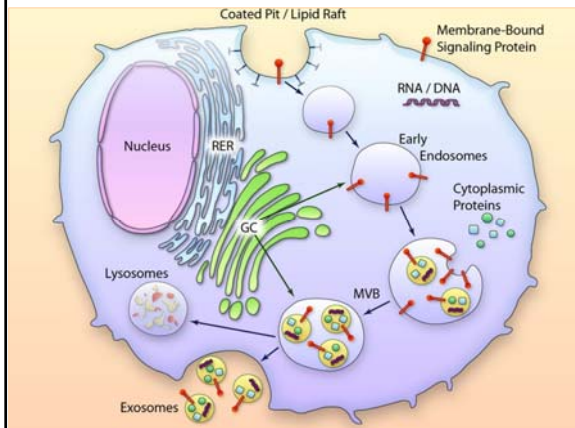


Caricamento materiale citoplasmatico nei corpi multivesicolari

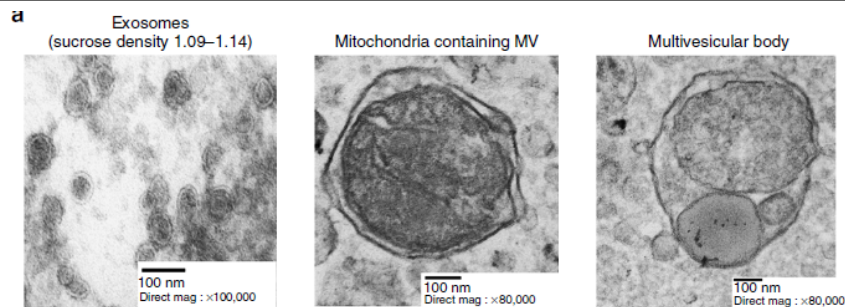
Biogenesi degli esosomi



Waldenström A, Ronquist G. **Role of exosomes in myocardial remodeling.** *Circ Res.* 2014 Jan 17;114(2):315-24.

Exosomes are generated in the **late endosomal compartment** and carry **recycled proteins from coated pits/lipid rafts in the cellular membrane**, **proteins directly sorted to the MVBs from RER and GC**, **mRNA, microRNA, and DNA**. Note that the generation of exosomes by **inward budding of the limiting membrane of MVB ensures that the membrane-bound proteins preserve the same orientation and folding on the exosomal membrane as those on the plasma membrane**. The exosome-filled MVBs are either fused with the plasma membrane to release exosomes or sent to lysosomes for degradation. **Exosomes are different from ectosomes and apoptotic bodies** because the latter extracellular vesicles are the result of a direct budding process of the plasma membrane.

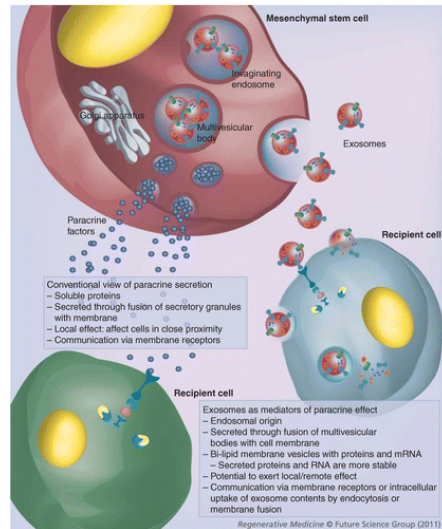
GC indicates Golgi complex; MV, microvesicle internalized from the cellular membrane, early endosomes; MVB, multivesicular body; and RER, rough endoplasmic reticulum.



Mesenchymal stem cells (MSCs) and **macrophages** are fundamental components of the **stem cell niche** and function coordinately to regulate **haematopoietic stem cell self-renewal and mobilization**. Recent studies indicate that **mitophagy and healthy mitochondrial function are critical to the survival of stem cells**, but how these processes are regulated in MSCs is unknown. Here we show that MSCs manage intracellular oxidative stress by **targeting depolarized mitochondria to the plasma membrane via arrestin domain-containing protein 1-mediated microvesicles**. The vesicles are then engulfed and re-utilized via a process involving fusion by macrophages, resulting in enhanced bioenergetics. Furthermore, we show that MSCs simultaneously **shed micro RNA-containing exosomes that inhibit macrophage activation by suppressing Toll-like receptor signalling, thereby de-sensitizing macrophages to the ingested mitochondria**. Collectively, these studies mechanistically link mitophagy and MSC survival with macrophage function, thereby providing a physiologically relevant context for the innate immunomodulatory activity of MSCs.

Phinney DG et al. , **Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microRNAs.** *Nat Commun.* 2015 Oct 7;6:8472.

Meccanismi di captazione degli esosomi



Attenzione:

Questo capitolo verrà capito meglio dopo le lezioni sulle molecole di adesione e le proteasi.

<https://beyondthedish.files.wordpress.com/2012/11/exosomes.gif?w=652>

Bellingham SA, Guo BB, Coleman BM, Hill AF. Exosomes: vehicles for the transfer of toxic proteins associated with neurodegenerative diseases? *Front Physiol.* 2012 May 3;3:124.

