

LEZIONE

Rafts

GLICOLIPIDI E TRASDUZIONE DEL SEGNALE

Protein

FcεRI receptor

T-cell receptor

B-cell receptor

EGF receptor

Insulin receptor

EphrinB1 receptor

Neurotrophin

GDNF

Hedgehog

H-Ras

Integrins

eNOS

Esempi di processi di trasduzione di segnale che coinvolgono i rafts

Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2000 Oct;1(1):31-9.

Rafts lipidici e trasduzione dei segnali (a)

- ✚ La **specificità** e **fedeltà** della **trasduzione dei segnali** sono essenziali per che le cellule rispondano efficacemente a modificazioni nel loro microambiente.
- ✚ Ciò si ottiene in parte mediante **localizzazione differenziale delle proteine** che partecipano alle vie di segnalazione.
- ✚ Nella membrana plasmatica, una delle possibili modalità di compartimentazione utilizza i **rafts lipidici**.

http://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_raft

Rafts lipidici e trasduzione dei segnali (b)

- ✚ I piccoli **rafts lipidici** possono formare **piattaforme di concentrazione dopo l'attivazione dei singoli recettori mediante legame con i ligandi**.
- ✚ Se l'attivazione dei recettori si svolge in un **raft lipidico** il **complesso di segnalamento è protetto da enzimi non presenti nei rafts** come le **fosfatasi di membrana**.
- ✚ Complessivamente, il legame nei rafts **recluta proteine ad un nuovo microambiente** in modo che **lo stato fosforilativo possa essere modificato da chinasi e fosfatasi locali** per originare un segnalamento a valle.

Rafts lipidici e trasduzione dei segnali (c)

+ Segnalamento associato a rafts lipidici:

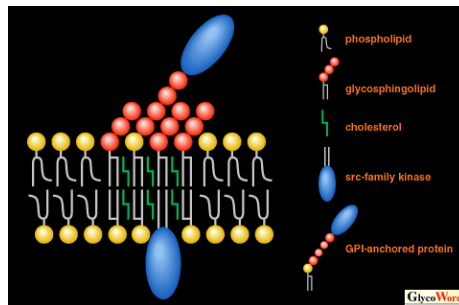
- ◆ da immunoglobuline E
- ◆ da B cell antigen receptor
- ◆ da "T cell antigen receptor"
- ◆ da EGF receptor
- ◆ da insulin receptor
- ◆ ecc.

GLICOLIPIDI E TRASDUZIONE DI SEGNALE

Kohji Kasahara (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science)

- + Hakomori et al. hanno dimostrato che i glicosfingolipidi (GSLs) sono **modulatori della trasduzione di segnale**.
- + L'aggregazione dinamica di GSLs e colesterolo sembra dare origine a **microdomini nell'ambito del bilayer lipidico** e all'associazione di una gran varietà di molecole di segnalamento con questo dominio.
- + **I GSLs sono relativamente ricchi di acidi grassi con catene aciliche sature, che permettono uno stretto impacchettamento e conferiscono temperature di fusione alte.** Viceversa, i **fosfolipidi derivati dal glicerolo sono relativamente ricchi di acidi grassi con catene aciliche cis-insature (stutture a gomito), che impediscono l'impacchettamento stretto, e conferiscono temperature di fusione basse.**

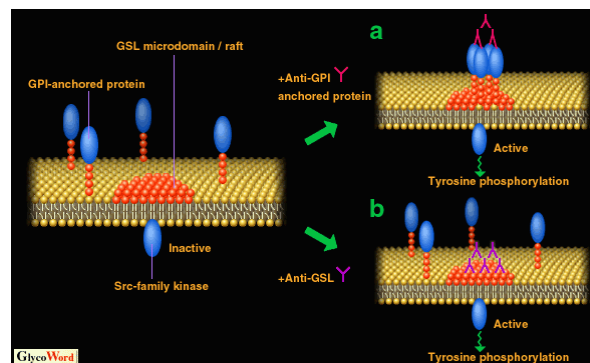
<http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/glycolipid/GLB04E.html>



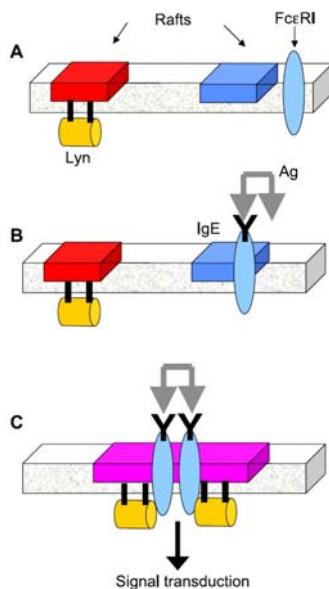
- ✦ **Proteine ancorate tramite GPI**, proteine acilate (con coda di acido grasso) come la **famiglia src delle tirosina chinasi** e le **proteine trimerica G**, sono associate ai microdomini di GSLs.
- ✦ Le **proteine ancorate a GPI** hanno di solito **catene aciliche sature** che probabilmente si inseriscono preferenzialmente nei microdomini GSLs. La **famiglia Src delle proteina chinasi** vengono modificate da lipidi a catena satura (palmitoilazione e miristilazione) che probabilmente si inseriscono preferenzialmente nei microdomini ricchi in GSLs.

<http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/glycolipid/GLB04E.html>

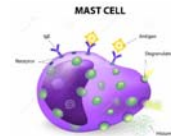
- ✦ Il **cross-linking mediato da anticorpi (o ligandi) delle proteine GPI-ancorate** induce l'**attivazione della famiglia delle src-chinasi** e un transiente aumento della fosforilazione a livello della tirosina di diversi substrati (Fig. 2a). Anche il **cross-linking degli GSLs mediato da anticorpi** induce l'attivazione della **famiglia src delle proteina chinasi** e un transitorio aumento di fosforilazione della tirosina (Fig.2b).



- ✦ Ciò dimostra che **il cross-linking dei GSLs mediato da anticorpi può simulare il segnalamento mediato da proteine GPI-ancorate**. Anticorpi contro le proteine GPI-ancorate fanno immunoprecipitare la famiglia delle src-chinasi, e anticorpi contro i GSL co-immunoprecipitano le src-chinasi e le proteine GPI-ancorate. Inoltre, la rimozione enzimatica della frazione di carboidrati dei GSLs della superficie cellulare ostacola l'attivazione della famiglia delle src-chinasi mediante anticorpo-mediato cross-linking delle proteine GPI-ancorate. Queste osservazioni suggeriscono che i GSLs siano coinvolti nel segnalamento mediato da proteine GPI-ancorate.
- ✦ Nonostante non ci sia ancora accordo sul fatto che le proteine GPI-ancorate si associno stazionariamente ai microdomini di GSLs, si pensa che il cross-linking mediato da anticorpi delle proteine GPI-ancorate induca la traslocazione verso i microdomini GSL o stabilizzino la loro associazione con i microdomini GSL.



