

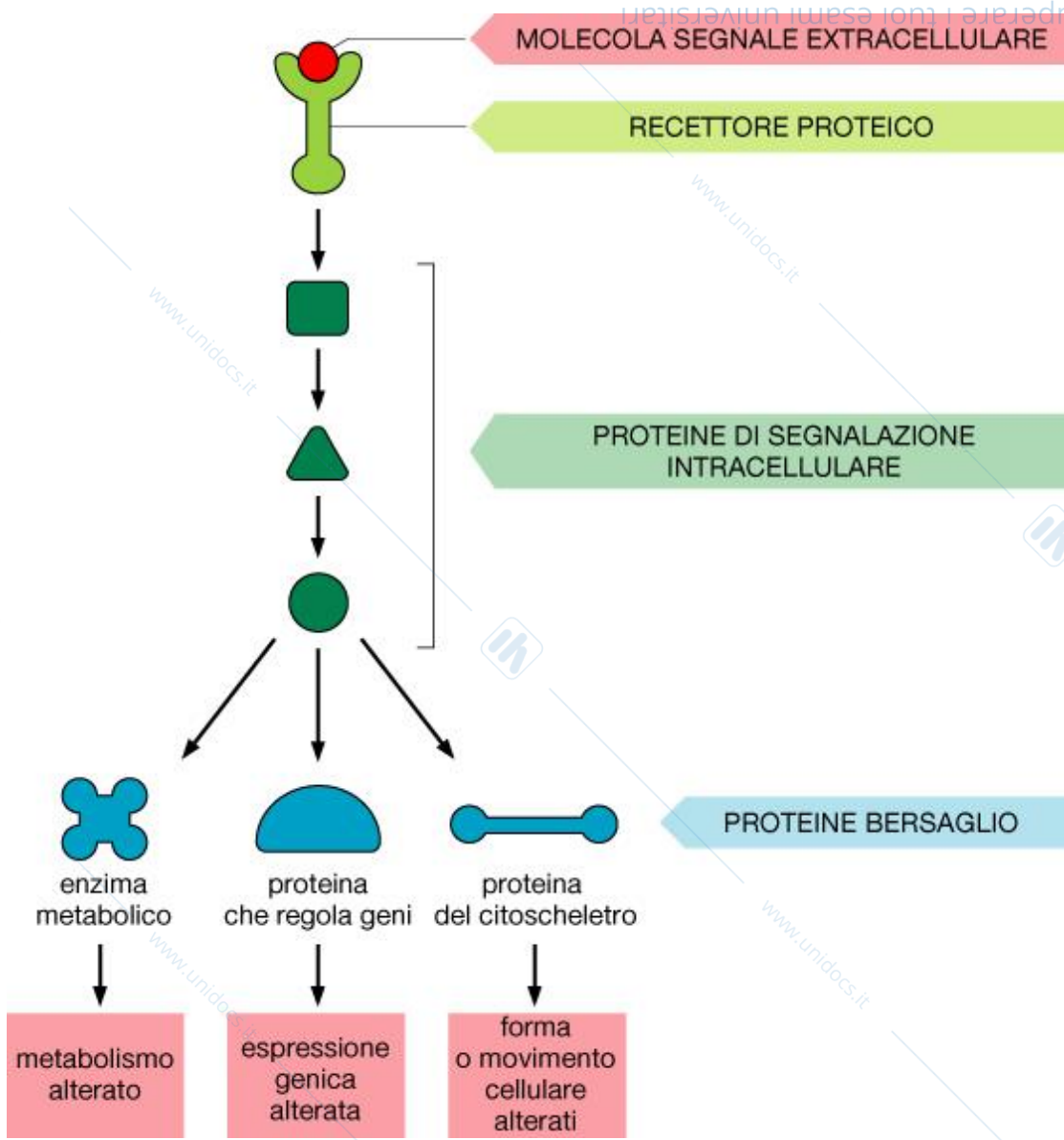
# La segnalazione intercellulare

- Gli organismi multicellulari si devono adattare ad un ambiente esterno che cambia continuamente. A tale scopo operano due sistemi, il **sistema nervoso** ed il **sistema endocrino**.
- Il **sistema nervoso** gestisce i segnali sotto forma di impulsi elettrici, è rapido ed è organizzato tramite nervi che portano i messaggi verso il centro o verso la periferia.
- Il **sistema endocrino** gestisce i segnali tramite prodotti chimici (ormoni), è più lento e la sua selettività consiste nella capacità di cellule bersaglio di riconoscere segnali molecolari a concentrazioni molto basse.

L'evoluzione degli organismi multicellulari dipende dalla capacità delle cellule di comunicare una con l'altra.

La comunicazione intercellulare regola lo sviluppo e l'organizzazione dei tessuti, controlla la crescita e la divisione cellulare, la loro sopravvivenza e coordina le diverse attività cellulari.

La comunicazione intercellulare negli animali superiori è complessa, suggerendo che molti geni in questi organismi siano coinvolti nel suo controllo e coordinazione.



## Una semplice via di Segnalazione intracellulare attivata da una molecola Segnale extracellulare

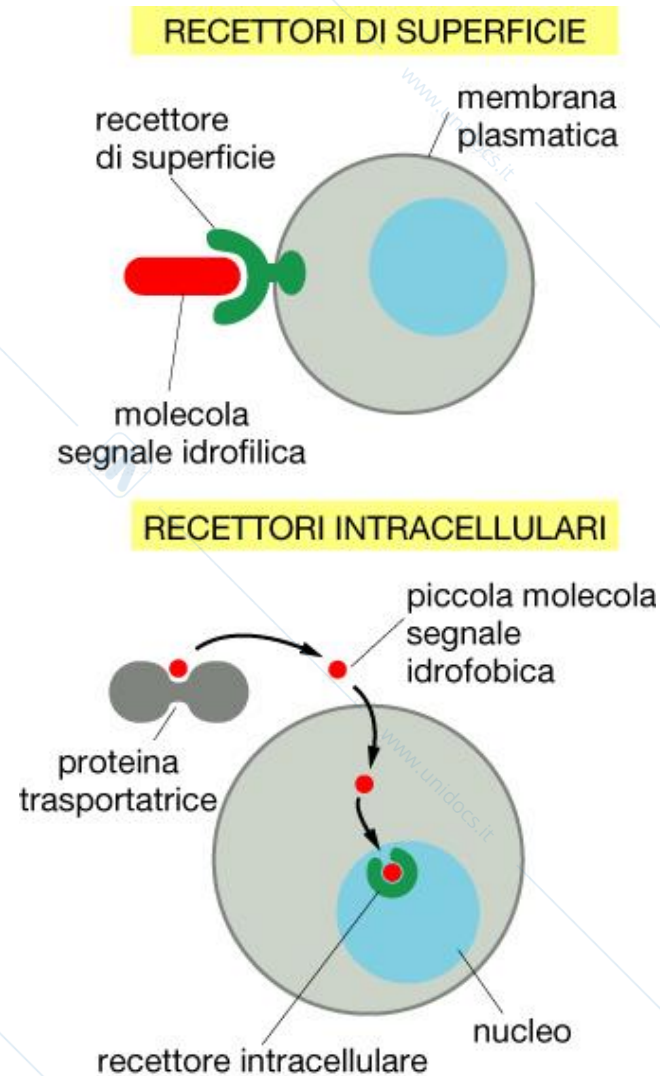
La molecola segnale lega una proteina recettore (che normalmente si trova inserita nella membrana plasmatica), attivando una via di trasduzione del segnale intracellulare che è mediata da una serie di proteine segnale. Infine, una o più di queste proteine segnale interagisce con una proteina bersaglio (o proteina target), alterando la proteina bersaglio e promuovendo il cambiamento del comportamento della cellula

Le molecole segnale possono essere:

**Idrosolubili:** tutti i neurotrasmettitori, la maggior parte degli ormoni e dei mediatori chimici locali.

Sono idrofilici per cui non possono attraversare la membrana plasmatica e interagiscono quindi con le cellule rimanendo all'esterno legandosi a recettori di superficie.

**Liposolubili:** gli ormoni steroidei sono idrofobici ed attraversano il doppio strato lipidico, legandosi a recettori intracellulari.



# **Le molecole di segnalazione si legano a recettori specifici extra ed intracellulari**

## **MOLECOLE SEGNALE**

### **ORMONI**

**Derivati degli aa, STEROIDI, POLIPEPTIDI**

- secreti da ghiandole endocrine
- trasportati dal sangue
- i tessuti bersaglio sono lontani
- vita media breve

### **MEDIATORI LOCALI**

**PROTEINE (fattori di crescita, citochine),**

**PROSTANOIDI, derivati degli aa, gas in soluzione**-(muscoli o ghiandole)

**(ossido nitrico NO)**

- secreti da molti tipi di cellule
- i tessuti bersaglio sono vicini
- molto labili

### **NEUROTRASMETTITORI**

**AMMINOACIDI e derivati, ACETILCOLINE, PEPTIDI,**

**Monoammine**

- secreti da cellule neuronali a livello delle sinapsi

-le cellule bersaglio sono neuronali o non-neuronali

-(muscoli o ghiandole)

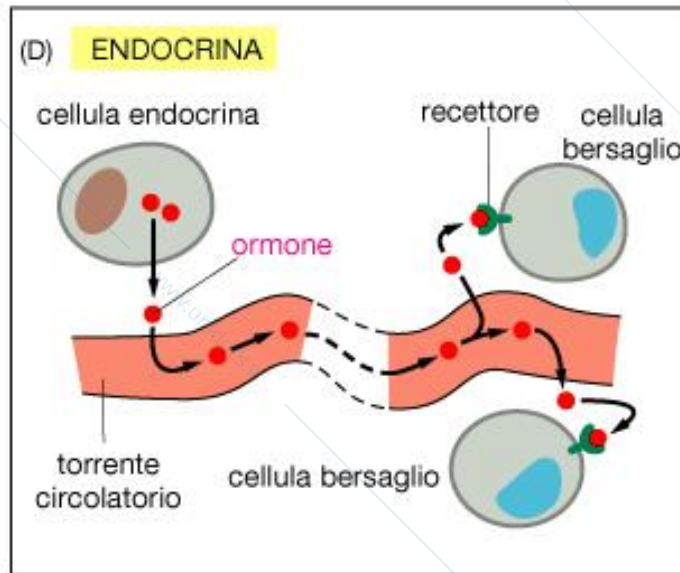
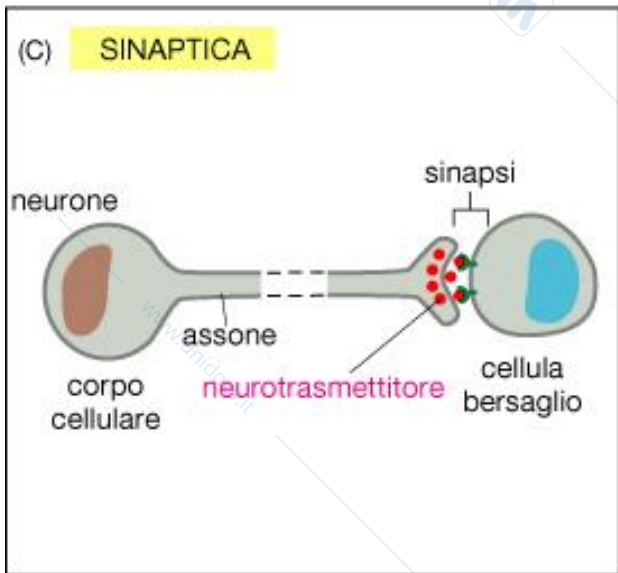
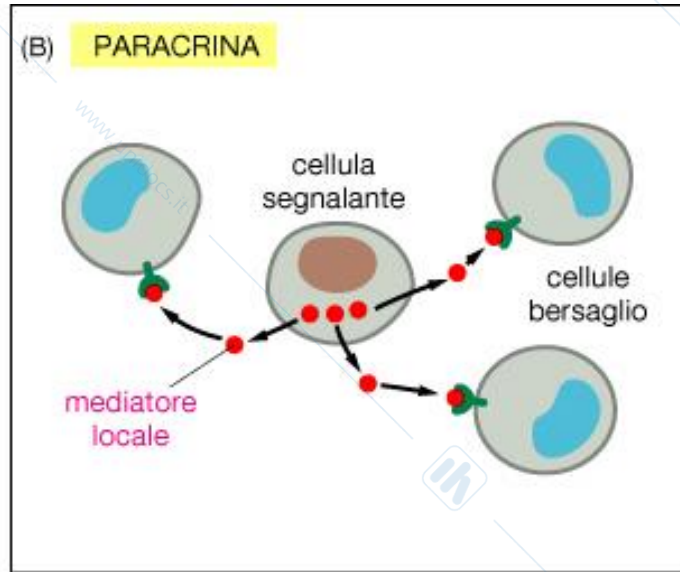
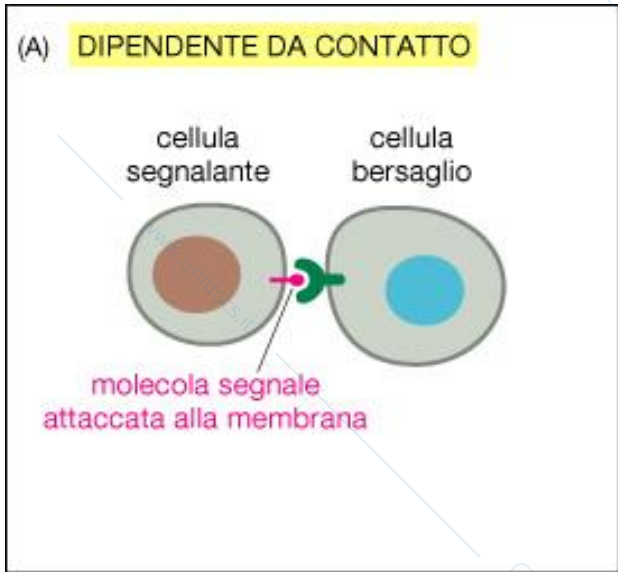
- vita media (spazio sinaptico) molto breve

### **FEROMONI**

**PEPTIDI (lievito), EICOSANOIDI, ALCOLI di carboidrati**

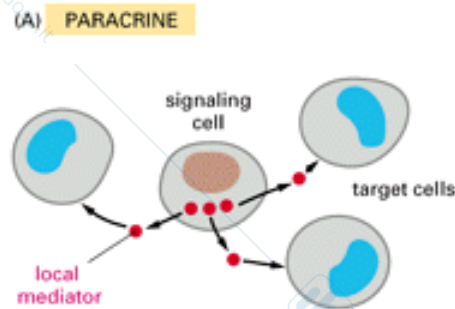
**a lunga catena (insetti)**

- utilizzati nella comunicazione tra cellule di organismi diversi della stessa specie

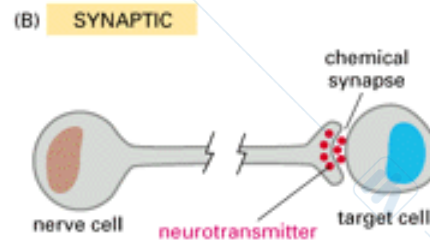


Le  
molecole  
segnale  
extracellulari  
possono  
agire su  
distanze  
brevi e  
lunghe

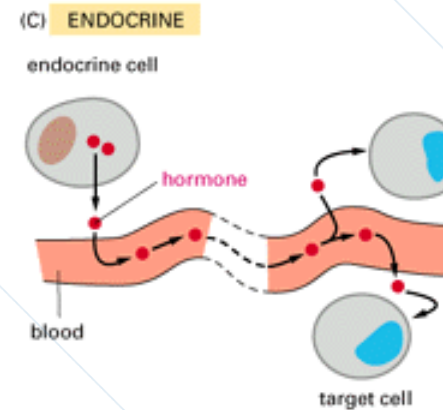
# Tre strategie di segnalazione chimica: paracrina, sinaptica ed endocrina



Molte cellule secernono una o più molecole segnale, che funzionano come **mediatori chimici locali**

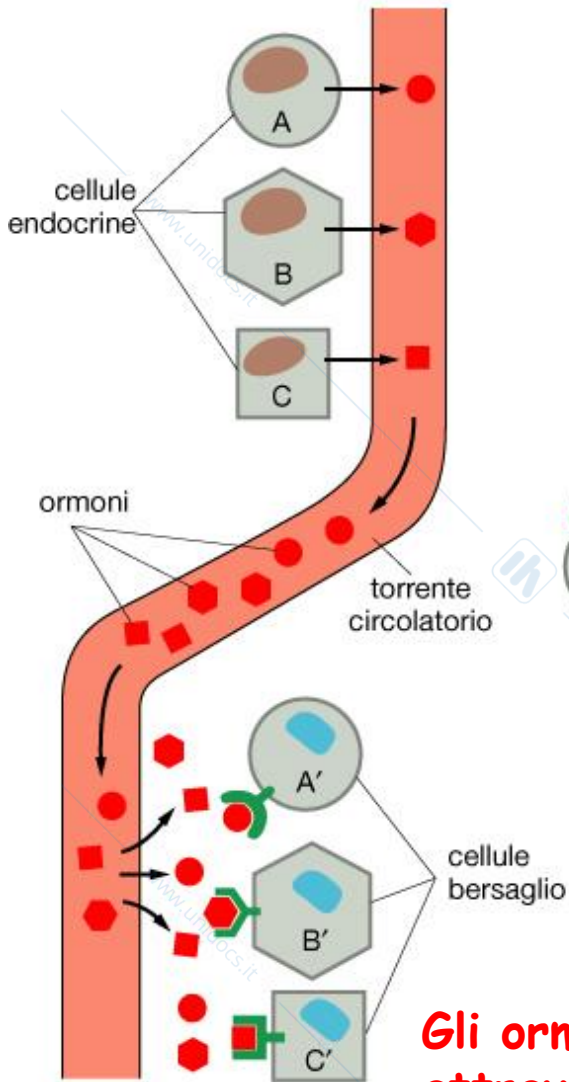


Le cellule nervose secernono i **neurotrasmettitori**, mediatori chimici a corto raggio, che agiscono nelle sinapsi

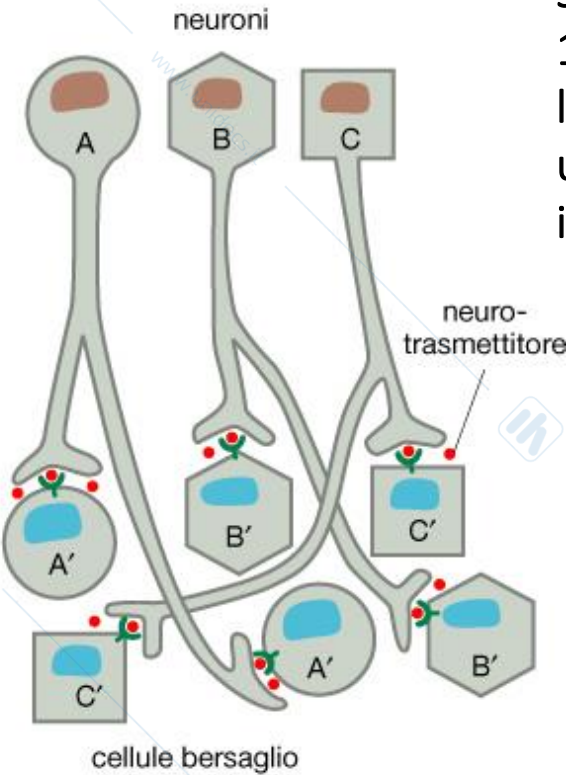


Le cellule endocrine secernono gli **ormoni** che influenzano cellule bersaglio anche molto lontane

(A) SEGNALAZIONE ENDOCRINA



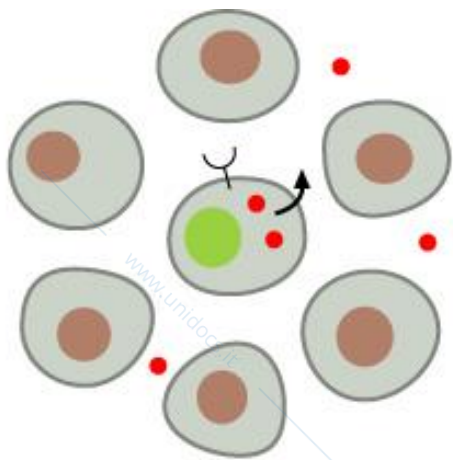
(B) SEGNALAZIONE SINAPTICA



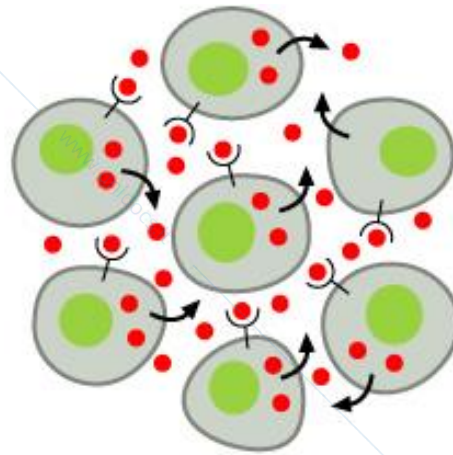
I neurotrasmettitori si riversano nelle sinapsi a concentrazioni elevate ( $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ). Ciò implica una minore affinità ligando-recettore e di conseguenza una rapida trasmissione ed interruzione di una risposta.

E' una via più veloce e precisa

**Gli ormoni diffondono a lunga distanza attraverso il sangue, dove si diluiscono. Agiscono a bassa concentrazione ( $10^{-8} \text{ M}$ ). Pertanto esiste una elevata affinità ligando-recettore .**



UNA SINGOLA CELLULA SEGNALANTE RICEVE UN DEBOLE SEGNALE AUTOCRINO



IN UN GRUPPO DI CELLULE SEGNALANTI IDENTICHE, CIASCUNA CELLULA RICEVE UN FORTE SEGNALE AUTOCRINO

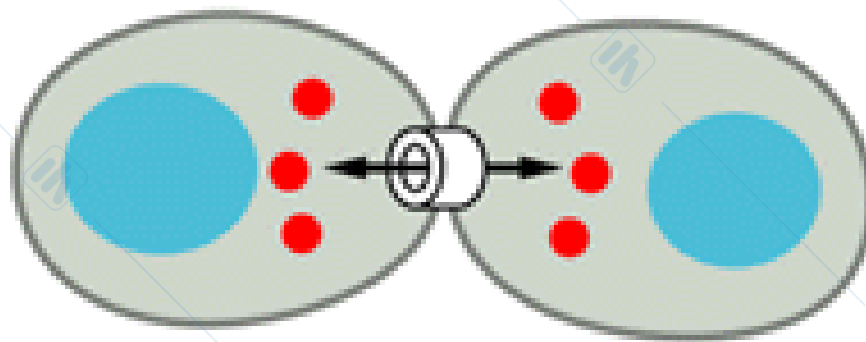
## Segnalazione autocrina

*Comunicazione tra cellule della stessa linea che tende a potenziarne le risposte a un determinato stimolo. Tramite l'emissione di tali segnali è anche possibile che una singola cellula incrementi l'intensità delle proprie risposte.*

Aspetti positivi: **Potenziamento del differenziamento**. La segnalazione autocrina è più efficace quando eseguita da più cellule dello stesso gruppo.

