

Membrana plasmatica

GLICOALICE

1° parte

The diagram on the left illustrates the structure of the glycocalyx. It shows a lipid bilayer with various components: transmembrane glycoproteins, adsorbed glycoproteins, glycolipids, and transmembrane proteoglycans. Blue branched structures represent the carbohydrate layer extending from the cell surface. Labels include 'carbohydrate layer', 'lipid bilayer', 'CYTOSOL', 'transmembrane glycoprotein', 'adsorbed glycoprotein', 'glycolipid', and 'transmembrane proteoglycan'. A legend indicates a yellow square for a 'sugar residue'. Below the diagram is the citation: 'Figure 19-206 Molecular Biology of the Cell 5th Edition Garland Science 2008'.

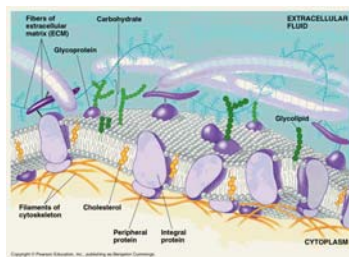
The top right electron micrograph shows a cross-section of a cell with labels for 'carbohydrate layer', 'cytosol', 'nucleus', and 'plasma membrane'. A scale bar indicates 200 nm.

The bottom right electron micrograph is titled 'cell surface carbohydrate' and shows a close-up of the carbohydrate layer. Red arrows point to the 'cell surface carbohydrate' and the 'cytoplasm'.

This block contains four covers related to glycobiology:

- Science**: 23 March 2001, Vol. 291, No. 5512, Pages 2263-2502, 59. Title: Carbohydrates and Glycobiology. American Association for the Advancement of Science.
- GLYCOBIOLOGY**: Oxford University Press. Volume 21, Number 4, April 2012. www.glyco.oxfordjournals.org.
- Essentials of Glycobiology**: Second Edition. Edited by Ajit Varki, Richard D. Cummings, Jonathan H. Stamenkovic, Pauline Stanley, George A. Holtzman, Gerald W. Hart, and Marianne K. Striker.
- JBC** (Journal of Biological Chemistry) 2013 THEMATIC MINIREVIEW SERIES: Glycobiology & Extracellular Matrices.

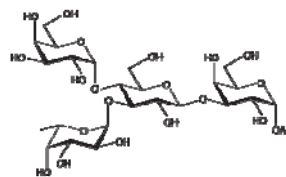
- Tutte le membrane plasmatiche e alcuni altri tipi di membrana interne contengono quantità significative di **carboidrati associati a lipidi e a proteine** (es. la membrana plasmatica del globulo rosso contiene, in peso, circa 40% di lipidi, 52% di proteine e 8% di carboidrati).
- I carboidrati sono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

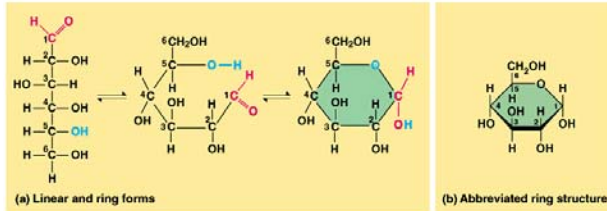


<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/plasmamembrane>.

GLICOPROTEINE

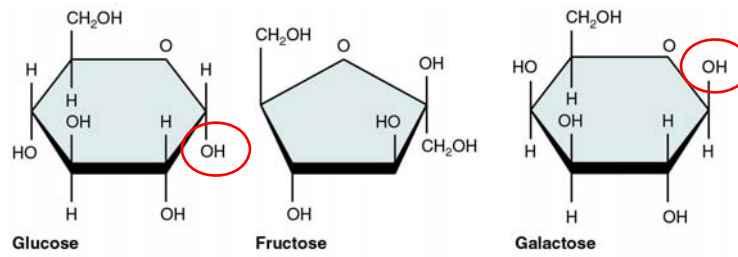
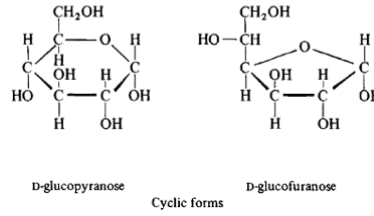
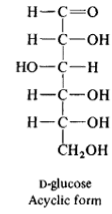
- La maggior parte dei carboidrati delle membrane è collegata covalentemente a proteine, formando **glicoproteine**. I carboidrati legati sono **catene oligosaccaridiche**, che di solito non eccedono 15 unità monosaccaridiche.
- Tuttavia, un piccolo numero di monosaccaridi può fornire un **alfabeto per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



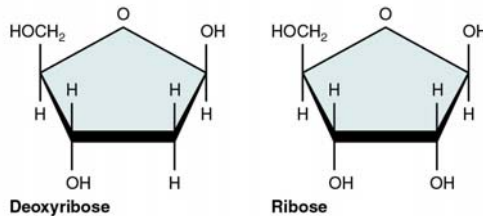


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Monosaccaridi
struttura lineare e
ad anello



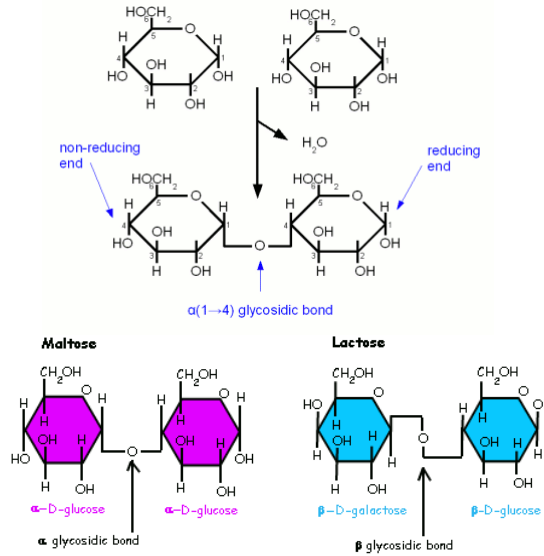
(a) Hexoses



(b) Pentoses

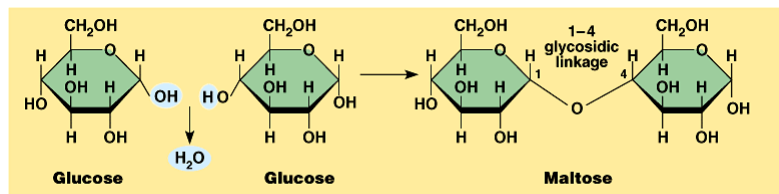
https://classconnection.s3.amazonaws.com/773/flashcards/3102773/jpg/217_five_important_monosaccharides-01-14813CE6F417199934E.jpg

