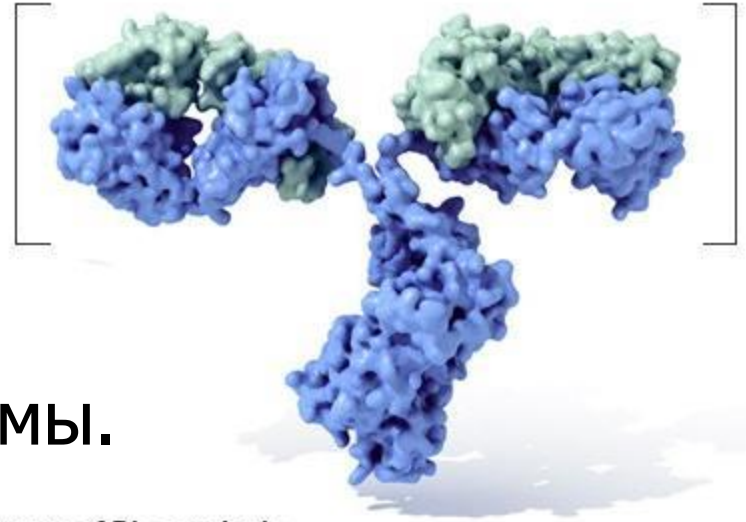


# Лекция 1



## Введение в иммунологию Эволюция иммунной системы.

Laboratory of Biocatalysis

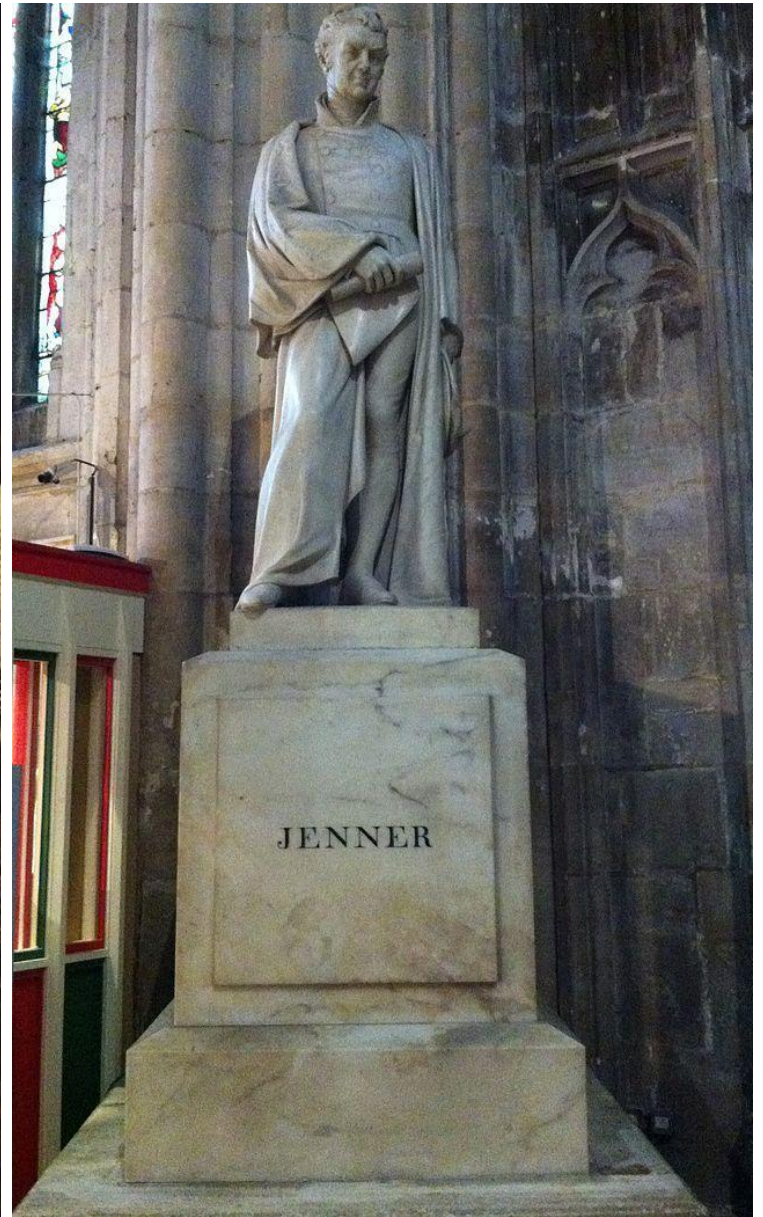
Лаборатория Биокатализа

Institute of Bioorganic Chemistry RAS

Институт Биоорганической химии РАН

Габибов А.Г.

# Edward Jenner "the father of immunology"









*Louis Pasteur*

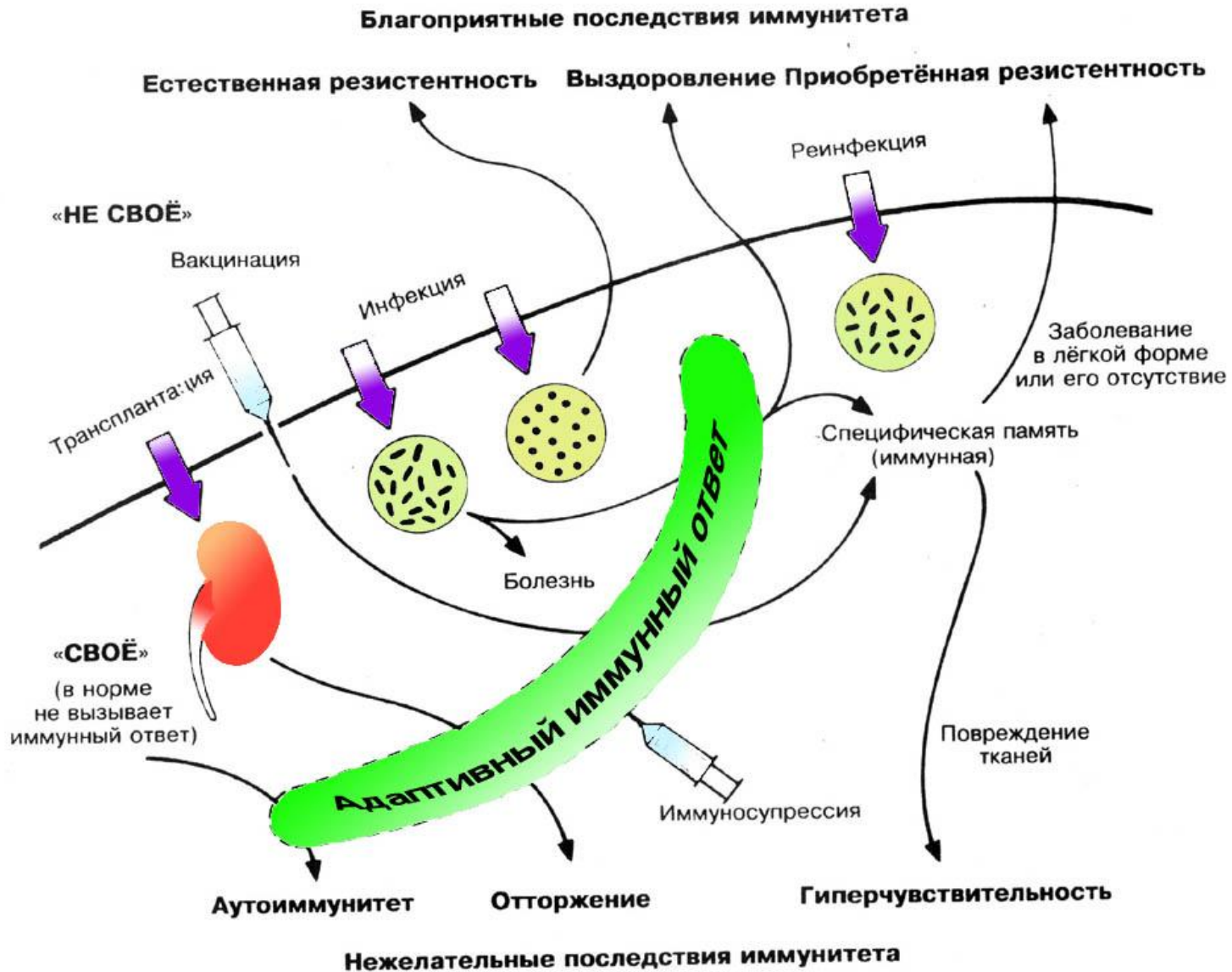


*Emil Adolf von Behring*



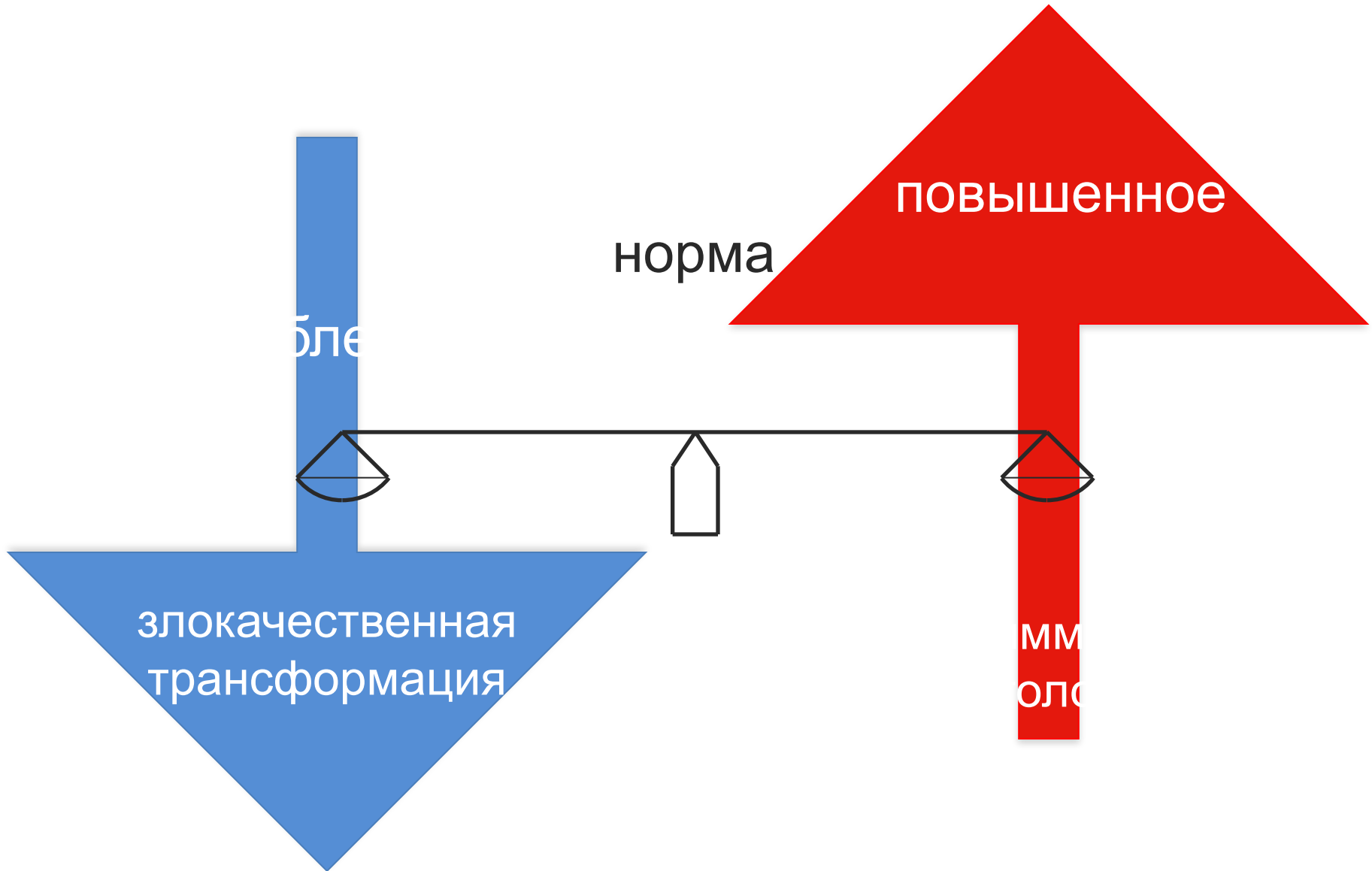


# Определение иммунологии





# Главная функция иммунной системы – распознавание «свой-чужой»





# Эволюция иммунных механизмов

## Одноклеточные

Простейшие  
лимфоциты,



Фагоцитоз

Бактерии

Ферменты

## Многоклеточные

Отторжение транс-  
антительный ответ

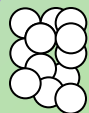


Кораллы

Губки



Специфическая  
агрегация,  
распознавание  
«своего»



Черви

Специализированные  
клетки, опсоины,  
лизины,  
агглютинины

## 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



Скопление лимфоцитов  
антительный ответ



Хрящевые рыбы

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



Костные рыбы

Т-В-кооперация,  
NK, цитокины



Амфибии

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



Т-клетки,  
IgM, IgG

Рептилии



Птицы

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



Млекопитающие

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

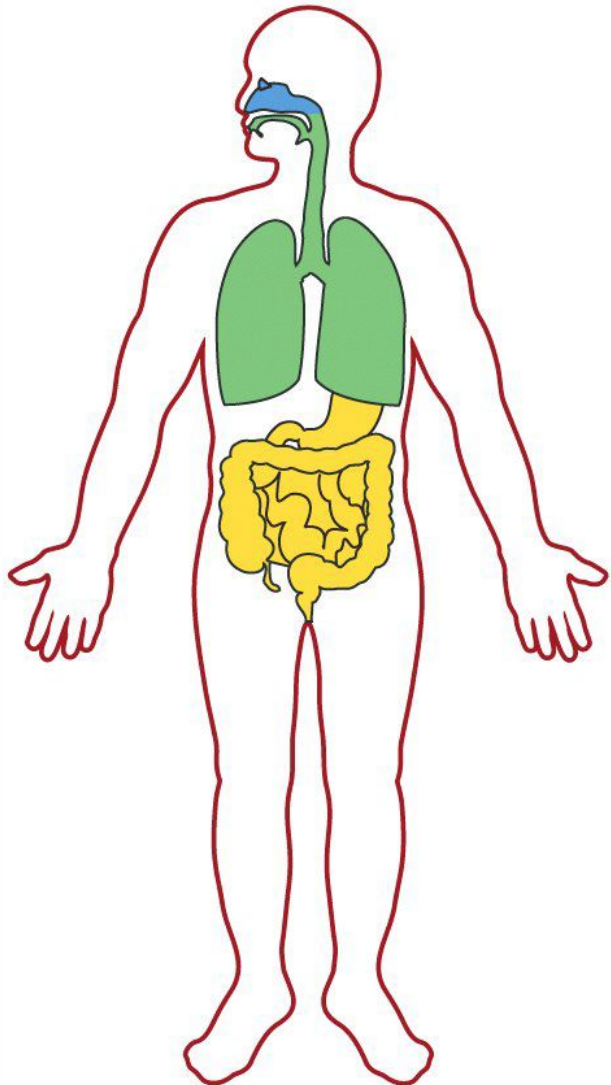




Routes of infection for pathogens			
Route of entry	Mode of transmission	Pathogen	Disease
<b>Mucosal surfaces</b>			
Airway	Inhaled droplet	Influenza virus	Influenza
	Spores	<i>Neisseria meningitidis</i>	Meningococcal meningitis
		<i>Bacillus anthracis</i>	Inhalation anthrax
Gastrointestinal tract	Contaminated water or food	<i>Salmonella typhi</i>	Typhoid fever
		Rotavirus	Diarrhea
Reproductive tract	Physical contact	<i>Treponema pallidum</i>	Syphilis
		HIV	AIDS
<b>External epithelia</b>			
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

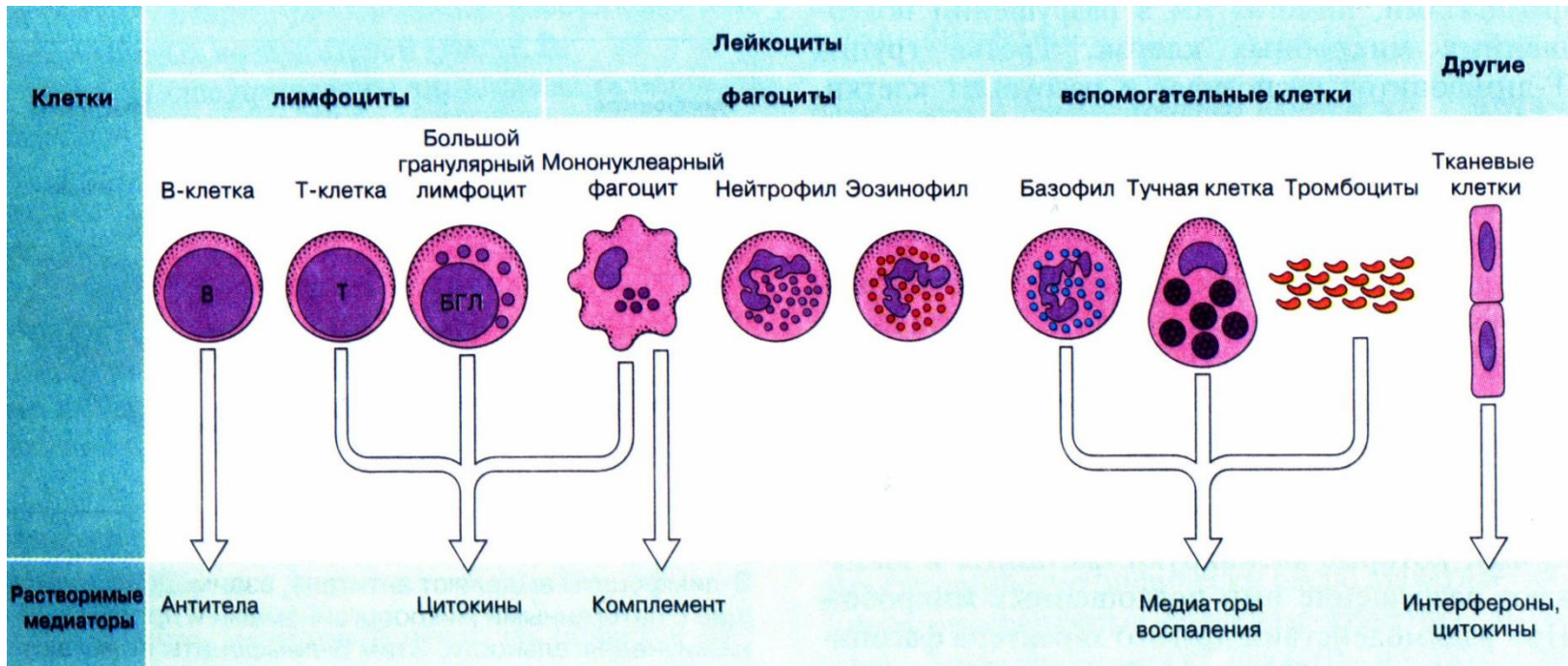


	Skin	Gut	Lungs	Eyes/nose
Mechanical	Epithelial cells joined by tight junctions			
	Longitudinal flow of air or fluid		Movement of mucus by cilia	
Chemical	Fatty acids	Low pH		Salivary enzymes (lysozyme)
		Enzymes (pepsin)		
	Antibacterial peptides			
Microbiological	Normal flora			

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

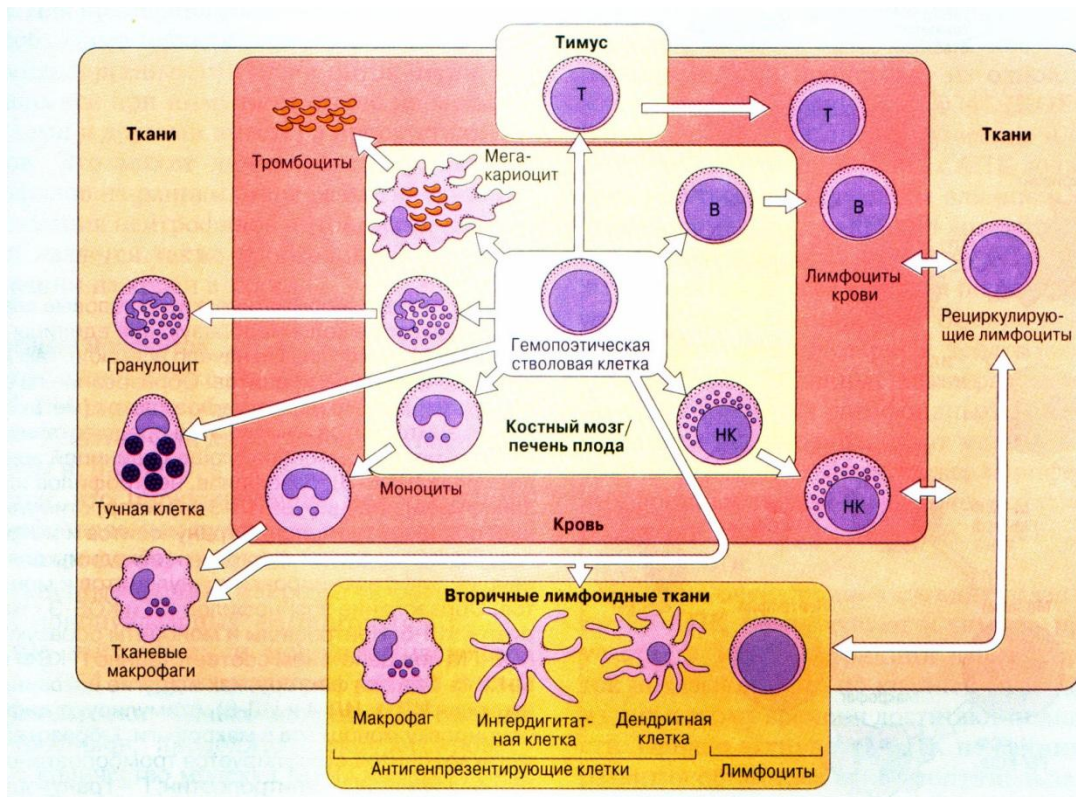


# Основные элементы иммунной системы



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



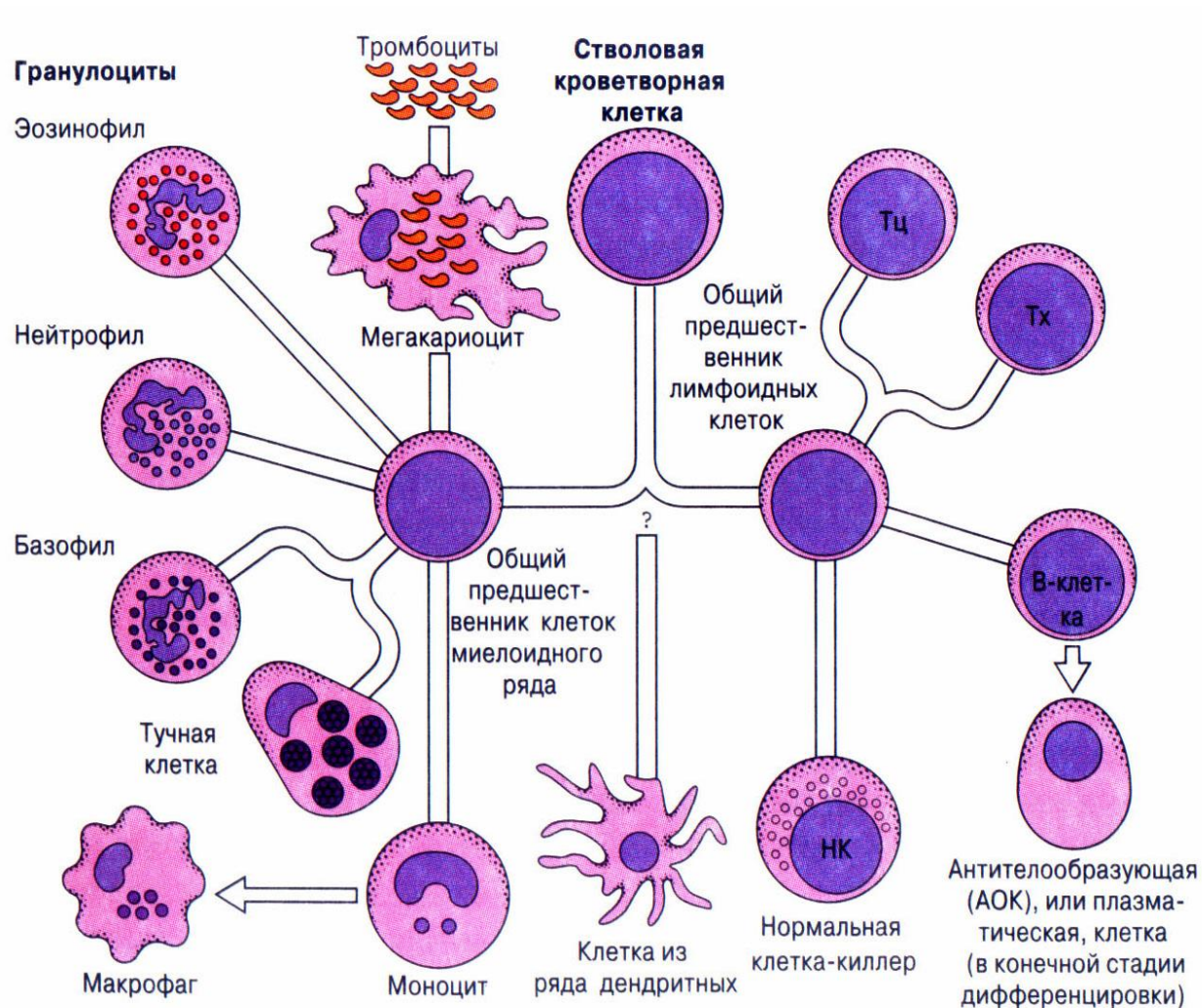
Все изображенные на рисунке клетки происходят от гемопоэтической стволовой клетки. Тромбоциты, продуцируемые мегакариоцитами, поступают в кровотоки.

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

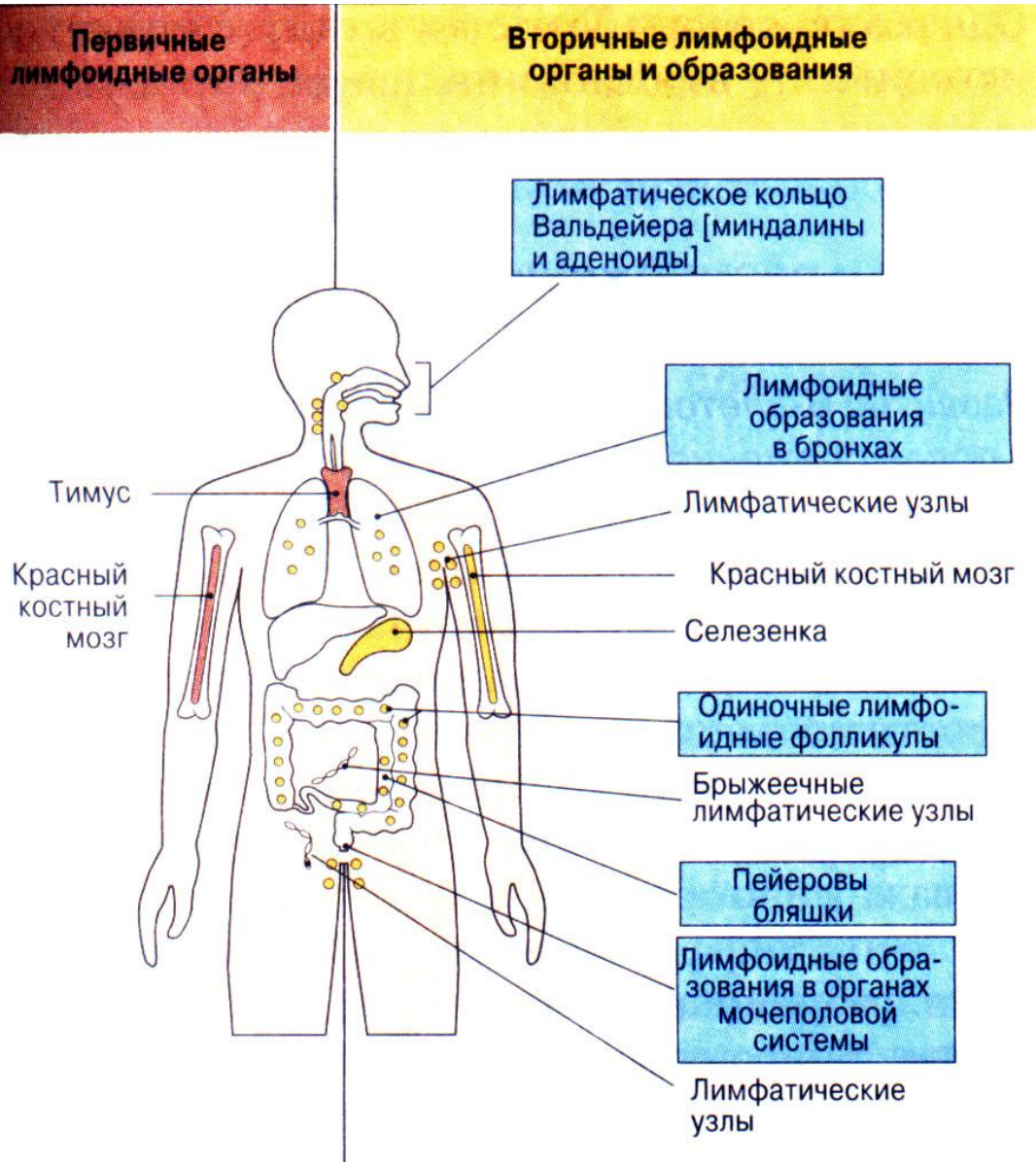
В-клетки у млекопитающих созревают в печени плода и костном мозге, а Т-клетки - в тимусе. Местом образования больших гранулярных лимфоцитов, обладающих активностью естественных клеток-киллеров (НК-клеток), служит, вероятно, костный мозг. Лимфоциты мигрируют из кровотока, проходят через вторичные лимфоидные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