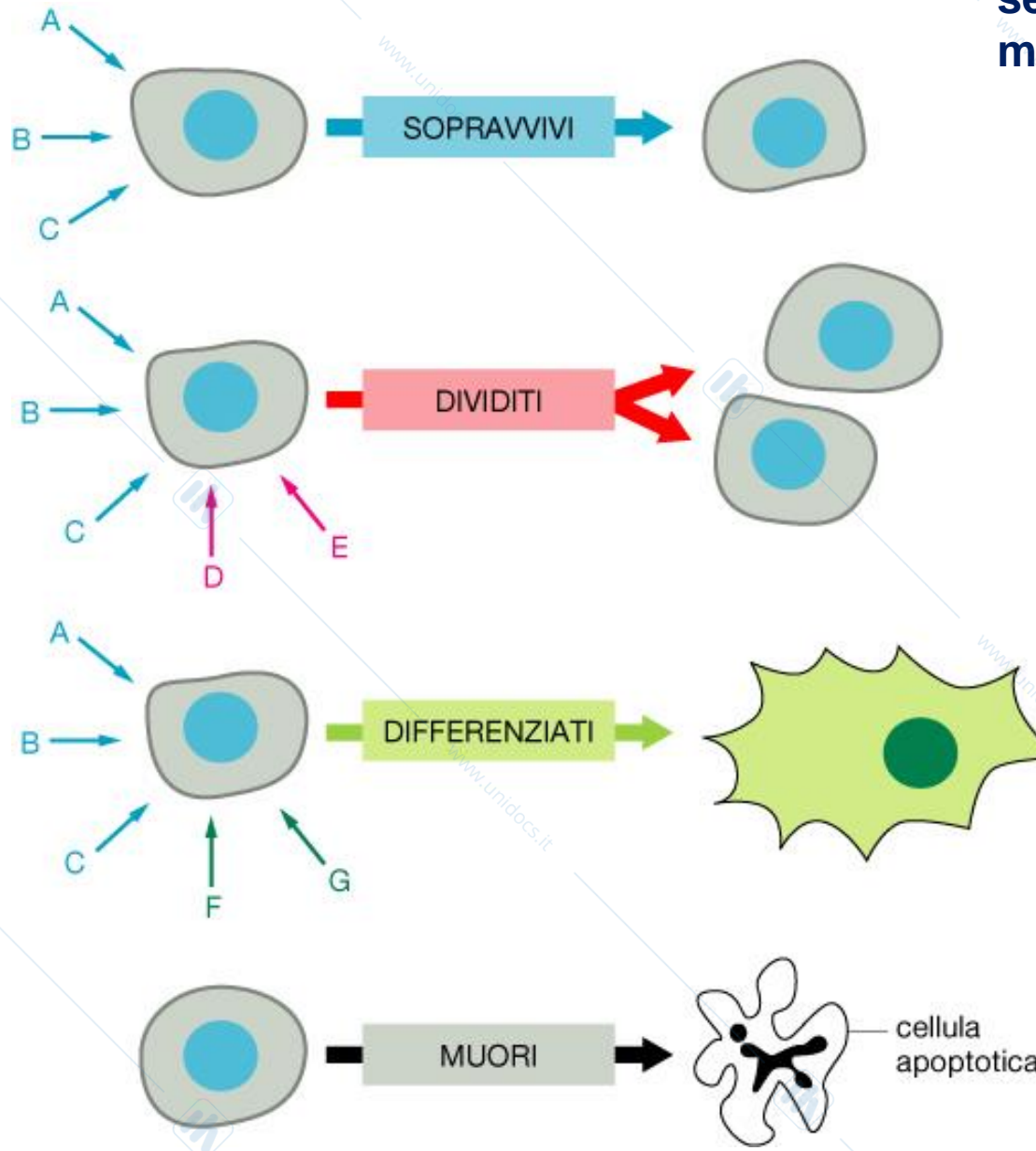
Aspetti negativi: Le cellule cancerose usano la segnalazione autocrina per superare i normali controlli della proliferazione e della sopravvivenza cellulare

# La segnalazione attraverso le giunzioni strette: esempio di segnalazione "diretta"

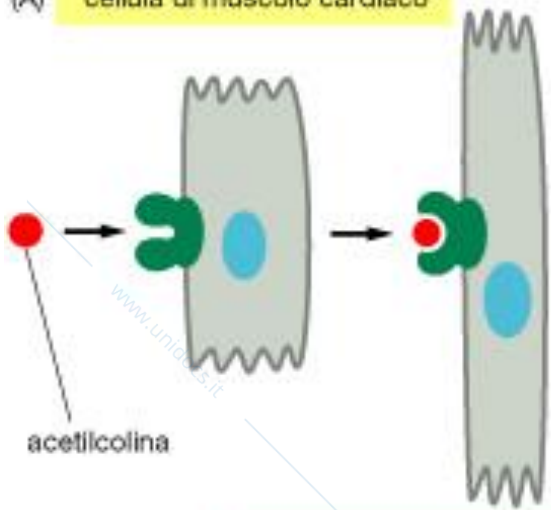


**Ciascuna cellula è programmata per rispondere a combinazioni specifiche di segnali extracellulari**

**Dipendenza di una cellula animale da segnali extracellulari multipli**

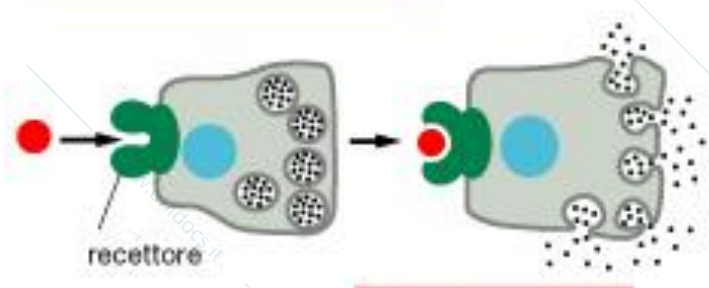


(A) cellula di muscolo cardiaco



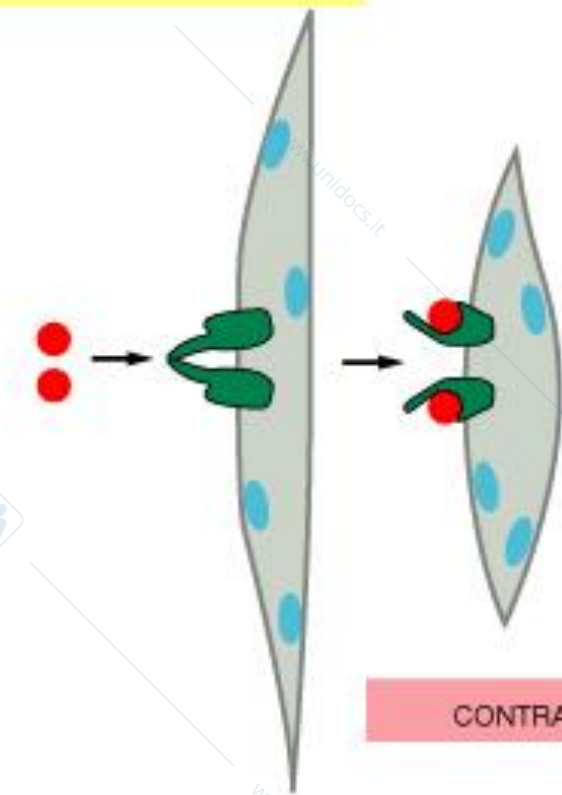
RITMO E FORZA DI CONTRAZIONE DIMINUITI

(B) cellula di ghiandola salivare



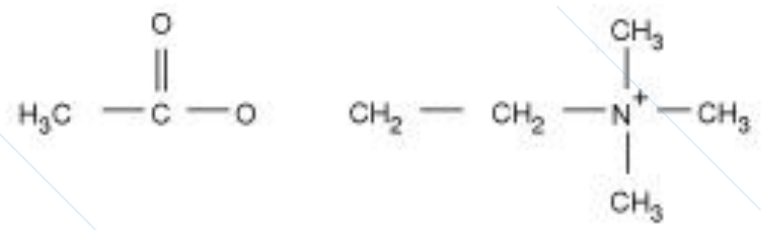
SECREZIONE

(C) cellula di muscolo scheletrico



CONTRAZIONE

(D) acetilcolina



**Varie risposte indotte dal neurotrasmettitore Acetilcolina.  
 Tipi cellulari diversi rispondono all'acetilcolina in modo diverso**

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari



A partire dalla fine degli anni '70 del XX secolo fu scoperto che l'ossido nitrico svolgeva nel nostro organismo un ruolo quale mediatore intracellulare; grazie a tale scoperta, Luis Ignarro, un biochimico statunitense, vinse nel 1998 il premio Nobel per la Medicina (nel 1979 Ignarro pubblicò il primo lavoro sulla capacità dell'ossido nitrico di rilassare le cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni). Nel nostro organismo l'ossido nitrico viene prodotto durante il processo di conversione dell'arginina in citrullina grazie all'azione delle ossido nitrico sintasi (NOS).

Alcuni farmaci (.....) permettono di aumentare l'apporto di ossido nitrico, di rilassare i muscoli e di migliorare il flusso di sangue in alcuni organi. La nitroglicerina trasformata in NO rilassa i vasi sanguigni riducendo il carico del cuore.

La capacità di una cellula di rispondere alle molecole segnale dipende dal fatto se possiede o meno un “**recettore**”, cioè una proteina che riconosce e si lega alla molecola segnale.

Le molecole segnale che funzionano a basse concentrazioni ( $10^{-8}$  M), hanno recettori che li legano ad alta affinità, mentre i neurotrasmettitori ( $10^{-4}$  M) hanno recettori a bassa affinità.

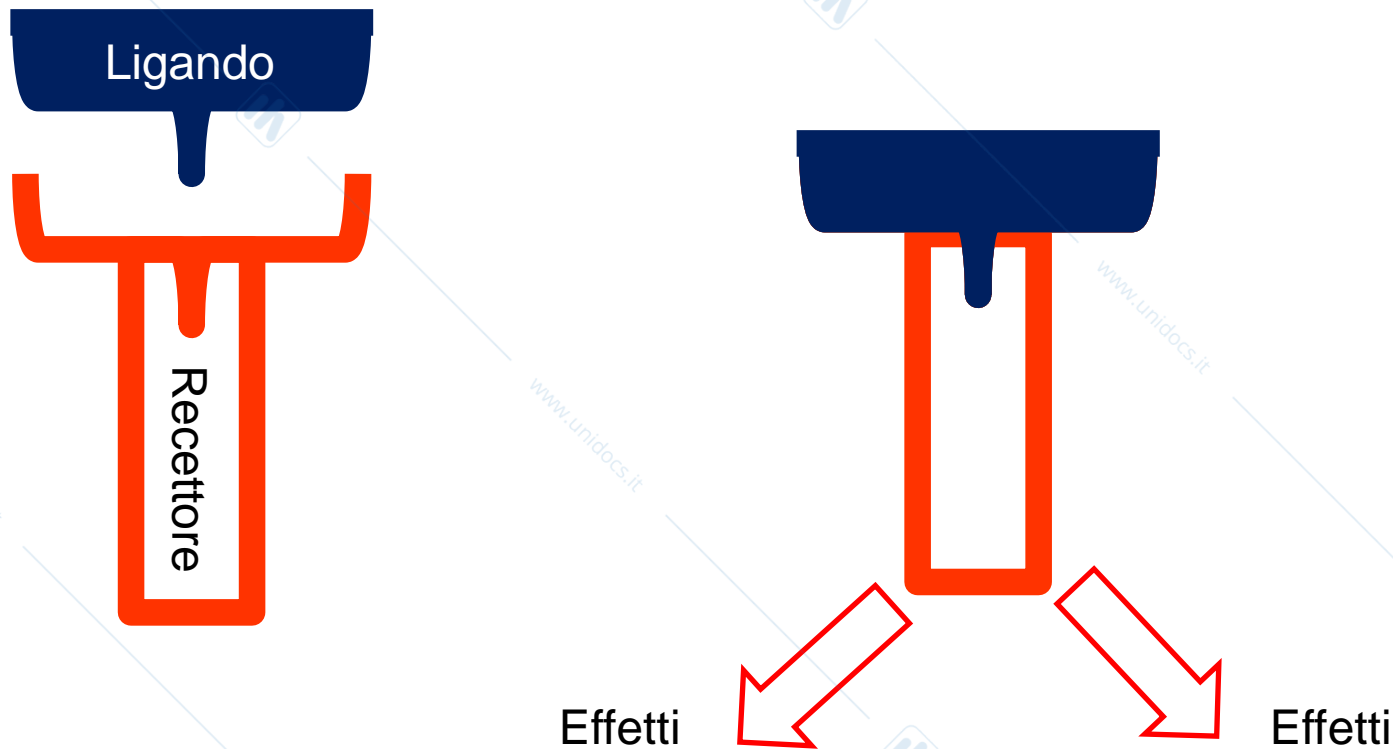
Esistono recettori specifici per ogni molecola segnale.

Ogni cellula, a seconda del suo stato di differenziamento, possiede uno specifico set di recettori per rispondere ai segnali che sono necessari per le sue funzioni.

Le **molecole segnale idrofiliche** hanno **recettori di superficie**, mentre quelli **lipofiliche** hanno **recettori intracellulari**.

L'interazione tra le molecole segnale ed i loro recettori impone cambiamenti conformazionali ai recettori che subiscono transizioni allosteriche.

L'interazione molecola segnale-recettore scatena una cascata di segnali intracellulari.



**Molecola segnale - recettore**

**Cambiamento allosterico**



**Attivazione della segnalazione (ad esempio fosforilazione)**



**Risposte intracellulari (messaggeri secondari)**



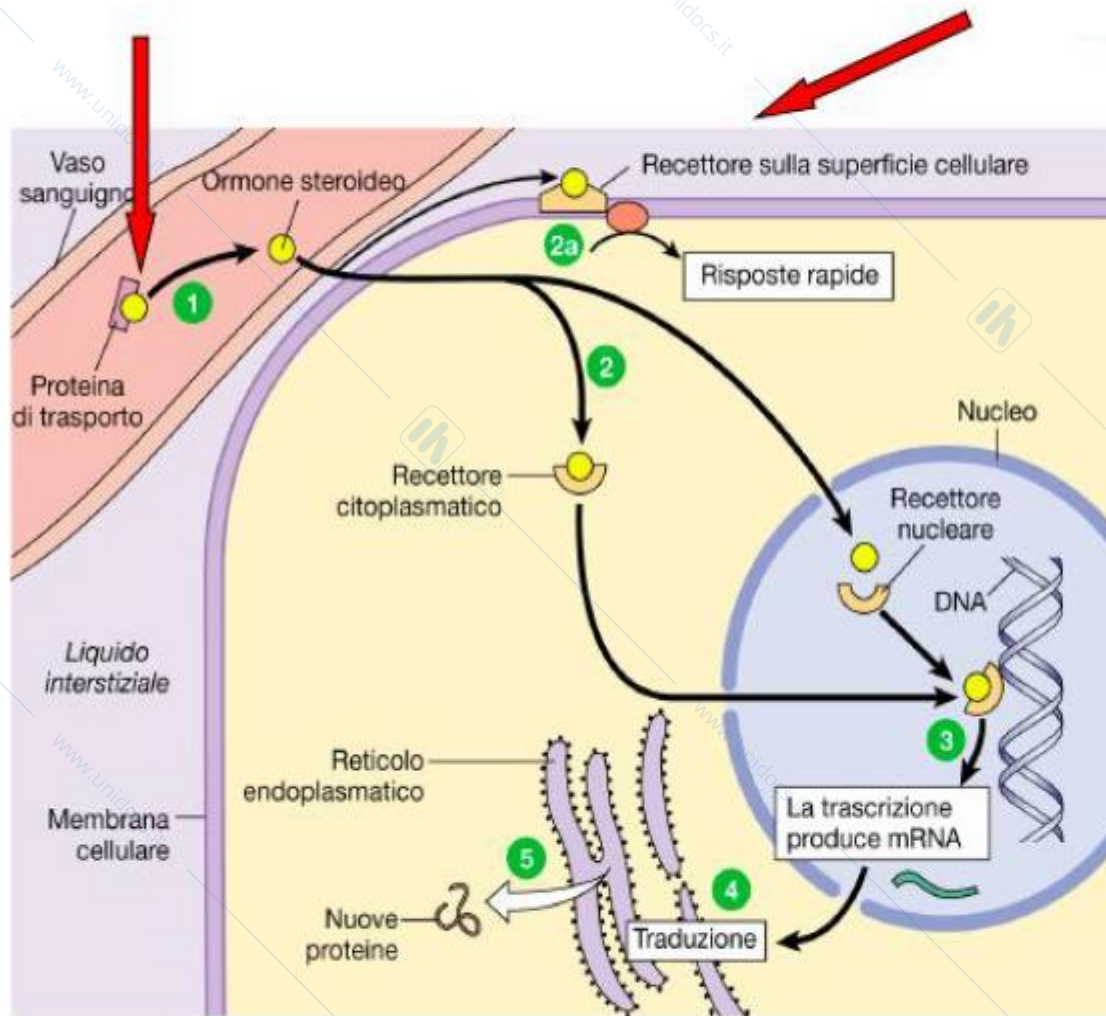
- 1) Modificazione del metabolismo**
- 2) Attivazione della trascrizione genica**

# Recettori intracellulari

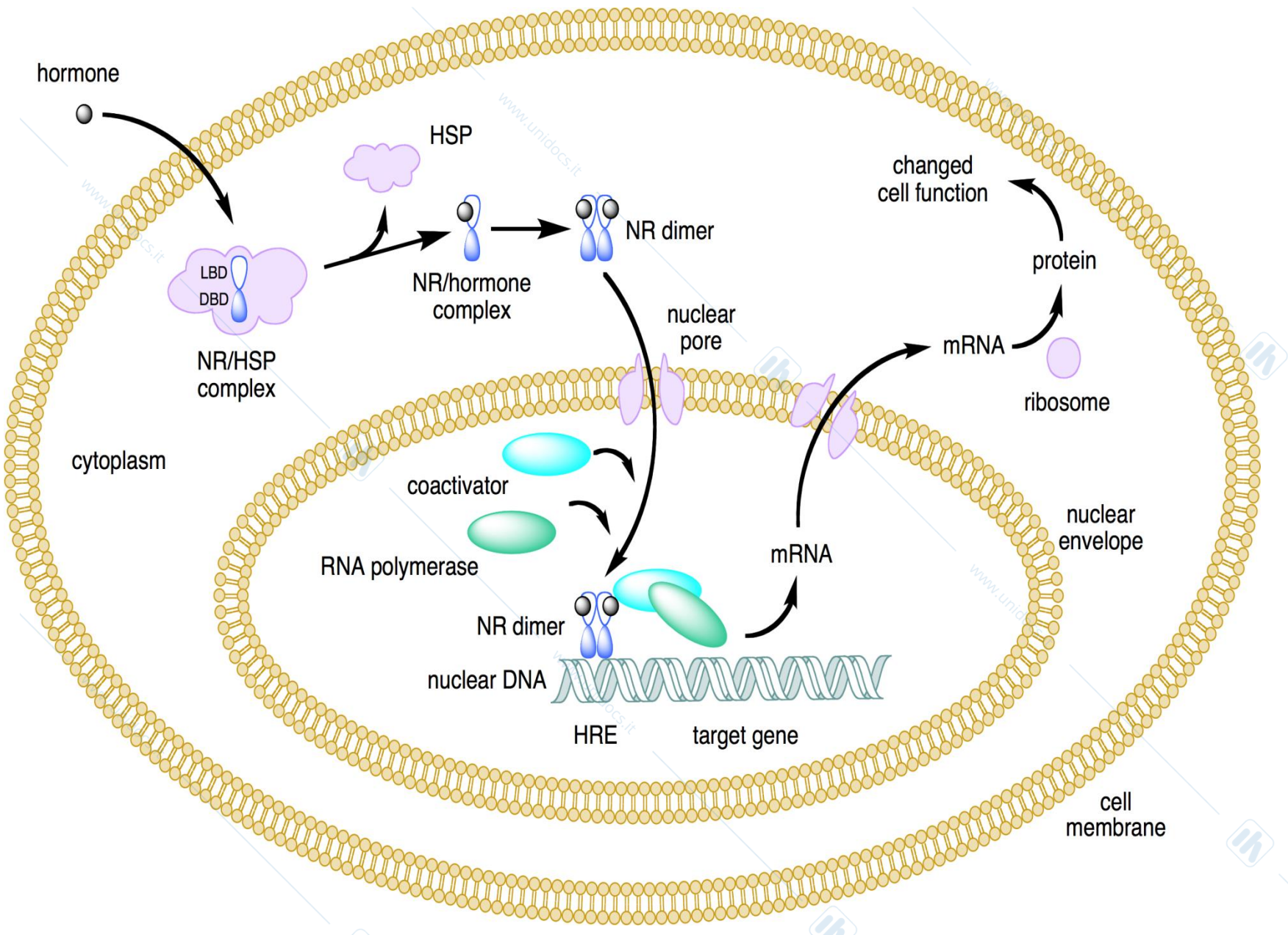
## Famiglia dei recettori per ormoni steroidei

- Recettore per glucocorticoidi (GR), mineralcorticoidi (MR), androgeni (AR), progesterone (PR)
- *in condizioni di base:*
  - GR, MR, AR e PR hanno **localizzazione citoplasmatica**
  - sono complessati con le "heat shock proteins"
- *dopo il legame dello steroide:*
  - le "heat shock proteins" si dissociano
  - → viene esposta una regione recettoriale che possiede un segnale di traslocazione nucleare
  - → il recettore si localizza nel nucleo della cellula
  - attraverso "zinc finger motifs", il recettore interagisce con specifiche sequenze di DNA
  - → attivazione della trascrizione genica
- GR, MR, PR, AR → HRE (Hormone Response Element)
- ER → ERE
- recettore per vit. D, recettore per ormone tiroideo, recettore per ac. retinoico → TRE
- specificità dell'azione ormonale determinata da sequenze di DNA addizionali

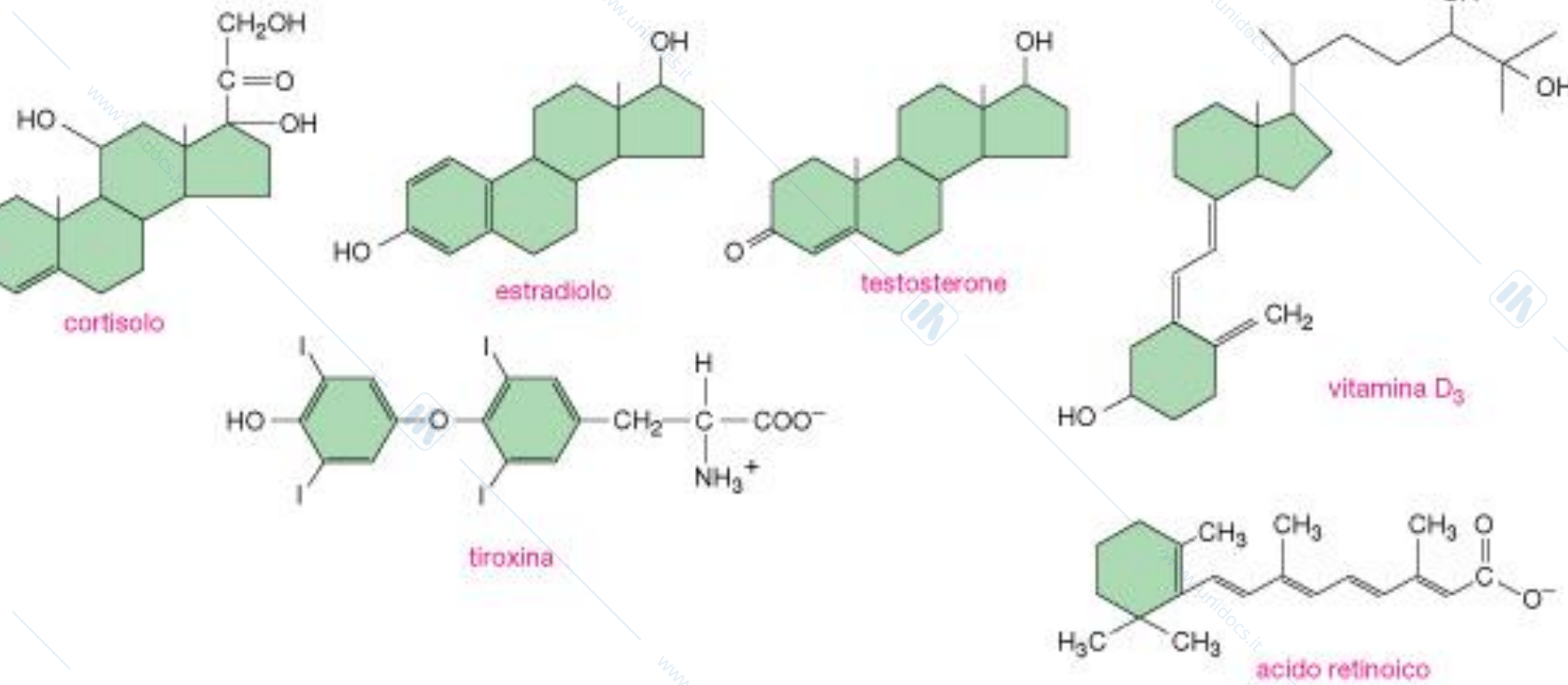
# MECCANISMO D'AZIONE DI UN ORMONE STEROIDEO



- 1 La maggior parte degli steroidi idrofobi è legata a proteine di trasporto nel plasma. Solo l'ormone libero può diffondere nella cellula bersaglio.
- 2 I recettori degli ormoni steroidei sono localizzati tipicamente nel citoplasma o nel nucleo.
  - 2a Alcuni ormoni steroidei si legano anche a recettori di membrana che attivano sistemi di secondi messaggeri, producendo risposte cellulari rapide.
- 3 Il complesso recettore-ormone si lega al DNA e attiva o reprime la trascrizione di uno o più geni.
- 4 I geni attivati sono trascritti a nuovo mRNA che diffonde nel citoplasma.
- 5 La traduzione produce nuove proteine per processi cellulari.

