

Anticorpi

Anticorpi = Immunoglobuline = Ig

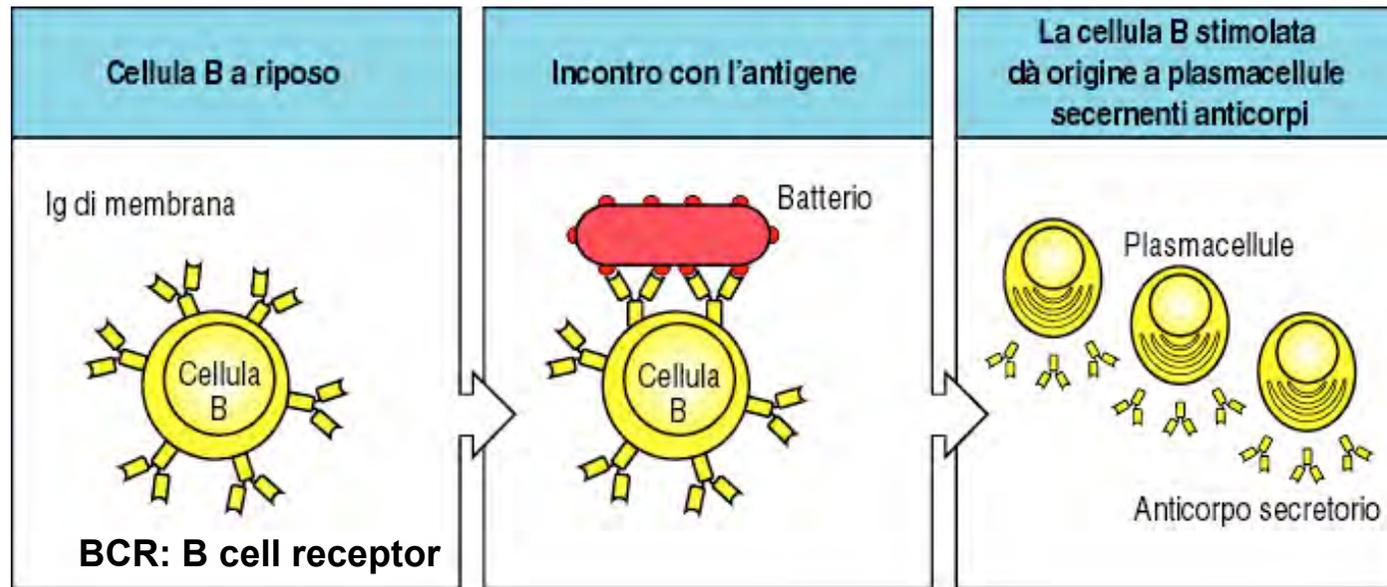
La loro struttura: catene pesanti e leggere

Le classi o isotipi

L'interazione tra anticorpo e antigene

Le funzioni dei diversi isotipi

Repertorio anticorpale = insieme complessivo anticorpi con differenti specificità



Gli anticorpi sono prodotti dalla plasmacellula e hanno la stessa specificità antigenica di quelli espressi sulla membrana della cellula B

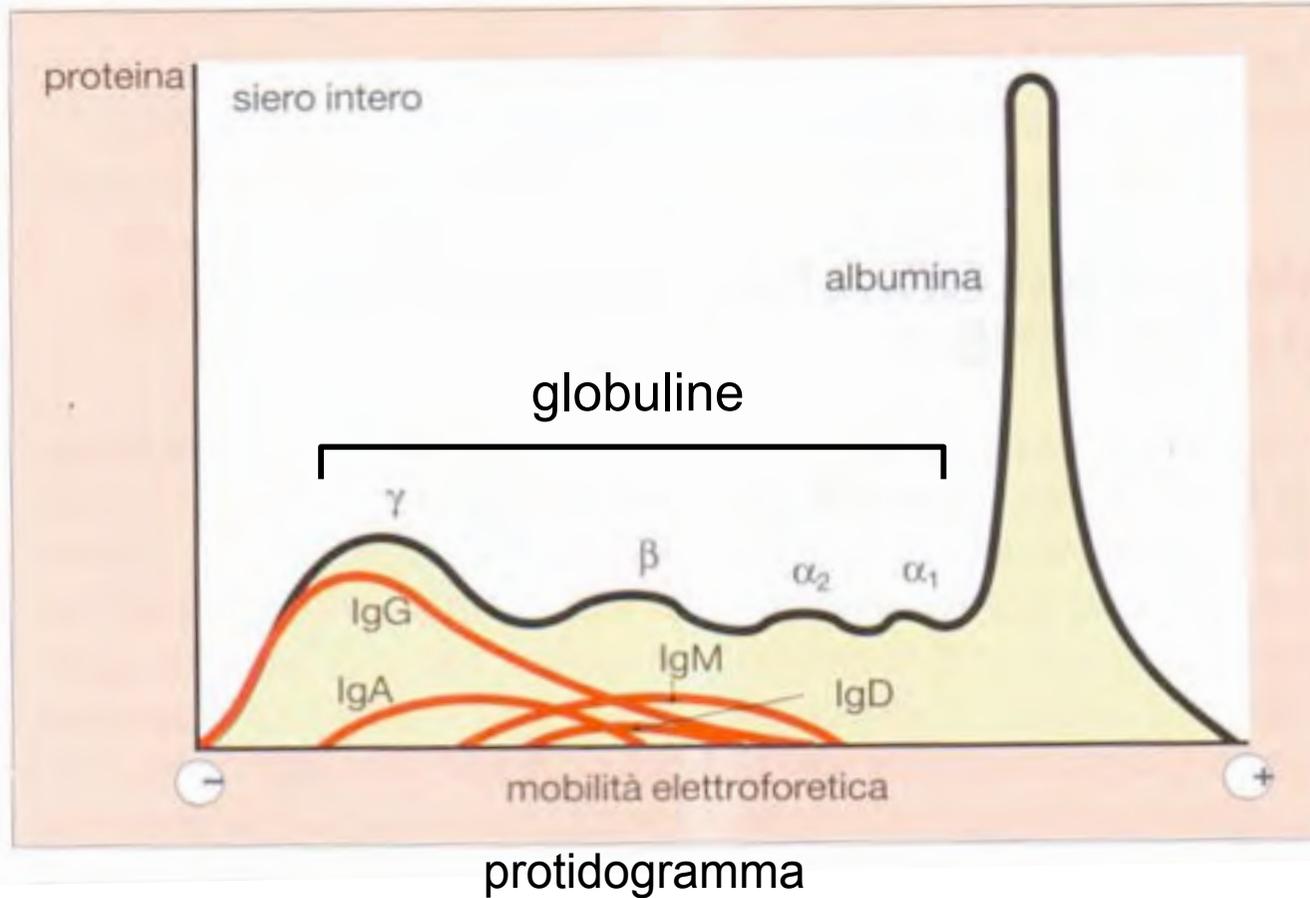
Anticorpi = Immunoglobuline - Une famiglia di proteine

Nella maggior parte dei mammiferi superiori:
5 classi distinte (o isotipi) di immunoglobuline (Ig):
IgM, IgD, IgG, IgE, IgA

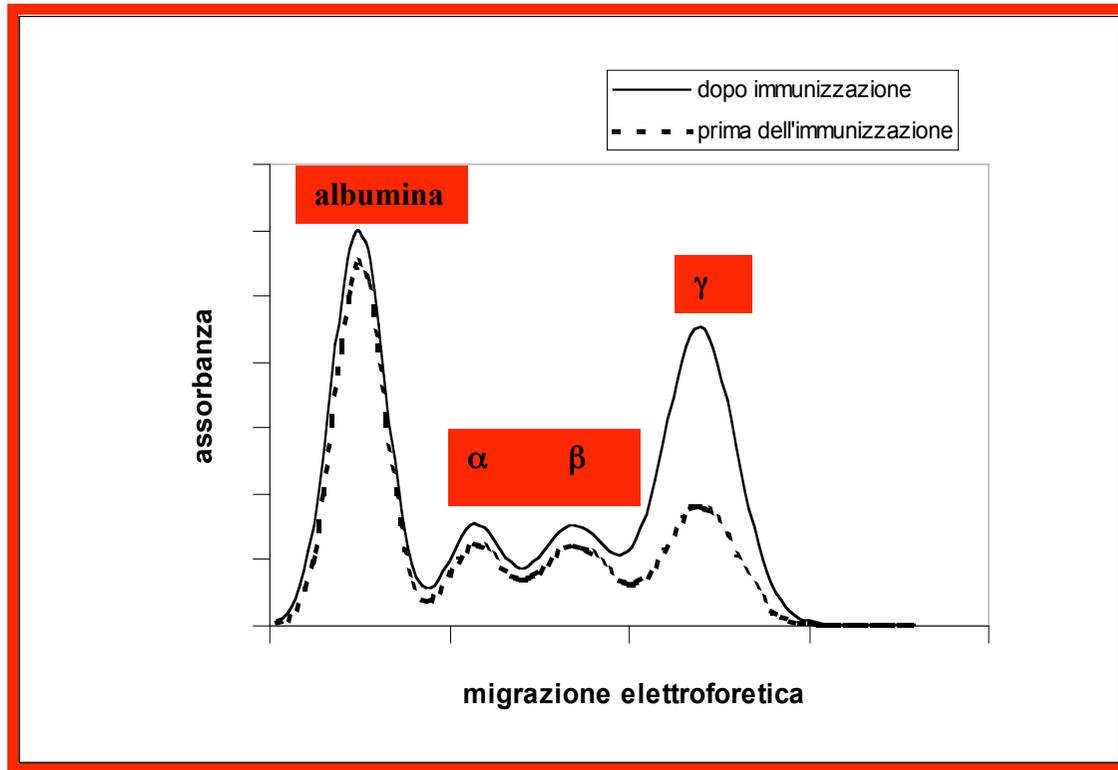
Differiscono fra di loro per

- dimensioni
- carica elettrica
- composizione aminoacidica
- contenuto carboidrati

Distribuzione delle principali immunoglobuline umane



Ig = frazione delle gammaglobuline che conferisce immunità



**I pazienti con
mancanza di anticorpi
hanno
agammaglobulinemia.**

Valori normali (%)

Albumina	55-68
Alpha 1	1.5-5
Alpha 2	6-12
Beta	7-14
Gamma	11-21

Le immunoglobuline sono molecole bifunzionali: Duplice compito

1. Legame con l'antigene: legare un'ampia gamma di antigeni
2. Reclutare cellule effettrici

Funzioni effettrici : capacità di legarsi ai tessuti dell'ospite, alle varie cellule immunocompetenti, alle cellule fagocitarie, al complemento

Anticorpi (Ig)

La loro struttura: catene pesanti e leggere

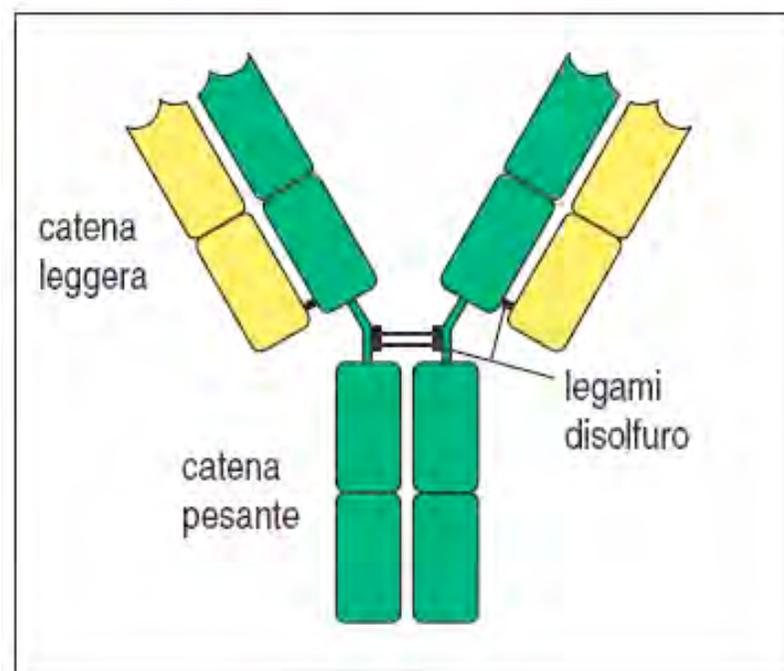
Le classi o isotipi

L'interazione tra anticorpo e antigene

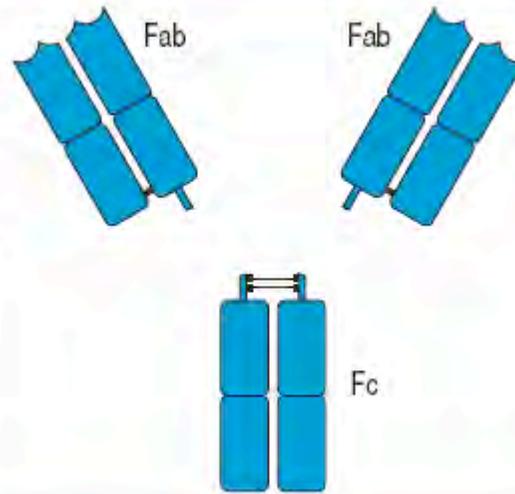
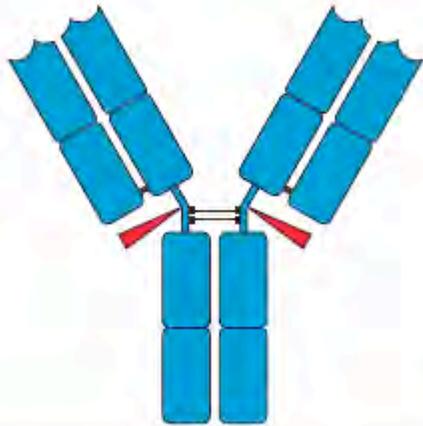
Le funzioni dei diversi isotipi

Anticorpi = 4 catene:

2 pesanti (H) e 2 leggere (L) legate tra di loro da ponti disolfuro



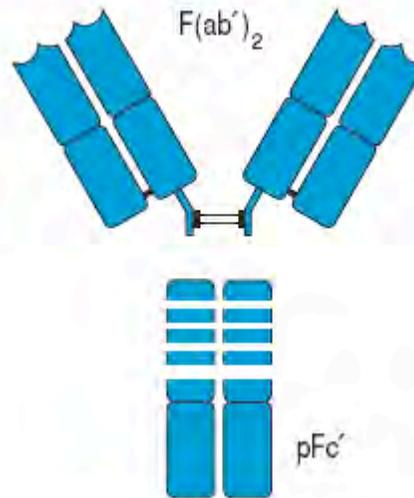
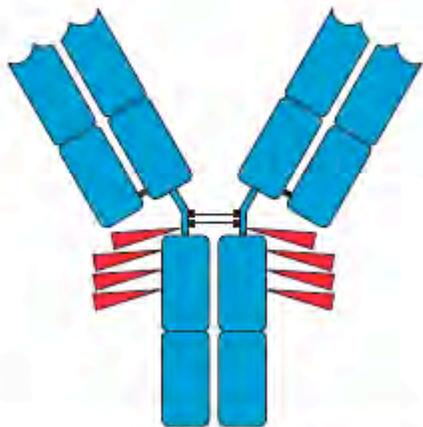
Tagli proteolitici indotti dalla papaina



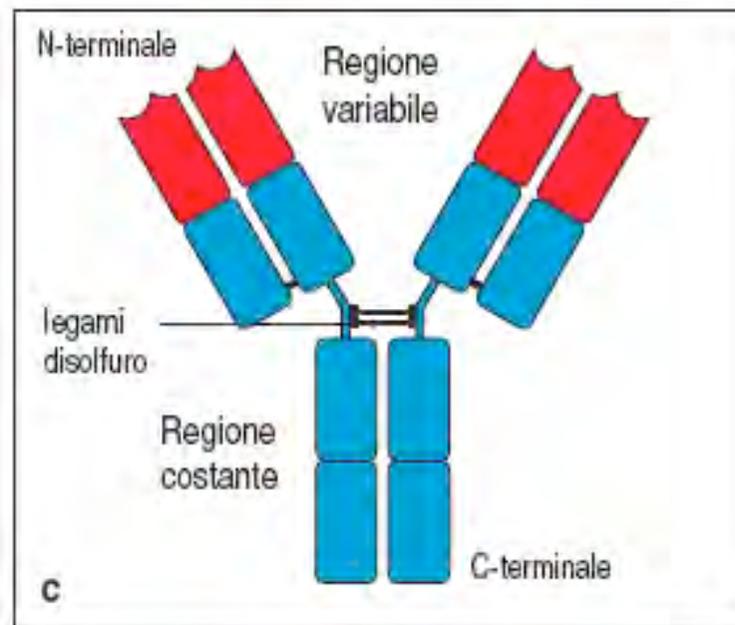
Fab = Frammento legante l'antigene (Ag)

