

# ЛЕКЦІЯ 11.

## ТЕМА: Генетика різноманітності антиген-специфічних рецепторів.

- . Теорії утворення різноманітності антитіл.
- . Методи дослідження генів імуноглобулінів і антиген-специфічних рецепторів.
- . Організація генів імуноглобулінів.



# Теорії утворення різноманітності антитіл.



Франк Бернет

- Селекційно-клональна теорія Бернета.
- Теорія “Зародкового різноманіття”.
- Теорія “Соматичного різноманіття”.
- Теорія В. Дрейєра і Дж. Беннета.



В наш час вважають, що синтез імуноглобулінів кодують певні **генетичні сегменти**, які **об'єднуються разом ще в геномі** під час розвитку лімфоцита й утворюють **функціональний ген**.

Процес перерозподілу генних сегментів у геномній ДНК називають **реаранжуванням** (від англ. **rearrangement** - реконструкція) генів імуноглобулінів.



# Методи дослідження генів імуноглобулінів і антиген-специфічних рецепторів.

- .Отримання мРНК важких і легких ланцюгів імуноглобулінів.
- .Отримання кДНК генів антитіл.
- .Клонування ДНК виділених генів.
- .Молекулярна гібридизація.
- .Southern blotting.



## Дослідження С. Тонегави.

Досліджували та отримали мРНК важких і легких ланцюгів імуноглобулінів та **встановили приблизну кількість копій V-генів у хромосомі.**

Визначили приблизну кількість VL- і CL-генів у клітинах мієломи мишей за допомогою методу молекулярної гібридизації.

Методом Southern blotting встановили, що в зрілих клітинах V- і C-гени виявлялися в **одному рестрикційному фрагменті**, а в ембріональних клітинах – у різних.

**Клонували гени  $\lambda$ -ланцюгів і виявили, що ділянки ДНК, яка кодує останні 13 амінокислот V-домену  $\lambda$ -ланцюгів, у зародкових V-генах немає. Загублений маленький фрагмент кодуючої послідовності ДНК було знайдено на відстані кількох тисяч пар нуклеотидів від кінця V-гена і перед C-геном і названо J-геном (від англ. *joining* – сполучний ген).**

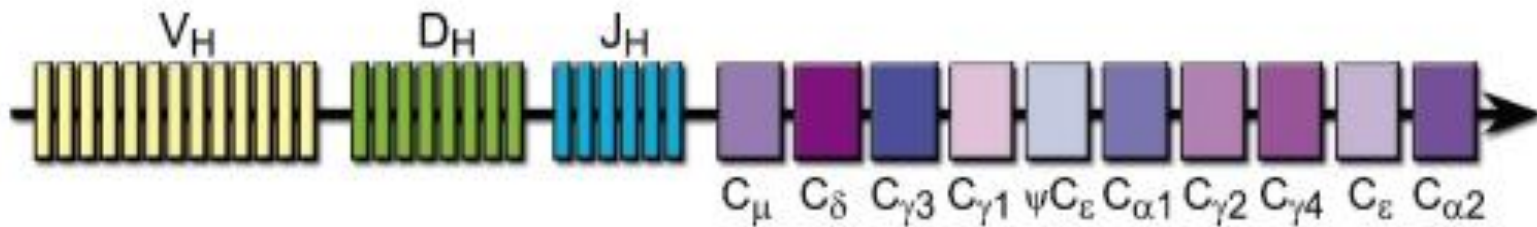
# ОРГАНІЗАЦІЯ ГЕНІВ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ

Важкі й легкі ланцюги імуноглобулінів кодуються трьома локусами генів:

- Двома локусами -  $\kappa$  і  $\lambda$  легких ланцюгів, які розташовані відповідно на 2-й на 22-й хромосомі.
- Одним локусом  $H$  важких ланцюгів, на 14-й хромосомі.



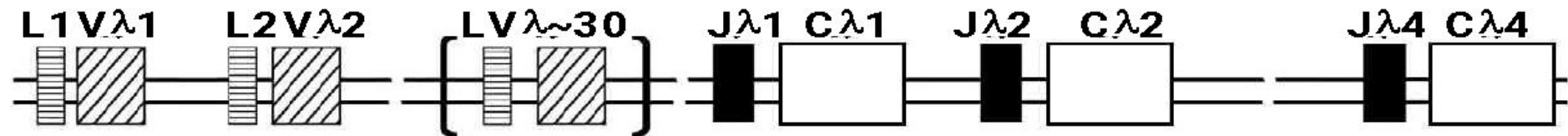
- Локус генів важких ланцюгів утворений із чотирьох груп генетичних сегментів: V, D, J і C.



