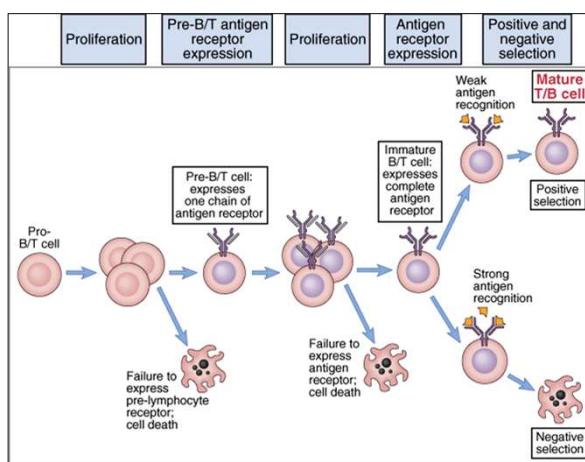


## Sviluppo dei linfociti B

ATTENZIONE:  
 questi file compresi  
 testo ed immagini in  
 essi contenuti sono  
 destinati  
 esclusivamente agli  
 studenti del corso per  
 favorire lo studio.  
 Nessun file, che  
 potrebbe contenere  
 materiale soggetto a  
 copyright, può essere  
 utilizzato per altri fini  
 senza autorizzazione

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

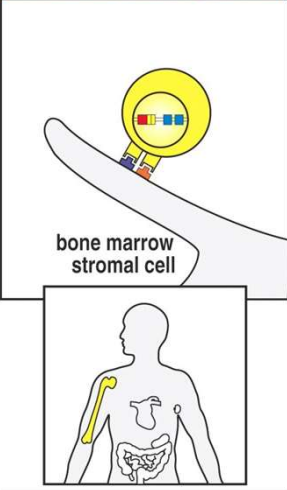
### Checkpoints multipli nella maturazione dei linfociti



Durante lo sviluppo i linfociti che esprimono recettori per l'antigene funzionali sono selezionati e sopravvivono, gli altri muoiono per apoptosi

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

**B-cell precursor rearranges its immunoglobulin genes**



bone marrow stromal cell

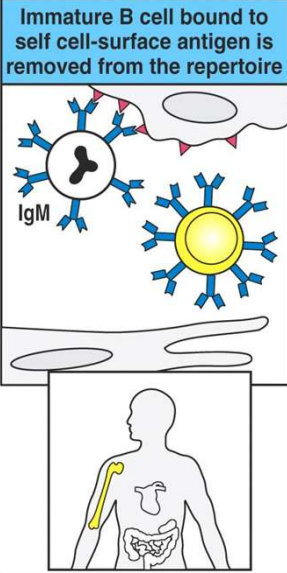
**Generation of B-cell receptors in the bone marrow**

## Sviluppo linfociti B

- Prima fase
  - in midollo osseo
  - riarrangiamento dei geni delle Ig
  - indipendente da Ag
  - dipendente da interazioni con cellule stroma midollare

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

**Immature B cell bound to self cell-surface antigen is removed from the repertoire**



IgM

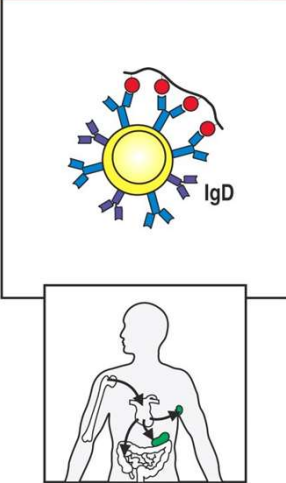
**Negative selection in the bone marrow**

## Sviluppo linfociti B

- Seconda fase
  - cellula B immatura esprime IgM
  - interagisce con Ag
  - cellule B immature stimulate fortemente da Ag vanno in apoptosi
    - selezione negativa

