

**Seminar Modellstudiengang** (Blut und Immunologie)

Freitag 4. November 2011

8:15-9:45 / 10:15-11:45



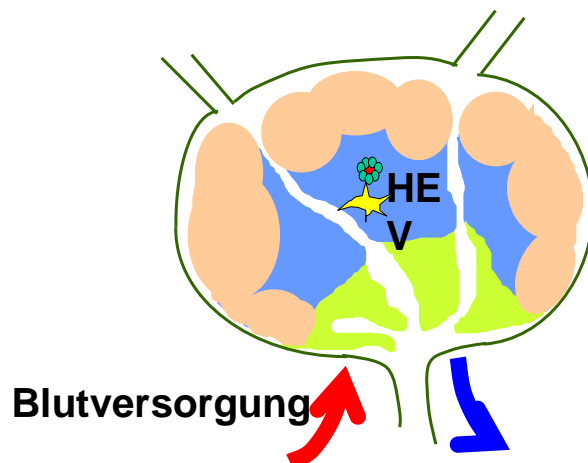
## B-Zellen und Antikörper

**Albrecht Bufe**

[www.ruhr-uni-bochum.de/homeexpneu](http://www.ruhr-uni-bochum.de/homeexpneu)

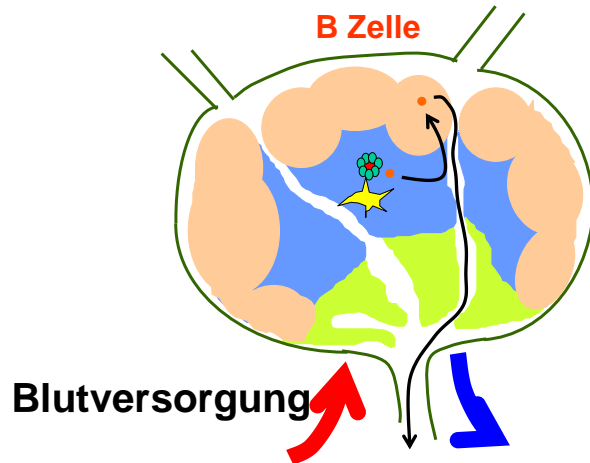
T und B Zellen

zirkulieren unablässig durch  
sekundäre lymphatische Organe



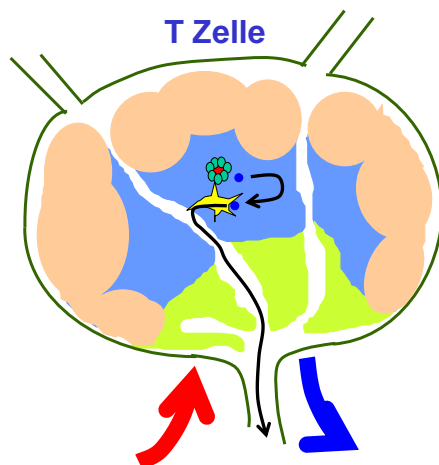
T und B Zellen

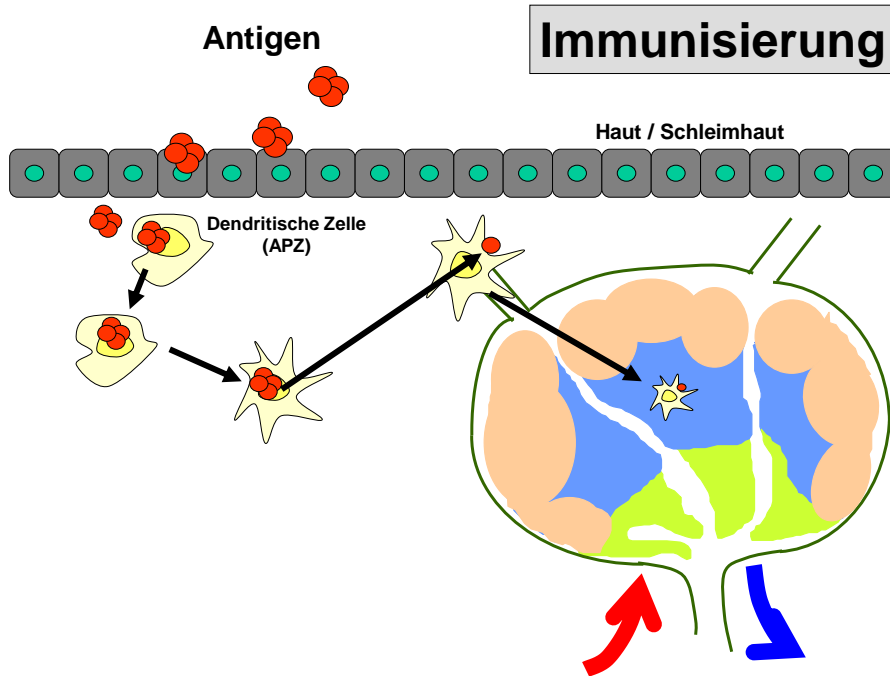
zirkulieren unablässig durch  
sekundäre lymphatische Organe



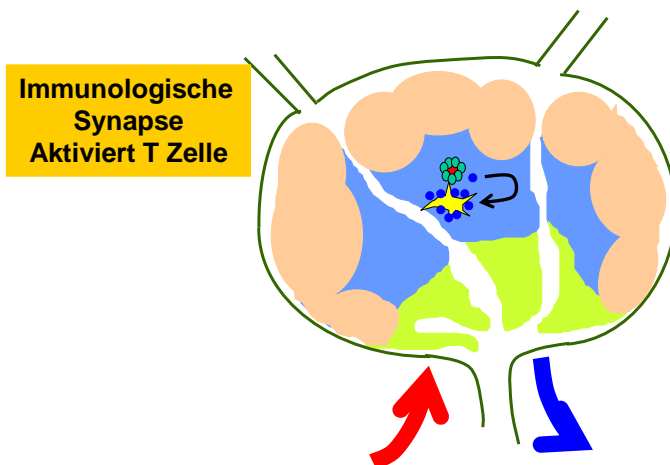
T und B Zellen

zirkulieren unablässig durch  
sekundäre lymphatische Organe

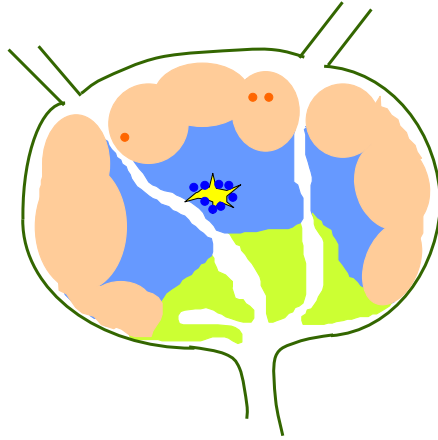




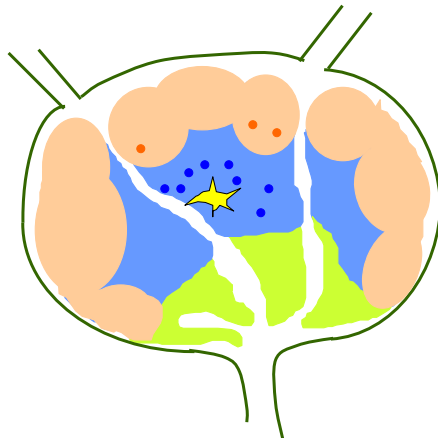
T Zellen finden Antigen auf  
Dendritischen Zellen



**Aktivierte B Zellen und T Zellen**  
**ziehen sich gegenseitig an**



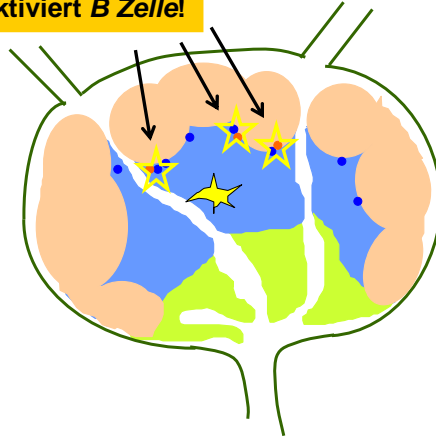
**Aktivierte B Zellen und T Zellen**  
**ziehen sich gegenseitig an**



**Aktivierte B Zellen und T Zellen**

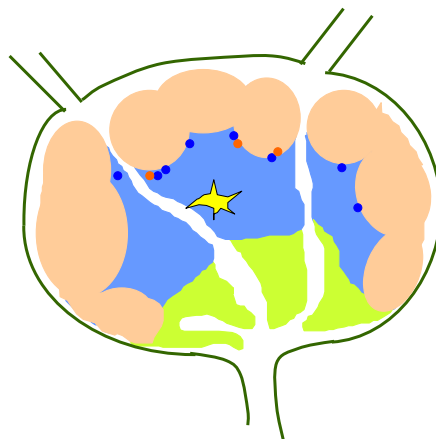
**ziehen sich gegenseitig an**

Immunologische  
Synapse  
Aktiviert *B Zelle!*

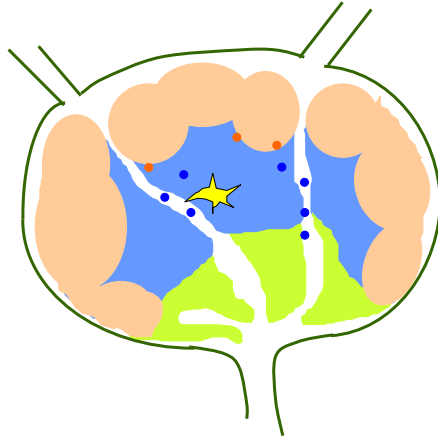


**Aktivierte B Zellen und T Zellen**

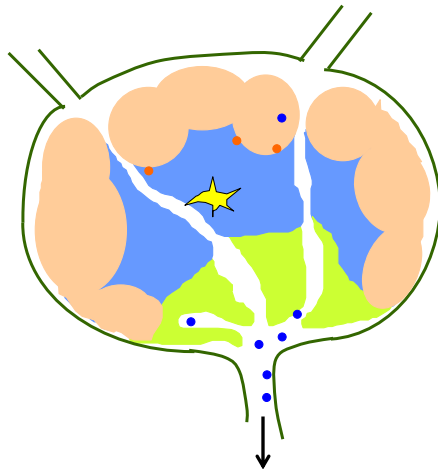
**ziehen sich gegenseitig an**



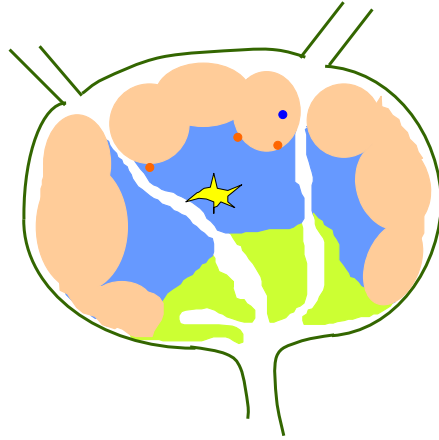
**T Zellen verlassen den Lymphknoten**  
**als Effektorzellen**



