,
распознавание
«своего»

Вторичнополостные

Фагоцит,запоминаний
плантата, распозна-
вание «не своего»



Иглокожие

Оболочники

Стволовые клетки
ГКГС, лимфоциты



Членистоногие

Комплемент
(альтернативный
путь активации)



Моллюски

Нет отторжения

Позвоночные

Скопление
трансплантата

Бесчелюстные
агглютинины, цитокины



Костные рыбы

T-B-кооперация,
NK, цитокины



T-клетки,
IgM, IgG

Рептилии



Птицы

Бурса, зародышевые
центры, T-клетки,
IgM, IgG, IgA



Млекопитающие

Разнообразие Ig+ ,T-
клетки,
IgM, IgG, IgA, IgD, IgE



Хрящевые рыбы

Селезенка, тимус,
B- и T-клетки, IgM
(18S,7S), комплемент
(классический путь
активации)



Амфибии

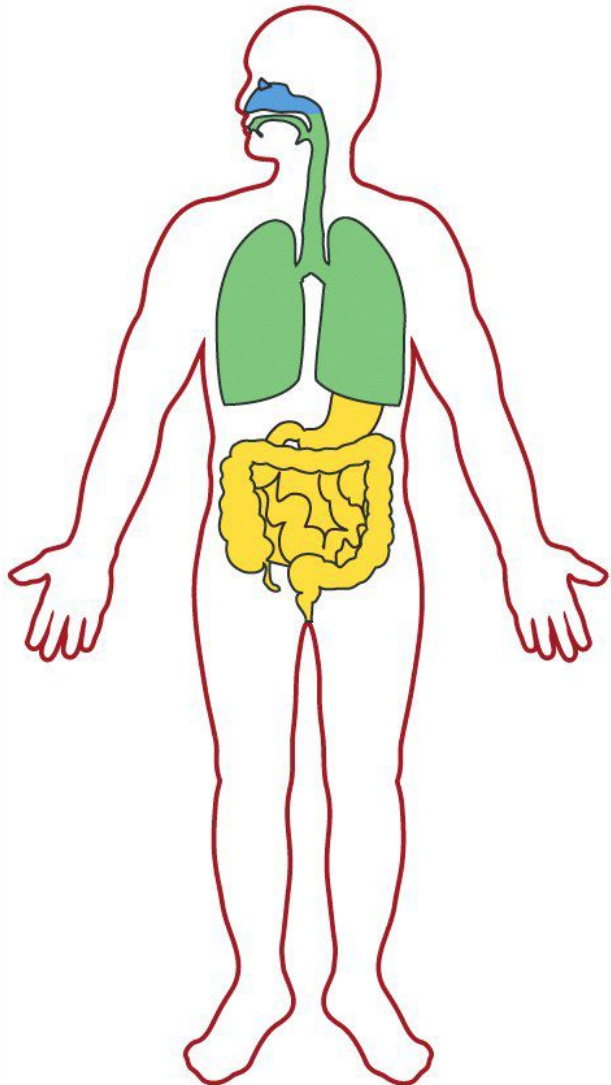
Лимфатические узлы,
ЛТАК,ГКГС,IgM, IgG,
костный мозг



| Routes of infection for pathogens | | | |
|-----------------------------------|---|-------------------------------|--------------------------|
| Route of entry | Mode of transmission | Pathogen | Disease |
| Mucosal surfaces | | | |
| Airway | Inhaled droplet | Influenza virus | Influenza |
| | Spores | <i>Neisseria meningitidis</i> | Meningococcal meningitis |
| | | <i>Bacillus anthracis</i> | Inhalation anthrax |
| Gastrointestinal tract | Contaminated water or food | <i>Salmonella typhi</i> | Typhoid fever |
| | | Rotavirus | Diarrhea |
| Reproductive tract | Physical contact | <i>Treponema pallidum</i> | Syphilis |
| | | HIV | AIDS |
| External epithelia | | | |
| External surface | Physical contact | <i>Trichophyton</i> | Athlete's foot |
| Wounds and abrasions | Minor skin abrasions | <i>Bacillus anthracis</i> | Cutaneous anthrax |
| | Puncture wounds | <i>Clostridium tetani</i> | Tetanus |
| | Handling infected animals | <i>Francisella tularensis</i> | Tularemia |
| Insect bites | Mosquito bites (<i>Aedes aegypti</i>) | Flavivirus | Yellow fever |
| | Deer tick bites | <i>Borrelia burgdorferi</i> | Lyme disease |
| | Mosquito bites (<i>Anopheles</i>) | <i>Plasmodium</i> spp. | Malaria |

Figure 2-2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

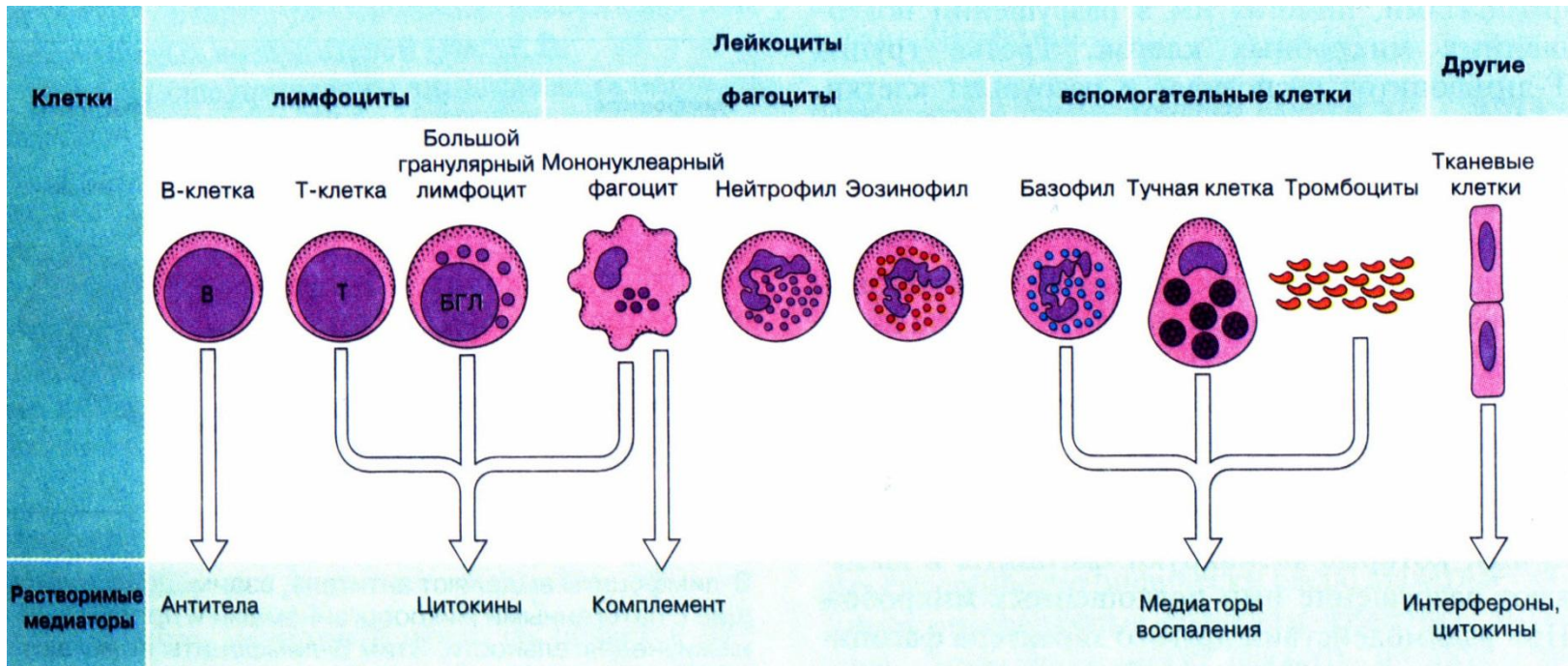
Intrinsic epithelial barriers to infection



| | Skin | Gut | Lungs | Eyes/nose |
|-----------------|--|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Mechanical | Epithelial cells joined by tight junctions | | | |
| | Longitudinal flow of air or fluid | | Movement of mucus by cilia | |
| Chemical | Fatty acids | Low pH | | Salivary enzymes (lysozyme) |
| | | Enzymes (pepsin) | | |
| | Antibacterial peptides | | | |
| Microbiological | Normal flora | | | |

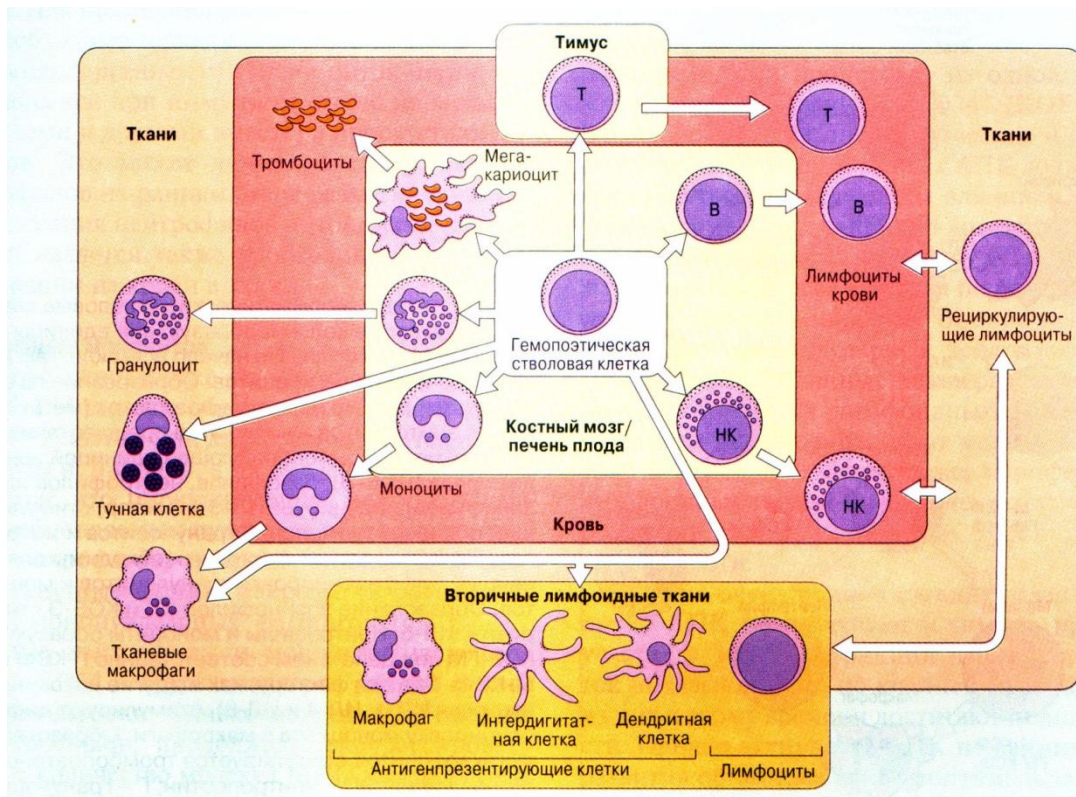
Figure 2-4 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Основные элементы иммунной системы



Компоненты комплемента синтезируются преимущественно клетками печени и в некотором количестве - мононуклеарными фагоцитами. Каждый тип клеток продуцирует и выделяет строго определенный набор медиаторов воспаления (в том числе, цитокинов). Кроме того, существует два типа дендритных клеток, которые имеют важное значение в презентации антигенов лимфоцитам.

Происхождение клеток иммунной системы

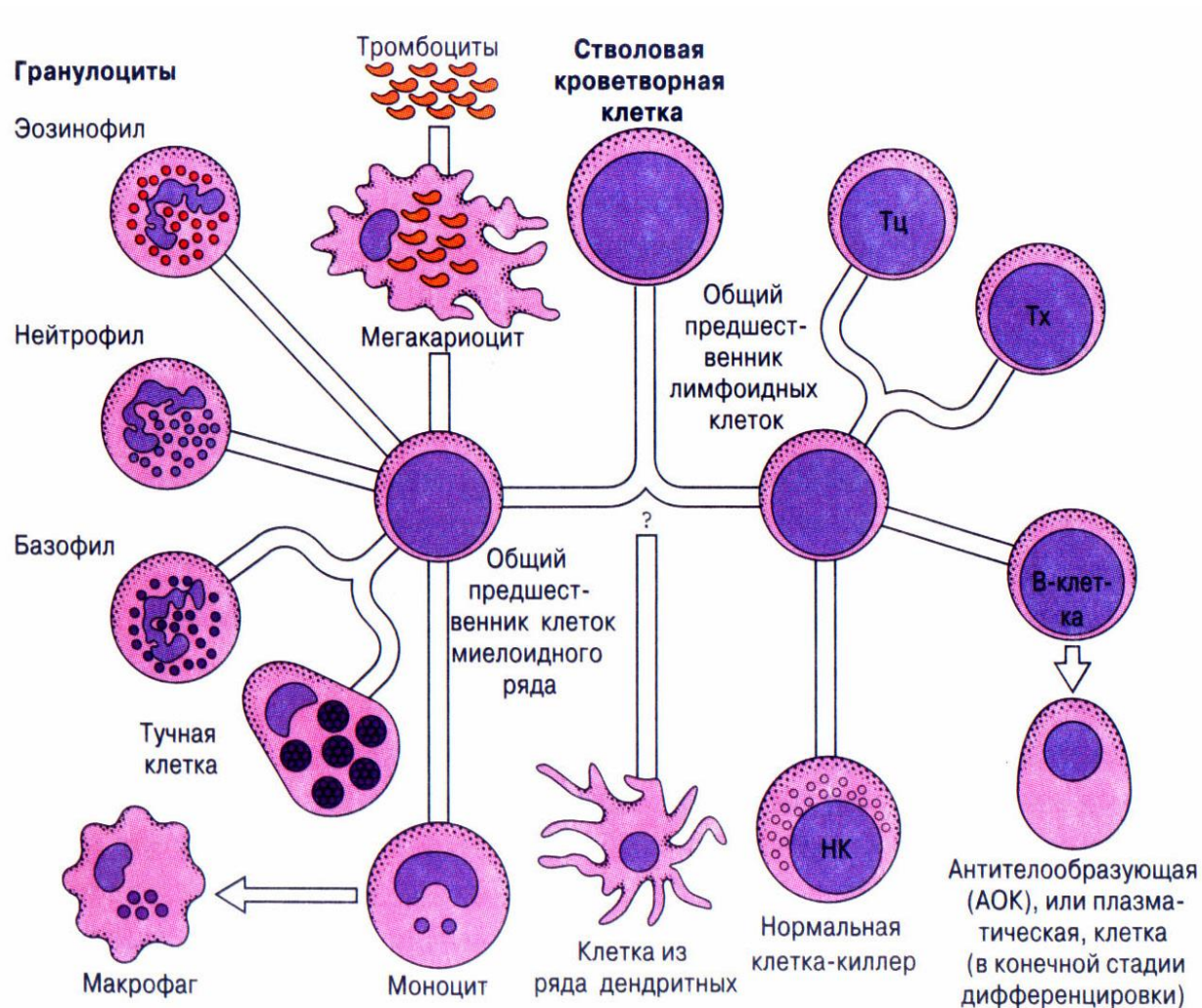


Все изображенные на рисунке клетки происходят от гемопоэтической стволовой клетки. Тромбоциты, продуцируемые мегакариоцитами, поступают в кровотоки.

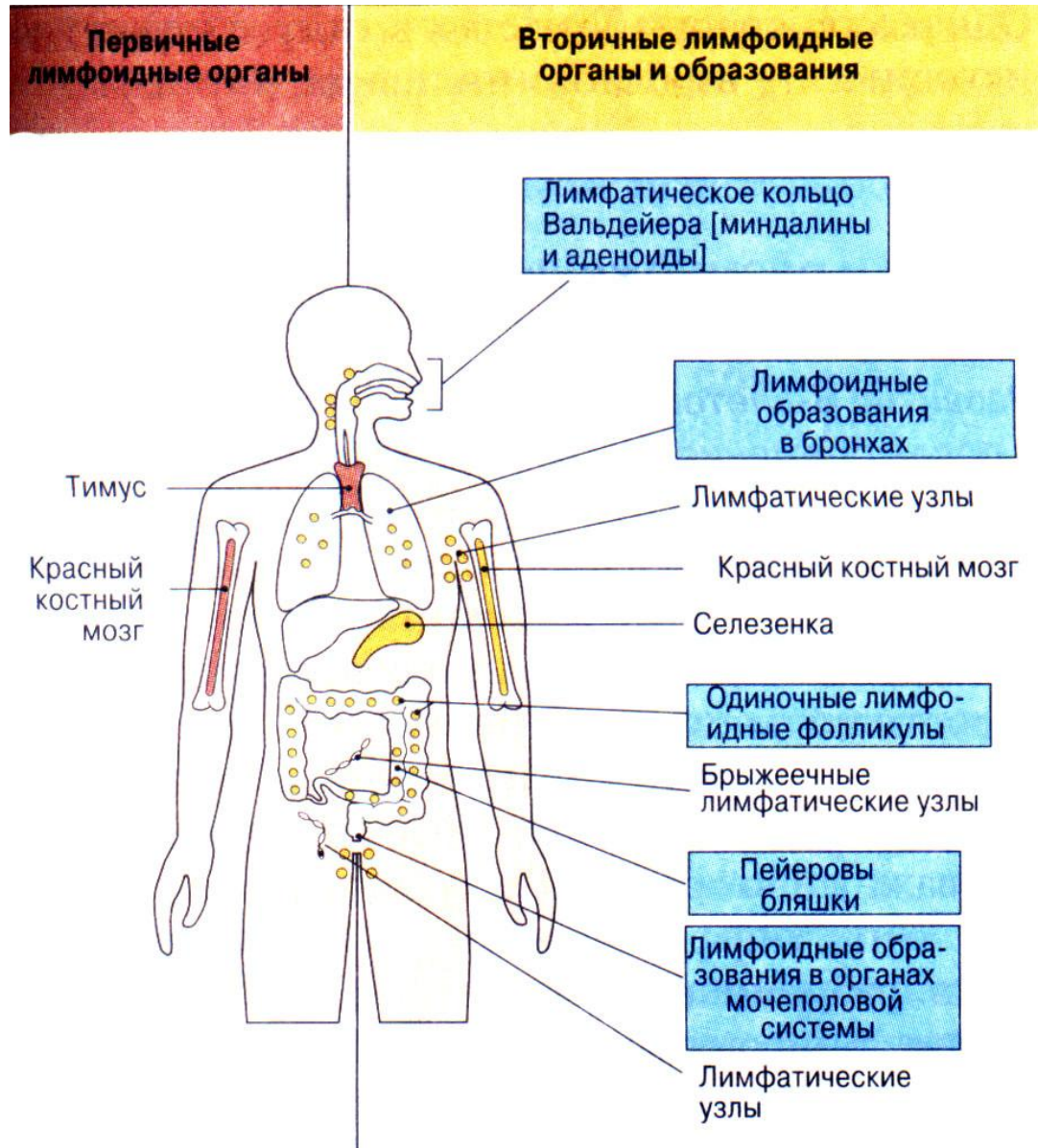
Гранулоциты и моноциты мигрируют из кровотока в ткани. Тучные клетки присутствуют во всех тканях.

В-клетки у млекопитающих созревают в печени плода и костном мозге, а Т-клетки - в тимусе. Местом образования больших гранулярных лимфоцитов, обладающих активностью естественных клеток-киллеров (НК-клеток), служит, вероятно, костный мозг. Лимфоциты мигрируют из кровотока, проходят через вторичные лимфоидные ткани и вновь поступают в кровотоки. Роль антиген-презентирующих клеток во вторичных лимфоидных тканях выполняют интердигитатные и дендритные клетки.

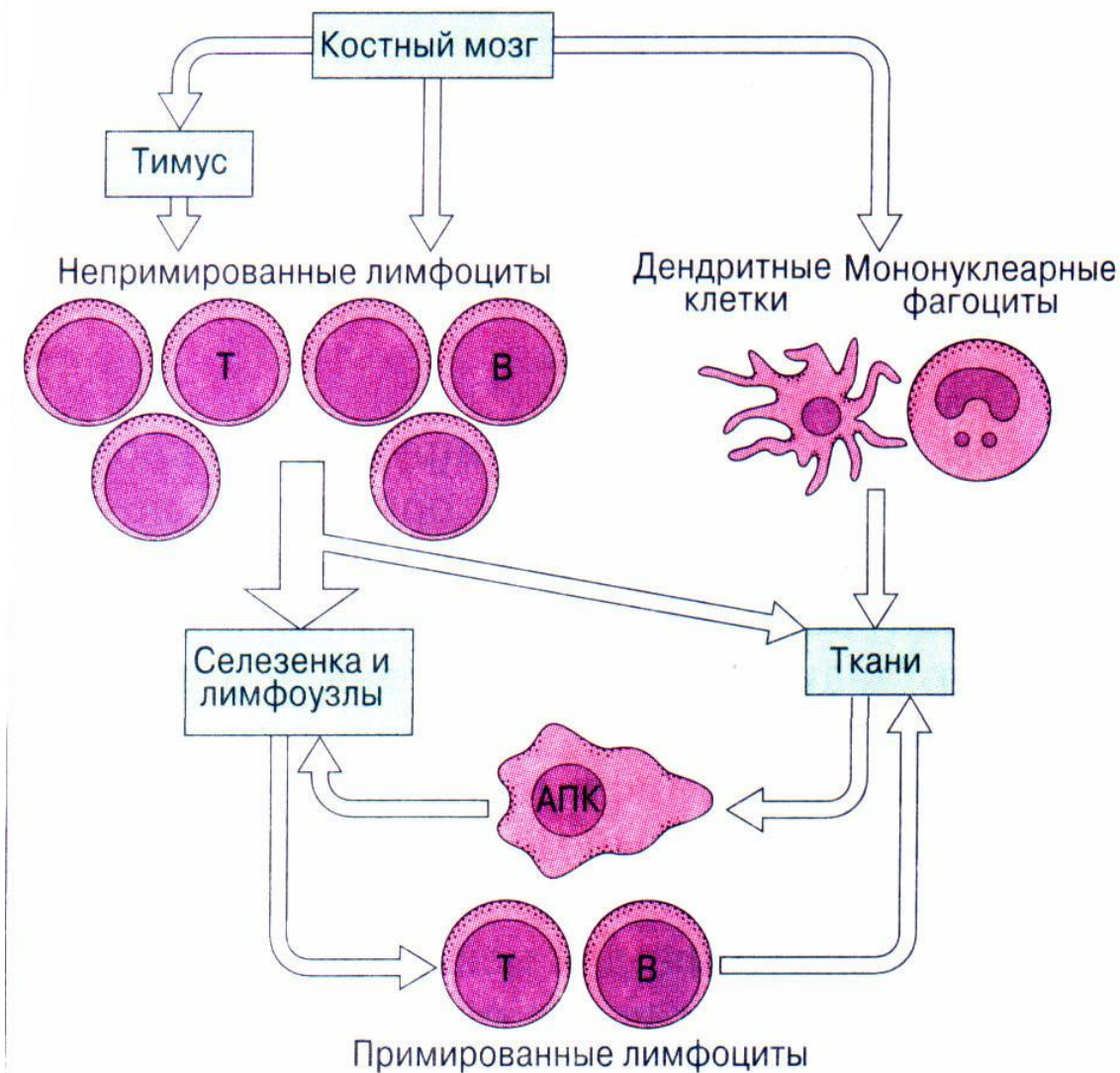
Происхождение клеток иммунной системы



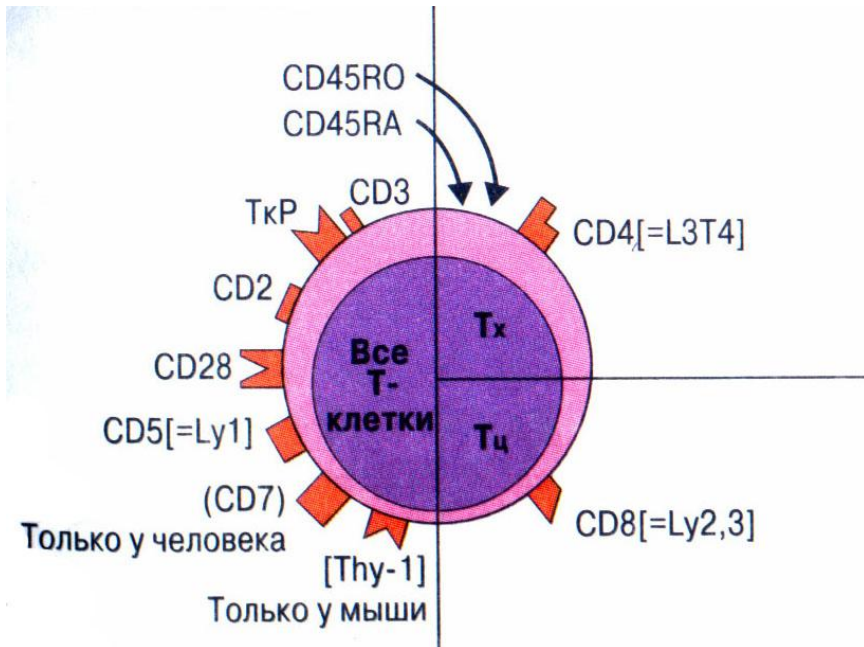
Основные лимфоидные органы и образования



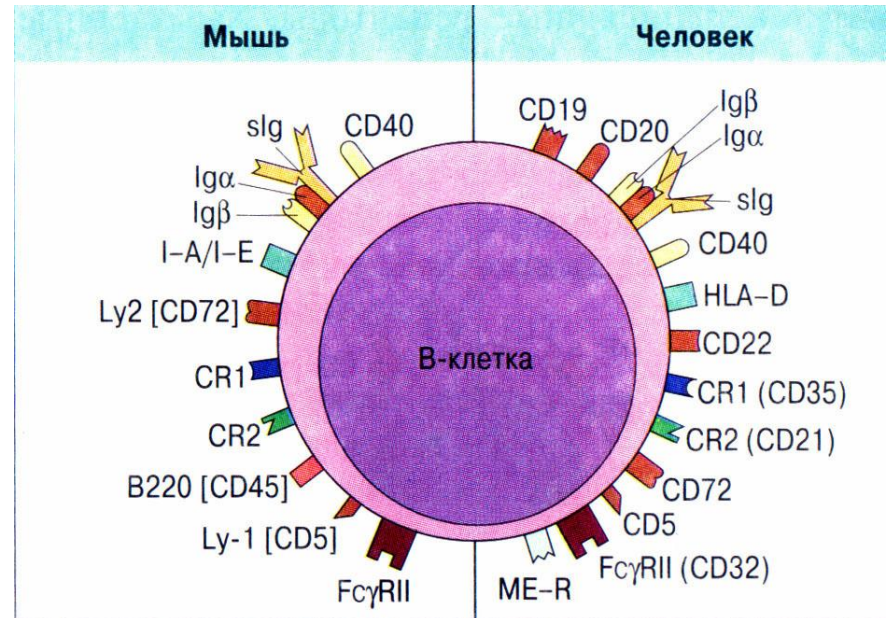
Рециркуляция лимфоцитов и антиген-презентирующих клеток



Поверхностные маркеры Т-клеток человека и мыши



Поверхностные маркеры В-клеток человека и мыши

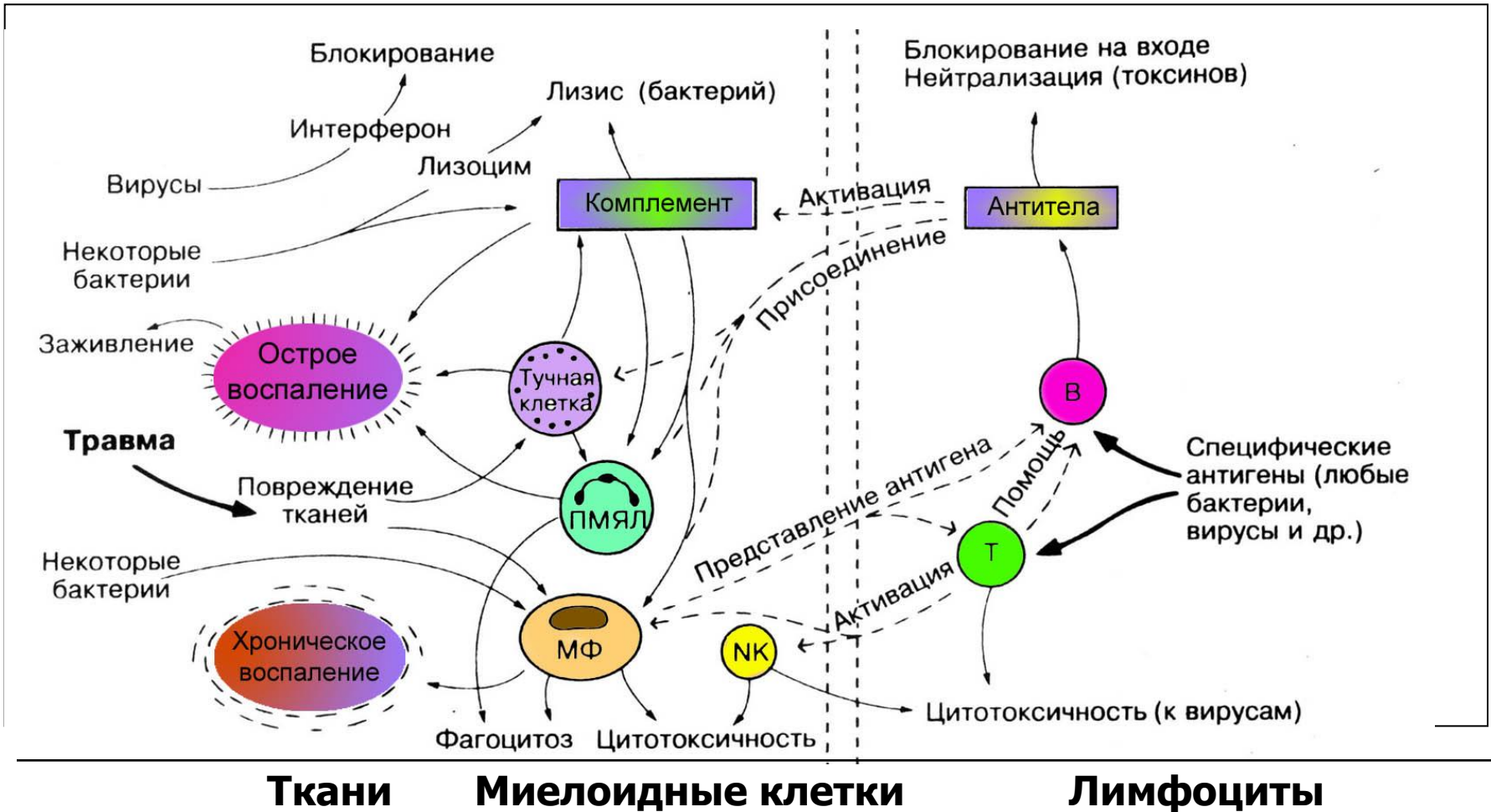


Маркеры, указанные в квадратных скобках, - это мышинные эквиваленты маркеров человека. Большинство маркеров относится к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул межклеточной адгезии.