Captazione degli esosomi - 1

- ✚ Il legame degli esosomi alla superficie delle cellule ricevitrici è mediato dalla classiche **molecole di adesione** coinvolte nelle interazioni cellula-cellula, quali **integrine** e **I-CAMS** («intercellular adhesion protein»; superfamiglia delle immunoglobuline). [N.B. Famiglia ICAM: 5 membri, ICAM-1 - ICAM-5. Si legano alle integrine dei leucociti CD11/CD18 quali LFA-1 e all'antigene Macrophage-1 (Mac-1) durante l'infiammazione e le risposte immuni. Inoltre, le ICAMs possono esistere sotto forma solubile nel plasma umano, dovuto a meccanismi di attivazione e proteolisi sulla superficie cellulare].
- ✚ Tuttavia, possono essere coinvolti altre coppie molecolari più specifiche per le membrane degli esosomi, quali:
 - ✚ **Proteine TIM** leganti le **fosfatidilserine**
 - ✚ **Carboidrati** - recettori della famiglia delle **selectine**
 - ✚ **Proteoglicani ad eparan sulfato** (HSPGs)

Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. **Sorting it out: regulation of exosome loading.** *Semin Cancer Biol.* 2014 Oct;28:3-13.
https://en.wikipedia.org/wiki/Intercellular_adhesion_molecule

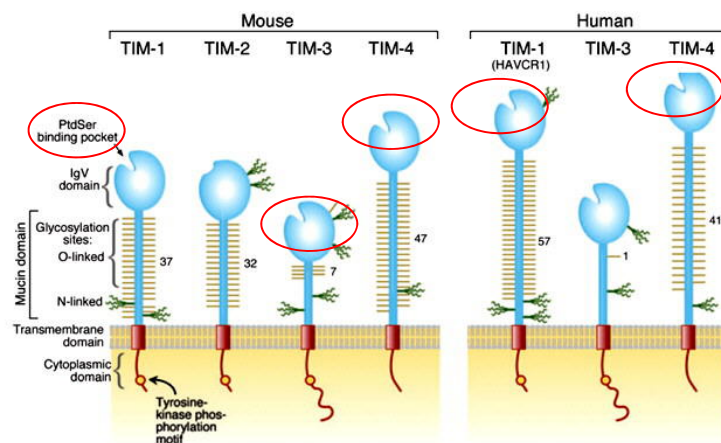
TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity

Gordon J. Freeman
Jose M. Casasnovas
Dale T. Umetsu
Rosemarie H. DeKruyff

Immunological Reviews 2010
Vol. 235: 172–189

Summary: The **TIM (T cell/transmembrane, immunoglobulin, and mucin)** gene family plays a critical role in regulating immune responses, including allergy, asthma, transplant tolerance, autoimmunity, and the response to viral infections. **The unique structure of TIM immunoglobulin variable region domains allows highly specific recognition of phosphatidylserine (PtdSer), exposed on the surface of apoptotic cells.** TIM-1, TIM-3, and TIM-4 all recognize PtdSer but differ in expression, suggesting that they have distinct functions in regulating immune responses. TIM-1, an important susceptibility gene for asthma and allergy, is preferentially expressed on T-helper 2 (Th2) cells and functions as a potent costimulatory molecule for T-cell activation. TIM-3 is preferentially expressed on Th1 and Tc1 cells, and generates an inhibitory signal resulting in apoptosis of Th1 and Tc1 cells. TIM-3 is also expressed on some dendritic cells and can mediate phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation of antigen. In contrast, TIM-4 is exclusively expressed on antigen-presenting cells, where it mediates phagocytosis of apoptotic cells and plays an important role in maintaining tolerance. TIM molecules thus provide a functional repertoire for recognition of apoptotic cells, which determines whether apoptotic cell recognition leads to immune activation or tolerance, depending on the TIM molecule engaged and the cell type on which it is expressed.

Rappresentazione schematica delle strutture proteiche delle TIM ("T cell / transmembrane, immunoglobulin, and mucin")



Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. **TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity.** *Immunol Rev.* 2010 May;235(1):172-89.

Captazione degli esosomi - 2

- ✚ La captazione degli esosomi dalle cellule immunitarie è basata su interazioni **ICAM-1-LFA-1**.
- ✚ Le **tetraspanine** contribuiscono al legame degli esosomi alle cellule bersaglio.
 - ✚ Es. L'integrina CD49 e Tsp8 contribuiscono all'adesione degli esosomi alle cellule endoteliali.
- ✚ Le interazioni **MHC-TCR (Major Histocompatibility Complex – T Cell Receptor)** possono facilitare il legame degli esosomi derivati dalle cellule T con le cellule dendritiche e *vice versa*.
- ✚ Inoltre, per incorporare gli esosomi le cellule usano **Tim4** e **Tim 1** come recettori per la fosfatidilserina.

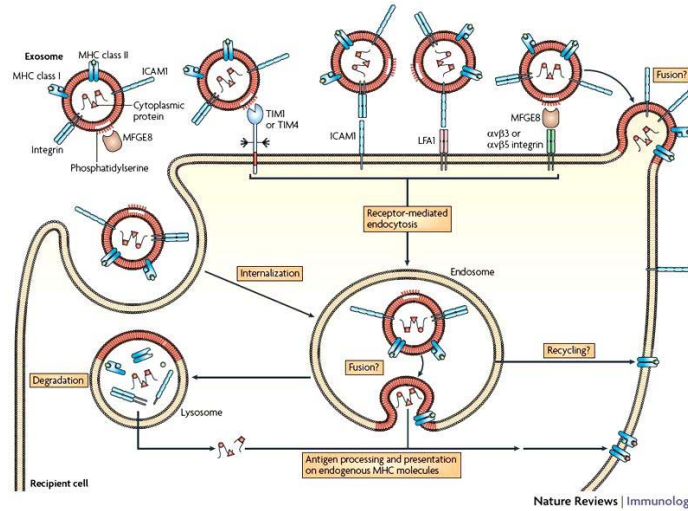
Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. **Sorting it out: regulation of exosome loading.** Semin Cancer Biol. 2014 Oct;28:3-13.

