

Lezione 17

La Segnalazione Cellulare da Contatto, Autocrina, Paracrina, Endocrina e Sinaptica.

- La trasduzione del segnale: elementi costitutivi e cascate regolative.
- I recettori di superficie e i recettori intracellulari.
- L'esempio dell'ossido nitrico e gli ormoni lipidici.
- I recettori accoppiati a canali ionici

I Recettori Accoppiati a Proteine G.

- Le proteine G monomeriche e trimeriche nella trasduzione del segnale.
- Le proteine regolatorie: GEF e GAP.
- Secondi messaggeri e amplificazione del segnale.
- Desensitizzazione recettoriale, l'esempio della visione.

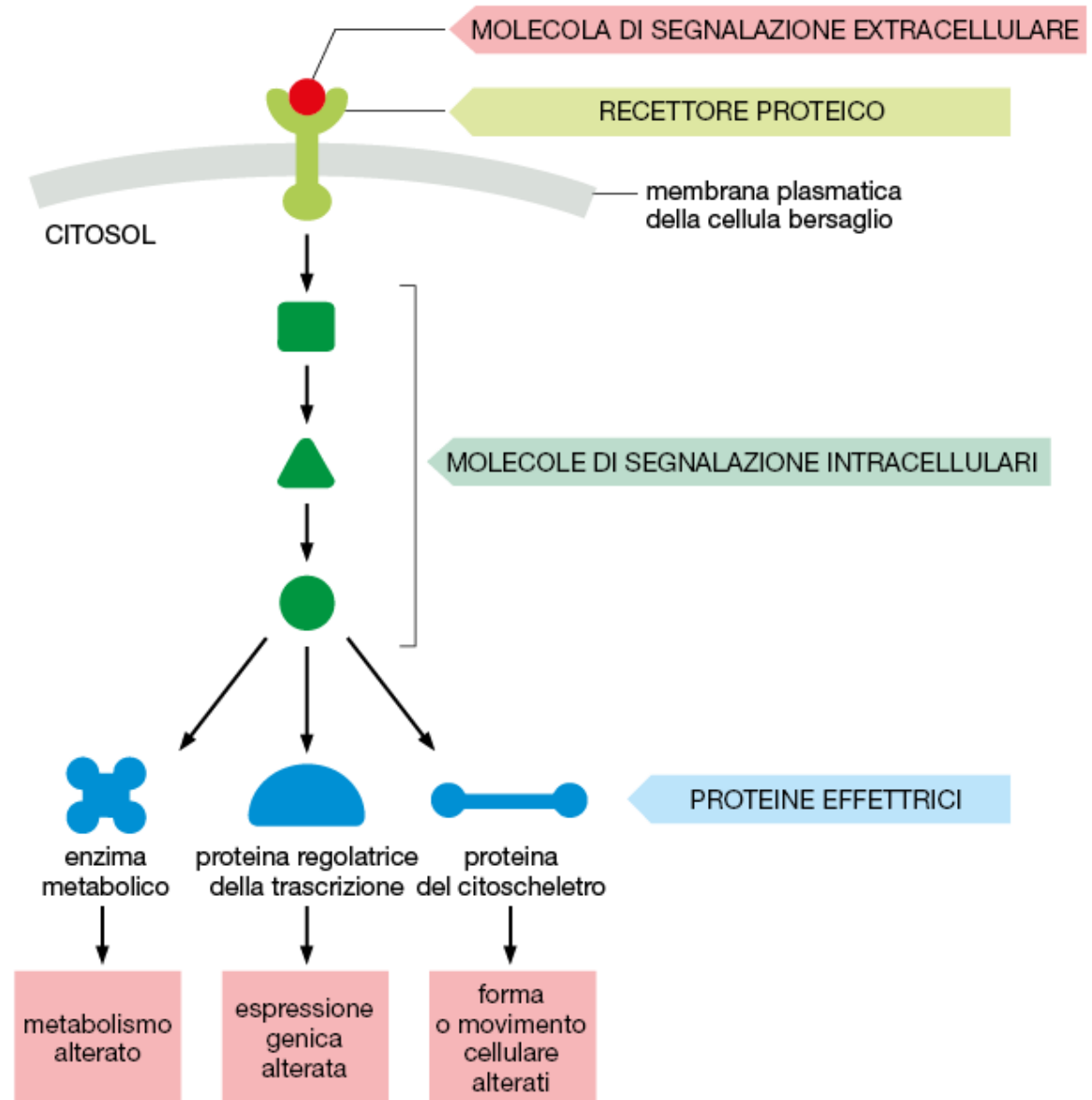
I Recettori Dotati di Attività Enzimatica:

- i recettori tirosin-chinasici, la via Ras-MAP chinasi.
- Gli oncogeni e la trasduzione del segnale.
- Segnalazione del recettore per l'insulina e del recettore per l'EGF.
- La segnalazione dei fosfoinositidi.

La segnalazione cellulare: principi e meccanismi generali

Architettura standard di un sistema di segnalazione

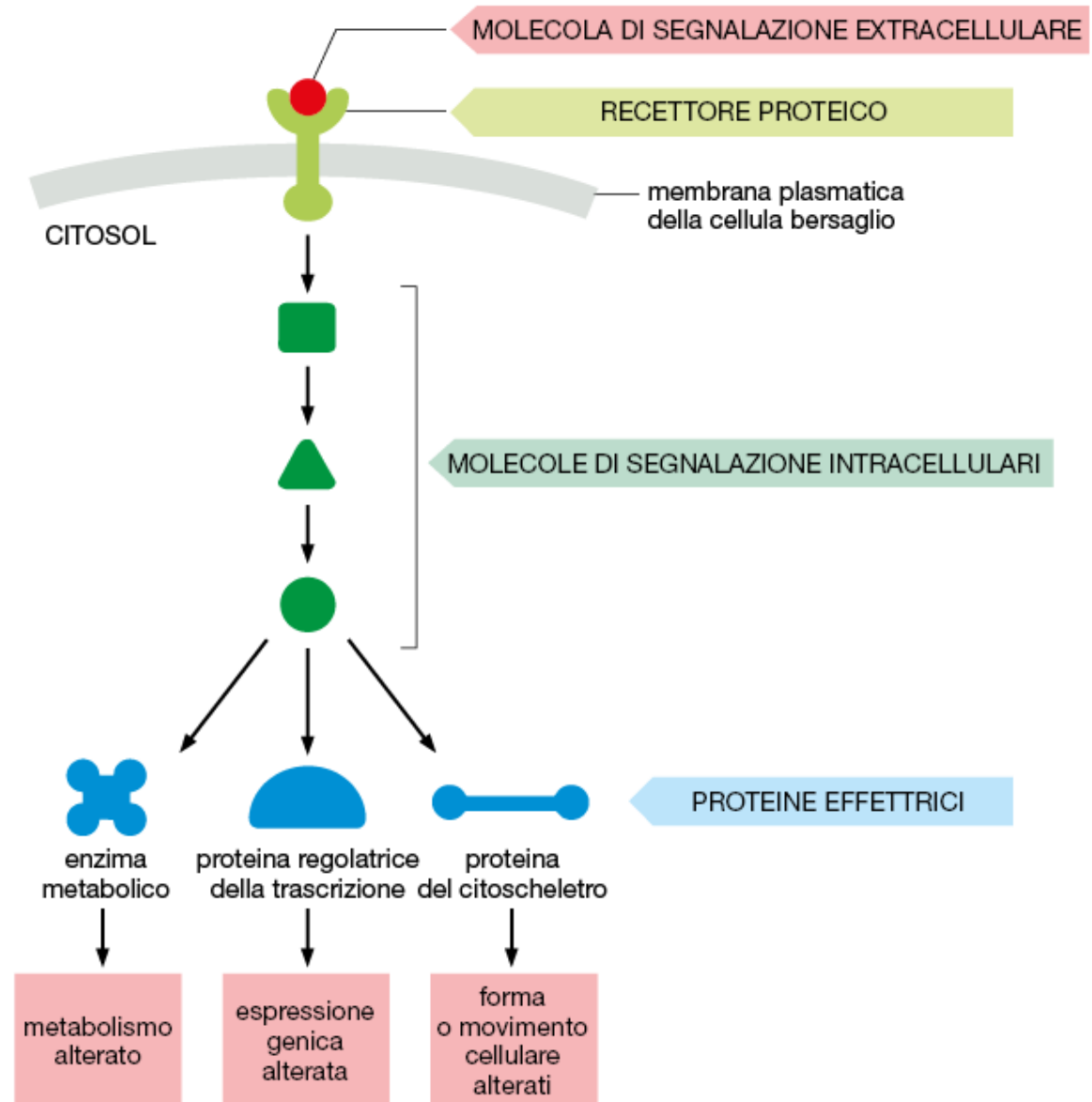
- **Segnale extracellulare** (secreto o ancorato alla membrana della cellula di segnalazione).
- **Recettore** (spesso, ma non sempre, in membrana plasmatica) che **lega** il segnale e **si attiva**.
- **Vie intracitoplasmatiche**: catene di **proteine di segnalazione** che:
 - **integrano/propagano l'informazione**,
 - possono generare **secondi messaggeri** (piccole molecole: es. cAMP, Ca^{2+}),
 - **smistano** il segnale verso bersagli appropriati.
- **Effettori terminali** (modificati dal segnale) che cambiano il **comportamento cellulare**:
 - **regolatori trascrizionali, canali ionici, enzimi metabolici, componenti del citoscheletro**
- **La risposta dipende** sia dal **tipo/stato** della cellula ricevente sia dalla **natura** del segnale.



La segnalazione cellulare: principi e meccanismi generali

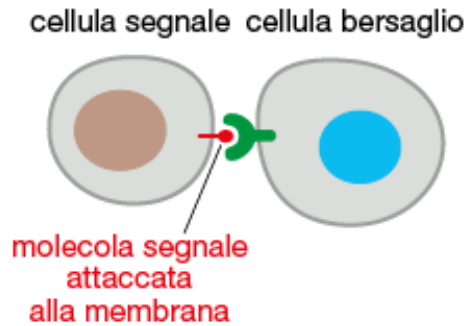
Emissione e ricezione dei segnali

- La segnalazione intercellulare è mediata **principalmente da molecole extracellulari**.
- **Molte cellule** sia **emettono** sia **ricevono** segnali.
- **Recettori**:
 - spesso **di membrana** (ma **non sempre**),
 - l'**attivazione** scatta al **legame del ligando** ed **innesca** una o più **vie intracellulari**.
- Le **proteine di segnalazione** intracitoplasmatiche **processano** e **distribuiscono** il segnale.
- **Secondi messaggeri**: **piccole molecole** che **trasmettono** il **segnale** ad altre **proteine** di segnalazione.

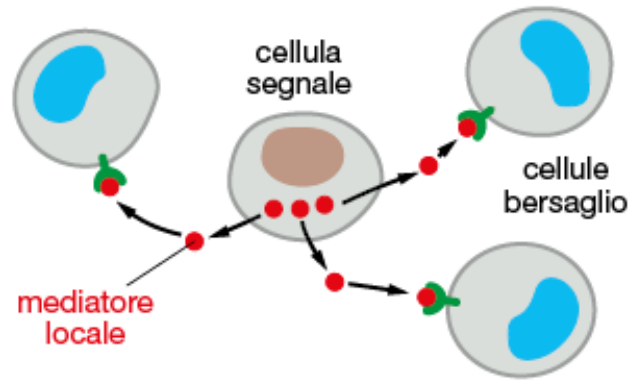


Raggio d'azione dei segnali: panorama generale

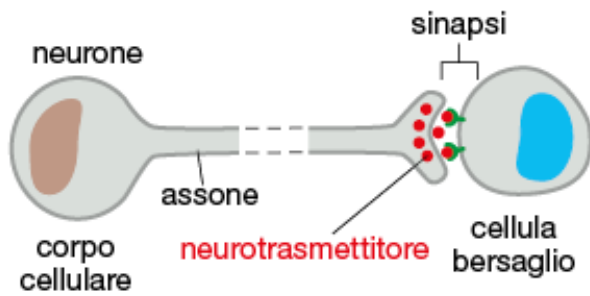
(A) DIPENDENTE DA CONTATTO



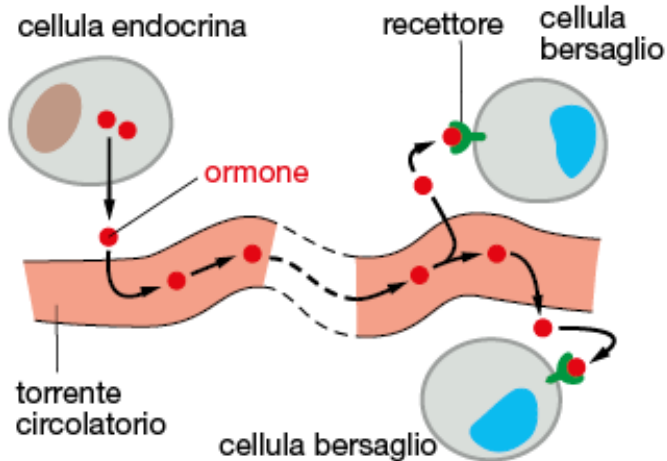
(B) PARACRINA



(C) SINAPTICA



(D) ENDOCRINA

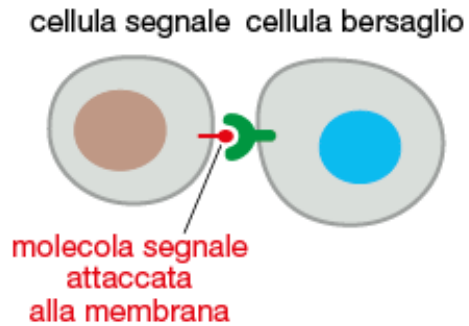


Raggio d'azione dei segnali: panorama generale

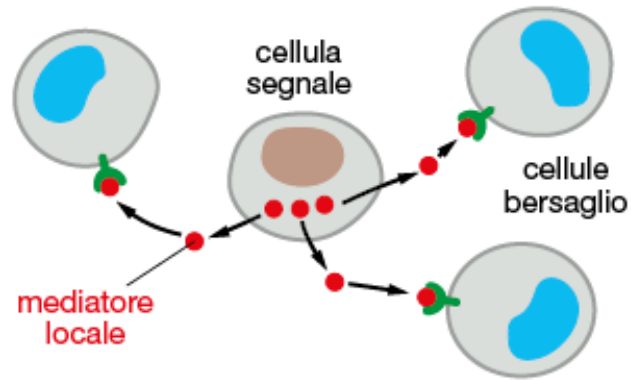
- Le molecole di segnalazione possono agire su:
 - Distanze cortissime:** contatto diretto,
 - Distanze locali:** diffusione nel microambiente,
 - Lunghe distanze:** vie dedicate (neurale, endocrina).

Tipi di Segnalazione

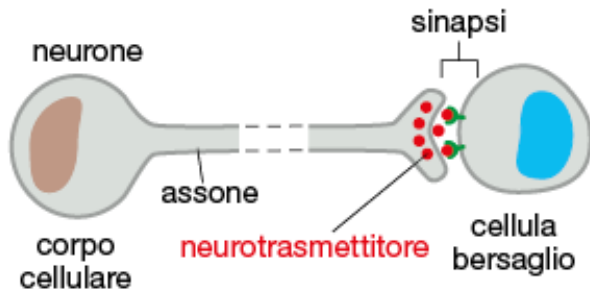
(A) DIPENDENTE DA CONTATTO



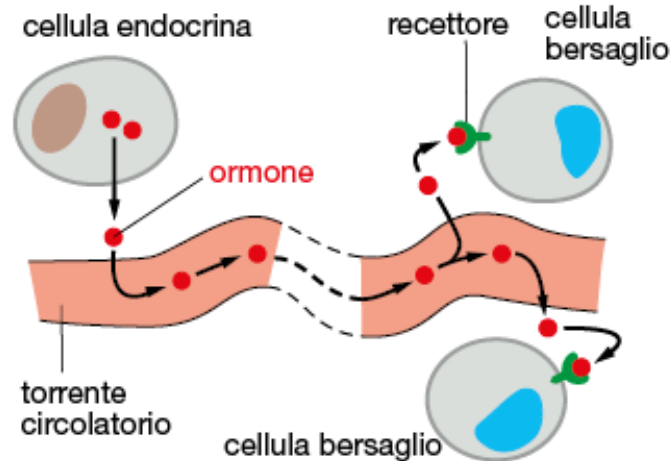
(B) PARACRINA



(C) SINAPTICA



(D) ENDOCRINA



Segnalazione dipendente da contatto

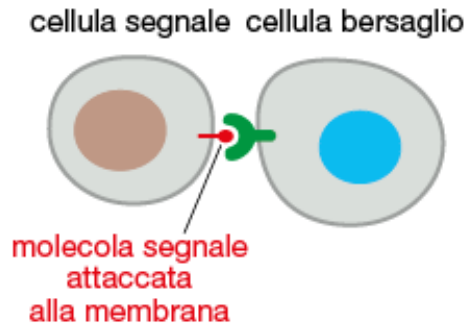
- Le molecole segnale **restano attaccate** alla **superficie** della cellula emittente.
- Influenzano **solo cellule in contatto** fisico diretto.
- Importanza:**
 - Sviluppo embrionale** (patterning, decisioni di destino),
 - Risposte immunitarie** (riconoscimento cellula-cellula).

Segnalazione paracrina e autocrina

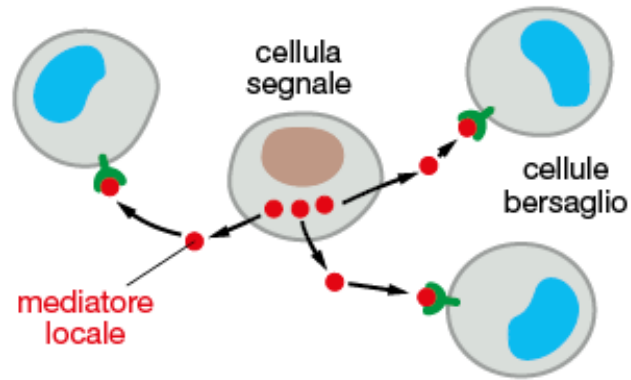
- Paracrina:** cellule di segnalazione **secercono** mediatori locali che agiscono su **cellule vicine**.
- Autocrina:** la **stessa cellula** (o popolazione) **produce e risponde** al proprio segnale.
 - Esempio clinico:** molte **cellule tumorali** sostengono **sopravvivenza** e **proliferazione** tramite **loop autocrini**.

Tipi di Segnalazione

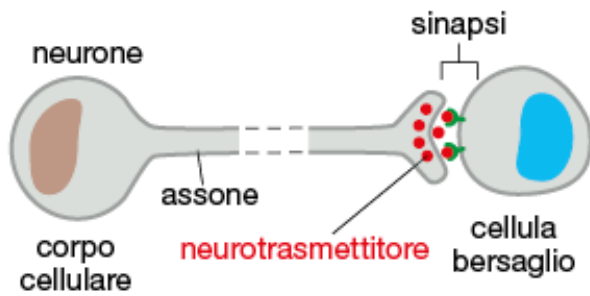
(A) DIPENDENTE DA CONTATTO



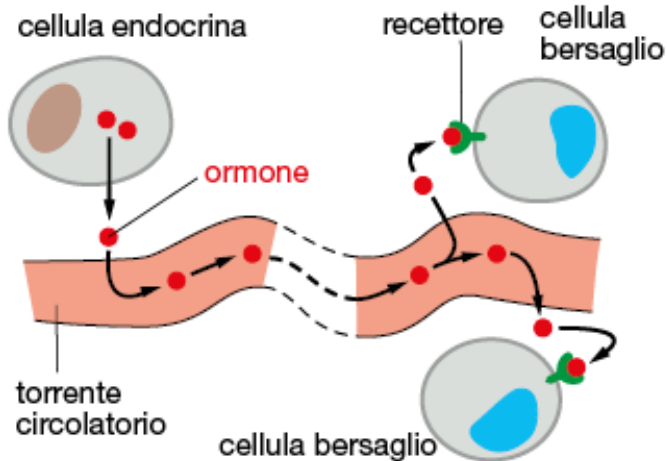
(B) PARACRINA



(C) SINAPTICA



(D) ENDOCRINA



Segnalazione sinaptica

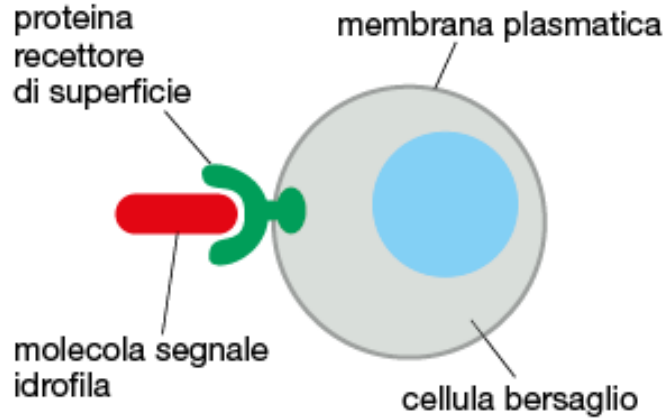
- **Neuroni:** cellule altamente specializzate con **assoni lunghi e ramificati**.
- **Conducono** impulsi elettrici (**potenziali d'azione**) lungo l'assone.
- All'arrivo del **Potenziale d'Azione** alla **sinapsi**:
 - **secrezione** di un **neurotrasmettitore**,
 - consegna **specific**a ai recettori della cellula **post-sinaptica** grazie alla **architettura sinaptica**.

Segnalazione endocrina

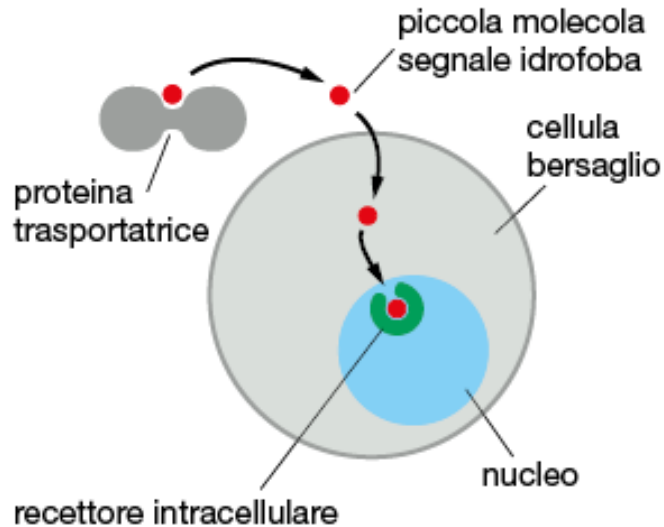
- **Cellule endocrine** rilasciano **ormoni** nel **torrente circolatorio**.
- Il **sangue** distribuisce i segnali in **tutto l'organismo**.
- Azione su **cellule bersaglio disperse a grande distanza**.

Molecole di segnalazione extracellulare

(A) RECETTORI DI SUPERFICIE

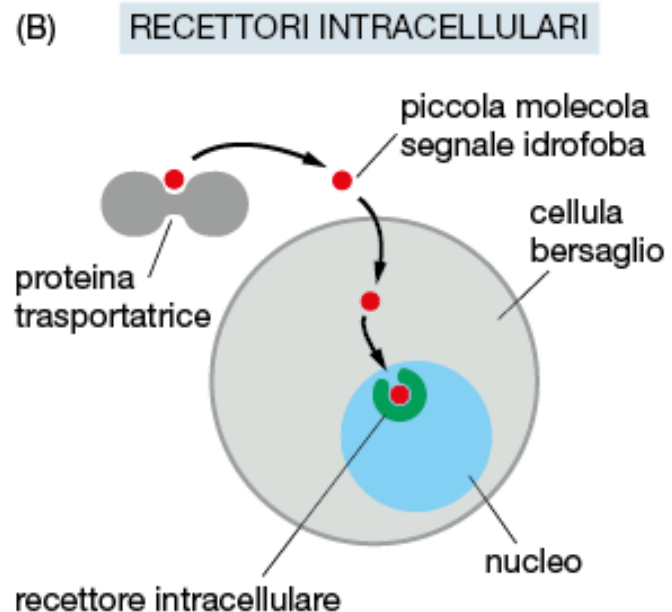
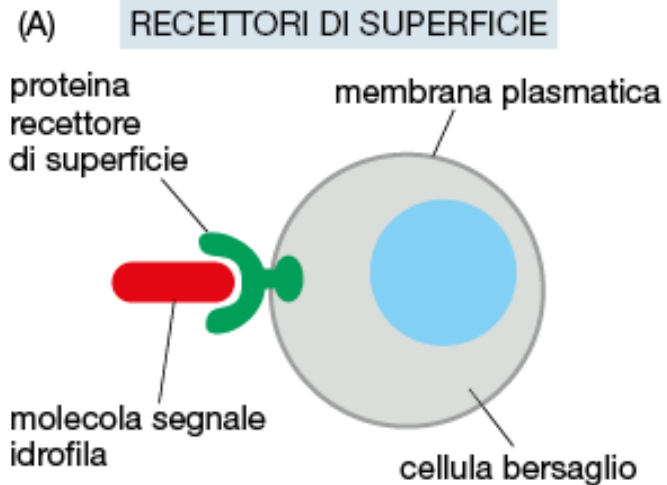


(B) RECETTORI INTRACELLULARI



- Le cellule animali usano **centinaia** di molecole segnale: **proteine, piccoli peptidi, aminoacidi, nucleotidi, steroidi, retinoidi, derivati di acidi grassi, gas disciolti** (es. NO, CO).
- **Vie di rilascio:**
 - **Esocitosi** nello spazio extracellulare (modalità più comune).
 - **Diffusione** attraverso la membrana della cellula che invia il segnale (per molecole piccole/idrofobe).
 - **Ancoraggio di membrana:** ligandi esposti sulla superficie esterna della cellula segnalante (contatto-dipendente).
 - In alcuni casi il **dominio extracellulare** viene **rilasciato** per **taglio proteolitico**, agendo **a distanza**.

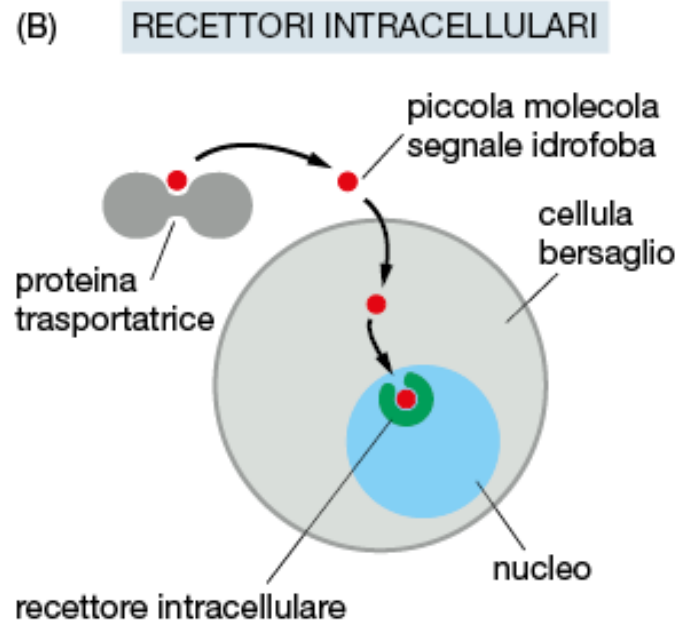
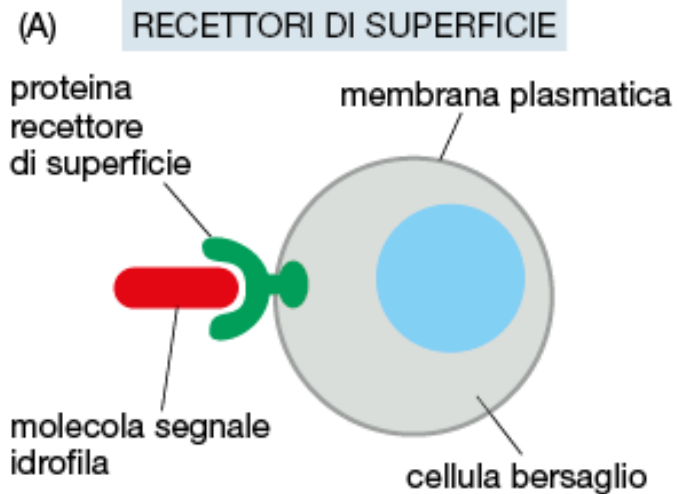
Molecole di segnalazione extracellulare



Dalla ricezione alla risposta: integrazione e contesto

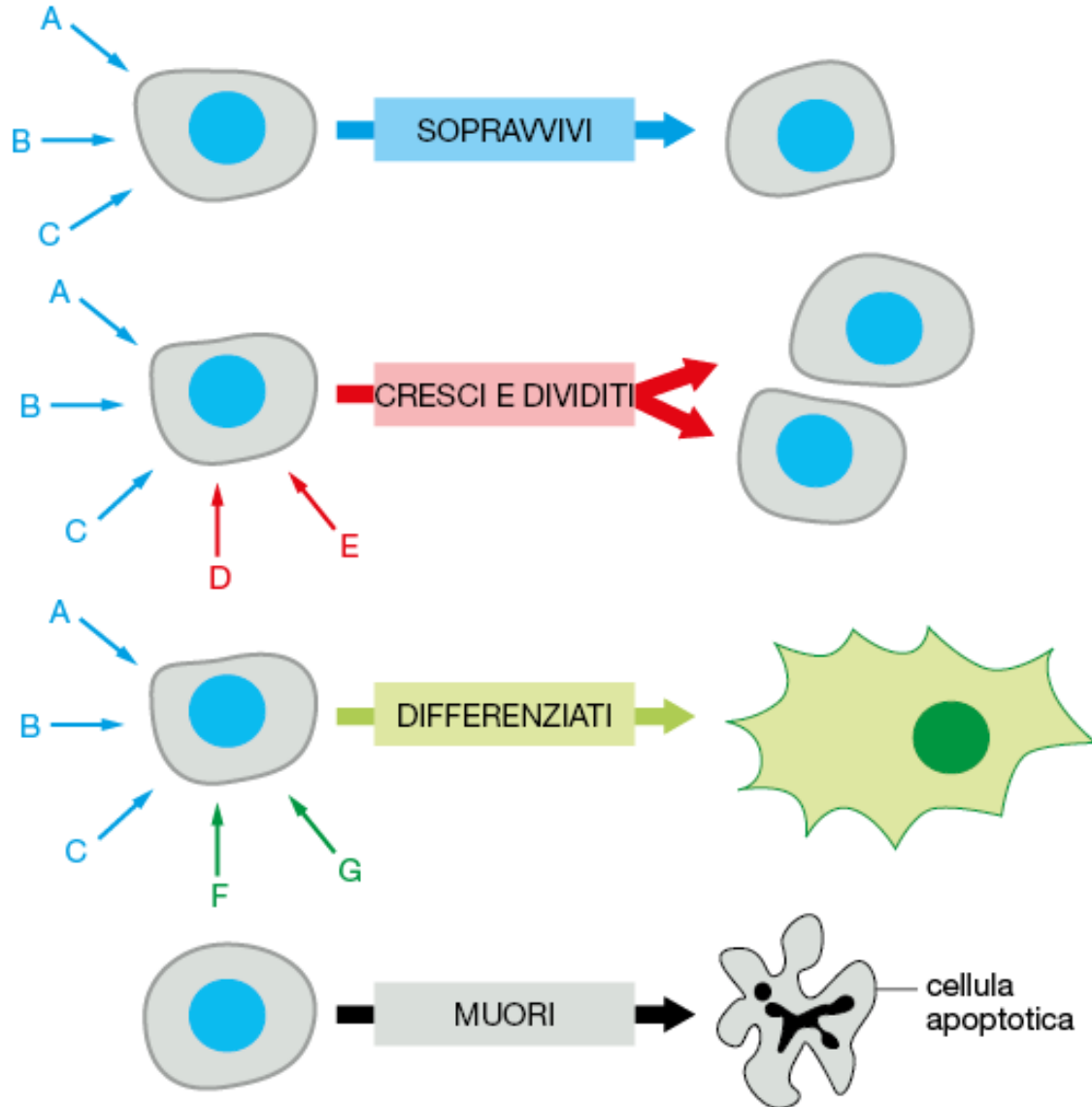
- **Stesso ligando, risposte diverse** in tipi cellulari diversi (recettori/vie/effettori **specifici di contesto**).
- **Integrazione dei segnali:** le vie considerate **insieme** determinano l'output.
- **Effettori** possibili:
 - **Trascrizione genica** (attivazione/repressione),
 - **Eccitabilità** (canali ionici),
 - **Metabolismo** (attivazione/inibizione vie),
 - **Architettura/meccanica** (rimodellamento del citoscheletro).