Legame glicosidico

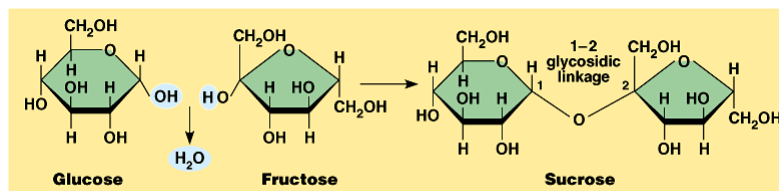


http://braukaiser.com/wiki/images/1/15/Glycosidic_bond.gif
<http://images.tutorvista.com/cms/images/38/maltose-lactose.png>

Disaccaridi



(a) Dehydration synthesis of maltose



(b) Dehydration synthesis of sucrose

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

11 modi diversi di combinare 2 unità di D-glucosio

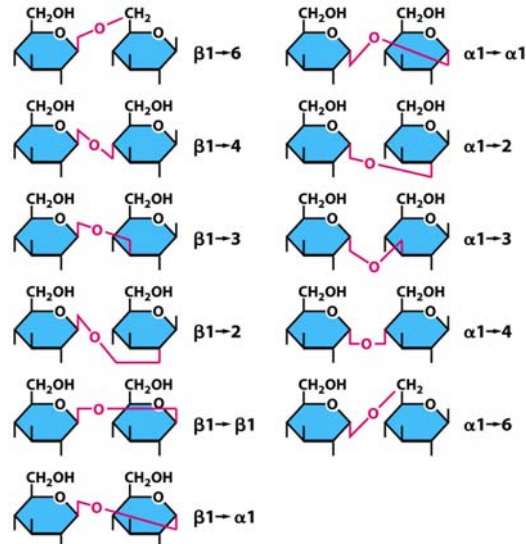
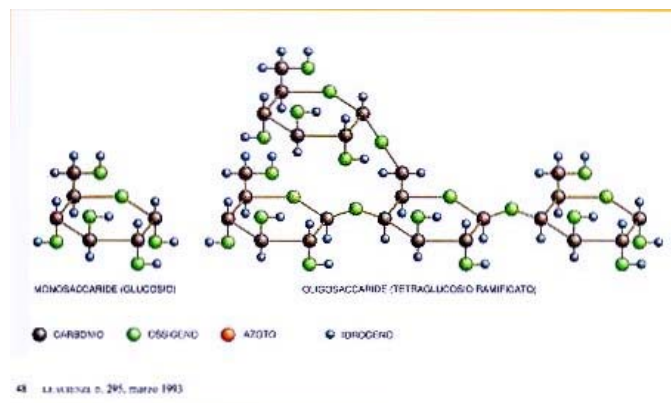
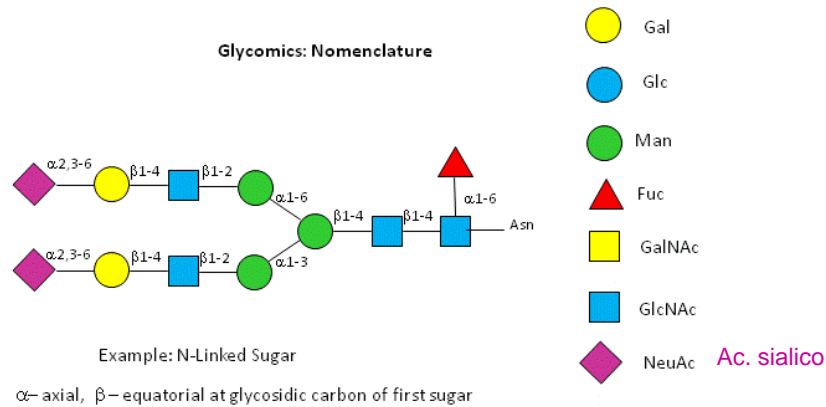


Figure 2-20 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

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



Nuova nomenclatura visuale per la glicobiologia



Consortium for Functional Glycomics (2005)

Glicoproteine

✚ Nei tessuti sono presenti due classi fondamentali di **glicoproteine**:

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

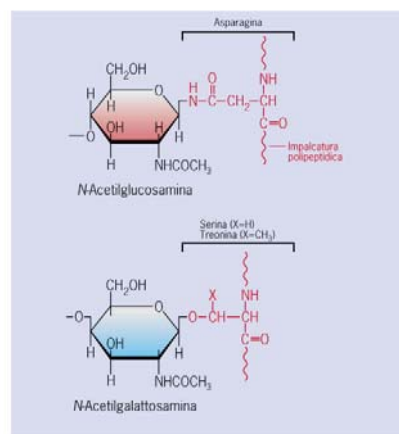


FIGURA 4.10 I due tipi di legame che uniscono zuccheri a una catena polipeptidica. Il legame *N*-glicosidico tra l'asparagina e l'*N*-acetilglucosamina è più comune del legame *O*-glicosidico fra la serina o la treonina e l'*N*-acetilgalattosamina.

Glicosilazione "N-linked" o "O-linked"

