

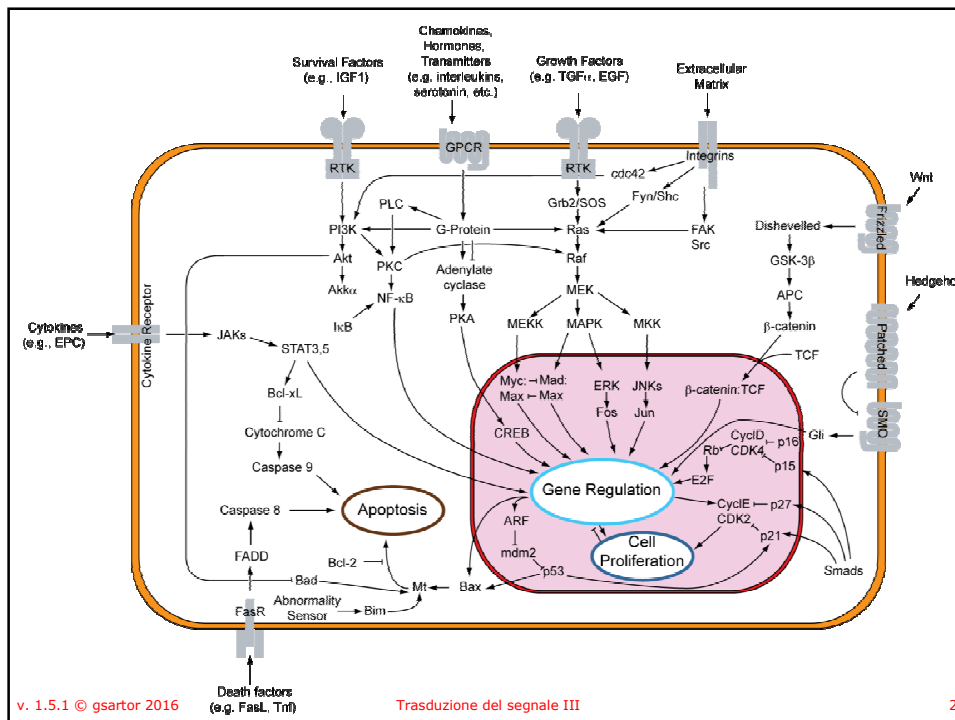
Meccanismi molecolari di trasduzione del segnale



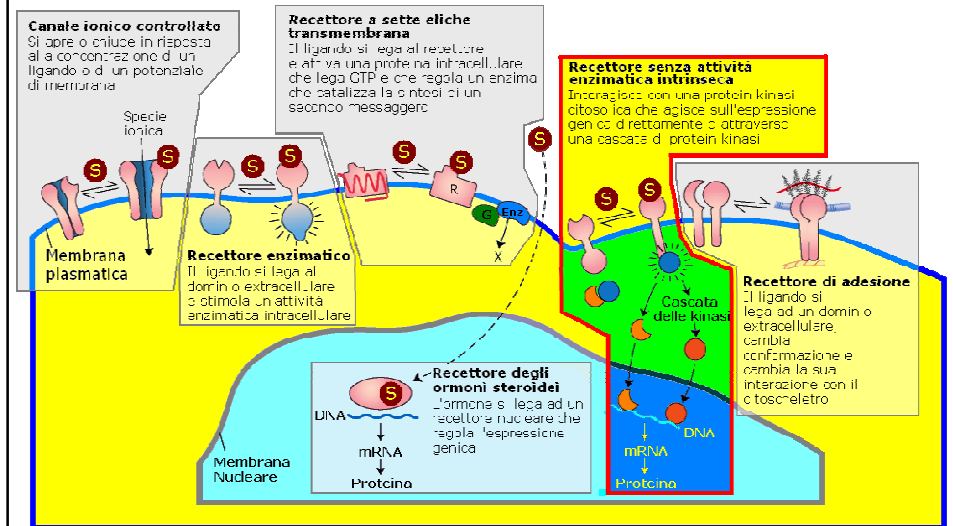
III Citochine

Copyright © 2001-2016 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

M04-03 - Versione 1.5.1 - May-16



Recettori



Il segnale

- Citochine, o immunocitochine, è il nome generico per indicare diversi gruppi di proteine solubili o peptidi che agiscono come regolatori dell'attività cellulare a concentrazioni 10^{-9} - 10^{-12} molare;
- Le citochine modulano la funzione di cellule o tessuti sia in condizioni normali che patologiche.

Cosa sono

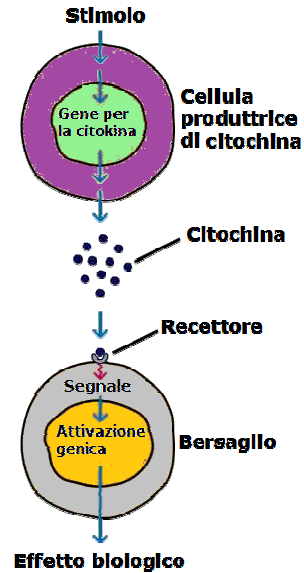
- Le citochine sono importanti regolatori (positivi o negativi) della mitosi (proliferazione), del differenziamento, della migrazione, della sopravvivenza e della morte cellulare e della trasformazione;
- La maggior parte delle citochine non sono immagazzinate nelle cellule che le producono (con l'eccezione di TGF- β e PDGF che sono contenuti nelle piastrine);
- L'espressione delle citochine è strettamente regolata;
- L'espressione è, normalmente, transiente e può essere regolata a tutti i livelli dall'espressione genica;
- È stato osservato un timing delle citochine.

Come sono fatte

- Fra le diverse citochine quelle di tipo I hanno una comune struttura a quattro α -eliche alle quali corrisponde la superfamiglia dei recettori di classe I.
- Nonostante la scarsa similitudine di sequenza le citochine di tipo I hanno tutte al simile struttura.

Come agiscono

- Proteine a basso peso molecolare (30 KDa)
- Si legano a recettori
- Alterano l'espressione genica;
- Possono legarsi a recettori su:
 - la stessa cellula che le secerne: autocrine
 - una cellula vicina: paracrine
 - in cellule distanti (pochi casi): endocrine
- Altissima affinità per i recettori: $K_d \sim 10^{-10}$ - 10^{-12} M



Classificazione (?)

- La definizione di citochine riferendosi alla cellula che le produce o al bersaglio dell'azione è inaccurato
- Il concetto (storico) di citochina legato al concetto di "un produttore / un bersaglio" è falso per quasi tutte le citochine:
 - Quasi tutte le citochine hanno un effetto PLEIOTROPICO (attività biologica multipla)
 - Diverse citochine hanno attività biologica sovrapponibile;
 - Una singola cellula interagisce con diverse citochine con, apparentemente, la stessa risposta - cross-talk

Classificazione per categorie

- *Interleuchine*
 - prodotte esclusivamente dai leucociti;
- *Linfochine*
 - prodotte dai linfociti
- *Monochine*
 - prodotte esclusivamente dai monociti
- *Interferoni*
 - coinvolti nella risposta antivirale
- *Colony Stimulating Factors (CSF)*
 - supportano la crescita cellulare in mezzi semisolidi
- *Chemochine*
 - promuovono la chemotassi.

Classificazione strutturale

- Quattro famiglie
 1. Famiglia quattro α -eliche
 2. Famiglia IL-1
 3. Famiglia IL-17
 4. Famiglia delle citochine cysteine-knot

1. Famiglia quattro α -eliche

- Tre sottofamiglie
 1. La sottofamiglia IL-2: La più popolata. Contiene diverse citochine non immunologiche: Eritropietina (EPO) e trombopoietina (TPO).
 2. La sottofamiglia dell'interferone (IFN)
 3. La sottofamiglia IL-10
- La famiglia delle citochine quattro α -eliche può essere anche suddivisa in citochine a:
 - corta catena:
 - *IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15*
 - *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)*
 - *Monocyte-CSF (M-CSF),*
 - *Stem cell factor (SCF)*
 - lunga catena
 - *IL-6, IL-11*
 - *Eritropietina (EPO)*
 - *Trombopoietina (TPO)*
 - *Leptina*
 - *Leukemia inhibitory factor (LIF)*
 - *Oncostatin M (OSM)*
 - *Ciliary neurotrophic factor (CNTF)*
 - *Cardiotrofina-1 (CT-1)*
 - *Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)*

Classificazione strutturale

2. Famiglia IL-1:
 - comprende IL-1 e IL-18
3. Famiglia IL-17:
 - non completamente caratterizzata, le citochine di questa famiglia hanno uno specifico effetto nella proliferazione dei TH che causano effetti citotossici
4. Famiglia delle citochine cysteine-knot:
 - fanno parte i TGF- β (Transforming Growth factor: TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3)

Le citochine

Interleuchine	TNF	Interferoni	Fattori di crescita
IL-1 ... IL-27	TNF α TNF β LT α LT β	IFN α IFN β IFN γ IFN δ IFN κ IFN ω IFN τ	MOOOOLTI

Classificazione funzionale

- Mediatori dell'immunità innata:
 - TNF, IL1, IL6 e IL12, IL15, IFN
- Mediatori dell'immunità specifica:
 - IL2, IL4, IL5, IL6 e TNF
- Fattori di crescita del sistema ematopoietico:
 - IL3, IL7