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

**Mature B cell bound to foreign antigen is activated**



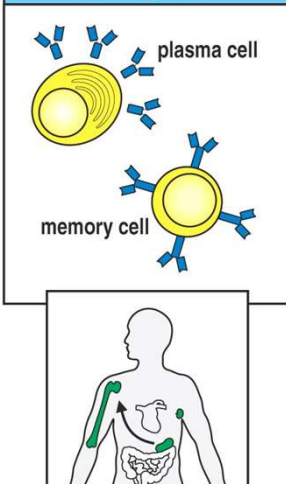
**B cells migrate to the peripheral lymphoid organs**

## Sviluppo linfociti B

- Terza fase
  - cellula B immatura migra in periferia dove completa la maturazione ed esprime anche IgD
  - può essere attivata da Ag incontrato in organi linfatici secondari

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

**Activated B cells give rise to plasma cells and memory cells**



**Antibody secretion and memory cells in bone marrow and lymphoid tissue**

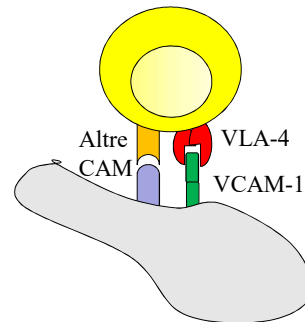
## Sviluppo linfociti B

- Quarta fase
  - cellula B attivate da Ag
    - proliferano
      - espansione clonale
    - differenziano in
      - plasmacellule
      - cellule B della memoria

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

## Prima fase sviluppo linfociti B (1)

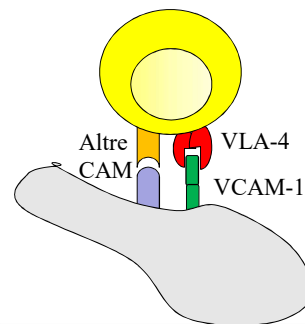
Precursore linfoide precoce



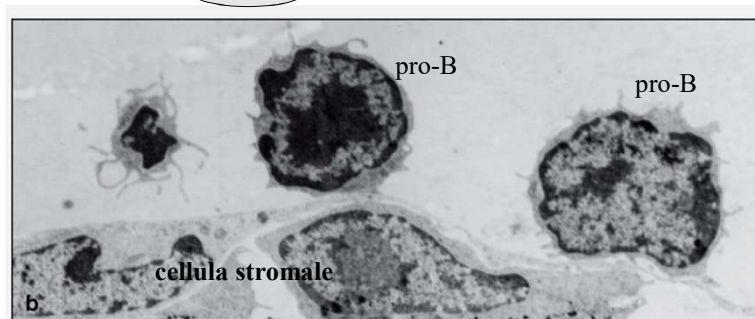
Cellula midollare stromale

- Precursori linfoidi aderiscono a cellule stromali
- VLA-4 ↔ VCAM-1
- altre molecole di adesione (CAM, cell adesion molecule)