Esempio di via di trasduzione di segnale mediata reclutamento di recettori e trasduttori all'interno di aree di raft



(A) Nelle «mast cells» quiescenti il recettore per le IgE (FcεRI) è localizzato fuori dai rafts lipidici e perciò non può interagire con Lyn, una chinasi che della famiglia src ancorata al foglietto interno della membrana plasmatica mediante catene aciliche.

(B) Dopo legame con il complesso antigene (Ag)-IgE a FcεRI, Lyn, e FcεRI vengono reclutati NEI RAFTS;

(C) La coalescenza di rafts indotta dall'antigene multivalente permette l'interazione tra FcεRI e Lyn, provocando la fosforilazione di FcεRI e l'attivazione della via di trasduzione del segnale.

Talbot RL, Yehli N, Ferrnini J. Rafts and related glycosphingolipid-enriched microdomains in the intestinal epithelium: bacterial targets linked to nutrient absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004 Apr;56(6):779-94.

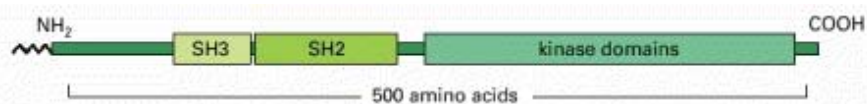
Seminario

SEMINARI

PROTEINE Src, ATTIVAZIONE LINFOCITI E MAST CELLS

Seminario

Proteina Chinasi Src (1)



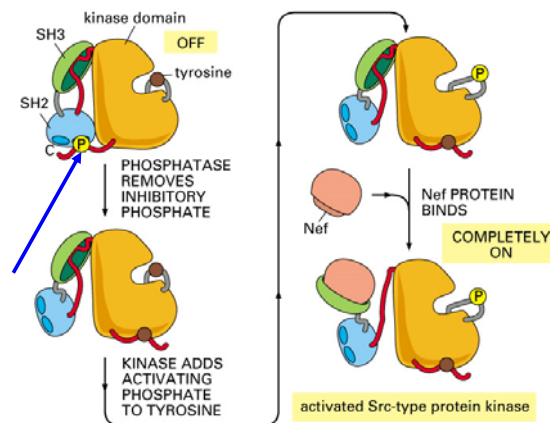
- ✚ La proteina **Src** fu la prima **tirosina chinasi** ad essere scoperta; ora si sa che appartiene ad una sottofamiglia di nove proteine chinasi molto simili, che si trovano solo negli animali multicellulari.
- ✚ La proteina **Src** e i suoi omologhi contengono una **corta regione N-terminale che si lega covalentemente ad un acido grasso fortemente idrofobico, che trattiene la chinasi nella faccia citoplasmatica della membrana plasmatica**. Dopo ci sono due moduli di legame a peptidi (dominio **Src di omologia 3** ("Src homology 3"; **SH3**) e dominio **SH2** che **riconosce la tirosina fosforilata**), seguiti da un **dominio catalitico** ad attività chinasica.
- ✚ Queste chinasi normalmente esistono in una **conformazione inattiva**, nella quale una **tirosina fosforilata** vicino al C-terminale è legata al dominio SH2, e il dominio SH3 è legato ad un peptide interno in un modo che distorce il sito attivo dell'enzima ed aiuta a renderlo inattivo.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?highlight=src,kinase&rid=mboc4.section.452#507>

Seminario

Proteina Chinasi Src (2)

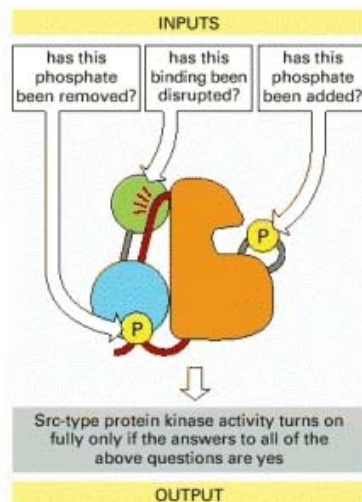
- ✦ Per attivare le chinasi Src ci vogliono due input specifici: (1) rimozione del gruppo fosfato del fosfato C-terminale e (2) legame del dominio SH3 ad una proteina specifica.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26911/figure/A510/>

Seminario

Proteina Chinasi Src (3)

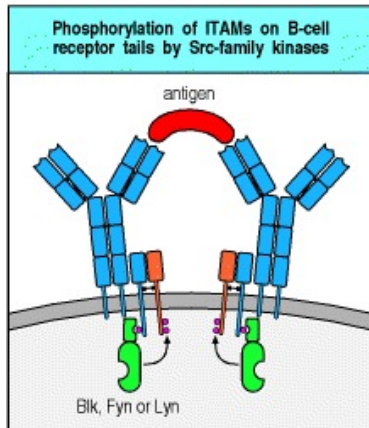


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26911/figure/A511/>

- ✦ L'attivazione della SRC chinasi segnala che un determinato insieme di eventi a monte è stato completato.
- ✦ Perciò la famiglia **Src** funge da **integratore di segnali specifici** che aiuta a generare una complessa rete di eventi di informazione e processamento che permettono alla cellula di calcolare le risposte logiche ad un complesso insieme di eventi.

Seminaro

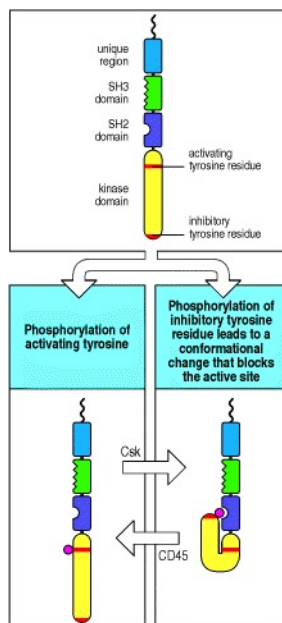
Le chinasi della famiglia Src sono associate a recettori per l'antigene e fosforilano tirosine nelle sequenze ITAMs



- Le chinasi della famiglia Src, Fyn, Blk e Lyn si associano con il “**B-cell antigen receptor**” mediante legame a **motivi ITAM**, sia mediante i loro domini N-terminali che mediante legame con una singola tirosina fosforilata mediante i loro domini SH2. Dopo il legame con il ligando e l'aggregazione dei recettori, esse fosforilano le tirosine negli ITAMs presenti nelle code citoplasmatiche delle $Ig\alpha$ and $Ig\beta$.