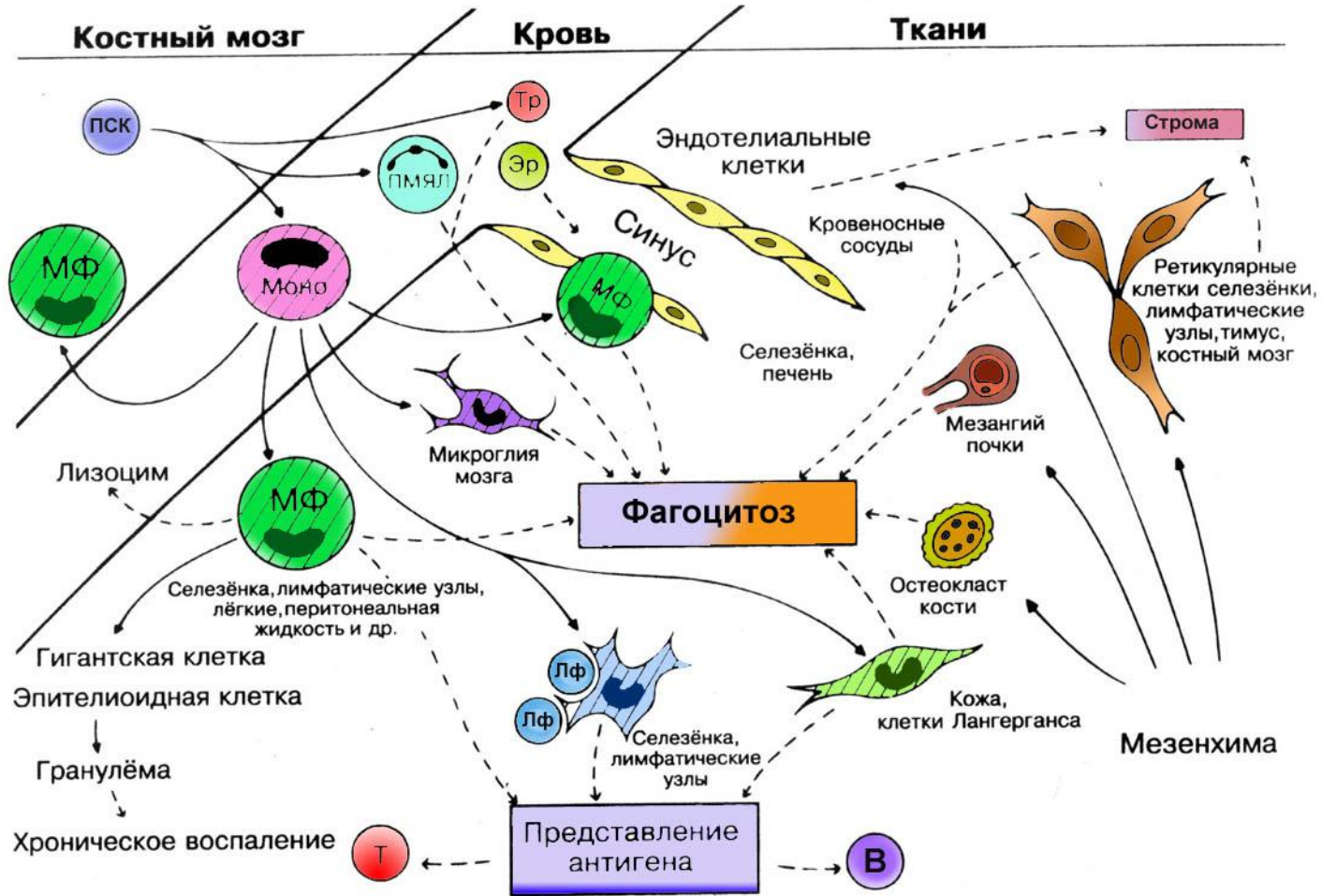
Естественные и адаптивные иммунные механизмы

Естественные иммунные механизмы

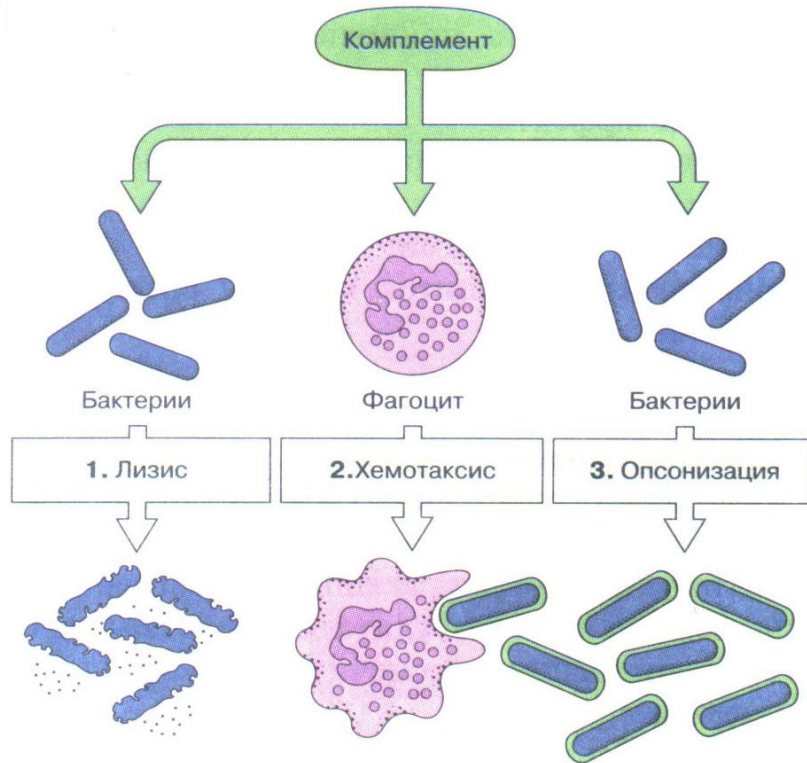
Адаптивные иммунные механизмы



Фагоцитарные клетки. Система мононуклеарных фагоцитов

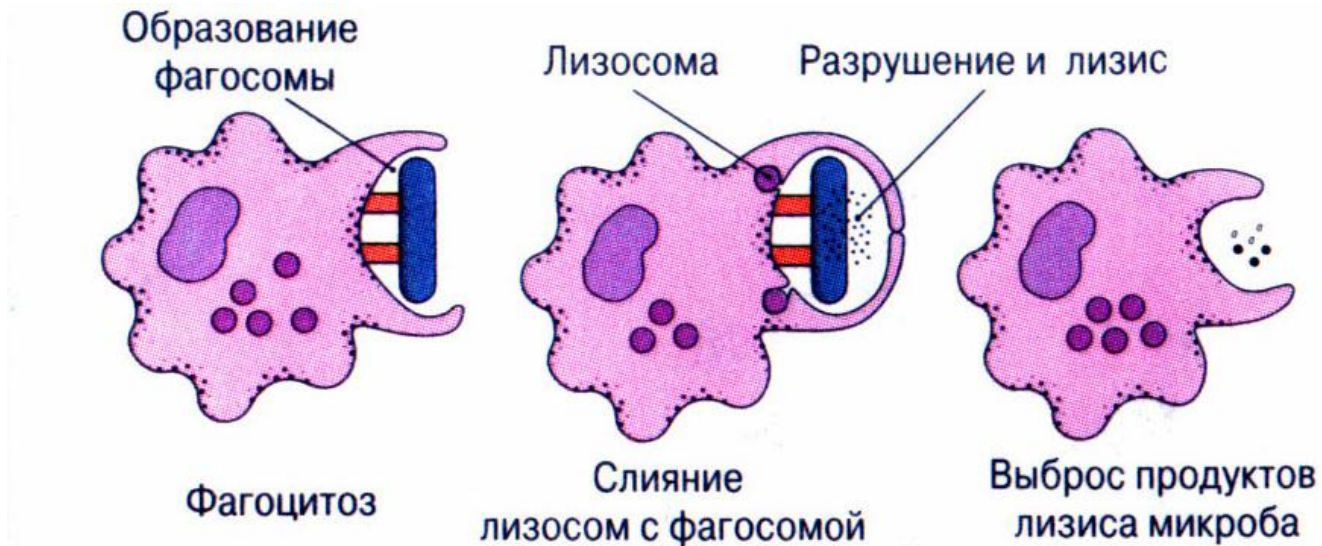


Функции комплемента в антибактериальном иммунитете



1. Система комплемента способна без участия антител разрушать мембраны многих видов бактерий.
2. Продукты активации комплемента (**хемоаттрактанты**) привлекают к месту реакции фагоциты (**хемотаксис**).
3. Покрывая в результате связывания поверхность бактерий (**опсонизация**), компоненты комплемента облегчают фагоцитам их распознавание и поглощение. Все эти реакции могут протекать за счет собственной способности комплемента к распознаванию микробных структур или же с помощью антител, связавшихся с бактериями

Фагоцитоз



Фагоциты поступают в очаг воспаления благодаря хемотаксису. Затем их поверхностные неспецифические рецепторы:

- либо прямым образом связываются с микробами;
- либо, если микробная поверхность опсонизирована фрагментом третьего компонента комплемента (C3b) и/или антителами, связывание происходит с участием фагоцитарных рецепторов для C3b и/или Fc. Когда в результате связывания фагоцит активируется, он окружает инфекционный агент псевдоподиями, заключая в фагосому; при этом происходит образование бактерицидных метаболитов кислорода. Как только микроб поступит внутрь клетки, лизосомы сливаются с фагосомой, образуя фаголизосому, в которой инфекционный агент уничтожается. Остатки микроба могут быть экскретированы клеткой наружу.

Фагоцитоз

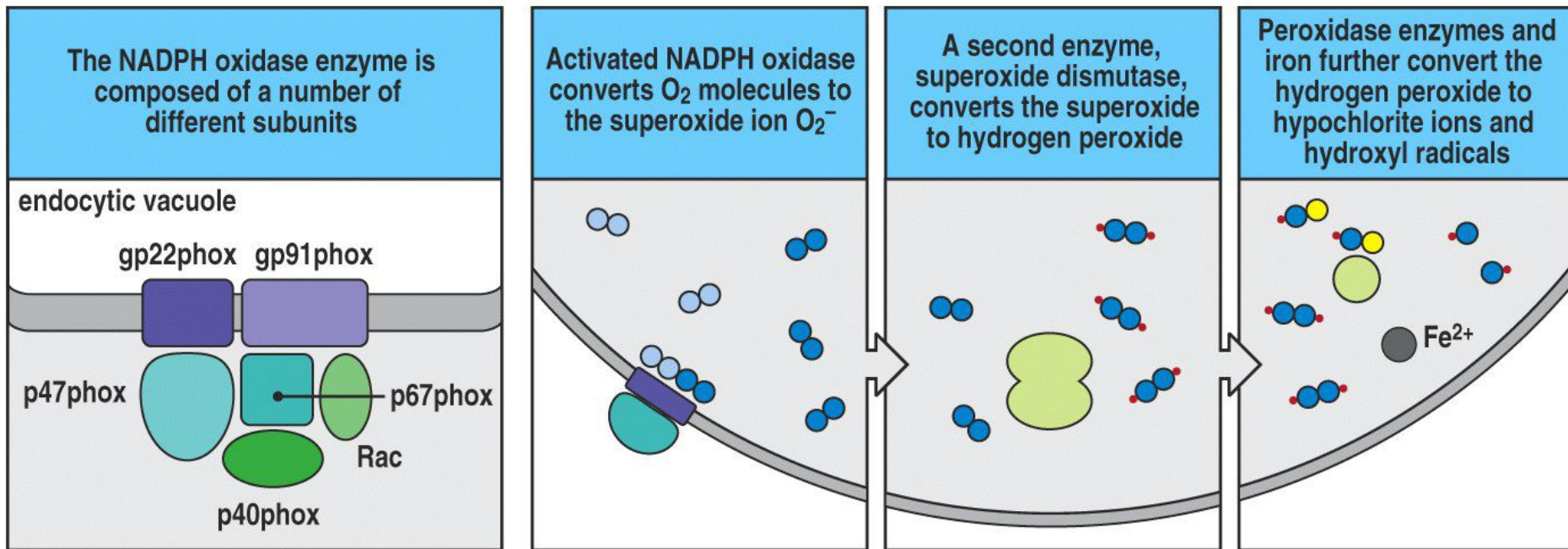
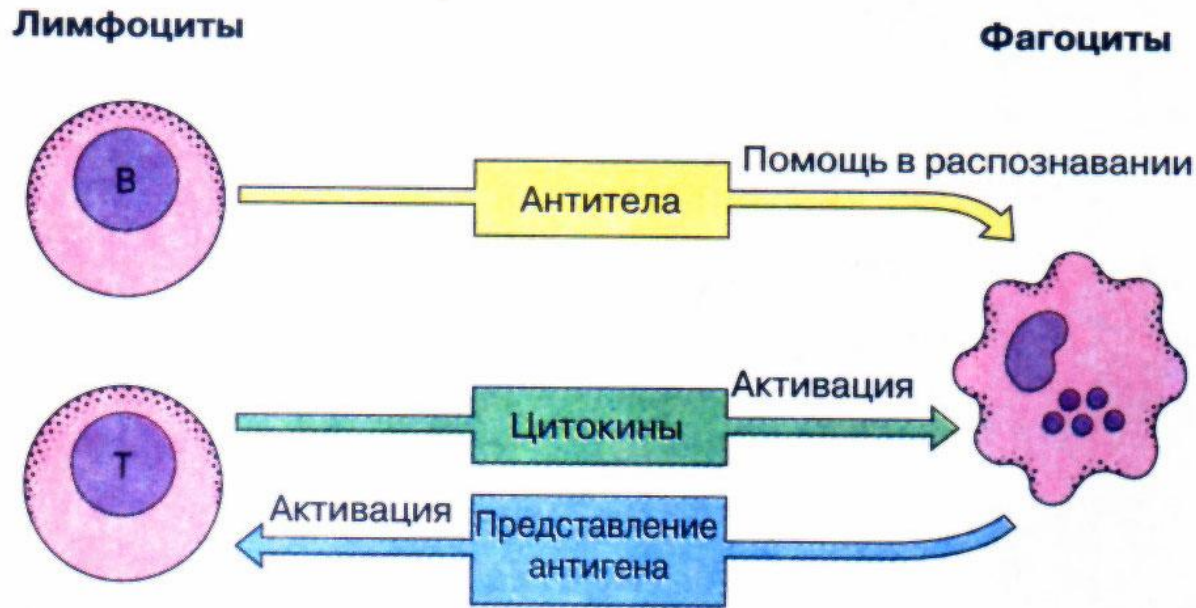


Figure 2-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Взаимодействие между лимфоцитами и фагоцитами



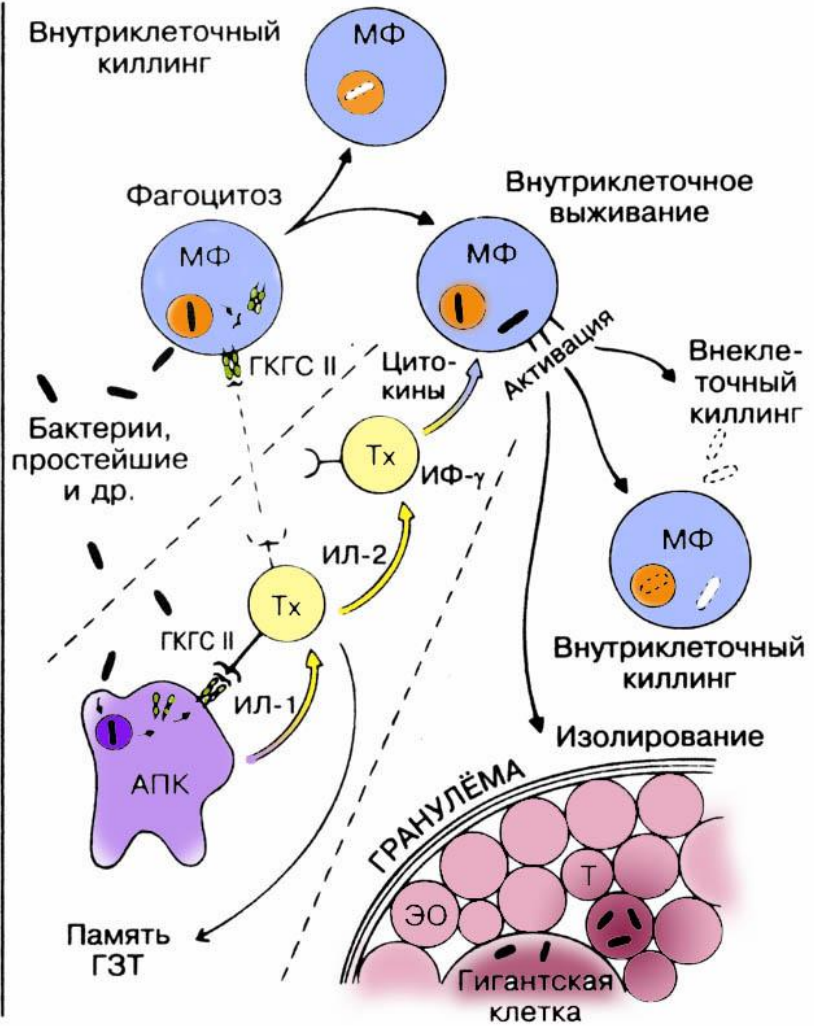
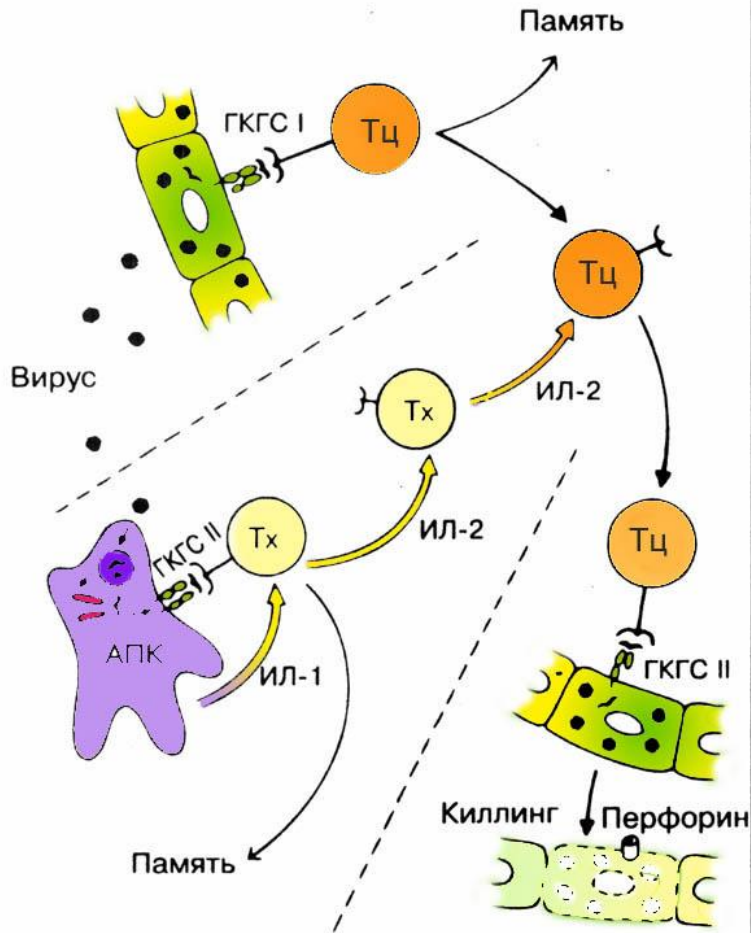
В-лимфоциты секретируют антитела, взаимодействующие с патогенными микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности. Этим В-лимфоциты помогают фагоцитам, способным связывать антитела своими Fc-рецепторами, в распознавании чужеродных антигенов. Секретируемые Т-лимфоцитами цитокины стимулируют фагоцитарные клетки для дальнейшего разрушения поглощенного ими материала. В свою очередь, моно-нуклеарные фагоциты могут представлять фрагментированный антиген Т-клеткам, вызывая, тем самым, их активацию.

Cytokines secreted by macrophages and dendritic cells

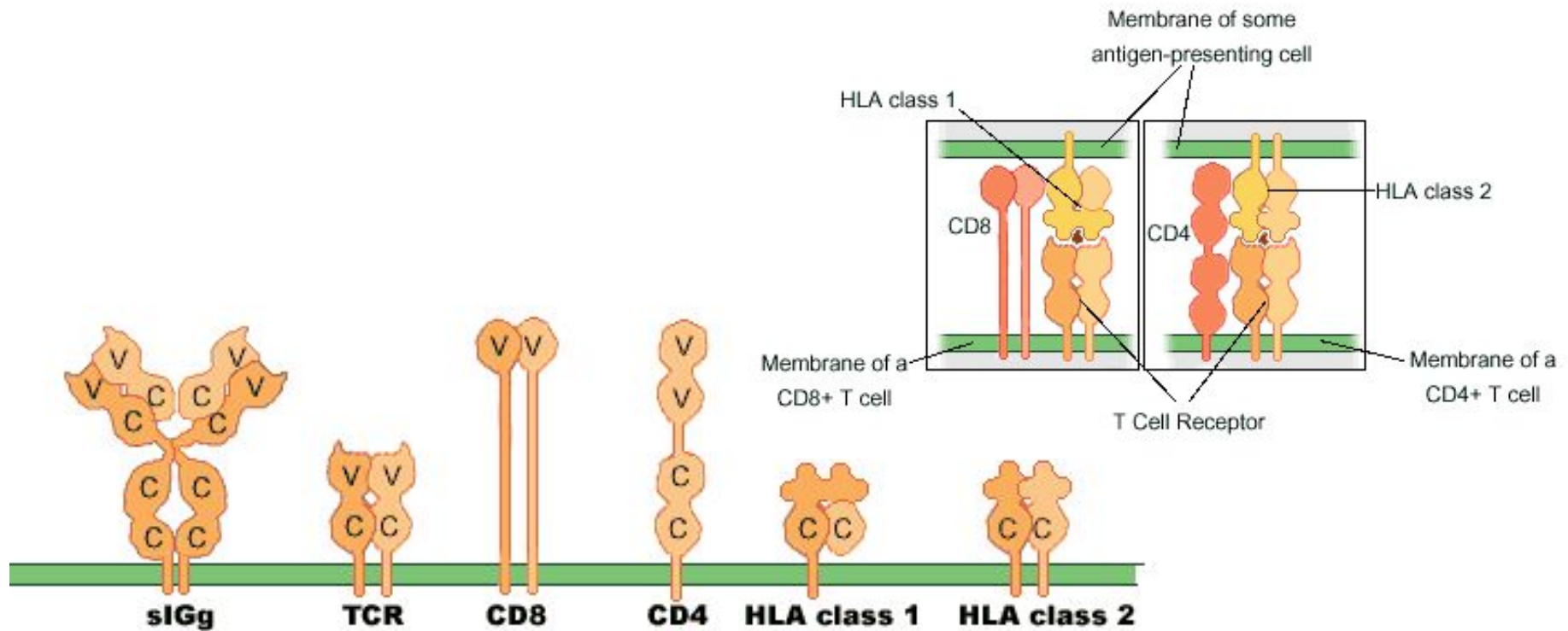
| Cytokine | Main producer | Acts upon | Effect |
|-----------------|--------------------------------|----------------------|---|
| IL-1 | Macrophages Keratinocytes | Lymphocytes | Enhances responses |
| | | Liver | Induces acute-phase protein secretion |
| IL-6 | Macrophages Dendritic cells | Lymphocytes | Enhances responses |
| | | Liver | Induces acute-phase protein secretion |
| CXCL8 (IL-8) | Macrophages Dendritic cells | Phagocytes | Chemoattractant for neutrophils |
| IL-12 | Macrophages Dendritic cells | Naive T cells | Diverts immune response to type 1, proinflammatory, cytokine secretion |
| TNF- α | Macrophages Dendritic cells | Vascular endothelium | Induces changes in vascular endothelium (expression of cell-adhesion molecules (E- and P-selectin), changes in cell-cell junctions with increased fluid loss, |

Figure 2-15 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Клеточный иммунный ответ



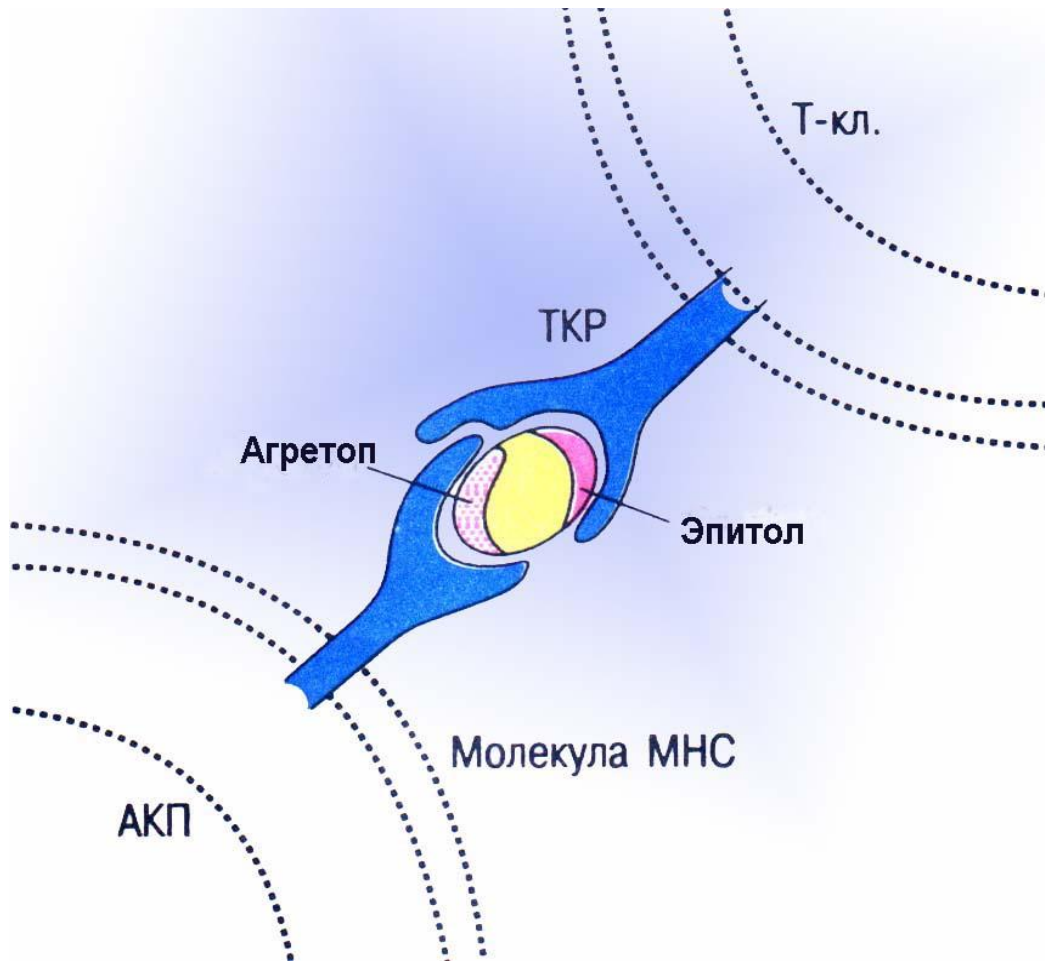
Суперсемейство иммуноглобулинов – основа системы распознавания «свой-чужой»



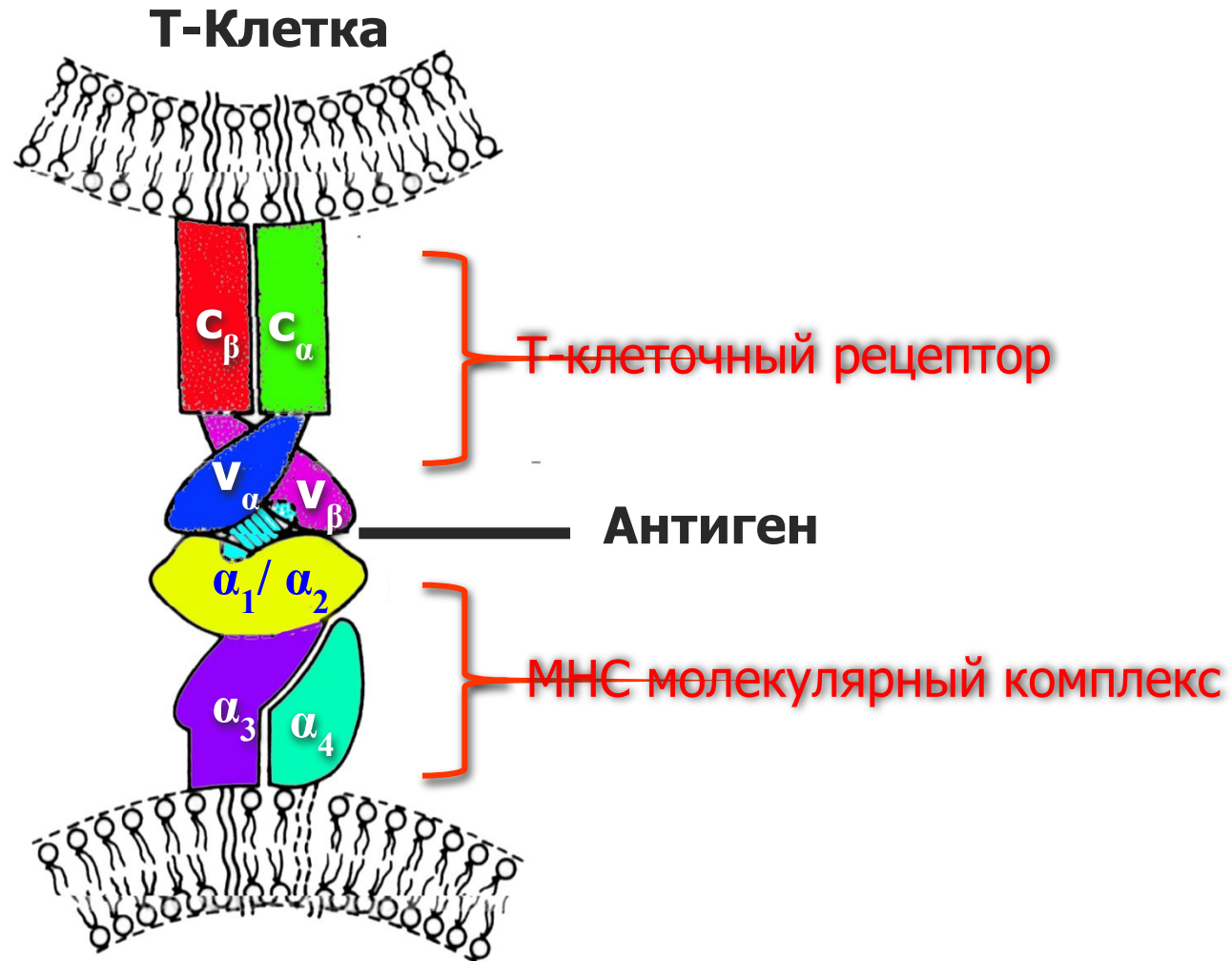
- гидрофобные взаимодействия
- электростатические силы
- водородные связи
- Ван-дер-Ваальсовы силы

Участки антигена, распознаваемые молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) и Т-клеточным антиген-распознающим рецептором (ТКР)

Антигенный фрагмент, представляемый для распознавания ТКР, имеет два участка: агретоп и эпитоп. Агретоп - часть антигенного пептида, взаимодействующая с молекулами МНС при представлении пептида в иммуногенной форме на поверхности антигенпрезентирующей клетки (АПК). Эпитоп - часть антигенного пептида, непосредственно распознаваемая ТКР.