Fc = Frammento cristallizzabile

Tagli proteolitici indotti dalla pepsina

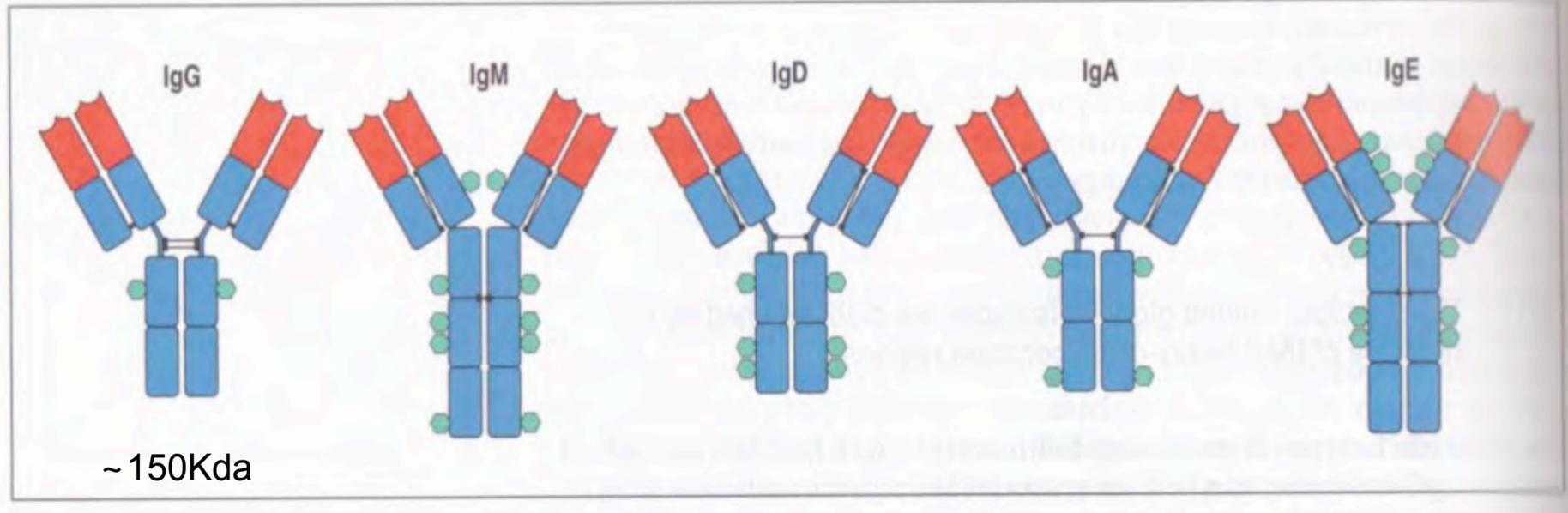


Ogni catena = 1 regione variabile (V)
+ 1 regione costante (C)



Struttura flessibile

5 diversi classi (isotipi) attivano differenti funzioni effettrici



Isotipo catena H = classe Ac = γ , μ , δ , α , ϵ

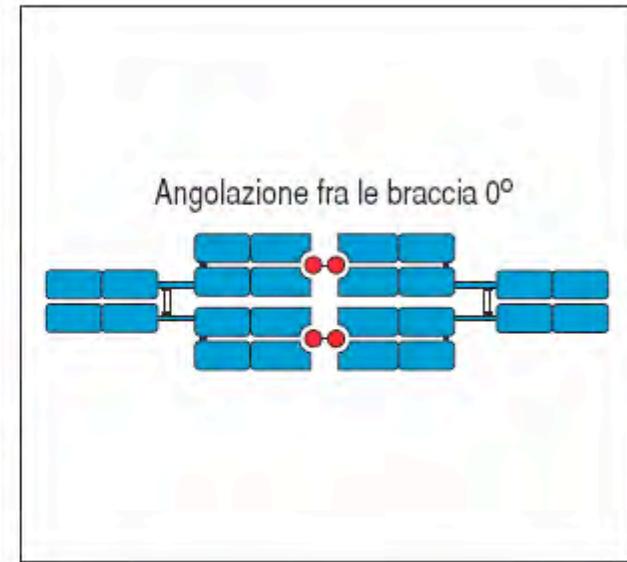
Isotipo catena L = κ e λ

Catena L (25 Kd) = 1 dominio V e 1 dominio C

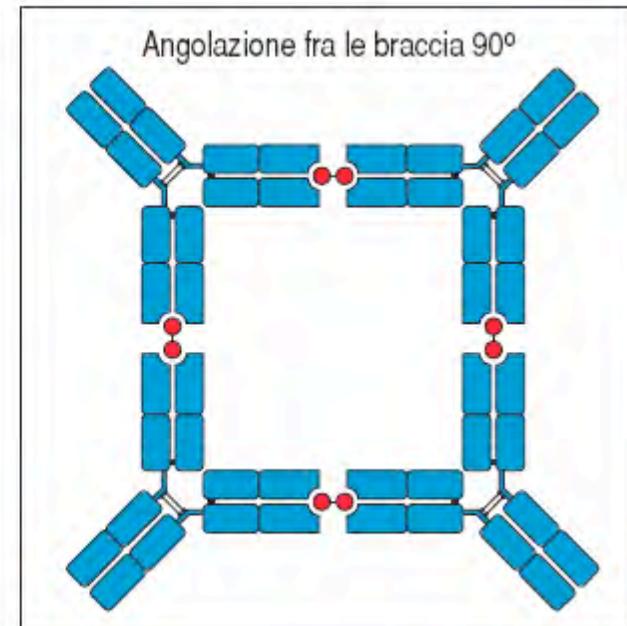
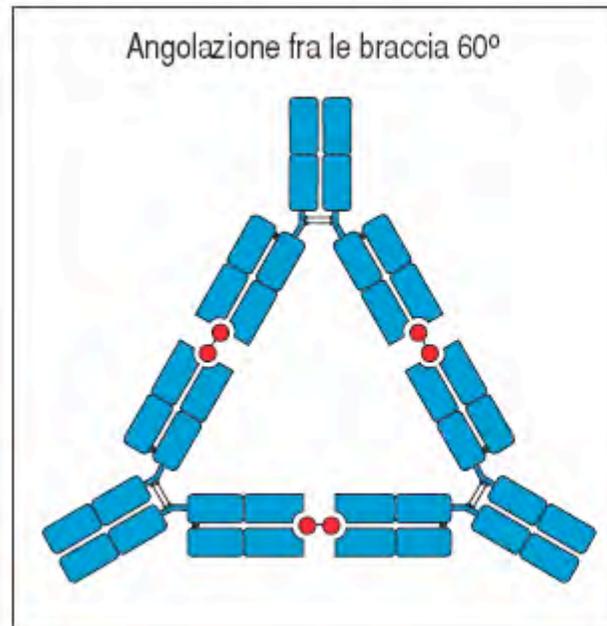
Catena H (55-70 Kd) = 1 dominio V, e 3 o 4 domini C

Gli anticorpi sono molecole flessibili, soprattutto nella regione cerniera

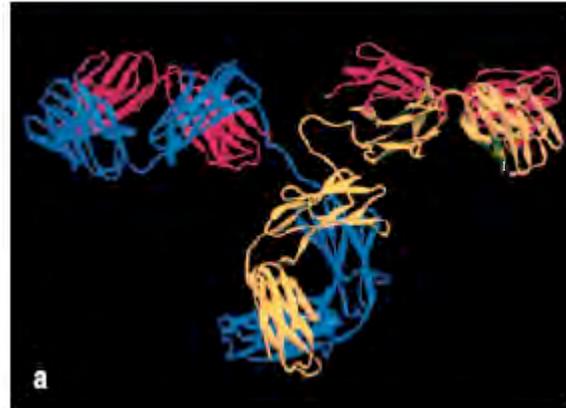
Microscopia elettronica
(X 300.000)



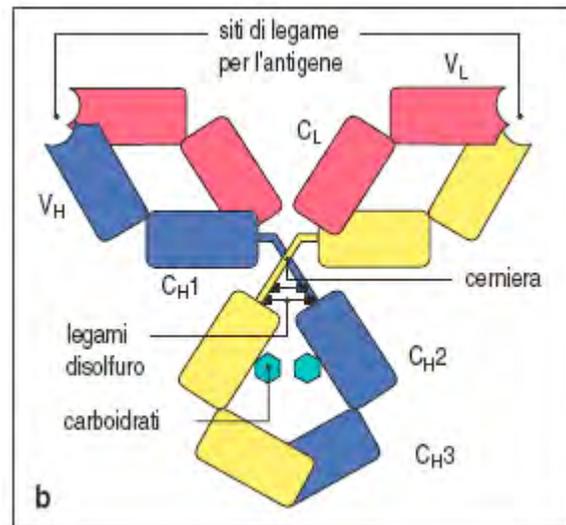
Antigene = 2
molecole di
aptene unite
(piccole molecole
in grado di legare
l'anticorpo ma non
di stimolare da
solo la risposta
immunitaria)



