

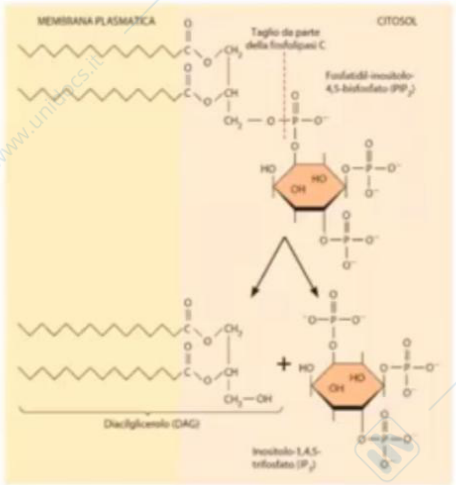
Biologia animale, 2-12-2020 seconda ora.

## LA TRATTAZIONE DEI RECETTORI METABOTROPICI ASSOCIATI A PROTEINE G, CHE REGOLANO I SECONDI MESSAGGERI:

- Inositolo-1,4,5 trifosfato ( $IP_3$ )
- diacilglicerolo (DAG)
- proteina chinasi (PKC)/ $Ca^{2+}$

✓ Recettori associati a proteine G (GPCR) che regolano i secondi messaggeri

- AMP ciclico (cAMP) / proteina chinasi A (PKA)
- ➔ Inositolo-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) / diacilglicerolo (DAG) / proteina chinasi C (PKC) /  $Ca^{2+}$



MEMBRANA PLASMATICA

CITOSOL

Taglio da parte della fosfolipasi C

Fosfatidil inositolo-4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ )

Diacilglicerolo (DAG)

Inositolo-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ )

- L'idrolisi operata dalla fosfolipasi C libera  $IP_3$  nel citosol e lascia DAG in membrana.
- Molte proteine G utilizzano come secondi messaggeri  $IP_3$  e il DAG → importanza dei fosfolipidi contenenti inositolo.

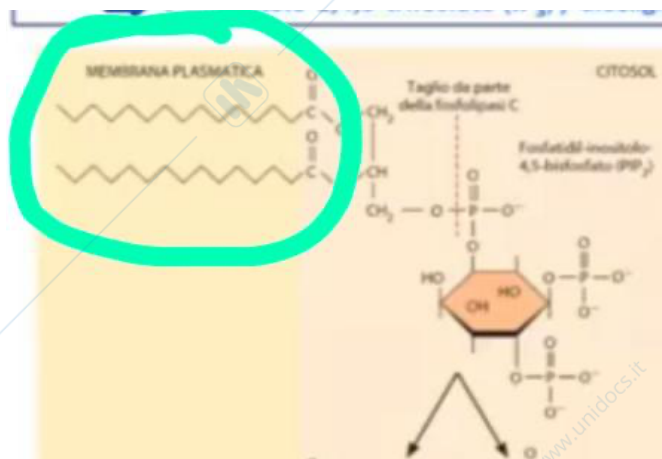
**FIGURA 23.12** Formazione di inositolo trifosfato e diacilglicerolo. L'inositolo trifosfato ( $IP_3$ ) e il diacilglicerolo (DAG) si formano quando la fosfolipasi C scinde il fosfatidil-inositolo-4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ), un fosfolipide di membrana. L' $IP_3$  viene rilasciato nel citosol, mentre il DAG resta nella membrana. Sia l' $IP_3$  sia il DAG fanno da secondi messaggeri in molte vie di trasduzione del segnale.

### Chi sono queste molecole?

" $IP_3$ " e "DAG" sono i prodotti derivanti dall'idrolisi compiuta dalla Fosfolipasi del loro precursore, ovvero il " $PIP_2$ " (Fosfatidil-inositolo-4,5-bisfosfato).

Durante questo processo la Fosfolipasi C libera  $IP_3$  nel citosol e lascia invece DAG in membrana.

