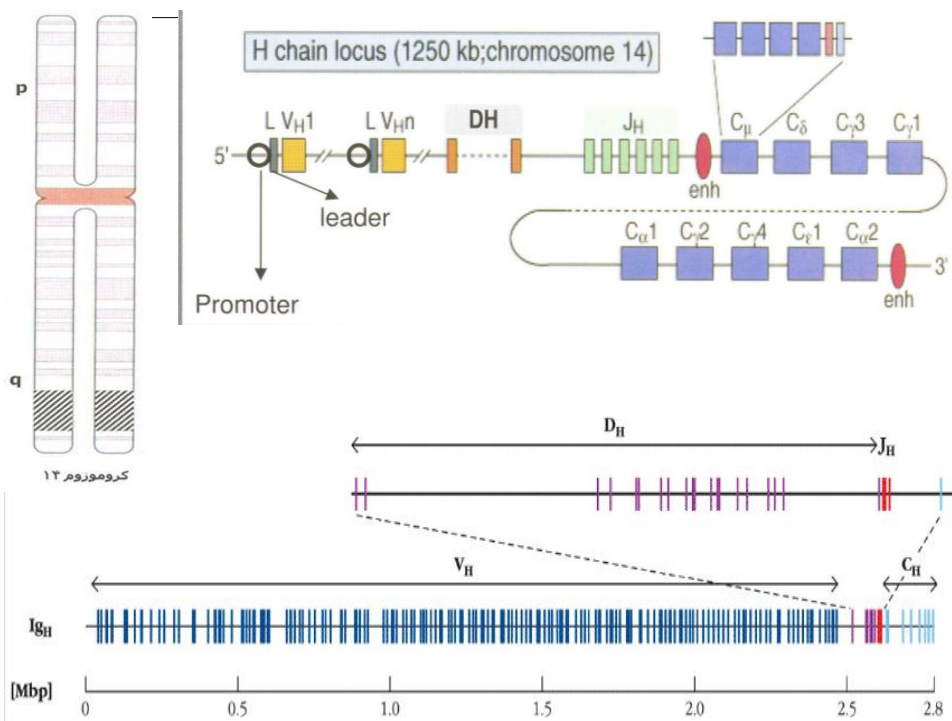
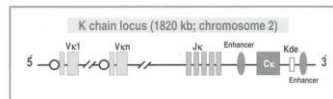
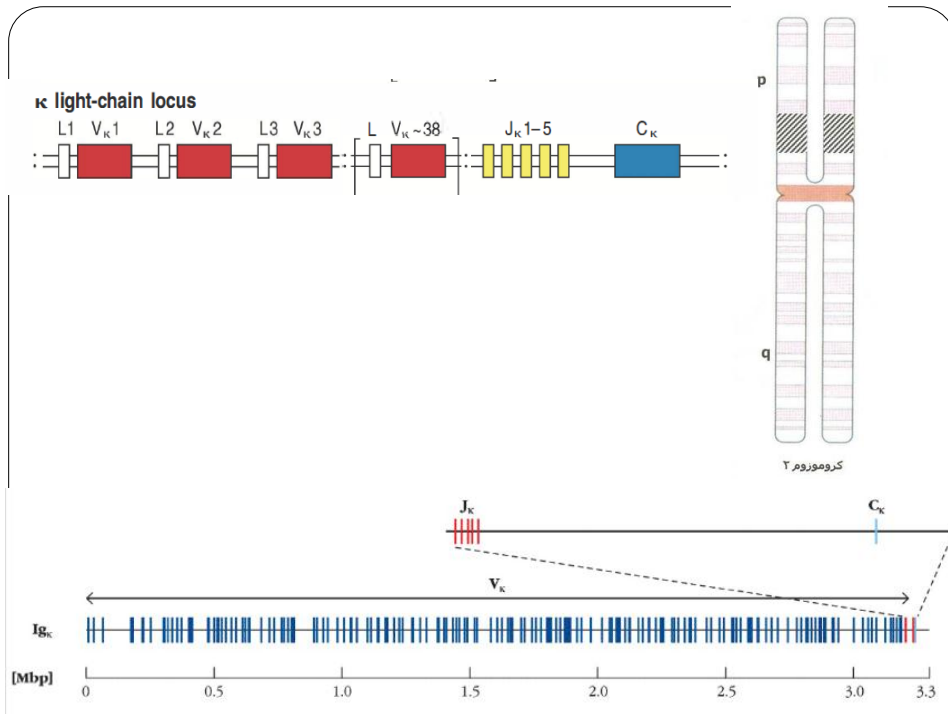


ساختار ژنوم

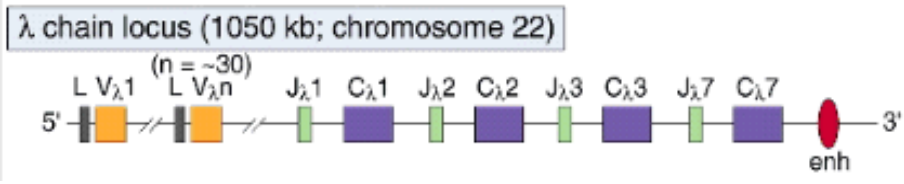
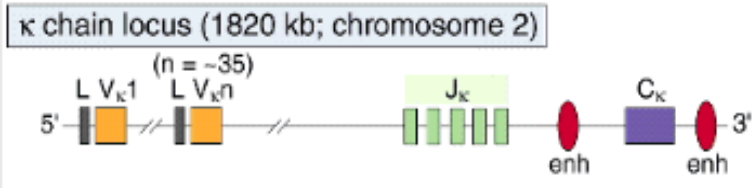
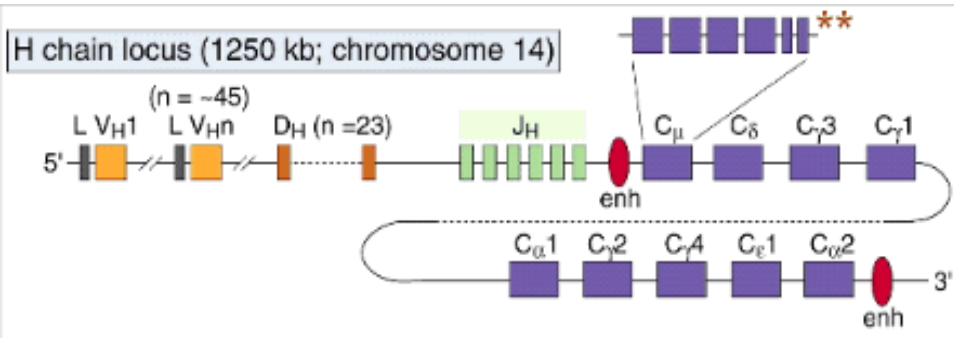
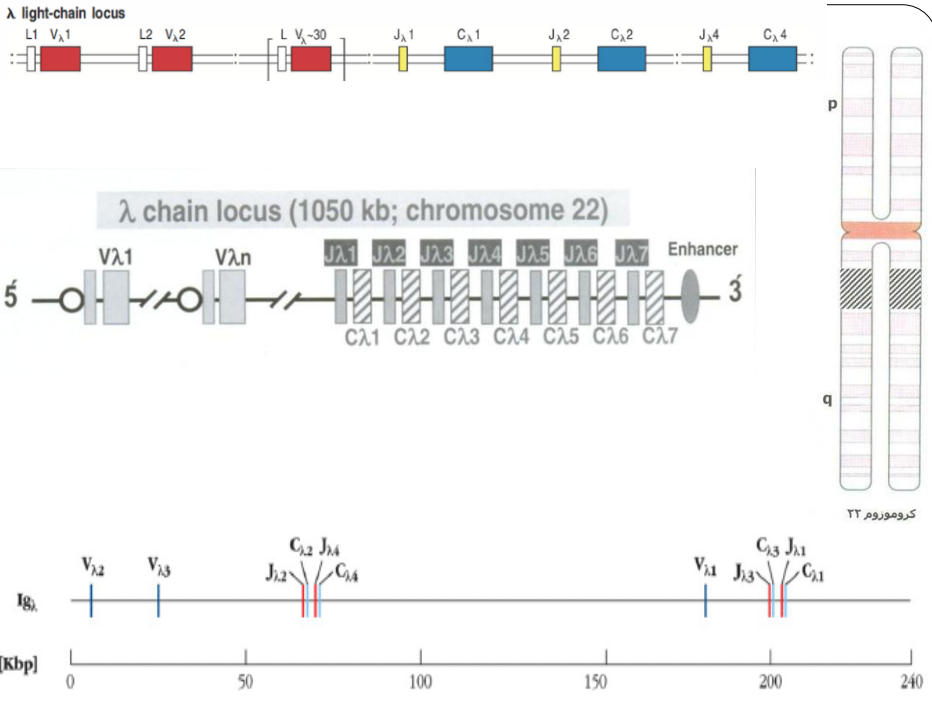
1

/62





- ۱ یک توالی نوکلئوتیدی بوده که بعد از C_{κ} قرار دارد.
- ۲ توالی κde در فرایندی به نام receptor editing یا ویرایش رسپتور نقش دارند.
- ۳ receptor editing در مورد زنجیره سبک κ انجام می شود.
- ۴ طول این قطعه به اندازه ۲۴ کیلو باز می باشد.