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

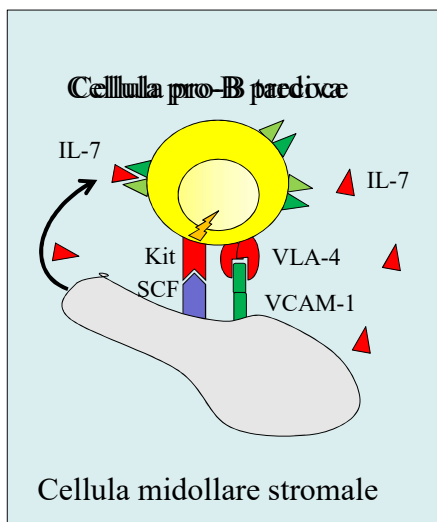


Interazione tra cellule pro-B e cellula stromale del midollo



Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

## Prima fase sviluppo linfociti B (2)



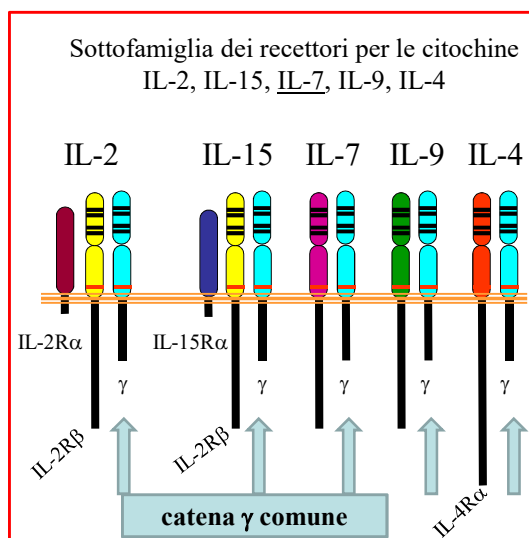
- Interazione Kit –SCF induce proliferazione in cellula pro-B
- Espressione recettore per IL-7 in cellula pro-B tardiva
- IL-7 è secreta da cellule stromali
- IL-7 richiesta per proliferazione e differenziamento

- SCF, Stem Cell Factor, citochina presente sulla membrana delle cellule stromali

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

## Importanza di IL-7 nello sviluppo dei linfociti

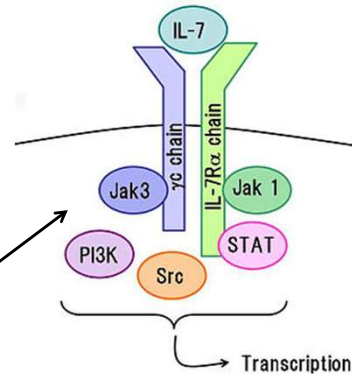
- Recettore per IL-7 costituito da IL-7R $\alpha$  e catena  $\gamma$  comune
- Topi  $\gamma_c^{KO}$  hanno grave deficit in linfociti T e B
- Nell'uomo deficit in  $\gamma_c$  causa X-SCID, immunodeficienza severa combinata legata al cromosoma X; maturazione linfociti T (non B) compromessa



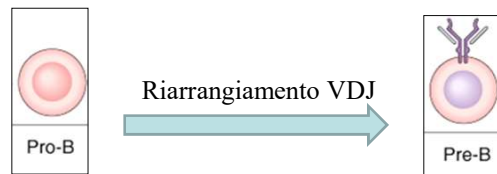
Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

## Importanza di IL-7 nello sviluppo dei linfociti

- Recettore per IL-7 costituito da IL-7R $\alpha$  e catena  $\gamma$  comune
- Topi  $\gamma_c^{KO}$  hanno grave deficit in linfociti T e B
- Nell'uomo deficit in  $\gamma_c$  causa X-SCID, immunodeficienza severa combinata legata al cromosoma X; maturazione linfociti T (non B) compromessa
- Deficit in Jak3, chinasi che trasduce il segnale del recettore per IL-7, determina SCID (autosomico)

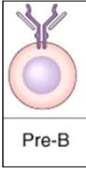


Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

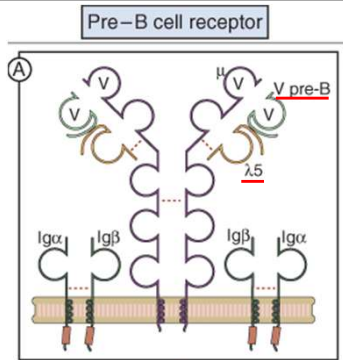


- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule pro-B</li> <li>• Non producono Ig</li> <li>• Marcatori linea B: CD19 e CD10</li> <li>• Esprimono enzimi RAG             <ul style="list-style-type: none"> <li>– Riarrangiamento catena pesante (VDJ)</li> </ul> </li> <li>• Esprimono TdT             <ul style="list-style-type: none"> <li>– N-addition</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cellule pre-B</li> <li>• Trascrivono e traducono catena pesante <math>\mu</math></li> <li>• Catene <math>\mu</math> si combinano con <u>catene leggere surrogate</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>– <u>le catene surrogate sono invariati</u></li> </ul> </li> </ul> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016