Questa è una molecola di membrana che sporge nello spazio intra cellulare, ovvero nel citosol. E come si può ben notare, sulla sinistra troviamo delle code lipofobe di ancoraggio alla membrana.



Possiamo vedere che si tratta di un derivato del glicerolo, poiché possiamo notare sulla sinistra, i tre atomi di carbonio del glicerolo legati con tre atomi -OH; che sono stati esterificati da acidi grassi che lo ancorano alla membrana plasmatica; questo sarà poi il gruppo, che una volta idrolizzato, darà vita all'inositolo trifosfato.

Questa è la molecola che è substrato della fosfolipasi C.

Ma chi è la Fosfolipasi C?

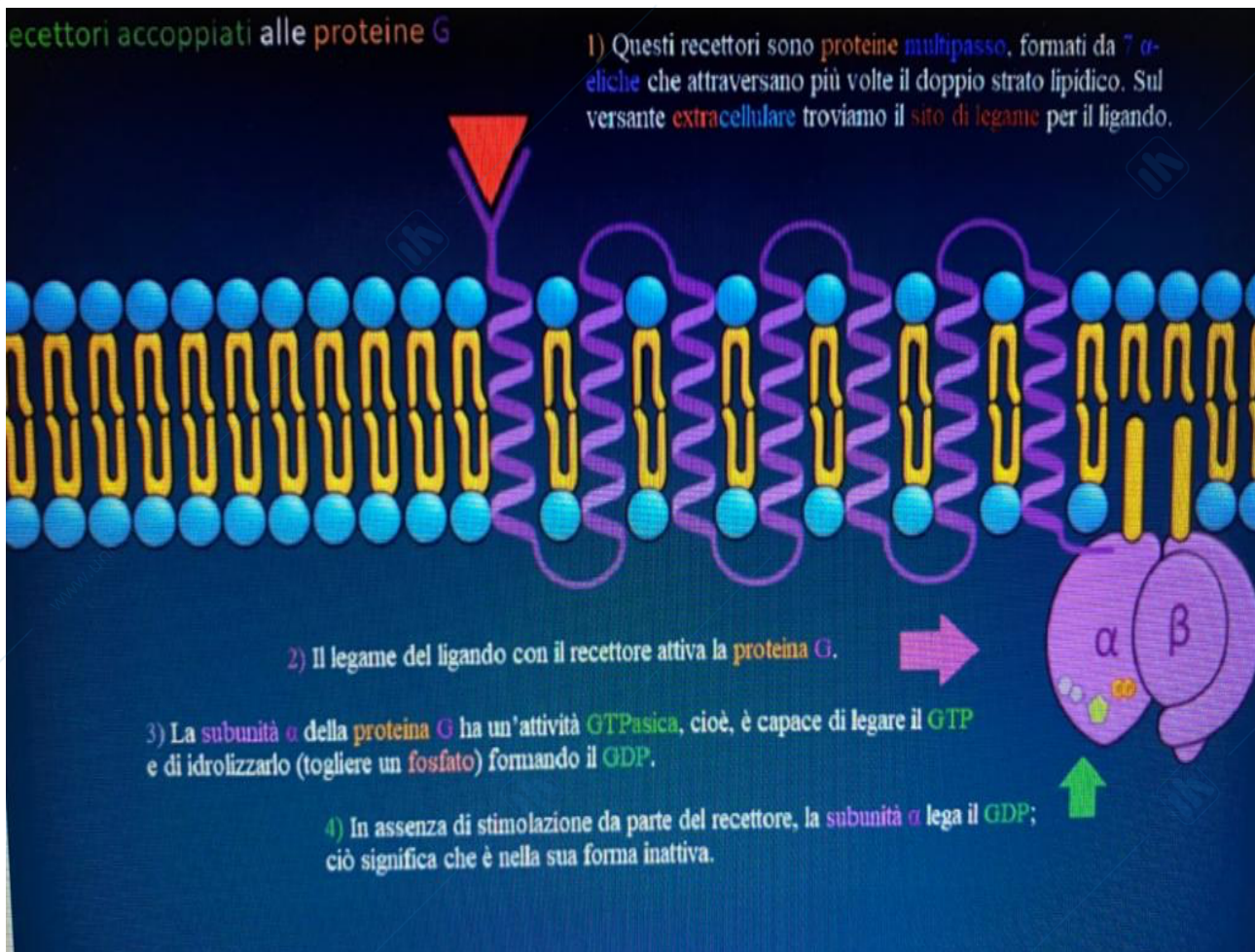
La fosfolipasi C è un altro enzima che è coinvolto nel processo di idrolisi dei fosfolipidi., e per questo è coinvolto anche nella trasduzione dei segnali dei recettori metabotropi associati a proteine G.

