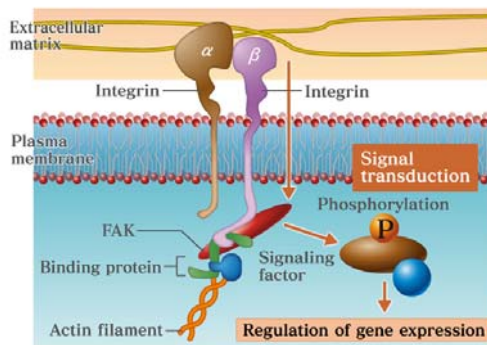


Molecole Adesione

Integrine

http://www.uphs.upenn.edu/news/News_Releases/mar07/integrin-highres.jpg



©CSLS / The University of Tokyo

Le integrine interrogano costantemente l'ambiente circostante mediante la loro capacità di interagire con la matrice extracellulare

http://csis-text.c.u-tokyo.ac.jp/active/11_03.html

Desgrosellier JS, Cheresch DA. **Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities.** Nat Rev Cancer. 10:9-22, 2010.

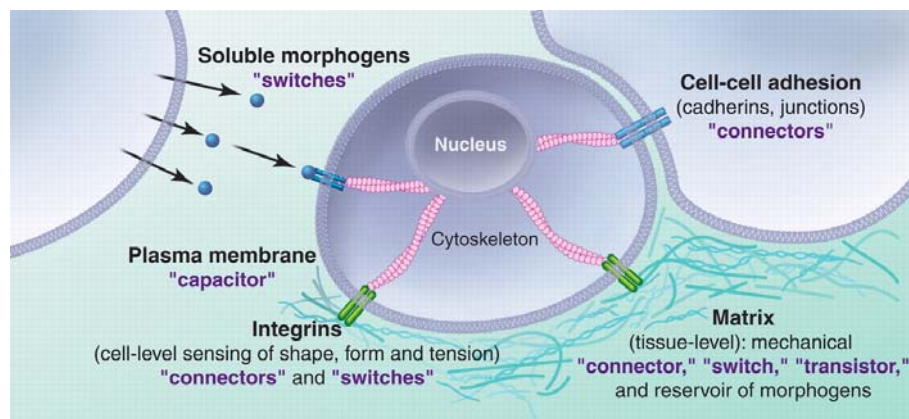
Integrin Structure, Activation, and Interactions

Iain D. Campbell¹ and Martin J. Humphries²

Integrins are large, membrane-spanning, heterodimeric proteins that are essential for a metazoan existence. All members of the integrin family adopt a shape that resembles a large "head" on two "legs," with the head containing the sites for ligand binding and subunit association. Most of the receptor dimer is extracellular, but both subunits traverse the plasma membrane and terminate in short cytoplasmic domains. These domains initiate the assembly of large signaling complexes and thereby bridge the extracellular matrix to the intracellular cytoskeleton. To allow cells to sample and respond to a dynamic pericellular environment, integrins have evolved a highly responsive receptor activation mechanism that is regulated primarily by changes in tertiary and quaternary structure. This review summarizes recent progress in the structural and molecular functional studies of this important class of adhesion receptor.

Cold Spring Harb Perspect Biol 2011;3:a004994

Moduli biologici di base operano nei tessuti a diversi livelli di scala di lunghezza



Vedi didascalia

Engler AJ, Humbert PO, Wehrle-Haller B, Weaver VM. Multiscale modeling of form and function. *Science*. 2009 Apr 10;324(5924):208-12.

Didascalia Figura Engler - 1

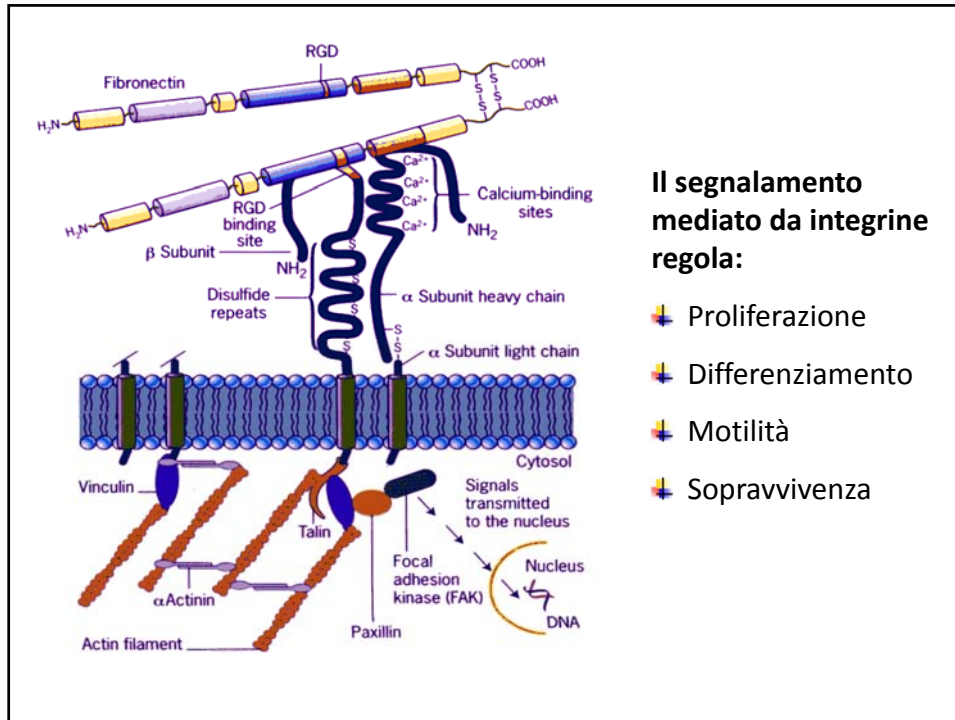
- ✦ Variazioni e ripetizioni dei moduli biologici critici con molte scale di lunghezza diversa e sistemi permettono la **formazione e mantenimento di strutture multicellulari con sempre maggiore complessità** con funzioni altamente evolute.
- ✦ I differenti elementi possono **“connettere” una cellula alla sua vicina** mediante **recettori omofilici** quali le **caderine**.
- ✦ Altri connettori, quali le **integrine**, **collegano meccanicamente le cellule alla matrice extracellulare**, un’impalcatura tridimensionale alla quale aderiscono diversi tipi cellulari.
- ✦ Questa connessione meccanica permette che la **contrazione** o la **modificazione della forma cellulare** siano **trasmesse**, via le fibrille della matrice e attraverso il citoscheletro, ad una coorte di **cellule inserite nella stessa matrice**, amplificando piccole perturbazioni e forzando la matrice a fungere da **“transistore”**.

Engler AJ, Humbert PO, Wehrle-Haller B, Weaver VM. **Multiscale modeling of form and function**. Science. 2009 Apr 10;324(5924):208-12.

Didascalia Figura Engler - 2

- ✦ **Quando si legano alla matrice, le modificazioni conformazionali nelle adesioni con integrine reclutano proteine adattatrici**, che **modificano il citoscheletro** e fungono da interruttori individuali per **controllare l’adesione**, la **migrazione** e processi simili.
- ✦ Anche la **stimolazione mediante citochine** può agire da **interruttore, attivando o inattivando** il comportamento cellulare.
- ✦ La **membrana plasmatica**, con il suo **riciclo intracellulare** e **compartimento di immagazzinamento**, funge da **serbatoio di recettori**, il cui rimescolamento dinamico **controlla il grado di segnalamento** fungendo da condensatore.
- ✦ Interazioni complesse e ripetizioni di tali moduli in scale di dimensioni diverse costituiscono il meccanismo fondamentale per controllare la **morfogenesi** e la **forma**.

Engler AJ, Humbert PO, Wehrle-Haller B, Weaver VM. **Multiscale modeling of form and function**. Science. 2009 Apr 10;324(5924):208-12.



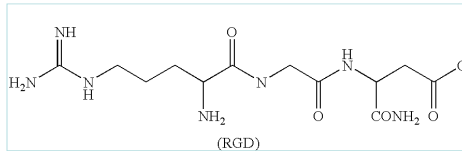
Integrine - 1

- ✚ Grande famiglia di molecole di adesione coinvolte nelle **interazioni** delle cellule con **proteine della matrice extracellulare** (ECM) (es. laminina, collagene, fibronectina, vitronectina) e **nell'adesione cellula-cellula**.
- ✚ I **domini extracellulari** delle integrine sono di solito collegati alle **proteine** della **ECM**.
- ✚ I **domini intracellulari** sono collegati funzionalmente al **citoscheletro**.
- ✚ **Mediano la comunicazione fra gli ambienti extra- e intracellulari:**
 - L'interazione **integrina-citoscheletro** influenzano l'affinità e l'avidità delle integrine verso i ligandi nella ECM («**inside-out signalling**»)
 - Le interazioni **ECM-integrine** portano ad alterazioni nella forma e composizione dell'architettura cellulare («**outside-in signalling**»).
- ✚ Tutte le interazioni integrina-ligando **dipendono alla presenza di cationi divalenti** (Ca^{2+} , Mg^{2+} e Mn^{2+}).

Coombe & Dye. In: Cell Adhesion Molecules, CRC Press

Integrine - 2

- I **domini extracellulari** si collegano a **specifiche sequenze di aminoacidi** («motivi») nella proteine della **matrice** oppure, in alcuni casi, in proteine della **superficie** di altre **cellule**.
- La più nota è la sequenza **Arginina-Glicina-Aspartato (Arg-Gly-Asp; RGD)**, che si trova nella **fibronectina** e in altre proteine della matrice extracellulare.
- Alcune integrine si collegano invece alla sequenza **Leu-Asp-Val (LDV)** presente nella fibronectina e in altre proteine.
- Ulteriori sequenze di legame per le integrine, ancora poco note, sono presenti nella laminina e nei collagenei.



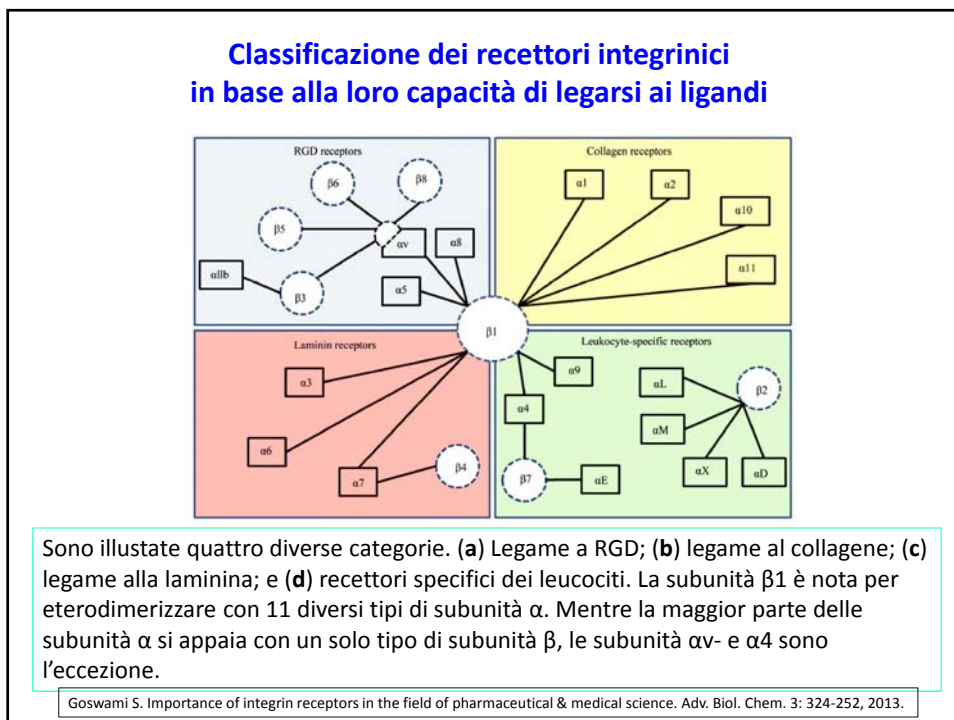
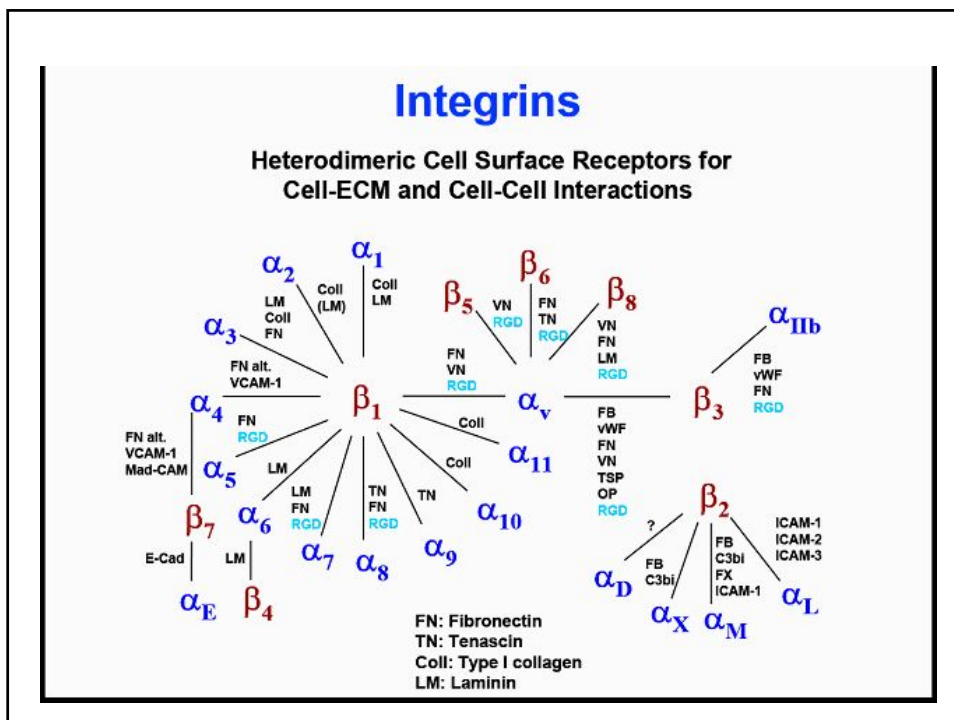
RGD

