

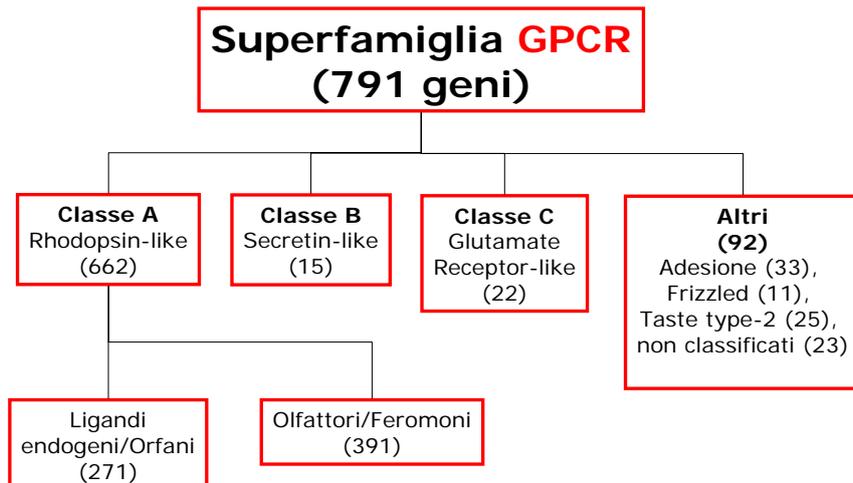
Prof. Giorgio Sartor

Opsina e visione

Copyright © 2001-2012 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

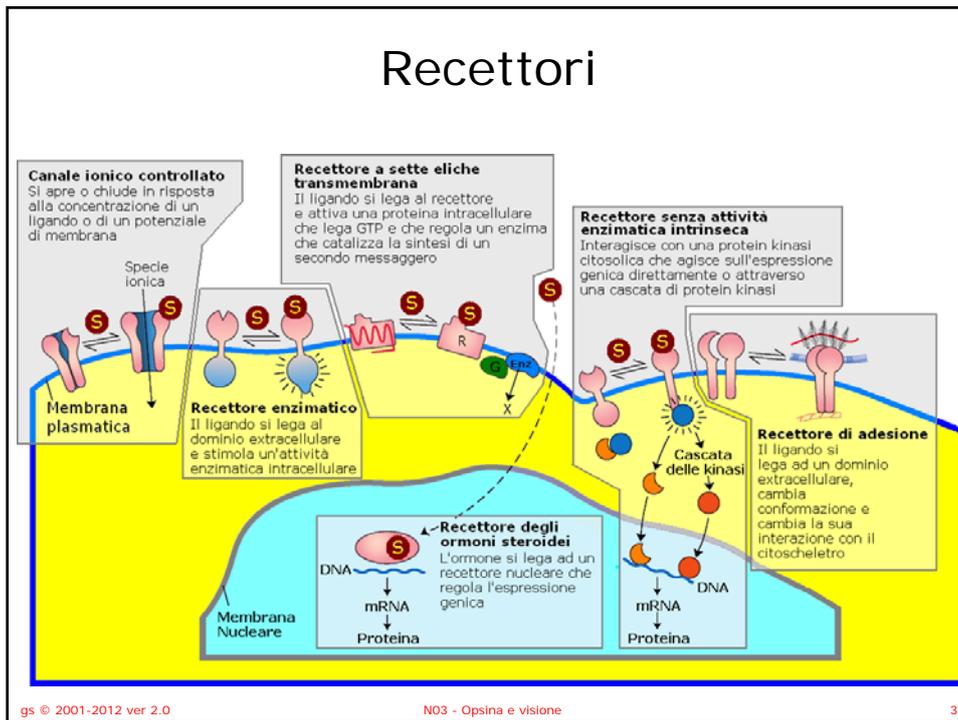
Versione 2.0 - mar 2012

Classificazione

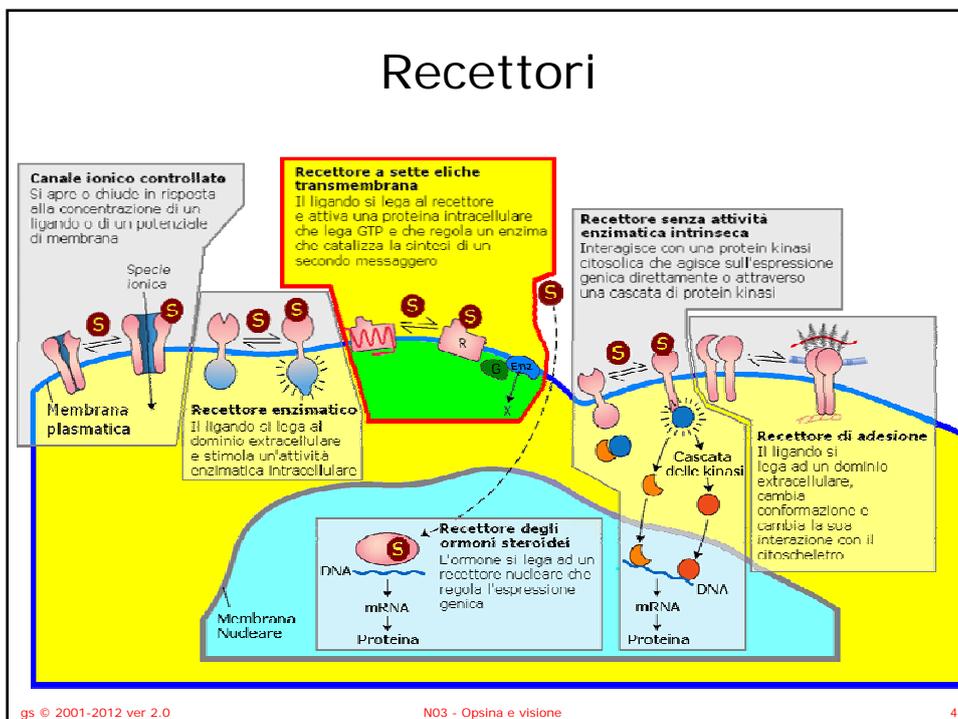


Il 50% dei farmaci sono attivi su questi recettori
(di questi il 25% dei 200 farmaci più usati)

Recettori



Recettori



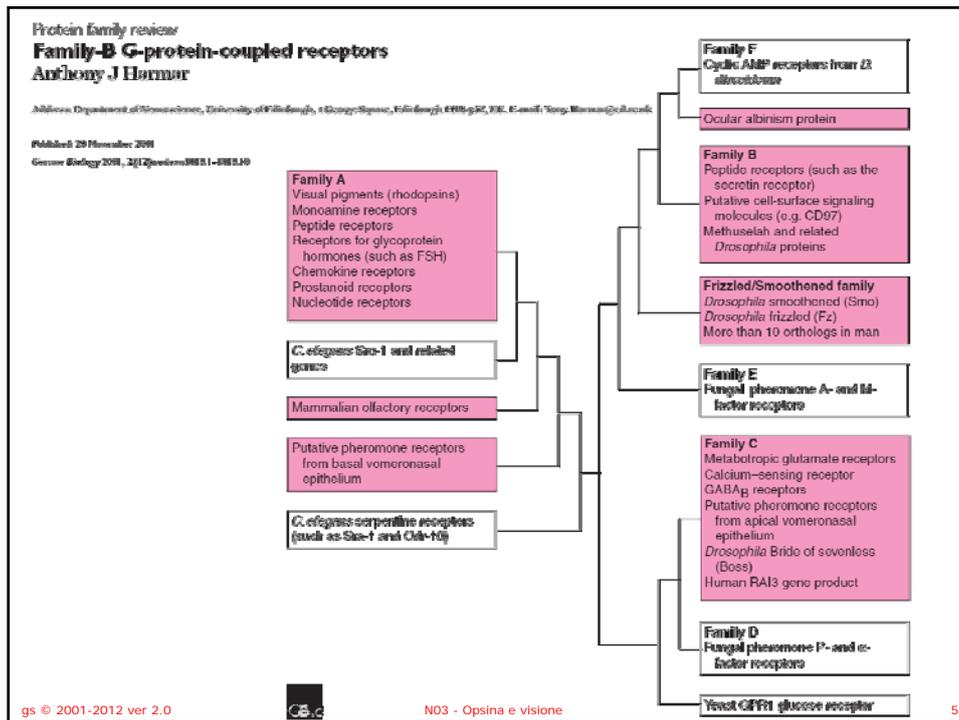


Table 1. The total number of GPCRs in the repertoires of mouse and human

Group	Number in mouse	Number in human	Peptide ligand	Biogenic amine ligand	Lipid ligand	Purin ligand	Other ligand	Orphan
Glutamate	79	22	0	10	0	0	4	65 (8)
Rhodopsin (α)	105	101	8	49 (41)	20	4	6 (8)	18 (20)
Rhodopsin (β)	46	43	36 (37)	0	0	0	0	10 (6)
Rhodopsin (γ)	67	64	49 (51)	0	4	0	2	12 (7)
Rhodopsin (δ)	82	63	43 (22)	0	11	10 (12)	2 (1)	16 (17)
Adhesion	31	33	0	0	0	0	1 (2)	30 (31)
Frizzled	11	11	0	0	0	0	11	0
Taste type 2	34	25	0	0	0	0	1 (4)	33 (23)
Secretin	15	15	15	0	0	0	0	0
V1R	165	3	—	—	—	—	—	—
Olfactory	1037	388	—	—	—	—	—	—
Others	25 ^a	23 ^a	—	—	—	—	—	—
Total	1697	791	151 (133)	59 (51)	35	14 (16)	27 (32)	184 (112)

The GPCRs are divided into families according to the GRAFS classification system (*Glutamate*, *Rhodopsin* (α), *Rhodopsin* (β), *Rhodopsin* (γ), *Rhodopsin* (δ), *Adhesion*, *Frizzled*, *Taste2*, *Secretin*). Additionally the most recent published numbers for pheromone receptors type 1 (*V1R*) [29] and [30] and *Olfactory* receptors [18] and [19] are given. A ligand preference for the different families is showed in columns 3–8. *Others* (all receptors are found in both species unless otherwise noted): DARC (Duffy) GPR137 (C11ORF4), GPR23, GPR68, GPR120, GPR135, GPR139, GPR141 (and Gpr141b only in mouse), GPR142, GPR146, GPR152, GPR160, GPR151 (GPCR-2037), HGPCR19, GPR149 (IEDA), GPR143 (OA1), GPR172A (PERVAR1) (found only in human), GPR172B (PERVAR2) (found only in human), TRHR (and Thr2 only in mouse), GPR137B (TM7SF1), GPR137C (TM7SF1L2), TM7SF3, GPR175 (TPRA40).

