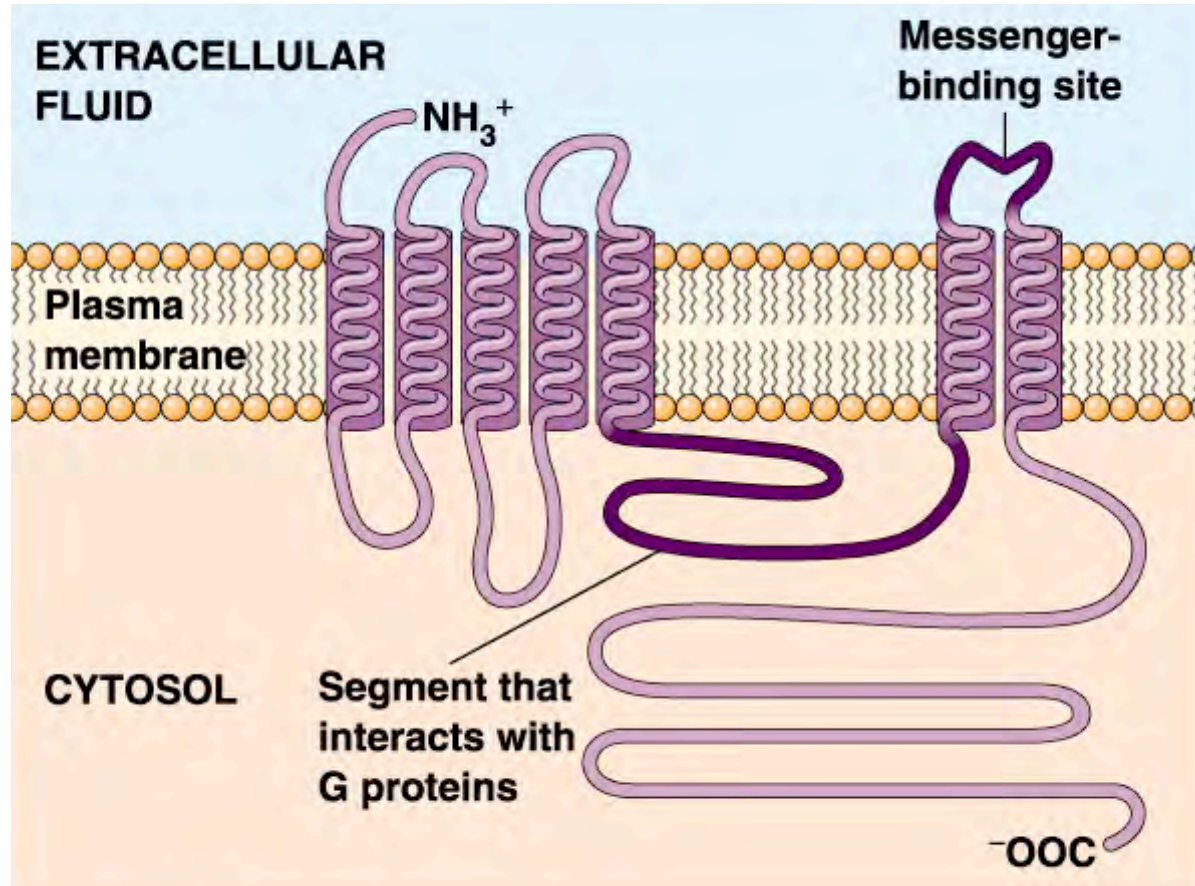
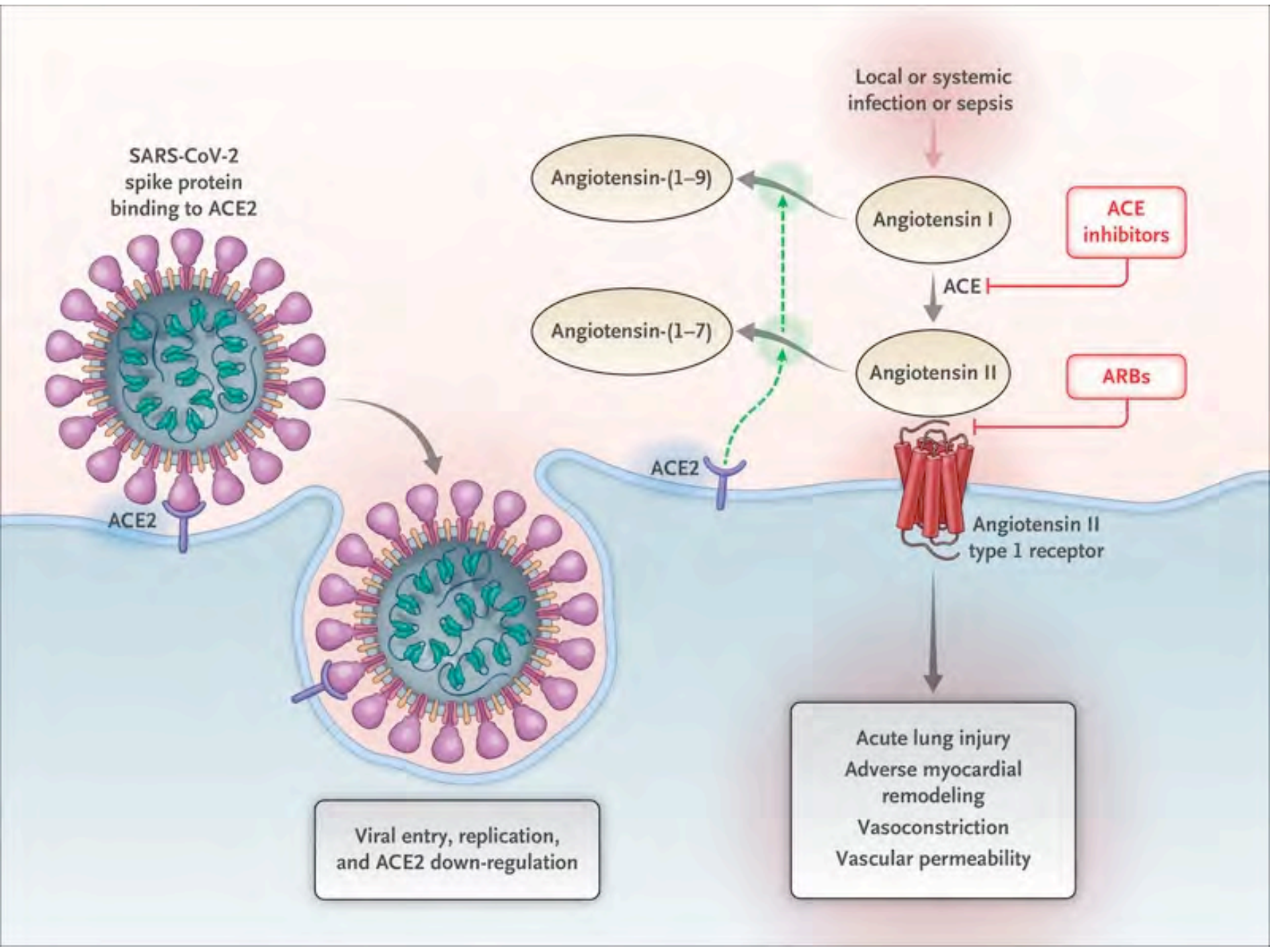


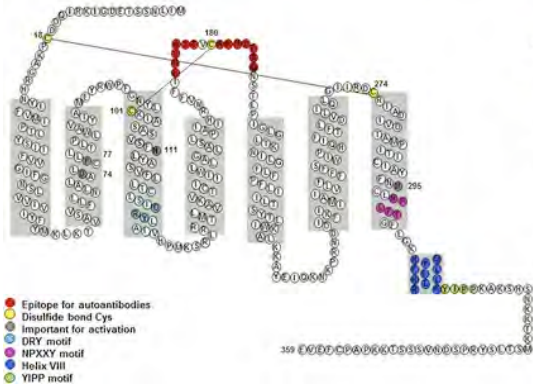
G-protein-coupled Receptors



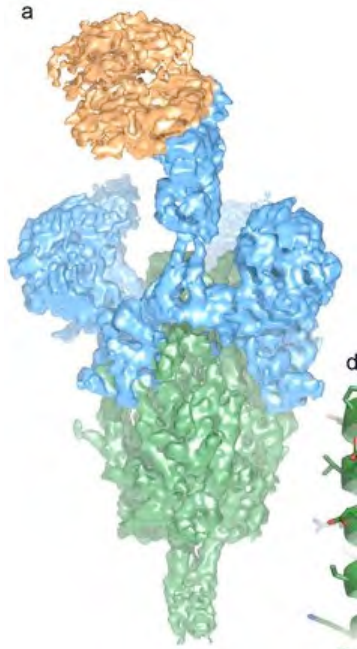
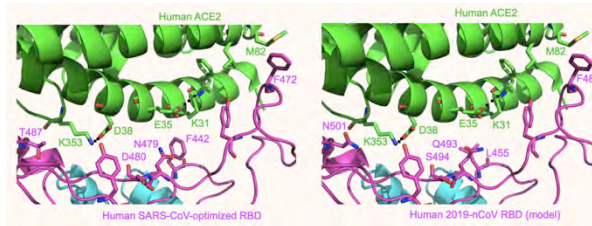
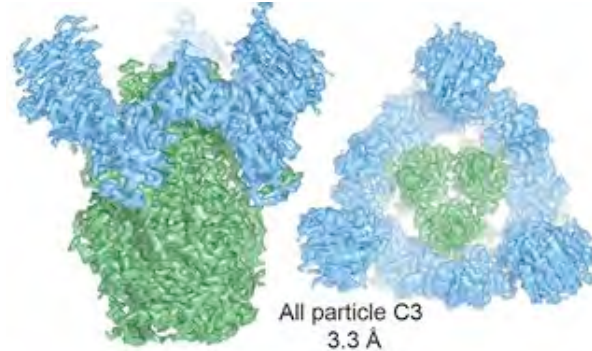
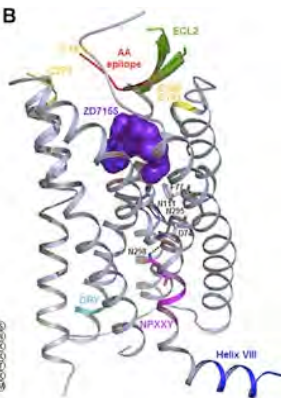
- Seven transmembrane regions of 22-24 hydrophobic residues
- N-terminus faces outside, often involved in ligand binding
- C-terminus faces the cytosol with regulatory phosphorylation sites
- The cytosolic loop between helices 5 and 6 is the place for interaction with G proteins



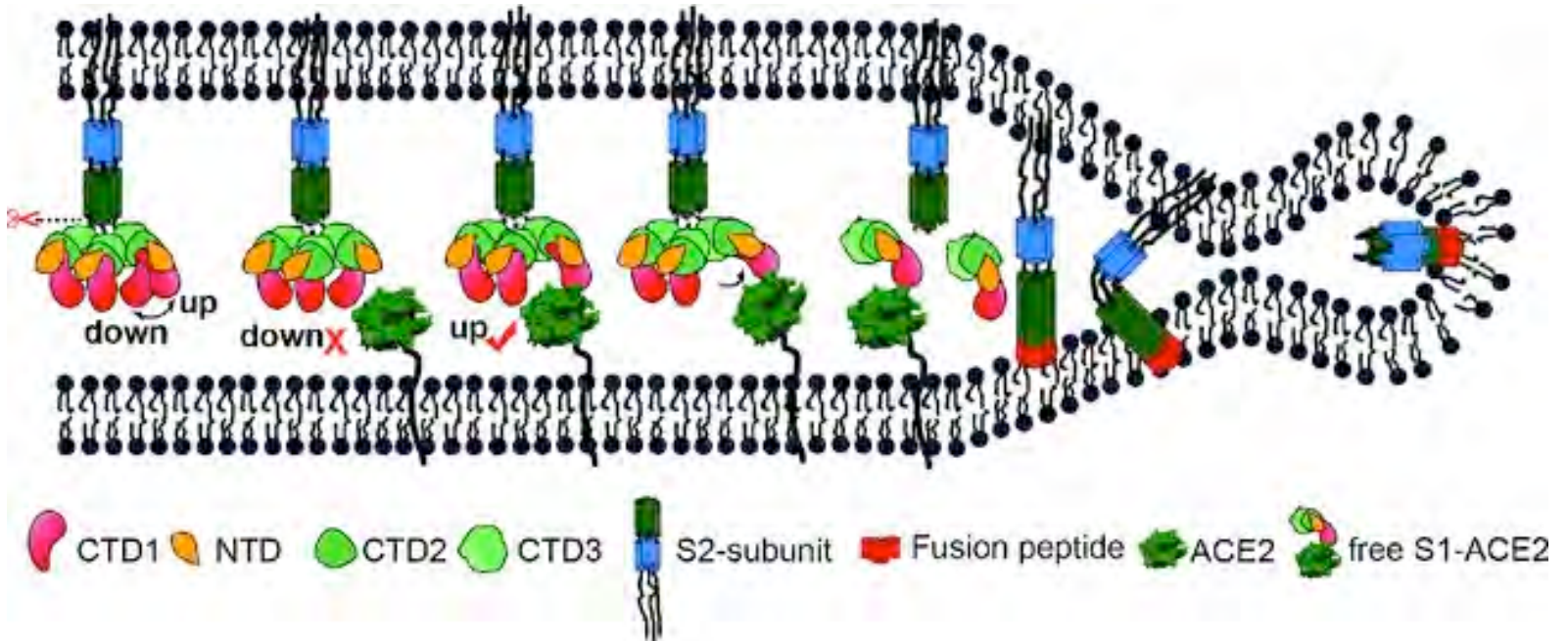
A



B



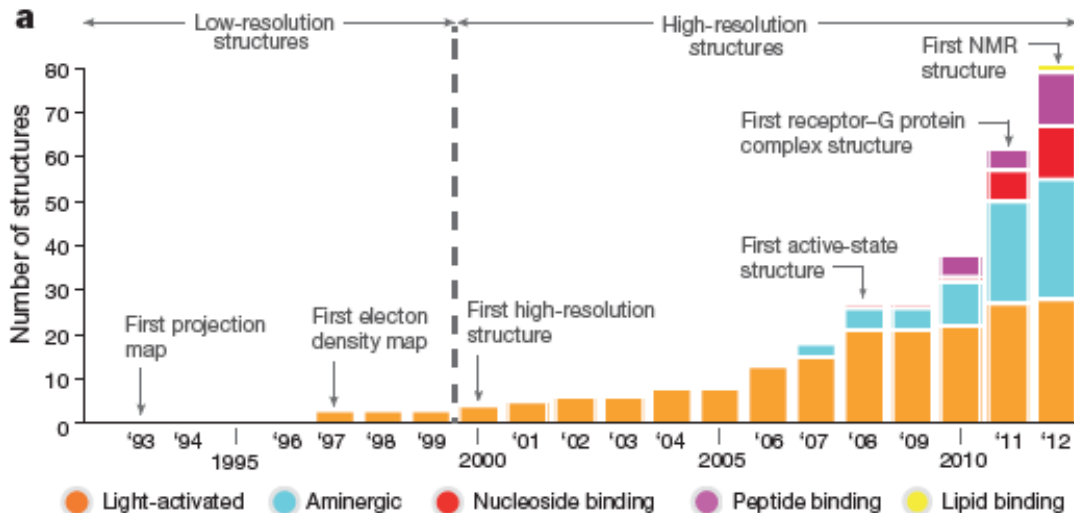
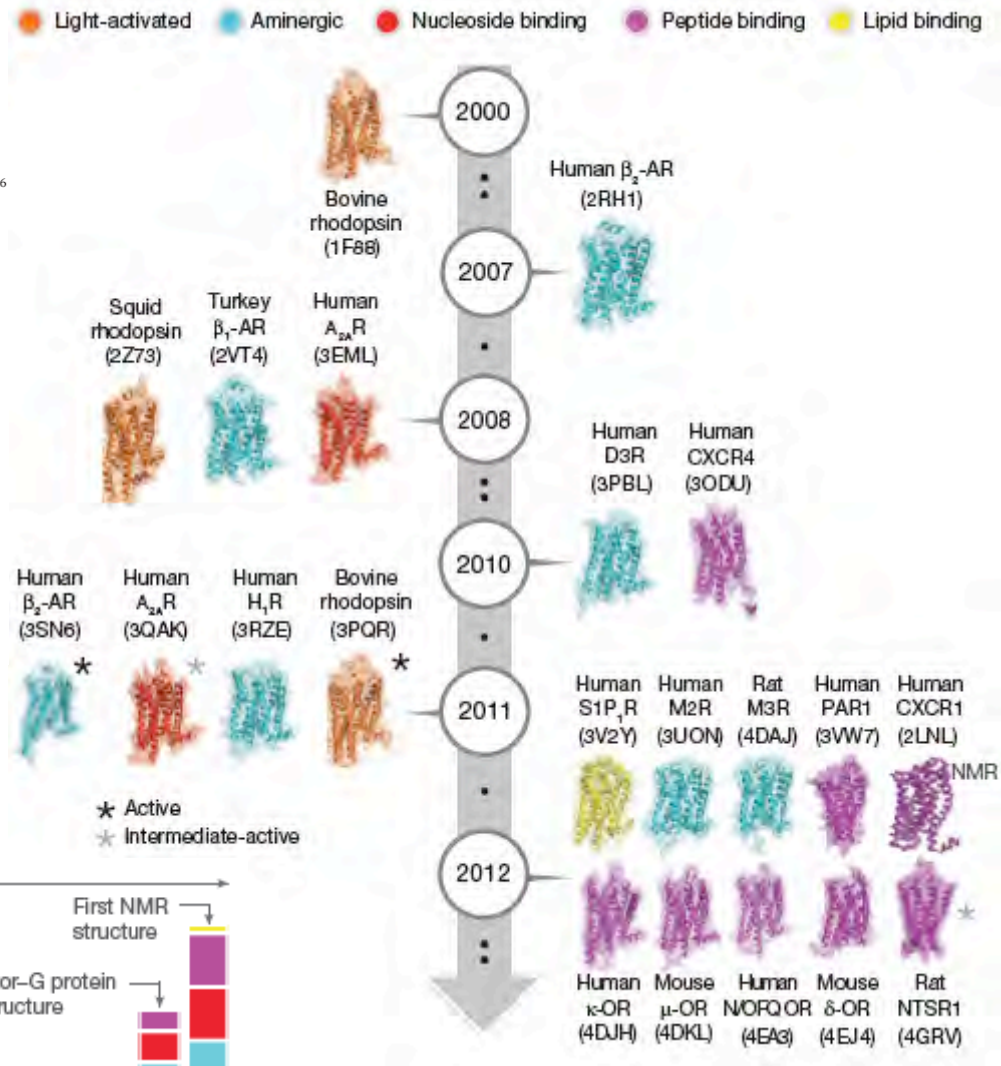
ACE2 and COVID-19



Molecular signatures of G-protein-coupled receptors

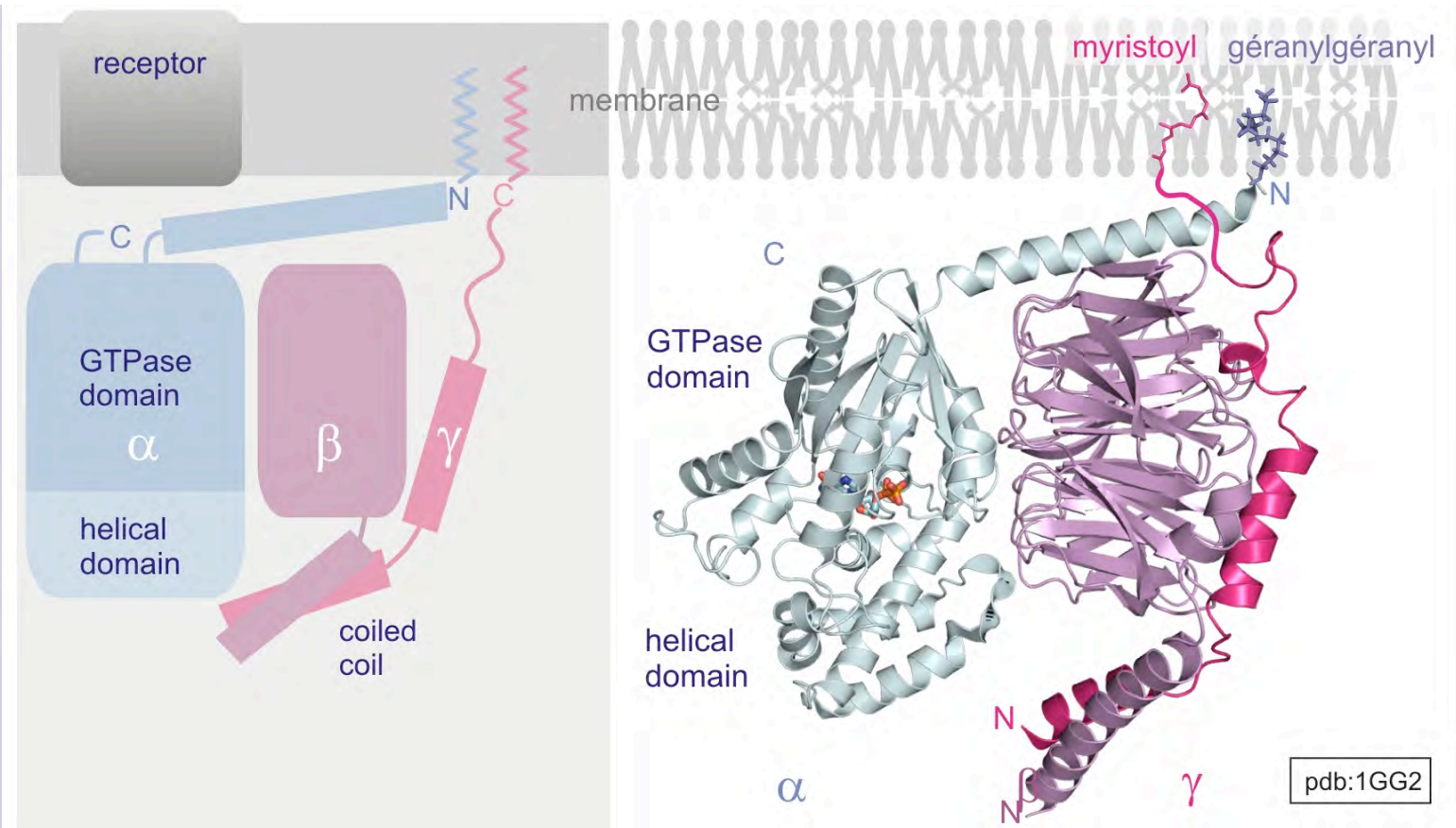
A. J. Venkatakrisnan¹, Xavier Deupi², Guillaume Lebon^{1,3,4,5}, Christopher G. Tate¹, Gebhard F. Schertler^{2,6}

Time-line showing representative crystal structures of GPCRs and the year of publication. Active conformations are marked with a black asterisk.



Bar chart showing the increase in the number of GPCR structures with time.

The hetero-trimeric G proteins

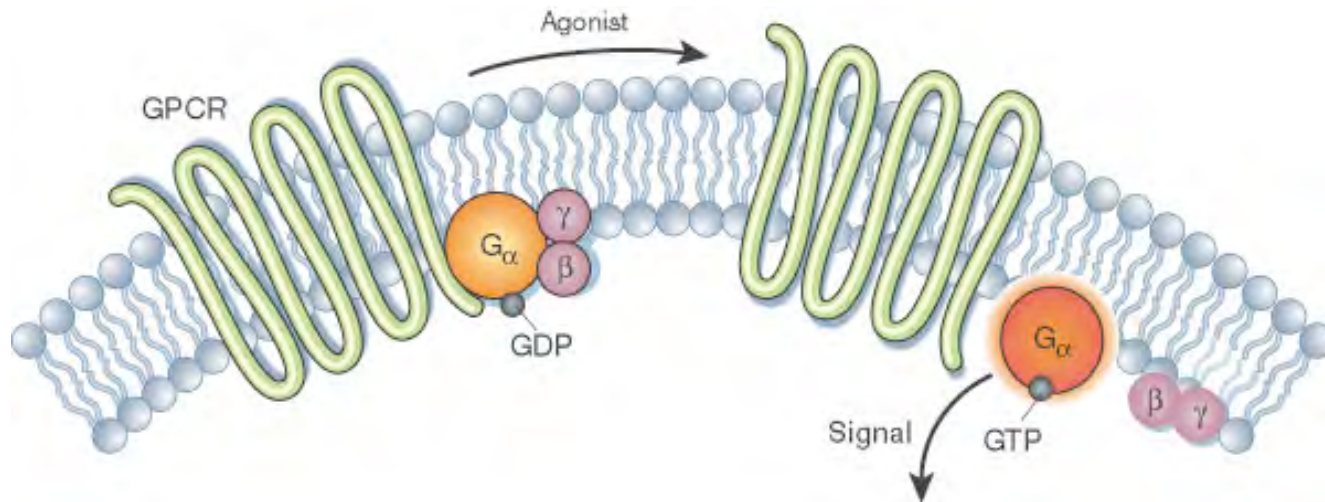


- G protein is an $\alpha\beta\gamma$ trimeric protein which binds guanine nucleotides
- They can be considered molecular switches wherein...
$$\alpha\beta\gamma_{\text{GDP}} \text{ (inactive)} \rightarrow \alpha_{\text{GTP}} \text{ (active)} + \beta\gamma$$
- $G\alpha$ is membrane anchored and has GTPase activity
- $G\beta$ interacts $G\alpha$ and keeps it in the GDP-bound state (inactive)

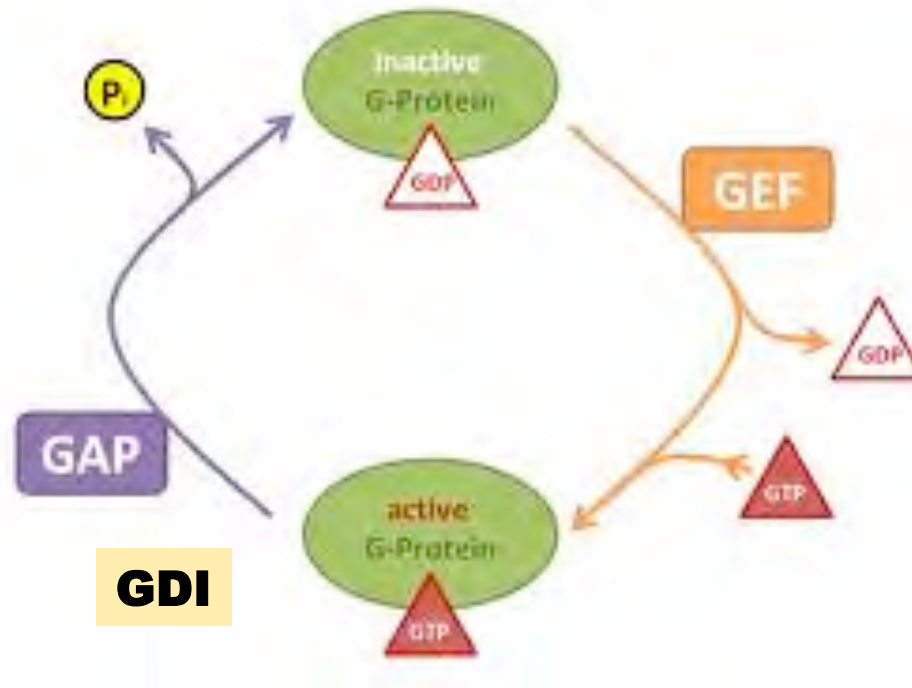
G- proteins and the role of G- proteins

In the resting state, the G- protein exists as an unattached $\alpha\beta\gamma$ trimer, with GDP occupying the site on the α subunit.

When a receptor binds an agonist molecule, a conformational change occurs, involving the cytoplasmic domain of the receptor causing it to acquire high affinity for $\alpha\beta\gamma$.



G-proteins are tightly regulated

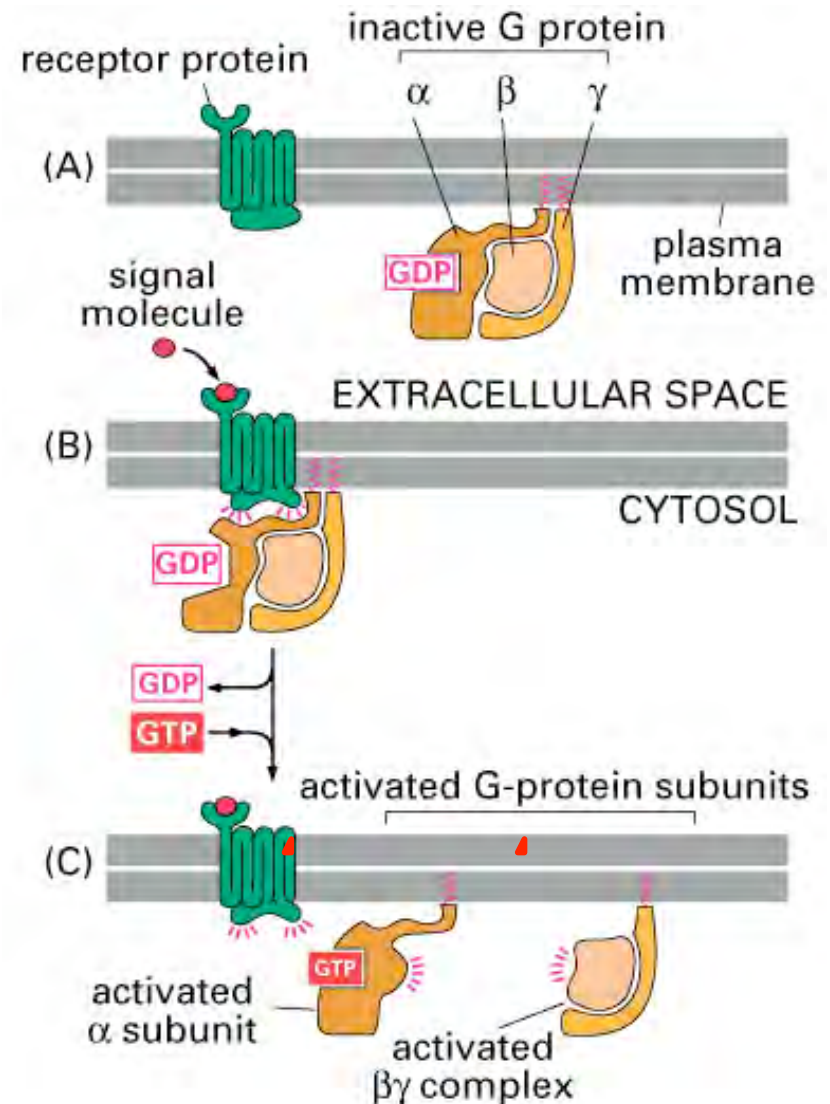


Accessory proteins modulate the cycling of G-proteins between GTP/GDP

- 1. GAPs:** GTPase-activating proteins. Stimulate GTP hydrolysis. Inactivate G proteins.
- 2. GEFs:** Guanine nucleotide-exchange factors: G-protein-coupled receptors (GPCR). Stimulate the dissociation of GDP (inactive) from G-protein so that GTP can bind (active)
- 3. GDIs:** Guanine nucleotide-dissociation inhibitors. Inhibit the release of bound GDP (maintain the G-protein in inactive state)

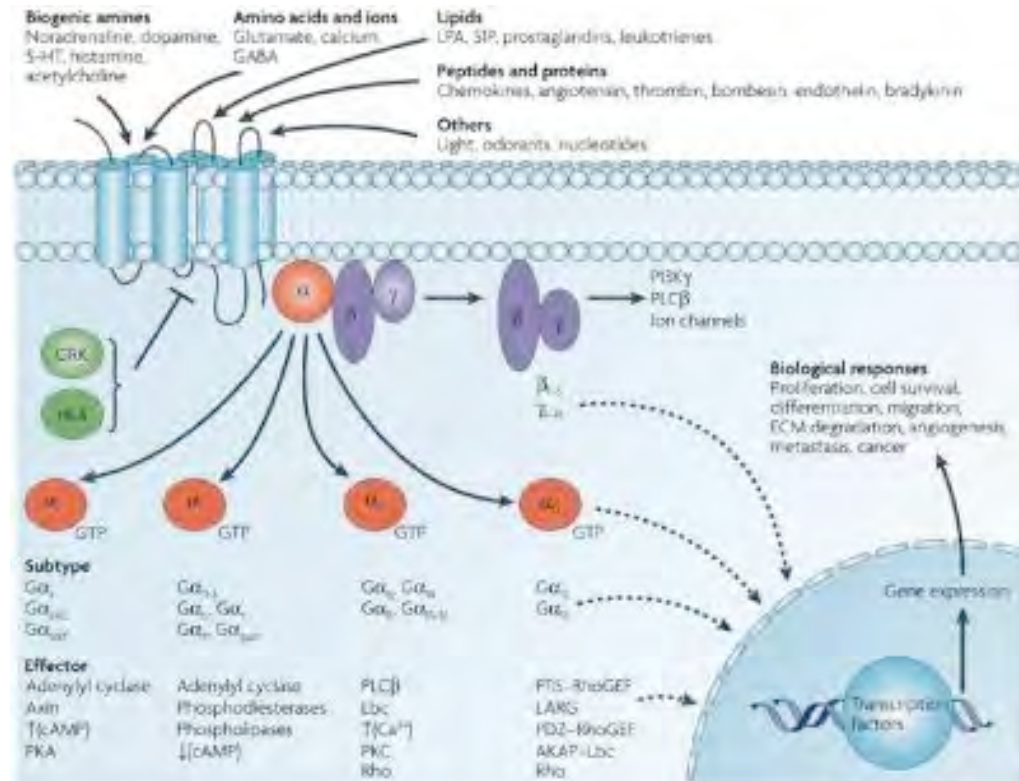
G proteins dissociate into 2 signaling complexes when activated

1. Activated GPCR induces exchange of GDP for GTP on $G\alpha$ subunit
2. $G\alpha$ dissociates from $G\beta\gamma$
3. Activated subunits diffuse within the plane of the membrane to activate downstream signaling molecules



Targets for G-proteins are:

- The adenylate cyclase system (α subunit)
- Ion channels (β - γ subunits)
- Phospholipase C system (β - γ subunits)
- PI3K γ



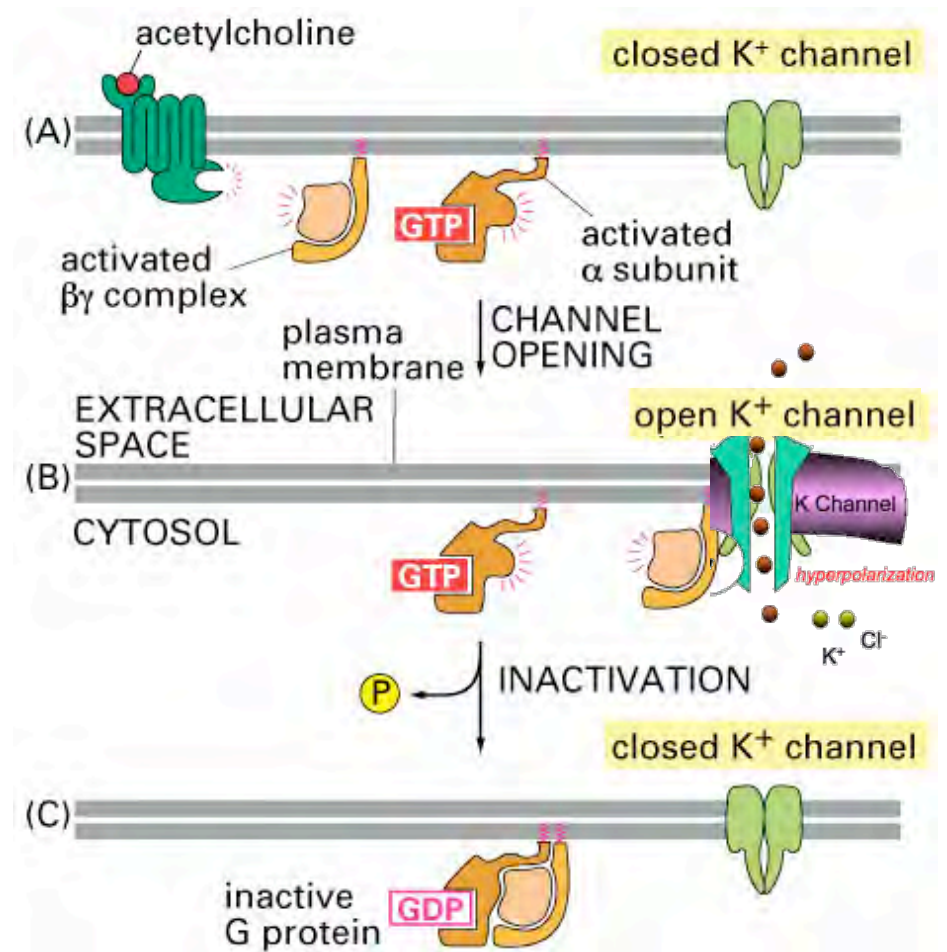
a) G proteins regulate ion channels

G – protein coupled receptors can control ion channel function by mechanisms that do not involve any second messengers such as cAMP or inositol phosphates.

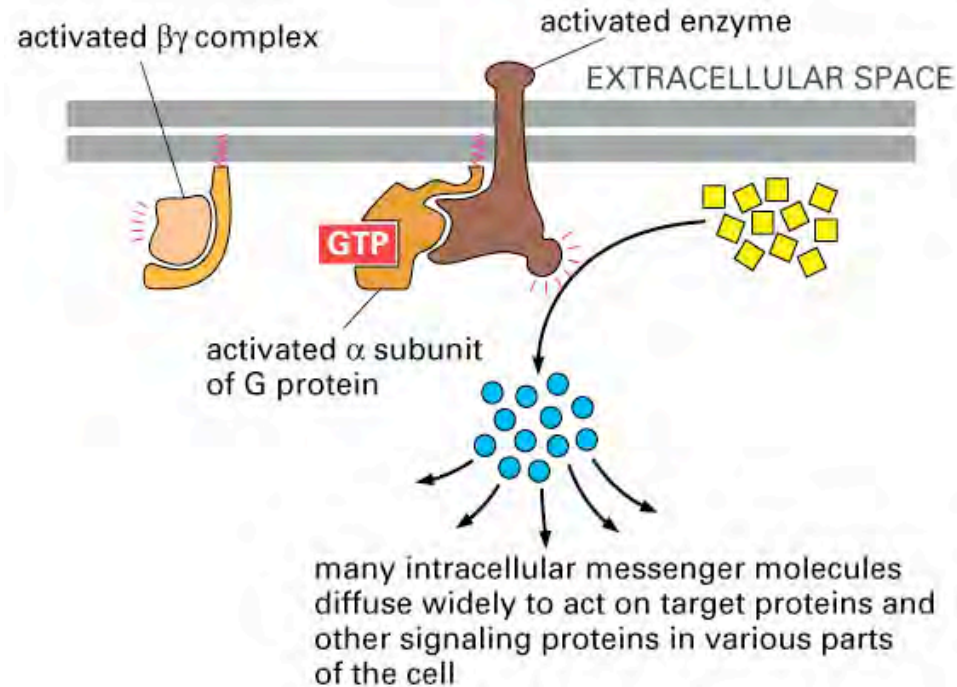
In cardiac muscle, for eg., muscarinic ACh receptors are known to enhance potassium permeability (thus hyperpolarising the cells and inhibiting electrical activity).

a) G proteins regulate ion channels

- Acetylcholine slows the heart rate
- Receptor activation => dissociation of $G\alpha$ and $G\beta\gamma$
- G α opens K^+ channels, thus hyperpolarizing cells and decreasing the amplitude of contraction



b) G proteins regulate membrane-bound enzymes to make second messengers



1. **Adenylyl cyclase** - converts ATP into cyclic AMP (cAMP)
2. **Phospholipase C** - cleaves membrane phosphatidylinositol-4,5 diphosphate into IP_3 , a hydrophilic sugar and diacylglycerol (DAG).

Adenylyl Cyclase

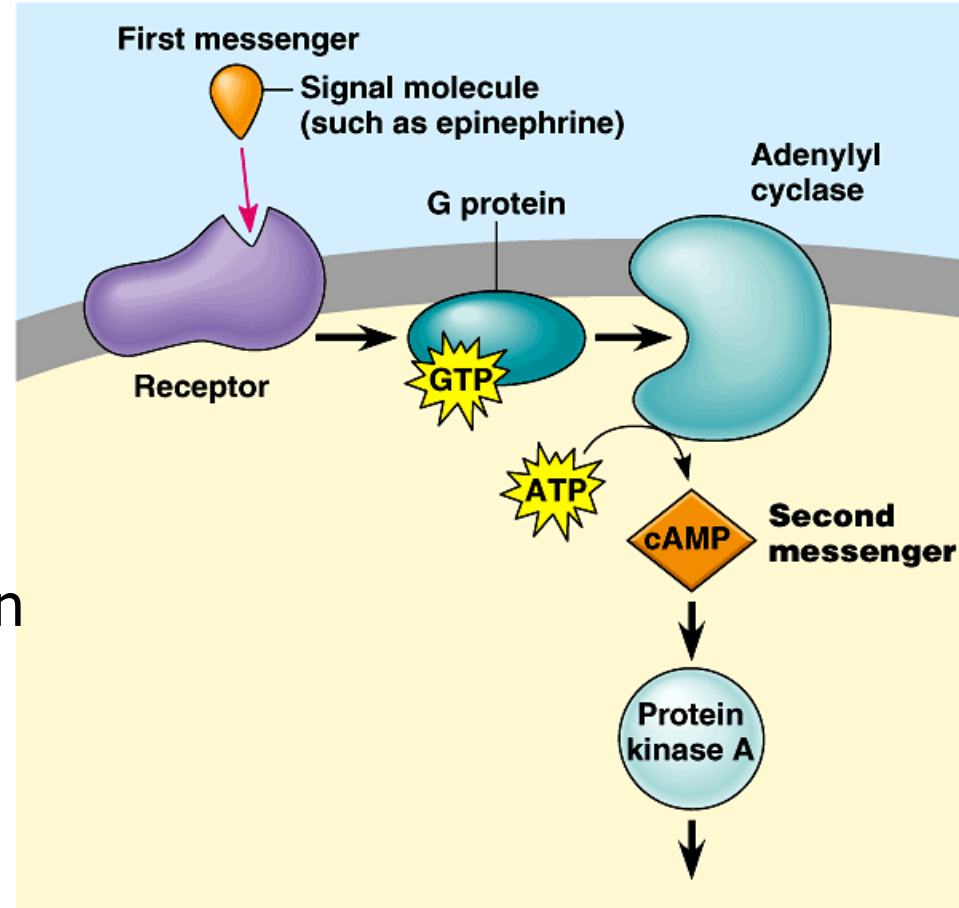
Adenylyl Cyclase converts ATP to cyclic AMP (cAMP).

There are 2 types of G proteins:

1- **Gs**, which stimulates the Adenylyl Cyclase

2- **Gi**, which inhibits the Adenylyl Cyclase

cAMP behaves as a **second messenger** which activates other enzymes in the cell, often a protein kinase (PKA).

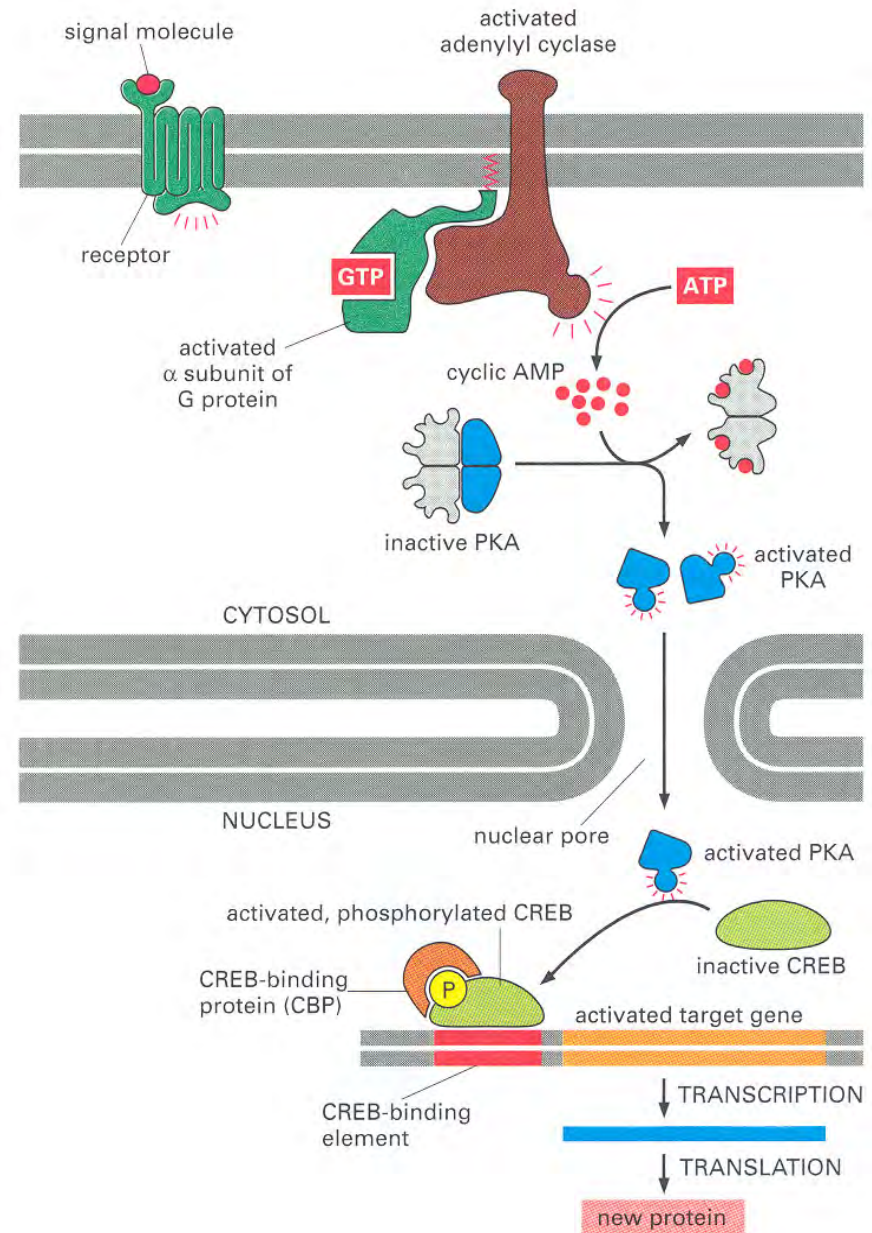


1- AMPc SIGNALING

Activated PKA enters the nucleus and phosphorylates CREB (**c**AMP **R**esponse **E**lement **B**inding protein).

Once phosphorylated, CREB recruits the coactivator CBP (**C**REB **B**inding **P**rotein).

This complex binds to the CREB-binding element to stimulate gene transcription.



Protein Phosphatases make the effects of PKA and other Protein Kinases Transitory

Four Types of Serine/Threonine Phosphatases:

1. Protein Phosphatase I (PPI)
2. Protein Phosphatase IIA (PP2A)
3. Protein Phosphatase IIB (PP2B, Calcineurin)
4. Protein Phosphatase IIC (PP2C)
: Minor one, unrelated to the others

PPI antagonizes PKA:
dephosphorylates CREB

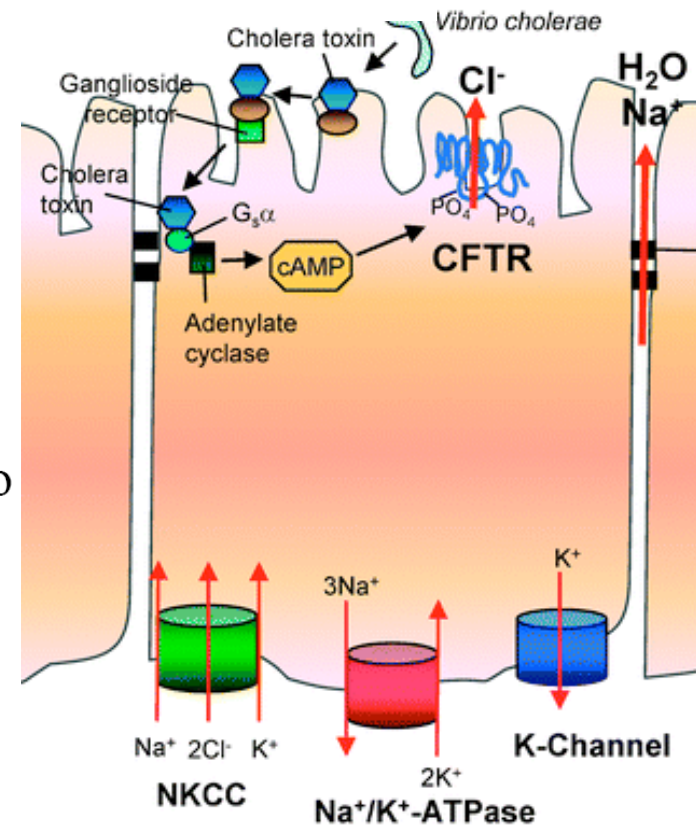
Bacterial toxins are useful tool for
studying GPCR signaling

ADP-ribosylation is a general mechanism by which activity of many proteins is regulated, in eukaryotes (including mammals) as well as in prokaryotes.

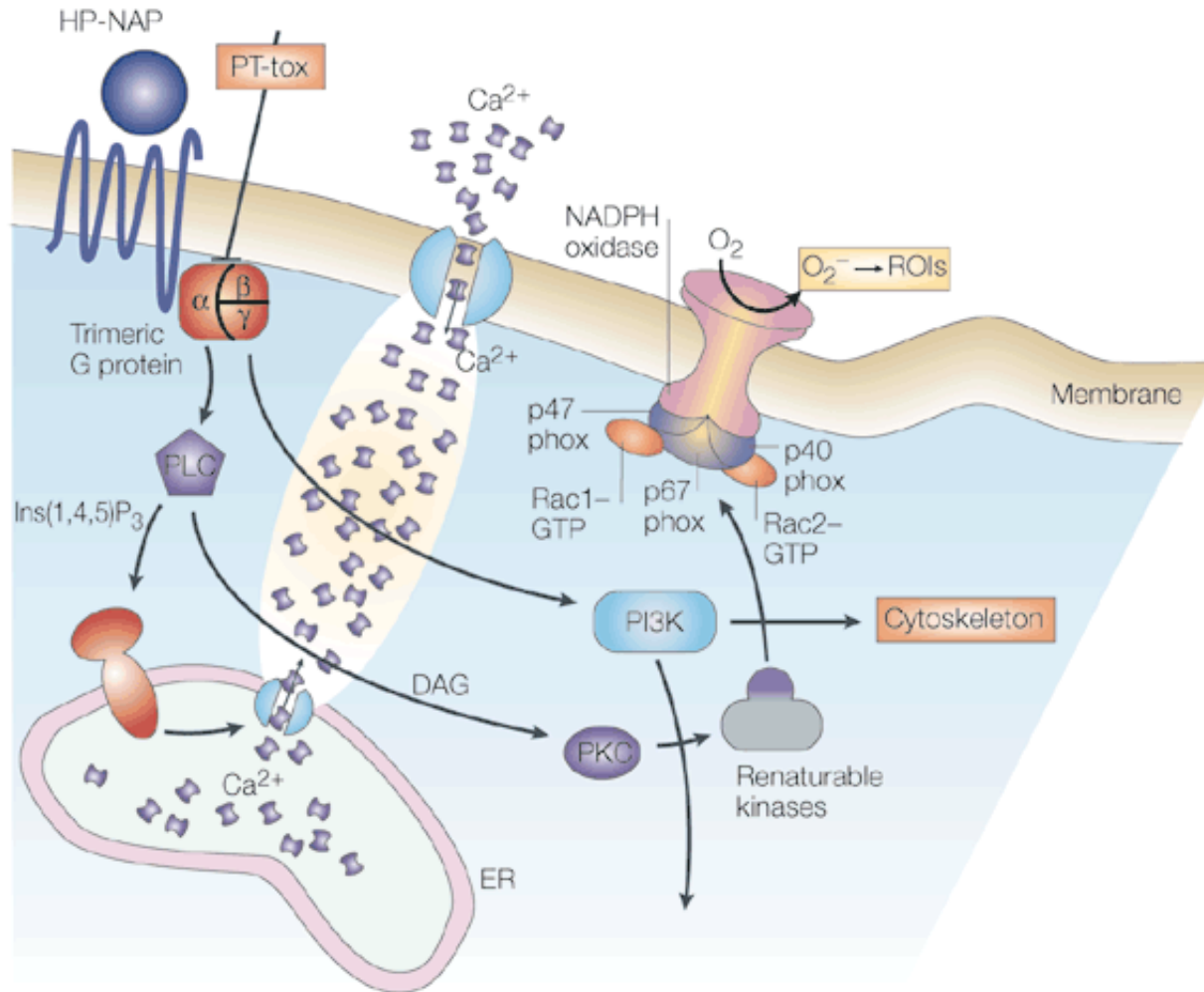
Cholera Toxin

Cholera toxin catalyzes covalent modification of $G_{s\alpha}$. ADP-ribose is transferred from NAD^+ to an arginine residue at the GTPase active site of $G_{s\alpha}$.

- The ADP ribosylation alters the alpha s so that it can no longer hydrolyze its bound GTP. Thus, alpha s continues to stimulate adenylyl cyclase to produce cAMP.
- The prolonged production of cAMP in the intestinal epithelial cells causes a large efflux of Na^+ and water into the gut, and is responsible for the severe diarrhea that is characteristic of cholera.

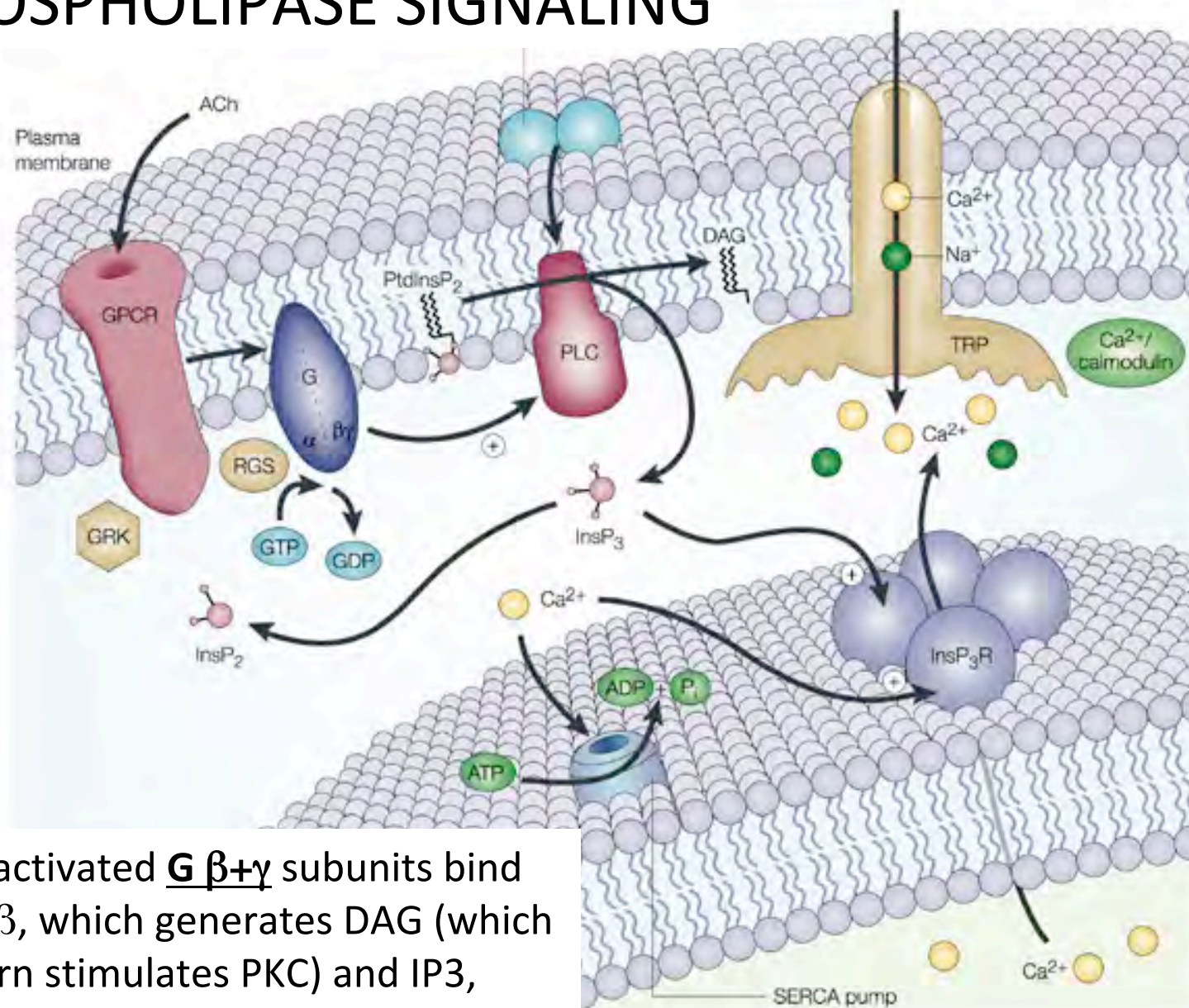


Bacterial toxins are useful tool for studying GPCR signaling

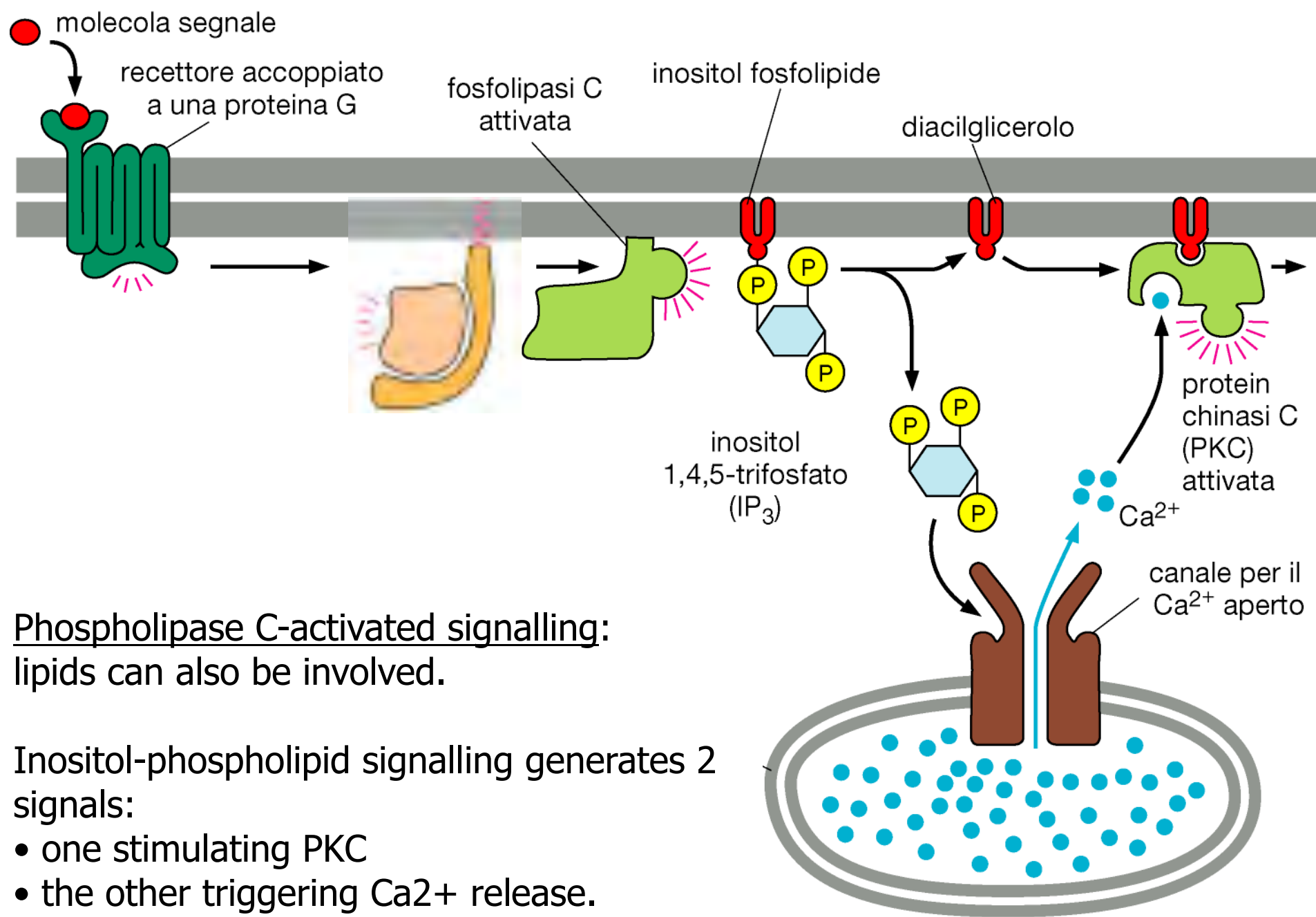


Pertussis toxin catalyzes ADP-ribosylation at a Cys residue of $G_{i\alpha}$, making the inhibitory $G\alpha$ incapable of exchanging GDP for GTP. Thus the inhibitory pathway is blocked

2- PHOSPHOLIPASE SIGNALING



The activated G β+γ subunits bind PL-Cβ, which generates DAG (which in turn stimulates PKC) and IP3, triggering Ca²⁺ release from the intracellular storages.



Phospholipase C-activated signalling:
lipids can also be involved.

Inositol-phospholipid signalling generates 2 signals:

- one stimulating PKC
- the other triggering Ca²⁺ release.

Termination of Ca²⁺ response

1. IP₃ rapidly dephosphorylated by phosphatases.
2. DAG rapidly hydrolyzed.
3. Ca²⁺ rapidly pumped out.
4. Ser/Thr phosphatases dephosphorylate PKC and CaM kinase targets.

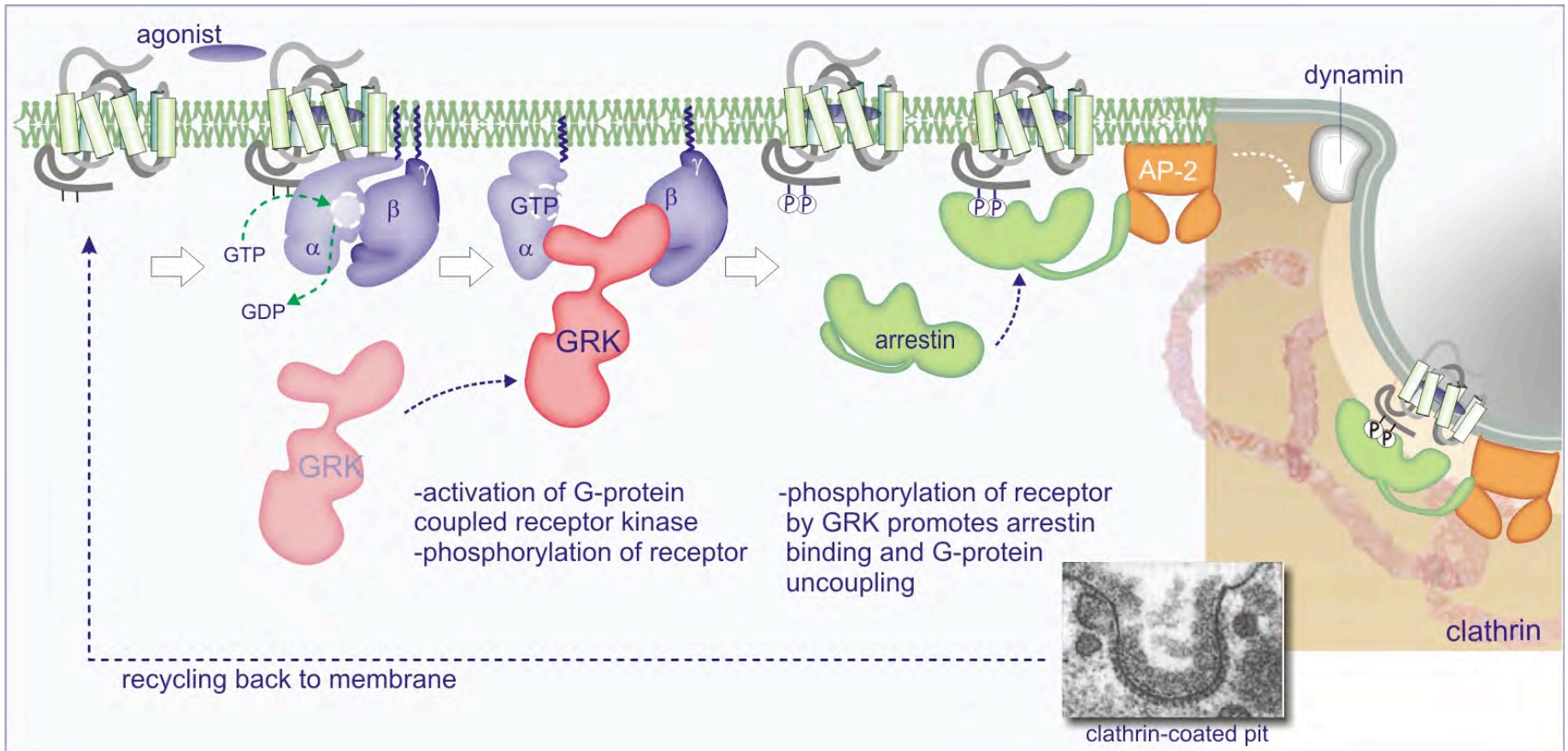
Receptor desensitization

NATURE|Vol 459|21 May 2009

The structure and function of G-protein-coupled receptors

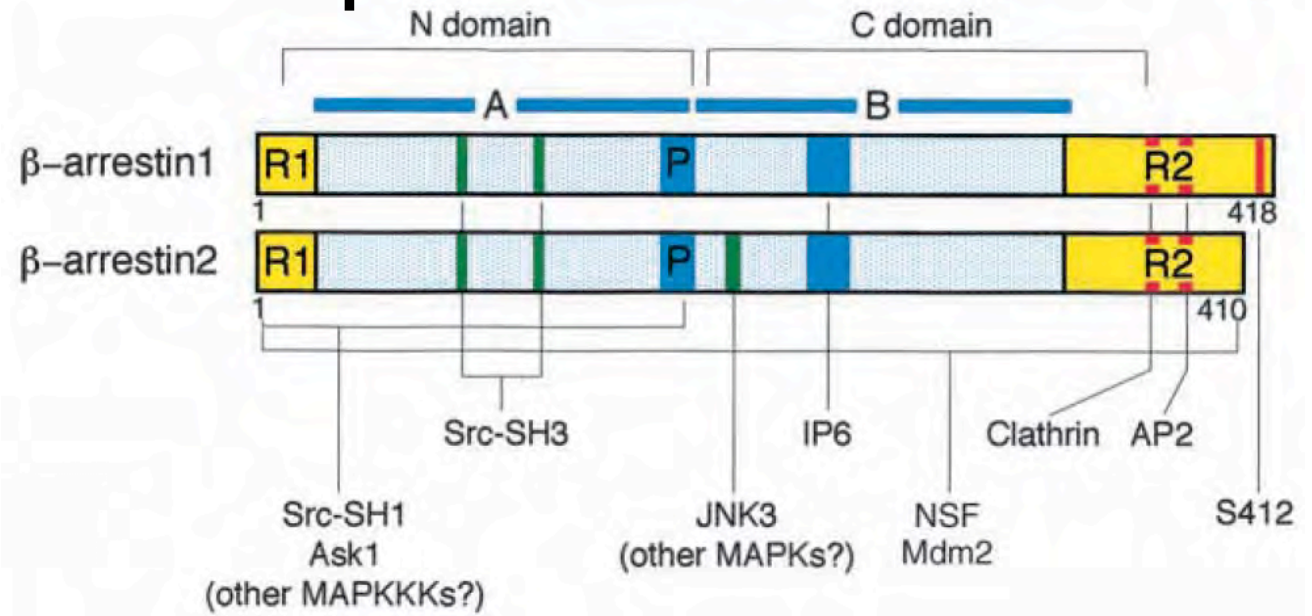
Daniel M. Rosenbaum¹, Søren G. F. Rasmussen¹ & Brian K. Kobilka¹

GPCR signaling is inactivated by arrestins: homologous desensitization of GPCRs



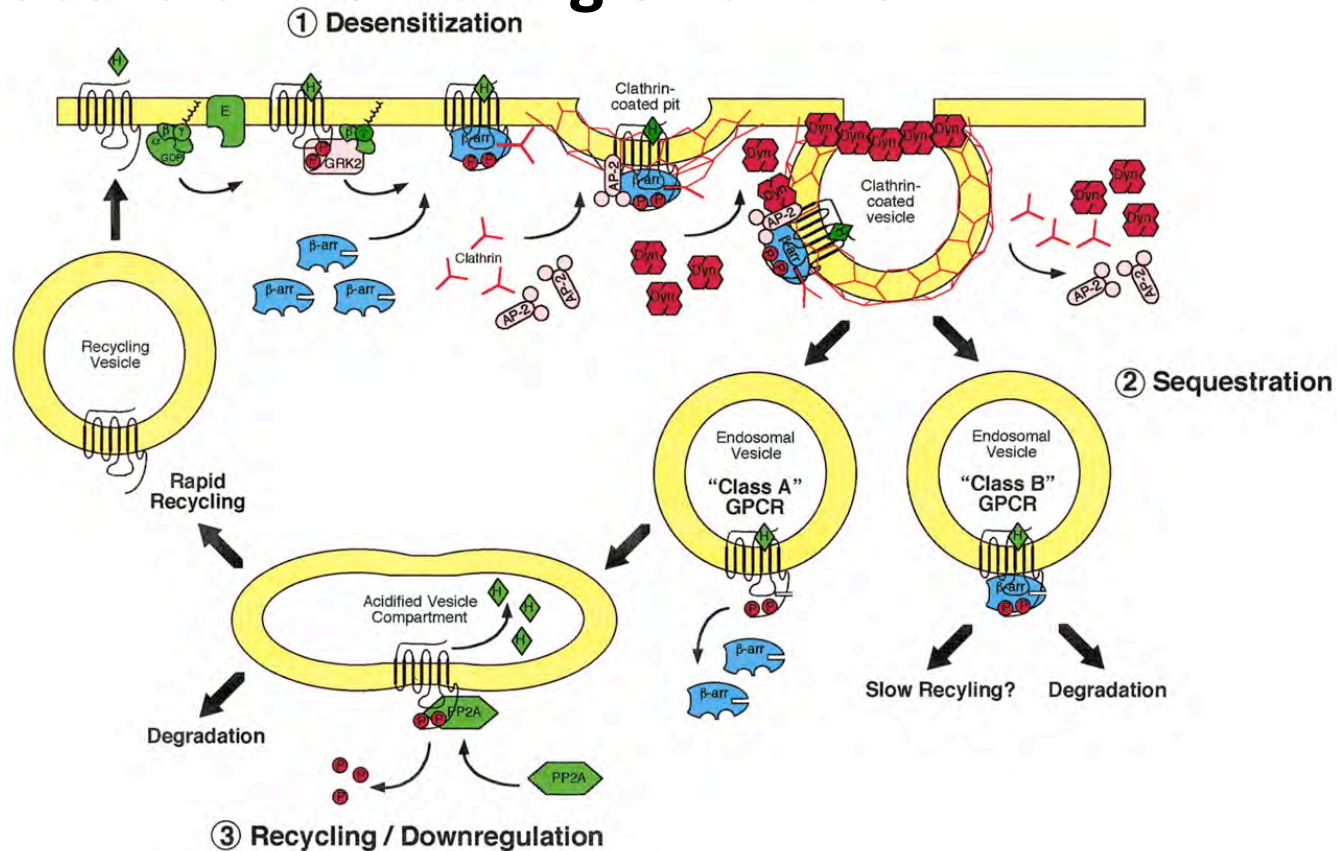
Ligand binding to GPCRs not only promotes G-protein activation but makes the receptor a substrate for phosphorylation by GRKs (G-protein coupled receptor kinases). GRK phosphorylation promotes arrestin binding, which causes G-protein uncoupling and promotes receptor internalization via clathrin-mediated endocytosis

Domain architecture of β-arrestins.



β-arrestins are composed of two major functional domains, an N-terminal (A) domain responsible for recognition of activated GPCRs and a C-terminal (B) domain responsible for secondary receptor recognition. The A and B domains are separated by a phosphate sensor domain (P). The R2 domain contains the primary site of phosphorylation, as well as the binding motif for clathrin and β2-adaptin (AP2). The recognition domain for inositol phospholipids (IP6) resides within the B domain. Interactions between β-arrestins and signaling proteins are shown in green.

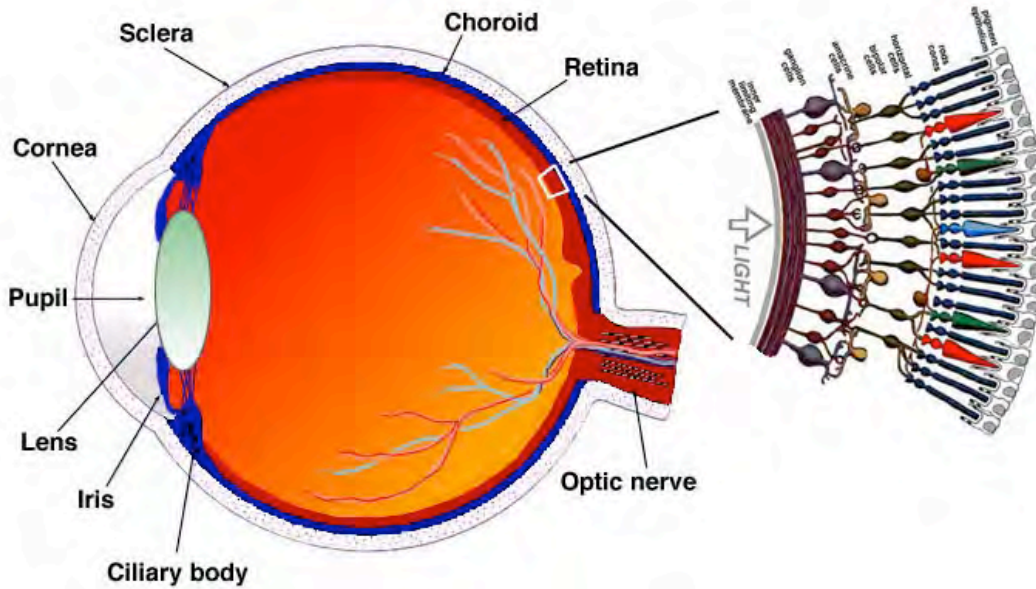
Role of β -arrestins in the desensitization, sequestration and intracellular trafficking of GPCRs.



Once internalized, GPCRs exhibit two distinct patterns of β -arrestin interaction.

- **'Class A'** GPCRs, for example the β_2 adrenergic receptor, rapidly dissociate from β -arrestin. These receptors are trafficked to an acidified endosomal compartment, wherein the ligand is dissociated and the receptor dephosphorylated by a GPCR-specific protein phosphatase PP2A isoform, and are subsequently recycled to the plasma membrane.
- **'Class B'** receptors, for example the angiotensin II AT1a receptor, form stable receptor- β -arrestin complexes. These receptors accumulate in endocytic vesicles and are either targeted for degradation or slowly recycled to the membrane via as yet poorly defined routes.

La retina



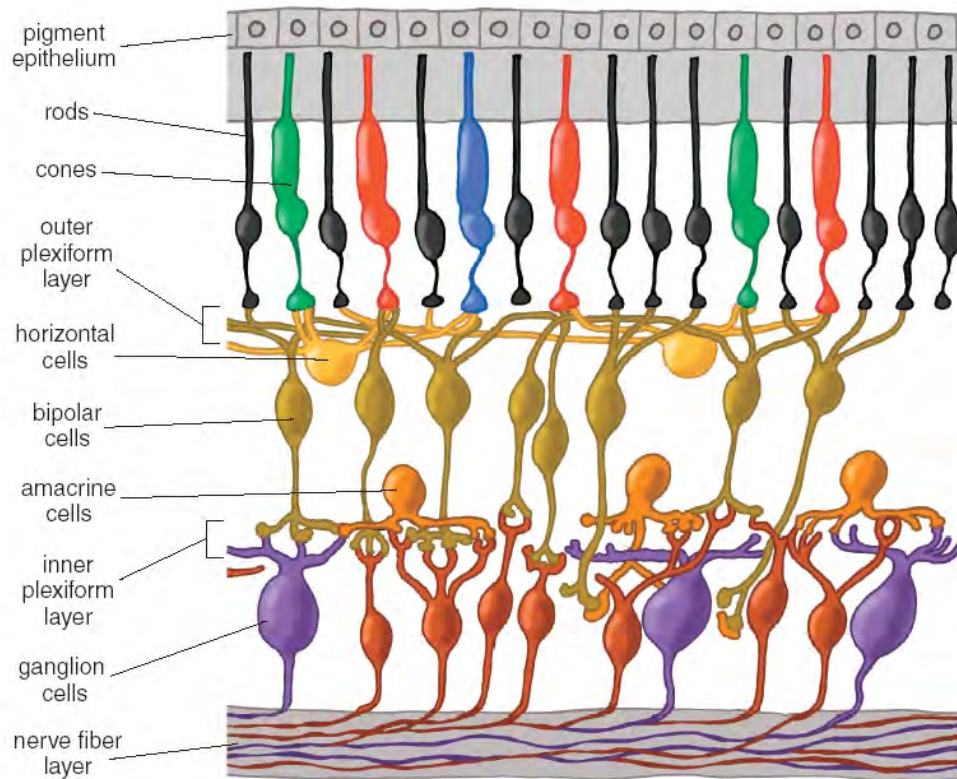
La retina e' un disco circolare con diametro di circa 42 mm che ricopre la superficie posteriore dell'occhio ed è sensibile alla luce come una pellicola fotografica; essa recepisce e compone le immagini visive e le trasmette successivamente al cervello.

Sulla sua superficie sono collocate ed operano due categorie di cellule (fotorecettori) sensibili alla luce:

I CONI, così chiamati per la loro forma, che recepiscono soprattutto i particolari delle immagini ed i vari colori. Responsabili della visione a colori.

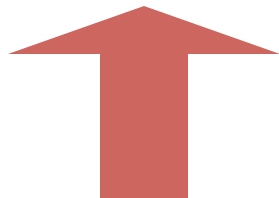
I BASTONCELLI, dalla linea allungata ed affusolata, i quali reagiscono prevalentemente al contrasto fra il chiaro e lo scuro ed al movimento degli oggetti. Sensibili anche a bassi livelli di luce, ma incapaci di distinguere i colori.

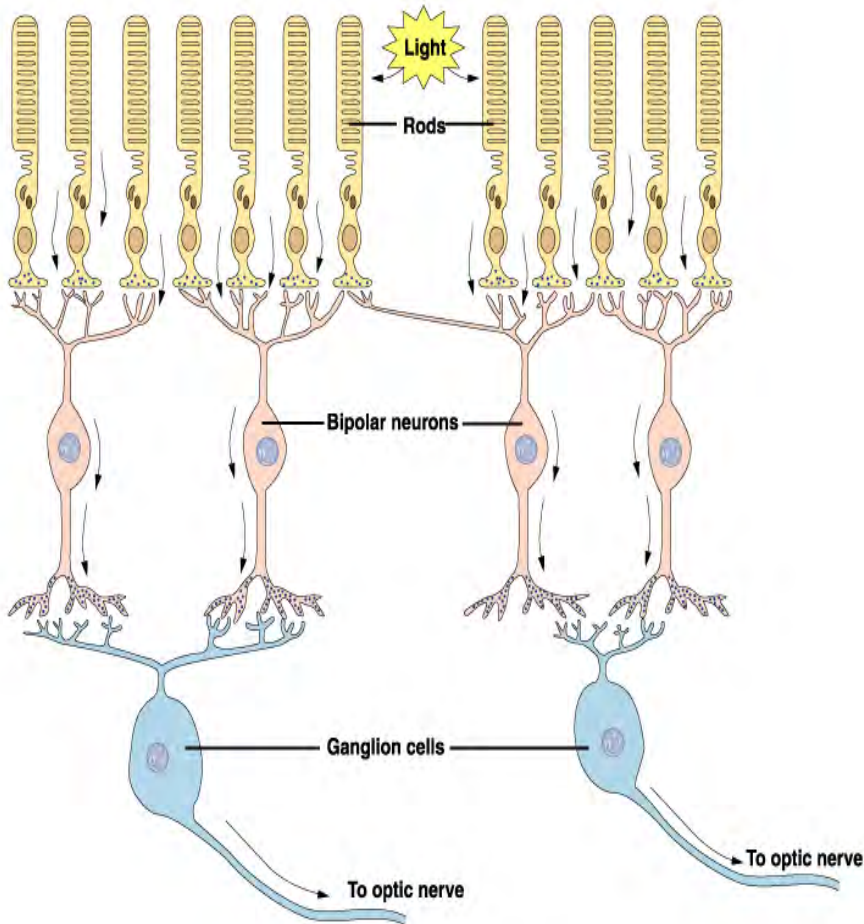
Anatomia della retina



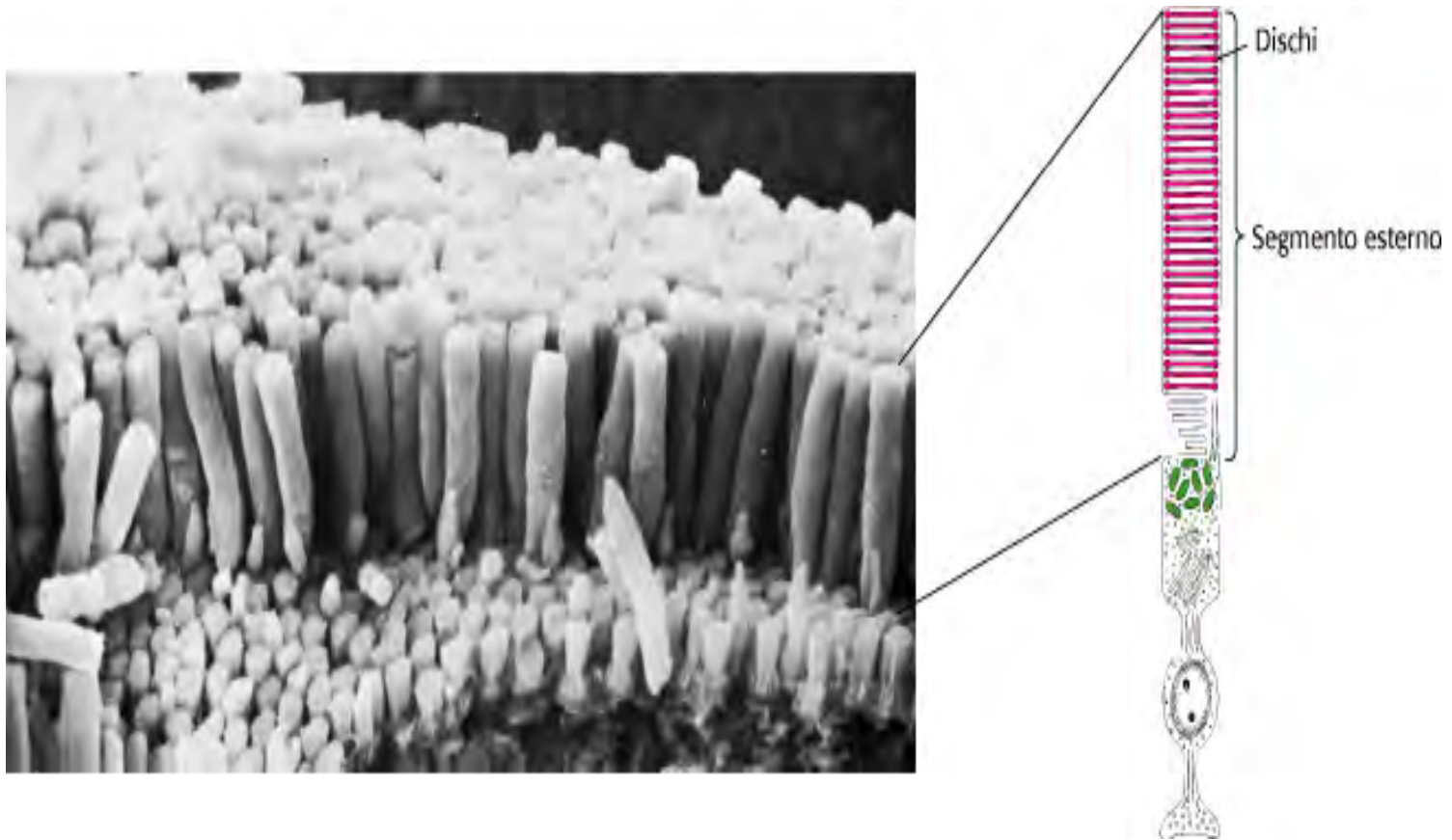
- La retina contiene quattro strati di cellule:

1. Epitelio pigmentato
2. Fotorecettori
3. Cellule bipolari
4. Cellule gangliari





Quando la luce contatta i fotorecettori, si produce una complessa serie di reazioni chimiche. Vengono rilasciate molecole di neurotrasmettitori che stimolano le cellule bipolari e le cellule gangliari. Questi neuroni integrano i segnali che provengono da molti fotorecettori ed inviano attraverso il nervo ottico il segnale alla corteccia visiva del cervello



La retina umana contiene circa 3 milioni di coni
e 100 milioni di bastoncelli

Coni e bastoncelli

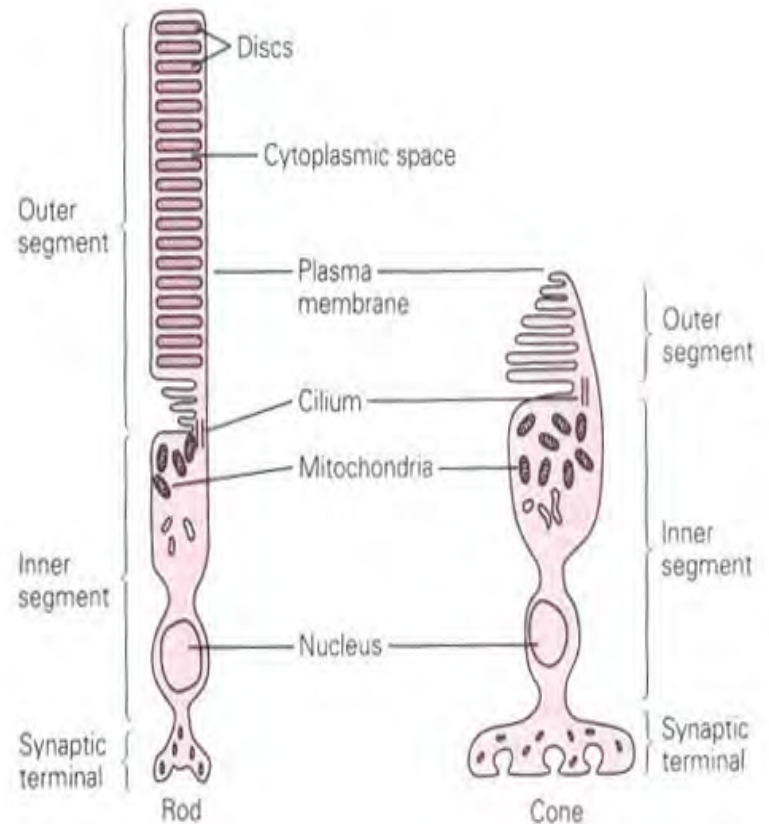
I coni e i bastoncelli sono i trasduttori della luce. Sono cellule altamente specializzate caratterizzate da strutture molto particolari per espletare il loro compito.

Sono strutturalmente molto simili e si compongono di:

segmento esterno: dischi che portano il pigmento visivo

soma: con nucleo, mitocondri, reticolo endoplasmico, Golgi etc.

segmento interno: terminale sinaptico in contatto con le cellule bipolari.

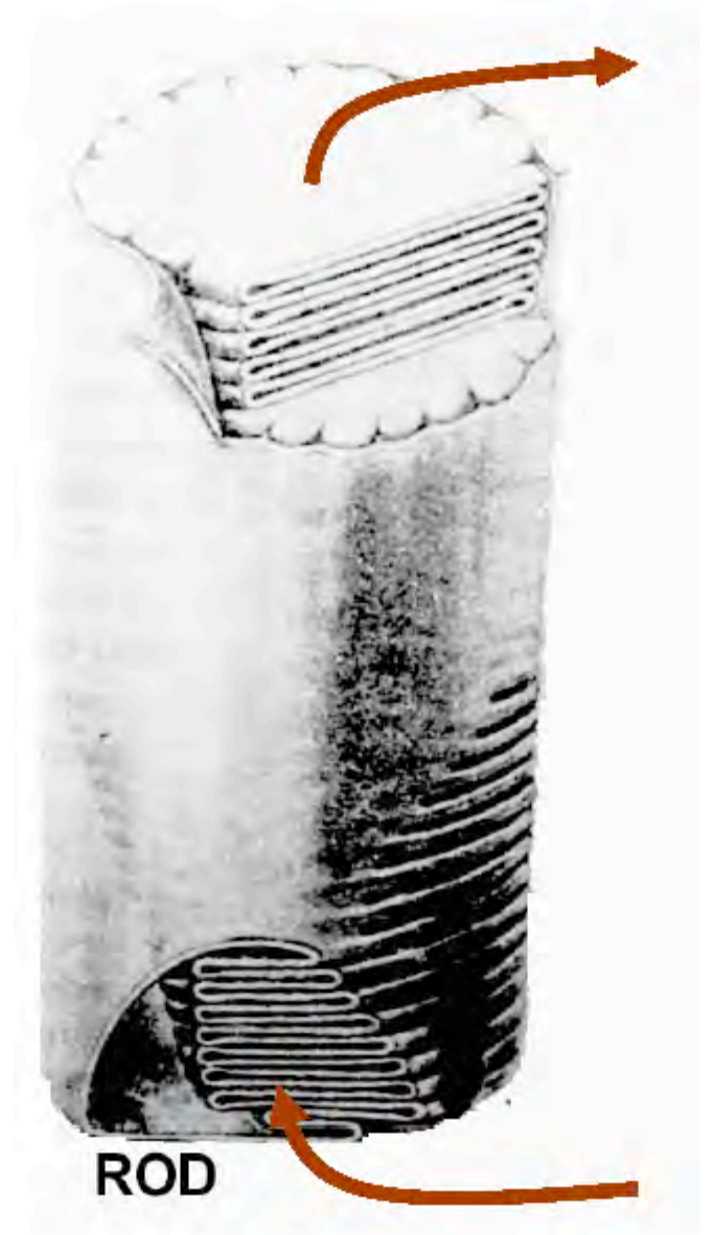


Segmento esterno

La parte più caratteristica dei fotorecettori è sicuramente il segmento esterno.

Esso contiene una serie di dischi impaccati che derivano dalla membrana esterna del fotorecettore.

I dischi sono soggetti ad un rapido turn-over. Quelli più vecchi sono eliminati all'apice del fotorecettore, mentre quelli più nuovi derivano dalla parte a contatto con il soma



Il principale componente proteico dei dischi membranosi è la proteina 7TM **rodopsina**, che costituisce il 40-50% dell'intera massa del segmento esterno. La sintesi della rodopsina inizia nel segmento interno, dove la proteina viene maturata nel reticolo endoplasmico e nell'apparato di Golgi e successivamente è trasportata nel segmento esterno

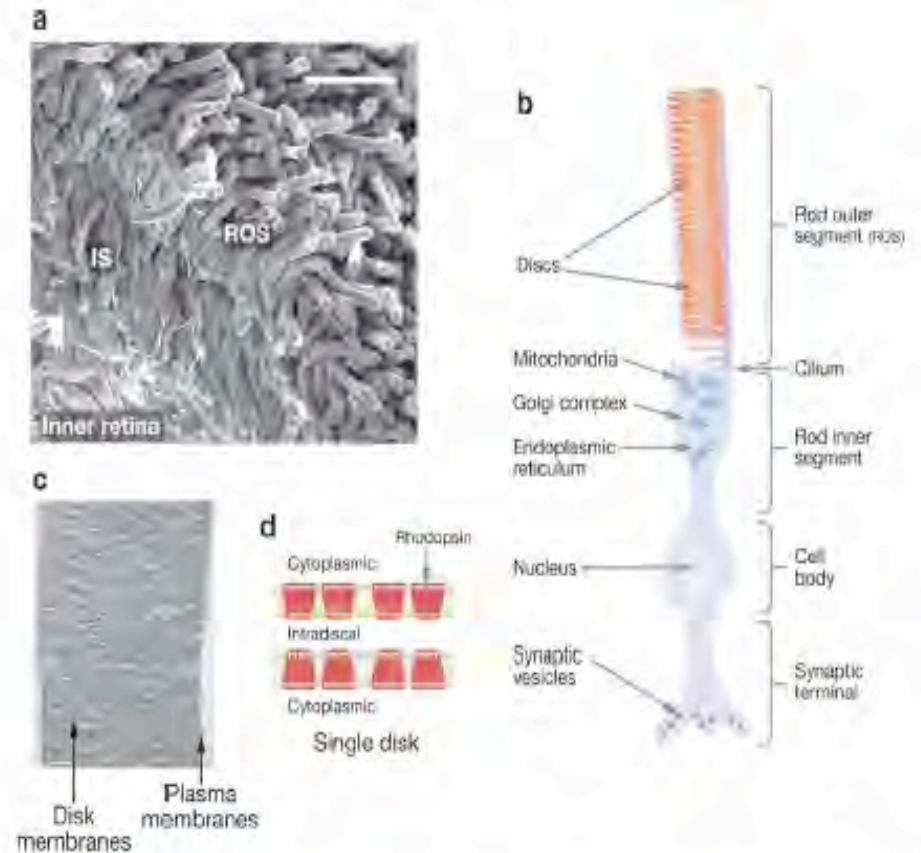


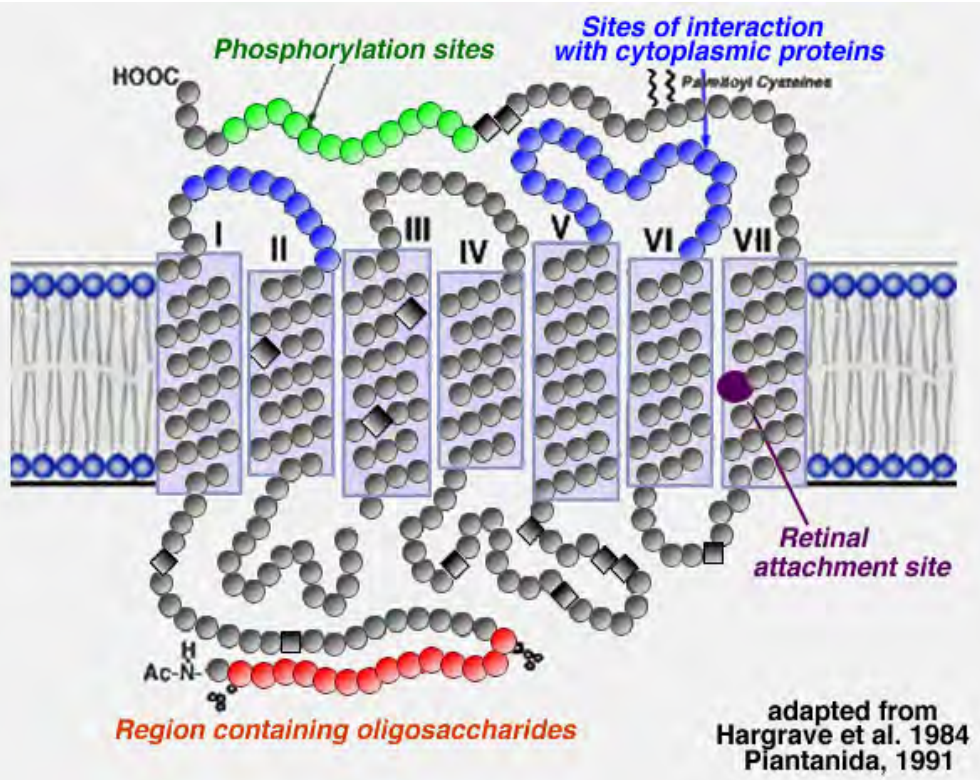
Figure 1

Vertebrate retina and rhodopsin. (a) Scanning electron micrograph of mouse retina [courtesy of Yan Liang (33)]. Rod cells comprise ~70% of all 6.4 million retinal cells, and cone cells represent ~2%. Rods are postmitotic neurons with highly differentiated rod outer segments (ROS) connected to the inner segments (IS), which generate proteins and energy to sustain phototransduction events. (b) Diagram depicting the rod cell. The processes in ROS allow rapid transduction of the light signal to graded hyperpolarization of the plasma membrane, ensuing from the decrease of light-sensitive conductance in the ROS cGMP-gated cation channels. In ROS, hundreds of distinct, rhodopsin-loaded disk membranes (20) are enveloped by the plasma membrane. (c) Electron micrograph of isolated ROS from the mouse retina [courtesy of Yan Liang (33)]. The disk membranes consist of a phospholipid bilayer studded with rhodopsin. (d) Diagram of disk membranes. The main protein of ROS disk membranes is light-sensitive rhodopsin, which occupies 50% of the disk area. The molar ratio between rhodopsin and phospholipids is about 1:60 (for example 1:38 and 1:39, reviewed in 1:40). Multiple techniques suggest that rhodopsin forms oligomeric structures in the native membranes, with the rhodopsin dimer most likely being the signaling unit.

La trasduzione visiva inizia quando la luce incontra la **rodopsina**, cioè migliaia di molecole di fotorecettore distribuite su ogni disco del segmento esterno

- La rodopsina (M_r 40.000) è una proteina integrale di membrana con 7 eliche che la attraversano.
- E' stato il primo membro della famiglia dei recettori 7TM ad essere purificato e cristallizzato
- Il gene della rodopsina è stato il primo 7TM ad essere clonato e sequenziato (Nathans, J. et al. (1984) *Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin. Proc. Nat. Acad. Sci.*, 81, 4851-4855).

Struttura della rodopsina

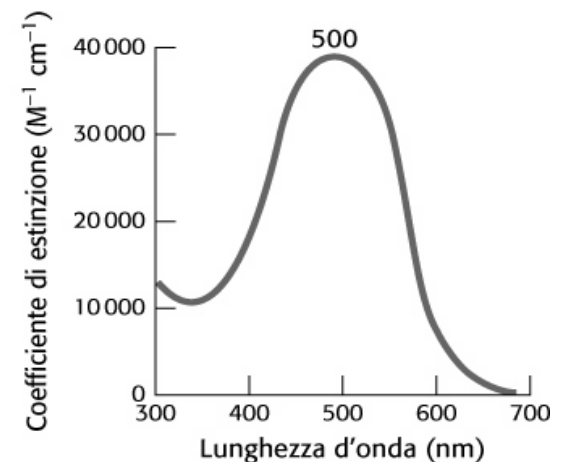


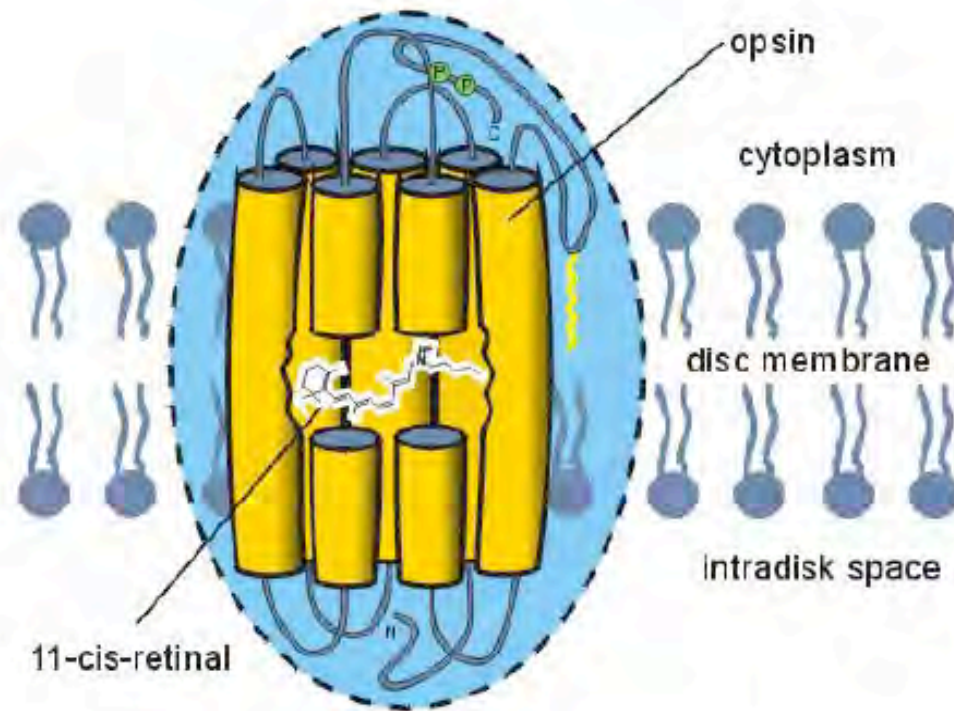
Numerose evidenze sperimentali indicano che la rodopsina può essere presente nella membrana come dimero

Regione N-terminale molto compatta. Due oligosaccaridi sono legati a Asn-2 e Asn-15

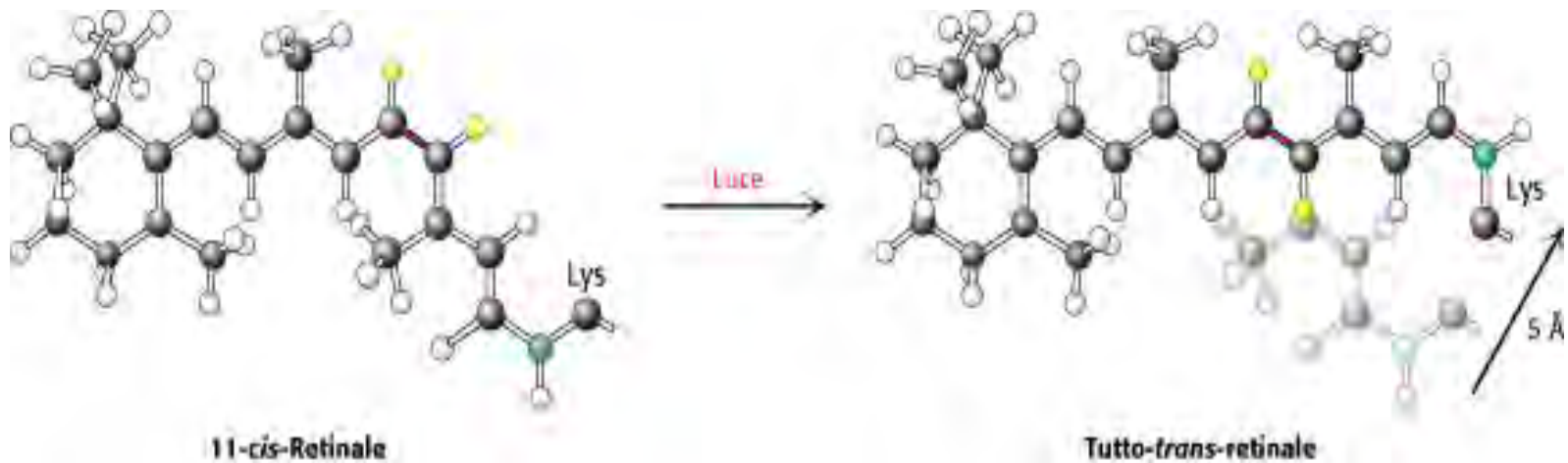
Estremità C-terminale: siti di fosforilazione

Nel VII passo TM e' legata una molecola di cromoforo, l'**11-cis-RETINALE**





Quando la rodopsina interagisce con un fotone, la prima reazione che avviene, e fra l'altro l'UNICA luce-dipendente, è l'isomerizzazione del retinale dalla forma *11-cis* alla forma *all-trans*.



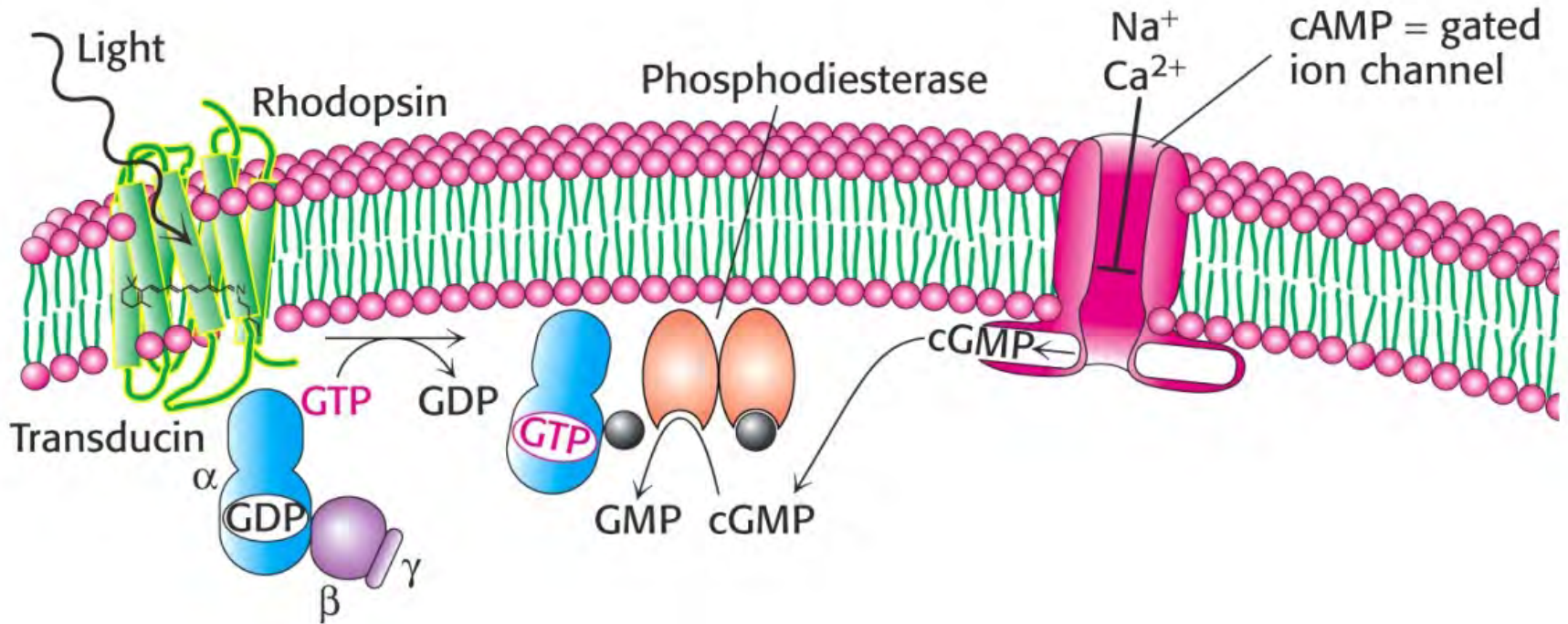
Il cromoforo è legato mediante una base di Schiff al residuo lys^{296} sulla settima elica della rodopsina.

L'assorbimento della luce provoca l'isomerizzazione del gruppo *11-cis-retinale* della rodopsina nella sua forma *tutto-trans*

Questa isomerizzazione causa uno spostamento dell'atomo di azoto della base di Schiff di circa 5\AA

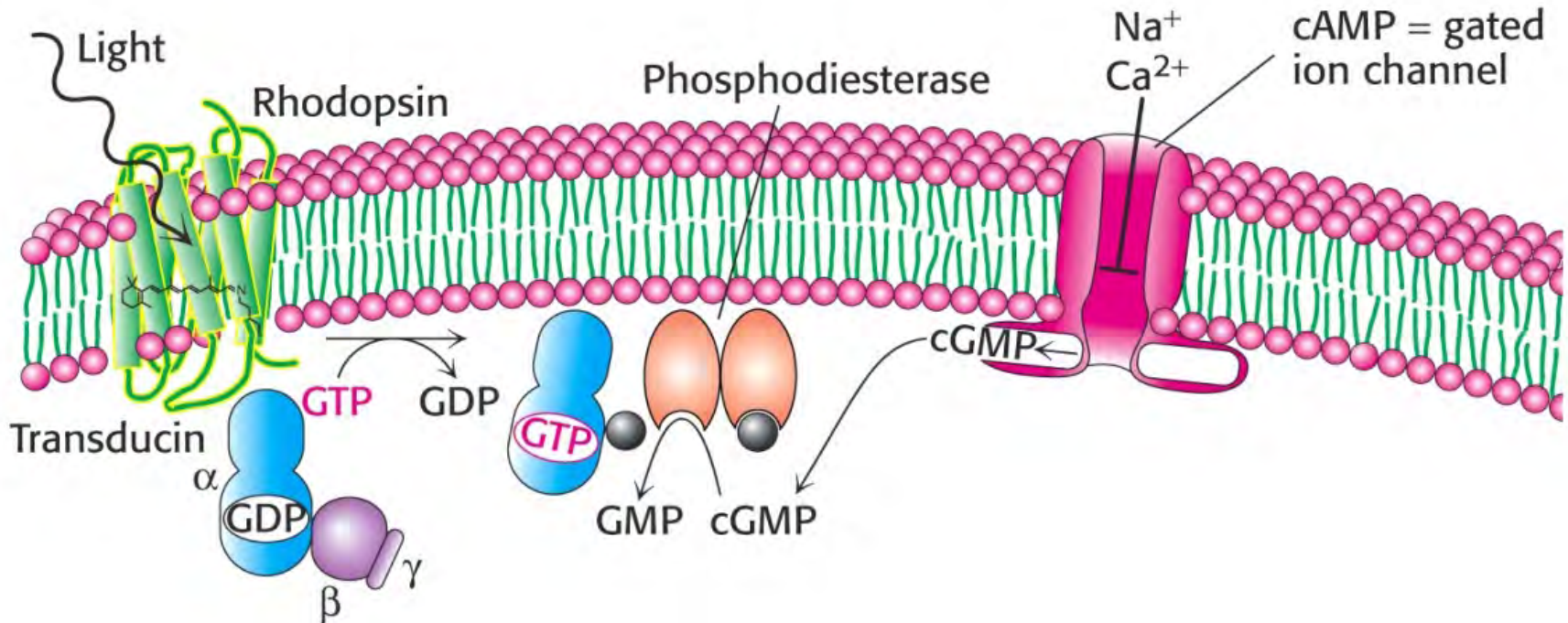
L'energia luminosa di un fotone è trasformata in movimento atomico

La fototrasduzione

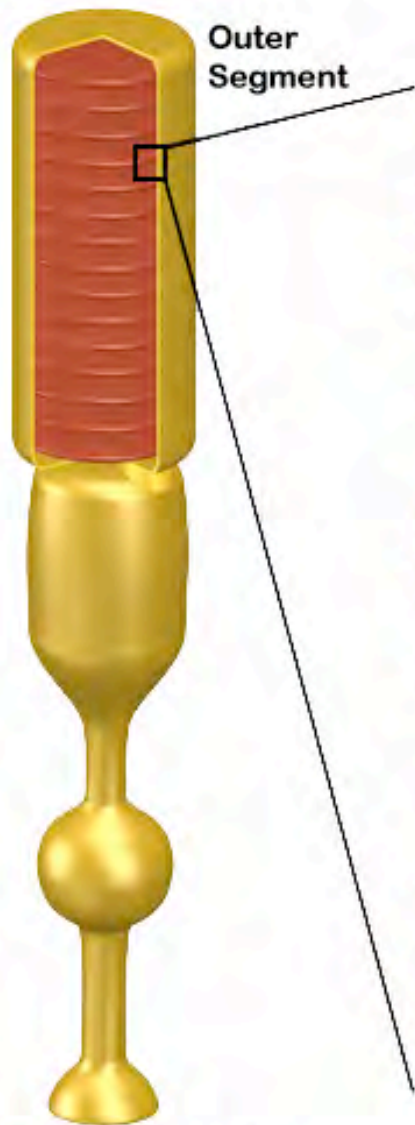


La prima parte della visione è chiamata **fototrasduzione** ed attraverso essa un segnale luminoso viene trasformato in segnale chimico e quindi in segnale elettrico

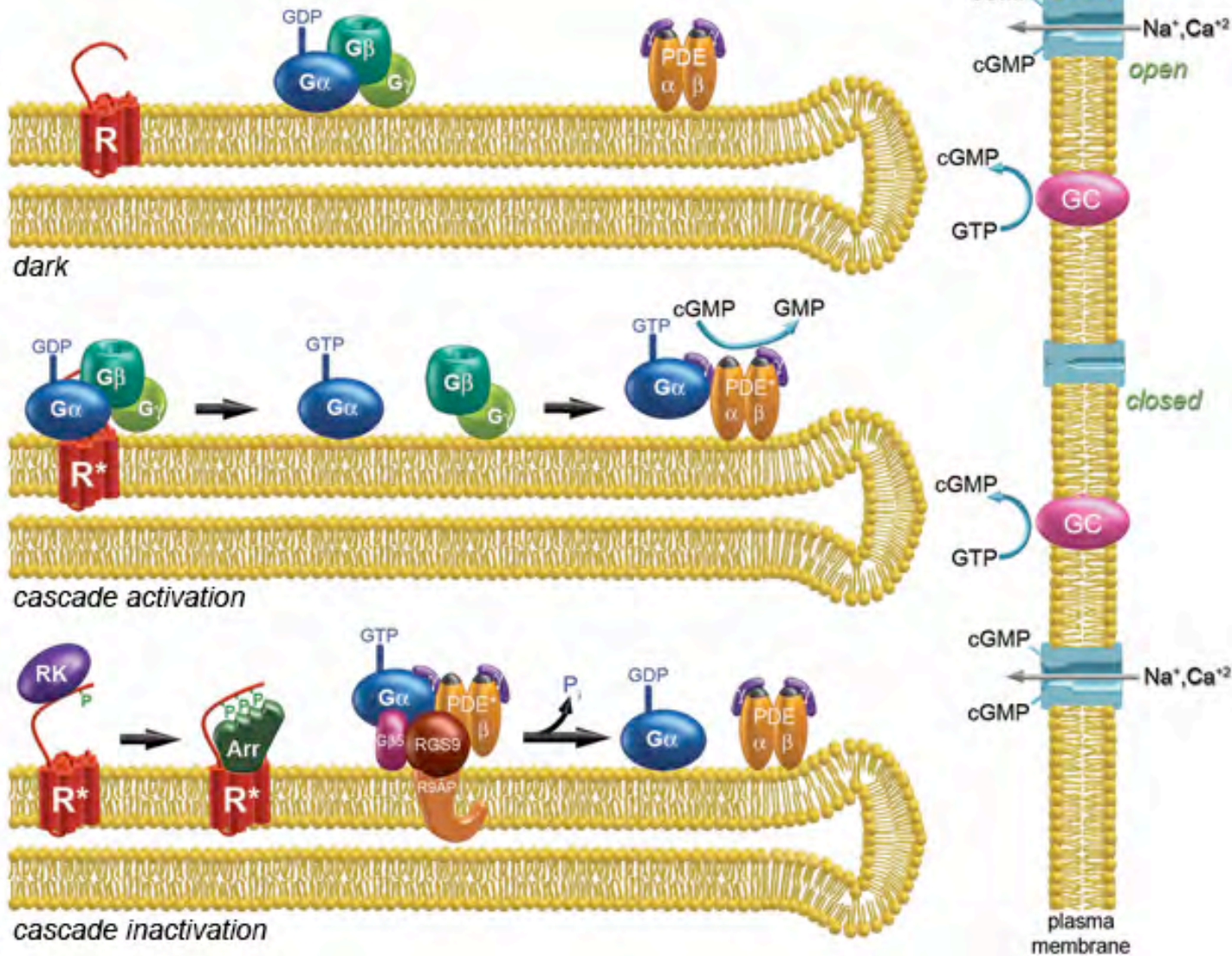
La fototrasduzione



Rodopsina · ▶ proteina G trasducina · ▶ fosfodiesterasi · ▶ cGMP · ▶ GMP · ▶
chiusura canali Na^+ · ▶ iperpolarizzazione

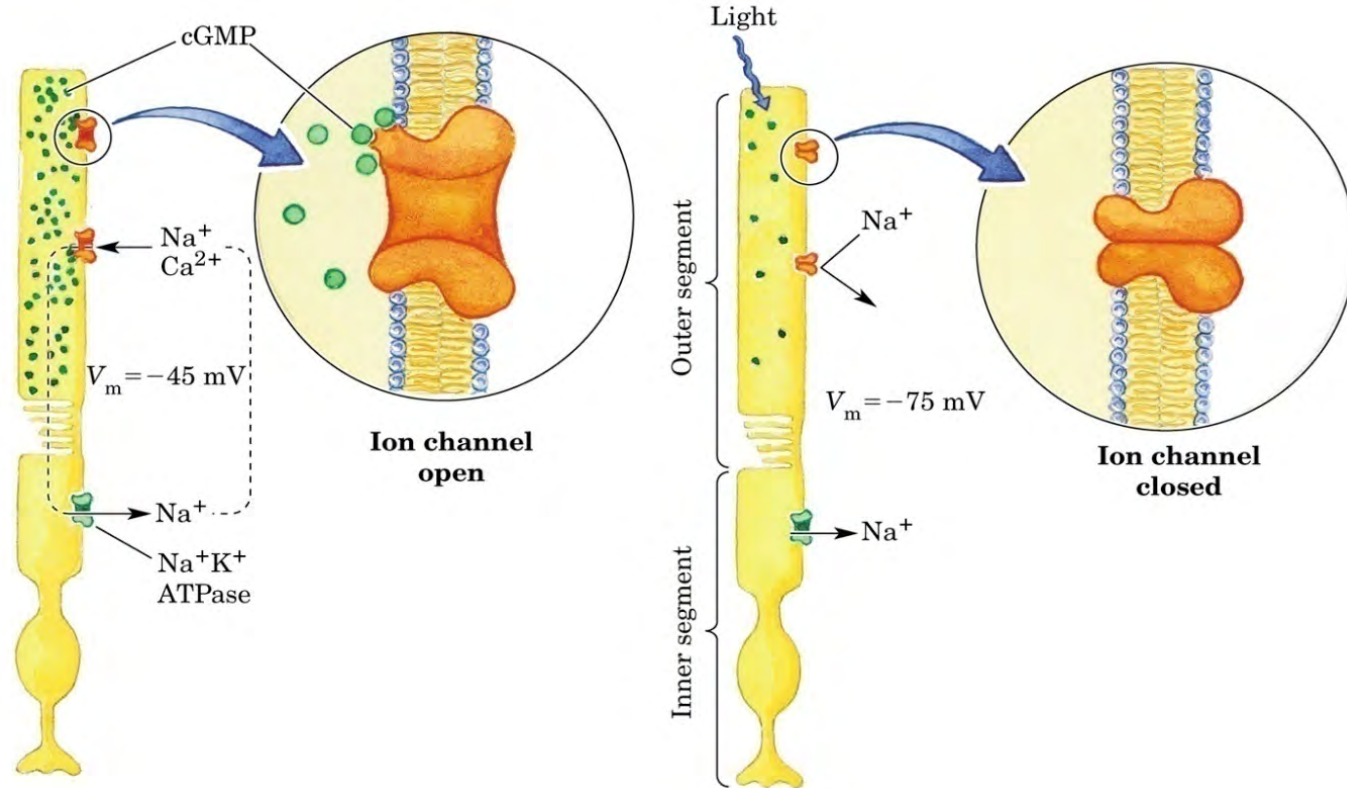


Outer Segment



The Rod Cell

Il potenziale elettrico transmembrana è prodotto dalla pompa della Na^+K^+ ATPasi. Un canale ionico controllato da cGMP modifica il potenziale di membrana nei coni e bastoncelli.



Al buio, nei fotorecettori e' fortemente attiva una guanilato ciclasi, che produce cGMP

Il cGMP mantiene aperti i canali ionici che portano una corrente cationica.

I fotorecettori sono depolarizzati ($V_z = -35/-40 \text{ mV}$);

La luce riduce la concentrazione di cGMP (fosfodiesterasi) , CHIUDE I canali ionici CNG e iperpolarizza i fotorecettori (-70 mV)

Fase di eccitazione

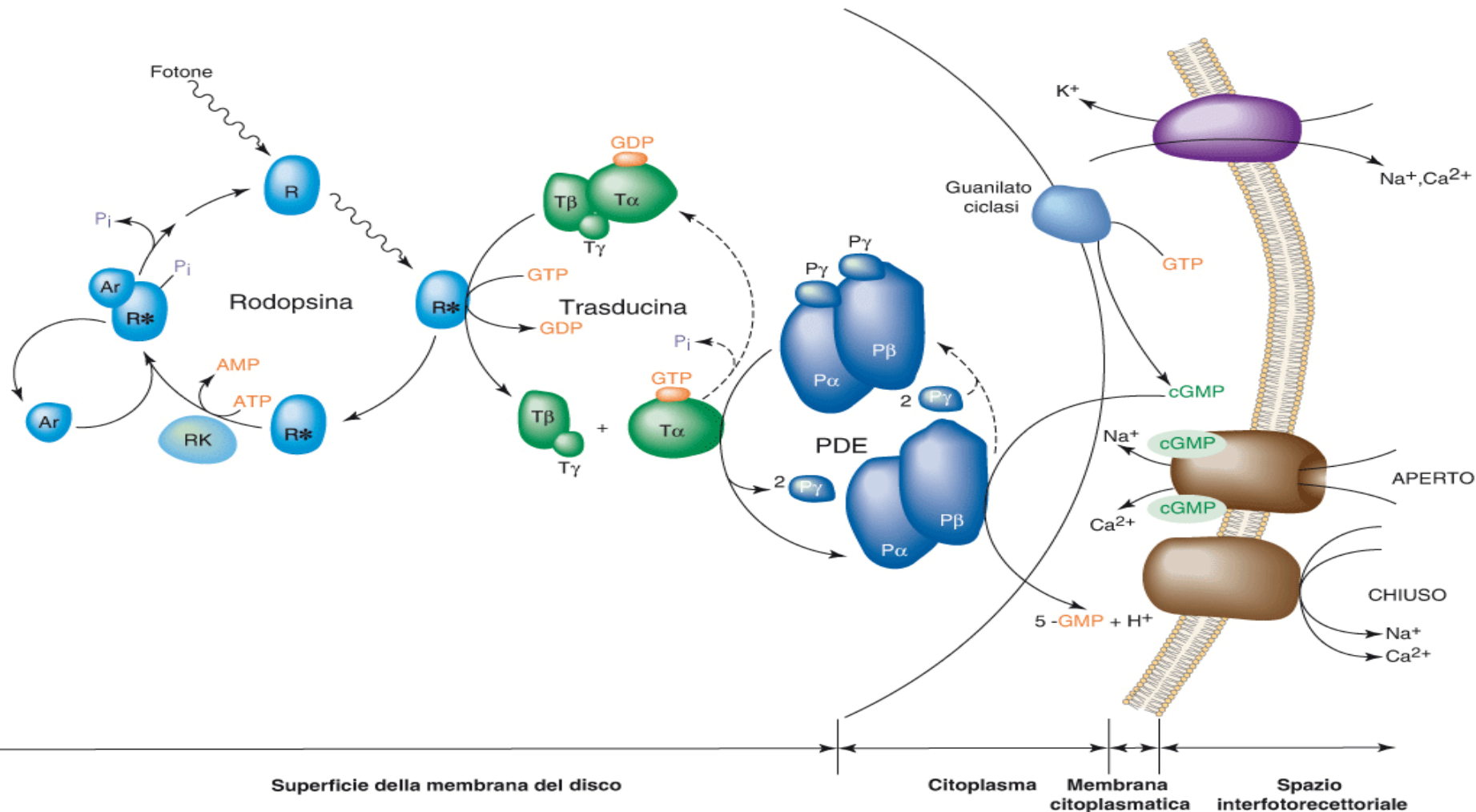
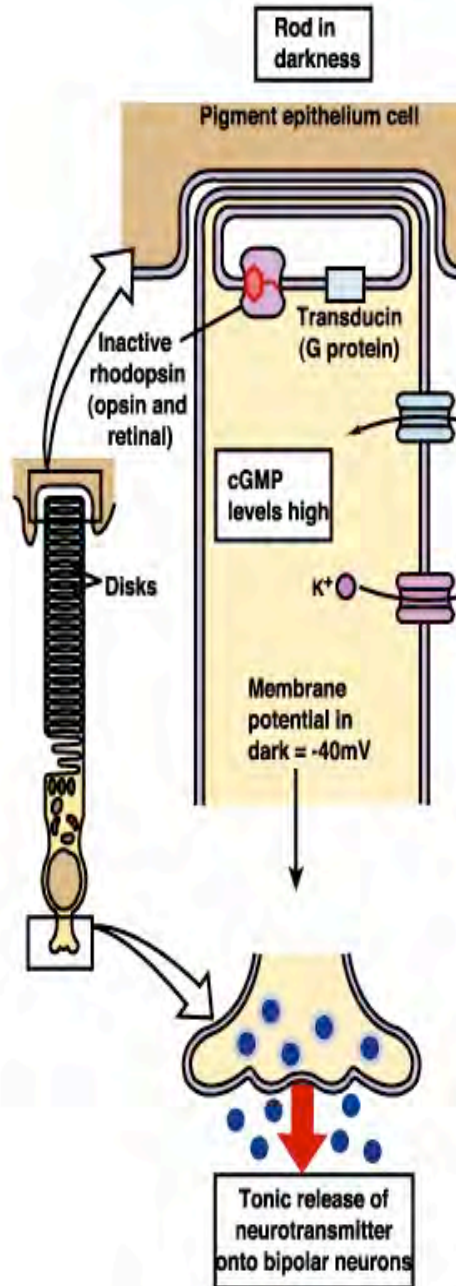


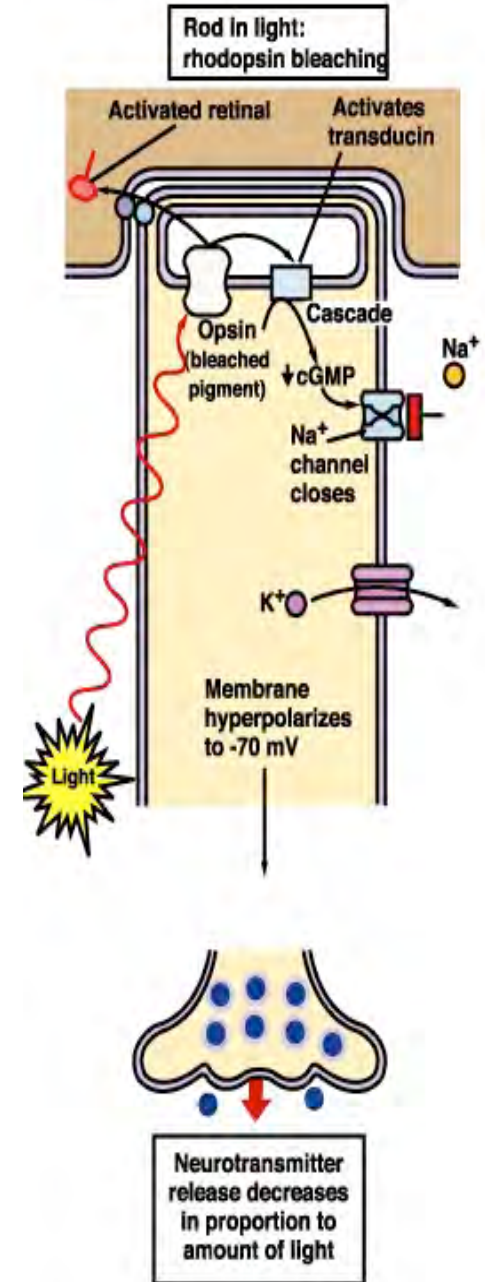
Figura 23.27 Cascata delle reazioni biochimiche del ciclo visivo.
Adattato da Farber, D. B. *Investigative Ophthalmology & Vis. Sci.* 36: 263, 1995.

- Rodopsina • ▶ proteina G trasducina • ▶ fosfodiesterasi • ▶ cGMP • ▶ GMP
- ▶ chiusura canali Na⁺ • ▶ iperpolarizzazione

Buio



Luce

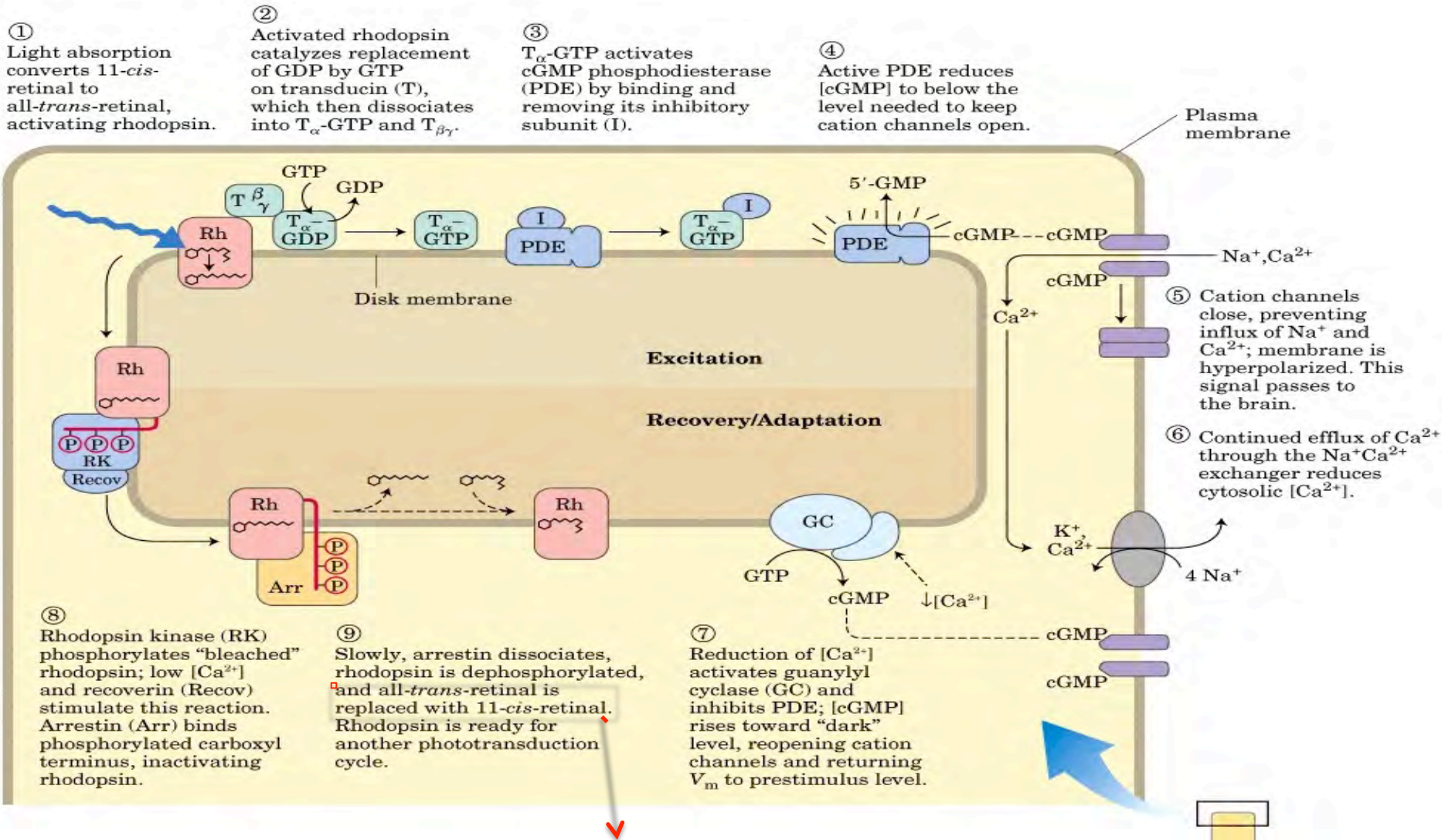


Il neurotrasmettitore rilasciato da coni e bastoncelli è il glutammato

Il recettore presente sulle cellule bipolari è un recettore metabotropico di tipo inibitorio (mGluR6)

La riduzione del rilascio di glutammato si traduce in una disinibizione dei neuroni bipolari che generano potenziali di azione

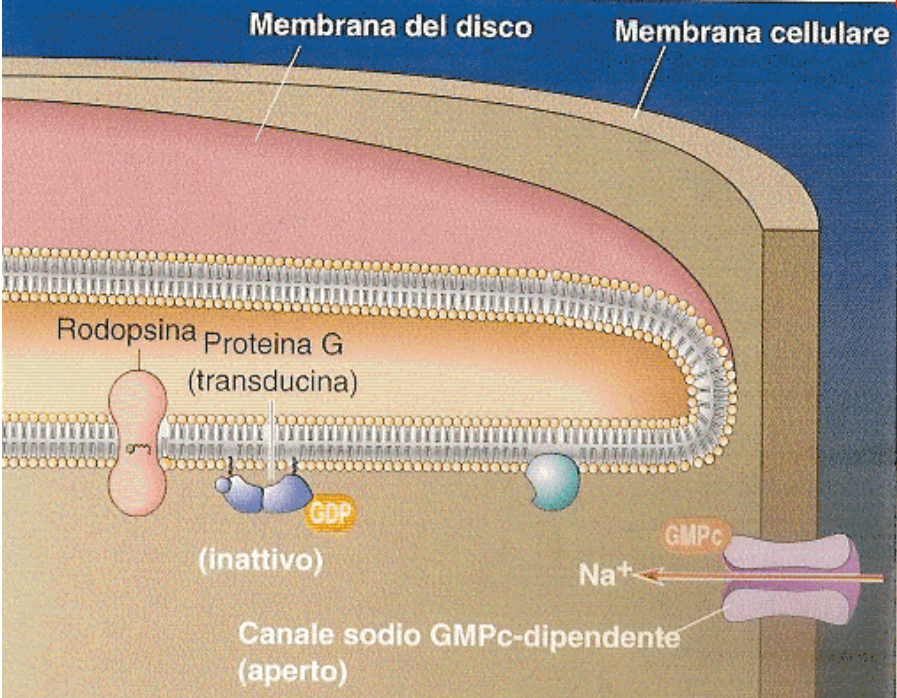
Fase di recupero



RPE65: retinolo cis/trans isomerasi

Fase di recupero e di adattamento

- *I livelli di Ca^{2+} regolano la velocità con cui il sistema viene riportato allo stato iniziale*
- Attività GTPasica della subunità α della trasducina
- La subunità inibitrice della PDE si riassocia all'enzima
- Attivazione della guanilil ciclasasi (inibita da elevate concentrazioni di Ca^{2+} -superiori a 100nm)
- Attivazione della rodopsina chinasi (inibita dalla proteina che lega il Ca^{2+} in presenza di elevate concentrazioni di calcio)

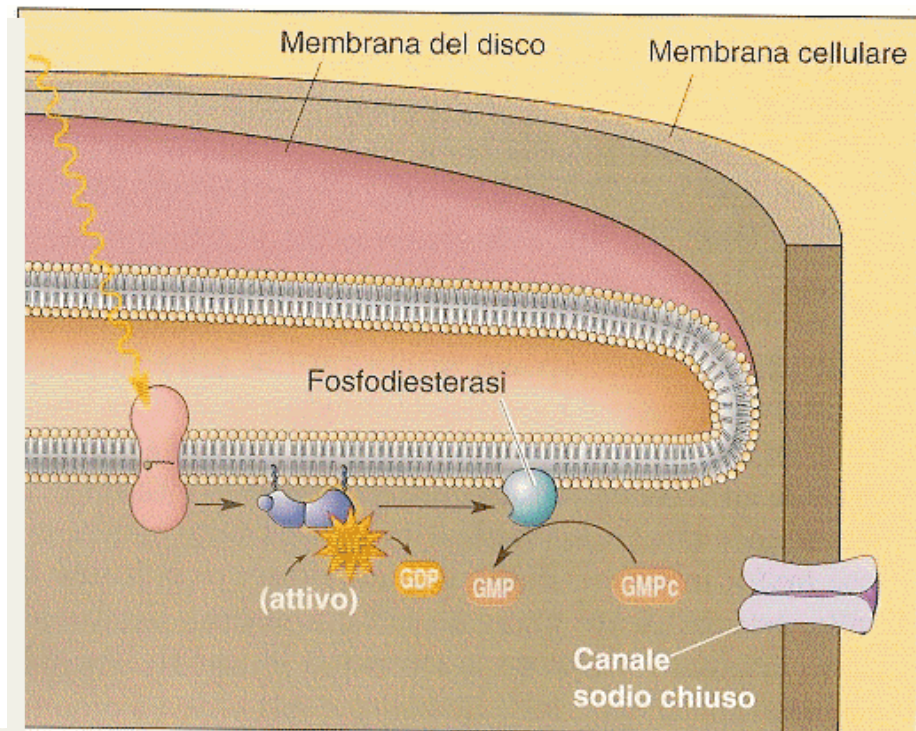


Al buio:

- Il retinale è **11-cis**
- Rodopsina e Trasducina sono **inattive**
- La fosfodiesterasi è **inattiva**
- C' è **molto** GMPc
- I canali sodio sono **aperti**
- **Entra** il sodio
- La cellula è **depolarizzata** (-30 mV)

Alla luce:

- Il retinale è **tutto-trans**
- Rodopsina e Trasducina **sono attivate**
- La fosfodiesterasi è **attivata**
- C' è **poco** GMPc
- I canali sodio sono **chiusi**
- Il sodio **non entra** più
- La cellula è a **-60 mV**



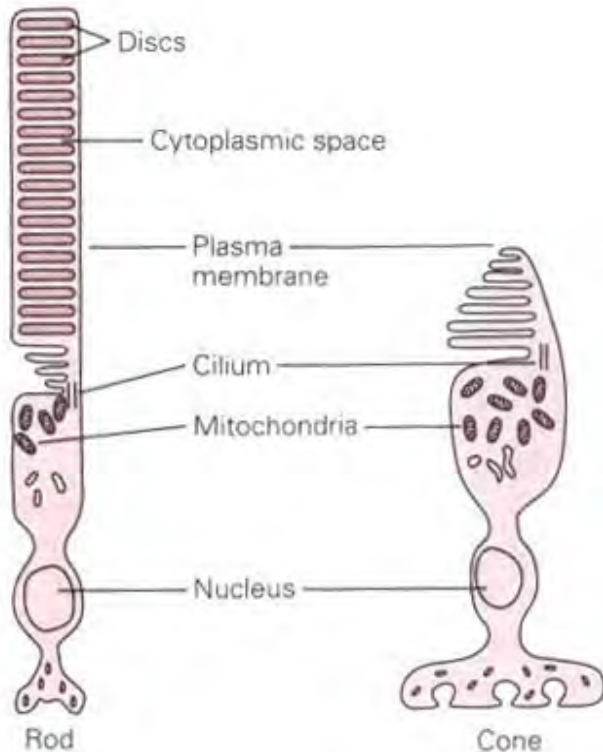
Le diverse tappe del processo di trasduzione visivo determinano una grande amplificazione del segnale iniziale

- Ogni molecola di rodopsina eccitata attiva 500 molecole di trasducina
- Ogni molecola di fosfodiesterasi attivata idrolizza 4200 molecole di cGMP/secondo
- Il legame del cGMP al canale ionico è cooperativo e quindi anche una piccola variazione nella concentrazione di cGMP determina una considerevole variazione nella conduttanza ionica

Il risultato di questa amplificazione è la sensibilità alla luce

L'assorbimento di un singolo fotone chiude un migliaio di canali e cambia il potenziale di membrana di 1mV

Differenze nella trasduzione nei coni e nei bastoncelli



La risposta dei coni è più rapida ma meno sensibile

Bastoncelli:

- maggiore superficie fotosensibile
- maggiore amplificazione
- Interazione rodopsina-trasducina più rapida
- 1 proteina fotorecettore

Coni:

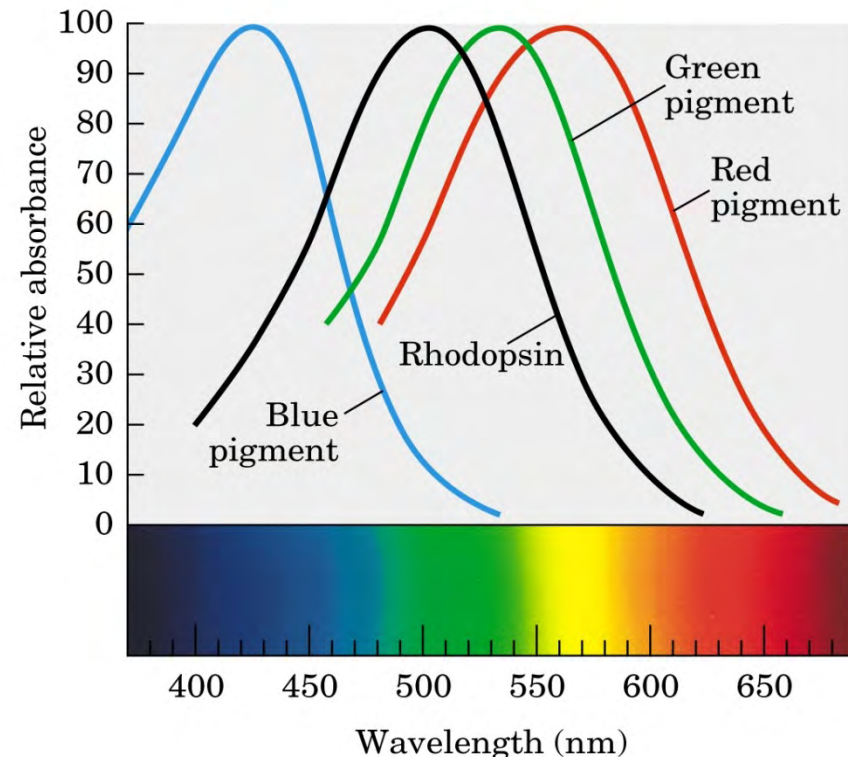
- Isoforme diverse di:
 - trasducina
 - PDE
 - arrestina
- 3 proteine fotorecettori

La visione a colori nelle **cellule a cono** coinvolge una via di trasduzione del segnale essenzialmente identica

- Tre proteine fotorecettrici diverse (opsine con alcuni aminoacidi di differenza) una sensibile soprattutto al **rosso**, una al **verde** e una al **blu**, con picchi di assorbimento rispettivamente 420 nm per il blu, 535 nm per il verde, 565 nm per il rosso. **In tutte il cromoforo è il retinale**

Ogni cono esprime un solo tipo di recettore opsina.

L'uomo distingue colori e sfumature integrando i segnali che provengono dai tre tipi di coni. Gli uccelli hanno 6 pigmenti e una percezione molto acuta dei colori



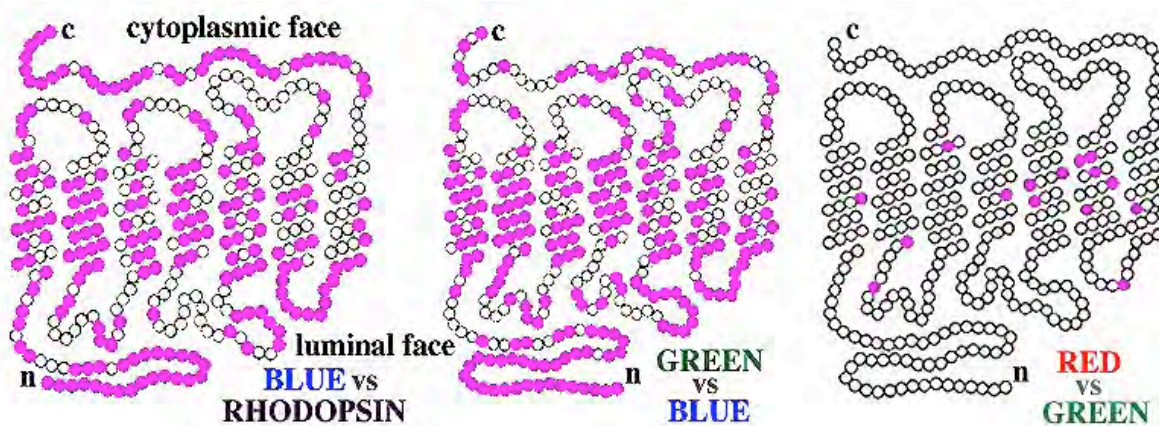
I pigmenti fotosensibili

- Sia i coni che i bastoncelli usano l'isomerizzazione del retinale
- Nei coni le proteine sono dette **conopsine** o **iodopsine** e sono simili alla rodopsina ma con proprietà spettrali diverse
- Le opsine verde e rossa sono molto simili tra loro: duplicazione genica relativamente recente (primati)

Le differenze tra le tre opsine sono sufficienti a disporre il cromoforo *11-cis-retinale* in tre ambienti diversi, generando così tre fotorecettori con capacità di assorbire la luce in regioni diverse dello spettro

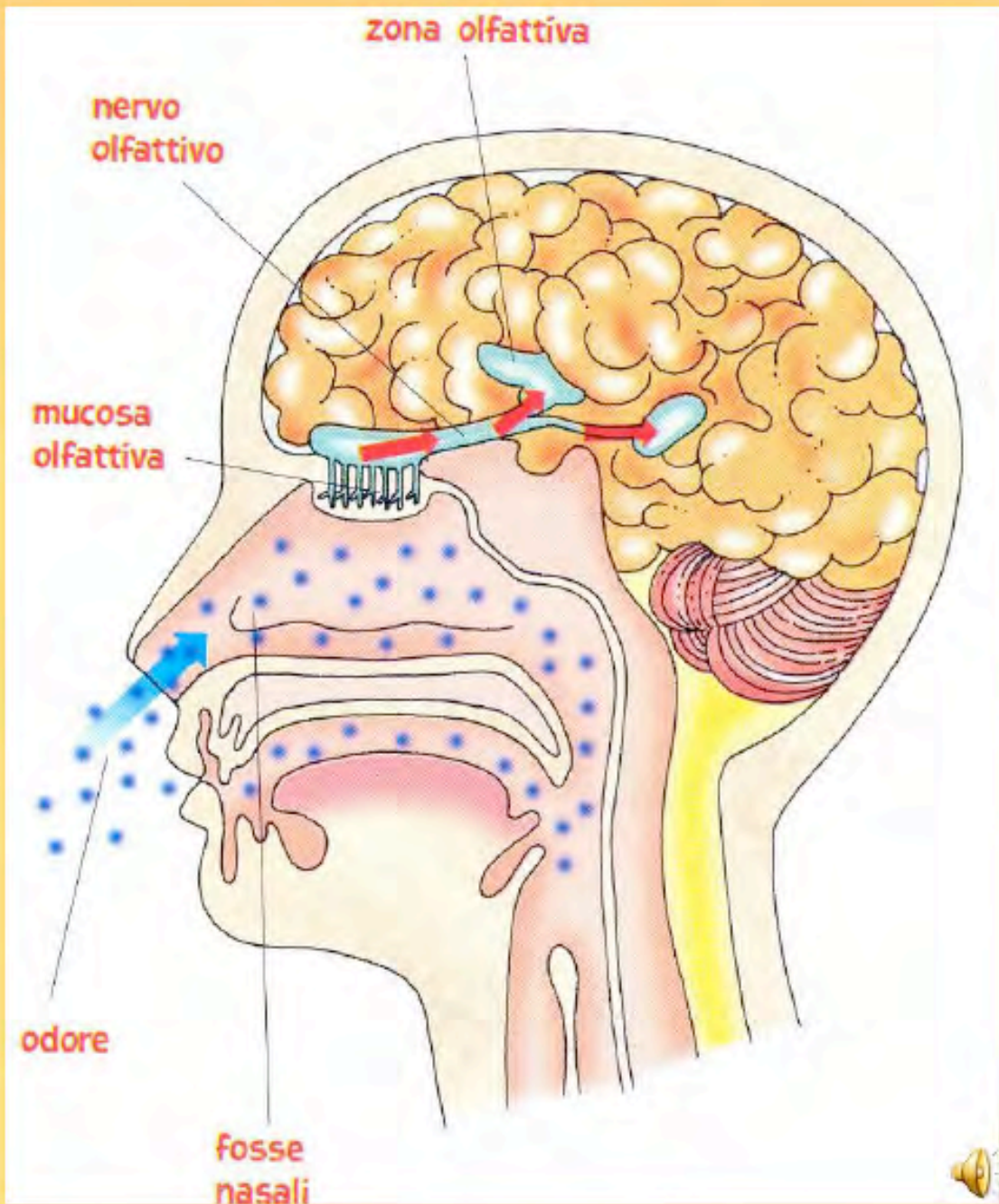
Le sequenze aminoacidiche dei fotorecettori dei coni sono state confrontate tra loro e con quelle della rodopsina

- Ogni fotorecettore dei coni mostra il 40% di identità con fotorecettore della rodopsina
- Fotorecettore del blu mostra una identità del 40% con i fotorecettori del verde e del rosso
- Fotorecettore del rosso e del verde sono identici per il 95%. Differiscono solo in 15 posizioni su 364

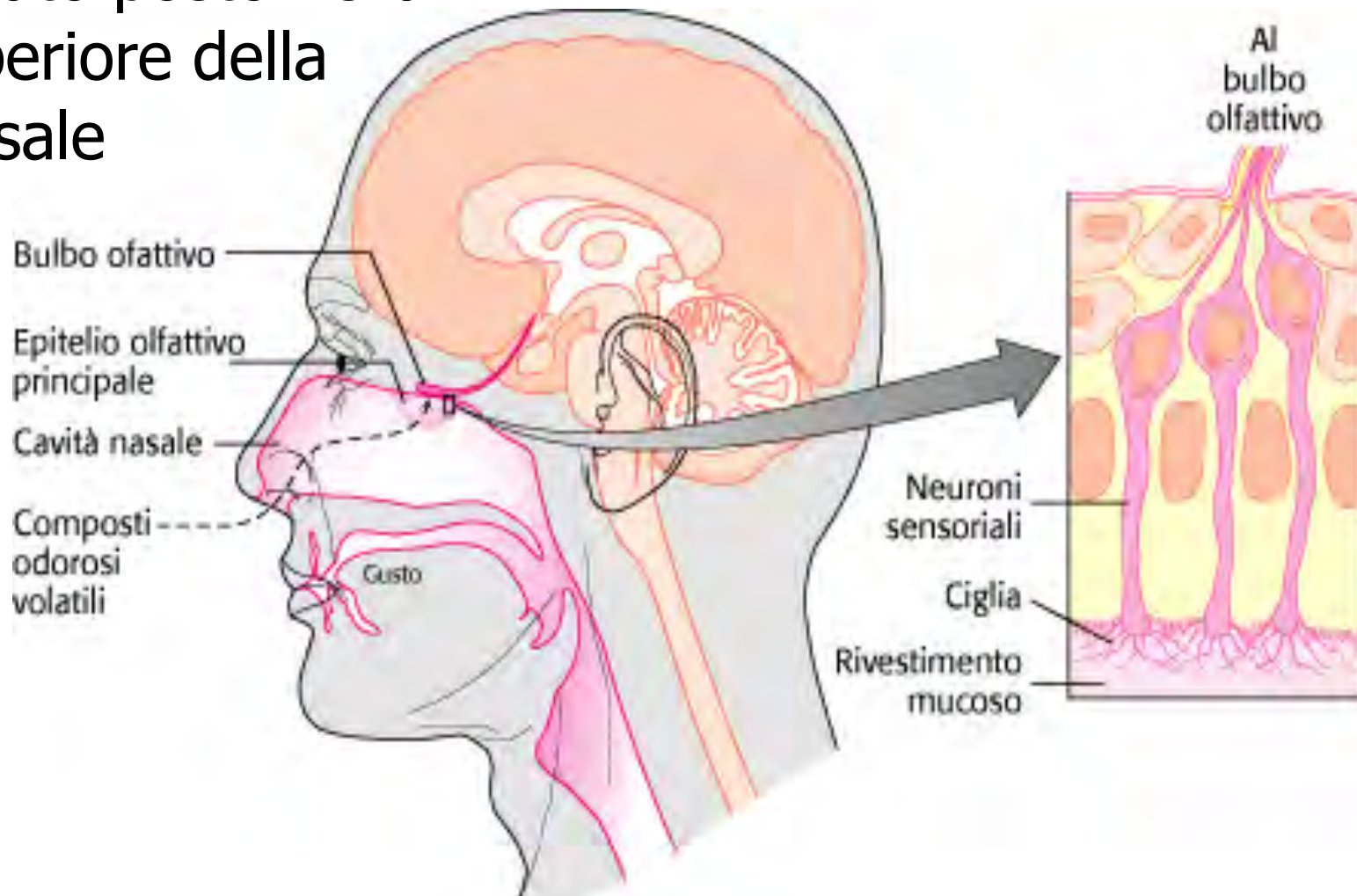


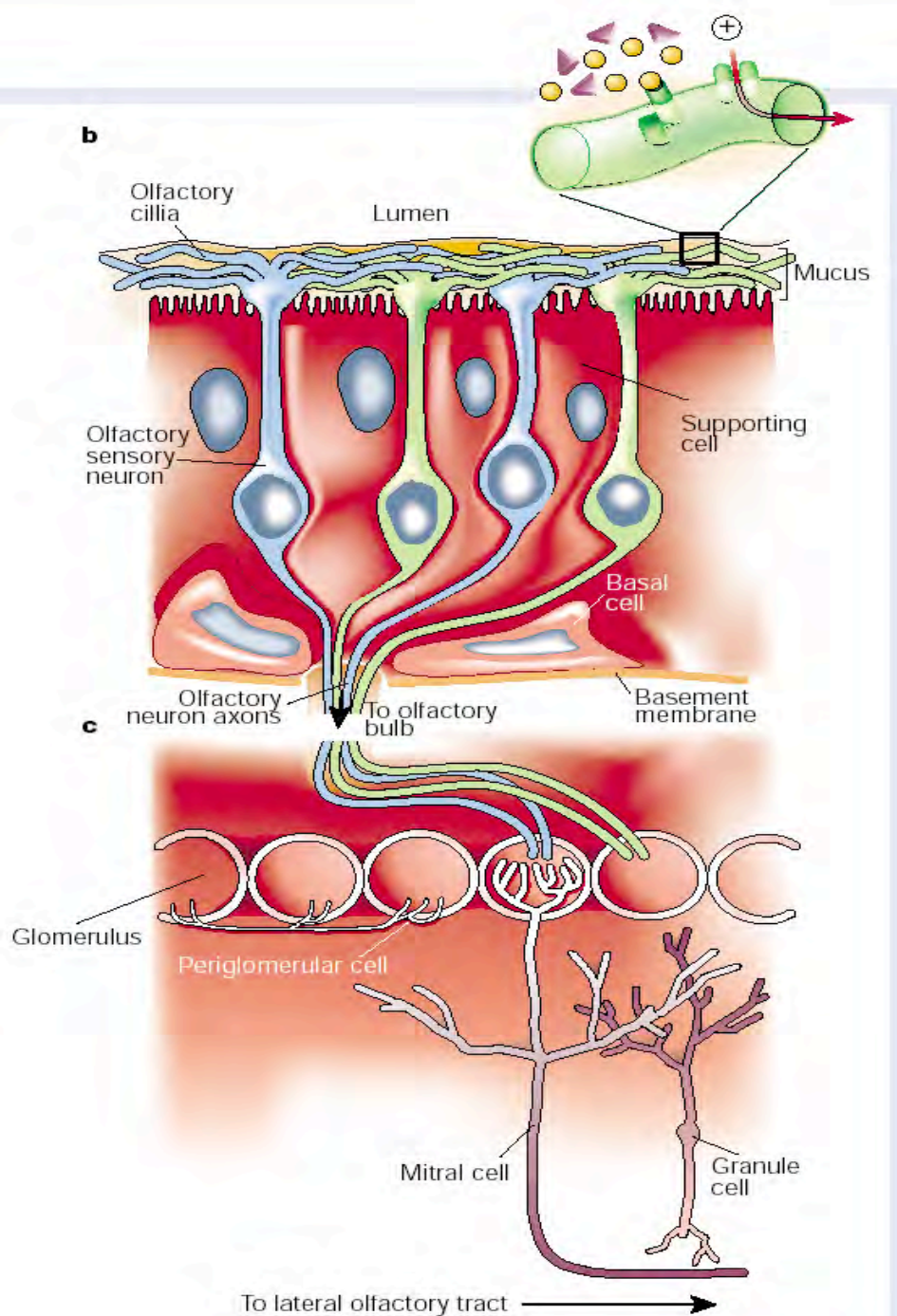
- Geni:
 - I geni per l'opsina dei pigmenti rosso e verde sono vicini sul cromosoma X
 - Il gene per l'opsina blu sul cromosoma 7
 - Il gene per rodopsina e sul cromosoma 3

Olfatto



I recettori olfattivi sono neuroni bipolari presenti all'interno di un epitelio specializzato posto nella parte superiore della cavità nasale





Nell' epitelio olfattivo sono presenti tre tipi di cellule:

1. Cellule di supporto
2. Cellule basali (staminali)
3. Neuroni olfattivi sensoriali (OSNs)

I neuroni olfattivi sensoriali sono piccoli neuroni con ciglia che si sporgono dal muco che coprono l' epitelio olfattivo. Queste ciglia che sono effettivamente i dendriti dei OSNs contengono i Recettori Olfattivi (ORs)

--- Interazioni tra questi recettori e gli odoranti attivano una cascata di eventi biochimici ---

La famiglia dei recettori olfattivi

- Clonaggio ed identificazione di una subunità α espressa esclusivamente nelle ciglia olfattive (G_{olf})
- 1991: identificazione nel ratto dei cDNA per i recettori olfattivi

2004: I ricercatori Axel e Buck vincono il premio Nobel per la Medicina

Ai due studiosi Usa, biologi molecolari, i primi due riconoscimenti. Ricerca del 1991 sul più misterioso dei sensi

Il Nobel agli scienziati dell'olfatto

Medicina, premio a Axel e Buck. Svelarono i segreti degli odori

CLAUDIA DI GIORGIO

ROMA — Sono gli americani Richard Axel e Linda Buck, 58 anni lui e 57 lei, a dividersi il premio Nobel per la medicina del 2004, ottenuto per le loro scoperte sul più misterioso dei nostri sensi: l'olfatto.

Il più misterioso almeno fino al 1991, quando i due ricercatori, entrambi biologi molecolari, pubblicarono un fondamentale articolo che chiariva i meccanismi grazie ai quali siamo capaci di distinguere circa 10.000 odori diversi, e di riportarli alla memoria assieme alle emozioni che il nostro cervello ha imparato a collegare ad essi: emozioni positive come quelle associate al profumo di un fiore o all'aroma di un vino, o segnali di pericolo come l'esalazione di un gas o il fetore di un cibo andato a male.

Negli esseri umani, come in tutti i mammiferi, gli odori sono percepiti in una piccola area posteriore del naso, detta epitelio olfattivo, dove milioni e milioni di neuroni collegano fisicamente il cervello ai segnali provenienti dall'esterno. Le molecole di un odore si legano ai recettori olfattivi che si trovano su questi neuroni, i quali

I VINCITORI

Nella foto a destra, Richard Axel e Linda Buck. Il primo è nato a New York nel 1946. Insegna biochimica alla Columbia University, dove dirige un laboratorio di ricerca dell'Howard Hugues Medical Institute. Linda Buck è nata nel 1947 a Seattle, dove lavora al Fred Hutchinson Cancer Research Center. All'Howard Hugues Medical Institute si occupa, anche di meccanismi dell'invecchiamento



provvedono a trasmettere il segnale ad altre regioni cerebrali, fino ad arrivare alle aree deputate al controllo di comportamenti e pensieri: quelle che ci fanno sorridere se annusiamo una rosa e scappare se sentiamo puzza di gas.

Per capire esattamente come fa il cervello a svolgere operazioni così complesse come riconoscere

un odore, distinguerlo da tutti gli altri e stimolare la reazione adatta, Axel e Buck sono andati a caccia delle basi molecolari di tutto il processo, e hanno identificato una famiglia di circa 1.000 geni responsabili dei recettori olfattivi.

I due Nobel hanno poi scoperto che ciascun neurone possiede un solo tipo di recettore olfattivo, ognuno dei quali è sensibile a un

numero molto limitato di molecole odorose. Poiché un odore è generalmente composto da molte di queste molecole, ogni volta che ne annusiamo uno si attivano contemporaneamente più recettori, componendo come tante tessere il mosaico odoroso che percepiamo il profumo di "quel" fiore o la fragranza di "quel" cibo.

Axel e Buck hanno anche sco-

perito il funzionare del sistema olfattivo, la prima parte che riceve i segnali e che ve circa 2000 piccole cellule (glomeruli) si fanno "salire" le informazioni fino alle aree cerebrali.

Ma non tutti i neuroni ricevono gli odori: la maggior parte dei neuroni, possiede u

I PUNTI



LA RICERCA

Nel 1991, Axel e Buck hanno rivelato le basi molecolari dell'olfatto, scoprendo i circa 1000 geni che permettono di riconoscere gli odori



GLI ODORI

Gli esseri umani possono distinguere fino a 10.000 odori, ma hanno solo 350 recettori olfattivi (contro i mille dei topi)



I GENI

Nell'uomo, il 3% dei geni è dedicato all'olfatto e riflette l'importanza evolutiva di questo senso. Gli odori sono recepiti da 4 zone del naso

La famiglia dei recettori olfattivi è molto vasta

- Nel topo 1000 geni codificano per recettori olfattivi
- Circa il 3% del genoma umano codifica per recettori olfattivi
- Nel genoma umano esistono 339 geni e 297 pseudogeni olfattivi
- I recettori olfattivi si trovano in cluster su tutti i cromosomi tranne Y e 20
- Il 60% dei geni OR umani sono pseudogeni

Quale è la relazione tra espressione dei geni OR e i singoli neuroni olfattivi?

- Ogni neurone olfattivo esprime un singolo gene OR tra le centinaia disponibili
- Il legame del composto odoroso al recettore innesca una cascata di trasduzione del segnale che determina un potenziale d'azione

① Odorant (O) arrives at the mucous layer, and binds directly to an olfactory receptor (OR) or to a binding protein (BP) that carries it to the OR.

② Activated OR catalyzes GDP-GTP exchange on a G protein (G_{olf}), causing its dissociation into α and $\beta\gamma$.

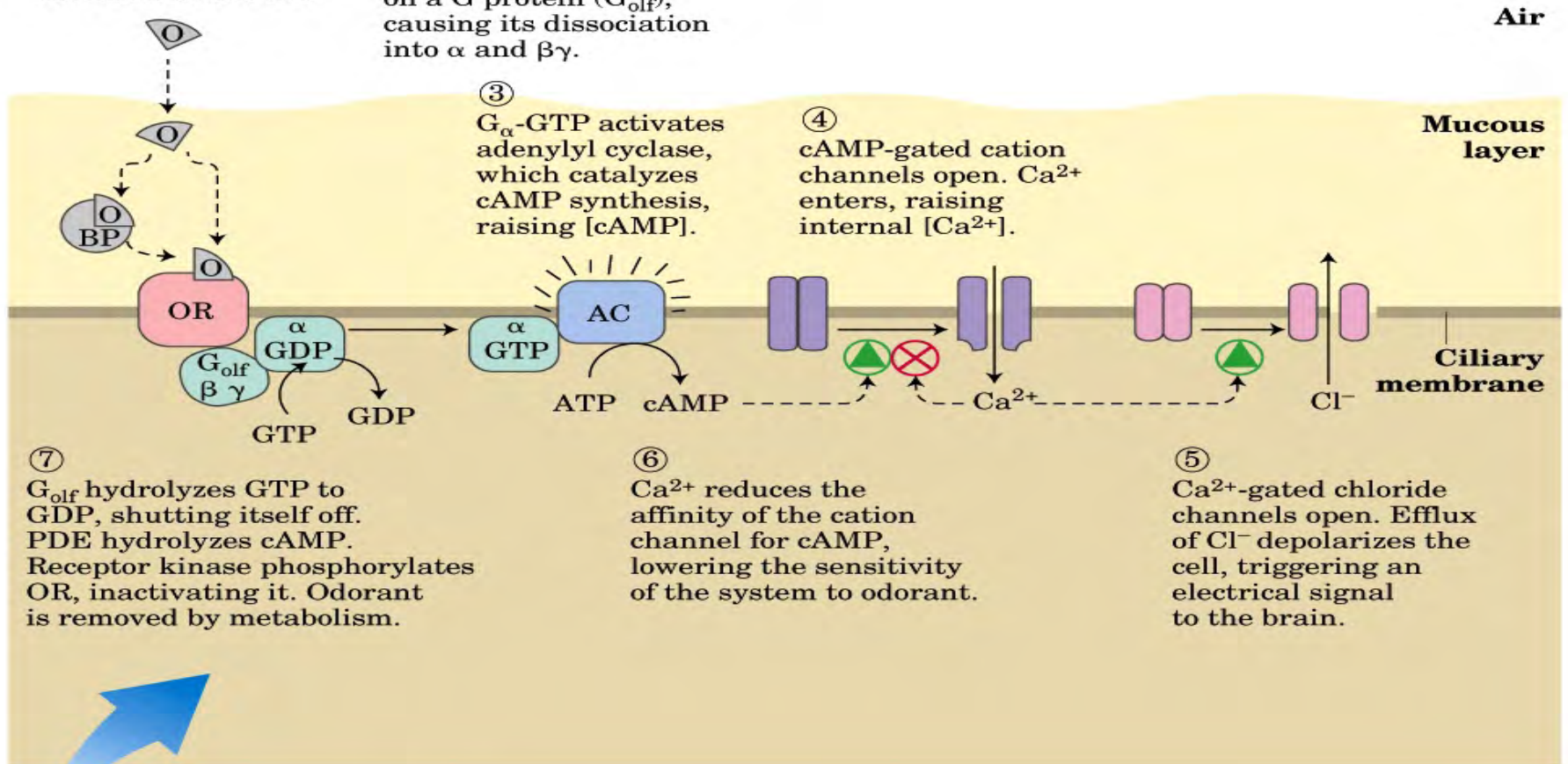
③ G_{α} -GTP activates adenylyl cyclase, which catalyzes cAMP synthesis, raising [cAMP].

④ cAMP-gated cation channels open. Ca^{2+} enters, raising internal [Ca^{2+}].

⑤ Ca^{2+} -gated chloride channels open. Efflux of Cl^{-} depolarizes the cell, triggering an electrical signal to the brain.

⑦ G_{olf} hydrolyzes GTP to GDP, shutting itself off. PDE hydrolyzes cAMP. Receptor kinase phosphorylates OR, inactivating it. Odorant is removed by metabolism.

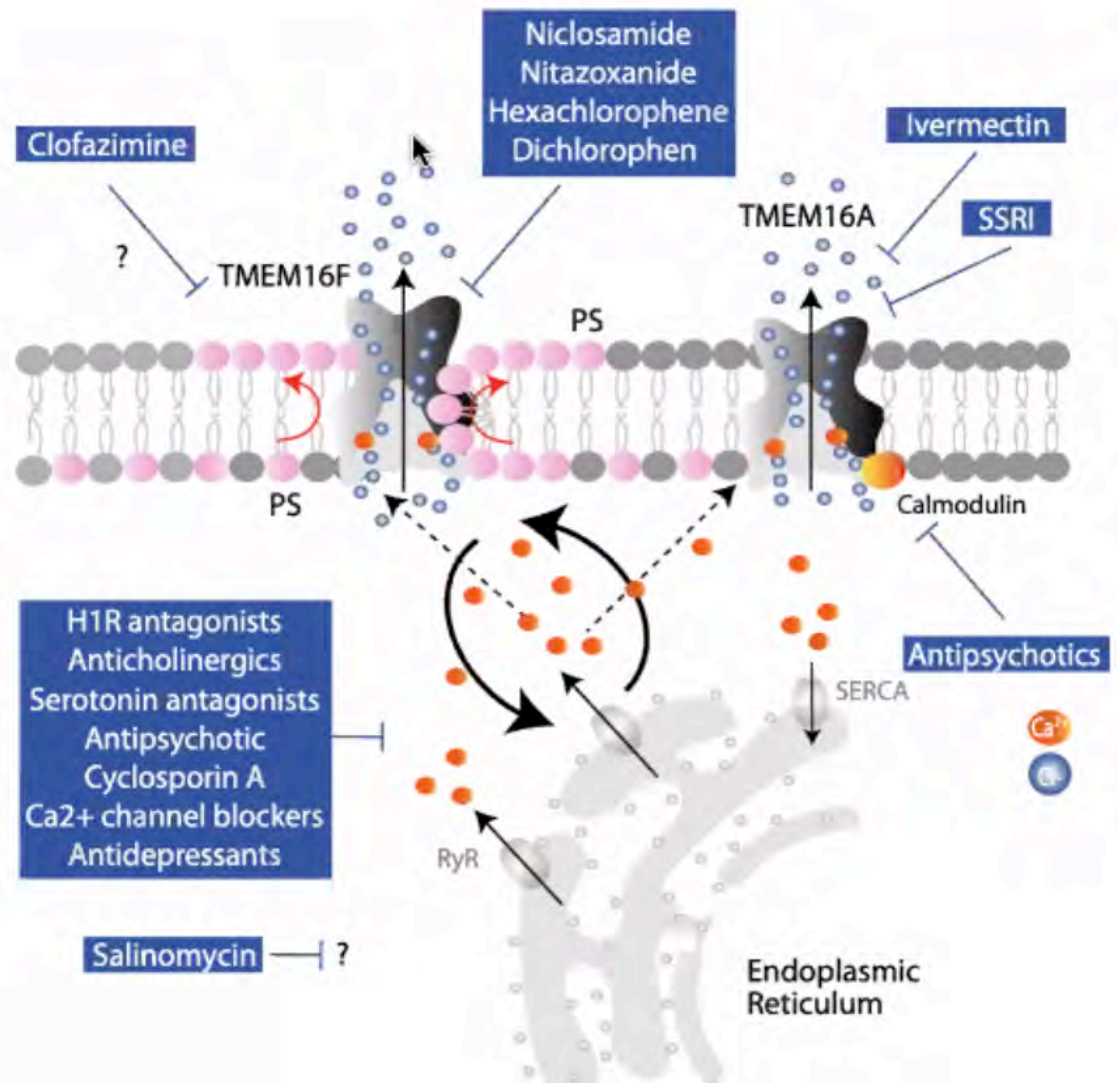
⑥ Ca^{2+} reduces the affinity of the cation channel for cAMP, lowering the sensitivity of the system to odorant.



I canali del Cl⁻ olfattivi

- I neuroni olfattivi hanno una concentrazione di ioni Cl⁻ intracellulare elevata
- Nei neuroni olfattivi $[Cl]_i = 60-70$ mM
- Nella maggior parte dei neuroni $[Cl]_i = 10$ mM
- L'apertura dei canali causa efflusso di ioni Cl⁻
- Si ottiene una amplificazione del segnale di depolarizzazione

Calcium-activated chloride channels are causally involved in COVID-19 disease



Braga et al. 2021. Nature, in press

Niclosamide is a potent inhibitor of TMEM16A/F (Ano1/6)



Drug Repurposing: The Anthelmintics Niclosamide and Nitazoxanide Are Potent TMEM16A Antagonists That Fully Bronchodilate Airways

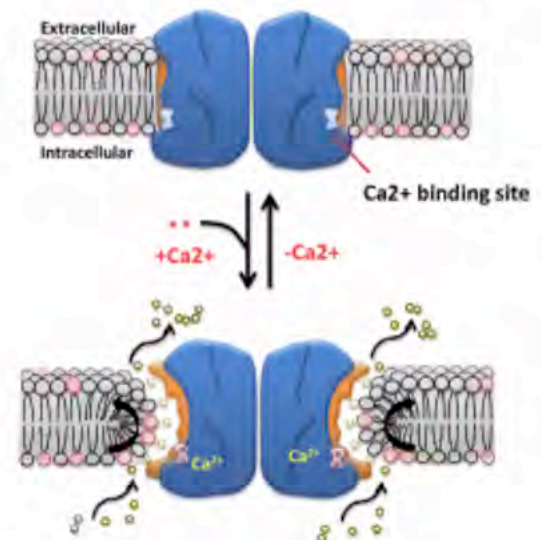
Kent Miner¹, Katja Labitzke^{2†}, Benxian Liu³, Paul Wang⁴, Kathryn Henckels¹, Kevin Galda⁵, Robin Elliott⁶, Jian Jeffrey Chen⁷, Longbin Liu⁸, Anh Leith⁹, Esther Trueblood^{10,11}, Kelly Hensley¹², Xing-Zhong Xia¹, Oliver Homann², Brian Bennett¹, Mike Fiorino³, John Whoriskey³, Gang Yu¹, Sabine Escobar¹, Min Wong¹, Teresa L. Born^{1†}, Allison Budelsky^{1†}, Mike Comeau³, Dirk Smith^{1†}, Jonathan Phillips¹, James A. Johnston¹, Joseph G. McGivern³, Kerstin Welk^{1†}, David Powers³, Karl Kunzelmann¹⁶, Deanna Mohn^{1†}, Andreas Hochheimer^{2†} and John K. Sullivan^{1†}

¹ Department of Inflammation Research, Amgen Inc., Thousand Oaks, CA, United States, ² Department of Therapeutic Discovery, Amgen Inc., Regensburg, Germany, ³ Department of Therapeutic Discovery, Amgen Inc., Thousand Oaks, CA, United States, ⁴ Department of Medical Chemistry, Amgen Inc., Thousand Oaks, CA, United States, ⁵ Department of Inflammation Research, Amgen Inc., Seattle, WA, United States, ⁶ Department of Comparative Biology and Safety Sciences, Amgen Inc., Seattle, WA, United States, ⁷ Department of Comparative Biology and Safety Sciences, Amgen Inc., Thousand Oaks, CA, United States, ⁸ Department of Comparative Biology and Safety Sciences, Amgen Inc., South San Francisco, CA, United States, ⁹ GeneCore Analysis Unit, Amgen Inc., South San Francisco, CA, United States, ¹⁰ Institut für Physiologie, Universität Regensburg, Regensburg, Germany

OPEN ACCESS

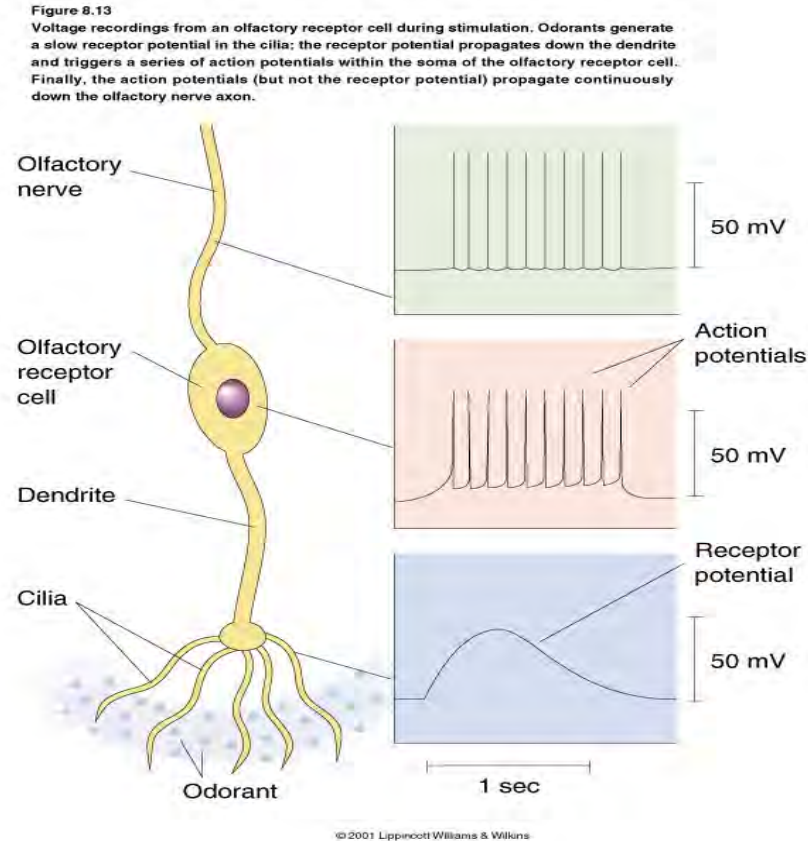
Edited by:
Heike Wulf,
University of California, Davis,
United States
Reviewed by:

TMEM16 proteins are Ca²⁺-activated chloride channels and phosphatidylserine scramblases



Se il potenziale di recettore supera la soglia, si genera il potenziale d'azione che si propaga lungo l'assone

E' importante notare come il numero di potenziali d'azione scatenati da un neurone olfattivo, così come la durata della risposta, cambi in base alla concentrazione dell'odorante.



I meccanismi di adattamento di un neurone olfattivo alla continua presenza dello stesso odorante, che lo portano a scatenare un minor numero di potenziali d'azione, spiegano il motivo per cui quando si entra in un ambiente pervaso da un odorante (per esempio un profumo o il fumo di sigaretta) lo si avverte facilmente ma dopo un certo periodo di tempo lo si percepisce sempre di meno.