La via di trasduzione dei segnali di questi recettori metabotropi coinvolge ancora delle proteine G, in special modo proteine G Q.

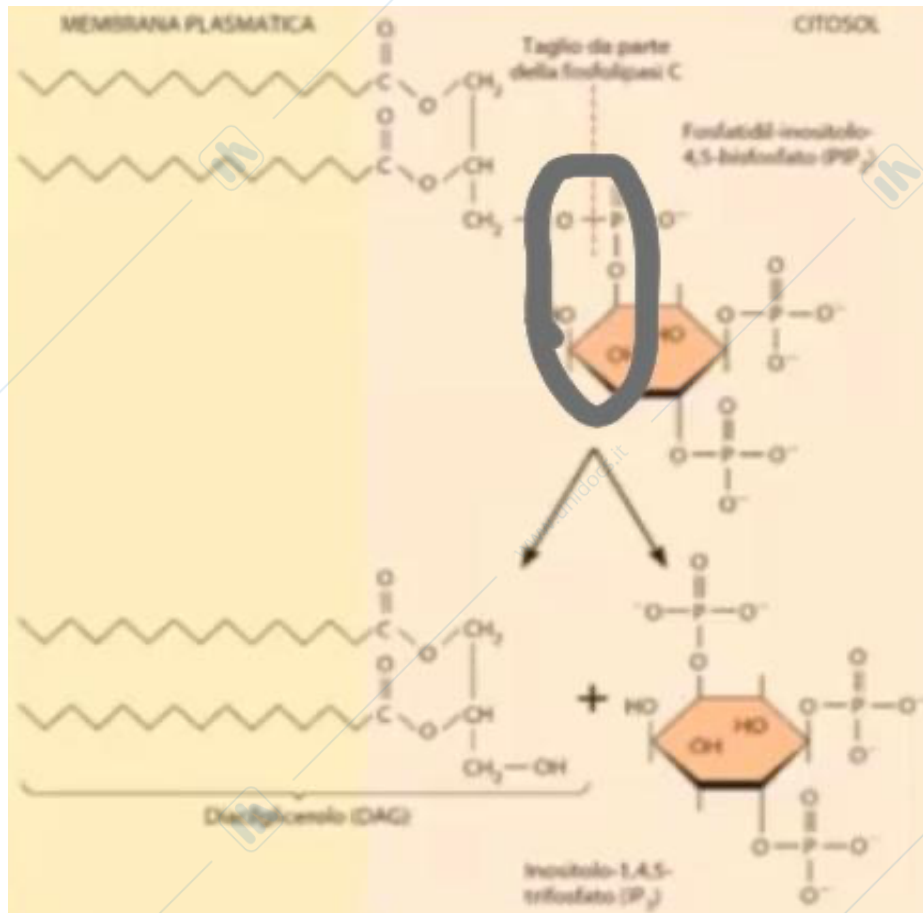
**GQ** è semplicemente una proteina G che si associa all'enzima fosfolipasi C ed  $IP_3$ .