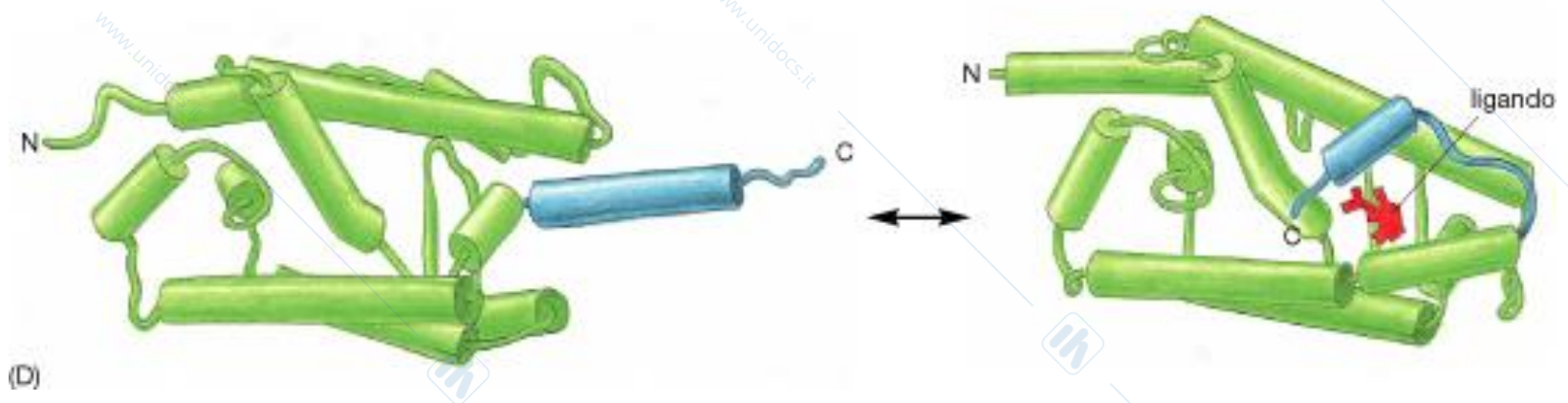
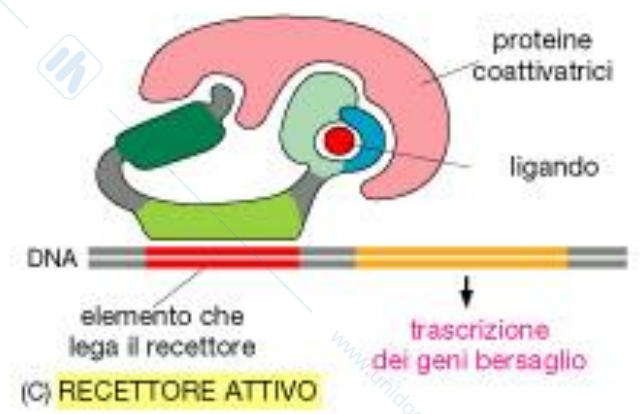
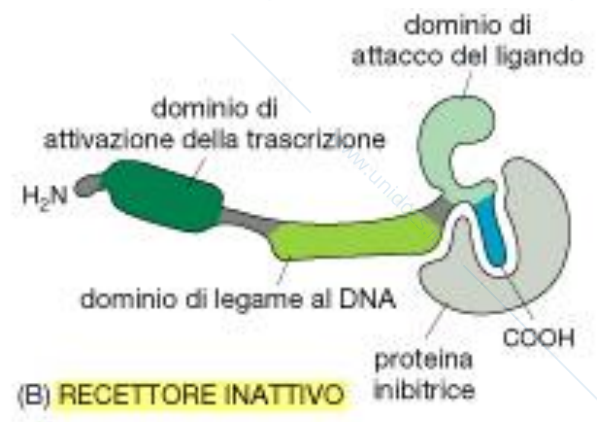
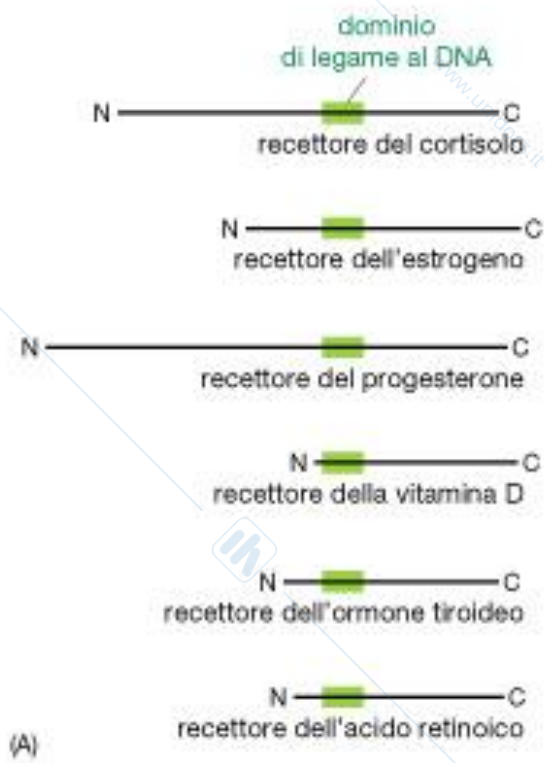


# I recettori nucleari sono proteine che regolano geni attivate da ligando



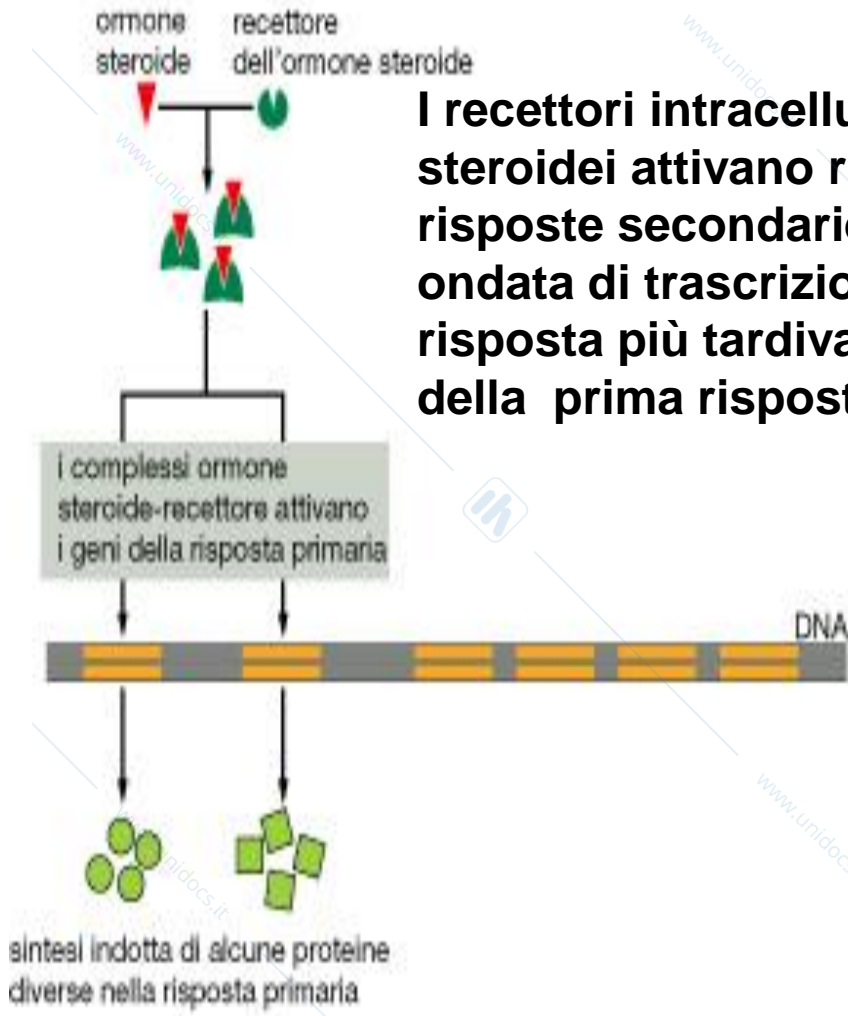
Alcune molecole di segnalazione che si legano a recettori nucleari

# Superfamiglia dei recettori nucleari

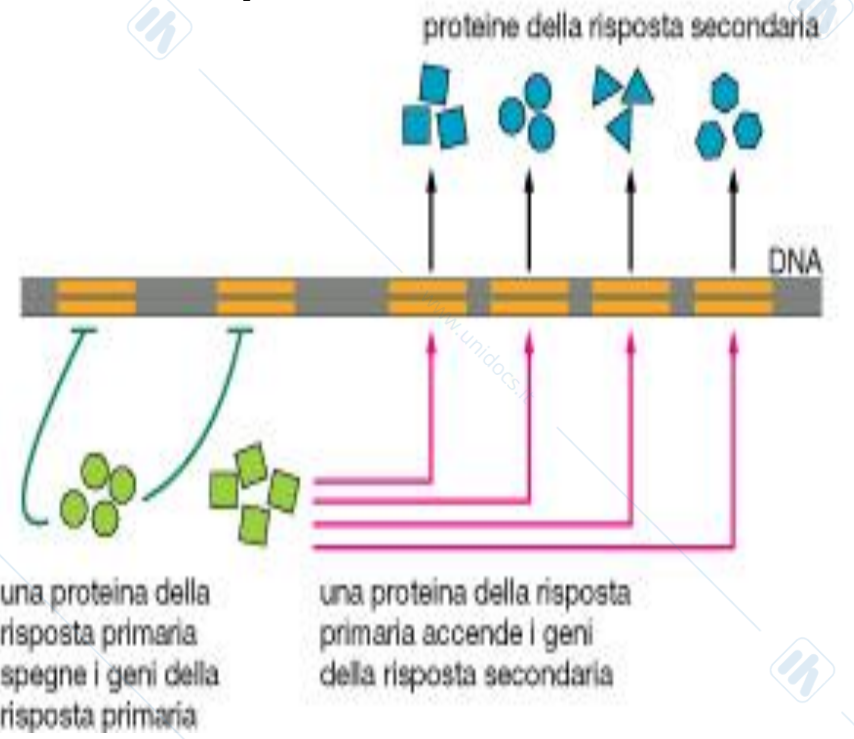


**(A) RISPOSTA PRIMARIA PRECOCE ALL'ORMONE STEROIDE**

**(B) RISPOSTA SECONDARIA RITARDATA ALL'ORMONE STEROIDE**

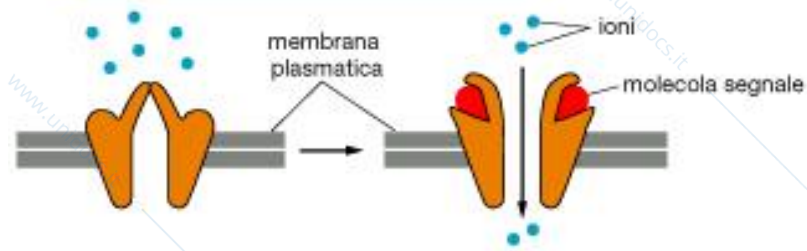


**I recettori intracellulari degli ormoni steroidei attivano risposte primarie e risposte secondarie: ad una prima ondata di trascrizione segue una risposta più tardiva, indotta dai prodotti della prima risposta.**

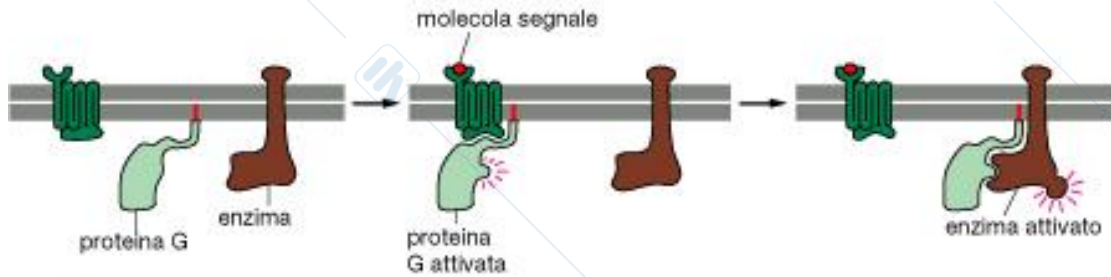


# Le principali classi di recettori di membrana

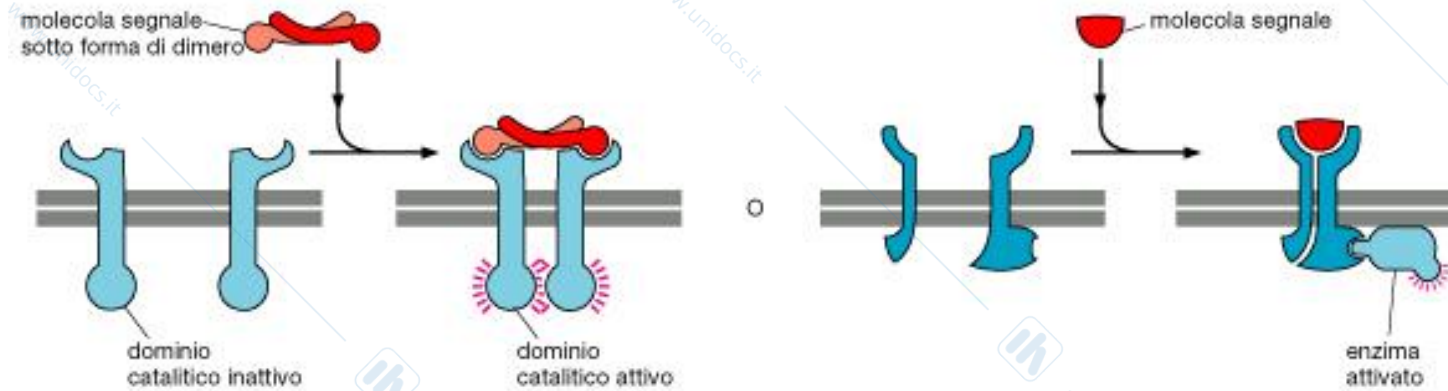
(A) RECETTORI COLLEGATI A CANALI IONICI



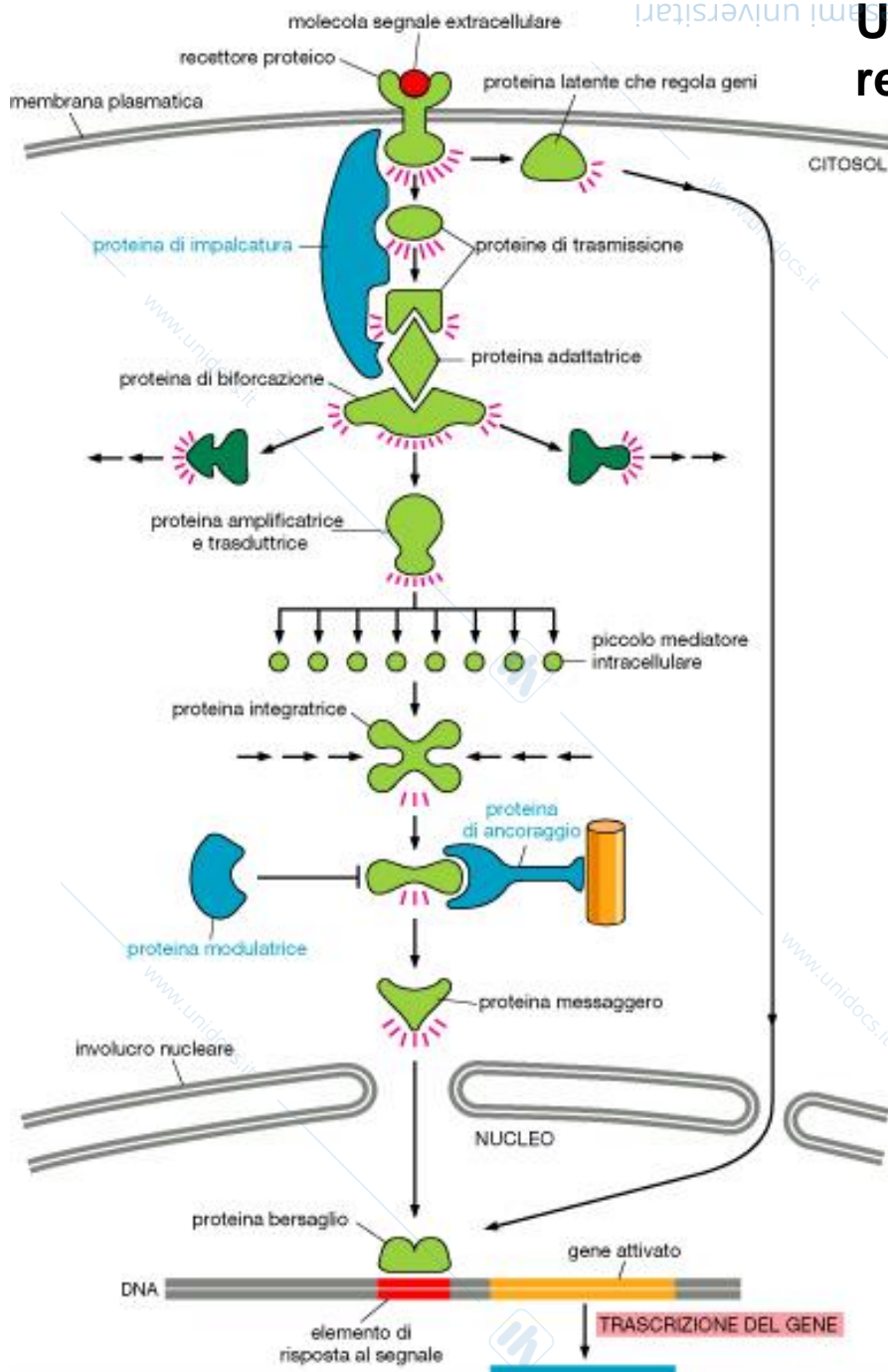
(B) RECETTORI COLLEGATI A PROTEINE G



(C) RECETTORI COLLEGATI AD ENZIMI



# Una via di trasduzione del segnale dal recettore di membrana fino al nucleo

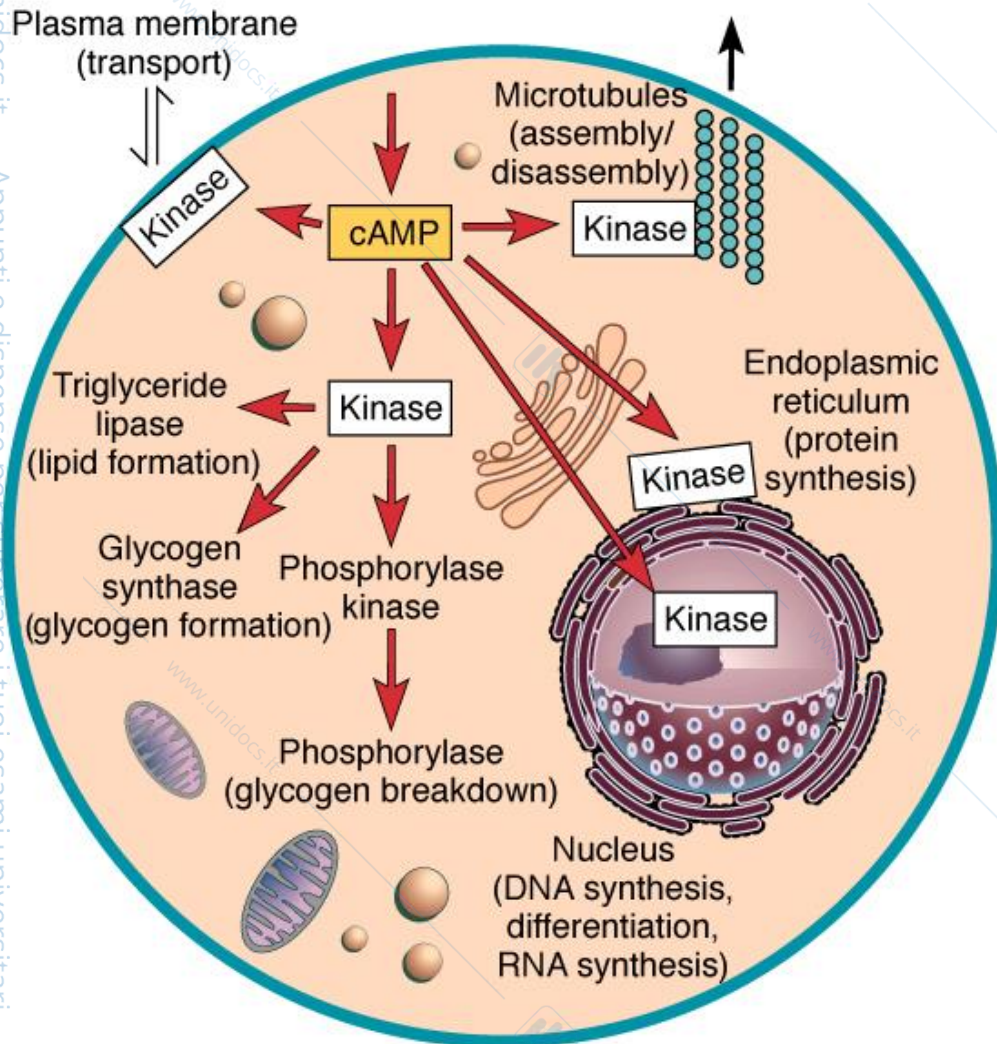


Diversi tipi di **proteine segnalatrici intracellulari sono** utilizzate lungo la via di trasduzione del segnale dal recettore di membrana fino al nucleo. In questo esempio, **una serie di proteine e piccoli mediatori intracellulari trasmettono il segnale extracellulare all'interno della cellula, causando un cambiamento nell'espressione genica.**

Il segnale è amplificato, alterato (**trasdotto**), e distribuito lungo la via. Molti di questi passaggi possono essere modulati da altri segnali extra o intra-cellulari, in modo tale che il risultato finale di un segnale dipende da altri fattori che influenzano la cellula (v.integrazione). Infine, la via di trasduzione del segnale attiva (o inibisce) proteine bersaglio che modificano il comportamento della cellula. In questo esempio il target è una proteina che regola l'espressione genica.

**Nella cellula IL SEGNALE e'  
propagato da  
molecole segnalatrici fino a  
PROTEINE TARGET  
da PICCOLE molecole segnalatrici  
INTRACELLULARI  
detti **SECONDI MESSAGGERI**  
(es. cAMP, Ca<sup>++</sup>, DAG),  
grazie all'azione dell'  
**ADENILATO CICLASI** e della  
**Fosfolipasi C****

La formazione di cAMP a partire dall'ATP è catalizzata dall'enzima **adenilato ciclasi**, presente nella membrana plasmatica. Questo enzima viene attivato solo dopo il legame del recettore con un mediatore chimico specifico



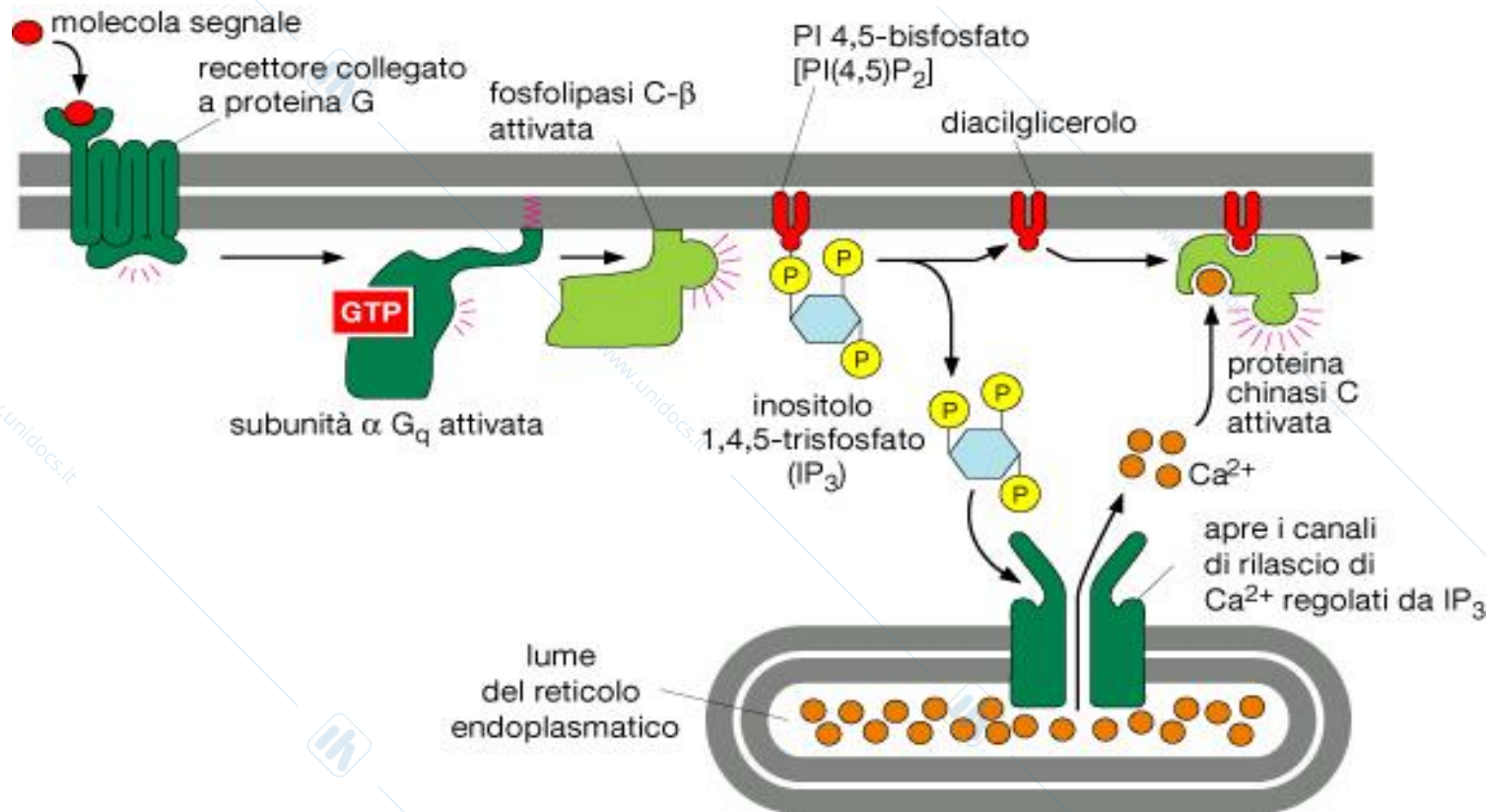
L'adenosin mono- fosfato ciclico (cAMP), è un esempio di secondo messaggero molto utilizzato nelle cellule.