“**Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif**” (**ITAM**): sequenza conservata di quattro aminoacidi che è ripetuta due volte nelle code citoplasmatiche di alcune proteine della superficie cellulare delle cellule del sistema immunitario.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A692/?report=objectonly>

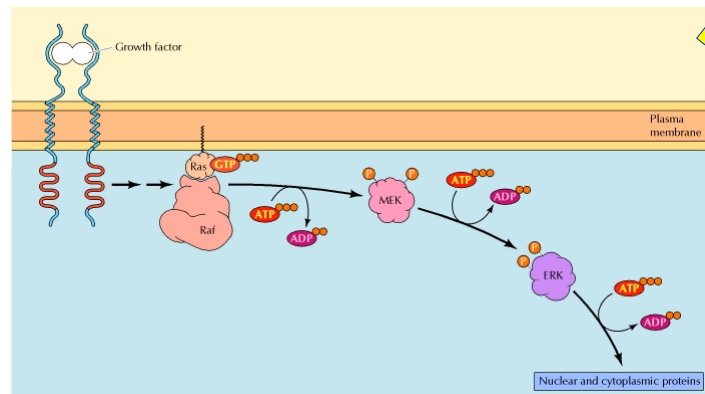


Regolazione dell'attività delle chinasi della famiglia Src

- Le chinasi della famiglia Src contengono due residui di tirosina (strisce rosse) che sono bersaglio per la fosforilazione.
- La fosforilazione della tirosina nel dominio chinasi** (panel inferiore) **stimola l'attività chinasi**; questa tirosina può essere fosforilata da tirosina chinasi associate a recettori.
- La seconda tirosina si trova vicino al C-terminale e ha una funzione regolatoria.
- Quando viene fosforilata, la chinasi è inattiva come risultato di una interazione fra la fosfotirosina inibitoria e il dominio SH2, come illustrato nel panel inferiore.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A693/?report=objectonly>

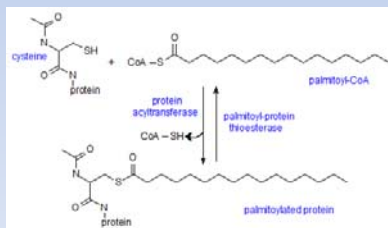
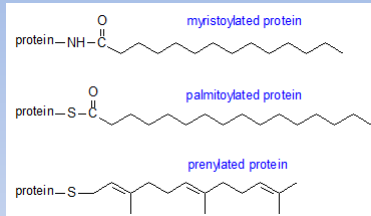
- ✦ **I microdomini GSL (“rafts”) sono coinvolti nel segnalamento mediato da immunorecettori e recettori dei fattori di crescita.** Un’attivazione efficiente delle cellule T richiede un segnale da un **“T-cell antigen receptor”** e un secondo segnale da una **molecola co-stimolatoria**. La co-stimolazione porta al **reclutamento di microdomini GSL verso il sito di contatto cellula-cellula** fra la cellula T e la cellula che presenta l’antigene. La concentrazione di chinasi della famiglia *src* e di molecole “downstream”, e l’esclusione della tirosina fosfatasi CD45, permette una forte e prolungata fosforilazione di diversi substrati.
- ✦ Inoltre, i **recettore per l’“Epidermal Growth Factor, EGF”** e **Ras** sono presenti nei microdomini GSL e il trattamento con EGF induce la traslocazione di Raf-1 e MAPKK chinasi dal citosol ai microdomini GSL. Ciò suggerisce **che i microdomini GSL possono essere siti di inizio per la cascata delle MAP chinasi**.



Attivazione delle ERK MAP chinasi. La stimolazione dei recettori dei fattori di crescita porta all’attivazione della piccola proteina che lega il GTP, Ras, che interagisce con la proteina chinasi Raf. A sua volta Raf fosforila e attiva MEK, una proteina chinasi a doppia specificità che attiva ERK mediante fosforilazione di residui sia di treonina che di tirosina (Thr-183 and Tyr-185). La ERK quindi fosforila una gran varietà di proteine bersaglio nucleari e citoplasmatiche.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9870/figure/A2253/>

ACILAZIONE DELLE PROTEINE G



<http://lipidlibrary.aocs.org/lipids/protlip/index.htm>

Covini, Dott 2013

Nelle cellule di Mammifero la palmitoilazione, la miristilazione e la prenilazione mediano l'associazione delle subunità della proteina G alla membrana.

La mancanza di queste modificazioni porta alla solubilizzazione delle proteine (Wedegaertner et al., 1995).

In particolare...

La palmitoilazione ha un ruolo nell'indirizzare le proteine G-alfa alla membrana, ed in particolare, a specifici sub-domini (rafts).

(Huang et al., 1997)

Infatti la mancanza di palmitato causa una errata localizzazione delle proteine G-alfa nelle membrane intracellulari.

(Huang et al., 1999; Morales et al., 1999)

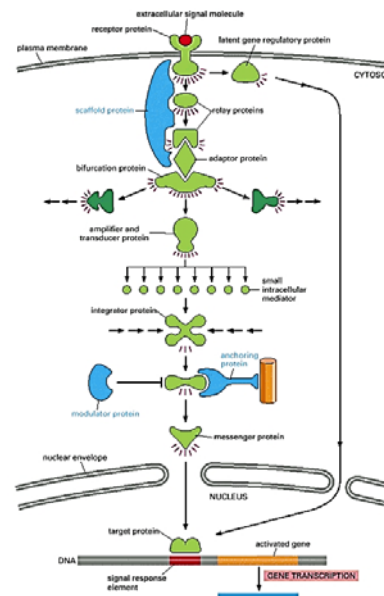
Covini, Dott 2013

Seminario

Proteine «scaffold» (impalcatura) (1)

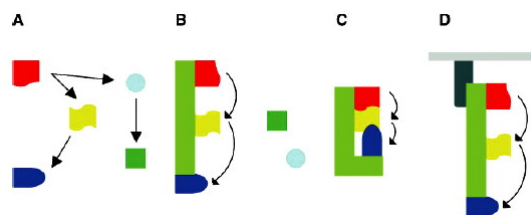
- ✦ Sono proteine che avvicinano diverse altre proteine in una via di segnalamento e permettono la loro interazione.
- ✦ Reclutano effettori a valle in una via ed aumentano la specificità del segnale.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26813/figure/A2769/?report=objectonly>



Seminario

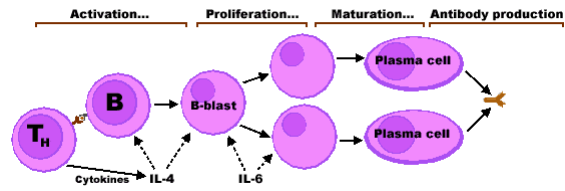
Proteine «scaffold» (impalcatura) (2)



Funzioni delle **proteine scaffold** nel **segnalamento cellulare**. (A) In assenza di una proteina scaffold, la diffusione libera permette alle chinasi e ai loro substrati di interagire, portando ad una **attivazione casuale e non-specifica** dei substrati e **scarsa efficienza di segnalazione**. (B): Il legame di una chinasi e dei substrati ad una proteina scaffold (verde) facilita l'attivazione dei substrati e permette l'incanalamento del segnale verso una cascata specifica. (C) La proteina scaffold potrebbe orientare o attivare allostericamente le sue chinasi associate, **aumentando** così l'**efficacia di segnalazione**. (D): L'interazione della proteina scaffold con un adattatore locale (grigio scuro) restringe l'attivazione della via di segnalazione a regioni subcellulari specifiche (grigio chiaro).

