

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Αναγνώριση αντιγόνου στο επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα:

Δομή αντιγονικών υποδοχέων των λεμφοκυττάρων και ανάπτυξη του ανοσιακού ρεπερτορίου.

- **Αντιγονικοί υποδοχείς των λεμφοκυττάρων**
Αντισώματα
Αντιγονικοί υποδοχείς των Τ κυττάρων
- **Ανάπτυξη του ανοσιακού ρεπερτορίου**
Ωρίμανση των λεμφοκυττάρων
Παραγωγή ποικίλων αντιγονικών υποδοχέων
Ωρίμανση και επιλογή των Β λεμφοκυττάρων
Ωρίμανση και επιλογή των Τ λεμφοκυττάρων
- **Περίληψη**

Οι επίκτητες ανοσοαπαντήσεις είναι ειδικές για τα αντιγόνα που τις ξεκινούν, επειδή η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων πυροδοτείται από την αναγνώριση των αντιγόνων. **Η ειδική αναγνώριση του αντιγόνου είναι το καθήκον δύο δομικά παρόμοιων τύπων γλυκοπρωτεϊνών των λεμφοκυττάρων – των αντισωμάτων που συνδέονται στις μεμβράνες των Β λεμφοκυττάρων και των υποδοχέων των Τ λεμφοκυττάρων (T cell receptors, TCRs).**

Οι κυτταρικοί υποδοχείς στο ανοσοποιητικό σύστημα, όπως και σε άλλα βιολογικά συστήματα, εξυπηρετούν δύο λειτουργίες – ανιχνεύουν εξωτερικά ερεθίσματα (αντιγόνα στην περίπτωση του επίκτητου ανοσοποιητικού συστήματος) και πυροδοτούν απαντήσεις μέσω των κυττάρων στα οποία εκφράζονται. Για να αναγνωρίσουν ένα μεγάλο αριθμό και μια ποικιλία αντιγόνων, οι αντιγονικοί υποδοχείς των λεμφοκυττάρων πρέπει να είναι ικανοί να συνδεθούν και να διακρίνουν μεταξύ πολλών, και συχνά παρόμοιων, χημικών δομών. Οι αντιγονικοί υποδοχείς κατανέμονται κλωνικά, δηλαδή κάθε κλώνος λεμφοκυττάρων με συγκεκριμένη ειδικότητα φέρει ένα μοναδικό υποδοχέα, διαφορετικό από τους υποδοχείς όλων των άλλων κλώνων. (Υπενθυμίζεται ότι ο κλώνος αποτελείται από ένα προγονικό κύτταρο και τους απογόνους του). Ο συνολικός αριθμός, ή ρεπερτόριο, των ειδικοτήτων των λεμφοκυττάρων είναι εξαιρετικά μεγάλος και ποικίλος, επειδή το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από πολλούς κλώνους με διακριτές ειδικότητες. Αν και, κάθε κλώνος Β ή Τ λεμφοκυττάρων αναγνωρίζει ένα διαφορετικό αντιγόνο, όλα τα Β ή Τ λεμφοκύτταρα αποκρίνονται με τον ίδιο τρόπο όταν αναγνωρίσουν αντιγόνο. Για να μεταβιβάσουν σήματα που συνδέουν την αναγνώριση του αντιγόνου με την ενεργοποίηση του λεμφοκυττάρου οι αντιγονικοί υποδοχείς απελευθερώνουν βιοχημικά σήματα τα οποία είναι βασικά τα ίδια σε όλα τα λεμφοκύτταρα, και δεν εξαρτώνται από την ειδικότητά τους. Τα χαρακτηριστικά αυτής της αναγνώρισης των λεμφοκυττάρων και των αντιγονικών υποδοχέων γενούν δύο σημαντικά ερωτήματα:

- Πως οι αντιγονικοί υποδοχείς των λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν τόσο εξαιρετικά διαφορετικά αντιγόνα αλλά μεταβιβάζουν σχετικά συντηρημένα σήματα ενεργοποίησης στα κύτταρα;
- Πως δημιουργείται στα λεμφοκύτταρα η τεράστια ποικιλομορφία της δομής των υποδοχέων; Η ποικιλομορφία της αναγνώρισης των αντιγόνων υποδεικνύει την ύπαρξη πολλών δομικά διαφορετικών πρωτεϊνικών αντιγονικών υποδοχέων, περισσότερων όμως από αυτούς που λογικά μπορούν να κωδικοποιηθούν από το γονιδίωμα στη βλαστική σειρά. Επομένως, πρέπει να υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί για τη δημιουργία της ποικιλομορφίας αυτής.

Στο Κεφάλαιο αυτό θα περιγραφούν η δομή των αντιγονικών υποδοχέων των Β και Τ λεμφοκυττάρων και ο τρόπος που οι υποδοχείς αυτοί αναγνωρίζουν τα αντιγόνα. Η διαδικασία της ενεργοποίησης των λεμφοκυττάρων από τα αντιγόνα θα περιγραφεί σε επόμενα κεφάλαια. Επίσης, θα περιγραφεί ο τρόπος που δημιουργείται η ποικιλομορφία των αντιγονικών υποδοχέων κατά την ωρίμανση των λεμφοκυττάρων, δημιουργώντας έτσι το ρεπερτόριο των ώριμων λεμφοκυττάρων.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς των λεμφοκυττάρων

Οι αντιγονικοί υποδοχείς των Β και Τ λεμφοκυττάρων έχουν αρκετά χαρακτηριστικά που είναι σημαντικά για τη λειτουργία των υποδοχέων αυτών στα πλαίσια της επίκτητης ανοσίας. Τα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνουν τα παρακάτω.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς των Β και των Τ λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν χημικά διαφορετικές δομές. Τα Β λεμφοκύτταρα μπορούν να αναγνωρίσουν το σχήμα ή τη διαμόρφωση φυσικών μακρομορίων, συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών, λιπιδίων, υδατανθράκων και νουκλεϊνικών οξέων, καθώς και μικρών απλών χημικών ενώσεων και τμημάτων μακρομορίων. Αντίθετα, τα περισσότερα Τ κύτταρα αναγνωρίζουν μόνο πεπτιδία και μόνο όταν τα πεπτιδία αυτά παρουσιάζονται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) συνδεδεμένα με πρωτεΐνες της μεμβράνης οι οποίες κωδικοποιούνται από το γενετικό τόπο του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC). Τα χαρακτηριστικά και η λειτουργία των μορίων του MHC περιγράφηκαν στο Κεφάλαιο 3.

Τα μόρια των αντιγονικών υποδοχέων αποτελούνται από περιοχές, ή τμήματα, που συμμετέχουν στην αναγνώριση του αντιγόνου και επομένως ποικίλουν μεταξύ των κλώνων των λεμφοκυττάρων, και από άλλες περιοχές που απαιτούνται για τη δομική ακεραιότητα και τις δραστικές λειτουργίες τους και είναι σχετικά συντηρημένες μεταξύ των κλώνων. Τα τμήματα των υποδοχέων που αναγνωρίζουν το αντιγόνο ονομάζονται μεταβλητές περιοχές (variable regions, V), ενώ τα συντηρημένα τμήματα είναι οι σταθερές περιοχές (constant regions, C). Ακόμα και μέσα στις μεταβλητές περιοχές, ο κύριος όγκος της μεταβλητότητας συγκεντρώνεται σε μικρά τμήματα, που ονομάζονται υπερμεταβλητές περιοχές (hypervariable regions), ή περιοχές που καθορίζουν τη συμπληρωματικότητα (complementarity determining regions, CDRs), επειδή σχηματίζουν το μέρος του υποδοχέα που προσδένεται στο αντιγόνο, δηλαδή είναι συμπληρωματικές με το σχήμα του αντιγόνου. Συγκεντρώνοντας τη μεταβλητότητα της αλληλουχίας σε μικρές περιοχές του υποδοχέα, είναι δυνατό να μεγιστοποιηθεί η μεταβλητότητα διατηρώντας ταυτόχρονα τη βασική δομή των υποδοχέων. Επιπλέον, όπως θα δούμε αργότερα στο κεφάλαιο αυτό, υπάρχουν ειδικοί γενετικοί μηχανισμοί για τη δημιουργία της μεταβλητότητας στις περιοχές αναγνώρισης αντιγόνου των υποδοχέων, χρησιμοποιώντας μια σχετικά μικρή ομάδα γονιδίων που κωδικοποιεί τα περισσότερα από τα πολυπεπτιδία του υποδοχέα.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένοι σε άλλα μη μεταβλητά μόρια, η λειτουργία των οποίων είναι η μεταβίβαση σημάτων που εκλύονται από την αναγνώριση του αντιγόνου, προς το εσωτερικό του κυττάρου. Έτσι, οι δύο λειτουργίες των αντιγονικών υποδοχέων των λεμφοκυττάρων, η ειδική αναγνώριση του αντιγόνου και η μεταβίβαση σήματος, επιτελούνται από διαφορετικά πολυπεπτιδία. Αυτό επιτρέπει να συγκεντρώνεται η μεταβλητότητα σε μια ομάδα μορίων (τους υποδοχείς), ενώ αφήνει τη συντηρημένη λειτουργία της μεταβίβασης σήματος σε άλλες, αμετάβλητες, πρωτεΐνες. Το σύνολο των αντιγονικών υποδοχέων και των σηματοδοτικών μορίων των Β λεμφοκυττάρων ονομάζεται **σύμπλεγμα του υποδοχέα των Β κυττάρων** (B cell receptor complex, BCR complex), και των Τ λεμφοκυττάρων λέγεται **σύμπλεγμα του υποδοχέα των Τ κυττάρων** (T cell receptor complex, TCR complex). Όταν γειτονικοί αντιγονικοί υποδοχείς ενός λεμφοκυττάρου προσδένονται σε δύο ή περισσότερα μόρια αντιγόνου, οι υποδοχείς έλκονται σχηματίζοντας ένα συσσωμάτωμα. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται διασύνδεση (cross-linking) και φέρνει τις πρωτεΐνες σηματοδότησης των συμπλεγμάτων των υποδοχέων σε κοντινή απόσταση. Όταν συμβεί αυτό, ορισμένα ένζυμα προσκολλημένα στα κυτταροπλασματικά τμήματα των μορίων των πρωτεϊνών μεταβίβασης σήματος, καταλύουν τη φωσφορυλίωση άλλων πρωτεϊνών. Η φωσφορυλίωση ξεκινάει μια περίπλοκη αλυσίδα μεταβίβασης σήματος που καταλήγει στην παραγωγή πολυάριθμων μορίων μέσω των οποίων δημιουργούνται οι απαντήσεις των λεμφοκυττάρων. Θα επιστρέψουμε στη διαδικασία της ενεργοποίησης των Τ και Β λεμφοκυττάρων στα Κεφάλαια 5 και 7 αντίστοιχα.