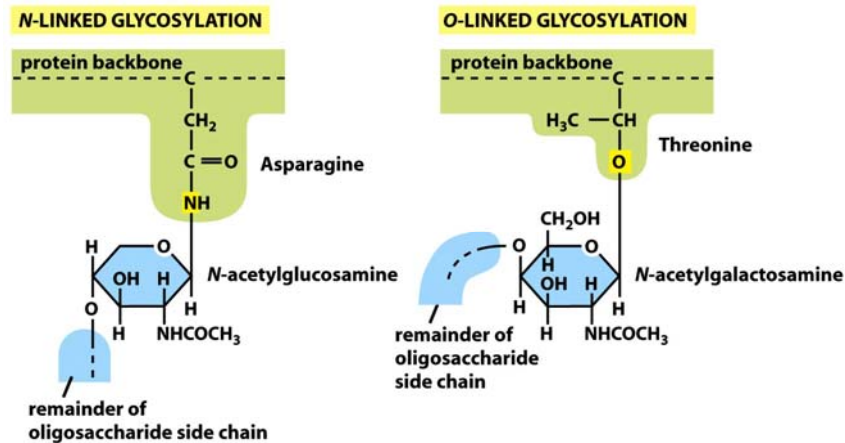
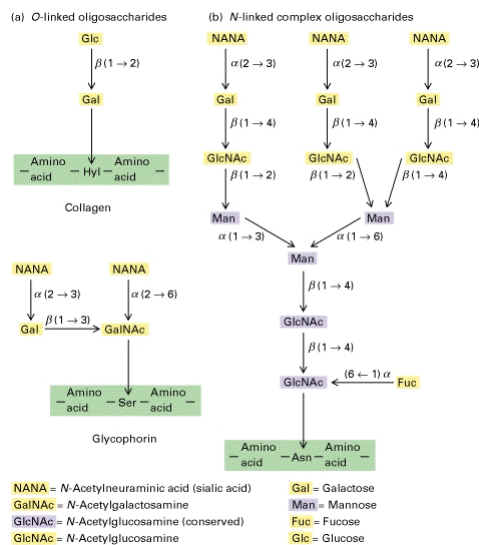
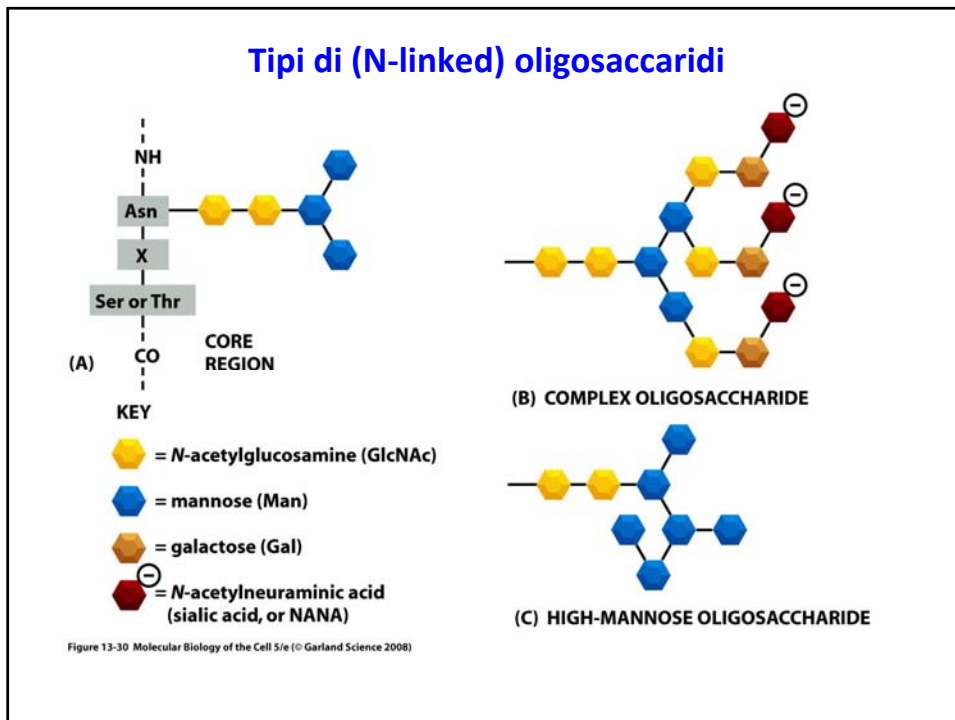
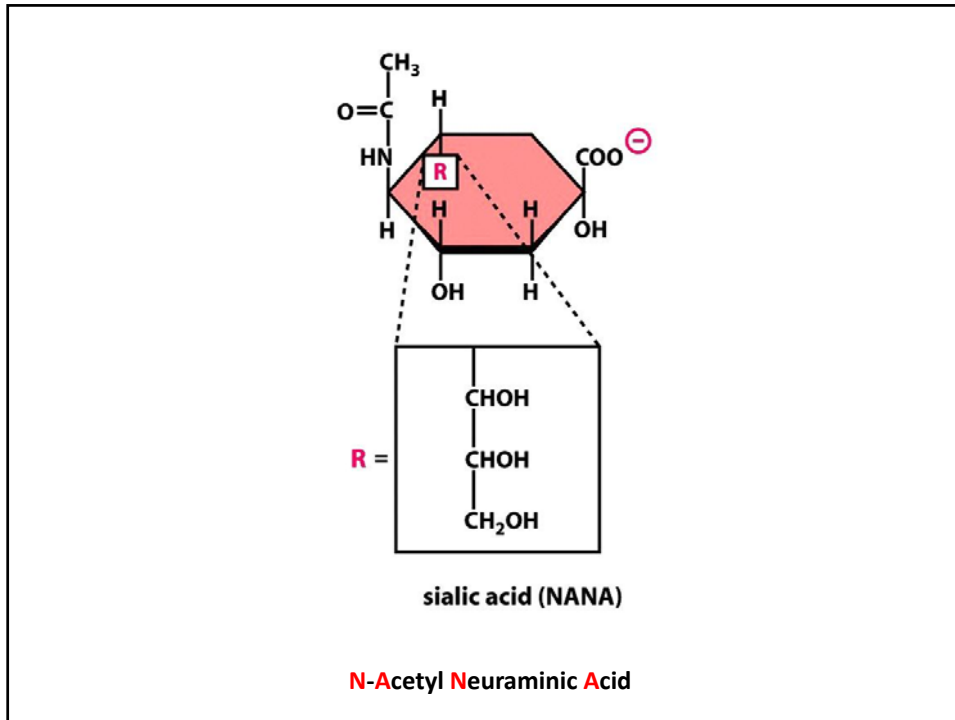


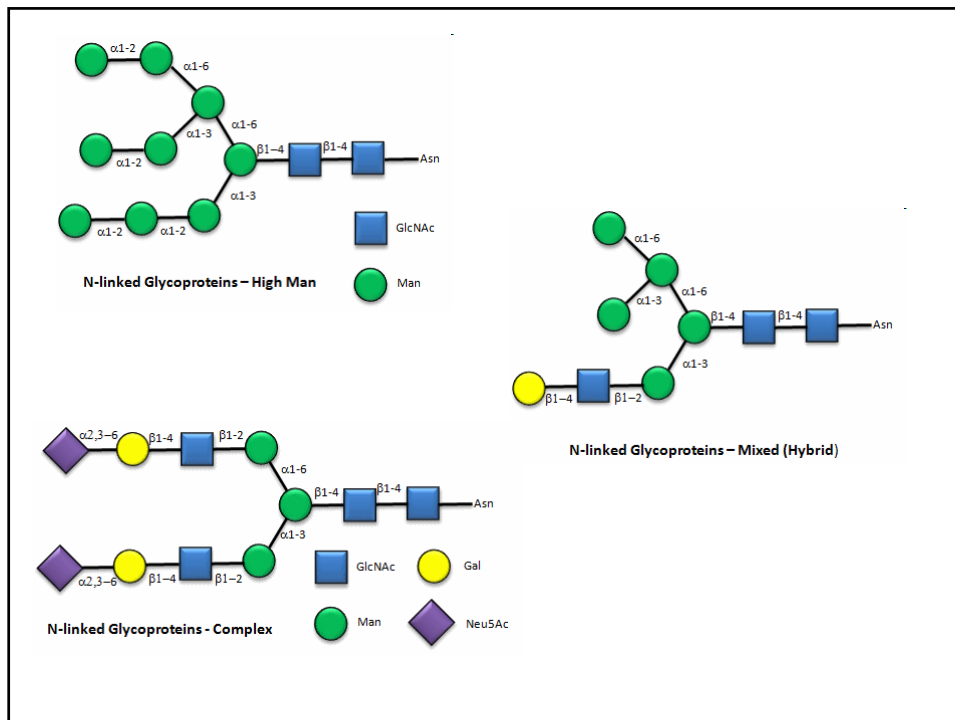
Figure 13-32 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

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

- (a) Gli **oligosaccaridi legati ad O-** della glicoforina e di molte altre glicoproteine, sono **legati al gruppo ossidrilico** di residui di **serina** (Ser) o **treonina** (Thr) mediante la N-acetilgalattosamina. I **collageni** contengono un disaccaride caratteristico glucosio-galattosio legato a residui di idrossilisina (Hyl) [N.B. Il collagene verrà trattato nel capitolo della matrice extracellulare].
- (b) Gli oligosaccaridi **N-legati** che si trovano nelle glicoproteine seriche dei Mammiferi esibiscono strutture molto diversificate, ma tutti contengono cinque zuccheri (evidenziati in porpora), ramificati e legati all'azoto amidico dell'asparagine (ASN).