Genomics
 Volume 88, Issue 3, September 2006, Pages 263-273

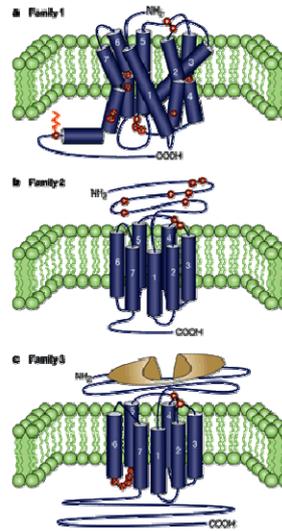
Comprehensive repertoire and phylogenetic analysis of the G protein-coupled receptors in human and mouse

Thóra K. Bjarnadóttir, David E. Gloriam, Sofia H. Hellstrand, Helena Kristiansson, Robert Fredriksson, Helgi B. Schiöth

gs © 2001-2012 ver 2.0 N03 - Opsina e visione 6

Classificazione

G-protein-coupled receptors (GPCRs) can be divided phylogenetically into six families (see the [GPCR database](#) online). Schematic representations of receptor monomers showing some key structural aspects of the three main families are shown. Family 1 (panel a; also referred to as family A or the rhodopsin-like family) is by far the largest subgroup and contains receptors for odorants, small molecules such as the catecholamines and amines, some peptides and glycoprotein hormones. Receptors of family 1 are characterized by several highly conserved amino acids (some of which are indicated in the diagram by red circles) and a disulphide bridge that connects the first and second extracellular loops (ECLs). Most of these receptors also have a PALMITOYLATED cysteine in the carboxy-terminal tail. The recent determination of the crystal structure of rhodopsin has indicated that the transmembrane (TM) domains of family 1 receptors are 'lilled' and 'kinked' as shown. Family 2 or family B GPCRs (panel b) are characterized by a relatively long amino terminus that contains several cysteines, which presumably form a network of disulphide bridges. Their morphology is similar to some family 1 receptors, but they do not share any sequence homology. For example, the family 2 receptors also contain a disulphide bridge that connects ECL1 and ECL2, but the palmitoylation site is missing, the conserved prolines are different from the conserved prolines in the family 1 receptors and the DRY (aspartic acid, arginine, tyrosine) motif adjacent to TM3 is absent. Little is known about the orientation of the TM domains, but — given the divergence in amino-acid sequence — it is probably quite dissimilar from that of rhodopsin. Ligands for family 2 GPCRs include hormones, such as [glucagon](#), [gonadotropin-releasing hormone](#) and [parathyroid hormone](#). Family 3 (panel c) contains the metabotropic glutamate, the Ca²⁺-sensing and the γ -aminobutyric acid (GABA)_B receptors. These receptors are characterized by a long amino terminus and carboxyl tail. The ligand-binding domain is located in the amino terminus, which is often described as being like a 'Venus fly trap'. Except for two cysteines in ECL1 and ECL2 that form a putative disulphide bridge, the family 3 receptors do not have any of the key features that characterize family 1 and 2 receptors. A unique characteristic of the family 3 receptors is that the third intracellular loop is short and highly conserved. Although the structure of the amino terminus is well characterized, similar to the family 2 receptors, little is known about the orientation of the TM domains.