Тримолекулярный комплекс



Антиген-презентирующая клетка (АПК)

T-cell activation requires both antigen and co-stimulatory signals

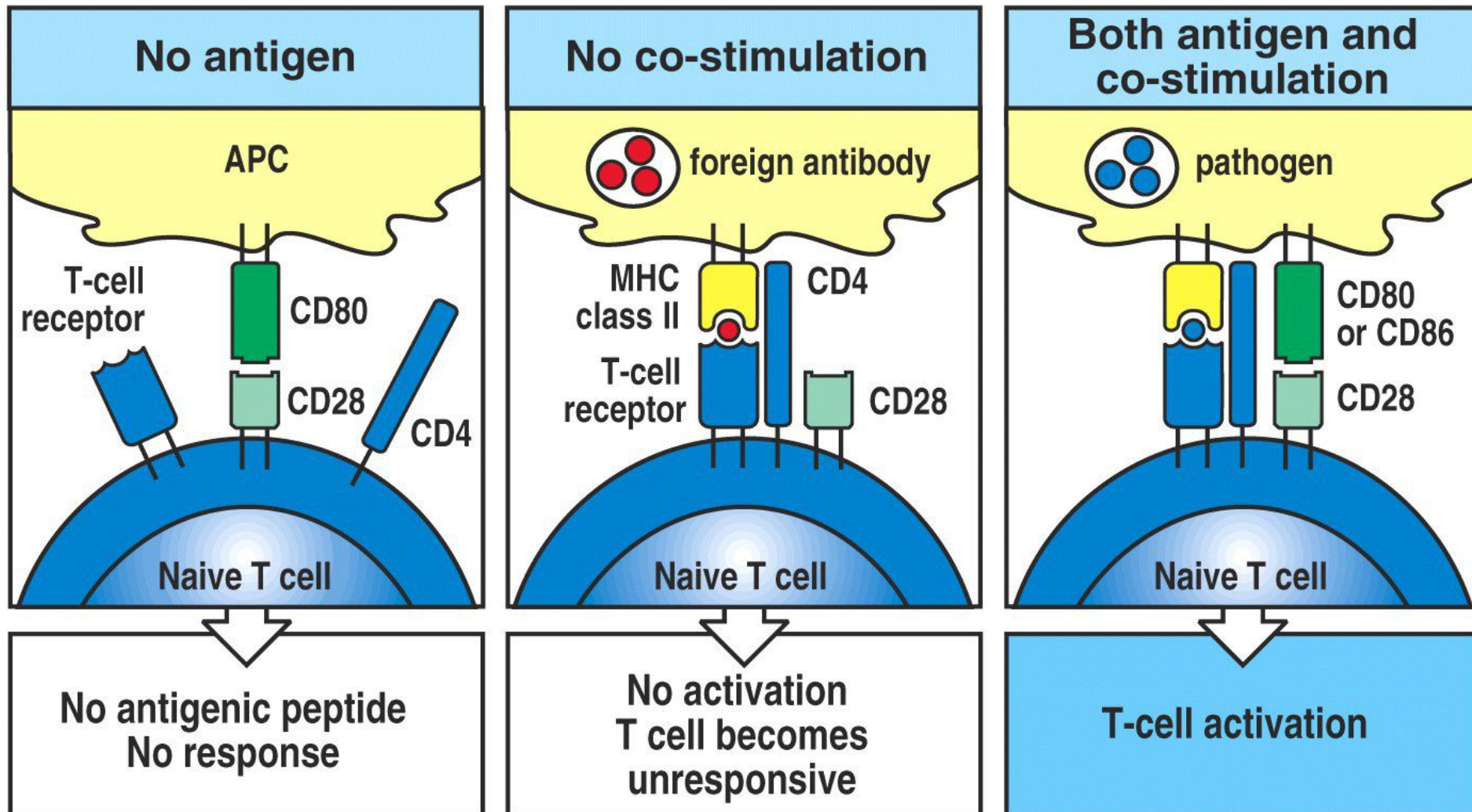
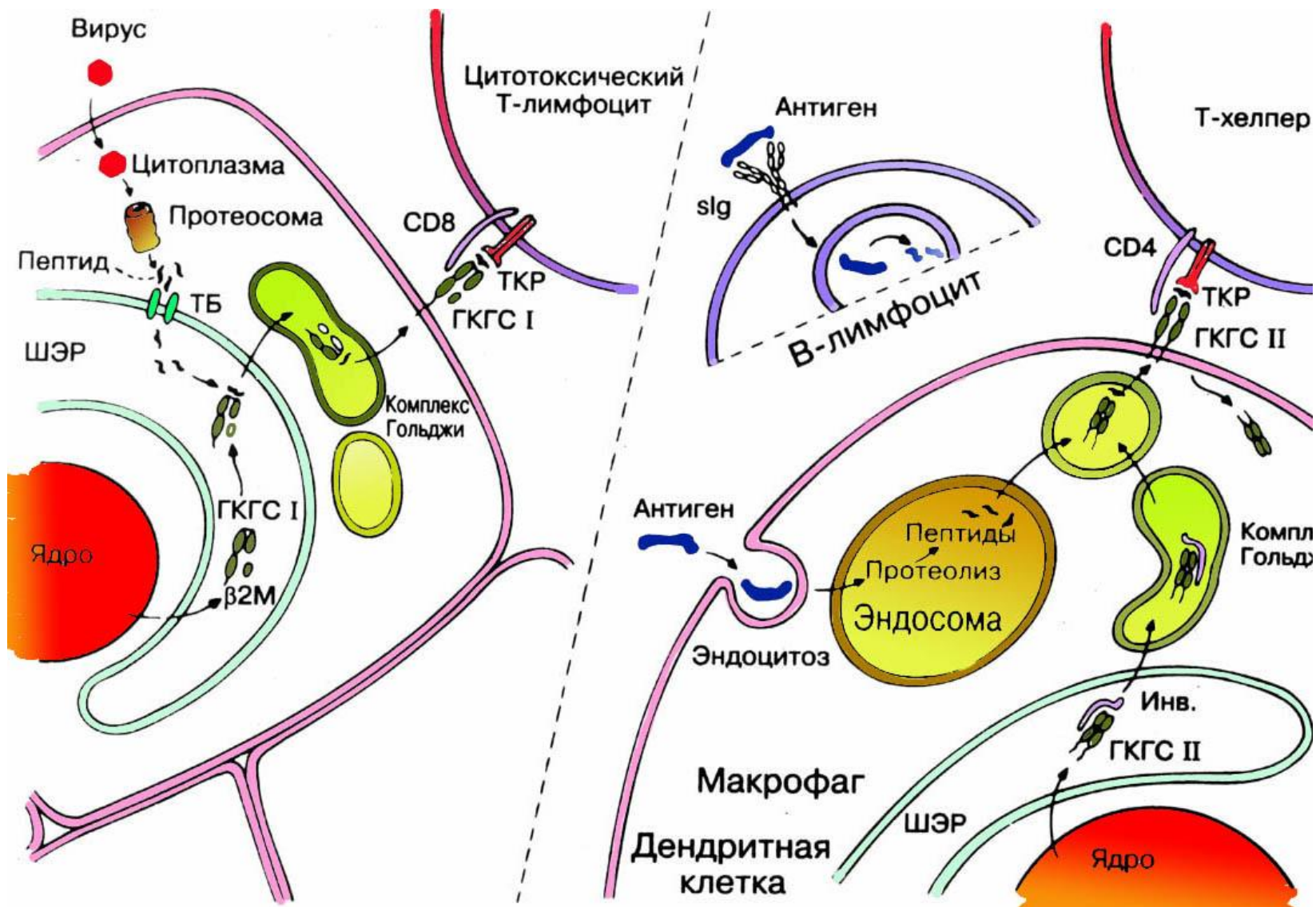


Figure 2-17 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Распознавание и переработка антигена



NK

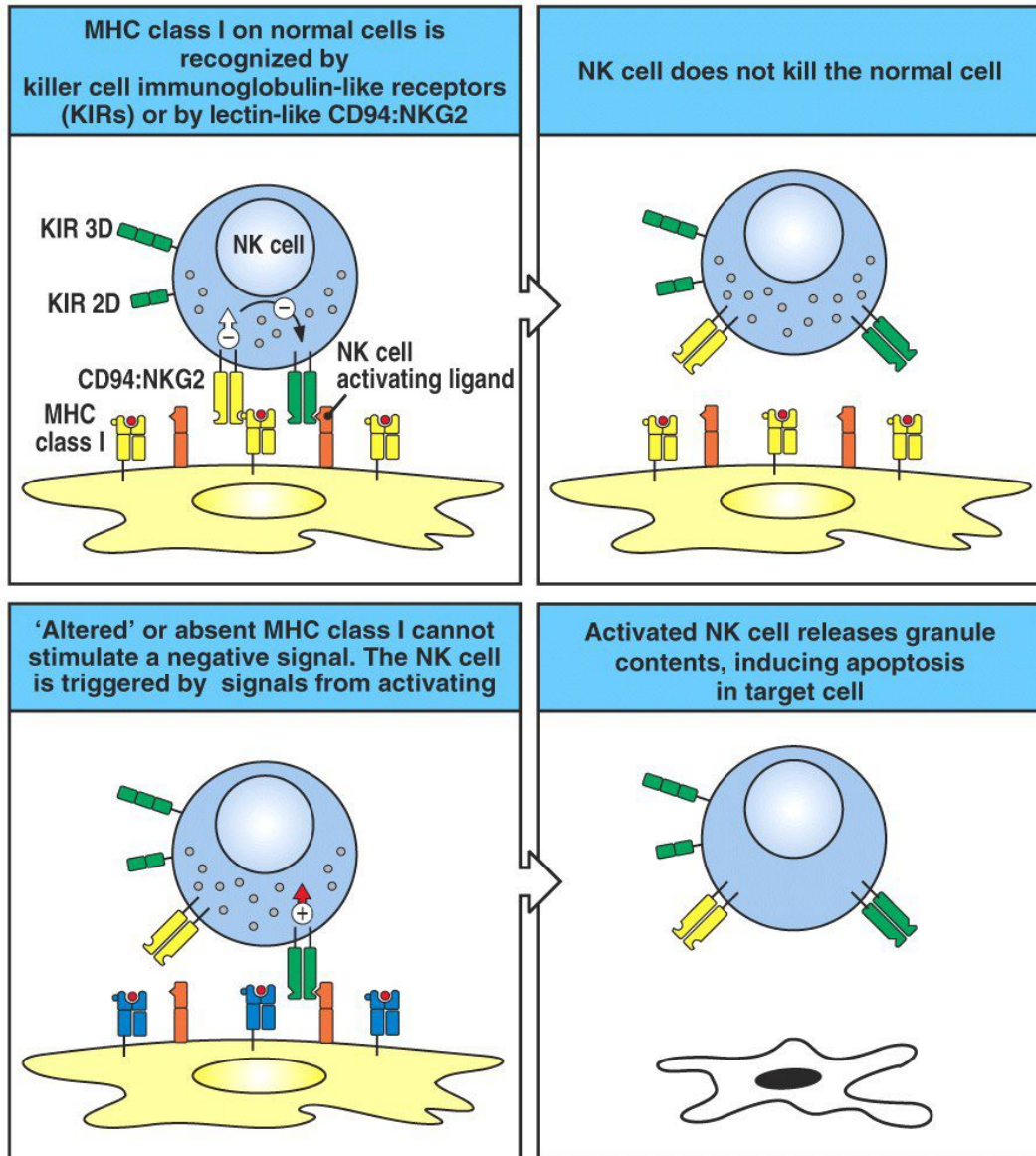
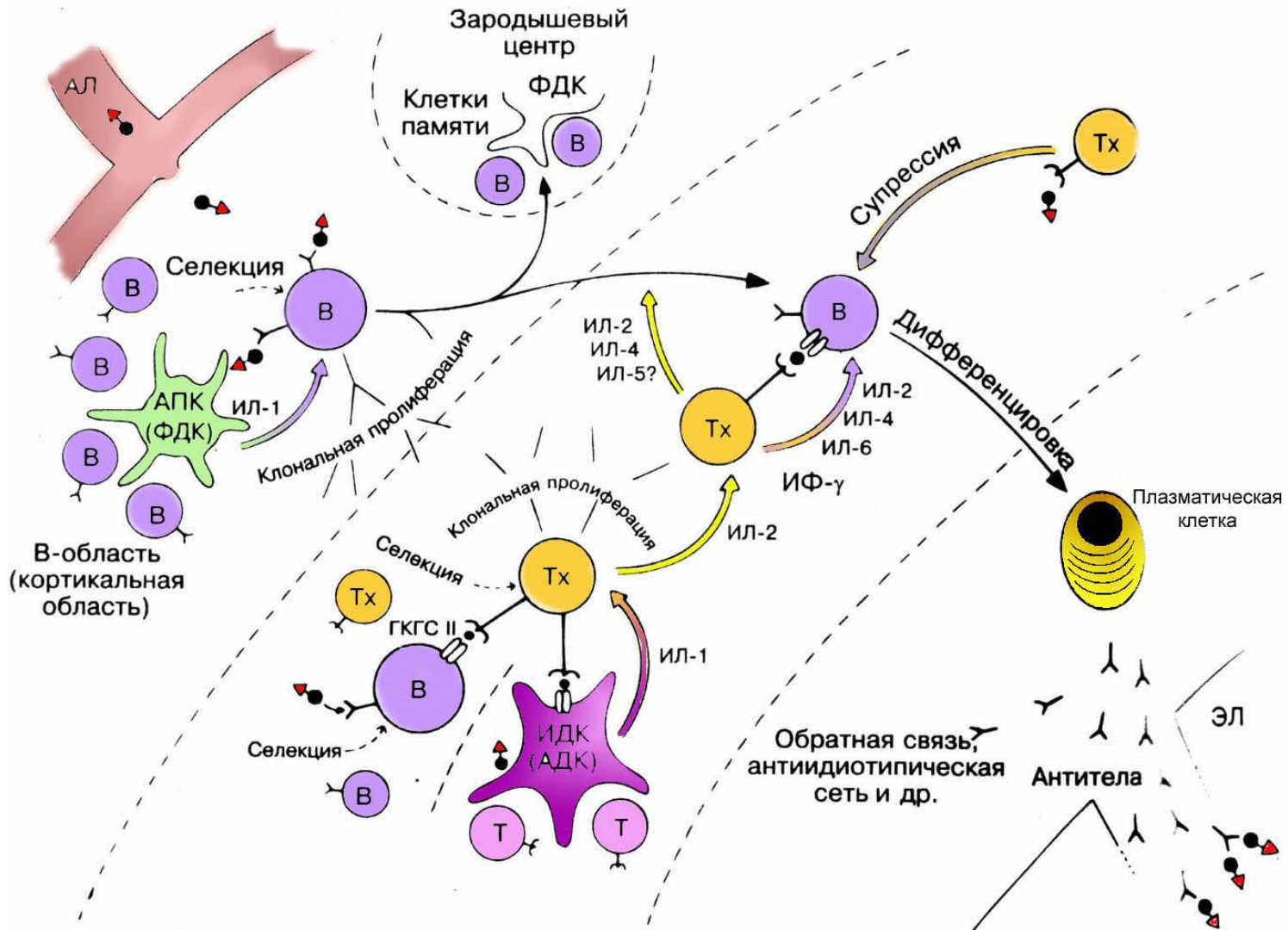
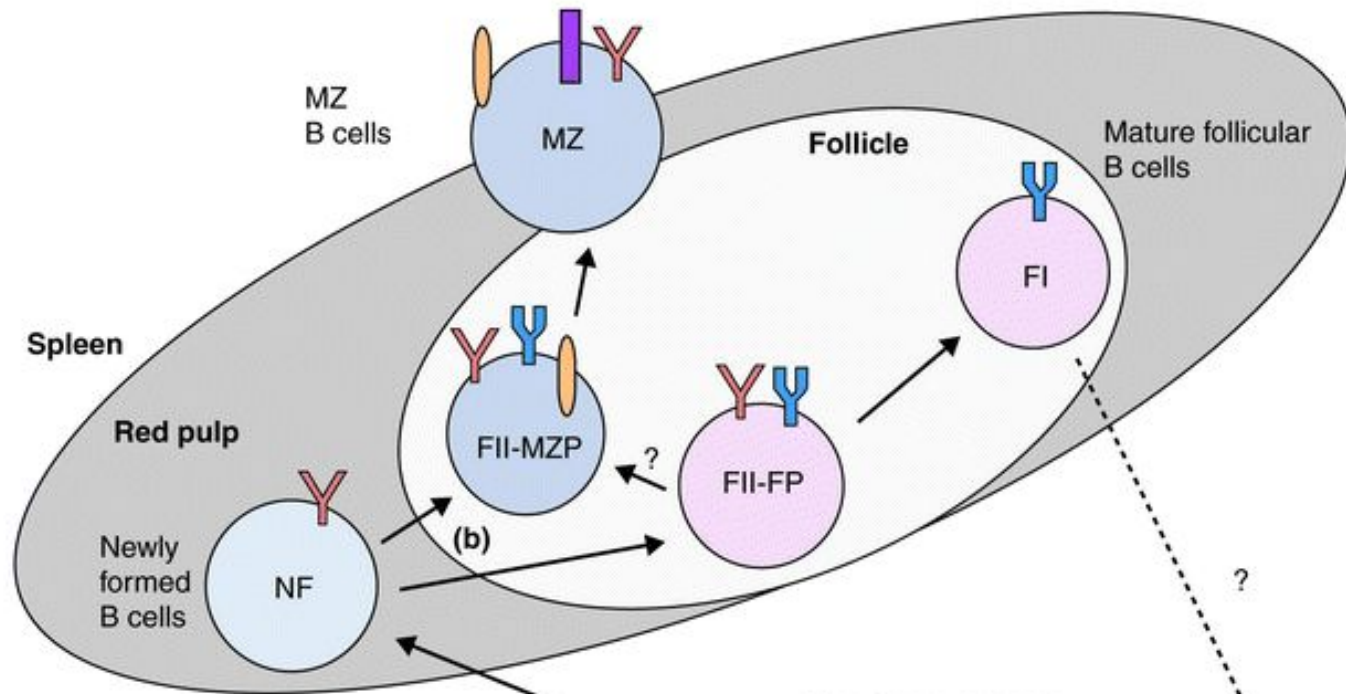
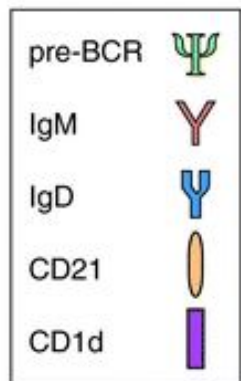


Figure 2-50 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

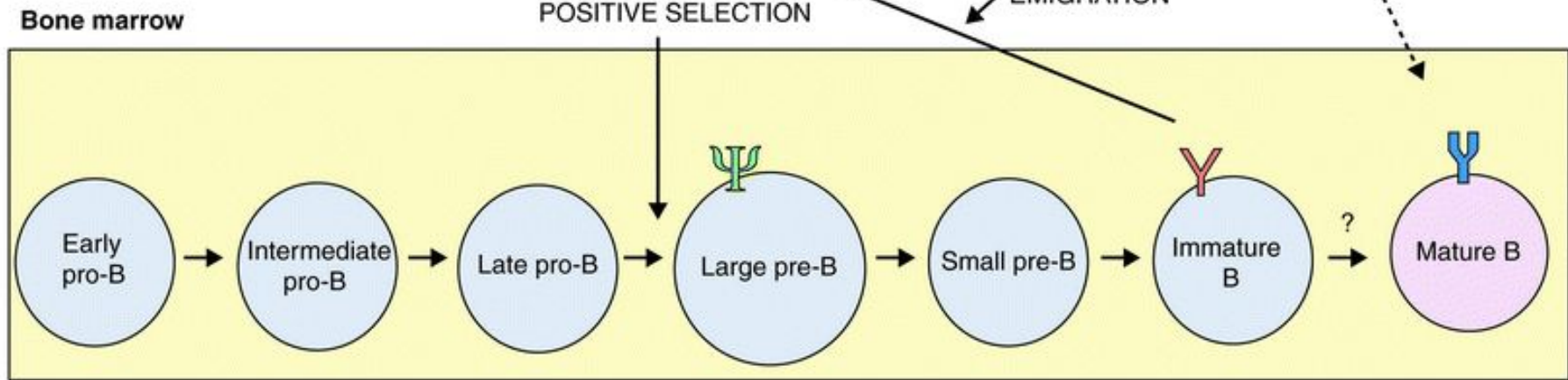
Гуморальный иммунный ответ





PRE-BCR-MEDIATED POSITIVE SELECTION

(a) BCR-MEDIATED EMIGRATION

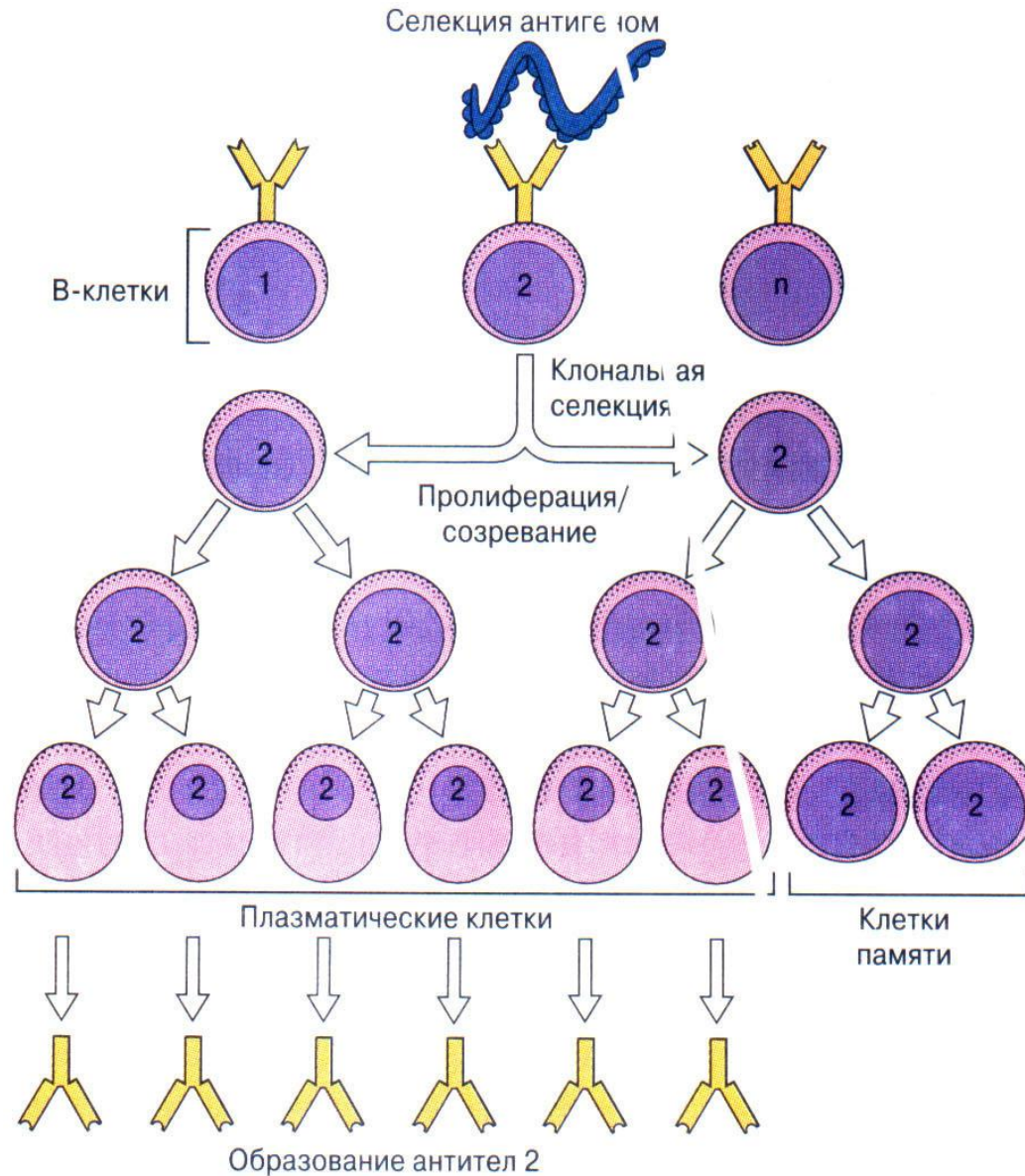


D_H -TO- J_H
REARRANGEMENT

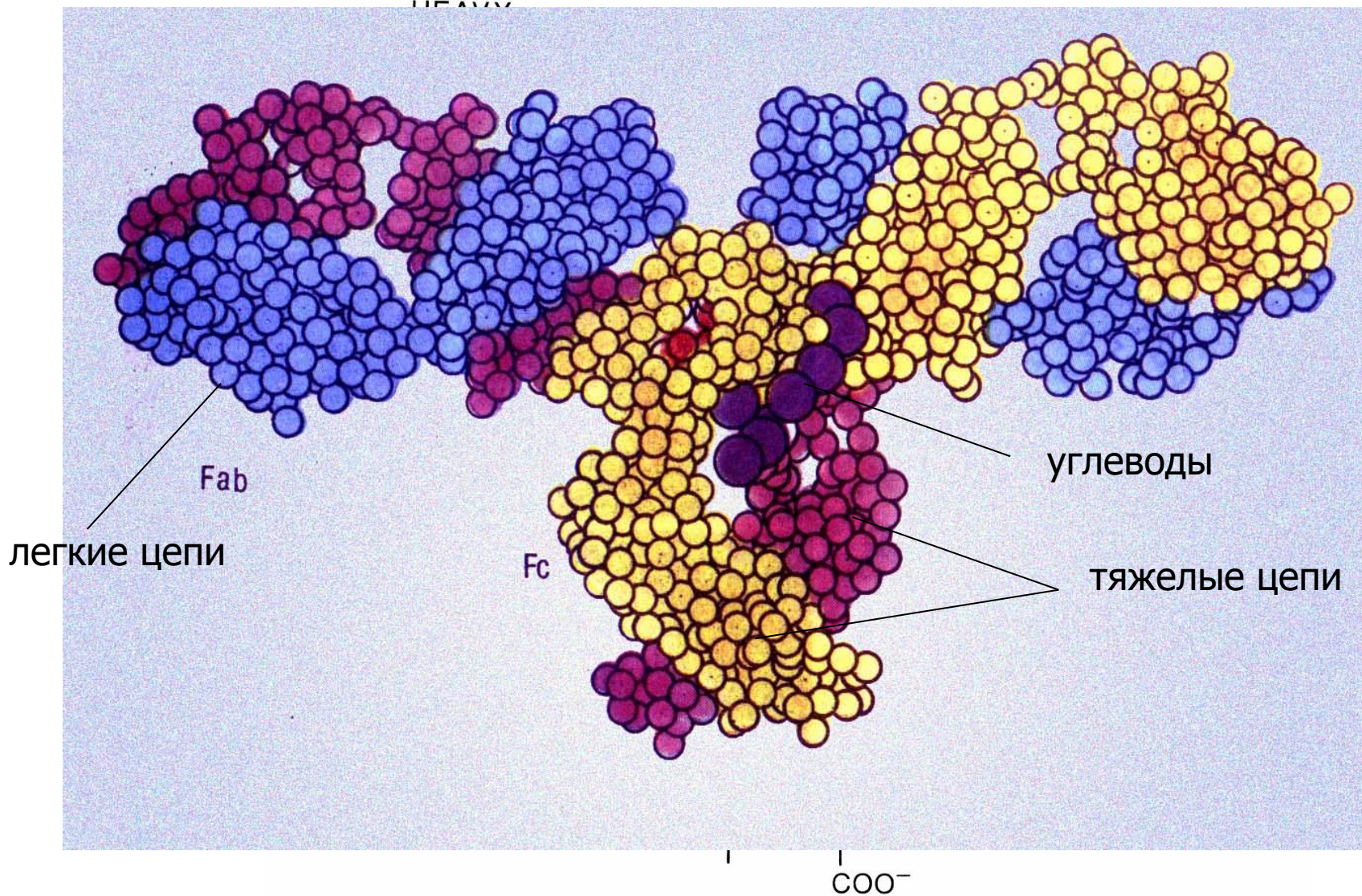
V_H -TO- DJ_H
REARRANGEMENT

V_L -TO- J_L
REARRANGEMENT

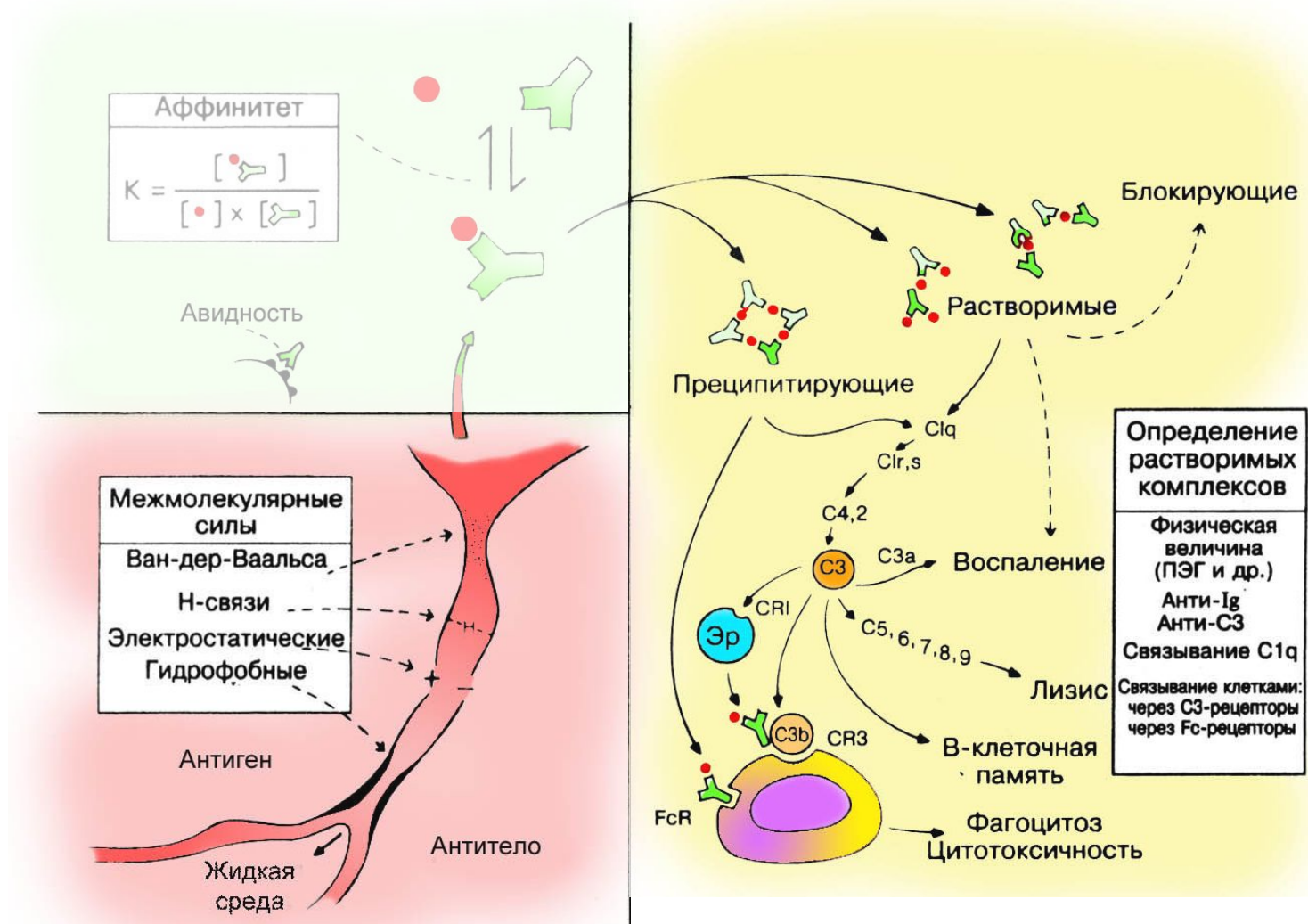
Клональная селекция В-клеток



Строение IgG



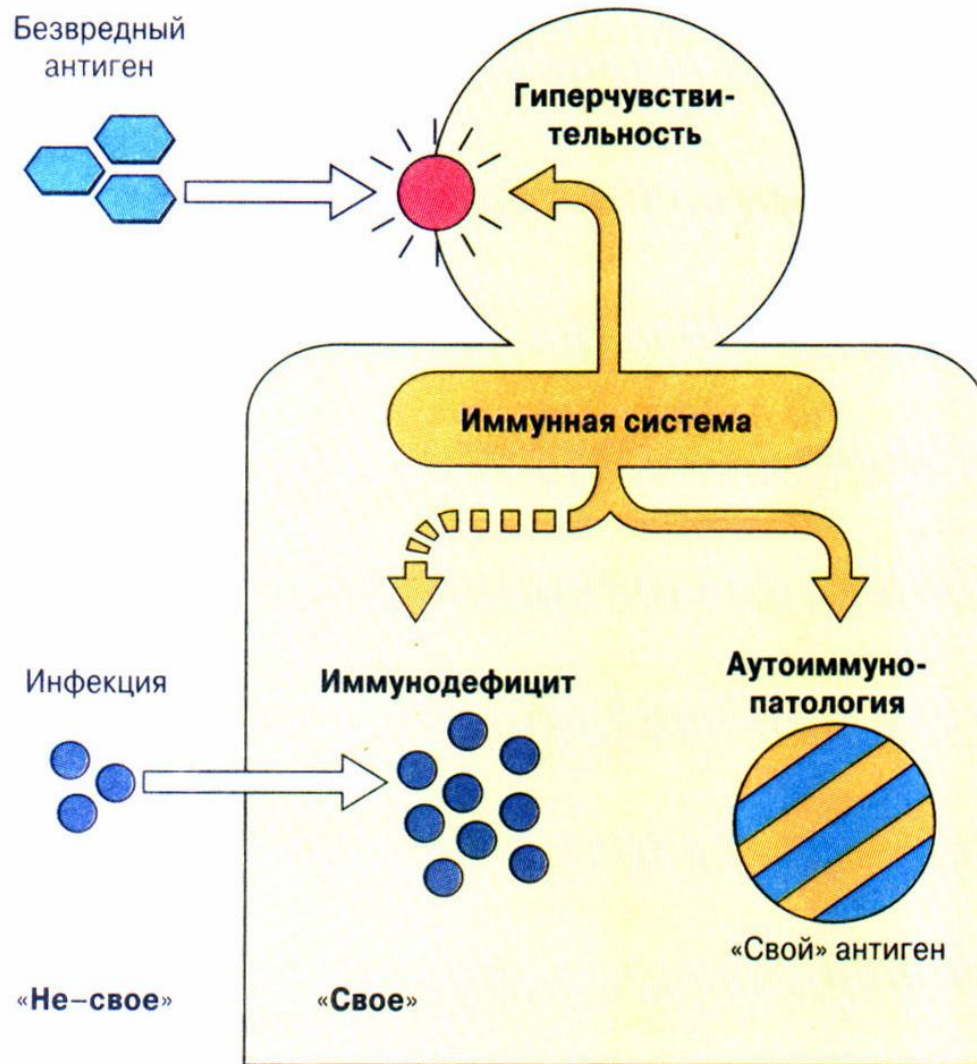
Взаимодействие антигена и антитела и иммунные комплексы