GLICOPROTEINE – Glicosilazione (1)

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

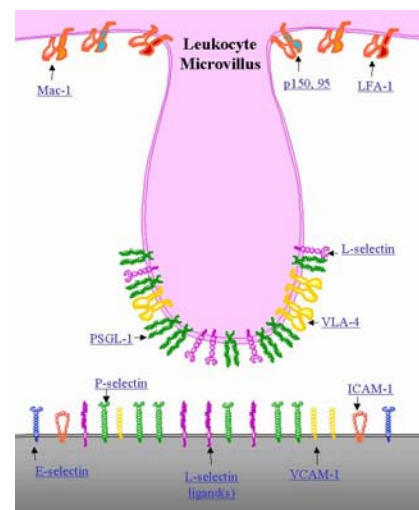
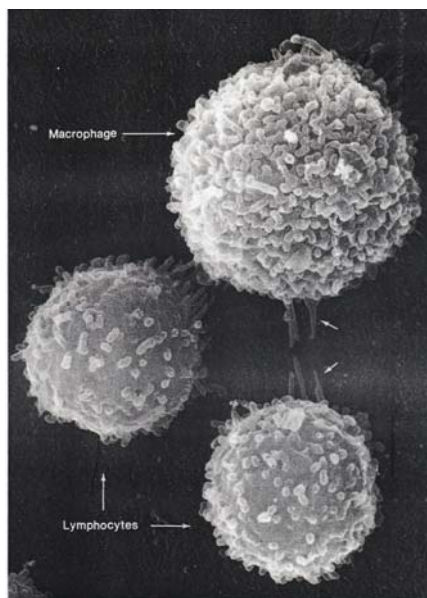
✚ **Mucine:** Mucoproteine ad elevato peso molecolare che formano un **biofilm protettivo** sulla superficie delle cellule epiteliali dove forniscono una barriera contro la materia particolata e i microorganismi. **Le mucine ancorate alle membrana possono avere ulteriori ruoli che riguardano le interazioni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

GLICOPROTEINE – Glicosilazione (2)

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

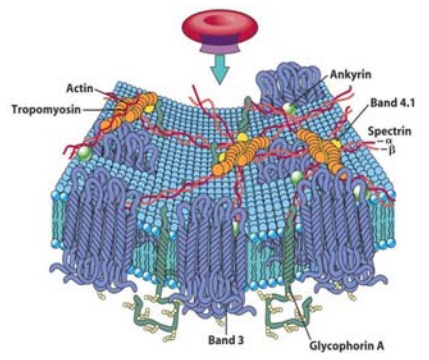
✚ **I carboidrati spesso modulano le funzioni delle proteine**, come nel caso **dell'acido polisialico** legato alle molecole di adesione neurale (**N-CAM**) della superfamiglia delle immunoglobuline [cap. molecole di adesione].

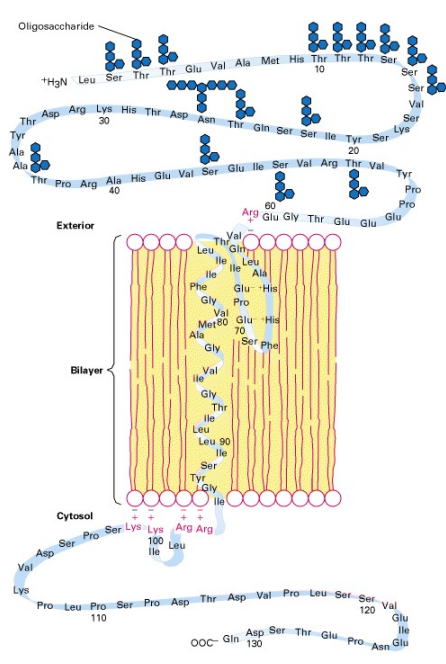
✚ Viceversa, i residui di carboidrati delle glicoproteine seriche e degli ormoni glicoproteici ipofisari sono coinvolti nei **processi di rimozione dalla circolazione a livello renale** ("clearance") oppure ad **indirizzare gli ormoni ai loro rispettivi organi bersaglio**.



Glicoforina

[uno dei dimeri del omo-dimero]





- ✚ Proteina della membrana degli eritrociti che aiuta a mantenere la forma biconcava.
- ✚ E' il recettore per una proteina del parassita della malaria, la « Plasmodium falciparum protein» PfEBP-2

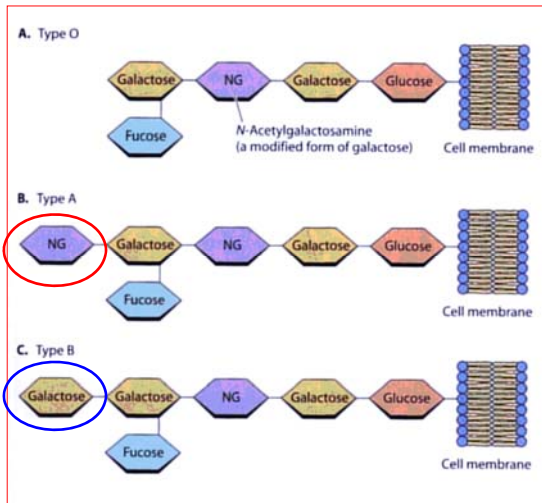
<http://www.proprofs.com/flashcards/upload/a3813622.jpg>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21570/figure/A612/>

✚ La **N-glicosilazione** avviene nella maggior parte delle specie animali, ma ci sono anche **carboidrati specie- o organo-specifici**. E' importante quindi valutare le strutture di carboidrati dei prodotti ricombinanti quando sono applicati all'uomo, dato che abbiamo forti anticorpi naturali contro i carboidrati.

✚ Negli animali inferiori sono state descritte strutture di carboidrati ed attività glicosiltrasferasiche diverse da quelle che di solito si trovano negli animali superiori.

✚ Queste scoperte forniscono le basi per indagare come mai **gli animali superiori abbiano acquisito o richiedano strutture di carboidrati specifiche**.