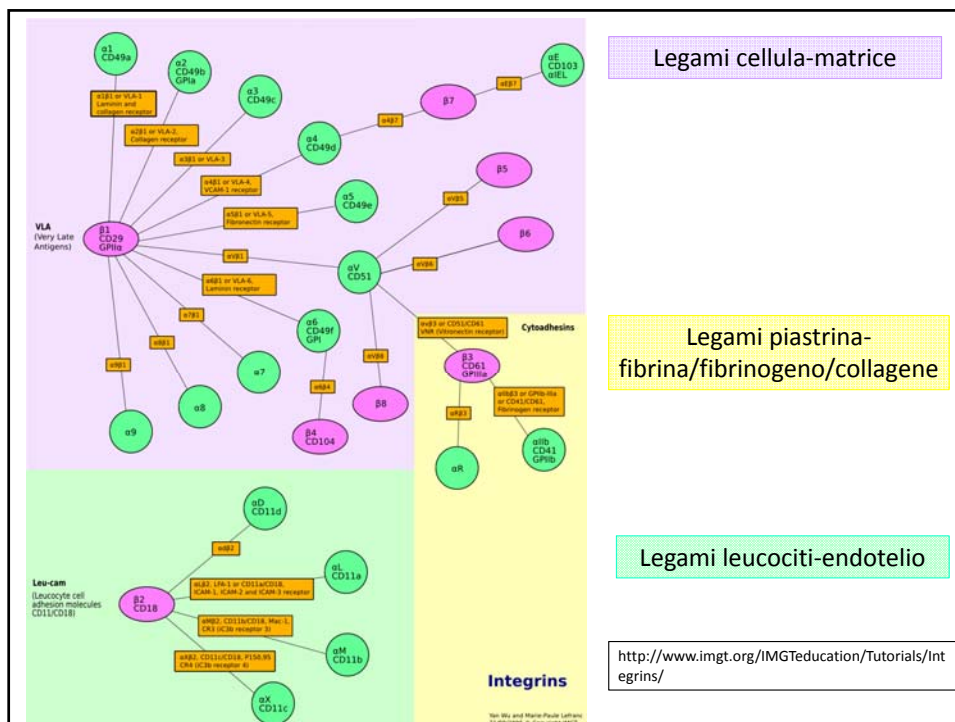
Alberts et al., 2015

Integrine - 3

- Uomo: 24 tipi di integrine, formate dai prodotti di **8 tipi diversi di geni per le catene β** e **18 tipi diversi di geni per le catene α** , che dimerizzano mediante combinazioni diverse.
- Ogni integrina ha proprietà e funzioni caratteristiche.**
- Dato che la stessa molecola di integrina in tipi cellulari diversi può avere **specificità per ligandi diverse**, è probabile che fattori addizionali, tipo cellulare-specifici, interagiscano con le integrine modulando la loro attività.
- Il legame delle integrine con ligandi della MEC è anche influenzato dalla **concentrazione di cationi divalenti (Ca^{2+} , Mg^{2+})** nell'ambiente extracellulare, riflettendo la **presenza di siti di legame per questi ioni nelle teste delle subunità α e/o β** .
- Gli ioni divalenti possono **influenzare** sia l'**affinità** che la **specificità** del legame dell'integrina con i suoi ligandi extracellulari.

Alberts et al., 2015





- ✚ La **combinazione delle subunità α e β** determina la **specificità** di legame e le proprietà di **segnalamento** delle singole integrine.
- ✚ Alcune integrine (es. $\alpha_5\beta_1$) riconoscono principalmente un singolo ligando.
- ✚ Altre (es. $\alpha_v\beta_3$) possono legarsi a diversi ligandi.

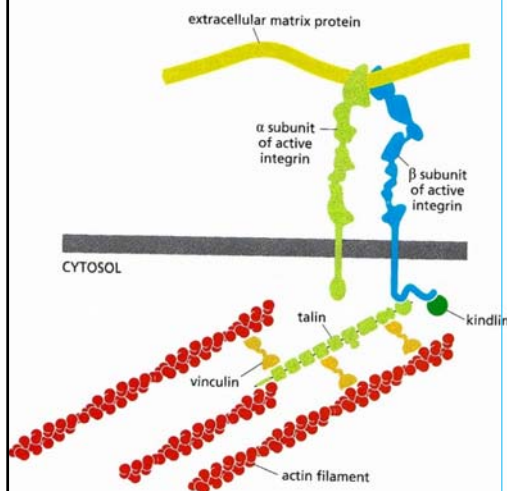
Francavilla C, Maddaluno L, Cavallaro U. **The functional role of cell adhesion molecules in tumor angiogenesis.** Semin Cancer Biol. 19:98-309, 2009.

Integrine - 4

- ✚ La **porzione intracellulare** di un dimero di integrina può **legarsi ad un complesso di diverse proteine**, che complessivamente formano un **ponte** con il **citroscheletro**.
- ✚ Per tutti, tranne uno, dei 24 dimeri di integrine umane, il collegamento è fatto con il citoscheletro di **actina**. [N.B. negli **emi-desmosomi** il collegamento viene invece fatto con il citoscheletro dei **filamenti intermedi**, in particolare con le **cheratine**].
- ✚ Questi collegamenti dipendono da **proteine** intracellulari che **si assemblano** sulle corte **code citoplasmatiche** delle subunità delle integrine.

Alberts et al., 2015

La struttura delle subunità di una molecola di **integrina attiva**, che collega la matrice extracellulare al citoscheletro di actina



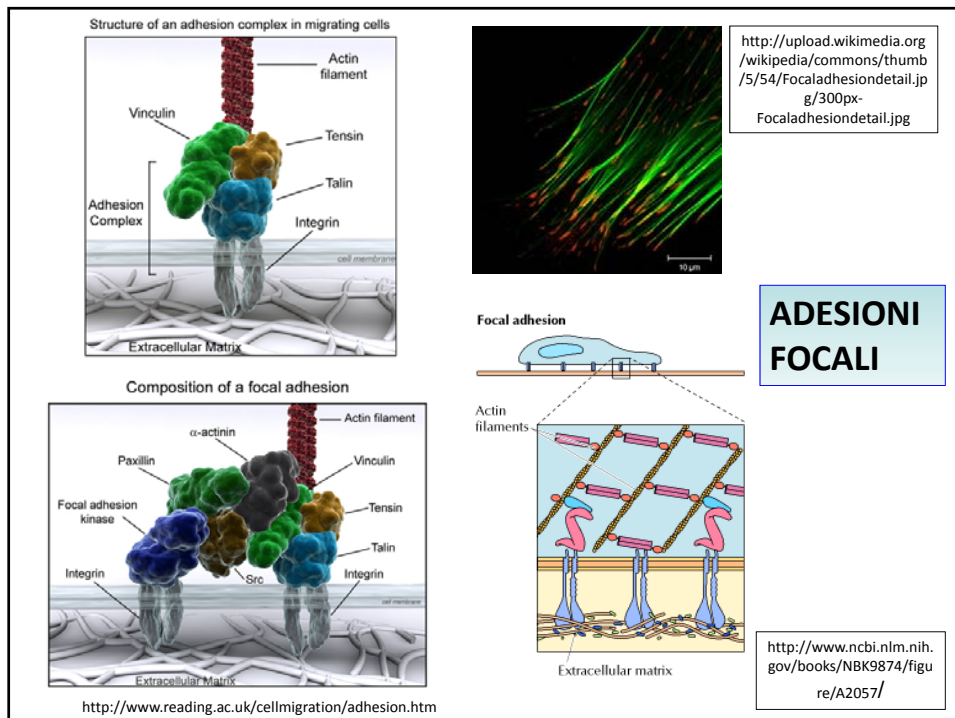
Alberts et al., 2015

- ✚ Le **teste N-terminali** delle catene delle integrine sono **collegate direttamente ad una proteina extracellulare** quale la fibronectina;
- ✚ La **coda C-terminale della subunità β** è **collegata a proteine adattatrici** che a loro volta **interagiscono con i filamenti di actina**.
- ✚ L'adattatore più noto è una proteina gigante, la **talina**, che contiene una stringa di **domini molteplici per il collegamento con l'actina** e altre **proteine**, quali la **vinculina**, che aiutano a rinforzare e regolare il collegamento ai filamenti di actina.
- ✚ Una estremità della **talina** si collega ad un sito specifico della **coda** citoplasmatica della **subunità β** ; altre proteine regolatorie (es kindlina) si collegano ad altri siti della coda.

Integrine - 5

- ✚ In molti casi una proteina di grandi dimensioni, la **talina**, è componente di questo sistema di ponte, ma sono coinvolte anche numerose altre proteine.
- ✚ Come nel caso delle **giunzioni cellula-cellula** formate da caderine collegate all'actina, le **giunzioni cellula-matrice** formate da integrine collegate all'actina possono essere sia **piccole, non appariscenti, e transitorie**, che **estese, prominenti e durature**:
 - **Adesioni focali**: formate quando **fibroblasti** hanno tempo sufficiente per stabilire collegamenti forti con la superficie rigida di una piastra di cultura;
 - **Giunzioni mio-tendinee**: collegano i muscoli ai loro tendini.
- ✚ Negli epitelii i siti più prominenti di collegamento cellula-matrice sono gli **emidesmosomi**, dove un tipo specifico di integrina (**$\alpha 6 \beta 4$**) ancora le cellule alla laminina della lamina basale: in questo caso, in modo singolare, il collegamento intracellulare è fatto con i filamenti intermedi di cheratina, tramite le proteine adattatrici plectina e BP230.

Alberts et al., 2015



Giunzione mio-tendinea

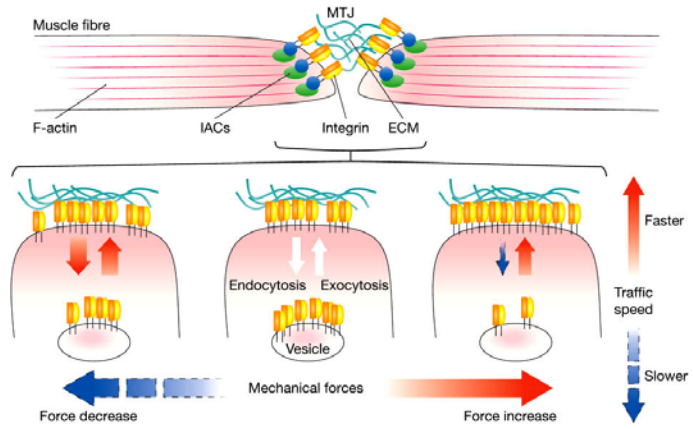


Figure 1 Mechanical forces regulate integrin turnover rate. Muscle-tendon attachments at the *Drosophila* myotendinous junction (MTJ) form through protein assemblies in which integrins recruit intracellular adhesion complexes (IAC) to anchor the F-actin cytoskeleton to the extracellular matrix (ECM). As the forces applied on the integrin adhesions increase, for example in response to hyperactive muscle contraction, the rate of integrin endocytosis decreases and thus more integrins stay at the MTJs to strengthen the connection. In contrast, reduction of force increases integrin turnover.

He L, Montell D. A cellular sense of touch. Nat Cell Biol. 2012 Sep;14(9):902-3.

