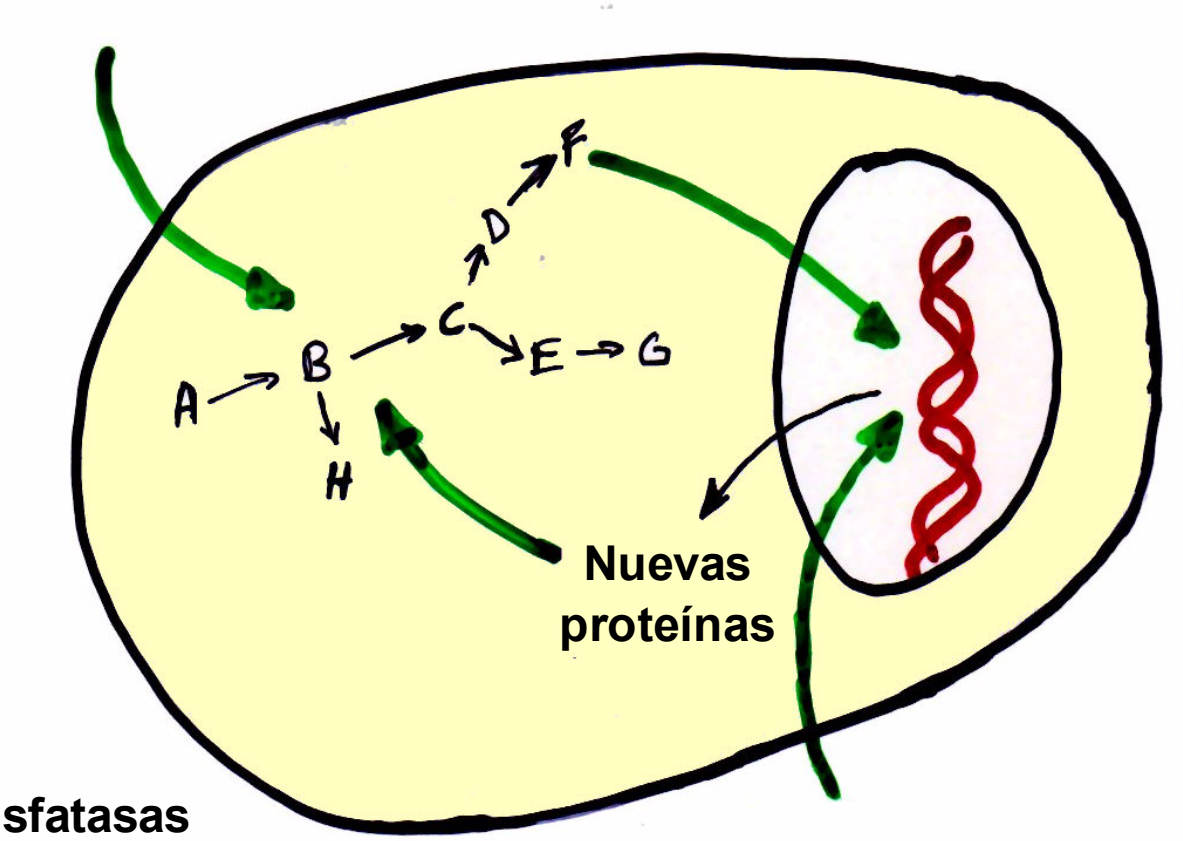
Regulación de la actividad celular

➢ Señalización por receptores de membrana

- Segundo mensajero intracelular
- Regulación de la actividad enzimática



Quinasas / fosfatasas
Proteínas G
cAMP / Ca^{2+}

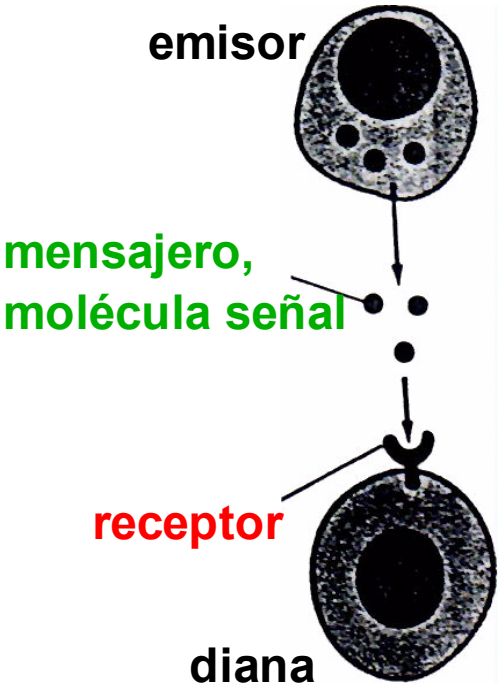
- Factores de transcripción controlados por hormonas
- Regulación de la expresión génica

➢ Señalización por receptores nucleares

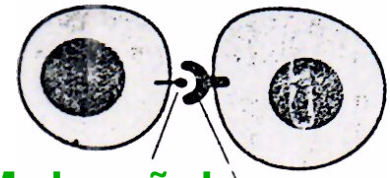
Enrique Castro, 2003

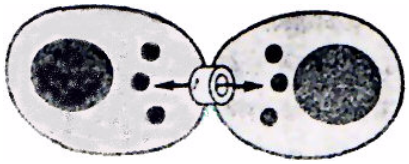
Tipos de comunicación intercelular

Señalización por molécula secretada
(extracelular, difusible)



Señalización por contacto celular
(extracelular, no difusible)

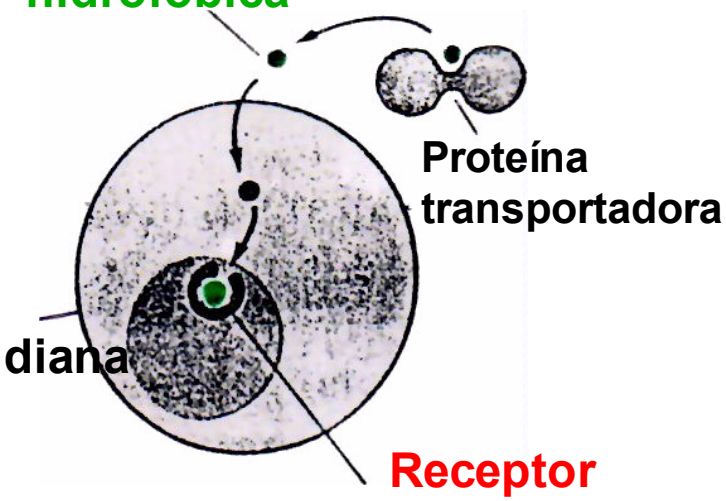




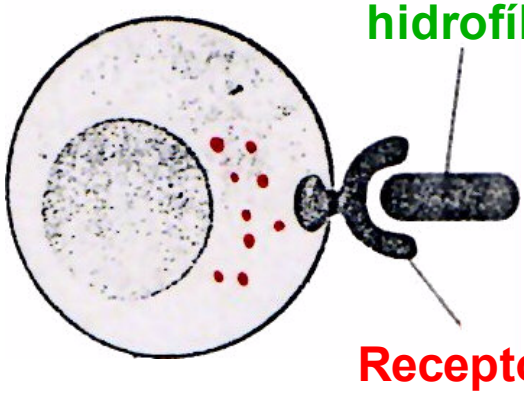
Señalización citosólica directa
(intracelular, difusible, via gap junctions)

Receptor Nuclear

Mol. señal hidrofóbica

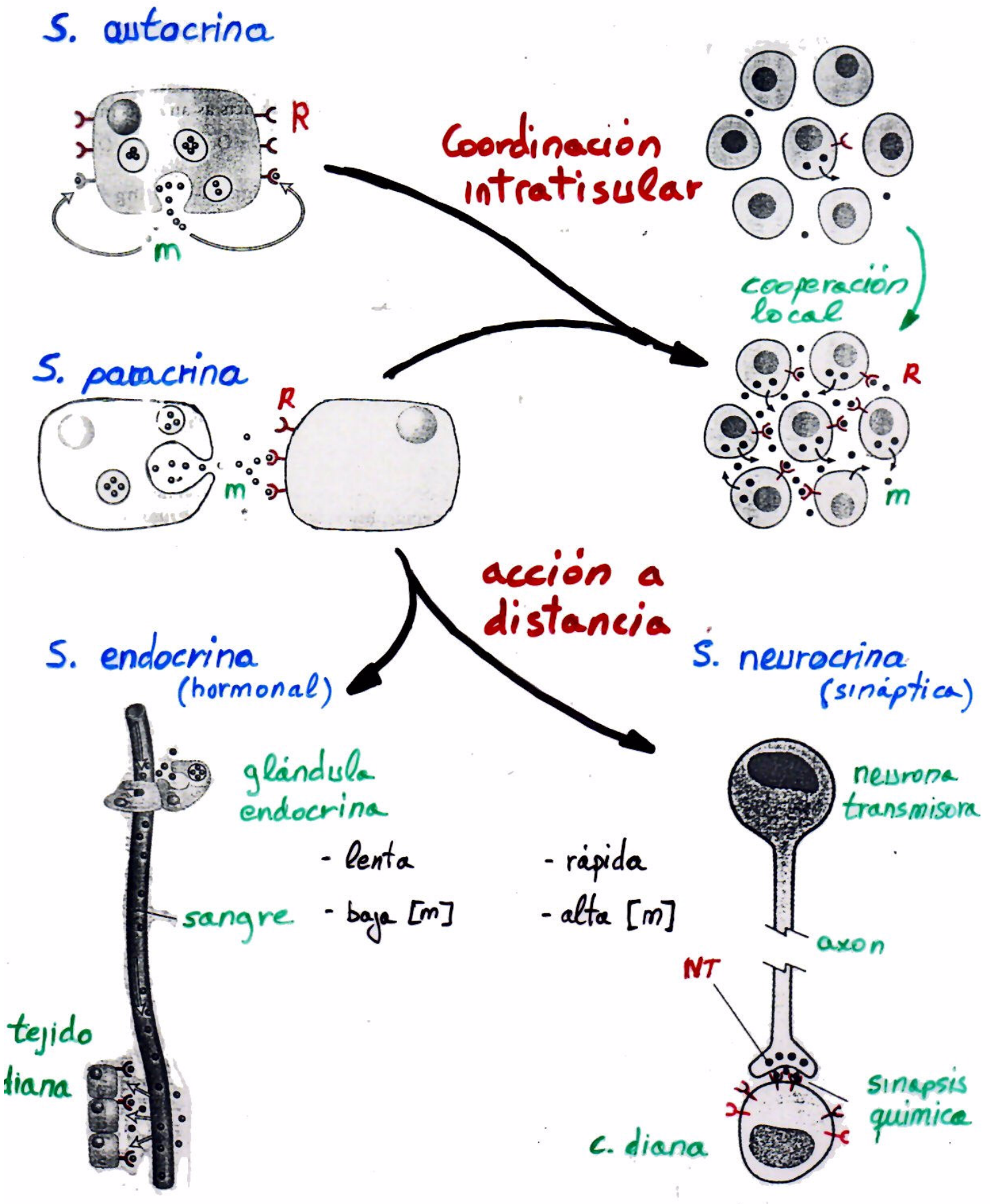


Receptor de membrana



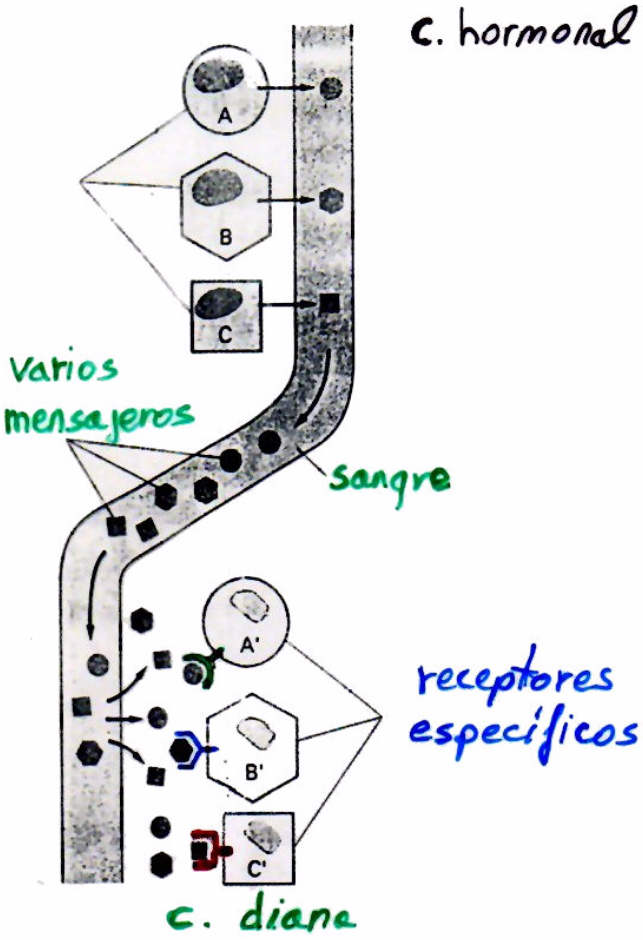
Enrique Castro, 2003

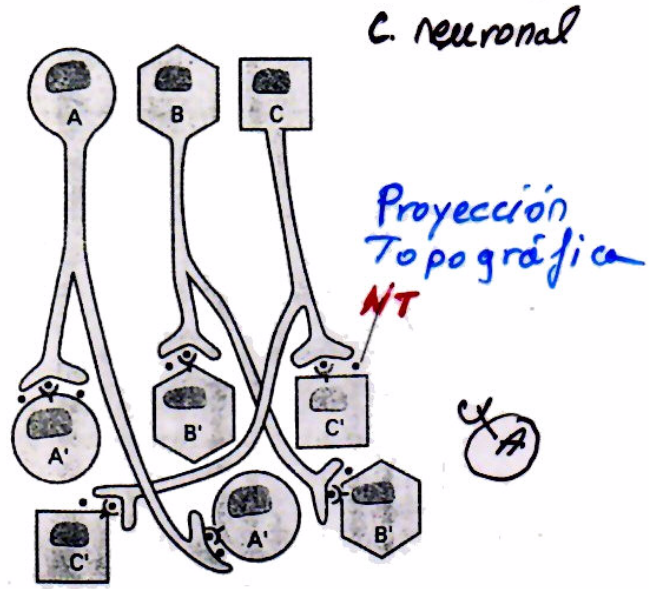
Tipos de señalización intercelular



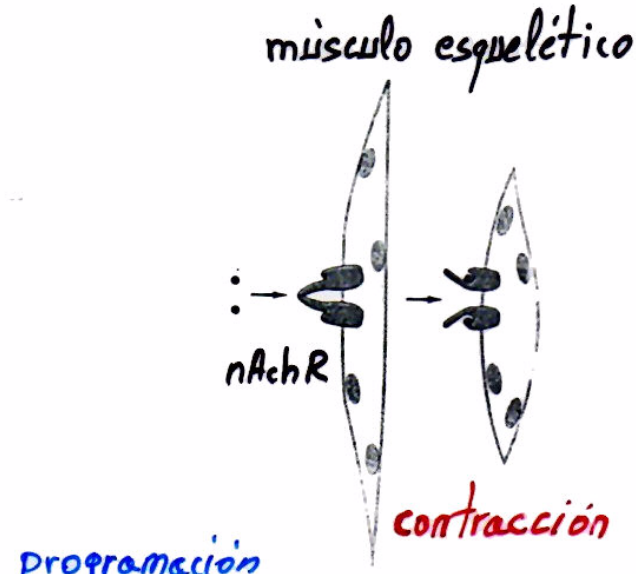
Mecanismos de especificidad

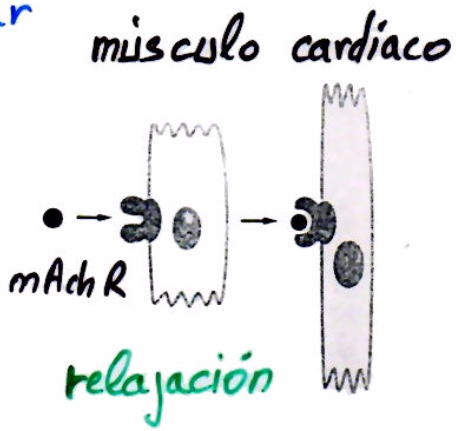
E. de unión

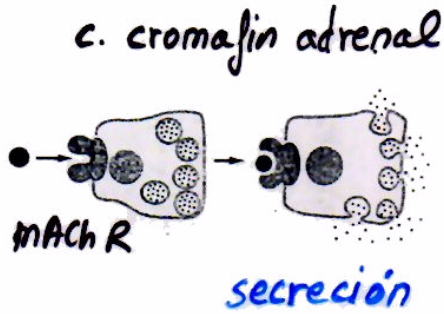




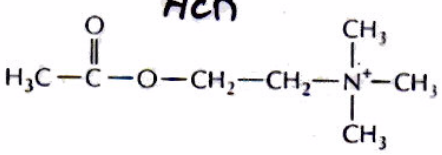
E. de efector







Ach



Enrique Castro, 2003

Diferencias entre clases de mediadores extracelulares

Propiedad	Esteroides	Tiroideas	Péptidos y proteínas	Neuro-transmisores
Regulación de la síntesis	Si	Si	Si	Si
Almacenamiento	No	Como proteína	Gránulos de secreción	Vesículas de secreción
Mecanismo de secreción	Difusión pasiva a través de membrana	Proleolisis y difusión	Exocitosis	Exocitosis
Unión a proteínas plasmáticas	Si	Si	Muy raro	No
Vida media extracelular	Horas	Dias	minutos	segundos
Mecanismo de eliminación	Metabolización enzimática intracelular	Metabolización enzimática intracelular	Hidrólisis extracelular	Recaptación, inactivación extracelular
Duración de la acción	Horas a días	Días	Minutos-segundos	Segundos-milisegundos
Tipo de receptor	intracelular	nuclear	De membrana	De membrana
Mecanismo de acción	Control directo de la transcripción	Control directo de la transcripción	2º mensajero citosólico	2º mensajero citosólico o corrientes iónicas

Receptores Nucleares

Receptores de Membrana

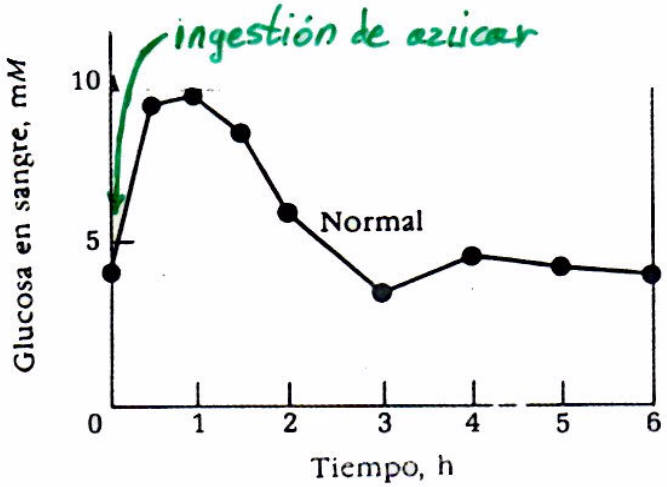
Enrique Castro, 2003

Señales extracelulares

Consideraciones terminológicas

Clase	Síntesis	Alcance	Acción	Estructura
Hormonas	**Glándula endocrina**	**Circula en sangre**	**Variable rápida (Adr) lenta (tiroideas))**	**Aminas (Adr) Esteroides (cortisol) Proteínas (FSH, LH) Péptidos (MSH, ACTH)**
Neurotransmisores	**Terminales presinápticos**	**Hendidura sináptica**	**Muy rápida, transitoria ms-min**	**Aminas (NA, Ach, 5-HT) aa (Glutamato, GABA) péptidos (opioides)**
Neuromoduladores	**Neuronas, sinapsis**	**paracrino**	**Sostenida, varios minutos**	**Adenosina péptidos (NPY, endorfinas)**
Factores de crecimiento	**Células inespecíficas**	**Autocrina/ paracrina**	**Sostenida horas-dias Mitogénesis, diferenciación**	**Proteínas (EGF, IGF, NGF, TGFβ)**
Citoquinas	**Células inespecíficas leucocitos**	**Autocrina/ paracrina**	**Sostenida horas-dias proliferación, diferenciación**	**Proteínas, (Interferones, interleuquinas, IL, TNFα)**
Autacoides	**diversas**	**Autocrina/ paracrina**	**variable**	**Aminas, péptidos**

Señalización rápida

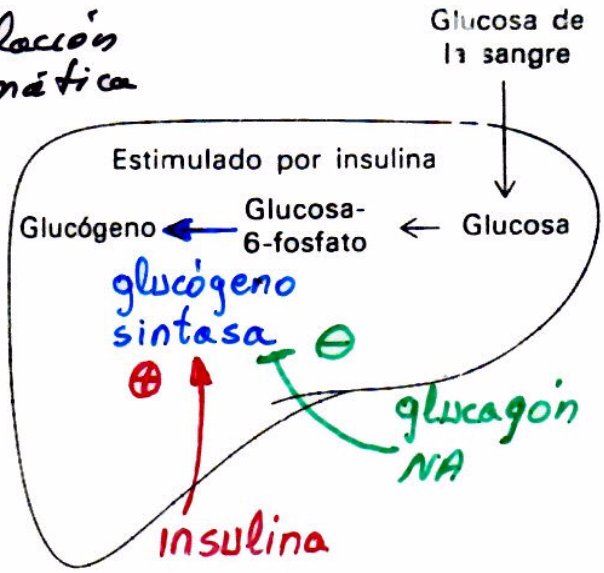


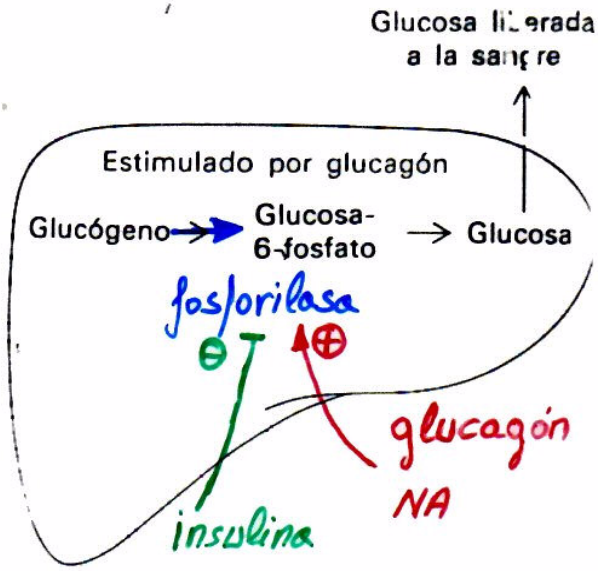
curva de tolerancia a la glucosa

Hormonal

regulación de la glucemia

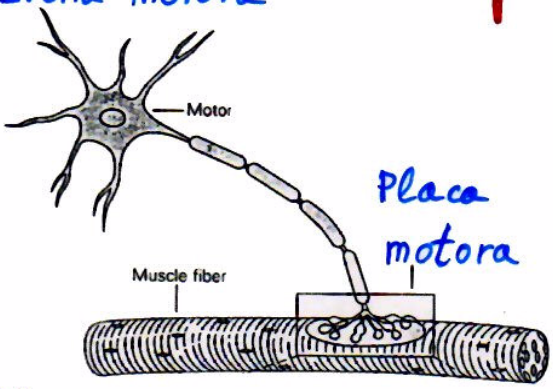
regulación enzimática



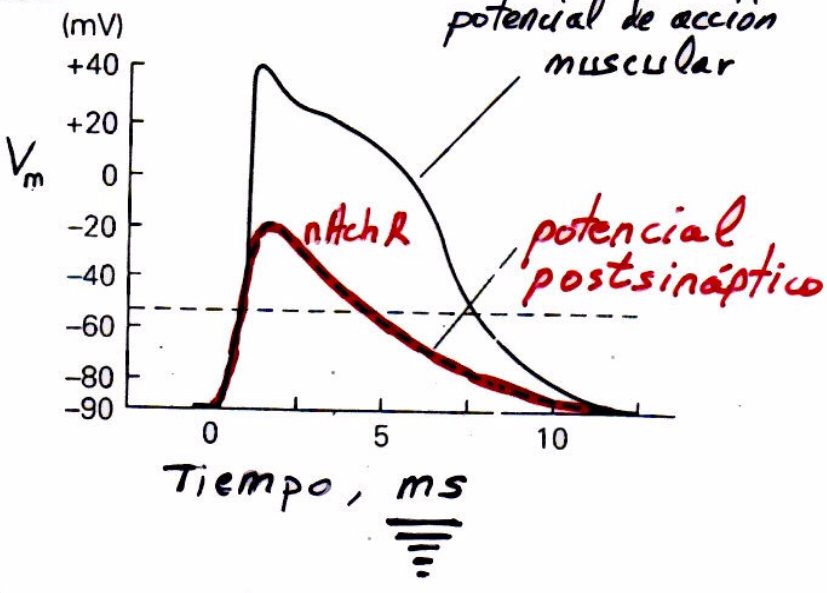


Sináptica

neurona motora

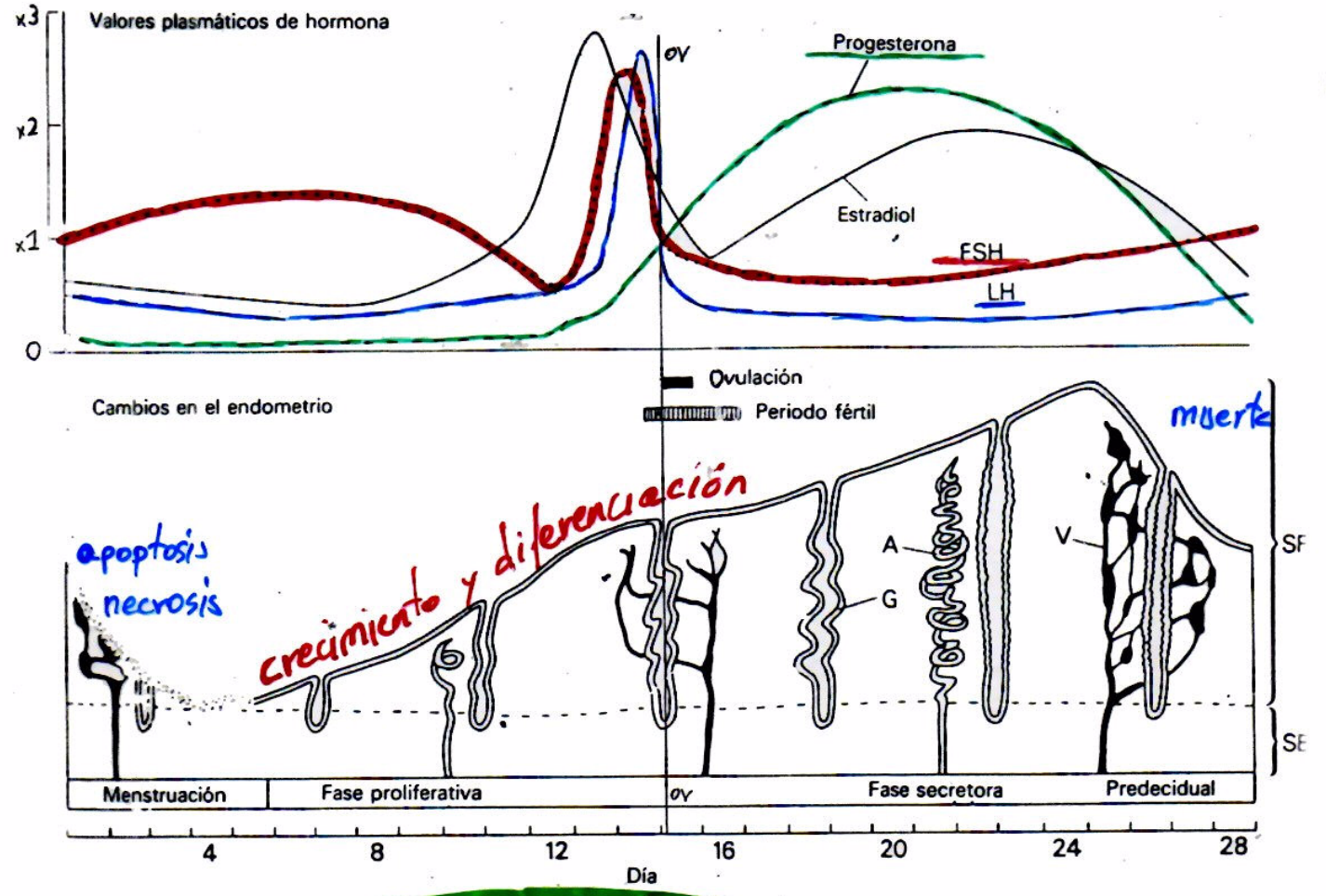


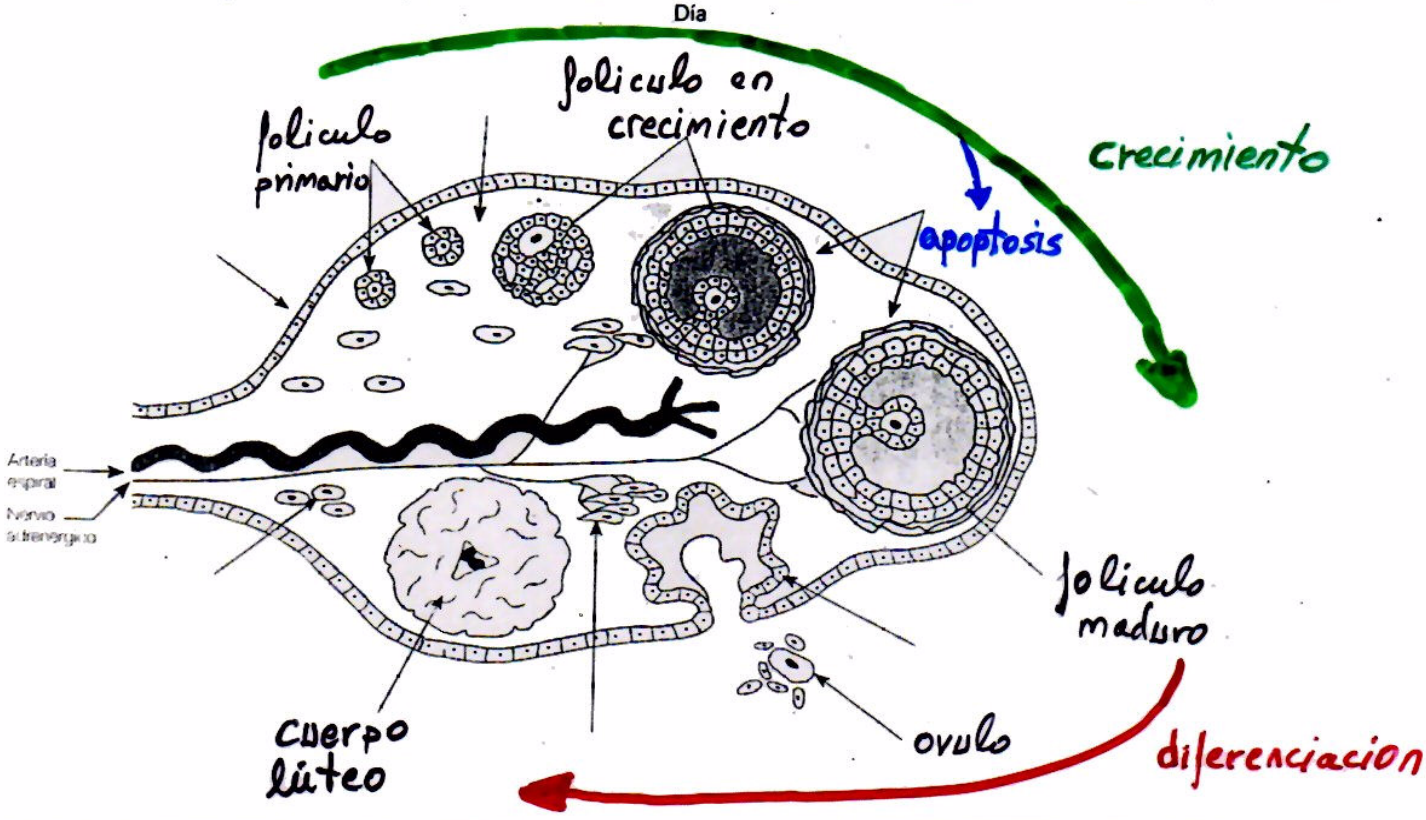
Fibra muscular



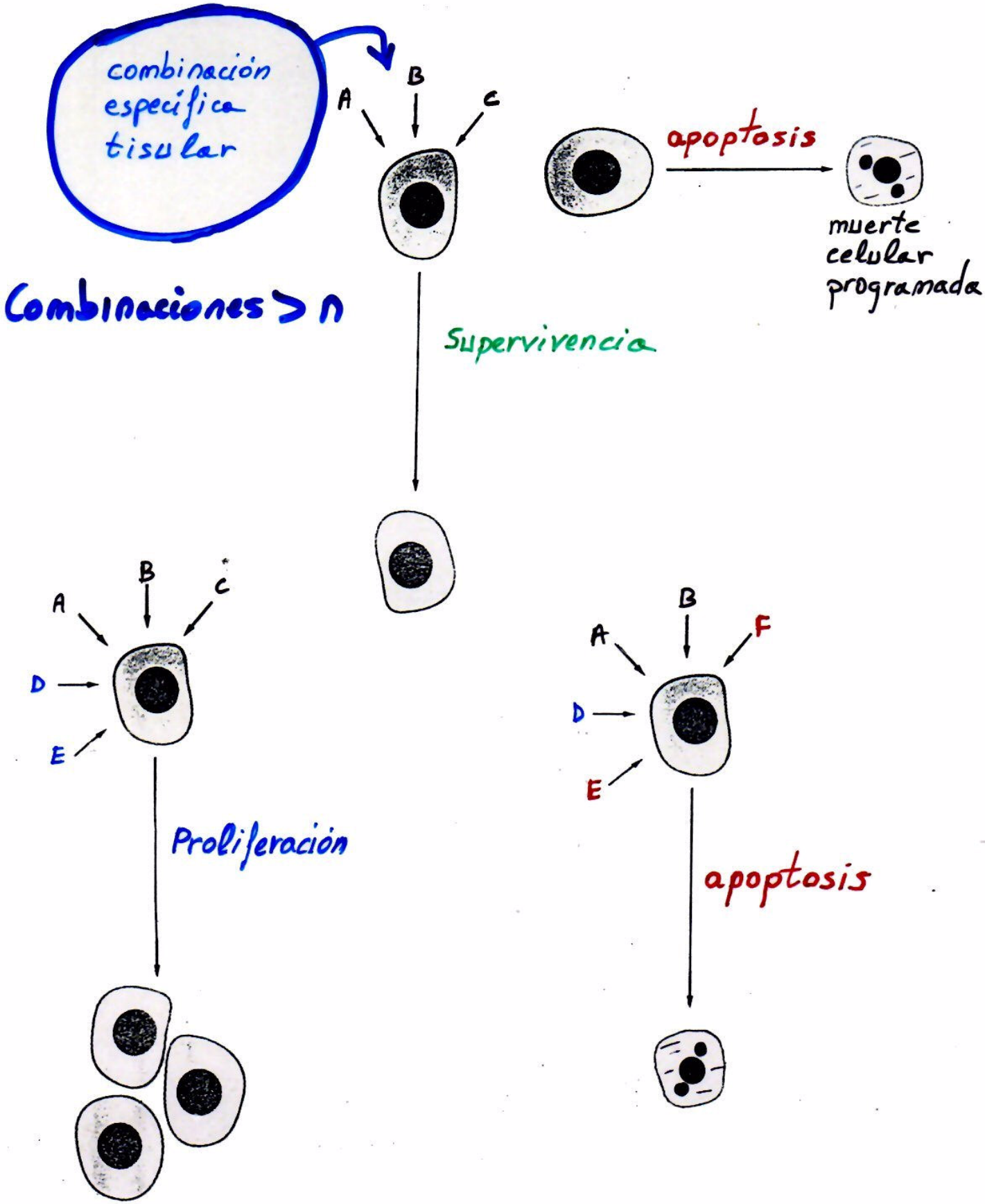
Transmisión neuromuscular

Señalización lenta: ciclo menstrual

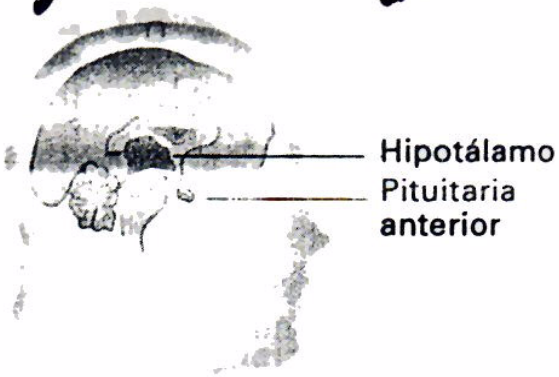


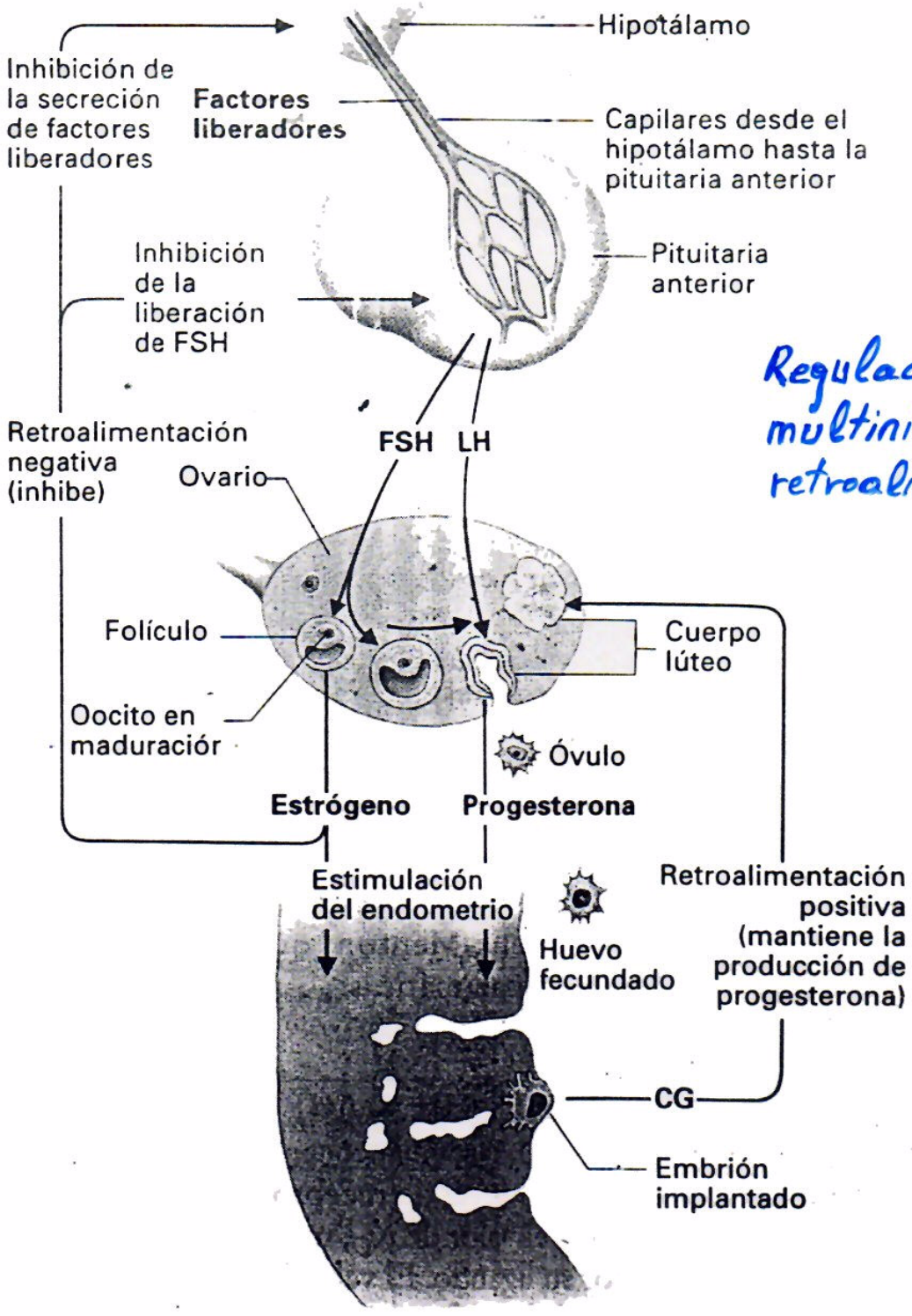


Señalización combinatoria

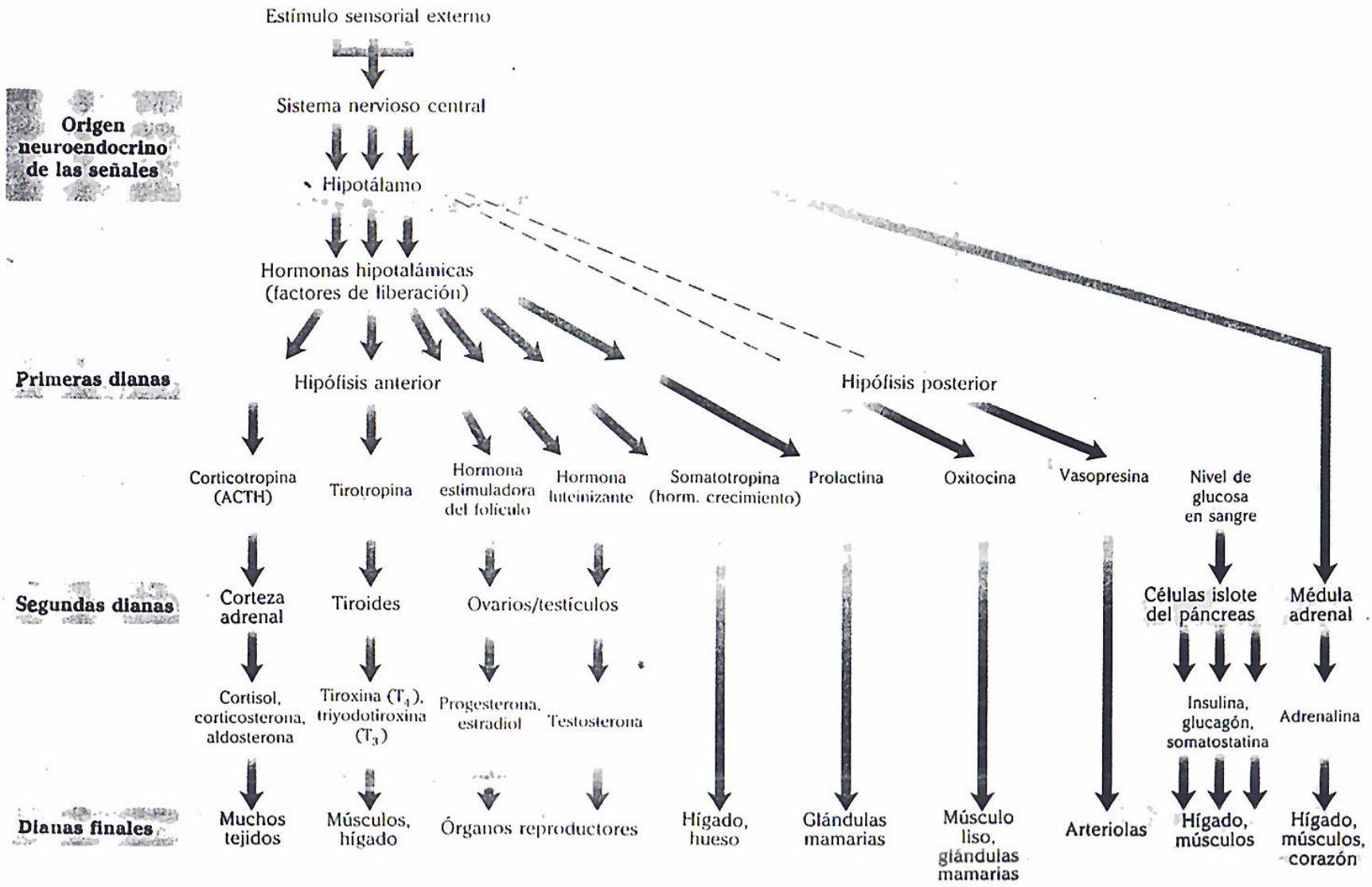


Regulación jerárquica





Regulación multinivel retroalimentación


Estímulo sensorial externo
Sistema nervioso central
Origen neuroendocrino de las señales
Hipotálamo
Hormonas hipotalámicas (factores de liberación)
Primeras dianas
Hipófisis anterior
Hipófisis posterior
Corticotropina (ACTH)
Tirotropina
Hormona estimuladora del folículo
Hormona luteinizante
Somatotropina (horm. crecimiento)
Prolactina
Oxitocina
Vasopresina
Nivel de glucosa en sangre
Segundas dianas
Corteza adrenal
Tiroides
Ovarios/testículos
Células islote del páncreas
Médula adrenal
Cortisol, corticosterona, aldosterona
Tiroxina (T_4), triyodotiroxina (T_3)
Progesterona, estradiol
Testosterona
Insulina, glucagón, somatostatina
Adrenalina
Dianas finales
Muchos tejidos
Músculos, hígado
Órganos reproductores
Hígado, hueso
Glándulas mamarias
Músculo liso, glándulas mamarias
Arteriolas
Hígado, músculos
Hígado, músculos, corazón

Superfamilia de Receptores Nucleares

➢ Hormonas hidrofóbicas

- Atraviesan membranas
- Necesitan transportadores sanguíneos
- precursores/síntesis local

➢ Receptores intracelulares

- Estructura y secuencia conservada
- Factores de transcripción controlados por hormonas

➢ Funciones: Regulación de la expresión génica

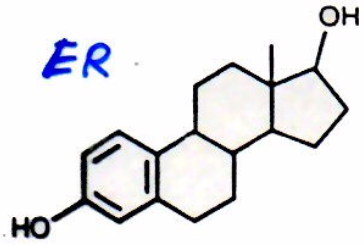
- **Esteroides**
  - Glucorticoides: Reacción estrés, Gluconeogénesis, lipolisis
  - mineralcorticoides: Transporte Na^+, K^+ y Cl^- en riñón
  - andrógenos/estrógenos: C. sexuales, ciclo menstrual
  - progestágenos: gestación
- **Tiroideas:** Metabolismo basal, desarrollo
- **Retinoides (Vit. A):** Retina, epitelios
- **Vitamina D:** Metabolismo del Ca^{2+} (intentino y hueso)
- **Otros**

Proliferación
Diferenciación
Morfogénesis

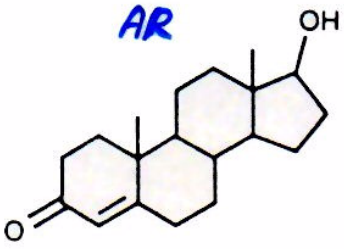
➢ Especificidad de la acción

- síntesis/degradación/presentación de la hormona
- dimerización/heterodimerización
- Variabilidad en HREs
- Reclutamiento de co-activadores/co-represores

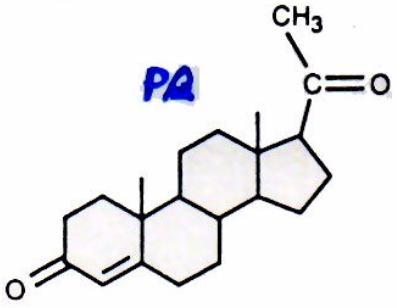
Estructuras de Hormonas liposolubles



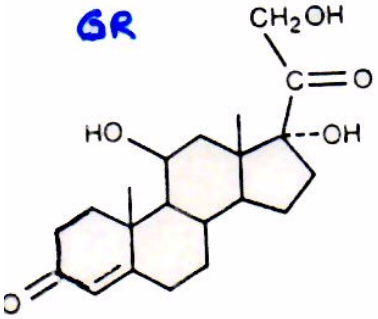
Estradiol



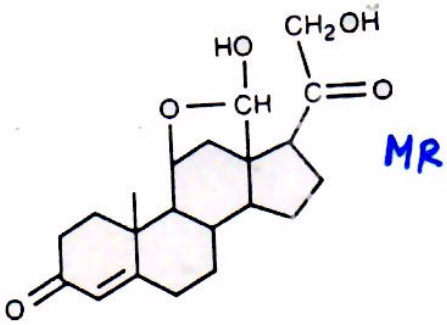
Testosterone



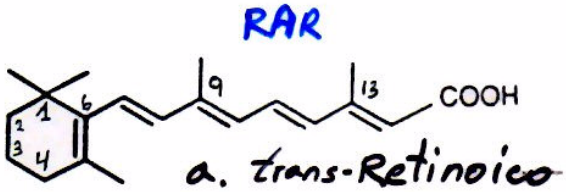
Progesterone

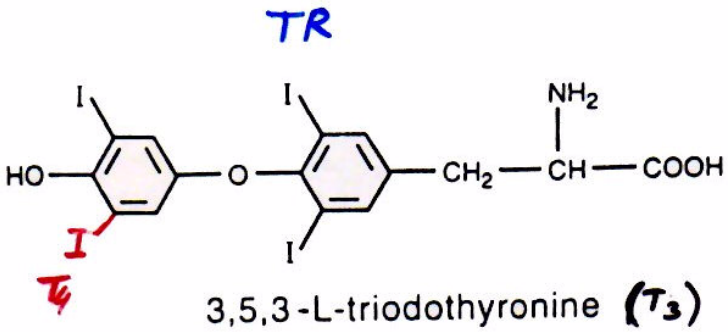


Cortisol

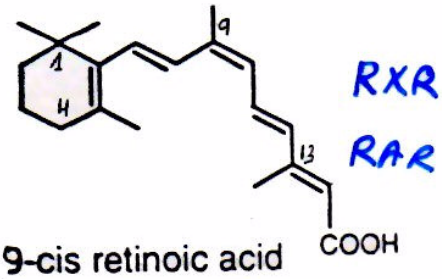


Aldosterone

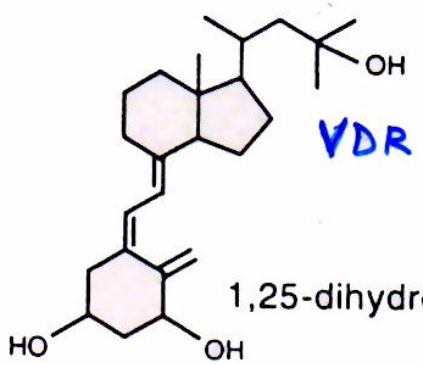




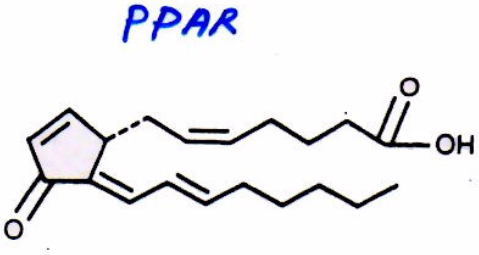
3,5,3-L-triodothyronine (T_3)



