

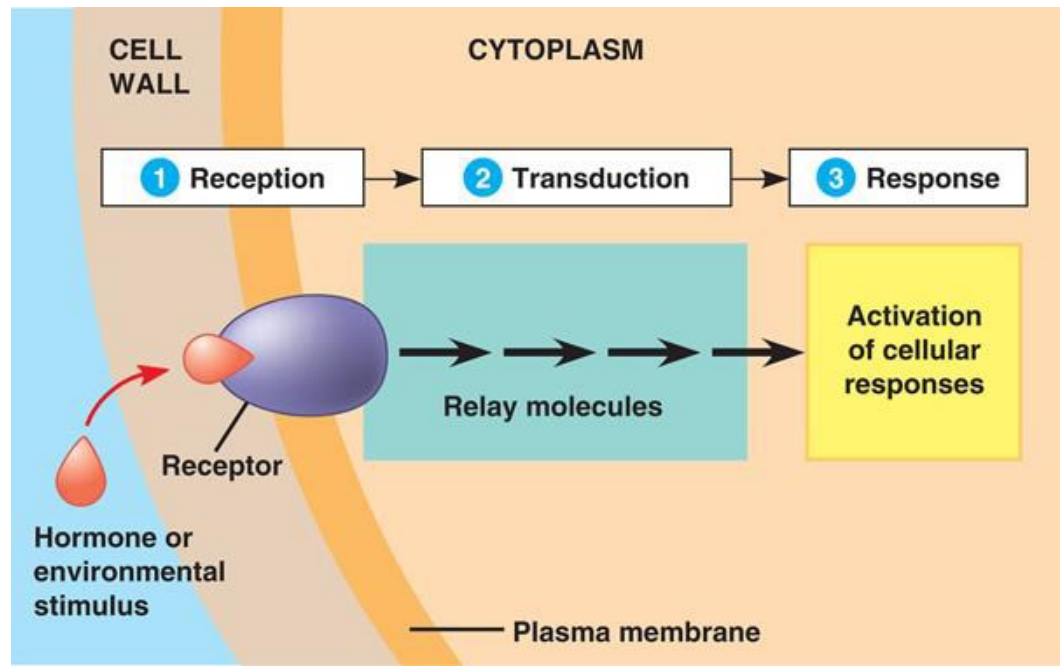
Modulo 6C

Biomembrane – Trasduzione del Segnale

2024-25

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:

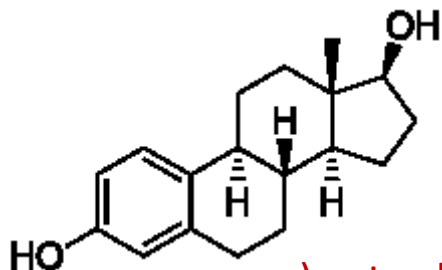
- 1) fisici: es. fotoni recepiti dalle rodopsine nella visione
- 2) meccanici: es. movimento delle stereocilia nell'udito
- 3) molecole esogene: es. recettori dell'olfatto/gusto, immunorecettori
- 4) messaggeri intercellulari: es. ormoni di vario tipo (1° messaggeri)

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 della matrice	4
molecole gustative	3	fattori di crescita	4

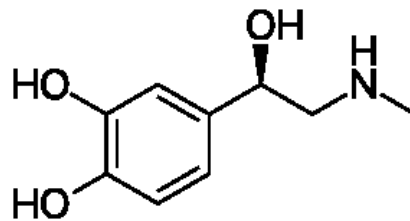
- i meccanismi con cui gli stimoli esterni sono trasdotti in segnali chimici interni si basano su **un ridotto numero di vie di trasduzione** e di **componenti di base**

TRASDUZIONE DEL SEGNALE: 1° messaggeri

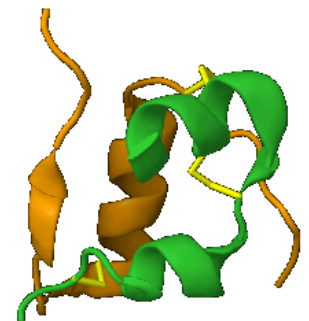
- Il segnale è spesso trasdotto da 1° messaggero (segnale chimico intercellulare) a 2° messaggeri (segnali chimici intracellulari)
- i **1° messaggeri** sono ormoni che coordinano l'attività metabolica nelle cellule in organismi pluricellulari
- sono sintetizzati da tessuti specializzati (**ghiandole**) 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 γ -aminobutirico, adrenalina, dopamina, istamina, opiat
 - c) **peptidici** – es. glucagone, insulina.



a) estradiolo



b) adrenalina

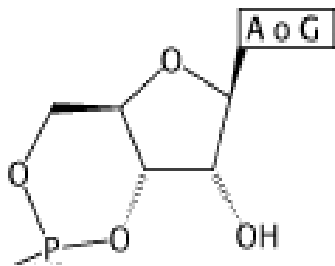


c) insulina

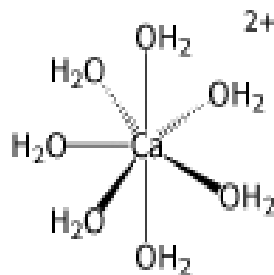
TRASDUZIONE DEL SEGNALE: 2° messaggeri

► Segnali chimici *intracellulari* :

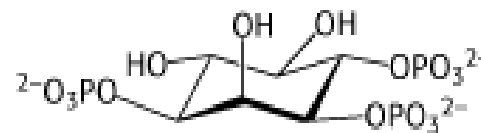
- il segnale portato dai 1° messaggeri extracellulari è trasdotto mediante la formazione di **2° messaggeri intracellulari** quali per esempio il **3',5'-AMP ciclico (cAMP)**, il **diacilglicerolo (DAG)**, l'**inositolo trifosfato** e gli ioni di **calcio**



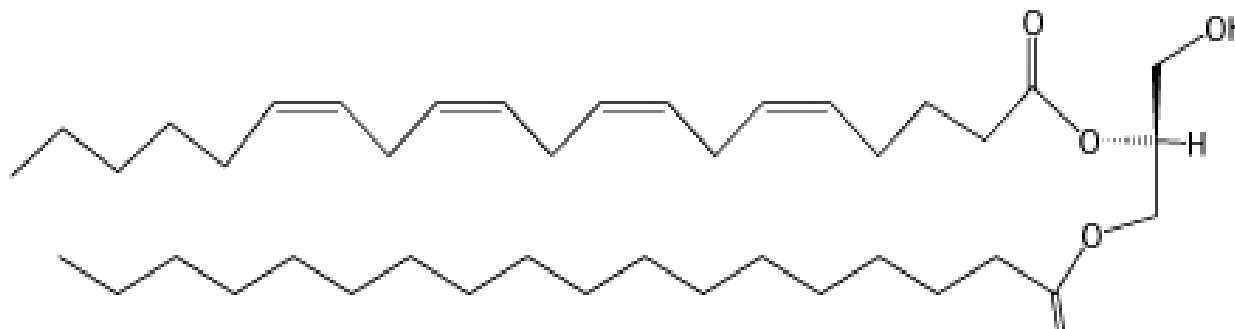
cAMP, cGMP
(derivati da ATP, GTP)



Ca⁺⁺ (ione calcio)



inositolo 1,4,5-trifosfato (IP₃)
(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:

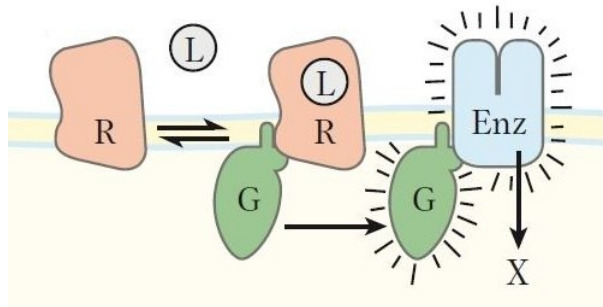
[1] Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

