

Corso di Biologia cellulare

Trasduzione del segnale e comunicazione cellulare

*< Le reti di segnalazione sono
il sistema nervoso di una cellula >*

LE PROTEINE DI SEGNALAZIONE INTRACELLULARI

Intermediari fra recettore ed effettore/i.

Ampie differenza di struttura ma hanno in comune 2 caratteristiche:

- Hanno grande mobilità all'interno della cellula = rapida diffusione
- Alcune sono enzimi (o sono in grado di legarli) e quindi capaci di catalizzare reazioni chimiche per amplificare rapidamente l'intensità di un segnale.

Le principali sono:

- A. Proteine G
- B. Proteine chinasi
- C. Chinasi lipidiche
- D. Canali ionici
- E. Le adenilato ciclasasi
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri)
- G. Adattatori

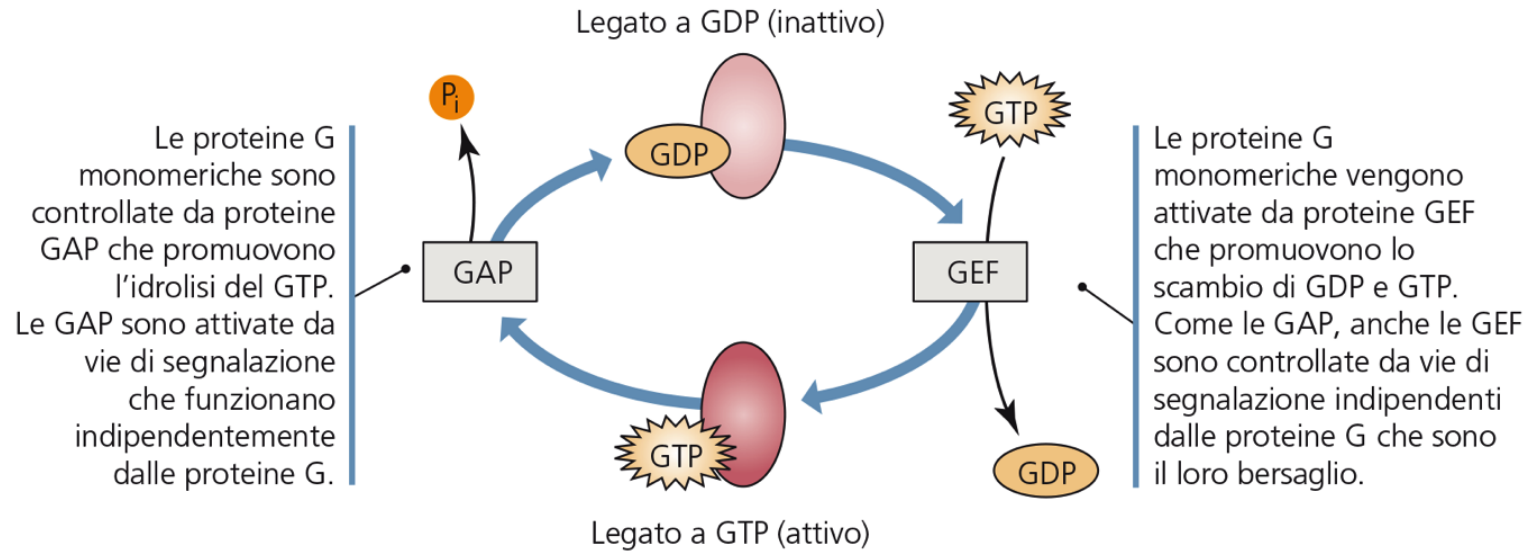
A. Le proteine G

- Utilizzano il legame al GTP come meccanismo di regolazione.
- 2 famiglie: **1) le proteine G monomeriche e 2) le proteine G eterotrimeriche.**

1) Le proteine G monomeriche

sono polipeptidi singoli con un dominio GTPasico e due siti di legame, uno per il GTP/GDP e uno per la proteina bersaglio.

- Quando il GTP è legato, la proteina è in forma attiva e si lega al suo bersaglio; il dominio GTPasico taglia il fosfato terminale del GTP che diviene GDP e la proteina si inattiva. Ruolo delle proteine GEF e proteine GAP.

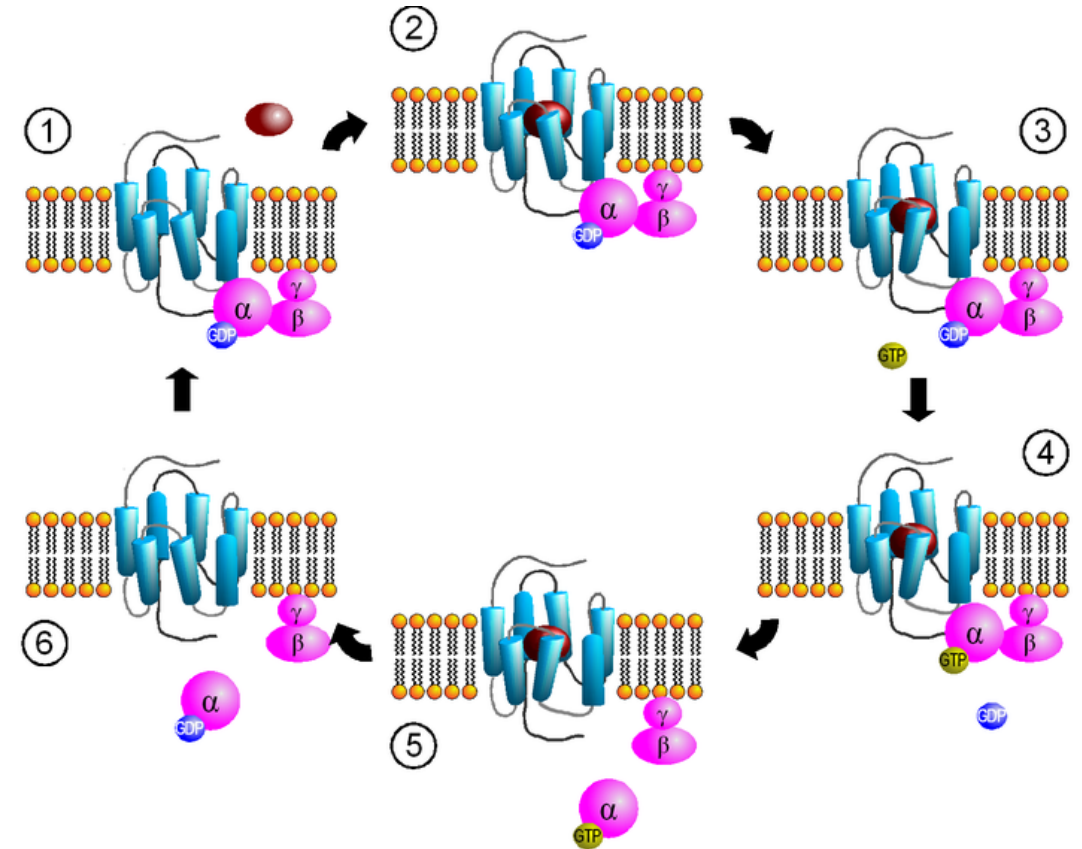


Continuo ciclo lega-taglia-riascia = ciclo GTPasico.

A. Le proteine G

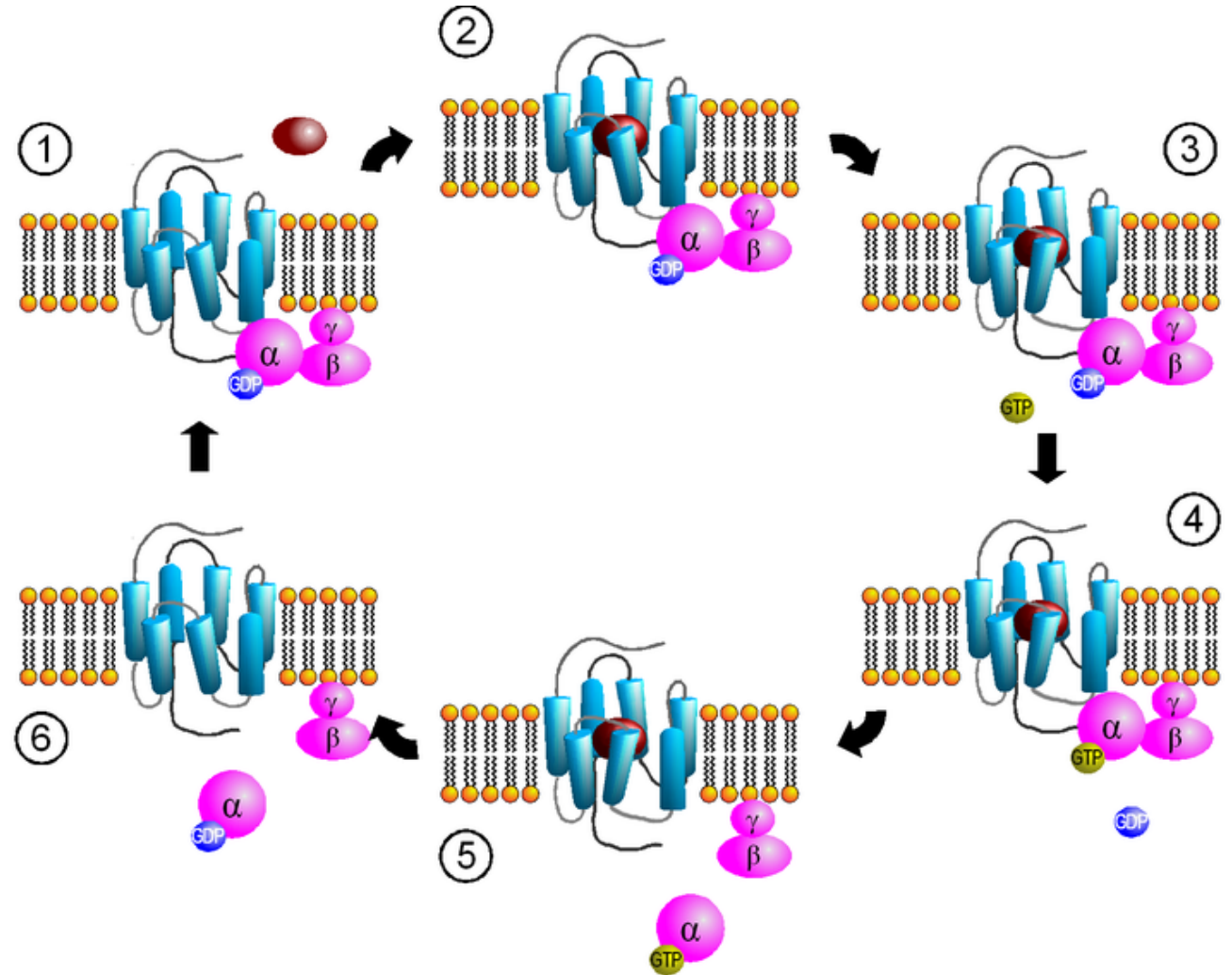
2) Le proteine G eterotrimeriche sono composte da 3 subunità: α , β , γ .

- In condizione di riposo una proteina G si trova in forma di trimero $\alpha\beta\gamma$ e lega **GDP** sulla subunità α .
- Quando il recettore è attivato dal legame con un ligando (che rappresenta il *primo messaggero*), cambia conformazione nella parte intracellulare e acquista alta affinità per il **GTP** (il **GDP** si distacca, sostituito dal **GTP**).
- Il legame col **GTP** determina il distacco della subunità *alfa* dal restante dimero *beta/gamma*. e quest'ultimo dalla superficie interna del recettore.
- Questi due complessi formatisi (*alfa*-**GTP** e *beta/gamma*) possono agire su *effettori* diversi; **uno stesso recettore può controllare più funzioni.**



A. Le proteine G

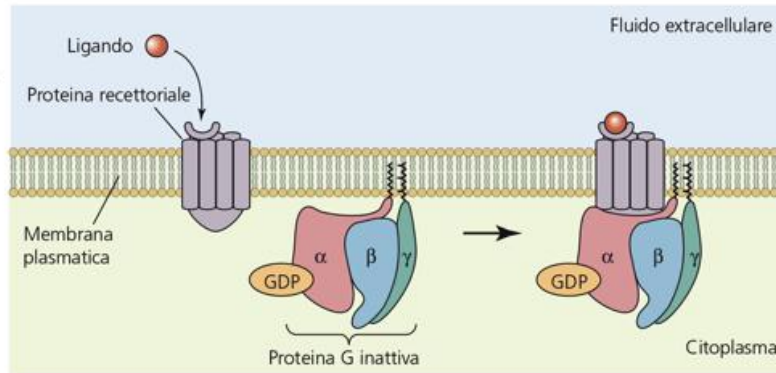
- La subunità α resta attiva e in grado di regolare proteine effettrici fino a quando non si verifica l'idrolisi del **GTP**.
- La subunità α legata al **GDP** è inattiva e quindi termina la sua azione.
- Uno degli effetti del dimero $\beta\gamma$ è la regolazione di proteine che fosforilano i recettori in un sito che li rende inattivi.
- Le $\beta\gamma$ possono avere, quindi, un ruolo di feedback negativo e controllare la via di segnalazione a monte.



Ciclo di segnalazione della proteina G eterotrimerica

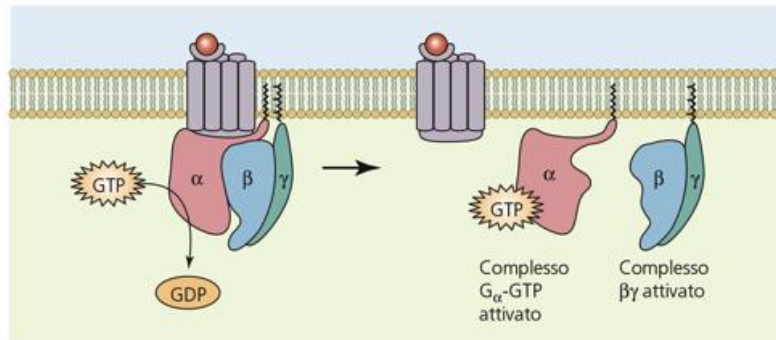
1

Un segnale chimico (ligando) si lega al recettore proteico determinando un cambiamento della sua conformazione e permettendogli così di interagire con la proteina G



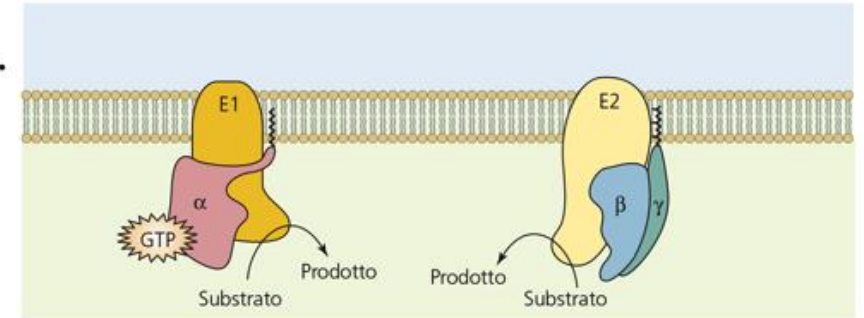
2

La proteina recettoriale stimola lo scambio di GTP nella subunità G_α determinando un cambiamento della sua conformazione. Questo cambiamento innesca la dissociazione del complesso proteina G producendo un complesso $G_\alpha \cdot GTP$ e uno $G\beta\gamma$.



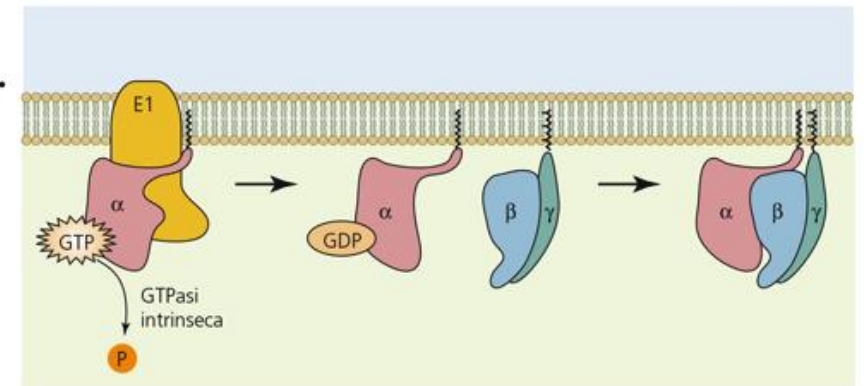
3

La subunità G_α interagisce con un effettore (E1) come l'adenilato ciclasi mentre il complesso delle subunità $G\beta\gamma$ interagisce con un altro effettore (E2).



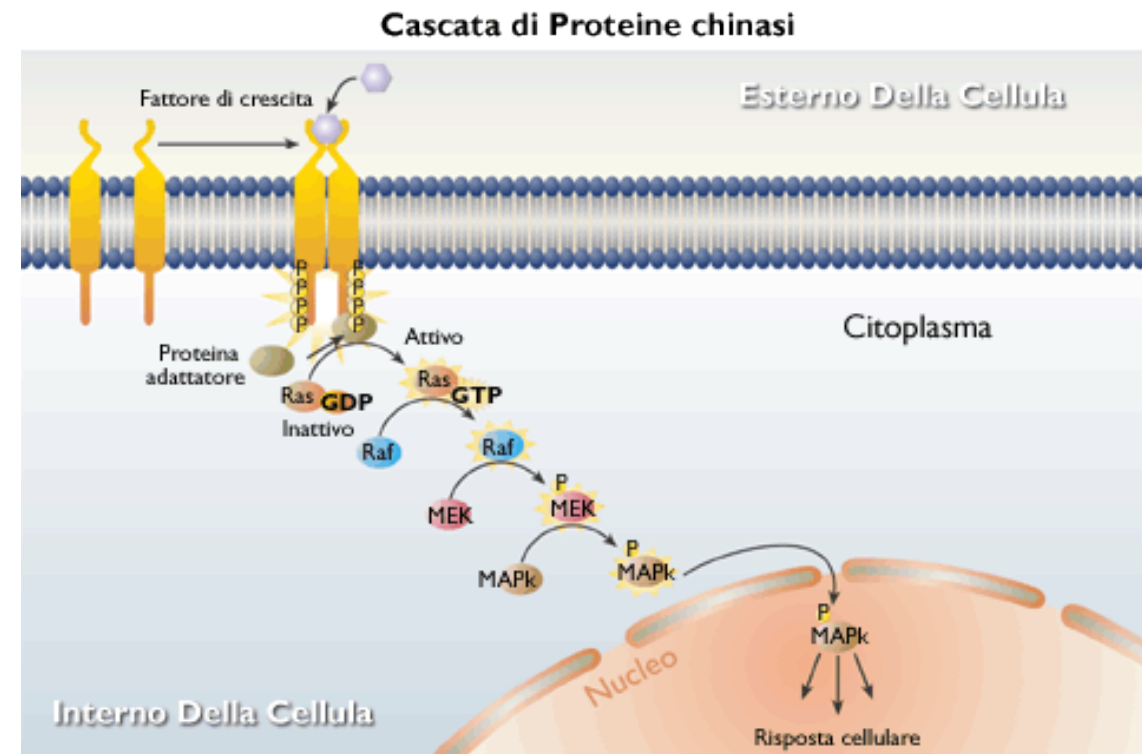
4

La subunità G_α catalizza l'idrolisi del GTP. Il risultante complesso $G_\alpha \cdot GDP$ si lega al complesso $G\beta\gamma$ per formare nuovamente il complesso G eterotrimerico.



B. Proteine chinasi

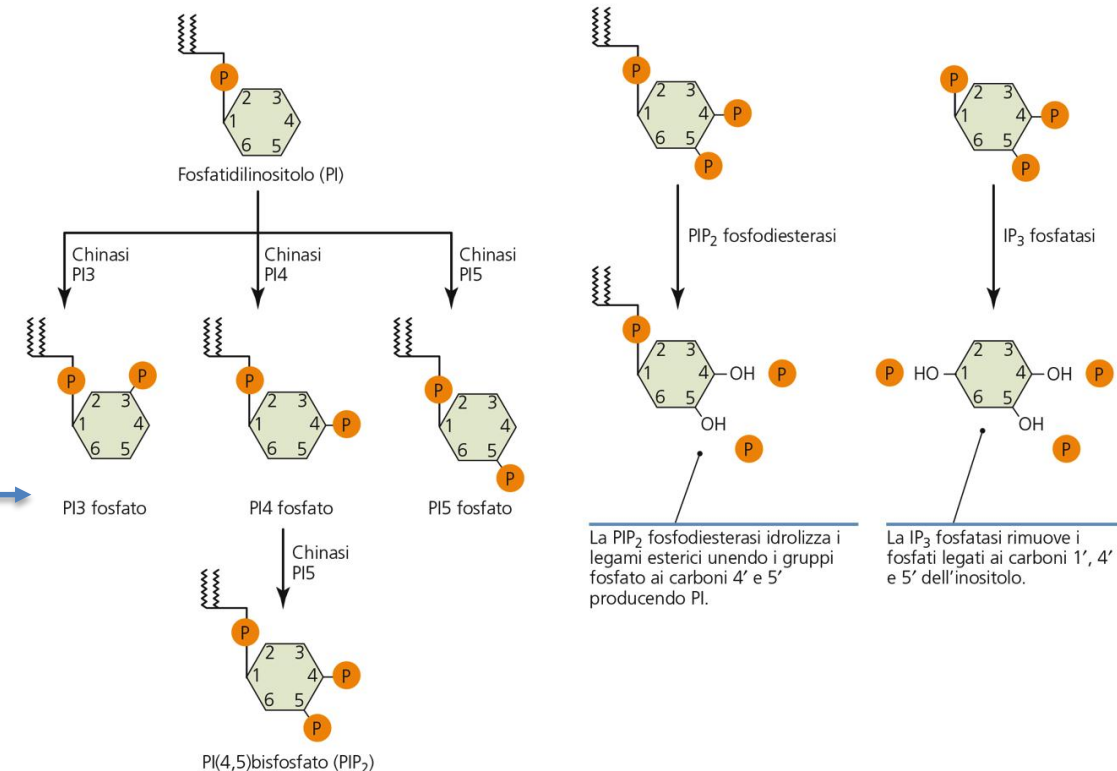
- Le proteine chinasi legano gruppi fosfato alla catena laterale degli amminoacidi tirosina, serina e treonina.
- I **recettori proteina chinasi (RTK e S/RTK)** appartengono a questa famiglia di proteine.
- Le proteine chinasi che non sono recettori si trovano nel citosol e si legano ad altre proteine di segnalazione fosforilandole; queste fosforilano un'altra chinasi e così via a formare una **cascata**.
- I fosfati aggiunti possono essere attivatori o inattivatori.
- Molte proteina chinasi sono in grado di entrare e uscire dal nucleo e non si legano al DNA ma fosforilano delle proteine che lo fanno.



C. Chinasi lipidiche

- Chinasi che aggiungono gruppi fosfato ai lipidi.
- Fosforilano il gruppo polare di testa di fosfolipi della membrana, strato citoplasmatico: cambio di forma del gruppo di testa che fuoriesce dal grande gruppo di fosfolipidi della membrana e trasmette il segnale.

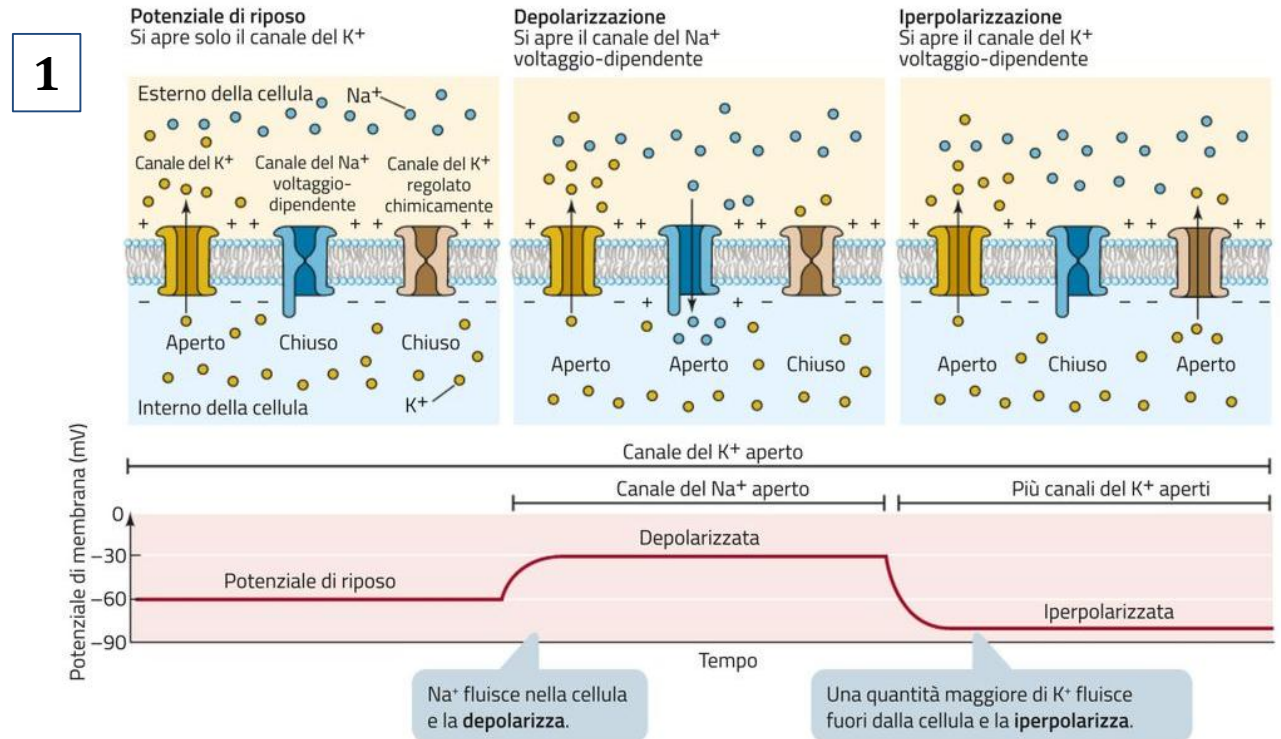
- Chinasi diverse possono fosforilare lo stesso fosfolipide in posizioni diversi generando un prodotto multifosfato: il **FOSFATIDILINOSITOLO** è fosforilato in 3 siti diversi.



D. I canali ionici

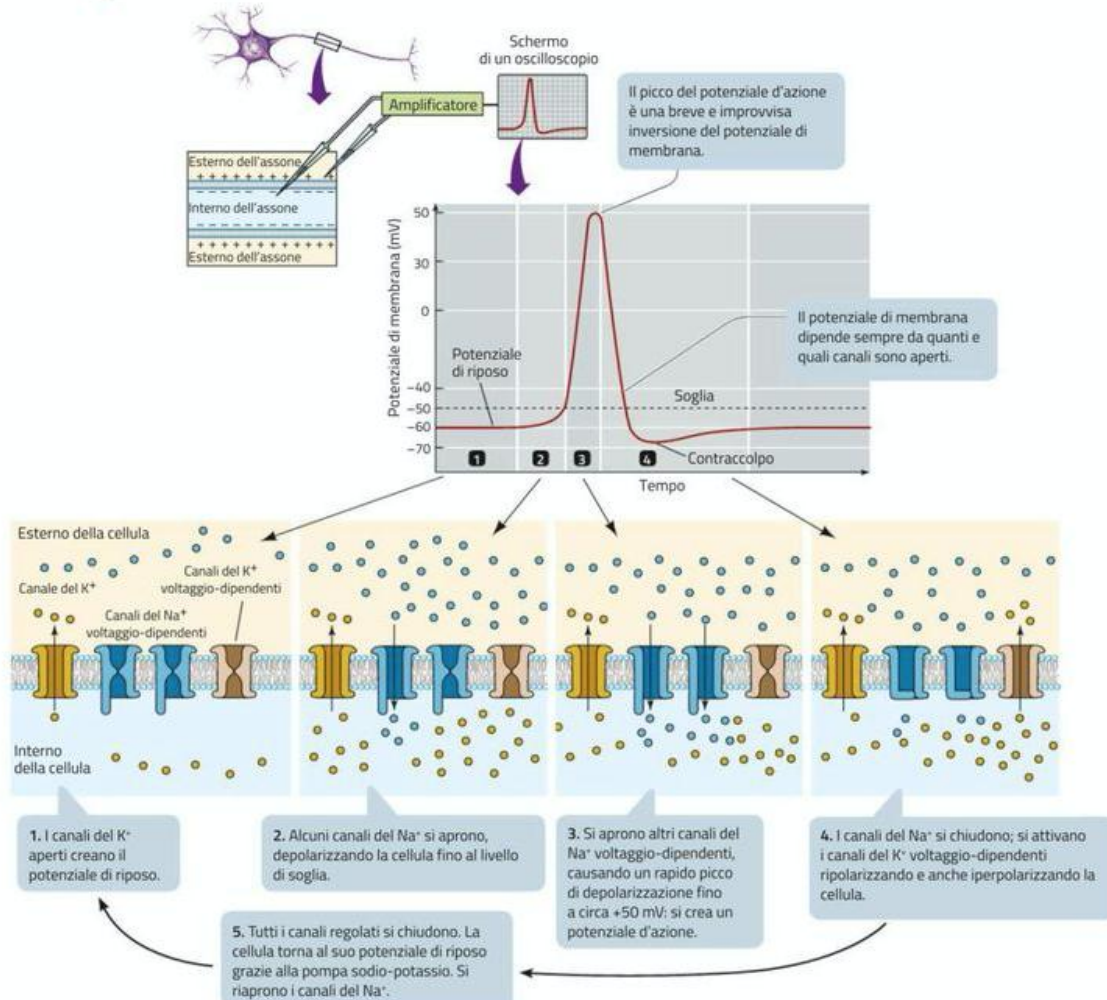
- Partecipano alle vie di segnalazione SE il cambiamento di concentrazione (o potenziale di membrana) che risulta dal passaggio di ioni altera forma e attività di una proteina in una via di trasduzione del segnale.
- Nella maggior parte delle cellule il Ca^{2+} fluisce nel citosol sia dallo spazio extracellulare che dal lume del RE ed è lo ione più comune nelle vie di trasduzione del segnale.

- **Nei neuroni il flusso di molti ioni diversi attraverso la membrana viene usato per controllare il potenziale elettrico di membrana e i potenziali d'azione: canali Na^+ e K^+ dipendenti da voltaggio hanno un ruolo importante in questo tipo di segnalazione.**

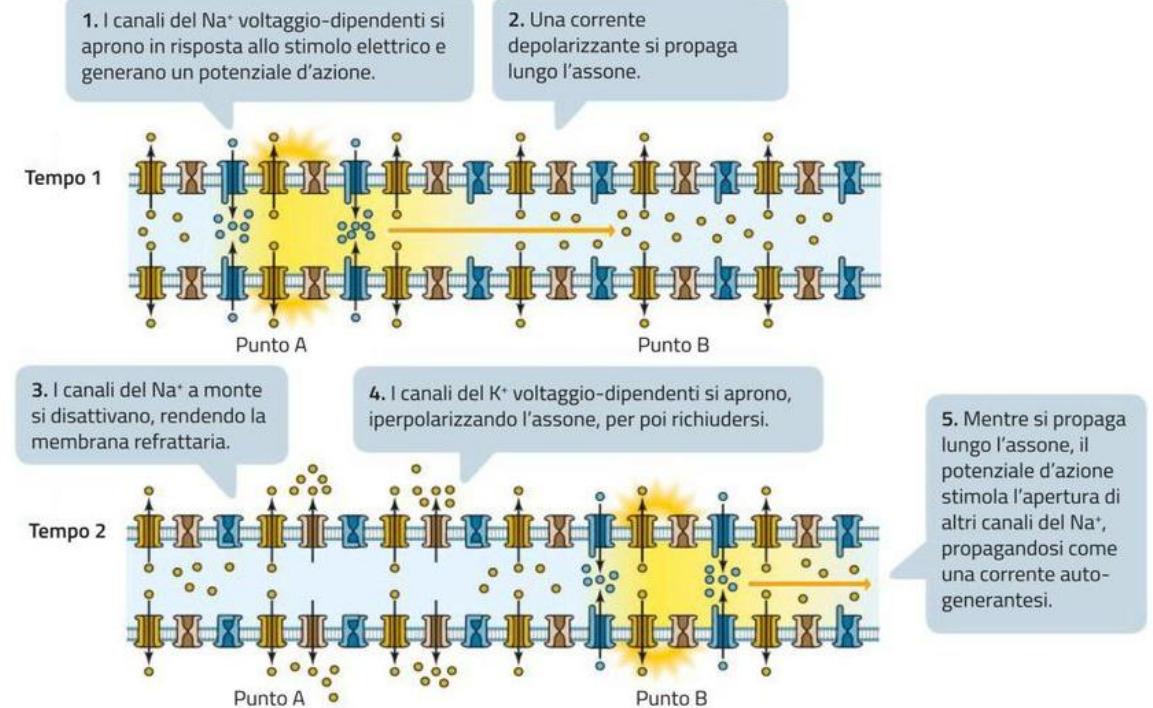


Potenziale d'azione e propagazione dell'impulso

2

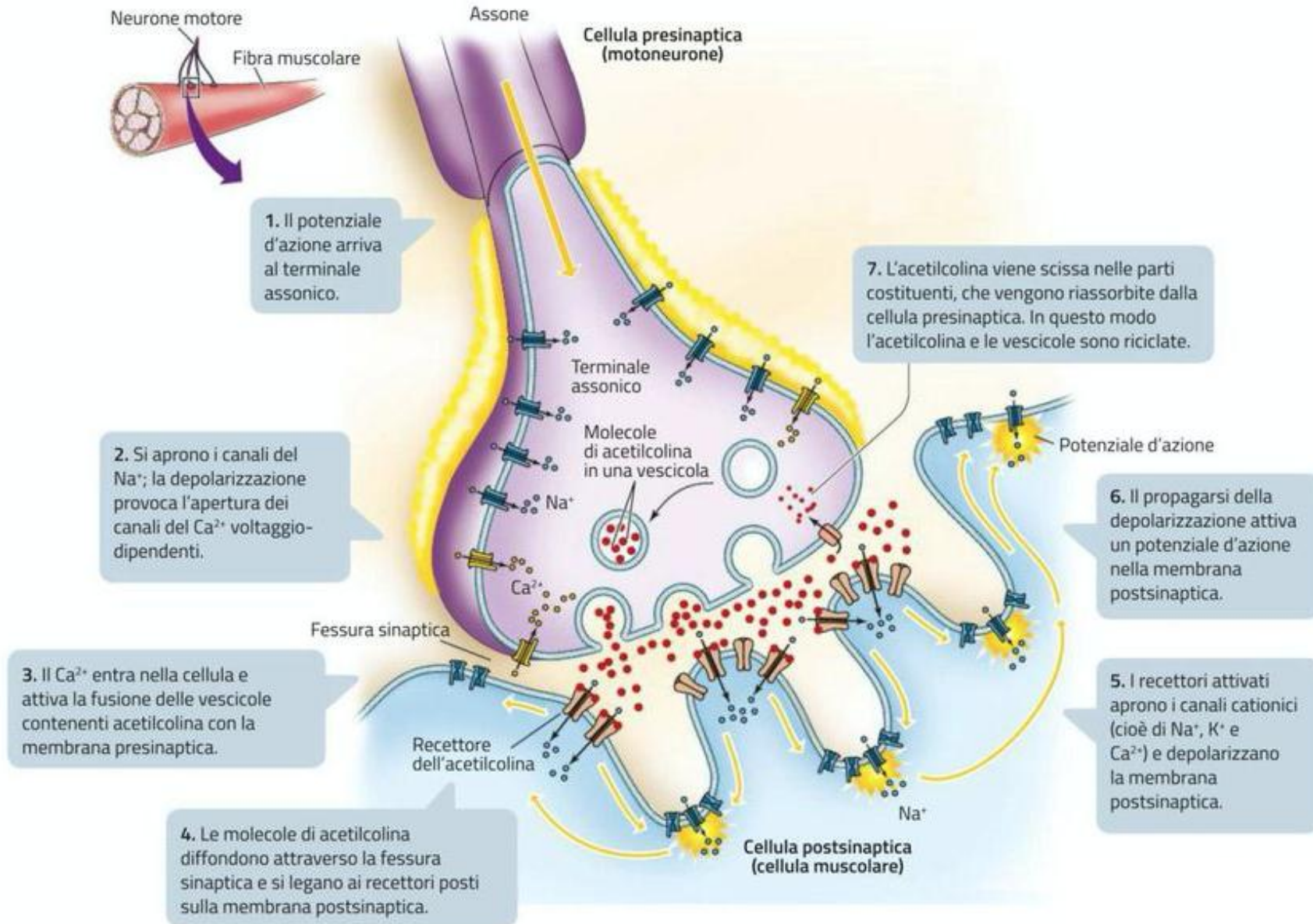


3



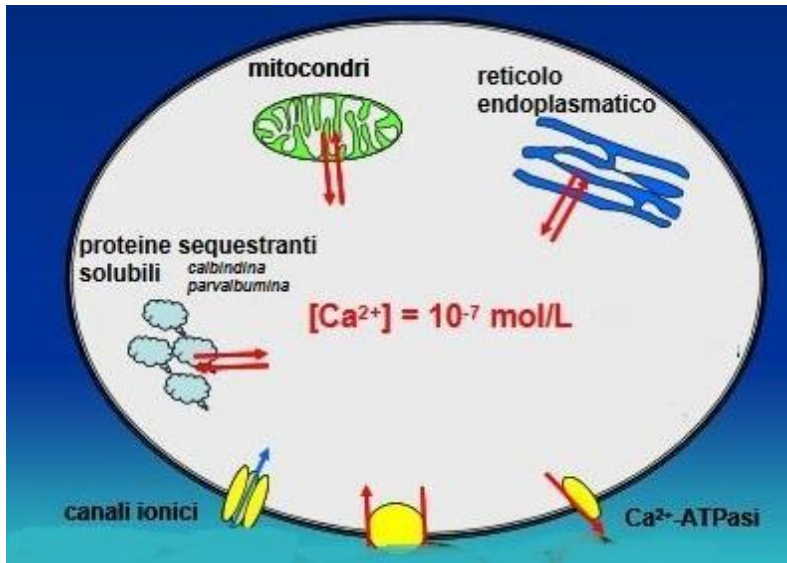
Le sinapsi chimiche

4



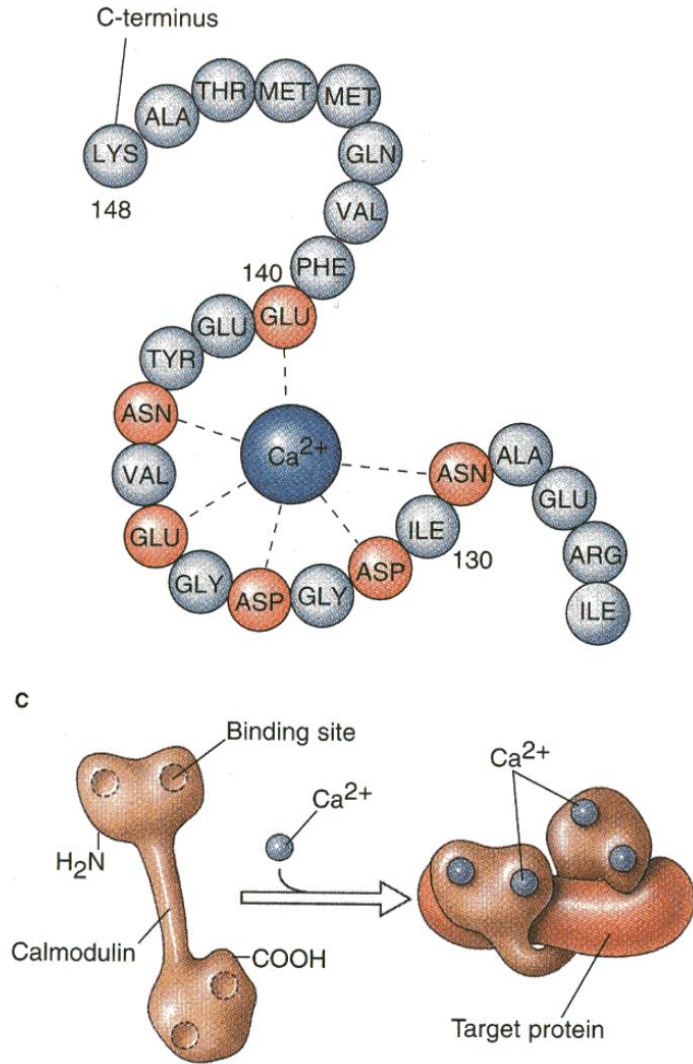
Proteine che legano il calcio

- In una cellula a riposo le concentrazioni di Ca^{2+} nel cytosol sono piuttosto basse ma durante un evento di segnalazione questa può crescere fino a 5-10v in pochi secondi.
- Durante questa breve scarica gli ioni si legano a proteine citosoliche ne cambiano conformazione e le attivano (**calmodulina**).



- La concentrazione citoplasmatica di calcio della cellula eucariotica a riposo si aggira intorno a 10^{-7}M nonostante una concentrazione extracellulare di 1-2 mM.
- Il mantenimento di una tale differenza di concentrazione tra l'interno e l'esterno della cellula è il risultato dell'azione coordinata di differenti sistemi che comprendono:
 - **trasporti attivi primari e secondari** che provvedono ad estrarre il Ca^{2+} dalla cellula e ad accumularlo in depositi intracellulari (reticolo endoplasmatico, mitocondri).
 - **sistemi tampone della concentrazione di Ca^{2+}** rappresentati da proteine leganti il Ca^{2+} (*Ca^{2+} binding proteins*), di cui la più nota è la calmodulina.

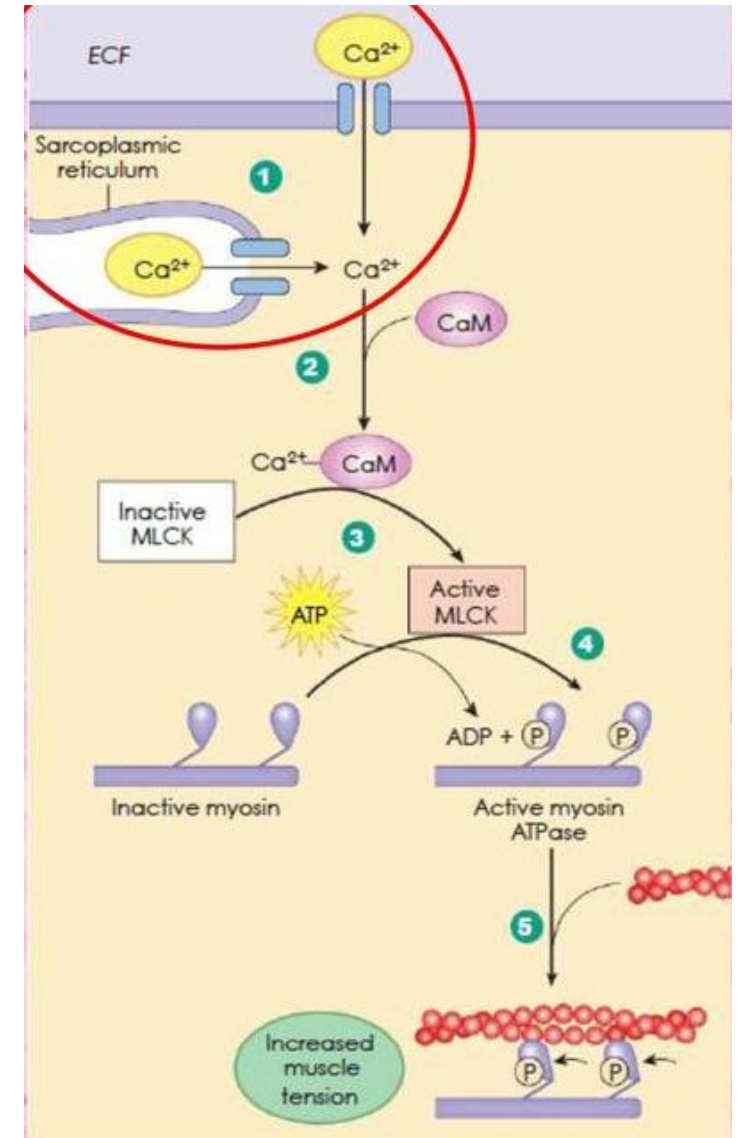
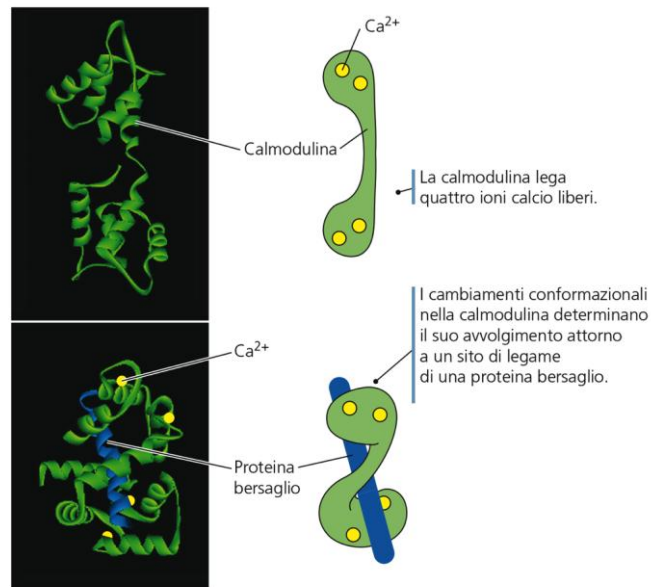
Proteine che legano il calcio



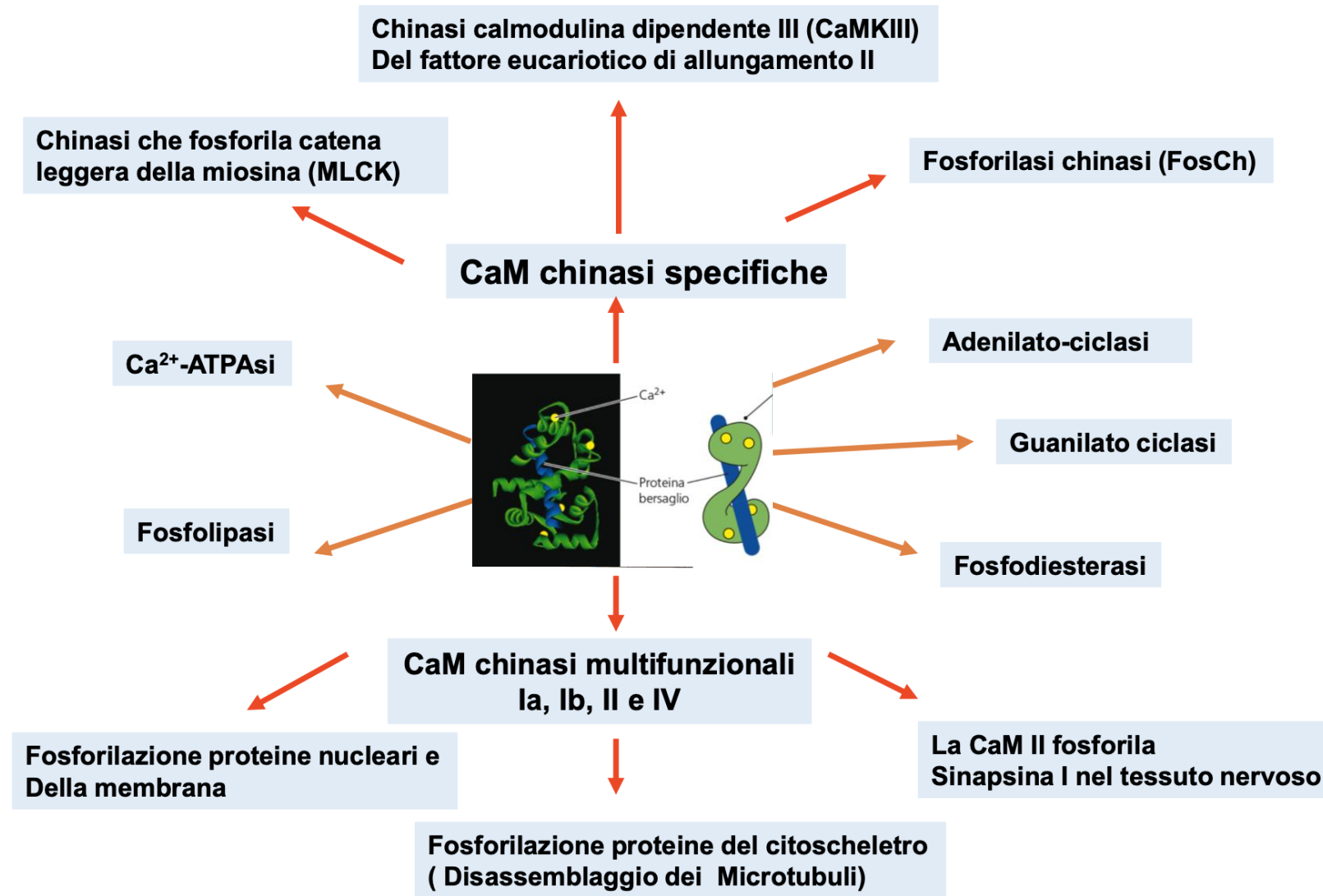
- La calmodulina è una piccola proteina regolatrice attivata dal calcio presente in tutte le cellule eucariotiche.
- E' costituita da due domini globulari, ciascuno dei quali è in grado di legare due ioni Ca^{2+} ; cio' conferisce alla calmodulina la capacità di legare complessivamente 4 ioni Ca^{2+} .
- L'interazione con il calcio provoca una notevole modificazione conformazionale che la converte in forma attiva, in cui è capace di interagire con diversi tipi di proteine bersaglio: protein-chinasi che, a loro volta, attivano o disattivano altri bersagli mediante aggiunta di gruppi fosforici; la pompa Ca^{2+} -ATPasi; alcune proteine che regolano l'assemblaggio dei microtubule.

Calcio e calmodulina

- La calmodulina è un esempio di proteina di segnalazione sensibile al calcio.
- Agisce verso la fine di molte vie di trasduzione del segnale.
- Calcio e calmodulina nella contrazione del muscolo liscio.



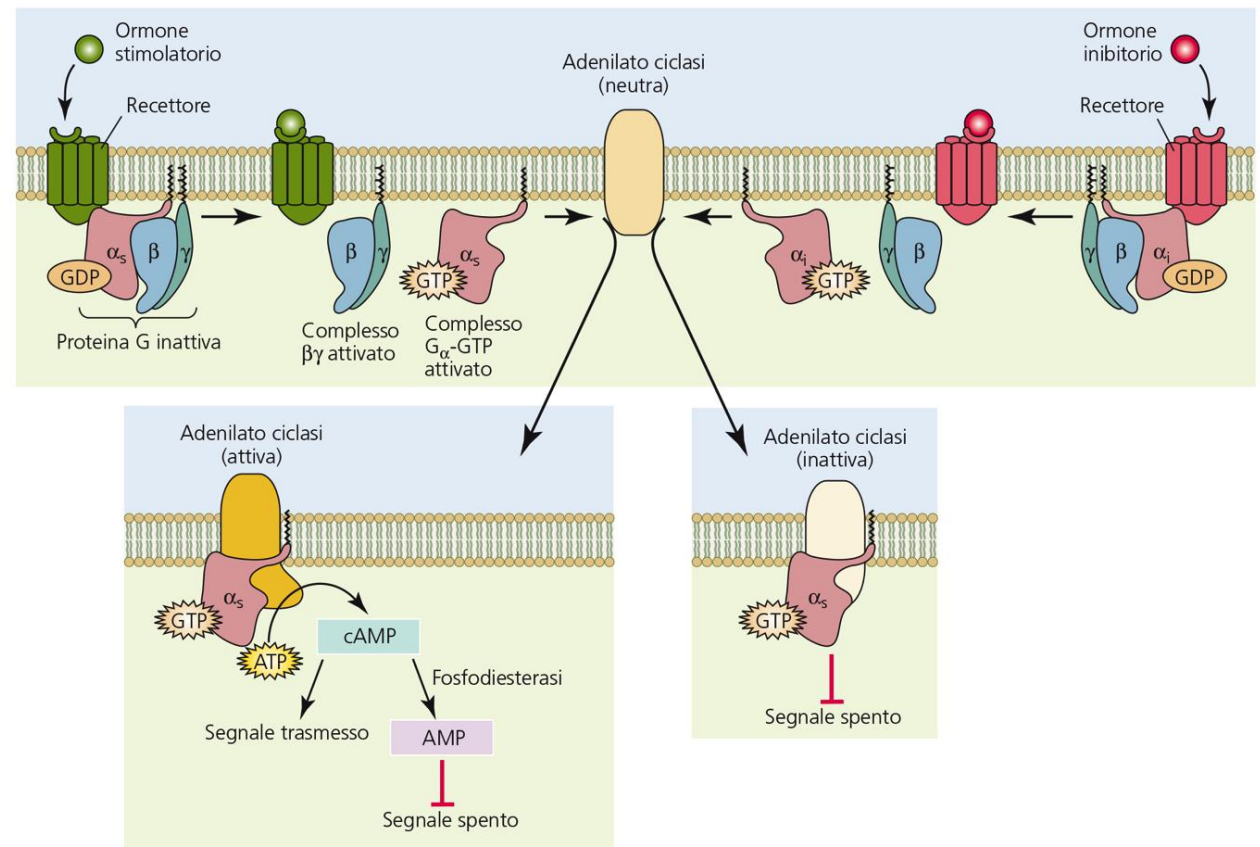
Regolazione operata dal complesso Ca^{2+} -calmodulina



E. Adenilato ciclasasi

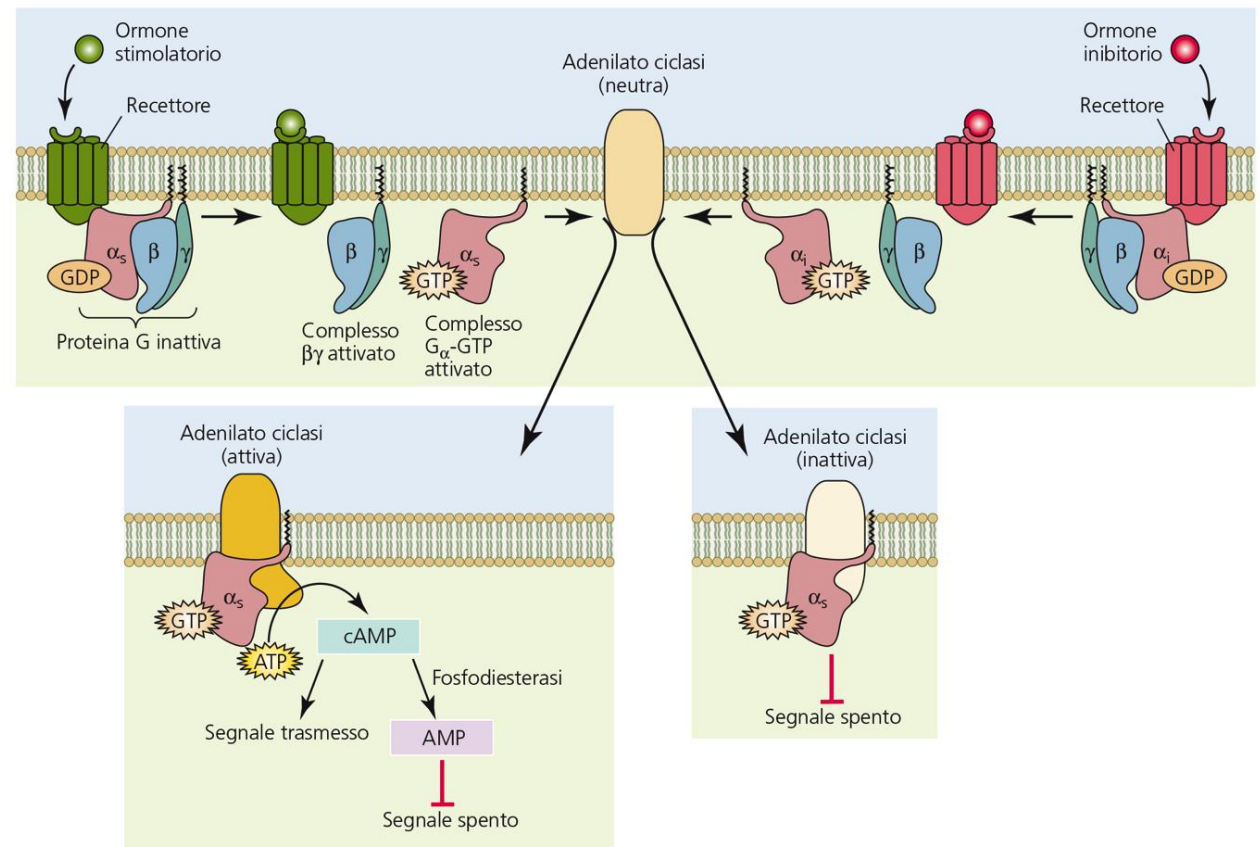
- Come i recettori guanilil ciclasasi convertono ATP in cAMP. Sono proteine transmembrana **ma non fungono da recettori**.
- **Vengono legate alle subunità α (α_s e α_i) delle proteine G eterotrimeriche.**

- E' un bersaglio di vie di segnalazione concorrenti: due ligandi diversi si legano ai rispettivi GPCR e possono competere a livello di una adenilato ciclasasi, producendo una risposta.



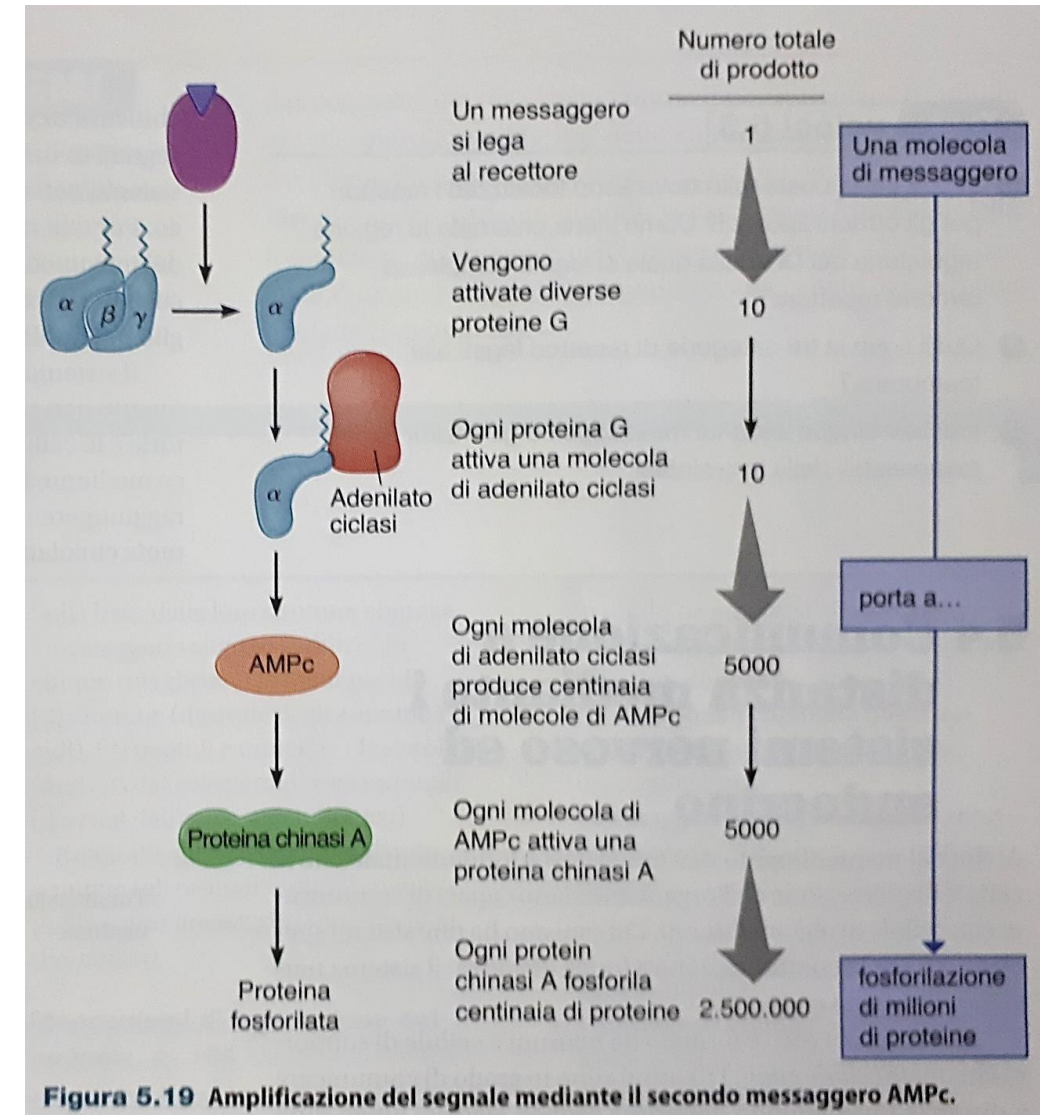
E. Adenilato ciclasasi

- Come i recettori guanil ciclasasi convertono ATP in cAMP. Sono proteine transmembrana **ma non fungono da recettori**.
- **Vengono legate alle subunità α (α_s e α_i) delle proteine G eterotrimeriche.**
- E' un bersaglio di vie di segnalazione concorrenti: due ligandi diversi si legano ai rispettivi GPCR e possono competere a livello di una adenilato ciclasasi, producendo una risposta.
- Il cAMP si lega a proteine chinasi dipendenti da cAMP o PKA.
- cAMP è inattivato da enzima fosfodiesterasi (come cGMP).



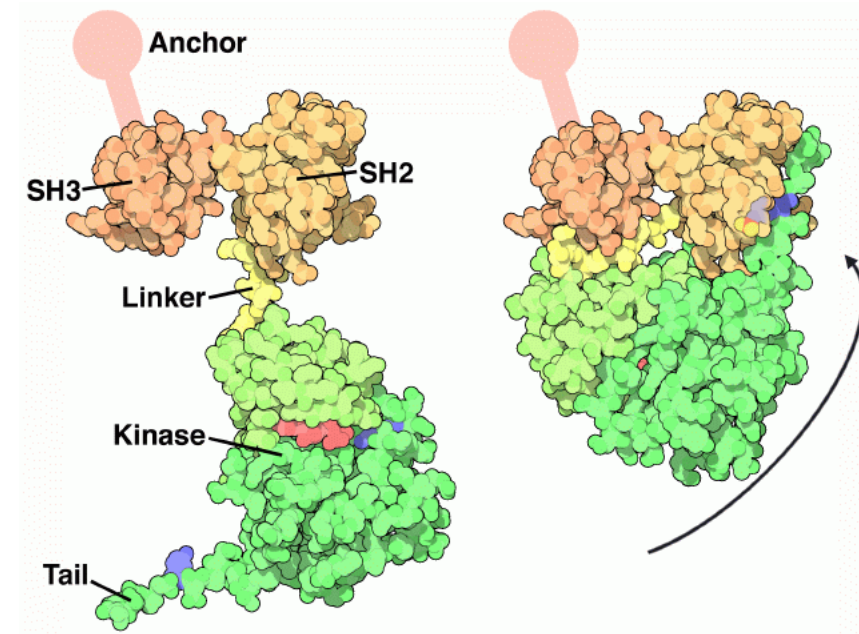
F. Secondi messaggeri

- **Componenti non proteiche delle vie di trasduzione del segnale.**
- Comprendono anche Ca^{2+} , cAMP e cGMP, piccole molecole idrofobiche e alcuni gas.
- Dimensioni ridotte e diffusione rapida.
- **Trasmettono rapidamente un segnale e lo AMPLIFICANO:**
- Efficace strumento per amplificare il segnale iniziale, attraverso una cascata, ossia una sequenza di reazioni che progressivamente aumentano in entità.
- In tal modo piccole modificazioni delle concentrazioni dei messaggeri sono in grado di evocare enormi risposte nelle cellule bersaglio.



G. Adattatori

- Classe di proteine che non sono nè recettori nè enzimi.
- Sono composte esclusivamente da motivi e domini di legame e fungono da connessione tra recettori segnale e altre proteine di segnalazione.
- Questi domini agiscono da collante con altri che riconoscono secondi messaggeri ed effettori.
- Forma inattiva (dx) ed attiva (sin) della proteina Src, che aggiunge gruppi fosfato a molte proteine bersaglio, mandando un segnale di crescita



Molecole che compongono le reti di segnalazione

MOLECOLE SEGNALE

- Segnali impermeabili alla membrana.
- Segnali permeabili alla membrana.
- Segnali fisici.

RECETTORI

- **Recettori nucleari.**
- **Recettori di superficie:**
 1. Recettori accoppiati a proteine G.
 2. Recettori tirosina chinasi RTK.
 3. Recettori serina/treonina chinasi S/RTK.
 4. Canali ionici attivato dal ligando.
 5. Impalcatura transmembrana
 6. Guanil ciclasi.

PROTEINE DI SEGNALAZIONE

- A. Proteine G.
- B. Proteine chinasi.
- C. Chinasi lipidiche.
- D. Canali ionici.
- E. Le adenilato ciclasi.
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri).
- G. Adattatori.

Molecole che compongono le reti di segnalazione

MOLECOLE SEGNALE

- Segnali impermeabili alla membrana.
- Segnali permeabili alla membrana.
- Segnali fisici.

RECETTORI

- **Recettori nucleari.**
- **Recettori di superficie:**
 1. Recettori accoppiati a proteine G.
 2. **Recettori tirosina chinasi RTK.**
 3. Recettori serina/treonina chinasi S/RTK.
 4. Canali ionici attivato dal ligando.
 5. Impalcatura transmembrana
 6. Guanil ciclasi.

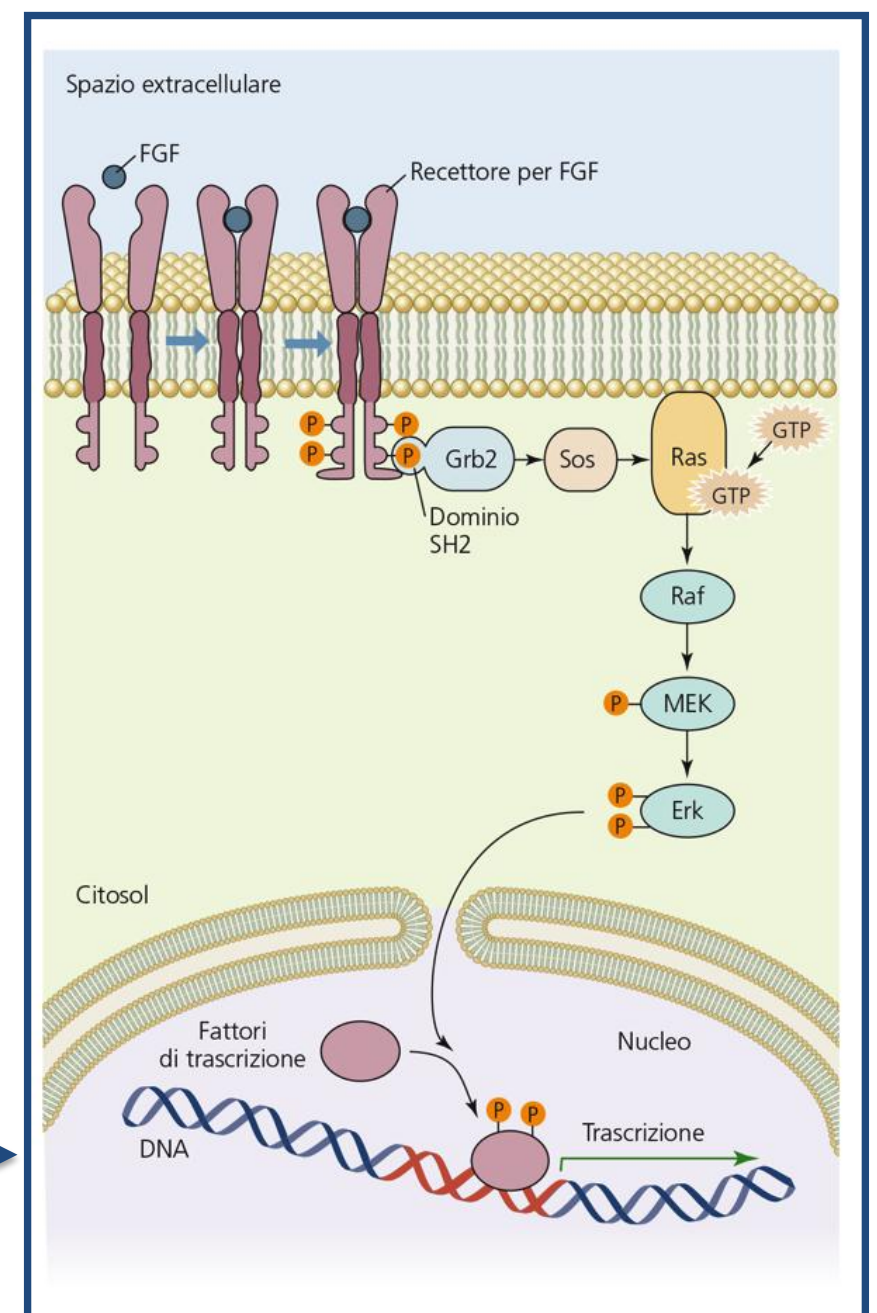
PROTEINE DI SEGNALAZIONE

- A. Proteine G.
- B. Proteine chinasi.**
- C. Chinasi lipidiche.
- D. Canali ionici.
- E. Le adenilato ciclasi.
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri).
- G. Adattatori.**

Via di segnalazione del fattore di crescita dei fibroblasti, FGF

- FGF costituiscono una famiglia di fattori di crescita coinvolti singolarmente nell'angiogenesi, nella guarigione delle ferite, nello sviluppo embrionale e in alcune vie di trasduzione del segnale indotte da ormoni.
- Gli FGF svolgono un ruolo fondamentale nei processi di proliferazione e differenziazione di molte cellule e tessuti.
- Si legano ad una famiglia di proteine che si chiamano recettori per l'FGF (FGFR), recettori tirosin-chinasici omodimerici.

FGF si lega e FGFR dimerizza: autofosforilazione delle tirosine che si legano al dominio SH2 di Grb2, cambia conformazione, e si lega ad un GEF (Sos), che attiva Ras. Ras attiva Raf che fosforila MEK che fosforila ERK che trasloca nel nucleo e attiva la trascrizione.



Molecole che compongono le reti di segnalazione

MOLECOLE SEGNALE

- Segnali impermeabili alla membrana.
- Segnali permeabili alla membrana.
- Segnali fisici.

RECETTORI

- **Recettori nucleari.**
- **Recettori di superficie:**
 1. Recettori accoppiati a proteine G.
 2. Recettori tirosina chinasi RTK.
 3. Recettori serina/treonina chinasi S/RTK.
 4. Canali ionici attivato dal ligando.
 5. Impalcatura transmembrana
 6. Guanil ciclasi.

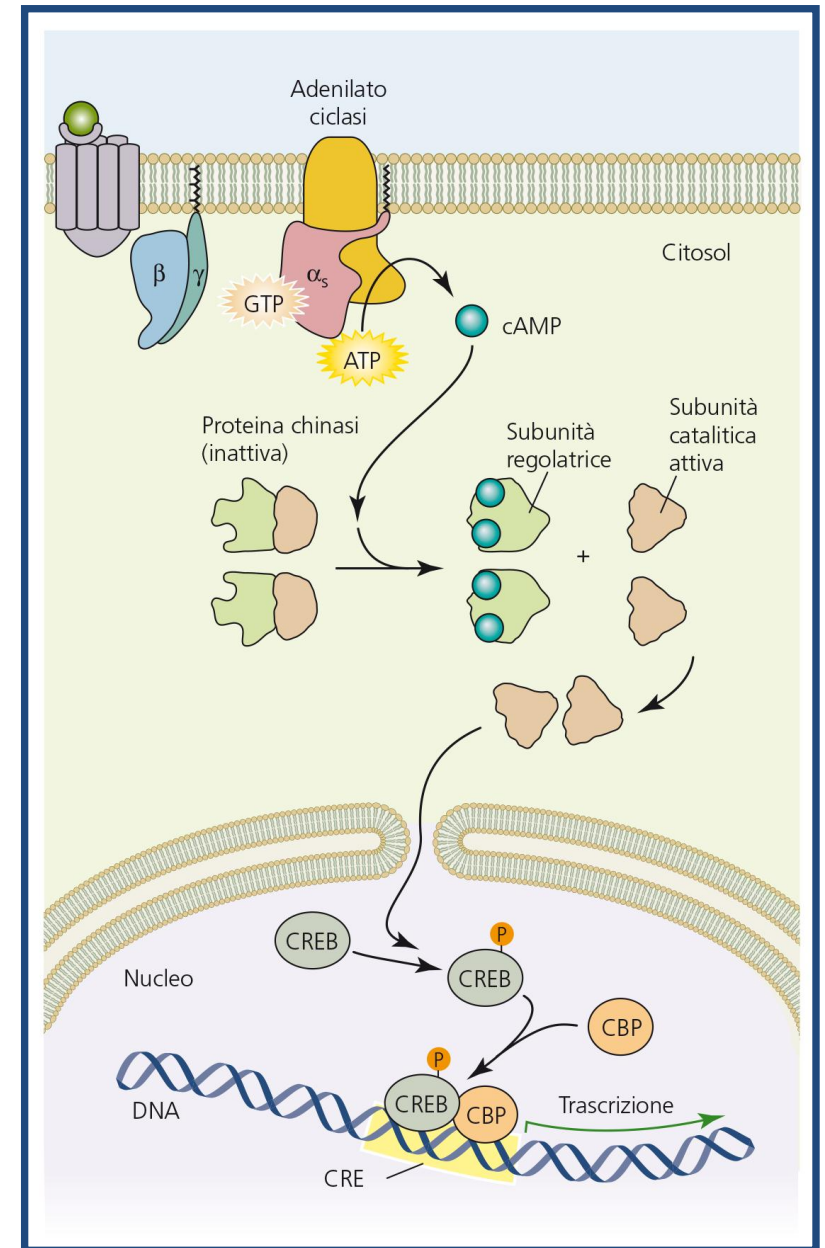
PROTEINE DI SEGNALAZIONE

- A. Proteine G.
- B. Proteine chinasi.
- C. Chinasi lipidiche.
- D. Canali ionici.
- E. Le adenilato ciclasi.
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri).
- G. Adattatori.

Via di segnalazione delle proteine G eterotrimeriche

- Una via comune comprende adenilato ciclasti e PKA.
- La PKA è una proteina tetramericata con 2 subunità catalitiche e 2 subunità regolatrici che mantengono le subunità catalitiche in una conformazione inattiva.

Il cAMP si lega alle subunità regolatrici inducendo un cambiamento di forma che libera le subunità catalitiche. Queste fosforilano molte proteine citosoliche e possono entrare nel nucleo per fosforilare fattori di trascrizione. Un bersaglio è CREB (cyclic AMP response element binding protein). CREB fosforilata si lega alle proteine che legano CREB (CBP), e insieme controllano l'espressione di molti geni.



Molecole che compongono le reti di segnalazione

MOLECOLE SEGNALE

- Segnali impermeabili alla membrana.
- Segnali permeabili alla membrana.
- Segnali fisici.

RECETTORI

- **Recettori nucleari.**
- **Recettori di superficie:**
 1. Recettori accoppiati a proteine G.
 2. Recettori tirosina chinasi RTK.
 3. Recettori serina/treonina chinasi S/RTK.
 4. Canali ionici attivato dal ligando.
 5. Impalcatura transmembrana
 6. Guanil ciclasi.

PROTEINE DI SEGNALAZIONE

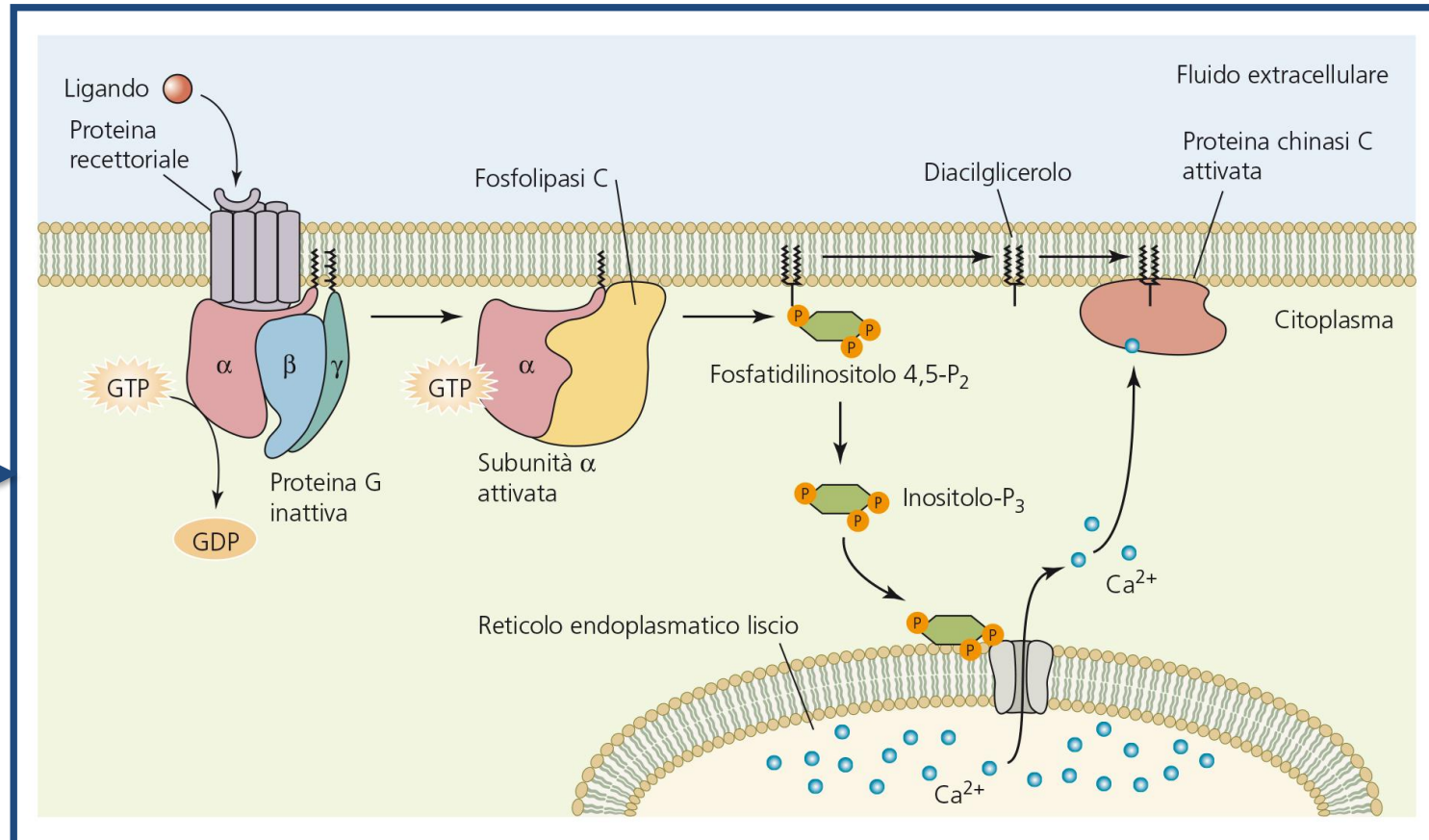
- A. Proteine G.
- B. Proteine chinasi.
- C. Chinasi lipidiche.
- D. Canali ionici.
- E. Le adenilato ciclasi.
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri).
- G. Adattatori.

Via di segnalazione del fosfatidilinositolo, PI

- Il Gruppo di testa del PI contiene uno zucchero inositolo legato all'ossatura di glicerolo tramite un fosfato attaccato al suo carbonio 1'.
- La classe di chinasi lipidiche che modifica il PI viene chiamata **PI chinasi, PIK**, denominate a seconda della posizione in cui aggiungono un fosfato al PI.

Il PIK4 modifica PI generando PI4-K fosfato o PIP, quindi PIK5 aggiunge il suo fosfato e genera il PIP2.

Il PIP2 tagliato dalla fosfolipasi C agisce da secondo messaggero con i prodotti diacilglicerolo (DAG) e inositolo 1,4,5-trisfosfato (IP3). IP3 è piccolo e carica e diffonde nel citoplasma e attiva il rilascio di ioni Ca^{2+} che attivano calmoduline PKC. DAG rimane in membrana e diffonde a raggiungere PKC e la aiuta a stare attiva.



Molecole che compongono le reti di segnalazione

MOLECOLE SEGNALE

- Segnali impermeabili alla membrana.
- **Segnali permeabili alla membrana.**
- Segnali fisici.

RECETTORI

- **Recettori nucleari.**
- **Recettori di superficie:**
 1. Recettori accoppiati a proteine G.
 2. Recettori tirosina chinasi RTK.
 3. Recettori serina/treonina chinasi S/RTK.
 4. Canali ionici attivato dal ligando.
 5. Impalcatura transmembrana
 6. Guanil ciclas.

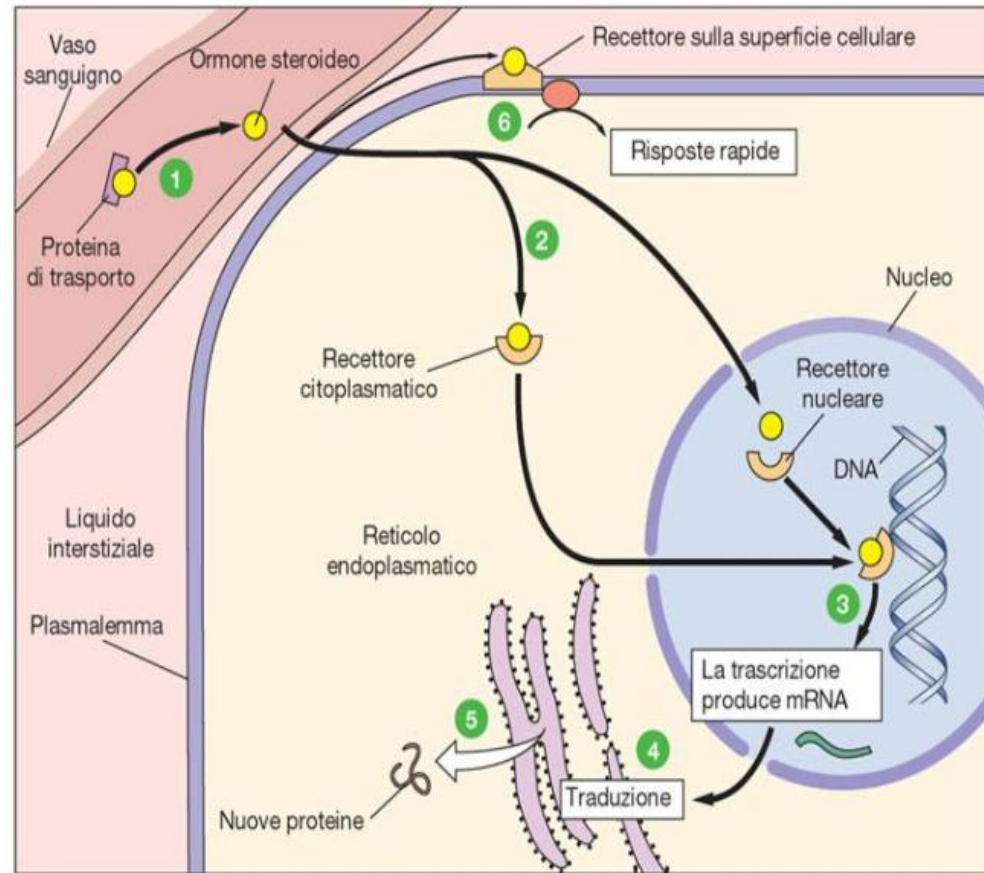
PROTEINE DI SEGNALAZIONE

- A. Proteine G.
- B. Proteine chinasi.
- C. Chinasi lipidiche.
- D. Canali ionici.
- E. Le adenilato ciclas.
- F. Componenti non proteiche (secondi messaggeri).
- G. Adattatori.

Via degli ormoni steroidei

- L'ormone steroideo cortisolo è uno dei segnali di stress più noti.

1. Il cortisolo è rilasciato dallo strato esterno della ghiandola surrenale e rappresenta un potente antiinfiammatorio.
2. Si lega nella cellula al recettore dei glucocorticoidi (GR).
3. GR entra nel nucleo e si lega ad una sequenza genica detta elemento di risposta agli steroidi (SRE).



- 1 La maggior parte degli steroidi è legata a molecole proteiche nel plasma. Solo l'ormone libero (non legato) può diffondere nella cellula bersaglio.
- 2 I recettori degli ormoni steroidei sono localizzati nel citoplasma o nel nucleo della cellula bersaglio.
- 3 Il complesso ormone-recettore si lega al DNA e attiva o reprime la trascrizione di uno o più geni.
- 4 I geni attivati sono trascritti in nuovo mRNA che diffonde nel citoplasma.
- 5 La traduzione del mRNA produce nuove proteine implicate nei processi cellulari.
- 6 Alcuni ormoni steroidei si legano anche a recettori di membrana, che attivano i sistemi dei secondi messaggeri e generano risposte cellulari rapide.

Via degli ormoni steroidei

- L'ormone steroideo aldosterone è un importante regolatore del bilancio idro- salino dei liquidi corporei.

1. L'aldosterone è un ormone steroideo prodotto dalla zona glomerulare della corticale del surrene ed è un importante regolatore del bilancio idro-salino ed in particolare del contenuto di Na^+ e K^+ dei liquidi corporei.
2. In seguito al legame con il proprio recettore nel citoplasma, il complesso aldosterone-recettore migra nel nucleo dove viene stimolata la sintesi de novo di pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPasi}$ e di canali per il Na^+ e il K^+ .