Emi-desmosoma

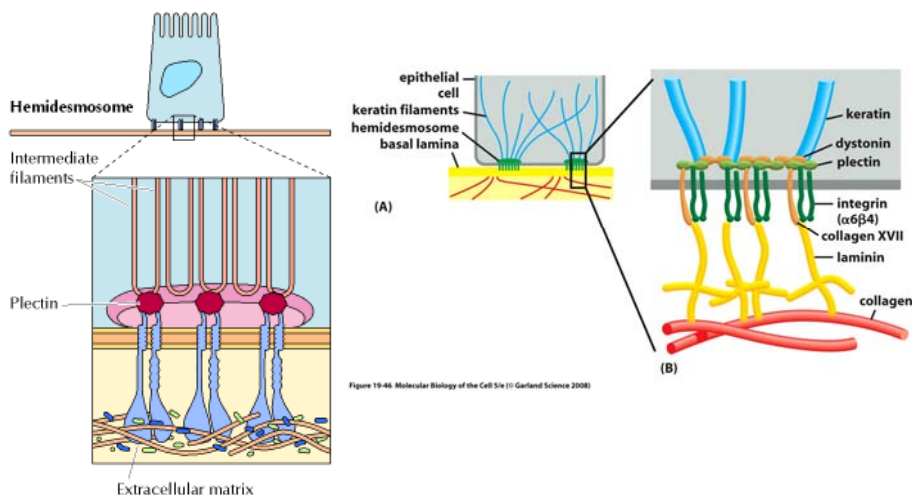
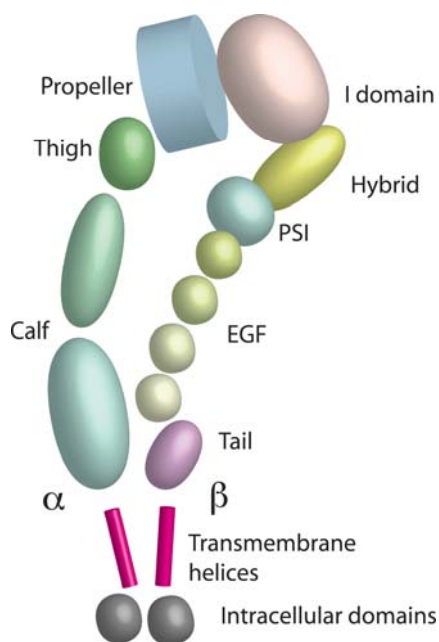


Figure 19-46 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9874/figure/A2057/>

Principali funzioni delle integrine

- ✚ **Collegamento della cellula alla matrice extracellulare (MEC).**
- ✚ **Trasduzione di segnale tra la MEC e la cellula.**
- ✚ Hanno inoltre una gran varietà di attività biologiche, che includono il **pattugliamento immunologico**, la **migrazione** cellulare e il **legame alle cellule** di certi **virus**, quali l'adenovirus, l'ecovirus, lo hantavirus e virus che provocano patologie alla bocca e al piede.
- ✚ Una importante funzione delle integrine si vede nell'integrina **GPIIb/IIIa**, (α IIb β 3), presente sulla superficie delle **piastrine**, responsabile del **collegamento** con la **fibrina** all'interno di un coagulo sanguigno in formazione. Questa molecola **aumenta in modo drammatico la sua affinità di legame per la fibrina/fibrinogeno mediante associazione delle piastrine con i collagene esposti nel sito della ferita**.
- ✚ Dopo l'associazione delle piastrine con il collagene, l'**integrina** GPIIb/IIIa **cambia conformazione**, ed è in grado di **legarsi** alla **fibrina** e ad altri componenti del sangue per formare la matrice del **coagulo** e fermare la perdita di sangue.



Schema di una molecola di integrina

<http://xray.bmc.uu.se/~lars/Practicals/Integrin/integrin.html>

A

Struttura di un'integrina.

(A) E' illustrata la struttura complessiva della regione della testa "head region" [domini elica, "propeller", e "coscia" ("thigh") della subunita α e domini βA ibridi (noti anche come βI), e PSI della subunita β -] sostenuti da due gambe ("legs") che contengono domini "polpacci", "calf1" e "calf2" nella subunita α , ripetizioni EGF e il dominio di coda- β della subunita β . Il legame con i ligandi ha luogo sull'interfaccia fra il dominio "propeller" e il dominio βA .

Askari JA, Buckley PA, Mould AP, Humphries MJ. Linking integrin conformation to function. J Cell Sci. 2009 Jan 15;122(Pt 2):165-70.

Rappresentazione del prototipo di eterodimero integrinico contenente un dominio αI

Goswami S. Importance of integrin receptors in the field of pharmaceutical & medical science. Adv. Biol. Chem. 3: 324-252, 2013.

L'eterodimero delle integrine

- ✚ La struttura extracellulare degli eterodimeri di integrine consiste in **una «testa» e in due «gambe»**.
- ✚ **La «testa», che media le interazioni integrina-ligando**, è il principale punto di contatto tra le subunità α e β .
 - I contatti sono formati da interazioni fra la elica (catena α) con il dominio $\beta\alpha$ (catena β).
- ✚ Le «gambe» sono formate dai domini Thigh («coscia») e Calf-1 («polpaccio») della subunità α e dai domini PSI, EGF, e β TD della subunità β .
- ✚ Le «ginocchia» permettono alle integrine di adottare una **conformazione ripiegata** oppure **dritta**, che è **fondamentale per l'attivazione delle integrine**.
- ✚ Ulteriori contatti fra le subunità α e β hanno luogo fra Calf-1 e EGF3, fra Calf-2 e EGF4, fra Calf2 e β TD e fra le code citoplasmatiche di α e β .

Coombe D.R., Dye D.E. *Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview*. In: *Cell Adhesion Molecules* (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

Struttura: subunità α e β [1]

- ✚ Le subunità α e β **non** condividono alcuna omologia, essendo due **polipeptidi distinti** con strutture a domini specifiche.
- ✚ I **domini extracellulari** di entrambe le subunità **contribuiscono** al **sito di legame** dell'eterodimero con il ligando.

Coombe D.R., Dye D.E. *Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview*. In: *Cell Adhesion Molecules* (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

Struttura: subunità α e β [2]



- ✚ Il **dominio extracellulare** della **subunità α** contiene sette ripetizioni di circa 60 residui, che si ripiegano formando una **struttura ad elica («propeller»)**, con **sette pale formate da foglietti β disposte attorno ad un asse centrale**.
- ✚ Un sotto-insieme di catene α delle integrine ha un **dominio di inserzione (αA)** che contiene un **sito di legame per i cationi**, localizzato fra le ripetizioni due e tre dell'elica.
- ✚ Il C-terminale dell'elica è un dominio tipo immunoglobulinico, detto «**Thigh**» (coscia), seguito da due moduli a « β -sandwich», Calf-1 («**calf**»: polpaccio) e Calf-2 e un piccolo dominio transmembrana.
- ✚ I **domini intracellulari** delle varie **subunità α** mostrano poca omologia, tranne che per un **motivo conservato prossimo alla regione transmembrana che si associa con la coda citoplasmatica della subunità β** .

Coombe D.R., Dye D.E. Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview. In: Cell Adhesion Molecules (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

Struttura: subunità α e β [3]

- ✚ La **regione extracellulare** delle **subunità β** delle integrine contengono un **dominio ibrido**, un **dominio «plexin-semaphorin-integrin» (PSI)**, **quattro ripetizioni tipo «Epidermal Growth Factor» (EGF)** e un **dominio di coda β** .
- ✚ Il dominio ibrido è un dominio «Ig-like» che comprende un **motivo βA** (tipo dominio αA) inserito fra due β -foglietti.
- ✚ Quando la subunità α **non** contiene il dominio di inserzione αA , il **dominio βA** contiene un **motivo di legame ai metalli** che **si lega a cationi divalenti**.
- ✚ Il **dominio PSI** forma un β -foglietto antiparallelo con due filamenti fiancheggiato da due corte eliche che **contribuisce all'attivazione delle integrine**.
- ✚ Le **code** citoplasmatiche delle **catene β** delle integrine sono di solito corte e altamente conservate e contengono **due motivi di fosforilazione**.
- ✚ Le code reclutano proteine quali la **talina**, che si lega ai filamenti di **actina**, con ciò collegando funzionalmente le integrine al citoscheletro di actina.
- ✚ **Le interazioni integrine-citoscheletro sono essenziali per l'attivazione delle integrine.**

Coombe D.R., Dye D.E. Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview. In: Cell Adhesion Molecules (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

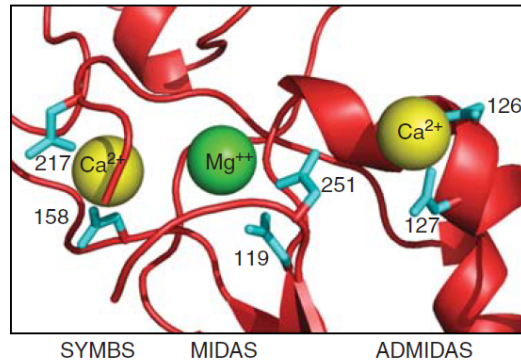
Legame integrina-ligando (1)

- ✚ Le integrine possono **legarsi a cationi divalenti** mediante due domini diversi: **αA** e **βA** .
- ✚ Il dominio αA si trova nelle catene α ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 11$, αM , αX e αD) e quando presente **media il legame con i cationi**.
- ✚ **Se il dominio αA è assente, il legame con il catione ha luogo mediante il dominio βA che si trova in tutte le catene β .**
- ✚ **La tasca di legame con il ligando si forma all'interfaccia fra le lame 2 e 3 del dominio a elica della subunità α e il dominio βA della catena β .**
- ✚ Il suo orientamento si altera leggermente a seconda che la subunità α abbia o meno il dominio αA .

Coombe D.R., Dye D.E. **Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview**. In: *Cell Adhesion Molecules* (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

Zhang K, Chen J. **The regulation of integrin function by divalent cations**. *Cell Adh Migr*. 2012 Jan-Feb;6(1):20-9.

Integrins are a family of α/β heterodimeric adhesion metalloprotein receptors and **their functions are highly dependent on and regulated by different divalent cations**. Recently advanced studies have revolutionized our perception of integrin metal ion-binding sites and their specific functions. **Ligand binding to integrins is bridged by a divalent cation bound at the MIDAS motif on top of either αI domain in I domain-containing integrins or βI domain in αI domain-less integrins**. The MIDAS motif in βI domain is flanked by ADMIDAS and SyMBS, the other two crucial metal ion binding sites playing pivotal roles in the regulation of integrin affinity and bidirectional signaling across the plasma membrane. The β -propeller domain of α subunit contains three or four β -hairpin loop-like Ca^{2+} -binding motifs that have essential roles in integrin biogenesis. The function of another Ca^{2+} -binding motif located at the genu of α subunit remains elusive. Here, we provide an overview of the integrin metal ion-binding sites and discuss their roles in the regulation of integrin functions.



Tre siti di legame di β -I per i metalli nell'integrina $\alpha\beta$ 2; i ligandi aspartato agli ioni metallici sono colorati in blu-ciano.

Campbell ID, Humphries MJ. *Integrin structure, activation, and interactions*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2011 Mar 1;3(3).

Legame integrina-ligando (2)

- ✚ Le integrine sono classificate a seconda della **presenza** o **assenza** del **dominio α A**.
- ✚ Quattro **catene α contenenti α A** (α 1, α 2, α 10 e α 11) si combinano con β 1 per dare una **sottofamiglia** distinta di **legame con laminina/collagene**.
- ✚ Le **integrine non contenenti α A** (α 3 β 1, α 6 β 1, α 7 β 1 e α 6 β 4) sono **recettori selettivi per la laminina** (glicoproteina della lamina basale) e si legano a **siti** sulla laminina **diversi** da quelli a cui si legano le integrine contenenti il dominio α A.
- ✚ Le integrine α V e α 5 β 1, α 8 β 1 e α II β 3 **riconoscono la sequenza RGD (arginina-glicina-aspartato)**, che è importante per il legame delle integrine alla **fibronectina**, **vitronectina** e **collagene**.

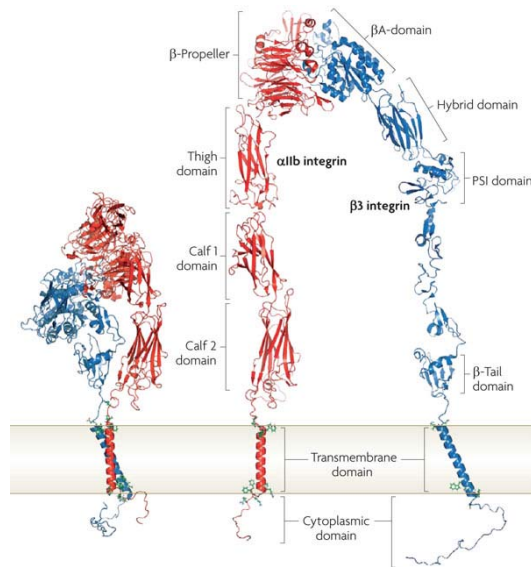
Coombe D.R., Dye D.E. *Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview*. In: *Cell Adhesion Molecules* (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010

Seminario

Legame integrina-ligando (3)

- Nonostante molte integrine che si legano a RGD interagiscano con gli **stessi ligandi**, esse si legano con **affinità diverse**, riflettendo la precisione dell'incastro del motivo **RGD** con le tasche di legame con il ligando, creati dalle diverse combinazioni tra catene α e β .
- Le integrine $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha 9\beta 1$ e $\alpha E\beta 7$ riconoscono un motivo acido **LDV** (leucina - acido aspartico - valina) che si trova nella fibronectina e in alcuni membri della IgSF.
- Le integrine $\beta 2$ ($\alpha D\beta 2$, $\alpha L\beta 2$, $\alpha M\beta 2$ e $\alpha X\beta 2$) si legano ad un motivo **LEV** simile, in cui l'acido aspartico (D) è sostituito dal **glutamato** (E).

Coombe D.R., Dye D.E. **Feature, Structure and Classification of Adhesion Molecules: An Overview**. In: *Cell Adhesion Molecules* (Preedy V.R., ed.), pp 1-19, CRC Press, 2010



Struttura dei domini dell'integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

<http://www.nature.com/nrm/journal/v11/n4/images/nrm2871-i1.jpg>
Shattil SJ, Kim C, Ginsberg MH. **The final steps of integrin activation: the end game**. Nat Rev Mol Cell Biol. 2010 Apr;11(4):288-300.

