



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Laurea Triennale in Scienze Biologiche

Segnalazione del calcio a livello del reticolo endoplasmatico:
regolazione fine della risposta allo stress.

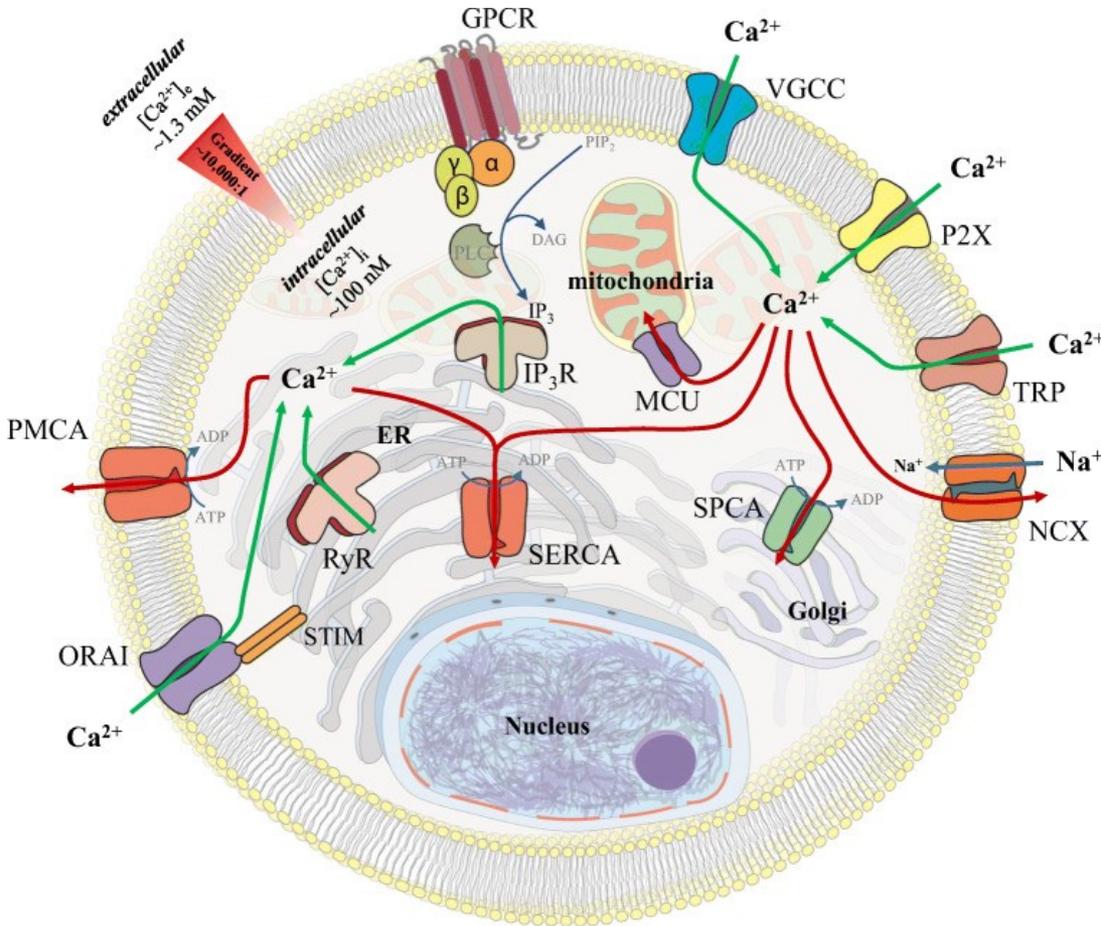
*Calcium signaling at the endoplasmic reticulum: fine-tuning
stress responses.*