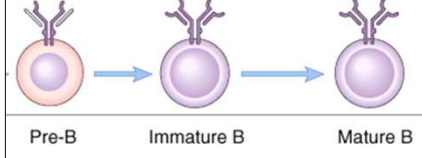
Pre-B



- Catene  $\mu$  si combinano con catene leggere surrogate formando il pre-BCR
- la catena leggera surrogate è composta da due proteine: proteina V-pre-B e  $\lambda 5$
- Pre-BCR si associa a  $Ig\alpha$  e  $Ig\beta$ , molecole coinvolte nella trasduzione del segnale (associate al BCR anche in cellule mature)

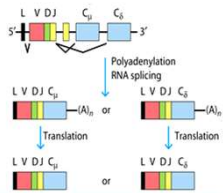
- Inibizione di ulteriori riarrangiamenti catena pesante (esclusione allelica)
- Sopravvivenza e stimolazione proliferazione cellule pre-B
- Stimolazione riarrangiamento catena leggera k

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

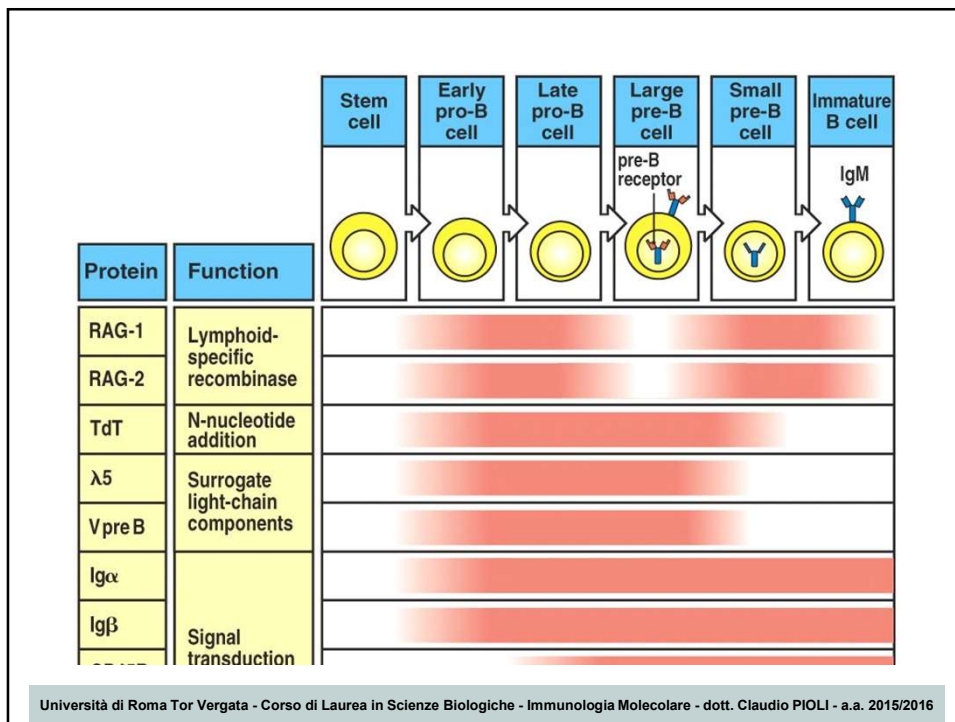
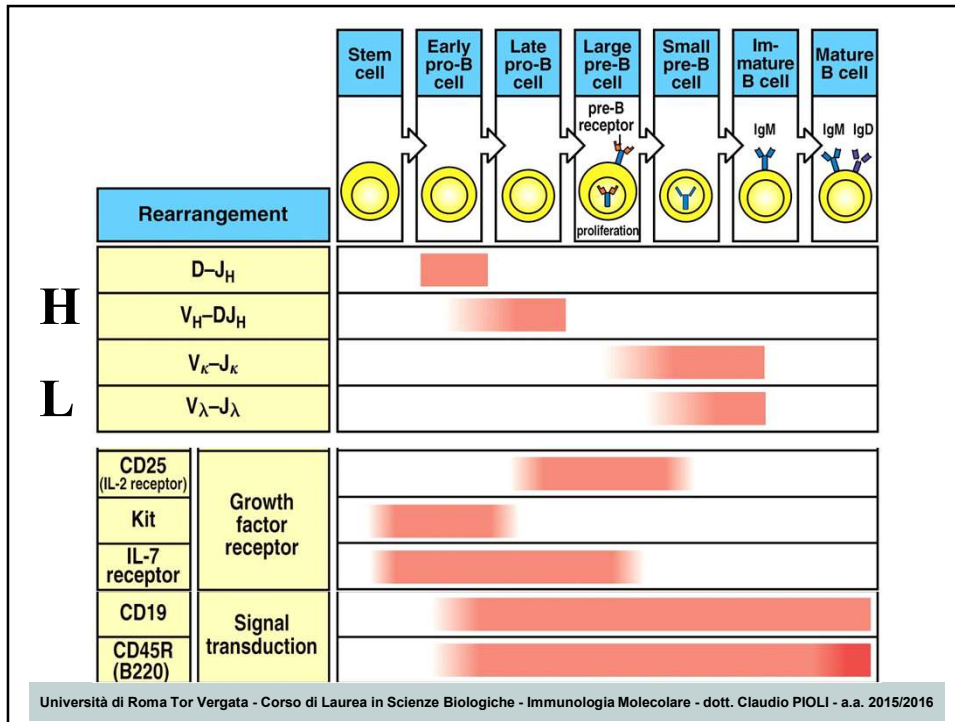


