



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

## **Corso di Laurea**

Scienze biologiche

“Associazione tra l'autofagia e il proteasoma nei mammiferi”  
“Crosstalk between mammalian autophagy and proteasome system”

*Tesi di Laurea di:*

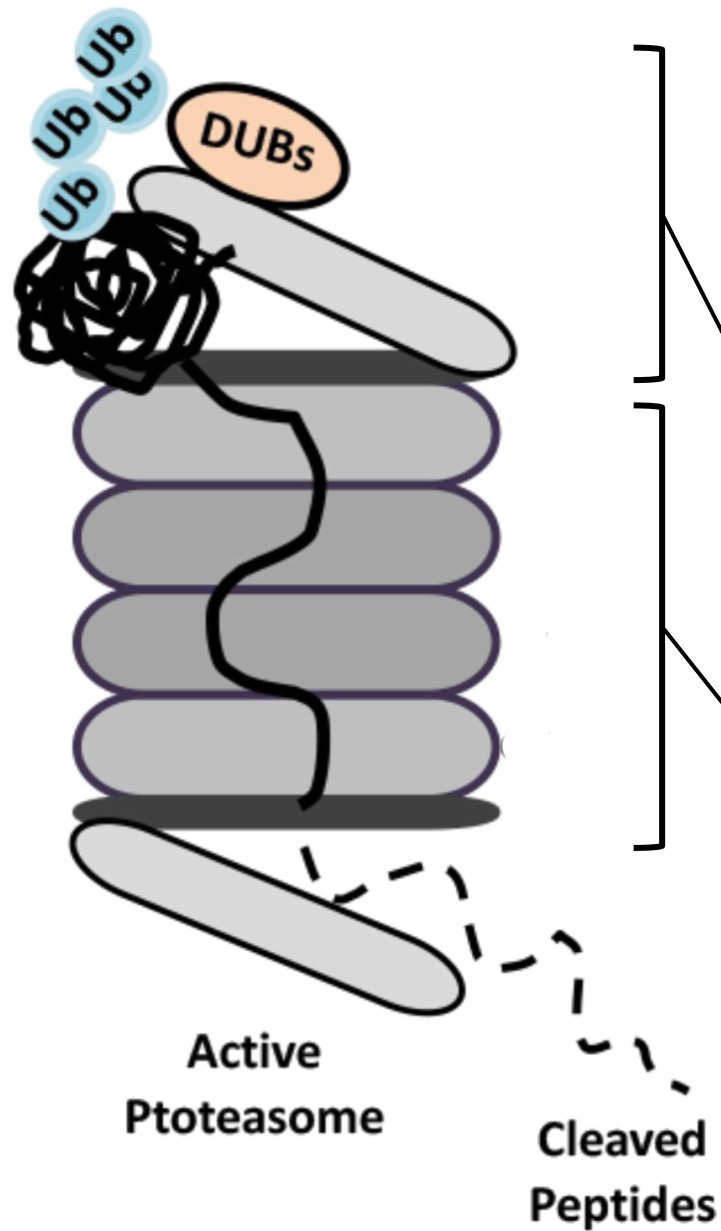
Alessandro Lambertucci

*Docente referente Chiar.ma Prof.ssa:*

Tiziana Cacciamani

Sessione Autunnale Ottobre 2021

Anno accademico 2020/2021



# Proteasoma

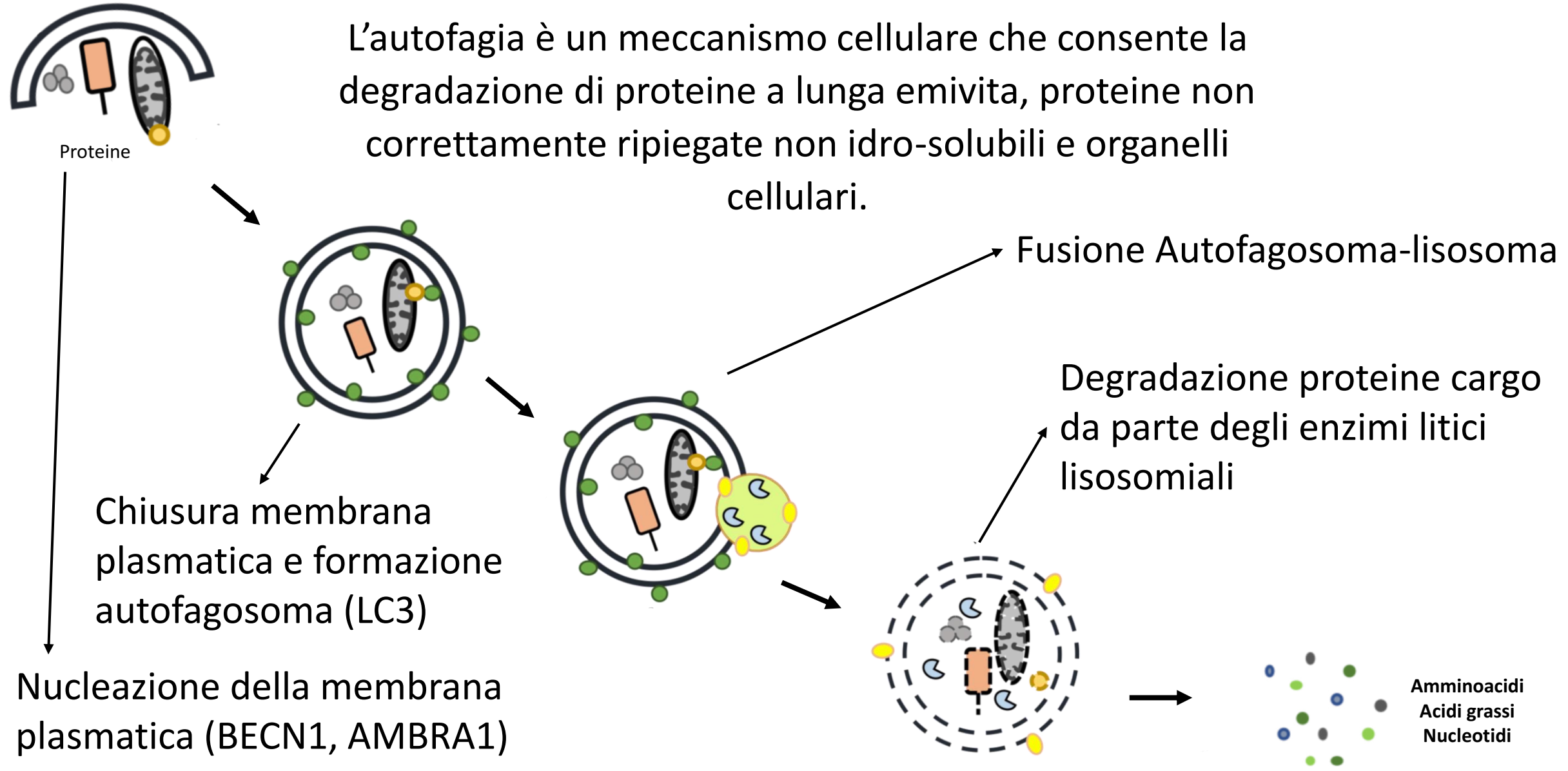
Il proteasoma è un complesso proteolitico ATP-dipendente che si occupa della degradazione di proteine con una breve emivita o proteine non correttamente ripiegate idro-solubili.

La caratterizzazione di questo macro complesso proteico mediante il coefficiente di sedimentazione ha permesso di determinare il valore di 26S e di stabilire che è formato da due complessi:

- Proteasoma 19S "cap": regola l'ingresso delle proteine ubiquitinate
- Proteasoma 26S: responsabile dell'attività proteolitica

# Autofagia

L'autofagia è un meccanismo cellulare che consente la degradazione di proteine a lunga emivita, proteine non correttamente ripiegate non idro-solubili e organelli cellulari.



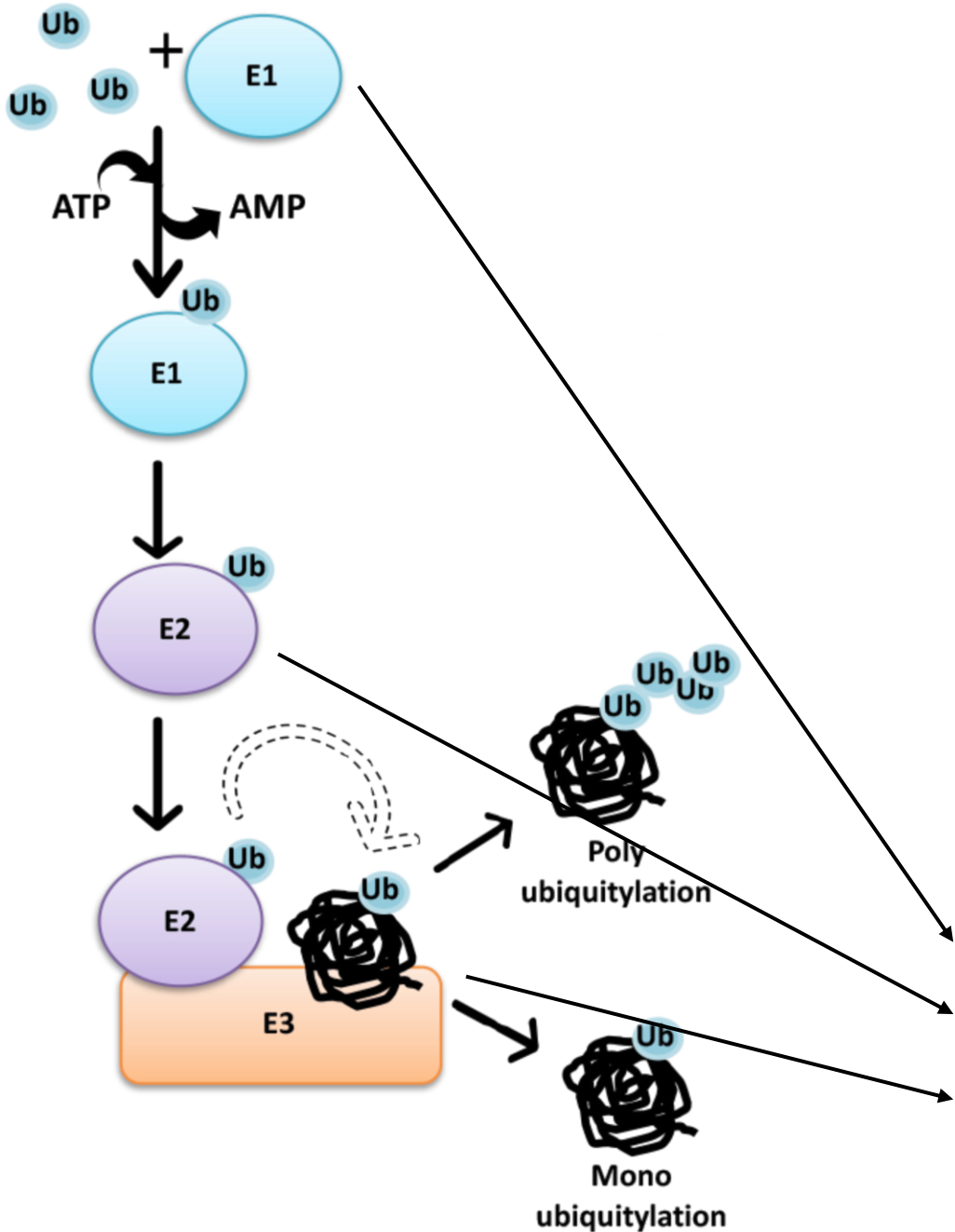
# Ubiquitinazione

L'Ubiquitinazione rappresenta la modificazione post-traduzionale che induce la degradazione delle proteine attraverso entrambi i sistemi.

Il pattern di residui amminoacidici ubiquitinati induce la degradazione attraverso uno o l'altro sistema.

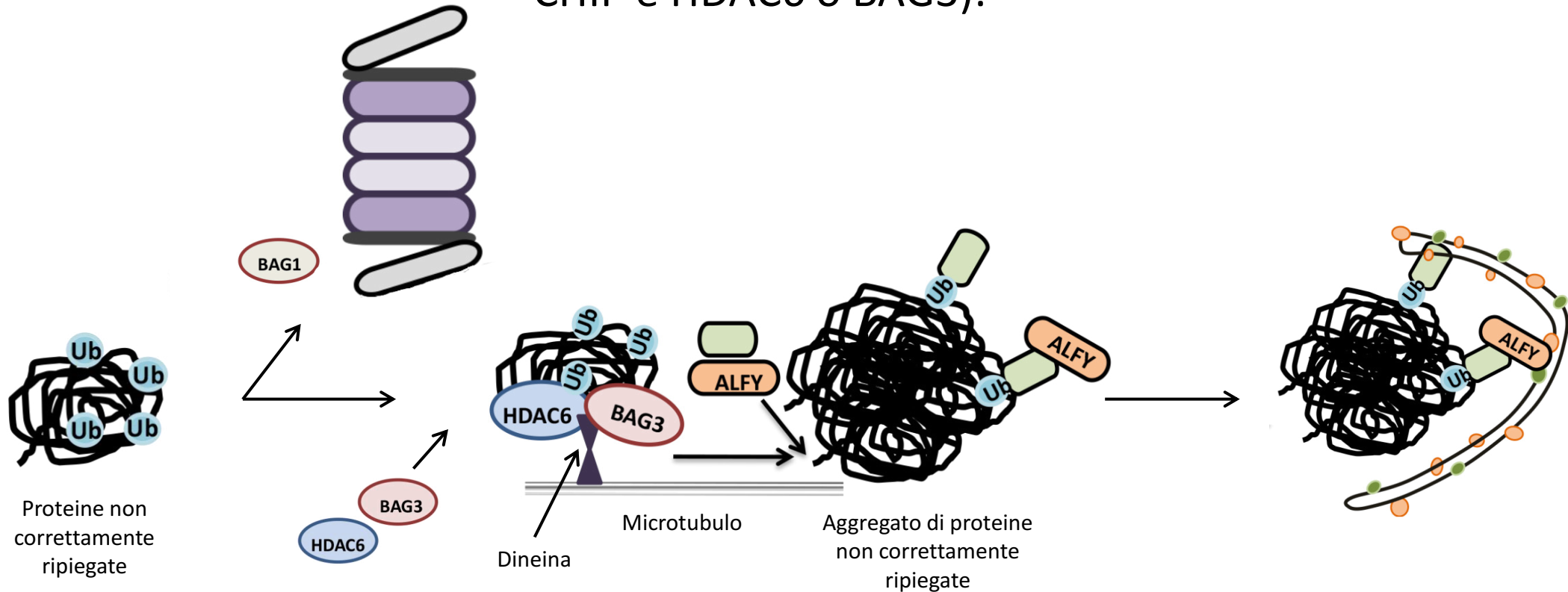
L'ubiquitinazione è prodotta dall'azione di 3 enzimi:

- Enzima E1 ubiquitina attivante
- Enzima E2 ubiquitina coniugante
- Enzima E3 ubiquitina legante



# Degradazione selettiva

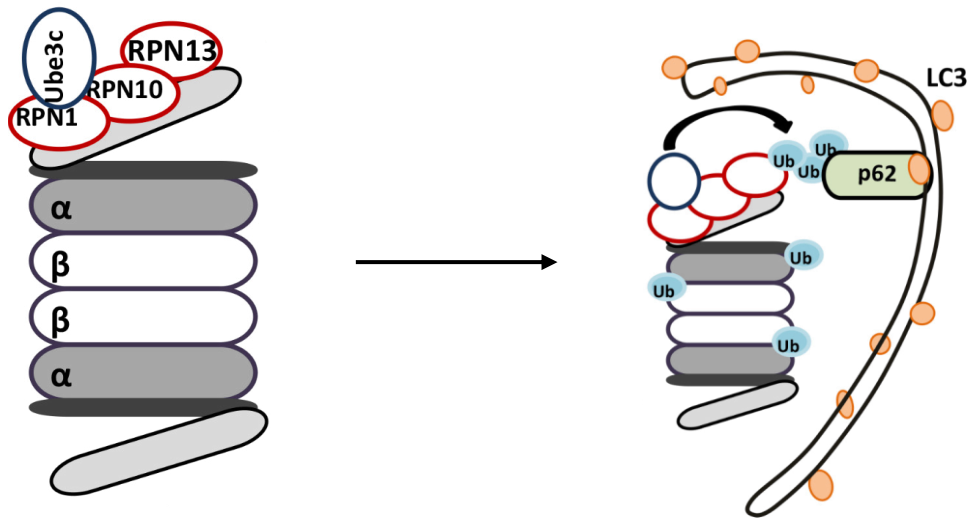
A seconda del loro grado di solubilità le proteine non correttamente ripiegate vengono eliminate dal proteasoma (E3-ligasi CHIP e BAG1), mentre gli aggregati di proteine non correttamente ripiegate attraverso il meccanismo di autofagia (E3-ligasi CHIP e HDAC6 o BAG3):



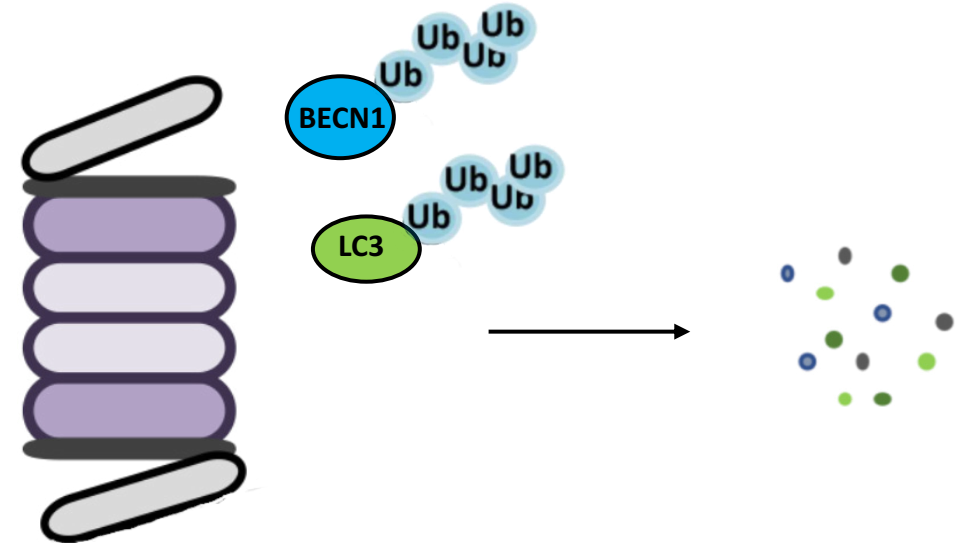
# Co-regolazione Proteasoma-autofagia

I due sistemi effettuano un processo regolativo l'uno sull'altro degradando a vicenda proteine chiave

L'autofagia induce la degradazione del proteasoma 26S in condizioni di basse concentrazioni intracellulari di amminoacidi



Il proteasoma induce la degradazione delle proteine LC3 e beclin1 necessarie per garantire la formazione degli autofagosomi e garantirne la fusione con i lisosomi

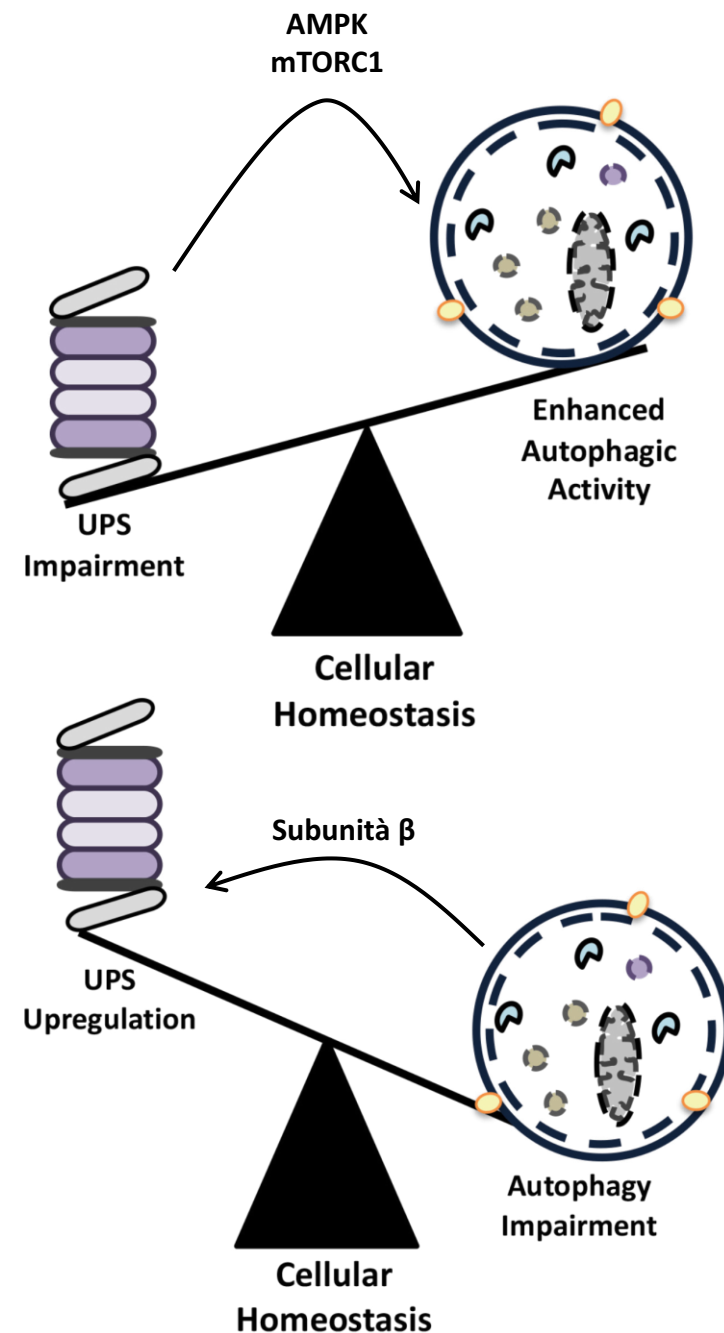


# Compensazione Proteasoma-Autofagia

L'inibizione di uno dei 2 sistemi provoca un aumento dell'attività degradativa del processo opposto e viceversa:

- Inibendo il proteasoma si ha l'attivazione delle proteine AMPK e mTORC1
- Inibendo il processo di autofagia si ha un aumento della sintesi delle subunità proteasomiali

Questo meccanismo permette di mantenere l'omeostasi cellulare garantendo l'eliminazione delle proteine anche in mancanza del corretto funzionamento di uno dei due sistemi.

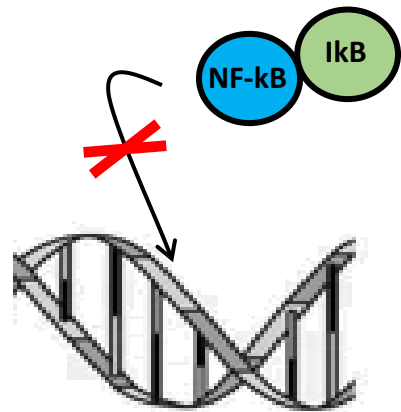


# Associazione trascrizionale

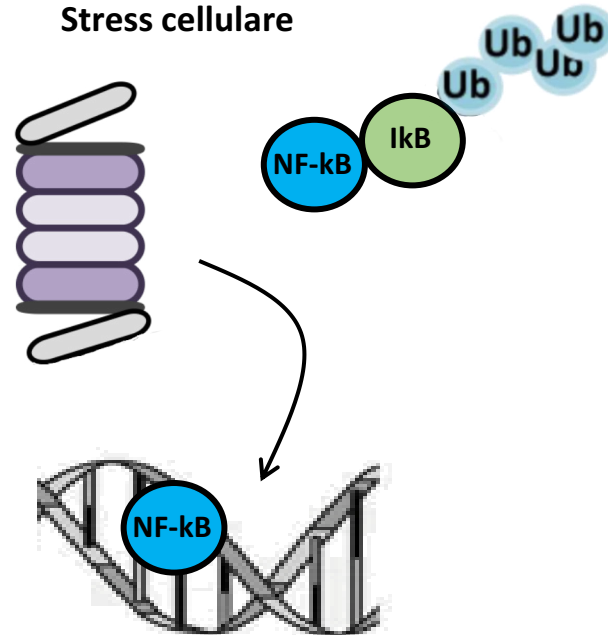
L'attività di molti fattori di trascrizione che controllano direttamente la formazione degli autofagosomi viene regolata dal proteasoma:

## Proteina NF-kB

Condizioni normali

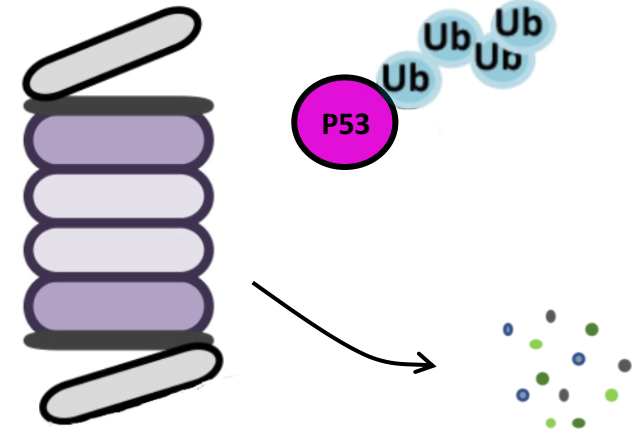


Stress cellulare

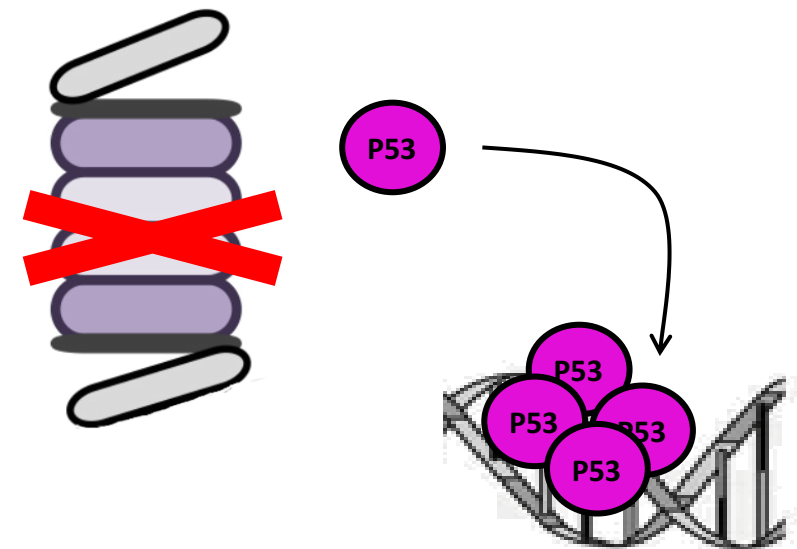


## Proteina P53

Condizioni normali



Stress cellulare

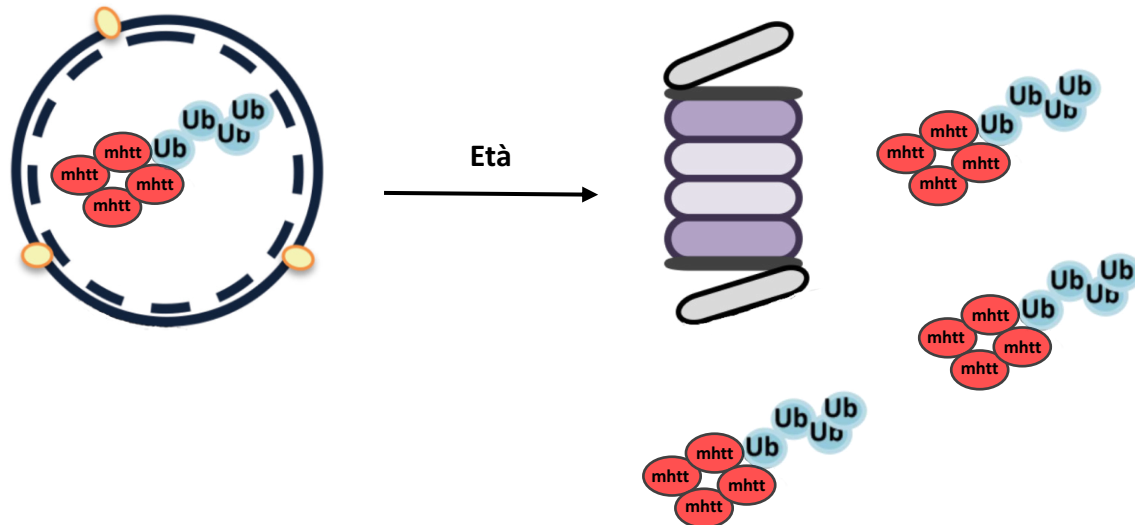




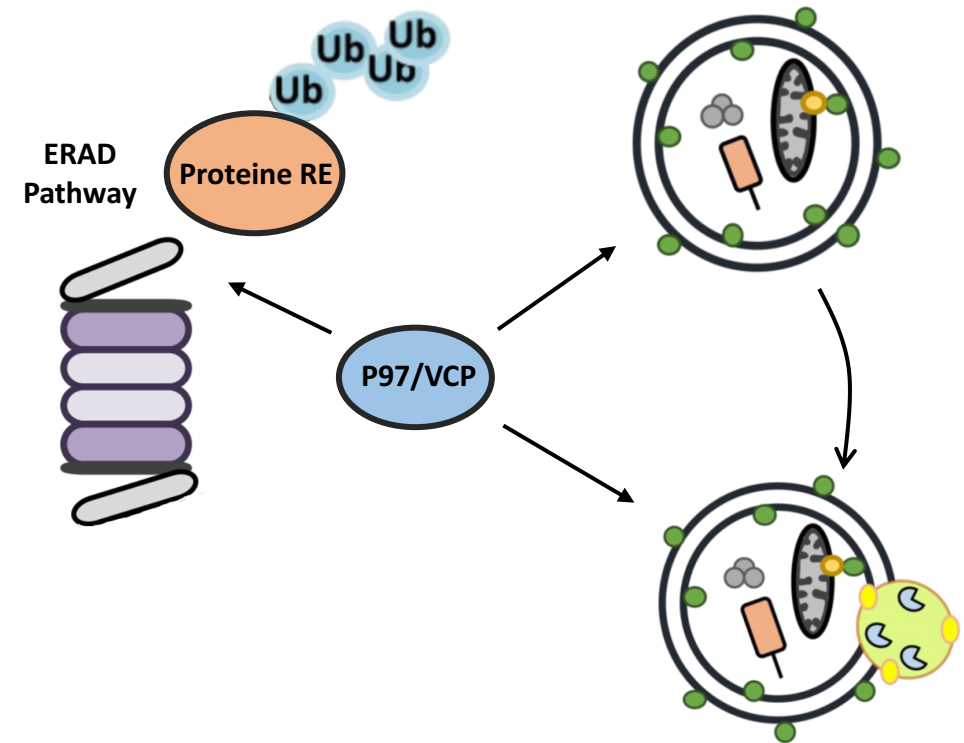
# Associazione proteasoma-autofagia nelle malattie

Variazioni nell'associazione tra autofagia e proteasoma sono responsabili dell'esito di numerose malattie neurodegenerative e cancerose:

## Sindrome di Huntington



## Sindrome di Parkinson



# Riassunto esteso

Il proteasoma e l'autofagia rappresenta no i due principali sistemi di degradazione e riciclo delle proteine e degli organuli cellulari.

Il Proteasoma è un complesso proteolitico ATP-dipendente che si occupa della degradazione di proteine con una breve emivita o proteine misfoldate idro-solubili.

L'autofagia è un meccanismo cellulare che consente la degradazione di proteine a lunga emivita, proteine misfoldate non idro-solubili e organelli cellulari.

Anche se il meccanismo d'azione dei 2 sistemi è differente è presente un certo grado di associazione e sovrapposizione nei 2 sistemi, infatti entrambi i sistemi degradano esclusivamente proteine che sono state "marcate" con legami di proteine ubiquitine in corrispondenza del gruppo amminico di specifici residui di lisina.

A seconda del pattern di ubiquitinazione sui residui di lisina e di ulteriori modificazioni ai residui amminoacidici (fosforilazione, ecc), la proteina verrà degradata da un sistema o l'altro: le proteine non correttamente ripiegate vengono eliminate dal proteasoma (E3-ligasi CHIP e BAG1), mentre gli aggregati di proteine non correttamente ripiegate attraverso il meccanismo di autofagia (E3-ligasi CHIP e HDAC6 o BAG3).

I due sistemi effettuano un processo regolativo l'uno sull'altro degradando a vicenda proteine chiave:

- L'autofagia induce la degradazione del proteasoma 26S in condizioni di basse concentrazioni intracellulari di amminoacidi
- Il proteasoma induce la degradazione delle proteine LC3 e beclin1 necessarie per garantire la formazione degli autofagosomi e garantirne la fusione con i lisosomi

È stato osservato come l'inibizione di uno dei 2 sistemi provoca un aumento dell'attività degradativa del processo opposto e viceversa; tale processo permette di mantenere l'omeostasi cellulare garantendo l'eliminazione delle proteine anche in mancanza del corretto funzionamento di uno dei due sistemi.

L'attività di molti fattori di trascrizione che controllano direttamente la formazione degli autofagosomi è regolata dal proteasoma:

- P53: normalmente degradata dal proteasoma grazie all'azione di un enzima E3-ligasi, mentre in condizioni di stress cellulare, l'enzima E3-ligasi è inibito provocando l'accumulo della proteina, che induce l'espressione di geni associati a numerosi meccanismi antitumorali, inclusi numerosi geni che inducono la formazione di autofagosomi
- NF-kB: complesso proteico citoplasmatica normalmente inattivo e legata al repressore IκB; in condizioni di stress cellulare la proteina repressore IκB viene degradata e NF-kB passa al nucleo e induce la trascrizione del gene BECN1

Variazioni nell'associazione tra autofagia e proteasoma sono responsabili anche della comparsa e dell'esito di numerose malattie neurodegenerative e cancerose.

# Referenze

- Hershko, A. (1983). Ubiquitin: roles in protein modification and breakdown. *Cell* 34, 11–12. doi: 10.1016/0092-8674(83)90131-9
- Schwartz, A. L., and Ciechanover, A. (2009). Targeting proteins for destruction by the ubiquitin system: implications for human pathobiology. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.051208.165340
- Groll, M., and Huber, R. (2003). Substrate access and processing by the 20S proteasome core particle. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 35, 606–616. doi: 10.1016/S1357-2725(02)00390-4
- Klionsky, D. J. (2007). Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 931–937. doi: 10.1038/nrm2245
- Demishtein, A., Fraiberg, M., Berko, D., Tirosh, B., Elazar, Z., and Navon, A. (2017). SQSTM1 / p62-mediated autophagy compensates for loss of proteasome polyubiquitin recruiting capacity. *Autophagy* 13, 1697–1708. doi: 10.1080/15548627.2017.1356549
- Korolchuk, V. I., Mansilla, A., Menzies, F. M., and Rubinsztein, D. C. (2009a). Autophagy inhibition compromises degradation of ubiquitin-proteasome pathway substrates. *Mol. Cell* 33, 517–527. doi: 10.1016/j.molcel.2009.01.021
- Korolchuk, V. I., Menzies, F. M., and Rubinsztein, D. C. (2009b). A novel link between autophagy and the ubiquitin-proteasome system. *Autophagy* 5, 862–863. doi: 10.4161/auto.8840
- Korolchuk, V. I., Menzies, F. M., and Rubinsztein, D. C. (2010). Mechanisms of cross-talk between the ubiquitin-proteasome and autophagy-lysosome systems. *FEBS Lett.* 584, 1393–1398. doi: 10.1016/j.febslet.2009.12.047
- Olzmann, J. A., Li, A., Chudaev, M. V., Chen, J., Perez, F. A., Palmiter, R. D., et al. (2007). Parkin-mediated K63-linked polyubiquitination targets misfolded DJ-1 to aggresomes via binding to HDAC6. *J. Cell Biol.* 178, 1025–1038. doi: 10.1083/jcb.200611128
- Cuervo, A. M., Palmer, A., Rivett, A. J., and Knecht, E. (1995). Degradation of proteasomes by lysosomes in rat liver. *Eur. J. Biochem.* 227, 792–800. doi: 10.1111/j.1432-1033.1995.0792p.x
- Orian, A., Gonen, H., Bercovich, B., Fajerman, I., Eytan, E., Israe, A., et al. (2000). SCF b -TrCP ubiquitin ligase-mediated processing of NF- k B p105 requires phosphorylation of its C-terminus by I k B kinase. *EMBO J.* 19, 2580–2591
- Copetti, T., Bertoli, C., Dalla, E., Demarchi, F., and Schneider, C. (2009). p65/RelA modulates BECN1 transcription and autophagy. *Mol. Cell. Biol.* 29, 2594–2608. doi: 10.1128/MCB.01396-08
- Nie, J., Xie, P., Liu, L., Xing, G., Chang, Z., Yin, Y., et al. (2010). Smad ubiquitylation regulatory factor 1/2 (Smurf1/2) promotes p53 degradation by stabilizing the E3 ligase MDM2. *J. Biol. Chem.* 285, 22818–22830. doi: 10.1074/jbc.M110.126920
- Bhat, K. P., Yan, S., Wang, C.-E., Li, S., and Li, X.-J. (2014). Differential ubiquitination and degradation of huntingtin fragments modulated by ubiquitin-protein ligase E3A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 5706–5711. doi: 10.1073/pnas.1402215111
- Johnson, J. O., Mandrioli, J., Benatar, M., Abramzon, Y., Van Deerlin, V. M., Trojanowski, J. Q., et al. (2010). Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 68, 857–864. doi: 10.1016/j.neuron.2010.11.036