Candidato:
Doriana Kovi

Relatrice :
Prof.ssa Tiziana Cacciamani

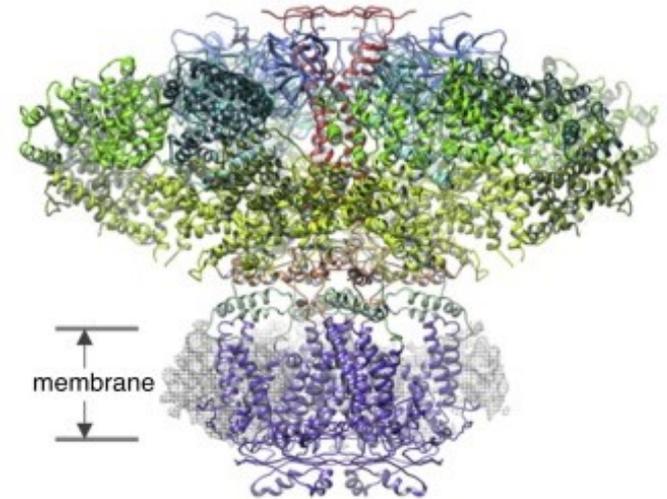
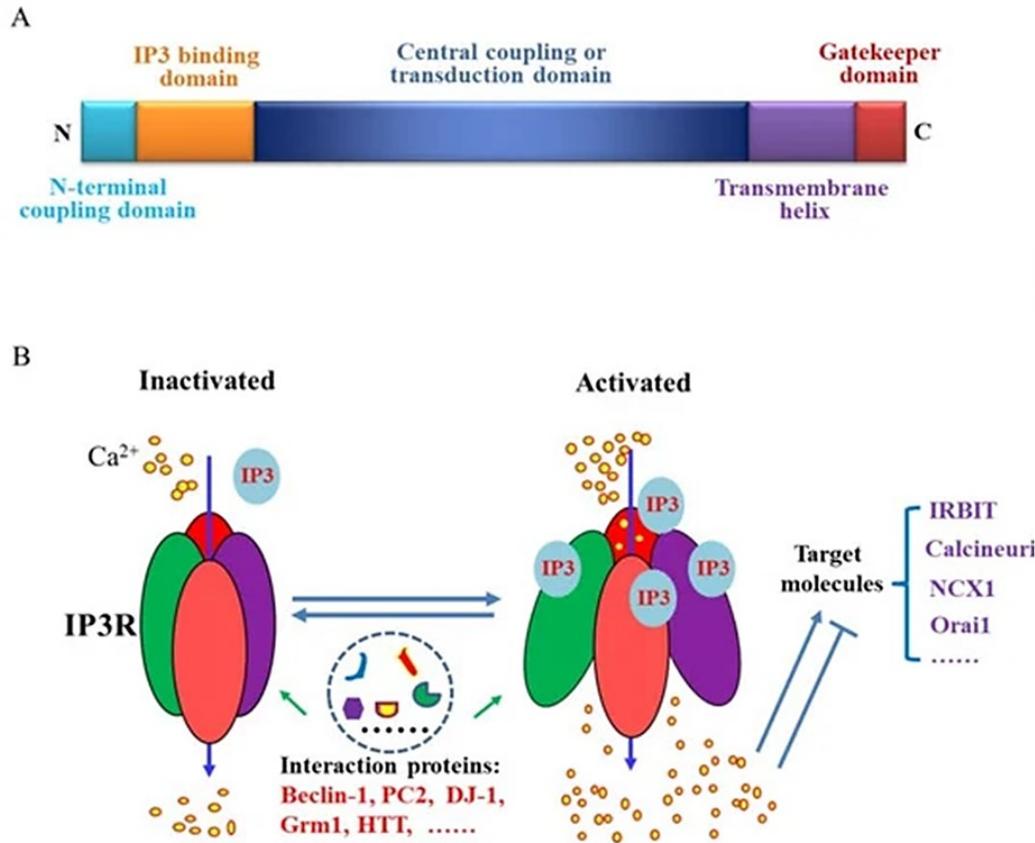
Anno accademico
2021/2022
Sessione autunale