# Происхождение клеток иммунной системы

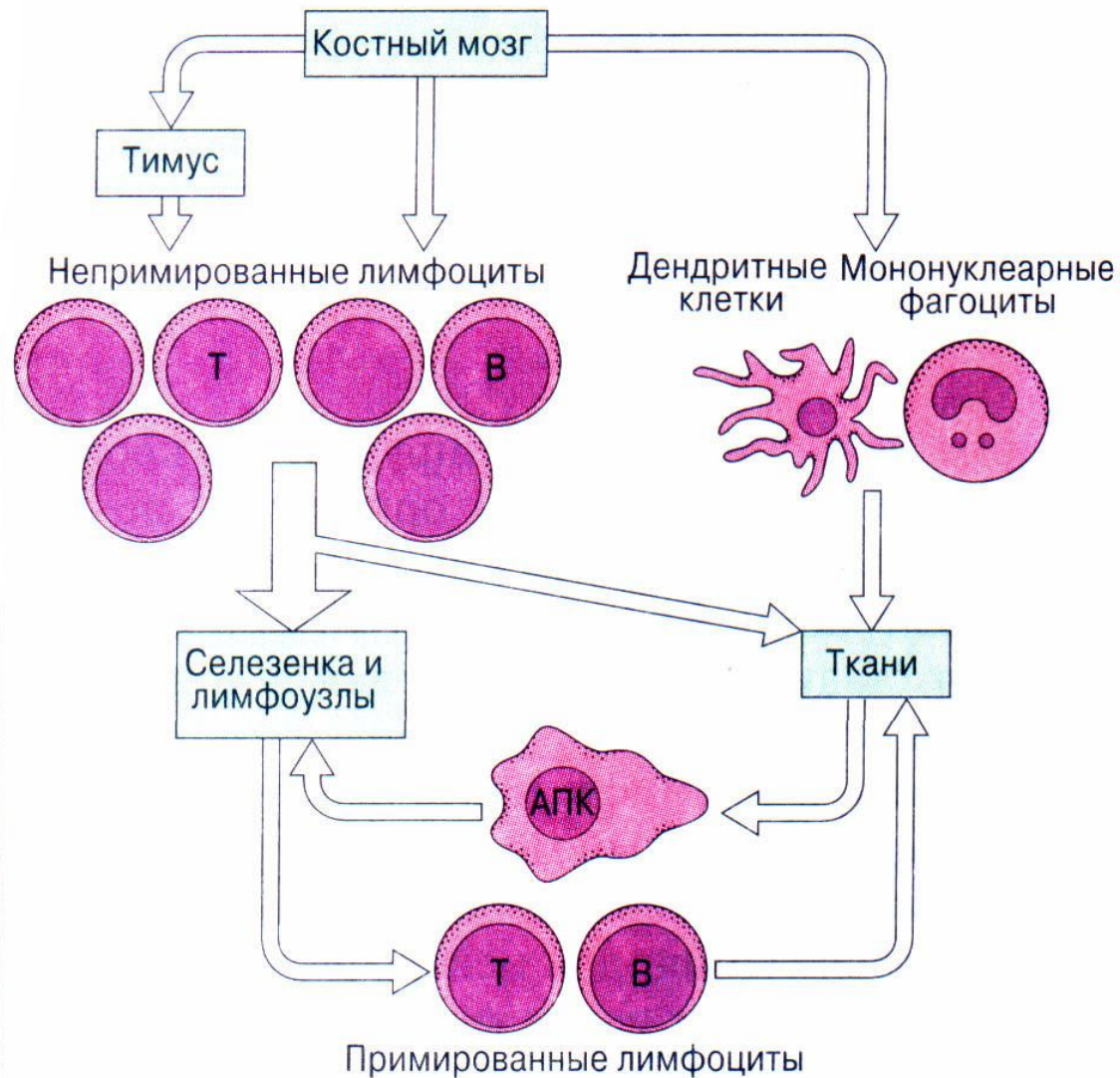


# Основные лимфоидные органы и образования

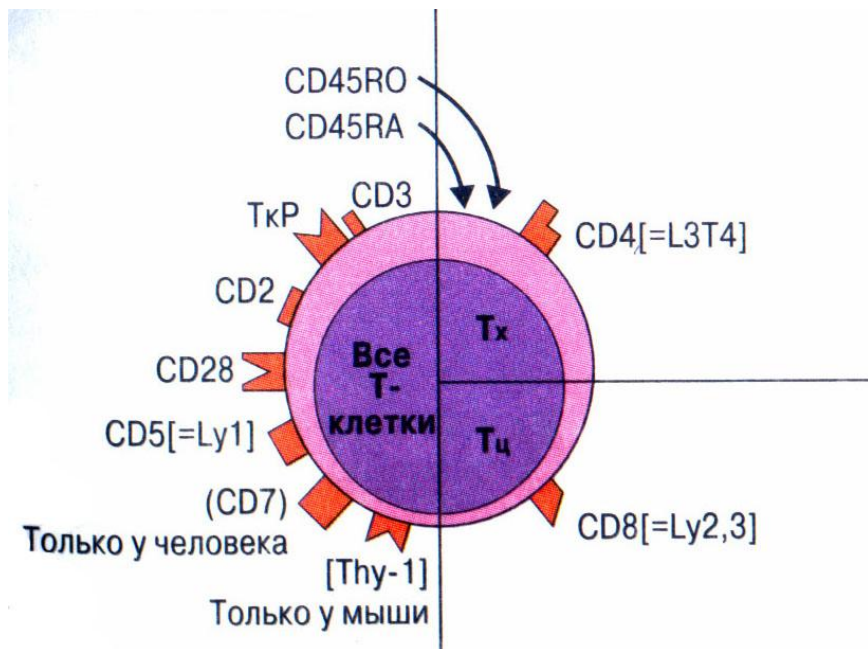




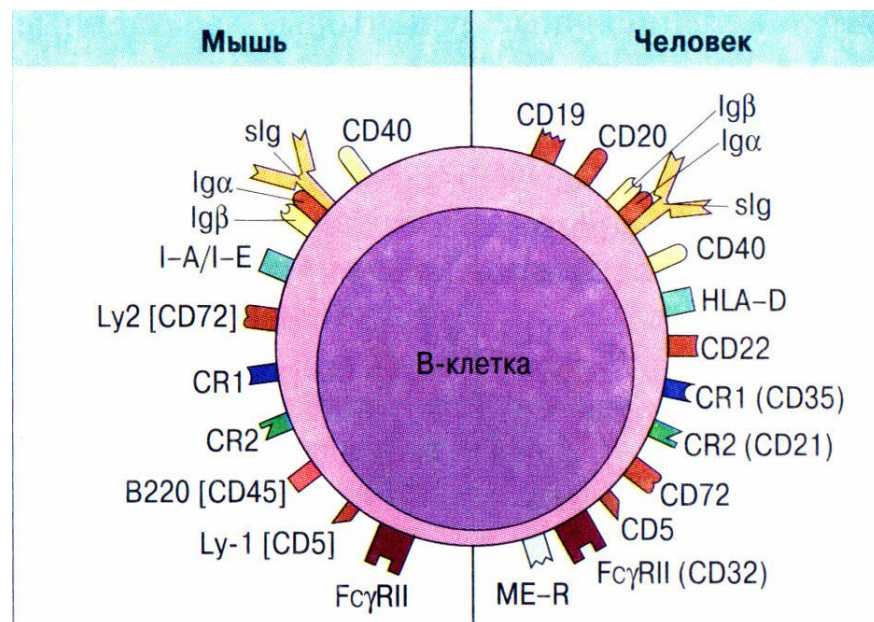
# Рециркуляция лимфоцитов и антиген-презентирующих клеток



# Поверхностные маркеры Т-клеток человека и мыши



# Поверхностные маркеры В-клеток человека и мыши



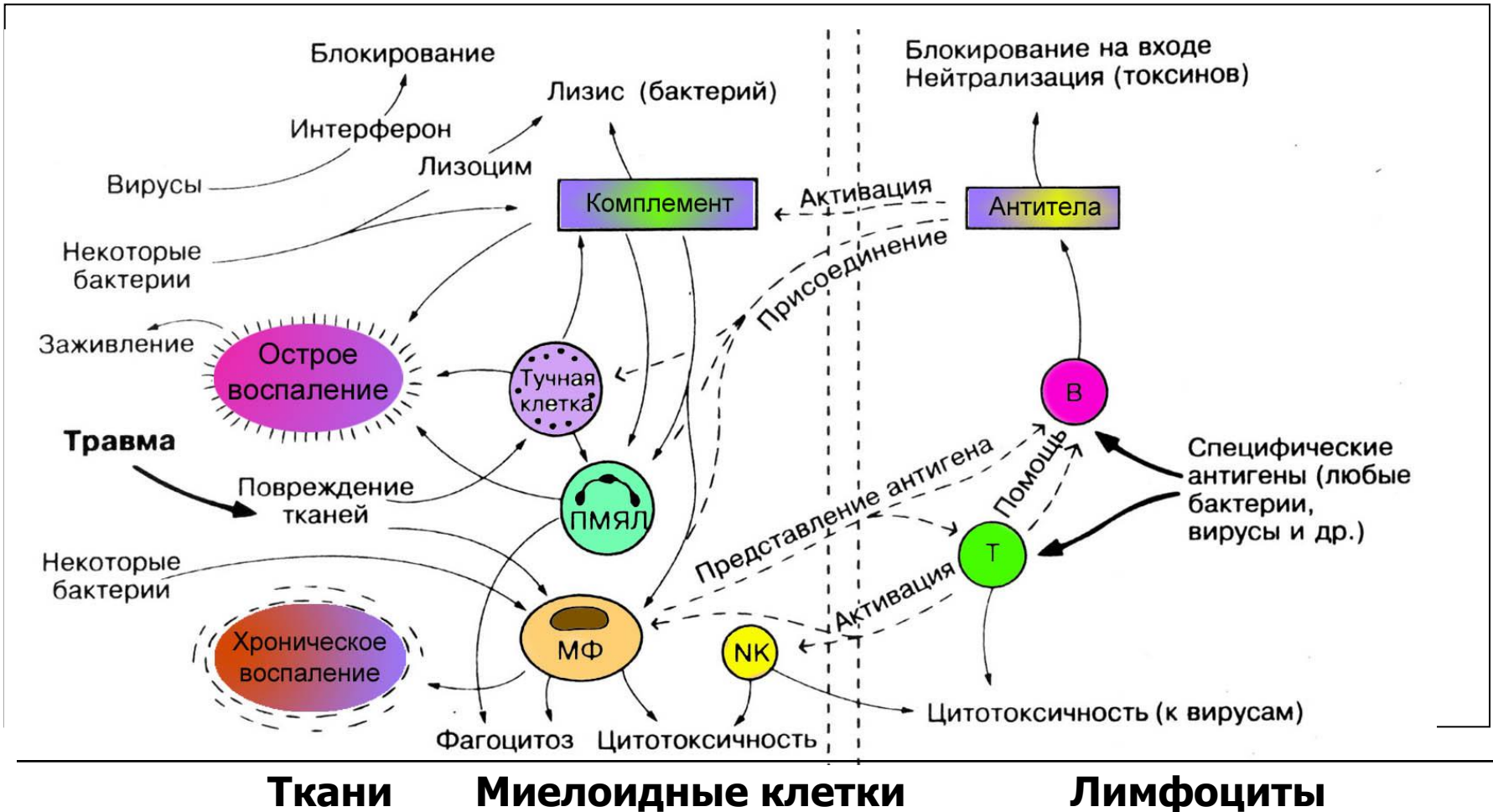
Маркеры, указанные в квадратных скобках, - это мышинные эквиваленты маркеров человека. Большинство маркеров относится к иммуноглобулиновому суперсемейству молекул межклеточной адгезии.



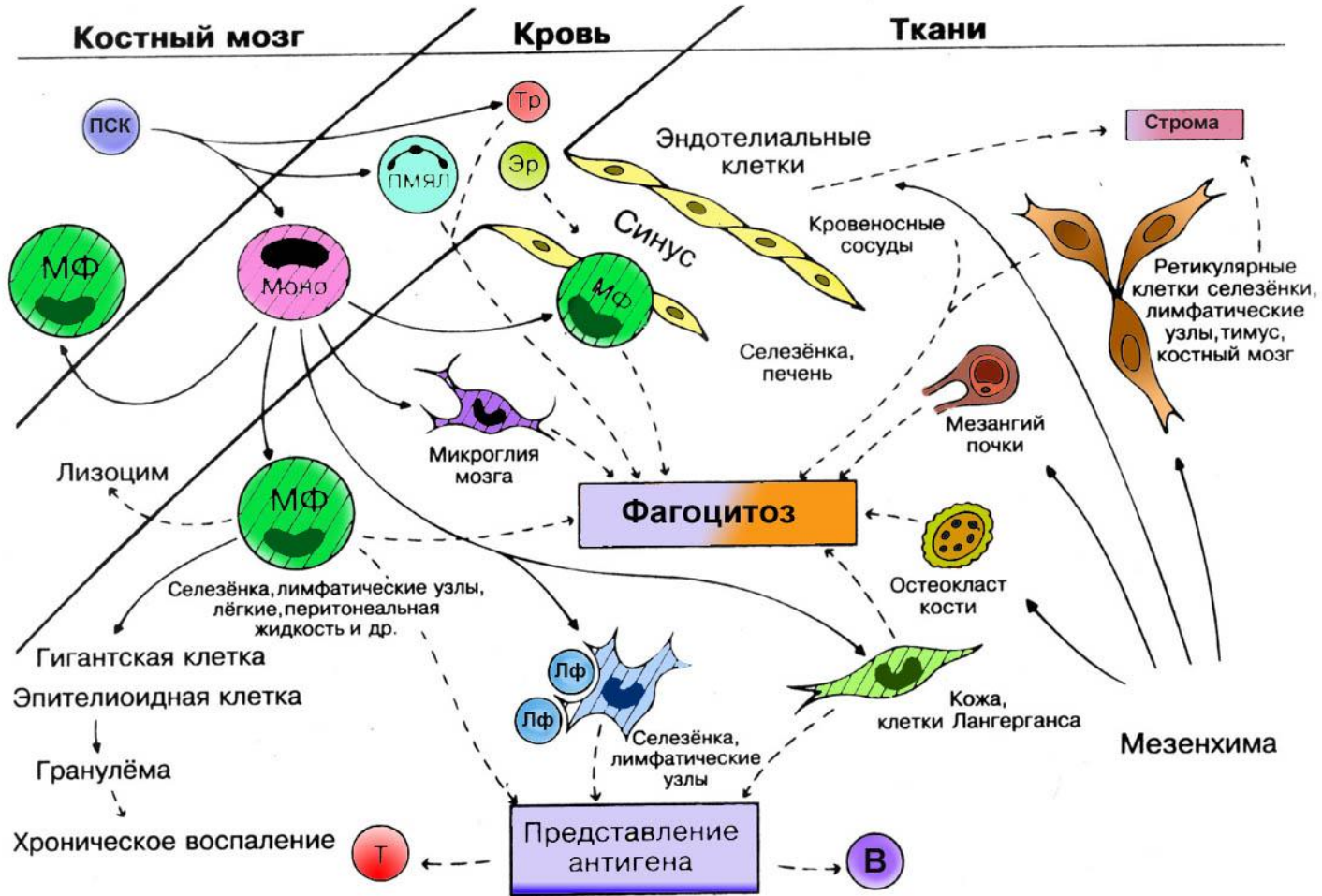
# Естественные и адаптивные иммунные механизмы

Естественные иммунные механизмы

Адаптивные иммунные механизмы

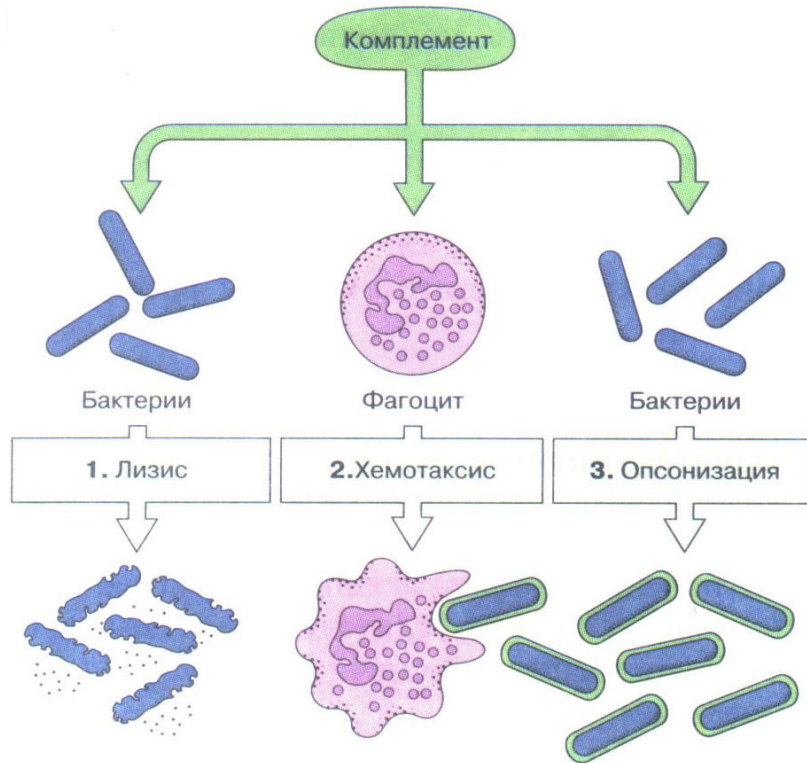


# Фагоцитарные клетки. Система мононуклеарных фагоцитов



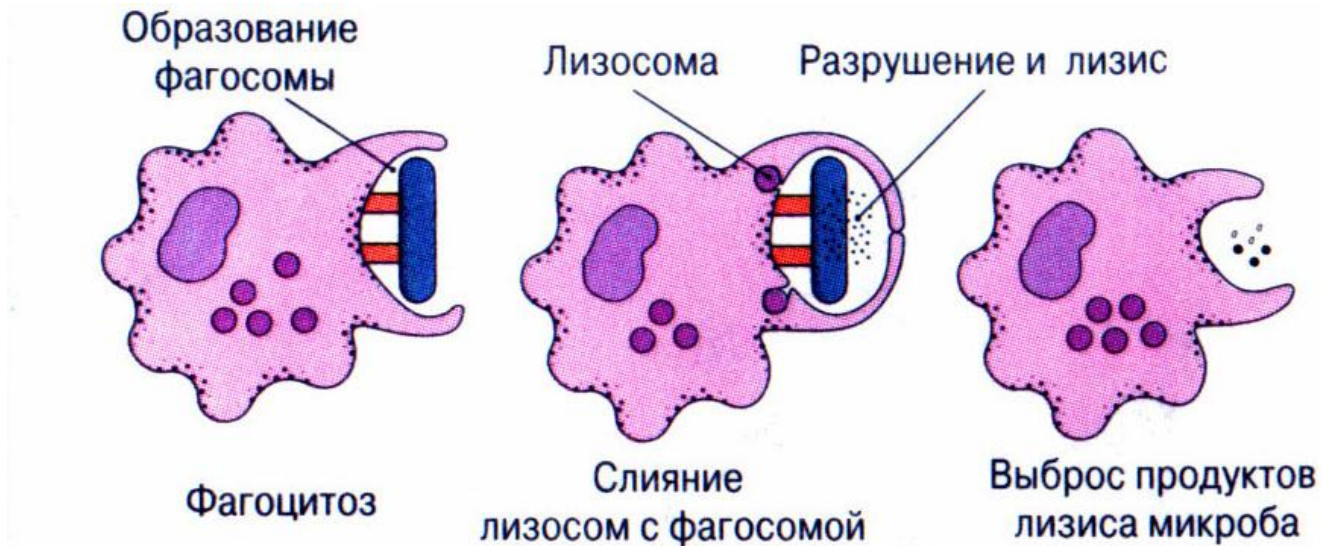


# Функции комплемента в антибактериальном иммунитете



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

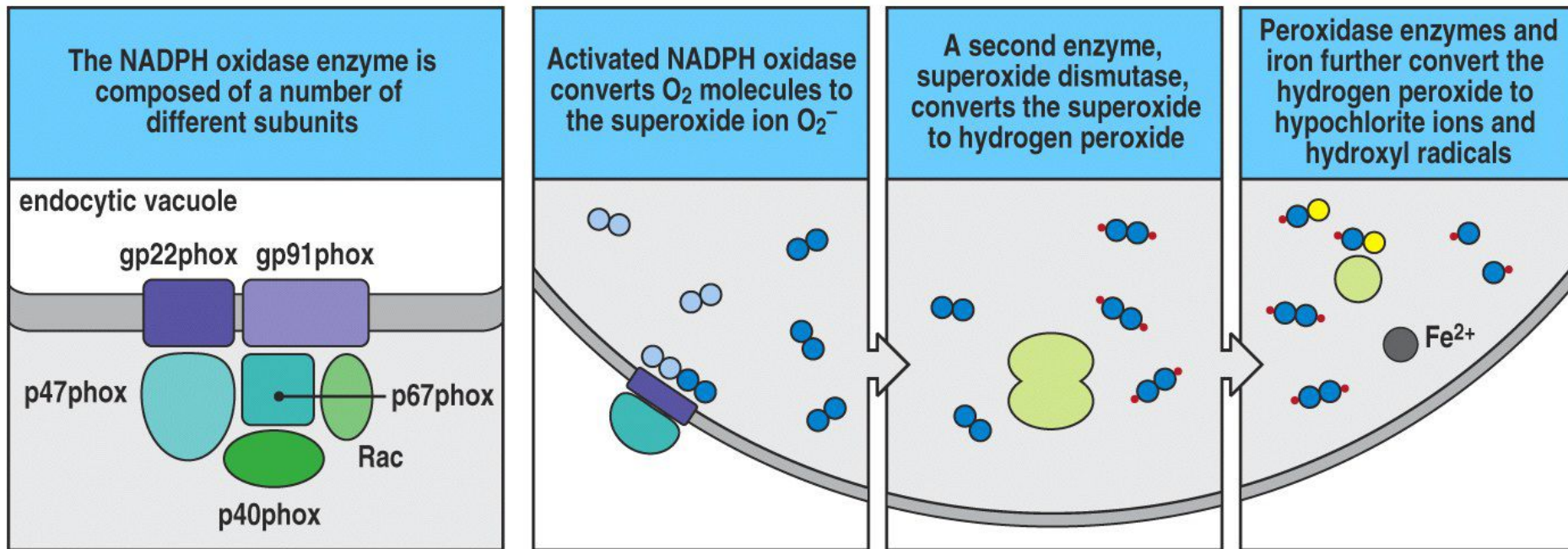
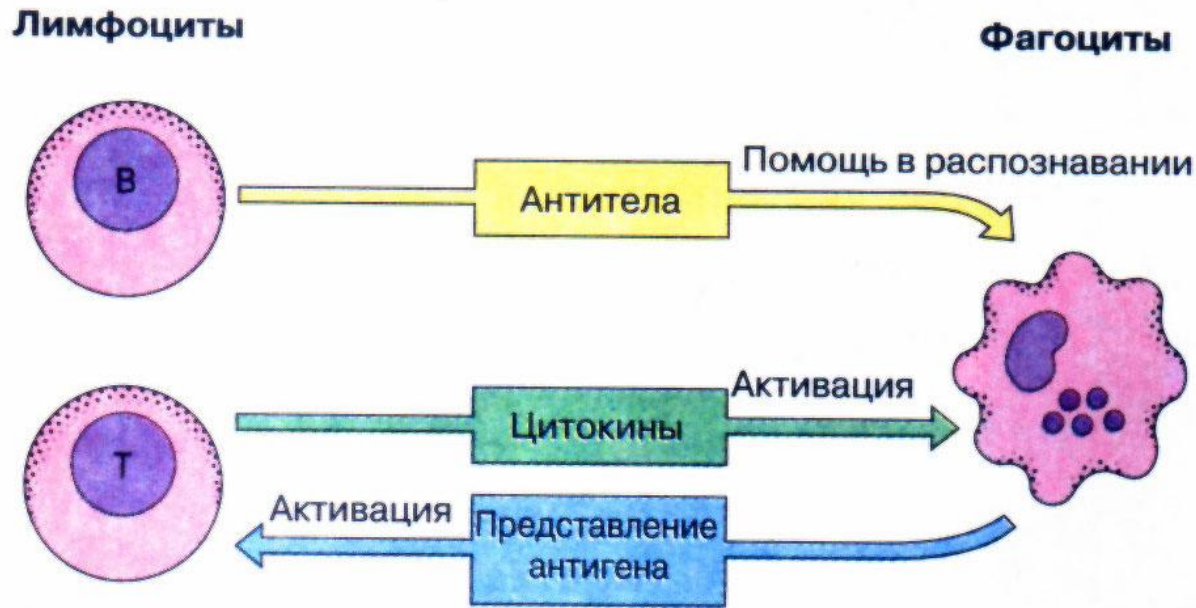


Figure 2-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# 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.

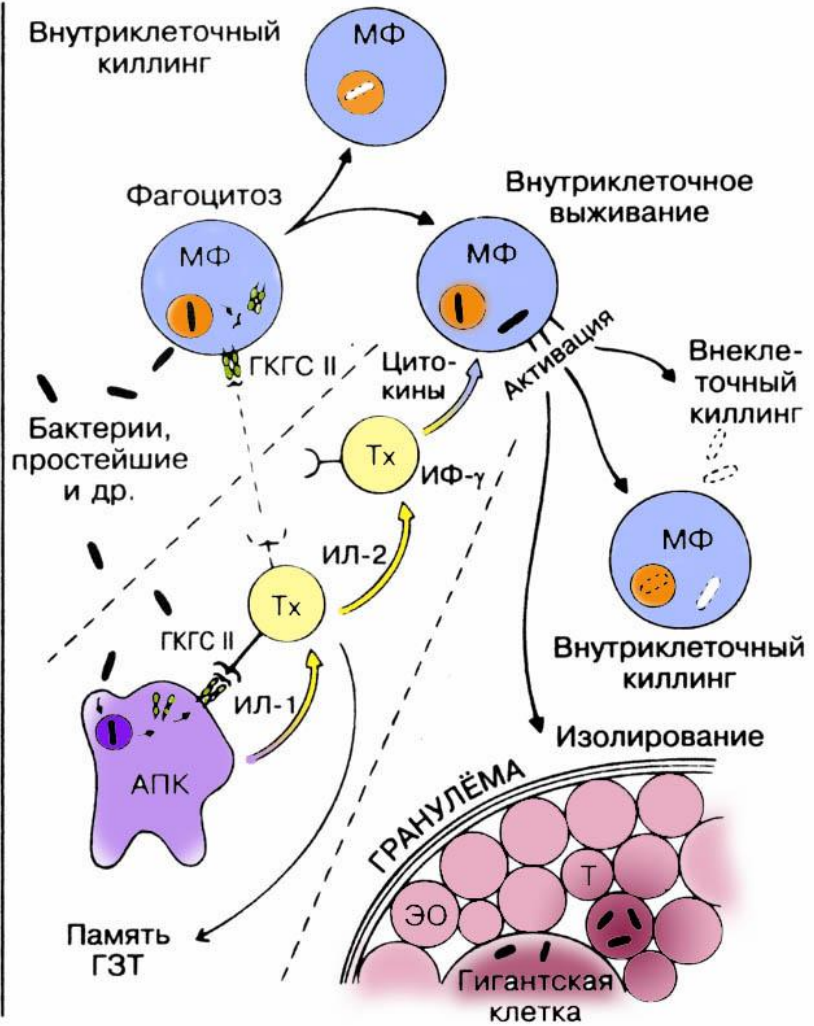
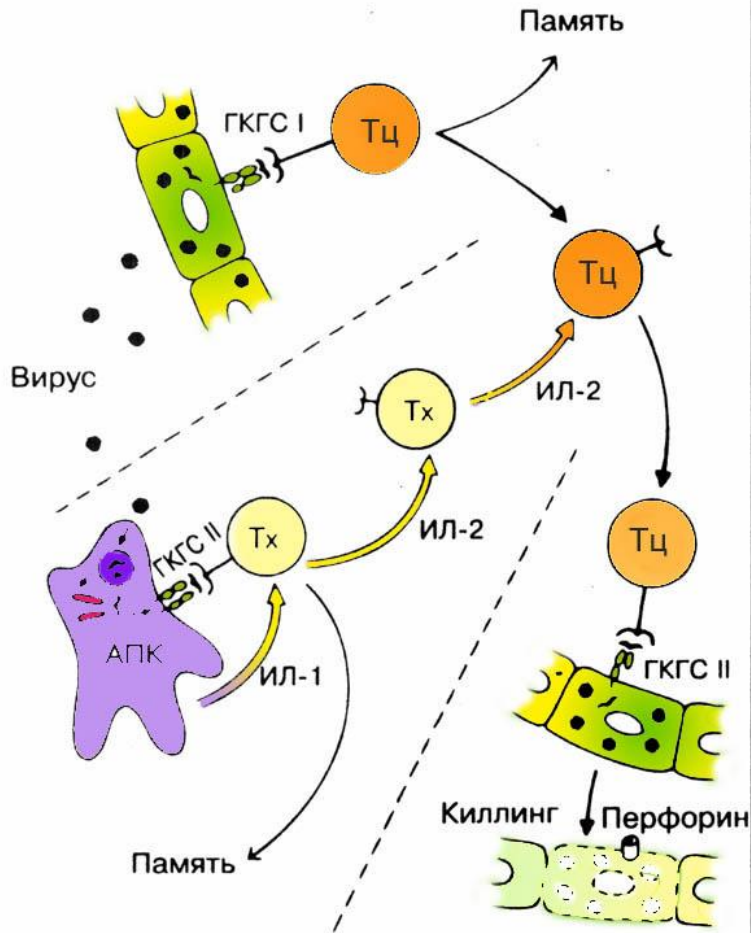


## Cytokines secreted by macrophages and dendritic cells

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- $\alpha$	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,

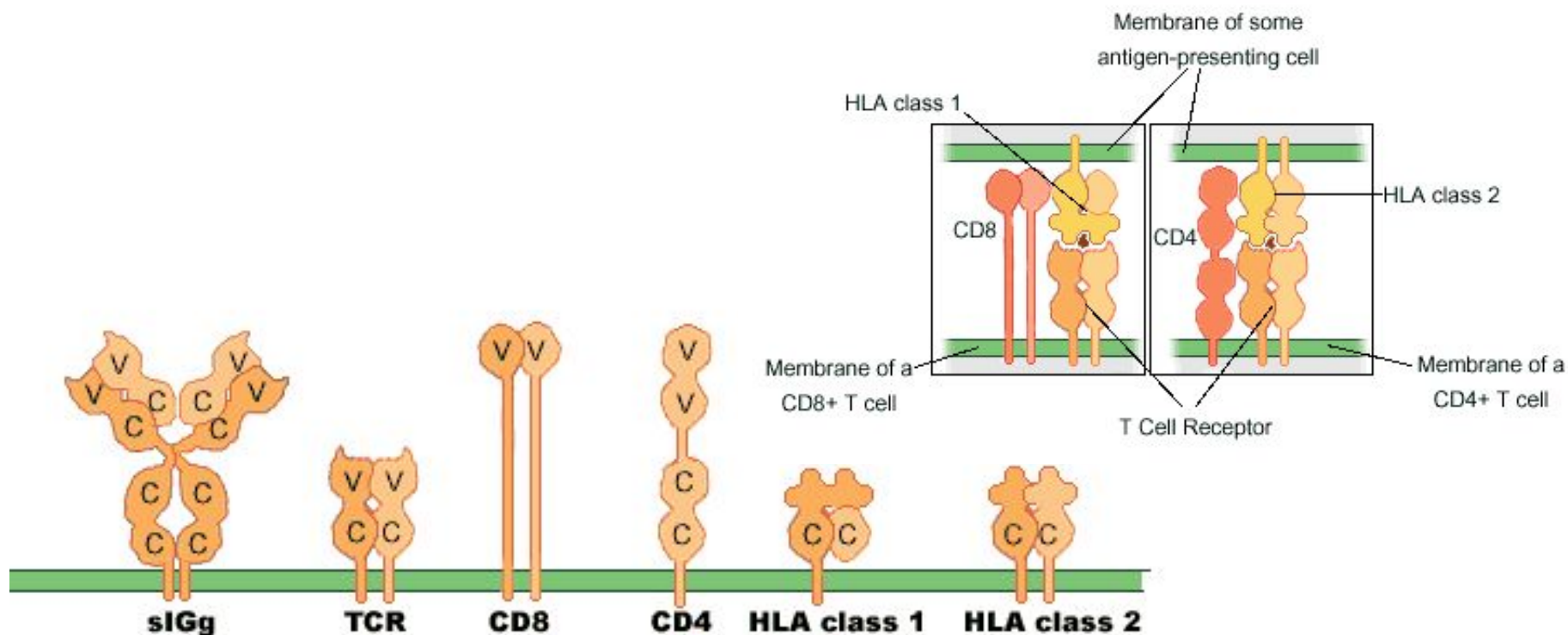
Figure 2-15 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Клеточный иммунный ответ





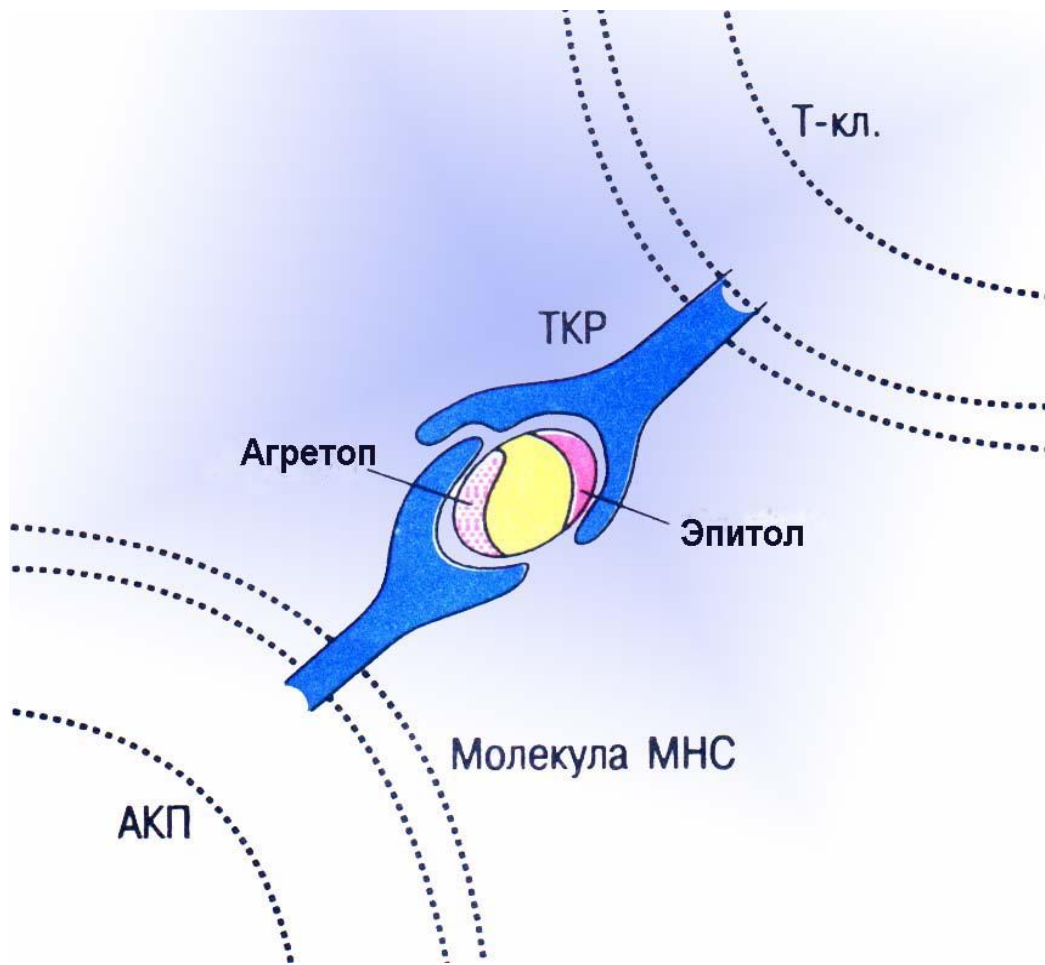
# Суперсемейство иммуноглобулинов – основа системы распознавания «свой-чужой»