مکانیسم بازآرایی

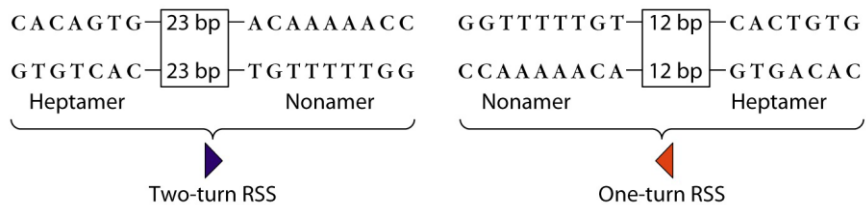
7

/62

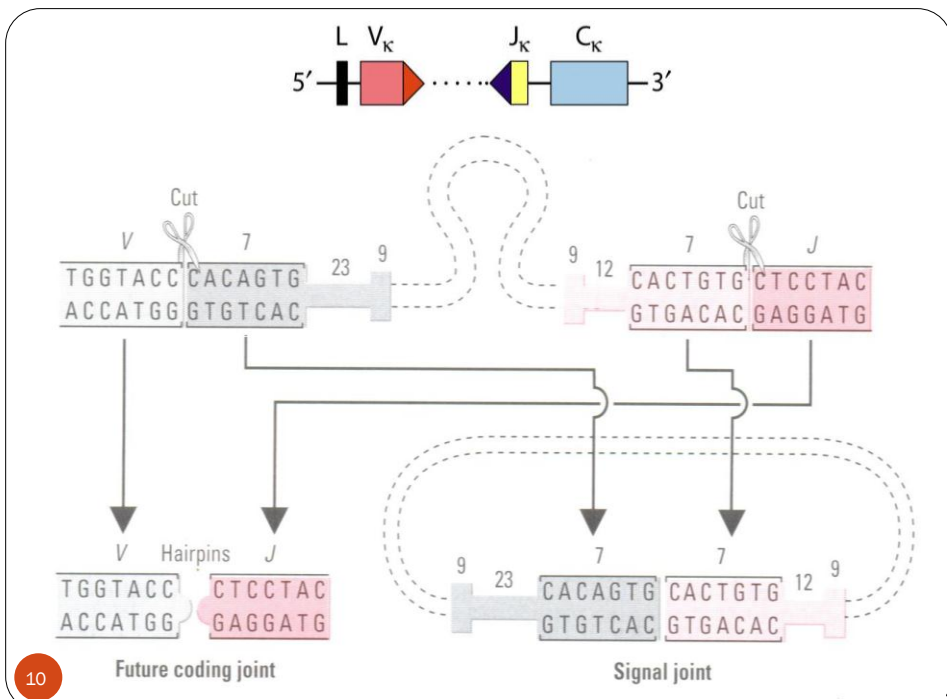
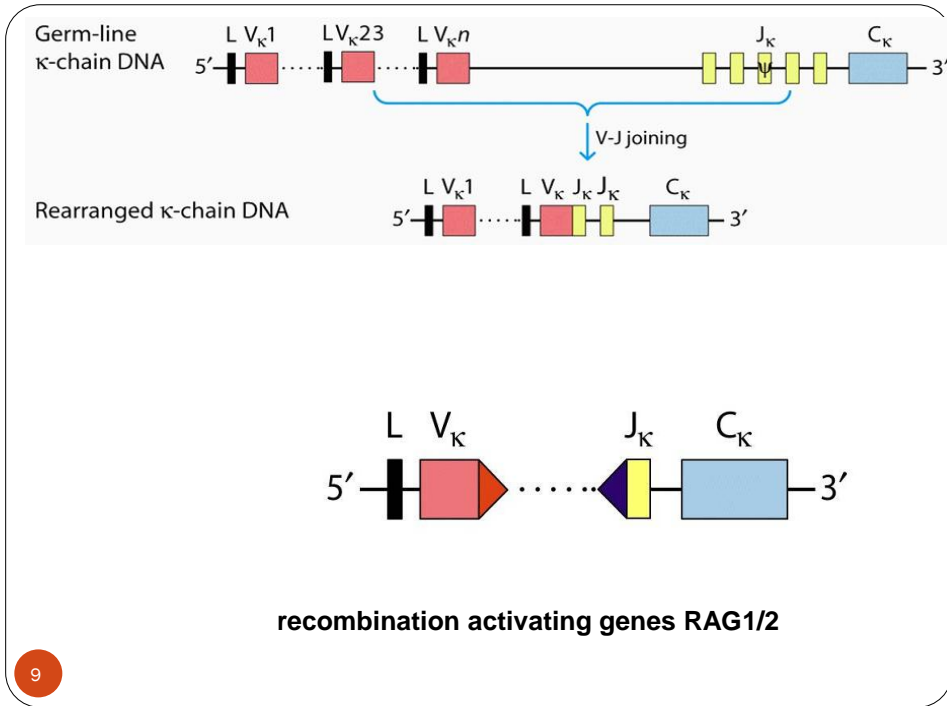
• توالیهای پیام نوترکیبی

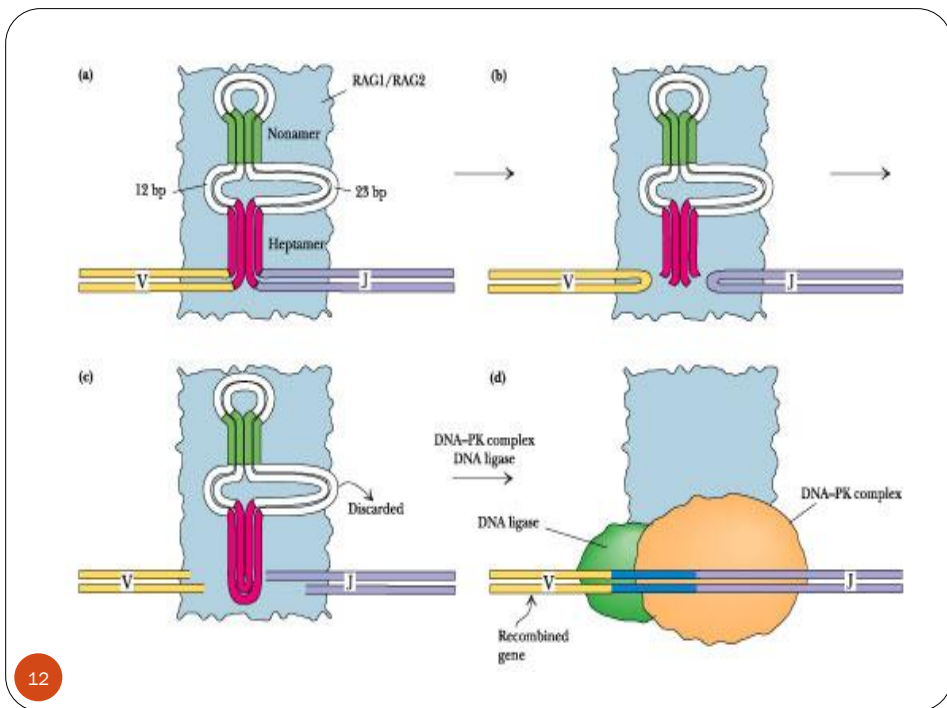
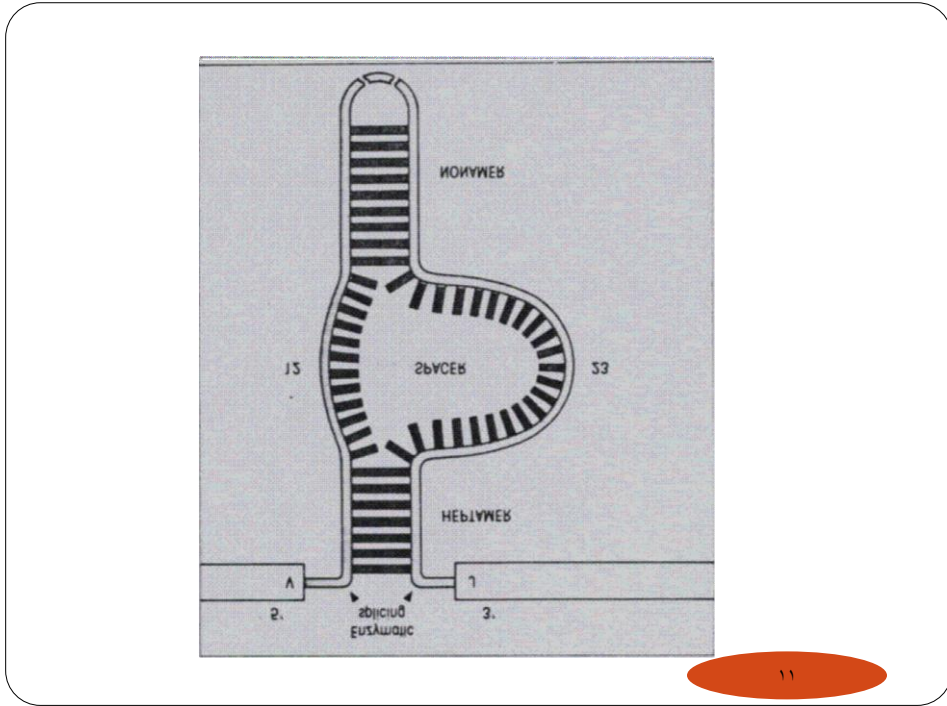
- Recombination Signal Sequences (RSS)
- Recombination Recognition Sequences (RRS)

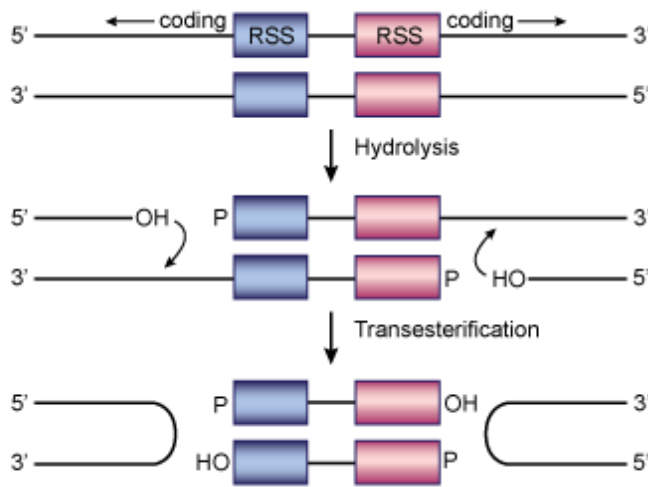
(a) Nucleotide sequence of RSSs



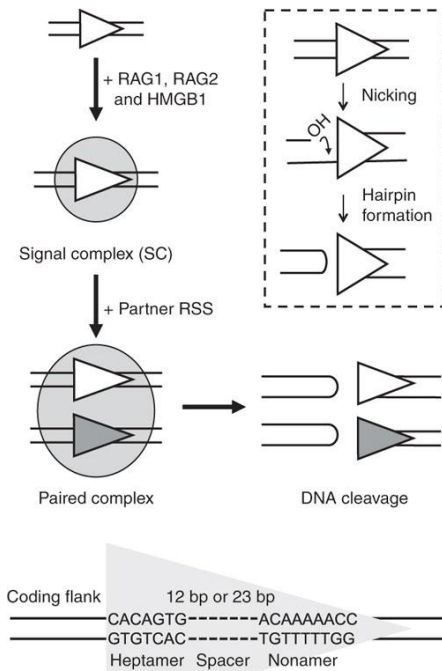
- فقط نوع ۱ و نوع ۲ قابل اتصال به یکدیگر هستند (قانون ۱۲/۲۳)



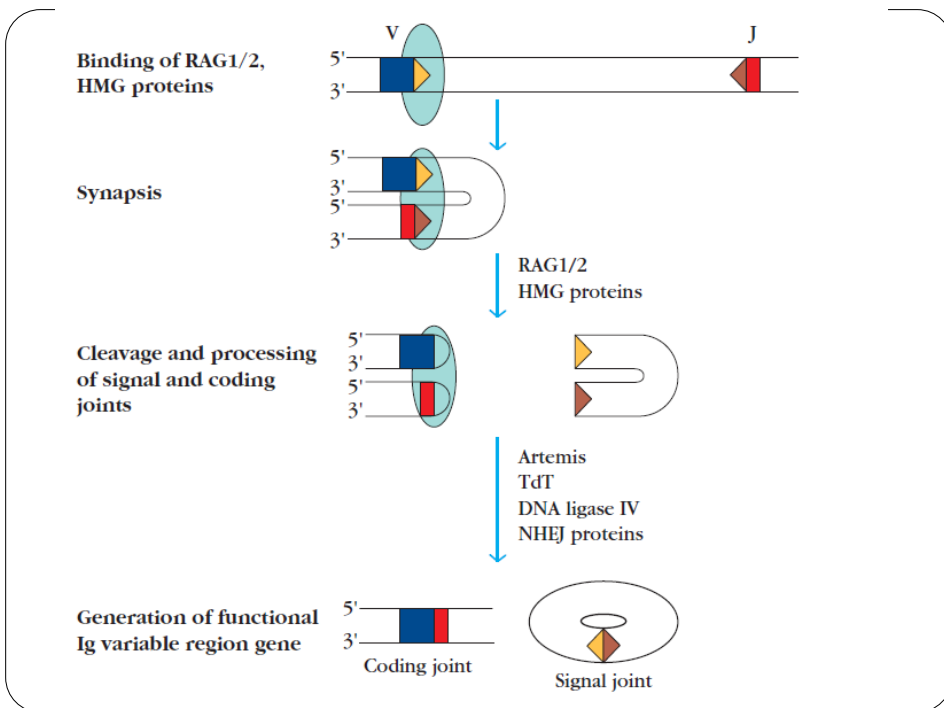
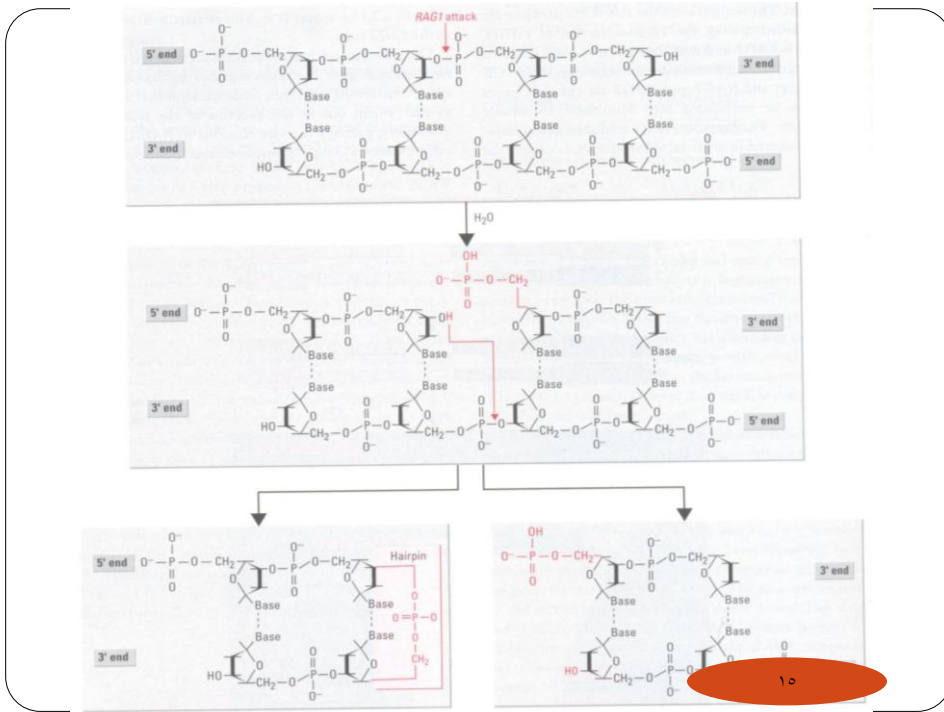