Recettori: specificità e affinità elevate



- **La cellula bersaglio risponde** tramite un **recettore** che **lega** il ligando e **avvia** la risposta.
- Il **sito di legame** ha **struttura complessa** → **riconoscimento altamente specifico** del ligando corretto.
- **Molti segnali agiscono a basse concentrazioni**; i recettori li legano con **alta affinità**
- **Localizzazione dei recettori:**
 - **Di superficie** (transmembrana): al legame del ligando **si attivano** e generano **cascate intracellulari**.
 - **Intracellulari**: richiedono ligandi **sufficientemente piccoli/idrofobi** da **diffondere** attraverso la membrana (esempi a seguire nel capitolo).

Programmazione della risposta: combinazioni di segnali



- Una cellula tipica è esposta a **centinaia di segnali**: **solubili**, **legati alla matrice extracellulare**, **ancorati a cellule vicine**; **stimolatori** o **inibitori**; in **innumerevoli combinazioni**.
- La cellula **seleziona** le risposte **esprimendo** solo i **recettori** e le **vie intracellulari** necessarie per la propria regolazione.
- **Molti segnali** agiscono **congiuntamente** e possono **modulare** la risposta gli uni degli altri.

Esempi di integrazione funzionale dei segnali

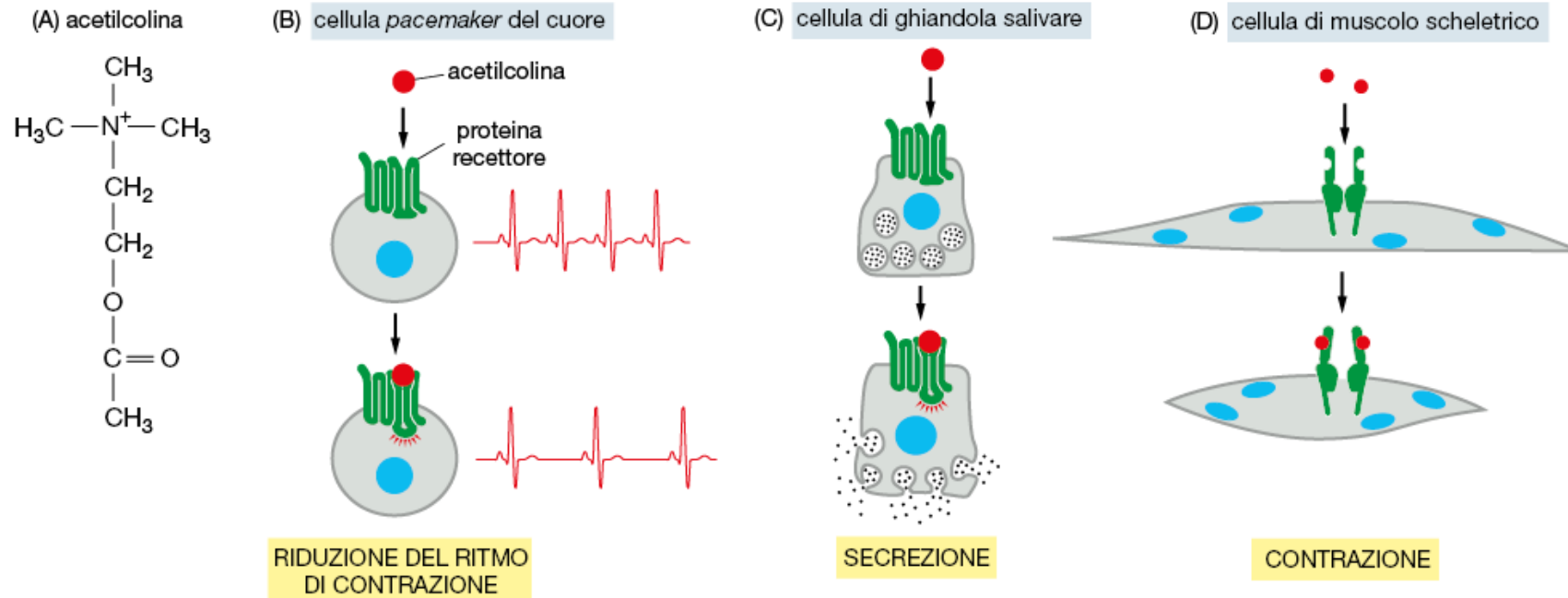
- **Sopravvivenza**: molte cellule richiedono una **combinazione specifica** di **fattori di sopravvivenza**; in loro assenza → **apoptosi**
- **Proliferazione**: dipende da segnali che **promuovono la divisione**, **sostengono la sopravvivenza** e **stimolano la crescita** cellulare.
- **Differenziamento terminale**: richiede una **combinazione distinta** di segnali di **sopravvivenza/differenziamento** in grado di **superare** eventuali segnali **mitogenici**.

Stesso ligando, risposte diverse: il caso dell'acetilcolina

Acetilcolina:

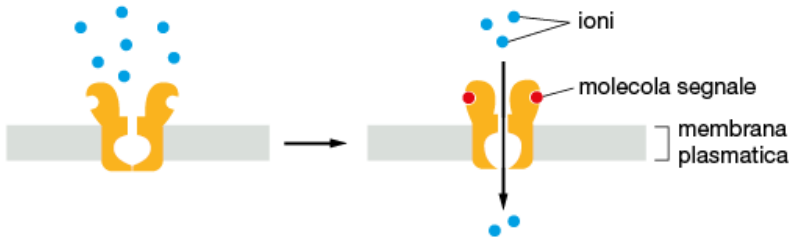
- **Cellule pacemaker cardiache:** diminuisce la frequenza di insorgenza del **potenziale d'azione**.
- **Cellule delle ghiandole salivari:** **stimola** la **secrezione di saliva**.
Nota: in questi due tipi cellulari i **recettori per l'acetilcolina sono gli stessi**.
- **Muscolo scheletrico:** **provoca contrazione** legandosi a un **recettore diverso** per l'acetilcolina.

Le **divergenze di effetto** dipendono da **differenze intracellulari**: proteine di **segnalazione**, **effettori** e **geni attivati**.

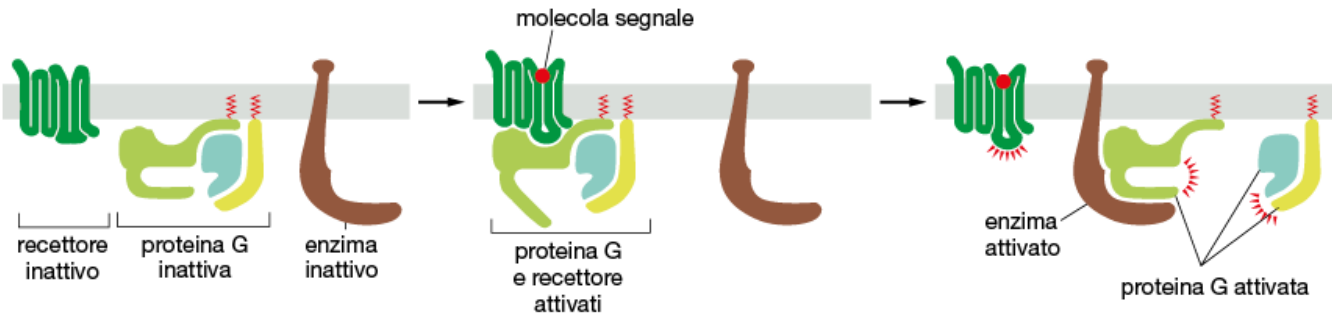


Classi di recettori di superficie

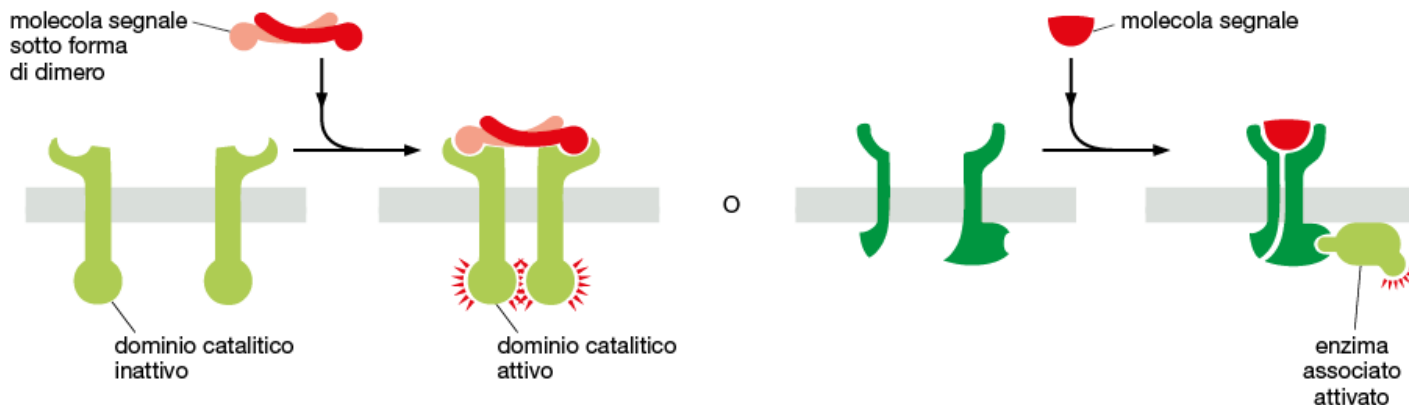
(A) RECETTORI ACCOPPIATI A CANALI IONICI



(B) RECETTORI ACCOPPIATI A PROTEINE G



(C) RECETTORI ACCOPPIATI A ENZIMI



Tre classi principali di recettori di superficie

- La **maggior parte** dei segnali extracellulari **non entra** nel citosol/nucleo: si **lega** a **recettori di superficie** che **trasducono** il segnale.

Classi (per meccanismo di trasduzione):

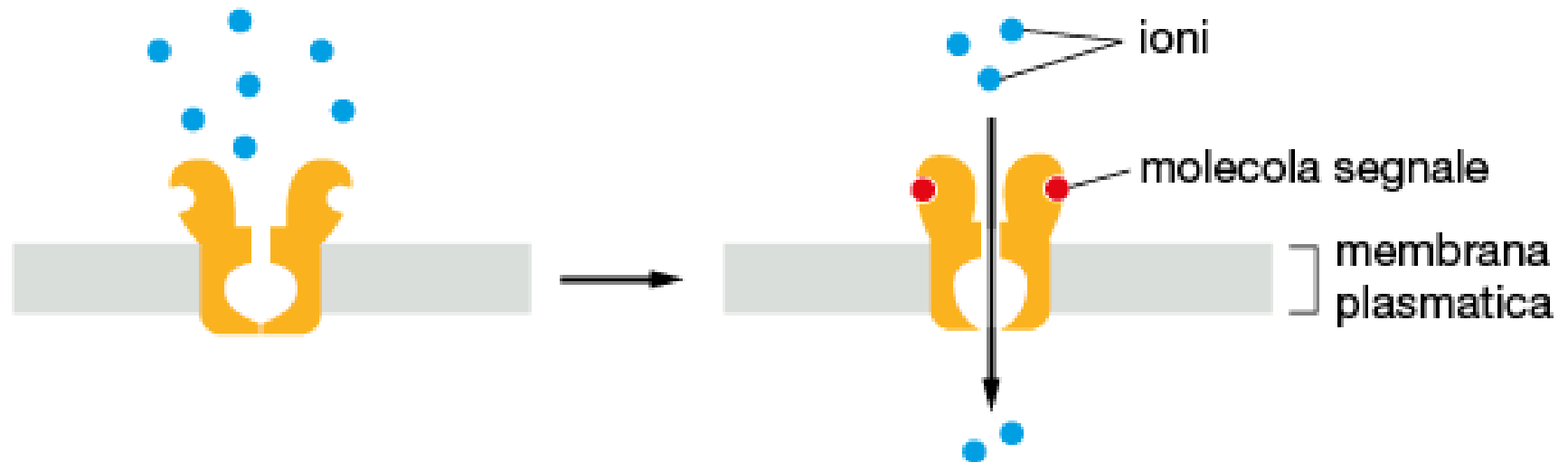
1. Recettori accoppiati a canali ionici
2. Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)
3. Recettori accoppiati a enzimi

Recettori accoppiati a canali ionici

Recettori accoppiati a canali ionici:

- Mediano **segnalazione sinaptica rapida** fra neuroni e cellule eccitabili (es. muscolo).
- Un **neurotrasmettitore** apre/chiude **transitoriamente** il **canale** → cambia **permeabilità ionica** ed **eccitabilità** post-sinaptica.
- Grandi famiglie **multi-pass** transmembrana.

(A) RECETTORI ACCOPPIATI A CANALI IONICI

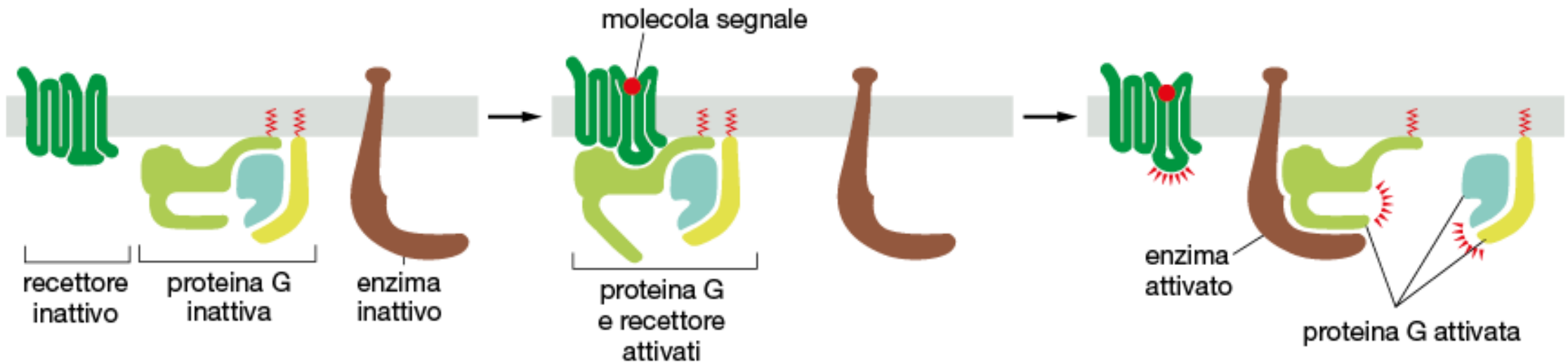


Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

Recettori accoppiati a proteine G (GPCR)

- **Agiscono indirettamente** su un **enzima** o **canale ionico** di membrana tramite una **proteina G eterotrimerica**.
- Esito: **variazione di secondi messaggeri** (se l'effettore è un enzima) o della **permeabilità ionica** (se l'effettore è un canale).

(B) RECETTORI ACCOPPIATI A PROTEINE G

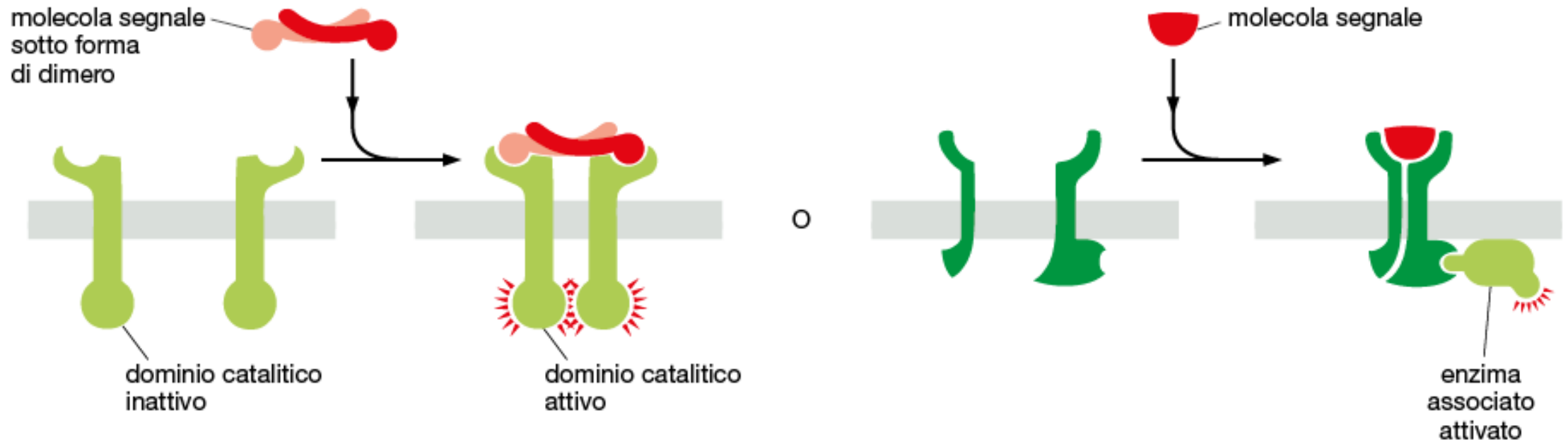


Recettori accoppiati ad enzimi – Recettori Tirosin Kinase

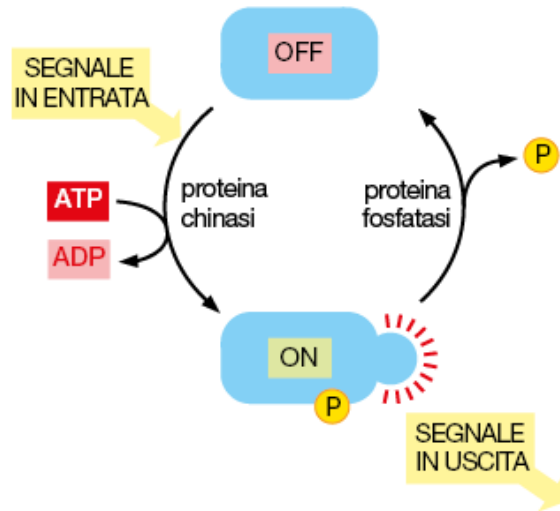
Recettori accoppiati ad enzimi:

- **Mono-pass** transmembrana con **sito di legame** esterno e **dominio catalitico** o **sito di associazione all'enzima** interno.
- Per lo più **proteina chinasi** o associate a chinasi → **fosforilano** set specifici di proteine bersaglio.

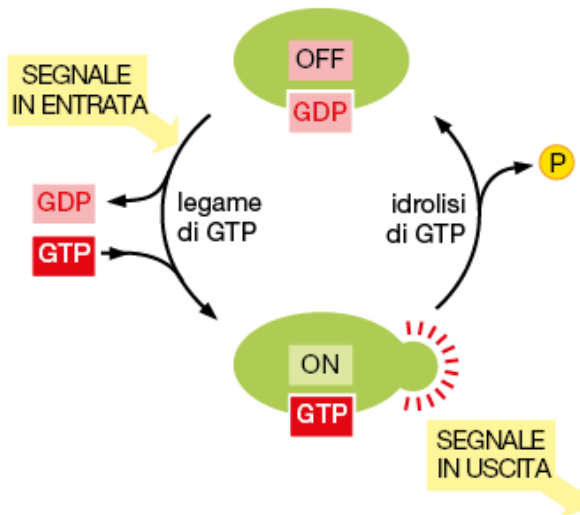
(C) RECETTORI ACCOPPIATI A ENZIMI



Secondi messaggeri: piccoli e veloci



(A) SEGNALAZIONE PER FOSFORILAZIONE

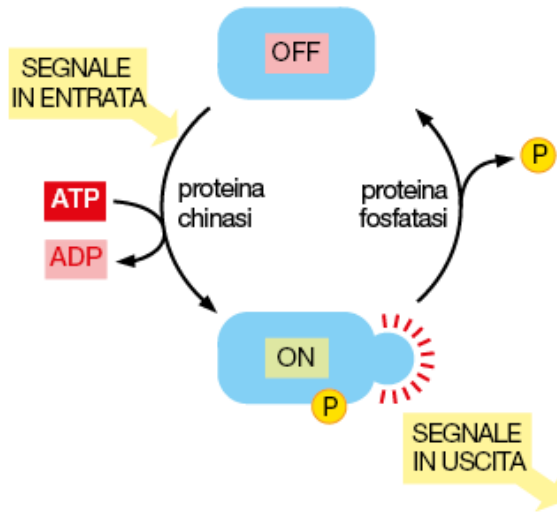


(B) SEGNALAZIONE DA PARTE DELLA PROTEINA CHE LEGA IL GTP

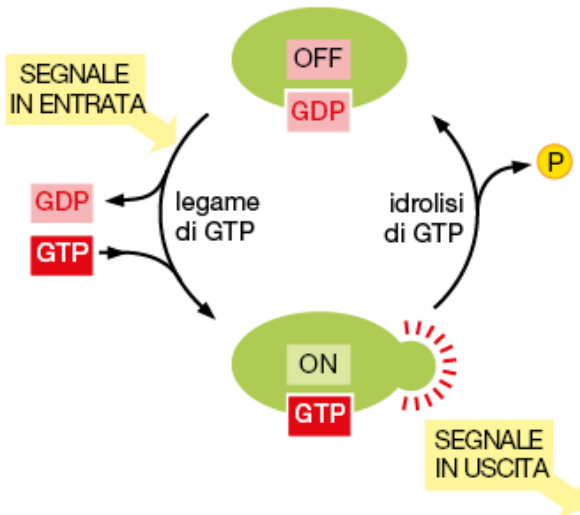
Secondi messaggeri: piccoli e veloci

- “**Primi messaggeri**” = segnali extracellulari; “**secondi messaggeri**” = **piccole molecole** prodotte in **gran numero** dopo attivazione del recettore.
- **Diffusione rapida** dalla sede di generazione:
- **Idrosolubili** (diffondono nel citosol): **cAMP**, **Ca²⁺**.
- **Liposolubili** (diffondono nel **piano di membrana**): **diacilglicerolo (DAG)**.
- Agiscono **legandosi** a proteine di segnalazione/effettrici → **modificano** la loro attività.

Interruttori molecolari: Fosforilazione ON/OFF



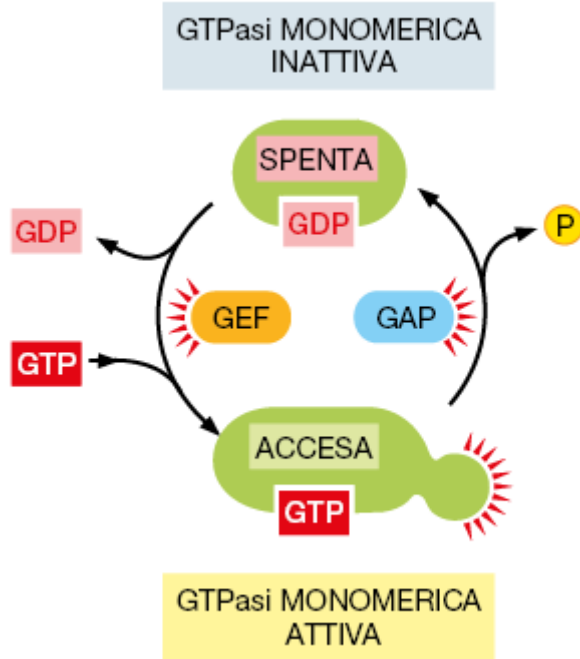
(A) SEGNALAZIONE PER FOSFORILAZIONE



(B) SEGNALAZIONE DA PARTE DELLA PROTEINA CHE LEGA IL GTP

- **Molte proteine di segnalazione agiscono come switch: ON** quando fosforilate, **OFF** quando defosforilate (o viceversa).
- **Chinasi:** aggiungono **P** a **Ser/Thr** (maggioranza) o **Tyr**; **Fosfatasi:** rimuovono **P**.
- **Bilancio attività** chinasi/fosfatasi determina lo stato della proteina.
- Dati chiave:
 - **30–50%** delle proteine umane è **fosforilata**.
 - Genoma umano: **~520 proteina chinasi** e **~150 proteina fosfatasi**.
 - **Tirosina chinasi:** quasi **solo** negli **animali pluricellulari**; **assenti** nei lieviti.
 - **Cascade di chinasi:** un enzima attivato fosforila il **successivo** → **trasduzione, amplificazione e ramificazione** del segnale.
 - Fosfatasi: **Ser/Thr** e **Tyr**; **~100 fosfatasi tirosiniche** (incluse a **doppia specificità** che defosforilano anche Ser/Thr).

Interruttori molecolari: Proteine che legano GTP



- Due **stati conformazionali**: **attivo** (GTP legato) vs **inattivo** (GDP legato).
- Intrinseca **GTPasi** → **auto-spegnimento** (GTP → GDP).
- **Due grandi famiglie**:
 - **Proteine G eterotrimeriche** ($\alpha\beta\gamma$): trasducono da **GPCR**.
 - **Piccole GTPasi monomeriche**: integrano segnali da **molte classi recettoriali**.
- Senza regolatori, **attivazione** (rilascio GDP) e **inattivazione** (idrolisi GTP) sono **lenti**.

Regolatori delle GTPasi: GAP e GEF

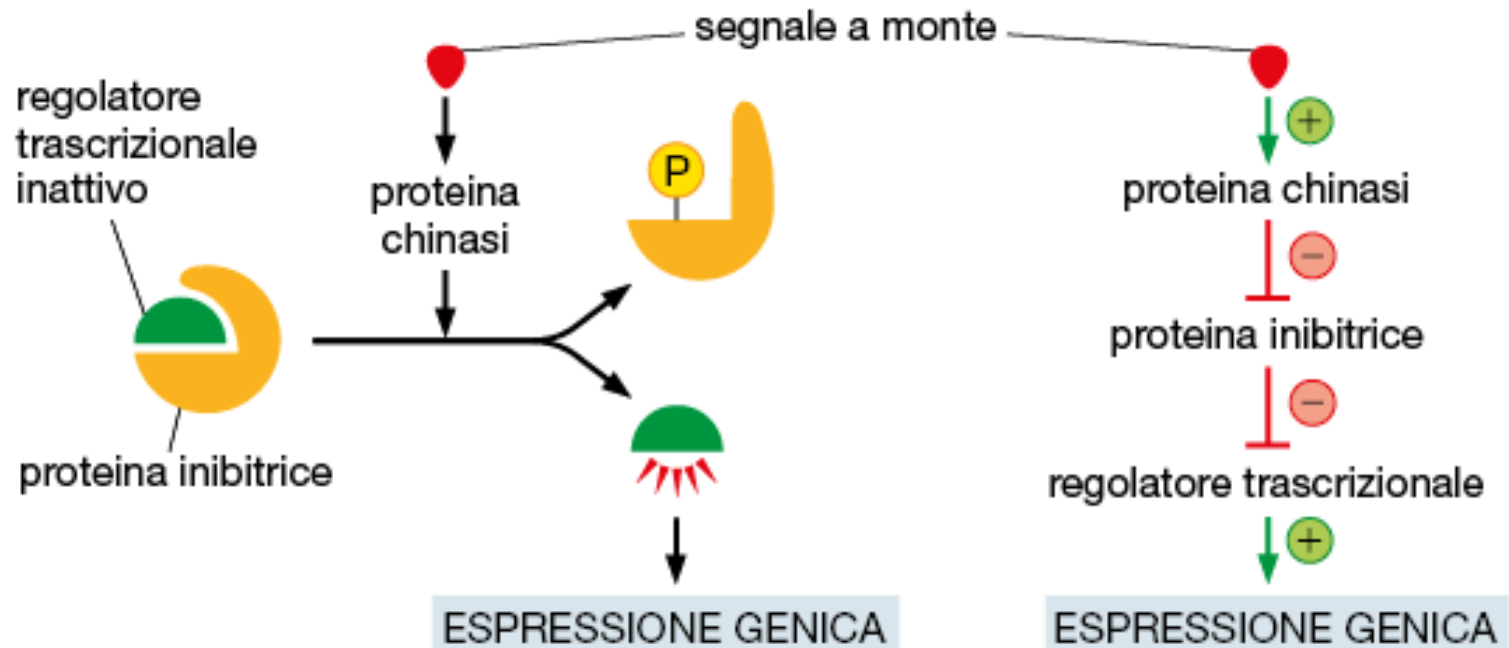
- **GAP** (*GTPase-Activating Protein*): **accelerano l'idrolisi** del GTP → spingono verso lo stato **inattivo**.
- **GEF** (*Guanine nucleotide Exchange Factor*): **favoriscono il rilascio del GDP** → ingresso di **GTP** → **attivazione**.
- **Caso speciale (eterotrimeriche)**: il recettore **GPCR** attivato agisce **di fatto come GEF**.

Oltre fosforilazione e GTP: altre logiche di controllo

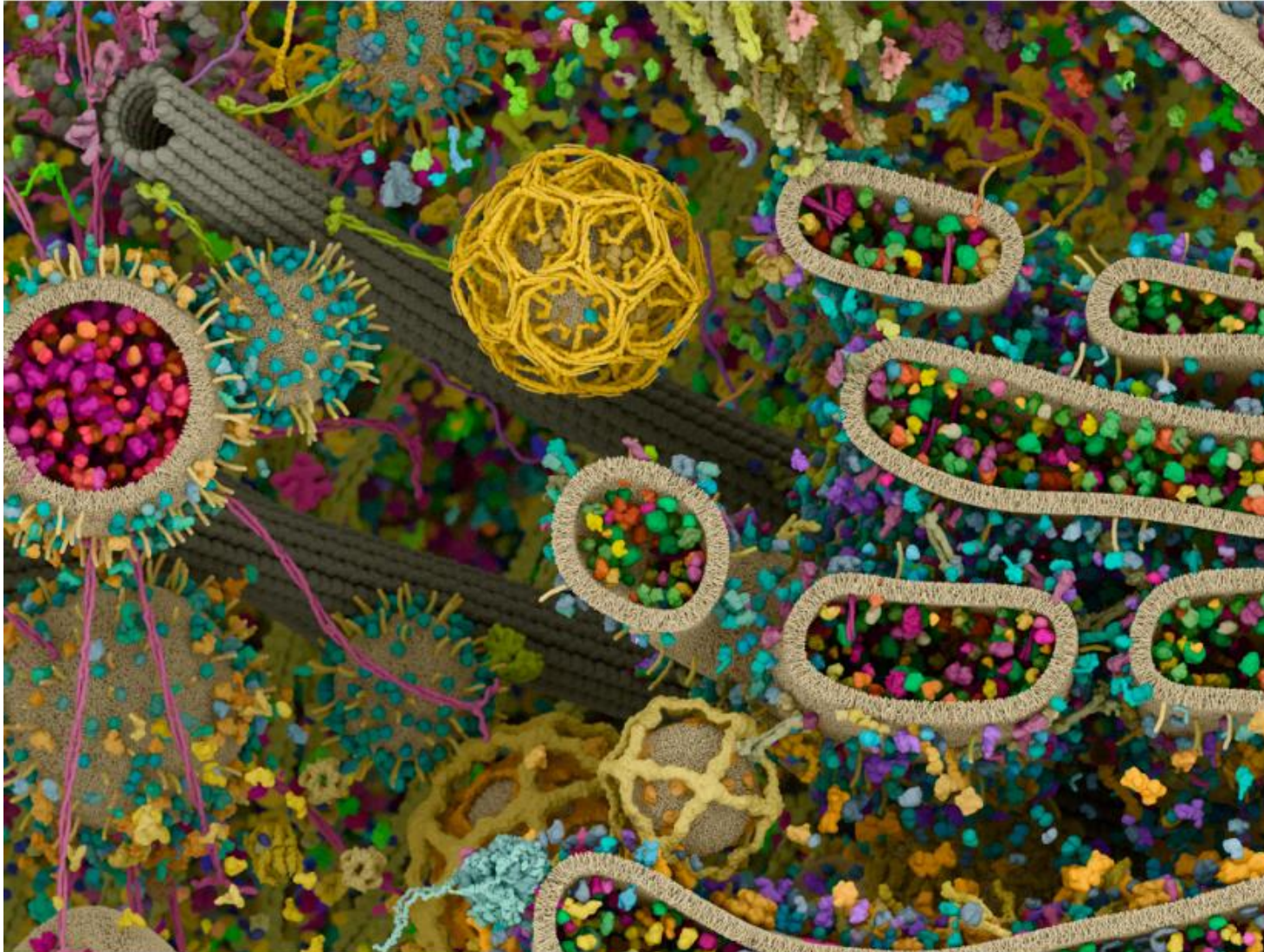
Alcuni switch dipendono da:

- Interazioni proteina-proteina (assemblaggio su scaffold).
- Secondi messaggeri (es. cAMP, Ca^{2+}).
- Modifiche covalenti non-fosforilative (es. ubiquitinazione).

Importante: due passaggi inibitori in serie possono equivalere a un **effetto attivatorio**.