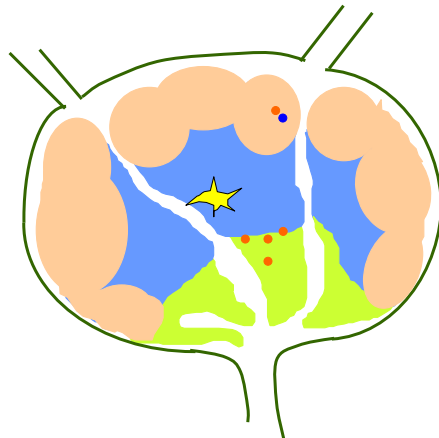
**T Zellen verlassen den Lymphknoten**  
**als Effektorzellen**



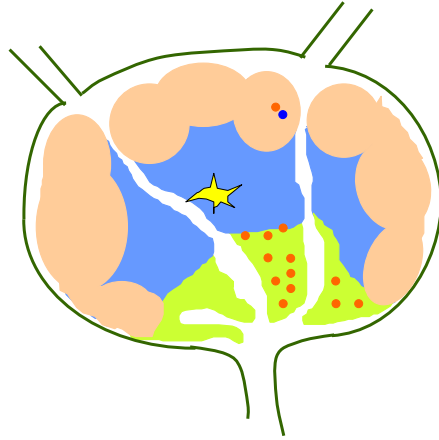
**Aktivierte B Zellen proliferieren**  
**und differenzieren in Plasma Zellen**



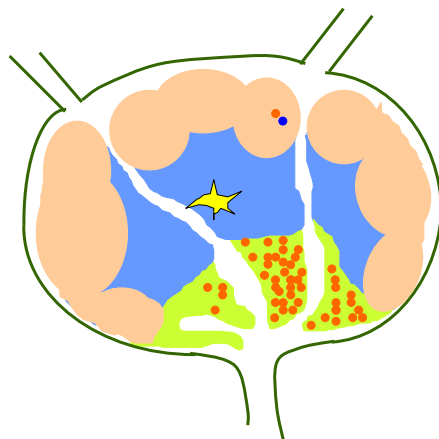
**Aktivierte B Zellen proliferieren**  
**und differenzieren in Plasma Zellen**



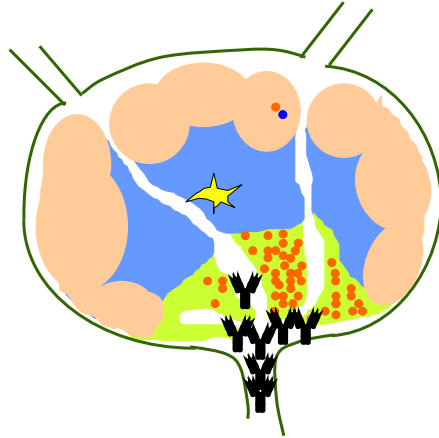
**Aktiviere B Zellen proliferieren**  
**und differenzieren in Plasma Zellen**



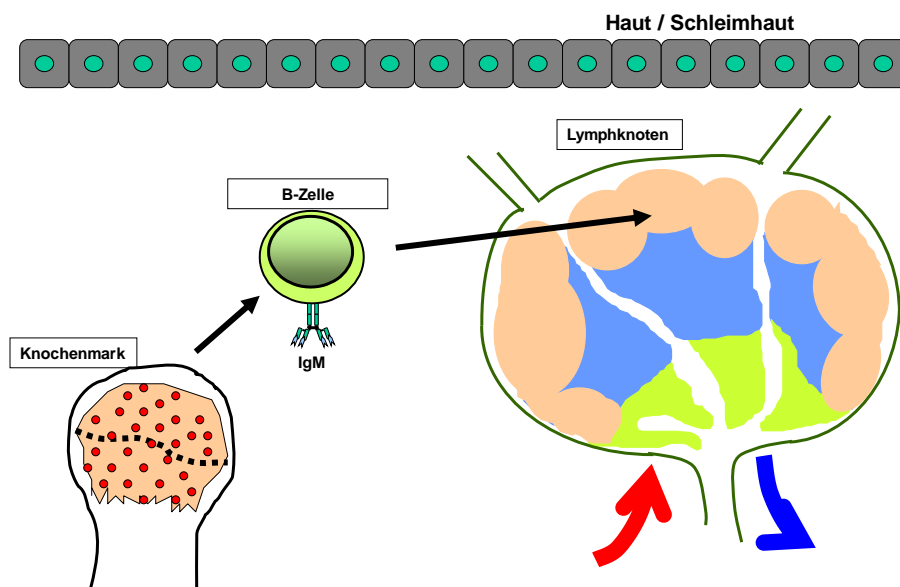
**Aktiviere B Zellen proliferieren**  
**und differenzieren in Plasma Zellen**



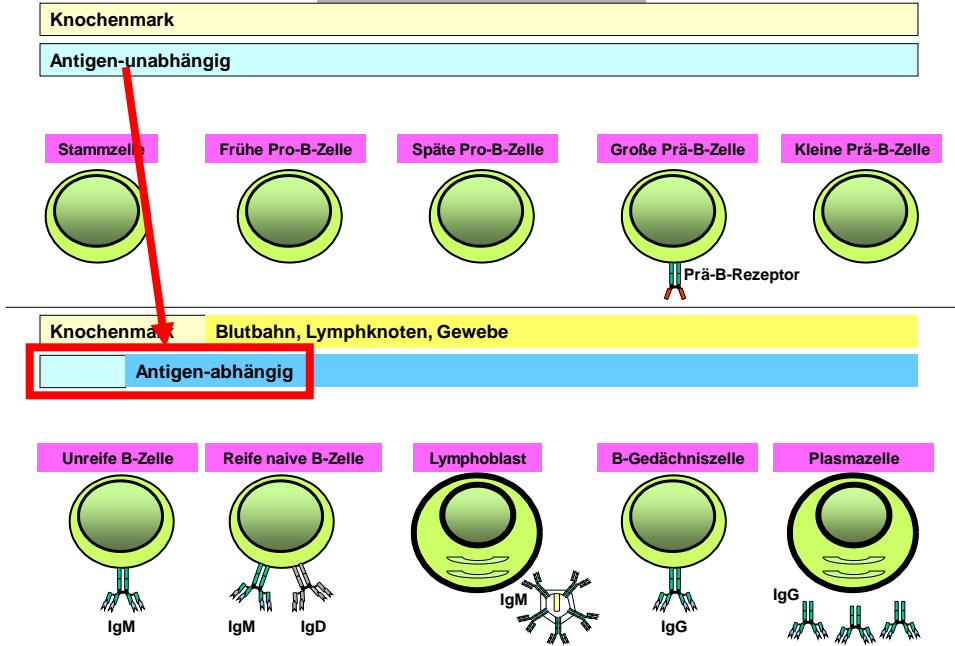
Aktivierte B Zellen proliferieren  
und differenzieren in Plasma Zellen