FLUSSI DI CALCIO CELLULARI



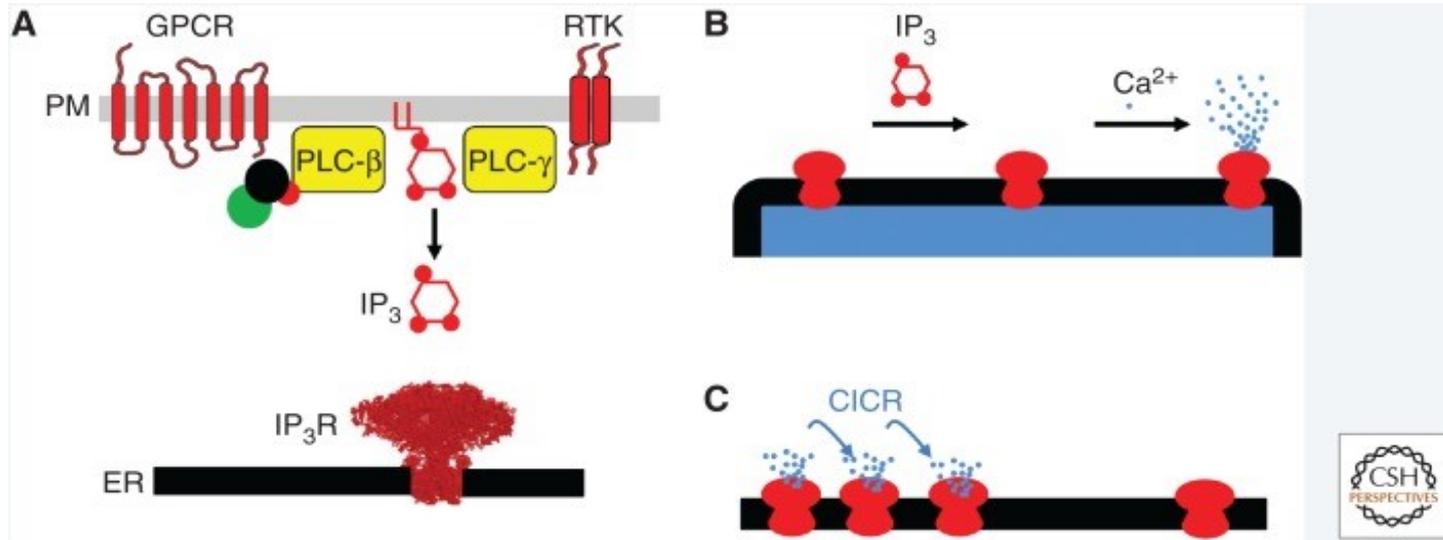
Gli ioni calcio sono internalizzati nelle cellule attraverso vari canali presenti sulle membrane cellulari. All'interno della cellula la concentrazione del calcio citosolico può essere diminuita attraverso l'assorbimento del calcio da parte di alcuni organelli: nel mitocondrio tramite i canali MCU; nel reticolo endoplasmatico e nel golgi attraverso le pompe guidate dall'ATP SERCA e SPCA. L'eccesso di Calcio può essere anche essere espulso dalla cellula tramite lo scambiatore sodio-calcio (NCX) o una pompa Ca^{2+} -ATPasi (PMCA)

Recettori dell'Inositolo 3P (IP3R)



Mariah R Baker, Guizhen Fan, Irina I Serysheva,
 Structure of IP3R channel: high-resolution insights
 from cryo-EM,
 Current Opinion in Structural Biology, Volume 46,
 2017