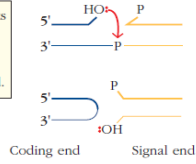
گروه 3'-OH از رشته بریده شده DNA به پیوند فسفودی استر که رشته مقابل را به RSS متصل می کند حمله می کند و سبب ایجاد یک ساختمان شبیه سنجاق سر در انتهای بریده توالی رمز دهنده و یک بریدگی تخت در هر دو رشته با انتهای 5' فسفوریله در محل RSS می شود.



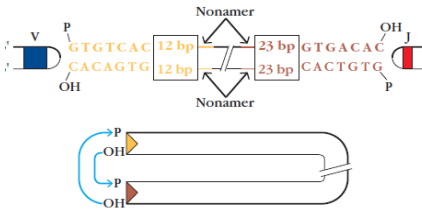
RAG1, RAG2 and HMGB1
اتصال اول به 12RSS یا 23RSS و سپس
دیگری



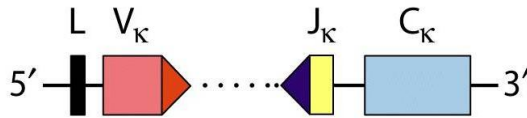
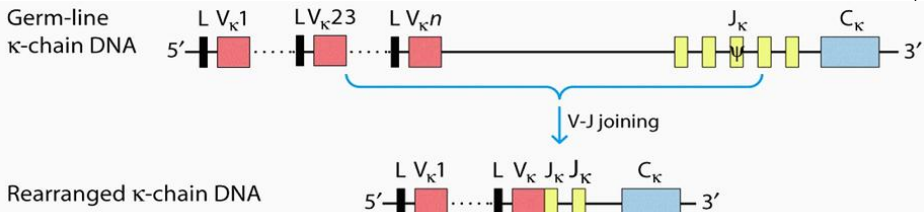
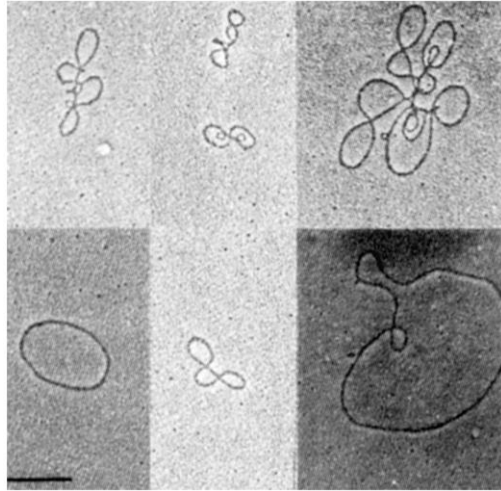
Step 3. The hydroxyl group attacks the phosphate group on the non-coding strand of the V segment to yield a covalently-sealed hairpin coding end and a blunt signal end.



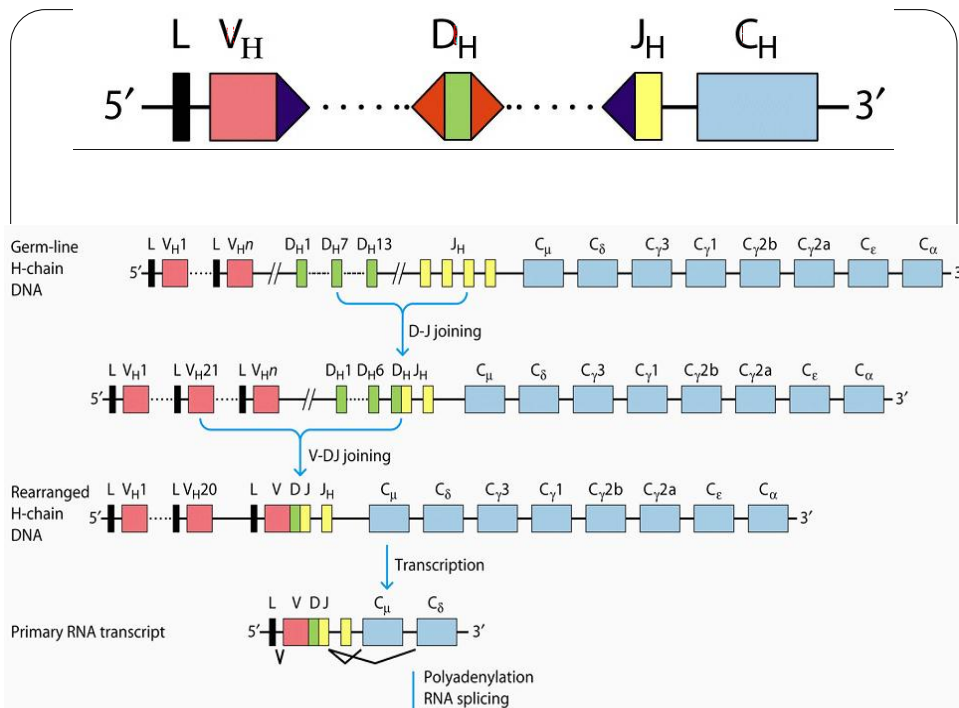
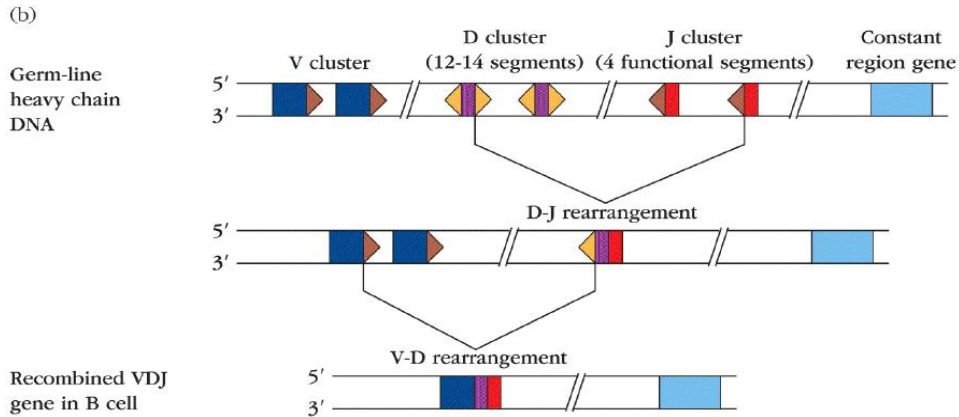
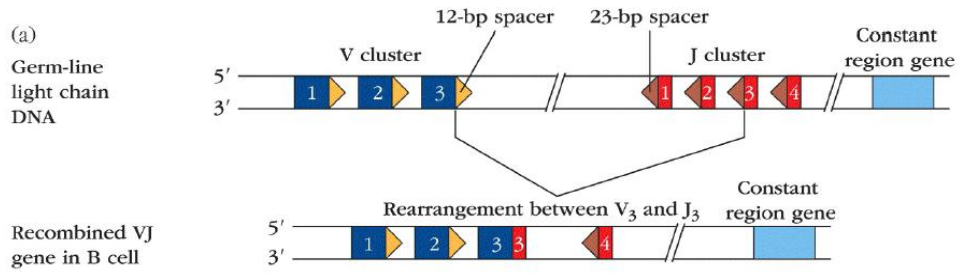
Step 4. Ligation of the signal ends

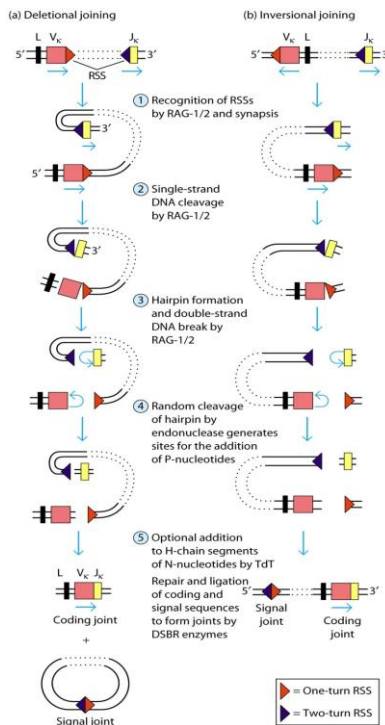
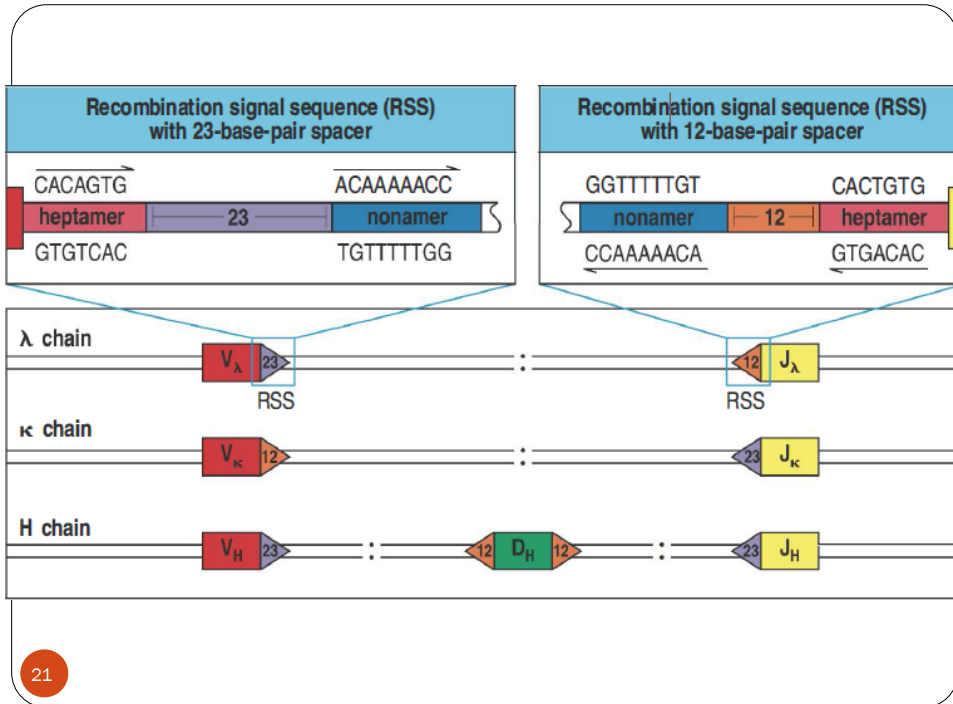


Sequence at the signal junction results from the joining of the two heptameric regions