Τα αντισώματα μπορεί να είναι αντιγονικοί υποδοχείς συνδεδεμένοι με τη μεμβράνη ή εκκρινόμενες πρωτεΐνες, ενώ οι TCRs υπάρχουν μόνο σαν μεμβρανικοί υποδοχείς των Τ κυττάρων. Τα εκκρινόμενα αντισώματα υπάρχουν στο αίμα και τις εκκρίσεις των βλεννογόνων, όπου και εξουδετερώνουν και εξαλείφουν μικροοργανισμούς και τοξίνες, είναι δηλαδή τα εκτελεστικά μόρια της χυμικής

ανοσίας. Τα αντισώματα ονομάζονται και **ανοσοσφαιρίνες** (immunoglobulins, Ig), δηλαδή πρωτεΐνες που προσφέρουν ανοσία έχοντας τη χαρακτηριστική ηλεκτροφορητική κινητικότητα των σφαιρινών του πλάσματος. Τα εκκρινόμενα αντισώματα αναγνωρίζουν μικροβιακά αντιγόνα και τοξίνες μέσω των μεταβλητών περιοχών τους όπως ακριβώς και οι μεμβρανικοί αντιγονικοί υποδοχείς των Β λεμφοκυττάρων. Οι σταθερές περιοχές ορισμένων εκκρινόμενων αντισωμάτων έχουν την ικανότητα να συνδέονται με άλλα μόρια που συμμετέχουν στην εξάλειψη των αντιγόνων. Τα μόρια αυτά περιλαμβάνουν υποδοχείς στα φαγοκύτταρα και πρωτεΐνες του συστήματος του συμπληρώματος. Έτσι, τα αντισώματα εξυπηρετούν δύο λειτουργίες στη χυμική ανοσία – τα αντισώματα της μεμβράνης των Β λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν αντιγόνα και ξεκινούν τις χυμικές ανοσοαπαντήσεις και τα εκκρινόμενα αντισώματα εξαλείφουν τα αντιγόνα κατά τη διάρκεια της δραστηρικής φάσης των απαντήσεων αυτών. Στην κυτταρική ανοσία, η λειτουργία της εξάλειψης των μικροοργανισμών εκτελείται από τα ίδια τα Τ λεμφοκύτταρα (και όχι από προϊόντα αυτών). Οι αντιγονικοί υποδοχείς των Τ κυττάρων συμμετέχουν μόνο στην αναγνώριση του αντιγόνου και την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων. Οι πρωτεΐνες αυτές δεν εμπλέκονται σε δραστηριότητες και δεν εκκρίνονται.

Μετά την εισαγωγή αυτή θα προχωρήσουμε στην περιγραφή των αντιγονικών υποδοχέων των λεμφοκυττάρων, αρχικά των αντισωμάτων και στη συνέχεια των TCRs.

Αντισώματα

Ένα μόριο αντισώματος αποτελείται από δύο πανομοιότυπες βαριές αλυσίδες (H) και δύο πανομοιότυπες ελαφριές αλυσίδες (L), με κάθε αλυσίδα να περιέχει μια μεταβλητή και μια ή περισσότερες σταθερές περιοχές. Οι τέσσερις αλυσίδες συνδέονται έτσι ώστε να σχηματίζουν ένα μόριο με μορφή Υ. Κάθε ελαφριά αλυσίδα συνδέεται με μια βαριά αλυσίδα και οι δύο βαριές αλυσίδες συνδέονται μεταξύ τους, όλες με δισουλφιδικούς δεσμούς. Η κάθε ελαφριά αλυσίδα αποτελείται από μία μεταβλητή και μία σταθερή περιοχή, ενώ η κάθε βαριά αλυσίδα έχει μία μεταβλητή και τρεις ή τέσσερις σταθερές περιοχές. Η κάθε περιοχή αναδιπλώνεται παίρνοντας μια χαρακτηριστική τρισδιάστατη μορφή που ονομάζεται περιοχή ανοσοσφαιρίνης (immunoglobulin domain). Οι περιοχές ανοσοσφαιρίνης υπάρχουν και σε πολλές άλλες πρωτεΐνες του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και σε άλλους ιστούς εκτός του ανοσοποιητικού συστήματος. Η πλειονότητα των πρωτεϊνών αυτών εμπλέκονται στην ανίχνευση σημάτων από το περιβάλλον και από άλλα κύτταρα. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες θεωρούνται μέλη της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Ig superfamily) και πιθανόν έχουν εξελιχθεί από ένα κοινό προγονικό γονίδιο.

Κάθε μεταβλητή περιοχή της βαριάς αλυσίδας (που ονομάζεται V_H) ή της ελαφριάς αλυσίδας (που ονομάζεται V_L) περιέχει τρεις υπερμεταβλητές περιοχές ή CDRs. Από τις τρεις περιοχές αυτές, η μεγαλύτερη μεταβλητότητα συγκεντρώνεται στην CDR3, η οποία βρίσκεται στο σημείο σύνδεσης των περιοχών C και V. Όπως είναι αναμενόμενο, η CDR3 είναι το τμήμα του μορίου της ανοσοσφαιρίνης που συνεισφέρει περισσότερο στην πρόσδεση του αντιγόνου. Τα τμήματα των μορίων των αντισωμάτων συχνά ονομάζονται με βάση τις ιδιότητες των πρωτεολυτικών κλασμάτων των ανοσοσφαιρινών. Το κλάσμα ενός αντισώματος που περιέχει μια ολόκληρη ελαφριά αλυσίδα (με μονήρεις περιοχές C και V) συνδεδεμένη με την περιοχή V και την πρώτη περιοχή C της βαριάς αλυσίδας είναι αυτό που περιέχει το τμήμα του αντισώματος που απαιτείται για την αναγνώριση του αντιγόνου και ονομάζεται Fab (Fragment antigen binding, κλάσμα πρόσδεσης αντιγόνου). Οι υπόλοιπες περιοχές C αποτελούν την περιοχή Fc ή κρυσταλλικό κλάσμα (Fragment crystalline) που ονομάζεται έτσι επειδή τείνει να σχηματίζει κρυστάλλους όταν βρίσκεται σε διάλυμα. Σε κάθε μόριο ανοσοσφαιρίνης υπάρχουν δύο πανομοιότυπα τμήματα Fab που προσδένονται με το αντιγόνο και ένα τμήμα Fc που είναι υπεύθυνο για τις περισσότερες δραστηριότητες των αντισωμάτων. Μεταξύ των περιοχών Fab και Fc των περισσότερων μορίων αντισωμάτων υπάρχει ένα ευλύγιστο τμήμα που ονομάζεται περιοχή άρθρωσης (hinge region). Η περιοχή άρθρωσης επιτρέπει στα δύο τμήματα Fab να μετακινούνται ώστε να προσδένονται ταυτόχρονα με αντιγονικούς επιτόπους που απέχουν μεταξύ τους διαφορετικές αποστάσεις. Το καρβοξυτελικό άκρο της βαριάς αλυσίδας μπορεί να «αγκυροβολεί» στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ή να έχει ένα τελικό τμήμα που στερείται αυτής της «αγκυρας» με αποτέλεσμα το αντίσωμα να παράγεται σε μορφή εκκρινόμενης πρωτεΐνης. Οι ελαφριές αλυσίδες δεν συνδέονται με τις μεμβράνες του κυττάρου.