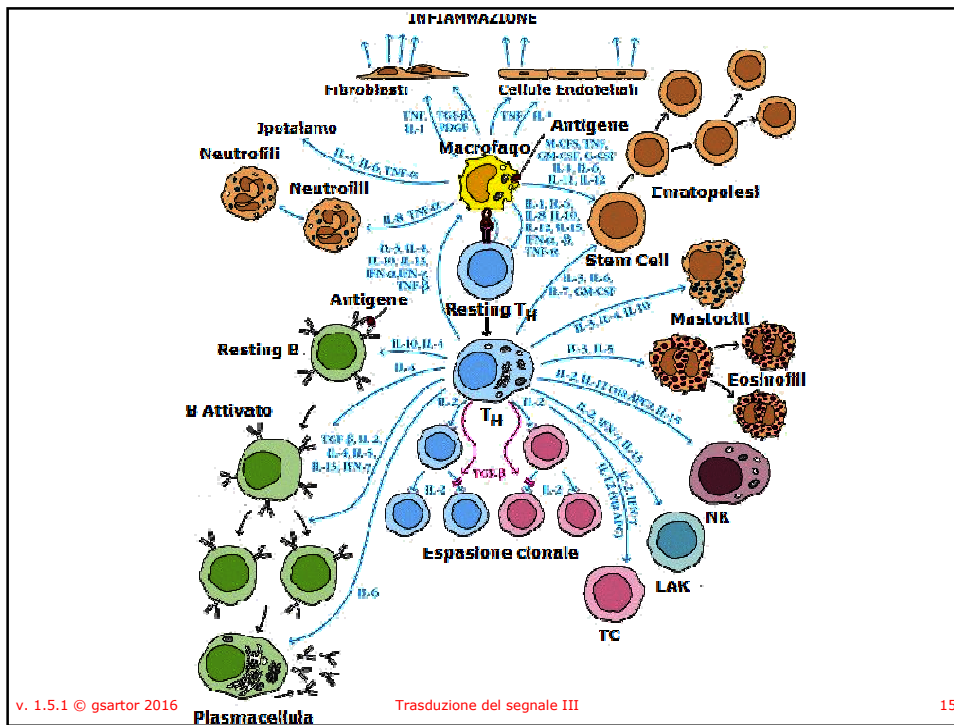


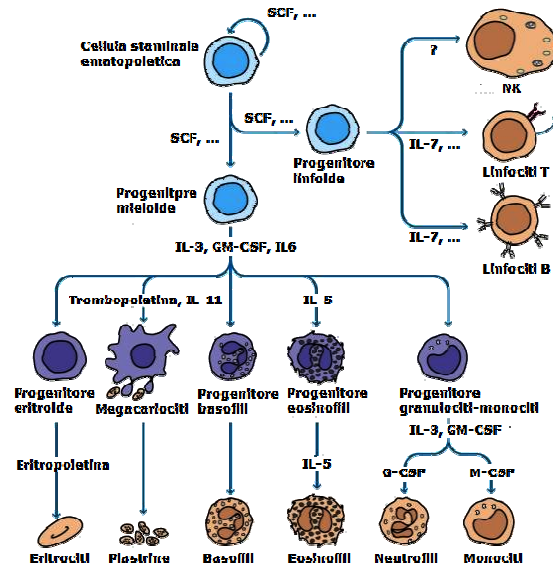
TABLE 12-1 Functional groups of selected cytokines*		
Cytokine ^a	Secreted by ^b	Targets and effects
SOME CYTOKINES OF INNATE IMMUNITY		
Interleukin 1 (IL-1)	Monocytes, macrophages, endothelial cells, epithelial cells	Vasculature (inflammation); hypothalamus (fever); liver (induction of acute phase proteins)
Tumor necrosis factor- α (TNF- α)	Macrophages	Vasculature (inflammation); liver (induction of acute phase proteins); loss of muscle, body fat (cachexia); induction of death in many cell types; neutrophil activation
Interleukin 12 (IL-12)	Macrophages, dendritic cells	NK cells; influences adaptive immunity (promotes T_H 1 subset)
Interleukin 6 (IL-6)	Macrophages, endothelial cells	Liver (induces acute phase proteins); influences adaptive immunity (proliferation and antibody secretion of B cells increase)
Interferon α (IFN- α) (this is a family of molecules)	Macrophages	Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells
Interferon β (IFN- β)	Fibroblasts	Induces an antiviral state in most nucleated cells; increases MHC class I expression; activates NK cells
SOME CYTOKINES OF ADAPTIVE IMMUNITY		
Interleukin 2 (IL-2)	T cells	T-cell proliferation; can promote AICD; NK cell activation and proliferation; B-cell proliferation
Interleukin 4 (IL-4)	T_H 2 cells, mast cells	Promotes T_H 2 differentiation; isotype switch to IgE
Interleukin 5 (IL-5)	T_H 2 cells	Eosinophil activation and generation
Transforming growth factor β (TGF- β)	T cells, macrophages, other cell types	Inhibits T-cell proliferation and effector functions; inhibits B-cell proliferation; promotes isotype switch to IgA; inhibits macrophages
Interferon γ (IFN- γ)	T_H 1 cells, CD8 ⁺ cells, NK cells	Activates macrophages; increases expression MHC class I and class II molecules; increases antigen presentation

*Many cytokines play roles in more than one functional category.
^bOnly the major cell types providing cytokines for the indicated activity are listed; other cell types may also have the capacity to synthesize the given cytokine.
^cNote that activated cells generally secrete greater amounts of cytokine than unactivated cells.

Table 12-1
 Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

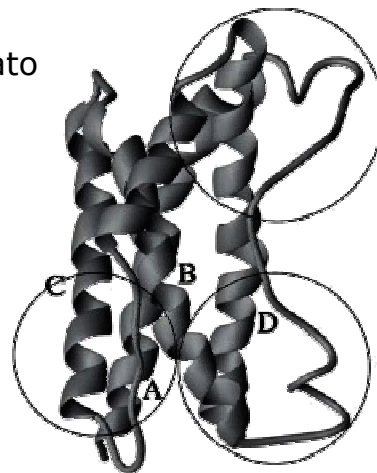
v. 1.5.1 © gsartor 2016 Trasduzione del segnale III 16

Citochine e ematopoiesi

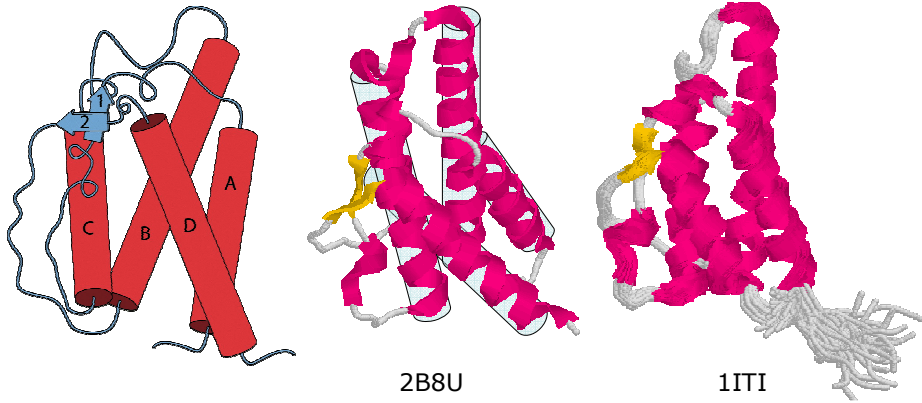


Struttura

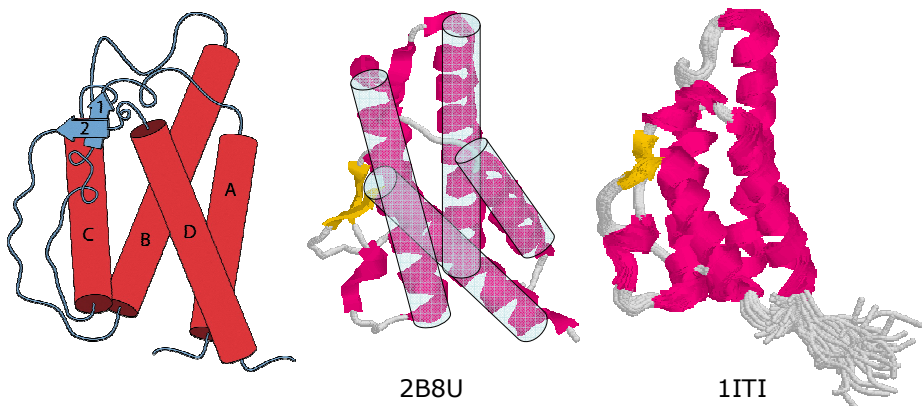
- Piccola proteina non-enzimatica
- Peptide monomerico glicosilato (150 aa)
- Omodimeri
 - IL-5, M-CSF
- Omotrimeri
 - TNF- α , LT- α
- Eterodimeri
 - IL-12, IL-27
- Eterotrimeri
 - LT- α/β)



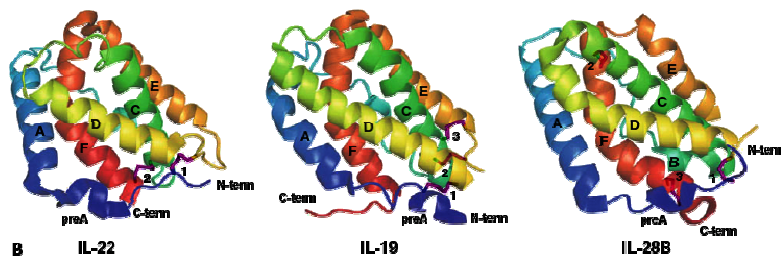
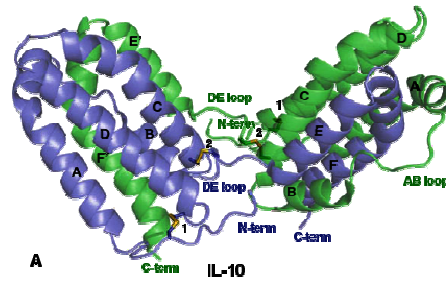
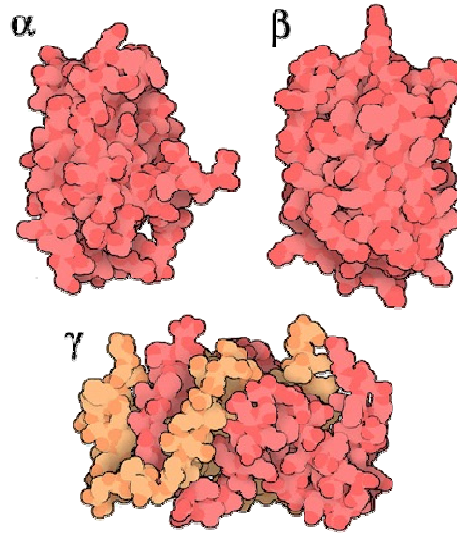
Interleuchina 4



Interleuchina 4

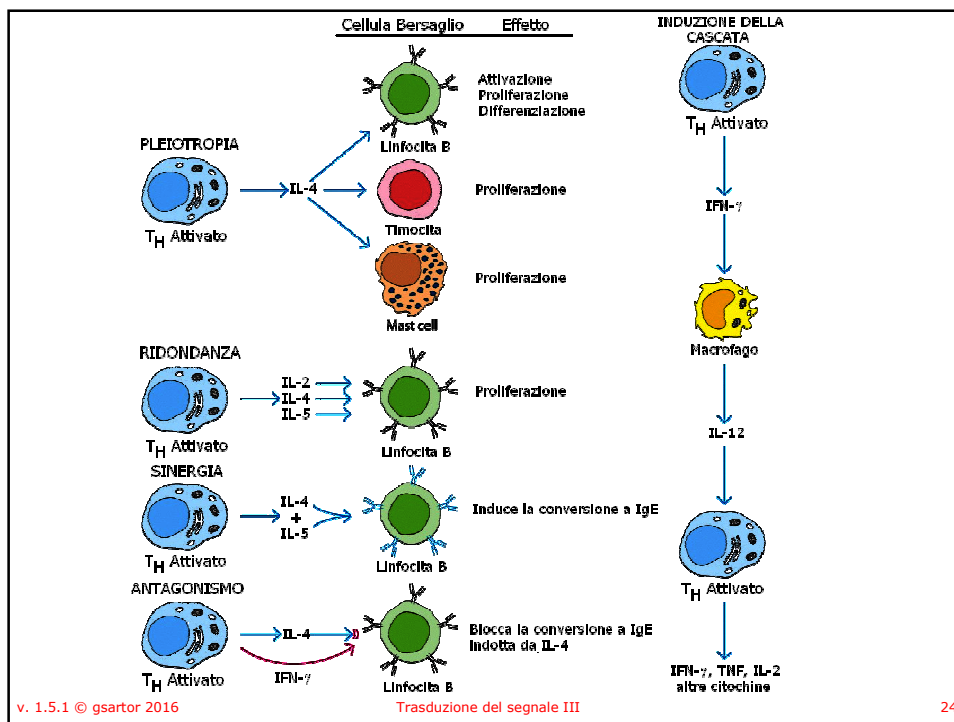


Interferone



Come agiscono le citochine

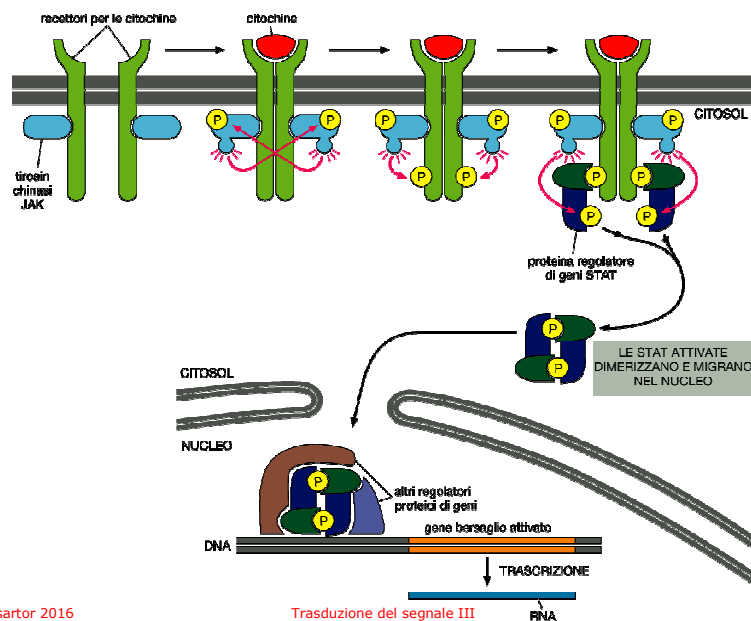
- Possono attivare diversi tipi di cellule
- Possono avere un effetto pleiotropico (differenti effetti in differenti cellule)
- Possono dare:
 - Ridondanza:
 - più citochine con la stessa azione;
 - Sinergia:
 - l'azione combinata di due citochine è maggiore della somma degli effetti delle singole;
 - Antagonismo:
 - azione inibente di una citochina nei confronti di un'altra.