Cristallografia
a raggi X



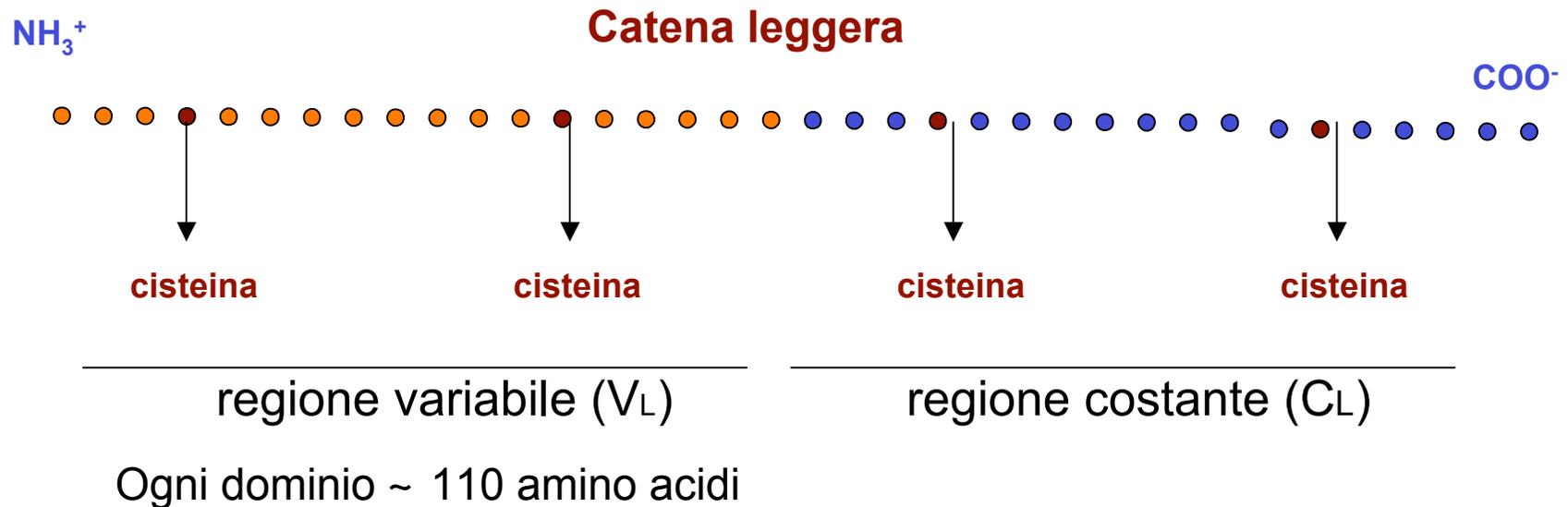
**3 regioni globulari a
forma di Y**



2 tipi di catene leggere: κ e λ

**5 tipi di catene pesanti: μ ,
 δ , γ , α , ϵ
= classi immunoglobuline
= isotipo
= IgM, IgD, IgG, IgA, IgE**

STRUTTURA PRIMARIA DEGLI ANTICORPI

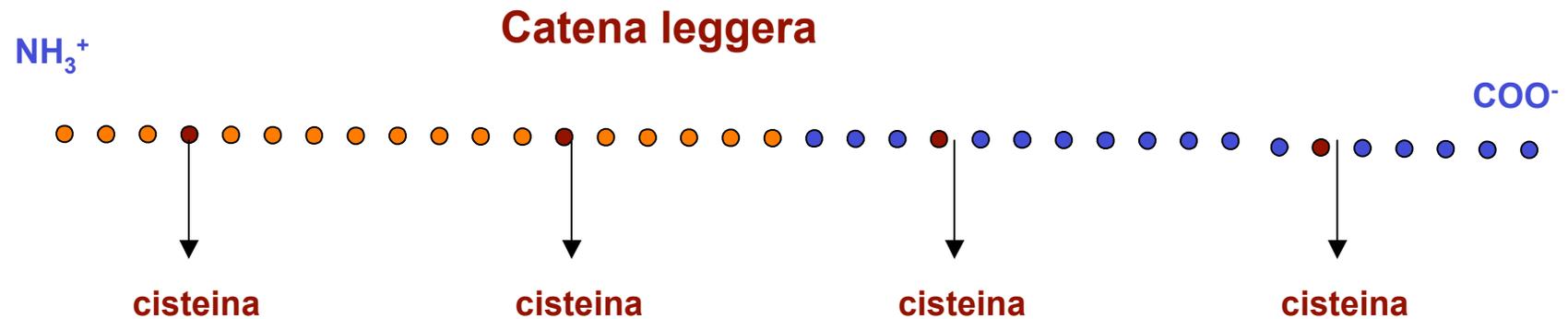


STRUTTURA SECONDARIA DEGLI ANTICORPI

filamenti β antiparalleli formano 2 foglietti β

STRUTTURA TERZIARIA DEGLI ANTICORPI

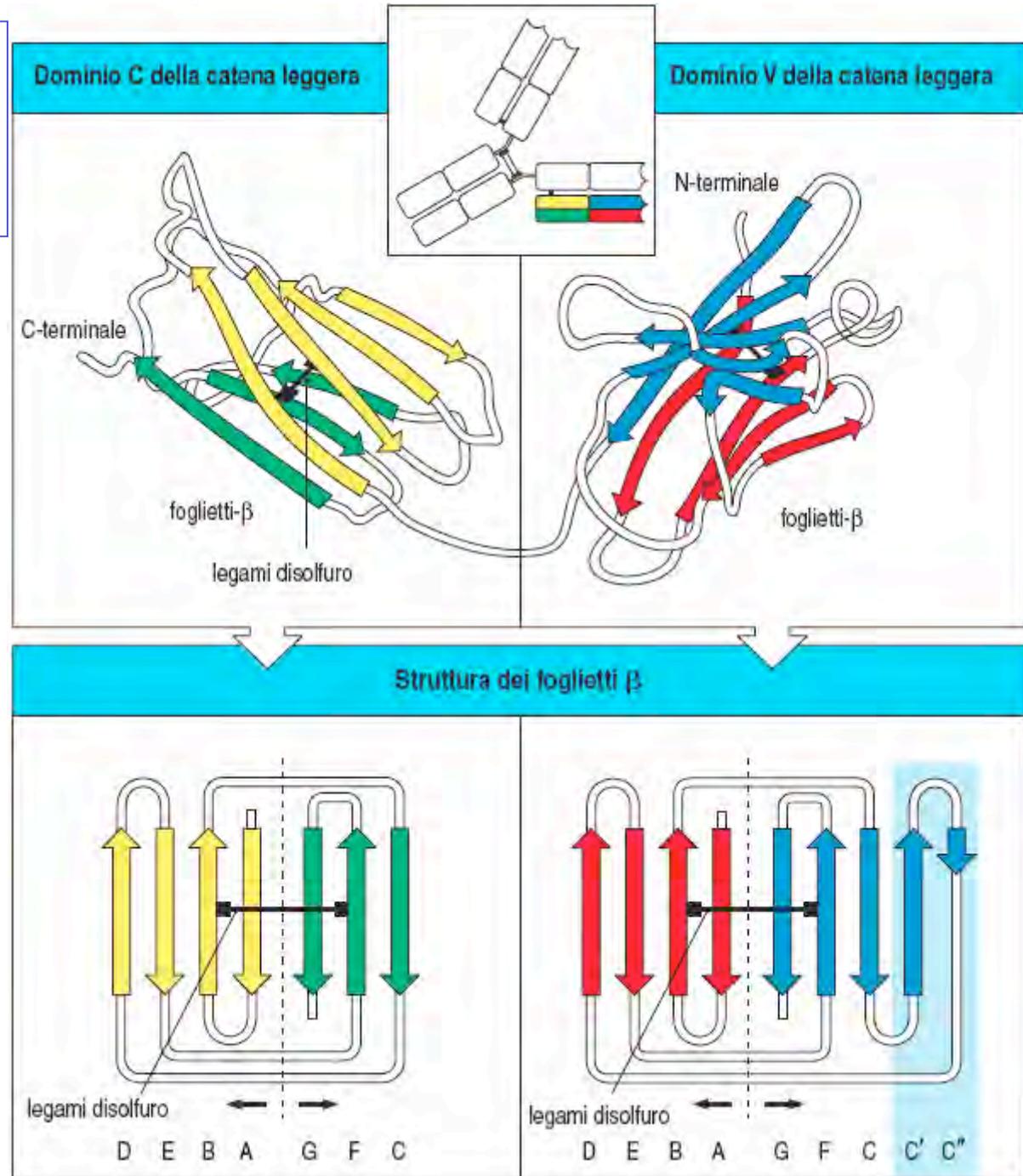
Domini Ig = struttura a barile β



STRUTTURA TERZIARIA DEGLI ANTICORPI

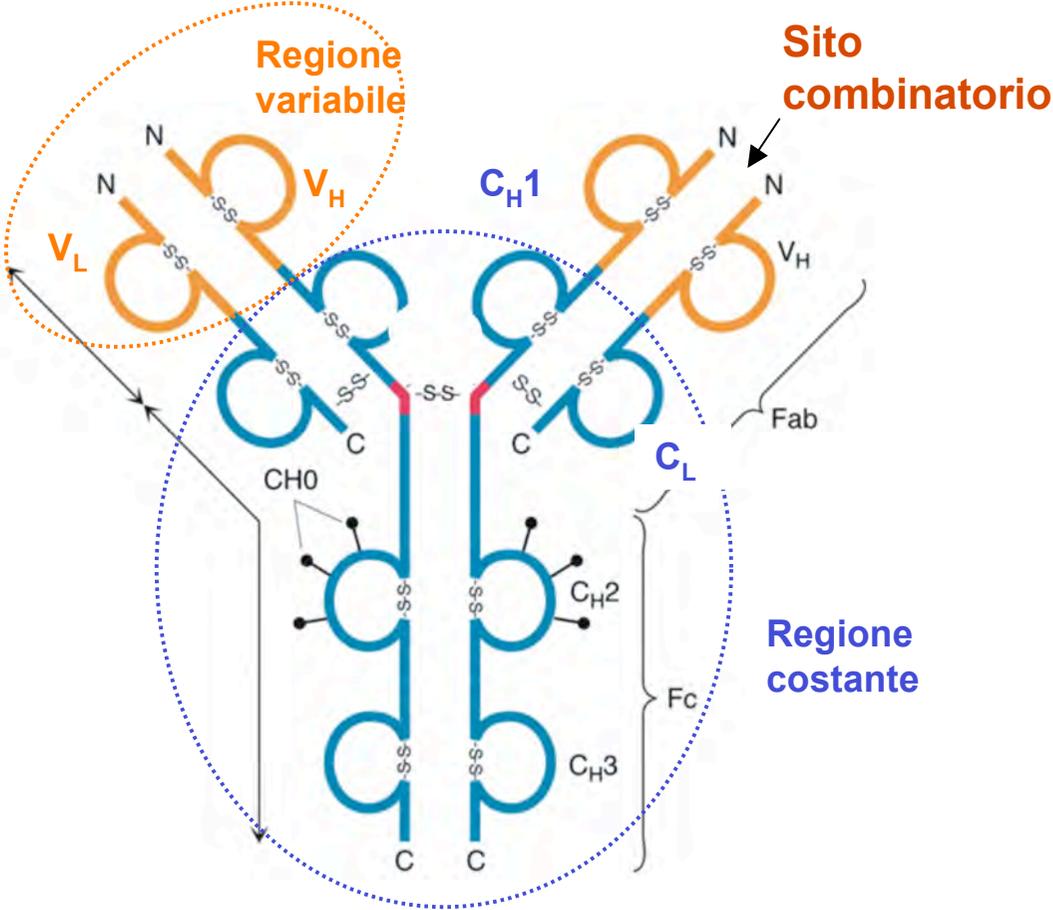
I diversi domini hanno strutture simili: struttura a β barile

Proteine che appartengono alla superfamiglia delle Ig hanno lo stesso tipo di ripiegamento "immunoglobulinico"

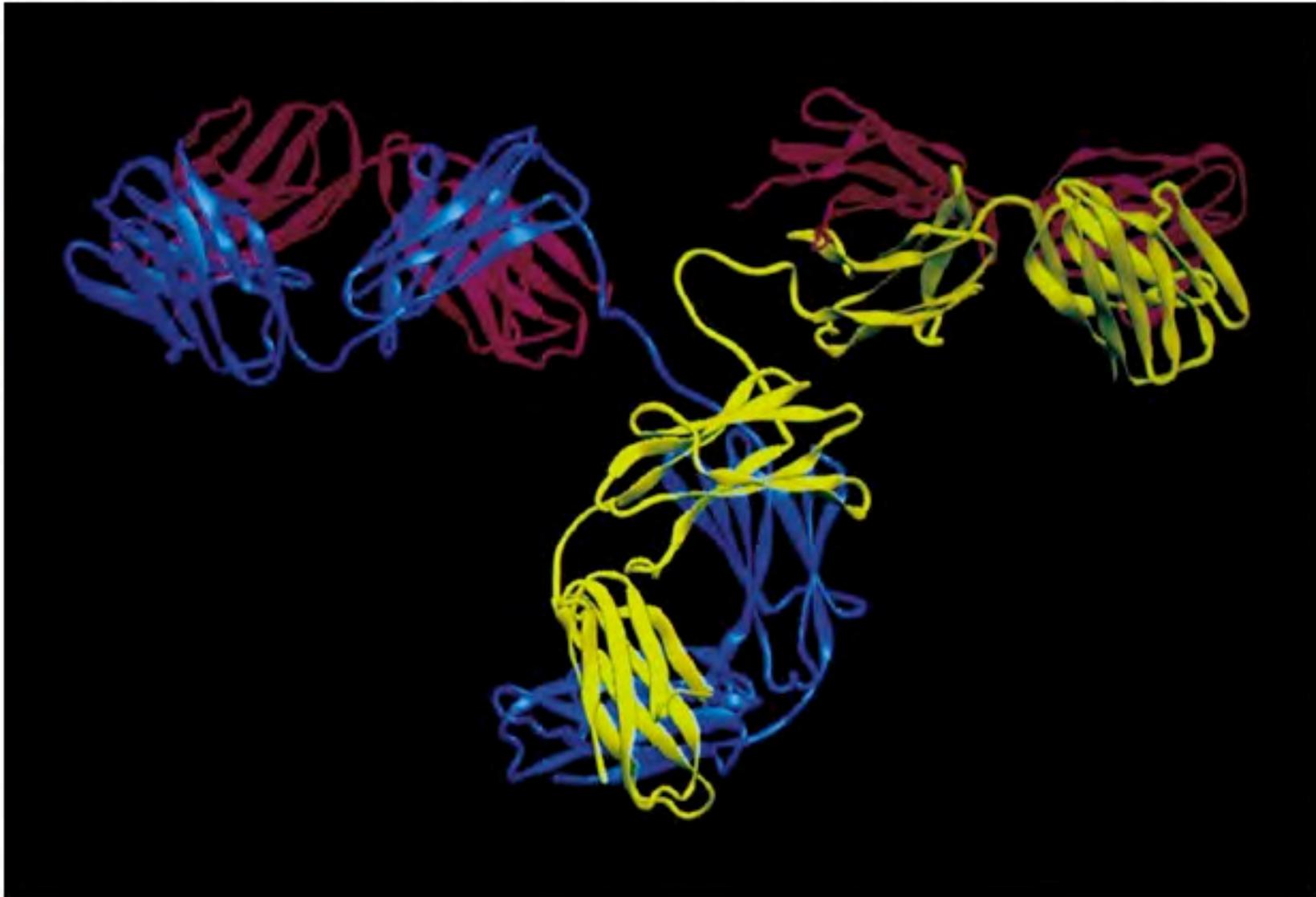


STRUTTURA QUATERNARIA DEGLI ANTICORPI

Monomero delle Ig



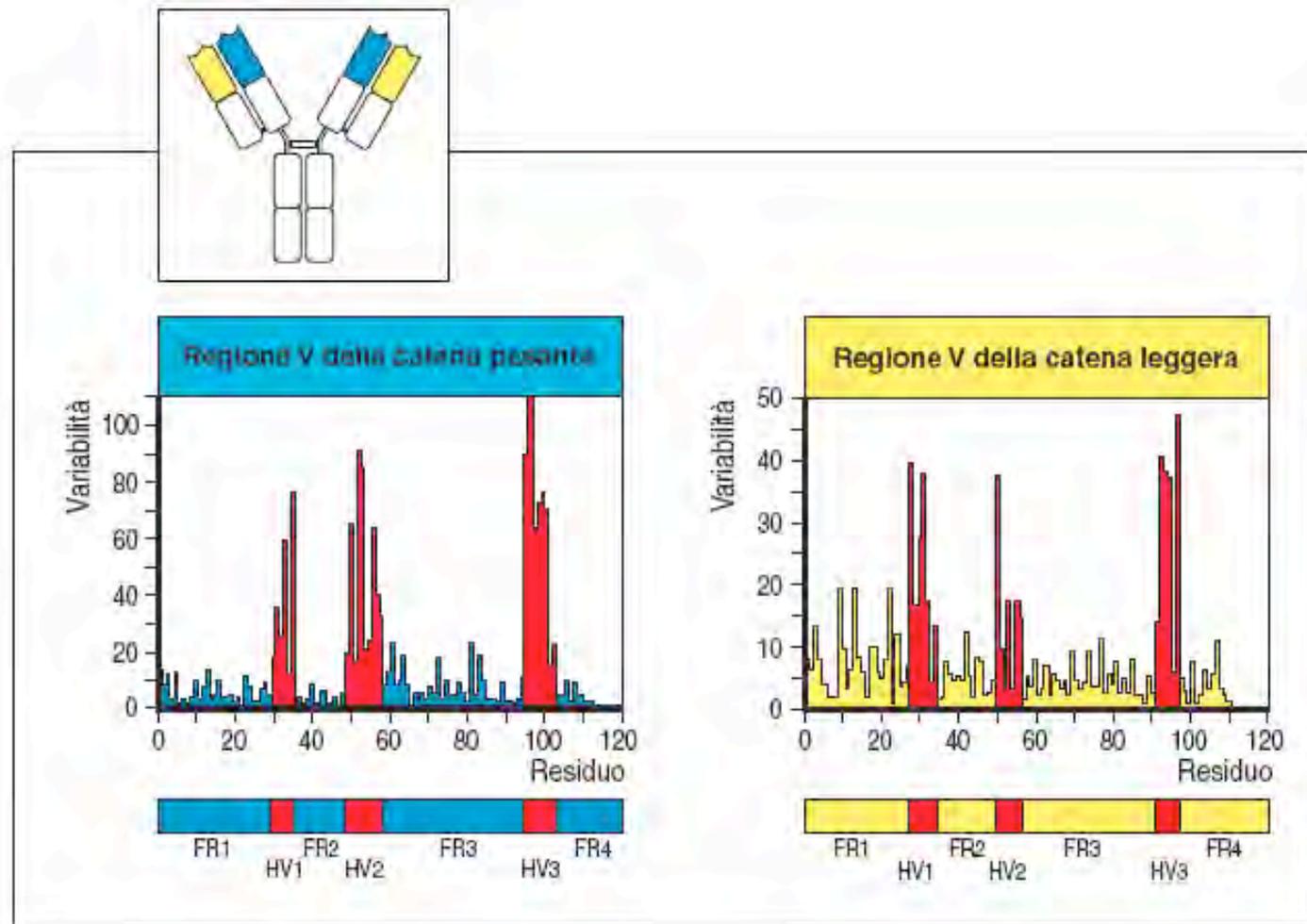
STRUTTURA QUATERNARIA DEGLI ANTICORPI



Nei domini V esistono regioni di ipervariabilità

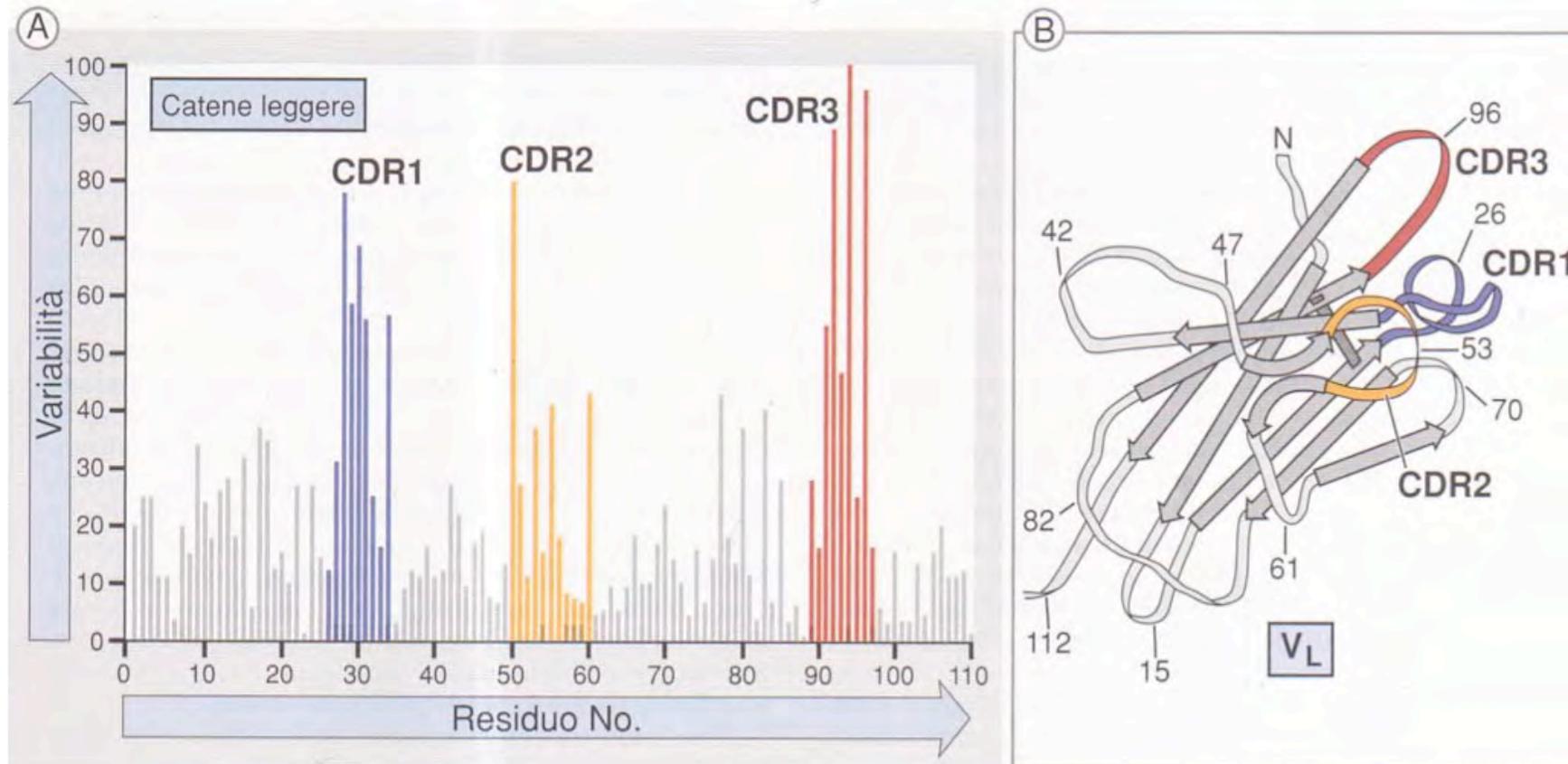
FR = framework
= cornice

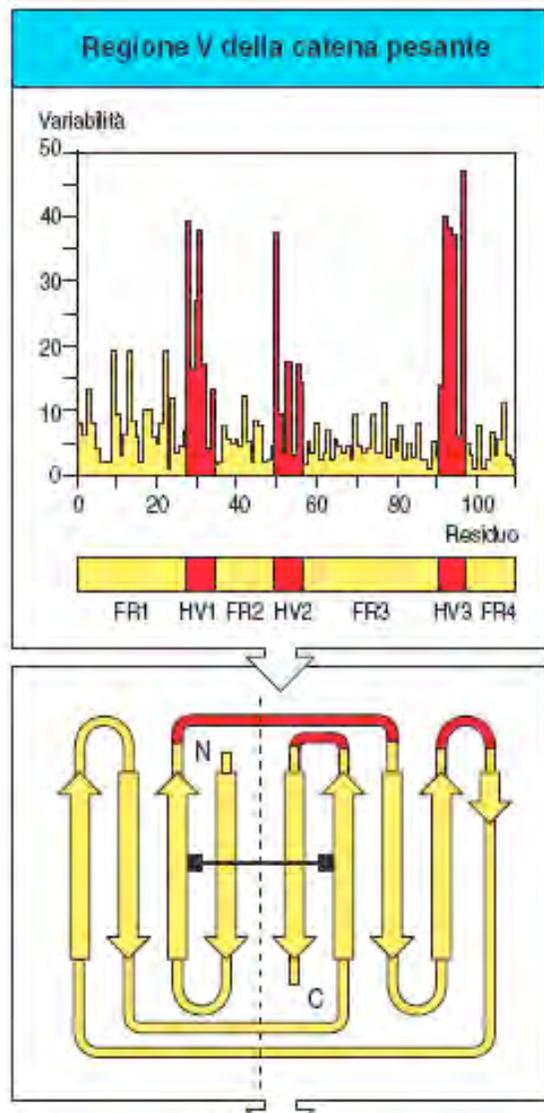
HV =
HyperVariable =
CDR =
Complementarity
Determining
Region