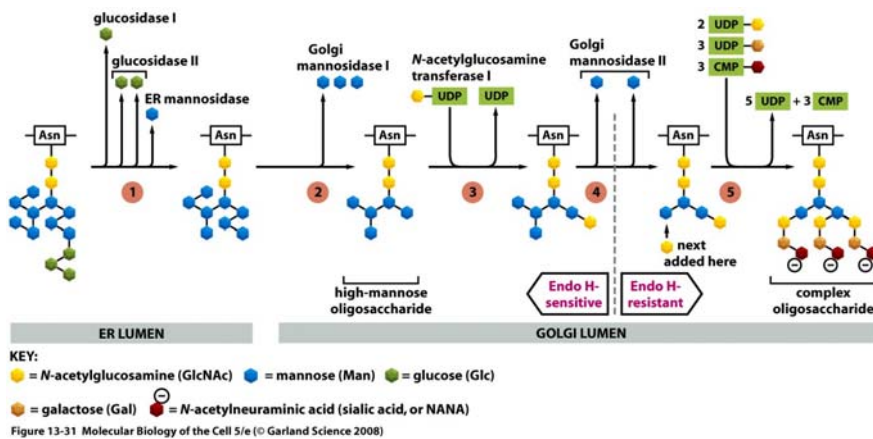
Antigeni dei gruppi sanguigni ABO umani



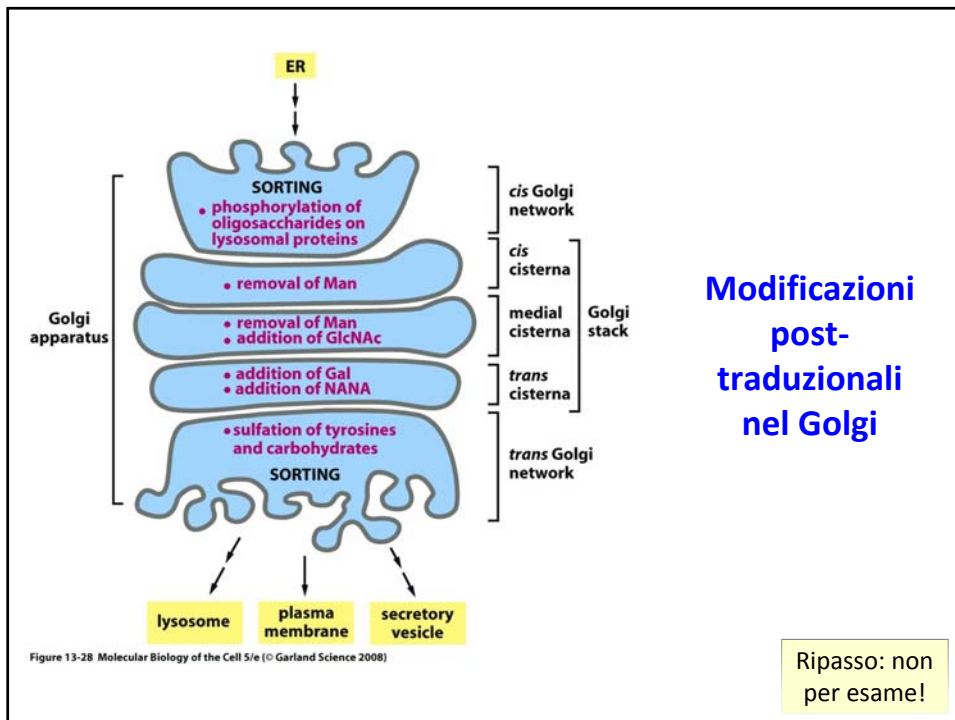
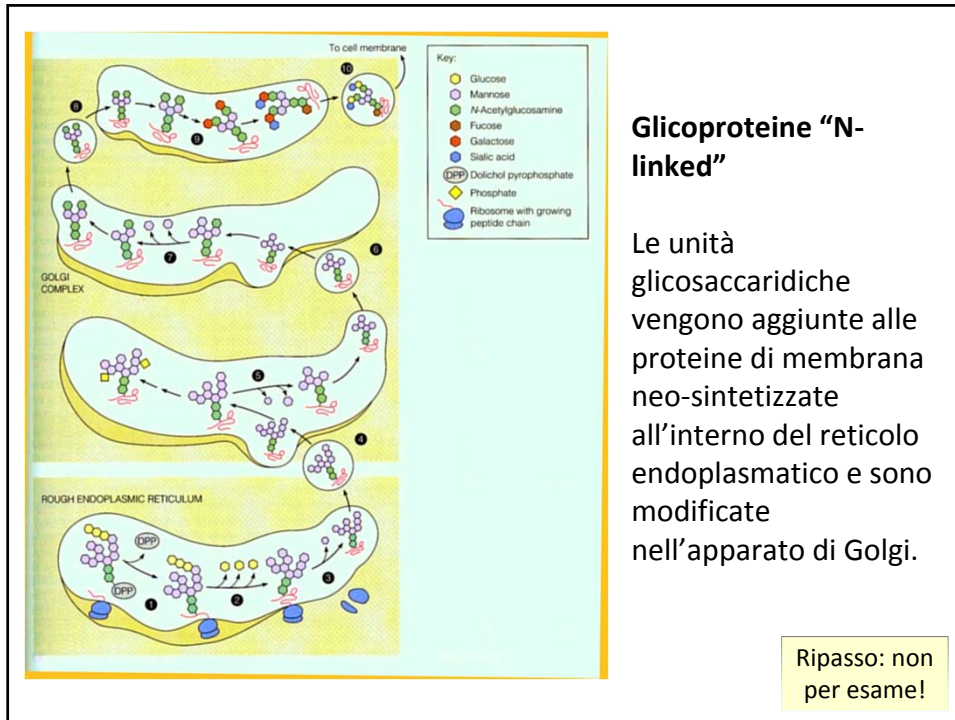
La struttura degli zuccheri terminali del componente oligosaccaridico di questi glicolipidi e glicoproteine distingue i tre antigeni.

