



*Better health through
laboratory medicine.*

CÁPSULAS EN MEDICINA DE LABORATORIO

Título: Genética de las inmunoglobulinas y de los receptores de células T

Ponente: Bing Melody Zhang

Adscripción: Facultad de Medicina de la Universidad de Stanford

DOI: 10.15428/CCTC.2020.318055



Temario

- Estructura de inmunoglobulina (Ig) y TCR (receptor de células T)
- Genética de TCR/Ig
- Desarrollo de células T/B y reordenamiento del gen TCR/Ig
- Prueba molecular del reordenamiento de TCR/Ig
- Utilidad clínica del análisis de reordenamiento molecular de TCR/Ig en neoplasias linfoides



Inmunoglobulina (Ig) and Receptor de células T (TCR)

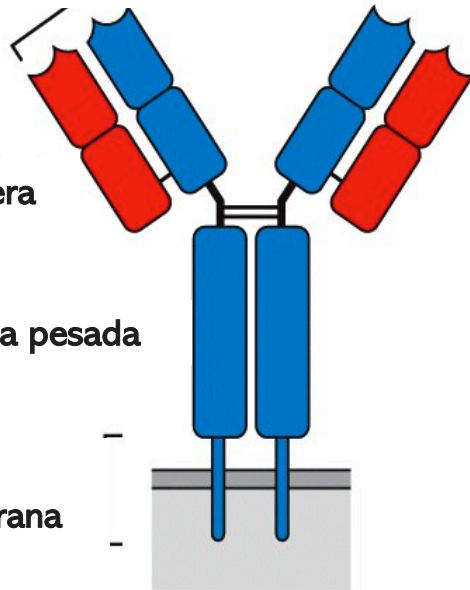
Inmunoglobulina de superficie o receptor de células B