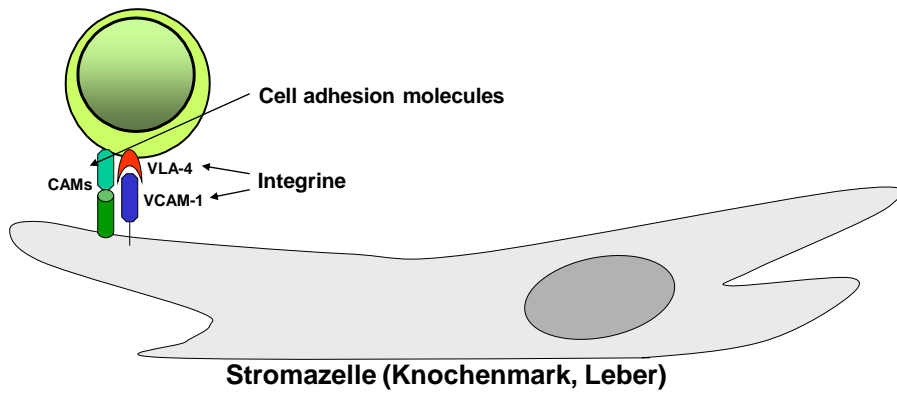
**B-Zellentwicklung**



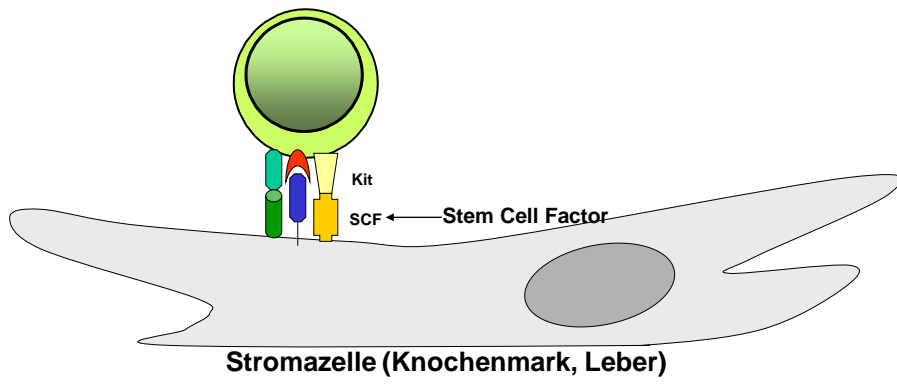
## B-Zellentwicklung



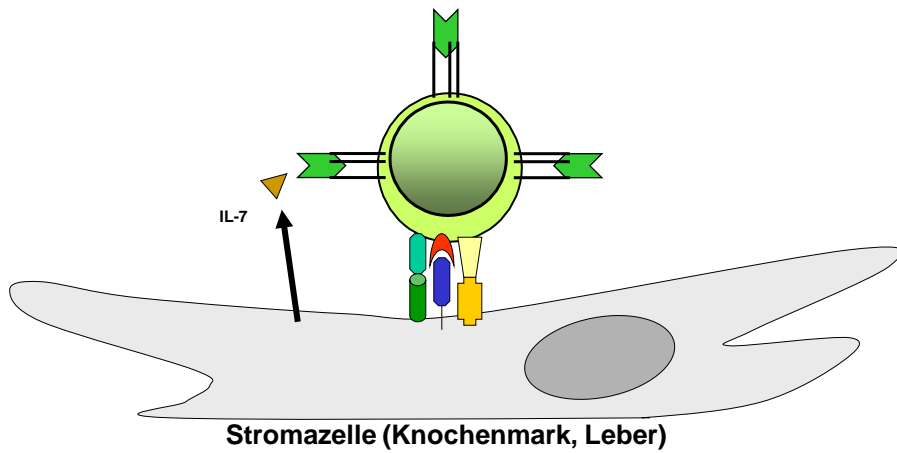
### Stammzelle

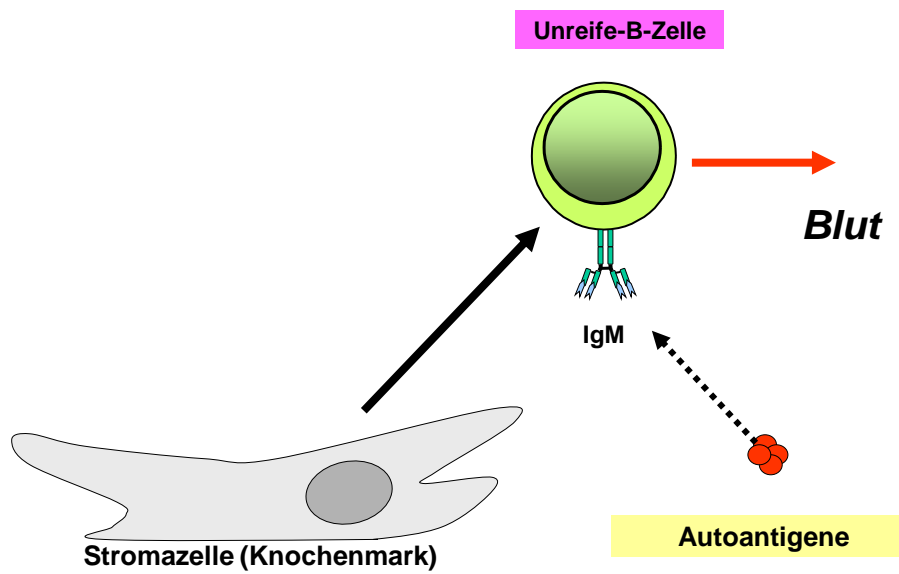
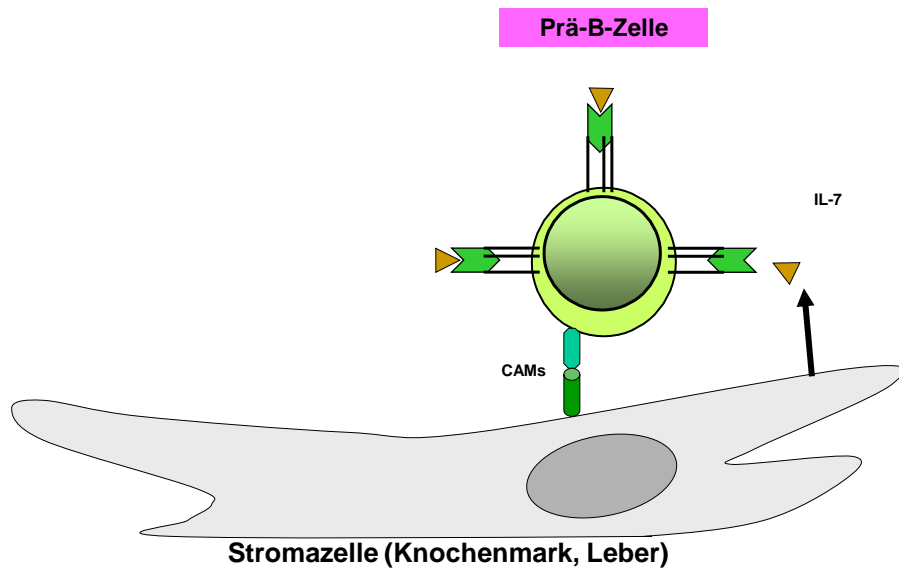


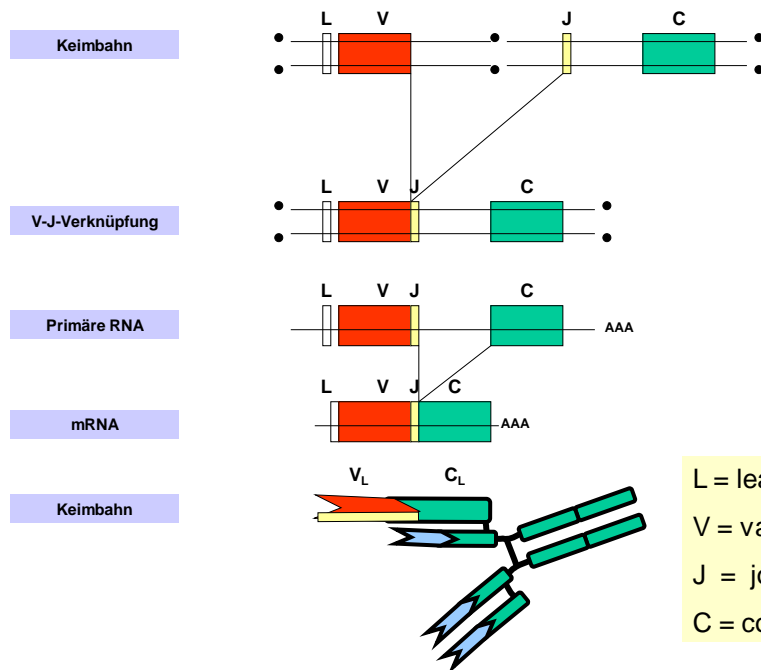
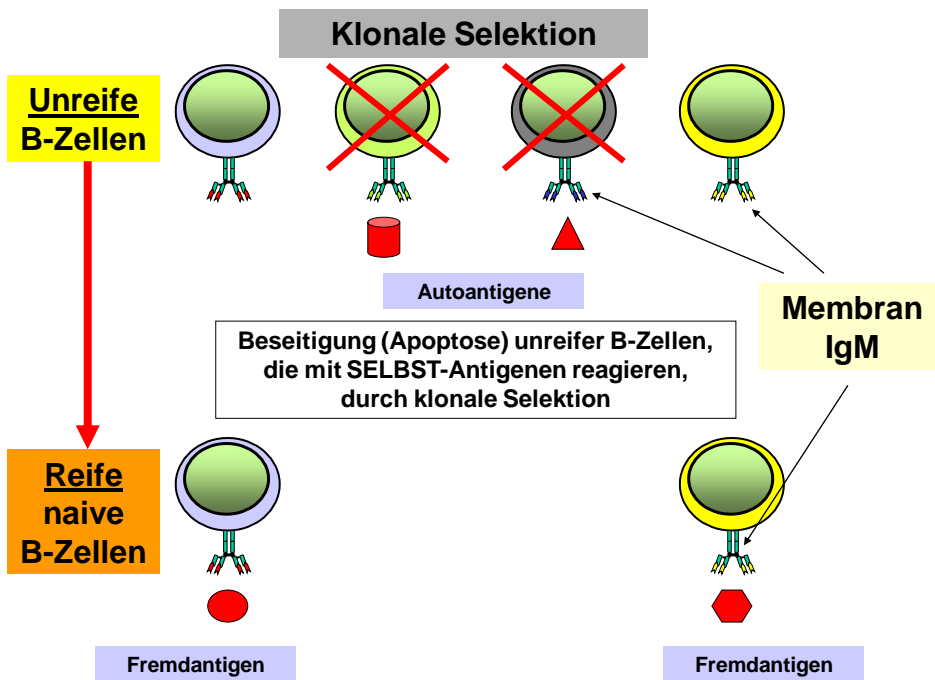
Frühe Pro-B-Zelle

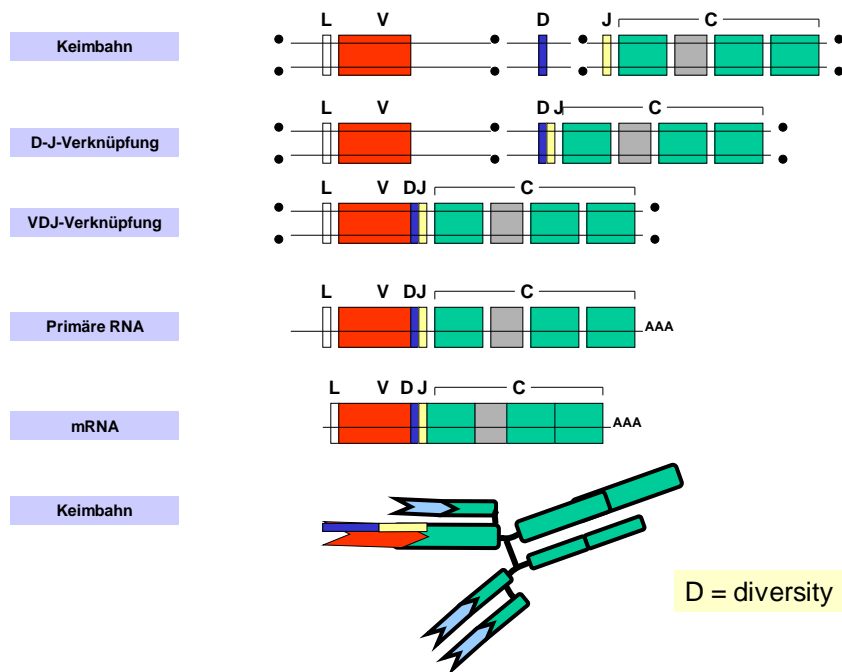


Späte Pro-B-Zelle



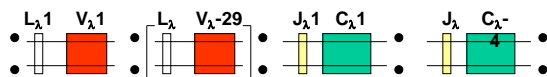




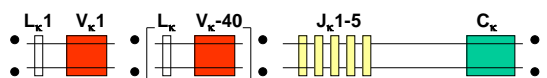


## Genomische Organisation der Antikörpergene

### Leichte $\lambda$ -Kette



### Leichte $\kappa$ -Kette



### Schwere Kette



# Spezifische Erkennungssequenzen als Rekombinantionsignale

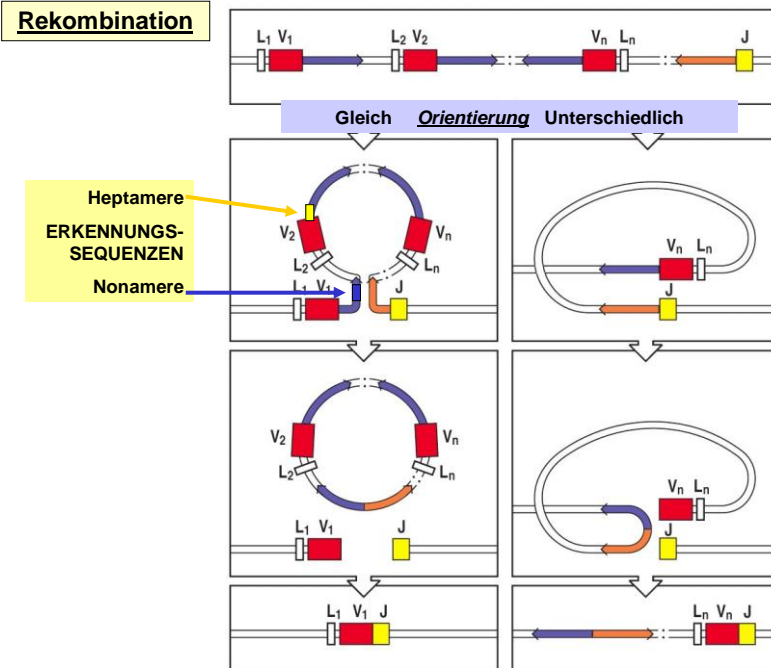
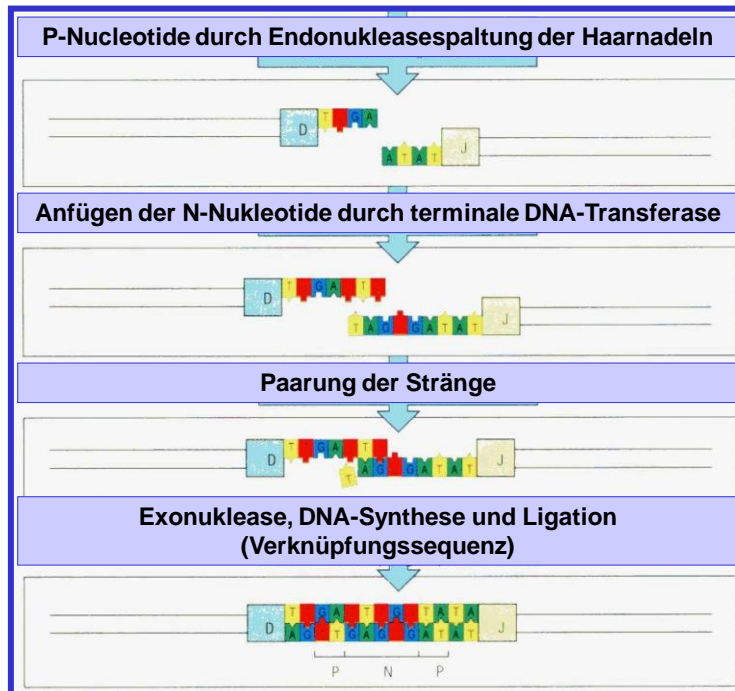
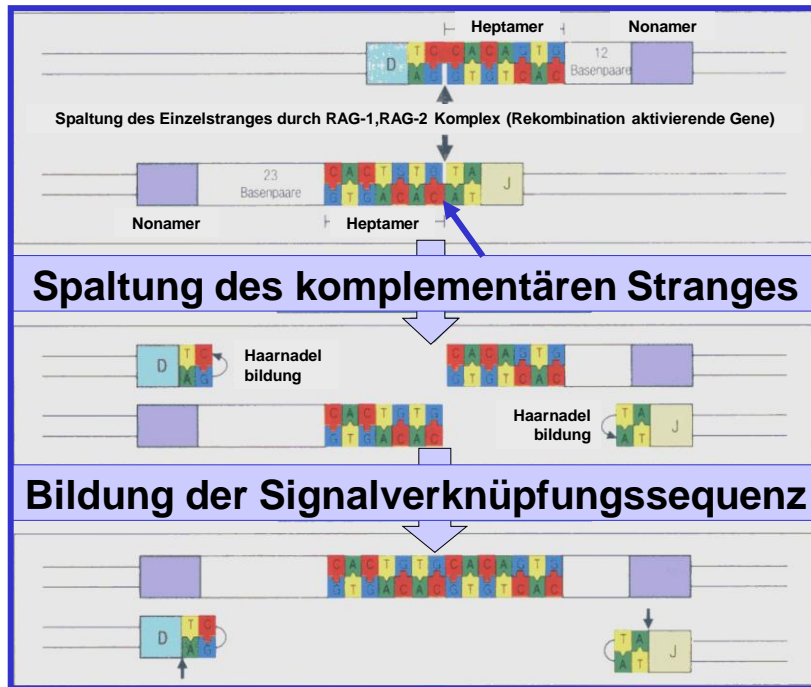