9-cis retinoic acid

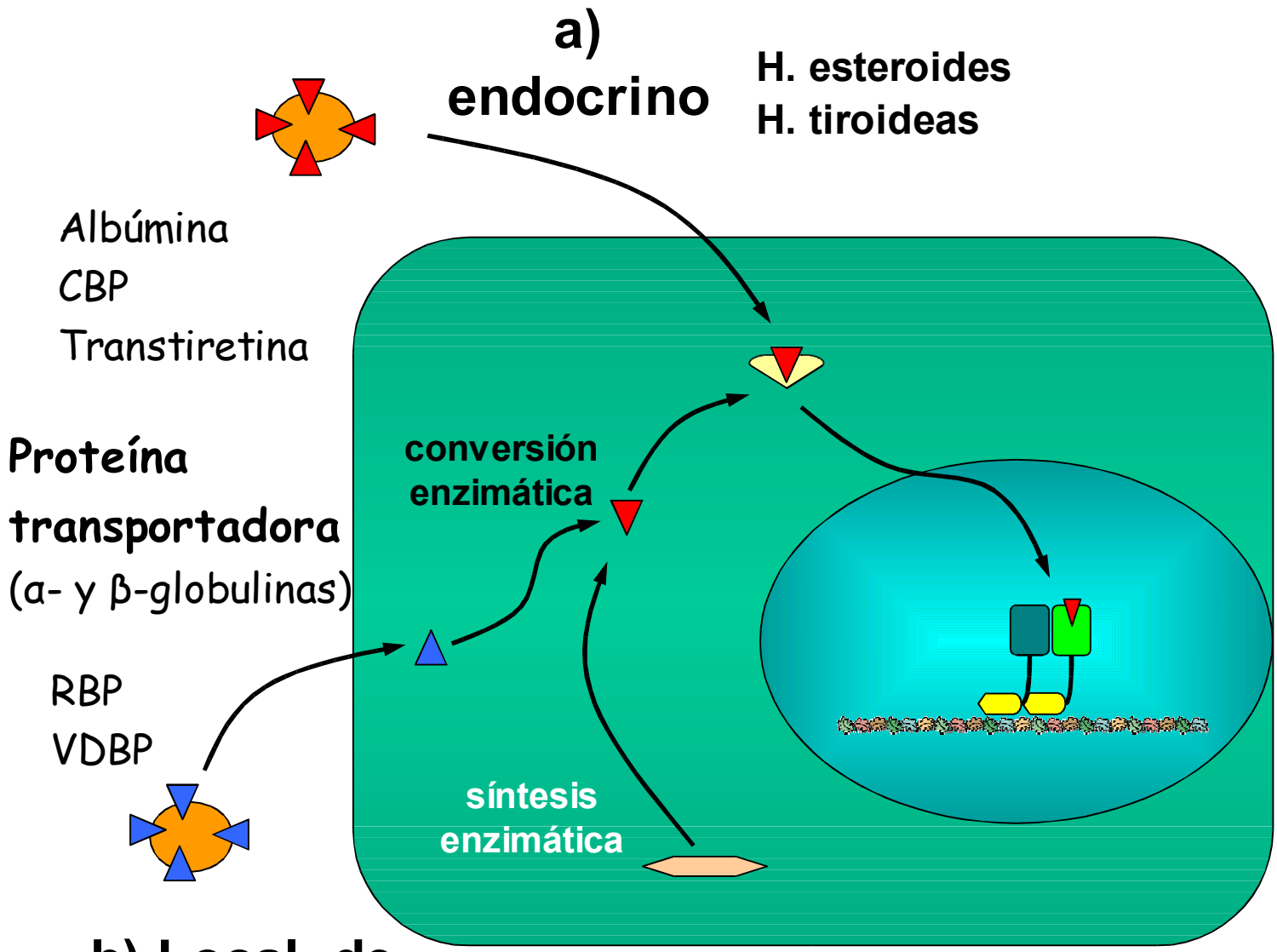


1,25-dihydroxyvitamin D_3

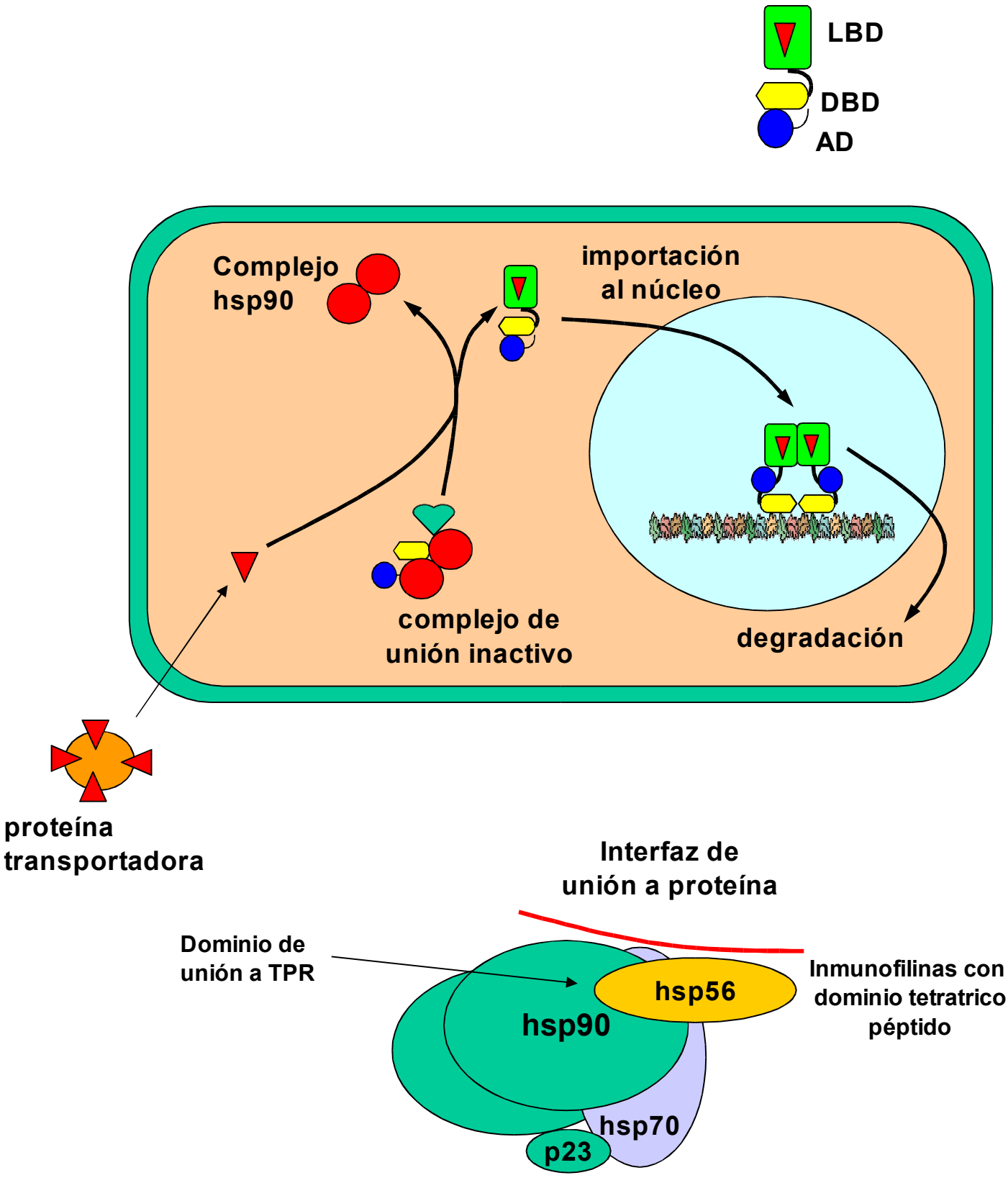


15-deoxy-$\Delta^{12,14}$-prostaglandin J_2

Modos de acceso del ligando

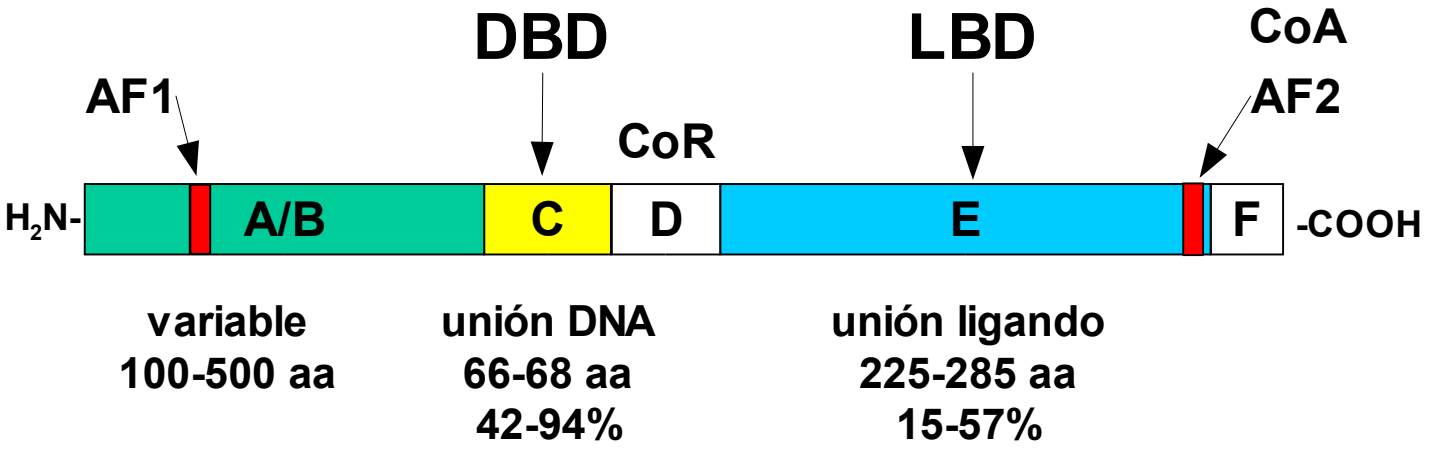


Receptores de esteroides: localización citosólica

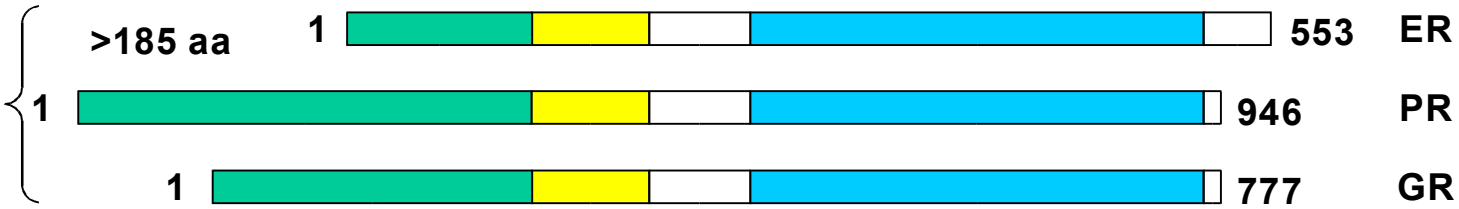


Enrique Castro, 2003

SF. de Receptores Nucleares: Estructuras conservadas



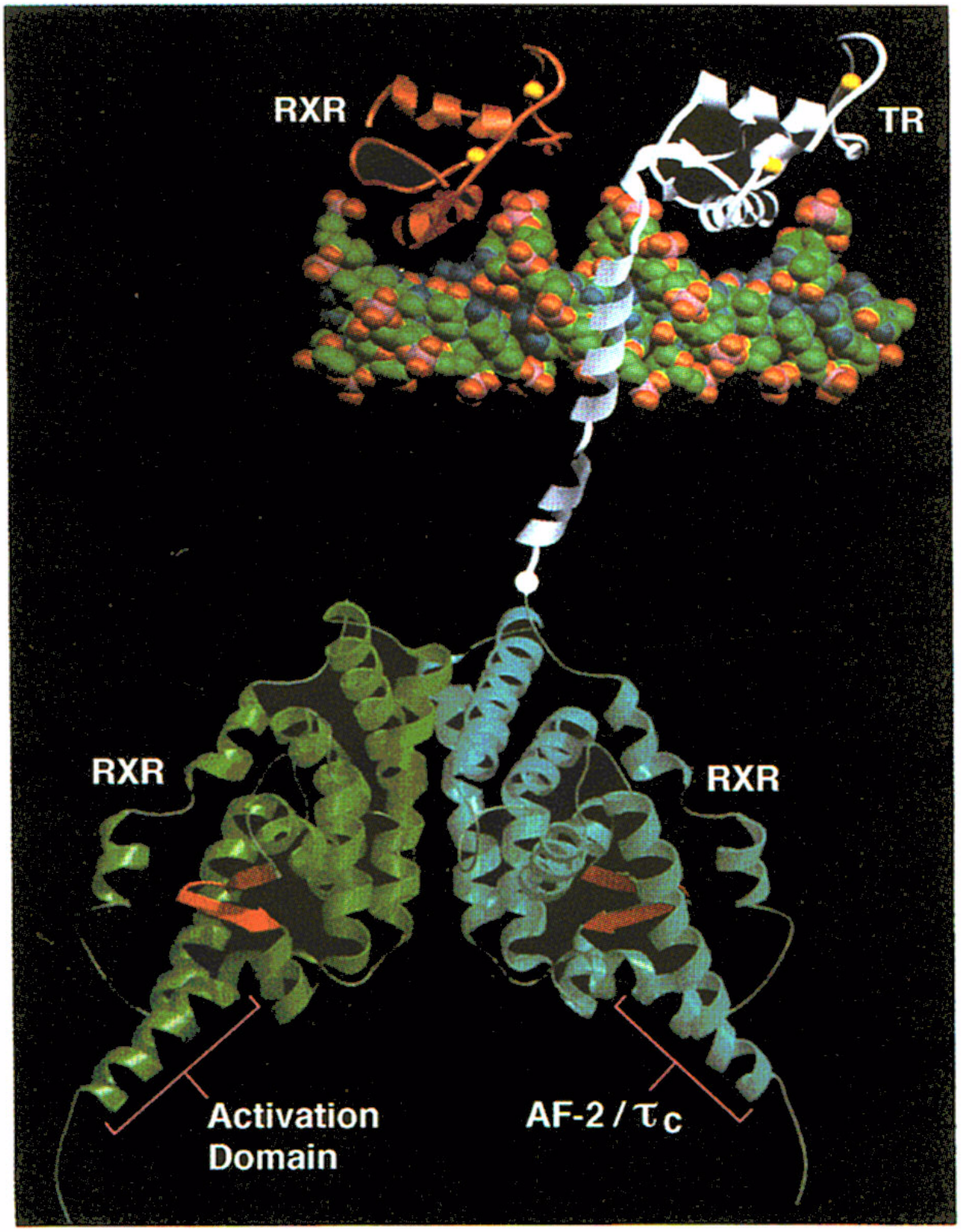
Largos: Homodímeros



Cortos: Heterodímeros

Enrique Castro, 2003

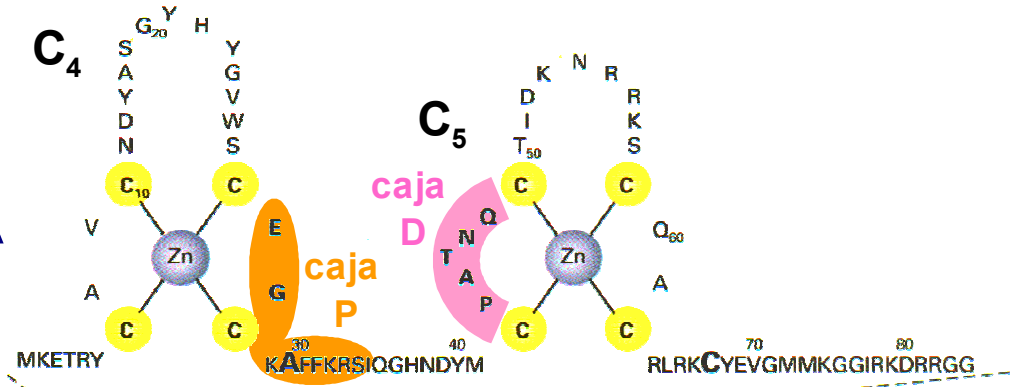
Estructura de Receptores Nucleares

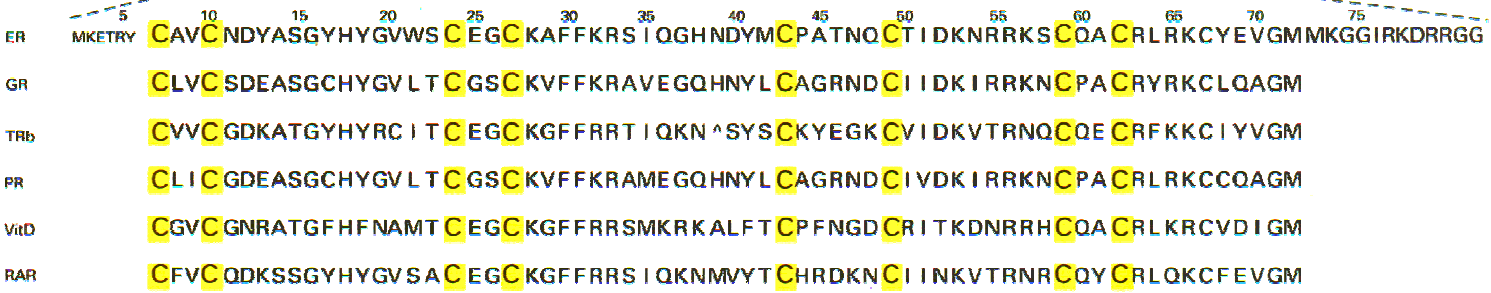


Enrique Castro, 2003

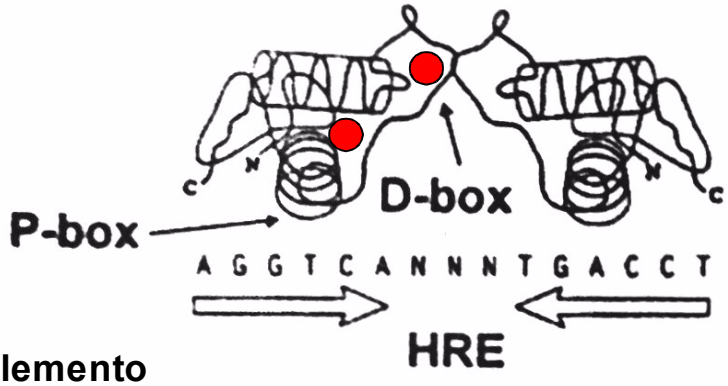
Estructura de los dominios DBD

Dedos de Zn: Unión al DNA





Caja D:
Dimerización



Caja P:
unión a hemi-elemento hexámero HRE

Unión al DNA: Elementos de Respuesta a Hormonas (HREs)

secuencias consenso

palindrómicos

(MR, PR, AR) **GRE**

5′ AGAACA$(N)_3$ TGTTCT 3′
3′ TCTTGT$(N)_3$ ACAAGA 5′

ERE

5′ AGGTCA$(N)_3$ TGACCT 3′
3′ TCCAGT$(N)_3$ ACTGGA 5′

Repeticiones directas

VDRE — DR3

5′ AGGTCA$(N)_3$ AGGTCA 3′
3′ TCCAGT$(N)_3$ TCCAGT 5′

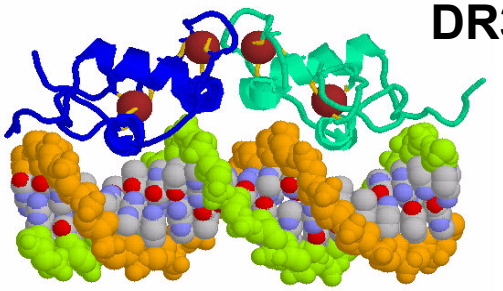
TRE — DR4

5′ AGGTCA$(N)_4$ AGGTCA 3′
3′ TCCAGT$(N)_4$ TCCAGT 5′

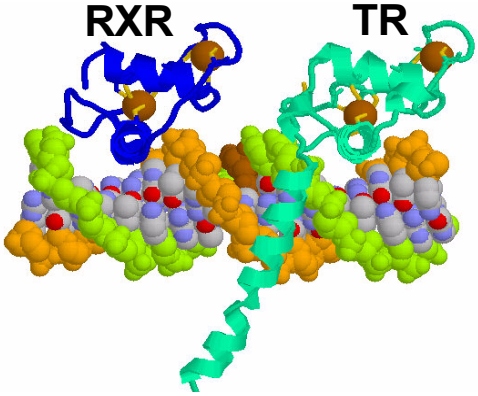
RARE — DR5

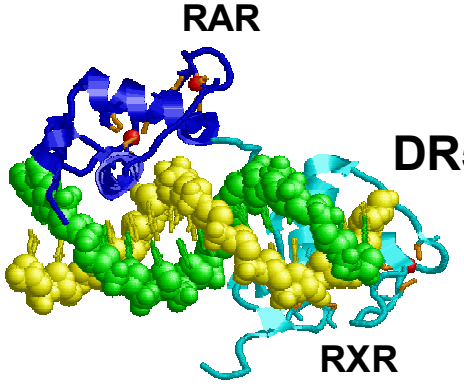
5′ AGGTCA$(N)_5$ AGGTCA 3′
3′ TCCAGT$(N)_5$ TCCAGT 5′

GR dimérico



Espaciado impone geometría de dimerización



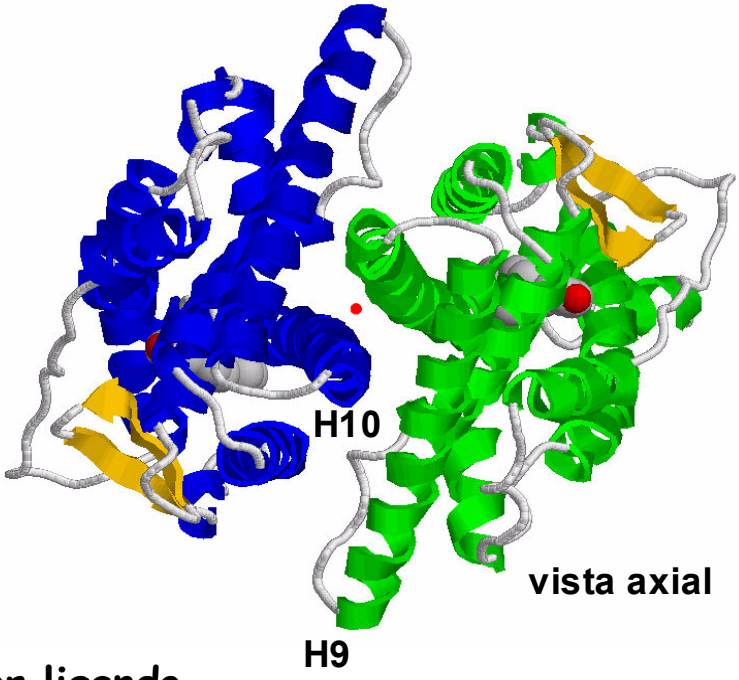


Enrique Castro, 2003

Receptores Nucleares: LBDs

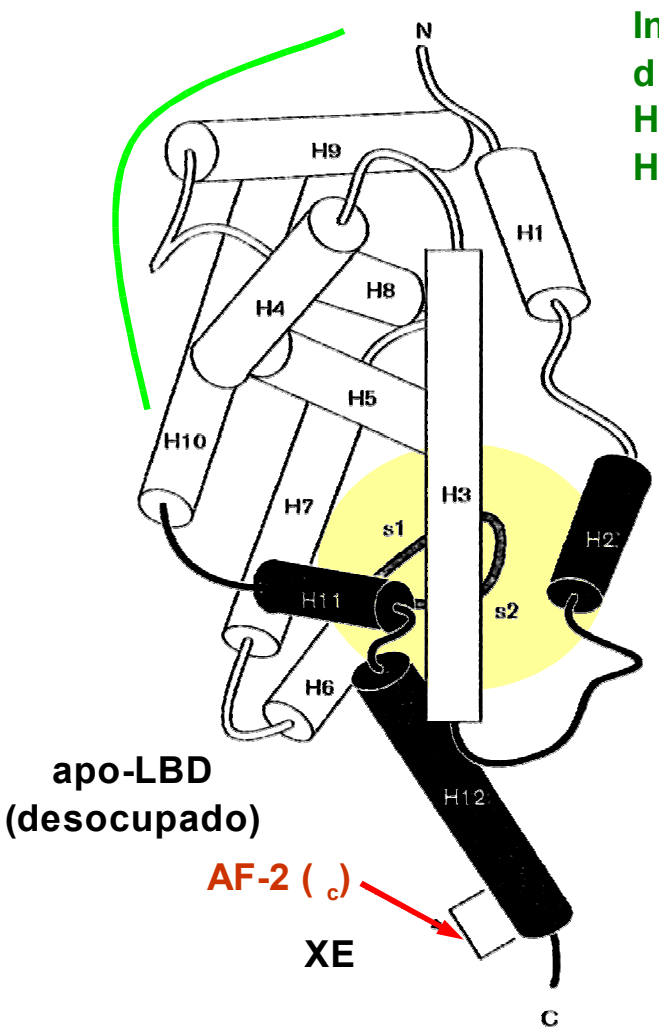
Estructura

- **Todo alfa**
- **Unión de ligando**
  (núcleo hidrófobo)
- **Interfaz de dimerización**
  (heptadas en -hélice)



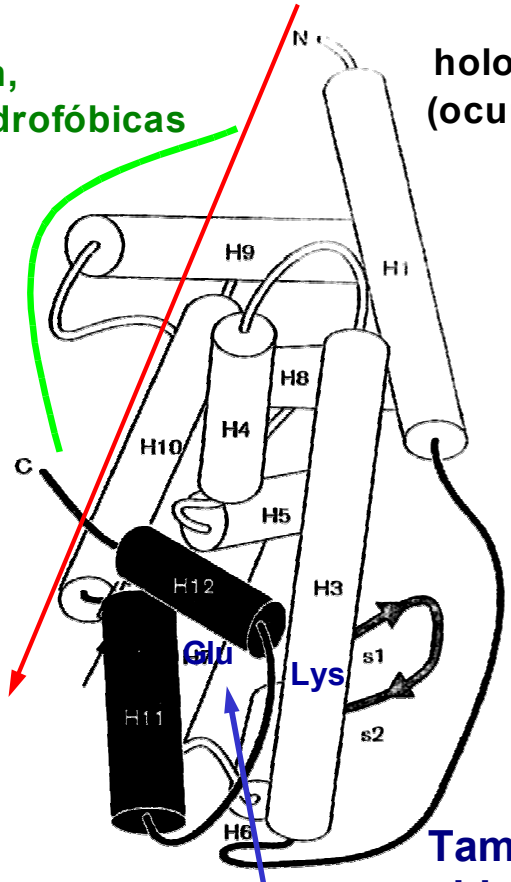
Activación

- **Cambio conformacional inducido por ligando**
- **AF2: motivo φφXEφφ**
  (unión de LXXLL)



apo-LBD
(desocupado)

Interfaz de
dimerización,
Heptadas hidrofóbicas
H9-H10



holo-LBD
(ocupado)

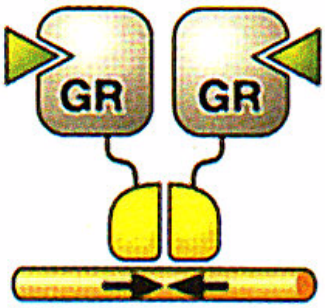
Tamoxifen
bloquea

Bolsillo hidrofóbico
(unión a LXXLL en N-CoA)

Receptores Nucleares: Dimerización

➢ Grupo I: R. de esteroides

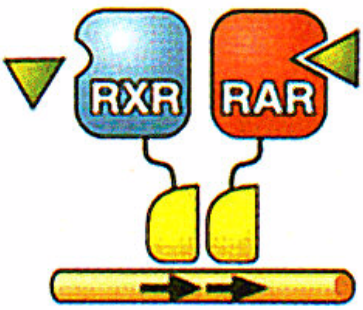
- DNA: Palíndromos
- Homodímeros simétricos



GR glucocorticoides
MR mineralcorticoides
PR progesterona
AR andrógenos
ER estrógenos

➢ Grupo II: Heterodímeros RXR

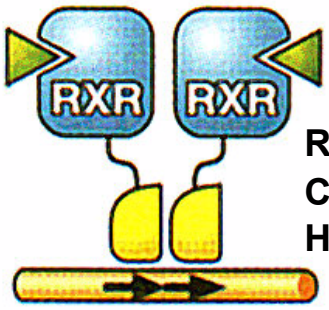
- DNA: Repeticiones directas
- heterodímeros asimétricos
- apo-RXR obligatorio en 5'



TRα,β H. tiroideas
RARα,β,γ *trans*-RA
VDR $1,25(OH)_2D_3$
PPARα,β,γ eicosanoides

➢ Grupo III: R. huérfanos dímericos

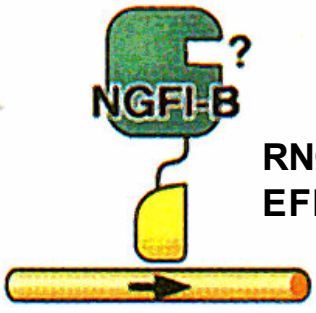
- DNA: Repeticiones directas
- homodímeros asimétricos



RXRα,β,γ 9-*cis*-RA(DR1)
COUP/ARP ?
HNF-4 ?

➢ Grupo IV R. huérfanos monómeros

- DNA: core+5'
- monómeros?



RNGFI-B ?
EFP/SF-1 ?

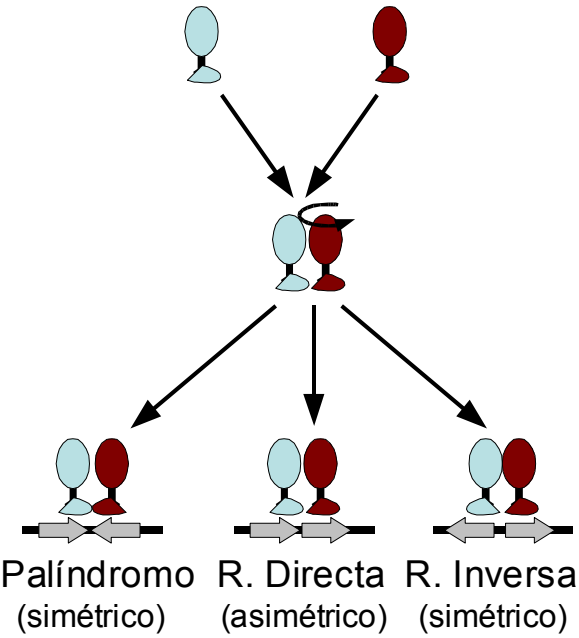
R. Nucleares: especificidad

➢ Disponibilidad diferencial

- **Expresión del receptor**
- **Disponibilidad de hormona**
  (síntesis, degradación, presentación)

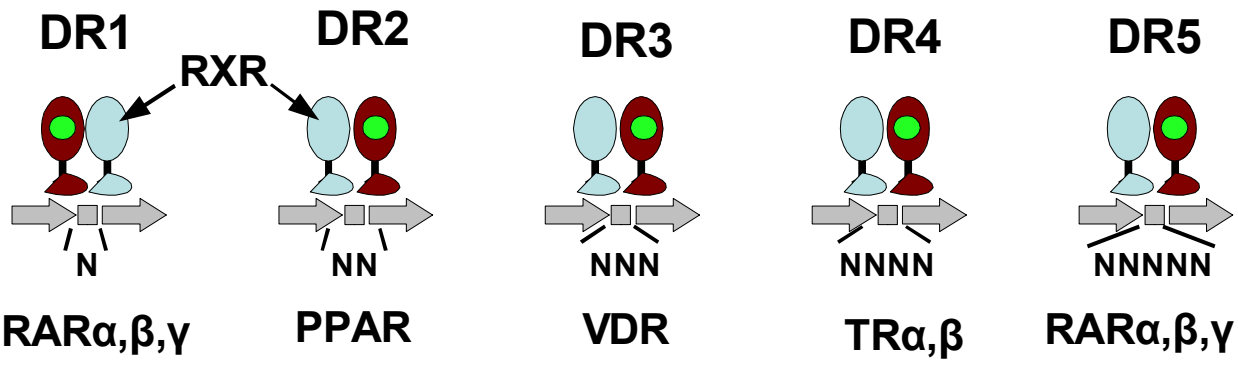
➢ Dimerización combinatoria

- ***Orientación de hemisitios***
  (homo/hetero, simetría)
- **Espaciador: regla 1-5**
  (translación+giro)
- **Variabilidad en HREs**
- **Reclutamiento N-CoA/N-CoR**



Heterodimeros RXR/ZZZ

RXR silente



RXR activo

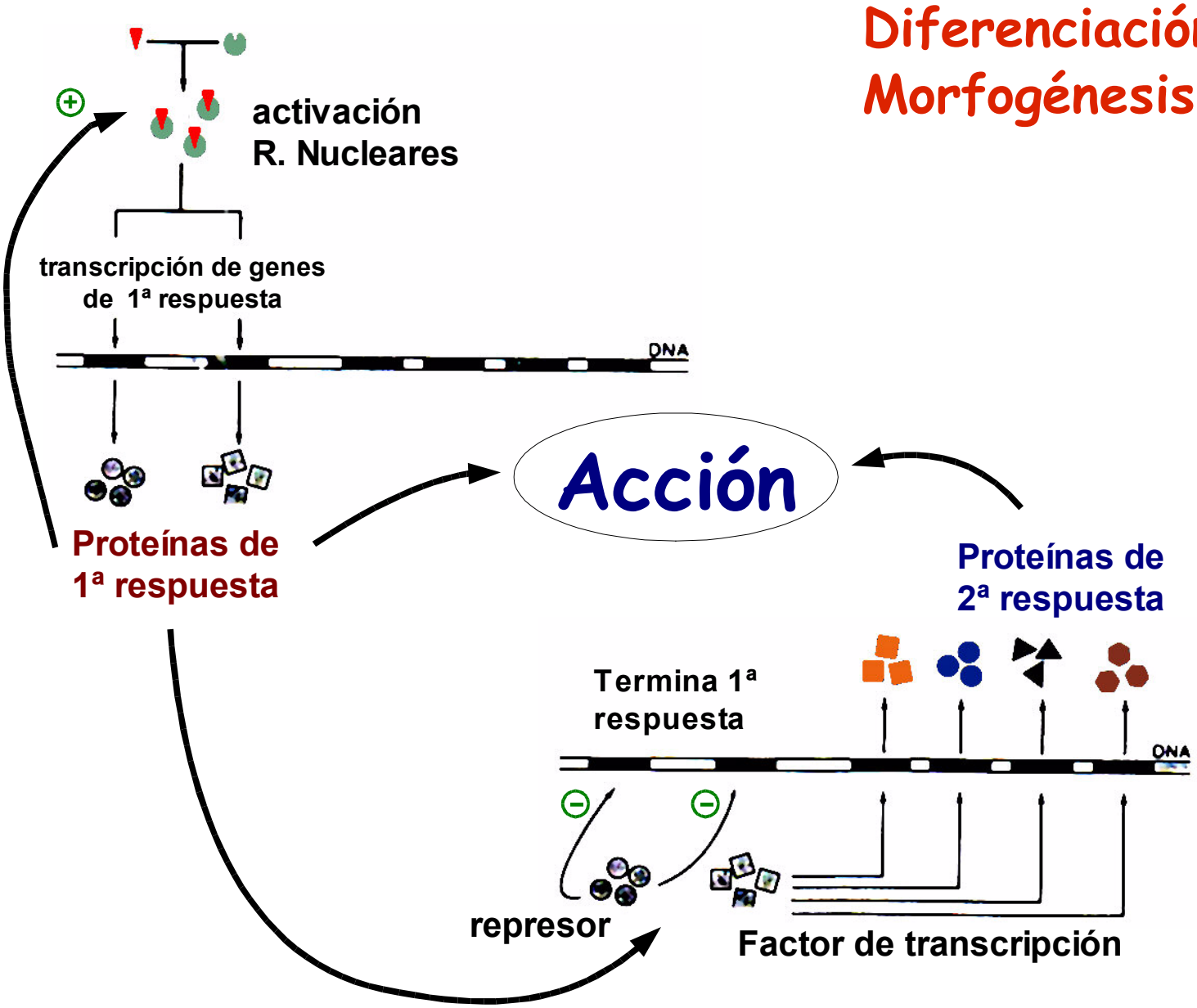
Enrique Castro, 2003

Receptores nucleares: Acciones

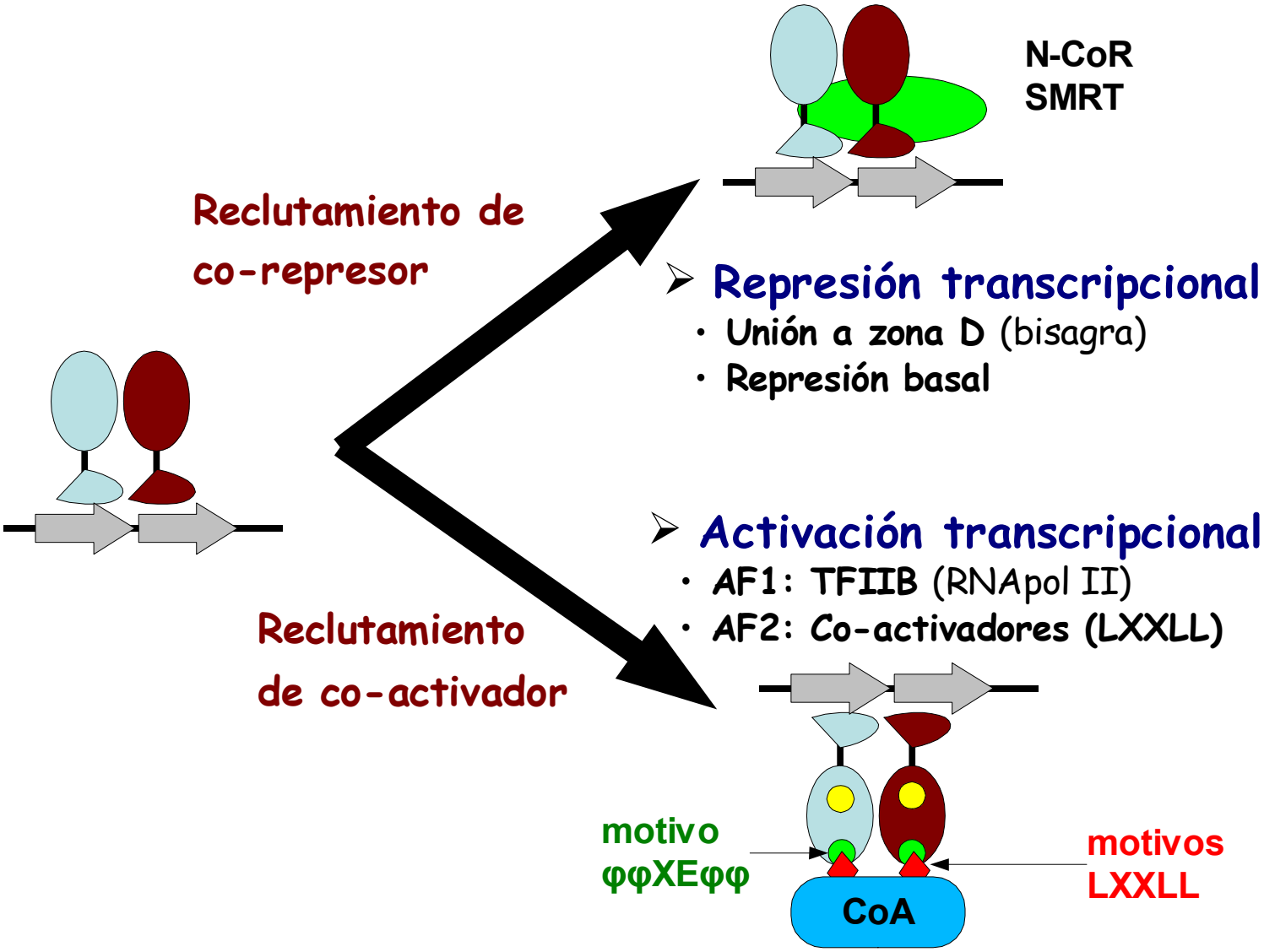
➢ Funciones: Regulación de la expresión génica

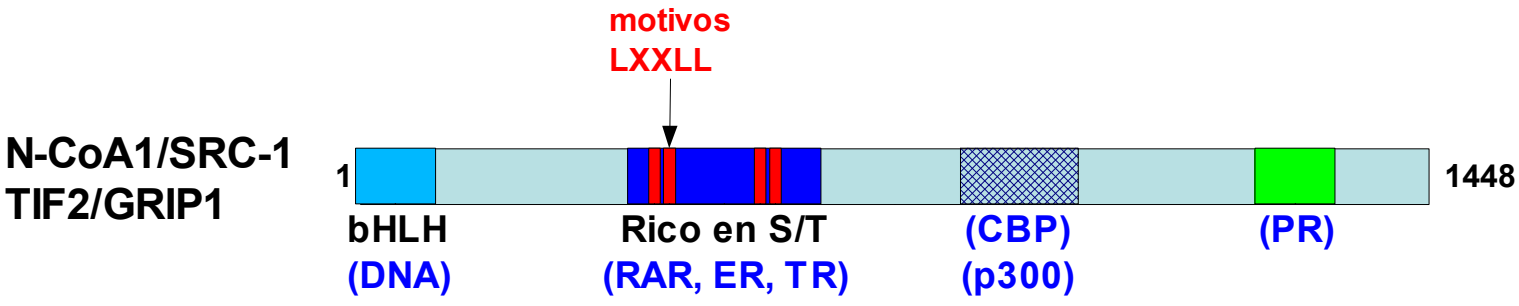
- **Esteroides**
  Glucorticoides: Reacción estrés, Gluconeogénesis, lipolisis
  mineralcorticoides: Transporte Na^+, K^+ y Cl^- en riñón
  andrógenos/estrógenos: C. sexuales, ciclo menstrual
  progestágenos: gestación
- **Tiroideas:** Metabolismo basal, desarrollo
- **Retinoides (Vit. A):** Retina, epitelios
- **Vitamina D:** Metabolismo del Ca^{2+} (intentino y hueso)
- **Otros**

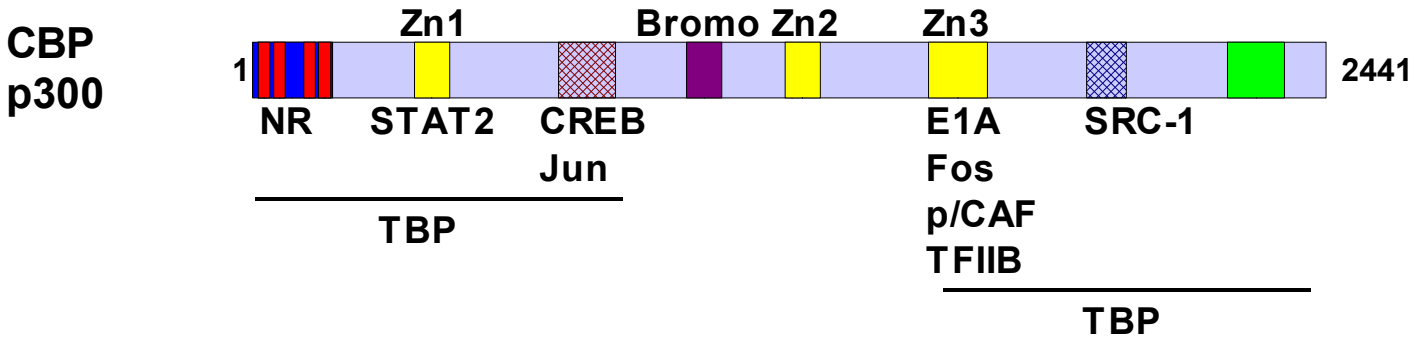
Proliferación
Diferenciación
Morfogénesis



R. nucleares: Co-moduladores

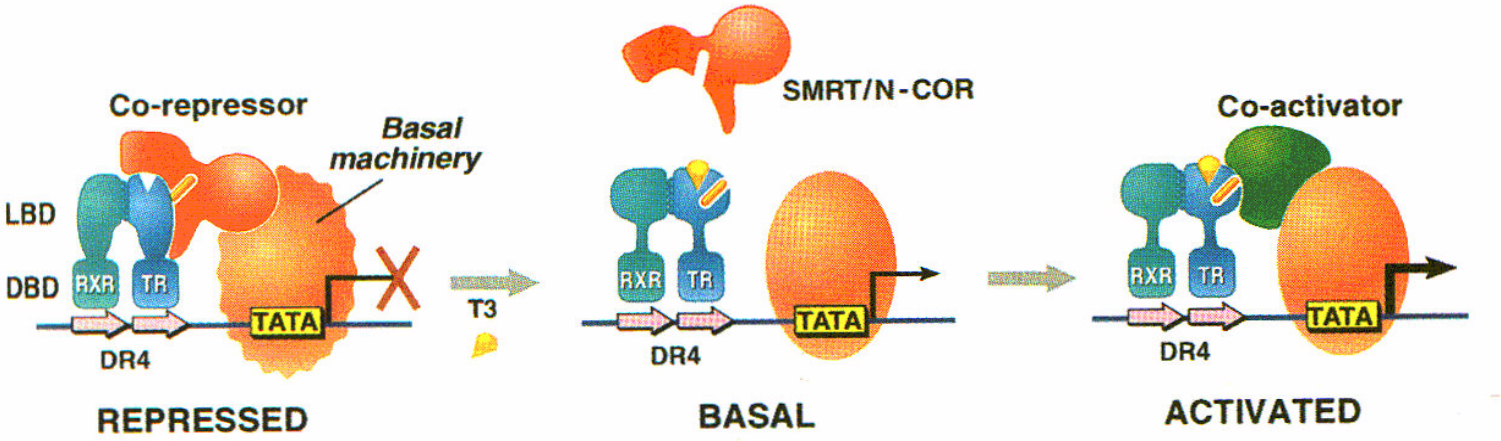


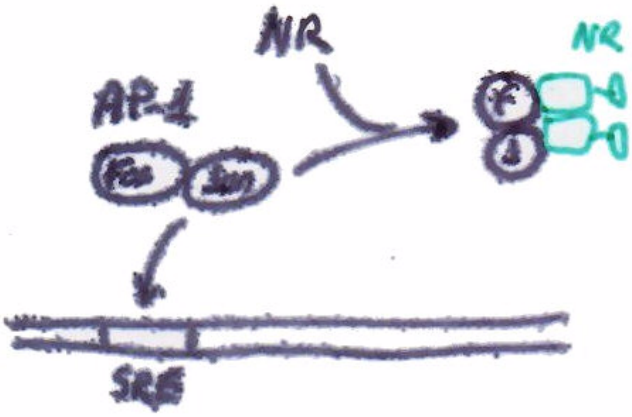




Enrique Castro, 2003

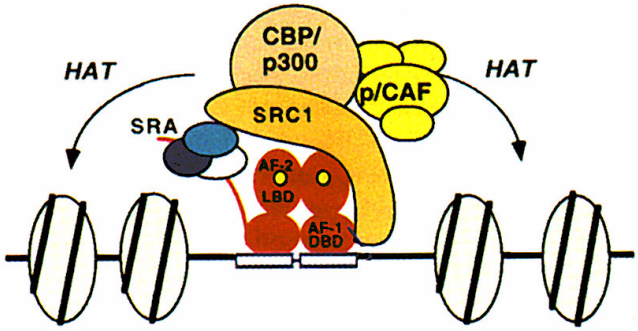
Receptores Nucleares: Regulación Transcripcional