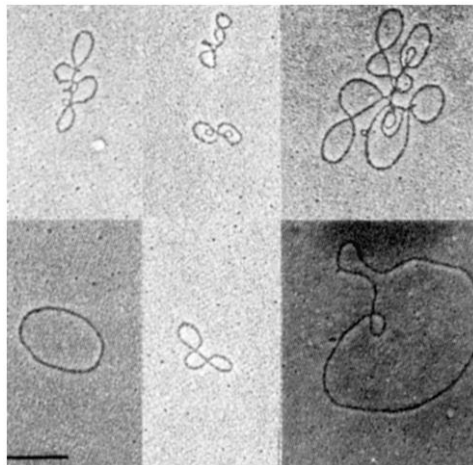


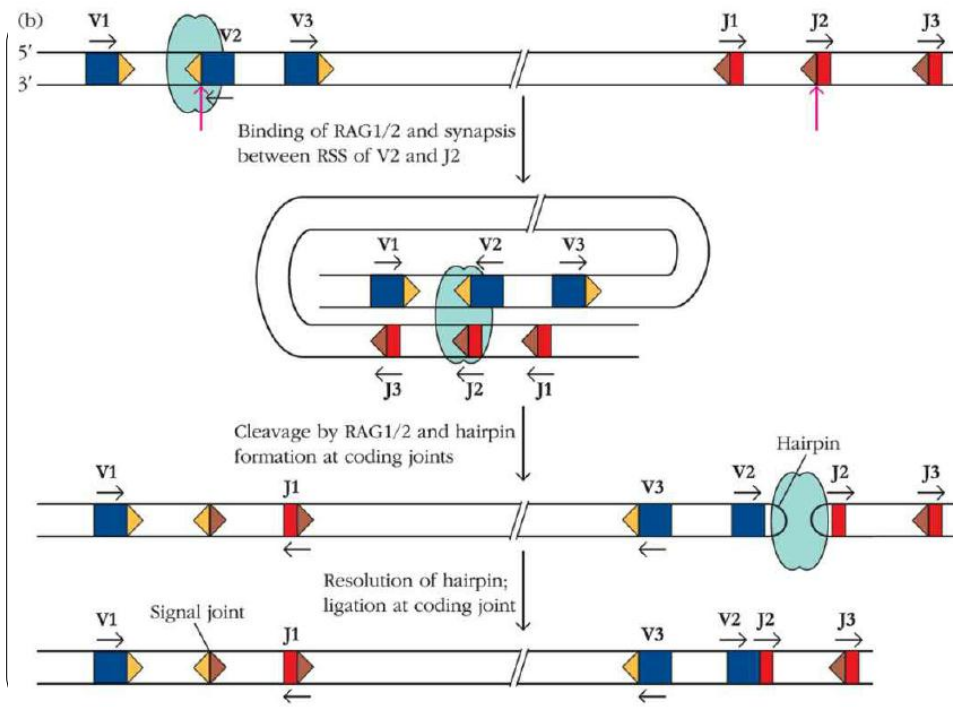
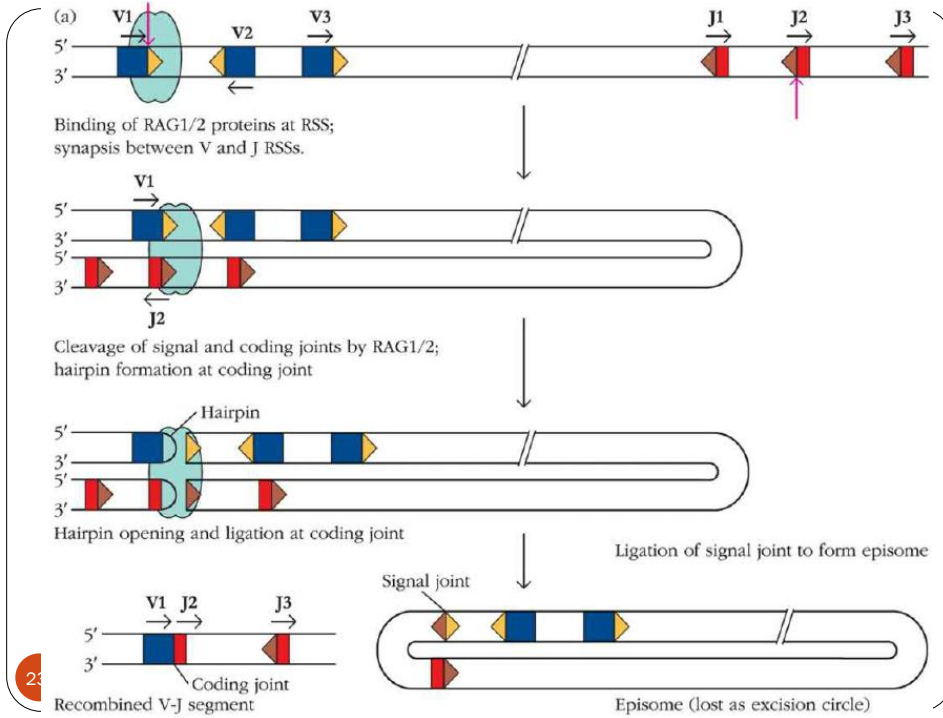
recombination activating genes RAG1/2

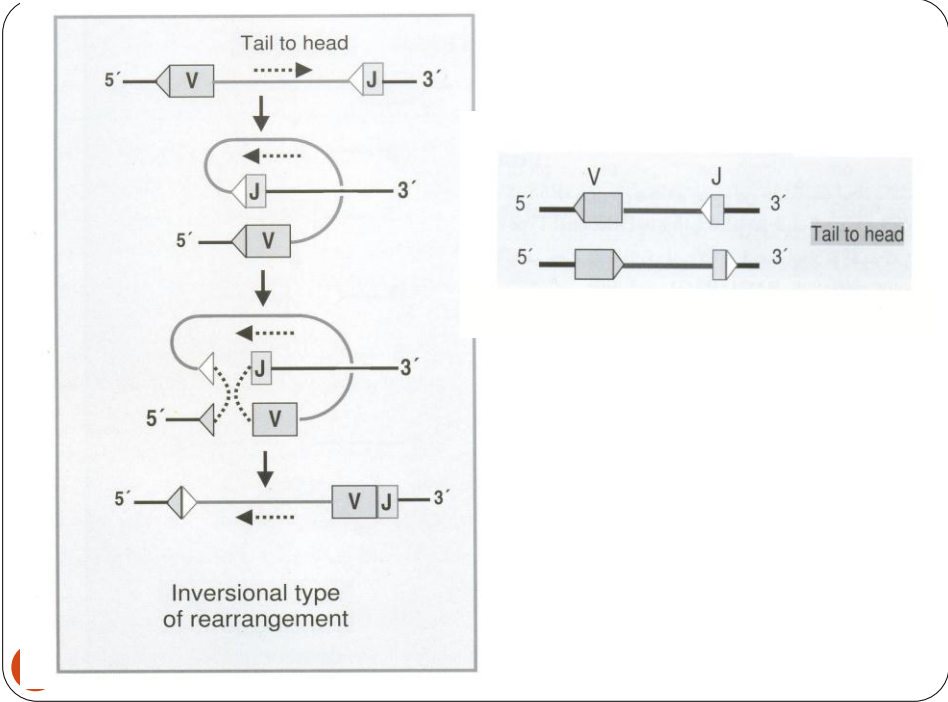
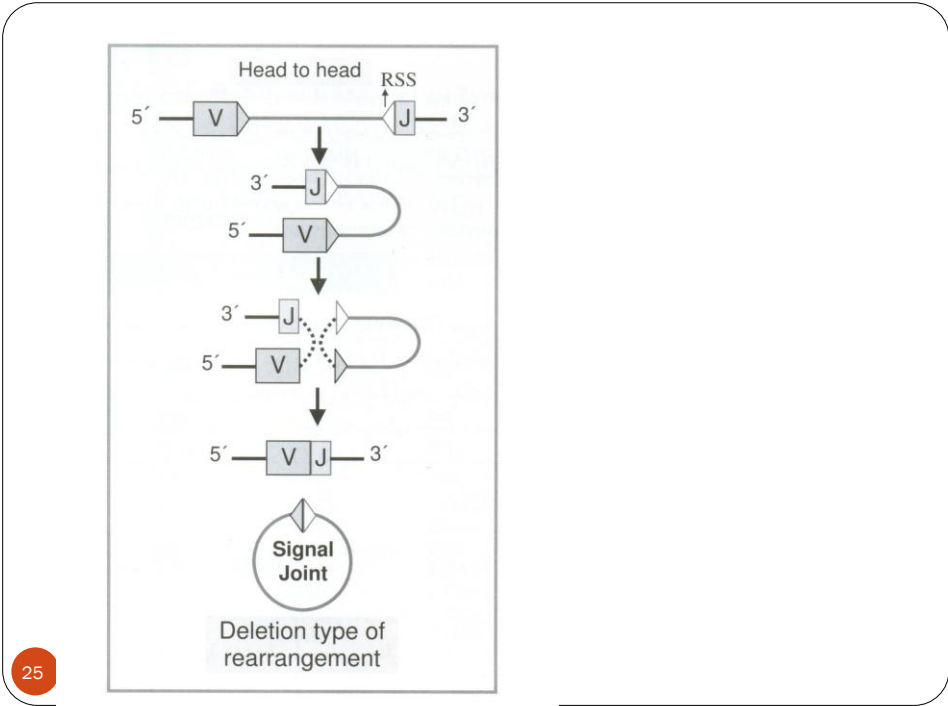


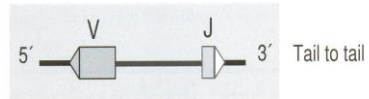
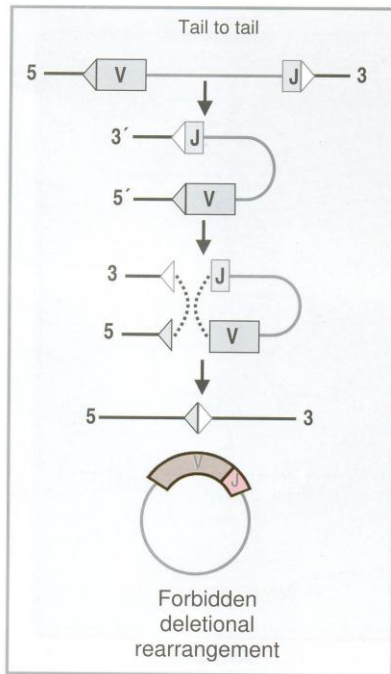


