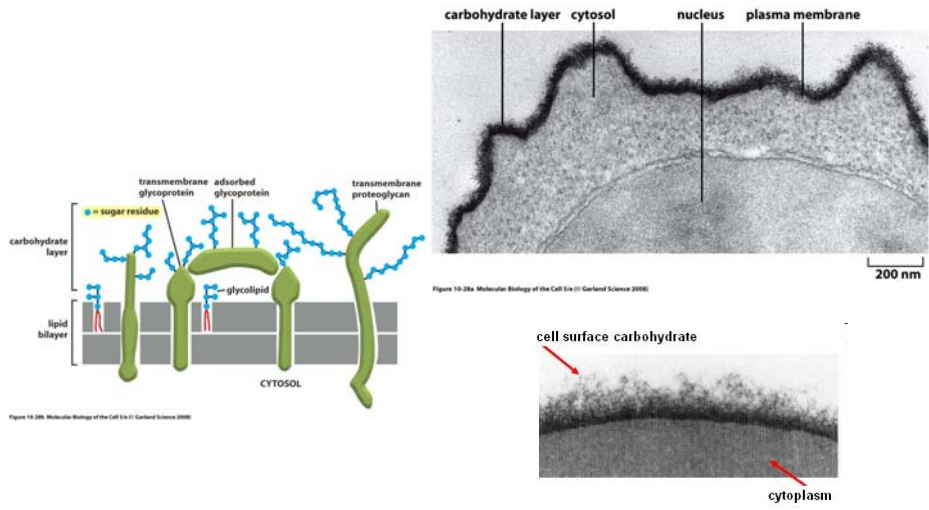
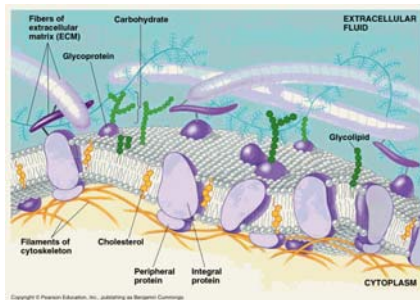


GLICOALICE



Science 291 No 5512 (2001)
Copyright (2001) American Association for the Advancement of Science

- Tutte le membrane plasmatiche e alcuni altri tipi di membrana interne contengono quantità significative di **carboidrati associati a lipidi e a proteine** (es. la membrana plasmatica del globulo rosso consiste, in peso, in circa 40% di lipidi, 52% di proteine e 8% di carboidrati).
- I carboidrati sono localizzati sulla **superficie esterna** e servono come **siti di riconoscimento**.
- Alcuni dei carboidrati di membrana sono legati covalentemente ai lipidi formando i **glicolipidi**. Queste unità di carboidrati spesso servono come **segnali di riconoscimento** per le interazioni fra cellule. Ad esempio, la componenti di carboidrati di alcuni glicolipidi viene modificata quando la cellula diventa tumorale. Questa modificazione potrebbe servire a identificare la cellula come cellula cancerosa da distrurre da parte dei globuli bianchi.

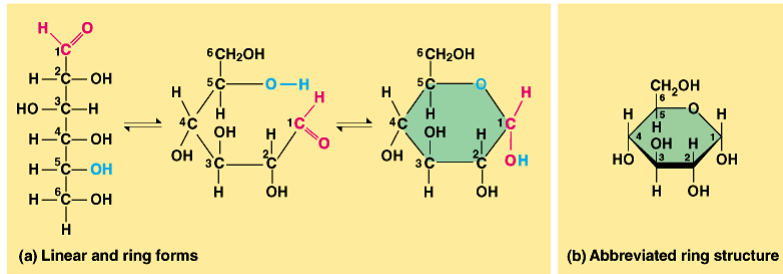


<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/plasmamembrane.htm>

GLICOPROTEINE

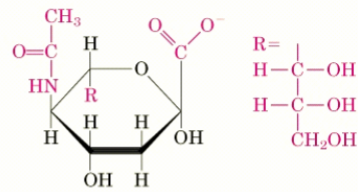
- La maggior parte dei carboidrati delle membrane è collegata covalentemente a proteine, formando **glicoproteine**. I carboidrati legati sono **catene oligosaccaridiche**, che di solito non eccedono 15 unità monosaccaridiche.
- Un piccolo numero di monosaccaridi può fornire un **alfabeto per generare una gran diversità di messaggi**. Si ottengono messaggi diversi quando **tipi diversi di monosaccaridi si collegano in siti diversi e in numero diverso**. Ricordiamoci che i monosaccaridi si possono collegare a livello di atomi di carbonio diversi per formare oligomeri ramificati. La possibilità di avere **diversi quadri di ramificazione** già di per se aumenta enormemente la **specificità e diversità dei segnali** che gli oligosaccaridi possono fornire.