Figure 4-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)



## Regulation in der frühen B-Zellentwicklung

- Die Expression der Enzyme, die an der Rekombination der IG-Gene beteiligt sind, ist entwicklungsabhängig programmiert
- Die Rekombination der IG-Gene ist eng mit deren Transkription koordiniert
- Die Rekombination der IG-Gene verändert die Aktivität ihrer Promotoren

### Entstehung der Antikörpervielfalt

1) Kombinatorische Vielfalt: Die einzelnen Gensegmente für die Domänen liegen in mehreren Kopien vor, die alle miteinander kombiniert werden können.

Schwere Kette:	51 V <sub>H</sub> -Segmente 27 D <sub>H</sub> -Segmente 6 J <sub>H</sub> -Segmente	$51 \times 27 \times 6 = 8262$
Leichte Kette $\kappa$ :	40 V <sub>L</sub> -Segmente 5 J <sub>L</sub> -Segmente	$5 \times 40 = 200$
Leichte Kette $\lambda$ :	29 V <sub>L</sub> -Segmente 4 J <sub>L</sub> -Segmente	$4 \times 29 = 116$

$$316 \text{ leichte Ketten} \times 8262 \text{ schwere Ketten} = 2,5 \times 10^6$$

2) Junktionale Vielfalt:

Beim Aneinanderfügen der verschiedenen Segmente werden weitere Nucleotide eingefügt.  $\frac{2}{3}$  dieser eingefügten Nucleotide machen das Antikörpermolekül funktionslos (Leserasterverschiebung).

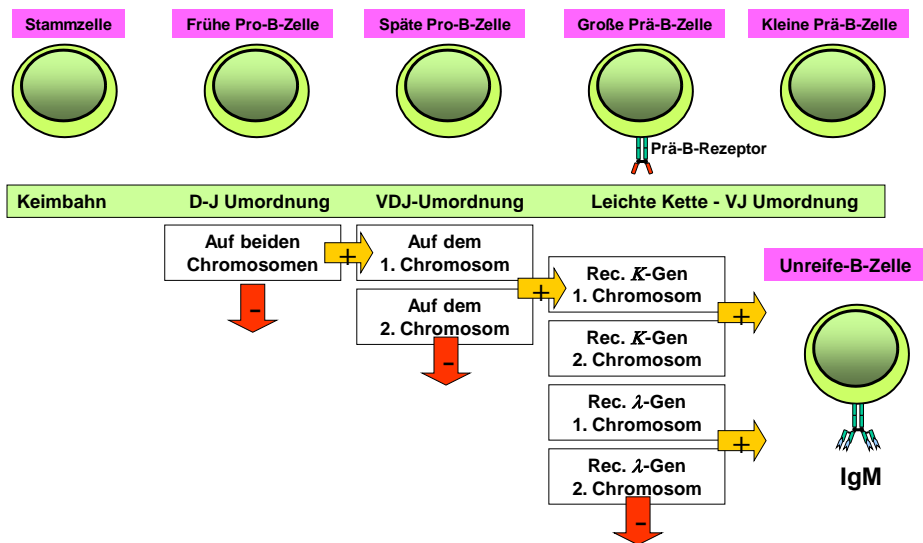
3) Somatische Hypermutation:

Während der Reifung der B-Zellen in den sekundären lymphatischen Organen werden bereits funktionsfähige Antikörper verändert. In den hypervariablen Schleifen treten Mutationen auf. Antikörper, die besser an ihr Antigen binden, werden selektiert (Affinitätsreifung)

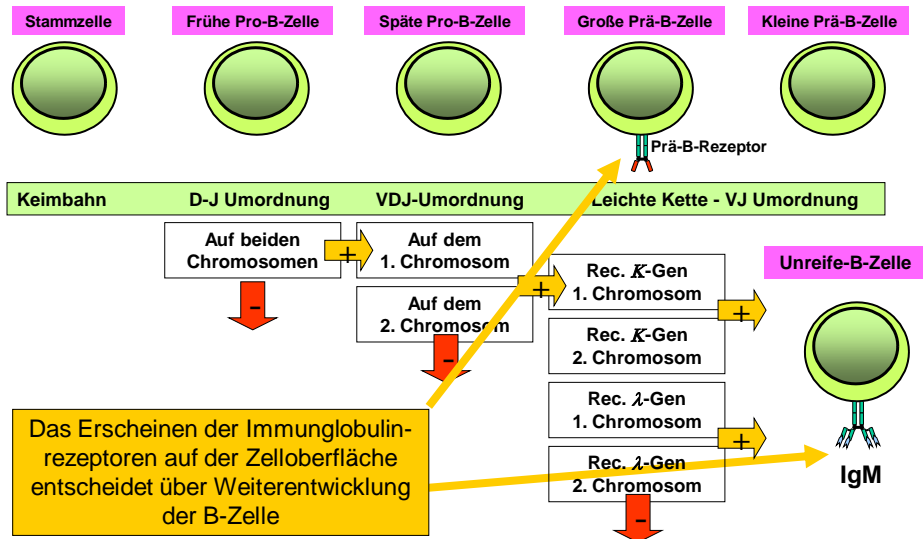
## Immunglobulinvielfalt

Element	Immunglobuline	
	H	$\kappa + \lambda$
V-Segmente	51	69
D-Segmente	~ 30	0
D-Segmente, in drei Rastern gelesen	selten	-
J-Segmente	5	5
Verknüftungen mit N- und P-Nukleotiden	2	(1)
Anzahl der V-Genpaare	3519	
Verknüpfungsvielfalt	~ $10^{13}$	
Gesamtvelfalt	~ $10^{16}$	

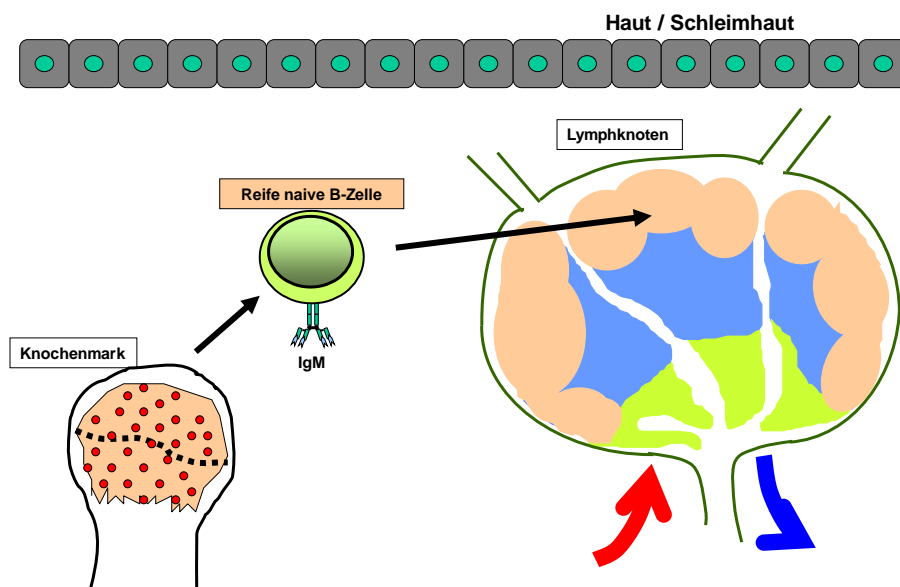
## B-Zellentwicklung abhängig von der Genrekombination



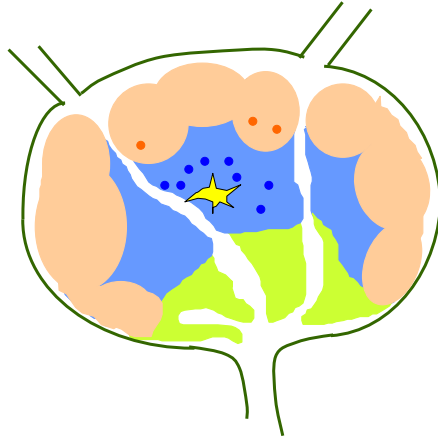
## B-Zellentwicklung abhängig von der Genrekombination



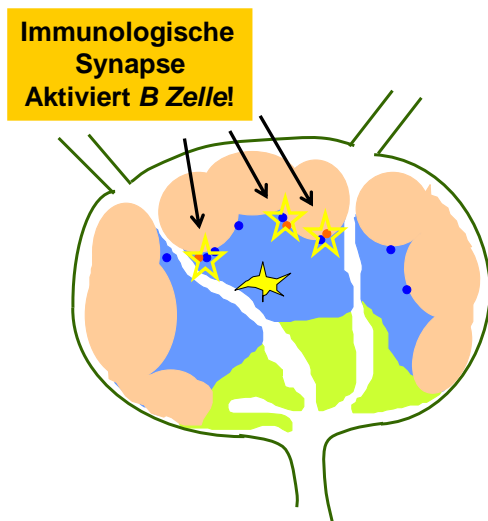
## B-Zellentwicklung



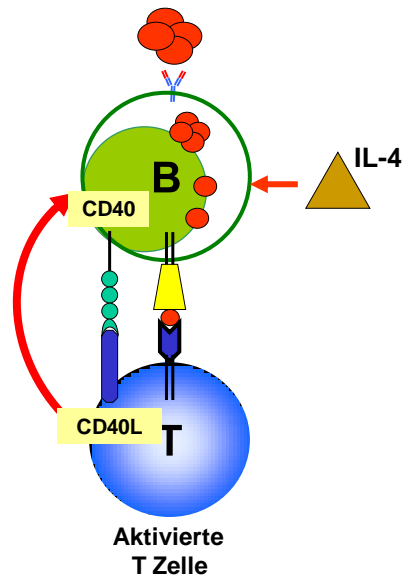
**Aktivierte B Zellen und T Zellen**  
**ziehen sich gegenseitig an**