Dard N, Peter M. Scaffold proteins in MAP kinase signaling: more than simple passive activating platforms. *Bioessays*. 28:146-156, 2006.

Seminario

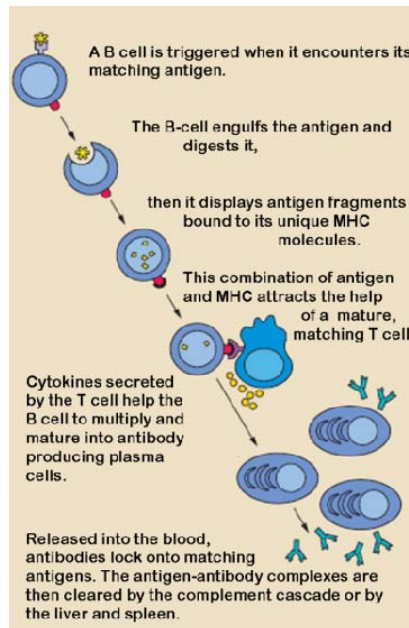
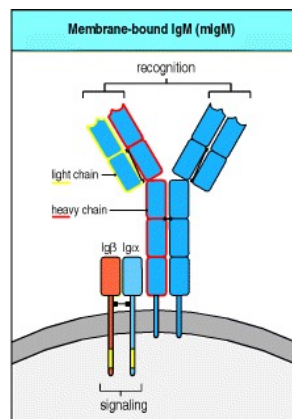


Lipid rafts

ATTIVAZIONE DI LINFOCITI B

<http://www.mclcd.co.uk/hiv/?q=B%20cells>

Attivazione dei linfociti B (1)



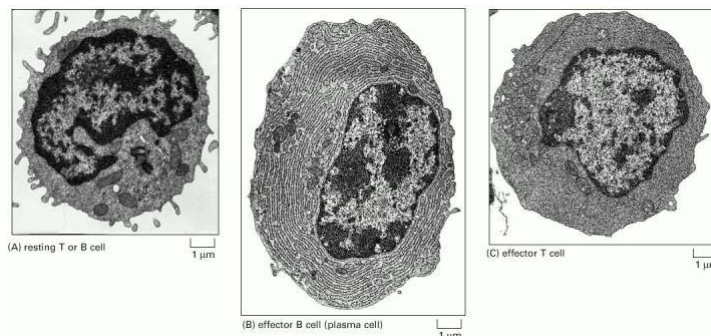
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:B_cell_activation.png

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A689/?report=objectonly>

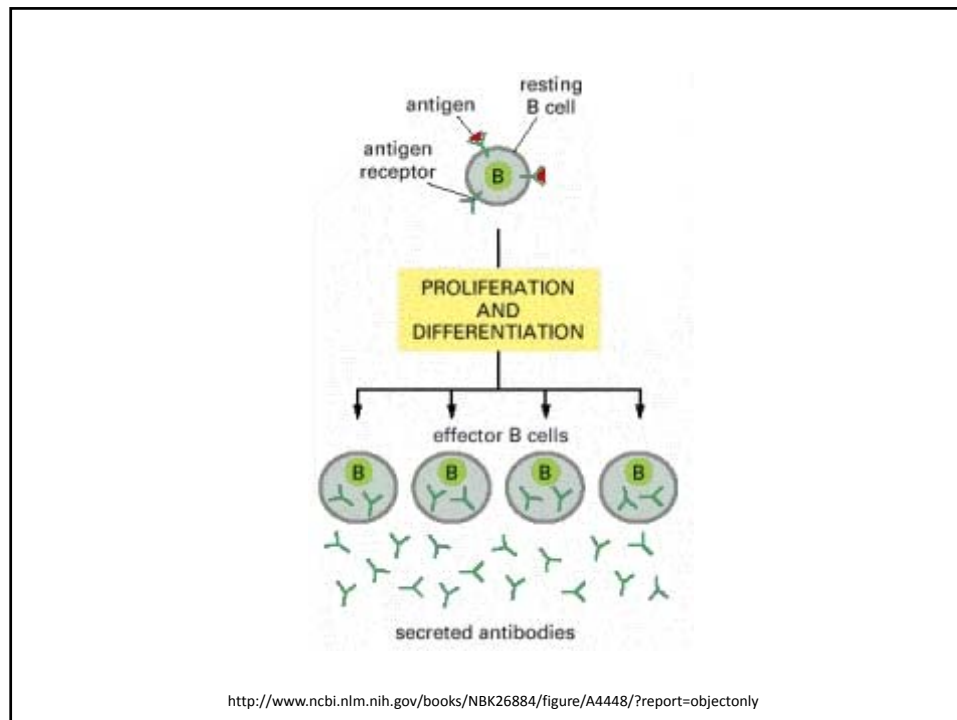
Struttura dei recettori per l'antigene e vie di segnalazione

- ✚ I recettori per l'antigene sulle cellule B (**B-cell receptor, BCR**) e T (**T-cell receptor, TCR**) sono complessi multiproteici fatti da catene di legame con l'antigene, variabili clonalmente, associati con proteine accessorie invarianti.
 - Catene immunoglobuliniche pesante e leggera nel B-Cell Receptor (BCR)
 - Catene TCR α e TCR β nel T-cell receptor (TCR).
- ✚ Le catene invarianti sono necessarie sia per il trasporto dei recettori fino alla superficie cellulare sia, in modo più importante, per iniziare il processo di segnalamento quando i recettori si legano ad un ligando extracellulare.
- ✚ Il **legame di un antigene con un recettore** genera segnali che portano come conseguenza finale **l'attivazione di fattori di trascrizione nucleari** che accendono una nuova espressione genica e spengono geni tipicamente espressi nelle cellule non attivate.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/>



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26921/figure/A4430/?report=objectonly>



Attivazione dei linfociti B (2)

- ✚ In seguito alla maturazione nel midollo osseo e milza, le **cellule immunocompetenti B** rimangono nei tessuti periferici finchè non **incontrano un antigene e vengono attivate**.
- ✚ **L'attivazione delle cellule B** richiede **due segnali** distinti e dà origine al differenziamento delle cellule B in "**cellule B della memoria**" o in **plasmacellule**.
- ✚ Il primo segnale di attivazione ha luogo dopo il legame dell'antigene a "B cell receptors" (BCRs).
- ✚ Dopo il legame con il BCR, l'**antigene** viene **internalizzato** mediante endocitosi mediata da recettore, digerito, e **complessato con molecole di MHC II sulla superficie delle cellule B**.

