

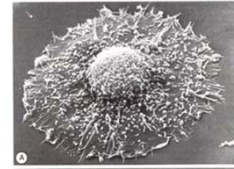
© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com

Matrice Extracellulare

Glicoproteine Adesive

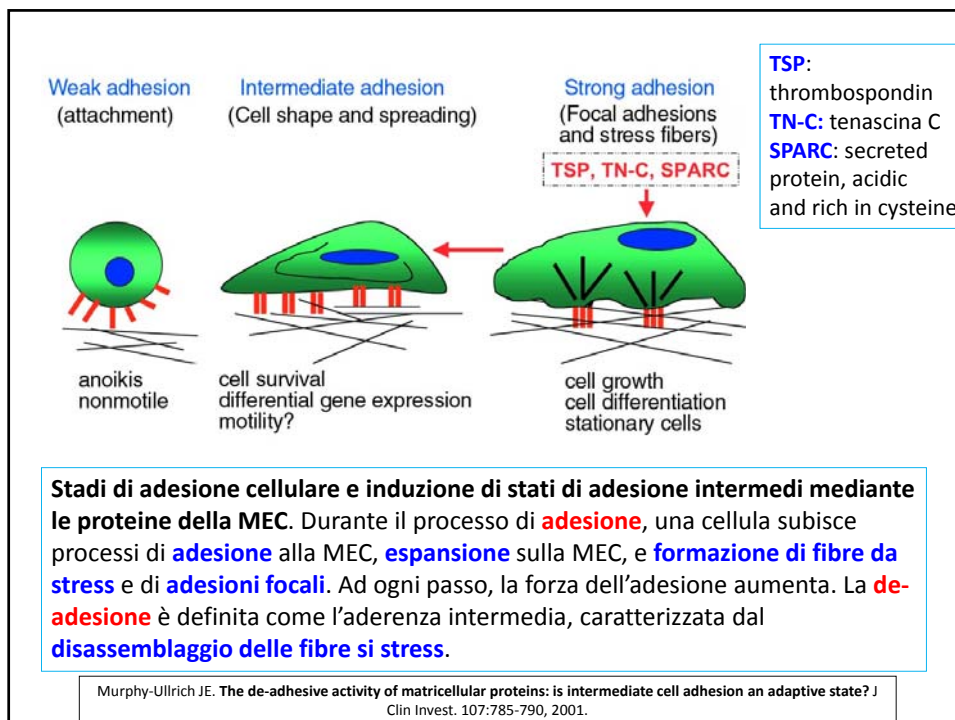
«...susseguirsi di domini diversi con proprietà di legame uniche e caratteristiche»

Le componenti extracellulari dell'adesione cellulare



- ✚ In vitro, l'**adesione**, l'**espansione** e la **migrazione** delle cellule richiedono **interazioni** tra la **cellula** e la **MEC**.
- ✚ Il grado di espansione della cellula dipende dalla **concentrazione delle componenti della MEC**, ossia del **numero di contatti focali** stabiliti.
- ✚ Quando una cellula incontra quantità limitate di sostanze adesive, essa tende a **migrare verso regioni dove la concentrazione è sufficiente per permettere alle cellule di espandersi**.
- ✚ Sembra che la migrazione abbia luogo quando le interazioni cellula-matrice sono **poche in numero** ma tali da conferire la **trazione** necessaria per la migrazione:
 - L'aumento del numero di punti di adesione cellulare immobilizza la cellula.
- ✚ Si ritiene che meccanismi simili abbiano luogo durante lo **sviluppo embrionale**, i processi di **riparo** e la **disseminazione metastatica**.

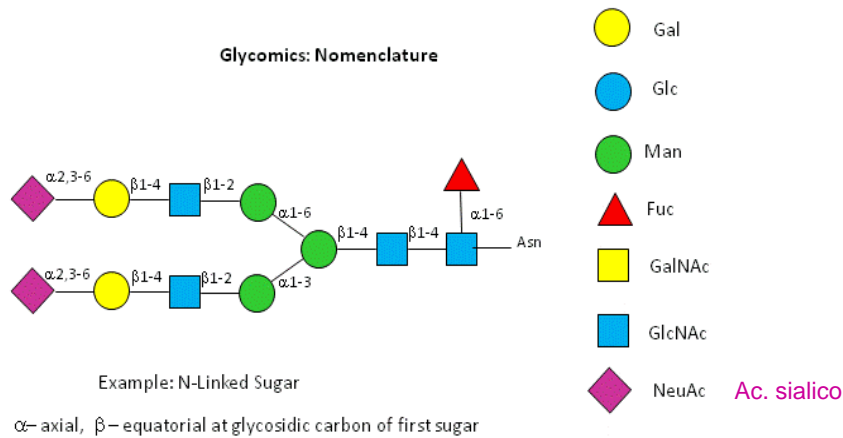
(Smith & Wood, Cell Biology, Stanley Thrones, 1999)



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 con 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.

Nuova nomenclatura visuale per la glicobiologia



<http://www.functionalglycomics.org/static/consortium/Nomenclature.shtml>

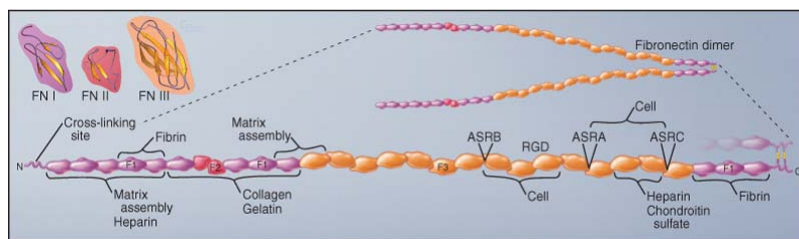
Glicoproteine strutturali

- ✚ Sono molecole **multifunzionali**.
- ✚ Di solito **interagiscono con diverse componenti della matrice extracellulare e delle superficie cellulari**, mediante **domini specifici**, e sembrano giocare un ruolo importante nelle interazioni cellula-matrice, fungendo da proteine di ancoraggio alla cellula.
- ✚ La loro capacità di auto-associarsi e di legarsi ad altre componenti della matrice suggerisce che esse collaborino inoltre **all'organizzazione cellulare della matrice circostante**.
- ✚ Le meglio caratterizzate sono la **fibronectina** e la famiglia della **laminina**.

TIPI DI MATRICE RAPPRESENTATIVE PRODOTTE DALLE CELLULE DEI VERTEBRATI IN VIVO

| Tipo di Collagene | Proteina di ancoraggio associata | Proteoglicano associato | Recettore sulla superficie cellulare | Cellule che lo producono |
|-------------------|----------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| I | Fibronectina | Condroitin solfato Dermatan solfato | Integrina | Fibroblasti |
| II | Fibronectina | Condroitin solfato | Integrina | Condrociti (cartilagine) |
| III | Fibronectina | Eparan solfato Eparina | Integrina | Epatociti quiescenti; fibroblasti associati agli epiteli |
| IV | Laminina | Eparan solfato Eparina | Recettori per la laminina | Tutte le cellule epiteliali; cellule endoteliali; epatociti in rigenerazione |
| V | Fibronectina | Eparan solfato Eparina | Integrina | Fibroblasti quiescenti |
| VI | Fibronectina | Eparan solfato | Integrina | Fibroblasti quiescenti |