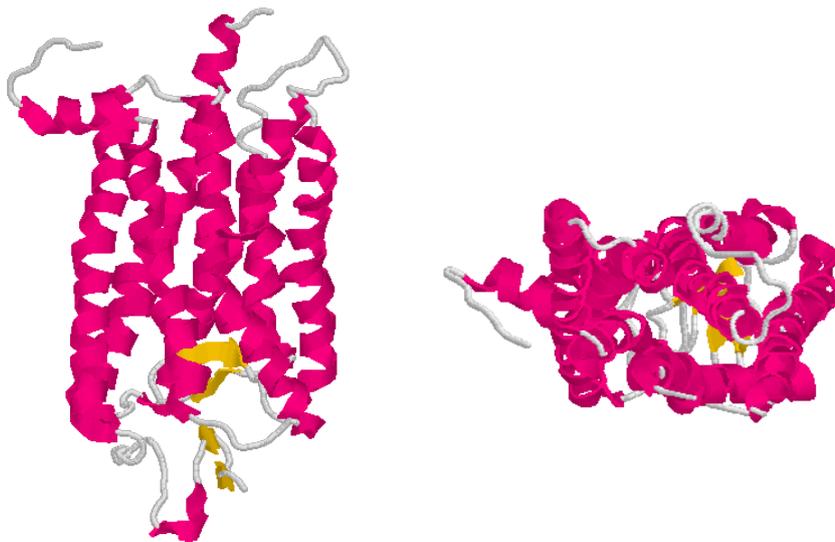
Nature Reviews | Drug Discovery

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

7

Rodopsina

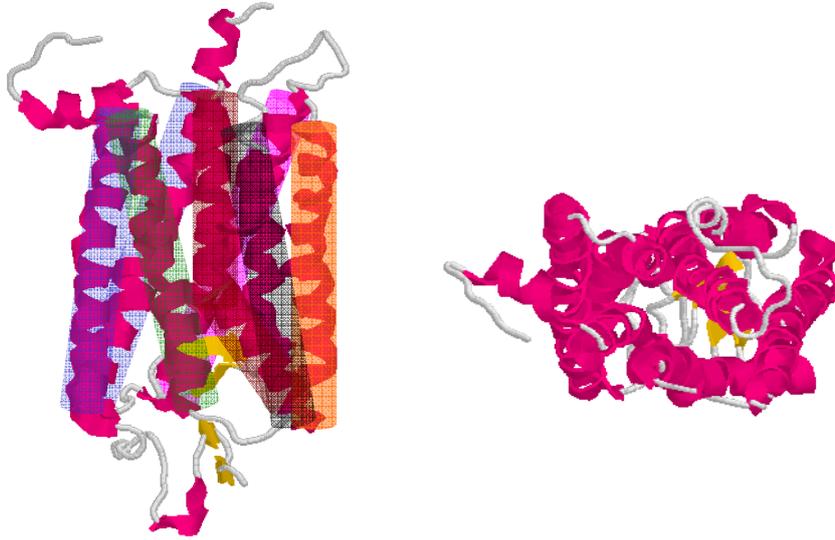


gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

8

Rodopsina

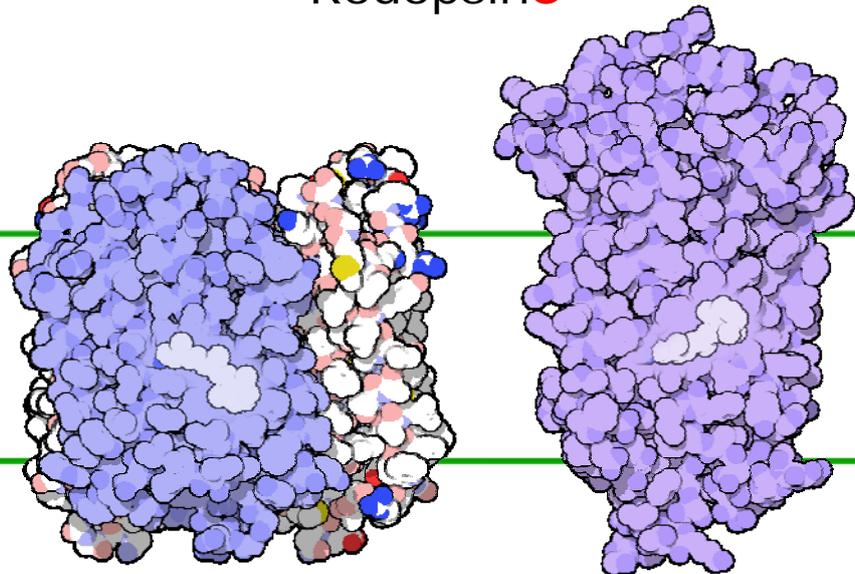


gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

9

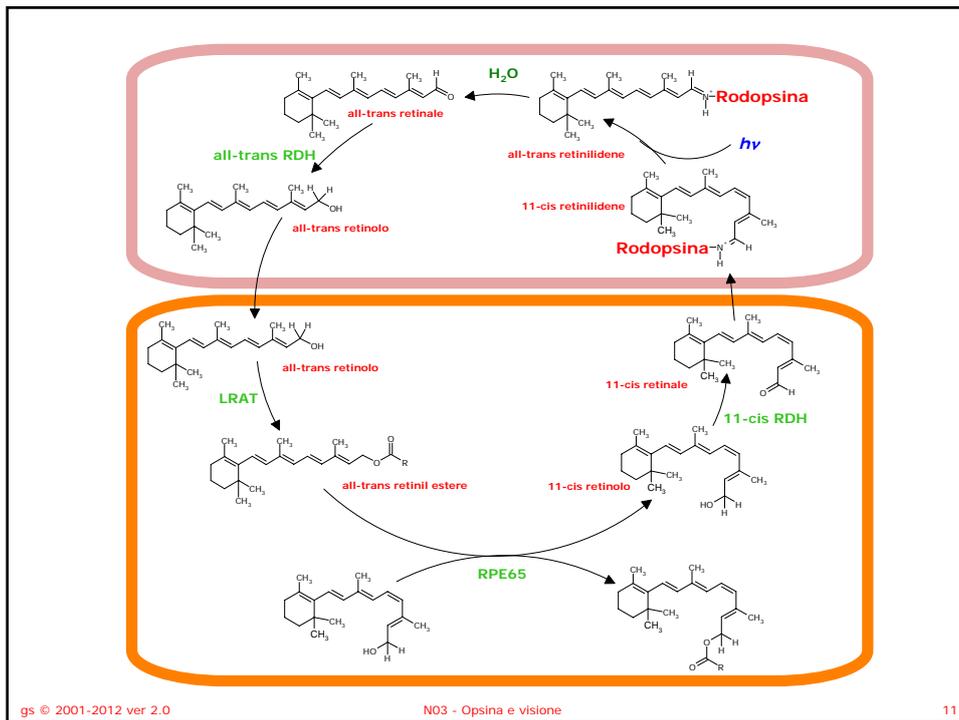
Rodopsine



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

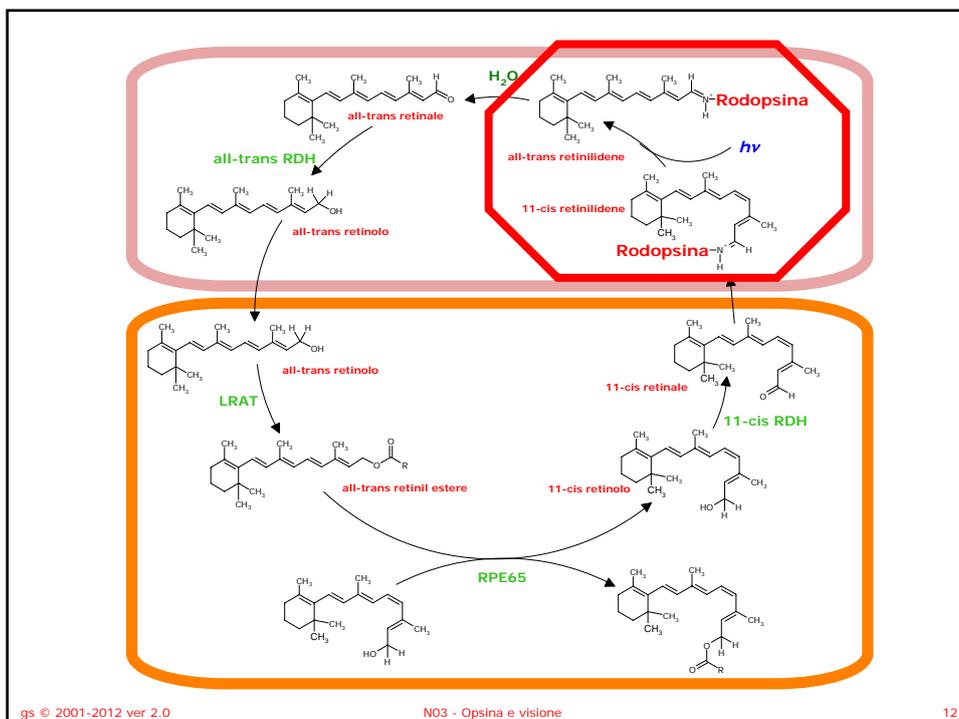
10



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

11

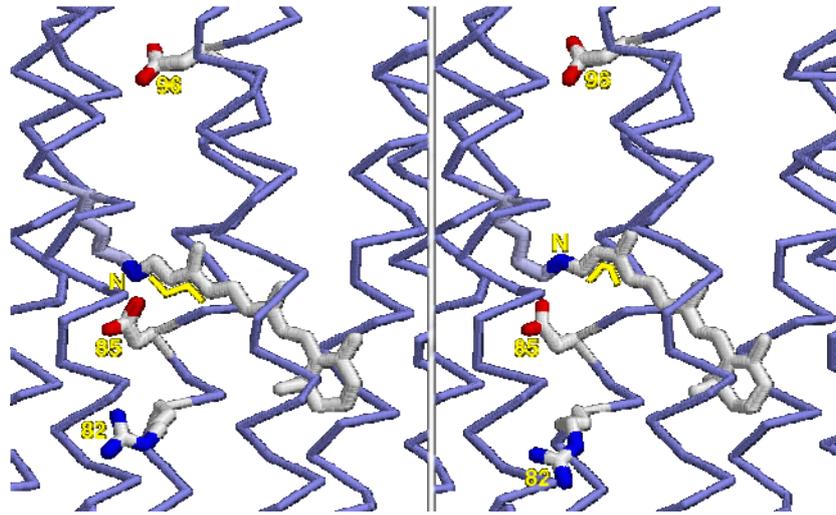


gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

12

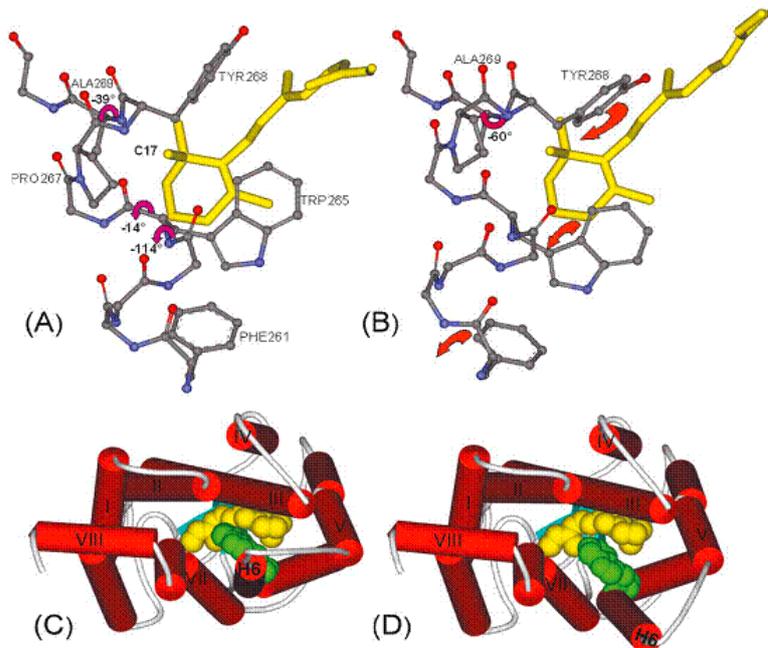
Rodopsina



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

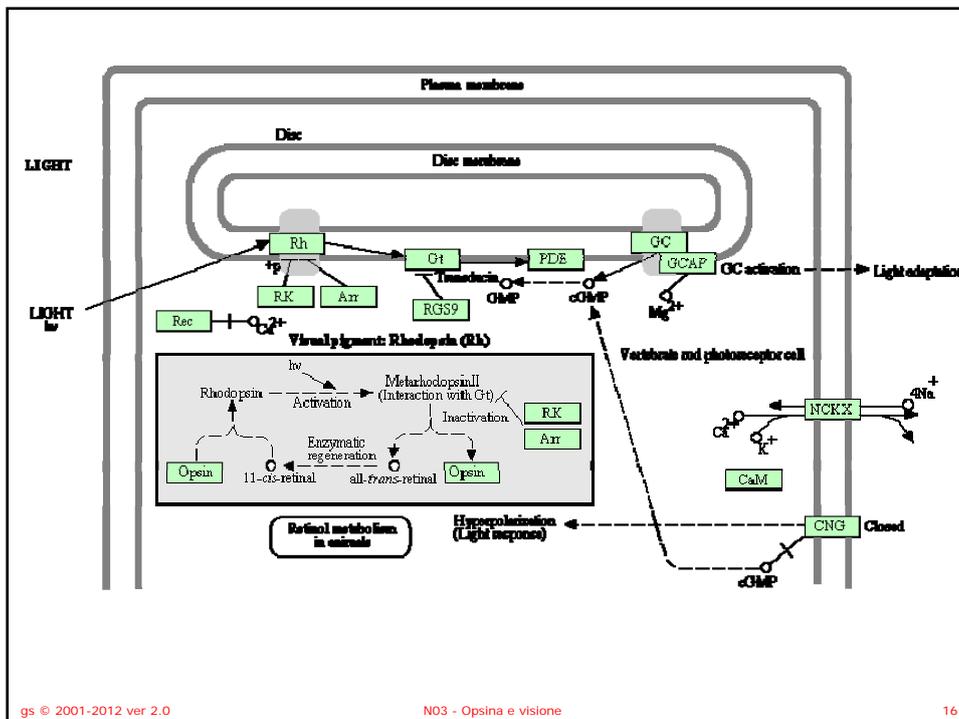
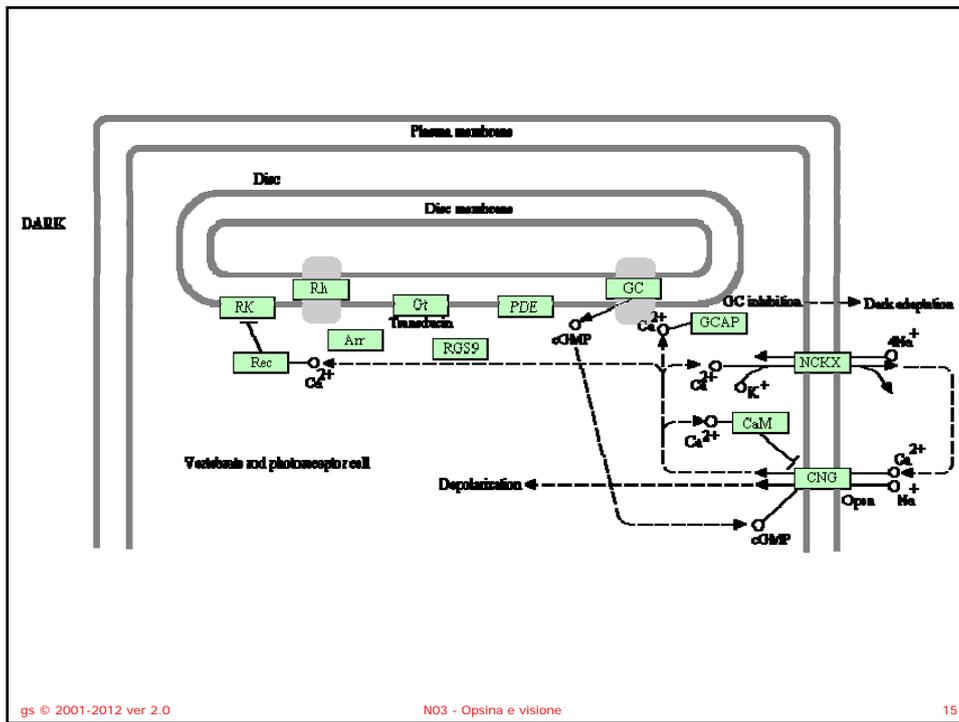
13

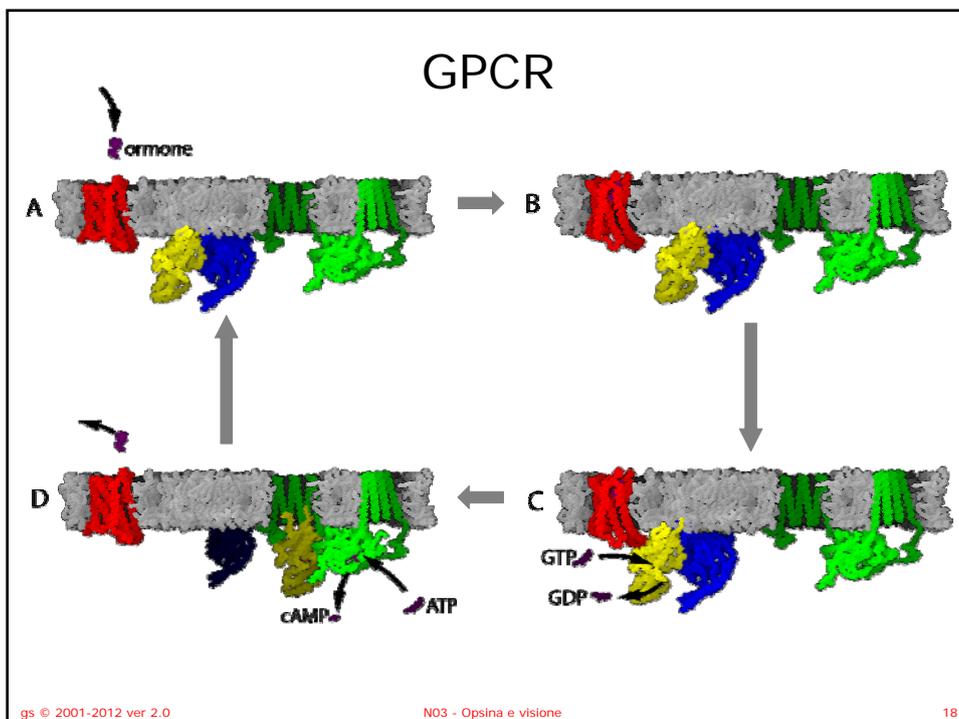
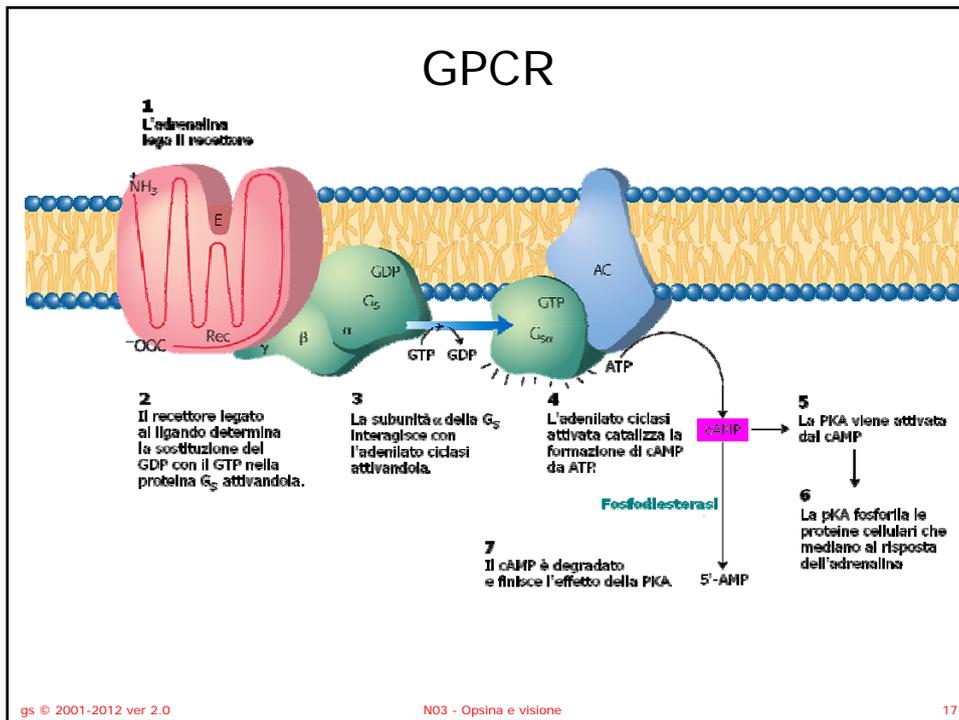


