



IMMUNOLÓGIAI ÉS
BIOTECHNOLÓGIAI
INTÉZET



5. Praktikum: Lymphozytgruppen, Erkennungsmolekülen (Immunglobulin, TcR, MHC)

Grundlagen der Immunologie

Universität Pécs, Klinisches Zentrum
Institut für Immunologie und Biotechnologie
Pécs, 2023.

Zellen lymphoider Abstammung

Innate lymphoid cells (ILC –
angeborene lymphoide Zellen)



**KEINE ANTIGEN-ERKENNUNGS
REZEPTOREN**

Lymphozyt



Keine Unterschiede in
der Morphologie!

**ANTIGEN ERKENNUNGS
REZEPTOREN**

NATÜRLICH



$\gamma\delta$ T Zelle



B1 B Zelle

LYMPHOZYTEN



T Zelle (CD3+)



B Zelle (CD19+)



$\alpha\beta$ T Zelle



B2 B Zelle

ADAPTIV



Helfer T Zelle (CD4+)

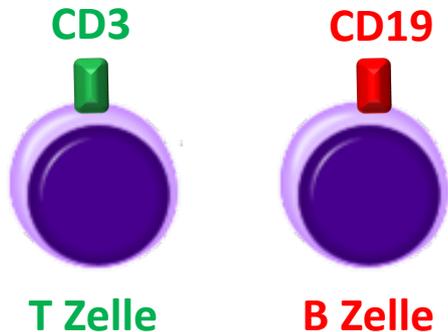


Zytotoxische T Zelle (CD8+)

CD Marker

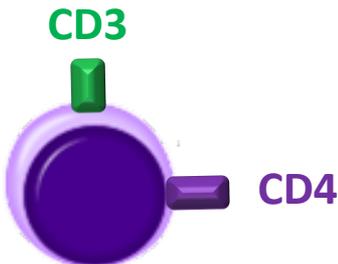


Bestimmte Zellen (z.B. Lymphozyten) können nicht immer aufgrund ihrer Morphologie unterschieden werden.



Verschiedene Zellen können mit Hilfe von Molekülen die sie auf der Zelloberfläche oder im Zytoplasma exprimieren identifiziert und unterschieden werden.

IMMUNPHÄNOTYP: Das charakteristische molekulare Muster eines Zelltyps wird durch die Benutzung von Antikörpern bestimmt.



Solche Oberflächenmoleküle erhielten eine standardisierte Nomenklatur:

CD = **Cluster of differentiation**, Benutzung: CD + Nummer, e.g.: CD1, CD2, CD3, CD4, etc...

Die Struktur und Funktion der CD Marker variiert.

Beispiel für Immunphänotyp:
CD3+/CD4+/CD8- → Helfer T Zelle

Angeborene lymphoide Zellen (ILC)

- Sie können nicht aufgrund ihrer Morphologie von Lymphozyten unterschieden werden aber im Gegensatz zu adaptiven Lymphozyten können sie keine Antigene erkennen → **Sie haben keine Rezeptoren die Antigene erkennen.**
- Sie werden anhand der produzierten Zytokine und der Transkriptionsfaktoren die für ihre Bildung notwendig sind klassifiziert (siehe Vorlesungen):

– Gruppe 1 ILCs:

- **NK Zellen**
- ILC1

– Gruppe 2 ILCs:

- ILC2

– Gruppe 3 ILCs:

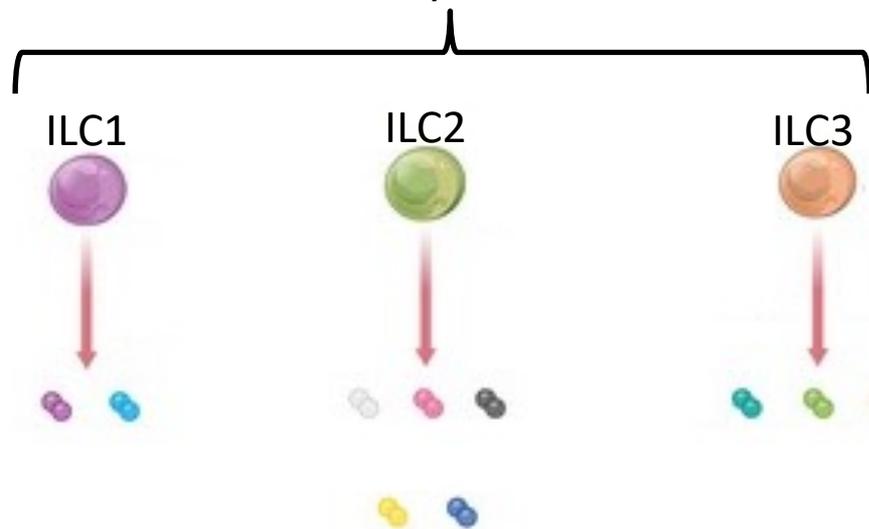
- ILC3/LTi

Zytokine →

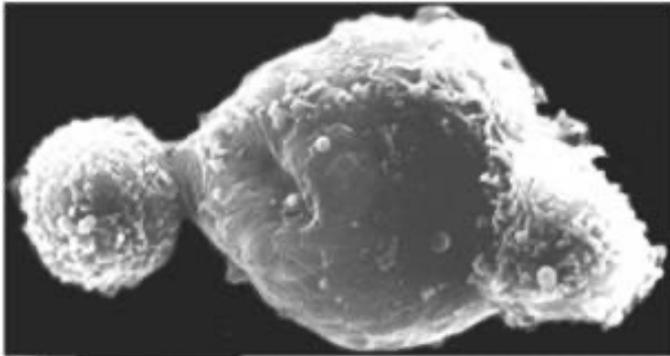
Zytotoxisch



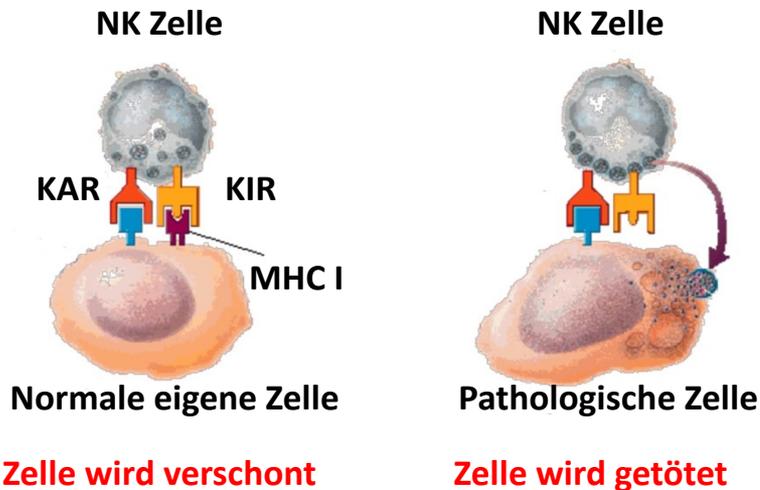
Non-Zytotoxisch



Natürliche Killer Zellen (NK cells)



Zwei NK Zellen töten eine Krebszelle.
(SEM Bild)



Zelle wird verschont

Zelle wird getötet

Blut Lymphzellen %:	≈ 10
Hauptfunktionen:	Töten von, mit intrazellulären Erregern infizierten, Zellen, Töten von Krebszellen
Erkennen:	KAR → Töten des Ziels KIR → Ziel verschonen Fc Rezeptor, Komplement Rezeptor
Zytotoxizität:	Fas-FasL, Perforin, Granzyme
Produzierte Mediatoren:	Zytokine
Fc Rezeptor:	FcγR (bindet IgG)
Characteristische Marker:	CD56

Rot: Nur nach der Aktivierung des adaptiven Immunsystems möglich

Lymphozyten

Leukozyten %:	25-40*
Hauptfunktion:	ADAPTIVE IMMUNITÄT
Erkennung:	Antigen-spezifische Rezeptoren (TCR, BCR)

* Inklusive NK Zellen



Zytotoxische T Zelle (CD8+)

B Zelle (CD19+)

Helfer T Zelle (CD4+)

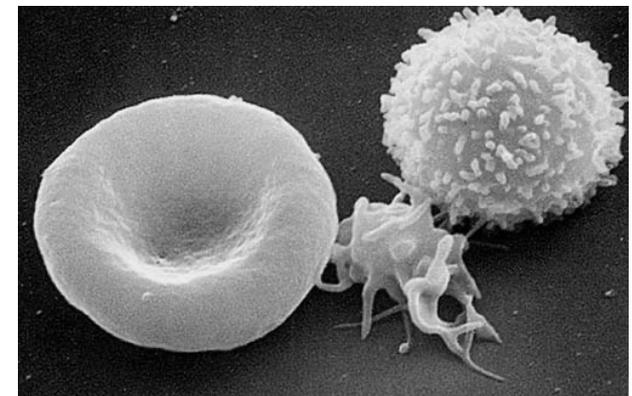
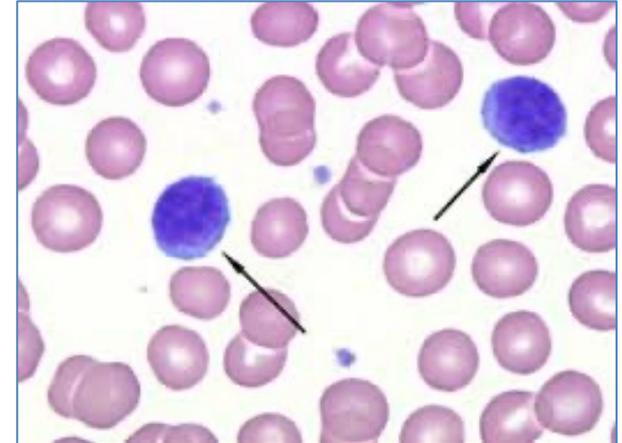


Antikörper
Produktion

Direktes töten von
Zielzellen (infiziert
oder tumorös)

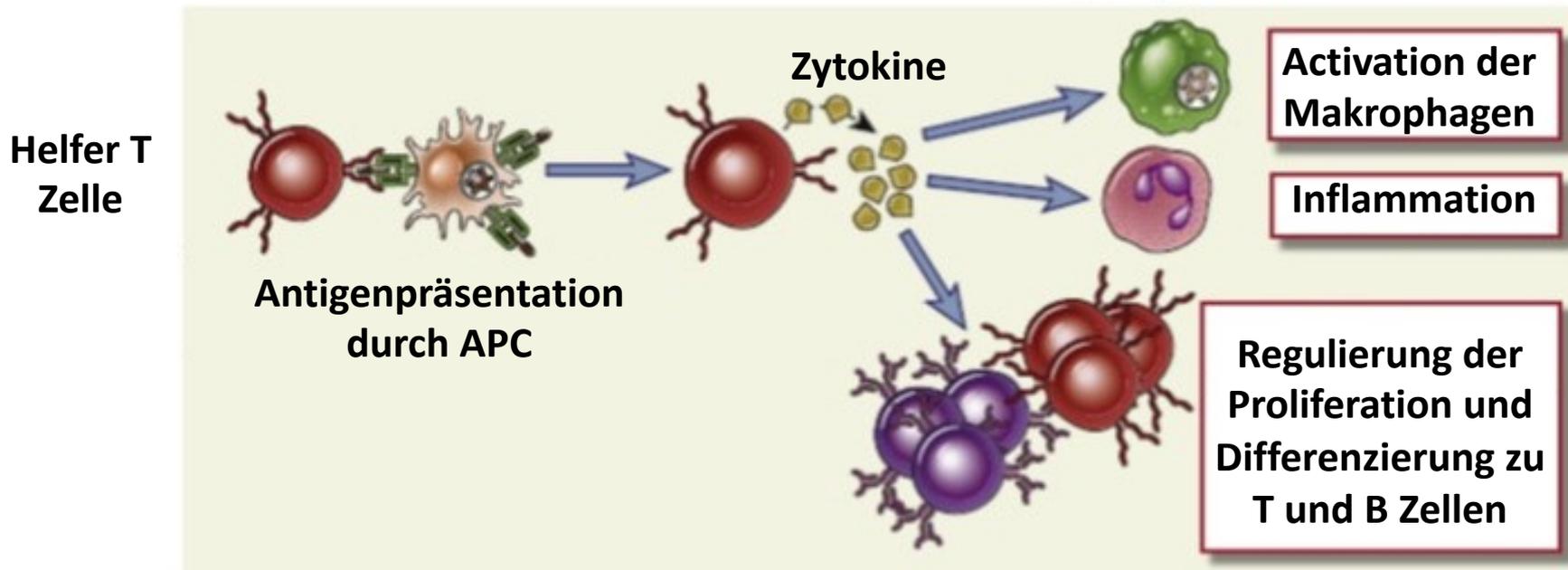
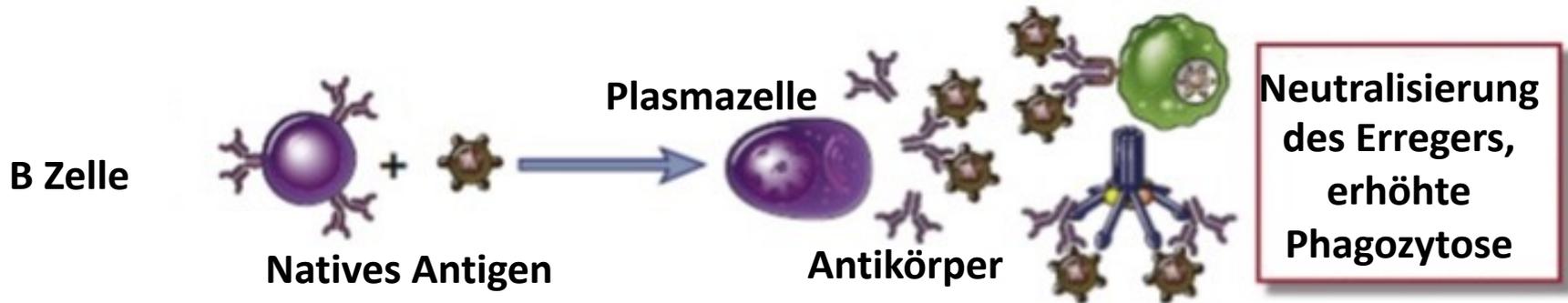
Regulation der
Immunantwort

Alle der oben genannten sind ANTIGEN-SPEZIFISCH!