Famiglia quattro α -eliche

- Circa 50 membri (ematopietine)
- Ruolo fondamentale nell'attivazione e lo sviluppo dei linfociti e mielociti.
- Tutte traducono il segnale attraverso la via JAK/STAT
- Si possono dividere in due famiglie in funzione dei recettori che legano
- **Citochine che legano recettori di tipo I**
 - Famiglia γ C
 - IL-2 (IL-2, IL-7, TSLP, IL-9, IL-15, IL-21) (**STAT5**)
 - IL-4 (IL-4 e IL-13) (**STAT6**)
 - Famiglia IL-3 (IL-3, IL-5 e GM-CSF) (**STAT5**)
 - Famiglia estesa gp130 (**STAT3**)
 - IL6-gp130 (IL-6, IL-11, CNTF, LIF, OSM, CT-1, NP, NNT1/BSF3) (**STAT3**)
 - gp130-like (OSM, IL-31, G-CSF, Leptin)
 - IL-12 (IL-12, IL-23, IL-27, IL-30) (**STAT4**)
 - Singola catena: Epo, GH, PRL, Tpo (**STAT5**)
- **Citochine che legano recettori di tipo II**
 - Tipo I IFN (α -IFNs, IFN- β , IFN- ω , limitin) (**STAT1-3**)
 - Tipo II IFN (solo IFN- γ) (**STAT1**)
 - IFN- λ (IL-28a, IL-28b, IL-29) (**STAT3**)
 - IL-10 (IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26) (**STAT3**)

Come funzionano



Recettori

RECEPTOR FAMILY

Class I cytokine receptors (hematopoietin)

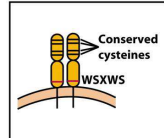


Figure 12-4b
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-2
- IL-3
- IL-4
- IL-5
- IL-6
- IL-7
- IL-9
- IL-11
- IL-12
- IL-13
- IL-15
- IL-21
- IL-23
- IL-27
- GM-CSF
- G-CSF
- OSM
- LIF
- CNTF
- Growth hormone
- Prolactin

RECEPTOR FAMILY

Class II cytokine receptors (interferon)

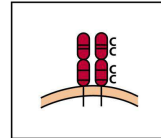


Figure 12-4c
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IFN- α
- IFN- β
- IFN- γ
- IL-10
- IL-19
- IL-20
- IL-22
- IL-24
- IL-26
- IL-28
- IL-29

RECEPTOR FAMILY

TNF receptors

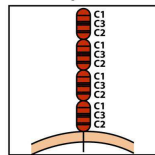


Figure 12-4d
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- TNF- α
- TNF- β
- CD27L
- CD30L
- CD40L
- Nerve growth factor (NGF)
- FAS

RECEPTOR FAMILY

Immunoglobulin superfamily receptors

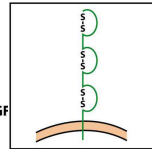


Figure 12-4e
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-1
- M-CSF
- C-Kit
- IL-18

RECEPTOR FAMILY

Chemokine receptors

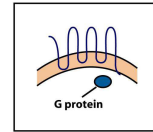


Figure 12-4f
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-8
- RANTES
- MIP-1
- PF4
- MCAF
- NAP-2

Recettori

RECEPTOR FAMILY

Class I cytokine receptors (hematopoietin)

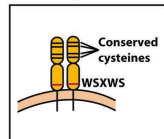


Figure 12-4b
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-2
- IL-3
- IL-4
- IL-5
- IL-6
- IL-7
- IL-9
- IL-11
- IL-12
- IL-13
- IL-15
- IL-21
- IL-23
- IL-27
- GM-CSF
- G-CSF
- OSM
- LIF
- CNTF
- Growth hormone
- Prolactin

RECEPTOR FAMILY

Class II cytokine receptors (interferon)

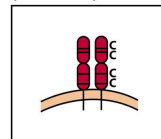


Figure 12-4c
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IFN- α
- IFN- β
- IFN- γ
- IL-10
- IL-19
- IL-20
- IL-22
- IL-24
- IL-26
- IL-28
- IL-29

RECEPTOR FAMILY

TNF receptors

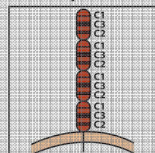


Figure 12-4d
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- TNF- α
- TNF- β
- CD27L
- CD30L
- CD40L
- Nerve growth factor (NGF)
- FAS

RECEPTOR FAMILY

Immunoglobulin superfamily receptors

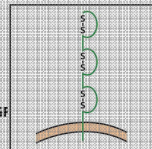


Figure 12-4e
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-1
- M-CSF
- C-Kit
- IL-18

RECEPTOR FAMILY

Chemokine receptors

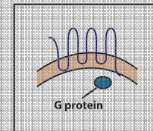


Figure 12-4f
From: IMMUNOBIOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

LIGANDS

- IL-8
- RANTES
- MIP-1
- PF4
- MCAF
- NAP-2

Recettori di tipo I

- I recettori di tipo I sono recettori transmembrana sulla superficie di cellule che rispondono alle citochine formate da quattro α -eliche
- Questi recettori sono anche conosciuti come recettori ermatopietinici
- Hanno in comune il motivo **WSXWS** localizzato nella porzione adiacente alla membrana
- Alcuni dei membri di questa classe di recettori sono coinvolti nel legame con il ligando/citochina altri sono coinvolti nella modulazione della trasduzione del segnale.

RECEPTOR FAMILY

Class I cytokine receptors (hematopoietin)

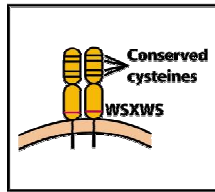
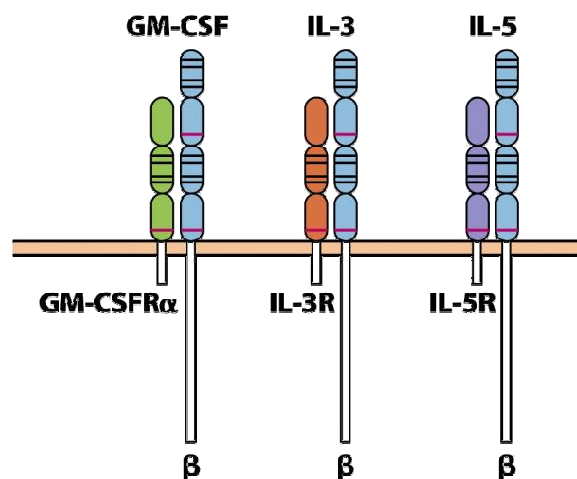


Figure 12.4b
© 2014 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.
© 2014 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

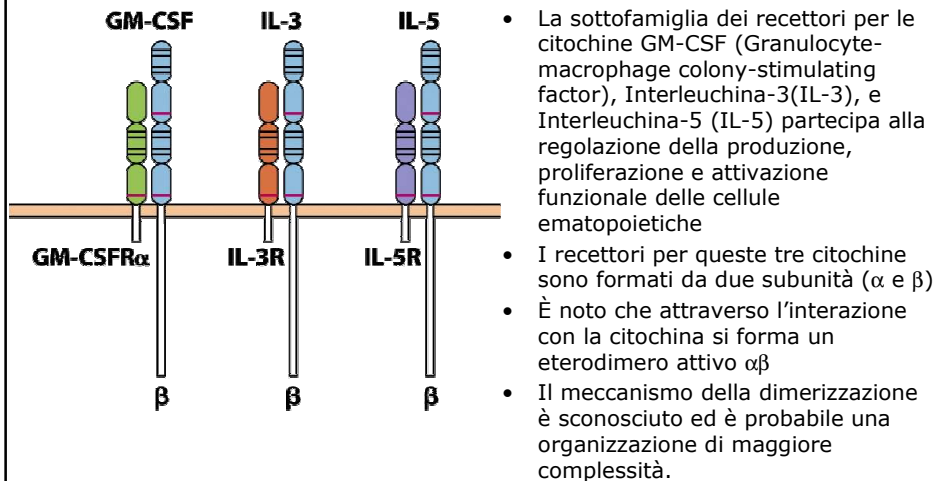
LIGANDS

IL-2	IL-21
IL-3	IL-23
IL-4	IL-27
IL-5	GM-CSF
IL-6	G-CSF
IL-7	OSM
IL-9	LIF
IL-11	CNTF
IL-12	Growth hormone
IL-13	Prolactin
IL-15	

Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)

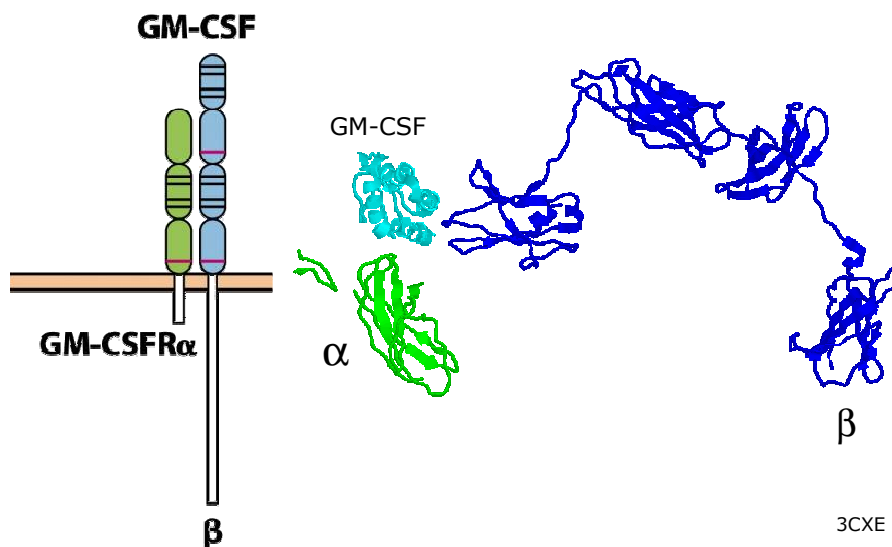


Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)

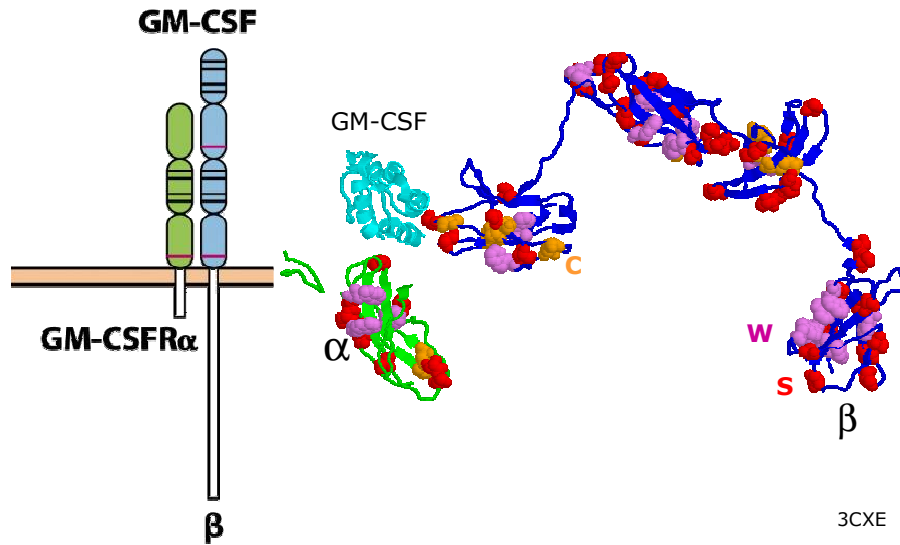


- La sottofamiglia dei recettori per le citochine GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), Interleuchina-3(IL-3), e Interleuchina-5 (IL-5) partecipa alla regolazione della produzione, proliferazione e attivazione funzionale delle cellule ematopoietiche
- I recettori per queste tre citochine sono formati da due subunità (α e β)
- È noto che attraverso l'interazione con la citochina si forma un eterodimero attivo $\alpha\beta$
- Il meccanismo della dimerizzazione è sconosciuto ed è probabile una organizzazione di maggiore complessità.