Questa proteina GQ è una proteina G che come le altre lega GDP nella sua forma inattiva, in condizioni basali, e scambia GDP con GTP quando viene attivata...causa del legame ligando-recettore.

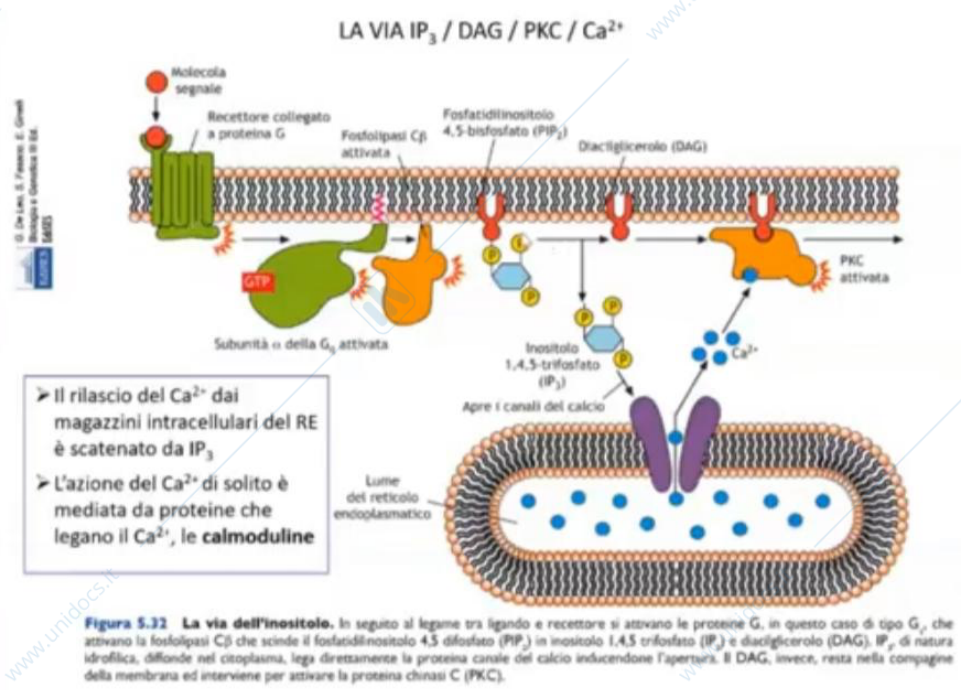
Quindi la proteina Alfa legante GDP è la proteina Alfa Attiva che può, legandosi alla fosfolipasi C, ed attivarla.



La fosfolipasi C, una volta attivata esegue la scissione del fosfolipide di membrana



Così facendo, libera l'inositolo trifosfato, che è libero di muoversi nel citosol... una volta distaccato dal diacil-glicerolo, che invece è ancora ancorato alla membrana plasmatica.



Questa immagine rappresenta in maniera più dettagliata e completa la trasduzione del segnale.

Qui viene mostrato anche qual è il destino dell'inositolo trifosfato una volta separato dal  $\text{PIT}_2$ .

(N.b) Nel citosol il  $\text{IP}_3$  trova il suo recettore a livello dei canali per il calcio, localizzati sul REL.

Poiché, come sappiamo, nel reticolo endoplasmatico liscio (che è un organello subcellulare di deposito di calcio) troveremo in quantità più concentrata il calcio rispetto alla quantità presente nel citosol.

Quindi quando il  $\text{IP}_3$  lega il suo recettore a livello di questi canali e ne provoca l'apertura, il calcio defluirà; muovendosi secondo gradiente di concentrazione.

Cioè da una zona con maggior concentrazione di calcio (REL) ad una con meno concentrazione (CITOSOL).

Il calcio quindi, con questo efflusso aumenta la concentrazione nel citosol.

Con questo aumento di calcio nel citosol, si provoca l'attivazione della PKC, cioè la proteina chinasi C.