در این بازآرایی همیشه حذف DNA رخ میدهد؟

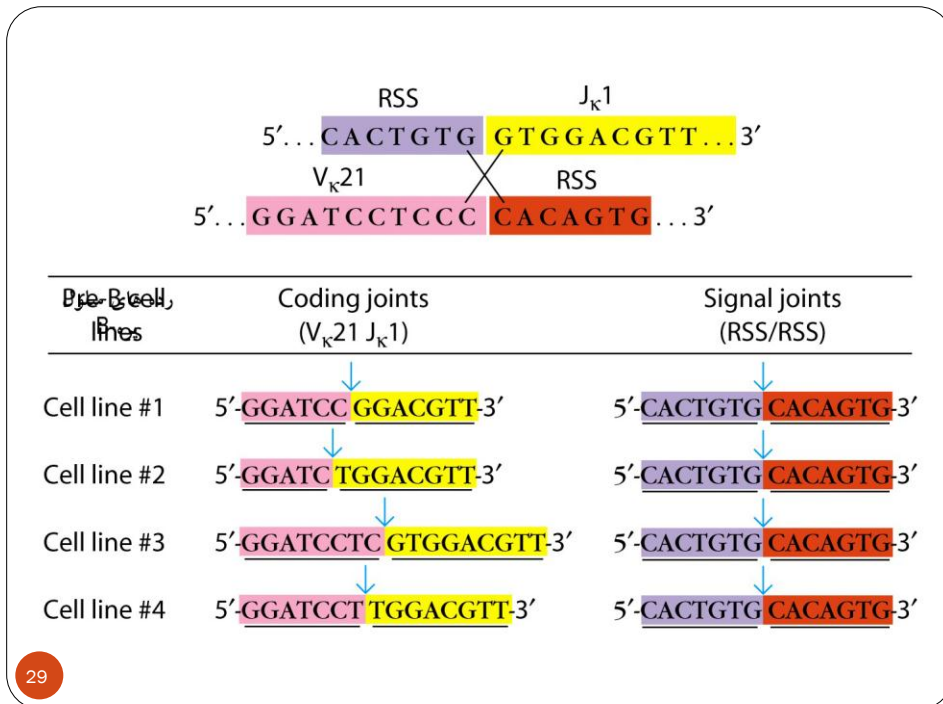




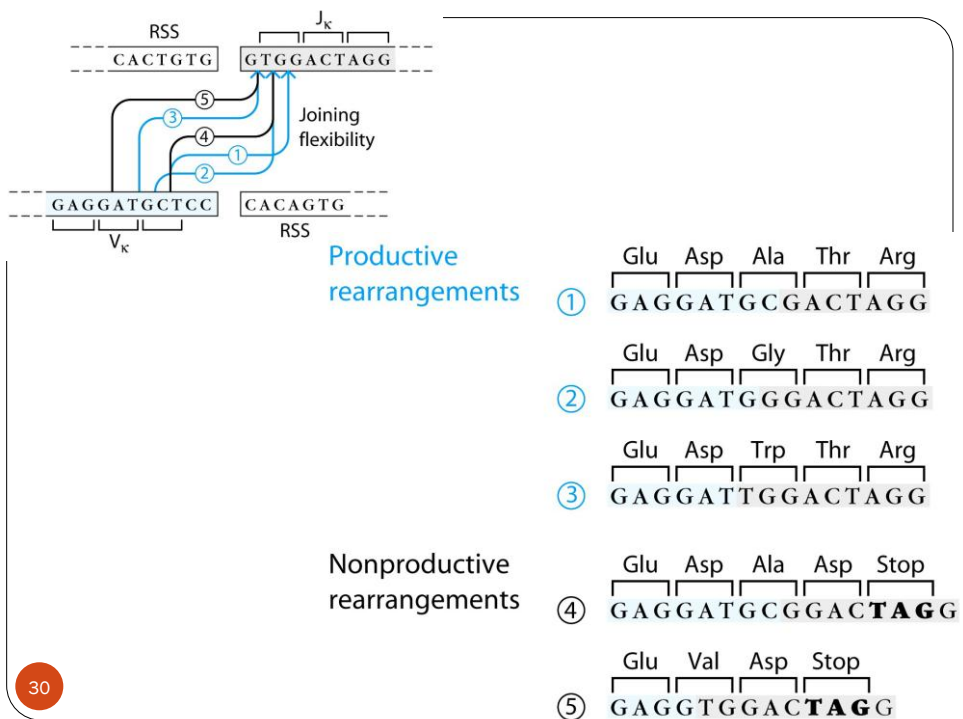




سایر مکانیسم‌های ایجاد تنوع

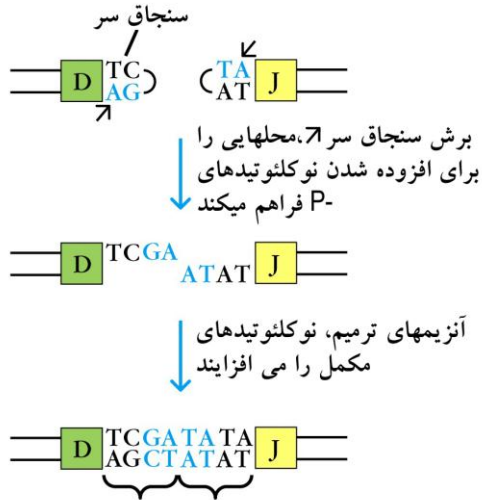


29



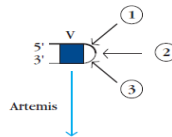
30

(a) افزودن نوکلئوتیدهای P-



31

Step 5. Opening of the hairpin can result in a 5' overhang, a 3' overhang, or a blunt end.



Opening at 1 yields 5' overhang



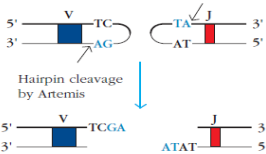
Opening at 2 yields blunt end



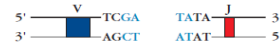
Opening at 3 yields 3' overhang



Step 6. Cleavage of the hairpin generates sites for P nucleotide addition.

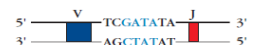


Filling in of complementary strands by DNA repair enzymes



Step 7. Ligation of light chain V and J regions

Ligation of completed segments by DNA Ligase IV and NHEJ proteins



32

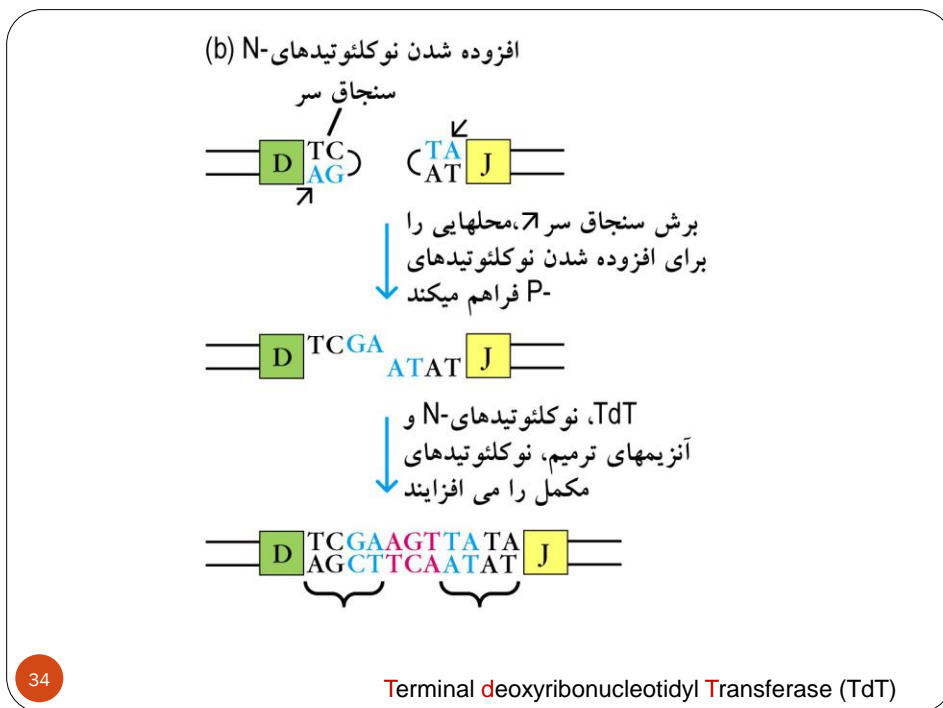
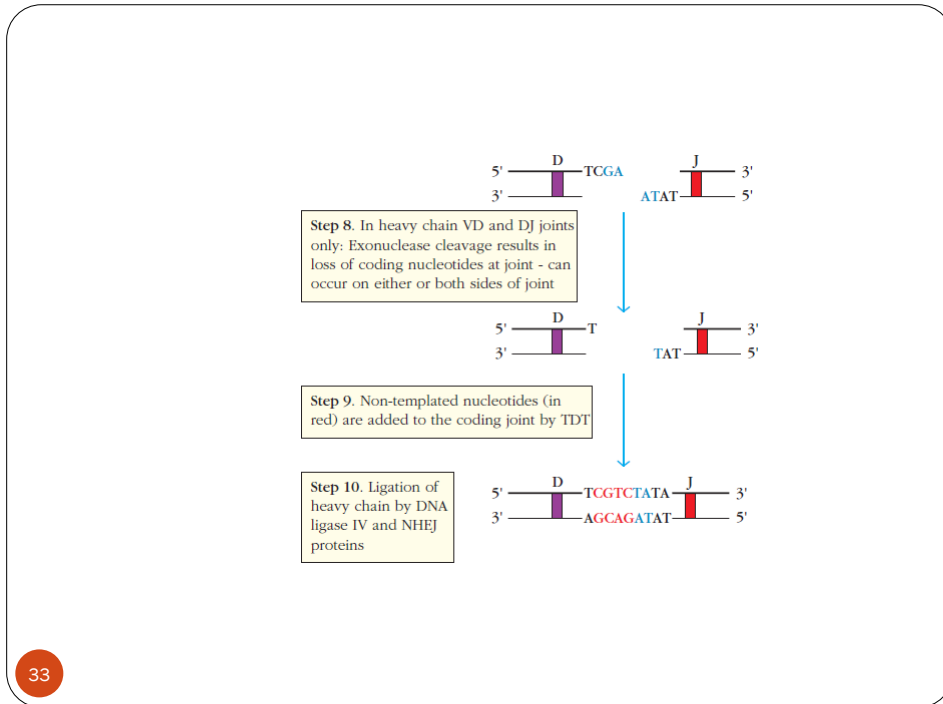


TABLE 5-3

Sources of sequence variation in complementarity-determining regions of immunoglobulin heavy- and light-chain genes

| Source of variation | CDR1 | CDR2 | CDR3 |
|------------------------|-----------|-----------|--|
| Sequence encoded by: | V segment | V segment | V_L-J_L junction; $V_H-D_H-J_H$ junctions |
| Junctional flexibility | - | - | + |
| P-nucleotide addition | - | - | + |
| N-nucleotide addition* | - | - | + |
| Somatic hypermutation | + | + | + |

35

*Nucleotide addition occurs only in heavy-chain DNA.

- وجود قطعات ژنی متعدد DNA-جنینی
- تنوع در اثر اتصال قطعات V-(D)-J متفاوت
- انعطاف پذیری در محل اتصال
- اضافه شدن نوکلئوتیدهای P-
- اضافه شدن نوکلئوتیدهای N-
- تنوع در اثر اتصال زنجیره‌های سبک و سنگین متفاوت
- هیپر موتاسیون سوماتیک

انزیم‌های نوترکیبی

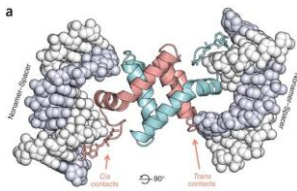
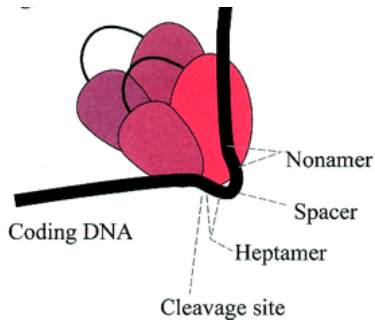
36

/62

مسئول اصلی این فعالیت؟

RAG-1, RAG-2

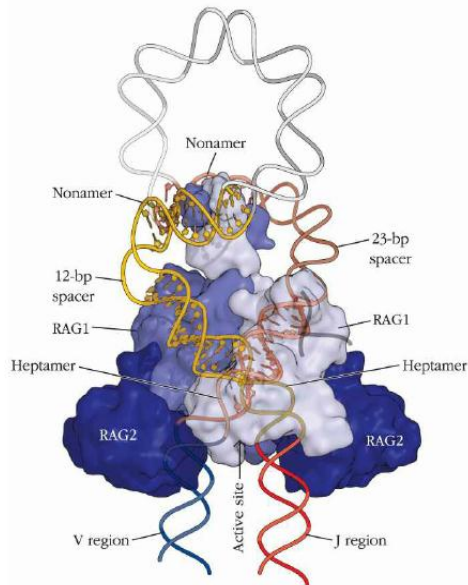
- ✓ بیان فقط در لنفوسیتها
- ✓ شناسائی اولیه و تشکیل سیناپس