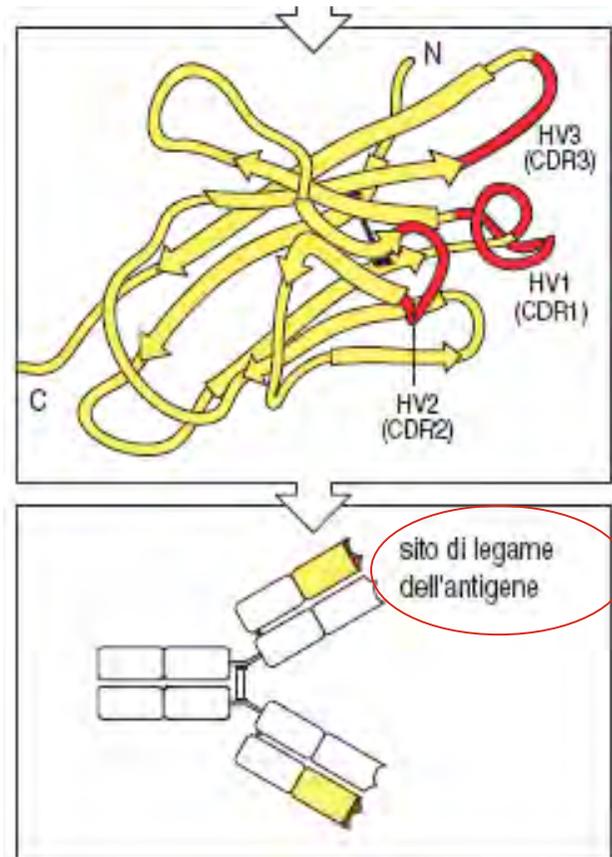
Le 3 regioni ipervariabili delle due catene determinano la specificità nei confronti di un Ag sono dette anche **regioni che determinano la complementarità (CDR)**

Le regioni ipervariabili (CDR) sono collocate in anse separate dalla struttura ripiegata

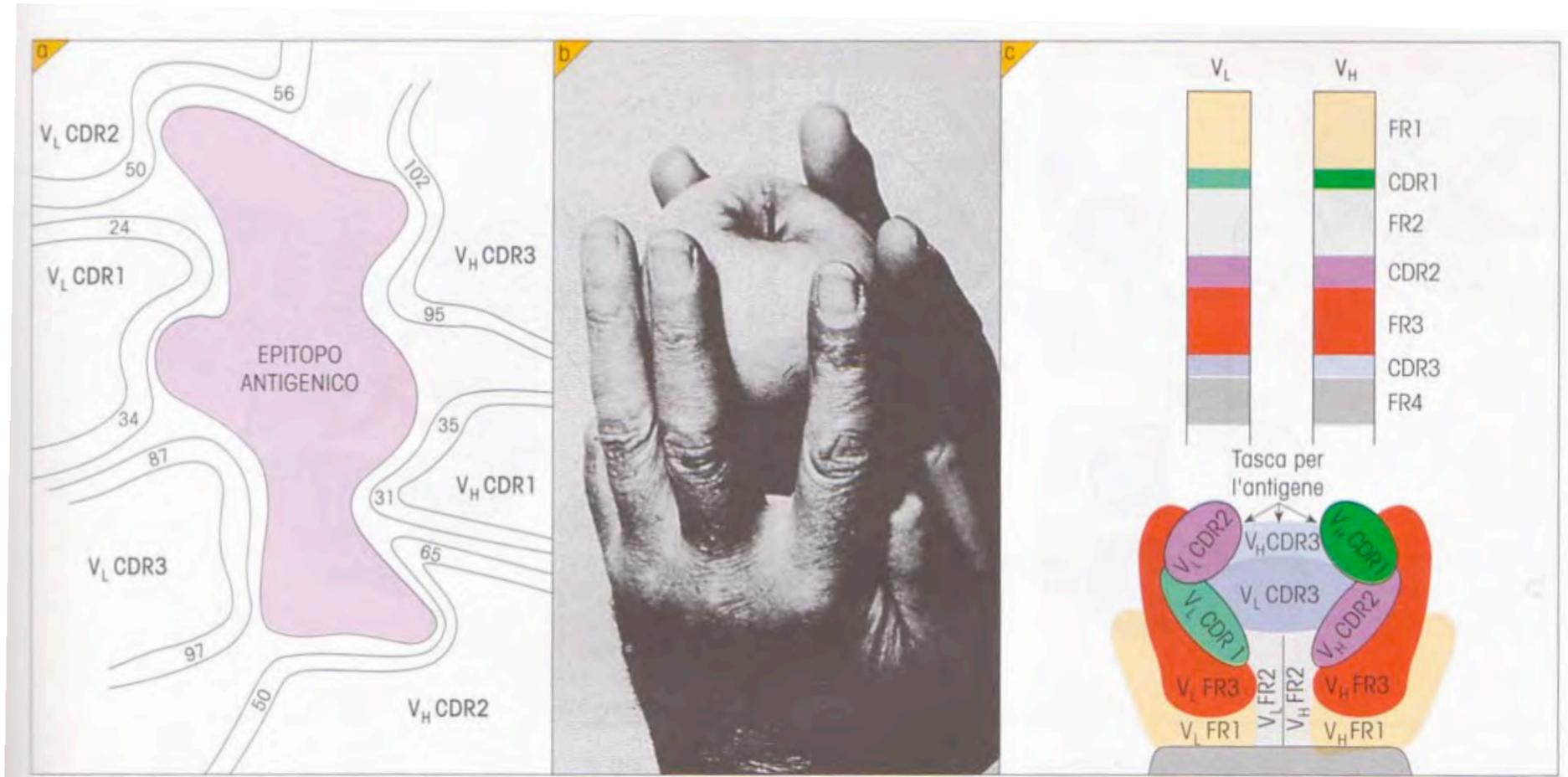




Le regioni ipervariabili (CDR) sono collocate in anse separate dalla struttura ripiegata



Il sito di legame = paratopo



Anticorpi (Ig)

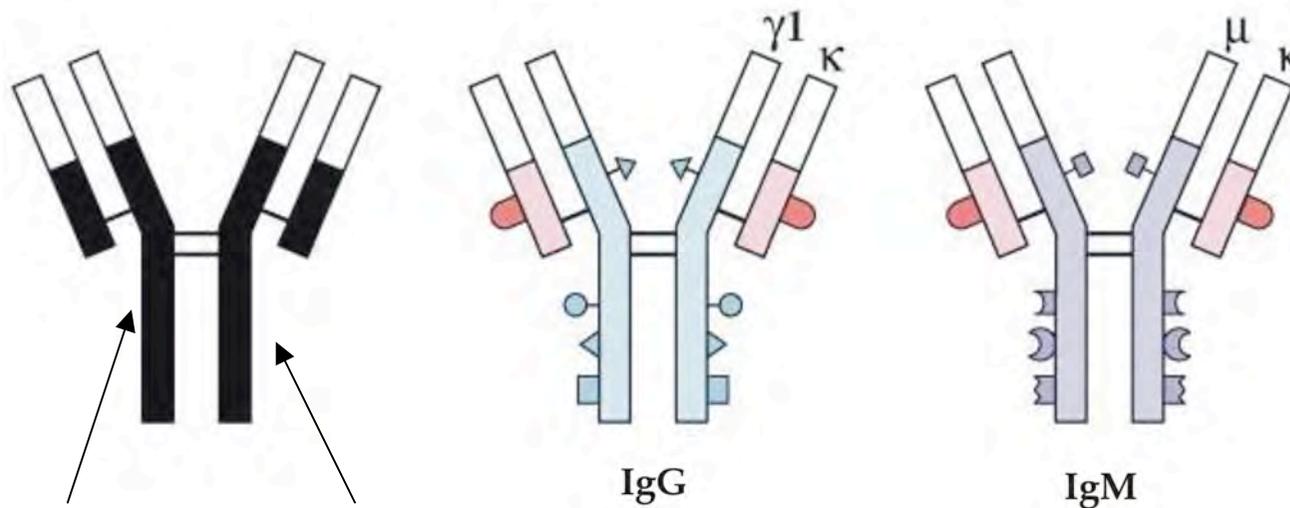
La loro struttura: catene pesanti e leggere

Le classi o isotipi

L'interazione tra anticorpo e antigene

Le funzioni dei diversi isotipi

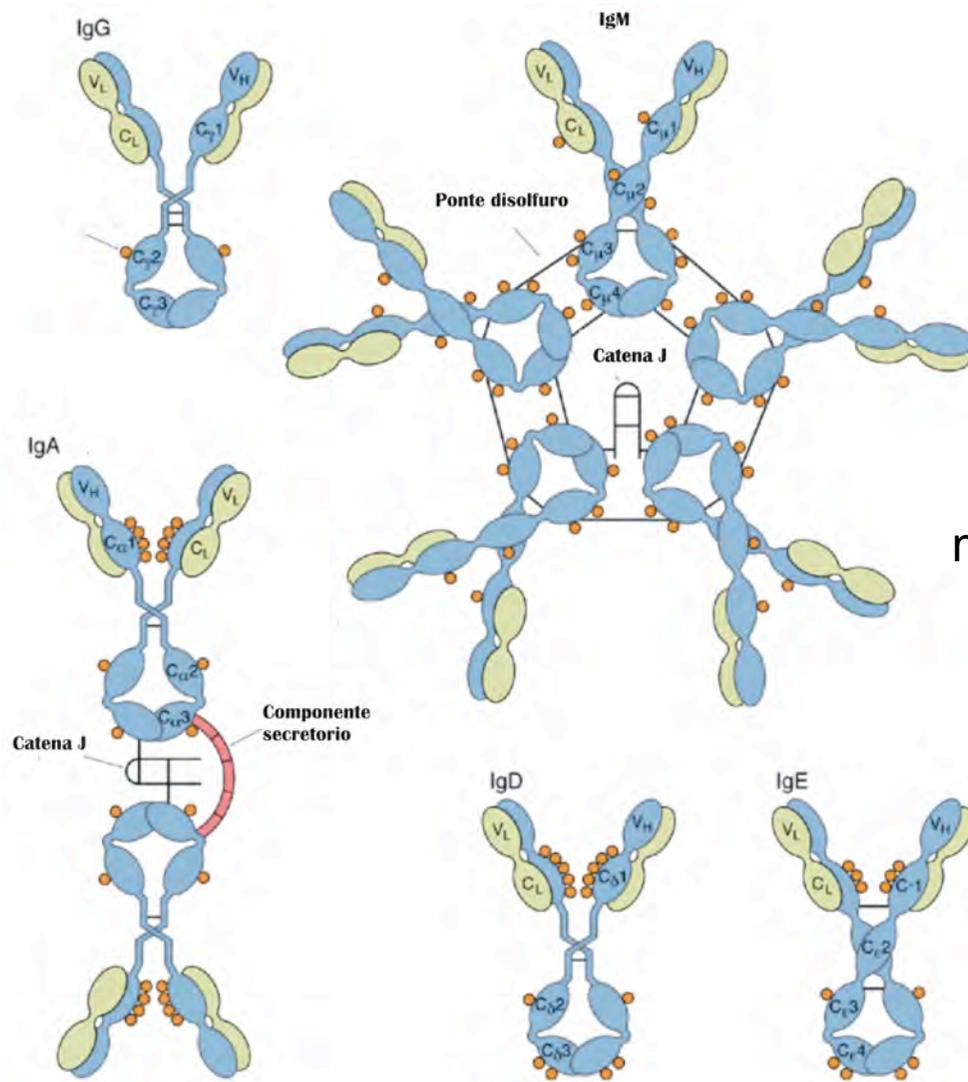
ISOTIPI



Determinanti isotipici

Nell'uomo tra le catene pesanti sono state identificate 5 classi o isotipi di Ig, IgM (μ), IgG (γ), IgA (α), IgD (δ), IgE (ϵ); per le catene leggere 2 tipi, detti κ , λ .

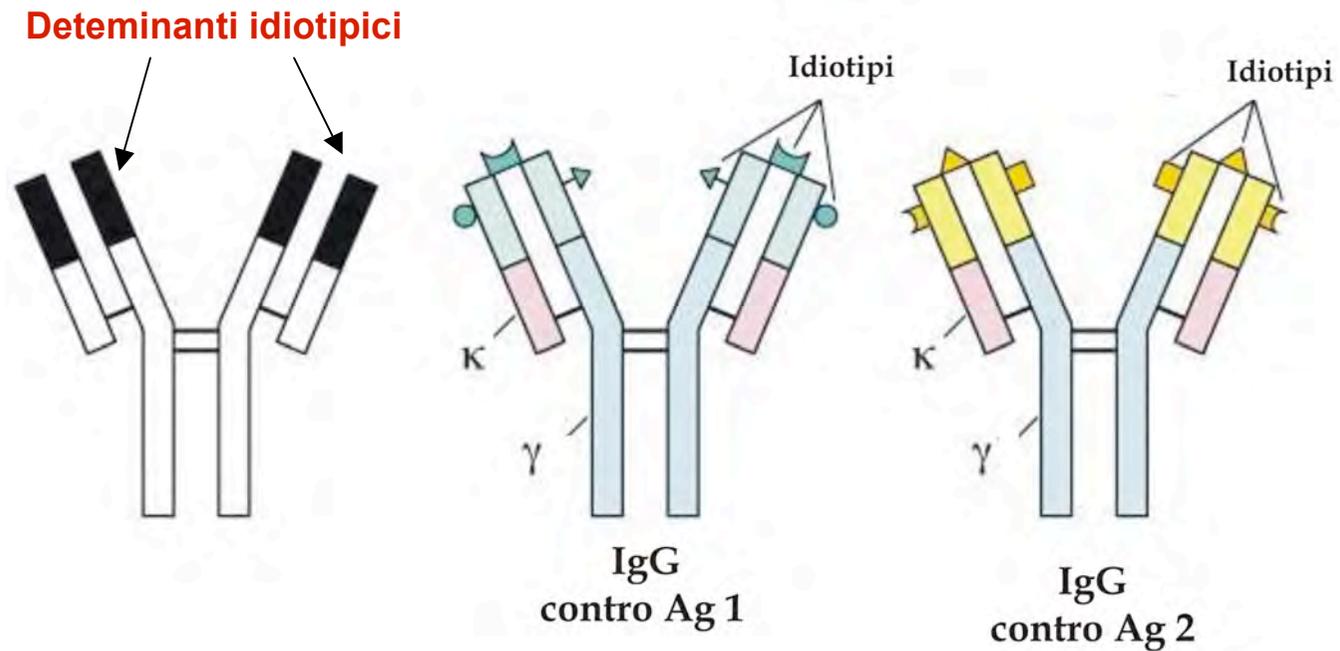
5 classi (isotipi) attivano differenti funzioni effettrici



IgM nel siero =
pentamero = 5
monomeri + catena J

IgA nelle secrezioni
mucose = dimero +
catena J

IDIOTIPI



Variazione a livello del sito di legame dell'anticorpo in particolare nelle regioni ipervariabili

Anticorpi (Ig)