Segnali forti e specifici in un citosol “rumoroso”



Segnali forti e specifici in un citosol “rumoroso”

- **Problema:** il citoplasma è affollato di molecole di segnalazione correlate → rischio di interferenze tra vie.
- **Obiettivo:** mantenere segnali forti, precisi, specifici nonostante il rumore di fondo (variazione molecolare e cellulare).

Come si ottiene la specificità

Affinità e riconoscimento di sequenza

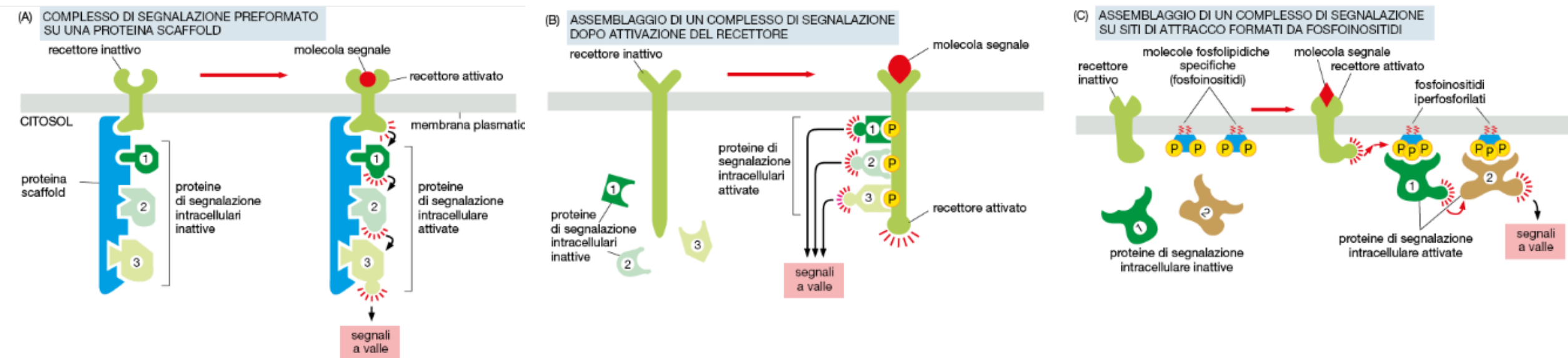
- **Alta affinità/specificità** tra molecole di segnalazione e **bersagli corretti** → superfici **complementari**.
- **Proteina chinasi**: siti attivi che **riconoscono** specifiche **sequenze amminoacidiche** attorno **al sito da fosforilare**.
- **Siti di attracco aggiuntivi (docking)** su enzimi/bersagli → **interazioni stabili e durature** con le controparti **giuste**.

Filtri anti-rumore tramite fosfatasi

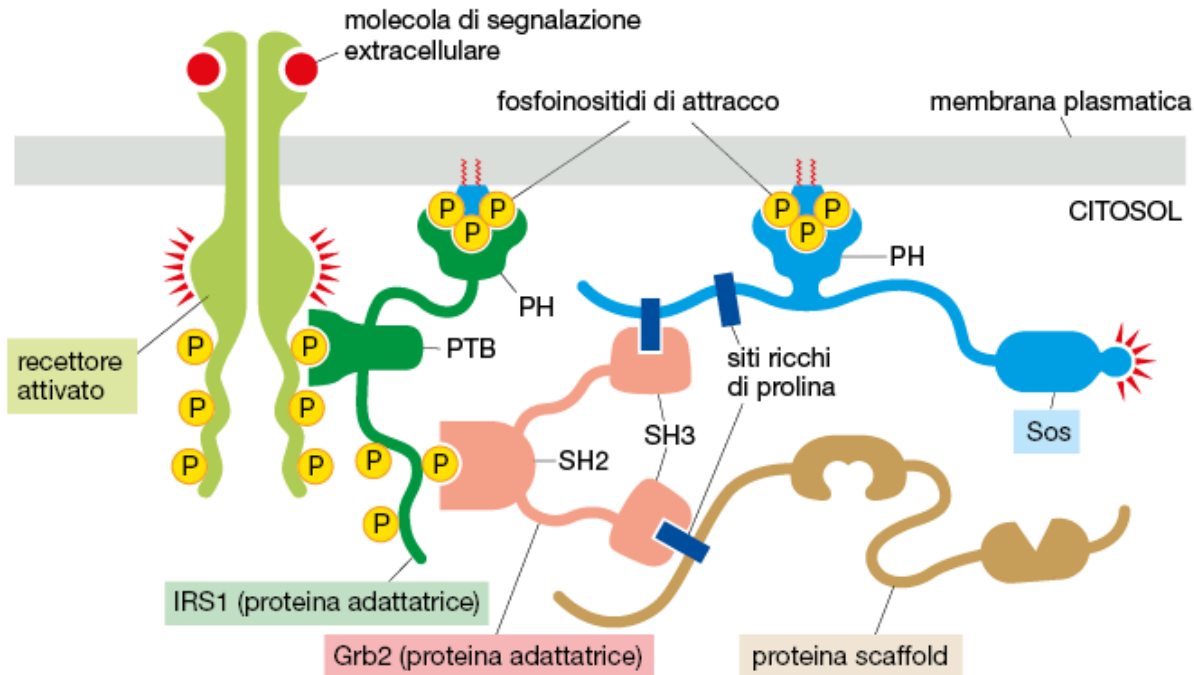
- **Rumore**: brevi, **occasional**i fosforilazioni spurie.
- **Filtro**: **livello basale** di **attività fosfatase** rimuove fosforilazioni transitorie.
- **Risposta forte** solo se la **chinasi giusta** raggiunge **attività alta e persistente** (es. **fosforilazione multi-sito** sul bersaglio).
- Es.: se un'altra chinasi fosforila **1-2 siti** brevemente → le **fosfatasi** li rimuovono → **nessuna risposta**.

Strategie spaziali: complessi di segnalazione locali

- **Confinare i componenti** nella **stessa zona** → **aumenta probabilità** e **specificità d'interazione**, riduce **cross-talk**.
- **Proteine scaffold**: **pre-assemblano gruppi** di proteine **interagenti** anche **prima del segnale**.
- **Assemblaggio temporaneo dopo attivazione del recettore**:
 - **Coda citosolica fosforilata** → **siti di attracco** per proteine di segnalazione.
 - **Fosfoinositidi generati localmente** nella membrana (**PI(3,4,5)P₃**, ecc.) **reclutano** proteine con domini lipidici → **attivazione in situ**.



Domini modulari di interazione: i “connettori”



Moduli conservati che riconoscono motivi specifici:

- **SH2 e PTB**: legano **tirosine fosforilate** entro **sequenze peptidiche** definite (su recettori/proteine a valle).
- **SH3**: lega **brevi sequenze ricche in prolina**.
- **PH**: alcuni legano **fosfoinositidi** carichi (es. **PI(3,4,5)P₃**) → **ancoraggio** alla membrana.

1. **Adattatori puri**: proteine composte da 2+ domini di interazione → **collegano** partner **senza attività catalitica**.
2. **Adattatori multifunzionali**: domini multipli + **attività di propagazione del segnale**.

Architetture complesse e Condensati biomolecolari

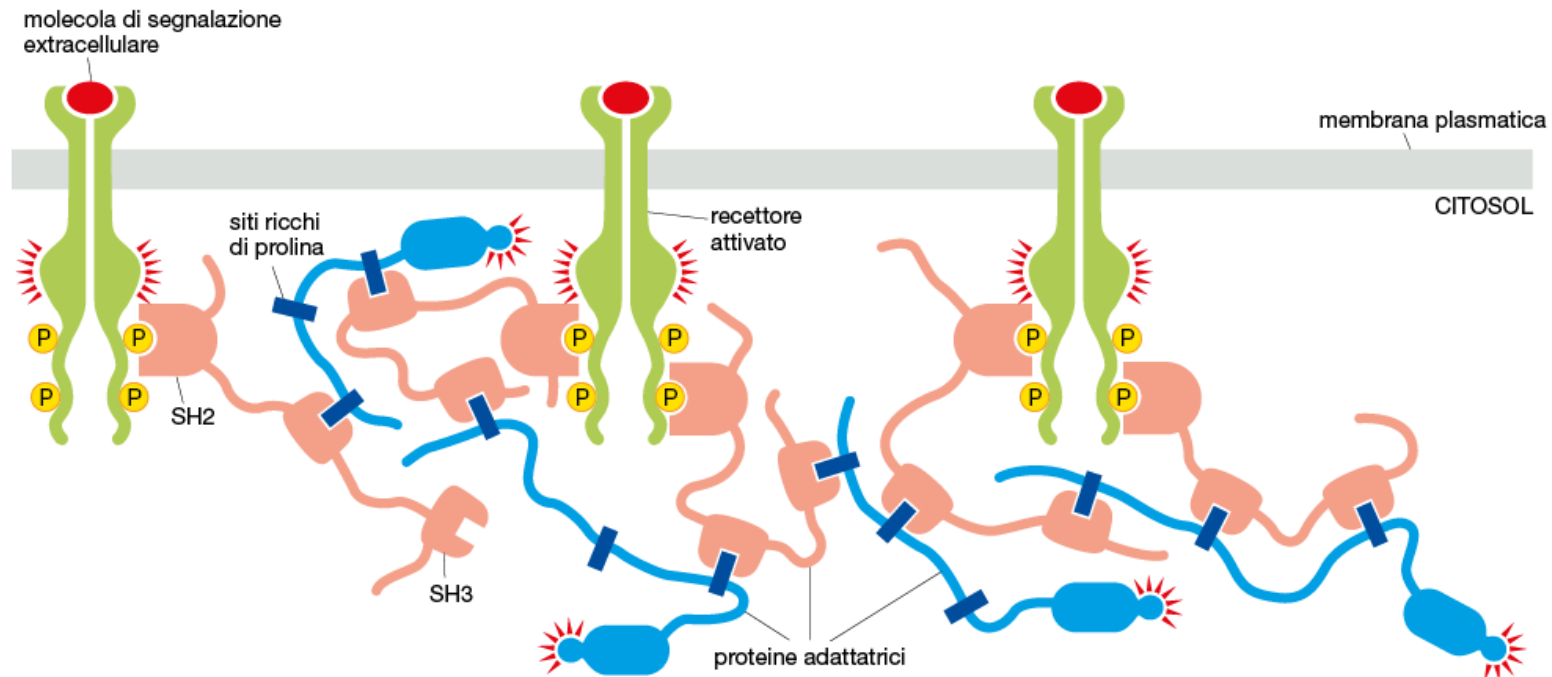
Architetture complesse: catene, rami, reticoli

- I domini modulari consentono **combinazioni specifiche multiple** → **Catene lineari**, **vie ramificate** o **reticoli 3D** attorno a **ammassi di recettori**.
- I domini sono spesso in **regioni flessibili e non strutturate** (“**perle su un filo**”) → favoriscono **matrici interconnesse**.

Condensati biomolecolari e microambienti dedicati

Le **matrici proteiche** attorno ai recettori attivati possono comportarsi come **gel/condensati** →

- Creano **microambienti** con composizione **distinta** dal citosol.
- **Concentrano** recettori/proteine specifiche → **potenziano** forza/specificità del segnale, **limitano** interferenze da altre vie.

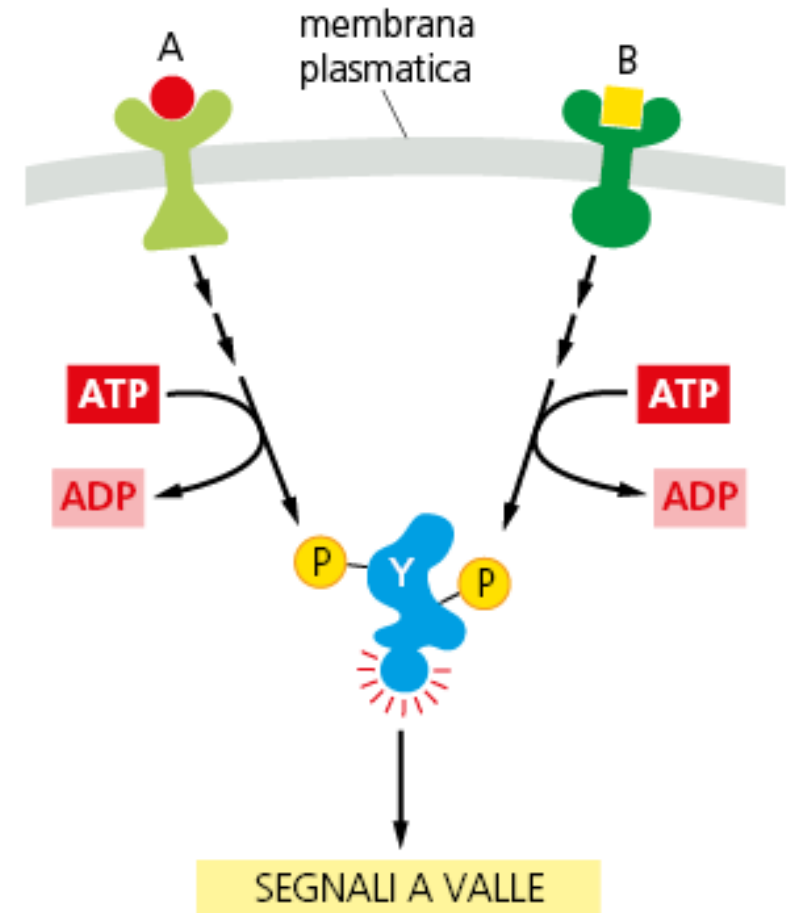


Proprietà Generali della Risposta Cellulare

- Le vie di segnalazione rilevano uno stimolo e generano una **risposta calibrata**, spesso **lontano dal recettore**.
- Gli **intermedi** non solo **trasmettono**: **processano** (**amplificano**, **filtrano**, **integrano**, **ramificano**) il **segnale**.
- Le **proprietà** chiave variano tra vie: **tempo**, **sensibilità**, **campo dinamico**, **persistenza**, **elaborazione**, **integrazione**, **coordinazione**.

(1) Tempo di risposta: da millisecondi (ms) a giorni

- **Rapidissime** (ms): es. **segnalazione sinaptica**.
- **Lente/prolungate** (h–giorni): es. controllo del **destino cellulare** da parte dei **morfogeni** nello sviluppo.
- Il tempo riflette **funzione e necessità fisiologiche** della via.



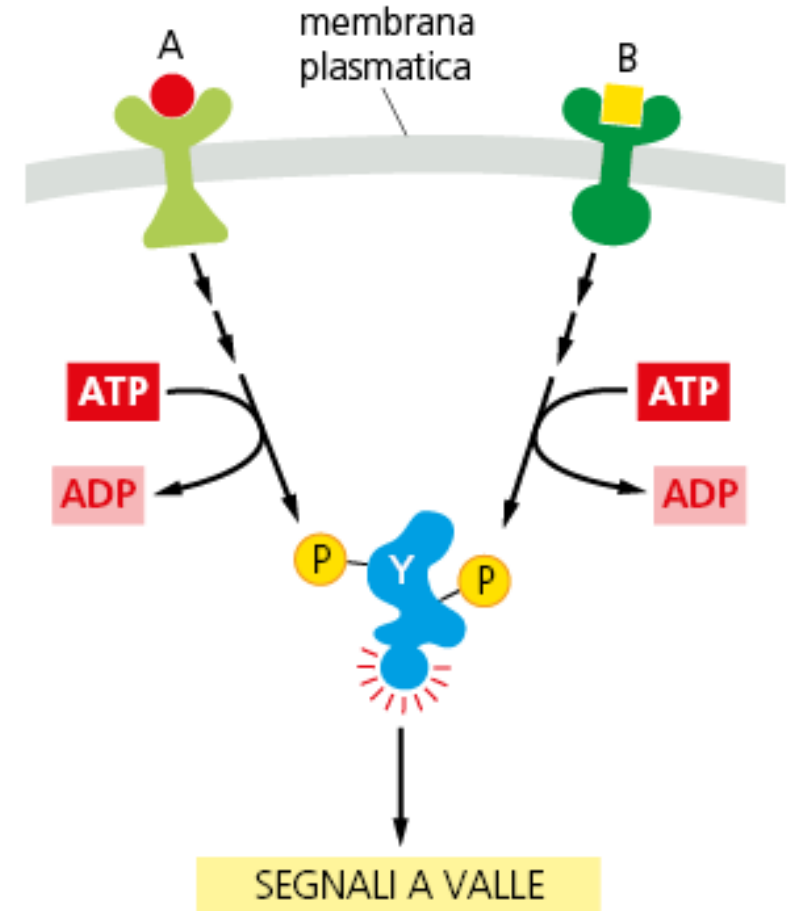
Rapporto segnale → risposta: quadro generale

(2) Sensibilità e amplificazione

- **Ormoni:** agiscono a **basse concentrazioni** → bersagli **molto sensibili**.
- **Neurotrasmettitori:** **concentrazioni più alte** a livello sinaptico → minore necessità di ipersensibilità.
- **La sensibilità dipende** da **numero/affinità dei recettori** e dall'**amplificazione: pochi recettori** attivati → **molte secondi messaggeri** / molte copie di proteine a valle.

(3) Campo dinamico e adattamento

- **Alcune vie rispondono** in un **range ristretto** (decisioni di sviluppo “semplici”).
- **Altre** (es. **visione**, risposte metaboliche ormonali) operano su **ampi range**: l'**adattamento riallinea la sensibilità al livello di fondo** per **mantenere la risposta** (gain control).



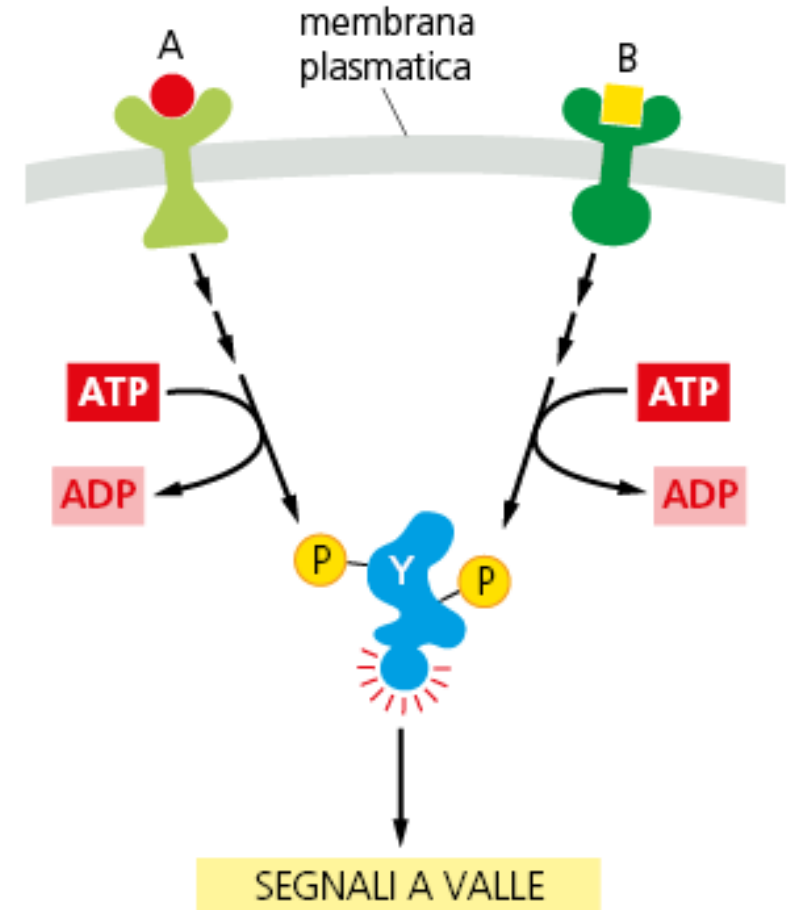
Rapporto segnale → risposta: quadro generale

(4) Persistenza/durata della risposta

- **Transitorie** (<1 s): tipico di alcune risposte sinaptiche.
- **Prolungate o permanenti**: decisioni di **fato cellulare** nello sviluppo.
- **Feedback** positivi/negativi modulano **durata** e **reversibilità** della risposta.

(5) Elaborazione del segnale: switch ed oscillazioni

- Un input **graduale** può diventare una risposta **a soglia/repentina** (comportamento “interruttore”).
- Un singolo input può generare risposte **oscillanti** (treni di impulsi transitori).
- Al centro di **interruttori/oscillatori** ci sono circuiti di **feedback**.



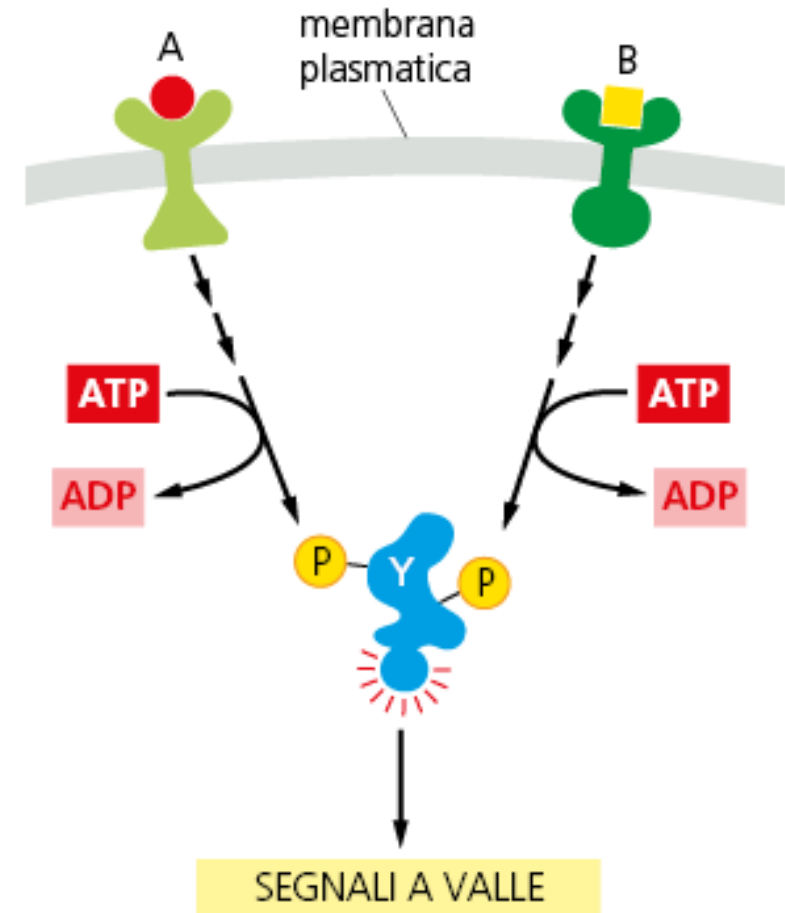
Rapporto segnale → risposta: quadro generale

(6) Integrazione: rilevatori di coincidenza

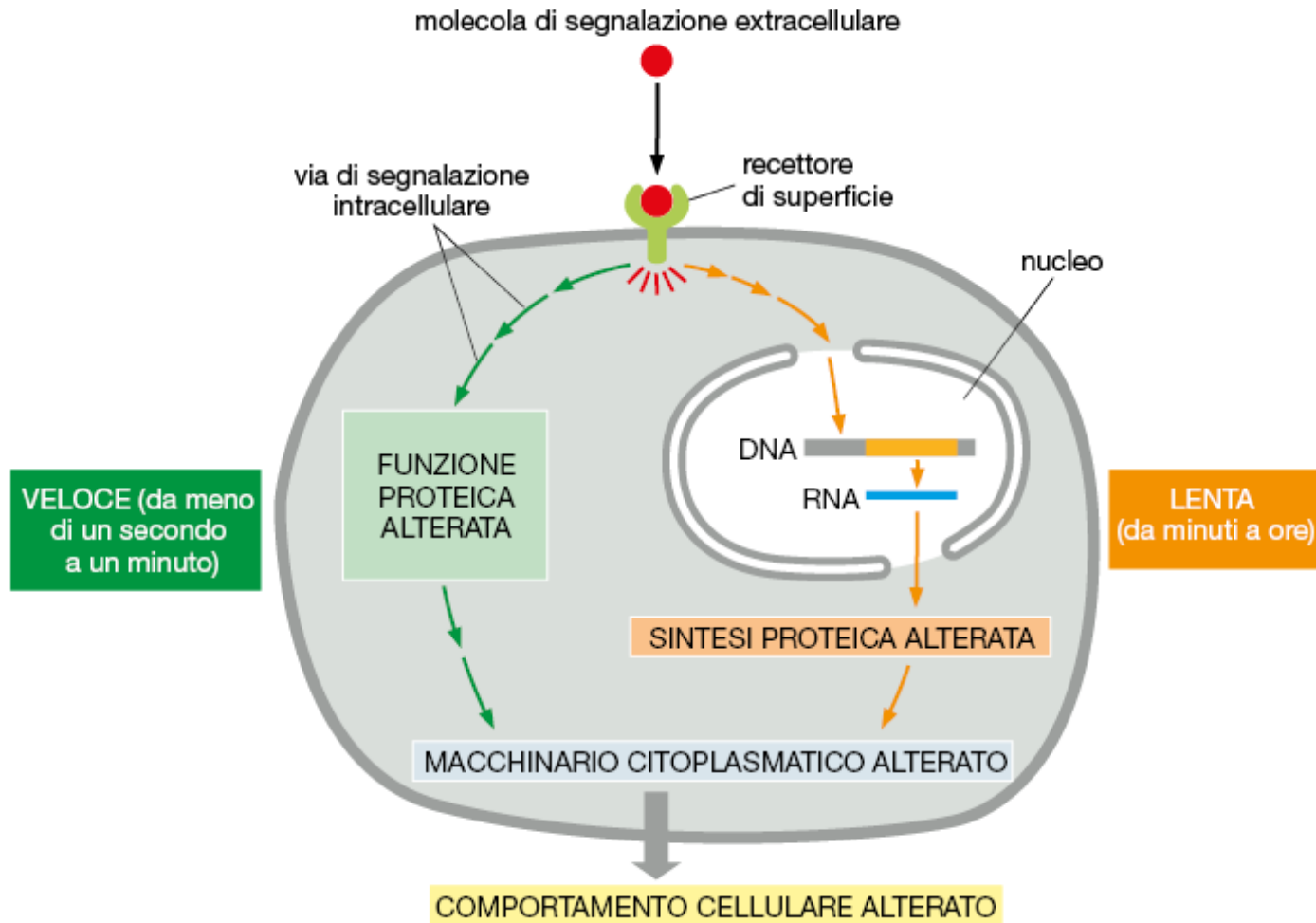
- Comportamenti complessi (crescita, proliferazione, differenziamento) richiedono **combinazioni** di segnali.
- **Rilevatori di coincidenza** intracellulari funzionano come **porte AND**: si attivano solo con **input convergenti**.

(7) Coordinazione e reti, non catene

- **Un singolo segnale può coordinare risposte multiple** (es. **crescere e dividersi**) tramite **ramificazioni** della via.
- **La ramificazione può modulare** la forza della risposta ad **altri segnali**.
- Le vie reali sono **reti** con flussi **bidirezionali** (anche all'indietro), non sequenze lineari.

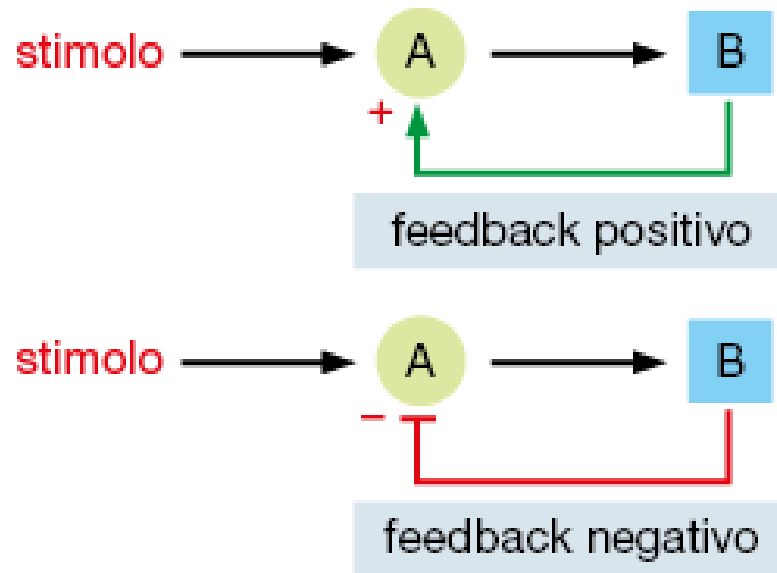


Velocità della risposta: turnover delle molecole di segnalazione



- **Risposte rapide** quando bastano **cambi conformazionali** o **fosforilazioni** (ms–s/min).
- **Risposte lente** quando servono **nuova trascrizione/traduzione** (min–ore).
- Allo **spegnimento** del segnale: le risposte svaniscono se i mediatori sono **instabili** (alto **turnover**) o le fosforilazioni sono **rimosse** da **fosfatasi**.
- La **prontezza** all'**accensione** dipende **anch'essa** dal **turnover** basale dei componenti.

Feedback nei sistemi di segnalazione: quadro

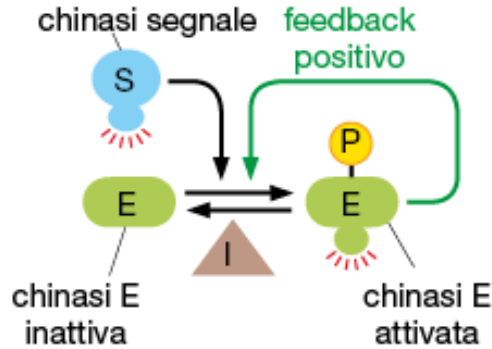


Feedback nei sistemi di segnalazione: quadro

- I circuiti a **feedback** fanno “tornare indietro” l’uscita per regolare il processo stesso.
- **Positivo**: l’uscita **stimola** la propria produzione. **Negativo**: l’uscita **inibisce** la propria produzione.
- Anche i circuiti **più semplici** possono generare comportamenti **complessi** e inattesi.

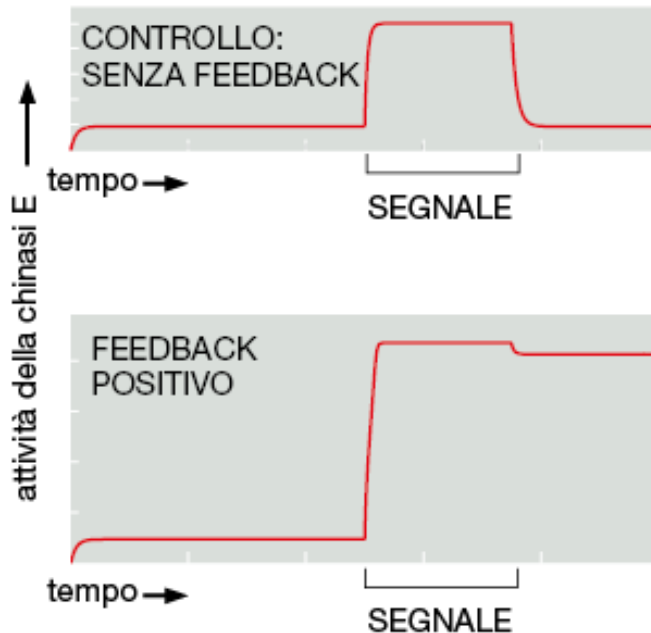
Feedback positivo: da curva ripida a “tutto o nulla”

FEEDBACK POSITIVO



(A)

- **Debole-moderato:** rende più **ripida** la curva segnale→risposta (**sigmoide**).
- **Forte:** risposta “**tutto o nulla**” (switch) con soglia critica.
- **Bistabilità:** due stati stabili (**spento/acceso**); una volta acceso può **autosostenersi** anche se l’input scende **sotto** la soglia.
- Un impulso **transitorio** può innescare cambiamenti **duraturi**.

