

COMUNICAZIONE TRA CELLULE

In questa parte del programma verranno affrontati i meccanismi con i quali le cellule comunicano tra loro e con l'ambiente esterno. Uno degli strumenti a disposizione delle cellule per comunicare sono alcuni recettori presenti sia sulla membrana plasmatica sia nella regione intracellulare.

Da dove possono arrivare i segnali? Ci sono segnali, come ormoni o neurotrasmettitori, che arrivano dall'ambiente extracellulare... ma possono arrivare anche dall'ambiente esterno come:

- Gli odori: costituiti da particolari molecole odorose disperse nell'aria. Quando percepiamo un odore è perché una molecola odorosa chimica ha raggiunto uno specifico neurone sensoriale dell'epitelio olfattivo, dove si discioglie nelle mucose ed interagisce con specifici recettori presenti sull'epitelio
- La luce: la luce non è molecola chimica, ma può essere recepita comunque grazie a specifici recettori presenti sui bastoncelli, cellule deputate alla captazione della luce. Il recettore dei bastoncelli prende il nome di RODOPSINA

ORMONI

Gli ormoni sono sostanze sintetizzate in particolari cellule e trasportate attraverso il sangue verso CELLULE BERSAGLIO: non serve solo avere cellule che sintetizzano gli ormoni, ma servono anche cellule che presentino i giusti recettori affinché avvenga la comunicazione. In sostanza tutti i processi cellulari sono controllati e coordinati da uno o più ormoni, come la regolazione del metabolismo energetico, la pressione sanguigna, il bilancio elettrolitico, il differenziamento sessuale, lo sviluppo e la riproduzione

→ORMONI IDROSOLUBILI

Gli ormoni idrosolubili sono ormoni che si trovano in ambiente acquoso, ma non sono in grado di attraversare le membrane. Per questo motivo per comunicare con l'interno della cellula devono legarsi a specifici recettori presenti sulla membrana cellulare. Essi possono essere:

- Ormoni PEPTIDICI: sono piccole proteine che vengono secrete nel flusso ematico per raggiungere un determinato bersaglio. Un esempio ne è l'insulina, il glucagone e la vasopressina.
- Ormoni NON PEPTIDICI: un esempio ne è la l'adrenalina, la noradrenalina e gli ormoni tiroidei

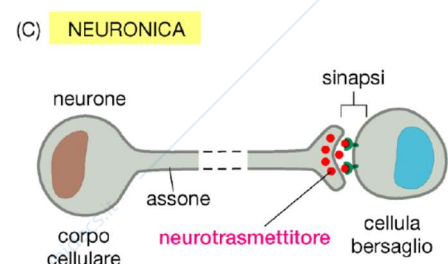
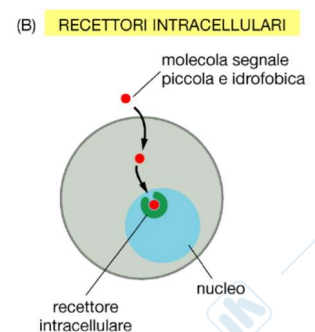
→ORMONI LIPOSOLUBILI

Gli ormoni liposolubili sono invece ormoni in grado di attraversare la membrana plasmatica, essendo derivati del colesterolo. Essi necessitano di recettori intracellulari. Un esempio ne è l'aldosterone, i corticosteroidi, gli ormoni sessuali, gli androgeni e gli estrogeni.

→Da questa divisione, questo capitolo sarà diviso in due: recettori di membrana e recettori intracellulari

NEUROTRASMETTITORI

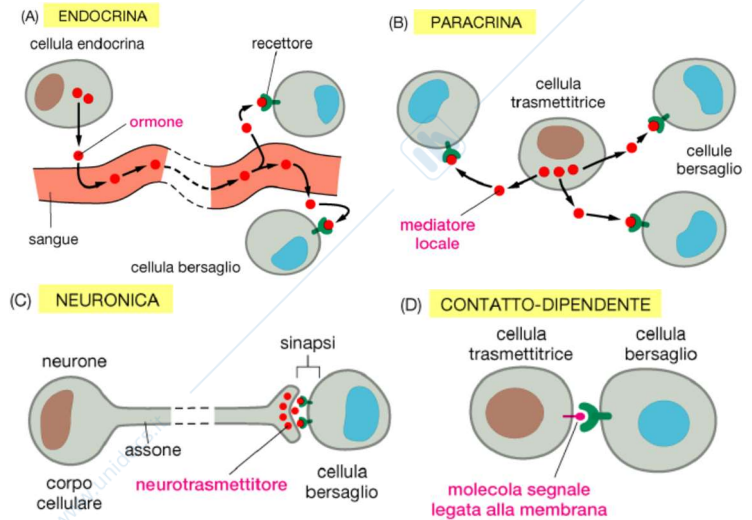
Anche queste sono molecole di tipo idrosolubile, prodotte a livello di cellule neuronali e importanti nell'azione delle sinapsi neuronali: esempi possono essere l'acetilcolina, l'acido aspartico, l'acido glutammico, la glicina, la dopamina, la norepinefrina, l'epinefrina o adrenalina, e la serotonina.



FORME DI SEGNALE TRAMITE LE CELLULE

Le molecole di segnalazione vengono spesso classificate sulla base della distanza tra il loro sito di produzione e il tessuto bersaglio su cui agiscono.

- **ENDOCRINO:** molecole segnale a lungo raggio, secrete dalle ghiandole endocrine, che vengono trasportate dal flusso sanguigno e che possono raggiungere target cellulari anche molto distanti. Esempio: gli ormoni
- **PARACRINO:** segnale che agisce su breve distanza e agisce in un'area localizzata (tessuti vicini). Esempio: fattori di crescita
- **NEURONALE:** molto simile a quella paracrina, ma specifica per il sistema neurone-sinapsi
- **CONTATTO DIPENDENTE:** il segnale è scambiato a brevissima distanza, richiede contatto fisico tra la cellula che lo invia e quella che lo riceve (non c'è una molecola secreta, ma il segnale si trova legato alla membrana plasmatica)
- **AUTOCRINA:** alcuni mediatori locali agiscono sulla cellula stessa che li produce



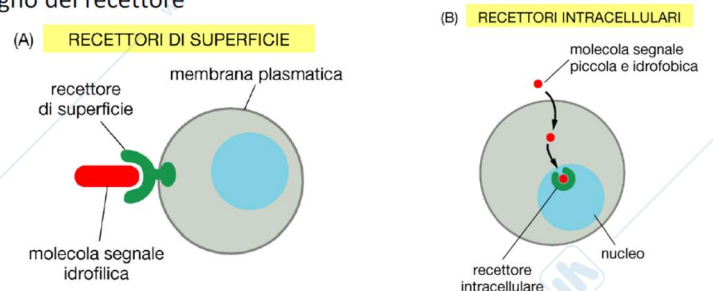
ELEMENTI NECESSARI ALLA COMUNICAZIONE

- **Messaggio/segnale:** idrofilico o liposolubile
- **Ricezione:** tramite recettori sulla membrana o recettori interni alla cellula
- **Trasduzione:** è una serie di processi che consentono ad un segnale di cambiare in parte la sua forma (senza cambiare la propria funzione) e indurre una specifica risposta nella cellula
- **Risposta:** consiste nello spegnimento del segnale

RECETTORI DI MEMBRANA O CITOSOLICI

- **RECETTORI DI MEMBRANA:** sono per le molecole grosse e idrofiliche che non riuscirebbero ad attraversare la membrana facilmente
- **RECETTORI CITOSOLICI:** sono per le piccole molecole liposolubili che invece attraversano la membrana plasmatica

Molecole piccole come l'ossido nitrico (NO) passano attraverso la membrana e modificano direttamente l'attività degli enzimi, non hanno bisogno del recettore



→TRASDUZIONE

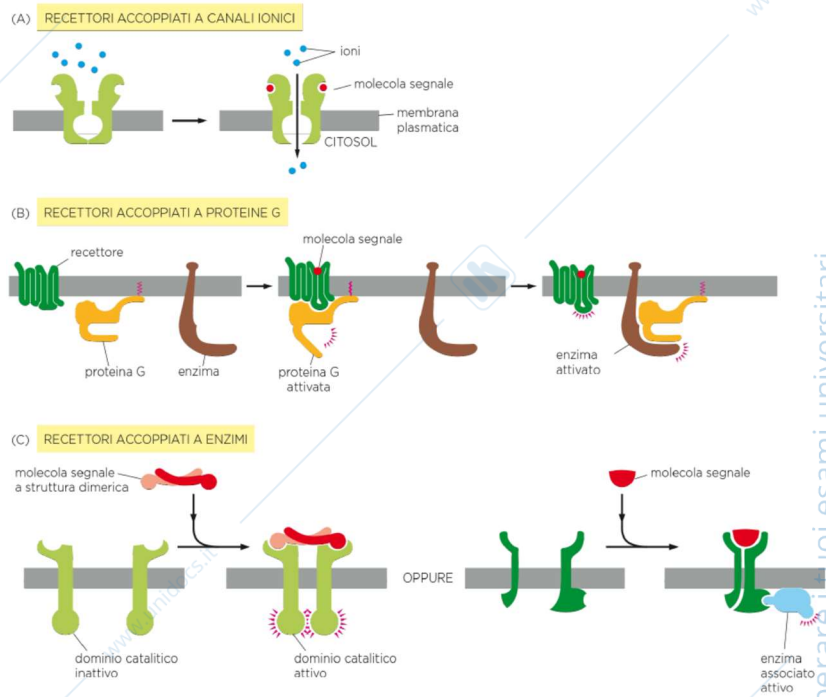
Come fa un particolare segnale, che non potrà mai entrare all'interno della cellula, a ricevere una risposta dalla cellula e a farle cambiare sostanzialmente la sua funzione/quello che sta facendo? → Il segnale cambia la sua forma a seconda delle fasi descritte prima: inizialmente il segnale è rappresentato dall'ormone per esempio, poi dall'ormone legato al recettore, ed infine esso "cambia la sua forma" per far scatenare una cascata di eventi che faranno modificare la funzione della cellula.