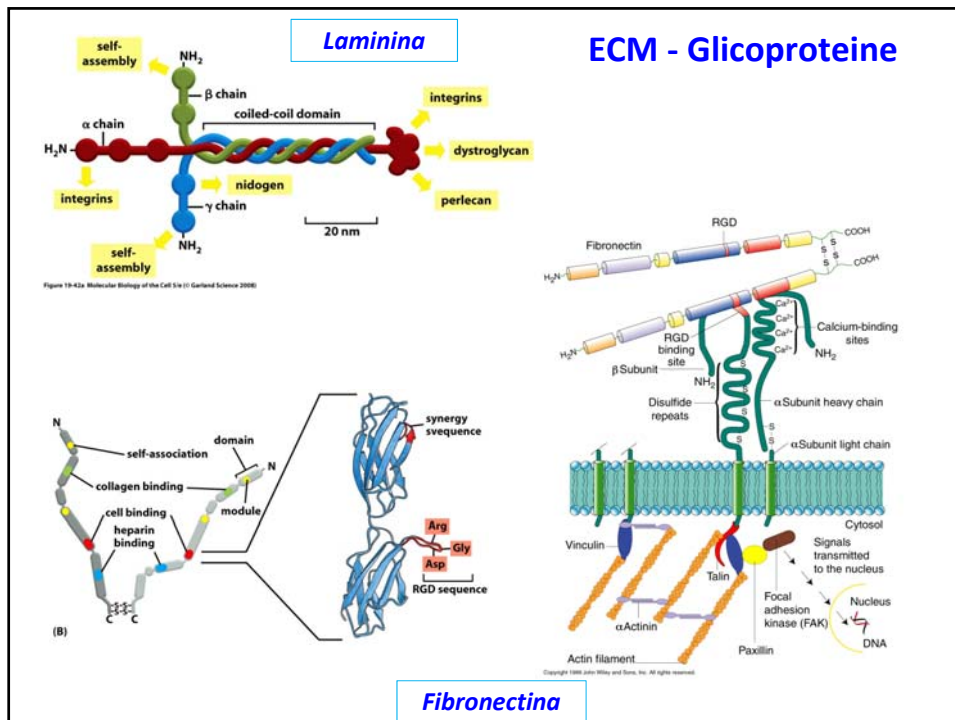
Smith & Wood, **Cell Biology**, Stanley Thornes, Cheltenham, 2nd ed., 1999



© Elsevier. Pollard et al: Cell Biology 2e - www.studentconsult.com

Glicoproteine della matrice

FIBRONECTINA



Fibronectina - [1]

- ✦ La fibronectina lega le cellule alla matrice e collabora a guidare il movimento cellulare.
- ✦ E' presente sia in forma **solubile** che **insolubile**.
- ✦ Contiene **siti di legame** sia per **recettori sulla superficie cellulare** che per diversi altre componenti extracellulari; es:
 - **Eparina** (un GAG; **anticoagulante**)
 - **Fibrina** (proteina della cascata della coagulazione del sangue)
 - **Collagene**
- ✦ Ubiquitaria, presente anche nel sangue dove collabora al legame delle piastrine nella formazione dei coaguli sanguigni.

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Fibronectina – [2]

✚ *Interagisce con una grande diversità di macromolecole:*

- Del citoscheletro
- Della matrice extracellulare
- Del sistema di coagulazione del sangue (molecole circolanti)
- Del sistema della fibrinolisi (molecole circolanti)
- Del sistema di risposta acuta all'infezione (molecole circolanti)
- Recettori sulla superficie cellulare di diversi tipi di cellule:
 - fibroblasti
 - neuroni
 - fagociti
 - batteri

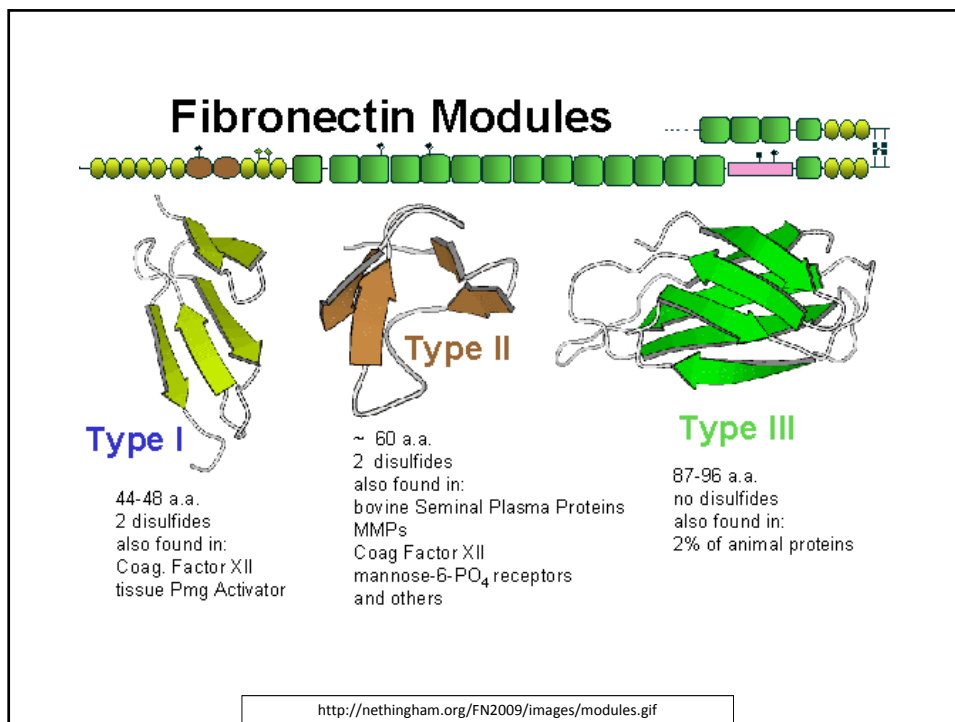
Fibronectina - [3]

✚ Interagisce inoltre con se stessa, formando entità fibrillari la cui struttura è poco nota.

✚ Interagisce anche con piccole molecole:

- Gangliosidi (derivati dalla sfingosina)
- Zuccheri
- Ioni Ca^{2+} .

✚ Queste diverse **funzioni di riconoscimento** sono localizzate su frammenti distinti o **domini**, molti dei quali sono stati espressi in forma ricombinante o isolati mediante digestione proteolitica, trattenendo le loro capacità di legame specifiche.



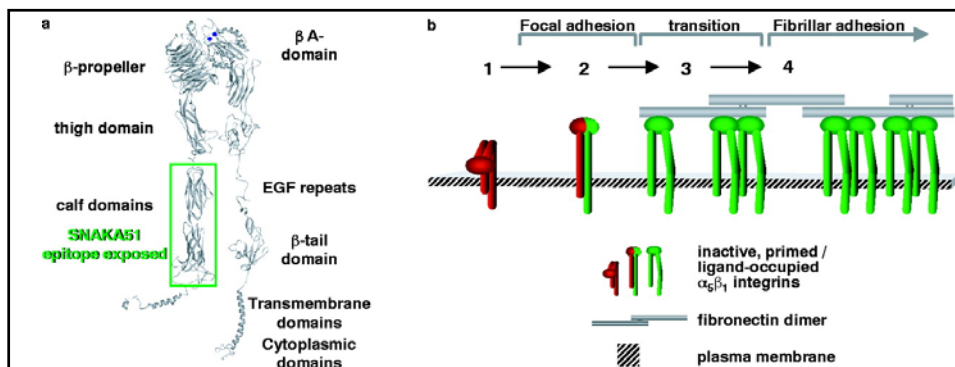
PROPRIETA' DEI SITI DI LEGAME DELLA FIBRONECTINA