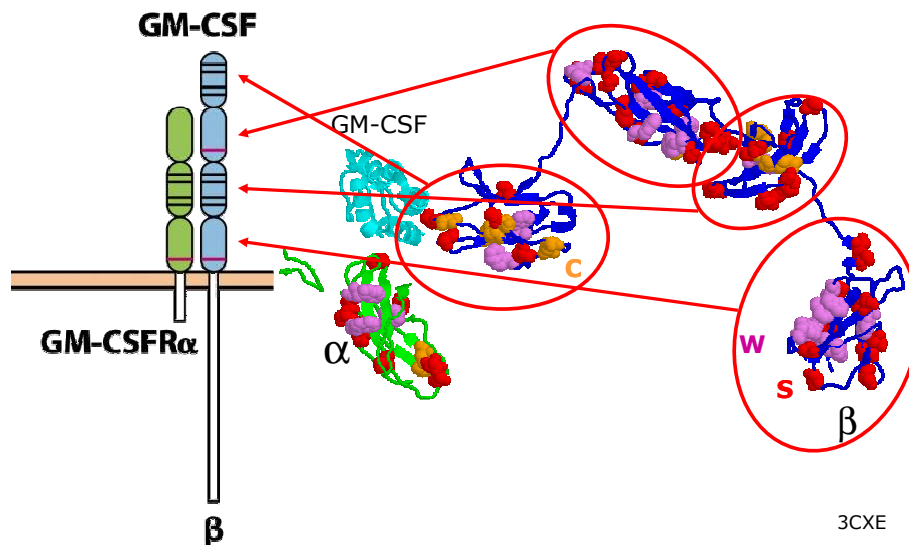
Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF



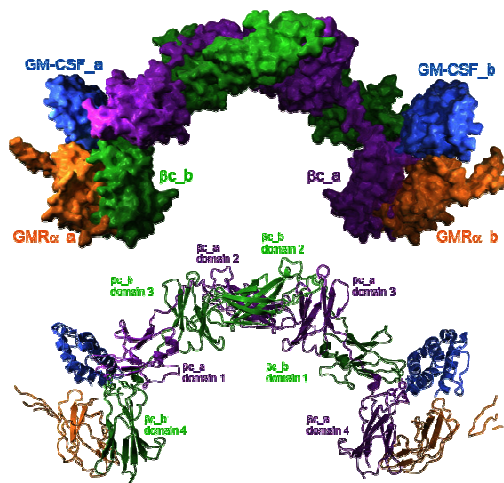
Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF



Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF



Sottofamiglia dei recettori per GM-CSF



- La struttura del complesso GM-CSF/GM-CSF rivela la formazione di un esamero 2:2:2 assemblato con
 - Due molecole di GM-CSF
 - Due catene di GMRα e
 - Due catene βc.

3CXE

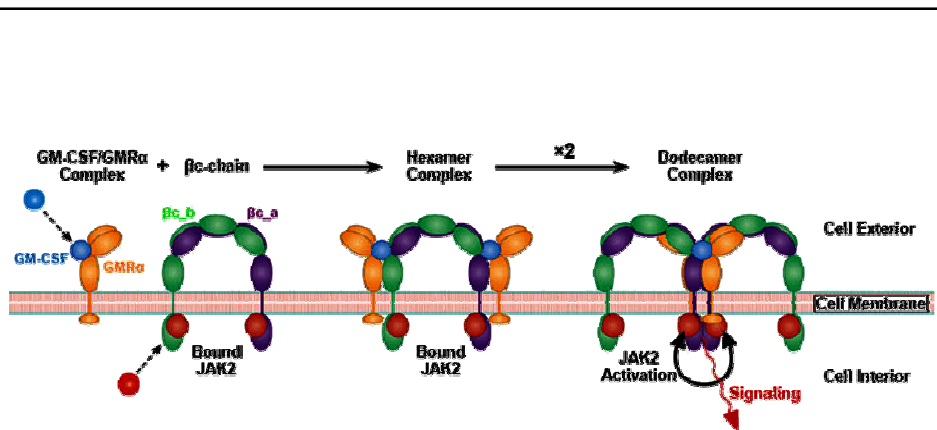


Figure 7. Model of Signal Transduction

The low-affinity complex consists of GM-CSF bound to GMRα. Interaction with free βc forms the high-affinity hexamer complex. Dodecamer (or higher-order) complexes form by lateral aggregation of hexamer complexes to form a fully competent signaling complex. JAK2 associated with βc (shown as red spheres) is able to dimerize and transphosphorylate in the dodecamer complex but not in the hexamer complex.

The structure of the GM-CSF receptor complex reveals a distinct mode of cytokine receptor activation. Hansen, G., Hercus, T.R., McClure, B.J., Stomski, F.C., Dottore, M., Powell, J., Ramshaw, H., Woodcock, J.M., Xu, Y., Guthridge, M., McKinstry, W.J., Lopez, A.F., Parker, M.W. Cell (2008) 134: 496-507

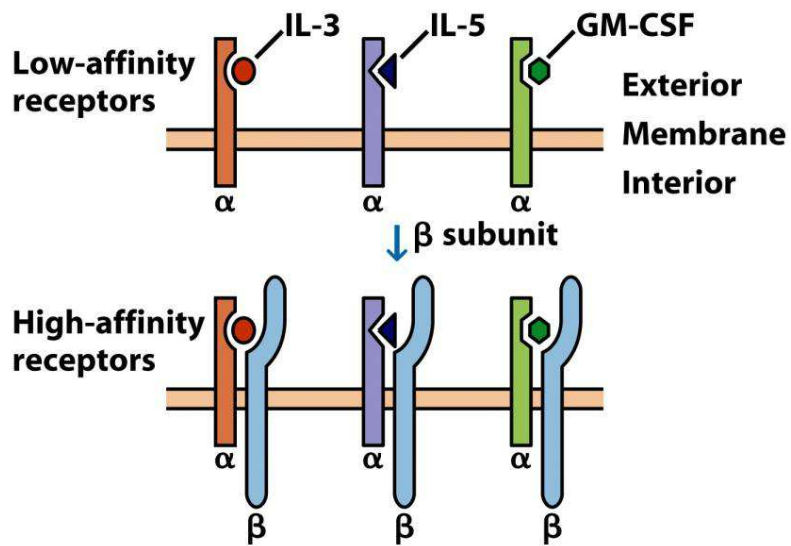
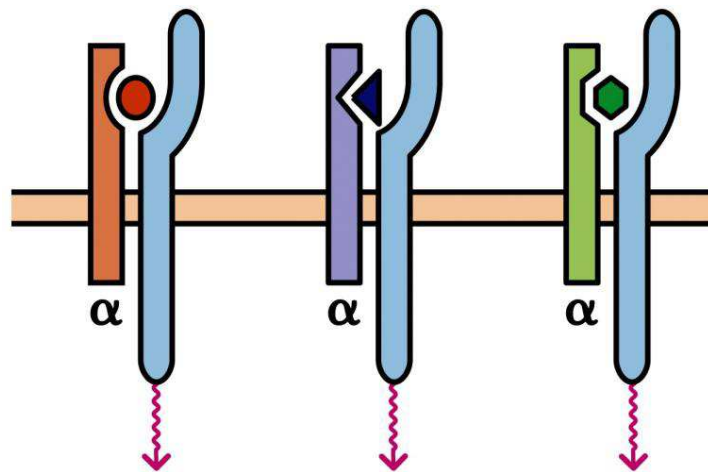


Figure 12-8a
 Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company



Same signal from all three

Figure 12-8b
 Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W. H. Freeman and Company

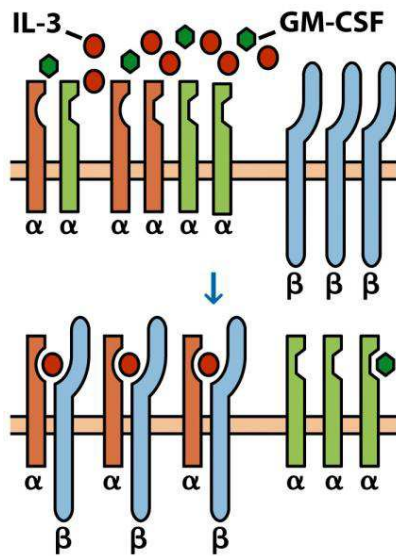


Figure 12-8c
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

IL-6 Receptor subfamily (common gp130 subunit)

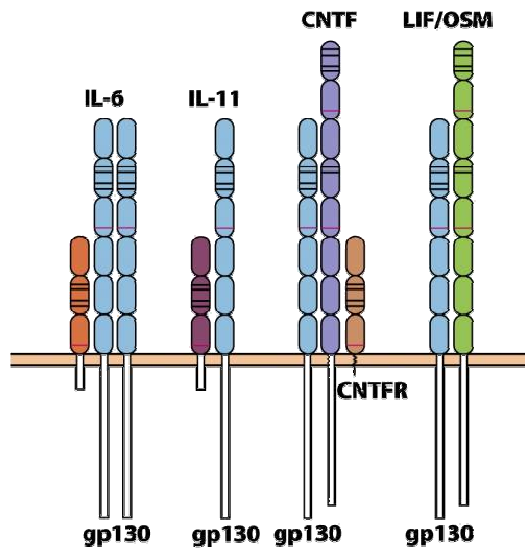


Figure 12-7b
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
 © 2007 W.H. Freeman and Company

Sottoclasse IL-2

- I recettori delle citochine IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15 importati dal punto di vista immunologico, condividono la subunità γ (γ chain: γ_c) nel recettore.
- Tutte queste citochine sono del tipo I a corta catena.
- Ciò permette una notevole modulazione della risposta in funzione sia della citochina che dell'espressione/esposizione del recettore.
- IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, e IL-15 hanno ruoli sovrapponibile in relazione alla sviluppo e funzione dei linfociti T, B, NK e mastocitici.