Il cAMP attiva diverse chinasi in grado di iniziare processi cellulari differenti

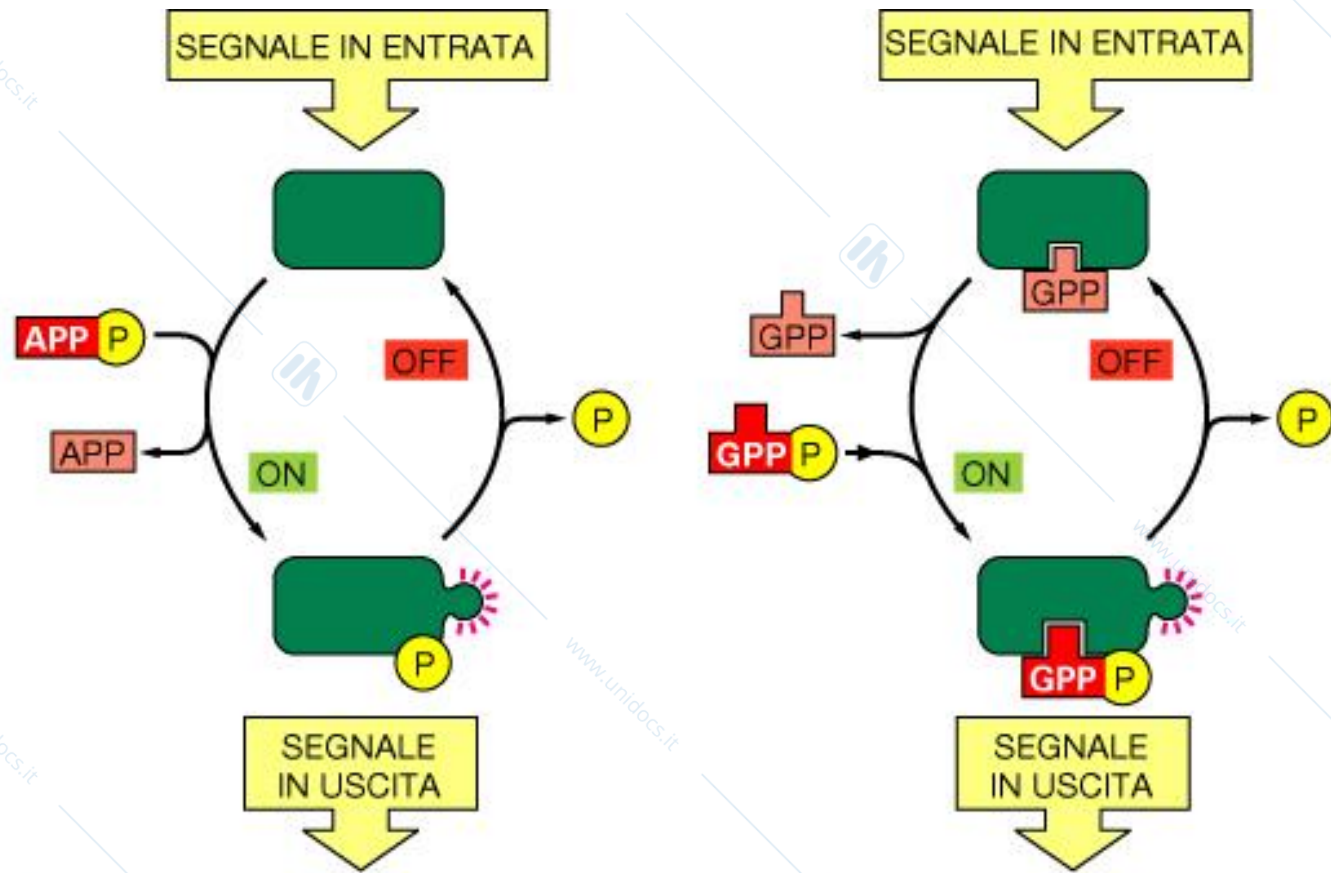
## Azione della Fosfolipasi C

**IP<sub>3</sub>** è una piccola molecola solubile in acqua che lascia la membrana plasmatica e diffonde rapidamente nel citosol, dirigendosi verso il ER dove si lega a recettori per IP<sub>3</sub>. Questo recettore è un canale tetramerico del Ca<sup>++</sup>

**Diacilglicerolo** resta immerso nella membrana e va ad attivare una proteina chinasi C (PKC), Calcio-dipendente. L'aumento di Ca<sup>++</sup> citosolico indotto da IP<sub>3</sub> è essenziale per l'attivazione di PKC. PKC attivata fosforila proteine bersaglio tessuto-specifiche. La PKC svolge ruoli importanti nella crescita, differenziamento, metabolismo, attivazione della trascrizione.



# Alcune proteine di segnalazione agiscono come interruttori molecolari



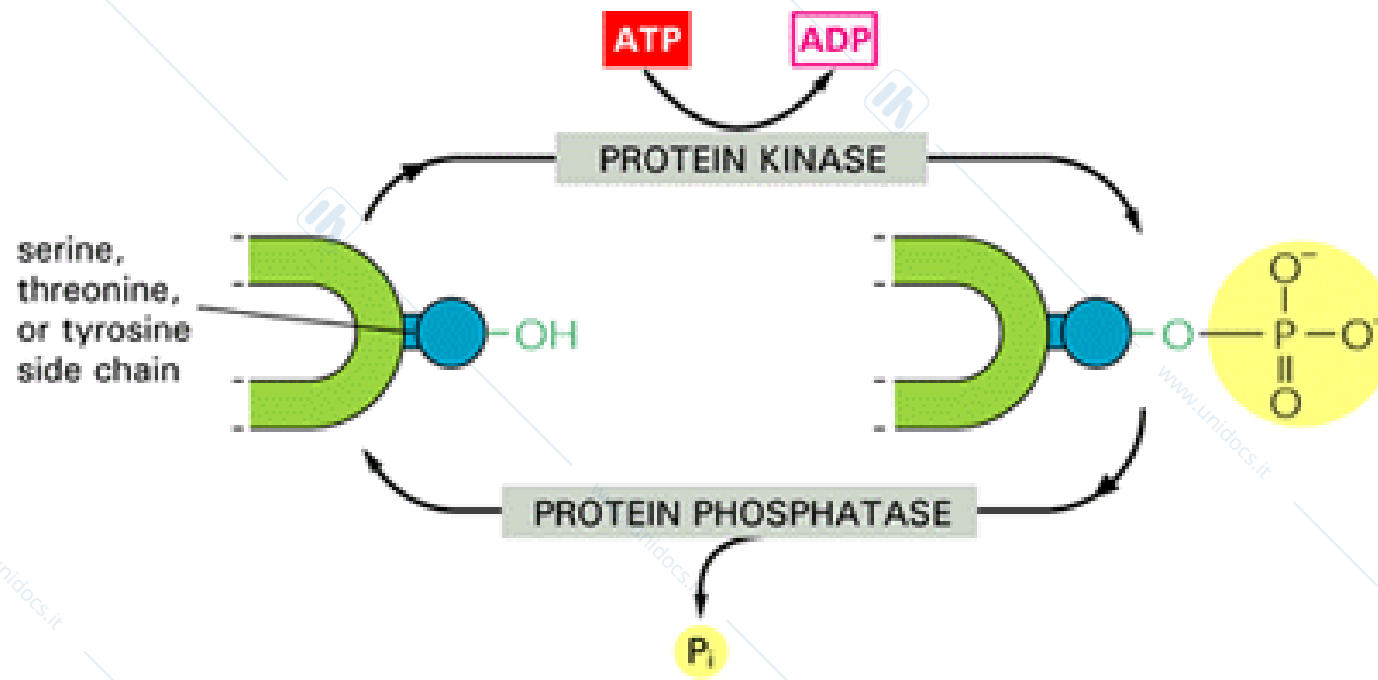
(A) SEGNALE PER FOSFORILAZIONE

(B) SEGNALE DA PARTE DI PROTEINA CHE LEGA IL GTP

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

# La fosforilazione può avvenire sul gruppo -OH degli aminoacidi serina, treonina e tirosina

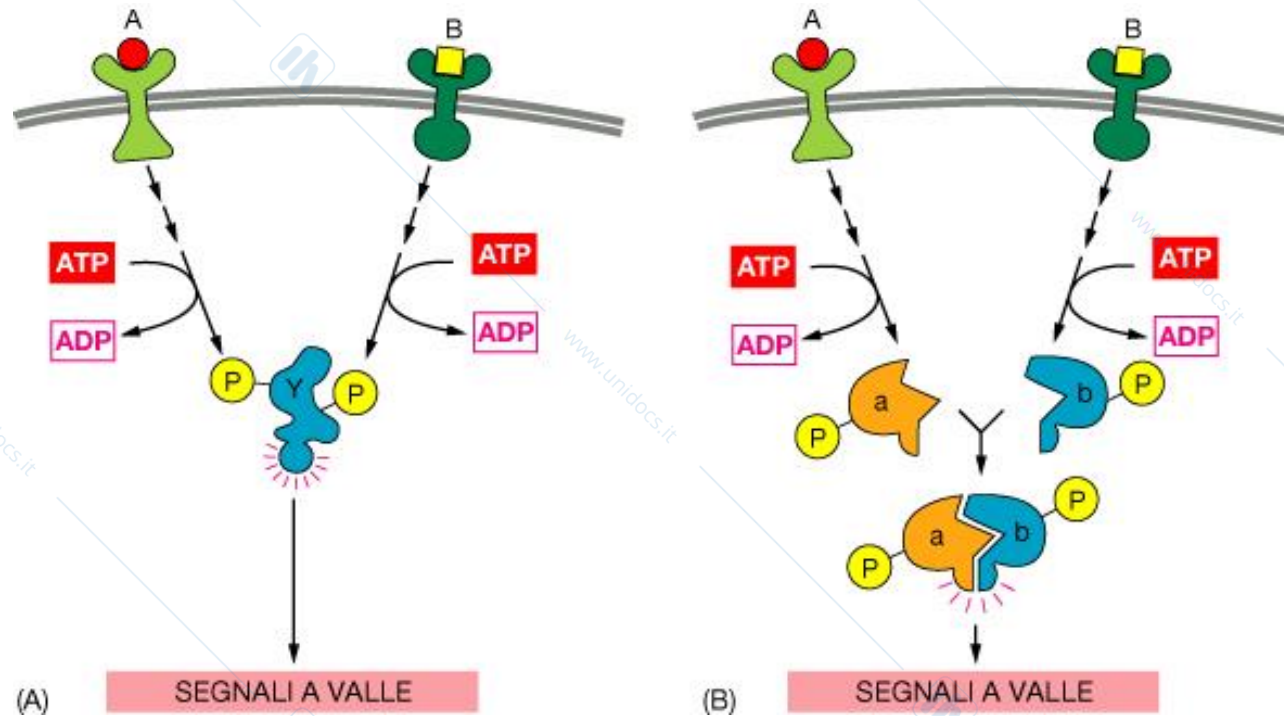


## Integrazione

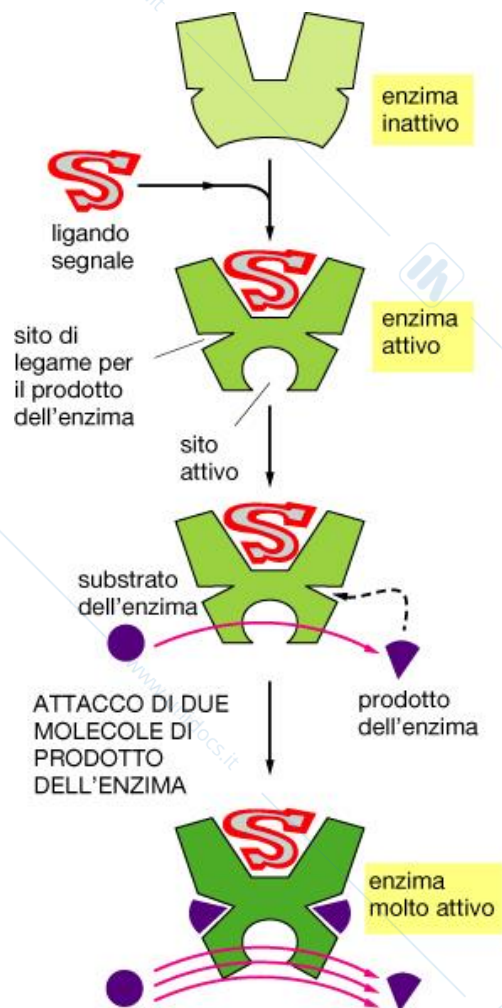
Quando due segnali hanno effetti opposti su una caratteristica metabolica, come la concentrazione di un secondo messaggero X o il potenziale di membrana  $V_m$ , il risultato finale è un segnale integrato da entrambi i recettori

**Per la propagazione del segnale è necessaria la presenza simultanea di due segnali diversi**

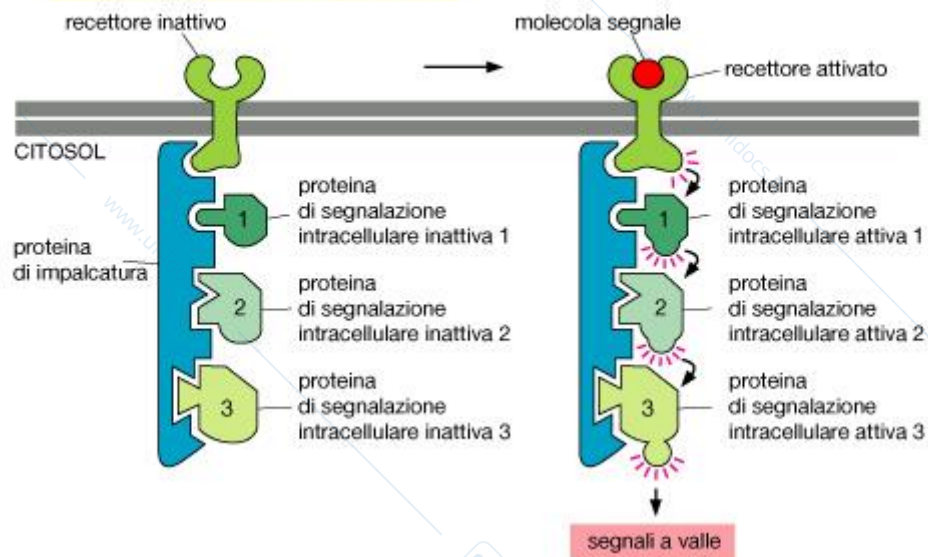
**A) La proteina Y è attiva solo se viene modificata in due siti differenti. B) Le proteine X e Z interagiscono solo se sono entrambe modificate. In questi esempi le proteine sono modificate per fosforilazione.**



# Meccanismo acceleratore a feedback positivo: l'attacco iniziale del ligando attiva l'enzima a generare un prodotto che si lega all'enzima aumentandone l'attività



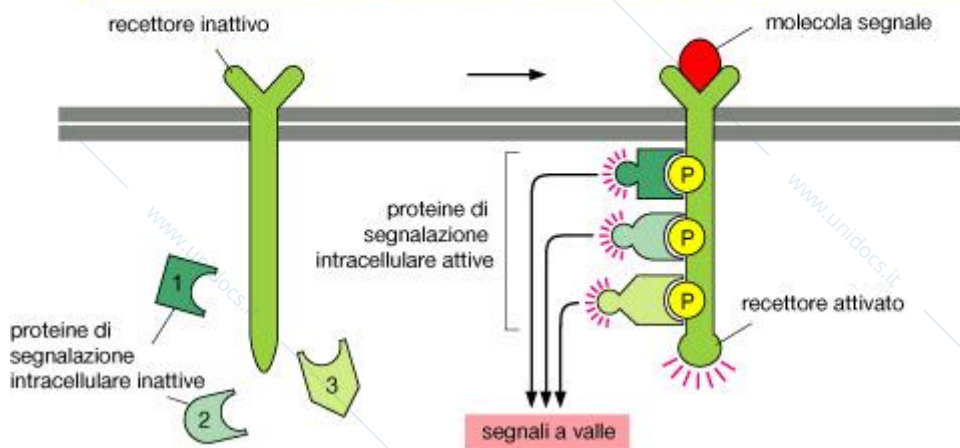
**(A) COMPLESSO DI SEGNALAZIONE PREFORMATO SU UN'IMPALCATURA**



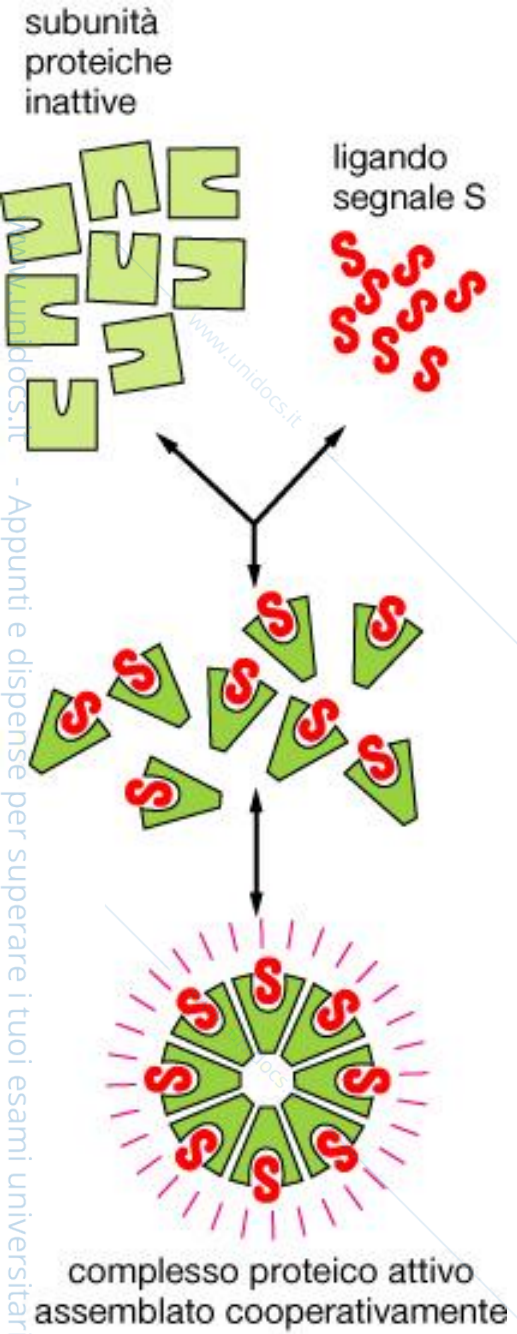
**Complessi di segnalazione Intracellulari aumentano la velocità, efficienza e specificità della risposta**

Una strategia per ottenere specificità è il coinvolgimento di proteine di impalcatura in complessi di segnalazione

**(B) ASSEMBLAGGIO DI UN COMPLESSO DI SEGNALAZIONE DOPO ATTIVAZIONE DEL RECETTORE**



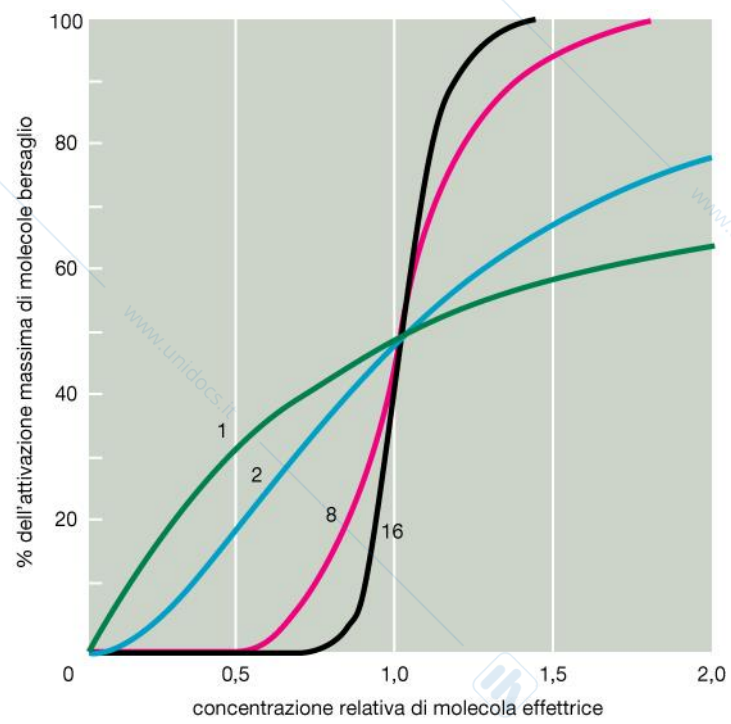
In alcuni casi i complessi si formano solo temporaneamente dopo la Reazione di un ligando con il suo recettore



## Meccanismo che rende più netta una risposta.

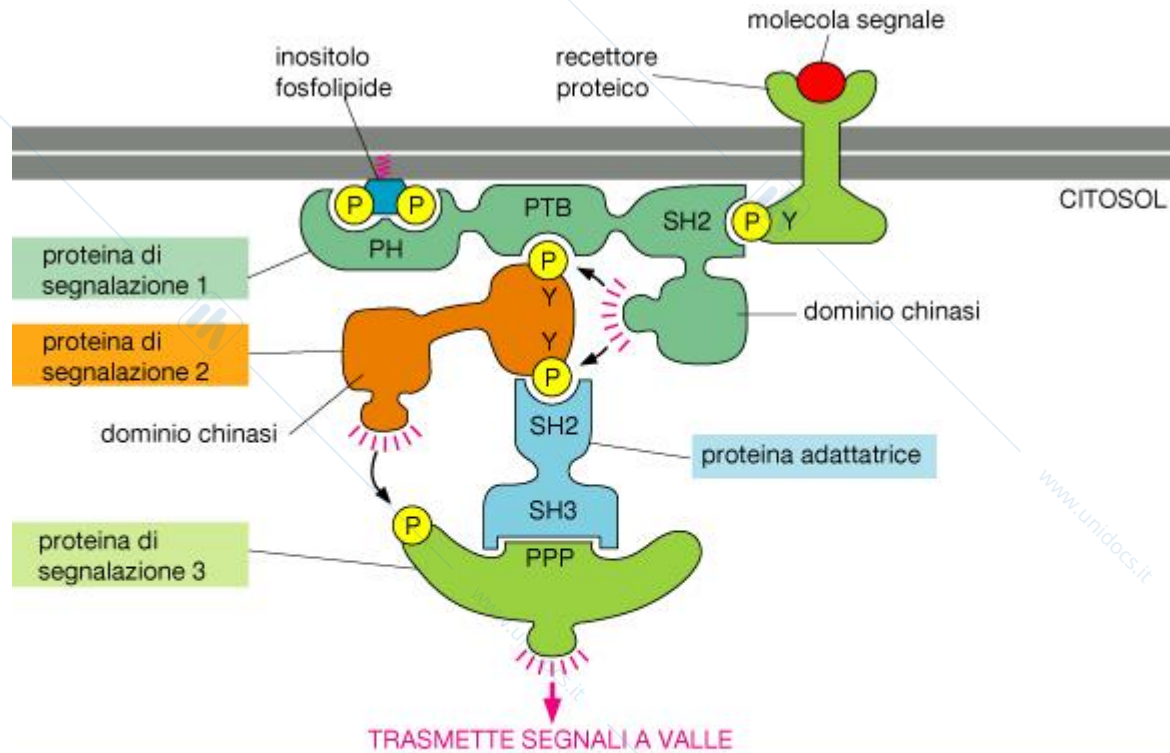
Il legame simultaneo tra più molecole di un ligando e complessi effettori che legano molecole bersaglio per indurre la risposta.

Come risultato all'aumentare della concentrazione del ligando  
 La risposta avviene più rapidamente di quanto avverrebbe  
 Se un solo complesso legato fosse sufficiente per l'attivazione



# Le interazioni fra proteine di segnalazione intracellulare sono mediate da domini di legami modulari

L'assemblaggio dei complessi di segnalazione stabili o transitori dipendono da piccoli domini di legame altamente conservati presenti in molte proteine di segnalazione intracellulari



TRASMETTE SEGNALI A VALLE

DOMINIO DI LEGAME	MOTIVO RICONOSCIUTO
PH = dominio di omologia alla Pleckstrina	= inositolo fosfolipide fosforilato
PTB = dominio che lega fosfotirosina	= fosfotirosina
SH2 = dominio di omologia Src 2	= motivo ricco di prolina
SH3 = dominio di omologia Src 3	

# MECCANISMI DI COMUNICAZIONE CELLULARE

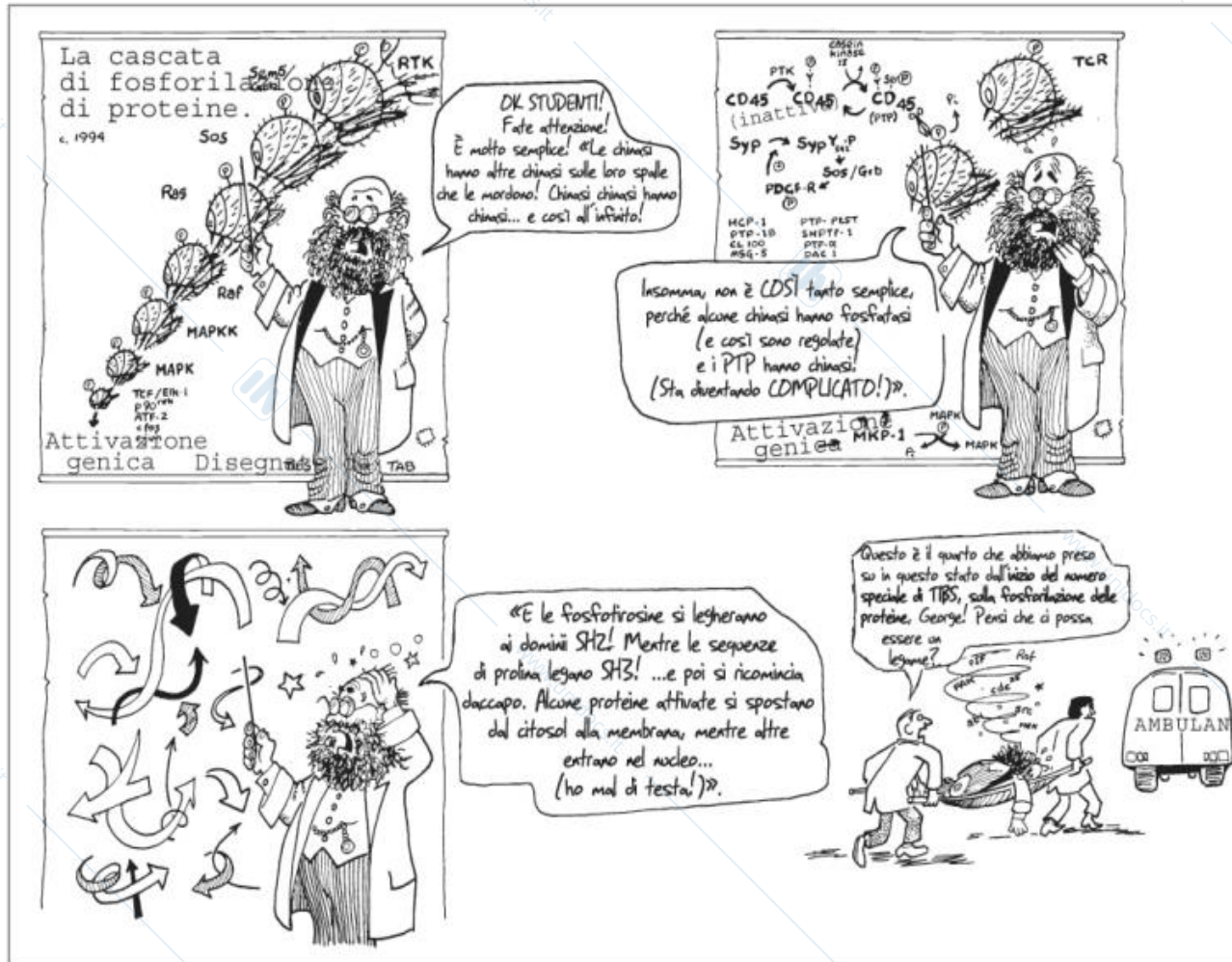
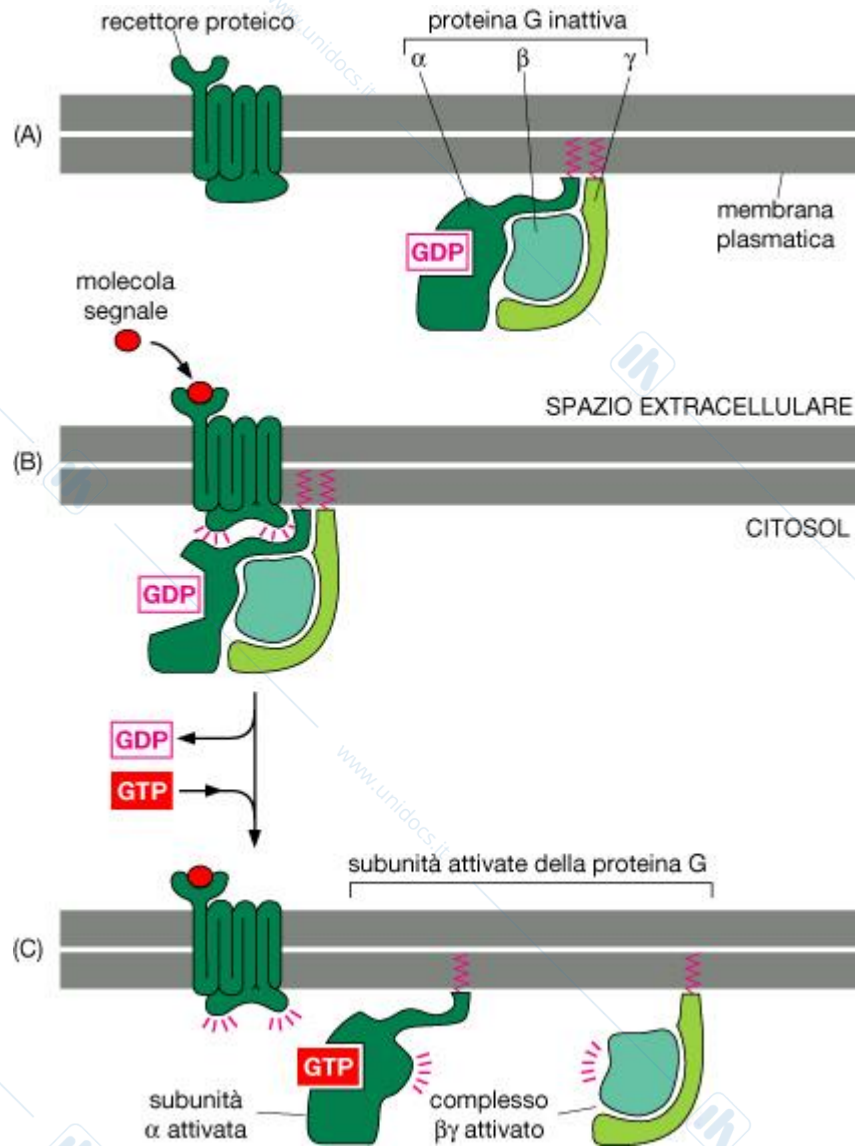


FIGURA 15.21 (DISEGNO DI TONY BRAMLEY, FROM TRENDS BIOCHEM. SCI. 19:469, 1994.)