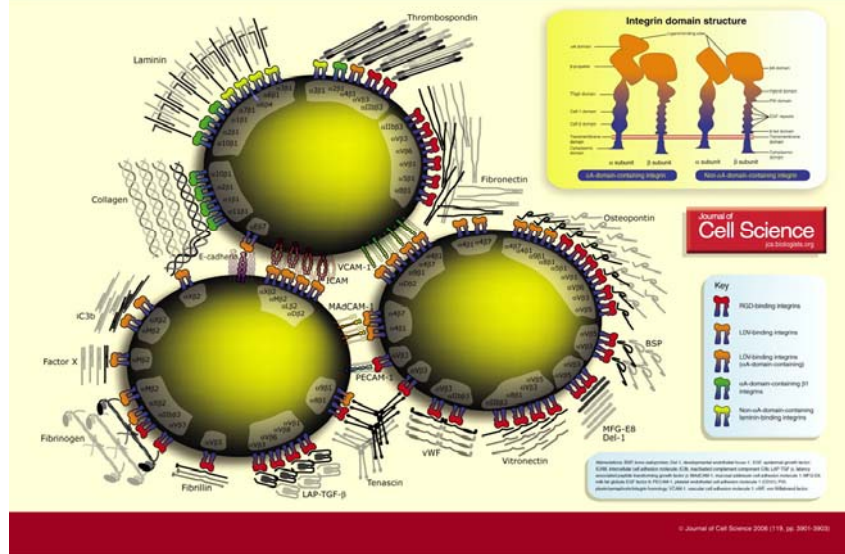
Integrin domain structures

Integrins are heterodimeric adhesive receptors consisting of an α - and a β -subunit. In mammals, there are 24 canonical integrins formed from combinations of 18 α -subunits and 8 β -subunits. The 'bent conformation' seen in crystal structures (see the figure; left) can be unfolded to facilitate visualization of the domains (see the figure; right). In most integrins the amino-terminal domain in the α - and β -integrin subunits (the β -propeller and the β A domain, respectively), assemble by non-covalent interactions to form a 'head' and provide a ligand binding site. In 8 α -integrin subunits (α 1, α 2, α 10, α 11, α L, α M, α X and α D), the α A domain, which is homologous to the β A domain of the β -integrin subunit, is inserted into the β -propeller domain and is the main ligand-binding site in these integrins. In integrins that lack an A domain, such as α IIb β 3 integrin, which is depicted here, the β A domain forms the main ligand-binding site. Note that the plexin, semaphorin and integrin (PSI) domain is at the N terminus of the β -integrin subunit, but is joined by disulphide bonds to more carboxy-terminal residues. The remaining C-terminal extracellular domains of each subunit comprise two long 'legs'. The low affinity state of the integrin for its ligands is maintained by non-covalent interactions between the α - and β -integrin transmembrane and cytoplasmic domains. Figure is modified, with permission, from *EMBO J* REF. 44 © (2009) Macmillan Publishers Ltd. All rights reserved.

<http://www.nature.com/nrm/journal/v11/n4/images/nrm2871-1.jpg>
 Shattil SJ, Kim C, Ginsberg MH. The final steps of integrin activation: the end game. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010 Apr;11(4):288-300.

Integrin Ligands at a Glance

Jonathan D. Humphries, Adam Byron and Martin J. Humphries



Humphries JD, Byron A, Humphries MJ. Integrin ligands at a glance. *J Cell Sci* 2006 Oct 1;119(Pt 19):3901-3. <http://d1dw62tmnyoft.cloudfront.net/content/joces/119/19/3901/F1.large.jpg>

Composizione delle subunità	Principale distribuzione cellulare	Ligandi
$\alpha 1\beta 1$	Molti tipi cellulari	Soprattutto collagene
$\alpha 2\beta 1$	Molti tipi cellulari	Soprattutto collagene; anche laminine
$\alpha 3\beta 1$	Molti tipi cellulari	Laminine
$\alpha 4\beta 1$	Cellule emopoietiche	Fibronectina; VCAM-1
$\alpha 5\beta 1$	Fibroblasti	Fibronectina
$\alpha 6\beta 1$	Molti tipi cellulari	Laminine
$\alpha L\beta 2$	Linfociti I	ICAM-1; ICAM-2
$\alpha M\beta 2$	Monociti (precursori macrofagi)	Proteine sieriche (es. C3b; fibrinogeno, fattore X); ICAM-1
$\alpha IIb\beta 3$	Piastrine	Proteine sieriche (es. fibrinogeno, fattore di von Willebrand, vitronectina, fibronectina)
$\alpha 6\beta 4$	Cellule epiteliali	Laminina

Le famiglia di integrine sono suddivise in subfamiglie che hanno in comune la subunità β . I ligandi illustrati in rosso sono CAMs; tutti gli altri sono proteine della matrice extracellulare o del siero. Alcune subunità possono avere isoforme dovute a splicing alternativo con differenti domini citosolici.

Lodish et al.,
7° ed.

INTEGRINA	LIGANDO (contro-recettore nell'adesione cellula-cellula)	DISTRIBUZIONE	Fenotipo quando è mutata la subunità α	Fenotipo quando è mutata la subunità β
$\alpha 5\beta 1$	fibronectina	ubiquitaria	morte dell'embrione, difetti nei vasi sanguigni, somiti e creste neurali	morte precoce dell'embrione (al momento dell'impianto)
$\alpha 6\beta 1$	laminina	ubiquitaria	severa vescicolazione della pelle; anche difetti negli altri epitelii	morte precoce dell'embrione (al momento dell'impianto)
$\alpha 7\beta 1$	laminina	muscolo	distrofia muscolare; giunzioni miotendinee difettose	morte precoce dell'embrione (al momento dell'impianto)
$\alpha L\beta 1$ (LFA1)	controrecettori della superfamiglia delle Ig (ICAM)	leucociti	reclutamento dei leucociti ostacolato	deficienza di adesione leucocitaria (LAD); risposte infiammatorie impedito; infezioni che minacciano la vita ricorrenti
$\alpha IIb\beta 3$	fibrinogeno	piastriane	sanguinamento; assenza di aggregazione piastrinica (malattia di Glanzmann)	sanguinamento; assenza di aggregazione piastrinica (malattia di Glanzmann); osteopetrosi ("malattia delle ossa di marmo") leggera
$\alpha 6\beta 4$	laminina	emidesmosomi degli epitelii	severa vescicolazione della pelle; anche difetti negli altri epitelii	severa vescicolazione della pelle; anche difetti negli altri epitelii

Alberts

Tipi di integrina (2)

- ✚ La **subunità $\beta 1$** forma dimeri con almeno 12 distinte subunità α e si trova in quasi tutte le cellule dei vertebrati: $\alpha 5\beta 1$ è un recettore per la fibronectina e $\alpha 6\beta 1$ è un recettore per la laminina.
- ✚ La **subunità $\beta 2$** forma dimeri con almeno 4 tipi di subunità α ed è espressa **esclusivamente sulla superficie dei leucociti**, dove gioca un ruolo fondamentale nel **combattimento alle infezioni**.
- ✚ Le integrine con $\beta 2$ mediano **interazioni cellula-cellula**, piuttosto che cellula-matrice, legandosi a ligandi specifici su un'altra cellula: es. cellule endoteliale.
- ✚ **I ligandi delle integrine $\beta 2$ sono molecole di adesione della superfamiglia delle immunoglobuline**: ad es la $\alpha L\beta 2$ (LFA-1) dei leucociti si lega saldamente alla **ICAM1** sull'endotelio vascolare nei siti di infezione.
- ✚ «**Leukocyte Adhesion Deficiency**» (LAD): patologia genetica in cui non vengono sintetizzate le subunità $\beta 2$; i pazienti subiscono infezioni batteriche ricorrenti.

Alberts

Tipi di integrina (3)

- ✚ Le **integrine $\beta 3$** si trovano nelle **piastrine** (ma anche in altri tipi cellulari) e si legano a diversi tipi di proteine della matrice, incluso il fattore di coagulazione **fibrinogeno** (le piastrine devono interagire con il fibrinogeno per mediare i processi normali di coagulazione).
- ✚ Glanzemann's disease: **deficit** genetico di subunità **$\beta 3$** : coagulazione inefficace, eccessivo sanguinamento.

Alberts

Catene β_1

- ✚ Formano dimeri con 9 tipi di catena α (si trovano in quasi tutte le cellule dei Vertebrati):
 - $\alpha_5\beta_1$: recettore per la fibronectina (**VLA**)
 - $\alpha_6\beta_1$: recettore per la laminina.
- ✚ Nei leucociti il più importante membro della subfamiglia delle integrine β_1 è il **Very Late Antigen-4 (VLA-4, CD49d/CD29, $\alpha_4\beta_1$)**. **Il VLA-4 si lega al suo ligando VCAM-1, ed è il principale responsabile dell'adesione dei linfociti all'endotelio vascolare e del reclutamento dei leucociti alle zone infiammate.**

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Catene β_2 (α)

- ✚ Le integrine β_2 sono espresse esclusivamente dai **leucociti** e subiscono un'alterazione conformazionale che coinvolge la **fosforilazione della subunità β** nel processo di **attivazione**.
- ✚ Tuttavia, questa fosforilazione non è né necessaria né sufficiente per l'attivazione conformazionale.
- ✚ Lo stato di attivazione è controllato dal sito GFFKR (Gly-Phe-Phe-Lys-Arg) immediatamente adiacente al dominio transmembrana della catena α .

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Seminario

INTEGRINE β_2 (CD18) <> Leucociti

- ✚ Formano eterodimeri con 4 differenti catene α : α_L (CD11a), α_M (CD11b), α_X (CD11c) e α_D .
- ✚ Al contrario delle altre subfamiglie di integrine, l'espressione delle integrine β_2 si riscontra solo nei leucociti.
- ✚ Ruolo fondamentale nella lotta alle infezioni
- ✚ Mediano soprattutto interazioni cellula – cellula
- ✚ Si legano a legandi specifici sulla superficie di altre cellule (controrecettori), membri della superfamiglia delle immunoglobuline delle CAMs.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Seminario

MAC-1 ($\alpha_M\beta_2$):

- Espresso ad alti livelli sui monociti e granulociti e a livelli più bassi su un sotto-insieme di linfociti T
- L'attivazione dei monociti e dei granulociti da parte degli stimoli infiammatori porta alla mobilizzazione dei depositi intracellulari di Mac-1 e ad un rapido aumento della sua espressione sulla superficie cellulare.
- Si lega alla componente iC3b del complemento, al fibrinogeno, al fattore X della cascata della coagulazione e a ICAM-1.
- L'interazione di Mac-1 con iC3b media la fagocitosi dei bersagli opsonizzati.
- E' inoltre coinvolto nella migrazione transendoteliale dei monociti e dei neutrofilii

<http://bme.virginia.edu/ley/mac-1.html>

Seminario

P150,95 ($\alpha_x\beta_2$) :

- Espresso soprattutto dalle cellule dendritiche, monociti, macrofagi e granulociti
- Si trova anche a livelli più bassi sulle cellule NK e cellule T attivate.
- Si lega a iC3b, ICAM-1, fibrinogeno, e al polisaccaride della parete dei batteri Gram negativi.
- L'interazione di $\alpha_x\beta_2$ a ligandi ancora sconosciuti è importante per l'adesione di monociti e neutrofili all'endotelio infiammato e può essere coinvolta nell'attività citotossica delle cellule T.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Seminario

 $\alpha_D\beta_2$

- Espressa in alti livelli dai macrofagi della polpa rossa della milza e dalle cellule schiumose delle strisce grasse che si formano sulla parete dell'aorta nei processi di aterosclerosi
- E' espressa a livelli più bassi da sub-tipi di leucociti del sangue periferico
- Si lega a ICAM-3 ma non a ICAM-1 o a VCAM-1.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Catene β_3

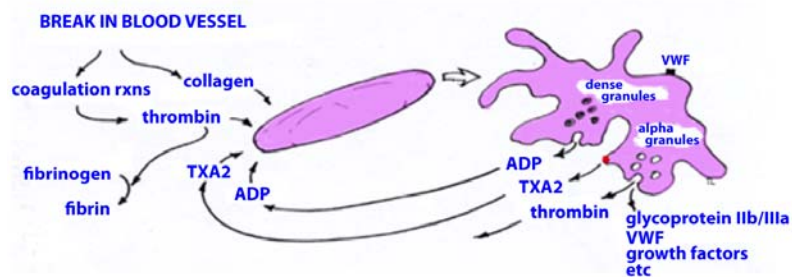
- ✚ Sono espresse da diversi tipi cellulari (es. **piastrine**)
- ✚ Si legano a diverse proteine della matrice extracellulare, incluso fibrinogeno nel processo di coagulazione del sangue
- ✚ **Malattia di Glanzmann**: deficienza di catene β_3 , eccessivo sanguinamento.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Platelet Activation

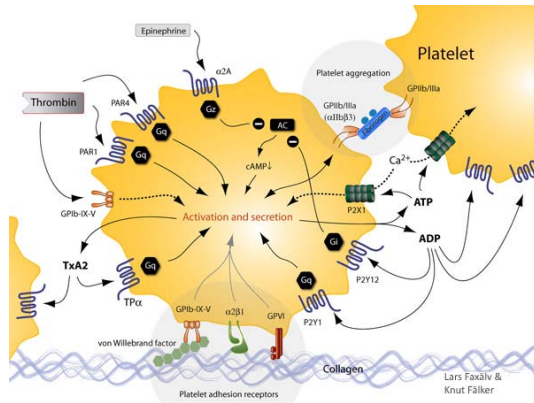
When platelets are circulating through vessels with an intact, healthy **endothelium**, the platelets remain in their original, unactivated state. The absence of activating factors and the release of **prostacyclin** (prostaglandin I₂) by the healthy endothelium supports this state.