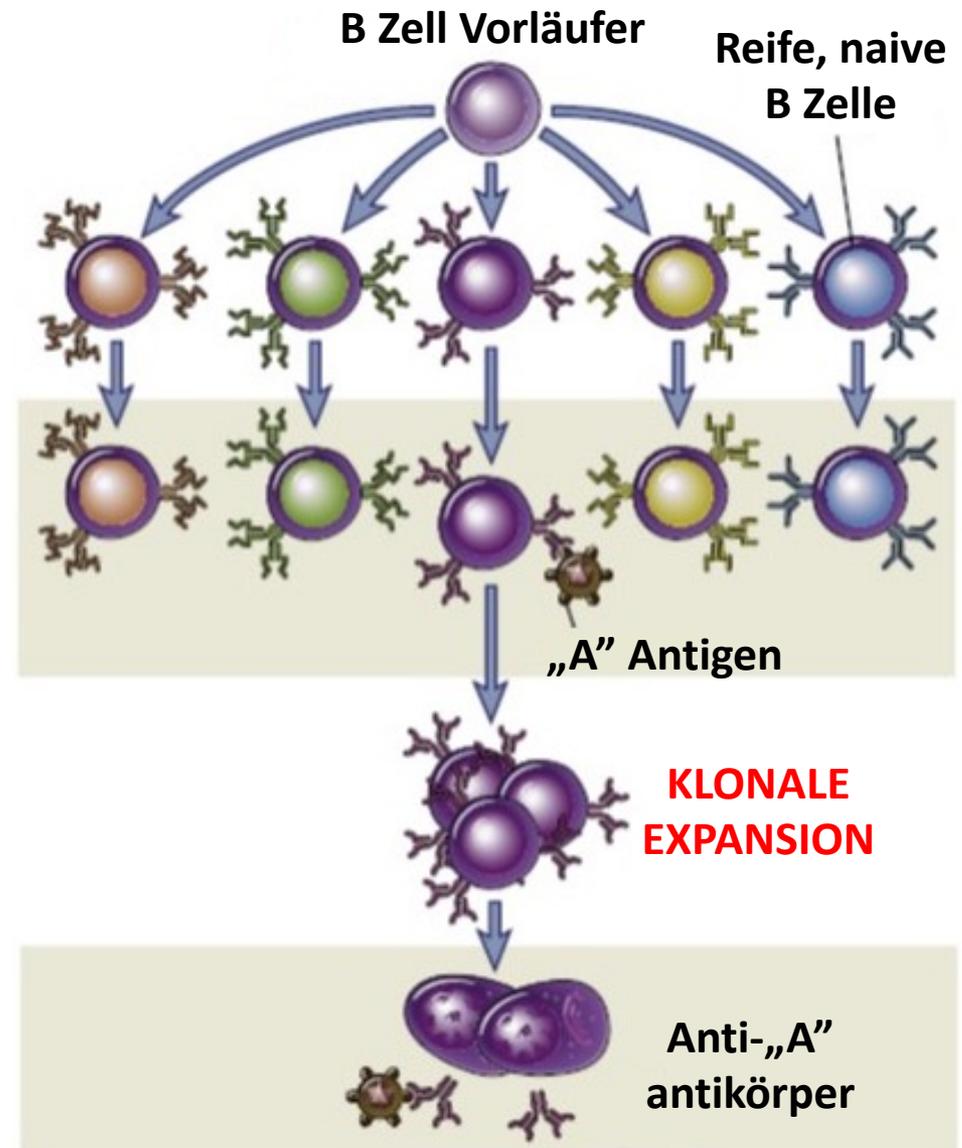
Ein Erythrozyt, ein Plättchen
und ein Lymphozyt
(SEM image)

Hauptgruppen der Lymphozyten



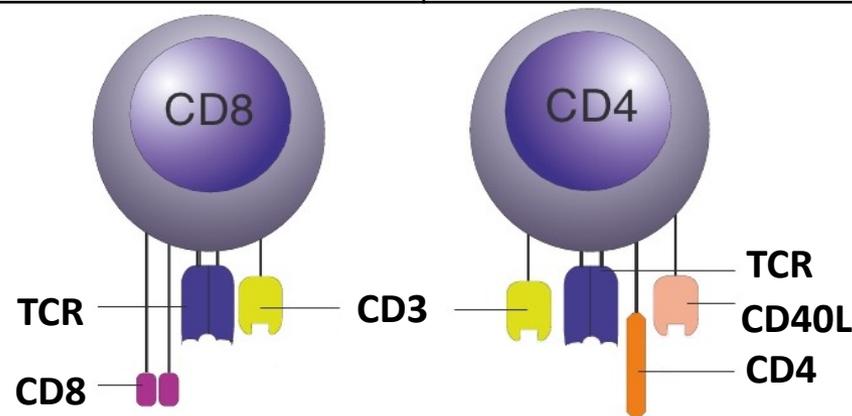
Klonalität

1. Jedes neu produzierte Lymphozyt exprimiert einen **einzigartigen antigen-bindenden Rezeptor**.
2. Nur Lymphozyten die ein Antigen erkennen werden aktiviert. Diese Zellen proliferieren und produzieren **Klone** von sich selbst. Jede Schwesterzelle hat den gleichen Antigenenerkennungs Rezeptor.
3. Diese Klone werden zu **Effektor Zellen** differenzieren, die an der Immunantwort teilnehmen. (z.B. Effektor-Plasmazellen produzieren Antikörper)



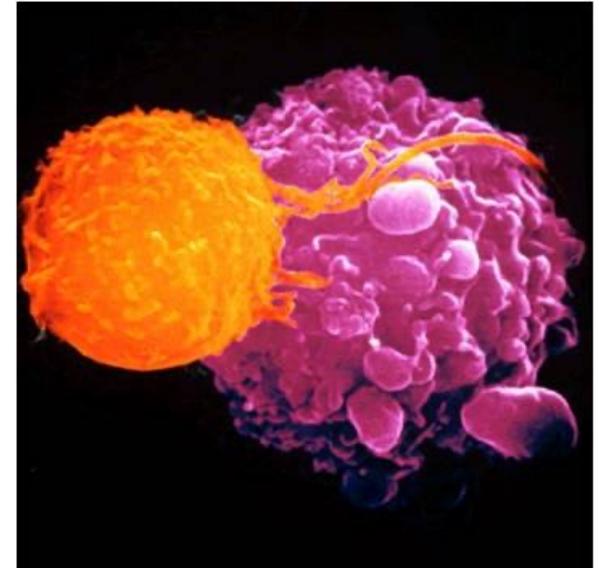
T Zellen

Hauptfunktion:	Antigenspezifische Tötung der Zielzelle (CD8+), Regulation der Immunantwort durch Zytokine (CD4+)
Erkennung:	Durch MHC, antigenspezifische TCR
Mögliche Arten von T-Zell-Rezeptoren (TCR)	$\alpha\beta$ und $\gamma\delta$
Produzierte Mediatoren:	Zytokine
Haupttypen von $\alpha\beta$ T Zellen:	CD4+ Helfer CD8+ Zytotoxisch
Bildungsorte:	Knochenmark, Thymus
Characteristische Marker:	CD3 (Bildet einen Komplex mit dem TCR)



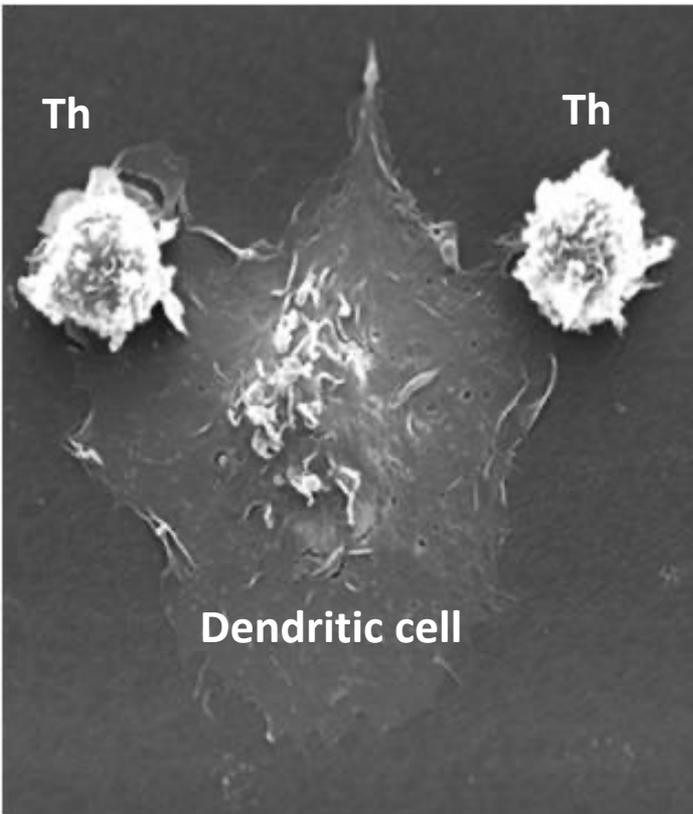
Zytotoxische T Zellen (Tc oder CTL)

Blut T Zellen:	1/3
Hauptfunktion:	Effektorzelle der zellulären Immunität
Erkennung:	Durch MHC I, Antigen-spezifischer TCR
Zielzellen zur Tötung:	Infiziert mit IZ Erregern, Krebs, Fremde- (Transplantation!)
Erkannte Antigene:	Endogene (aus dem Zytoplasma der Zielzelle)
Zytotoxizität:	Fas-FasL, Perforin, Granzyme
Immunphänotyp:	CD3+/CD8+/CD4-

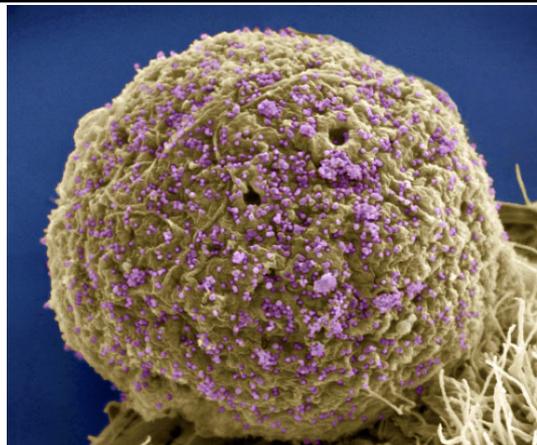


Eine zytotoxische T Zelle tötet eine Krebszelle.
(SEM Bild)

Helfer T Zelle (Th)



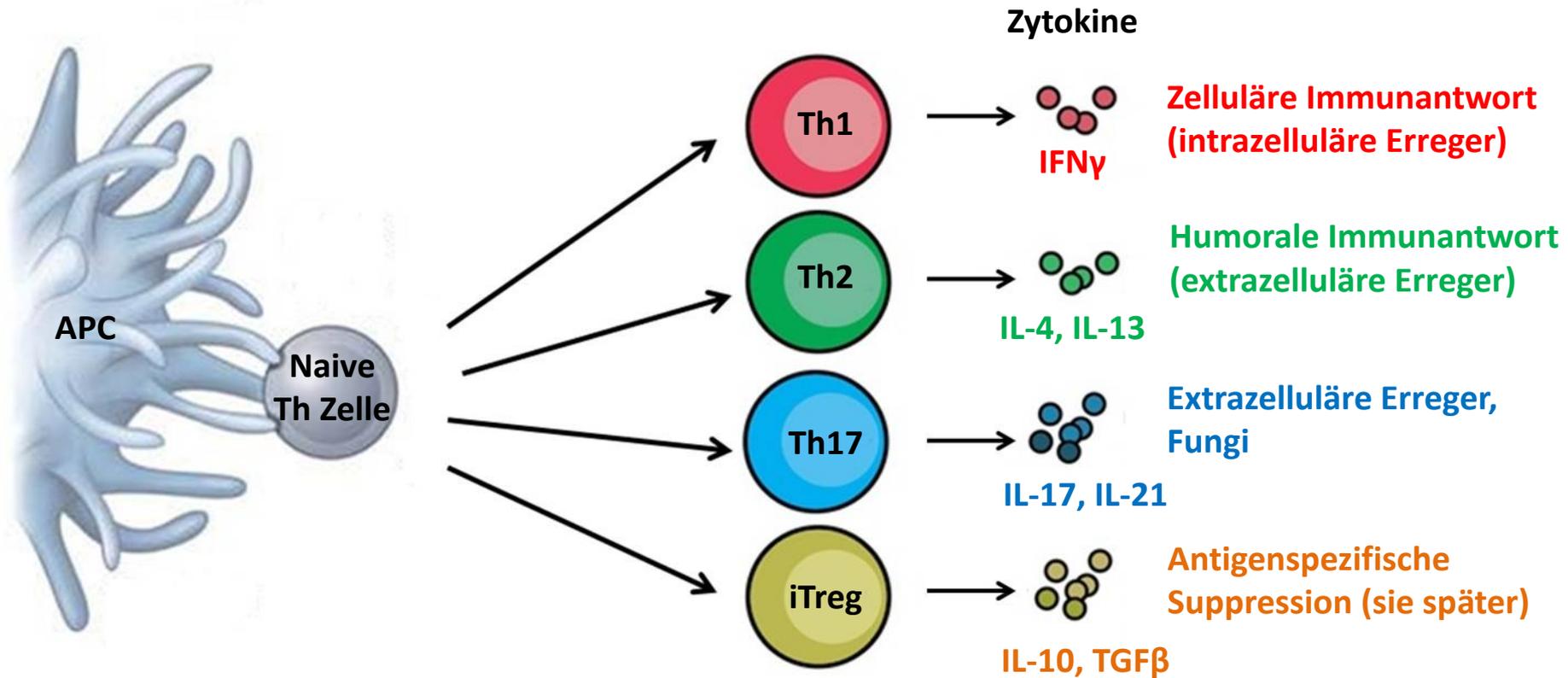
Blood T Zellen:	1/3
Hauptfunktion:	Regulation der Immunantwort
Erkennung:	Durch MHC II, antigenspezifische TCR
Erkannte Antigene:	Exogene (abgebaut in Phagosom)
Immunphänotyp:	CD3+/CD4+/CD8-
Rolle in Krankheiten:	Autoimmunität, HIV Infektion



Gelb-braun: Th Zelle
Lila: **HIV** Virionen
(SEM Bild)

Zwei Helfer T Zellen angeheftet an einer Dendritischen Zelle.
(SEM Bild)