Captazione degli esosomi - 3

- ✚ Gli esosomi sono molto ricchi di glicoproteine specifiche contenenti mannosio e acido sialico:
 - ✚ Es. Gli esosomi derivati dalle cellule B sono ricchi in acido sialico legato in $\alpha 2,3$ che permette la cattura da macrofagi CD169+ nella milza e nei linfonodi.
- ✚ La captazione degli esosomi da parte dei macrofagi è anche mediata da una lectina di tipo C- [*N.B. proteina che lega carboidrati in modo Ca-dipendente*] espressa dai macrofagi e dalla galectina-5 [*N.B. lectina che riconosce il galattosio delle glicoproteine*] esposta negli esosomi.
- ✚ I virus e le lipoproteine sono internalizzati mediante recettori di tipo proteoglicani ad eparan solfato, **HSPGs**. Nello stesso modo i HSPGs fungono da recettori per esosomi derivati dalle cellule tumorali.

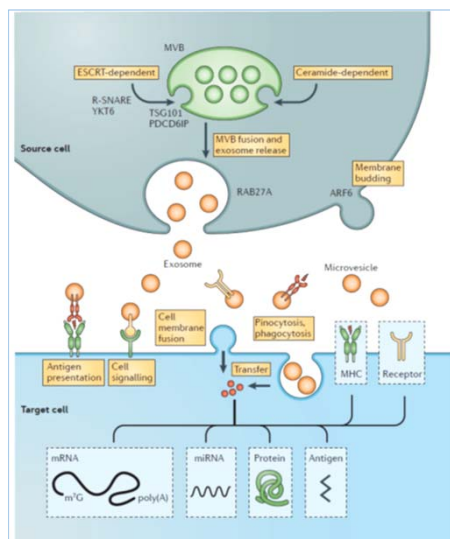
Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. **Sorting it out: regulation of exosome loading.** Semin Cancer Biol. 2014 Oct;28:3-13.

Interazione tra vescicole di membrane secrete con le cellule riceventi



Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. Nat Rev Immunol. 2009 Aug;9(8):581-93.

Biogenesi delle vescicole extracellulari e loro interazioni con le cellule riceventi



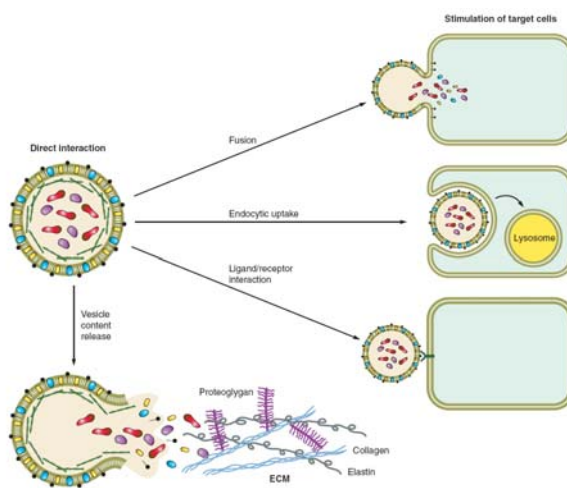
El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJ. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. Nat Rev Drug Discov. 2013 May;12(5):347-57.

Didascalia Figura lavoro El Andaloussi et al., 2013

Figure 1 | **Biogenesis of extracellular vesicles and their interactions with recipient cells.** Exosomes are presumed to be a homogeneous population of vesicles of endocytic origin that are formed by the inward budding of the multivesicular body (MVB) membrane. **Cargo sorting** into exosomes **involves the endosomal sorting complex required for transport (ESCRT)** and other associated proteins such as **programmed cell death 6 interacting protein (PDCD6IP; also known as ALIX)** and **tumour susceptibility gene 101 protein (TSG101)**^{38–40}. In addition to ESCRT, which recognizes ubiquitylated proteins, other **ESCRT-independent mechanisms** operate to generate exosomes of certain biochemical compositions (reviewed in REF. 22). For example, in some cells, **exosome production requires the lipid ceramide and neutral sphingomyelinase** — the enzyme that converts sphingomyelin to ceramide⁷⁰. Exosomes are **secreted following the fusion of MVBs with the cell membrane** — a process that is, in some cells, **dependent on small GTPases** such as RAB27A, RAB11 and RAB31 (REFS 22,73). An alternative mechanism for the secretion of WNT-bound exosomes was recently shown to involve the SNARE (soluble NSF (N-ethylmaleimide-sensitive factor) attachment protein (SNAP) receptor) protein YKT6 (REF. 117). **Exosomes display the same membrane orientation as the cell of origin, similarly to microvesicles.** Microvesicles, however, represent a relatively heterogeneous population of vesicles that are formed by the outward budding and fission of the cell membrane, which could be controlled by membrane lipid microdomains and regulatory proteins such as ADP-ribosylation factor 6 (ARF6)¹¹⁸. Extracellular vesicles can be regarded as **signalosomes** for several biological processes. They can be involved in **antigen presentation** and in the **transfer of both major histocompatibility complex (MHC) molecules and antigens**, thereby participating in **immune regulation**. Extracellular vesicles can directly **activate cell surface receptors via protein and bioactive lipid ligands**, transfer cell surface receptors or **deliver effectors** including **transcription factors, oncogenes and infectious particles** into recipient cells⁵. In addition, various RNA species including **mRNAs and small regulatory RNAs** (for example, microRNAs (miRNAs) and non-coding RNAs) are contained in extracellular vesicles and functionally delivered to recipient cells⁵.