However, when a platelet encounters a break in the endothelium, it encounters molecules that trigger its activation. One such molecule is **collagen**, which is characteristically found almost everywhere except inside a blood vessel. In addition, **thromboxane A₂**, **ADP** and **thrombin** are other factors that trigger the same activation.



<https://courses.washington.edu/conj/bloodcells/platelets.htm>

Schema di una piastrina e dei suoi principali recettori



Le **piastri** aderiscono al collagene nella parete danneggiata di un vaso sanguigno mediante **recettori di adesione**.

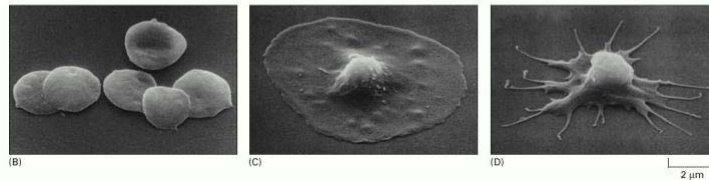
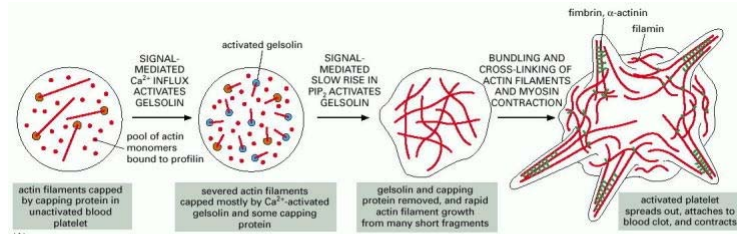
I recettori di adesione possono contribuire all'**attivazione** delle piastrine e quindi **stimolare il rilascio di attivatori autocrini** quali ADP e TxA2.

Dopo l'attivazione le piastrine sono in grado di formare **aggregati piastrinici** collegandosi tramite il recettore integrico GPIIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) alle molecole di fibrinogeno.

Anche la trombina, prodotta mediante attivazione della cascata della coagulazione, può attivare i recettori per la trombina, PAR1 e PAR4, mediante proteolisi del recettore.

Seminario

<http://www.diapensia.se/free-figures/>



Attivazione piastrinica. (A) L'attivazione piastrinica è una sequenza controllata che consiste in taglio, perdita del capuccio all'estemità (+), allungamento, ri-incapucciamento, e legami incrociati di actina, e che crea una modificazione notevole della forma della piastrina. (B) Microscopia elettronica a scansione delle piastrine prima dell'attivazione. (C) Una piastrina attivata con il suo grande lamellipodio allargato. (D) Una piastrina attivata in uno stadio ulteriore rispetto a quello illustrato in C, dopo contrazione mediata dalla miosina-II.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26809/figure/A3032/>

Seminario

Recettore $\alpha_{IIb}\beta_3$

- è espresso costitutivamente nelle piastrine.
- Mentre $\alpha_{IIb}\beta_3$ delle piastrine non stimulate si può legare soltanto al fibrinogeno, la $\alpha_{IIb}\beta_3$ delle piastrine attivate è in grado di legarsi al fibrinogeno, fattore di von Willebrand, fibronectina, vitronectina e trombospondina.
- L'adesione mediata da $\alpha_{IIb}\beta_3$ gioca un ruolo critico nell'aggregazione ed attivazione delle piastrine.
- L'attivazione piastrinica è accompagnata da una modificazione conformazionale di $\alpha_{IIb}\beta_3$ e il legame con il ligando induce un'ulteriore alterazione della conformazione.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Seminario

Recettore $\alpha_v\beta_3$

- Espresso su una gran varietà sia di cellule emopoietiche che non-emopoietiche, che includono cellule endoteliali, monociti, macrofagi, neutrofilii, piastrine, alcuni linfociti attivati, cellule muscolari lisce, osteoclasti e cellule tumorali.
- Si lega alla vitronectina, fibrinogeno, fibronectina, fattore di von Willebrand e trombospondina
- E' coinvolto nel legame di piastrine e leucociti all'endotelio.

Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Seminario

INTEGRINE β_4 - β_8 **ATTENZIONE x lezione**

Integrina $\alpha_6\beta_4$ molto importante, si lega indirettamente ai filamenti intermedi; presente negli emidesmosomi

- ✚ L'integrina β_4 (CD104) forma un eterodimero con la subunità α_6 (CD49f) che si lega alla laminina.
- ✚ E' espressa dalle cellule epiteliali, sotto-insieme di cellule endoteliali, e sotto-insieme di timociti immaturi del topo.
- ✚ Le subunità β_5 , β_6 e β_8 formano eterodimeri con α_v .
- ✚ La subunità β_7 si può combinare con le subunità α_4 e α_{IEL} .
- ✚ L'eterodimero $\alpha_4\beta_7$ è espresso dalle cellule NK, eosinofili e dalla maggior parte dei linfociti maturi e può legarsi alla fibronectina, VCAM-1 e MAdCAM-1.
- ✚ L'integrina $\alpha_{IEL}\beta_7$ è espressa dalla maggior parte dei linfociti intraepiteliali ed interagisce con la E-caderina alla superficie delle cellule epiteliali delle mucose.

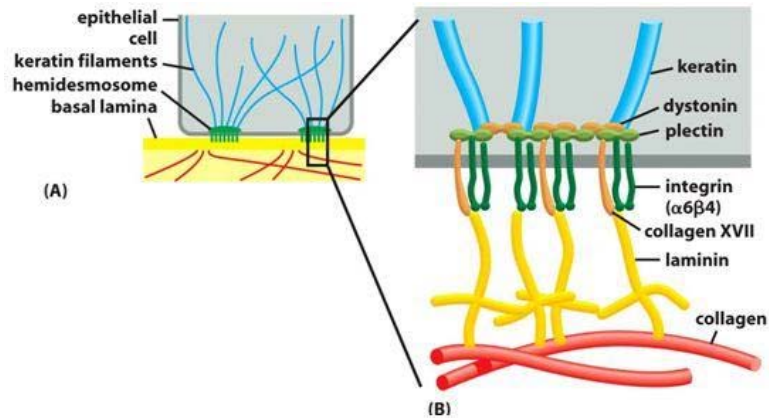
Pharmigen/Transduction Laboratories: cell Adhesion Molecules

Integrina $\alpha_6\beta_4$ - [1]

- ✚ L'integrina **$\alpha_6\beta_4$** è espressa da diversi tipi cellulari: timociti immaturi, **epiteli squamosi**, sottotipi di cellule endoteliali, cellule di Schwann e anche in fibroblasti nel sistema nervoso periferico.
- ✚ Negli epitelii stratificati come la pelle, la **$\alpha_6\beta_4$** si concentra in strutture dense dette **emidesmosomi**.
- ✚ Gli emidesmosomi sono coinvolti nel **collegamento delle cellule basali alla sottostante lamina basale**.
- ✚ Questo è svolto mediante **collegamento dei filamenti intermedi alla matrice extracellulare** mediati da questa integrina.
- ✚ Tutte le altre integrine usano i filamenti di actina per questo scopo invece dei filamenti intermedi.

<http://www.imgt.org/IMGTEducation/Tutorials/Integrins/>

Integrina $\alpha_6\beta_4$



https://classconnection.s3.amazonaws.com/222/flashcards/1869222/jpg/integrin_special-13E9593A4A441FD8E79.jpg

Integrina $\alpha_6\beta_4$ - [2]

- ✚ I ligandi per l'integrina $\alpha_6\beta_4$ sono le **laminine 1 e 5**, ma l'affinità per la laminina 5 è molto più forte.
- ✚ Negli emidesmosomi la $\alpha_6\beta_4$ è collegata alla laminina-5.
- ✚ Le diverse varianti di splicing di $\alpha_6\beta_4$ non influenzano le specificità per un ligando dell'integrina.
- ✚ In topi knock-out per α_6 o per β_4 non si formano emidesmosomi, il che suggerisce che la $\alpha_6\beta_4$ sia necessaria per la formazione oppure per l'inizio della formazione degli emidesmosomi: i topi mostravano gravi processi di vescicolazione e morivano subito dopo la nascita.

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Integrine

ATTIVAZIONE

Kinbara K, Goldfinger LE, Hansen M, Chou FL, Ginsberg MH. **Ras GTPases: integrins' friends or foes?** Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 Oct;4(10):767-76.

Attivazione "inside-out" dell'integrina α IIb β 3 nelle piastrine

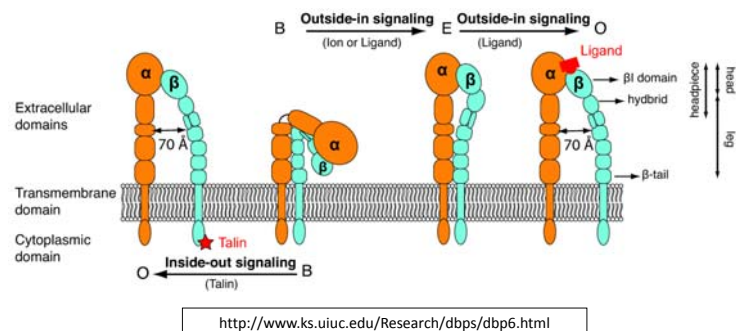
Affinity	Low	Intermediate	High
Conformation	Bent	Extended	Open
Outside-in signalling	No	No	Yes

Sono illustrate le conformazioni ripiegata (sinistra), distesa (mezzo) e distesa-aperta (destra) dell'integrina α IIb β 3. La subunità α IIb è colorata in blu e la subunità β 3 in rosso. Il sito di legame con il ligando è indicato da un triangolo grigio nell'integrina distesa-aperta. Notare il movimento dei domini transmembrane e citoplasmatici quando l'integrina si attiva. Si presume che il legame di proteine adattatrici citoplasmatiche (non illustrate) guidi le alterazioni conformazionali degli ectodomini.

Ley K, Rivera-Nieves J, Sandborn WJ, Shattil S. **Integrin-based therapeutics: biological basis, clinical use and new drugs.** Nat Rev Drug Discov. 2016 Mar;15(3):173-83.

Attivazione delle integrine

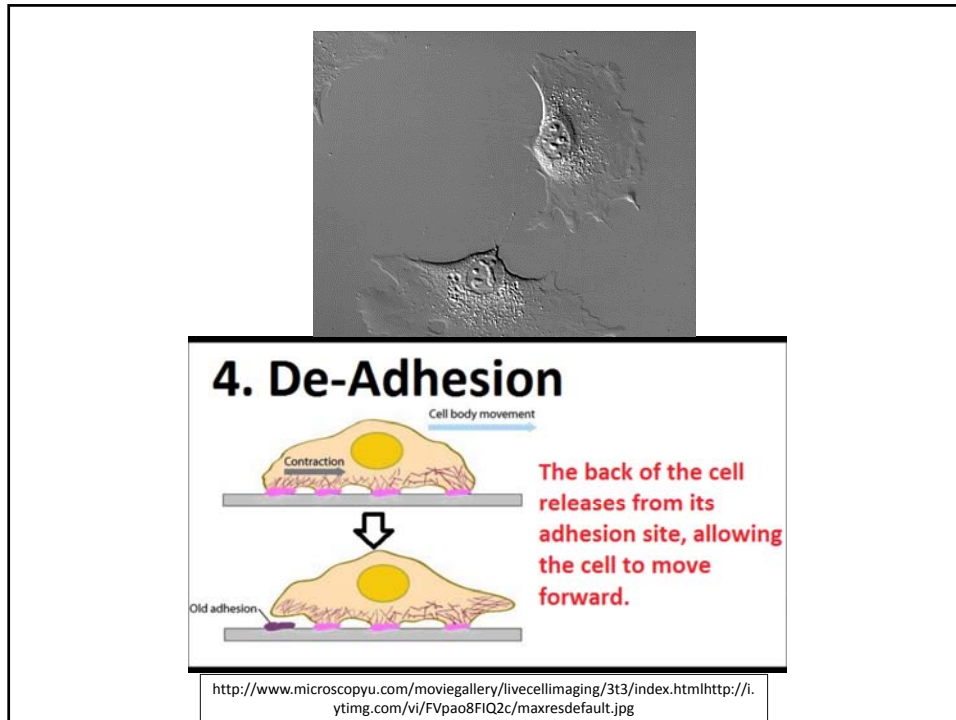
- ✚ La **capacità dei domini extracellulari di legarsi ai loro ligandi**, detta **attivazione**, regola l'adesione cellulare e i processi di trasduzione di segnale.
- ✚ L'attivazione delle integrine è correlata a **riarrangiamenti dei domini extracellulari, transmembrana e citoplasmatici**.