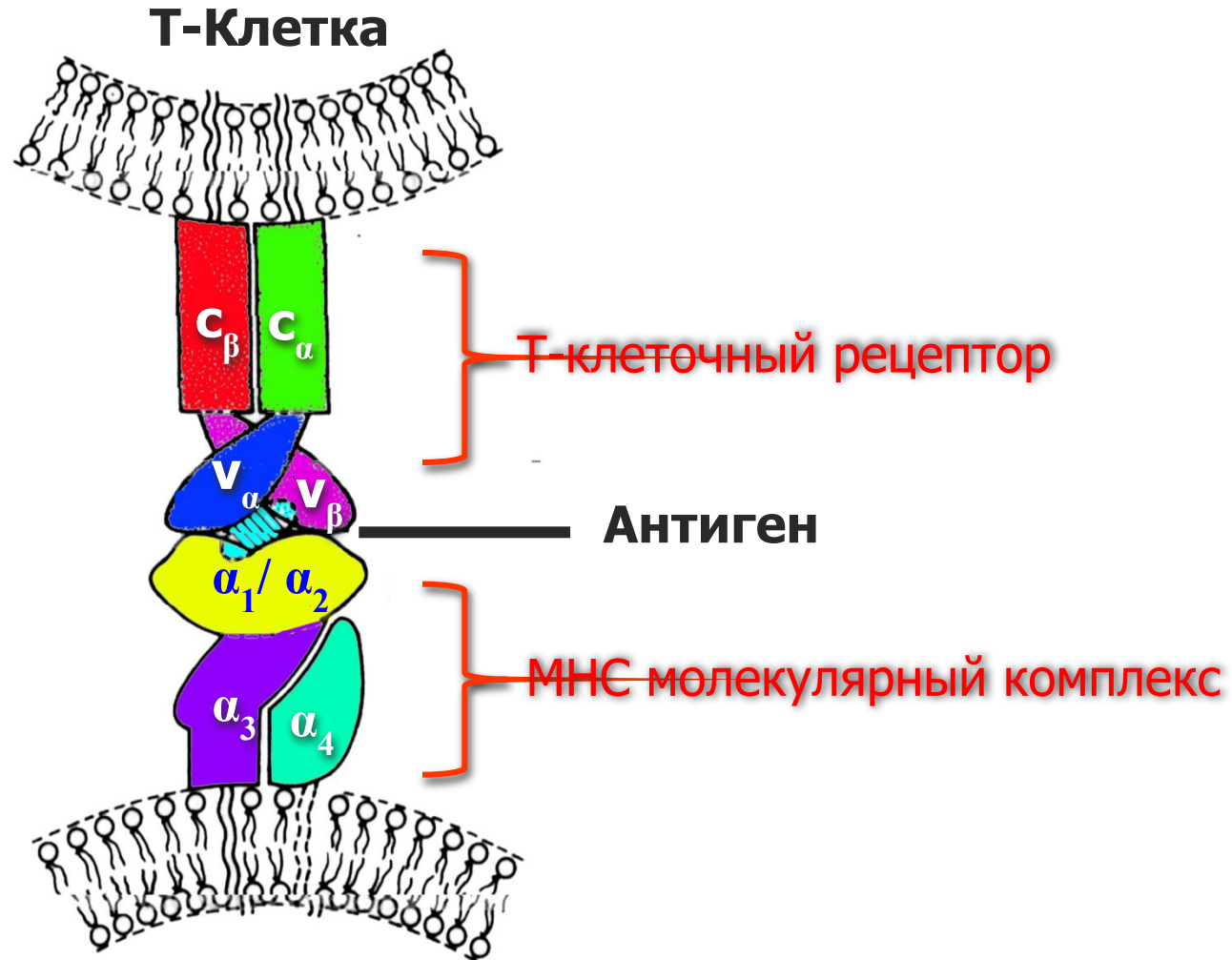
- гидрофобные взаимодействия
- электростатические силы
- водородные связи
- Ван-дер-Ваальсовы силы

# 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

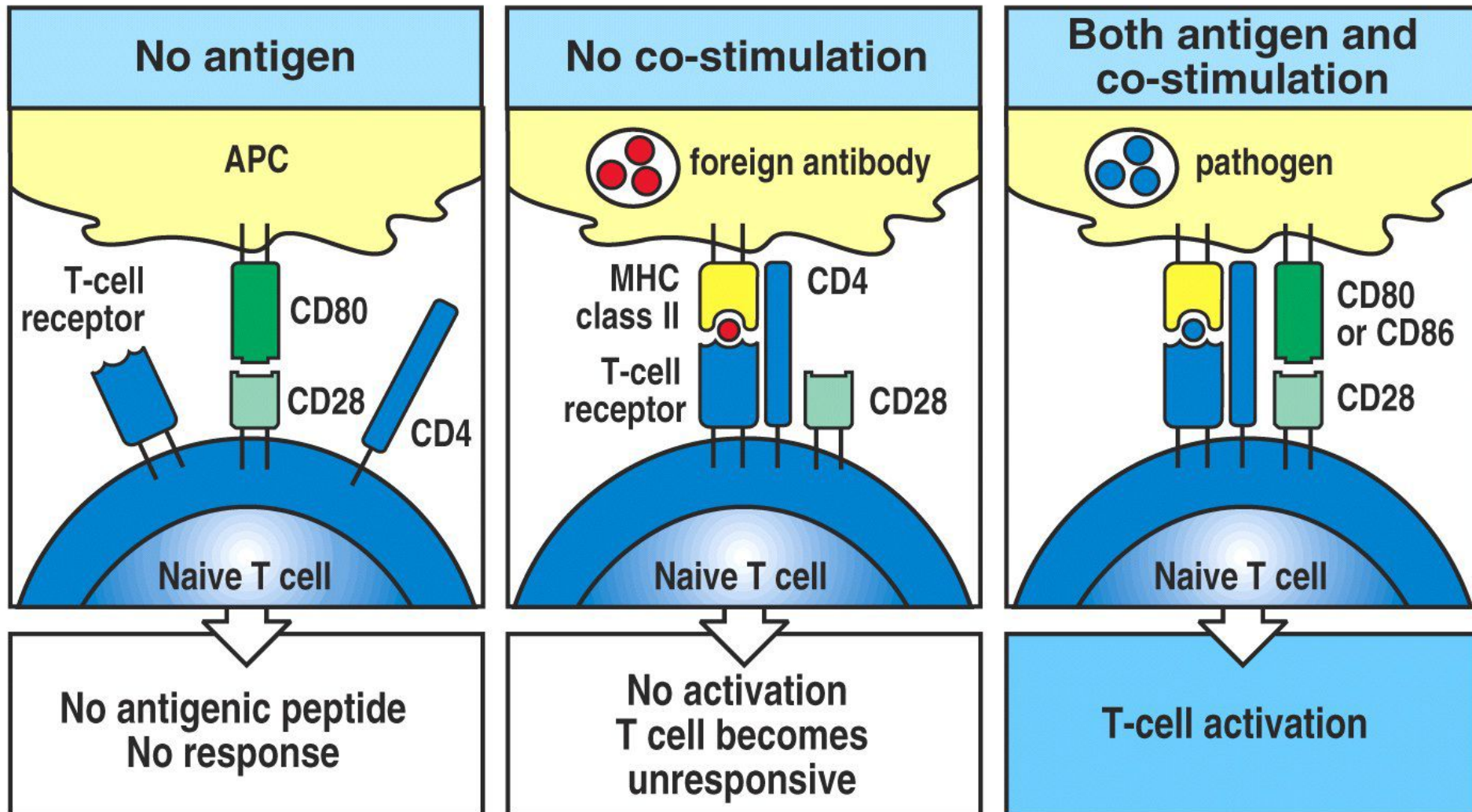
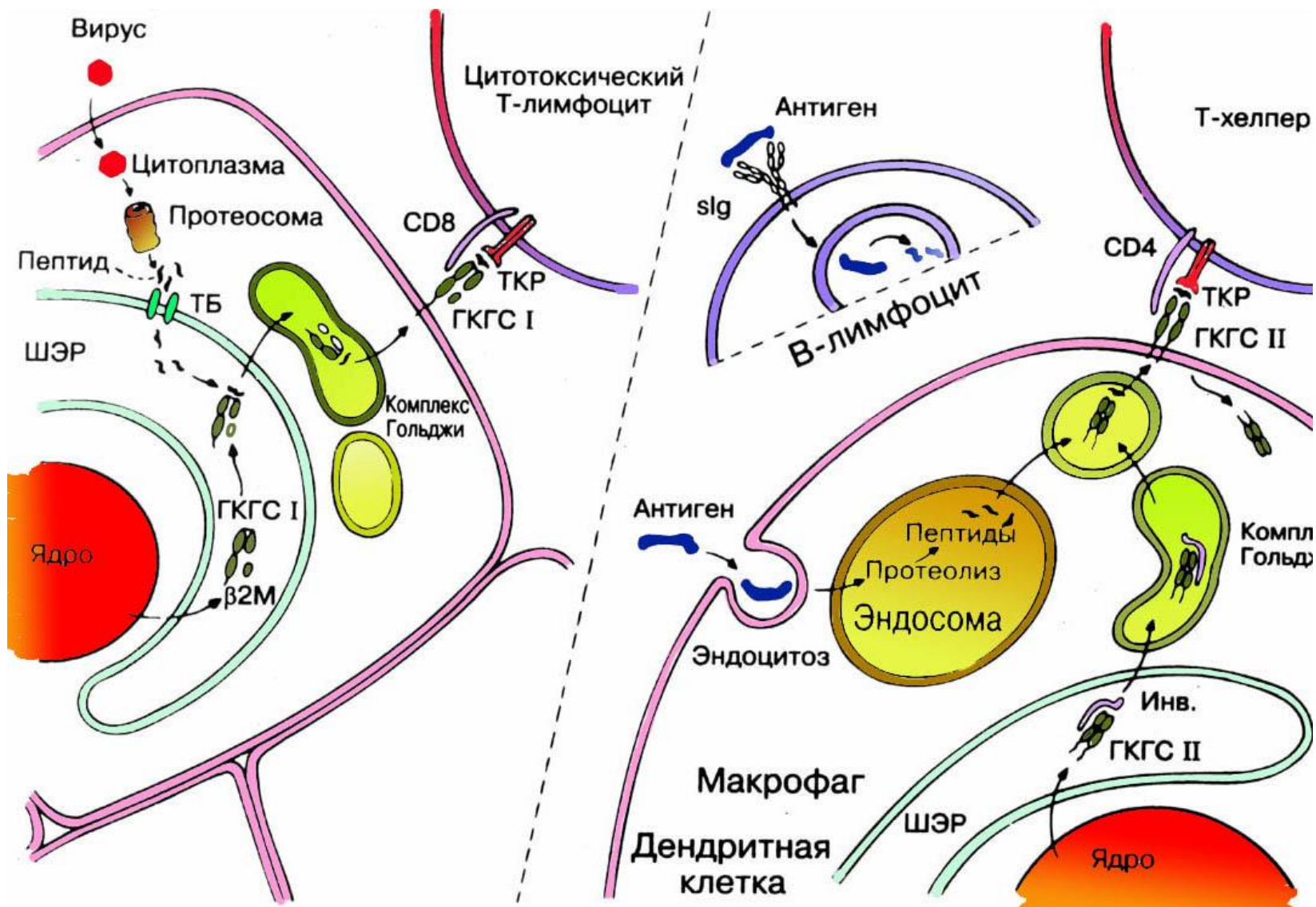


Figure 2-17 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Распознавание и переработка антигена



# NK

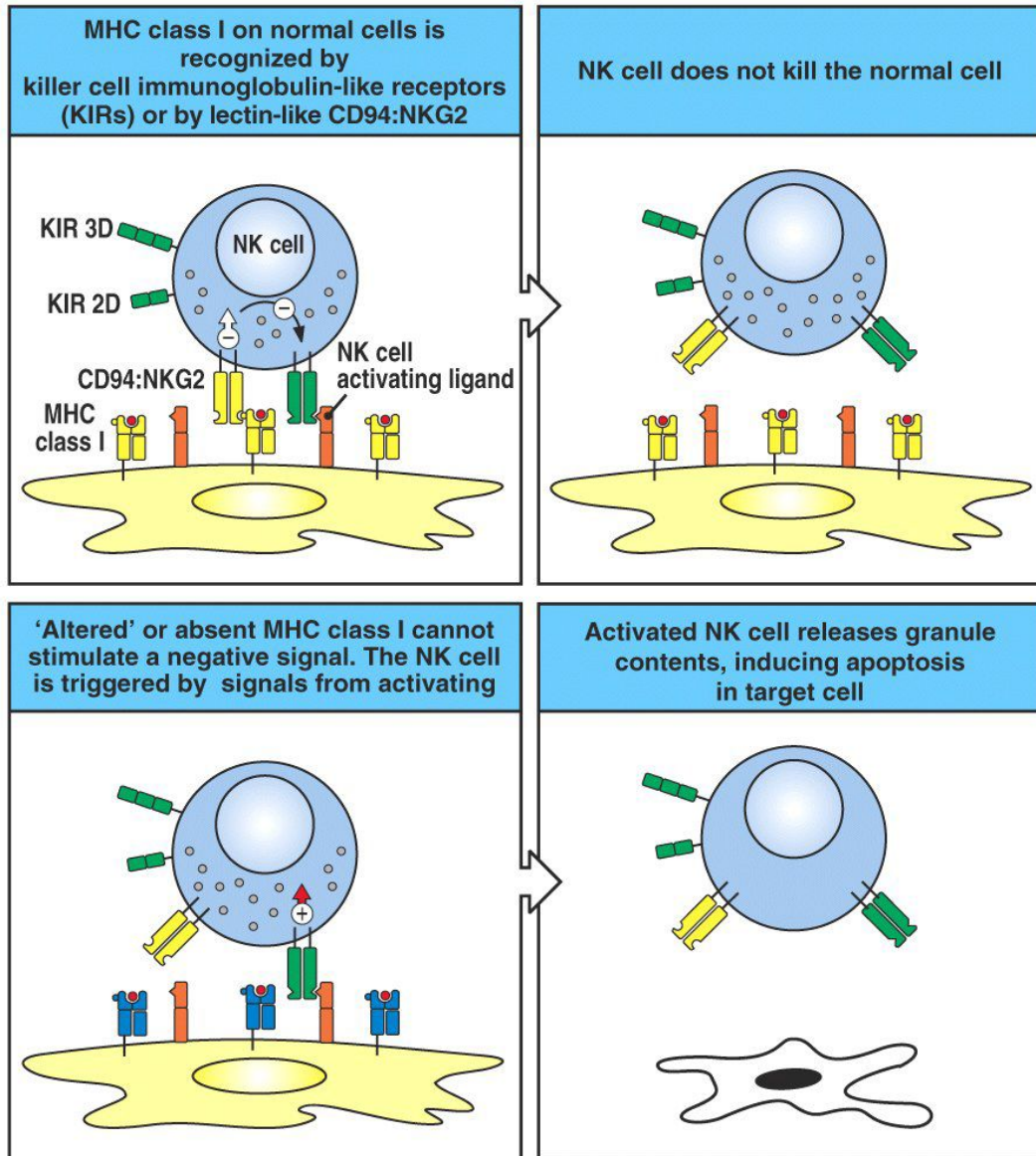
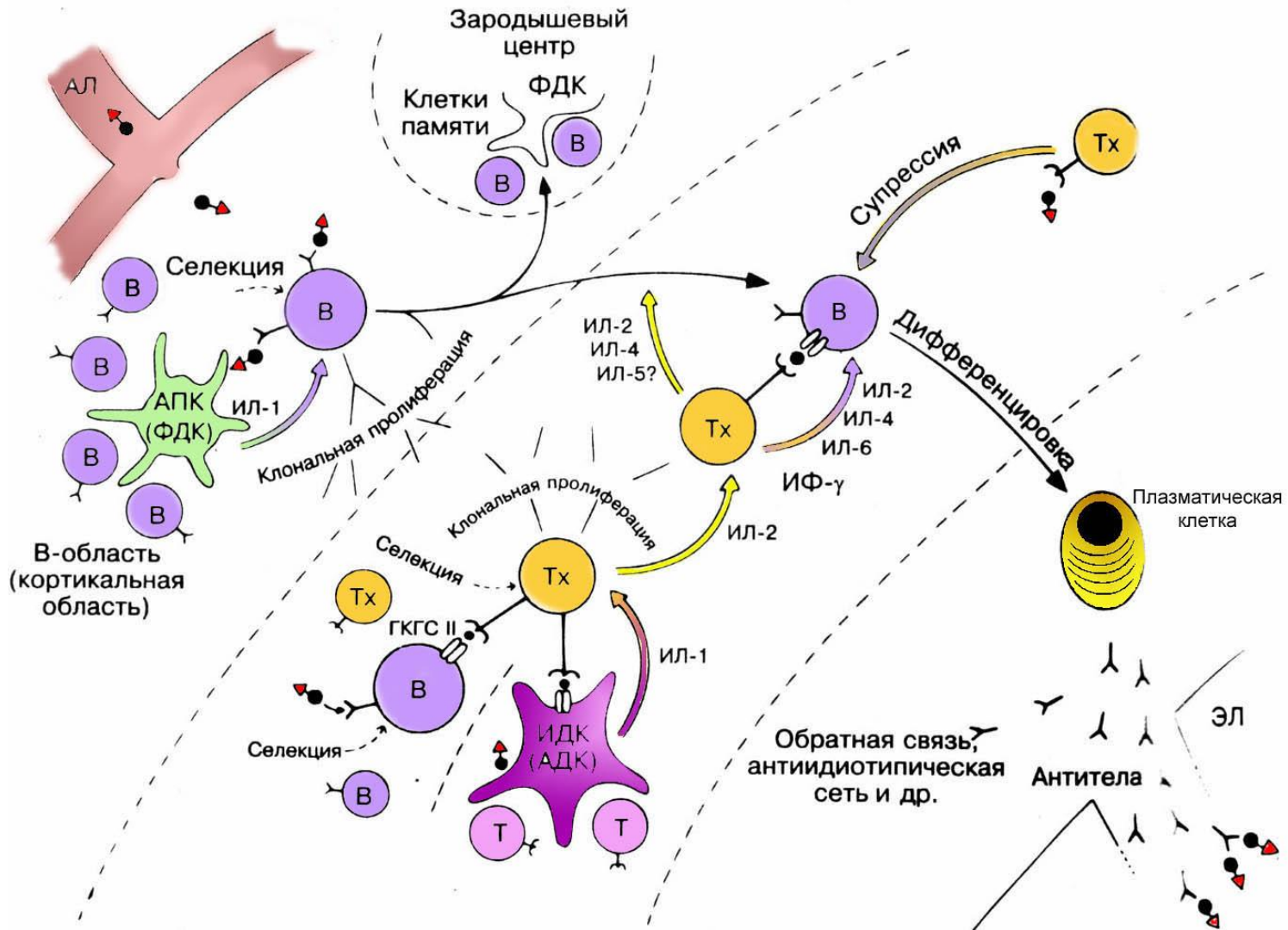
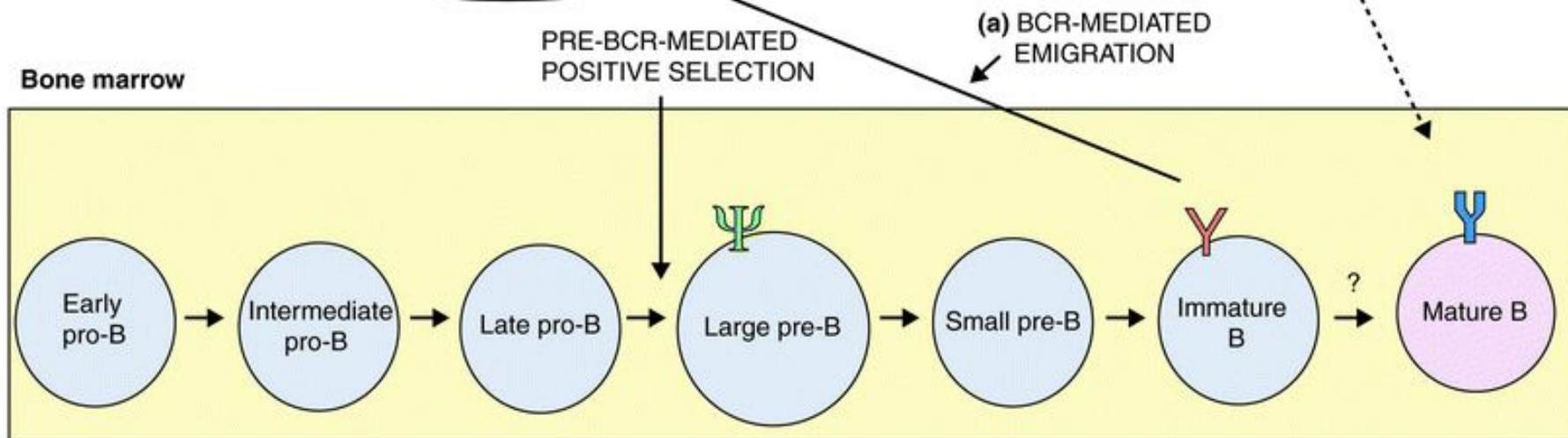
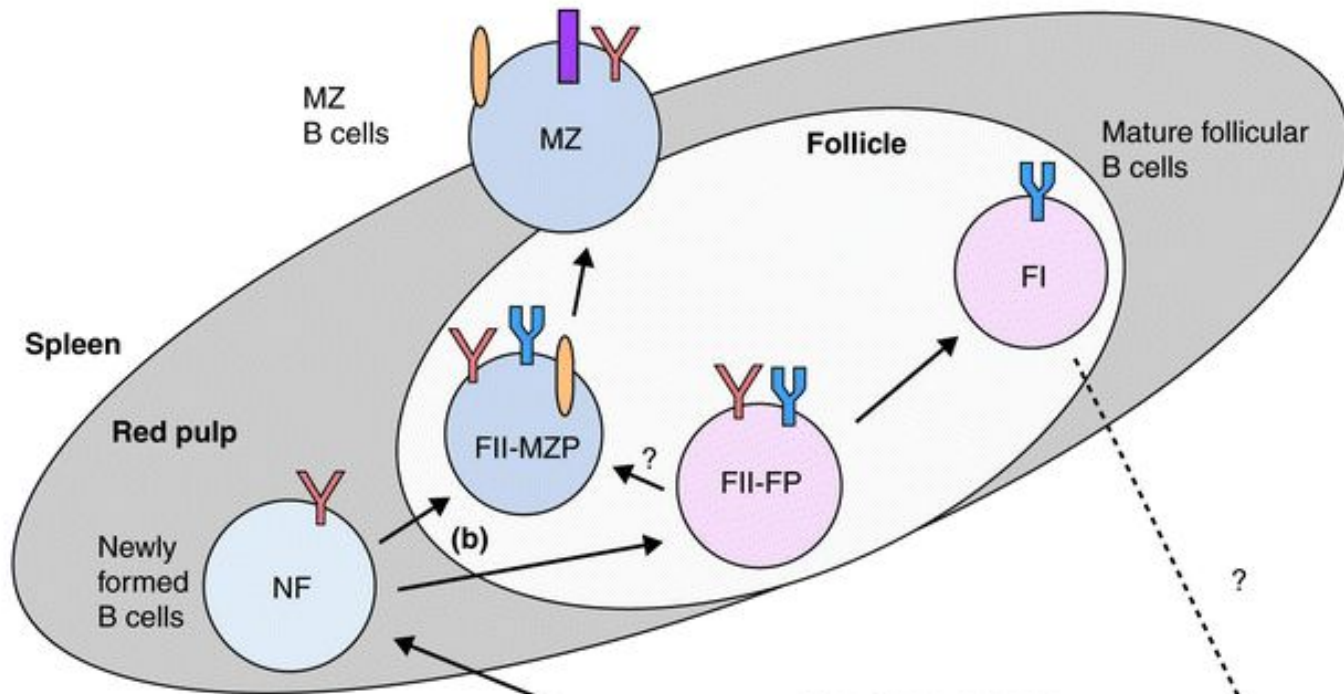
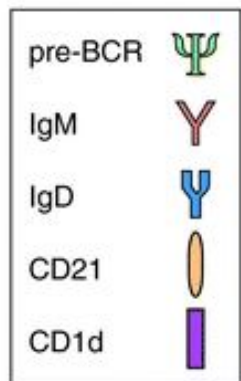


Figure 2-50 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Гуморальный иммунный ответ