La loro struttura: catene pesanti e leggere

Le classi o isotipi

L'interazione tra anticorpo e antigene

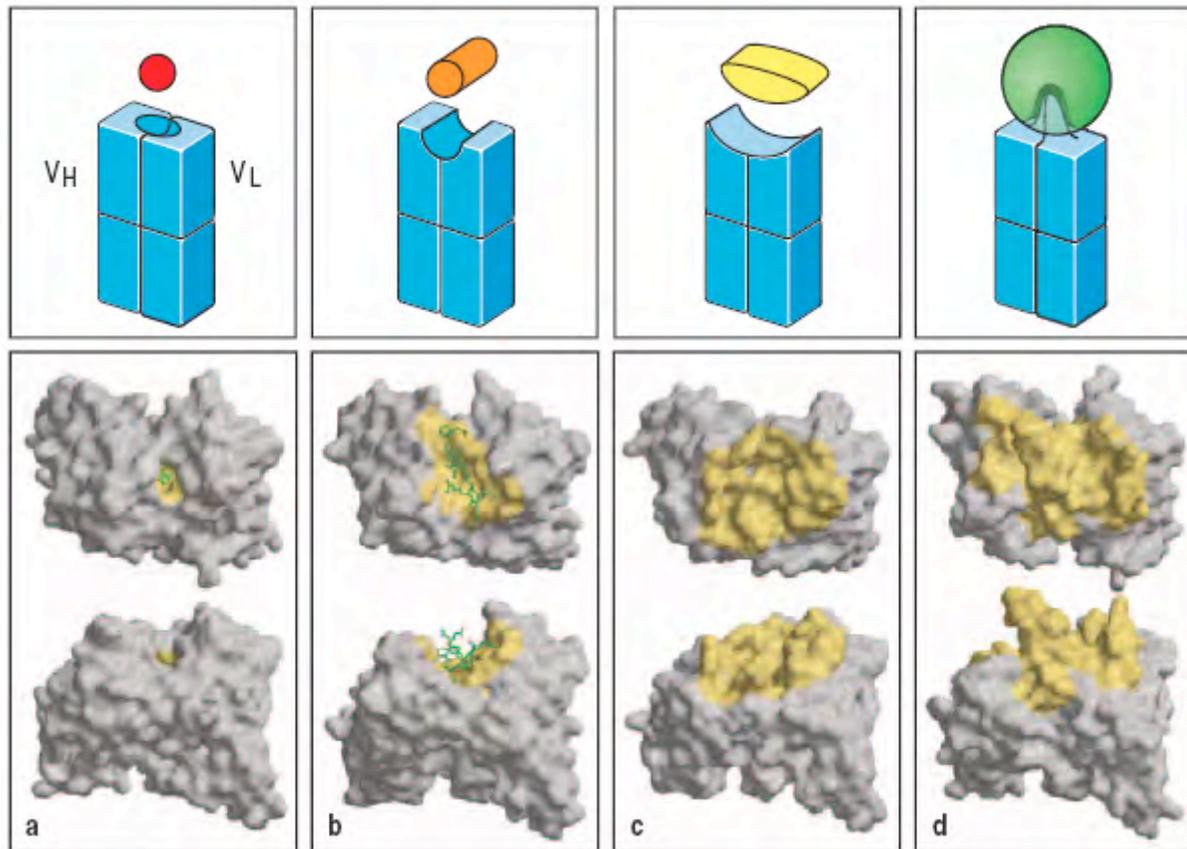
Le funzioni dei diversi isotipi

Gli anticorpi formano molteplici legami non covalenti con l'antigene

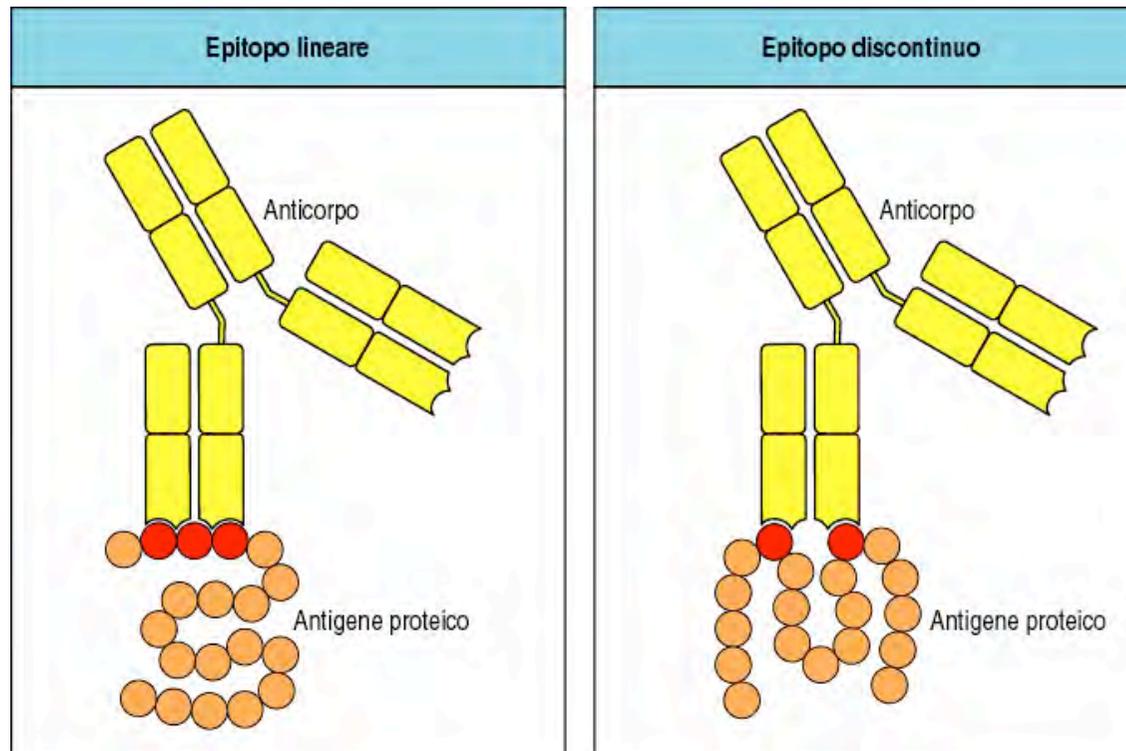
Forze non covalenti	Origine	
Forze elettrostatiche	Attrazione tra cariche opposte	$-\text{NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$
Legami ad idrogeno	Idrogeno condiviso tra atomi elettronegativi (N, O)	$\begin{array}{c} \diagup \text{N} - \text{H} - \text{O} = \text{C} \diagdown \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$
Forze di Van der Waals	Oscillazioni delle nubi elettroniche attorno alle molecole polarizzano in modo opposto gli atomi adiacenti	
Forze idrofobiche	I gruppi idrofobici interagiscono sfavorevolmente con l'acqua e tendono ad associarsi per escludere le molecole di acqua. L'attrazione avviene anche per le forze di Van der Waals	

Insieme dei legami = energia > singolo legame covalente

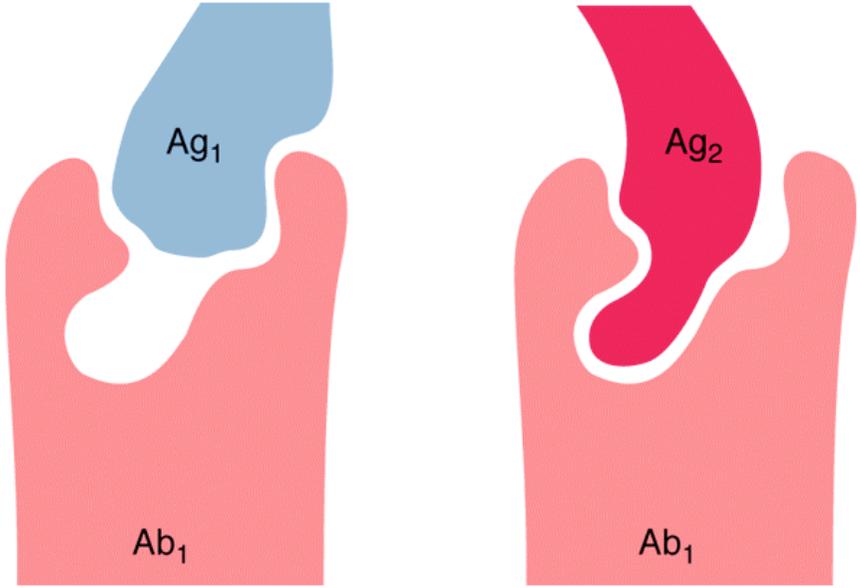
Gli epitopi si possono legare in tasche, solchi, nicchie oppure su superfici del sito combinatorio



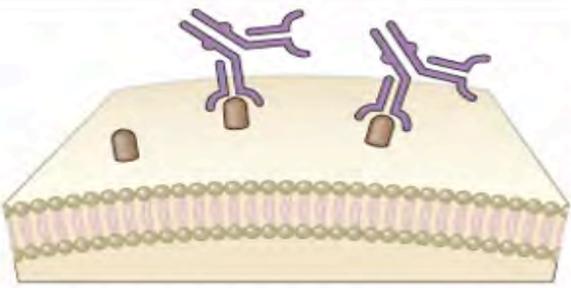
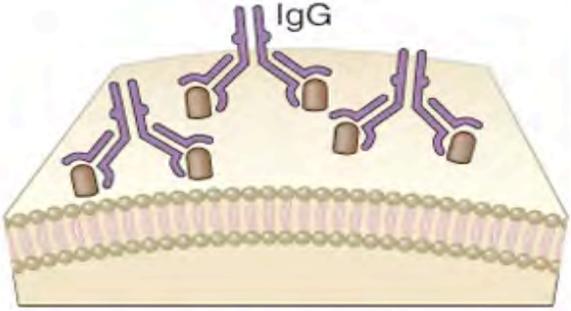
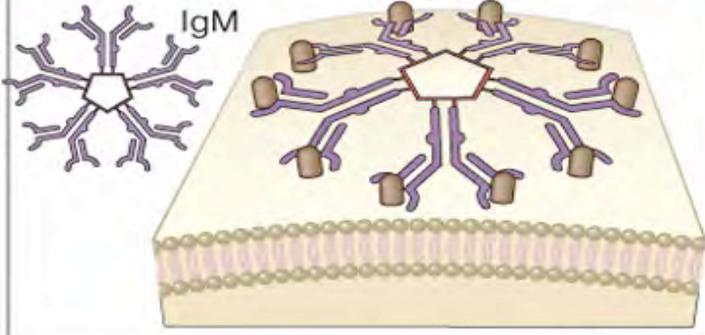
Legame dell'Anticorpo (Ac) con un epitopo (Antigene = Ag) lineare o conformazionale



Cross-reattività Ac



- Affinità = forza della singolo legame fra anticorpo (Ac) e antigene (Ag)
- Avidità = somma totale della forza di legame fra Ac e Ag

	Valenza interazione	Avidità interazione
	Monovalente	Bassa
	Bivalente	Alta
	Polivalente 10	Molto alta

Anticorpi (Ig)

La loro struttura: catene pesanti e leggere

Le classi o isotipi

L'interazione tra anticorpo e antigene

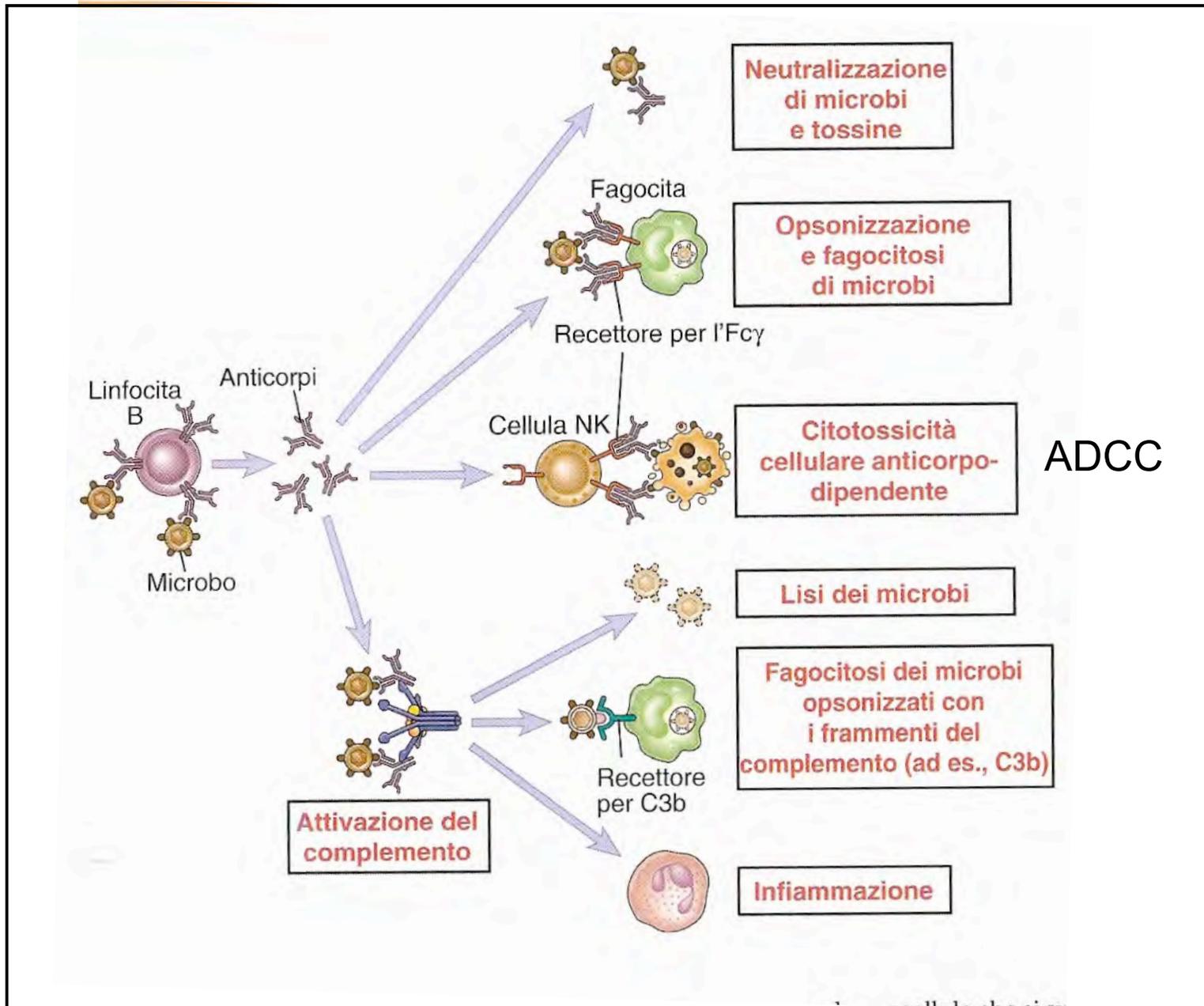
Le funzioni dei diversi isotipi

Un adulto sano di 70-kg produce ogni giorno ~ 2g - 3g di anticorpi di cui 60-70% sono IgA, presenti a livello delle mucose.

Gli anticorpi che entrano in circolo hanno un'emivita breve.

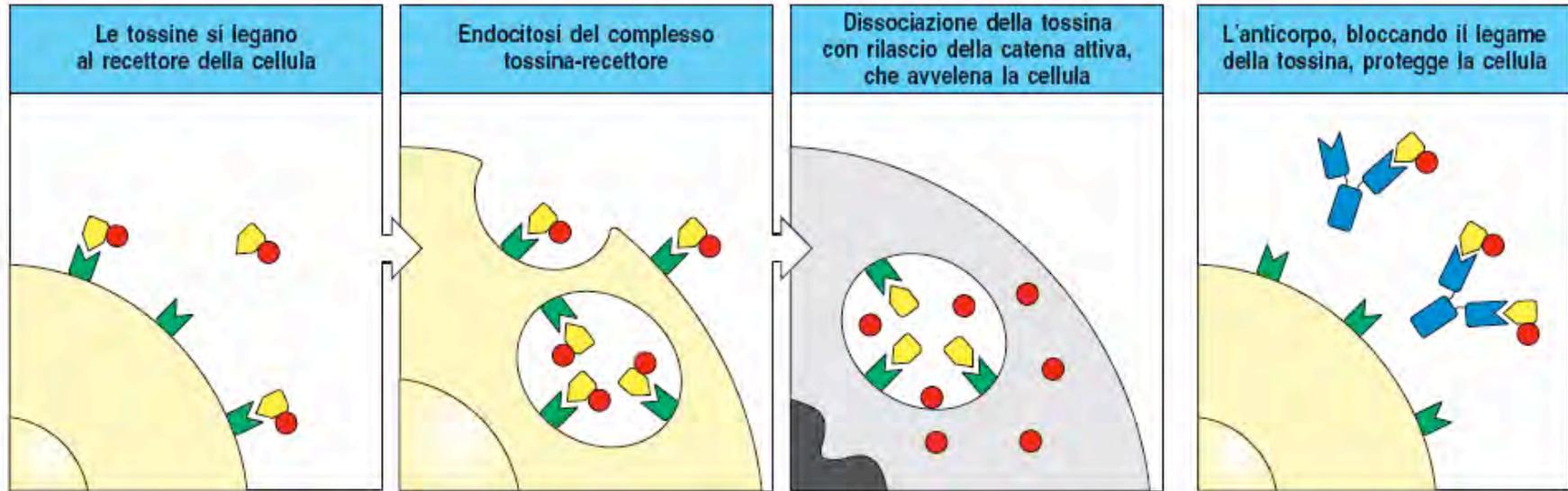
IgG sono principalmente nel siero e hanno un'emivita di circa 3 settimane.