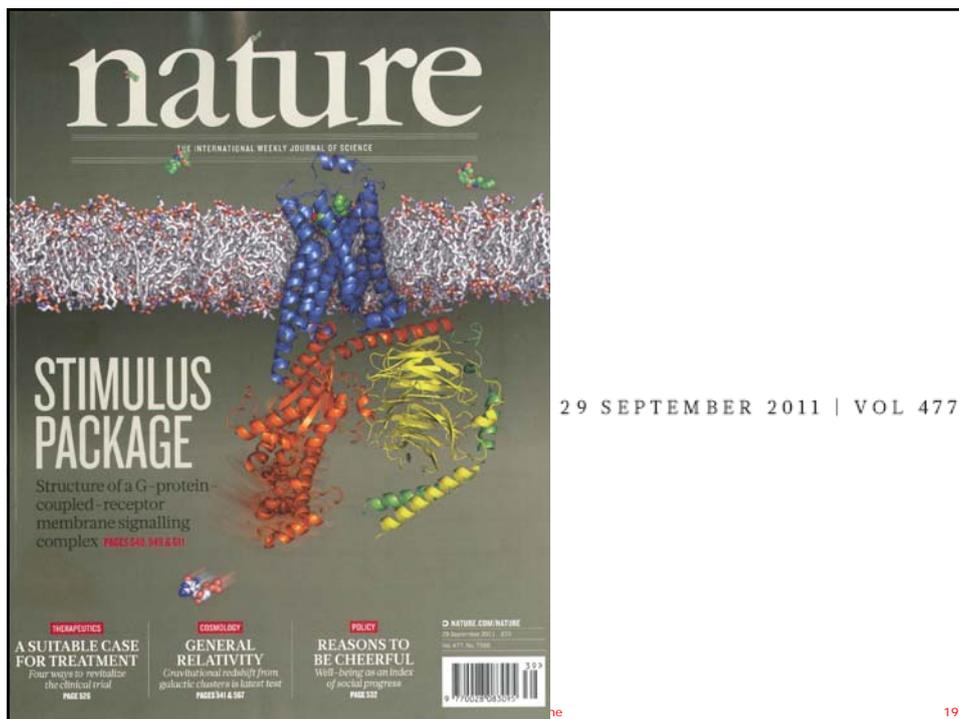
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

14







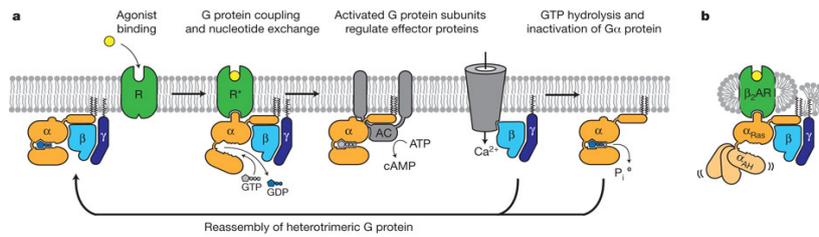
Crystal structure of the β_2 adrenergic receptor–Gs protein complex

Soren G. F. Rasmussen^{1,2*}, Brian T. DeVree^{3*}, Yaozhong Zou¹, Andrew C. Kruse¹, Ka Young Chung¹, Tong Sun Kobilka¹, Foon Sun Thian¹, Pil Seok Chae⁴, Els Pardon^{5,6}, Diane Calinski³, Jesper M. Mathiesen¹, Syed T. A. Shah⁷, Joseph A. Lyons⁷, Martin Caffrey⁴, Samuel H. Gellman⁴, Jan Steyaert^{5,6}, Georgios Skiniotis⁸, William I. Weiss^{1,9}, Roger K. Sunahara³ & Brian K. Kobilka¹

G protein-coupled receptors (GPCRs) are responsible for the majority of cellular responses to hormones and neurotransmitters as well as the senses of sight, olfaction and taste. The paradigm of GPCR signalling is the activation of a heterotrimeric GTP binding protein (G protein) by an agonist-occupied receptor. The β_2 adrenergic receptor (β_2 AR) activation of Gs, the stimulatory G protein for adenylyl cyclase, has long been a model system for GPCR signalling. Here we present the crystal structure of the active state ternary complex composed of agonist-occupied monomeric β_2 AR and nucleotide-free Gs heterotrimer. The principal interactions between the β_2 AR and Gs involve the amino- and carboxy-terminal α -helices of Gs, with conformational changes propagating to the nucleotide-binding pocket. The largest conformational changes in the β_2 AR include a 14 Å outward movement at the cytoplasmic end of transmembrane segment 6 (TM6) and an α -helical extension of the cytoplasmic end of TM5. The most surprising observation is a major displacement of the α -helical domain of Gs relative to the Ras-like GTPase domain. This crystal structure represents the first high-resolution view of transmembrane signalling by a GPCR.

29 SEPTEMBER 2011 | VOL 477 | NATURE | 549

G protein cycle for the β_2 AR–Gs complex



SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

21

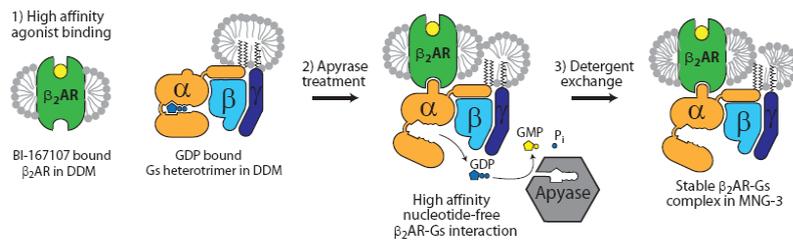


Figure S10: Formation of a stable β_2 AR-Gs complex.

A stable complex was achieved by the combined effects of: 1) binding a high affinity agonist to the receptor with an extremely slow dissociation rate (as described in Rasmussen *et al.*, 2011); 2) formation of a nucleotide free complex in the presence of apyrase, which hydrolyses released GDP preventing it from rebinding and causing dissociation of the β_2 AR-Gs complex; and 3) detergent exchange of DDM for MNG-3 which stabilizes the complex.

SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

22

Snapshot of a signalling complex

G-protein-coupled receptors initiate signalling pathways by forming complexes with agonist molecules and G proteins. The first crystal structure of such a complex is both reassuring and provocative. [SEE ARTICLE P.549](#) & [LETTER P.611](#)

THUE W. SCHWARTZ & THOMAS P. SAKMAR

540 | NATURE | VOL 477 | 29 SEPTEMBER 2011

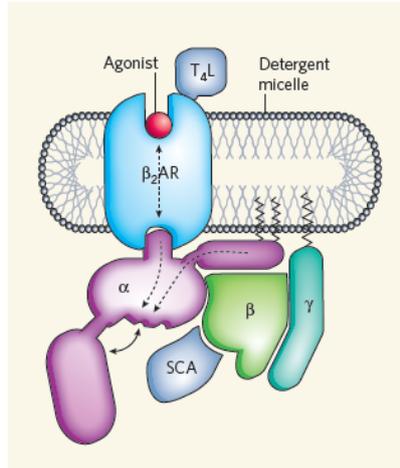


Figure 1 | Activated receptor-G-protein complex. Transmembrane G-protein-coupled receptors (GPCRs) form complexes with agonist molecules and G proteins to initiate a wide range of signalling pathways in cells. Rasmussen *et al.*¹ report the first crystal structure of a complete, activated GPCR signalling complex: the agonist-bound β_2 -adrenergic receptor (β_2 AR) in complex with its G protein, G_s . In this schematic of the complex, α , β and γ are the three subunits of G_s . Also pictured are the protein T4-lysozyme (T4L) and a single-chain antibody (SCA), which were incorporated into the complex to facilitate its crystallization. The detergent micelle acts in lieu of a cell membrane and maintains the structure of the complex. The zigzag lines on α and γ are endogenous lipid modifications that anchor the G protein to the micelle. Broken arrows within the α -subunit indicate structural changes that lead to the separation of its two domains (solid double-headed arrow), which allows the G protein to exchange one nucleotide (GDP) for another (GTP; nucleotides not shown). The broken, double-headed arrow in β_2 AR indicates the allosteric mechanism that connects G-protein binding to high-affinity agonist binding. (Graphic designed by Karina Åberg.)

