

**Profesor: A. Raúl Castaño García**

**Licenciatura de Biotecnología. Curs 2006-07**

**Temario de la asignatura de Inmunología**

### **Tema 1. Introducción I y II**

Breve introducción al curso: descripción del temario, bibliografía recomendada, consejos de estudio, evaluación. ¿Qué es la Inmunología? Definición e introducción a la historia de la inmunología. Elementos del sistema inmune. Órganos: primarios (médula ósea y timo) y secundarios (ganglios linfáticos, bazo, MALT). Vasos linfáticos y sanguíneos: circulación. Células: linfocitos T, B, NK, presentadoras (monocitos y macrófagos, dendríticas) y otras células (mastocitos, polimorfonucleares, basófilos?). Moléculas: I) variables/clonales (Igs y TCR), II) polimórficas (HLA) y III) constantes (complemento, citocinas, moléculas accesorias y de adhesión, receptores Fc, receptores NK). Definición de inmunidad innata o natural y adquirida o adaptativa. Concepto de respuesta inmune: fases de reconocimiento, activación y respuesta. Respuesta humoral y celular. Concepto de clonalidad antigénica y selección clonal.

### **Tema 2. Órganos y tejidos linfoides**

El sistema inmune. Órganos primarios y secundarios. Timo: Corteza, médula y unión córtico-medular. Principales tipos celulares presentes en el timo y su función. Áreas funcionales del timo. Ganglios linfáticos: Áreas, senos y cordones. Vasos linfáticos aferentes y eferentes. Área paracortical, venas de endotelio alto (HEV). Área cortical: folículos linfoides primarios y secundarios, centros germinales. Bazo. Analogías y diferencias con los ganglios linfáticos. Sistema linfoide asociado a mucosas (MALT). Estructuras linfáticas del intestino. Componente celular y su localización. Vasos linfáticos: Tránsito de linfocitos y de otras células del sistema inmune. Concepto de "homing".

### **Tema 3. Inmunidad innata**

Definición. Mecanismos de resistencia naturales. Sistema externo de defensa, barreras físicas y químicas.. Receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Componentes químicos antimicrobianos: lisozima, defensinas. Fagocitos: fagocitos polimorfonucleares: neutrófilos. Acción antimicrobiana de los gránulos de fagocitos. Proteínas de fase aguda: inflamación.. Regulación de la resistencia natural.

### **Tema 4. Células del sistema inmune innato**

Células Presentadoras de Antígeno Profesionales: Los macrófagos y las células dendríticas. Tipos de células dendríticas: función y localización anatómica. Otras células efectoras: Granulocitos: neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Los mastocitos. Células NK.

### **Tema 5. El sistema del Complemento I y II**

Introducción. Sistema enzimático de activación en cascada. Nomenclatura: Precursores inactivos y moléculas con actividad enzimática. Productos de hidrólisis. Vía clásica: Formación de complejos solubles antígeno-anticuerpo. Estructura de C1qC1r2s2. Fijación a IgM y IgG. Formación de C3. Mecanismo de activación de C3. Vía alterna: Activadores. Proteínas séricas que intervienen: C3, factor B, factor D y properdina. Formación de C3. Vía de las lectinas: Proteínas séricas que intervienen. Formación de C5 convertasa. Formación del complejo de ataque a membrana. Regulación del sistema del complemento. Proteínas reguladoras. Mecanismo de acción de algunas proteínas reguladoras. Receptores del sistema de complemento. CR1, CR2, CR3, CR4, receptores de C3a, C4a y C5a. Distribución celular. Actividad biológica.