37

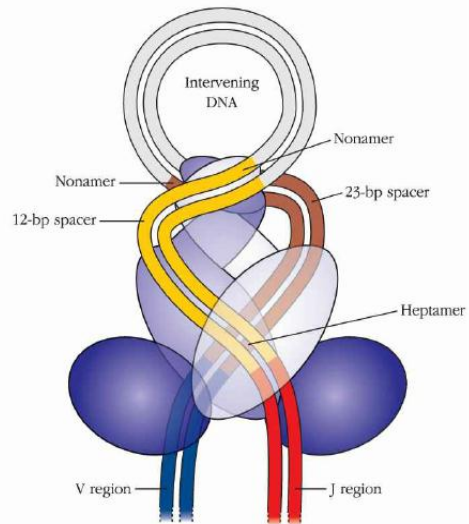
ناحیه متصل شونده به نونامر در RAG1

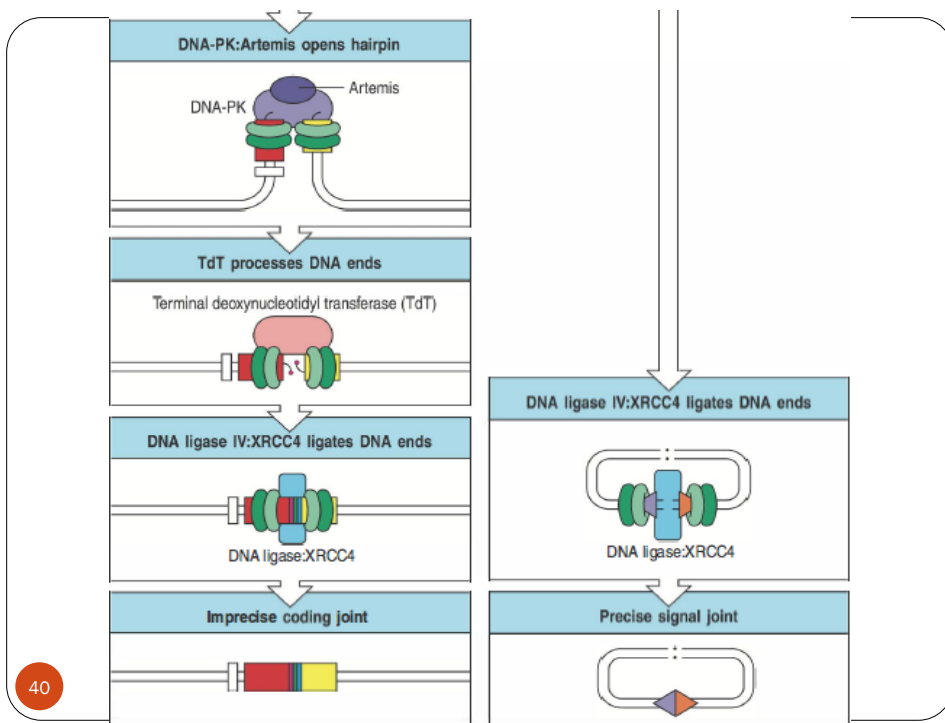
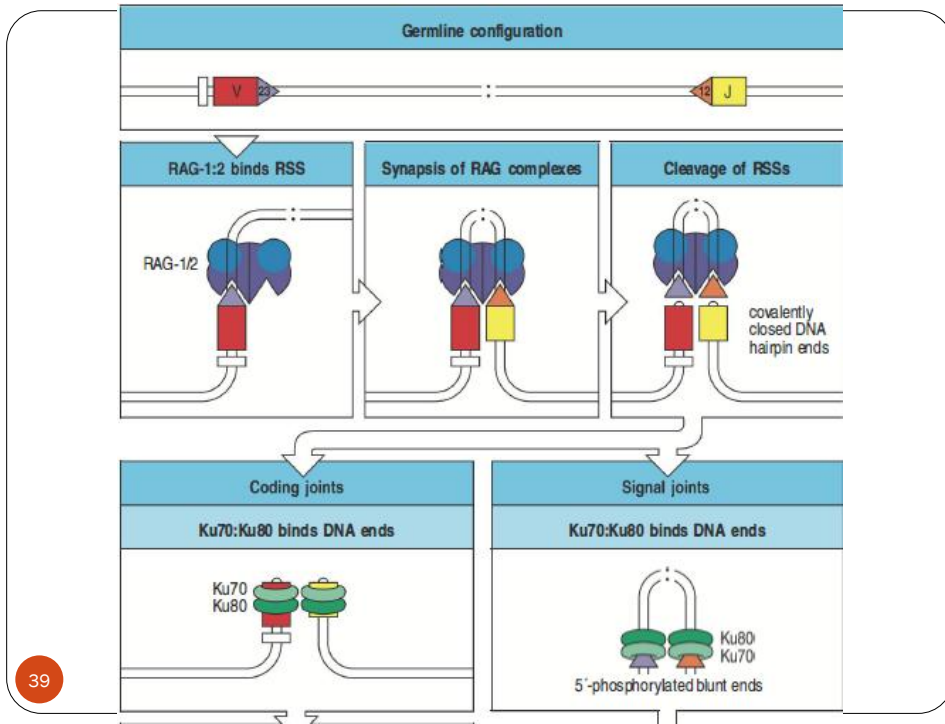
(a)



38

(b)





- یک جزء متصل شونده به انتهای DNA به نام (*Ku complex*)
- این کمپلکس از *Ku70* و *Ku80* تشکیل شده است
- مجموعه چند واحدی ترمیم DNA به نام *DNA-PK* (*DNA-dependent protein kinase*)
- یک اندونوکلاز به نام آرتمیس (*Artemis*)
- کوکمپلکس انتهای سنجاق سری D و J را شناسائی کرده متصل می شود
- *DNA-PK* فراخوان میشود و آرتمیس را فسفریله میکند
- آرتمیس روی توالی D و J برش داده انتهای تک رشته ایجاد نماید (*hairpin*)
- انزیمهای اگزونوکلاز می توانند نوکلئوتیدهای غیرمکمل را پیرایش کنند
- ترمیم با انزیمهای مسیر *NHEJ* (*non-homologous endjoining pathway*) است
- *DNA ligase IV* همراه با پروتئینی به نام *XRCC4* بستن نهائی را به عهده دارد

۴۱

| نقص | پروتئین‌های مهم در نوترکیبی (D) V | |
|-----------------------------|---|---|
| نقص ایمنی توام شدید SCID | RAG1 برش DNA و RAG2 شناسائی تغییرات اپی ژنتیک | RAG1/2 |
| کاهش N نوکلئوتید | اضافه کردن نوکلئوتیدهای N | TdT |
| نامعلوم | تثبیت اتصال RAG1/2 به نواحی RSS و تثبیت خم ناحیه 23 توسط RAG | HMGB1/2 |
| SCID | اتصال به انتهای بریده شده DNA و تثبیت آن تا قبل از ترمیم در هر دو ناحیه سیگنال و کد. فراخوان DNA-PKcs | Ku70/80 |
| SCID | پروتئین کیناز، کمپلکس با Ku و فسفریله کردن Artemis. فراخوان برای ligation | DNA-PKcs |
| SCID | بعد از فسفریله شدن باز کردن hairpin در انتهای کد | Artemis |
| SCID و حساسیت به تابش | XRCC4 پایداری و تحریک فعالیت کاتابولیک DNA ligase IV | ligase DNA IV, XRCC4, and XLF (Cernunnos) |

42

High mobility group B proteins 1 and 2

Proteins involved in V(D)J recombination

43



| Protein | Function |
|----------------------------|---|
| RAG-1/2 | Lymphoid-specific complex of two proteins that catalyze DNA strand breakage and rejoin to form signal and coding joints |
| TdT | Lymphoid-specific protein that adds N region nucleotides to the joints between gene segments in the Ig heavy chain and at all joints between TCR gene segments |
| HMG1/2 proteins | Stabilize binding of RAG1/2 to Recombination Signal Sequences (RSSs), particularly to the 23-bp RSS; stabilize bend introduced into the 23-bp spacer DNA by the RAG1/2 proteins |
| Ku70 and Ku80 heterodimers | Binds DNA coding and signal ends and holds them in protein-DNA complex |
| DNA PKcs | In complex with Ku proteins, recruits and phosphorylates Artemis |
| Artemis | Opens the coding end hairpins |
| XRCC4 | Stabilizes and activates DNA ligase IV |
| DNA ligase IV | In complex with XRCC4, and Cernunnos ligates DNA ends |
| Cernunnos | With XRCC4, activates DNA ligase IV |

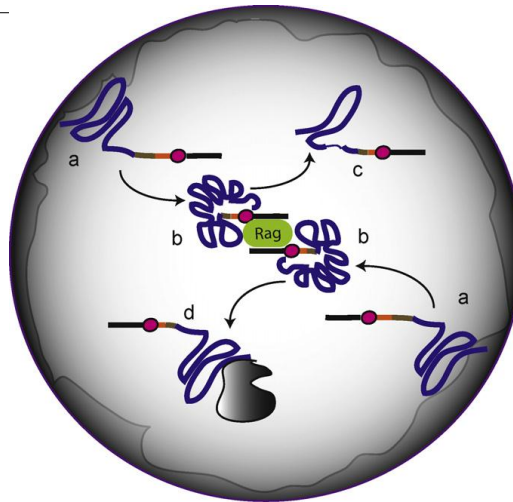
آرایش کروموزوم

44

/62

Nuclear organization of Igh V(D)J recombination

V region, blue wavy line;
D region, brown line;
J region, orange line;
Eu, pink oval;
constant region, black line.



- The two Igh loci are initially at the nuclear periphery;
- they both move towards the euchromatic centre of the nucleus via the DJC end, pair in association with the Rag complex (green oval), undergo D to J recombination and looping of the V region proximal to the DJ recombined gene segment for V to DJ recombination;
- the productively VDJ recombined allele decontracts and is expressed;
- the second allele decontracts and is recruited to pericentromeric heterochromatin (dark red area).