El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJ. **Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities.** Nat Rev Drug Discov. 2013 May;12(5):347–57.

Meccanismi mediante i quali le EVs svolgono i loro ruoli biologici.



⚡ Le EVs possono attivare il segnalamento cellulare mediante **interazioni fisiche ligando/recettore** o **mediante fusione con le cellule bersaglio** e trasferimento dei loro contenuti.

⚡ Possono inoltre essere **endocitate** dalle cellule bersaglio, oppure **rilasciare il loro contenuto nello spazio extracellulare.**

ECM: matrice extracellulare.

Turturici G, Tinnirello R, Sconzo G, Geraci F. **Extracellular membrane vesicles as a mechanism of cell-to-cell communication: advantages and disadvantages.** Am J Physiol Cell Physiol. 2014 Apr 1;306(7):C621–33.

Didascalia Figura Thery et al., 2009 - 1

✚ Il legame tra le vescicole secrete con la superficie di una cellula ricevente coinvolge interazioni fra molecole exosomal e recettori cellulari. Questi includono:

- il legame tra “intercellular adhesion molecule 1; ICAM1” con il “lymphocyte function-associated antigen 1; LFA1” (N.B. integrina);
- il legame tra la fosfatidilserina al dominio immunoglobulinico delle cellule T o al “T cell immunoglobulin domain and mucin domain protein 1; TIM1” o a TIM4
- forse anche il legame tra “milk fat globule EGF factor 8 protein; MFGE8” alle integrine $\alpha\beta3$ o $\alpha\beta5$.
- Anche altri ricettori sconosciuti potrebbero partecipare a questo processo.

Théry C, Ostrowski M, Segura E. *Membrane vesicles as conveyors of immune responses*. Nat Rev Immunol. 2009 Aug;9(8):581-93.

Didascalia Figura Thery et al., 2009 - 2

✚ Dopo l'interazione con molecole della membrana plasmatica della cellula bersaglio, gli exosomi potrebbero:

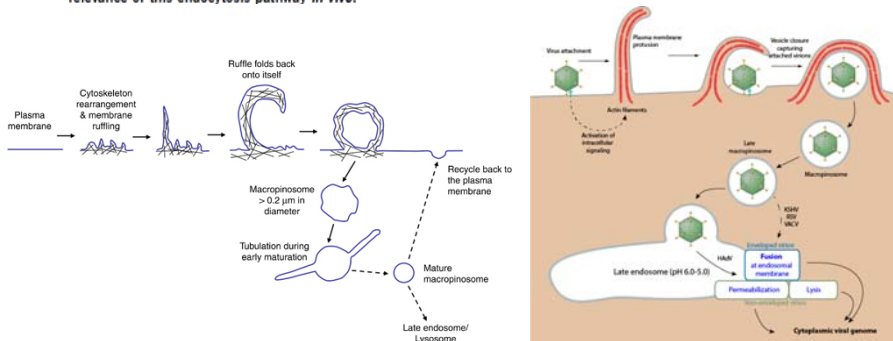
- **fondersi direttamente con la membrana plasmatica ricevente**, con conseguente incorporazione di proteine della membrana exosomiale nella membrana plasmatica e rilascio dei contenuti dell'exosoma nel citoplasma della cellula ricevente
- gli exosomi internalizzati mediante **macropinocitosi** potrebbero fondersi con la membrana limitante degli endosomi, con rilascio dei loro contenuti nel citoplasma e incorporazione delle proteine della membrana degli exosomi nella membrana endosomiale, e possibile successivo riciclo verso la superficie cellulare.
- gli exosomi internalizzati mediante **endocitosi mediata da recettori o fagocitosi** potrebbero essere degradati nella via endocitica o fagocitica. Questa degradazione potrebbe portare alla produzione di peptidi antigenici da essere caricati su molecole di MHC di classe II e I.

Théry C, Ostrowski M, Segura E. *Membrane vesicles as conveyors of immune responses*. Nat Rev Immunol. 2009 Aug;9(8):581-93.