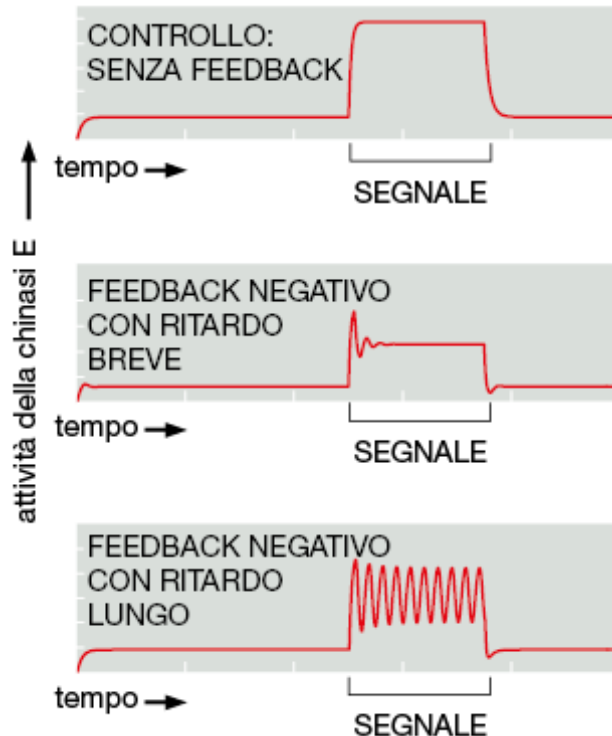
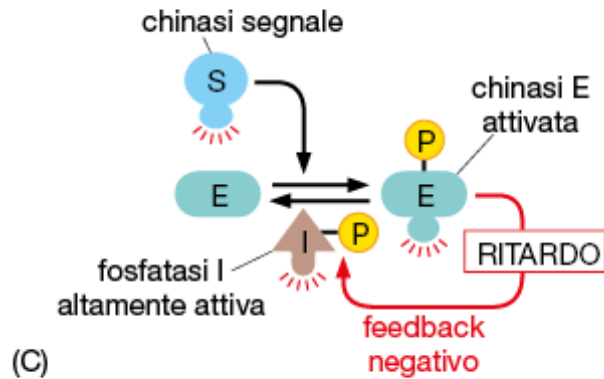


Singola cellula vs popolazione: perché le risposte “graduali” ingannano

- In presenza di forte feedback positivo, le **single cellule** spesso rispondono a **switch** (“on/off”).
- In una **popolazione** l’andamento appare **graduale** per la **variabilità intrinseca** (rumore) tra cellule, specie a **concentrazioni intermedie** (recettori solo **parzialmente** occupati).
- **Solo misure single-cell** rivelano il comportamento **tutto-o-nulla**.

Feedback negativo: robustezza, adattamento, oscillazioni

FEEDBACK NEGATIVO

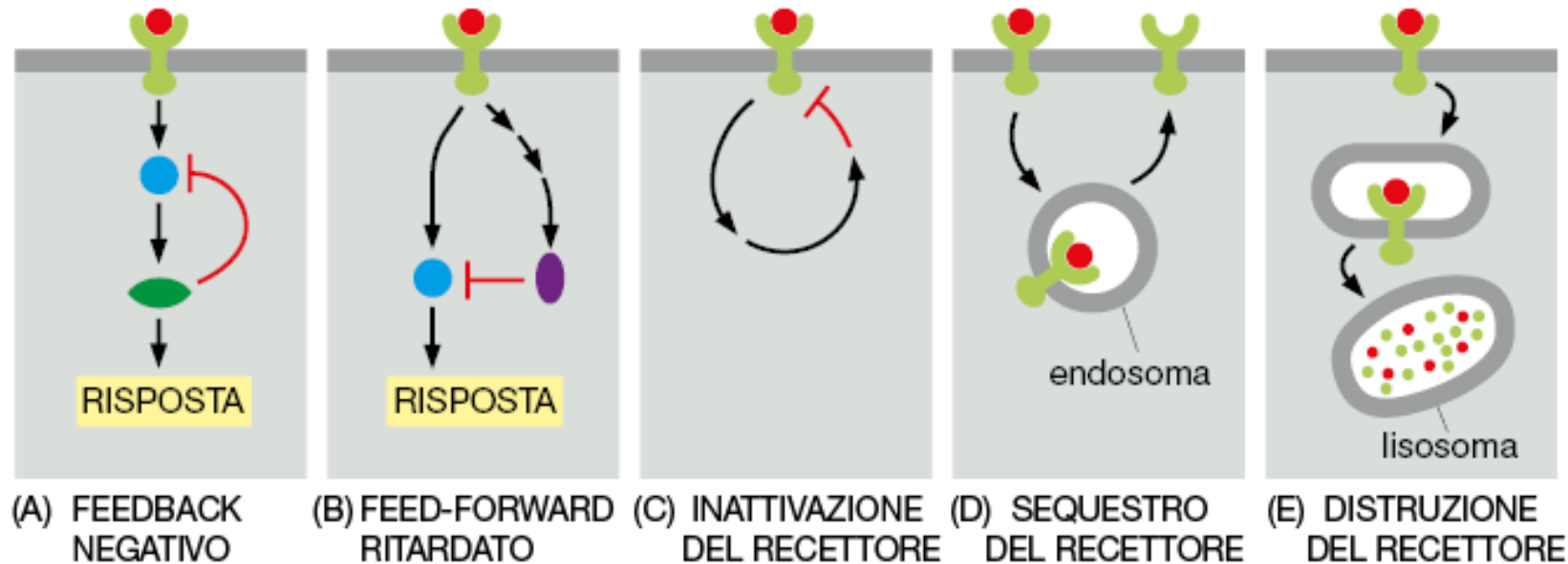


Feedback negativo: robustezza, adattamento, oscillazioni

- Tende a **contrastare lo stimolo** → **limita** ampiezza e **accorcia** la **risposta**; rende il **sistema meno sensibile** alle perturbazioni.
- **Se c'è ritardo sufficiente** → **compaiono oscillazioni** che possono persistere finché lo **stimolo** resta, oppure emergere **spontaneamente** (auto-oscillazioni).
- **Molti oscillatori includono anche feedback positivi** (oscillazioni più nette).

Adattamento/desensibilizzazione: rispondere ai cambiamenti

- Con **feedback negativo a breve ritardo**: **risposta iniziale forte** che **poi decade** anche se l'input persiste; a un input più **forte** segue un **nuovo** impulso transiente.
- **L'adattamento fa sì** che la **cellula risponda alle variazioni dell'input** più che al **valore assoluto**.
- **Sistema visivo**: esempio paradigmatico; **mantiene performance su un enorme range di intensità luminose**.



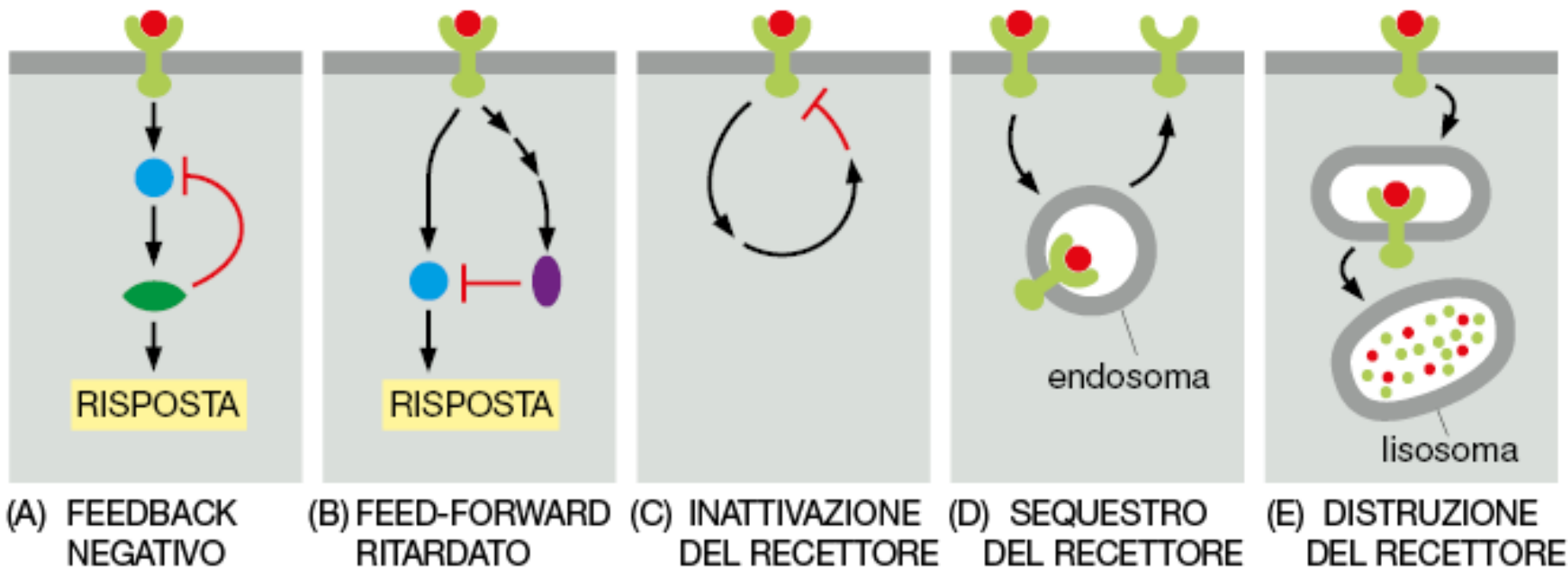
Meccanismi di adattamento

(I) Feedback diretto e vie parallele

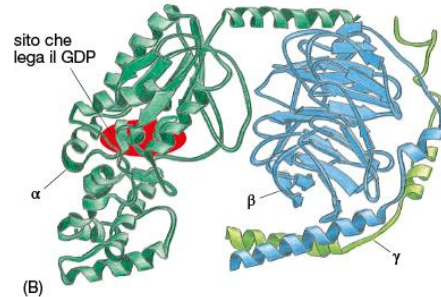
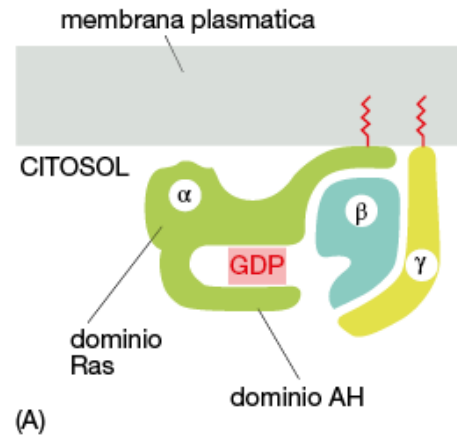
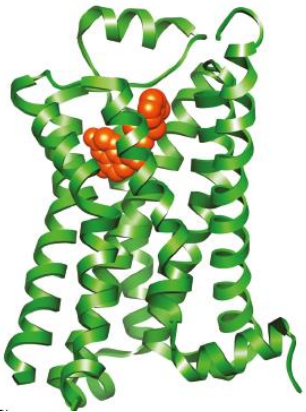
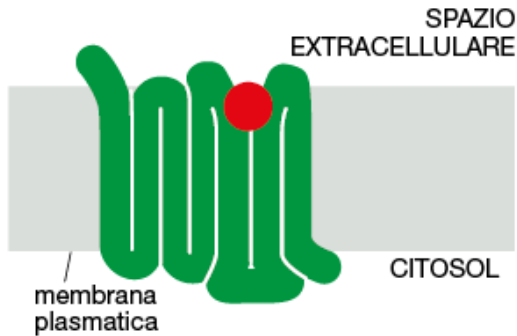
- **Feedback negativo a breve ritardo** su un componente **a monte** (es. chinasi che **inibiscono** elementi della stessa via).
- **Vie parallele**: l'input attiva rapidamente una via **effettrice** e, più **lentamente**, una via **inibitoria**.
- Esempio: un RTK recluta velocemente **Sos (Ras-GEF)** attivando **Ras**, ma più tardi recluta un **Ras-GAP** che **spegne** il segnale.

(II) Inattivazione del recettore

- **Desensibilizzazione recettoriale** (tipica dei **GPCR**):
 - **Fosforilazione** del recettore da **PKA/PKC** o **GRK** → legame di **arrestine**.
 - Blocco dell'accoppiamento alla **proteina G** (inattivazione funzionale);
 - **Endocitosi** mediata da clatrina (sequestro);
 - Esiti: **riciclo** (reset), **sequestro** temporaneo o **down-regulation** con **degradazione lisosomiale**.



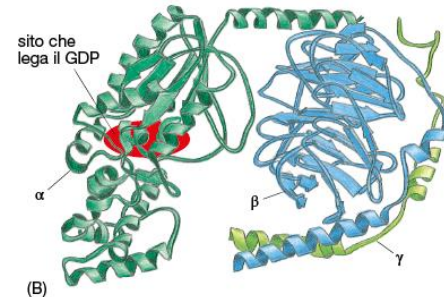
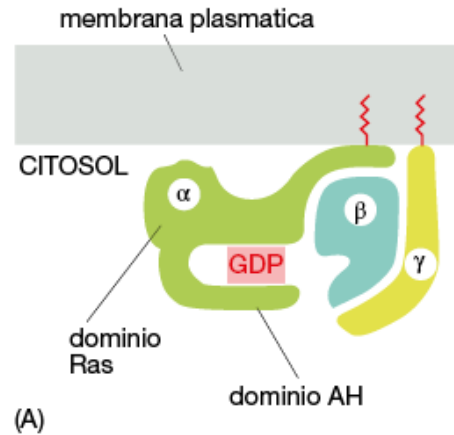
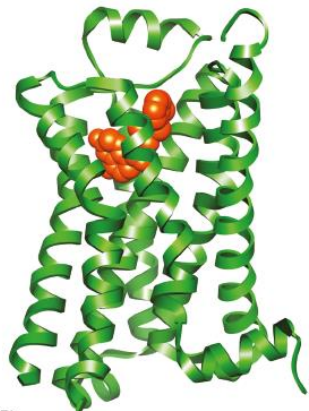
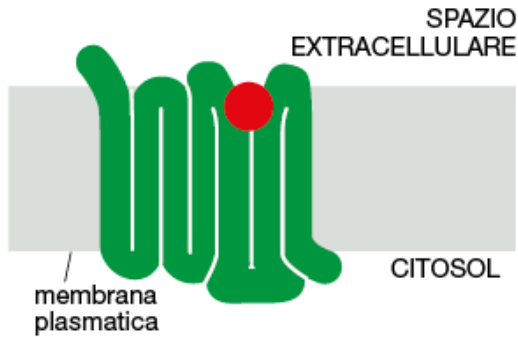
Panorama dei G-Protein Coupled Receptors (GPCR)



La famiglia più grande di recettori di superficie

- Mediano la **maggior parte** delle risposte a segnali **esterni** e **intercellulari** (ormoni, neurotrasmettitori, mediatori locali).
- **Sensi: vista, olfatto, gusto** dipendono da GPCR.
- Numeri: **>800** GPCR nell'**uomo**; nel **topo** **~1000** solo per l'**olfatto**.
- **Ligandi eterogenei**: proteine/peptidi, derivati amminoacidici, acidi grassi, **fotoni**, molecole odorose e saporose.
- **Uno stesso ligando** può attivare **più GPCR** (es.: **adrenalina ≥ 9 , acetilcolina 5, serotonina ≥ 14**); **recettori diversi su tipi cellulari diversi** $\rightarrow$ **risposte diverse**.

Panorama dei G-Protein Coupled Receptors (GPCR)



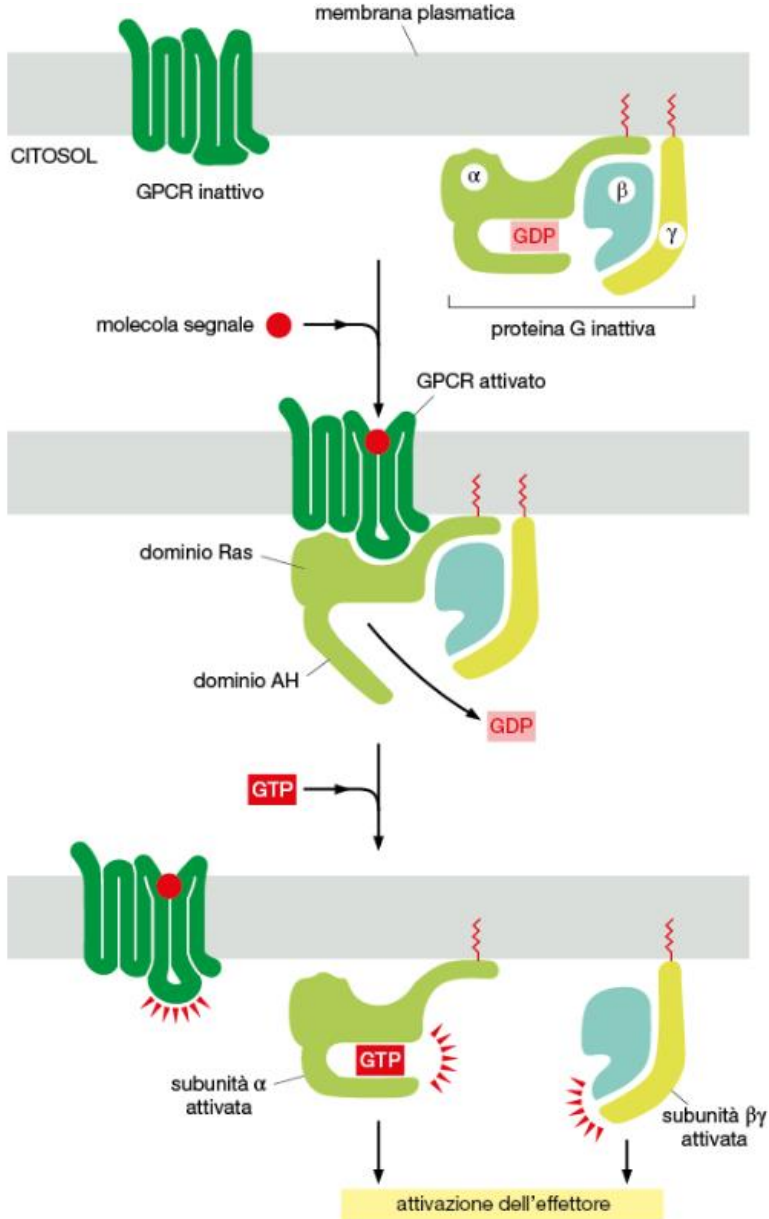
Struttura e origine evolutiva

- **Singola catena** che attraversa la membrana **7 volte** (7TM), spesso con **sito di legame profondo** nella tasca centrale.
- **Trasducono il segnale** via **proteine G**.
- Comprendono **rodopsina** (vista) e **recettori olfattivi**; presenti anche in **unicellulari** (es. recettori del **lievito** per fattori di accoppiamento).
- Probabile **evoluzione** dai **recettori sensoriali** degli antenati eucarioti unicellulari.

Rilevanza farmacologica

- Mezza farmacologia “parla GPCR”
- ~**50%** dei **farmaci** agisce su **GPCR** o sulle **loro vie**.
- ~**150 GPCR orfani** (ligando ignoto) nel genoma umano
→ **potenziali bersagli** per **nuovi farmaci**.

Le proteine G eterotrimeriche: Architettura & attivazione



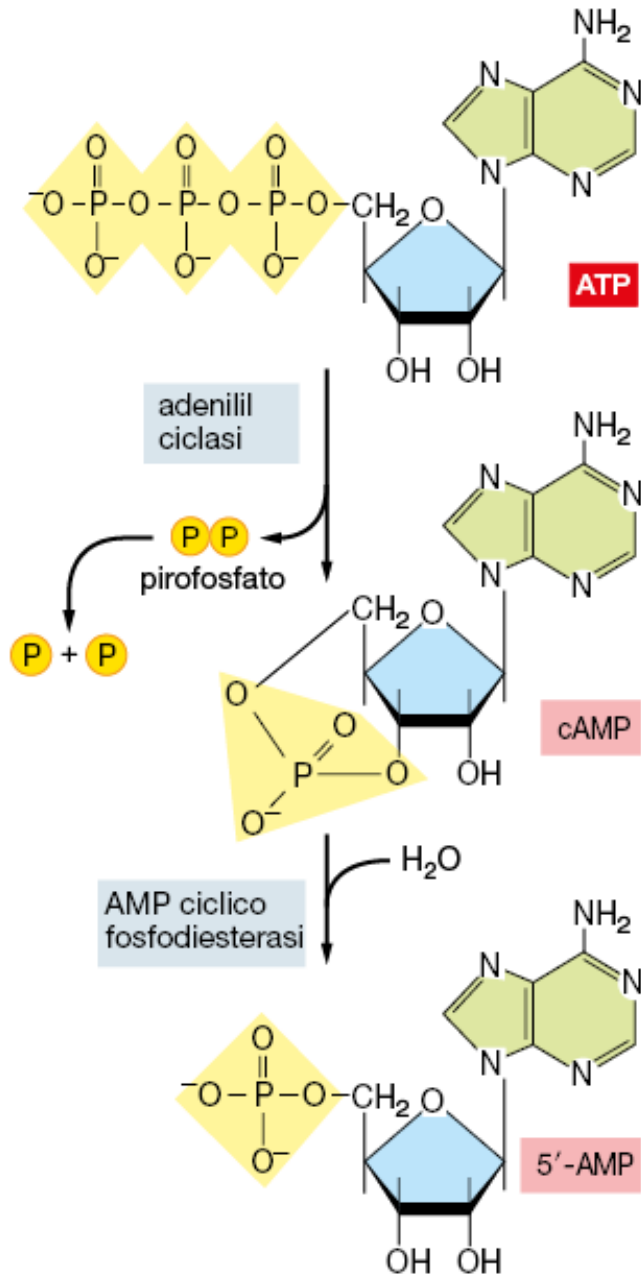
Le proteine G eterotrimeriche: Architettura & attivazione

- **Eterotrimeri:** subunità α , β , γ .
- Stato **basale:** **G α -GDP** (inattiva).
- **GPCR attivato** = agisce da **GEF della G α** : induce **rilascio GDP** e **ingresso GTP** su **G α** .
- **G α -GTP** si **attiva**, si **distacca** da **G $\beta\gamma$** ; **entrambi** modulano **bersagli** (enzimi, canali ionici di membrana).
- **G α** è una **GTPasi**: l'idrolisi del **GTP** $\rightarrow$ **GDP** spegne il segnale.

Spegnimento rapido: le RGS come GAP per G α

- **RGS** (Regulator of G protein Signaling) aumentano l'attività **GTPasica** di **G α** .
- ~**25** geni **RGS** nell'uomo, ciascuno con **specificità** per sottoinsiemi di proteine G.
- Anche il **bersaglio enzimatico** può fungere da **GAP** per **G α** .

Il secondo messaggero cAMP



- **cAMP = secondo messaggero**; può aumentare **>20×** in pochi secondi.
- Richiede **sintesi rapida + demolizione rapida**:
 - **Adenilato ciclasi (AC)**: converte **ATP → cAMP**.
 - **Fosfodiesterasi (PDE)**: degradano **cAMP**.
- **Adenilato Ciclasi**: grande proteina **multi-pass** con **dominio catalitico citosolico**; **≥8 isoforme** nei mammiferi; molte regolate da **proteine G** e **Ca^{2+}** .

Gs vs Gi: su e giù del cAMP - Due interruttori opposti sulla AC

- **Gs** (Gas attiva): **si lega alla AC** e la **attiva** → **cAMP ↑**.
- **Gi** (Gai): **inibisce la AC** → **cAMP ↓**.

Toxins insight & uso sperimentale

Tossina del Colera: Gas “bloccata in forma ON”

- **ADP-ribosila Gas** (da NAD^+), inibendo l'idrolisi del GTP.
- **Gas resta attiva** → AC iper-stimolata → cAMP ↑ sostenuto.
- Nelle cellule dell'**epitelio intestinale: grande efflusso di Cl^- e acqua** → **dissenteria** tipica del colera.

Tossina della Pertosse: Gai “bloccata in forma OFF”

- **ADP-ribosila Gai**, impedendo l'interazione con i GPCR.
- **Gai resta legato a GDP (inattiva)** → non può regolare i bersagli.
- **Uso sperimentale:** tossina colerica vs pertosse aiutano a distinguere **vie Gs** da **vie Gi** in cellule/ tessuti

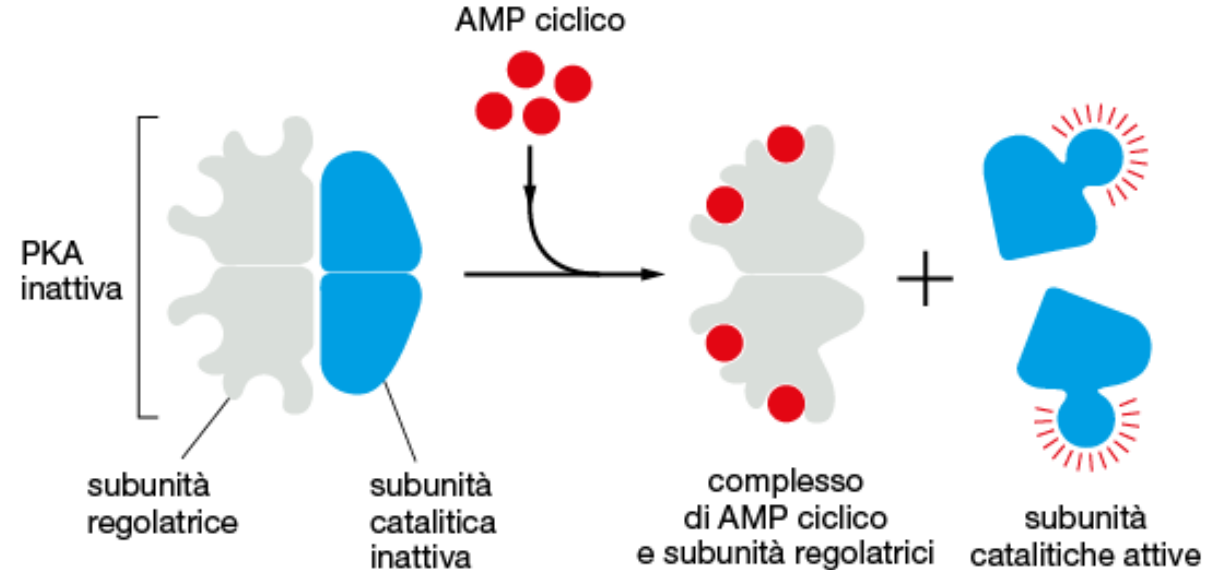
Tabella 15.1 Alcune risposte cellulari indotte da ormoni mediate da AMP ciclico

Tessuto bersaglio	Ormone	Risposta principale
Ghiandola tiroidea	Ormone tireostimolante (TSH)	Sintesi e secrezione dell'ormone tiroideo
Corteccia surrenale	Ormone adrenocorticotropo (ACTH)	Secrezione di cortisolo
Ovaio	Ormone luteinizzante (LH)	Secrezione di progesterone
Muscolo	Adrenalina	Demolizione del glicogeno
Ossa	Paratormone	Riassorbimento osseo
Cuore	Adrenalina	Aumento della frequenza cardiaca e della forza di contrazione
Fegato	Glucagone	Demolizione del glicogeno
Rene	Vasopressina	Riassorbimento dell'acqua
Grasso	Adrenalina, ACTH, glucagone, TSH	Demolizione dei trigliceridi

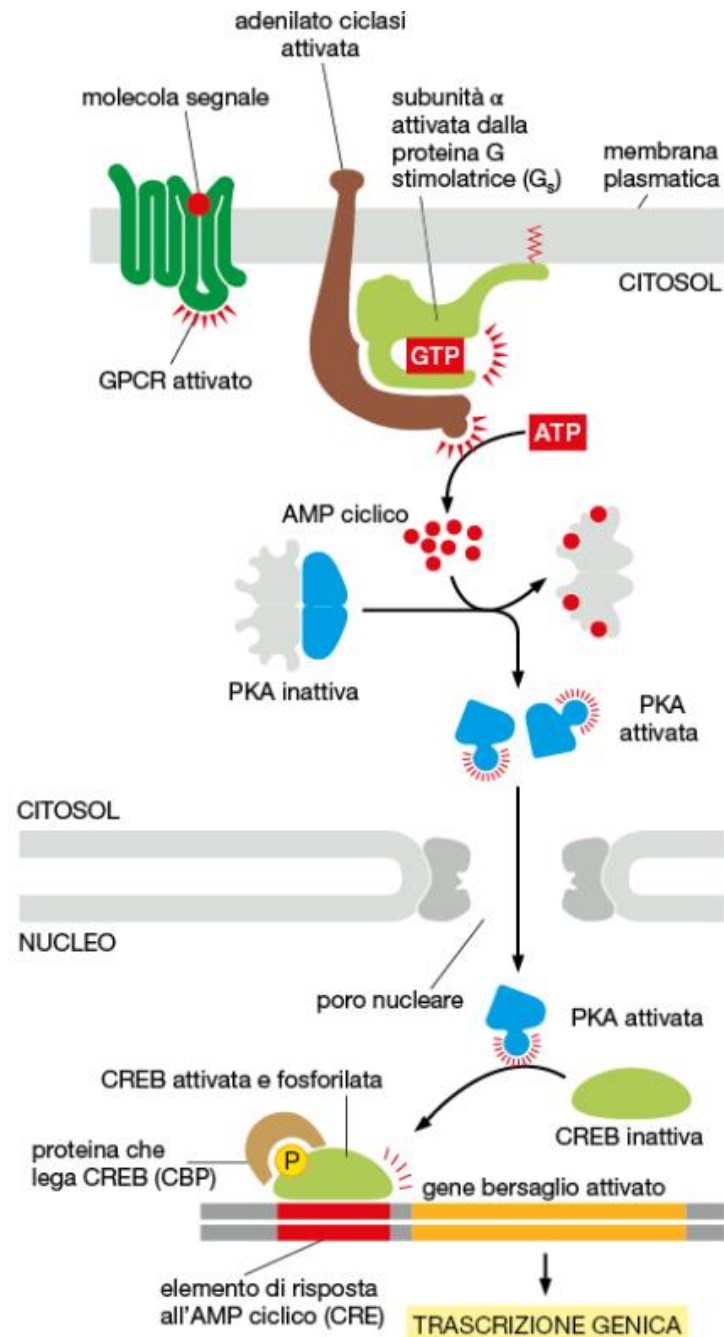
Protein Kinase A (PKA): principale effettore del cAMP

PKA: serina/treonina-chinasi cAMP-dipendente

- Nella maggior parte delle cellule animali il **cAMP** agisce **attivando PKA**.
- **PKA** fosforila **Ser/Thr** su **proteine bersaglio** (segnalazione ed effettrici) → **modula attività**.
- **Specificità cellulare**: i bersagli **variano** per **tipo cellulare** → effetti diversi del cAMP.



Attivazione di PKA

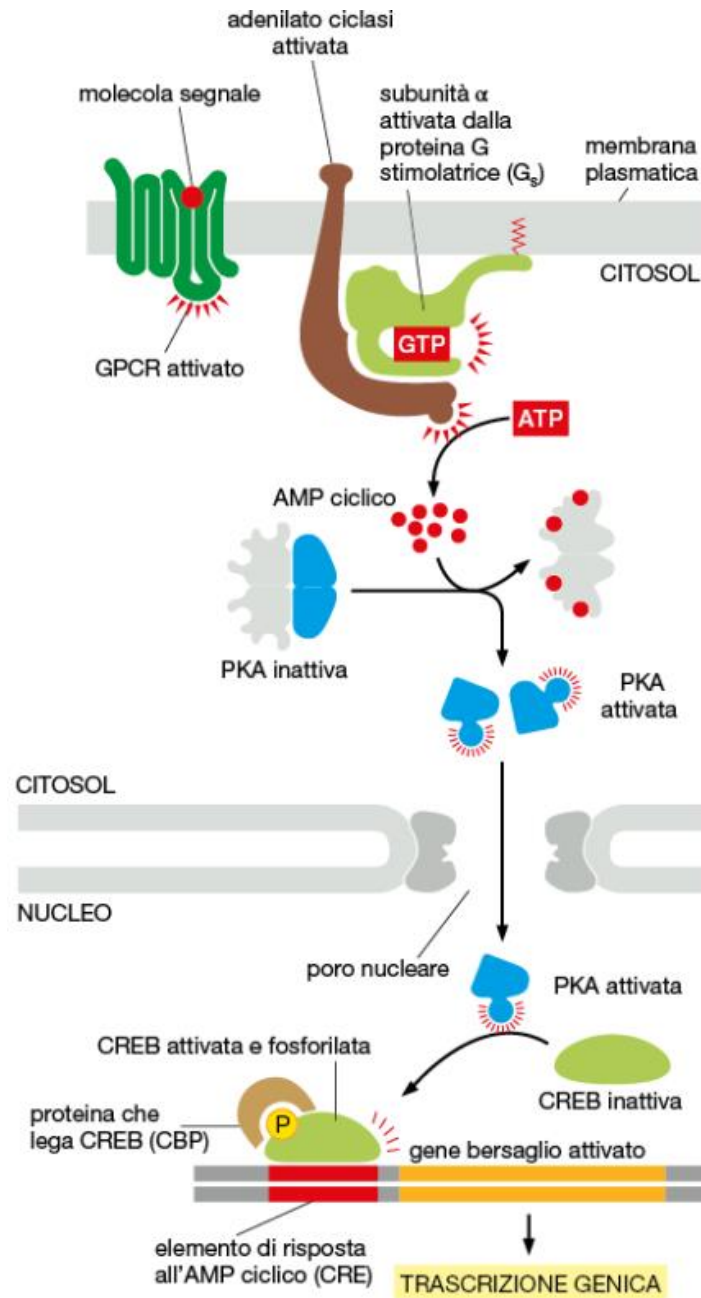


Attivazione di PKA

- Stato **inattivo**: è un complesso formato da 2 **subunità regolatrici** e 2 **subunità catalitiche (R_2C_2)**
- **cAMP** si lega alle **sub. regolatrici (R)** → **cambio conformazionale** → **dissociazione** del complesso.
- Le **sub. catalitiche (C)** libere diventano **attive** e fosforilano i **bersagli**.