[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**

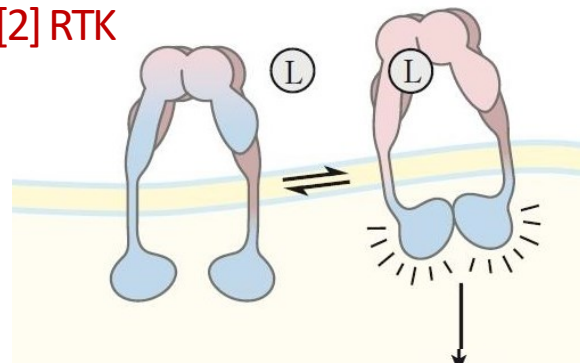
[1] GPCR



es. effetti metabolici

agiscono mediante proteine G

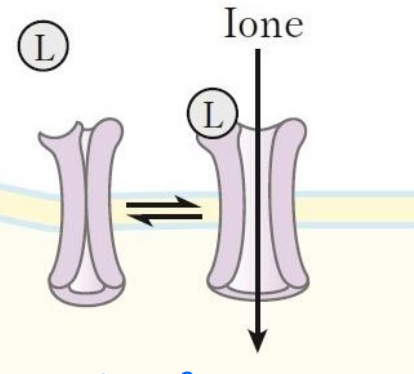
[2] RTK



es. effetti trascrizionali

agiscono mediante attività
enzimatica intrinseca (RIEA)

[3] ICR



es. ΔV_M , onde Ca^{2+}

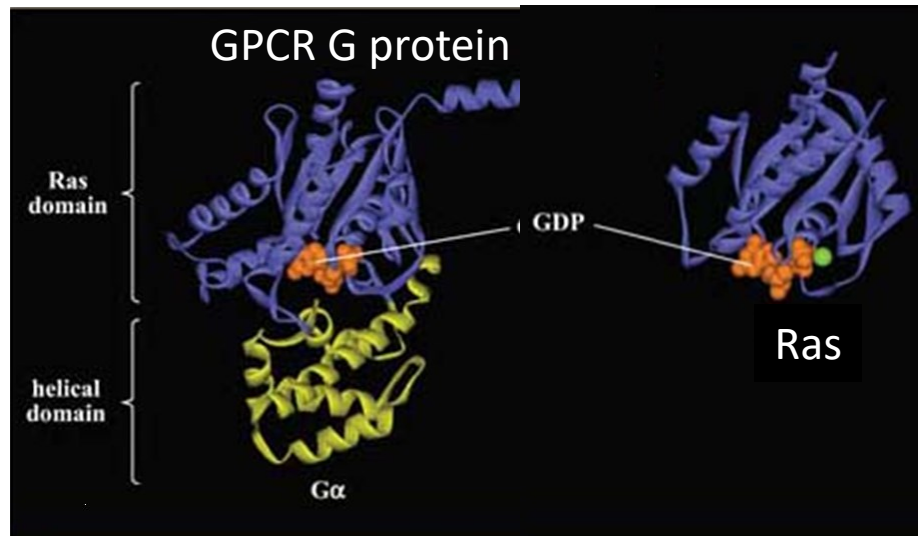
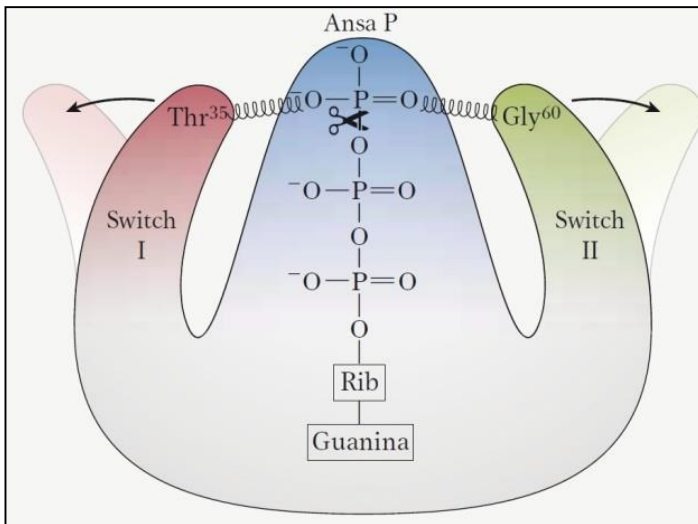
agiscono mediante
depolarizzazione / onde Ca^{2+}

► **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**

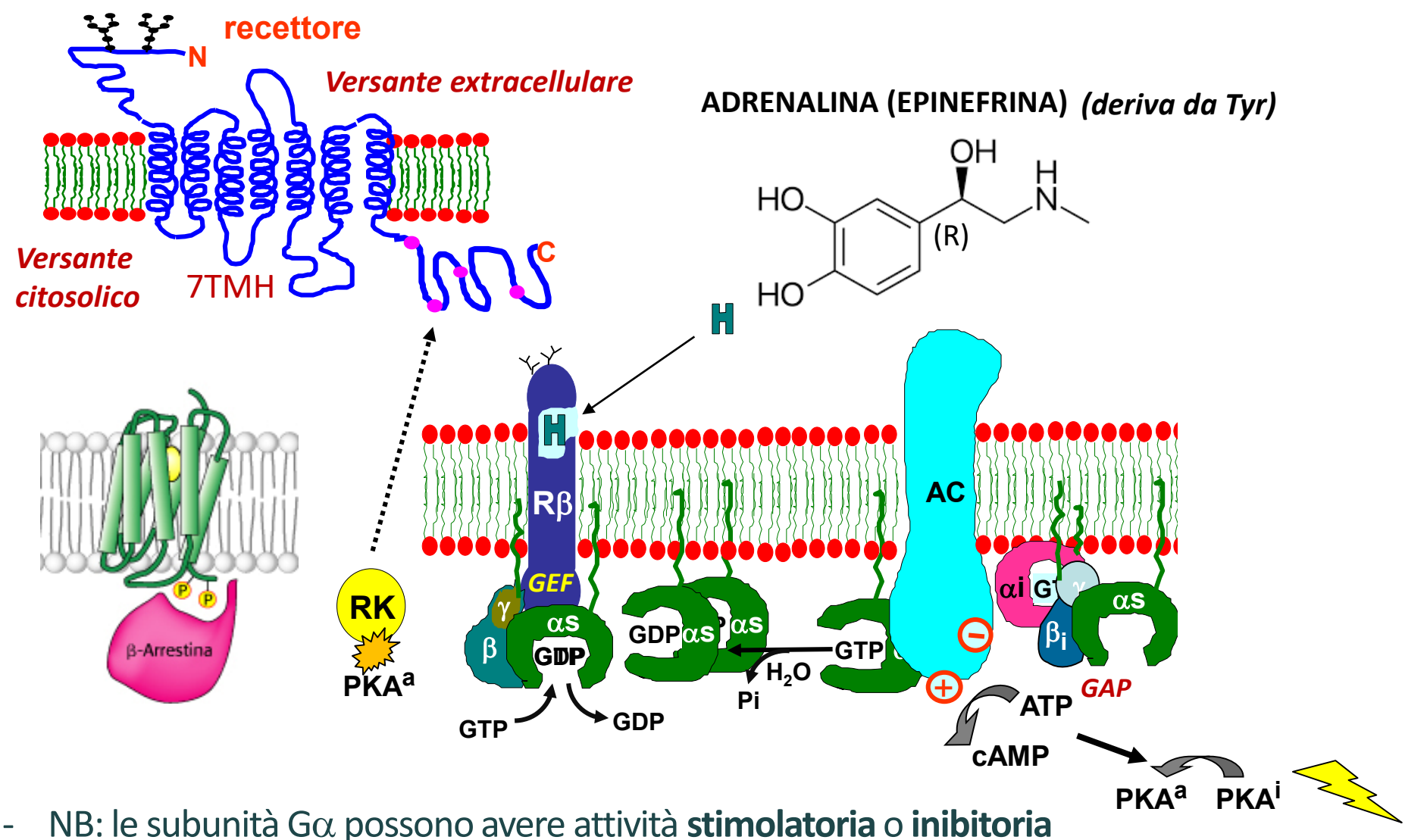
RECETTORI ASSOCIATI A PROTEINE G: cosa sono le proteine G?