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

23



Figure S2: Crystals of the T4L- β_2 AR-Gs-Nb35 complex in sponge-like mesophase

SGF Rasmussen *et al.* Nature 549-555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

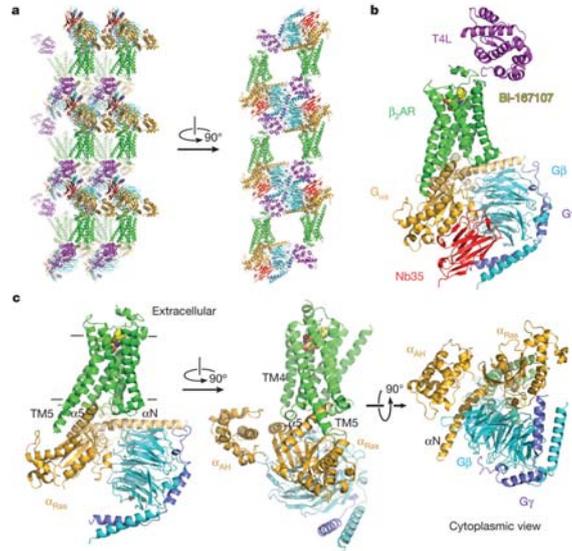
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

24

Overall structure of the β 2AR–Gs complex



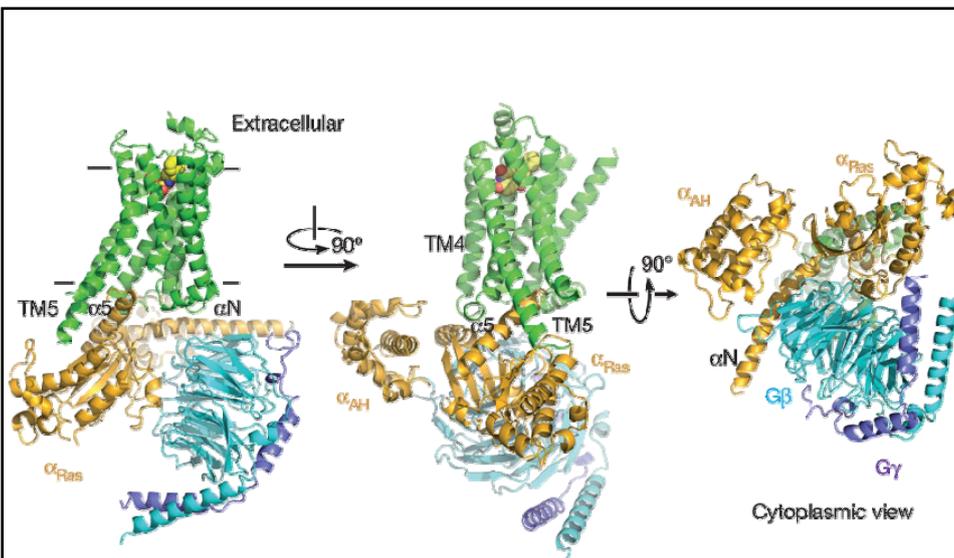
SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

25

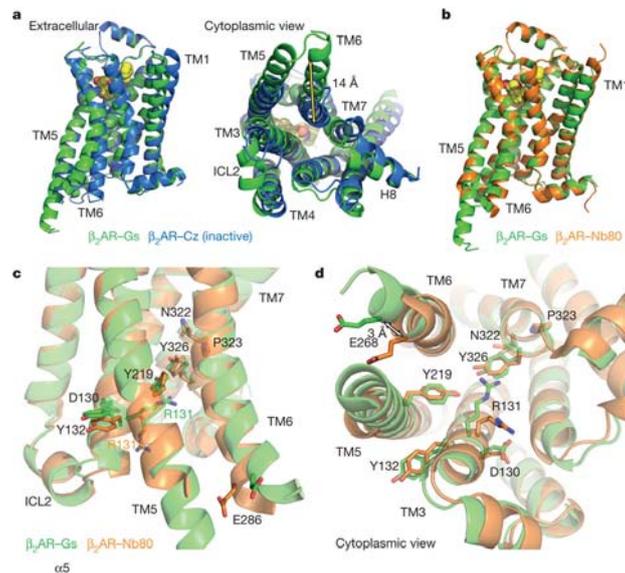


gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

26

Comparison of active and inactive β_2 AR structures



SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

nature

gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

27

Receptor-G protein interactions

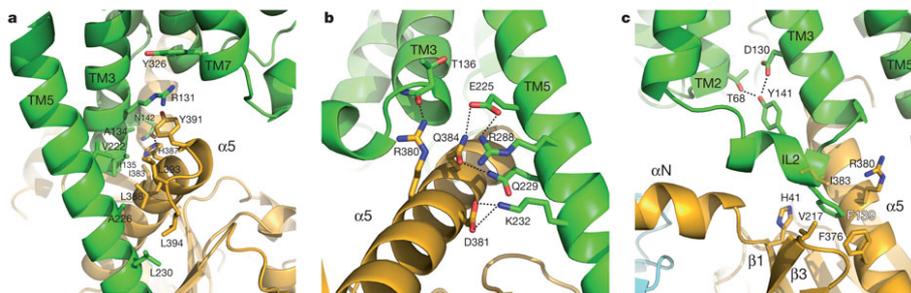


Figure 4 | Receptor-G protein interactions. a, b, The $\alpha 5$ -helix of Gqs docks into a cavity formed on the intracellular side of the receptor by the opening of transmembrane helices 5 and 6. a, Within the transmembrane core, the interactions are primarily non-polar. As activation involves packing of Tyr 391 of the $\alpha 5$ -helix against Arg 131 of the conserved DRY sequence in TM3 (see also Supplementary Fig. 3), Arg 131 also packs against Tyr 326 of the conserved

NPxxY sequence in TM7. b, As $\alpha 5$ -helix exits the receptor it forms a network of polar interactions with TM5 and TM6. c, Receptor residues Thr 68 and Asp 130 interact with the ICL2 helix of the β_2 AR via Tyr 141, positioning the helix so that the 130 of the receptor docks into a hydrophobic pocket on the G protein surface, thereby structurally linking receptor-G protein interactions with the highly conserved DRY motif of the β_2 AR.

SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

nature

gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

28

Receptor-G protein interactions

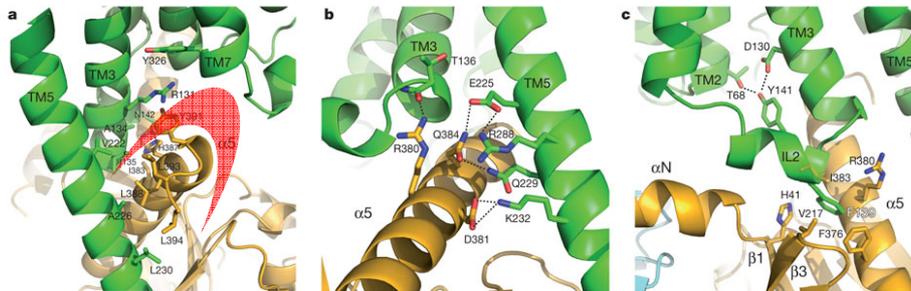


Figure 4 | Receptor-G protein interactions. a, b, The $\alpha 5$ -helix of Gs docks into a cavity formed on the intracellular side of the receptor by the opening of transmembrane helices 5 and 6. a, Within the transmembrane core, the interactions are primarily non-polar. An exception involves packing of Tyr 391 of the $\alpha 5$ -helix against Arg 131 of the conserved DRY sequence in TM2 (see also Supplementary Fig. 3). Arg 131 also packs against Tyr 326 of the conserved

NPxxY sequence in TM2. b, As $\alpha 5$ -helix exists the receptor it forms a network of polar interactions with TM5 and TM6. c, Receptor residues Thr 68 and Arg 130 interact with the ICL2 helix of the $\beta 2AR$ via Tyr 141, positioning the helix so that Phe 139 of the receptor docks into a hydrophobic pocket on the G protein surface, thereby structurally linking receptor-G protein interactions with the highly conserved DRY motif of the $\beta 2AR$.

SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

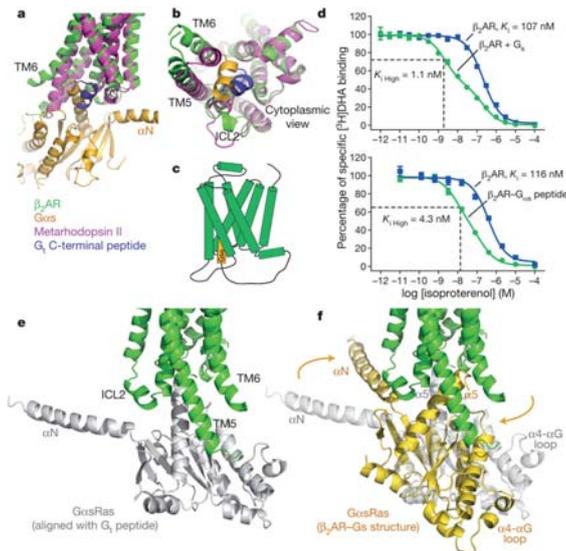
gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

29

Possible sequence of $\beta 2AR$ -Gs complex formation



SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

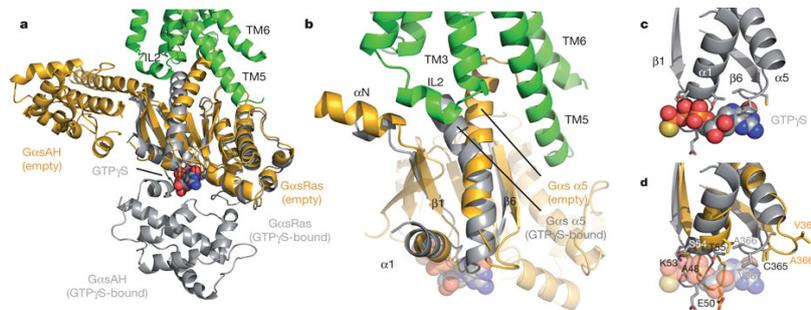
gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