Il legame del **cAMP** alle **subunità R** di **PKA** induce la **dissociazione R_2C_2** , liberando le **subunità C** attive che fosforilano proteine **Ser/Thr**.

Signaling Pathway cAMP/CREB

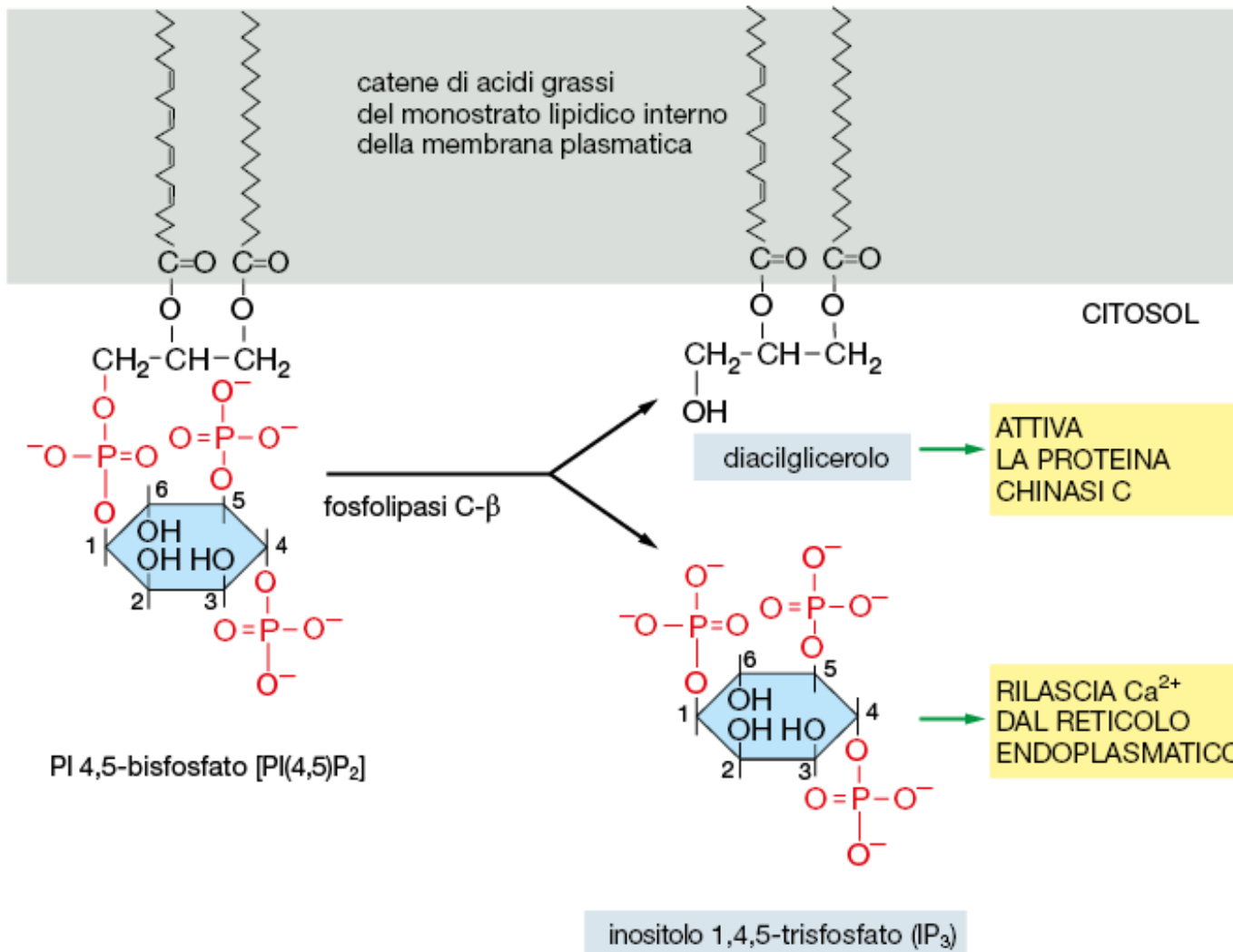


cAMP → CREB → trascrizione

- **Molti geni attivati da cAMP** contengono **CRE** (Cyclic AMP Response Element) nelle **regioni regolatrici**.
- **CREB** (CRE-binding) riconosce **CRE**.
- **PKA** fosforila **CREB** su **una singola Ser** → **CREB~P** recluta il coattivatore **CBP** (CREB-binding protein) → **stimola la trascrizione** dei geni bersaglio.
- Esempio: **gene della somatostatina** in cellule secernenti l'ormone.
- Nel **cervello**, CREB è implicato in **apprendimento e memoria**.

PKA fosforila **CREB**, che recluta **CBP** su promotori con **CRE**, convertendo segnali **cAMP transienti** in **rimodellamenti trascrizionali**.

Avvio della via PLC- β



GPCR $\rightarrow$ (Gq) $\rightarrow$ PLC β $\rightarrow$ IP₃ & DAG $\rightarrow$ PKC

Gq attiva PLC β sulla membrana plasmatica

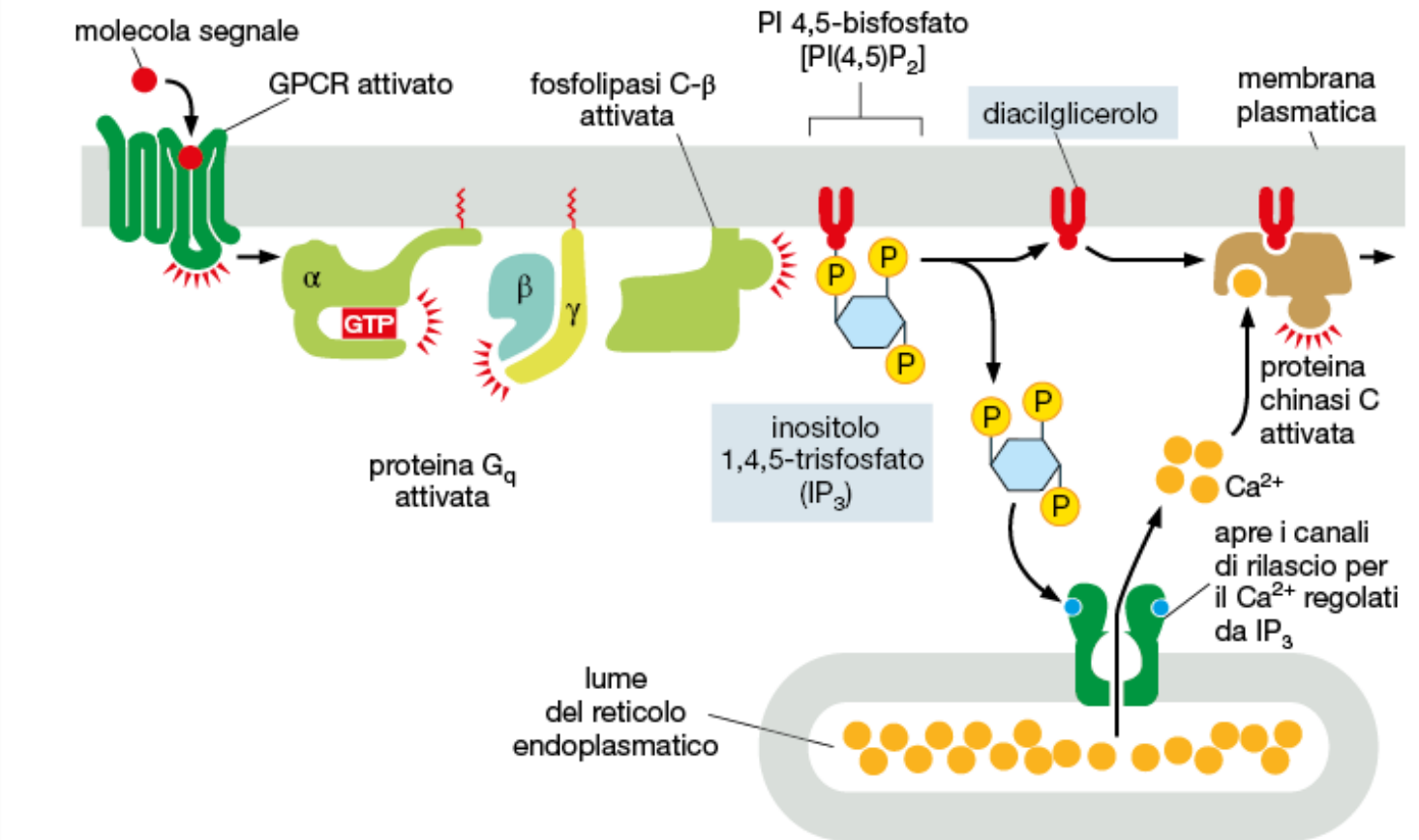
- **Molti GPCR** segnalano tramite **Gq** $\rightarrow$ attivazione di **PLC- β** (fosfolipasi C- β).
- **PLC- β** idrolizza **PI(4,5)P₂** (foglio citoplasmatico del bilayer) $\rightarrow$ produce **IP₃** (solubile) + **diacilglicerolo (DAG)** (membrana).
- **Risposte fisiologiche varie.**

Ramo IP_3 : apertura dei canali del Ca^{2+} nel RE

Ramo IP_3 : apertura dei canali del Ca^{2+} nel RE

- IP_3 diffonde nel **citoplasma** e si lega al **recettore IP_3** (canale Ca^{2+}) sulla **membrana del RE**.
- Il recettore richiede $IP_3 + Ca^{2+}$ (come **cofattore**) per **aprire** il canale (legame ad alta affinità).
- **Rilascio Ca^{2+}** dal RE $\rightarrow$ aumento della $[Ca^{2+}]$ citoplasmatica (**10–20x**) $\rightarrow$ attiva **proteine sensibili a Ca^{2+}** e **propaga il segnale**.

IP_3 attiva i **recettori-canale** del **RE** in maniera **Ca^{2+} -dipendente**, liberando Ca^{2+} e innalzando la $[Ca^{2+}]$ citosolica di **10–20x**.

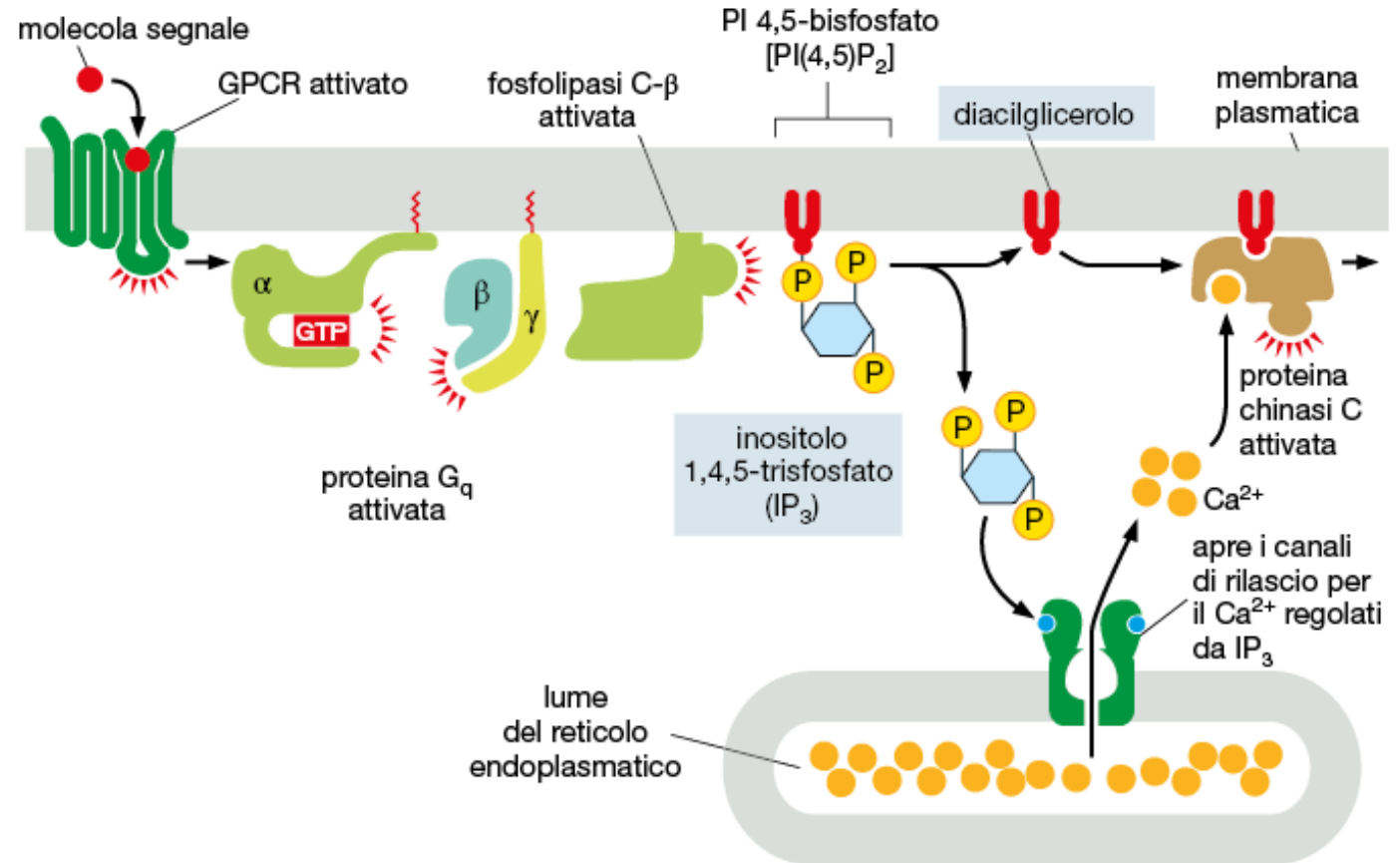


Ramo DAG : resta in membrana e attiva PKC

Ramo DAG : resta in membrana e attiva PKC

- **DAG rimane nel doppio strato** e funge da **secondo messaggero attivando la PKC**.
- **PKC (proteina chinasi C)** richiede Ca^{2+} :
 - Il Ca^{2+} liberato da IP_3 "priming" → **trasloca PKC in membrana**.
 - **Attivazione completa** con Ca^{2+} + **DAG** + **fosfatidilserina** (lipide anionico).
- **PKC fosforila bersagli Ser/Thr** (diversi da PKA, dipendenti dal tipo cellulare).
- **DAG può essere ulteriormente scisso** → **acido arachidonico** → **eicosanoidi** (es. **prostaglandine**).

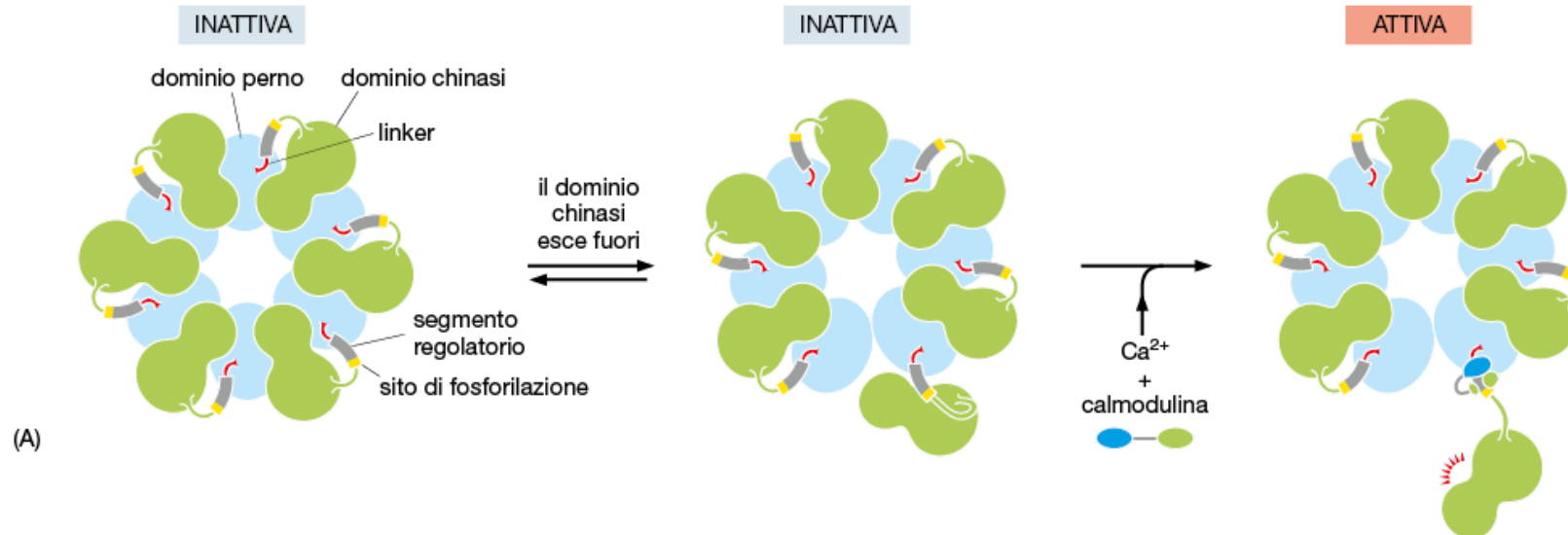
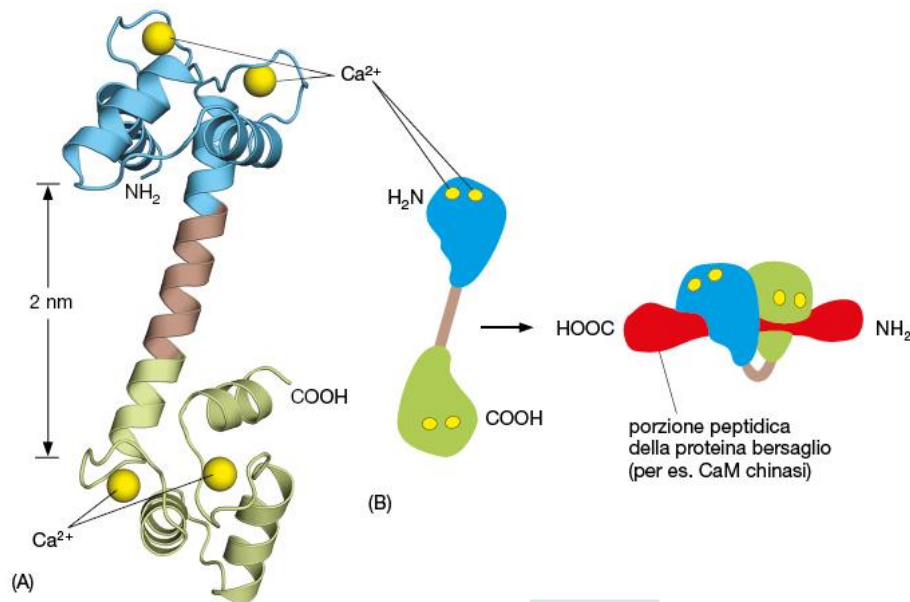
Ruoli in **infiammazione** e **dolore**; **FANS** (ac. acetilsalicilico, **ibuprofene**, **cortisone**) **inibiscono** la **sintesi** degli eicosanoidi.



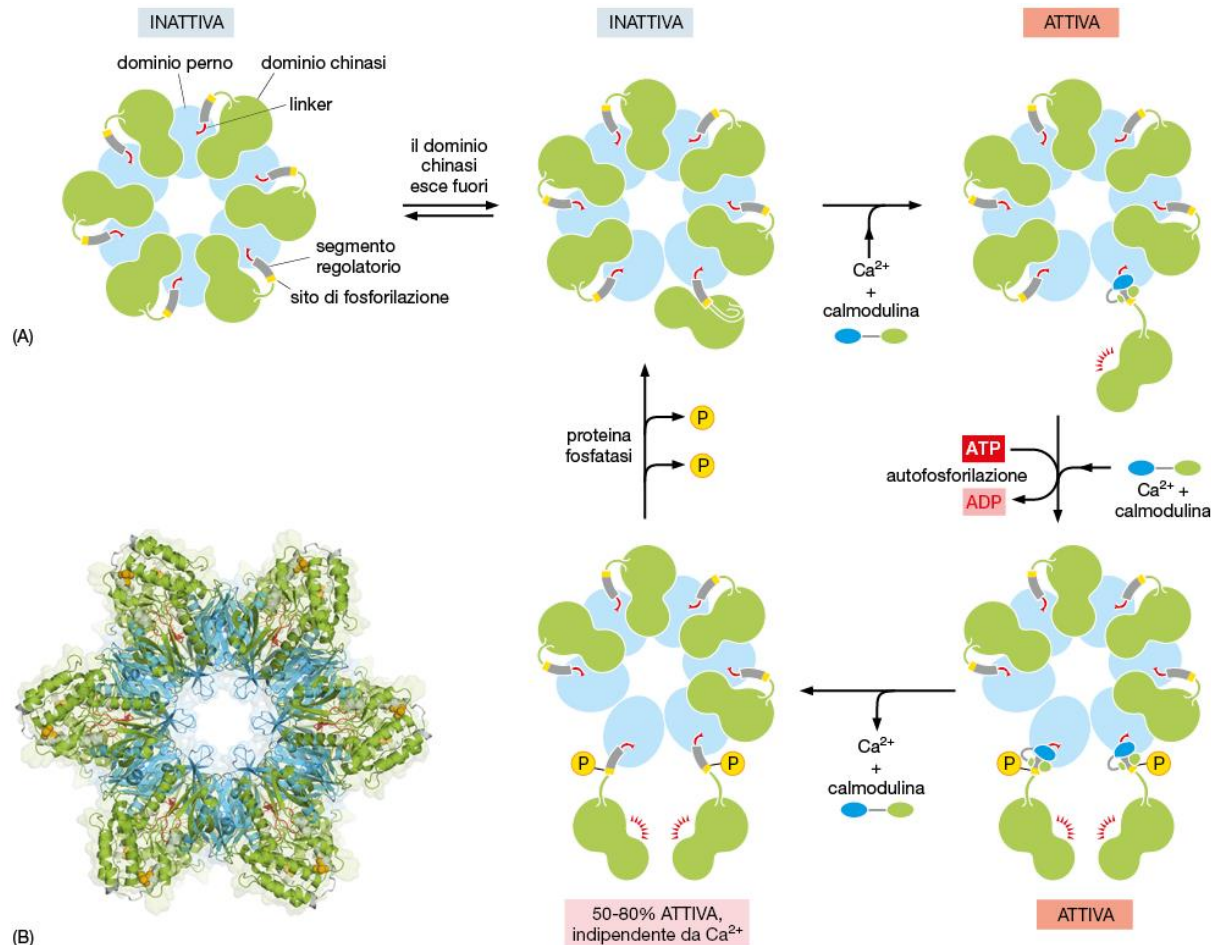
Calmodulina: il recettore intracellulare del Ca^{2+}

Calmodulina: universale, abbondante, altamente conservata

- **Presente in tutte le cellule eucariote**; può raggiungere ~1% della massa proteica cellulare.
- **Recettore intracellulare del Ca^{2+}** : media **multi processi** regolati dal Ca^{2+} .
- **Struttura: catena singola** con **4 siti** ad alta affinità per Ca^{2+} .



Calmodulina Kinase (CaMK)

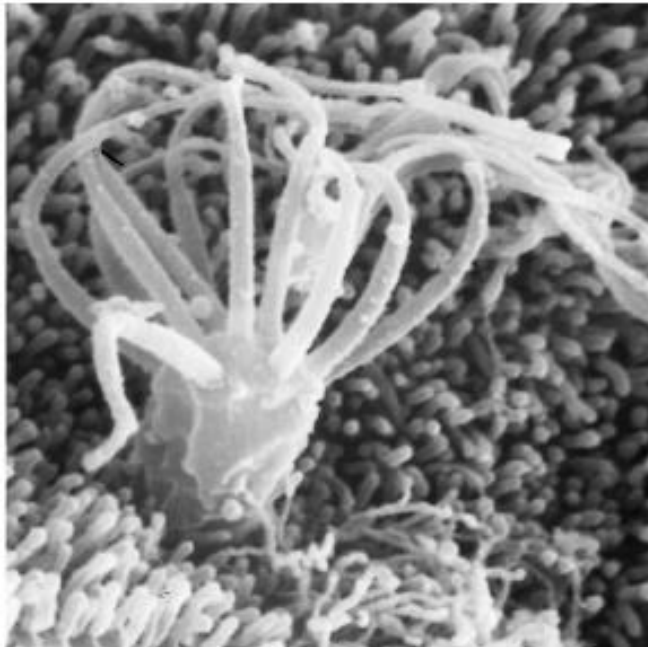
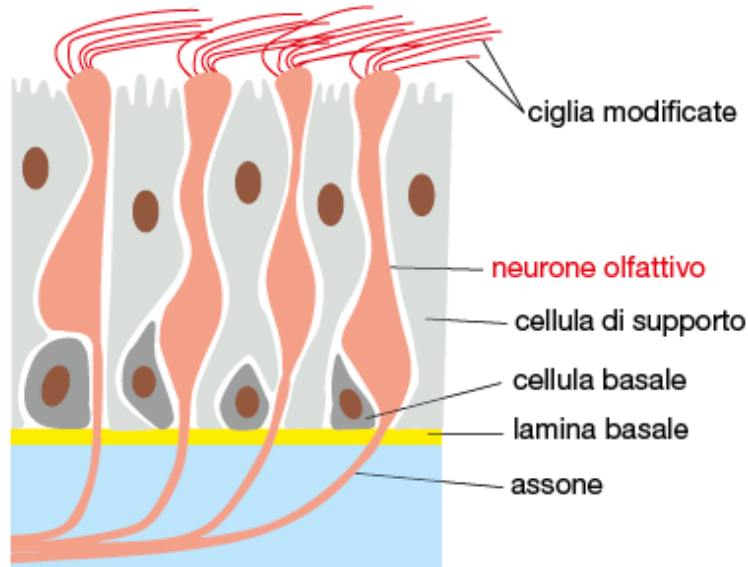


$\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Calmodulina} \rightarrow \text{CaMK}$: dai picchi all'attivazione di pathways

Calmodulina è il **recettore intracellulare** del Ca^{2+} (fino all'**1%** della proteomica cellulare); attivazione **cooperativa** (curva **sigmoide**) quando sale la **concentrazione intracitoplasmatica di calcio**.

1. Il complesso Ca^{2+} /calmodulina attiva enzimi/trasportatori (es. **PMCA**) e chinasi **CaMK**.
2. **CaMK** trasducono il Ca^{2+} in **fosforilazioni**; includono output **trascrizionali** (es. **CREB**).
3. **CaMKII**: **dodecamerica**, **autofosforilabile**, mantiene **attività** anche **dopo** il picco di $\text{Ca}^{2+} \rightarrow$ **memoria molecolare**.
4. **Decodifica della frequenza**: CaMKII traduce la **frequenza** degli impulsi Ca^{2+} in **ampiezza/durata** di segnalazione; cruciale in **sinapsi** per **plasticità**.

Olfatto: GPCR e canali cationici regolati da nucleotidi ciclici



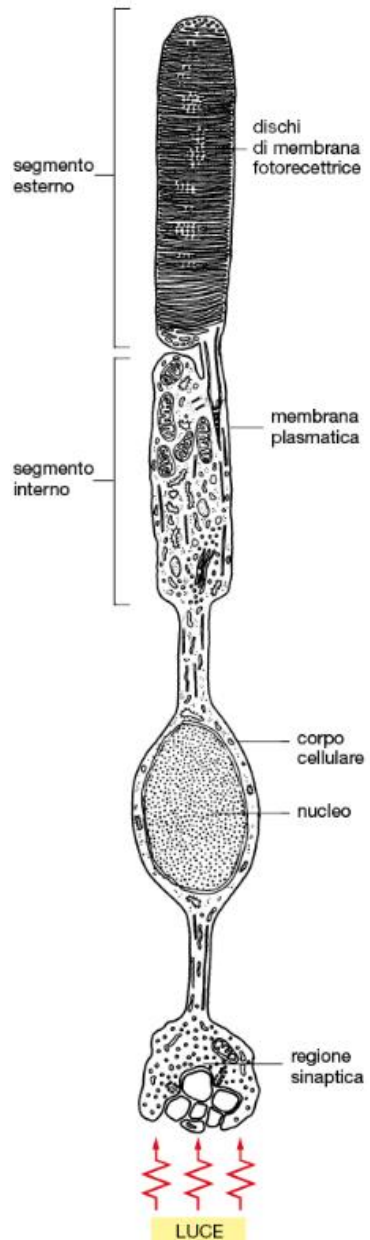
Olfatto: GPCR e canali cationici regolati da nucleotidi ciclici

- Circa **1000** GPCR olfattivi nel **topo**; **~350** nell'**uomo**.
- Ogni **neurone** esprime **un solo recettore** → risponde a una **serie specifica** di odoranti.
- Il **recettore** guida anche lo **sviluppo dell'assone** verso il **bersaglio nel bulbo olfattivo** (mappatura topografica).
- **GPCR** per **feromoni** in alcuni vertebrati; **umani** ritenuti **privi** di recettori **funzionali** per feromoni.

Trasduzione olfattiva

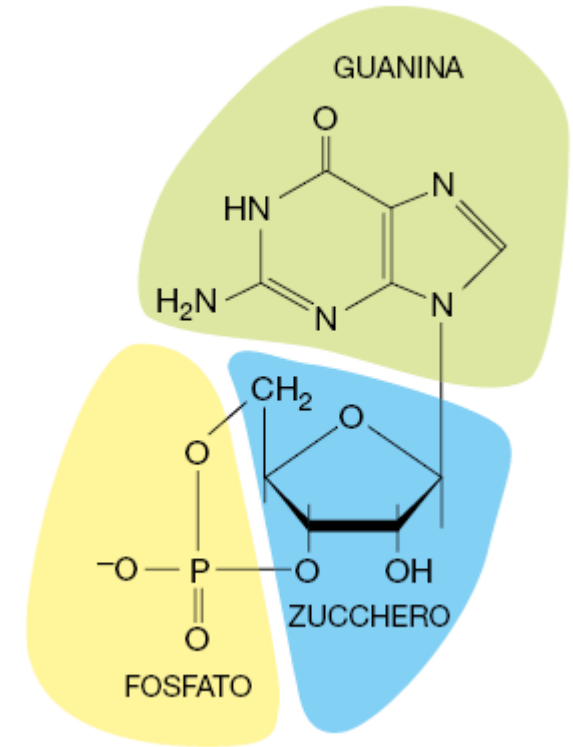
- Odorante → GPCR → proteina G → ↑ cAMP → canali cationici cAMP-dipendenti si aprono.
- **Depolarizzazione** → segnale al Sistema Nervoso Centrale (SNC); **reset** tramite **fosfodiesterasi** che degradano cAMP.