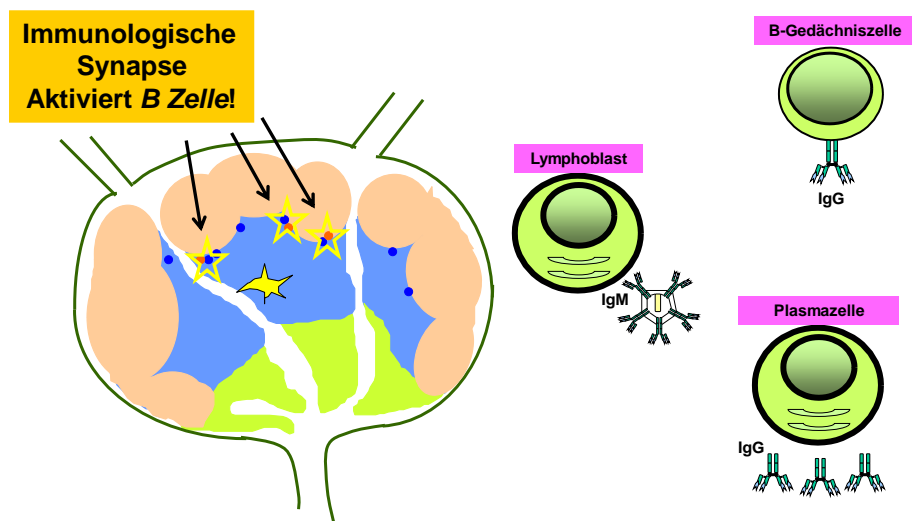
**Aktivierte B Zellen und T Zellen**  
**ziehen sich gegenseitig an**



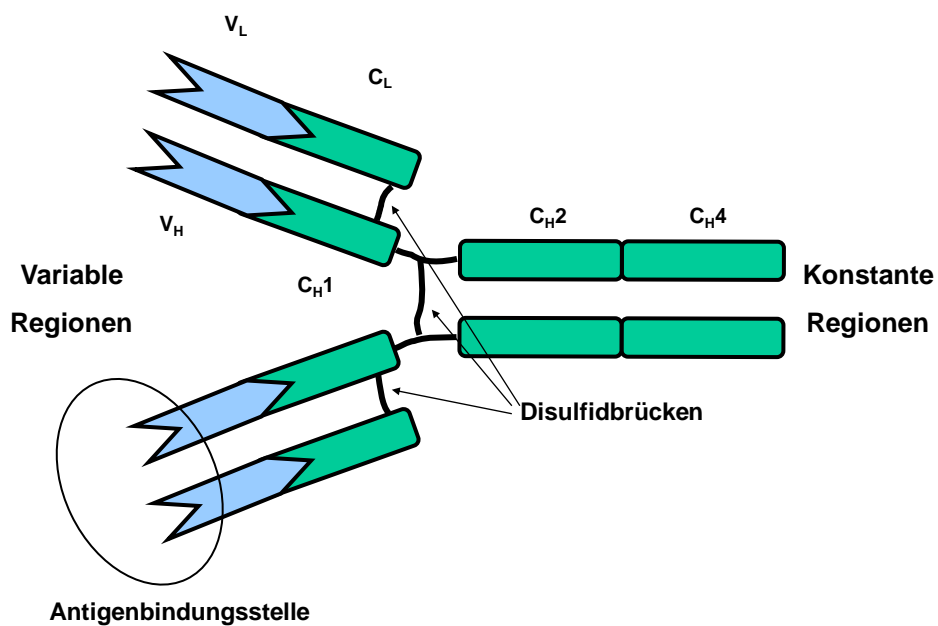
**B Zellen benötigen VIER SIGNALE um aktiviert zu werden**

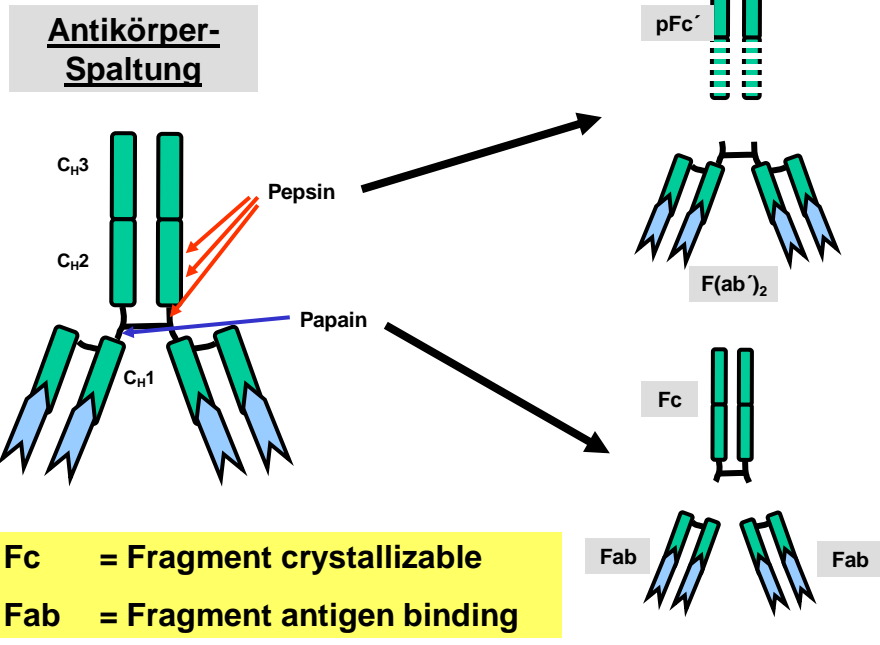


**Aktiviert B Zellen entwickeln sich zu Plasmazellen und Gedächtniszellen**

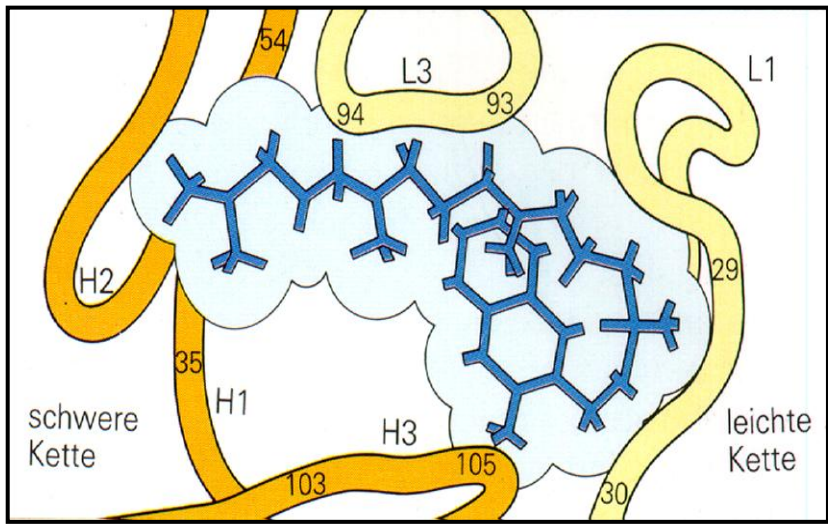


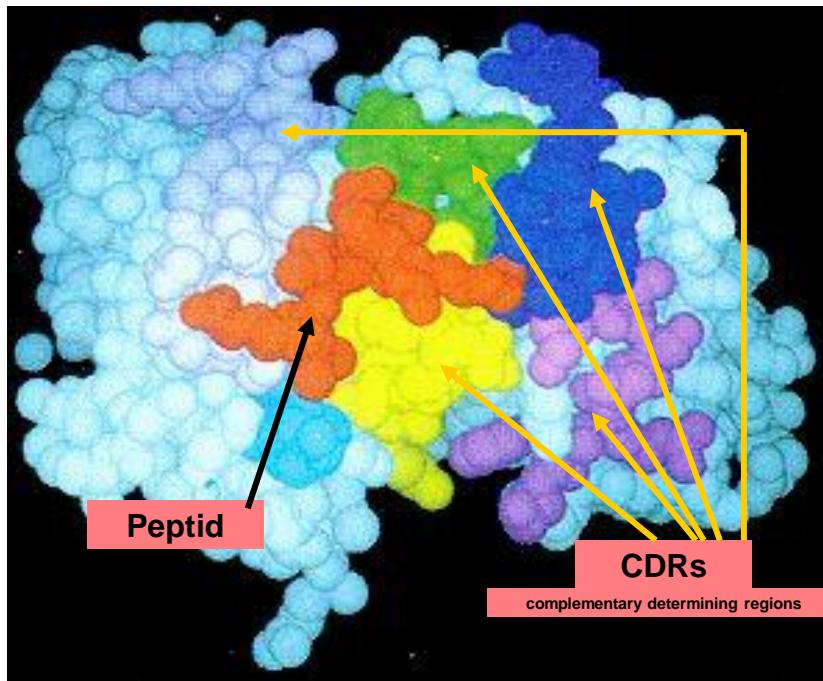
# Antikörperstruktur und -funktion





**Die 3D-Struktur, die von den hypervariablen Schleifen gebildet wird, bestimmt, welche Antigene gebunden werden können.**

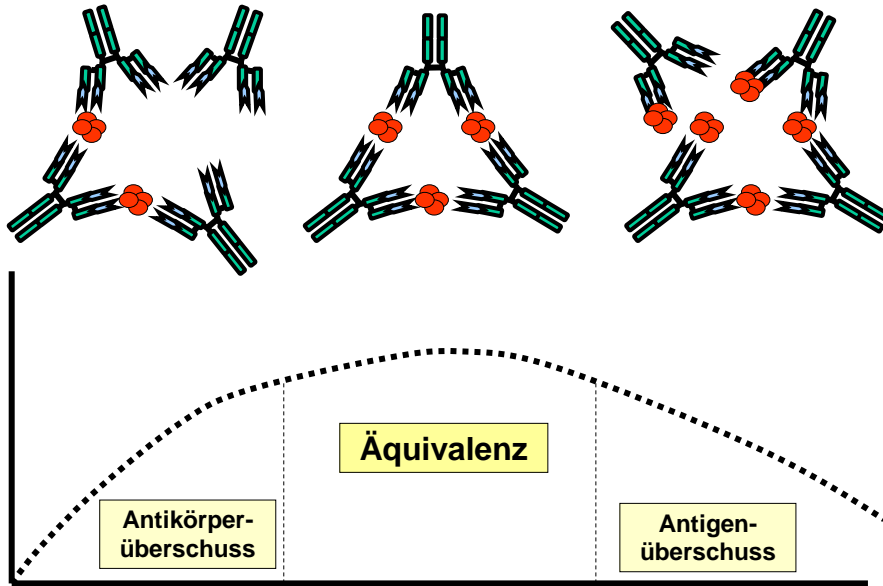




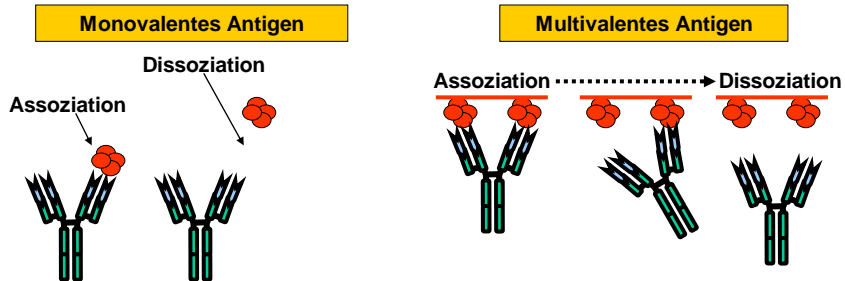
### Physikalische Kräfte zwischen Antikörper und Antigen

nichtkovalente Kräfte	Ursache	
elektrostatische Kräfte	Anziehungen zwischen entgegengesetzten Ladungen	$- \text{NH}_3^{\oplus} \quad \ominus \quad \text{OOC} -$
Wasserstoffbrücken	Elektronegative Atome (N, O) teilen sich ein Wasserstoffatom	$\begin{array}{c} > \text{N} - \text{H} \cdots \text{O} = \text{C} < \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
van-der-Waals-Kräfte	Fluktuationen in den Elektronenwolken um Moleküle herum polarisieren benachbarte Atome entgegengesetzt	$\begin{array}{ccc} \delta^+ & \longleftrightarrow & \delta^- \\ \delta^- & \longleftrightarrow & \delta^+ \end{array}$
hydrophobe Kräfte	Hydrophobe Gruppen stoßen Wasser ab und neigen dazu, sich zusammenzuballen, um Wassermoleküle zu verdrängen; an der Anziehung sind auch van-der Waals-Kräfte beteiligt.	