LE INTEGRINE POSSONO CAMBIARE DA UNA CONFORMAZIONE ATTIVA AD UNA INATTIVA - [1]

- ✚ Una cellula che **striscia** in un tessuto – ad es. un fibroblasto o un macrofago o una cellula epiteliale che ha subito una transizione epitelio-mesenchimale e migra lungo la lamina basale – deve essere in grado sia di **stabilire** che di **rompere** i **collegamenti con la matrice**, e di farlo rapidamente in modo da viaggiare rapidamente.
- ✚ Allo stesso modo, un leucocita circolante deve essere in grado di attivare che di disattivare la sua capacità di legarsi alle cellule endoteliali in modo da strisciare fuori da un vaso sanguigno in un sito di infiammazione, nelle circostanze appropriate. Inoltre, se si deve **applicare** delle **forze** laddove esse sono richieste, **il fare e disfare dei collegamenti extracellulari in tutti questi casi devono essere accoppiati all'assemblaggio e al disassemblaggio rapido dei collegamenti al citoscheletro all'interno della cellula**.

Alberts et al., 2015



LE INTEGRINE POSSONO CAMBIARE DA UNA CONFORMAZIONE ATTIVA AD UNA INATTIVA - [2]

- ✚ Le molecole di integrine che attraversano la membrana e mediano i collegamenti non possono essere oggetti semplicemente passivi ed inerti con porzioni appiccicose ad entrambe le estremità.
- ✚ Esse debbono essere in grado di **alternare fra un stato attivo in cui rapidamente formano collegamenti e uno stato inattivo in cui non lo fanno**; inoltre, **il collegamento con i loro ligandi da un lato della membrana deve alterare la propensione a legare un diverso insieme di ligandi dall'altro lato**.

LE INTEGRINE POSSONO CAMBIARE DA UNA CONFORMAZIONE ATTIVA AD UNA INATTIVA -[3]

- ✚ La base di questi fenomeni dinamici é la **regolazione allosterica**; quando un integrina si lega o si distacca dai suoi ligandi, essa subisce dei cambiamenti conformazionali che influenzano sia le estremità **intra**cellulari che **extra**cellulari della molecola.
- ✚ Le alterazioni strutturali da una parte sono accoppiate ad alterazioni strutturali dall'altra, cosicchè **le influenze possono essere trasmesse in qualsiasi direzione attraverso la membrana cellulare**.

Alberts et al., 2015

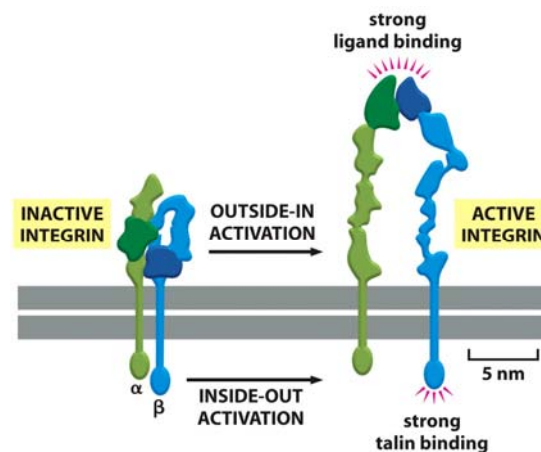


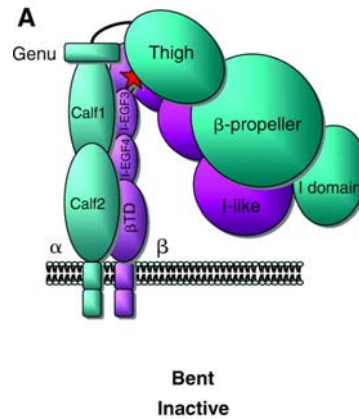
Figure 19-48b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Cambiamento di conformazione di una molecola di integrina quando si lega ad un ligando. **Strutture attiva** (distesa) ed **inattiva** (ripiegata) di un'integrina, basate su dati di cristallografia a raggi X.

Alberts et al., 2015

LE INTEGRINE POSSONO CAMBIARE DA UNA CONFORMAZIONE ATTIVA AD UNA INATTIVA -[4]

- Le integrine possono assumere molteplici conformazioni strutturali che riflettono i diversi stati di attività.
- Nello stato **INATTIVO** i segmenti esterni del dimero sono ripiegati formando una **struttura compatta** che non è in grado di legarsi alle proteine della matrice,
- In questo stato **le code del dimero** sono **agganciate** una all'altra, impedendo la loro interazione con le proteine di collegamento con il citoscheletro.



Evans R, Patzak I, Svensson L, De Filippo K, Jones K, McDowall A, Hogg N. **Integrins in immunity**. J Cell Sci. 2009 Jan 15;122(Pt 2):215-25.:
<http://jcs.biologists.org/content/122/2/215/F1.large.jpg>

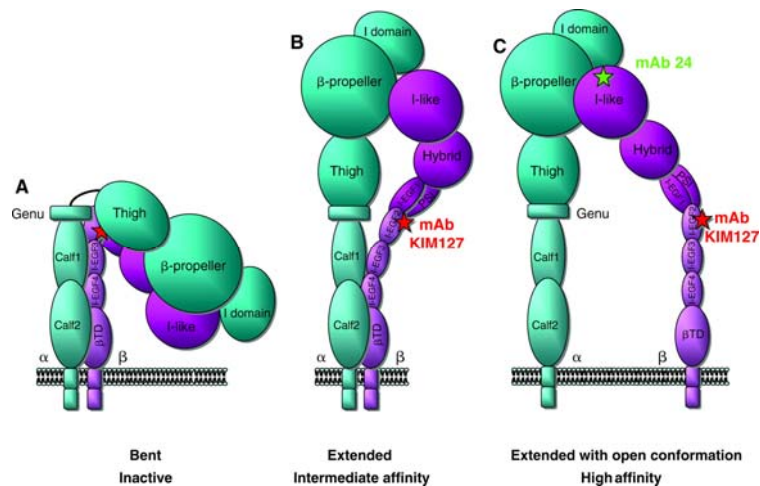
Alberts et al., 2015

LE INTEGRINE POSSONO CAMBIARE DA UNA CONFORMAZIONE ATTIVA AD UNA INATTIVA -[5]

- Nello stato **ATTIVO**, le subunità sono staccate nella zona della membrana e sono in grado di **esporre i siti intracellulari di legame per le proteine adattatrici citoplasmatiche**, mentre il **sito extracellulare** si dispiega e si **distende**, formando come un paio di gambe, e **esponendo un sito ad alta affinità per le proteine della matrice** nelle estremità delle subunità.
- Quindi, il **passaggio fra stati inattivo e attivo** dipende da **alterazioni conformazionali** importanti che simultaneamente espongono i siti di legame intracellulari ed extracellulari alle due estremità delle molecole di integrine.

Alberts et al., 2015

Conformazioni inattiva e attiva (a)

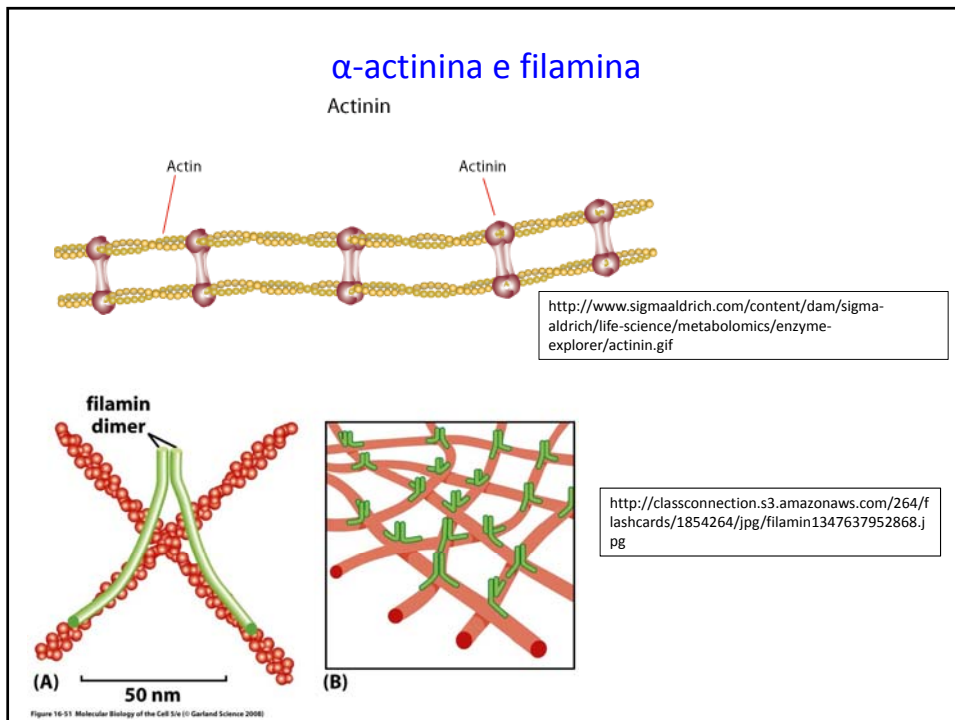
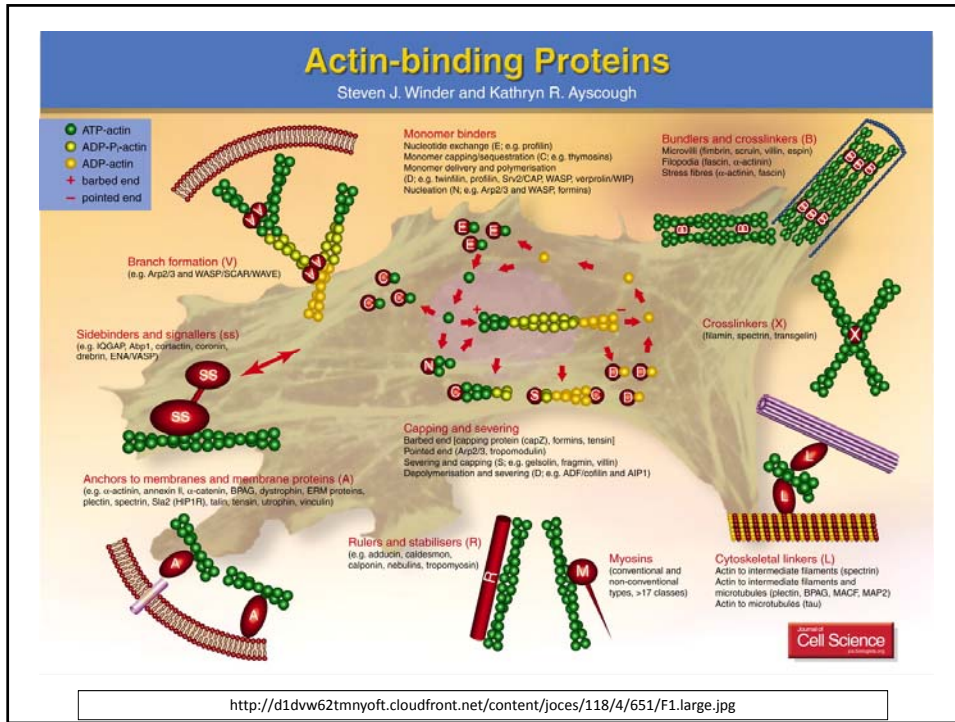


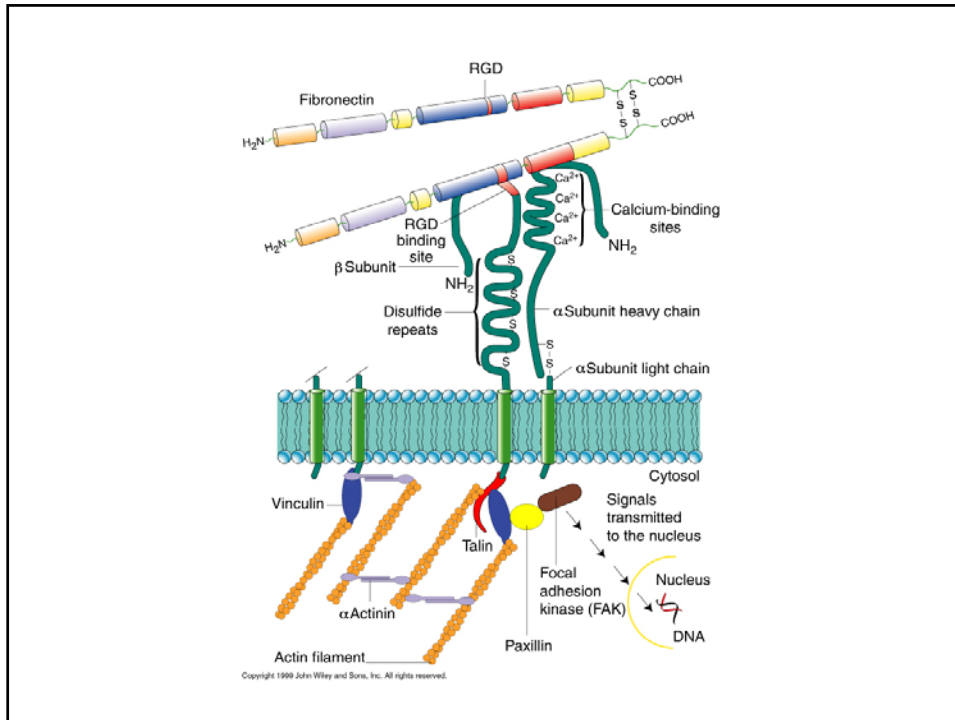
Evans R, Patzak I, Svensson L, De Filippo K, Jones K, McDowall A, Hogg N. Integrins in immunity. J Cell Sci. 2009 Jan 15;122(Pt 2):215-25.
Evans, 2009: <http://jcs.biologists.org/content/122/2/215/F1.large.jpg>

ATTIVAZIONE «OUTSIDE-IN»

- Il **collegamento con una proteina della matrice extracellulare** (es. con la sequenza RGD del fibrinogeno) **può portare alcune integrine a passare da uno stato inattivo a bassa affinità ad uno stato attivo ad alta affinità.**
- Come risultato, **i siti di legame** per la **talina** e altre **proteine adattatrice citoplasmatiche** vengono **esposti sulla coda della subunità β .**
- Il legame con queste proteine adattatrici porta al **collegamento con i filamenti di actina** nell'estremità intracellulare della molecola di integrina.
- In questo modo, quando la cellula fa presa con il suo ligando fuori dalla cellula, la cellula reagisce collegando la molecola di integrina al citoscheletro, in modo tale che si possa applicare forza in quel punto di collegamento.