Visione: fototrasduzione nei bastoncelli

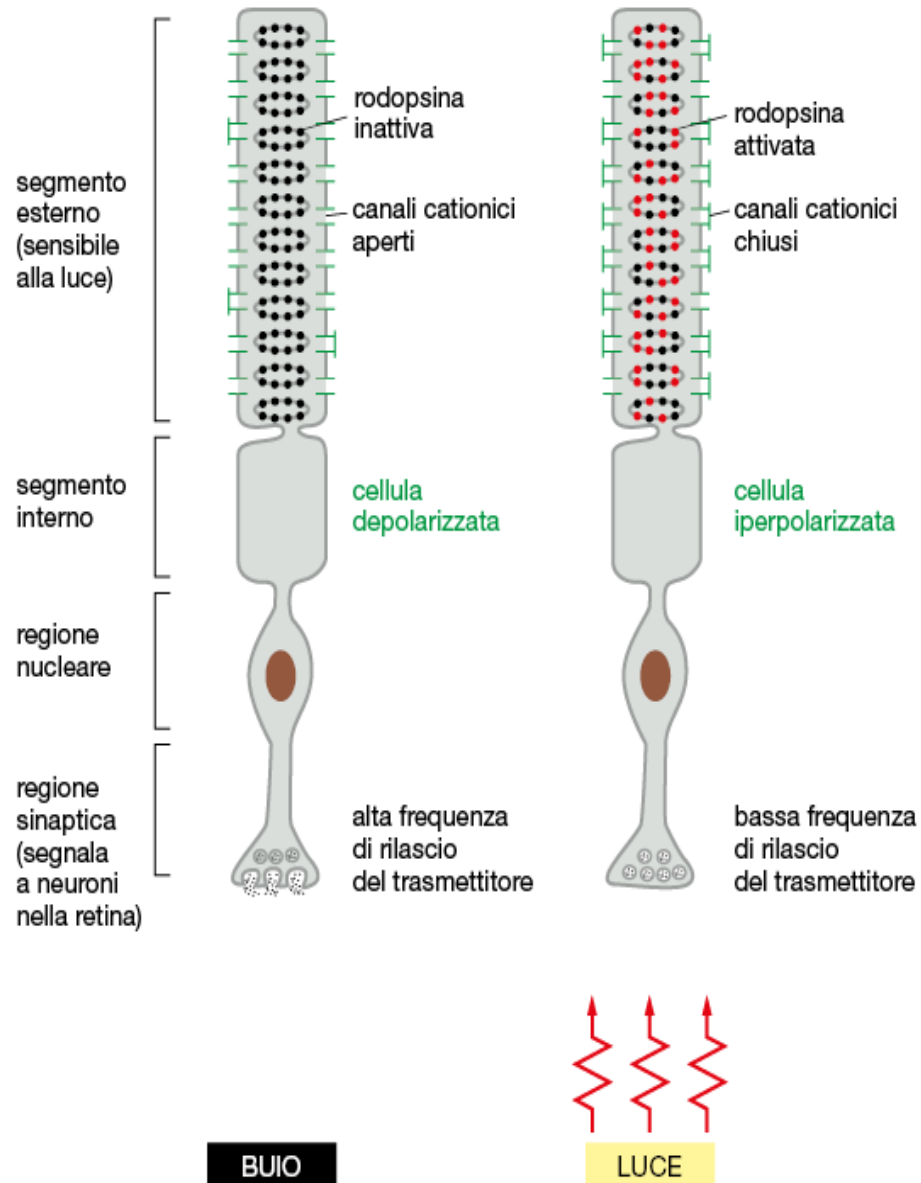


Architettura del fotorecettore

- **Bastoncelli:** visione **scotopica** (debole luce), **monocromatica**.
- **Coni:** visione **fotopica** (piena luce), a colori.
- **Segmento esterno** del bastoncello: **pile di dischi membranosi con rodopsina (GPCR)**;
- Membrana plasmatica esterna: **canali cationici cGMP-dipendenti**.
- Organizzazione del **fotorecettore** con **segmento esterno** ricco di **rodopsina** e canali **cGMP-dipendenti** nella membrana plasmatica.



Meccanismo base di Attivazione dei Bastoncelli



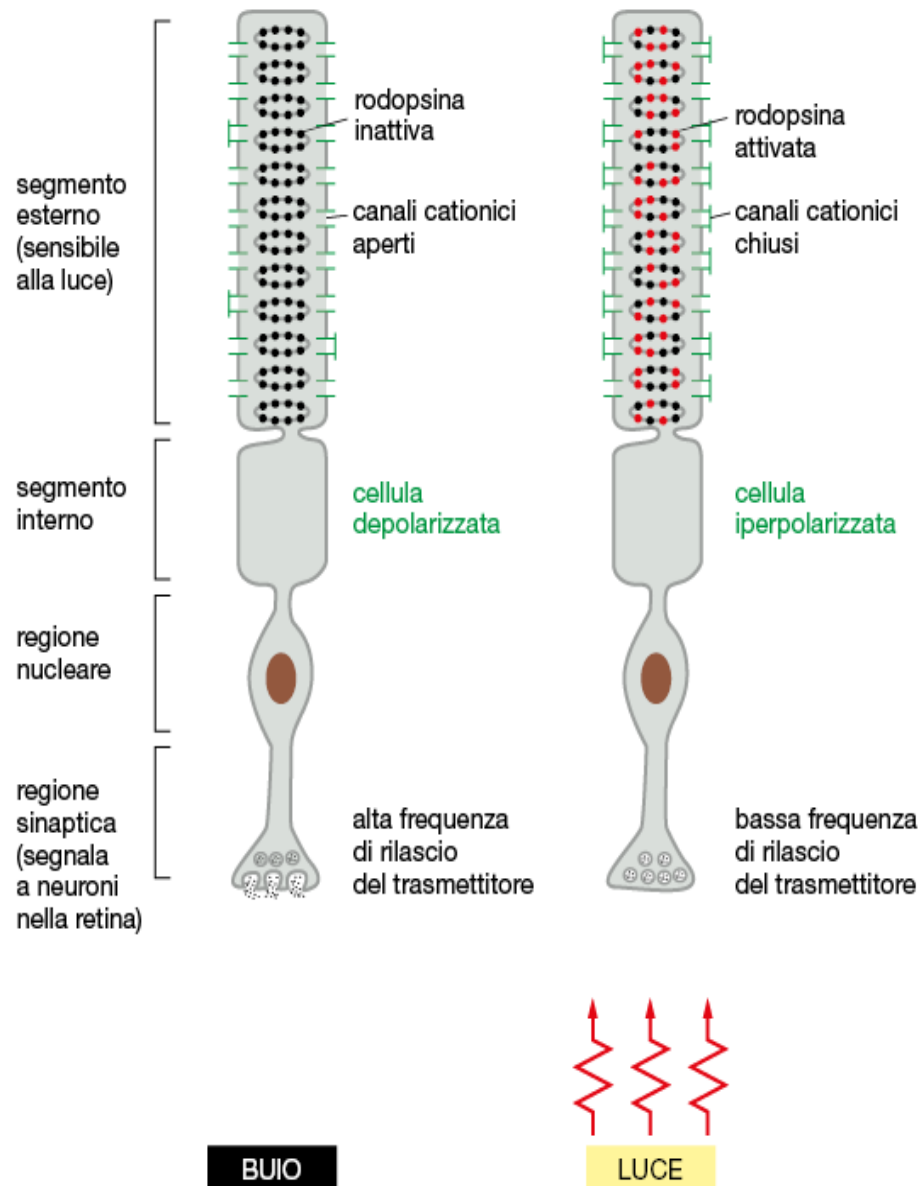
Buio vs luce: canali cationici e cGMP

- **Al buio:** [cGMP] alta → canali cationici aperti → flusso $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ → **potenziale a riposo depolarizzato**.
- **Alla luce:** **rodopsina** (GPCR) assorbe fotone → **11-cis retinale** → **all-trans** → attiva **trasducina** ($\text{G}^t\alpha$) → attiva **cGMP-PDE** → ↓ cGMP → **chiusura canali** → **iperpolarizzazione** → ↓ rilascio neurotrasmettitore.

Via cGMP: guanitato ciclasi produce cGMP; PDE lo degrada.

La **rodopsina attivata** ↑ PDE → ↓ cGMP → **chiusura canali** → **iperpolarizzazione**.

Come il sistema si spegne e si adatta



- **Rodopsina chinasi (RK/GRK)** fosforila la rodopsina attivata → ↓ capacità di attivare G^t .
- **Arrestina** si lega alla rodopsina fosforilata → blocco ulteriore dell'attività.
- **RGS** si lega a $G^t\alpha$ -GTP → accelera idrolisi GTP → spegnimento.
- **Chiusura canali** ↓ ingresso Ca^{2+} → $[Ca^{2+}]$ ↓ attiva guanilato ciclasi (via proteina sensibile al Ca^{2+} attiva quando Ca^{2+} è basso, a differenza della calmodulina) → ripristina cGMP.
- **Adattamento**: riduce la risposta con luce continua, preservando la sensibilità ai cambiamenti.

RK e Arrestina inattivano rodopsina; **RGS** inattiva G^t ; Ca^{2+} ↓ → attiva la ciclasi → recupero del cGMP (reset e adattamento).

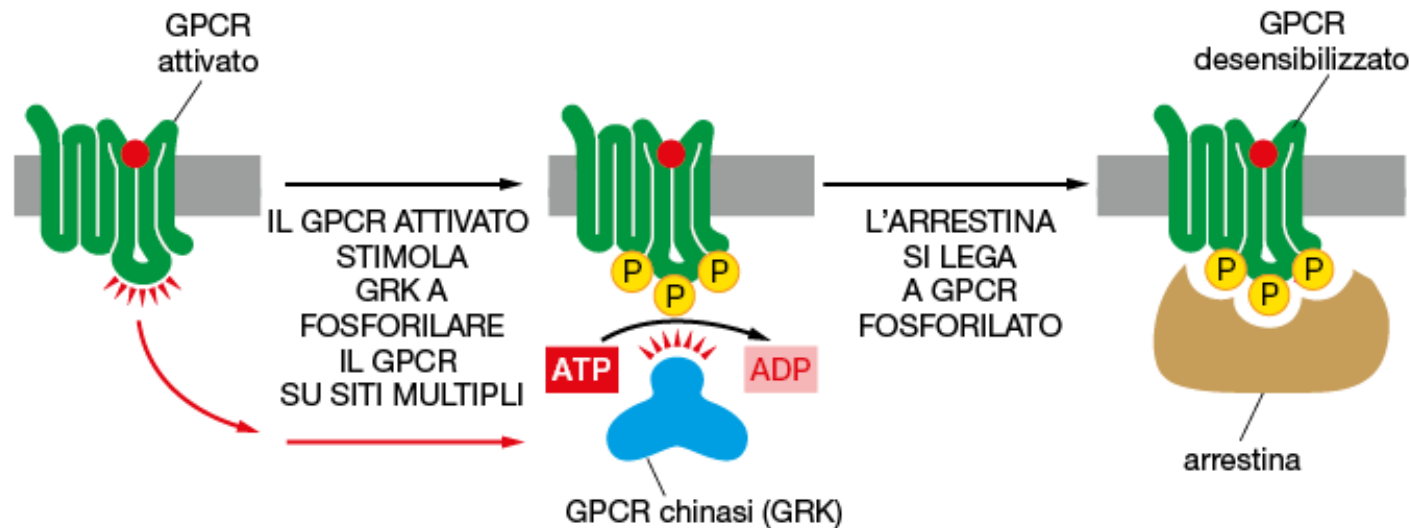
GRK ed arrestina: gli interruttori molecolari

Desensibilizzazione dei GPCR

1. **Inattivazione:** il recettore **non** interagisce più con la **proteina G**.
2. **Sequestro:** **internalizzazione** temporanea (endocitosi).
3. **Sottoregolazione:** invio a **lisosomi** e **degradazione**.

GRK ed arrestina: gli interruttori molecolari

- **PKA/PKC** o **GRK** fosforilano **Ser/Thr** sul **GPCR attivato** (allostericamente).
- **Arrestina** si lega al **GPCR fosforilato**:
 - **impedisce** accoppiamento alla **proteina G** (desensibilizzazione);
 - funge da **adattatore** per **clatrina/AP2** → **endocitosi**.



- **Destino:** **riciclo** (defosforilazione) o **degradazione**.
- **Segnalazione dall'endosoma:** l'**arrestina** può **reindirizzare** la segnalazione su **nuove vie**.
- **GRK** fosforila il **GPCR attivo**; **arrestina** media **desensibilizzazione** ed **endocitosi** (con possibili **segnali endosomiali**).

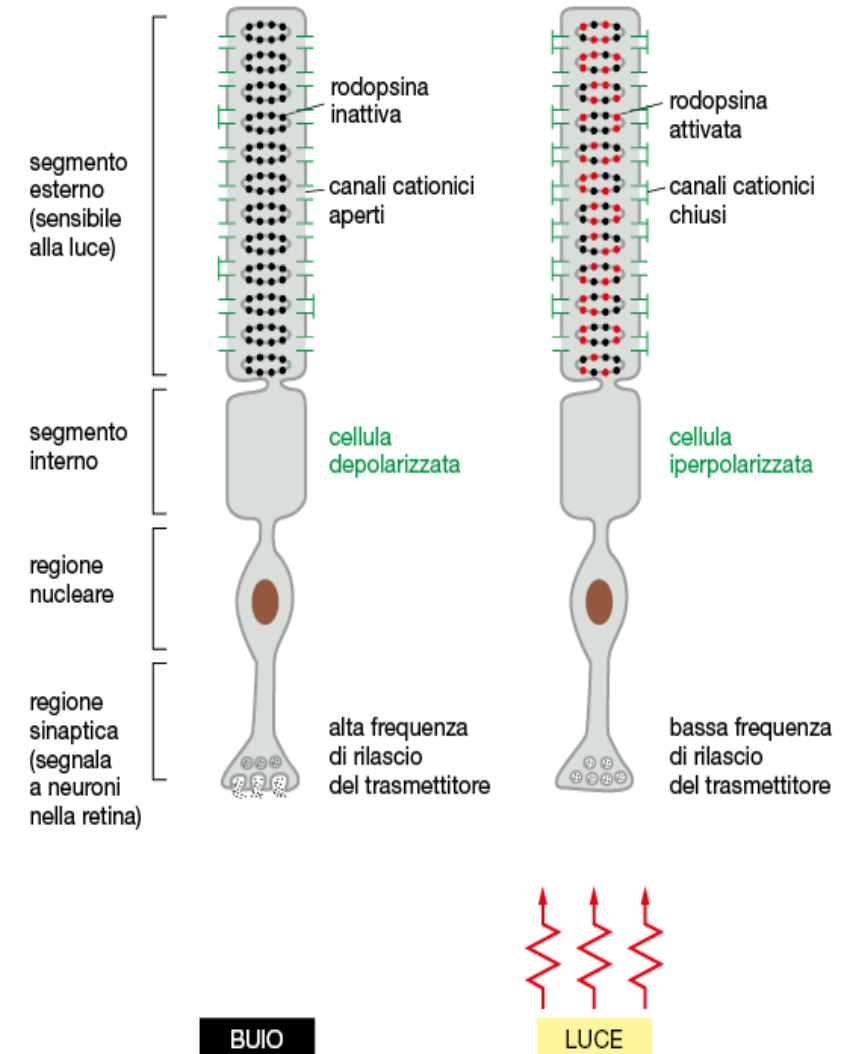
Adattamento alla luce e al buio

Quando passi dal buio alla luce (adattamento alla luce):

- I **bastoncelli** sono inizialmente molto sensibili perché in condizioni di buio la **rodopsina** è in gran parte non fotodegradata.
- L'esposizione alla **luce** provoca una **forte attivazione** → si verifica **desensibilizzazione/adattamento**, dovuta a:
 - **Fosforilazione della rodopsina**
 - **Legame di arrestina**
 - **Riduzione del GMPc**
 - **Chiusura dei canali al $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$**
- **Questo processo richiede tempo** (secondi-1 minuto circa) e spiega la latenza nel “soportare” la luce dopo il buio.

Quando passi dalla luce al buio (adattamento al buio):

- I **bastoncelli** sono inizialmente “**desensibilizzati**” perché la loro rodopsina è stata in gran parte fotoisomerizzata.
- **Devono rigenerare rodopsina e ristabilire alte concentrazioni di GMPc** per riaprire i canali → **questo richiede più tempo** (10–30 minuti).
- Il **sistema di adattamento** controlla **quanto sensibilmente i bastoncelli rispondono** ai pochi fotoni presenti al buio.



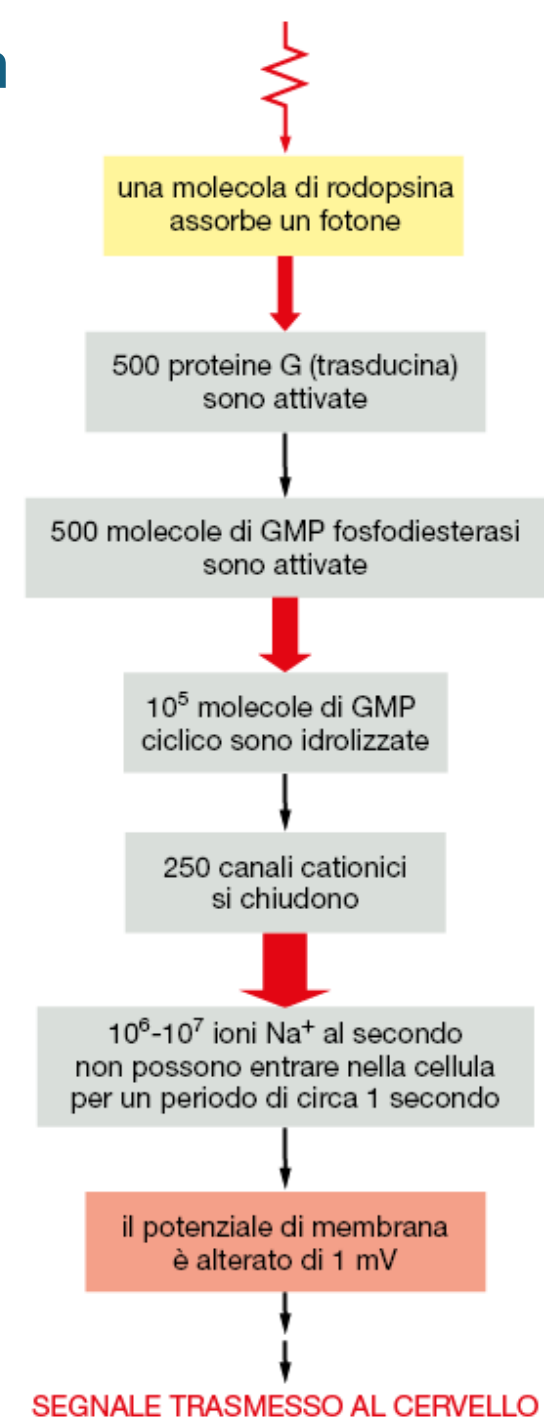
Amplificazione della cascata

Amplificazione esemplare: fototrasduzione

Sensibilità al singolo fotone

- **1 rodopsina** attivata $\rightarrow$ **~ 500 trasducine/s**.
- Ogni $G_t\alpha \rightarrow 1$ PDE $\rightarrow >10^5$ cGMP idrolizzati.
- $\downarrow$ cGMP $\rightarrow$ chiusura di centinaia di canali $\rightarrow$ risposta riproducibile a **1 fotone**.

Cascata GPCR – $G_t\alpha$ – PDE con **amplificazione** a ogni stadio $\rightarrow$ chiusura **coordinata** dei canali.

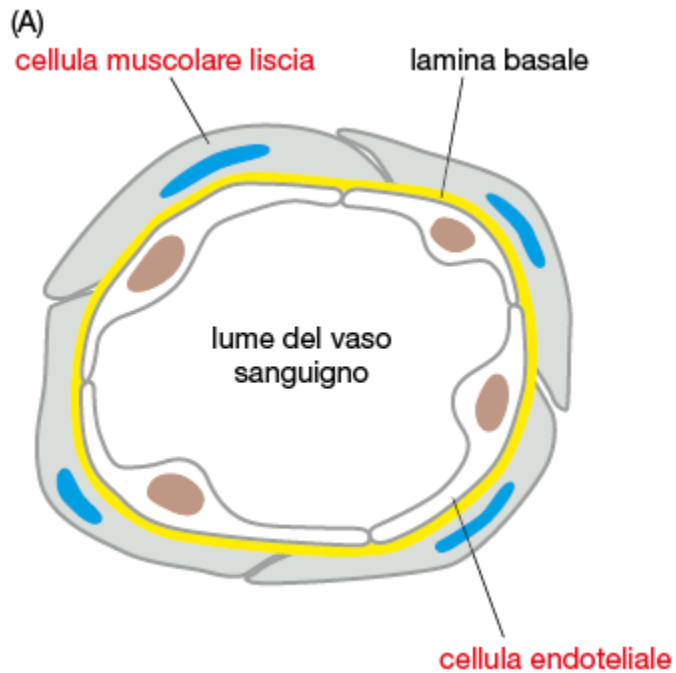


Tipi di Subunità Gα

Tabella 15.3 Quattro famiglie principali di proteine G trimeriche*

Famiglia	Alcuni membri della famiglia	Subunità che mediano l'azione	Alcune funzioni
I	G _s	α	Attiva l'adenilato ciclasi; attiva i canali per il Ca ²⁺
	G _{olf}	α	Attiva l'adenilato ciclasi nei neuroni sensoriali olfattivi
II	G _i	α	Inibisce l'adenilato ciclasi
		βγ	Attiva i canali per il K ⁺
	G _o	βγ	Attiva i canali per il K ⁺ ; inattiva i canali per il Ca ²⁺
		α e βγ	Attiva la fosfolipasi C-β
	G _t (trasducina)	α	Attiva la GMP ciclico fosfodiesterasi nei bastoncelli dei vertebrati
III	G _q	α	Attiva la fosfolipasi C-β
IV	G _{12/13}	α	Attiva le GTPasi monomeriche della famiglia Rho (attraverso Rho-GEF) per regolare il citoscheletro di actina

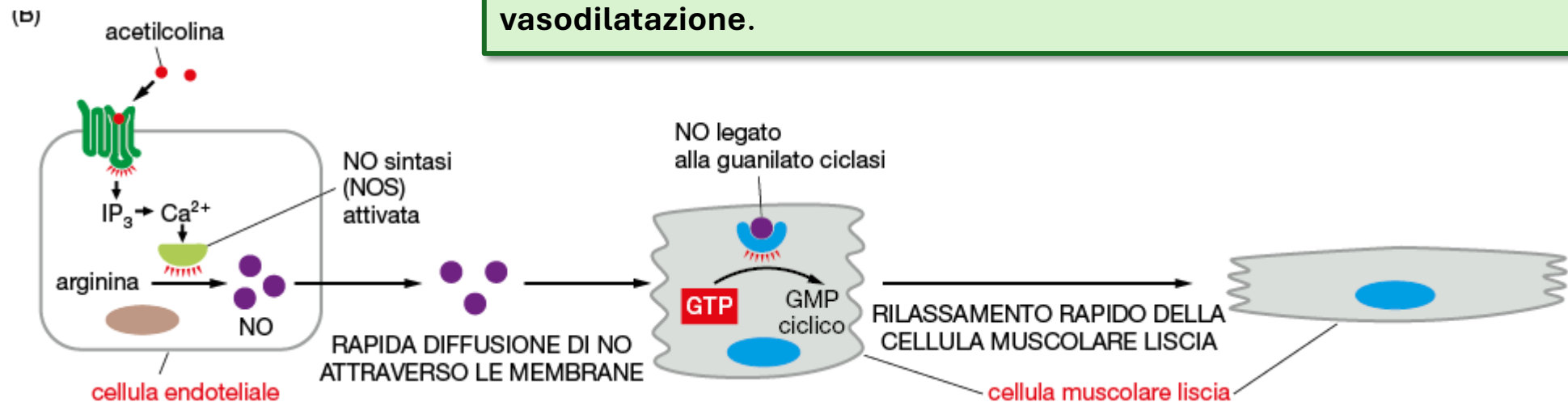
Ossido nitrico (NO): un gas come segnale



NO: segnale lipofilo, locale e fugace

- **Acetilcolina (ACh)** su **endotelio** (GPCR) → IP_3 → $\uparrow Ca^{2+}$ → attiva **eNOS** → produzione di **NO** (da **arginina**).
- **NO** diffonde nelle **cellule muscolari lisce** adiacenti → **lega guanilato ciclastasi (Fe-eme)** → **aumenta il cGMP** → **rilassamento** (vasodilatazione).
- **Nitroglicerina**: profarmaco **NO** per **angina**.
- **NOS**: **eNOS** (endotelio) e **nNOS** (neuroni/muscolo) Ca^{2+} -dipendenti; **iNOS** (macrofagi) **costitutivamente attiva** quando indotta.

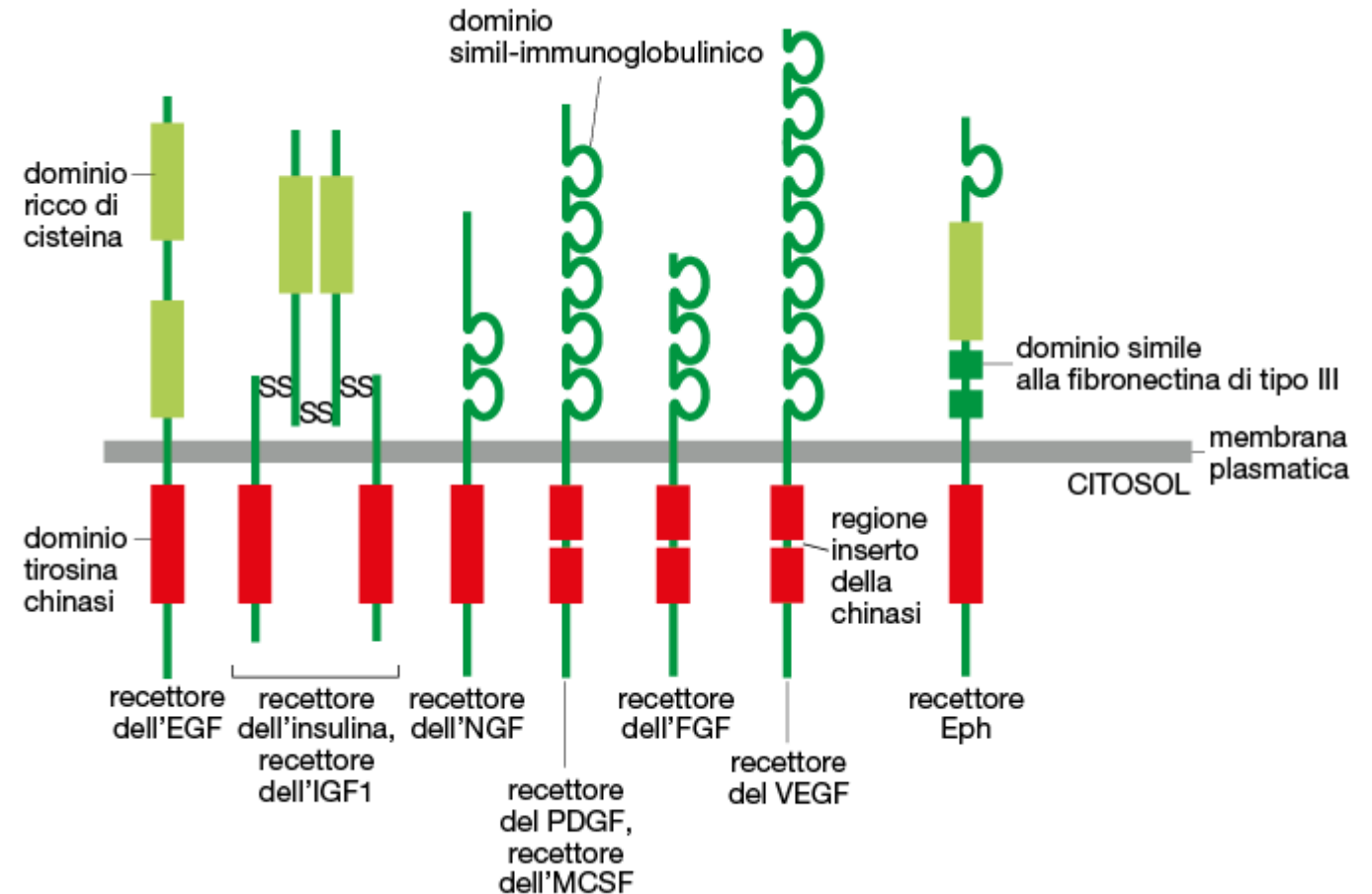
ACh → **eNOS** → **NO** (endotelio) → **cGMP** ↑ nelle **cellule muscolari lisce** → **vasodilatazione**.



La famiglia dei Recettori Tirosin Kinase (RTK)

RTK: principi generali

- Circa **60 RTK** umani, raggruppati in **~20 sottofamiglie** strutturali.
- **Ligandi: proteine secrete o ancorate alla membrana** che regolano sviluppo e funzioni dell'adulto.
- Sottofamiglie RTK di mammifero: **domini extracellulari leganti il ligando, un segmento TM, domini tirosina-chinasici** citosolici.

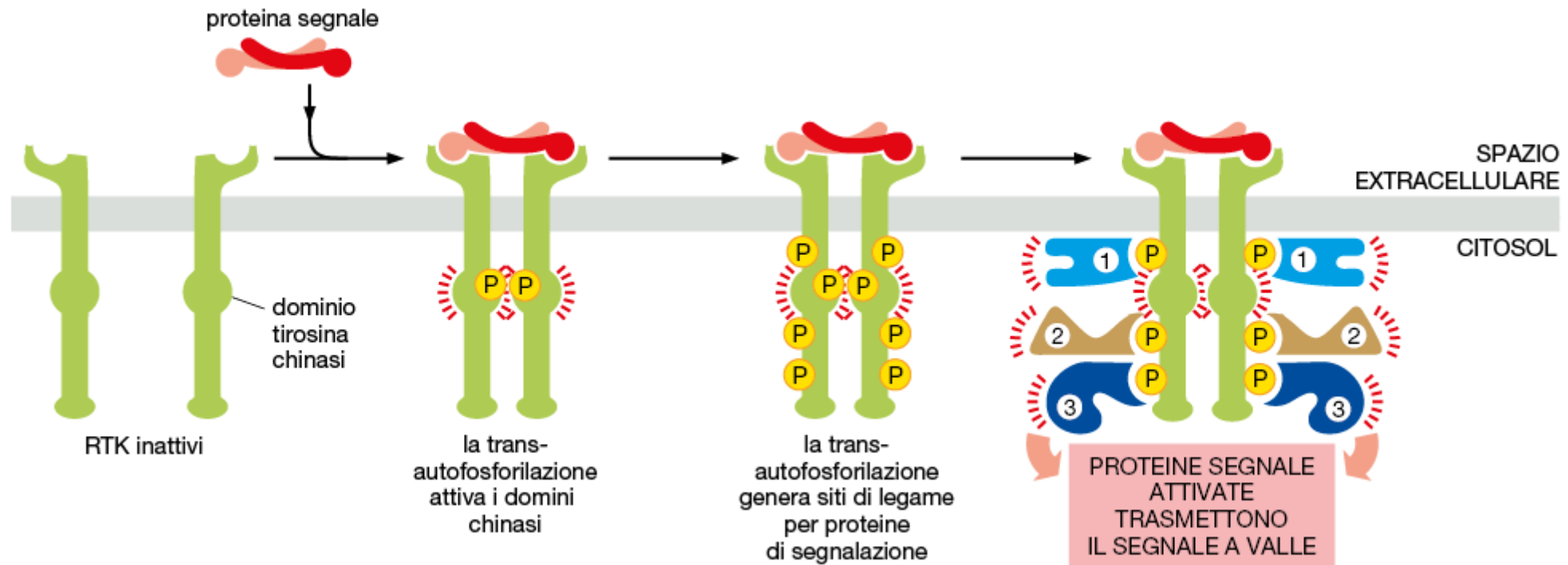


Attivazione: il “trucco” è l'accoppiamento

Perché la dimerizzazione è essenziale

Il **legame del ligando** al dominio extracellulare **attiva** la **tirosina chinasi** citosolica.

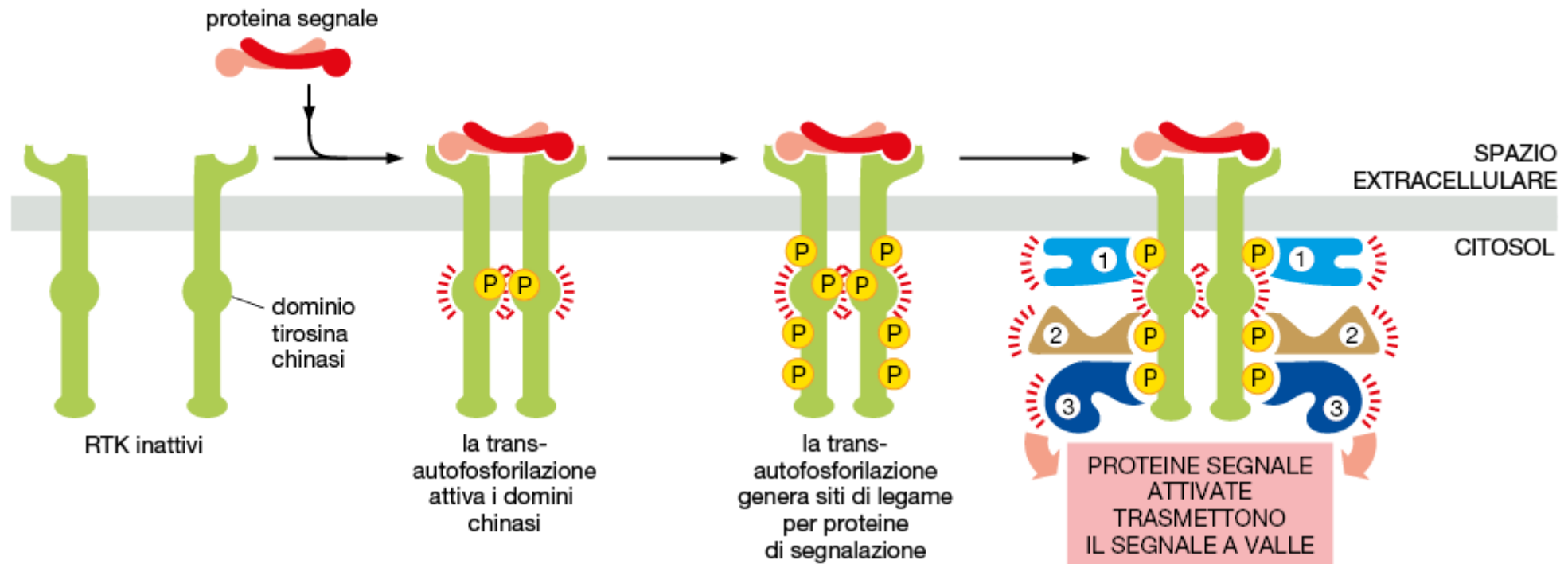
- Meccanismo chiave: il **ligando promuove l'interazione di 2 recettori** → i **domini chinasici** finiscono a **contatto**.
- Conseguenze: **fosforilazione su tirosine** del recettore (auto- o trans-) → **siti di attracco** per proteine di segnalazione.