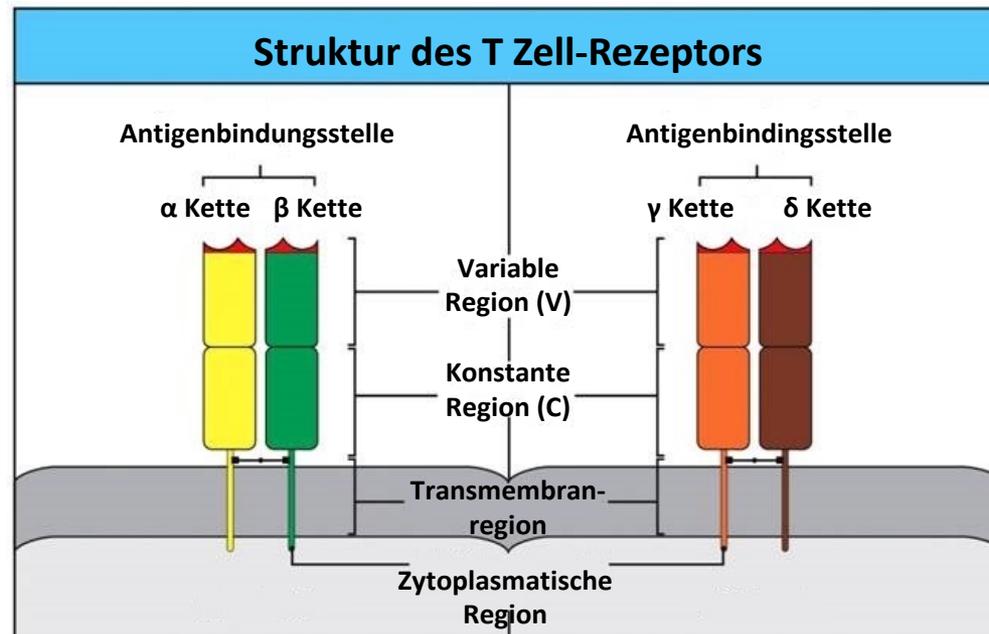
Hauptsubtypen der Th Zellen



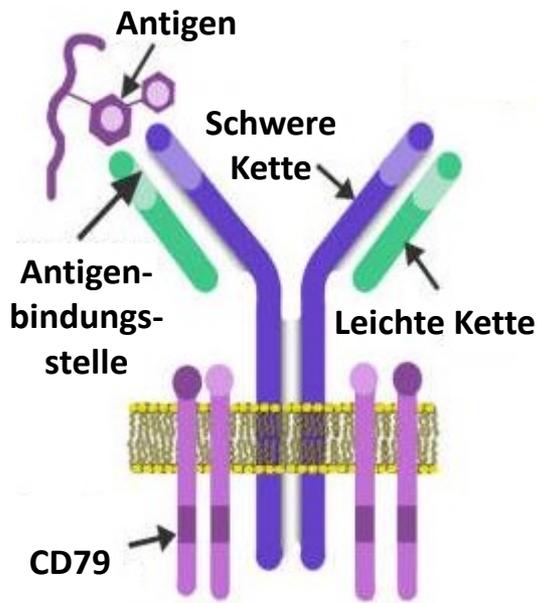
- Th17 Zellen haben einen wichtigen Anteil an **entzündlichen Krankheiten**. (siehe später)
- **Regulatorische T Zellen (Treg)**: Sie können andere Immunzellen hemmen (**Suppression**, siehe später), ihr Immunphänotyp ist: **CD4+/CD25+/Foxp3+**

$\gamma\delta$ T Zellen

- Sie exprimieren TCRs die aus γ - und δ -Ketten bestehen.
- Sie sind “**innate-like lymphocytes**” (ähneln also ILCs), sind aber nicht so gut charakterisiert wie $\alpha\beta$ T cells.^[17.]
- Man findet sie vor allem in der **Haut** und der **Mukosa**; normalerweise als Intraepitheliale Lymphozyten (IEL). Sie können in geringen Zahlen im peripheren Blut gefunden werden.
- Sie nehmen an den frühen Phasen der Immunantwort gegen invasive Erreger teil.
- Die Antigenerkennung ist **MHC-unabhängig**.
- Sie erkennen vor allem **Lipidantigene durch CD1 Präsentiert**



B Zell-Rezeptor (BCR)



Signalübertragung bei Antigenbindung

B Zellen

Blut Lymphzellen %:	10-15
Hauptfunktionen:	Antikörper Produktion, Antigenpräsentation
Erkennung:	Native Antigene durch antigen-spezifischem BCR
Haupttypen:	B1 und B2
Bildungsort:	Knochenmark
Charakteristische Marker:	CD19 (bildet ein Komplex mit dem BCR)

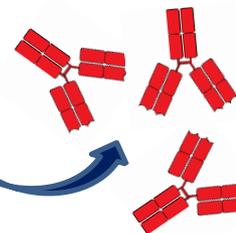


B Zelle

BCR = Oberflächen Immunoglobulin



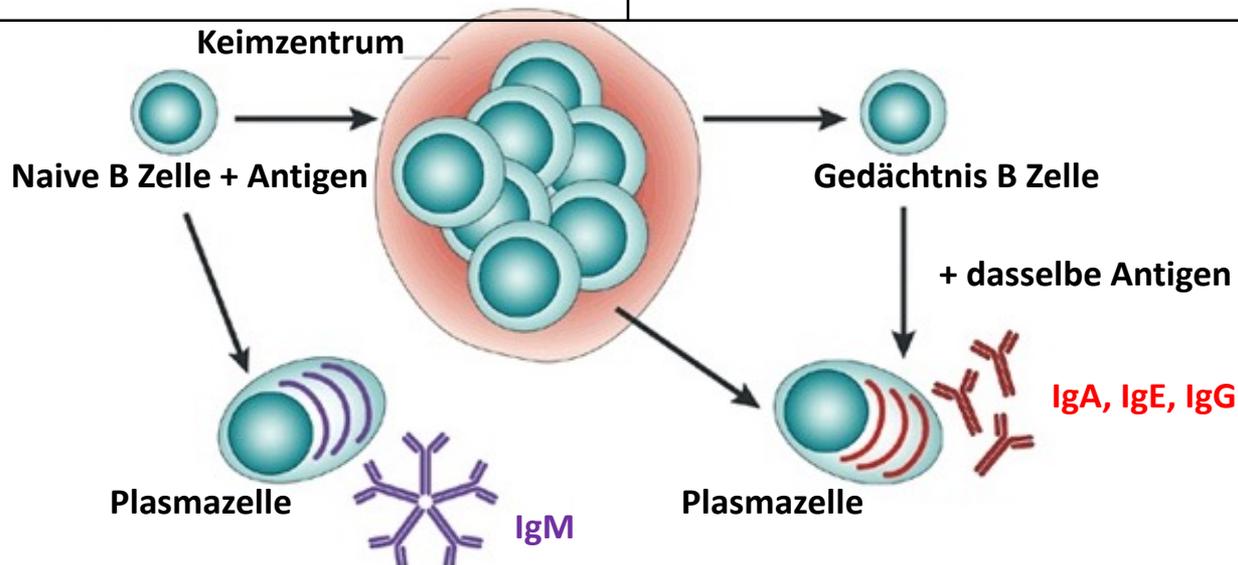
Plasmazelle



Antikörper gegen das selbe Antigen das vom BCR erkannt wird (sekretiertes Immunoglobulin)

B2 B Zellen

Auffindbar in:	Follikel der sekundären Lymphorgane, Blut
Hauptfunktionen:	Antikörper Produktion, Antigenpräsentation
Erkennung:	Native Antigene durch antigenspezifische BCR
Ort der primären Reifung:	Knochenmark
Ort der Antigen-abhängigen Reifung:	Keimzentrum
Produzierte Antikörper:	Monospezifische, hochaffine, mit verschiedenen Isotypen



B1 B Zellen

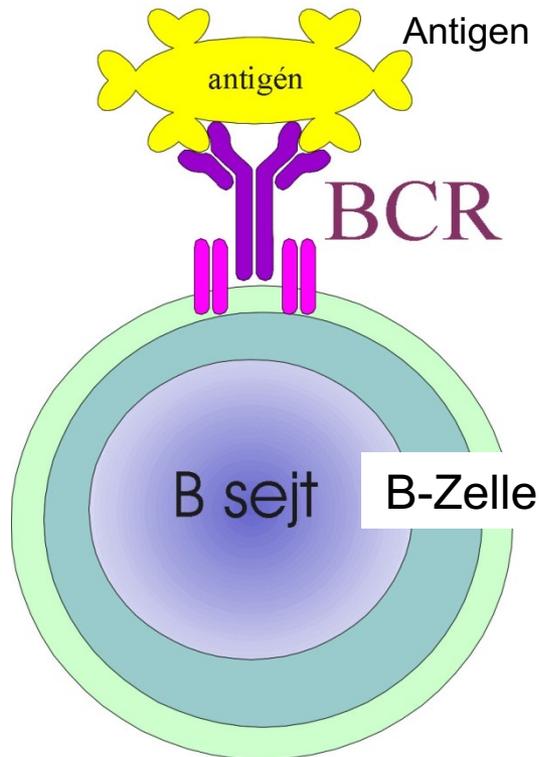
- Nur wenige können im peripheren Blut gefunden werden.
- **Sie sind innate-like lymphocytes**, die meisten befinden sich in serösen Membranen. (z.B. Peritoneum, Pleura, Perikard)
- Sie werden zuerst im Fötus gebildet und erneuern sich selbst in der Peripherie, und nicht im Knochenmark wie es bei B2 Zellen der Fall ist.
- Sie produzieren **natürliche Autoantikörper** die evolutionär **konservierte Eigene Antigene** binden können.
- Sie wurden zuerst als CD5+ B Zellen in Mäusen beschrieben.
- Der Immunphänotyp der menschlichen B1 Zellen ist noch immer kontrovers.

	B1 cells	B2 cells
Spontane Antikörper Herstellung	Signifikant	Minimal
Isotyp der produzierten Antikörper	IgM	IgM/IgG/IgA/IgE
Affinität und Spezifität der Antikörper	Polyspezifisch mit niedriger Affinität	Monospezifisch mit hoher Affinität
Affinitätsreifung, Gedächtnis	Nein	Ja

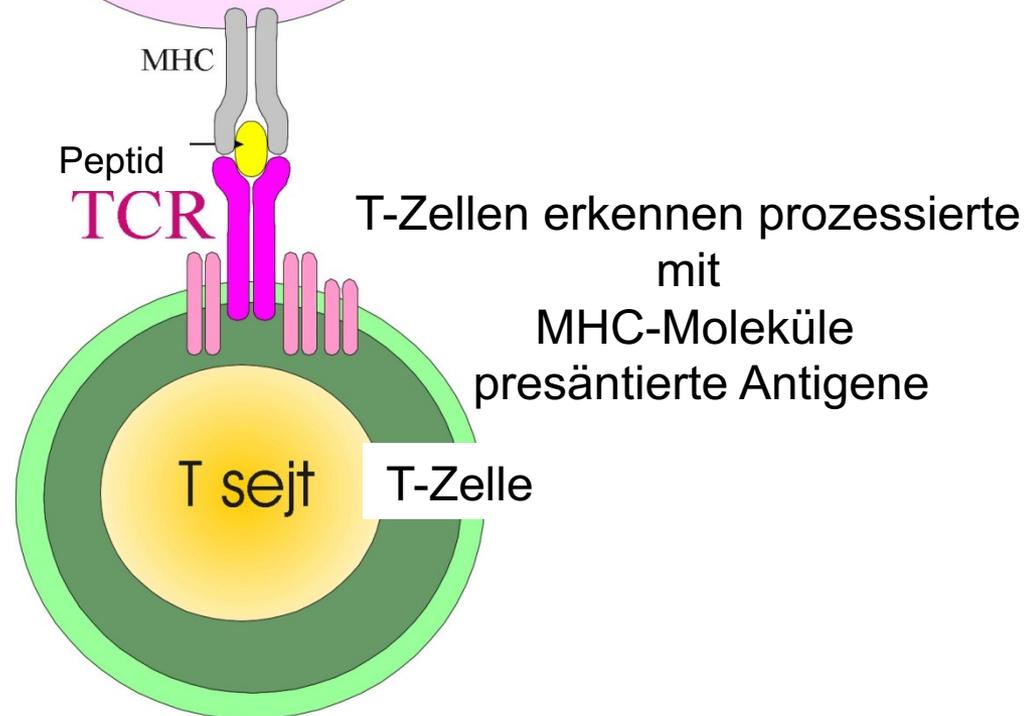
Moleküle der Immunologischen
Erkennung: Antikörper, B-Zell und T-Zell-
Rezeptoren