Nel processo ciò che avviene è che: il calcio aumenta di concentrazione nel citosol, e lega siti di legame o recettori a livello della CALMODULINA.

Che non è altro che una proteina della PKC che ha siti di legame per il calcio.

Di fatti, al momento del legame la Calmodulina cambia conformazione...

Cambiando conformazione modificherà l'attività delle proteine "bersaglio".

Esistono diversi tipi di Calmodulina:

- Calmoduline che sono subunità regolatorie della PKC
- Calmoduline che condizionano l'attività della chinasi

La concentrazione di calcio è responsabile dell'attivazione della PKC

Ciò significa che la PKC attivata è una chinasi che fosforila diverse proteine bersaglio, che innescano diverse funzioni, e le più svariate sono:

➤ **Dall'attivazione della PKC dipendono molte diverse funzioni cellulari**

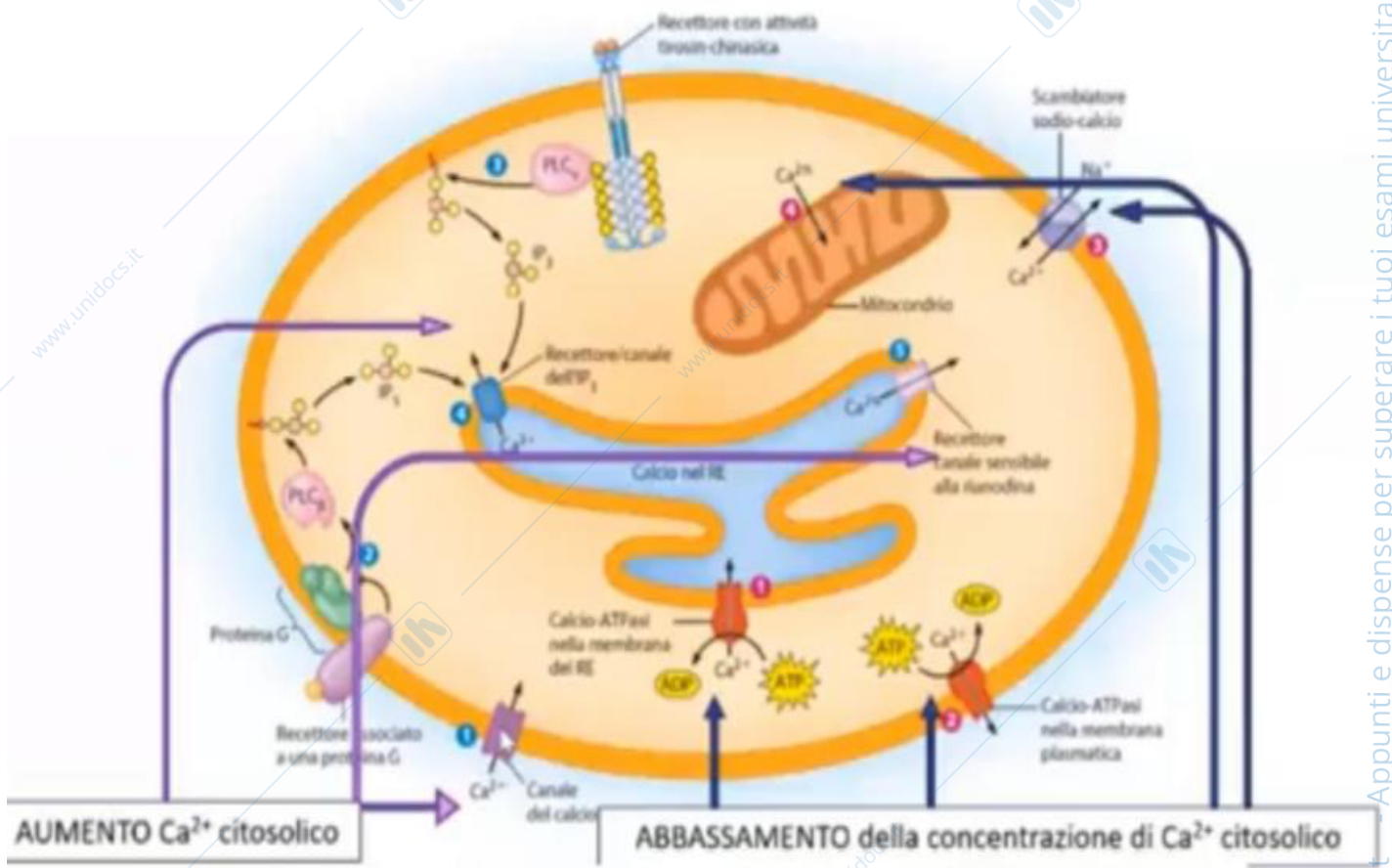
- crescita cellulare
- regolazione dei canali ionici
- modificazioni del citoscheletro
- aumento del pH cellulare
- effetti sulla secrezione di proteine e di altre molecole