Υπάρχουν δύο τύποι ελαφριών αλυσίδων, οι κ και οι λ, οι οποίες διαφέρουν στις σταθερές τους περιοχές αλλά δεν διαφέρουν στις λειτουργίες τους. Υπάρχουν πέντε τύποι βαριών αλυσίδων που ονομάζονται μ, γ, δ, ε, και α, που διαφέρουν επίσης στις σταθερές τους περιοχές. Κάθε τύπος ελαφριάς αλυσίδας μπορεί να ενώνεται με οποιοδήποτε τύπο βαριάς αλυσίδας για να σχηματισθεί ένα μόριο αντισώματος. Τα αντισώματα που περιέχουν διαφορετικές βαριές αλυσίδες ανήκουν σε διαφορετικούς **ισοτύπους** ή **τάξεις** και ονομάζονται ανάλογα με τη βαριά αλυσίδα τους, δηλαδή IgM, IgG, IgD, IgE και IgA ανεξάρτητα από το είδος της ελαφριάς αλυσίδας. Οι διάφοροι ισότυποι διαφέρουν ως προς τις φυσικές και βιολογικές τους ιδιότητες και ως προς τις δραστικές τους λειτουργίες. Οι αντιγονικοί υποδοχείς των ώριμων Β λεμφοκυττάρων που δεν έχουν συναντήσει αντιγόνο και τα οποία λέγονται παρθένα λεμφοκύτταρα, είναι μεμβρανικές IgM ή IgD. Μετά τη διέγερση από το αντιγόνο και τα βοηθητικά Τ λεμφοκύτταρα, ο ειδικός για το αντιγόνο κλώνος των Β λεμφοκυττάρων πολλαπλασιάζεται και διαφοροποιείται σε κύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα. Ορισμένοι από τους απογόνους των Β κυττάρων που εκφράζουν IgM ή IgD μπορεί να εκκρίνουν IgM, ενώ άλλοι απόγονοι των ίδιων Β κυττάρων μπορεί να παράγουν αντισώματα άλλων τάξεων βαριών αλυσίδων. Η αλλαγή αυτή στον ισότυπο ονομάζεται **ισοτυπική μεταστροφή** (isotype switching) ή **μεταστροφή τάξης ή μετάπτωση τάξης της βαριάς αλυσίδας**, και ο μηχανισμός της και η σημασία της θα αναλυθούν περισσότερο στο Κεφάλαιο 7. Αν και οι σταθερές περιοχές των βαριών αλυσίδων μπορεί να μεταστραφούν στη διάρκεια των χυμικών ανοσοαπαντήσεων, κάθε κλώνος Β κυττάρων διατηρεί την ειδικότητά του, επειδή οι μεταβλητές περιοχές δεν αλλάζουν. Η τάξη της ελαφριάς αλυσίδας, δηλαδή κ ή λ, επίσης παραμένει σταθερή σε όλη τη διάρκεια της ζωής του κάθε κλώνου Β λεμφοκυττάρων.

Τα αντισώματα μπορούν να προσδεθούν σε μεγάλη ποικιλία αντιγόνων, συμπεριλαμβανομένων μακρομορίων και μικρών χημικών ενώσεων. Ο λόγος είναι ότι η θέση πρόσδεσης του αντιγόνου στο μόριο του αντισώματος σχηματίζει μια επίπεδη επιφάνεια ικανή να προσαρμόζει πάνω της πολλές διαφορετικές μορφές. Τα αντισώματα προσδένονται στα αντιγόνα μέσω αναστρέψιμων, μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων, που συμπεριλαμβάνουν δεσμούς υδρογόνου αλλά και αλληλεπιδράσεις ηλεκτρικών φορτίων. Τα τμήματα του αντιγόνου που αναγνωρίζονται από τα αντισώματα **ονομάζονται επίτοποι ή καθοριστές** (determinants). Η αναγνώριση των διαφόρων αντιγονικών καθοριστών μπορεί να εξαρτάται από την αλληλουχία των αμινοξέων τους (γραμμικοί καθοριστές) ή από το σχήμα τους (καθοριστές διαμόρφωσης). Ορισμένοι από τους καθοριστές αυτούς είναι κρυμμένοι μέσα στα μόρια του αντιγόνου και αποκαλύπτονται μετά από κάποια φυσικοχημική αλλαγή (νεοκαθοριστές).

Η ισχύς με την οποία η επιφάνεια πρόσδεσης με το αντιγόνο ενός αντισώματος προσδένεται σ'ένα επίτοπο του αντιγόνου ονομάζεται **συγγένεια** (affinity) της αλληλεπίδρασης. Η συγγένεια συνήθως εκφράζεται με τη σταθερά διάστασης (K_d) η οποία είναι η μοριακή συγκέντρωση του αντιγόνου που απαιτείται για να καταληφθούν τα μισά από τα διαθέσιμα μόρια του αντισώματος σε ένα διάλυμα. Όσο χαμηλότερη είναι η K_d τόσο μεγαλύτερη είναι η συγγένεια. Τα περισσότερα αντισώματα που παράγονται σε μία πρωτογενή ανοσοαπάντηση έχουν K_d μεταξύ 10^{-6} και 10^{-9} M, αλλά μετά από επαναλαμβανόμενη διέγερση, δηλαδή κατά τη δευτερογενή ανοσοαπάντηση, η συγγένεια αυξάνει και η K_d φθάνει μεταξύ 10^{-8} και 10^{-11} M. Αυτή η αύξηση στην ισχύ της πρόσδεσης του αντιγόνου ονομάζεται **ωρίμανση συγγένειας** (affinity maturation). Οι μηχανισμοί και η σημασία της ωρίμανσης συγγένειας θα συζητηθούν στο Κεφάλαιο 7. Κάθε μόριο αντισώματος IgG, IgD και IgE έχει δύο θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου. Η εκκρινόμενη IgA είναι διμερής και επομένως έχει τέσσερις θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου, ενώ η εκκρινόμενη IgM είναι πενταμερής με δέκα θέσεις πρόσδεσης αντιγόνου. Επομένως, κάθε μόριο αντισώματος μπορεί να προσδεθεί σε δύο μέχρι δέκα επιτόπους ενός αντιγόνου, εφόσον οι όμοιοι επίτοποι βρίσκονται αρκετά κοντά, π.χ. στην επιφάνεια ενός κυττάρου, σε ένα αντιγόνο σε μορφή συσσωματώματος, ή σε μερικά λιπίδια και πολυσακχαρίτες που περιέχουν πολλαπλούς επαναλαμβανόμενους επιτόπους. Η ολική ισχύς της πρόσδεσης είναι πολύ μεγαλύτερη από τη συγγένεια ενός μόνο δεσμού αντιγόνου-αντισώματος και ονομάζεται **συνάφεια** (avidity). Αντισώματα που παράγονται κατά ενός αντιγόνου μπορεί να προσδένονται και με άλλα, δομικά παρόμοια, αντιγόνα. Η πρόσδεση αυτή με παρόμοιους επιτόπους ονομάζεται **διασταυρωτή αντίδραση** (cross-reaction).

Στα ώριμα Β λεμφοκύτταρα, τα μόρια ανοσοσφαιρίνης που συνδέονται στη μεμβράνη τους (μεμβρανική ανοσοσφαιρίνη) αναγνωρίζουν αντιγόνα, αλλά αυτή η αναγνώριση δεν είναι επαρκής για την

ενεργοποίηση των Β κυττάρων. Τα μόρια ανοσοσφαιρίνης είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένα με δύο άλλες πρωτεΐνες που ονομάζονται Igα και Igβ και μαζί απαρτίζουν το σύμπλεγμα του υποδοχέα των Β κυττάρων. Όταν ο υποδοχέας ανοσοσφαιρίνη αναγνωρίσει ένα αντιγόνο, οι συνδεδεμένες πρωτεΐνες μεταβιβάζουν το σήμα προς το εσωτερικό των Β κυττάρων και κινητοποιούν τη διαδικασία της ενεργοποίησης των Β κυττάρων. Αυτά και άλλα σήματα των χυμικών ανοσοαπαντήσεων θα συζητηθούν αναλυτικότερα στο Κεφάλαιο 7.