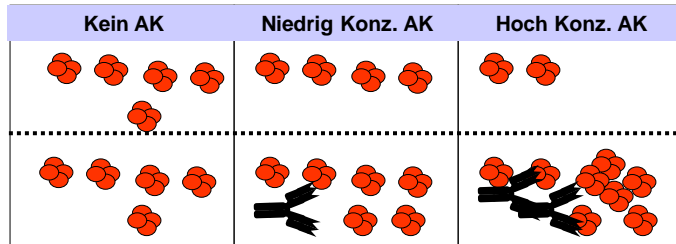
## Präzipitations- (Heidelberger-) kurve



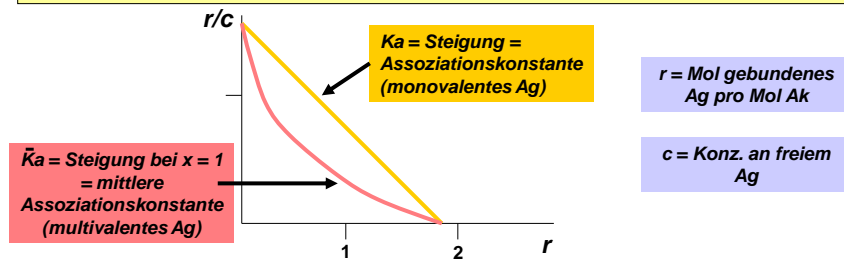
## Affinität und Avidität von Antikörpern



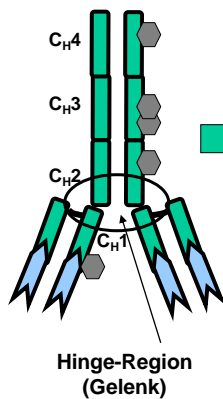
## Bestimmung der Affinität



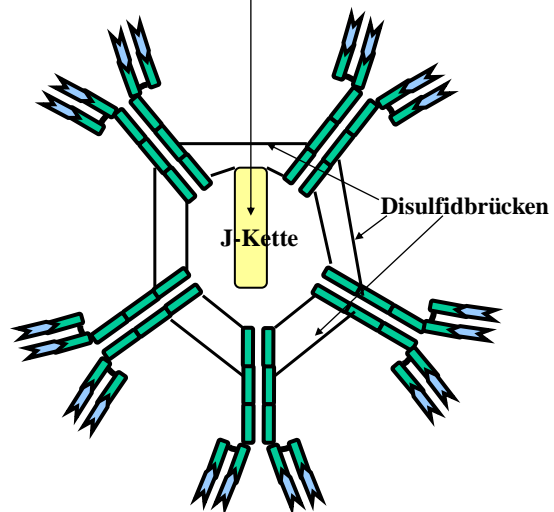
**Affinität ist die Bindungsstärke zwischen Ak und Ag, definiert als die Steigung des Verhältnisses von  $r$  zu  $r/c$**



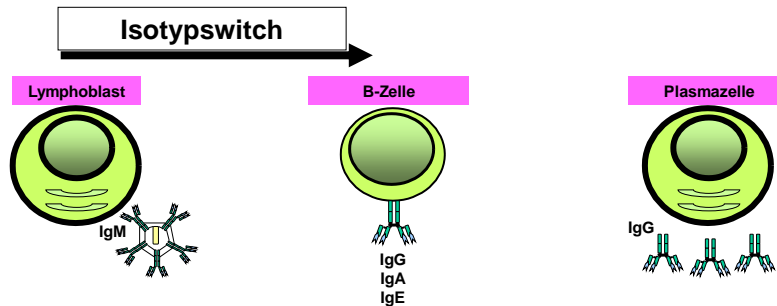
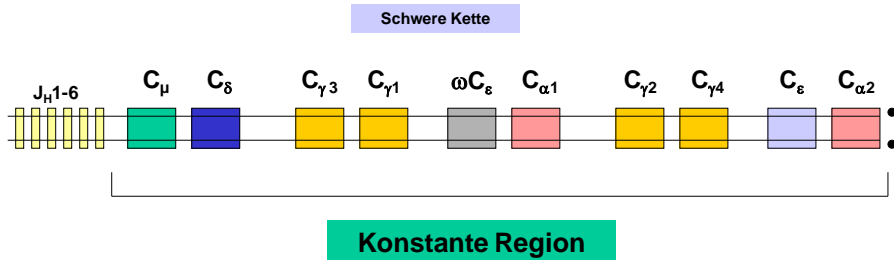
## IgM



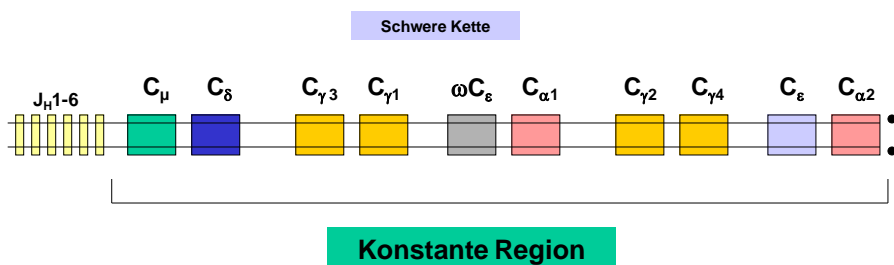
### J (junction) - Kette



## Antikörpergene der konstanten Region

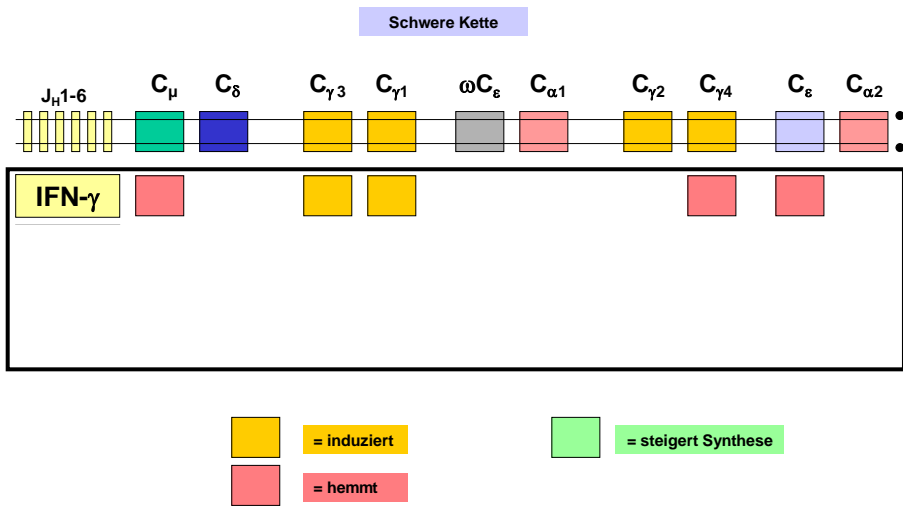


## Isotyp-switch

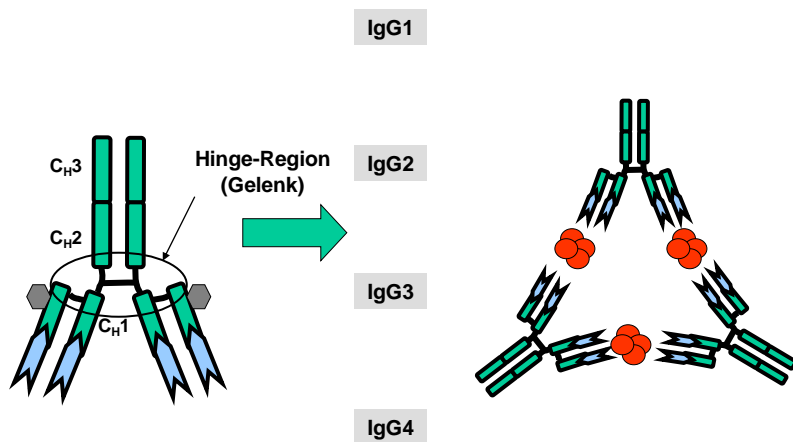


- Spezifische DNA-Sequenzen (switch-region) regulieren die Rekombination
- Der Isotyp-switch wird durch Transkriptionsfaktoren (Switch-factors) induziert
- Der Isotyp-switch findet im Lymphknoten (Keimzentrum) statt
- Er erfordert ein spezifisches Milieu aus Zytokinen, die ihrerseits die Switchfaktoren aktivieren