# RECETTORI ACCOPPIATI ALLE PROTEINE G



# Recettore associato alle proteine G

7 tratti transmembrana

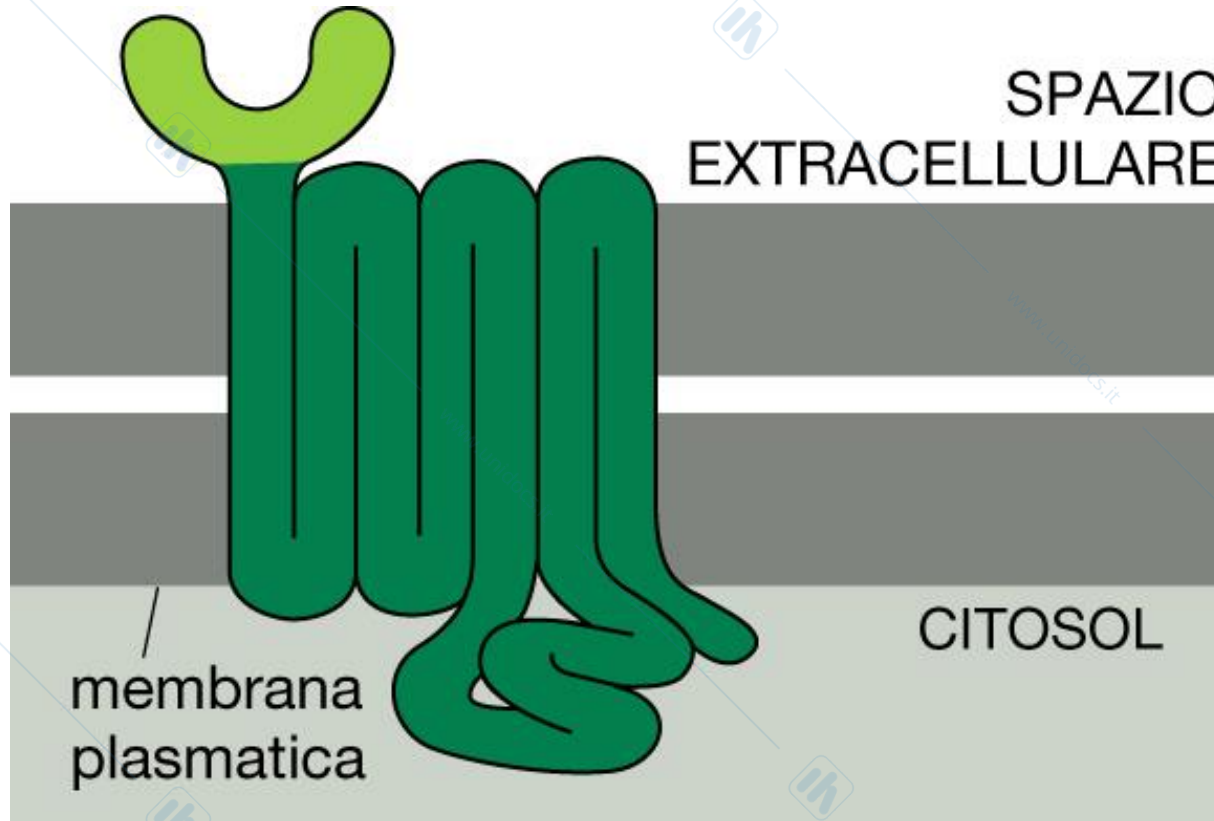
> 2000 recettori

Presenti in tutti gli eucarioti

Funzioni biologiche diverse

Molecole segnale: proteine, peptidi, lipidi e altre piccole molecole

non ha proprietà enzimatiche, si modifica in risposta alla molecola segnale, attivando le proteine G eterotrimeriche.



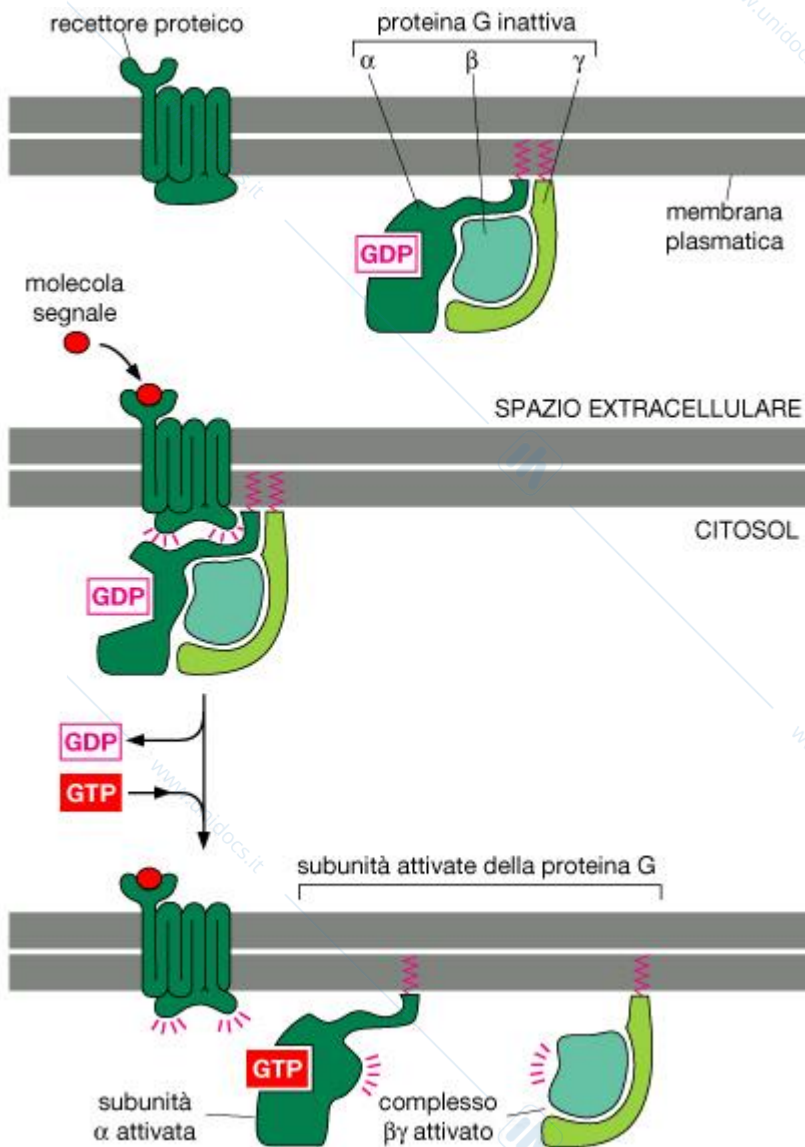
# Il 50% dei farmaci sono attivi su questi recettori

*(di questi il 25% dei 200 farmaci più usati)*

Sono state identificate 6 famiglie di questi recettori e di queste le prime 3 sono ben studiate.

- **A: include recettori della visione ed olfattivi**
- **B: include solo 25 membri (recettori per glucagone, ormoni gastrointestinali, secretina ecc)**
- **C: piccola famiglia che include recettori del gusto e il recettore metabotropico del glutammato**
- ***Circa 200 recettori "orfani"***

**Le proteine G eterotrimeriche: sono costituite da 3 subunità  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . La subunità  $\alpha$  è dotata di attività GTPasica. Quando sono legate al GDP sono inattive.**



**Il legame della molecola segnale con il recettore attiva la proteina G, la subunità  $\alpha$  si lega al GTP ed attiva enzimi a valle**

**20 geni che codificano per subunità  $\alpha$   
5 geni per subunità  $\beta$   
6 geni per subunità  $\gamma$**

**In teoria almeno 1000 combinazioni diverse.**

**Amplificazione e diversificazione del segnale**

# I bersagli dei componenti dissociati delle proteine G sono enzimi (adenilato ciclasi, fosfolipasi) o canali ionici che trasmettono in avanti il segnale

1° messaggio

Neurotrasmettitori — Ormoni

Recettori

Proteine G

Adenilato ciclasi      Fosfolipasi      Canali ionici

cAMP

IP<sub>3</sub>

Ca<sup>2+</sup>

K<sup>+</sup>

Ca<sup>2+</sup>

Calmodulina

Fosfatidilserina

Protein chinasi  
cAMP  
dipendenti

Protein chinasi  
Ca<sup>2+</sup> calmodulina  
dipendenti

Protein chinasi  
fosfatidilserina  
dipendenti

2° messaggio

Substrati per le diverse protein chinasi

3° messaggio

**EFFETTI BIOLOGICI**

# Possibili vie di attivazione

A) Adenilato ciclasi e produzione di AMP ciclico



attivazione della **PROTEINA CHINASI A.**

B) Fosfolipasi e produzione di diacil glicerolo,  
inositol-tri-fosfato e rilascio di ioni  $\text{Ca}^{2+}$



attivazione della **PROTEINA CHINASI C**

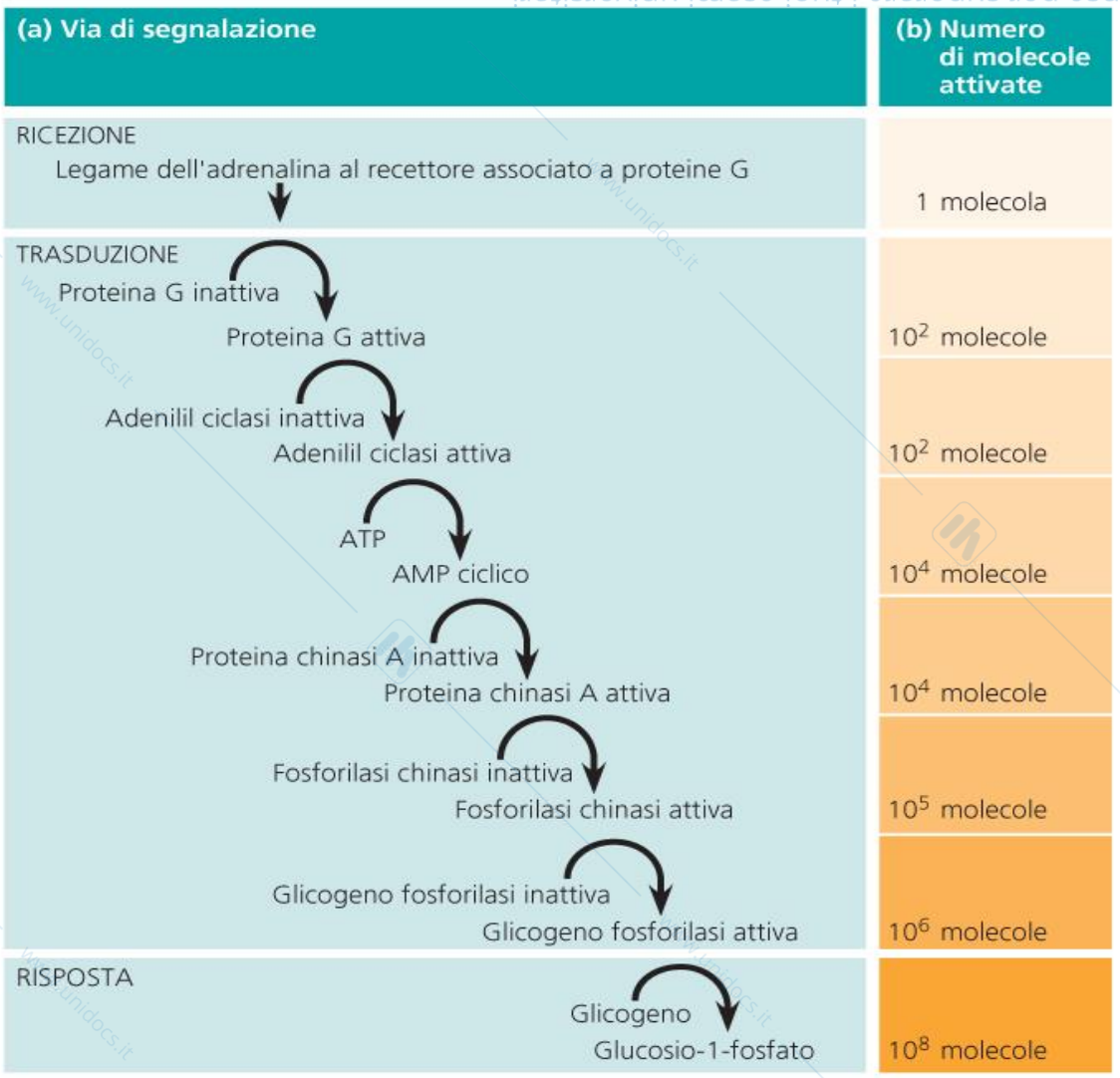
**AMP ciclico, ioni  $\text{Ca}^{2+}$  sono definiti secondi  
messaggeri**

# FUNZIONE DELL'AMP CICLICO E DEL CALCIO

## ❖ **SECONDI MESSAGGERI**

❖ **attivazione della proteina chinasi dipendente da AMP ciclico (PKA).**

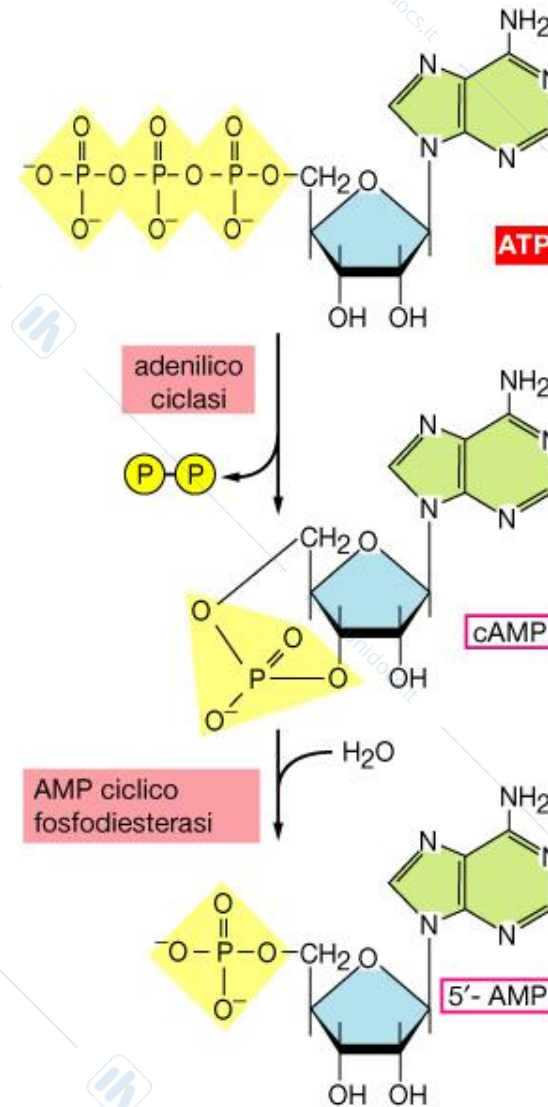
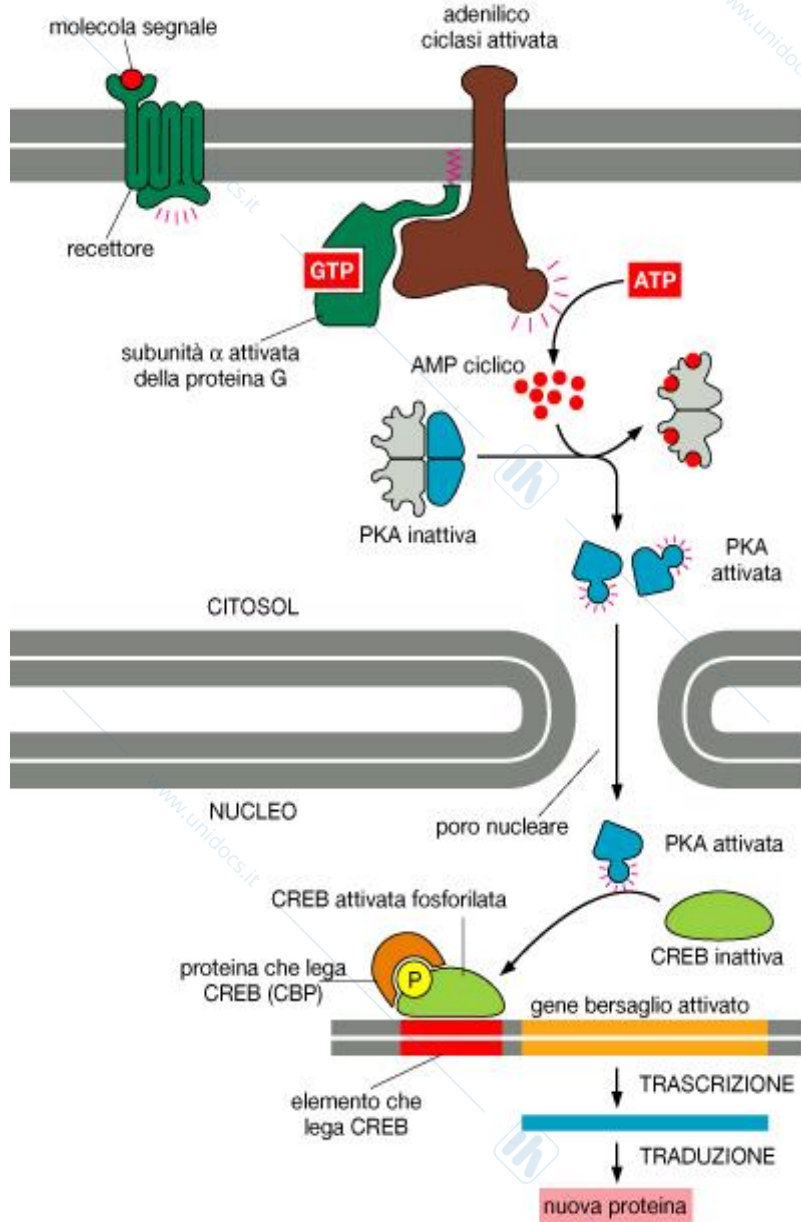
**PKA fosforila un grande numero di fosforilasi chinasi.....**



**Figura 14-3** Le vie di trasduzione del segnale permettono l'amplificazione della risposta cellulare ad un segnale esterno. Le cellule epatiche rispondono all'ormone adrenalina con la demolizione del glicogeno per liberare glucosio-1-fosfato. (a) Il recettore dell'adrenalina è un recettore associato a proteine G, che attiva un enzima noto come adenilil ciclastasi o adenilato ciclastasi. L'adenilil ciclastasi catalizza la formazione di un secondo messaggero, il cAMP; quest'ultimo attiva una proteina chinasi (la proteina chinasi A) che, a sua volta, attiva un'altra chinasi (la fosforilasi chinasi). Alla fine, viene attivata la glicogeno fosforilasi, che catalizza la degradazione del glicogeno. (b) Il numero approssimativo di molecole prodotte ad ogni passaggio è mostrato sulla destra. Una singola molecola di adrenalina è capace di innescare la produzione di centinaia di milioni di molecole di glucosio-1-fosfato.

# Amplificazione

# Una via di attivazione prende il via dall'attivazione dell'adenilato ciclastasi e la successiva produzione di AMP ciclico.

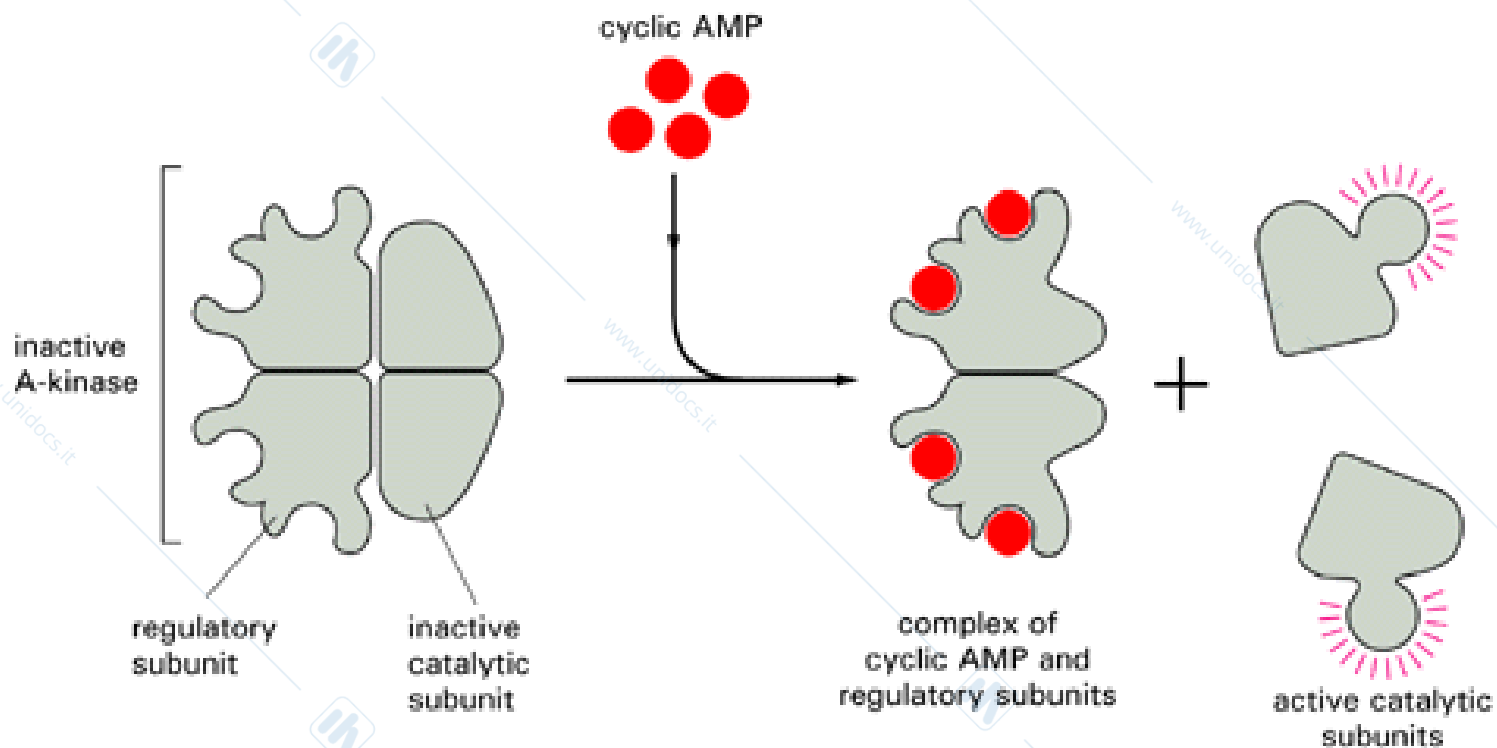


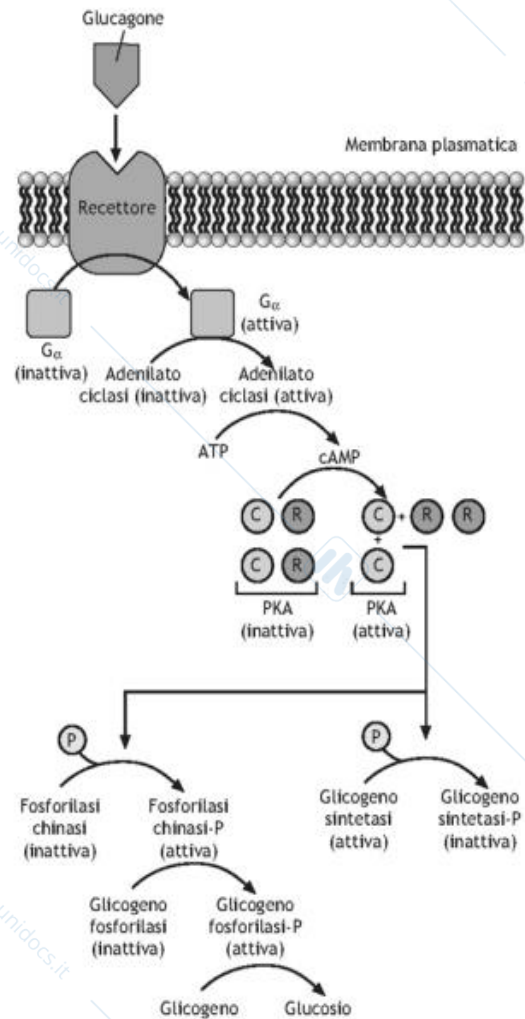
# L'AMP ciclico attiva la proteina chinasi A

Molte vie di trasduzione attivano enzimi kinasi (PKA e PKC) che a loro volta, fosforilando enzimi target (Ser e Treo), modulano metabolismi vari

Es attivazione di PKA (= proteina kinasi A)

L'enzima è attivato dal legame del cAMP sulle subunità regolative





■ **Figura 5.51 Meccanismo di azione del glucagone nelle cellule epatiche.** In seguito all'interazione ligando-recettore, si attiva il recettore, con conseguente attivazione delle proteine G fino alla sintesi di cAMP. Il cAMP attiva a sua volta la PKA che ha il compito di attivare la via della glicogenolisi e contemporaneamente bloccare quella della glicogenosintesi. Il risultato dell'azione del glucagone è l'aumento di glucosio in circolo. C = subunità catalitica; R = regolativa.