## **Tema 6. Estructura de las Inmunoglobulinas**

Inmunoglobulinas: introducción. Estructura molecular. Secuencia: Cadenas ligeras (VL-CL) y cadenas pesadas (VH-CH). Región variable (V) y constante (C). Lugar de unión al antígeno, región bisagra, actividad biológica de la región Fc. Fragmentos Fab y Fc. Nomenclatura: Cadenas pesadas. IgG ( $\gamma$ ), IgA ( $\alpha$ ), IgM ( $\mu$ ), IgD ( $\delta$ ), IgE ( $\epsilon$ ). Subclases:  $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2,  $\gamma$ 3,  $\gamma$ 4;  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2. Cadenas ligeras:  $\kappa$ ,  $\lambda$ . Dominios: Región variable: región hipervariable (CDRs). Región constante: Dominio CH1/CHL. Región bisagra (IgG, IgA, IgD). Dominios CH2, CH3 y CH4 (IgM y IgE). Estructuras comunes y determinantes antigénicos de las inmunoglobulinas: isotipos, alotipos, idiotipos. Propiedades y actividades biológicas de las clases y subclases de las inmunoglobulinas. BCR como receptor de antígeno de membrana

## **Tema 7. Organización genética y generación de diversidad en las Inmunoglobulinas**

Organización de los genes de las inmunoglobulinas: Cadena ligera (L) y pesada (H). Recombinación de los genes de la región variable: V-D-J a la cadena pesada (H); V-J a la cadena ligera (L). Contribución a la diversidad de los anticuerpos: múltiples segmentos génicos V, D y J en la línea germinal. Mecanismo de recombinación somática: secuencias señales de recombinación (RSS); Complejo enzimático recombinasa V(D)J y recombinación de los segmentos V-J y V-D-J. Imprecisión en la recombinación del DNA. Diversificación del N-terminal. Combinación de cadenas H y L. Fenómeno de exclusión alélica. Aumento de la diversidad a través de hipermutación somática. Procesamiento alternativo del transcrito primario de RNA. Coexpresión de IgM y IgD. Procesamiento alternativo y secreción de inmunoglobulinas. Cambio de isotipo.

## **Tema 8. Antígenos y anticuerpos: reconocimiento**

Inmunógenos y antígenos. Haptenos. Epítomos. Inmunogenicidad y antigenicidad. Factores que determinan la inmunogenicidad. Tipos de antígenos. Antígenos T dependientes y T independientes. Epítomos reconocidos por Ig. Reacciones cruzadas. Epítomos reconocidos por TCR. Reacciones antígeno-anticuerpo (Ag/Ac): conceptos de afinidad y avidéz. Interacción antígeno-anticuerpo: fuerzas y complementariedad. Paratopo-idiotopo.

## **Tema 9. Linfocitos B**

Generalidades. Tipos de linfocitos. Diferencias fenotípicas y funcionales de los linfocitos. Linfocitos B y sistema hematopoyético. Ontogenia y maduración de los linfocitos B. Receptor de la Célula B (BCR) como receptor de antígeno de membrana: moléculas que participan en el complejo. Función de los linfocitos B: función productora de anticuerpos y presentadora de antígenos (APC). Subpoblación de linfocitos B: linfocitos B-1 y B-2.

## **Tema 10. Obtención de anticuerpos en el laboratorio**

Introducción. Utilización de anticuerpos como herramientas de estudio y diagnóstico. Anticuerpos policlonales. Definición. Producción de sueros policlonales. Anticuerpos monoclonales. Definición. Características del hibridoma. Producción de anticuerpos monoclonales. Purificación i marcaje de anticuerpos. Anticuerpos monoclonales modificados mediante técnicas de DNA recombinante. Anticuerpos humanizados. Librerías de fagos

## **Tema 11. MHC: estructura y función**

Introducción: Conceptos básicos, definición, función del MHC. Proteínas codificadas en el MHC. Estructura de las moléculas del MHC de clase I y clase II: Estructura tridimensional. Lugar de unión del péptido. Características de los péptidos antigénicos que se unen a las moléculas de MHC de clase I y clase II. Restricción de la respuesta T por el MHC. Polimorfismo y unión peptídica. Complejo MHC-péptido: interacciones, cambios conformacionales, superficie de reconocimiento, mimetismo molecular.