IL-2 receptor subfamily (common γ subunit)

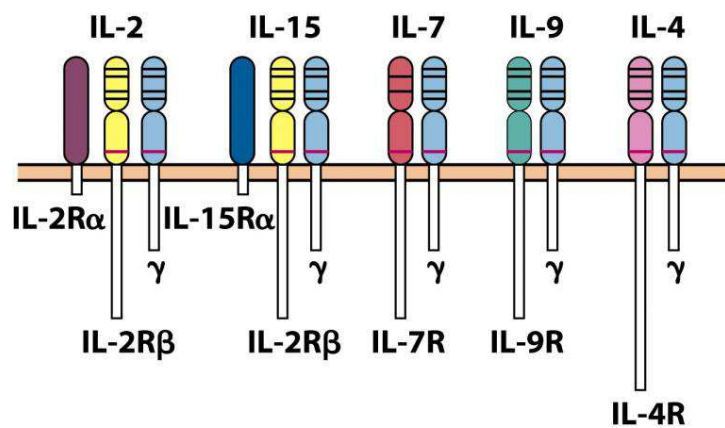
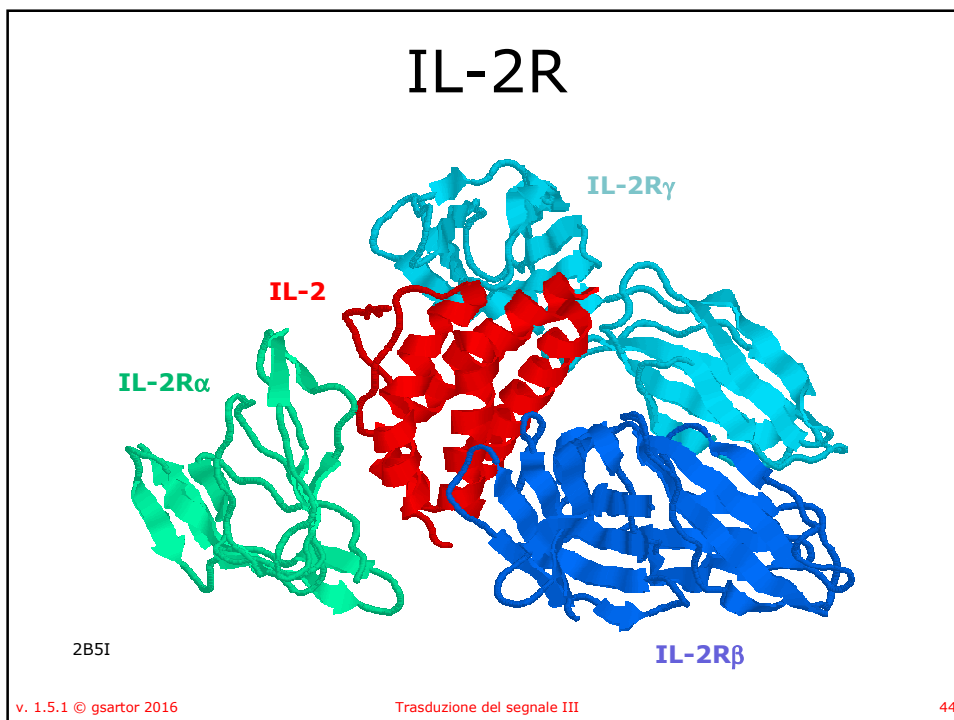
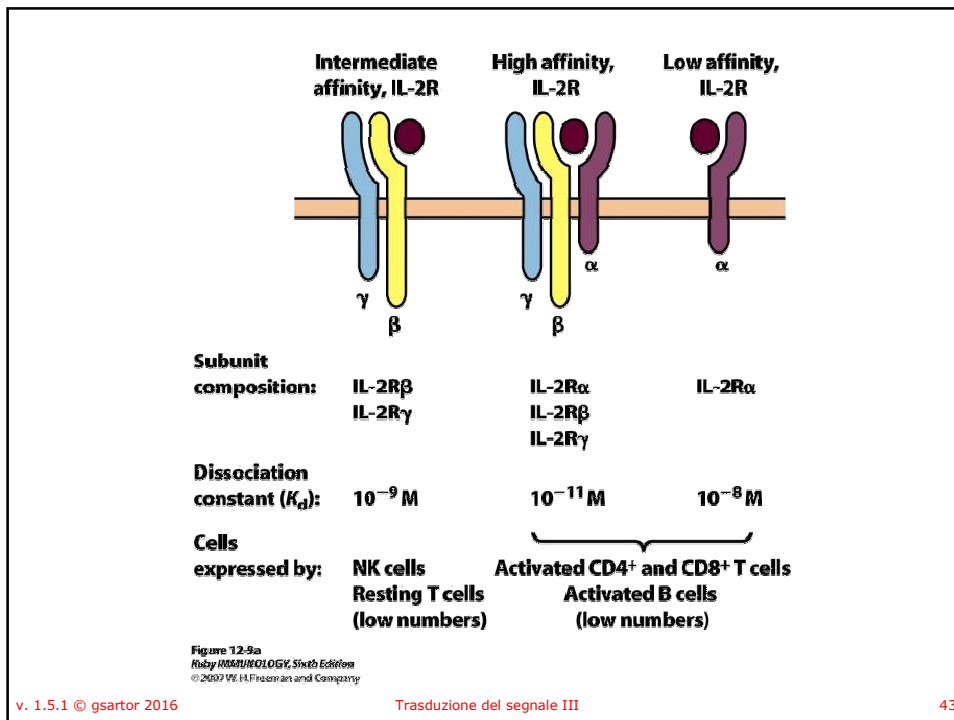
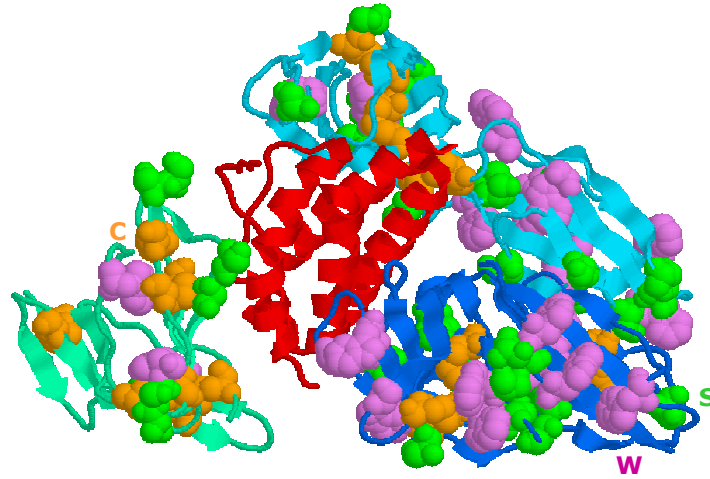


Figure 12-7c
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company



IL-2R



2B5I

Recettori di tipo II

- I recettori di tipo II non contengono la sequenza WSXWS che è caratteristica dei recettori di classe I.
- Sono in genere eterodimeri o multimeri con componenti a bassa e alta affinità.

RECEPTOR FAMILY

Class II cytokine receptors (interferon)

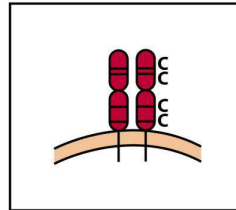
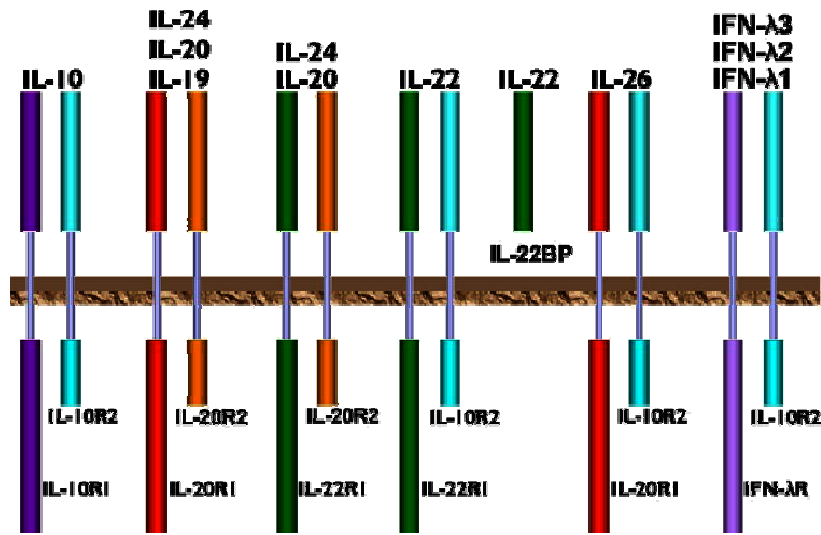


Figure 12-4c
Basic BIOCHEMISTRY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

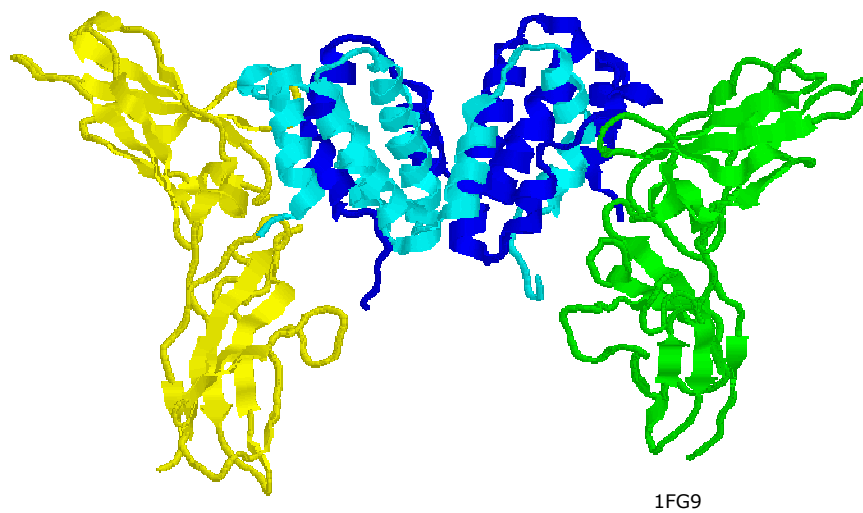
LIGANDS

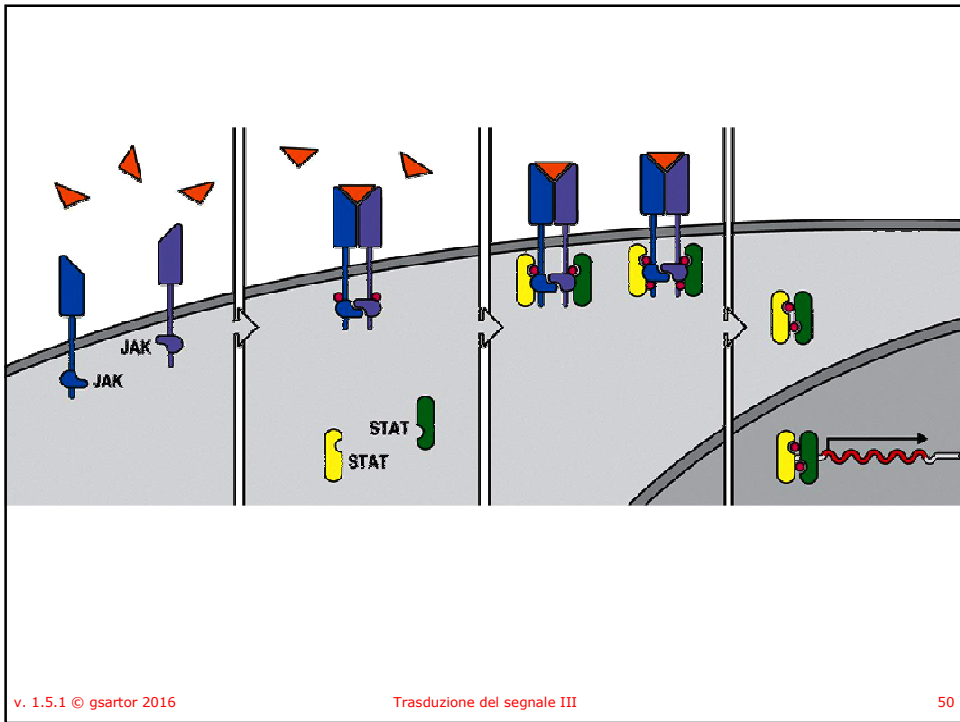
IFN- α
IFN- β
IFN- γ
IL-10
IL-19
IL-20
IL-22
IL-24
IL-26
IL-28
IL-29