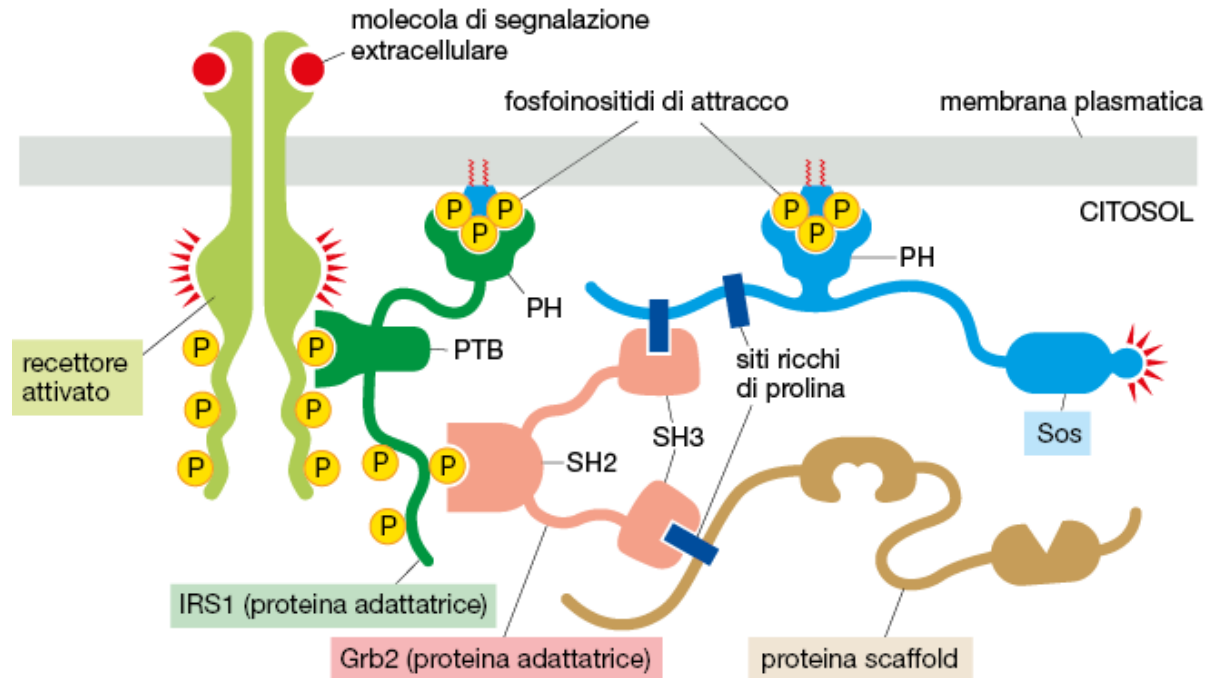
Tre paradigmi di attivazione: PDGF-R

Dimerizzazione “classica” → trans-autofosforilazione

- Il **ligando dimerico** (es. **PDGF**) avvicina due RTK.
- I **domini chinasi** sono **orientati** per **fosforilarsi a vicenda** su tirosine chiave nei **siti attivi** → piena **attivazione**.



Tre paradigmi di attivazione: Recettore Insulina



Recettore dell'insulina

Dimeri già “pronti”, ma da riorientare

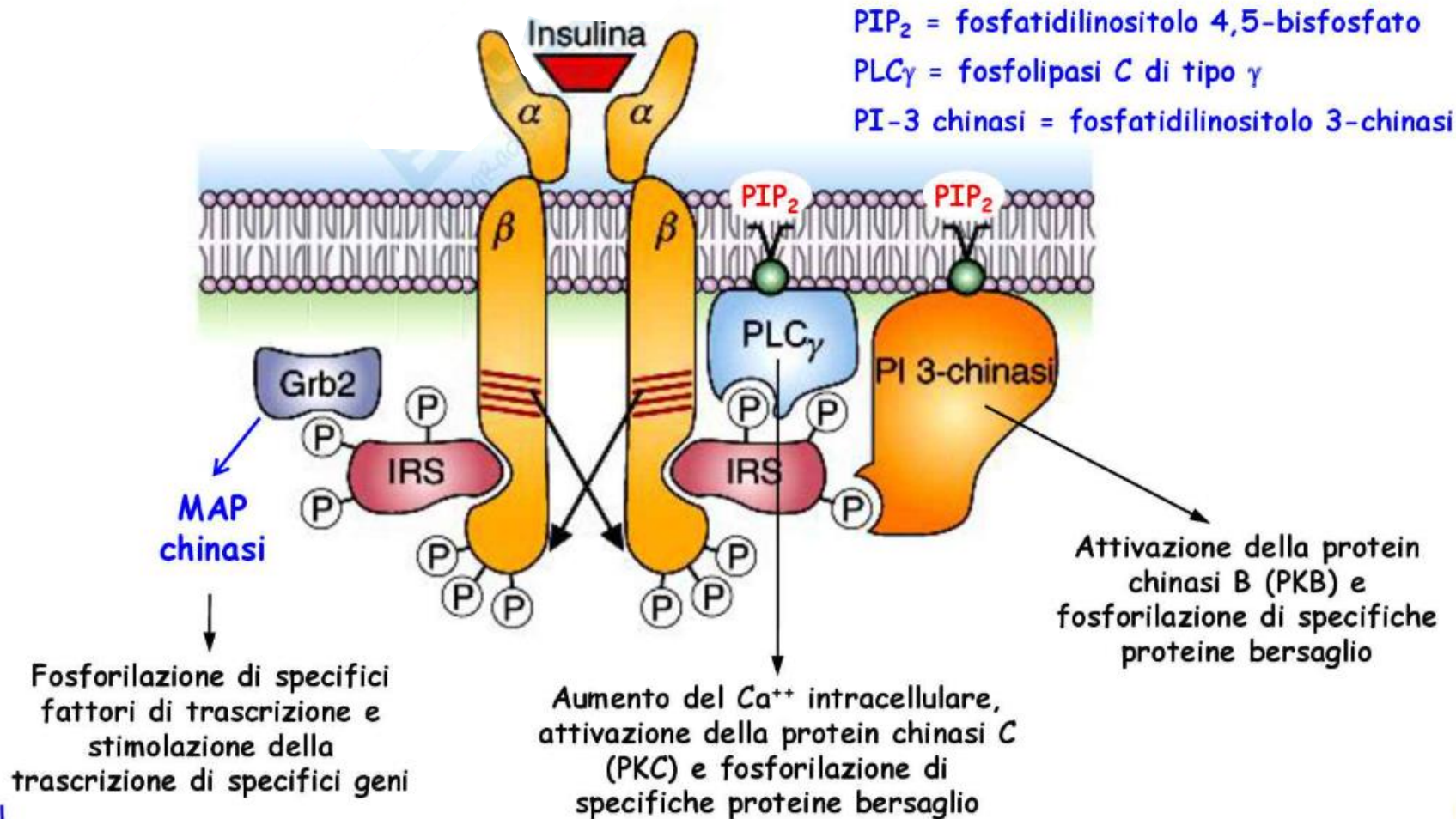
- Alcuni RTK (es. **insulina**) sono **dimeri anche senza ligando**.
- Il **legame del ligando riorganizza i domini extracellulari** → **avvicina/riallinea i domini chinasi** → **attivazione**.

Ampliare la piattaforma: Proteine “adattatrici/docking” moltiplicano i siti

- Alcuni RTK usano **proteine adattatrici specializzate** come **IRS1** (Insulin Receptor Substrate-1).
- Passi: **IRS1** si **lega** a pTyr del **recettore attivato** → **viene fosforilata su molteplici siti** → crea un **ventaglio di nuovi siti di docking**.
- Beneficio: **espansione della piattaforma** di segnalazione **oltre la capienza del recettore**.

Tre paradigmi di attivazione: Recettore Insulina

Vie di segnalazione dell'insulina recettore ad attività tirosin-chinasica intrinseca

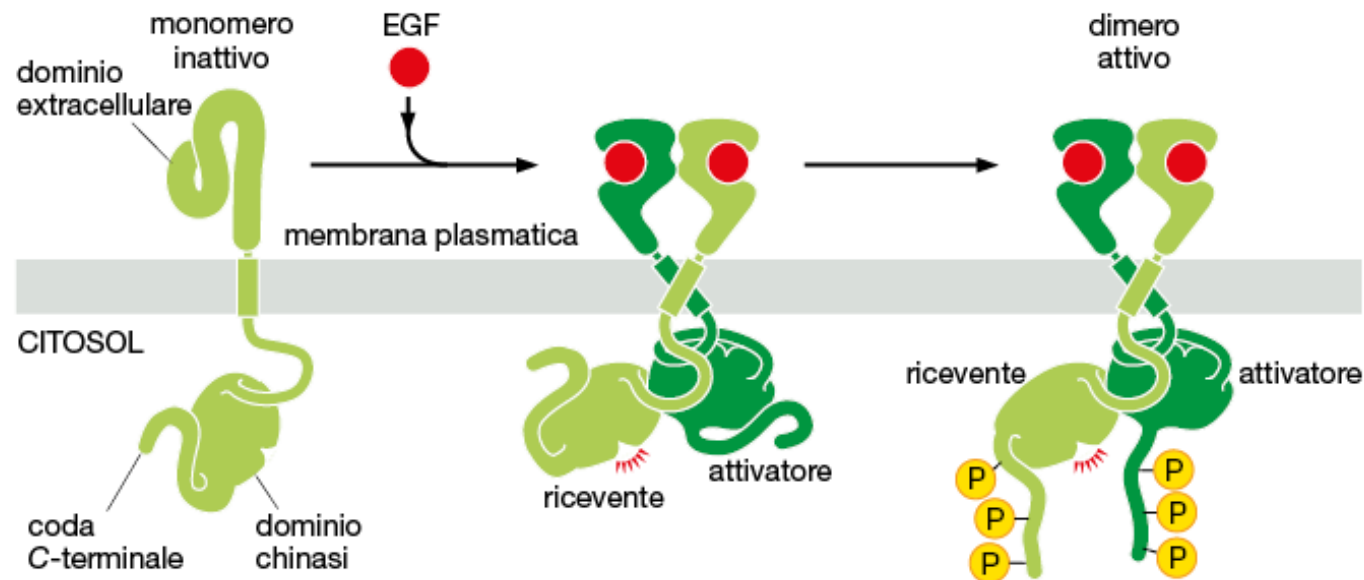


Tre paradigmi di attivazione: EGFR

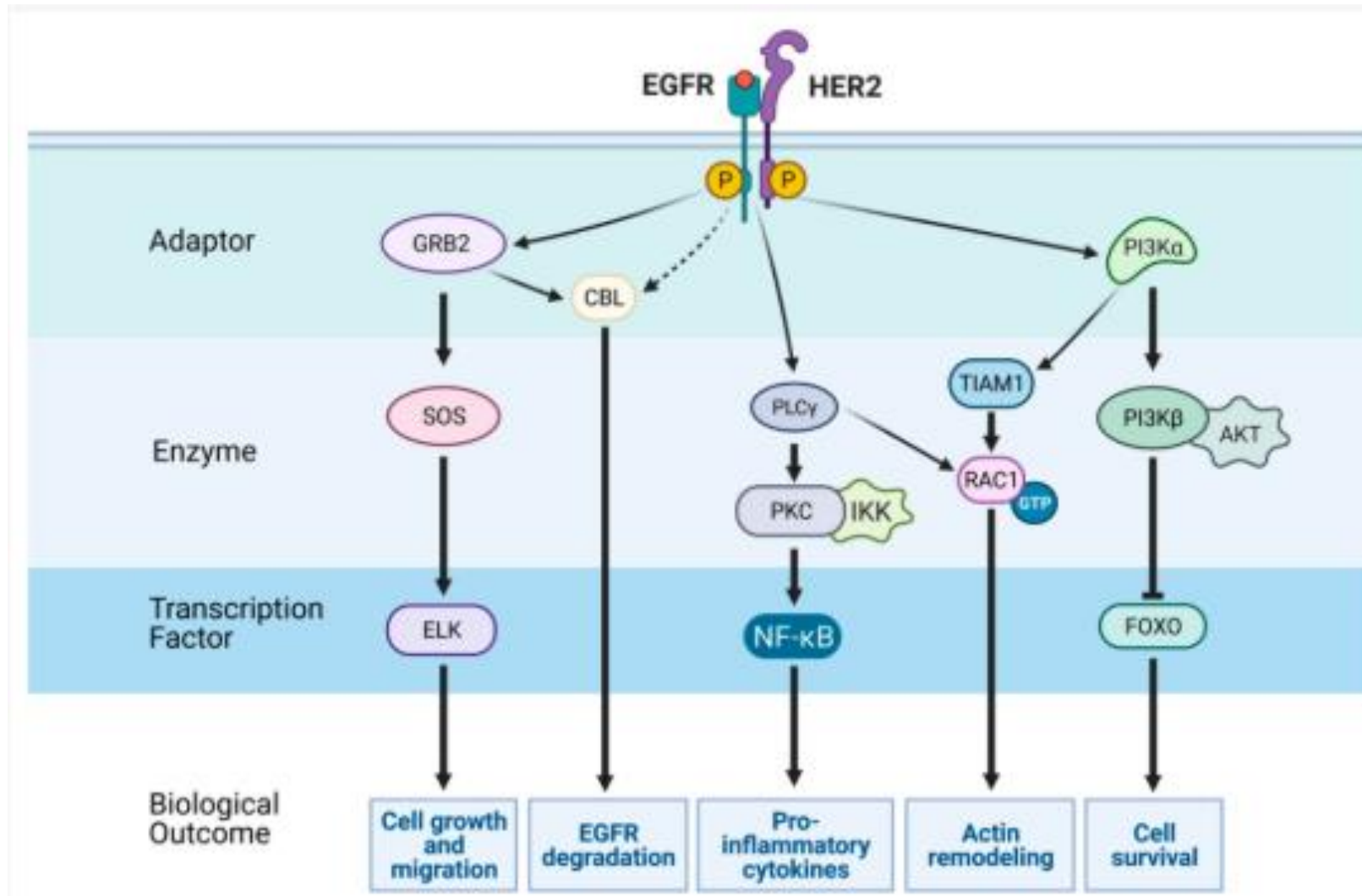
Dimero asimmetrico: un'attiva, l'altro riceve

- **EGF induce dimerizzazione**; non è la fosforilazione nel sito attivo a scattare per prima.
- **I due domini chinasi formano un dimero asimmetrico**: uno funge da attivatore, l'altro da ricevente (si attiva per cambio conformazionale).
- Il **ricevente attivo** poi **fosforila** le **code C-terminali di entrambi i recettori** → **siti di docking** multipli.
- Alcuni membri della famiglia **EGFR** hanno **pseudo-chinasi** inattive: **possono comunque attivare** il partner **ricevente** via **dimerizzazione**.

EGF → dimero asimmetrico: il dominio **attivatore** abilita il **ricevente**; il **ricevente p-Tyr** le code di **entrambi** i protomeri generando **siti di legame**.



Tre paradigmi di attivazione: EGFR



Dalle pTyr ai complessi di segnalazione

Come le code fosforilate reclutano effettori

- Le **tirosine fosforilate** in **regioni non ordinate** del citosol del recettore diventano **siti di attracco ad alta affinità**.
- Le **proteine di segnalazione** riconoscono **pTyr** + contesto di sequenza tramite **domini specifici** (es. domini di legame alla fosfotirosina).
 - Esiti del legame:
 - la **proteina può essere p-Tyr a sua volta** → **attivazione**;
 - **oppure il solo reclutamento** (prossimità/cambio conformazionale) **basta a attivarla**.
- Risultato: **assemblaggio** di un **complesso multiproteico** che **propaga** il segnale su **vie parallele** → **risposte diverse** a seconda dell'**RTK**.

Tabella 15.4 Alcune proteine di segnalazione che agiscono tramite RTK

Famiglia della proteina di segnalazione	Famiglia dei recettori	Alcune risposte rappresentative
Fattore di crescita epidermico (EGF)	Recettori dell'EGF	Stimola la sopravvivenza cellulare, la crescita, la proliferazione o il differenziamento di vari tipi cellulari; agisce come segnale induttivo nello sviluppo
Insulina	Recettore dell'insulina	Stimola l'utilizzo dei carboidrati e la sintesi proteica
Fattore di crescita simile all'insulina (IGF1)	Recettore IGF1	Stimola la crescita e la sopravvivenza in molti tipi cellulari
Fattore di crescita dei nervi (NGF)	Recettori Trk	Stimola la sopravvivenza e la crescita di alcuni neuroni
Fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF)	Recettori del PDGF	Stimola sopravvivenza, crescita, proliferazione e migrazione di vari tipi cellulari
Fattore di crescita che stimola le colonie macrofagiche (MCSF)	Recettore dell'MCSF	Stimola la proliferazione e il differenziamento dei monociti/macrofagi
Fattore di crescita dei fibroblasti (FGF)	Recettori dell'FGF	Stimola la proliferazione di vari tipi cellulari; inibisce il differenziamento di alcune cellule precursore; agisce come un segnale induttivo nello sviluppo
Fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF)	Recettori del VEGF	Stimola l'angiogenesi
Efrina	Recettori Eph	Stimola l'angiogenesi; guida la migrazione di cellule e assoni

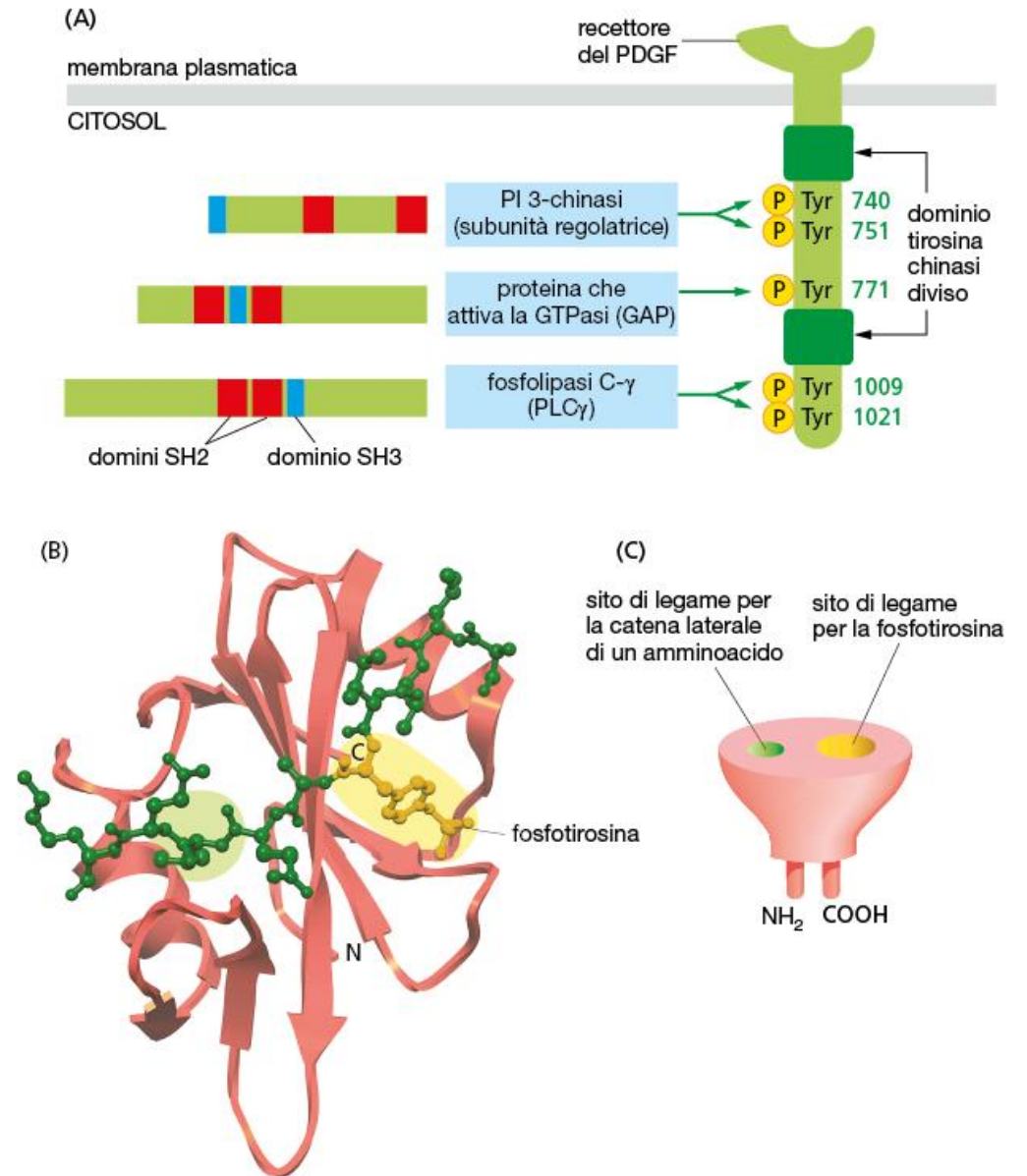
Docking su pTyr

Docking su pTyr ed adattatori

- **SH2** (più comune) e **PTB** riconoscono **pTyr + sequenza contesto**.
- Consentono a molte proteine di **attracciare** a **RTK attivati** o a **proteine di docking** (es. **IRS1**).
- Molte di queste proteine hanno anche **SH3** → legano **motivi Pro-ricchi** e costruiscono **catene di interazioni**.

Enzimi reclutati su pTyr

- **PLC γ** → via **PI(4,5)P₂** → **IP₃ + DAG** → $\uparrow$ **Ca²⁺ + PKC** (come PLC β via GPCR).
- **Src** (tirosina-chinasi citosolica) → fosforila altre proteine su **Tyr**.
- **PI3-chinasi** → **fosforila lipidi** → lipidi fosforilati = **siti di attracco** per altre proteine di segnalazione alla membrana.



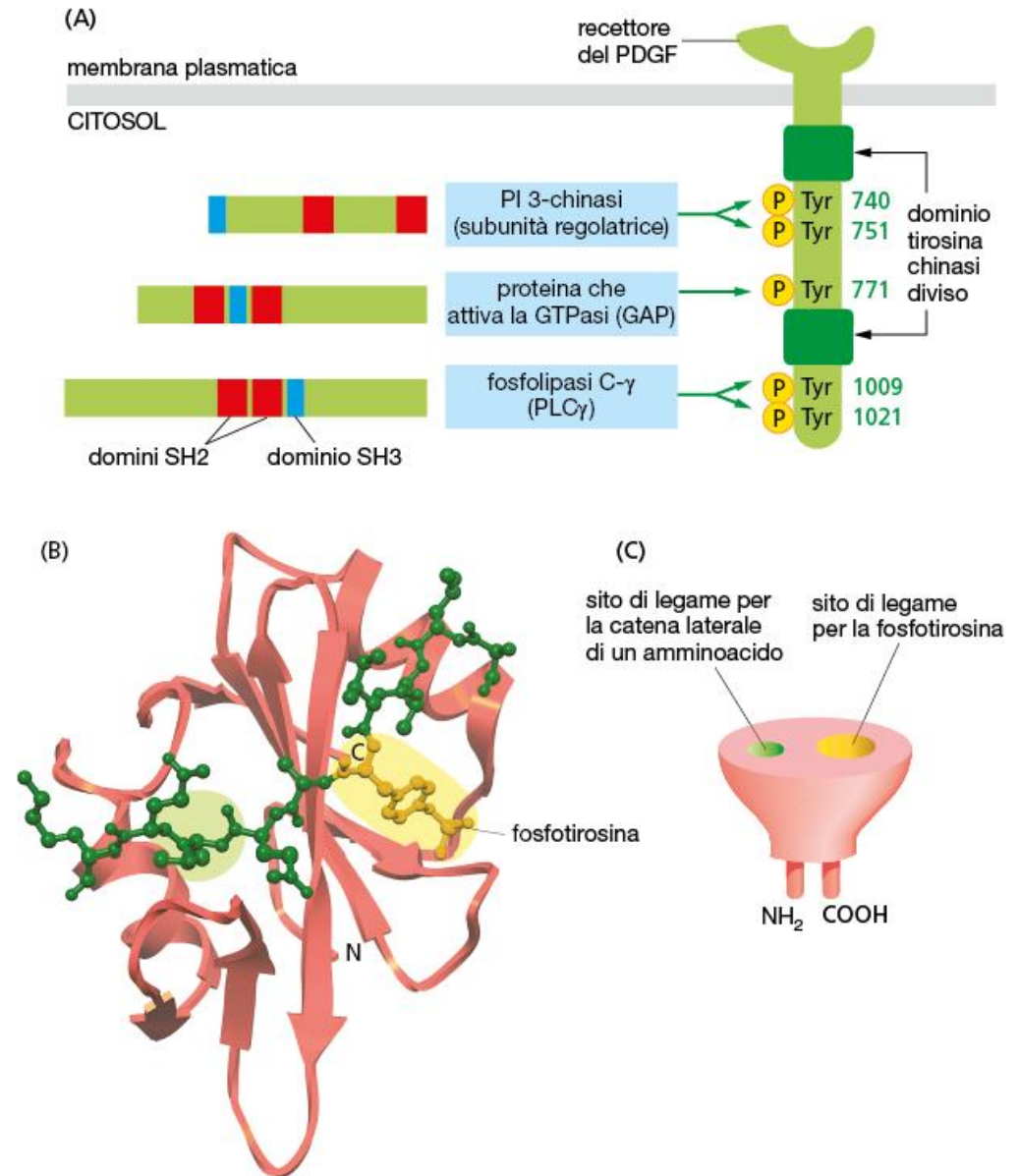
Docking su pTyr

Down-regulation e segnalazione dagli endosomi

- **c-Cbl: feedback negativo** c-Cbl (via SH2) **ubiquitina** RTK attivati → **endocitosi** in vescicole clatrina-dipendenti → spesso **degradazione lisosomiale**.
- Mutazioni che inattivano questo freno → **segnale RTK prolungato** → **tumorigenesi**.

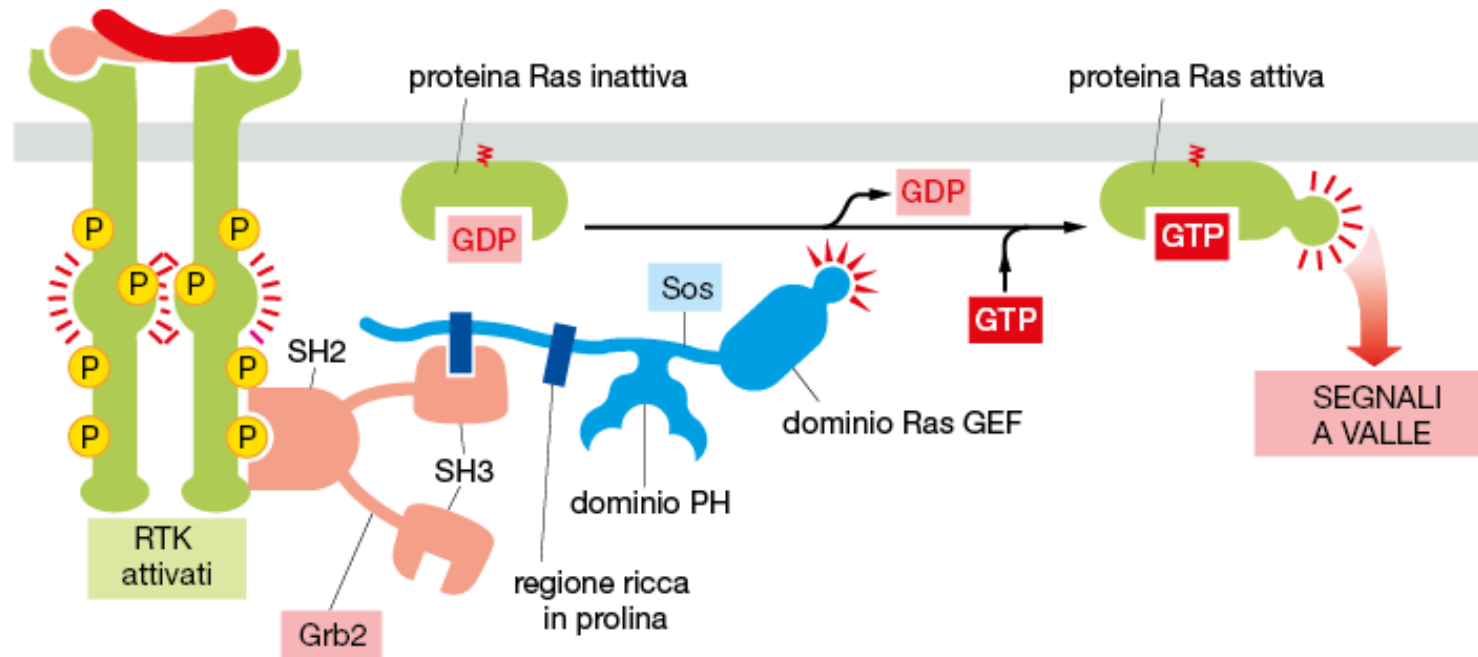
Quando l'endocitosi non spegne (NGF/TrkA)

- **RTK attivati** possono **continuare a segnalare** dagli endosomi.
- Caso classico: **NGF-TrkA** nelle terminazioni assonali → **vescicole di segnalazione** trasportate **retrogradamente** fino al **corpo cellulare** → **segnale di sopravvivenza** a lunga distanza.