## **Tema 12. MHC: genética**

Organización genética del MHC (HLA) Localización en el genoma. Descripción de la región de clase I: Loci "clásicos" de clase I: HLA-A, B, C.. Características de los genes de clase I. Regulación de la expresión de los genes de clase I. Descripción de la región de clase II: HLA-DP, DQ i DR. HLA-DO i DN. HLA-DM. Otros genes asociados al procesamiento: TAP y LMP. Regulación de los genes de clase II. Propiedades del MHC: polimorfismo, codominancia, Algunas definiciones básicas: Alelos, fenotipo HLA, haplotipo. Aloreactividad. Distribución celular de los antígenos HLA. HLA y enfermedad. Otros aspectos del sistema HLA: estudios antropológicos y forenses. Región intermedia o región de clase III. Genes que la componen.

## **Tema 13. Procesamiento y reconocimiento antigénico**

Procesamiento del antígeno. Síntesis de las moléculas del MHC de clase I y clase II. Vías de procesamiento: antígenos endógenos y exógenos. Péptidos resultantes del procesamiento. Cross priming. Presentación de antígenos: requerimientos, señales accesorias. Reconocimiento del antígeno por las células T: sinapsis inmunológica..

## **Tema 14. El receptor de la célula T (TCR)**

Introducción. Receptor de los linfocitos T (TCR) responsable del reconocimiento específico de antígeno unido al MHC de membrana de una Célula Presentadora de Antígeno. Receptor  $\alpha\beta$  ( $\alpha\beta$ TCR); receptor  $\gamma\delta$  ( $\gamma\delta$  TCR). Estructura bioquímica del receptor. Homología con el receptor de linfocitos B (BCR). Propiedades, restricción por el MHC. Otros componentes del TCR: Complejo CD3. Estructura y función de las cadenas  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$ . Características del TCR $\gamma\delta$ . Especificidad y función. Interacción trimolecular TCR/MHC/péptido

## **Tema 15. Linfocitos T**

Definición. Propiedades esenciales: restricción por el MHC y tolerancia a antígenos propios. Ontogenia y maduración de los linfocitos T. Organización y recombinación de los genes del TCR. Etapas en la maduración de los linfocitos T. Selección tímica: selección positiva y selección negativa. Linfocitos T en la periferia. Poblaciones de linfocitos T: TCR $\alpha\beta$  i TCR $\gamma\delta$ . Subpoblaciones CD4+, CD8+ y dobles negativas. Subpoblaciones funcionales de CD4+: Th1 y Th2. Linfocitos T memoria.

## **Tema 16. Moléculas de adhesión /Anatomía funcional**

Moléculas de adhesión. Definición y función. Familias: Selectinas, adresinas, integrinas y superfamilia de las inmunoglobulinas. Función de las moléculas de adhesión: Expresión. Función en la adhesión e interacción intercelular. Función en la diapédesis. Tránsito de leucocitos a través de los diferentes territorios linfáticos.

## **Tema 17. Citocinas**

Introducción. Definición. Acción autocrina, paracrina y endocrina. Redundancia funcional. Familias de citocinas. Citocinas de la inmunidad innata. Citocinas de la inmunidad adquirida. Dicotomía Th1/Th2. Patrones de citocinas: TH0, TH1, TH2 y TH3. Funciones biológicas de las citocinas mas relevantes. Citocinas hematopoyéticas. Receptores.

## **Tema 18. Quimiocinas**

Introducción. Acción quimiotáctica y "homing" de leucocitos. Citocinas con función quimiotáctica. Familias de quimiocinas y sus receptores. Especificidad, propiedades y efectos principales. Virus y quimiocinas

## **Tema 19. Respuesta inmune T : activación y fase efectora**

Activación de los linfocitos T. Interacción TCR, MHC y moléculas accesorias. Transducción de señales al interior de la célula (segundos mensajeros). Marcadores de activación de los linfocitos T: CD69, IL2R, Clase II. Células T y B memoria. Características fenotípicas.