Immunità umorale = immunità mediata dagli anticorpi

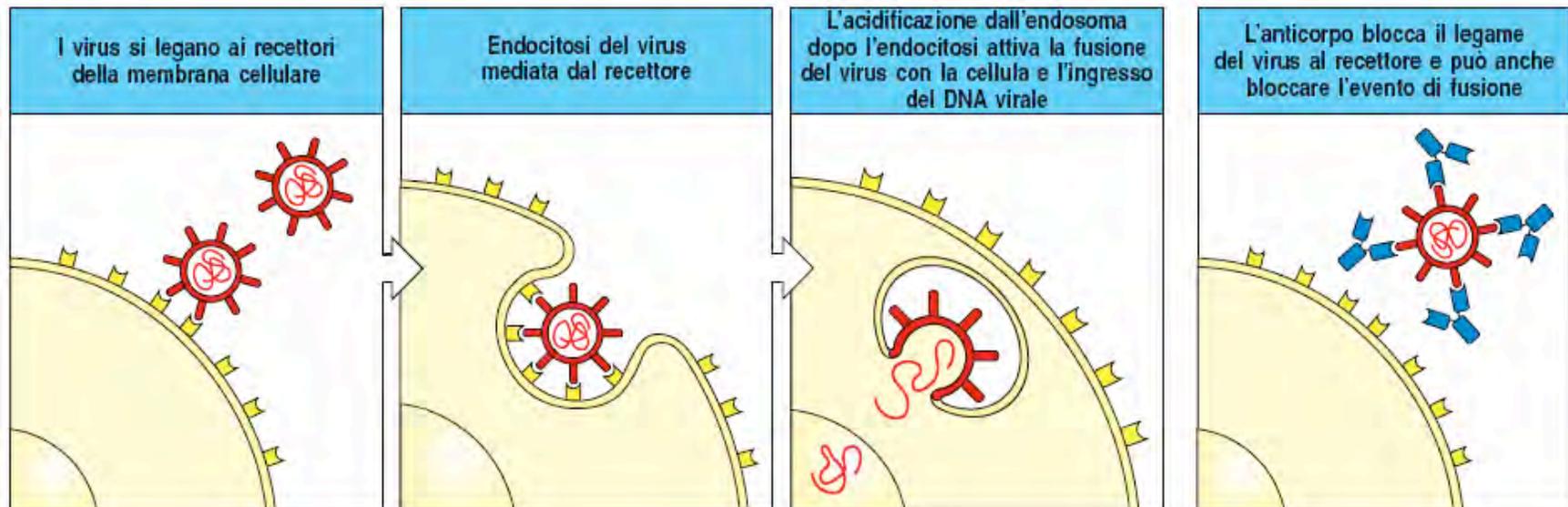


Neutralizzazione

Neutralizzazione delle tossine batteriche

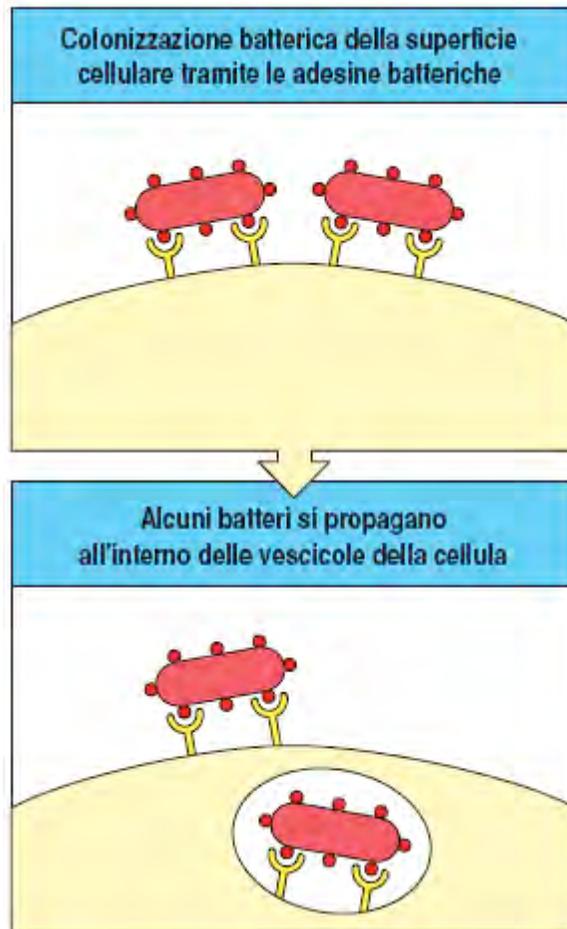


Neutralizzazione dei virus

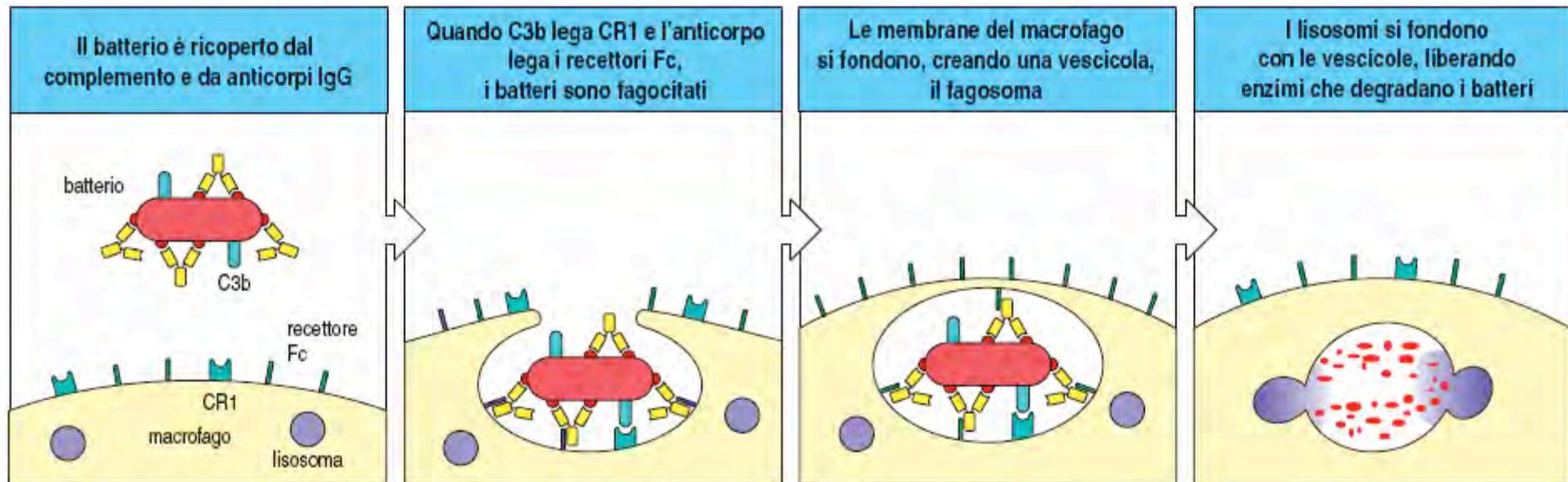


Neutralizzazione

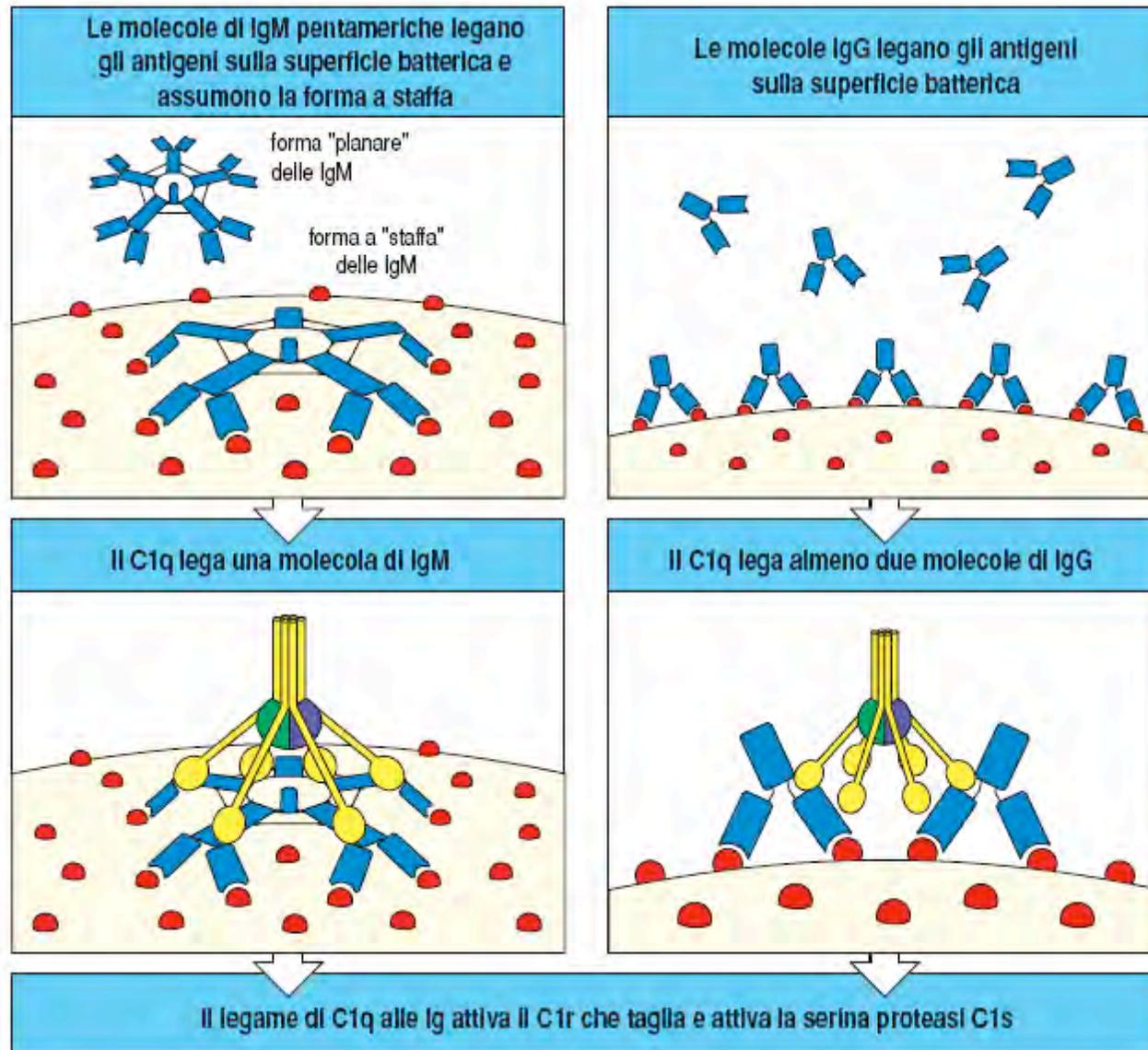
Neutralizzazione dei batteri



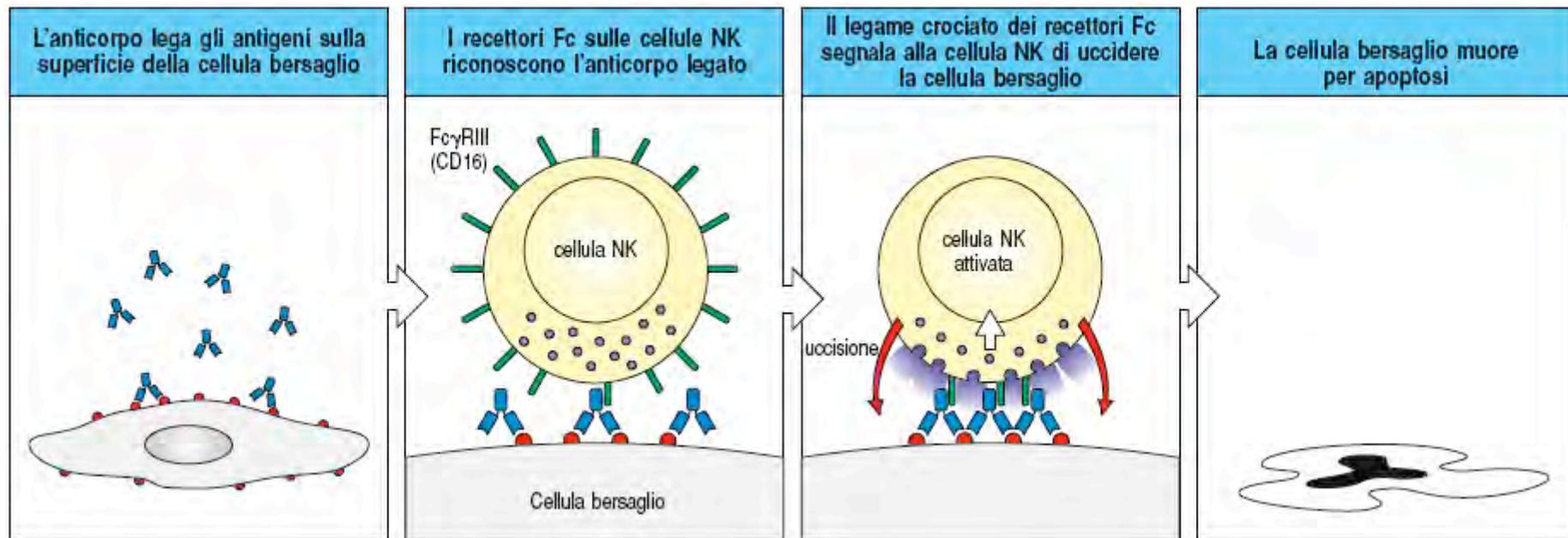
Opsonizzazione e fagocitosi



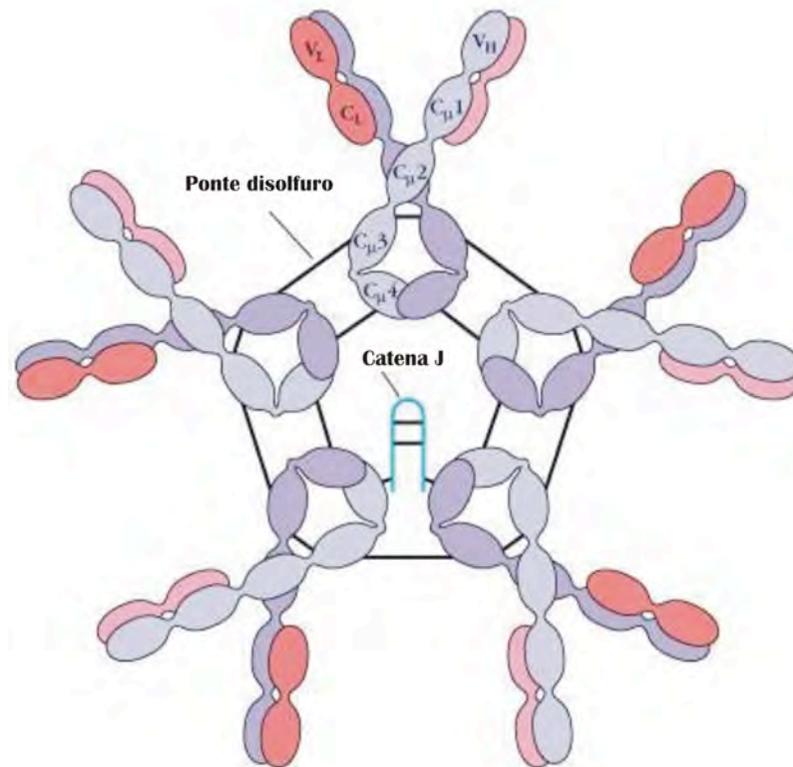
Attivazione complemento



Citotossicità cellulo mediata anticorpo dipendente (ADCC)