**Es di via di trasduzione del segnale innescata da recettori associati a proteine G e che attiva PKA: Segnalazione da parte di glucagone su epatociti**

**Glucagone segnala bassa glicemia**

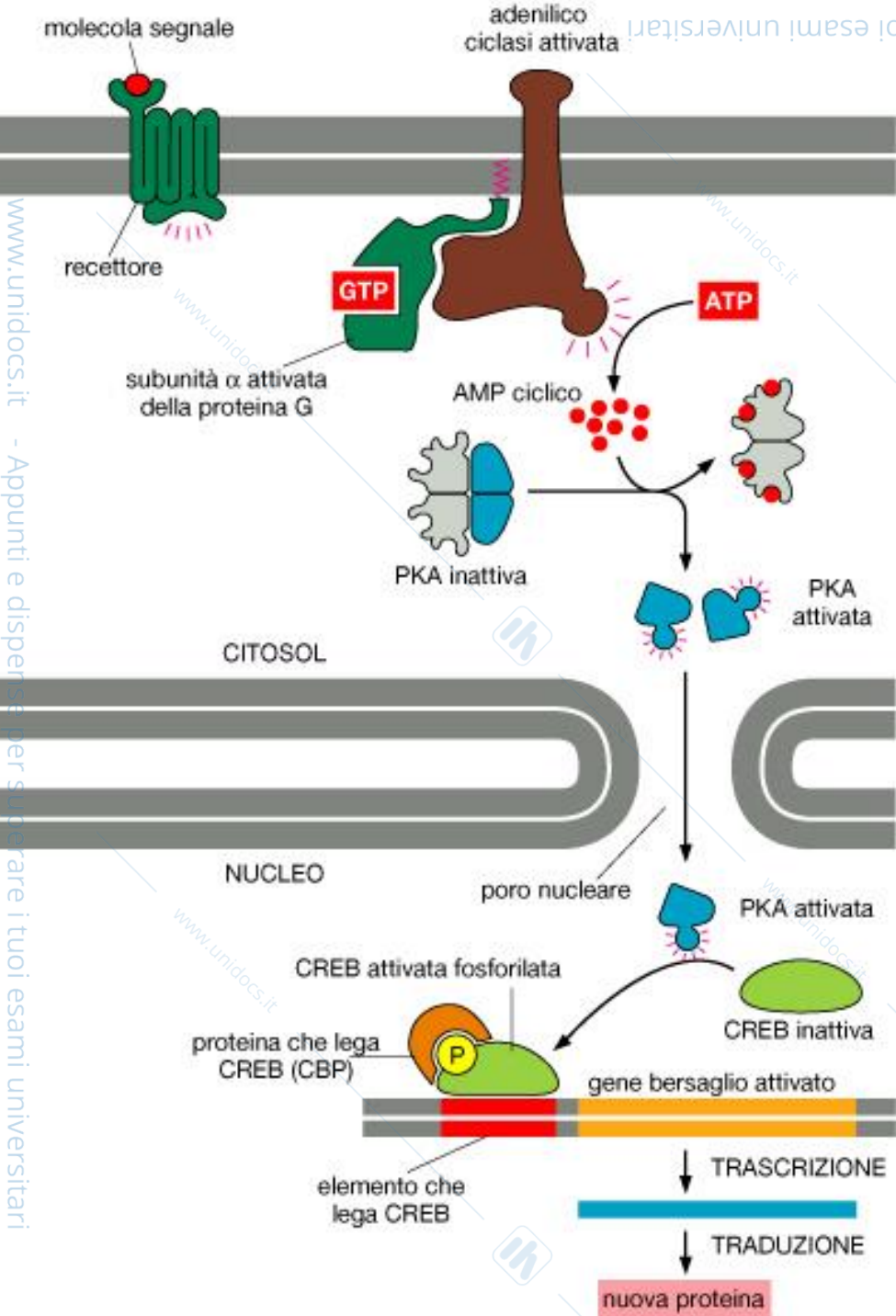


**Interazione col recettore attiva G<sub>α</sub>**

→ **attiva adenilato ciclasi**

→ **↑ cAMP**

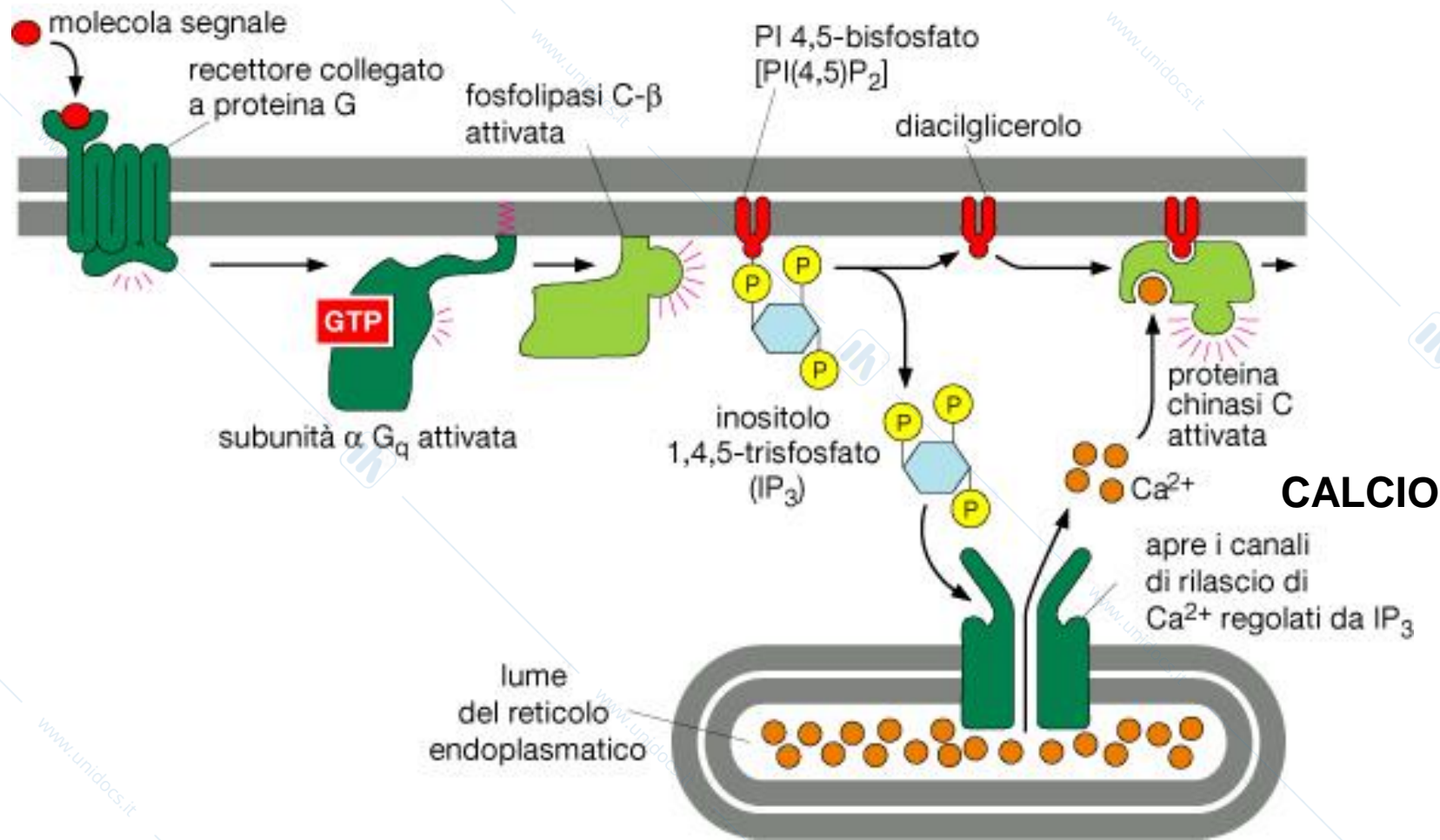
→ **attivazione di PKA che fosforila enzimi chiave del metabolismo del glucosio modulandone attività in modo da favorire glicogenolisi e quindi rilascio di Glu nel sangue**



L'attivazione di adenilato ciclasti e PKA produce risposte cellulari diverse a seconda del tipo di tessuto

Ad es in alcune cellule PKA fosforila il fattore trascrizionale CREB innescando una risposta cellulare a livello di espressione genica

# Esempio di Recettore G ed attivazione della fosfolipasi c



La fosfolipasi attivata taglia PI(4,5)P<sub>2</sub> generando due prodotti: inositolo 1,4,5-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) e diacilglicerolo.

# Calcio

## il messaggero universale

Il  $\text{Ca}^{2+}$  è mantenuto ad una concentrazione estremamente bassa nel citosol (a causa della sua tossicità), tuttavia la concentrazione del  $\text{Ca}^{2+}$  è alta fuori dalla cellula e all'interno di alcuni organelli

L'apertura rapida e transitoria di canali permette al  $\text{Ca}^{2+}$  di fluire nel citosol seguendo il suo gradiente di concentrazione e costituisce la base di un sistema di signalling ubiquitario

Un'ipotesi suggerisce che la frequenza di 'spikes' di  $\text{Ca}^{2+}$  rapidamente oscillanti codifica informazioni segnale-specifiche

Gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  rilasciati dai depositi intracellulari attivano la **Proteina chinasi C (PKC)**  $\text{Ca}^{2+}$  dipendente.

La proteina chinasi C è costituita da una subunità catalitica ed una subunità regolatrice, che è una **calmodulina**, cioè una proteina regolata dagli ioni  $\text{Ca}^{2+}$ .

Inoltre la proteina chinasi C si associa al DAG sulla membrana. Quindi sia gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  che il DAG contribuiscono all'attivazione della PKC.

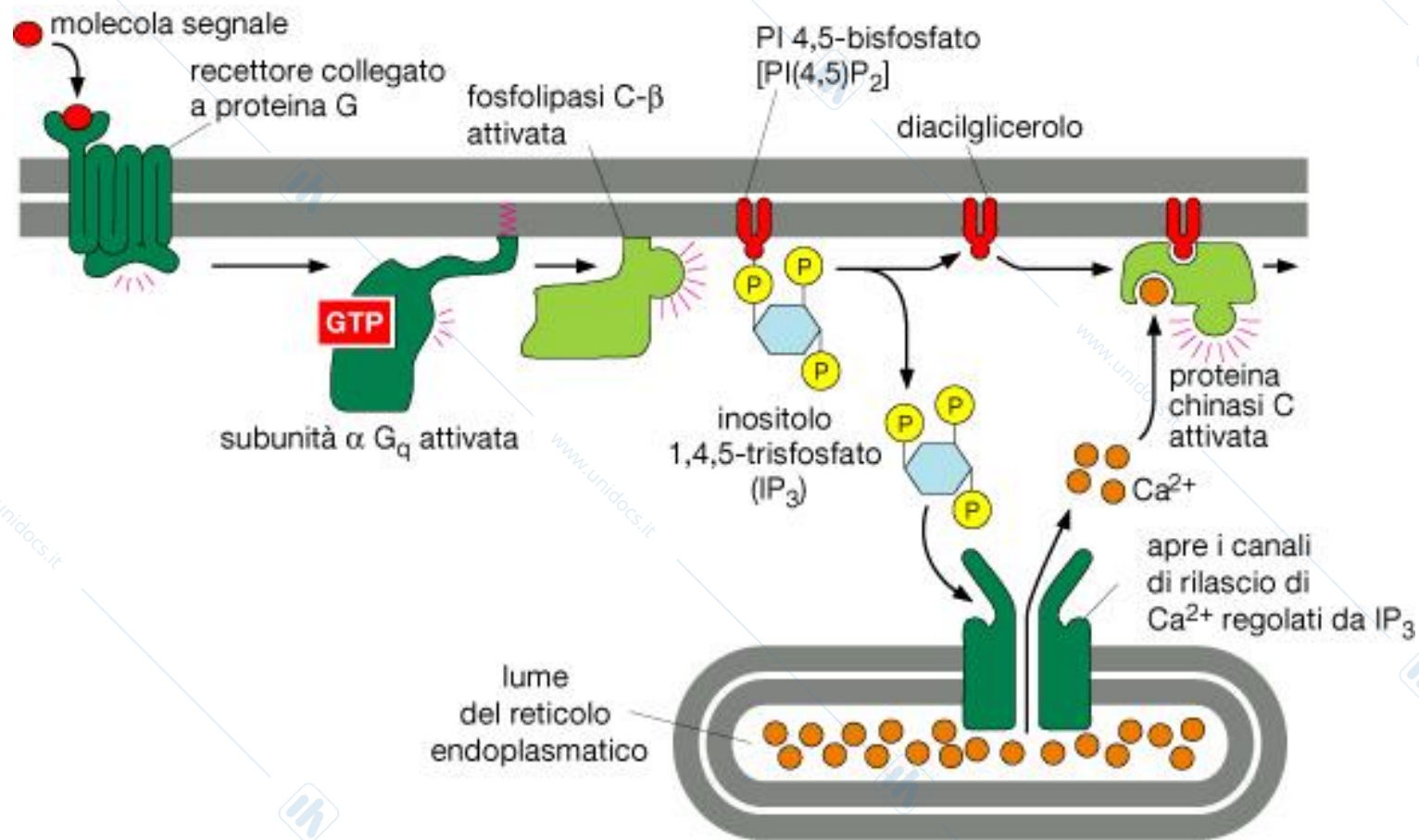
La PKC può attivare molte vie intracellulari.

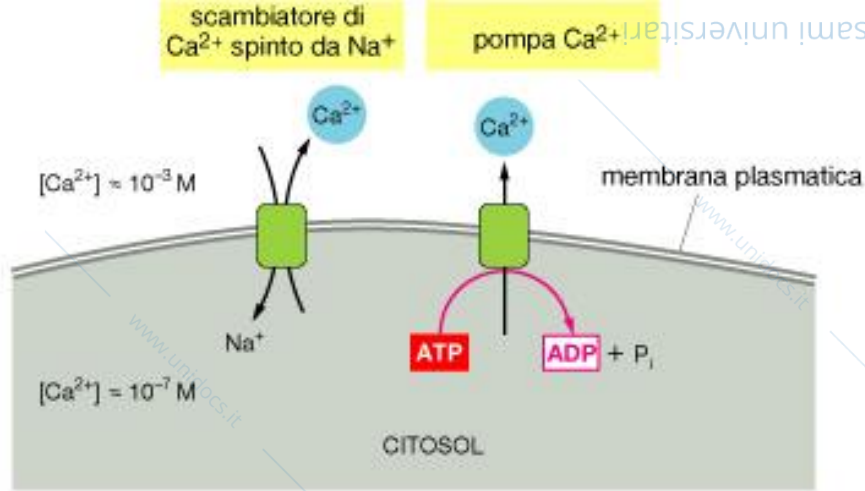
Negli epatociti fosforila la glicogeno sintetasi e la inattiva, contribuendo alla regolazione del metabolismo del glicogeno.

Inoltre fosforila ed attiva fattori trascrizionali.

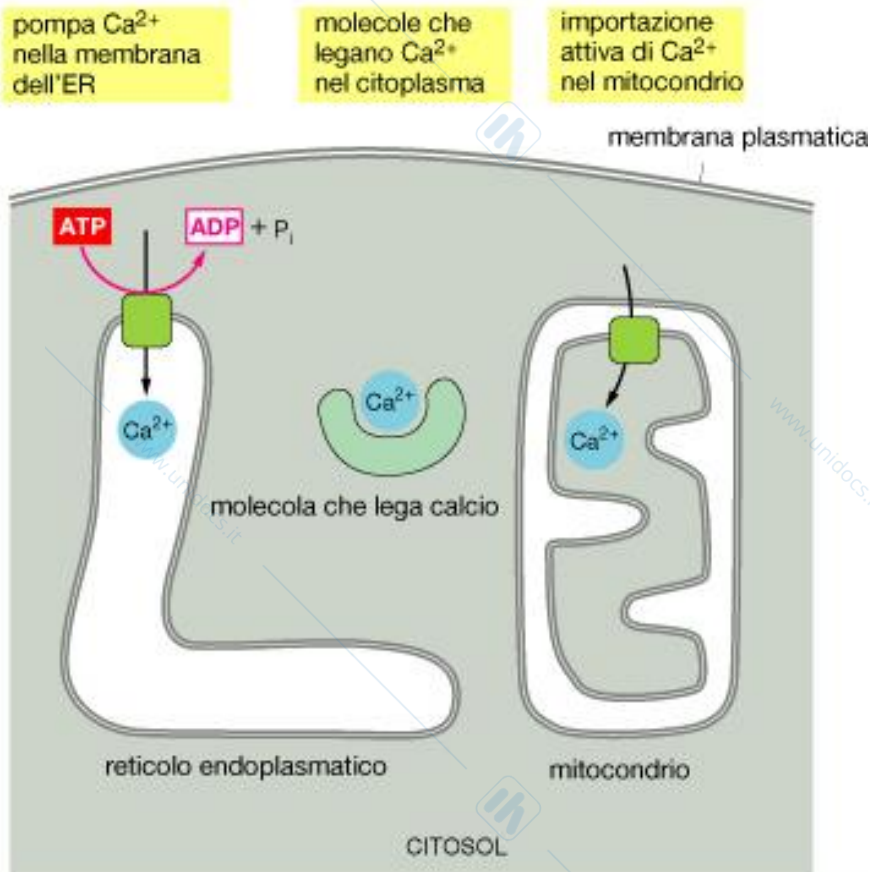
# Le proteine G e gli ioni $\text{Ca}^{2+}$ come secondi messaggeri.

La fosfolipasi C taglia il PIP3 a DAG ed inositolo tri fosfato, che a sua volta rilascia ioni  $\text{Ca}^{2+}$  dai depositi intracellulari: attivazione della proteina chinasi C ( $\text{Ca}^{2+}$  dip.)





## Antipporto $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ Pompa del $\text{Ca}^{2+}$

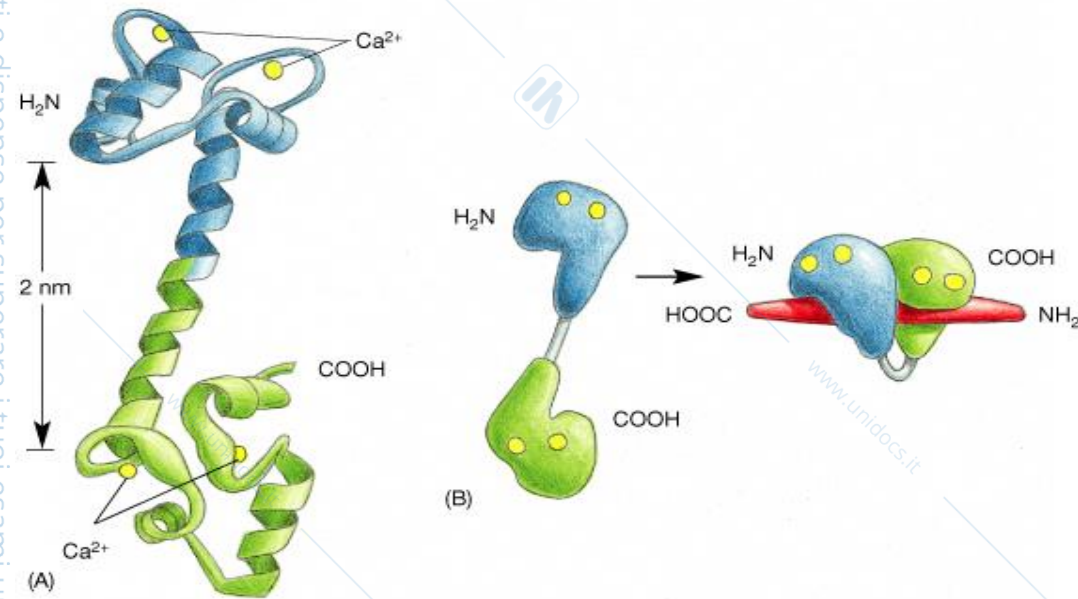


La concentrazione degli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  viene mantenuta bassa nel citoplasma con sistemi attivi e passivi, spostando il  $\text{Ca}^{2+}$  verso l'esterno della cellula o in compartimenti intracellulari

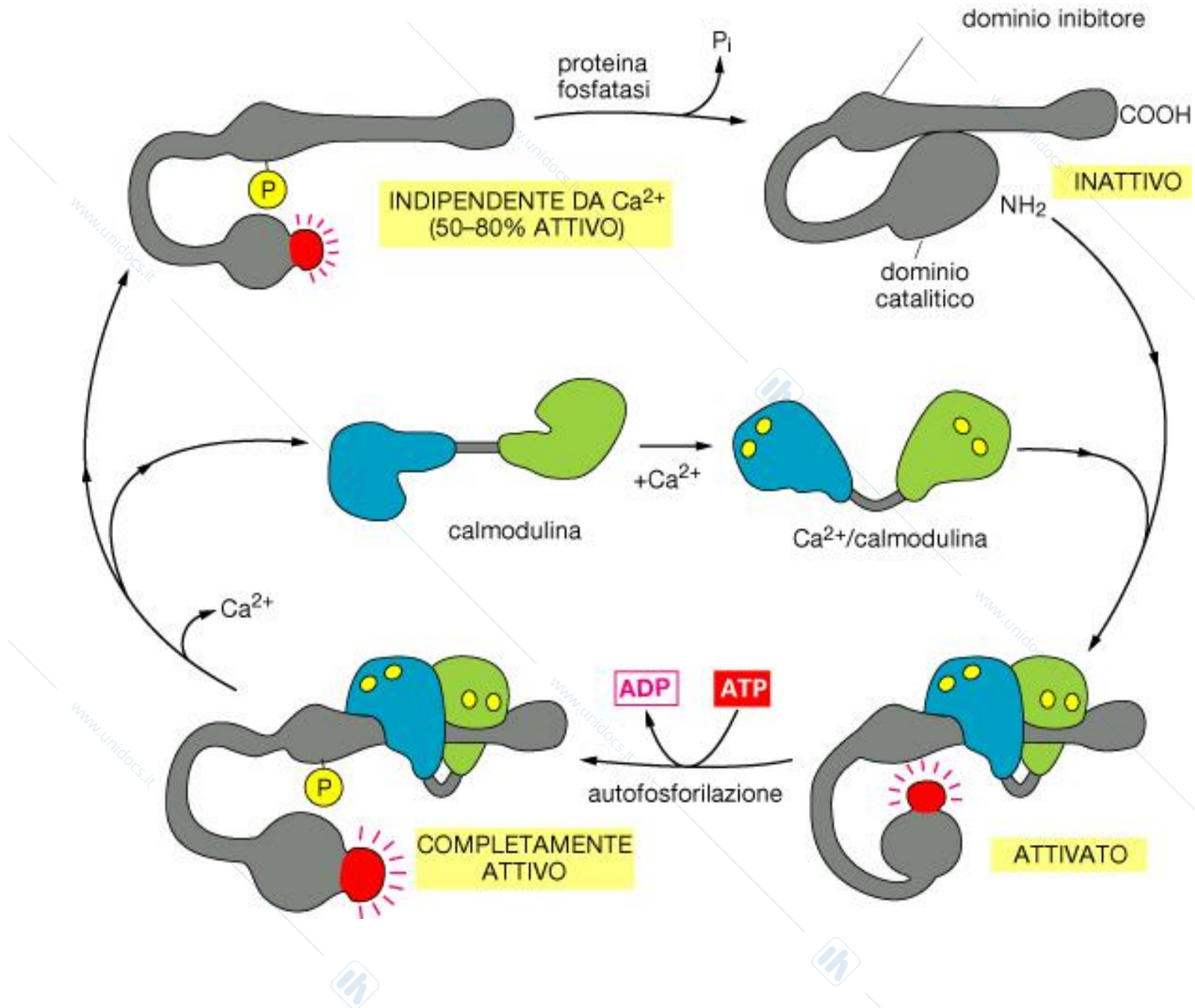
## Ca<sup>2+</sup> ha la funzione di messaggero intracellulare ubiquitario.