Sitio de unión al antígeno

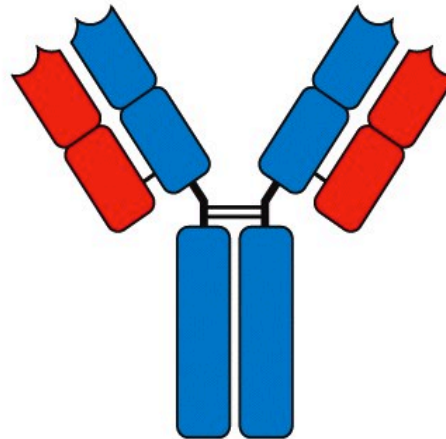
Cadena ligera

Cadena pesada

Región transmembrana



Anticuerpo



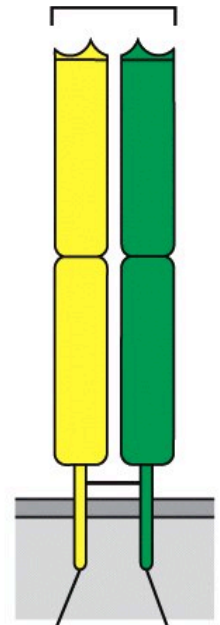
Receptor de células T

Sitio de unión al antígeno

Regiones variables

Regiones constantes

Región transmembrana



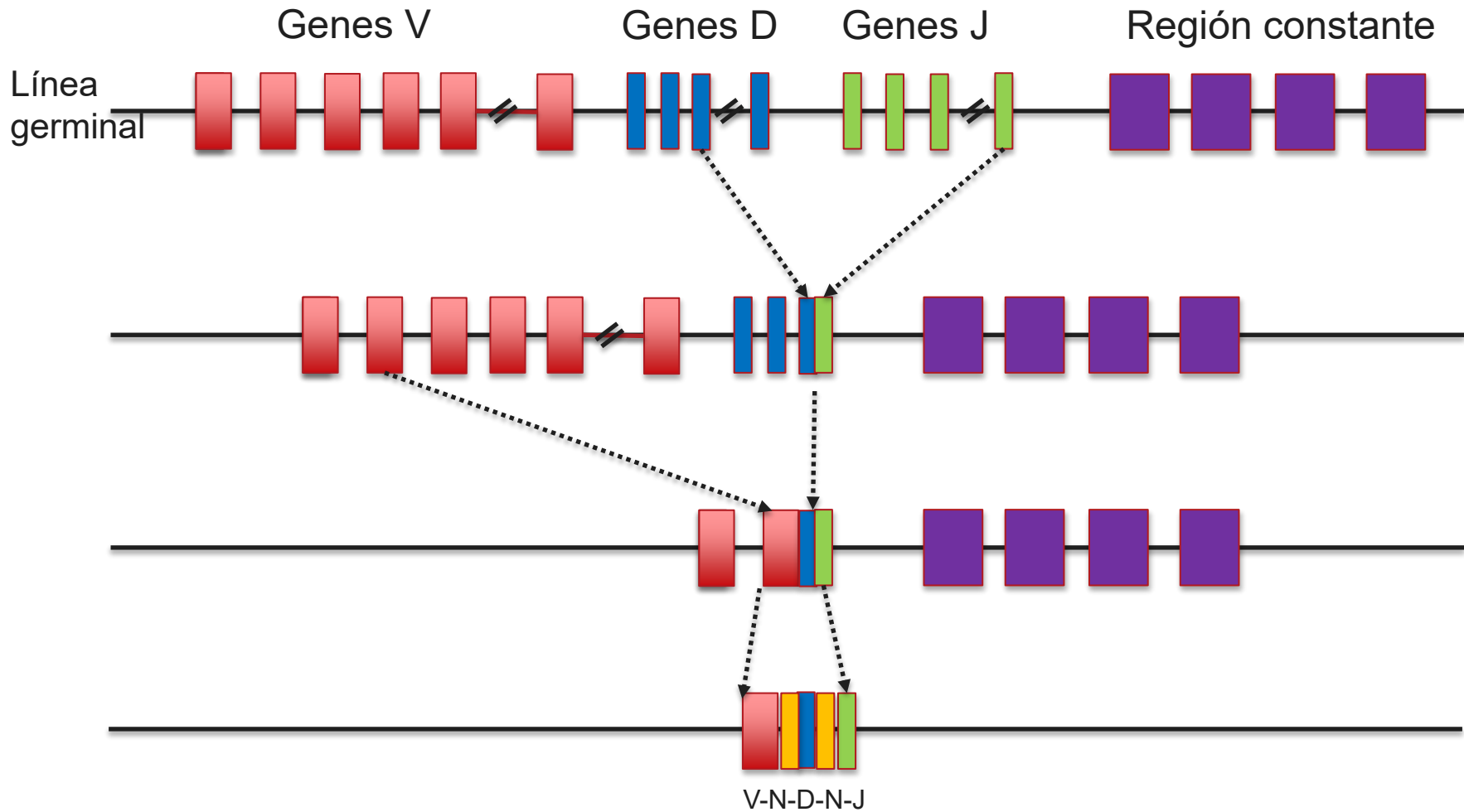
Cadena α Cadena β

Genética de TCR/Ig

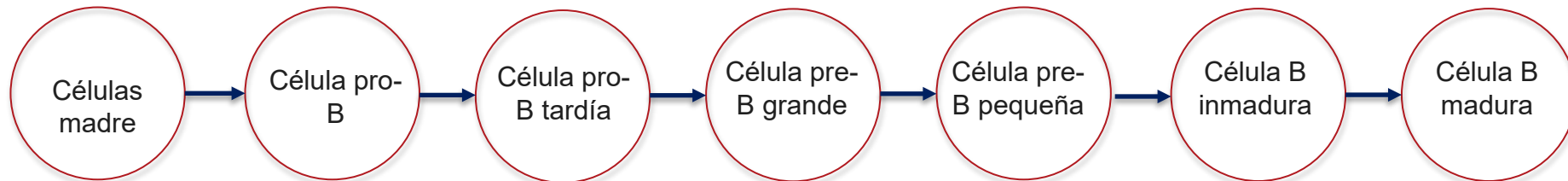
- Cada cadena de receptor está codificada en el genoma de la línea germinal como diferentes segmentos de genes (V, D, J).
- Durante el desarrollo de los linfocitos T / B, los segmentos de genes se someten a una recombinación de ADN somática aleatoria (VDJ o VJ) para formar una secuencia de región variable completa, conocida como reordenamiento de genes.
- Inserción y deleción sin plantilla de nucleótidos aleatorios en las regiones de unión.
- Hipermutación somática: alta tasa de mutaciones puntuales en la región V de los genes Ig (células B maduras).