➤ **la concentrazione locale di  $\text{Ca}^{2+}$  regola una grande quantità di processi cellulari**

- esocitosi (anche di neurotrasmettitori)
- attivazione di molte proteine effettrici → sistema regolatorio  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulina nel quale il  $\text{Ca}^{2+}$  citosolico è legato quando la sua concentrazione raggiunge il valore  $1 \mu\text{M}$  ed è rilasciato quando essa scende a  $0,1 \mu\text{M}$ .
- la fecondazione delle cellule uovo animali
  - ✓ esocitosi di granuli corticali per la modificazione del rivestimento proteico dell'uovo (blocco lento della polispermia)
  - ✓ attivazione dell'uovo per l'inizio dello sviluppo embrionale

Come abbiamo detto, il calcio, è responsabile dell'attivazione della PKC, e quindi di questa fosforilazione. Di fatti il rilascio di calcio dalle scorte è un evento che si personifica in una sorta di interruttore che fa scattare una risposta biologica immediata.

## REGOLAZIONE DELLA CONCENTRAZIONE DI $\text{Ca}^{2+}$ INTRACELLULARE



In questa immagine sono rappresentate le vie di aumento del calcio citosolico e dell'abbassamento della concentrazione di calcio citosolico proprio per vedere meglio quali sono le vie di entrata e di uscita.

In condizioni basali, il citosol è un ambiente a bassa concentrazione di calcio, mentre il REL (Reticolo endoplasmatico liscio) è un organello in cui la concentrazione di calcio è molto alta.

La regolarità di queste funzioni biologiche, è garantita dal ciclo regolare del flusso del calcio tra il citosol, ed il reticolo endoplasmatico liscio.

L'apertura di questi canali ionici, che permettono appunto il flusso del calcio, dipende da alcuni input... ad esempio:

- receptore associato ad una proteina G, che attraverso una fosfolipasi C libera (tramite idrolisi) l' $\text{IP}_3$  che può quindi aprire il canale per liberare il calcio sul REL;

(N.B) Questa stessa operazione (che qui è caratterizzata dalla fosfolipasi beta) può essere compiuta da un'altra fosforilasi C, detta gamma, che è attivata da un altro tipo di receptore, chiamato receptore con attività tirosin-chinasica.

Da questi due tipi di reazioni differenti, e con, a loro volta input diversi, si può aumentare il calcio citosolico e dei sistemi fisiologici costantemente all'opera lo diminuirlo. Quindi lavorare in maniera analoga.