- ▶ 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**



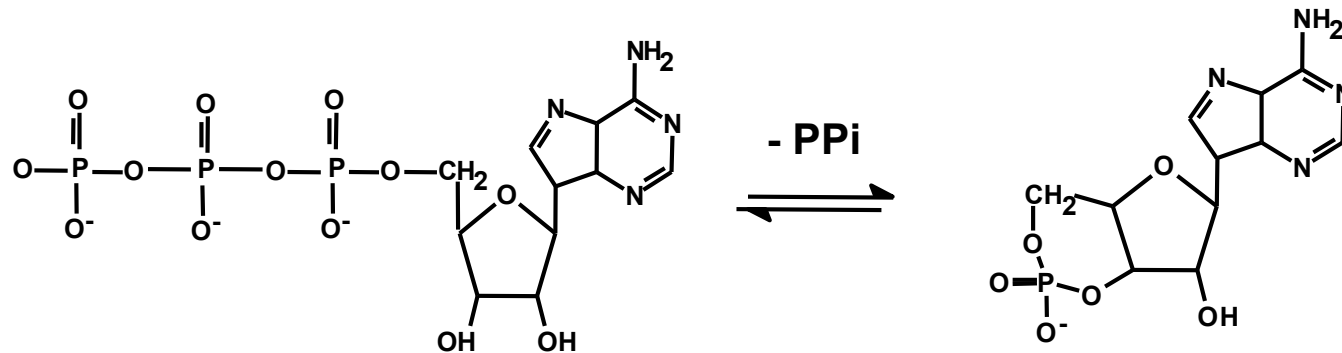
G PROTEIN COUPLED RECEPTORS (GPCR)

- Recettori a 7 eliche transmembrana associati a proteine G (GPCR)
- Cascata del cAMP: innescata da ormoni quali calcitonina, adrenalina, glucagone, vasopressina

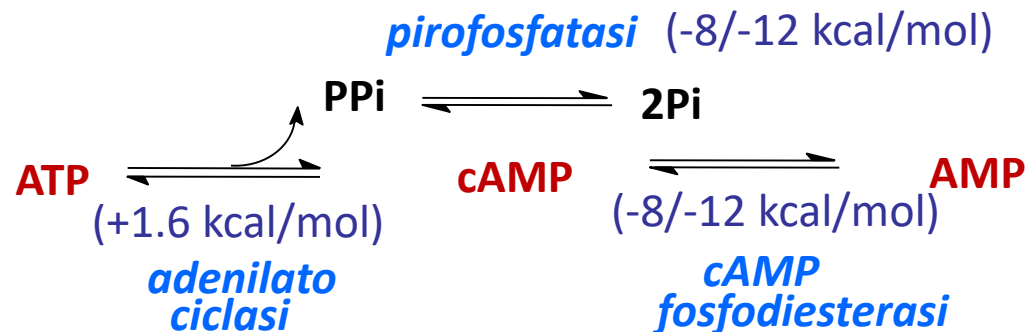


CASCATA DEL cAMP

► Il cAMP è formato dall'ATP (5'-ATP) tramite una reazione di ciclizzazione con perdita di PPi.



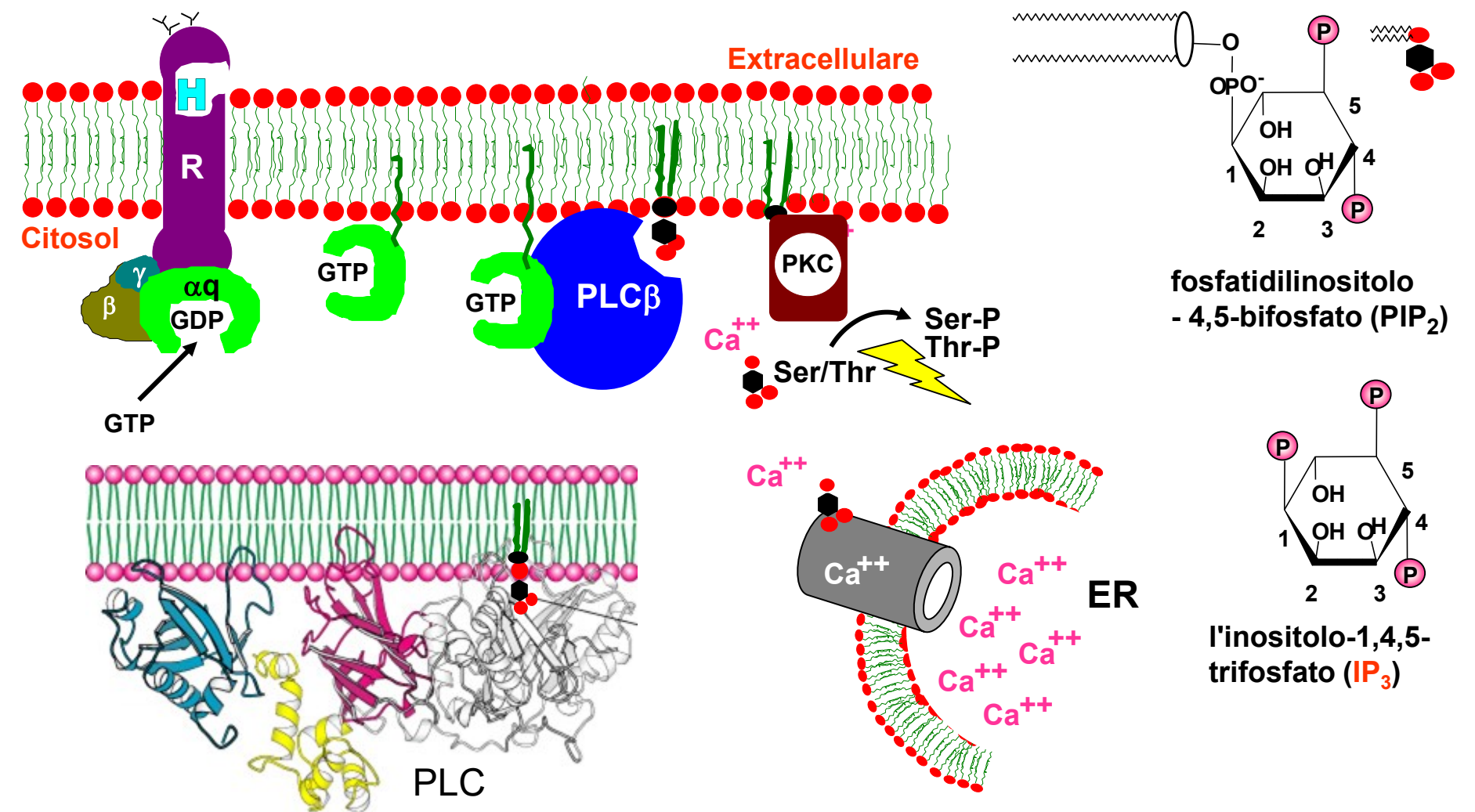
- questa reazione è catalizzata dalla **adenilato ciclasi**, una PIM con dominio catalitico intracellulare
- la reazione non è energeticamente favorevole ma lo è resa dalla successiva idrolisi del pirofosfato
- il cAMP è un messaggero chimico **transiente**, il suo livello intracellulare è regolato da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



CASCATA DEL INOSITOLO TRIFOSFATO

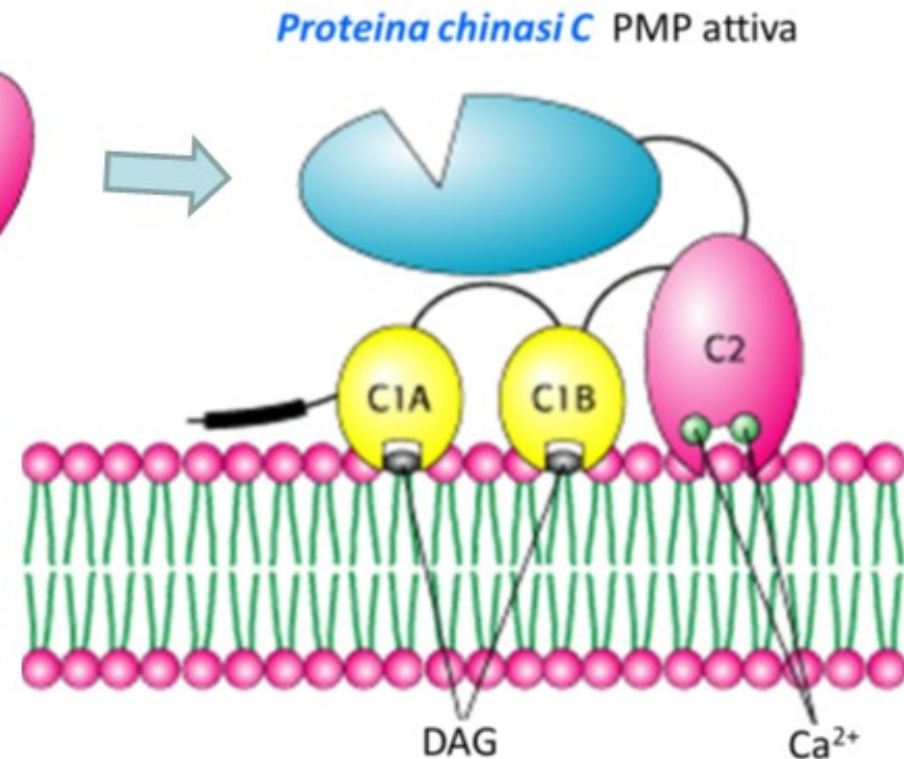
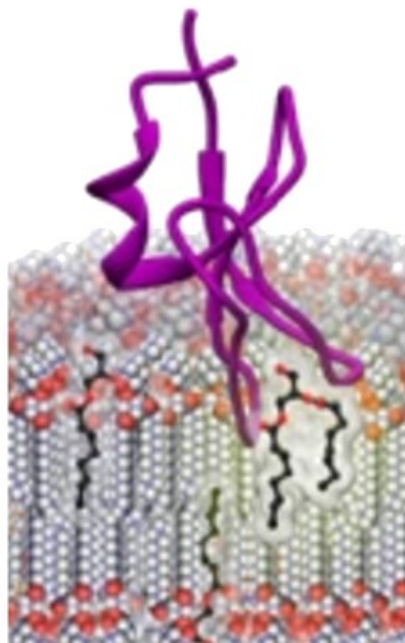
► Fosfatidilinositolo-3P e Diacilglicerolo come secondi messaggeri