Trasduzione: far cambiare di forma il segnale, senza fargli perdere il suo significato

--- Tutti i vari passaggi che esso comporta vengono ripresi più avanti---

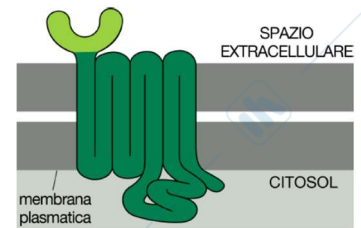
SPECIFICITA' DEI RECETTORI SULLA MEMBRANA

- Recettori accoppiati a proteine G
- Recettori tirosin chinasi
- Recettori canali: i canali ionici hanno la capacità di aprirsi solo in risposta a particolari segnali (come l'acetilcolina)



RECETTORI ACCOPIATI A PROTEINE G

Questi recettori (GPCR) sono proteine di membrana a 7 domini transmembrana: tutte presentano il gruppo ammino-terminale verso lo spazio extracellulare e il gruppo carbossi-terminale verso lo spazio citosolico, e tutte sono in grado di interagire con una PROTEINA G.

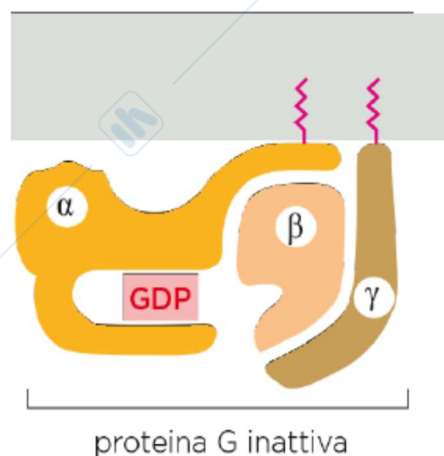


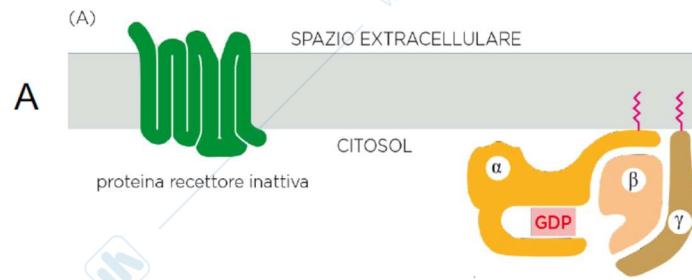
La parte extracellulare dei GPCR ha uno specifico sito di legame per il ligando, mentre la parte citosolica presenta un'ansa, la quale permette l'interazione con una proteina G (quando il sito di legame è occupato).

PROTEINE G

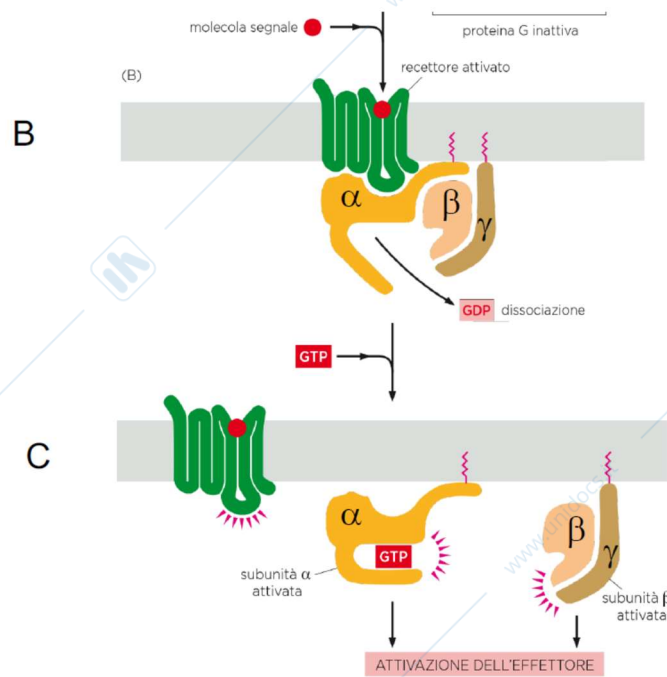
Sono formate da tre differenti subunità/polipeptidi, Galfa, Gbeta e Ggamma: hanno la stessa modalità di attivazione e la stessa struttura di base. La Galfa e la Ggamma sono particolari proteine di membrana, legate covalentemente ai lipidi di membrana (non hanno regioni transmembrana).

La proteina G, quando inattiva, presenta quindi questi tre polipeptidi uniti, in cui la Galfa è legata ad un GDP (nucleotide difosfato).

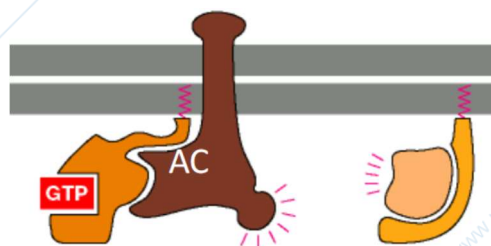




1. Quando il recettore lega una molecola di ligando, induce una modifica conformazionale del recettore stesso (ansa citosolica) → prima fase della trasduzione del segnale
2. Il cambio della conformazione del recettore aumenta l'affinità del recettore per una proteina G
3. La proteina G si lega al recettore che è stato attivato, in particolare si legano insieme l'ansa del recettore e la subunità alfa. Questo induce uno scambio tra la molecola di GDP e una molecola di GTP
4. Il legame del GTP alla subunità alfa determina il distacco tra la subunità alfa e le due subunità beta-gamma (rimangono attaccate), ma determina anche il distacco tra il recettore e la subunità alfa



5. Sia il recettore sia la proteina G risultano così attive
6. Quando G α è attiva e legata al GTP, va a legarsi e ad attivare una proteina bersaglio/EFFETTORE: essa prende il nome di AC, adenilato ciclasi. È una proteina transmembrana, più precisamente un enzima, con funzione catalitica verso la parte citosolica.
7. Quando avviene il legame tra G α e AC, la proteina bersaglio a sua volta si attiva: è un esempio di un enzima con funzione regolata da un'altra proteina



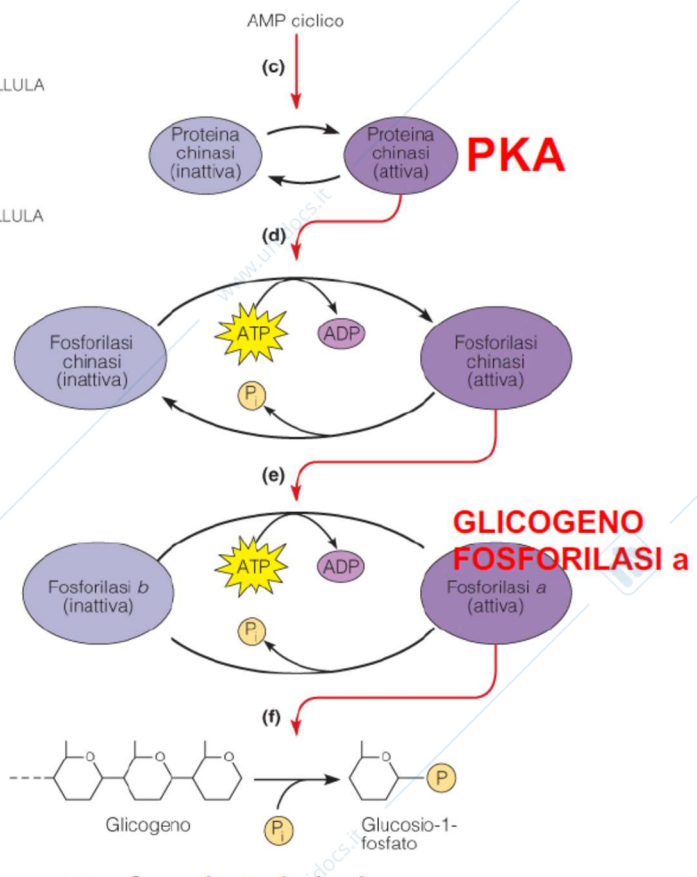
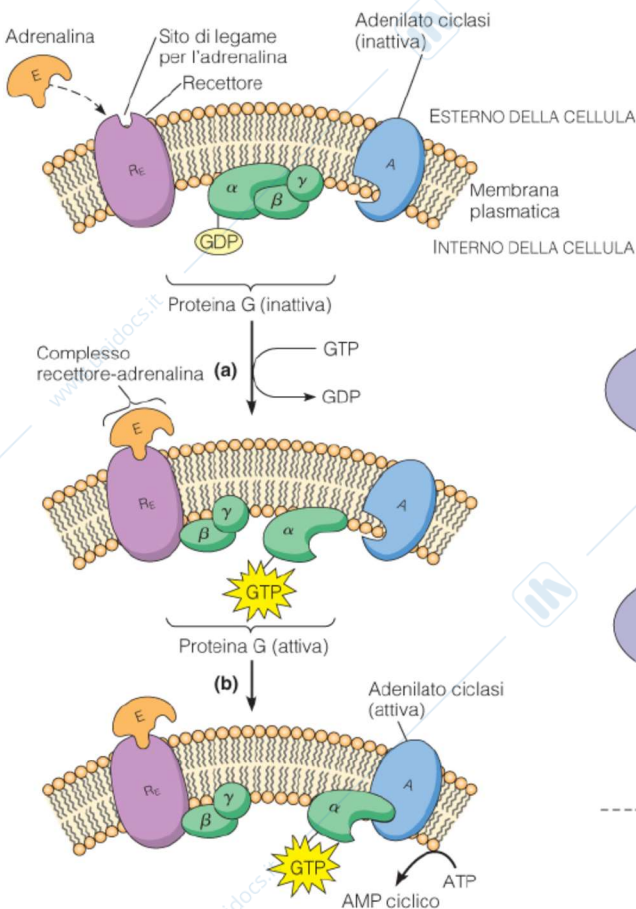
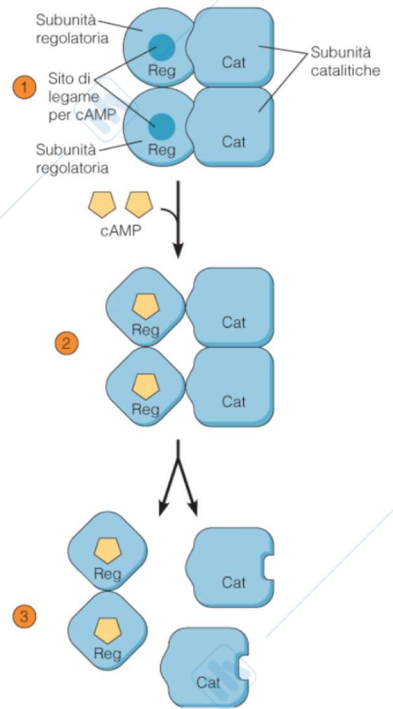
8. Cosa fa l'adenilato ciclasi quando è attivo? Prende una molecola di ATP e la trasforma in AMP ciclico. L'AMP ciclico è un secondo messaggero.
9. Piano piano aumenta la concentrazione di AMP ciclico e questo rappresenta una nuova forma di segnale. Quanto ne viene prodotto? Il cAMP viene prodotto finché l'enzima adenilato ciclasi rimane attivo