30

Conformational changes in Gαs



SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

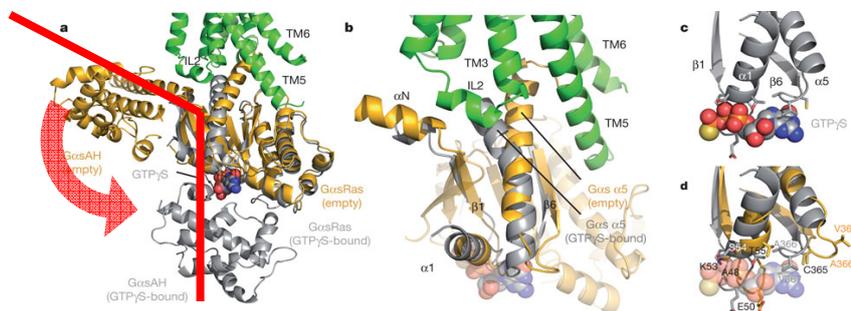
gs © 2001–2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

nature

31

Conformational changes in Gαs



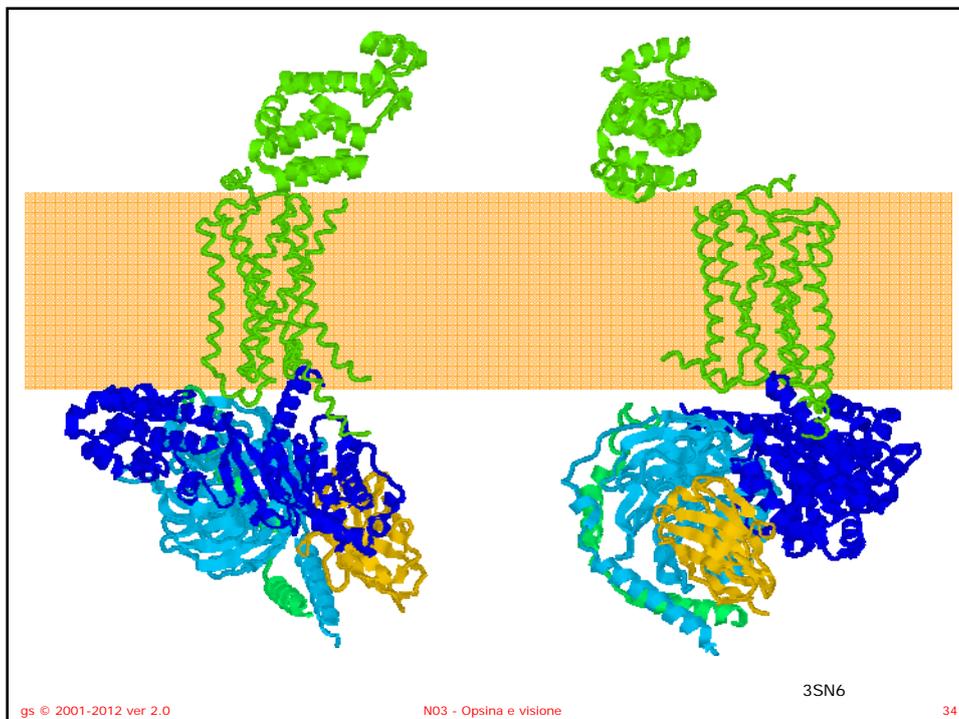
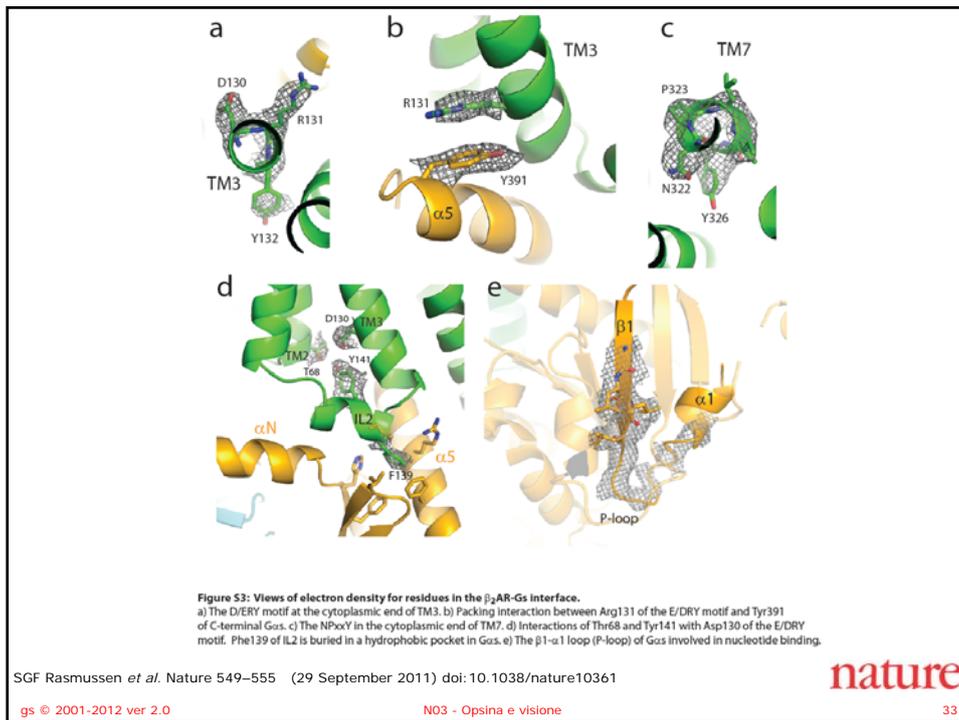
SGF Rasmussen *et al.* Nature 549–555 (29 September 2011) doi:10.1038/nature10361

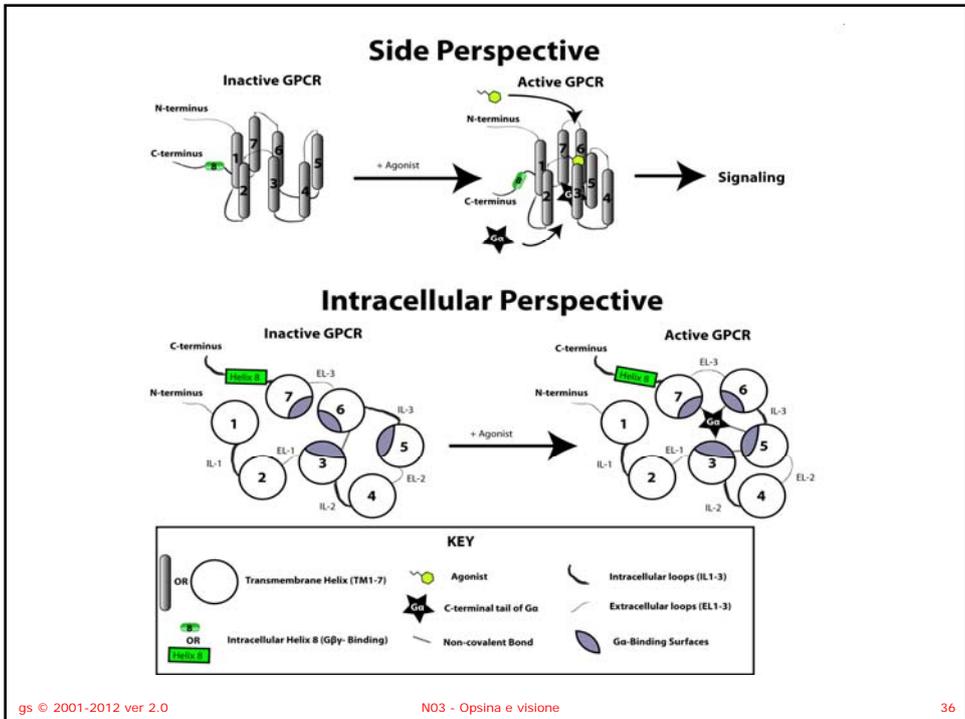
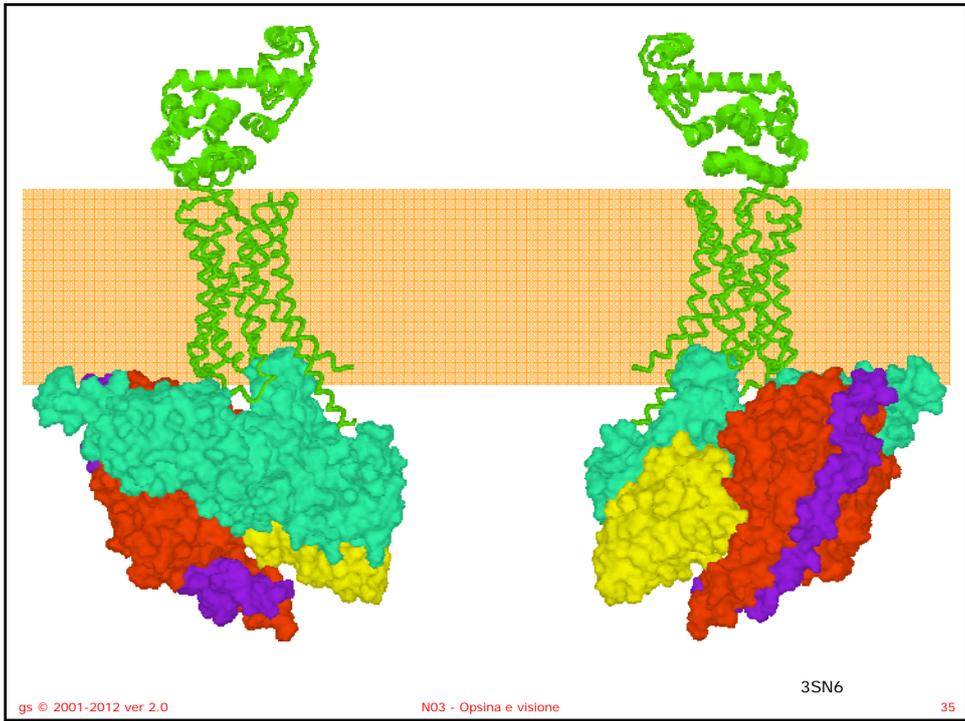
gs © 2001–2012 ver 2.0

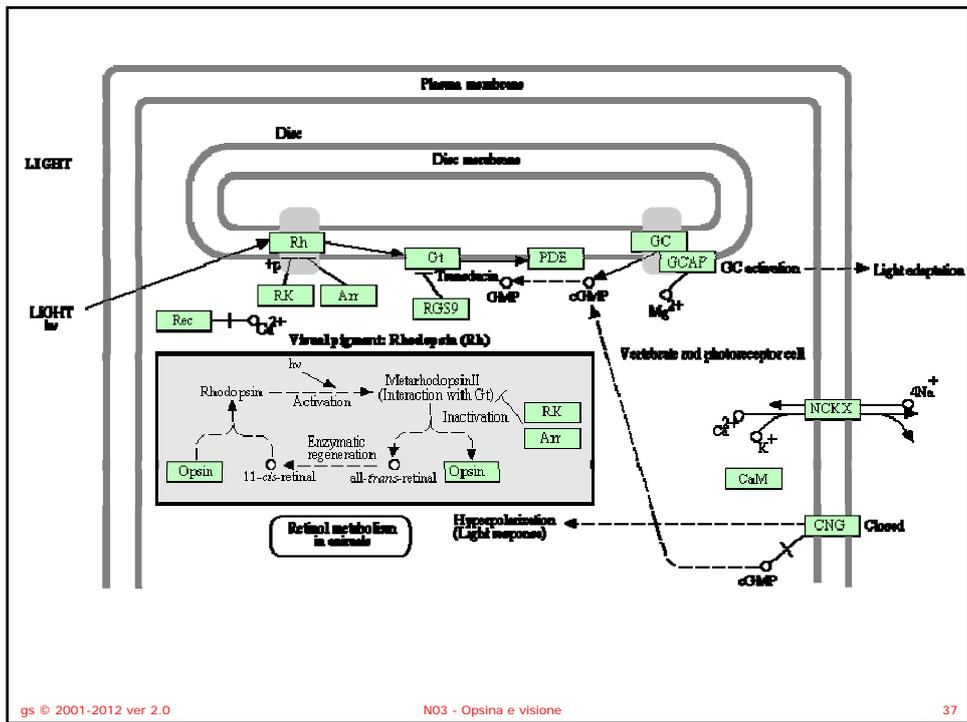
N03 - Opsina e visione

nature

32







Proteine G

- Il genoma umano contiene:
 - 20 geni che codificano per subunità α
 - 5 geni per subunità β
 - 6 geni per subunità γ
 - In teoria almeno 1000 combinazioni diverse.
 - Amplificazione e diversificazione del segnale