Immunoglobulina M (IgM)



nel siero = molecola **pentamerica**, di 900 KDa, tenuta insieme da ponti disolfuro e dalla catena **J**; circa il 10% delle Ig totali;

Ha 4 domini C_H;

prima immunoglobulina prodotta durante una risposta immunitaria primaria; elevati livelli di IgM indicano un recente esposizione ad un antigene;

prima immunoglobulina prodotta dal feto; elevati livelli di IgM alla nascita sono indice di un'infezione intrauterina;

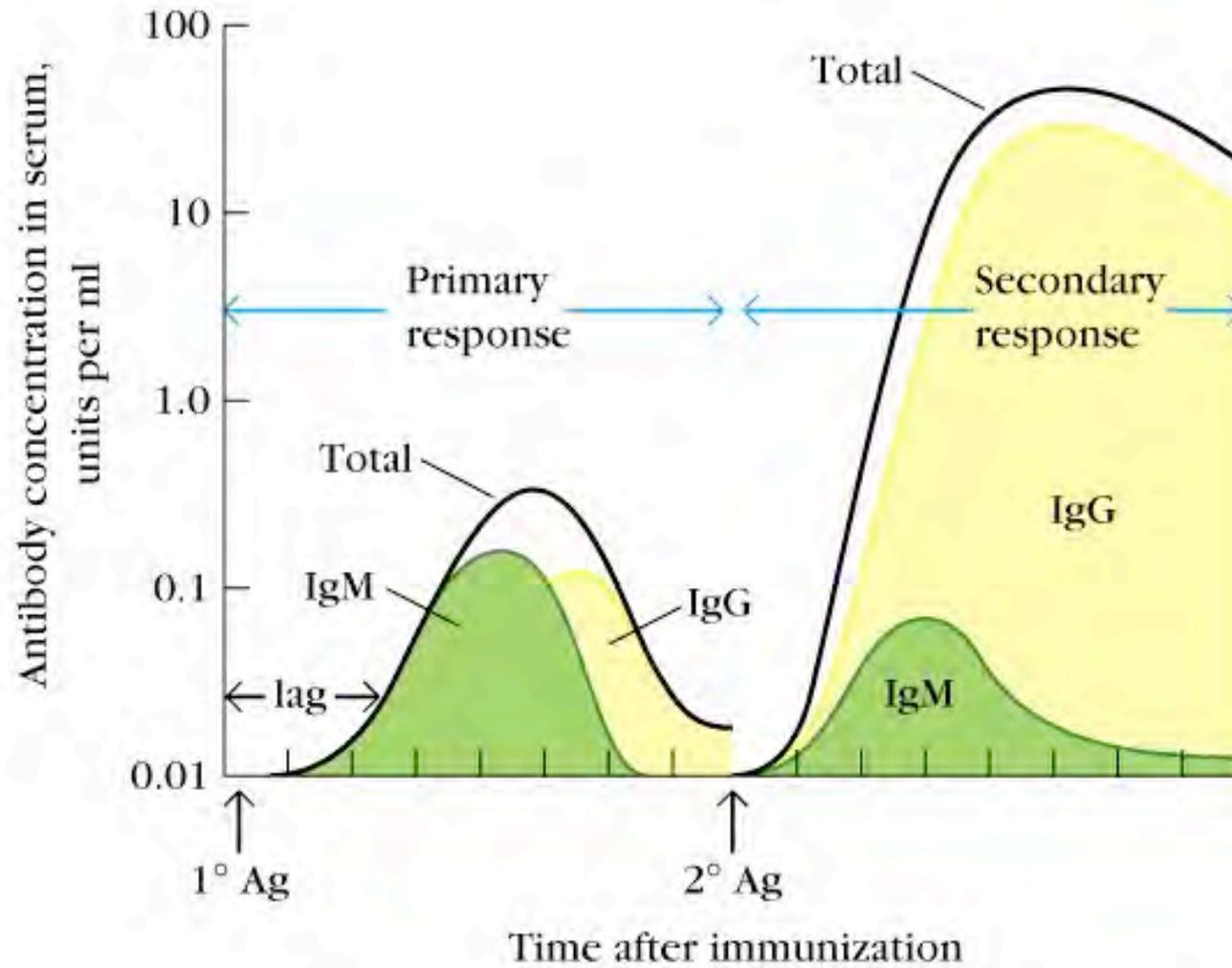
L'IgM (monomerica) si trova sulla membrana dei linfociti B maturi insieme all'IgD e costituiscono il **recettore per l'Ag**;

agglutinante (es. le isoemoagglutinine: anticorpi diretti contro componenti del gruppo sanguigno);

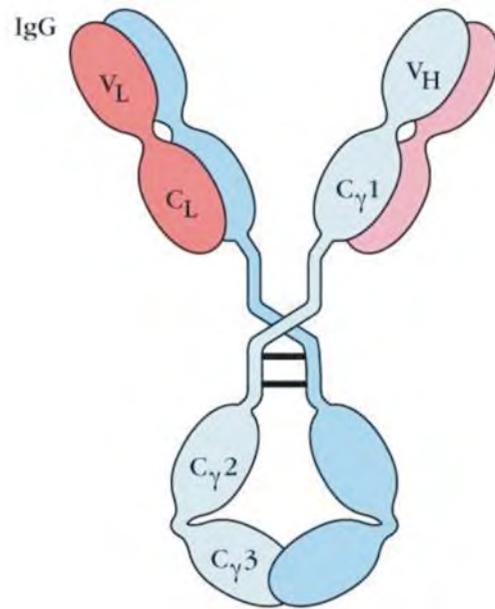
capace di **attivare il complemento** attraverso la **via classica**;

molto efficiente come prima linea di difesa nei confronti di **infezioni batteriche**, mentre è poco efficiente nel neutralizzare le tossine e i virus.

Cinetica della risposta immunitaria



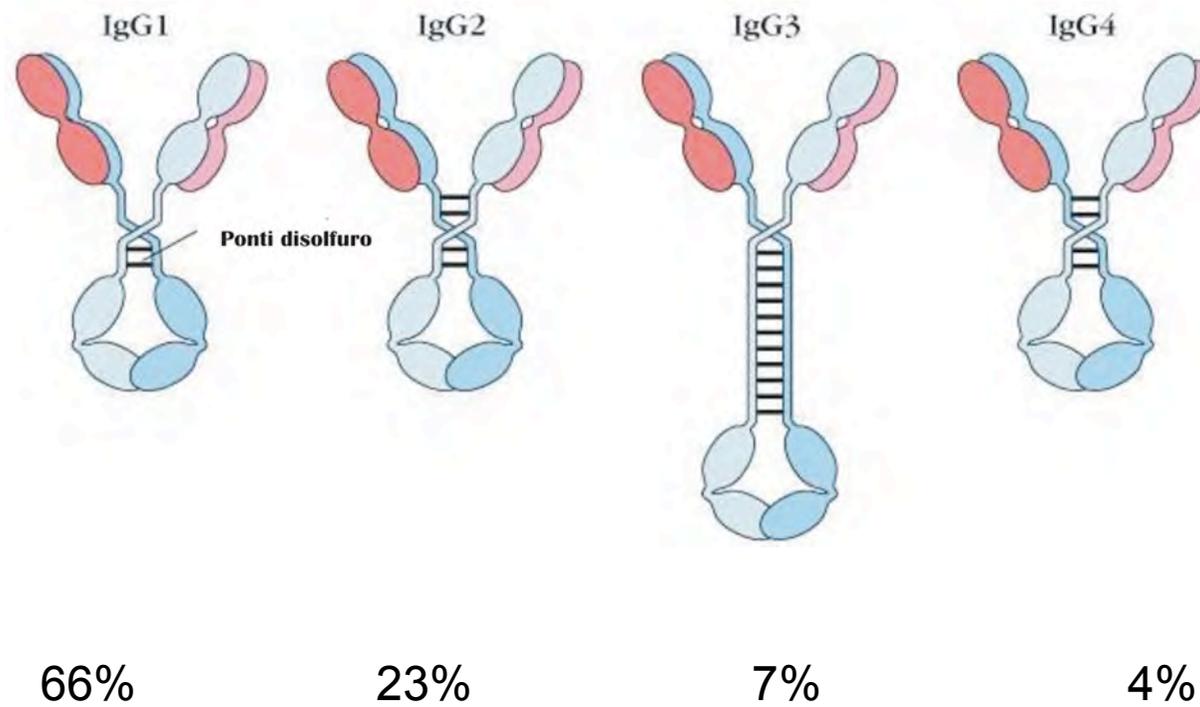
Immunoglobulina G (IgG)



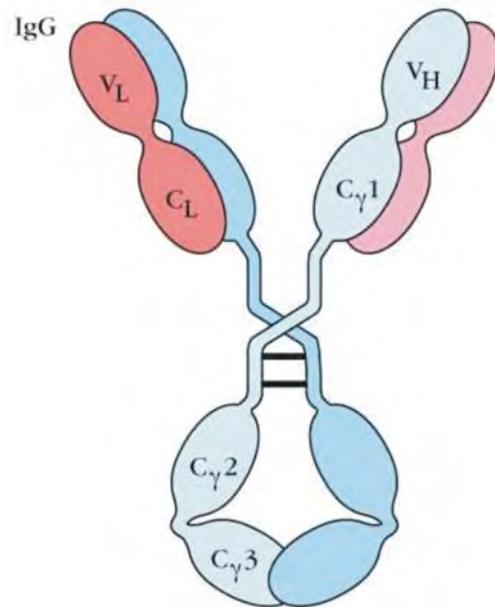
monomero di 150 KDa, con distribuzione intravascolare ed extravascolare.

Ig più numerose: 70-75% delle Ig totali. Vi sono 4 sottoclassi;

Le quattro sottoclassi di IgG



Immunoglobulina G (IgG)



monomero di 150 KDa, con distribuzione intravascolare ed extravascolare.

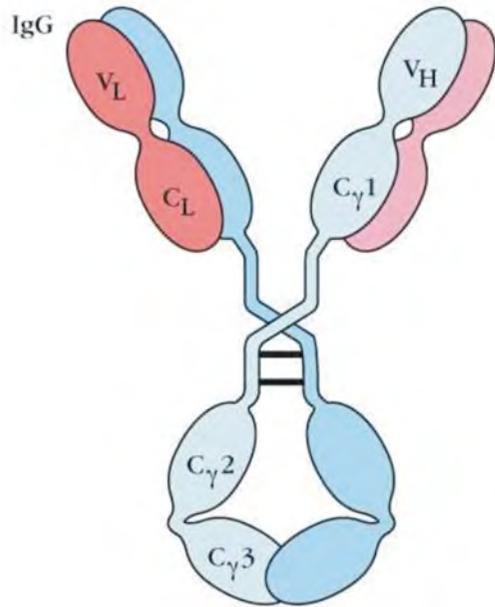
Ig più numerose: 70-75% delle Ig totali. Vi sono 4 sottoclassi;

anticorpo agglutinante;

anticorpo opsonizzante

E' l'unico anticorpo che passa attraverso la placenta (poco IgG4) e quindi è importante perché conferisce l'immunità al feto e al neonato;

Immunoglobulina G (IgG)



monomero di 150KDa, con distribuzione intravascolare ed extravascolare.

Ig più numerose:70-75% delle Ig totali. Vi sono 4 sottoclassi;

anticorpo agglutinante;

anticorpo opsonizzante

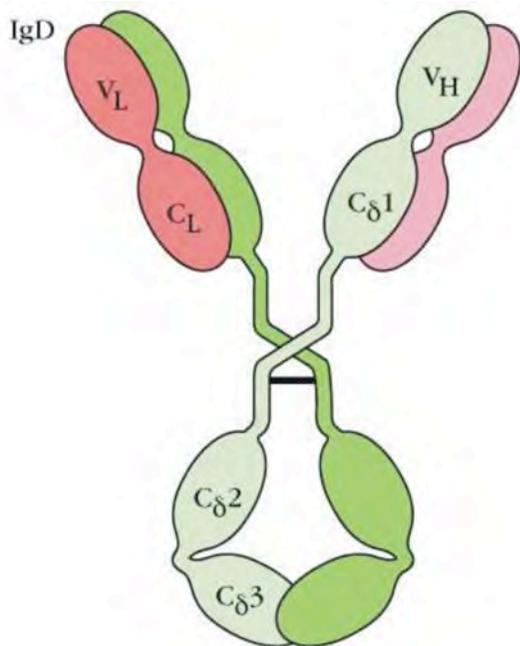
E' l'unico anticorpo che passa attraverso la placenta (poco IgG4) e quindi è importante perché conferisce l'immunità al feto e al neonato;

Attiva il complemento attraverso la via classica (eccetto IgG4) ;

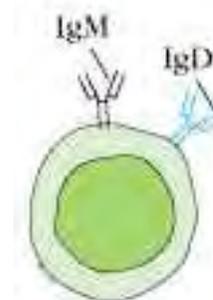
Neutralizza efficacemente sia i virus che le tossine batteriche;

Media la reazione di citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) da cellule NK e macrofagi.

Immunoglobulina D (IgD)



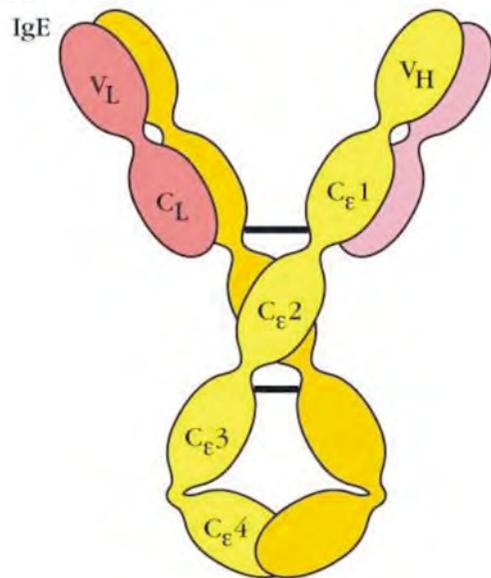
monomero di 180KDa, presente quasi esclusivamente sulla **superficie dei linfociti B maturi vergini (naïve)**, dove costituisce insieme alle IgM il **recettore per l'Ag**;



Cellula B matura vergine

Nel siero è presente in quantità piccola (=1% di tutte le Ig plasmatiche), maggiormente suscettibile alla degradazione, potrebbe svolgere un ruolo importante nel differenziamento dei linfociti attivati dall'antigene.

Immunoglobulina E (IgE)

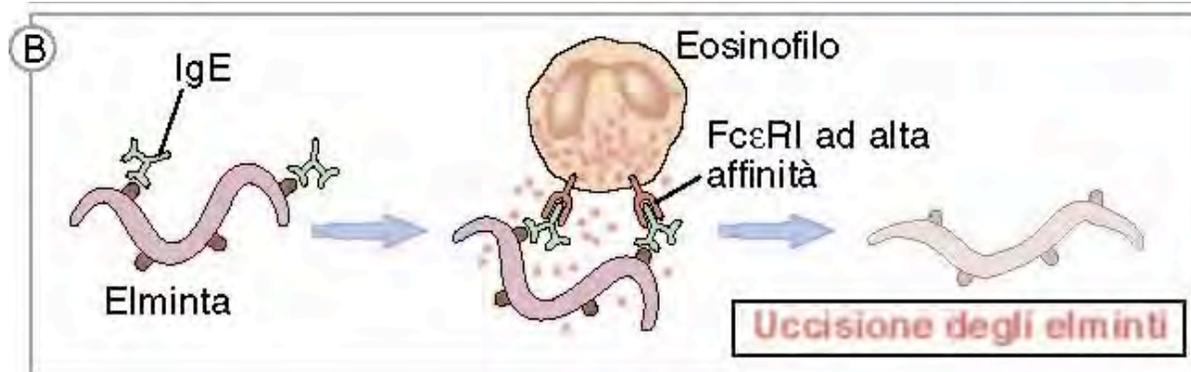


monomero di 200 KDa, con 4 domini C_H;

E' attivo nella **difesa contro alcuni parassiti** (vermi); infatti, **elevate concentrazioni di IgE** nel siero sono presenti in corso d'infezioni da **parassiti**;

E' presente nel siero **in bassissime concentrazioni** (0,0003 mg/ml), perché la maggioranza delle IgE **si trova legata sulla superficie dei basofili e delle mast-cellule** tramite il recettore per il frammento Fc.