Monosaccaridi



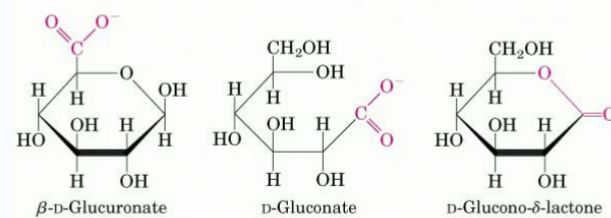
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Acidic sugars

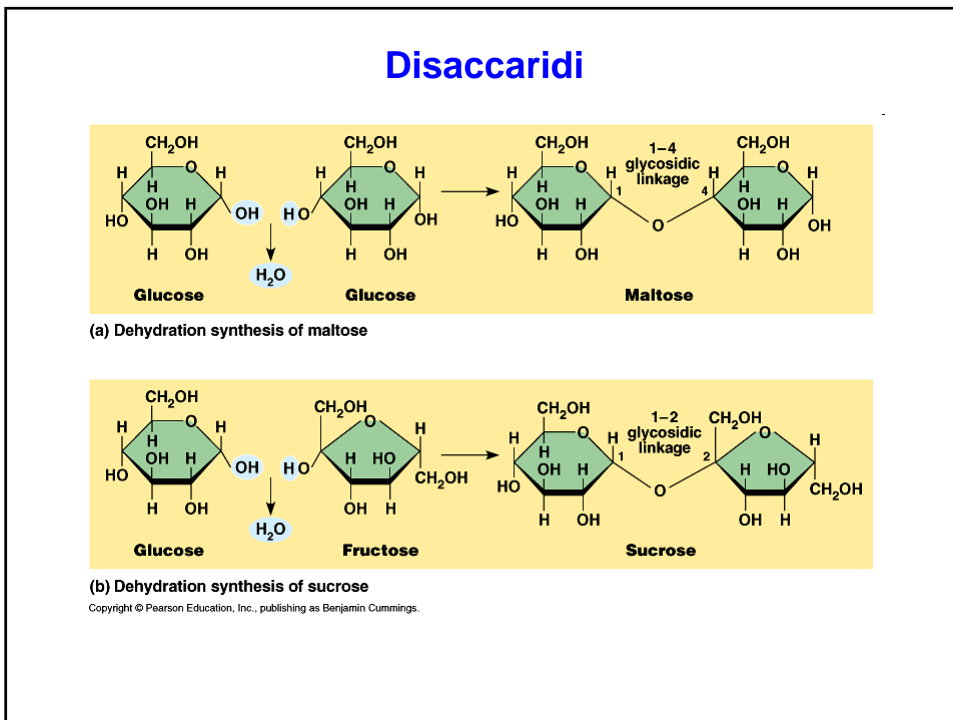
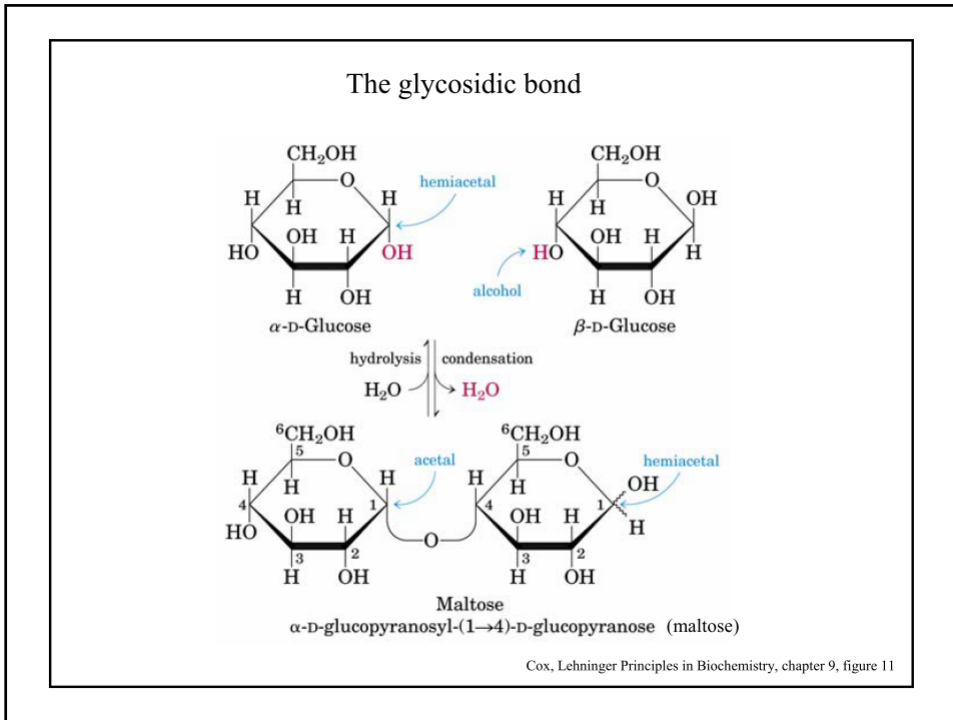


N-Acetylneuraminic acid
(sialic acid)