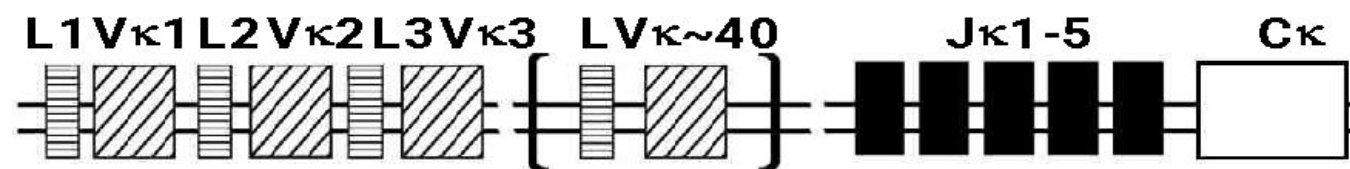
- Локуси генів легких ланцюгів утворені трьома групами генетичних сегментів: V, J і C.

# Організація генів імуноглобулінів ЛЮДИНИ.

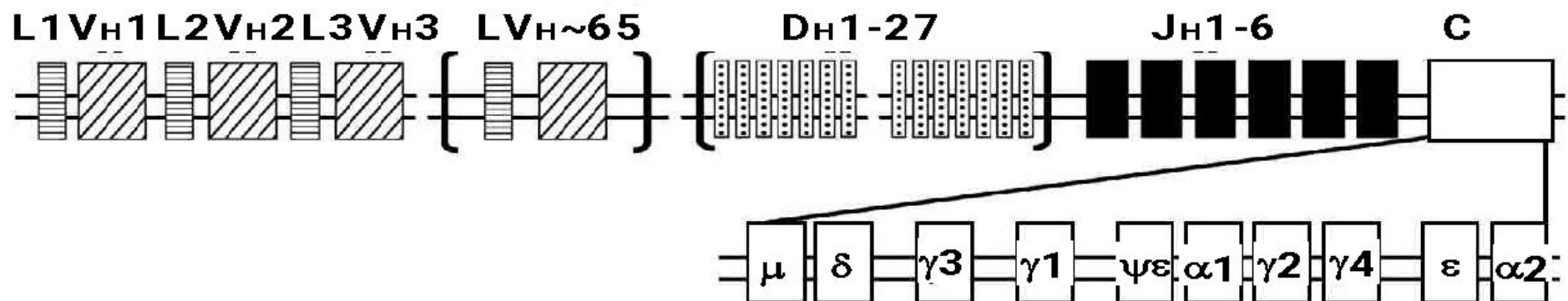
Ланцюг Lλ



Ланцюг Lκ

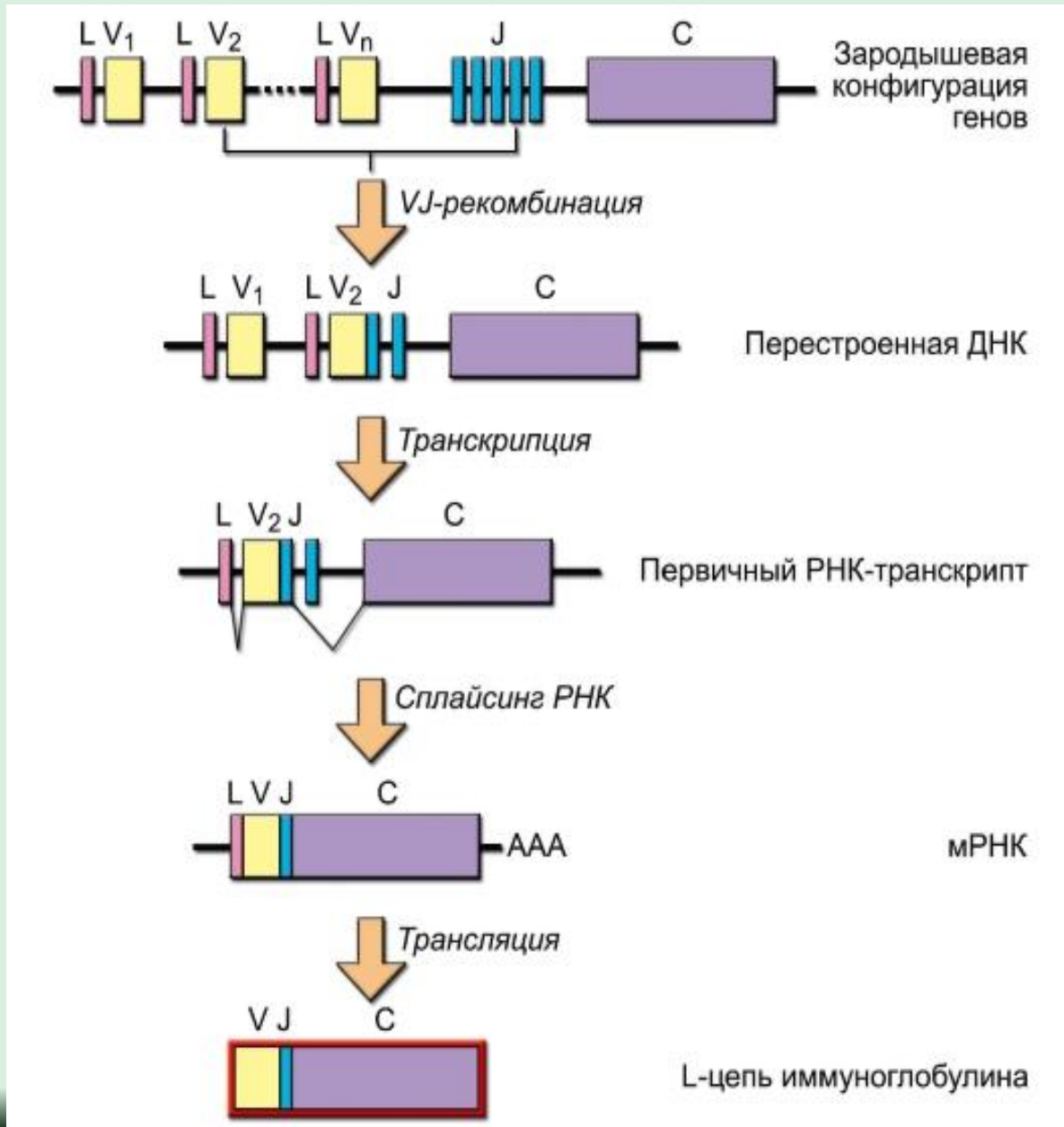


Ланцюг H

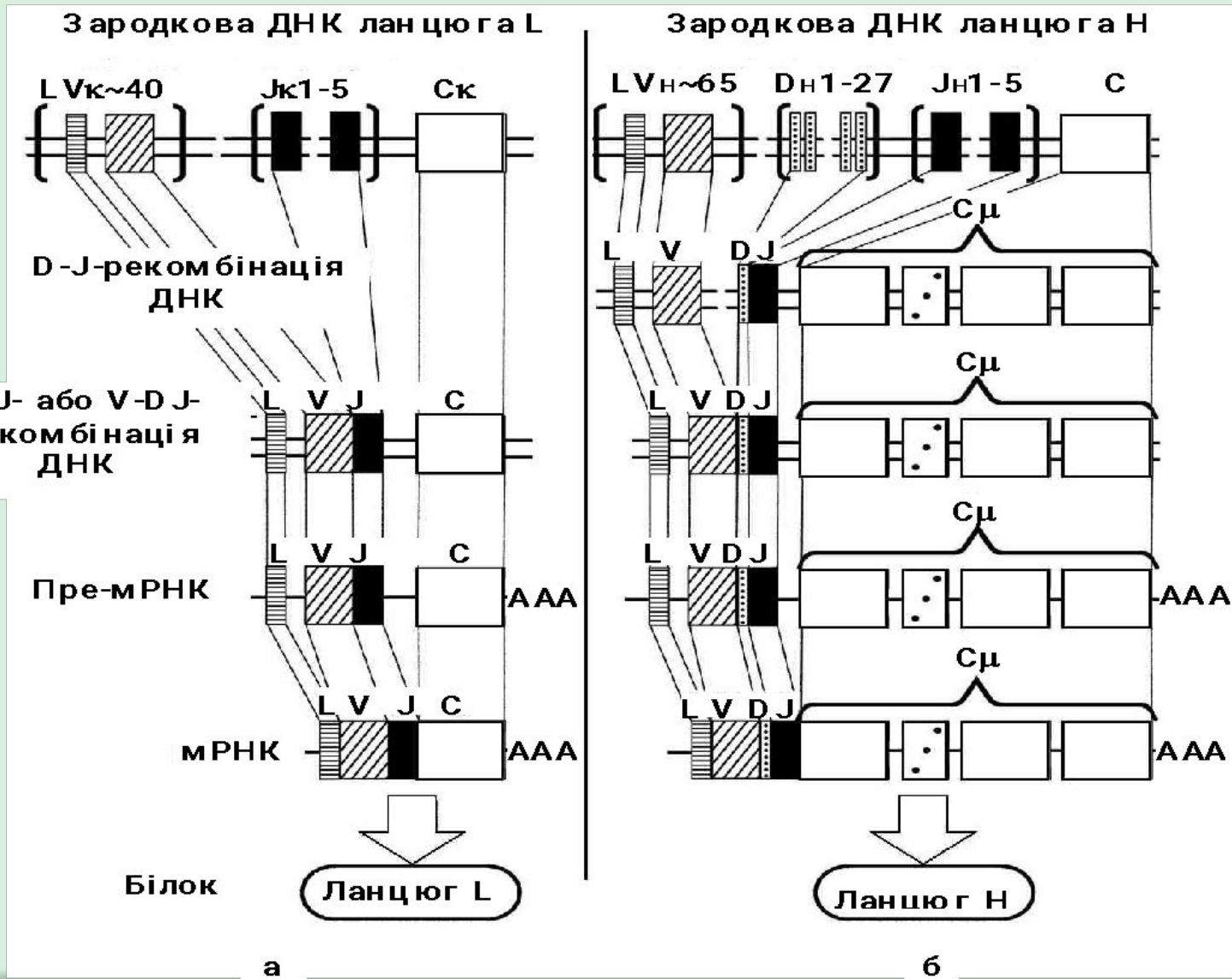




# Схема утворення легких ланцюгів імуноглобулінів із зародкової ДНК реаранжуванням генів.



# Схема утворення легких (а) і важких (б) ланцюгів імуноглобулінів із зародкової ДНК реаранжуванням генів.



## Переключення генів важких ланцюгів.

- В ембріональних клітинах J-сегменти містяться лише перед С $\mu$ -генним сегментом.
- Тому внаслідок рекомбінації та об'єднання V $\mu$ , D $\mu$  і J $\mu$ -генних сегментів з С $\mu$ -сегментом В-клітина спочатку експресує лише важкий ланцюг  $\mu$ -типу і синтезує тільки IgM.