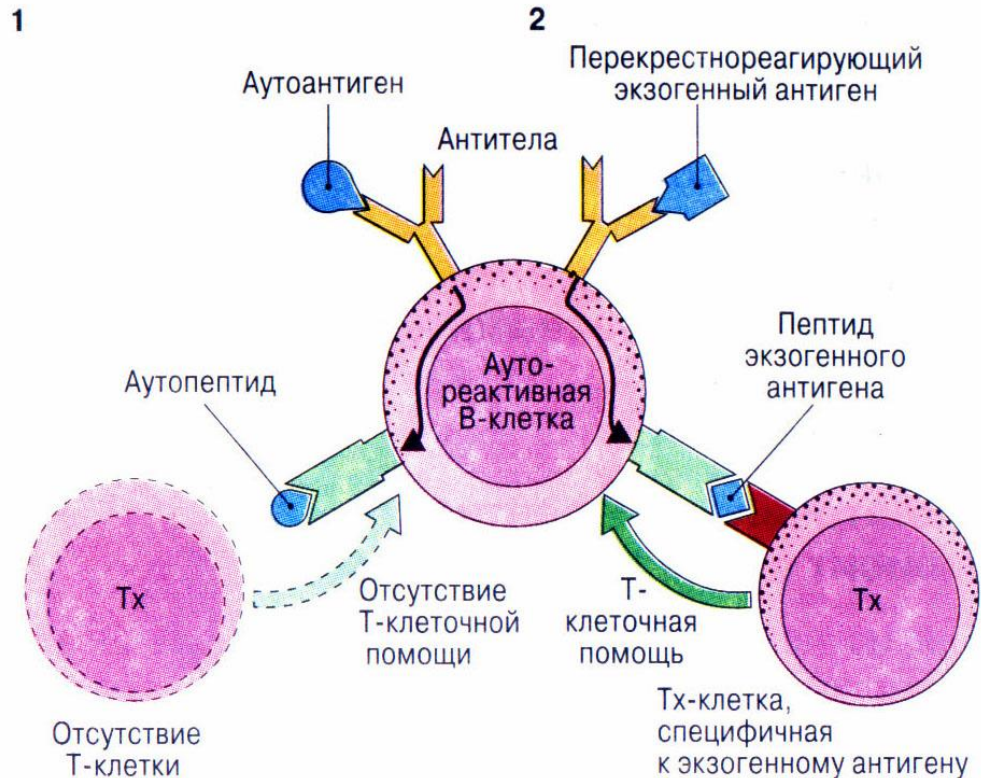
Первичное взаимодействие
взаимодействие

Вторичное

Основные формы патологии иммунной системы

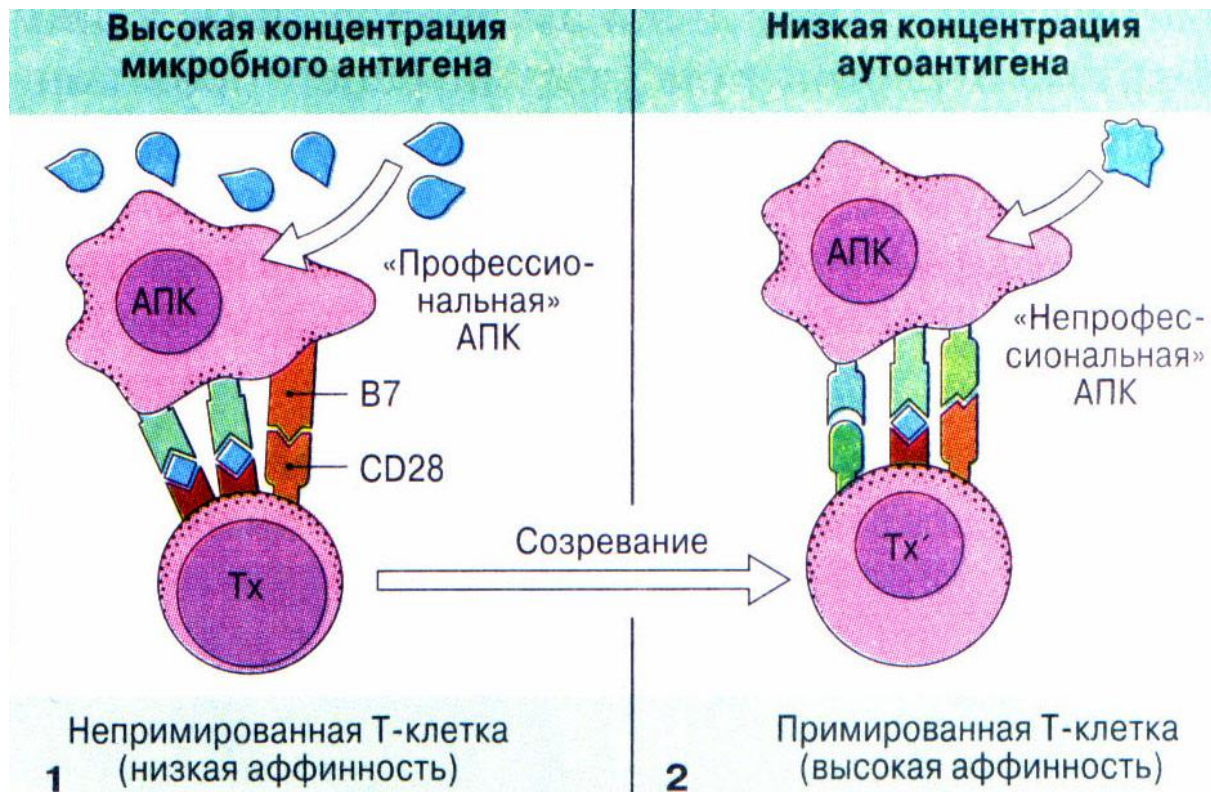


В-клеточный ответ на собственные или чужеродные антигены

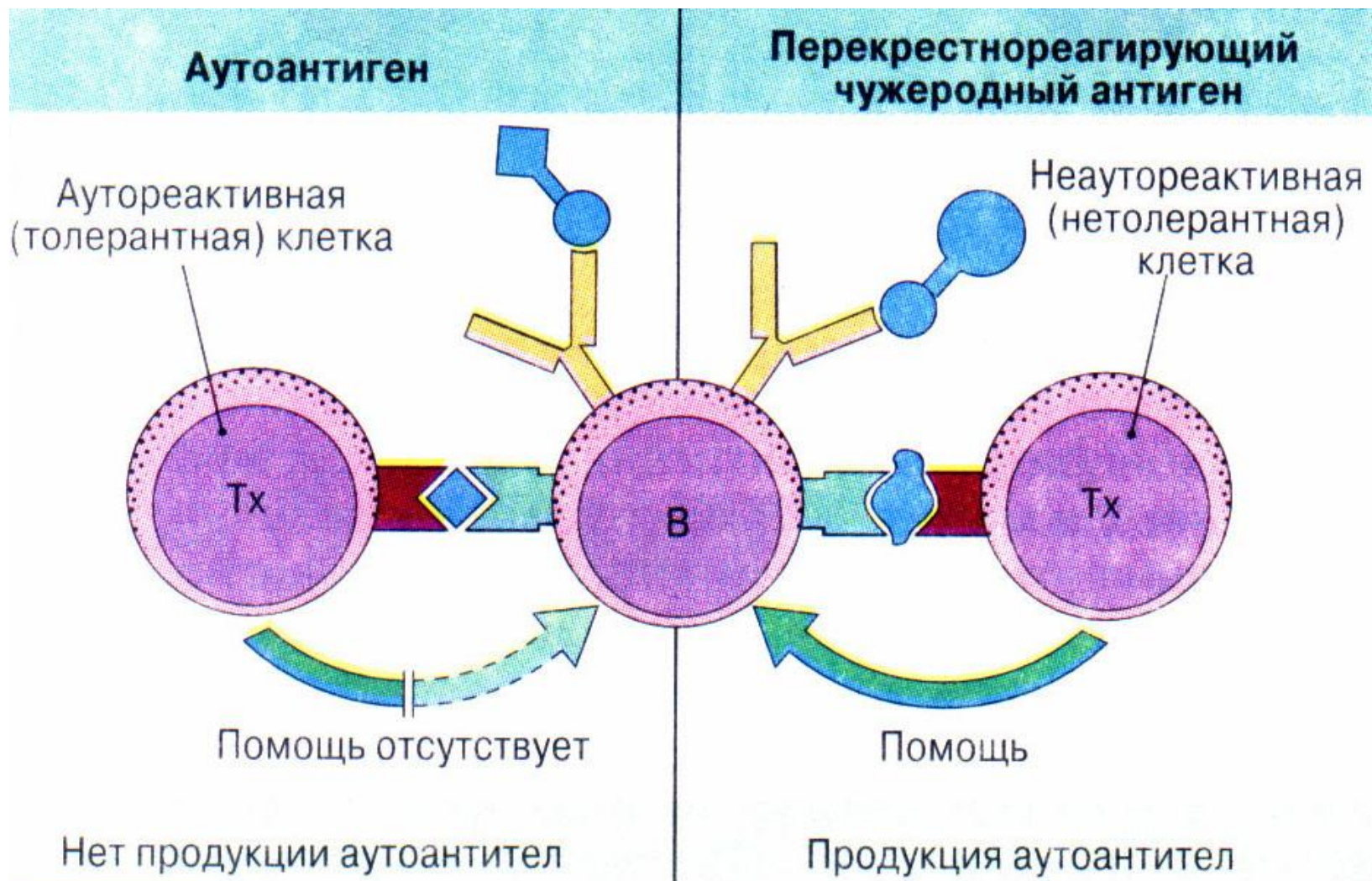


В результате воздействия интерферонов (в течение нескольких часов) клетка приобретает устойчивость к вирусу на 1-2 суток.

Перекрестно-реагирующие антигены индуцируют появление аутоиммунных Тх-клеток

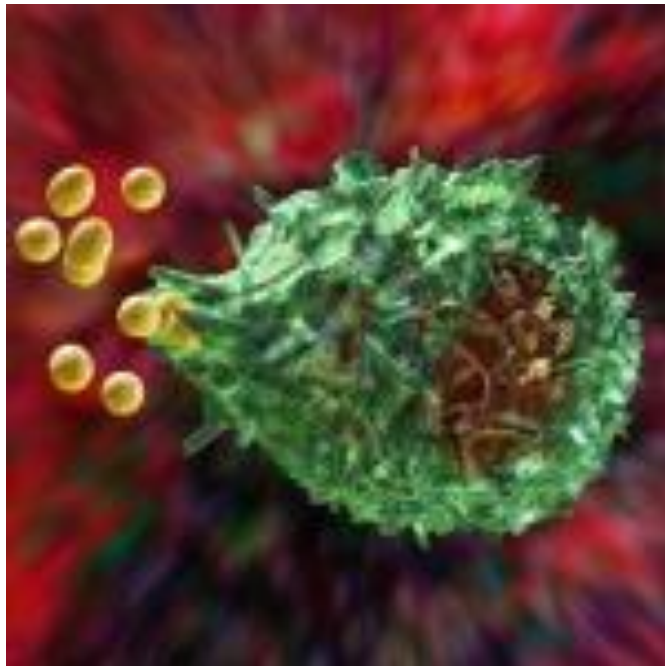
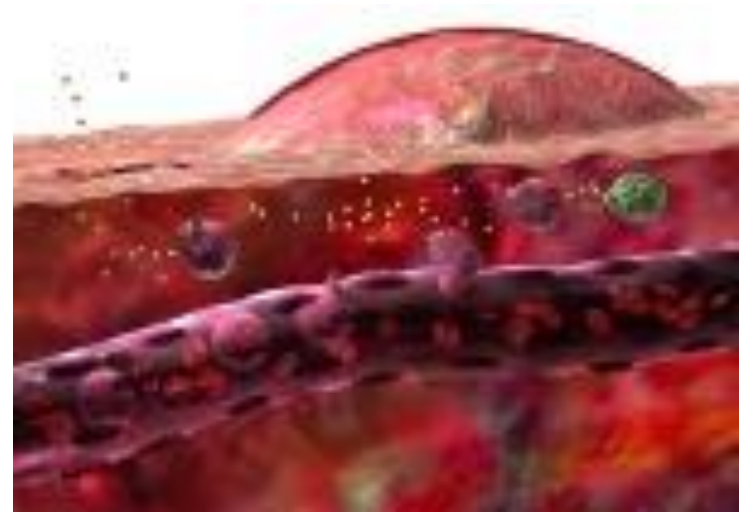


Индукция синтеза аутоантител перекрестно-реагирующими антигенами



Лекция 2

Врожденный Иммуитет Innate Immunity



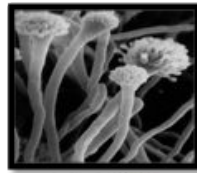
Габибов А.Г.

Insects and infections

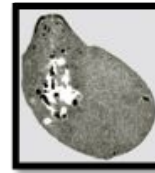
Bacteria



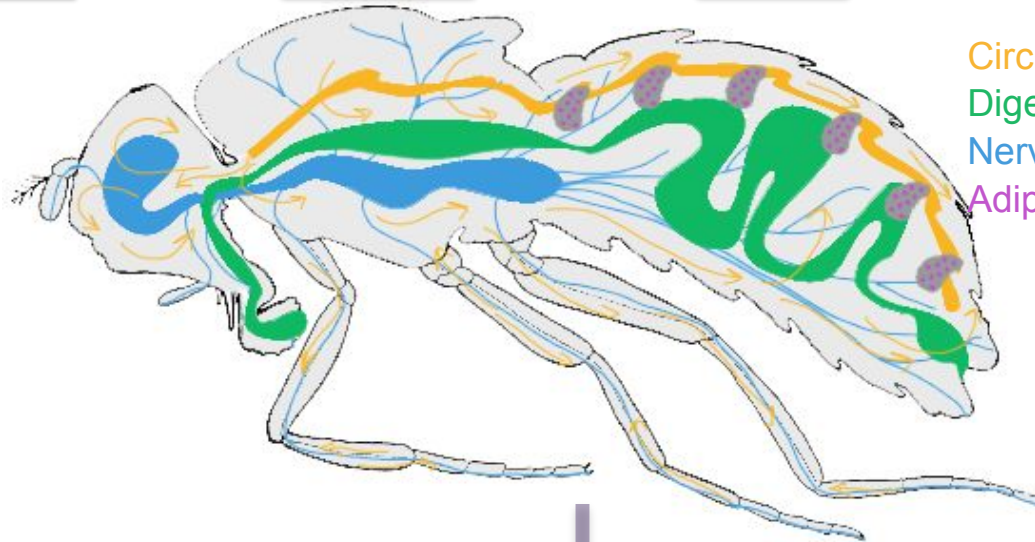
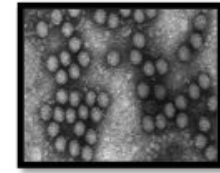
Fungi



Protozoa



Virus



Circulatory system

Digestive system

Nervous system

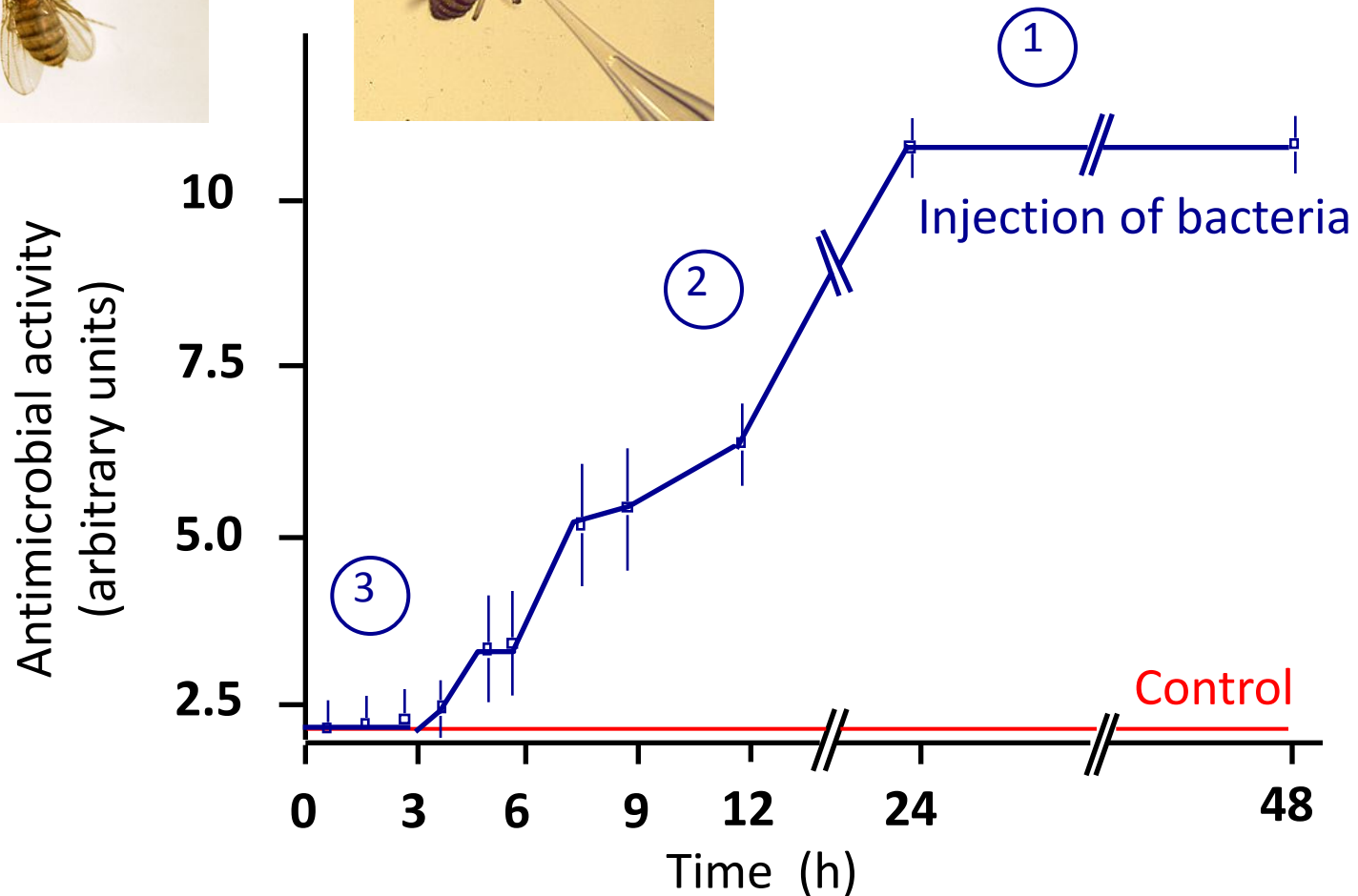
Adipose system

Production of antimicrobial molecules

Evolutionarily conserved mechanisms (e.g. Toll like receptors)

Vector borne disease (e.g. plasmodium, dengue)

Induction of antimicrobial activity by immune challenge



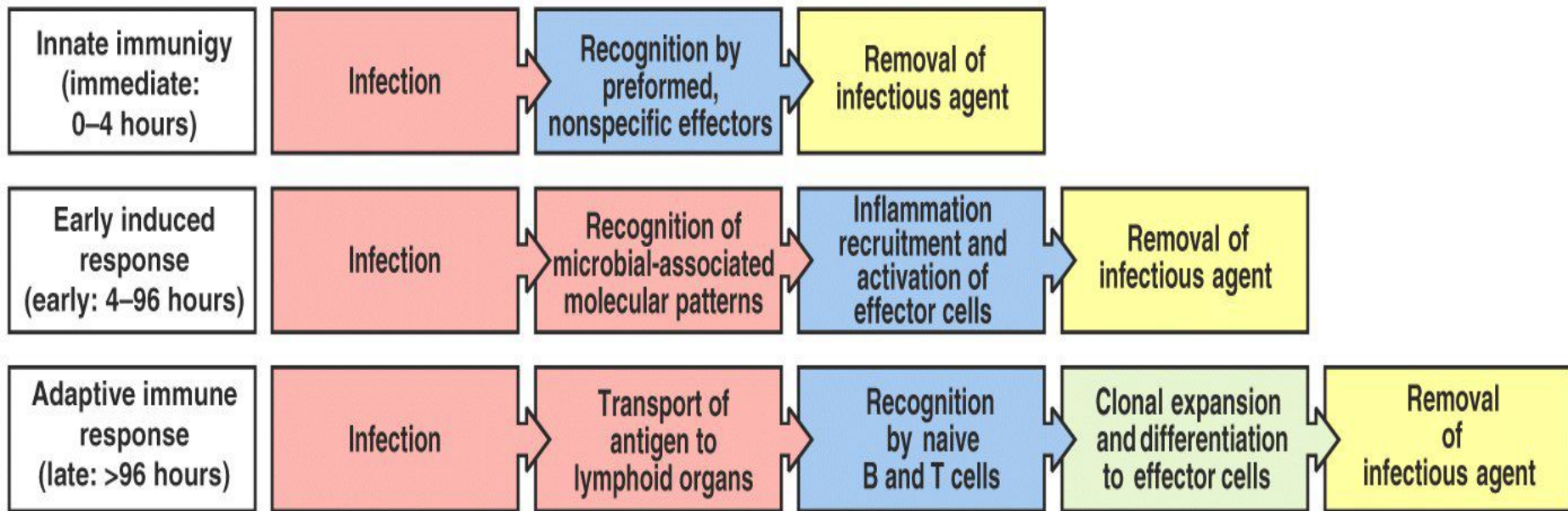


Figure 2-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

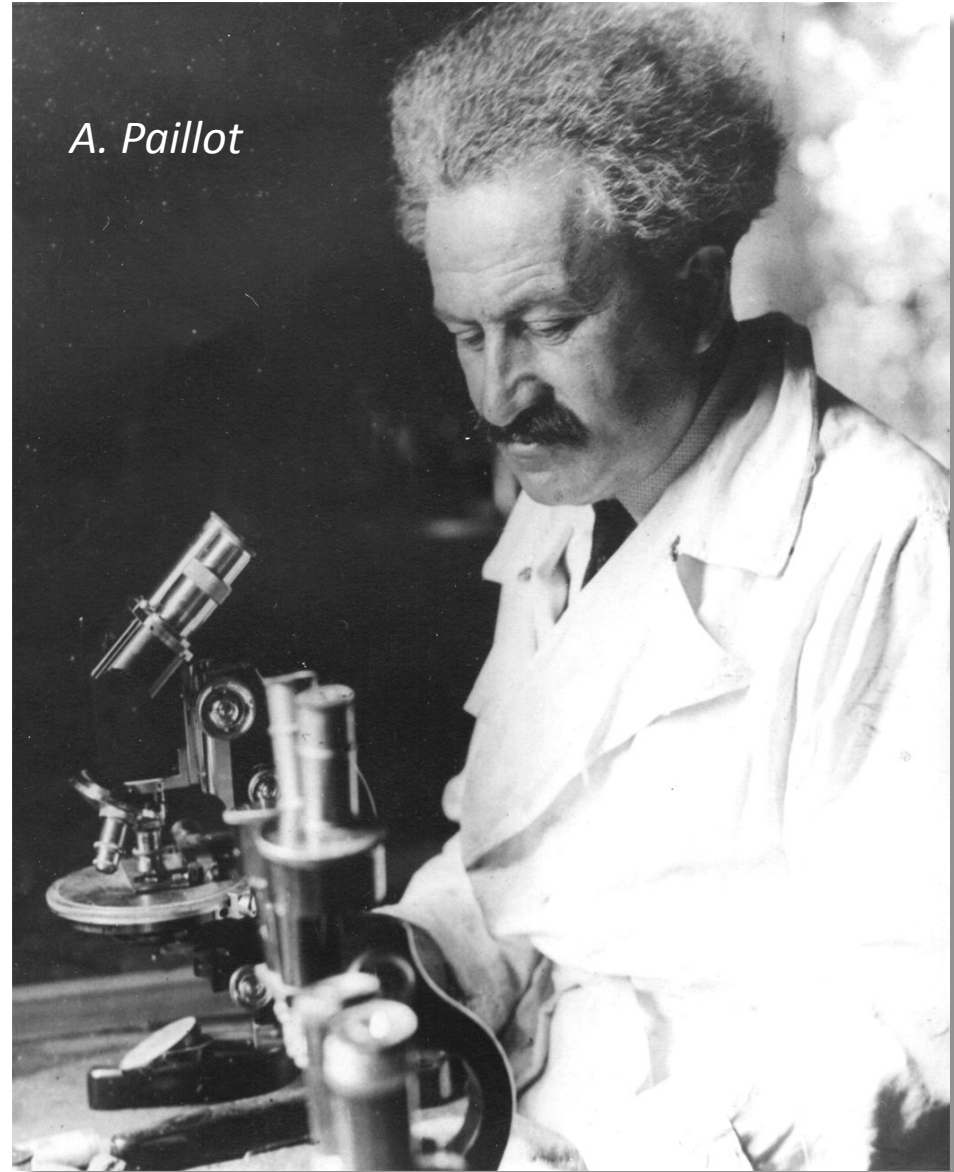
E. Metchnikow



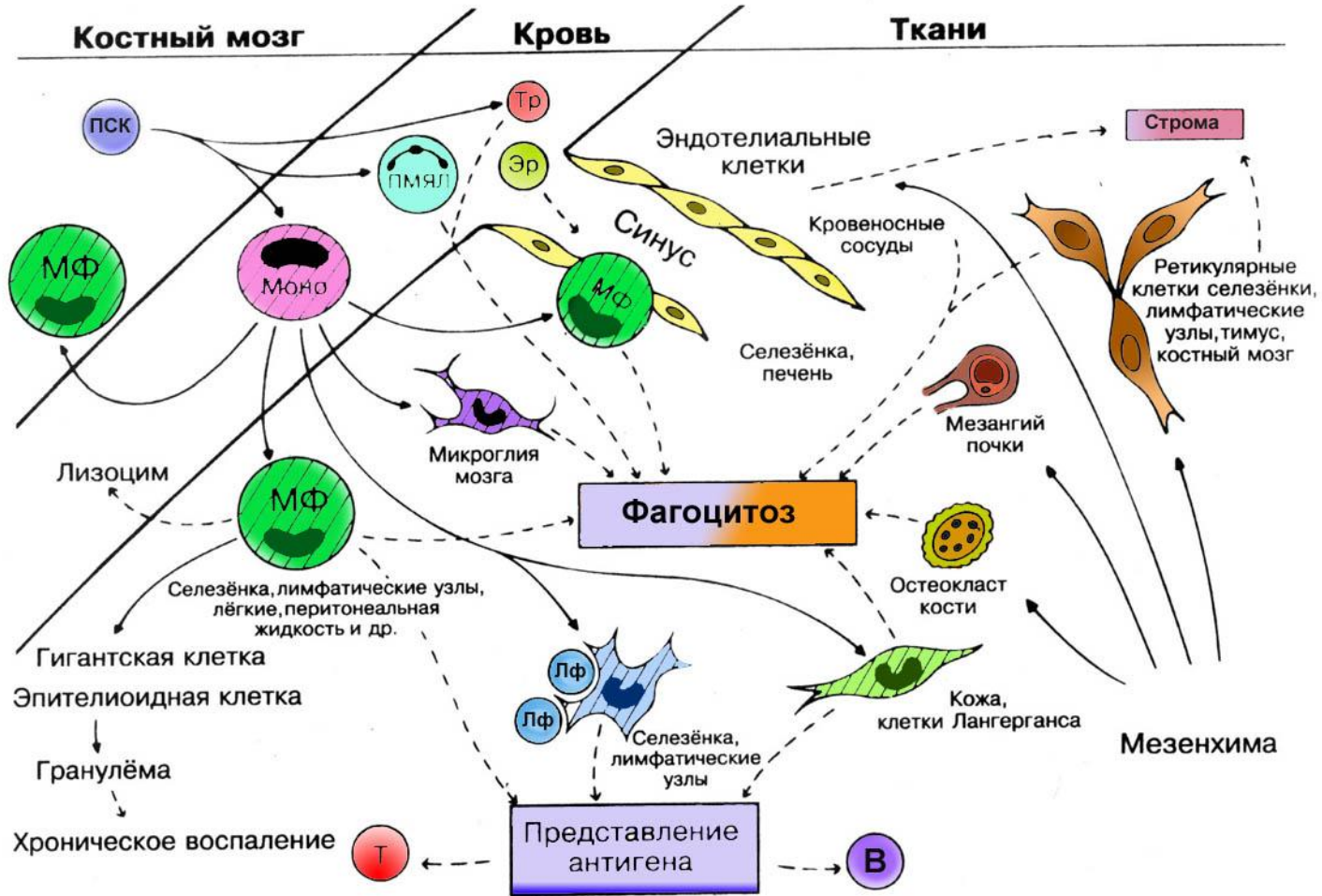
Phagocytosis

Inducible Antimicrobial activity

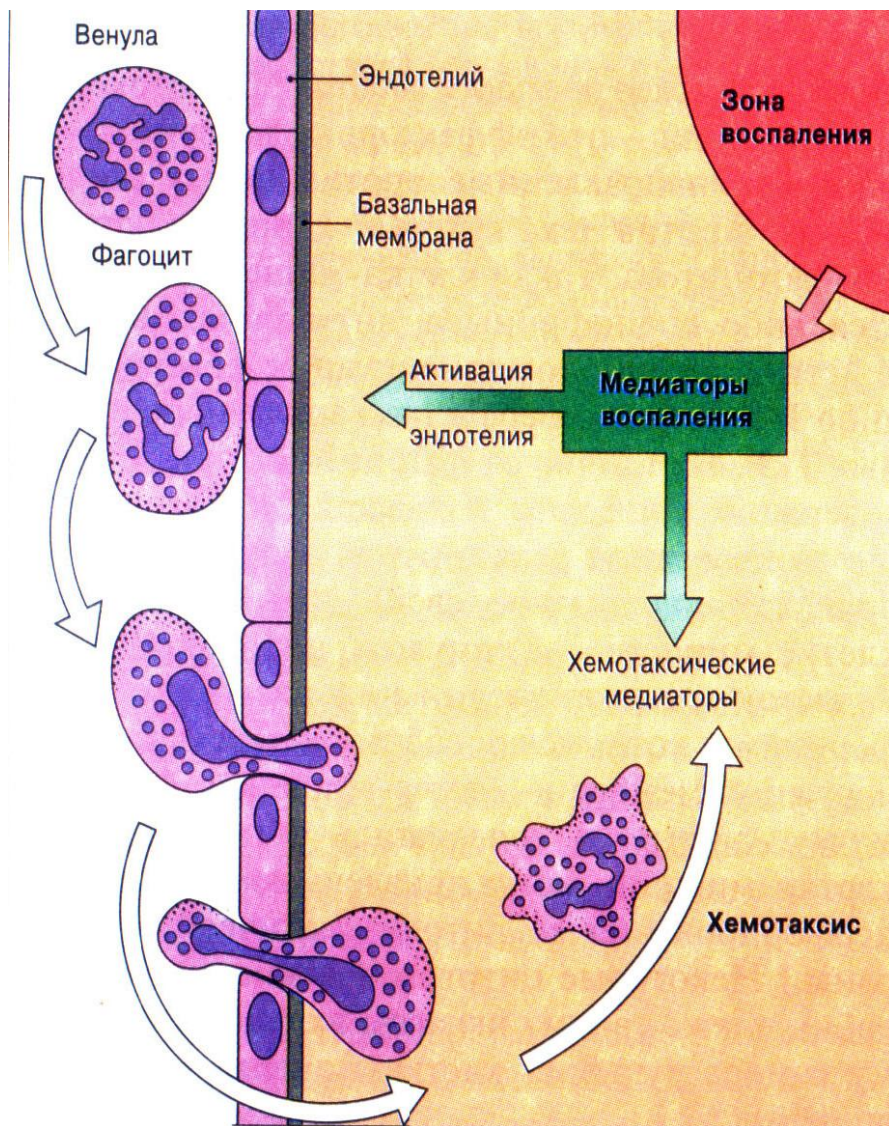
A. Paillot



Фагоцитарные клетки. Система мононуклеарных фагоцитов



Хемотаксис



Инфекционный агент вызывает в зоне воспаления повреждение тканей и активацию комплемента. Это, в свою очередь, приводит к высвобождению медиаторов воспаления (например, одного из наиболее важных хемотаксических пептидов C5a - фрагмента пятого компонента комплемента). Медиаторы воспаления диффундируют к близлежащим венулам, где вызывают прилипание (*адгезию*) фагоцитов к эндотелию. Прилипшие фагоциты проникают между эндотелиальными клетками и растворяют базальную мембрану инфицированной клетки-мишени.