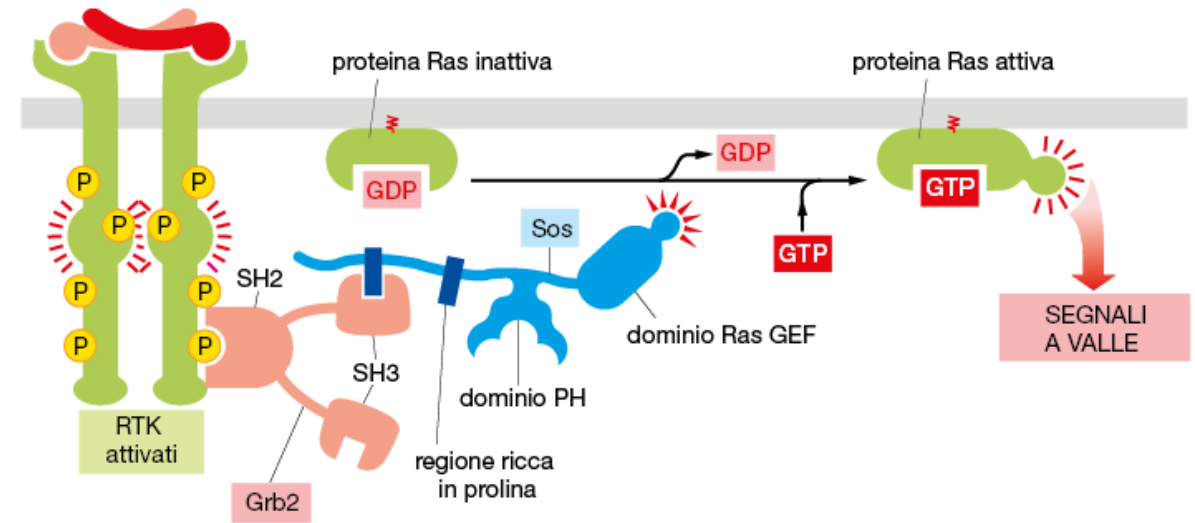
Ras: famiglia, ancoraggio di membrana e ruolo

- Delle GTPasi monomeriche, solo **famiglie Ras e Rho** trasmettono segnali da recettori di superficie.
- **H-, K-, N-Ras**: tre isoforme strettamente correlate negli umani; **gruppi lipidici** covalenti → **ancoraggio** alla faccia citoplasmatica della membrana.
- Ras è spesso **necessaria** per risposte RTK che portano a **proliferazione/differenziamento** (richiedono rimodellamento dell'espressione genica).
- ~**30%** dei tumori umani: **Ras iperattiva mutante** → proliferazione **incontrollata**



Ras come interruttore GTP/GDP: regolazione da GEF e GAP

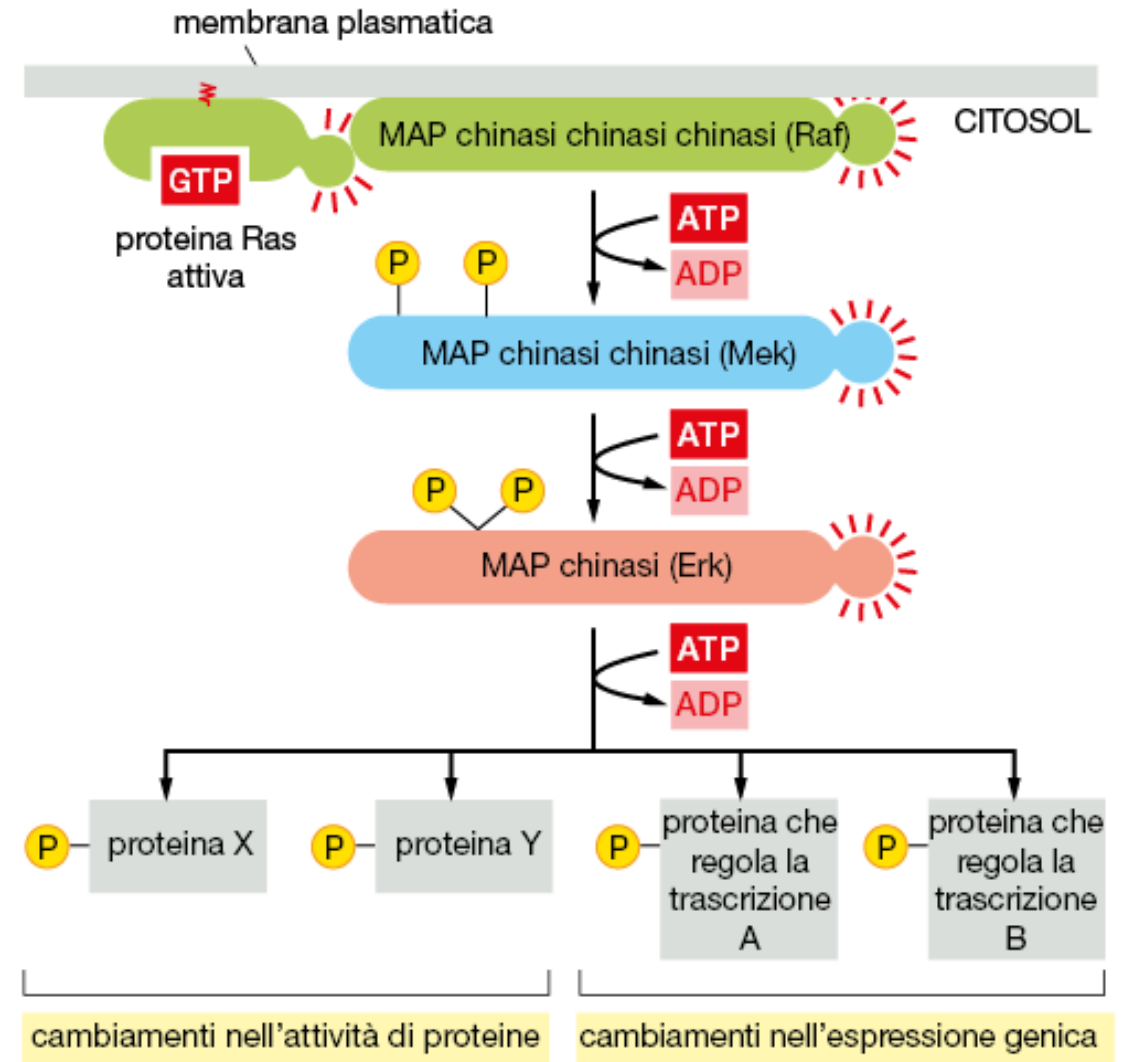
- **Ras-GTP = attiva; Ras-GDP = inattiva.**
- **Ras-GEF:** promuove rilascio **GDP** e legame **GTP** → attiva Ras.
- **Ras-GAP:** accelera **idrolisi GTP** → inattiva Ras.
- Mutanti **iperattivi** di Ras sono **resistenti alle GAP** → bloccati in stato **GTP-on** (oncogenici).
- Come gli **RTK** attivano Ras:
 - In linea di principio: **↑ GEF** e/o **↓ GAP**. Alcune **GAP** si legano direttamente agli RTK via **SH2**.
 - **Via principale:** reclutamento di una **Ras-GEF** (Sos) tramite **adattatore** (Grb2) al recettore **pTyr**.
- Le **GEF** definiscono **dove** (quale membrana) è attivata la GTPasi e, fungendo da **scaffold**, influenzano **quali** effettori a valle verranno attivati.



LA Cascata delle MAPK

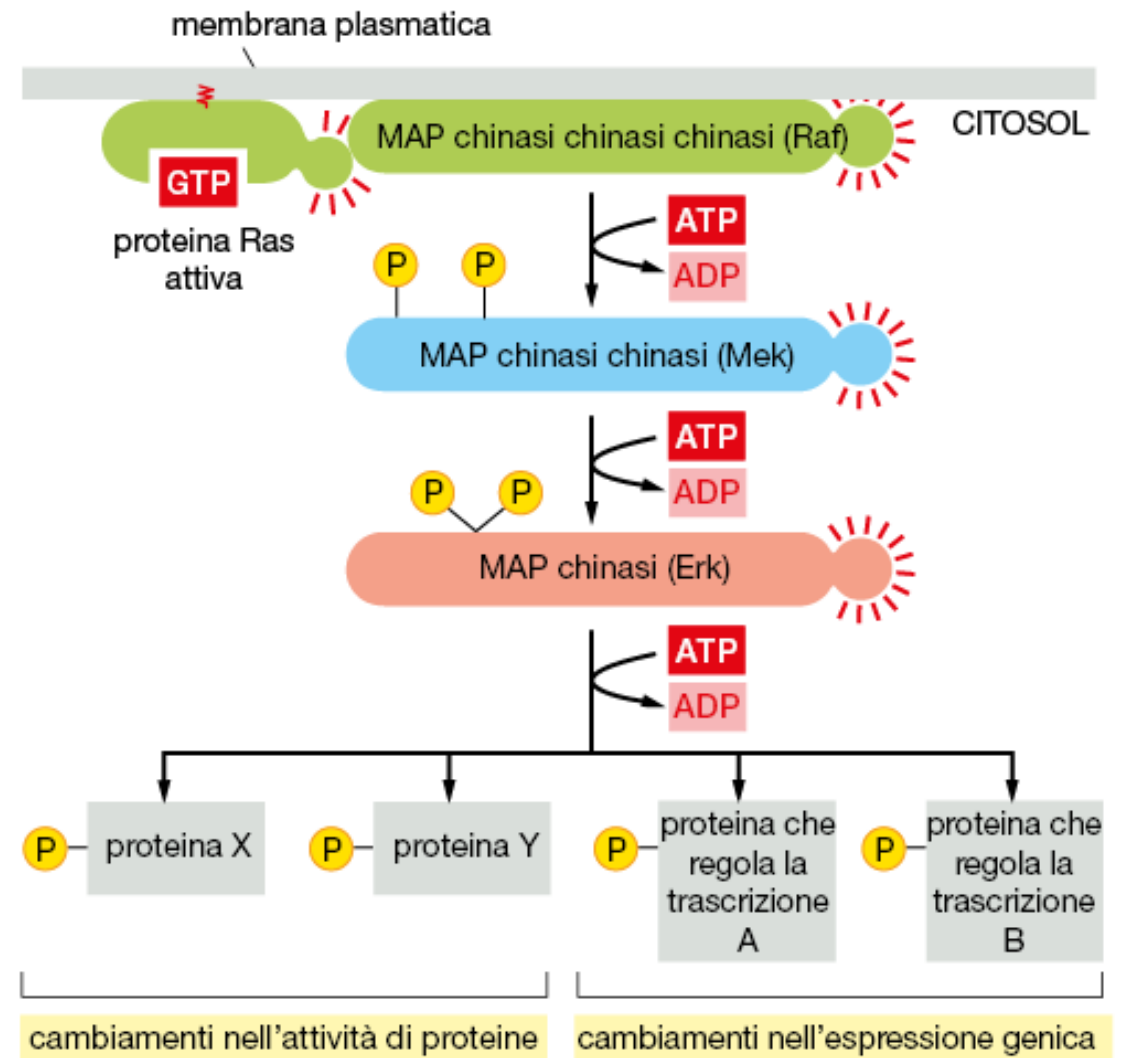
Modulo MAPK (Raf-Mek-Erk): architettura e output

- **Ras attivata** → attiva la **MAPKKK (Raf)** → **MAPKK (Mek)** → **MAPK (Erk)**.
- **Conservazione evolutiva** del modulo; tutte e tre sono **Ser/Thr chinasi**.
- **Erk** entra nel **nucleo** → fosforila regolatori trascrizionali → induzione di **geni precoci immediati** (attivati in **minuti**, anche con sintesi proteica inibita) → seconda ondata di geni (richiede **nuove proteine**).
- Tra i geni indotti: **cicline G1**.



Dinamica della via Ras–MAPK: durata, destino e feedback

- **pTyr** su RTK e **Ras-GTP** sono spesso **transitori** → servono **meccanismi** che **prolungano** il segnale per modificare stabilmente l'espressione genica.
- **Durata** del segnale decide il **destino** (stesso tipo cellulare):
 - **EGF**: Erk con picco a ~5 min e rapido declino → cellule **si dividono**.
 - **NGF**: Erk sostenuta per ore → **stop** proliferazione e **differenziamento** in neuroni.
- **Feedback positivi**: possono generare risposte tutto-o-nulla/irreversibili (es. **maturazione dell'oocita di rana** indotta da progesterone).
- **Feedback negativi**:
 - **Erk** induce **fosfatasi MAPK** (↑ trascrizione + ↑ stabilità) → spegne il segnale.
 - **Erk** fosforila e **inattiva Raf** → ulteriore **feedback negativo** che chiude il modulo.



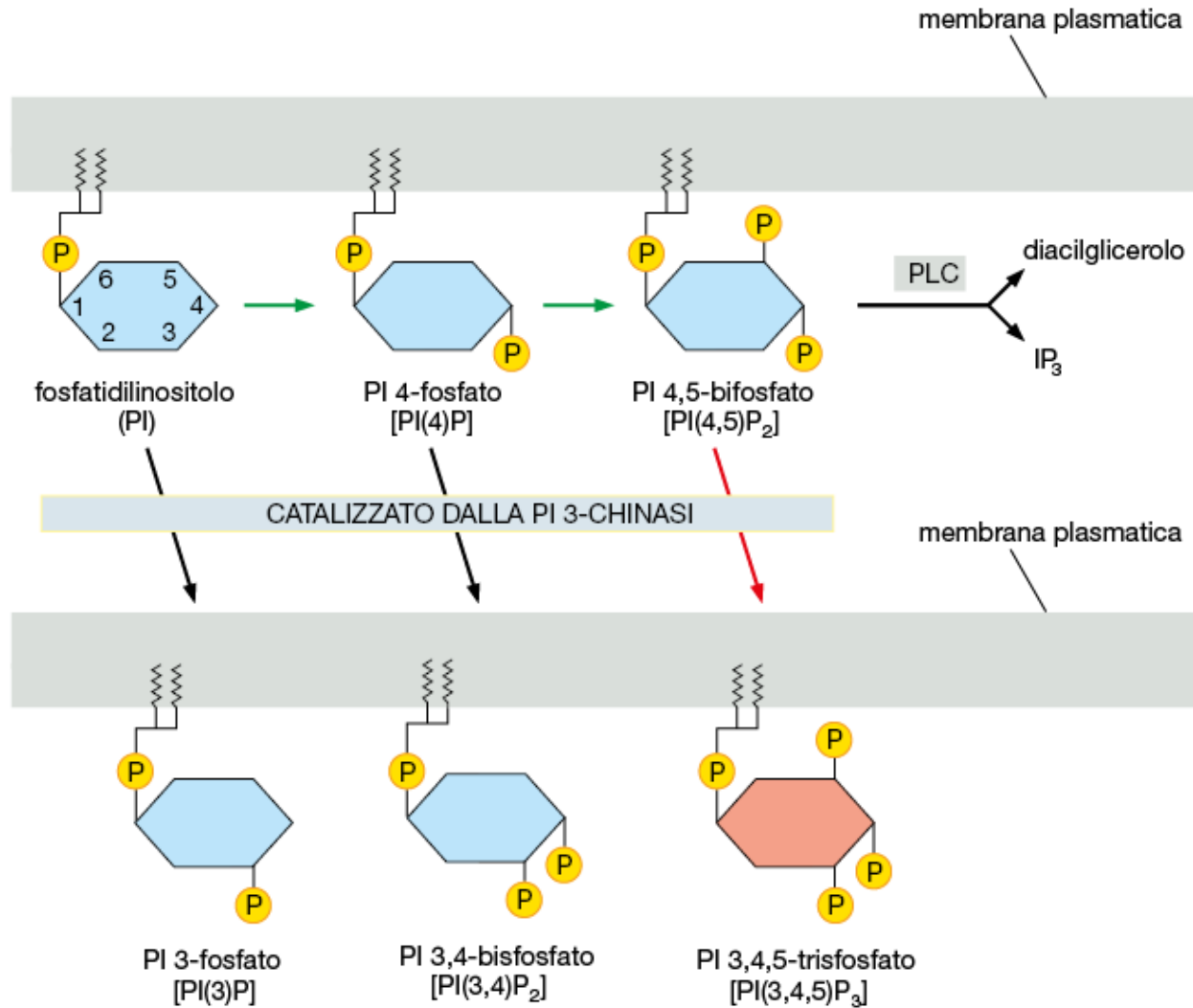
Tipi di Ras

- **Ligando RTK** → **dimerizzazione/riassetto** → **pTyr** sulle code →
- **Docking SH2/PTB** ($\pm$ SH3) di: **PLC γ , Src, PI3K, Grb2–Sos** →
- **Ras-GTP** → **Raf** → **Mek** → **Erk** → **nucleo** → **geni precoci** → esiti **dipendenti dalla durata**.
- **Freni**: **c-Cbl** → **ubiquitinazione** → **endocitosi/lisosoma**; **GAP Ras**; **fosfatasi MAPK**.

Tabella 15.5 Le GTPasi monomeriche della superfamiglia Ras

Famiglia	Alcuni membri della famiglia	Alcune funzioni
Ras	H-Ras, K-Ras, N-Ras	Trasmettono segnali dagli RTK
	Rheb	Attiva mTOR per stimolare la crescita cellulare
	Rap1	Attivata da GEF dipendente da AMP ciclico; influenza l'adesione cellulare mediante attivazione di integrine
Rho*	Rho, Rac, Cdc42	Trasmettono segnali dai recettori di superficie al citoscheletro e in altre parti
ARF*	ARF1-ARF6	Regolano l'assemblaggio delle proteine del rivestimento su vescicole intracellulari
Rab*	Rab1-60	Regolano il traffico intracellulare di vescicole
Ran*	Ran	Regola l'assemblaggio del fuso mitotico e il trasporto nucleare di RNA e proteine

PI 3-chinasi: funzione e attivazione



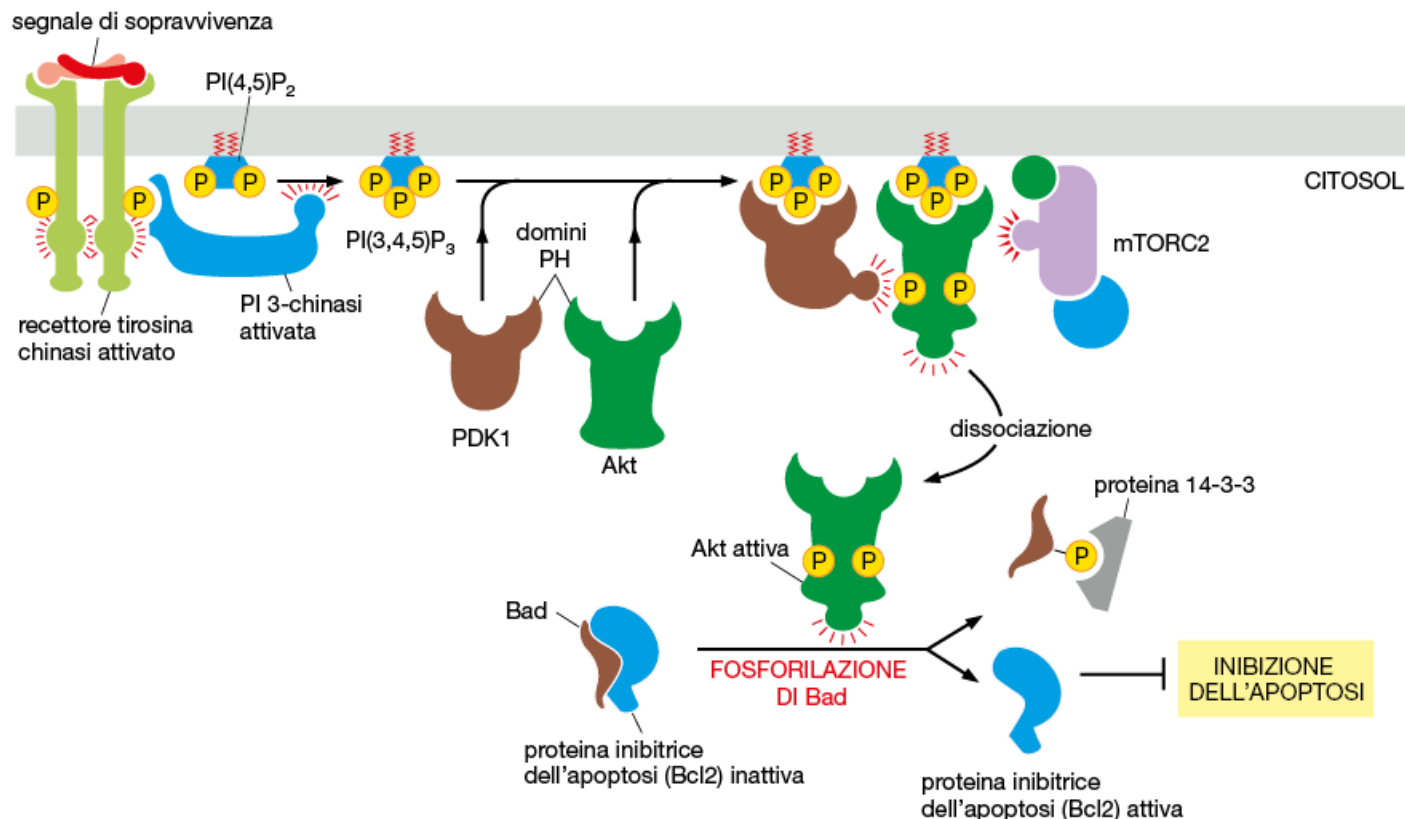
PI 3-chinasi: funzione e attivazione

- **PI 3-chinasi (PI3K):** enzima di membrana che fosforila **fosfolipidi dell'inositolo** (non proteine); attivabile da **RTK** e **GPCR**; ruolo centrale in **sopravvivenza** e **crescita** cellulare
- **Fosfatidilinositolo (PI):** lipide “speciale” che può essere fosforilato in **più posizioni** dell'anello di inositolo → genera **fosfoinositidi**.
- PI3K aggiunge fosfato in **posizione 3** dell'inositolo → produce vari PIP; il più importante è **PI(3,4,5)P₃**, che crea **siti di attracco** per proteine di segnalazione sulla faccia citosolica.

PIP3 vs via PLC

PIP3 vs via PLC; turnover e controllo da PTEN

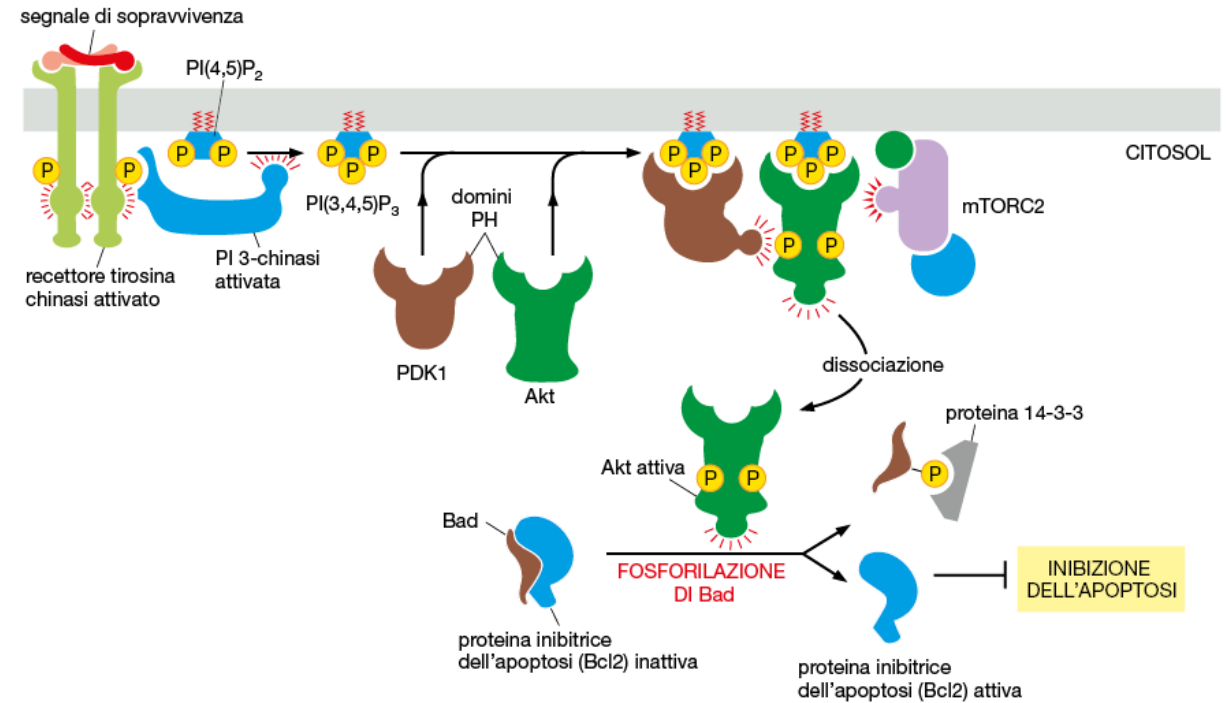
- **Distinzione chiave:**
 - **PI(4,5)P₂ → PLCβ/γ:** taglio in **IP₃** (solubile) + **diacilglicerolo** (membrana) (Fig. 15.29–15.30).
 - **PI(3,4,5)P₃:** non è substrato PLC; è prodotto da **PI3K** a partire da **PI(4,5)P₂** e rimane in membrana finché **fosfatasi** specifiche non lo defosforilano.
- **PTEN:** fosfatasi chiave che rimuove il fosfato in **posizione 3**; **mutazioni di PTEN** (frequenti nei tumori) → segnale PI3K **prolungato** → crescita **incontrollata**.



Classi di PI3K di classe I e modalità di attivazione

Classi di PI3K di classe I e modalità di attivazione

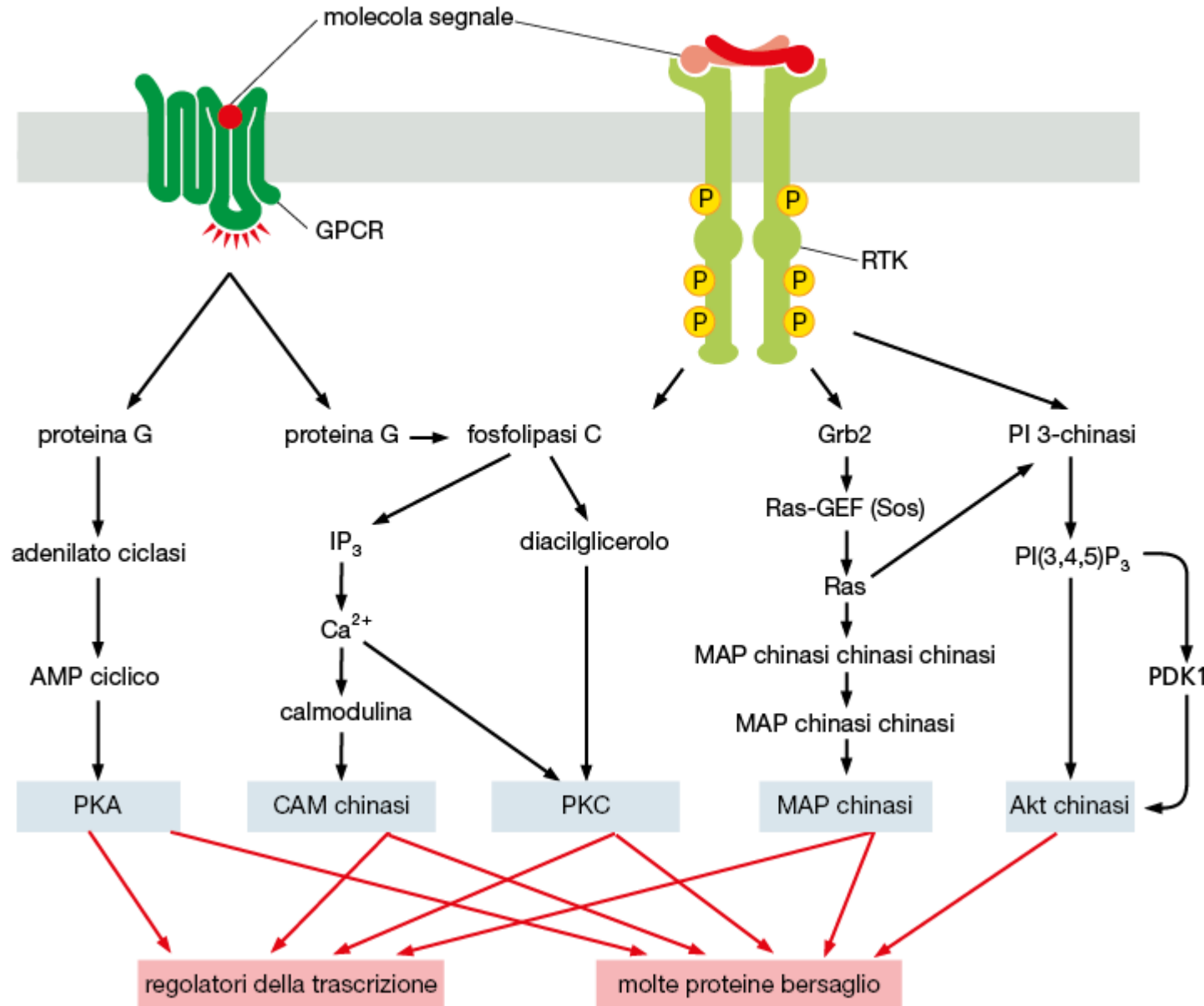
- **Classe I** (attivata da RTK/GPCR): **eterodimero** con subunità **catalitica** comune + **regolatrice** diversa.
 - **Classe Ia (RTK)**: subunità regolatrice = **adattatore** con **due domini SH2** → si lega a **due fosfotirosine** su RTK attivati.
 - **Classe Ib (GPCR)**: subunità regolatrice si **lega a $G\beta\gamma$** di una proteina G attivata dai GPCR.
- La subunità **catalitica** della Classe I può essere attivata anche dal **legame diretto di Ras-GTP**.



Domini PH: reclutamento selettivo alla membrana

- Molte proteine di segnalazione si legano a **PI(3,4,5)P₃** tramite **domini PH** (PleCKstrin Homology).
- I domini PH sono **diffusi** (~200 proteine umane), ma **spesso** funzionano come **moduli di interazione proteina-proteina**; **solo una frazione** si lega effettivamente a **PIP₃**.
- **Specificità aumentata**: alcuni domini PH riconoscono **PIP₃ + una proteina** di membrana → spiega perché non tutte le proteine con PH **attraccano ovunque** ci sia PIP₃.

Via PI3K–Akt: insulina/IGF → sopravvivenza e crescita

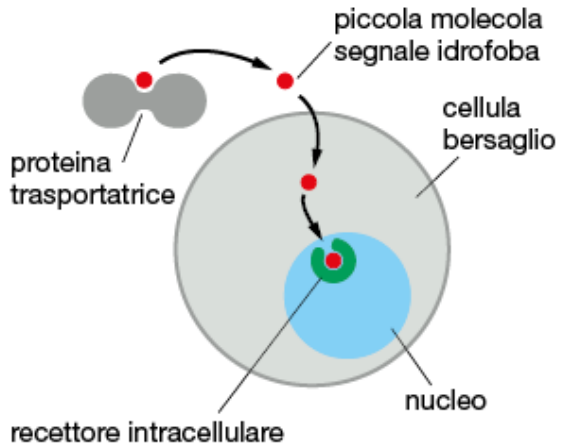


Via PI3K–Akt: insulina/IGF → sopravvivenza e crescita

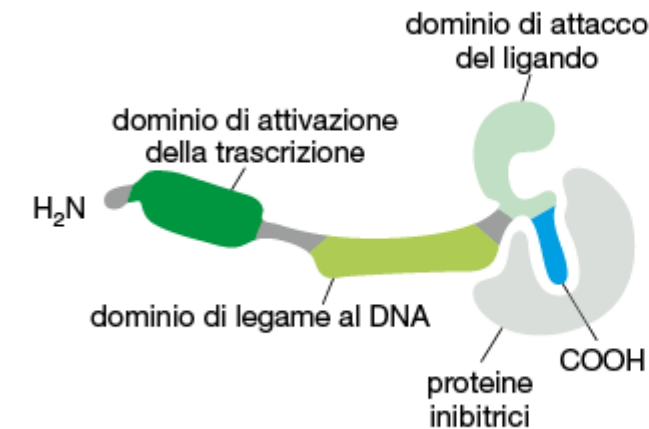
- **Insulina** e **IGF** legano RTK specifici → attivano **PI3K** → ↑ **PI(3,4,5)P₃**.
- **PIP3** recluta (tramite **domini PH**) **Akt/PKB** e **PDK1** alla membrana → **attivazione di Akt**.
- **Akt attivata** fosforila bersagli su **membrana, citosol** e **nucleo**; nella maggior parte dei casi li **inattiva** → effetto **netto**: ↑ **sopravvivenza e crescita** (via della **sopravvivenza**).
- La via **PI3K–Akt** è la via più importante attivata dall'**insulina** e opera in **vertebrati** e **invertebrati**.

Recettori Nucleari degli Ormoni

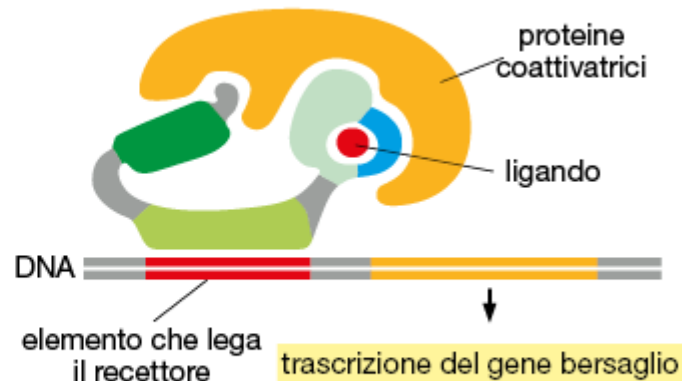
(B) RECETTORI INTRACELLULARI



- **Steroidi** (da colesterolo): cortisolo (metabolismo), ormoni sessuali.
- **Vitamina D**: prodotta nella pelle → attivata (fegato/rene) → **metabolismo Ca^{2+}** .
- **Ormoni tiroidei** (da tirosina): ↑ velocità metabolica.
- **Retinoidi** (da vitamina A): ruoli chiave nello sviluppo.
- Nel sangue viaggiano **legati a proteine carrier**, poi si dissociano ed entrano nelle cellule.



(A) RECETTORE INATTIVO



(B) RECETTORE ATTIVO

Recettori: dove sono e cosa fanno

- **Citoplasmatici** (es. alcuni steroidi): in **complessi inibitori**; il ligando li attiva → traslocano nel **nucleo**.
- **Nucleari** (es. tiroidei/retinoidi): spesso **già legati al DNA**; senza ligando associati a coregolatori che **inibiscono** o modulano la trascrizione.
- Il **legame del ligando** provoca un **cambiamento conformazionale** → distacco degli inibitori e **reclutamento di coattivatori** (→ **attivazione genica**).
- Eccezione importante: in **alcuni contesti** il ligando fa l'opposto (es. **recettori tiroidei** che **reprimono** su specifici geni quando legano l'ormone).