Unterschiede zwischen B- und T-Zellen in der Antigenerkennung

B-Zellen erkennen Antigene
in Lösung oder an Zelloberflächen



APC
Antigen präsentierende Zelle
Makrophag, DC, B-Zelle

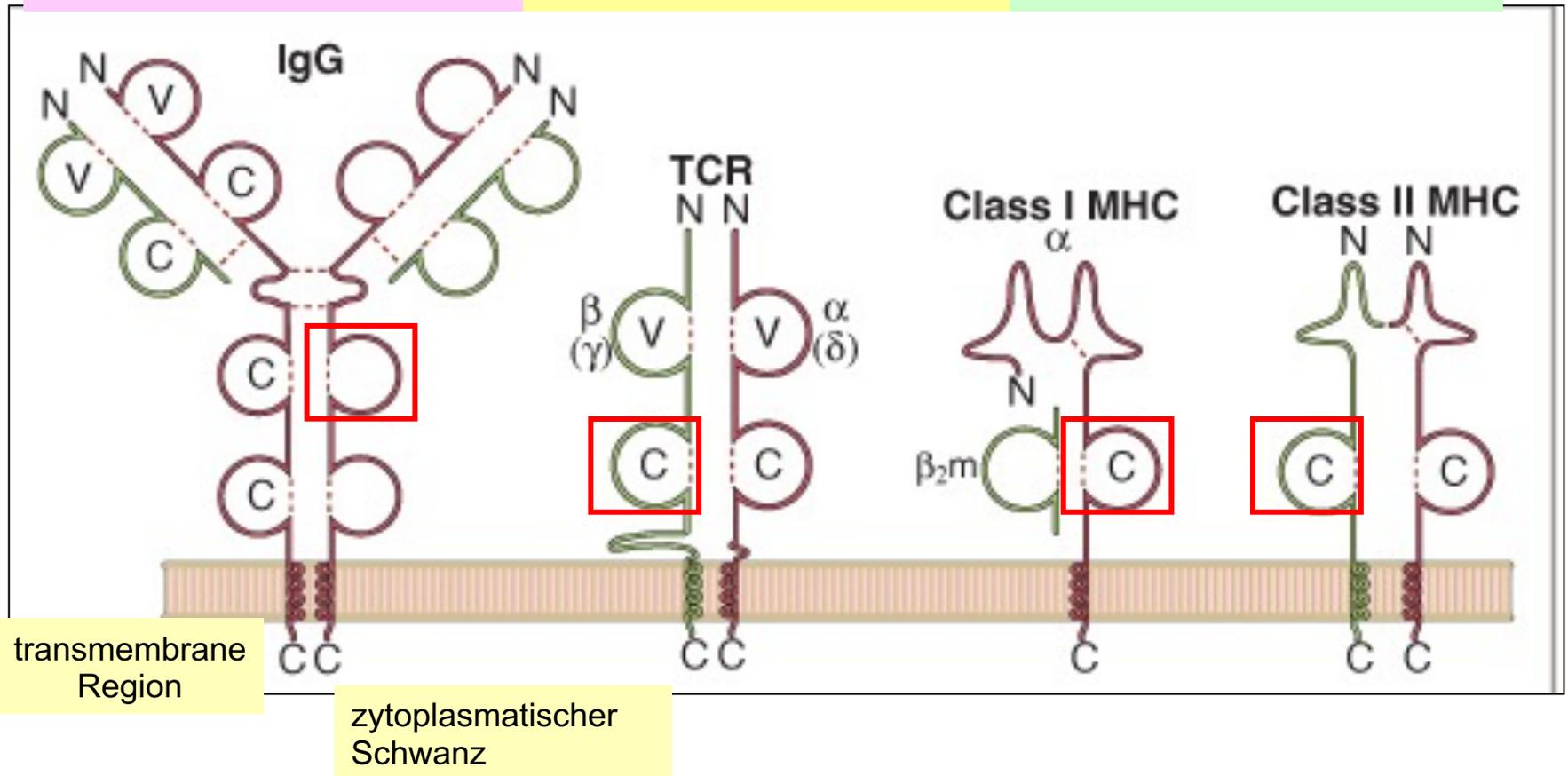


Antigenrezeptoren – Ig-Superfamilie

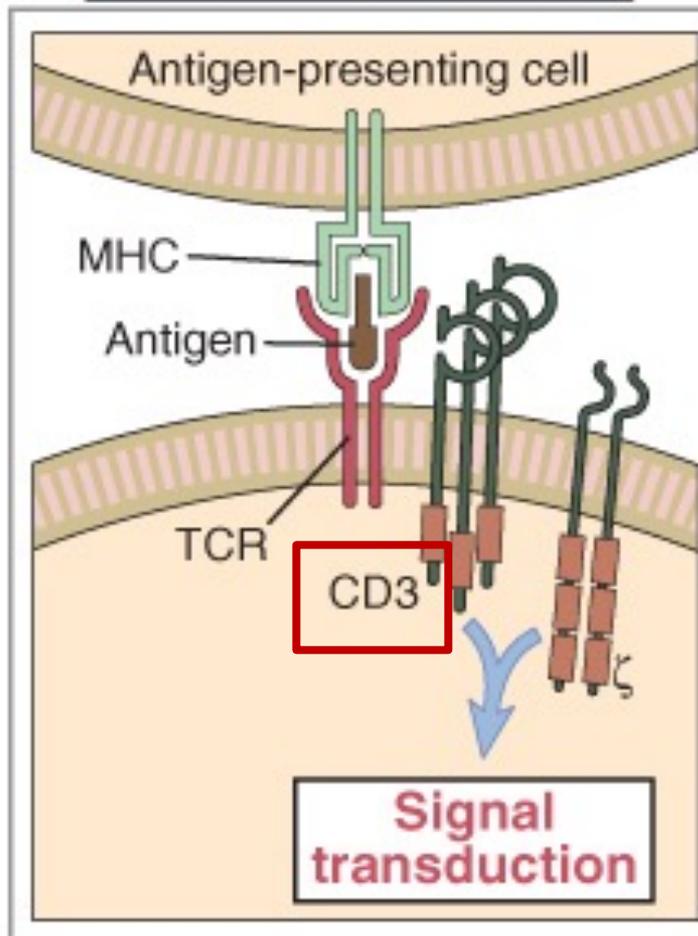
Antikörper - BcR

T-Zell-Rezeptor

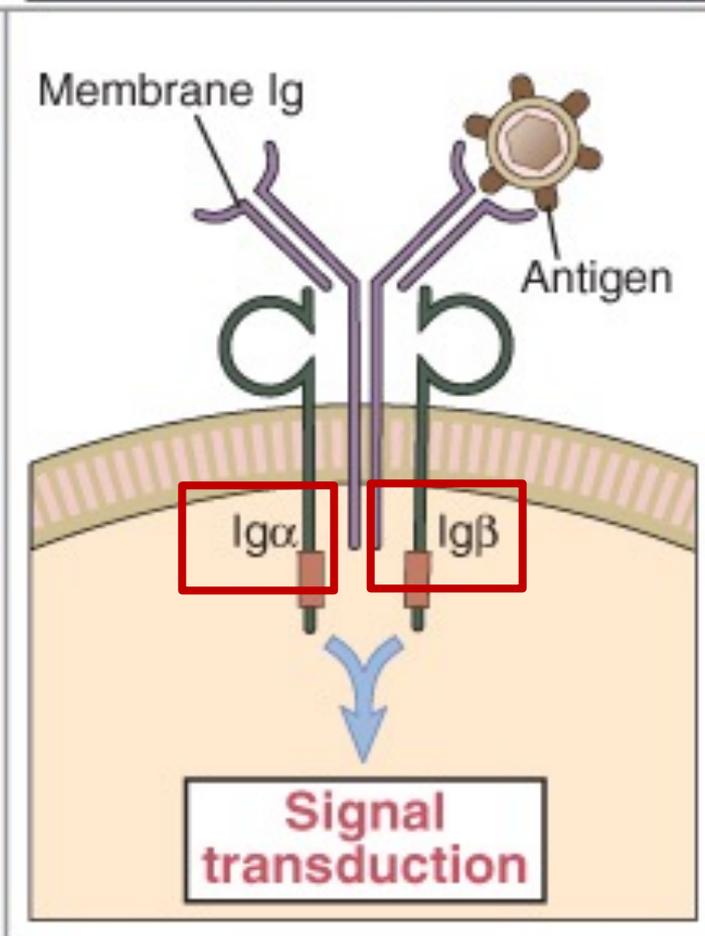
MHC-Molekülen



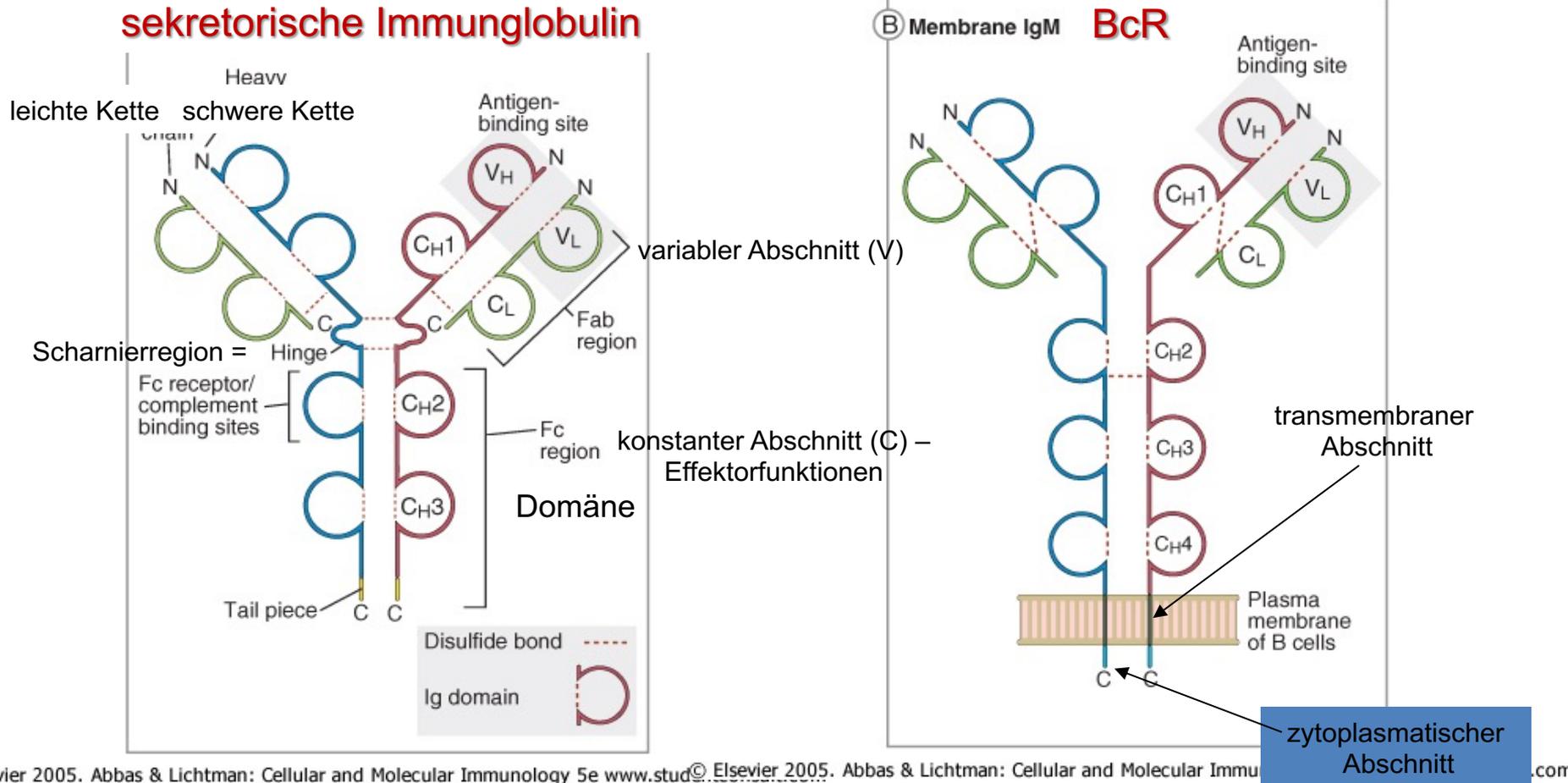
T cell receptor (TCR)



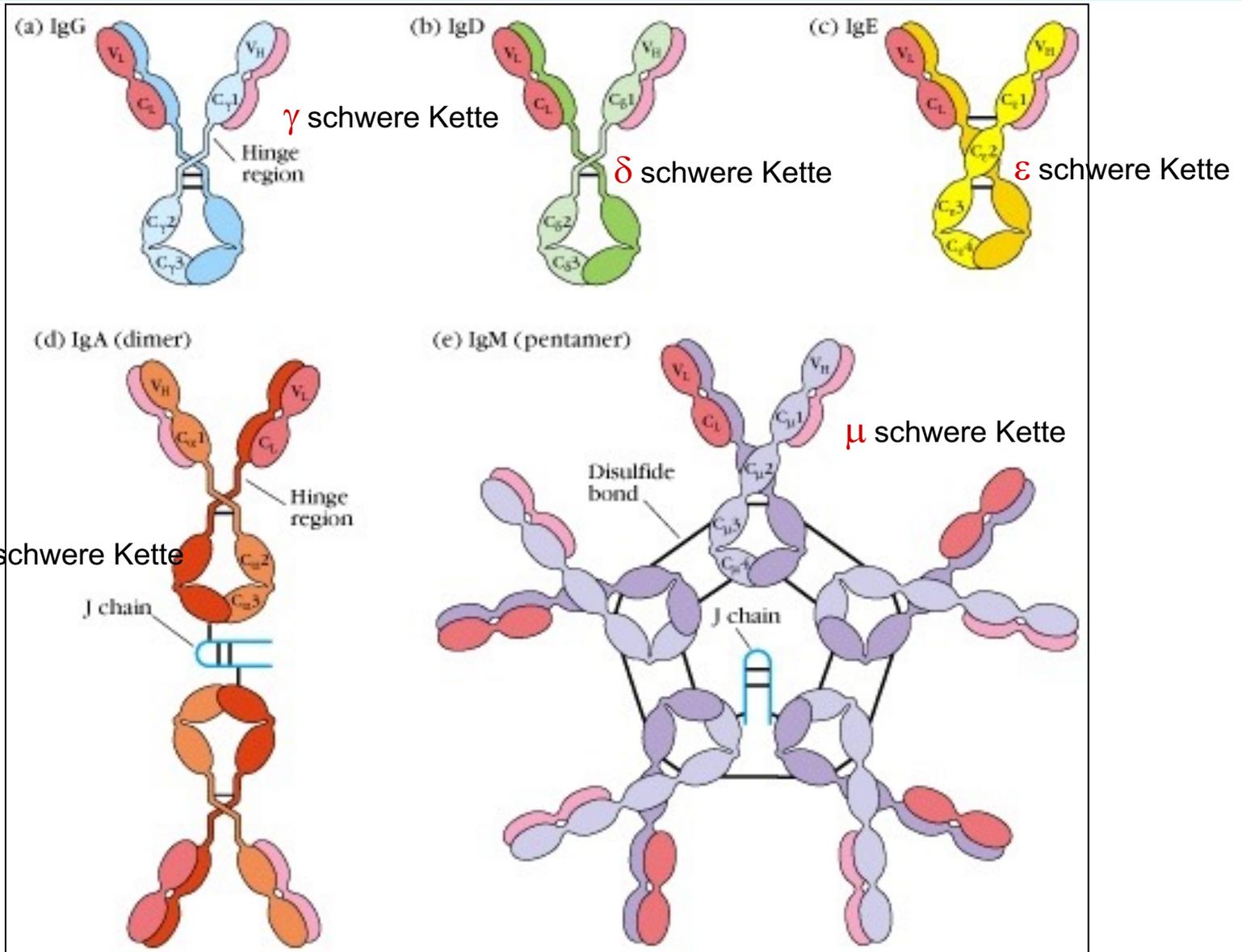
Antibody (Immunoglobulin)



