

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.

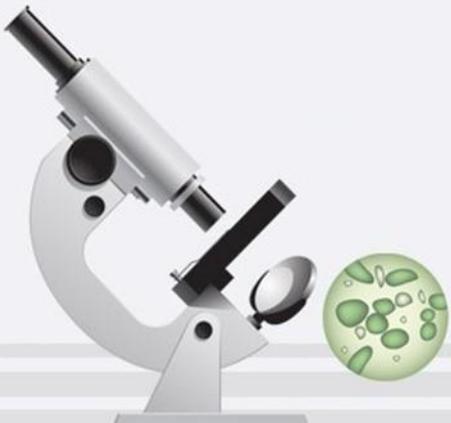
Infine, per traslocazione si intende il trasferimento di una proteina da una cellula ad un'altra.



ESPORTAZIONE NEI GRAM-NEGATIVI

Nei gram negativi sono stati individuati vari sistemi di esportazione delle proteine nello spazio periplasmatico:

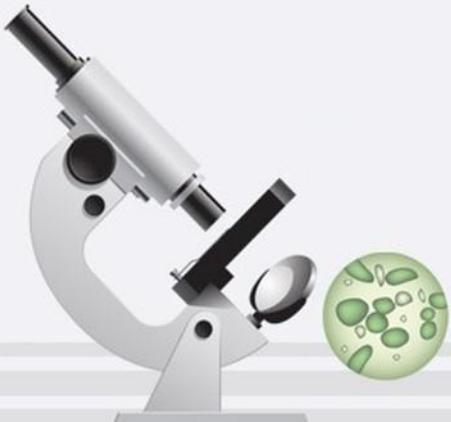
- **Il sistema secA/B**
- **Il sistema SRP**
- **Il sistema TAT**



ESPORTAZIONE NEI GRAM-NEGATIVI

Il sistema secA/B

E' un sistema di esportazione generale che sfrutta la presenza di un segnale aminoacidico all' NH_2 terminale della proteina. Questo segnale, dopo l'esportazione, viene eliminato da una peptidasi (Lep) anch'essa non specifica ...

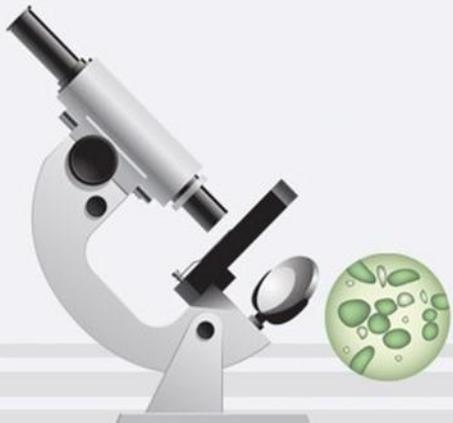
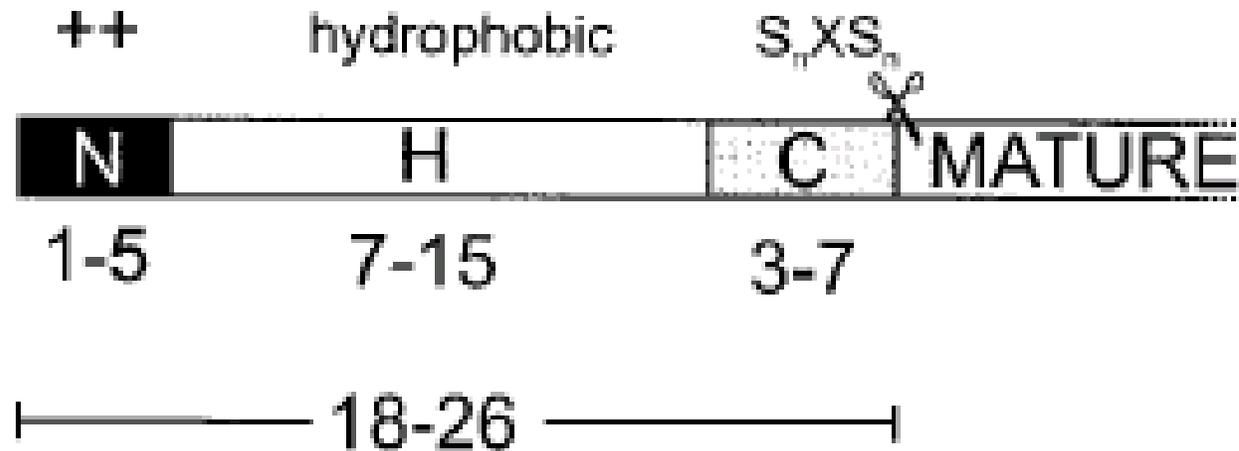


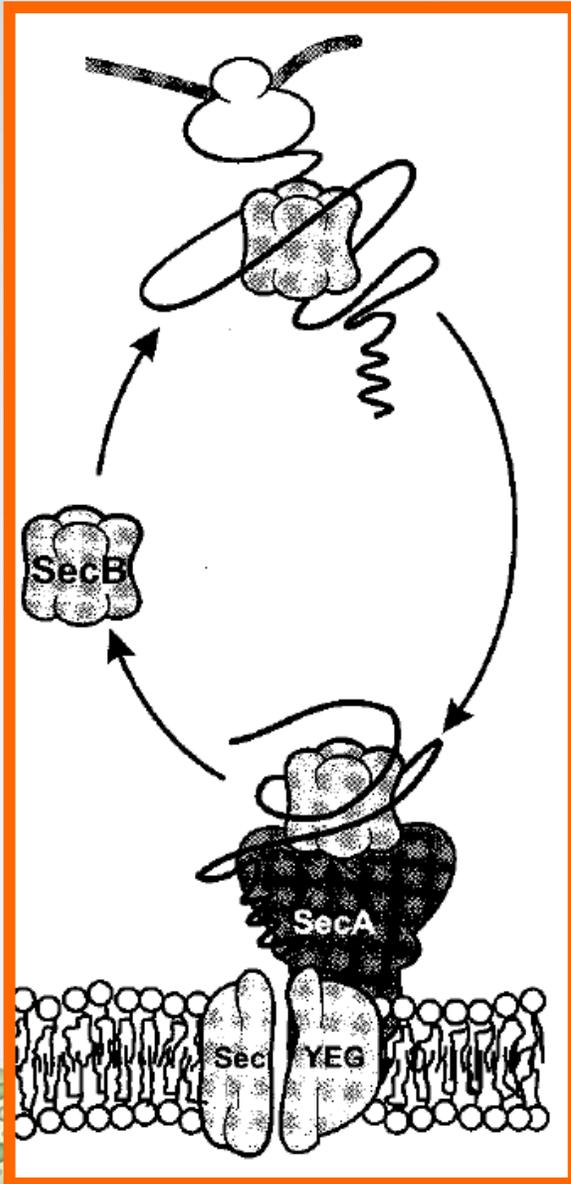
Gli attori del sistema secA/B

- 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 proteine della membrana interna ma rivolte verso lo spazio periplasmatico)



La tipica sequenza segnale per il sistema sec è caratterizzata da una regione NH₂ terminale con una forte carica netta positiva, seguita da una regione idrofobica e una regione contenente il sito di taglio della Lep

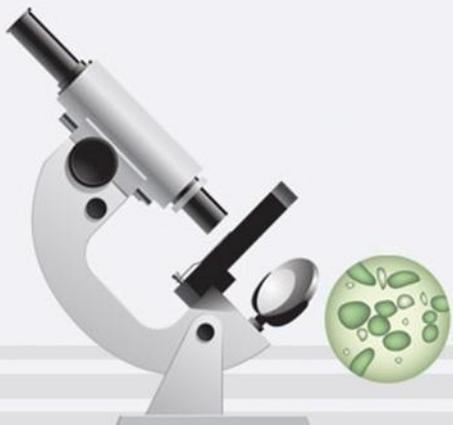
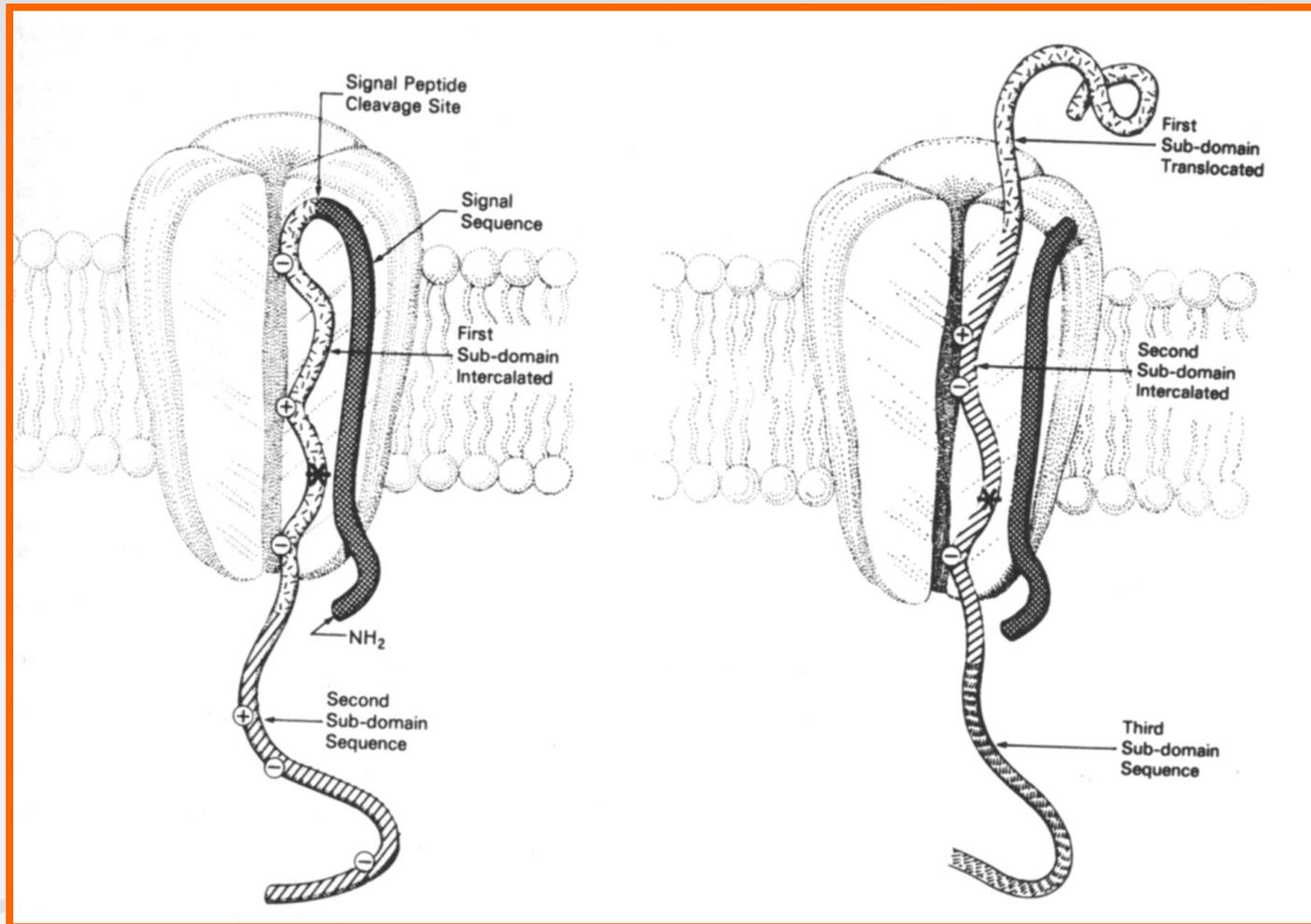




1. La proteina SecB interagisce con il segnale peptide della proteina da esportare durante la sua traduzione.
2. La trasporta al complesso SecA+YEG e l'affida a SecA.
3. SecA, attraverso il consumo di ATP inserisce e spinge la proteina attraverso il complesso SecYEG (circa 20 AA per unità di ATP).
4. Appena superato questo complesso una peptidasi (Lep) proteolizza il segnale dal resto del peptide attivando la proteina



Meccanismo di esportazione delle proteine con sequenza leader



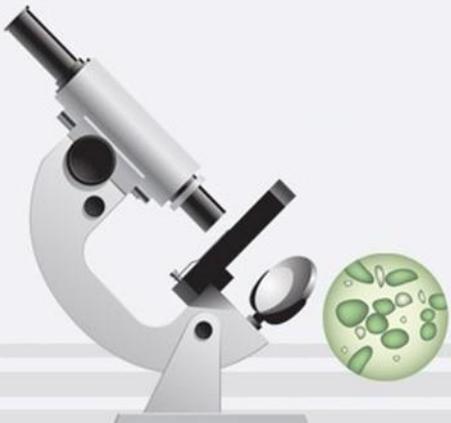


Nel caso del sistema SRP il processo è molto simile ma cambiano gli “attori”. In questo caso non abbiamo più le proteine SecA/B ma una piccola nucleoproteina (SRP) composta da una proteina (codificata dal gene *ffh*) e un piccolo frammento di RNA (4.5S).

Questo complesso sostituisce funzionalmente (pur non agendo da chaperonina) la proteina SecB.

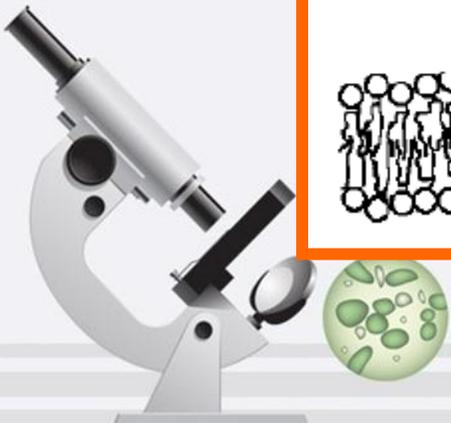
Il complesso SRP + preproteina viene diretto verso, e interagisce con, la proteina di membrana FtsY.

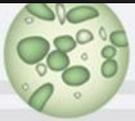
Questo nuovo complesso interagisce con SecYEG e permette l'esportazione della proteina attraverso il complesso trans-membranario.





Il meccanismo ricalca sostanzialmente quello visto per il sistema SecA/B ma non utilizza secA per il passaggio nel canale ed è specificatamente utilizzato per le proteine di membrana interna





TAT system (twin-arginine translocation)

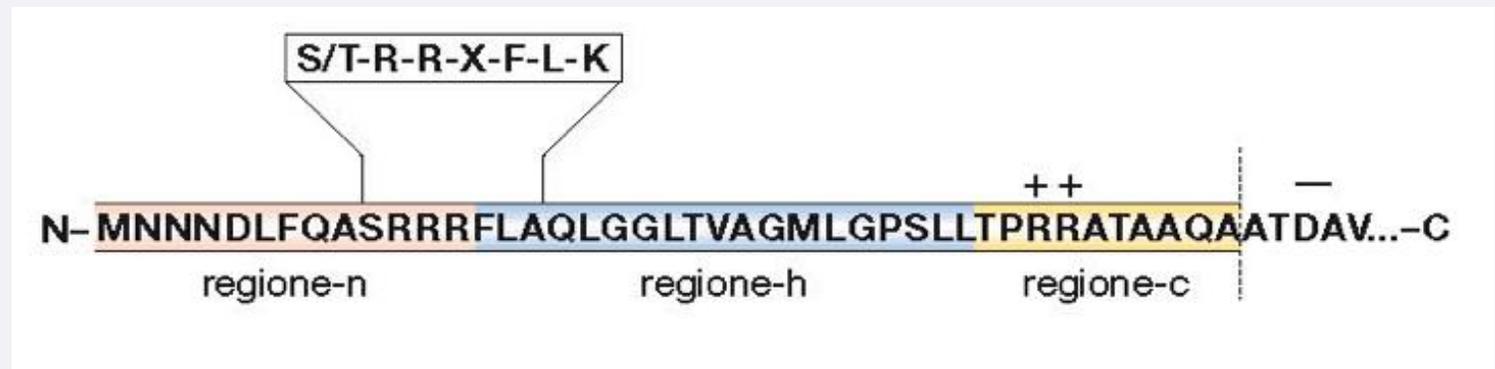
La caratteristica principale del Sistema TAT sta nella sua capacità di trasportare proteine già **ripiegate**, proteine che contengono **cofattori**, e/o proteine organizzate in **strutture quaternarie**

Sequenza segnale

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"**

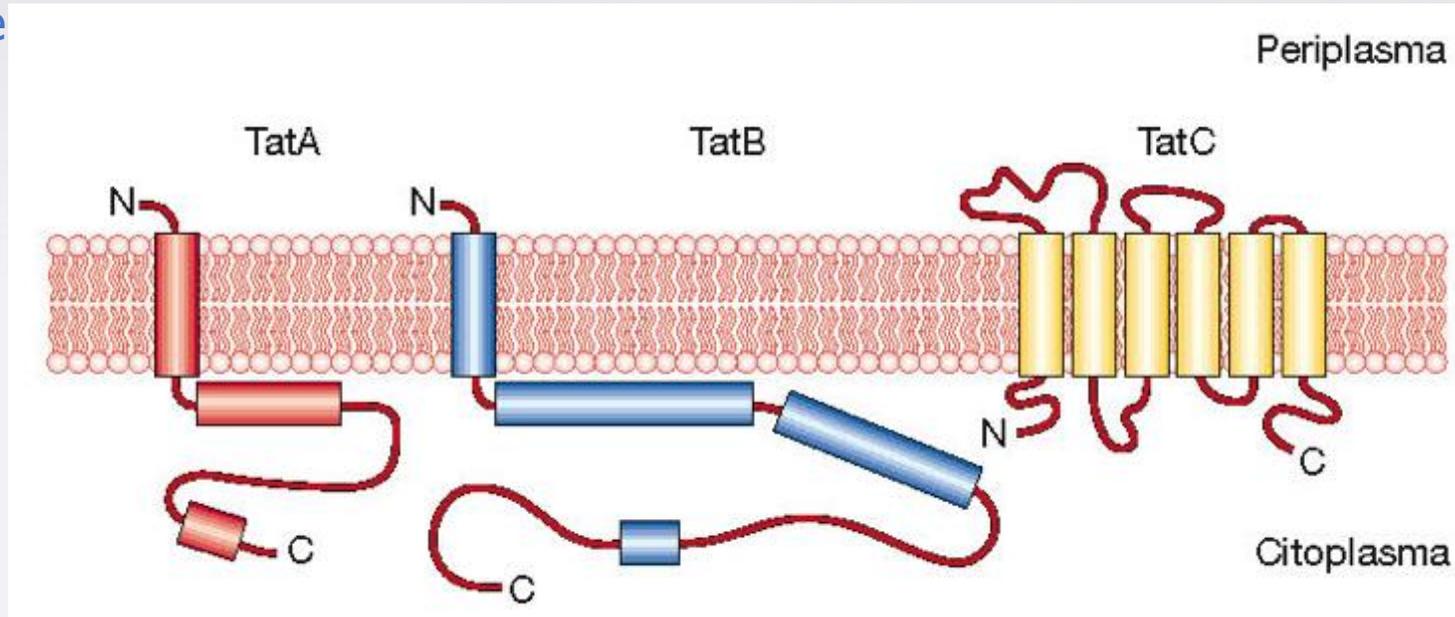
Ser/Thr-**Arg-Arg**-X-Phe-Leu-Lys



TAT system (twin-arginine translocation)

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

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

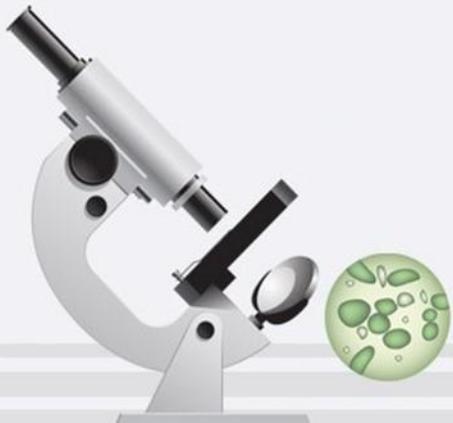
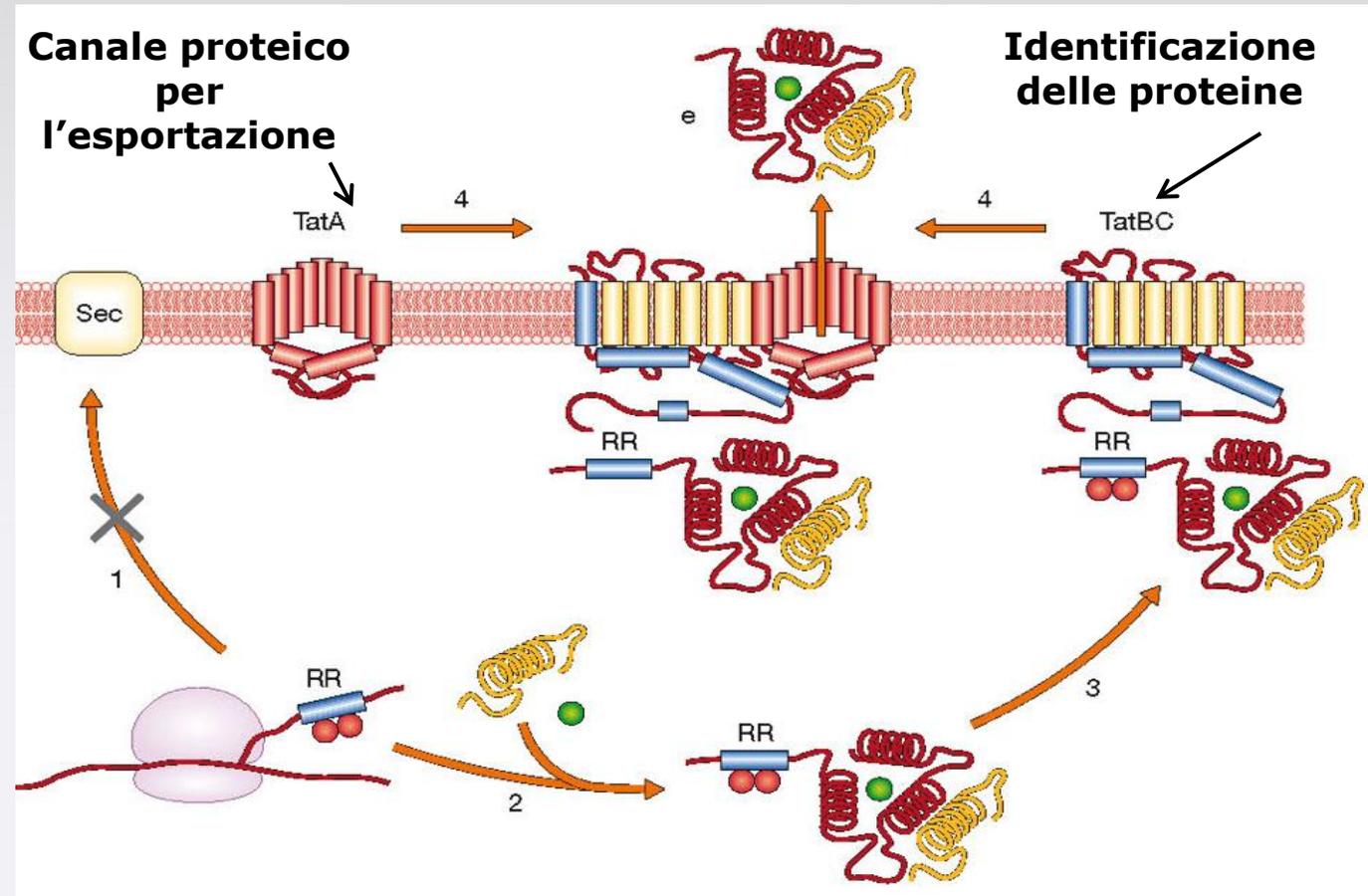


TatB e **TatC** sono responsabili del **riconoscimento della sequenza segnale TAT**



TAT system (twin-arginine translocation)

La proteina si associa al complesso TatBC, questo «richiama» il canale formato dal polimero di TatA attraverso il quale avviene l'esportazione. In seguito, nel periplasma, avviene la rimozione della sequenza segnale

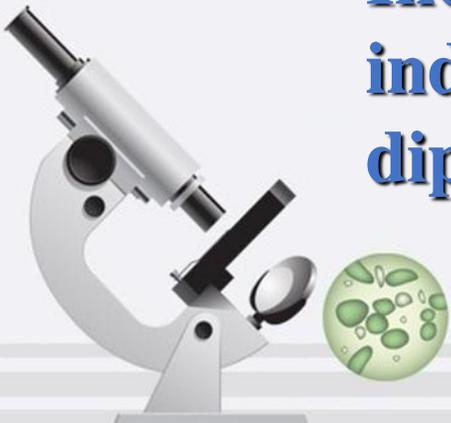


**Mentre i sistemi di esportazione sono per lo più generali
Quelli di secrezione sono molto più specifici !**

**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**

**Inoltre, 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 SEC DIPENDENTI: TIPO II

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

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

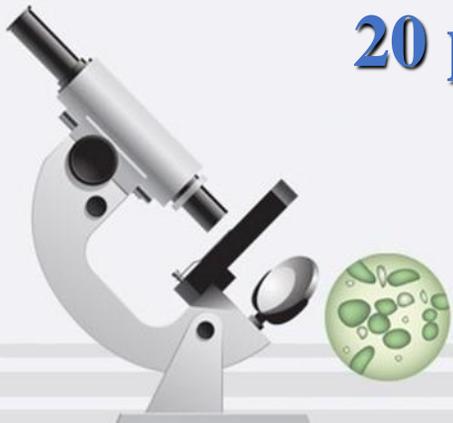
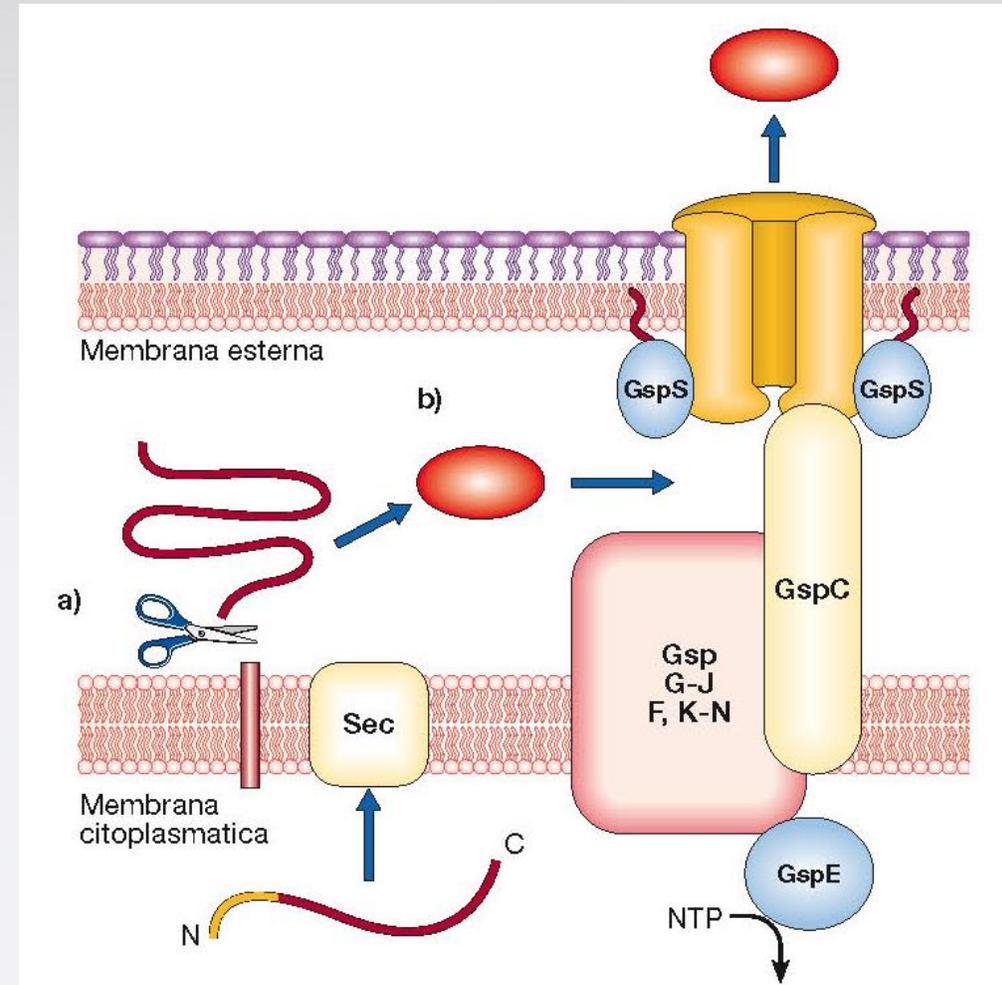
Le proteine secrete sono lipasi, proteasi e tossine ma il prototipo si basa sul sistema della pullolanasi di *Klebsiella oxytoca*



TIPO II:

la pullulanasi di *Klebsiella oxytoca*

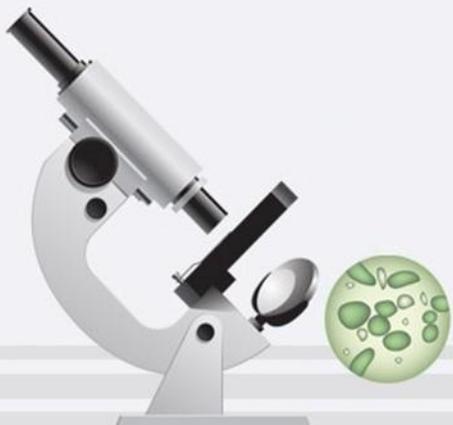
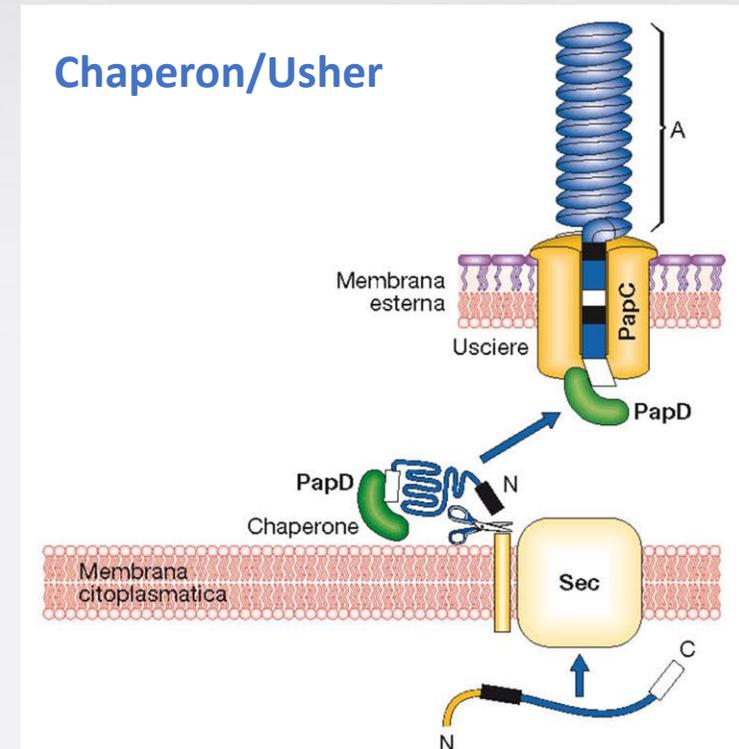
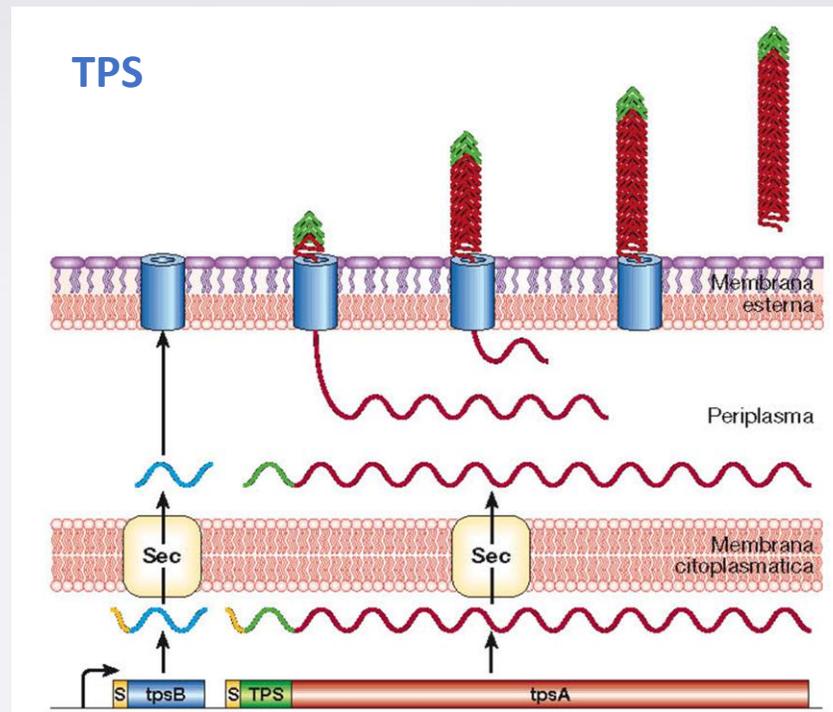
In questo caso il complesso di proteine responsabile per il trasporto della proteina attraverso la membrana esterna può contenere da 12 a 20 proteine !!!!!



SISTEMA DI SECREZIONE SEC DIPENDENTI: TIPO V

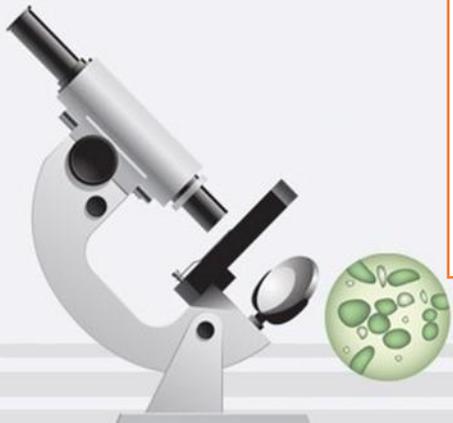
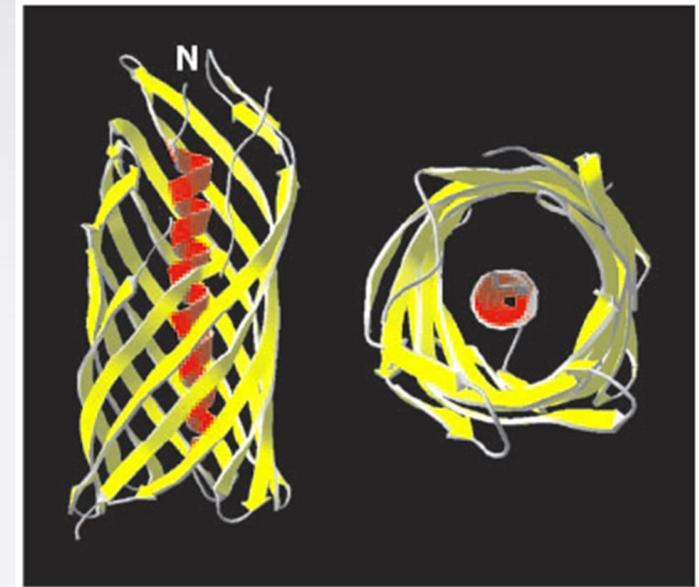
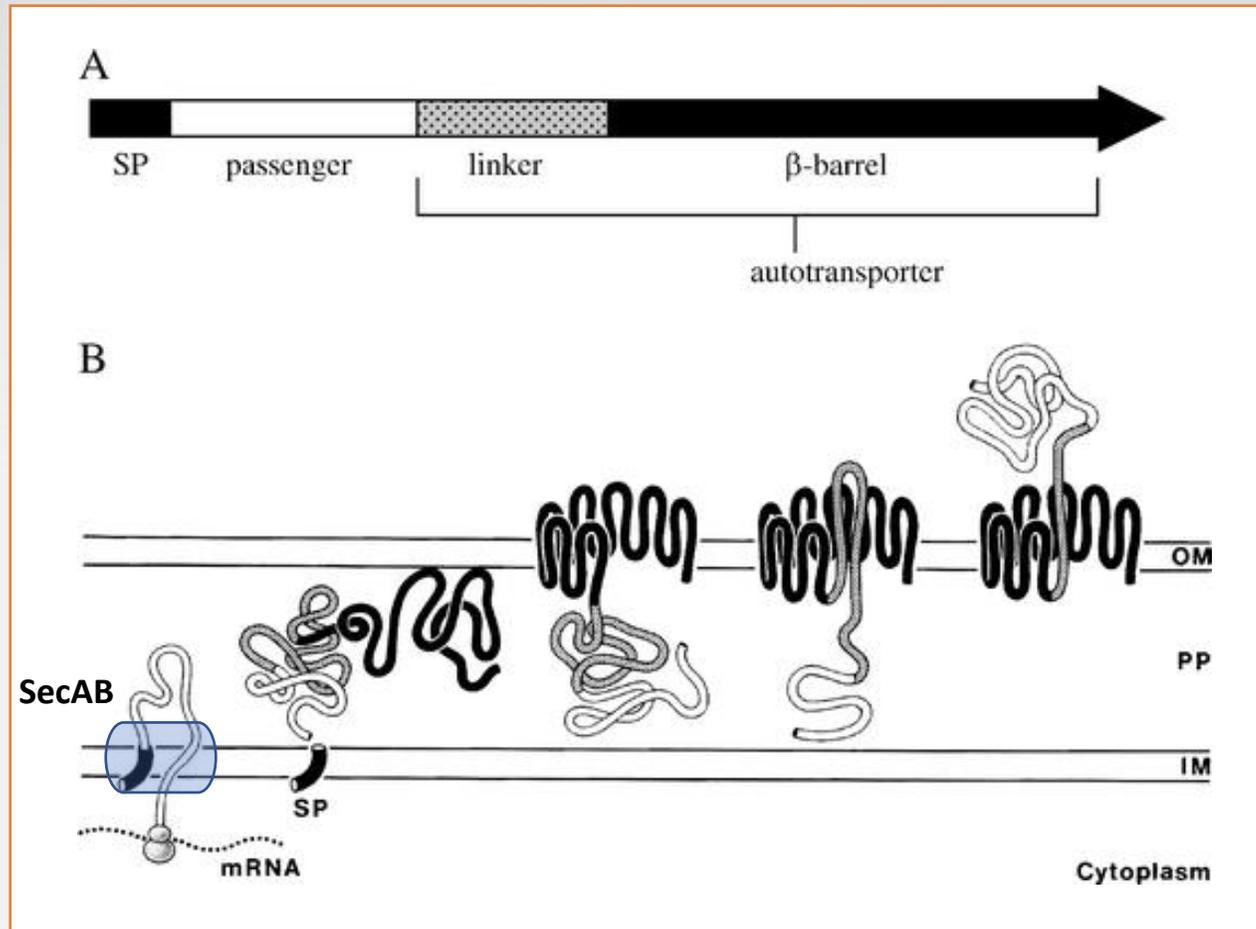
Ne esistono ad oggi almeno 5 varianti , le tre più importanti sono:

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



SISTEMA DI SECREZIONE SEC DIPENDENDENTI: TIPO V autotrasportatore

es. IgA proteasi di *Neisseria gonorrhoeae*



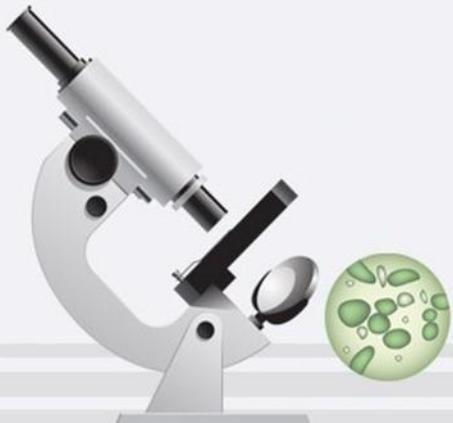
SISTEMI *sec* INDIPENDENTI: TIPO I, III, IV E VI

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 **GGXGDXXX) si trova nella regione **COOH** terminale della proteina !**

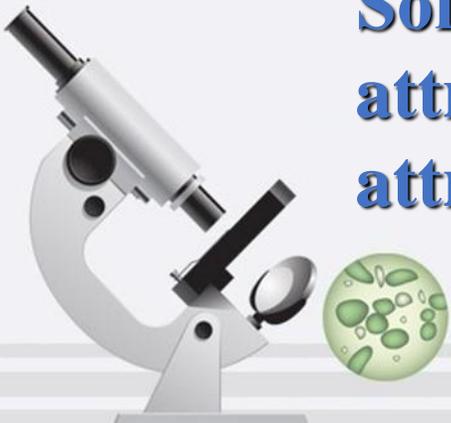


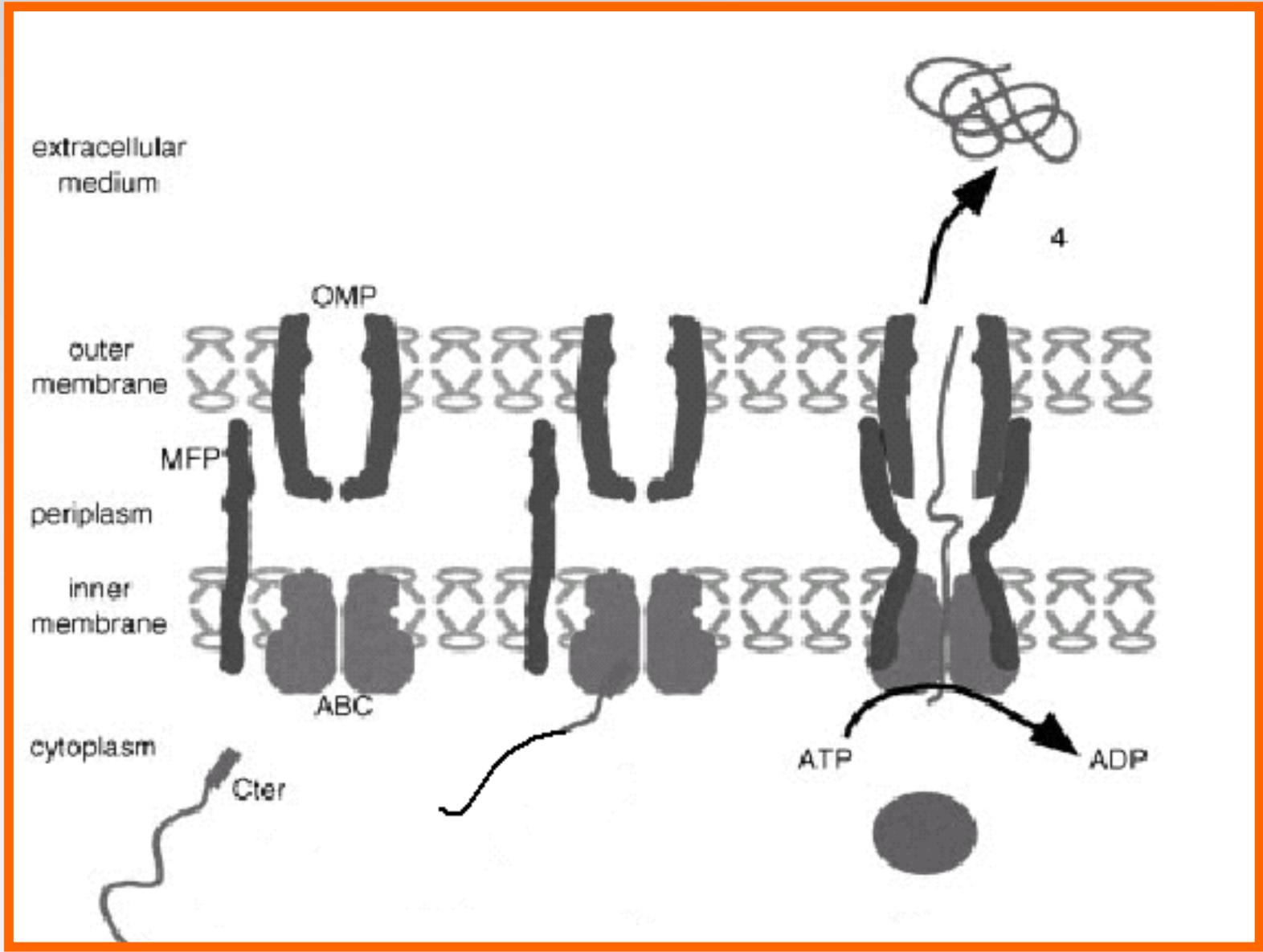
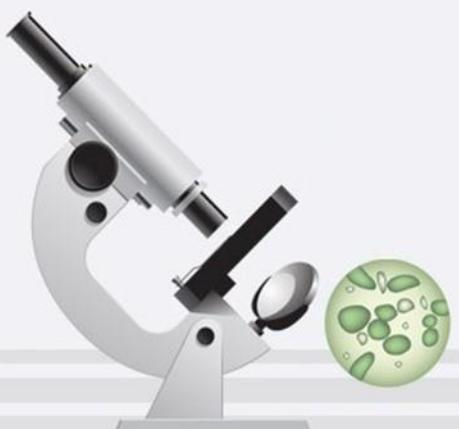
Il sistema è composta da tre fattori:

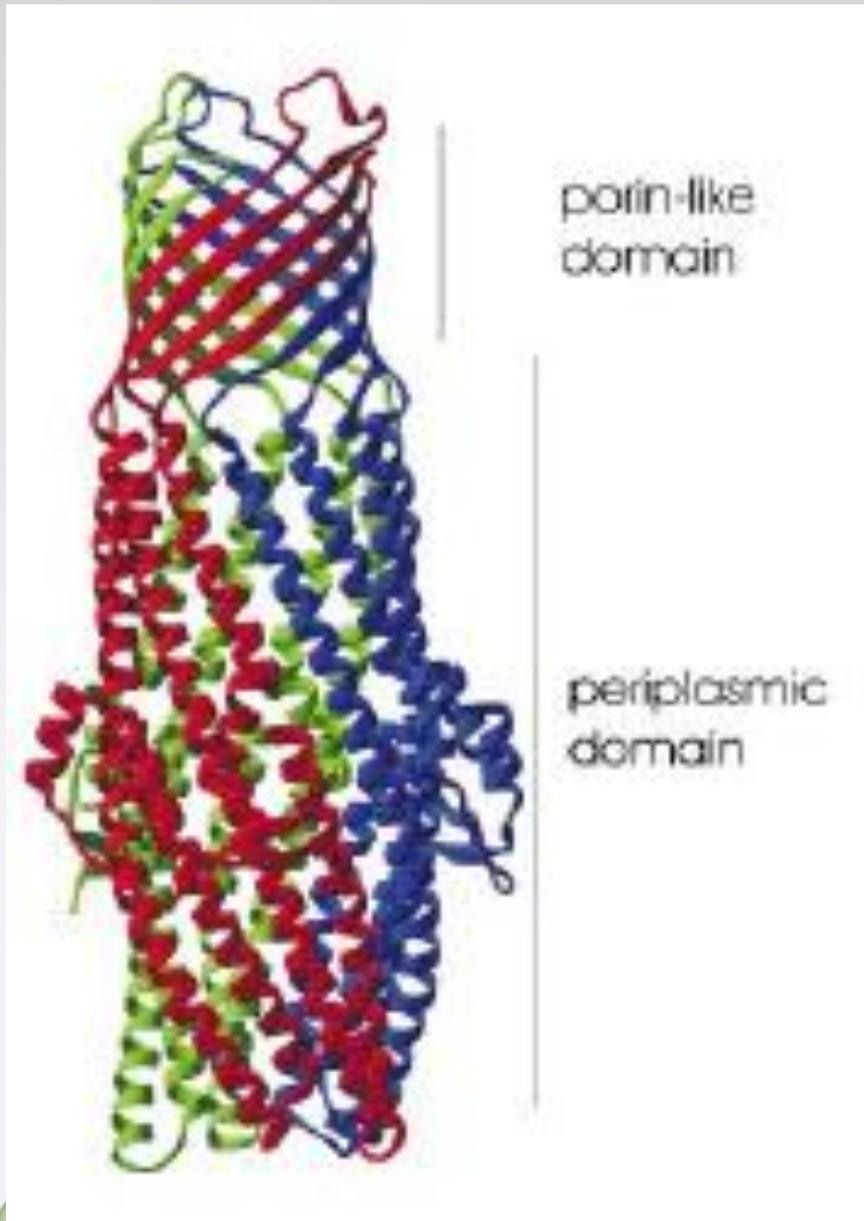
Un ABC (ATP binding cassette) transporter, una MFP (membrane fusion protein) ed un OMP (outer membrane protein).

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





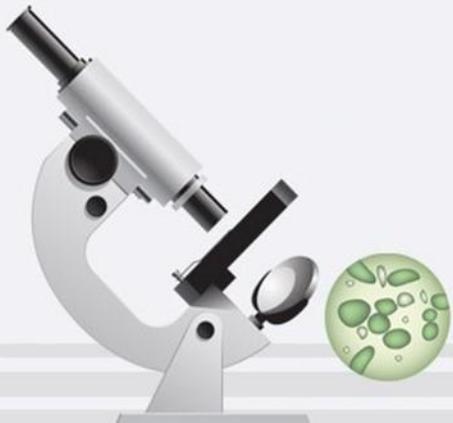
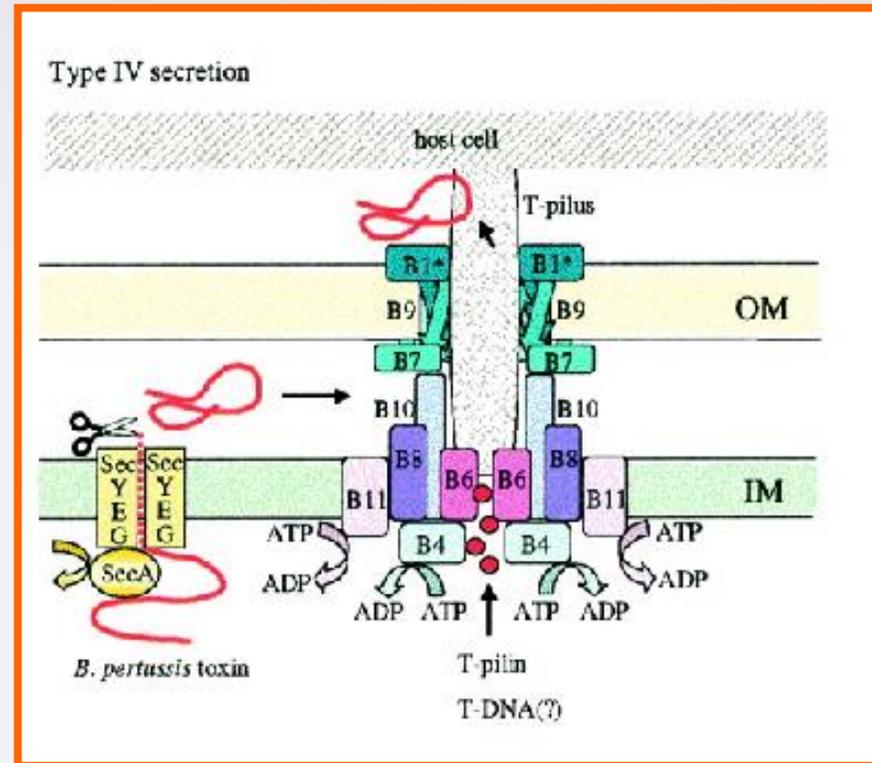


La proteina OMP è spesso costituita dalla proteina TolC che è stata ben caratterizzata in molti microrganismi e messa in relazione a molti sistemi di secrezione proteica.

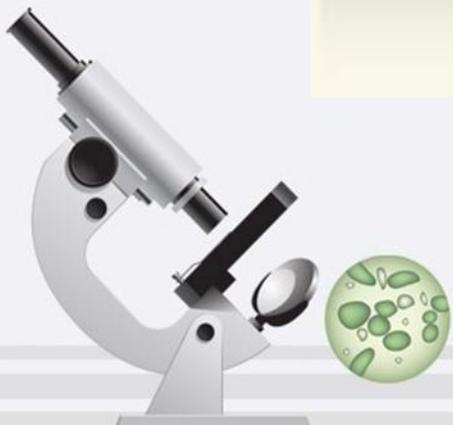
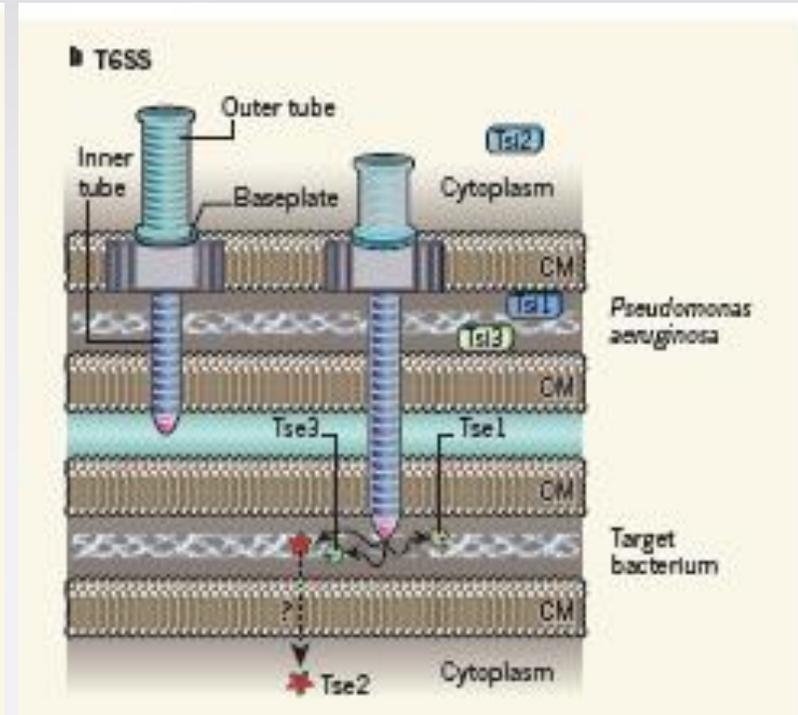
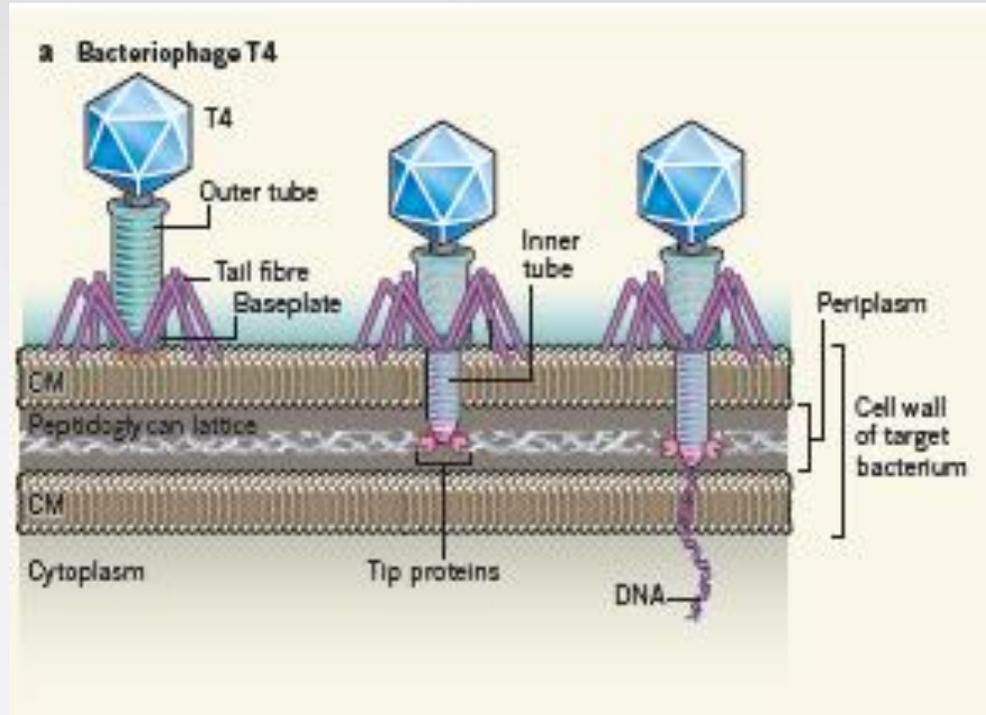


SISTEMA DI TRASLOCAZIONE DI TIPO IV

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.



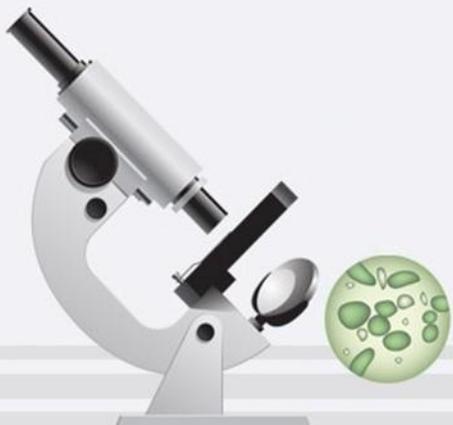
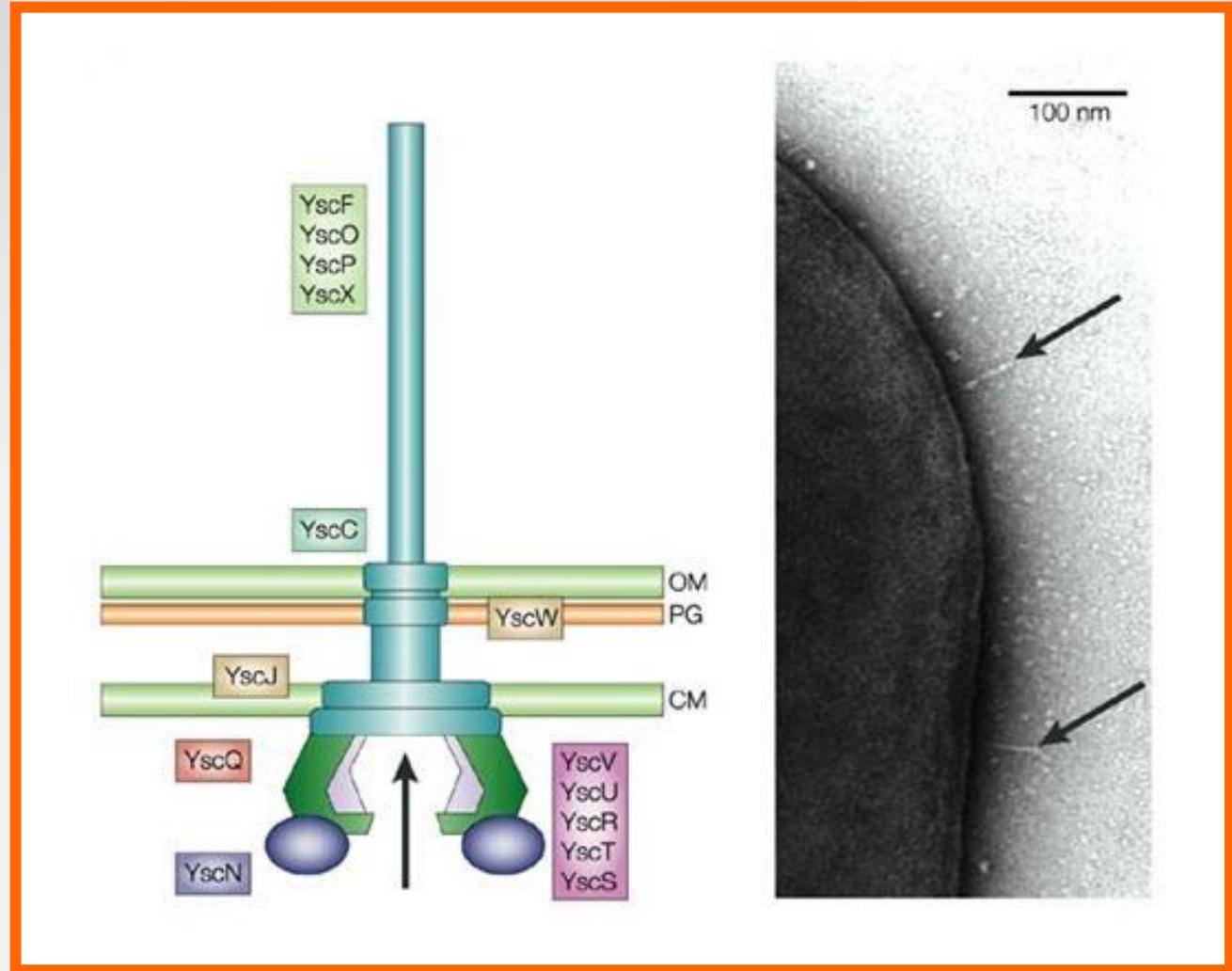
Sistemi di Traslocazione: Tipo VI

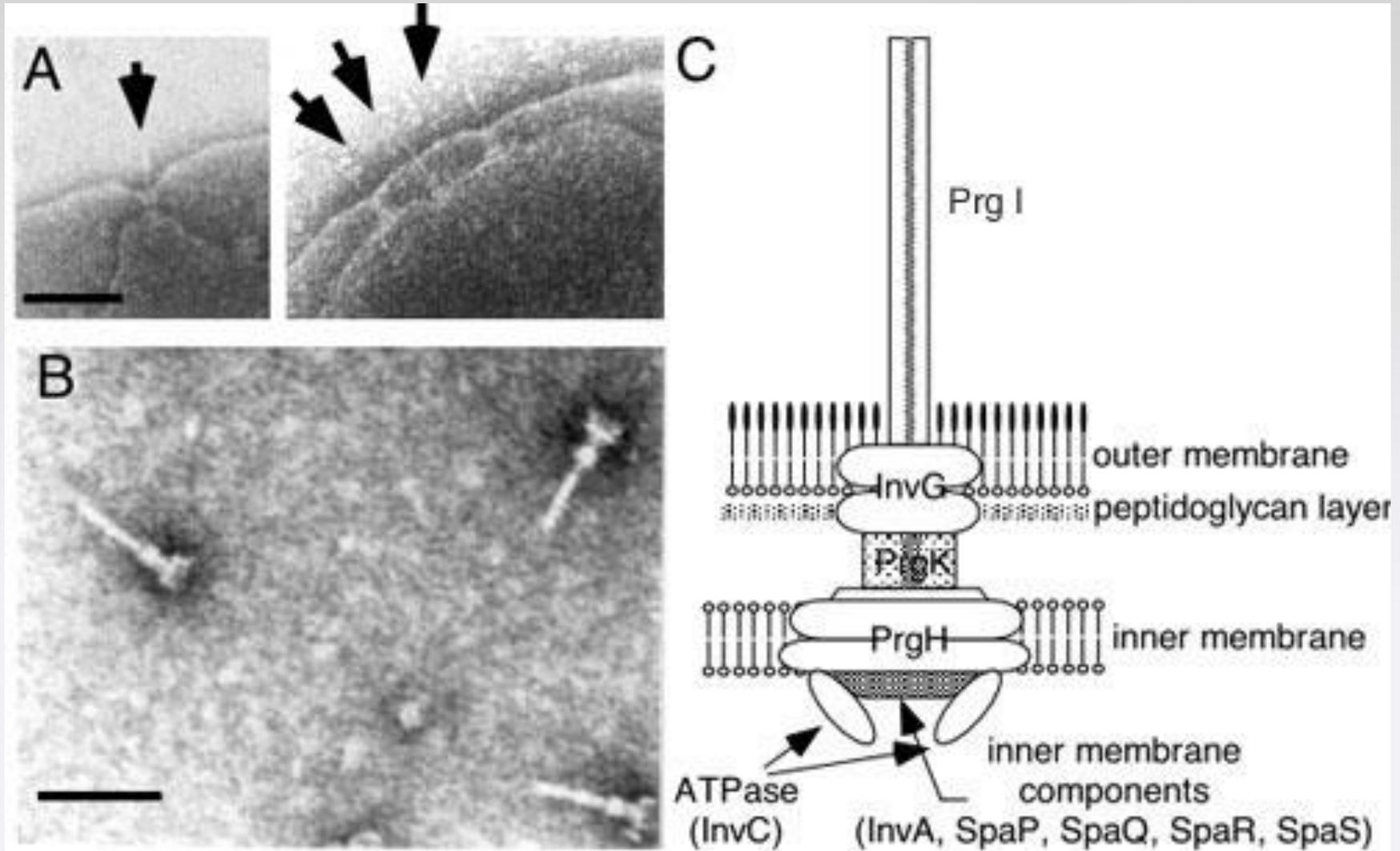


Sistemi di Traslocazione: Tipo III

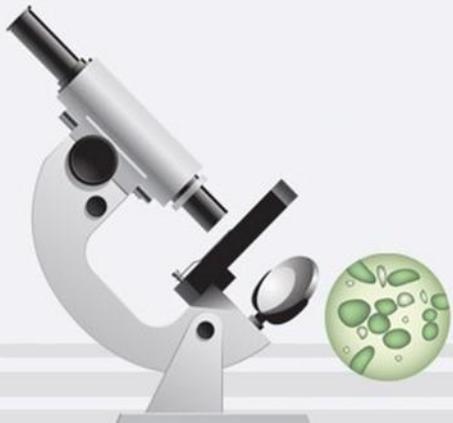
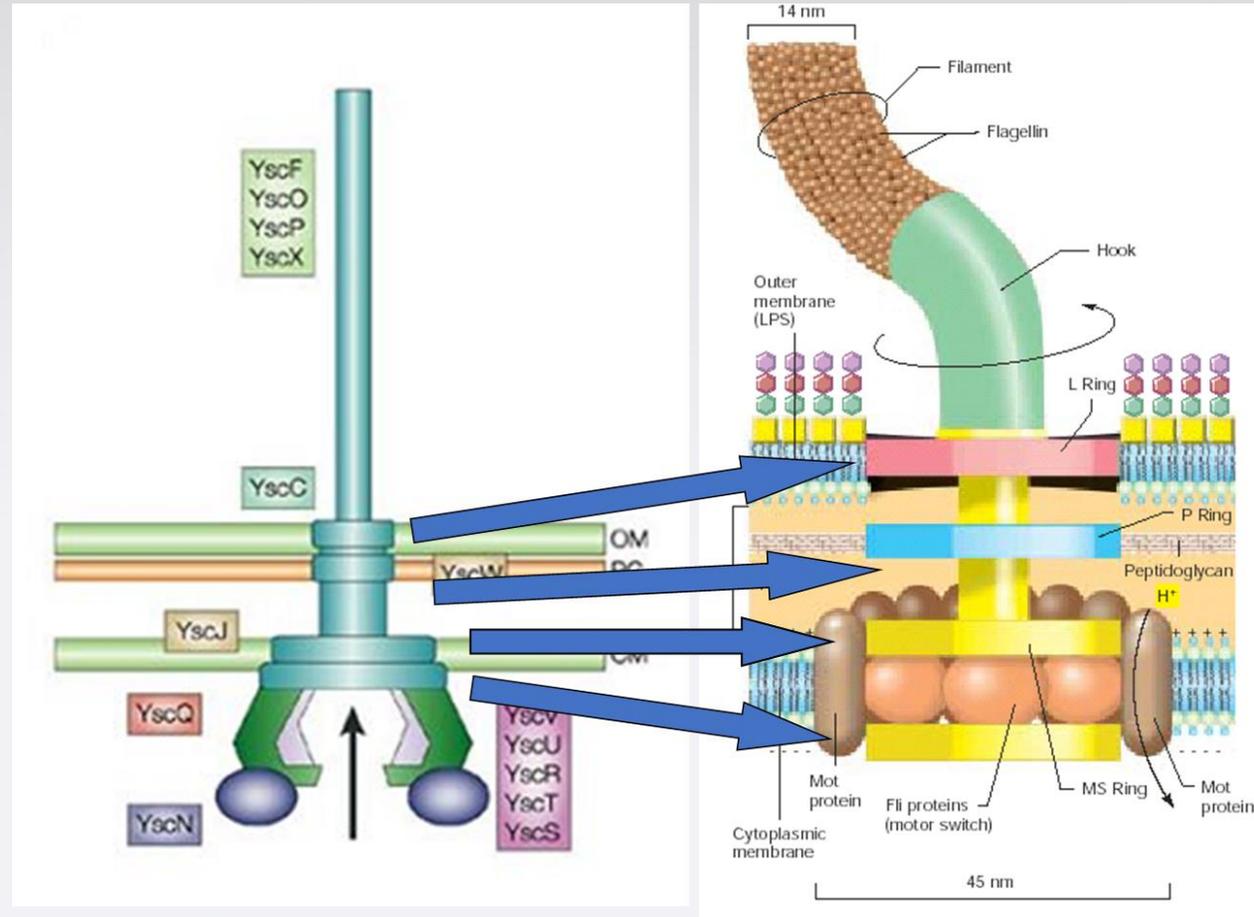
Un classico sistema di tipo III è quello identificato in *Yersinia enterocolitica*. Questo sistema di traslocazione viene utilizzato da questo microrganismo per iniettare le proteine (tossiche) nella cellula eucariotica durante l'infezione

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



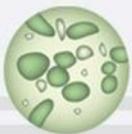
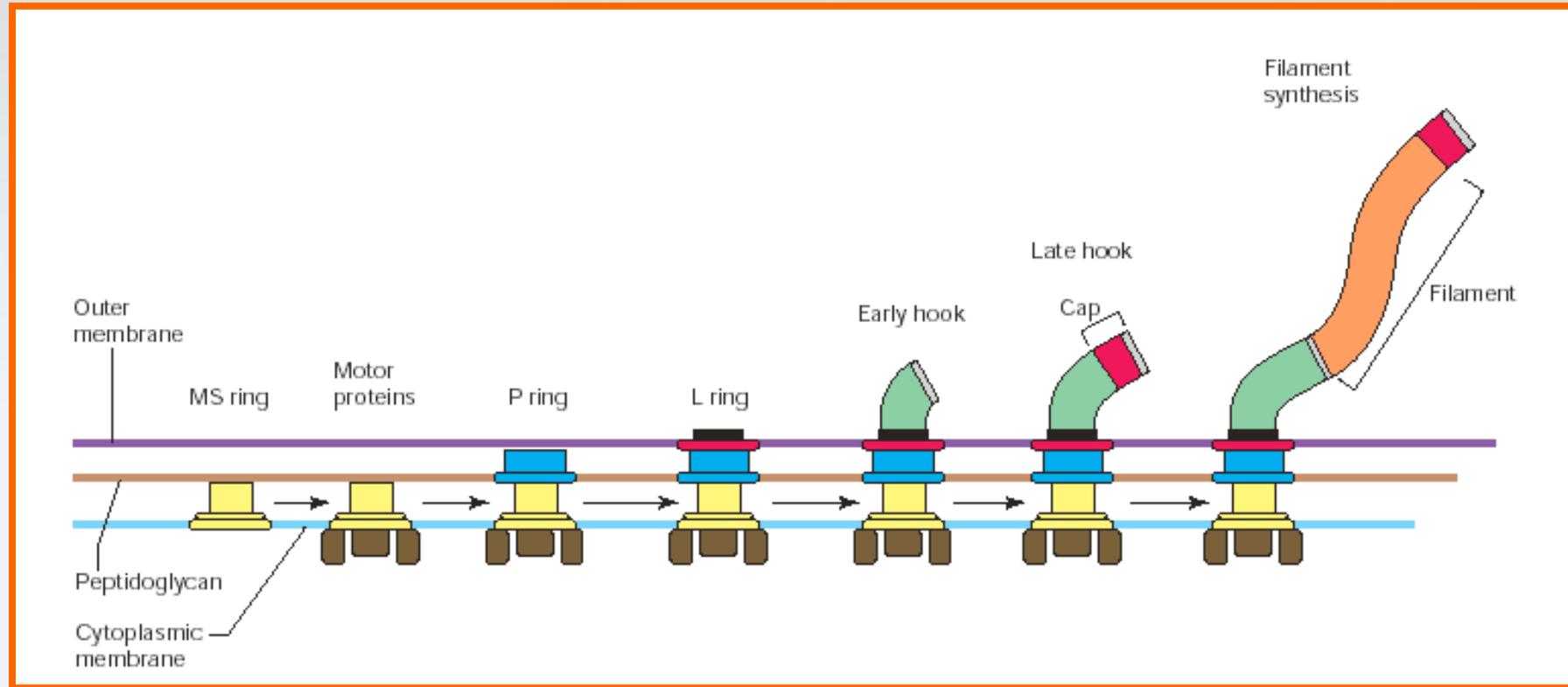


Sistema di traslocazione di tipo III: similitudini con il flagello



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)





Questo processo è controllato sia a livello trascrizionale che post trascrizionale

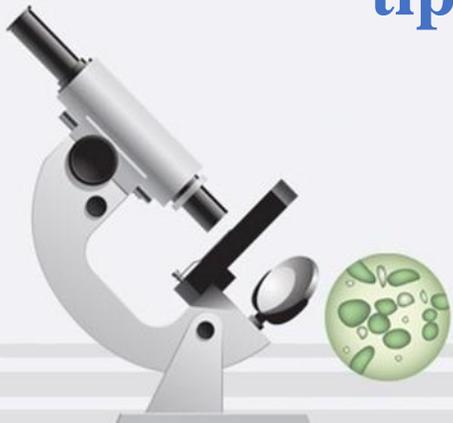
Il primo gruppo di geni codifica soprattutto i geni regolatori (*flhDC*) che sono responsabili dell'attivazione trascrizionale dei geni del gruppo II.





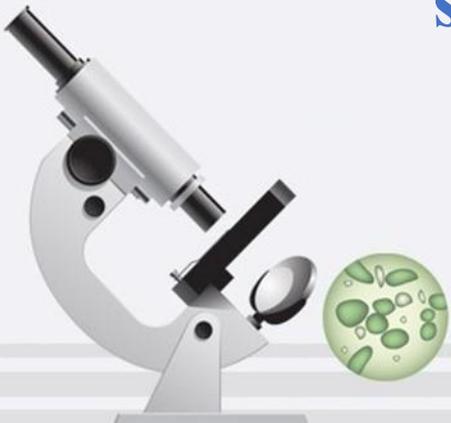
Il secondo gruppo di geni è costituito principalmente da geni per le proteine strutturali del corpo basale e dell'uncino. Inoltre tra questi geni troviamo anche il gene *fliA* e *flgM* responsabili del controllo trascrizionale dei geni di tipo III

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

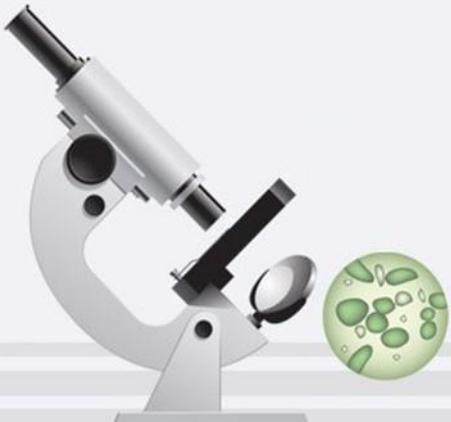
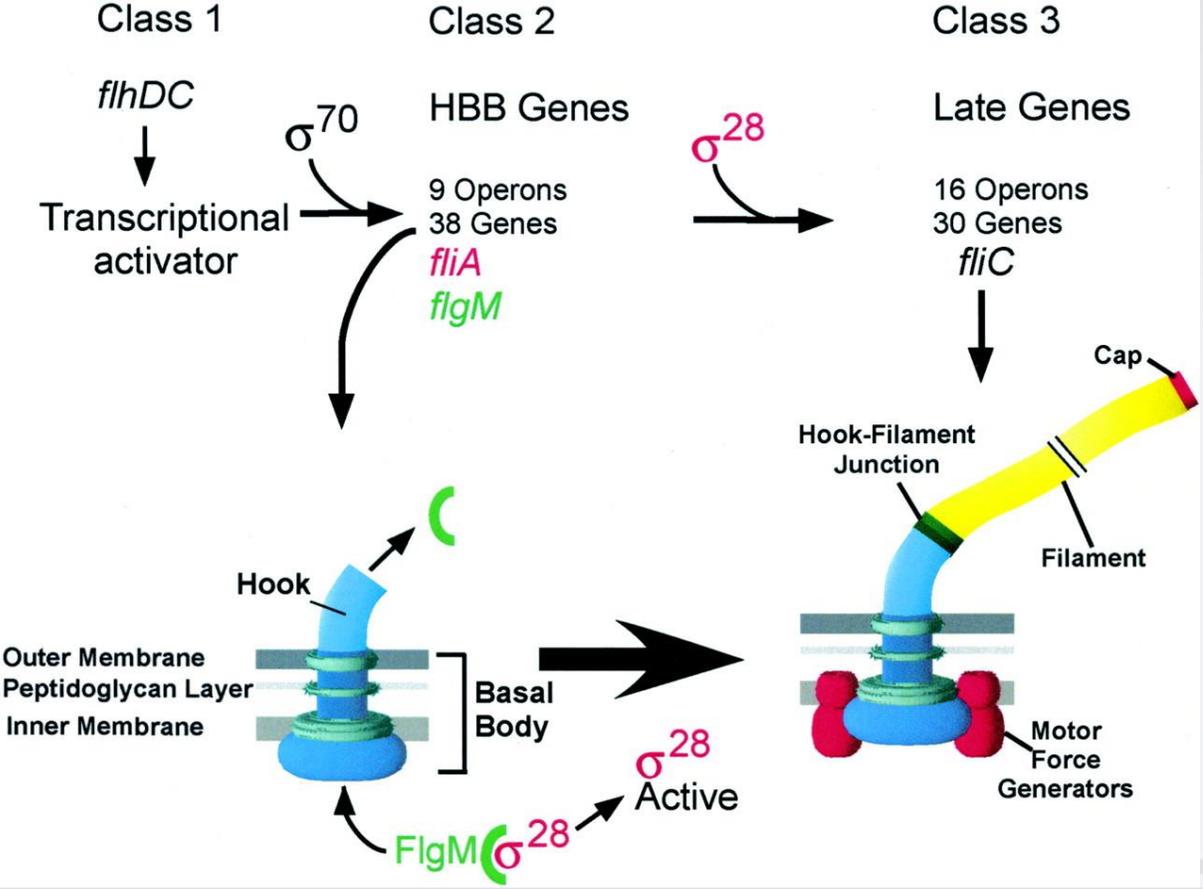


I geni *fliA* e *flgM* codificano rispettivamente un fattore σ (σ^{28}) e il suo anti- σ . Queste due proteine vengono sintetizzate contemporaneamente e, quindi σ^{28} non è subito libera di agire.

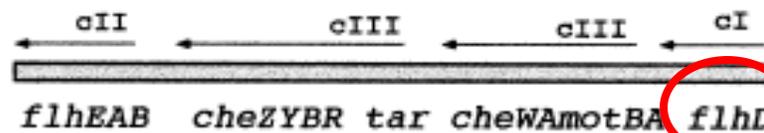
La sua attivazione richiede la eliminazione dal citoplasma cellulare dell'anti- σ , e questo avviene solamente quando l'uncino è completato



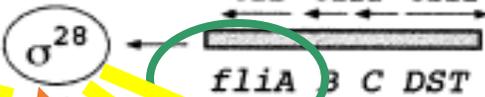
Quando viene terminato l'uncino, il corpo basale del flagello inizia a trasferire all'esterno della cellula il fattore FlgM, liberando il fattore σ^{28} e permettendo la trascrizione dei geni di tipo III che porteranno al completamento della struttura del flagello.



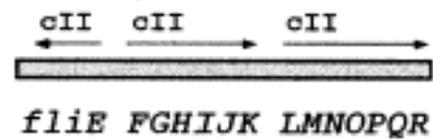
R II



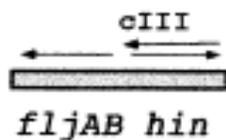
R IIIa



R IIIb



Phase v.*



R I