Pre-B      Immature B      Mature B

- La stimolazione del pre-BCR, induce il riarrangiamento della catena leggera  $\kappa$ 
    - se questo non è produttivo viene riarrangiata la catena  $\lambda$
  - La cellula B immatura esprime quindi il BCR (catena  $\mu + \kappa$  o  $\lambda$ )
- Selezione negativa
  - Migrazione in periferia e completamento maturazione
  - Cellula B matura naive coesprime  $IgM$  e  $IgD$  di membrana



Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016





**Cellule marcate per TdT**

**Long Bone**

Epiphysis

Diaphysis

Epiphysis

Articular cartilage

Ephiphyseal line

Spongy bone

Medullary cavity

Nutrient foramen

Endosteum

Periosteum

Articular cartilage

Endosteum

- Durante la maturazione le cellule B migrano verso il centro della cavità ossea
  - le cellule pro-B nella fase precoce esprimenti TdT sono concentrate vicino l'endostio

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

## Maturazione periferica dei linfociti B

**Bone marrow**

Pro-B

Pre-B

Immature B

HC rearrangement

LC rearrangement

**Spleen**

T1

T2/3

MZ

FO

GC

Deletion

Deletion

Deletion

Deletion

Receptor editing

Deletion

Anergy

Somatic hypermutation

Nella milza cellule B a diversi stadi di maturazione esprimono diversi livelli di IgM e IgD

JEM

Università di Roma Tor Vergata - Corso di Laurea in Scienze Biologiche - Immunologia Molecolare - dott. Claudio PIOLI - a.a. 2015/2016

- Il sistema di ricombinasi V(D)J è lo stesso nei linfociti T e B
- Geni del TCR non sono riarrangiati in cellule della linea B
  - Geni del BCR non sono riarrangiati nelle cellule della linea T
- Cosa assicura il riarrangiamento in maniera lineage-specifica?