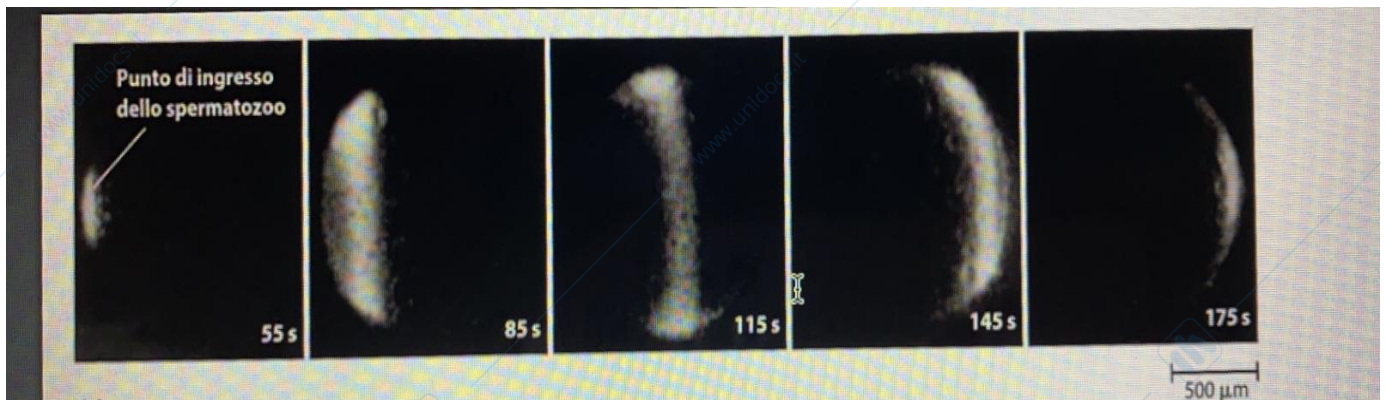
**N.B** L'aumento di calcio a livello del citosol è importante perché si abbiano diversi effetti biologici.

Il rilascio del  $\text{Ca}^{2+}$  indotto dal  $\text{Ca}^{2+}$  permette una rapida propagazione dei segnali

Ad es., nella fecondazione della cellula uovo:

1. esocitosi dei granuli corticali (blocco lento della polispermia)
2. attivazione dell'uovo

Questo innesca in esito alla interazione meccanica tra spermatozoo e cellula uovo un rilascio di calcio che possiamo vedere meglio in questa immagine: (es. uovo di pesce)



In questa immagine si può osservare lo sfioramento meccanico dell'uovo di pesce.

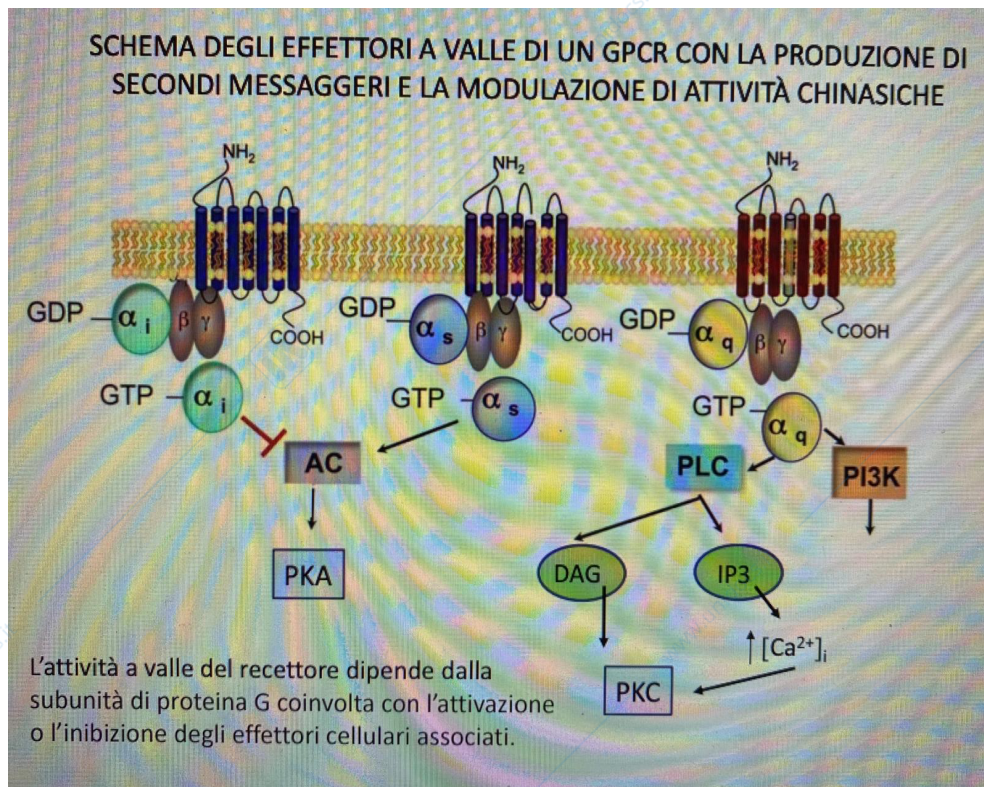
Esso può essere visualizzato con un opportuno reagente luminescente.