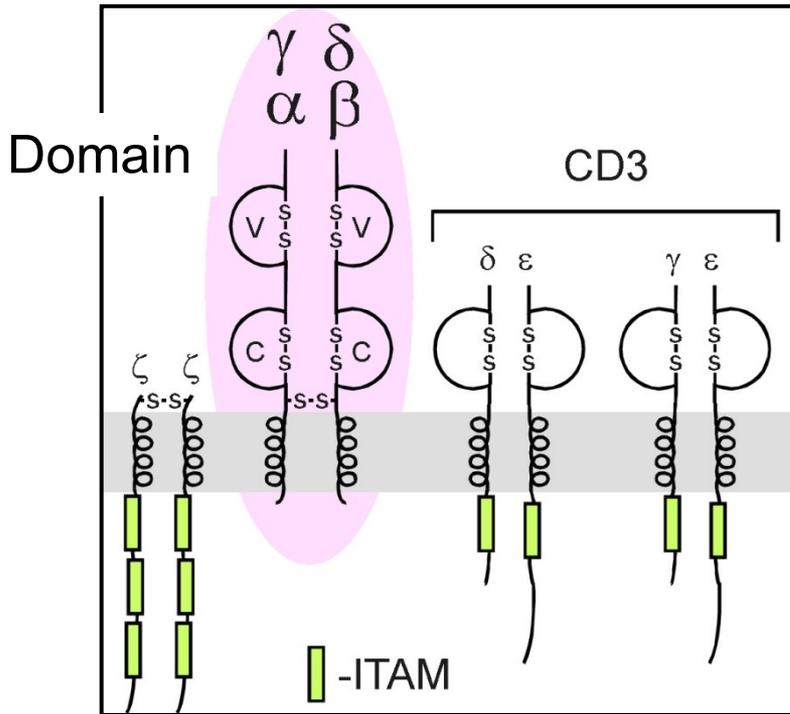
Die Struktur des Ig-Moleküls und des B-Zell-Rezeptors



Immunglobulin Isotypen = Ig-Klassen



Aufbau von T-Zell-Rezeptorkomplex (TCR)



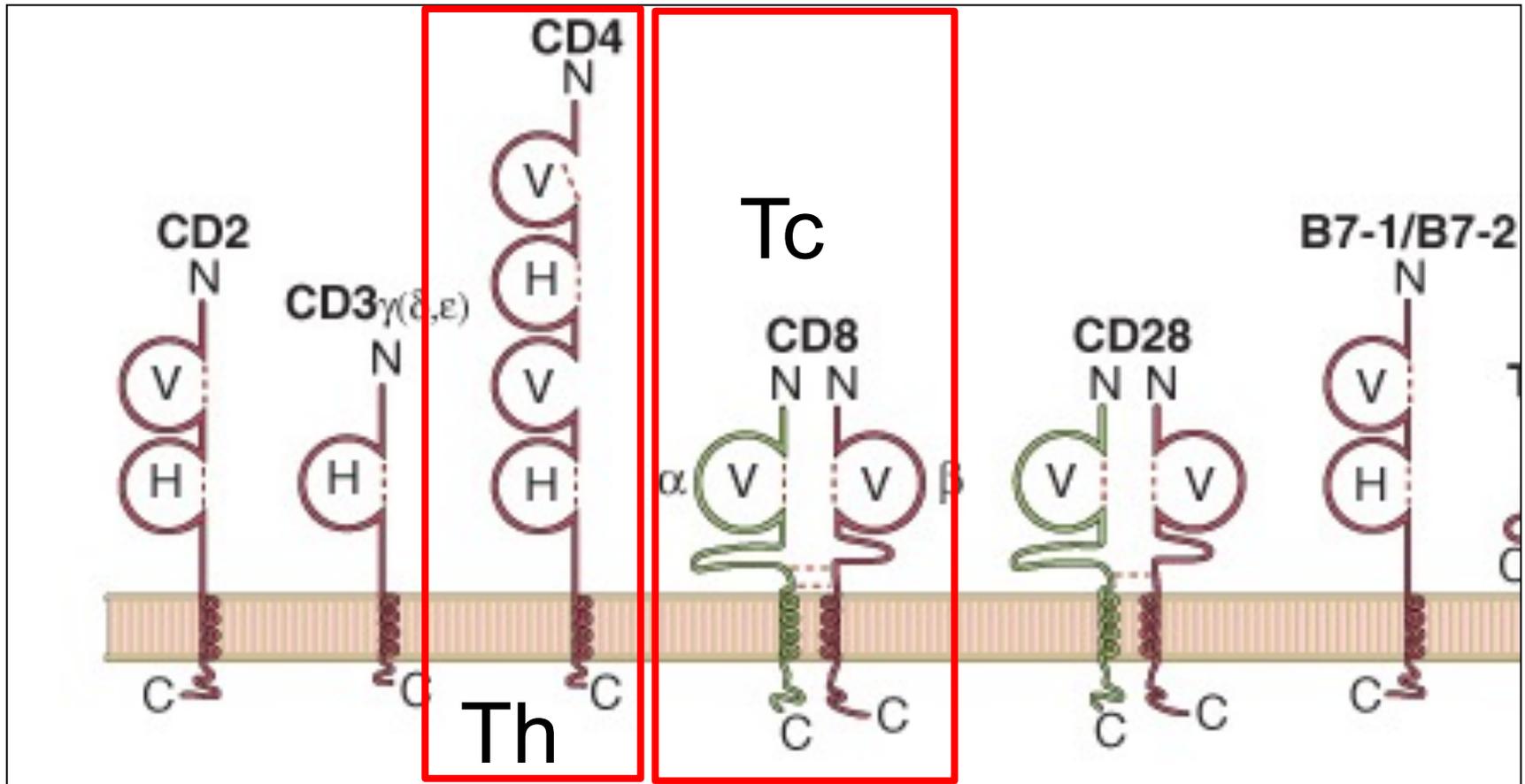
TCR ~ 30 000/Zelle

Antigenerkennungs-Ketten:
 α , β oder γ , δ Heterodimere

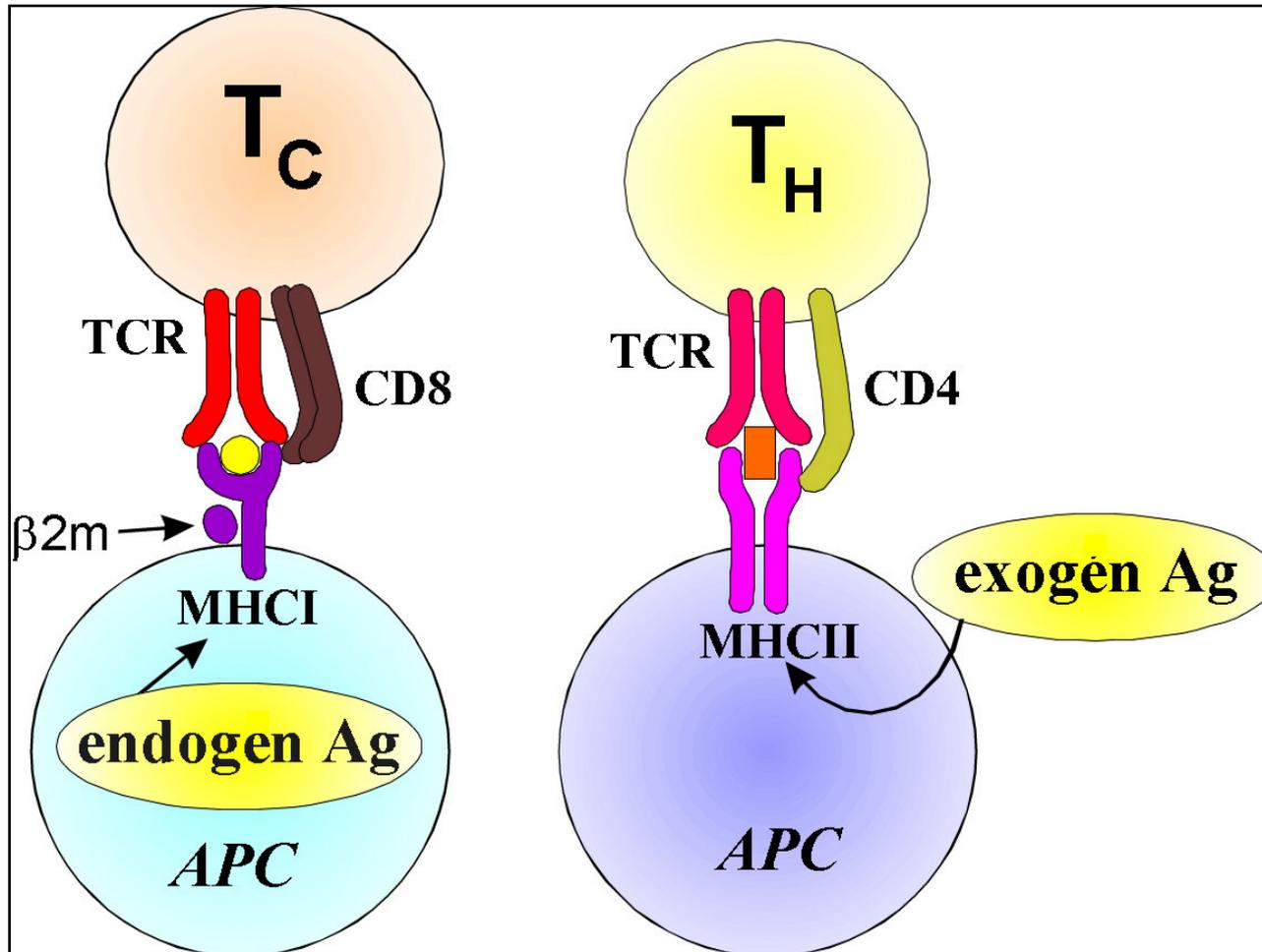
Signalübertragungs-Ketten:
CD3 γ , δ , ϵ , ζ

ITAMs: Immunorezeptor Tyrosine
Activation Motifs

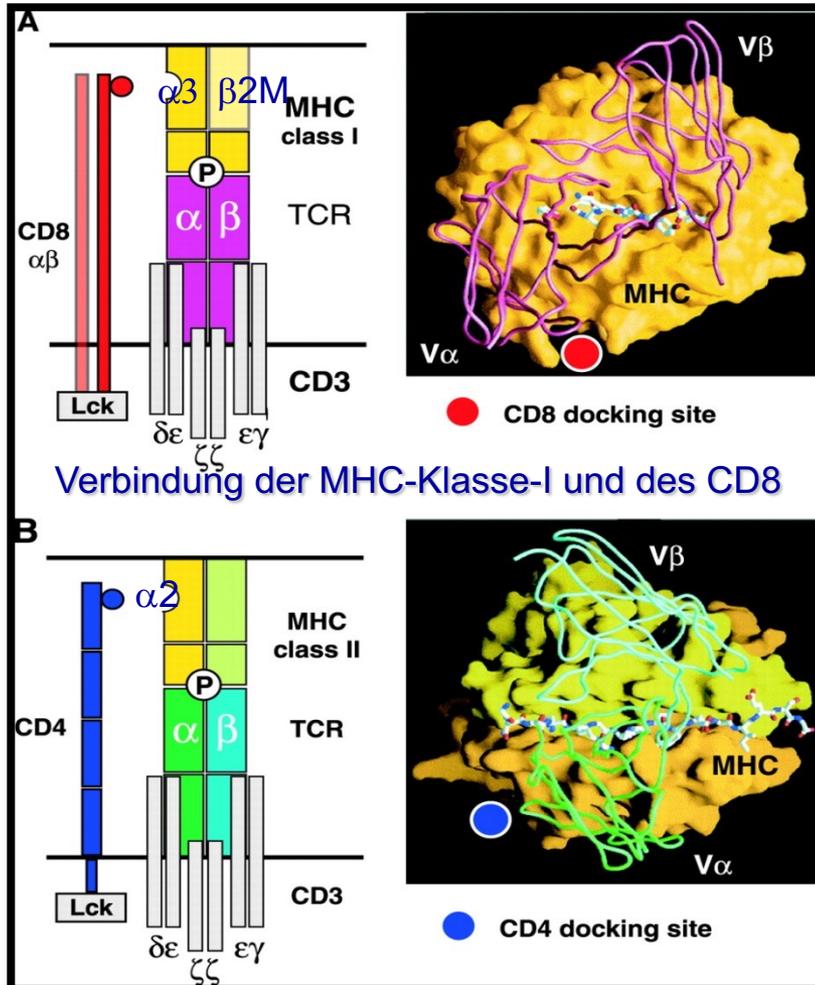
T-Zell Korezeptoren



Unterschiede zwischen Th- und Tc- Zellen in der MHC-abhängigen Antigenerkennung

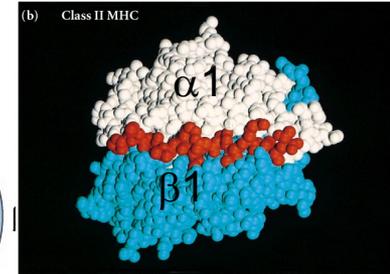
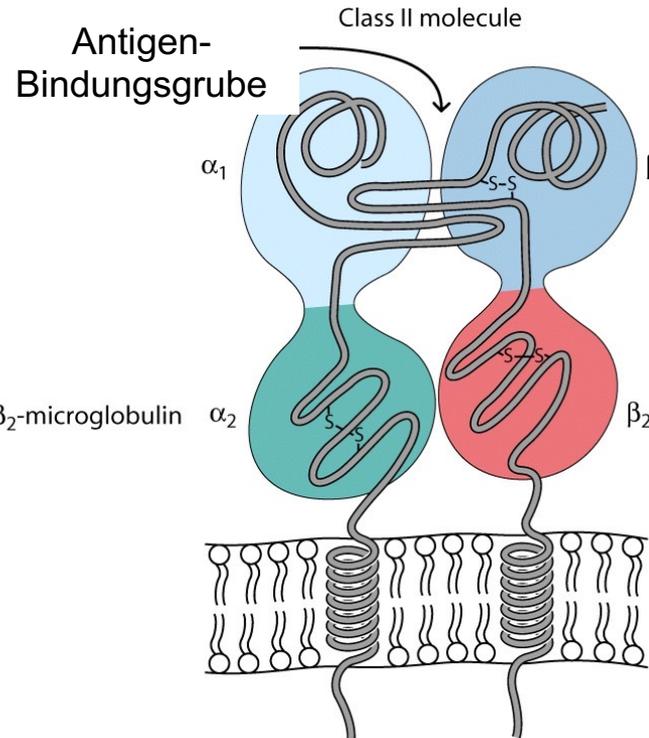
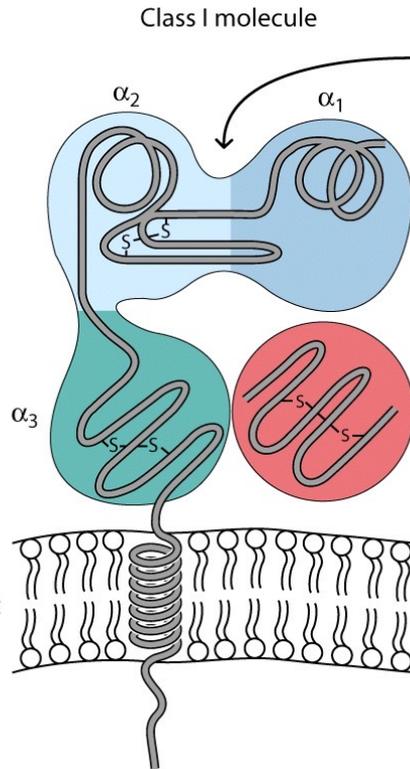
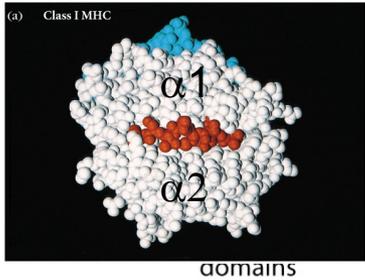