Regolazione recettori IP3R da IP3 e Ca²⁺

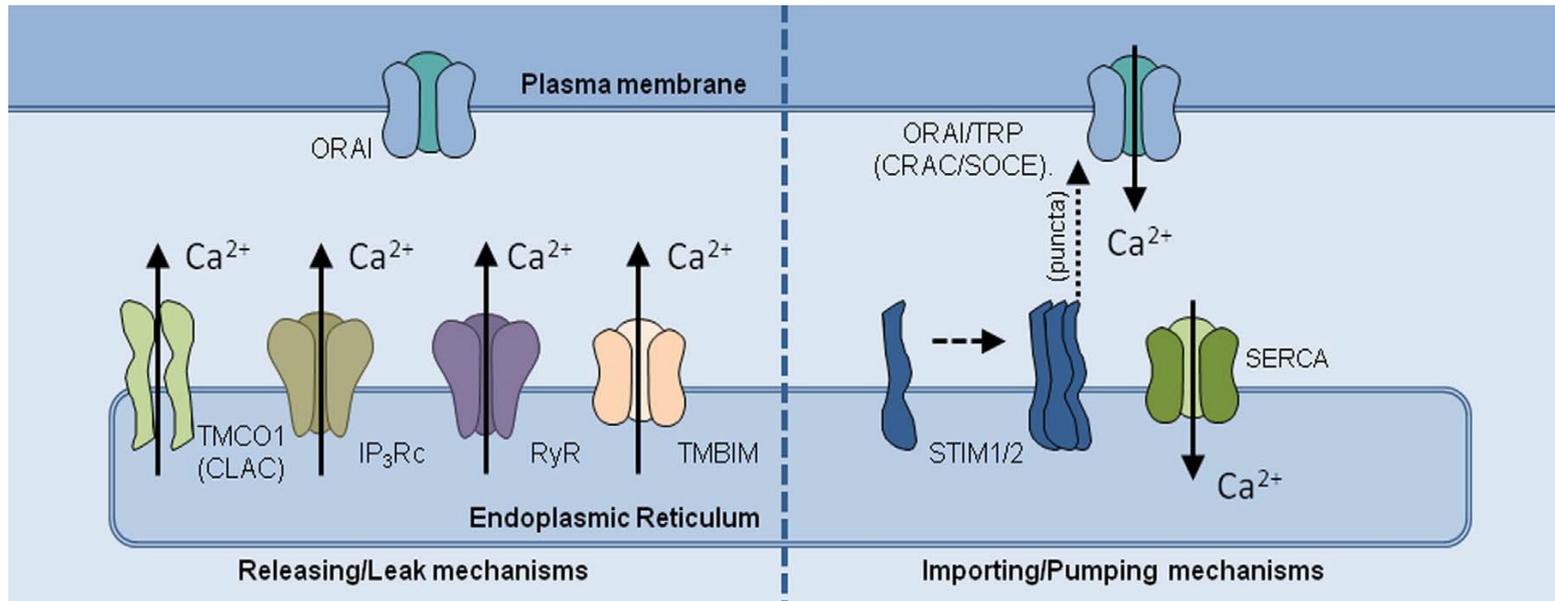


Nella **(A)** i recettori accoppiati a proteine G (GPCR) e i recettori tirosin-chinasi (RTK), possono stimolare la fosfolipasi C (PLC), portando alla produzione di IP₃, che poi si lega a IP₃R nel reticolo endoplasmatico (ER)

Nella **(B)** IP₃ che si lega a IP₃R li prepara a legare Ca²⁺ che quindi stimola il canale ad aprirsi, consentendo al Ca²⁺ di defluire dall'ER nel citosol

Nella **(C)** la doppia regolazione di IP₃R da IP₃ e Ca²⁺ consente loro di mediare i segnali rigenerativi propagati dal rilascio di Ca²⁺ indotto da Ca²⁺ (CICR).