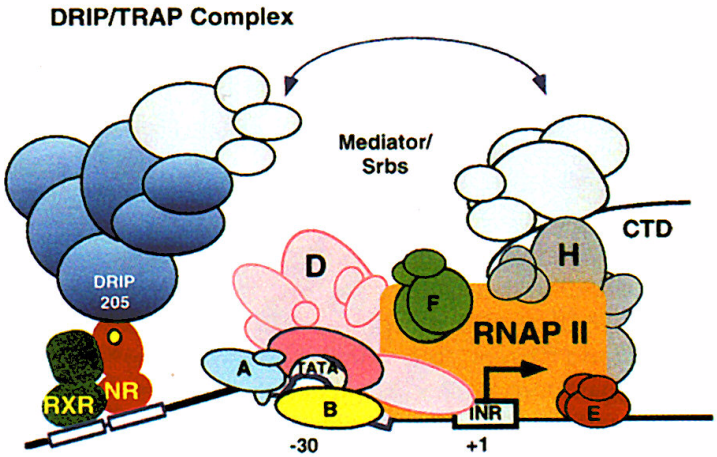




Represión por interacción con AP-1

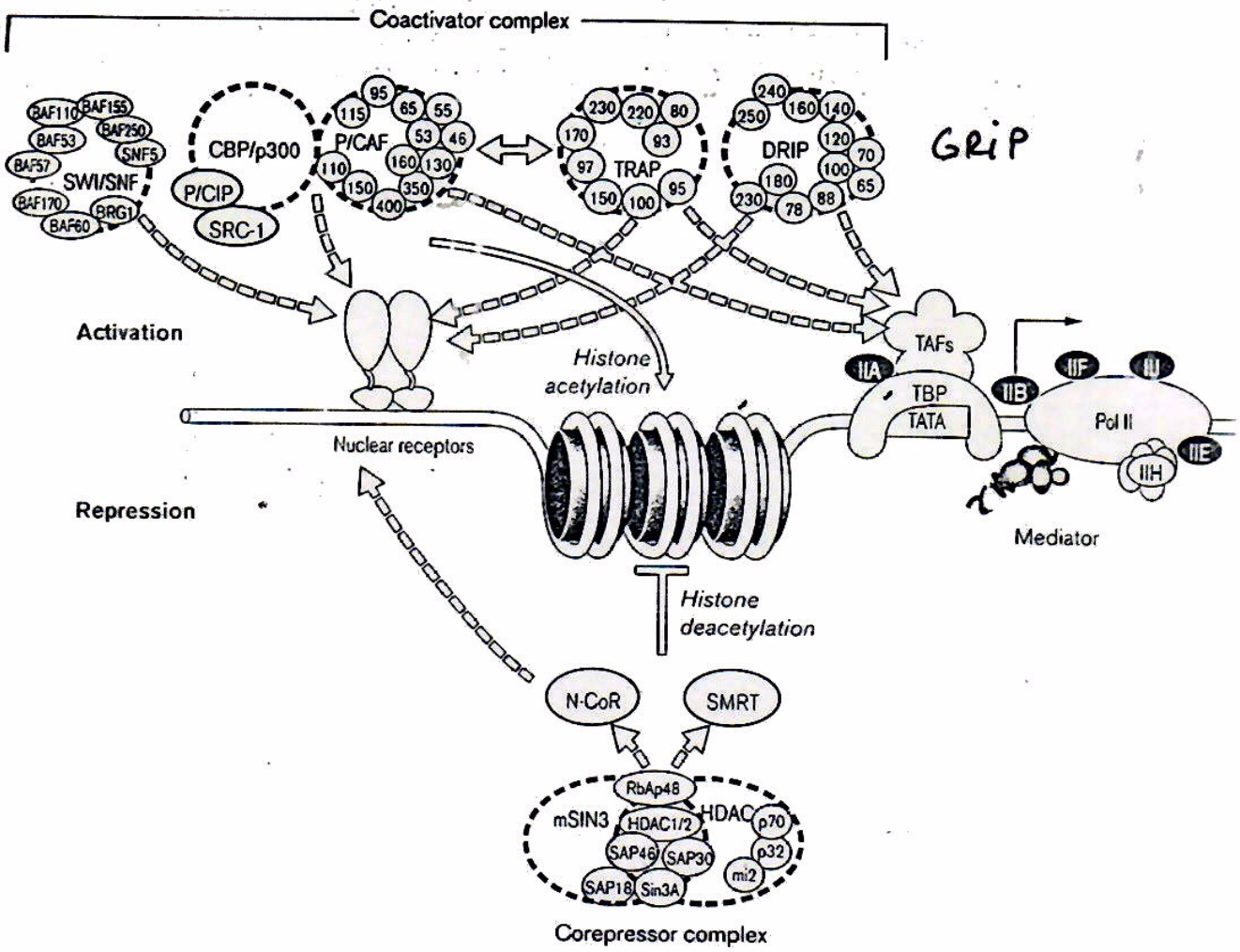
Remodelación de cromatina



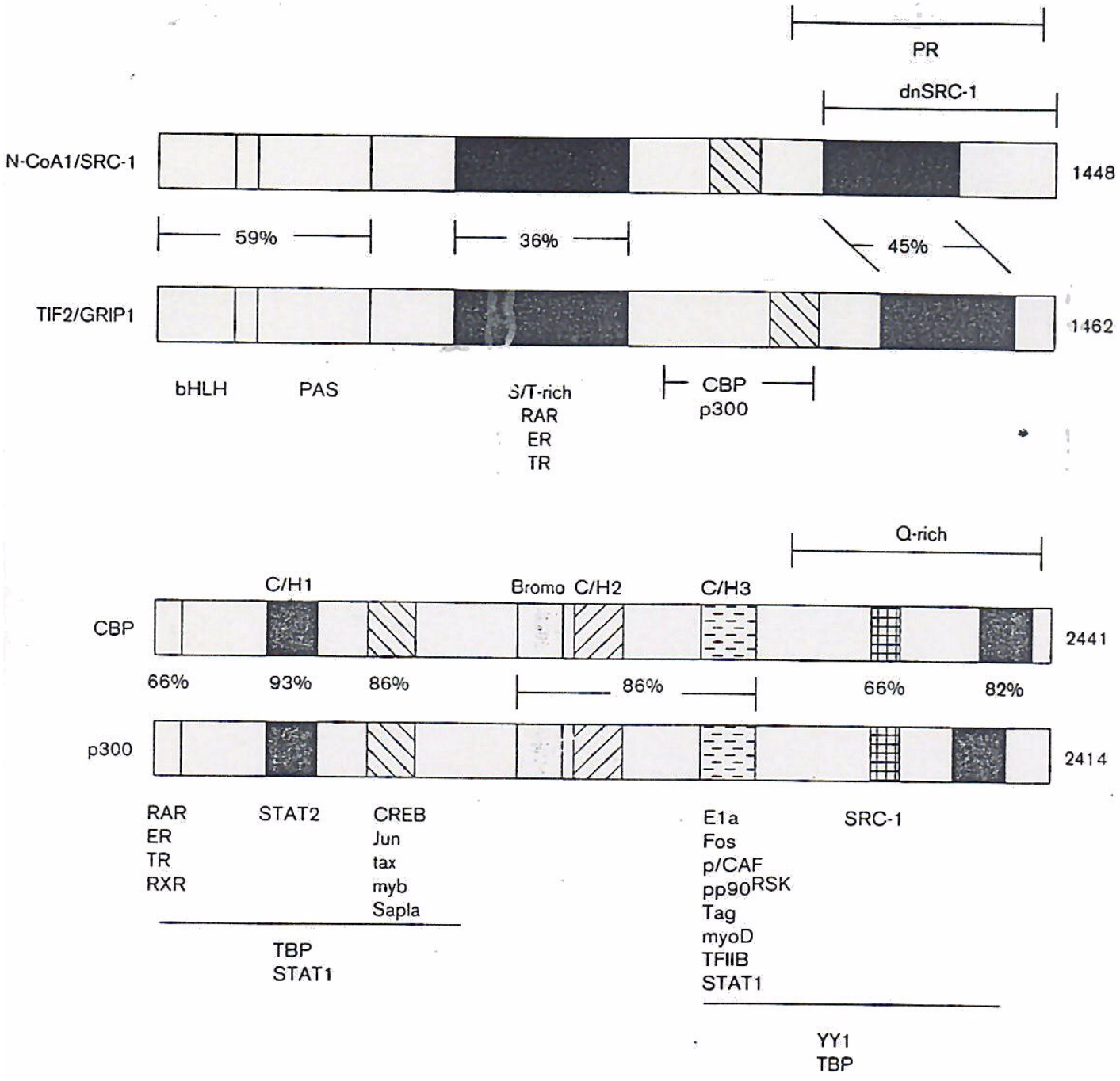


Activación de RNA pol II

Enrique Castro, 2003



Regulation of nuclear receptor functions by multiple coactivator and corepressor complexes. Protein complexes implicated in hormonal regulation of gene transcription are shown. Unknown factors within the complexes are indicated by their apparent molecular sizes (in kilodaltons). Placement of the factors within each complex is arbitrary. Ligands of nuclear receptors induce recruitment of the coactivator complexes, leading to activation of transcription. The double-headed arrow suggests a sequential model in which the TRAP or DRIP complexes activate transcription initiation after the chromatin remodeling step catalyzed by CBP/p/CAF or SWI/SNF complexes. The CBP/p300/p/CAF complexes, as well as the TRAP or the DRIP complexes, may provide link between nuclear receptors and the core machinery (indicated by dashed arrows). The mSin3/HDAC corepressor complexes, harboring deacetylase activities, are linked to nuclear receptors via NCoR or SMRT in the absence of ligands.



omains of the N-CoA/SRC-1, TIF2/GRIP1, CBP and p300 coactivator proteins. **(a)** Alignment of N-CoA1/SRC-1 and TIF2/GRIP1, indicatin e following regions of homology: regions in the amino terminus (PAS and bHLH homology regions); a central region that is involved in nucle ceptor interaction and transactivation; and a carboxy-terminal region that, in the case of SRC-1, interacts with the progesterone receptor R) and enables N-CoA1/SRC-1 to function as a dominant-negative coactivator protein [26•]. The region of SRC-1 found to be required interaction with p300 and CBP is also indicated [28•]. The nuclear receptors that have been shown to interact with the central region the RAR, ER and TR. **(b)** Alignment of mouse CBP and human p300. Regions involved in interaction with STAT1 and STAT2, nuclear ceptors (RAR, ER, TR and RXR), Jun, CREB, YY1, Fos, E1A, p/CAF, pp90RSK, and SRC-1 (amongst other proteins) are indicated, as are t ee zinc fingers (C/H1, C/H2 and C/H3) and the bromodomain (Bromo). Proteins that interact with the different domains are shown below 00. dnSRC-1, dominant-negative SRC-1; Q-rich, glutamine-rich domain; S/T-rich, serine/threonine-rich domain; TBP, TATA-binding protein. rcentages refer to amino acid identity between proteins.

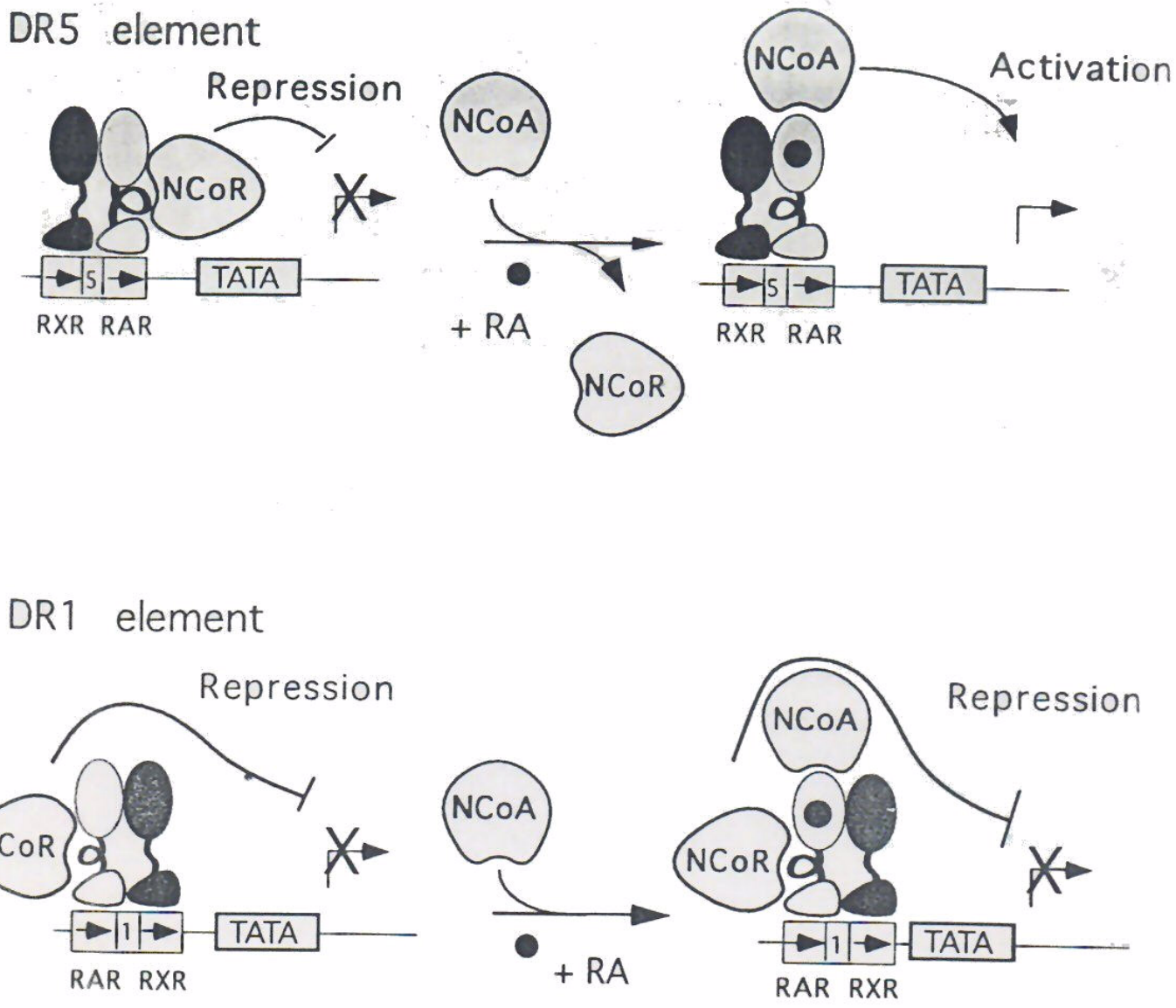
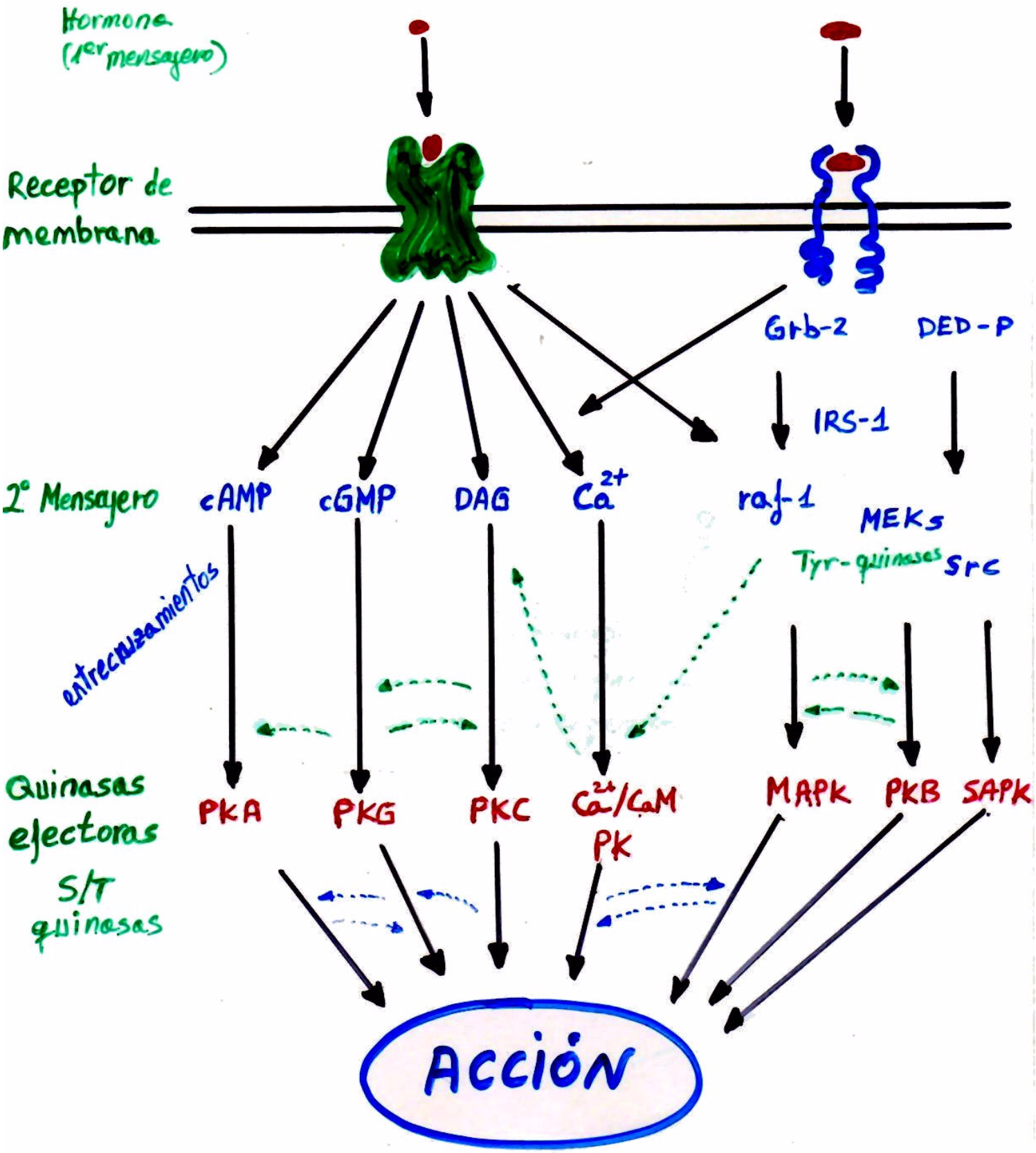
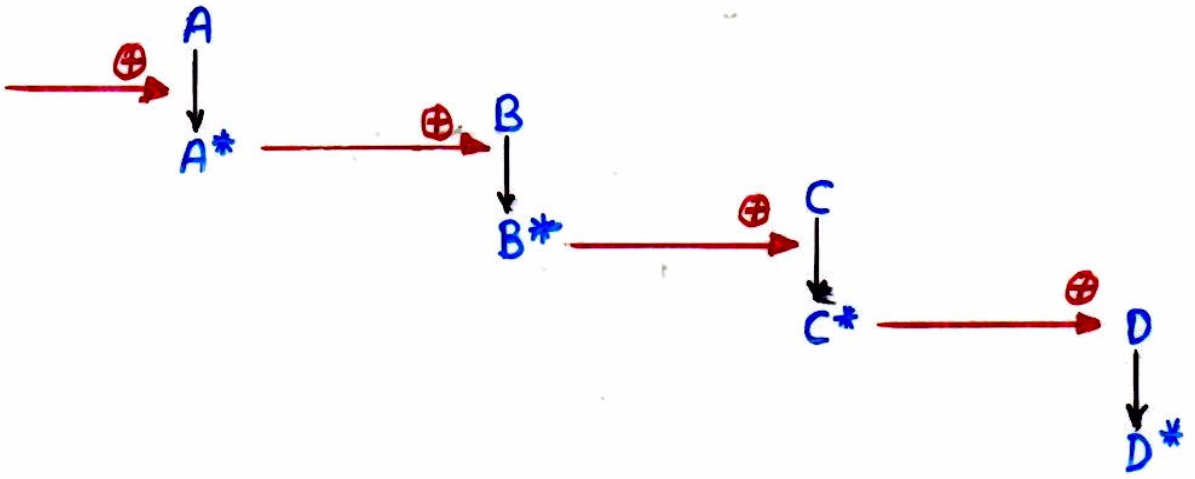


Figure 3 Control of co-activator and co-repressor interactions with RAR/RXR heterodimers by RAR ligands and polarity of DNA binding. In the absence of an RAR ligand, N-CoR interacts with RAR/RXR heterodimers through the RAR hinge and ligand binding domain. On a DR5 element, ligand effects the release of N-CoR and the recruitment of nuclear receptor co-activators (NCoA), such as SRC1. A similar sequence would be observed for TR/RXR heterodimers bound to DR4 elements. On DR1 elements, the polarity of RAR/RXR binding is reversed and the retinoic acid receptor assumes a conformation that prevents ligand from releasing N-CoR. As a result the heterodimer constitutively represses transcription.

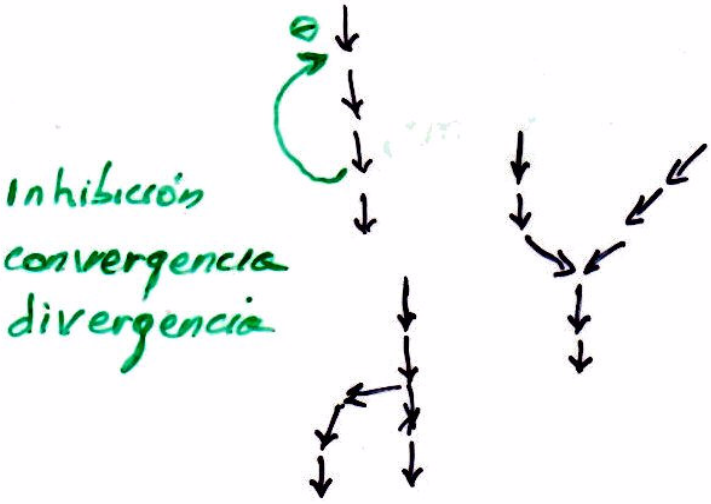
Niveles de señalización



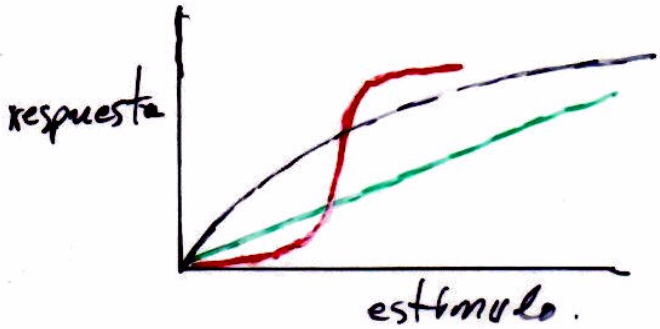
Cascadas de transducción de la señal



- amplificación
- regulación

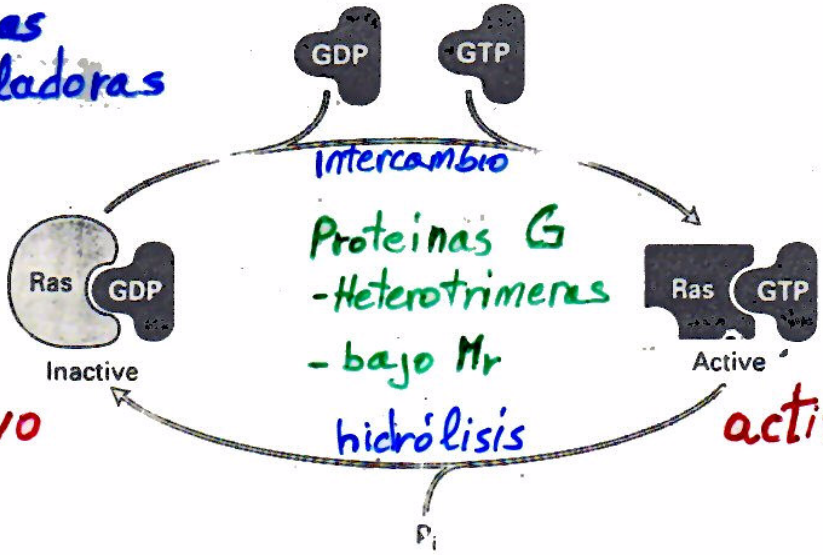


- Sensibilidad: interruptor sigmoidal



Estrategias comunes

* GTPasas controladoras



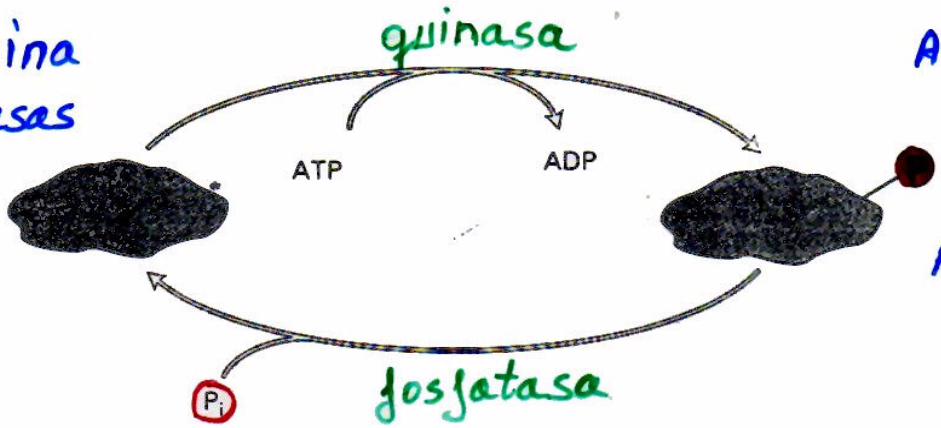
Proteinas G
- Heterotrimeras
- bajo Mr

inactivo

activo

- interruptor
- amplificacion (ganancia)

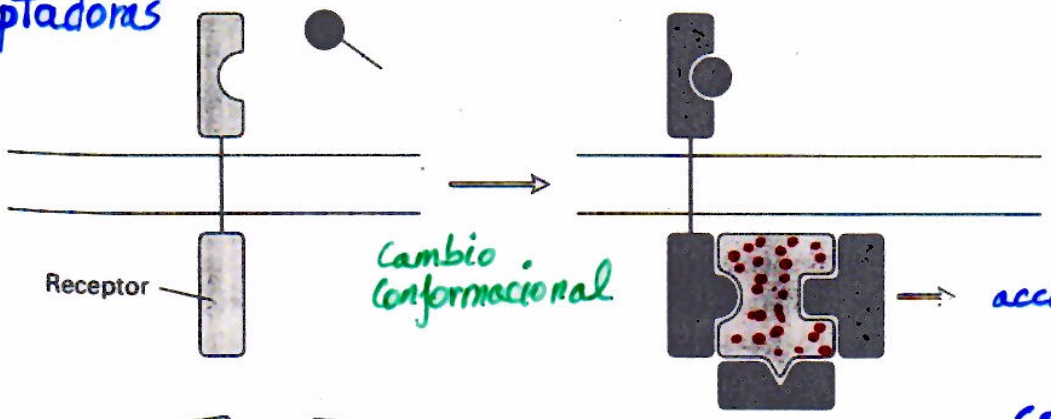
* Proteina quinasas



Actividad enzimática ↑ ↓

Actividad de unión reclutamiento (translocación)

* Proteinas adaptadoras



complejo de señalización

- andamiajes

Receptores de membrana

Canales activados por transmisor

- canales iónicos
- t. sináptica, muscular
- oligómeros constitutivos

1-4TM - S.F. R. ionotrópicos

R. acoplados a proteínas G

multifuncionales
monómeros (?)

7TM - S.F. R. metabotrópicos (GPCR)

R. con actividad enzimática intrínseca

1TM
- F. R. guanilato-ciclasas de membrana
- R. Tyr fosfatasas CD45
- S.F. Receptor de TGF-β: Ser/Thr quinasa
- S.F. Receptores Tyr-quinasas (RTK)
  - Factores de crecimiento
  - MAPk

Oligomerización por ligando

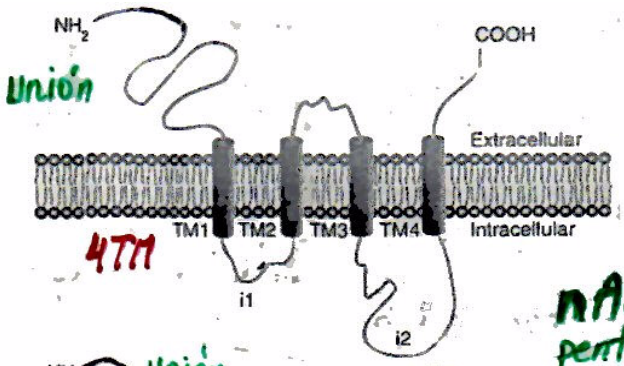
R. que reclutan enzimas

1TM
- S.F. Receptor de citoquinas
  - Tk asociadas
  - Tk solubles

TK no-receptor
Jak Src

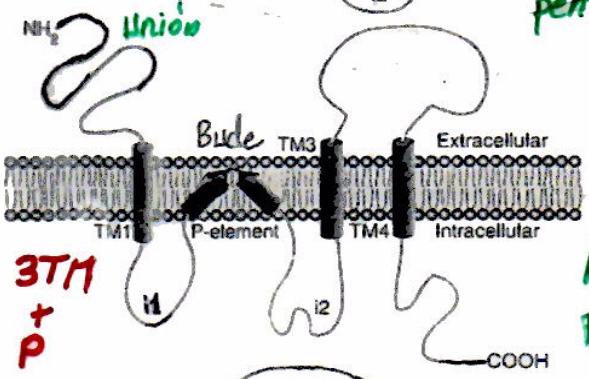
- S.F. Receptor de TNFα Dominios Muerte (DD)
- Integrinas contacto intercelular

Receptores ionotrópicos



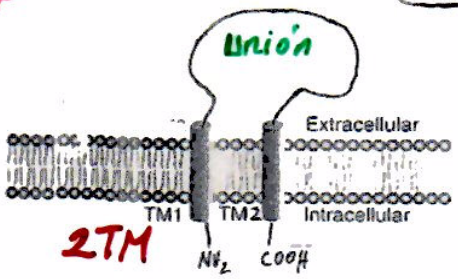
nAchR
pentámeros

- canales iónicos activados por ligando



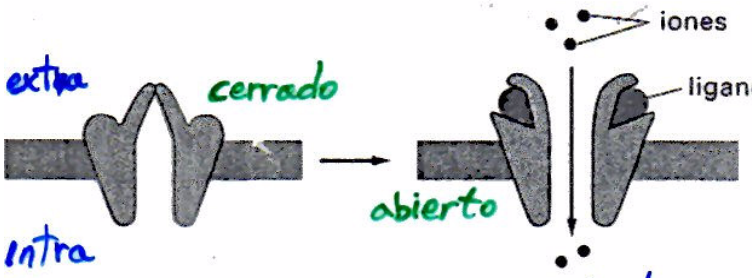
¿GluR
pentámeros?

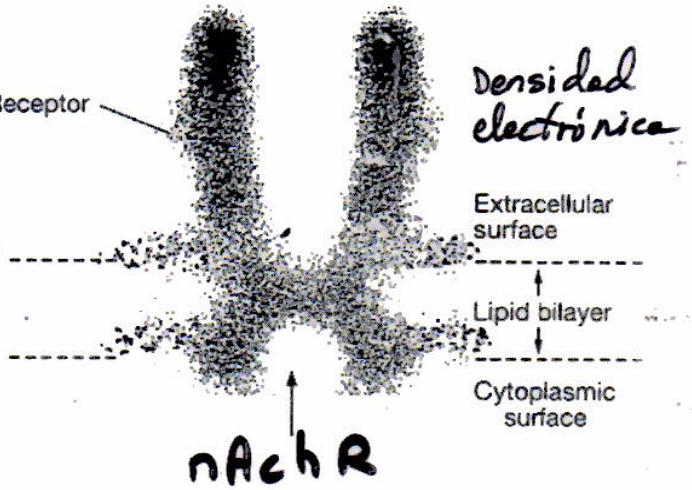
- Transmisión sináptica rápida



P2X
trímeros?