MHC-Restriktion (Einschränkung)



= T-Zellen erkennen Antigene ausschließlich in Form von Oligopeptiden, die im Komplex mit körpereigenen MHC-Molekülen präsentiert werden

Struktur der MHC-I und -II-Moleküle



Peptide: 8-10 Aminosäuren

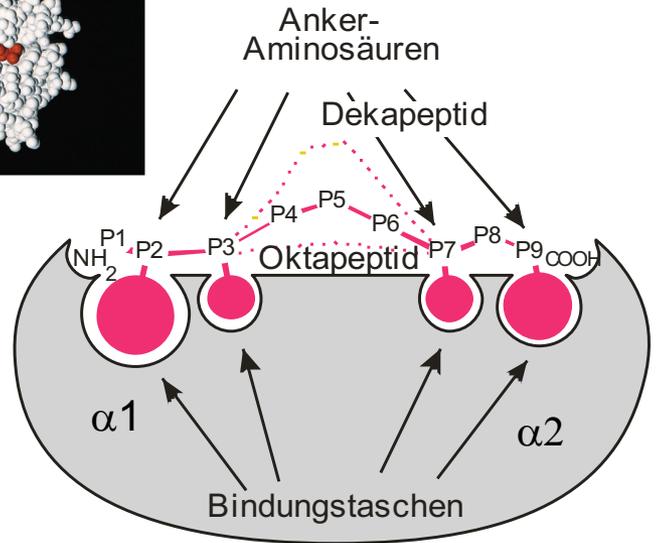
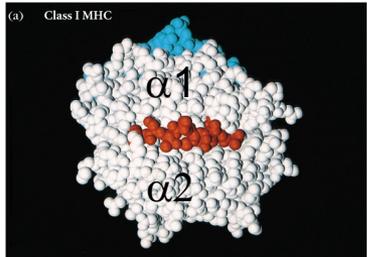
12-17 Aminosäuren

Herkunft:

zytosolische
Proteine

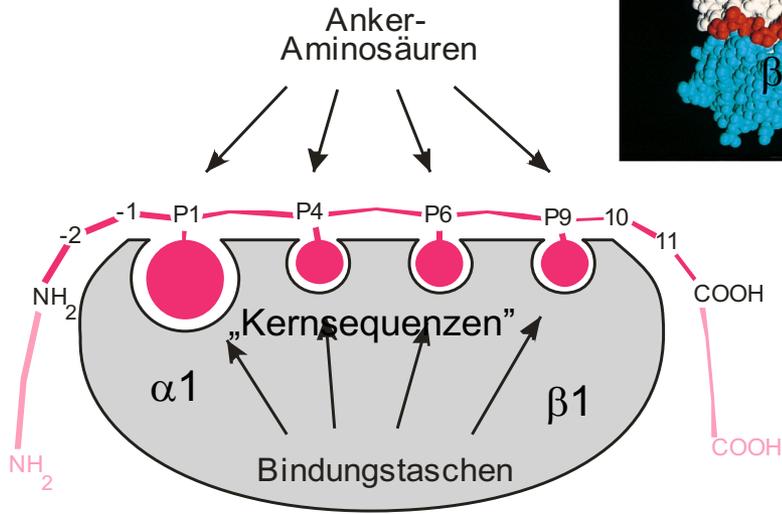
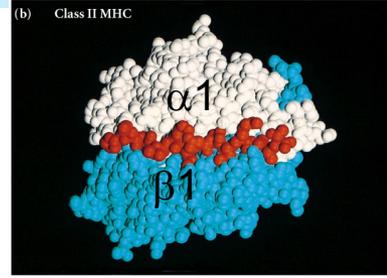
extrazelluläre
Proteine

Struktur der Peptidbindungsstellen: Verankerung der Peptide



MHC-Klasse-I

geschlossene

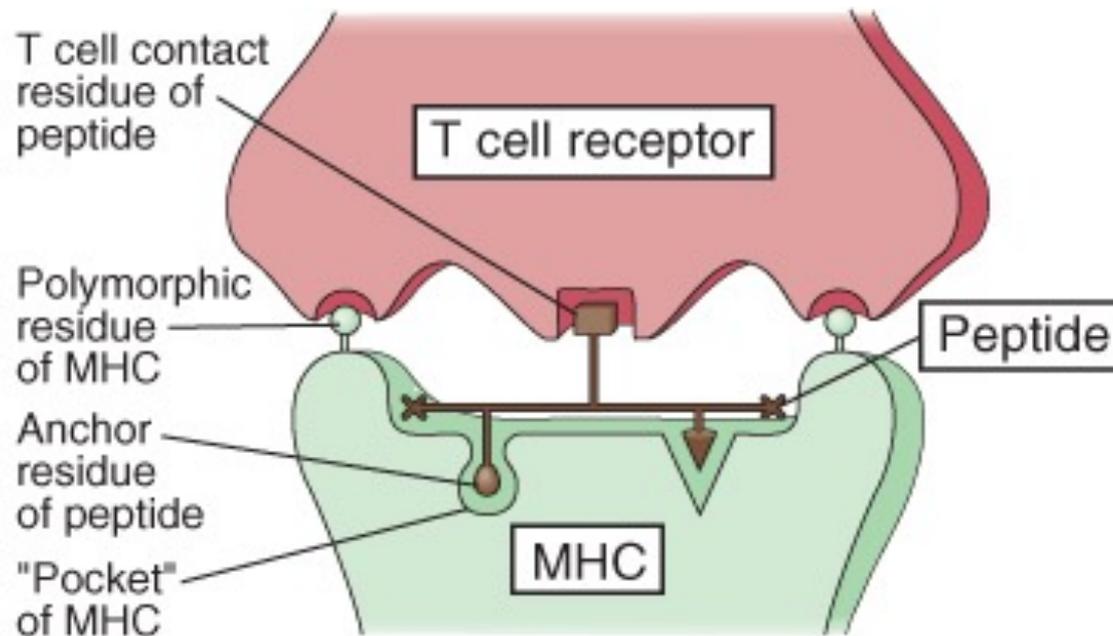


MHC-Klasse-II

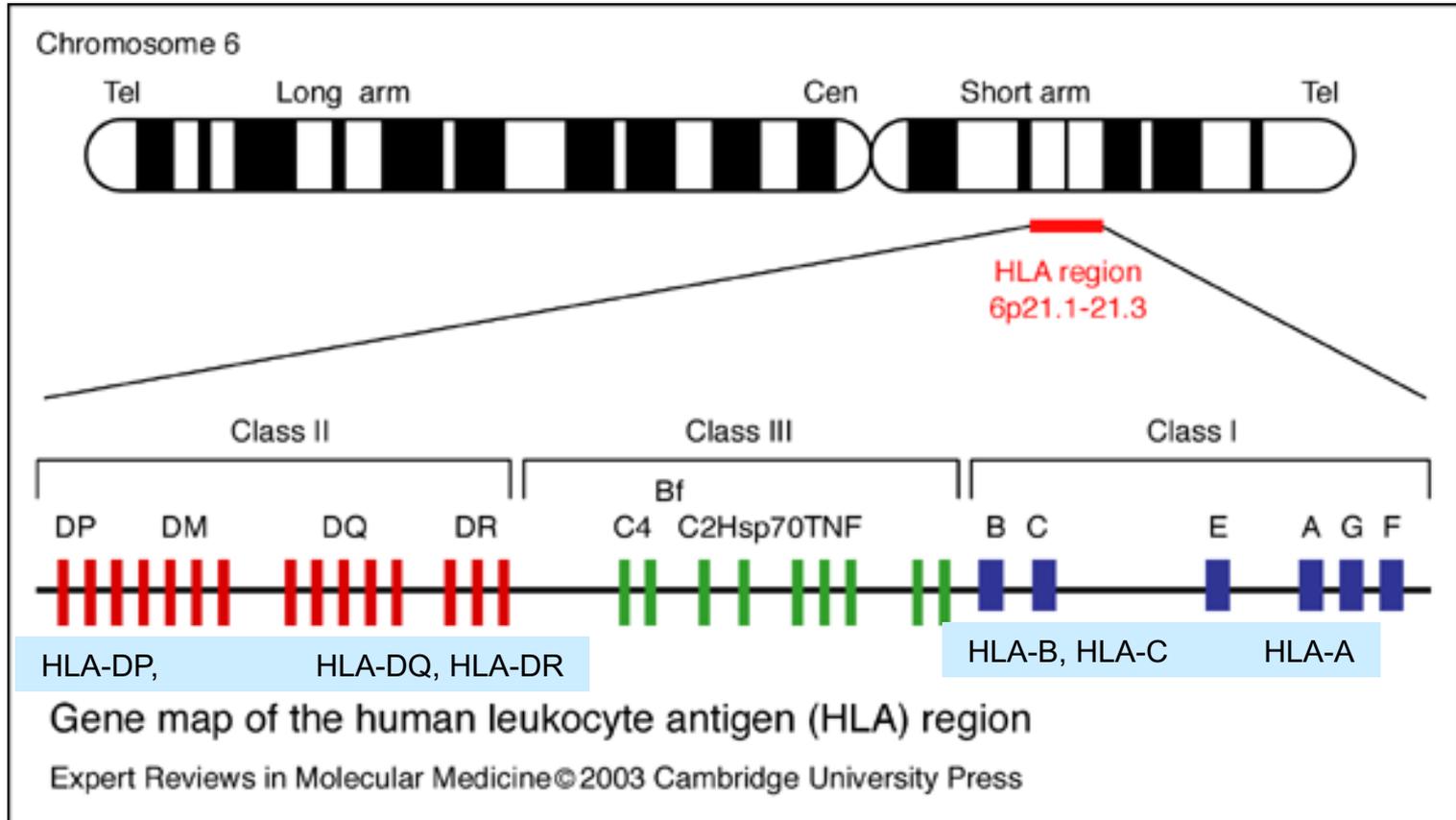
geöffnete

Ein MHC-Molekül kann 300-500 verschiedene Peptide binden, die allelspezifische Konsens-Sequenzen haben

Die vom T-Zell-Antigenrezeptor erkannte Oberfläche aus MHC und Peptid



Genstruktur des menschlichen MHC = HLA-Lokus



MHC-Klasse I-Region

- Umfasst die 3 klassische Loci
 - HLA-A: sind 303 unterschiedliche Allele bekannt
 - HLA-B: besitzt 559 Allele
 - HLA-C: besitzt 150 Allele

Eines der beiden Allele für HLA-A, B und C wird jeweils von einem Elternteil geerbt und in kodominanter Weise exprimiert → MHC-Haplotyp

- Für das β_2 -Mikroglobulin sind keine Polymorphismen bekannt – ist auf Chromosom 15 lokalisiert

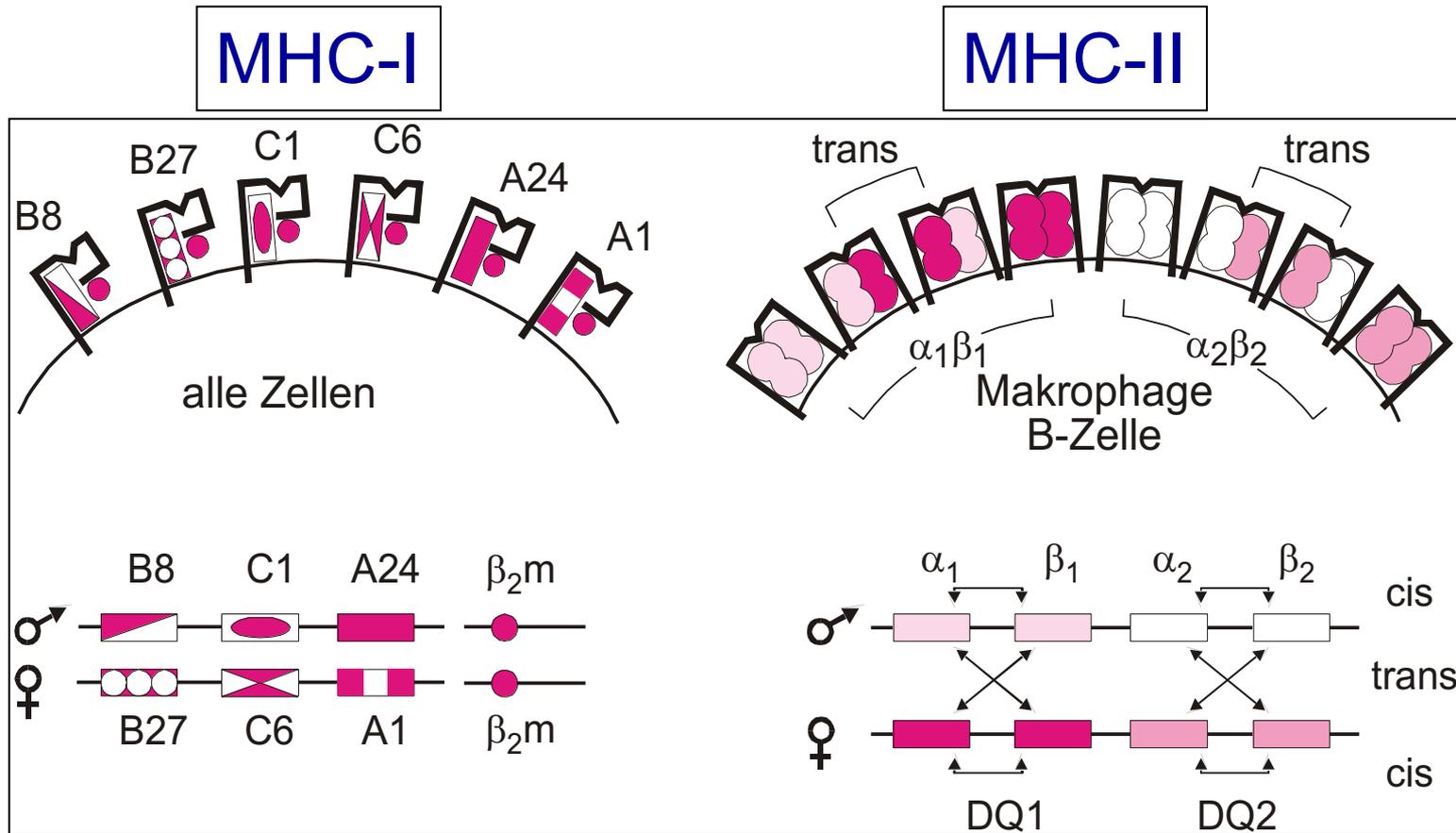
MHC-Klasse-II-Region

- Der Kode für die heterodimeren MHC-Klasse-II-Moleküle kann in 3 klassische Genfamilien eingeteilt werden
 - HLA-DR: sind Allele für 3 α - und 440 β -Ketten bekannt
 - HLA-DQ: besitzt 25 α - / 56 β -Allele
 - HLA-DP: besitzt 20 α - / 108 β -Allele