L'onda di calcio, che si intravede, viene propagata lungo la membrana della cellula uovo; ad indicare proprio che c'è una sensibilizzazione della superficie cellulare, che innesca la liberazione dei granuli corticali, quindi la produzione di un rivestimento della cellula uovo, che impedisce la cosiddetta "polispermia".

Cos'è la "Polispermia"?

La polispermia è un fenomeno di fecondazione multipla, successiva alla prima ad opera di altri spermatozoi che possono raggiungere la cellula uovo (in modo tale solo che il primo spermatozoo possa essere l'unico a fecondare la cellula uovo).

## SCHEMA RIASSUNTIVO LEZIONE:



Le **proteine G** sono un sottogruppo di una superfamiglia di **GTPasi**.

Esistono le GTPasi monomeriche e le proteine G eterotrimeriche, costituite cioè da tre subunità proteiche. Le subunità  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  sono divise generalmente in subunità  $\alpha$  e complesso  $\beta\gamma$ , agendo quest'ultimo come un'unità. Queste proteine sono direttamente associate a recettori di membrana, conosciuti recettori collegati a proteine G.

Nello **stato inattivo** la subunità  $\alpha$  lega **GDP** ed è strettamente legata al complesso  $\beta\gamma$ .

Il legame di una molecola segnale con il recettore ne provoca un'alterazione conformazionale, che si riflette direttamente sulla subunità  $\alpha$  che a sua volta cambia conformazione. Il cambiamento conformazionale determina una dissociazione della subunità  $\alpha$  dal complesso  $\beta\gamma$ , per sostituire poi il GDP legato con un GTP assumendo così lo stato attivo. Entrambe le unità ora dissociate possono interagire con proteine bersaglio, che sono generalmente canali ionici oppure degli enzimi, quali **adenilciclasti**, **fosfolipasi**, **fosfodiesterasi**.

Schematicamente le **proteine G** possono:

1. Agire da tramite tra recettori a sette segmenti transmembrana ed effettori enzimatici intracellulari (azioni a livello della membrana plasmatica o delle membrane interne)
2. Agire da tramite diretto (senza secondi messaggeri) tra recettori e canali ionici
3. Agire da tramite tra recettori ad attività enzimatica e i loro effettori

**Esistono quattro classi di proteine G:**

1. **Gs:** attivano l'adenilato ciclasi, quindi la sintesi dell'AMP ciclico (cAMP);
2. **Gi:** inibiscono l'adenilato ciclasi;
3. **Gq:** attivano le fosfolipasi;
4. **Gt:** attiva la cGMP Fosfodiesterasi.

La loro azione può essere modulata da proteine intracellulari, quali **RGS e AGS**.

Una proteina G è la gustducina: funzioni del gusto (Amaro e dolce)

La proteina G eterotrimerica: percezione dell'odore