Famiglie di proteine G

Classe G_α	Segnale	Effetto
$G_{\alpha s}$	Amine β -adrenergiche, glucagone, ecc.	Stimola Adenilato ciclasi
$G_{\alpha i}$	Acetilcolina, Amine α -adrenergiche, ecc.	Inibisce Adenilato ciclasi
$G_{\alpha t}$	Fotoni	Stimola cGMP diesterasi
$G_{\alpha q}$	Acetilcolina, Amine α -adrenergiche, ecc.	Aumenta sintesi IP_3 e Ca^{++} intracellulare
$G_{\alpha 13}$	Trombina ecc.	Stimola scambio Na^+/H^+

Famiglie di proteine G

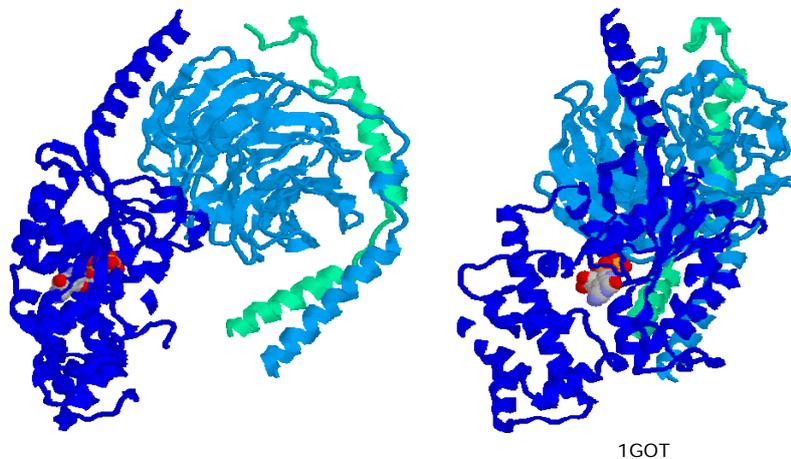
Classe G_α	Segnale	Effetto
$G_{\alpha s}$	Amine β -adrenergiche, glucagone, ecc.	Stimola Adenilato ciclasi
$G_{\alpha i}$	Acetilcolina, Amine α -adrenergiche, ecc.	Inibisce Adenilato ciclasi
$G_{\alpha t}$	Fotoni	Stimola cGMP diesterasi
$G_{\alpha q}$	Acetilcolina, Amine α -adrenergiche, ecc.	Aumenta sintesi IP_3 e Ca^{++} intracellulare
$G_{\alpha 13}$	Trombina ecc.	Stimola scambio Na^+/H^+

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

41

Proteine G

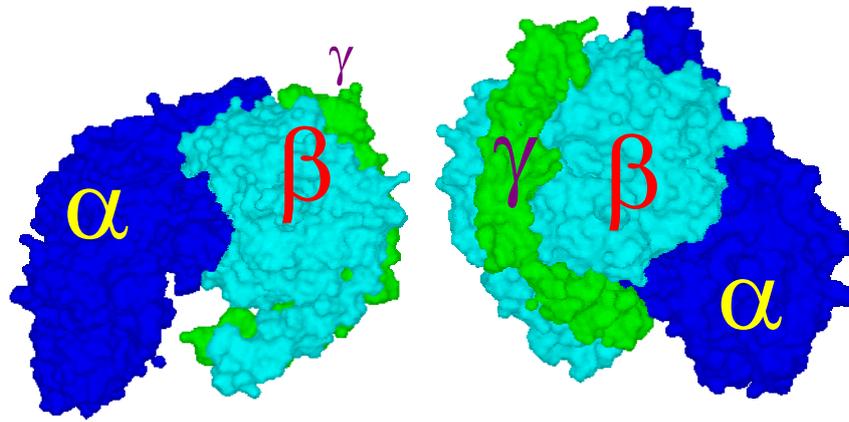


gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

42

Proteine G

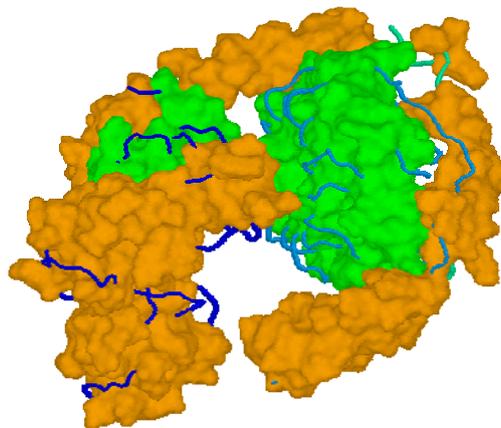


gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

43

α -eliche e β -sheets



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

44

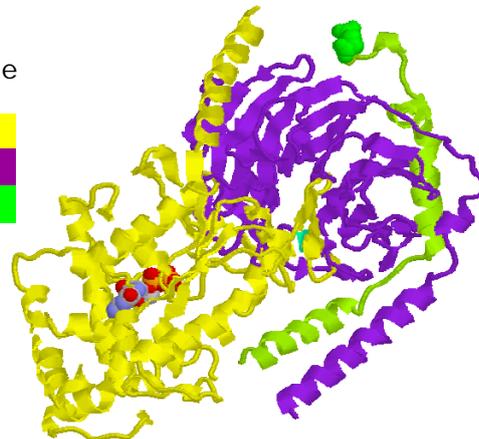
Proteine G

- Il tipico eterotrimerico delle proteine G consiste in:

- subunità α (45-47 kD)

- subunità β (35 kD)

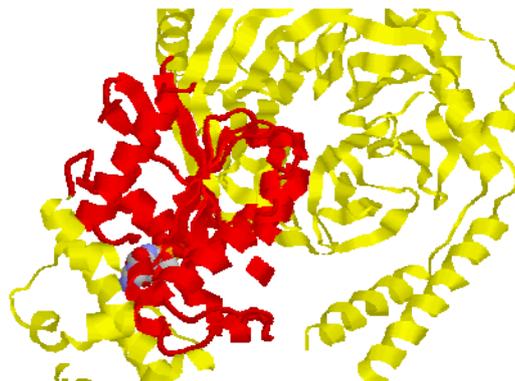
- subunità γ (7-9 kD)



1GOT

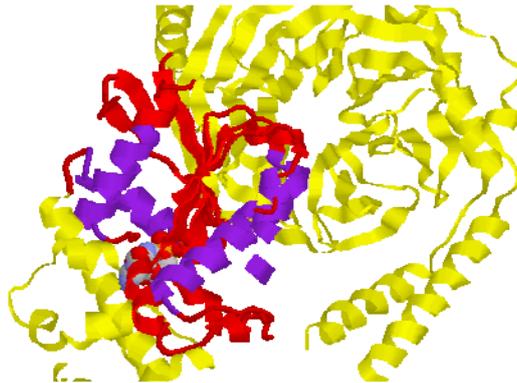
Proteine G – subunità α

- La subunità α dell'eterotrimerico consiste in due domini:
- Il dominio GTPasico e il dominio α -elica, il dominio GTPasico è simile alla struttura di P21ras e agli altri membri della superfamiglia delle GTPasi:
 - Consiste in una struttura a cinque eliche che circondano un β -sheet con cinque strand paralleli e uno antiparallelo;
 - La seconda delle eliche è un elica 3_{10} .



Proteine G – subunità α

- La subunità α dell'eterotrimerico consiste in due domini:
- Il dominio GTPasico e il dominio α -elica, il dominio GTPasico è simile alla struttura di P21ras e agli altri membri della superfamiglia delle GTPasi:
 - Consiste in una struttura a cinque eliche che circondano un β -sheet con cinque strand paralleli e uno antiparallelo;
 - La seconda delle eliche è un elica 3_{10}



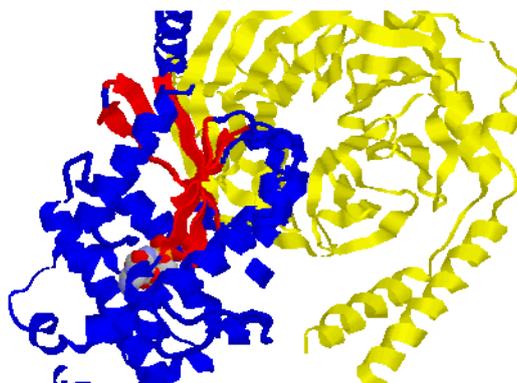
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

47

Proteine G – subunità α

- La subunità α dell'eterotrimerico consiste in due domini:
- Il dominio GTPasico e il dominio α -elica, il dominio GTPasico è simile alla struttura di P21ras e agli altri membri della superfamiglia delle GTPasi:
 - Consiste in una struttura a cinque eliche che circondano un β -sheet con cinque strand paralleli e uno antiparallelo;
 - La seconda delle eliche è un elica 3_{10}



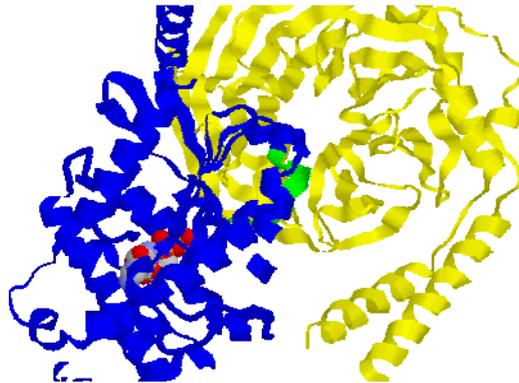
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

48

Proteine G – subunità α

- La subunità α dell'eterotrimerico consiste in due domini:
- Il dominio GTPasico e il dominio α -elica, il dominio GTPasico è simile alla struttura di P21ras e agli altri membri della superfamiglia delle GTPasi:
 - Consiste in una struttura a cinque eliche che circondano un β -sheet con cinque strand paralleli e uno antiparallelo;
 - La seconda delle eliche è un'elica 3_{10} .



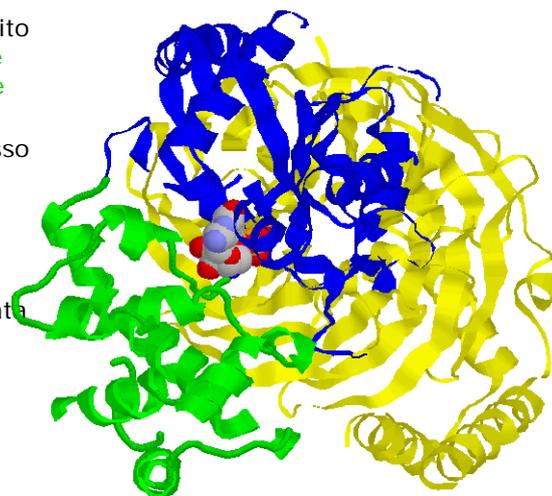
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

49

Proteine G – subunità α

- Il dominio α -elica è costituito da una lunga elica centrale circondata da cinque eliche più corte
- Il dominio α -elica è connesso al dominio GTPasico attraverso due strands:
 - linker 1 (54-58)
 - linker 2 (173-179).
- Tra i due linker è posizionata la fenditura che accoglie il nucleotide (GTP o GDP).