- Transmisión neuromuscular

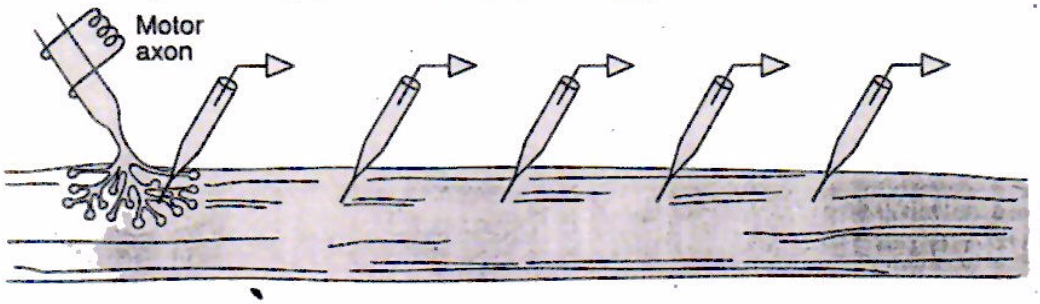




corriente eléctrica

VSCC → Ca^{2+}

potencial de membrana



Receptores acoplados a Proteínas G

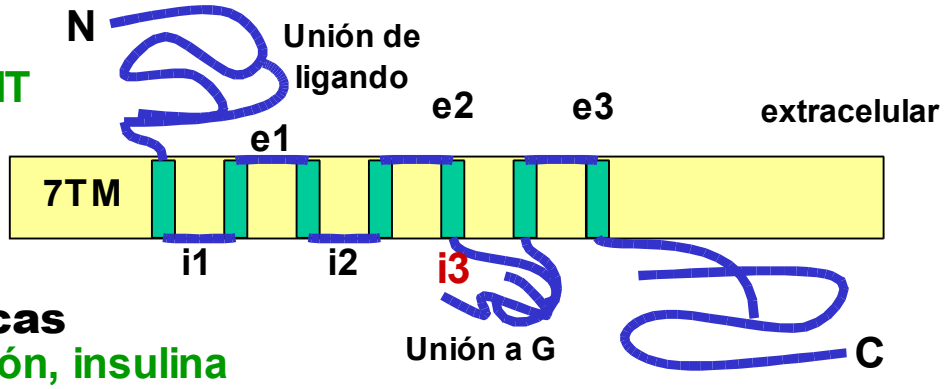
>> 1000 tipos

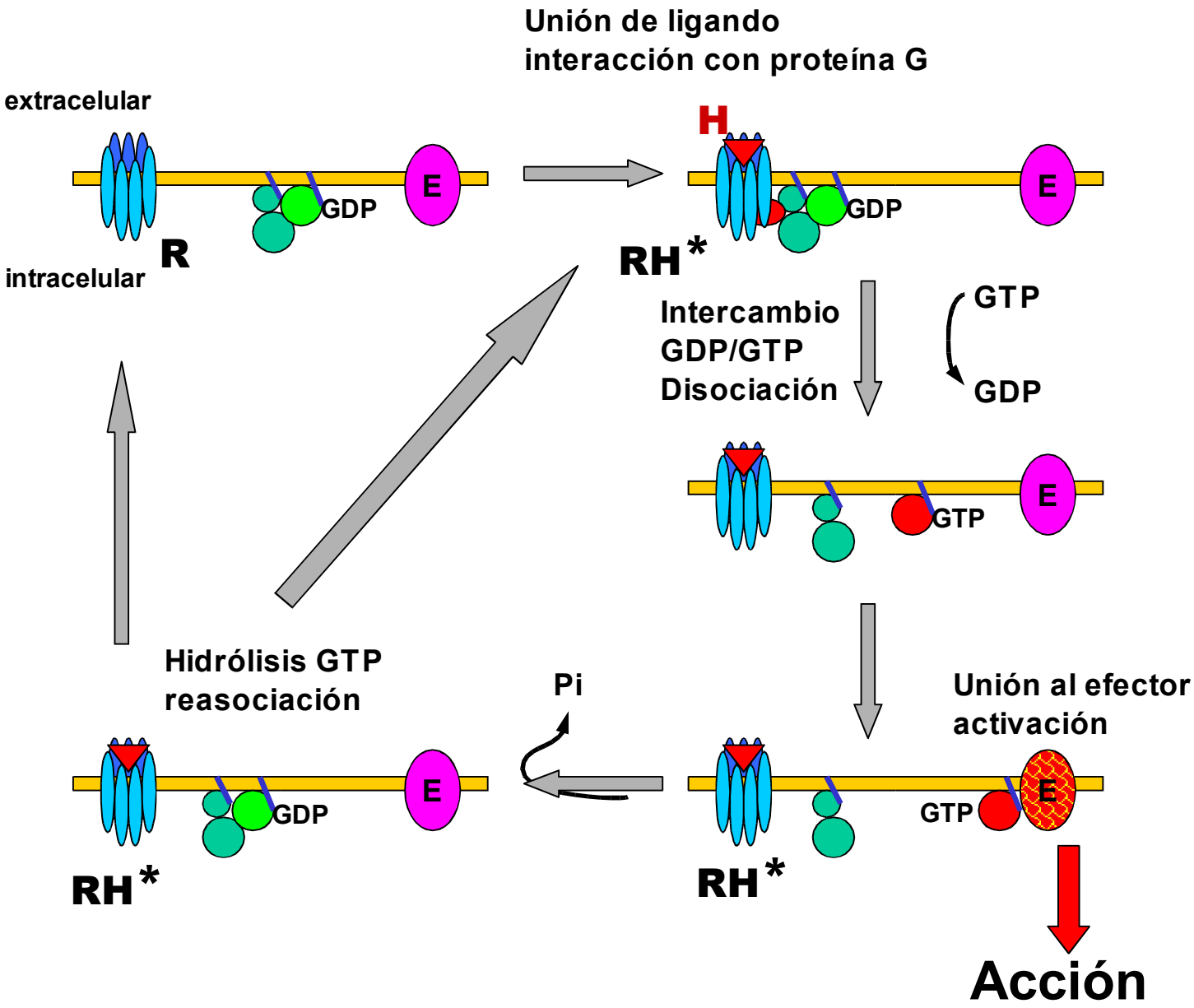
Aminas
DA, NA, Adr, 5-HT

Péptidos
SP, BK, ACTH

H. Polipeptídicas
FSH, LH, glucagón, insulina

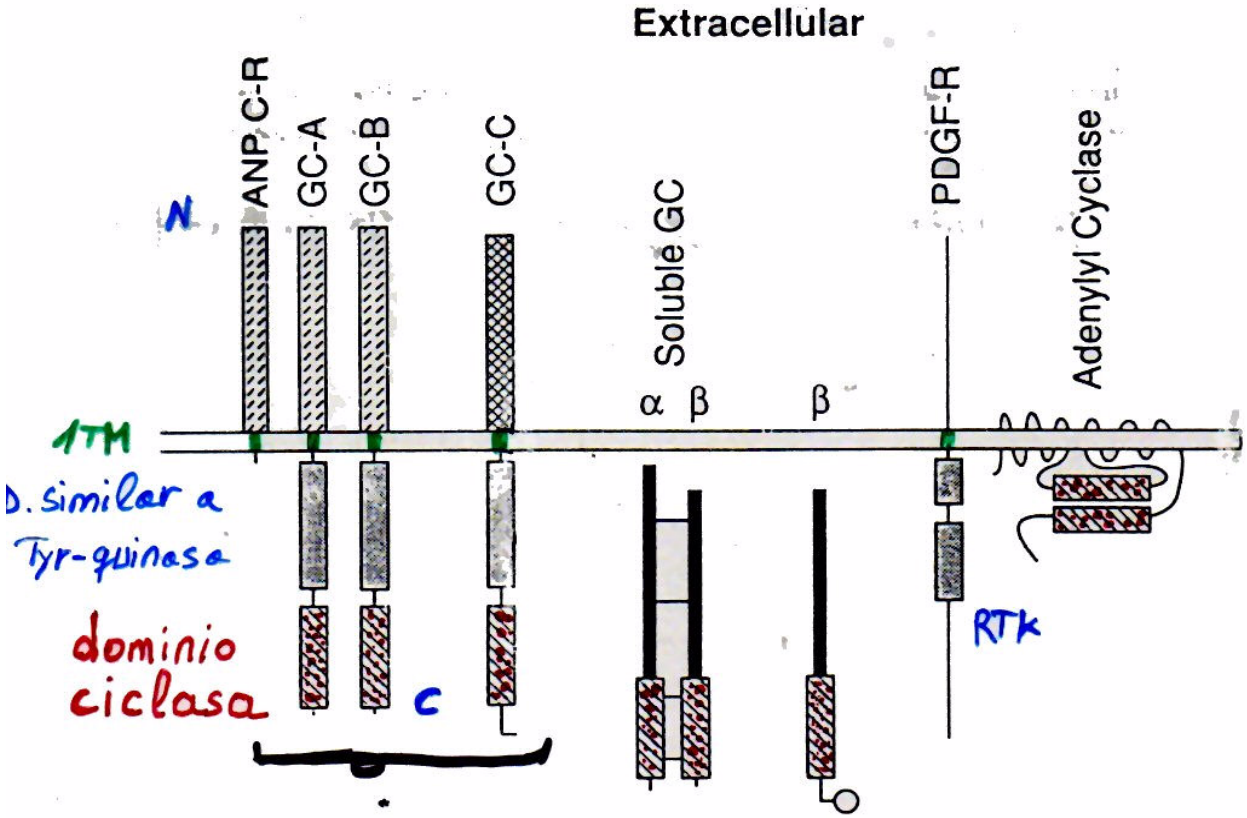
Prostaglandinas





Enrique Castro, 2003

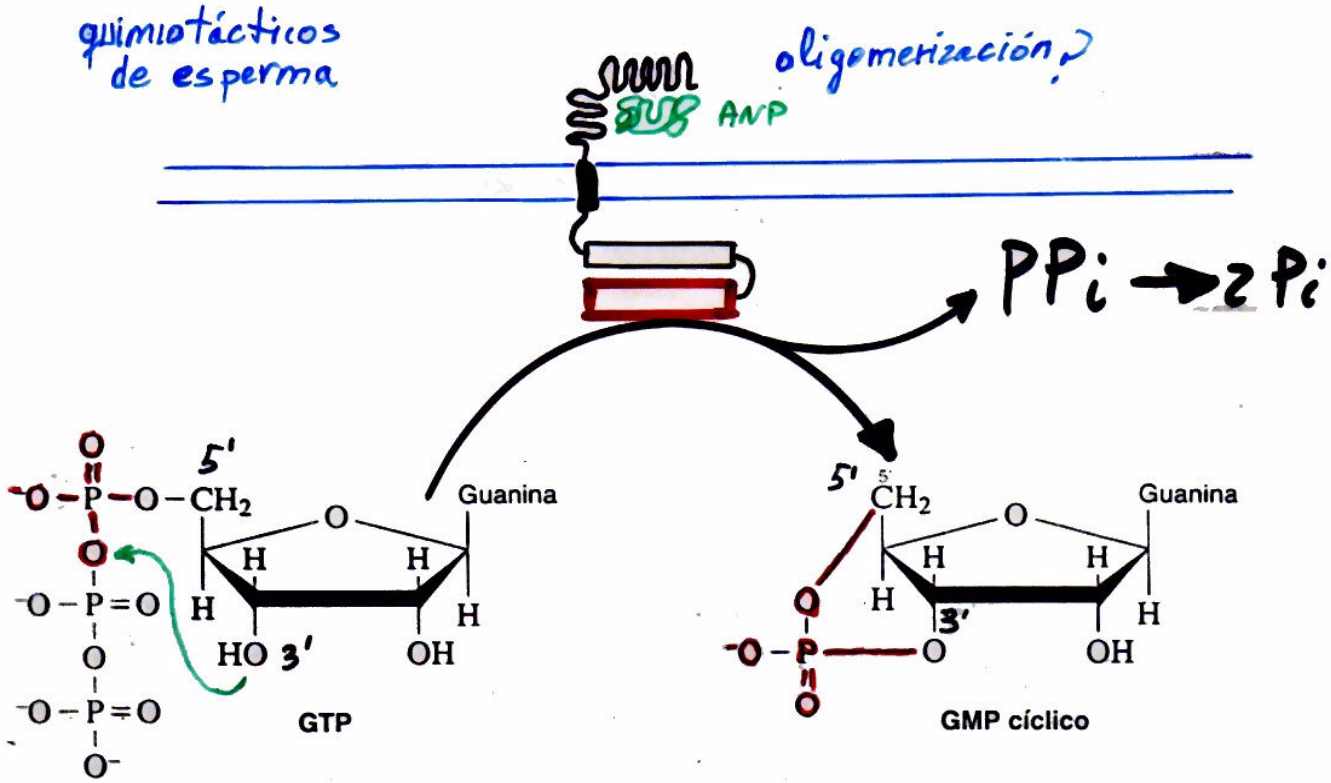
Receptores guanilato-ciclasa



Receptor ANP: péptido atrial natriurético

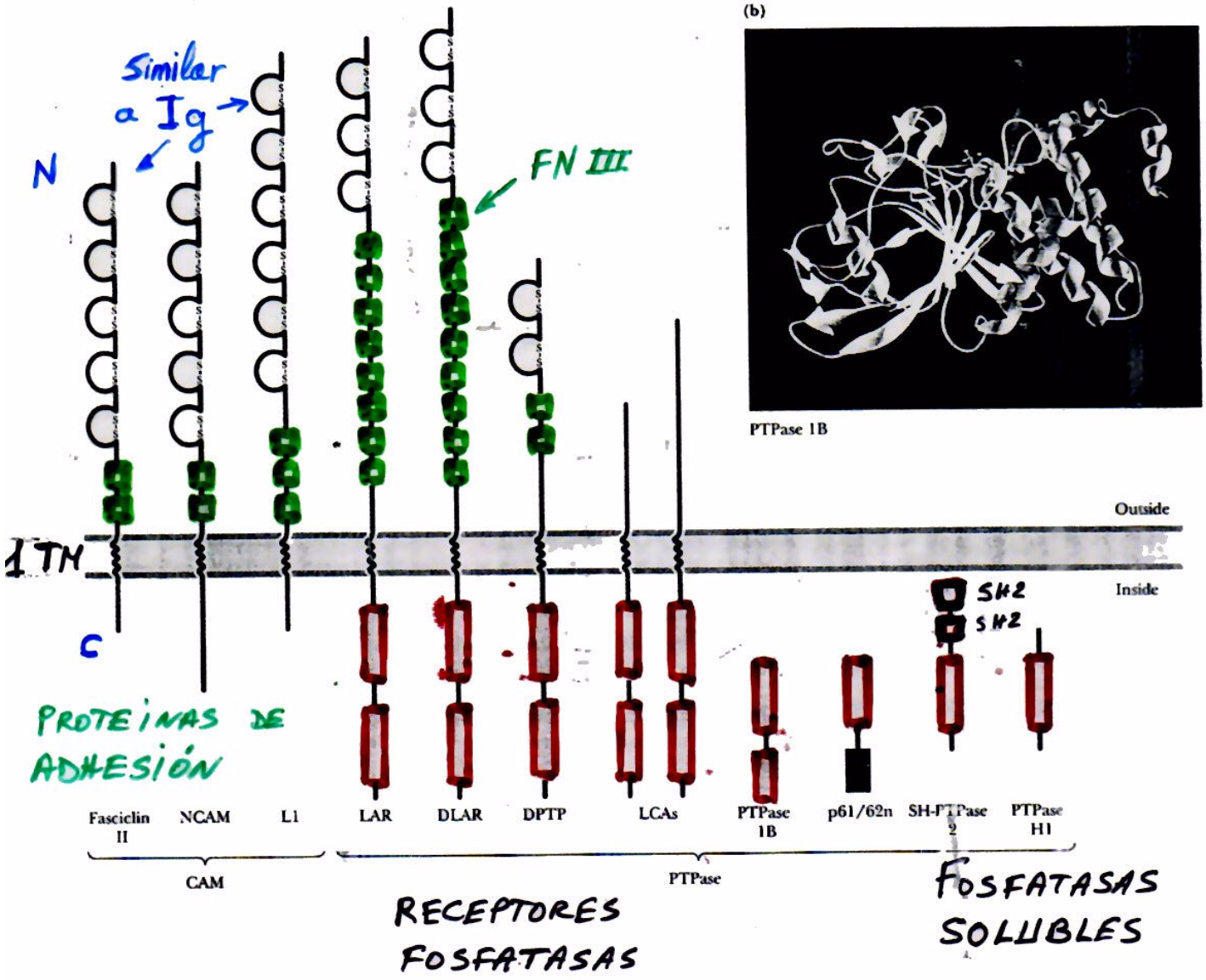
Guanilin (enteropéptido), enterotoxinas

quimiotácticos de esperma

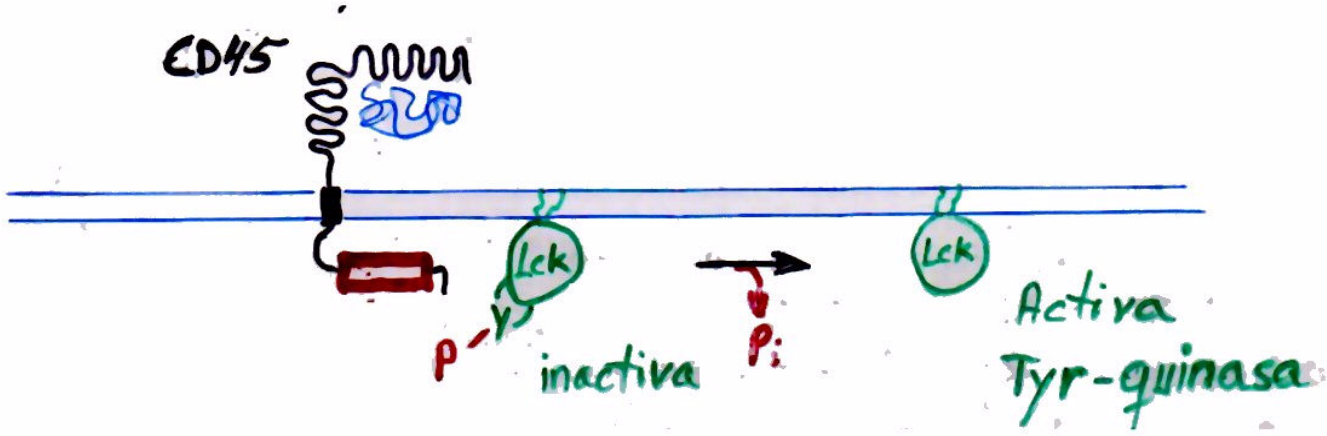


Receptores Proteina-fosfatasas

Y-P fosfatasas



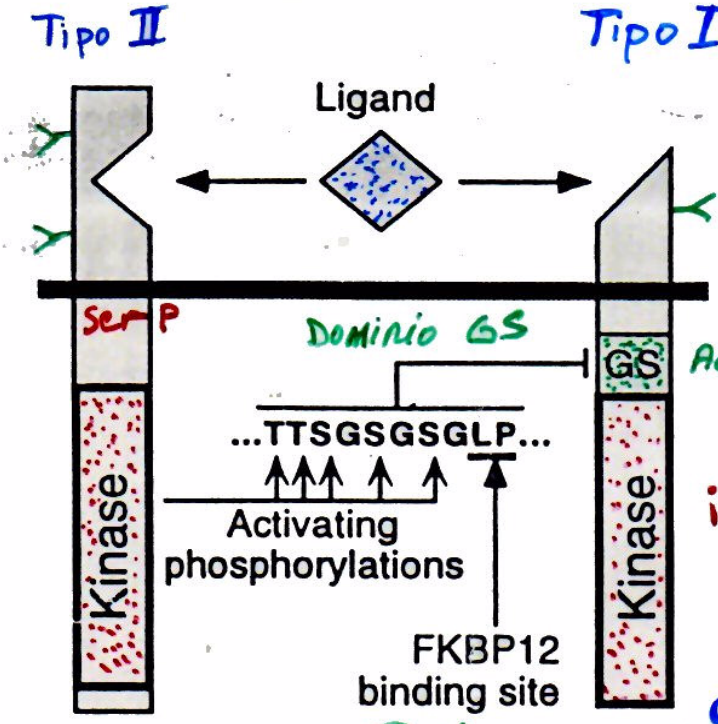
PTPase 1B

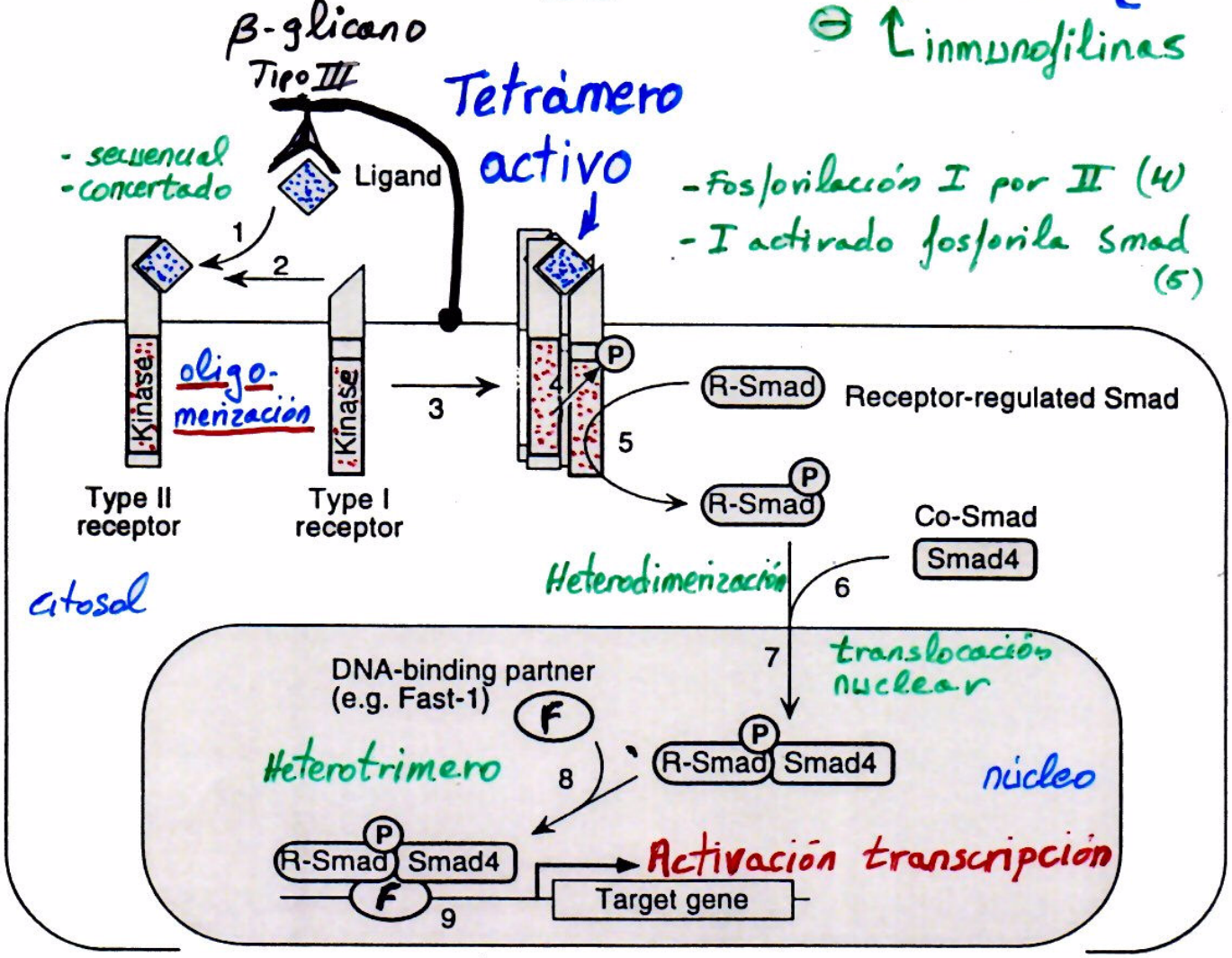


Receptores Ser/Thr - quinasas

TGF-βs
BMPs
GDFs (cartílago)
Activinas

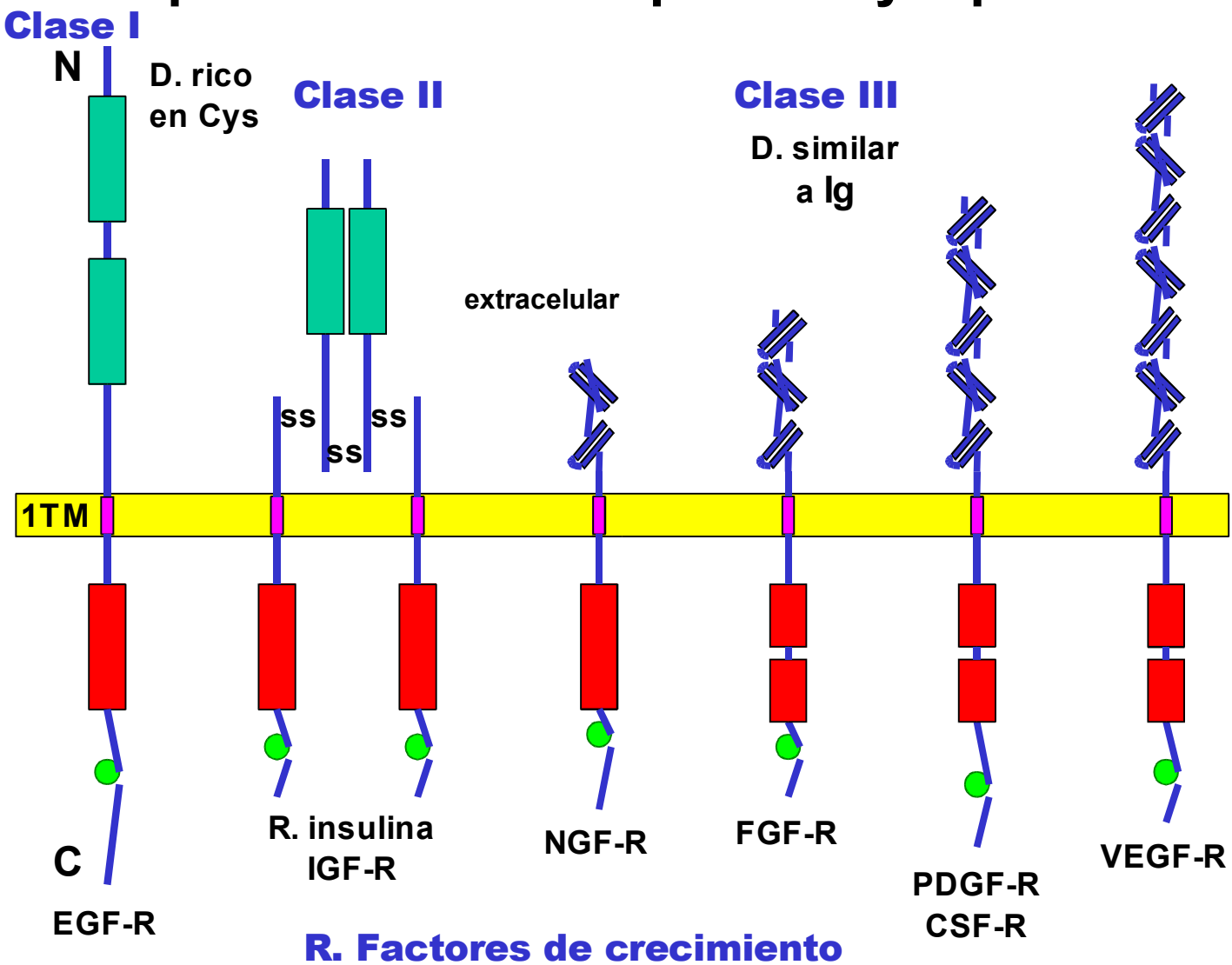
diferenciación
antimitóticos



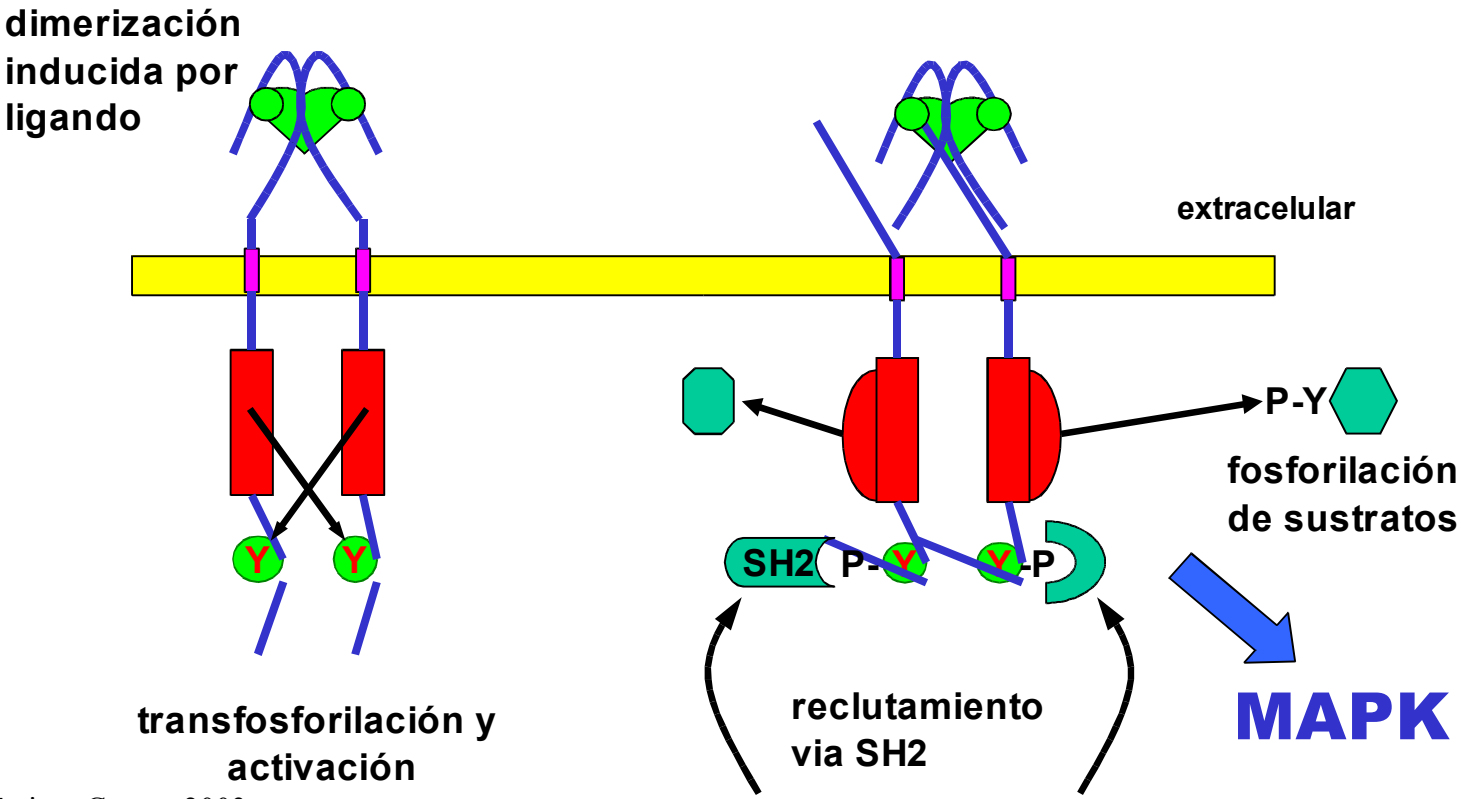


- Fosforilación I por II (4)
- I activado fosforila Smad (5)

Superfamilia de receptores Tyr-quinasa

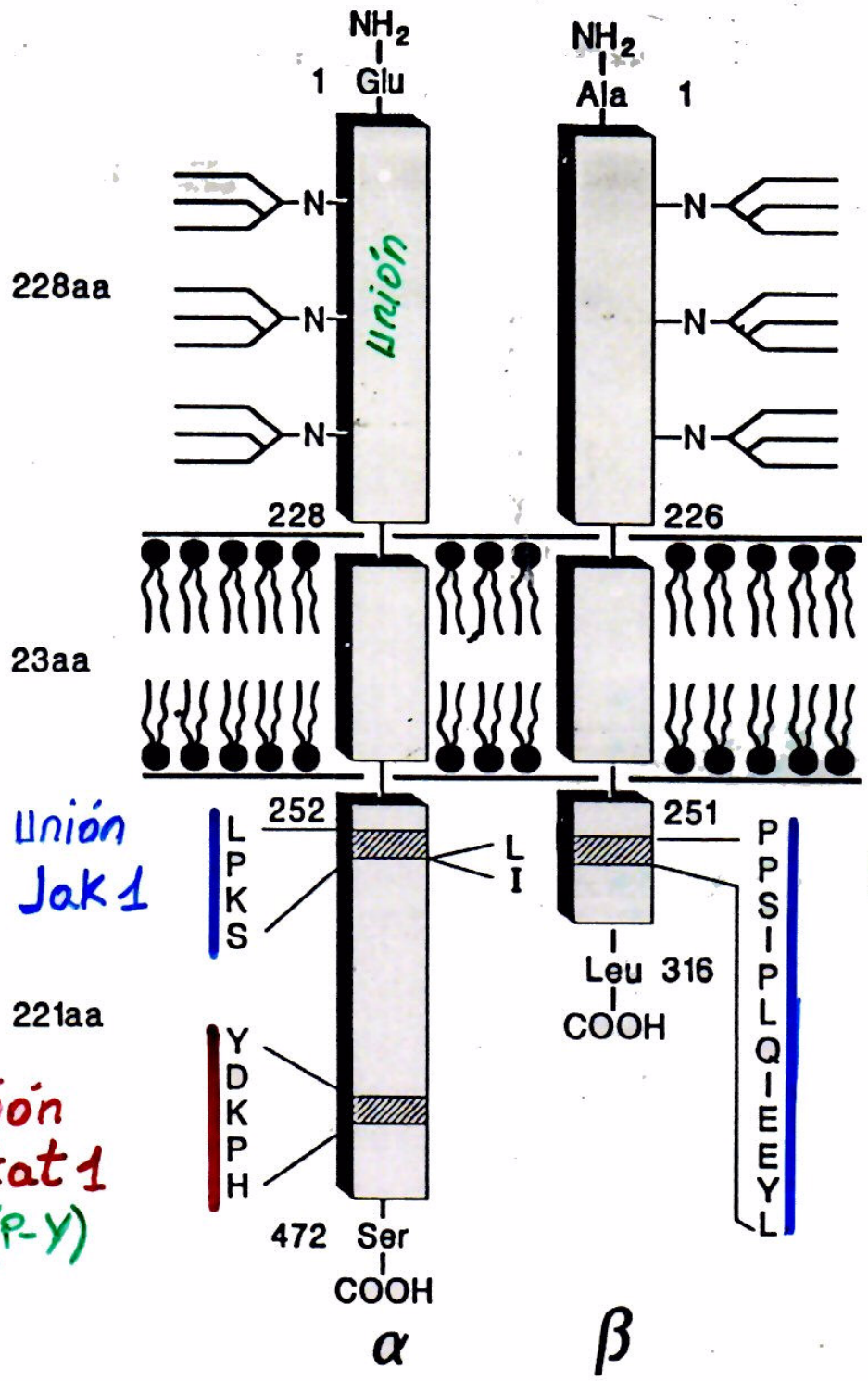


R. Factores de crecimiento mitógenos

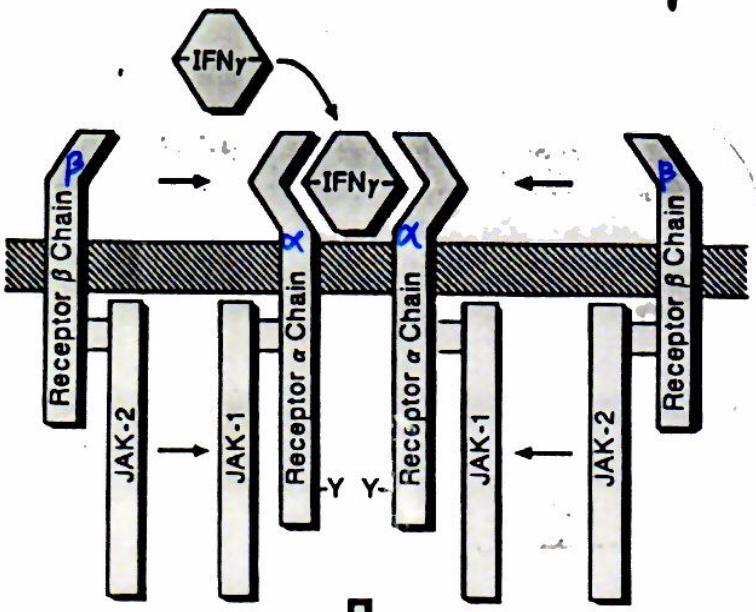


Enrique Castro, 2003

Receptor de IFN-γ

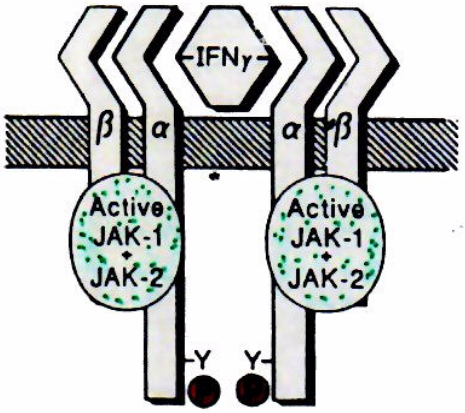


Señalización por citoquinas: IFNγ

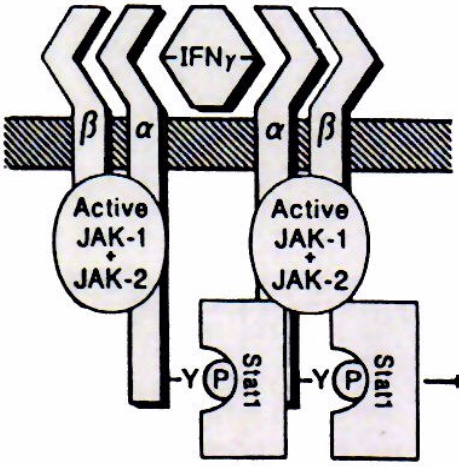


Basal: α/β disociadas
Jak unidas

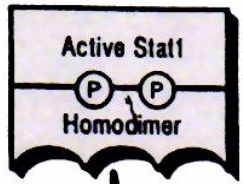
- ensamblaje tetrámero activo
  - dimerización α-L-α
  - reclutamiento β



- Activación de Jaks y transfosforilación
  - activación Jak2
  - transfosforilación
    Jak2 → Jak1
    Jak1 → Jak2
  - Sitio unión STAT

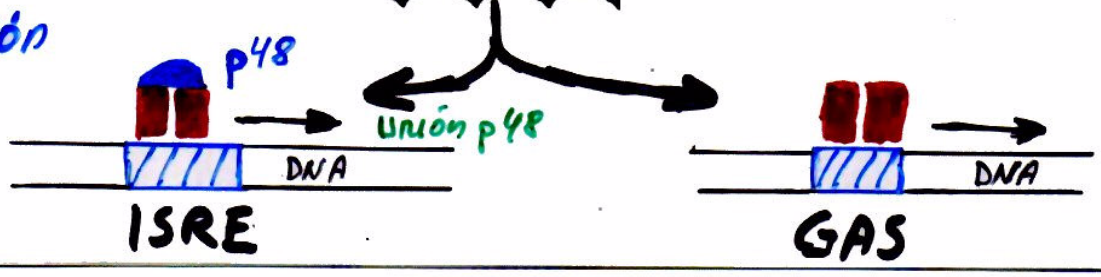


- Reclutamiento de Stat
  - Unión Y-P vía SH2
  - Tyr fosforilación

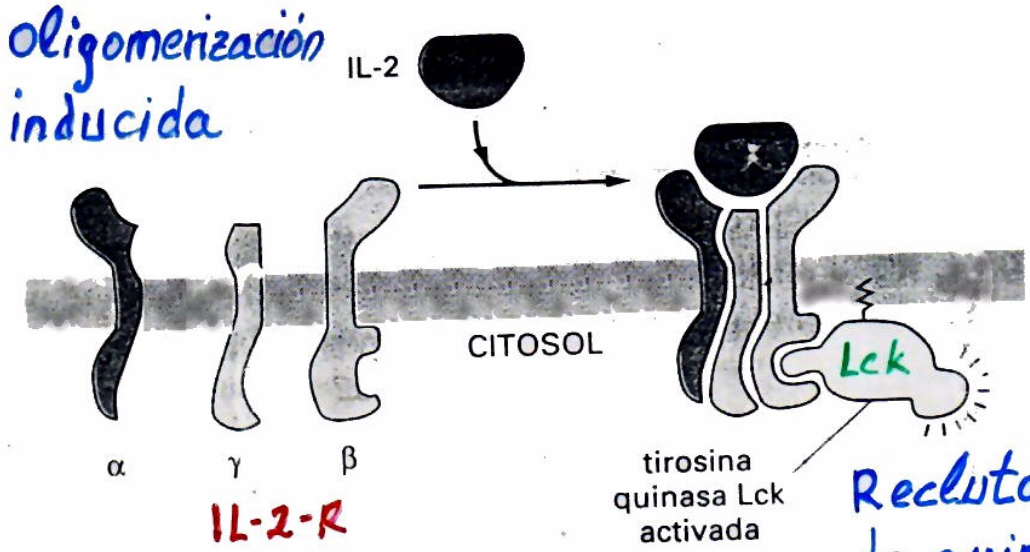


- Dimerización Stat
  - Unión SH2
  - Ser- fosforilación

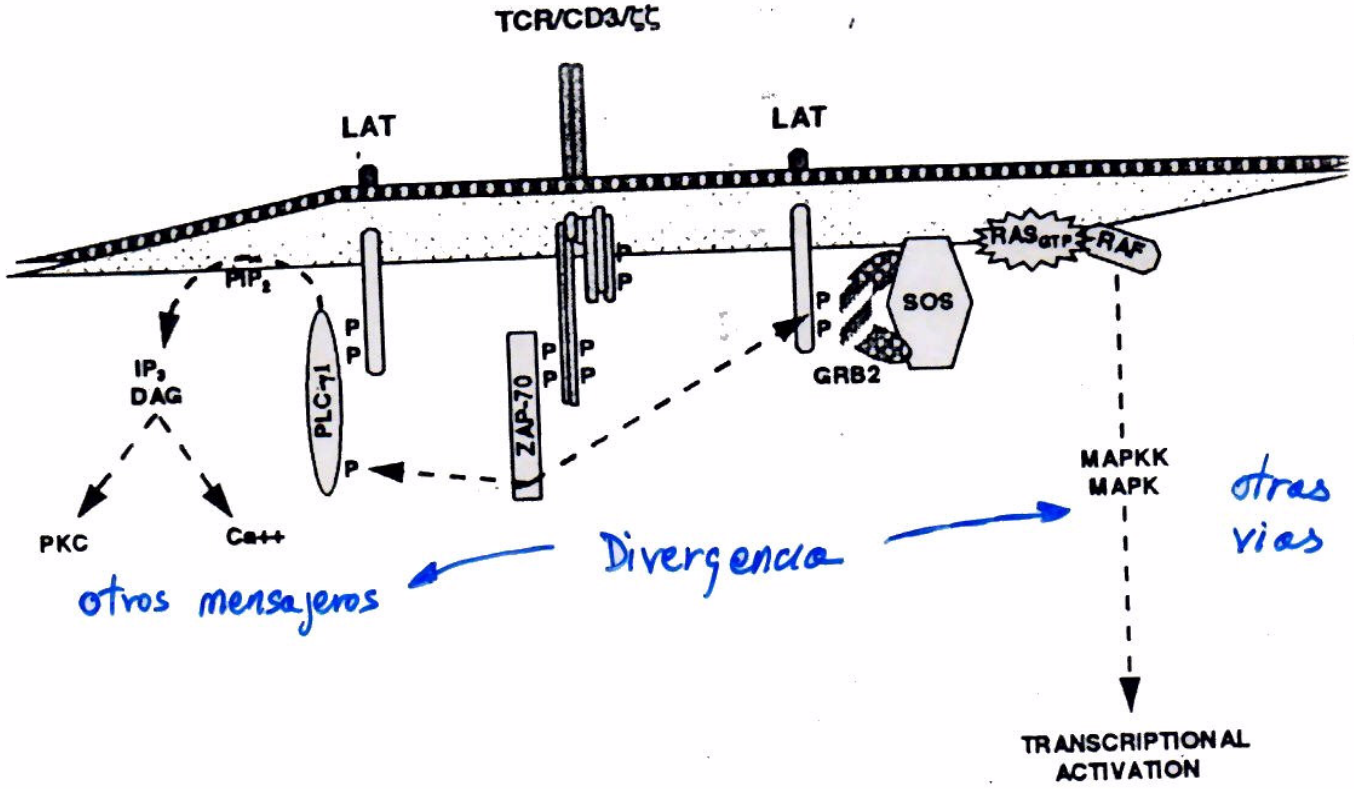
- translocación nuclear

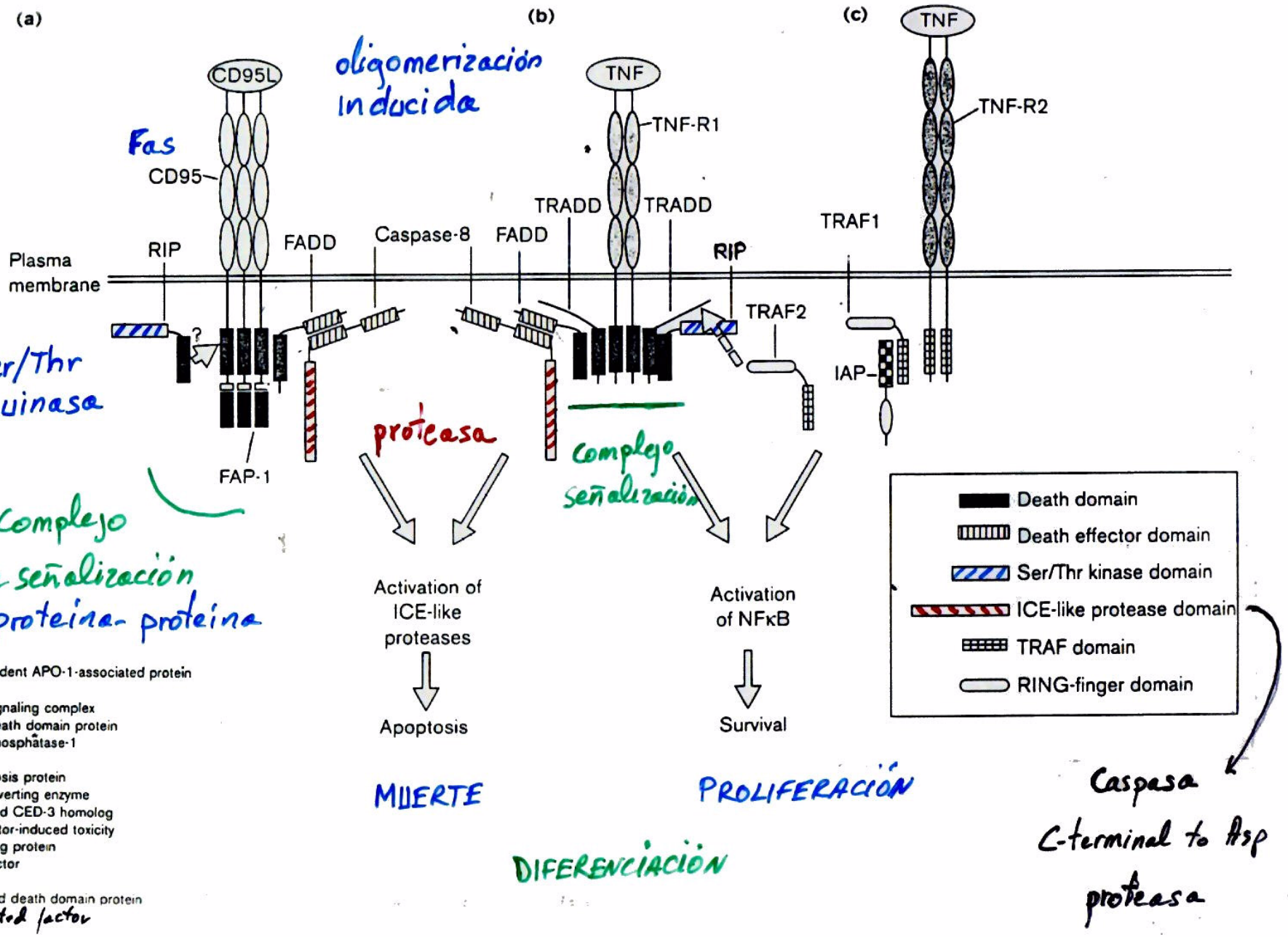


Señalización por citoquinas



pleiotrópico

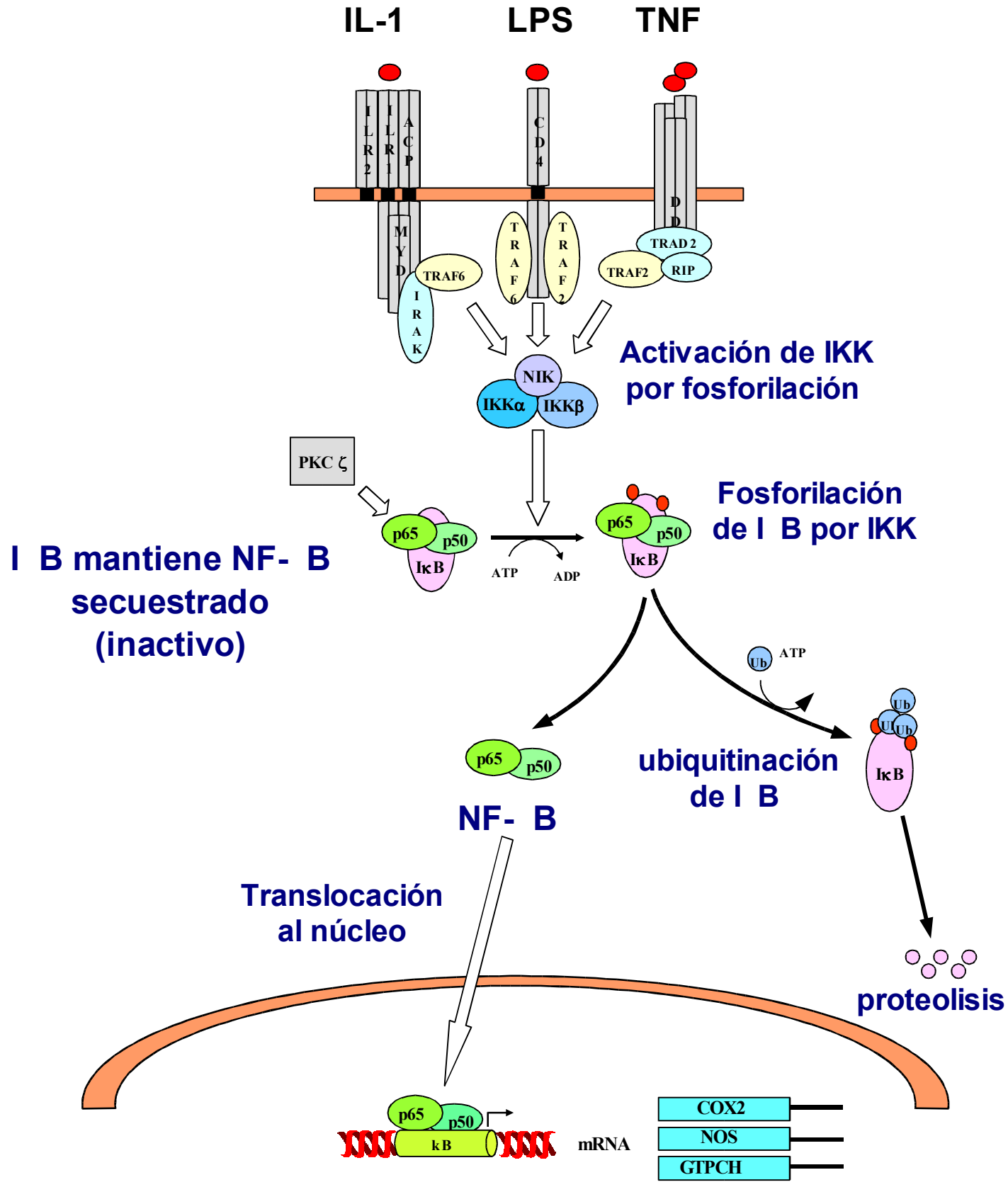




Abbreviations

CAP	cytotoxicity-dependent APO-1-associated protein
CD95L	CD95 ligand
DISC	death-inducing signaling complex
FADD	Fas-associated death domain protein
FAP-1	Fas-associated phosphâtase-1
FLICE	FADD-like ICE
IAP	inhibitor of apoptosis protein
ICE	interleukin-1β-converting enzyme
MACH	MORT1-associated CED-3 homolog
MORT	mediator of receptor-induced toxicity
RIP	receptor-interacting protein
TNF	tumor necrosis factor
TNF-R	TNF receptor
TRADD	TNF-R1-associated death domain protein
TRAF	TNF-R associated factor

Activación de NF- B por citoquinas



Enrique Castro, 2003

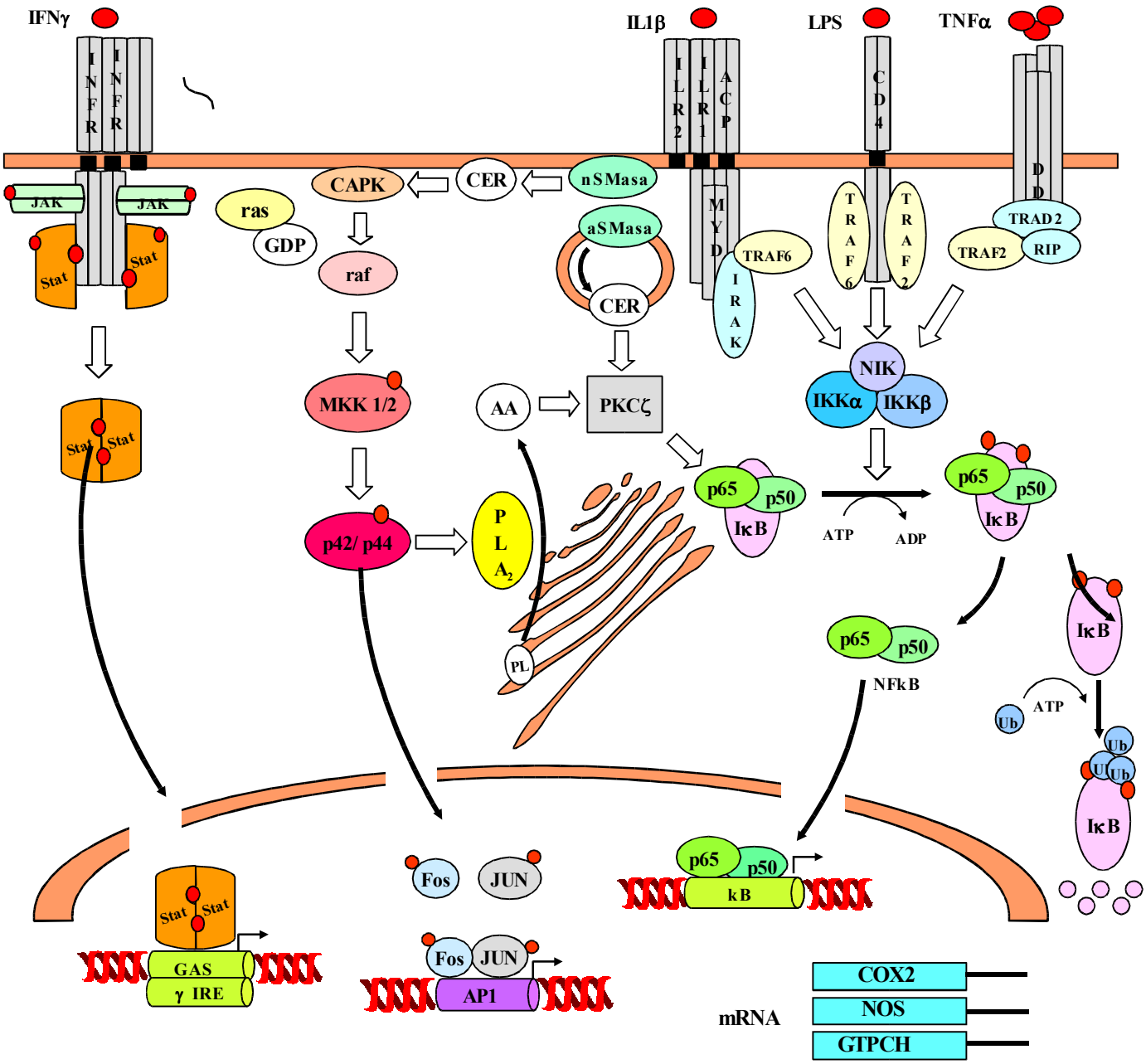
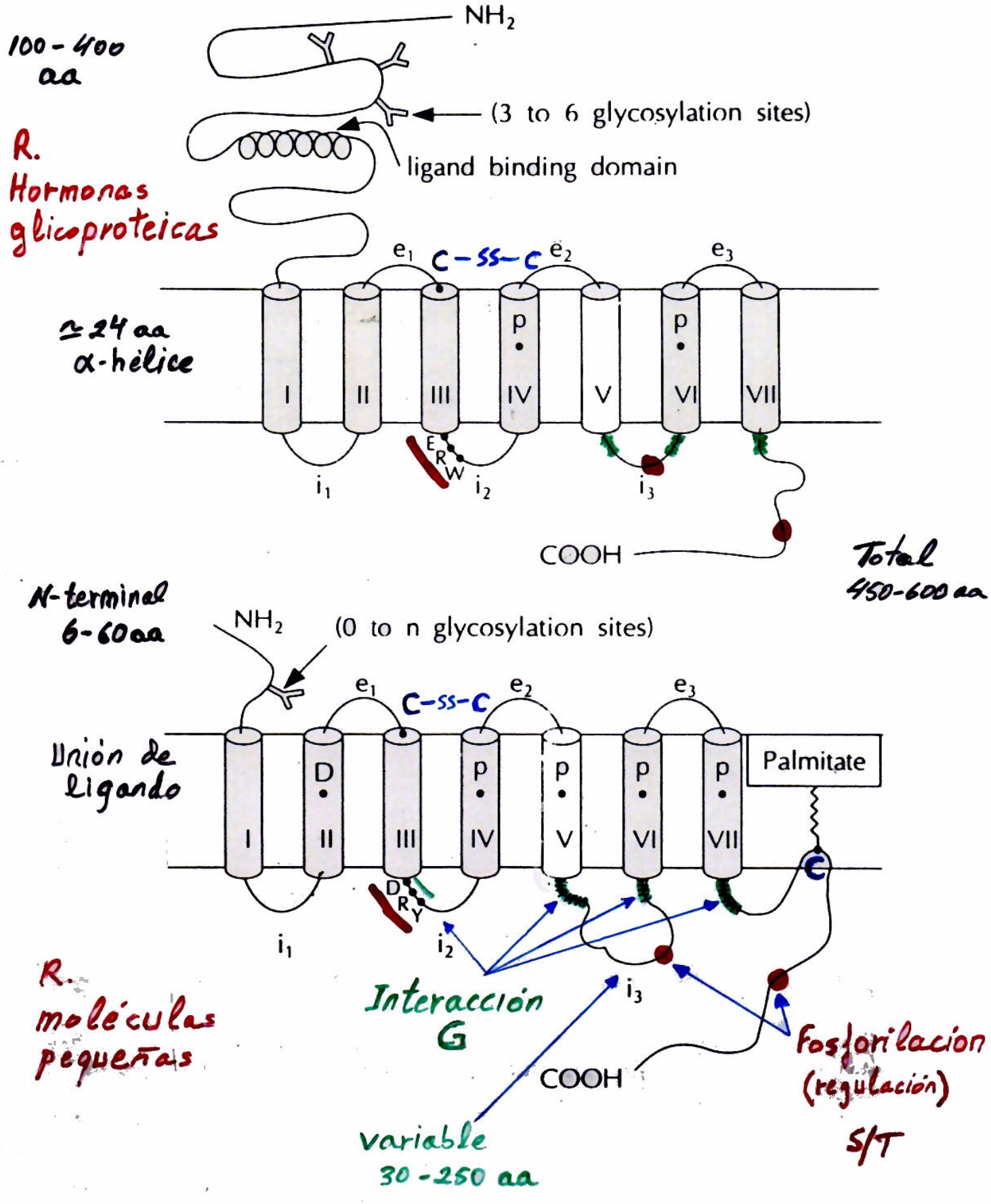
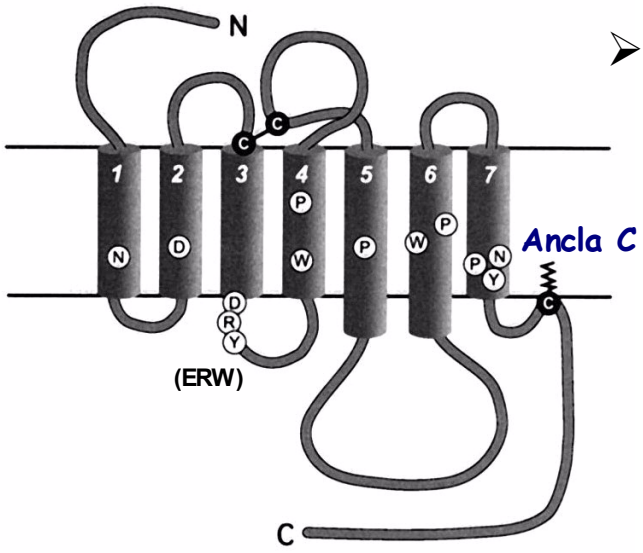


Figura 1.9 Vías de señalización implicadas en la activación de la transcripción de los enzimas inducibles NO-sintasa (NOS2), Ciclooxigenasa (COX2) y GTP-ciclohidrolasa (GTPCH). Las citoquinas (IL1ß, TNFα) y la endotoxina (LPS) actúan sobre receptores funcionales diferentes, para formar complejos de señalización específicos, pero que comparten proteínas efectoras comunes TRAF2 y TRAF6 (TRAF: proteínas asociadas al receptor de TNFα). Los complejos activados aumentan la actividad de la quinasa inductora de NFκB (NIK) de las quinasas IKK1/IKK2 (IKK: quinasas de Iκ) que fosforilan al inhibidor IκB y facilitan su reconocimiento por proteínas (ubiquitinas) que promueven su degradación y liberación de los dímeros activos (p50/p65) de NFκB que se translocan al núcleo y se unen a secuencias de 10 bases presentes en los promotores de los genes de COX2, GTPCH y NOS2. Una vía alternativa usada por estas citoquinas implica la liberación de ceramida en diferentes compartimentos celulares que activan NFκB por la vía raf-MEK1/2 que activa AP1. El IFNγ se une a un receptor diferente que promueve la asociación, transfosforilación y activación de tirosina quinasas de la familia JAK (Janus kinase). Las JAK activadas fosforilan al propio receptor y permiten el reclutamiento de diferentes factores de transcripción de la familia de proteínas transductoras y activadoras de señales de transcripción STAT (Signal Transducing and Activators of Transcription) portadores de secuencias canónicas de unión a fosfotirosinas (SH2). Los factores STAT son fosforilados por JAK y se disocian del receptor, dimerizan en el citosol y se translocan al núcleo para unirse a secuencias GAS (secuencias activadas por γ-interferón) y elementos (IRE) de respuesta al IFNγ. La presencia promiscua de los mismos elementos de respuesta en los promotores de los enzimas NOS2, COX2 y GTPCH justifica la potenciación de la respuesta a diferentes agentes que se observa en muchas células de mamífero.