http://www.rndsystems.com/molecule_group.aspx?r=1&g=3175

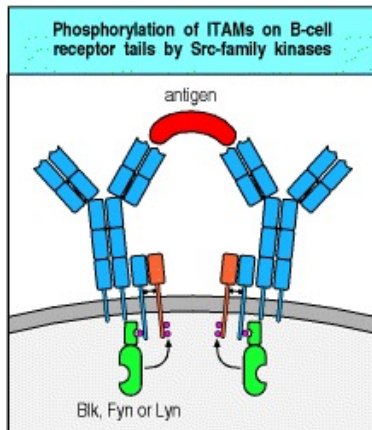
Attivazione dei linfociti B (3)

- ✚ Il secondo segnale di attivazione ha luogo sia mediante *meccanismi timo-dipendenti* o *indipendenti*.
 - La maggior parte delle risposte delle cellule B all'antigene richiedono **l'interazione delle cellule B con cellule "T helper" (attivazione timo-dipendente)**. La presentazione di un complesso antigene-class II MHC da una cellula B le permette di agire da cellula presentatrice di antigene (APC) alle cellule T. I **"T cell receptors" (TCRs)** sulle cellule "T helper" **si legano alla molecola MHC di classe II complessata all'antigene sulla superficie della cellula B, provocando l'attivazione della cellula T**. La cellula T attivata a sua volta fornisce un secondo segnale alla cellula B, che può avere luogo mediante una gran varietà di proteine.
 - Viceversa, ci sono alcuni tipi di antigeni che possono fornire direttamente un secondo segnale di attivazione per le cellule B (**attivazione timo-indipendente**). Questi antigeni includono componenti di della parete cellulare di alcuni batteri (ad es. lipopolisaccaride) o antigeni contenenti molecole altamente ripetute (ad es. flagellina batterica).

Attivazione dei linfociti B (4)

- ✚ Una volta attivate, le cellule B proliferano e formano centri germinali dove si differenziano in cellule B della memoria o in plasmacellule.
- ✚ In seguito al differenziamento in plasmacellule, segnali addizionali iniziano la comutazione della classe di anticorpi della plasmacellule e regolano la secrezione degli anticorpi.
- ✚ La funzione principale delle **plasmacellule** è la **secrezione di anticorpi specifici per il clone di cellule B**.
- ✚ Ogni plasma cellula secerne anticorpi contenenti una regione di legame con l'anticorpo unica clonalmente riunita ad una regione costante definente l'isotipo di immunoglobulina (Ig).

Attivazione dei linfociti B (5)



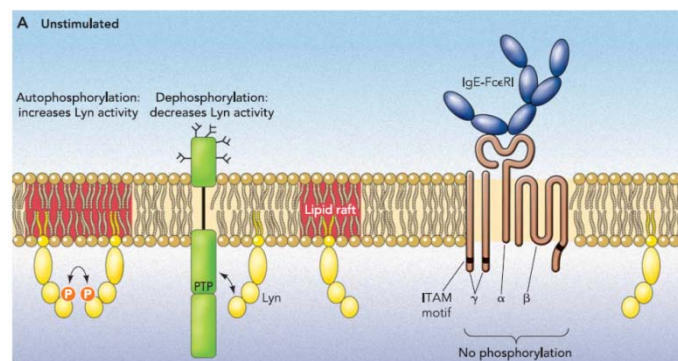
Delle chinasi della famiglia Src sono associate ai recettori per l'antigene e fosforilano le tirosine negli ITAMs

Le chinasi della famiglia Src legate alla membrana Fyn, Blk, e Lyn si associano con il "B-cell antigen receptor" mediante legame ai motivi ITAMs, sia mediante i loro N-terminali o, come illustrato, mediante legame a tirosine fosforilate singole tramite i loro domini SH2.

Dopo legame con il ligando e aggregazione dei recettori, essi fosforilano le tirosine negli ITAMs delle catene citoplasmatiche di Ig α e Ig β .

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A692/?report=objectonly>

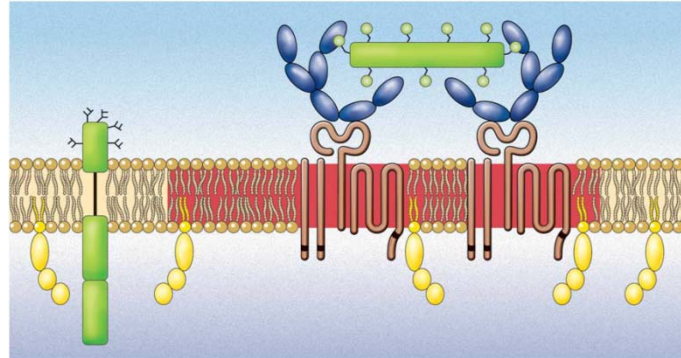
Modello del ruolo dei rafts nel segnalamento mediato dal recettore FcRI (recettore per le IgE) -- 1



A. Nelle **cellule non stimulate**, la IgE monomerica si lega al suo recettore. La tirosina chinasi Lyn, un non recettore, può associarsi costitutivamente a piccoli rafts, instabili. L'autofosforilazione è necessaria per un'attività di Lyn efficace. Nelle cellule non stimulate l'attività di Lyn è mantenuta bassa dai suoi frequenti incontri con fosfatasi non-associate ai rafts.

Pierce SK. Lipid rafts and B-cell activation. Nat Rev Immunol. 2002 Feb;2(2):96-105.

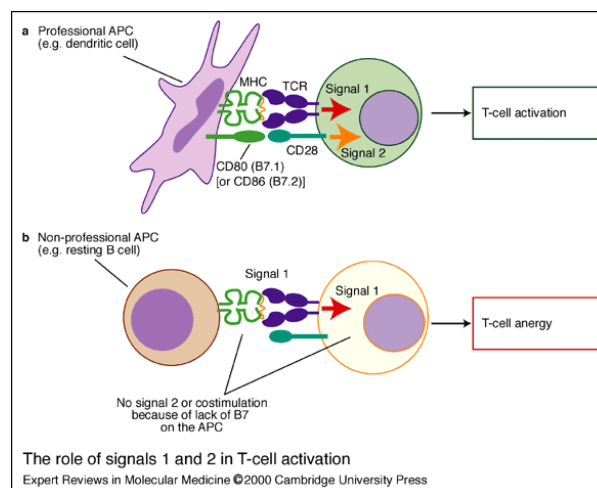
**Modello del ruolo dei rafts nel segnalamento mediato dal recettore FcRI
(recettore per le IgE) -- 2**