Reordenamiento del gen IGH



Desarrollo de células B y reordenamiento del gen BCR/Ig



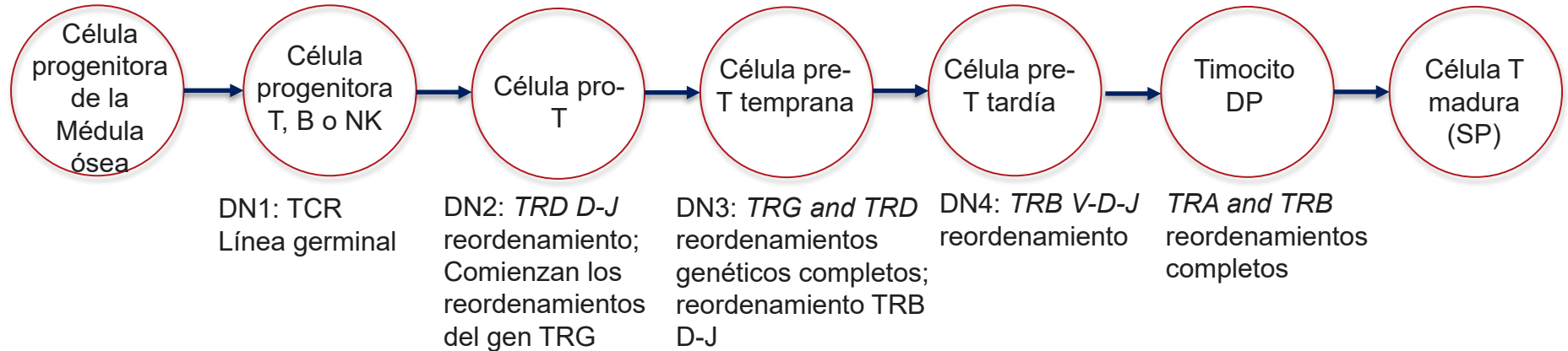
<i>IgH</i> : línea germinal	D-J se unen	V-DJ se unen	VDJ reordenable	VDJ reordenable	VDJ reordenable	VDJ reordenable
<i>IgK/L</i> : línea germinal	línea germinal	línea germinal	línea germinal	V-J se unen	VJ reordenable	VJ reordenable

Orden de los reordenamientos genéticos:

IGH → *IGK*

Si falla la reordenación de *IGK* → Reordenamiento del gen *IGL*

Desarrollo de células T y reordenamiento del gen TCR



Orden jerárquico de los reordenamientos del gen TCR::

Reordenamiento del gen *TRD*, seguido de *TRG* → expression de $TCR\gamma\delta$

○

Seguido por reordenamientos y delección de *TRB*, luego *TRA* reordena → la expression de $TCR\alpha\beta$

Número estimado de segmentos de genes V, D, J humanos no polimórficos potencialmente implicados en los reordenamientos del gen TCR/Ig

Segmentos de genes		Genes Ig			Genes TCR			
		<i>IGH</i>	<i>IGK</i>	<i>IGL</i>	<i>TRA</i>	<i>TRB</i>	<i>TRG</i>	<i>TRD</i>
V	Funcional	44	43	38	46	47	6	8
	Reordenable	66	76	56	54	67	9	8
D	Reordenable	27	-	-	-	2	-	3
J	Funcional	6	5	4	53	13	5	4
	Reordenable	6	5	5	61	13	5	4

Reordenamientos clonales de TCR/Ig en neoplasias linfoides

- Se esperaría que las células neoplásicas linfoides derivadas de la única célula precursora común alberguen secuencias de ADN de TCR/Ig idénticas (marcadores tumorales).
- Aunque la gran mayoría de las neoplasias linfoides contienen secuencias idénticas del gen TCR/Ig, los reordenamientos del gen TCR/Ig no son necesariamente específicos del linaje.

Pruebas moleculares de reordenamientos de TCR/Ig

- Métodos/Técnicas:
 - Southern blot
 - Electroforesis capilar por PCR
 - Secuenciación de nueva generación

- Tipos de aplicaciones:
 - Análisis de clonalidad
 - Enfermedad residual mínima (EMR)*



