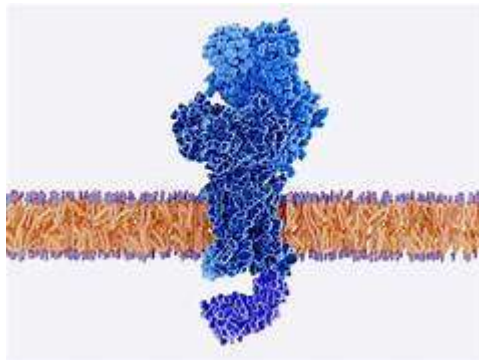


5.ottobre

## Piezo1 regola l'attivazione dei linfociti B, la proliferazione delle plasmacellule e la produzione di anticorpi

*La meccanica è il paradiso delle scienze*  
Leonardo da Vinci

Negli ultimi decenni, le vie di segnalazione indotte dal **recettore dell'antigene delle cellule B (BCR)** sono state descritte con straordinario dettaglio molecolare, principalmente da studi sulle risposte delle cellule B agli antigeni in vitro.



È stato dimostrato che la **segnalazione di BCR** governa l'avvio di programmi trascrizionali associati all'attivazione delle cellule B e alle decisioni sul destino, nonché l'elaborazione dell'antigene dipendente da BCR e la presentazione dell'antigene alle cellule T

**Kwak K et al. B cell signaling in context. Nat Immunol. 2019 Aug;20(8):963-969.**

Le **cellule B** sono componenti chiave della risposta immunitaria adattativa.

La loro differenziazione in cellule B di memoria specifiche o in plasmacellule secernenti anticorpi è una conseguenza delle fasi di attivazione che implicano l'elaborazione e la presentazione degli antigeni.

L'impegno dei recettori delle **cellule B** da parte degli antigeni legati alla superficie porta alla formazione di una sinapsi immunologica che coordina gli eventi di segnalazione cellulare e che promuove l'assorbimento dell'antigene per la presentazione sulle molecole **MHC di classe II**.

**Yuseff MI et al. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. Nat Rev Immunol. 2013 Jul;13(7):475-86.**

I **centri germinali (GC)** sono siti di rapida proliferazione delle **cellule B** in risposta a determinati tipi di immunizzazione. Compaiono in circa 1 settimana e possono persistere per diversi mesi. Nei GC, le cellule B si differenziano in modo unico e iniziano a subire una mutazione somatica delle regioni Ig V ad un ritmo elevato. Le **cellule B GC (GCBC)** subiscono quindi una diversificazione clonale che può influenzare l'affinità del recettore delle cellule B appena mutato (**BCR**) per il suo antigene guida. Attraverso processi ancora poco conosciuti, i GCBC con maggiore affinità vengono espansi selettivamente mentre quelli con mutazioni che inattivano il **BCR** vengono persi. Inoltre, in vari momenti durante la reazione GC estesa, alcuni GCBC subiscono la differenziazione **in cellule B di memoria a lunga vita (MBC) o plasmacellule**.

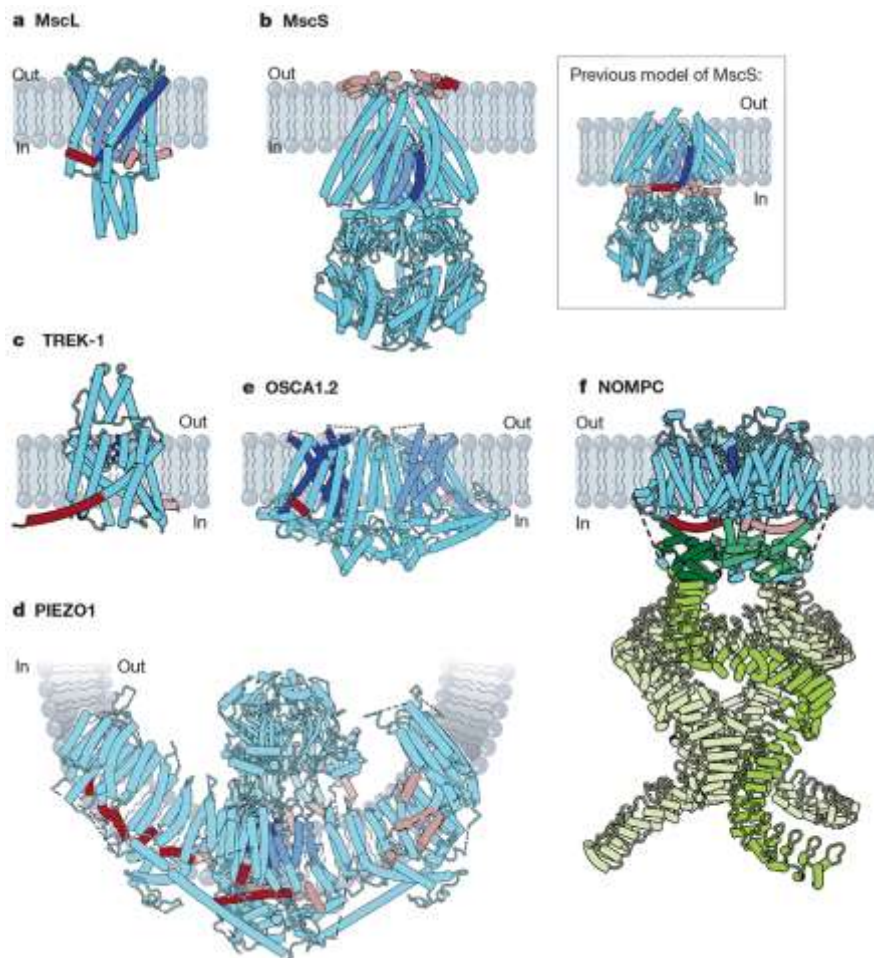
**Shlomchik MJ et al. Linking signaling and selection in the germinal center. Immunol Rev. 2019 Mar;288(1):49-63.**

La capacità di percepire le forze fisiche è conservata in tutti gli organismi. Le cellule convertono gli stimoli meccanici in segnali elettrici o chimici tramite canali ionici attivati meccanicamente. Negli ultimi anni, l'identificazione di nuove famiglie di canali ionici meccanosensibili, come *i canali PIEZO* e OSCA/TMEM63, insieme a sorprendenti intuizioni su canali meccanosensibili ben studiati, hanno guidato ulteriori sviluppi nel campo della meccanotrasduzione.

Diversi ruoli meccanosensoriali ben caratterizzati come il tatto, il rilevamento della pressione sanguigna e l'udito sono ora collegati ai meccanotrasduttori primari. I ruoli imprevisti del rilevamento della forza meccanica continuano a essere scoperti. Inoltre, strutture ad alta risoluzione rappresentative di quasi ogni famiglia di canali attivati meccanicamente descritti finora hanno sottolineato la loro diversità, facendo avanzare la nostra comprensione dei meccanismi biofisici del rilevamento della pressione.

**Kefauver JM et al** *Discoveries in structure and physiology of mechanically activated ion channels*. *Nature*. 2020 Nov;587(7835):567-576.

### Strutture dei canali ionici attivati meccanicamente



Molti canali attivati meccanicamente sembrano condividere una caratteristica comune: eliche anfipatiche (rosso scuro sulla subunità A, rosa su tutte le altre subunità) collegate direttamente o indirettamente alle regioni di rivestimento dei pori (blu scuro sulla subunità A, fiordaliso su tutte le altre subunità).

a, Modello di cartone animato di MscL (Banca dati proteica (PDB): 2OAR). Il rivestimento dei pori **TM1 (blu)** è collegato all'**elica anfipatica S1 (rossa)**.

**b**, modelli di cartoni animati di MscS. Principale, una struttura recente di MscS in nanodischi (PDB: 6PWP), con il **dominio di ancoraggio anfibatico (rosso)** situato sul lembo della membrana esterna. Nell'insero, il modello precedente di MscS (PDB: 2OAU), **con l'elica TM3a che riveste i pori (blu)** completamente incorporata nella membrana e **TM3b (rosso)** previsto come un segmento anfibatico nel lembo citoplasmatico.

**c**, Modello cartoon di TREK-1 (PDB: 6CQ6). I **domini dei pori (blu)** sono controllati da un meccanismo di tipo C. **La coda C anfibatica (rossa)** si estende sotto l'elica M4.

**d**, modello cartoon di PIEZO1 (PDB: 5Z10). Sotto il cappuccio extracellulare, **due eliche TM di ciascuna subunità rivestono il poro (blu)**. Nelle lamelle con scambio di dominio, **diverse eliche anfibatiche (rosse)** rivestono il lembo citoplasmatico. **e**, modello cartoon di OSCA1.2 (PDB: 6MGV). **Cinque eliche (blu)** rivestono ciascuno dei due presunti pori di OSCA1.2 e **un'elica anfibatica (rossa)** si trova sulla faccia opposta di ciascuna subunità. **f**, modello cartoon di NOMPC (PDB: 5VK4).

Ciascuna subunità NOMPC ha un dominio **TRP anfibatico (rosso)**, **un'elica del poro (blu)** e **un grande dominio ripetuto di anchirina a molla (verde)**.

Il dato che topi privi di PIEZO1 nelle cellule immunitarie innate hanno mostrato un'inflammation polmonare ablata nel contesto di un'infezione batterica o di un'autoinflammation fibrotica. I risultati rivelano un asse sensoriale ambientale che stimola le cellule immunitarie innate a innescare una risposta infiammatoria e dimostrano un ruolo fisiologico per PIEZO1 e la meccanosensazione nell'immunità.

**Solis AG et al** *Mechanosensation of cyclical force by PIEZO1 is essential for innate immunity. Nature. 2019 Sep;573(7772):69-74.*

La richiesta di un vaccino per la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) ha evidenziato lacune nella nostra comprensione dei requisiti per le risposte delle cellule B agli antigeni, in particolare agli antigeni presentati dalla membrana, come avviene in vivo.

L'attivazione delle cellule B in seguito al legame degli antigeni al recettore delle cellule B (BCR) è importante per la produzione di anticorpi basati sul vaccino. Le cellule B sono attivate più fortemente dagli antigeni legati alla membrana che da quelli solubili.



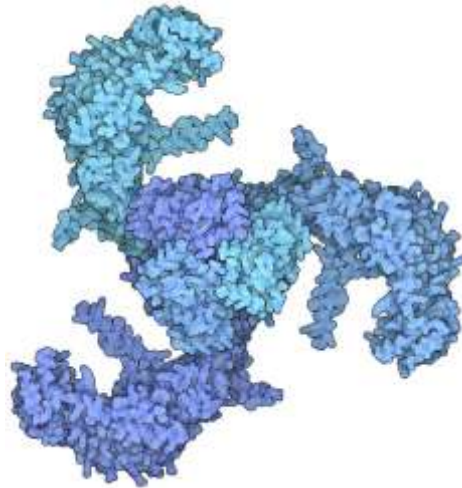
Il team coordinato da **Kihyck Kwak** del *Laboratory of Immunogenetics, National Institute of Allergy and Infectious Diseases* ha alla fine di settembre pubblicato il report:

*Kwak K et al*

**B cell responses to membrane-presented antigens require the function of the mechanosensitive cation channel Piezo1.**

*Sci Signal. 2023 Sep 26;16(804):eabq5096.*

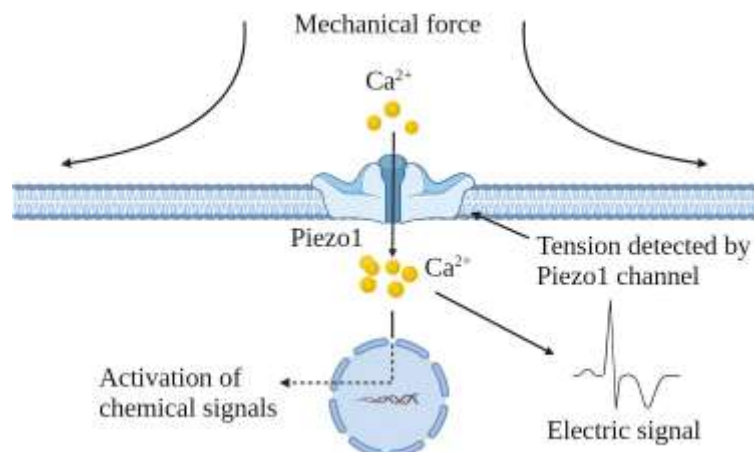
Ha dimostrato, attraverso l'imaging e le analisi funzionali che il **canale cationico meccanosensibile Piezo1** era necessario affinché le cellule B rispondessero agli antigeni presentati sulla membrana, ma non solubili.



I cambiamenti **mediati da Piezo1** nel flusso di  $\text{Ca}^{2+}$  hanno permesso alle cellule B di percepire il contatto con una superficie solida contenente l'antigene, portando all'attivazione di BCR. Pertanto le risposte delle cellule B umane agli antigeni presentati dalla membrana richiedono la funzione di Piezo1.

Il semplice contatto con una sonda di vetro ha indotto flussi di calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) nelle cellule B che sono state bloccate **dall'inibitore Piezo1 GsMTx4**.

*Quando posizionati su superfici di vetro, la tensione della membrana plasmatica delle cellule B aumenta, stimolando il  $\text{Ca}^{2+}$  afflusso e diffusione delle cellule B sulla superficie del vetro, che è stato bloccato dall'inibitore Piezo1 OB-1.*



Le risposte delle **cellule B** agli antigeni presentati dalla membrana ma non agli antigeni solubili sono state inibite sia dagli **inibitori di Piezo1 che dal knockdown di Piezo1 mediato da siRNA.**

Pertanto, *l'attivazione di Piezo1* definisce un evento essenziale nell'attivazione delle cellule B verso antigeni presentati dalla membrana che può essere sfruttato per migliorare l'efficacia dei vaccini.

Questi risultati potrebbero aiutare nella progettazione di vaccini che stimolino meglio la produzione di anticorpi da parte delle **cellule B**.

### **Può essere utile consultare:**

**Cutting Edge: I meccanosensori Piezo1 ottimizzano l'attivazione delle cellule T umane**  
**Liu CSC et al. Cutting Edge: Piezo1 Mechanosensors Optimize Human T Cell Activation.**  
*J Immunol. 2018 Feb 15;200(4):1255-1260.*

**Il canale ionico meccanosensibile Piezo1 è inibito dal peptide GsMTx4.**  
**The mechanosensitive ion channel Piezo1 is inhibited by the peptide GsMTx4.**  
*Biochemistry. 2011 Jul 26;50(29):6295-300.*

**Trasduzione meccanoelettrica dei mammiferi: struttura e funzione dei canali ionici forzati.**  
**Douquet D, et al. Honoré E. Mammalian Mechanoelectrical Transduction: Structure and Function of Force-Gated Ion Channels.**  
*Cell. 2019 Oct 3;179(2):340-354.*

# ATTOSECONDO

0,000000000000000001 secondi.



Per intravedere le particelle incredibilmente veloci del mondo subatomico, è necessario produrre lampi di luce incredibilmente brevi. **Anne L'Huillier, Pierre Agostini e Ferenc Krausz** hanno condiviso il PREMIO NOBEL per la fisica 2023 per il loro lavoro pionieristico nello sviluppo della capacità di illuminare la realtà su scale temporali quasi inconcepibilmente brevi.

Tra gli anni '80 e l'inizio degli anni 2000, i tre fisici hanno sviluppato tecniche per produrre impulsi laser della durata di soli attosecondi, periodi miliardi di miliardi di volte più brevi di un secondo. Se visto in lampi così brevi, il mondo rallenta. Il battito d'ali di un colibrì diventa un'eternità. Anche il ronzio incessante degli atomi diventa lento. Sulla scala temporale degli attosecondi, i fisici possono rilevare direttamente il movimento degli elettroni stessi mentre svolazzano attorno agli atomi, saltando da un posto all'altro.

“La capacità di generare impulsi di luce ad attosecondi ha aperto le porte su una scala temporale minuscola, estremamente minuscola. Ha anche aperto le porte al mondo degli elettroni”, ha affermato **Eva Olsson**, *presidente del Comitato Nobel per la fisica e fisico presso la Chalmers University of Technology*. Oltre ad essere un modo fondamentalmente nuovo di studiare gli elettroni, questo metodo per vedere il mondo al rallentatore può portare a una serie di applicazioni.

**Mats Larsson** membro del comitato per il Nobel, ha attribuito alla tecnica il merito di aver lanciato il campo dell'attochimica, ovvero la capacità di manipolare i singoli elettroni utilizzando la luce. Spara impulsi laser ad attosecondi su un semiconduttore, ha continuato, e il materiale passa quasi istantaneamente dal bloccare il flusso di elettricità alla conduzione di elettricità, consentendo potenzialmente la produzione di dispositivi elettronici ultraveloci. E Krausz, uno dei vincitori di quest'anno, sta anche tentando di sfruttare la potenza degli impulsi ad attosecondi per rilevare sottili cambiamenti nelle cellule del sangue che potrebbero indicare le prime fasi del cancro.

Il mondo degli ultraveloci è completamente diverso dal nostro, ma, grazie al lavoro di **L'Huillier, Agostini, Krausz** e altri ricercatori, è un mondo che sta appena emergendo.

## Cos'è un attosecondo?

Un attosecondo è un quintilionesimo di secondo, o **0,000000000000000001 secondi**. Nell'arco di un secondo passano più attosecondi di quanti secondi siano trascorsi dalla nascita dell'universo.

Per cronometrare i movimenti dei pianeti, pensiamo in giorni, mesi e anni. Per misurare un essere umano che corre i 100 metri, utilizziamo secondi o centesimi di secondo. Ma quando ci immergiamo nel mondo submicroscopico, gli oggetti si muovono più velocemente. Per misurare movimenti quasi istantanei, come la danza degli elettroni, abbiamo bisogno di cronometri con tacche molto più fini: gli attosecondi.

Nel 1925, **Werner Heisenberg**, uno dei pionieri della meccanica quantistica, sostenne che il tempo impiegato da un elettrone per girare attorno a un atomo di idrogeno non è osservabile. In un certo senso

aveva ragione. Gli elettroni non orbitano attorno a un nucleo atomico nel modo in cui i pianeti orbitano attorno alle stelle. Piuttosto, i fisici le intendono come onde di probabilità che danno la probabilità di essere osservati in un determinato luogo e momento, quindi non possiamo misurare un elettrone che vola letteralmente nello spazio.

Ma in un altro senso, **Heisenberg** sottovalutò l'ingegno di fisici del XX secolo come **L'Huillier, Agostini e Krausz**. Le probabilità che l'elettrone sia qua o là cambiano di momento in momento, da attosecondo ad attosecondo. E con la capacità di creare impulsi laser ad attosecondi in grado di interagire con gli elettroni mentre si evolvono, i ricercatori possono sondare direttamente vari comportamenti degli elettroni. Come fanno i fisici a produrre impulsi ad attosecondi?

Negli anni '80, **Ahmed Zewail** del *California Institute of Technology* sviluppò la capacità di far lampeggiare i laser con impulsi della durata di pochi femtosecondi – migliaia di attosecondi. Questi segnali, che valsero a **Zewail** il Premio Nobel per la Chimica nel 1999, furono sufficienti per consentire ai ricercatori di studiare come si svolgono le reazioni chimiche tra gli atomi nelle molecole. L'avanzamento è stato pubblicizzato come “la fotocamera più veloce del mondo” .

Per un certo periodo, una fotocamera più veloce sembrava irraggiungibile. Non era chiaro come far oscillare la luce più velocemente. Ma nel 1987, **Anne L'Huillier** e i suoi collaboratori fecero una osservazione interessante : se si illumina alcuni gas, i loro atomi si eccitano e riemettono ulteriori colori di luce che oscillano molte volte più velocemente del laser originale - un effetto noto come “sovratoni”. Il gruppo di **L'Huillier** ha scoperto che in gas come l'argon, alcuni di questi colori extra apparivano più luminosi di altri, ma secondo uno schema inaspettato. Inizialmente, i fisici non erano sicuri di cosa pensare di questo fenomeno.

All'inizio degli anni '90, **L'Huillier** e altri ricercatori utilizzarono la meccanica quantistica per calcolare le diverse intensità dei vari armonici. Potrebbero quindi prevedere esattamente come, quando un laser a infrarossi che oscilla lentamente colpisce una nuvola di atomi, questi atomi emettono a loro volta fasci di luce “ultravioletta estrema” che oscilla rapidamente. Una volta che hanno capito quali sfumature aspettarsi, hanno trovato il modo di sovrapporle in modo che si sommassero a una nuova onda: una con picchi che si innalzano sulla scala degli attosecondi. Convincere giganteschi collettivi di atomi a produrre queste onde finemente sintonizzate in concerto è un processo che Larsson paragona a un'orchestra che produce musica.

Negli anni successivi, i fisici hanno sfruttato questa comprensione dettagliata degli armonici per creare impulsi ad attosecondi in laboratorio. **Agostini** e il suo gruppo hanno sviluppato una tecnica chiamata Rabbit, o “ricostruzione del battito degli attosecondi mediante interferenza di transizioni di due fotoni”. Con Rabbit, nel 2001 il **gruppo di Agostini** ha generato una stringa di impulsi laser, ciascuno della durata di 250 attosecondi. Lo stesso anno, il **gruppo di Krausz** ha utilizzato un metodo leggermente diverso noto come striature per produrre e studiare singole esplosioni, ciascuna della durata di **650 attosecondi**. Nel 2003, **L'Huillier** e i suoi colleghi li hanno superati entrambi con un impulso laser della durata di soli 170 attosecondi. La barriera dei femtosecondi era stata infranta.

### Cosa puoi fare con gli impulsi ad attosecondi?

Gli impulsi di attosecondi consentono ai fisici di rilevare qualsiasi cosa cambi in un intervallo che va da decine a centinaia di attosecondi. La prima applicazione è stata quella di provare ciò che i fisici avevano a lungo ritenuto impossibile (o almeno estremamente improbabile): vedere esattamente cosa fanno gli elettroni.

Nel 1905, **Albert Einstein** diede il via al campo della meccanica quantistica con la sua spiegazione dell'effetto fotoelettrico, in cui la luce diretta su una piastra metallica lancia elettroni nell'aria (in seguito avrebbe vinto il Premio Nobel per la fisica nel 1921 per la sua teoria). Prima dell'era della fisica degli

attosecondi, i fisici generalmente presumevano che la catena di reazioni che portava alla liberazione degli elettroni lanciati fosse istantanea.

Nel 2010 **Krausz e colleghi** hanno dimostrato il contrario. Hanno usato impulsi ad attosecondi per sincronizzare gli elettroni che venivano staccati dagli atomi di neon. In particolare, hanno scoperto che un elettrone in uno stato di energia inferiore abbandona il suo ospite **21 attosecondi** più velocemente di uno in uno stato di energia più elevata. E nel 2020, un altro gruppo ha dimostrato che gli elettroni fuoriescono decine di attosecondi più velocemente dall'acqua liquida che dal vapore acqueo.

Ulteriori applicazioni degli impulsi ad attosecondi sono in fase di sviluppo. La tecnica potrebbe sondare una serie di fenomeni legati agli elettroni, compreso il modo in cui le particelle trasportano e bloccano la carica elettrica, il modo in cui gli elettroni rimbalzano l'uno sull'altro e il modo in cui gli elettroni si comportano collettivamente.

**Krausz** sta anche illuminando con lampi di attosecondi il sangue umano. **L'anno scorso ha contribuito a dimostrare che minuscoli cambiamenti in un campione di sangue possono indicare se una persona ha un cancro allo stadio iniziale e di che tipo.**