Glucose and its
biologically
important **acidic**
glucose derivatives



Cox, Lehninger Principles in Biochemistry, chapter 9, figure 9



11 modi diversi di combinare 2 unità di D-glucosio

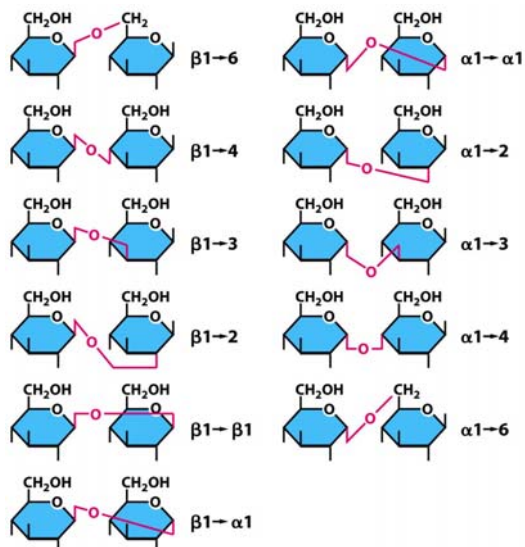
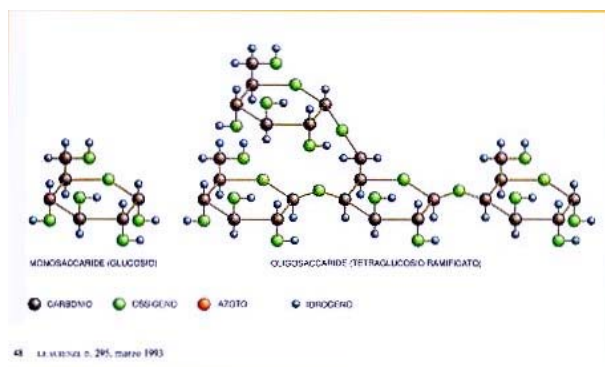
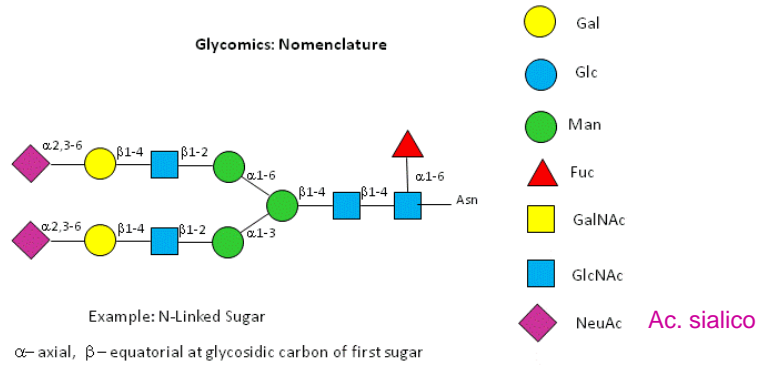


Figure 2-20 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

✚ Gli oligosaccaridi legati a proteine o a lipidi possono avere **6 o più tipi diversi di zuccheri collegati sia mediante legami glicosidici lineari che ramificati**, quindi il numero di tipi diversi di oligosaccaridi che si possono formare è estremamente elevato.



Nuova nomenclatura visuale per la glicobiologia

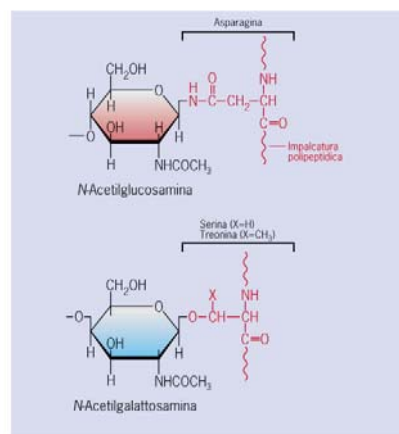


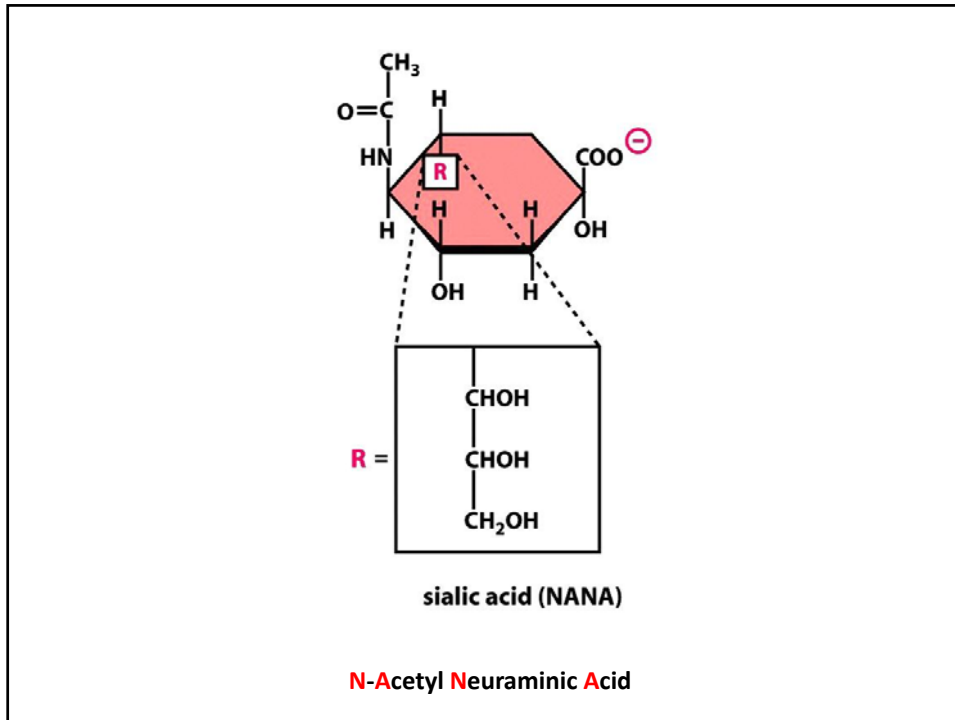
Consortium for Functional Glycomics (2005)

Glicoproteine

✚ Nei tessuti sono presenti due classi fondamentali di glicoproteine:

- quelle che contengono oligosaccaridi legati mediante **legame O-glicosidico** agli aminoacidi **serina** e **treonina**.
- quelle che contengono oligosaccaridi legati mediante **legame N-glicosidico** all'aminoacido **asparagina**.