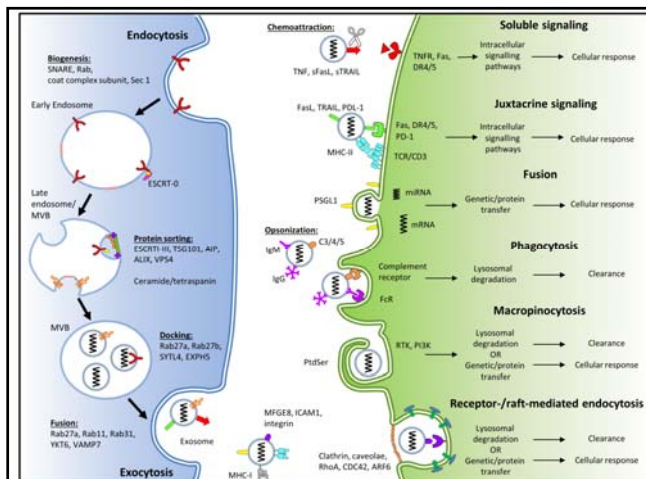
Macropinocytosis: an endocytic pathway for internalising large gulps

Jet Phey Lim and Paul A Gleeson

Macropinocytosis is a regulated form of endocytosis that mediates the non-selective uptake of solute molecules, nutrients and antigens. It is an actin-dependent process initiated from surface membrane ruffles that give rise to large endocytic vacuoles called macropinosomes. Macropinocytosis is important in a range of physiological processes; it is highly active in macrophages and dendritic cells where it is a major pathway for the capture of antigens. It is relevant to cell migration and tumour metastasis and it represents a portal of cell entry exploited by a range of pathogens. The molecular basis for the formation and maturation of macropinosomes has only recently begun to be defined. Here, we review the general characteristics of macropinocytosis, describe some of the regulators of this pathway, which have been identified to date and highlight strategies to explore the relevance of this endocytosis pathway *in vivo*.

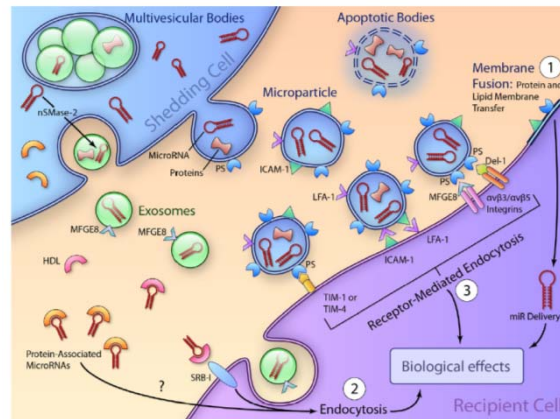


Lim JP, Gleeson PA. **Macropinocytosis: an endocytic pathway for internalising large gulps.** Immunol Cell Biol. 2011 Nov;89(8):836-43. http://viralzone.expasy.org/all_by_protein/800.html



McKelvey K.J. *et al.* **Exosomes: Mechanisms of Uptake.** J. Circul. Biomark. 2015, 4:7 | doi: 10.5772/61186

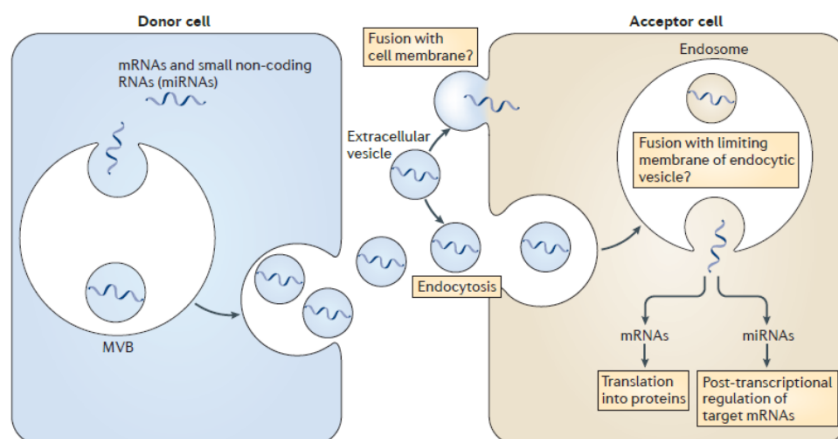
Schema della biogenesi, internalizzazione e risposta cellulare agli exosomi. L'adesione degli exosomi alla cellula ricevente utilizza l'interazione di varie proteine della superficie dell'exosoma e recettori cellulari. Una volta legato, l'exosoma può: (i) scatenare la trasduzione dei segnali mediante vie intracellulari di segnalamento ed essere rilasciate (segnalamento juxtacrino); (ii) fondersi con la membrana cellulare trasferendo il contenuto proteico e genetico nel citoplasma della cellula ricevitrice (fusione); oppure (iii) essere endocitato mediante fagocitosi, macropinocitosi oppure endocitosi mediata da ricettori.



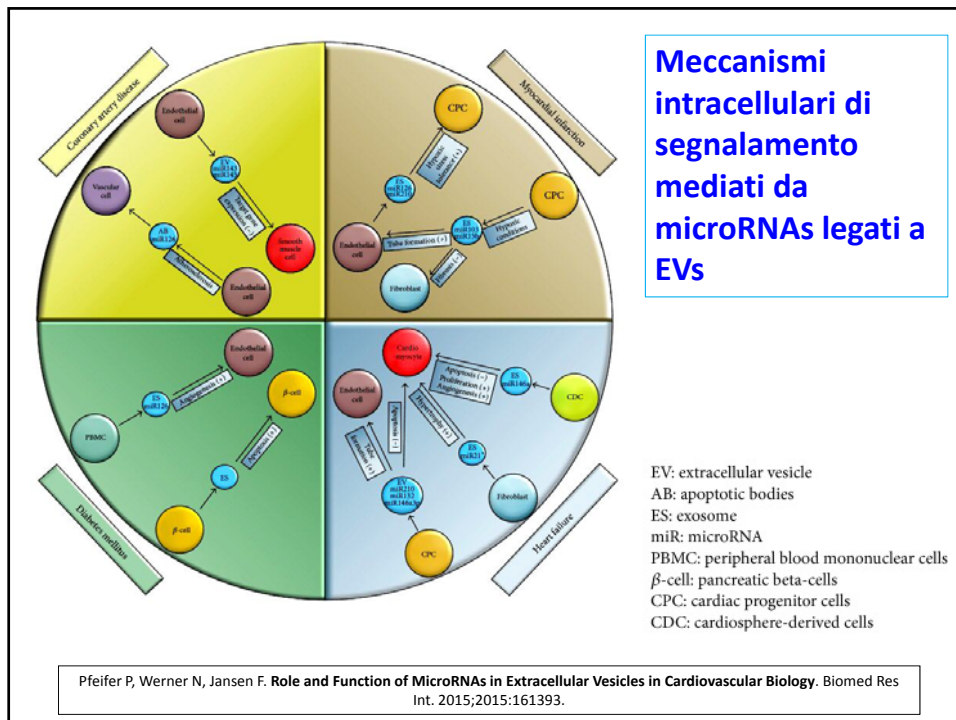
Meccanismi che riguardano il ruolo delle vescicole extracellulari nella comunicazione cellula-cellula. Una volta rilasciati, exosomi, microparticelle e corpi apoptotici mirano ad alcune cellule riceventi e sono in grado di trasferire informazione (microRNAs, proteine, ecc.) mediante fusione di membrane (1), endocitosi (2), o legame mediato da recettori (3).

Loyer X, Vion AC, Tedgui A, Boulanger CM. **Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases.** *Circ Res.* 2014 Jan 17;114(2):345-53.


Meccanismo di trasferimento di RNAs mediante navette exosomal tra cellule



Robbins PD, Morelli AE. **Regulation of immune responses by extracellular vesicles.** *Nat Rev Immunol.* 2014 Mar;14(3):195-208.



Ratajczak and Ratajczak *Clin Trans Med* (2016) 5:7
 DOI 10.1186/s40169-016-0087-4



Horizontal transfer of RNA and proteins between cells by extracellular microvesicles: 14 years later

Mariusz Z. Ratajczak^{1*} and Janina Ratajczak²

Abstract

Extracellular microvesicles (ExMVs) are part of the cell secretome, and evidence has accumulated for their involvement in several biological processes. Fourteen years ago our team demonstrated for the first time that ExMVs carry functional RNA species and proteins from one cell to another, an observation that opened up the new research field of horizontal transfer of bioactive molecules in cell-to-cell communication. Moreover, the presence of mRNA, noncoding RNA, and miRNA in ExMVs in blood and other biological fluids opened up the possibility of employing ExMVs as new detection markers for pathological processes, and ExMVs became a target for “liquid biopsy” approaches. While ExMV-derived mRNAs may be translated in target cells into appropriate proteins, miRNAs regulate expression of corresponding mRNA species, and both RNA-dependent ExMV-mediated mechanisms lead to functional changes in the target cells. Following from this observation, several excellent papers have been published that confirm the existence of the horizontal transfer of RNA. Moreover, in addition to RNA, proteins, bioactive lipids, infectious particles and intact organelles such as mitochondria may follow a similar mechanism. In this review we will summarize the impressive progress in this field—14 years after initial report.

Keywords: RNA, ExMVs, Horizontal transfer of RNA, Exosomes, Regenerative medicine, Circulating RNA, Liquid biopsies

Microvesicole come mediatori della comunicazione intercellulare - 1

- ✚ Le MVs prodotte dalle cellule **riconoscono le cellule bersaglio** mediante **molecole della superficie cellulare che permettono interazioni specifiche**.
- ✚ Alcune di queste molecole sono comuni a tutte le vescicole esfoliate mentre altre sono più selettive.
- ✚ Ad es. le MVs derivate dalle **cellule tumorali** e dai neutrofili presentano abbondanti **metalloproteinasi** e altri **enzimi proteolitici** che sono fondamentali nell'infiammazione e progressione tumorale.
- ✚ Le MVs derivate dalle **piastrine** sono arricchite di **integrine** e **P-selettina**, importanti per la coagulazione.
- ✚ Le vescicole derivate dai **macrofagi** esprimono **PSGL-1** (P-selectin glycoprotein ligand-1), fondamentale per il legame dei macrofagi alla piastrine.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Microvesicole come mediatori della comunicazione intercellulare - 2

- ✚ Il **comportamento delle cellule riceventi** può **modificarsi** dopo l'interazione in risposta a:
 - Stimolazione diretta mediata da recettori
 - Trasferimento di proteine, recettori, lipidi bioattivi o acidi nucleici.
- ✚ Esempio di **stimolazione mediata da recettori**: le MVs derivate da piastrine, monociti e da cellule tumorali, che esprimono «tissue factor» sulle loro membrana. Queste MVs interagiscono con la P-selettina espressa dai macrofagi, neutrofili e piastrine.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Microvesicole come mediatori della comunicazione intercellulare - 3

- ✚ Es. stimolazione mediata da lipidi bioattivi: Molecole dell' aminofosfolipide pro-coagulante e la fosfatidilserina (PS), presente sulla superficie delle microvesicole sono responsabili dell'assemblaggio di fattori della coagulazione con conseguente attivazione della cascata di coagulazione.
- ✚ Mediante interazione mediata dalla superficie, le MVs rilasciate dalle piastrine possono direttamente attivare cellule endoteliali, infiammatorie, ed emopoietiche maligne.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Microvesicole come mediatori della comunicazione intercellulare - 3

- ✚ Un ulteriore ruolo per le MVs è il **trasferimento di recettori** e la **consegna di proteine** alle cellule bersaglio.
- ✚ Quando le MVs si fondono con le cellule riceventi possono **trasferire recettori** e **ligandi**: Es.:
 - La molecola **CD41** («Integrin Alpha Chain 2B» associata alla catena $\beta 3$ (**CD61**) costituisce il **recettore per la fibronectina, fibrinogeno e fattore di von Willebrand**, giocando ruoli cruciali nella coagulazione)) può essere trasferita, mediante MVs, dalle piastrine alle cellule endoteliali o a cellule tumorali.
 - Il trasferimento del **Fas-ligand** dalle cellule tumorali a cellule T attivate può promuovere l'apoptosi delle cellule T e favorire la fuga del tumore dall'immunosorveglianza.
 - Il trasferimento dei **recettori per le chemokine** CXCR4 e CCR5 può favorire l'entrata del virus HIV nelle cellule non-linfoemopoietiche, agendo come co-recettore.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Microvesicole come mediatori della comunicazione intercellulare - 4

✚ Inoltre, il trasferimento mediato dalle MVs, di proteine biologicamente attive può **modificare la funzione delle cellule riceventi**. Es:

- ◆ La caspasi-1 incapsulata da MVs rilasciata da monociti attivati da endotossina induce l'apoptosi nelle cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni.
- ◆ MVs derivate dai tumori possono trasferire prodotti oncogenici alle cellule adiacenti, portando ad una subseguente alterazione del loro fenotipo.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. *Curr Mol Med*. 2013 Jan;13(1):58-67.

OPEN ACCESS Freely available online July 2010 | Volume 5 | Issue 7 | e11803 PLOS one

Microvesicles Derived from Adult Human Bone Marrow and Tissue Specific Mesenchymal Stem Cells Shuttle Selected Pattern of miRNAs

Federica Collino¹, Maria Chiara Deregibus¹, Stefania Bruno^{1,3}, Luca Sterpone², Giulia Aghemo¹, Laura Viltono¹, **Ciro Tetta⁴, Giovanni Camussi^{1*}**

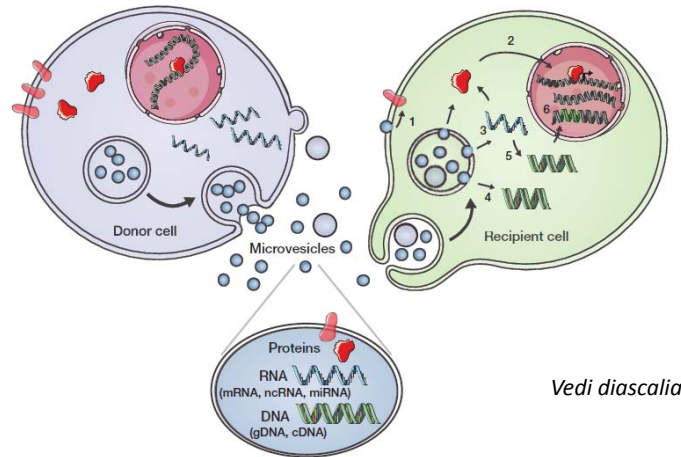
¹ Department of Internal Medicine and Center for Molecular Biotechnology, University of Torino, Torino, Italy, ² Department of Automatic and Informatics, Politecnico, Torino, Italy, ³ S5-Ter S.p.A., Palazzo Pignano, Crema, Italy, ⁴ Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany

Abstract

Background: Cell-derived microvesicles (MVs) have been described as a new **mechanism of cell-to-cell communication**. MVs after internalization within target cells may **deliver genetic information**. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) and liver resident stem cells (HLSCs) were shown to **release MVs shuttling functional mRNAs**. The aim of the present study was to evaluate whether MVs derived from MSCs and HLSCs contained selected micro-RNAs (miRNAs).

Conclusions: This study demonstrated that **MVs contained ribonucleoproteins involved in the intracellular traffic of RNA and selected pattern of miRNAs, suggesting a dynamic regulation of RNA compartmentalization in MVs**. The observation that MV-highly expressed miRNAs were transferred to target cells, rises the **possibility that the biological effect of stem cells may, at least in part, depend on MV-shuttled miRNAs**. Data generated from this study, stimulate further functional investigations on the predicted target genes and pathways involved in the biological effect of human adult stem cells.

Comunicazione intercellulare mediata da microvescicole



Breakfield XO, Frederickson RM, Simpson RJ. **Gesicles: Microvesicle "cookies" for transient information transfer between cells.** Mol Ther. 2011 Sep;19(9):1574-6.