| Sito (importanza fisiologica) | Proprietà |
|---|--|
| Fibrin(ogeno) I (formazione di coaguli; guarigione delle ferite) | Legame debole a 37°, probabilmente stabilizzato mediante cross-linking fatto dalla transglutaminasi al fibrin(ogeno) |
| Eparina I (legame alle cellule; migrazione cellulare) | Molto più debole dell'eparina II, a 37°C; significato fisiologico incerto |
| Legame agli Stafilococchi (infezione) | Si presume che opsonizzi i <i>Stafilococchi</i> , ma più probabilmente che alcuni ceppi abbiano sviluppato la capacità di legarsi alla fibrina per aiutare l'infezione |
| Sito di "cross-linking" mediato da transglutaminasi (formazione dei coaguli) | Coinvolge residui di glutamina dall'amino-terminale |
| Legame al collagene (gelatina) (legame e organizzazione cellula-matrice) | Si lega alla gelatina in modo più forte che al collagene nativo. Si lega inoltre a porzioni di collagene "denative" (?9del complemento C1q e acetilcolinesterasi |
| Legame con il DNA (?) [forse con DNA rilasciato da cellule morte] | Dopo il sito di legame al collagene verso il carbossi-terminale: significato sconosciuto |
| Siti di legame alle cellule (migrazione cellulare; interazione con la matrice) | Contiene sequenze Arg-Gly-Asp (RGD) che si legano a recettori sulla superficie cellulare. |
| Eparina II (aggregazione dei proteoglicani; legame alla superficie cellulare) Fibrin(ogeno) II (formazione di coaguli) | La principale funzione è il legame con i proteoglicani |
| Fibrin(ogeno) II (formazione di coaguli) | Come per fibrin(ogeno) I |

LA TENSIONE ESERCITATA DALLE CELLULE REGOLA L'ASSEMBLAGGIO DELLA FIBRONECTINA]

- ✚ La fibronectina può esistere:
 - in una **forma solubile**, che circola nel **sangue** e in altri fluidi corporei
 - In forma di **fibrille di fibronectina insolubili**, in cui i dimeri di fibronectina formano legami incrociati uno con l'altro mediante **legami disulfuro** addizionali, **nella matrice extracellulare**.
- ✚ Al contrario delle molecole di collagene fibrillare, che si possono auto-assemblare in vitro, **le molecole di fibronectina si assemano in fibrille soltanto sulla superficie cellulare**, e **soltanto** laddove le cellule posseggono **proteine di legame con la fibronectina adeguate** – in particolare le **integrine**.

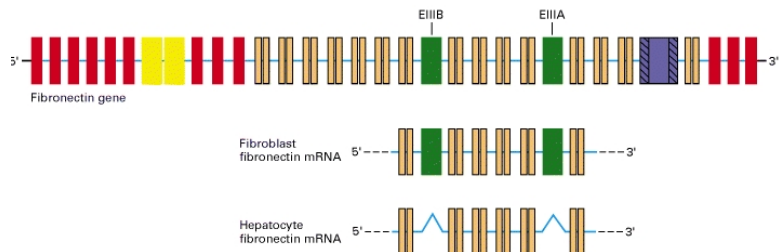
Vedi lezione sulle integrine



Model of transitions of $\alpha 5\beta 1$ integrin for fibrillar-adhesion-formation and fibronectin fibrillogenesis. (a) Predicted domain structure of $\alpha 5\beta 1$ integrin. The green box (calf domains) indicates the region containing the SNAKA51 epitope. Blue circles represent cations bound to the MIDAS and ADMIDAS sites in the β -integrin A-domain. (b) (1) Inactive integrin is diffusely located on the cell surface. (2) $\alpha 5\beta 1$ located in focal adhesions expresses epitopes reporting a primed $\beta 1$ conformation (e.g. 9EG7). These integrins may or may not be fully bound by ligand. (3) Integrin located at the distal edge of focal adhesions has additional SNAKA51 epitope expression. Clustering of this integrin promotes translocation. (4) **Ligated and clustered integrin translocates out of focal adhesions along the actin cytoskeleton, stretching extracellular fibronectin fibrils and driving fibrillogenesis.**

Clark K, Pankov R, Travis MA, Askari JA, Mould AP, Craig SE, Newham P, Yamada KM, Humphries MJ. A specific $\alpha 5\beta 1$ -integrin conformation promotes directional integrin translocation and fibronectin matrix formation. J Cell Sci. 2005 Jan 15;118(Pt 2):291-300.

Splicing alternativo, tipo cellulare-specifico, del pre-mRNA della fibronectina nei fibroblasti e negli epatociti



The ≈ 75 -kb fibronectin gene (*top*) contains **multiple exons** that likely evolved from an ancestral gene through a number of duplications of exons. Exons with homologous sequences are shown in the same color. In this diagram, introns (thin blue lines) are not drawn to scale; most of them are much longer than any of the exons. **The fibronectin mRNA produced in fibroblasts includes the EIIIA and EIIIB exons, whereas these exons are spliced out of fibronectin mRNA in hepatocytes.**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21558/figure/A2911/>

EFFETTI DELLE FIBRONECTINE SULLA FORMA DELLE CELLULE E SUL MOVIMENTO CELLULARE - 1

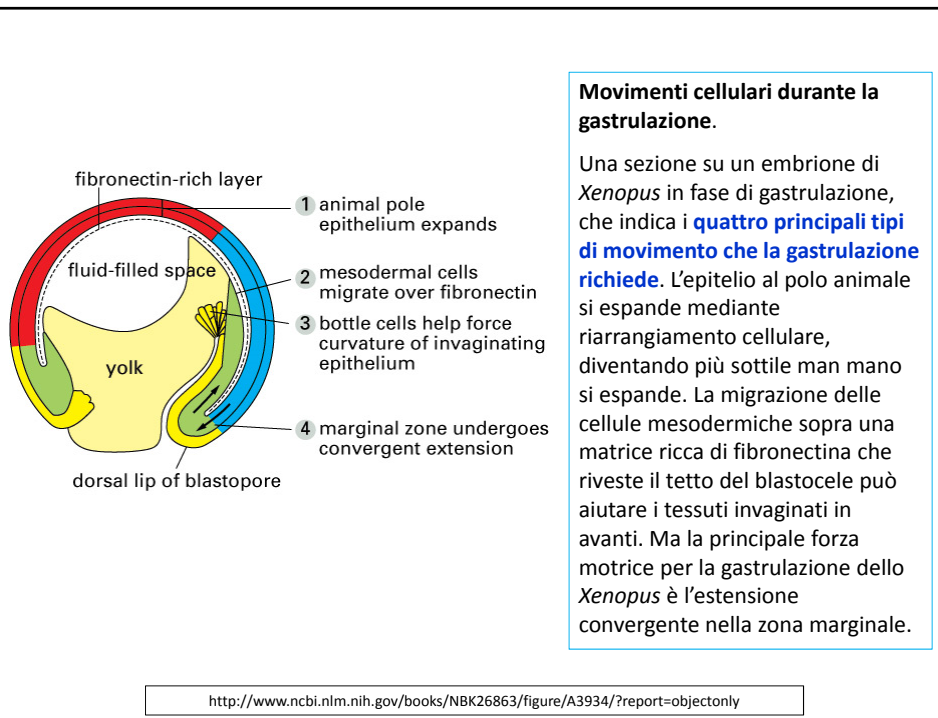
- ✚ La fibronectina lega recettori presenti sulla superficie delle cellule ed ad alcuni componenti della MEC, quali collagene e l'eparina, fungendo così da **molecola ponte che ancora le cellule alla MEC**.
- ✚ Questa funzione può essere dimostrata sperimentalmente, seminando le cellule in una piastra di coltura la cui superficie sia stata ricoperta di fibronectina:
 - In queste condizioni, le cellule si attaccano alla superficie della piastra in modo molto più efficiente che in assenza di fibronectina.
 - Una volta attaccate, le cellule si appiattiscono ed i filamenti di actina presenti all'interno delle cellule si allineano con le fibre di fibronectina presenti all'esterno della cellula.
 - Poiché l'orientamento e l'organizzazione del citoscheletro di actina sono importanti per determinare la forma delle cellule, si ritiene che la fibronectina sia importante per il mantenimento della forma delle cellule.