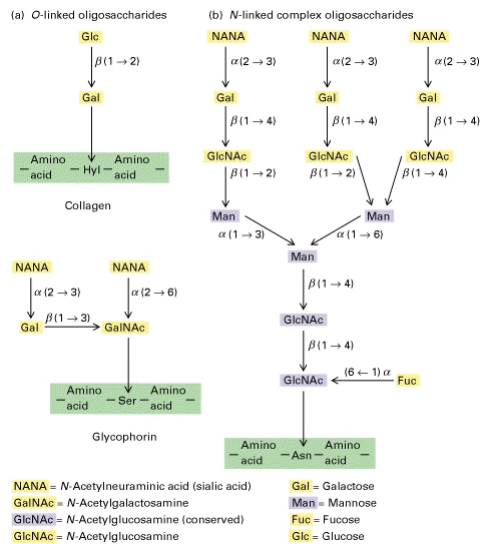


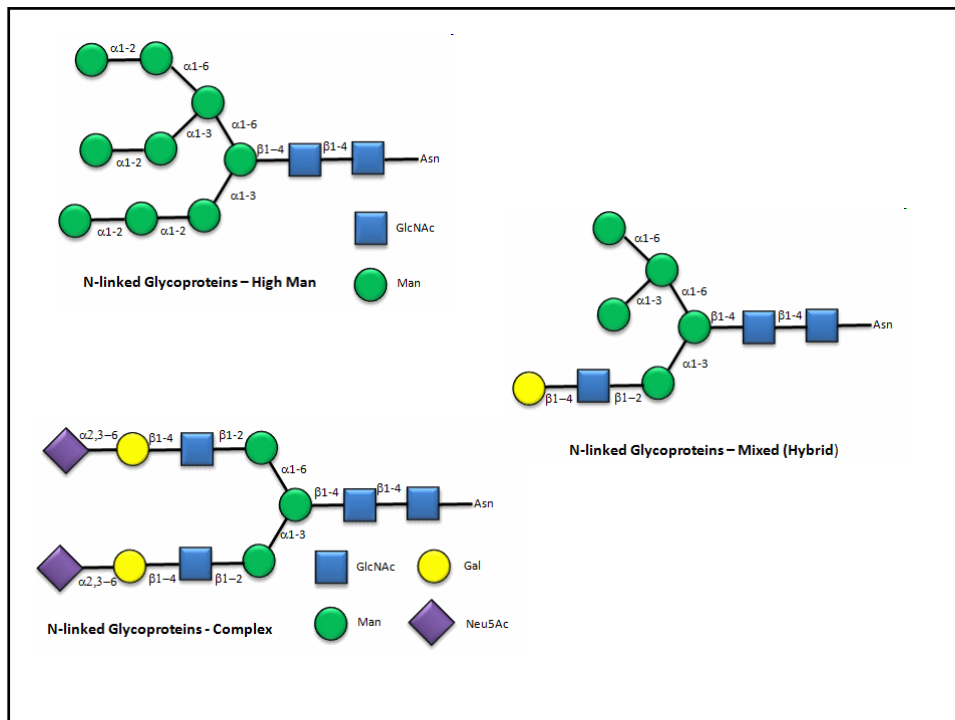


Oligosaccaridi "O-linked" e "N-linked"

(a) Gli **oligosaccaridi legati ad O-** della glicoforina e di molte altre glicoproteine, sono legati al gruppo ossidrilico di residui di serina (Ser) o treonina mediante la N-acetilgalattosamina. I collagene contengono un disaccaride caratteristico glucosio-galattosio legato a residui di idrossilina (Hyl) (*N.B. Il collagene verrà trattato nel capitolo della matrice extracellulare*).

(b) Gli oligosaccaridi **N-legati** che si trovano nelle glicoproteine seriche dei Mammiferi esibiscono strutture molto diversificate, ma tutti contengono cinque zuccheri (evidenziati in porpora), ramificati e legati all'azoto amidico dell'asparagina (ASN).





GLICOPROTEINE – Glicosilazione (1)

✚ Una singola glicoproteina può anche contenere **sia i tipi semplici e complesso** di oligosaccaride (ad es. la tiroglobulina) oppure **sia i tipi N-legati** che **O-legati** (ad es. la glicoforina degli eritrociti umani, alcune immunoglobuline, ecc).

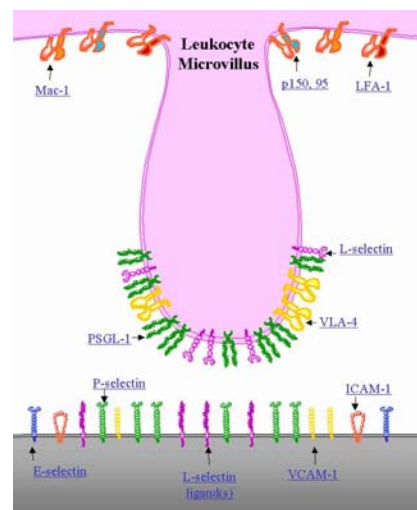
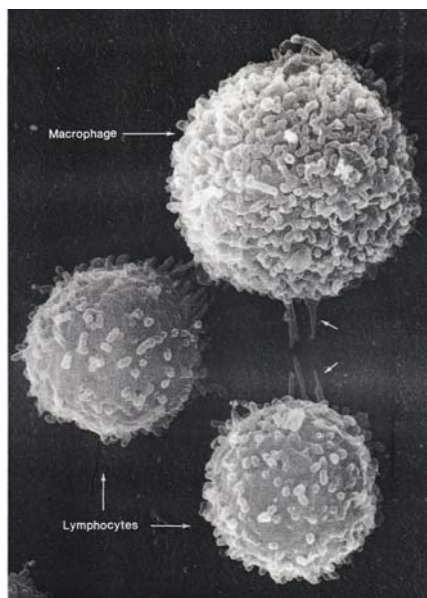
✚ **Mucine**: Mucoproteine ad elevato peso molecolare che formano un **biofilm protettivo** sulla superficie delle cellule epiteliali dove forniscono una barriera contro la materia particolata e i microorganismi. **Le mucine ancorate alle membrana possono avere ruoli aggiuntivi che riguardano le interazioni proteiche che si svolgono sulla superficie cellulare** (Vd. *Molecole di adesione*).