Хемотаксис

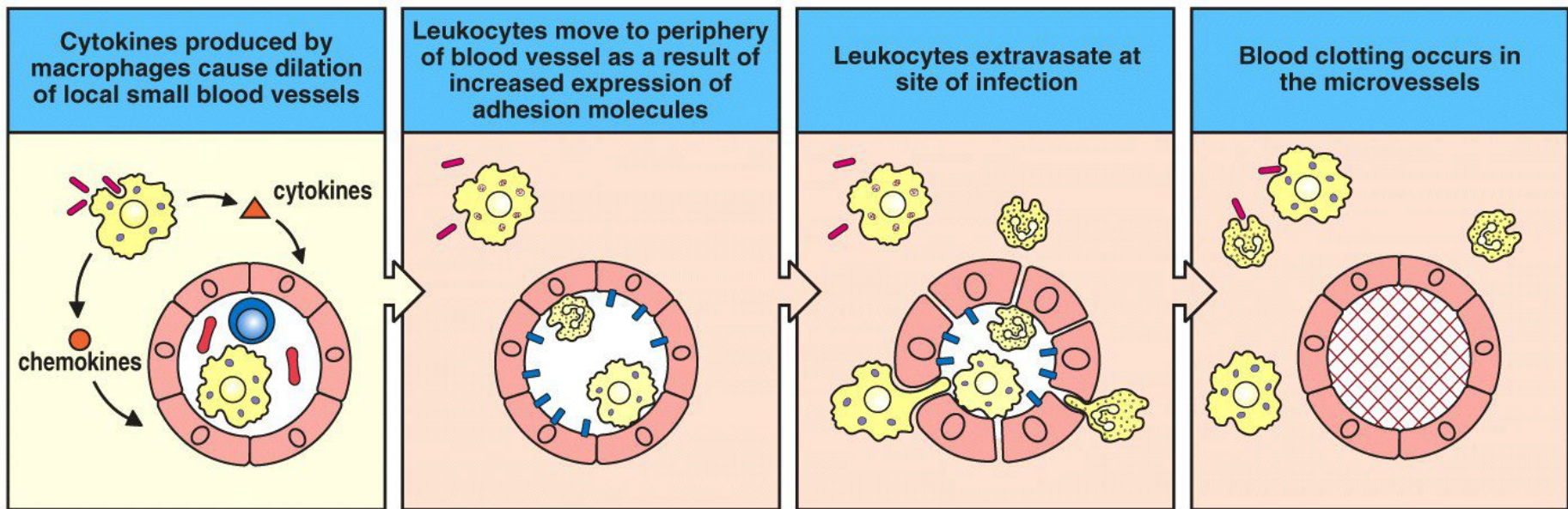


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Хемотаксис

Хемотаксис

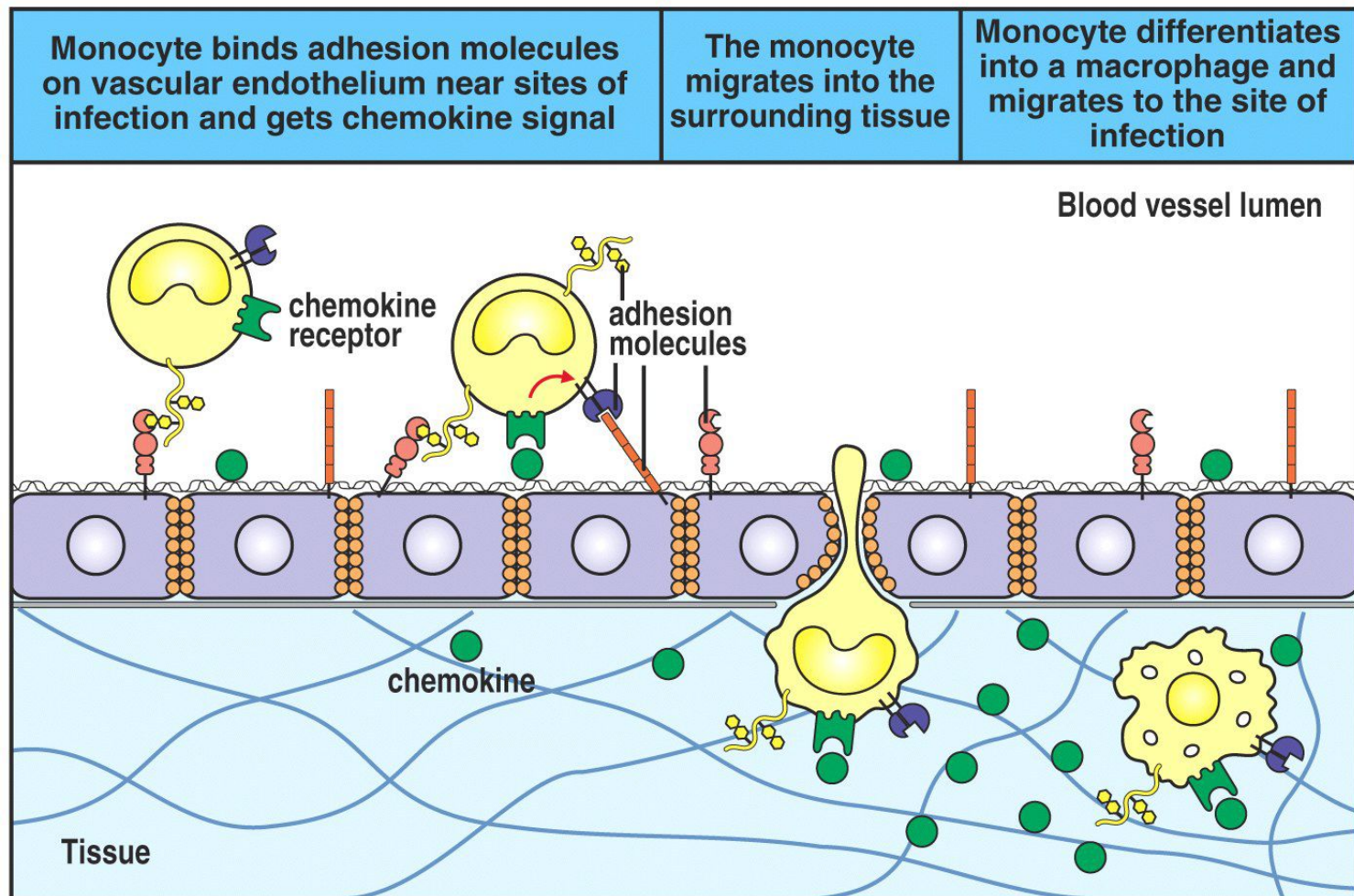
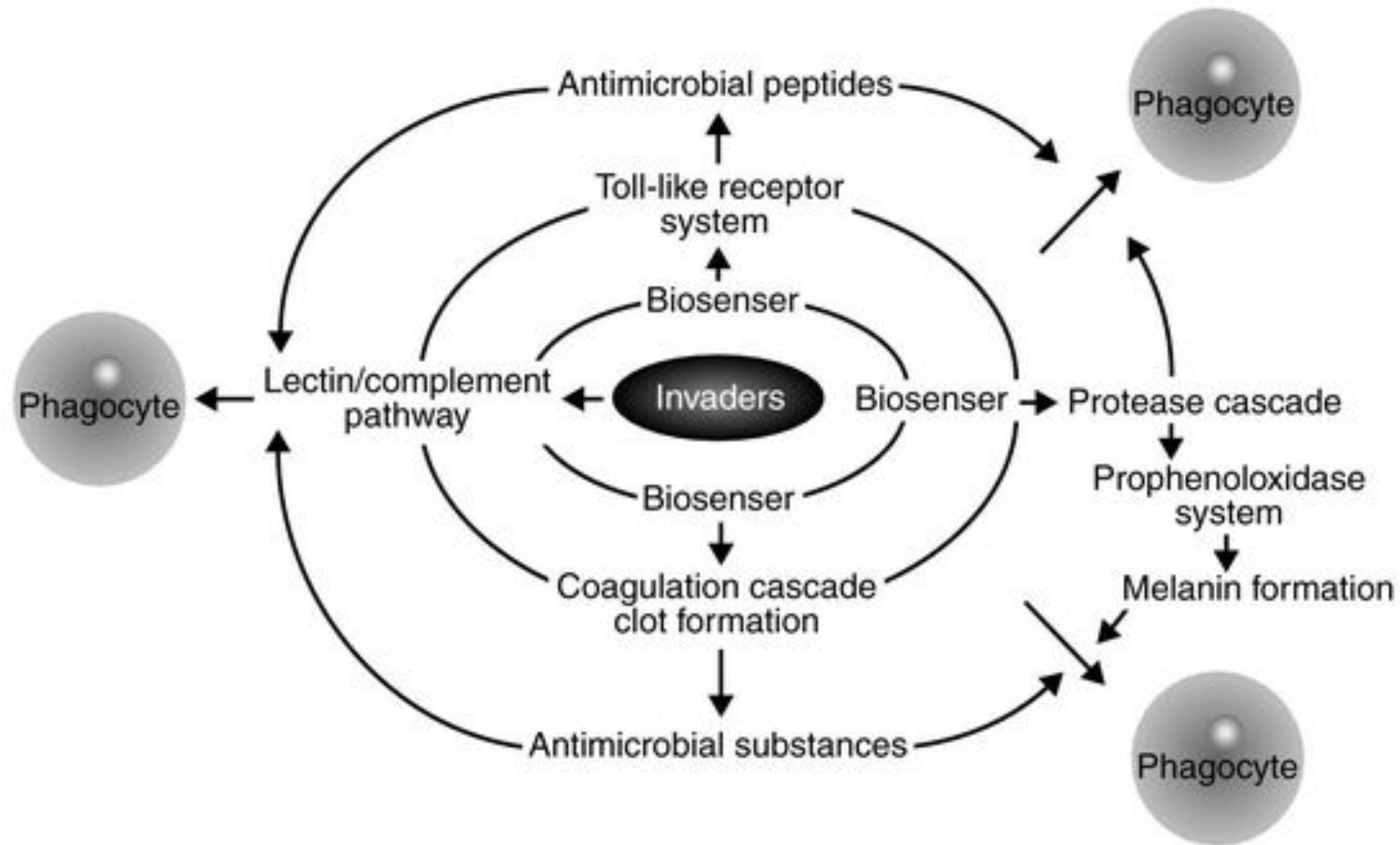
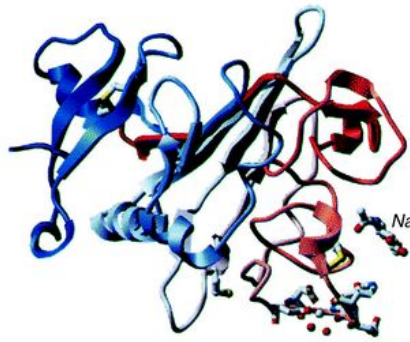


Figure 2-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

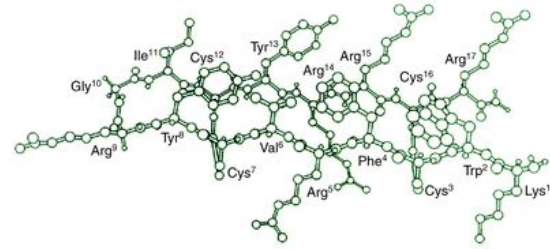
Фагоцитоз

φαγοκυττός

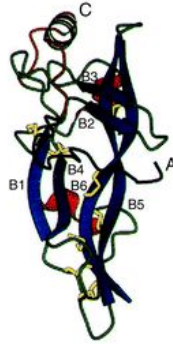




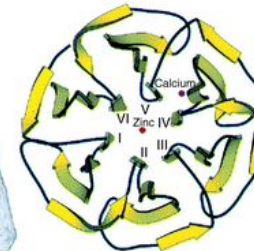
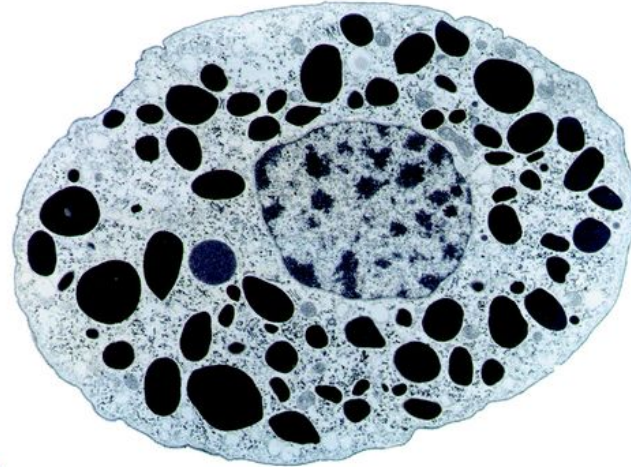
Tachylectin 5A



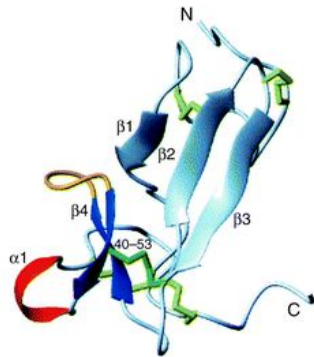
Tachyplepsin



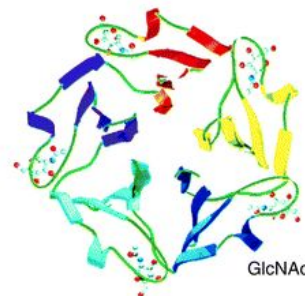
Coagulogen



Tachylectin 1

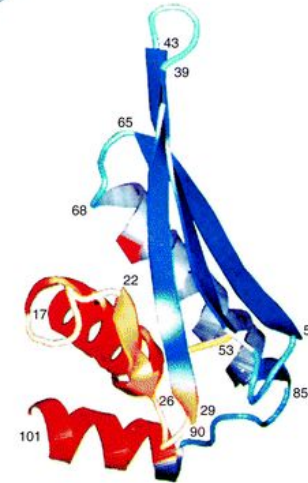


Tachycitin

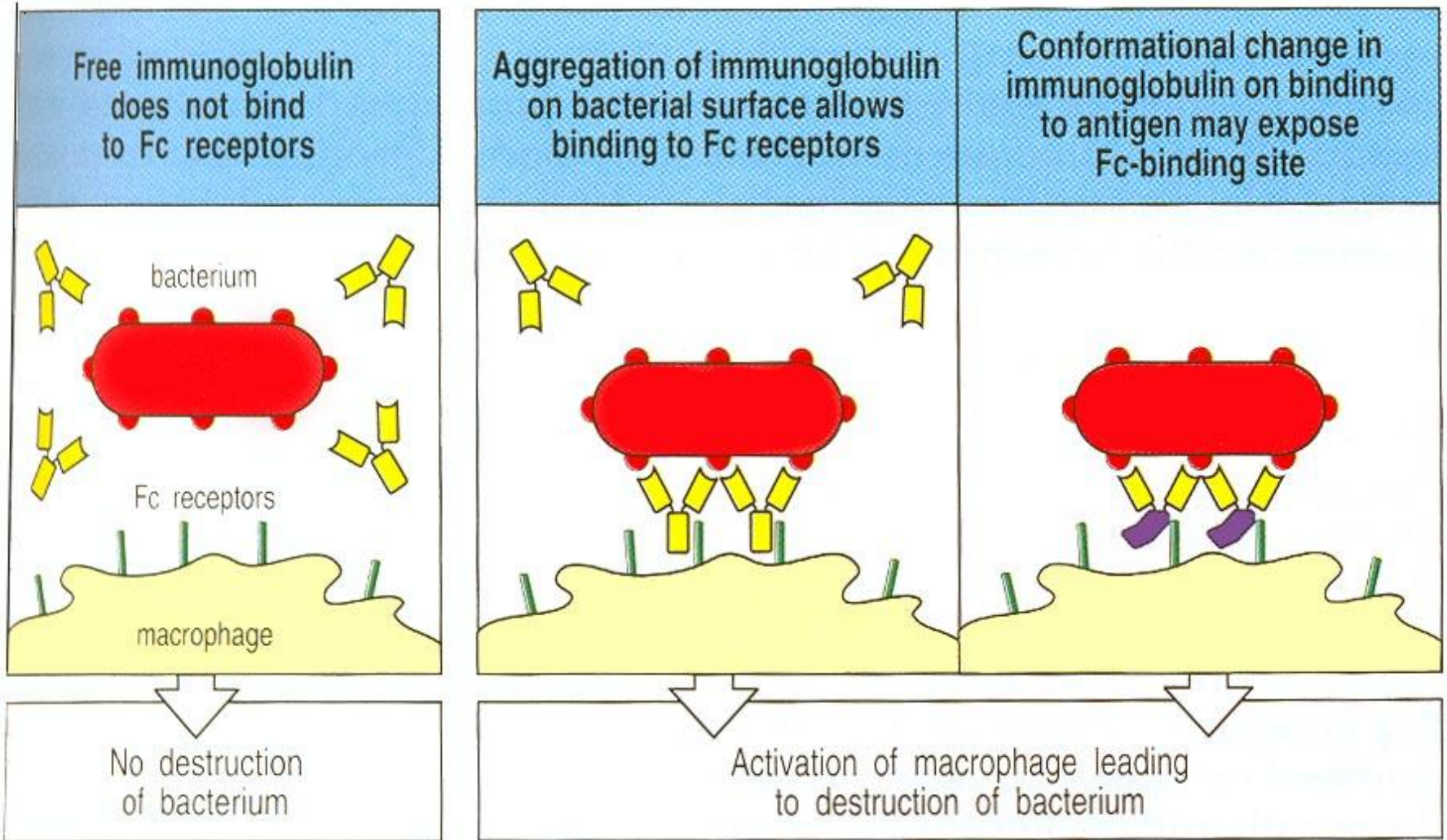


Tachylectin 2

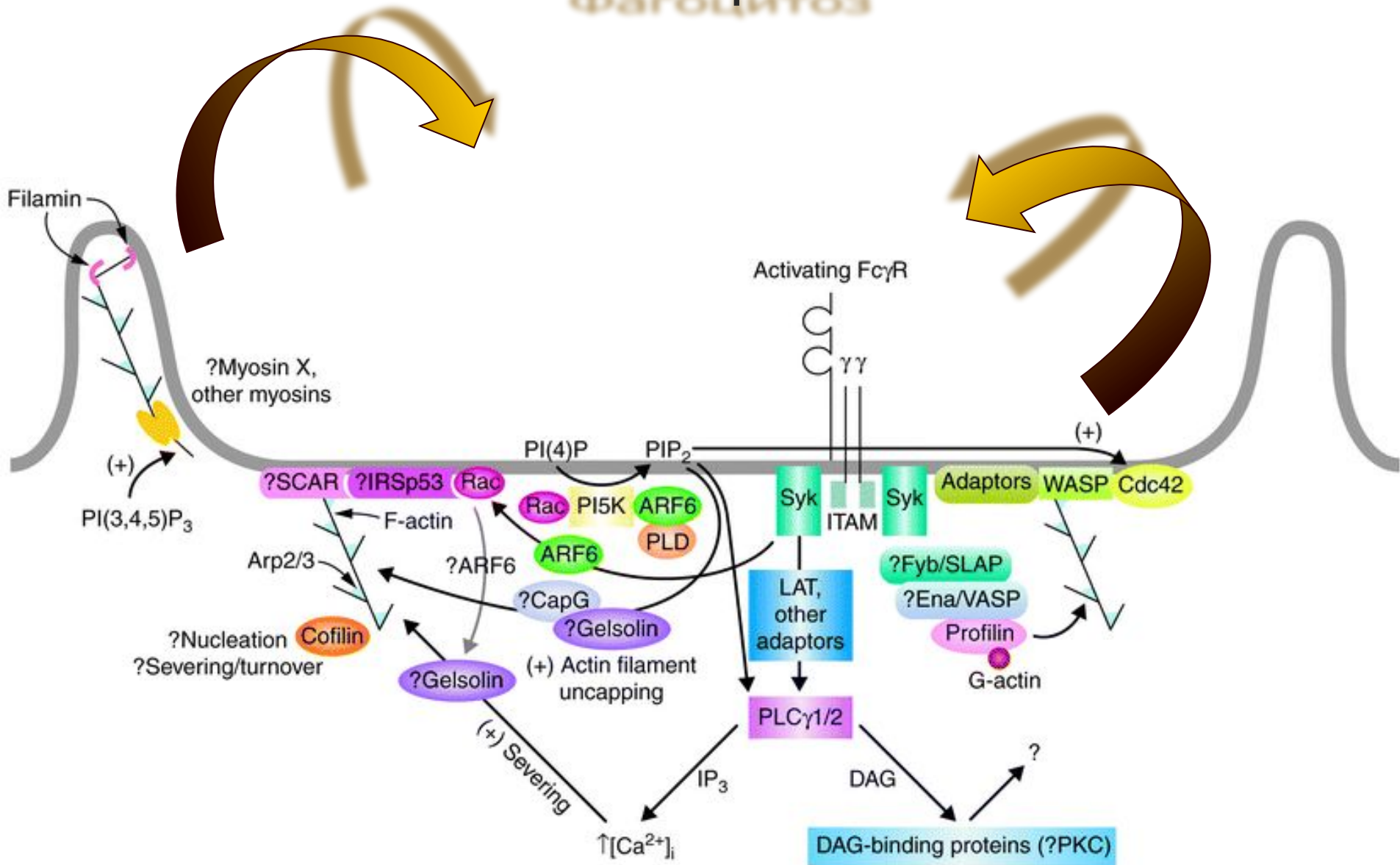
2 μ m



Anti-LPS factor

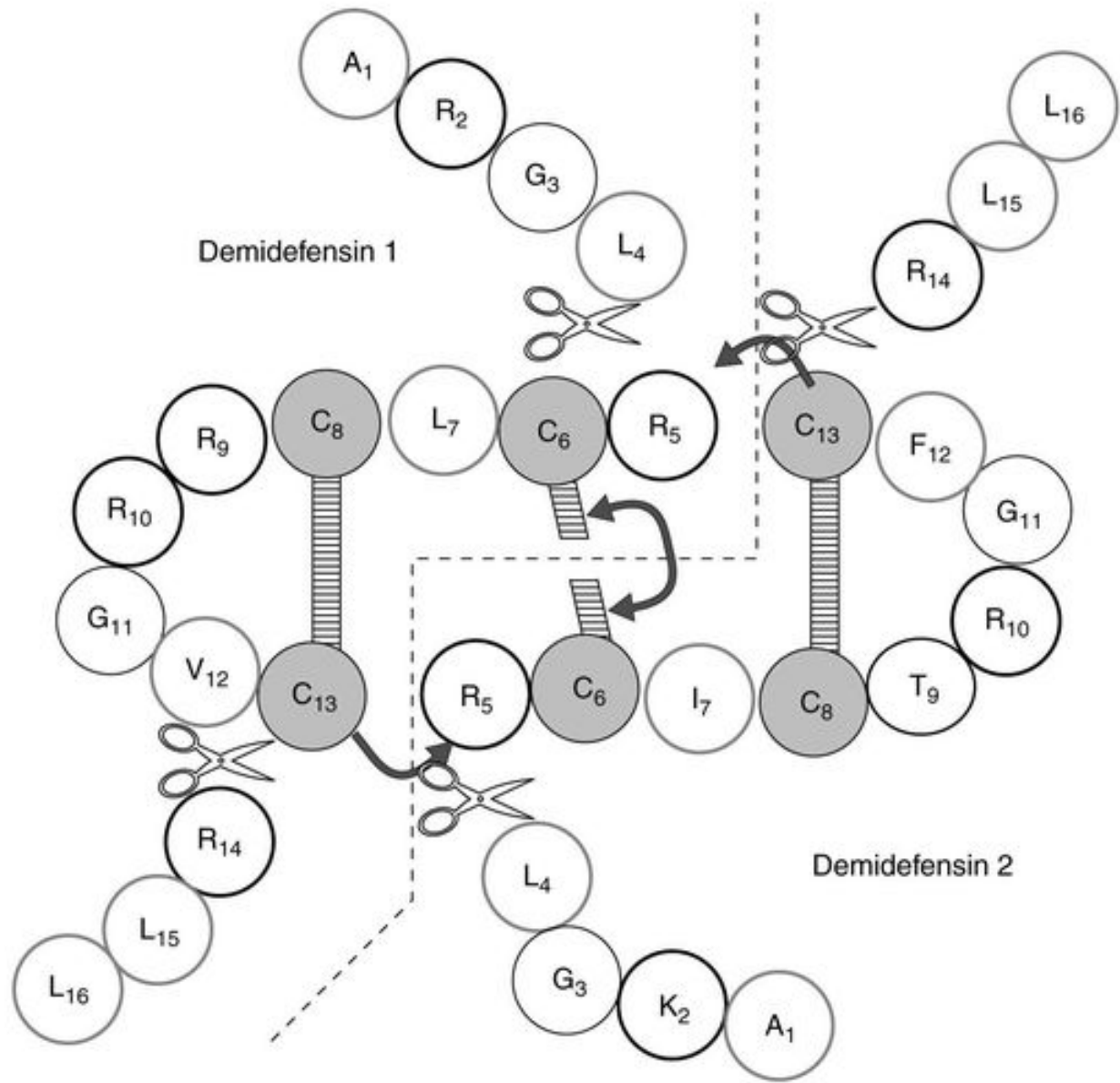


Фагоцитоз



Jules Hoffmann

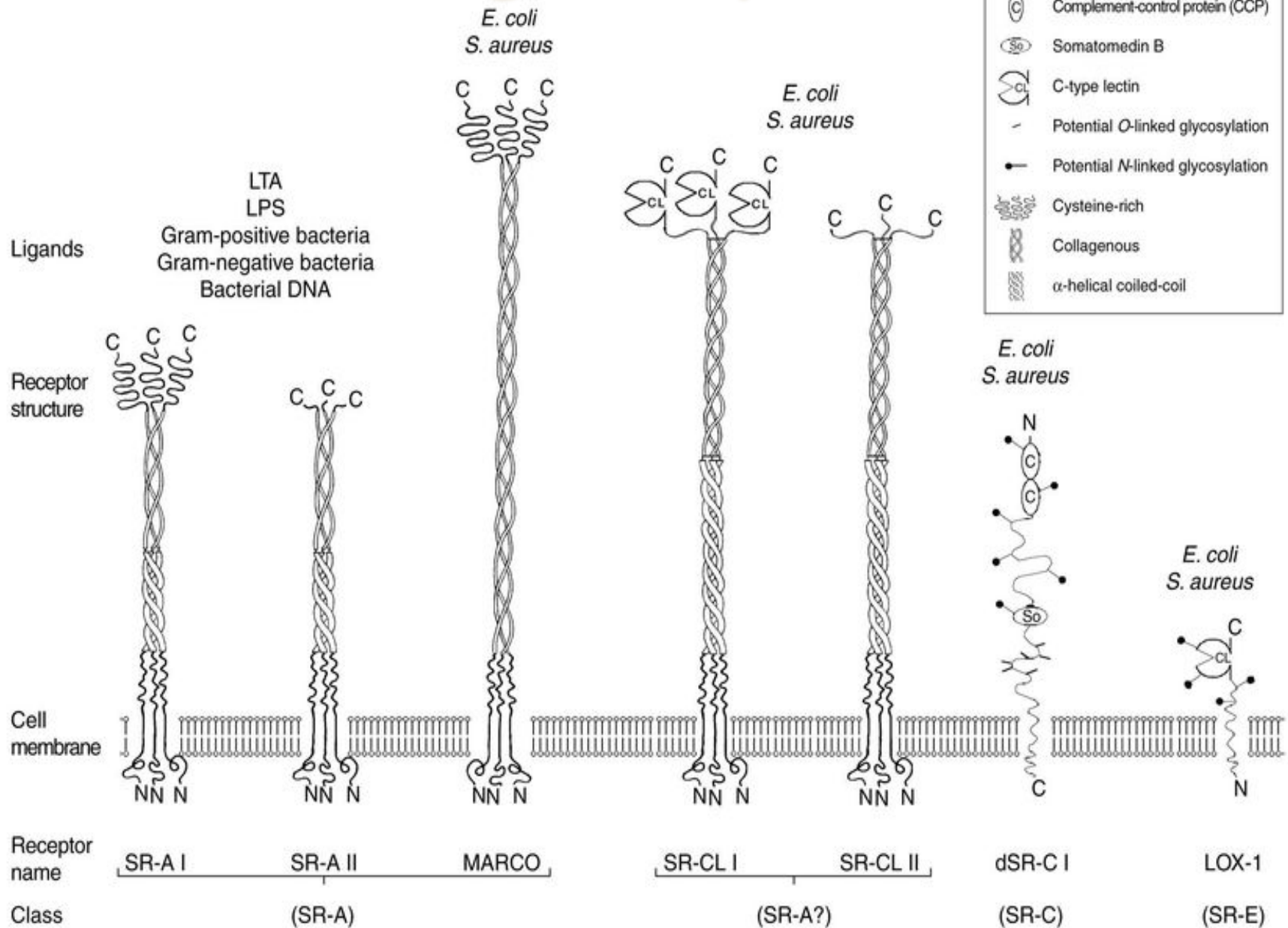




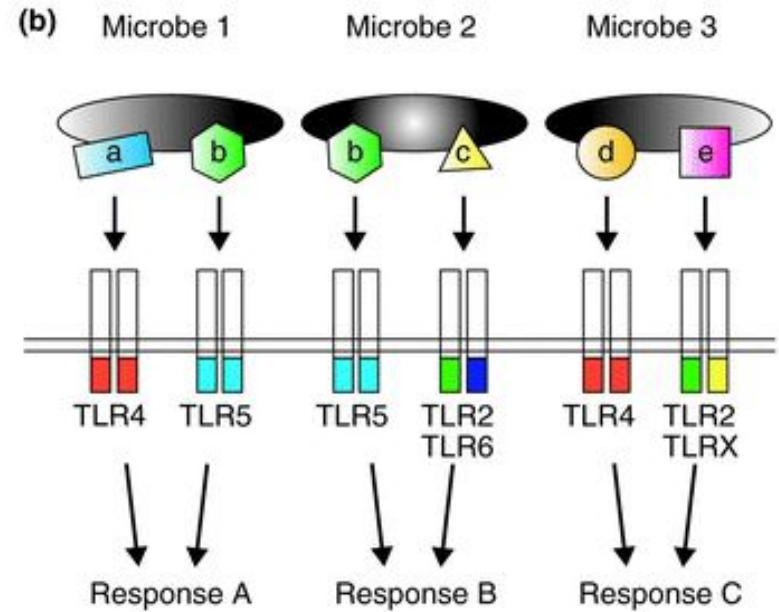
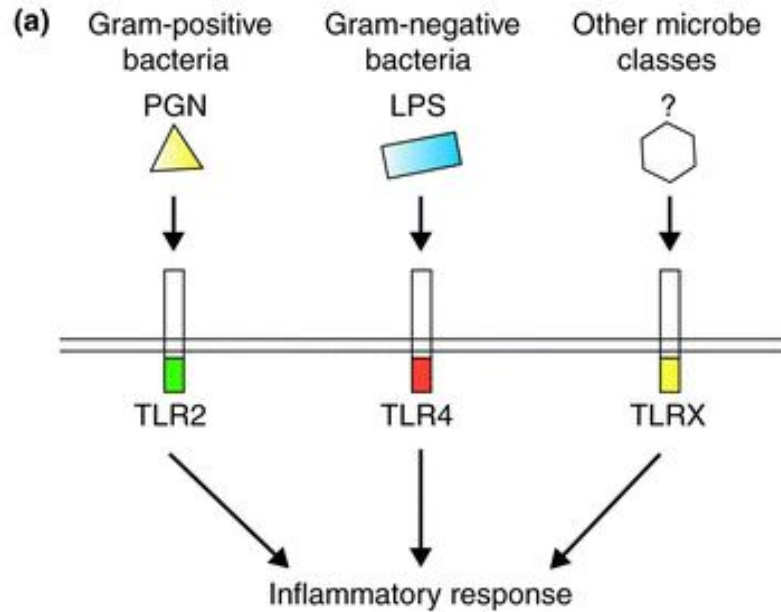
| Receptor characteristic | Innate immunity | Adaptive immunity |
|--|-----------------|-------------------|
| Specificity inherited in the genome | Yes | No |
| Expressed by all cells of a particular type (eg, macrophages) | Yes | No |
| Triggers immediate response | Yes | No |
| Recognizes broad classes of pathogen | Yes | No |
| Interacts with a range of molecular structures of a given type | Yes | No |
| Encoded in multiple gene segments | No | Yes |
| Requires gene rearrangement | No | Yes |
| Clonal distribution | No | Yes |
| Able to discriminate between even closely related molecular structures | No | Yes |