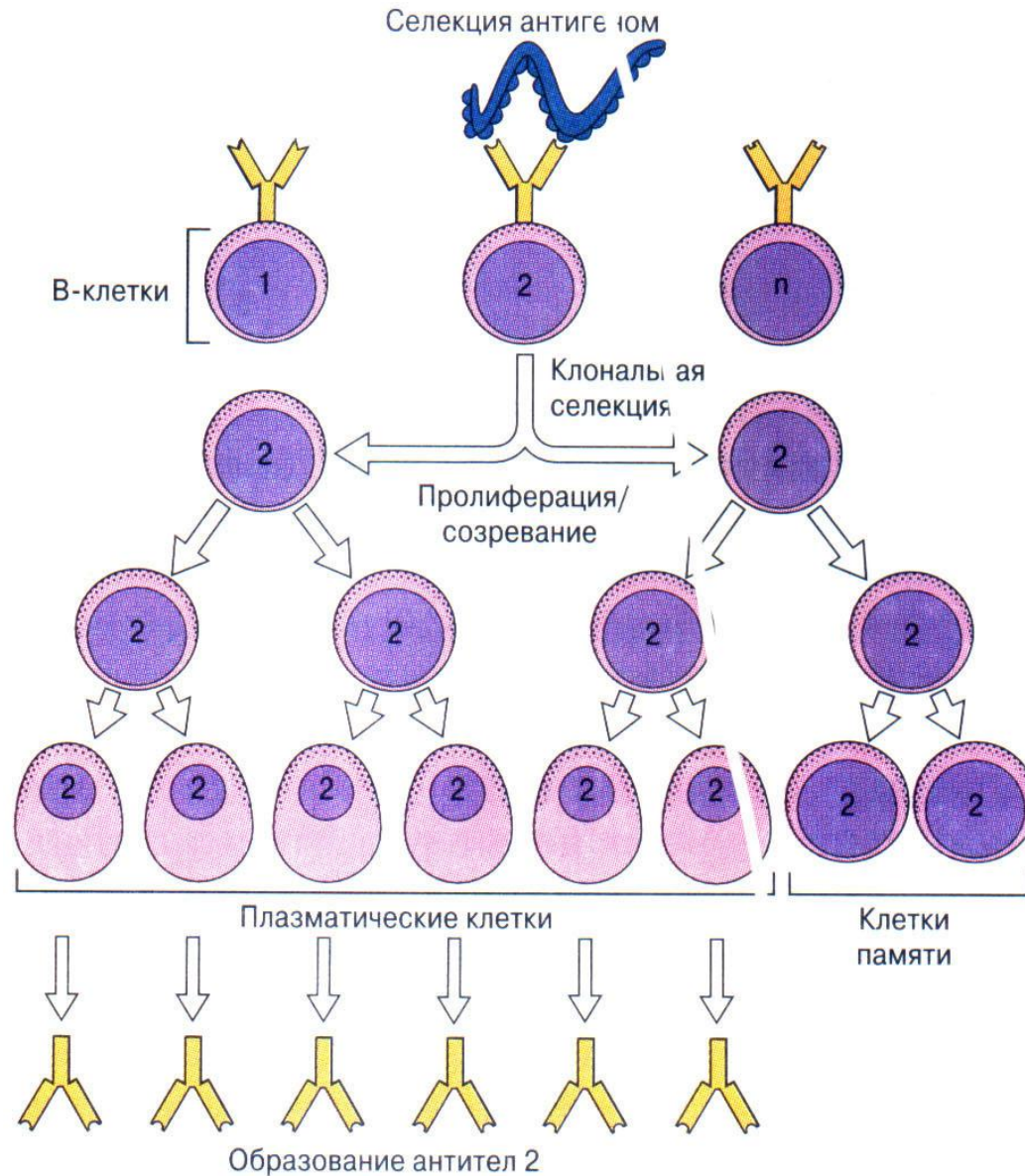


$D_H$ -TO- $J_H$   
REARRANGEMENT

$V_H$ -TO- $DJ_H$   
REARRANGEMENT

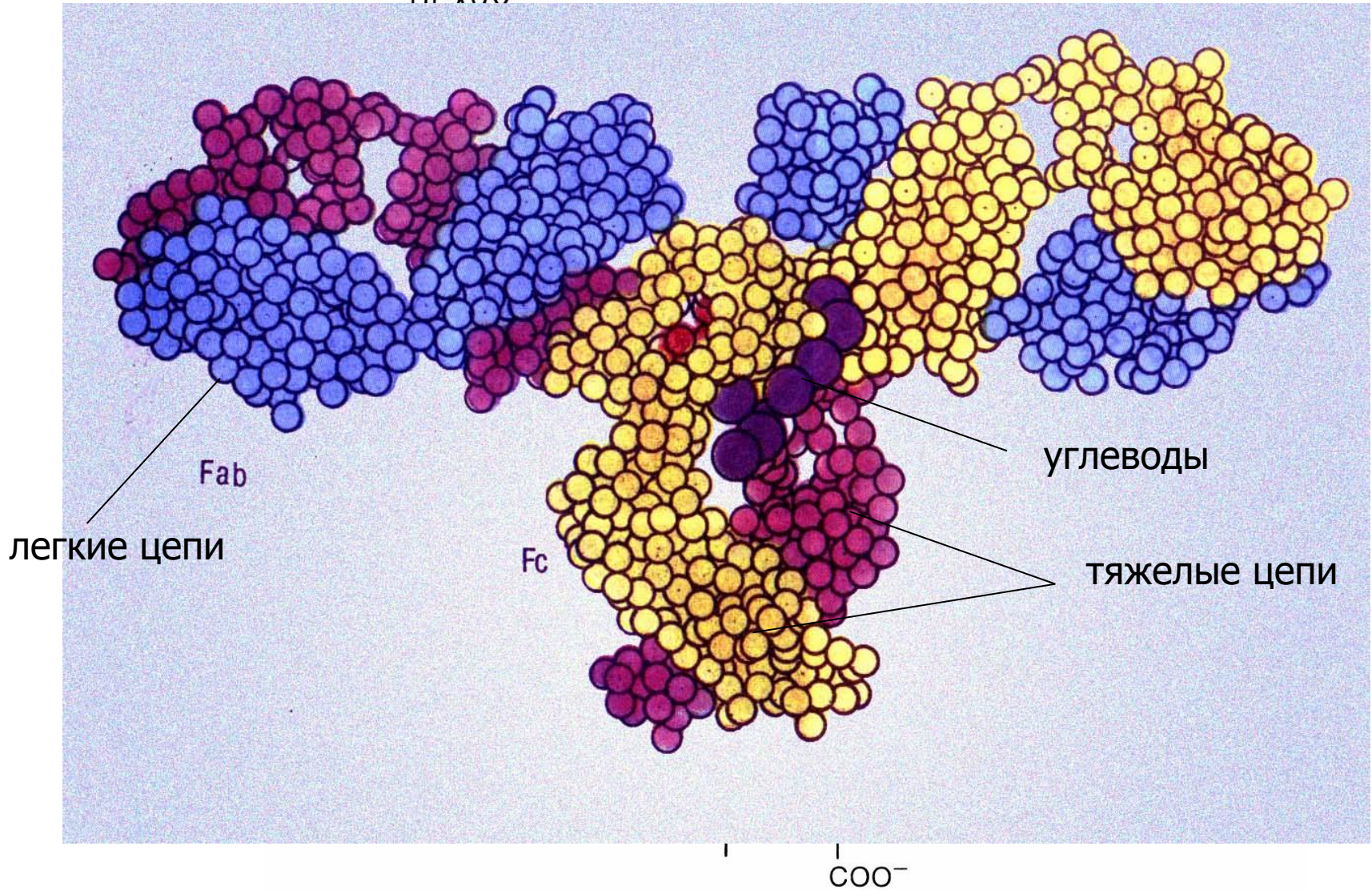
$V_L$ -TO- $J_L$   
REARRANGEMENT

# Клональная селекция В-клеток



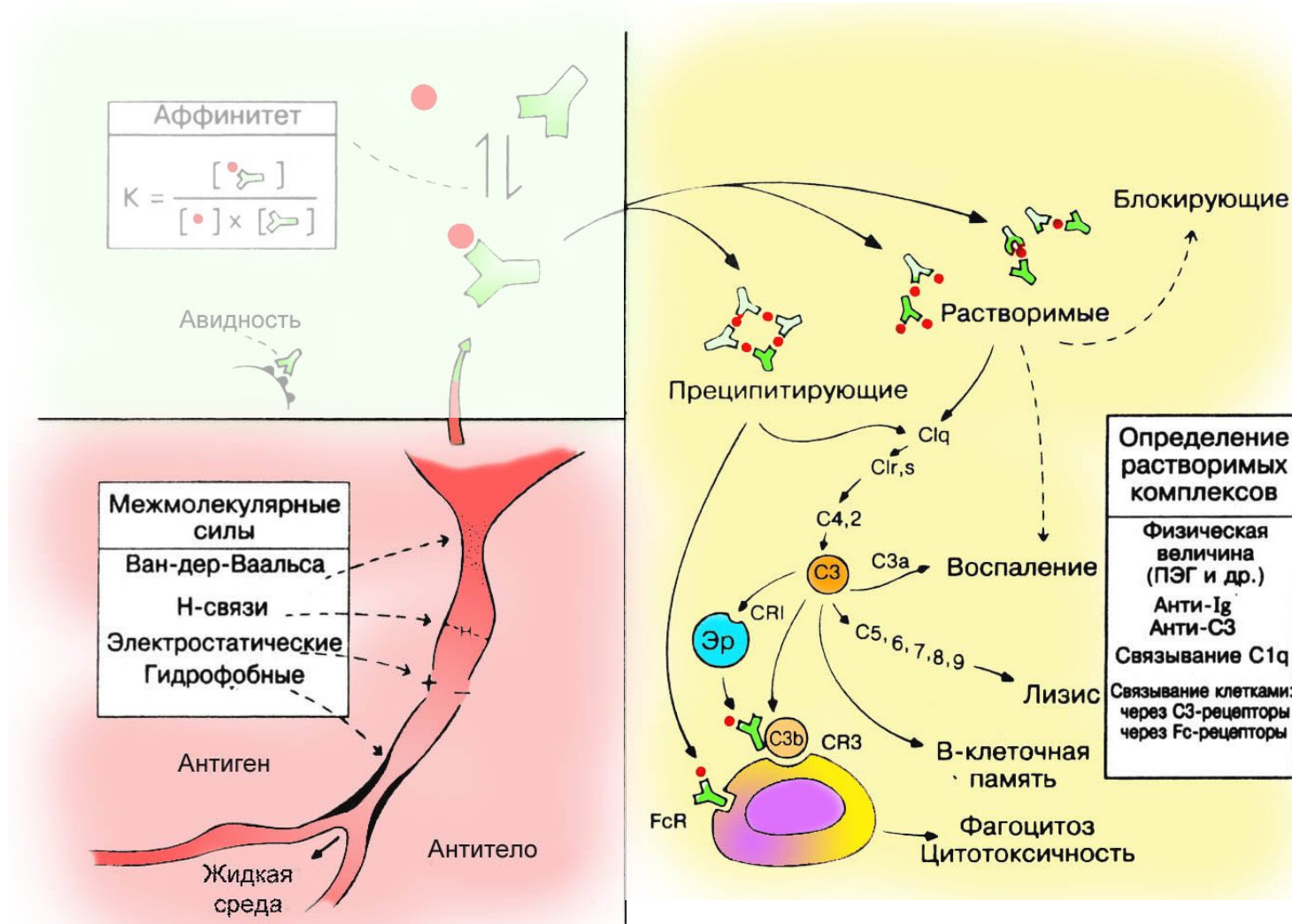


# Строение IgG





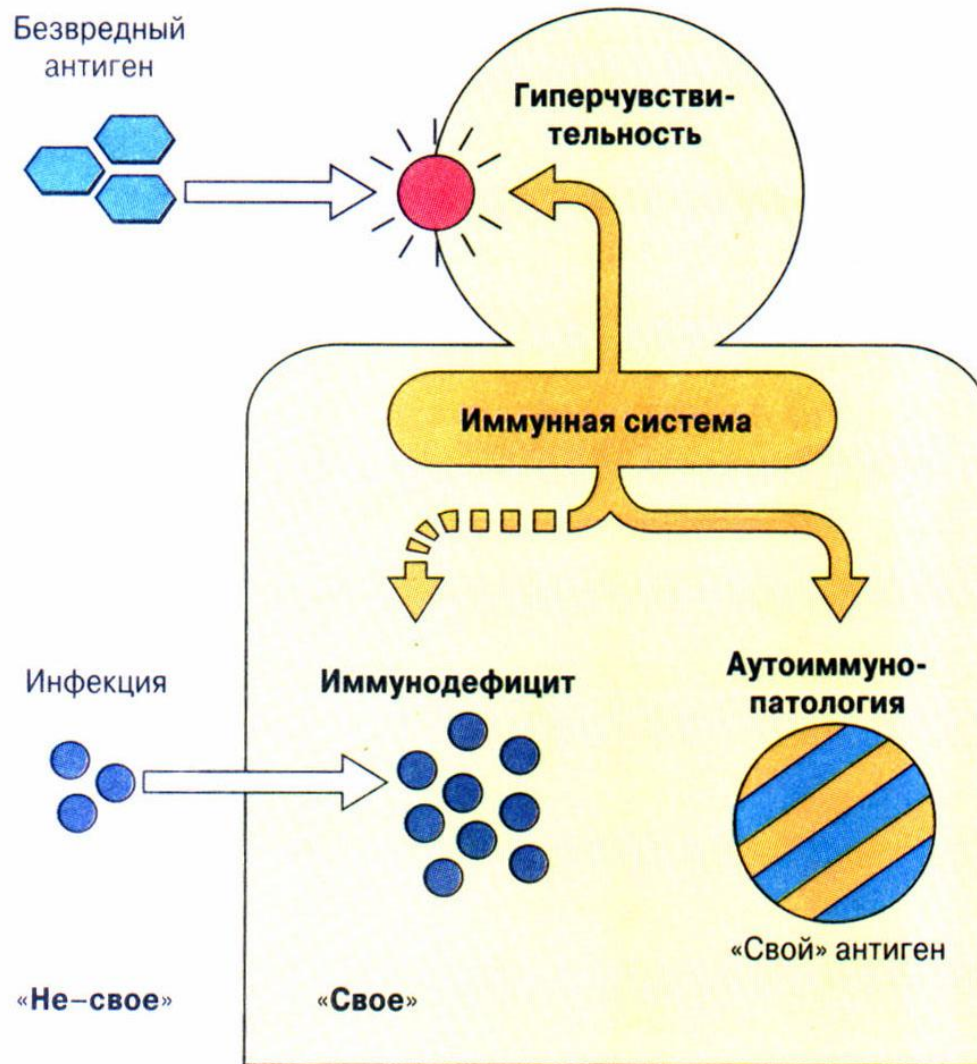
# Взаимодействие антигена и антитела и иммунные комплексы



**Первичное взаимодействие**  
**вторичное взаимодействие**

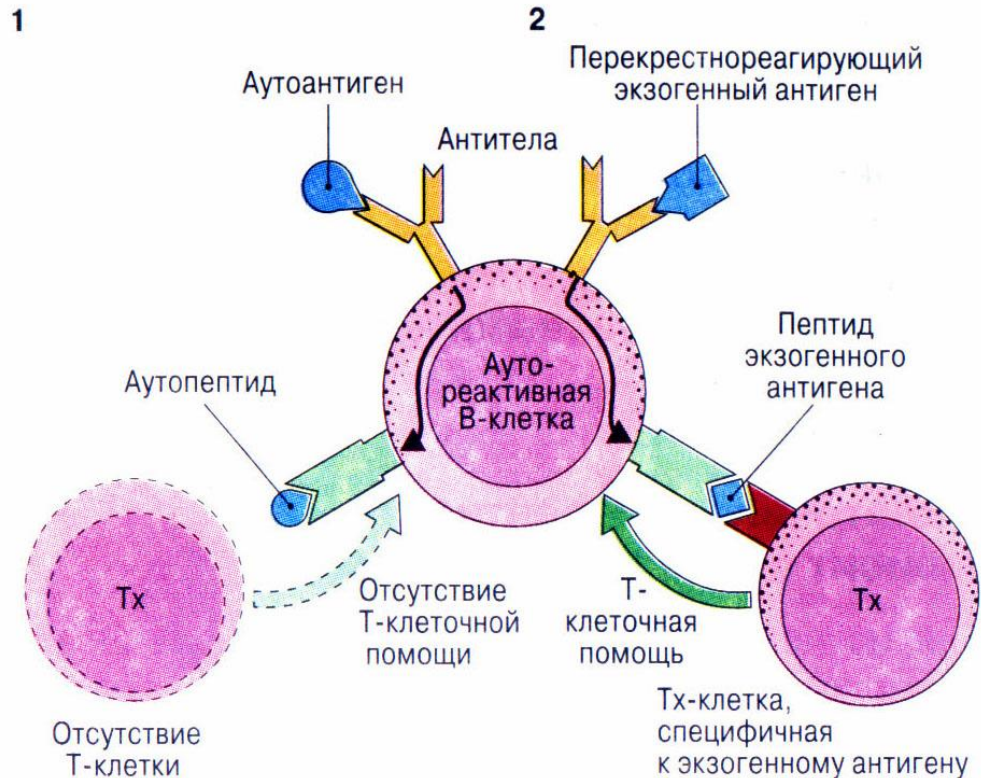
**Вторичное**

# Основные формы патологии иммунной системы



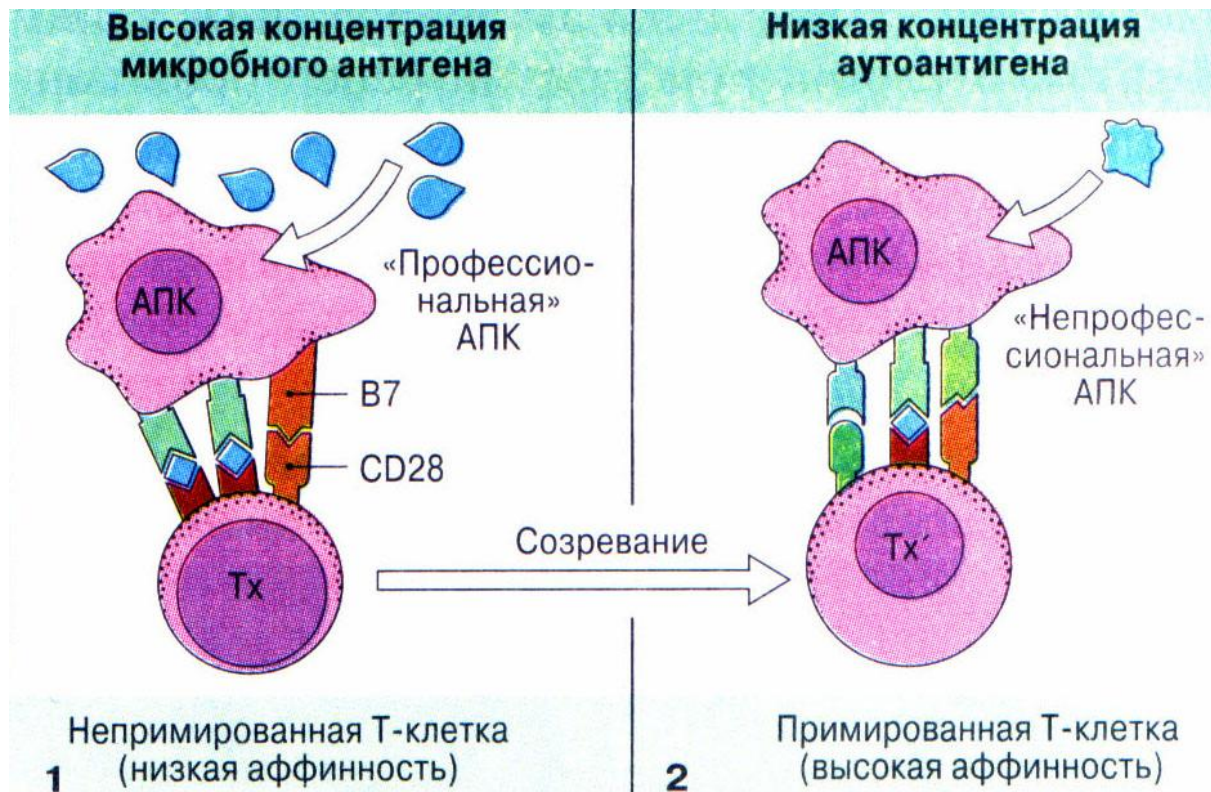


# В-клеточный ответ на собственные или чужеродные антигены

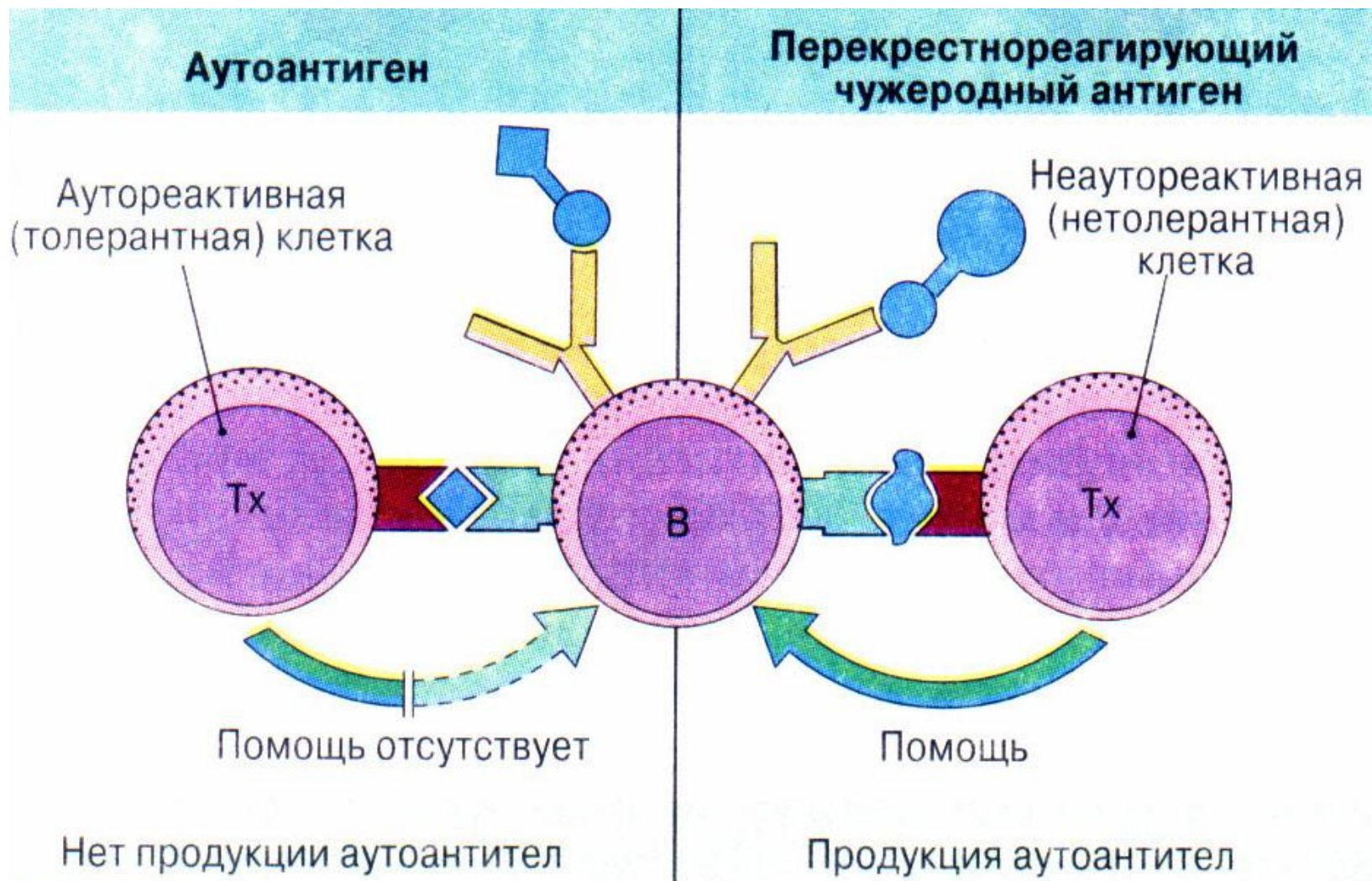


**В результате воздействия интерферонов (в течение нескольких часов) клетка приобретает устойчивость к вирусу на 1-2 суток.**

# Перекрестно-реагирующие антигены индуцируют появление аутоиммунных Тх-клеток



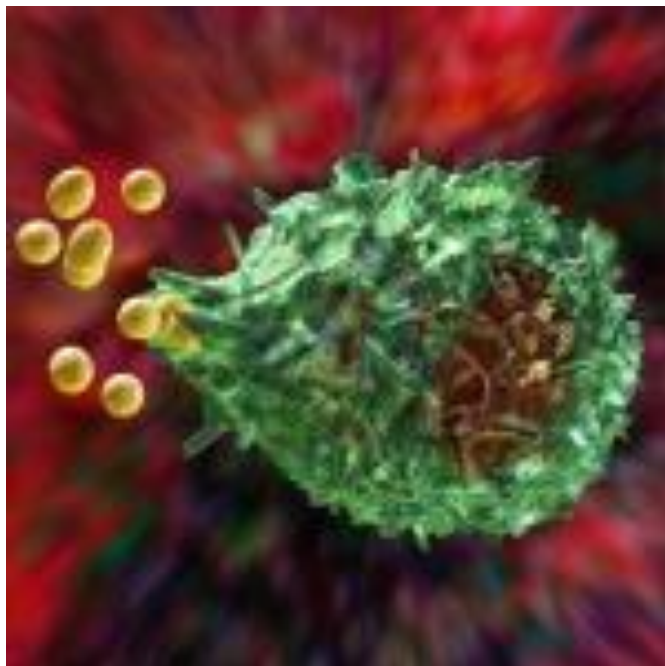
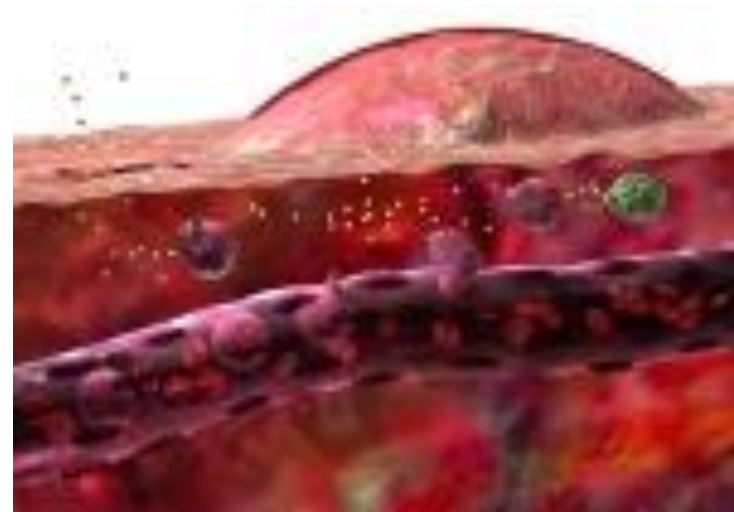
# Индукция синтеза аутоантител перекрестно-реагирующими антигенами





## Лекция 2

# Врожденный Иммуитет Innate Immunity



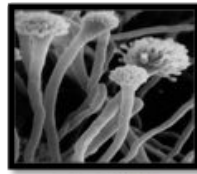
Габибов А.Г.

# Insects and infections

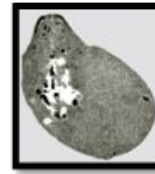
Bacteria



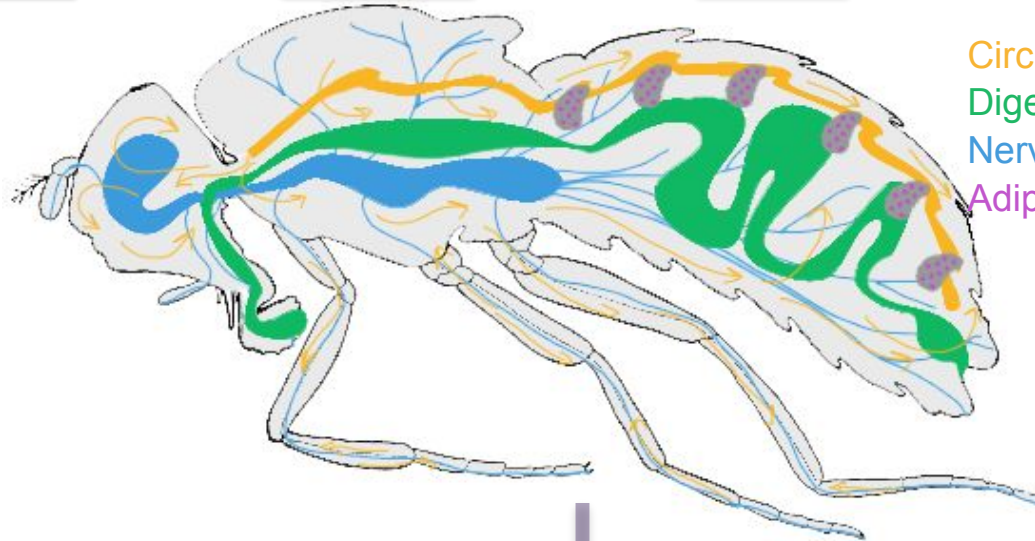
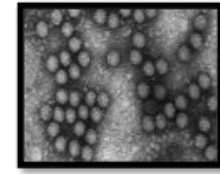
Fungi



Protozoa



Virus



Circulatory system

Digestive system

Nervous system

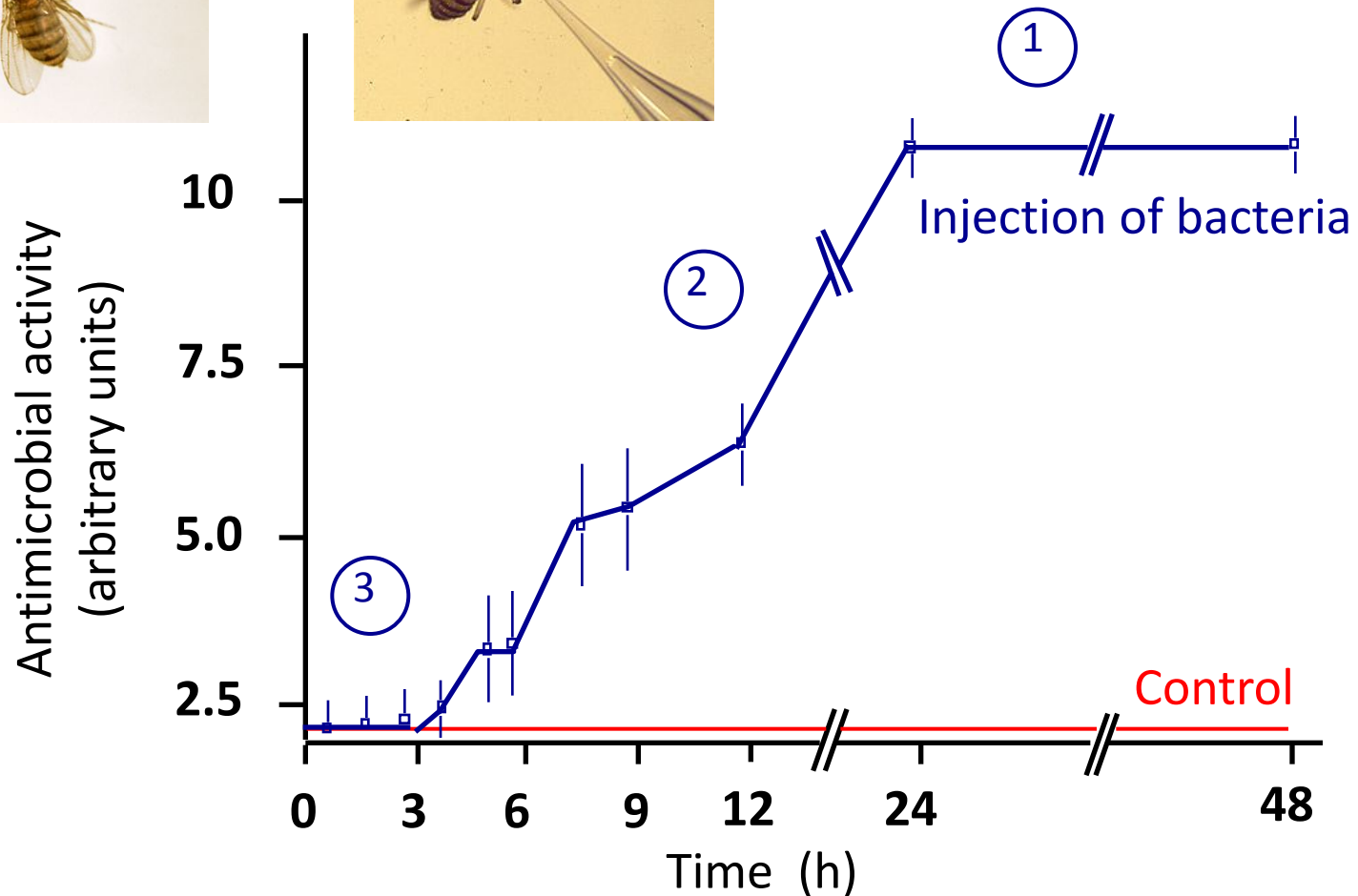
Adipose system

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





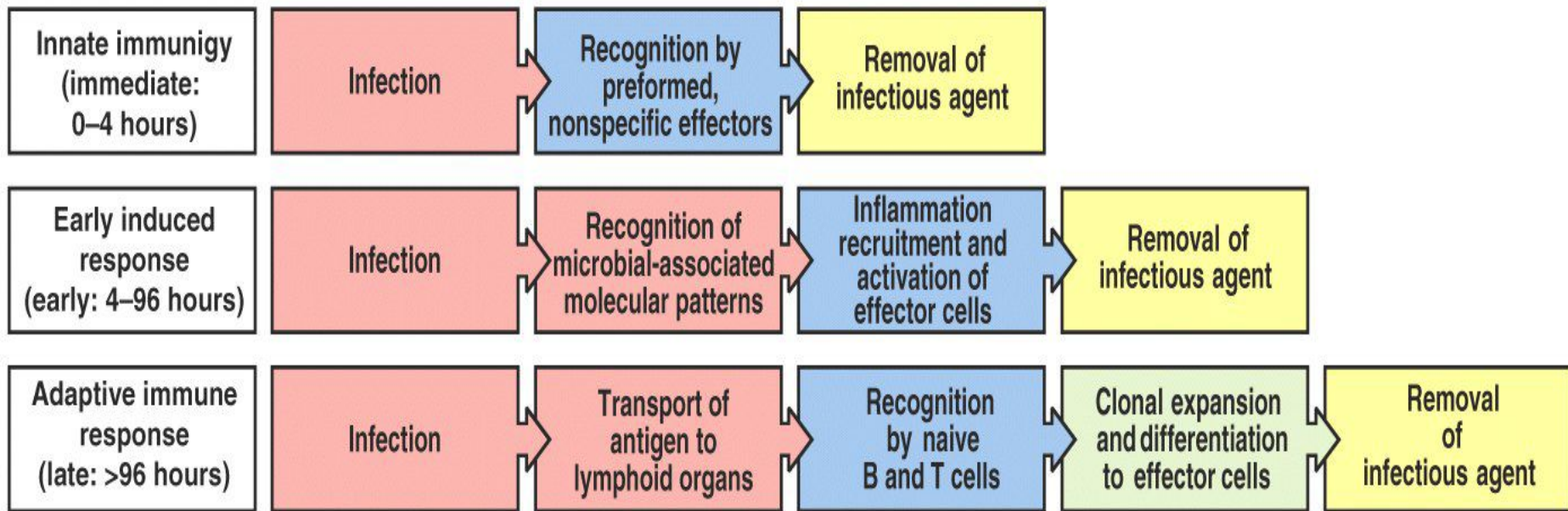
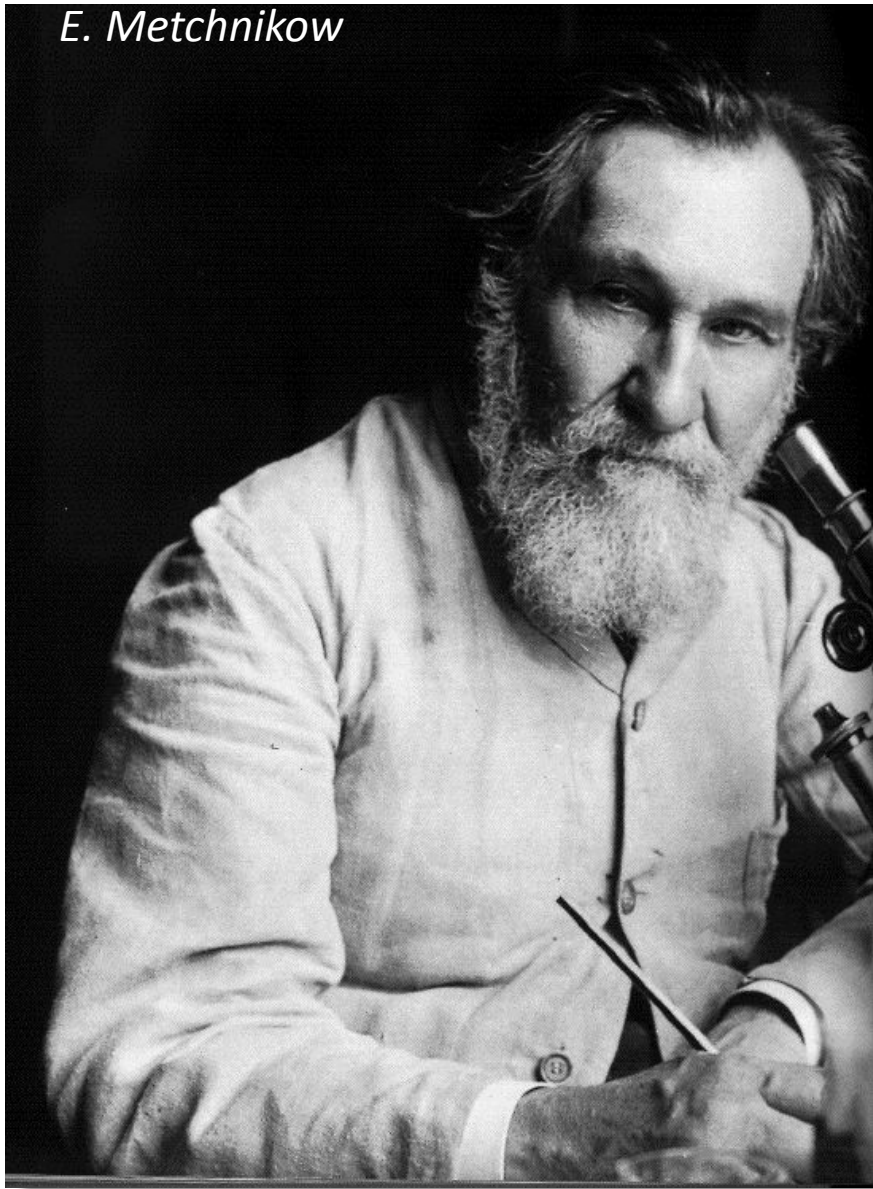