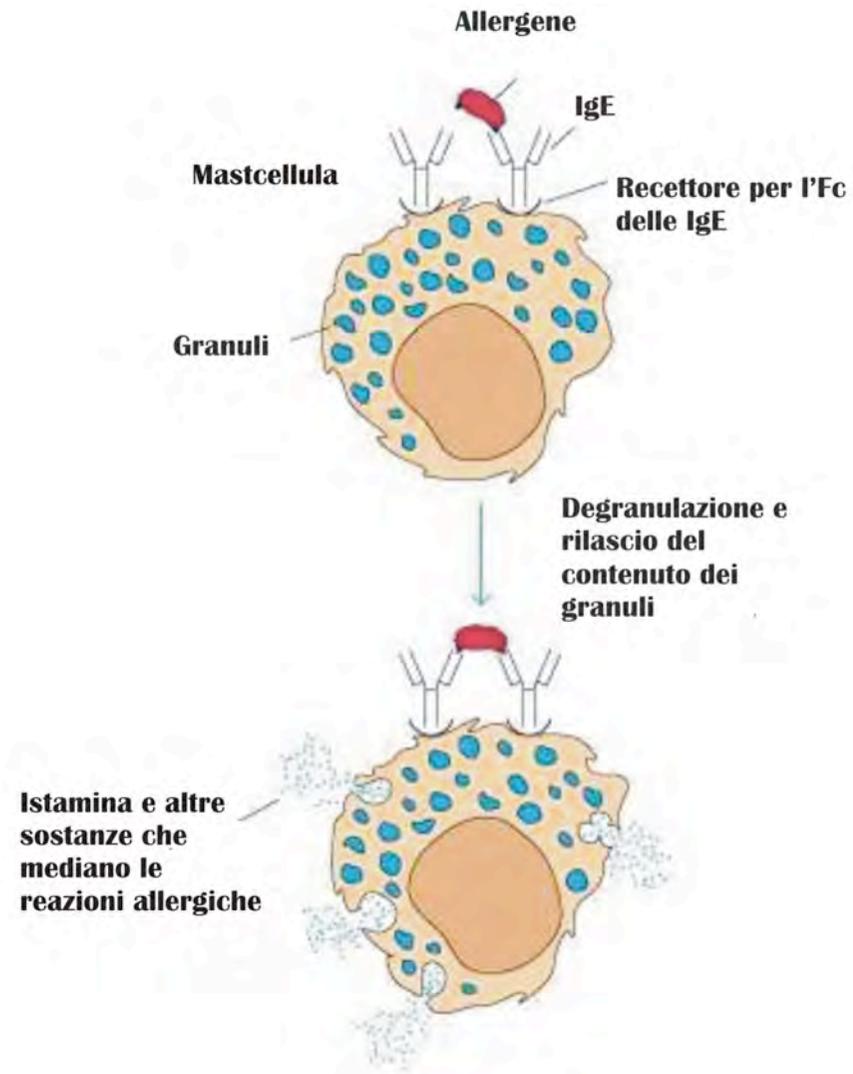
Eosinofili uccidono cellule bersaglio opsonizzate da IgE



Larva di Schistosoma
opsonizzata dagli IgE di un
paziente infettato e attaccata da
eosinofili

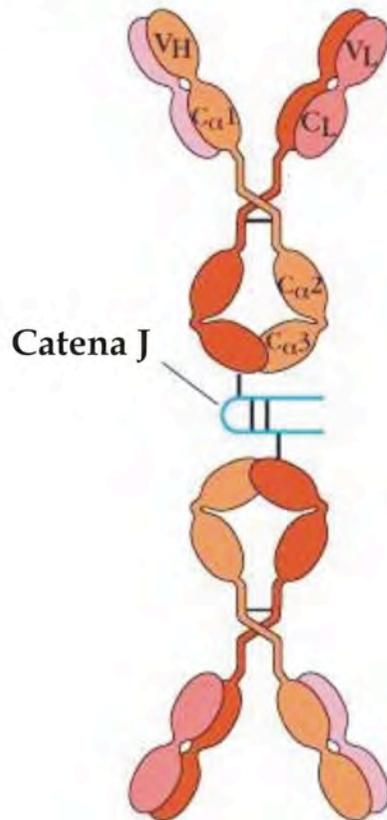


Mastociti e basofili attivati rilasciano mediatori dell'infiammazione



Immunoglobulina A (IgA)

IgA



nel siero sono monomeriche (15-20%) con un peso di 160 KDa, la cui funzione è sconosciuta;

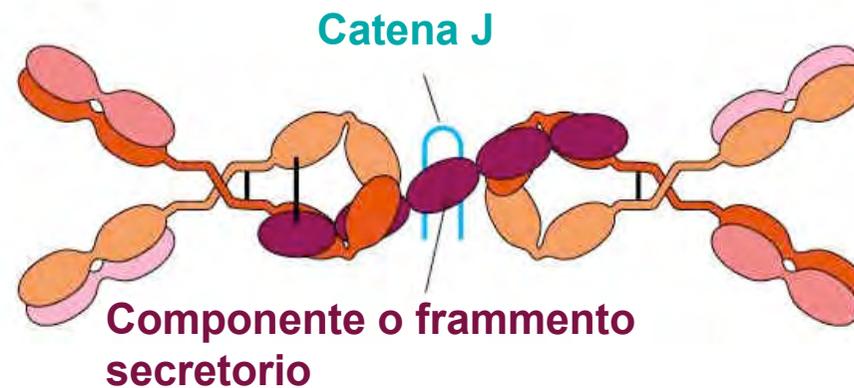
presenti soprattutto a livello delle secrezioni (saliva, lacrime, latte materno, muco); come dimeri, tenuti insieme dalla catena J, con un peso di 400 KDa;

prodotte dalle plasmacellule presenti nel MALT, insieme alla catena J;

Le IgA sono necessarie nella difesa delle infezioni a livello della mucosa respiratoria ed intestinale;

Hanno un'efficiente attività antivirale, in quanto prevengono il legame dei virus alle cellule epiteliali (neutralizzazione)

Le IgA dimeriche per passare attraverso le cellule epiteliali si legano ad una glicoproteina (componente secretorio), prodotta ed espressa sulla membrana di tali cellule e che funge da recettore (recettore poli-Ig).



Passaggio di IgA dimerica dalla mucosa al lume intestinale

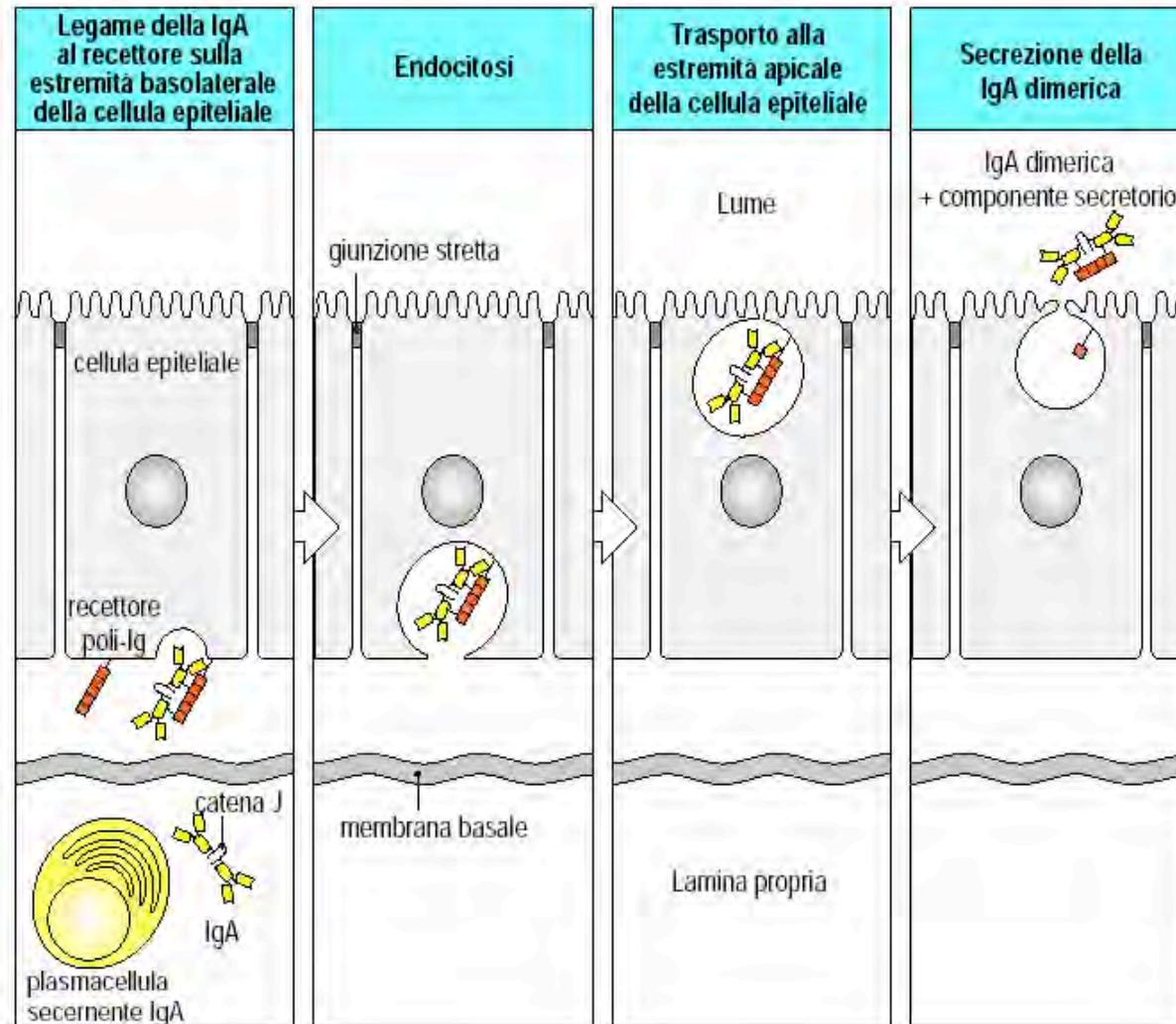


Fig. 9.20 La transitosi delle IgA attraverso gli epiteli è mediata dai recettori poli-Ig, un sistema specializzato di proteine di trasporto. La maggior parte delle IgA è sintetizzata nelle plasmacellule presenti nelle sottomucose dell'intestino, del tratto respiratorio, dei dotti lacrimali, delle ghiandole salivari e dalla ghiandola mammaria durante l'allattamento. Il dimero IgA legato dalla catena J diffonde attraverso la membrana basale ed è legato dal recettore poli-Ig sulla superficie laterobasale della cellula epiteliale. Il complesso subisce la transitosi ed è trasportato all'interno di una vescicola attraverso la cellula alla superficie apicale dove il recettore poli-Ig è tagliato. Rimane un frammento legato al dimero IgA denominato componente secretorio. Il resto del recettore poli-Ig non è funzionale ed è degradato. In questo modo le IgA sono trasportate attraverso l'epitelio nel lume di numerosi organi che sono a contatto con l'ambiente esterno.

IgA1 e IgA2

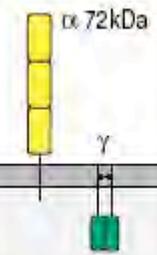
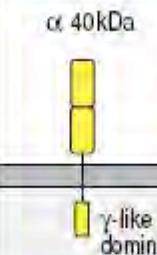
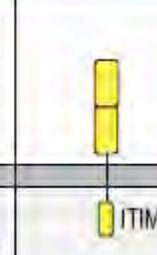
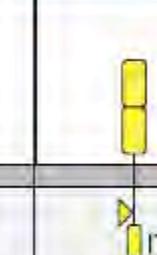
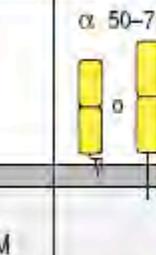
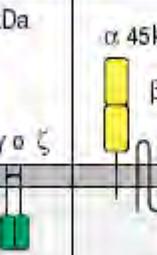
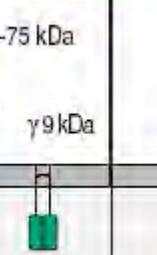
Nonostante livelli significativi di IgA nel siero umano, è la forma secretoria è la più importante in senso funzionale

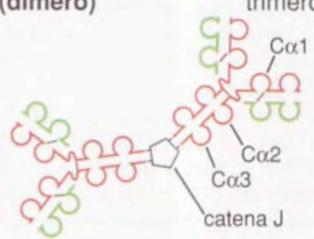
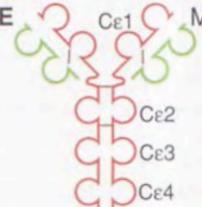
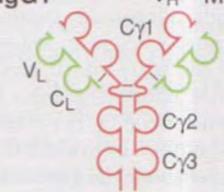
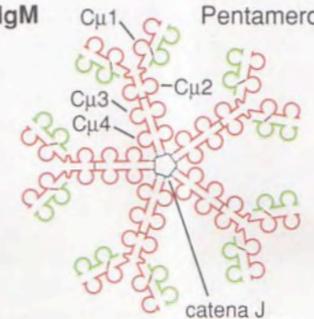
Nel siero la sottoclasse predominante è IgA1 (circa 90% delle IgA complessive)

Nelle secrezioni nasali, le lacrime, la saliva e il latte le IgA1 sono circa il 70-95% del totale

Nel colon predominano le IgA2 (circa il 60% delle IgA complessive)

Recettori per regioni Fc diversi = diverse funzioni

Recettore	FcγRI (CD64)	FcγRII-A (CD32)	FcγRII-B2 (CD32)	FcγRII-B1 (CD32)	FcγRIII (CD16)	FcεRI	FcαRI (CD89)	Fcα/μR
Struttura								
Legame	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgE	IgA1, IgA2	IgA, IgM
Ordine di affinità	10^8 M^{-1} 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1 2) IgG3=IgG2* 3) IgG4	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 1) IgG1=IgG3 2) IgG4 3) IgG2	$5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ IgG1=IgG3	10^{10} M^{-1}	10^7 M^{-1} IgA1=IgA2	$3 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 1) IgM 2) IgA
Tipo di cellula	Macrofagi Neutrofili† Eosinofili† Cellule dendritiche	Macrofagi Neutrofili Eosinofili Piastrine Cellule di Langerhans	Macrofagi Neutrofili Eosinofili	Cellule B Mastociti	Cellule NK Eosinofili Macrofagi Neutrofili Mastociti	Mastociti Eosinofili† Basofili	Macrofagi Eosinofili† Neutrofili	Macrofagi Cellule B
Effetto del legame	Cattura Stimolazione Attivazione della catena respiratoria Induzione dell'uccisione	Cattura Rilascio di granuli (eosinofili)	Cattura Inibizione della stimolazione	No cattura Inibizione della stimolazione	Induzione dell'uccisione (cellule Natural Killer)	Secrezione di granuli	Cattura Induzione dell'uccisione	Cattura

Isotipo dell'anti-corpo	Sottotipo	Catena H	Concentr. nel siero (mg/ml)	Emivita nel siero (giorni)	Forma secreta	Funzioni
IgA	IgA1, 2	α (1 o 2)	3,5 1.4 - 4	6	IgA (dimero) Monomero, dimero, trimero 	Immunità delle mucose
IgD	Nessuno	δ	0.003-0.04	3	Nessuna	Recettore per l'antigene dei linfociti B naïve
IgE	Nessuno	ϵ	Tracce	2	IgE Monomero 	Ipersensibilità immediata, difesa contro gli elminti
IgG	IgG1-4	γ (1, 2, 3, o 4)	13,5 8 - 16	23	IgG1 Monomero 	Opsonizzazione, attivazione del complemento, citotossicità anticorpo-dipendente e cellulare, immunità neonatale, feedback inibitorio delle cellule B
IgM	Nessuno	μ	1,5 0.5 - 2	5	IgM Pentamero 	Recettore per l'antigene dei linfociti B naïve, attivazione del complemento

Tot: 18.5
9.9 - 22

Attività funzionale	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralizzazione	+	-	++	++	++	++	++	-
Opsonizzazione	+	-	+++	*	++	+	+	-
Sensibilizzazione per l'uccisione da parte delle cellule NK	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensibilizzazione dei mastociti	-	-	+	-	+	-	-	+++
Attivazione del sistema del complemento	+++	-	++	+	+++	-	+	-

Distribuzione	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Trasporto attraverso l'epitelio	+	-	-	-	-	-	+++ (dimerico)	-
Trasporto attraverso la placenta	-	-	+++	+	++	+/-	-	-
Diffusione nei siti extravascolari	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monomero)	+
Livello sierico medio (mg ml ⁻¹)	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3x10 ⁻⁵

Totale = 17.14

13.5

60