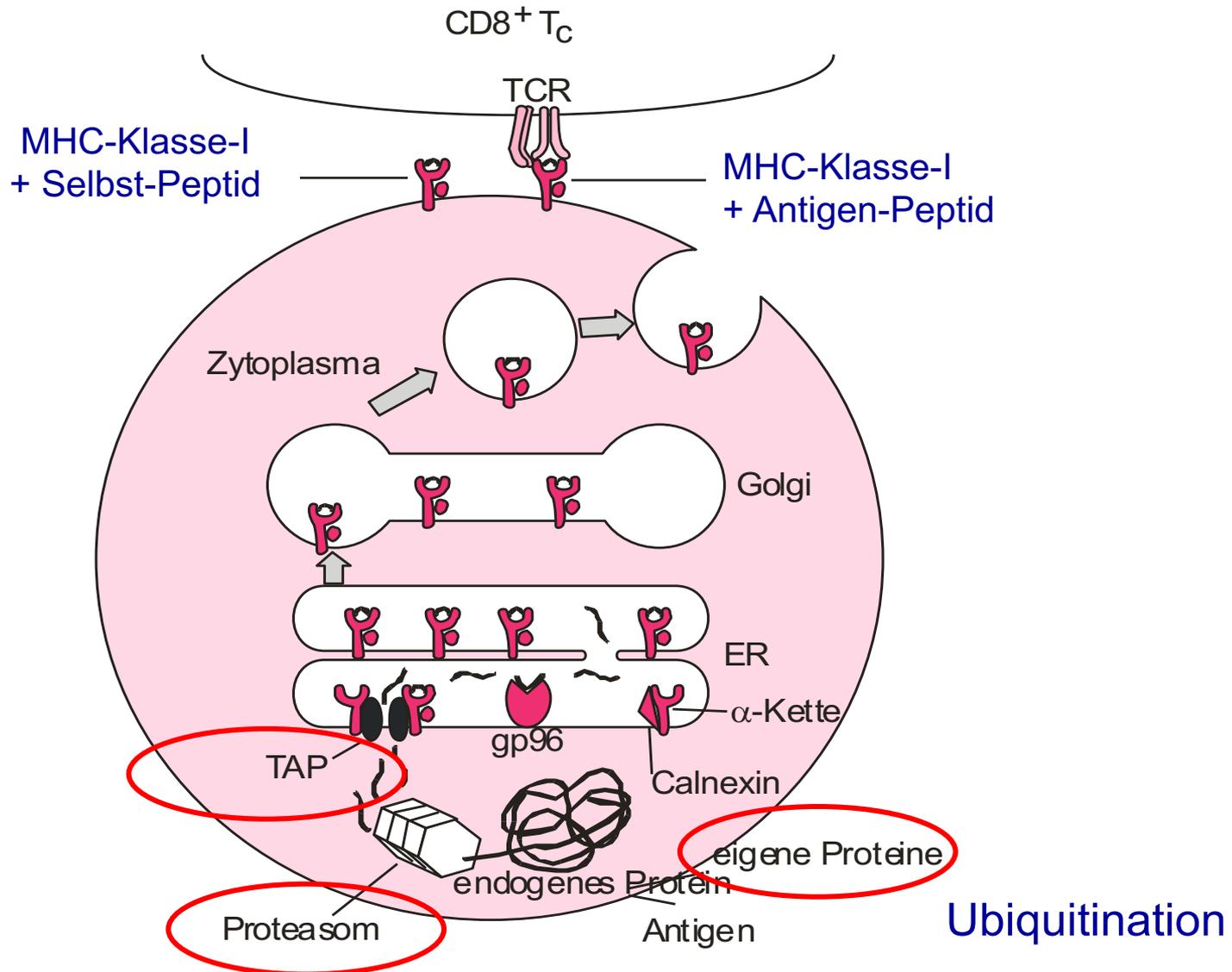
Die Heredität des MHC ist:

1. polygenisch (es gibt verschiedene Gene für Klasse-I und Klasse-II, die Proteine mit unterschiedlichen individuellen Eigenschaften kodieren) und
2. hochpolymorphisch (es gibt mehrfache Allele jedes Gens) diese sind für jede Einzelperson charakteristisch.
3. kodominante Heredität: - Allele von MHC-Haplotypen von beiden Elternteilen werden in jeder Einzelperson exprimiert.
4. Alle MHC-Genstellen sind meistens *heterozygotisch*. Die Produkte jedes Allels befinden sich auf jeder Zelloberfläche → MHC-Haplotyp.

Expression der Genprodukte der menschlichen MHC-Loci



MHC-Klasse-I: Antigenpräsentation der endogenen, im Zytosol prozessierten Proteine



Biosynthese der MHC-Klasse-I-Moleküle: Chaperone (Calnexin, calreticulin, Erp57, tapasin) in Bildung des „MHC-Klasse-I loading complex“

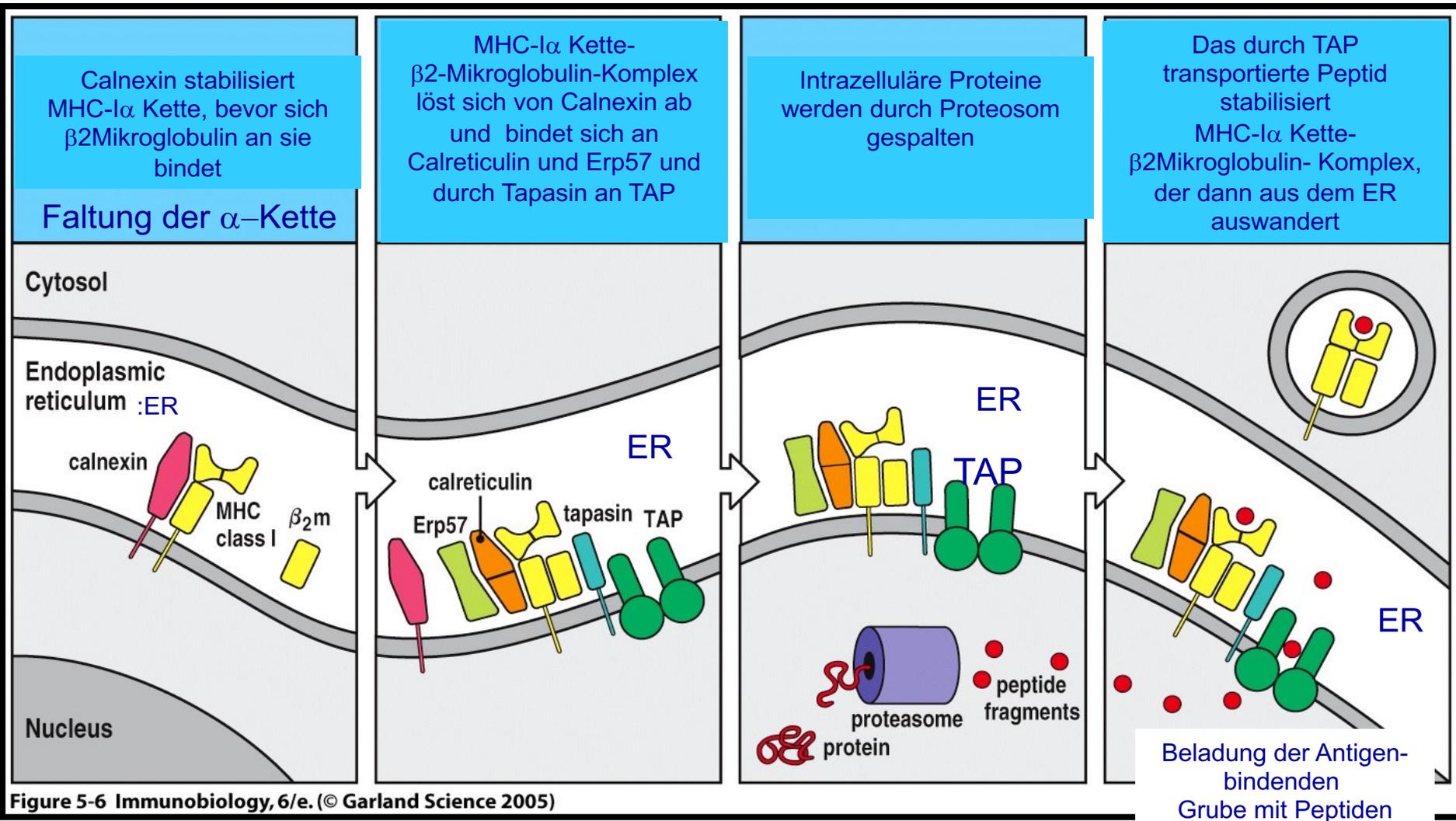
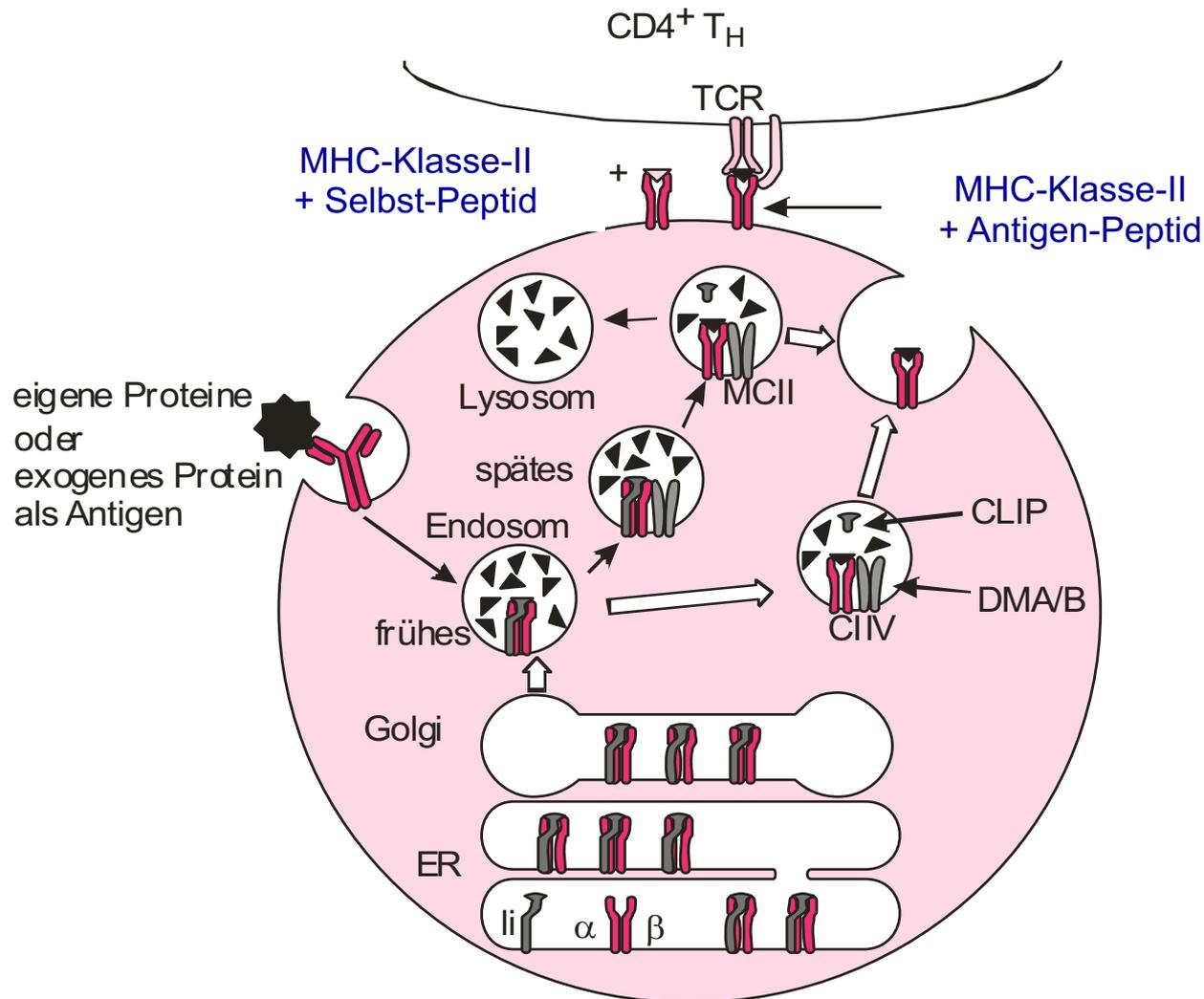
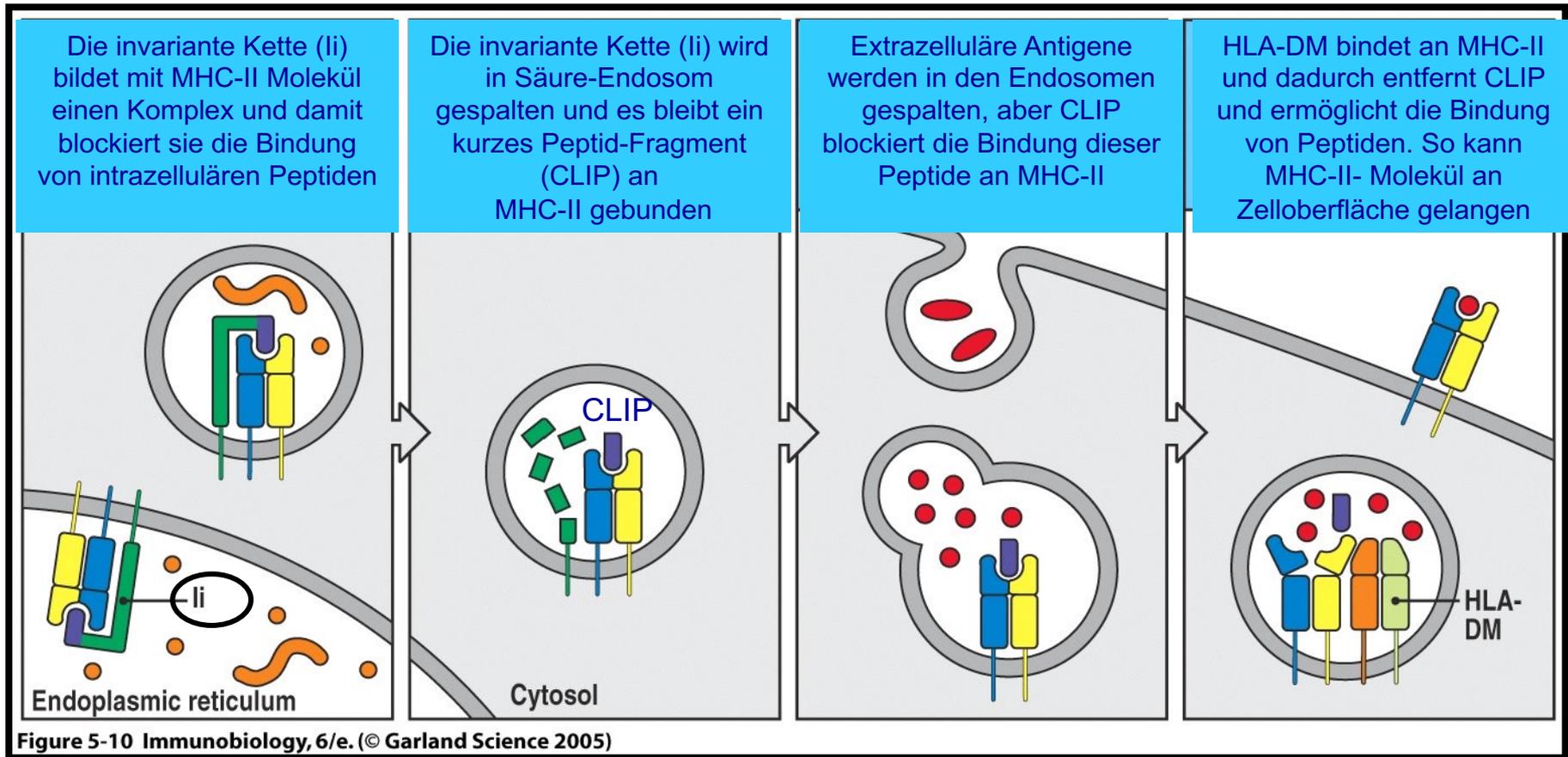