Η συνειδητοποίηση ότι ένας κλώνος Β κυττάρων παράγει αντίσωμα μίας μόνο ειδικότητας αποτελεί τη βάση για την παραγωγή **μονοκλωνικών αντισωμάτων**, μια από τις σπουδαιότερες τεχνικές προόδους στην ανοσολογία, με ανυπολόγιστες επιπτώσεις στην πρόοδο της κλινικής ιατρικής και στην έρευνα. Για να παραχθούν μονοκλωνικά αντισώματα, Β κύτταρα από ένα ζώο ανοσοποιημένο με ένα αντιγόνο συντήκονται με κύτταρα μυελώματος (καρκινικά πλασματοκύτταρα). Η μυελωματική κυτταρική σειρά είναι μεταλλαγμένη ώστε να στερείται ένα ένζυμο, λόγω της έλλειψης του οποίου τα κύτταρα δεν αναπτύσσονται όταν καλλιεργούνται παρουσία μιας χημικής ουσίας, ενώ τα συντηγμένα κύτταρα αναπτύσσονται επειδή τα φυσιολογικά Β κύτταρα προσφέρουν το ένζυμο αυτό. Έτσι, συντήκοντας δύο κυτταρικούς πληθυσμούς και επιλέγοντάς τους με καλλιέργεια σε μία συγκεκριμένη χημική ουσία, είναι δυνατόν να αναπτυχθούν παράγωγα της σύντηξης των Β κυττάρων και των κυττάρων του μυελώματος, τα **υβριδώματα** (hybridomas). Από ένα πληθυσμό υβριδωμάτων μπορεί κανείς να επιλέξει και να κλωνοποιήσει τα κύτταρα που εκκρίνουν το αντίσωμα της επιθυμητής ειδικότητας. Το αντίσωμα αυτό είναι μονοκλωνικό αντίσωμα. Είναι δυνατόν να παράγει κανείς μονοκλωνικά αντισώματα πρακτικά κατά οποιουδήποτε αντιγόνου. Τα περισσότερα από τα αντισώματα αυτά παράγονται συντήκοντας κύτταρα από ανοσοποιημένους ποντικούς με μυελώματα επίσης από ποντικό. Τα μονοκλωνικά αυτά αντισώματα από ποντικό δεν μπορούν να χορηγηθούν επανειλημμένα σε ανθρώπους, επειδή οι άνθρωποι αναγνωρίζουν την ανοσοσφαιρίνη των ποντικών σαν ξένη και αποκρίνονται ανοσιακά στα χορηγούμενα αντισώματα. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να ξεπεραστεί διατηρώντας τις μεταβλητές περιοχές του μονοκλωνικού αντισώματος του ποντικού και αντικαθιστώντας το υπόλοιπο μόριο της ανοσοσφαιρίνης με ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη. Τα αντισώματα αυτά ονομάζονται «ανθρωποποιημένα» (humanized) και είναι κατάλληλα για χορήγηση σε ανθρώπους. Πιο πρόσφατα, συντέθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα με τη χρήση της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA, κλωνοποιώντας το συμπληρωματικό DNA (cDNA) του mRNA των ανθρώπινων αντισωμάτων και επιλέγοντας τα αντισώματα της επιθυμητής ειδικότητας. Μια ακόμα πιο πρόσφατη προσέγγιση είναι η εισαγωγή και η έκφραση γονιδίων ανθρώπινων αντισωμάτων σε ποντικούς, στους οποίους τα ενδογενή γονίδια των ανοσοσφαιρινών έχουν εξαλειφθεί και στη συνέχεια, τα ποντίκια αυτά ανοσοποιούνται με ένα αντιγόνο. Τα μονοκλωνικά αντισώματα χρησιμοποιούνται σήμερα ευρέως σαν θεραπευτικά και διαγνωστικά εργαλεία σε πολλά νοσήματα.

Υποδοχείς αντιγόνου Τ κυττάρων.

Ο υποδοχέας των Τ κυττάρων (TCR) για πεπτιδικά αντιγόνα που παρουσιάζονται από το μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας (MHC) είναι ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από μία α και μια β αλυσίδα, και κάθε αλυσίδα περιέχει μια μεταβλητή (V) και μια σταθερή (C) περιοχή. Οι μεταβλητές και οι σταθερές περιοχές είναι ομόλογες με τις μεταβλητές και σταθερές περιοχές των ανοσοσφαιρινών. Στις μεταβλητές περιοχές κάθε αλυσίδας του TCR υπάρχουν τρεις υπερμεταβλητές περιοχές ή περιοχές που καθορίζουν τη συμπληρωματικότητα (CDRs). Όπως στα αντισώματα, η πιο μεταβλητή περιοχή μεταξύ διαφορετικών TCRs είναι η CDR3. Αντίθετα με τα αντισώματα, και οι δύο αλυσίδες του TCR είναι αγκυροβολημένες στην κυτταρική μεμβράνη και οι TCRs δεν παράγονται σε εκκρινόμενη μορφή. Επίσης, οι TCRs δεν υφίστανται ισοτυπική μεταστροφή ούτε ωρίμανση συγγένειας στη διάρκεια της ζωής ενός κλώνου Τ κυττάρων.

Τόσο η α όσο και η β αλυσίδα του TCR συμμετέχουν στην ειδική αναγνώριση των μορίων MHC και των συνδεδεμένων σε αυτά πεπτιδίων. Ένα από τα αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά της αναγνώρισης των αντιγόνων από τα Τ κύτταρα, το οποίο προέκυψε από την κρυσταλλογραφική μελέτη με ακτίνες Χ των TCRs συνδεδεμένων με το σύμπλεγμα MHC-πεπτιδίου, είναι το ότι κάθε TCR αναγνωρίζει ένα μέχρι τρία αμινοξέα από το πεπτιδίδιο που συνδέεται με το MHC. Γνωρίζουμε επίσης ότι στην πραγματικότητα, ακόμα και στην περίπτωση περίπλοκων μικροοργανισμών, μόνο λίγα πεπτιδία που ονομάζονται

ανοσοκυρίαρχοι επίτοποι, αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα. Αυτό σημαίνει ότι τα T κύτταρα μπορούν να διακρίνουν τους περίπλοκους μικροοργανισμούς, με βάση τις μικρές διαφορές σε λίγα αμινοξέα μεταξύ των ανοσοκυρίαρχων επιτόπων. Προκαλεί έκπληξη το ότι η εξαιρετική ειδικότητα των T κυττάρων διατηρείται με βάση τόσο μικρές διαφορές μεταξύ των αντιγονικών πεπτιδίων.

Περίπου το 10% των T κυττάρων στον οργανισμό εκφράζουν ένα υποδοχέα που αποτελείται από γ και δ αλυσίδες, ο οποίος είναι παρόμοιος με τον $\alpha\beta$ TCR, αλλά έχει πολύ διαφορετική ειδικότητα. Ο $\gamma\delta$ TCR φαίνεται ότι αναγνωρίζει λιπίδια και άλλα μη πεπτιδικά αντιγόνα που παρουσιάζονται από μόρια διαφορετικά από τα κλασσικά μόρια MHC. Τα T κύτταρα που εκφράζουν $\gamma\delta$ TCRs είναι άφθονα στα επιθήλια. Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι τα $\gamma\delta$ T κύτταρα αναγνωρίζουν μικροοργανισμούς που συνήθως βρίσκονται στην επιφάνεια των επιθηλίων, αλλά ούτε η ειδικότητα ούτε η λειτουργία αυτών των T κυττάρων είναι καλά γνωστή.

Ο TCR αναγνωρίζει αντιγόνα, αλλά, όπως και οι ανοσοσφαιρίνες της μεμβράνης των B κυττάρων, δε μπορεί να μεταβιβάσει σήματα προς τα T κύτταρα. Ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών, τα μόρια CD3, και η αλυσίδα ζ είναι συνδεδεμένα με τον TCR και αποτελούν το σύμπλεγμα του TCR. Το CD3 και η αλυσίδα ζ μεταβιβάζουν ορισμένα από τα σήματα που δημιουργούνται όταν ο TCR αναγνωρίζει αντιγόνα. Επιπλέον, η ενεργοποίηση των T κυττάρων απαιτεί τη δέσμευση των μορίων των συνυποδοχέων, του CD4 και του CD8, που αναγνωρίζουν μη πολυμορφικά τμήματα των μορίων MHC. Οι λειτουργίες αυτών των πρωτεϊνών που συνδέονται με τον TCR και τους συνυποδοχείς θα συζητηθούν με περισσότερες λεπτομέρειες αργότερα στο κεφάλαιο αυτό.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς των B και T λεμφοκυττάρων έχουν πολλές ομοιότητες, αλλά διαφέρουν επίσης σε σημαντικά σημεία. Τα αντισώματα προσδένονται σε μεγαλύτερη ποικιλία αντιγόνων με υψηλότερη συγγένεια, και γι αυτό τα αντισώματα μπορούν να προσδεθούν και να εξουδετερώσουν πολλούς και διαφορετικούς μικροοργανισμούς και τοξίνες που βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία. Η συγγένεια των TCRs είναι χαμηλή και γι αυτό η σύνδεση των T κυττάρων με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα πρέπει να ενισχυθεί από τα λεγόμενα επικουρικά μόρια (Κεφάλαιο 5).

Ανάπτυξη του ανοσιακού ρεπερτορίου

Τώρα που γνωρίζουμε από τι αποτελούνται και πως αναγνωρίζουν τα αντιγόνα οι αντιγονικοί υποδοχείς των B και T λεμφοκυττάρων, η επόμενη ερώτηση που γεννάται αφορά στο πώς δημιουργείται η τεράστια ποικιλομορφία των υποδοχέων αυτών. Όπως προέβλεψε η θεωρία της κλωνικής επιλογής, υπάρχουν πολλοί κλώνοι λεμφοκυττάρων με διαφορετική ειδικότητα, ίσως και 10^9 , και οι κλώνοι αυτοί υπάρχουν πριν από την επαφή με το αντιγόνο. Αν χρειαζόταν κάθε δυνατός υποδοχέας να κωδικοποιείται από ένα γονίδιο, ένα μεγάλο μέρος του γονιδιώματος θα έπρεπε να είναι αφιερωμένο στην κωδικοποίηση μόνο των αντιγονικών υποδοχέων. Αυτό είναι εμφανώς παράλογο. Στην πραγματικότητα το ανοσοποιητικό σύστημα έχει αναπτύξει μηχανισμούς για να δημιουργεί εξαιρετικά ποικίλα ρεπερτόρια B και T λεμφοκυττάρων, και η δημιουργία των υποδοχέων αυτών είναι στενά συνδεδεμένη με τη διαδικασία της ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων. Στο υπόλοιπο του κεφαλαίου αυτού θα συζητηθεί ο τρόπος με τον οποίο δημιουργούνται τα ώριμα B και T λεμφοκύτταρα με τους εξαιρετικά ποικίλους υποδοχείς τους.