GLICOPROTEINE – Glicosilazione (2)

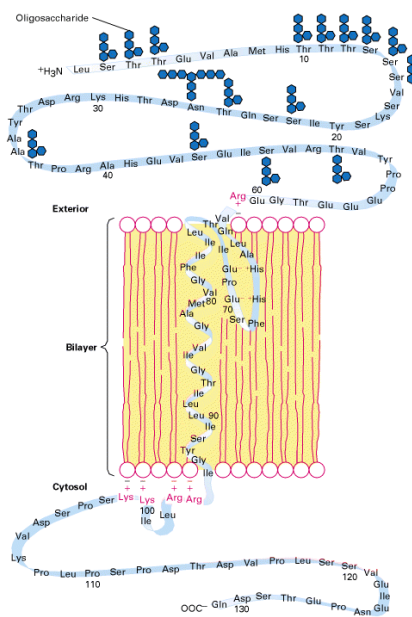
✚ Il legame di oligosaccaridi ai peptidi **aumenta la loro solubilità**, **ricopre il dominio antigenico** e **protegge lo scheletro peptidico dagli enzimi degradativi proteasi**.

✚ I **carboidrati spesso modulano le funzioni delle proteine**, come nel caso **dell'acido polisialico** legato alle molecole di adesione neurale (**N-CAM**) della superfamiglia delle immunoglobuline.

✚ Viceversa, i residui di carboidrati delle glicoproteine seriche e degli ormoni glicoproteici ipofisari sono coinvolti nei processi di **rimozione dalla circolazione a livello renale** ("clearance") oppure ad **indirizzare gli ormoni ai loro rispettivi organi bersaglio**.

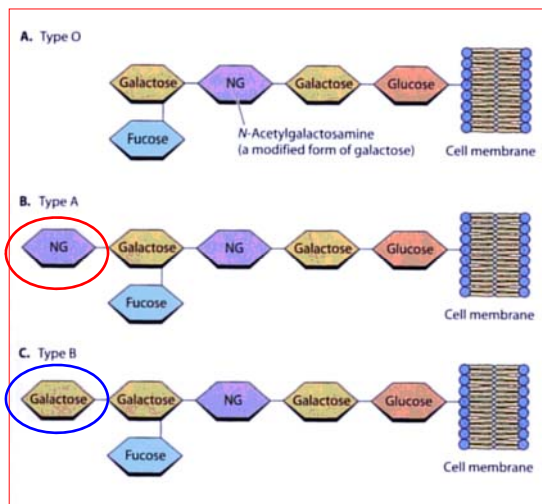


Glicoforina



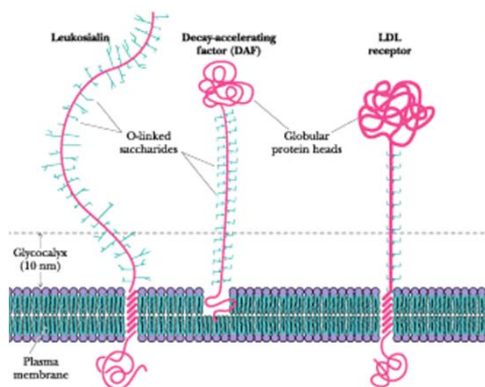
- ✚ La **N-glicosilazione** avviene nella maggior parte delle specie animali, ma ci sono anche **carboidrati specie- o organo-specifici**. E' importante quindi valutare le strutture di carboidrati dei prodotti ricombinanti quando sono applicati all'uomo, dato che abbiamo forti anticorpi naturali contro i carboidrati.
- ✚ Negli animali inferiori sono state descritte strutture di carboidrati ed attività glicosiltrasferasiche diverse da quelle che di solito si trovano negli animali superiori.
- ✚ Queste scoperte forniscono le basi per indagare come mai **gli animali superiori abbiano acquisito o richiedano strutture di carboidrati specifiche**.

Antigeni dei gruppi sanguigni ABO umani



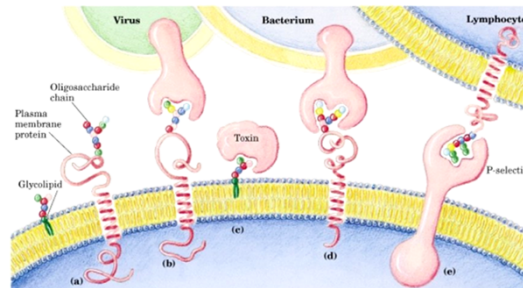
✚ La struttura degli zuccheri terminali del componente oligosaccaridico di questi glicolipidi e glicoproteine distingue i tre antigeni.

✚ La presenza o assenza di particolari glicosiltrasferasi determina il gruppo sanguigno di un individuo.