10. Il cAMP è molto importante per molti eventi cellulari: il principale bersaglio intracellulare del cAMP è l'enzima **PROTEINA CHINASI A (PKA)**. Questa particolare proteina è una chinasi, ovvero un enzima che ha la funzione di fosforilare una proteina/enzima: essa fosforila una serie di proteine cellulari, trasferendo un gruppo fosfato da una molecola di ATP a una serina, treonina o tirosina presente nella proteina bersaglio.

La PKA è un enzima che quando si trova nella cellula è costituito da quattro subunità, due regolatorie e due catalitiche, ed è nella forma inattiva.

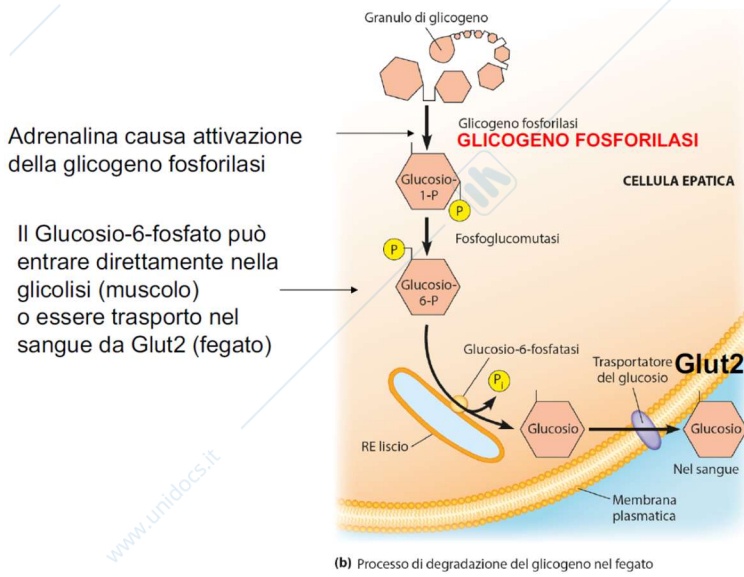
L'AMP ciclico regola l'attività della PKA, la attiva, causando in primis un cambiamento conformazionale della struttura terziaria della PKA e di conseguenza il distacco delle due subunità regolatorie dalle due subunità catalitiche.

A questo punto le subunità catalitiche sono attive e possono iniziare a fosforilare altre proteine cellulari: la proteina chinasi attiva, fosforila la fosforilasi chinasi, la quale a sua volta va a fosforilare la fosforilasi B.

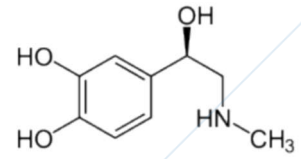


Fosforilasi del glicogeno e liberazione di glucosio

Esempio: FOSFORILASI DEL GLIGOGENO E LIBERAZIONE DEL GLUCOSIO



Adrenalina



Recettore accoppiato a G proteine β-ADRENERGICO

→Questo particolare recettore si trova sulla membrana plasmatica delle cellule del fegato e delle cellule muscolari

RICEZIONE
TRASDUZIONE
RISPOSTA

(a) Via di segnalazione	(b) Numero di molecole attivate
RICEZIONE Legame dell'adrenalina al recettore associato a proteine G	1 molecola
TRASDUZIONE Proteina G inattiva → Proteina G attiva	10 ² molecole
Adenilil ciclasi inattiva → Adenilil ciclasi attiva	10 ² molecole
ATP → AMP ciclico	10 ⁴ molecole
Proteina chinasi A inattiva → Proteina chinasi A attiva	10 ⁴ molecole
Fosforilasi chinasi inattiva → Fosforilasi chinasi attiva	10 ⁵ molecole
Glicogeno fosforilasi inattiva → Glicogeno fosforilasi attiva	10 ⁶ molecole
RISPOSTA Glicogeno → Glucosio-1-fosfato	10 ⁸ molecole

Le cellule epatiche rispondono all'ormone adrenalina con la demolizione del glicogeno per liberare glucosio-1-fosfato

Questa lunga cascata di eventi ed enzimi (iper-efficiente) è necessaria per rendere disponibile una grande quantità di glicogeno fosforilasi attiva, QUASI ISTANTANEAMENTE (la gazzella che deve scappare dal leone, deve avere a disposizione quasi immediata grandi quantità di glucosio).

La concentrazione di adrenalina nel sangue cambia e diventa in grado di attivare i suoi recettori, quando noi ci troviamo di fronte ad una situazione di fortissimo stress, o pericolo. Essa viene prodotta dalla midollare del surrene, per via di uno stimolo cerebrale, e questo meccanismo esiste ed è necessario in quanto consente all'organismo di essere iper-vigile e aumentare l'attività fisica (nel caso venissimo aggrediti da qualcuno o ci trovassimo in una situazione di pericolo → il muscolo deve utilizzare praticamente tutto il glucosio disponibile).

Gli effetti dell'adrenalina sono principalmente due:

- Il muscolo e il fegato aumentano la lisi del glicogeno e inibiscono la sintesi del glicogeno: aumenta la quantità di glucosio utilizzabile dalla cellula per la respirazione cellulare
- Fa aumentare la velocità e la forza del battito cardiaco: oltre ad avere bisogno di glucosio, per la respirazione cellulare è necessario anche una grande quantità di ossigeno
→ Per questo motivo l'adrenalina va a stimolare anche altri recettori, i recettori adrenergici che si trovano sul muscolo cardiaco: aumenta in questo modo la pressione arteriosa e la velocità del battito cardiaco e del flusso del sangue.

Quando ci troviamo in una situazione di pericolo, il segnale parte dal cervello, arriva alla ghiandola surrenale, la quale inizia a produrre l'ormone adrenalina. Questa, passando attraverso il flusso sanguigno, arriva alle cellule di tutto il corpo, ma solo alcune sono in grado di legare queste molecole: a differenza della cellula e del recettore si avrà una funzione diversa: quando si lega ai recettori delle cellule del muscolo cardiaco, vengono aumentate la pressione e il battito, quando si lega alle cellule epatiche, aumenta la demolizione del glicogeno.

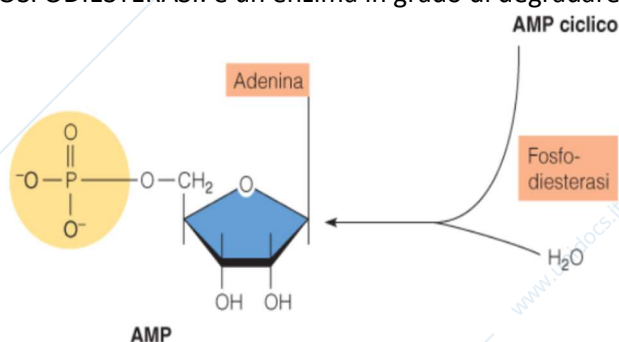
SPEGNIMENTO DEL MECCANISMO

Quando la gazzella si ferma, cosa deve succedere?

Questo meccanismo a cascata SI DEVE SPEGNERE. Come fa a spegnersi? → la concentrazione nel sangue dell'ormone diminuisce: quando viene prodotta si ha un transiente della concentrazione dell'ormone, che però si abbassa anche molto velocemente. La possibilità che una nuova molecola di ormone si legi nuovamente ai recettori si abbassa e questo permette lo "spegnimento" di tutto il meccanismo, inattivandolo. La cellula è inoltre in grado di rimuovere temporaneamente il ligando dalla membrana plasmatica e dal flusso mediante per esempio endocitosi.

L'attività della proteina G persiste solo fintanto che Galfa è legata al GTP e rimane separata da Gbeta e Ggamma. → Galfa è dotata di un'attività enzimatica intrinseca, la quale le permette (autonomamente) di idrolizzare (togliere un fosfato) la molecola di GTP a cui è legata e di legarsi ad una molecola di GDP (come all'inizio del meccanismo quando la proteina G era inattiva). Questa sua caratteristica permette alla via di trasduzione del segnale di spegnersi una volta che la molecola segnale non è più legata al recettore.