Estructura de Receptores GPCR

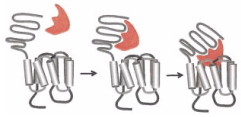


Familias de receptores GPCR



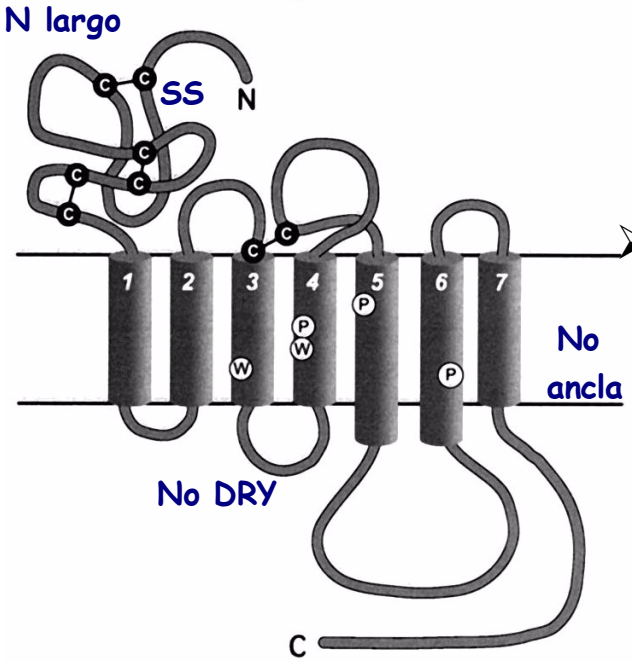
➢ Familia A: Rodospsina/ AR

- **R. de aminas biógenas**
  (DA, NA, 5-HT, HA, mAchR)
- **R. de péptidos**
  (CCK, endotelinas, taquiquininas,NPY, TRH, bombesina y opsinas)
- **R. de bradiquinina**



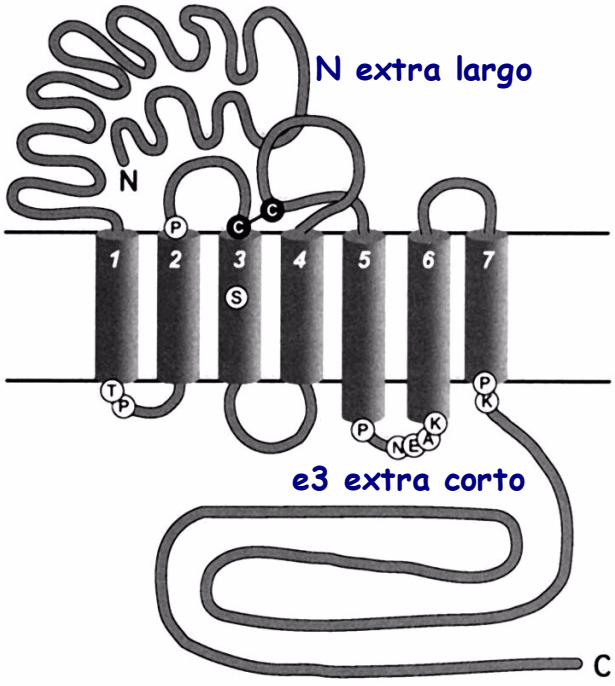
- **R. de glicoproteínas y similares**
  (FSH, LH, TSH, GnRH, fMLP, ADH, oxitocina, somatostatina, opioides)
  (Nucleótidos, eicosanoides, opioides)
  (Activados por proteasa)

- **R. olfativos y similares**
  (odorantes, adenosina, cannabinoides,melanocortina)
- **R. de melatonina**



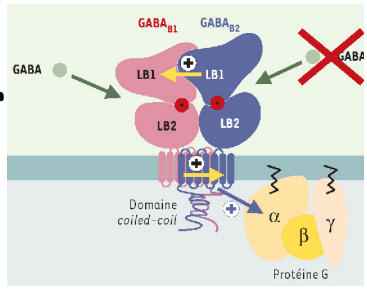
➢ Familia B: péptidos tipo glucagón

- **R. de Calcitonina, CGRP, CRF**
- **R. de PTH y PTHrP**
- **R. de Glucagón y similares**
  (GIP, GHRH, PACAP, VIP, secretina)
- **R. de latrotoxina**



➢ Familia C: glutamato/Ca^{2+}

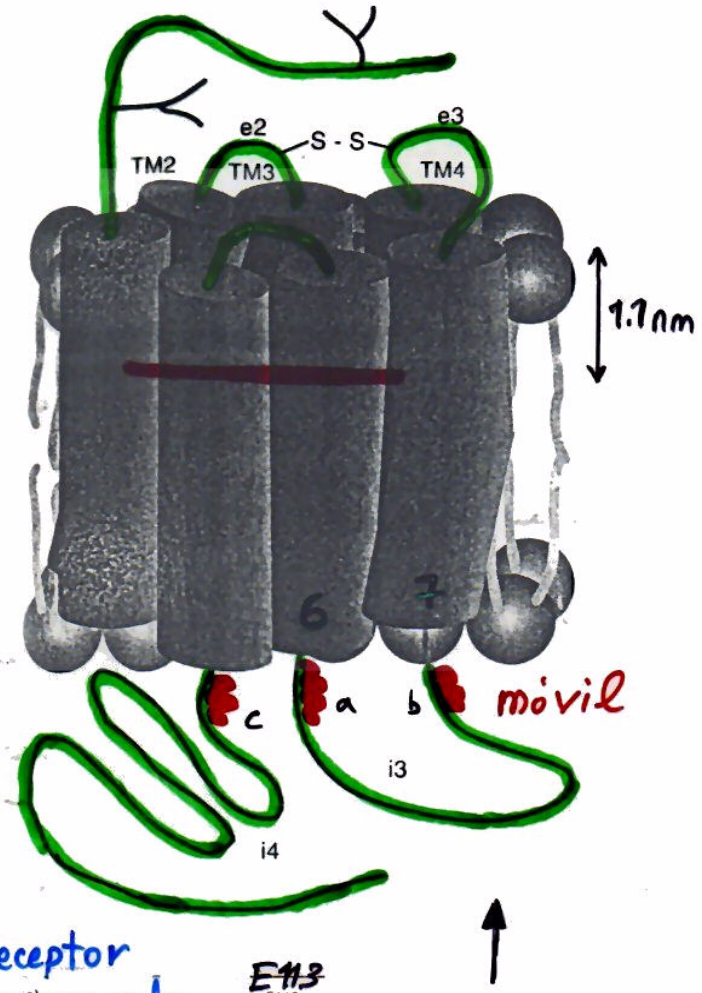
- **R. metabotrópicos de glutamato mGluR**
- **R. metabotrópicos de GABA, $GABA_B$**
- **R. gustativos**
- **R. de feromonas**
- **R. de Ca^{2+} extracelular**

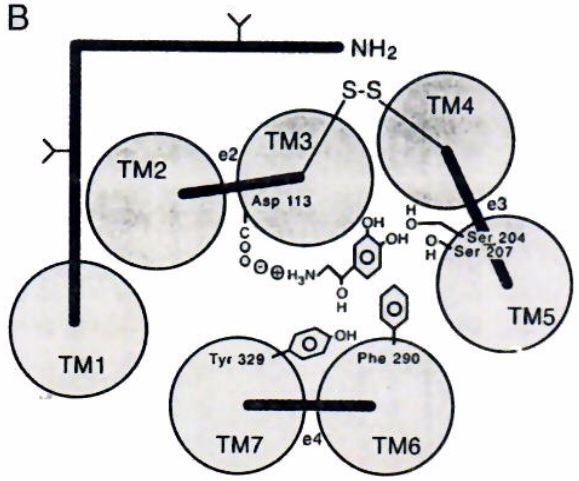


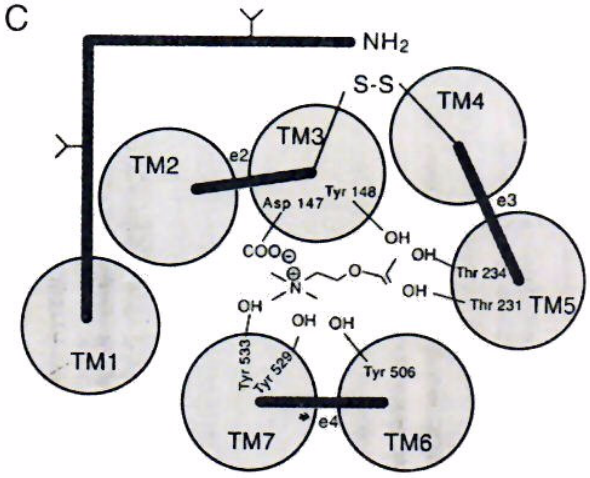
Dímeros obligatorios

Enrique Castro, 2003

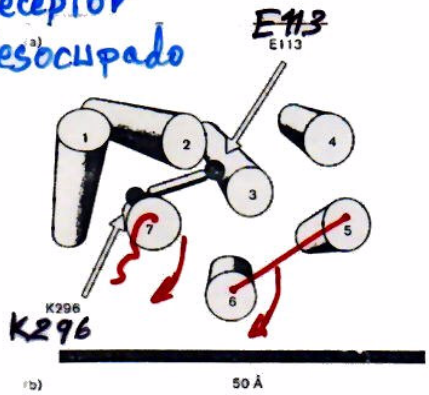
Activación de GPCR

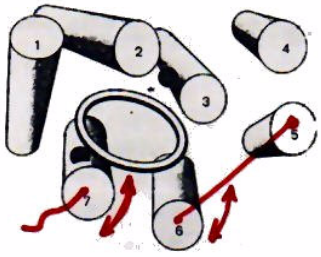






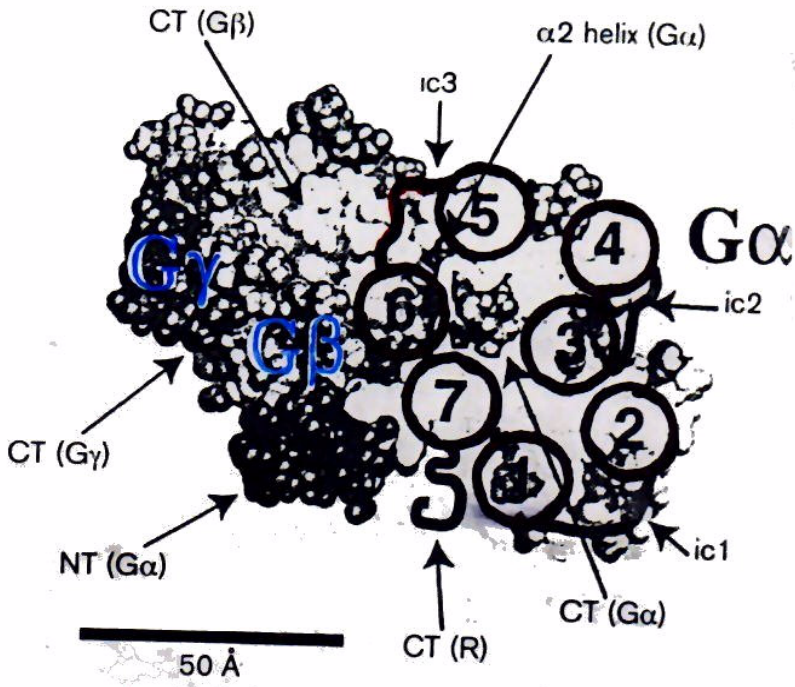
Receptor desocupado





Ligando unido

Vista inferior



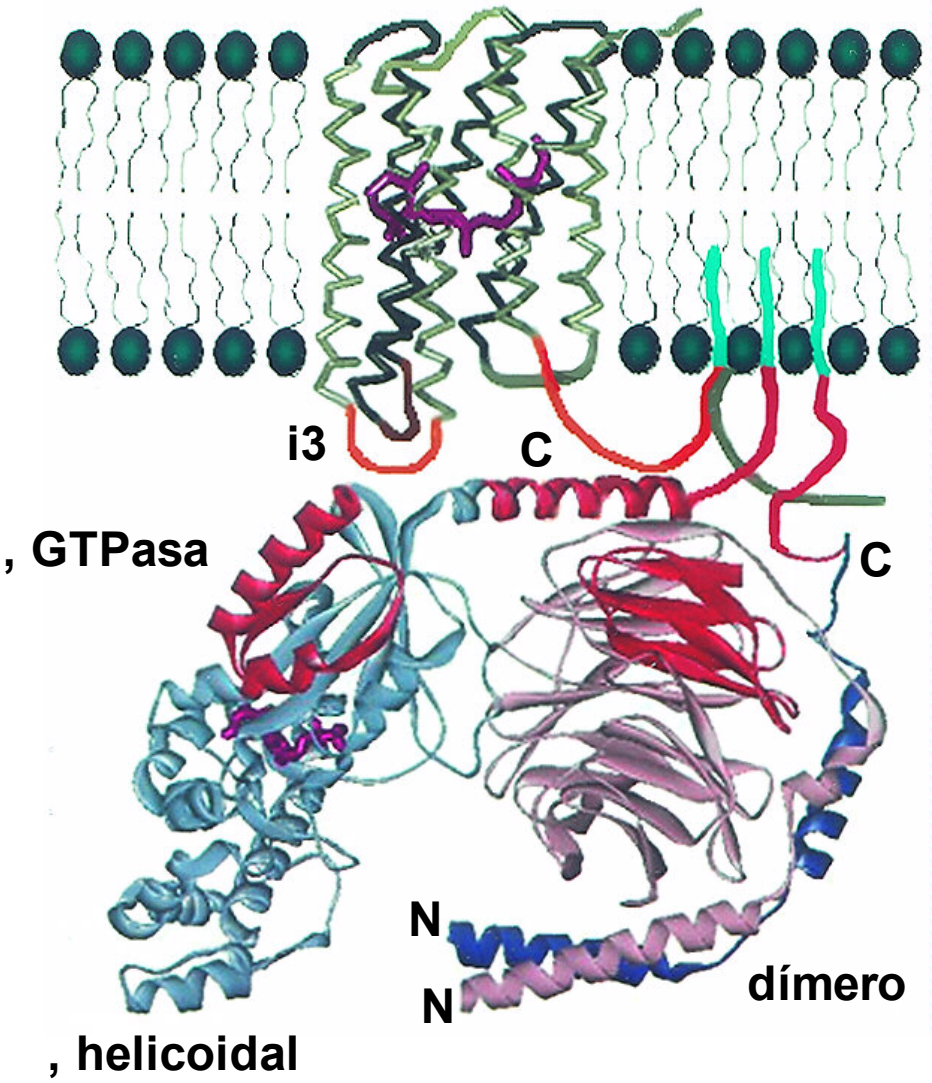
a N-i3 ↔ Gα CT 5aa

b C-i3 ↔ Gα NT / Gβ CT

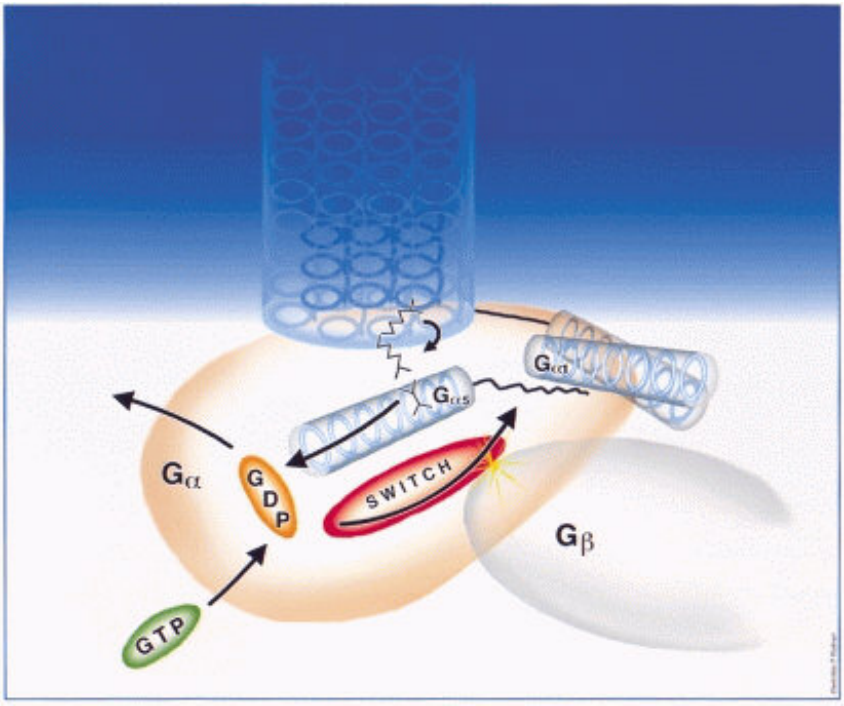
c CT ↔ Gβ

Enrique Castro, 2003

GPCR: Activación de la Proteína G

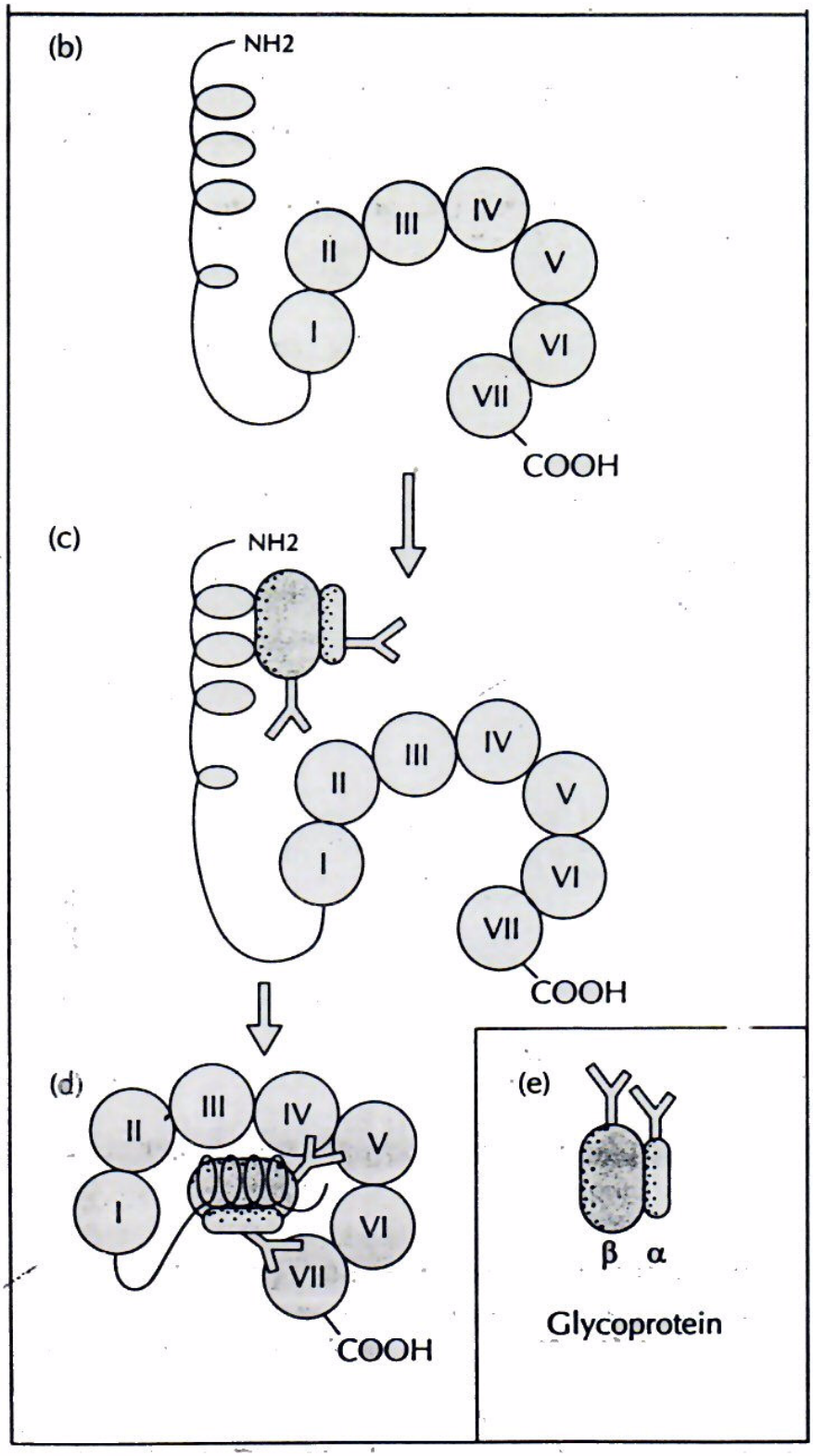


Actividad GEF del GPCR

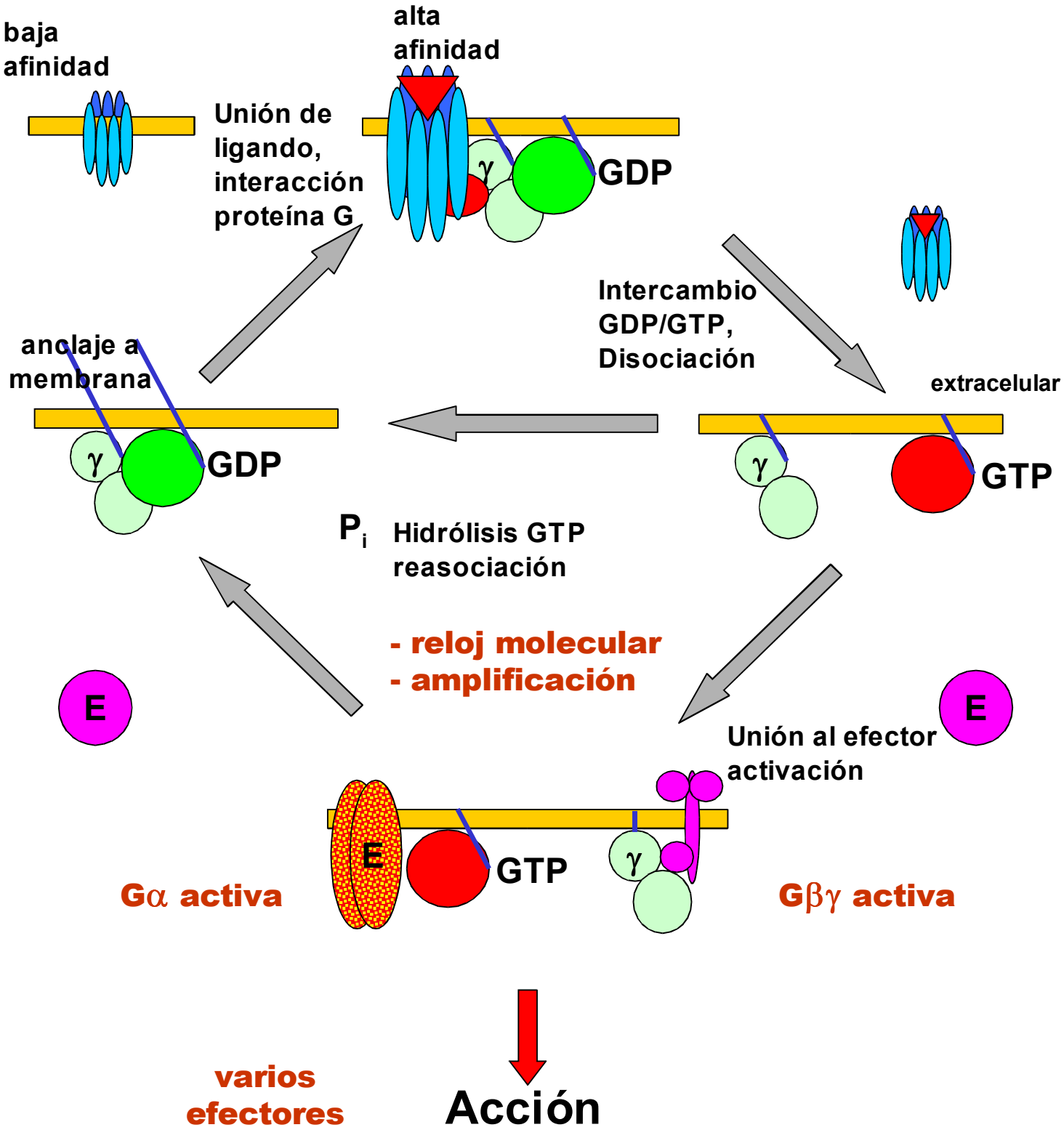


Enrique Castro, 2003

Unión de ligando en GPCR de proteínas

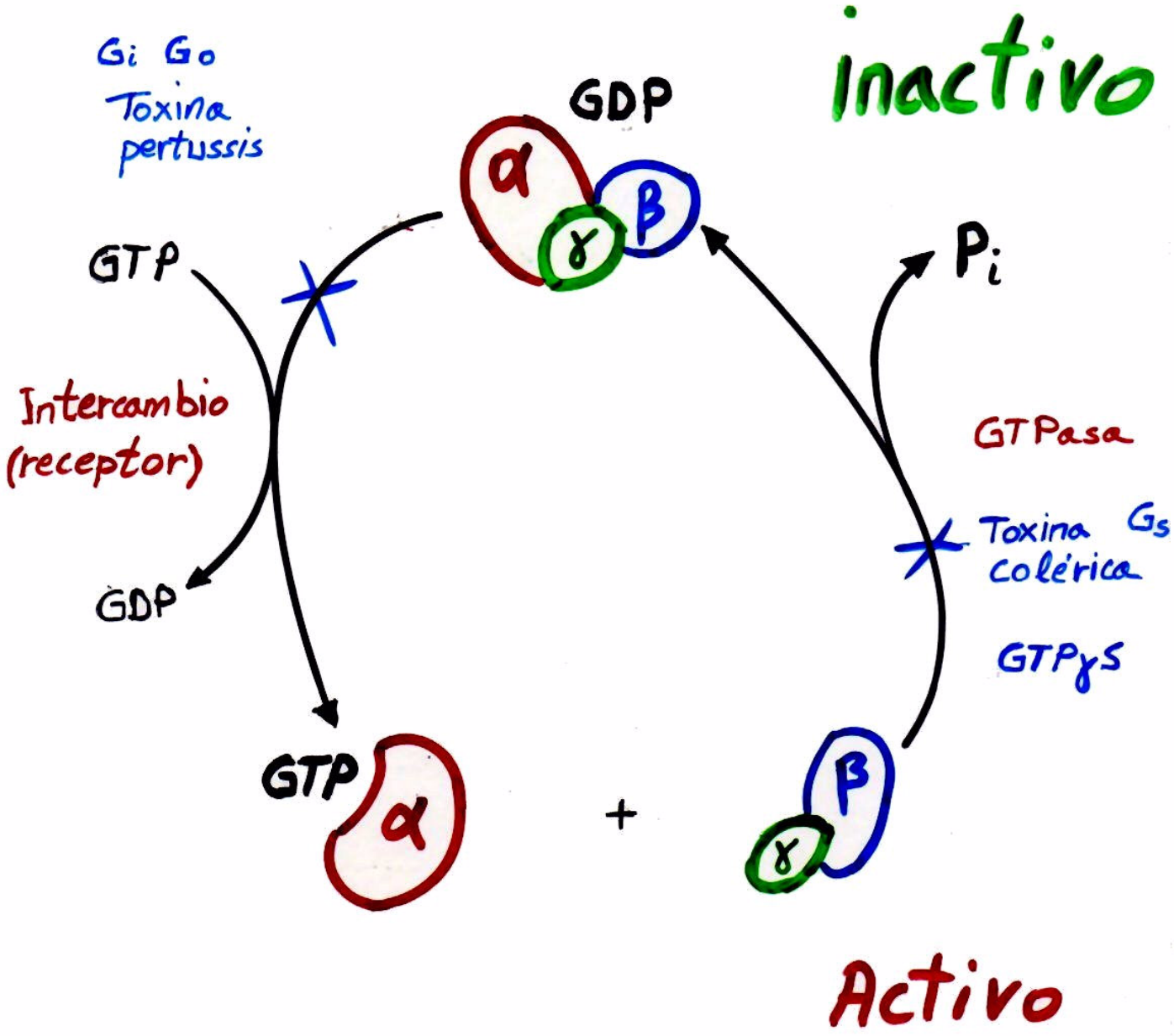


Ciclo de acción de las Proteínas G heterotriméricas

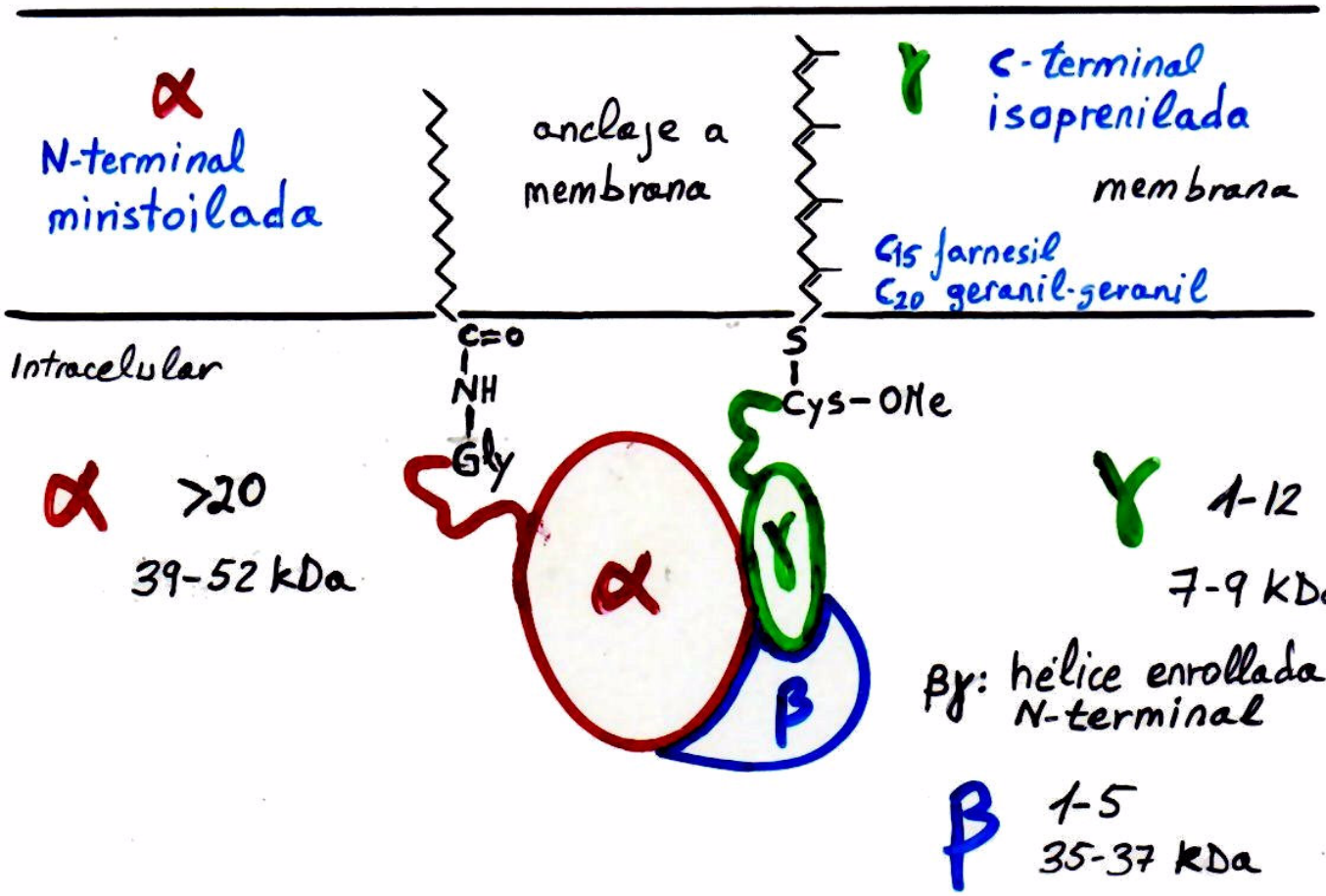


Enrique Castro, 2003

Ciclo de las Proteínas G



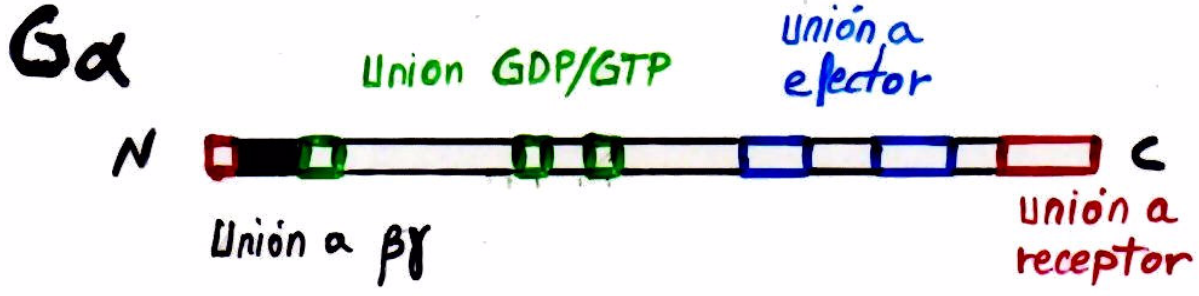
Proteinas G heterotriméricas



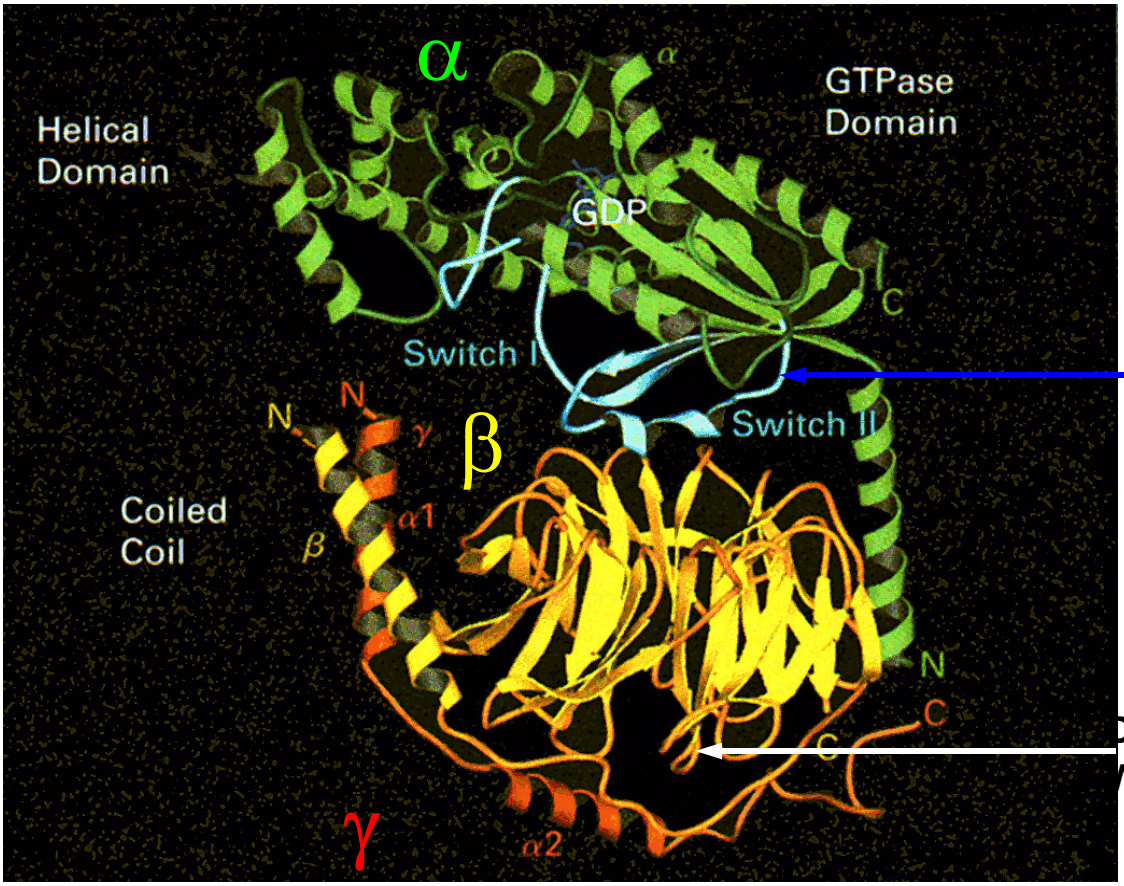
Unión GDP/GTP
Actividad GTPasa
interacción con receptor
interaccion con efector

especificidad

Inhibición de Gα
Interaccion con receptor
desensibilización
Interaccion con efector



Activación de Proteína G heterotrimérica

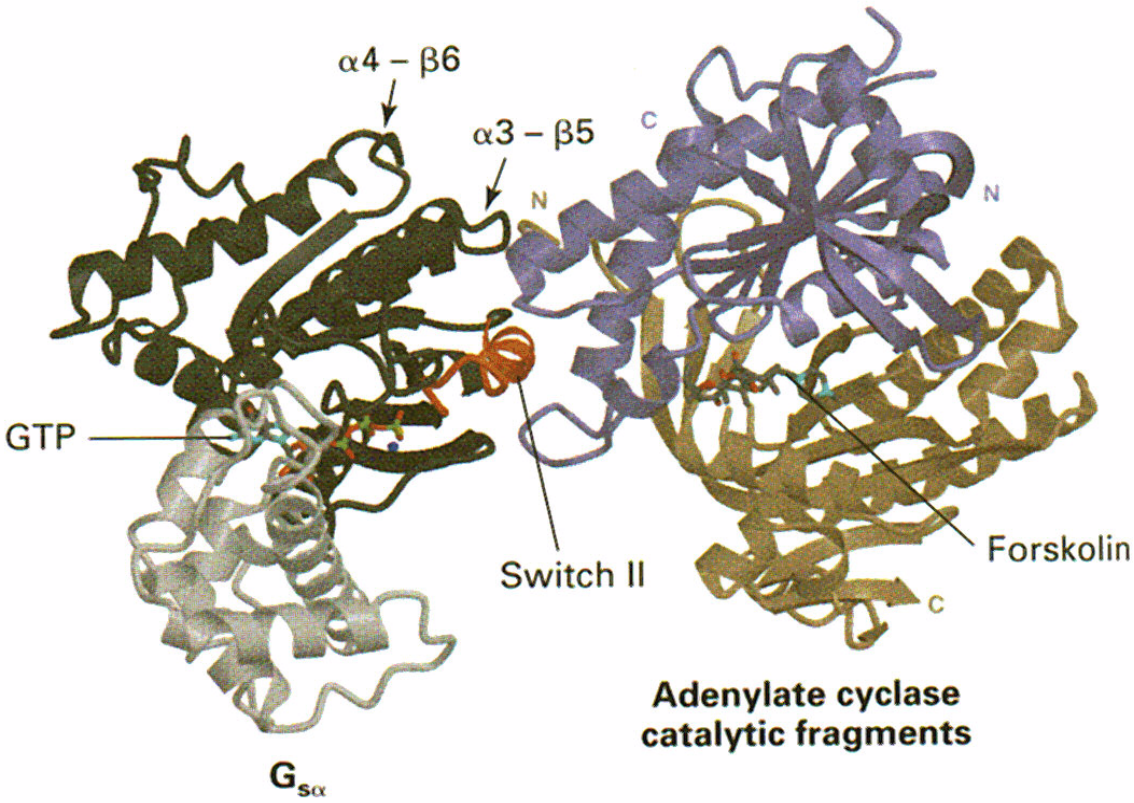


Unión a efector α

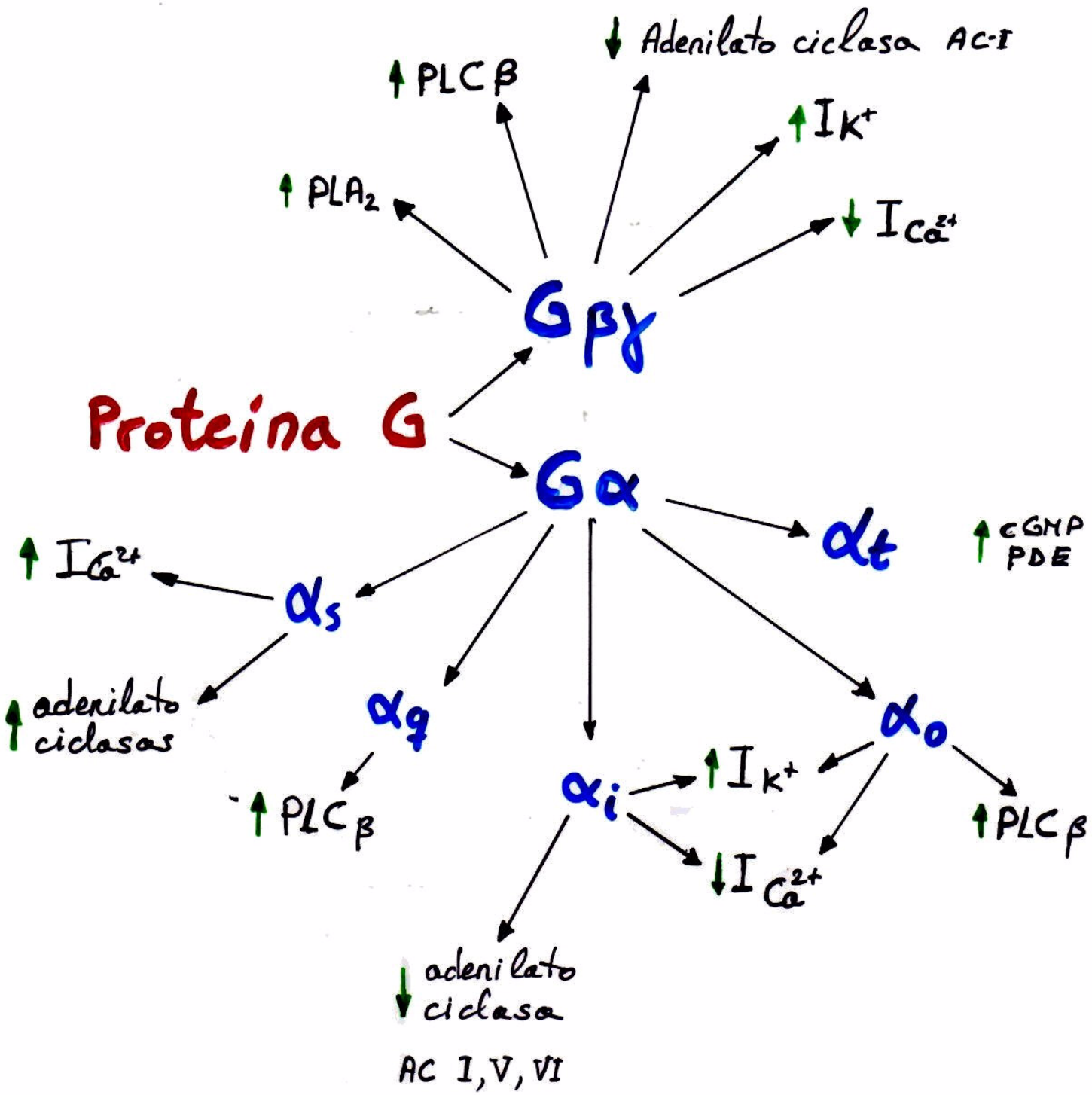
Dominios WD

Unión a efector βγ

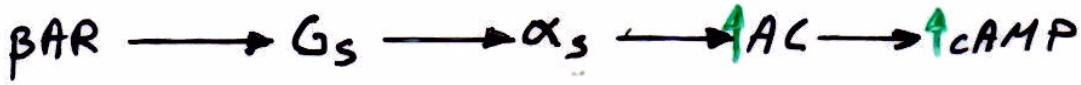
Unión a GRK



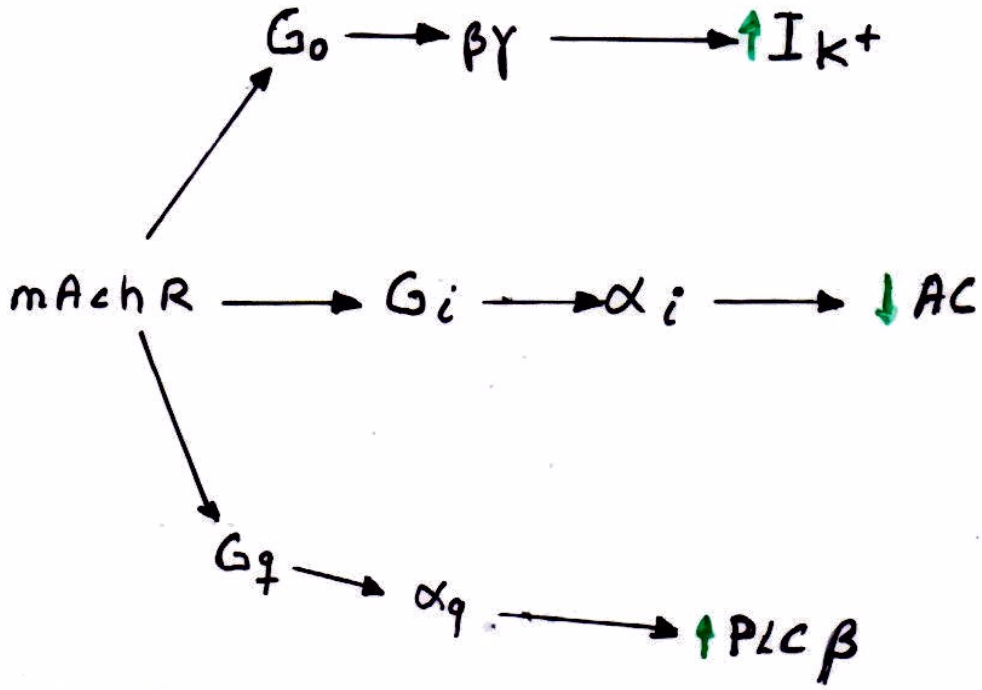
Dianas de Proteinas G



R. exclusivos



R. promiscuos



- especificidad
- disponibilidad.

-Amplificación

-Control temporal — Reloj molecular

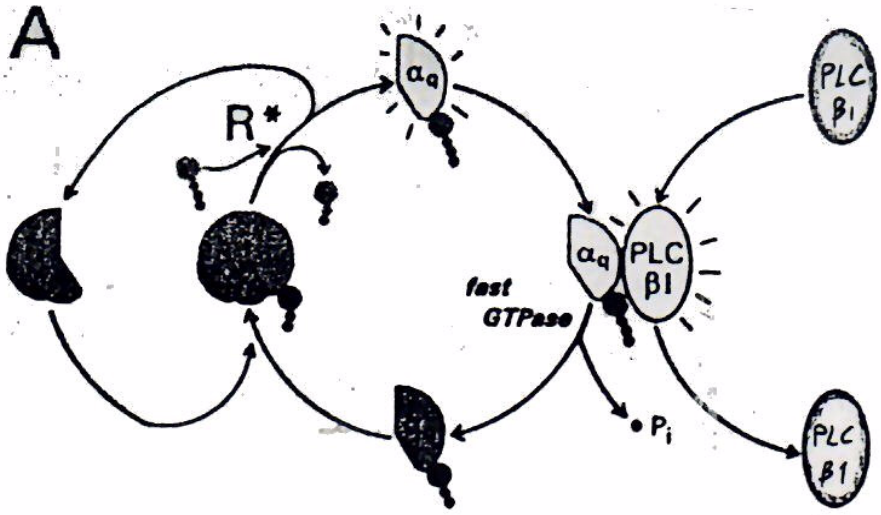
-Control espacial — Difusión en membrana

-Integración — Divergencia, Convergencia

-Modulación

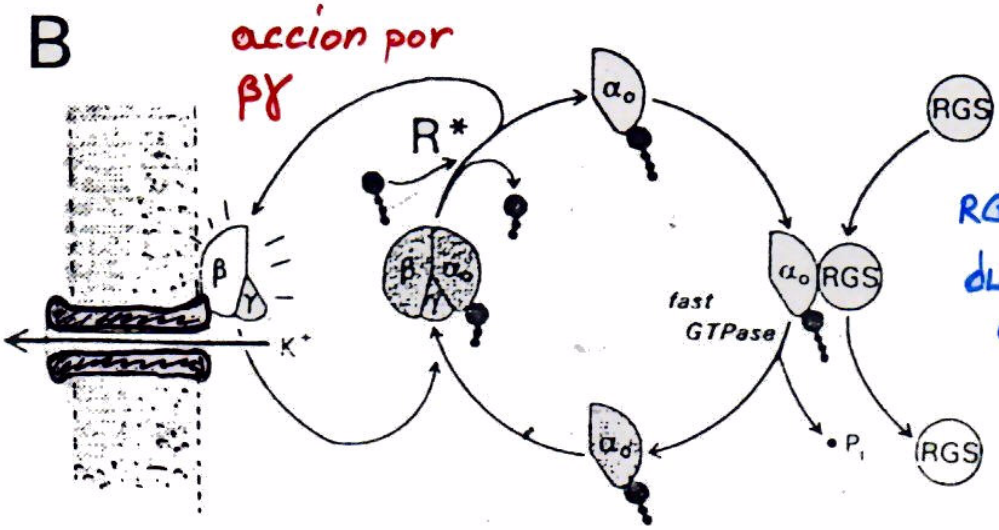
Proteinas RGS: ↑ GTPasa

solo ejector



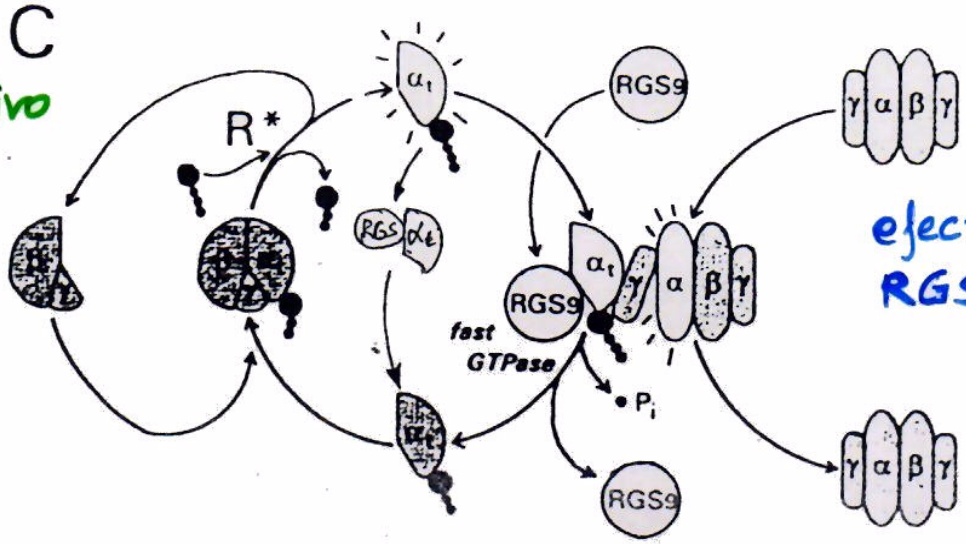
ejector es GAP

solo RGS



RGS controla duración de α-GTP

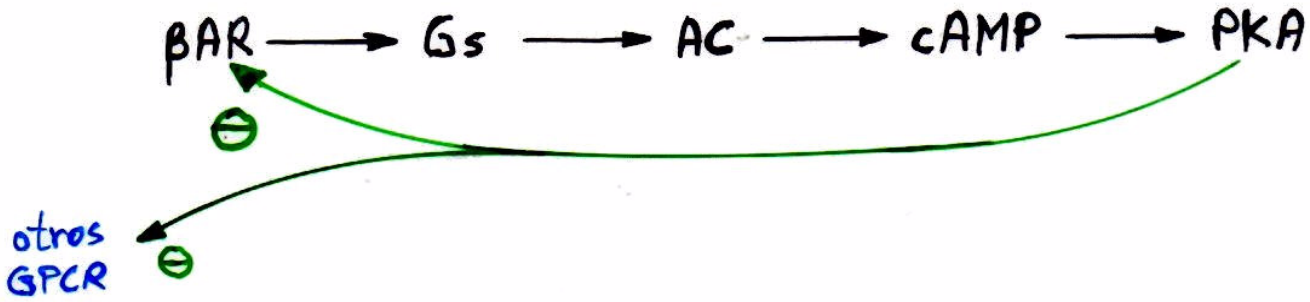
cooperativo RGS/ ejector

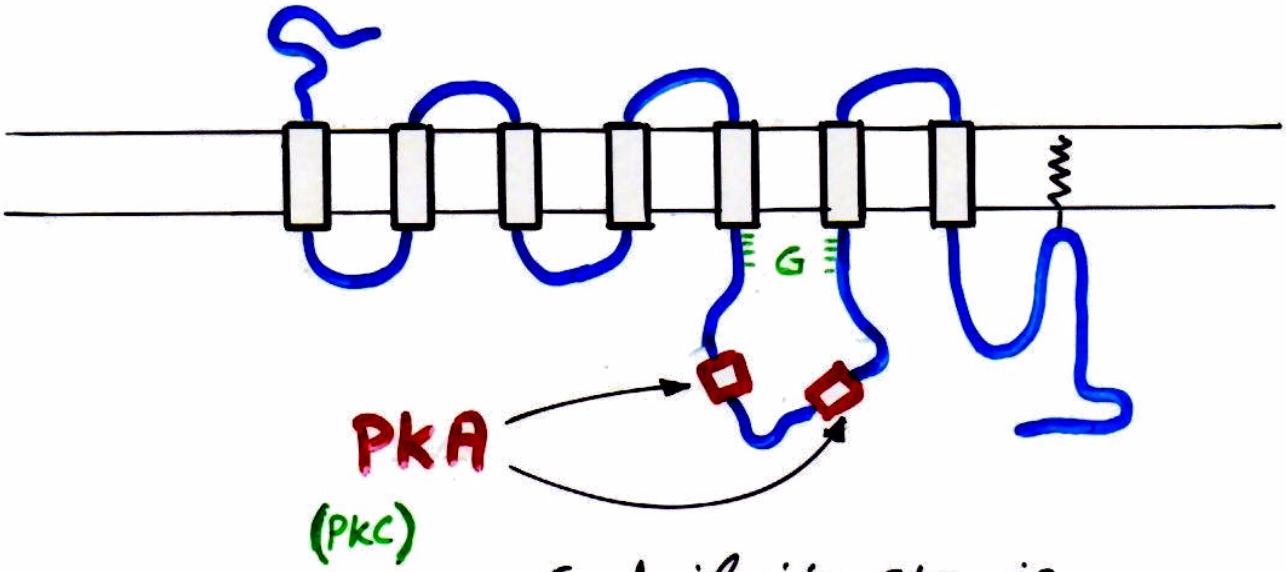


ejector potencia RGS GAP

Desensibilización heteróloga

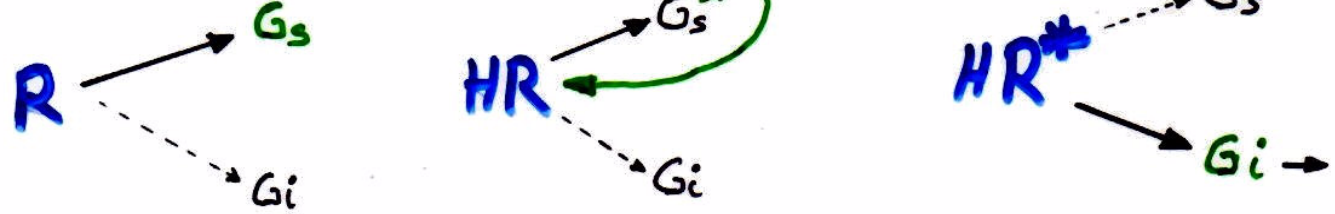
Retroalimentación negativa por producto final