Alberts et al., 2015





Integrins in cell migration – the actin connection

Miguel Vicente-Manzanares^{1,*}, Colin Kiwon Choi^{1,2} and Alan Rick Horwitz¹

Vicente-Manzanares M, Choi CK, Horwitz AR. **Integrins in cell migration—the actin connection.** *J Cell Sci.* 2009 Jan 15;122(Pt 2):199-206.

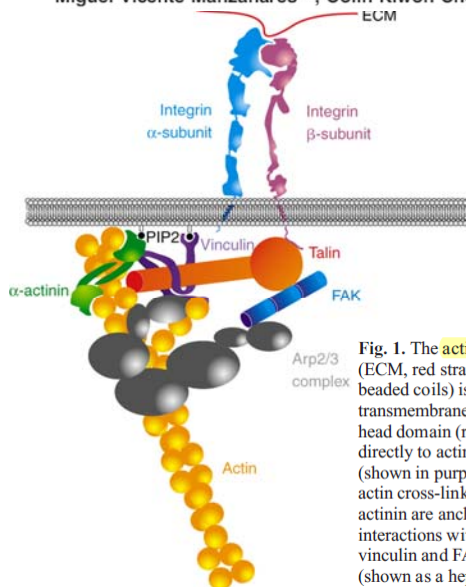
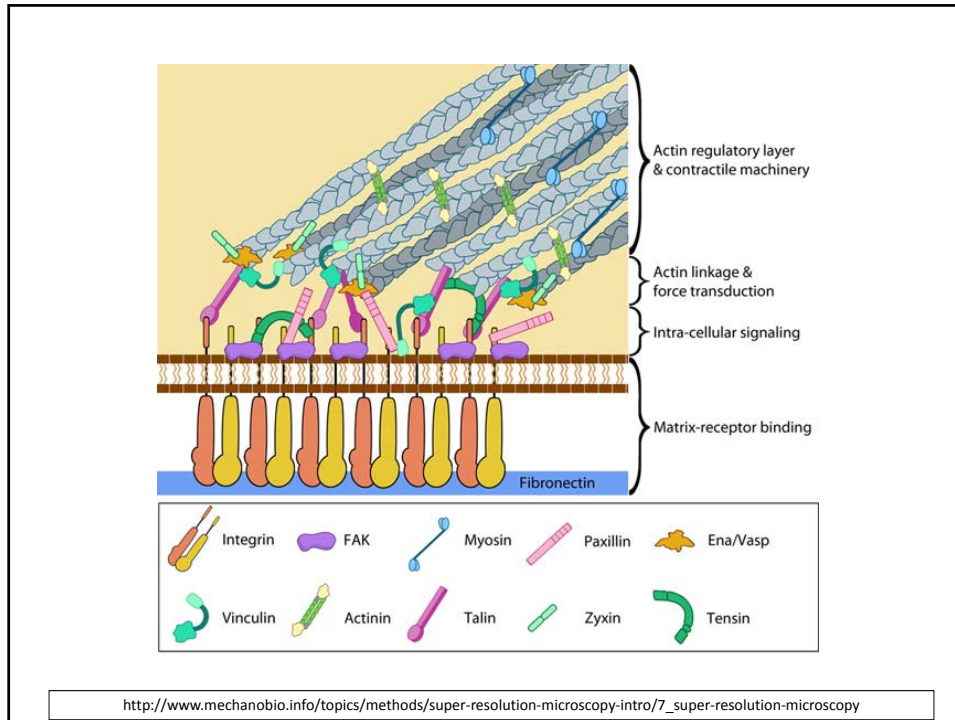


Fig. 1. The actin-integrin linkage. The linkage between the extracellular matrix (ECM, red strand on top) and the actin cytoskeleton (represented by yellow beaded coils) is depicted. Integrins (represented by the α - and β -transmembrane subunits in light blue and pink) can bind directly to the talin head domain (red sphere). Through its tail domain (red rod), talin can bind directly to actin as well as to other components of the linkage, such as vinculin (shown in purple). Vinculin can also bind to actin directly, as well as to the actin cross-linker α -actinin (shown as a dimer, in green). Both vinculin and α -actinin are anchored to the membrane, and their activity is modulated by interactions with phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate (PIP2). Finally, vinculin and FAK (shown in blue) can bind to the actin nucleator Arp2/3 (shown as a heptamer in grey).



ATTIVAZIONE «INSIDE-OUT» - [1]

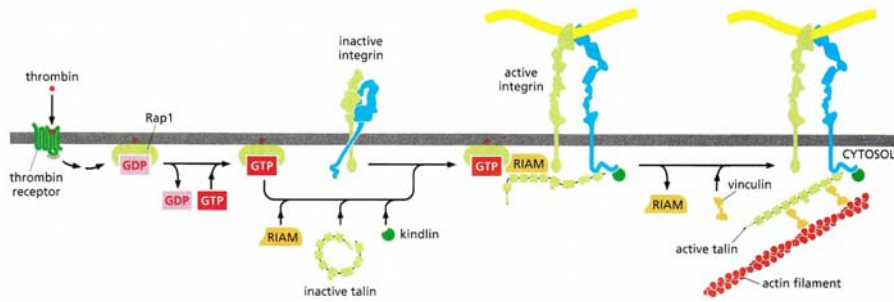
- ✚ L'attivazione inside-out delle integrine di solito dipende da **segnali regolatori intracellulari** che **stimolano la capacità della talina e di altre proteine di interagire con la coda della subunità β** .
- ✚ La **talina compete con la catena α dell'integrina** per il **sito legame sulla coda della subunità β** .
- ✚ Quindi, **quando la talina si lega alla catena β , blocca il collegamento α - β intracellulare** permettendo alle due gambe della molecola di integrina di separarsi.

- ✚ Questa attivazione “**inside-out**” viene scatenata da **molecole regolatorie intracellulari**. Queste includono il **fosfoinositide PIP₂**, che si ritiene sia in grado di **attivare la talina** in modo tale che **essa si lega in modo forte alla catena β dell'integrina**. In questo modo, un segnale generato all'interno della cellula scatena un processo tramite il quale le molecole di integrina afferrano e si collegano saldamente ai loro ligandi extracellulari.
- ✚ Le molecole intracellulari come il PIP₂ sono esse stesse prodotte in **risposta a segnali ricevuti dall'esterno** della cellula mediante altri tipi di recettori di superficie, quali i **recettori accoppiati a proteine G** e i **recettori ad attività tirosina chinasi**, che possono quindi controllare l'attivazione delle integrine.
- ✚ Viceversa, **l'attivazione delle integrine mediante legame alla matrice può influenzare il ricevimento dei segnali mediati da altre vie di signalling**. L'interazione di tutte queste vie di comunicazione, trasmettendo i segnali in entrambe le direzioni attraverso la membrana cellulare, permette che abbiano luogo interazioni complesse fra la cellula e il ambiente fisico-chimico.

ATTIVAZIONE «INSIDE-OUT» - [3]

- ✚ Nelle **piastrine** una proteina segnale extracellulare, la **trombina**, si collega ad un **recettore accoppiato ad una proteina G** (GPCR) sulla superficie cellulare attivando una via di segnalamento intracellulare che porta all'attivazione delle integrine.
- ✚ E' probabile che vie di segnalamento simili portino all'attivazione delle integrine in molti altri tipi cellulari.

Attivazione delle integrine mediante segnalamento intracellulare – [1]