Figure 5-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Antigenpräsentation der exogenen, im Endosom-Lysosom-System prozessierten Proteine



Biosynthese der MHC-Klasse-II-Moleküle

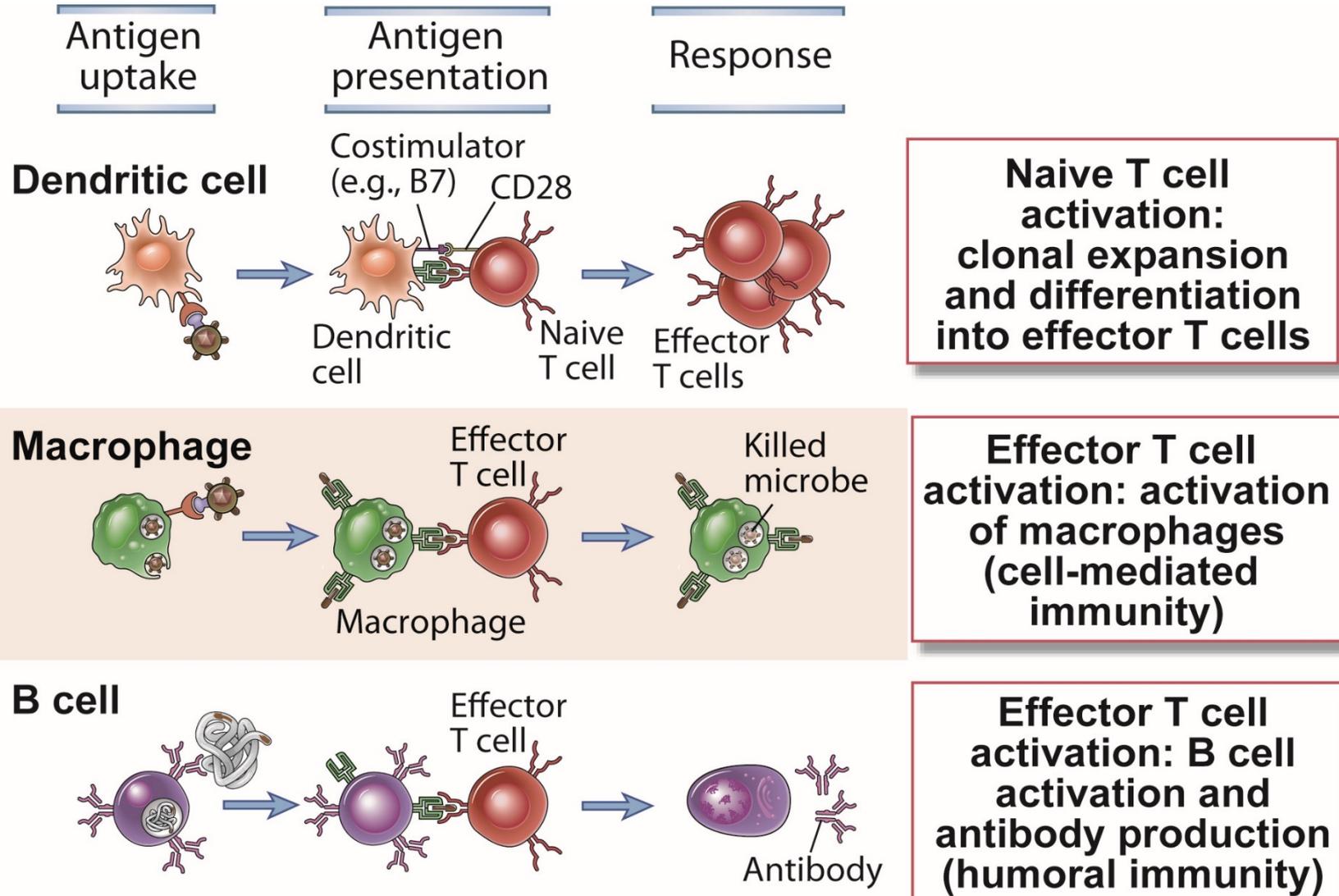


Ii: invariante Kette

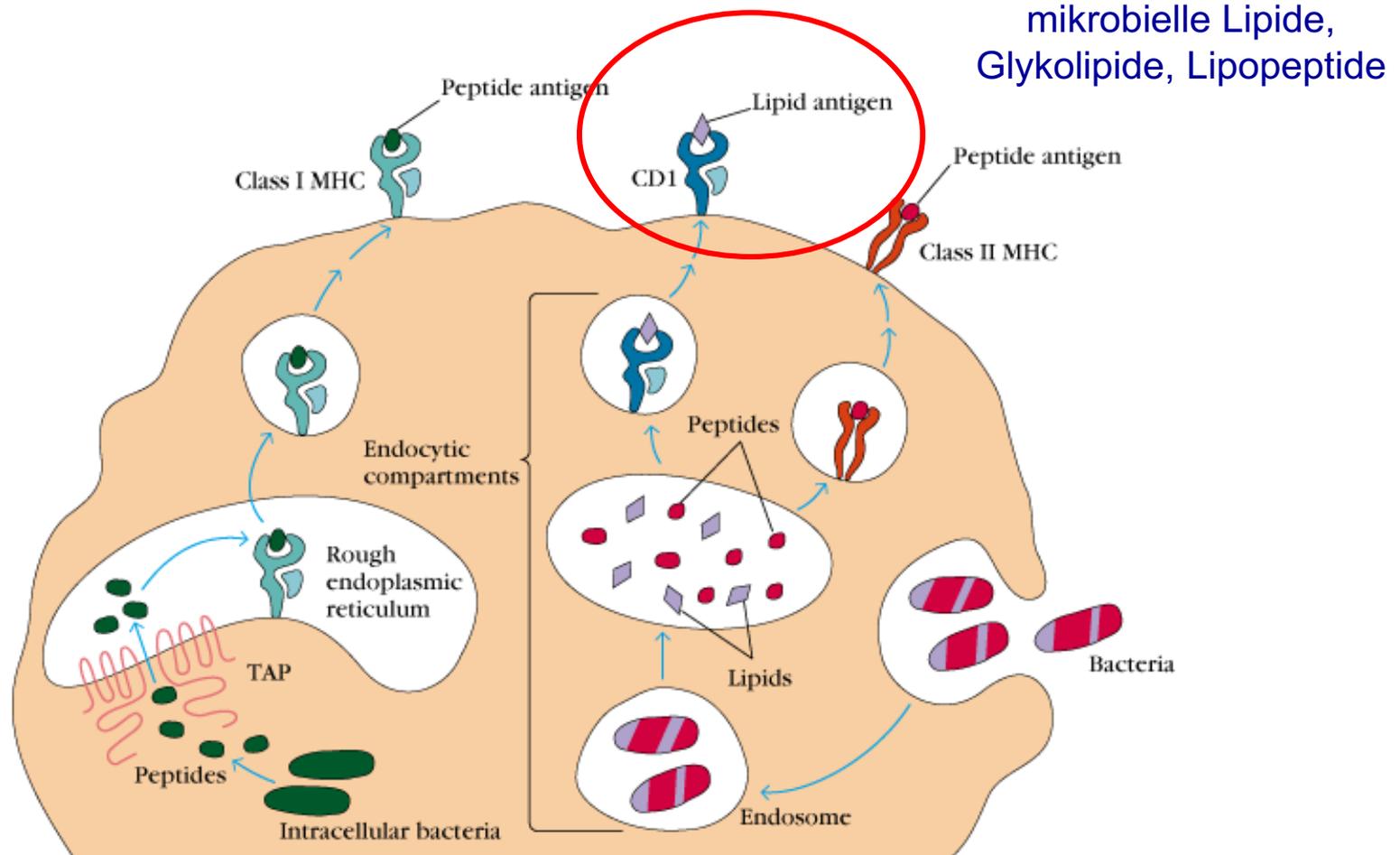
CLIP = Klasse-II blockierendes invariantes Ii-Kettenpeptid

HLA-DM: MHC-Klasse-II Chaperone

MHC-Klasse-II / Antigen-präsentierende Zellen (APZ)



CD1-Moleküle präsentieren lipidhaltige Antigene



Quellen 1.

- Mayo Clinic: **CD20 on B Cells** (<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/89584>)
- Nauseef WM, et al: **Neutrophils at work**. *Nat Immunol*. 2014 Jul;15(7):602-11. doi: 10.1038/ni.2921.
- Stone KD, et al: **IgE, mast cells, basophils, and eosinophils**. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S73-80. doi: 10.1016/j.jaci.2009.11.017.
- Denzel A, et al: **Basophils enhance immunological memory responses**. *Nat Immunol*. 2008 Jul;9(7):733-42. doi: 10.1038/ni.1621. Epub 2008 May 30.
- Karasuyama et al: **Newly discovered roles for basophils: a neglected minority gains new respect**. *Nat Rev Immunol*. 2009 Jan;9(1):9-13. doi: 10.1038/nri2458.
- Auffray C, et al: **Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells**. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:669-92. doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132557.
- Johnathan CPeiser L, et al: **Scavenger receptors in innate immunity**. *Curr Opin Immunol*. 2002 Feb;14(1):123-8.
- Canton J, et al: **Scavenger receptors in homeostasis and immunity**. *Nat Rev Immunol*. 13, 621–634 (2013) doi:10.1038/nri3515
- Nobelprize.org: **Ilya Mechnikov – Biographical** (http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1908/mechnikov-bio.html)
- Mosser DM, et al: **Exploring the full spectrum of macrophage activation**. *Nat Rev Immunol*. 2008 Dec;8(12):958-69. doi: 10.1038/nri2448.

Quellen 2.

- Wu L, et al: **Development of dendritic-cell lineages.** *Immunity.* 2007 Jun;26(6):741-50.
- Liu K, et al: **Origin and development of dendritic cells.** *Immunol Rev.* 2010 Mar;234(1):45-54. doi: 10.1111/j.0105-2896.2009.00879.x.
- Heesters BA, et al: **Follicular dendritic cells: dynamic antigen libraries.** *Nat Rev Immunol.* 2014 Jul;14(7):495-504. doi: 10.1038/nri3689. Epub 2014 Jun 20.
- Juelke K, et al: **Differentiation of human innate lymphoid cells (ILCs).** *Curr Opin Immunol.* 2016 Feb;38:75-85. doi: 10.1016/j.coi.2015.11.005. Epub 2015 Dec 17.
- Vivier E, et al: **Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells.** *Science.* 2011 Jan 7;331(6013):44-9. doi: 10.1126/science.1198687.
- Molecular Biology of the Cell. 4th edition: **Lymphocytes and the Cellular Basis of Adaptive Immunity** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26921/>)
- Bonneville M, et al: **Gammadelta T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity.** *Nat Rev Immunol.* 2010 Jul;10(7):467-78. doi: 10.1038/nri2781. Epub 2010 Jun 11.
- Rothstein TL, et al: **Human B-1 cells take the stage.** *Ann N Y Acad Sci.* 2013 May;1285:97-114. doi: 10.1111/nyas.12137.
- Covens K, et al: **Characterization of proposed human B-1 cells reveals pre-plasmablast phenotype.** *Blood.* 2013 Jun 27;121(26):5176-83. doi: 10.1182/blood-2012-12-471953. Epub 2013 Apr 23.
- Rothstein TL, et al: **The human counterpart of mouse B-1 cells.** *Ann N Y Acad Sci.* 2015 May 18. doi: 10.1111/nyas.12790.