- l'ormone peptidico **vasopressina** attiva altre cascate di trasduzione del segnale mediata da GPCR
- il **recettore V2** agisce tramite la **proteina $G_{\alpha s}$** per attivare l'**adenilato ciclasi**, mentre i **recettori V1A e B** agiscono tramite la **proteina $G_{\alpha q}$** per attivare una **fosfolipasi C** associata alla membrana



CASCATA DEL INOSITOLO TRIFOSFATO (cont.)

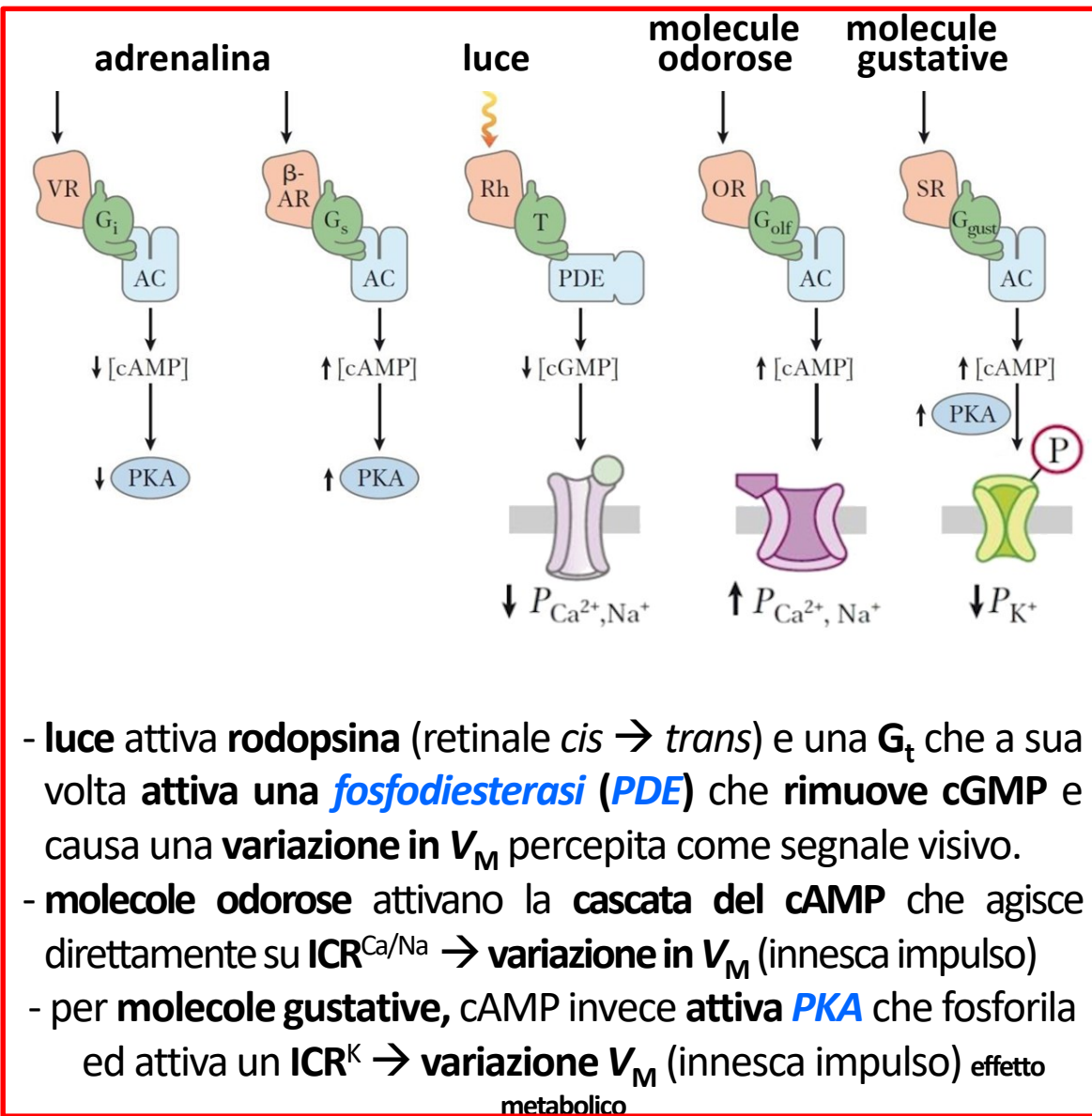
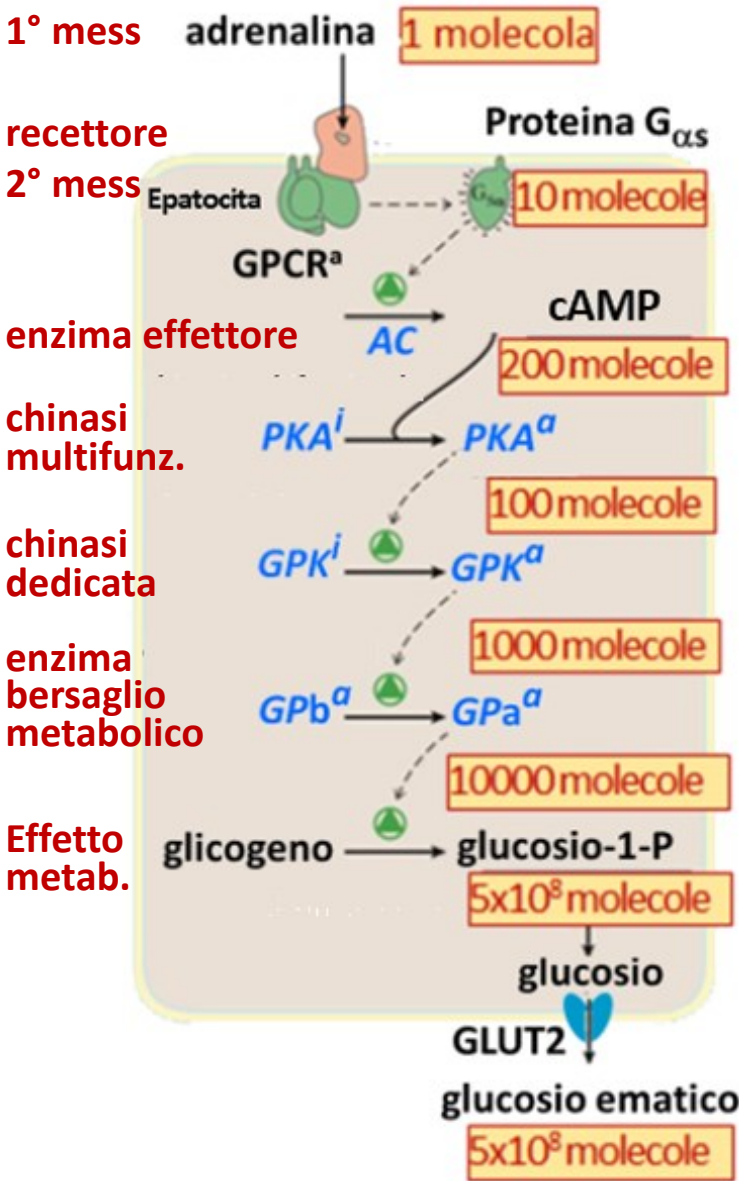
- Cascata del fosfoinositolo – attivazione della *proteina chinasi C* (*PKC*)
- È presente in **forma inattiva** come proteina globulare citoplasmatica; è **inibita da sequenza di pseudosubstrato** (come la *PKA*)
- il legame di due domini al **diacilglicerolo (DAG)** e un dominio a **Ca²⁺** libera il sito catalitico e la **localizzano sulla membrana (PMP)** - Ca²⁺ integra l'azione dei due 2° messaggeri (IP₃ e DAG)



