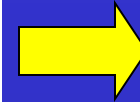
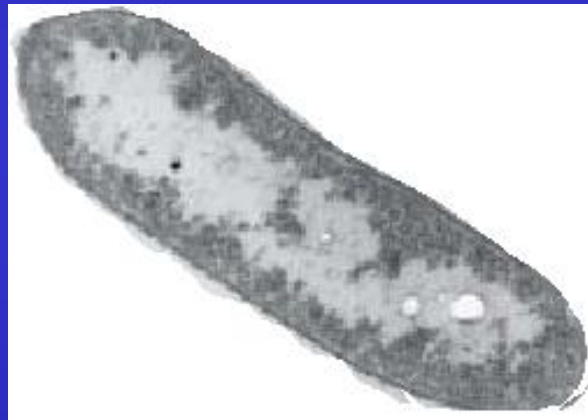
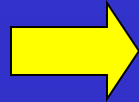


**Un organismo vivente si comporta come un sistema termodinamicamente aperto, ovvero, interagisce con l'ambiente scambiando materia ma anche “informazioni”**

**Stimoli  
ambientali  
(informazione)**



**L'accrescimento,  
il metabolismo, il  
movimento, la  
virulenza**

**Modulazione  
dell'espressione o  
dell'attività delle  
proteine**

# Esportazione e secrezione delle proteine

Si calcola che i due terzi delle proteine sintetizzate da un microrganismo unicellulare vengono secrete o esportate

Per esportazione si fa riferimento al trasferimento di una proteina da un compartimento cellulare ad un altro (dal citoplasma allo spazio periplasmatico).

Con il termine secrezione facciamo riferimento al trasporto di una proteina all'esterno della cellula.

Infine, per traslocazione si intende il trasferimento di una proteina da una cellula ad un'altra.

# ESPORTAZIONE NEI GRAM-NEGATIVI

**Nei gram negativi sono stati individuati almeno due sistemi di esportazione delle proteine nello spazio periplasmatico:**

- **Il sistema secA/B**
- **Il sistema SRP**
- **Il sistema TAT**

# ESPORTAZIONE NEI GRAM-NEGATIVI

## Il sistema secA/B e quello SRP

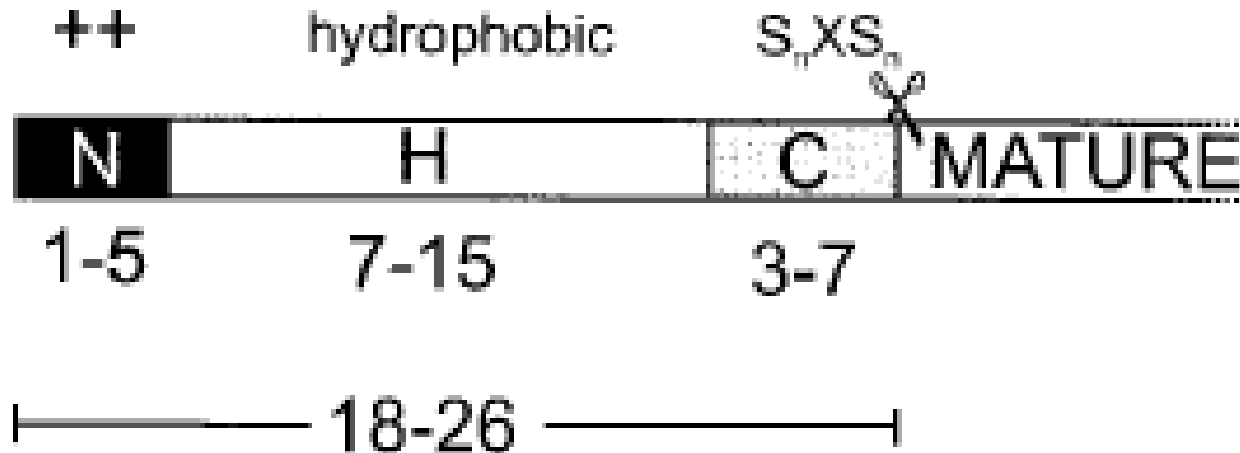
In entrambi i casi si tratta di sistemi di esportazione generali che sfruttano la presenza di un segnale aminoacidico all' $\text{NH}_2$  terminale della proteina. Questo segnale, dopo l'esportazione, viene eliminato da una peptidasi anch'essa non specifica ...

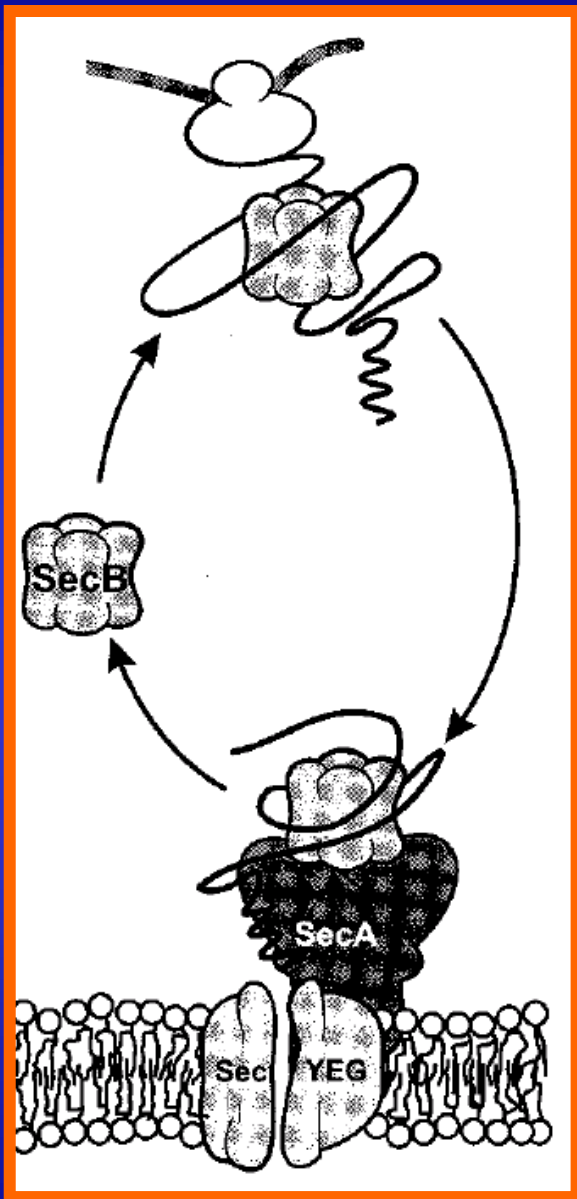
**I due sistemi utilizzano il medesimo canale transmembranario per l'esportazione della proteina, ma si distinguono per il fattore che interagisce ed indirizza la proteina da esportare a questo complesso membranario.**

# Gli attori del sistema secA/B

- SecB è una chaperonina, ovvero interagisce con la sequenza segnale della proteina nella fase di traduzione mantenendola in uno stato strutturale non corretto.
- SecA è una proteina con attività ATPasica e che è in grado di interagire con SecB quando questa ha catturato una proteina
- SecDEFGY formano un complesso trans-membranario che permette l'esportazione della proteina attraverso la membrana esterna (YEG sono proteina transmembrana mentre D e F sono proteina della membrana interna ma rivolte verso lo spazio periplasmatico)

La tipica sequenza segnale per il sistema sec e/o SRP è caratterizzata da una regione NH<sub>2</sub> terminale con una forte carica netta positiva, seguita da una regione idrofobica e una regione contenente il sito di tagli della Lep





1. La proteina SecB interagisce con il segnale peptide della proteina da esportare durante la sua traduzione.
2. La trasporta al complesso SecA+YEG e l'affida a SecA.
3. SecA, attraverso il consumo di ATP inserisce e spinge la proteina attraverso il complesso SecYEG.
4. Appena superato questo complesso una peptidasi (Lep) proteolizza il segnale dal resto del peptide attivando la proteina





**Nel caso del sistema SRP il processo è molto simile ma cambiano gli “attori”. In questo caso non abbiamo più le proteine SecA/B ma una piccola nucleoproteina (SRP) composta da una proteina (codificata dal gene *ffh*) e un piccolo frammento di RNA (4.5S).**



**Il complesso SRP+pre-proteina viene diretto e interagisce con la proteina di membrana FtsY.**

**Questo nuovo complesso interagisce con SecYEG e permette l'esportazione della proteina attraverso il complesso trans-membranario.**

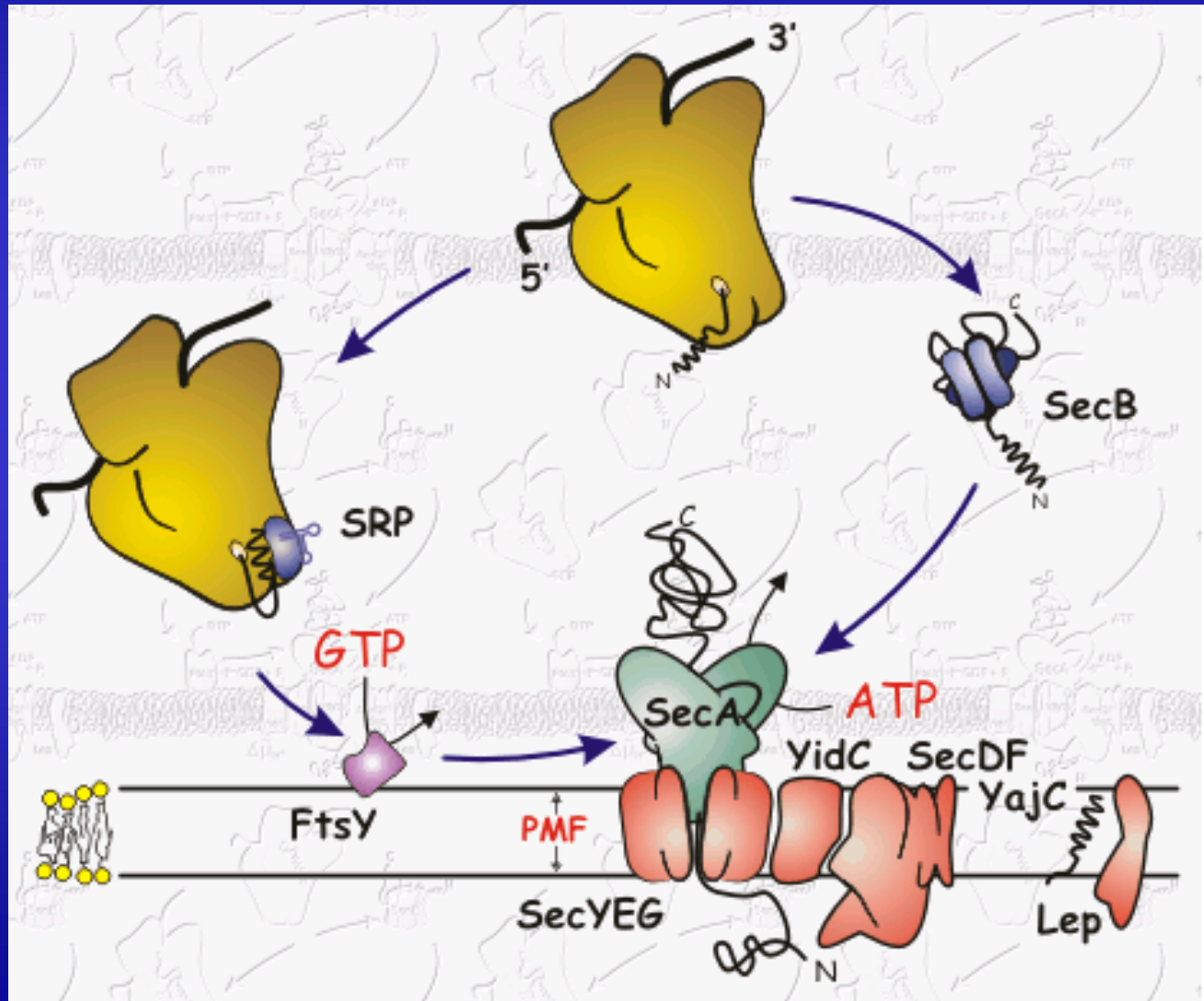
**E' importante sottolineare che nel sistema SRP il trasporto è associato alla traduzione.**



**SRP si distingue da secA/B in quanto, a differenza dal primo, le proteine esportate da SRP sono «spesso» proteine integrali o periferiche di membrana (interna)**



# I due sistemi coesistono utilizzando il medesimo complesso SecYEG

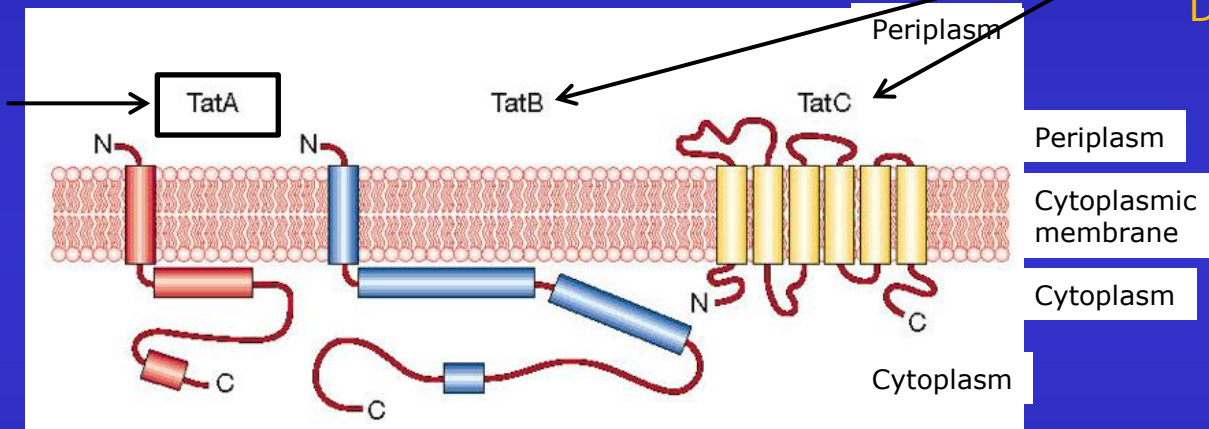


# TAT system (twin-arginine translocation)

In *E. coli* il Sistema TAT è formato da 3: TatA, TatB and TatC

TatB e TatC sono responsabili del riconoscimento della sequenza segnale TAT

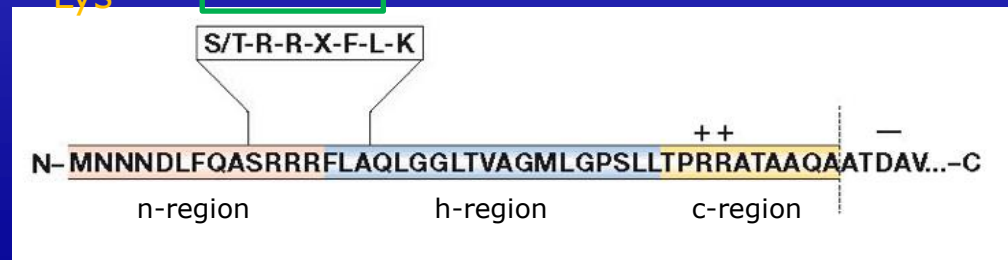
TatA è il principale componente del canale TAT posizionato nella membrana citoplasmatica



La sequenza segnale TAT:

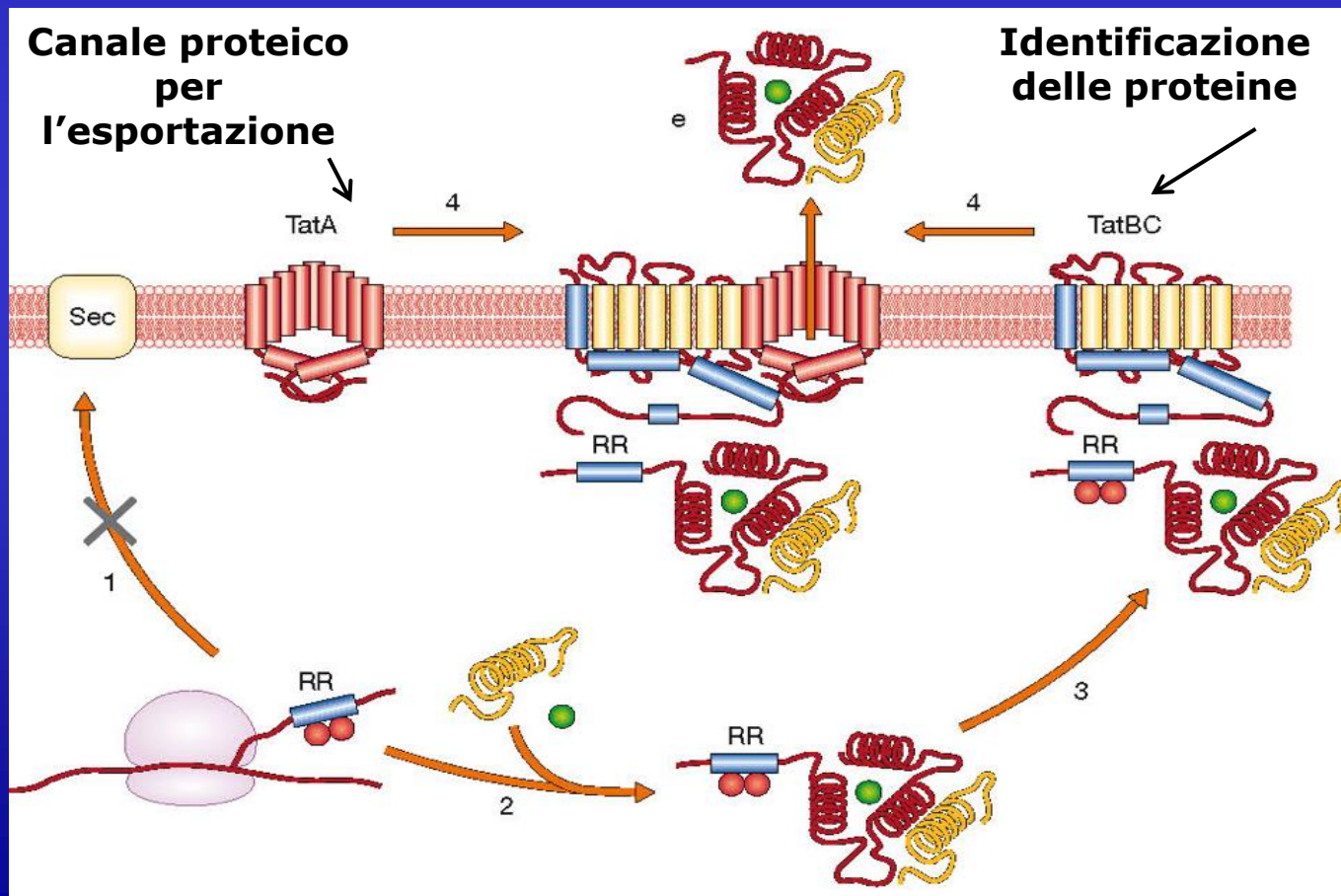
- struttura a tre domini (simile a quella del Sistema sec)
- formata da circa 38 aa
- sono sempre presenti due residui di arginina nella regione "n"

Ser/Thr-**Arg-Arg**-X-Phe-Leu-Lys



# TAT system (twin-arginine translocation)

La caratteristica principale del Sistema TAT sta nella sua capacità di trasportare proteine già **ripiegate**, protein che contengono **cofattori**, e/o protein organizzate in **strutture quaternarie**



**Mentre i sistemi di esportazione sono per lo più generali .... Quelli di secrezione sono molto più specifici !**

**Quelli meglio noti sono stati classificati in sei gruppi denominati in modo progressivo con numeri romani dall'I al VI**

**Mentre i sistemi di tipo I, II, e V sono di secrezione, quelli di tipo III, IV e VI sono di traslocazione**

**Infine, i sistemi di tipo I, III, IV e VI sono *sec* indipendenti, i sistemi di tipo II e V sono *sec* dipendenti**



## SISTEMA DI SECREZIONE DI TIPO

### II

In questo sistema sono coinvolte proteine che vengono trasferite nel periplasma dal sistema *sec*.

Vi è coinvolto un complesso di proteine che provocano il trasferimento della proteina all'esterno della membrana esterna

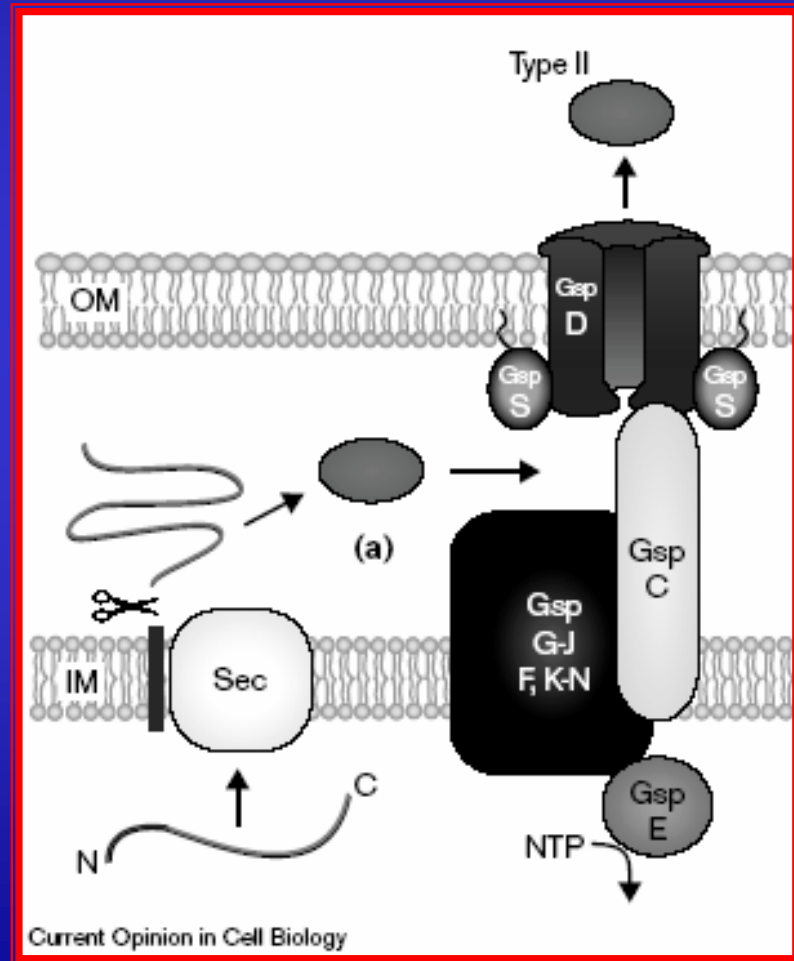
Le proteine secrete sono lipasi, proteasi e tossine ma il prototipo si basa sul sistema della pullolanasi di

*Klebsiella oxytoca*)

## TIPO II:

### la pullulanasi di *Klebsiella oxytoca*

In questo caso il complesso di proteine responsabile per il trasporto della proteina attraverso la membrana esterna può contenere da 12 a 20 proteine !!!!!

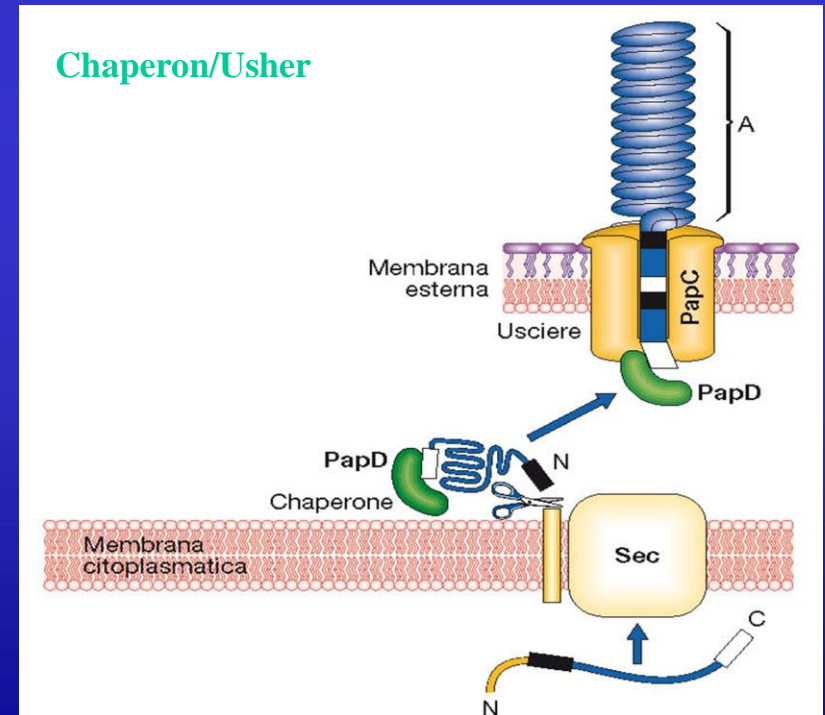
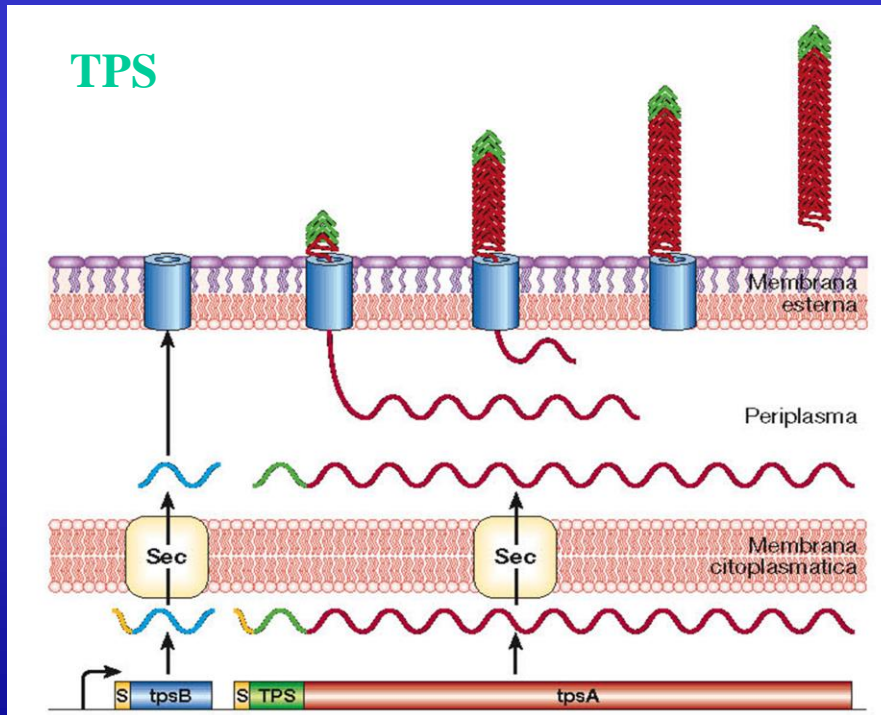


# Sistemi sec-dipendenti

## TIPO V

Ne esistono ad oggi almeno 5 varianti, le tre più importanti sono:

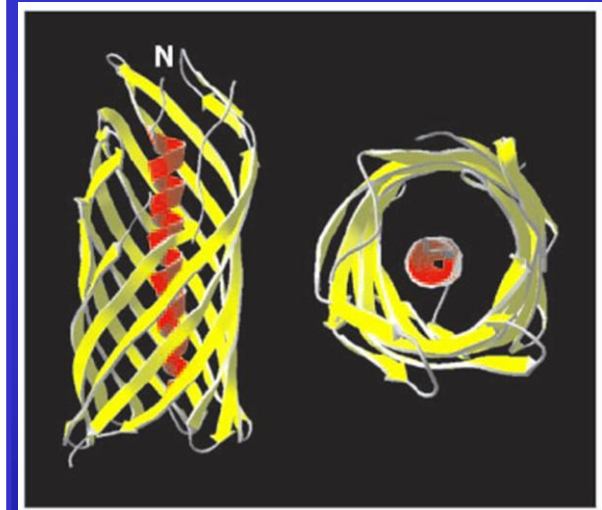
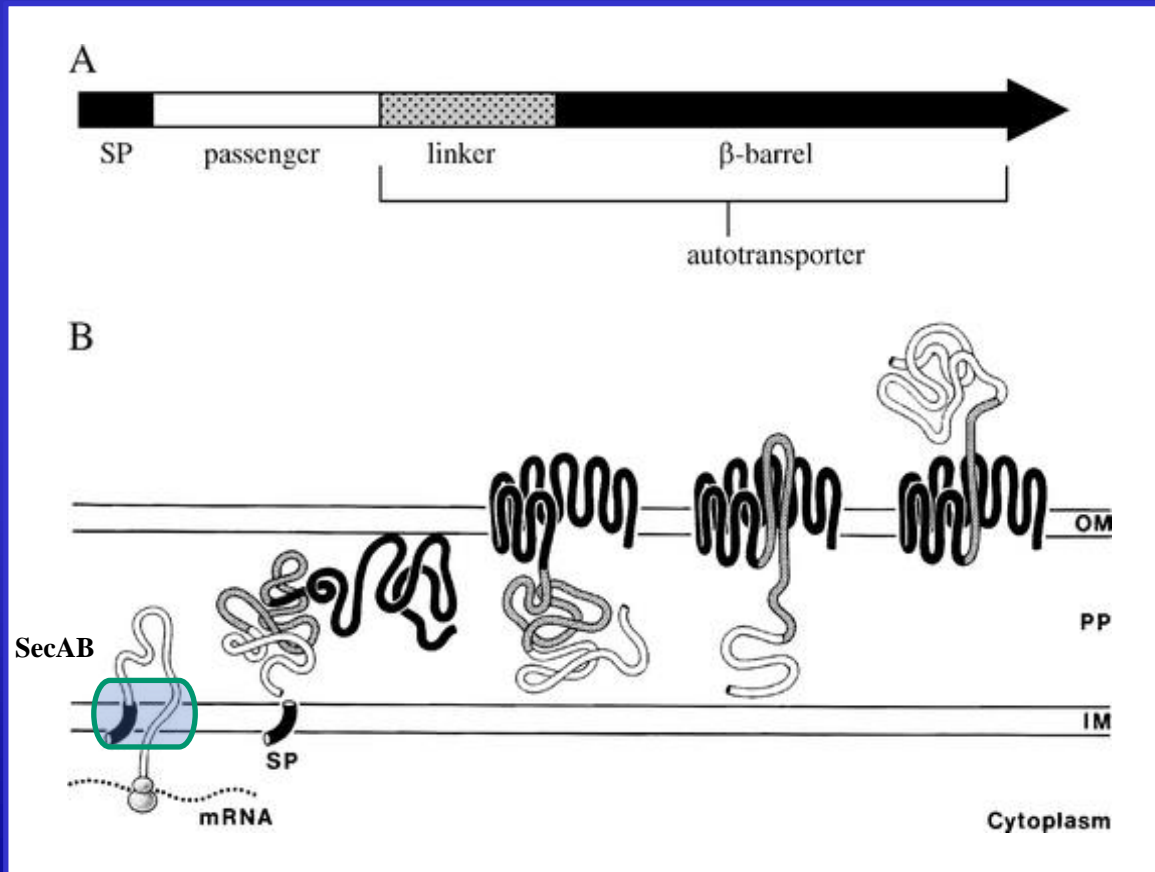
- Two partner secretions (TPS)
- Sistema Chaperon/usciera (Chaperon/Usher)
- Autotrasportatore



## Sistemi sec-dipendenti

# TIPO V «autotrasportatore»

es. IgA proteasi di *Neisseria gonorrhoeae*



## TIPO I

**Il sistema di tipo I è stato ben caratterizzato per la secrezione dell'emolisina di *E.coli* ma è stato messo in relazione anche alla secrezione di tossine, proteasi e lipasi.**

**Si tratta di un sistema sec-indipendente ma che utilizza una sequenza identificativa presente sulla proteina da secernere.**

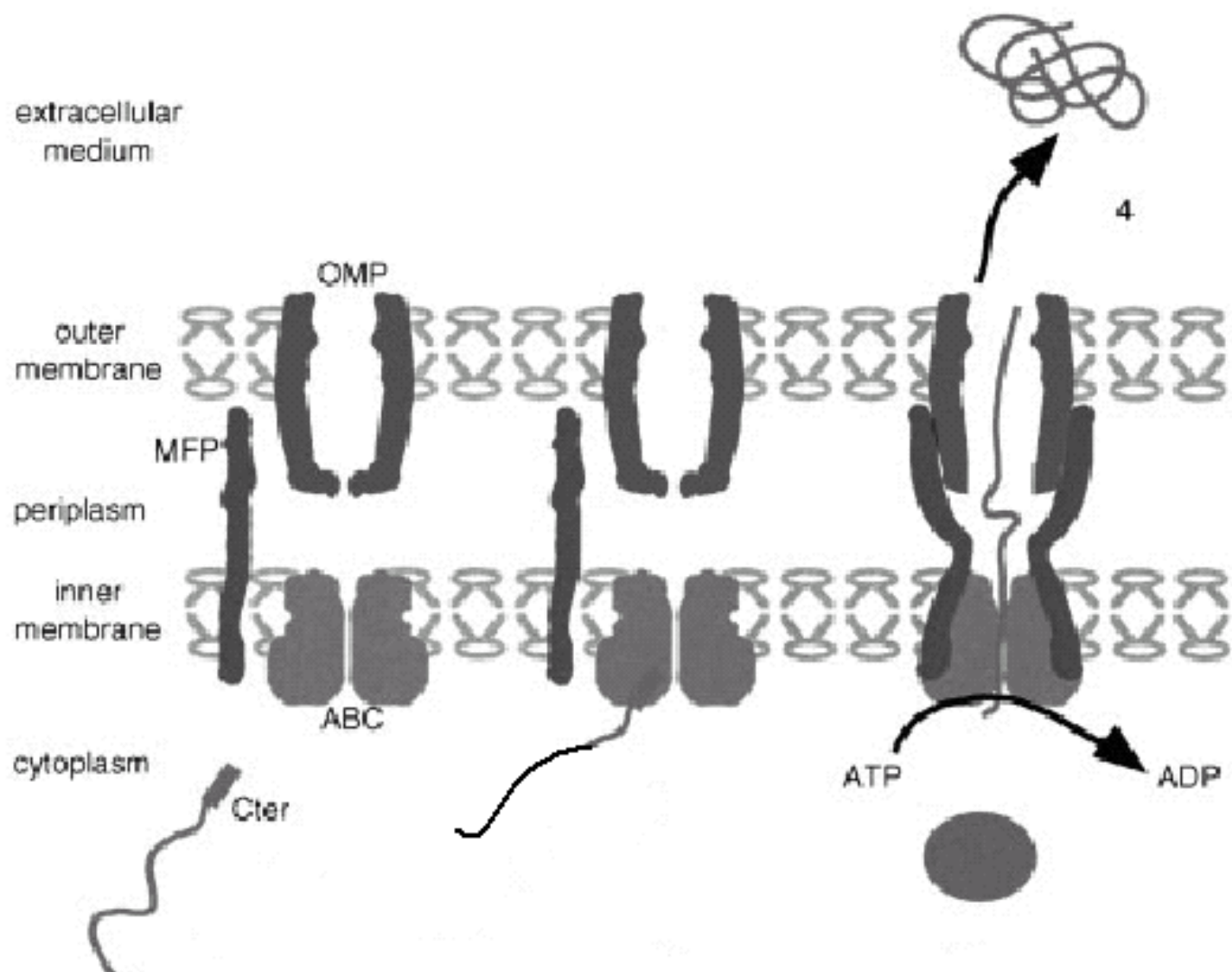
**Una delle caratteristiche distintive è che questa sequenza (contenente ripetizioni di GGXGXDXXX) si trova nella regione COOH terminale della proteina !**

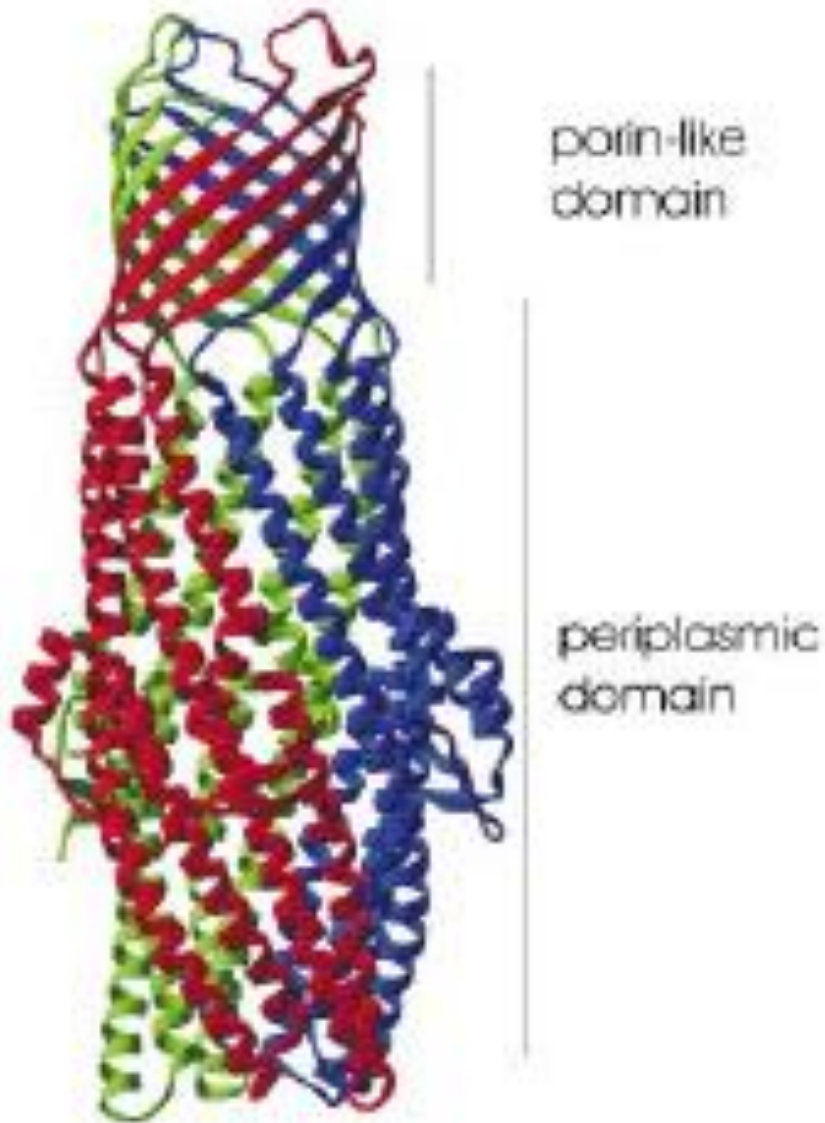
**Il sistema è composta da tre fattori:**

- **ABC (ATP binding cassette) transporter,**
- **MFP (membrane fusion protein)**
- **OMP (outer membrane protein)**

**La proteina ABC forma un canale attraverso la membrana interna ma rimane chiuso finché non interagisce con la proteina da secernere, il complesso MFP+OMP in presenza di ATP.**

**Solo in questa situazione il “canale si apre e, attraverso il consumo di ATP trasferisce la proteina attraverso il complesso MFP+OMP**





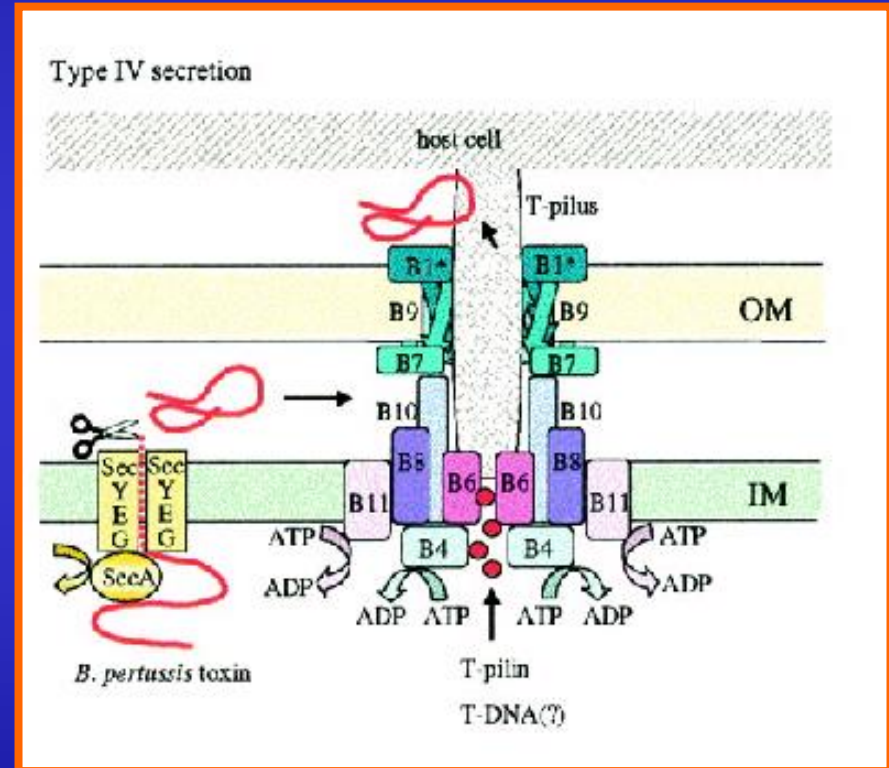
**La proteina OMP è spesso costituita dalla proteina TolC che è stata ben caratterizzata in molti microrganismi e messa in relazione a molti sistemi di secrezione proteica.**



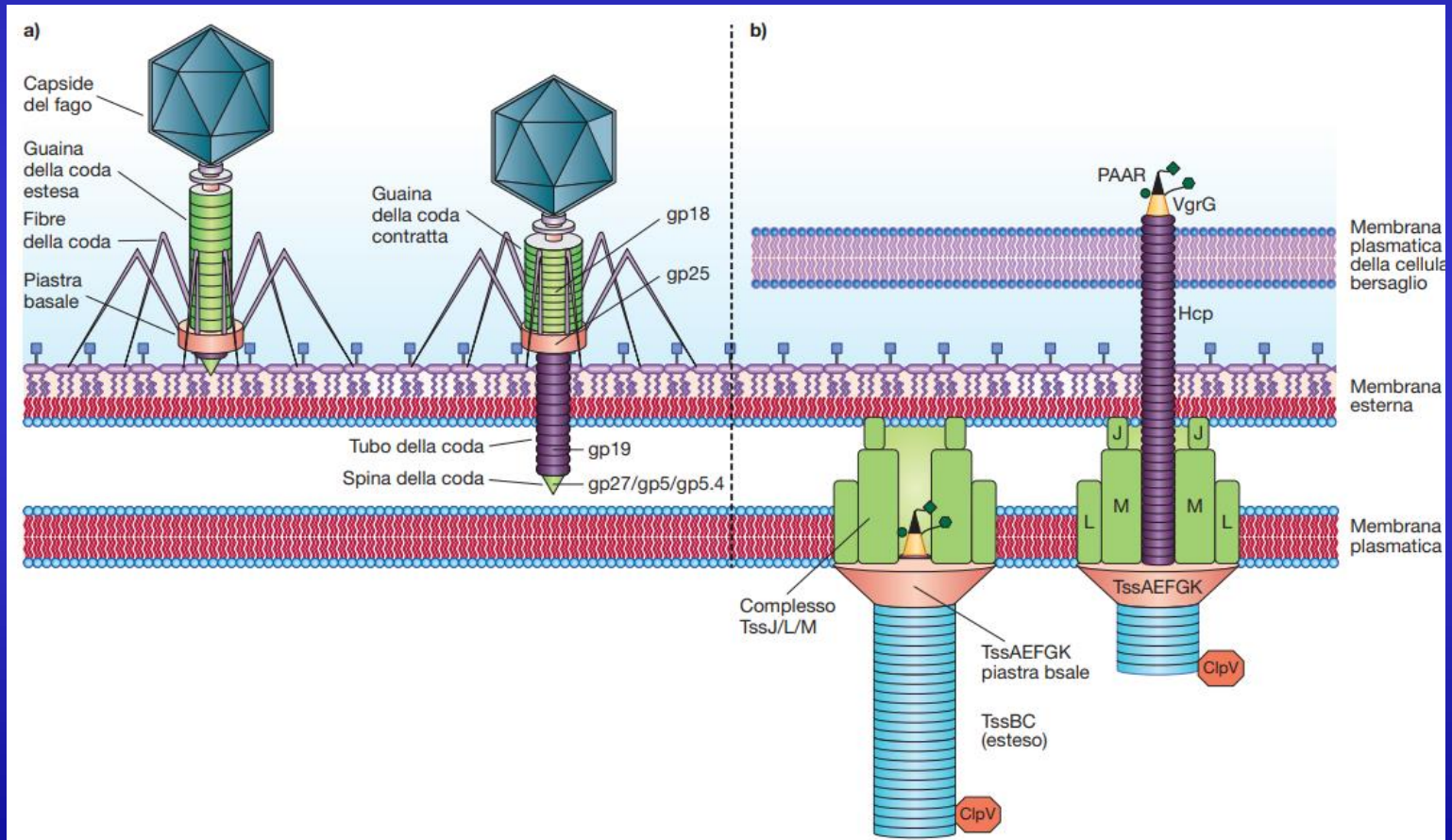
## Sistemi sec-indipendenti

### TIPO IV

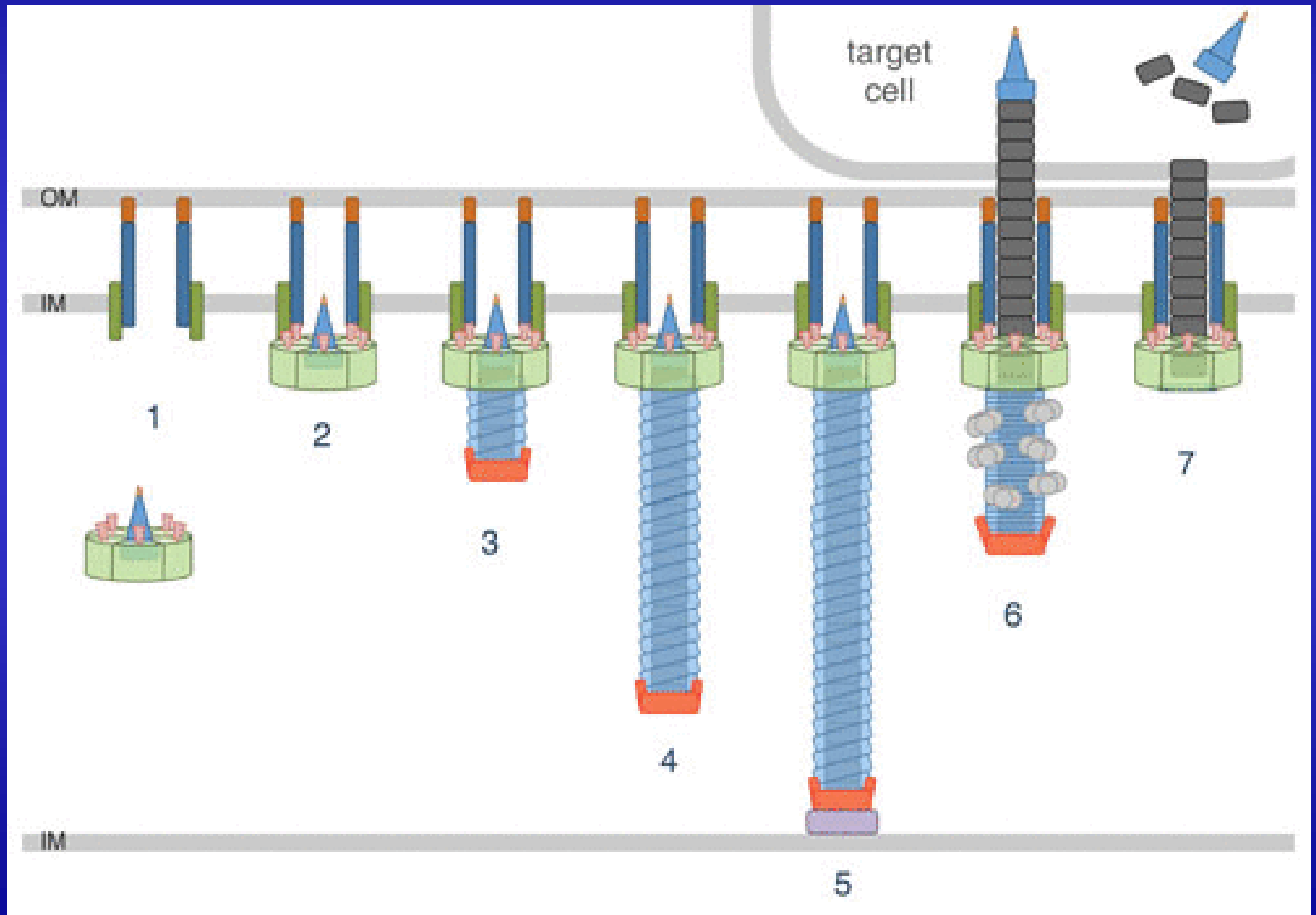
Si tratta di un sistema di secrezione sfruttato per la sintesi dei pili specifici come quelli per la coniugazione o per processi infettivi come quelli di alcuni patogeni vegetali (*Agrobacterium tumefaciens* e *rizhogenes*). Lo stesso sistema può essere utilizzato per la secrezione di tossine la cui esportazione può essere sec-dipendente.



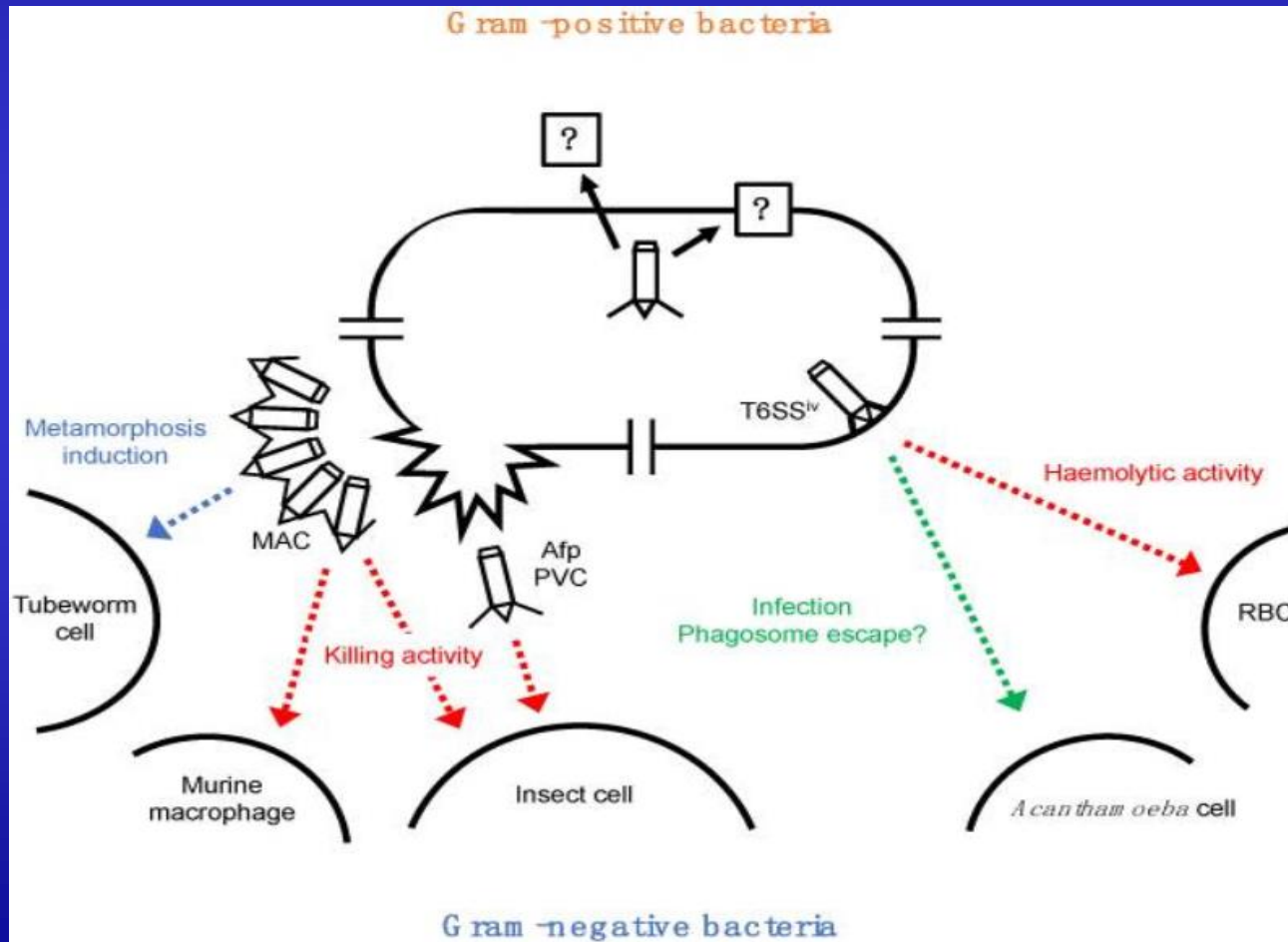
# Tipo VI



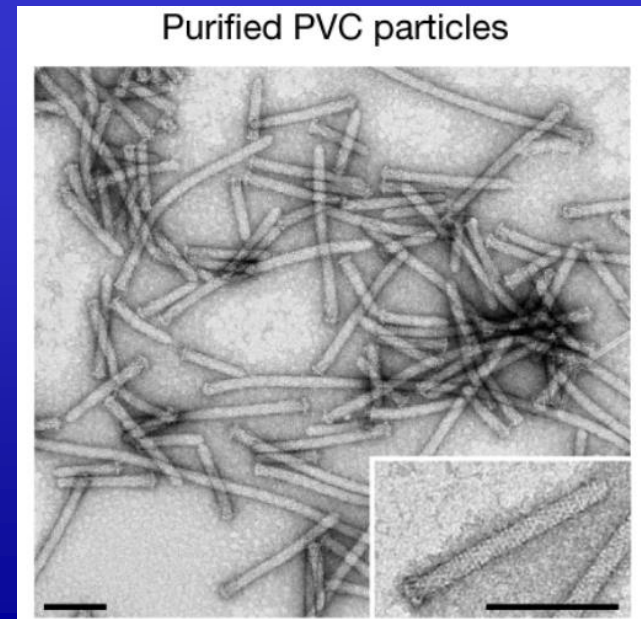
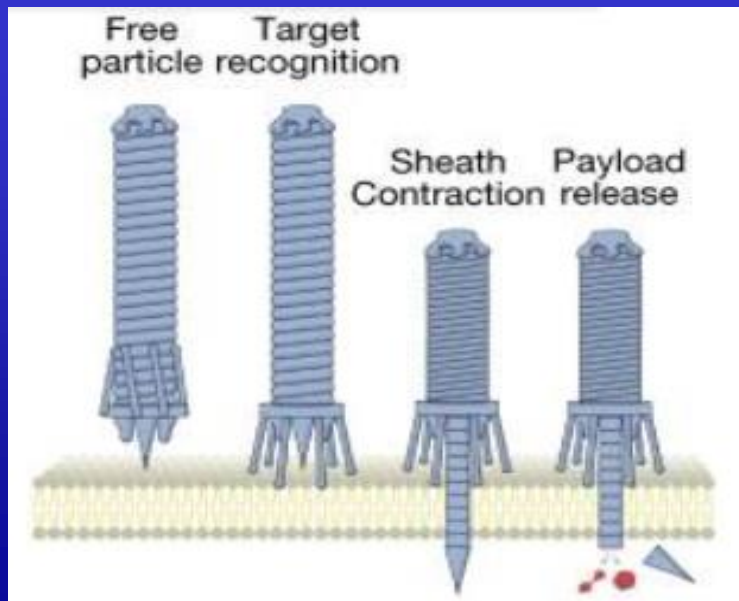
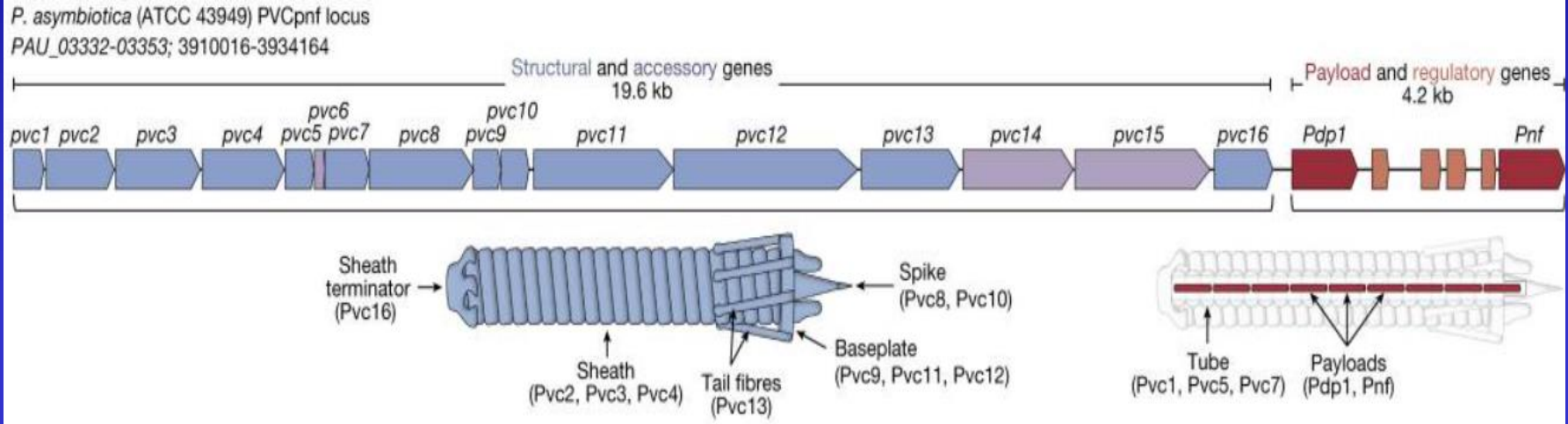
# Assemblaggio tipo VI



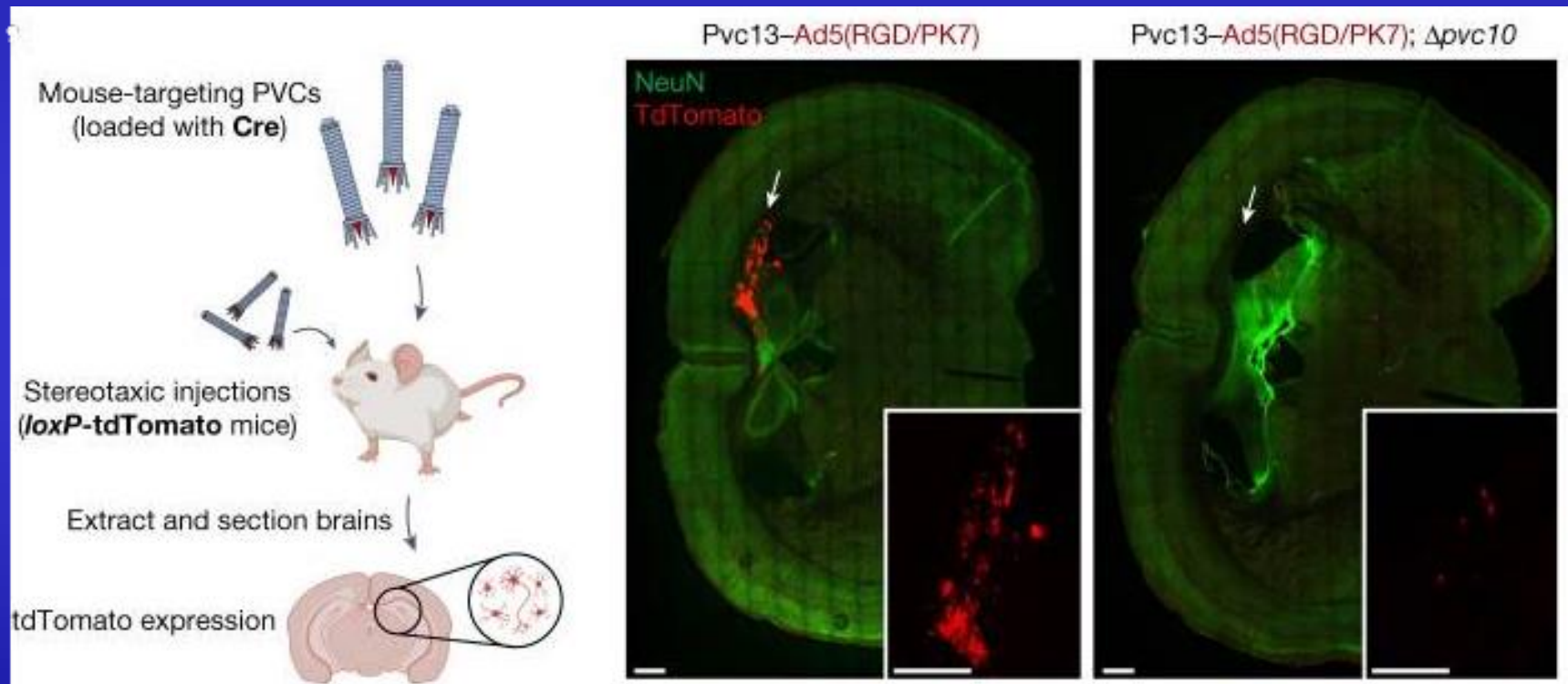
# sistemi di iniezione extracellulari (eCIS): un tipo particolare di sistema di traslocazione derivato dal tipo IV



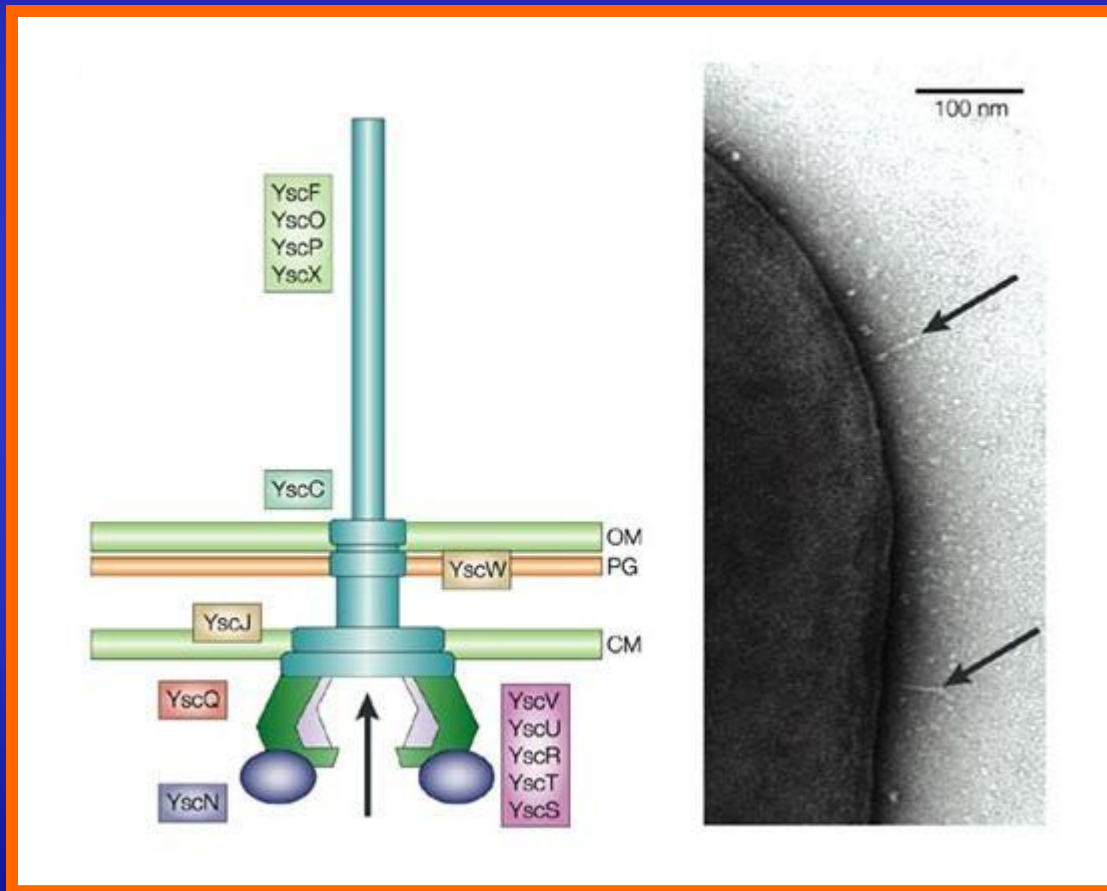
# eCIS di *Photorhabdus asymbiontica*: Photorhabdus virulence cassette (PVC)



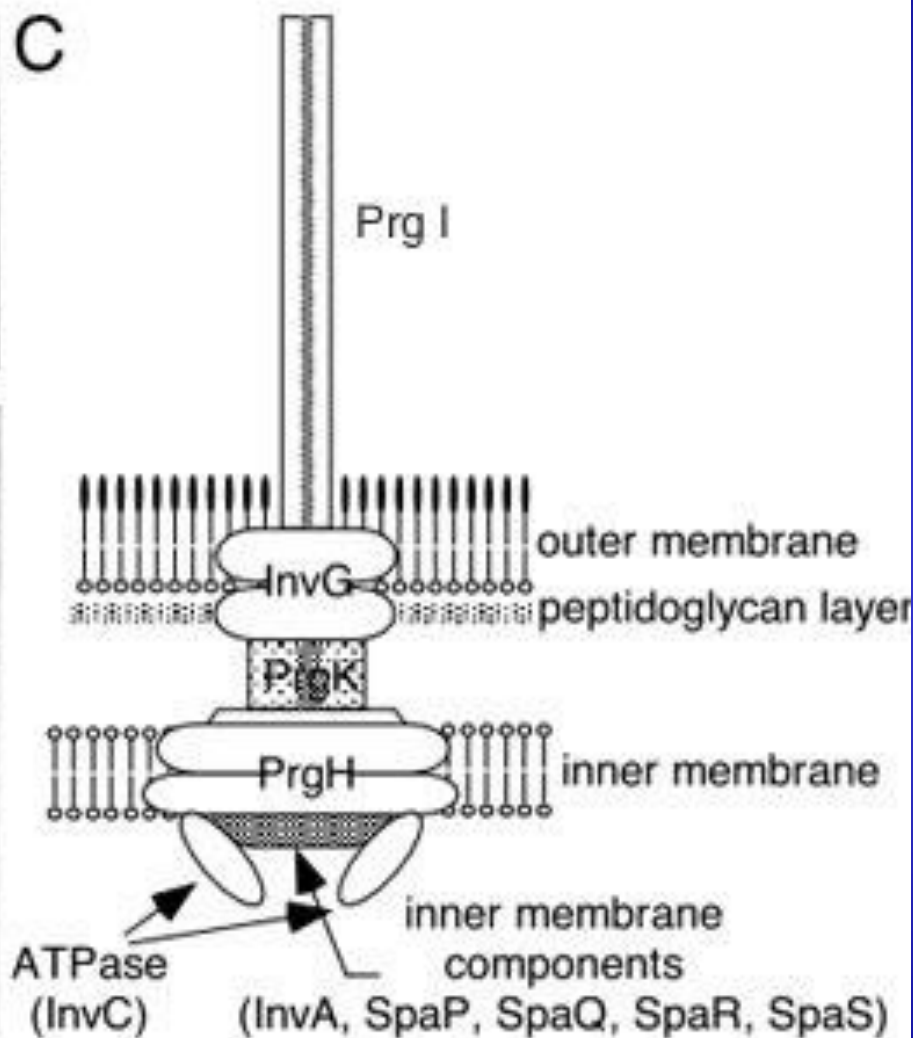
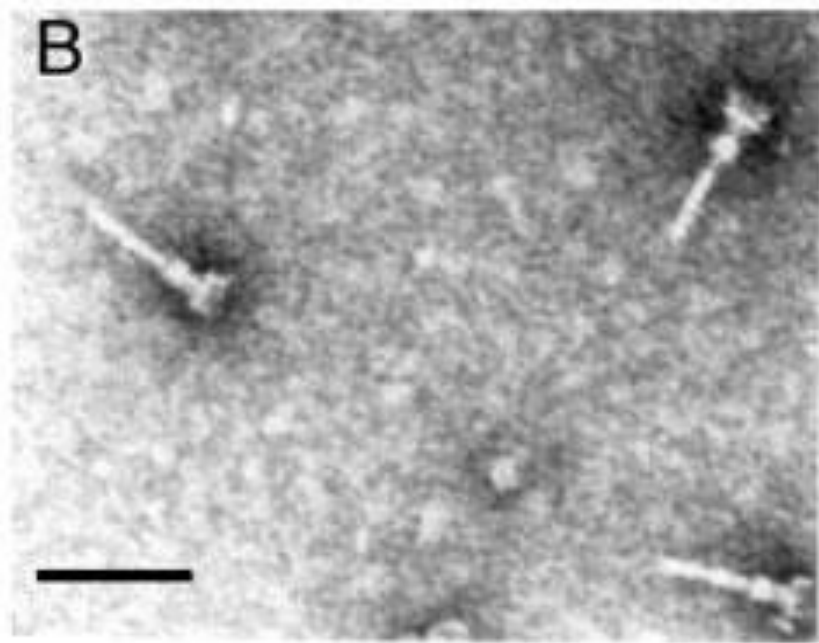
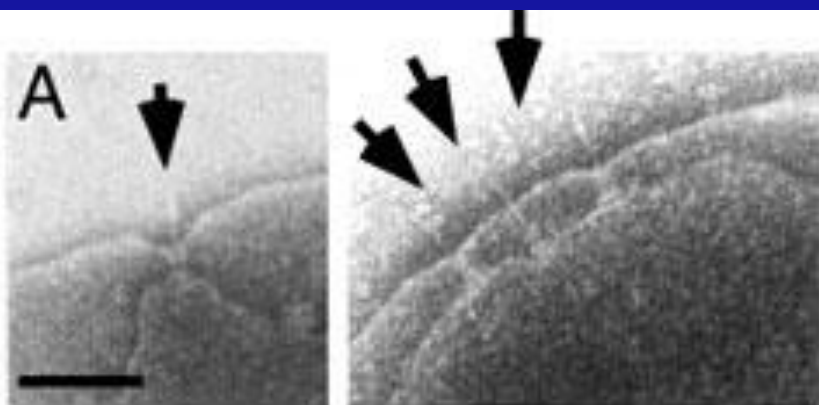
# Applicazione biotecnologica degli eCIS nel «drug delivery»



# Sistemi di Traslocazione: Tipo III



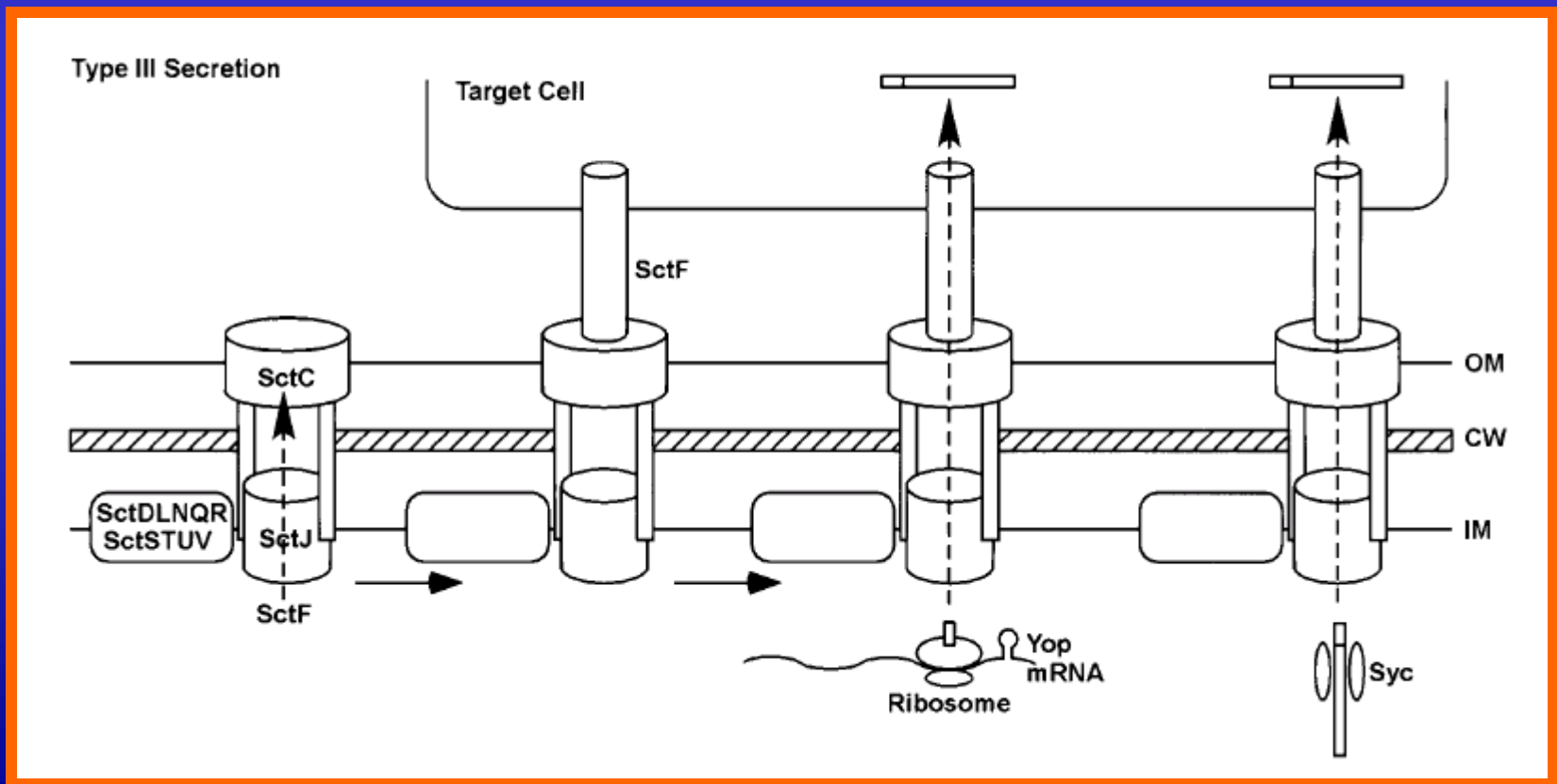
Il sistema di tipo III è particolarmente interessante perché è stato definito solo recentemente. Esso rappresenta un sistema di traslocazione

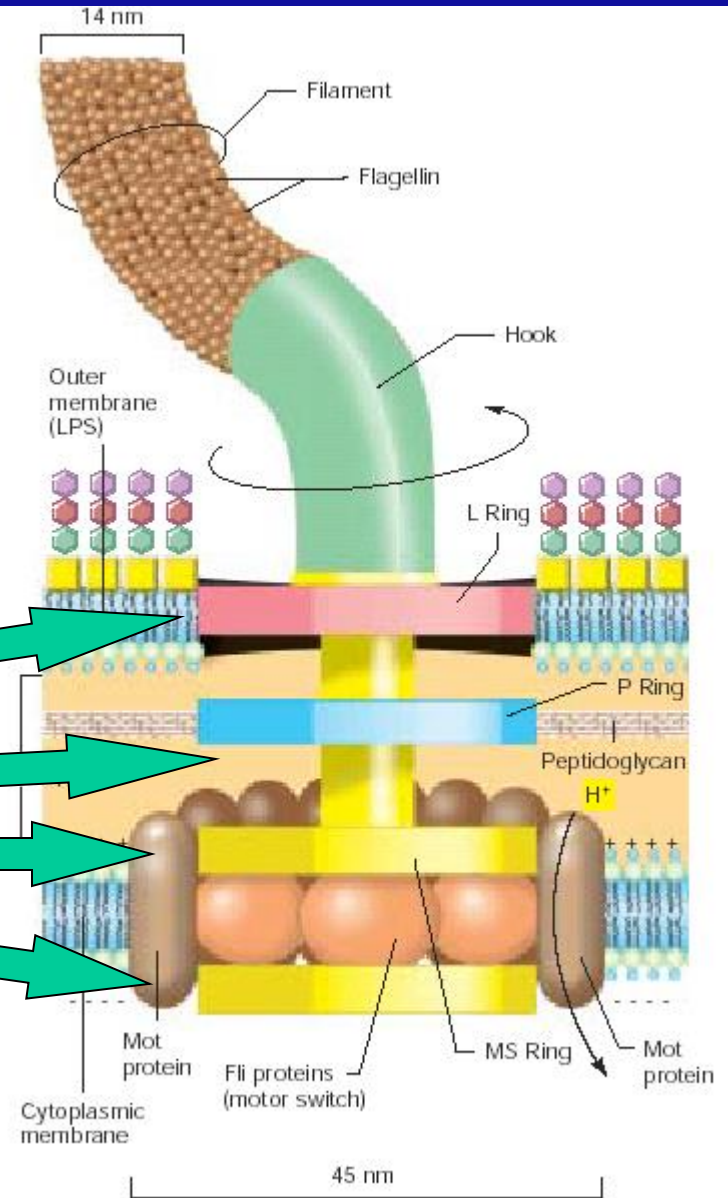
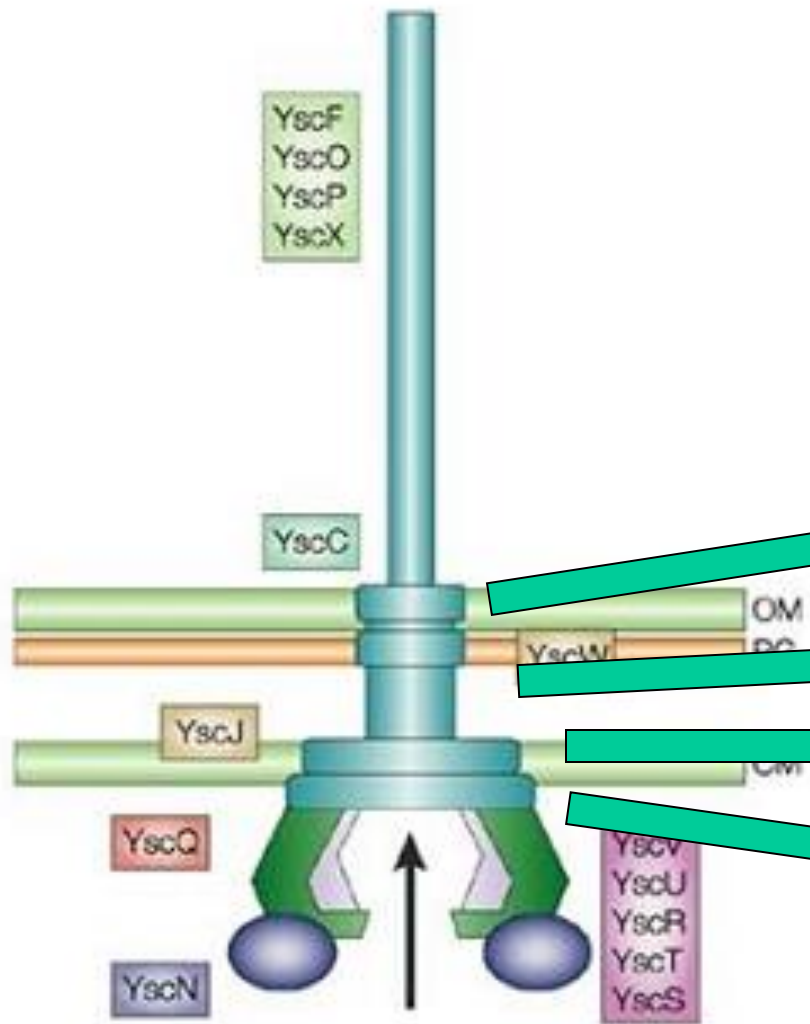




Un classico sistema di tipo III è quello identificato in *Yersinia enterocolitica*. Questo sistema di traslocazione viene utilizzato da questo microrganismo per iniettare le proteine (tossiche) nella cellula eucariotica durante l'infezione .....

Sistemi dello stesso tipo sono stati identificati in *Shigella* e *Salmonella*





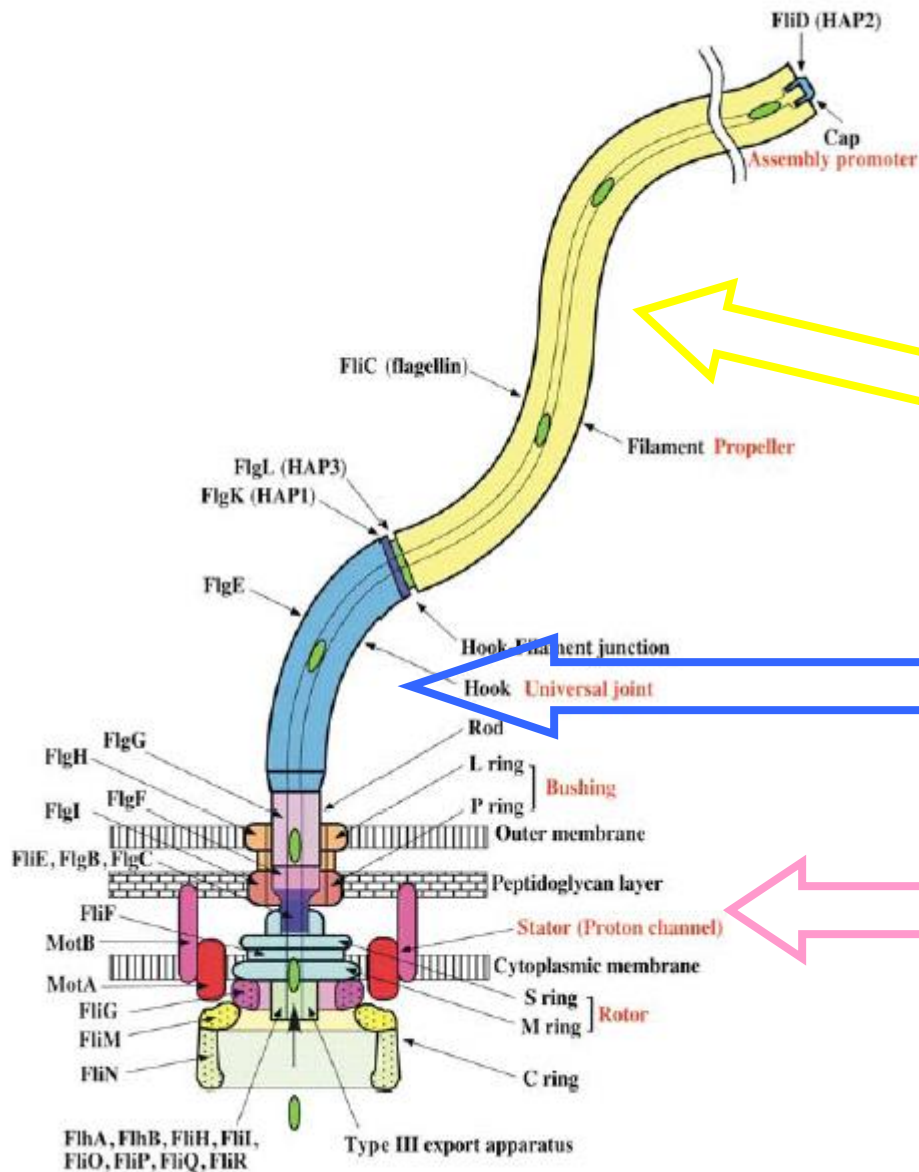
# BIOSINTESI DEL FLAGELLO

Il flagello è costituito da tre unità strutturali:

Il flagello propriamente detto

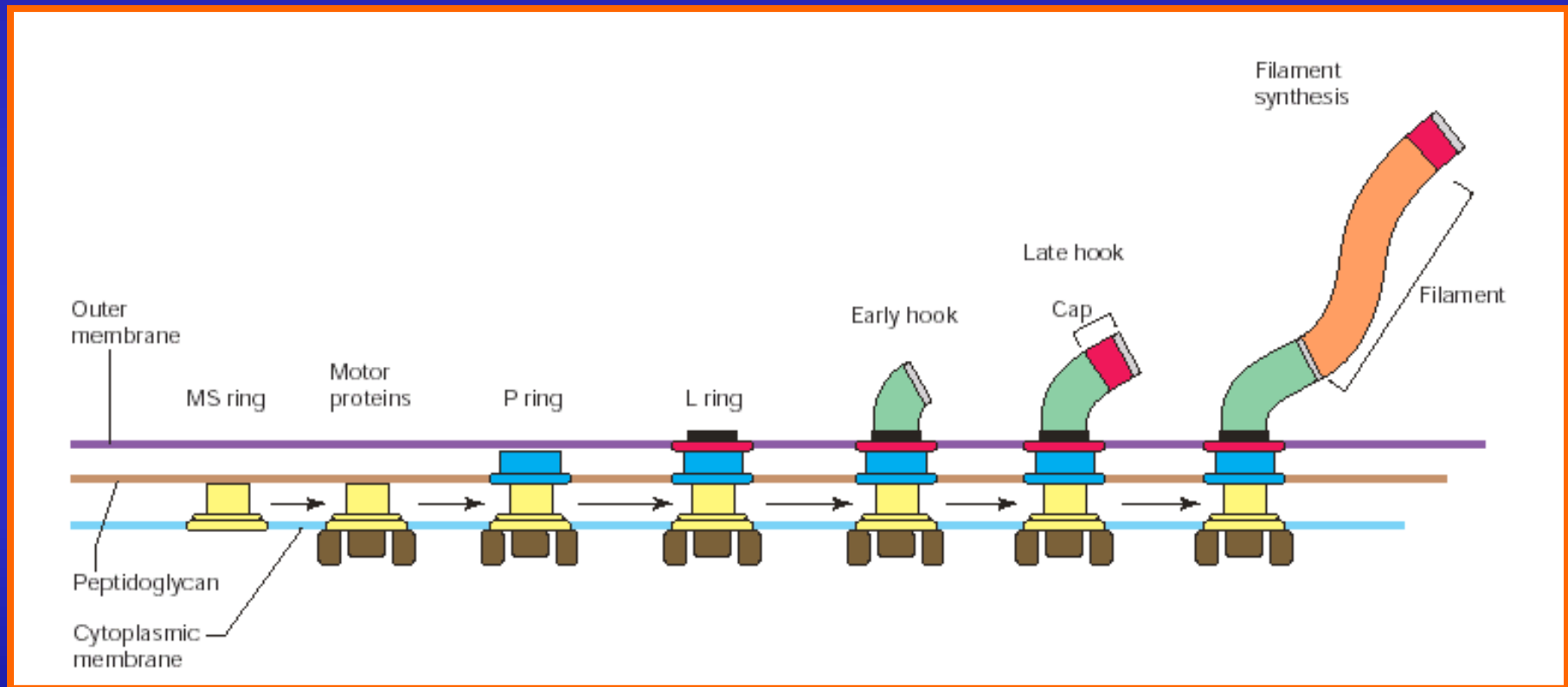
L'uncino

Il corpo basale



**La biosintesi del flagello procede dalle strutture più interne alla cellula verso le più esterne ...**

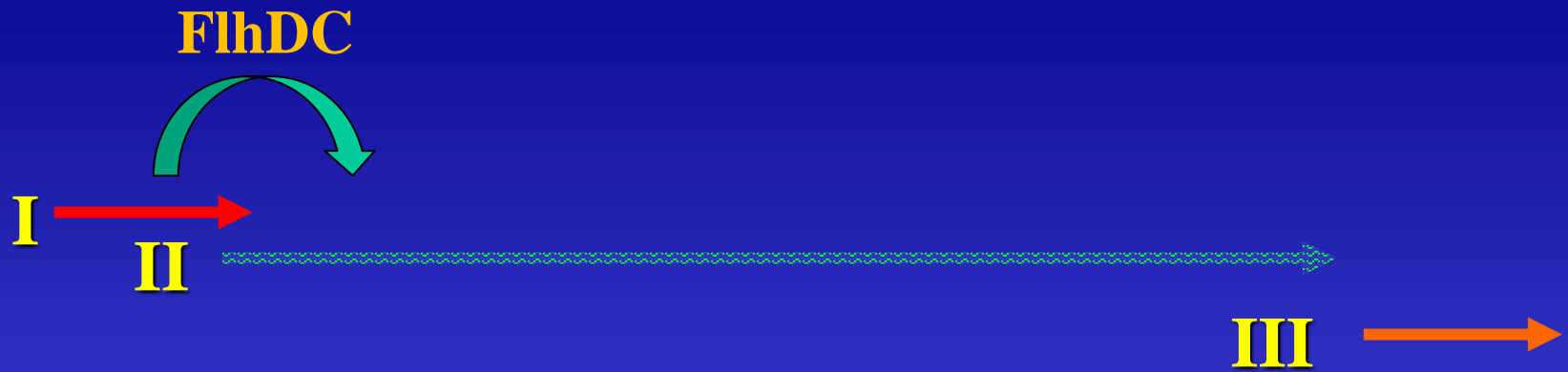
**I geni coinvolti in questo processo sono molti e sono stati suddivisi in tre gruppi (I, II e III)**



**I** →

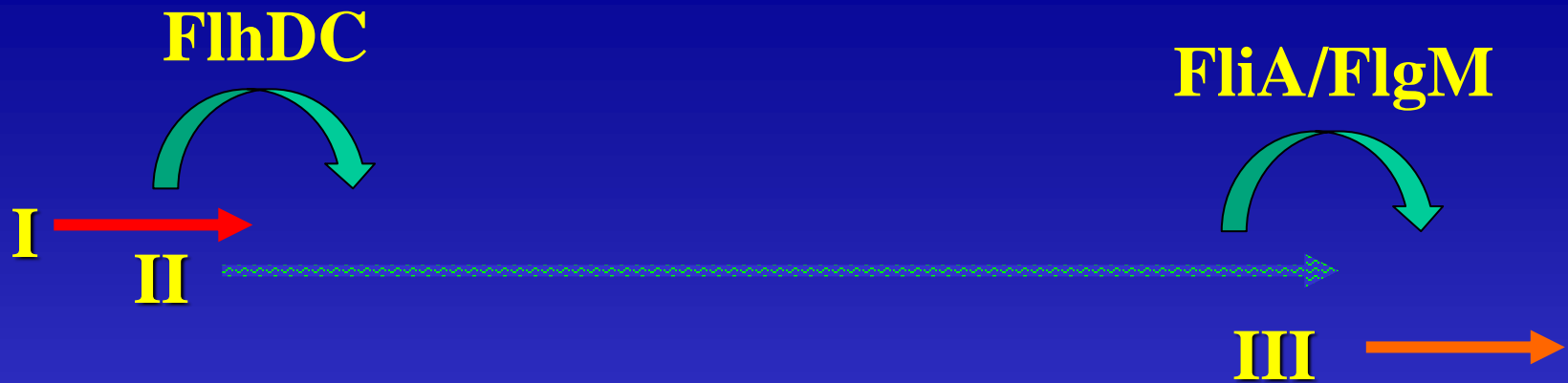
**II** →

**III** →



Questo processo è controllato sia a livello trascrizionale che post trascrizionale .....

Il primo gruppo di geni codifica soprattutto i geni regolatori (*flhDC*) che sono responsabili dell'attivazione trascrizionale dei geni del gruppo II.



Il secondo gruppo di geni è costituito principalmente da geni per le proteine strutturali del corpo basale e dell'uncino. Inoltre tra questi geni troviamo anche il gene *fliA* e *flgM* responsabili del controllo trascrizionale dei geni di tipo III

I geni di tipo III codificano le proteine strutturali del filamento flagellare

I geni *fliA* e *flgM* codificano rispettivamente un fattore  $\sigma$  ( $\sigma^{28}$ ) e il suo anti- $\sigma$ . Queste due proteine vengono sintetizzate contemporaneamente e, quindi  $\sigma^{28}$  non è subito libera di agire.

La sua attivazione richiede la eliminazione dal citoplasma cellulare dell'anti- $\sigma$ , e questo avviene solamente quando l'uncino è completato

Quando viene terminato l'uncino, il corpo basale del flagello inizia a trasferire all'esterno della cellula il fattore FlgM, liberando il fattore  $\sigma^{28}$  e permettendo la trascrizione dei geni di tipo III che porteranno al completamento della struttura del flagello.