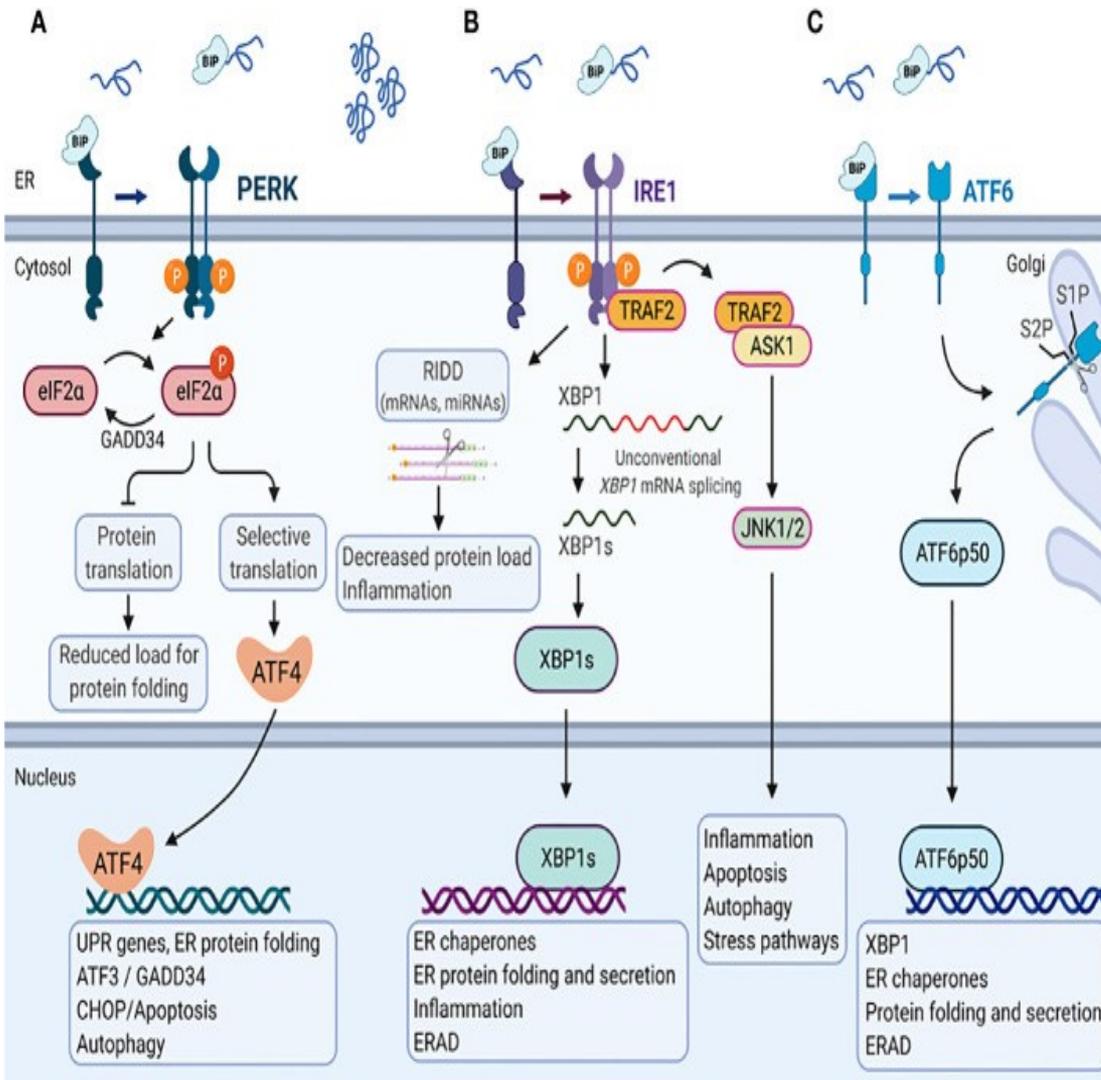
Meccanismi di omeostasi del calcio nel ER



TMCO1 si apre e rilascia calcio quando la concentrazione di Ca²⁺ è eccessiva. I recettori dell'inositolo trifosfato **IP₃Rc** e ryanodine **RyR** sono coinvolti nella segnalazione del calcio nelle cellule e strettamente controllati da diversi agonisti. **TMBIM** controllano la morte cellulare e sembrano regolate da variazioni di pH.

L'accumulo del Ca²⁺ nell'ER è veicolato da una grande famiglia di proteine note come **SERCA**. Le pompe SERCA importano calcio nella cellula contro il gradiente elettrochimico, consumando così ATP. L'attività SERCA è accoppiata ai meccanismi SOCE che rilevano l'esaurimento del calcio nell'ER e comunicano i canali CRAC nella membrana plasmatica per aprire e indurre un ingresso di calcio nel citosol in regioni note.