Figure 2-1 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

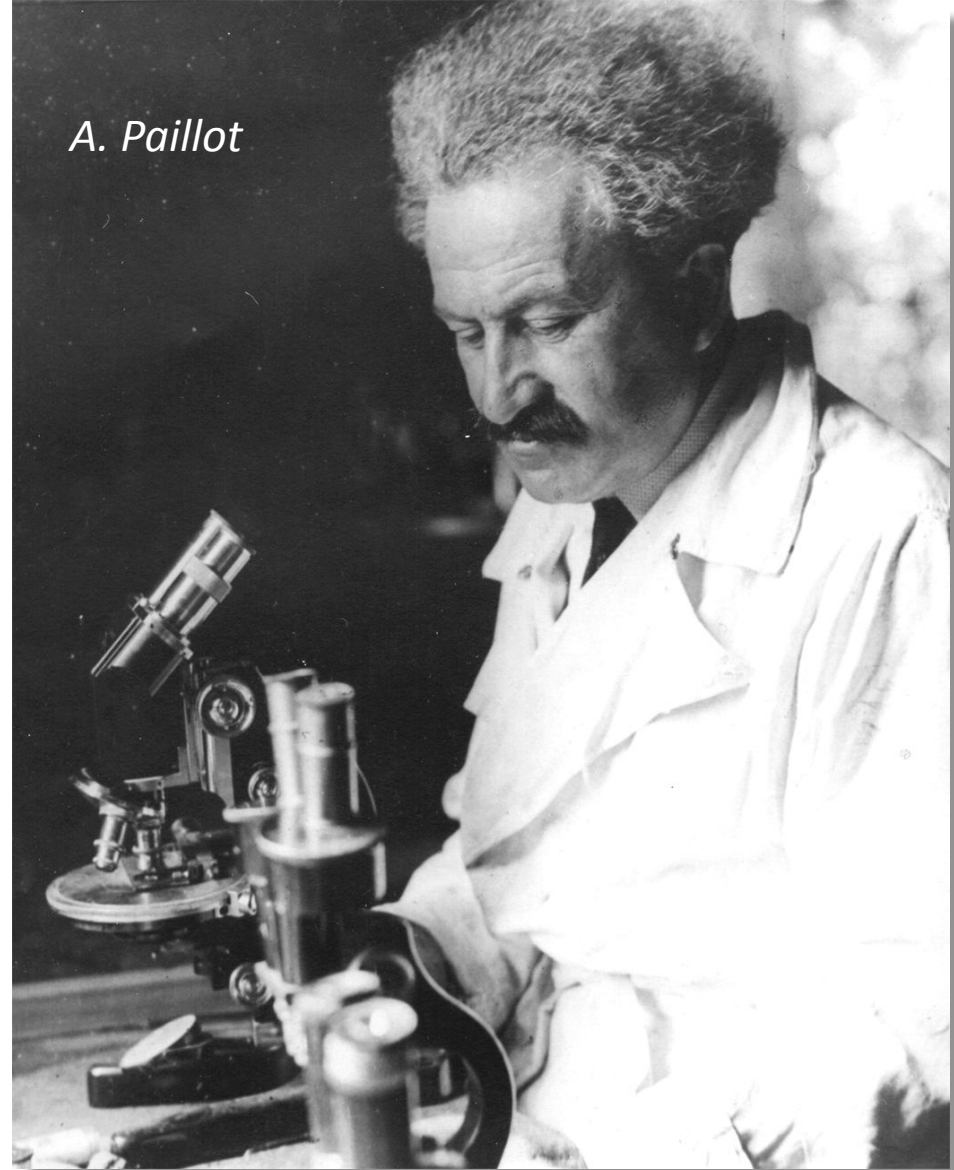
*E. Metchnikow*



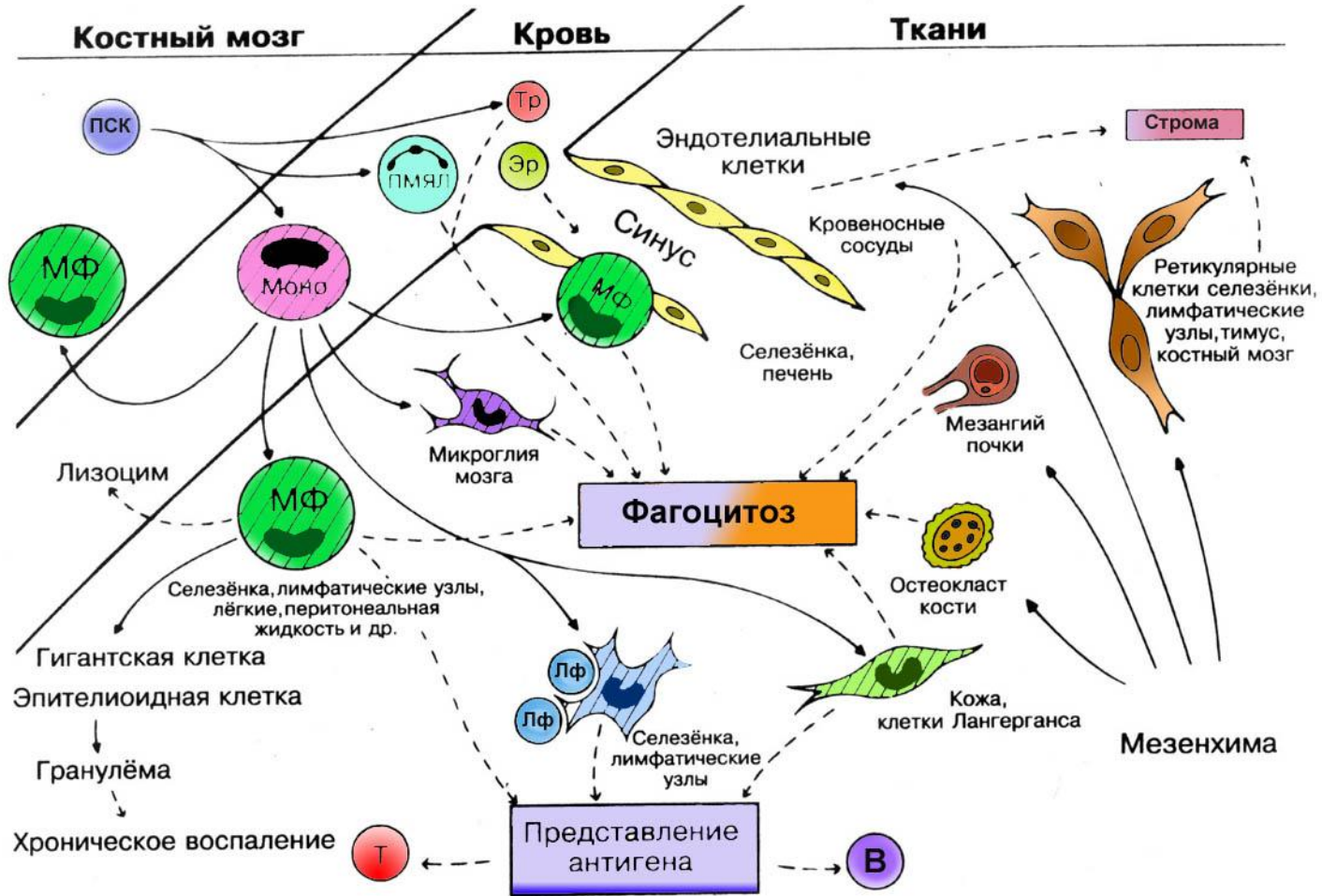
Phagocytosis

## Inducible Antimicrobial activity

*A. Paillot*

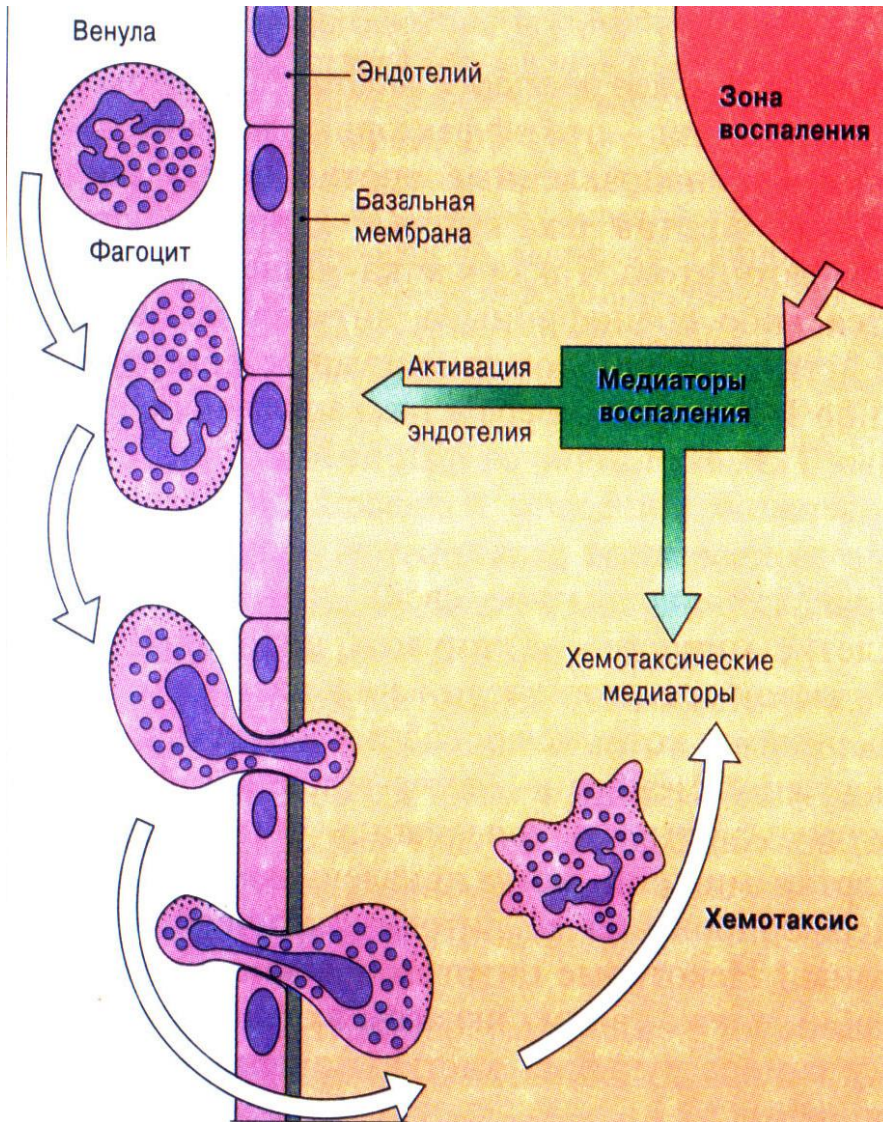


# Фагоцитарные клетки. Система мононуклеарных фагоцитов





# 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

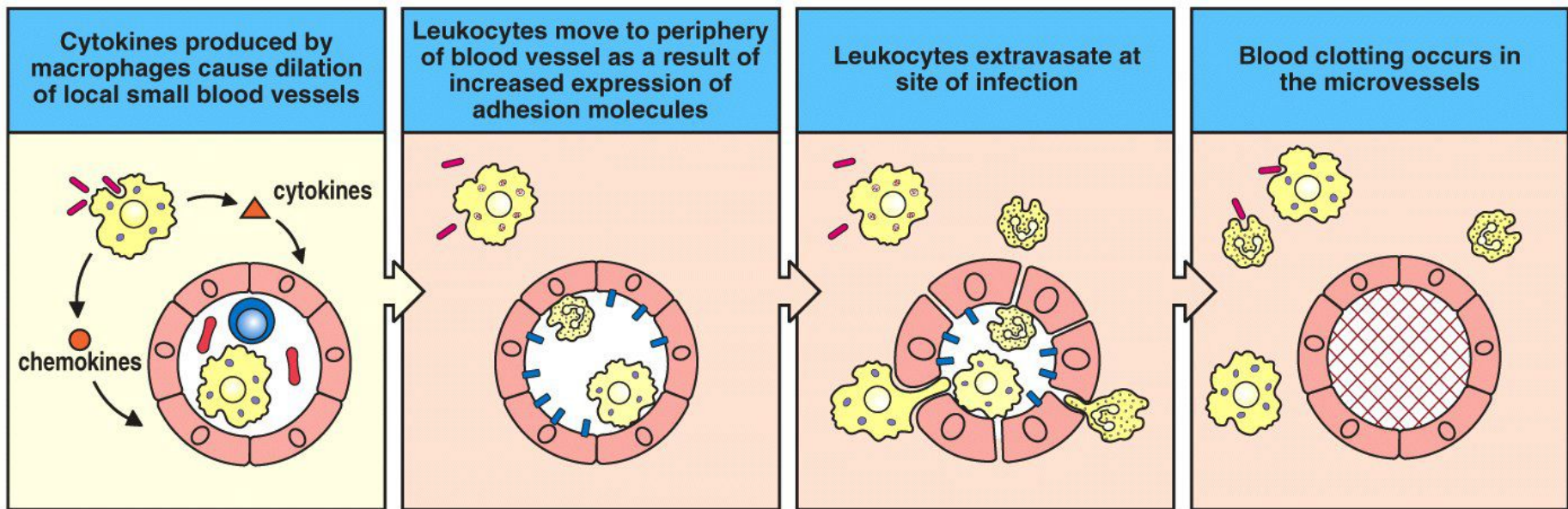
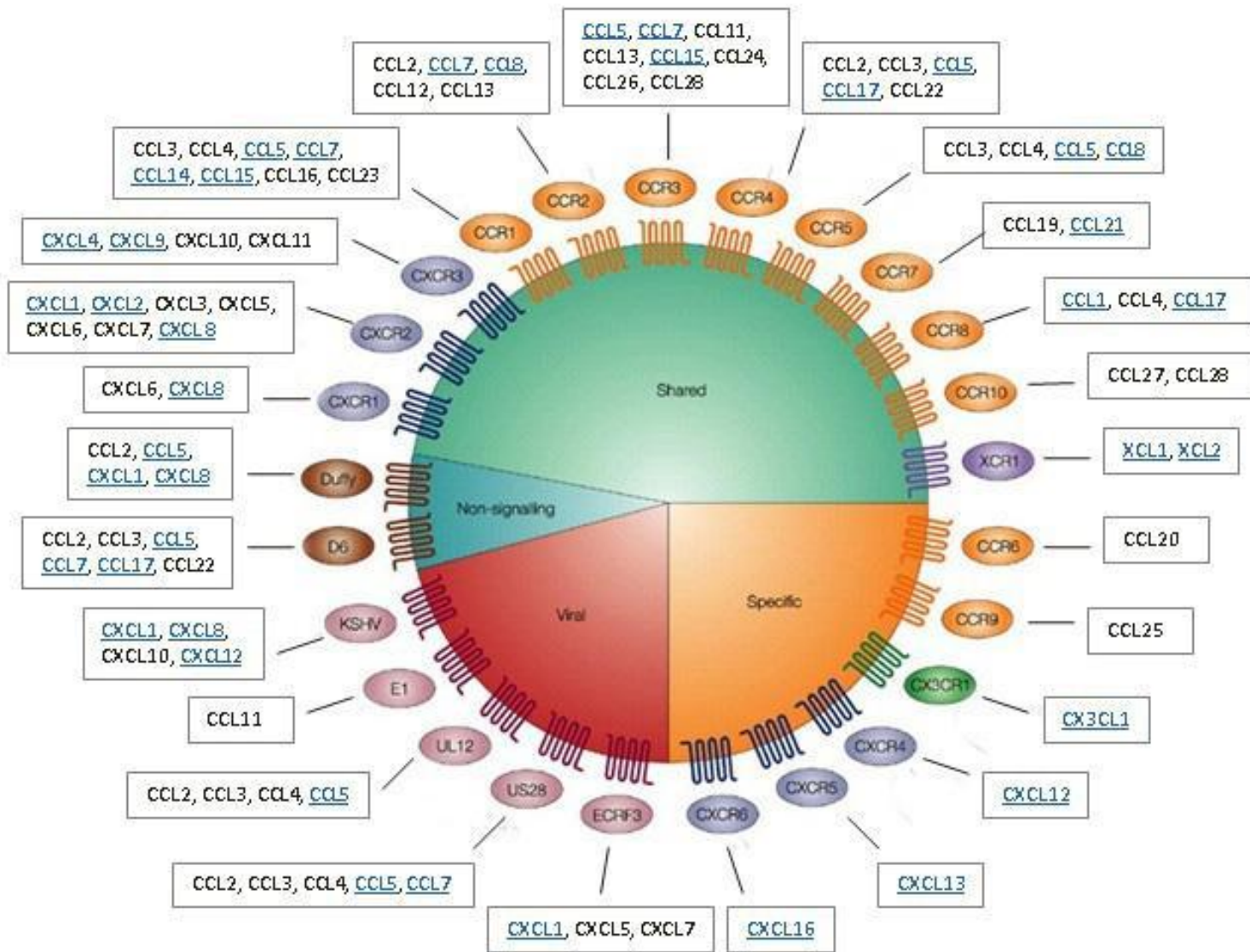


Figure 2-8 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



# Хемокины





# Хемотаксис

Хемотаксис

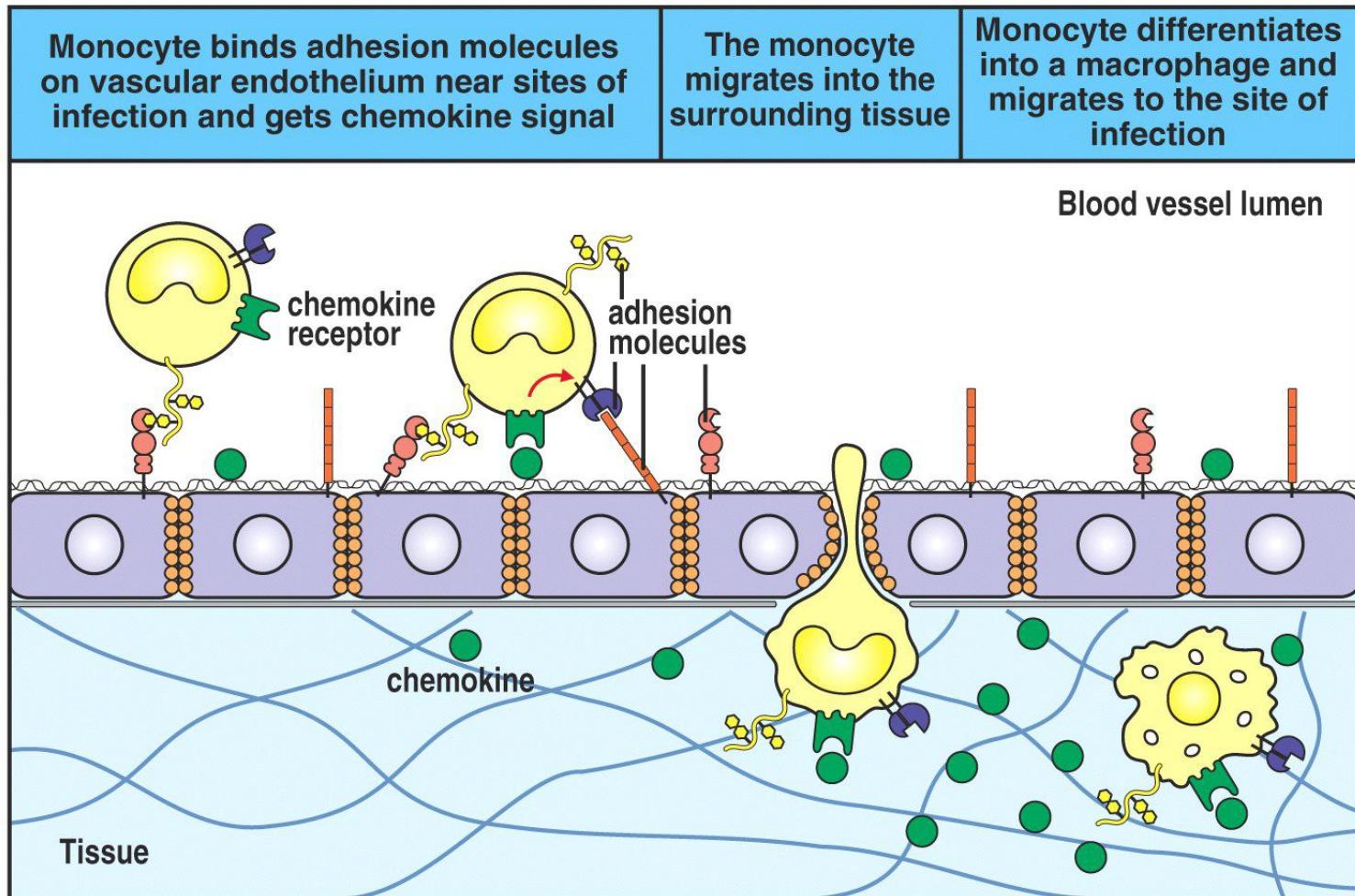
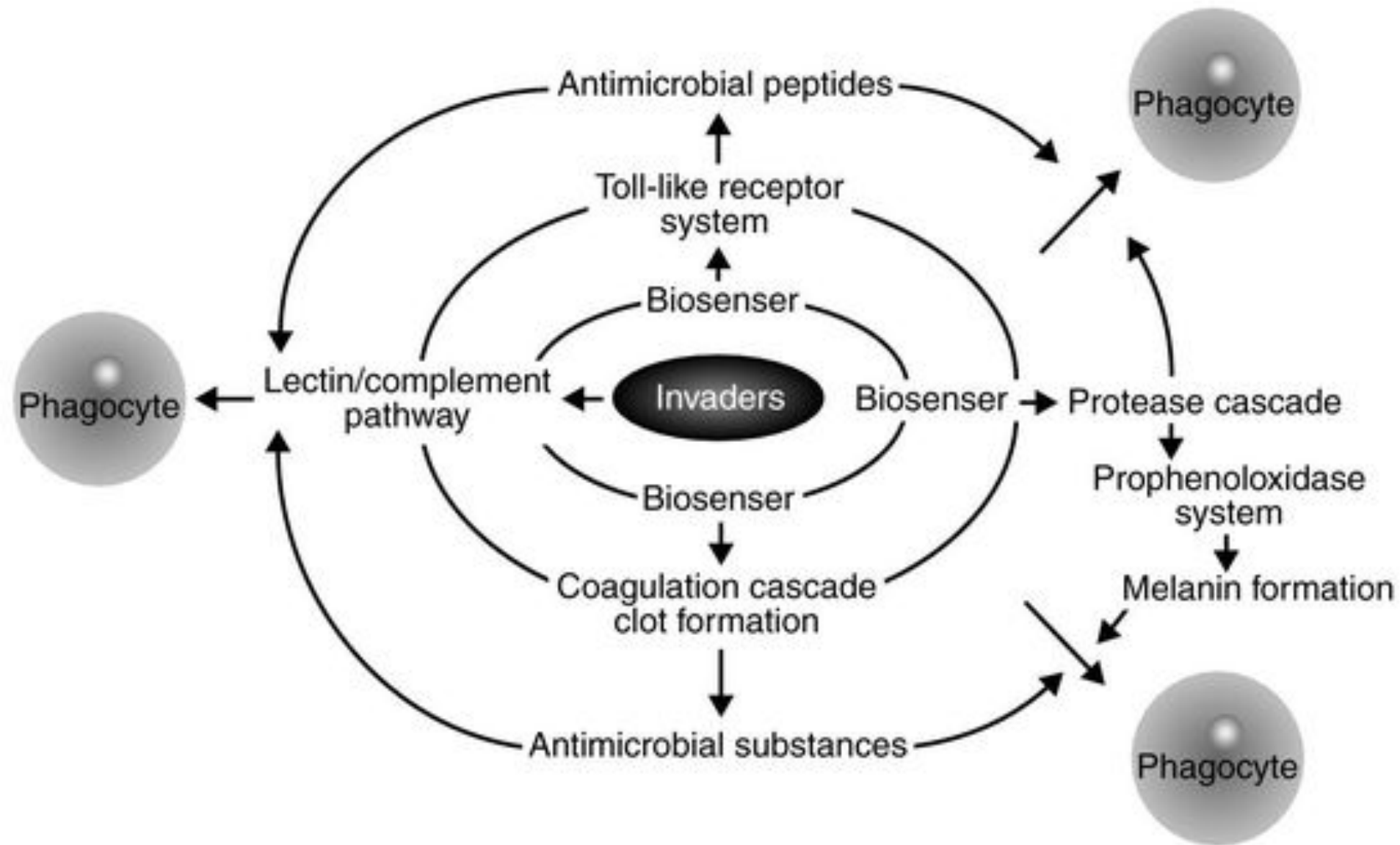
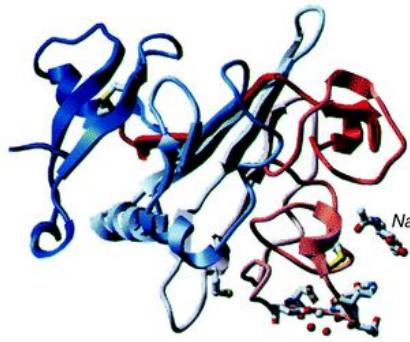


Figure 2-9 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

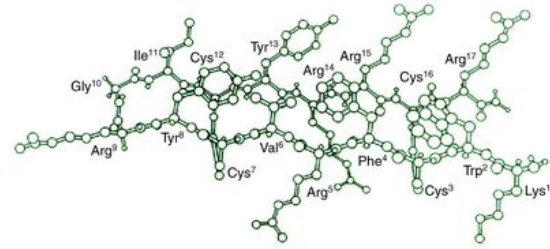
# Фагоцитоз

φαγοκύττωσις

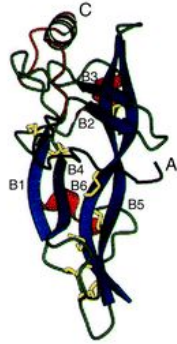




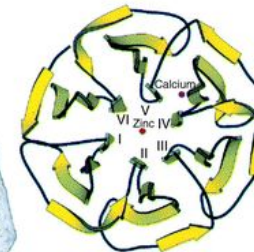
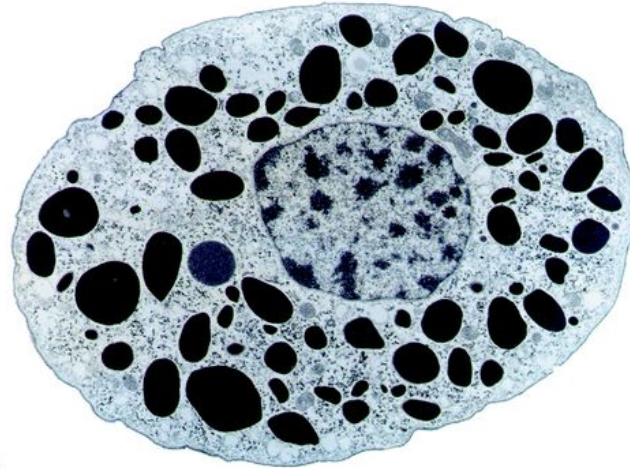
Tachylectin 5A