Ωρίμανση των λεμφοκυττάρων

Η ωρίμανση των λεμφοκυττάρων από τα πολυδύναμα προγονικά κύτταρα του μυελού των οστών ακολουθεί τρεις διαδικασίες: **πολλαπλασιασμός των ανώριμων κυττάρων, έκφραση των γονιδίων των αντιγονικών υποδοχέων, και επιλογή των λεμφοκυττάρων που εκφράζουν χρήσιμους αντιγονικούς υποδοχείς.** Τα γεγονότα αυτά είναι κοινά για τα B και τα T λεμφοκύτταρα, αν και τα B λεμφοκύτταρα ωριμάζουν στο μυελό των οστών, ενώ τα T λεμφοκύτταρα ωριμάζουν σε ένα εξειδικευμένο όργανο, το θύμο. Καθεμιά από τις τρεις διαδικασίες που συμβαίνουν κατά την ωρίμανση των λεμφοκυττάρων παίζει ένα ειδικό ρόλο στη δημιουργία του ρεπερτορίου των λεμφοκυττάρων.

Τα ανώριμα λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται με τρομακτικό ρυθμό στα διάφορα στάδια της ωρίμανσής τους. Ο πολλαπλασιασμός των αναπτυσσόμενων λεμφοκυττάρων μεγιστοποιεί τον αριθμό των κυττάρων που μπορούν να εκφράσουν χρήσιμους αντιγονικούς υποδοχείς και να ωριμάσουν σε λειτουργικά

ικανά λεμφοκύτταρα. Ο πολλαπλασιασμός των αρχικών προδρόμων μορφών των λεμφοκυττάρων διεγείρεται κυρίως από ένα αυξητικό παράγοντα, την ιντερλευκίνη-7 (interleukin-7, IL-7), η οποία παράγεται από τα κύτταρα του στρώματος στο μυελό των οστών και στο θύμο. Η ιντερλευκίνη-7 διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των προγονικών μορφών των Β και των Τ λεμφοκυττάρων πριν εκφράσουν αντιγονικούς υποδοχείς, δημιουργώντας έτσι μια μεγάλη δεξαμενή κυττάρων μέσα στην οποία μπορούν να παραχθούν ποικίλοι αντιγονικοί υποδοχείς. Όταν εκφραστούν οι αντιγονικοί υποδοχείς, αναλαμβάνουν οι ίδιοι τη λειτουργία της μεταβίβασης σημάτων για πολλαπλασιασμό, εξασφαλίζοντας ότι μόνο οι κλώνοι με ακέραιους υποδοχείς θα επιλεγούν για να πολλαπλασιαστούν.

Οι αντιγονικοί υποδοχείς παράγονται από πολλά τμήματα γονιδίων που είναι ξεχωριστά το ένα από το άλλο στο γονιδίωμα και ανασυνδυάζονται κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων. Η ποικιλομορφία δημιουργείται στη διάρκεια της διαδικασίας αυτής του ανασυνδυασμού κυρίως διαφοροποιώντας τις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων στις θέσεις ανασυνδυασμού. Η έκφραση των ποικίλων αντιγονικών υποδοχέων είναι το κεντρικό γεγονός στην ωρίμανση των λεμφοκυττάρων και θα περιγραφεί στο επόμενο μέρος του κεφαλαίου.

Τα λεμφοκύτταρα επιλέγονται σε διάφορα στάδια κατά τη διαδικασία της ωρίμανσής τους ώστε να διατηρηθούν οι χρήσιμες ειδικότητες. Η επιλογή βασίζεται στην έκφραση των στοιχείων των ακέραιων αντιγονικών υποδοχέων και στο τι αναγνωρίζουν οι υποδοχείς. Τα προ-λεμφοκύτταρα που αποτυγχάνουν να εκφράσουν αντιγονικούς υποδοχείς πεθαίνουν με απόπτωση. Τα ανώριμα Τ λεμφοκύτταρα επιλέγονται ώστε να αναγνωρίζουν εαυτά (self) μόρια ΜHC. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **θετική επιλογή** (positive selection). Αφού ωριμάσουν τα Τ αυτά κύτταρα πρέπει να αναγνωρίζουν τα ίδια μόρια ΜHC για να μπορέσουν να ενεργοποιηθούν. Η θετική επιλογή βασίζεται στο γεγονός ότι οι αντιγονικοί υποδοχείς στα αναπτυσσόμενα λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν μόρια ΜHC στο θύμο και μεταβιβάζουν σήματα για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, εξασφαλίζοντας ότι μόνο τα κύτταρα με το σωστό αντιγονικό υποδοχέα (δηλαδή περιορισμένο από το εαυτό ΜHC) θα ολοκληρώσουν τη διαδικασία της ωρίμανσης. Τα ανώριμα Β και Τ λεμφοκύτταρα επιλέγονται επίσης με βάση την υψηλής συγγένειας αναγνώριση εαυτών αντιγόνων που υπάρχουν στο μυελό των οστών και στο θύμο, αντίστοιχα. Η διαδικασία αυτή, που ονομάζεται **αρνητική επιλογή** (negative selection), εξαλείφει δυνητικά επικίνδυνα λεμφοκύτταρα που μπορεί να είναι ικανά να αντιδράσουν κατά εαυτών αντιγόνων που υπάρχουν παντού στον οργανισμό, συμπεριλαμβανομένων και των κεντρικών λεμφικών οργάνων.

Τα στάδια της ωρίμανσης και της επιλογής των λεμφοκυττάρων κατανοούνται καλύτερα όταν αναλυθούν ξεχωριστά για τα Β και τα Τ λεμφοκύτταρα. Θα αρχίσουμε ωστόσο με το κεντρικό γεγονός που είναι κοινό και στις δύο σειρές, δηλαδή τον ανασυνδυασμό και την έκφραση των γονιδίων των αντιγονικών υποδοχέων.

Παραγωγή ποικιλόμορφων αντιγονικών υποδοχέων

Η έκφραση των αντιγονικών υποδοχέων των Β και Τ λεμφοκυττάρων ξεκινάει με το σωματικό ανασυνδυασμό (somatic recombination) ή αναδιάταξη ή ανακατάταξη τμημάτων γονιδίων που κωδικοποιούν τις μεταβλητές περιοχές των υποδοχέων, και κατά τη διαδικασία αυτή δημιουργείται η ποικιλομορφία. Τα πολυδύναμα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα στο μυελό των οστών και τα πολύ πρώιμα λεμφοειδή προγονικά κύτταρα περιέχουν γονίδια ανοσοσφαιρινών και TCR στη διαμόρφωση με την οποία τα κληρονομούν, δηλαδή όπως είναι στη βλαστική σειρά (germline configuration). Στη διαμόρφωση αυτή, οι γενετικοί τόποι των βαριών και των ελαφριών αλυσίδων των ανοσοσφαιρινών και οι τόποι των α και β αλυσίδων του TCR περιέχουν πολλαπλά γονίδια για τις μεταβλητές περιοχές (V), που αριθμούν μέχρι λίγες εκατοντάδες, και ένα ή λίγα γονίδια για τις σταθερές περιοχές (C). Μεταξύ των γονιδίων V και C υπάρχουν αρκετά μικρά τμήματα νουκλεοτιδίων, τα οποία ονομάζονται συνδετικά (joining – J) γονιδιακά τμήματα και γονιδιακά τμήματα ποικιλομορφίας (diversity – D). (Όλοι οι γονιδιακοί τόποι των αντιγονικών υποδοχέων περιέχουν γονίδια V, J και C, αλλά μόνο οι τόποι της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης και της β αλυσίδας του TCR περιέχουν το D γονιδιακό τμήμα). Το κρίσιμο σημείο για την εκκίνηση της διαφοροποίησης ενός προγονικού λεμφοκυττάρου προς Β λεμφοκύτταρο συνδέεται με τον ανασυνδυασμό ενός V γονιδιακού

τμήματος της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης με ένα τμήμα D και ένα τμήμα J, όπου τα τμήματα αυτά επιλέγονται τυχαία. Έτσι, το προορισμένο προς αυτήν την κατεύθυνση αλλά ανώριμο B κύτταρο έχει τώρα ένα ανασυνδυασμένο γονίδιο V-D-J στο γενετικό τόπο της βαριάς αλυσίδας. Το γονίδιο αυτό μεταγράφεται, και στο πρωτογενές RNA το σύμπλεγμα V-D-J συρράφεται με την πρώτη RNA περιοχή C, η οποία κωδικοποιεί την αλυσίδα μ , και σχηματίζει το πλήρες μ mRNA. Το μ mRNA αυτό μεταφράζεται και παράγει τη βαριά αλυσίδα μ , που είναι η πρώτη αλυσίδα ανοσοσφαιρίνης που συντίθεται στη διάρκεια της ωρίμανσης των B κυττάρων. Μια παρόμοια αλληλουχία ανασυνδυασμού του DNA και συρραφής RNA οδηγεί στην παραγωγή της ελαφριάς αλυσίδας στα B κύτταρα καθώς και των α και β αλυσίδων του TCR στα T λεμφοκύτταρα.