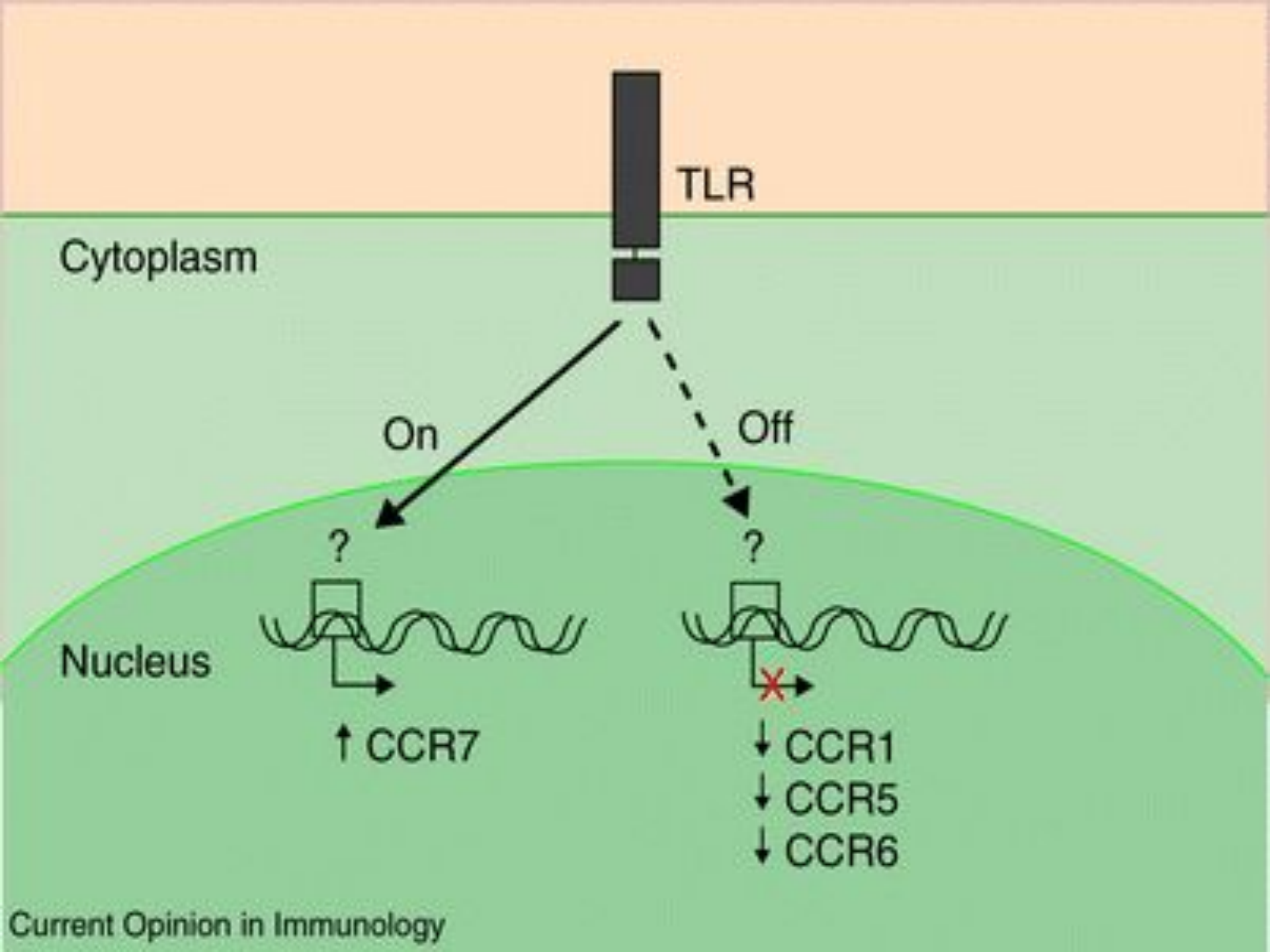
Figure 2-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

"Scavenger Receptors"



Система TLR





Cytoplasm

TLR

On

Off

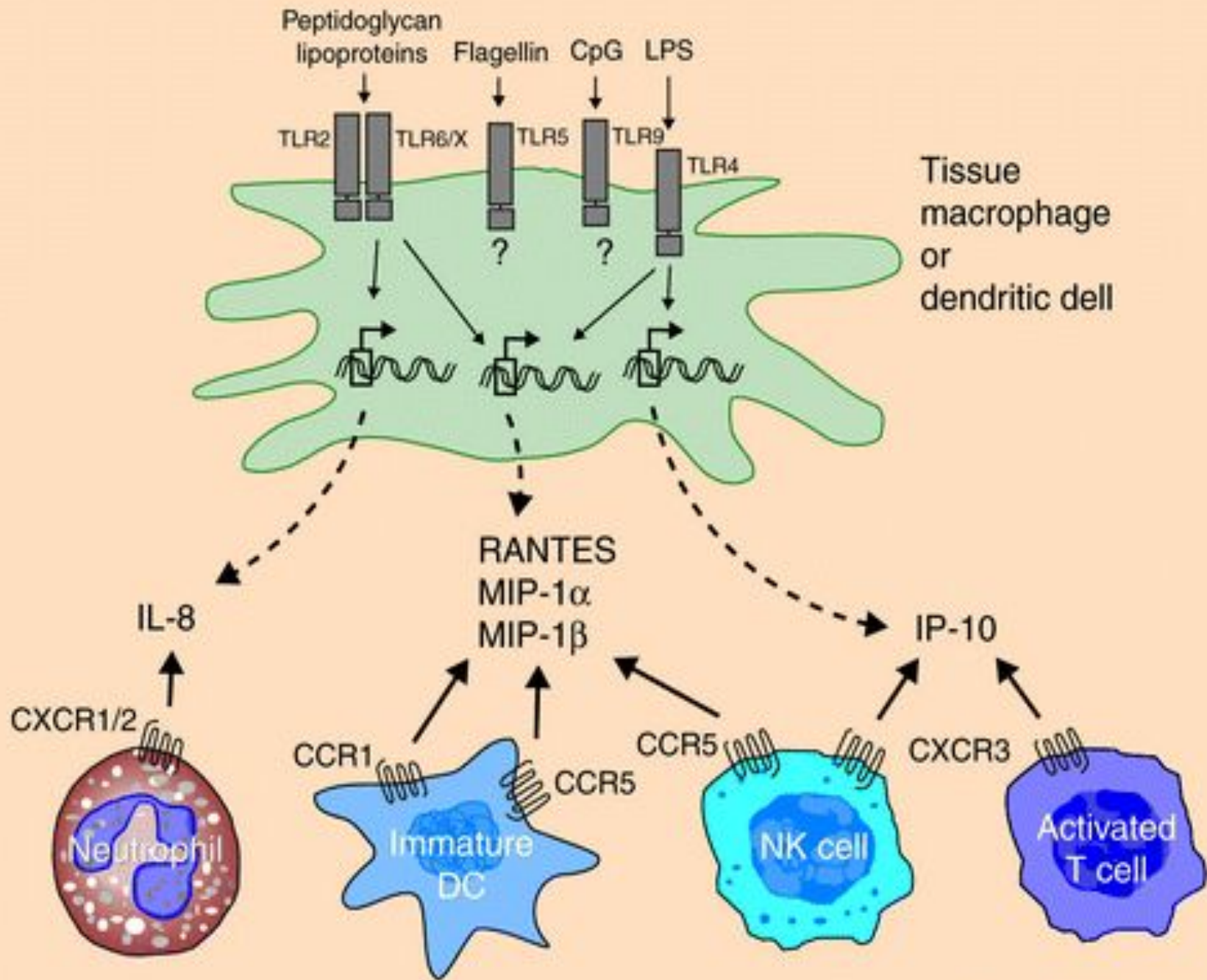
?

?

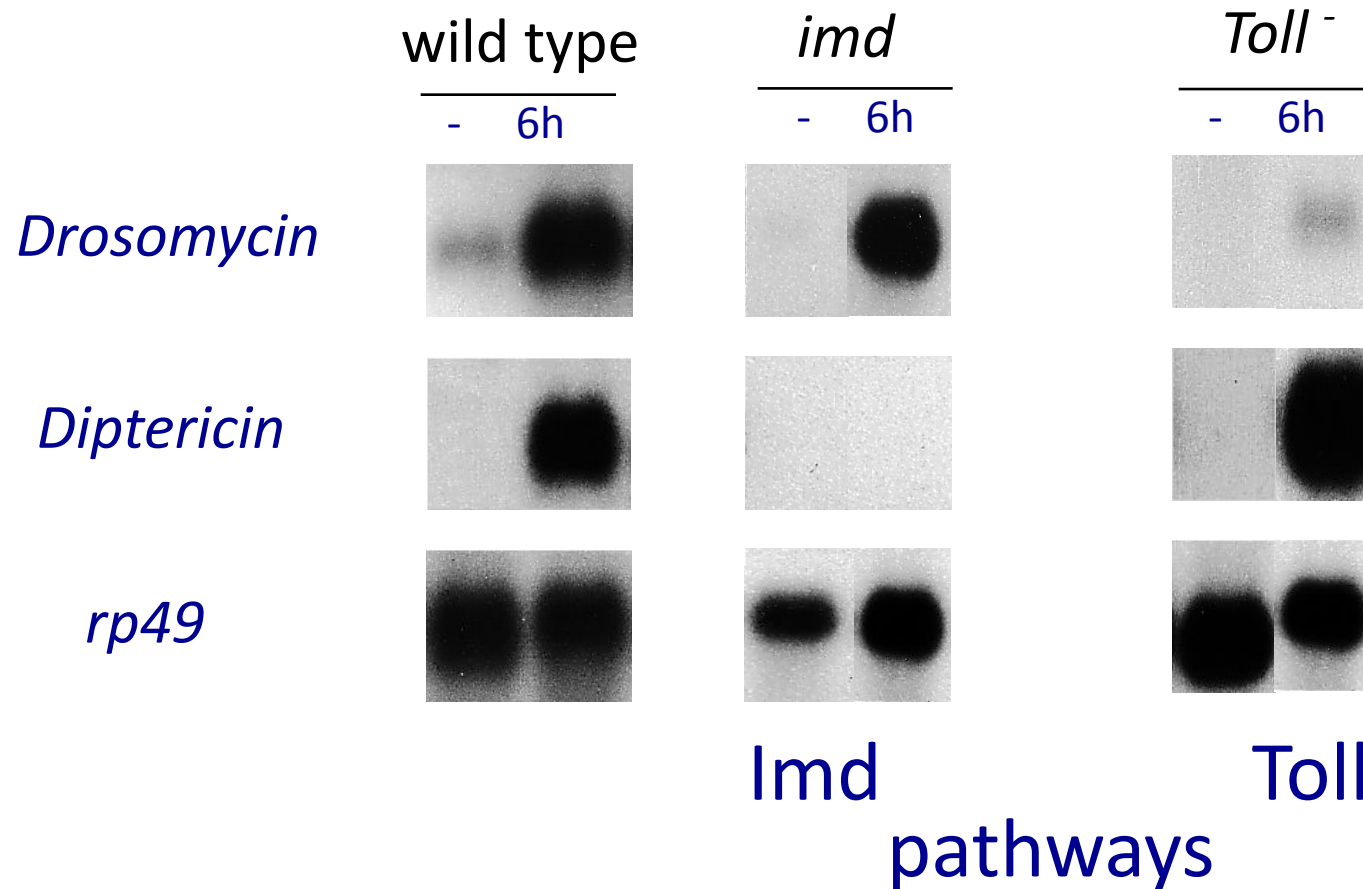
Nucleus

↑ CCR7

↓ CCR1
↓ CCR5
↓ CCR6

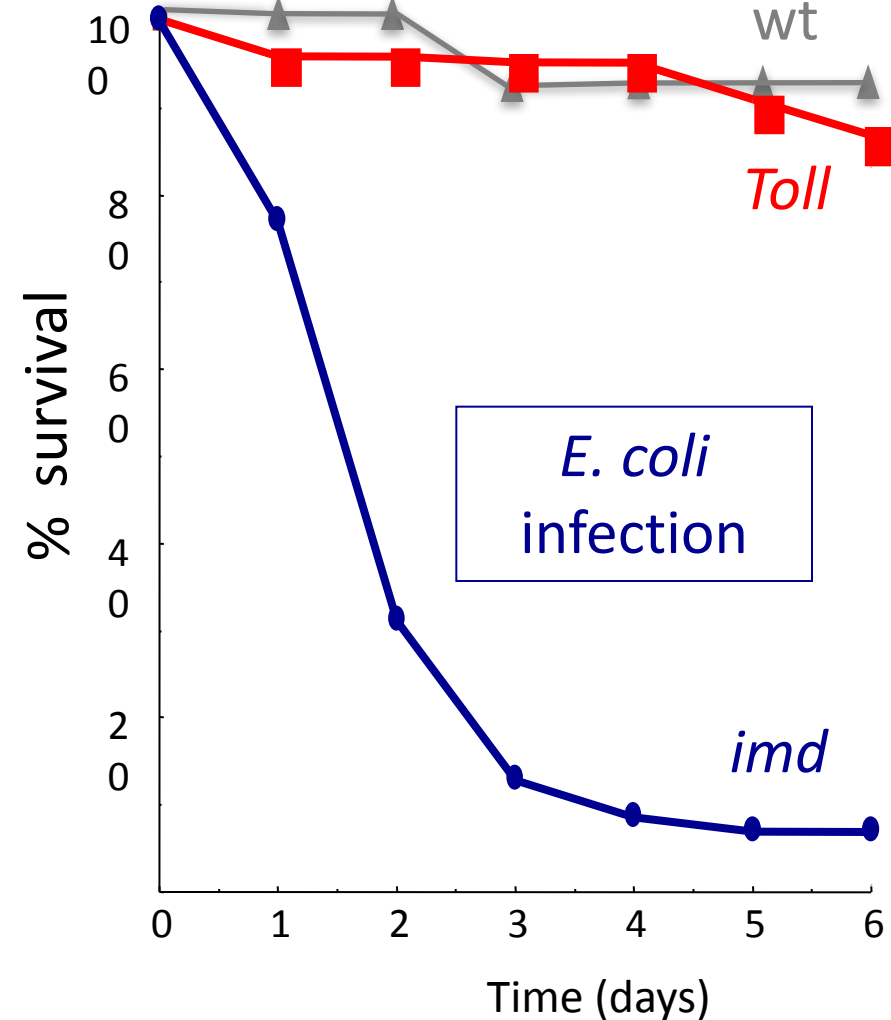
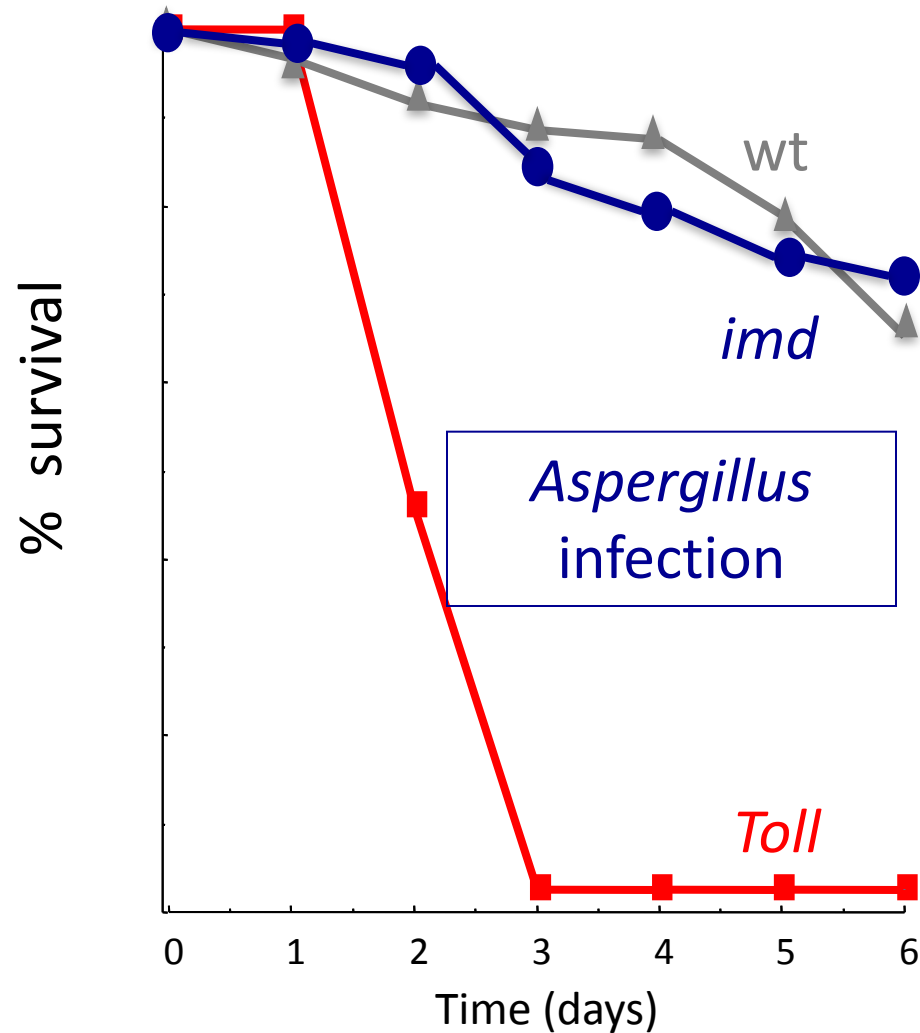


The *Toll* pathway is involved in the control of drosomycin but not diptericin expression

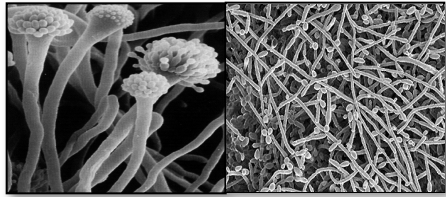


Lemaitre *et al* PNAS (1995)
Lemaitre *et al* Cell (1996)

imd and *Toll* mutants are immunocompromised

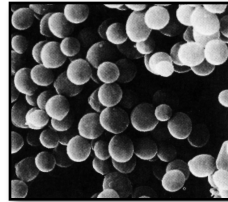


How is infection sensed in insects?

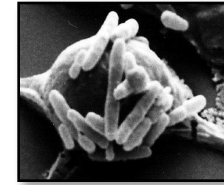


Fungi

Yeast



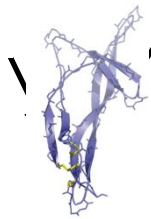
Gram positive
bacteria



Gram negative
bacteria

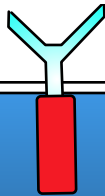
?

?



Spz

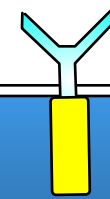
Toll



Dif (NF- κ B)

Drosomycin

?



Toll-2?

IMD (RIP)

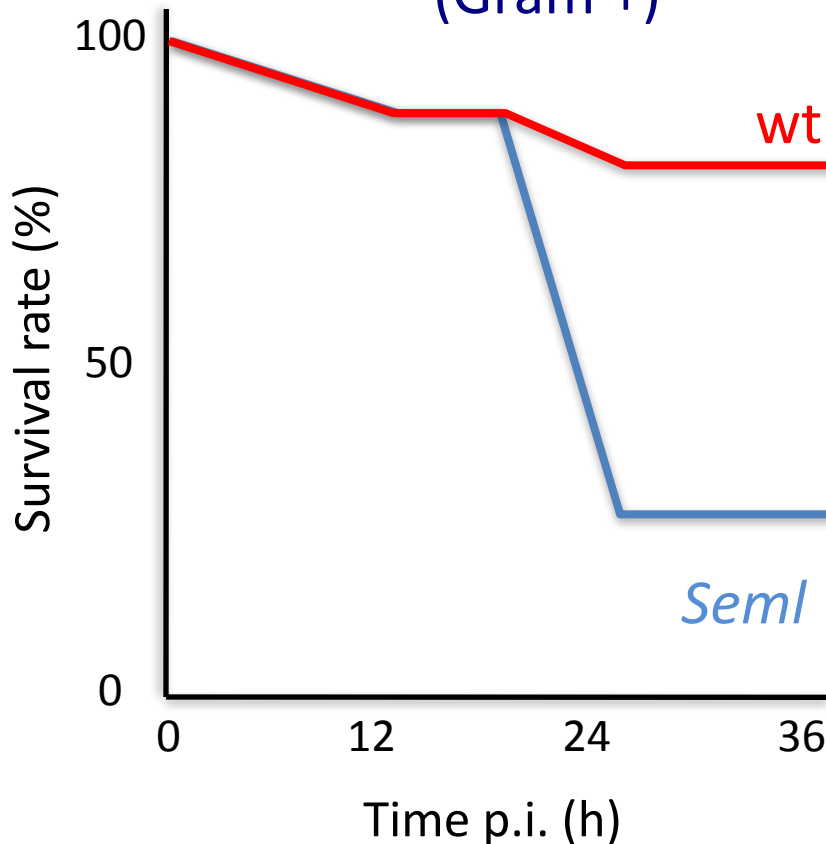


Relish (NF- κ B)

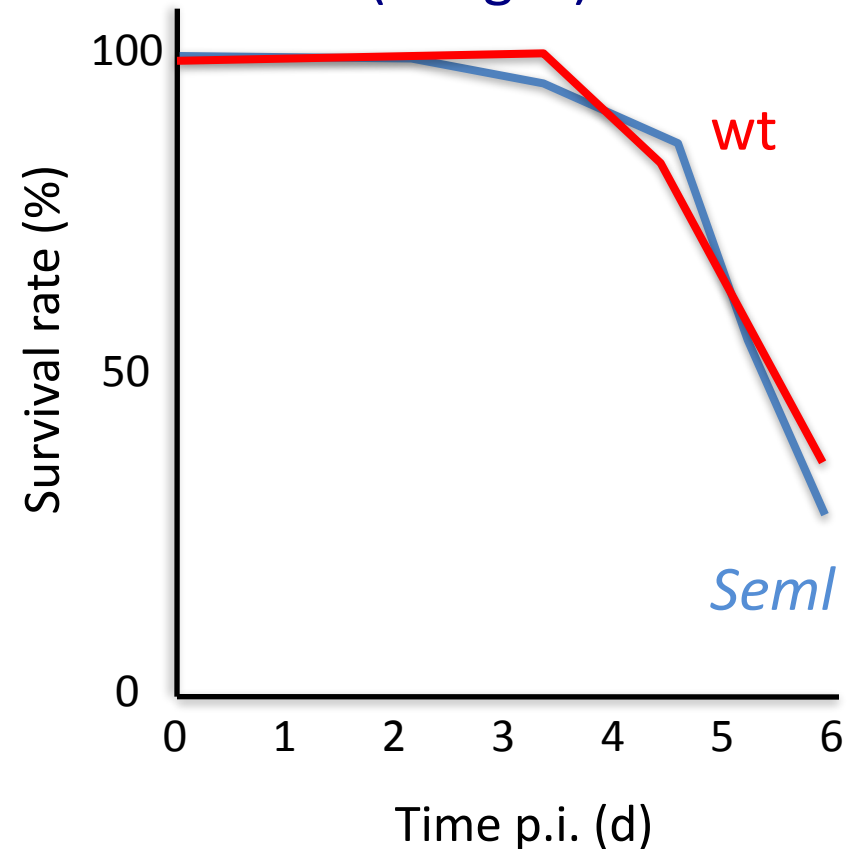
Diptericin

The mutant *semmelweis* reveals differences in the sensing of bacteria and fungi

Streptococcus faecalis
(Gram +)

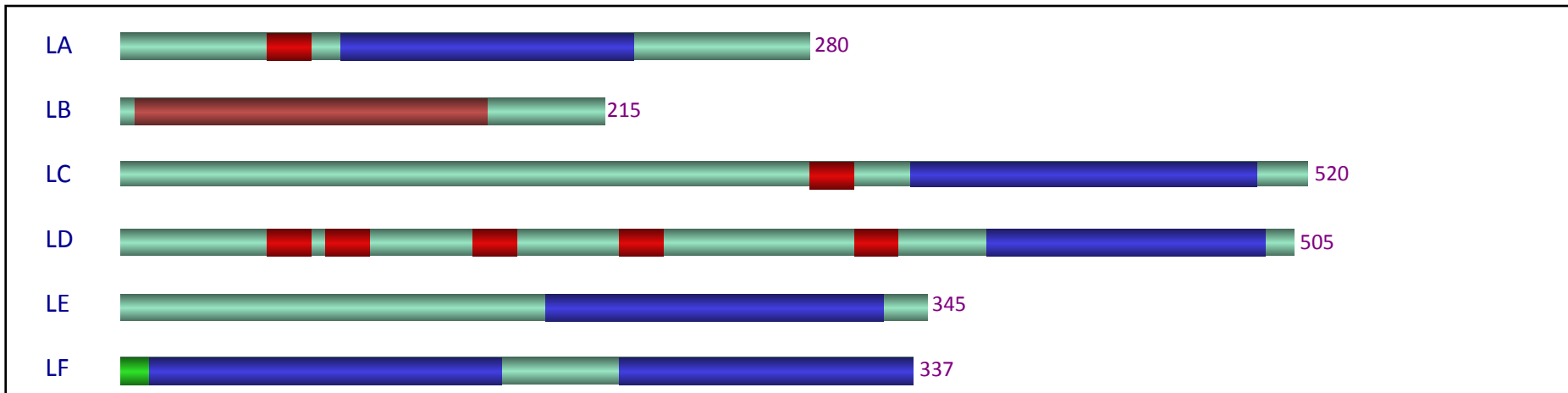
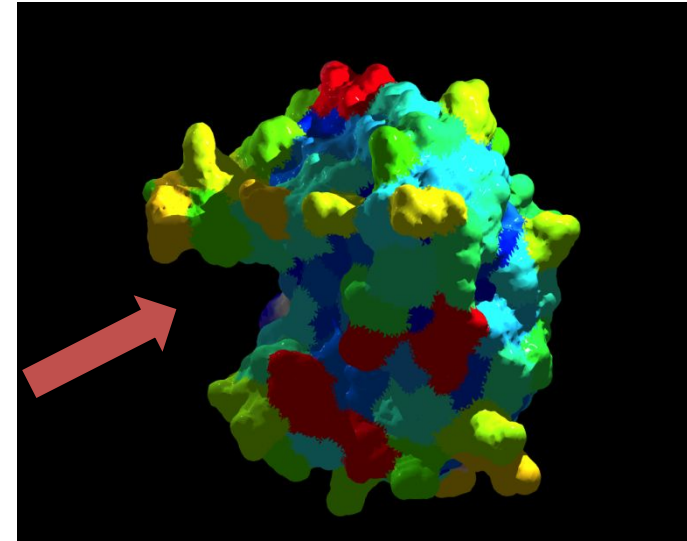
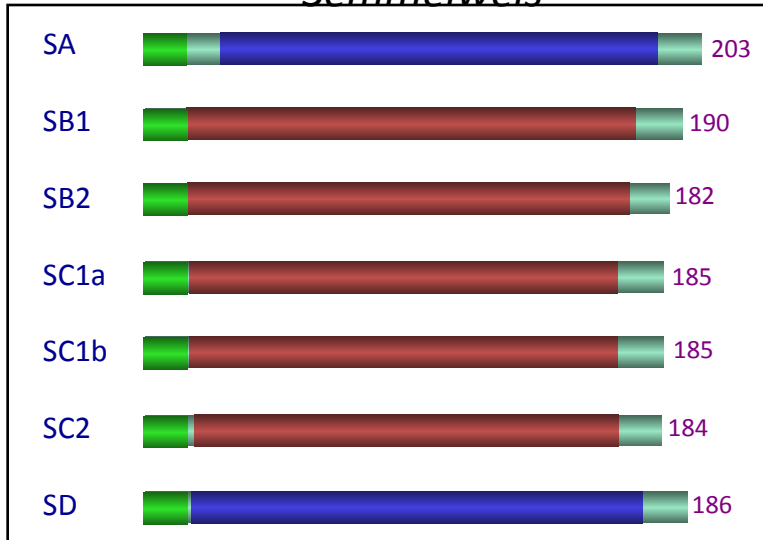


Beauveria bassiana
(Fungus)



The Peptidoglycan Recognition Protein (PGRP) family (drosophila)