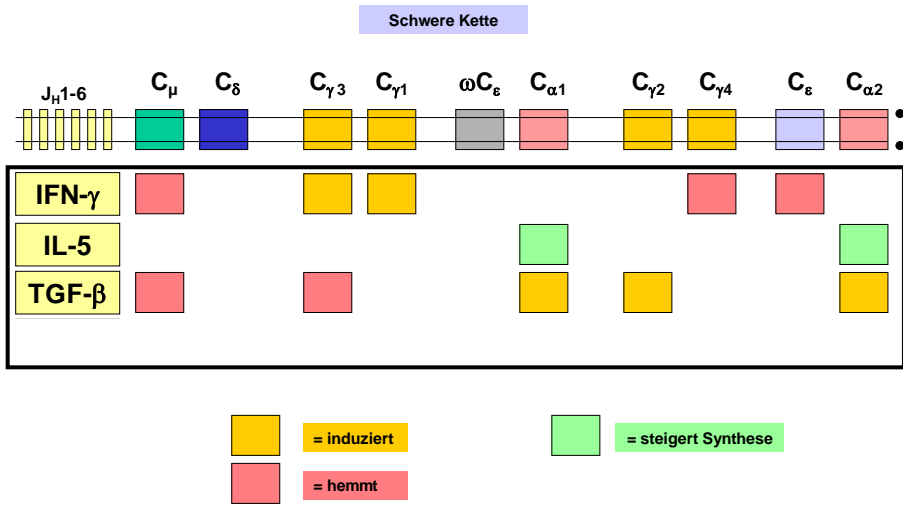
# Isotypswitch



## IgG

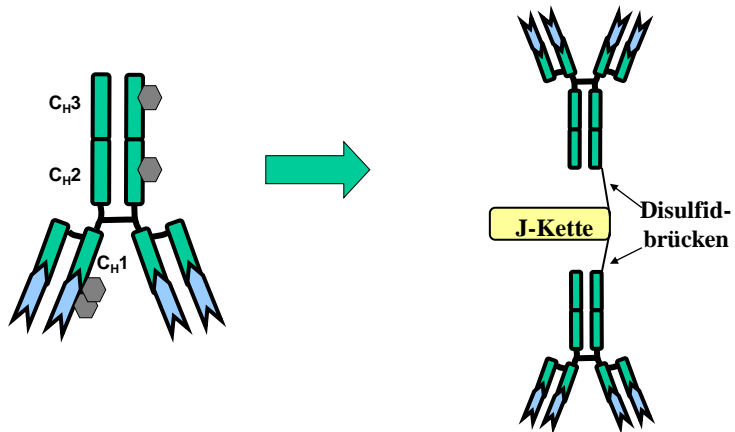


# Isotypswitch

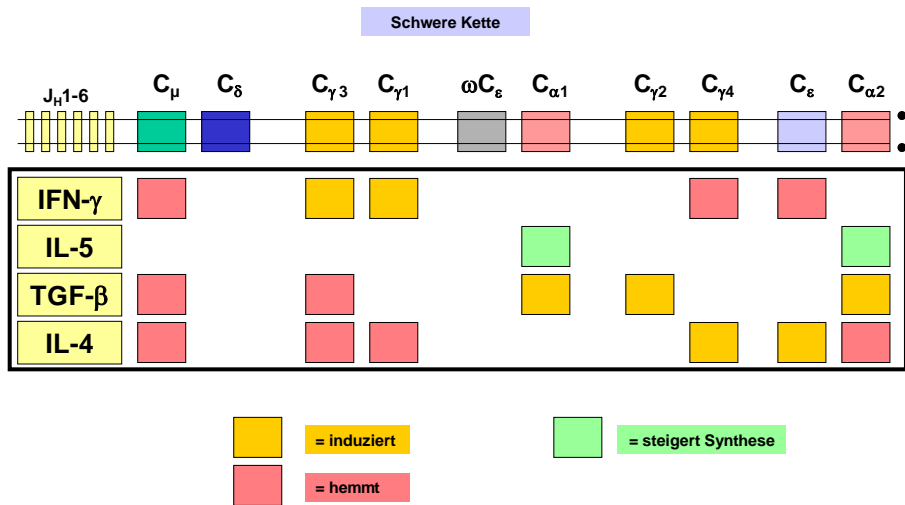


## IgA

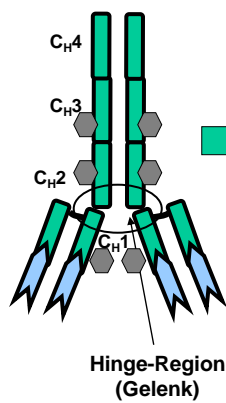
Polymerisierung mit J-Kette nur in der Schleimhaut (für Transport durch Epithelzellen erforderlich)



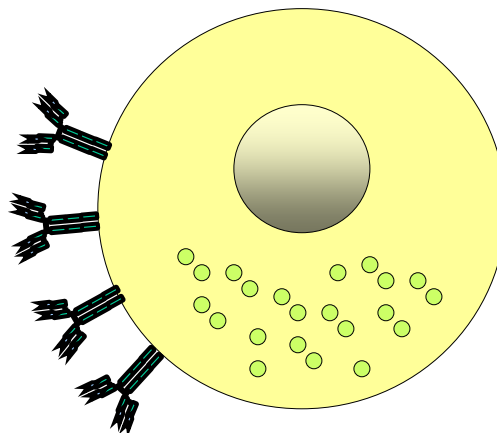
# Isotypswitch



## IgE

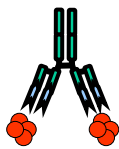


Mastzelle,  
Basophile  
Zelle

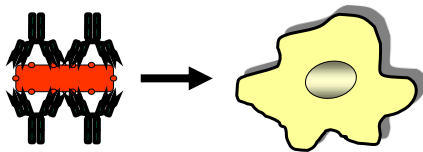


## Verteilung von Antikörpern

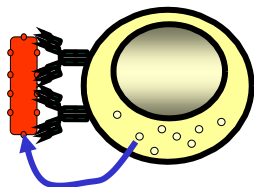
Verteilung	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport durch Epithel	+	-	-	-	-	++++	-
Transport durch Placenta	-	+++	+++	+++	+++	-	-
Diffusion in extravaskuläre Bereiche	+/-	+++	+++	+++	+++	++	+
Serumspiegel (mg/ml)	1,5	9	3	1	0,5	2,1	$3 \times 10^{-5}$



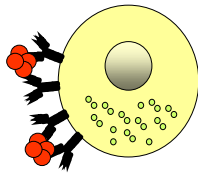
**Neutralisation:** Antigen wird vom Antikörper abgefangen, z.B. als Toxin an der Bindung zu einem entsprechenden Rezeptor gehindert und schließlich entfernt (Phagozytose und Abbau)



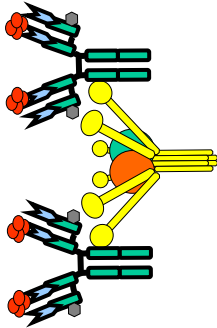
**Opsonierung:** Zumeist größerer Antigene wird von Antikörpern eingehüllt. So wird durch Antikörperrezeptoren vermittelte Phagozytose (z.B. Makrophagen) verstärkt.



**Sensibilisierung für tödliche Angriffe von NK-Zellen:** Antikörper (IgG) binden an Antigene und an NK-Zellen, NK-Zellen setzen tödliche Granula frei



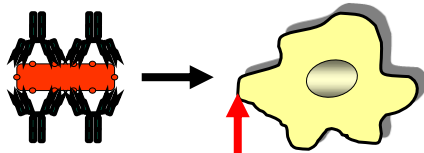
**Sensibilisierung von Mastzellen:** IgE Antikörper binden über den hochaffinen IgE-Rezeptor an Mastzellen. Antigen kann Mastzellen aktivieren, die ihrerseits Granula freisetzen und eine Abwehrreaktion auslösen.



**Aktivierung von Komplement:** Antikörper (zumeist IgM) binden Antigen und gleichzeitig Komplement im Serum. Das Komplement löst eine Kaskade von verschiedenen Abwehrreaktionen aus.

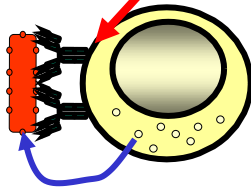
## Effektorfunktionen der Antikörper

Funktion	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralisierung	+	++	++	++	++	++	-
Opsonierung	-	+++	-	++	+	+	-
Sensibilisierung für tödliche Angriffe von NK-Zellen	-	++	-	++	-	-	-
Sensibilisierung von Mastzellen	-	-	-	-	-	-	++++
Aktivierung des Komplementsystems	++++	++	+	++	-	+	-



**Opsonierung:** Zumeist größerer Antigene wird von Antikörpern eingehüllt. So wird durch Antikörperrezeptoren vermittelte Phagozytose (z.B. Makrophagen) verstärkt.

**Rezeptor vermittelte Aktivitäten**



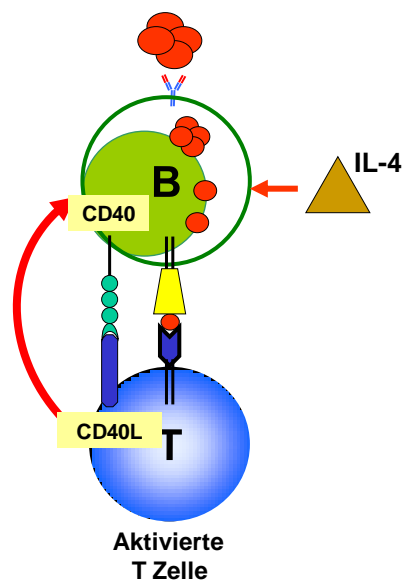
**Sensibilisierung für tödliche Angriffe von NK-Zellen:** Antikörper (IgG) binden an Antigene und an NK-Zellen, NK-Zellen setzen tödliche Granula frei

**Rezeptoren der Antikörper**

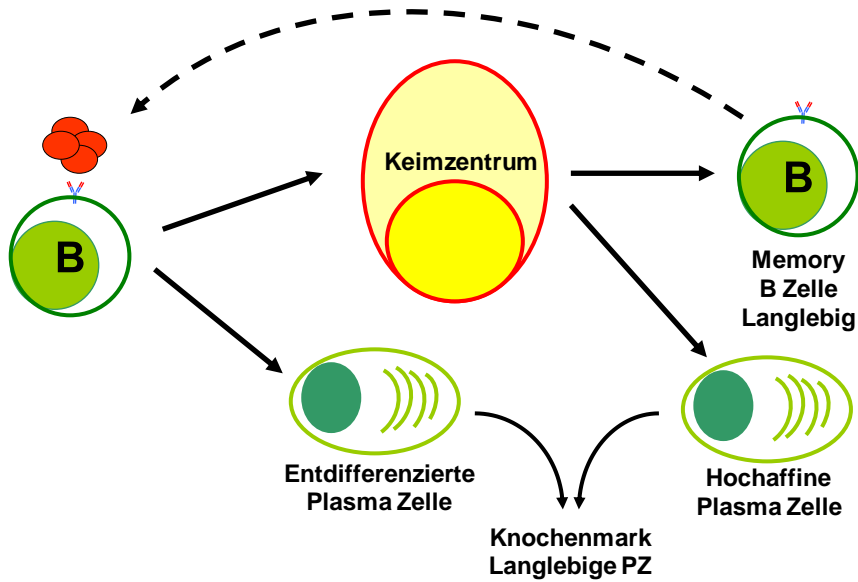
Rezeptor	Fcγ-R1 (CD64)	Fcγ-R1I-A (CD32)	Fcγ-R1I-B2	Fcγ-R1I-B1	Fcγ-R1I11 (CD16)	Fcε-R1
Struktur						
Bindung	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG	IgE
Reihenfolge der Affinität	$10^8 \text{ M}^{-1}$ IgG1 IgG3=IgG4 IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ IgG1 IgG3=IgG4 IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ IgG1 IgG3=IgG4 IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ IgG1 IgG3=IgG4 IgG2	$5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ IgG1=IgG3	$10^{10} \text{ M}^{-1}$
Zelltyp	Monozyten Makrophagen Neutrophile Eosinophile	Makrophagen Neutrophile Eosinophile Blutplättchen	Makrophage Neutrophile Eosinophile Basophile Blutplättchen Langerhanszellen	B-Zellen Basophile	NK-Zellen Monozyten Makrophagen Neutrophile Eosinophile Langerhanszellen	Mastzellen Eosinophile Basophile
Auswirkung der Bindung	Aufnahme	Aufnahme Freisetzung Von Granula (Eosinophile)	Aufnahme Freisetzung Von Granula (Eosinophile)	Unterdrückung der Stimulation, keine Aufnahme	Induktion des Tötens (NK-Zellen)	Freisetzung von Granula