✚ I saccaridi "O-linked" delle glicoproteine sembrano in molti casi adottare conformazioni estese che servono ad **estendere i domini funzionali di queste proteine sopra la superficie cellulare.**

Saccharides and Cell Adhesion



✚ I carboidrati associati alla membrana plasmatica si trovano **sempre sulla superficie esterna**.

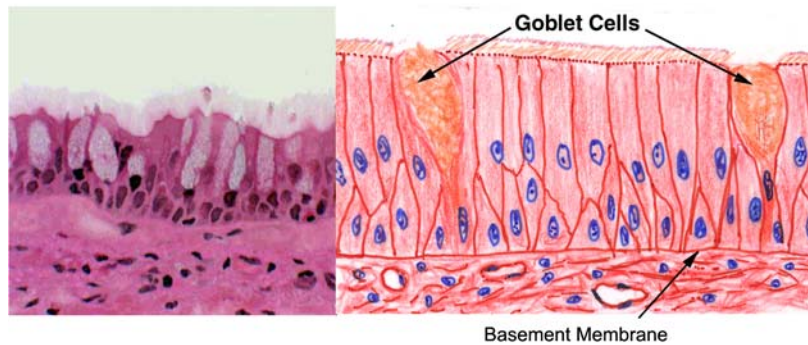
✚ In questa localizzazione la loro diversità strutturale è importante per le reazioni di legame che si svolgono sulla **superficie cellulare**, la **regione in cui le cellule riconoscono e reagiscono con sostanze specifiche**.

Mucine (1)

- ✚ Le **mucine** possono essere:
 - **glicoproteine fortemente O-glicosilate** che si trovano nelle **secrezioni mucose**
 - **glicoproteine transmembrana** della membrana plasmatica che hanno la frazione glicanica esposta alla superficie cellulare.
- ✚ Le mucine delle secrezioni mucose possono essere **grandi e polimeriche** (mucine formanti **gel**) o più corte e monomeriche (mucine solubili).
- ✚ Molte cellule epiteliali producono mucina, ma le mucine formanti gel sono prodotte soprattutto dalle **cellule caliciformi** o **mucipare** dei tratti tracheobronchiale, gastrointestinale e genitourinario.
- ✚ Nelle cellule caliciformi, le mucine sono immagazzinate intracellularmente in granuli di mucina dai quali possono essere secrete rapidamente in risposta a stimoli esterni.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1896/#ch9.s2>

Mucine (2)



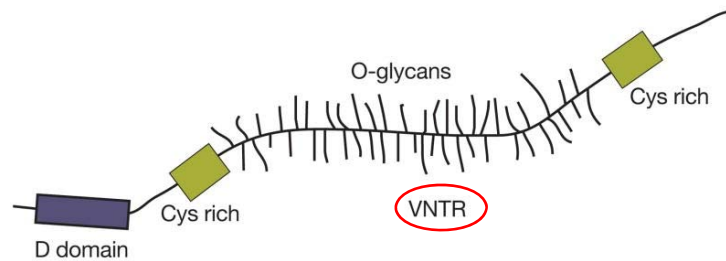
<http://www.vetmed.vt.edu/education/curriculum/vm8054/labs/lab4/lab4.htm>

Mucine (3)

- ✚ La caratteristica tipica delle mucine è la **presenza di segmenti peptidici ripetuti** chiamati regioni di **“variable number of tandem repeat” (VNTR)** che sono ricche di siti accettori di treonina-PO-glicano e hanno abbondanti mucina O-glicani che comprendono 80% della molecola in peso.
- ✚ Le ripetizioni a tandem sono di solito ricche di residui di prolina che sembrano facilitare la glicosilazione O-GalNAc.
- ✚ Le mucine possono avere centinaia di glicani O-GalNAc legati a residui di serina o treonina nelle regioni VNTR.
- ✚ L’aggregazione di glicani O-GalNAc induce le glicoproteine muciniche ad adottare una **conformazione estesa** simili ad una tipo “spazzola per pulire le bottiglie”.

Seminario

Mucine (4)



Modello semplificato di una mucina secreta di grandi dimensioni. **La regione VNTR** (“variable number of tandem repeat”), molto ricca di serina e treonina e prolina, è altamente O-glicosilata; in questo modo il peptide assume una conformazione a “spazzola per bottiglie”. Centinaia di O-galNAc glicani con molti tipi di struttura diversi, possono essere legati ai residui di serina o treonina nei domini VNTR. **Le regioni ricche di cisteina** alle estremità delle molecole sono coinvolte nella formazione di legami disolfuro formando polimeri di grandi dimensioni di diversi milioni di Dalton. I domini D hanno somiglianza con il fattore di von Willebrandt e sono coinvolti nella polimerizzazione.

Seminario

Seminario

(possibile approfondimento per esame)