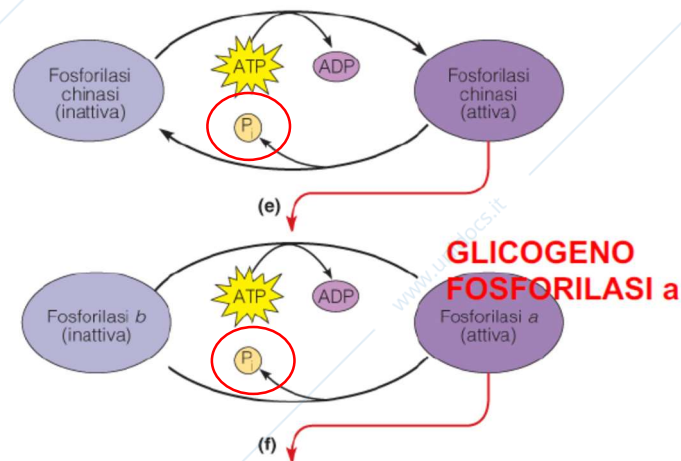
In seguito all'inattivazione della proteina G, l'adenilato ciclasi smette di sintetizzare AMP ciclico. I livelli di cAMP nella cellula rimarrebbero molto elevati se non intervenisse un altro enzima, SEMPRE ATTIVO E PRESENTE nella cellula, la FOSFODIESTERASI: è un enzima in grado di degradare il cAMP.



La riduzione di concentrazione dell'AMP ciclico inibisce l'azione della PKA, la quale a sua volta non andrà più ad attivare la fosforilasi chinasi.

Anche la fosforilasi chinasi rimane attiva solo per un certo tempo: all'interno della cellula è presente un altro enzima sempre attivo, la FOSFATASI, in grado di defosforilare la fosforilasi chinasi e renderla inattiva. Stessa cosa per la fosforilasi B.

→ Tutti questi processi vengono attivati dalla presenza di un ligando, ma vengono inattivati grazie ad enzimi già presenti nella cellula



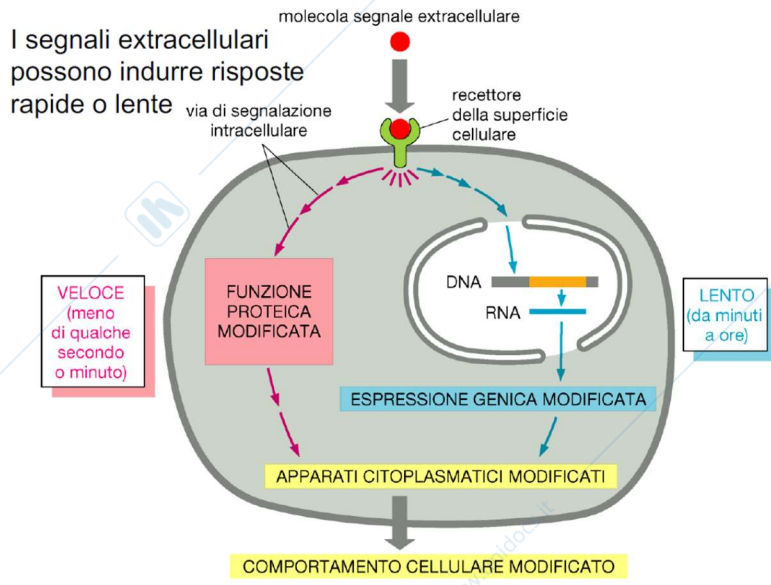
Il colera, che è dovuto ad un particolare batterio, il *Vibrio Cholerae*, produce una tossina che causa questa patologia (si muore perché provoca una grandissima perdita di acqua, per disidratazione).

La tossina si lega ad una particolare subunità di una proteina G, che si trova a livello dell'epitelio dell'intestino (importante per mantenere costate la concentrazione di cloro a livello dell'epitelio) e questo determina una eccessiva perdita di acqua: la proteina G non riesce ad essere inattivata.

TOSSINA COLERICA (*Vibrio cholerae*) si lega a G_s (attiva Adenilato Ciclasi, aumento cAMP) nell'intestino e blocca l'attività GTPasica di G_α che resta attiva!!!! **Iperattivazione di AC**. Questo ha come effetto perdita di Cl⁻ e acqua e conseguente disidratazione e morte

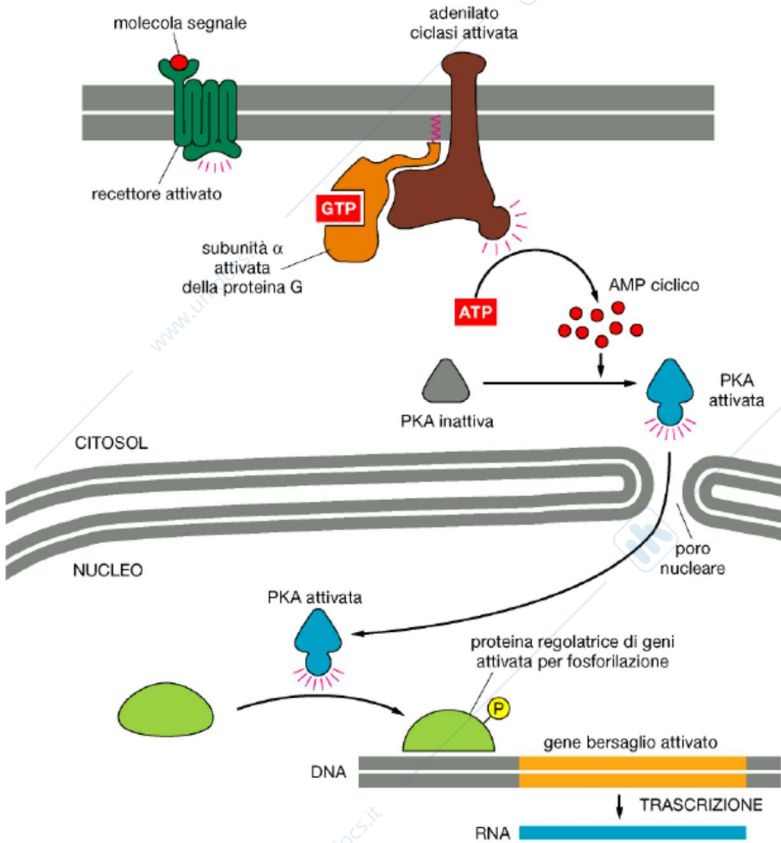
((((TOSSINA PERTOSSE si lega a G_i (inibisce Adenilato Ciclasi, diminuzione cAMP) nei polmoni, e impedisce a G_i di rilasciare GDP. L'effetto è di nuovo una G sempre attiva (tosse persistente). Iperattivazione di AC)))

MODIFICA DELLA TRASCRIZIONE DI SPECIFICI GENI



Il recettore viene attivato da un ligando il quale attiva a sua volta una serie di effettori già presenti nella cellula (la loro attività è modificata dalla presenza del ligando) → Questo processo è molto veloce e questo consente di modificare il comportamento della cellula

In alcuni casi, lo stesso recettore che attiva questo tipo di meccanismo, è anche in grado di indurre una risposta un po' più lenta (da minuti a ore) e un po' più duratura: ha la capacità di modificare alcuni eventi che avvengono a livello del DNA, in particolare la trascrizione di specifici geni.



In questo caso la PKA, attivata dall'AMP ciclico, diventa capace di passare attraverso il poro nucleare ed entrare nel nucleo → l'attivazione della PKA permette a questa proteina di esporre il suo nuclear localization signal affinché possa essere riconosciuta dal poro.

La PKA attivata all'interno del nucleo, fosforila un fattore di trascrizione (proteina regolatrice di geni).

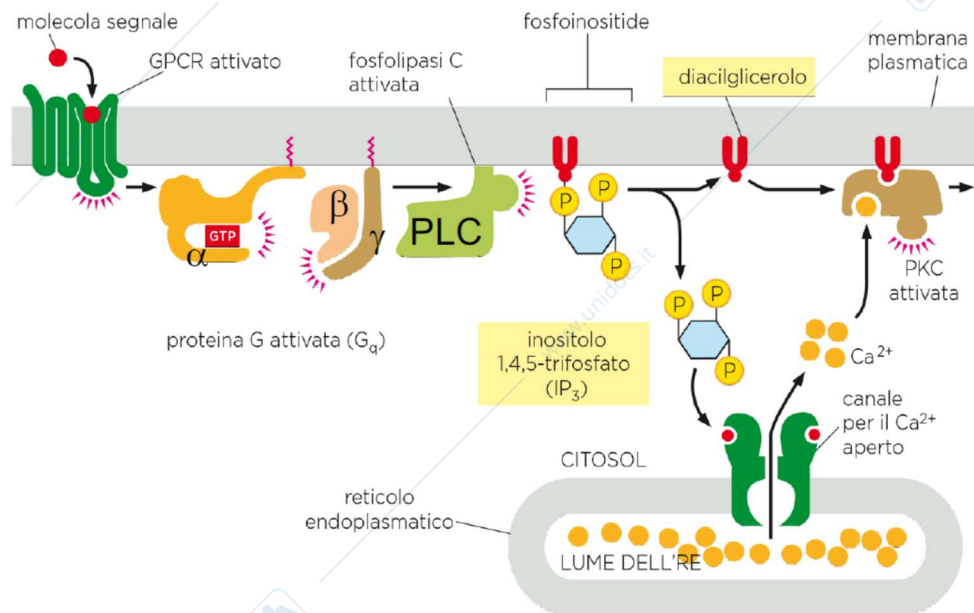
Quando questo fattore viene attivato, si lega al promotore dei suoi geni target (riconosce alcune sequenze regolatrici a monte o a valle del gene) e inizia la trascrizione del gene.