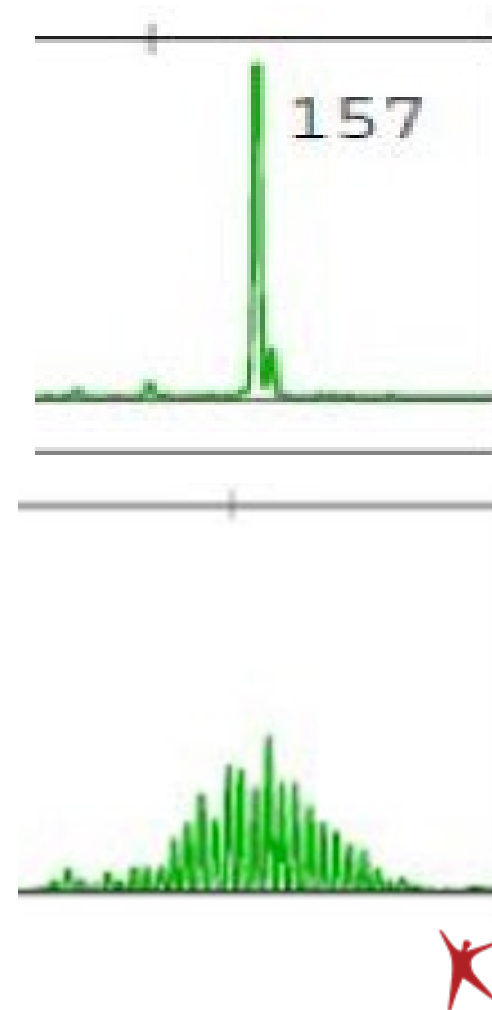
Análisis de reordenamiento de TCR/Ig basado en Southern blot

- Solía ser considerado como estándar de oro para las pruebas de clonalidad.
- Requiere una gran cantidad de ADN de alto peso molecular
- Menor tasa de falsos positivos
- 5-10% de sensibilidad analítica
- Requiere digestión con enzimas de restricción; es laborioso
- Tiempo de respuesta: 1-2 semanas
- No apto para rastrear clones

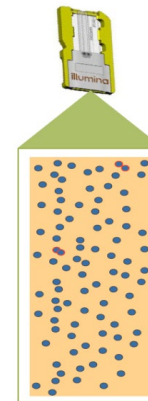


Análisis de clonalidad de TCR/Ig basado en PCR/CE

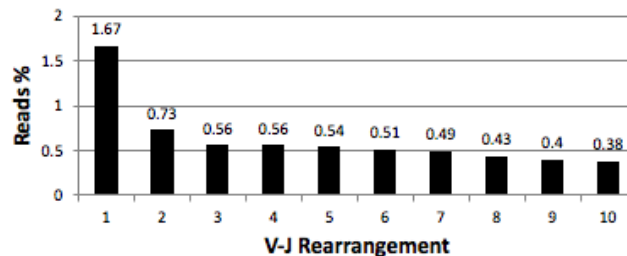
- Requiere una pequeña cantidad de ADN
- ADN degradado aceptable (FFPE)
- Interpretación basada en el tamaño de los fragmentos; Sin necesidad de digestión con enzimas de restricción
- Sensibilidad: 2-5%
- Ayuno: TAT de 1-2 días
- No apto para análisis de la enfermedad residual mínima/medible (ERM)*



Análisis de reordenamiento de TCR/Ig basado en NGS



Name	Total count	Rank	Sequence	Length	Merge count	V-gene	J-gene	% total reads
18-CLONE29-A008	1109327	1	CAAAGCTGCTGTCCACTACTATGACAAAGATTTTAAACAATGAAGCAGACACCCCTGATAACTCCAATCCAGGAC	254	18498	Vb15	Jb2-5	1.6674975
18-CLONE29-A008	1109327	2	CCTTCCATTTTAAATCACTGCCTTTGTCTTTTCCAAGCCCCACACAGTCAGACTAACCTCTGCCACCTGCGCTTCCTG	193	8146	Db2	Jb2-7	0.7343191
18-CLONE29-A008	1109327	3	TTCAGTTCCTTTTGAATACTTCAGTGAGACACAGAGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCTCAGGGCGCCA	197	6240	Vb5-1	Jb1-2	0.5625032
18-CLONE29-A008	1109327	4	ATGGGCTGAGGCTGATCCATTACTCATATGGTGTCAAGACACTAACAAAGGAGAAGTCTCAGATGGCTACAGTG	197	6188	Vb10-1	Jb2-1	0.5578157
18-CLONE29-A008	1109327	5	GGAGGTGAGAAGGAAGCCCCGGCCTGGTCCATACCCACCACTTGATAATGGGGGGTGATGTACCCCA	215	5990	Db1	Jb1-2	0.5399670
18-CLONE29-A008	1109327	6	TTCAGTTCCTTTTGAATACTTCAGTGAGACACAGAGAAACAAAGGAAACTTCCCTGGTCGATTCTCAGGGCGCCA	191	5630	Vb5-1	Jb1-1	0.5075149
18-CLONE29-A008	1109327	7	GGAGGTGAGAAGGAAGCCCCGGCCTGGTCCATACCCACCACTTGATAATGGGGGGTGATGTACCCCA	206	5486	Db1	Jb1-1	0.4945341
18-CLONE29-A008	1109327	8	AACAATCGATTCTAGCTGAAAGGACTGGAGGGACGTATTCTACTCTGAAGGTGCAGCCTGCAGAACTGGAGGAT	138	4720	Vb14	Jb2-7	0.4254832
18-CLONE29-A008	1109327	9	CCTTCCATTTTAAATCACTGCCTTTGTCTTTTCCAAGCCCCACACAGTCAGACTAACCTCTGCCACCTGCGCTTCCTG	200	4426	Db2	Jb2-2	0.3989806
18-CLONE29-A008	1109327	10	CATGACAAAATGACTGGTATCAACAAGATCCAGGAATGGAACTACACCTCATCCACTATTCTATGGAGTTAATT	252	4265	Vb25-1	Jb2-7	0.3844673