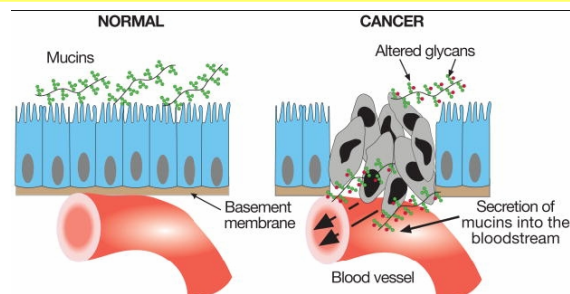
Glicoproteine

ALTERAZIONI DELLE MUCINE NEI TUMORI

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1963/>

ALTERED EXPRESSION AND GLYCOSYLATION OF MUCINS

Mucins are large glycoproteins with a "rod-like" conformation, which carry many clustered glycosylated serines and threonines in tandem repeat regions (see Chapter 9). Overexpression of mucins in carcinomas has been described for many years, starting with the classic studies of episialin (now known as MUC-1) on mouse tumor cells. Most epithelial mucin polypeptides belong to the MUC family. In the normal polarized epithelium, mucins are expressed exclusively on the apical domain, toward the lumen of a hollow organ. Likewise, soluble mucins are secreted exclusively into the lumen. However, loss of correct topology in malignant epithelial cells (Figure 44.2) allows mucins to be expressed on all aspects of the cells, and soluble mucins can then enter the extracellular space and body fluids such as the blood plasma. The simultaneous expression of both membrane-bound and secreted forms of mucins by many carcinoma cells confounds discussion of their pathophysiological roles, because the two forms of mucins could have opposing effects.



Loss of normal topology and polarization of epithelial cells in cancer results in secretion of mucins into the bloodstream. The tumor cells invading the tissues and bloodstream also present such mucins on their cell surfaces.

Seminario

of outer structures on mucins (see Chapters 9 and 50). Apart from specific interactions of the O-glycans with endogenous lectins (see below), the rod-like structures of the mucins and their negative charge are thought to repel intercellular interactions and sterically prevent other adhesion molecules such as cadherins and integrins from carrying out their functions. Thus, in some instances, mucins may act as "anti-adhesins" that can also promote displacement of a cell from the primary tumor during the initiation of metastasis. Evidence suggests that they might also physically block interactions between blood-borne carcinoma cells and the host cytolytic cells such as natural killer cells. In addition, mucins may mask presentation of antigenic peptides by major histocompatibility complex (MHC) molecules.

CHANGES IN SIALIC ACID EXPRESSION IN MALIGNANCY

The classic observation of increased wheat germ agglutinin binding to animal tumor cells is likely explained by an overall increase in cell-surface sialic acid content, which in turn reduces attachment of metastatic tumor cells to the matrix, and may help protect them from recognition by the alternative pathway of complement activation (by recruiting the factor H controlling protein). The increase in sialylation is often manifested as specific increases in α 2-6-linked sialic acids attached to outer *N*-acetylglucosamine (Gal β 1-4GlcNAc units) or to inner GalNAc- α 1-O-Ser/Thr units on O-glycans. There is some evidence that the overexpression of Sia α 2-6Gal β 1-4GlcNAc units on N-glycans may enhance β 1-integrin action. As discussed above, sialyl-Tn expression may well be a "side effect" of decreased O-glycan extension, and it is currently a target for immunotherapy.

Seminario

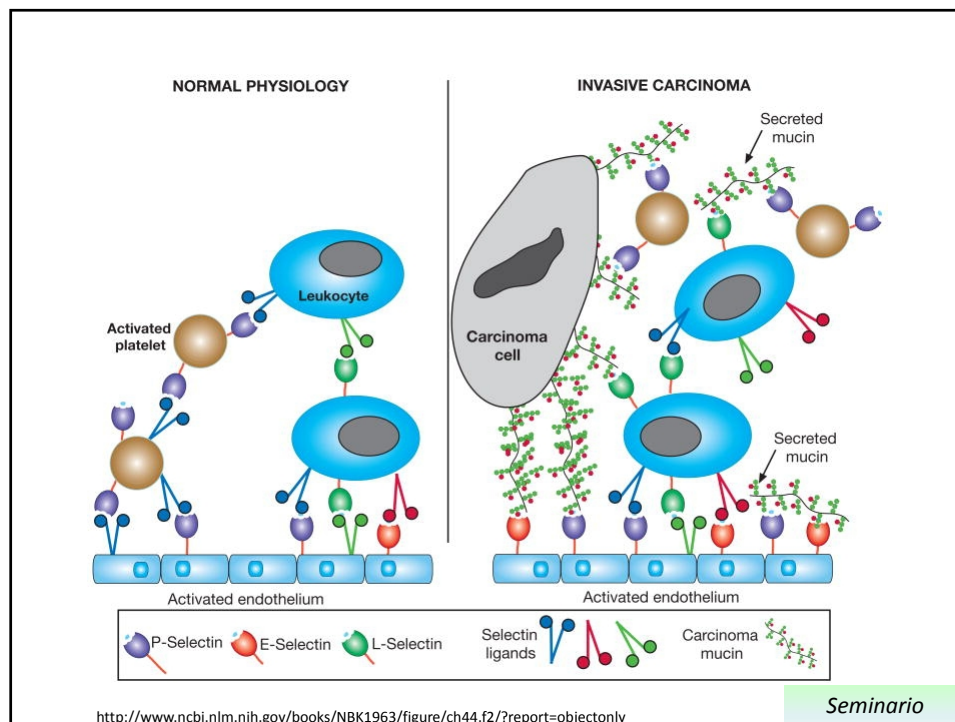
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1963/>

SIALYLATED LEWIS STRUCTURES AND SELECTIN LIGANDS ON CANCER CELLS

Immunohistochemical studies on tumor specimens have shown that Lewis^x and Lewis^a structures (see Chapters 13 and 45) are frequently overexpressed in carcinomas, being carried on O-glycans as well as on N-glycans and glycosphingolipids. Indeed, sialyl Lewis^x and sialyl Lewis^a were first identified as tumor antigens. The expression of these antigens by epithelial carcinomas correlates with tumor progression, metastatic spread, poor prognosis in humans, and metastatic potential in mice. These sialylated fucosylated structures also form critical components of most natural ligands for the selectins (see Chapter 31). Thus, it was reasonable to postulate that tumor cells gain a selective advantage by presenting pathological selectin ligands that mediate interactions with endogenous selectins. Indeed, calcium-dependent selectin ligands on carcinoma cells have been demonstrated, and mucin-like tumor antigens binding to E-selectin were directly demonstrated in the blood of colon carcinoma patients. Likewise, overexpression of E-selectin in the transgenic mouse liver induced redirection of the metastatic patterns of syngeneic carcinomas that normally colonize the lung.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1963/>