Unfolded protein response (UPR)



L'URP è una rete di segnalazione intracellulare controllata da tre proteine transmembrana del ER che controllano lo stato di ripiegamento proteico:

A: PERK (PRK-like kinasse)

B: IRE1 (inositol-requiring enzyme)

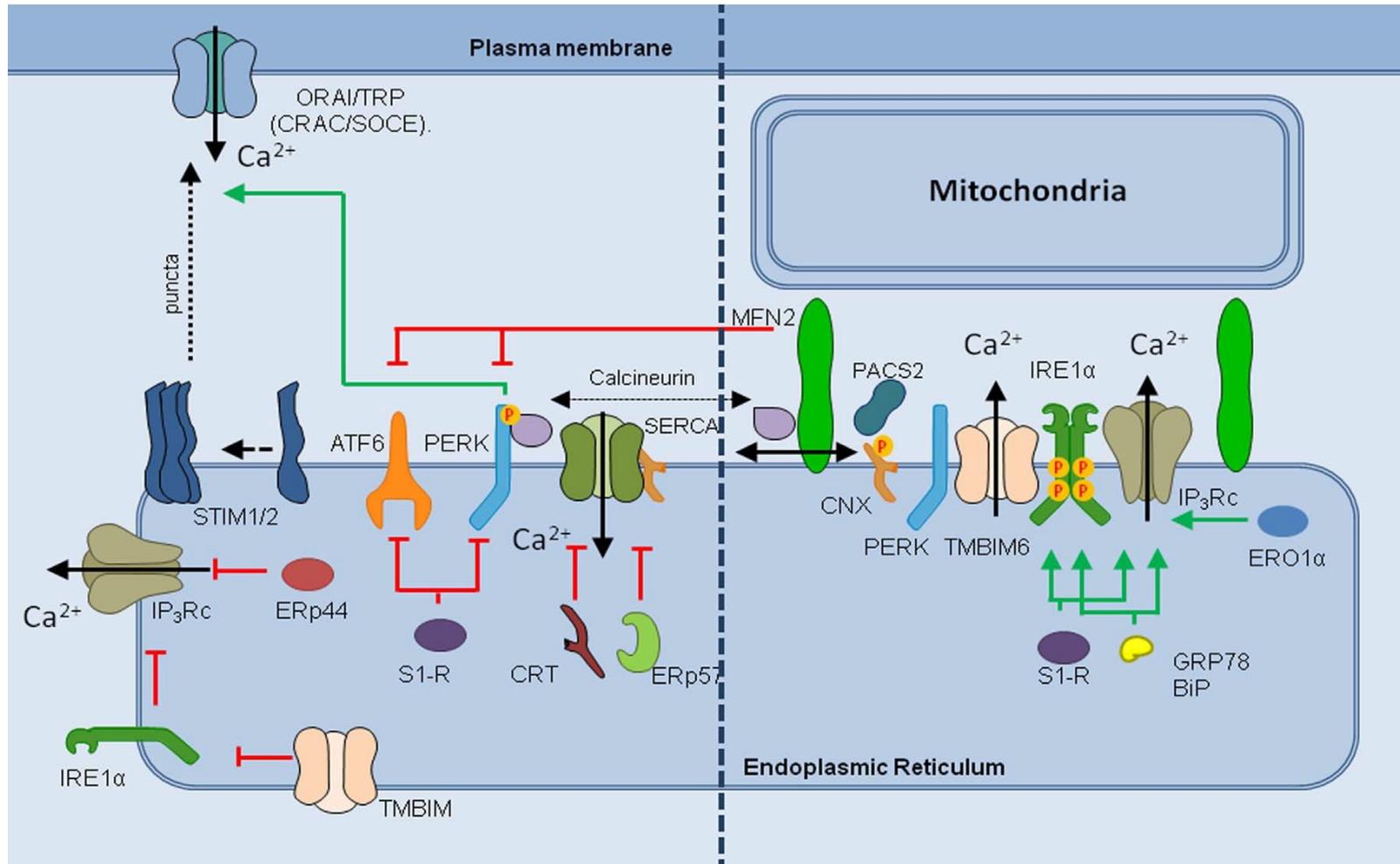
C: ATF6(fattore 6 attivante la trascrizione)

Coadiuvate da chiaperoni quali **BiP** (binding immunoglobulin protein; oppure GRP78 (78-kDa glucose regulated proteine)