Adattato da: Becker – Kleinsmith – Hardin: Il Mondo della Cellula, II edizione (2006), Edises

EFFETTI DELLE FIBRONECTINE SULLA FORMA DELLE CELLULE E SUL MOVIMENTO CELLULARE - 2

- ✚ La fibronectina è coinvolta anche nel **movimento cellulare**:
 - Quando le cellule embrionali in migrazione sono fatte crescere su fibronectina esse vi aderiscono rapidamente.
 - Le **vie seguite dalle cellule in migrazione** contengono una notevole concentrazione di **fibronectina**, suggerendo che la loro migrazione sia guidata dal legame con la fibronectina lungo il percorso.
 - Quando anticorpi anti-fibronectina sono iniettati in embrioni di anfibi, la migrazione cellulare normale è bloccata, con il conseguente accumulo di anomalie dello sviluppo.
 - Topi knock-out per la fibronectina: mostrano gravi difetti nelle cellule della muscolatura che riveste tutta la lunghezza del corpo e nel sistema vascolare

Adattato da: Becker – Kleinsmith – Hardin: Il Mondo della Cellula, II edizione (2006), EdISES



EFFETTI DELLE FIBRONECTINE SULLA FORMA DELLE CELLULE E SUL MOVIMENTO CELLULARE -3

- ✚ Possibile coinvolgimento della fibronectina nel **cancro**:
 - **Molti tipi di cellule tumorali sono incapaci di sintetizzare le fibronectine**, con conseguente perdita della normale forma cellulare e distacco dalla MEC.
 - Se si fornisce fibronectina a tali cellule, esse riacquisiscono una forma più normale e recuperano la capacità di legarsi alla MEC e non appaiono più maligne.
- ✚ Effetti della fibronectina sulla **coagulazione del sangue**:
 - La forma solubile della fibronectina presente nel sangue (***fibronectina plasmatica***), è coinvolta nella coagulazione del sangue.
 - La ***fibronectina plasmatica*** **promuove la coagulazione** in quanto **possiede diversi domini che riconoscono la fibrina**, una proteina della coagulazione, e **può ancorare le piastrine alla fibrina** durante la formazione del coagulo

Adattato da: Becker – Kleinsmith – Hardin: **Il Mondo della Cellula**, II edizione (2006), EdiSES

Laminina

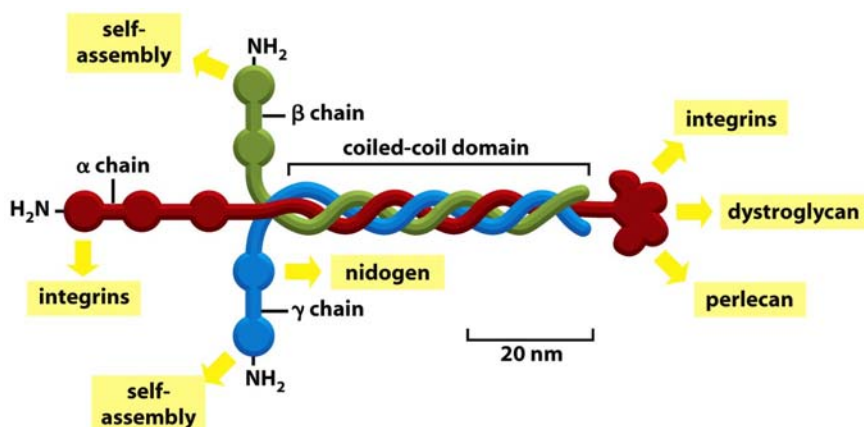


Figure 19-42a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Laminina - 1

- ✚ Glicoproteina di PM 900 kDa (Smith & Wood) [\sim 400 -800 kDa, Yurchenco].
- ✚ Originariamente isolata dalla MEC dei tumori.
- ✚ Nei tessuti normali è la principale glicoproteina non appartenente alla famiglia dei collagene delle **lamina basali**, localizzata nella "lamina rara".
- ✚ Rispetto alla fibronectina, si sa molto meno sui rapporti struttura-funzione della laminina.

(Smith & Wood, 1999)

Laminina: informazioni Miner (1)

- ✚ La «laminina» è una componente ubiquitaria delle membrane basali; questo termine tuttavia descrive una serie di isoforme diverse.
- ✚ Tutte le laminine sono secrete come **eterotrimeri $\alpha\beta\gamma$** , la cui struttura è stabilizzata da un numero limitato di **legami disolfuro** intercatenari:
 - 5 isoforme delle catene α .
 - 4 isoforme delle catene β
 - 3 isoforme delle catene γ .
- ✚ Le varie isoforme delle 3 catene si assemblano una con l'altra in modo non casuale e formano almeno 15 eterotrimeri diversi.
- ✚ Gli eterotrimeri sono designati in base alla specifica combinazione $\alpha\beta\gamma$:
- ✚ Es: laminina **$\alpha2\beta2\gamma1$** viene descritte come laminina **221** o come LM-**221**.

Miner JH. The glomerular basement membrane. Exp Cell Res. 2012 May 15;318(9):973-8.

Laminina: informazioni Miner (2)