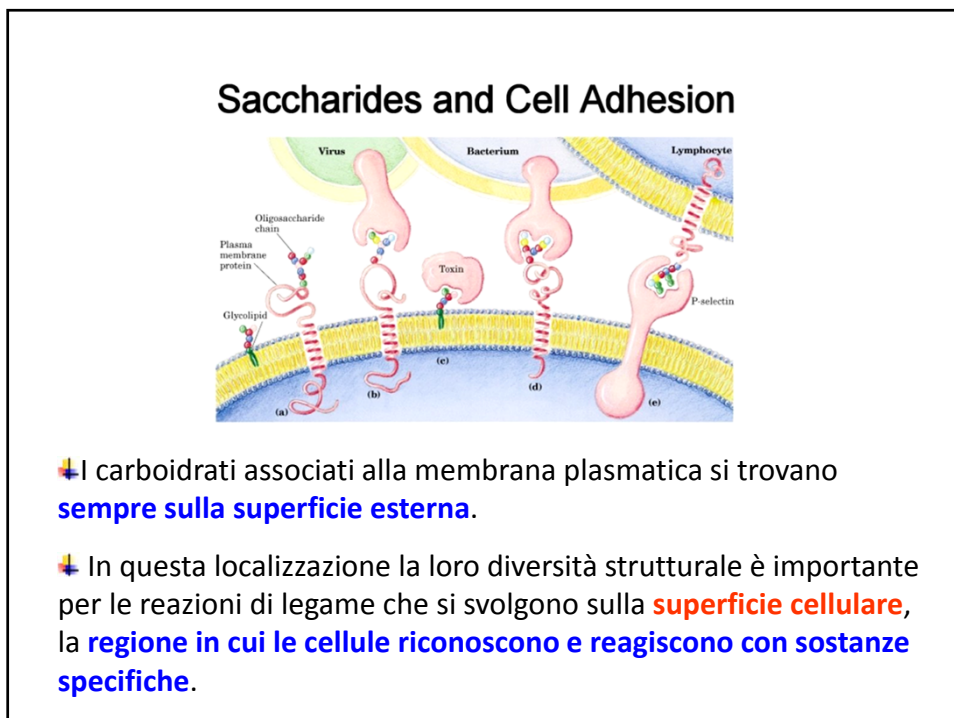
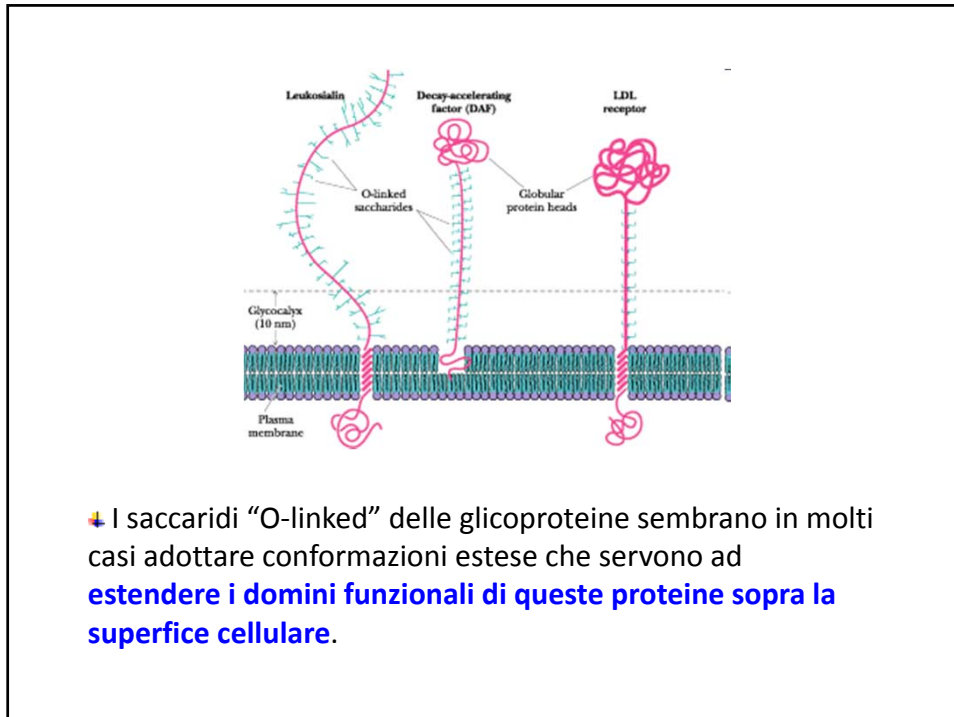
La presenza o assenza di particolari glicosiltrasferasi determina il gruppo sanguigno di un individuo.

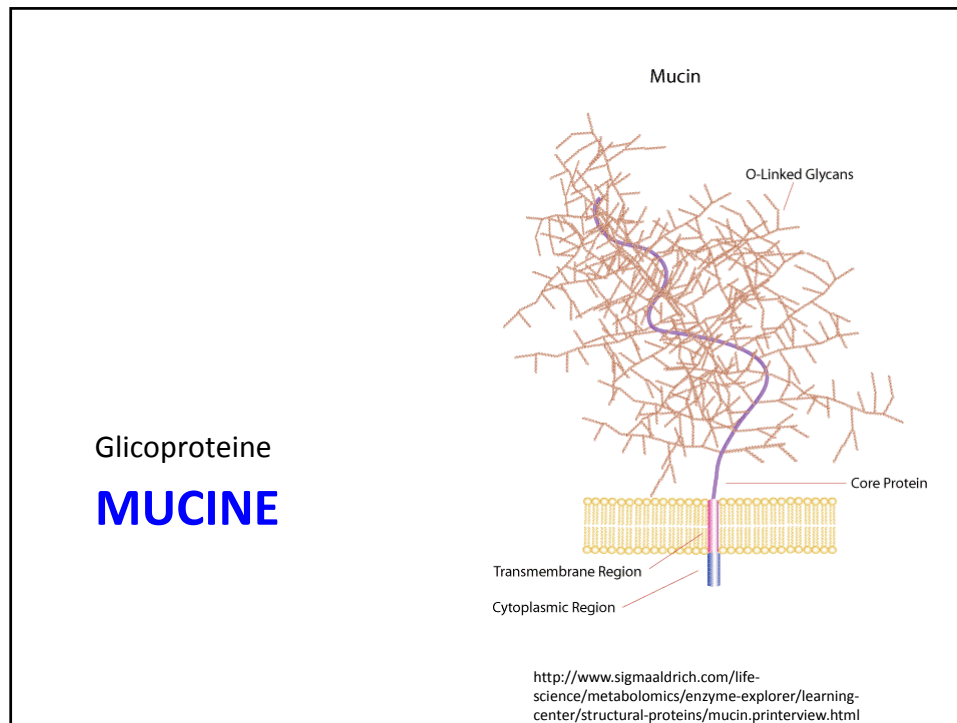
Processamento degli oligosaccaridi nel ER e nel Golgi



Ripasso: non per esame!





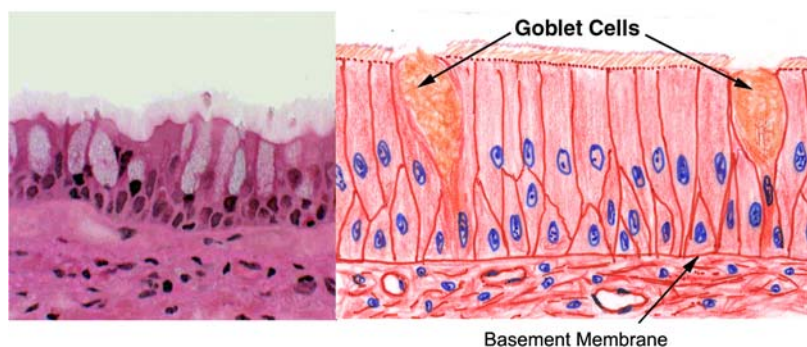


Mucine (1)

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

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

Mucine (2)



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

Seminario

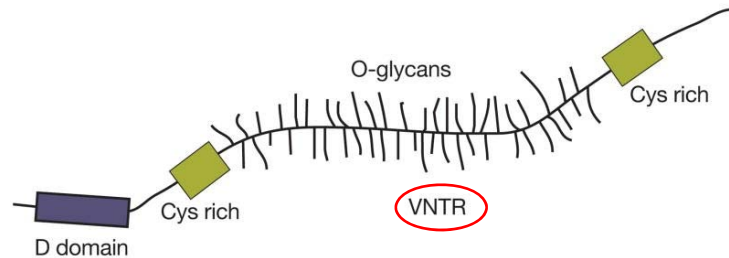
Mucine (3)