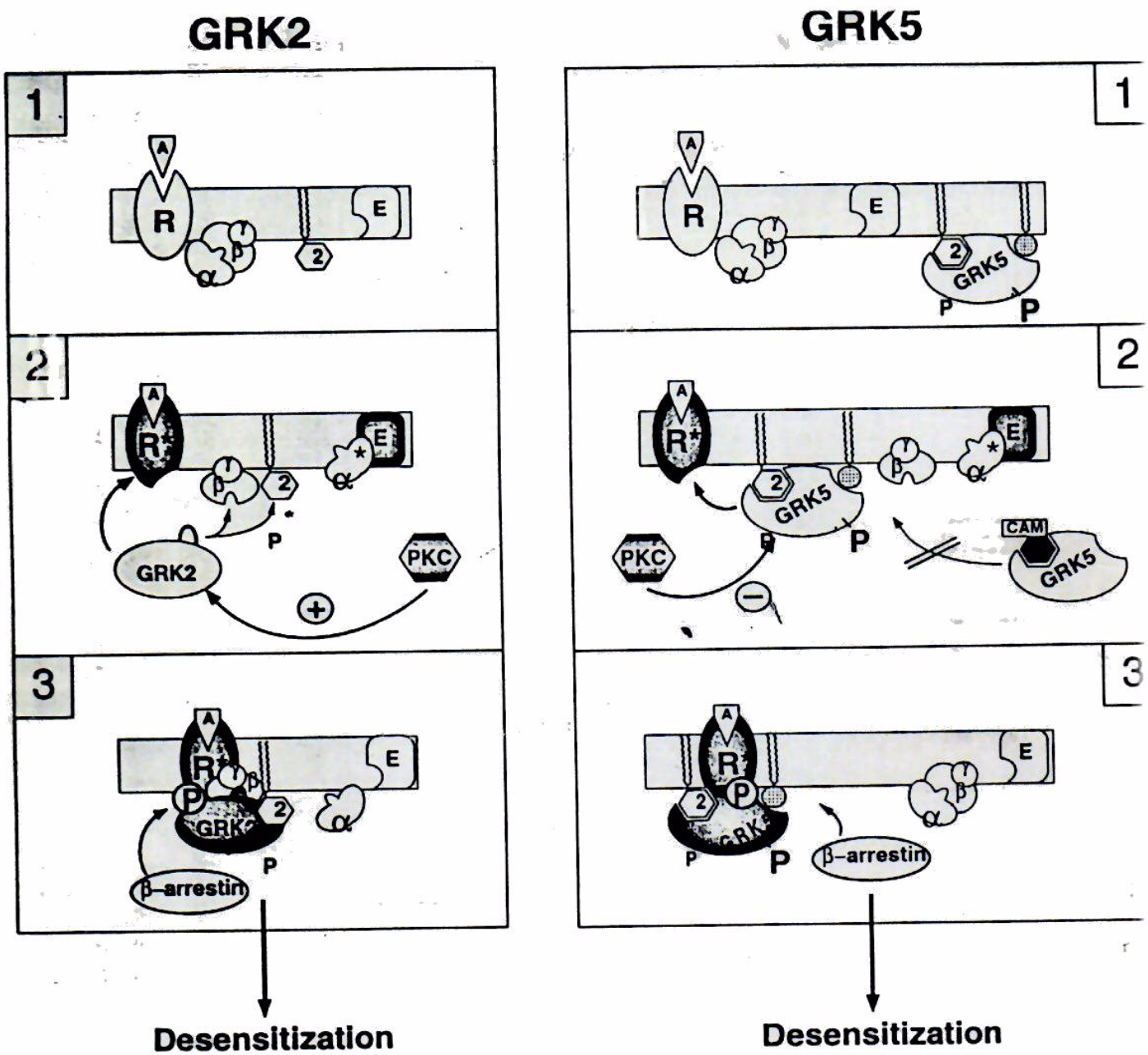
- Fosforilación S/T i3
- desacoplamiento

* Cambio de función



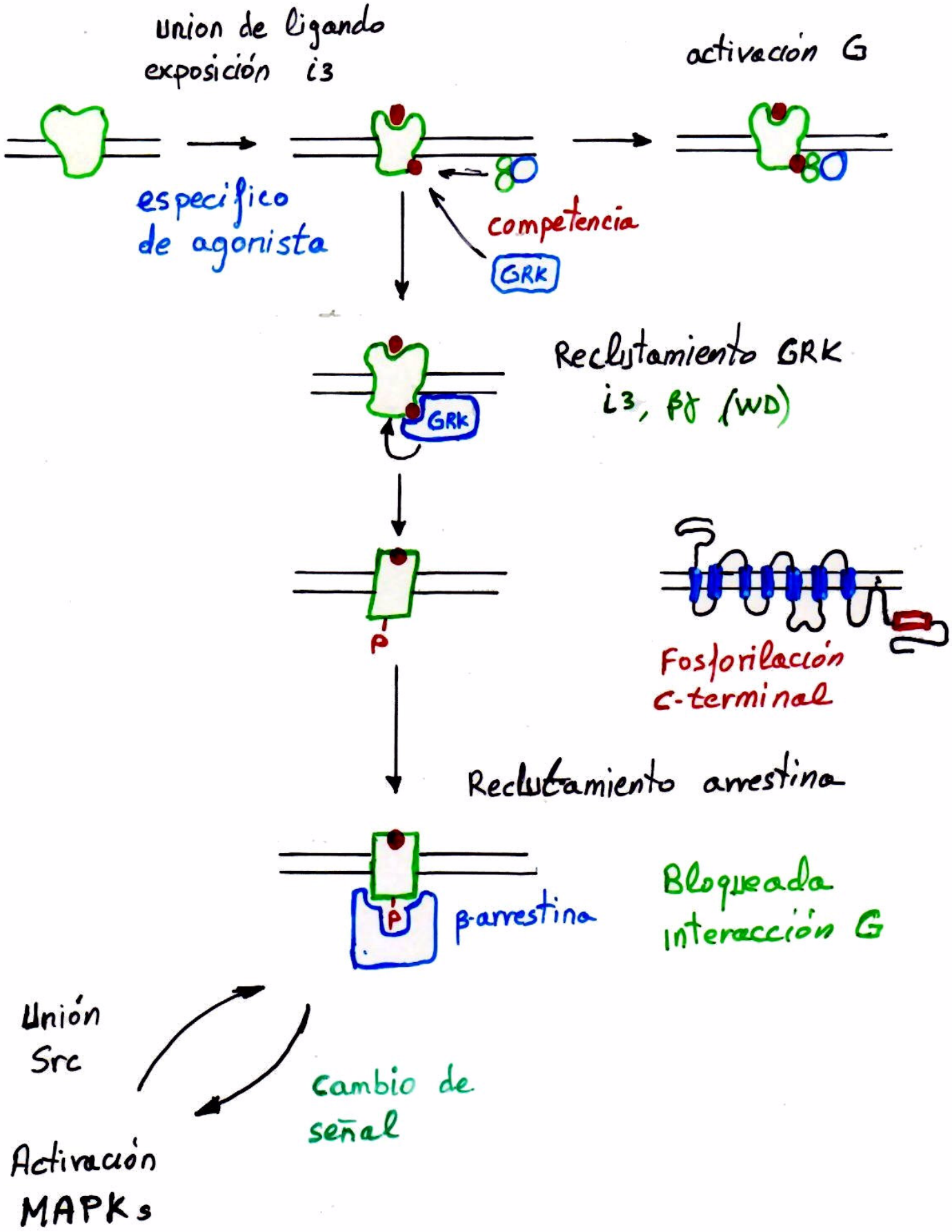
Reclutamiento por βγ WD

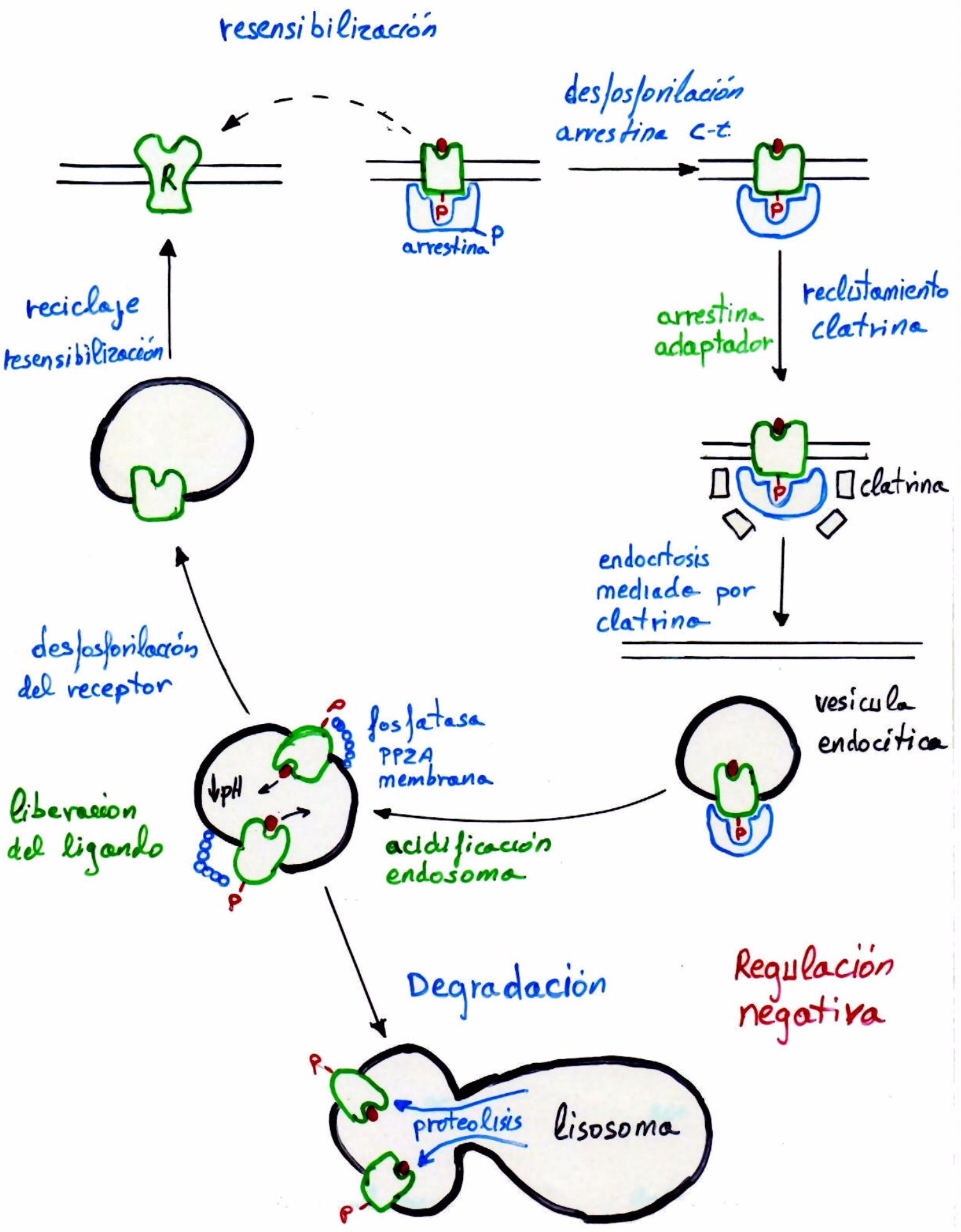
Reclutamiento por PH - PIP_2



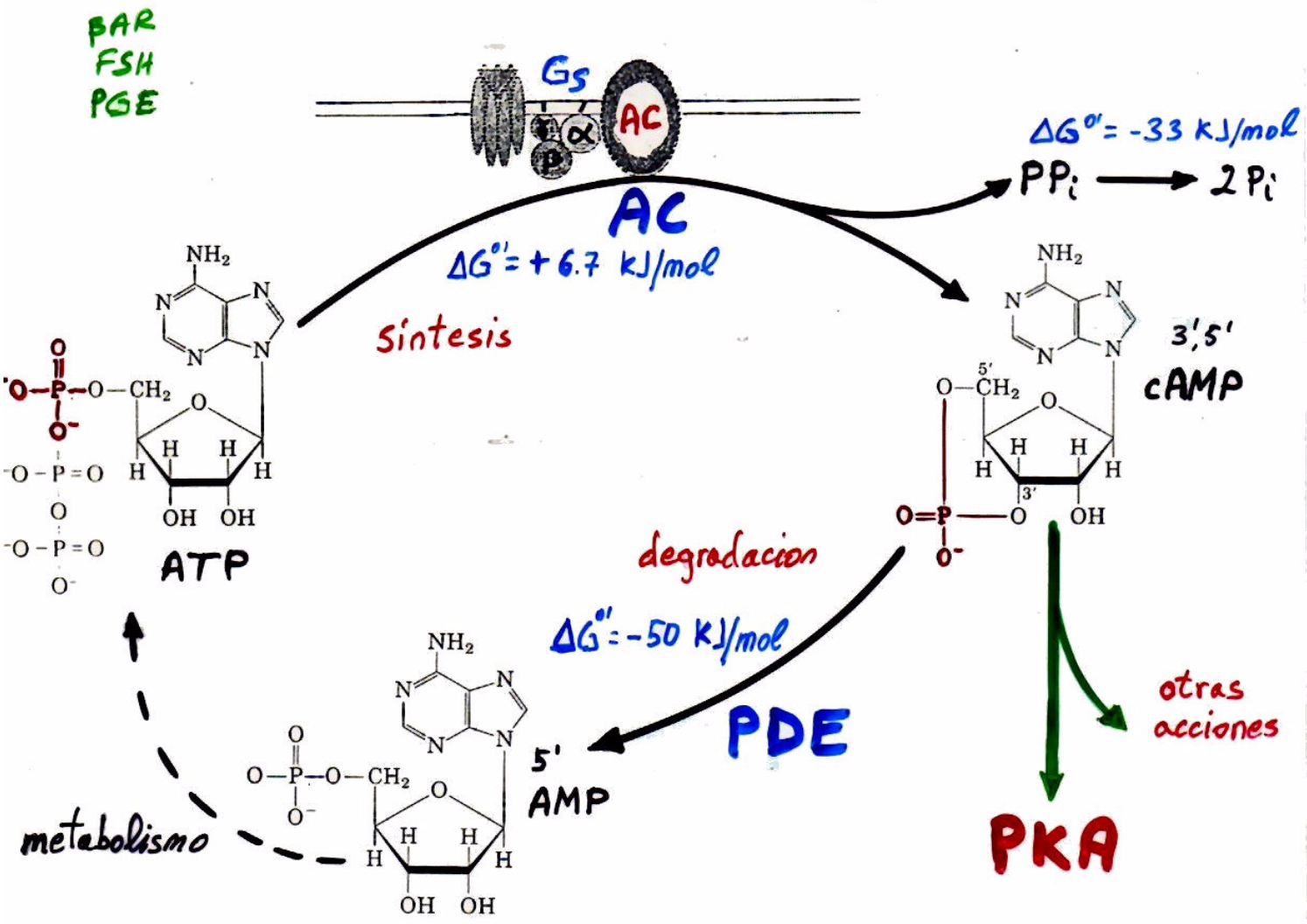
βγ libre = G estimulada

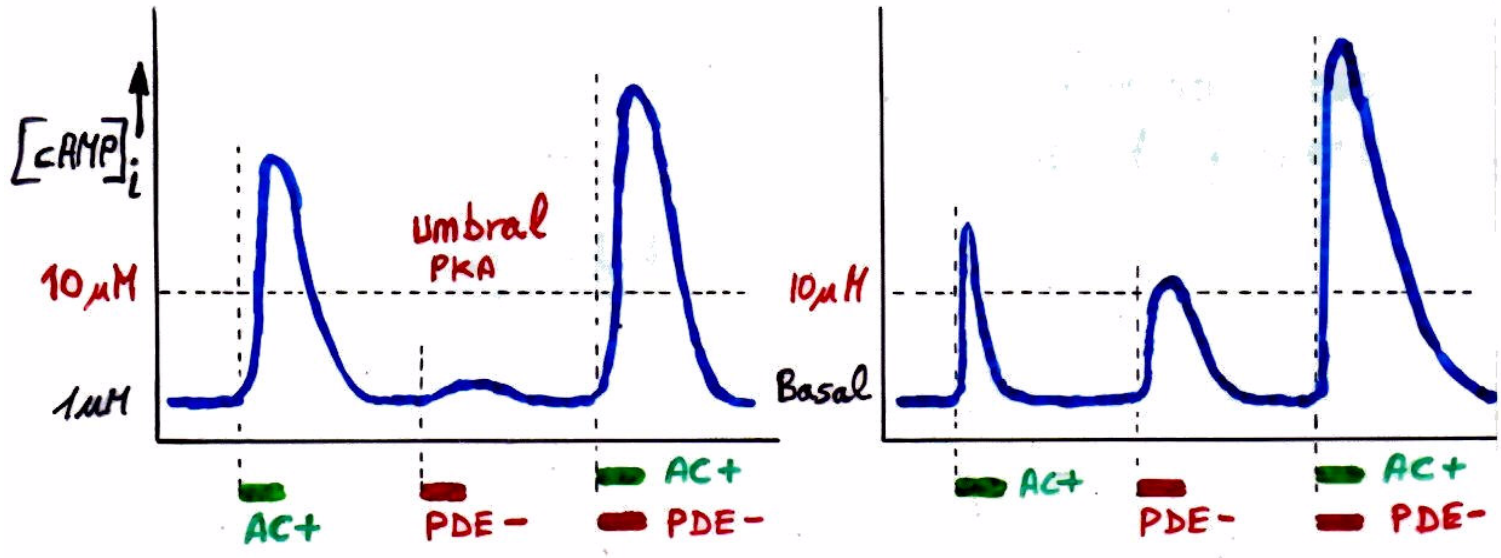
Desensibilización homóloga




resensibilización
desfosforilación
arrestina C-t.
R
P
arrestina P
reciclaje
resensibilización
arrestina
adaptador
reclutamiento
clatrina
clatrina
endocitosis
mediada por
clatrina
desfosforilación
del receptor
fosfatasa
PP2A
membrana
vesícula
endocítica
↓pH
liberación
del ligando
acidificación
endosoma
Degradación
Regulación
negativa
proteolisis
lisosoma

cAMP como 2° mensajero





Actividad AC basal baja

bajo recambio

Actividad AC basal alta

alto recambio

Dianas del cAMP: PKA

- Canales iónicos activados por cAMP (bulbo olfatorio neuronas)
- Rap 1 - GEF (proteínas G bajo Mr)

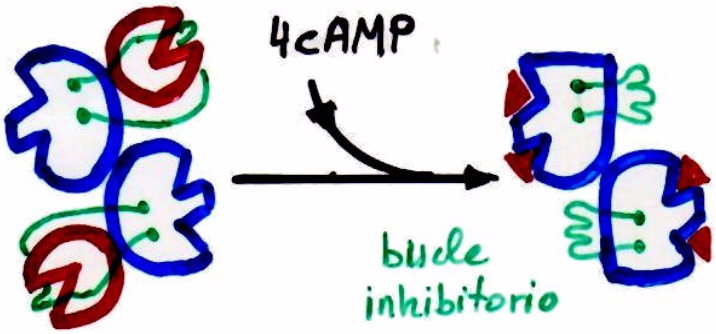
* PROTEÍNA QUINASA A

Heterotetrámero R_2C_2 : 2 Reguladoras (dímero)
2 Catalíticas

4 sitios, unión cAMP

cooperativos

$Kd_2 < Kd_1$

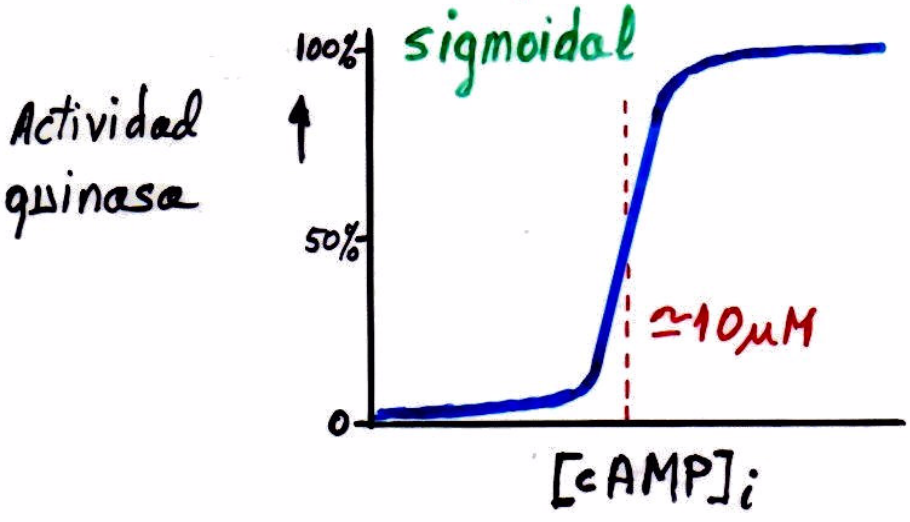


INACTIVO

Activo

sustratos diana

Activación cooperativa sigmoidal



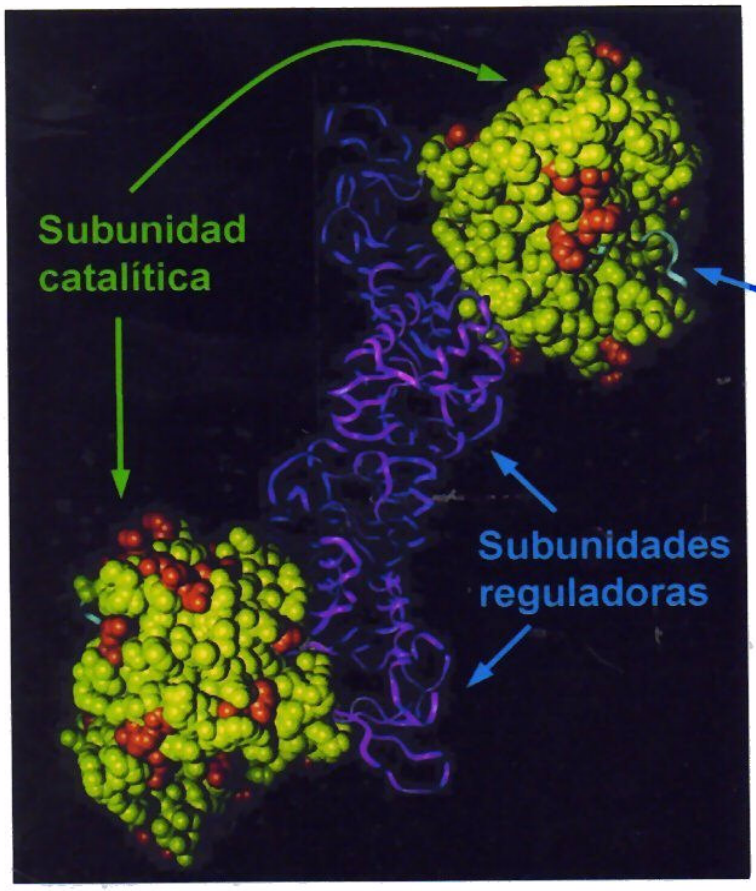
secuencia consenso de fosforilación

-R-R-X-S/T-ϕ-

X: pequeño
ϕ: hidrófobo grande

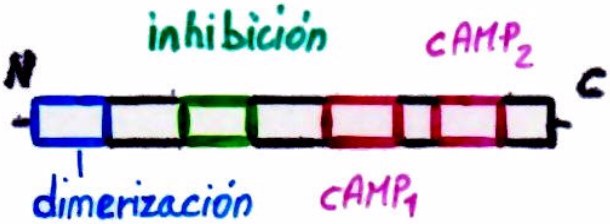
Proteína → Proteína-P (ATP → ADP)

Estructura tetramérica de holo-PKA R_2C_2



Bucle inhibidor

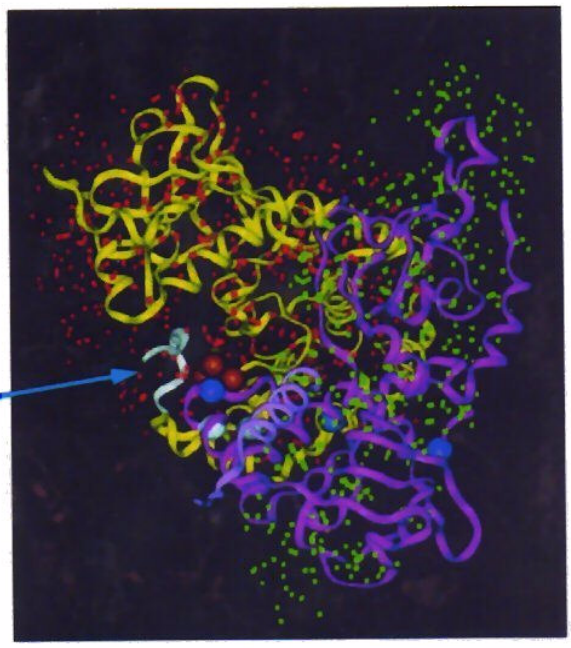
49-51 kDa



R_I : citosólica

R_{II} : anclada AKAPs

R constitutivamente inhibe a C por bloqueo del centro catalítico

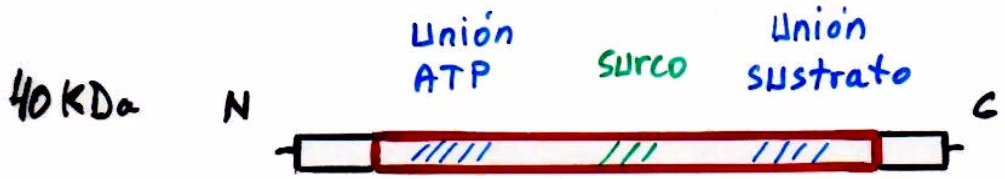


bucle inhibidor, secuencia pseudosustrato

-R-R-X-A-X-

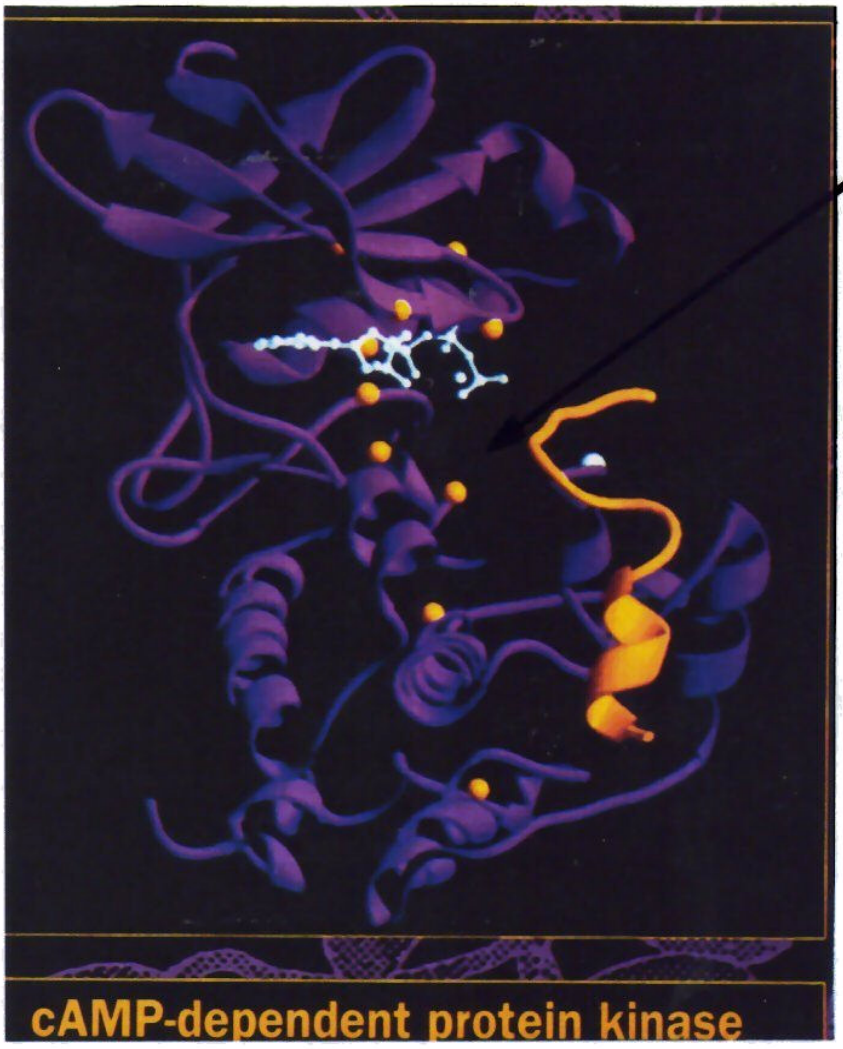
vista trasera

PKA: subunidad catalítica



lóbulo catalítico

- Unión ATP
- Transferencia Pi

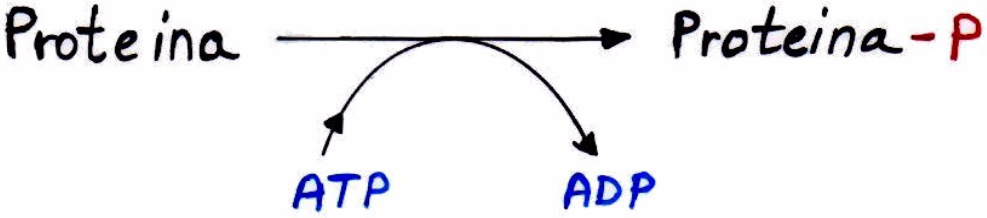


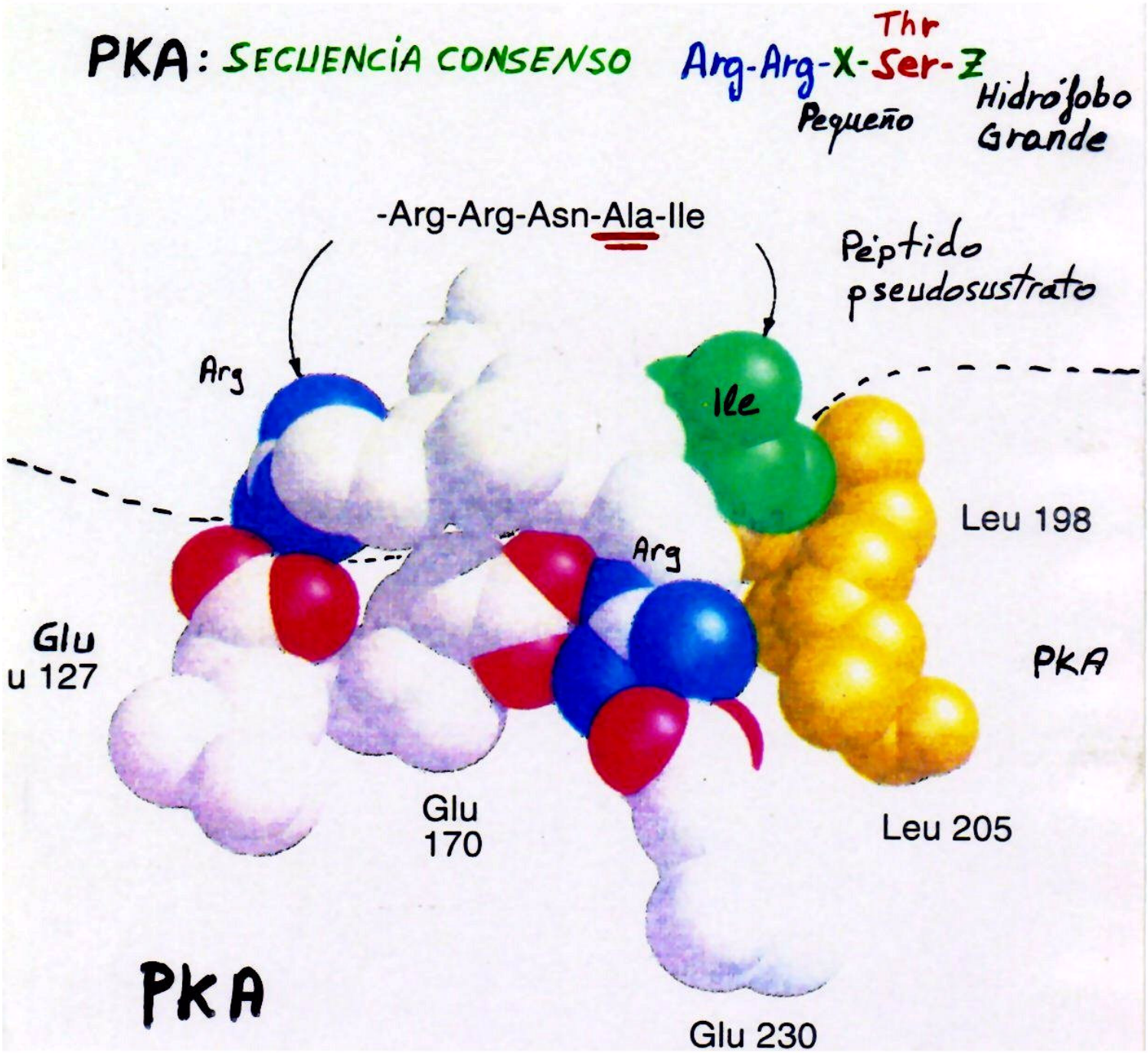
hendidura

reconocimiento S. consenso

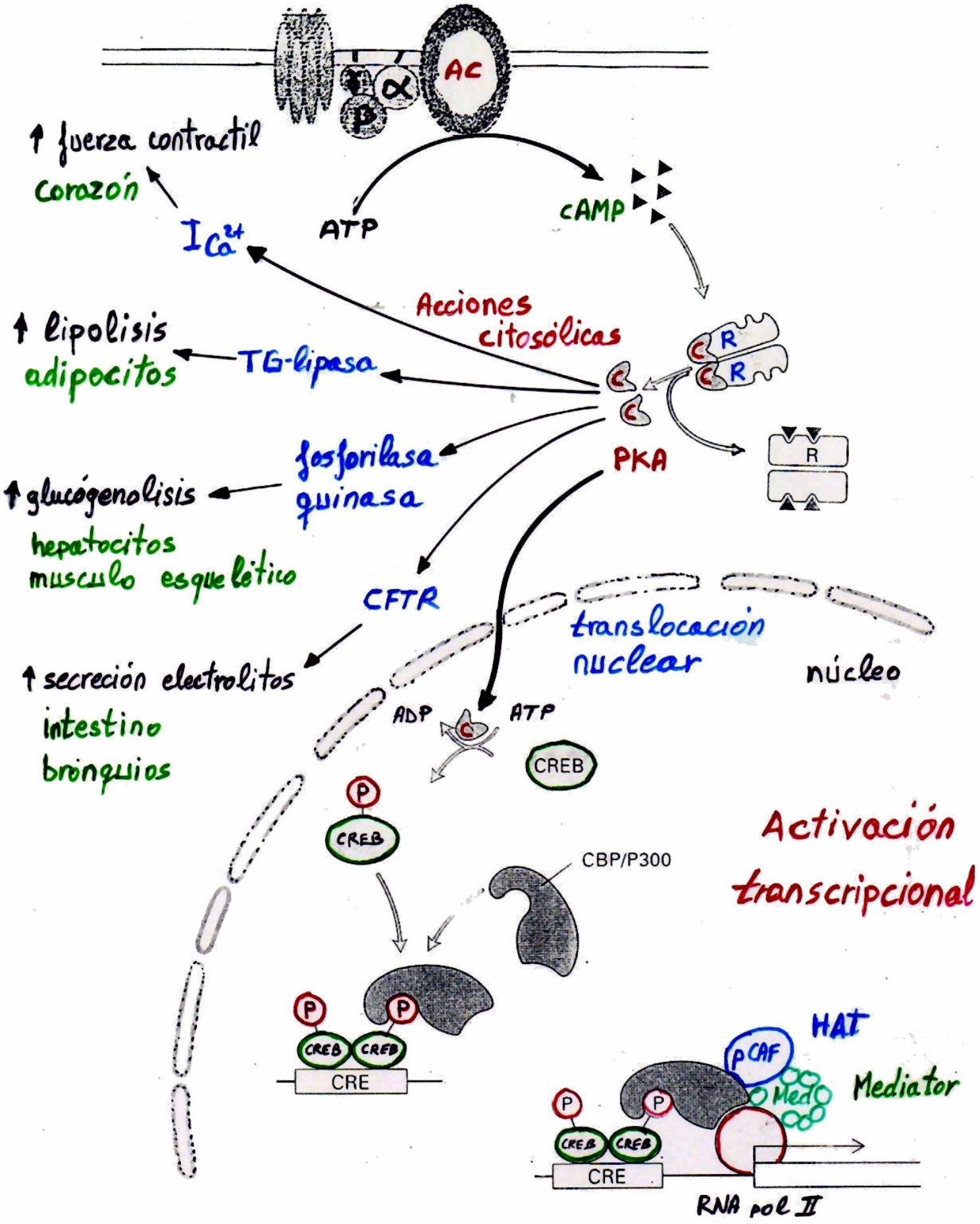
Unión al sustrato

lóbulo de reconocimiento



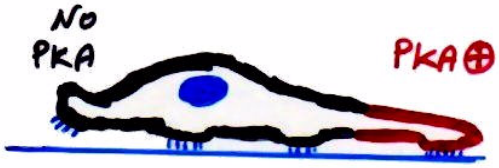

PKA: SECUENCIA CONSENSO
Arg-Arg-X-Ser-Z
Thr
Pequeño
Hidrófobo Grande
-Arg-Arg-Asn-Ala-Ile
Péptido pseudosustrato
Arg
Ile
Leu 198
Arg
Glu u 127
PkA
Glu 170
Leu 205
PkA
Glu 230

Dianas de PKA

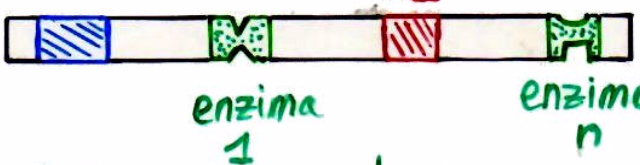


Localización de la señal: AKAPs

membrana: canales iónicos, transportadores
citosol: metabolismo
citoesqueleto: motilidad



anclaje a diana — unión a R_{II}

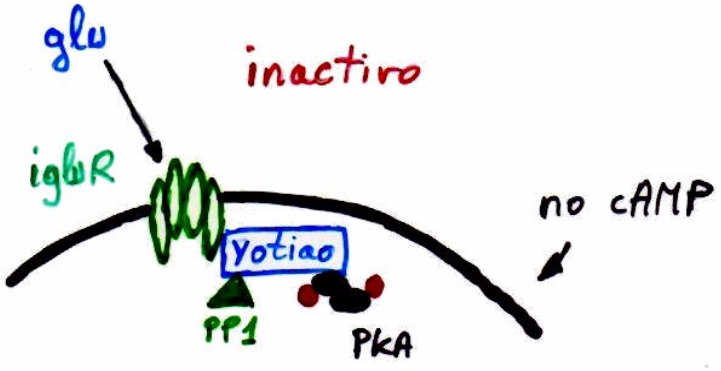


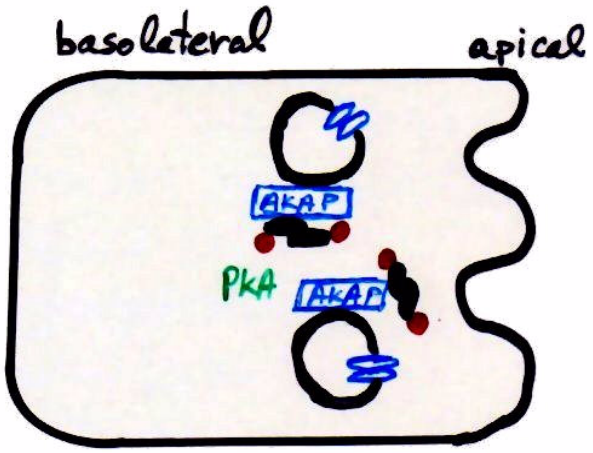
proteína de andamiaje

complejos multienzimáticos

AKAP 79 — PKA, PKC, PP2B (CaN)

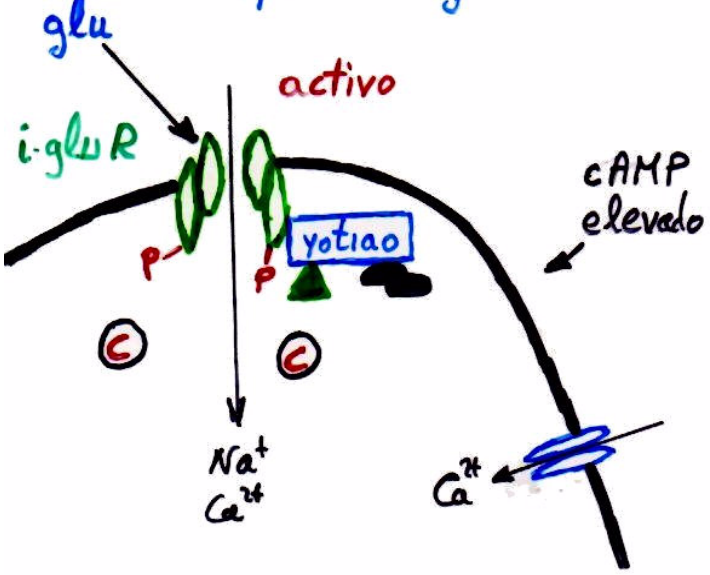
Yotiao — PKA/PP1

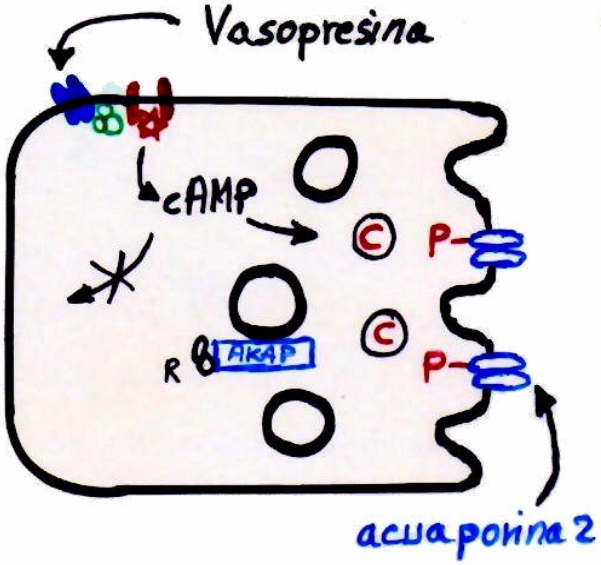




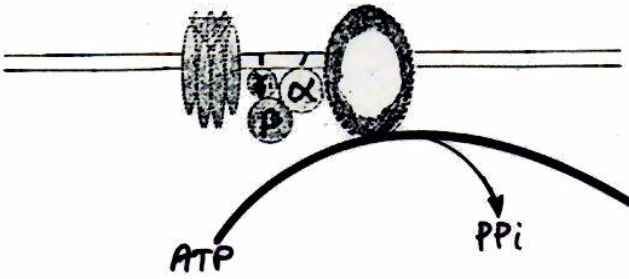
Antidiuresis

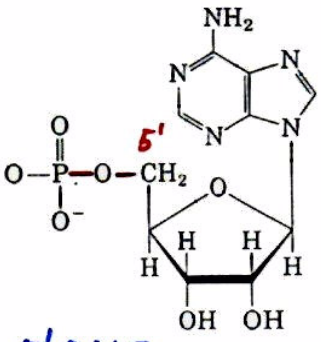
Aprendizaje





terminación de la señal : PDEs



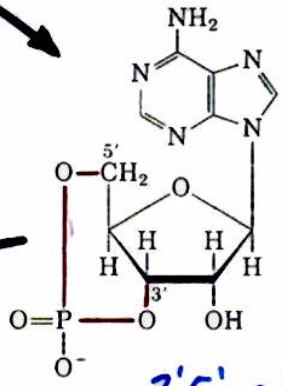


5'-AMP

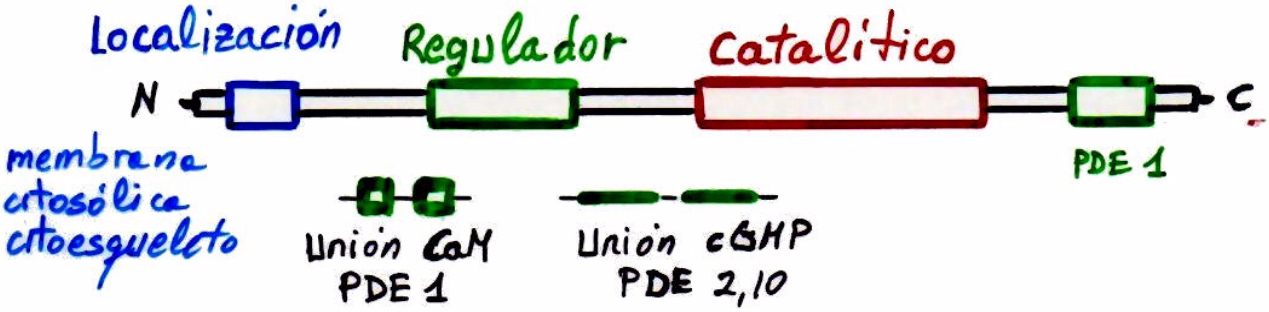
Fosfodiesterasa

PDE

$\Delta G^{o'} = -50$ kJ/mol

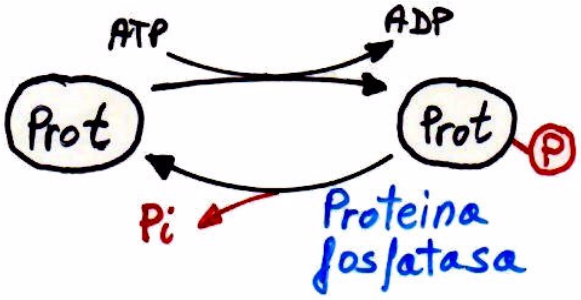


3',5'-cAMP



		Regulador
inespecíficas		
cAMP y cGMP	PDE 1	CaM ↑
	PDE 2	cGMP ↑
	PDE 3	cGMP ↓
	PDE 10	cAMP ↓ (competitivo)
específicas		
cAMP	PDE 4	
	PDE 7,8	no inhibida IBMX
cGMP	PDE 5,9	5, Inhibida sildenafilo
	PDE 6	Gt, fotorreceptores

terminación de la señal: fosfatasas



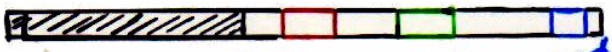
- catalítica
- homóloga
- Reguladora
  - especificidad
  - localización

PPP

PP1 : dimérica, espectro ≈ PKA

PP2A : trimérica, amplio espectro

PP2B : dimérica, CaM Ca^{2+}



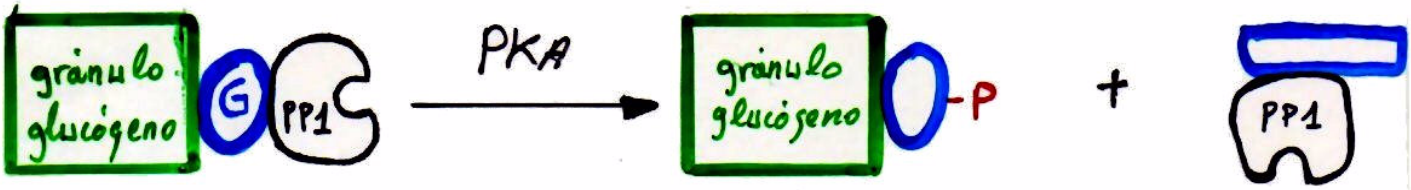
G: glucógeno PNUTS núcleo
M: músculo tau microt.
PR55 α: soma β neuritas
PR56 α, β, ε citosol, γ δ núcleo