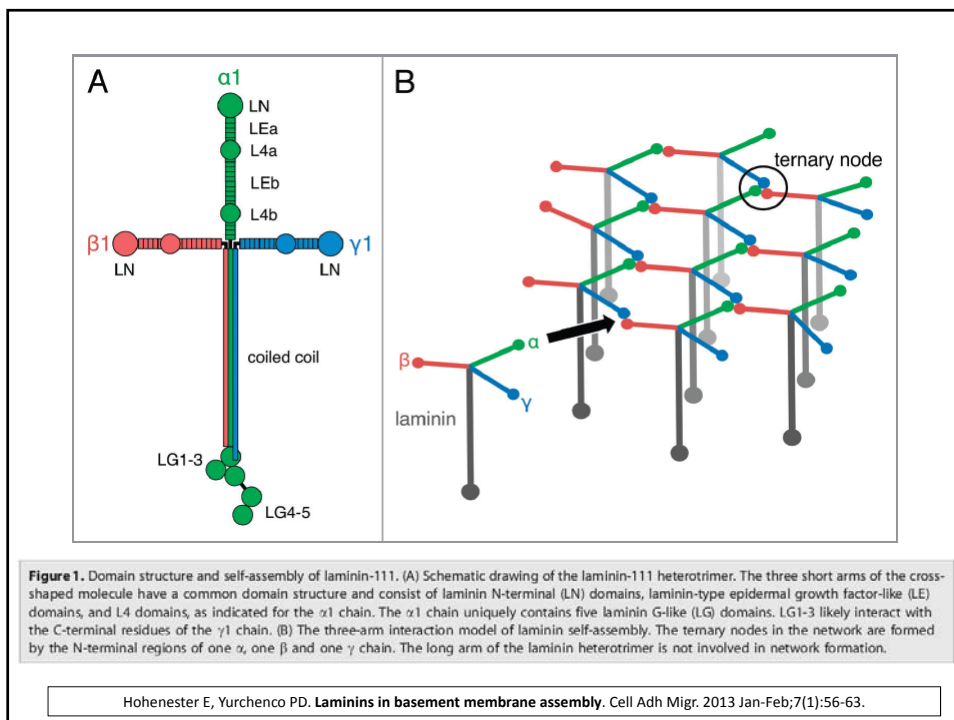
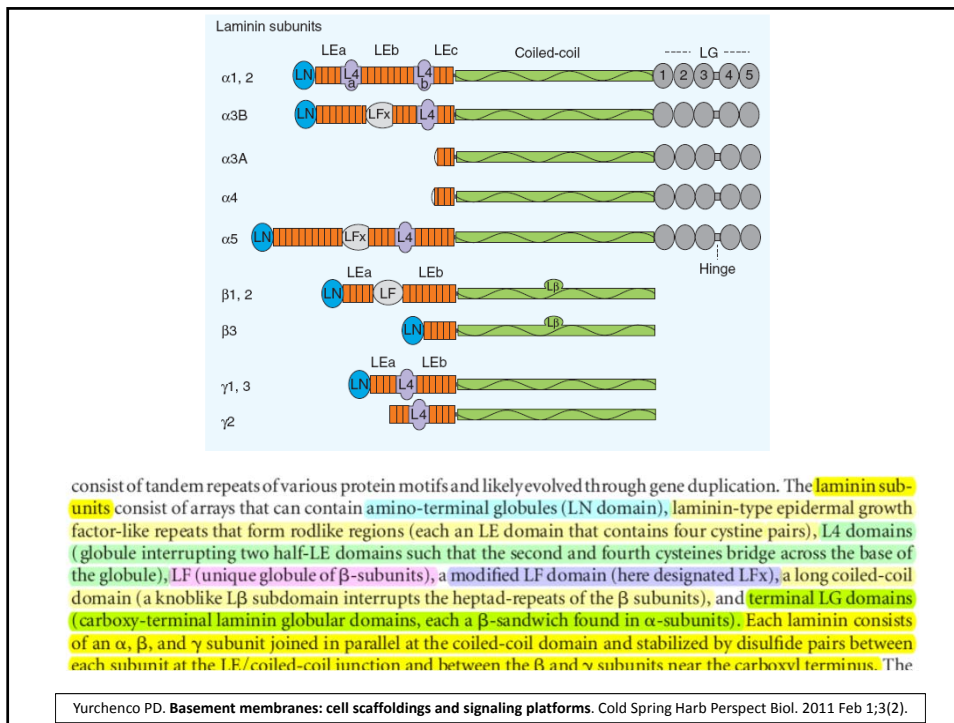
- ✚ Le varie catene della laminina sono correlate evolutivamente e quindi condividono diversi aspetti strutturali.
- ✚ Il tipico eterotrimerico viene schematizzato come una **struttura a croce** in cui le tre catene si avvolgono una rispetto all'altra mediante il loro dominio «**laminin coiled-coil**» (**LCC**) per formare il **braccio lungo** della croce.
- ✚ All'estremità di questo braccio lungo vi è un **dominio globulare di laminina (LG)** di grandi dimensioni (circa 900 AA) che si trova nel C-terminale di tutte le 5 isoforme di catene α .
- ✚ I domini LG contengono **5 sotto-domini** in tandem in cui si trovano i **siti di legame per recettori sulla superficie cellulare**, quali integrine e distroglicano.

Miner JH. **The glomerular basement** membrane. Exp Cell Res. 2012 May 15;318(9):973-8.

Laminina: informazioni Miner (3)

- ✚ Le altre tre braccia della croce, designate **braccia corte**, sono formate mediante domini alternati **globulari** e a **bastoncello**.
- ✚ Il dominio globulare N-terminale (**LN**) media le interazioni tra trimeri che portano alla formazione del polimero di laminina nella MEC e all'inizio dell'assemblaggio della membrana basale.
- ✚ I domini a bastoncello sono formati da ripetizioni «**Laminin-type Epidermal growth factor-like**» (**LE**) la cui struttura secondaria dipende da legami disolfuro molto estesi.

Miner JH. **The glomerular basement** membrane. Exp Cell Res. 2012 May 15;318(9):973-8.



Collegamento della laminina alla membrana plasmatica

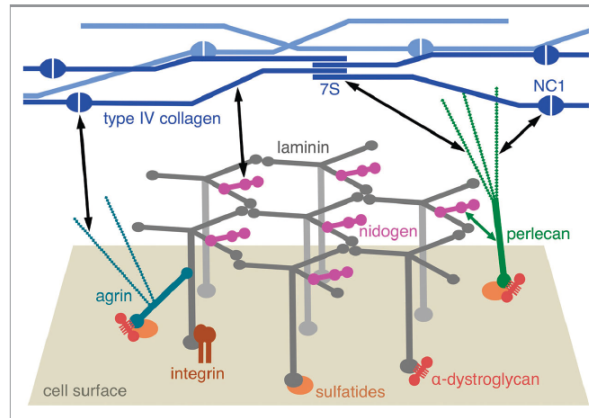


Figure 3. Schematic drawing of the molecular structure of a basement membrane. The laminin network is anchored to the cell surface by interactions of the long arms with cellular receptors (integrins, α -dystroglycan and sulfated glycolipids/sulfatides). Collateral interactions are made with the heparan sulfate proteoglycans agrin and perlecan. An independent network is formed by type IV collagen, through interactions of its N-terminal 7S and C-terminal NC1 domains, as well as through lateral associations of the triple helices. The laminin and collagen networks are linked by nidogen and heparan sulfates (black double-headed arrows).

Hohenester E, Yurchenco PD. **Laminins in basement membrane assembly.** *Cell Adh Migr.* 2013 Jan-Feb;7(1):56-63.