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

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

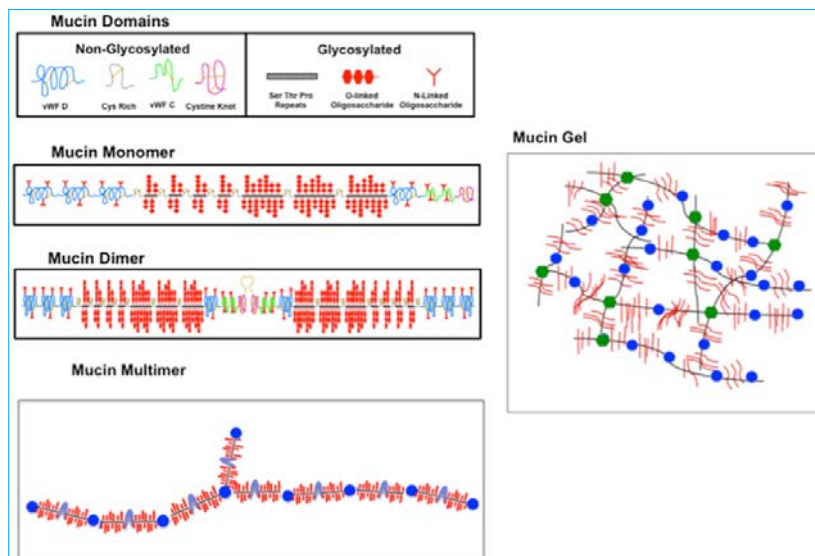
Mucine (4)



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

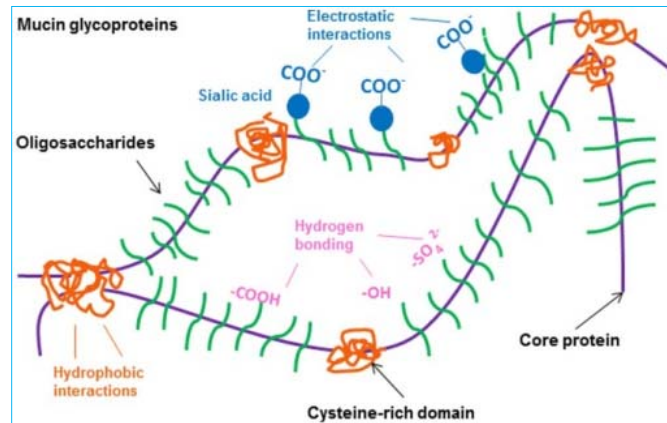
Seminario

Schema della struttura a domini, polimerizzazione e formazione di gel delle mucine



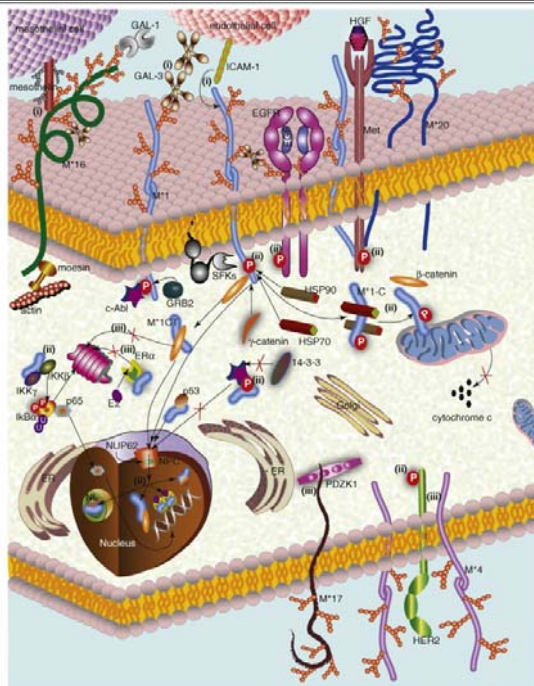
http://www.frontiersin.org/files/Articles/56387/fimmu-04-00310-HTML/image_m/fimmu-04-00310-g003.jpg

Struttura schematica di glicoproteine muciniche e loro potenziali elementi mucoadesivi



Yang X, Forier K, Steukers L, Van Vlierbergh S, Dubruel P, Braeckmans K, Glorieux S, Nauwynck HJ. Immobilization of pseudorabies virus in porcine tracheal respiratory mucus revealed by single particle tracking. PLoS One. 2012;7(12):e51054.

Funzioni cellulari mediate da mucine transmembrana



Abbreviazioni:
 E2-Estradiolo
 NPC-“Nuclear Pore Complex”
 M*-mucina.

Senapati S, Das S, Batra SK. Mucin-interacting proteins: from function to therapeutics. Trends Biochem Sci. 2010 Apr;35(4):236-45.

Didascalia figura di Senapati et al. - 1

Le **interazioni tra mucine transmembrana con altre proteine** svolgono diverse funzioni in quanto regolano diversi eventi molecolari e cellulari.

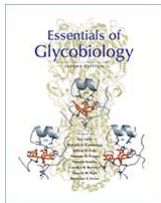
- i. **Collegamento cellula-cellula/proteina-proteina:** le interazioni di MUC1 con ICAM-1 e/o galattina-3 e l'interazione di MUC16 con la mesotelina regolano diverse adesioni eterotipiche cellula-cellula.
- ii. **Trasduzione di segnale:** Le interazioni tra la MUC1 CT e differenti chinasi [e.g., SFKs (c-Src/Lyn/Lck), IKK, EGFR, e Met)] regolano diversi eventi di segnalamento a valle. Il legame di MUC1 CT con i suoi partners specifici **promuove** (nel caso della β -catenin, γ -catenin, p53, e ER α) o **inibisce** (nel caso di c-Abl) la loro traslocazione al nucleo e al nucleolo(NL). L'inibizione dell'importazione al nucleo di c-Abl restringe le funzioni apoptotiche mediate da c-Abl. L'interazione MUC1 CT–HSP70–HSP90 facilita la traslocazione di MUC1-C ai mitocondri e inibisce il rilascio dell'agente pro-apoptotico citocromo c. Le interazioni MUC20–Met e MUC4–HER2 potrebbero inoltre regolare eventi di segnalamento a valle.

Senapati S, Das S, Batra SK. Mucin-interacting proteins: from function to therapeutics. Trends Biochem Sci. 2010 Apr;35(4):236-45.

Didascalia figura di Senapati et al. - 2

- iii. **Stabilizzazione di proteine:** Le interazioni MUC17 CT–PDZK1 e MUC4–HER2 stabilizzano MUC17 e HER2 sulla superficie cellulare. La degradazione nei proteosomi di ER α e β -catenina è inibita dalla loro interazione con MUC1 CT. Perciò, la stabilizzazione di queste proteine potrebbe regolare le funzioni cellulari associate a tali molecole.

Abbreviazioni: E2-Estradiolo, NPC-“Nuclear Pore Complex”, M*-mucina.