Alberts et al., 2015

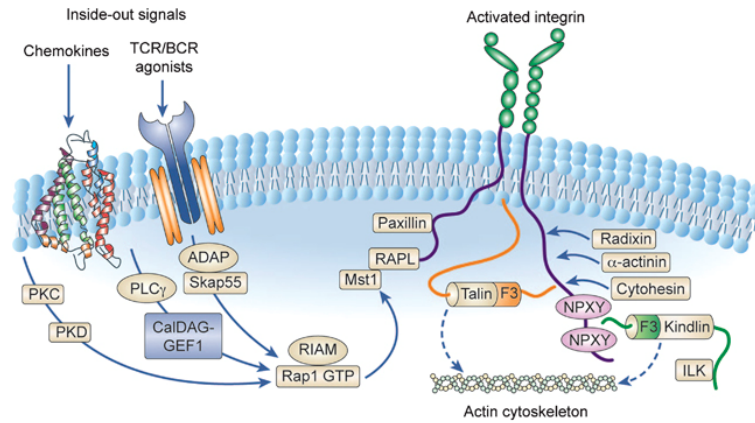
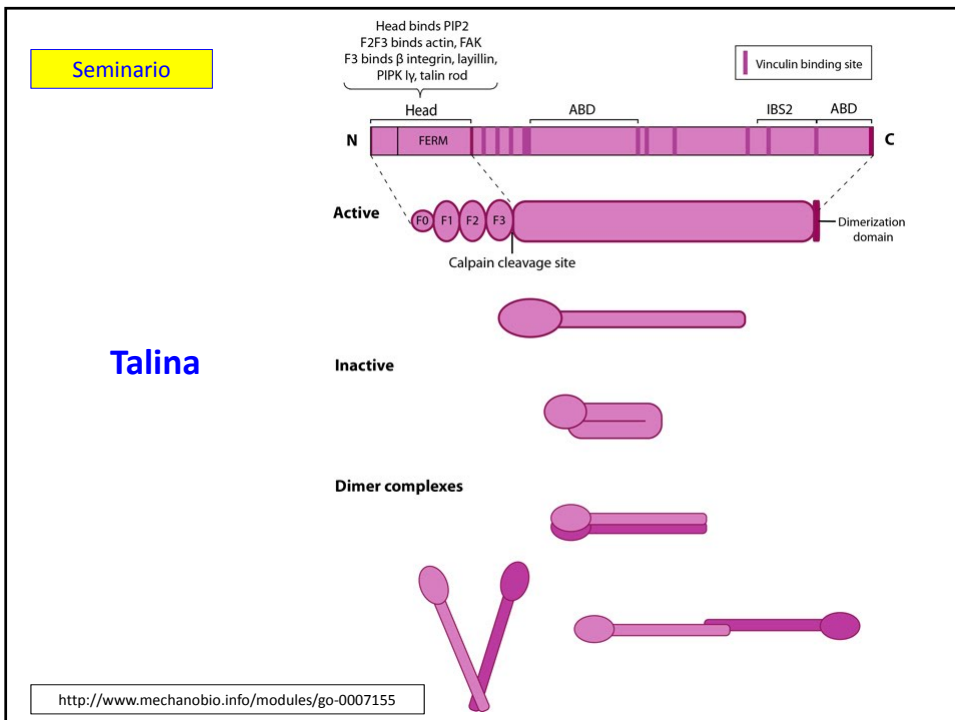
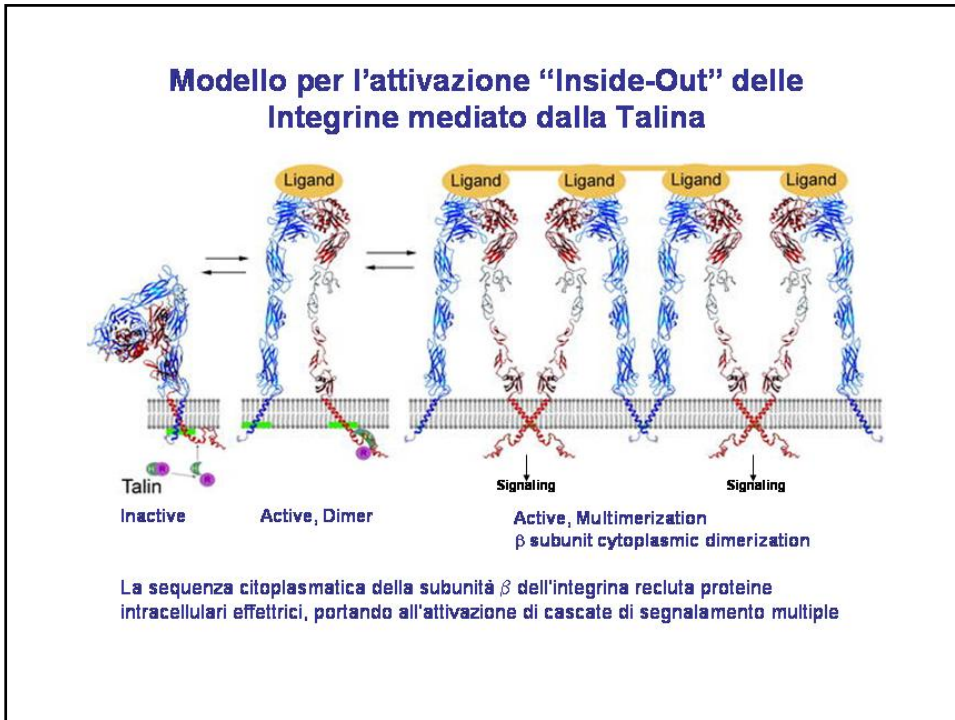
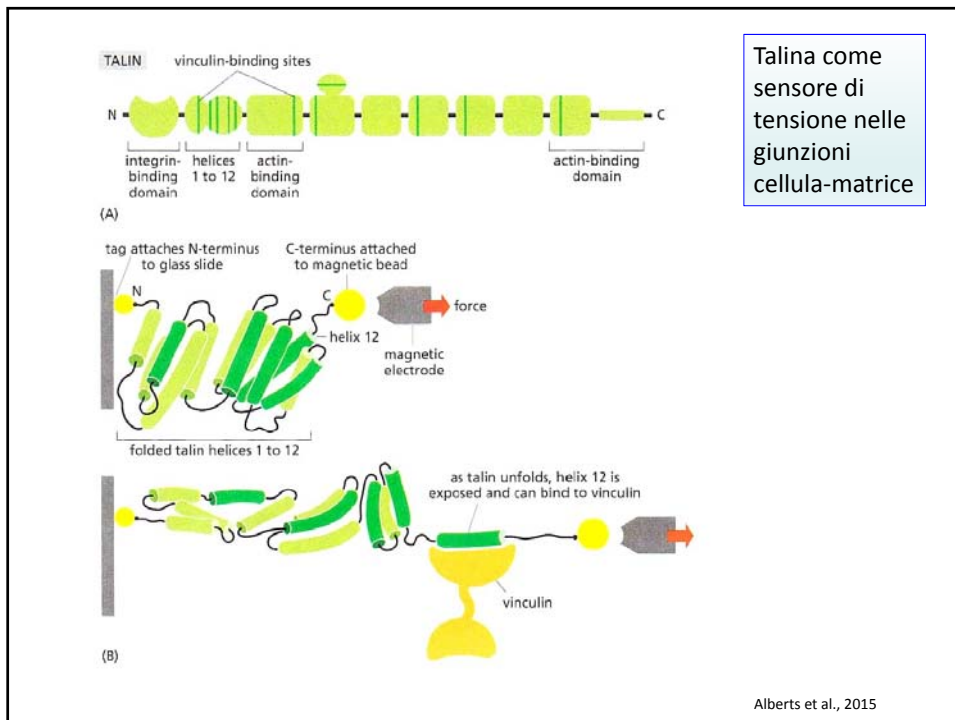
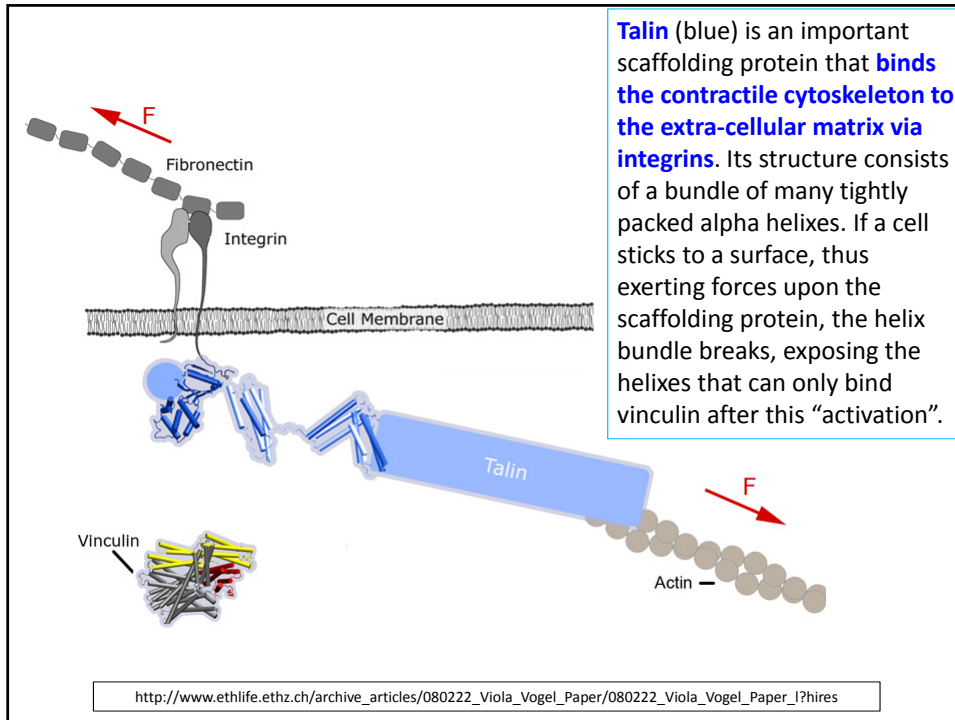


Figure 1 Integrin inside-out signaling. The figure outlines the key signaling pathways that have been implicated in **integrin inside-out signaling downstream of chemokine and B- or T-cell receptor stimulation**. In their inactive state, integrins adopt a bent conformation that is unable to bind ligand at high affinity. **Initiation of most signaling pathways that lead to integrin activation involve the recruitment of Rap1 GTPase.** Rap1 activation is controlled by upstream GEFs, in particular CalDAG-GEF1, which has been implicated in regulating cell adhesion and migration.⁶ Following Rap1 activation, its effectors RIAM and RapL form a complex with the cytoplasmic tails of integrins. **This leads to a critical change in the association of talin with the integrin cytoplasmic tail,** and binding of a number of other proteins to the integrin tail, including paxillin, radixin, cytohesin, α -actinin and the kindlins. **Altogether, these proteins facilitate separation of the cytoplasmic tails of the integrins, leading to full conformational changes required for high-affinity ligand binding and coupling of the integrin to the actin cytoskeleton.** The precise sequence of events from Rap1 activation to integrin tail separation and protein associations are unclear; however, this overall theme is likely common between the β_1 -, β_2 - and β_3 -integrins.

Abram CL, Lowell CA. **Leukocyte adhesion deficiency syndrome: a controversy solved.** Immunol Cell Biol. 2009 Aug-Sep;87(6):440-2.





Seminario

Talina (p235) - [1]

- ✚ Fornisce un **collegamento** tra i microfilamenti di **actina**.
- ✚ E' una proteina di dimensioni abbastanza grandi (MW 270 kDa; 235 kDa nei gel, donde il nome originario di **p235**).
- ✚ **Nuclea l'assemblaggio di actina** e **si lega alla vinculina** oltre che a un gran numero di proteine leganti l'actina e ad altre proteine, soprattutto nelle **adesioni focali**.
- ✚ Oltre che legarsi alla vinculina, che di per sè si associa ai lipidi, la talina è anche in grado di legarsi direttamente ai lipidi.

<http://www.bms.ed.ac.uk/research/others/smaciver/Encyclop/Abp-t/Talin.htm>

Seminario

Talina - [2]

- ✚ E' una proteina dimerica testa-coda che adotta una forma a manubrio.
- ✚ E' facilmente digerita (trombina, calpaina II) in due domini di 47 kDa e di 200 kDa.
 - Il frammento di 47 kDa è il **N-terminale** e **si lega a lipidi anionici (PIP₂)**
 - La **coda C-terminale** di maggiori dimensioni forma un gran numero di ripetizioni.
- ✚ Si ritiene che contenga tre **siti diversi di legame con l'actina**.
- ✚ Il rapporto della talina con l'actina è complesso:
 - Da una parte riduce la lunghezza dei filamenti di actina e la viscosità delle soluzioni di actina.
 - Dall'altro è in grado di nucleare l'assemblaggio dell'actina.
 - L'interazione actina-talina è molto sensibile al pH.

<http://www.bms.ed.ac.uk/research/others/smaciver/Encyclop/Abp-t/Talin.htm>

Seminario

Talin-binding protein	Function
actin	component of microfilaments
pp125^{FAK}	A tyrosine protein kinase
layilin	A trans-membranous glycoprotein
vinculin	pivotal component of the focal contact
b-integrin	Trans-membranous adhesion protein
Myosin II	Contractile protein
Dystrophin	Giant protein absent in Duchenne Muscular Dystrophy .

Table 1 Talin binding partners

<http://www.bms.ed.ac.uk/research/others/smaciver/Encyclop/Abp-t/Talin.htm>

Le integrine si aggregano per formare siti di adesione forti – [1]

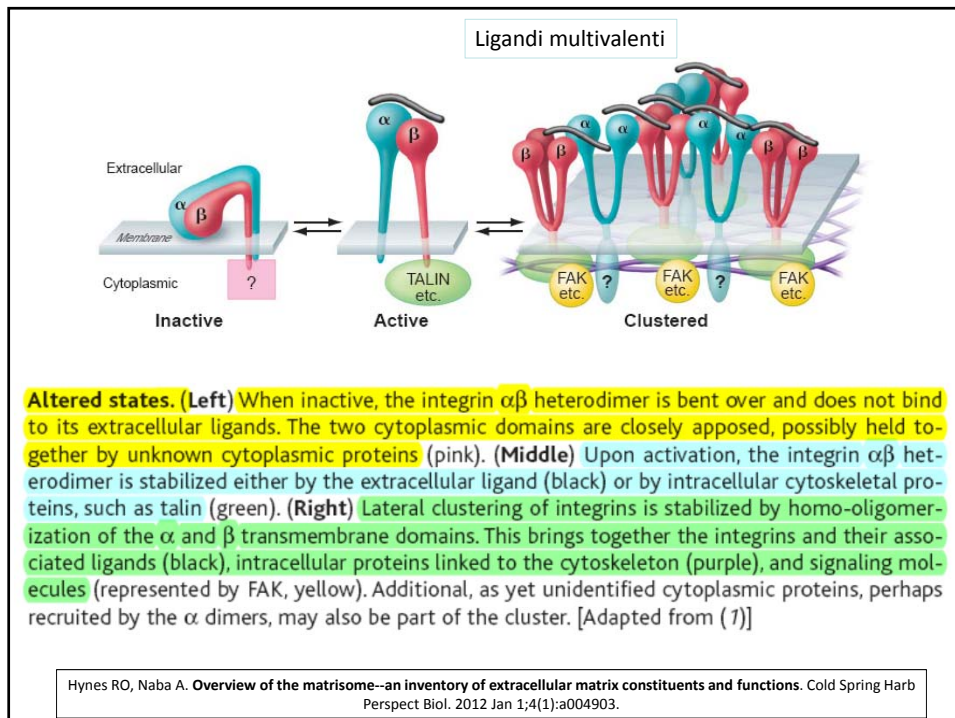
- ✚ Come le altre molecole di adesione, le integrine differiscono dai recettori per ormoni e per altri segnali solubili in quanto di solito **si legano al loro ligando con minore affinità**, mentre sono presenti in **concentrazioni da 10-100 volte superiori** con un effetto tipo-Velcro.
- ✚ In seguito alla loro attivazione le integrine formano **aggregati**, creando una placca densa in cui **molte molecole di integrina sono ancorate al citoscheletro**.
- ✚ La struttura proteica risultante può essere notevolmente ampia e complessa: es. **adesioni focali** formate da fibroblasti in una piastra di coltura rivestita da fibronectina.

Alberts et al., 2015

Definizioni

- ✚ **Affinità:** forza di legame tra una integrina singola e il suo ligando. Questa può essere alterata da alterazioni conformazionali nella struttura dell'integrina.
- ✚ **Avidità:** misura della forza complessiva di legame di integrine aggregate.

Evans R, Patzak I, Svensson L, De Filippo K, Jones K, McDowall A, Hogg N. **Integrins in immunity.** J Cell Sci. 2009 Jan 15;122(Pt 2):215-25.



Le integrine si aggregano per formare siti di adesione forti – [2]

- ✚ L'assemblaggio dei complessi giunzionali dipende dal reclutamento di dozzine di proteine «scaffold» e di segnalamento.
- ✚ La talina è il principale componente di molti complessi cellula-matrice, ma numerose altre proteine danno un contributo essenziale.
- ✚ Es: «**Integrin-linked kinase**» (ILK) e le sue partners di collegamento, «pinch» e «parvin», che complessivamente formano un complesso trimerico che funge come «hub» organizzativo in molti tipi di giunzioni.

Alberts et al., 2015

Le integrine si aggregano per formare siti di adesione forti – [3]

- ✚ Le giunzioni cellula-matrice utilizzano inoltre diverse **proteine di collegamento con l'actina** (es vinculina, zyxin, VASP e α -actinina) per **promuovere l'assemblaggio e organizzazione dei filamenti di actina**.
- ✚ Un altro componente estremamente importante di molte giunzioni cellula-matrice è la «**Focal Adhesion Kinase**» (**FAK**) che interagisce con diversi componenti delle giunzioni e svolge un'importante funzione di **segnalamento**.

Alberts et al., 2015