LE PROTEINE G

Esistono tre classi di proteine G trimeriche:

- **Gs**, che stimolano l'attività dell'adenilato ciclasi (quelle viste fino ad adesso)
- **Gi**, che inibiscono l'attività dell'adenilato ciclasi
- **Gq**, che attivano la fosfolipasi C (PKC)

IL PATHWAY DELLE PROTEINE Gq



Recettore → proteina Gq attivata → le subunità beta e gamma attivano un altro enzima, la fosfolipasi C (PLC) → questo enzima utilizza come substrato un fosfolipide di membrana (fosfoinositide): quando viene scisso rilascia due molecole, una di diacilglicerolo e una di inositol-trifosfato (zucchero, IP3)

→L'IP3 è una molecola molto importante, in quanto diventa essa stessa il ligando di un nuovo recettore. A livello del reticolo endoplasmatico è presente un recettore/canale: quando esso lega IP3 è in grado di aprirsi per far uscire ioni calcio (siccome la concentrazione è sempre più alta all'interno del reticolo e minore nel citosol è questa la direzione).

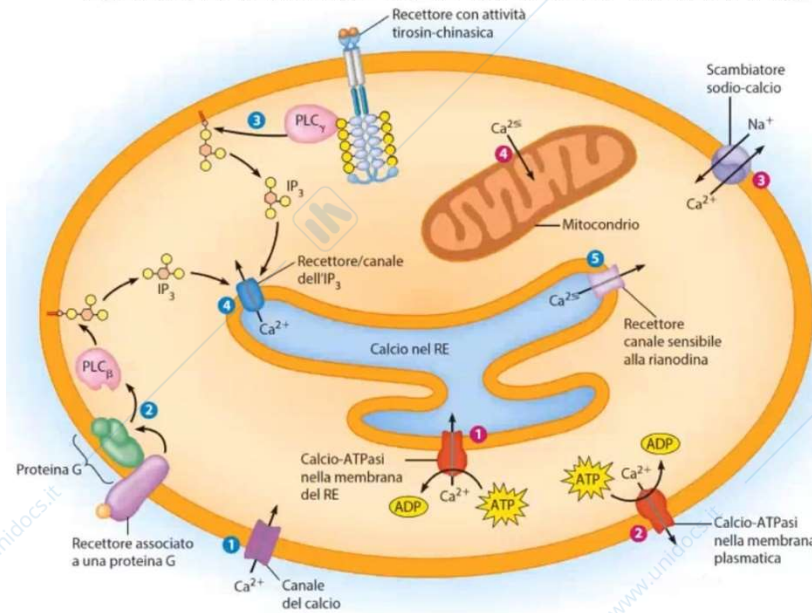
→si ha un aumento transiente nel citosol di ioni calcio i quali vanno, insieme alle molecole di diacilglicerolo, ad attivare un altro enzima, il PKC

Come l'AMP ciclico, anche l'IP3, il diacilglicerolo e il calcio sono secondi messaggeri: i secondi messaggeri sono molecole di piccole dimensioni che vengono prodotte nella cellula in seguito all'interazione ligando-recettore, e trasferiscono il segnale agendo su proteine o recettori intracellulari

REGOLAZIONE DEL CALCIO NELLE CELLULE

Gli ioni calcio hanno un ruolo essenziale nella regolazione di molte funzioni cellulari. La concentrazione del calcio nel citosol è tenuta bassa dall'azione delle calcio-ATPasi, presenti nella membrana plasmatica e nel RE. Le calcio-ATPasi nella membrana plasmatica trasportano il calcio all'esterno della cellula, mentre quelle nel RE trasportano il calcio all'interno del RE. Alcune cellule presentano inoltre delle pompe sodio/calcio nella membrana plasmatica (trasportano il calcio all'esterno). I mitocondri infine possono trasportare questo ione nella matrice mitocondriale.

REGOLAZIONE DEL CALCIO NELLA CELLULA



- Trasporto attivo primario sulla membrana del RE
- Trasporto attivo primario e secondario su membrana plasmatica

I SEGNALI POSSONO ARRIVARE DALL'ESTERNO

I SEGNALI POSSONO ARRIVARE DALL'ESTERNO GLI ODORI:

Ciascuna molecola odorosa possiede un suo specifico recettore accoppiato a proteine G presente su uno specifico neurone sensoriale dell'epitelio olfattivo.

- **800 geni nell'uomo (quasi il 3% dei geni codificanti proteine!!) e 1400 geni nel topo. 100 nei pesci.**

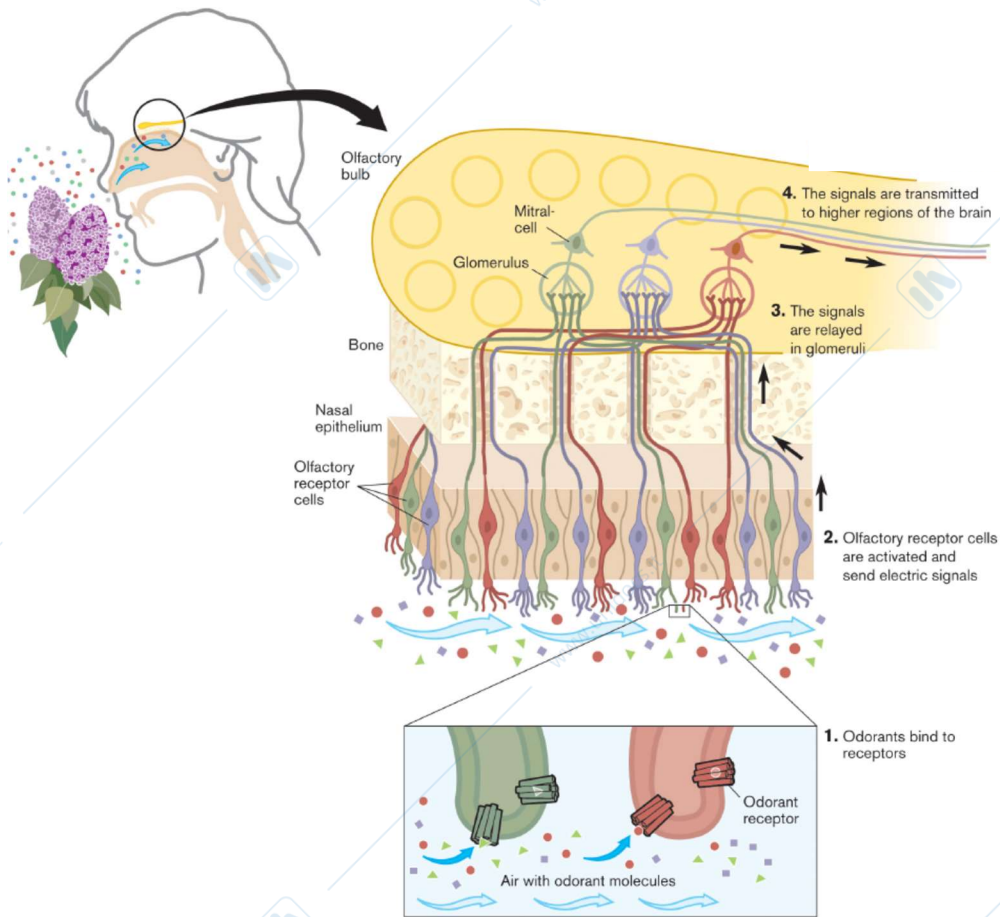
Table 1 Number of functional olfactory receptor genes and proportion of pseudogenes in various vertebrate species

Organism	Total number of genes	Number of intact genes	Pseudogene %
Human	802	388	52
Mouse	1391	1037	25
Rat	1493	1202	20
Dog	1094	872	20
Frog	888	410	54
Zebra fish	133	98	26
Puffer fish	94	40	57

LA LUCE:

Nella retina, i bastoncelli sono le cellule deputate alla captazione della luce grazie ad uno specifico recettore accoppiato a proteine G detto RODOPSINA

“R. Axel and L. B. Buck showed that every single olfactory receptor cell expresses one and only one of the odorant receptor genes. Thus, there are as many types of olfactory receptor cells as there are odorant receptors.”



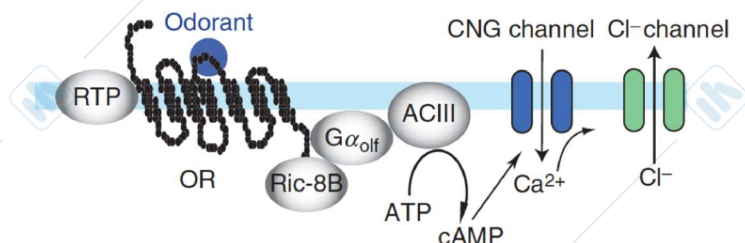
Nell'epitelio del nostro naso ad esempio sono presenti particolari neuroni a livello della zona dendritica. Sono cellule con polarità funzionale: una regione capta i segnali (parte del nucleo, prende il nome di soma) e una regione che trasmette i segnali → assoni → gli assoni vanno a contattare a livello del bulbo olfattivo, nel sistema nervoso centrale, degli altri neuroni, i quali trasporteranno i segnali a più alte regioni del cervello.

Nella porzione dendritica sono presenti i recettori a 7 domini transmembrana.

La cosa impressionante è che il nucleo di ogni neurone trascrive il gene per uno specifico recettore transmembrana. Di conseguenza ogni neurone è in grado di legare un solo specifico segnale.

- **800 geni nell'uomo (quasi il 3% dei geni codificanti proteine!!) e 1400 geni nel topo. 100 nei pesci.** !!!!!

I recettori di questi neuroni hanno una loro Galfa specifica, che prende il nome di Galfa-olf. È una Galfa di tipo stimolatoria (come le Gs).