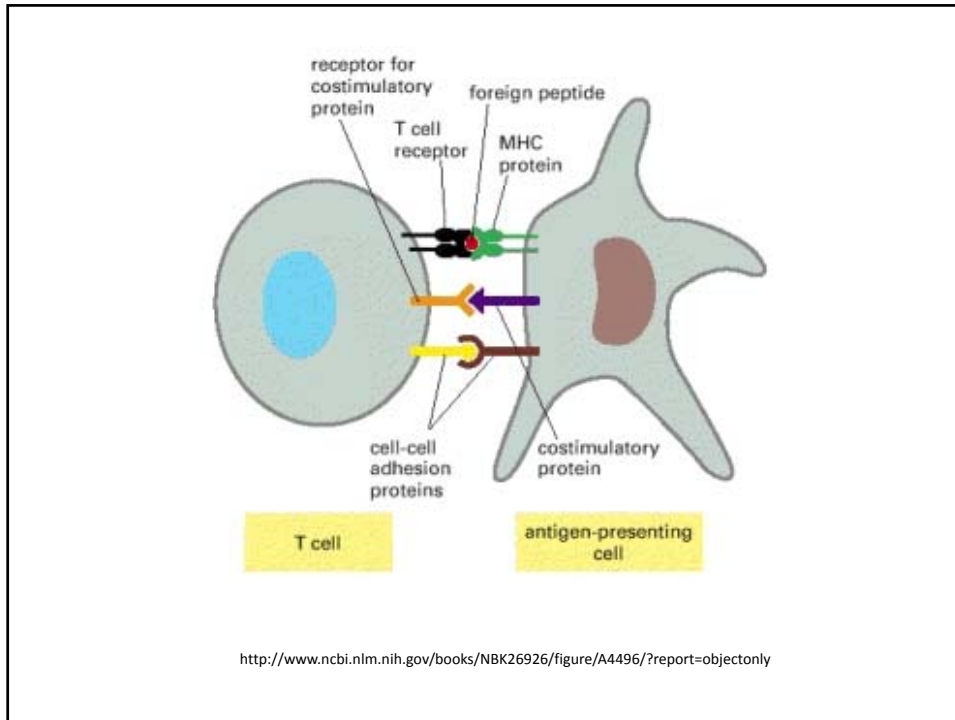
B: La **stimolazione mediante legame con antigeni multivalenti** porta all'aggregazione dei recettori per le IgE e induce la formazione di rafts di maggiori dimensioni, stabilizzati, che contengono sia il recettore per le IgE che Lyn. La presenza di Lyn in questi rafts scherma la chinasi dalle fosfatasi non compatibili con i rafts, aumentando la loro attività e la fosforilazione del recettore per le IgE e di altri substrati portando a segnalamento a valle.

Brown DA. Lipid rafts, detergent-resistant membranes, and raft targeting signals. *Physiology* (Bethesda). 2006 Dec;21:430-9.

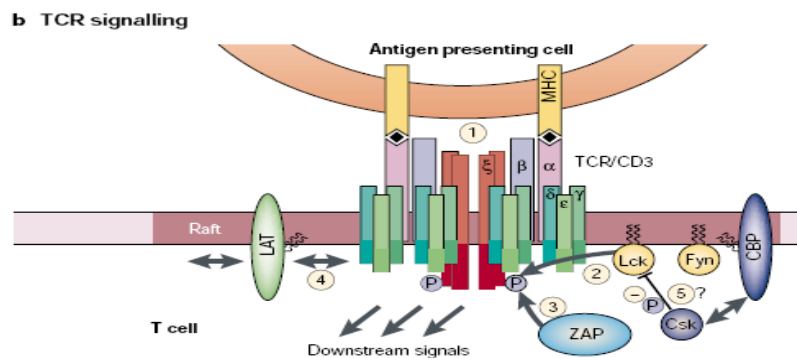
Seminario



ATTIVAZIONE DI LINFOCITI T

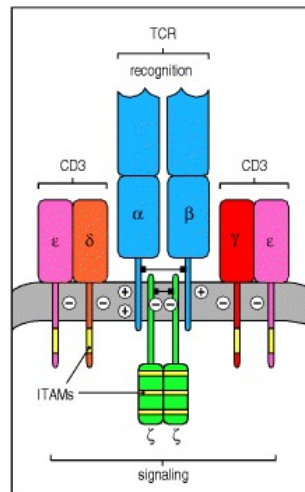


Segnalamento nei rafts mediato da T-cell antigen receptor (TCR)

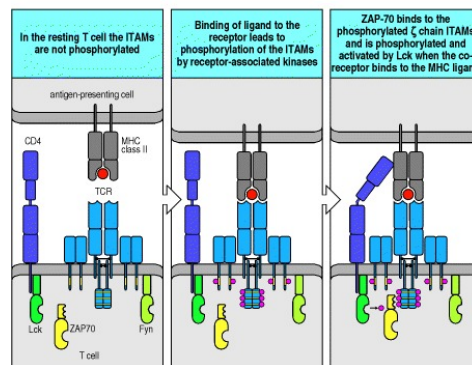


Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000 Oct;1(1):31-9.

T-cell receptor, TCR



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A690/?report=objectonly>



L'aggregazione del "T-cell receptor" con un co-recettore inizia il segnalamento in una cellula T

Quando i "T-cell receptors" si aggregano mediante legame con i complessi MHC:peptide sulla superficie di una cellula presentatrice di antigene, l'attivazione di chinasi associate ai recettori quali [Fyn](#) porta alla fosforilazione di ITAMs in CD3 γ , δ , e ϵ nonché nella catena ζ . La tirosina chinasi [ZAP-70](#) si lega agli ITAMs fosforilati della catena ζ , ma non viene attivata finché il legame del co-recettore alla molecola di MHC sulla cellula presentante l'antigene (qui è illustrato il legame di [CD4](#) ad una molecola di MHC di classe II) porta la chinasi Lck al complesso. A questo punto la Lck fosforila e attiva ZAP-70.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27130/figure/A695/?report=objectonly>

Segnalamento mediato dal recettore per l'antigene dei linfociti T (1)

- ✚ Anche il «T-cell antigen receptor» (TCR) è un recettore multisubunità per la risposta immune che si inserisce nei rafts lipidici durante il processo di segnalamento.
- ✚ IL TCR è composto da eterodimeri $\alpha\beta$ che si associano con il complesso CD3 ($\gamma\delta\epsilon$) e con l'omodimero ζ .
- ✚ Mentre le subunità α e β contengono i siti extracellulari di legame per peptidi che sono presentati dal complesso di proteine di classe I e II del complesso di maggiore istocompatibilità «MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX» (MHC) sulla superficie di cellule presentatrici di antigene («ANTIGENPRESENTING CELLS2, APCs»), le subunità CD3 e ζ contengono motivi citoplasmatici ITAMs.

Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2000 Oct;1(1):31-9.