- IP₃ e DAG sono **molecole transienti** e 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



Ion Channel Receptors (ICR): attivazione ionotropica e metabotropica

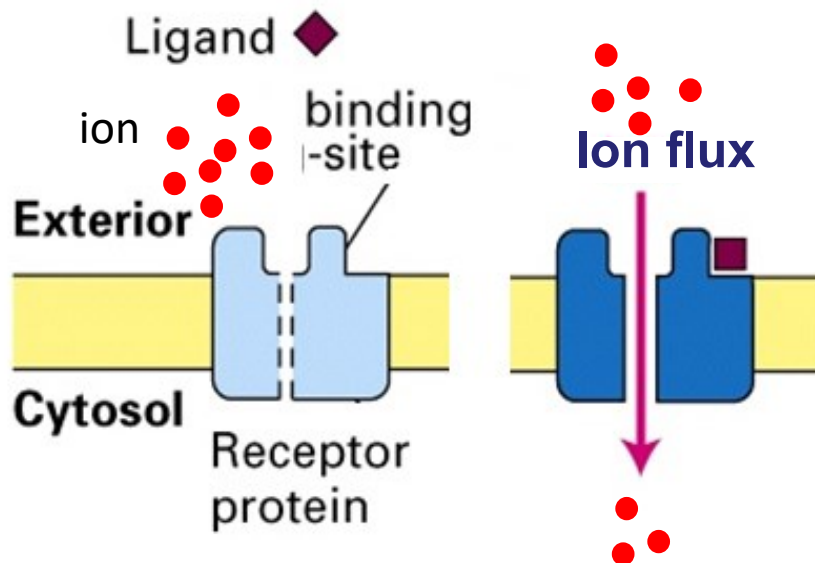
► Gli IC possono essere attivati in due modi:

- da un 1° messaggero extracellulare (**ICR IONOTROPICI**)
- da evento intracellulare (2° messaggero, proteina G, fosforilazione) (**IC METABOTROPICI**)

Ionotropic ion-channel receptor

ligand → channel receptor → ion flux

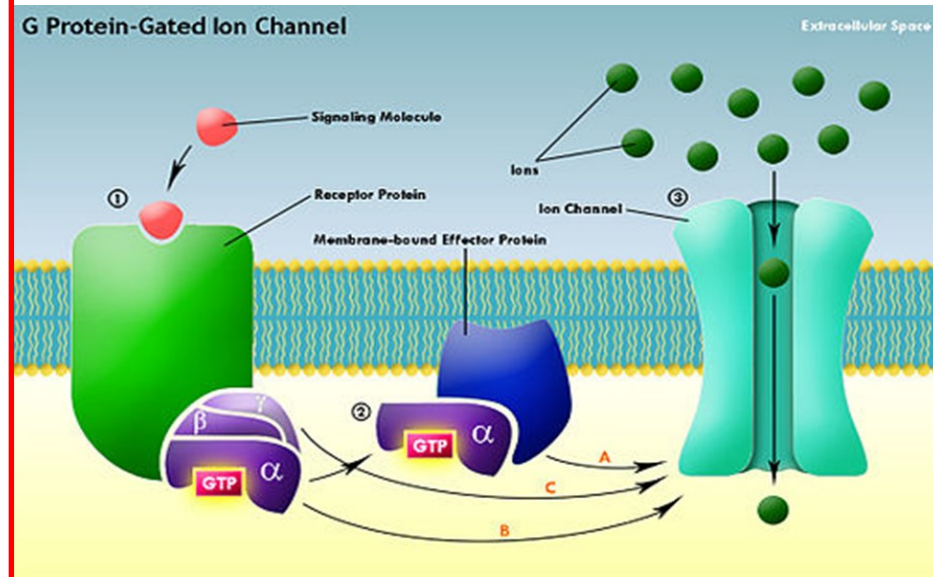
- **veloci** (millisec.) ed **effetto localizzato**
- channel **opening** ⊕
- es. recettori nicotinici per l'acetilcolina, ionotropici per Glu, seratonina e GABA_A



Metabotropic ion channel

ligand → GPCR → 2nd messenger → ion flux

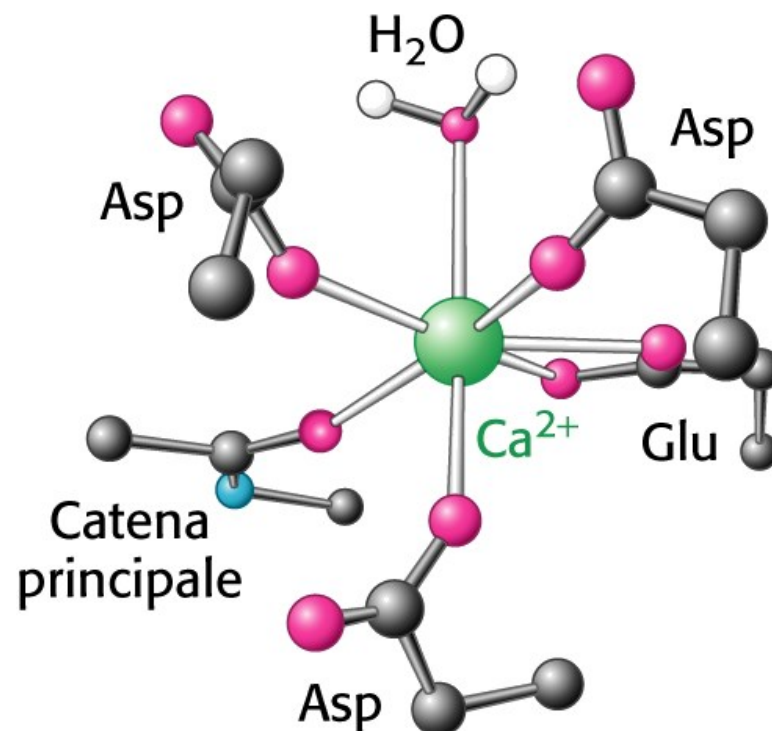
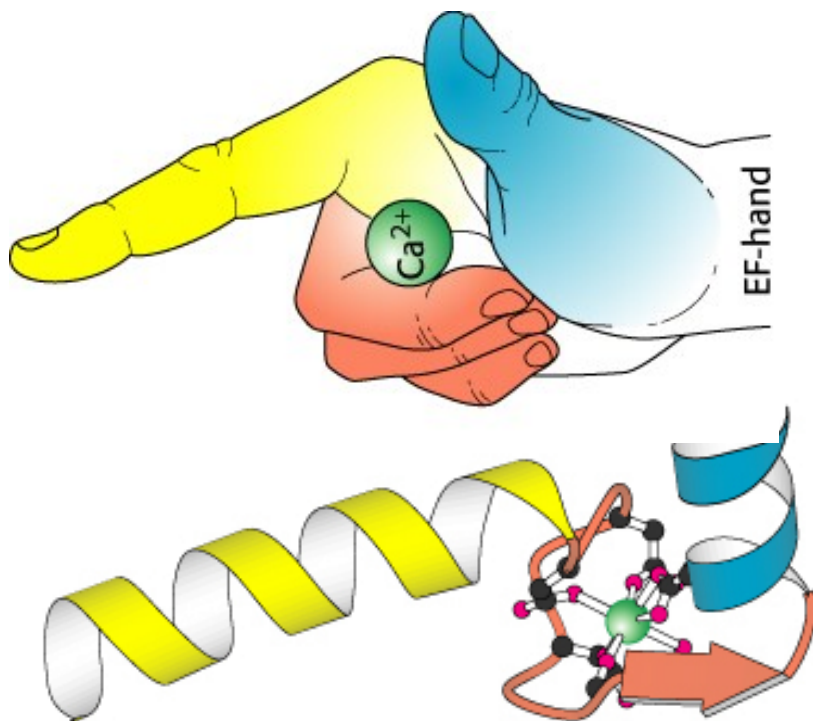
- **più lenti** (sec./min.) ed **effetto diffuso**
- channel **opening** ⊕ and **closing** ⊖
- es. recettori muscarinici per l'acetilcolina, metabotropici per Glu, seratonina e GABA_B