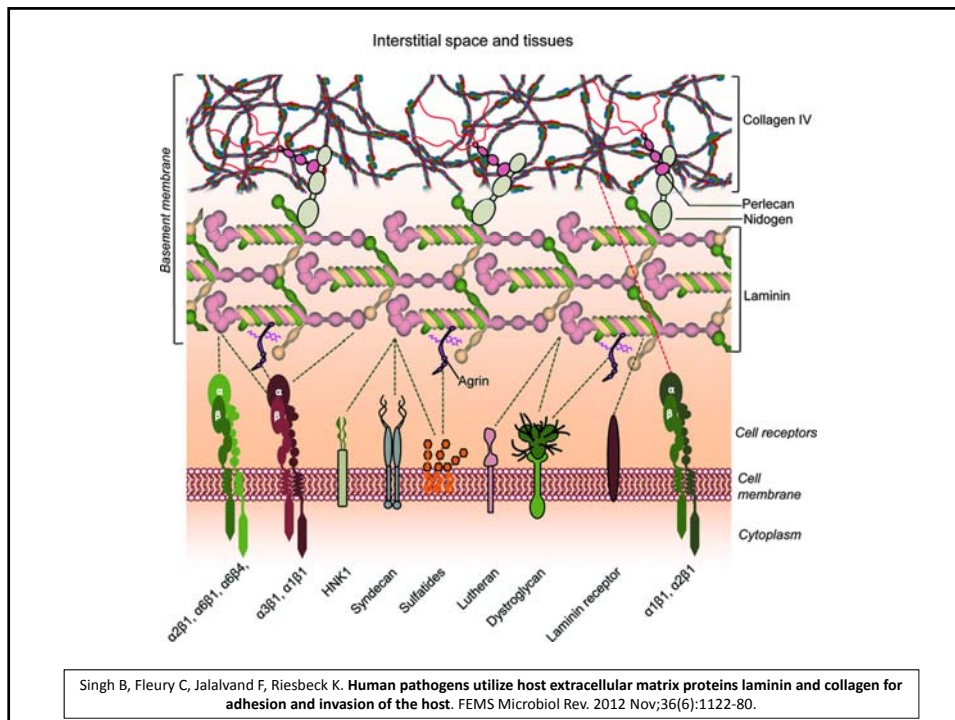
REVIEW ARTICLE

FEMS Microbiol Rev 36 (2012) 1122–1180

Human pathogens utilize host extracellular matrix proteins laminin and collagen for adhesion and invasion of the host

Birendra Singh, Christophe Fleury, Farshid Jalalvand & Kristian Riesbeck

Laminin (Ln) and collagen are multifunctional glycoproteins that play an important role in cellular morphogenesis, cell signalling, tissue repair and cell migration. These proteins are ubiquitously present in tissues as a part of the basement membrane (BM), constitute a protective layer around blood capillaries and are included in the extracellular matrix (ECM). As a component of BMs, both Lns and collagen(s), thus function as major mechanical containment molecules that protect tissues from pathogens. Invasive pathogens breach the basal lamina and degrade ECM proteins of interstitial spaces and connective tissues using various ECM-degrading proteases or surface-bound plasminogen and matrix metalloproteinases recruited from the host. Most pathogens associated with the respiratory, gastrointestinal, or urogenital tracts, as well as with the central nervous system or the skin, have the capacity to bind and degrade Lns and collagen(s) in order to adhere to and invade host tissues. In this review, we focus on the adaptability of various pathogens to utilize these ECM proteins as enhancers for adhesion to host tissues or as targets for degradation in order to breach the cellular barriers. The major pathogens discussed are *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Treponema*, *Mycobacterium*, *Clostridium*, *Listeria*, *Porphyromonas* and *Haemophilus*; *Candida*, *Aspergillus*, *Pneumocystis*, *Cryptococcus* and *Coccidioides*; *Acanthamoeba*, *Trypanosoma* and *Trichomonas*; retrovirus and papilloma virus.

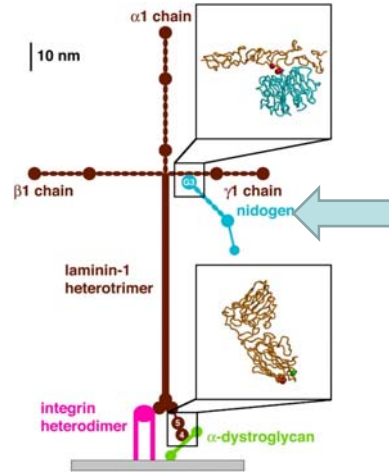


Laminina - 3

- ✚ La **digestione proteolitica** controllata della laminina dà origine a un gran numero di **frammenti in grado di legarsi a componenti della superficie cellulare e della MEC («matrichine»)**.
- ✚ La laminina è stata probabilmente la prima molecola della matrice coinvolta nell'adesione a cellule a comparire durante lo sviluppo embrionale.
- ✚ La sua presenza ubiquitaria nella **lamina rara** delle lamine basali suggerisce che la laminina giochi un ruolo nell'interazione fra cellule epiteliali ed endoteliali con gli altri componenti della lamina basale.
 - La laminina promuove l'adesione di cellule epiteliali ed endoteliali specificamente al collagene di tipo IV, uno dei principali componenti della **lamina densa**.
 - La laminina sembra più attiva della fibronectina nella promozione della crescita dei neuriti e della formazione dei miotubi.
 - GAGs: la laminina si lega molto fortemente all'eparina e con moderata affinità all'eparan solfato, dermatan solfato e condroitin-4-solfato.

(Smith & Wood, 1999)

Seminario



Glicoproteine della matrice

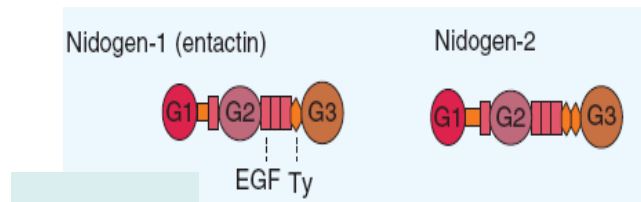
NIDOGENO (ENTACTINA)

Sasaki T, Fässler R, Hohenester E. Laminin: the crux of basement membrane assembly. J Cell Biol. 2004 Mar 29;164(7):959-63.

Seminario

Nidogeno/Entactina

- ✚ Tipica proteina della membrana basale.
- ✚ Ci sono due tipi, nidogeno-1 e nidogeno-2.
- ✚ Entrambi sono un singolo polipeptide a forma di manubrio.
- ✚ Il nidogeno-1 si lega sia alla laminina che al collagene di tipo IV.



Smith & Wood, Cell Biology, Stanley Thornes, 1999; Miner JH. The glomerular basement membrane. Exp Cell Res. 2012 May 15;318(9):973-8.

Trombospondina – [1]



- ✚ Glicoproteina legante il calcio, di 420 kDa, identificata per prima nelle piastrine.
- ✚ Ora si sa che è sintetizzata e secreta dai fibroblasti, cellule endoteliali, ecc. e in seguito incorporata nella MEC.
- ✚ E' in grado di legarsi al **fibrinogeno**, **fibronectina**, **laminina**, **eparina** e **collagene di tipo V**.
- ✚ E' composta da **3 catene polipeptidiche identiche** (145 kDa) che sono «cross-linked» mediante **ponti disolfuro**.
- ✚ In presenza di Ca^{2+} la trombospodina possiede quattro regioni distinte:
 - Il N-terminale globulare
 - Tre altre che finiscono in una regione C-terminale globulare.
- ✚ Il N-terminale globulare lega l'**eparina**.
- ✚ Sia **le regioni N-terminali che C-terminali sono coinvolte nell'aggregazione piastrinica**.

Smith & Wood, cell Biology, Stanley Thornes, 1999

Trombospondina – [2]

- ✚ L'adesione alle cellule sembra essere mediata da una **sequenza RGDA** (arginina - glicina – acido aspartico – alanina) localizzata vicino alle regioni globulari del C-terminale.
- ✚ L'**integrina $\alpha v \beta 3$** è nota come legante la sequenza RGD.
- ✚ Inoltre, la **glicoproteina IV delle piastrine (CD36)** sembra funzionare come **recettore per la trombospodina nelle cellule endoteliali**.
- ✚ Il **dominio legante l'eparina** del N-terminale potrebbe mediare l'adesione alle cellule mediante proteoglicani della superficie cellulare quali il fibroglicano, il sindecano e il CD44.
- ✚ Ci sono dati che suggeriscono che la trombospodina media la **migrazione di cellule di carcinoma e di melanoma** umani e promuova la **proliferazione** delle cellule muscolari lisce.
- ✚ Viceversa, **inibisce la proliferazione delle cellule endoteliali** e quindi l'angiogenesi.