Iniziazione del segnale



INF γ



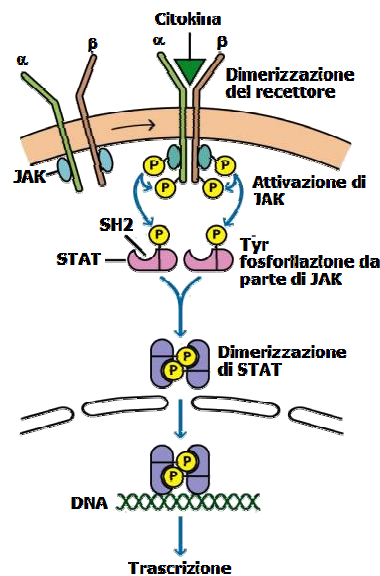


Via di segnalazione delle JAK/STAT

- **JAK** (**J**ust **A**nother **K**inase): kinasi Janus, almeno quattro.
 - Il nome è dovuto alla presenza di due domini molto simili (bifronte).
- **STAT** (**S**ignal **T**ransducers and **A**ctivators of **T**ranscription);
 - almeno sette.
 - Si ancorano al recettore fosforilato mediante il loro dominio SH2.
 - Fosforilati su Tyr da JAK si staccano dal recettore, formano dimeri (omo- o etero-) che migrano nel nucleo e regolano la trascrizione
 - Utilizzata da GH, prolattina, citochine (eritropoietina) e linfochine, interleuchine, interferone, e alcuni fattori di crescita (CNTF: fattore neurotrofico ciliare), leptina (prodotta dal tessuto adiposo)
 - Come la maggior parte delle tirosina kinasi regola la proliferazione cellulare.
 - Regola anche la maturazione degli eritrociti

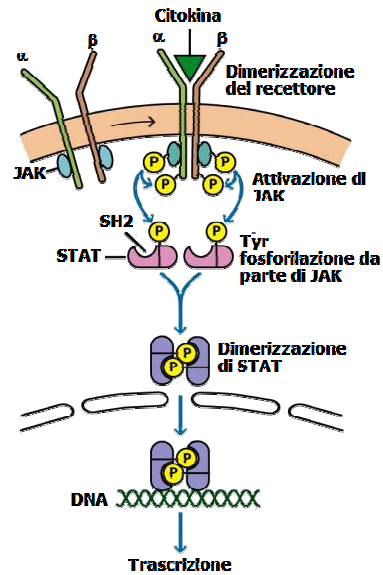
JAK/STAT

- Il recettore è attivato dal segnale della citochina (interferone, interleuchina, fattore di crescita o altri messaggeri);
- Viene attivata la funzione kinasica di JAK che si autofosforila;
- STAT si lega al recettore fosforilato e transloca nel nucleo dove si lega al DNA e promuove la trascrizione dei geni che rispondono a STAT



JAK/STAT

- STAT si lega alla sequenza promotore che controlla l'espressione di un'altra sequenza di DNA con conseguente controllo delle funzioni cellulari come:
 - Crescita
 - Differenziamento
 - Morte cellulare (Apoptosi)
- La via JAK/STAT è conservata dalle muffe ai vermi ai mammiferi (ma non nei funghi e nelle piante).
- L'alterazione o la mancata regolazione della via JAK/STAT può portare a sindromi immunodeficienti o al cancro.



Famiglie

JAK

- JAK1
- JAK2
- JAK3
- Tyk2

STAT

- STAT1
- STAT3
- STAT5 A/B
- STAT6
- STAT2
- STAT4

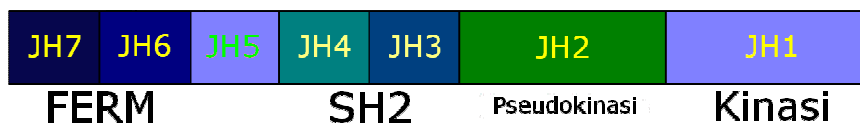
JAK

- Quattro membri della famiglia nei mammiferi:
 - JAK1, JAK2, JAK3 e Tyk2.
- Peso molecolare da 120 a 130 kDa, circa 1000 AA
- JAK1, JAK2 e Tyk2 sono espressi ubiquitariamente mentre l'espressione di JAK3 è ristretta alle cellule della linee mieloide e linfoide.

Struttura di JAKs

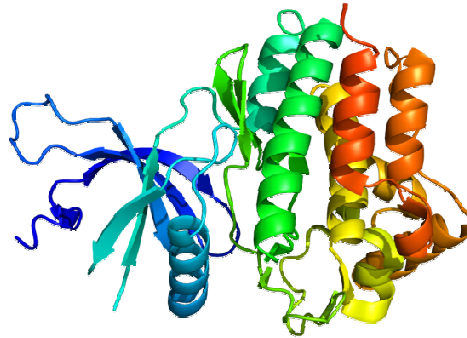
- Ci sono sette regioni ad alta omologia nelle proteine JAK (JH):
 - Dominio kinasico attivo (JH1);
 - Dominio pseudokinasico inattivo (JH2);
 - Dominio SH2 (JH3, JH4);
 - Dominio FERM (JH6, JH7) che media il legame al recettore transmembrana e regola l'attività kinasica

Ghoreschi et al. *Immunol Rev.*, 2009



JAK1

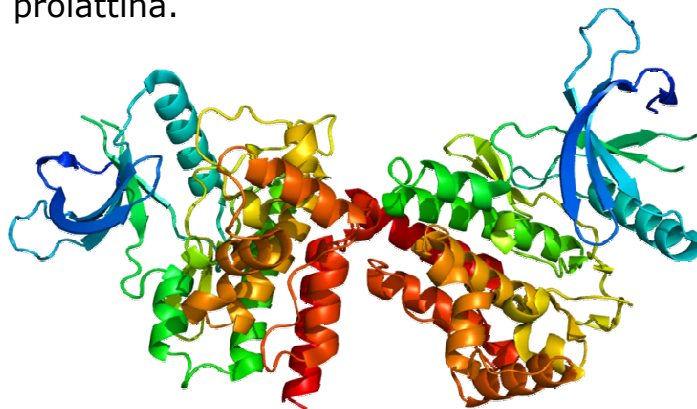
- Tirosin-kinasi umana essenziale per le citochine di tipo I e II
- Interagisce con la catena γ del recettore
- È coinvolta nella trasduzione del segnale dalle famiglie recettoriali IL-2 (IL-2R, IL-7R, IL-9R e IL-15R), IL-4 (IL-4R e IL-13R), gp130 (IL-6R, IL-11R, LIF-R, OSM-R, cardiotrophin-1 receptor (CT-1R), ciliary neurotrophic factor receptor (CNTF-R), neurotrophin-1 receptor (NNT-1R) e Leptina.
- È anche importate nella trasduzione del segnale interferone di tipo I (IFN- α/β) e tipo (IFN- γ)
- IL-10 via recettore delle citochine di tipo II.



3EYG

JAK2

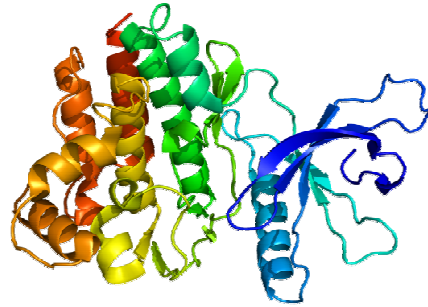
- Recettori delle citochine di tipo II (interferone),
- il segnale JAK2 è attivato anche dal recettore della prolattina.



2B7A

JAK3

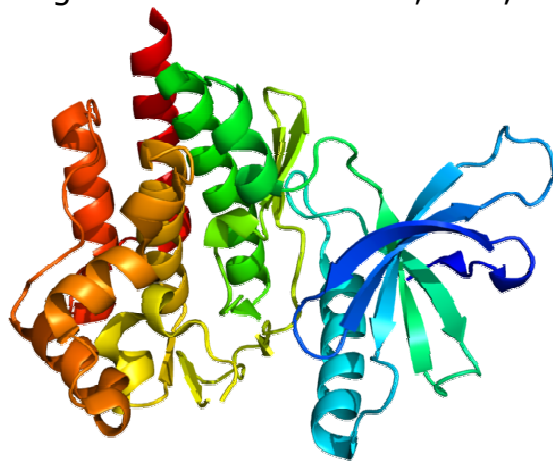
- L'espressione di JAK3 è ristretta alle cellule ematopoietiche è comunemente espresso in cellule T e NK ma è stata indotta l'espressione in leucociti e monociti
- Mutazioni di JAK3 portano a severa immunodeficienza (SCID).
- Topi che non esprimono JAK3 hanno i linfociti T e B che non rispondono a molte citochine.



1YVJ

Tyk2

- Tyk2 è stato il primo membro della famiglia JAK descritto
- È coinvolto nei segnali mediati da IFN- α , IL-6, IL-10 e IL-12.



3LXN

Famiglie

JAK

- JAK1
- JAK2
- JAK3
- Tyk2

STAT

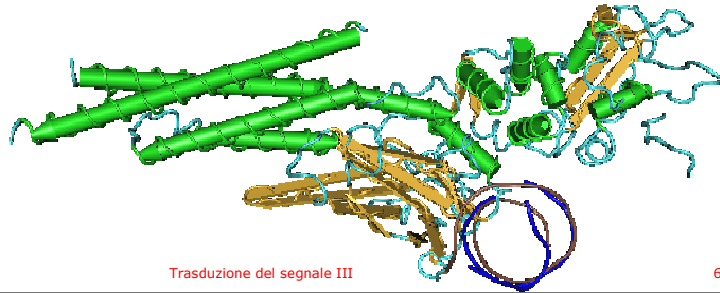
- STAT1
- STAT3
- STAT5 A/B
- STAT6
- STAT2
- STAT4

STAT

- Le proteine STAT (**Signal Transducer and Activator of Transcription**, o **Signal Transduction And Transcription**)
- Regolano la crescita, la sopravvivenza e il differenziamento.
- Sono attivate da JAK.
- Sono coinvolte nello sviluppo del sistema immune e giocano un ruolo essenziale nel mantenere il sistema immunitario e la sorveglianza dei tumori.

STAT1

- STAT1 è coinvolta nella up-regolazione di geni dovuti a segnali da interferone di tipo I, II e III
- A seguito della stimolazione con IFN- γ , STAT1 forma omodimeri o eterodimeri con STAT3 e lega l'elemento promotore GAS (*Interferon-Gamma Activated Sequence*)
- In risposta a stimolazione con IFN- α or IFN- β , STAT1 forma eterodimeri con STAT2 per legarsi a al promotore ISRE (*Interferon Stimulated Response Element*)
- In entrambi i casi si ha un aumento dell'espressione di ISG (*Interferon Stimulated Genes*).
- L'espressione di STAT1 può essere indotta da diallil-solfuro (aglio).



Interferon Stimulated Response Elements (ISREs)

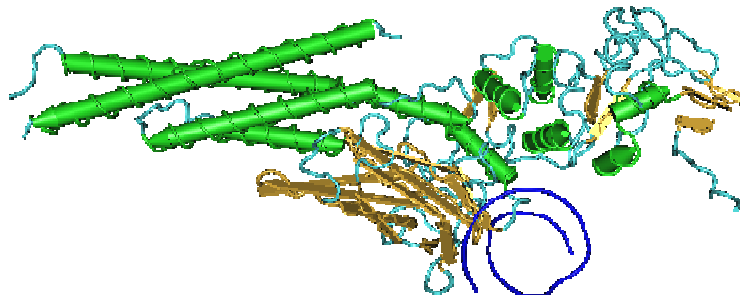
ISG54	TAGTTTCACTTTCCC
ISG15	CAGTTTCGGTTTCCC
GBP	TACTTTCAGTTTCAT
IP10	AGGTTTCACTTTCCA
OAS	TGGTTTCGTTTCCTC
HLA-A	CAGTTTCTTTTCTCC
MX	GAGTTTCGTTTCTGA

STAT2

- In risposta all'interferone forma un complesso con STAT1 e il fattore regolatorio p48 (ISGF3G), con il quale agisce da transattivatore senza avere la capacità di legare il DNA
- Gli adattori di trascrizione P300/CBP (EP300/CREBBP) interagiscono specificatamente con questa proteina.