# Affinitätreifung

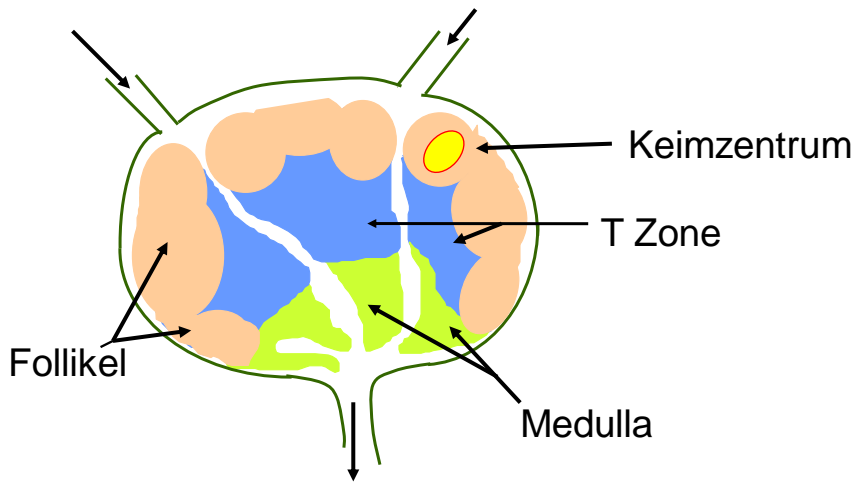
B Zellen benötigen VIER SIGNALE um aktiviert zu werden



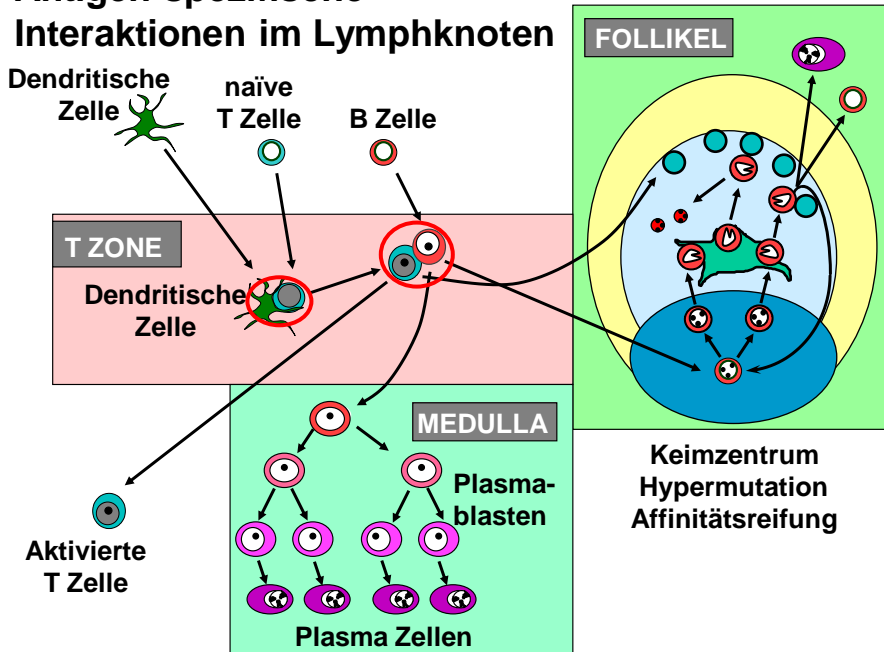
# B Zell Differenzierung



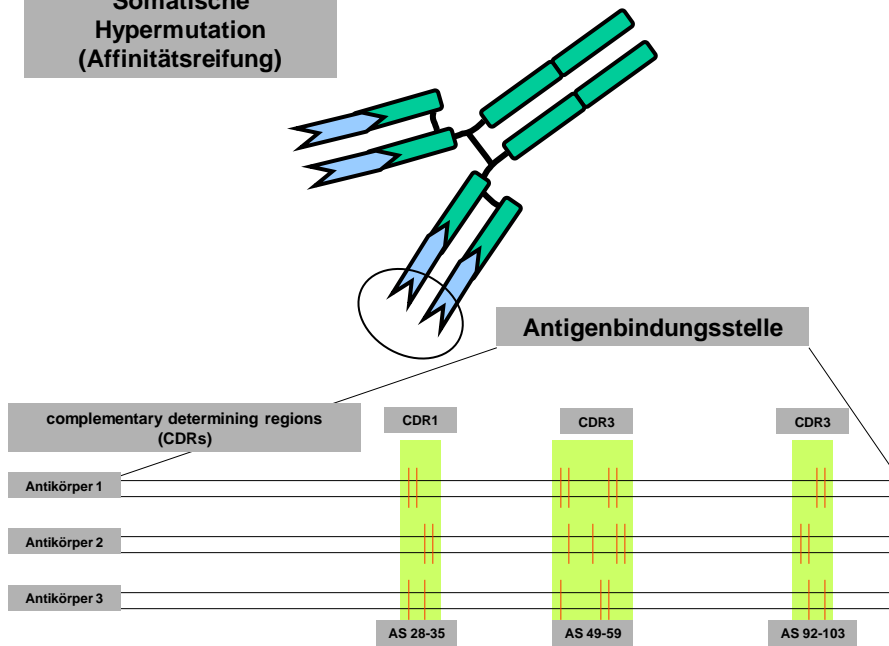
## Struktur eines Lymphknoten



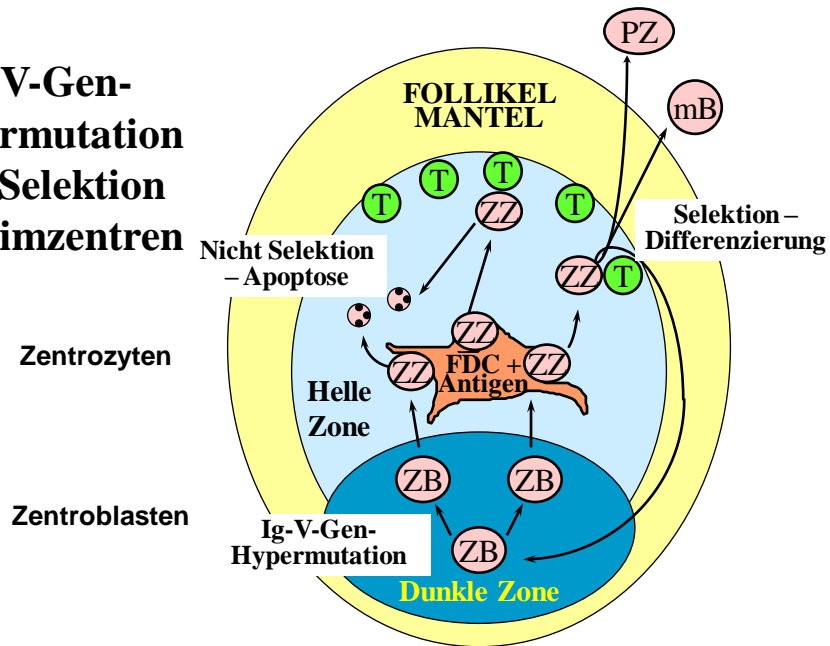
# Antigen-spezifische Interaktionen im Lymphknoten



## Somatische Hypermutation (Affinitätsreifung)

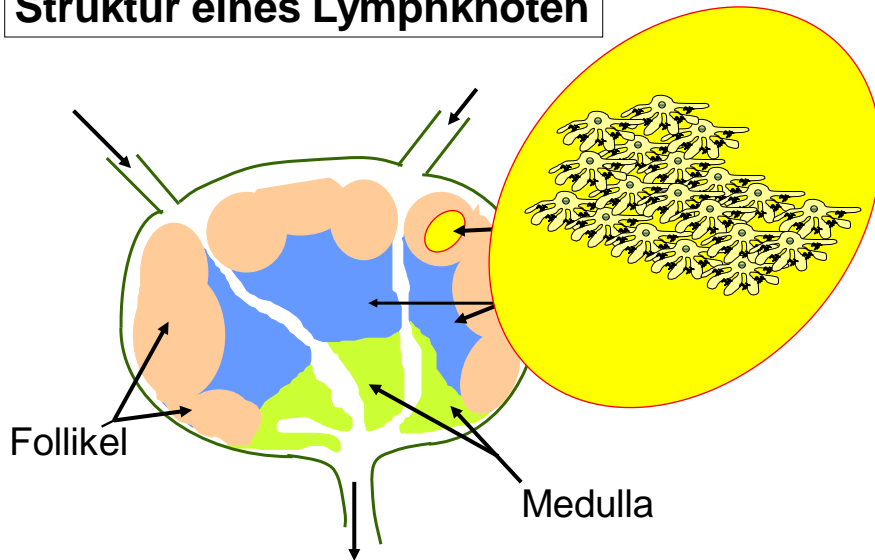


# Ig V-Gen- Hypermuation and Selektion in Keimzentren

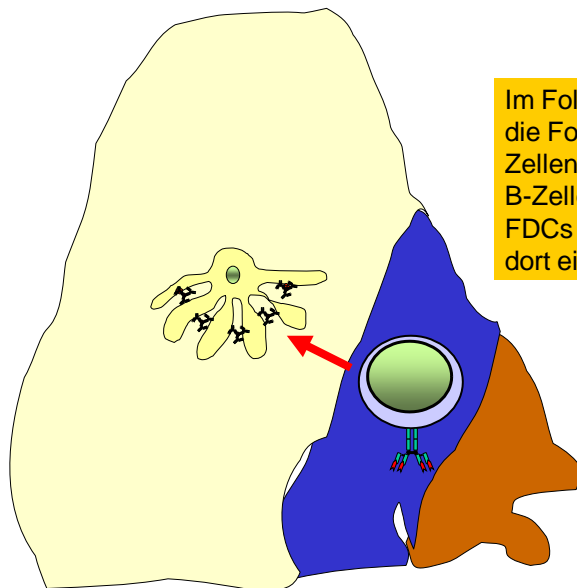


## Der besondere Fall der FDCs im Keimzentrum

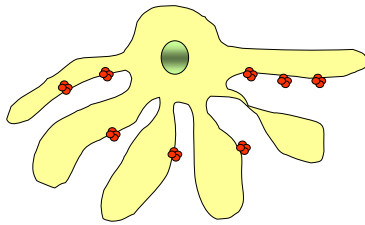
## Struktur eines Lymphknoten



## Das weitere Schicksal der reifen naiven B-Zelle ?



Im Follikel befinden sich die Follikulär dendritischen Zellen (FDC). Einige der B-Zellen werden zu den FDCs gelockt und bilden dort ein Keimzentrum.



## Folikulär dendritische Zelle

- FDCs sind keine dendritischen Zellen (tragen keine MHC-Moleküle, stimulieren also keine T-Zellen)
- Sie bilden ein Netz in den Primärfollikeln.
- Sie binden Immunkomplexen aus Antikörpern und Antigenen über Fc-Rezeptoren.
- Sie locken B-Zellen durch Freisetzung des Chemoattractants BLC (B-Zell-Chemokine) in die Keimzentren.
- Zu dieser Zeit findet die somatische Hypermutation statt.
- Die im Keimzentrum in Affinität gereiften B-Zellen versuchen die löslichen Antikörper aus den Immunkomplexen herauszudrängen. Wenn es gelingt, erhalten Sie weiter Antigenstimulation als Überlebenssignal.
- Jetzt bilden sich Plasma- und Memoryzellen, die vermutlich sehr lange leben.