Smith & Wood, cell Biology, Stanley Thornes, 1999

The Thrombospondins

Josephine C. Adams¹ and Jack Lawler²

Cold Spring Harb Perspect Biol 2011;3:a009712

Thrombospondins are evolutionarily conserved, calcium-binding glycoproteins that undergo transient or longer-term interactions with other extracellular matrix components. They share properties with other matrix molecules, cytokines, adaptor proteins, and chaperones, modulate the organization of collagen fibrils, and bind and localize an array of growth factors or proteases. At cell surfaces, interactions with an array of receptors activate cell-dependent signaling and phenotypic outcomes. Through these dynamic, pleiotropic, and context-dependent pathways, mammalian thrombospondins contribute to wound healing and angiogenesis, vessel wall biology, connective tissue organization, and synaptogenesis. We overview the domain organization and structure of thrombospondins, key features of their evolution, and their cell biology. We discuss their roles in vivo, associations with human disease, and ongoing translational applications. In many respects, we are only beginning to appreciate the important roles of these proteins in physiology and pathology.

Architettura dei domini delle trombospondine

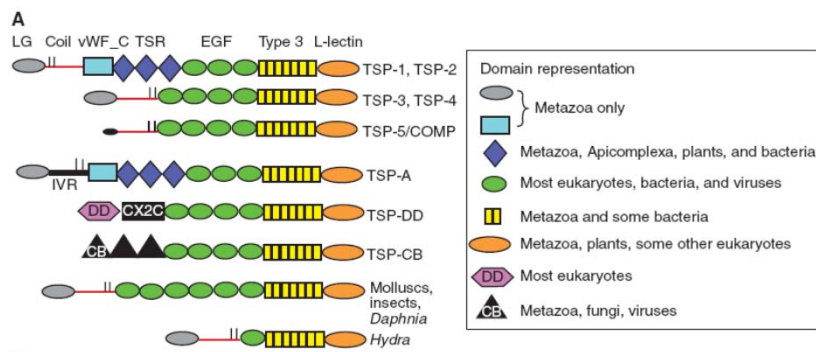
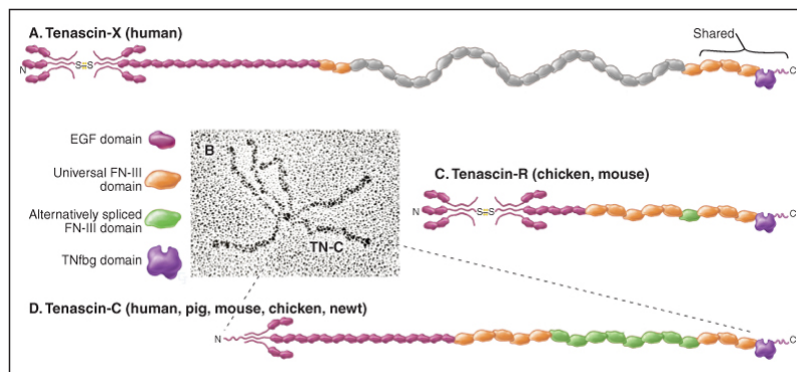


Figure 1. Domain architectures of thrombospondins. (A) Schematic diagram of the domain architectures of thrombospondin family members. Key: LG = laminin G-like amino-terminal domain; vWF_C = von Willebrand type C domain; TSR = thrombospondin type 1 domains; EGF = epidermal growth factor-like domains; Type 3 = thrombospondin type 3 repeats; L-lectin = L-type lectin-like domain; DD = discoidin domain; IVR = intervening region; CX2C = Cys-X2-Cys domain; CB = chitin-binding type 2 domain. Horizontal red lines indicate coiled-coil domains. Vertical black lines indicate position of cysteine residues that form intersubunit disulfide bonds. (B) Examples of the coiled-coil oligomerization domain from representative trimeric and pen-

Adams JC, Lawler J. **The thrombospondins.** *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011 Oct 1;3(10):a009712.



Glicoproteine della matrice

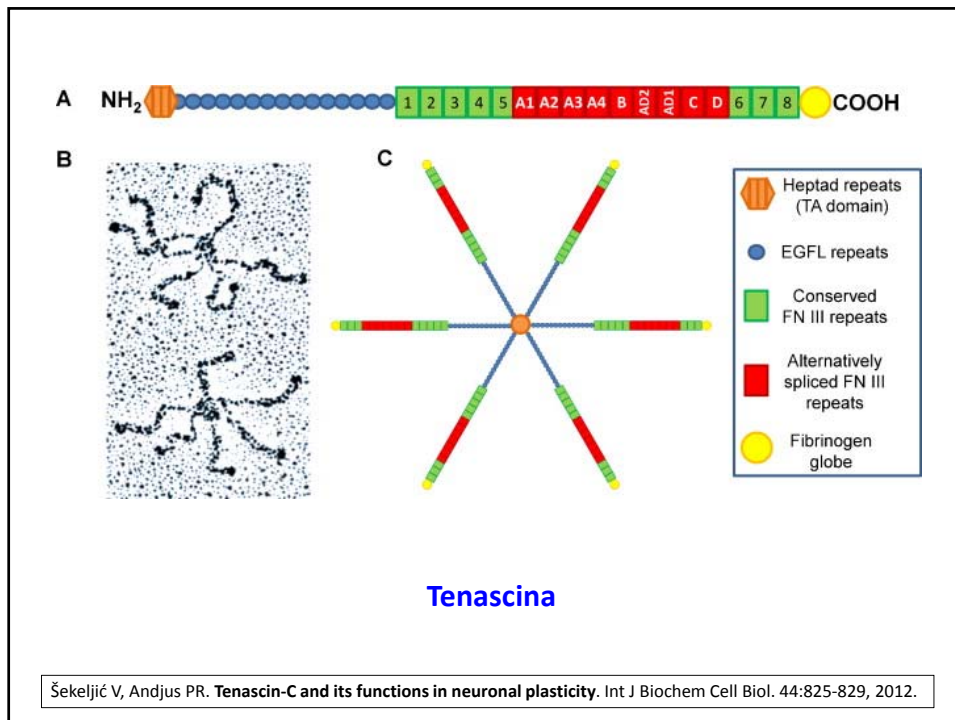
TENASCINA

Seminario

Seminario

Tenascine

- ✚ Tenascina C (glial/mesenchymal extracellular matrix protein (GMEM); «myotendinous protein», esabrachion, citotactina, J1_{220/220}, neuronectina): primo membro descritto della famiglia delle tenascine (tenascine -C, -R, -W, -X, -Y).
- ✚ Hanno quadri di **espressione** molto ristretti nello **sviluppo embrionale**, soprattutto durante lo sviluppo neurale, scheletrogenesi e vasculogenesi.
- ✚ Espressione bassa nell'adulto normale.
- ✚ Possono essere **ri-esprese** nei processi di **guarigione delle ferite** e **rigenerazione dei nervi**.
- ✚ Espressione **sovra-regolata** in quadri patologici quali infiammazione, asma, fibrosi, malattie vascolari, **tumorigenesi**, metastatizzazione.