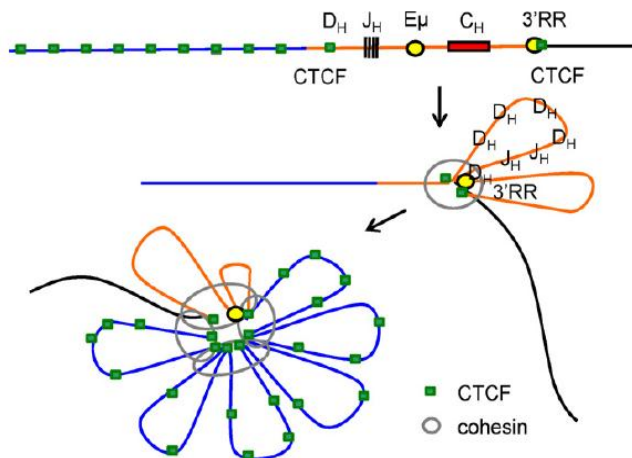
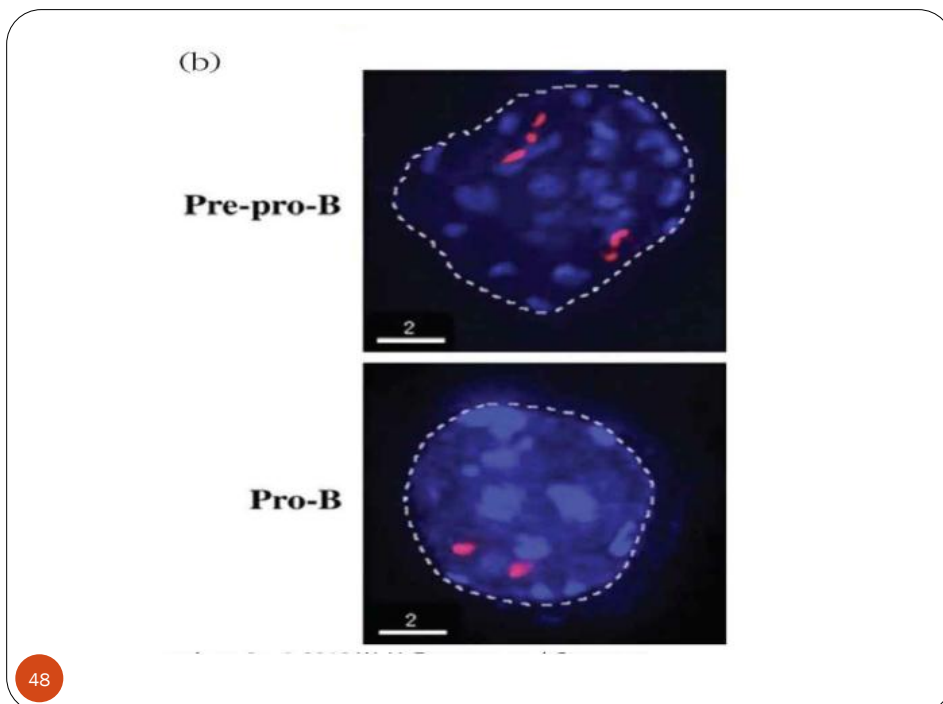
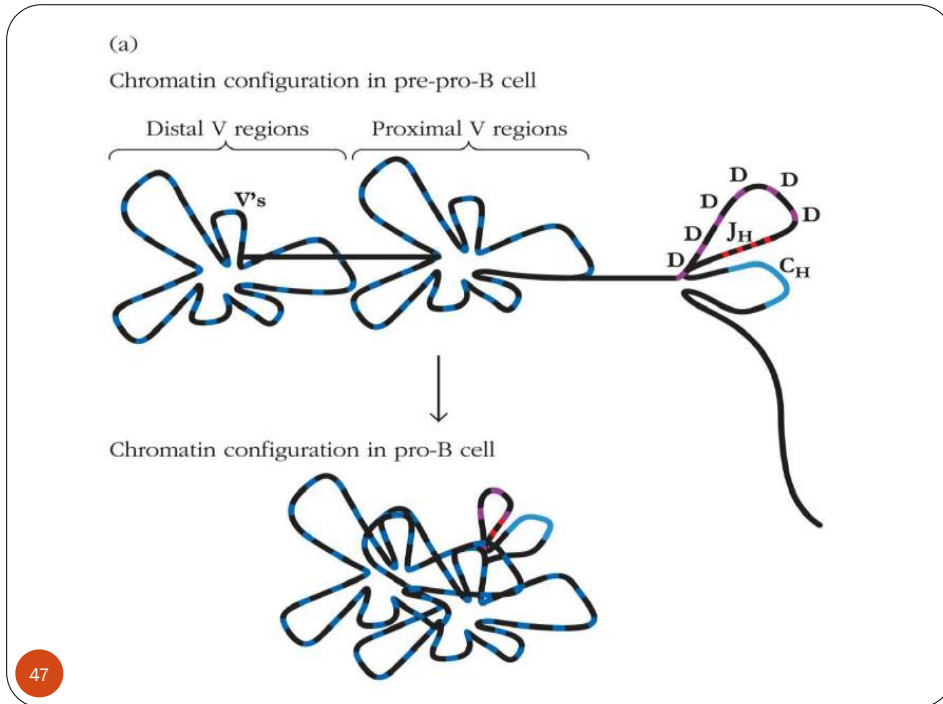


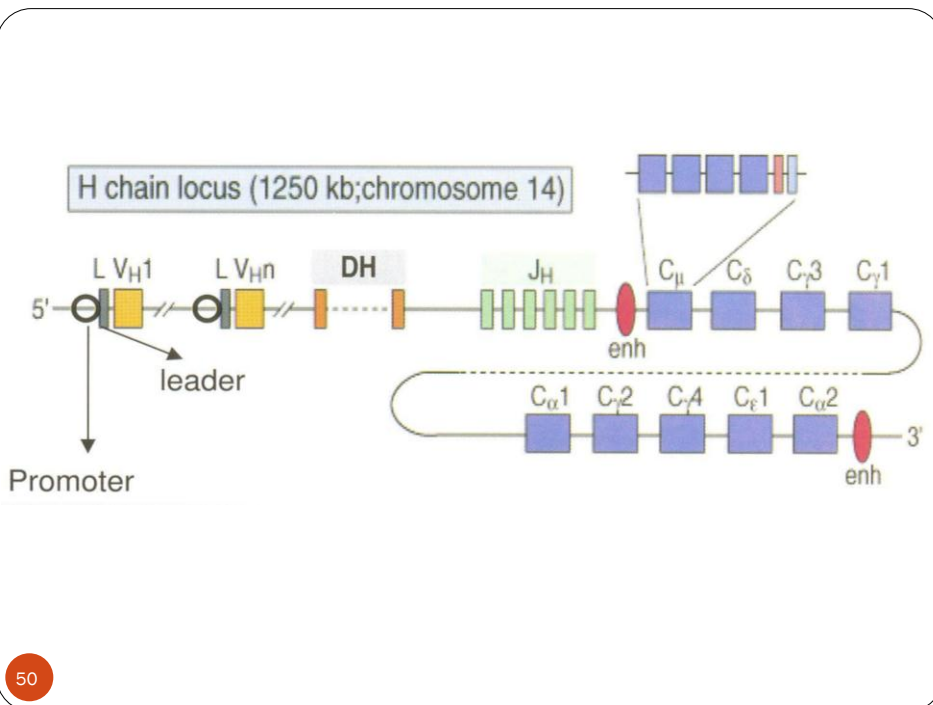
Fig. 3. Proposed model of the role of CTCF in V(D)J recombination. Cartoon of germline genomic structure of the Igh locus with CTCF sites (green boxes) located throughout the VH locus, 5' of DFL16.1, and in the 3RR (top portion of schematic). Loops between CTCF sites located 5' of DFL16.1 and CTCF sites clustered in the 3RR may form a loop to exclude the VH portion of the locus during the stage of DH to JH recombination (middle portion of schematic). During VH to DJH recombination, CTCF/cohesin may facilitate the compaction of the Igh locus and the formation of a multi-loop structure, giving all VH genes access to the DHJH gene segment (lower portion of schematic). Grey rings depict cohesin rings. Yellow circles represent enhancers.

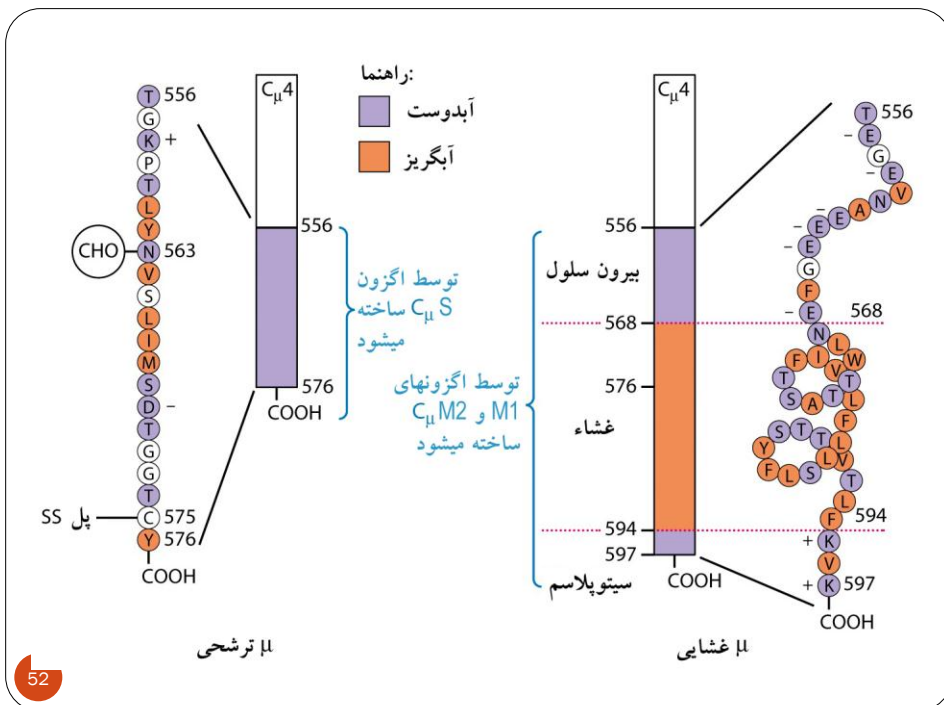
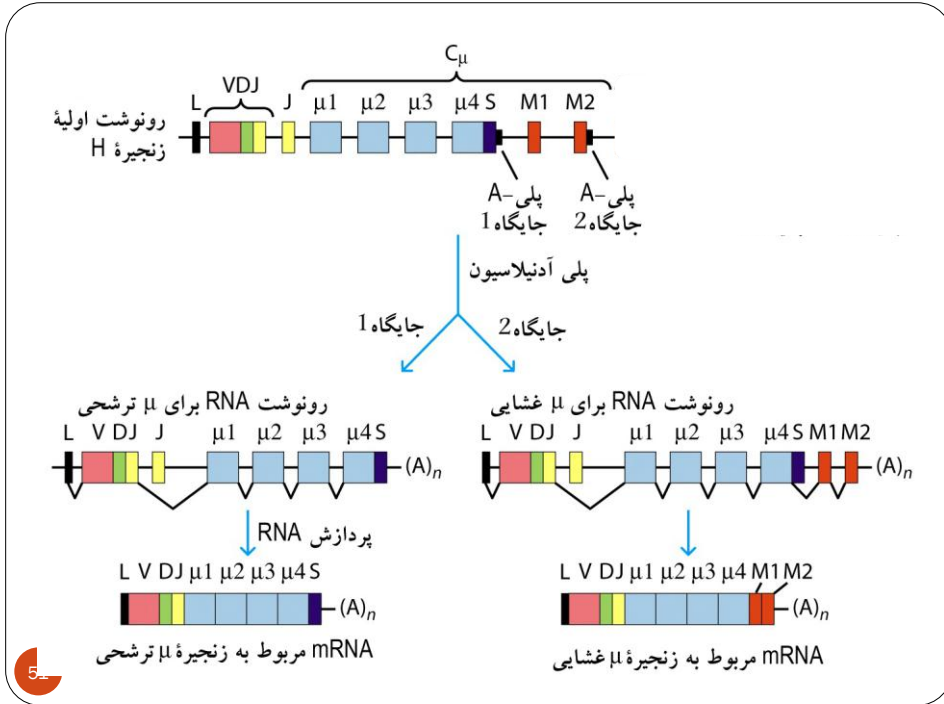