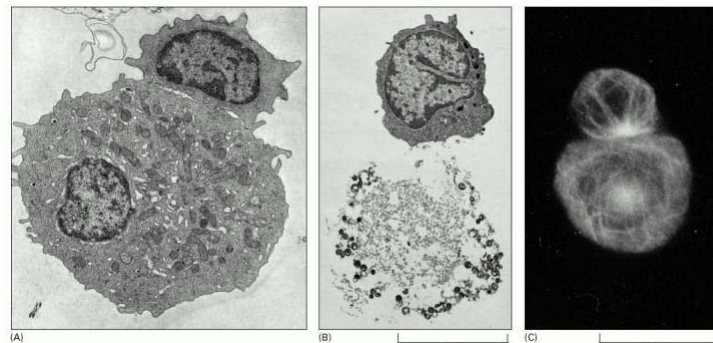
Segnalamento mediato dal recettore per l'antigene dei linfociti T (2)

- L'evento di segnalamento più precoce dopo il collegamento con il TCR è la fosforilazione dei residui di tirosina dei motivi ITAM da tirosina chinasi Src-like doppiamente acilate (non recettrici), Lyn e Fyn.
- Quando ZAP-70 si lega agli ITAMs fosforilati viene attivata e a sua volta fosforila LAT, una proteina transmembrana che accoppia l'attivazione mediata dal TCR a diverse altre vie di segnalamento.
- Diverse proteine GPI-linked e molecole accessorie aiutano ad amplificare gli eventi di attivazione delle cellule T.
- Le fosfatasi sono anche esse richieste per accendere o spegnere quelle vie.

Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2000 Oct;1(1):31-9.

Segnalamento mediato dal recettore per l'antigene dei linfociti T (3)

- Una serie complessa di eventi che coinvolgono il citoscheletro di actina porta alla formazione della **sinapsi immunologica** – zona di contatto fra cellule APC e le cellule T –dove ha luogo l'attivazione delle cellule T.
- Durante la formazione della sinapsi immunologica, la cellula T polarizza le reti di actina e dei microtubuli verso il sito di contatto e inoltre dirige il traffico di membrane in quella direzione.



Cellule T citotossiche effettrici nel procinto di uccidere cellule bersaglio in coltura.

- (A) Foto al ME che illustra una cellula T citotossica che si lega ad una cellula bersaglio. Le cellule T citotossiche sono state ottenute da topi immunizzati con cellule bersaglio, che erano cellule tumorali di un altro animale.
- (B) Foto al ME illustrando una cellula T citotossica e una cellula tumorale uccisa dalla cellula T. In un animale, al contrario della piastra di coltura la cellula bersaglio uccisa sarebbe stata fagocitata dalle cellule circostanti prima che si fosse disintegrata nel modo in cui è stato qui.
- (C) Foto in immunofluorescenza di una cellula T e di una cellula tumorale dopo marcatura con anticorpi anti-tubulina. Notare che il centrosome della cellula T e i microtubuli che da esso irradiano sono orientate verso il punto di contatto con la cellula bersaglio.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26926/figure/A4498/?report=objectonly>

The role of lipid rafts in signalling and membrane trafficking in T lymphocytes

Miguel A. Alonso and Jaime Millán

Journal of Cell Science 114, 3957-3965 (2001) © The Company of Biologists Ltd

Summary

Combinatorial association of different lipid species generates microheterogeneity in biological membranes. The association of glycosphingolipids with cholesterol forms membrane microdomains – lipid rafts – that are involved in specialised pathways of protein/lipid transport and signalling. Lipid rafts are normally dispersed in cellular membranes and appear to require specialised machinery to reorganise them to operate. Caveolin-1 and MAL are members of two different protein families involved in reorganisation of lipid rafts for signalling and/or intracellular transport in epithelial cells. T cell activation induces a rapid compartmentalisation of signalling machinery into reorganised rafts that are used as platforms for the assembly of the signalling complex. Costimulatory molecules participate in this process by providing signals that mobilise raft lipids and proteins, and remodel the cytoskeleton to the contact site. As in epithelial cells, rafts are used also as vesicular carriers for membrane trafficking in T lymphocytes. Furthermore, there are potential similarities between the specialised protein machinery underlying raft-mediated processes in T lymphocytes and polarised epithelial cells.

Probabili eventi di segnalazione iniziali per un recettore per le IgE (FcεRI) e per il “T-cell antigen receptor” (TCR)

1. La **dimerizzazione del Fc receptor** o di TCR/CD3 indotta dal ligando probabilmente **aumenta** la loro **associazione ai rafts**;
2. Ciò porta alla **fosforilazione** dei motivi “immune receptor tyrosine-based activation motifs” (**ITAMs**) del recettore **da parte della famiglia Src** delle proteina tirosina chinasi (es. Lyn, Lck e Fyn).
3. Gli ITAMs fosforilati fungono da punti di ancoraggio sulla membrana per la Syk/ZAP-70 citoplasmatica; anche queste sono tirosina chinasi e sono attivate nel raft mediante fosforilazione delle tirosine.
4. La Syk/ZAP-70 può, a sua volta, attivare altre proteine quali LAT, un adattatore associato ai rafts. Mediante crosslinking, la LAT può reclutare altre proteine verso il raft e amplificare ulteriormente il segnale. La complessa cascata di eventi ulteriori di segnalamento a valle non è nota.
5. Un possibile modo di sotto-regolare il segnale può avere luogo mediante legame di Csk citosolica alla proteina associata ai raft CBP.
6. La csk può allora inattivare le chinasi della famiglia Src mediante fosforilazione.

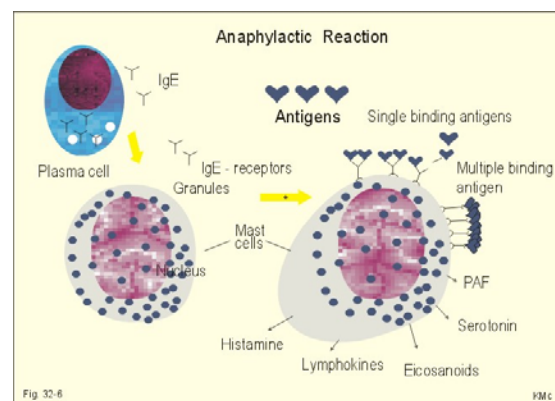
Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000 Oct;1(1):31-9.