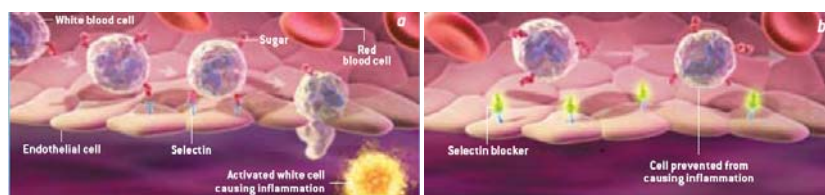
Seminario



Seminario

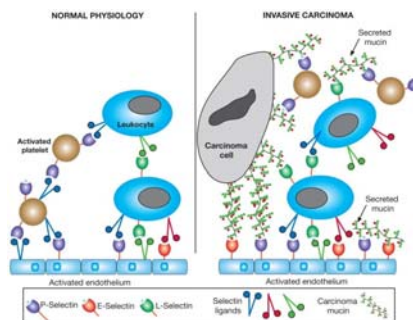
RUOLO DEI CARBOIDRATI

✚ **Ruolo più noto:** Il **carboidrato** è una delle molecole complementari **riconosciute** dalla famiglia proteica di molecole di adesione della classe delle “**selettine**”, espresse sulle cellule endoteliali quando i leucociti migrano verso i siti di infiammazione oppure sui linfociti o quando i linfociti maturi circolano fra la circolazione sanguigna e la circolazione linfatica.



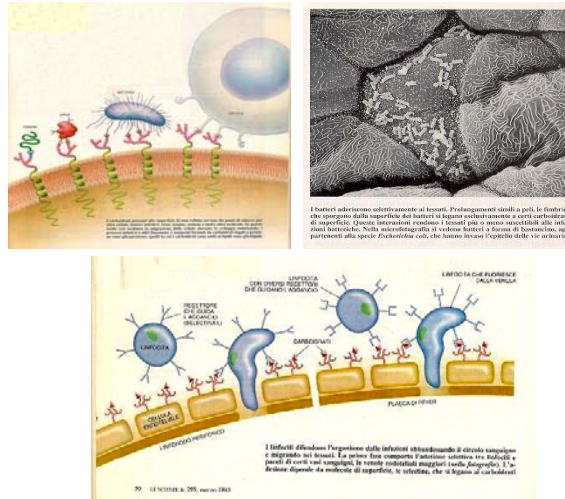
✚ Durante lo sviluppo dell’embrione del topo si osserva una notevole alterazione dell’espressione di antigeni di superficie, che sono soprattutto carboidrati. Il trattamento degli embrioni con zuccheri **aptenici**, con inibitori biosintetici delle glicosiltrasferasi o con glicosidasi di processamento ha provocato l’arresto dello sviluppo in certi stadi, suggerendo che gli antigeni carboidrati sono essenziali, probabilmente a causa del loro coinvolgimento nelle interazioni cellulari. A favore di questa ipotesi, è stata identificata una molecola di tipo lectina nelle cellule dell’embrione di rana nella fase di segmentazione.

✚ Nelle cellule **tumorali** è stata osservata un’alterata glicosilazione delle proteine di superficie, che è coinvolta nei processi di **metastatizzazione**.

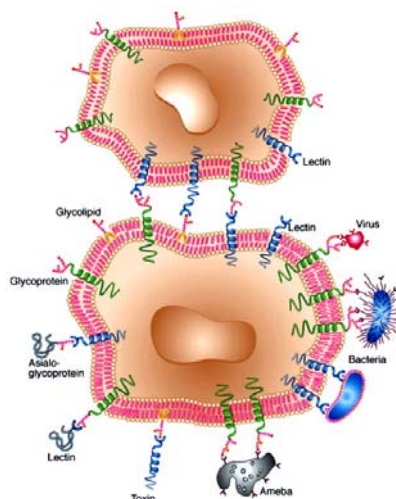


Seminario

Lo svantaggio dei carboidrati espressi sulla superficie cellulare è che le cellule che rivestono la trachea, stomaco o intestino aprono una strada che permette ai microorganismi e ai virus di invadere le cellule.



Seminario



Lectine: proteine che si legano specificamente a zuccheri.

Interazioni fra lectine sulla superficie cellulare e carboidrati. Le lectine fungono da punto attacco sia fra tipi diversi di cellule, che fra virus ed altre cellule, tramite i carboidrati superficiali delle ultime. In alcuni casi, le lectine sulla superficie cellulare si legano a glicoproteine particolari (e.g., asialoglicoproteine), mentre in altri casi i carboidrati di glicoproteine o glicolipidi sulla superficie cellulare servono da siti di attacco per **molecole biologicamente attive** che sono esse stesse **lectine** (e.g. tossine batteriche o vegetali specifiche per carboidrati, galectine).

Galectine: lectine che si legano al β -galattoside; giocano ruolo importante nella stimolazione dei linfociti e nell'agglutinazione delle cellule tumorali