- nella cellula uovo, un improvviso aumento della concentrazione di calcio citosolico si verifica in seguito alla fecondazione da parte di uno spermatozoo ed è responsabile dell'inizio dello sviluppo dell'embrione.
- nelle cellule muscolari innesca la contrazione.
- in molte cellule secretorie scatena la secrezione

### MOLTE AZIONI DEL CALCIO NELLE CELLULE ANIMALI SONO MEDIATE DA PROTEINE CHINASI DIPENDENTI DA CA<sup>2+</sup>/ CALMODULINA



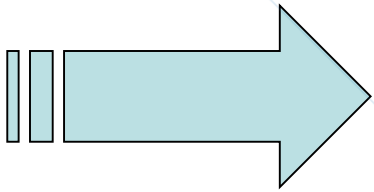
Ogni molecola di calmodulina ha 4 siti di legame con il calcio, il cui legame ne induce un cambio conformazionale che aumenta la affinità per diversi effettori: Protein chinasi, fosfodiesterasi, Canali ionici, una delle chinasi fosforila CREB



# Le proteine G sono bersagli di alcune tossine importanti dal punto di vista medico.

La *tossina colerica*, prodotta dal batterio che causa il colera.

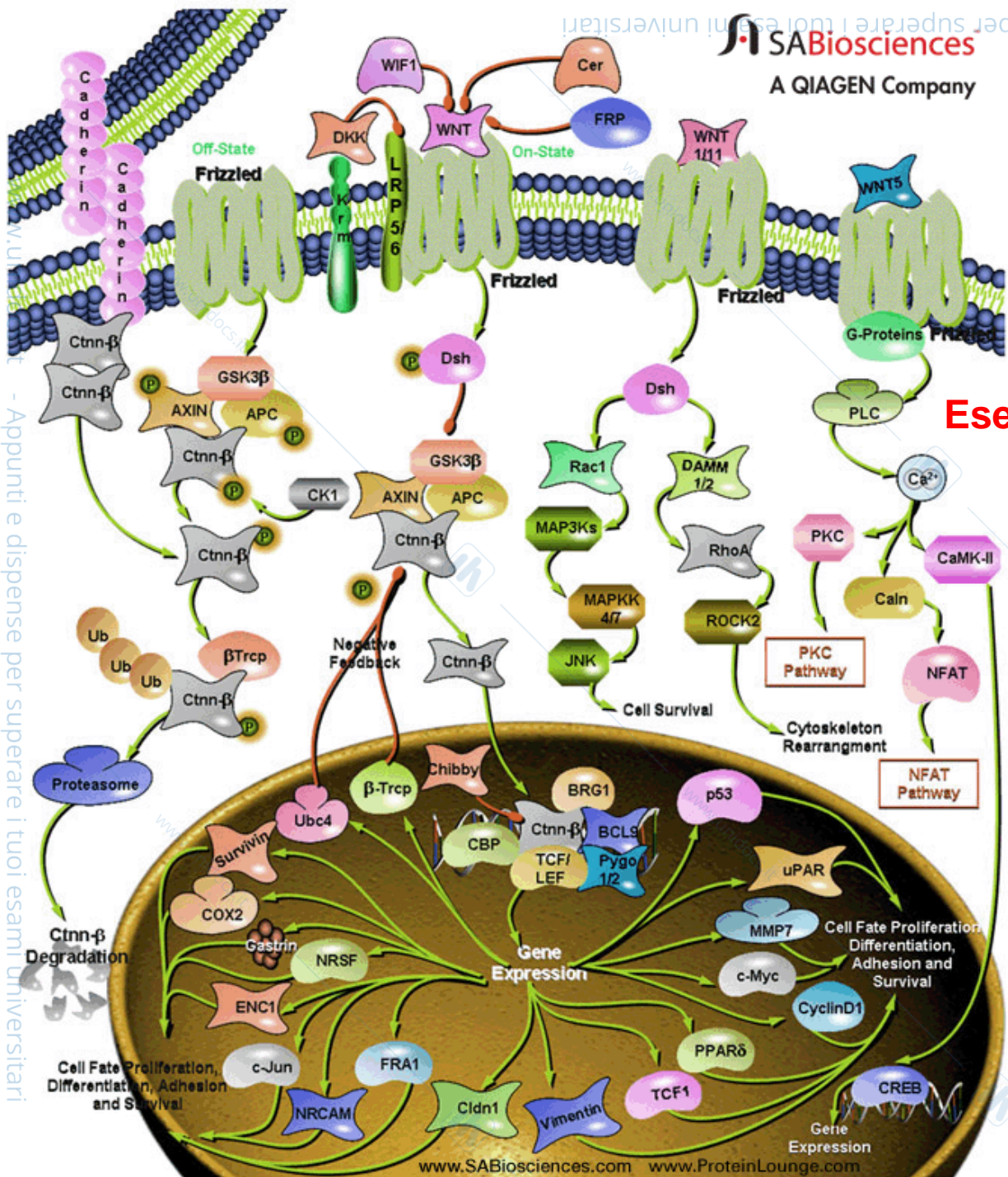
La *tossina della pertosse*, prodotta dal batterio che causa la pertosse.



**IPERSTIMOLAZIONE DELLE PROTEINE G  
O  
INIBIZIONE DELLE PROTEINE G**

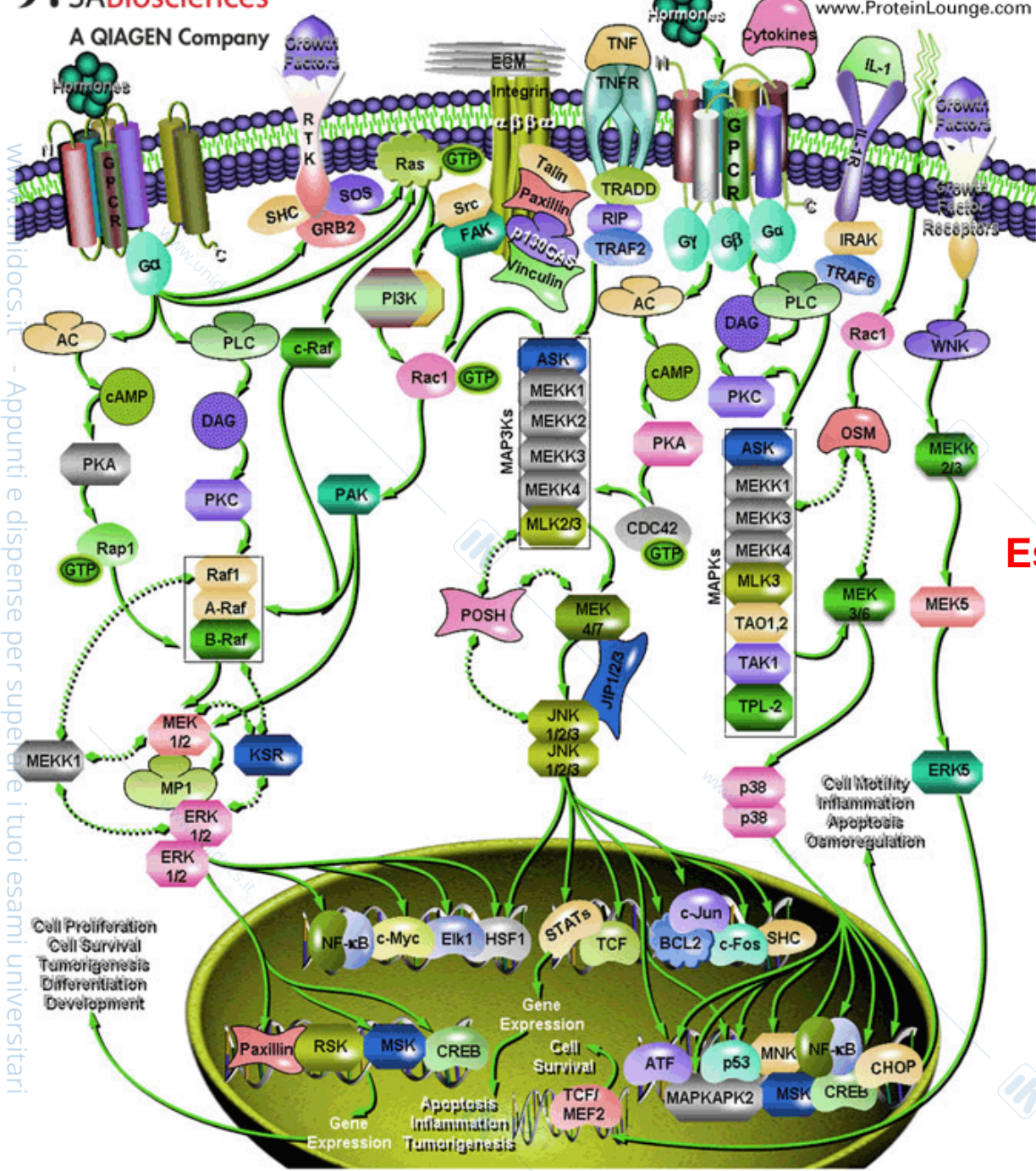
**Alcune tossine batteriche inibiscono il normale shutt-off delle proteine G: l'attività GTPasica viene bloccata risultando in una persistente attivazione delle vie a valle, per esempio dell'adenilato ciclasi.**

**Es. nelle cellule epiteliali intestinali, la tossina del colera blocca la proteina G alfa legata al GTP, aumenta i livelli di cAMP e provoca rilascio di ioni Na<sup>+</sup> e acqua nell'intestino, con conseguente diarrea e squilibrio degli elettroliti.**



## Esempio di vie di segnalazione

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari



### Esempio di vie di segnalazione

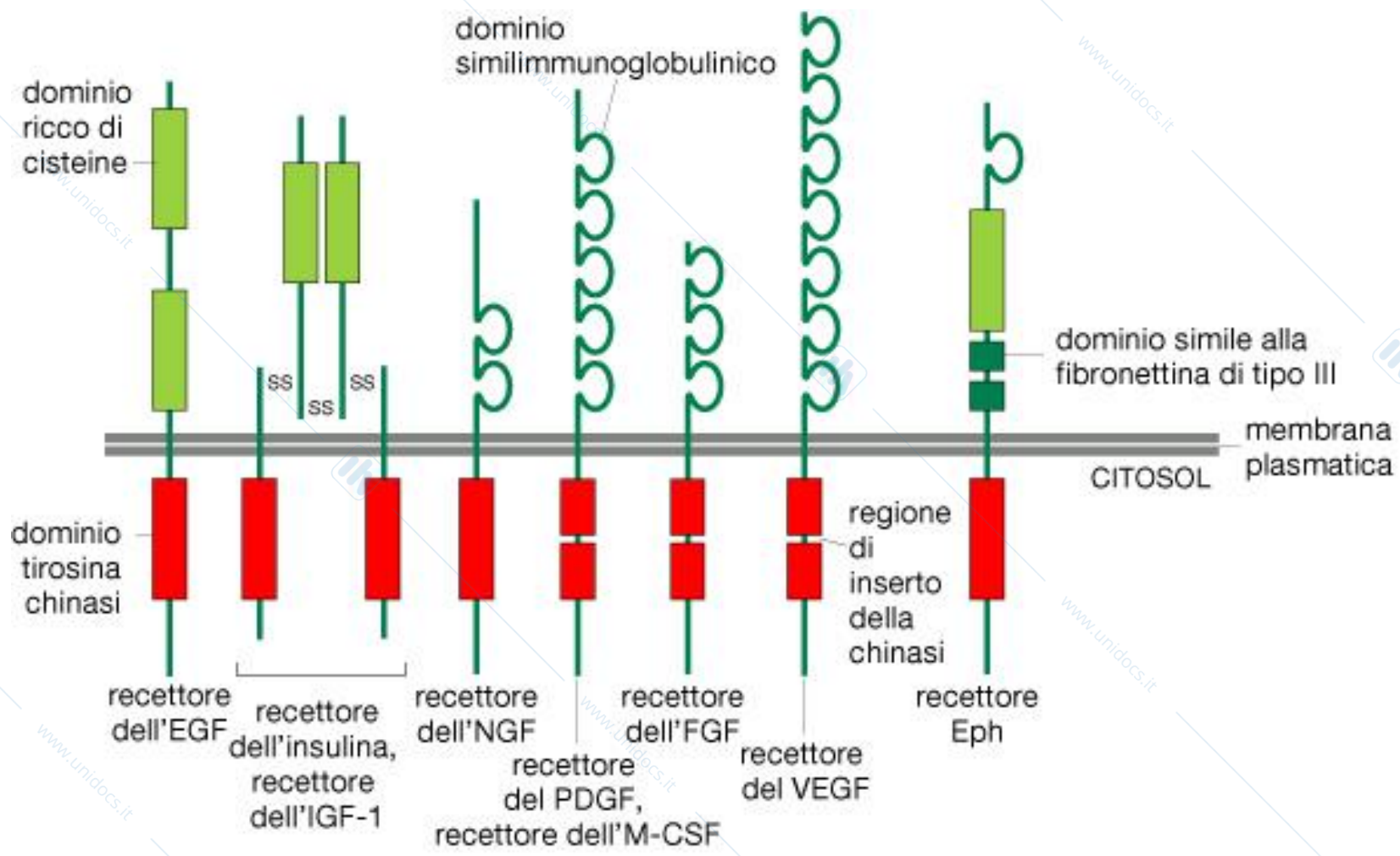
# Recettori ad attività enzimatica intrinseca

Sono **proteine di membrana monopasso** che posseggono un dominio catalitico, in particolare sono delle **tirosino chinasi**, cioè in grado di fosforilare l'aminoacido tirosina.

Sono recettori per fattori di crescita, mitogeni ed ormoni quali:

**PDGF** (platelet-derived growth factor) fattore di crescita

**Insulina**: rimozione del glucosio dal sangue



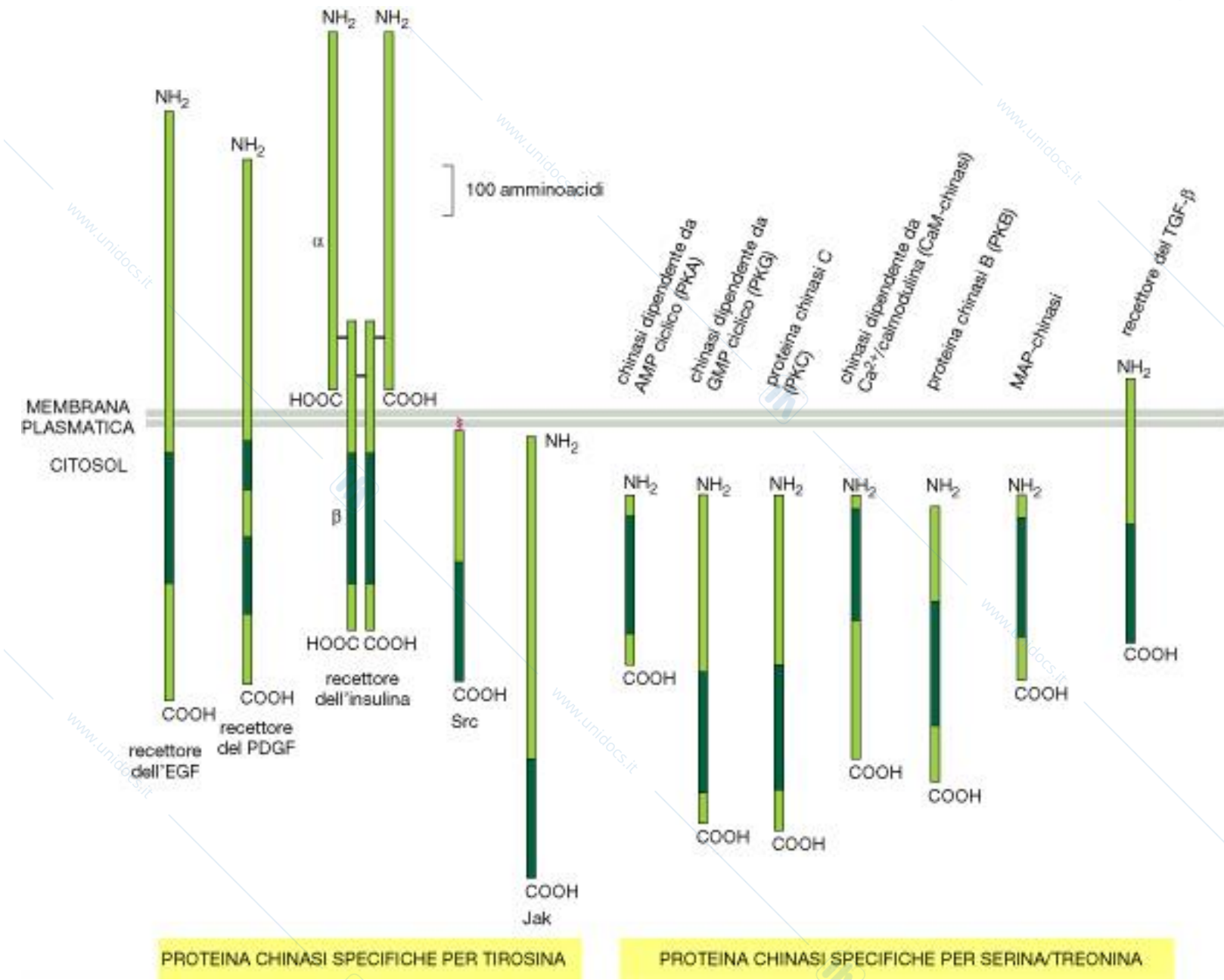
# Vari tipi di recettori ad attività kinasica intrinseca

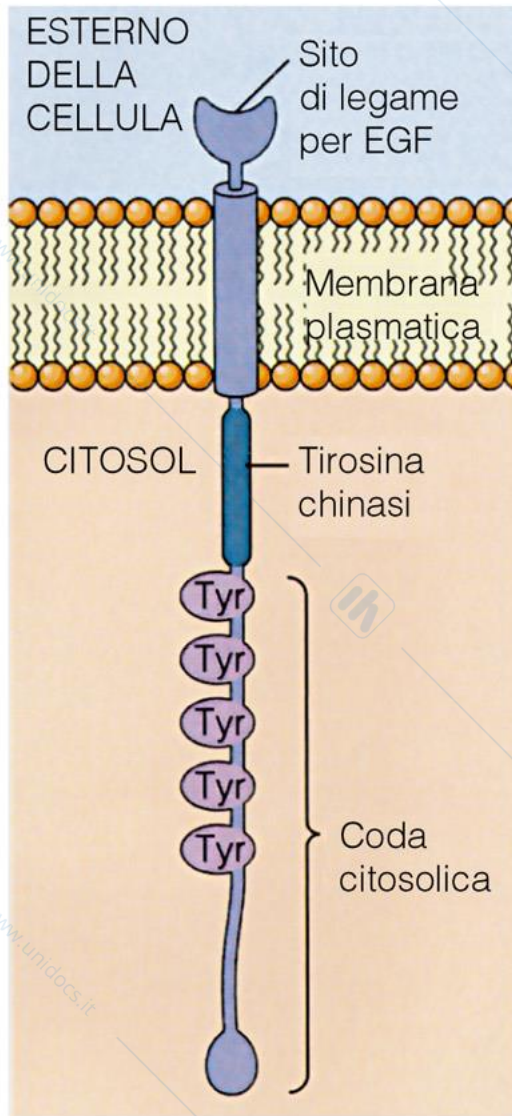
www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

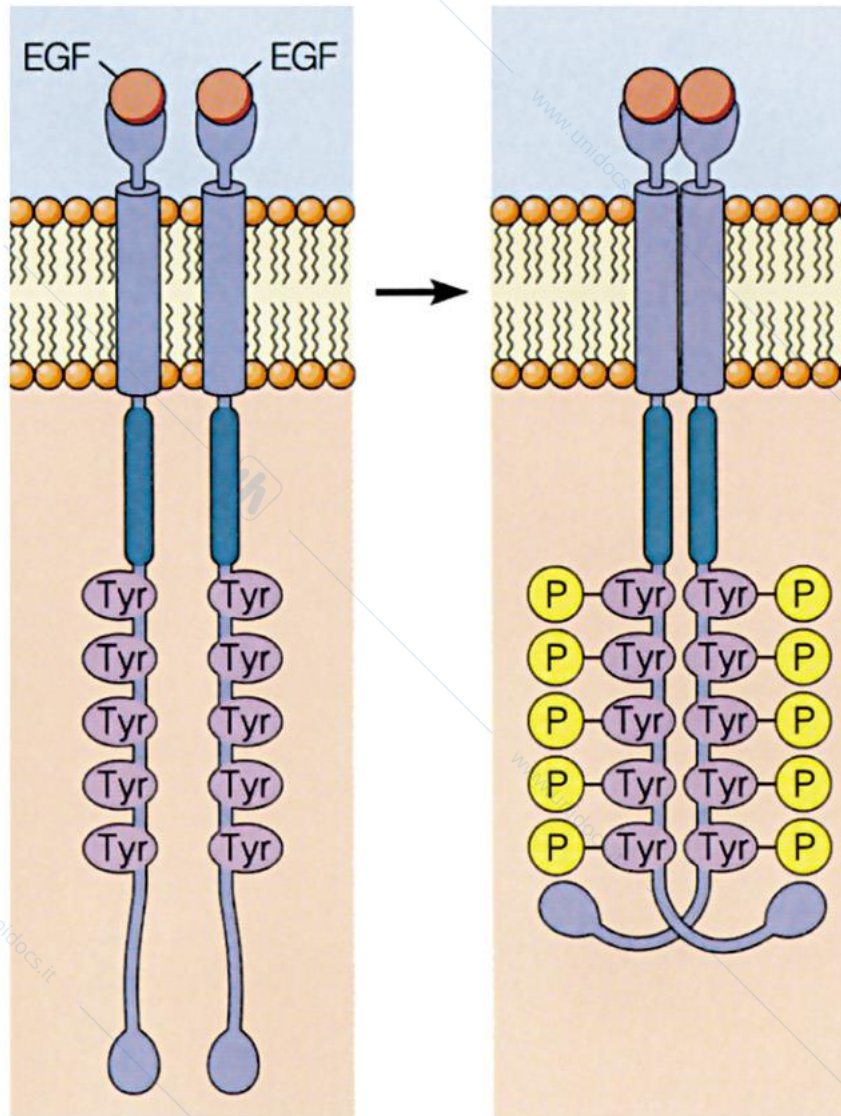
www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari





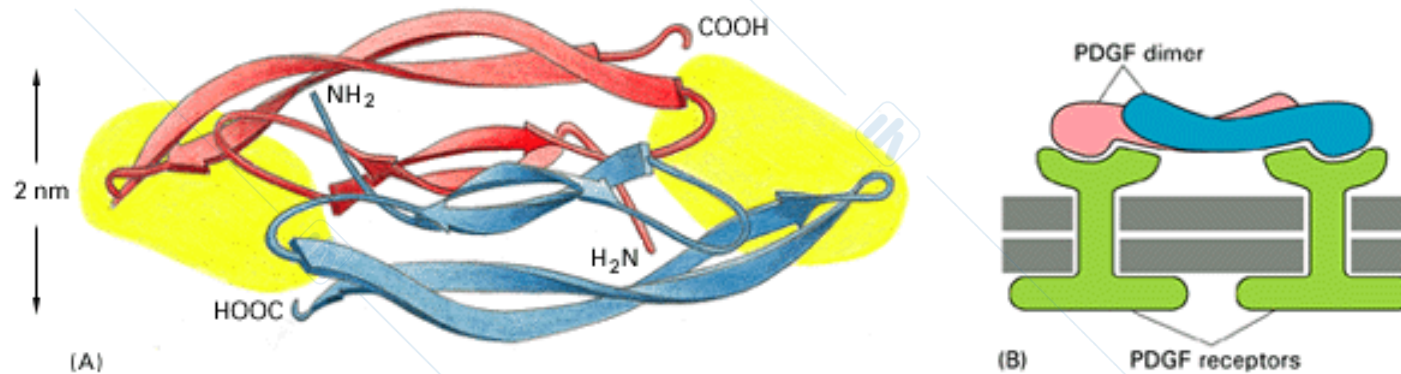
**(a)** Struttura del recettore del fattore di crescita epidermico (EGF)