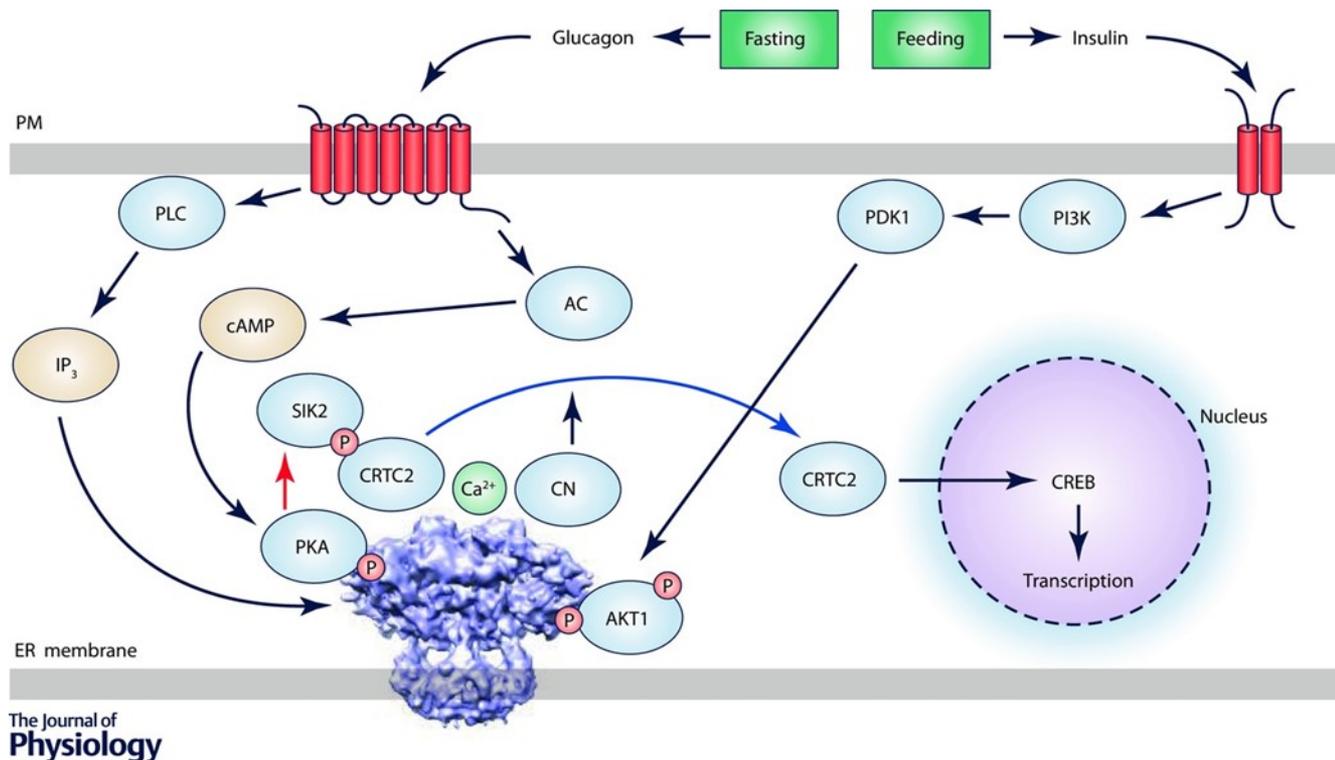
HSPA5 (heat shock protein family A member 5)

Dopo l'accumulo di proteine mal ripiegate o spiegate che causano stress del ER, GRP78/BiP si dissocia da questi recettori e si lega alle proteine mal ripiegate, che attivano le proteine di segnalazione UPR.

Integrazione dell'UPR e degli *chaperones* per il controllo del calcio nel ER.



Recettori IP3 come complesso di segnalazione.