Ο σωματικός ανασυνδυασμός των V και J, ή των V, D και J γονιδιακών τμημάτων καταλύεται από μία ομάδα ενζύμων που ονομάζεται **ανασυνδυάση (ρεκομπινάση, recombinase) V(D)J**. Το ειδικό για τη λεμφική σειρά στοιχείο της ανασυνδυάσης V(D)J αναγνωρίζει αλληλουχίες DNA που βρίσκονται εκατέρωθεν των V, D και J γονιδιακών τμημάτων των αντιγονικών υποδοχέων. Εξαιτίας της αναγνώρισης αυτής, η ανασυνδυάση φέρνει κοντά τα τμήματα V, D και J. Στη συνέχεια μια εξωνουκλεάση κόβει το DNA στα άκρα των τμημάτων, και τα τμήματα του DNA επανασυνδέονται από τη λιγάση (ligase), παράγοντας ένα πλήρες ανασυνδυασμένο γονίδιο V-J ή V-D-J. Η ανασυνδυάση V(D)J είναι ειδική για τη λεμφική σειρά και εκφράζεται μόνο στα ανώριμα B και T λεμφοκύτταρα. Αν και τα ίδια ένζυμα μπορούν να καταλύσουν ανασυνδυασμό όλων των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών και των TCR, τα ακέραια γονίδια για τις βαριές και τις ελαφριές αλυσίδες της ανοσοσφαιρίνης εκφράζονται μόνο στα B κύτταρα και τα γονίδια για τις α και β αλυσίδες του TCR εκφράζονται μόνο στα T κύτταρα. Οι μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για αυτόν τον ποιοτικό έλεγχο της έκφρασης του υποδοχέα δεν είναι γνωστοί.

Η ποικιλομορφία των αντιγονικών υποδοχέων δημιουργείται με τη χρήση διαφορετικών συνδυασμών των V, D και J γονιδιακών τμημάτων σε διαφορετικούς κλώνους λεμφοκυττάρων που ονομάζεται συνδυαστική ποικιλομορφία (combinatorial diversity) και επεκτείνεται με αλλαγές στις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων στις θέσεις σύνδεσης των V, (D) και J γονιδιακών τμημάτων και ονομάζεται συνδετική ποικιλομορφία (junctional diversity). Η συνδυαστική ποικιλομορφία περιορίζεται από τον αριθμό των διαθέσιμων V, D και J γονιδιακών τμημάτων, όμως η συνδετική ποικιλομορφία είναι σχεδόν απεριόριστη. Η συνδετική ποικιλομορφία δημιουργείται από δύο τύπους αλλαγών στην αλληλουχία, που και οι δύο δημιουργούν περισσότερες αλληλουχίες από όσες υπάρχουν στο γονιδίωμα των βλαστικών κυττάρων. Αρχικά, οι εξωνουκλεάσες μπορούν να απομακρύνουν νουκλεοτίδια από τα V, D και J γονιδιακά τμήματα κατά τη διάρκεια του ανασυνδυασμού, και αν οι αλληλουχίες που προκύψουν δεν περιέχουν κωδικόνια λήξης ή μη λειτουργικά κωδικόνια (non-sense), μπορούν να δημιουργηθούν πολλές νέες και διαφορετικές αλληλουχίες. Δεύτερο, ένα ένζυμο που ονομάζεται τελική δεοξυριβονουκλεοτιδική τρανσφεράση (terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT) προσθέτει νουκλεοτίδια που δεν αποτελούν τμήμα των γονιδίων στη βλαστική σειρά και τοποθετεί τυχαία τα νουκλεοτίδια αυτά στις θέσεις του ανασυνδυασμού V(D)J. Το αποτέλεσμα της συνδετικής ποικιλομορφίας είναι ότι κάθε αντίσωμα και κάθε TCR διαφέρει από όλα τα υπόλοιπα αντισώματα και TCR στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων στη θέση του ανασυνδυασμού V(D)J. Η θέση αυτή της σύνδεσης κωδικοποιεί τα αμινοξέα της CDR3, η οποία όπως αναφέρθηκε είναι η πλέον μεταβλητή από τις περιοχές CDR και η σπουδαιότερη για την αναγνώριση του αντιγόνου. Έτσι, η συνδετική ποικιλομορφία μεγιστοποιεί τη μεταβλητότητα στις περιοχές πρόσδεσης αντιγόνου των αντισωμάτων και των TCRs. Κατά τη γένεση της συνδετικής ποικιλομορφίας μπορεί να δημιουργηθούν γονίδια που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες και επομένως είναι άχρηστα. Αυτό είναι το τμήμα που πληρώνει το ανοσοποιητικό σύστημα για τη δημιουργία της τεράστιας ποικιλομορφίας. Ο κίνδυνος δημιουργίας μη λειτουργικών γονιδίων είναι επίσης ο λόγος για τον οποίο η διαδικασία της ωρίμανσης των λεμφοκυττάρων περιέχει διάφορα σημεία ελέγχου, στα οποία επιλέγονται να επιβιώσουν τα κύτταρα με χρήσιμους υποδοχείς.

Ωρίμανση και επιλογή των B λεμφοκυττάρων

Η όλη διαδικασία της ωρίμανσης των B λεμφοκυττάρων πραγματοποιείται στο μυελό των οστών. Οι προγονικές μορφές που προορίζονται να εξελιχθούν στη B κυτταρική σειρά πολλαπλασιάζονται με την επίδραση της IL-7, δημιουργώντας ένα μεγάλο αριθμό προδρόμων B κυττάρων, τα λεγόμενα «προ-προ-B

κύτταρα» (pro-B cells). Στο επόμενο στάδιο ωρίμανσης, όπου τα κύτταρα ονομάζονται «προ-B κύτταρα», (pre-B cells) τα γονίδια της ανοσοσφαιρίνης στο γενετικό τόπο της βαριάς αλυσίδας του ενός χρωμοσώματος ανασυνδυάζονται, και παράγουν τη βαριά αλυσίδα μ . Το μεγαλύτερο μέρος της πρωτεΐνης αυτής παραμένει στο κυτταρόπλασμα, και η κυτταροπλασματική αλυσίδα μ είναι χαρακτηριστικό των προ-B κυττάρων. Ένα μέρος της πρωτεΐνης μ εκφράζεται στην επιφάνεια του κυττάρου συνδεδεμένη με δύο άλλες αμετάβλητες πρωτεΐνες που μοιάζουν με ελαφριές αλυσίδες, σχηματίζοντας έτσι το σύμπλεγμα του υποδοχέα των προ-B κυττάρων (pre-BCR complex). Δεν έχει αποσαφηνισθεί αν και τι αναγνωρίζει ο υποδοχέας των προ-B κυττάρων. Μπορεί απλά η συναρμολότητα των συστατικών του συμπλέγματος αυτού να μεταβιβάζει σήματα που προάγουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, πάνω στα οποία εκφράζεται ο υποδοχέας των προ-B κυττάρων. Αυτό είναι το πρώτο σημείο ελέγχου στην ανάπτυξη των B κυττάρων, το οποίο επιλέγει για πολλαπλασιασμό όλα τα προ-B κύτταρα που εκφράζουν μια λειτουργική βαριά αλυσίδα μ . Αν η αλυσίδα μ δεν παραχθεί, ίσως εξαιτίας ελαττωματικού ανασυνδυασμού του γονιδίου μ , το κύτταρο δεν μπορεί να επιλεγεί και πεθαίνει με προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση).

Η πρωτεΐνη μ και το σύμπλεγμα προ-BCR σηματοδοτούν δύο άλλες διαδικασίες. Η μία διακόπτει τους ανασυνδυασμούς των γονιδίων της βαριάς αλυσίδας της ανοσοσφαιρίνης στο δεύτερο χρωμόσωμα, και για αυτό κάθε B κύτταρο μπορεί να εκφράσει ανοσοσφαιρίνη μόνο από το ένα από τα δύο γονικά αλληλία που κληρονόμησε. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται αλληλικός αποκλεισμός (allelic exclusion) και εξασφαλίζει ότι κάθε κύτταρο εκφράζει υποδοχείς μιας και μόνο ειδικότητας. Ένα δεύτερο σήμα προκαλεί τον ανασυνδυασμό στον τόπο των ελαφριών αλυσίδων, πρώτα στην κ και μετά στη λ . Οποιαδήποτε λειτουργική ελαφριά αλυσίδα και αν παραχθεί συνδέεται με την αλυσίδα μ για να σχηματίσει τον πλήρη μεμβρανικό IgM αντιγονικό υποδοχέα. Ο υποδοχέας αυτός και πάλι μεταβιβάζει σήματα που προάγουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό, διατηρώντας και αυξάνοντας έτσι τα κύτταρα που εκφράζουν πλήρεις αντιγονικούς υποδοχείς (το δεύτερο σημείο ελέγχου κατά την ωρίμανση). Τα σήματα από τον αντιγονικό υποδοχέα διακόπτουν την παραγωγή της ανασυνδυασμένης ελαφριάς αλυσίδας. Σαν αποτέλεσμα, κάθε B κύτταρο παράγει μία κ ή λ ελαφριά αλυσίδα από ένα από τα κληρονομούμενα γονικά αλληλία. Η παρουσία δύο ομάδων γονιδίων ελαφριών αλυσίδων απλά αυξάνει την πιθανότητα του να συμπληρωθεί ένας επιτυχής γονιδιακός ανασυνδυασμός και να γίνει η έκφραση του υποδοχέα. Το B λεμφοκύτταρο που εκφράζει IgM είναι το «ανώριμο B κύτταρο». Η περαιτέρω ωρίμανσή του μπορεί να συμβεί στο μυελό των οστών ή στους περιφερικούς λεμφικούς ιστούς, αφού φύγει από το μυελό των οστών. Το τελικό βήμα ωρίμανσης περιλαμβάνει τη συνέκφραση της IgD και της IgM, η οποία συμβαίνει επειδή το ανασυνδυασμένο V-D-J RNA της βαριάς αλυσίδας μπορεί να συρραφεί είτε σε RNA $C\mu$ ή σε RNA $C\delta$, παράγοντας ένα RNA μ ή δ , αντίστοιχα. Γνωρίζουμε ότι η ικανότητα των B κυττάρων να αποκρίνονται σε αντιγόνα αναπτύσσεται ταυτόχρονα με τη συνέκφραση των IgM και IgD, αλλά δεν γνωρίζουμε γιατί είναι απαραίτητες και οι δύο τάξεις των υποδοχέων. Το IgM^+IgD^+ κύτταρο είναι το «ώριμο B κύτταρο», που είναι ικανό να αποκρίνεται σε αντιγόνα στους περιφερικούς λεμφικούς ιστούς.

Το ρεπερτόριο των B κυττάρων μορφοποιείται περαιτέρω με την αρνητική επιλογή. Κατά τη διαδικασία αυτή η περαιτέρω ωρίμανσή ενός ανώριμου B κυττάρου διακόπτεται, αν αυτό μπορεί να προσδέσει με υψηλή συγγένεια ένα αντιγόνο στο μυελό των οστών. Το B κύτταρο είτε πεθαίνει με απόπτωση είτε μπορεί να ενεργοποιηθεί και πάλι την ανασυνδυάση, να δημιουργήσει μια δεύτερη ελαφριά αλυσίδα και να αλλάξει την ειδικότητα του αντιγονικού υποδοχέα (η διαδικασία αυτή ονομάζεται επεξεργασία ή διόρθωση του υποδοχέα, receptor editing). Τα συνθετέστερα αντιγόνα του μυελού των οστών είναι εαυτά (self) αντιγόνα, που βρίσκονται σε αφθονία σε όλο τον οργανισμό (δηλαδή είναι «πανταχού παρόντα»), όπως πρωτεΐνες του αίματος και μόρια της μεμβράνης κοινά σε όλα τα κύτταρα. Επομένως, η αρνητική επιλογή εξαλείφει δυνητικά επικίνδυνα κύτταρα τα οποία μπορούν να αναγνωρίσουν και να αντιδράσουν κατά πανταχού παρόντων εαυτών αντιγόνων.

Η διαδικασία του ανασυνδυασμού των γονιδίων της ανοσοσφαιρίνης είναι τυχαία, και δεν μπορεί να αποκλίνει εγγενώς προς την αναγνώριση μικροοργανισμών. Ωστόσο, οι υποδοχείς που παράγονται μπορούν να αναγνωρίσουν τα αντιγόνα ενός μεγάλου αριθμού και ποικιλίας μικροοργανισμών, κατά των οποίων πρέπει να αμυνθεί το ανοσοποιητικό σύστημα. Είναι πιθανόν ότι το ρεπερτόριο των B λεμφοκυττάρων

δημιουργείται τυχαία, επιλέγεται θετικά ώστε να εκφράζει ακέραιους υποδοχείς και τέλος επιλέγεται αρνητικά ώστε να μην αναγνωρίζει με υψηλή συγγένεια εαυτά αντιγόνα. Αυτό που μένει μετά από όλες αυτές τις διαδικασίες της επιλογής είναι το σύνολο των ώριμων Β κυττάρων, που είναι ικανά να αναγνωρίσουν όλα τα αντιγόνα των μικροοργανισμών που μπορεί να συναντήσει κανείς.

Ωρίμανση και επιλογή των Τ λεμφοκυττάρων

Η διαδικασία της ωρίμανσης των Τ λεμφοκυττάρων έχει μερικά μοναδικά χαρακτηριστικά που συνδέονται σε μεγάλο βαθμό με την ειδικότητα των διαφόρων υποομάδων των Τ κυττάρων για πεπτιδία που παρουσιάζονται από διαφορετικές τάξεις μορίων MHC. Οι πρόδρομες μορφές των Τ κυττάρων μεταναστεύουν από το μυελό των οστών προς το θύμο, όπου συμβαίνει η όλη διαδικασία της ωρίμανσης. Οι πιο ανώριμες πρόδρομες μορφές ονομάζονται «προ-προ-Τ κύτταρα» (pro-T cells) ή «διπλά αρνητικά Τ κύτταρα» επειδή δεν εκφράζουν ούτε CD4 ούτε CD8. Τα κύτταρα αυτά αυξάνουν σε αριθμό κυρίως υπό την επίδραση της IL-7 που παράγεται στο θύμο. Ορισμένοι από τους απόγονους των διπλά αρνητικών κυττάρων υφίστανται ανασυνδυασμό του β γονιδίου του TCR, με τη δράση της ανασυνδυάσης V-D-J. (Τα κύτταρα γδ υφίστανται ένα παρόμοιο ανασυνδυασμό στους γενετικούς τόπους γ και δ του TCR, αλλά φαίνεται ότι πρόκειται για ξεχωριστή κυτταρική σειρά και δε θα συζητηθούν περαιτέρω). Αν η β αλυσίδα συντεθεί, εκφράζεται στην επιφάνεια του κυττάρου συνδυασμένη με μια αμετάβλητη πρωτεΐνη που ονομάζεται προ-Τα (pre-Ta), και σχηματίζει το προ-Τ σύμπλεγμα (pre-TCR complex). Αν δεν παραχθεί πλήρης β αλυσίδα σε ένα προ-Τ κύτταρο, τότε το κύτταρο αυτό πεθαίνει. Το προ-TCR σύμπλεγμα μεταβιβάζει ενδοκυττάρια σήματα μετά από τη συναρμολόγησή του ή όταν αναγνωρίσει κάποιο άγνωστο προσδέτη. Τα σήματα αυτά προάγουν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, τον αλληλικό αποκλεισμό στο γενετικό τόπο της β αλυσίδας του TCR, και τον ανασυνδυασμό του γονιδίου της α αλυσίδας του TCR, όπως τα σήματα του συμπλέγματος προ-BCR στα αναπτυσσόμενα Β κύτταρα. Αδυναμία έκφρασης της α αλυσίδας και του πλήρους μορίου του TCR οδηγεί και πάλι στο θάνατο του κυττάρου. Τα κύτταρα που επιβιώνουν εκφράζουν και τους δύο συνυποδοχείς CD4 και CD8, και ονομάζονται «διπλά θετικά Τ κύτταρα» (ή διπλά θετικά θυμοκύτταρα). Διαφορετικοί κλώνοι διπλά θετικών κυττάρων εκφράζουν διαφορετικούς $\alpha\beta$ TCRs. Αν ο TCR ενός Τ κυττάρου αναγνωρίσει ένα μόριο MHC στο θύμο, το οποίο πρέπει να είναι ένα εαυτό μόριο MHC που παρουσιάζει ένα εαυτό πεπτιδίδιο, τότε αυτό το Τ κύτταρο επιλέγεται να επιβιώσει. Τα Τ κύτταρα που δεν αναγνωρίζουν μόρια MHC στο θύμο πεθαίνουν με απόπτωση. Τα Τ κύτταρα αυτά δεν θα ήταν χρήσιμα επειδή, στο συγκεκριμένο άτομο, θα ήταν ανέκφραστα να αναγνωρίσουν κυτταρικά αντιγόνα που θα παρουσιαζόταν από το MHC. Η διατήρηση των περιορισμένων από εαυτό MHC, δηλαδή των χρήσιμων, Τ κυττάρων είναι η διαδικασία της **θετικής επιλογής**. Κατά τη διαδικασία αυτή τα Τ κύτταρα των οποίων οι υποδοχείς αναγνωρίζουν συμπλέγματα MHC τάξης I και πεπτιδίου διατηρούν την έκφραση του CD8, του συνυποδοχέα δηλαδή που συνδέεται με το MHC τάξης I και παύουν να εκφράζουν το CD4, δηλαδή το συνυποδοχέα που είναι ειδικός για μόρια MHC τάξης II. Αντίστροφα, αν ένα Τ κύτταρο αναγνωρίζει συμπλέγματα πεπτιδίου και MHC τάξης II, τότε διατηρεί την έκφραση του CD4 και παύει να εκφράζει το CD8. Με τον τρόπο αυτό προκύπτουν τα «μονά θετικά Τ κύτταρα» τα οποία είναι είτε CD8⁺ περιορισμένα από MHC τάξης I ή CD4⁺ περιορισμένα από MHC τάξης II. Στη διάρκεια της διαδικασίας αυτής τα Τ κύτταρα διαχωρίζονται λειτουργικά – τα CD8⁺ Τ κύτταρα μπορούν να γίνουν κυτταρολυτικά μετά την ενεργοποίησή τους και τα CD4⁺ γίνονται βοηθητικά κύτταρα. Δεν είναι γνωστό με ποιο τρόπο ο λειτουργικός διαχωρισμός συνοδεύει την έκφραση των συνυποδοχέων.