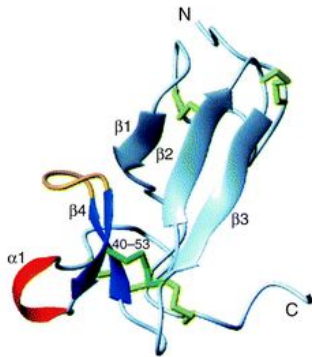
Tachyplepsin



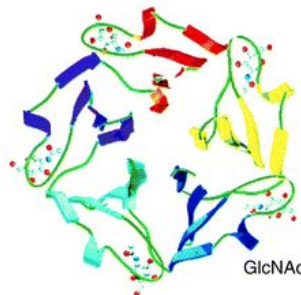
Coagulogen



Tachylectin 1

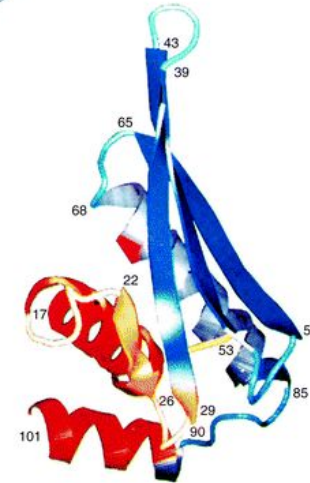


Tachycitin



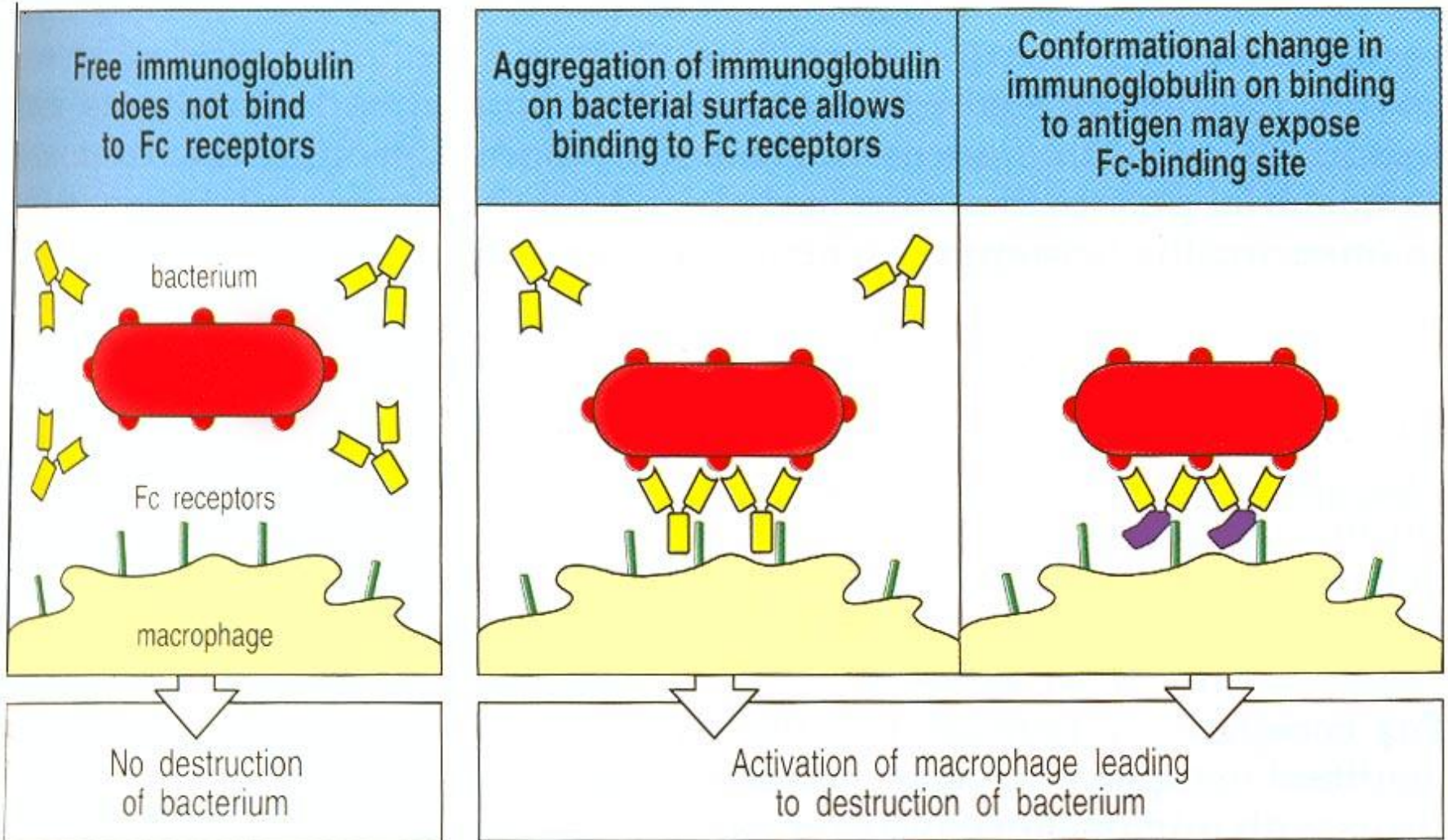
Tachylectin 2

2 μm

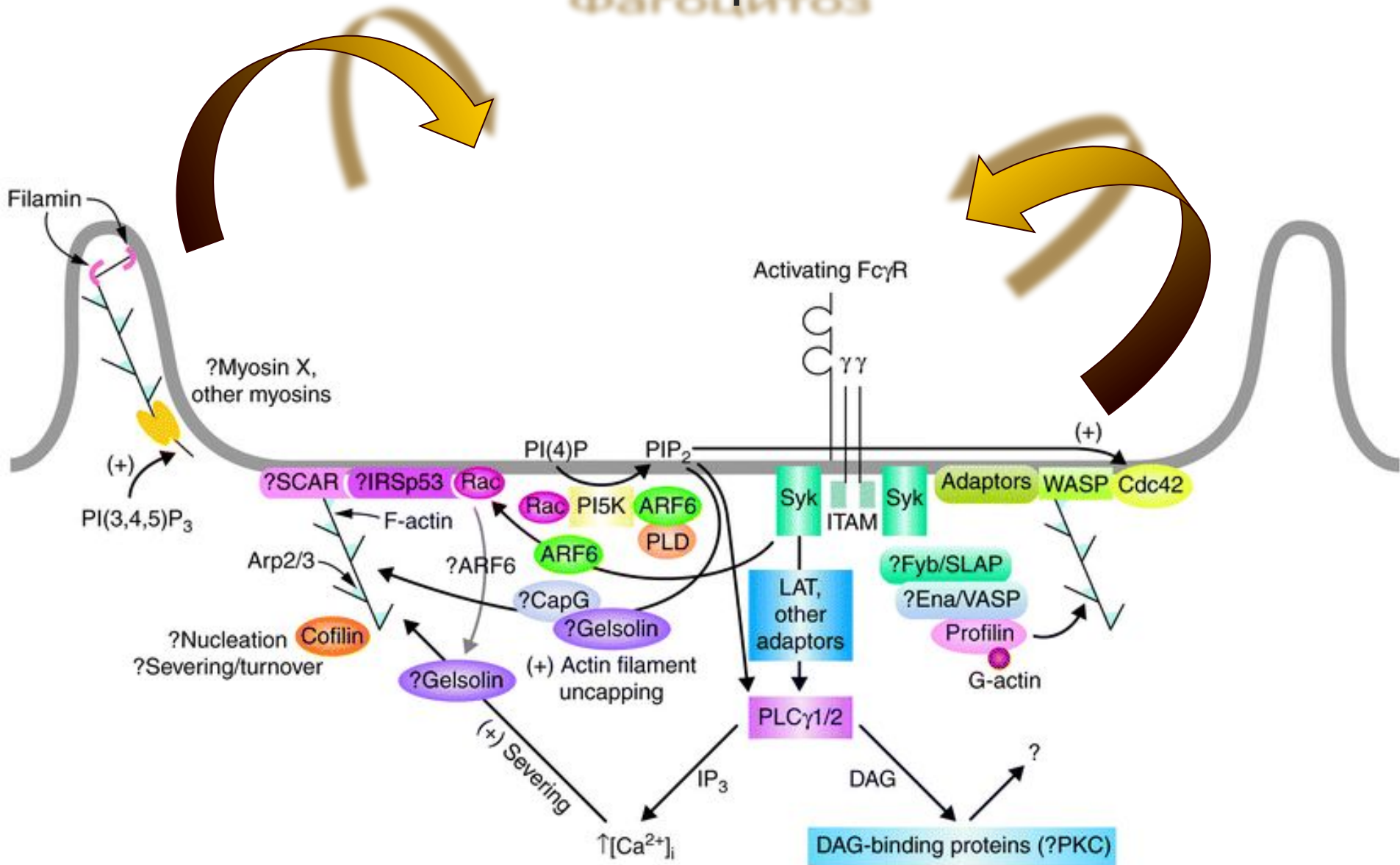


Anti-LPS factor





# Фагоцитоз

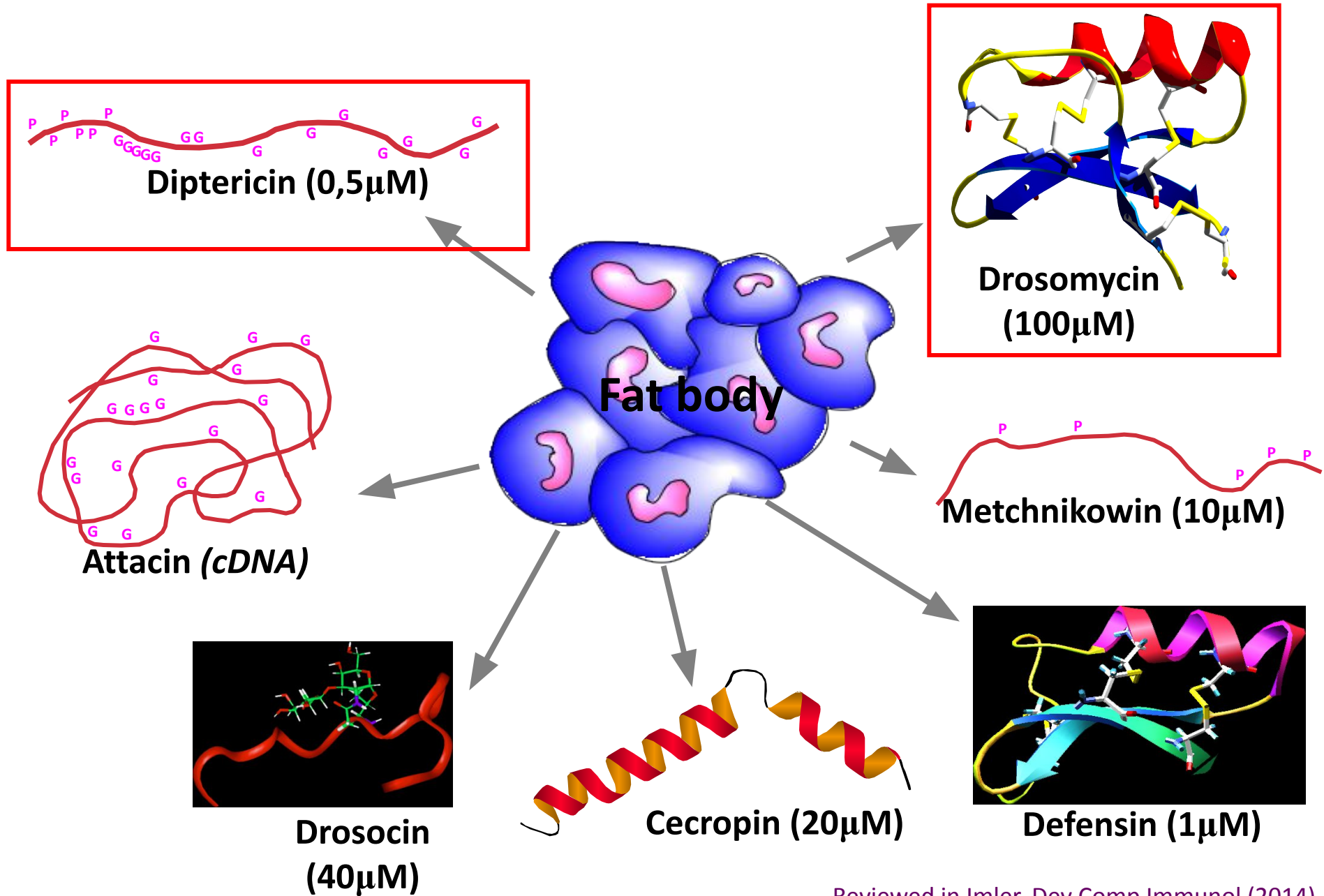


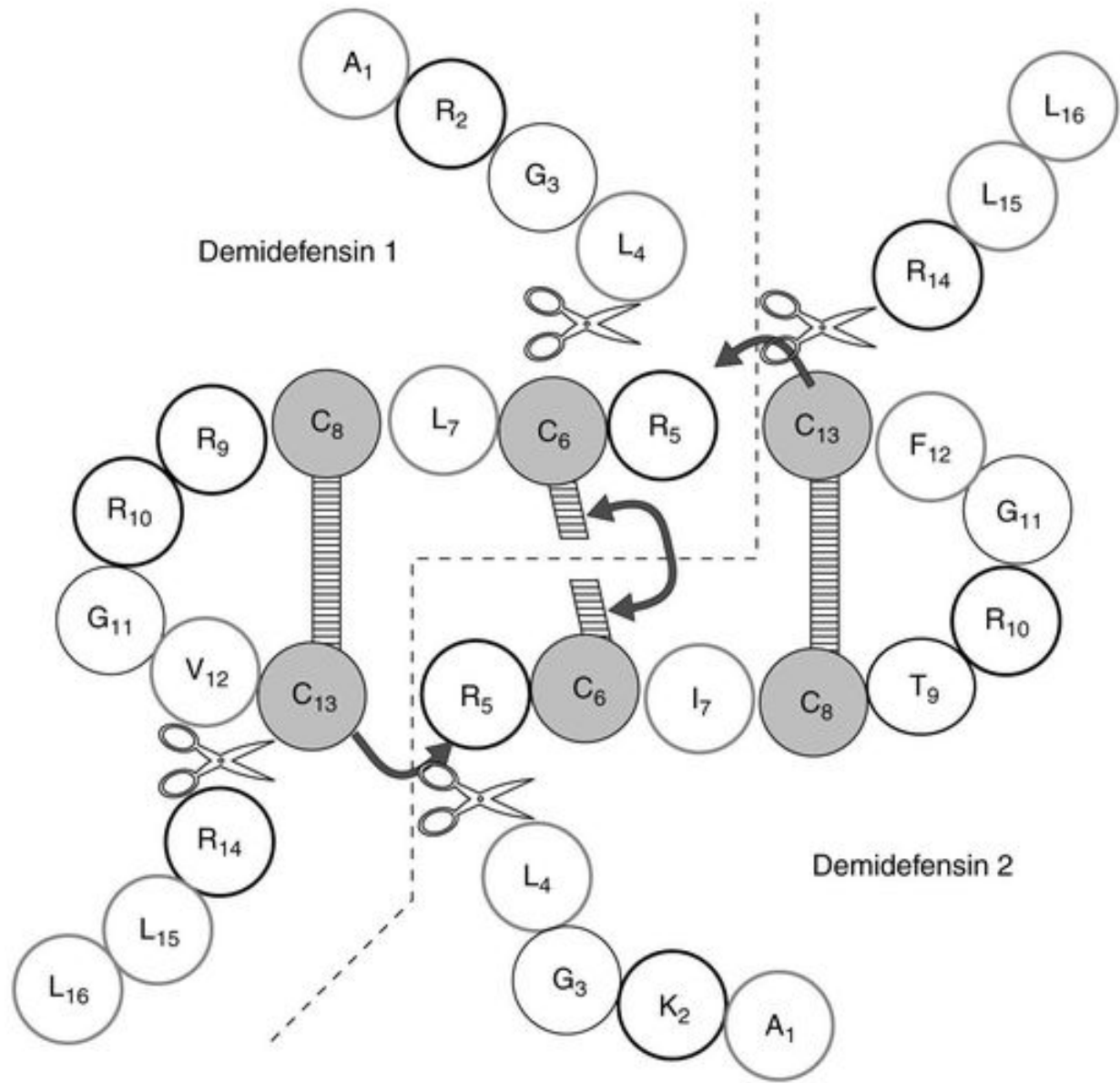
# Jules Hoffmann





# Systemic antimicrobial immunity in drosophila



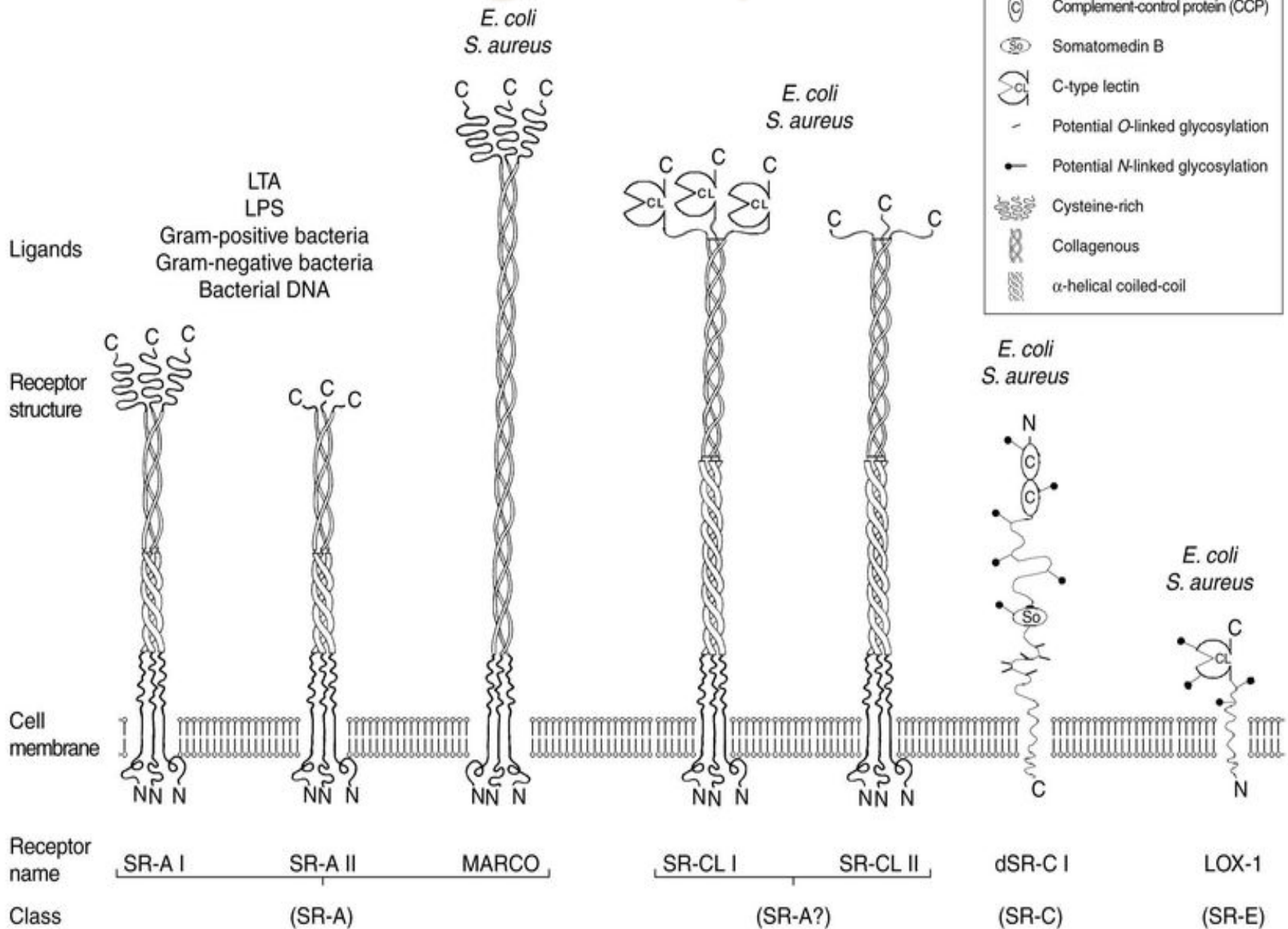


Receptor characteristic	Innate immunity	Adaptive immunity
Specificity inherited in the genome	Yes	No
Expressed by all cells of a particular type (eg, macrophages)	Yes	No
Triggers immediate response	Yes	No
Recognizes broad classes of pathogen	Yes	No
Interacts with a range of molecular structures of a 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

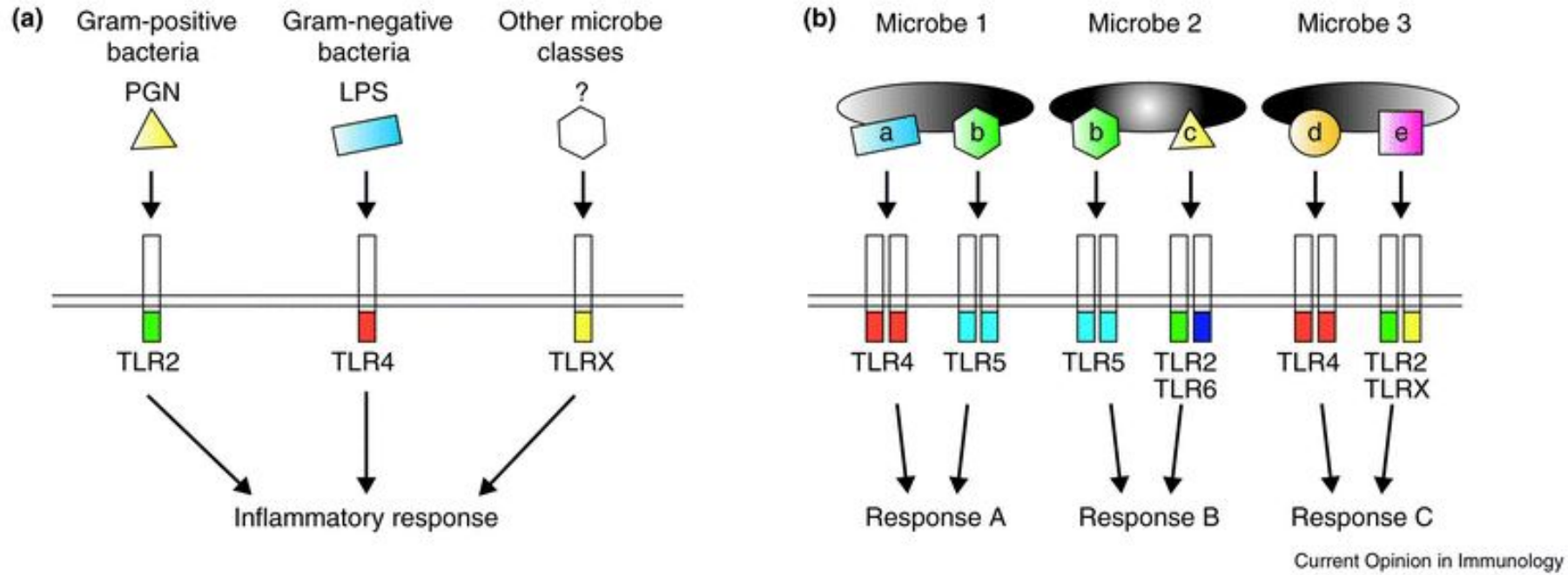
Figure 2-10 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

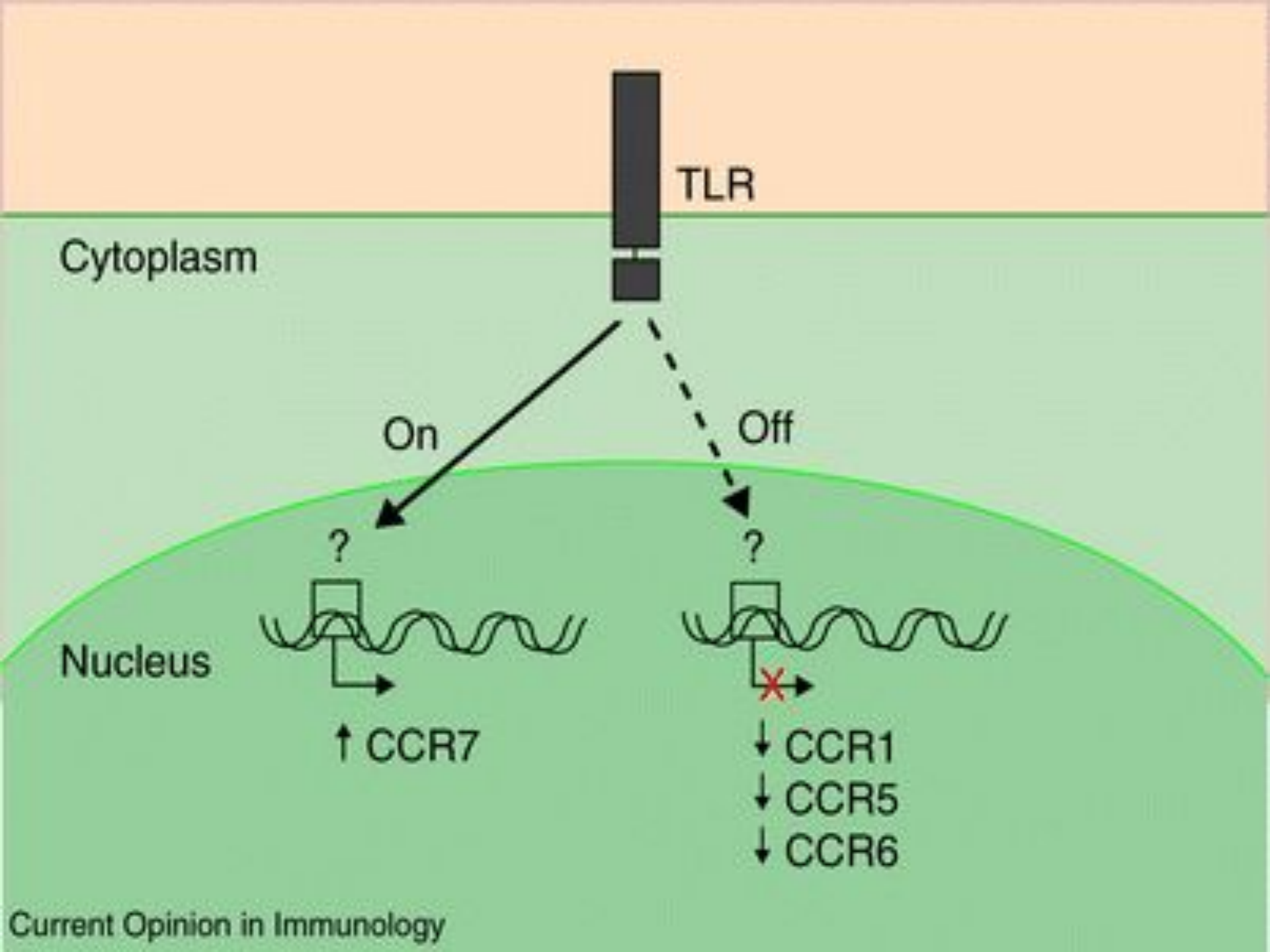


# "Scavenger Receptors"



# Система TLR





TLR

Cytoplasm

On

Off

?

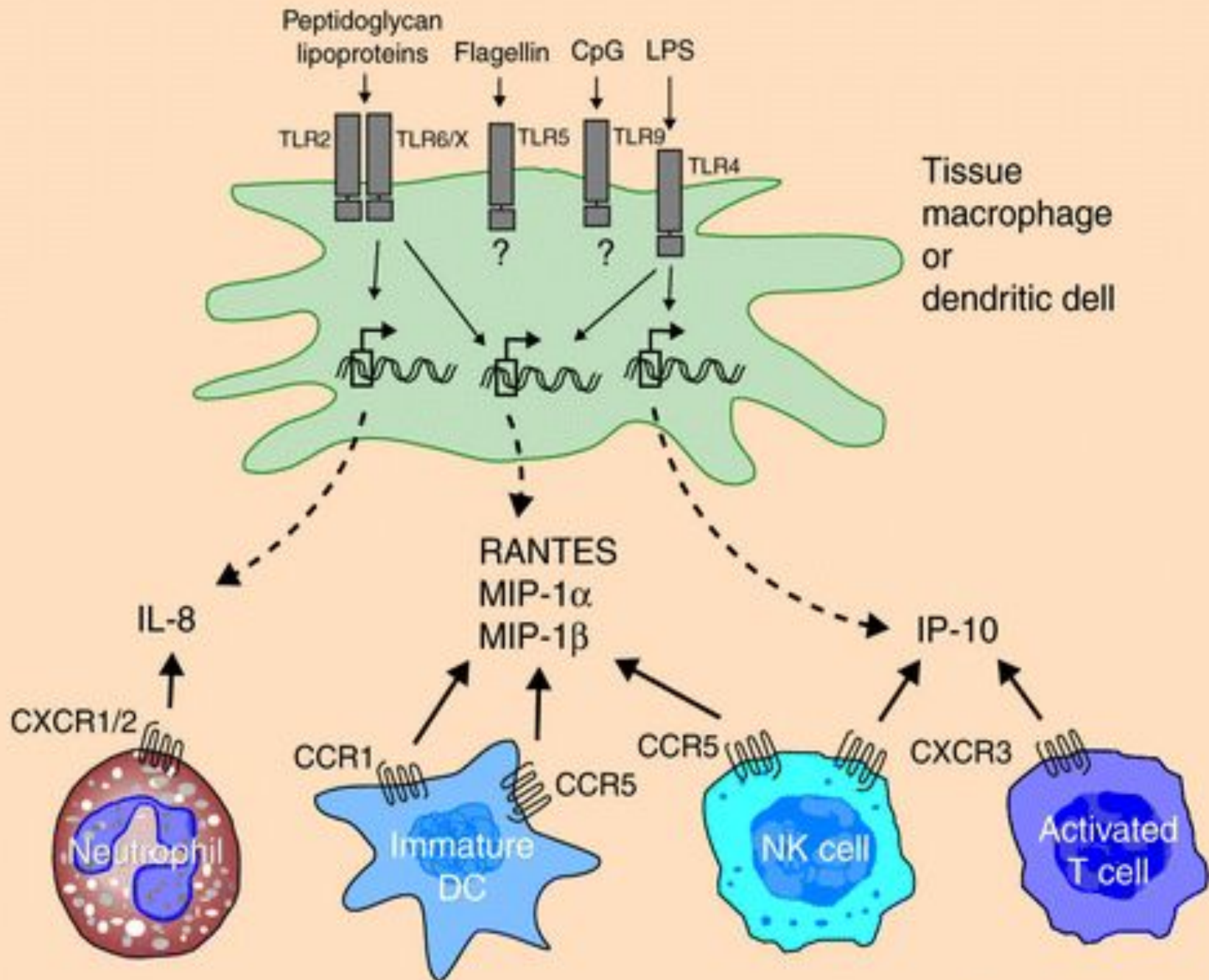
?

Nucleus

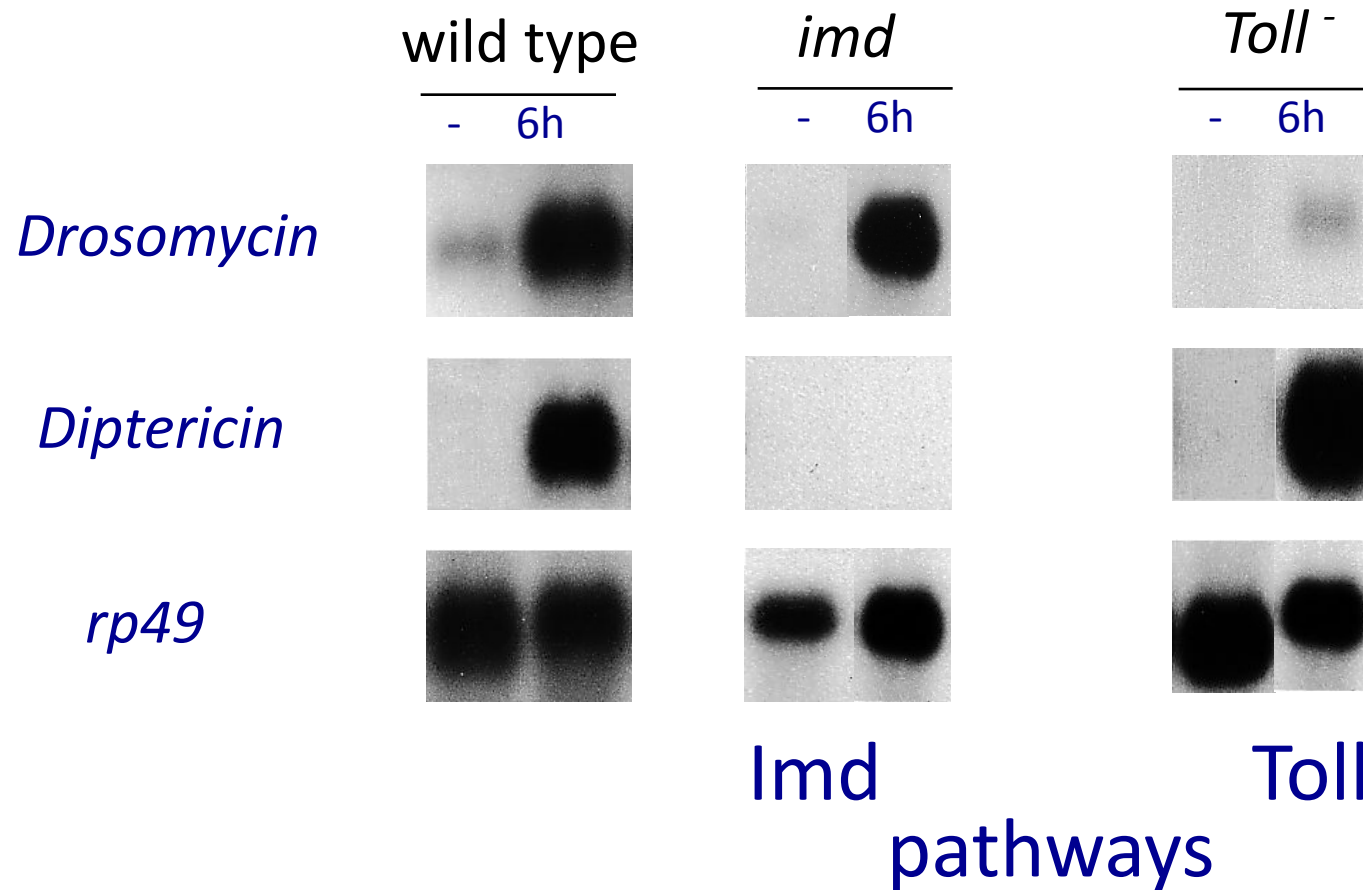
↑ CCR7

↓ CCR1  
↓ CCR5  
↓ CCR6



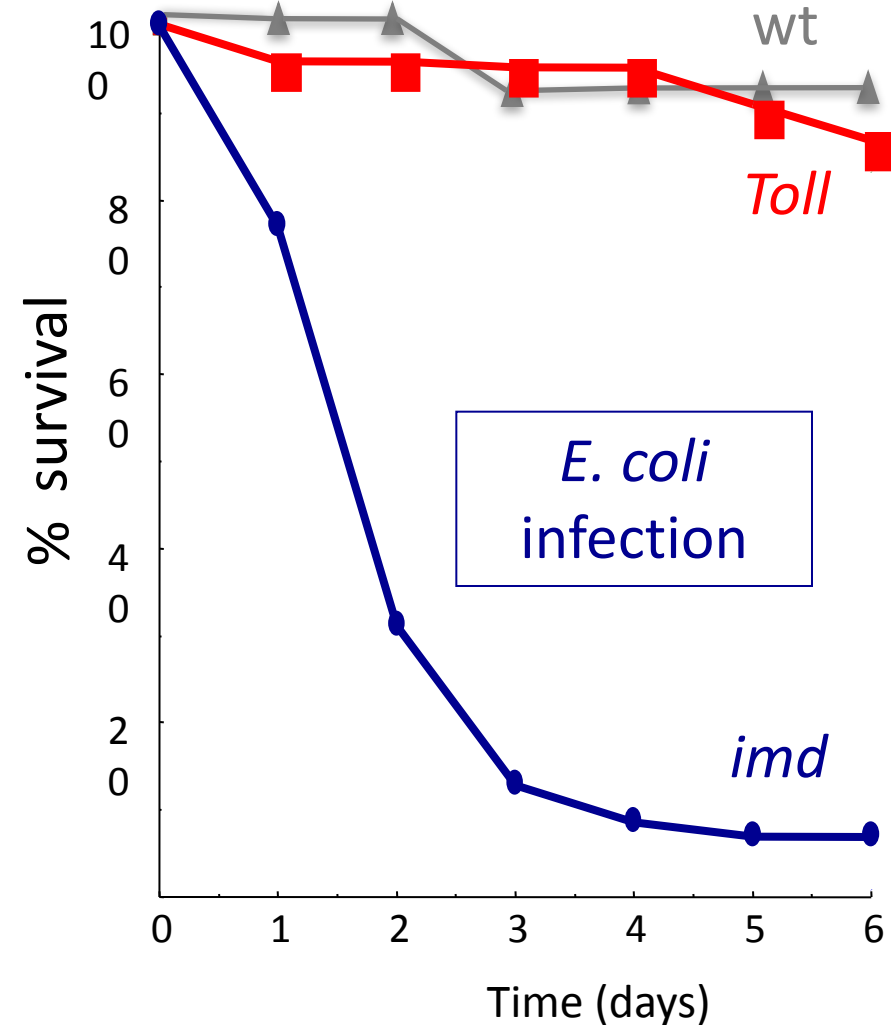
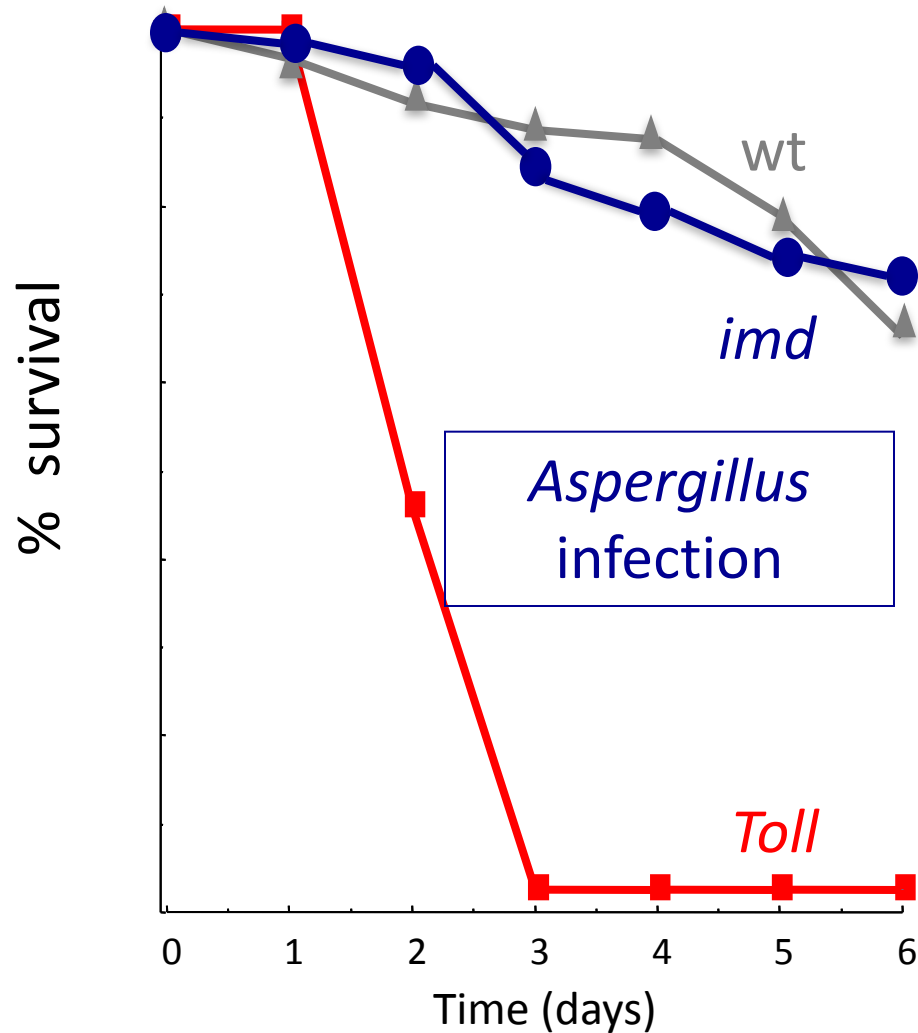


# The *Toll* pathway is involved in the control of drosomycin but not diptericin expression



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

# *imd* and *Toll* mutants are immunocompromised



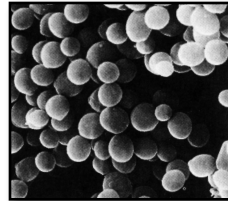


# How is infection sensed in insects?

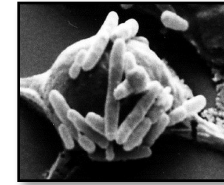


Fungi

Yeast



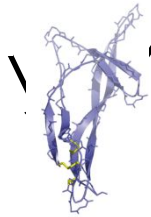
Gram positive  
bacteria



Gram negative  
bacteria

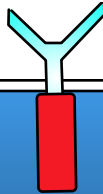
?

?



Spz

Toll

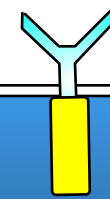


Dif (NF- $\kappa$ B)



*Drosomycin*

?



Toll-2?