Un complesso di segnalazione assemblato attorno a IP₃Rs che controlla la gluconeogenesi in questo glucagone e insulina esercitano effetti opposti. Le vie di segnalazione convergono in un complesso proteico assemblato attorno a IP₃Rs. Nella stimolazione da glucagone, l'IP₃ attiva IP3R e attraverso la produzione di cAMP si attiva la PKA che fosforila IP3R sensibilizzandolo. Nel caso della stimolazione da insulina viene attivata l'AKT1 che fosforilando IP3R ne blocca l'attività.

Riassunto: In questa presentazione ho voluto iniziare a spiegare la segnalazione del calcio, si riferisce alla mobilitazione di ioni calcio lungo gradienti di potenziale elettrochimico. Per mantenere le concentrazioni alte e basse la cellula utilizza diversi meccanismi come le pompe di calcio guidate dall'adenosina trifosfato (ATP) che guidano al interno del ER sono (SERCA, SPCA, NCX9). Le due classi di proteine legate alla membrana che lo consentono, i canali ionici e i recettori accoppiati alla proteina G (GPCR). I canali ionici in PM vengono caratterizzati dal loro meccanismo di attivazione quali (VGCC, P2X, TRP, ORAI) invece nel meccanismo di rilascio nel ER abbiamo due principali canali permeabili del calcio (RyR, IP₃, IP₃Rs). I RyR si aprono principalmente quando il Ca²⁺ intracellulare aumenta agendo così come un ligando in un meccanismo di Ca²⁺ indotto da Ca²⁺ (CICR), IP₃R consentono al Ca²⁺ di essere redistribuito in risposta all'attivazione del recettore dal lume ER al citosol o ad altri organelli, e alla fine controllano la SOCE. La regolazione di IP₃R da parte di IP₃ e Ca²⁺ conferisce la capacità di mediare segnali rigenerativi di Ca²⁺ e daranno origine a una gerarchia di eventi di rilascio del calcio all'aumentare dell'intensità dello stimolo. Continuando ho spiegato i meccanismi di omeostasi di calcio nel ER, i meccanismi di perdita di Ca²⁺ implicano TM6SF sono canali di perdita dipendenti dal PH e TMCO1 che si apre su livelli elevati di calcio, invece IP₃R e RyR sono coinvolti nella segnalazione del calcio formando il plasma membrana invece nel ER invece le pompe SERCA importano calcio nella cellula consumando ATP. Questi ultimi insieme ai SOCE rilevano l'esaurimento del calcio e comunicano questo ai canali CRAC di aprirsi e indurrà un ingresso di calcio. Il meccanismo principale del mantenimento del ripiegamento al ER mediata da tre proteine principali (PERK, IRE alfa e beta, ATF6). Questi sensori di stress impiegano programmi trascrizionali per diminuire il carico proteico e sostenere la sopravvivenza cellulare.

In assenza di stress da ER il chaperone GRP78/BiP si lega ai domini luminali dei tre principali sensori UPR, impedendone l'attivazione. Sotto lo stress ER, GRP78/BiP si lega alle proteine mal ripiegate, innescando il suo rilascio dai sensori di stress UPR per aiutare il ripiegamento, rilasciando il suo effetto inibitorio sui trasduttori UPR. Nell'integrazione del UPR e degli accompagnatori per il controllo del calcio ER in un modo tamponano il calcio nel altro modulano diversi canali e pompe. In fine ho parlato delle vie di segnalazione glucagone e insulina in cui convergono in un complesso proteico assemblato attorno a IP₃Rs la cui attività controlla la fosforilazione del fattore di trascrizione CRTC2, questo è un esempio di stress nel reticolo endoplasmatico.

Referenze:

Da: Calcium signaling: breast cancer's approach to manipulation of cellular circuitry

doi: [10.1007/s12551-020-00771-9](https://doi.org/10.1007/s12551-020-00771-9)

Da: Front. Pharmacol., 07 July 2020 Sec. Pharmacology of Ion Channels and Channelopathies

<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00968>

Da: Hidden Agenda - The Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response in Inflammation-Induced Muscle Wasting doi: [10.3389/fimmu.2022.878755](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.878755)

Da: Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and their protein partners as signalling hubs

doi: [10.1113/JP271139](https://doi.org/10.1113/JP271139)