Τα ανώριμα, διπλά θετικά Τ κύτταρα των οποίων οι υποδοχείς αναγνωρίζουν έντονα συμπλέγματα MHC-πεπτιδίου, υφίστανται απόπτωση στο θύμο. Αυτή είναι η διαδικασία της **αρνητικής επιλογής** και εξυπηρετεί στην εξάλειψη των Τ λεμφοκυττάρων που θα μπορούσαν να δράσουν βλαπτικά κατά εαυτών πρωτεϊνών που βρίσκονται στο θύμο και πιθανώς σε όλο τον οργανισμό. Ίσως φαίνεται παράδοξο ότι και η θετική και η αρνητική επιλογή γίνονται μέσω της αναγνώρισης του ίδιου συνόλου συμπλεγμάτων εαυτού MHC-εαυτού πεπτιδίου στο θύμο. (Να σημειωθεί ότι ο θύμος μπορεί να περιέχει μόνο εαυτά μόρια MHC και εαυτά πεπτιδία, τα πεπτιδία των μικροοργανισμών συγκεντρώνονται στους περιφερικούς λεμφικούς ιστούς και τείνουν να μην εισέρχονται στο θύμο). Η πιθανότερη εξήγηση γι' αυτές τις τόσο διαφορετικές εκβάσεις είναι ότι αν ο αντιγονικός υποδοχέας ενός Τ κυττάρου αναγνωρίσει ένα σύμπλεγμα εαυτού MHC-εαυτού πεπτιδίου με χαμηλή συγγένεια, το αποτέλεσμα είναι η θετική επιλογή, ενώ η αναγνώριση με υψηλή

συγγένεια οδηγεί σε αρνητική επιλογή. Αναγνώριση με υψηλή συγγένεια συμβαίνει αν το εαυτό πεπτιδίο είναι σε αφθονία στο θύμο (επομένως και παντού στον οργανισμό) και αν το T κύτταρο εκφράζει ένα TCR με υψηλή συγγένεια γι' αυτό το πεπτιδίο. Στις καταστάσεις αυτές η αναγνώριση του αντιγόνου θα μπορούσε να οδηγήσει σε βλαπτικές ανοσοαπαντήσεις κατά του εαυτού αντιγόνου. Αντίθετα, η αναγνώριση του εαυτού πεπτιδίου με χαμηλή συγγένεια είναι απίθανο να είναι βλαπτική. Όπως και στην περίπτωση των B κυττάρων, η ικανότητα αναγνώρισης ξένων αντιγόνων φαίνεται να βασίζεται στην τύχη – τα T κύτταρα που αναγνωρίζουν ασθενώς εαυτά αντιγόνα στο θύμο μπορεί να αναγνωρίζουν και να αποκρίνονται ισχυρά σε ξένα αντιγόνα μικροοργανισμών στην περιφέρεια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

- Στο σύστημα της επίκτητης ανοσίας τα μόρια που είναι υπεύθυνα για την ειδική αναγνώριση των αντιγόνων είναι τα αντισώματα και οι αντιγονικοί υποδοχείς των T κυττάρων.
- Τα αντισώματα (που ονομάζονται και ανοσοσφαιρίνες ή Ig) μπορεί να παράγονται σαν μεμβρανικές πρωτεΐνες των B κυττάρων αλλά και σαν πρωτεΐνες που εκκρίνονται από B κύτταρα διεγερμένα από αντιγόνο και διαφοροποιημένα προς κύτταρα που εκκρίνουν αντισώματα. Τα εκκρινόμενα αντισώματα είναι τα δραστικά μόρια της χυμικής ανοσίας, και είναι ικανά να εξουδετερώσουν μικροοργανισμούς και τις τοξίνες τους και να τους εξαλείψουν ενεργοποιώντας διάφορους άλλους δραστικούς μηχανισμούς.
- Οι αντιγονικοί υποδοχείς των T κυττάρων (TCRs) είναι μεμβρανικοί υποδοχείς και δεν εκκρίνονται.
- Η βασική δομή των αντισωμάτων συνίσταται σε δύο βαριές αλυσίδες και δύο ελαφριές αλυσίδες που σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα που συνδέεται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Κάθε αλυσίδα αποτελείται από μία μεταβλητή (V) περιοχή, η οποία είναι το τμήμα που αναγνωρίζει το αντιγόνο, και μία σταθερή περιοχή (C) η οποία προσφέρει δομική σταθερότητα και, στις βαριές αλυσίδες, επιτελεί τις δραστικές λειτουργίες των αντισωμάτων.
- Οι υποδοχείς των T κυττάρων αποτελούνται από μία α και μια β αλυσίδα. Κάθε αλυσίδα περιέχει μία μεταβλητή (V) περιοχή και μία σταθερή (C) περιοχή και οι δύο αλυσίδες συμμετέχουν στην αναγνώριση των αντιγόνων, τα οποία είναι κατά κύριο λόγο πεπτιδία που παρουσιάζονται από μόρια MHC.
- Οι V περιοχές των ανοσοσφαιρινών και των μορίων TCR περιέχουν υπερμεταβλητά τμήματα, που ονομάζονται και «περιοχές που καθορίζουν τη συμπληρωματικότητα» (CDR), οι οποίες είναι οι περιοχές επαφής με το αντιγόνο.
- Τα γονίδια που κωδικοποιούν τους αντιγονικούς υποδοχείς αποτελούνται από πολλά τμήματα τα οποία είναι χωρισμένα στο γονιδίωμα και ενώνονται κατά την ωρίμανση των λεμφοκυττάρων. Στα B κύτταρα, τα γονιδιακά τμήματα της ανοσοσφαιρίνης υφίστανται ανασυνδυασμούς, καθώς τα κύτταρα ωριμάζουν στο μυελό των οστών, ενώ στα T κύτταρα τα γονιδιακά τμήματα του TCR υφίστανται ανασυνδυασμούς κατά την ωρίμανση στο θύμο.
- Οι υποδοχείς των διαφόρων ειδικοτήτων δημιουργούνται κατά ένα μέρος μέσω διαφόρων συνδυασμών των γονιδιακών τμημάτων V, D και J. Η διαδικασία του ανασυνδυασμού εισάγει την ποικιλομορφία στις αλληλουχίες των νουκλεοτιδίων στις θέσεις του ανασυνδυασμού προσθέτοντας ή αφαιρώντας νουκλεοτίδια στα σημεία σύνδεσης των τμημάτων. Το αποτέλεσμα αυτής της ποικιλομορφίας είναι η δημιουργία ενός ποικίλου ρεπερτορίου λεμφοκυττάρων, στο οποίο κλώνοι κυττάρων με διαφορετικές αντιγονικές ειδικότητες εκφράζουν υποδοχείς που διαφέρουν στην αλληλουχία και την ικανότητα αναγνώρισης, με τις περισσότερες από τις διαφορές αυτές να συγκεντρώνονται στα σημεία των ανασυνδυασμών των γονιδίων.
- Κατά την ωρίμανσή τους τα λεμφοκύτταρα υφίστανται εναλλασσόμενους κύκλους πολλαπλασιασμού και έκφρασης αντιγονικών υποδοχέων και διέρχονται από αρκετά σημεία ελέγχου στα οποία επιλέγονται έτσι ώστε μόνο κύτταρα με λειτουργικά πλήρεις υποδοχείς διατηρούνται και πολλαπλασιάζονται. Επιπλέον τα T λεμφοκύτταρα επιλέγονται θετικά ώστε να αναγνωρίζουν πεπτιδικά αντιγόνα που παρουσιάζονται από εαυτά μόρια MHC.
- Τα ανώριμα λεμφοκύτταρα που εμφανίζουν ισχυρή αναγνώριση εαυτών αντιγόνων, επιλέγονται αρνητικά και εμποδίζονται να συμπληρώσουν την ωρίμανσή τους. Με τον τρόπο αυτό εξαλείφονται τα κύτταρα που εμφανίζουν τη δυνατότητα βλαπτικής απόκρισης κατά ιστών του εαυτού.