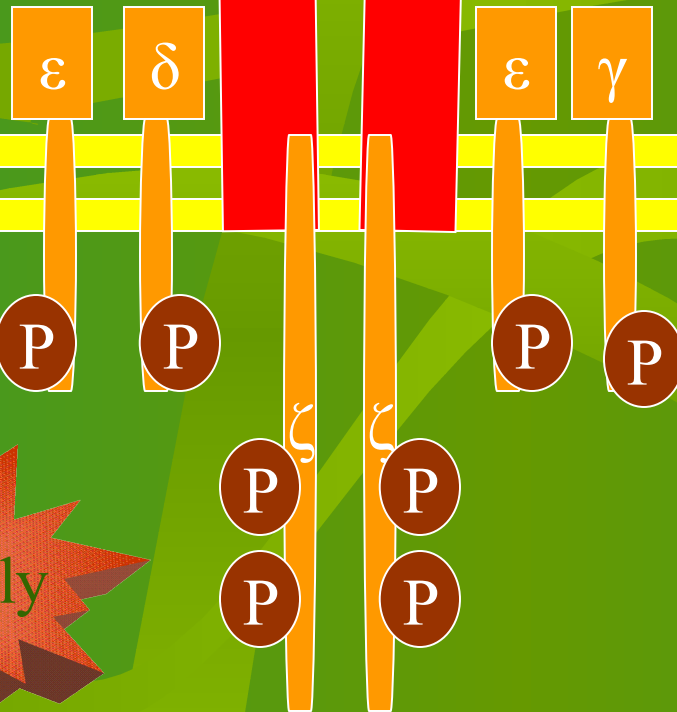


LIPID RAFTS

...un'ulteriore strategia di
regolazione del segnale?

APC

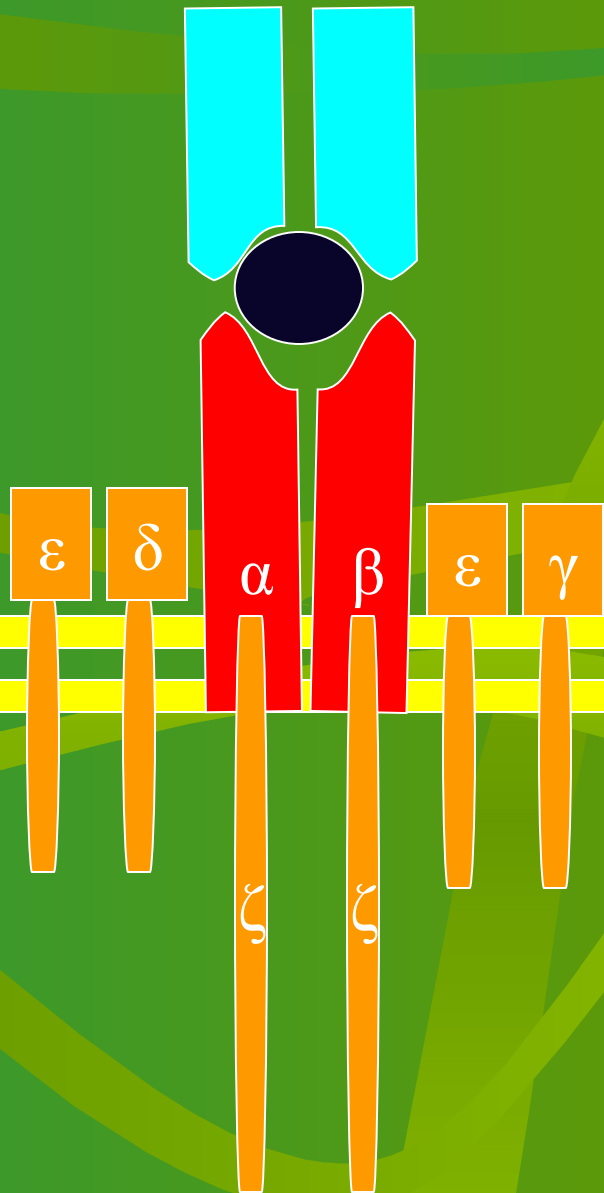


T cell

Src family

SIGNALING

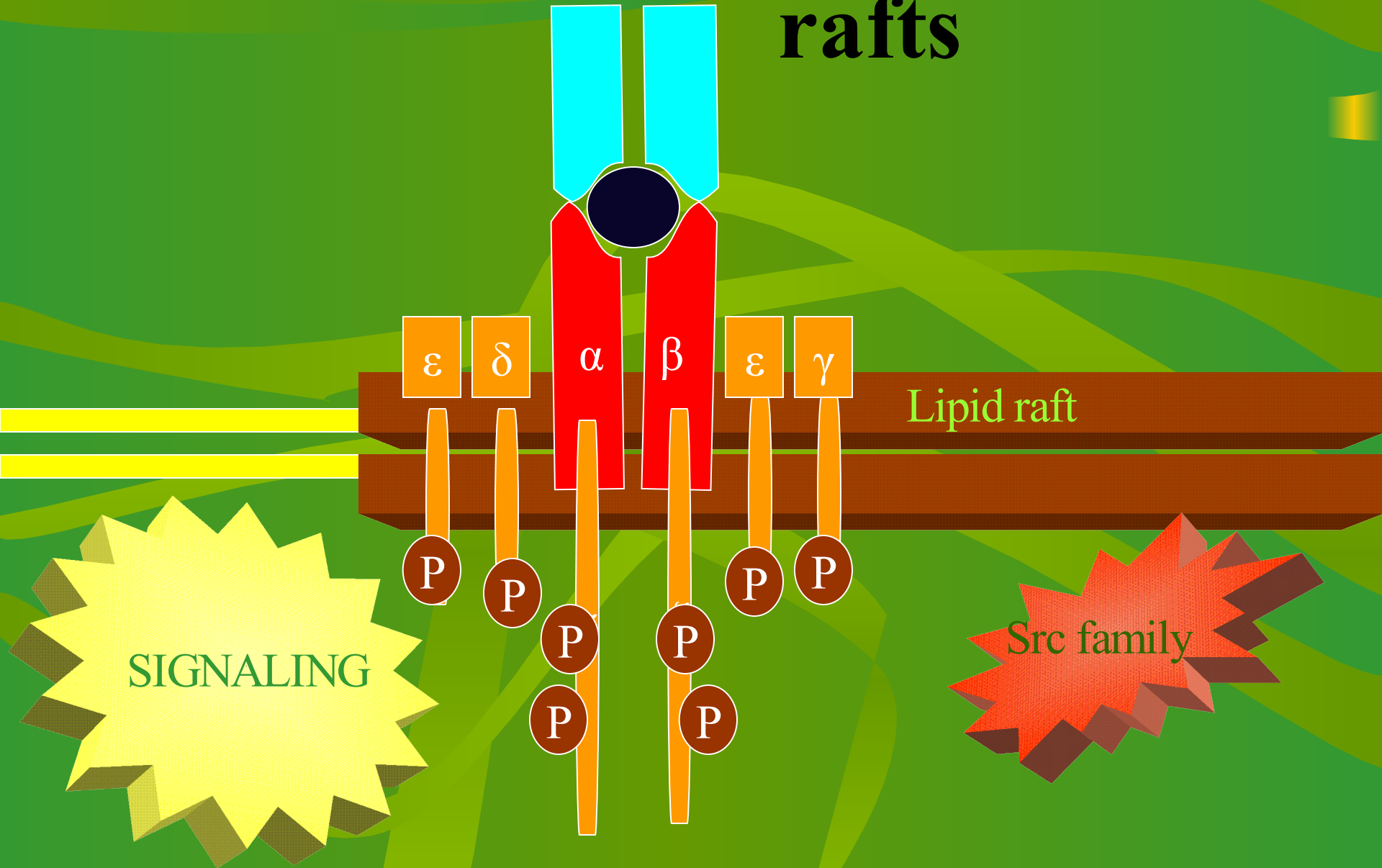
Modello dei lipid rafts



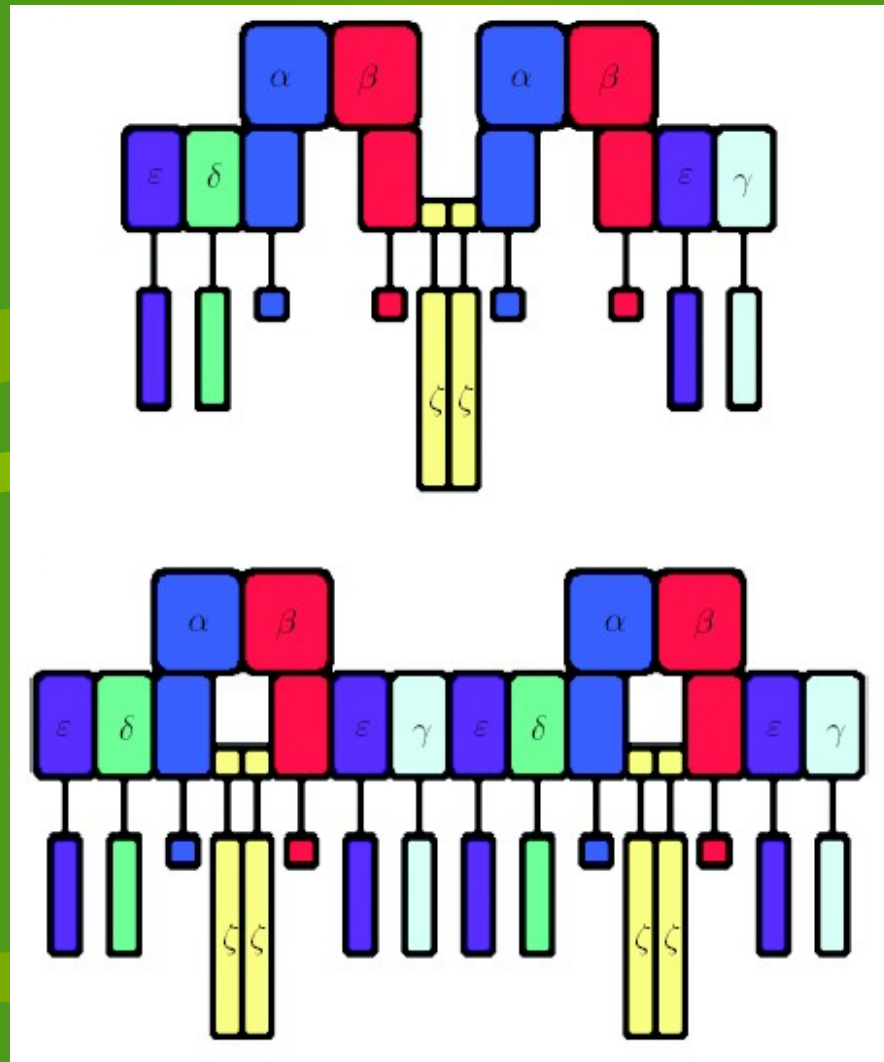
Lipid raft

Src family

Modello dei lipid rafts



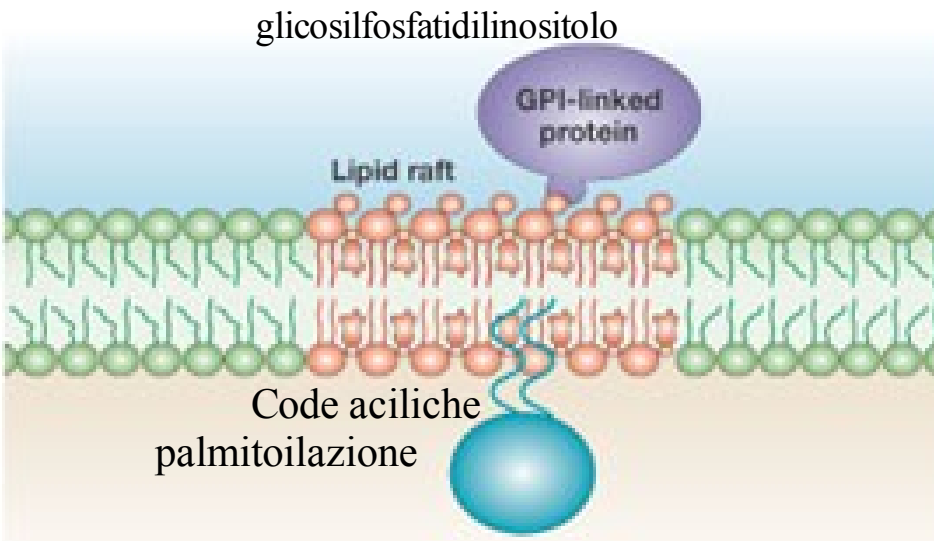
TCR attivati affini per i lipid rafts



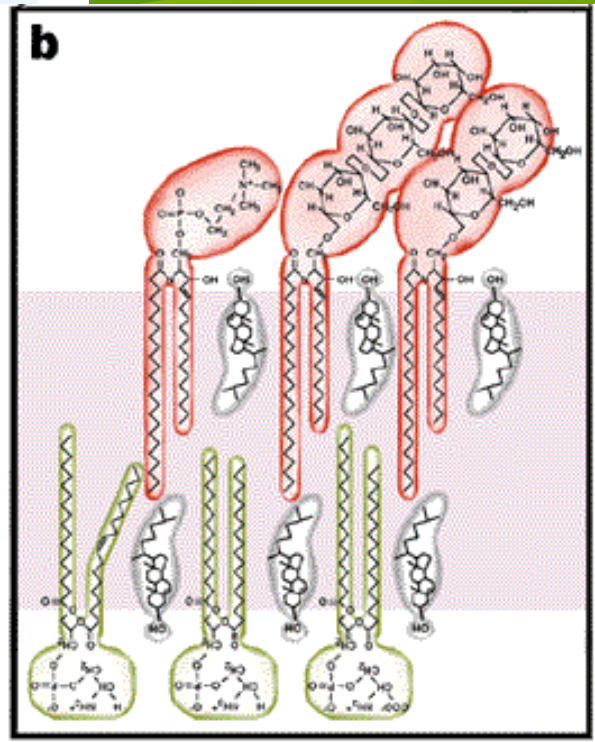
I lipid rafts: domini della membrana cellulare

Sfingomieline

Glicosfingolipidi



Nature Reviews | Neuroscien



Colesterolo

Glicerolipidi

Criteri per definire una proteina parte dei lipid rafts

- Presenza in membrane insolubili in detergenti
- Localizzazione nei lipid rafts dipendente da colesterolo

Difficoltà di analisi

- I lipid rafts non osservabili con microscopia ottica difficile stabilirne la dimensione
- Scelta del detergente sembra determinante (uso TX100 o Brij98 diverse proteine associate ai rafts)

Lipid rafts e TCR signaling

- Eliminazione colesterolo o modificazioni composizione degli acidi grassi
dispersione dei lipid rafts
inibizione eventi precoci del TCR signaling
- Topi KO per la sfingomielinasi: difetti P-TCR e proliferazione T cells
- Colesterolo ossidasi inibizione TCR signaling

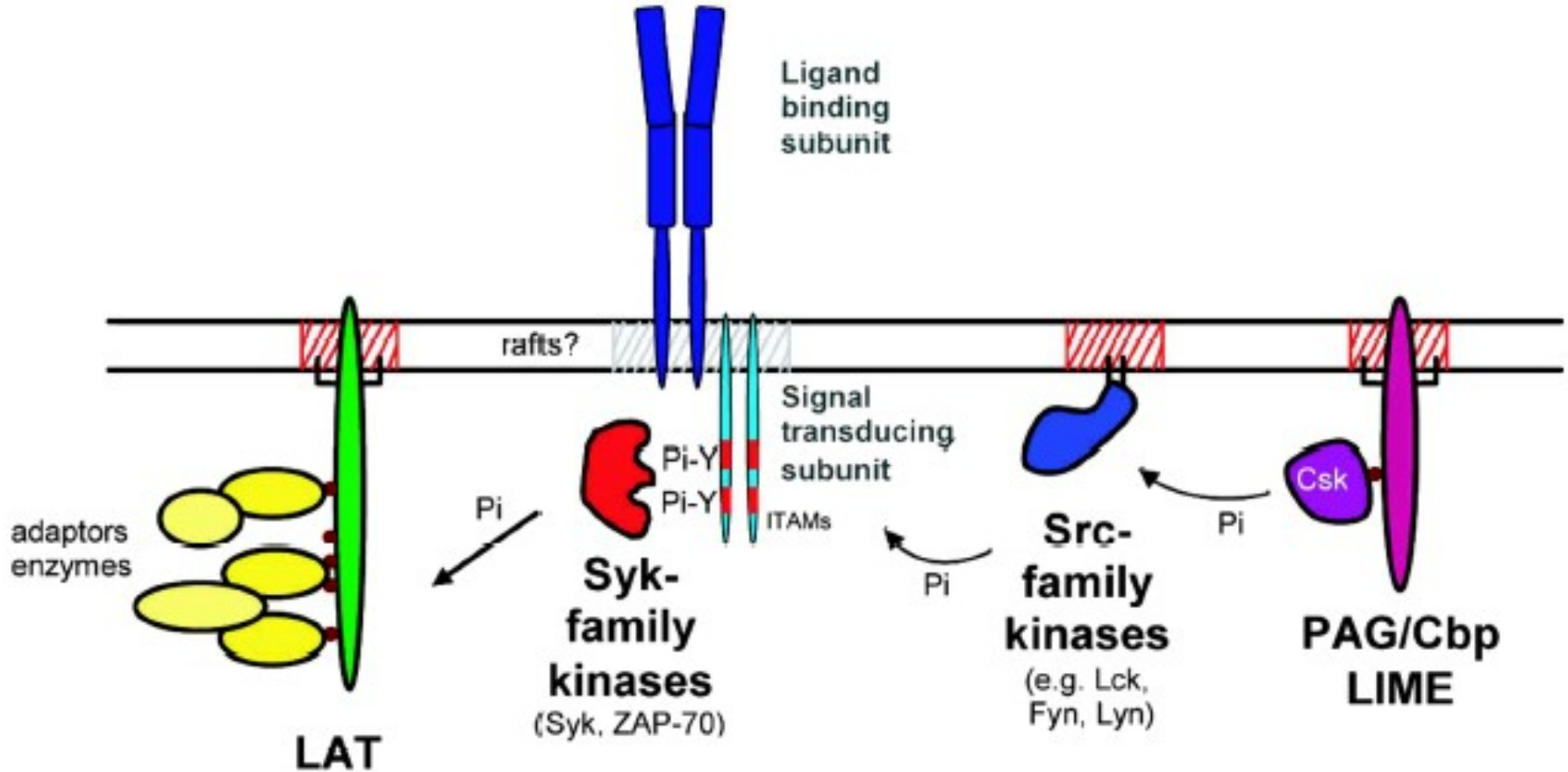
Ma...un intervento sulla
composizione lipidica è molto
invasivo per la cellula

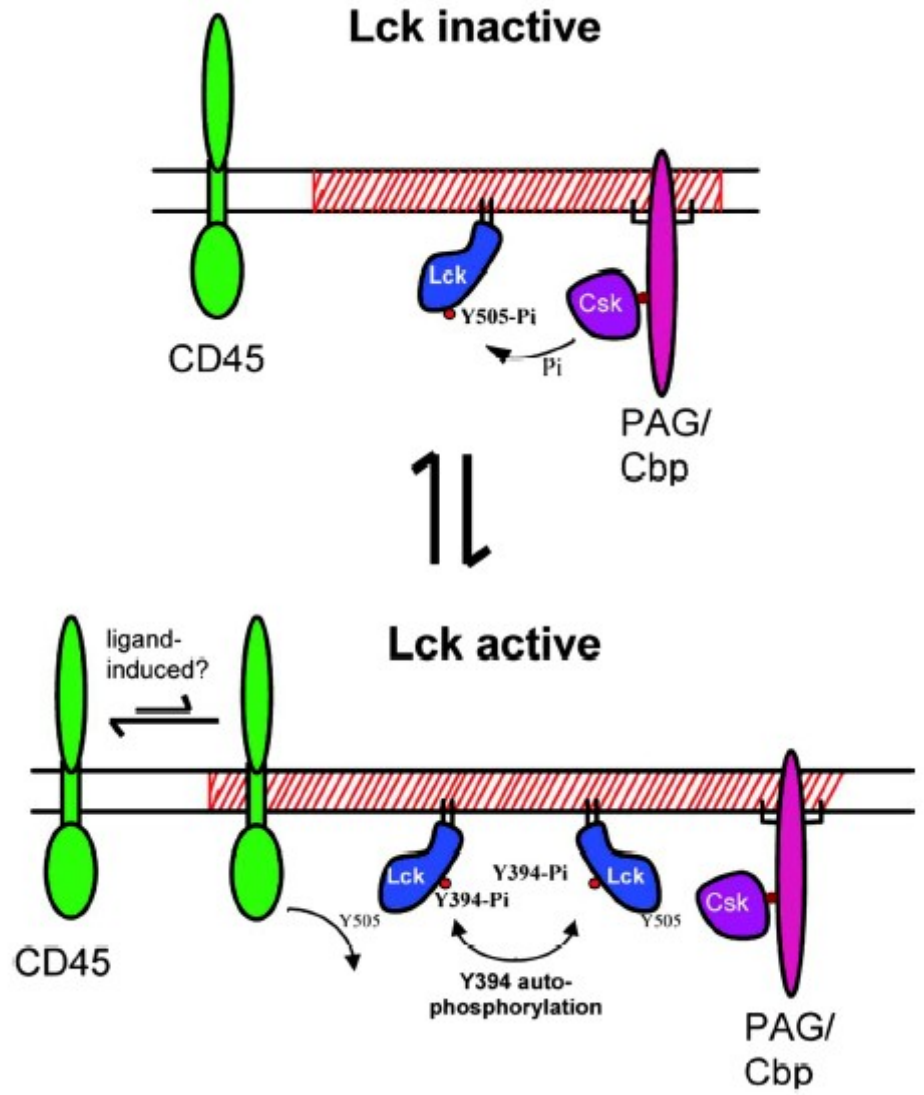
...i difetti di segnalazione sono
proprio dovuti alla distruzione dei
rafts?

Proteine coinvolte nel tcr signaling associate ai lipid rafts

Untreated	Receptor Crosslinked
Included	Excluded Recruited

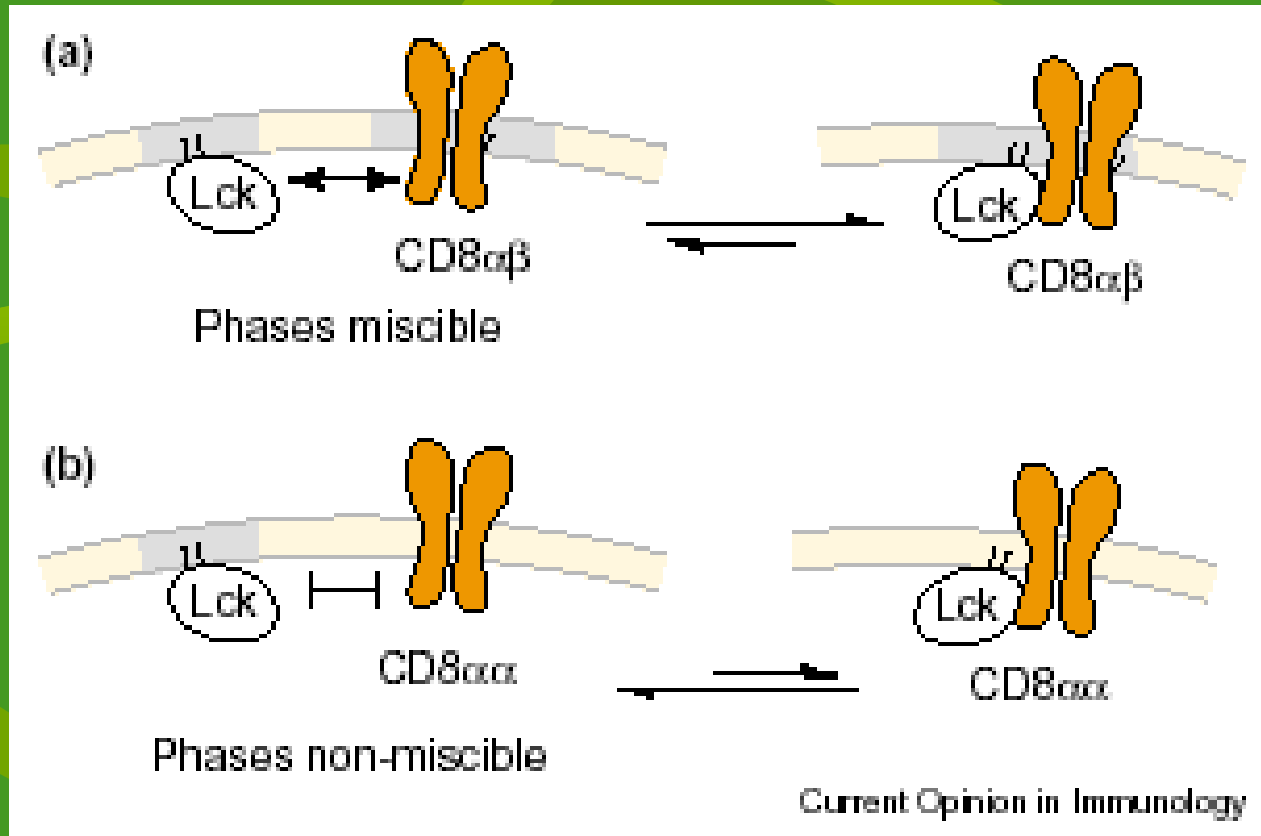
TCR	Lck	CD45	ZAP-70
	Fyn		Gads
	Itk		Slp-76
	Syk		Shc
	Ras		Vav
	PAG/cbp		Grb-2
	Cbl		PLC- γ 1
	PI3-K (some isoforms)		PI3-K (some isoforms)
	LAT		PKC
	CD4, CD8		IKK



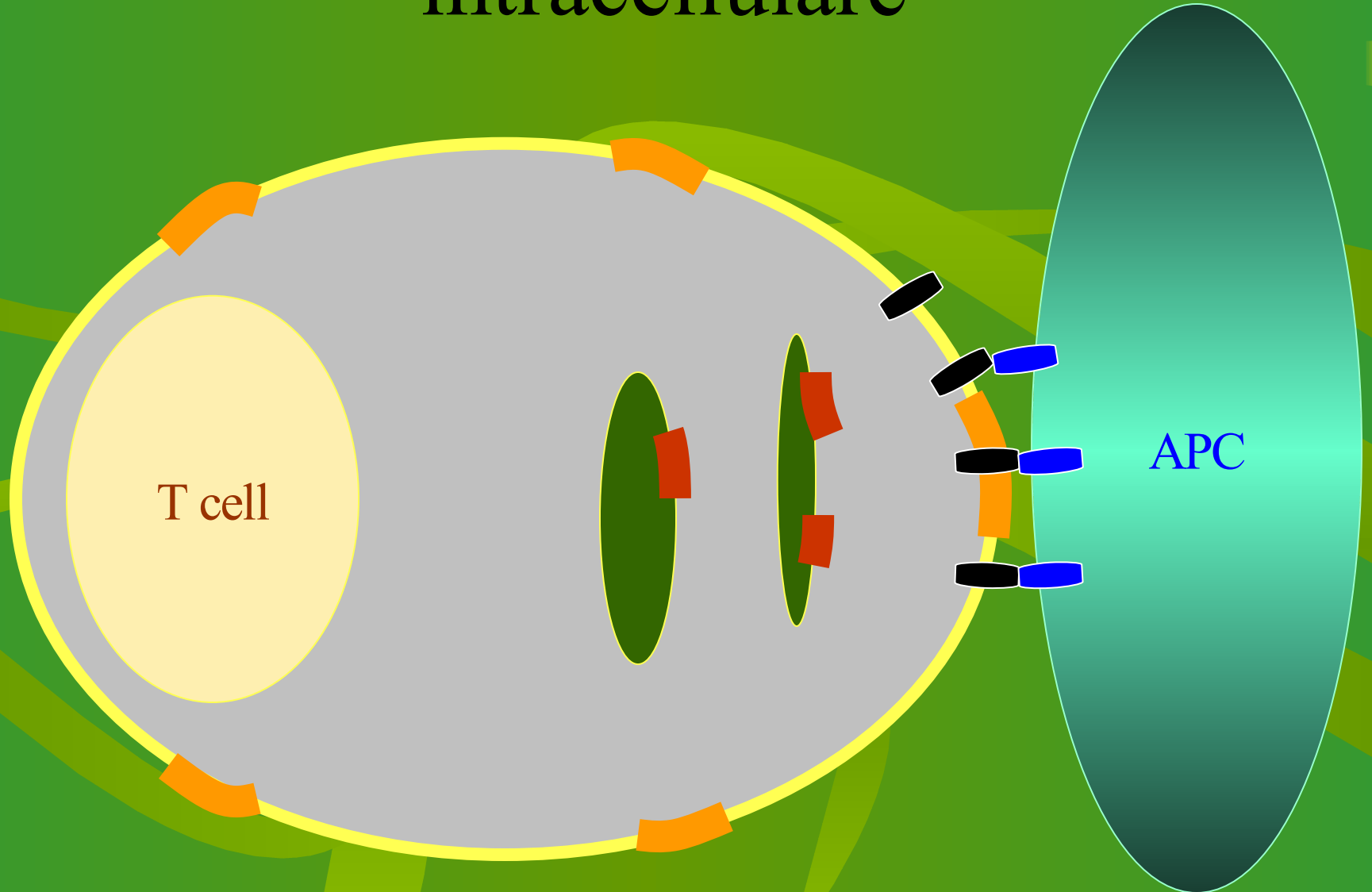


CD8

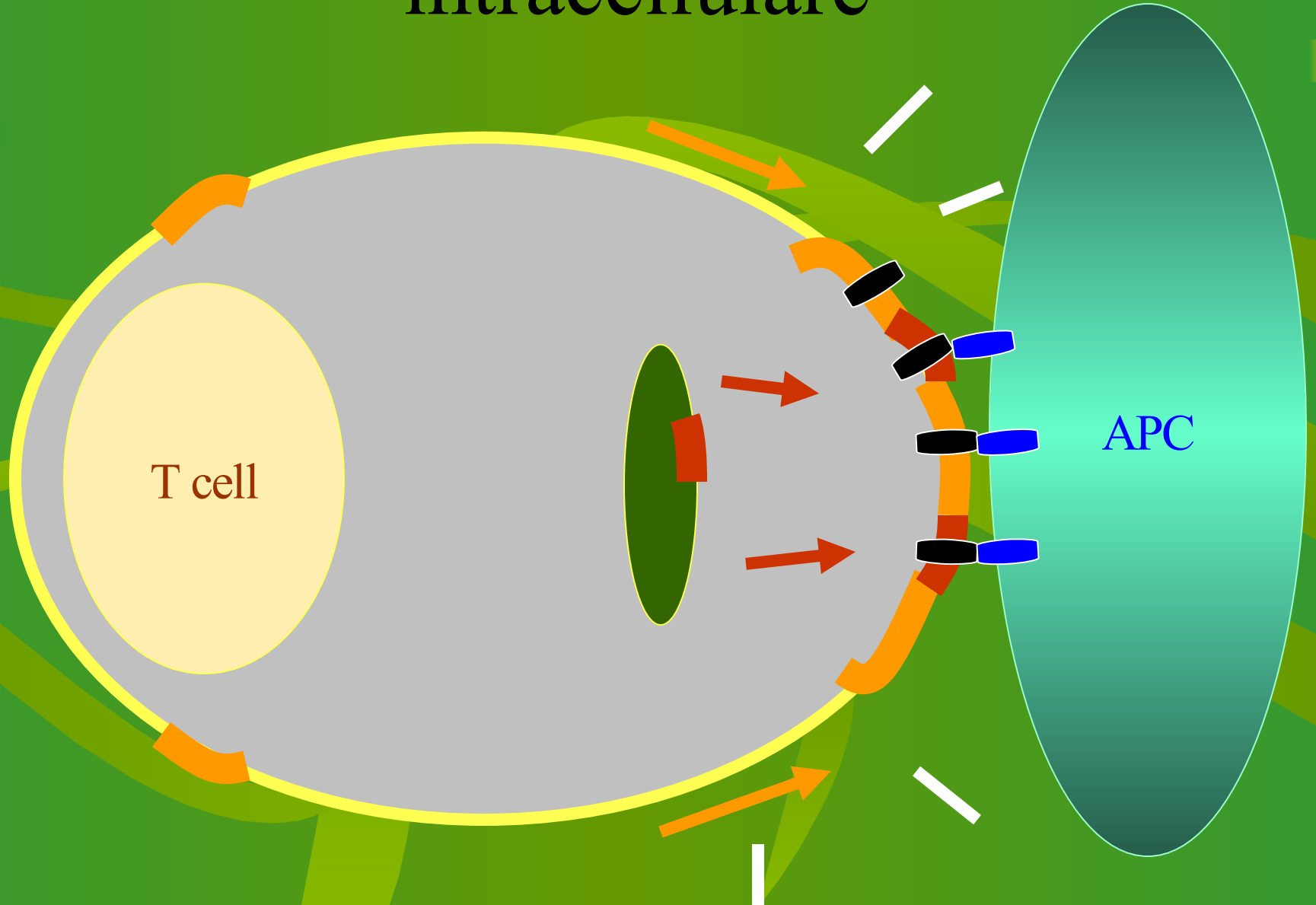
localiz nei rafts dipendente da palmitoilazione della catena β



Lipid rafts di origine intracellulare



Lipid rafts di origine intracellulare

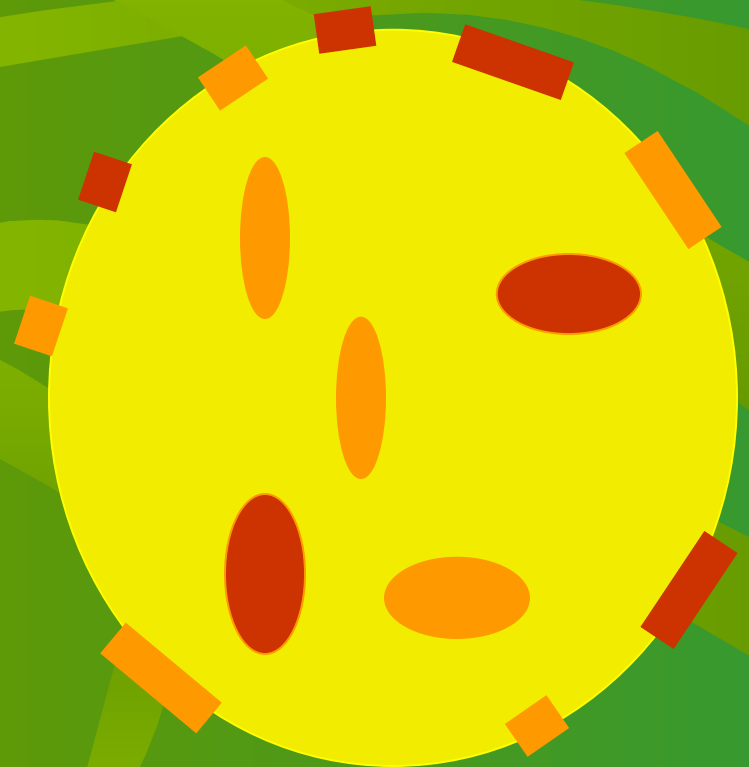


Lipid rafts: via per distinguere i diversi tipi di t cell

T cell naive



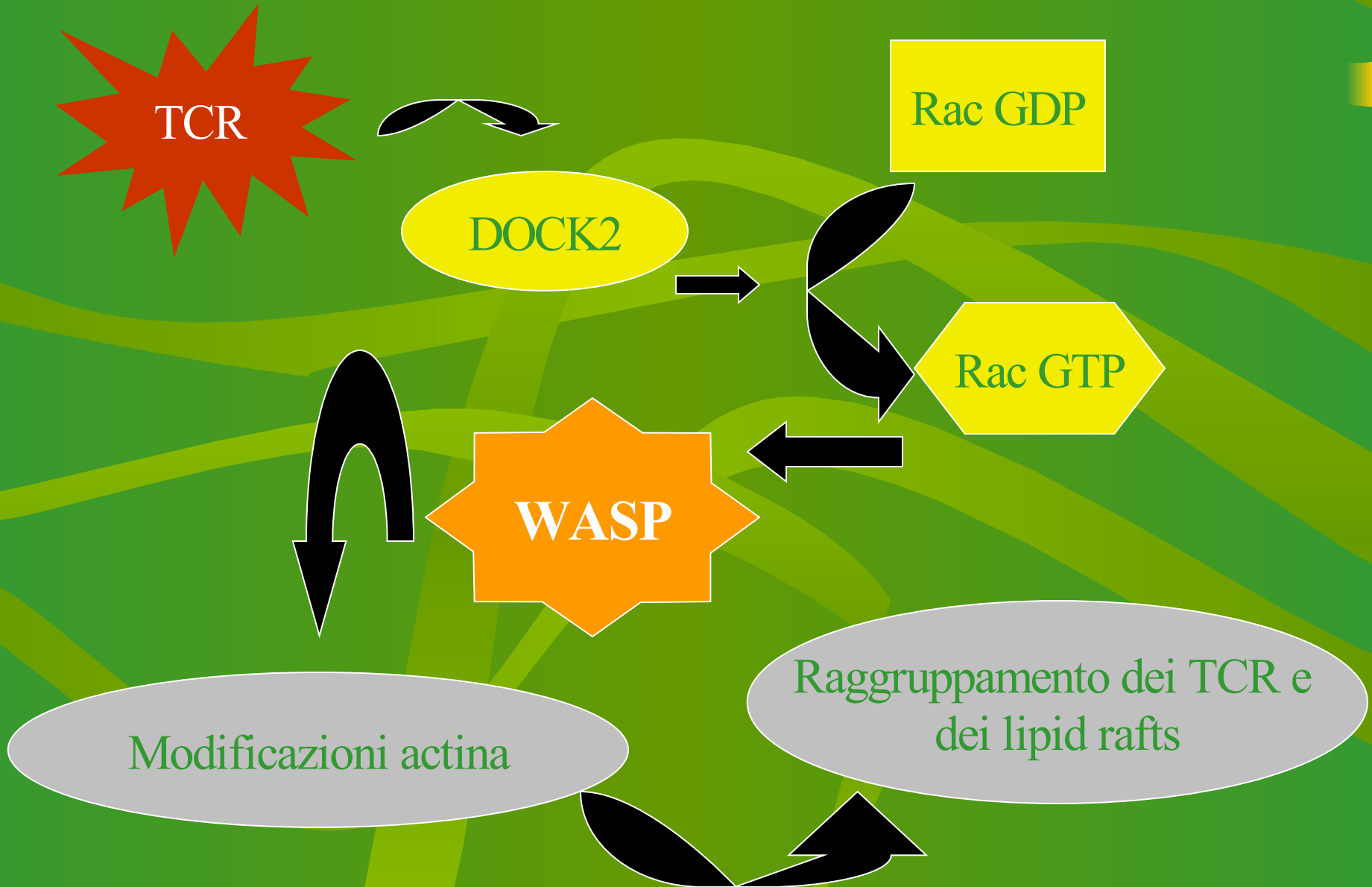
T cell effettrice o memoria



2 tipi di lipid rafts che agiscono a 2 livelli


- **Sulla superficie** sorgente di chinasi per le fasi iniziali
- **Intracellulare** coinvolta nella costimolazione o amplificazione del segnale

Lipid rafts e citoscheletro



Conclusioni

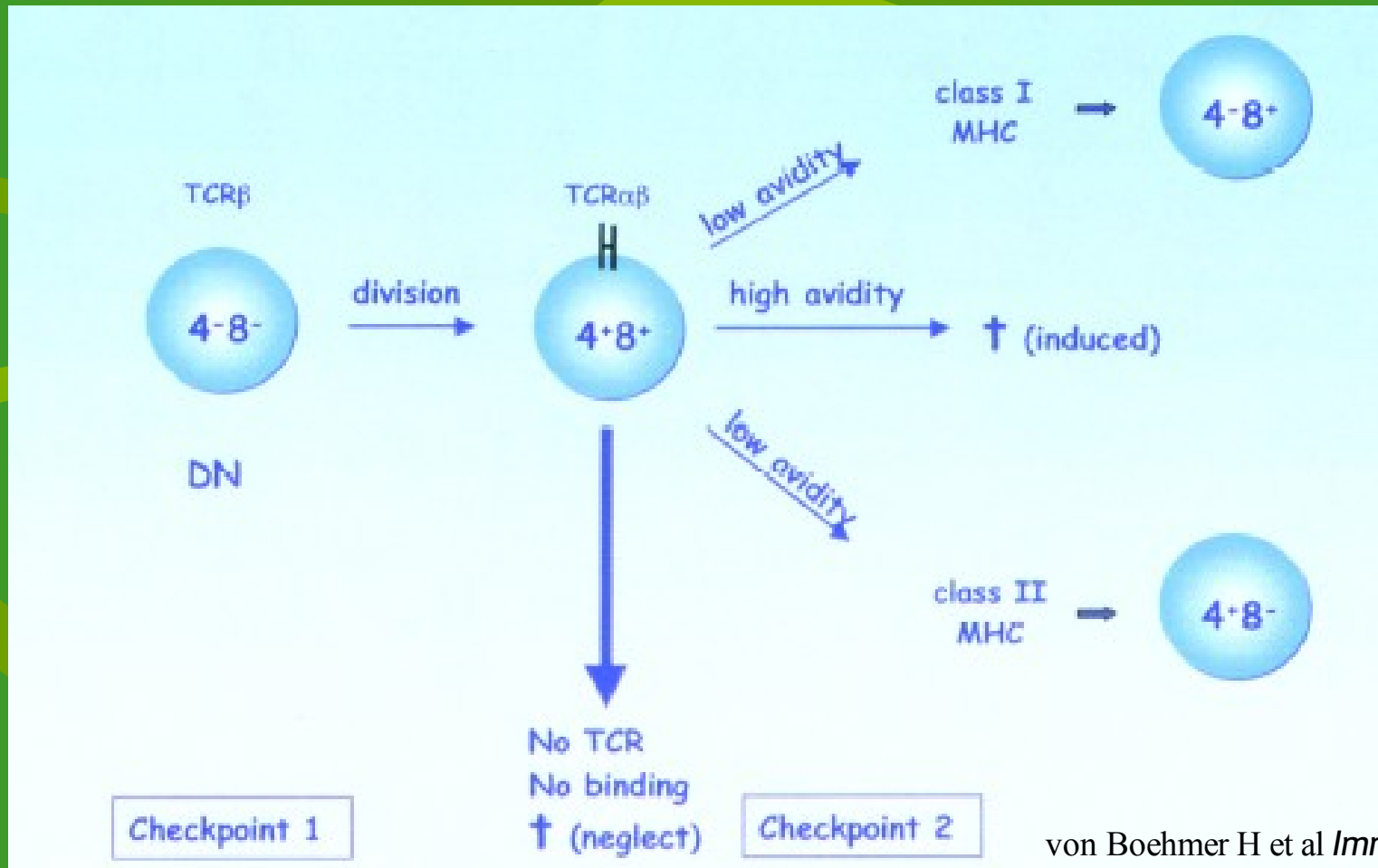
- Importanza nel TCR signaling sembra consolidata
- Effettiva composizione: non consolidata
- Meccanismi di reclutamento e clustering: non consolidati
- Ruolo preciso: non consolidato



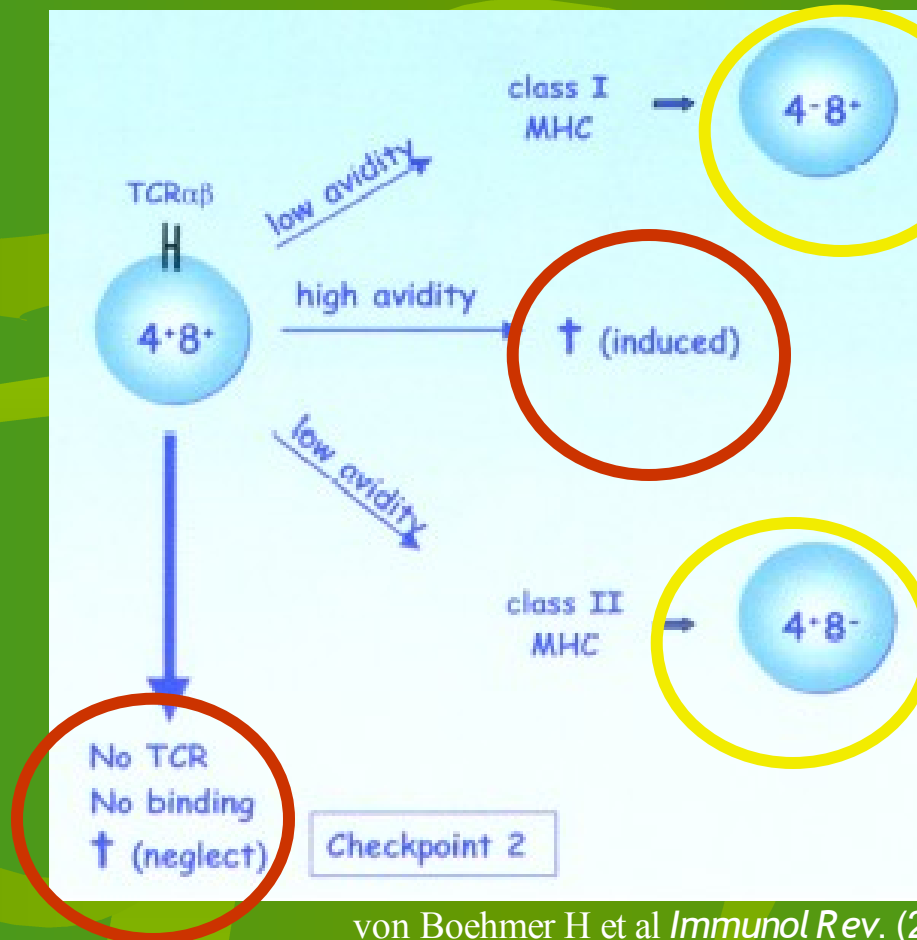
Signaling nella selezione timica

Due checkpoint

- Selezione della catena β
- Selezione della catena α

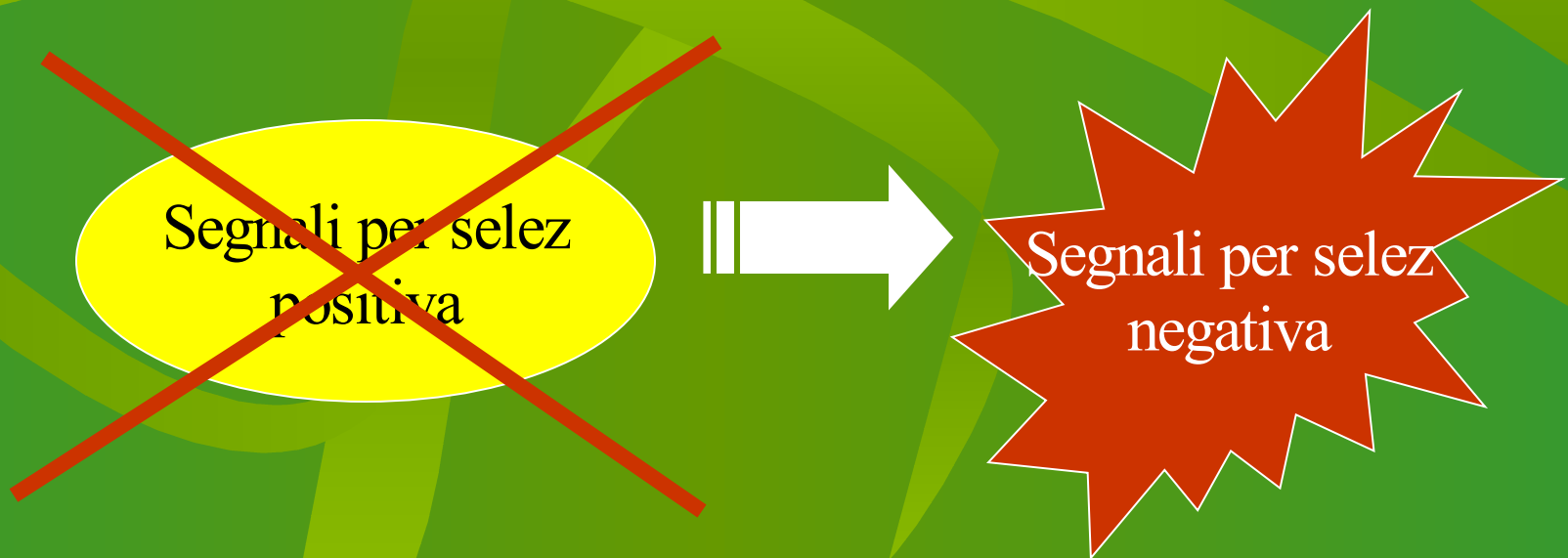


TCR: un recettore per due risultati opposti



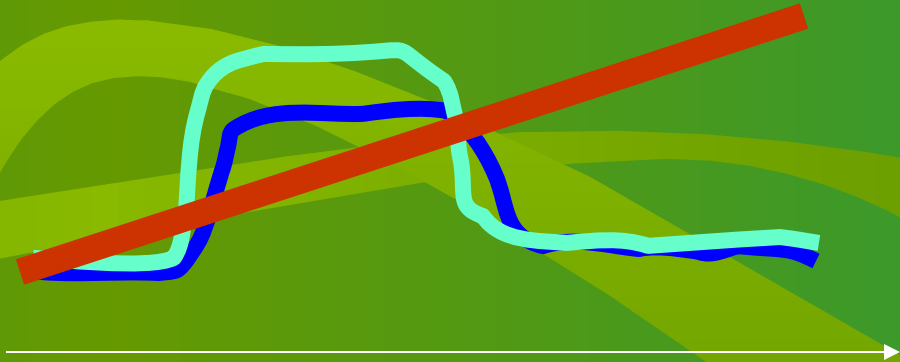
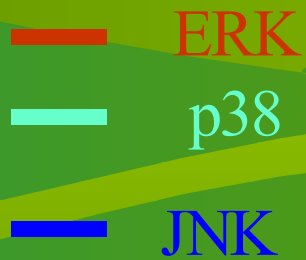
Una questione di tempo...

- Il linfocita considera il numero di recettori occupati per un certo periodo di tempo
- Ogni recettore individua il livello di affinità considerando quanto tempo dura il legame

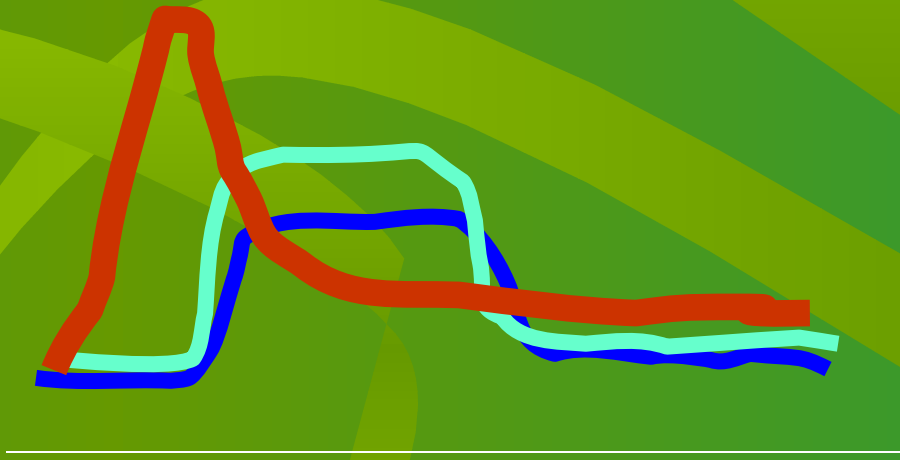


Cinetica di attivazione di ERK

SELEZIONE POSITIVA



SELEZIONE NEGATIVA



Differente stabilità dei complessi molecolari... LAT

BASSA AFFINITA'

Selezione positiva

Ca²⁺



LAT

tyr175



Gad/SLP

tyr195



PLCγ



Different stability of molecular complexes... LAT

ALTA AFFINITA'

Selezione negativa



LAT

tyr136

P

Gad/SLP

tyr175

P

PLC γ

tyr195

P



Lipid rafts nello sviluppo

- Pre-TCR associato costitutivamente ai rafts segnali di sopravvivenza indip dall'antigene
- Cell T immature: associazione TCR ai rafts apoptosi

BIBLIOGRAFIA

- Harder T, Engelhardt KR. Membrane domains in lymphocytes-from lipid rafts to protein scaffolds. *Traffic* (2004) 5:265-275
- Cherukuri A, Dykstra M, Pierce SK Floating the raft hypothesis: lipid rafts play a role in immune cell activation *Immunity* (2001) 14:657-660
- Horejsi V. The roles of membrane microdomains (rafts) in T cell activation. *Immunol Rev.* (2003) 191:148-164
- Harder T. Lipid raft domains and protein networks in T-cell receptor signal transduction *Current Opinion in Immunology* (2004) 16:353-359
- Sechi AS, Wehland J. Interplay between TCR signalling and actin cytoskeleton dynamics *Trends in immunology* (2004) 25:257-263
- Werlen G, Hausmann B, Naeher D, Palmer E. Signaling Life and Death in the Thymus: Timing Is Everything *Science* (2004) 299:1859-1863
- Zamoyska R, Matthew L. Signaling in T-lymphocytes development: integration signaling pathways is the key *Current Opinion in Immunology* (2004) 16:191-196
 - von Boehmer H, Aifantis I, Gounari F, Azogui O, Haughn L, Apostolou I, Jaeckel E, Grassi F, Klein L Thymic selection revisited: how essential is it? *Immunol Rev.* (2003) 191:62-78.