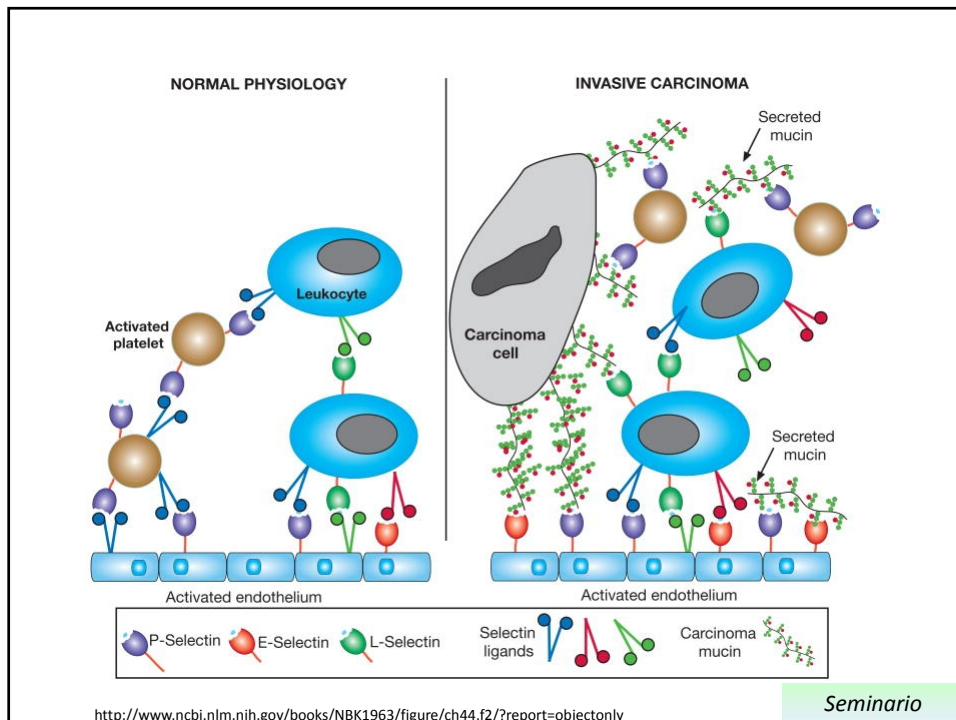


Seminario
(possibile approfondimento per esame)

Glicoproteine

**ALTERAZIONI DELLE MUCINE
NEI TUMORI**

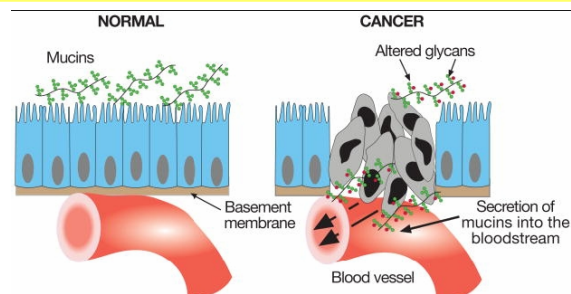
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1963/>



Seminario

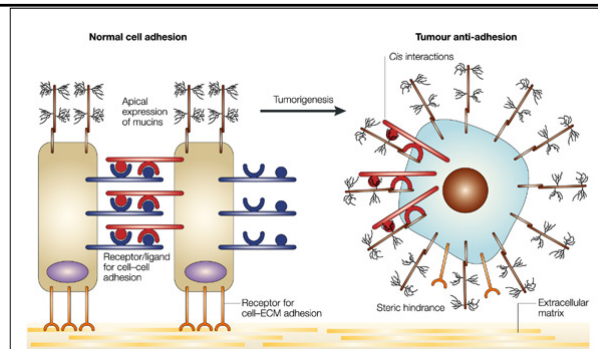
ALTERED EXPRESSION AND GLYCOSYLATION OF MUCINS

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



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

Seminario



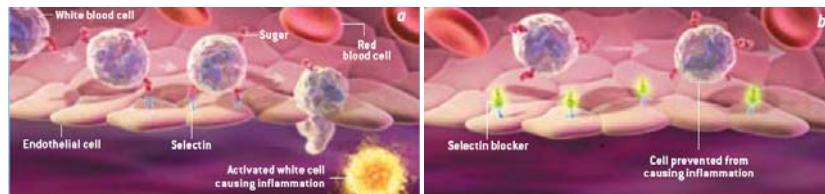
Le **cellule epiteliali normali** esprimono mucine associate alla membrana sulla superficie apicale, che non interferiscono con l'adesione cellula-cellula e cellula-substrato.

Le **cellule tumorali** esprimono in modo aberrante mucine associate alla membrana che **non sono ristrette soltanto al versante apicale** e che bloccano l'adesione cellula-cellula e cellula-substrato in due modi. Interazioni in *cis* fra mucine associate alla membrana e recettori sulla stessa cellula potrebbero impedire ai recettori di interagire con altre cellule per mediare l'adesione. Oppure, mediante ingombro sterico, le mucine legate alle membrane possono bloccare in modo non-specifico l'adesione mediante il loro esteso e glicosilato, tandem repeat.

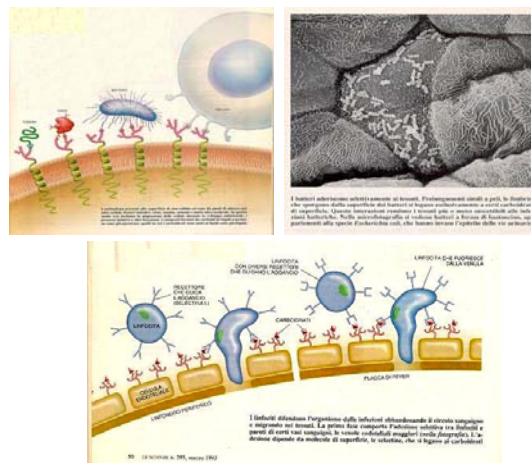
Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. Nat Rev Cancer. 2004 Jan;4(1):45-60.

RUOLO DEI CARBOIDRATI

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

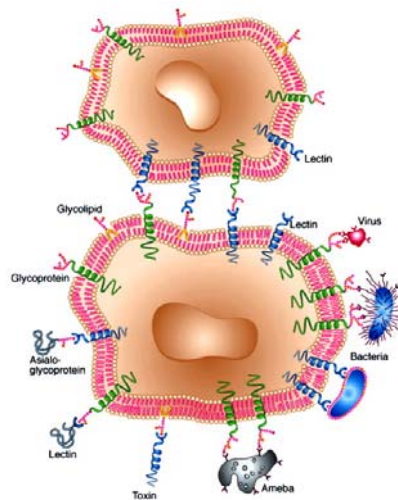


✚ Lo svantaggio dei carboidrati espressi sulla superficie cellulare è che le cellule che rivestono la trachea, stomaco o intestino aprono una strada che permette a microorganismi e virus di invadere le cellule.



Verranno trattate nel capitolo
molecole di adesione

Lectine: proteine che si legano
specificamente a zuccheri.



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

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

Sharon N, Lis H. **History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules.** Glycobiology. 14:53R-62R, 2004.