PPM PP2C : monomérica

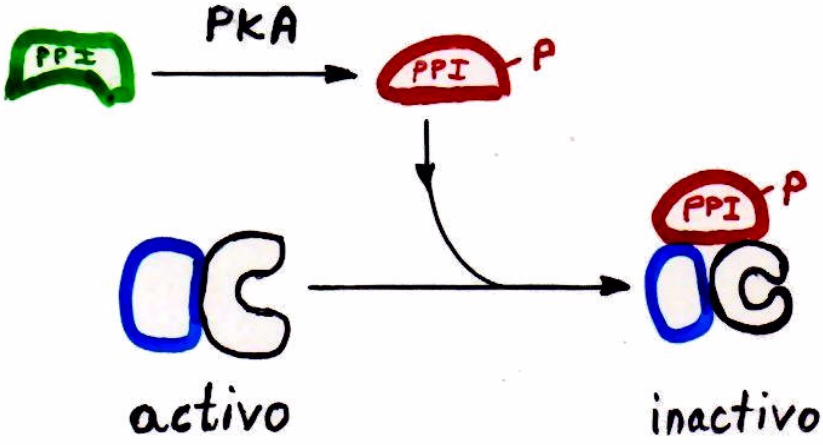
P-Tyr PTP

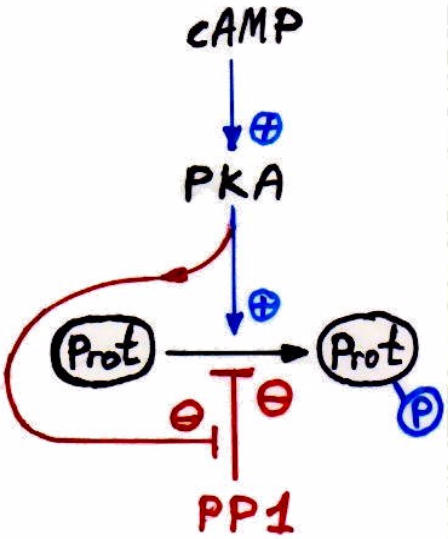
Reguladas

* R. por localización (subunidad reguladora)



* R. por proteínas inhibidoras

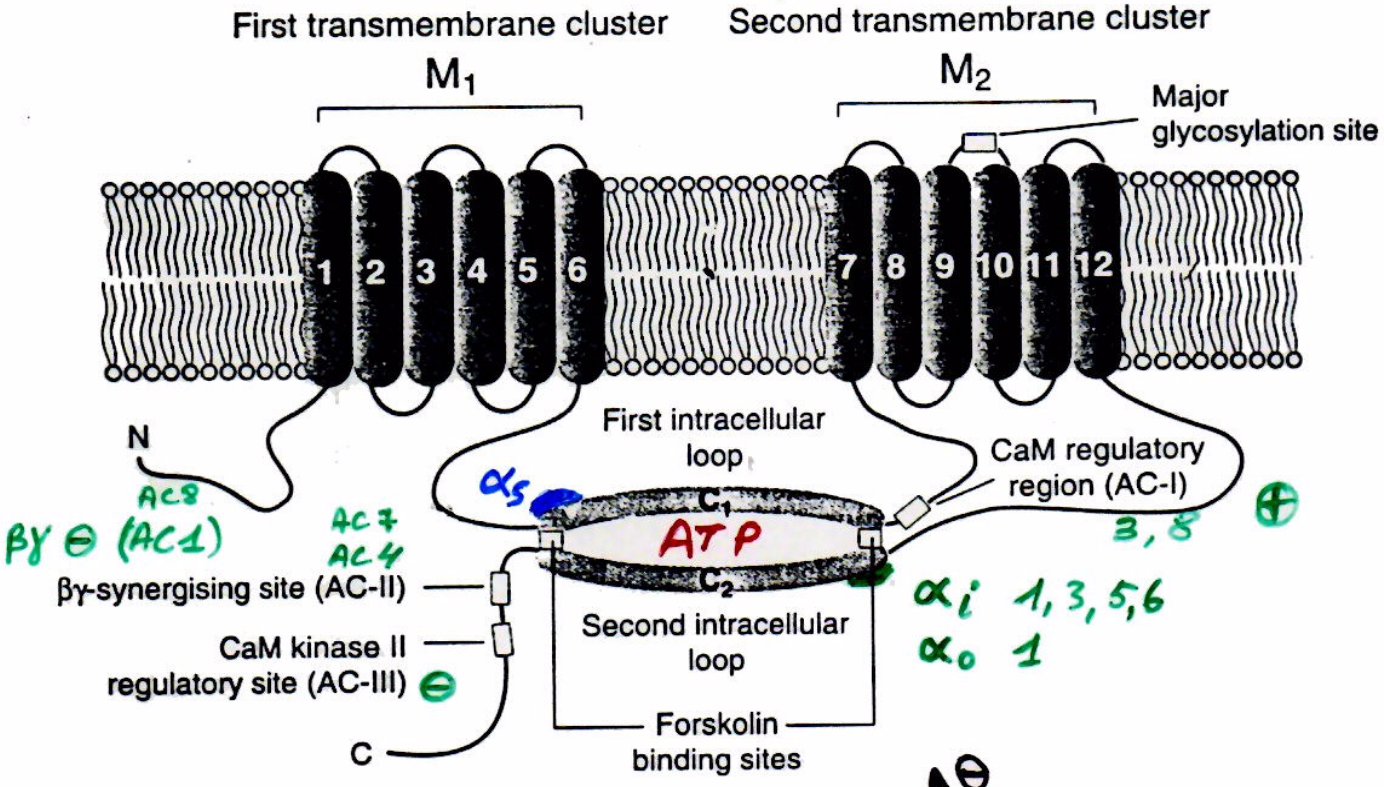




Adenilato ciclasa

9 isoformas: ↑ α_s

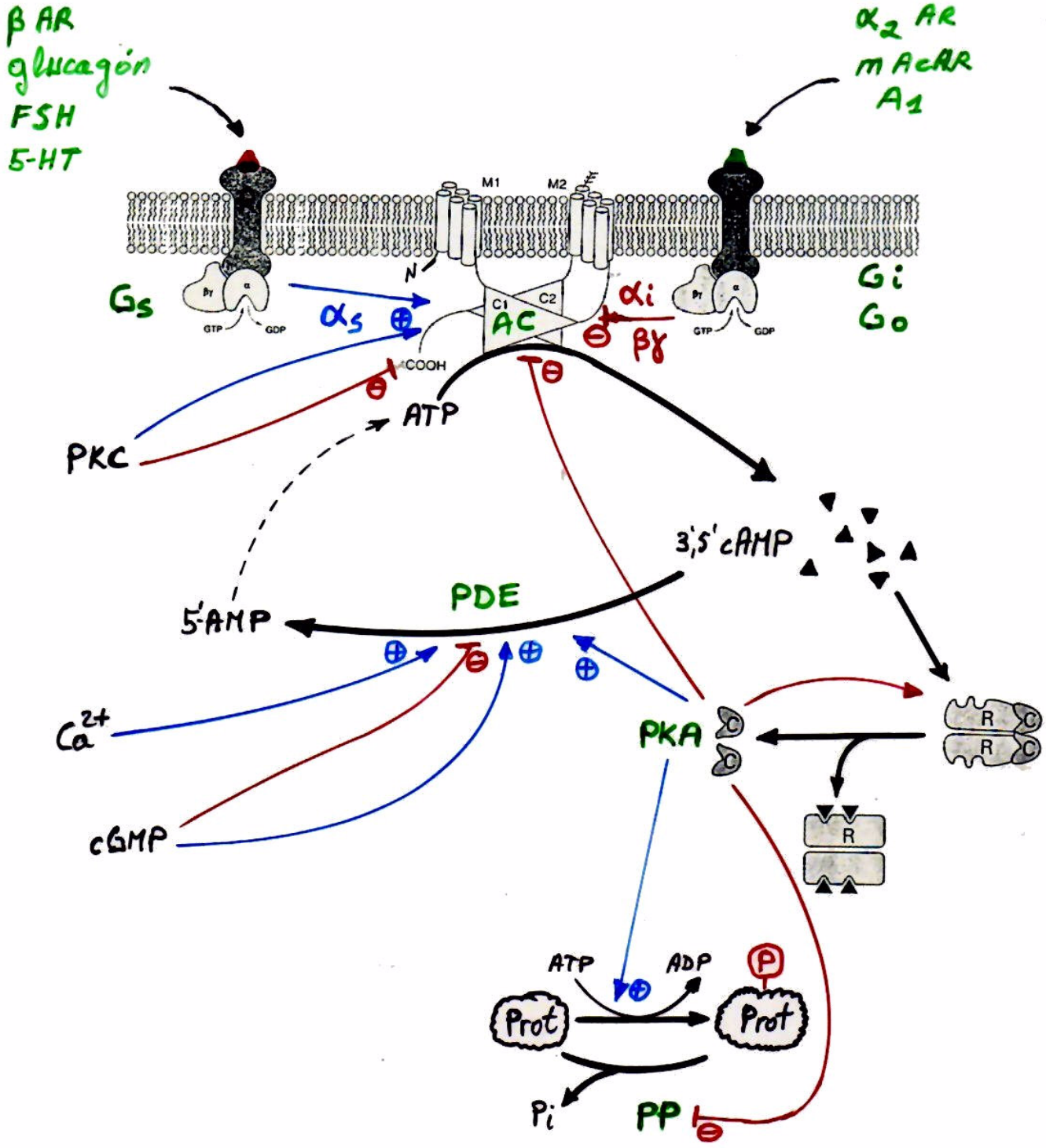
α_i ↓ =
$\beta\gamma$ ↑↓
Ca^{++}/CaM ↑ ↓ inespecífico



Integrador de señales

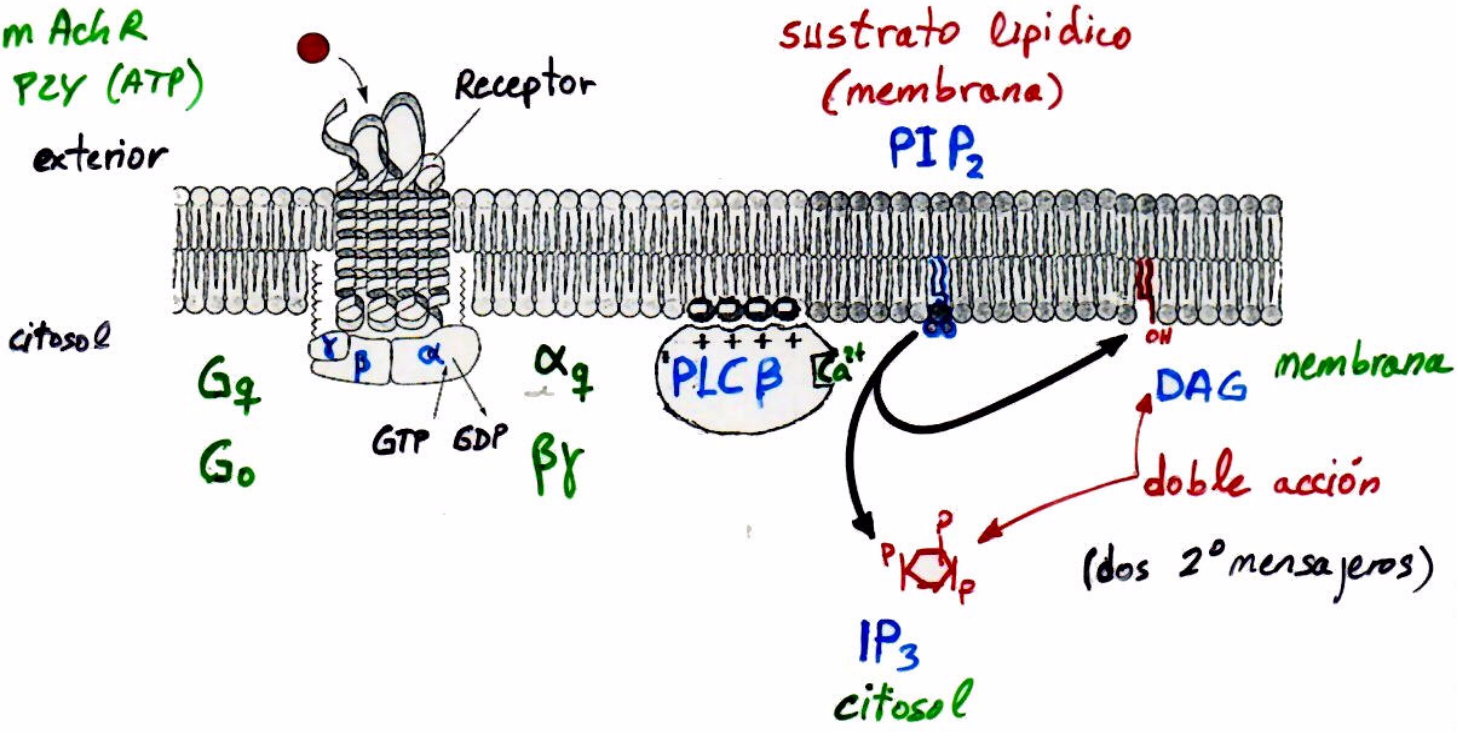
detector de coincidencias

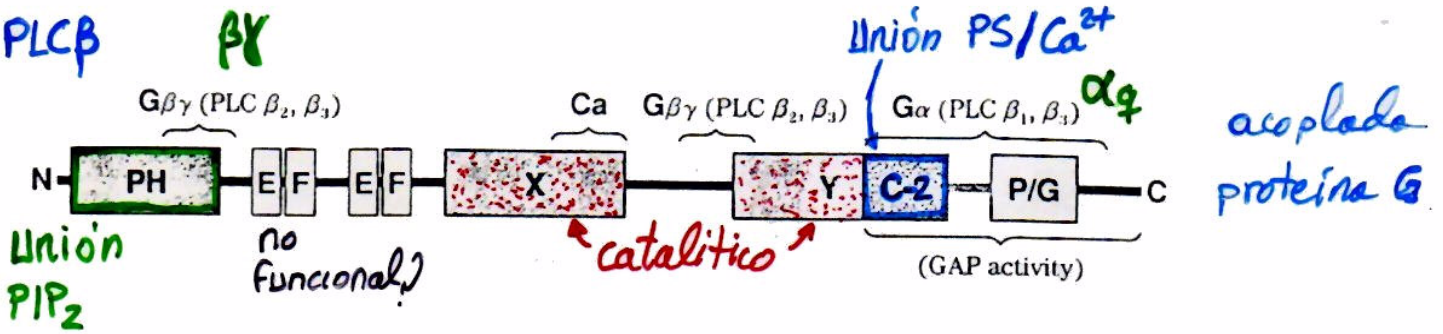
Integración en la ruta del cAMP

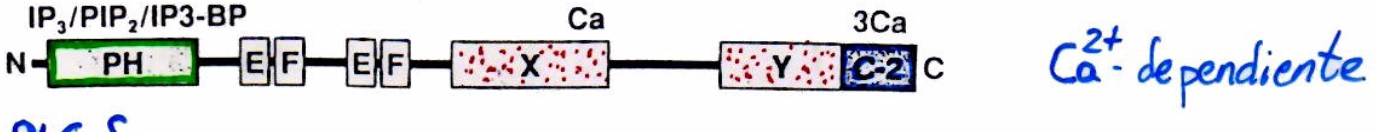


Señalización por Fosfolipasa C

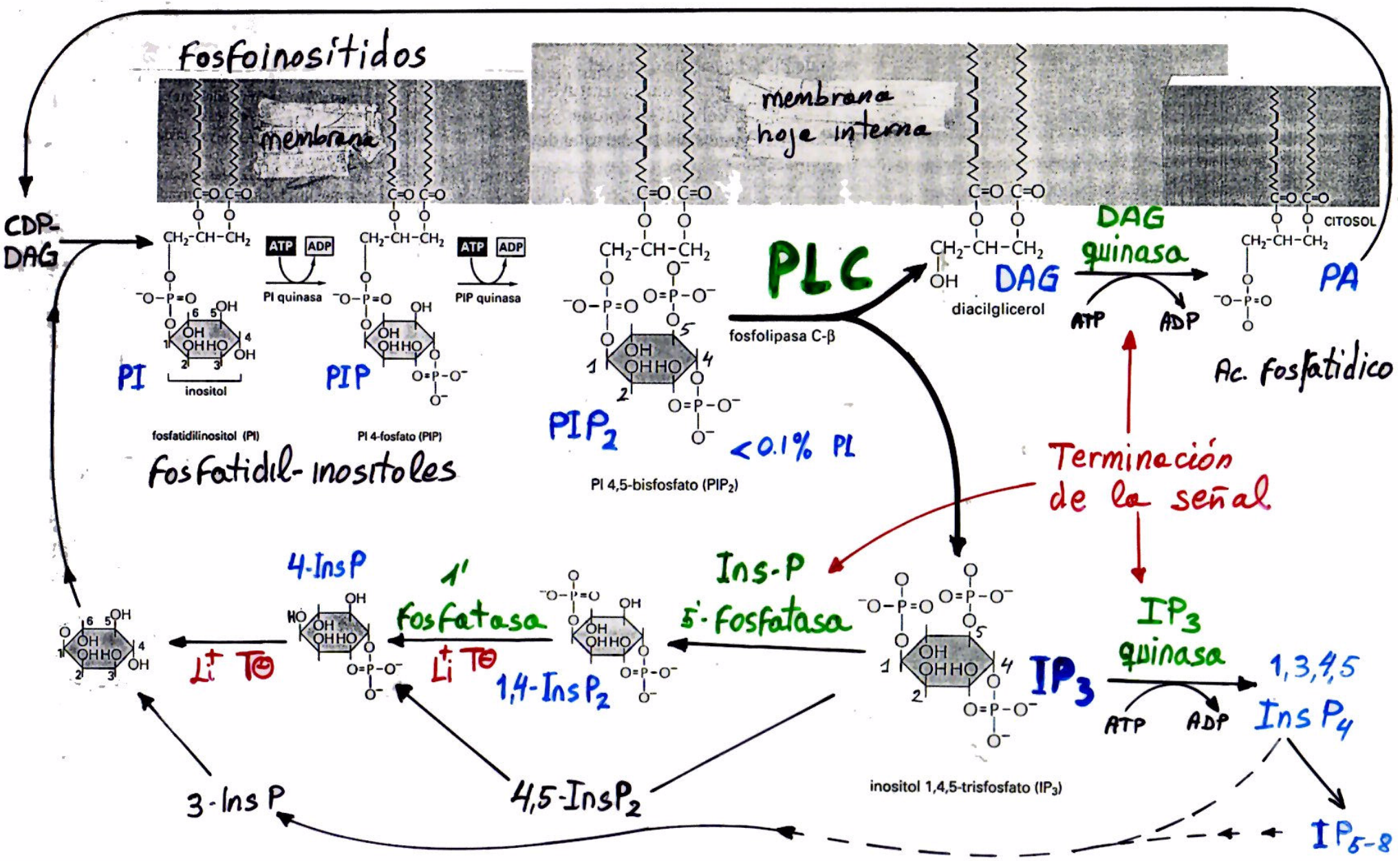
- R. quininas (Bk, AT)
- α_1 AR
- m AchR
- P2Y (ATP)

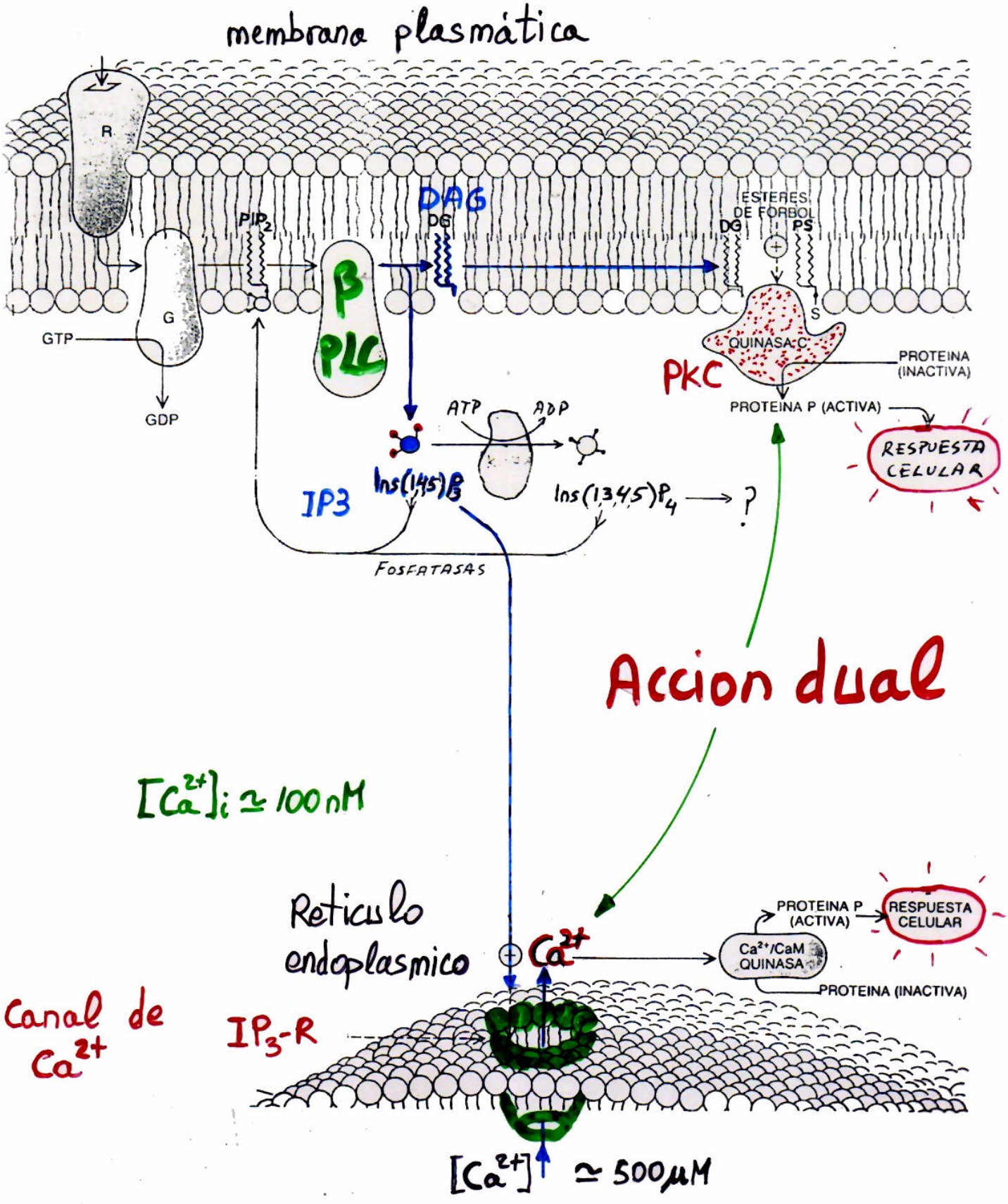




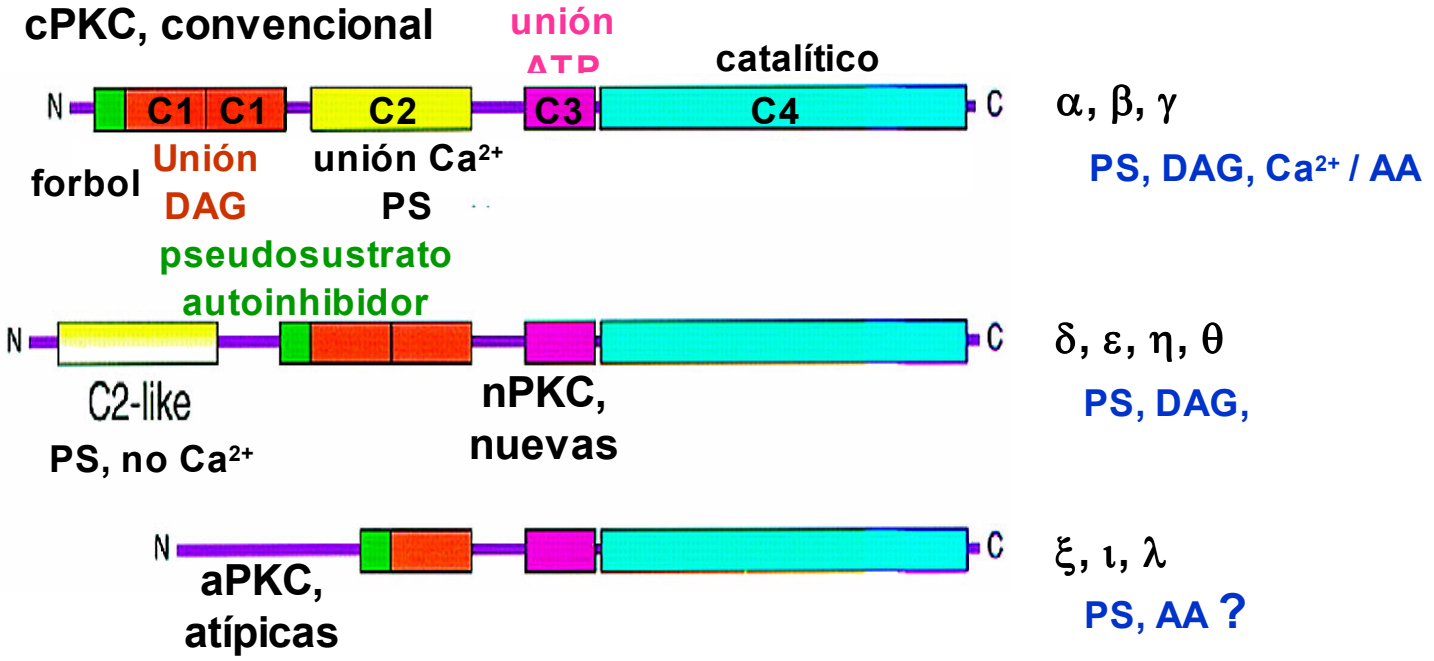


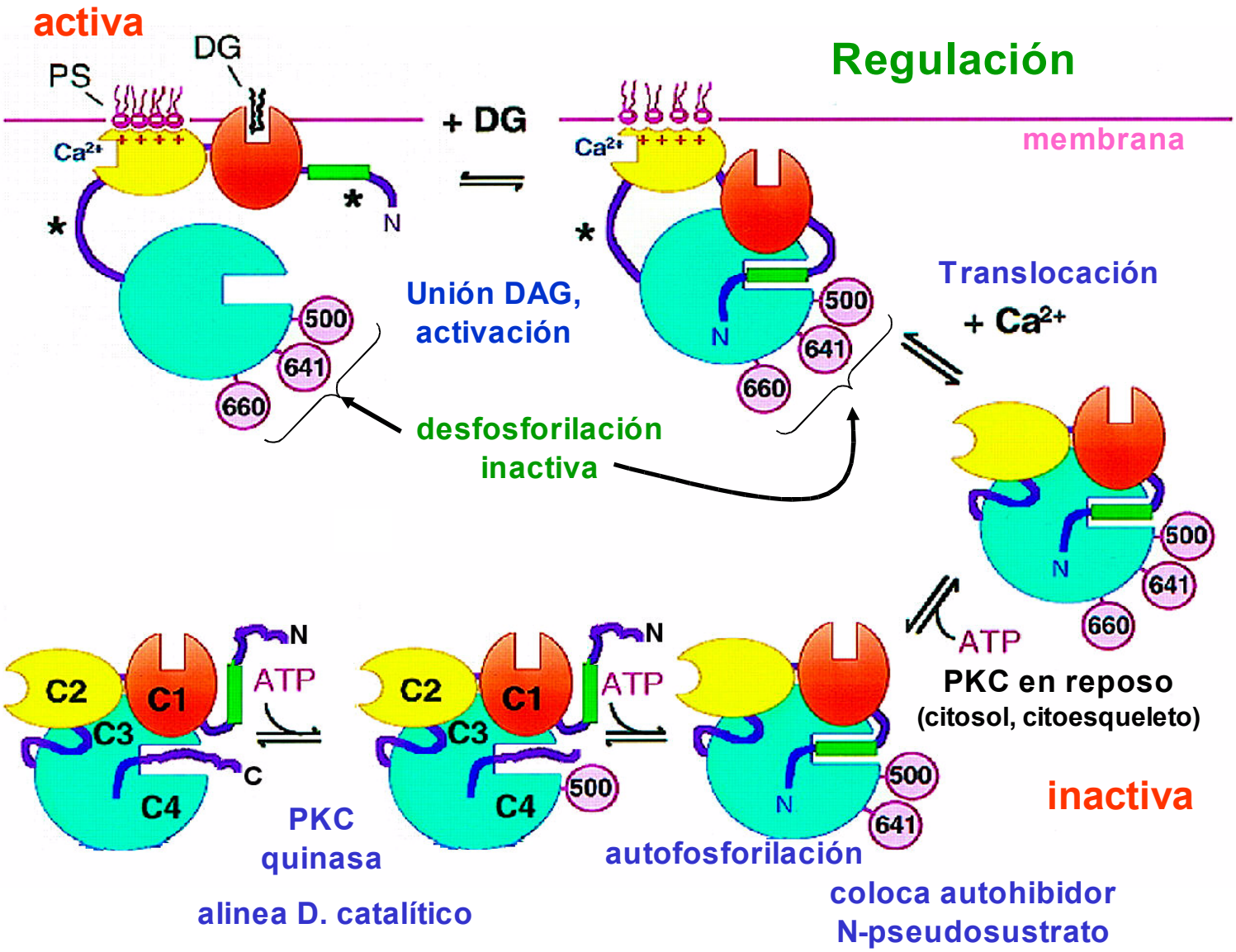
Reciclamiento en la ruta de fosfoinositidos




membrana plasmática
R
G
GTP
GDP
PIP2
PLC
DAG
DG
ESTERES DE FORBOL
DG
PS
S
QUINASA C
PROTEINA (INACTIVA)
PkC
PROTEINA P (ACTIVA)
RESPUESTA CELULAR
ATP
ADP
Ins(1,4,5)P3
IP3
Ins(1,3,4,5)P4 → ?
FOSFATASAS
Accion dual
[Ca2+]i ≃ 100 nM
Reticulo endoplasmico
Ca2+
PROTEINA P (ACTIVA)
RESPUESTA CELULAR
Ca2+/CaM QUINASA
PROTEINA (INACTIVA)
Canal de Ca2+
IP3-R
[Ca2+] ≃ 500 μM

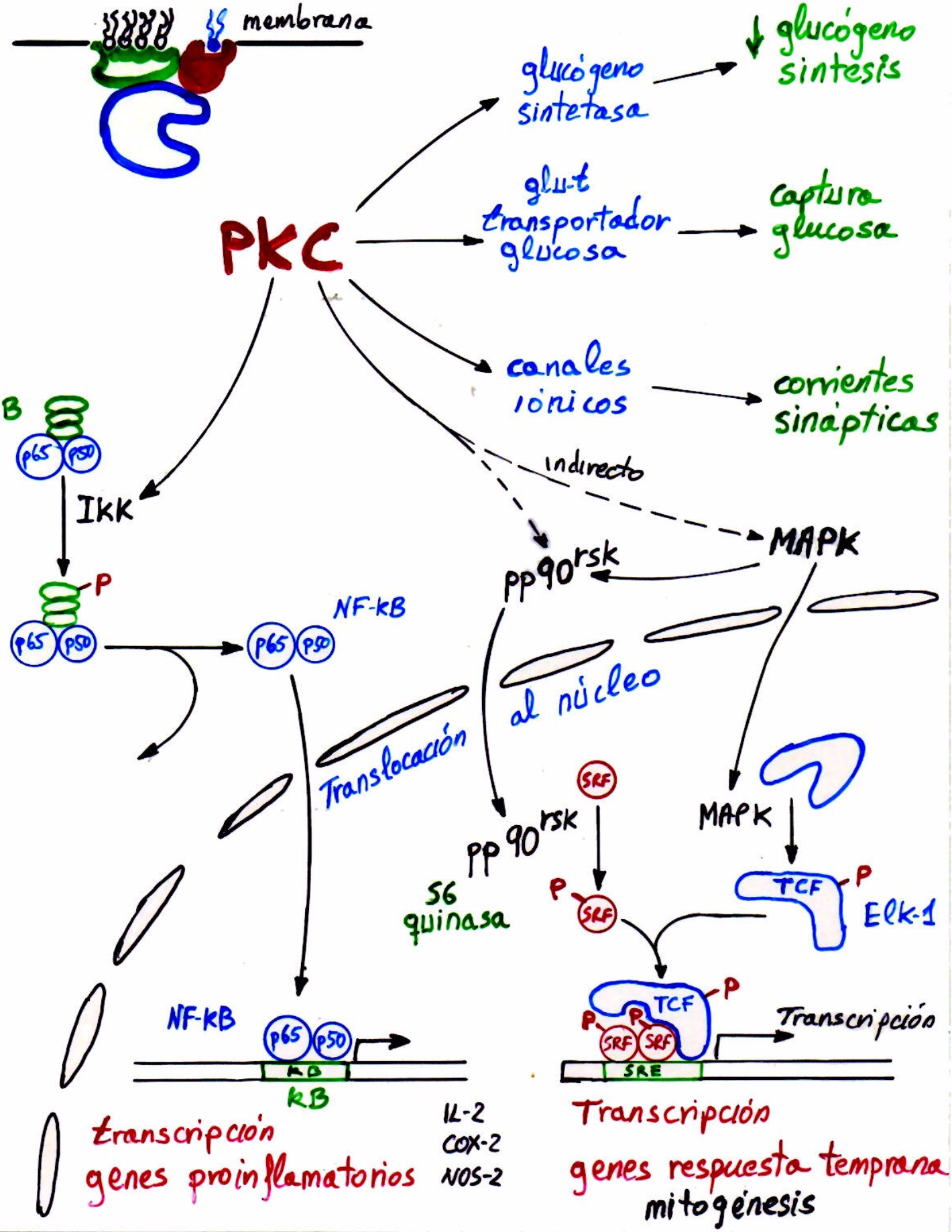
Estructura y regulación de la Proteína quinasa C (PKC)



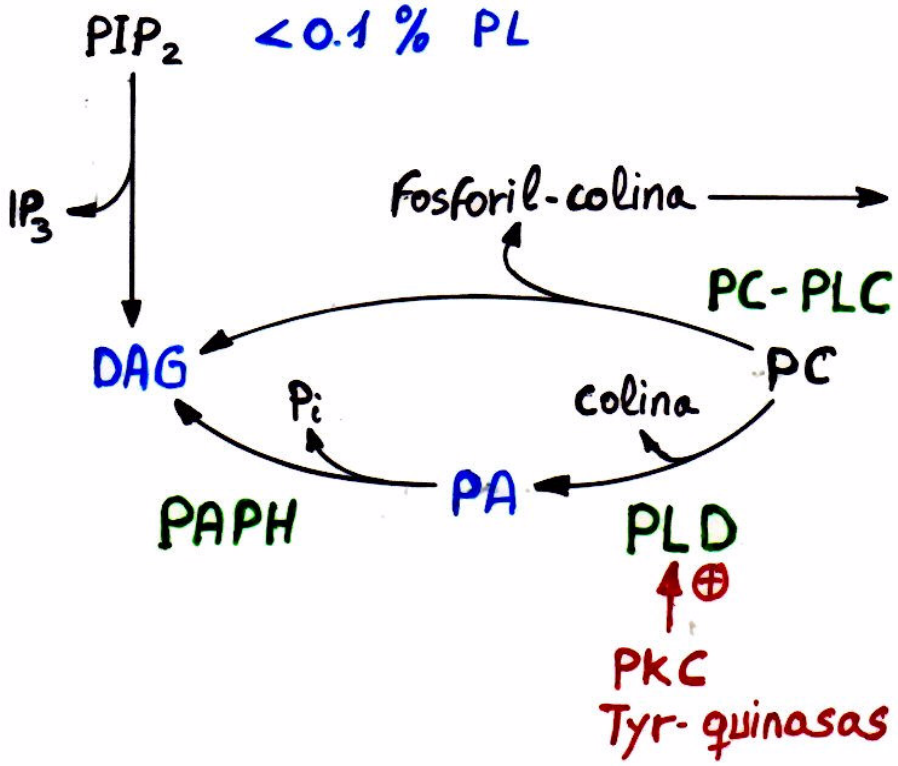


Enrique Castro, 2003

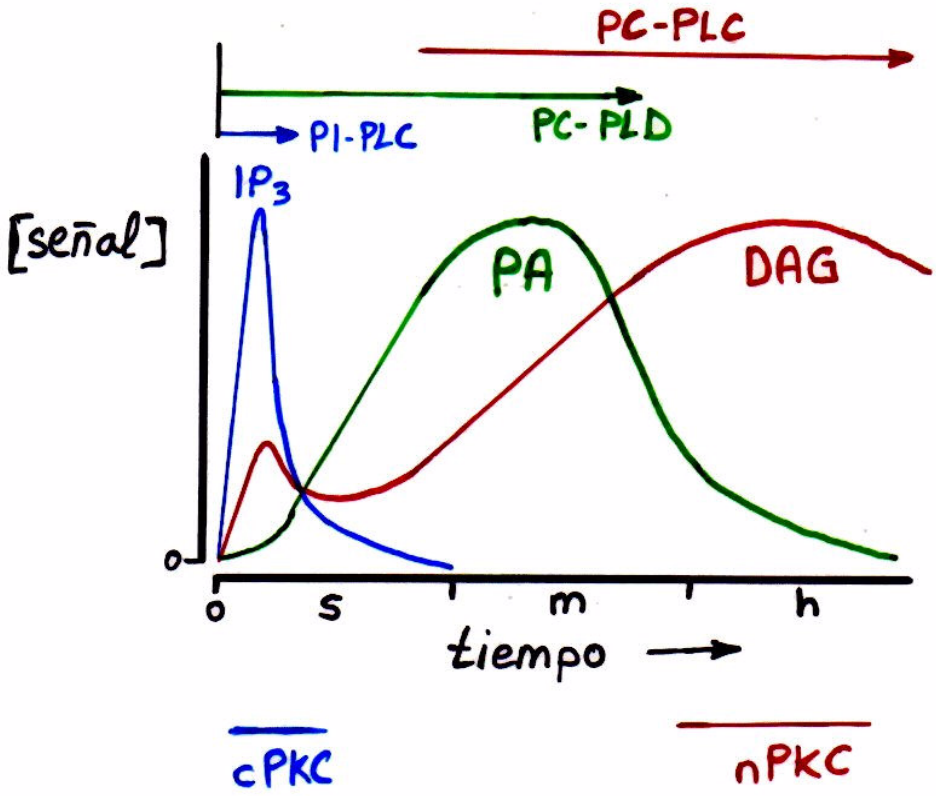
Acciones de PKC



Producción sostenida de DAG



* Recambio temporal



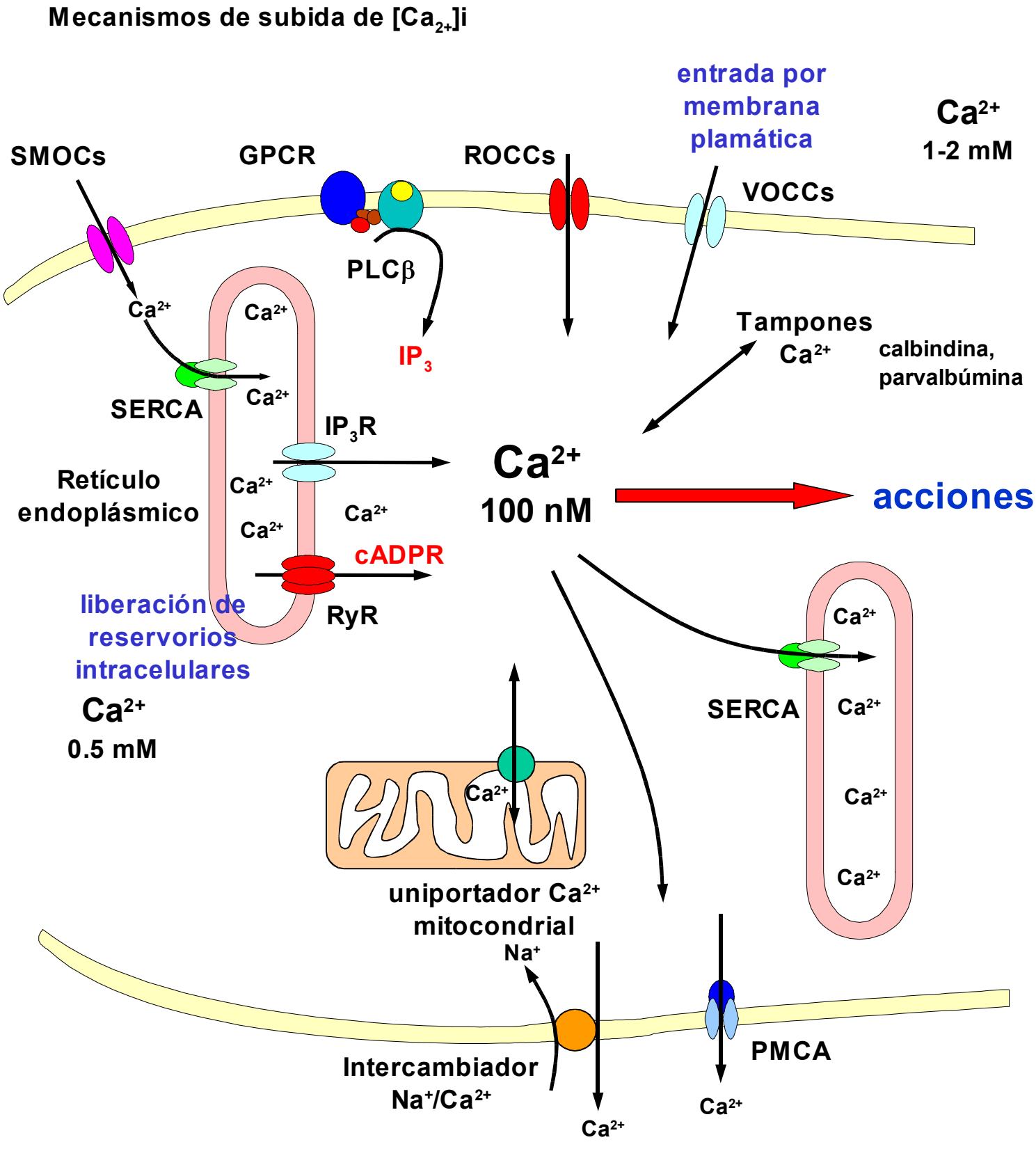
* localización DAG
- plasmalema
- RE
- núcleo