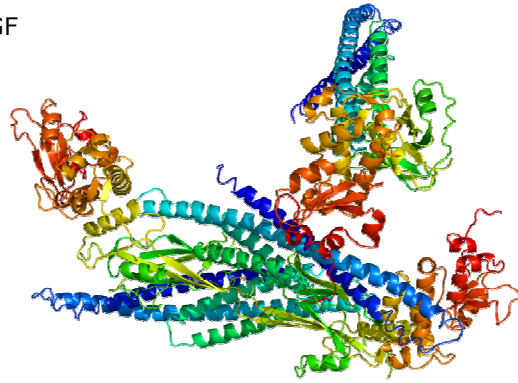
STAT3

- Questa proteina è fosforilata in Tyr705 e Ser 727 in risposta a diverse citochine (interferone, EGF, interleuchina 5, 6, hepatocyte growth factor, leukemia inhibitory factor (LIF), bone morphogenetic protein 2 e leptina)
- Media l'espressione dei svariati geni responsabile della crescita cellulare e dell'apoptosi
- La GTPasi Rac1 si lega e regola STAT3.



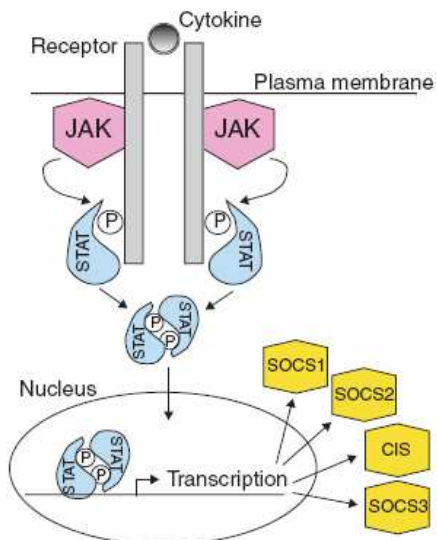
STAT5 A

- Media la risposta a IL2, IL3, IL7 GM-CSF, eritropoietina, trombopoietina e diversi GF
- L'attivazione di questa proteina nei linfomi e mielomi è associata con la fusione genica con TEL/JAK2 che è indipendente da stimoli cellulari
- Questo gene induce l'espressione di BCL2L1/BCL-X(L), che ne suggerisce una funzione anti-apoptotica.

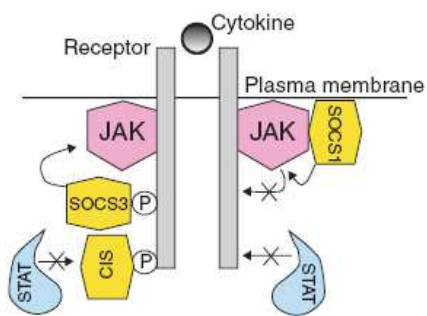


1Y1U

Activation of signaling



Inhibition of signaling



STEM CELLS[®]
Concise Review

SOCS Proteins: Negative Regulators of Cytokine Signaling

DANIELLE L. KREBS, DOUGLAS J. HILTON

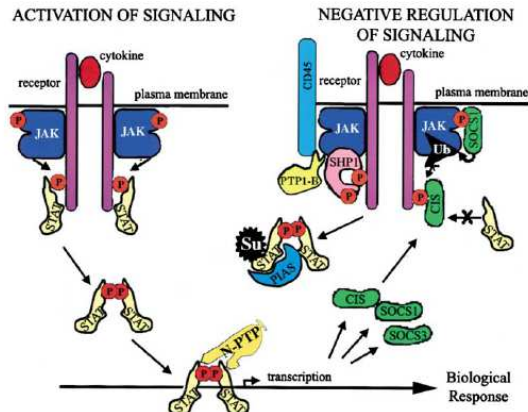


Figure 2. Overview of Cytokine Signaling: Positive and Negative Regulation

Cytokines bind to homodimeric or heterodimeric receptors, which bind Janus kinases (Jaks). Jaks are activated by transphosphorylation and they in turn phosphorylate cytokine receptors, allowing Stats to bind via SH2-phosphotyrosine interactions. Stats themselves are phosphorylated, permitting Stat dimerization and translocation to the nucleus where Stats bind DNA and regulate gene expression. This process is regulated at multiple steps, some of which are summarized here: tyrosine phosphatases such as SHP-1, CD45, and PTP1b may regulate phosphorylation of receptors and Jaks. Dimerized Stats can be bound by PIAS members, which have been found to be SUMO E3 ligases; the depicted sumoylation of Stats, however, is a speculative, albeit reasonable, possibility. Additionally, cytokine stimulation induces the transcription of a family of SH2 containing proteins known as SOCS proteins. SOCS proteins inhibit signaling by multiple means: (1) binding and inhibiting Jaks, (2) binding cytokine receptors and blocking Stats recruitment, and (3) promoting ubiquitination and degradation of the Jak/receptor complex. Stats are dephosphorylated in the nucleus, but the identity of the predominant nuclear Stat phosphatase (N-PTP) remains to be determined.

ment, and (3) promoting ubiquitination and degradation of the Jak/receptor complex. Stats are dephosphorylated in the nucleus, but the identity of the predominant nuclear Stat phosphatase (N-PTP) remains to be determined.

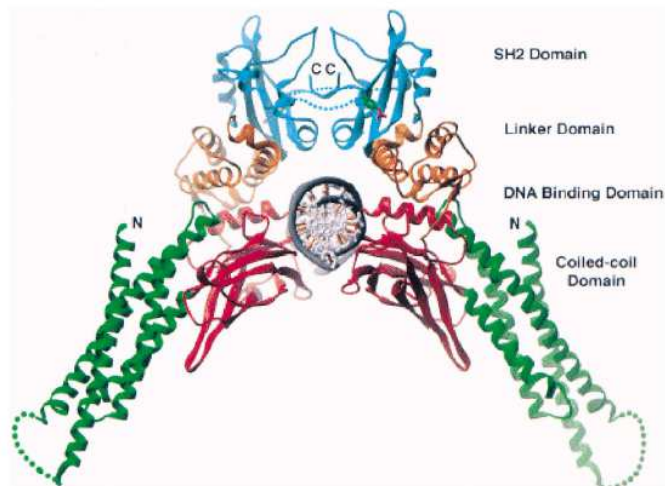
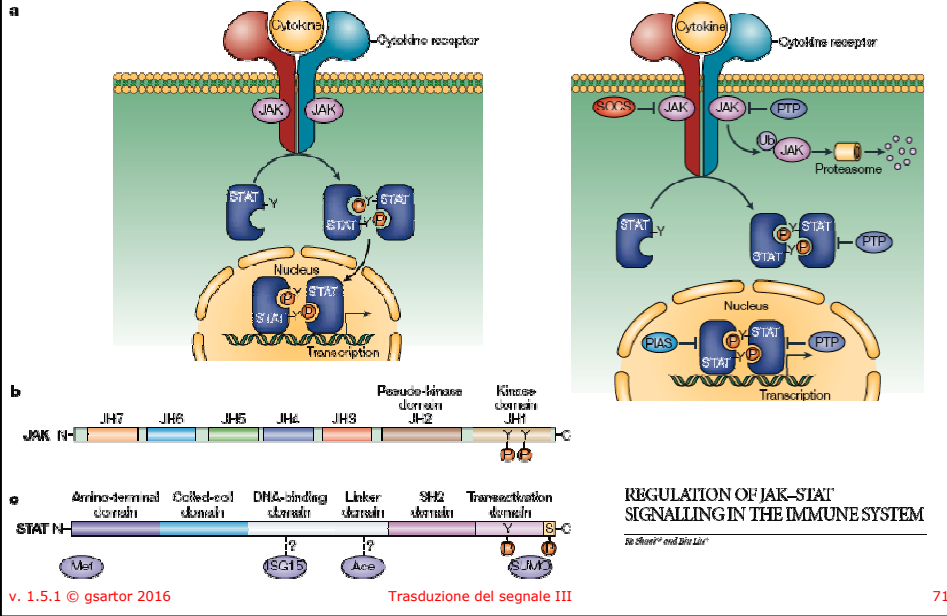


Fig. 3. Crystal structure of Stat1. Ribbon diagram of a Stat1 core dimer (amino acids 136-710) bound to DNA. The coiled-coil domain is shown in green, the DNA-binding domain is shown in red, the linker domain in orange and the SH2 domain and the tyrosine-phosphorylated tail segments are shown in cyan. Two disordered loops in the coiled-coil domain and one connecting the SH2 domain are represented as dotted lines. Phosphotyrosine residue number 701 is shown as a. The DNA backbone is colored in gray. 'N' and 'C' indicate the N- and C-termini of the Stat1 core dimer. Reprinted from Chen et al. (1998) with permission of Dr. J. Kuriyan.

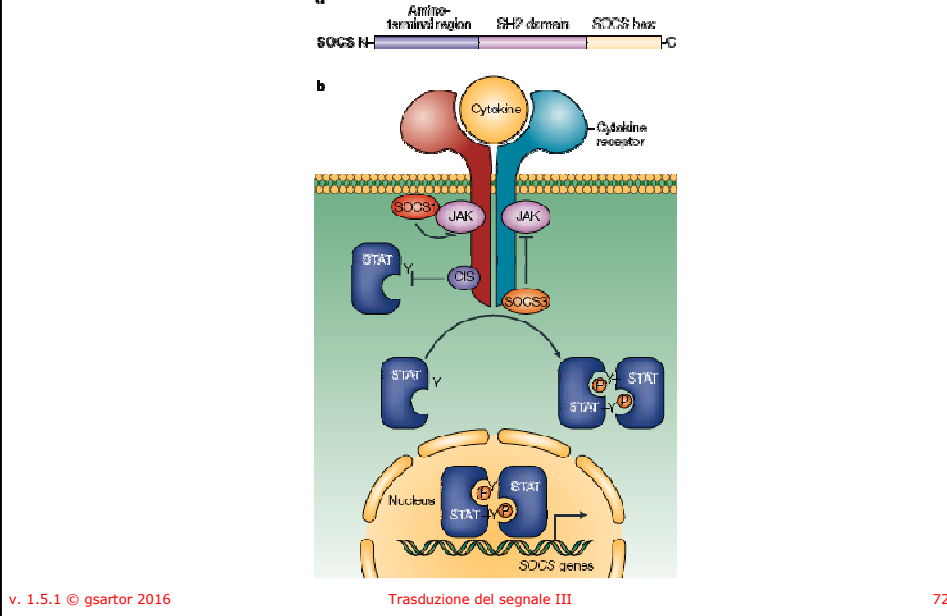
Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges

T. Kisseleva, S. Bhattacharya, J. Braunstein, C.W. Schindler*

Regolazione di JAK/STAT



Regolazione di JAK/STAT



Regolazione di JAK/STAT

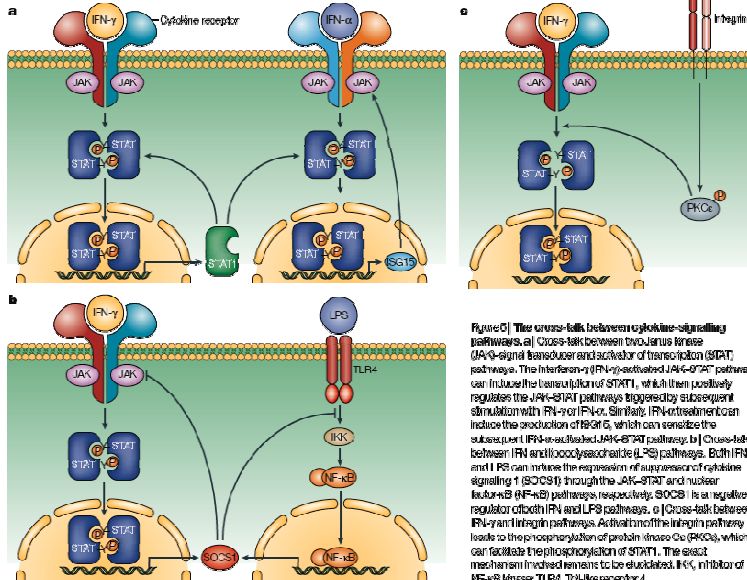


Figure 3 | The cross-talk between cytokine signaling pathways. **a** | Cross-talk between Janus kinase (JAK)-signal transducer and activator of transcription (STAT) pathways. The interferon- γ (IFN- γ)-activated JAK-STAT pathway can induce the transcription of SOCS1, which then positively regulates the JAK-STAT pathway by opposing subsequent stimulation with IFN- γ or IFN- α . Similarly, IFN- α treatment can induce the production of SOCS3, which can sense the subsequent IFN- γ -activated JAK-STAT pathway. **b** | Cross-talk between IFN and lipopolysaccharide (LPS) pathways. Both IFN and LPS can induce the expression of suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) through the JAK-STAT and nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathways, respectively. SOCS1 is a negative regulator of both IFN and LPS pathways. **c** | Cross-talk between IFN- γ and Integrin pathways. Activation of the Integrin pathway leads to the phosphorylation of protein kinase C (PKC), which can facilitate the phosphorylation of STAT1. The exact mechanism involved remains to be elucidated. IKK, inhibitor of NF- κ B kinase; TLR4, Toll-like receptor 4.