- Переключення синтезу з імуноглобулінів класу M на всі інші типи імуноглобулінів здійснюється після перенесення V-D-J сегмента від С $\mu$ -генного на інші С $n$ -генні сегменти внаслідок наступних рекомбінацій між послідовностями, які передують іншим ембріональним С $n$ -сегментам.



## *Переключення синтезу IgM та IgD.*

Комплекс, що складається з об'єднаних генних сегментів VDJ, може експресуватися з будь-яким із C-сегментів, однак спочатку перебудований комплекс VDJ розміщується поблизу C $\mu$ - і C $\delta$ -генних сегментів, чим і зумовлено те, що на поверхні наївних В-лімфоцитів експресуються IgM та IgD.



Під час транскрипції утворюється первинна РНК, яка відповідає VDJS $\mu$ S $\delta$ -гену, що включає екзони, здатні кодувати константну частину як M-, так і D-важкого ланцюга.

У процесі *сплайсингу* під час формування зрілої мРНК вирізаються ділянки гена, що кодують константну частину або  $\mu$ -, або  $\delta$ -ланцюга.

Цей процес називають *альтернативним сплайсингом*.

Альтернативний сплайсинг зумовлює одночасну експресію мембранних молекул IgM та IgD однією клітиною.



Після експресії IgM та IgD В-клітина може переключитися на синтез інших класів імуноглобулінів залежно від типу  $C_H$ -сегмента, з яким далі з'єднається VDJ-фрагмент.

Переключення на синтез антитіл іншого класу зумовлюється транслокацією фрагмента *VDJ* з положення 5' щодо генного сегмента  $C_H$  в аналогічне положення щодо іншого генного сегмента константної частини важкого ланцюга.



## *Переключення з мембранного на секреторну форму імуноглобулінів.*

Певні генетичні механізми контролюють переключення синтезу мембранних  $\mu$ -імуноглобулінів (тих, що є рецепторами В-клітин) на s-імуноглобуліни (секреторні).

Синтез різних форм імуноглобулінів кодується відповідними варіантами мРНК-транскрипту генів H-ланцюгів певного класу чи підкласу антитіл.

Для створення мРНК-мембранних і тих, що секретуються, імуноглобулінів використовується механізм альтернативного сплайсингу (аналогічно для переключення синтезу IgM та IgD).