Semmelweis

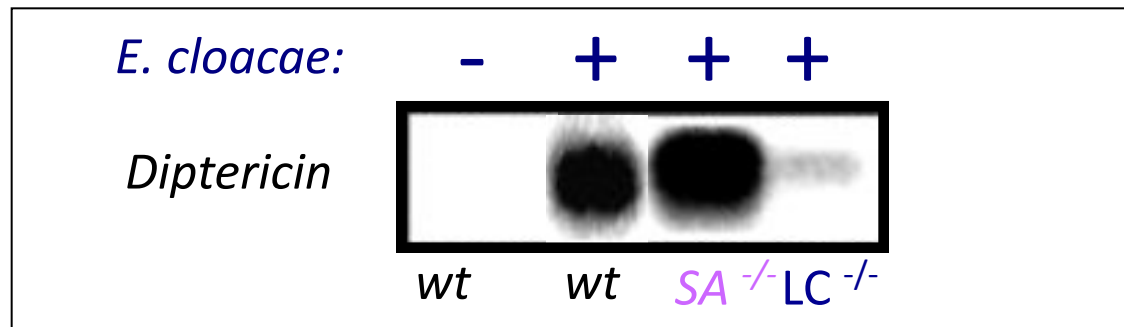
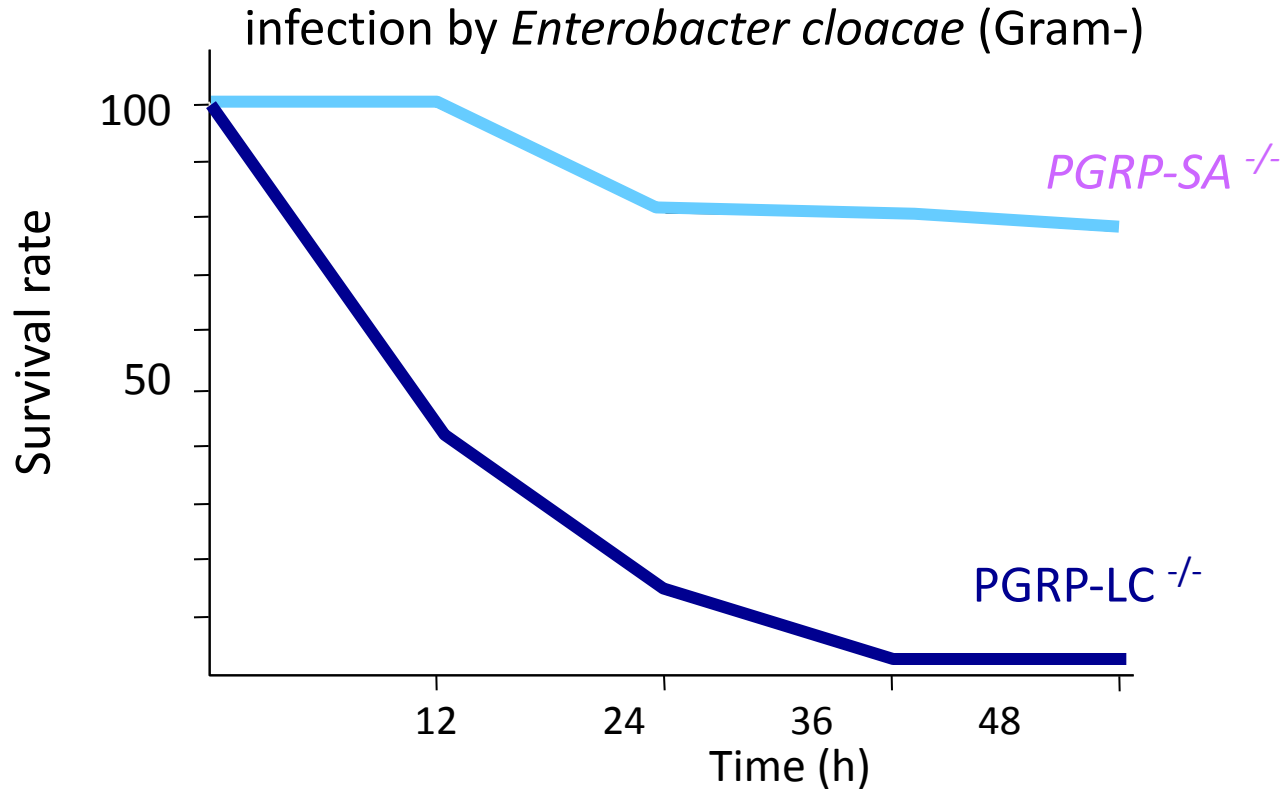


Signal peptide

Transmembrane domain

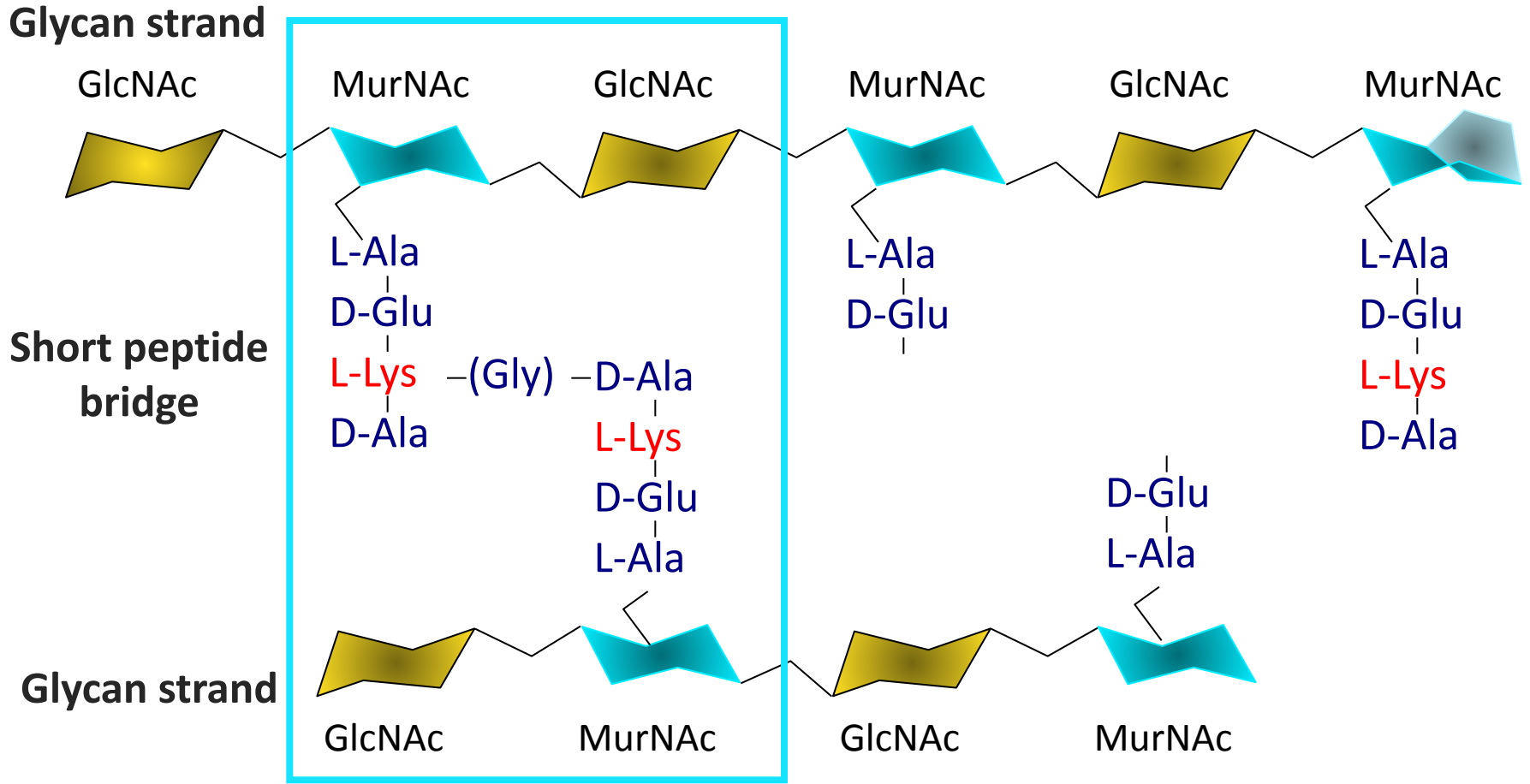
PGRP domain with/without amidase activity

Sensing Gram-negative infections in *Drosophila*



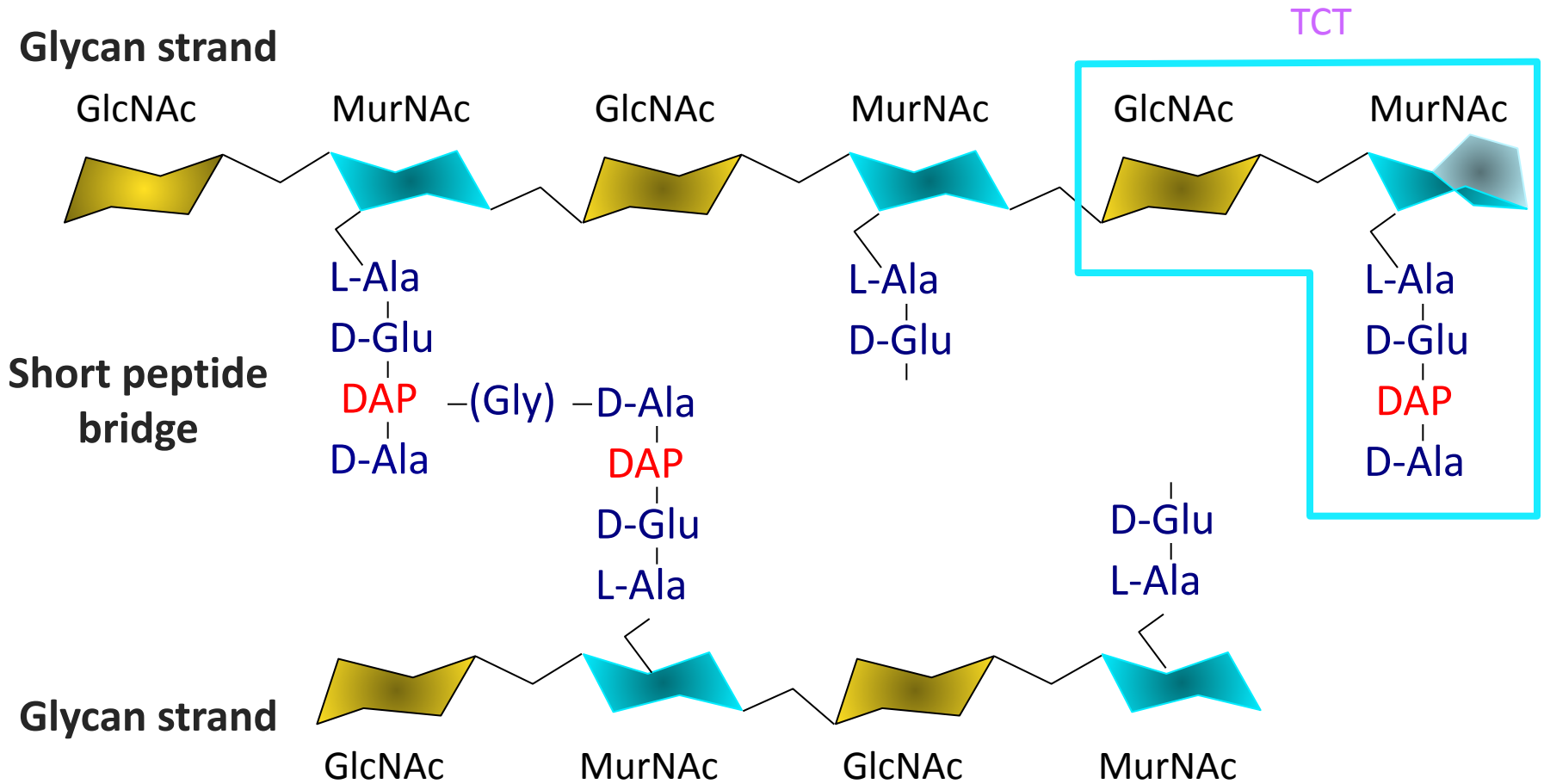
Peptidoglycan structure

Lys-type
(most Gram+)

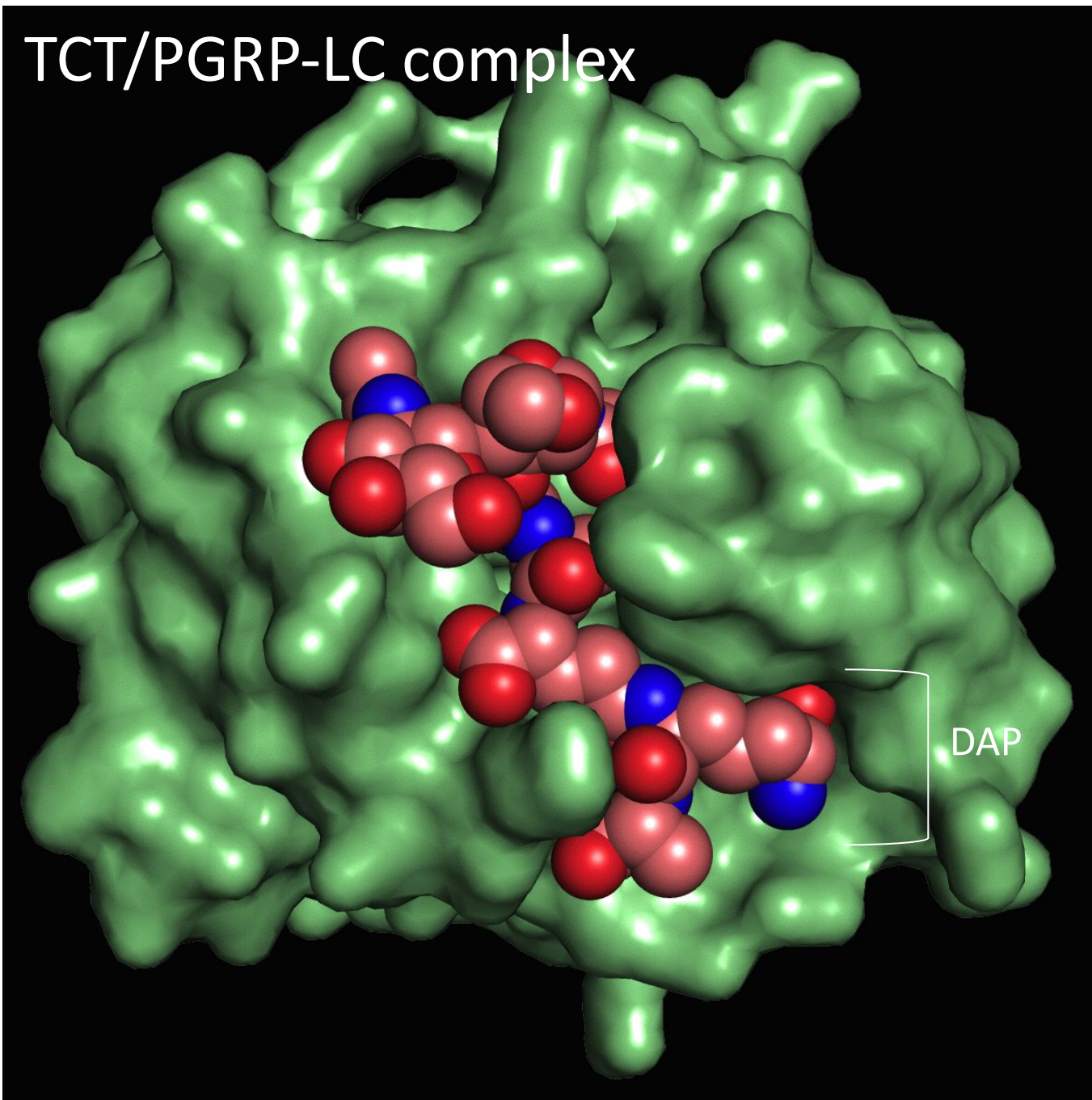


Peptidoglycan structure

DAP-type
(Gram-)

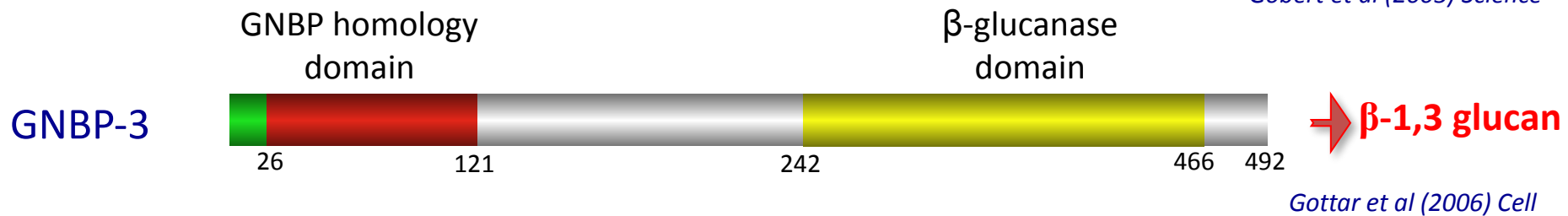
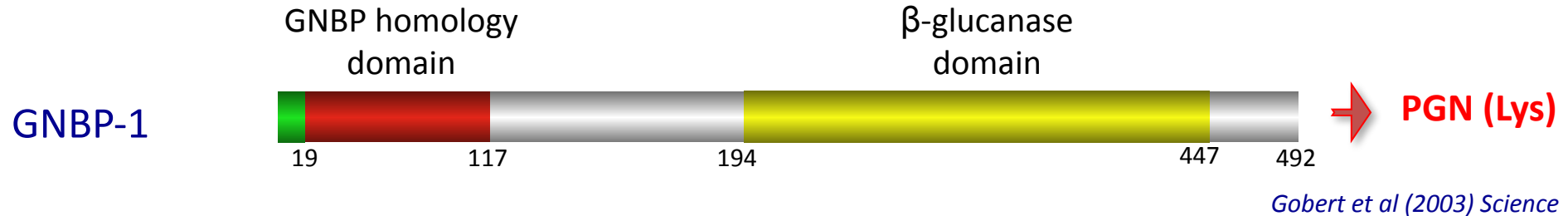
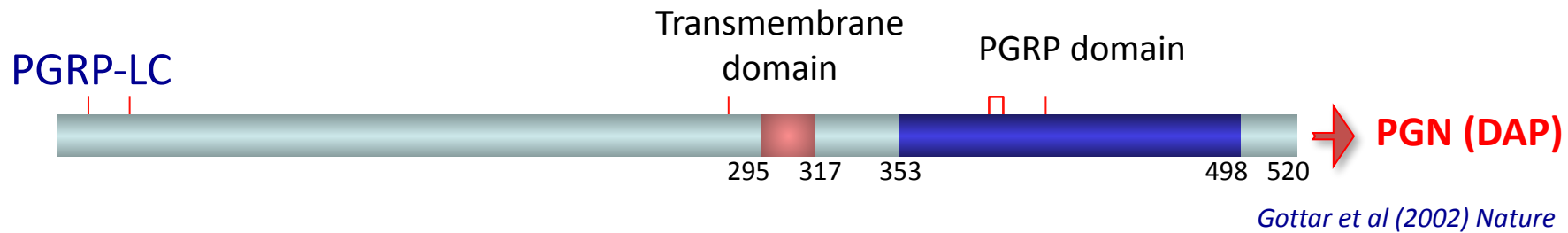
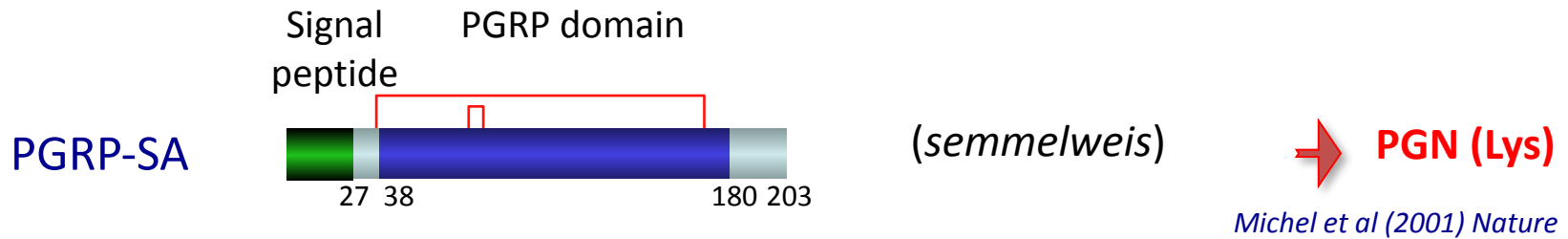


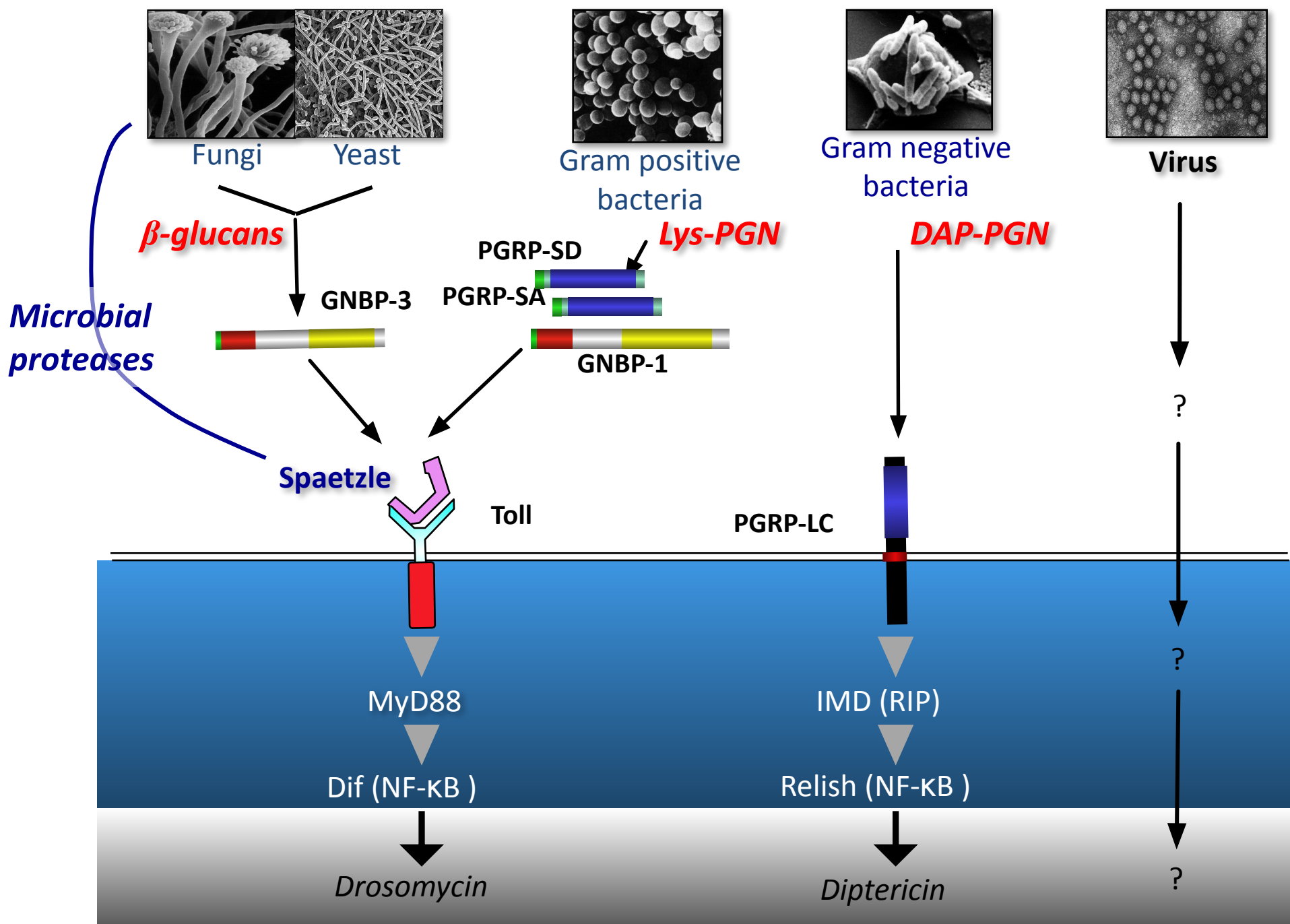
TCT/PGRP-LC complex



From Chang et al (2006), Science 311: 1761-4

Drosophila recognition proteins for microbial structures





| | |
|------------------|--|
| 1988 | IL-1R1 is cloned. |
| 1989 | Charles Janeway proposes the concept of pattern-recognition receptors. |
| 1990 | CD14 and LPS-binding protein are identified as components of the LPS receptor complex. |
| 1991 | Sequence similarity between Toll and IL-1R1 identified |
| 1993–1996 | Pathogen-specific immune signalling found to involve induction of antimicrobial peptides by members of the NF- κ B family in <i>Drosophila melanogaster</i> . |
| 1994 | Plant protein N is shown to be involved in disease resistance and to have a TIR domain that is similar to Toll and IL-1R1. |
| 1996 | The Toll pathway is shown to regulate the antifungal response in <i>D. melanogaster</i> . |
| 1997 | The first human homologue of Toll receptor is cloned (hToll; later renamed TLR4). A role for MYD88 in IL-1 receptor signalling is identified. |
| 1998 | Four further human TLRs are identified. TLR4 is identified as the signalling receptor for LPS. |
| 1999 | LPS signalling is found to require MYD88. The requirement of MD2 for TLR4 responsiveness to LPS is identified. |
| 2000-2002 | Ligands for TLR2- heterodimeric complexes are identified Viral antagonists of TLRs are identified. TLR9 is characterized as the receptor for CpG-DNA. |
| 2001 | The first TLR that recognizes viral components is identified (TLR3). Flagellin is identified as a ligand for TLR5. MAL (also known as TIRAP) is discovered. |
| 2002 | TRIF is discovered. |
| 2002-2009 | Endogenous ligands for TLRs are identified. |
| 2003 | TRAM is discovered. |
| 2004 | TLR7 and TLR8 are reported to recognize viral ssRNA. |
| 2006 | The first function for mammalian SARM1 (a regulator of TRIF) is reported. |
| 2007-2009 | Structures of several TLR–ligand complexes (including TLR4, TLR2–TLR1, TLR2–TLR6 and TLR3) are solved. |

Prizes won for discoveries in the field of TLRs

- In 2009, Hofmann and Medzhitov shared the Rosenstiel award for distinguished work in basic medical science.
- In 2010, Hoffmann and Akira shared the Keio medical science prize for the discovery of the insect innate immune system and the Toll receptor, and for the elucidation of the molecular mechanisms of innate immune response to microorganisms, respectively.
- In 2011, Medzhitov, Hoffmann and Beutler were awarded the Shaw Prize in life science and medicine for their discovery of the molecular mechanism of the initiation of innate immunity, which is the first line of defence against pathogens.
- In 2011, Hoffmann and Akira shared the Canada Gairdner international award, and
- In 2011, Hoffmann, Beutler and Steinman were awarded the Nobel Prize for Medicine or Physiology.

| Innate immune recognition by Toll-like receptors | |
|--|---|
| Toll-like receptor | Ligand |
| TLR-1 dimer | Peptidoglycan Lipoproteins Lipoarabinomannan (mycobacteria) GPI (<i>T. cruzi</i>) Zymosan (yeast) |
| TLR-2/TLR-6 dimer | |
| TLR-3 | dsRNA |
| TLR-4 dimer (plus CD14) | LPS (Gram-negative bacteria) |
| TLR-5 | Flagellin |
| TLR-9 | Unmethylated CpG DNA |

Figure 2-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

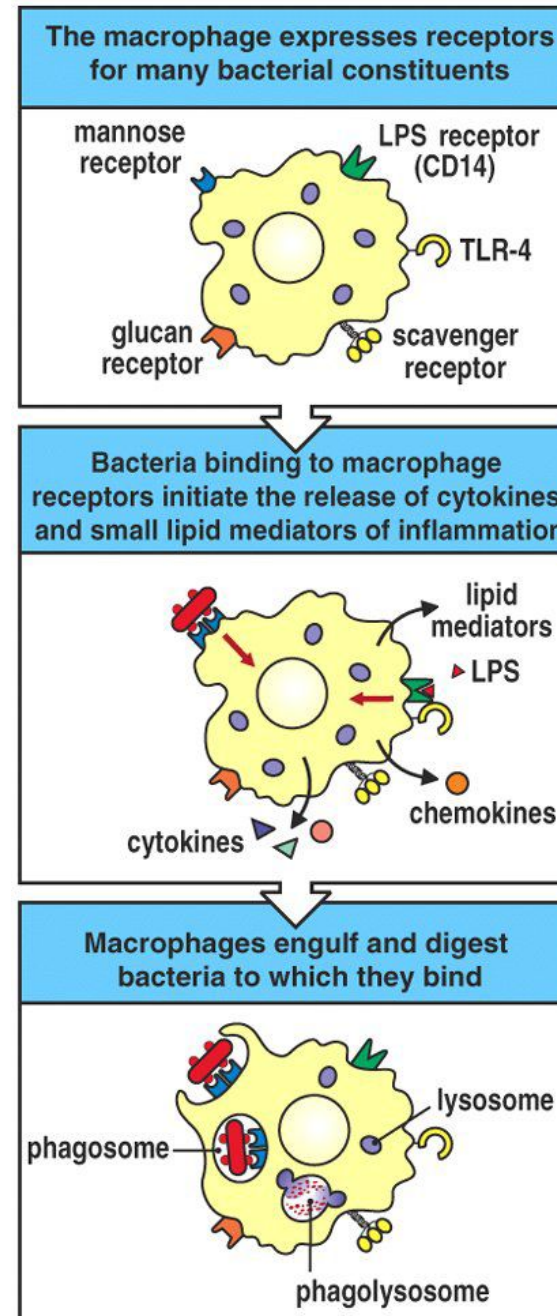
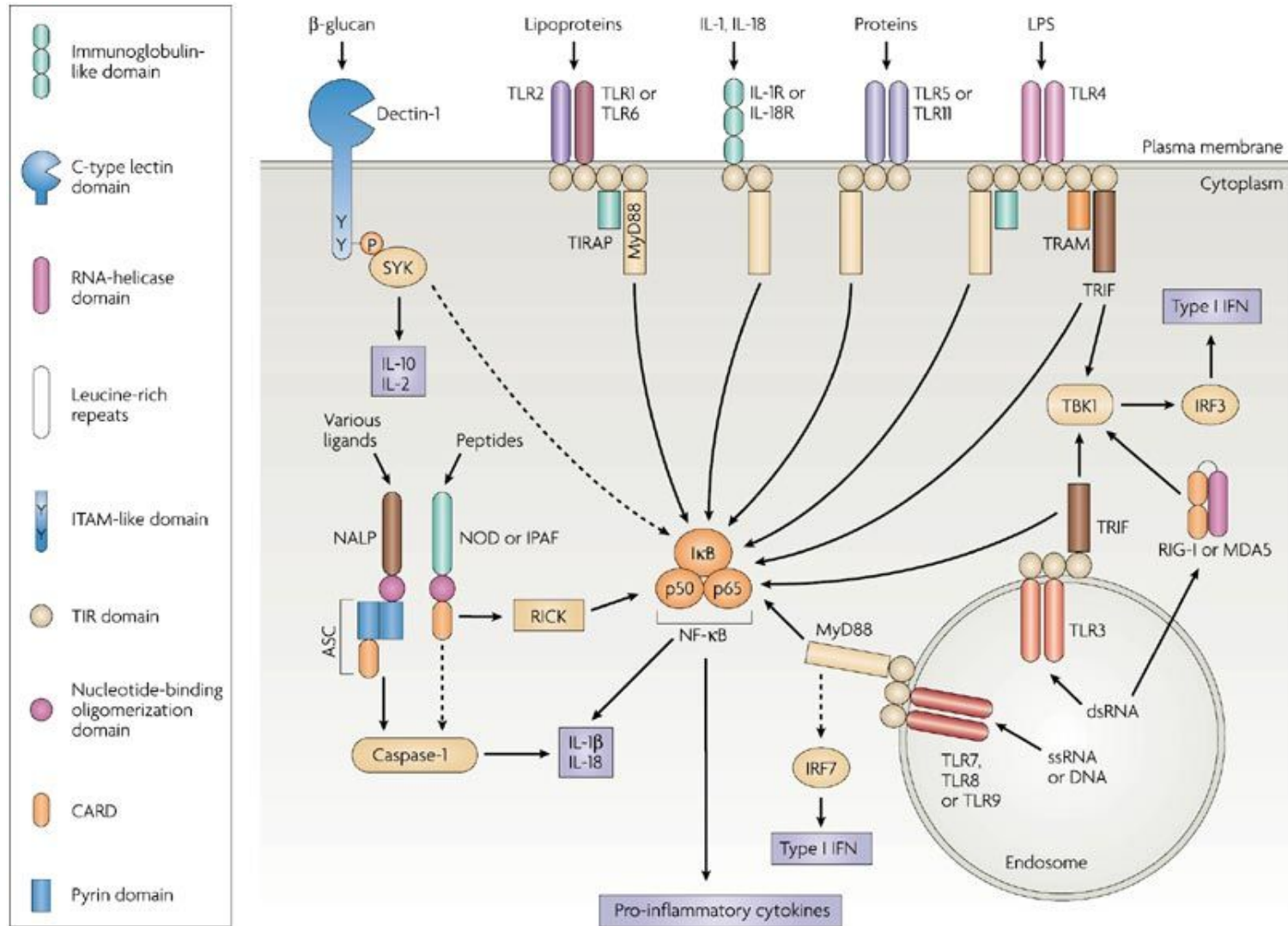
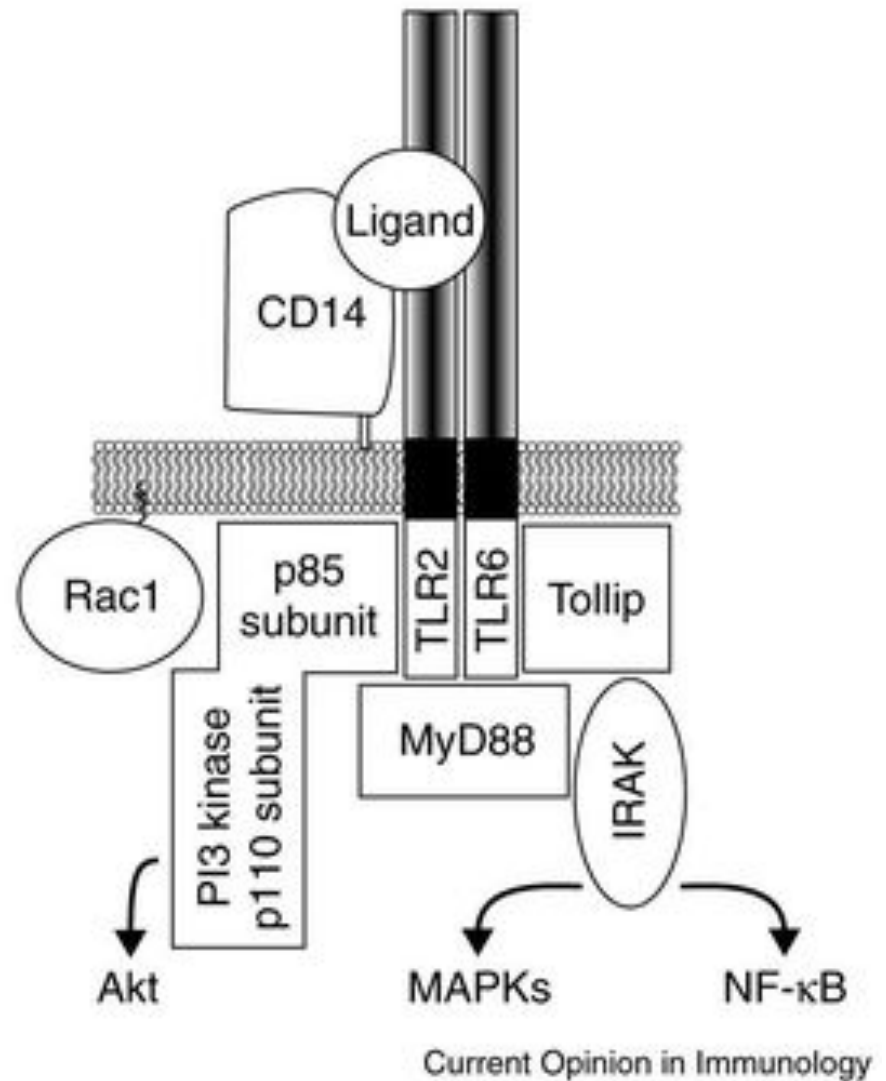
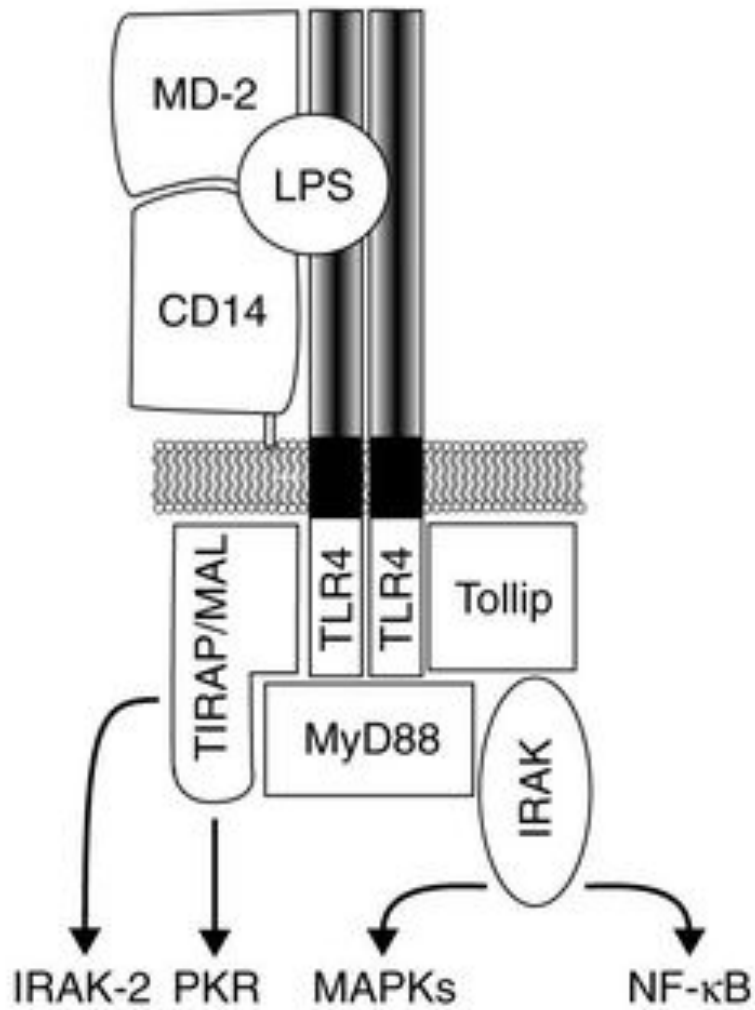