La G protein (**Golf**) attiva la **adenilato ciclasi** (ACIII) che causa produzione di cAMP (secondo messaggero).

Il cAMP agisce da LIGANDO di un canale del Ca $^{2+}$ facendolo aprire. Entrano Calcio e Sodio.

Questo causa depolarizzazione del neurone, apertura di un altro canale per Cloro, aumentando ulteriormente depolarizzazione. Parte potenziale d'azione.

PERCEZIONE DEL SEGNALE LUMINOSO



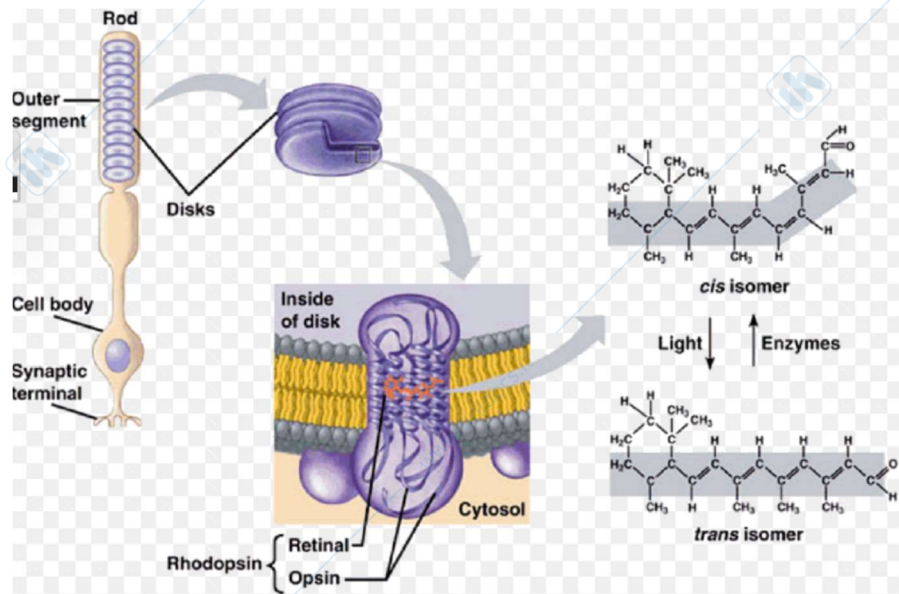
Nella parte superiore è presente una struttura a dischi, fatta in questo modo per aumentare straordinariamente la quantità di membrana in cui inserire i fotorecettori.

I fotorecettori sono proteine a 7 domini transmembrana, che prendono il nome di RODOPSINA. Sono fatti da una parte proteica, l'OPSINA, e da una molecola, il RETINALE: è una molecola che cambia la sua conformazione quando viene colpita dai fotoni della luce.

Quando la molecola è in conformazione *cis*, è in condizione di riposo, quando invece è in conformazione *trans*, significa che è stata colpita dalla luce.

Il cambio di conformazione di questa molecola, è ciò che rende attivo il recettore. Da qui partono tutti quei meccanismi a cascata.

Questo è un esempio di come si può rendere attivo un recettore e la sua proteina G associata.



RECETTORI ASSOCIATI A PROTEINE CHINASI

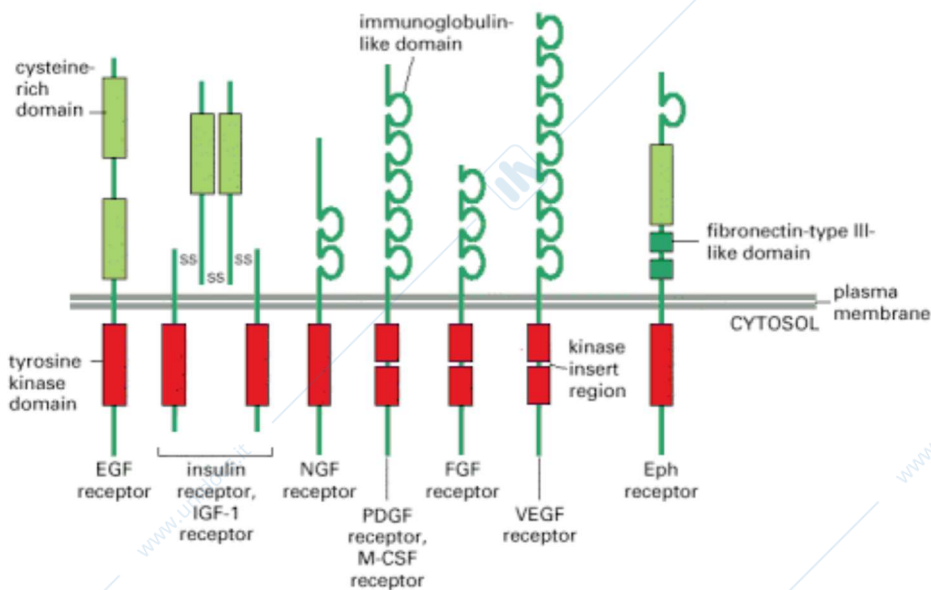
Un'altra grande famiglia di proteine utilizza una strategia diversa per trasdurre il segnale: queste proteine non solo fungono da recettore, ma sono esse stesse proteine chinasi. Quando questi recettori ad attività chinasi si legano all'appropriato ligando, viene stimolata la loro attività chinasi e il segnale viene trasmesso all'interno della cellula attraverso una cascata di eventi di fosforilazione.

Questo tipo di recettori è suddiviso in due categorie: quelli che fosforilano un residuo di tirosina (tirosin-chinasi) e quelli che fosforilano un residuo di serina o treonina (serina/treonina-chinasi).

Le proteine chinasi intervengono in numerosi processi cellulari: una tra le più importanti è la proliferazione cellulare

RECETTORI TIROSIN-CHINASI (RTK)

I recettori ad attività tirosin-chinasi sono strutturalmente differenti da quelli associati a proteine G. Gli RTK sono spesso formati da una singola catena polipeptidica con un unico segmento transmembrana. Hanno molti domini distinti: la porzione extracellulare contiene in particolare il DOMINIO DI LEGAME PER IL LIGANDO, la porzione citosolica invece contiene in particolare il DOMINIO AD ATTIVITA' TIROSIN-CHINASICA, e una coda citosolica, la quale contiene residui di tirosina → costituiscono essi stessi i bersagli della fosforilazione da parte del dominio tirosin-chinasi



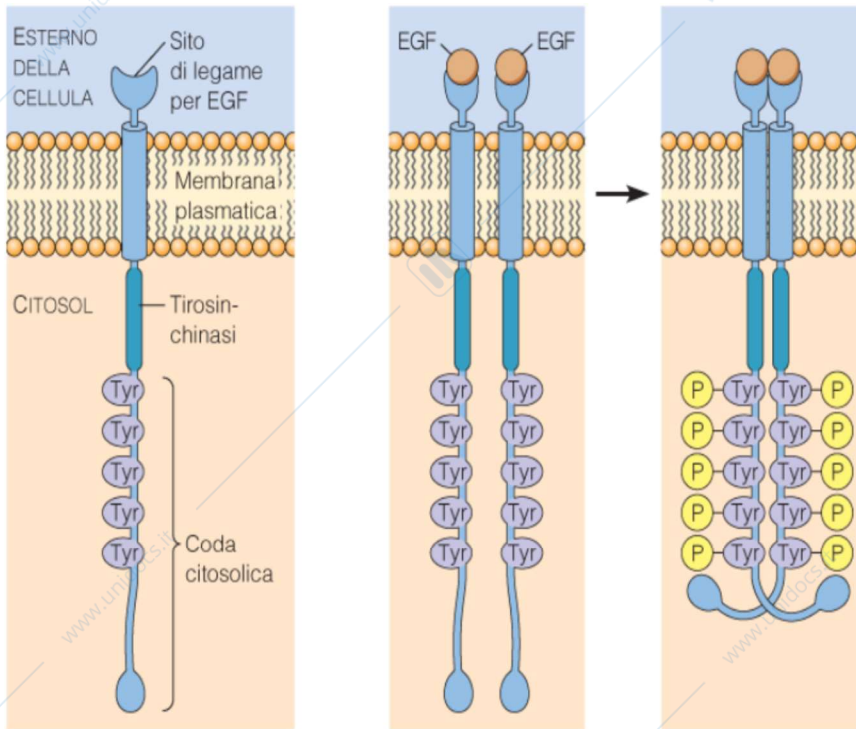
EGF Epidermal growth factor
 NGF Nerve growth factor
 Fibroblast growth factor
 PDGF fattore di crescita piastrinico
 Vascular endothelial growth factor
IGF Insulin Growth Factor

L'NGF è stato scoperto e studiato da Rita Levi Montalcini

Le chinasi incontrate fino ad adesso, la PKA e la PKC, sono serina/treonina-chinasi: fosforilano solamente residui di serina e treonina.

→ Queste proteine sono invece capaci di fosforilare solamente residui di tirosina.

La maggior parte di questi recettori presentano come ligando i FATTORI DI CRESCITA: proteine capaci di stimolare la proliferazione, il differenziamento cellulare e di prevenire l'apoptosi.