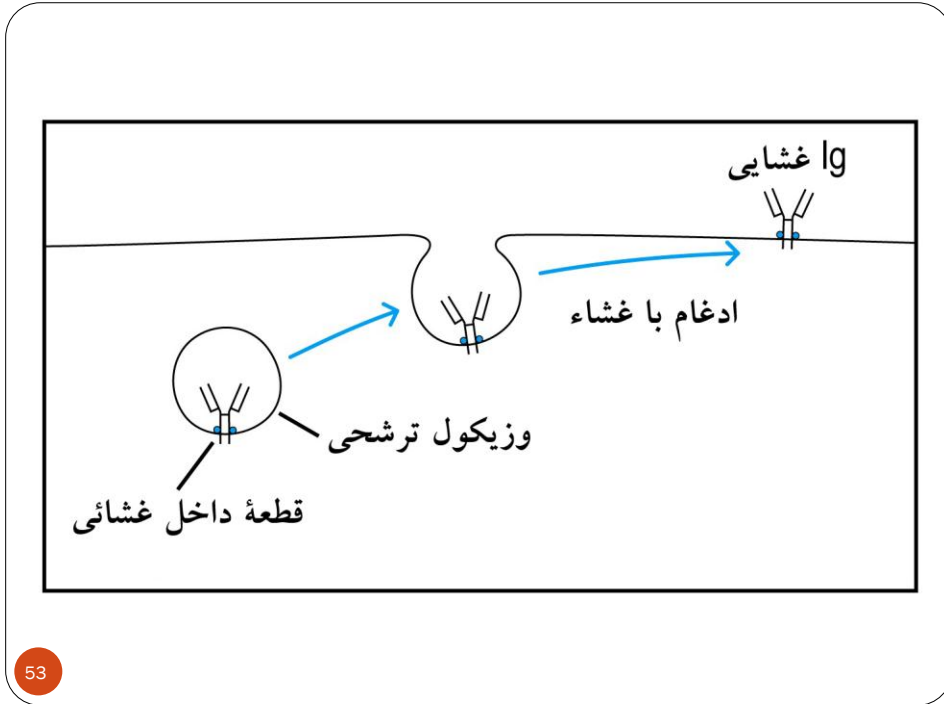
فرم غشائی و ترشحي

49

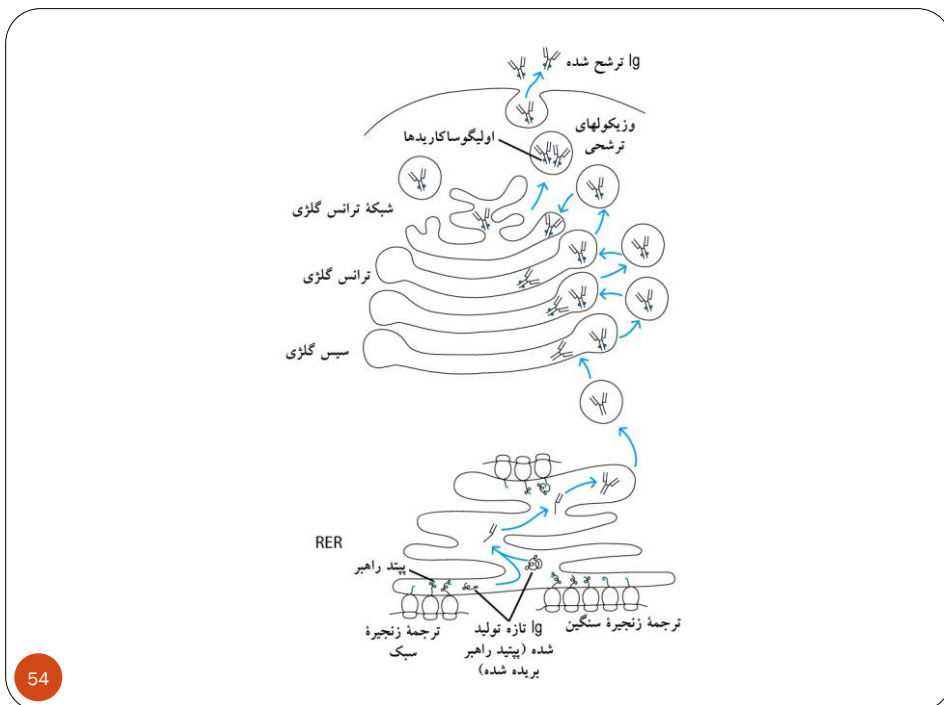
/62



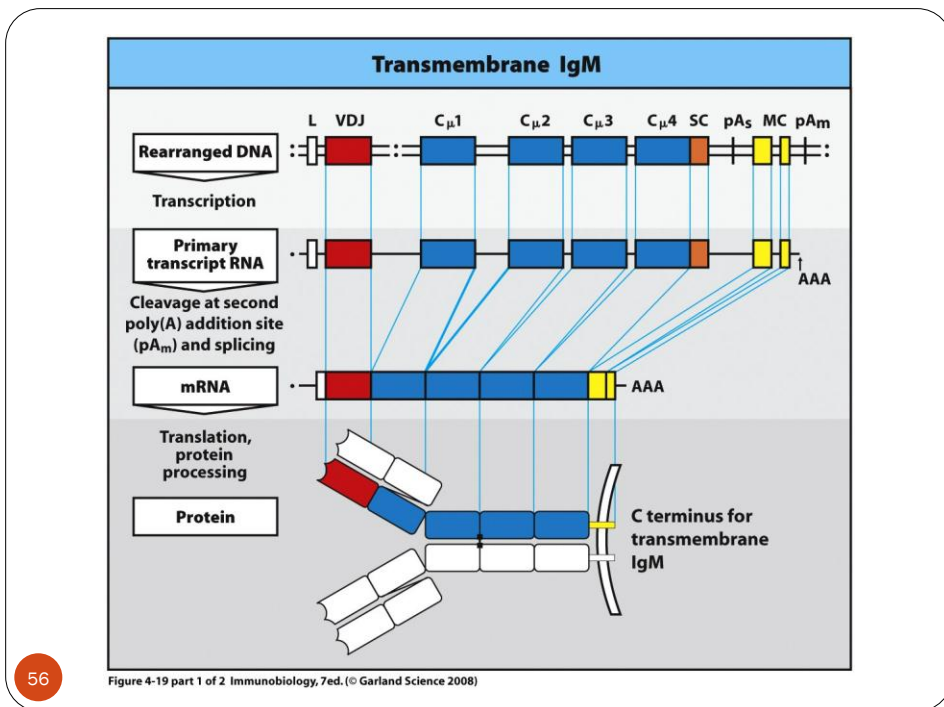
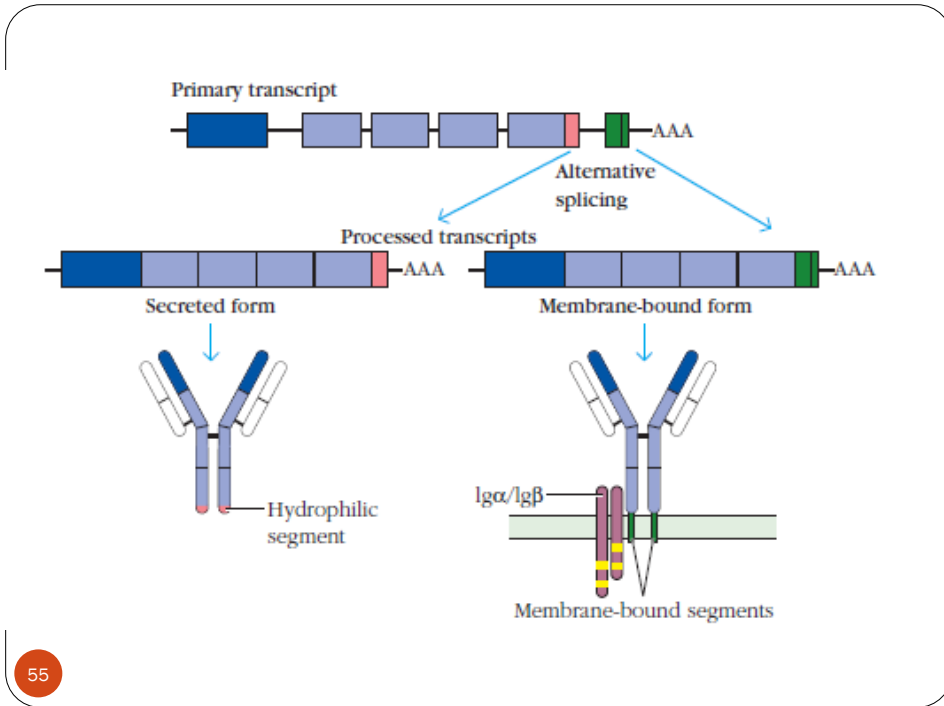


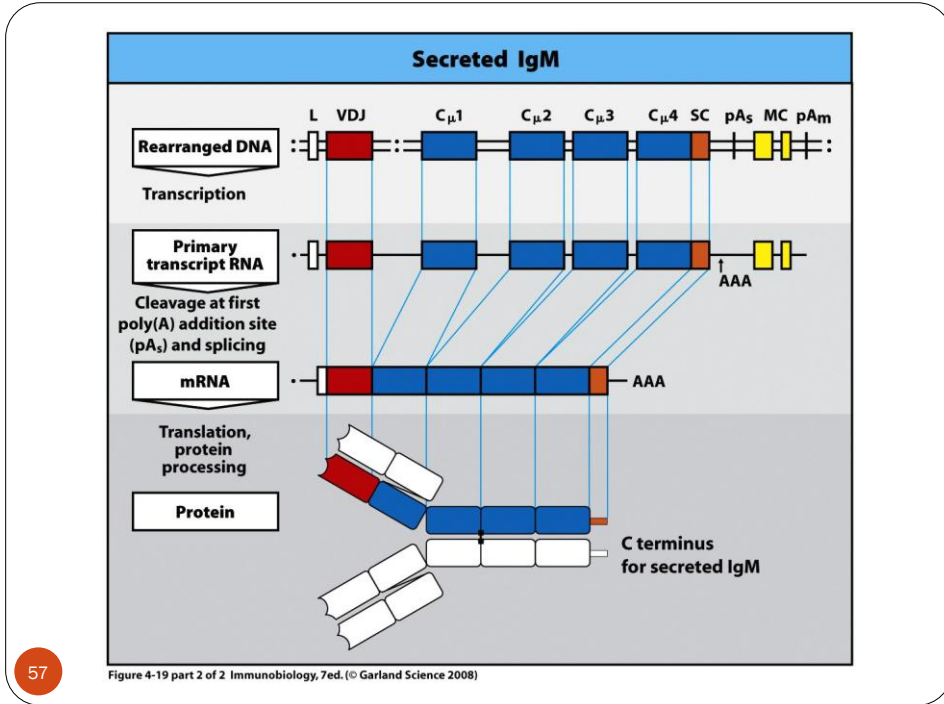


53

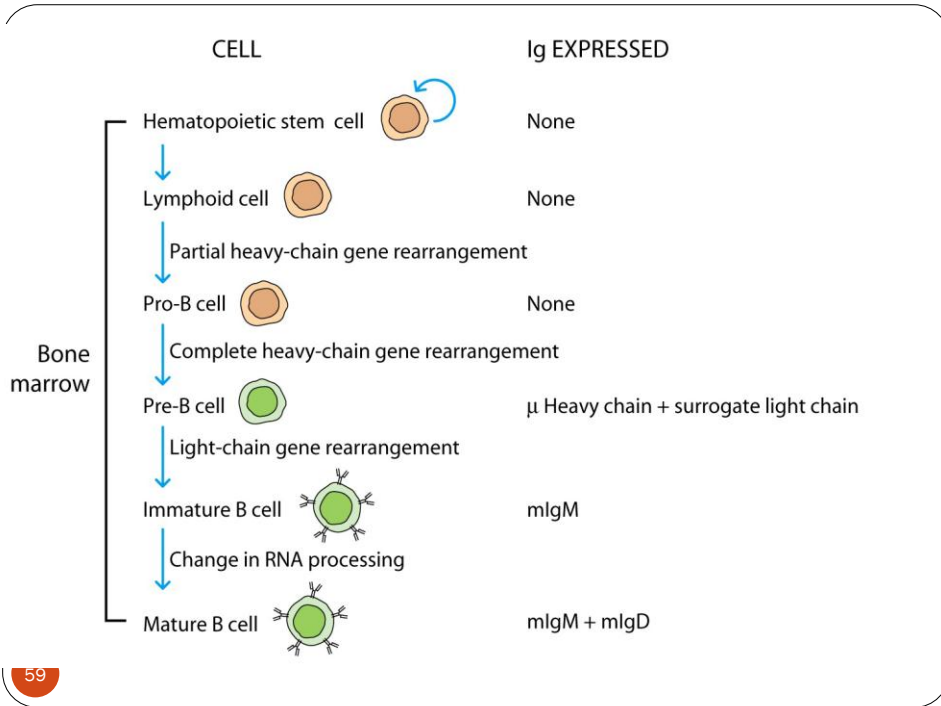


54





بیان همزمان IGM و IGD
در سطح RNA



59