IMD (RIP)



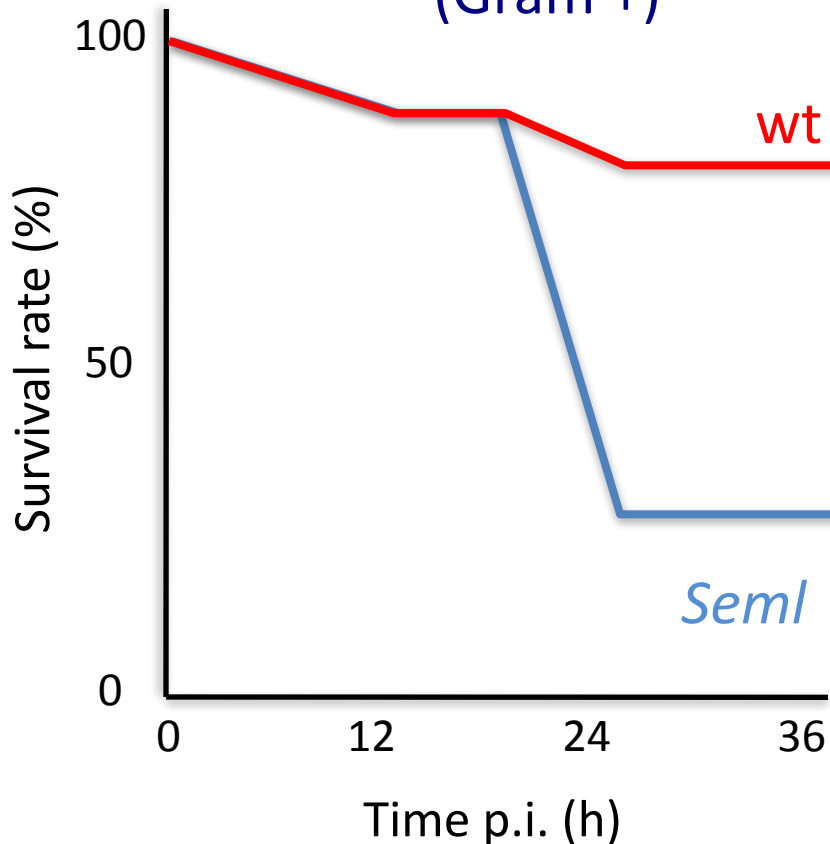
Relish (NF- $\kappa$ B)



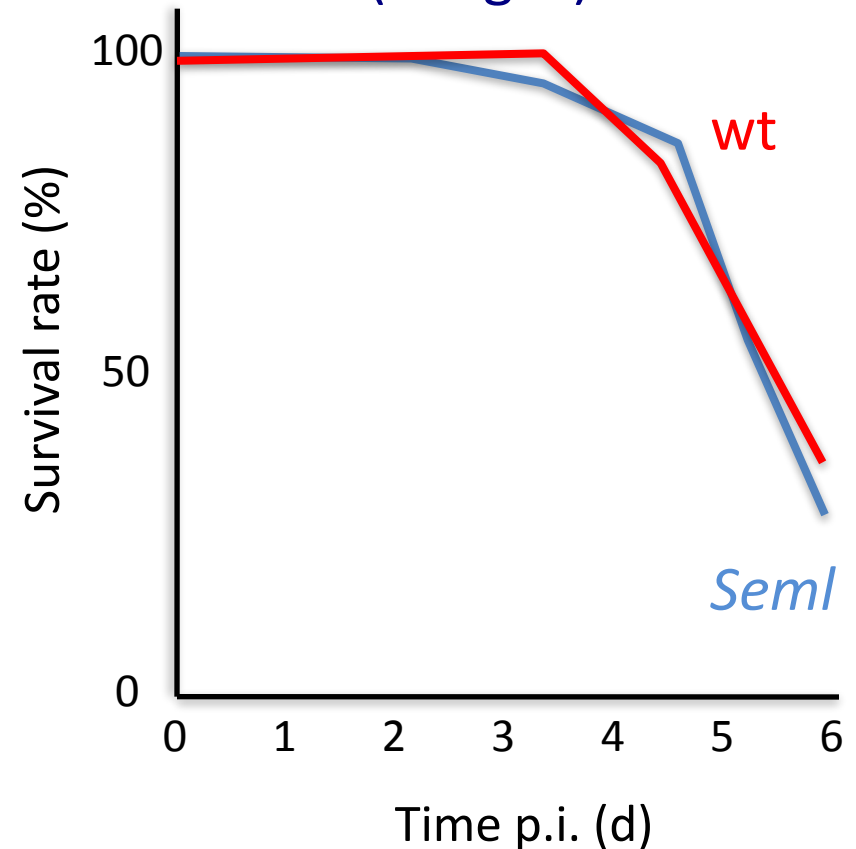
*Diptericin*

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

*Streptococcus faecalis*  
(Gram +)

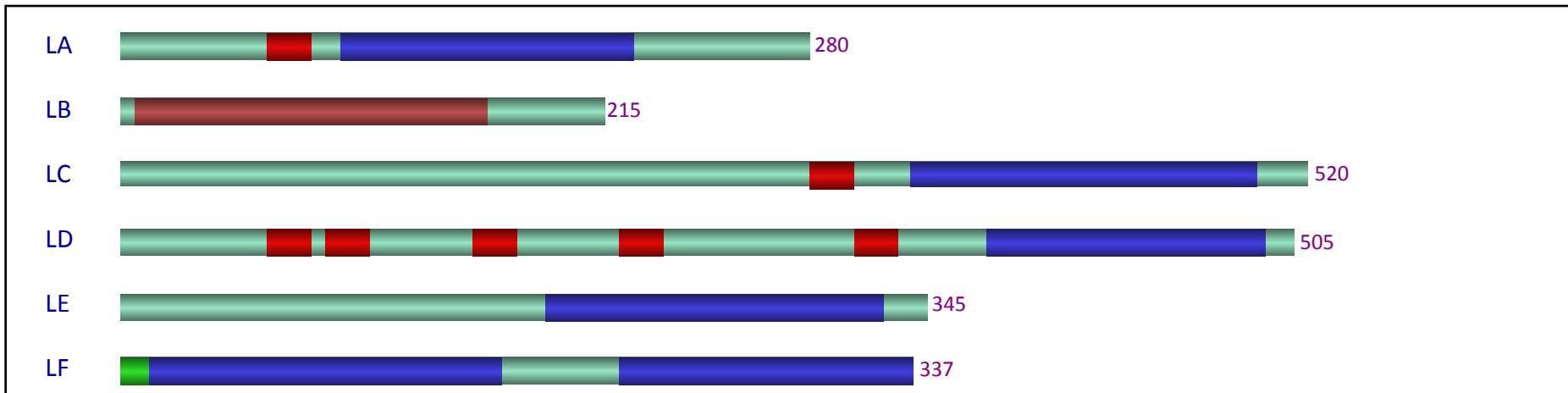
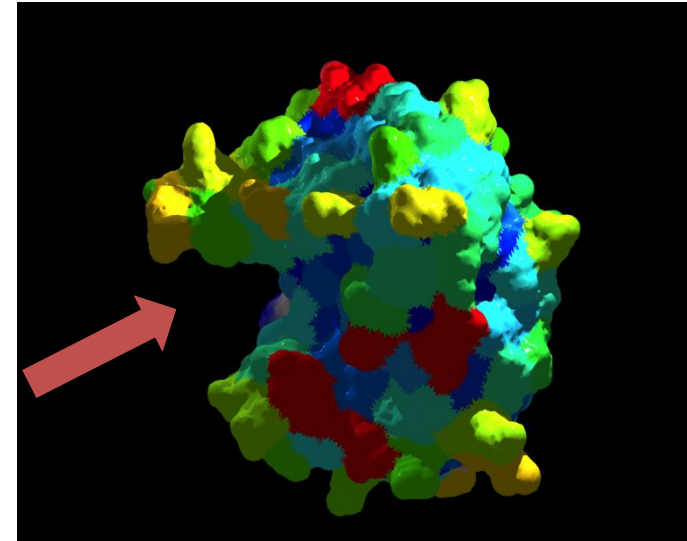
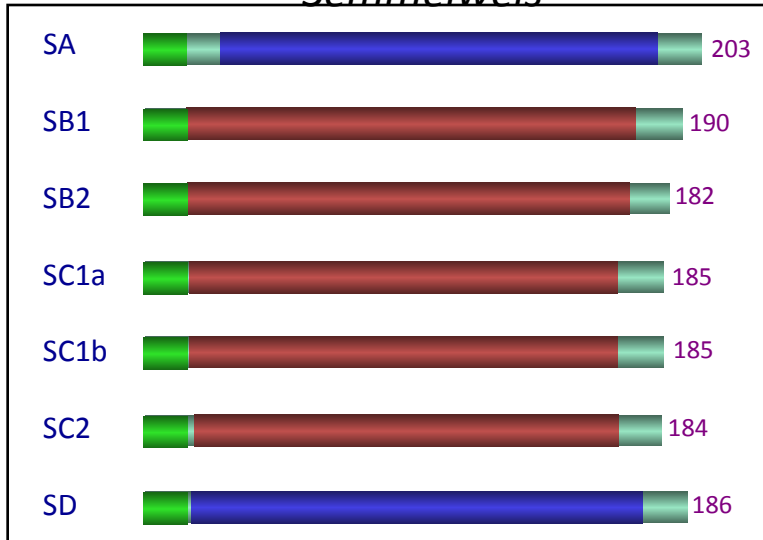


*Beauveria bassiana*  
(Fungus)



# The Peptidoglycan Recognition Protein (PGRP) family (drosophila)

*Semmelweis*



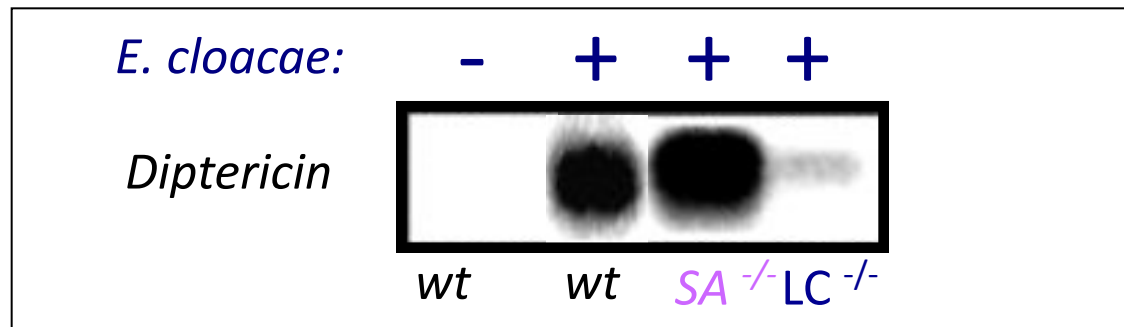
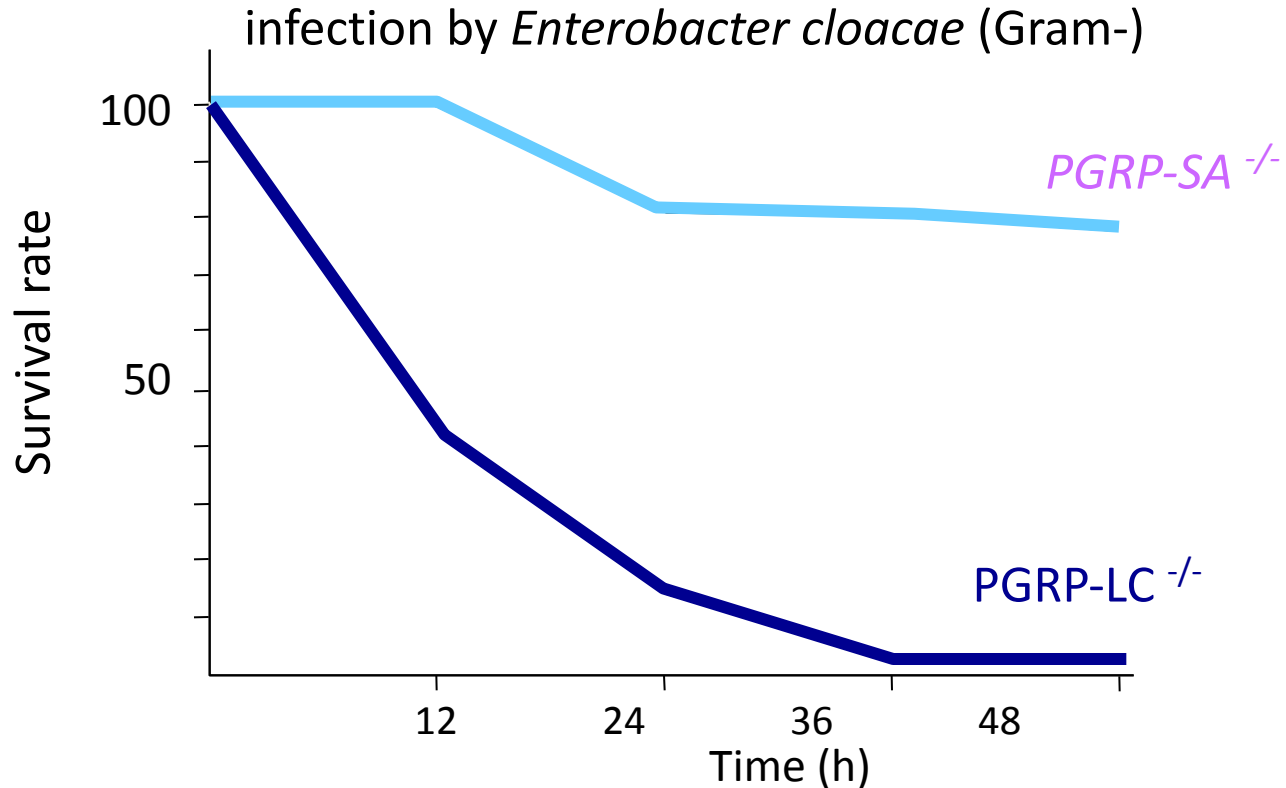
Signal peptide

Transmembrane domain

PGRP domain with/without amidase activity

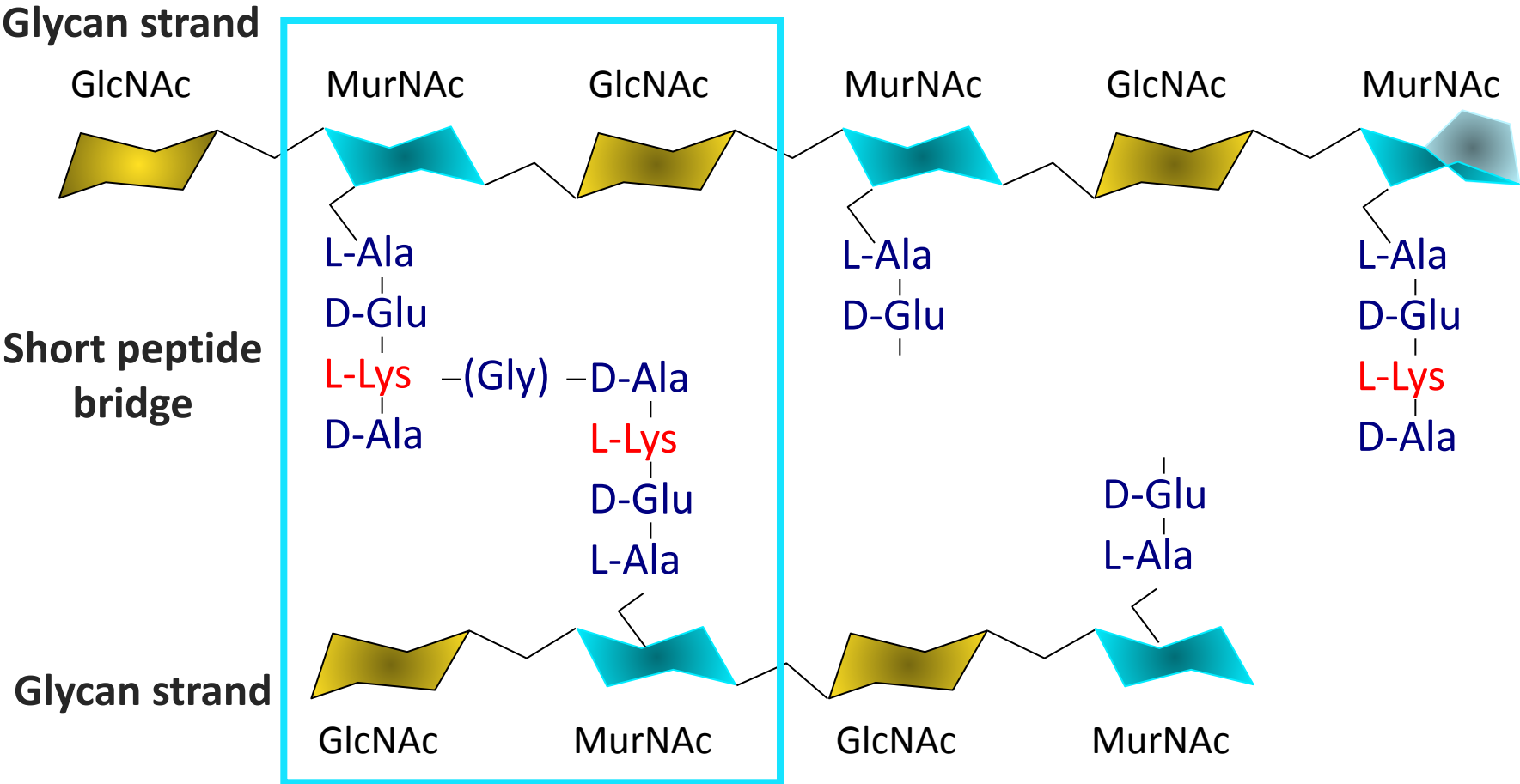


# Sensing Gram-negative infections in *Drosophila*



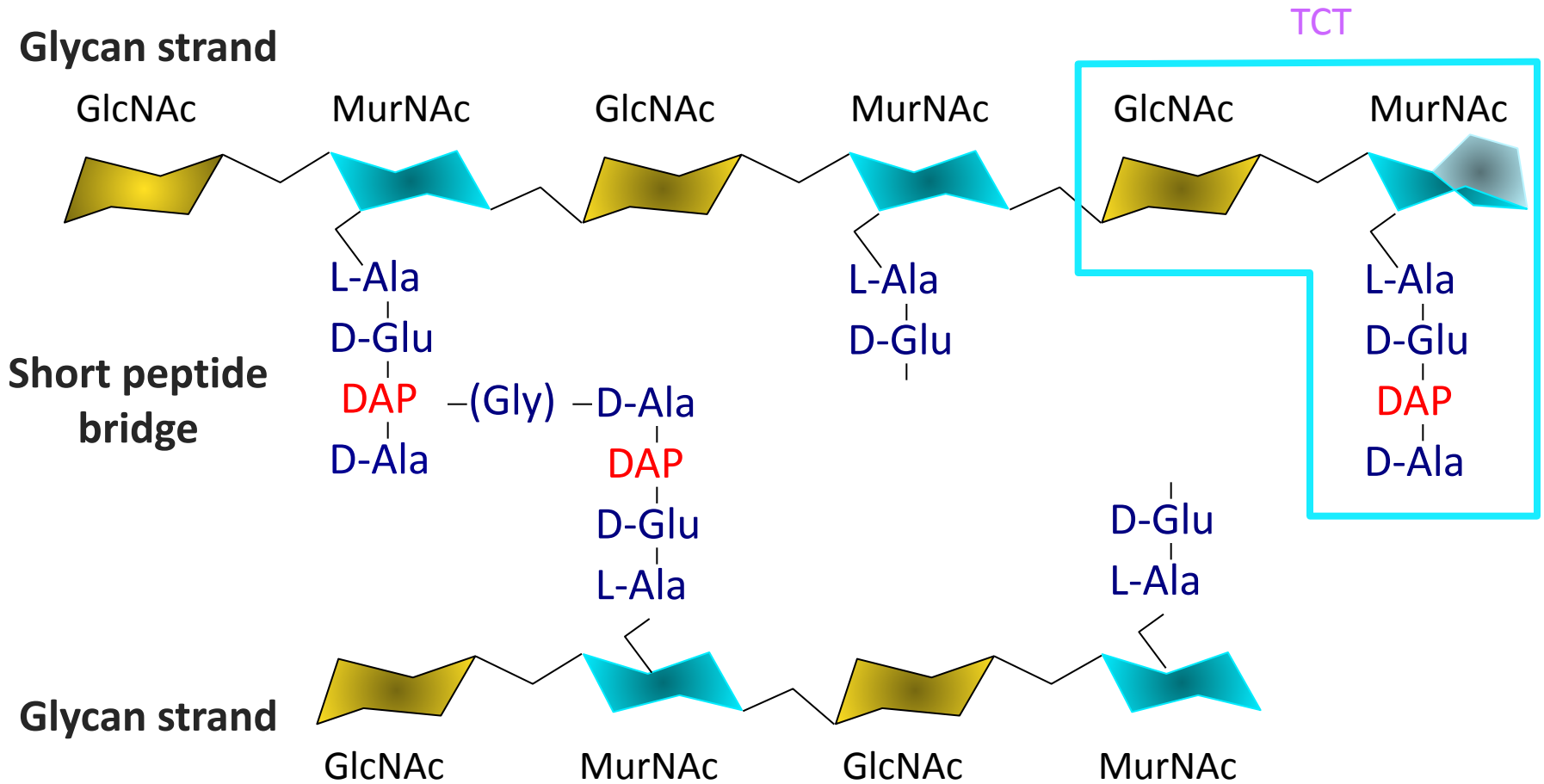
# Peptidoglycan structure

Lys-type  
(most Gram+)



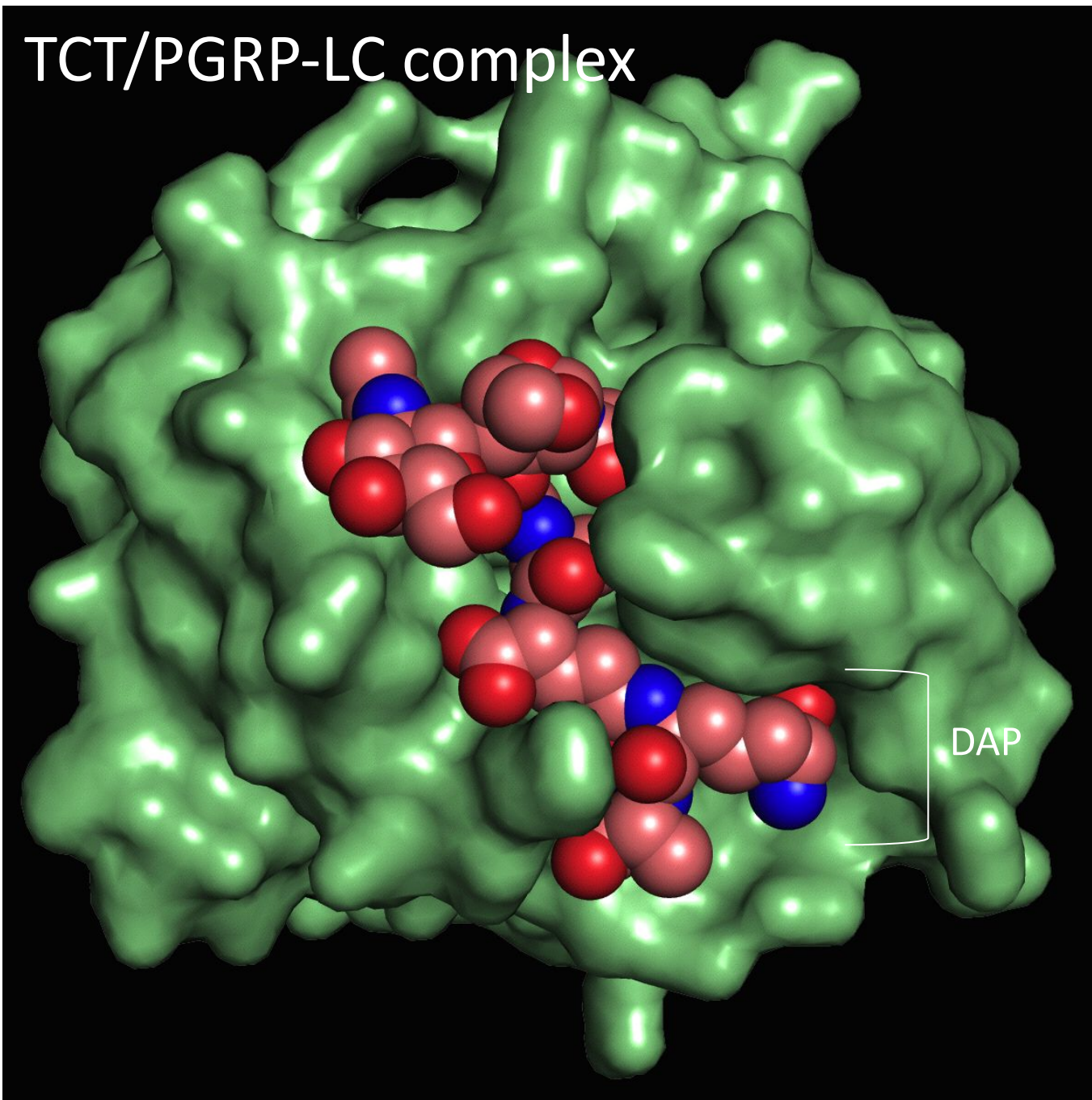
# Peptidoglycan structure

DAP-type  
(Gram-)



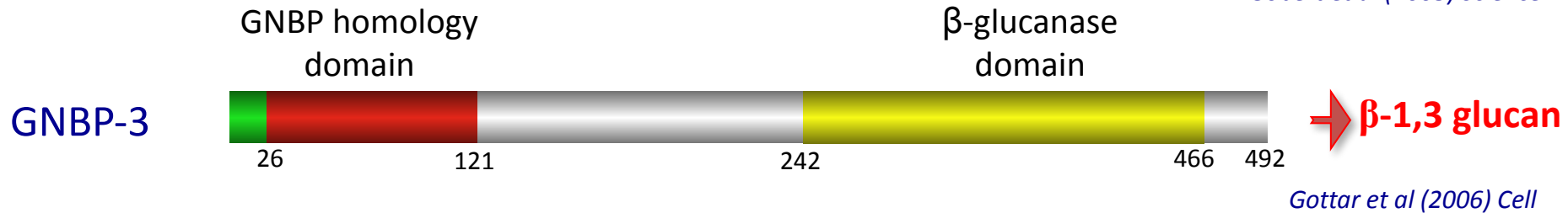
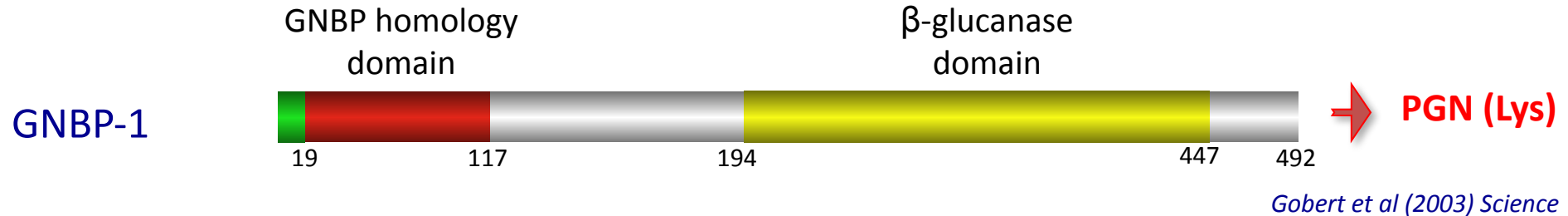
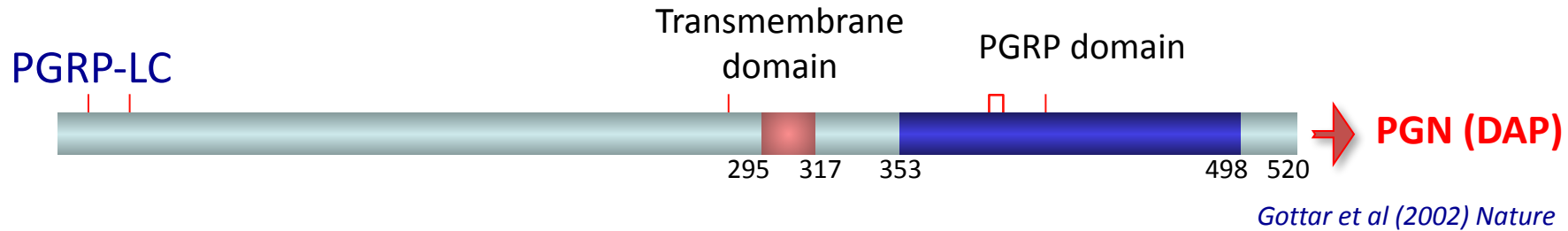
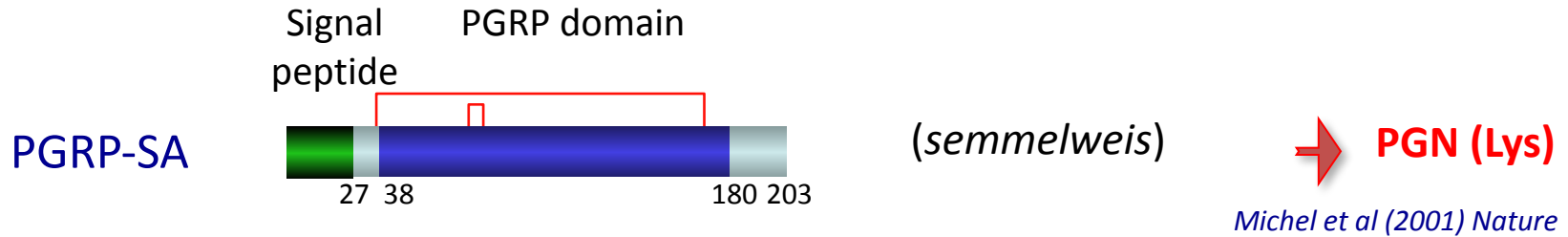


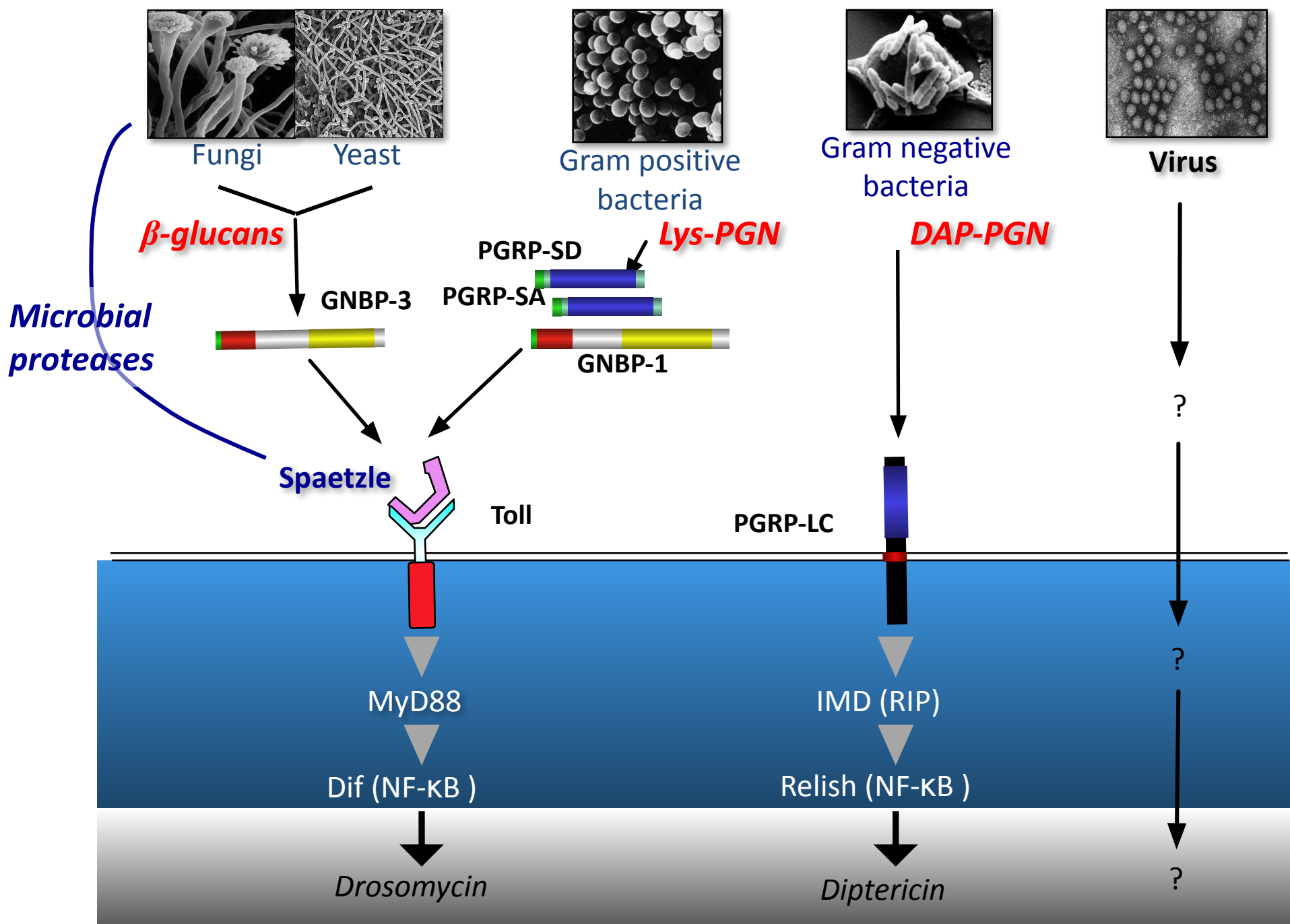
# TCT/PGRP-LC complex



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

# *Drosophila* recognition proteins for microbial structures







<b>1988</b>	<b>IL-1R1 is cloned.</b>
<b>1989</b>	Charles Janeway proposes the concept of pattern-recognition receptors.
<b>1990</b>	CD14 and LPS-binding protein are identified as components of the LPS receptor complex.
<b>1991</b>	Sequence similarity between Toll and IL-1R1 identified
<b>1993–1996</b>	Pathogen-specific immune signalling found to involve induction of antimicrobial peptides by members of the NF- $\kappa$ B family in <i>Drosophila melanogaster</i> .
<b>1994</b>	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.
<b>1996</b>	The Toll pathway is shown to regulate the antifungal response in <i>D. melanogaster</i> .
<b>1997</b>	The first human homologue of Toll receptor is cloned (hToll; later renamed TLR4). A role for MYD88 in IL-1 receptor signalling is identified.
<b>1998</b>	Four further human TLRs are identified. TLR4 is identified as the signalling receptor for LPS.
<b>1999</b>	LPS signalling is found to require MYD88. The requirement of MD2 for TLR4 responsiveness to LPS is identified.
<b>2000-2002</b>	Ligands for TLR2- heterodimeric complexes are identified Viral antagonists of TLRs are identified. TLR9 is characterized as the receptor for CpG-DNA.
<b>2001</b>	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.
<b>2002</b>	TRIF is discovered.
<b>2002-2009</b>	Endogenous ligands for TLRs are identified.
<b>2003</b>	TRAM is discovered.
<b>2004</b>	TLR7 and TLR8 are reported to recognize viral ssRNA.
<b>2006</b>	The first function for mammalian SARM1 (a regulator of TRIF) is reported.
<b>2007-2009</b>	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)