(a) Struttura del recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGF)

(b) Attivazione del recettore di EGF

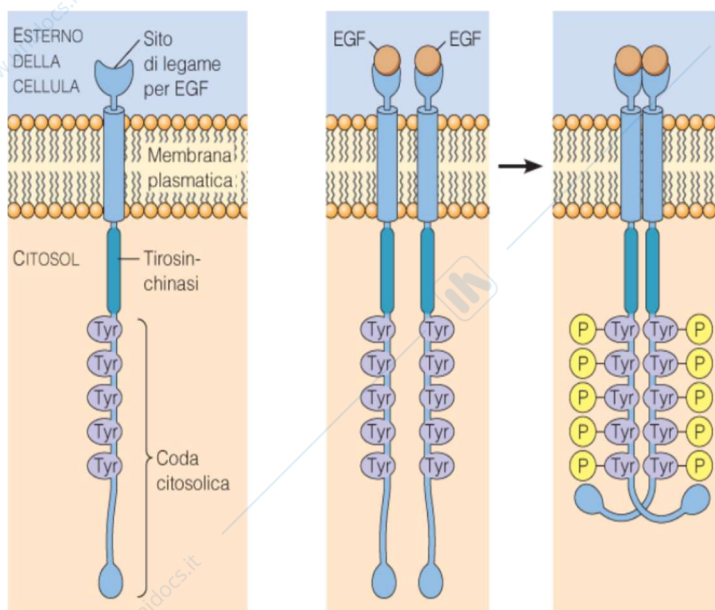
Recettore per EGF Epidermal growth factor

(L'EGF umano è una proteina di 53 amminoacidi e tre ponti disolfuro intramolecolari).

ATTIVAZIONE DEI RECETTORI AD ATTIVITA' TIROSIN-CHINASICA

La trasduzione del segnale inizia quando viene legato un ligando: ciò causa l'aggregazione degli RTK. Quando il ligando è presente sui due recettori, in virtù del fatto che la membrana è semi-fluida, essi tendono ad avvicinarsi l'uno all'altro e a DIMERIZZARSI (fondersi). A questo punto, la tirosina chinasi di ciascun recettore fosforila le tirosine del recettore vicino: questo processo prende il nome di AUTOFOSFORILAZIONE.

Il legame del ligando e la sua dimerizzazione rende attiva l'attività chinasi del recettore → nuovo esempio di come si può attivare un particolare enzima.



(a) Struttura del recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGF)

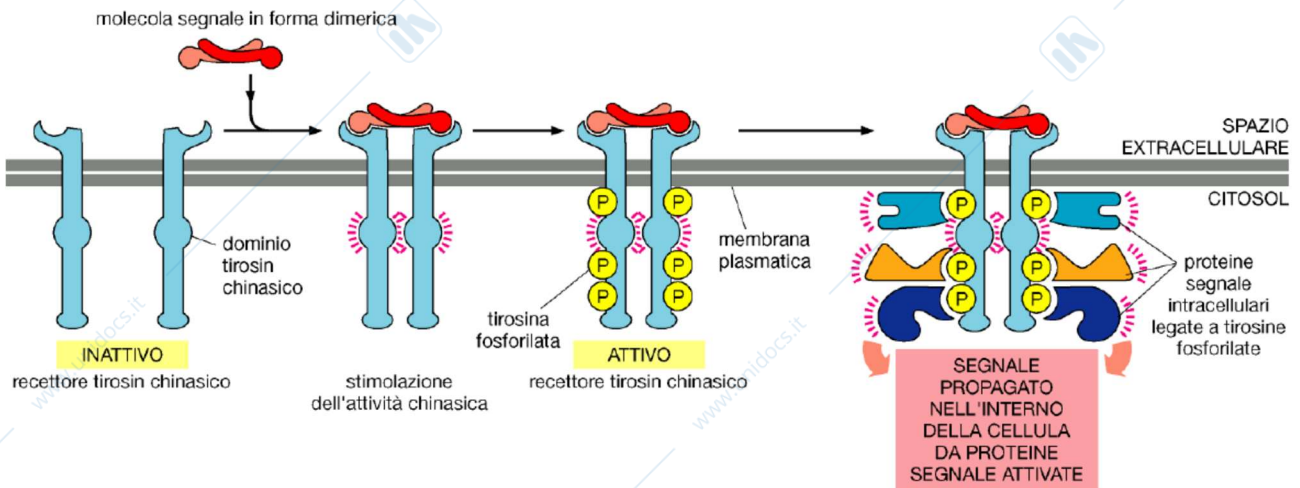
(b) Attivazione del recettore di EGF

Recettore per EGF Epidermal growth factor

(L'EGF umano è una proteina di 53 amminoacidi e tre ponti disolfuro intramolecolari).

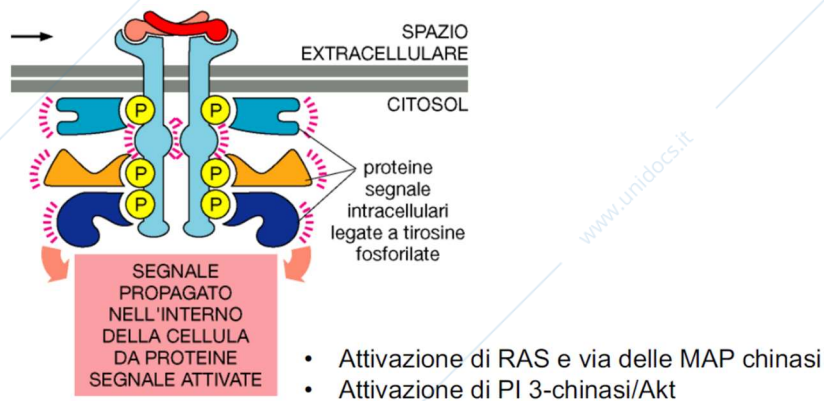
COSA SUCCEDDE QUANDO IL RECETTORE SI ATTIVA

Una volta avvenuta la fosforilazione dei residui di tirosina sulla parte citosolica, i recettori reclutano un certo numero di proteine citosoliche/specifici effettori per interagire con esse: ciascuna di queste proteine libere si lega a una regione del recettore che contiene una sequenza di amminoacidi che comprende una fosfotirosina.



La parte della proteina che riconosce e si lega ad una tirosina fosforilata è il DOMINIO SH2, e ne esistono almeno 20 di proteine adattatrici.

Il reclutamento di diverse proteine contenenti domini SH2 porta all'attivazione di DIVERSE VIE DI TRASDUZIONE del segnale. Di conseguenza, possono essere attivate contemporaneamente differenti pathways.



Uno dei pathway più importanti è quello di attivazione di RAS e la via delle MAP chinasi.

LE PROTEINE RAS

La proteina RAS è importante nella regolazione della proliferazione cellulare e in molti altri eventi. A differenza delle proteine G eterotrimeriche, RAS è costituita da una singola subunità.

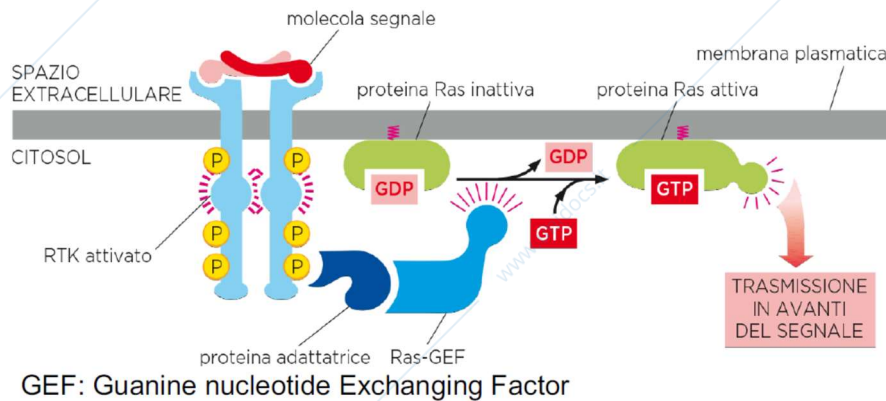
Analogamente alle proteine G: RAS si trova nella forma inattiva legata ad una molecola di GDP quando il recettore non è legato ad un ligando, mentre si trova nella forma attiva quando, rilasciando GDP, acquisisce una molecola di GTP (Recettore legato ad un ligando).

ATTIVAZIONE DI RAS E LA VIA DELLE MAP CHINASI

Affinchè RAS rilasci il GDP per legarsi al GTP e attivarsi, ha bisogno dell'intervento di un'altra proteina, il FATTORE DI SCAMBIO DEL NUCLEOTIDE GUANINA (GEF). Il GEF che attiva RAS è chiamata SOS.

Perché SOS sia attivato, è necessario che si leghi al recettore ad attività tirosin-chinasica indirettamente, attraverso una proteina che contiene un dominio SH2.

→ Per attivare RAS dunque: i due recettori si devono dimerizzare e autofosforilarsi, una proteina con dominio SH2 si deve legare ad una tirosina fosforilata per attivarsi, ad essa si lega di conseguenza RAS-GEF la quale è in grado di scambiare una molecola di GDP con una molecola di GTP per attivare RAS.



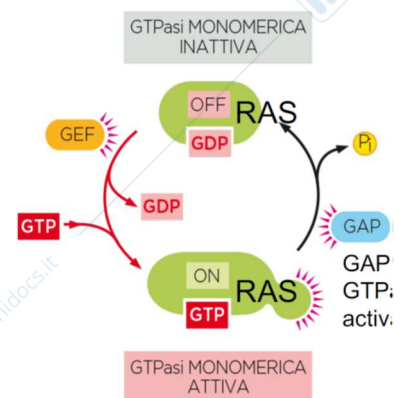
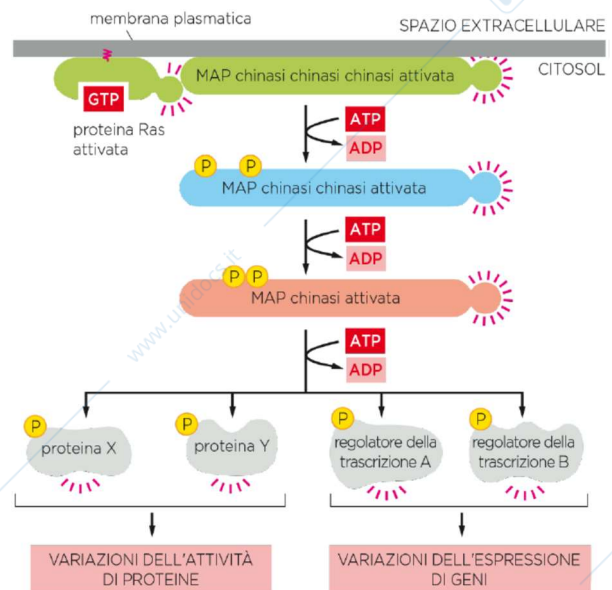
Una volta che RAS è attiva, induce una cascata di fosforilazioni. La prima proteina di questa cascata è una proteina chinasi detta RAF (MAP chinasi chinasi chinasi): quando attivata essa è in grado di fosforilare la serina e la treonina di un'altra proteina chinasi nota come MEK (MAP chinasi chinasi). MEK a sua volta fosforila residui di treonina e tirosina in una classe di proteine conosciute come PROTEINE CHINASI ATTIVATE DA MITOGENI o MAP CHINASI. Le MAPK si attivano quando la cellula riceve uno stimolo di crescita e di divisione (questo stimolo prende il nome di mitogeno).