* isoforma PKC

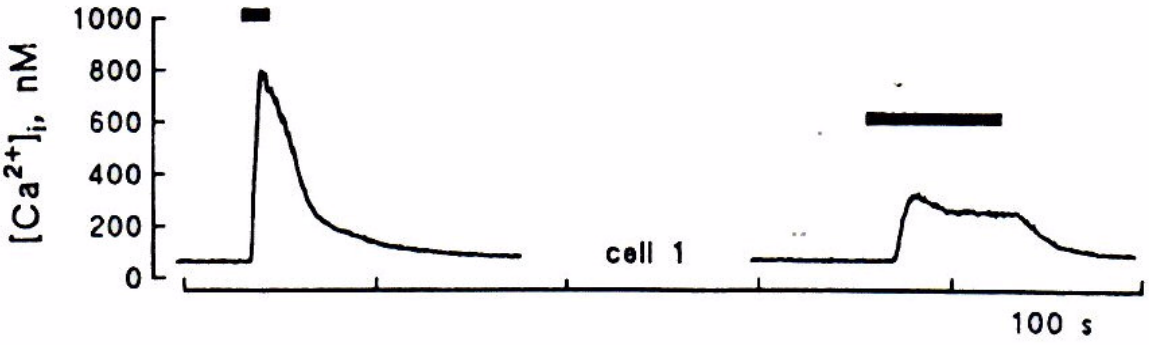
Ca+DAG — cPKC

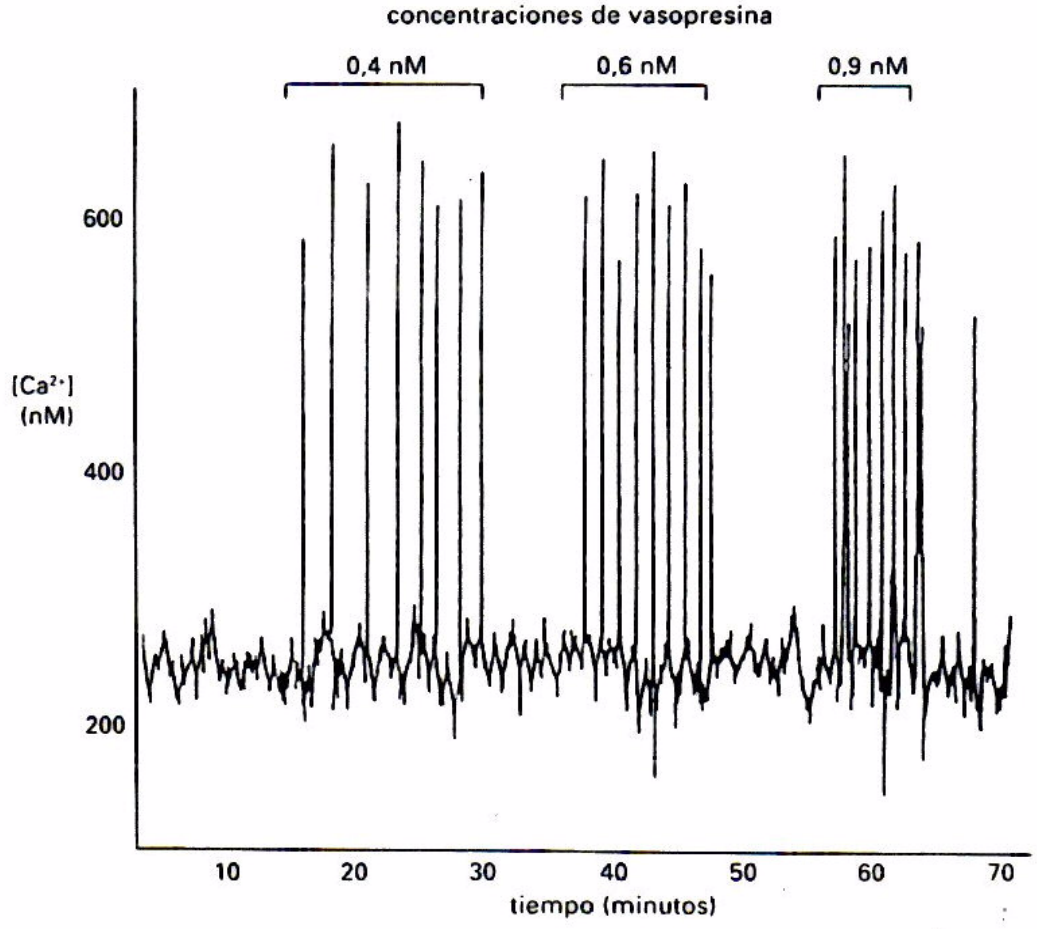
DAG — nPKC

Homeostasis intracelular del Ca^{2+}



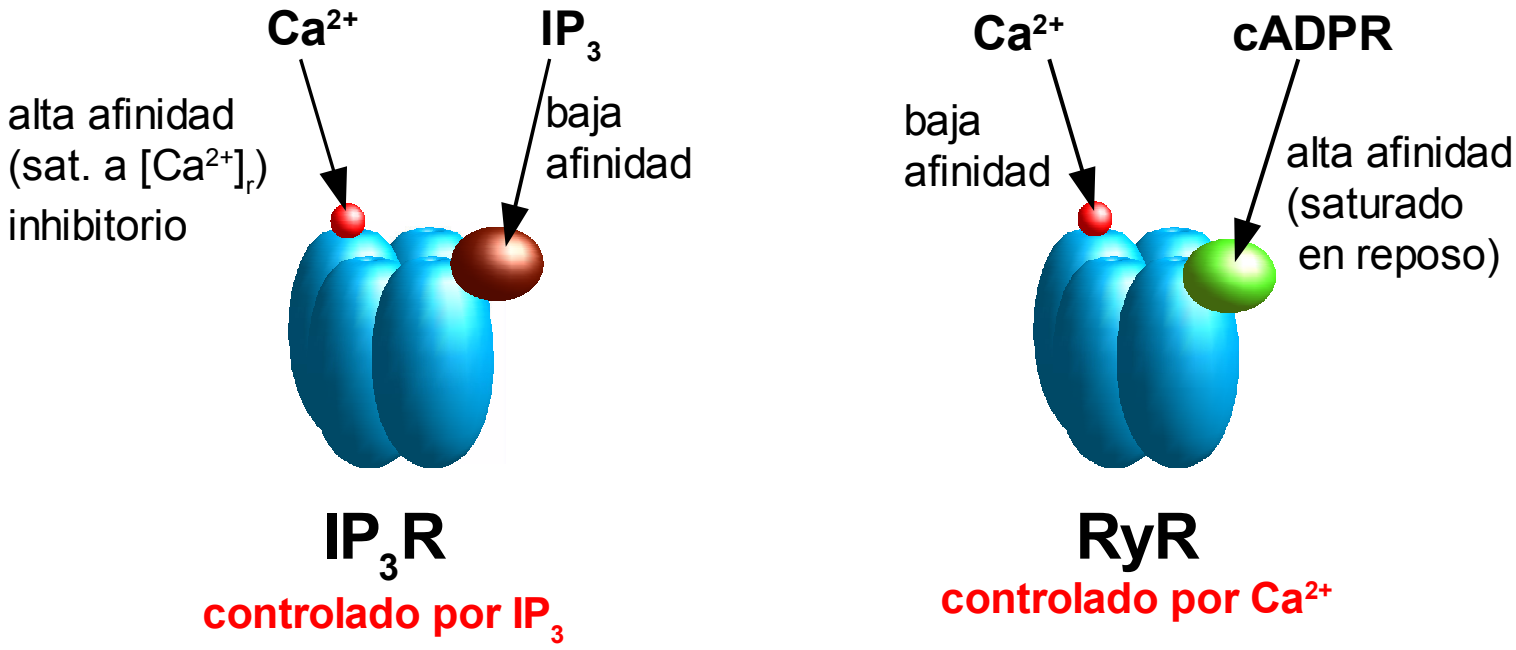
Enrique Castro, 2003





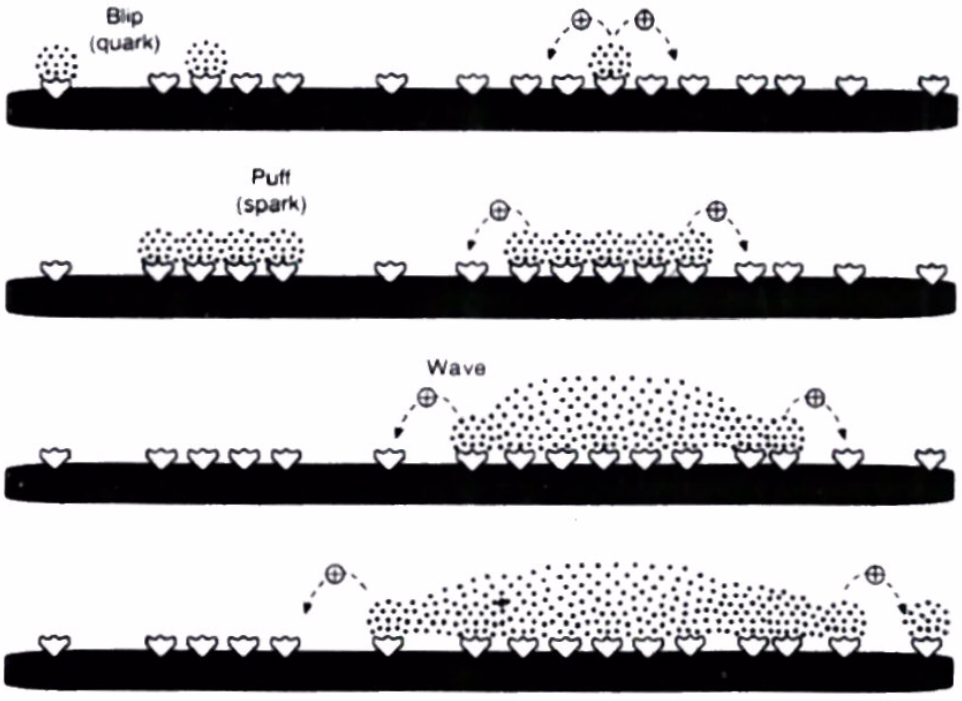
Señales de Ca^{2+}: IP_3, RyR y CICR

Moduladores múltiples

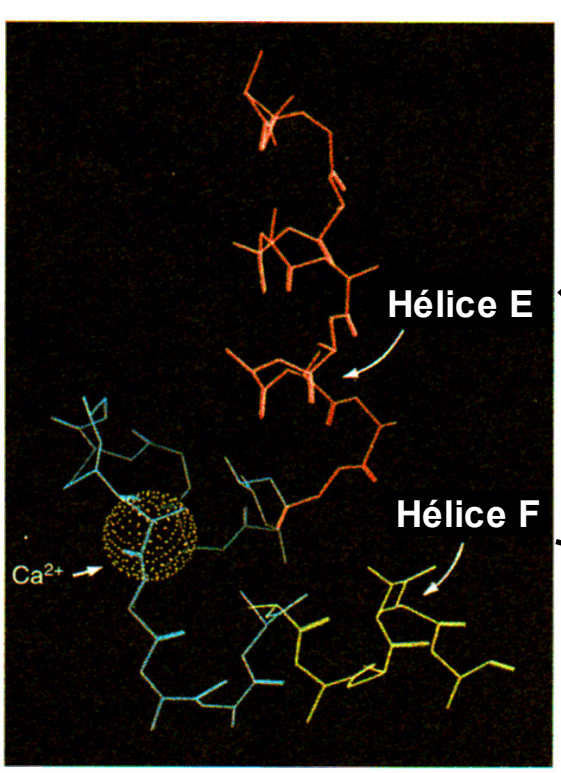


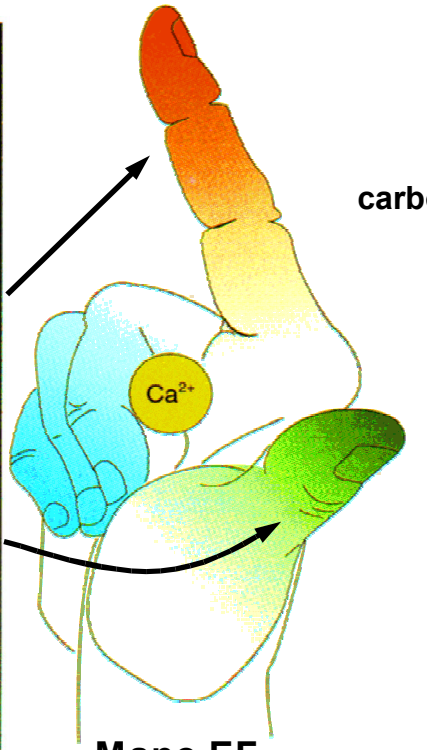
CICR

- **amplificación**
- **extensión**
- **oscilaciones**

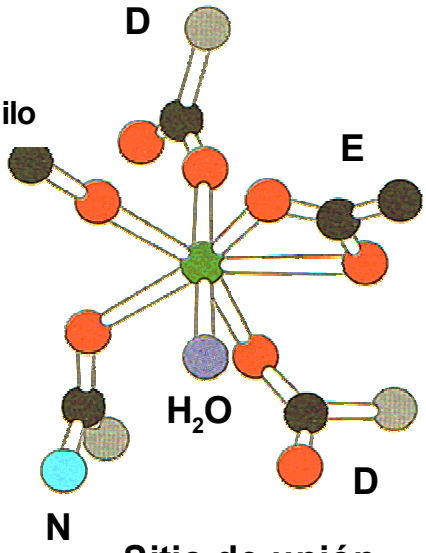


Estructura de la Calmodulina





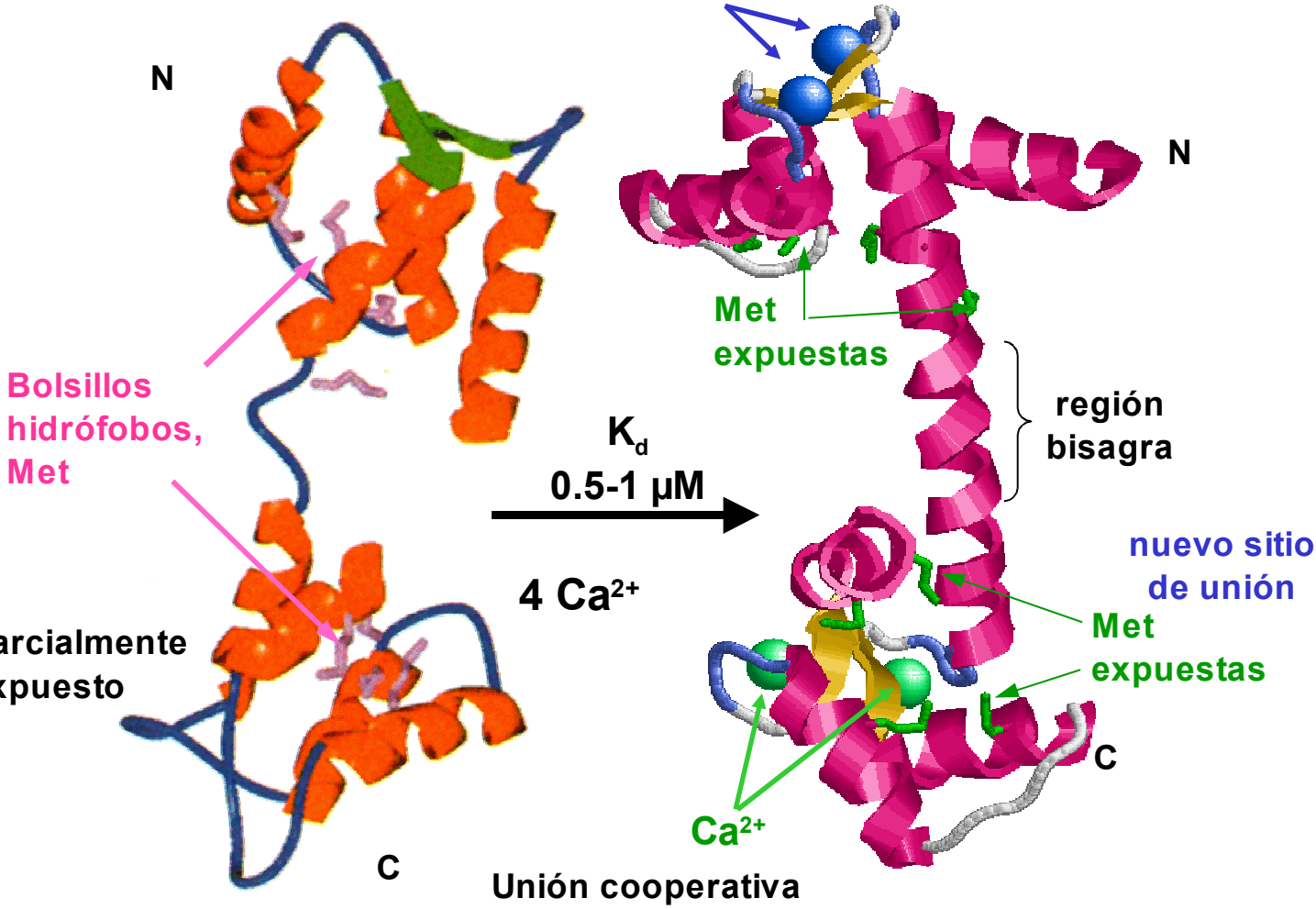
Mano EF



Sitio de unión de Ca^{2+}

apo-calmodulina

Ca^{2+}-calmodulina

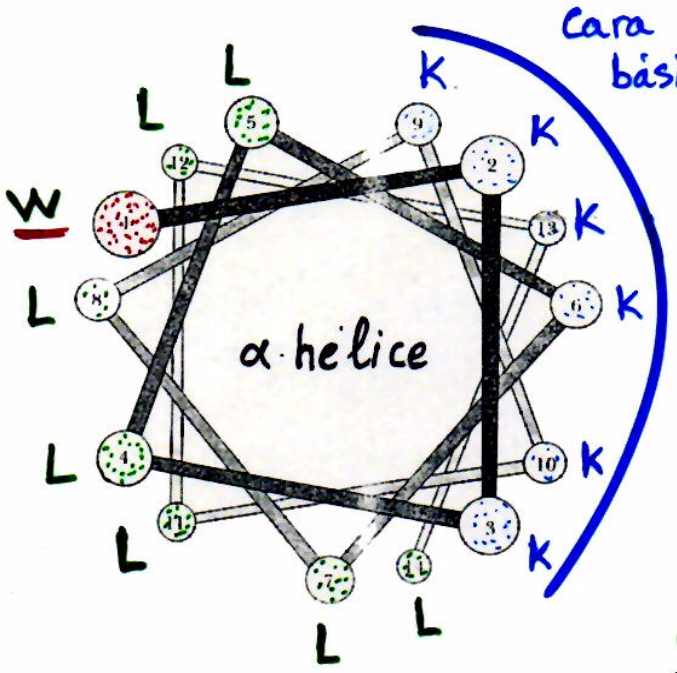


Unión cooperativa

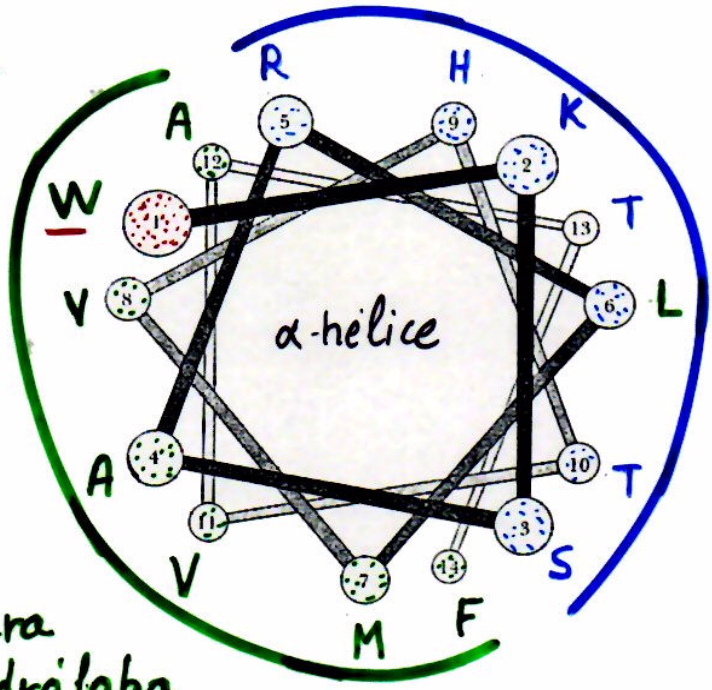
Enrique Castro, 2003

Dianas de calmodulina

Péptido modelo



espectrina
motivo de unión a CaM



motivo baah

basic

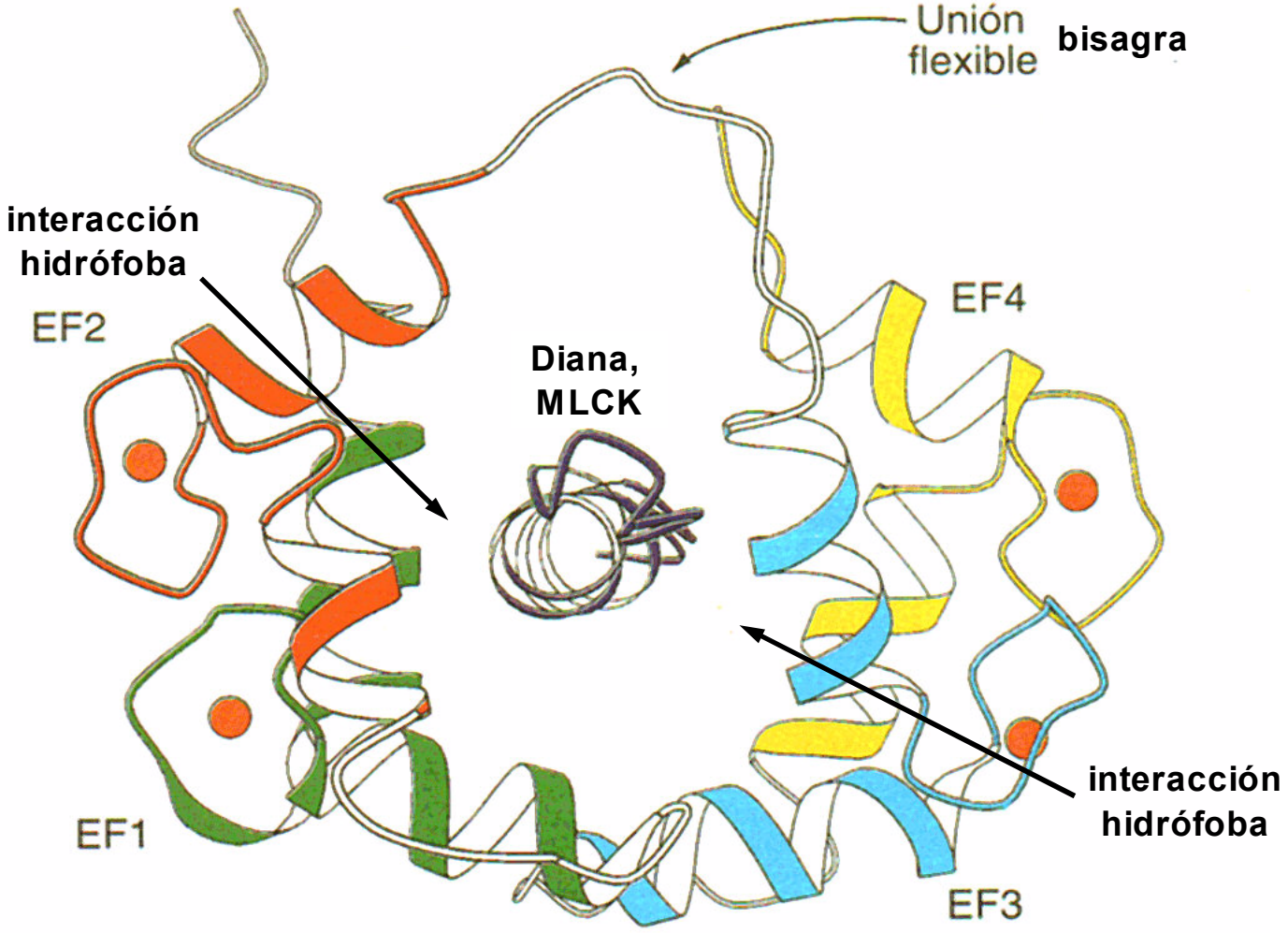
antipathic

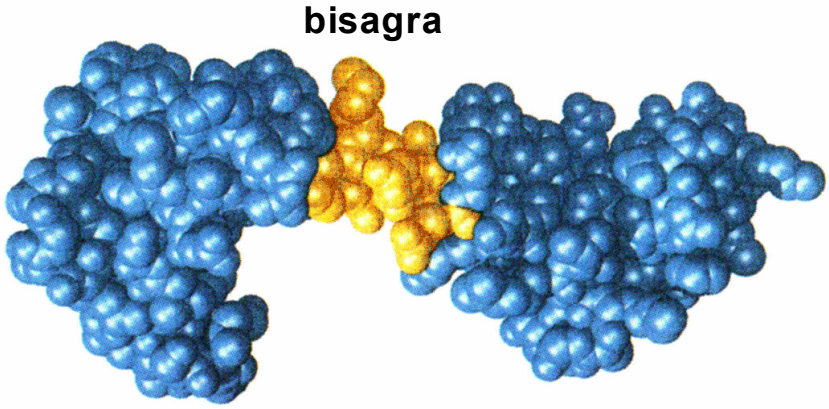
alpha

helix

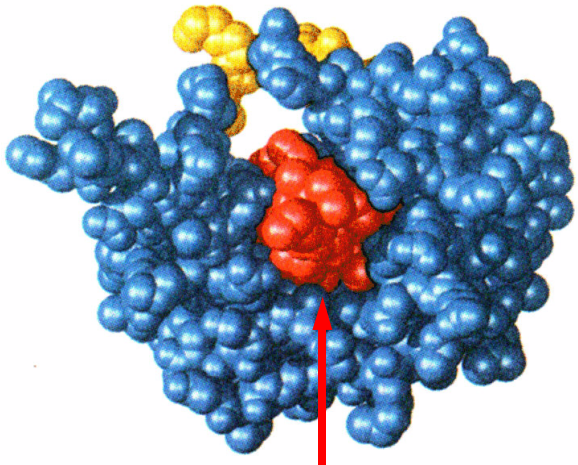
W: unión a C-terminal CaM

Unión de Ca^{2+}-calmodulina a su diana





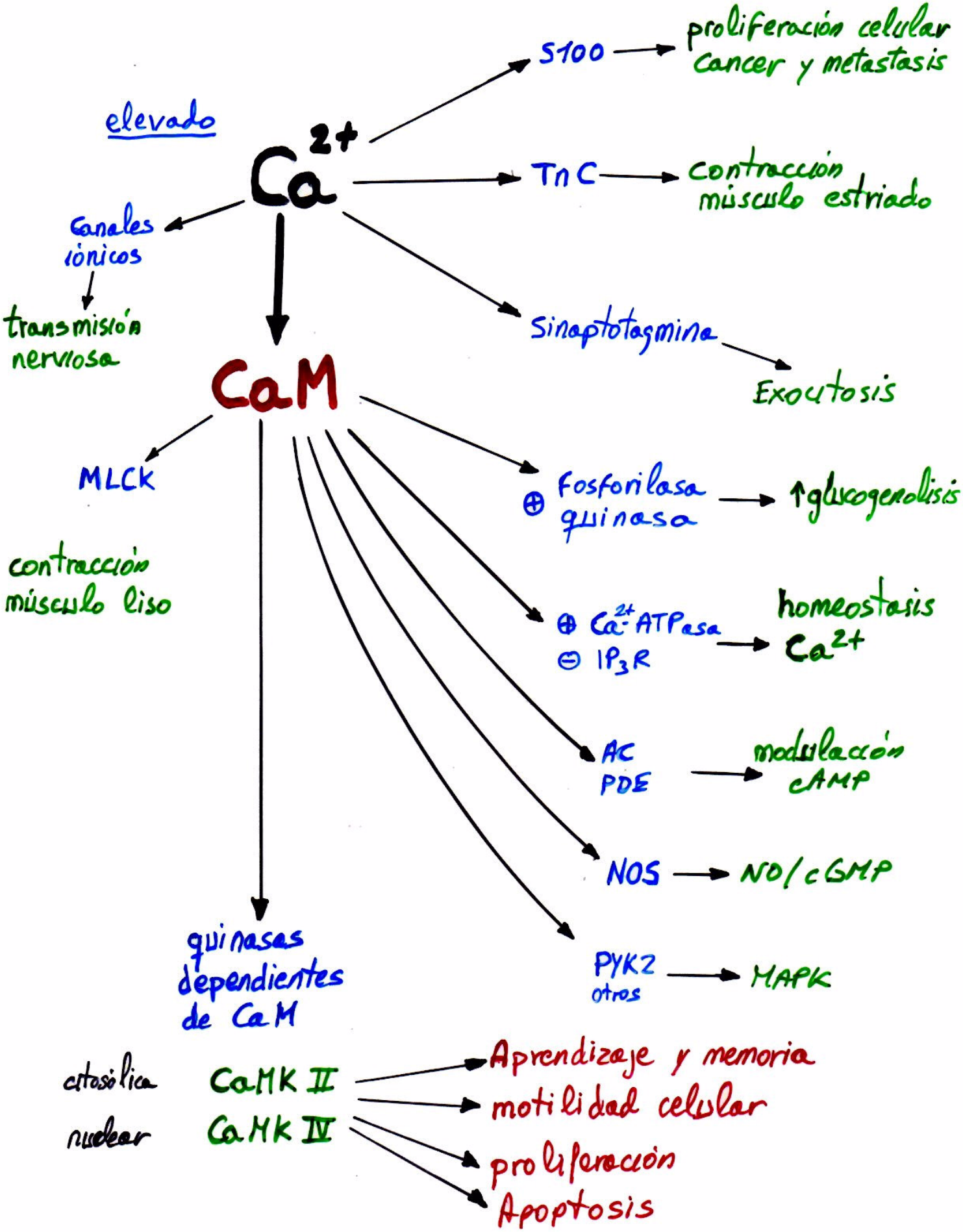
Ca^{2+}-calmodulina, conformación extendida



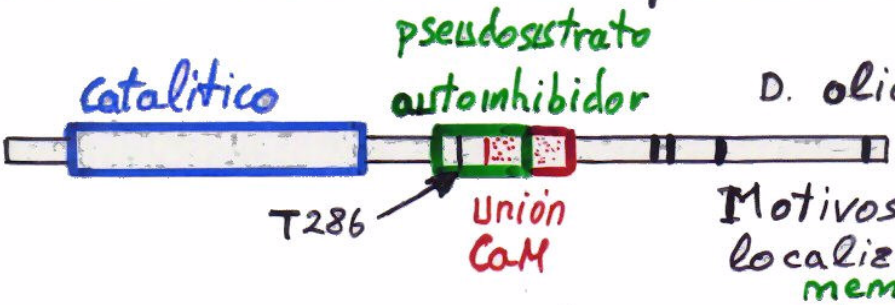
péptido MLCK (diana)

Enrique Castro, 2003

Dianas y acciones del Ca^{2+} citosólico

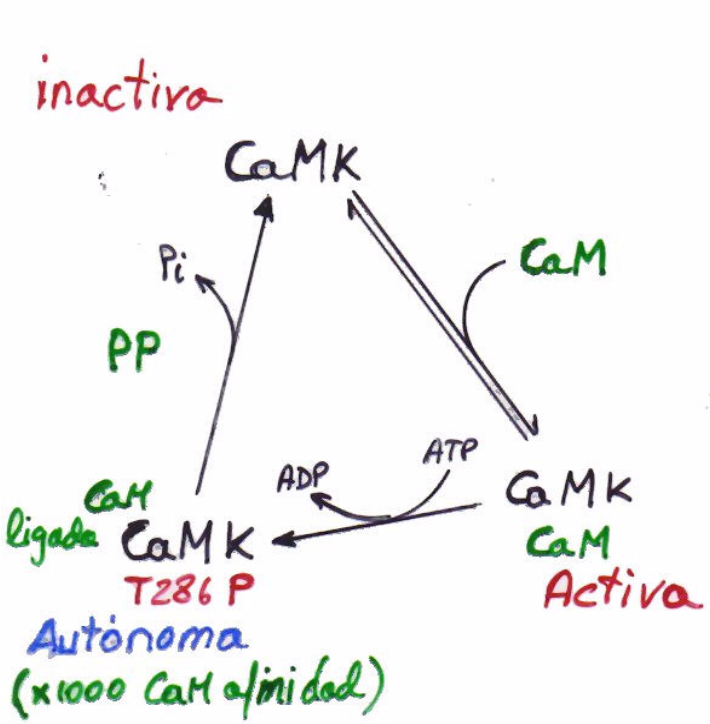


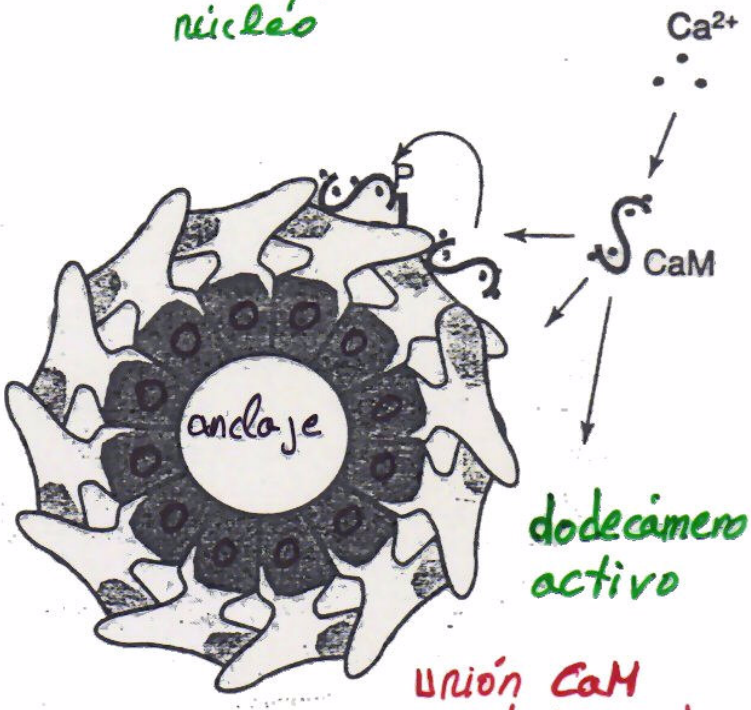
Quinasa CaM-dependiente II



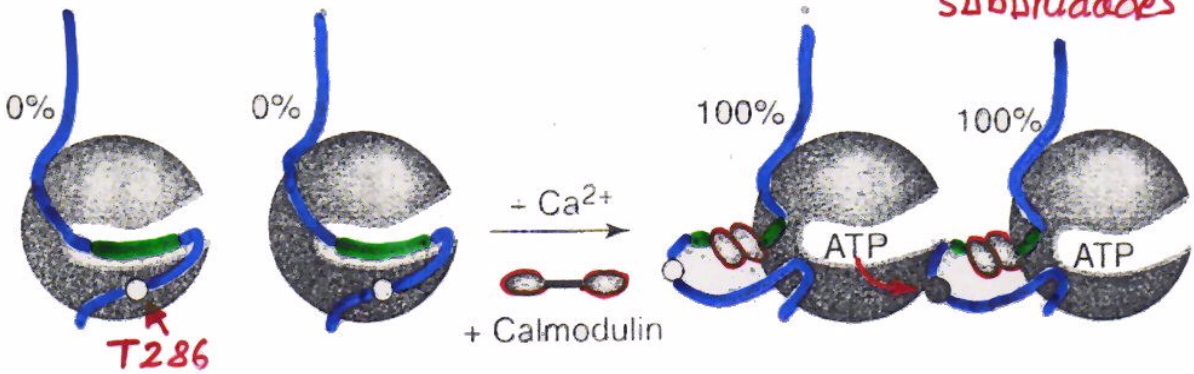
D. oligomerización

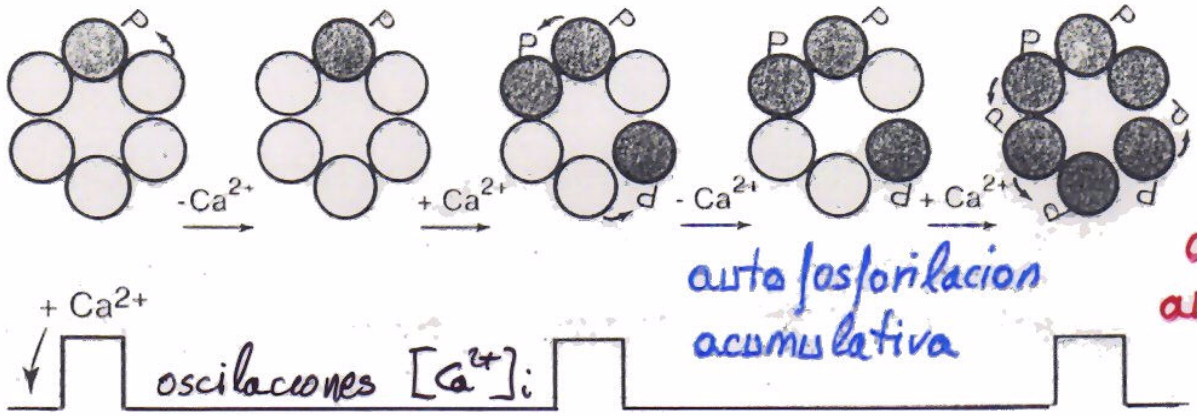
Motivos de localización
membrana
citoesqueleto
núcleo





unión CaM subunidades vecinas

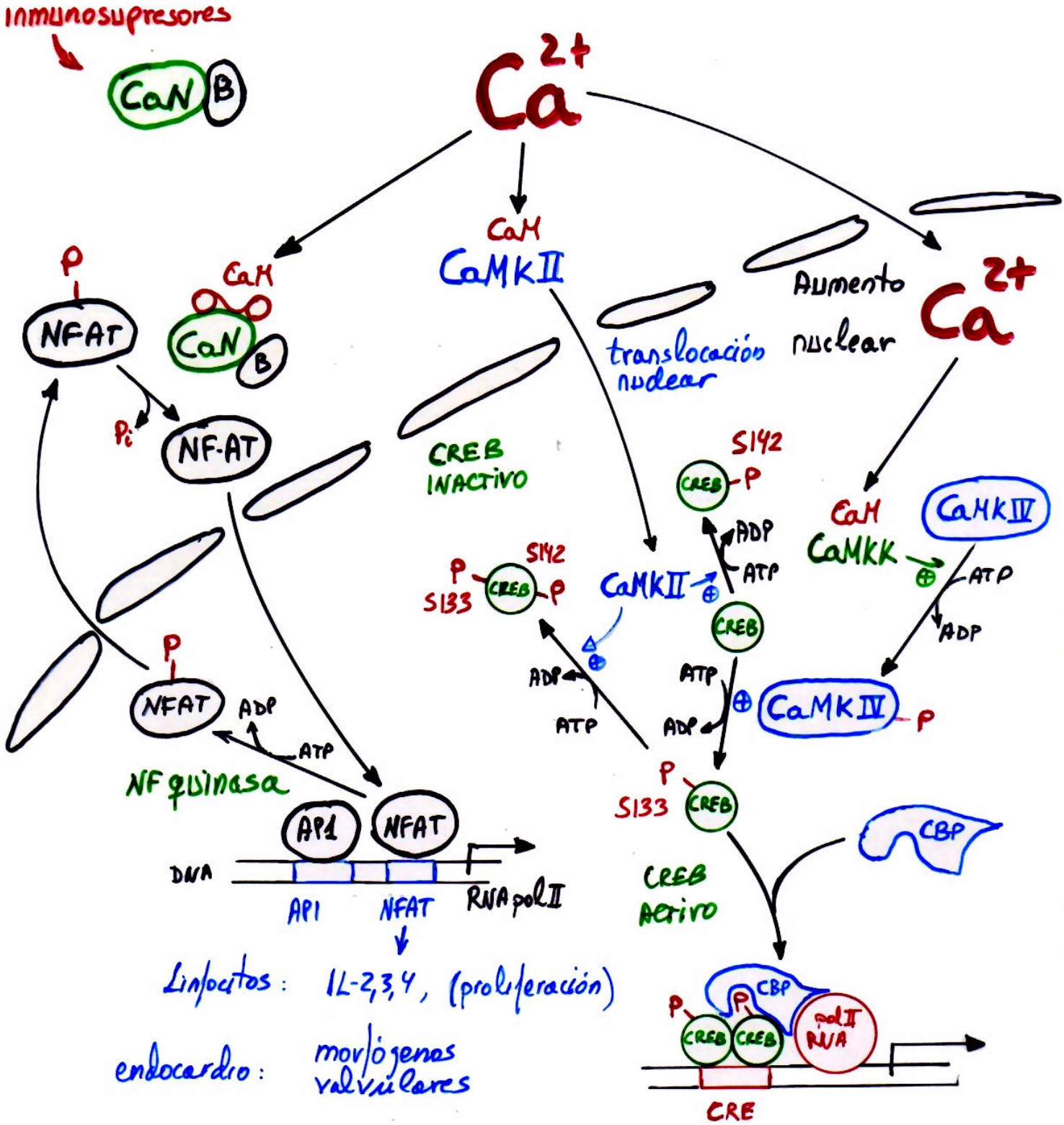




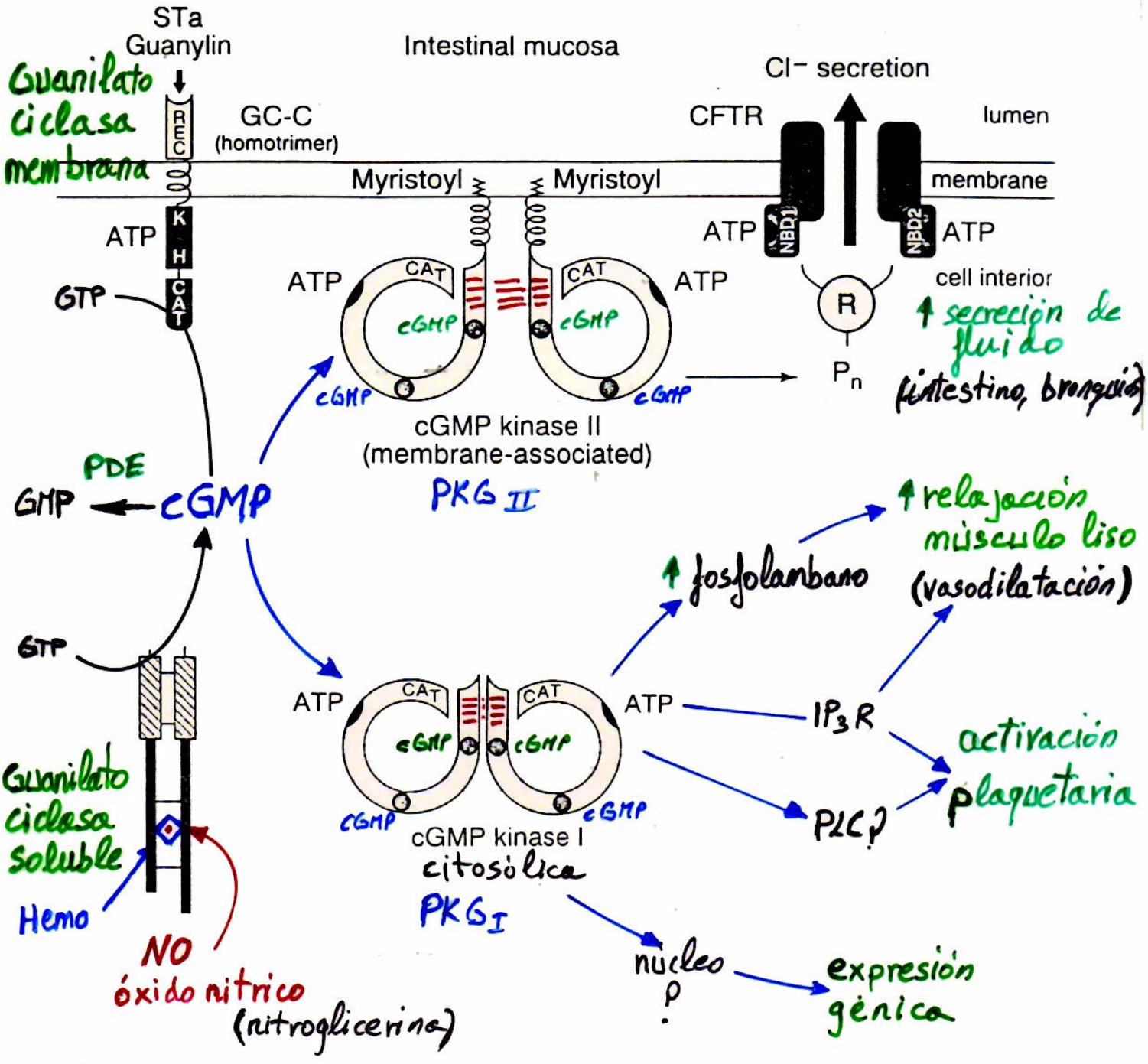
autofosforilación acumulativa

activa autónoma

Acciones nucleares del Ca^{2+}



cGMP como 2° mensajero

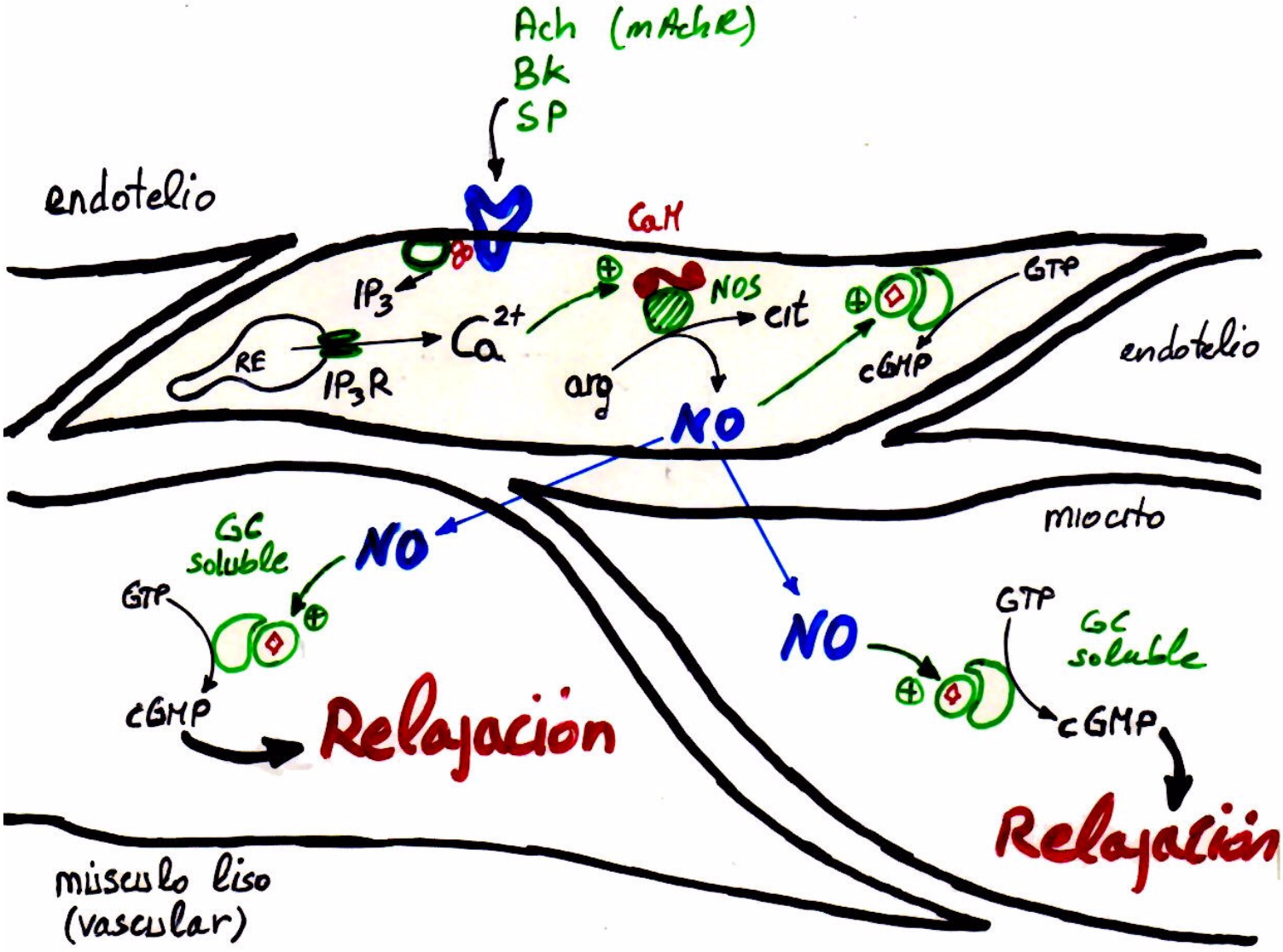


Localización

homodímeros

Activación cooperativa sigmoidal

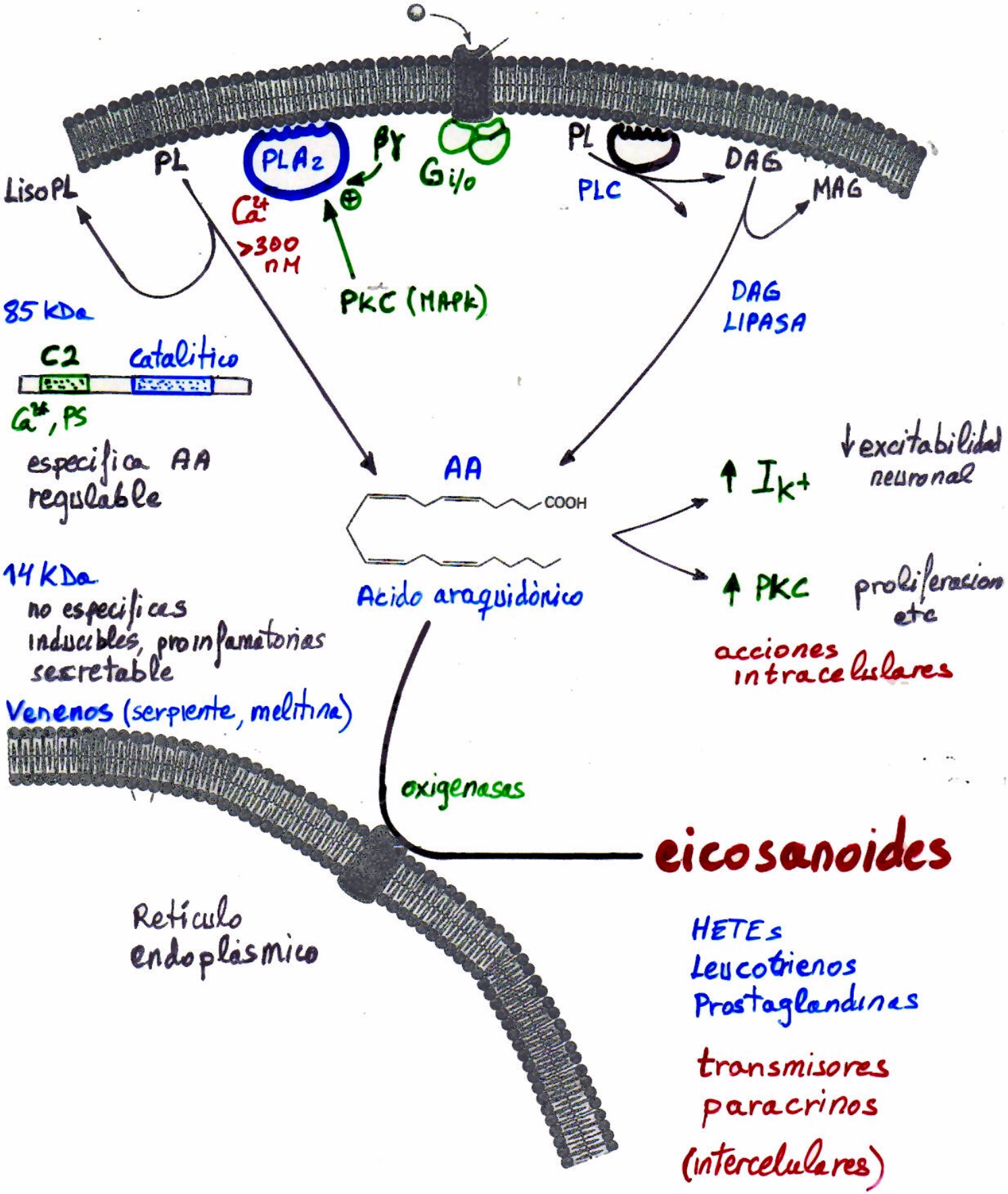
NO: acción paracrina



NO: mensajero intercelular (transitorio

otros blancos: Nitrosilación de proteínas (Hb, NF-kB)

Ac. araquidónico como mensajero

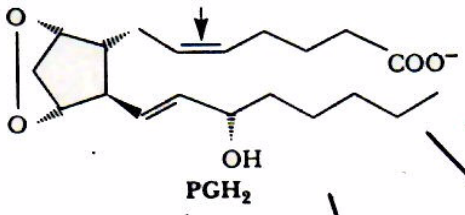


Prostaglandinas y leucotrienos

AA

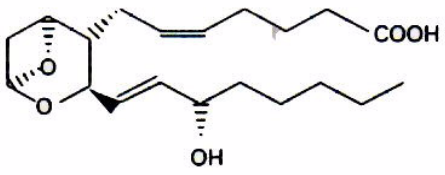
ciclooxigenasa
aspirina

COX1
COX2 inducible



PGH_2

TxA sintasa



TxA_2

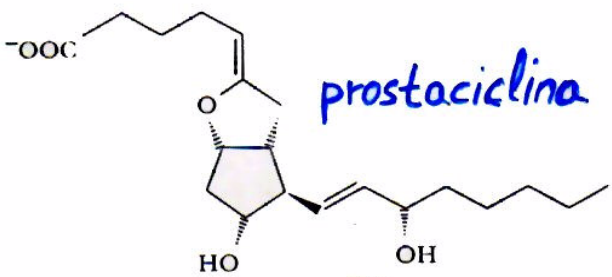
Tromboxanos

agregante plaquetario
vasoconstrictor

PGI sintasa

PG isomerasa

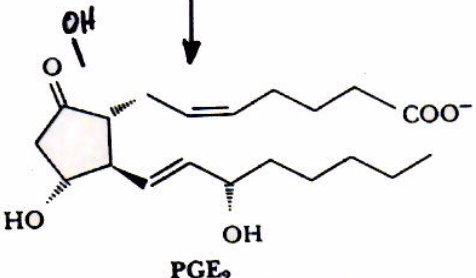
PG reductasa



PGI_2

prostaciclina

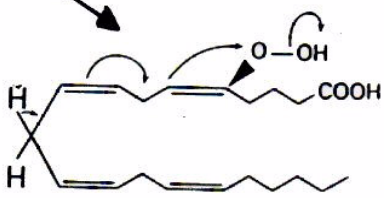
vasodilatador
antitrombótico



PGE_2

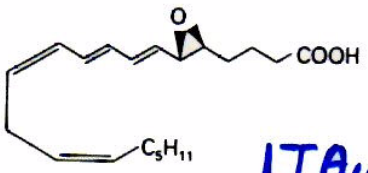
prostaglandinas

$PGF_{2\alpha}$: contracción músculo uterino



5-HPETE

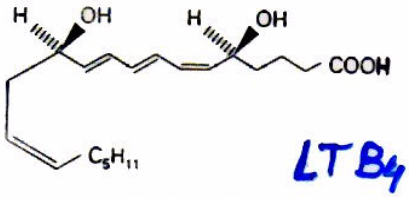
5-LO
5-Lipooxigenasa



LTA_4

Leucotrieno A_4

Hidrolasa



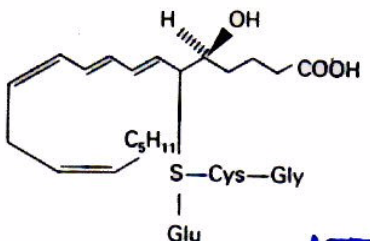
LTB_4

Leucotrieno B_4

activación granulocitos

quimiotáctico
degranulación

Glutatión



LTC_4

Leucotrieno C_4

contracción músculo liso
(pulmón, asma)