Linfocitos T efectores. Linfocitos T auxiliares (helper): Th1 y Th2. Linfocitos T citotóxicos. Mecanismos de citotoxicidad: perforina y granzimas, linfotoxinas, y Fas-FasL

## **Tema 20. Respuesta inmune B y otros mecanismos de respuesta**

Activación de los linfocitos B. Reconocimiento de antígeno. Señales accesorias. Transducción de señales. Folículos linfoides y formación del centro germinal. Células plasmáticas. Producción de anticuerpos. Cambio de isotipo. Respuestas independientes y dependientes de linfocitos T. Otros mecanismos efectores del Sistema Inmune. Función efectora mediada por células con receptores Fc..

## **Tema 21. Regulación del sistema inmune**

Autoregulación como propiedad esencial del Sistema Inmune. Teoría del retículo: interacciones idiotipo-antiidiotipo. Mecanismos y elementos de regulación iniciales (preactivación): tolerancia inmunológica en linfocitos T: tolerancia central (delección clonal) y tolerancia periférica (ignorancia, anergia, delección, supresión e inmunodesviación). Tolerancia inmunológica en linfocitos B: tolerancia central (delección clonal, anergia, edición del receptor) y tolerancia periférica (anergia, déficit de segundas señales, delección). Mecanismos y elementos de regulación durante y después de la respuesta inmune (postactivación): Mecanismos de inhibición de la respuesta. Apoptosis (AICD). Linfocitos T reguladores: Reguladores naturales, reguladores inducidos, NKT.

## **Tema 22. Inmunidad frente a patógenos (I y II)**

Generalidades. Huésped y microorganismos: una relación en delicado equilibrio. Etapas de respuesta. El paradigma de Th1/Th2 en infecciones. Mecanismos efectores de respuesta frente a patógenos extracelulares e intracelulares. Importancia de las respuestas humoral y celular. Los patógenos: bacterias, hongos, parásitos y virus. Bacterias: generalidades. Mecanismo de respuesta inmune frente a patógenos. Inmunidad innata. Inmunidad adquirida (humoral y celular). Mecanismos bacterianos de evasión de la respuesta inmune. Hongos: generalidades. Mecanismo de respuesta inmune frente a hongos. Inmunidad innata. Inmunidad adquirida (humoral y celular). Parásitos: generalidades. Mecanismo de respuesta. Inmunidad innata. Inmunidad adquirida (humoral y celular).

Virus: generalidades. Patología y patogénesis de las infecciones víricas. Autoinmunidad como consecuencia de una infección vírica. Mecanismo de respuesta inmune frente a virus. Inmunidad innata. Inmunidad adquirida (humoral y celular). Memoria inmunológica. Mecanismos víricos de evasión de la respuesta inmune. Infección por HIV

## **Tema 23. Inmunopatología**

Introducción. Alergias: Clasificación de Gell y Coombs. Alergia o Hipersensibilidad de tipo I o inmediata. Componentes. Mecanismos de degranulación mediados por IgE. Mediadores de la reacción de tipo I. Factores implicados: genéticos i ambientales. Concepto de autoinmunidad y enfermedad autoinmunitaria. Posibles causas. Factores implicados: genéticos, somáticos y ambientales. Clasificación de las enfermedades autoinmunitarias: primarias (órgano-específicas y sistémicas) i secundarias. Ejemplos. Inmunodeficiencias. Concepto. Clasificación: hereditarias (o primarias) y adquiridas.