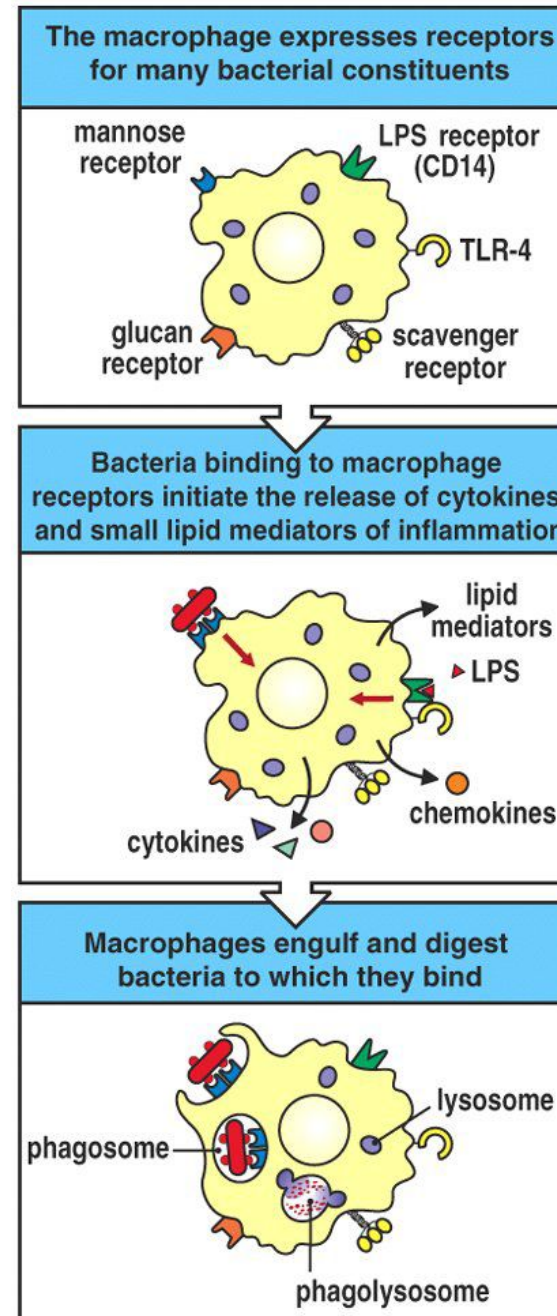
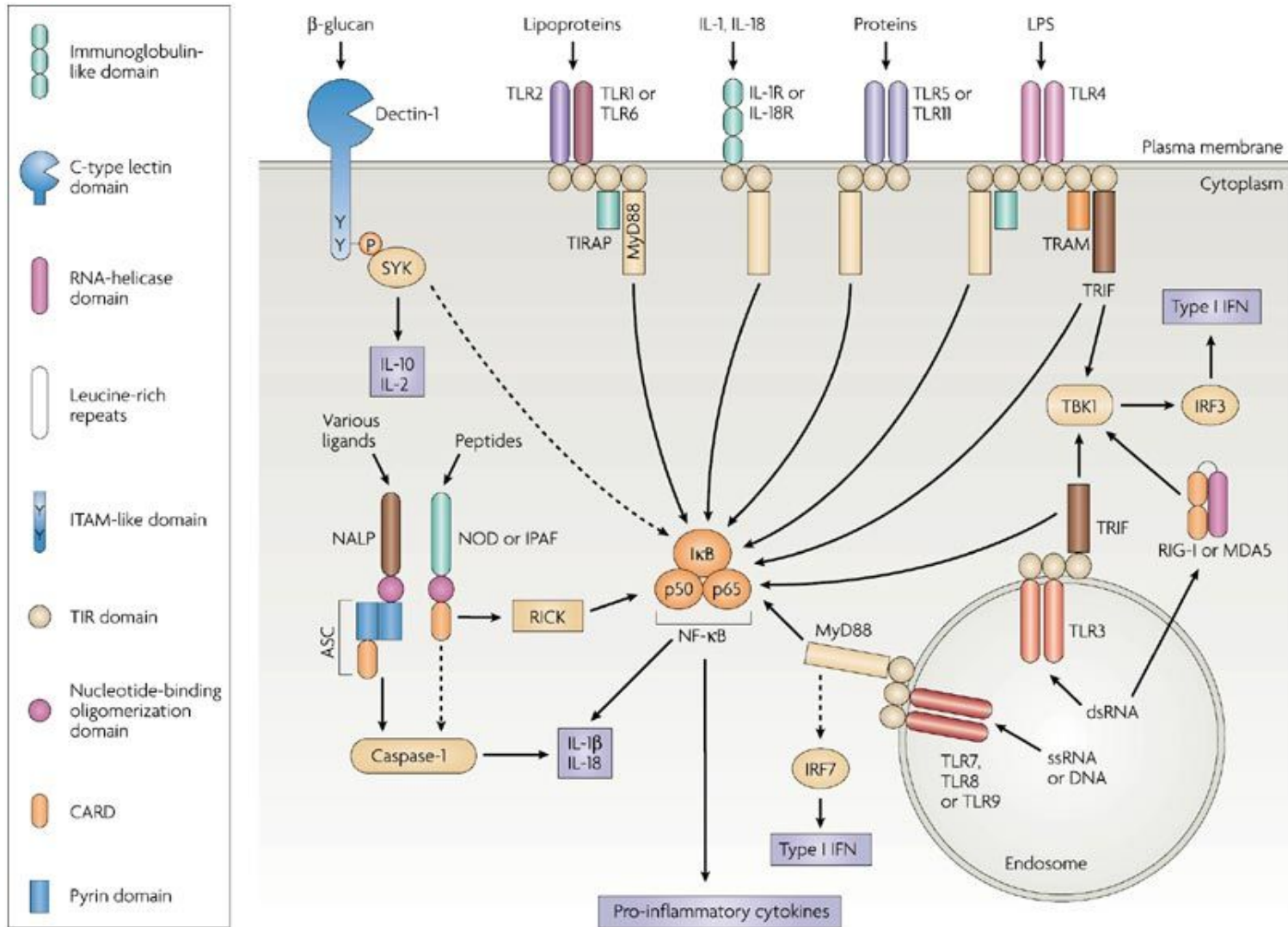


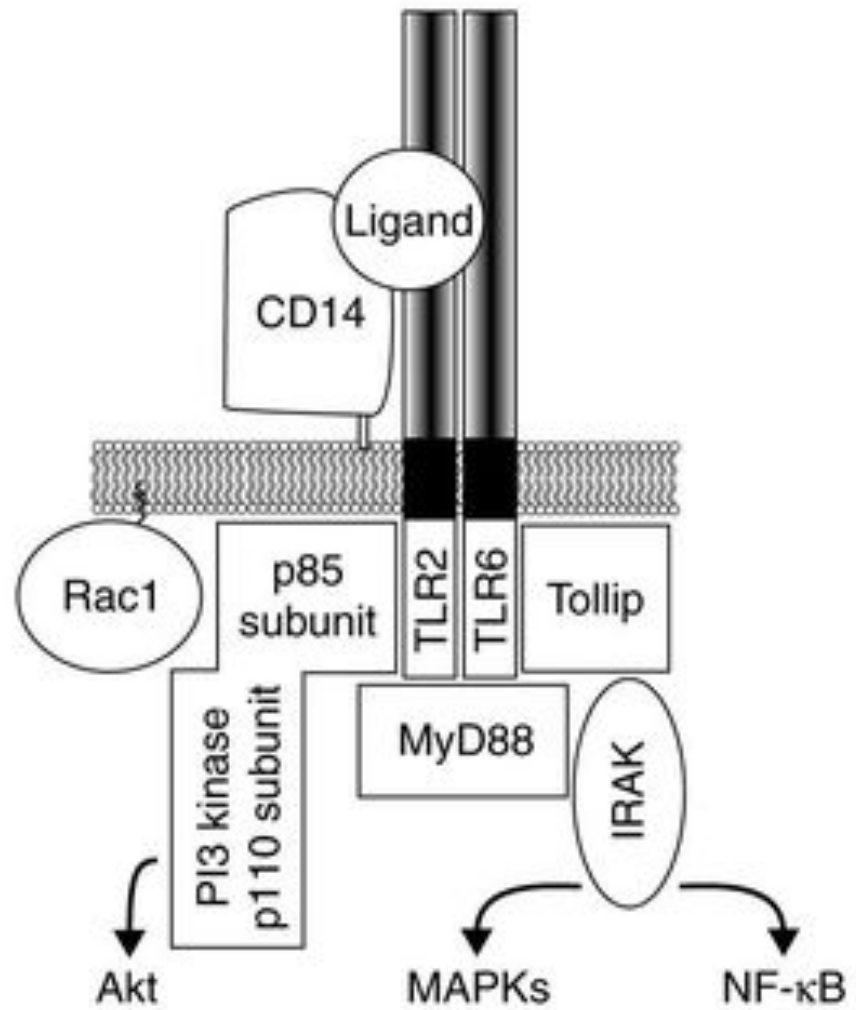
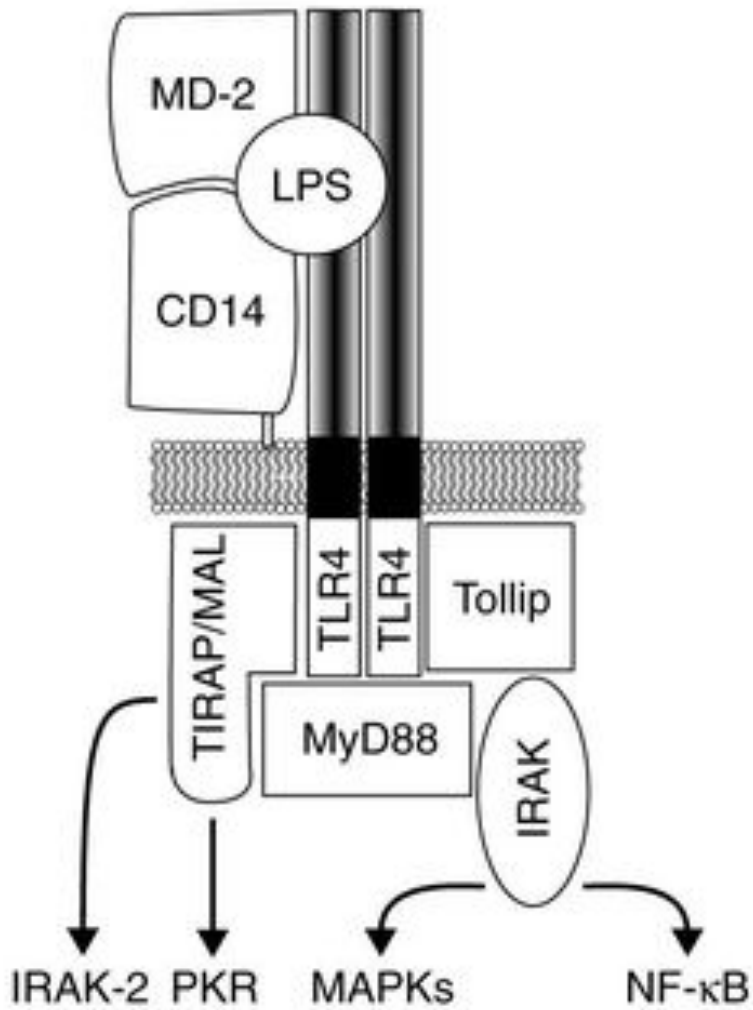
Figure 2-5 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

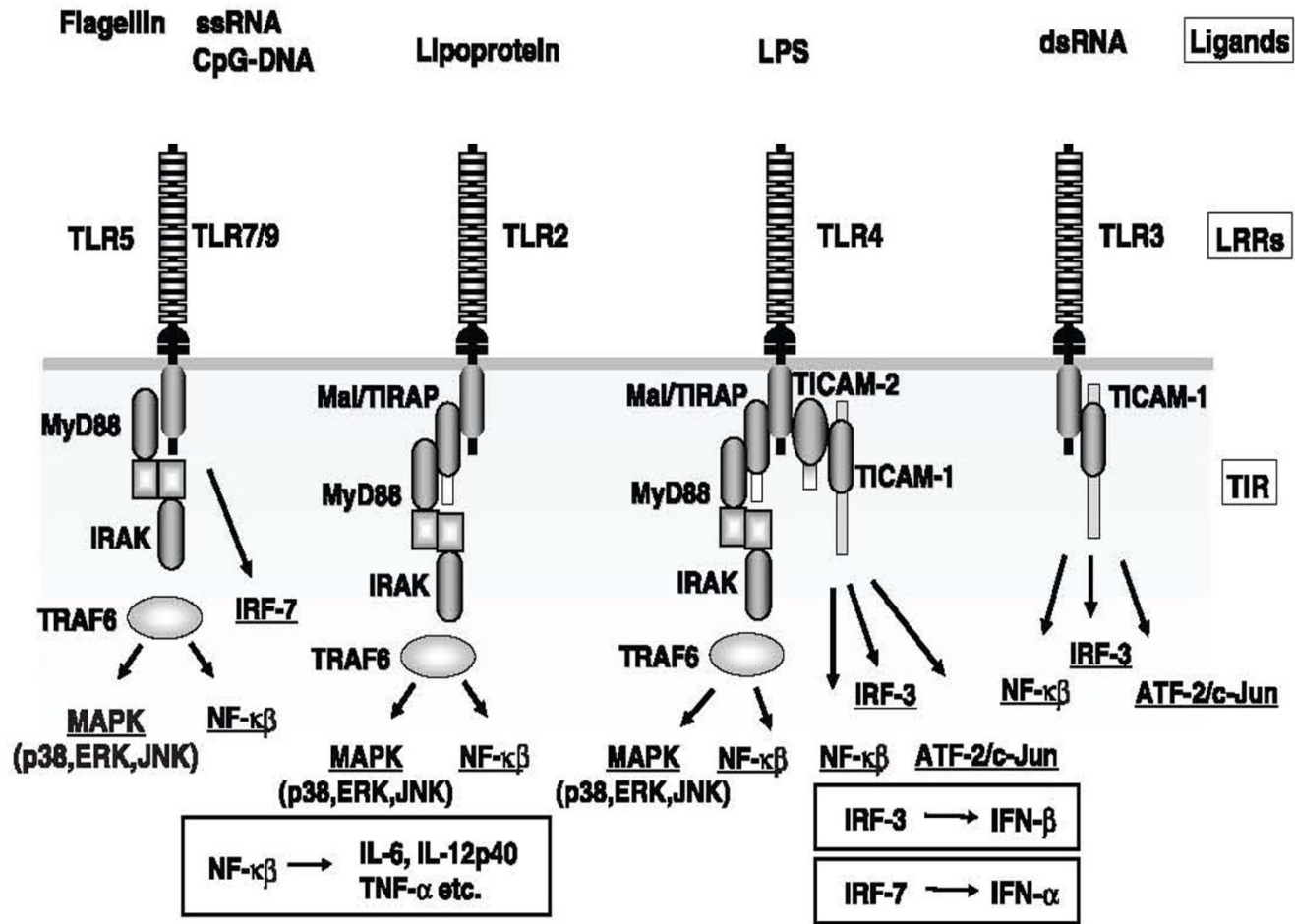


# Mammalian TLR signalling pathways.



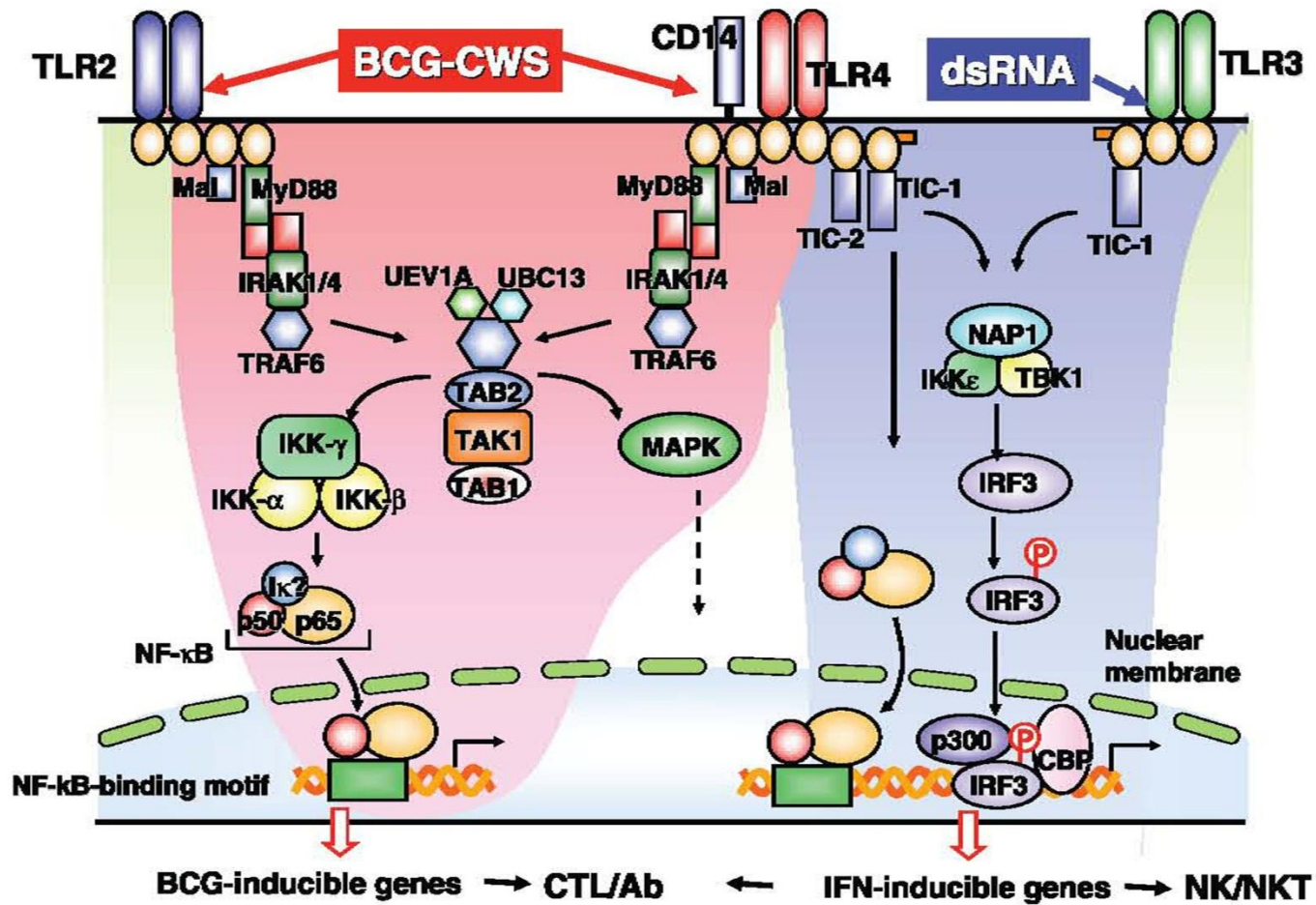
# TLR4 TLR6





**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- $\kappa$ B and the IFN- $\beta$  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- $\alpha$ . 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.

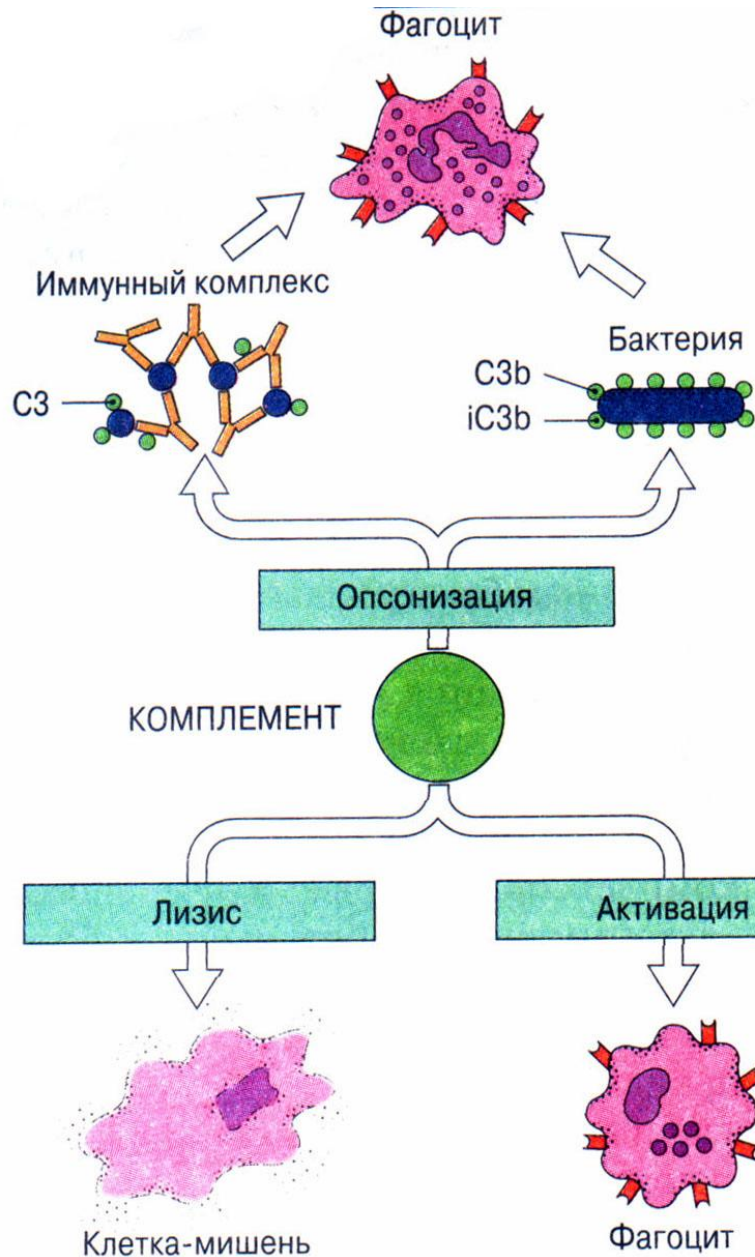


# Innate immunity and virus infection

- 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<sup>141,142</sup>. Consistently, influenza B virus, which has been infecting humans for longer than influenza A virus, has evolved to contain extremely low levels of CpG<sup>141</sup>.
- Greenbaum and colleagues<sup>141</sup> 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)<sup>143</sup>. 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 patients<sup>144</sup>, killing up to 50 million people worldwide. Deaths from the SARS epidemic in 2003

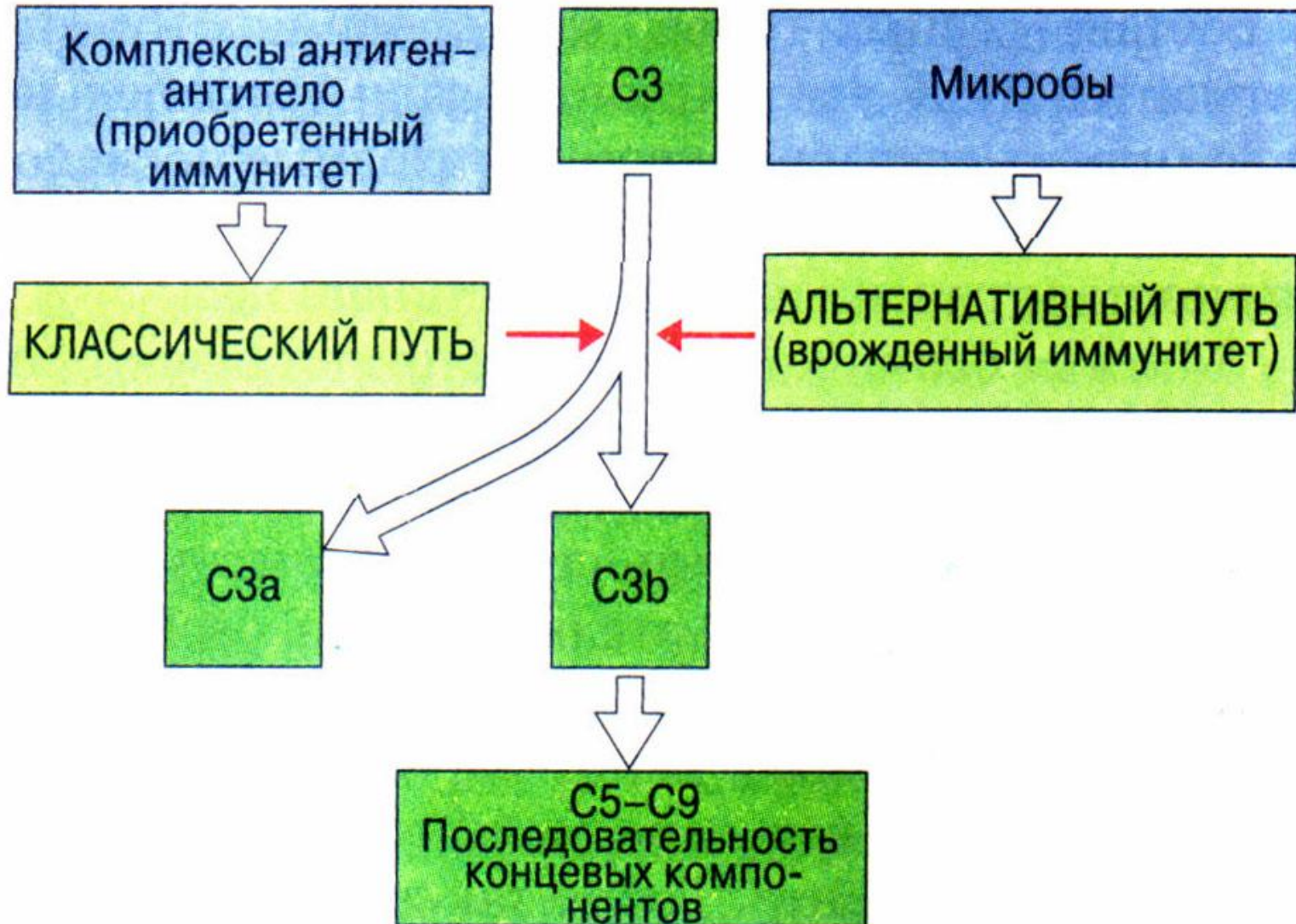


# Главные функции комплемента в воспалительном процессе

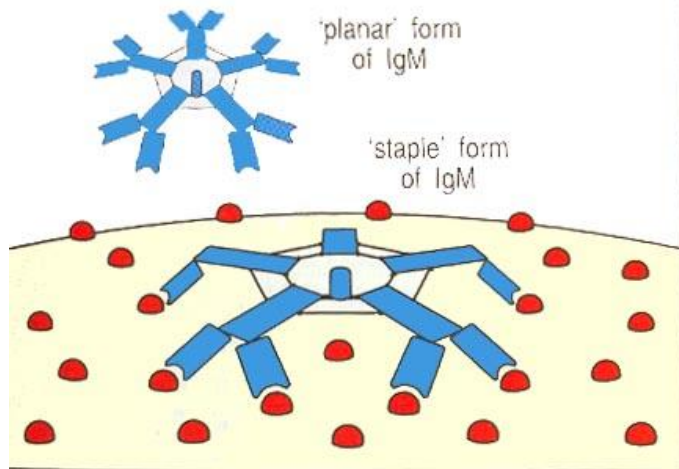


1. Опсонизация («одевание») комплементом микроорганизмов и иммунных комплексов для их распознавания клетками, экспрессирующими рецепторы комплемента.
2. Лизис клеток-мишеней.
3. Активация фагоцитов, включая макрофаги и нейтрофилы.

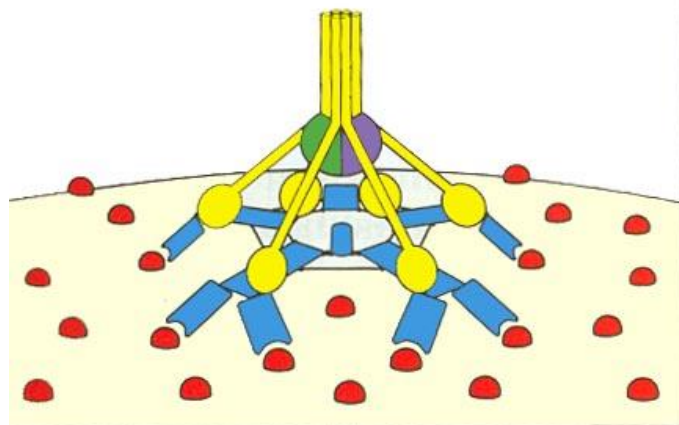
# Классический и альтернативный пути активации системы комплемента



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

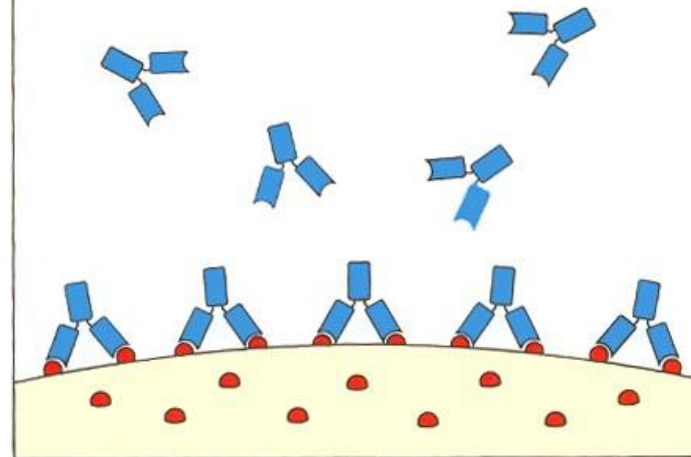


C1q binds to IgM

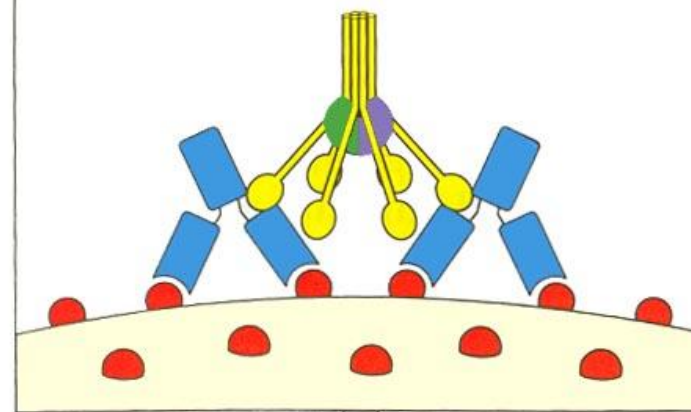


Binding of C1q to Ig activates C1r, which cleaves and activates the serine protease C1s

IgG molecules bind to antigens on bacterial surface

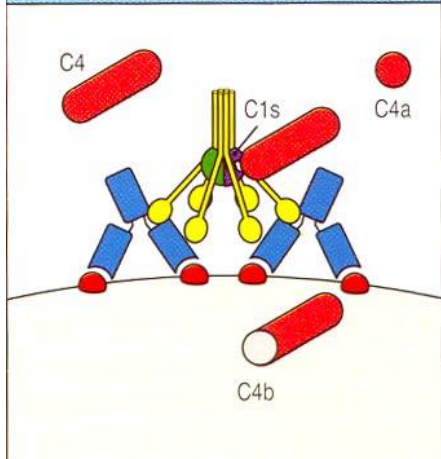


C1q binds to at least two IgG molecules

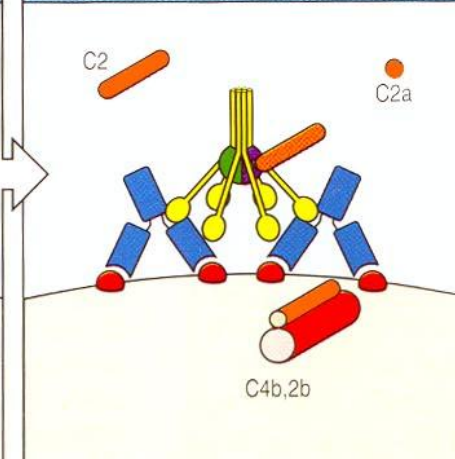




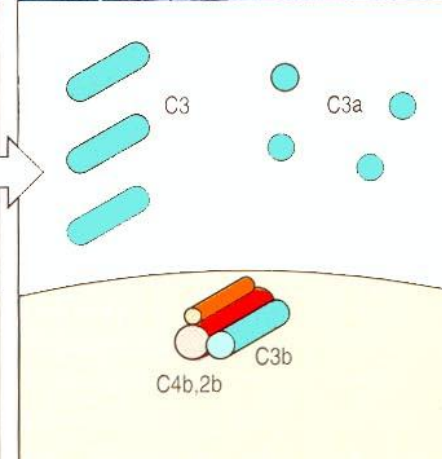
Activated C1s cleaves C4 to C4a and C4b, which binds to the microbial surface



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