Regolazione di JAK/STAT

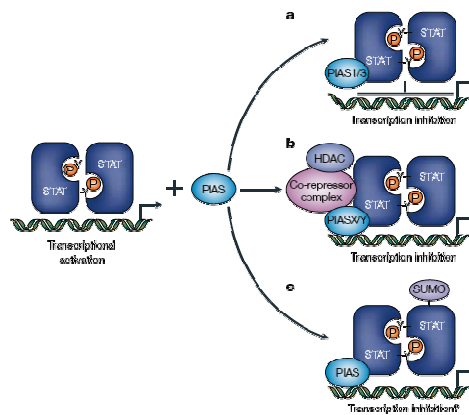
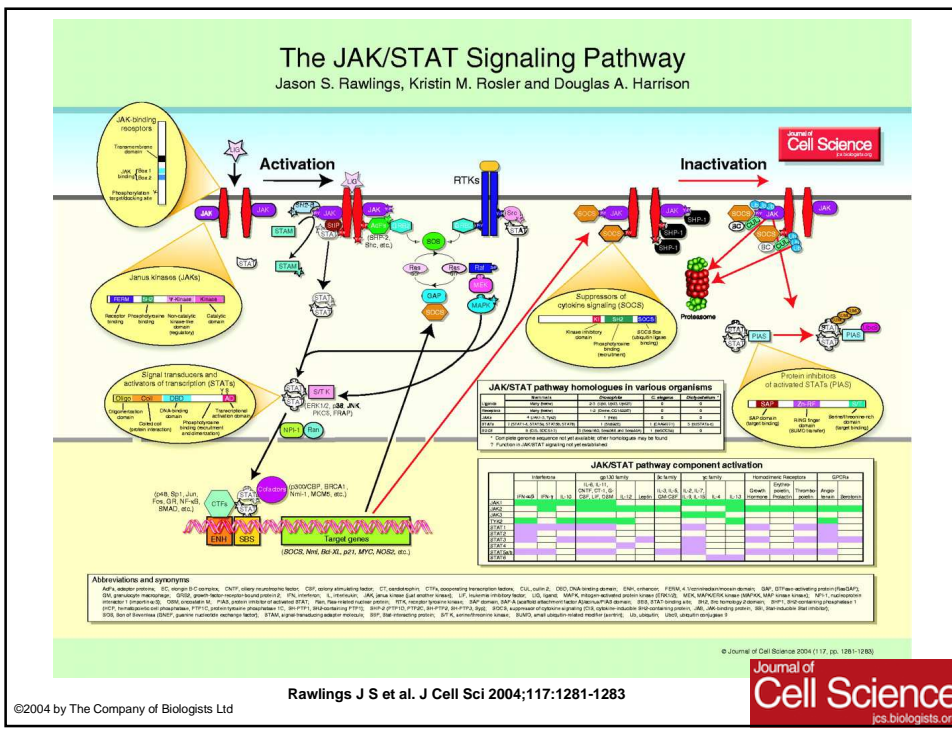
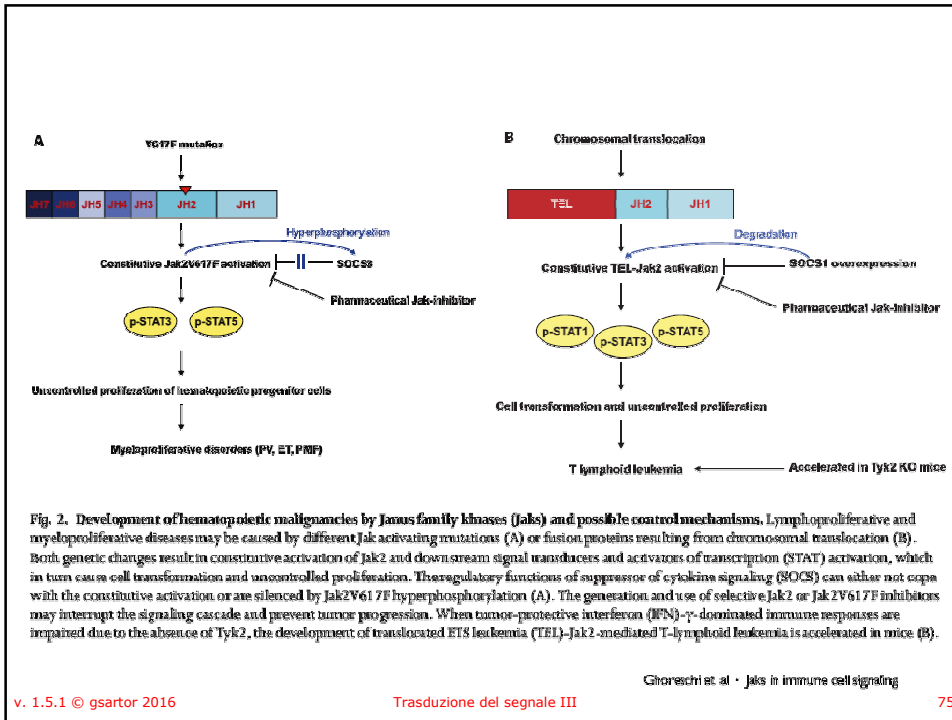


Figure 4 | Proposed mechanisms for inhibiting the JAK-STAT pathway by PIAS proteins. Different PIAS (protein inhibitor of activated STAT) proteins can inhibit the Janus kinase (JAK)-signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway through distinct mechanisms. **a** | PIAS1 and PIAS3 block the DNA-binding activity of STAT dimers. **b** | PIASX and PIASy might act as transcriptional co-repressors of STAT by recruiting other co-repressor proteins such as histone deacetylase (HDAC). **c** | PIAS proteins can promote the conjugation of small ubiquitin-related modifier (SUMO) to STAT1. The significance of STAT1 sumoylation in regulating STAT1 activity is controversial and needs to be clarified.



RECEPTOR FAMILY

LIGANDS

Immunoglobulin superfamily receptors

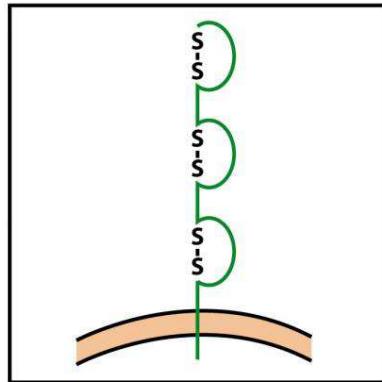


Figure 12-6a
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

IL-1
M-CSF
C-Kit
IL-18

RECEPTOR FAMILY

LIGANDS

TNF receptors

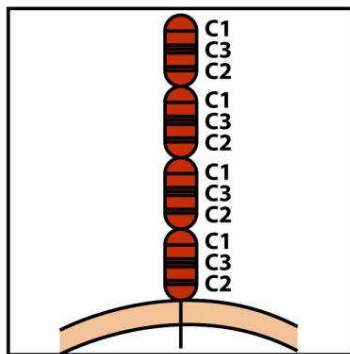


Figure 12-6d
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

TNF- α
TNF- β
CD27L
CD30L
CD40L
Nerve growth factor (NGF)
FAS

RECEPTOR FAMILY

LIGANDS

Chemokine receptors

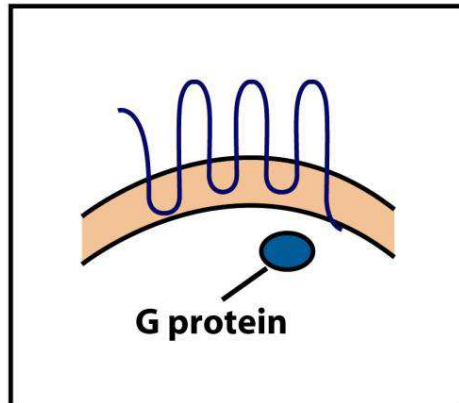


Figure 12-6e
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

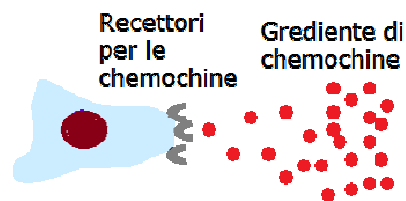
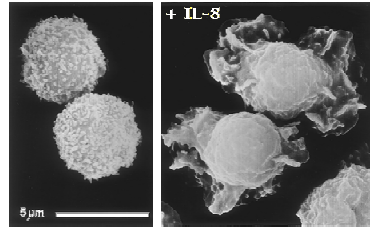
IL-8
RANTES
MIP-1
PF4
MCAF
NAP-2

Chemochine

- **Citochine chemotattiche**
- Basso peso molecolare (8-10kd)
- Promuovono il reclutamento, la chemotassi e l'attivazione dei leucociti
- Possono essere suddivise in sottoclassi in funzione della struttura
- La maggior parte delle chemochine ha quattro Cys che formano ponti disolfuro
 - Classe CC – le prime due Cys sono adiacenti (MCP-1, RANTES)
 - Classe CXC – le prime due Cys non sono adiacenti (IL-8)
 - Classe C – solo due Cys (Linfotattina)
 - Classe CXXC – ci sono tre residui tra le prime due Cys e N-terminale.

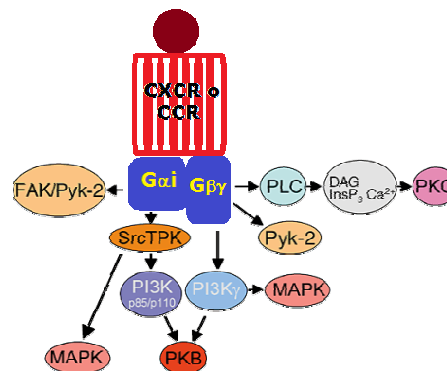
Effetti delle chemochine

- Promuovono la chemotassi attraverso:
 - la variazione della forma delle cellule
 - la polimerizzazione e depolimerizzazione dell'actina
 - azione sui sistemi di adesione:
 - Lamellipodi
 - Integrine



Recettori per le chemochine

- Recettori specifici legano citochine specifiche:
 - CXCR1 lega IL-8
- Ci sono recettori condivisi
 - CCR1 lega MIP -1a, RANTES, MCP-2 e MCP3
- Esistono recettori promiscui che legano tutte le classi
- Recettori codificati da virus:
 - Citomegalovirus- CMV U28 lega chemochine CC



Virus

- Gli agenti possono utilizzare il sistema delle citochine per evitare la risposta immune dell'ospite
- I fattori codificati da virus possono influenzare l'attività delle citochine in diversi modi:
 - attraverso l'inibizione della sintesi e del rilascio delle citochine dalle cellule infettate;
 - interferendo nell'interazione citochina-recettore;
 - inibendo la trasduzione del segnale indotto dalle citochine;
 - inducendo la sintesi di citochine antagoniste delle citochine dell'ospite (virocettori e virochine).

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.gsartor.org/pro>

- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna

Giorgio Sartor
Ufficiale: giorgio.sartor@unibo.it
Personale: giorgio.sartor@gmail.com

Aggiornato il 18/05/2016 11:18:46