

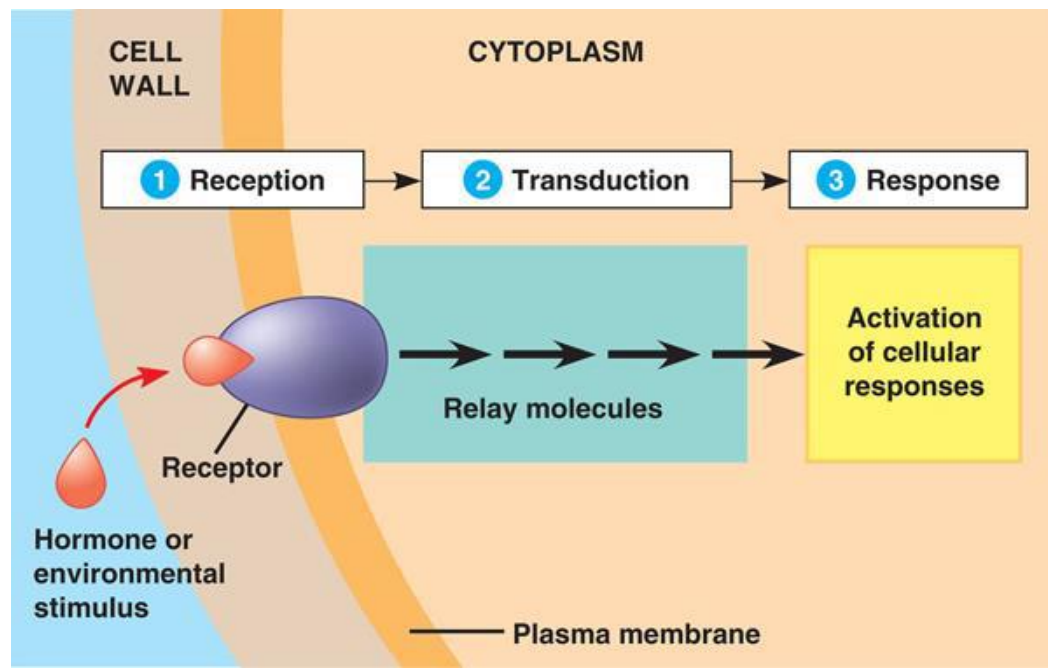
# Modulo 6C

## Biomembrane – Trasduzione del Segnale

2022-23

# TRASDUZIONE DEL SEGNALE

- ▶ La capacità di ricevere e rispondere a segnali esterni alla cellula, attraverso la membrana citoplasmatica è un processo fondamentale per la vita.
- Le cellule negli organismi pluricellulari si **scambiano informazioni**:
  - segnale chimico = Informazione**
- l'informazione è **rilevata da specifici recettori**, proteine che riconoscono e recepiscono questi stimoli chimici e li convertono in una risposta cellulare
- la **trasduzione del segnale** è il processo mediante il quale i **segnali esterni** sono **trasmessi** nella cellula attraverso una serie di eventi molecolari, che alla fine si **traduce** in una **risposta cellulare** (variazione del metabolismo, espressione genica, propagazione, movimento etc)



# RECETTORI DI MEMBRANA e TRASDUZIONE DEL SEGNALE

► I recettori di membrana recepiscono segnali fisici o chimici provenienti dall'esterno della cellula

- i segnali percepiti possono essere di molti diversi tipi:

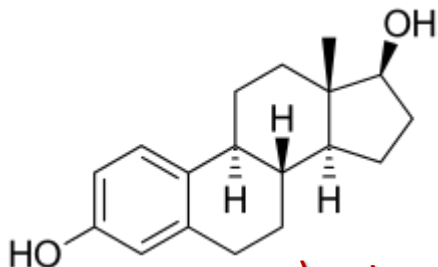
- 1) **fisici:** es. fotoni recepiti dalle rodopsine nella visione
- 2) **meccanici:** es. movimento delle stereocilia nell'udito
- 3) **molecole esogene:** es. recettori dell'olfatto/gusto, immunorecettori
- 4) **messaggeri intercellulari:** es. ormoni di vario tipo (1° messaggeri)

SEGNALE EXTRACELLULARE			
calore	1	ipossia	3
luce	1	microrganismi patogeni	3
segnali tattili	2	componenti di patogeni	3
vibrazioni dell'aria	2	ormoni	4
molecole odorose	3	componenti matrice	4
molecole gustative	3	fattori di crescita	4

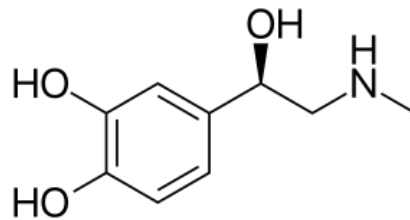
- i meccanismi con cui gli stimoli esterni sono trasdotti in segnali chimici interni si basano su **un ridotto numero di vie di trasduzione** e di **componenti di base**

# TRASDUZIONE DEL SEGNALE: 1° messaggeri

- ▶ Il segnale è spesso trasdotto da 1° messaggero (segnale chimico intercellulare) a 2° messaggeri (segnali chimici intracellulari)
- i **1° messaggeri** sono ormoni che coordinano l'attività metabolica nelle cellule in organismi pluricellulari
- sono sintetizzati da tessuti specializzati (**ghiandole**) e secreti direttamente nel sangue
- permettono alle cellule di **comunicare fra di loro**, alterando l'attività delle cellule bersaglio in maniera **specific**a e **transiente**.
- Sono essenzialmente di tre tipi:
  - a) steroidi** (derivati dal colesterolo) – lipofili, possono attraversare la membrana per diffusione semplice e hanno recettori intracellulari
  - b) piccole molecole organiche** (spesso derivate da aminoacidi) – acetilcolina, glutammato, acido  $\gamma$ -aminobutirico, adrenalina, dopamina, istamina, opiat
  - c) peptidici** – es. glucagone, insulina.

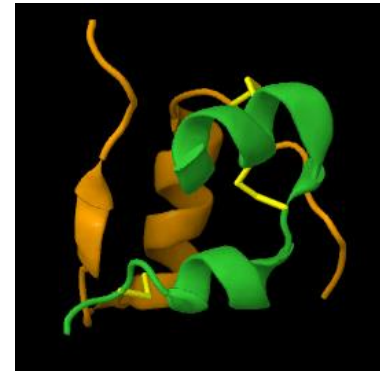


a) estradiolo



b) adrenalina

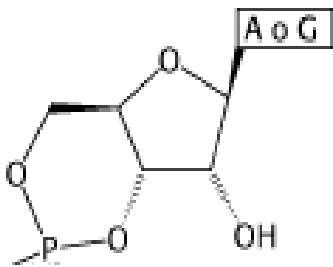
c) insulina



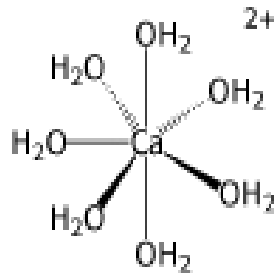
# TRASDUZIONE DEL SEGNALE: 2° messaggeri

## ► Segnali chimici *intracellulari* :

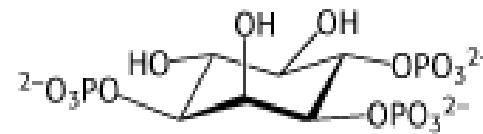
- il segnale portato dai 1° messaggeri extracellulari è trasdotto mediante la formazione di 2° messaggeri intracellulari quali per esempio il **3',5'-AMP ciclico (cAMP)**, il **diacilglicerolo (DAG)**, l'**inositolo trifosfato** e gli ioni di **calcio**



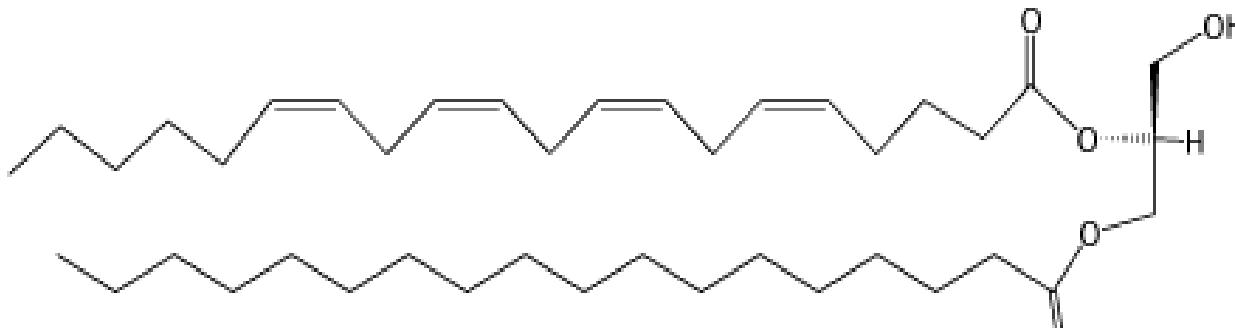
**cAMP, cGMP**  
(derivati da ATP, GTP)



**Ca<sup>++</sup> (ione calcio)**



**inositolo 1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>)**  
(derivato dal fosfatidilinositolo bifosfato)



**diacilglicerolo (Dag)** (derivato dal fosfatidilinositolo bifosfato)

# RECETTORI DI MEMBRANA e TRASDUZIONE DEL SEGNALE

► I principali sistemi di trasduzione del segnale sono di tre tipi:

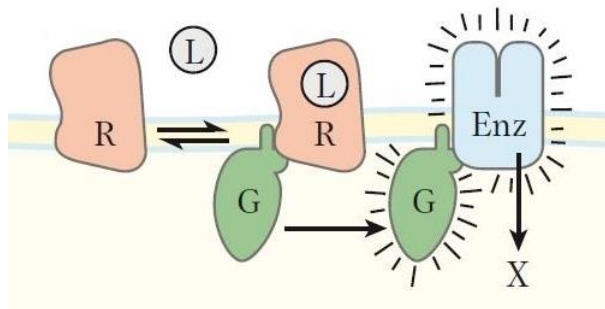
[1] Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

[2] Recettori tirosin chinasi (RTK)

[3] Ion channel receptors (ICR)

- i metodi d'innescò (L) e le risposte sono diverse ma caratteristiche della trasduzione sono simili

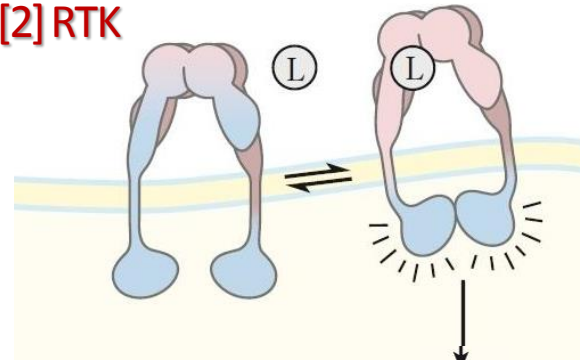
[1] GPCR



es. effetti metabolici

agiscono mediante proteine G

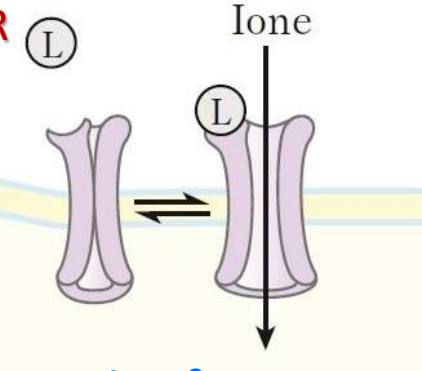
[2] RTK



es. effetti trascrizionali

agiscono mediante attività enzimatica intrinseca (RIEA)

[3] ICR



es.  $\Delta V_M$ , onde  $Ca^{2+}$

agiscono mediante depolarizzazione / Ca

► Recettori di membrana

- trasducono il segnale extracellulare a segnali chimici intracellulari (2° messaggeri),

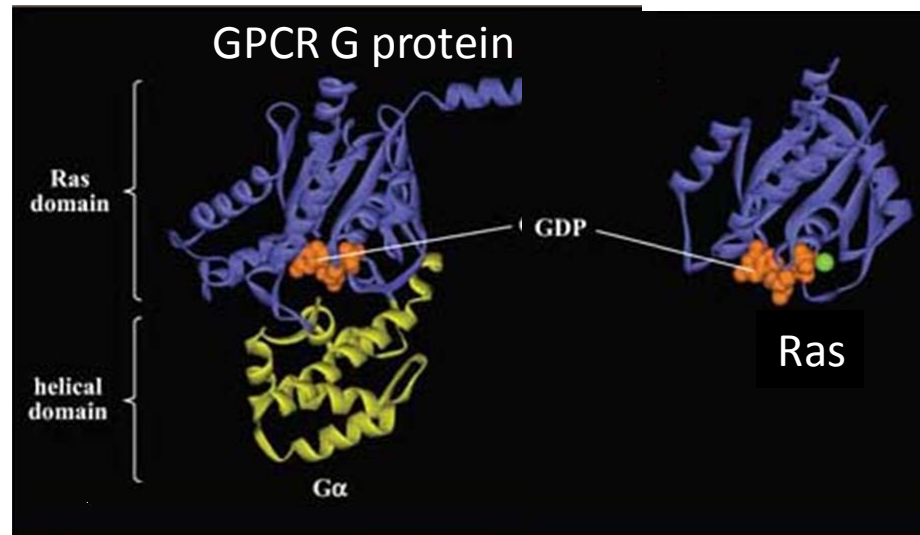
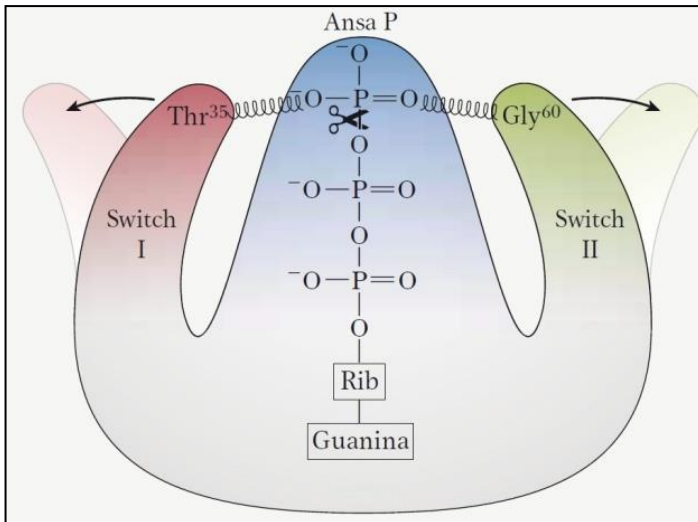
- innescano cascate enzimatiche che amplificano il segnale

- Il circuito molecolare coinvolto nella trasduzione comprende recettori/canali, enzimi effettori e proteine regolatrici che agiscono in maniera altamente integrata

- Il segnale, per essere utile deve essere transiente, la sua terminazione è inclusa nel circuito

# RECCETTORI ASSOCIATI A PROTEINE G: cosa sono le proteine G?

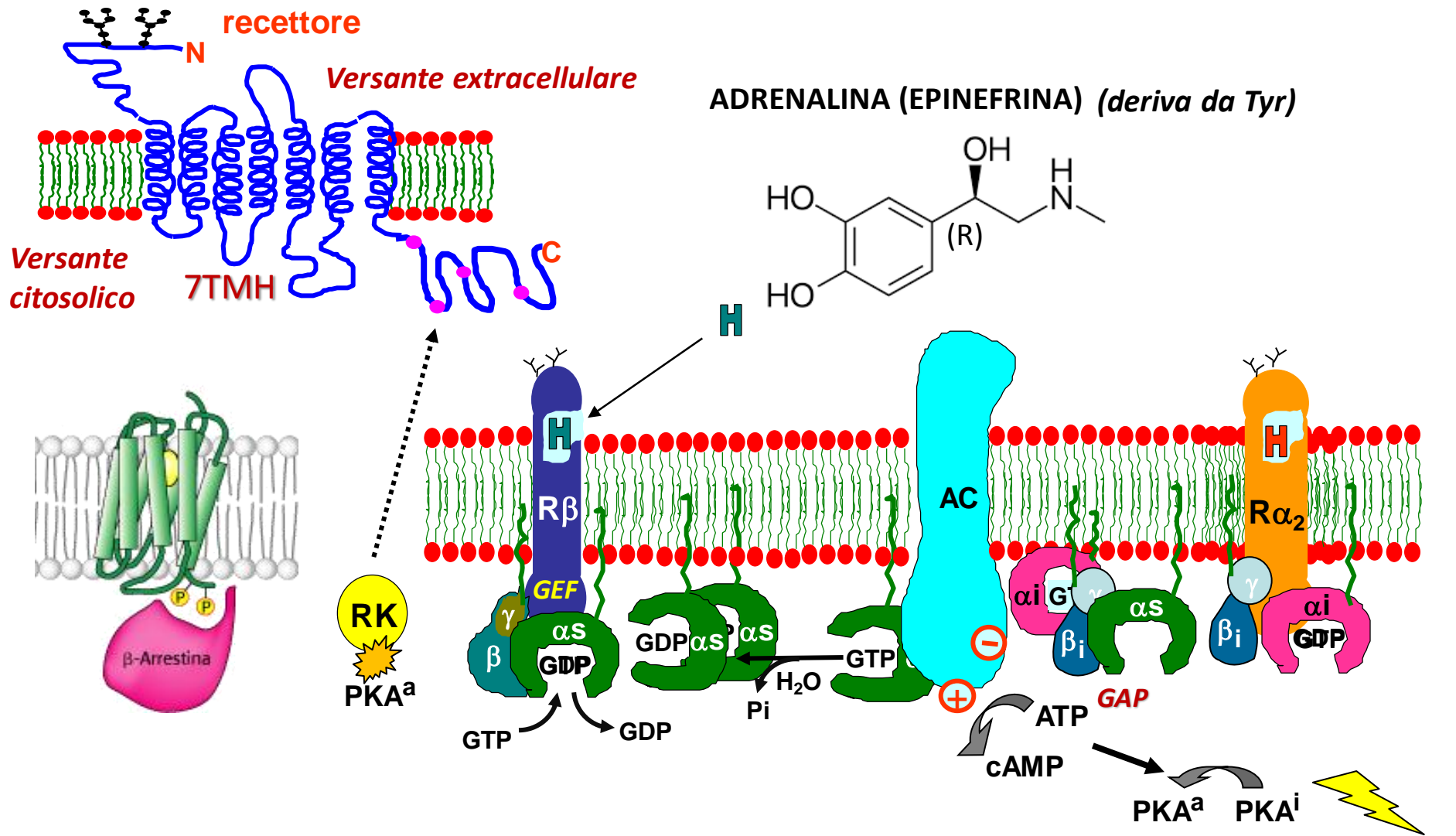
- ▶ Le proteine Ras sono proteine G monomeriche non associate a recettori
  - sono il **prototipo** per le proteine G e sono **ancorate alla membrana** con coda lipidica
  - **legano GTP** e lo **idrolizzano a GDP + Pi** e agiscono come **attivatori molecolari** (*molecular switches*) in molti importanti processi cellulari; sono **GTPasi lente** e il legame di GTP è mediato da **GEF** (**G**uanine nucleotide **E**xchange **F**actors), mentre l'idrolisi viene accelerata da **GAP** (**G**-protein **A**ctivating **P**rotein)
  - quando lega, **GTP forma legami-H** con due regioni di Ras (note come **switch I** e **II**) che **permette l'interazione con le proteine che attiva**; l'idrolisi rimuove i legami-H e Ras non è più in grado di attivare le proteine regolate
  - Le **proteine G** dei recettori GPCR hanno un **dominio Ras** (ancorato alla membrana) e un dominio elicoidale che forma un **cappuccio sul sito di legame per GTP**



# G PROTEIN COUPLED RECEPTORS (GPCR)

## ► Recettori a 7 eliche transmembrana associati a proteine G (GPCR)

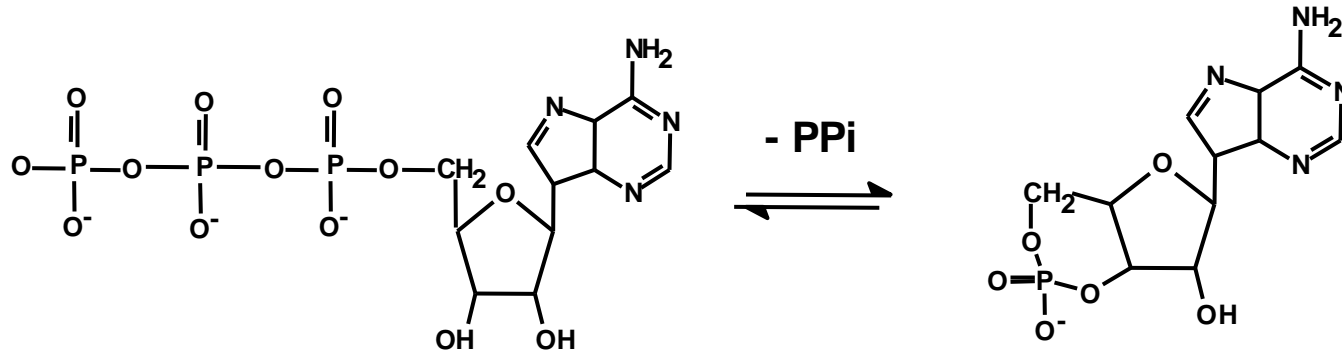
- La **cascata del cAMP** è innescata da vari ormoni, quali la calcitonina, l'adrenalina, il glucagone, e la vasopressina



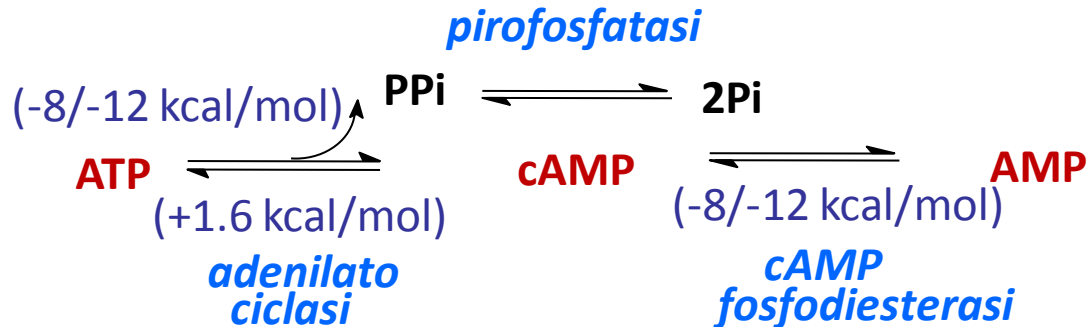


# CASCATA DEL cAMP

► Il cAMP è formato dall'ATP (5'-ATP) tramite una reazione di ciclizzazione con perdita di P<sub>Pi</sub>.

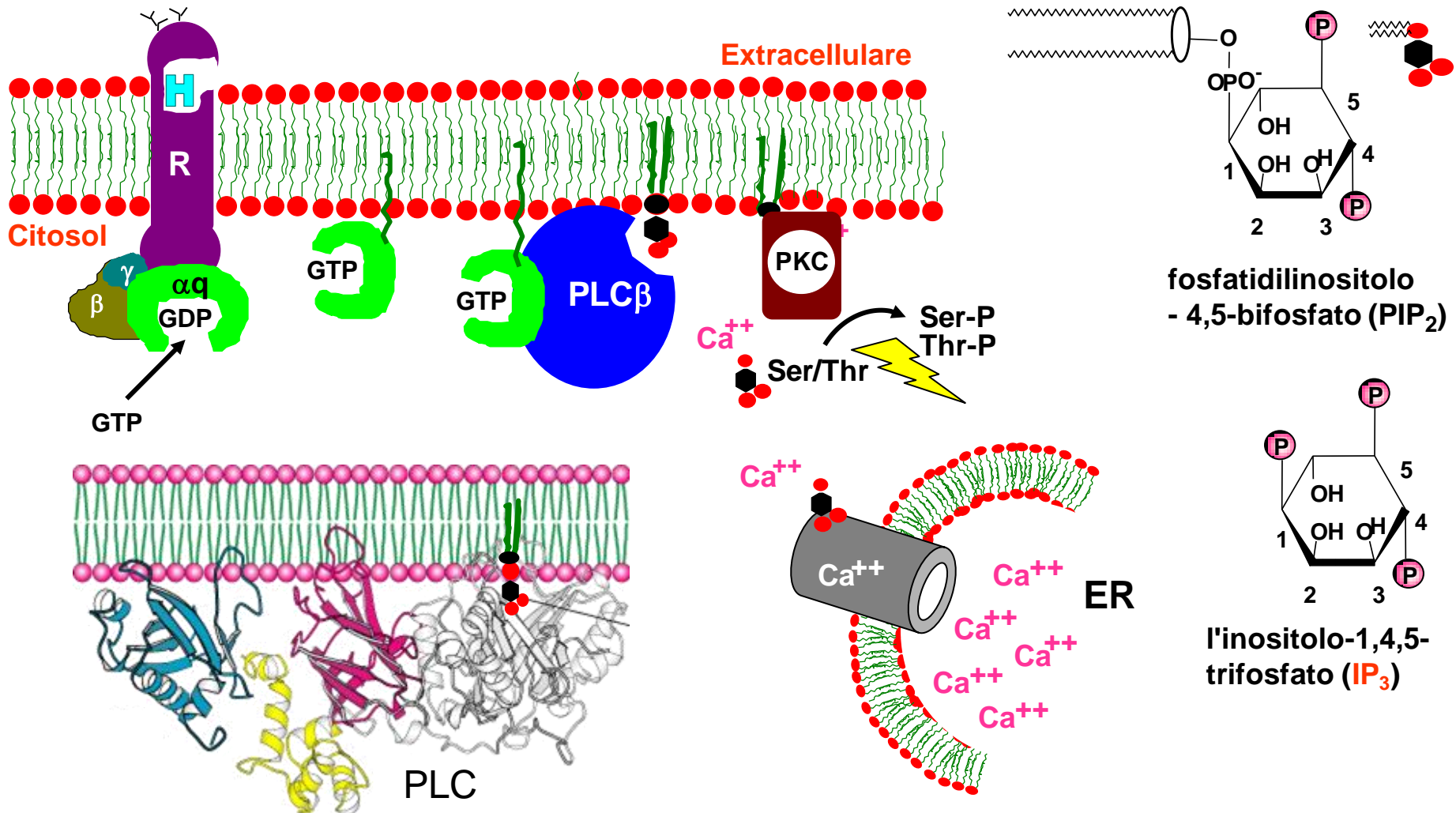


- questa reazione è catalizzata dalla **adenilato ciclasi**, una PIM con dominio catalitico intracellulare
- la reazione non è energeticamente favorevole ma lo è resa dall'idrolisi del pirofosfato
- il cAMP è un messaggero chimico **transiente**, il suo livello intracellulare è regolato da una **fosfodiesterasi** specifica che idrolizza il legame fosfodiesterico ciclico a livello dell'OH sul carbonio 3', producendo 5'-AMP



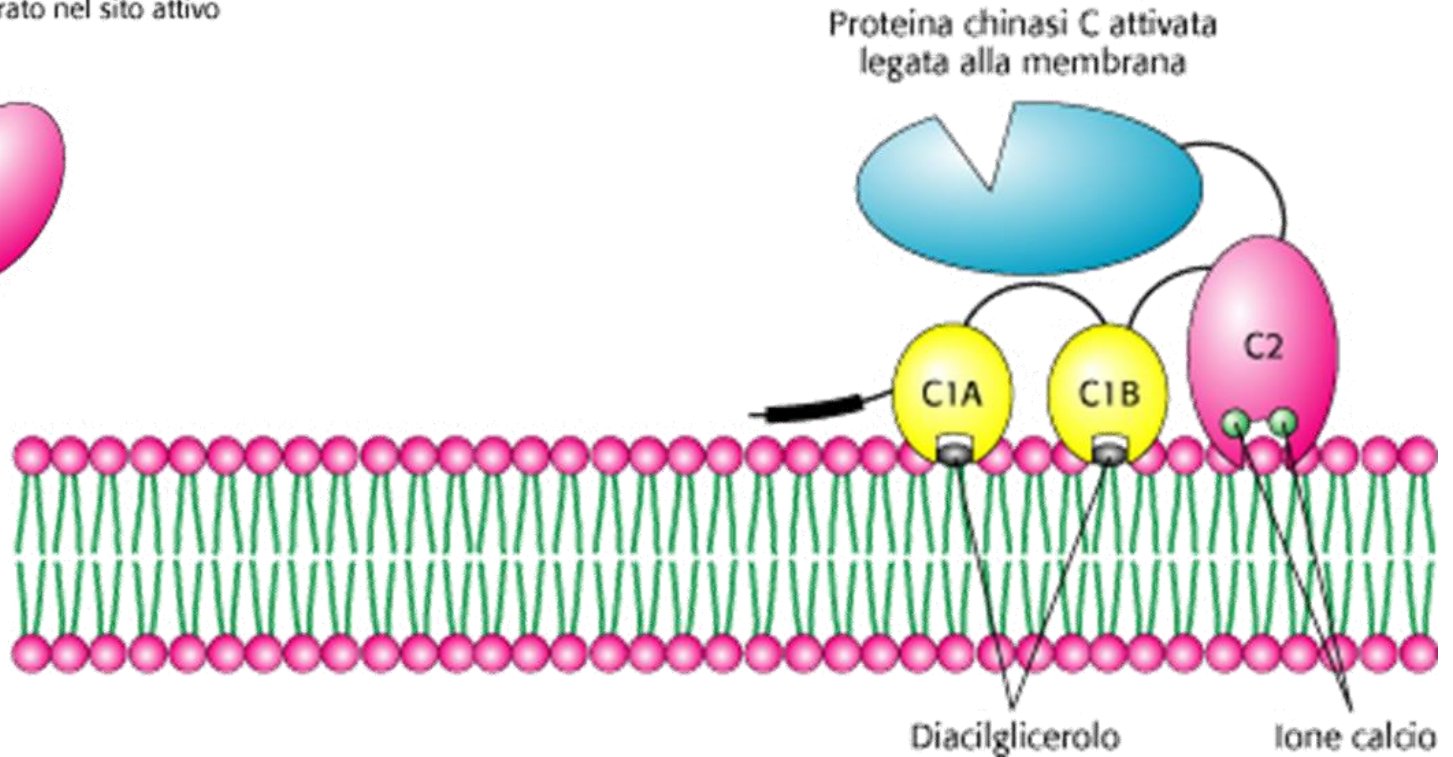
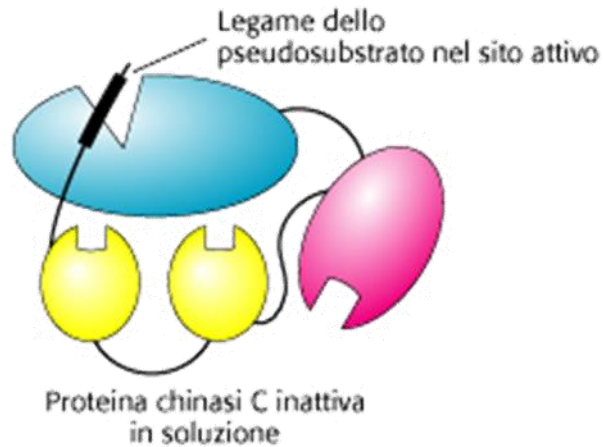
# CASCATA DEL INOSITOLO TRIFOSFATO

- ▶ Il cAMP è formato dall'ATP (5'-ATP) tramite una reazione di ciclizzazione con perdita di P<sub>i</sub>.
- l'ormone peptidico **vasopressina** attiva altre cascate di trasduzione del segnale mediata da GPCR
- il recettore V2 agisce tramite la **proteina G<sub>αs</sub>** per attivare l'adenilato ciclasi, mentre i recettori V1A e B agiscono tramite la **proteina G<sub>αq</sub>** per attivare una **fosfolipasi C** associata alla membrana



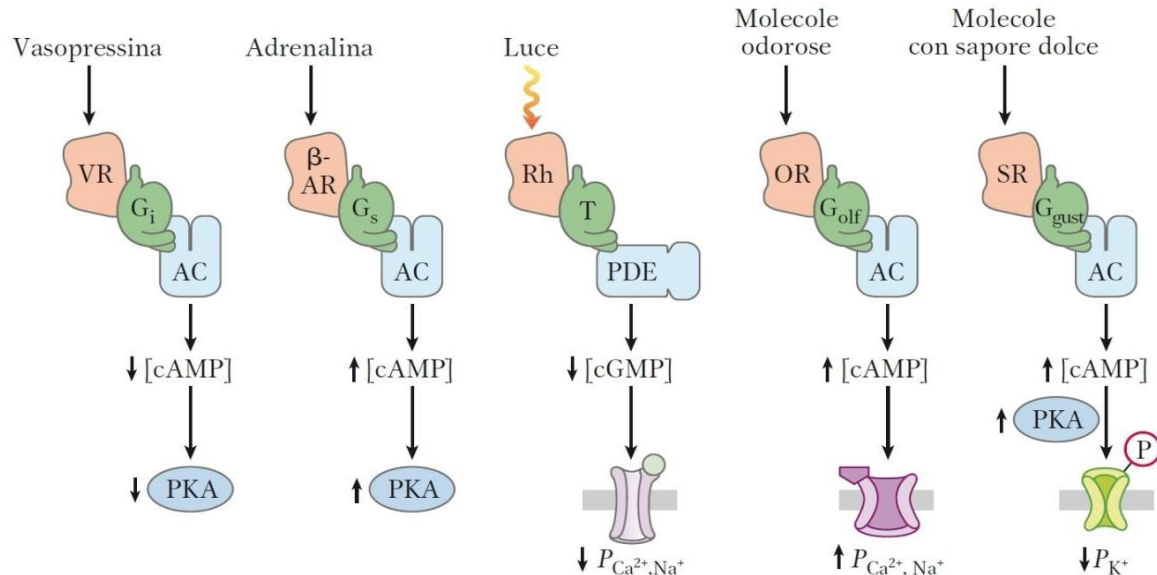
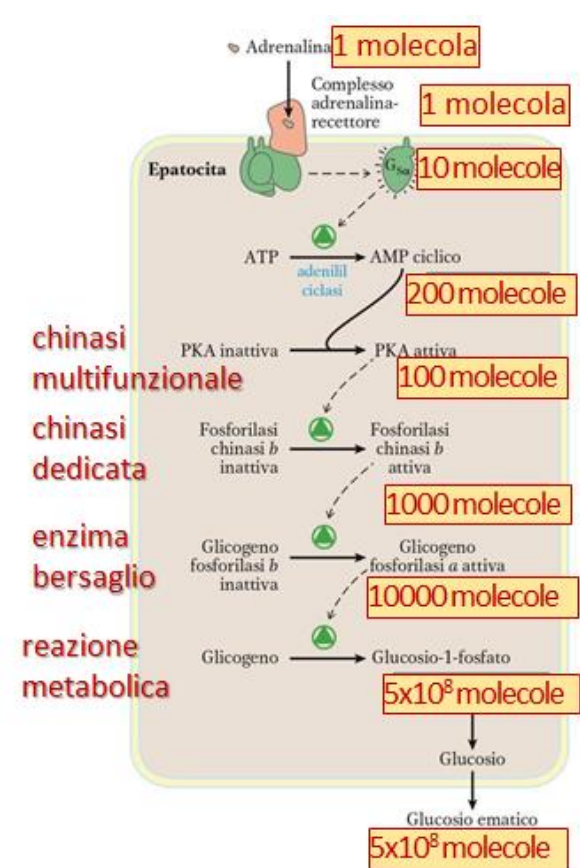
# CASCATA DEL INOSITOLO TRIFOSFATO (cont.)

- ▶ Cascata del fosfoinositolo – attivazione della PKC
- La **proteina chinasi C (PKC)** è un esempio di **chinasi inibita da pseudosubstrato** (come la **PKA**), nello stato inattivo non è associata alla membrana
- il legame di due domini al **diacilglicerolo (DAG)** libera il sito attivo
- l'attività della **PKC** dipende anche da **ioni di  $Ca^{2+}$**  che **aiutano a localizzarla sulla membrana** e fornisce una forma d'integrazione per l'azione dei due 2° messaggeri (IP<sub>3</sub> e DAG)
- **DAG e IP<sub>3</sub>** sono **molecole transienti** perché rapidamente metabolizzate



# DIVERSI TIPI DI GPCR

► I GPCR partecipano in diversi sistemi di trasduzione dei segnali attivati in modo diverso e con diverse risposte – fattore comune: si innesca cascata che amplifica il segnale



- la **luce** agisce sulla **rhodopsina** (retinale cis  $\rightarrow$  trans), questo attiva una proteina  $G_t$  che a sua volta **attiva una fosfodiesterasi** che **rimuove il 2° messaggero cGMP**; questo mantiene aperto un ICR non selettivo e la **variazione in  $V_M$**  è percepita come segnale visivo
- **molecole odorose** innescano la **cascata del cAMP** che attiva direttamente un ICR Ca/Na e il  $\Delta V_M$  **innescano il segnale**
- **molecole del gusto** agiscono mediante **attivazione del PKA** che fosforila ed attiva un ICR selettivo per il K ( $\Delta V_M$  **innescano il segnale**)

**NB:** ICR attivati sull'esterno della cellula da 1° messaggero (es. AC) sono **ionotropici** (effetto localizzato)

ICR attivati all'interno della cellula da 2° messaggero (es. cAMP, IP3) sono **metabotropici** (effetto diffuso)

# Ion Channel Receptors (ICR): attivazione ionotropica e metabottropica

► Gli ICR possono essere attivati da un 1° messaggero (IONOTROPICI) o da un evento intracellulare (2° messaggero, proteina G, fosforilazione) (METABOTROPICI)

**Ionotropic ion-channel receptor**

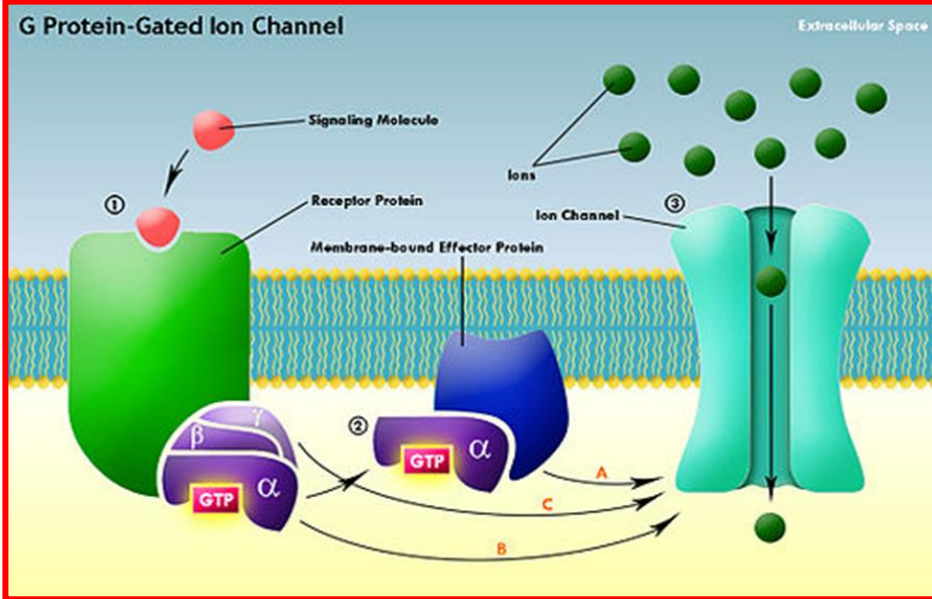
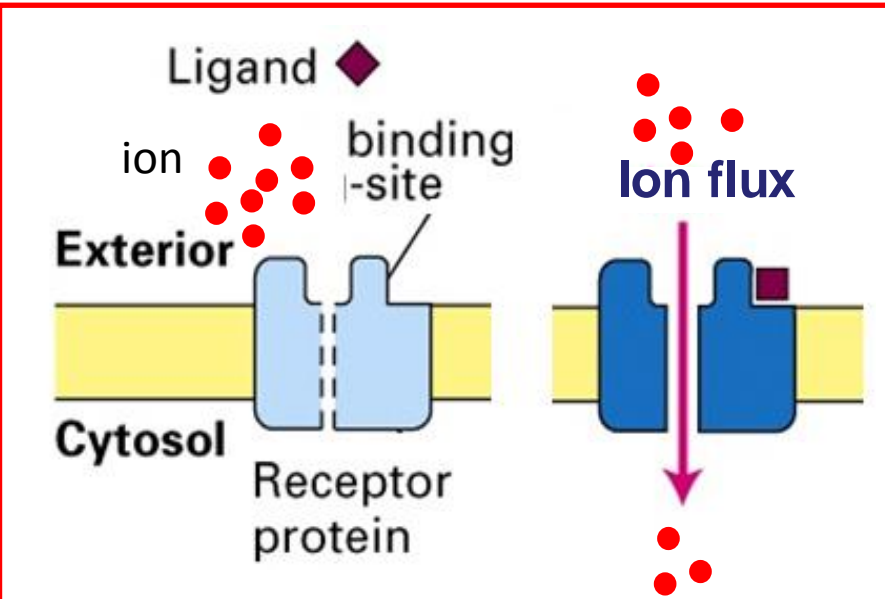
ligand → channel receptor → ion flux

- **veloci** (millisec.) ed **effetto localizzato**
- channel **opening** ⊕
- es. recettori nicotinici per l'acetilcolina, ionotropici per Glu, seratonina e GABA<sub>A</sub>

**Metabotropic ion channel**

ligand → GPCR → 2<sup>nd</sup> messenger → ion flux

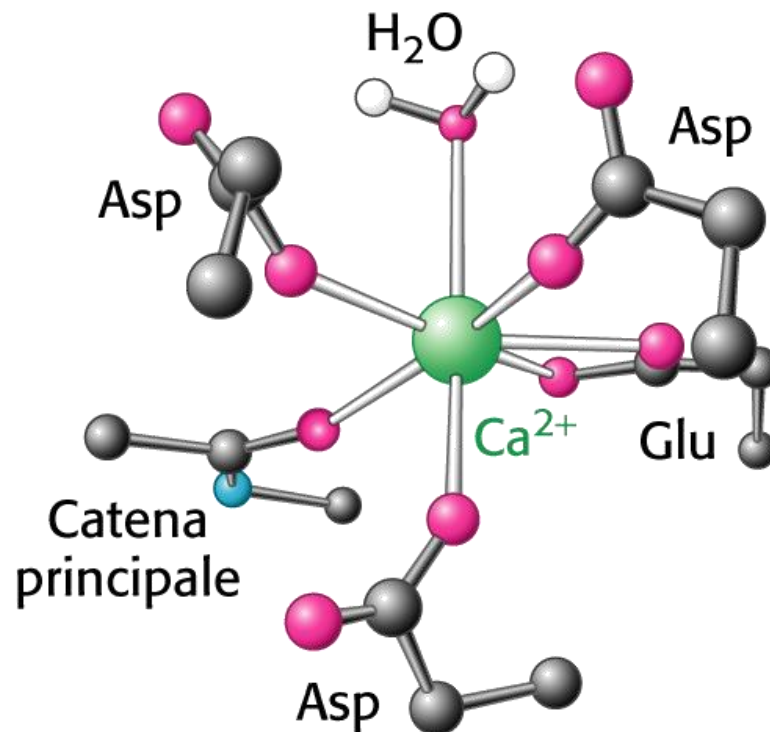
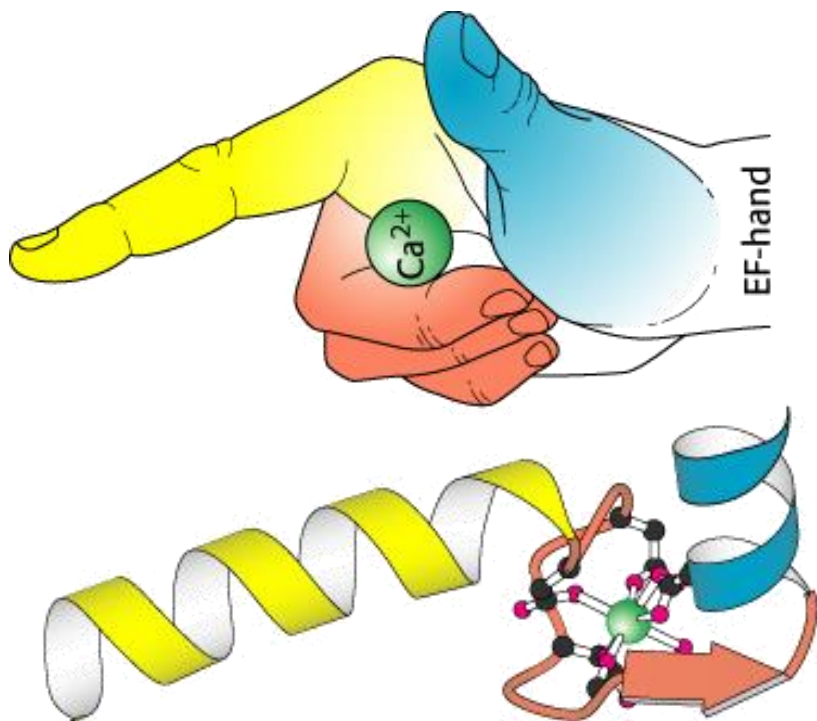
- **più lenti** (sec./min.) ed **effetto diffuso**
- channel **opening** ⊕ and **closing** ⊖
- es. recettori muscarinici per l'acetilcolina, metabotropici per Glu, seratonina e GABA<sub>B</sub>



# IL $\text{Ca}^{2+}$ COME 2° MESSAGGERO

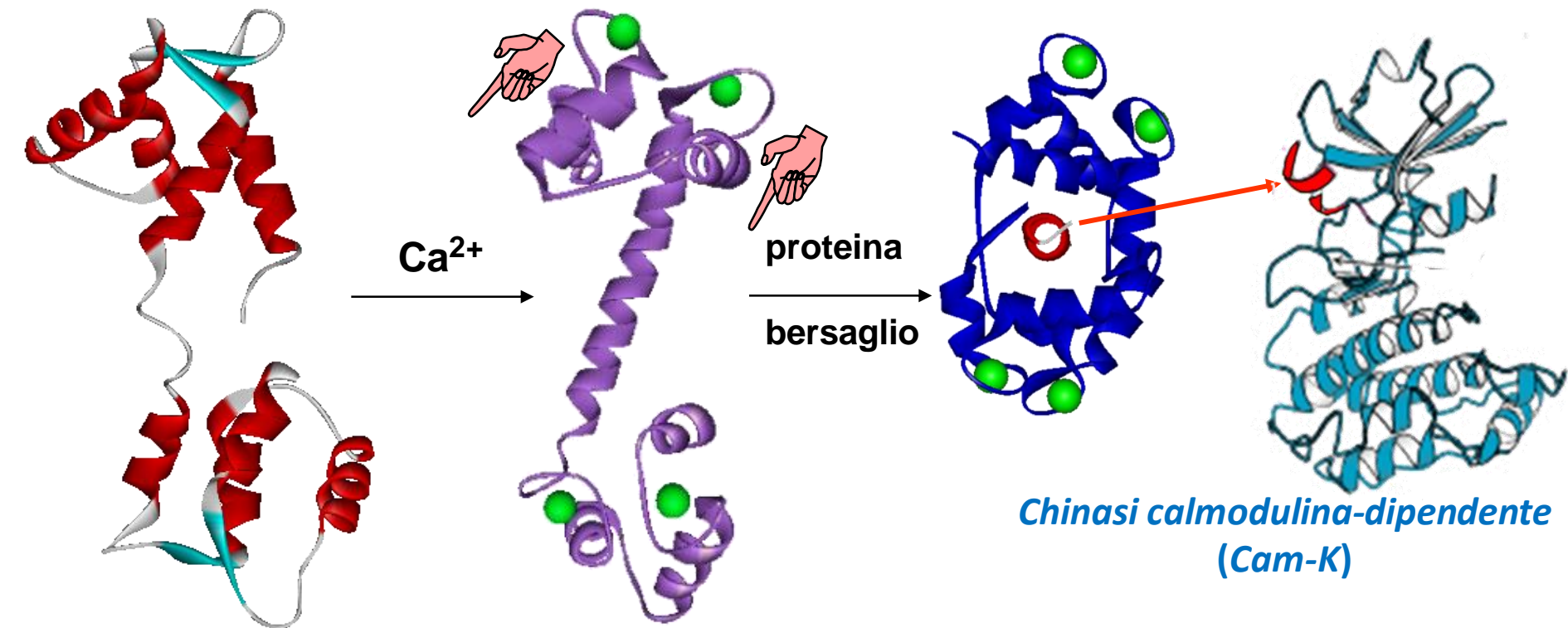
## ► Il calcio può formare legami di coordinazione multipli

- Lo fa con atomi di ossigeno in alcuni residui amminoacidici (es. Asp, Asn, Glu, Gln) presenti in particolari *'sequence motifs'* nelle proteine regolate
- il legame induce notevoli **alterazioni conformazionali** nelle proteine alle quali si lega.
- l'**effetto del calcio** negli eucarioti è mediato anche dalla **CALMODULINA**, che è in grado di legare 4 ioni  $\text{Ca}^{2+}$ , e ne **funge da sensore** (è attivata se la  $[\text{Ca}^{2+}] > 500 \text{ nM}$ ).
- è composta da due **domini che legano il calcio**, che per la loro forma simile ad mano che punta un dito, sono noti come **"EF hand"**



# IL $\text{Ca}^{2+}$ COME 2° MESSAGGERO: Calmodulina

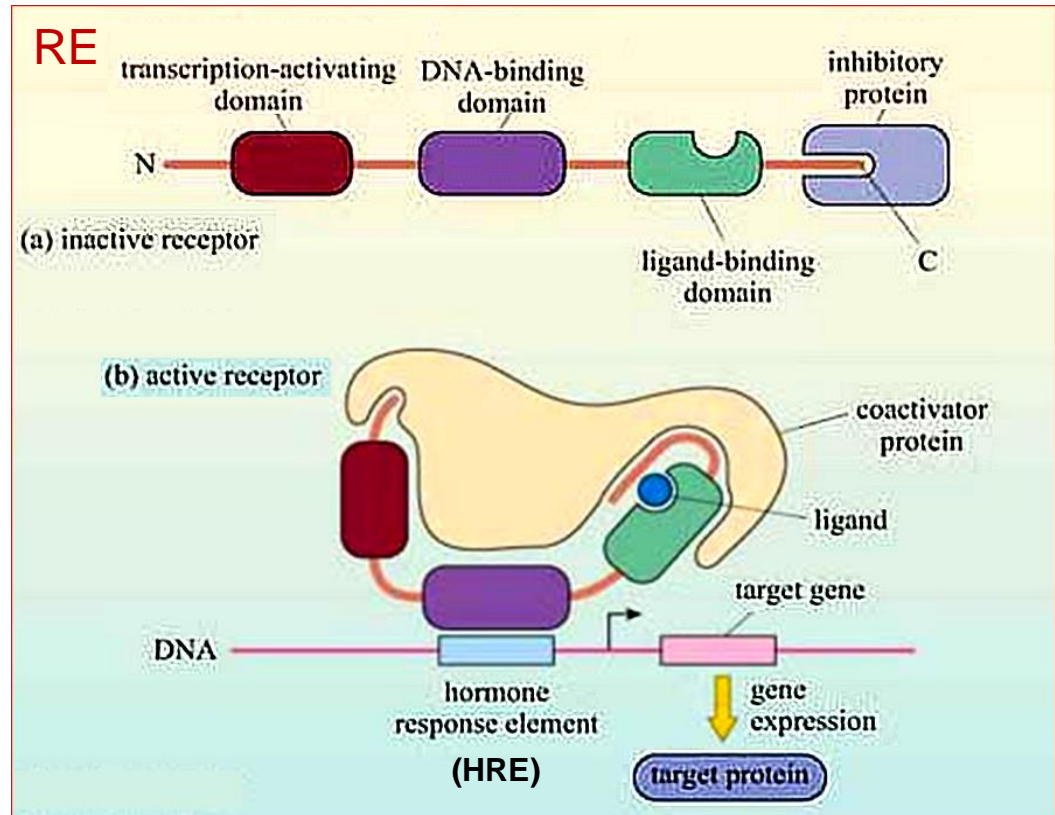
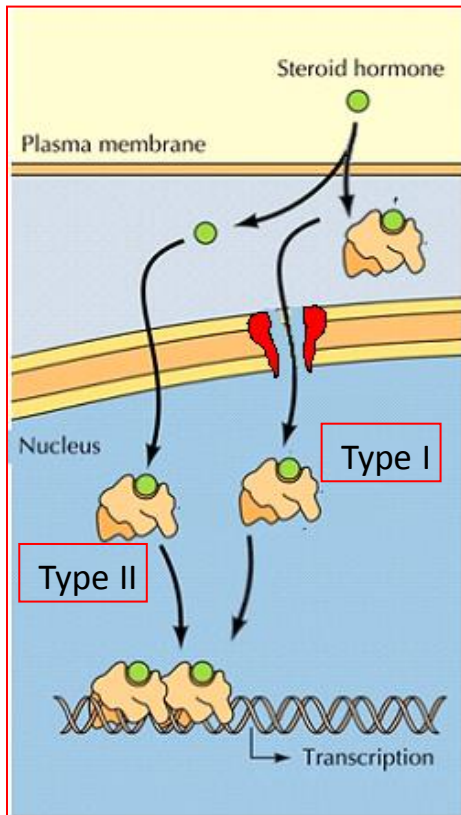
- ▶ La calmodulina (CAM) - una proteina regolatrice attivata dal calcio
- è composta da **due domini che legano il calcio**, in sua assenza connessi da un tratto disordinato
- in sua presenza questo si irrigidisce per formare da una lunga  $\alpha$ -elica ma questa si comporta come una **sbarretta flessibile** che può alterare la conformazione
- riconosce e abbraccia specifiche sequenze ad  $\alpha$ -elica **anfipatica** nelle proteine bersaglio, in modo che i domini globulari ai terminali si incontrino (causa una notevole variazione strutturale)
- CAM si trova spesso come subunità di proteine con importanti funzioni (es. **CAM-chinasi**)



# RECETTORI INTRACELLULARI (per steroidi)

► Recettori legano ormoni steroidei all'interno della cellula (entrano per diffusione semplice)

- recettori intracellulari di **tipo I** legano la molecola segnale nel citoplasma, subiscono una trasformazione e si spostano nel nucleo dove mediano la trascrizione del gene bersaglio
- recettori di **tipo II** sono già residenti nel nucleo
- sono *nuclear response elements (RE)*; alcuni rispondono a 1° messaggeri, altri a 2° messaggeri



response element (RE): to hormone → HRE ; to vitamin D → VDRE; to cAMP → CRE



# RECETTORI RTK a singola elica transmembrana

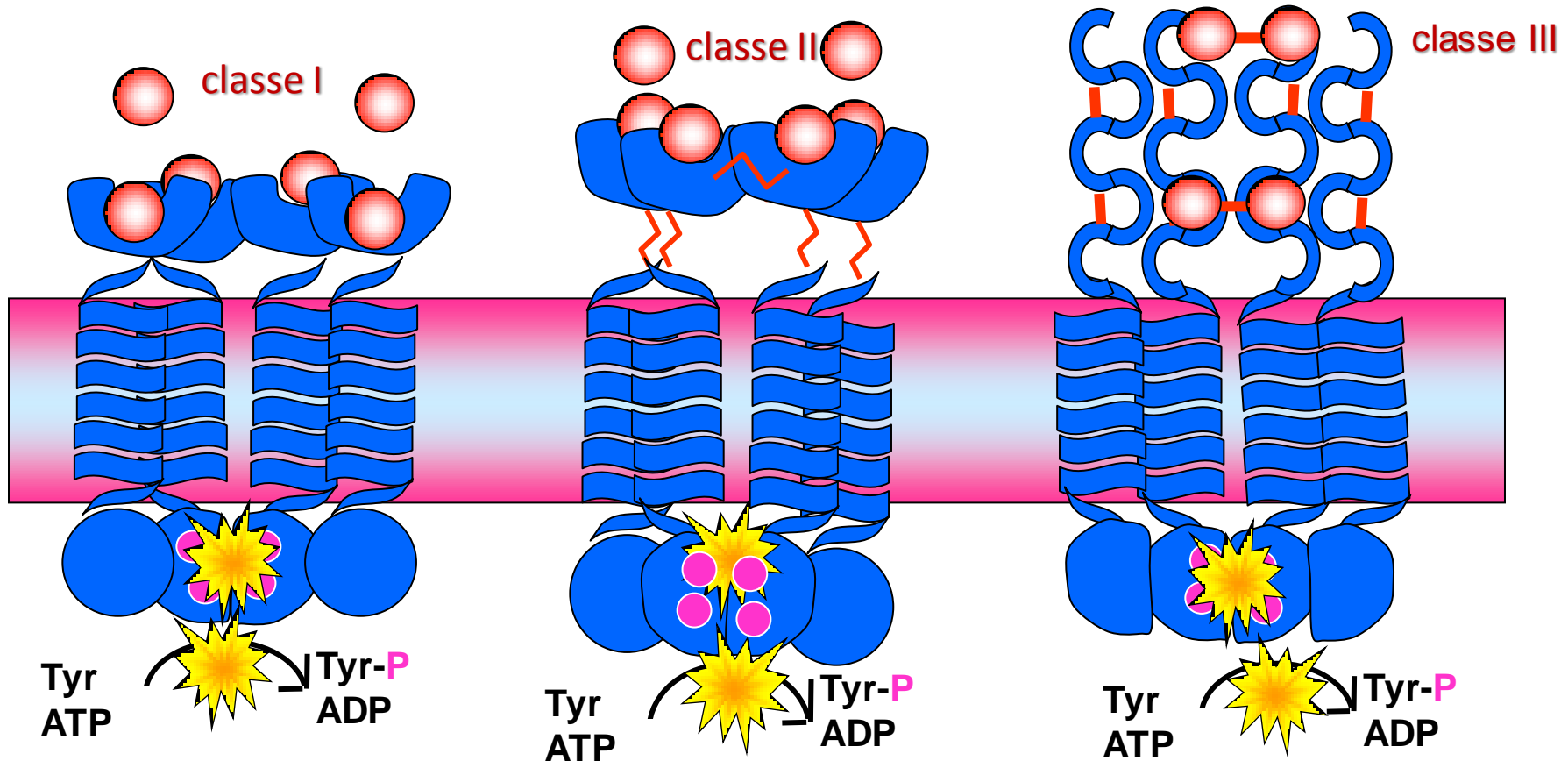
► I recettori di membrana a singola elica TM hanno una attività enzimatica intrinseca

- questa attività si trova nel dominio citoplasmatico e può essere di diverso tipo (*tirosina chinasi*, ma anche *serina chinasi*, *fosfatasi* o *guanilato ciclasi*)

- sono **monomerici** nella forma inattiva e il ligando causa la **dimerizzazione/attivazione**

- gli RTK sono di tre tipi e agiscono in due modi: **1) fosforilando altre proteine**

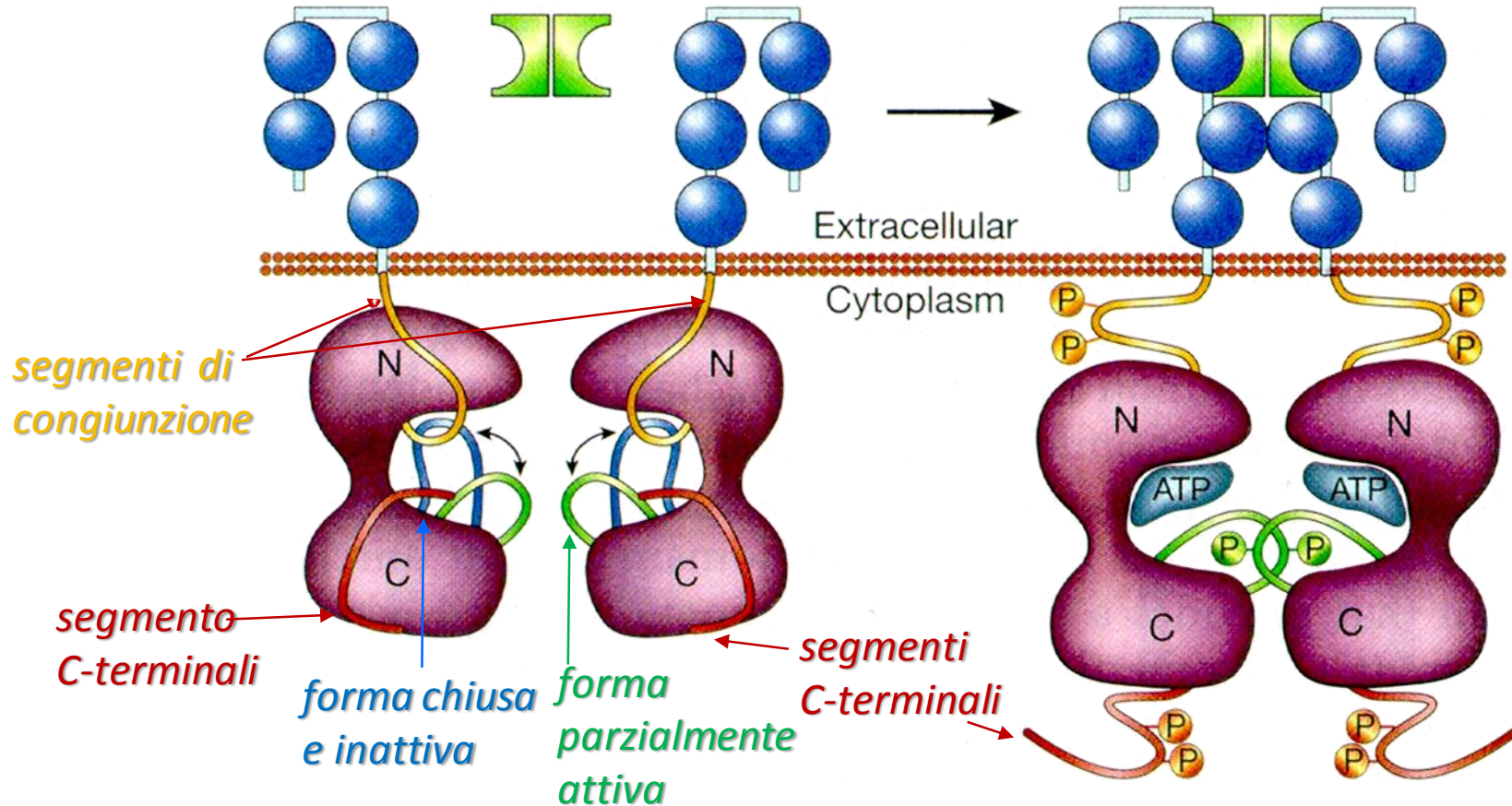
• **2) autofosforilando** e creando punti di ancoraggio per altre proteine



# RECETTORI RTK a singola elica transmembrana

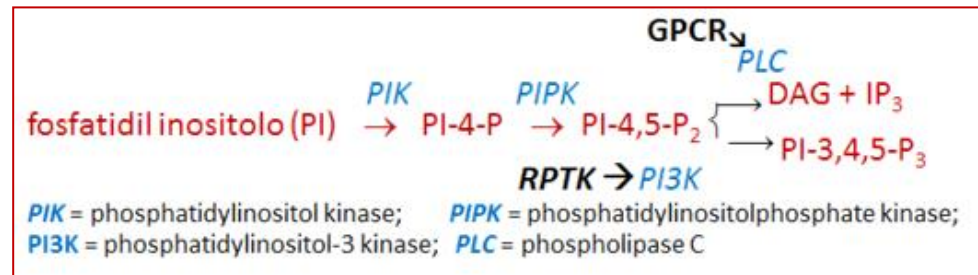
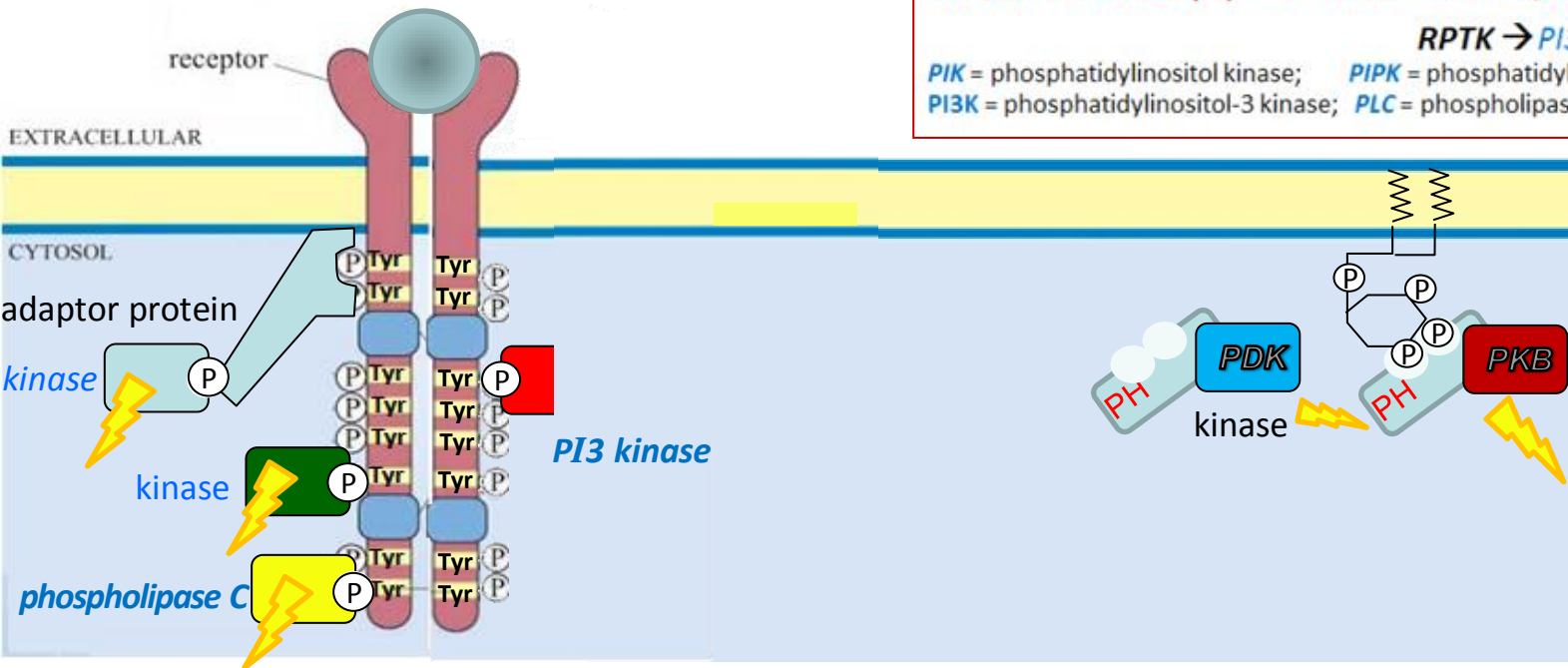
## ► Meccanismo d'attivazione dei *recettori proteina tirosin chinasi* (RPTK)

- nel recettore inattivo (monomero), segmenti che connettono il dominio catalitico a quello TM, e segmenti C-terminali **bloccano il sito di legame** per ATP
- la **dimerizzazione apre parzialmente il sito di legame** e permette l'autofosforilazione dei rispettivi segmenti, il che **apre completamente il sito di legame** e rende l'enzima **completamente attivo**



# RECETTORI RTK: trasduzione del segnale

- ▶ i siti di autofosforilazione sono riconosciuti dai domini SH2 in vari tipi di proteine:
  - *Src homology domain 2* sono presenti in **proteine adattatrici**, *chinasi* o *lipasi*, che si legano al recettore e si attivano
  - Es. la *chinasi di tipo PI 3 (PI3K)*, si lega mediante un dominio SH2 aggiunge un fosfato al **fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato (PI-4,5-P<sub>2</sub>)** producendo **PI-3,4,5-P<sub>3</sub>** (3,4,5-trifosfato)
  - questo ancora importanti chinasi con **dominio PH** (plekstrin homology) (es. *phosphatidylinositol-dependent kinase 1 (PDK1)* e *proteina chinasi B (PKB/Akt)*).

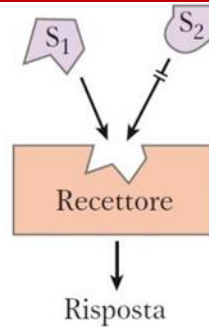


# TRASDUZIONE DEL SEGNALE: NOTE RIASSUNTIVE

## ► Sei caratteristiche fondamentali dei sistemi di trasduzione del segnale

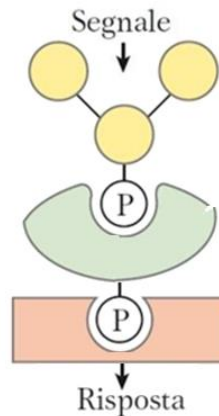
### (1) Specificità

Alcune molecole segnale si legano a un sito complementare sul recettore; altre non possono invece adattarsi al sito.



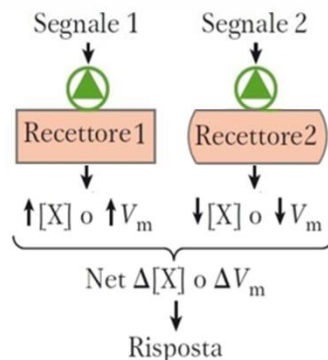
### (3) Modularità

Le proteine con affinità polivalenti formano diversi complessi di segnalazione a partire da moduli tra loro intercambiabili. La fosforilazione fornisce punti di interazione reversibile.



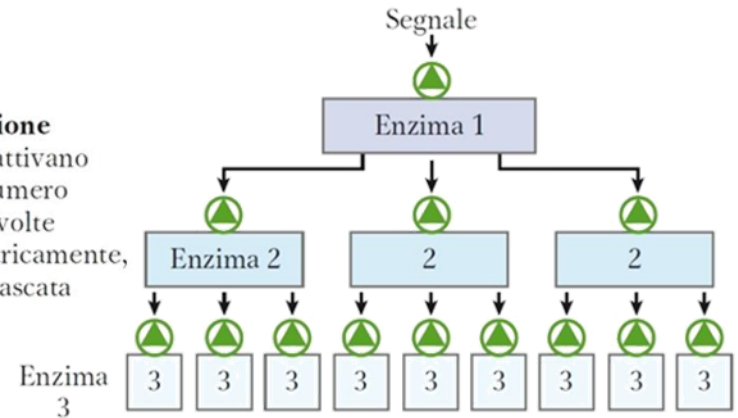
### (5) Integrazione

Quando due segnali hanno effetti opposti sulla stessa caratteristica metabolica, come la concentrazione di un secondo messaggero X o il potenziale di membrana  $V_m$ , la regolazione finale è il risultato di un segnale integrato proveniente da entrambi i recettori.



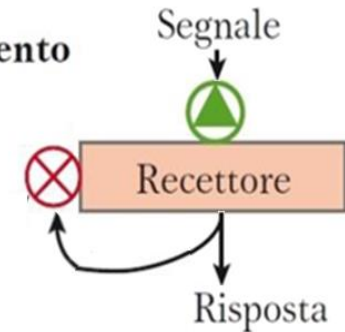
### (2) Amplificazione

Quando enzimi attivano altri enzimi, il numero di molecole coinvolte aumenta geometricamente, generando una cascata enzimatica.



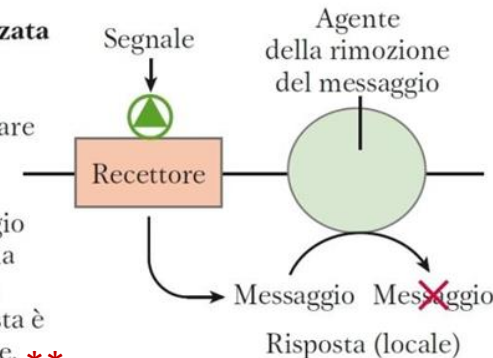
### (4) Desensibilizzazione/adattamento

L'attivazione del recettore innesca un circuito retroattivo che spegne il recettore o lo rimuove dalla superficie cellulare.



### (6) Risposta localizzata

Quando l'enzima che distrugge un messaggio intracellulare si raggruppa col produttore del messaggio\*, il messaggio viene degradato prima che possa diffondersi lontano, così la risposta è soltanto locale e breve. \*\*



\* se necessario,  
\*\* risposta limitata nello spazio e nel tempo