Seminario

Struttura della tenascina-C

- ✚ Struttura estremamente simmetrica: **esabrachion**.
- ✚ Consiste in 6 catene polipeptidiche collegate nei loro domini N-terminali mediante un dominio «tenascin assembly».
- ✚ Le regioni interne delle braccia sono sottili e rigide e contengono un a disposizione lineare di 14 ripetizioni tipo EGF nei mammiferi (13 nelle altre specie dei mammiferi).
- ✚ Le regioni esterne sono **spesse e flessibili** e contengono una serie di domini fibronectina di tipo III in una grande varietà di splicing.
- ✚ All'estremità di ogni braccio c'è un dominio globulare simile alle catene β e γ del fibrinogeno.

Proprietà dei domini delle tenascine

- ✚ Adesive
- ✚ Anti-adesive
- ✚ Proliferative
- ✚ Promuoventi l'appiattimento cellulare
 - A seconda della forma (solubile, legata) della molecola, tipo cellulare, stato differenziativo.
 - Le attività antitetiche dipendono dal legame delle tenascine ad altre proteine della MEC o a recettori diversi.

Recettori cellulari per la tenascina

- ✚ Integrine
- ✚ Molecole di adesione della superfamiglia delle immunoglobuline (CAMs)
- ✚ «Phosphacan/RPTP ζ/β » (CS-proteoglicano transmembrana / recettore ad attività tirosina fosfatase).

Fattore di von Willebrand (VWF) (1)

- ✚ Il VWF is un costituente glicoproteico della **membrana basale vascolare**.
- ✚ Inoltre circola nel **plasma** sotto forma di **multimeri di grandi dimensioni** che vanno dai 500 ai 10,000 kDa.
- ✚ Il monomero maturo del VWF consiste di 2050 residui e contiene diversi domini importanti per la funzione della molecola, nonché residui di cisteina per la formazione di crosslinks formando dimeri e multimeri mediante legami disolfuro.
- ✚ Le **cellule endoteliali** e i **megacariociti** sono le uniche cellule che sintetizzano VWF.
- ✚ Nelle cellule endoteliali, il VWF viene sia secreto costitutivamente oppure indirizzato a **granuli di accumulo (corpi di Weibel-Palade)** in attesa di secrezione mediata da agonisti.
- ✚ Viceversa, nelle piastrine si osserva soltanto secrezione mediata da agonisti dai granuli α .
- ✚ Perciò, **il VWF presente nel plasma è quasi esclusivamente prodotto dalle cellule endoteliali.**

Bergmeier W, Hynes RO. *Extracellular matrix proteins in hemostasis and thrombosis*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Feb 1;4(2). doi:pii: a005132. 10.1101/cshperspect.a005132

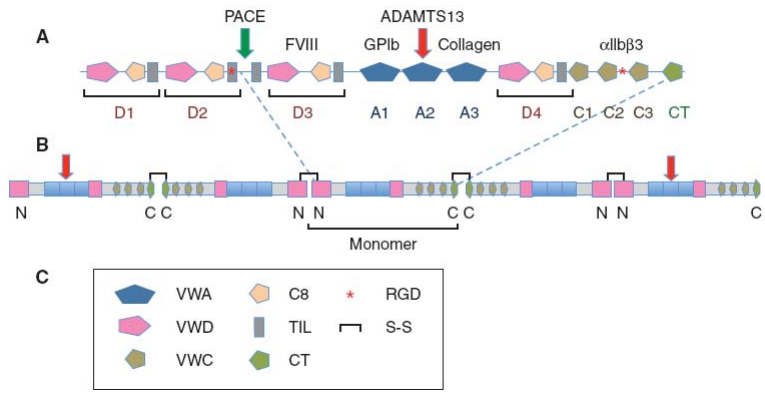
Fattore di von Willebrand (VWF) (2)

- ✚ I **multimeri di VWF** rilasciati dai granuli di accumulo sono estremamente grandi e designati «**ultralarge von Willebrand factor**» (**ULVWF**).
- ✚ Il **ULVWF** è biologicamente molto attivo in quanto **forma legami più forti con il recettore piastrinico GPIIb/IIIa** e si lega alla MEC meglio di quanto non faccia il VWF.
- ✚ Una volta secreti, i multimeri di ULVWF vengono scissi in multimeri di dimensioni più piccole dalla proteasi ADAMTS13 (A Disintegrin-like and Metalloprotease with thrombospondin type I repeats – 13).
- ✚ Il VWF circolante si lega non-covalentemente al fattore VIII della coagulazione (FVIII), proteggendolo dalla proteolisi.
- ✚ **Il VWF facilita l'adesione primaria (aggancio) delle piastrine alla MEC esposta nelle ferite e localizza efficacemente il FVIII nei siti di danno vascolare.**

Bergmeier W, Hynes RO. *Extracellular matrix proteins in hemostasis and thrombosis*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Feb 1;4(2). doi:pii: a005132. 10.1101/cshperspect.a005132

Seminario

Fattore di Von Willebrand



Bergmeier W, Hynes RO. Extracellular matrix proteins in hemostasis and thrombosis. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012 Feb 1;4(2). doi:pii: a005132. 10.1101/cshperspect.a005132

Seminario

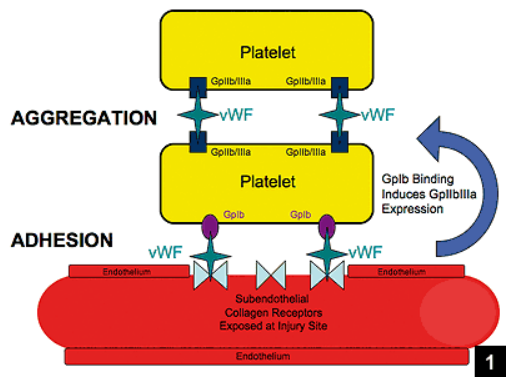
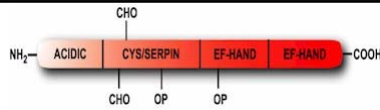


Diagramma dei ruoli del fattore di von Willebrand nell'adesione piastrinica alla parete danneggiata di un vaso sanguigno e nella conseguente aggregazione piastrinica.
Gp: Glicoproteina.

<http://www.healio.com/journals/ortho/%7B30d481c8-b480-4ae6-b9a8-3dc153f47e16%7D/orthopedic-manifestations-and-management-of-patients-with-von-willebrand-disease>



Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine (SPARC) (Osteonectina)

- ✚ Glicoproteina di 32 kD legante il Ca.
- ✚ Partecipa all'organizzazione della ECM legandosi ai collagene di tipo I e IV.
- ✚ Svolge ruoli **antiadesivi** e **antiproliferativi**.
- ✚ Come tale ha dimostrato **effetti soppressori sulla crescita tumorale** e di svolgere una funzione significativa nella risposta dell'ospite allo sviluppo tumorale.
- ✚ In un modello murino di tumore al pancreas, la deficienza di SPARC ha ridotto l'espressione dei collagene di tipo I, II e IV e diminuito la fibrillogenesi di collagen.
- ✚ Ciò nonostante, gli animali mostravano un elevato numero di metastasi probabilmente dovuto ad una membrana basale vascolare anomala che facilitava l'intravasione e l'extravasione delle cellule tumorali.

Egeblad M, Rasch MG, Weaver VM. *Dynamic interplay between the collagen scaffold and tumor evolution*. *Curr Opin Cell Biol.* 22:697-706, 2010.