IL Ca^{2+} COME 2° MESSAGGERO

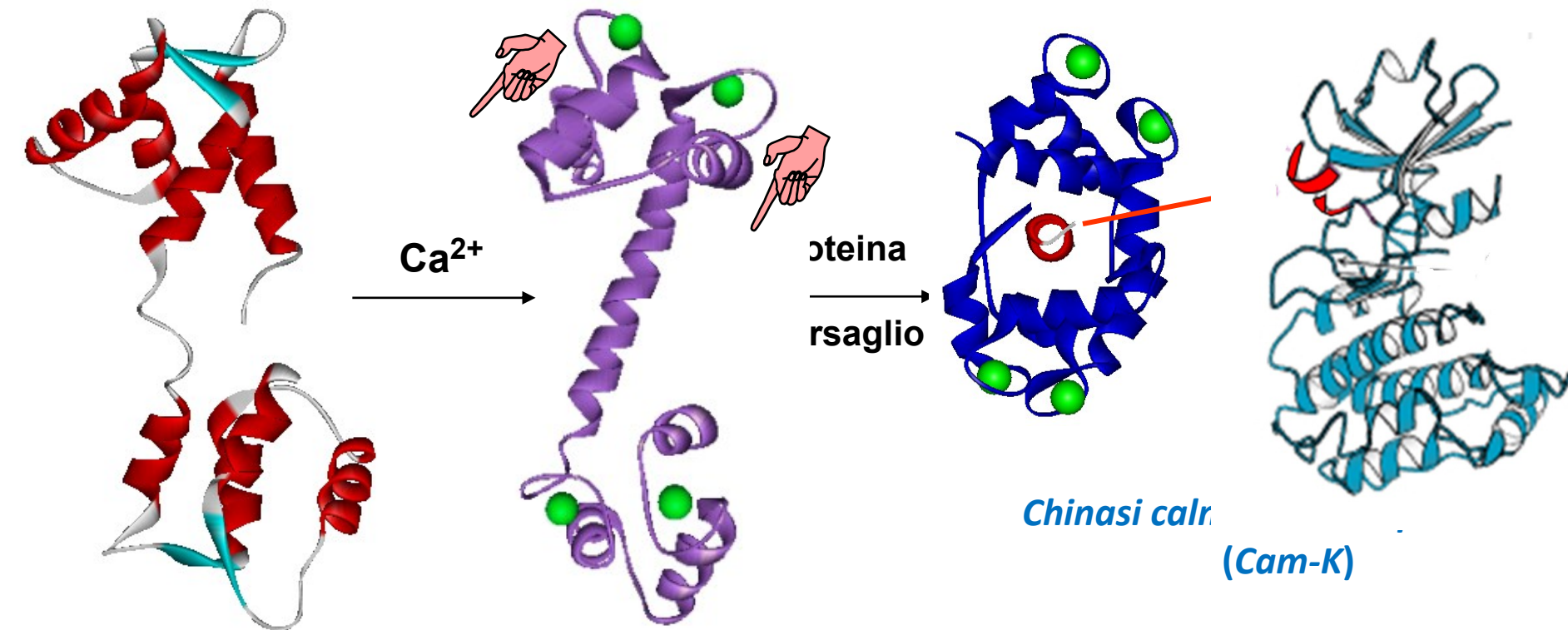
► Il calcio può formare legami di coordinazione multipli

- Lo fa con atomi di ossigeno in alcuni residui amminioacidici (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 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 Ca^{2+} COME 2° MESSAGGERO: Calmodulina

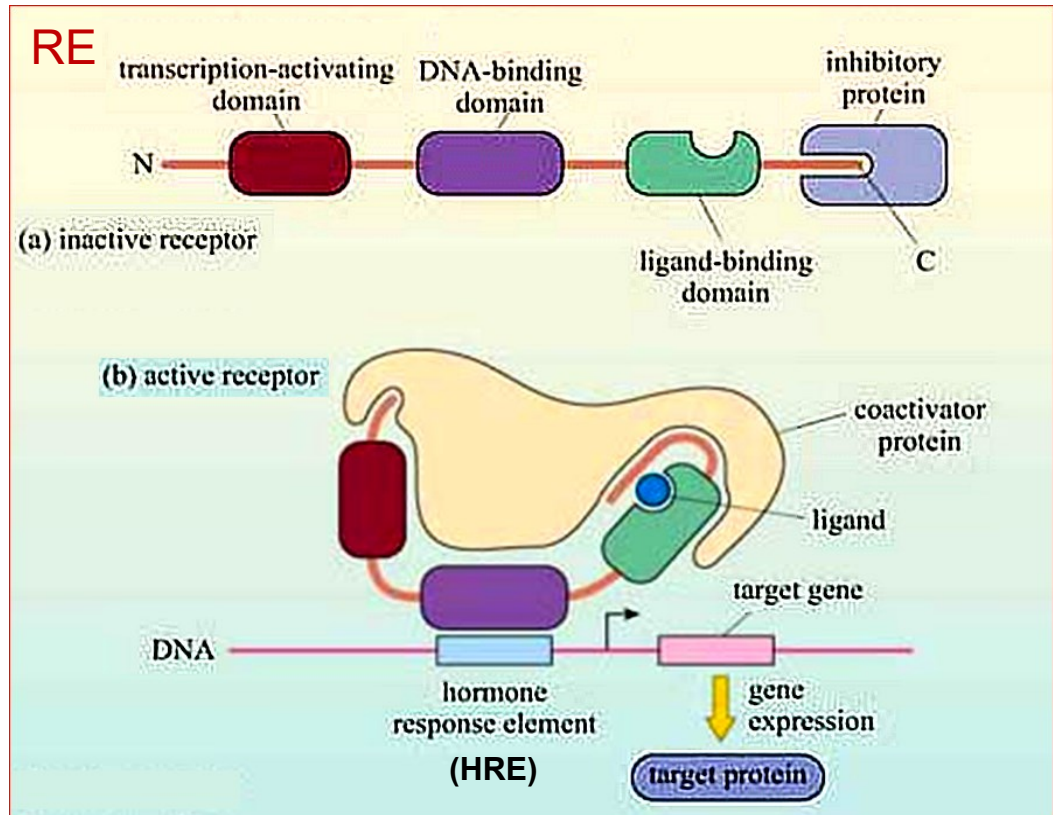
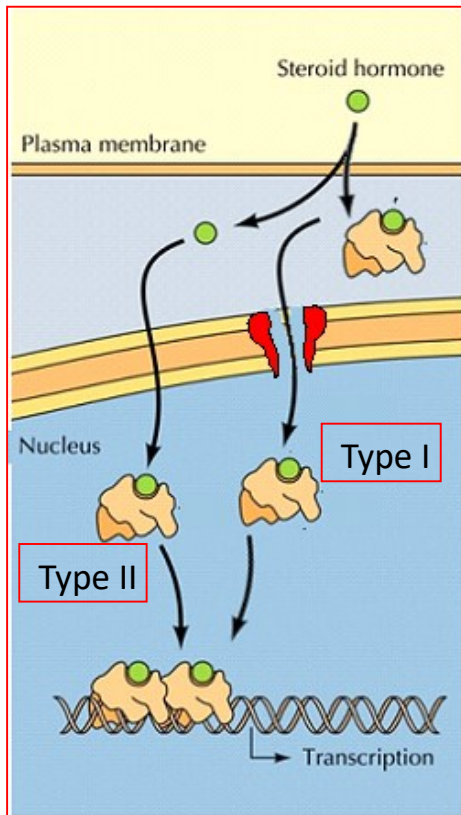
- ▶ La calmodulina (CAM) - una proteina regolatrice attivata dal calcio
- è composta da **due domini che legano il calcio**, in sua assenza connessi da un tratto disordinato
- in sua presenza questo si irrigidisce per formare da una lunga α -elica ma questa si comporta come una **sbarretta flessibile** che può alterare la conformazione
- riconosce e abbraccia specifiche sequenze ad **α -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)