Utilidad clínica del análisis de reordenamiento molecular de TCR/Ig en neoplasias linfoides

- Ayudar al diagnóstico de casos desafiantes o no concluyentes de trastornos linfoproliferativos
- Evaluación de la relación clonal entre dos o más lesiones en un mismo paciente
- Discriminación entre una recaída y una segunda neoplasia
- Estadificación del linfoma (diseminación/localización)
- Monitoreo/evaluación de la eficacia del tratamiento



Resumen

- Los genes TCR/Ig están codificados en el genoma de la línea germinal como diferentes segmentos génicos.
- Durante el desarrollo de las células T/B, los segmentos de los genes V, (D) y J se someten a una recombinación aleatoria para formar una secuencia completa de la región V, conocida como reordenamiento del gen TCR/Ig.
- Las inserciones adicionales de nucleótidos no emplazados en las regiones de unión durante los reordenamientos de genes y las hipermutaciones somáticas en los genes de Ig aumentan aún más la diversidad del repertorio de TCR/Ig.
- El análisis molecular de los reordenamientos del gen TCR/Ig tiene una utilidad clínica importante en el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias linfoides.

Títulos de figuras y tablas

- Inmunoglobulina (Ig) y receptor de células T (TCR)
- Desarrollo de células B y reordenamiento del gen BCR/Ig
- Desarrollo de células T y reordenamiento del gen TCR
- Reordenamiento del gen IGH
- Número estimado de segmentos de los genes V, D, J humanos implicados en los reordenamientos de los genes TCR/Ig



Referencias

1. Staal FJ, Weerkamp F, Langerak AW, et al. Transcriptional control of T lymphocyte differentiation. *Stem Cells* 2001;19(3):165-79.
2. Bagg A. Immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements: minding your B's and T's in assessing lineage and clonality in neoplastic lymphoproliferative disorders. *J Mol Diagn* 2006;8(4):426-9.
3. Parham P. *The Immune System*. 3rd edition. Garland Science 2009.
4. Merker JD and Arber DA. *Molecular Pathology in Clinical Practice*. 2nd edition: 2016; Chapter 43.
5. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257-317.
6. Gazzola A, Mannu C, Rossi M, et al. The evolution of clonality testing in the diagnosis and monitoring of hematological malignancies. *Ther Adv Hematol*. 2014;5(2):35-47.



Declaraciones/Posibles Conflictos de Interés

Previa presentación de esta cápsula, el ponente completó el formulario de declaraciones de Clinical Chemistry. Declaraciones y/o posibles conflictos de interés:

- **Empleo o Liderazgo:** Ninguno declarado
- **Consultor o rol consultivo:** Ninguno declarado
- **Propiedad de acciones:** Ninguno declarado
- **Honorarios:** Invivoscribe
- **Financiamiento para la investigación:** Ninguno declarado
- **Testimonio de Expertos:** Ninguno declarado
- **Patentes:** Ninguno declarado



Agradecemos su participación en esta Cápsula
en Medicina de Laboratorio Clínico del *Clinical
Chemistry* Trainee Council

Puede encontrar nuestras próximas Cápsulas y
más información del Trainee Council en:

www.traineecouncil.org

Descargue la app gratuita de *Clinical Chemistry*
en iTunes para obtener contenido adicional

Síguenos en:

