

# Membrana Plasmatica

Glicocalice

# GLICOCALICE

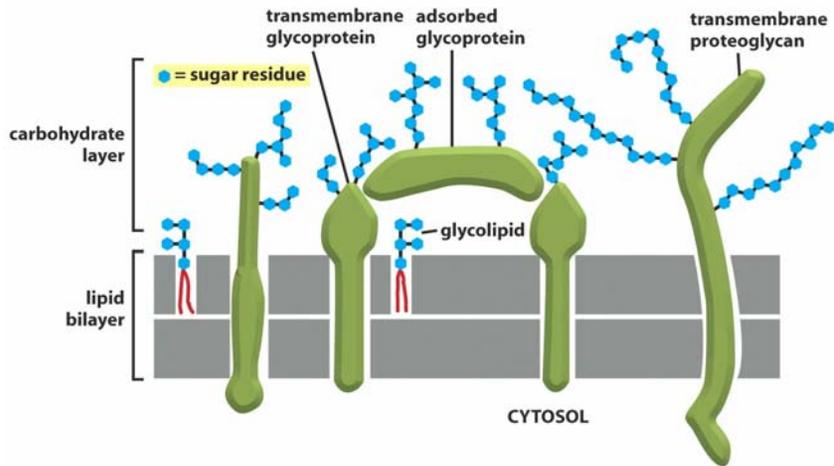


Figure 10-28b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

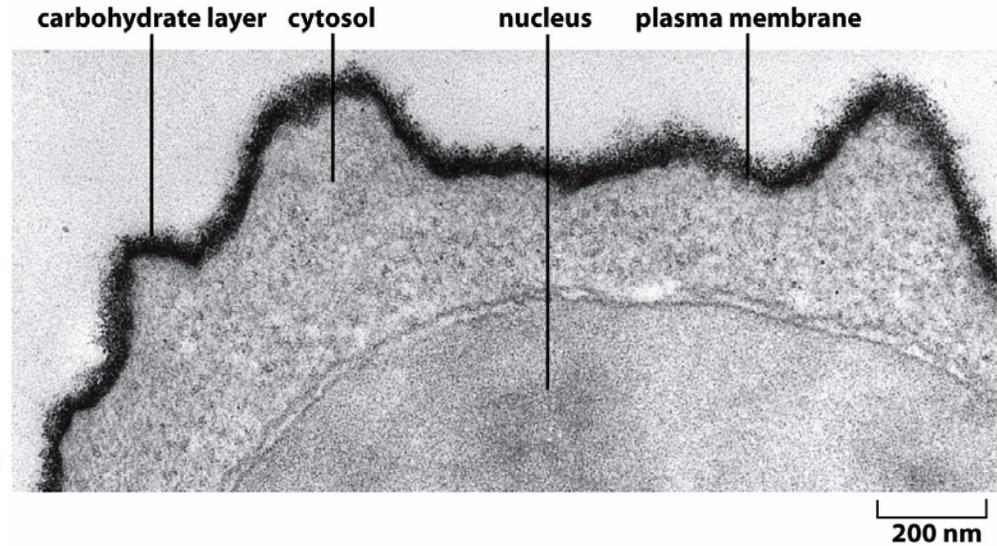
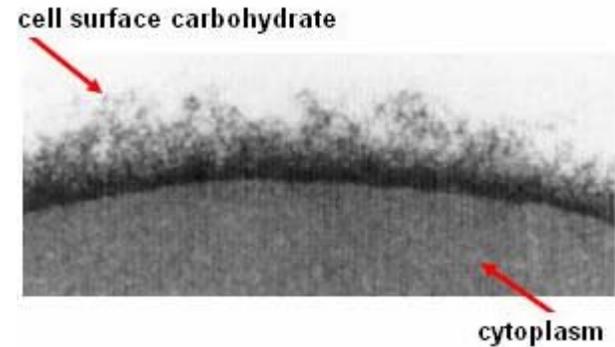


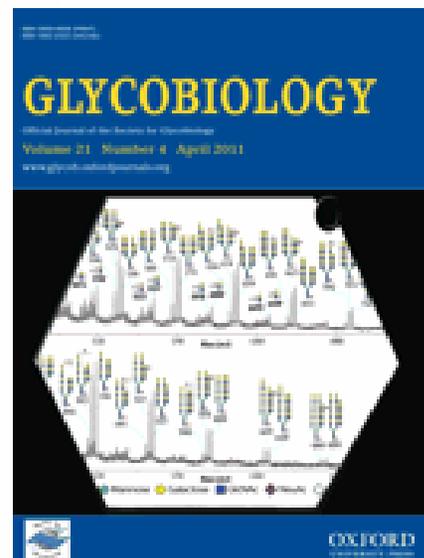
Figure 10-28a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



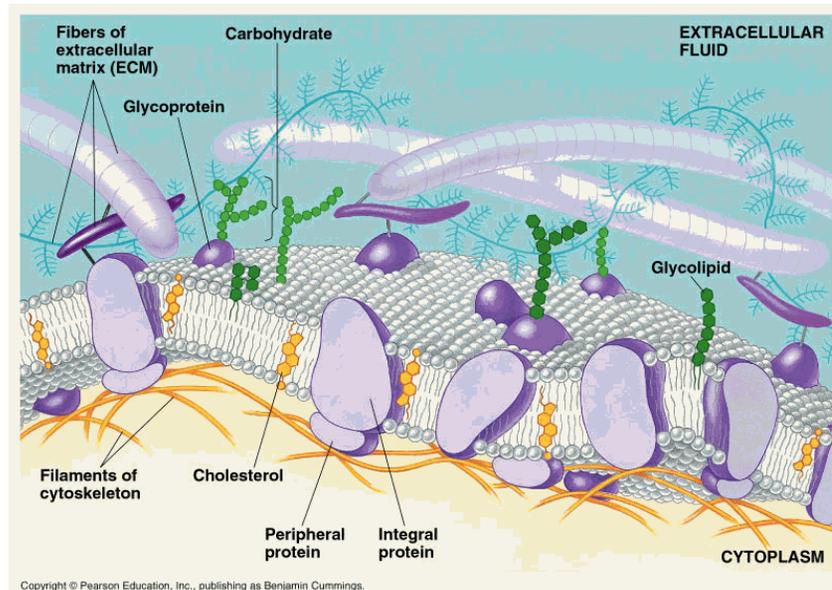


Science 291 No 5512 (2001)

Copyright (2001) American Association for the Advancement of Science



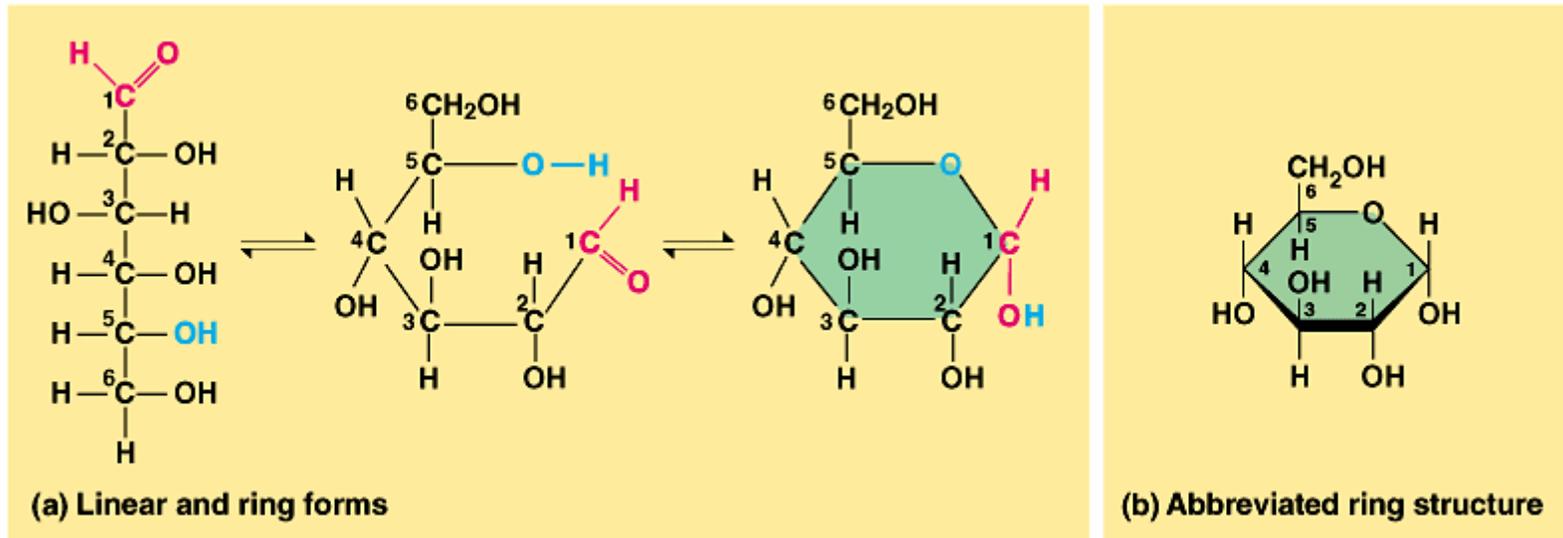
- ✚ Tutte le membrane plasmatiche e alcuni altri tipi di membrana interne contengono quantità significative di **carboidrati associati a lipidi e a proteine** (es. la membrana plasmatica del globulo rosso consiste, in peso, in circa 40% di lipidi, 52% di proteine e 8% di carboidrati).
- ✚ I carboidrati 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.



# GLICOPROTEINE

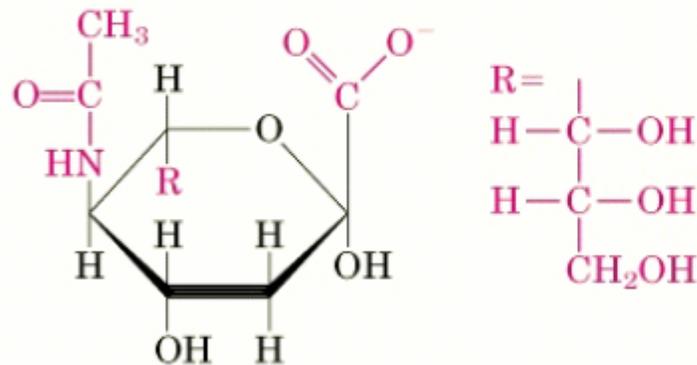
- ✚ La maggior parte dei carboidrati delle membrane è collegata covalentemente a proteine, formando **glicoproteine**. I carboidrati legati sono **catene oligosaccaridiche**, che di solito non eccedono 15 unità monosaccaridiche.
- ✚ Un piccolo numero di monosaccaridi può fornire un **alfabeto per generare 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 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.

# Monosaccaridi



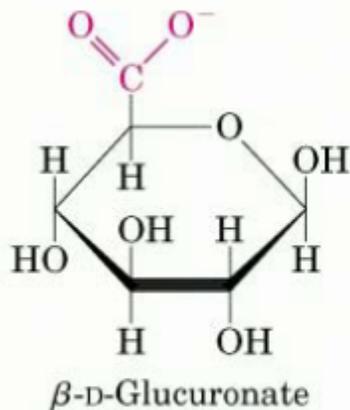
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

### Acidic sugars



*N*-Acetylneuraminic acid  
(sialic acid)

Glucose and its  
biologically  
important **acidic**  
glucose derivatives



β-D-Glucuronate

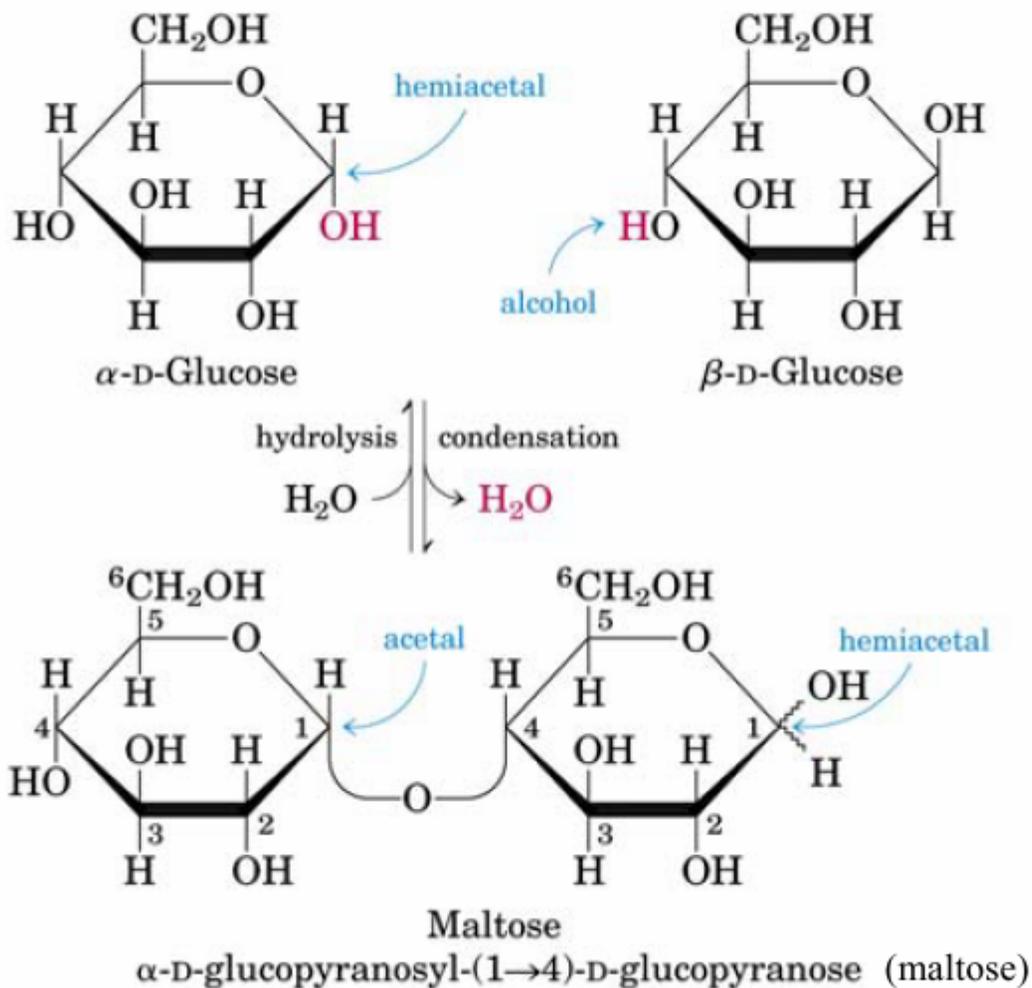


D-Gluconate

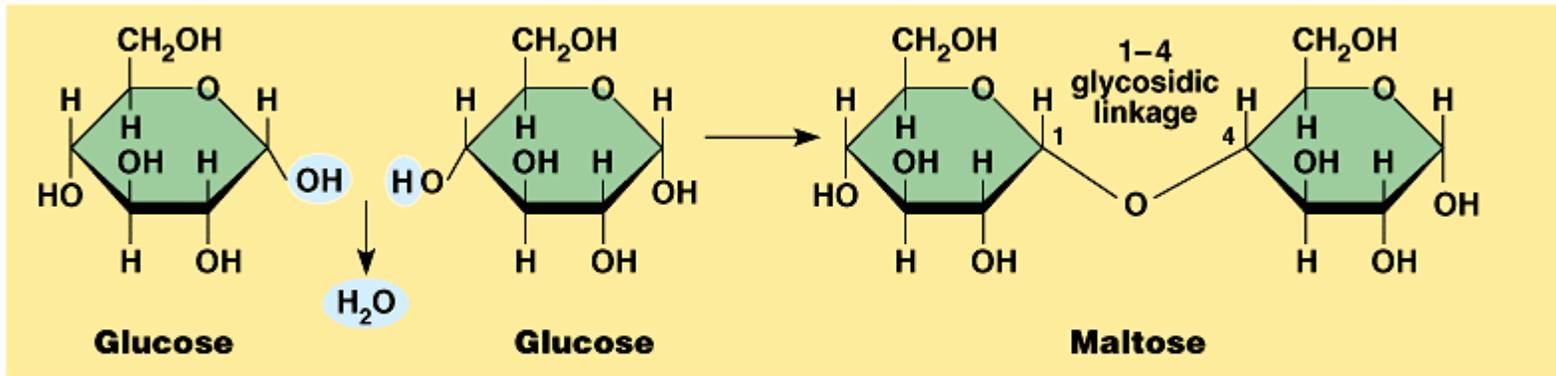


D-Glucono-δ-lactone

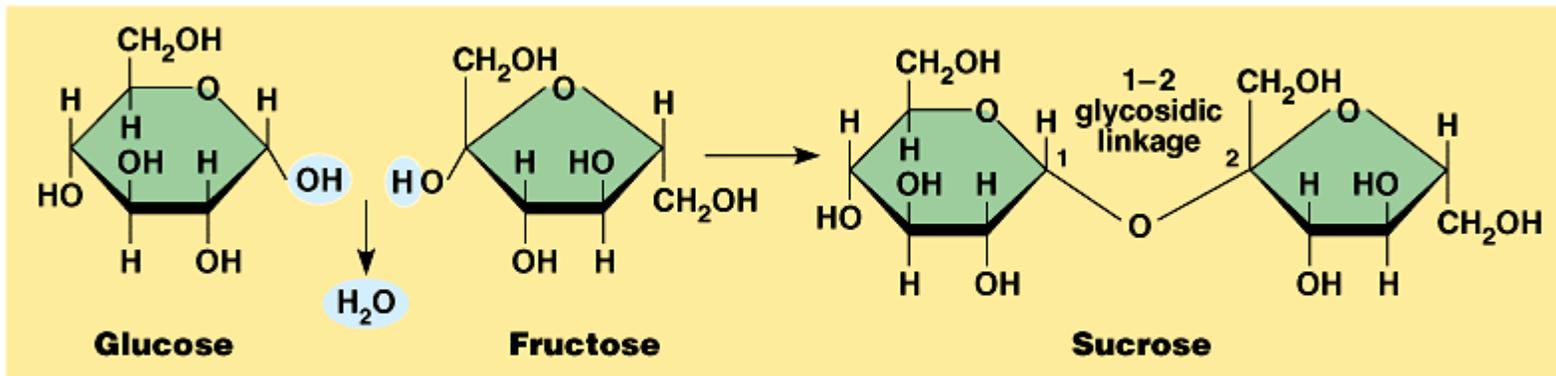
## The glycosidic bond



# Disaccaridi



(a) Dehydration synthesis of maltose

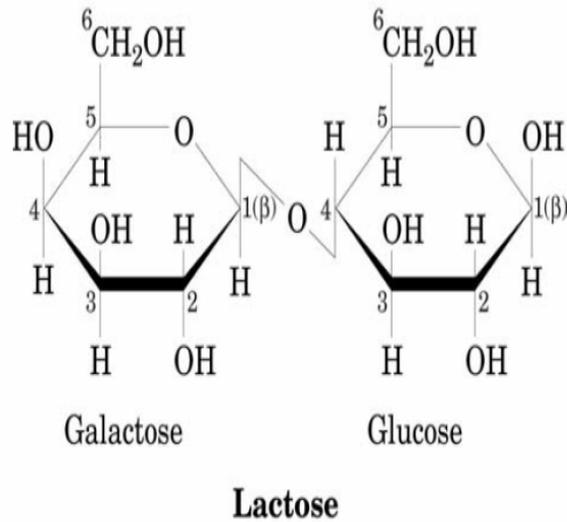


(b) Dehydration synthesis of sucrose

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

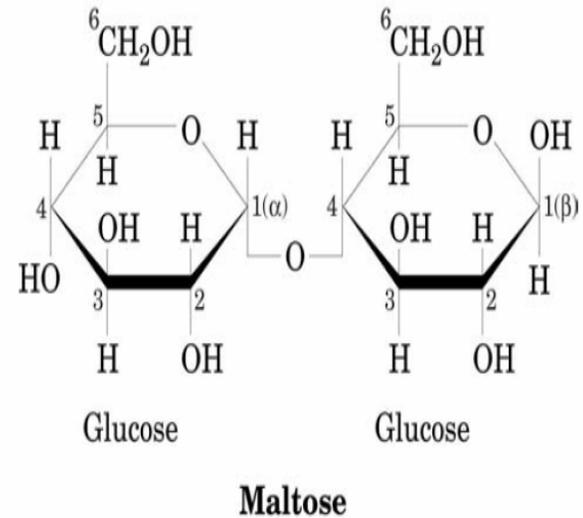
# Disaccaridi comuni

Figure 11-12b Several common disaccharides. (b) Lactose or milk sugar



Voet&Voet, Biochemistry, chapter 11

Figure 11-12c Several common disaccharides. (c) Maltose or starch derived sugar



Voet&Voet, Biochemistry, chapter 11

# 11 modi diversi di combinare 2 unità di D-glucosio

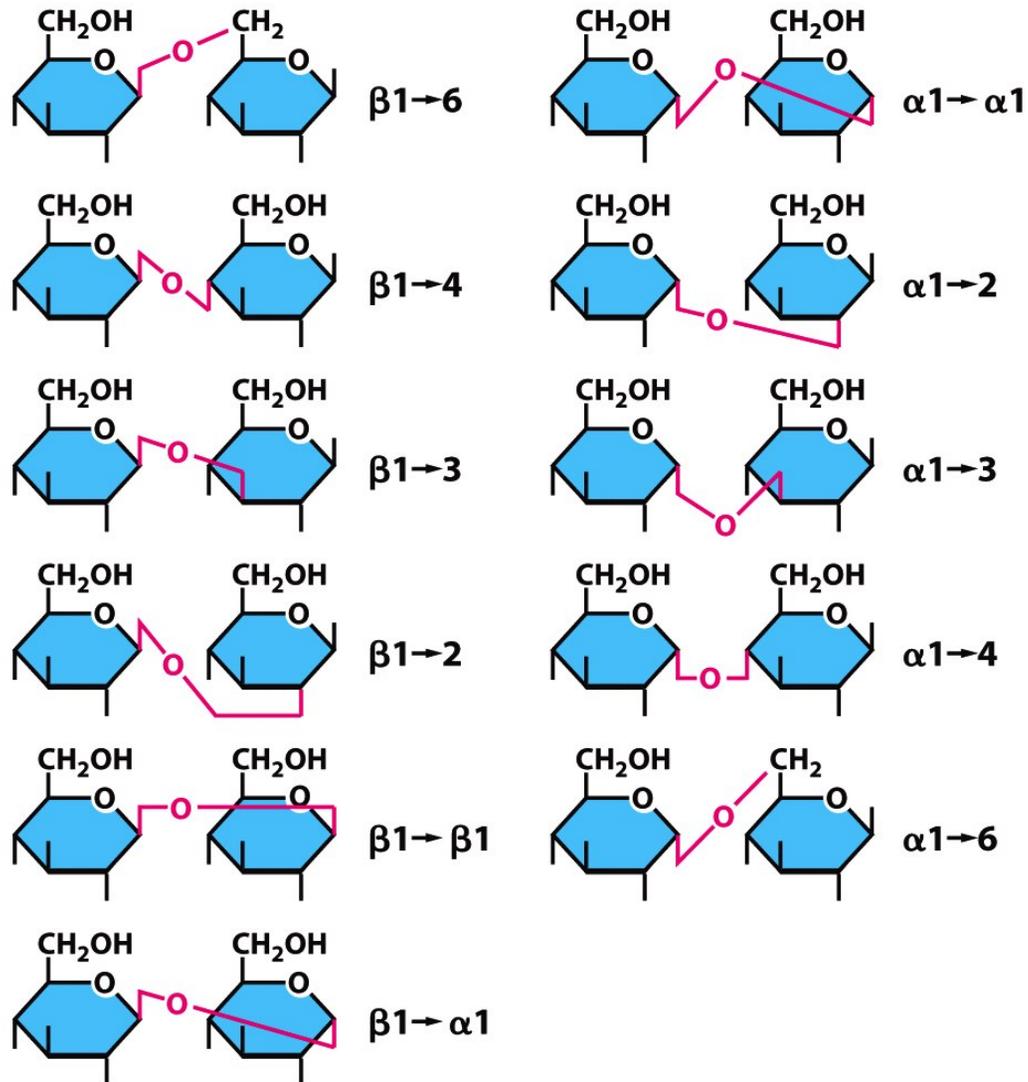
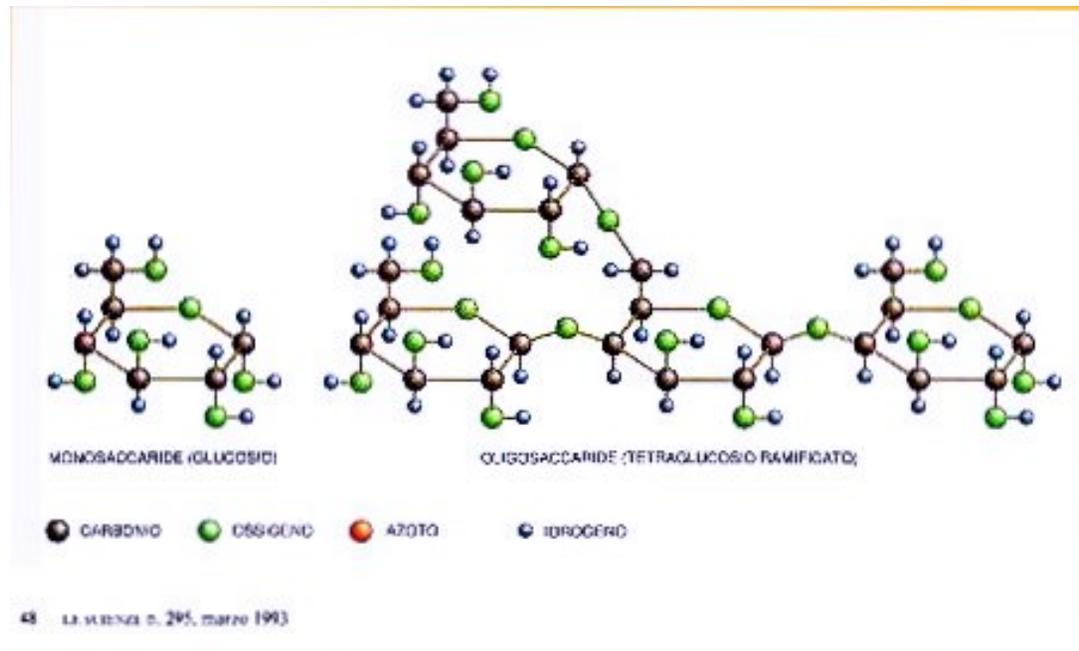
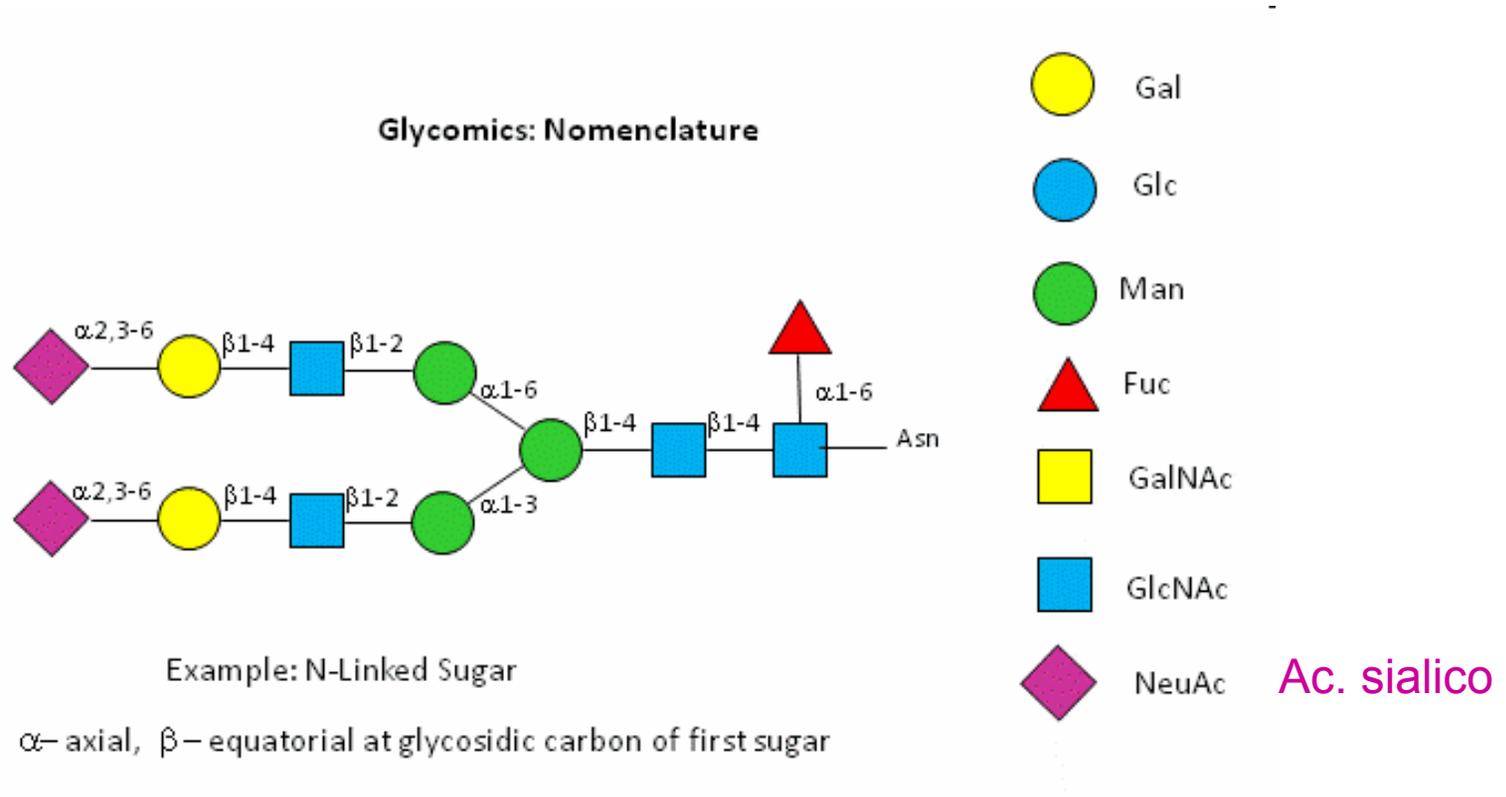


Figure 2-20 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

✚ 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**, il numero di tipi diversi di oligosaccaridi che si possono formare è estremamente elevato



# Nuova nomenclatura visuale per la glicobiologia

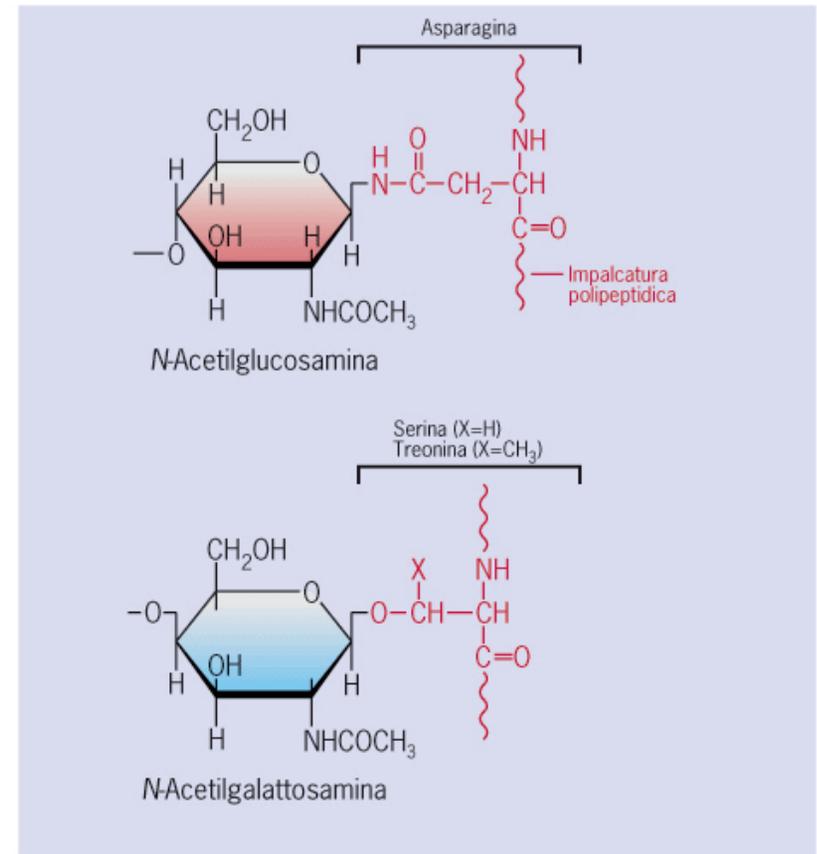


Consortium for Functional Glycomics (2005)

# Glicoproteine

✚ Nei tessuti sono presenti due classi fondamentali di glicoproteine:

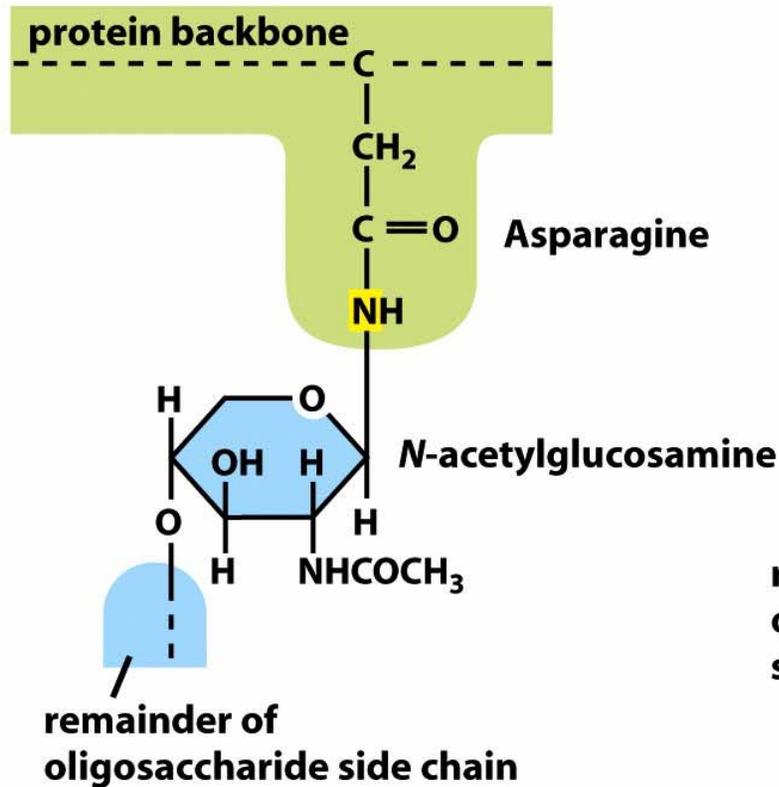
- quelle che contengono oligosaccaridi legati mediante **legame O-glicosidico agli aminoacidi serina e treonina**
- quelle che contengono oligosaccaridi legati mediante **legame N-glicosidico all'aminoacido asparagina.**



**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"

## N-LINKED GLYCOSYLATION



## O-LINKED GLYCOSYLATION

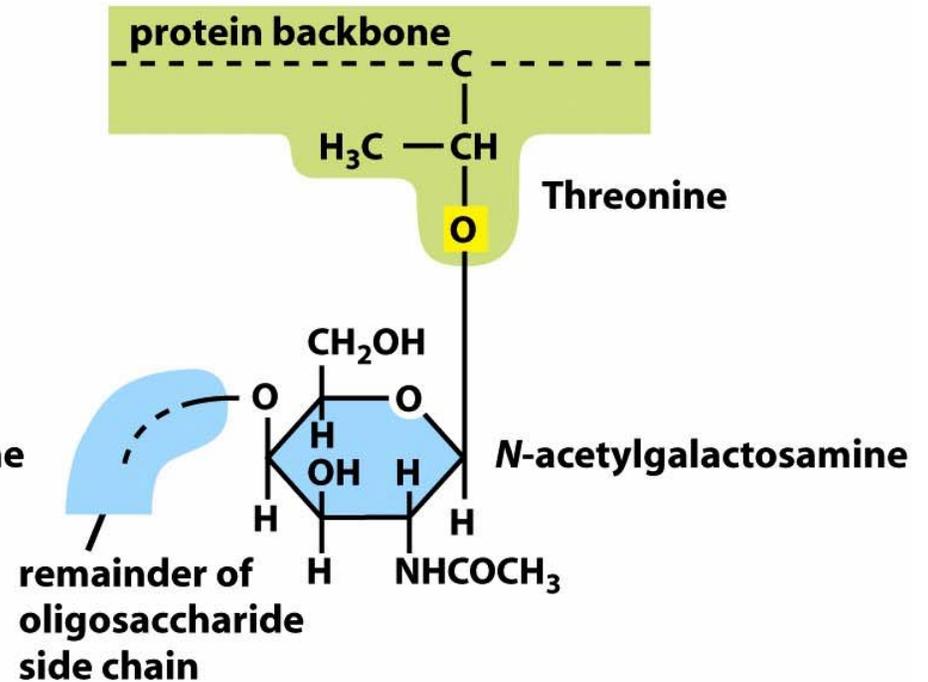
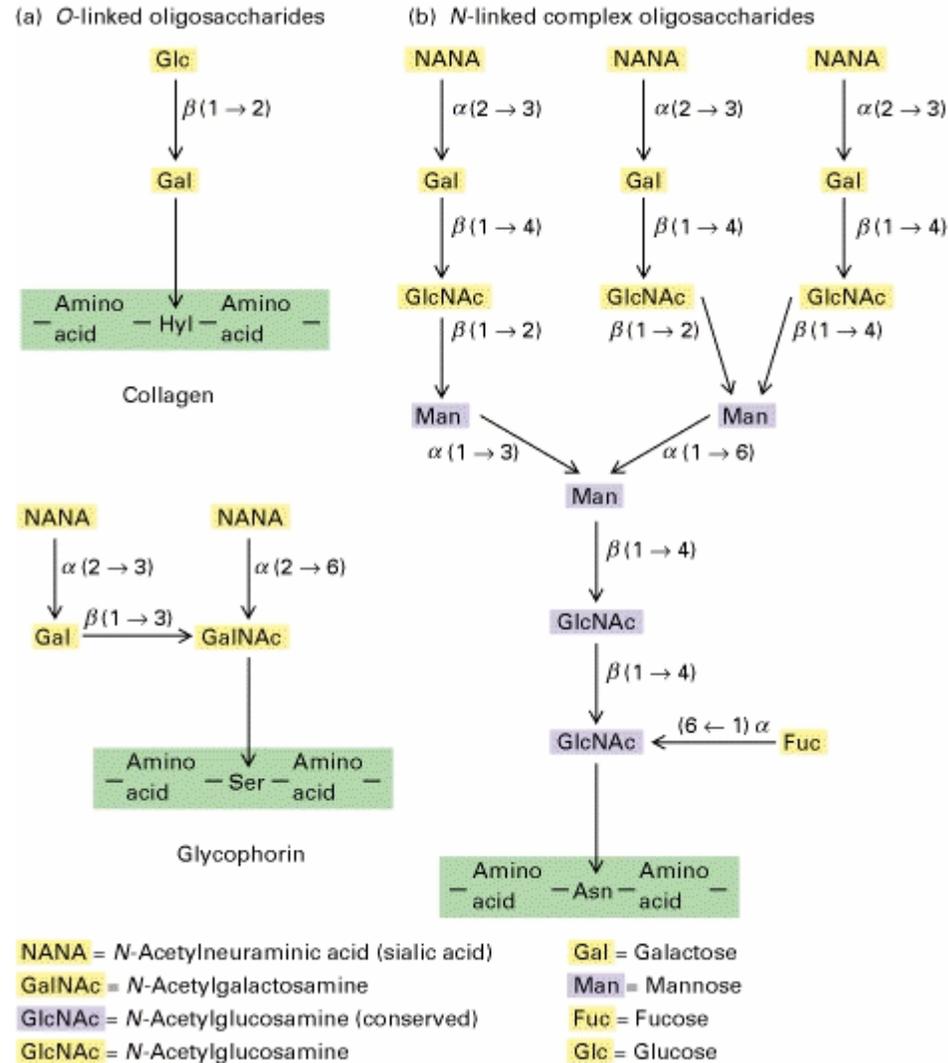


Figure 13-32 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# 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 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 varie strutture, ma tutti contengono cinque zuccheri (evidenziati in porpora), ramificati e legati all’azoto amidico dell’asparagina (ASN).



# Tipi di (N-linked) oligosaccaridi

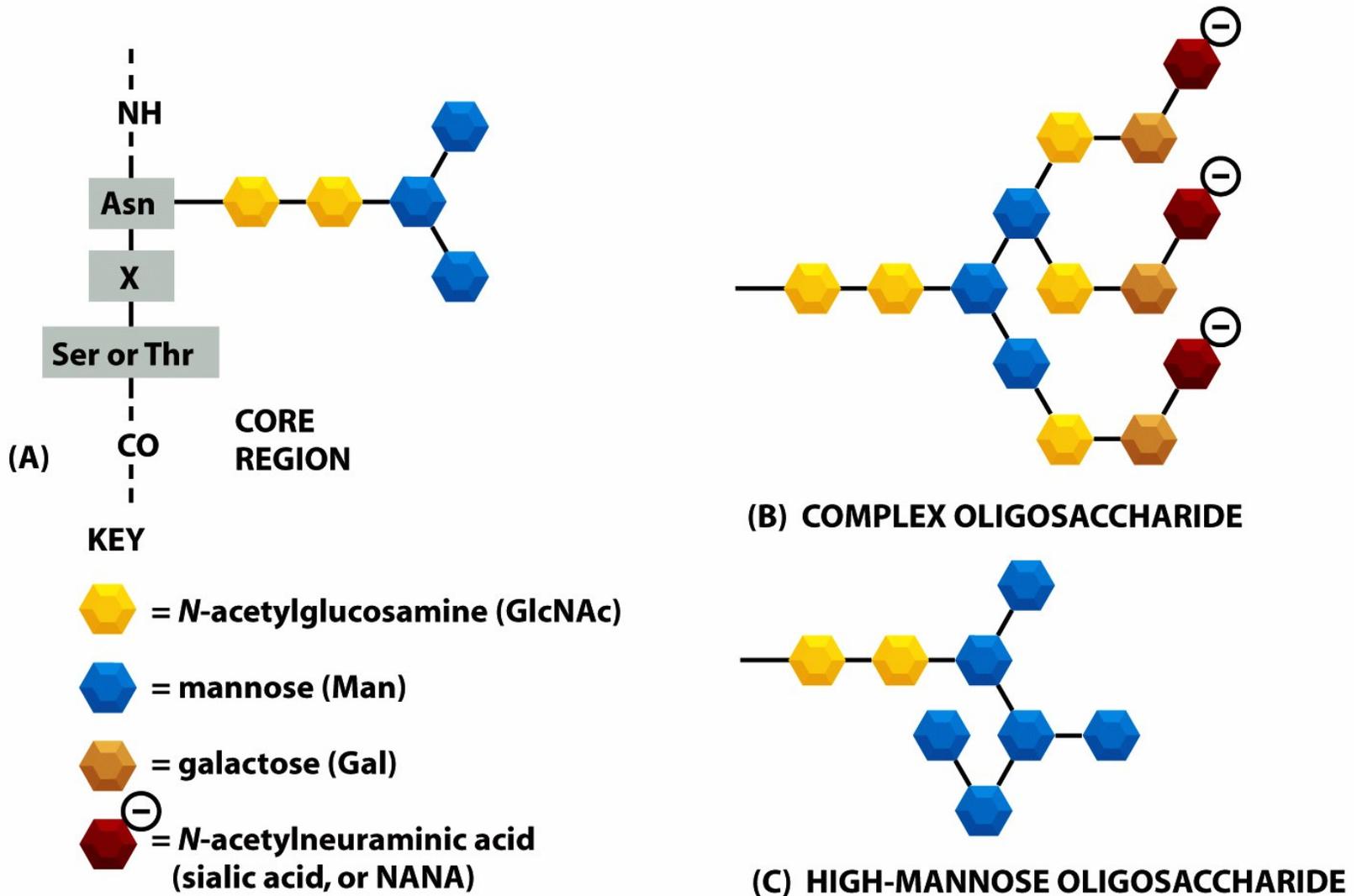


Figure 13-30 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



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

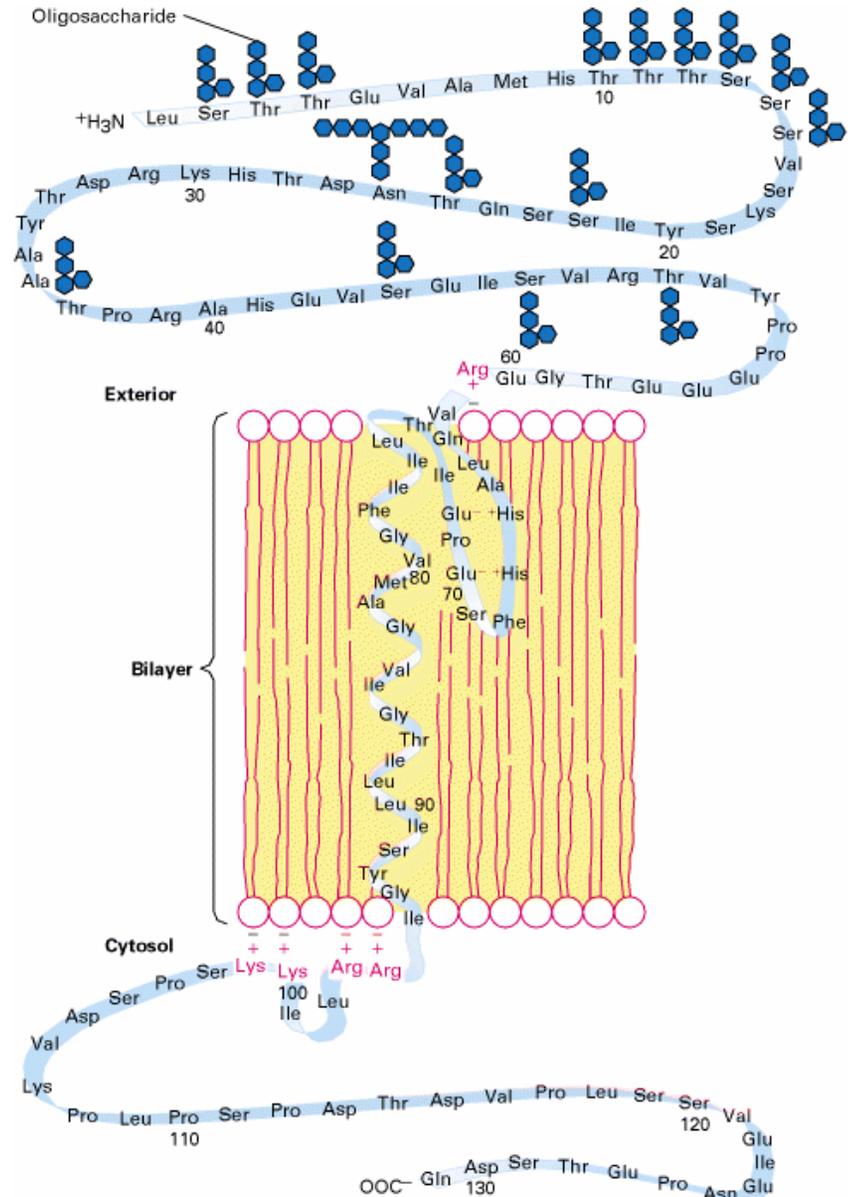
✚ **Mucine**: Mucoproteine ad elevato peso molecolare che formano un biofilm protettivo sulla superficie delle cellule epiteliali dove forniscono una barriera contro la materia particolata e i microorganismi. Le mucine ancorate alle membrana possono avere ruoli addizionali che riguardano le interazioni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

✚ **Il legame di oligosaccaridi ai peptidi aumenta la loro solubilità, ricopre il dominio antigenico e protegge lo scheletro peptidico dalle proteasi.**

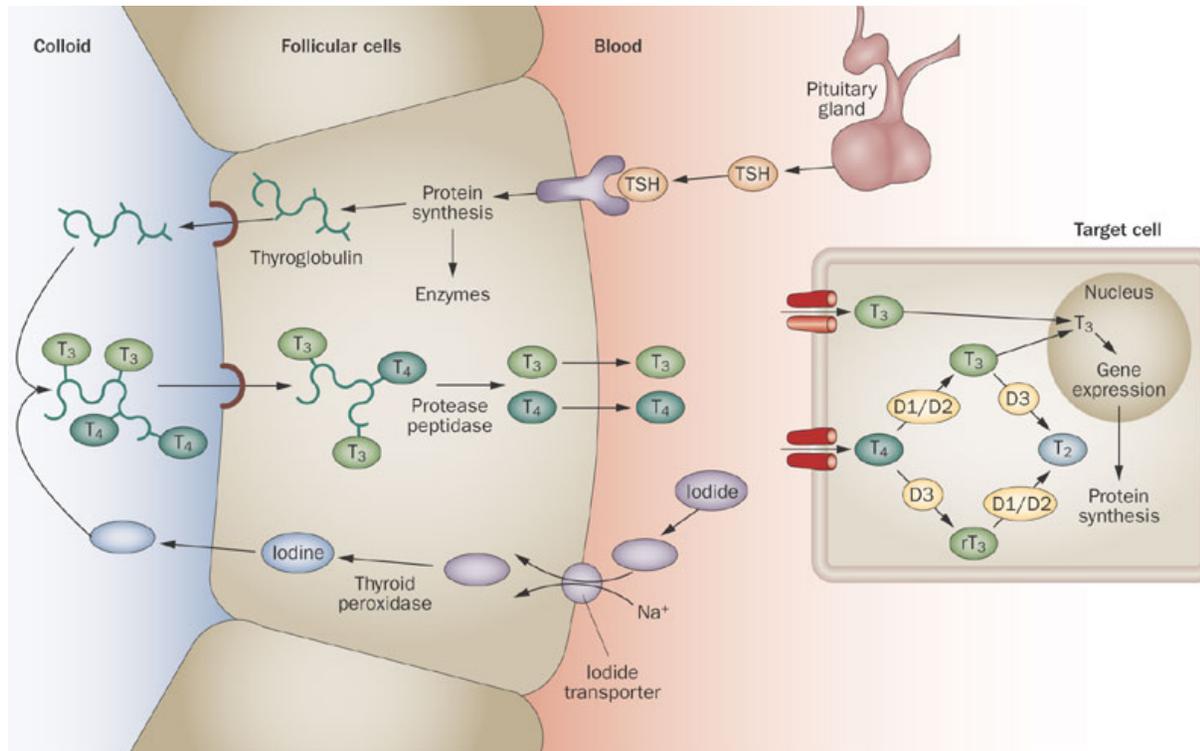
I carboidrati spesso modulano le funzioni delle proteine, come nel caso dell'acido polisialico legato alle molecole di adesione neurale (N-CAM).

✚ 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



## Figure 2 Synthesis of thyroid hormones



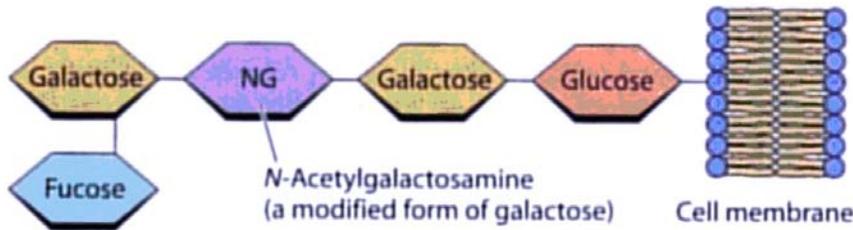
Thyroid hormones are synthesized in follicular cells of the thyroid gland from tyrosine residues within the **thyroglobulin** molecule. T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> molecules are then cleaved and released into the circulation. T<sub>3</sub>, the physiologically active form of thyroid hormone, can also be formed from the monodeiodination of T<sub>4</sub>. T<sub>4</sub> is converted to T<sub>3</sub> predominantly by type I iodothyronine deiodinase. Abbreviations: D1, type I iodothyronine deiodinase; D2, type II iodothyronine deiodinase; D3, type III iodothyronine deiodinase; rT<sub>3</sub>, reverse T<sub>3</sub>.

✚ La **N-glicosilazione** avviene nella maggior parte delle specie animali, ma ci sono anche **carboidrati specie- od 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.

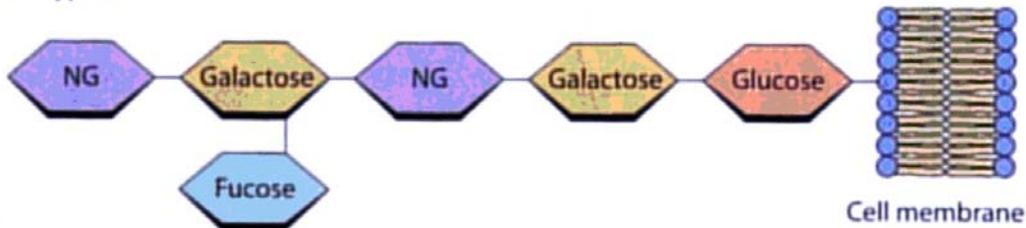
✚ Negli animali inferiori sono state descritte strutture di carboidrati ed attività glicosiltrasferasiche che di solito non si trovano negli animali superiori. Queste scoperte forniscono le basi per valutare perchè gli animali superiori hanno acquisito o richiedono strutture di carboidrati specifiche

# Antigeni dei gruppi sanguigni ABO umani

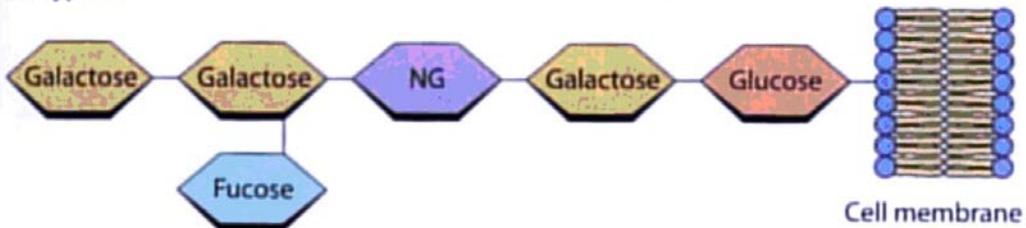
A. Type O



B. Type A



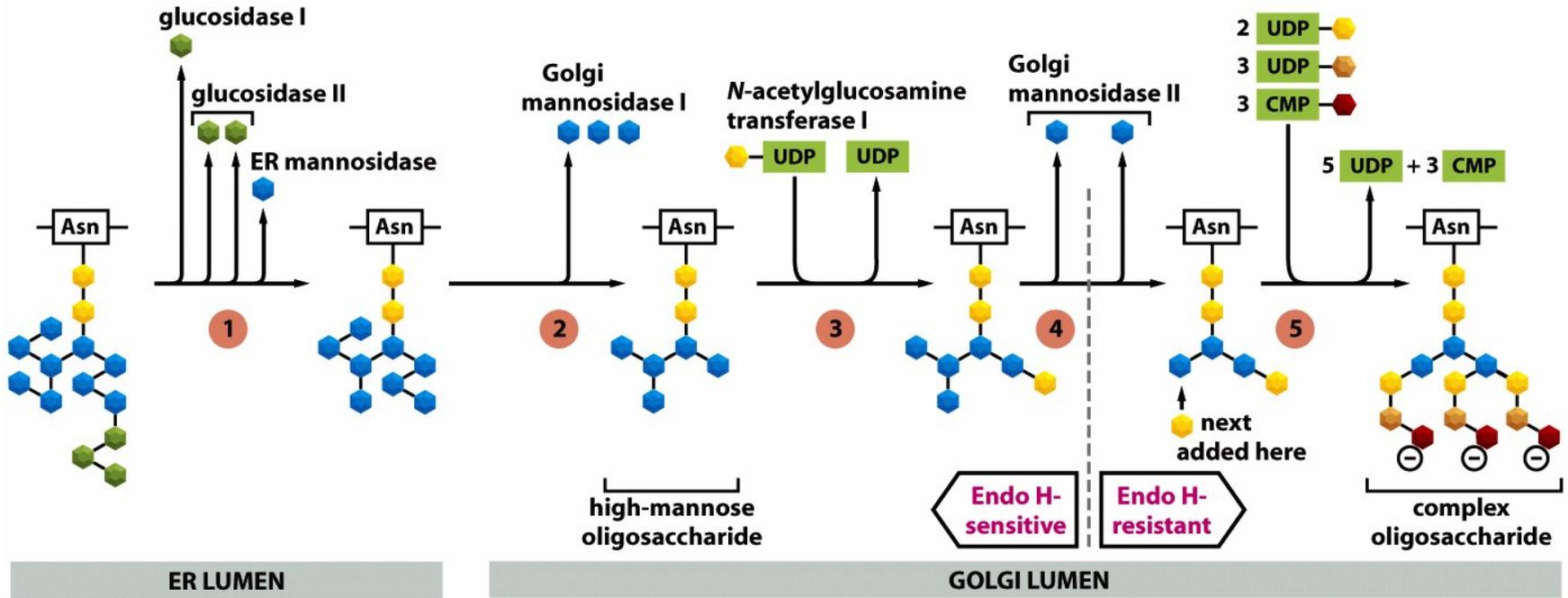
C. Type B



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

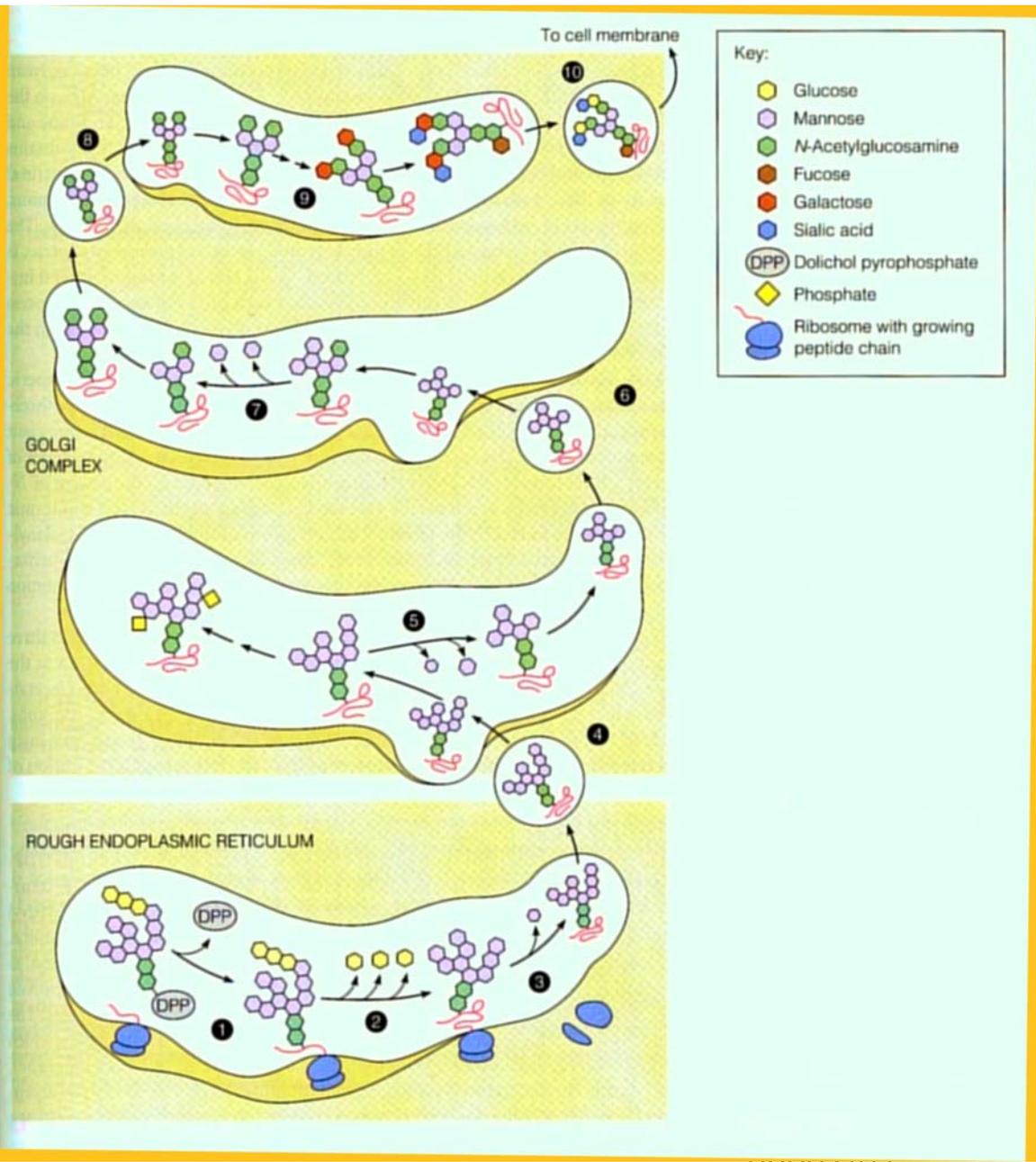


KEY:

Yellow hexagon = N-acetylglucosamine (GlcNAc) Blue hexagon = mannose (Man) Green hexagon = glucose (Glc)

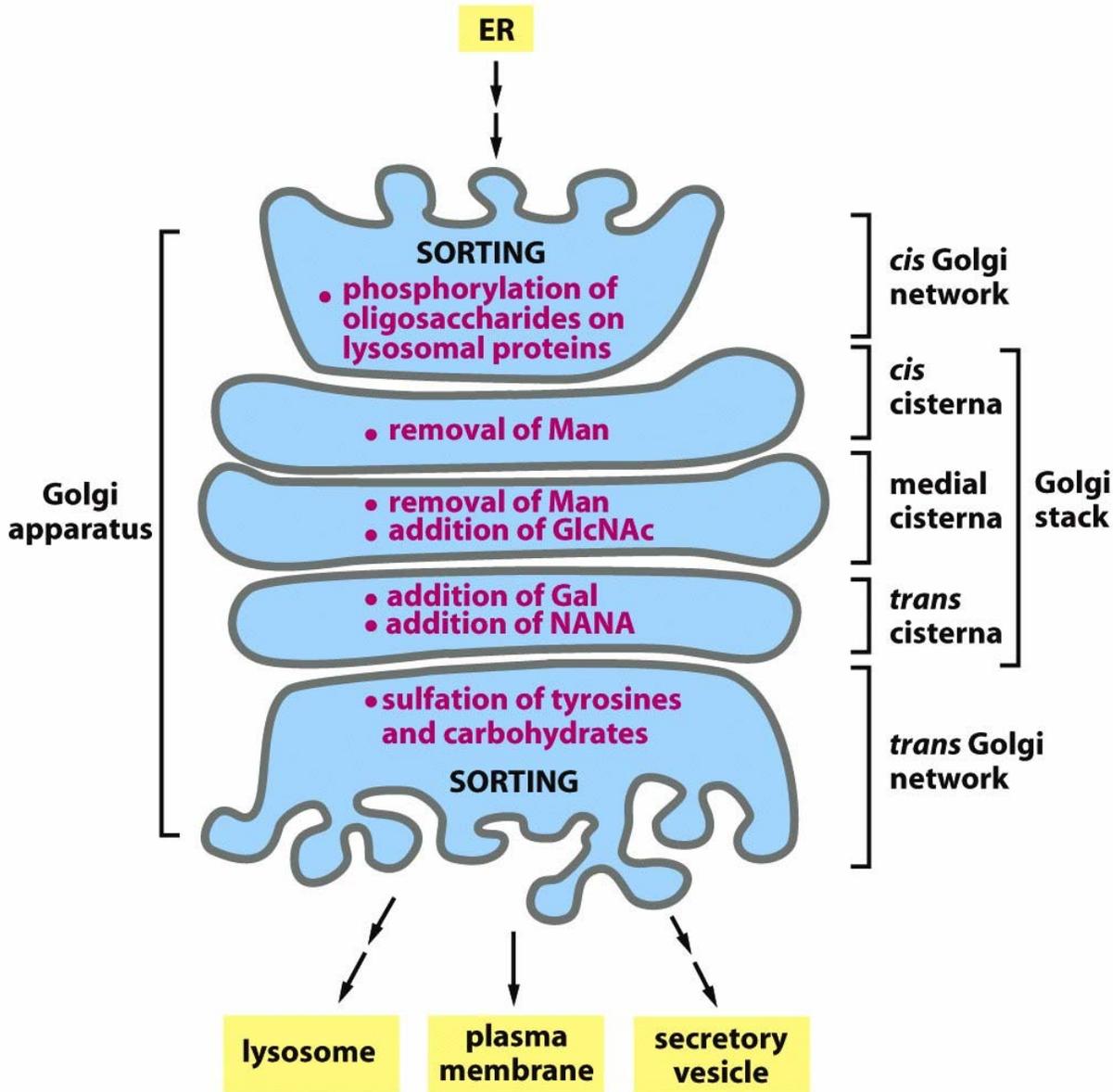
Brown hexagon = galactose (Gal) Red hexagon with a negative charge = N-acetylneuraminic acid (sialic acid, or NANA)

Figure 13-31 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



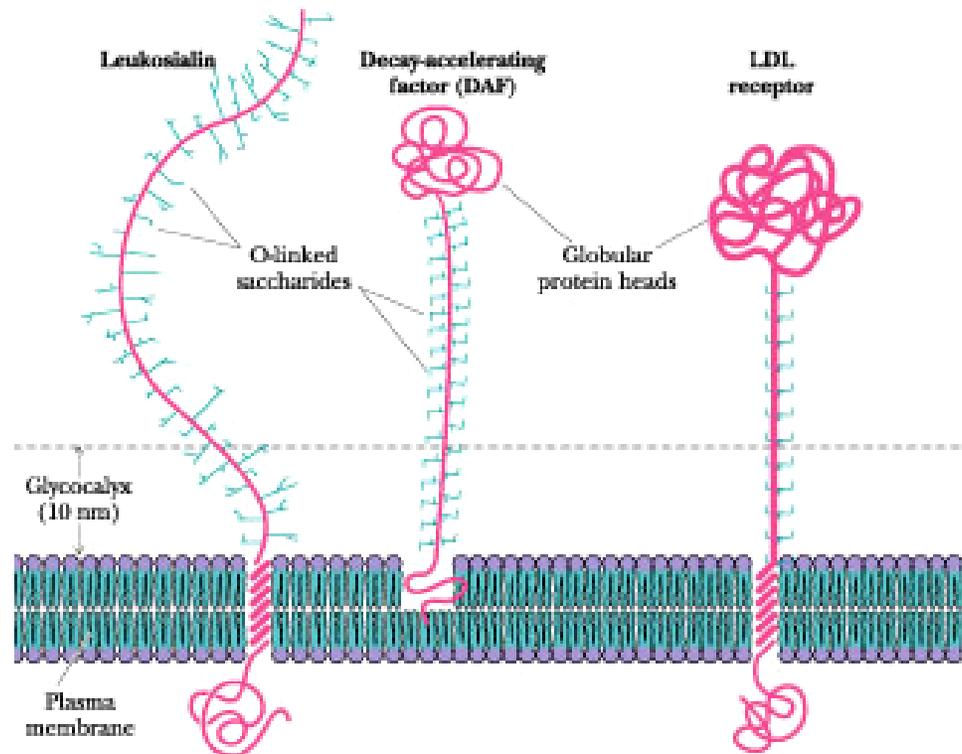
# Glicoproteine “N-linked”

Le unità glicosaccaridiche vengono aggiunte alle proteine di membrana neo-sintetizzate all'interno del reticolo endoplasmatico e sono modificate nell'apparato di Golgi.



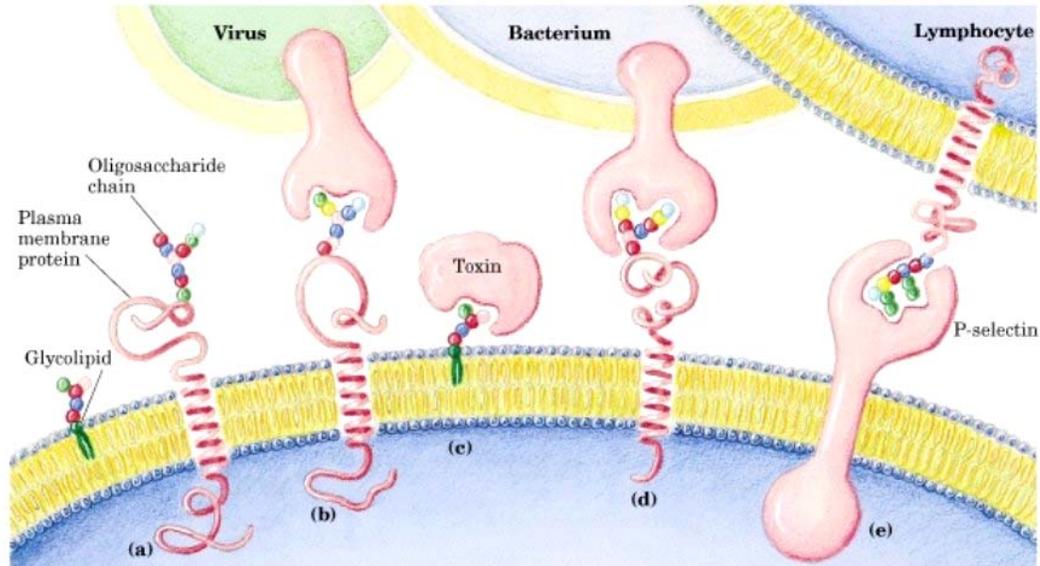
## Modificazioni post-traduzionali nel Golgi

Figure 13-28 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



✚ I saccaridi “O-linked” delle glicoproteine sembrano in molti casi adottare conformazioni estese che servono ad estendere i domini funzionali di queste proteine sopra la superficie cellulare.

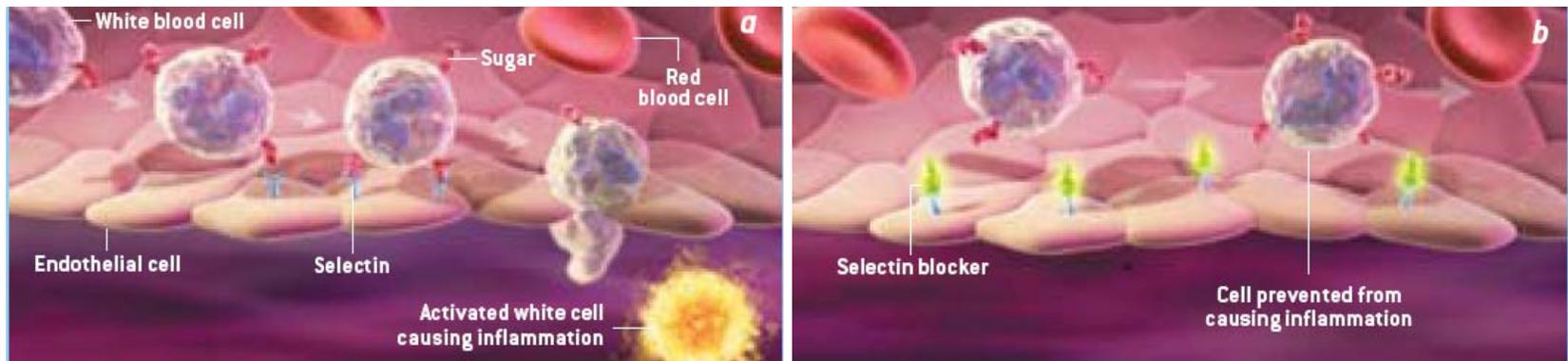
# Saccharides and Cell Adhesion



- ✚ I carboidrati associati alla membrana plasmatica si trovano sempre sulla superficie esterna.
- ✚ In questa localizzazione la loro diversità strutturale è importante per le reazioni di legame che si svolgono sulla superficie cellulare, la regione in cui le cellule riconoscono e reagiscono con sostanze specifiche.

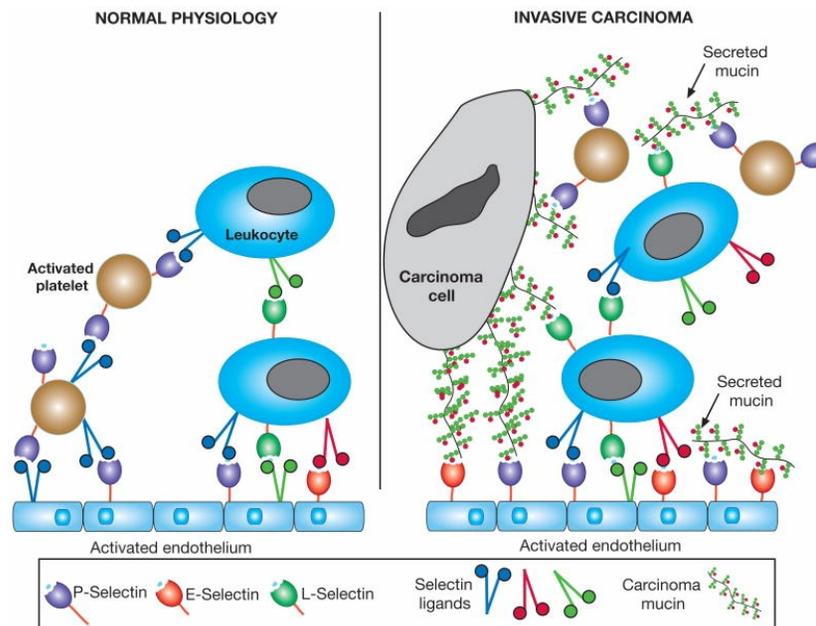
# RUOLO DEI CARBOIDRATI

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

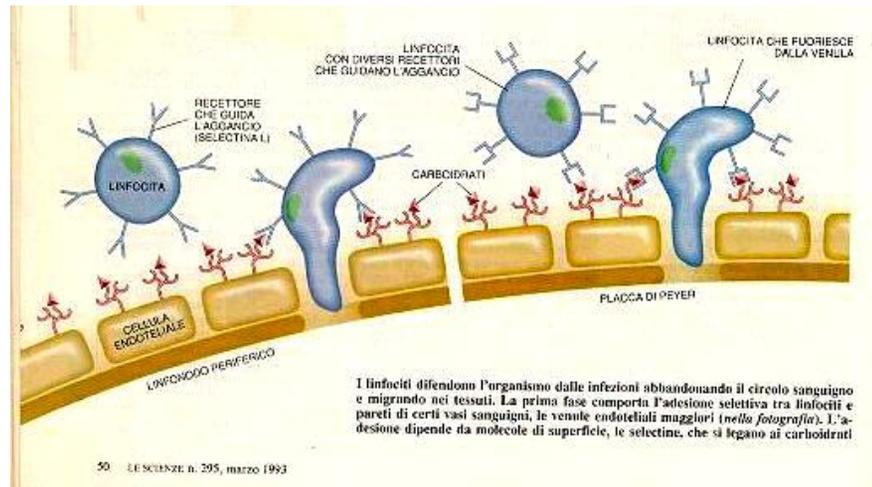
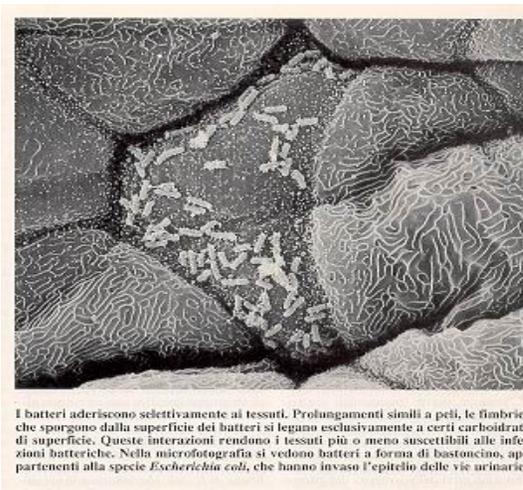
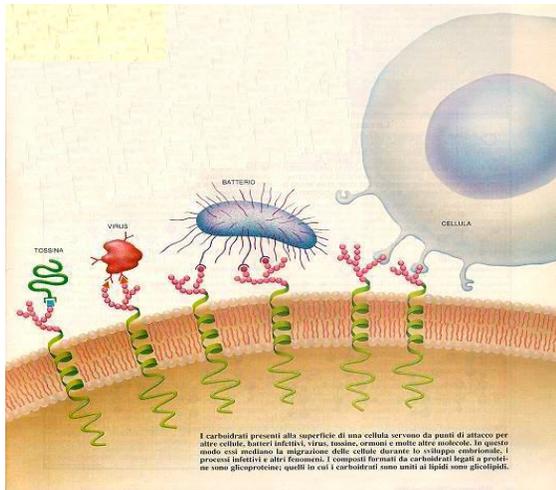


⚡ Durante lo sviluppo dell'embrione del topo si osserva una notevole alterazione dell'espressione di antigeni di superficie, che sono soprattutto **carboidrati**. Il trattamento degli embrioni con zuccheri aptenici, con inibitori biosintetici delle glicosiltrasferasi o con glicosidasi di processamento ha provocato l'arresto dello sviluppo in certi stadi, suggerendo che gli antigeni carboidrati sono essenziali, probabilmente a causa del loro coinvolgimento nelle interazioni cellulari. A favore di questa ipotesi, è stata identificata una molecola di tipo lectina nelle cellule dell'embrione di rana nella fase di segmentazione.

⚡ Nelle cellule **tumorali** è stata osservata un'alterata glicosilazione delle proteine di superficie, che è coinvolta nei processi di **metastatizzazione**.

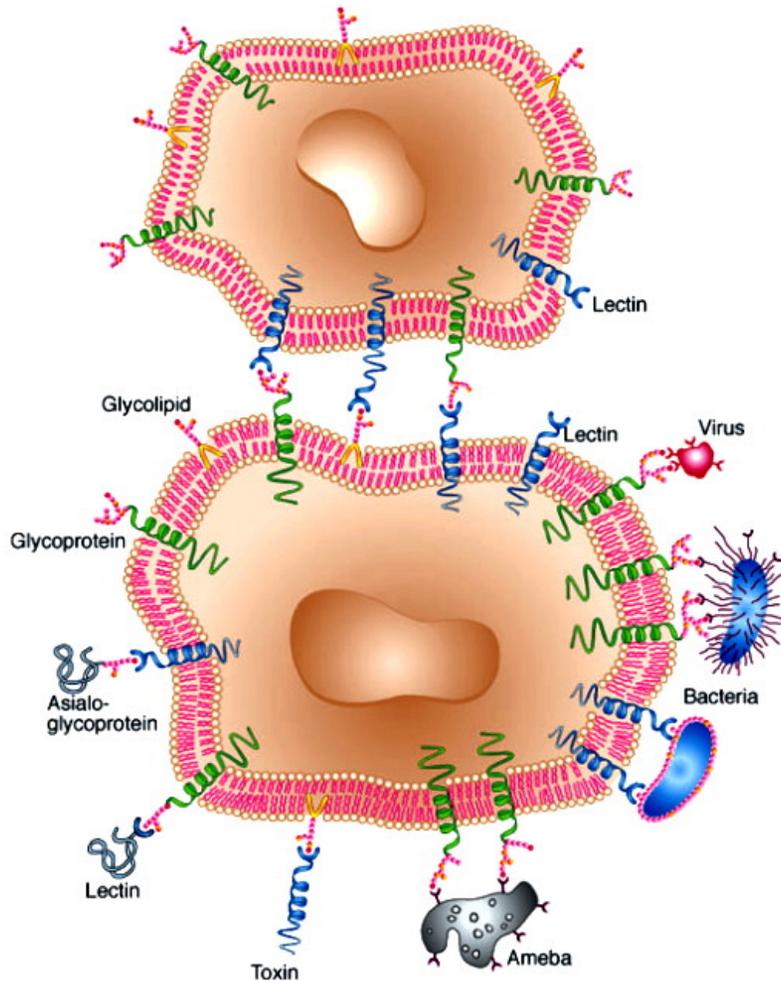


Lo svantaggio dei carboidrati espressi sulla superficie cellulare è che le cellule che rivestono la trachea, stomaco o intestino aprono una strada che permette ai microorganismi e ai virus di invadere le cellule.



**Lectine:** proteine che si legano specificamente a zuccheri.

**Interazioni fra lectine sulla superficie cellulare e carboidrati.** Le lectine fungono da punto 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).



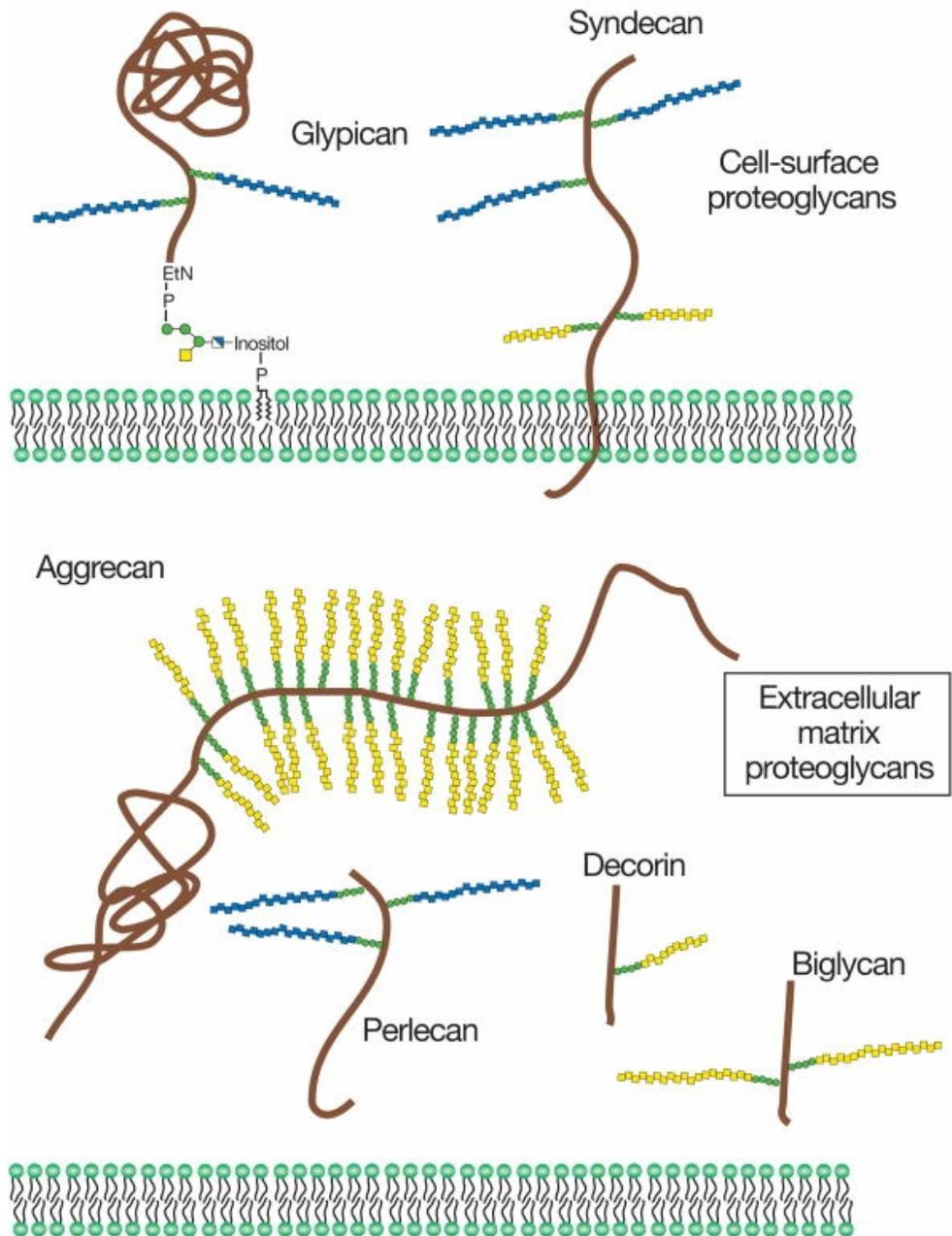
Sharon & Lis. *Glycobiology*. 14:53R-62R, 2004.

**Galectine:** lectine che si legano al  $\beta$ -galactoside; 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.

# Proteoglicani

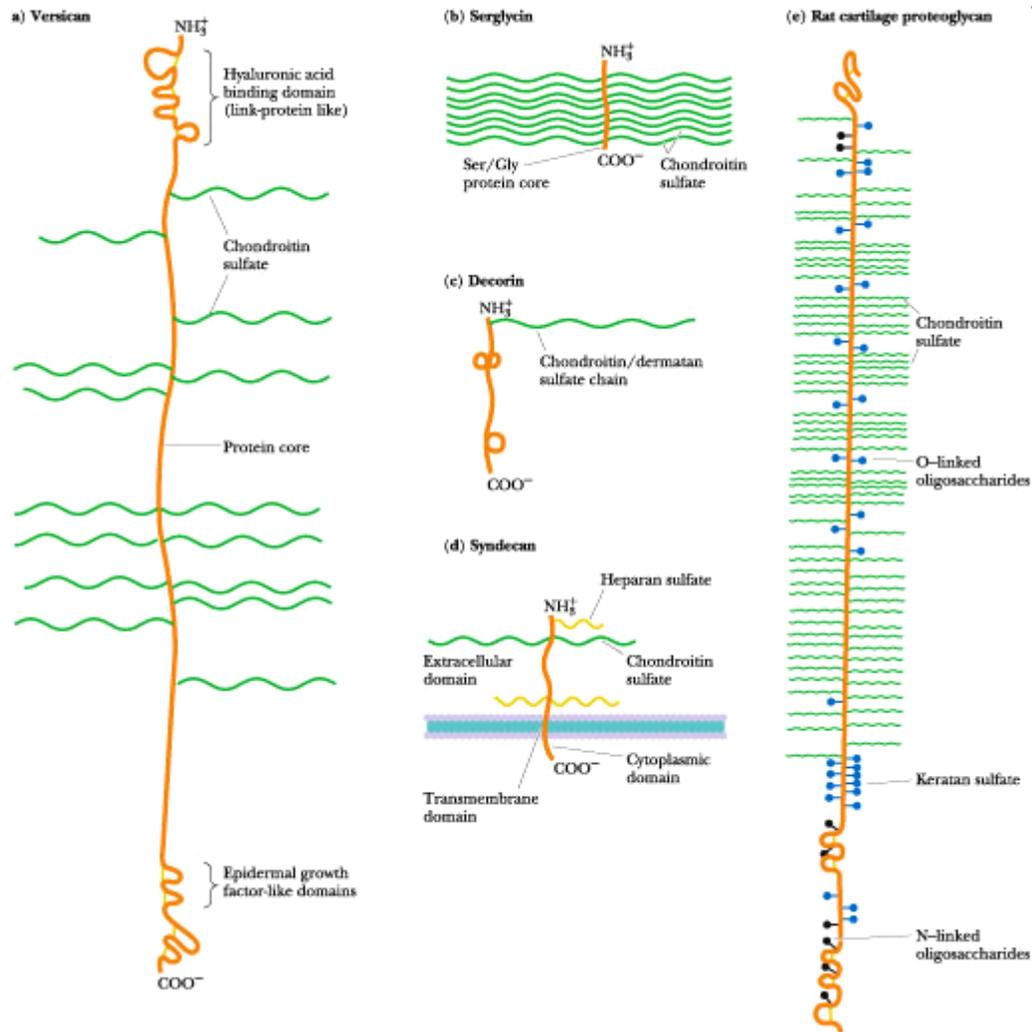
- ✚ I **proteoglicani** sono una famiglia di glicoproteine altamente glicosilate, in cui le componenti glucidiche sono predominantemente **glicosaminoglicani**.
- ✚ Si conoscono le strutture solo di alcuni proteoglicani, ed anche questi manifestano una diversità notevole.



✚ I proteoglicani consistono in una proteina assiale (*marrone*) e una o più catene di glicosaminoglicani legate covalentemente ([*blu*] HS; [*giallo*] CS/DS).

✚ I proteoglicani di membrana possono sia attraversare la membrana plasmatica (proteine di membrane di tipo I) od essere legati ad ancore di GPI.

✚ I proteoglicani della matrice extracellulare (ECM) vengono di solito secreti, ma alcuni possono essere scissi proteoliticamente e riversati dalla superficie cellulare (non illustrato)



✚ I **proteoglicani** conosciuti presentano una grande diversità di strutture. I gruppi di carboidrati dei proteoglicani sono soprattutto **glicosaminoglicani** "O-linked" a residui di serina. I proteoglicani includono sia proteine solubili che proteine integrali transmembrana.

# Proteoglicani

- ✚ Sono costituiti da un asse proteico a cui si lega covalentemente un elevato numero di **glicosaminoglicani**, che costituiscono circa il 90% della molecola di proteoglicani.
- ✚ Solitamente alla stessa proteina si lega un singolo tipo di glicosaminoglicani, ma può essere presente anche più di un tipo, come ad es. nel proteoglicano della cartilagine, che contiene quasi in uguale misura condroitin solfato e cheratan solfato.
- ✚ I glicosaminoglicani si legano all'asse proteico sia mediante legame N-glicosidico analogo a quello delle glicoproteine, sia mediante legame O-glicosidico a cui può partecipare il monosaccaride xiloso oltre a due molecole di galattosamina.

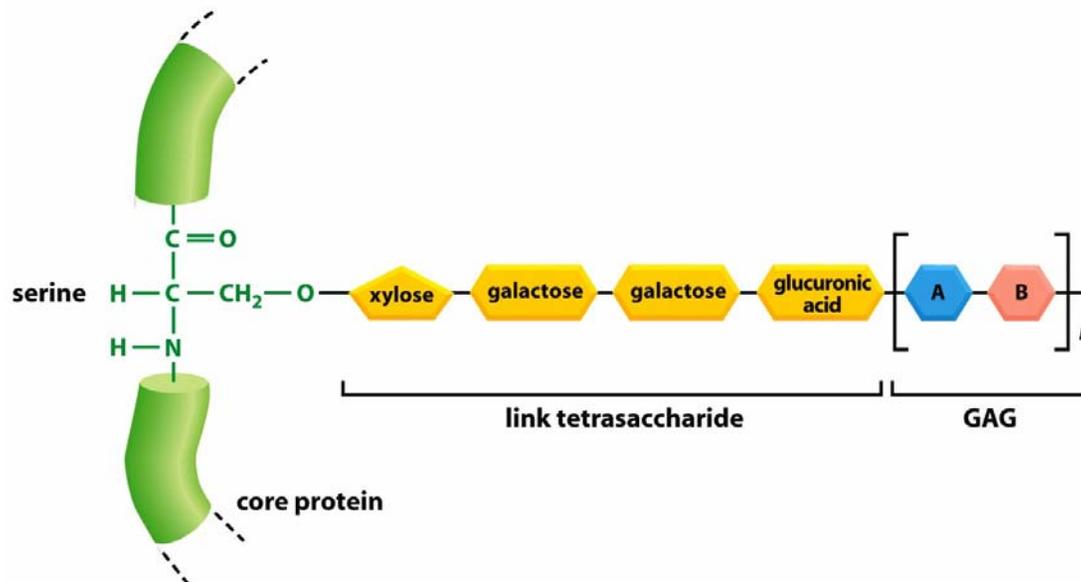


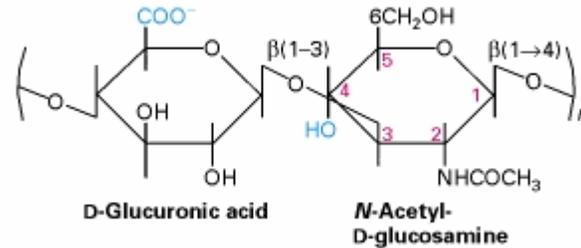
Figure 19-58 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Glicosaminoglicani, GAGs

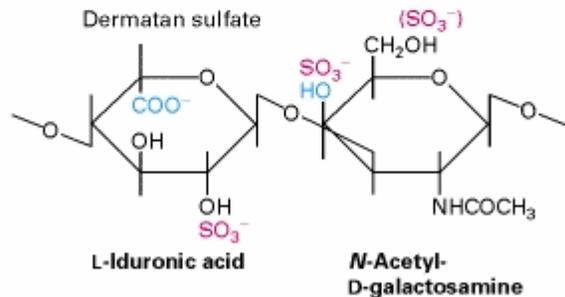
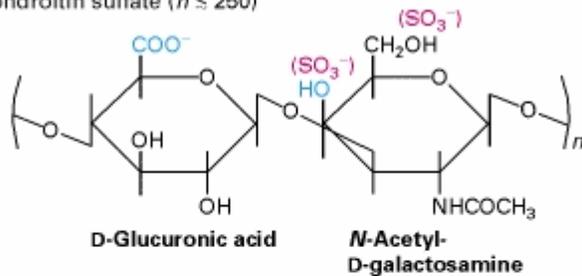
- ✚ Classe molto eterogenea di macromolecole glucidiche di grande importanza biologica.
- ✚ Sono polimeri derivati da zuccheri semplici tra i quali i più importanti sono gli **acidi uronici** [quali l'**acido D-glucoronico** (in cui la funzione alcoolica in posizione C2 è sostituita da una carbossilica) o l'**acido L-iduronico**, un epimero del 1°] e gli **aminozuccheri glucosamina e galattosamina** (in cui la funzione alcoolica in posizione C2 è sostituita da una funzione aminica la quale può a sua volta essere acetilata come nella N-acetilglucosamina) o solforata, come nella N-solfatoglucosamina).
- ✚ Il glicosaminoglicano è quindi costituito dalla ripetizione per un elevato numero di volte di un'unità disaccaridica fondamentale, formata da un'esosamina e da un acido uronico.
- ✚ Alcuni glicosaminoglicani di grande importanza biologica contengono nella molecola oltre agli zuccheri ed acidi uronici, **elevate concentrazioni di gruppi solforici**. A causa della presenza di gruppi acidi, carbossilici e solforici, queste molecole si comportano come **polianioni** e sono quindi fortemente basofile e spesso metacromatiche

# Glycosaminoglycans

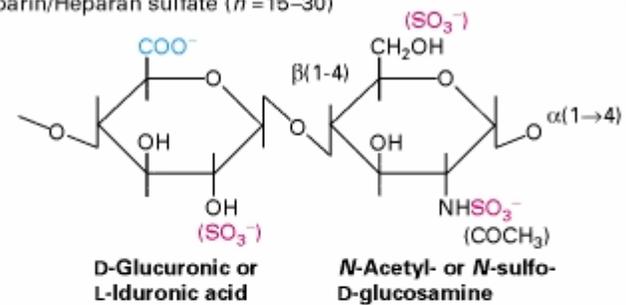
(a) Hyaluron ( $n \leq 50,000$ )



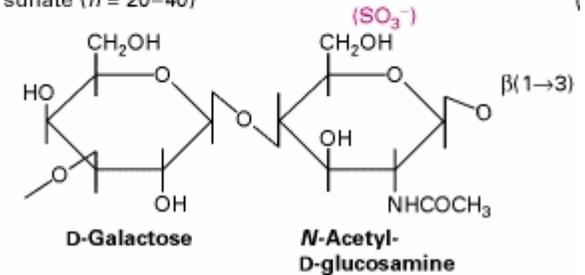
b) Chondroitin sulfate ( $n \leq 250$ )

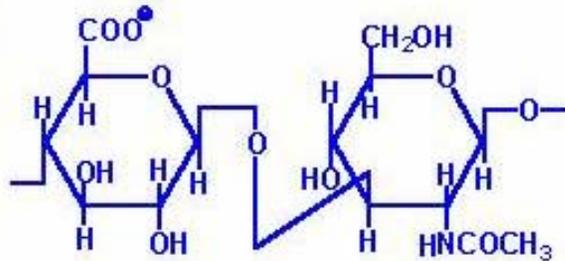


c) Heparin/Heparan sulfate ( $n = 15-30$ )



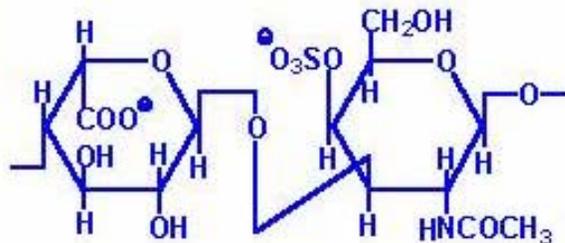
d) Keratan sulfate ( $n = 20-40$ )





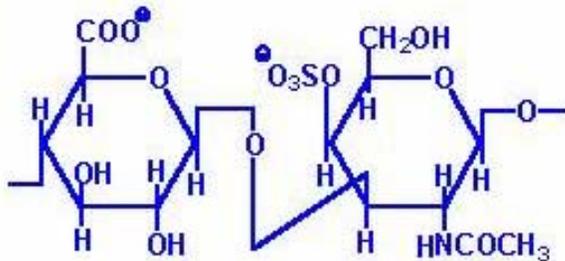
**Hyaluronates:**  
composed of D-glucuronate + GlcNAc

linkage is  $\beta(1, 3)$



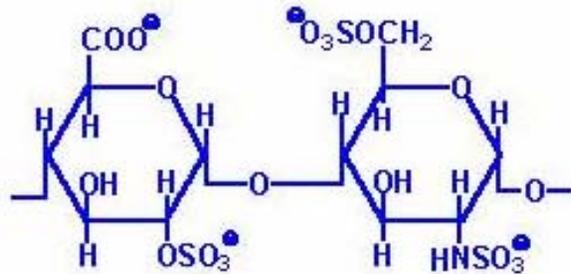
**Dermatan sulfates:**  
composed of L-iduronate (many are sulfated) + GalNAc-4-sulfate

linkages is  $\beta(1, 3)$



**Chondroitin 4- and 6-sulfates**  
:  
composed of D-glucuronate + GalNAc-4-  
or 6-sulfate

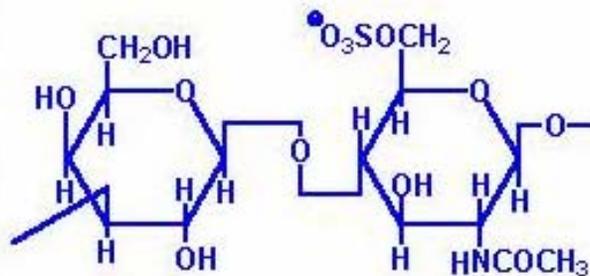
linkage is  $\beta(1, 3)$   
(the figure contains GalNAc 4-sulfate)



## Heparin and Heparan sulfates:

composed of D-glucuronate-2-sulfate (or iduronate-2-sulfate) +  
N-sulfo-D-glucosamine-6-sulfate

linkage is  $\alpha(1, 4)$   
(heparans have less sulfate than heparins)



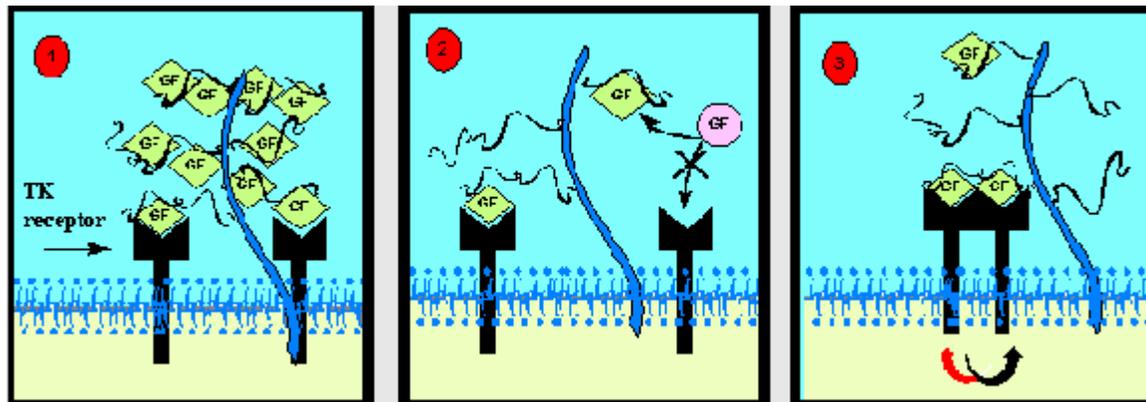
## Keratan sulfates:

composed of galactose +  
GlcNAc-6-sulfate

linkage is  $\beta(1, 4)$

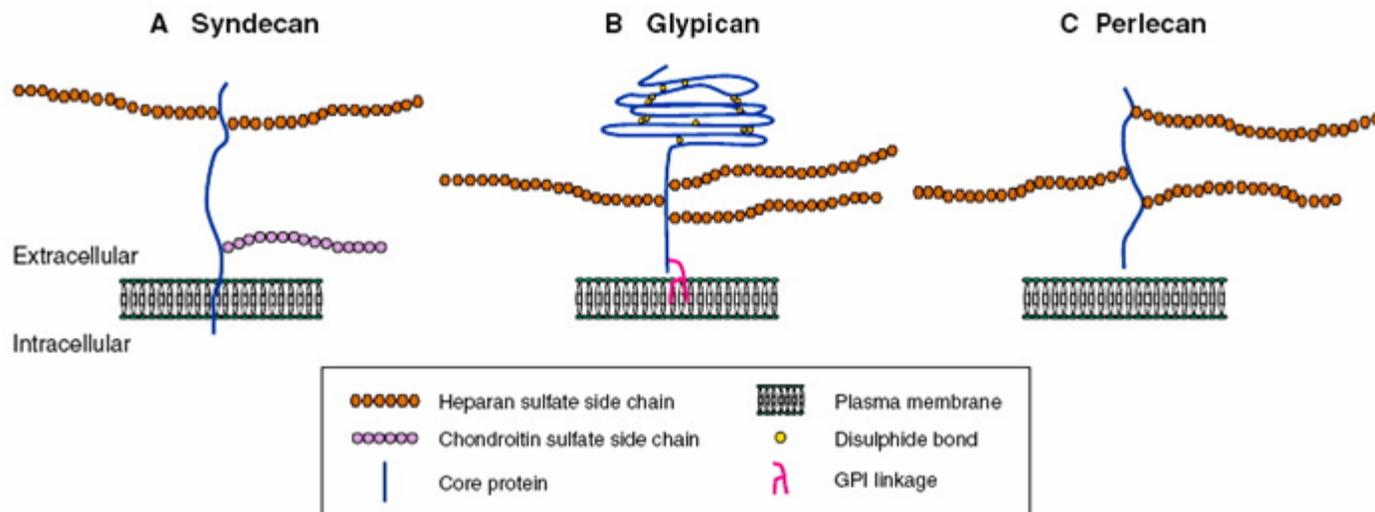
# Proteoglicani della membrana ad eparan solfato (HSPGs)

- ✚ Gli HSPGs giocano ruoli cruciali, regolando le vie di segnalamento del differenziamento, quali le vie Wnt, Hedgehog, transforming growth factor- $\beta$ , e fibroblast growth factor.