## **Tema 24. Vacunas y terapias inmunológicas**

Inmunoterapia activa. Vacunas. Introducción. Propiedades que deben cumplir las vacunas. Tipos de vacunas: Toxinas, patógenos atenuados y inactivados, vacunas generadas mediante técnicas de DNA recombinante. Otras vacunas. Potenciación de la respuesta: Citocinas y Adyuvantes.. Fracaso de la vacunación. Inmunoterapia pasiva. Administración de inmunoglobulinas. Inmunoterapia adoptiva: Transplante de médula ósea. Transferencia de células. Inmunosupresión. Fármacos inmunosupresores, actividad, efecto y toxicidad: Corticoides, Derivados fúngicos y citostáticos. Otros medios inmunosupresores: anticuerpos.

## **Tema 25. Utilización de modelos animales**

Introducción: Modelos animales en investigación inmunológica. Origen de las cepas de ratón de laboratorio. Definición de cepa. Concepto de consanguineidad (inbred), congenicidad, no-consanguineidad (outcross), retrocruzamiento (backcross), entrecruzamiento (intercross). Quimera: concepto y ejemplos. Transferencia de genes. Mutagénesis i Transgénesis. Primeros estudios. Agents mutagénicos; limitaciones. Generación de animales transgénicos y limitaciones. Mutagénesis dirigida: concepto de knock-out y knock-in. Limitaciones. Modelos animales transgénicos i knock-out en investigación inmunológica.

## **Tema 26. Técnicas inmunoquímicas y celulares I y II**

Introducción: La utilización de anticuerpos policlonales o monoclonales como reactivos bioquímicos específicos. Reacciones de precipitación. En fluidos: concepto de precipitina. En medios semisólidos (geles): inmunodifusión doble (método d'Ouchterlony), inmunodifusión radial (método de Mancini), inmunoelectroforesis. Reacciones de aglutinación.. Radioinmunoensayo (RIA): concepto de sensibilidad. ELISA: indirecto en sandwich y competitivo. ELISPOT. Western-blot, Quimioluminiscencia Inmunofluorescencia indirecta. Sensibilidad de los diferentes inmunoensayos. Algunas técnicas específicas en investigación: librerías de fagos, búsqueda de epítomos, interacciones protéicas.

Introducción. Monitorización de la respuesta inmunitaria. Tests de laboratorio: descriptivos y funcionales. Descriptivos: Evaluación del componente humoral y celular en sangre. Citometría de flujo en el estudio de las subpoblaciones celulares. Técnicas de análisis celular. Separación de células: por densidad (Ficoll), con MAb + partículas magnéticas, cell-sorter (citometría de flujo). Clonación de linfocitos. Tests funcionales: ensayos de activación y proliferación (mitógenos y antígenos específicos). Cultivo mixto linfocitario. Análisis de producción de citocinas. Ensayos de citotoxicidad. Otras pruebas funcionales celulares: test de movilidad y fagocitosis. Espectro tipificación. Tetrámeros.

### **Prácticas de aula: seminarios**

- 1- Tuberculosis y respuesta inmune
- 2- Anticuerpos monoclonales: humanización y sistemas alternativos de producción
- 3- Inmunoterapia y vacunas frente a cancer
- 4- Autoinmunidad: diabetes
- 5- Autoinmunidad: esclerosis múltiple
- 6- Transplante y reconocimiento alogénico: rechazo
- 7- Inmunodeficiencias
- 8- Receptores NK en NK y otras estirpes hematopoyéticas.
- 9- Rutas de procesamiento alternativo por MHC y crosspriming
- 10- Infección por HIV y respuesta inmune
- 11- Evasión viral de la respuesta inmune
- 12- Linfocitos T  $\gamma\delta$
- 13- Células reguladoras Treg CD4+CD25+

### **Tema optativo. Estructura y función moléculas de clase Ib**

Genes "no clásicos" del MHC: HLA-E, G, F, H (Hfe), MIC, TL, H2-M3. Diversidad funcional. Genes fuera del MHC: FcRn, Zag, familia CD1, MR1. Presentación de glicolípidos. Células NKT.