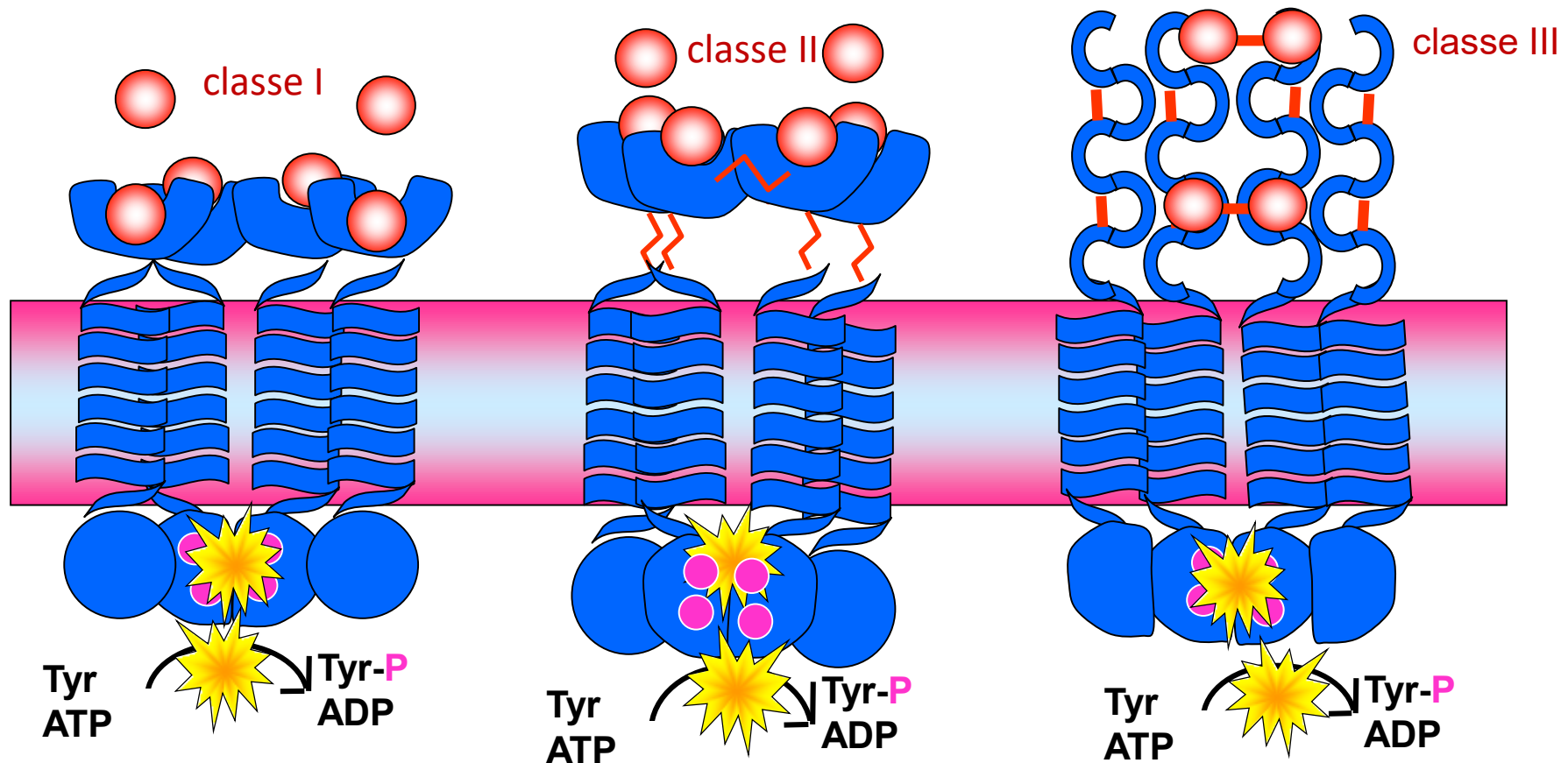
- recettori intracellulari di **tipo I** legano la molecola segnale nel citoplasma, subiscono una trasformazione e si spostano nel nucleo dove mediano la trascrizione del gene bersaglio
- recettori di **tipo II** sono già residenti nel nucleo
- sono *nuclear response elements (RE)*; alcuni rispondono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



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

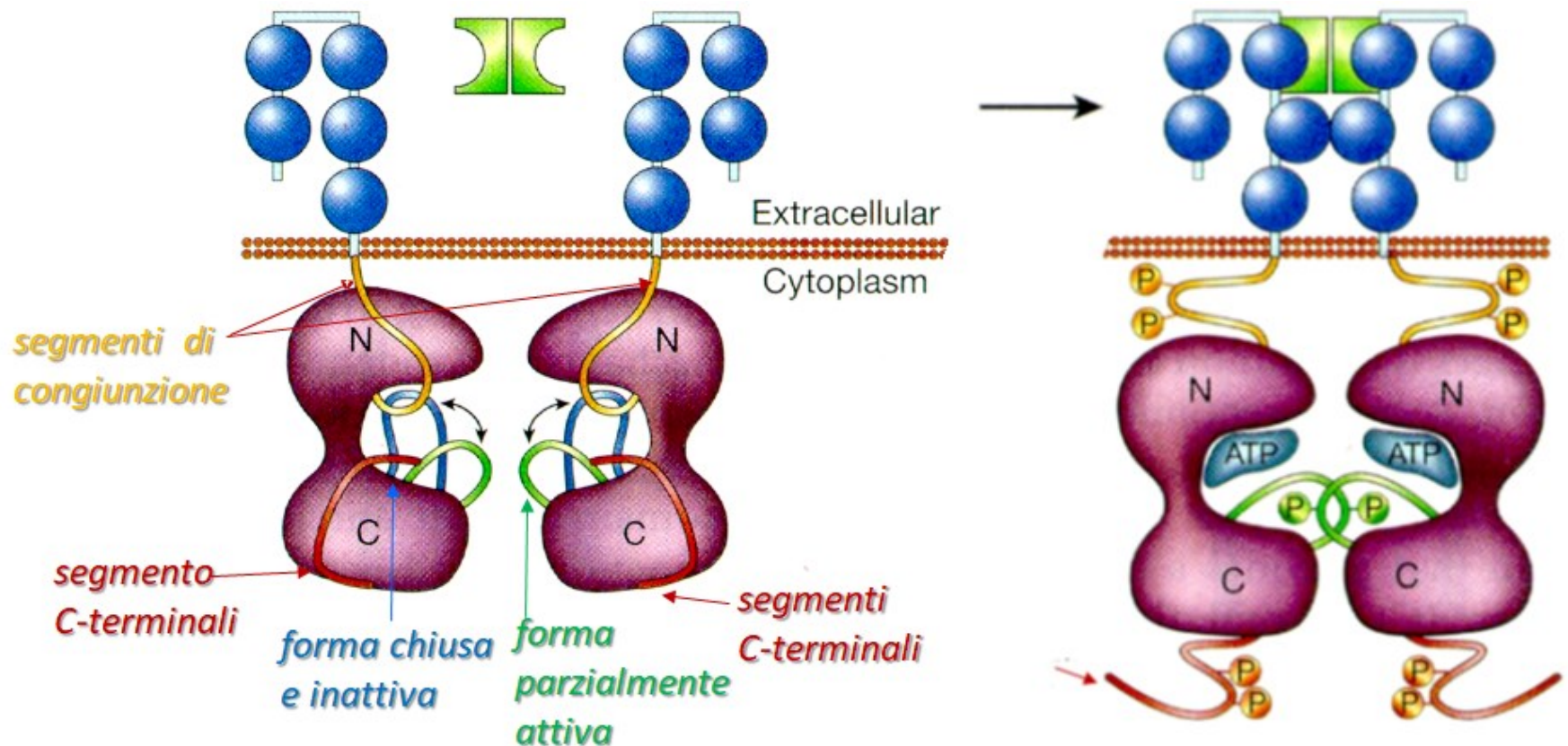
RECETTORI RTK a singola elica transmembrana