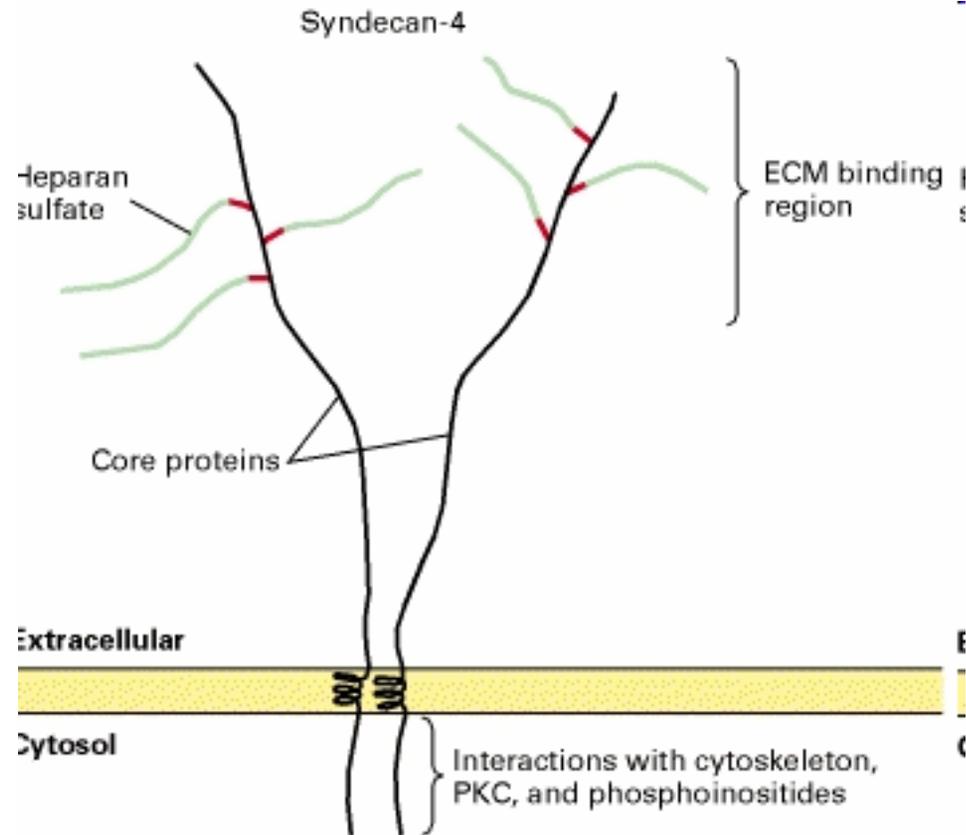


# Proteoglicani della membrana ad eparan solfato (HSPGs)

- Le proteine “core” dei **SINDECANI** sono proteine transmembrana che contengono un dominio citoplasmatico C-terminale altamente conservato. Le catene di eparan solfato (HS) si legano a residui di serina distanti dalla membrana cellulare. Alcuni sindecani contengono inoltre catene di condroitin solfato (CS) collegati a residui di serina vicini alla membrana.
- Le proteine “core” dei **GLIPLICANI** sono proteine globulari stabilizzate da legami disolfuro (S-S) collegate alla membrana da un’ancora di glicosilfosfatidilinositolo (GPI). Delle catene di eparan solfato (HS) si legano a residui di serina adiacenti alla membrana plasmatica.
- I **PERLECANI** sono HSPGs che vengono secreti e contengono catene di HS.

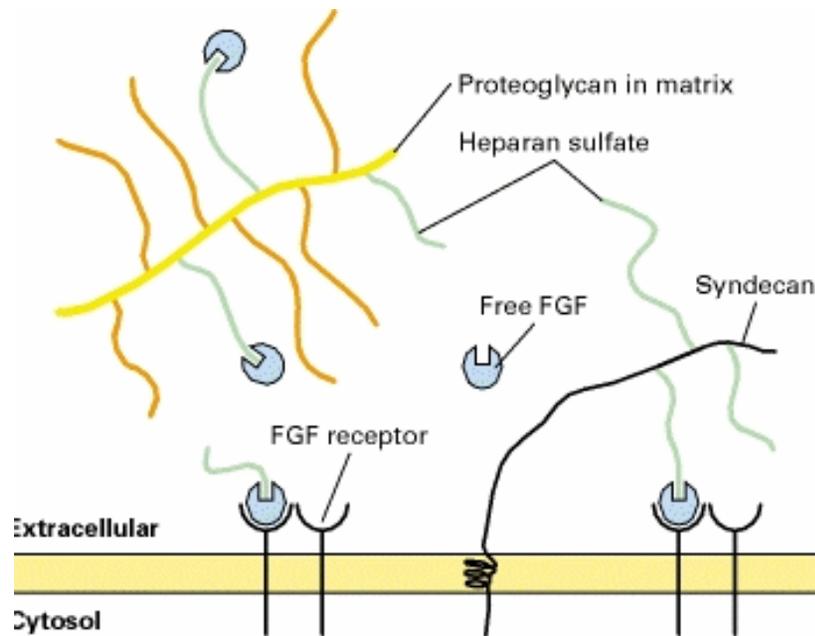


## Diagramma schematico del proteoglicano di membrana Sindecano-4



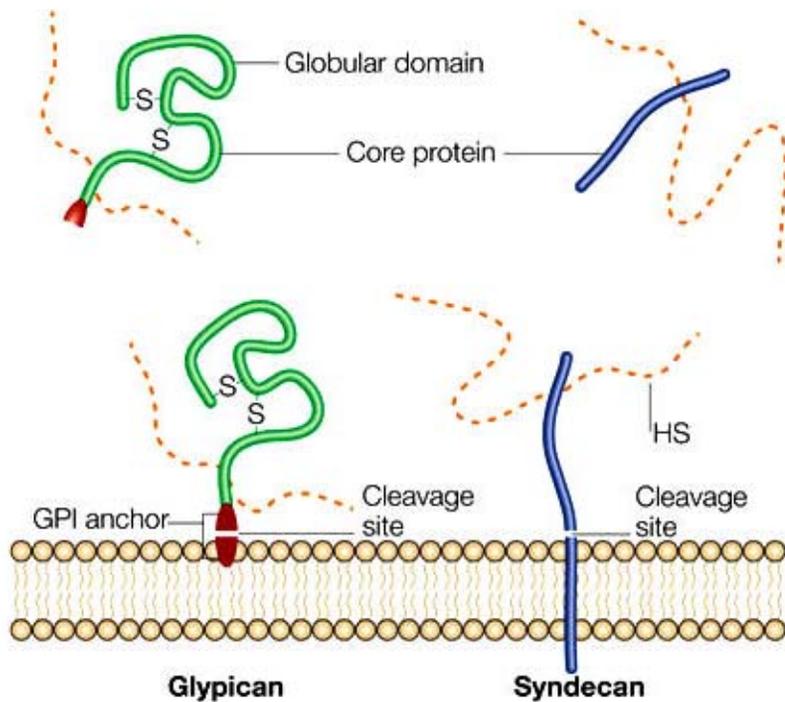
La proteina assiale di tutti i proteoglicani di tipo sindecano (sindecano-1, -2, -3, e -4) attraversa la membrana plasmatica e dimerizza mediante il dominio citoplasmatico. Le proteine assiali dei sindecani hanno dimensioni che vanno da 20,000 MW (sindecano-4) a 45,000 MW (sindecano-3) a causa di differenze nei loro domini extracellulari, ma hanno domini di attraversamento della membrana e citoplasmatici simili. I sindecani contengono tre catene ad eparan solfato e talvolta condroitin solfato. BUSB 2011

# Modulazione dell'attività del "Fibroblast growth Factor"(FGF) da parte dei proteoglicani ad eparan solfato



Il FGF libero non è in grado di legarsi ai recettori del FGF sulla membrana plasmatica. Il legame del FGF alle catene di eparan solfato come quelle del sindecano presente sulla superficie cellulare induce una modificazione conformazionale che permette al FGF di legarsi ai suoi recettori. Anche il FGF legato a catene di eparan solfato rilasciate mediante proteolisi dei proteoglicani della matrice è in grado di legarsi ai recettori per il FGF. Il legame del FGF a proteoglicani ad eparan solfato della matrice extracellulare può anche proteggere il fattore di crescita dalla degradazione e formare un serbatoio per FGF attivo.

# Glipicani, sindecani

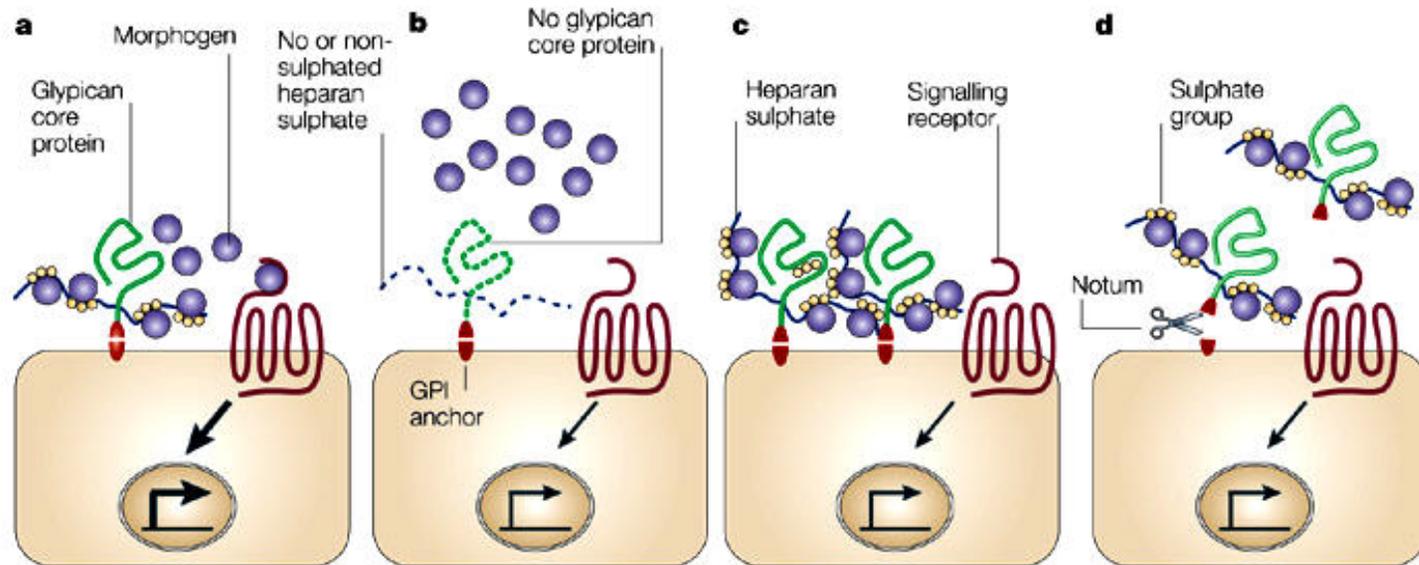


Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

✚ I **glipicani** (a sn.) contengono un dominio N-terminale globulare che è stabilizzato da legami disulfuro. I siti di legame per i glicosaminoglicani (GAGs) sono localizzati vicino al C-terminale, al quale è attaccata un'ancora di glicosilfosfatidilinositolo (GPI) che collega la proteina assiale del glipicano alla membrana cellulare. **L'ancora di GPI può essere scissa** e in questo modo questo **proteoglicano** ad eparan solfato (Heparan sulphate, HS) viene **rilasciato dalla cellula**.

✚ I **sindecani** (a destra) sono proteine transmembrana di tipo I che hanno fino a 5 siti di legame per i GAGs. I sindecani possono avere legati polimeri di HS vicino all'N-terminale del dominio extracellulare e, in alcuni casi, condroitin solfato (CS; non illustrato) e dermatan solfato (DS, non illustrato) vicino alla superficie cellulare. Anche i sindecani possono essere versati mediante scissione protolitica.

# Funzione dei glicoproteini nel segnalamento mediato da fattori di crescita



a | I glicoproteini funzionano come proteine a bassa affinità verso le sostanze morfogenetiche secrete. I glicoproteini mantengono molecole di segnalamento come WNT, Hedgehog (Hh) o “Transforming Growth Factor- $\beta$ ” (TGF) alla superficie cellulare a livelli tali da attivare i recettori di segnalamento ad alta affinità e da permettere l’attivazione dei geni bersaglio. b | In assenza della proteina centrale del glicoproteino o delle catene di glicosaminoglicani (GAG) i livelli di agenti morfogenetici alla superficie sono ridotti e l’attività delle vie di trasduzione di segnale diminuisce. c | Quando i glicoproteini sono sovraespressi, i livelli di agenti morfogenetici alla superficie cellulare sono elevati a causa dell’aumentata capacità delle ulteriori catene di GAG. La capacità di segnalamento potrebbe essere ridotta a causa dello spostamento dell’equilibrio fra l’attivazione del recettore di segnalamento e il legame ai GAG. d | I glicoproteini possono essere rilasciati dalla superficie cellulare mediante clivaggio mediato da Notum dell’ancora a glicosilfosfatidilinositolo (GPI). Il versamento dei glicoproteini potrebbe ridurre localmente l’attività morfogenetica alla superficie cellulare e provocare una diminuita attività delle vie di trasduzione dei segnali.

[Heparan sulphate proteoglycans: the sweet side of development](#)

Udo Häcker, Kent Nybakken & Norbert Perrimon  
Nature Reviews Molecular Cell Biology 6, 530-541