Figure 2-5 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Mammalian TLR signalling pathways.



TLR4 TLR6



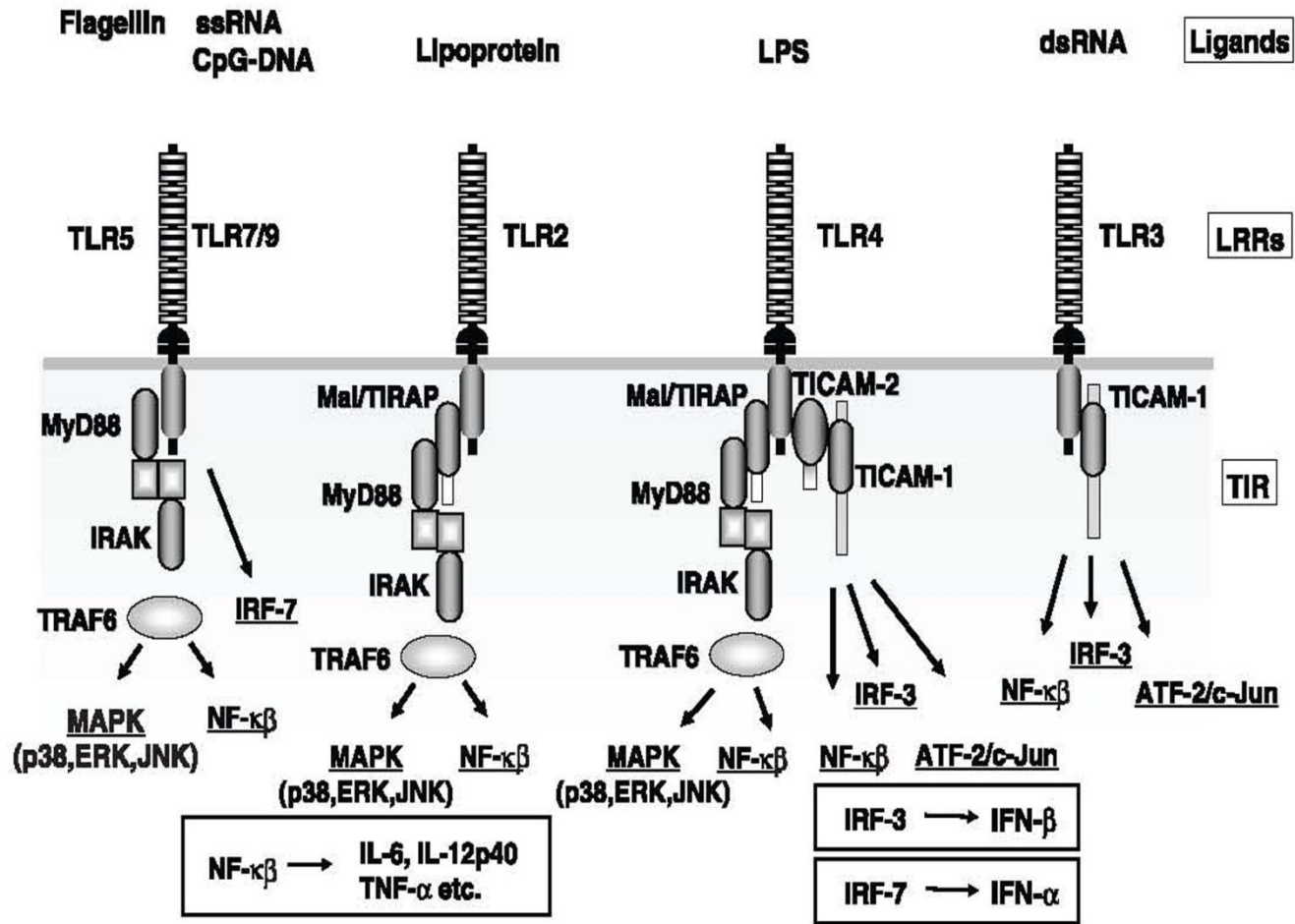


Figure 2. Association between human TLRs and adaptors determine each TLR-specific signaling pathway. Topology of the adaptor proteins in the TIR domains of TLR2, TLR3 and TLR4 is shown in the schema. The complex consisting of each TIR and adaptors delivers TLR signaling to activate NF-κB and the IFN-β promoter (IRF-3). In pDC, activation of TLR7 or 9 happens to activate IRF-7 in a MyD88-dependent way followed by induction of IFN-α. Representative ligands of TLRs are shown on the top.

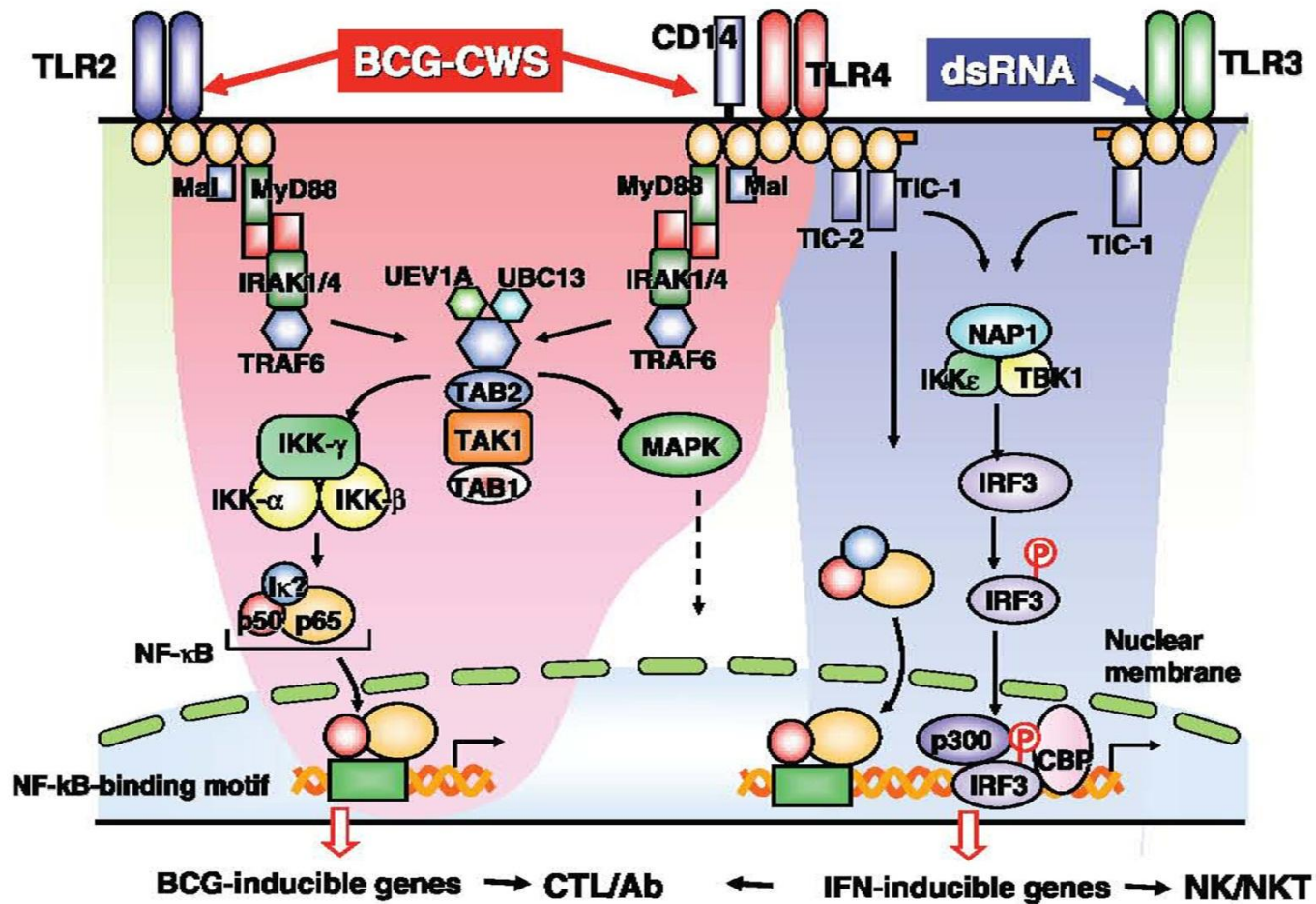
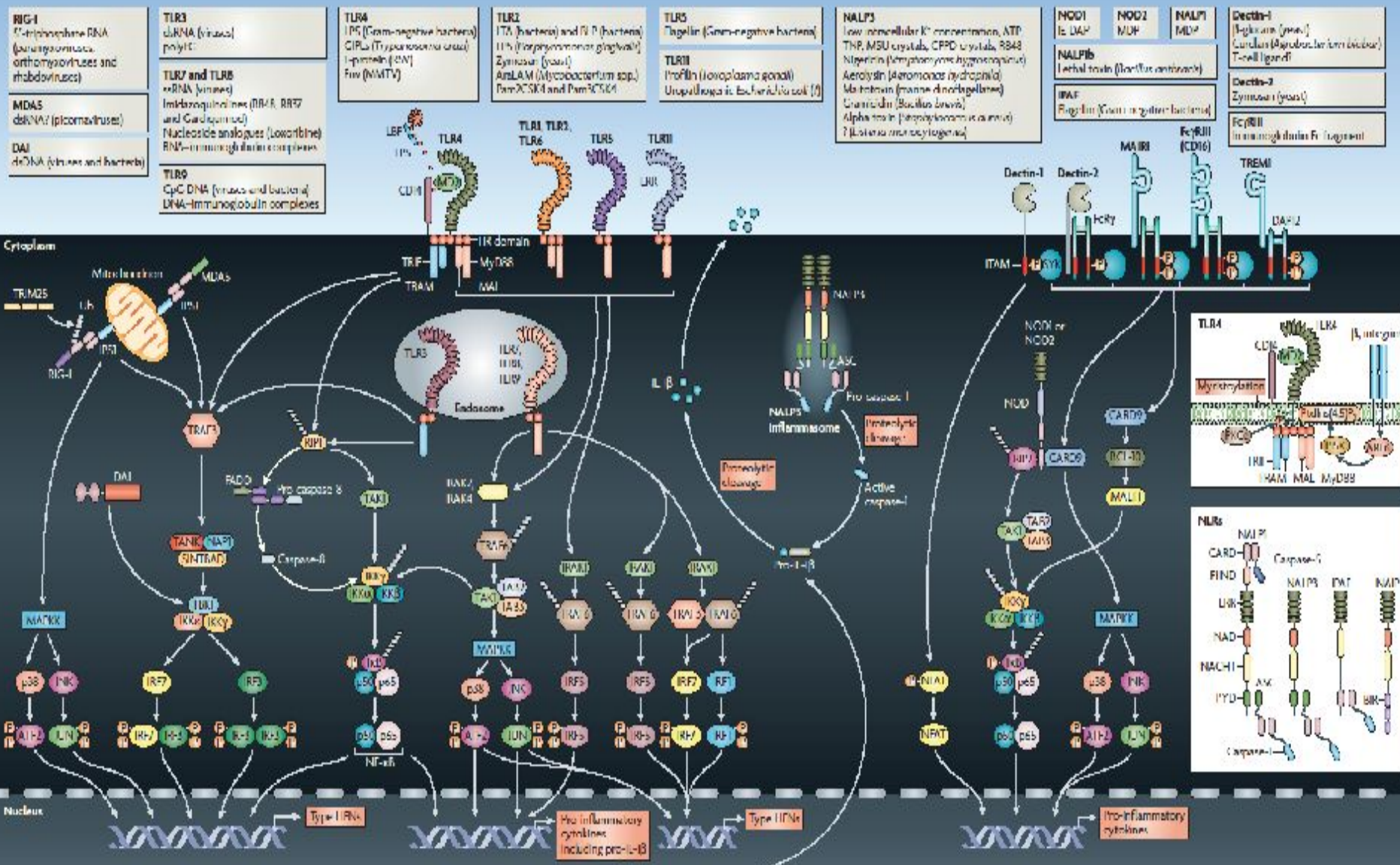


Figure 5. The two signaling pathways of TLR in myeloid DCs. MyD88-dependent pathway are indicated to the left and TICAM-1 pathway are shown to the right in blue. Many signaling molecules are involved in the two pathways leading to different outputs. NK and CTL are generated by the resultant mDC activation. In particular, cross-priming must occur in mDC to induce CTL, the molecular mechanism of which are largely unknown.

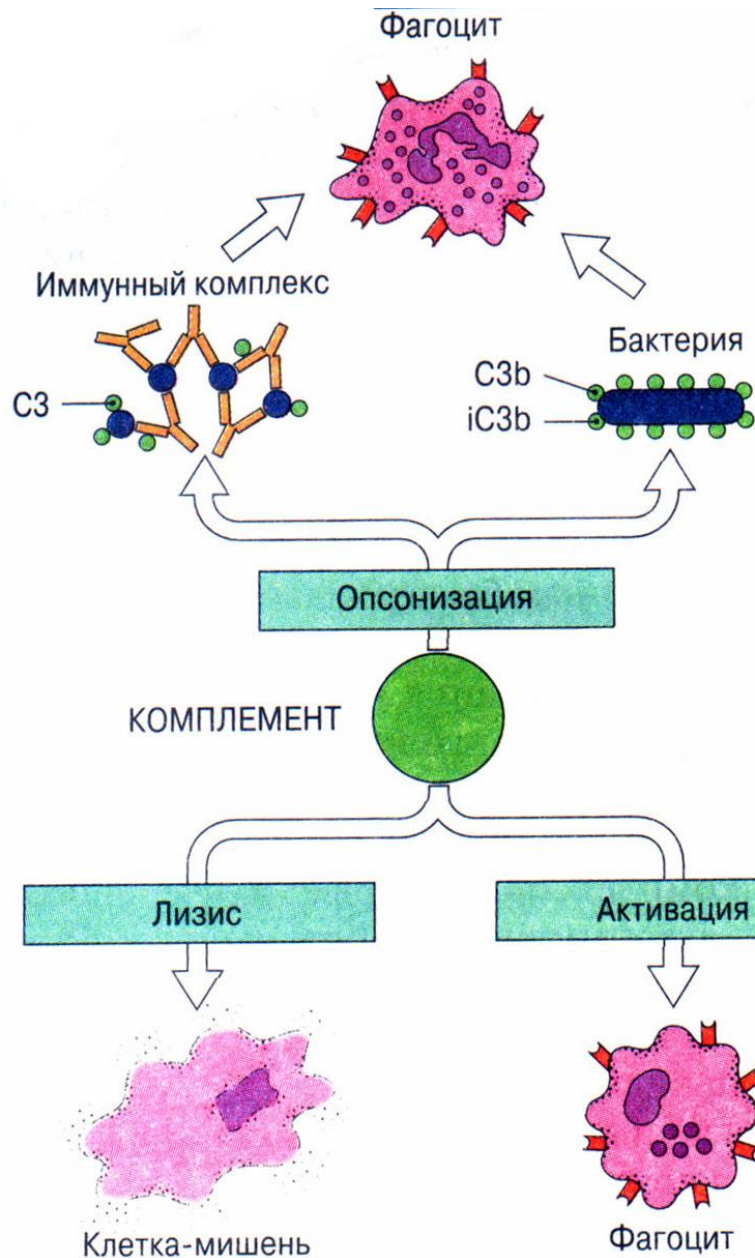
Innate immunity: sensing and signalling



Innate immunity and virus infection

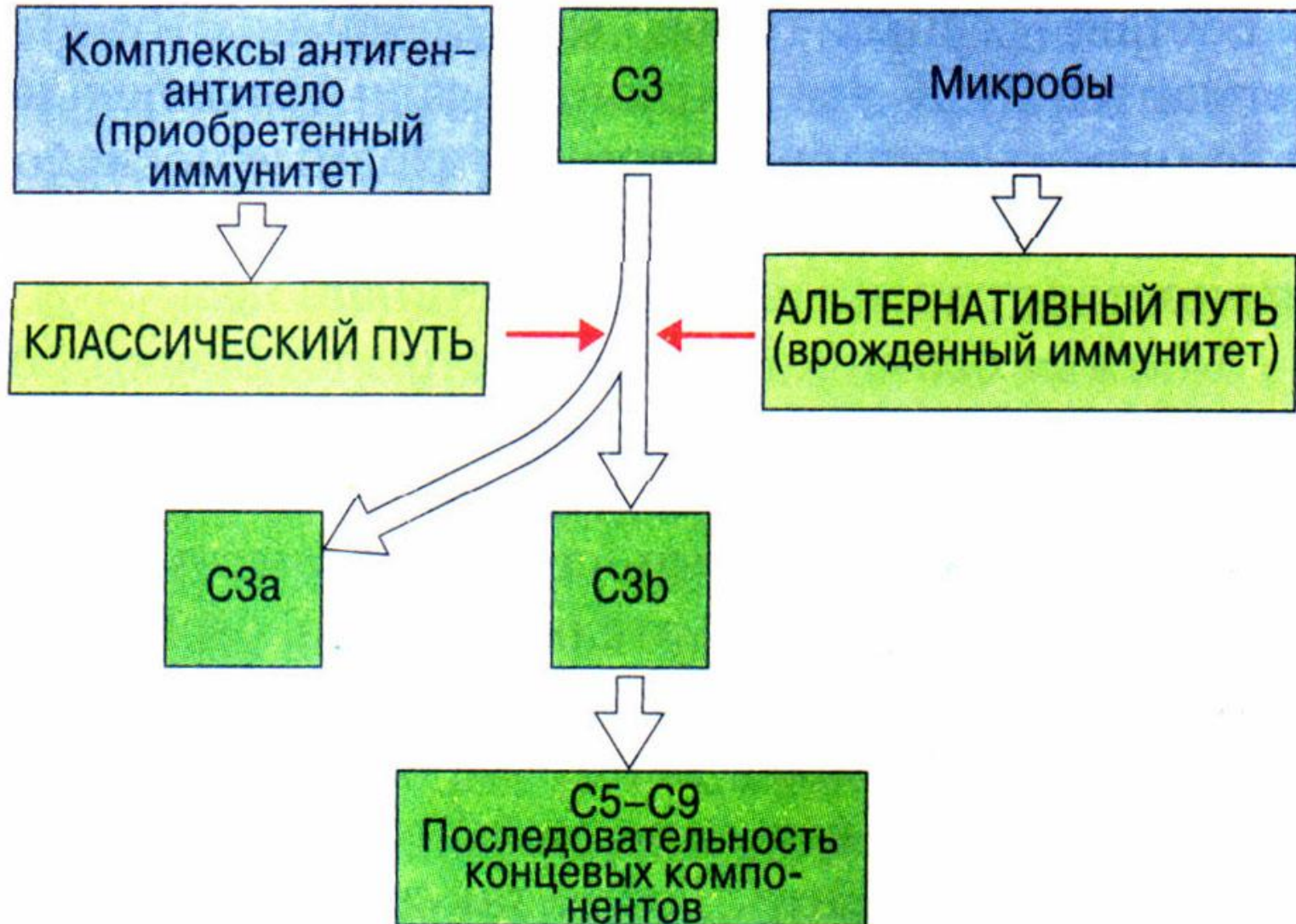
- Viruses are unable to reproduce in the absence of a host cell, so their evolution is inexorably linked to the fate of their host.
- Influenza viruses have been among the most common causes of mortality throughout history, which highlights their successful evolution. Intriguingly, studies of the pattern of CpG dinucleotides in the genomes of influenza A viruses since the flu pandemic in 1918 indicate that when an influenza virus crosses from birds to humans, the virus evolves to reduce its CpG content, thus mimicking the lower CpG content of human genes compared with avian genes^{141,142}. Consistently, influenza B virus, which has been infecting humans for longer than influenza A virus, has evolved to contain extremely low levels of CpG¹⁴¹.
- Greenbaum and colleagues¹⁴¹ favoured the interesting hypothesis that host gene mimicry may reflect a mechanism through which viruses avoid detection by innate immune receptors. It has been speculated that still-unidentified intracellular receptors may be able to sense unmethylated CpGs of RNA viruses. This has proven to be the case for DNA viruses, wherein unmethylated CpG DNA of the virus can be detected by Toll-like receptor 9 (TLR9)¹⁴³. Interestingly, the 1918 H1N1 influenza strain had a much higher CpG content than other human-adapted influenza strains, and this might have triggered an exceptionally strong, aberrant immune response, known as a cytokine storm, in H1N1-infected patients¹⁴⁴, killing up to 50 million people worldwide. Deaths from the SARS epidemic in 2003

Главные функции комплемента в воспалительном процессе

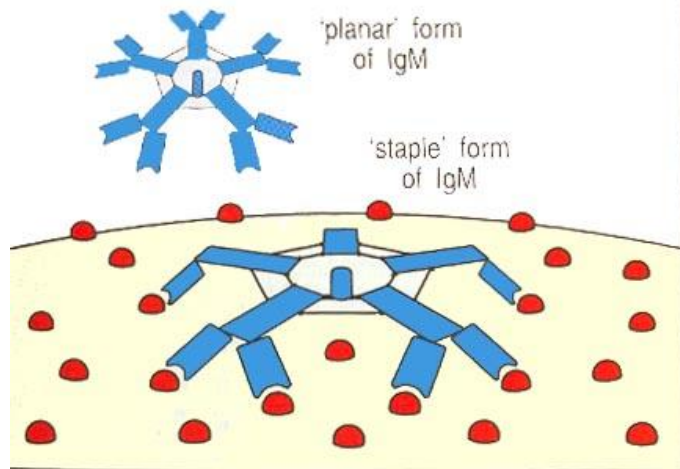


1. Опсонизация («одевание») комплементом микроорганизмов и иммунных комплексов для их распознавания клетками, экспрессирующими рецепторы комплемента.
2. Лизис клеток-мишеней.
3. Активация фагоцитов, включая макрофаги и нейтрофилы.

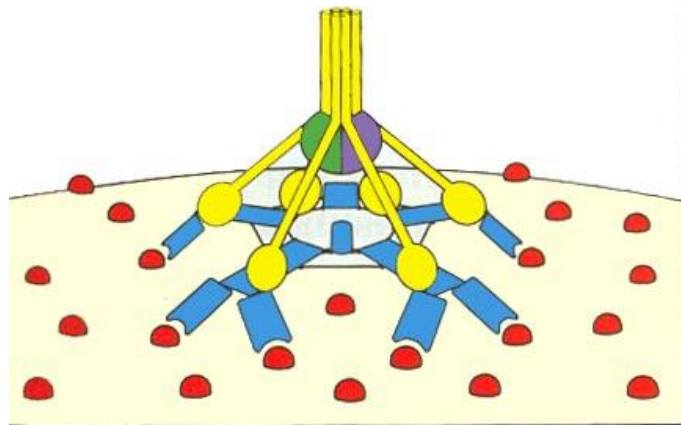
Классический и альтернативный пути активации системы комплемента



Pentameric IgM molecules bind to antigens on bacterial surface and adopt 'staple' form

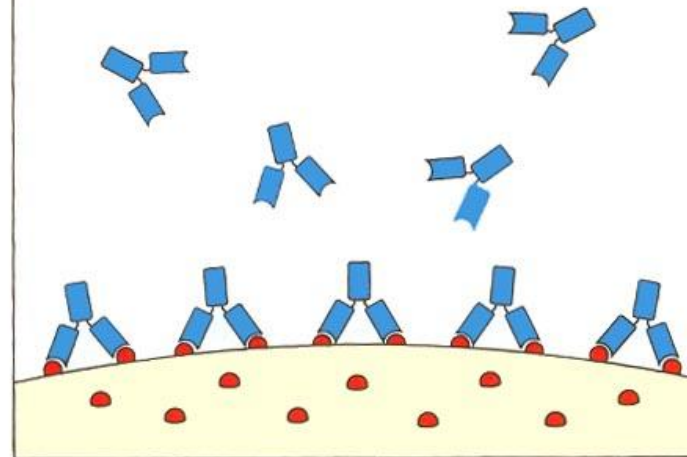


C1q binds to IgM

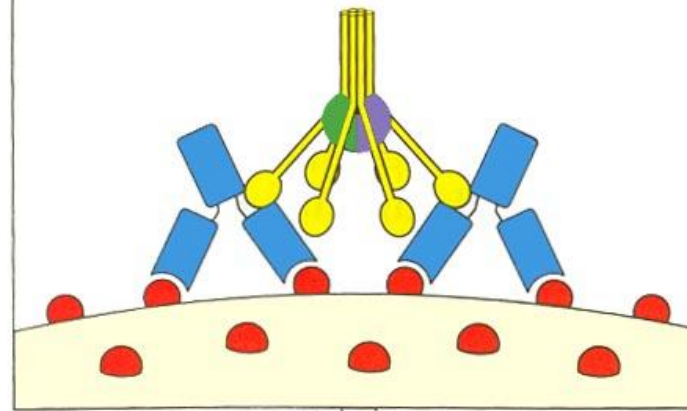


Binding of C1q to Ig activates C1r, which cleaves and activates the serine protease C1s

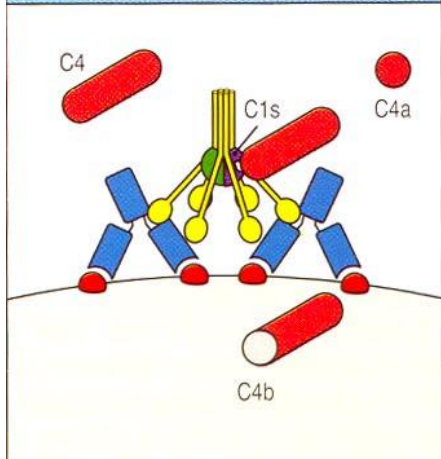
IgG molecules bind to antigens on bacterial surface



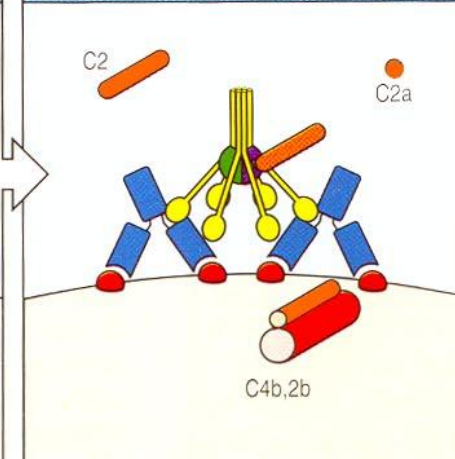
C1q binds to at least two IgG molecules



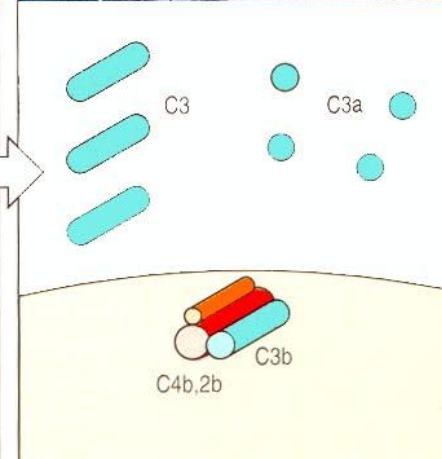
Activated C1s cleaves C4 to C4a and C4b, which binds to the microbial surface



C4b then binds C2, which is cleaved by C1s, to C2a and C2b, forming the C4b,2b complex



C4b,2b is an active C3 convertase cleaving C3 to C3a and C3b, which binds to the microbial surface



One molecule of C4b,2b can cleave up to 1000 molecules of C3 to C3b. Many C3b bind to the microbial surface