Didascalia Fig. O'Breakfield - 1:

Comunicazione intercellulare mediata da microvescicole

- ✚ Componenti delle cellule donatrici sono incorporati in microvescicole (ad es. exosomi, microvescicole esfoliate [ectosomi] e corpi apoptotici) che contengono **proteine** (ad es. proteine di segnalamento, regolatori della trascrizione, trascrittasi inversa e proteine transmembrana), **RNA** (RNA messaggero (mRNA), RNA non-codificante (ncRNA) e microRNA (miRNA)) e **DNA** (DNA genomico (gDNA) e DNA complementare (cDNA)).
- ✚ Le microvescicole possono **iniziare segnalazione** attraverso:
 - **Interazione tra ligandi presenti sulla loro superficie e recettori** sulla cellula ricevente
 - **Cattura dei loro contenuti da parte delle cellule ricipienti tramite endocitosi o fusione con la membrana plasmatica.**

Breakfield XO, Frederickson RM, Simpson RJ. **Gesicles: Microvesicle "cookies" for transient information transfer between cells.** Mol Ther. 2011 Sep;19(9):1574-6.

Didascalia Fig. O'Breakfield - 2:

Comunicazione intercellulare mediata da microvescicole

1. Le **proteine transmembrana** possono essere **trasferite alla membrana plasmatica** e scatenare segnalamento.
2. I **regolatori della trascrizione** possono essere **trasferiti al nucleo** e regolare l'attività del promotore.
3. Gli **mRNA/miRNAs** possono essere trasferiti e **influenzare il profilo di trascrizione**.
4. I **cDNAs** derivati dalle cellule donatrici (e.g per c-Myc) possono essere consegnati al citoplasma ricevente
5. Oppure venire generati da mRNAs sottoposti a trascrizione inversa.
- 6. Retrotrasposoni e altri elementi di DNA** delle microvescicolo possono integrarsi nel genoma ricevente.

Breakfield XO, Frederickson RM, Simpson RJ. **Gesicles: Microvesicle "cookies" for transient information transfer between cells.** Mol Ther. 2011 Sep;19(9):1574-6.

Trasferimento di materiale genetico - 1

- ✚ Dato che le MVs contengono quadri selezionati di mRNA e di microRNAs (miRNAs), esse possono **trasferire informazione genetica** fra le cellule.
- ✚ Questi acidi nucleici sono associati a ribonucleoproteine coinvolte nel traffico intracellulare di RNA.
- ✚ La concentrazione di specie selezionate di RNA nelle MVs suggerisce un processo regolamentato di compartimentazione di RNA.

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment.** Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Trasferimento di materiale genetico – 2

Esempi

- ✚ Sono in grado di indurre una **riprogrammazione epigenetica** delle cellule staminali emopoietiche adulte /cellule progenitrici mediante trasferimento orizzontale di mRNA.
- ✚ E' stato riportato un trasferimento di mRNA, mediato da exosomi, fra mast cells e la successiva traduzione in proteine.
- ✚ MVs derivate da «endothelial progenitor cells» (EPCs) umane possono attivare un programma angiogenico in cellule endoteliali quiescenti mediante trasferimento di insiemi selezionati di mRNA.
- ✚ Cellule del midollo osseo possono subire modificazioni tessuto-specifiche del mRNA, sia mediante consegna diretta di mRNA mediata da MVs, sia per induzione di mRNA tessuto-specifico. Questo fenomeno è stato attribuito a modificazioni stabili a lungo termine del fenotipo genetico delle cellule riceventi correlato a miRNA veicolati da MVs.
- ✚ Fenomeni simili sono stati osservati in cellule di cervello, cuore e fegato: fenomeno generale?

Camussi G, Deregibus MC, Tetta C. **Tumor-derived microvesicles and the cancer microenvironment**. Curr Mol Med. 2013 Jan;13(1):58-67.

Comunicazione extracellulare mediata da miRNA - 1

- ✚ Sono stati individuati miRNA nel plasma, urina e saliva e recentemente si sono visti trasportati da lipoproteine.
- ✚ Ciò ha portato alla proposta che i miRNAs circolanti potessero essere utili **biomarcatori** di diverse malattie, che includono **malattie cardiovascolari**, **diabete** e altre forme di dismetabolismo.
- ✚ Nonostante le attuali conoscenze sulle strutture cellulari responsabili per la secrezione degli miRNA sia incompleta, è stato dimostrato che gli miRNA sono impacchettati in exosomi, microvescicole e corpi apoptotici in un'ampia gamma di tipi cellulari.

Rayner KJ, Hennessy EJ. **Extracellular communication via microRNA: lipid particles have a new message**. J Lipid Res. 2013 May;54(5):1174-81.

Comunicazione extracellulare mediata da miRNA - 2

- ✚ Curiosamente, **una grande quantità di miRNA extracellulare si trova fuori da qualsiasi vescicola lipidica** ed invece è **associata a proteine** quali Argonata 1 e 2, che potrebbero collaborare alla loro protezione contro le abbondanti nucleasi presenti nell'ambiente extracellulare.
- ✚ L'entusiasmo per i miRNAs come biomarcatori sta crescendo, in quanto sempre più abbondanti prove sperimentali sostengono l'ipotesi che questi RNA non codificanti vengono secreti attivamente da tessuti patologici, possibilmente **prima** della comparsa di patologia conclamata.

Rayner KJ, Hennessy EJ. **Extracellular communication via microRNA: lipid particles have a new message.** J Lipid Res. 2013 May;54(5):1174-81.