- I recettori di membrana a singola elica TM con attività enzimatica intrinseca (RIEA)
 - questa attività si trova nel dominio citoplasmatico e può essere di diverso tipo (*tirosina chinasi* - **RPTK** ma anche *serina chinasi*, *fosfatasi* o *guanilato ciclasti*)
 - sono **monomerici** nella forma inattiva e il ligando causa la **dimerizzazione/attivazione**
 - **RTPK** sono di **tre tipi** e agiscono in due modi: **1) fosforilando altre proteine** **2) autofosforilando** e creando **punti di ancoraggio per altre proteine**



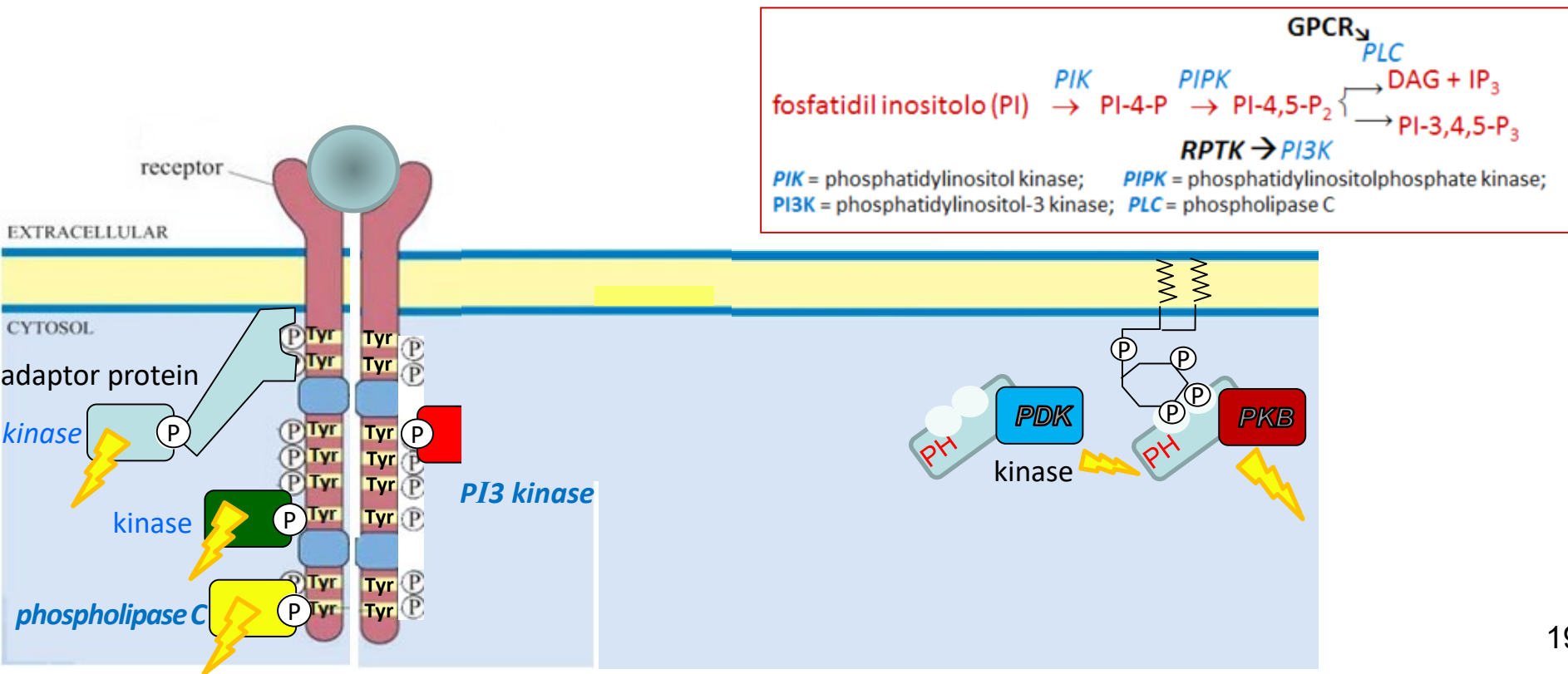
RECETTORI RTK a singola elica transmembrana

- **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

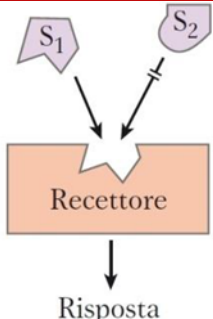
- i siti di autofosforilazione sono riconosciuti dai domini SH2 in vari tipi di proteine:
 - *Src homology domain 2* sono presenti in **proteine adattatrici**, **chinasi** o **lipasi**, che si legano al recettore e si attivano
 - Es. la **chinasi di tipo PI 3 (PI3K)**, si lega mediante un dominio SH2 aggiunge un fosfato al **fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato (PI-4,5-P₂)** producendo **PI-3,4,5-P₃ (3,4,5-trifosfato)**
 - queste ancora importanti chinasi con **dominio PH** (plekstrin homology) (es. **phosphatidylinositol-dependent kinase 1 (PDK1)** e **proteina chinasi B (PKB/Akt)**).



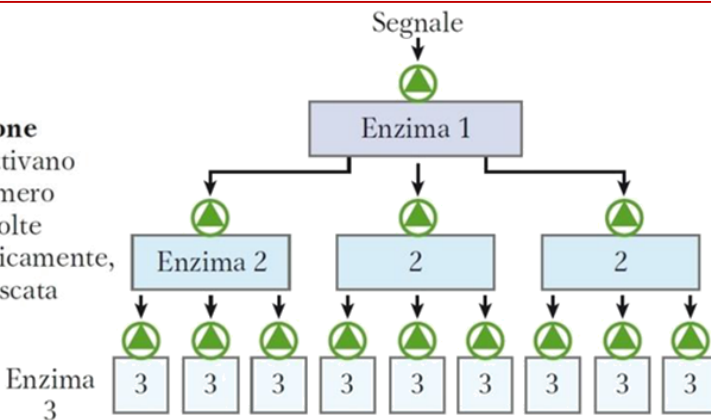
TRASDUZIONE DEL SEGNALE: NOTE RIASSUNTIVE

Sei caratteristiche fondamentali dei sistemi di trasduzione del segnale

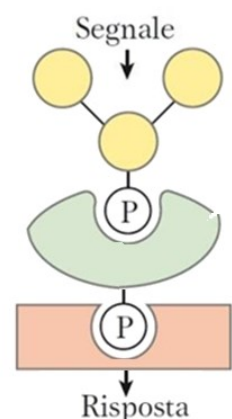
(1) Specificità
Alcune molecole segnale si legano a un sito complementare sul recettore; altre non possono invece adattarsi al sito.



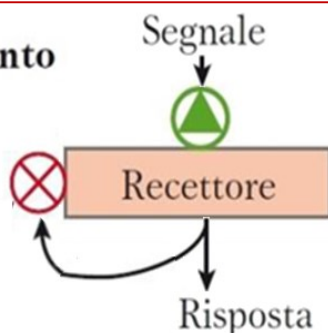
(2) Amplificazione
Quando enzimi attivano altri enzimi, il numero di molecole coinvolte aumenta geometricamente, generando una cascata enzimatica.



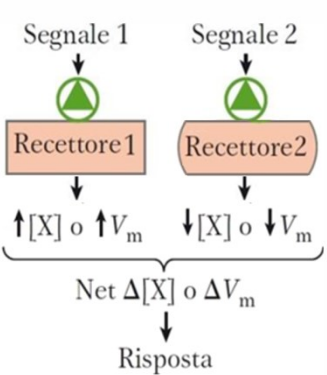
(3) Modularità
Le proteine con affinità polivalenti formano diversi complessi di segnalazione a partire da moduli tra loro intercambiabili. La fosforilazione fornisce punti di interazione reversibile.



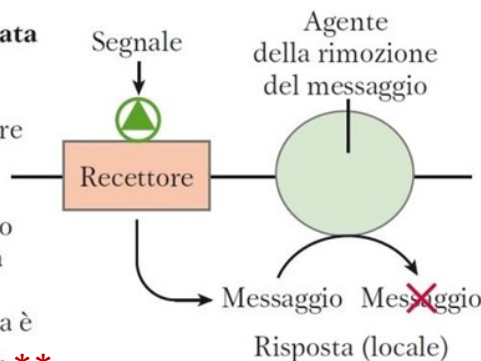
(4) Desensibilizzazione/adattamento
L'attivazione del recettore innesca un circuito retroattivo che spegne il recettore o lo rimuove dalla superficie cellulare.



(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.



(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