MAPK va ad agire su una serie di proteine target:

- alcune sono regolatori della trascrizione di particolari geni, e la loro fosforilazione ha come conseguenza una variazione dell'espressione genica
- altre invece sono semplici proteine, e la loro fosforilazione ha come conseguenza una variazione della loro attività specifica

A seconda del tipo di segnale, questo pathway può stimolare tre diversi effetti:

- stimolare la proliferazione
- stimolare la sopravvivenza di una cellula
- differenziamento cellulare

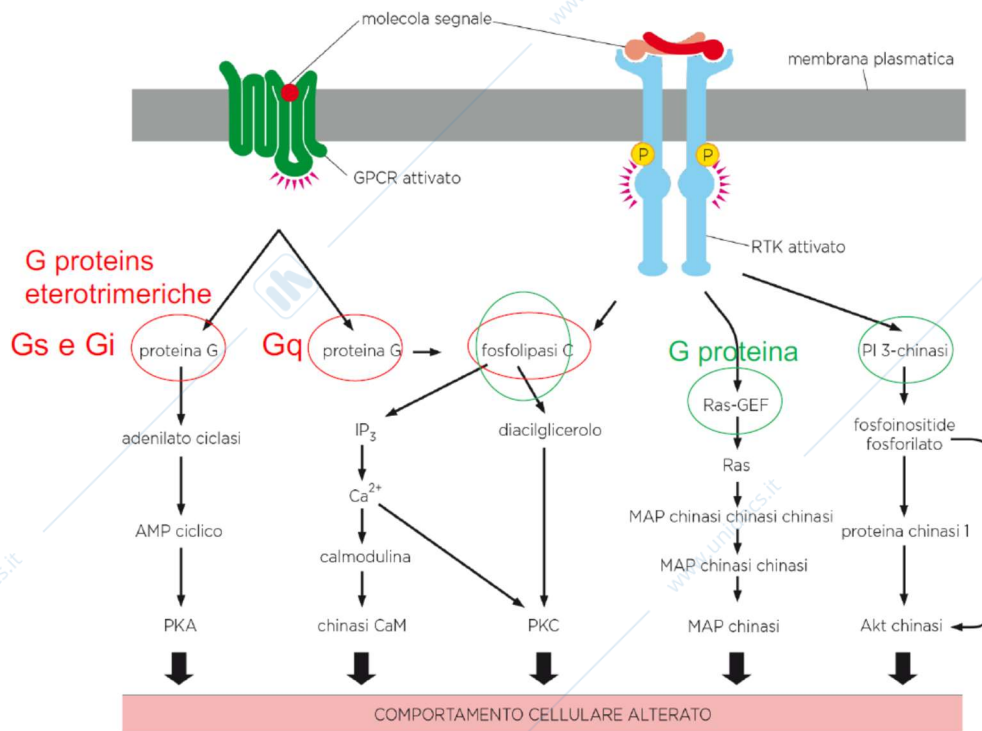


Una volta che RAS si trova nel suo stato attivo, deve essere inattivata mediante idrolisi del GTP a essa legato, per evitarne una stimolazione continua. L'idrolisi del GTP è favorita da una PROTEINA CHE ATTIVA LA GTPasi (GAP).

Ovviamente, agendo sulla regolazione genica, il segnale deve essere trasportato all'interno del nucleo: per questo motivo il processo rientra tra le risposte al segnale di tipo "lento" (da minuti a ore).

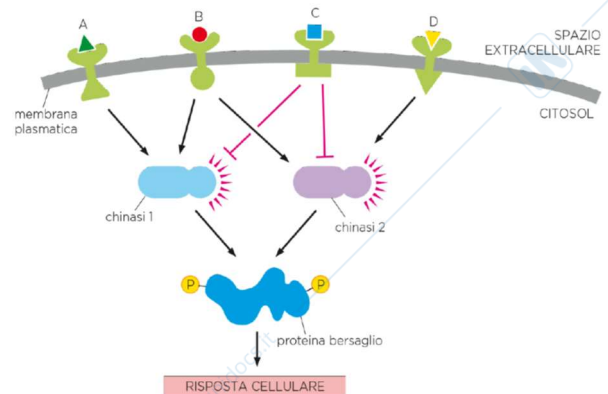
--- nel 30% dei tumori umani, è presente la proteina RAS con una mutazione tale per cui RAS è incapace di avere la funzione GTPasica → è in grado di attivarsi, ma non di disattivarsi, provocando la continua proliferazione delle cellule tumorali (RAS è definita anche ONCOGENE, in grado di svolgere la sua funzione anche quando non è presente il segnale/ligando). **RAS è una GTPasi regolatoria**: mutazioni che attivano in modo permanente Ras si riscontrano nel 20-25% di tutti i tumori umani e fino al 90% in alcuni tipi di tumore, ad esempio pancreatici.

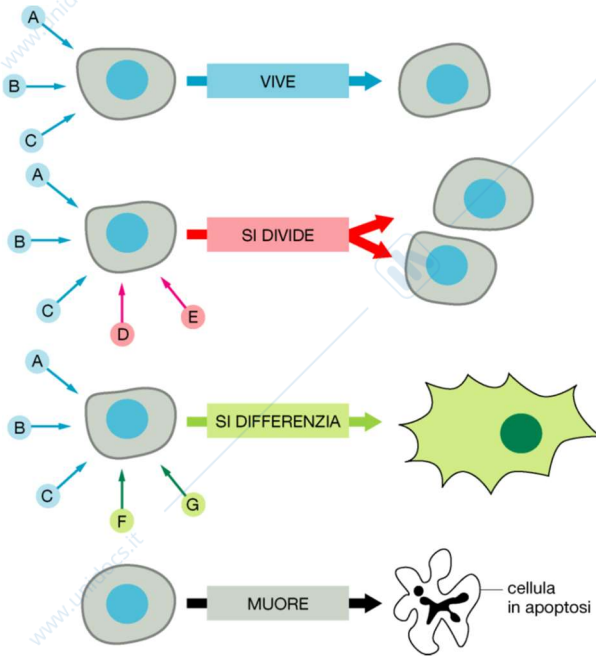
La trasduzione del segnale fino a quando è presente il ligando e il suo spegnimento dopo la scomparsa del ligando è una condizione necessaria per una corretta omeostasi cellulare. La divisione cellulare e dunque la sua proliferazione è un processo coordinato e collegato a tutti i processi biochimici del corpo → una cellula deve obbedire necessariamente solo agli stimoli del corpo affinché tutto funzioni correttamente. ---



Una delle azioni di questo recettore è anche quella di andare ad attivare la FOSFOLIPASI C → un medesimo enzima può essere attivato da più di un tipo di recettore: in questo caso sia dal recettore associato a proteine G, sia dal recettore con attività tirosin-chinasica.

Ciascuna cellula ha la capacità di rispondere a tanti segnali diversi (presenta tanti recettori per ogni tipo) che possono anche essere contraddittori l'uno con l'altro. La risposta cellulare finale deriva da una complessissima integrazione di tanti segnali.





Una cellula in genere riceve molti segnali dall'esterno

→ Quando non ne riceve muore (apoptosi)

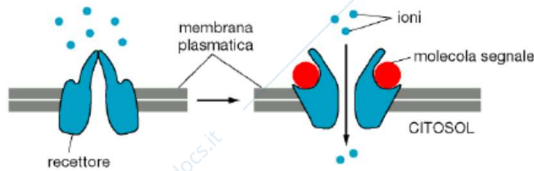
L'integrazione di diversi segnali può avere diversi risultati

Cellule nel sistema ematopoietico, come le cellule staminali, ricevono continuamente segnali per la divisione cellulare... come pure le cellule epiteliali.

Cellule del sistema nervoso ricevono molto spesso segnali per il differenziamento cellulare (in cellule neuronali mature con specifiche funzioni).

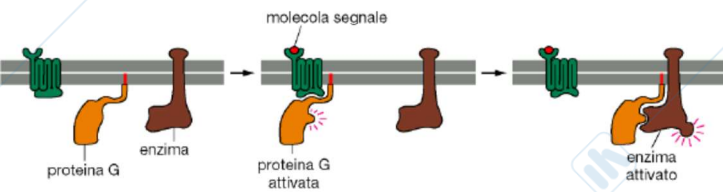
RIASSUMENDO: Tipi di recettori di membrana

(A) RECETTORE ANNESSO A CANALI IONICI



Il segnale è trasdotto come cambiamento di concentrazione di ioni

(B) RECETTORE ACCOPPIATO A UNA PROTEINA G



Trasduzione mediata da interazioni proteiche e poi come attività enzimatica

(C) RECETTORI LEGATI A ENZIMI