Minireview

Lipid rafts and T-lymphocyte function: Implications for autoimmunity

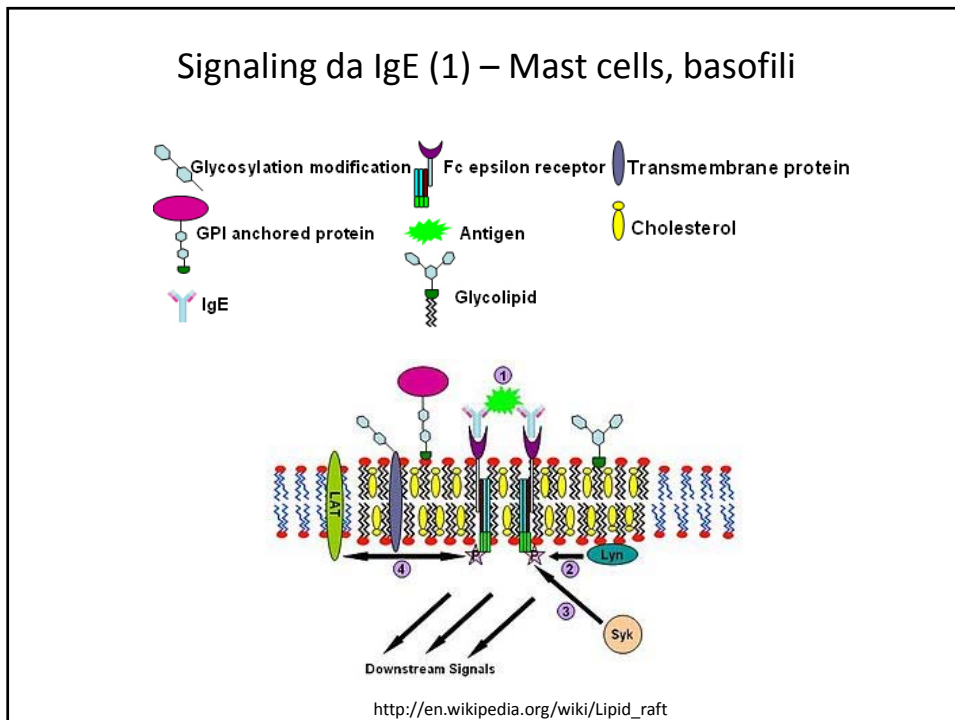
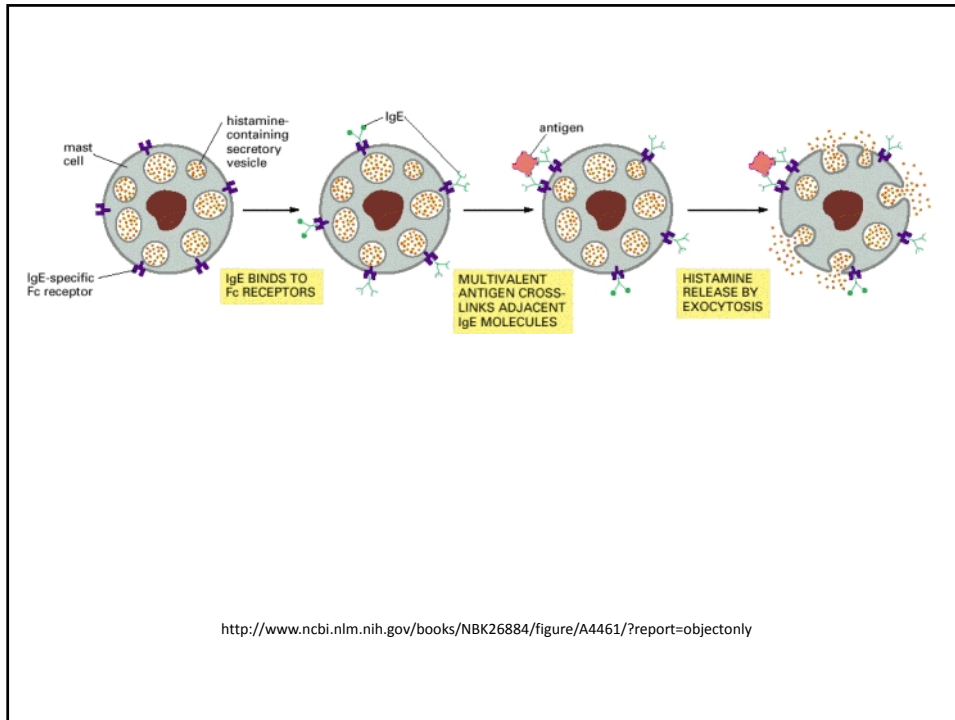
Panagiotis S. Kabouridis^{a,*}, Elizabeth C. Jury^b

Abstract Experimental evidence indicates that **the mammalian cell membrane is compartmentalized**. A structural feature that supports membrane segmentation implicates assemblies of selected lipids broadly referred to as **lipid rafts**. **In T-lymphocytes, lipid rafts are implicated in signalling from the T-cell antigen receptor (TCR) and in localization and function of proteins residing proximal to the receptor**. This review summarizes the current literature that deals with lipid raft involvement in T-cell activation and places particular emphasis in recent studies investigating lipid rafts in autoimmunity. The potential of lipid rafts as targets for the development of a new class of immune-modulating compounds is discussed.

Seminario

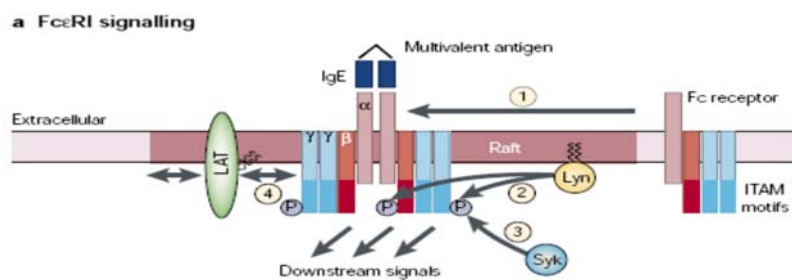
**SIGNALLING MEDIATO DA
IMMUNOGLOBULINA E NELLA RISPOSTA
IMMUNE ALLERGICA**

<http://www.zuniv.net/physiology/book/chapter32.html>



Signalamento indotto dalle IgE

- Viene attivato quando una IgE si lega, mediante il suo segmento Fc a recettori (**FcεRI**) che risiedono nella membrana plasmatica di mast cells e basofili.
- Il crosslinking del FcεRI da antigeni oligomericici attiva il processo di segnalamento transmembrana, portando come risultato finale al rilascio dei mediatori chimici delle reazioni allergiche.



Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol. 2000 Oct;1(1):31-9.

Signaling da IgE (2)

- La IgE prima si lega, mediante il segmento Fc, a recettori Fc-epsilon (**FcεR**) che risiedono nella membrana plasmatica di **mast cells** e **basofili**.
 - Il FcεR è un tetramero che consiste di una catena α, una β e due γ.
 - E' monomericico e si lega ad una molecola di IgE.
 - La catena α si lega a IgE e le altre tre catene contengono **motivi di attivazione "immune receptor tyrosine-based activation motifs (ITAMs)**.
- Antigeni oligomericici si legano alla IgE legata al recettore per formare legami incrociati tra due o più recettori.
- I legami incrociati a loro volta reclutano la "doubly acylated non-receptor Src-like tyrosine kinase Lyn" per fosforilare gli ITAMs.
- A questo punto, componenti della famiglia Syk di tirosina chinasi si legano a questi residui fosforilati degli ITAMs per iniziare le cascate di fosforilazione.
- Il Syk can, a sua volta, attivare altre proteine come la "linker for activation of T cells" (LAT).
- Mediante legami incrociati, la LAT può reclutare altre proteine verso il raft e ampliare ulteriormente il segnale.

http://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_raft