**(b)** Attivazione del recettore di EGF

**Figura 10-16**

# Il recettore del PDGF (fattore di crescita piastrinica)

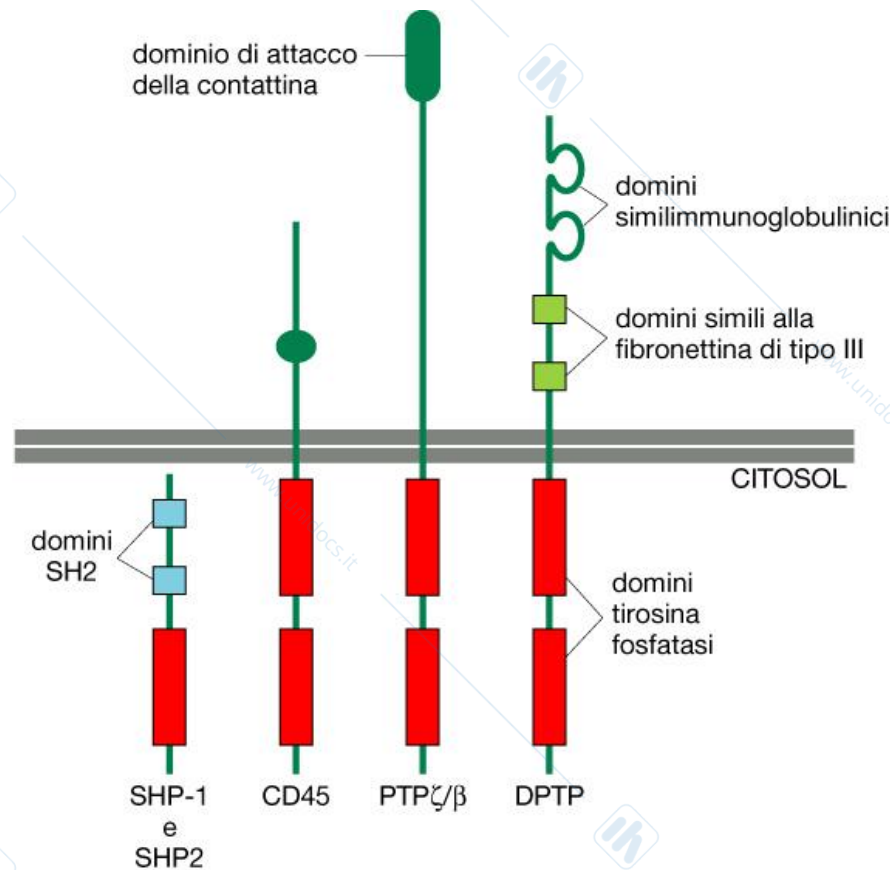


**in risposta al ligando:**

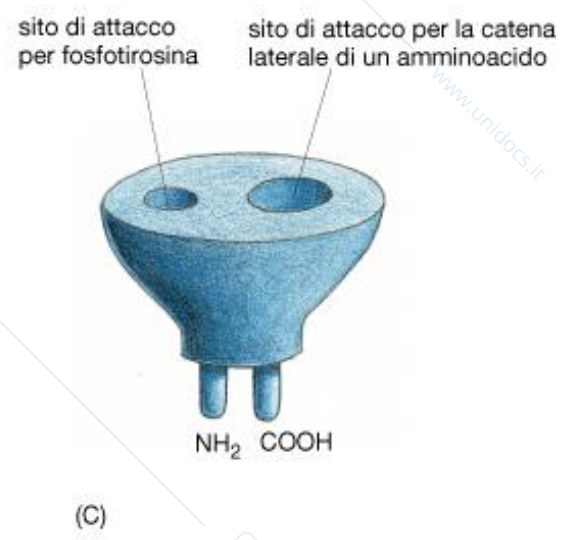
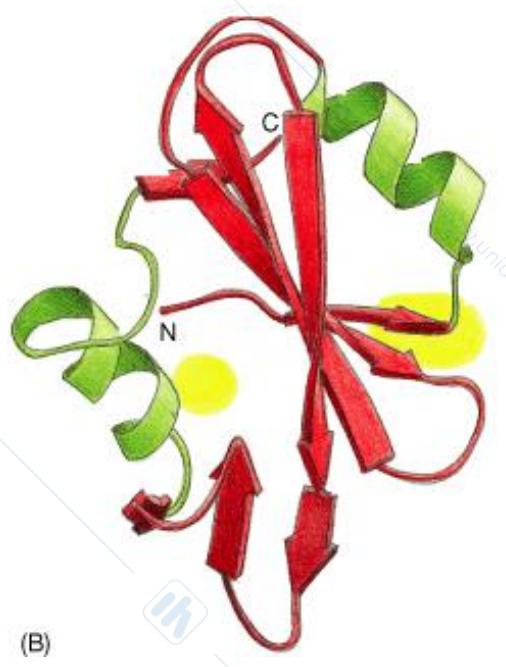
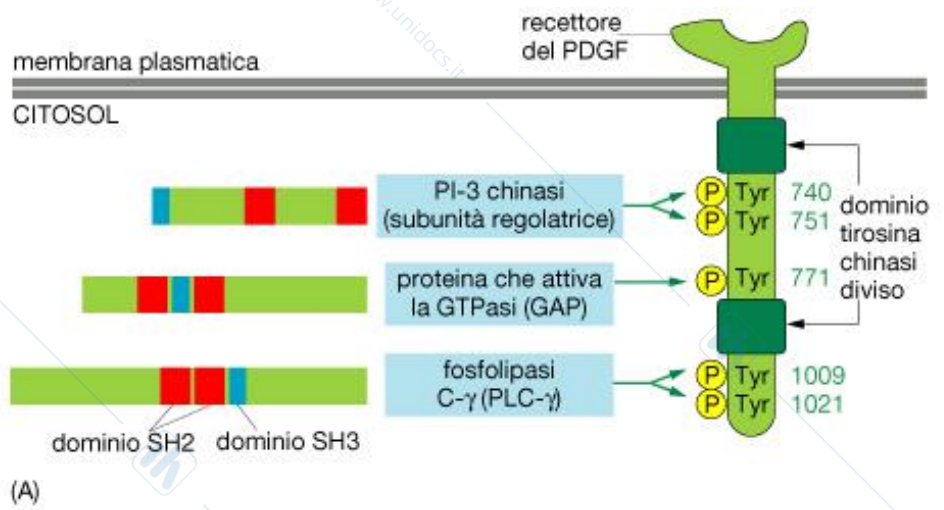
**Due recettori si associano (dimerizzazione) ed avviene la transfosforilazione, cioè ogni recettore fosforila le tirosine presenti sul recettore associato**

Il recettore fosforila se stesso e altre proteine citoplasmatiche, che sono suoi substrati.

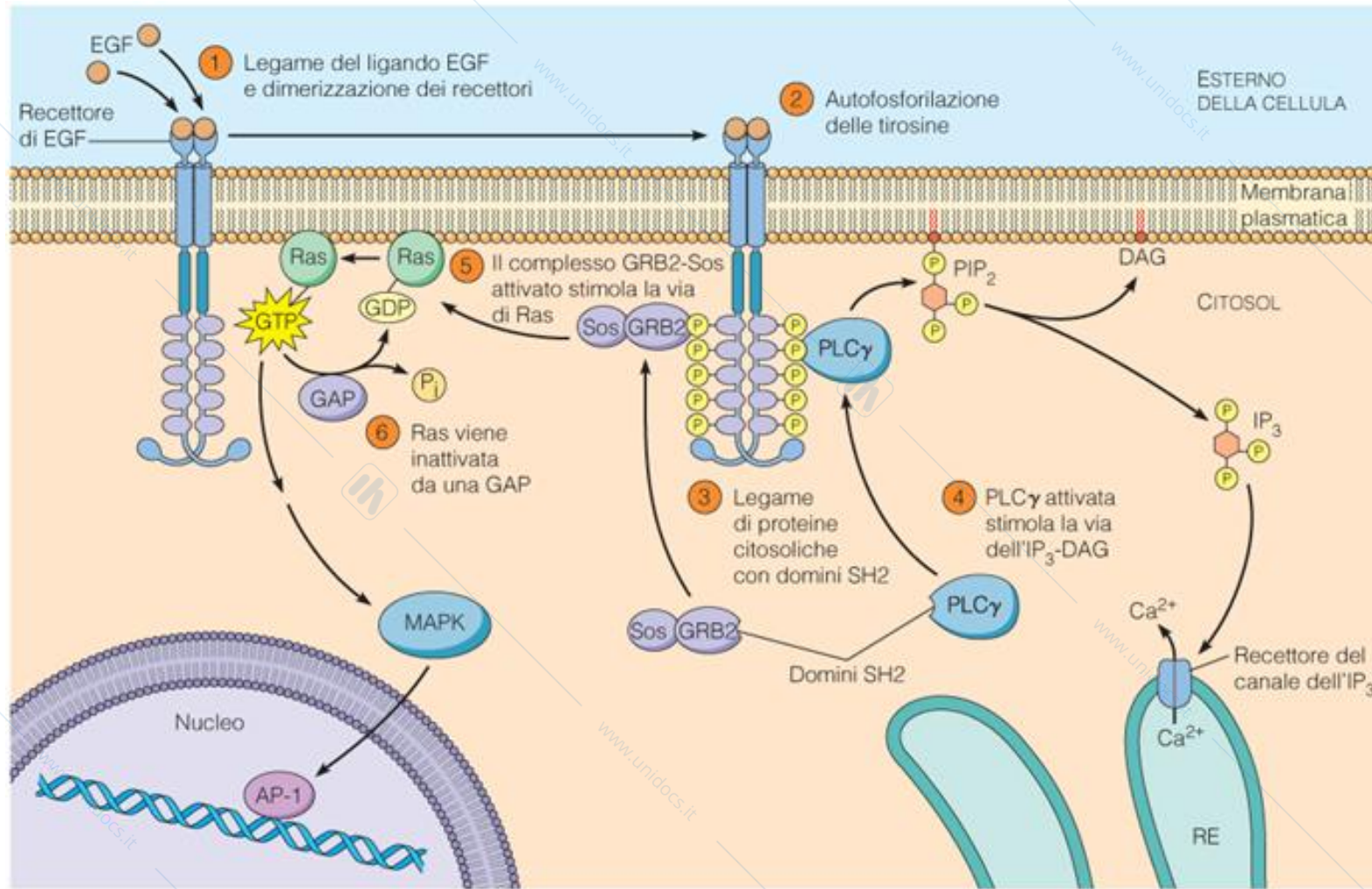
Le tirosine fosforilate servono da punti di attacco per domini particolari, chiamati **SH2** (da Src homology 2).



# Il recettore del PDGF: le tirosine fosforilate sul recettore servono da attacco per i domini SH2



# Meccanismo d'azione del EGF epidermal growth factor

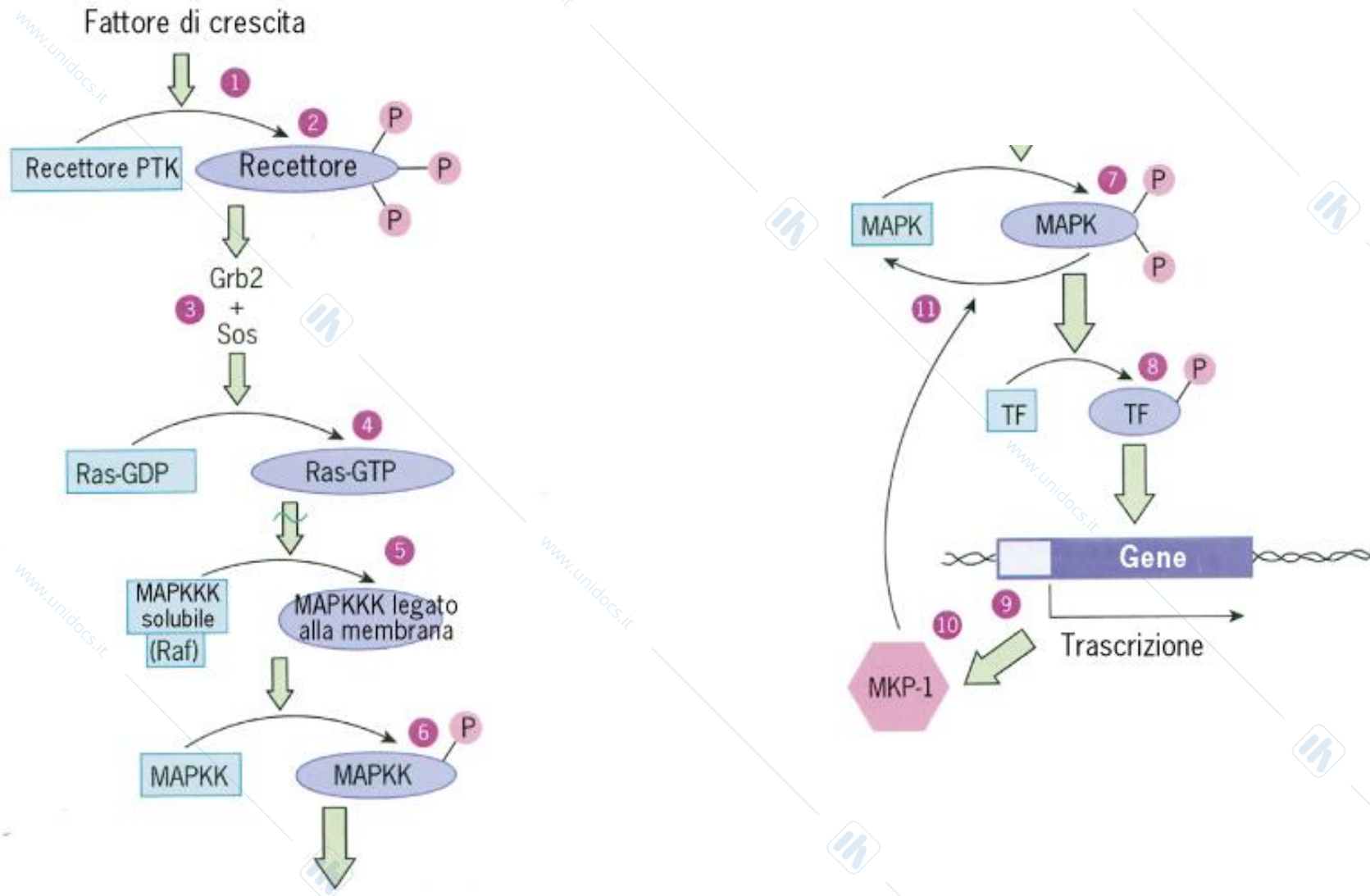


**Figura 14-18** Traduzione del segnale attraverso i recettori con attività tirosina chinasi. ① In seguito all'interazione con il ligando, il recettore con attività tirosina chinasi, come mostrato per il recettore per il fattore di crescita dell'epidermide (EGF), dimerizza e ② va incontro ad autofosforilazione. In seguito alla fosforilazione dei

residui di tirosina nella coda citosolica del recettore, ③ proteine con domini SH2 come la fosfolipasi C (PLC) e la GRB2 si legano al recettore. ④ Il legame della fosfolipasi C induce la sua attivazione e la scissione di PIP<sub>2</sub> in IP<sub>3</sub> e DAG. ⑤ Il legame di GRB2 induce l'attivazione di Sos, una proteina legata a GRB2, che attiva la proteina

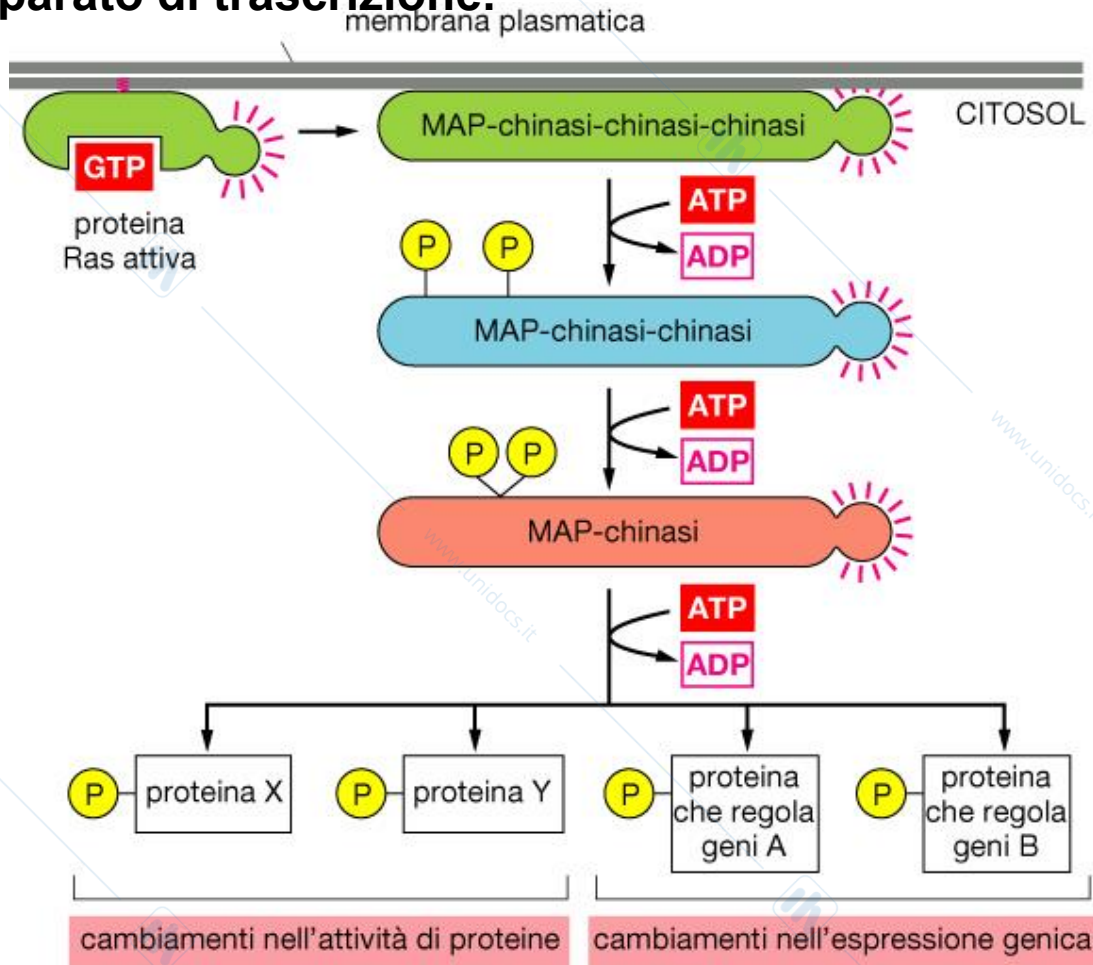
Ras facendole rilasciare GDP ad acquisire GTP. Ras attivata inizia una cascata di eventi che culminano nella formazione di AP-1, un fattore trascrizionale nucleare che stimola l'espressione di geni necessari per la crescita cellulare. ⑥ Ras viene inattivata dall'idrolisi del GTP ad essa legato, con l'aiuto di una proteina GAP.

# L'ATTIVAZIONE DI RAS PORTA ALL'ATTIVAZIONE DELLA VIA MAP CHINASICA

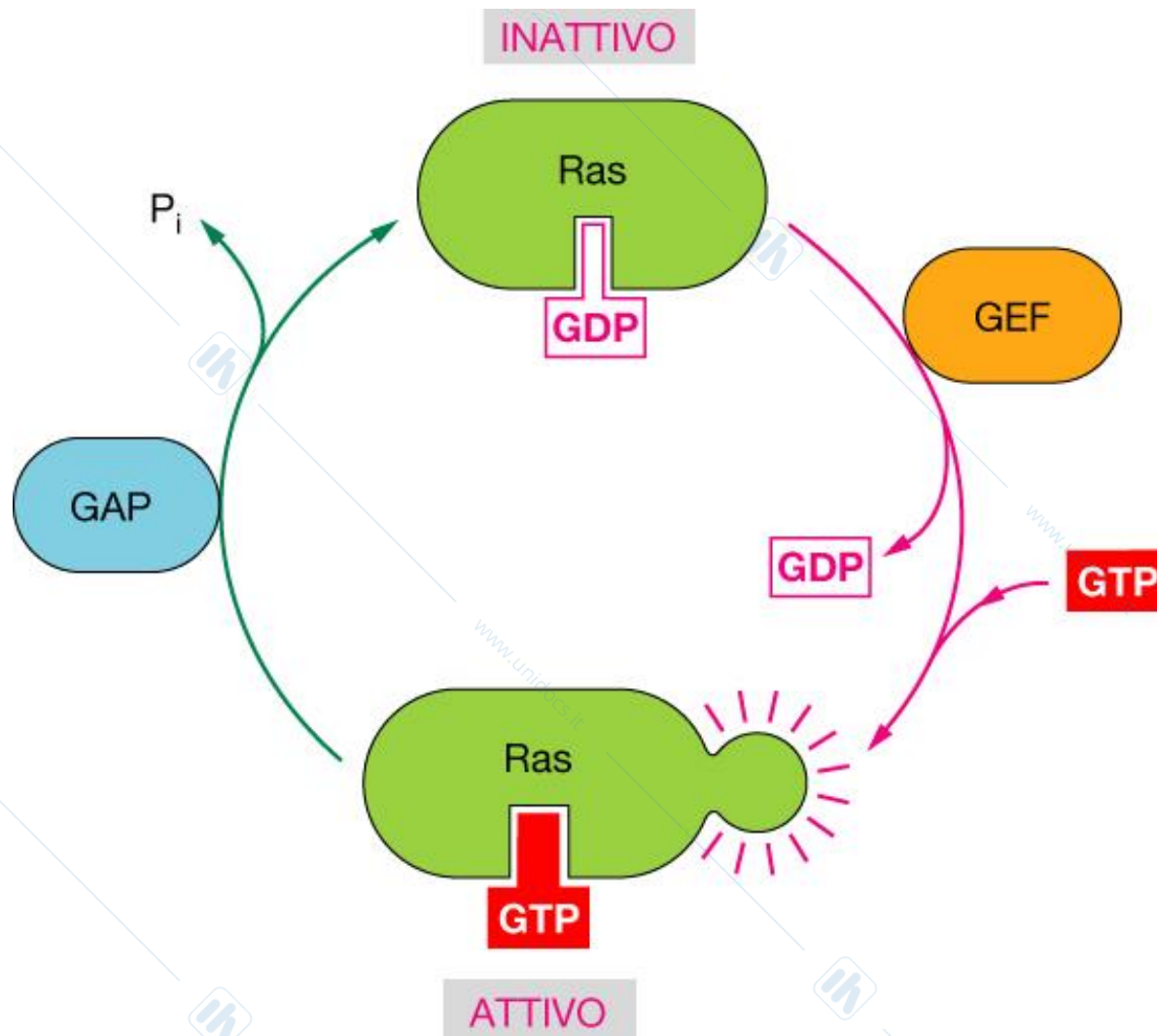


# La via delle **chinasi MAP** e l'attivazione dei fattori trascrizionali.

Le MAP chinasi sono una famiglia di enzimi che si fosforilano e si attivano in cascata in risposta a proteine G/PKC o alla via di Ras, tipica dei recettori ad attività enzimatica intrinseca. L'ultimo elemento della catena, dopo fosforilazione, entra nel nucleo, e fosforila fattori trascrizionali, attivandoli, cioè rendendoli capaci di legare il DNA e di montare l'apparato di trascrizione.

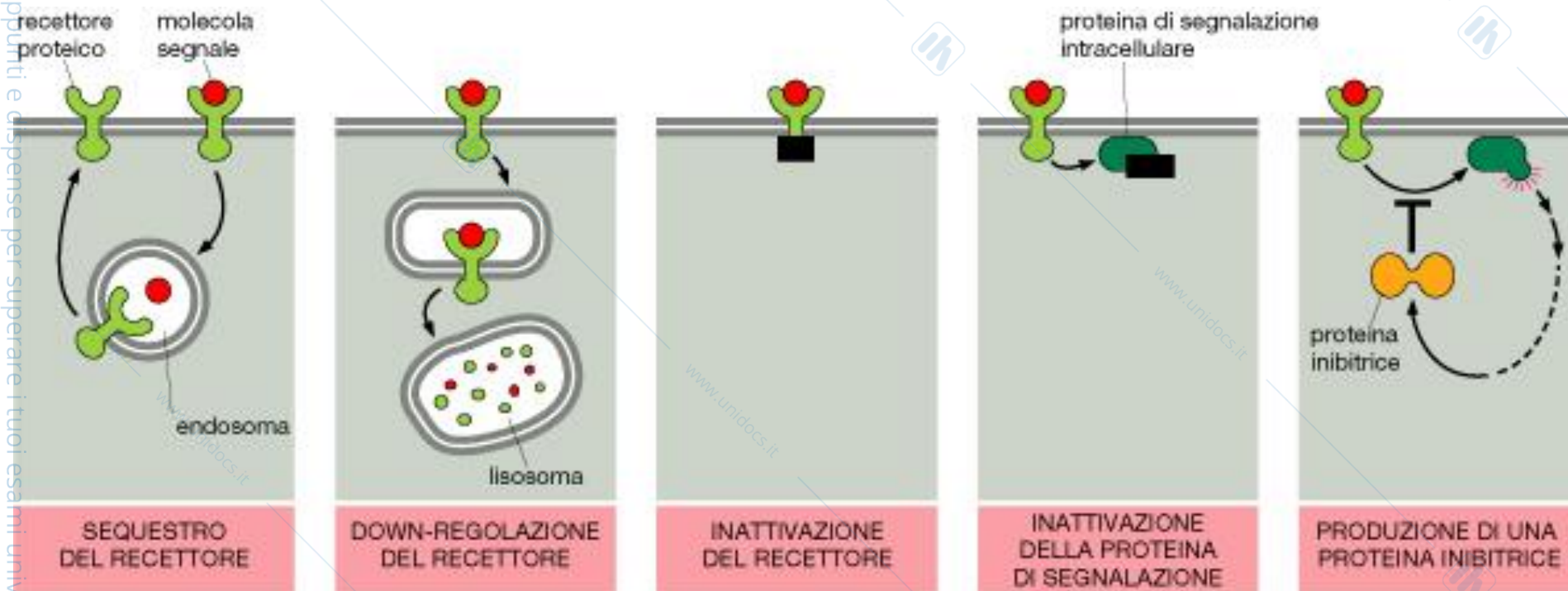


La proteina Ras è una proteina G monomerica, che si attiva per legame di GTP ed ha attività GTPasica: è attivata a valle dei recettori tirosino chinasi



# Le vie di segnalazione si disattivano per :

- 1) regolazione negativa del recettore: il recettore viene spostato dalla membrana e portato negli endosomi. Qui può essere riciclato sulla membrana, o condotto nei lisosomi dove viene degradato.



## 2) La desensibilizzazione dei recettori ovvero arresto della attività della trasduzione del segnale.