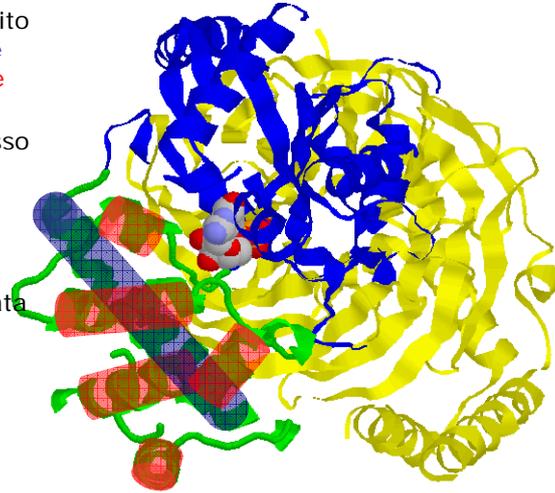
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

50

Proteine G – subunità α

- Il dominio α -elica è costituito da una lunga elica centrale circondata da cinque eliche più corte
- Il dominio α -elica è connesso al dominio GTPasico attraverso due strands:
 - linker 1 (54-58)
 - linker 2 (173-179).
- Tra i due linker è posizionata la fenditura che accoglie il nucleotide (GTP o GDP).



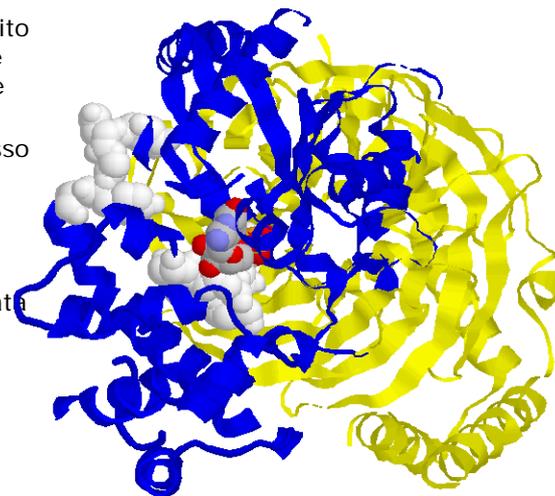
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

51

Proteine G – subunità α

- Il dominio α -elica è costituito da una lunga elica centrale circondata da cinque eliche più corte
- Il dominio α -elica è connesso al dominio GTPasico attraverso due strands:
 - linker 1 (54-58)
 - linker 2 (173-179).
- Tra i due linker è posizionata la fenditura che accoglie il nucleotide (GTP o GDP).



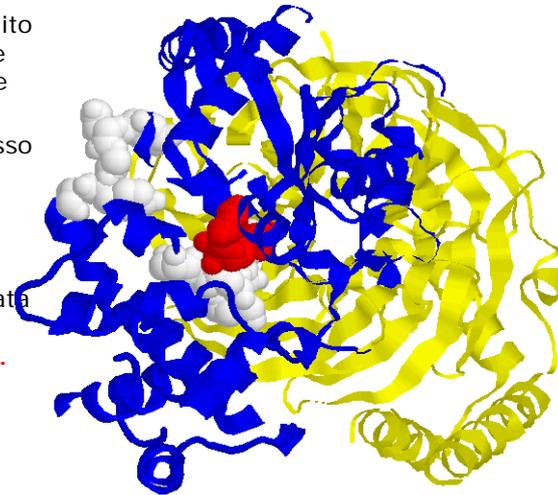
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

52

Proteine G – subunità α

- Il dominio α -elica è costituito da una lunga elica centrale circondata da cinque eliche più corte
- Il dominio α -elica è connesso al dominio GTPasico attraverso due strands:
 - linker 1 (54-58)
 - linker 2 (173-179).
- Tra i due linker è posizionata la fenditura che accoglie il **nucleotide (GTP o GDP)**.

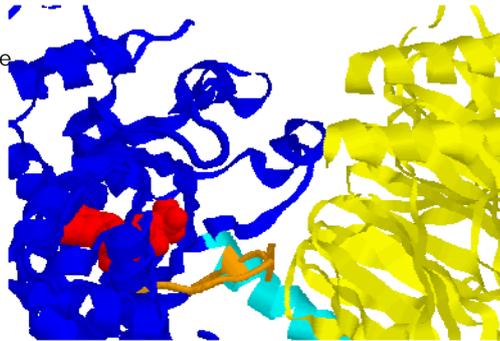


Proteina G

- La subunità α dell'eterotrimerico cambia conformazione quando il GDP è scambiato con il GTP
- Vi è la dissociazione dal complesso delle subunità β - γ e il complesso β - γ può agire da segnale legandosi a una proteina bersaglio attivandola o disattivandola.

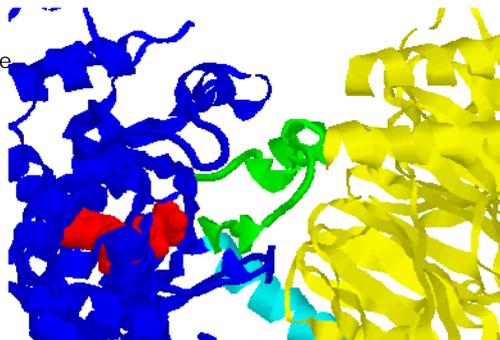
Proteina G

- I cambiamenti strutturali indotti dallo scambio del nucleotide sono localizzati alla superficie della subunità α a contatto con la β inclusa l' α -elica della subunità α e le tre regioni adiacenti
- Poiché la funzione segnale e l'attività GTPasica sono "accese" e "spente" da questo cambiamento conformazionale si parla di
 - **Switch I: residui 173-183;**
 - Switch II: residui 195-215;
 - Switch III: residui 227-238.



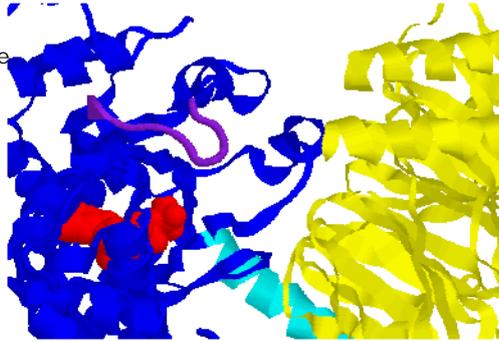
Proteina G

- I cambiamenti strutturali indotti dallo scambio del nucleotide sono localizzati alla superficie della subunità α a contatto con la β inclusa l' α -elica della subunità α e le tre regioni adiacenti
- Poiché la funzione segnale e l'attività GTPasica sono "accese" e "spente" da questo cambiamento conformazionale si parla di
 - Switch I: residui 173-183;
 - **Switch II: residui 195-215;**
 - Switch III: residui 227-238.



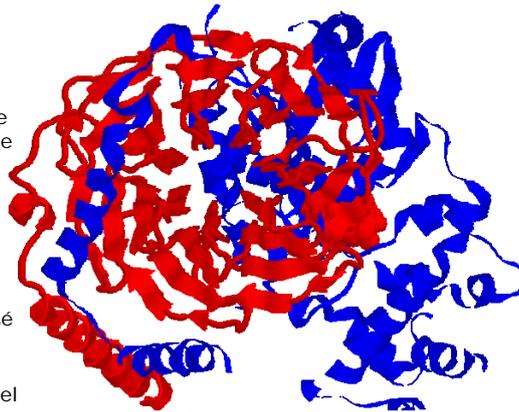
Proteina G

- I cambiamenti strutturali indotti dallo scambio del nucleotide sono localizzati alla superficie della subunità α a contatto con la β inclusa l' α -elica della subunità α e le tre regioni adiacenti
- Poiché la funzione segnale e l'attività GTPasica sono "accese" e "spente" da questo cambiamento conformazionale si parla di
 - Switch I: residui 173-183;
 - Switch II: residui 195-215;
 - **Switch III: residui 227-238.**



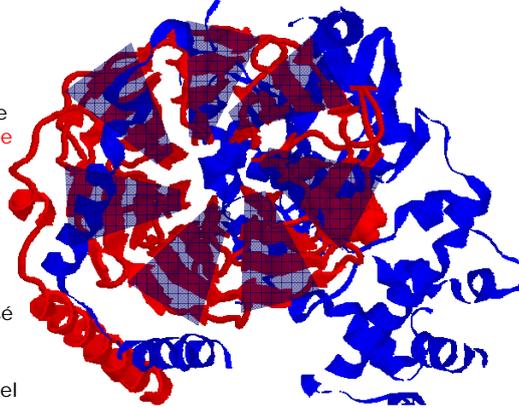
Proteine G – subunità β

- La struttura della **subunità β** dell'eterotrimerico è estremamente interessante.
- È un " β -propulsore" formato da sette domini β -sheet arrangiate come lame in un propulsore
- L'estremità N-terminale della subunità β contiene un α -elica di 25 residui (26-45) e un loop che connette l'elica con il propulsore.
- Le lame del propulsore sono fatte di un β -sheet antiparallelo avvolto su sé stesso.
- La presenza di questa struttura a sette lame sembra esser coinvolta nel legame con le proteine bersaglio.



Proteine G – subunità β

- La struttura della **subunità β** dell'eterotrimerico è estremamente interessante.
- È un "β-propulsore" formato da sette domini β-sheet arrangiate come **lame** in un propulsore
- L'estremità N-terminale della subunità β contiene un α -elica di 25 residui (26-45) e un loop che connette l'elica con il propulsore.
- Le lame del propulsore sono fatte di un β-sheet antiparallelo avvolto su sé stesso.
- La presenza di questa struttura a sette lame sembra esser coinvolta nel legame con le proteine bersaglio.



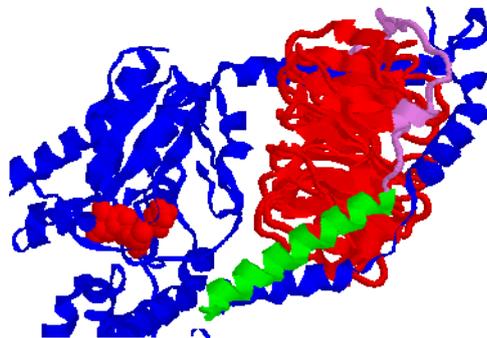
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

59

Proteine G – subunità β

- La struttura della subunità β dell'eterotrimerico è estremamente interessante.
- È un "β-propulsore" formato da sette domini β-sheet arrangiate come lame in un propulsore
- L'estremità N-terminale della subunità β contiene un α -elica di 25 residui (26-45) e un loop che connette l'elica con il propulsore
- Le lame del propulsore sono fatte di un β-sheet antiparallelo avvolto su sé stesso.
- La presenza di questa struttura a sette lame sembra esser coinvolta nel legame con le proteine bersaglio.



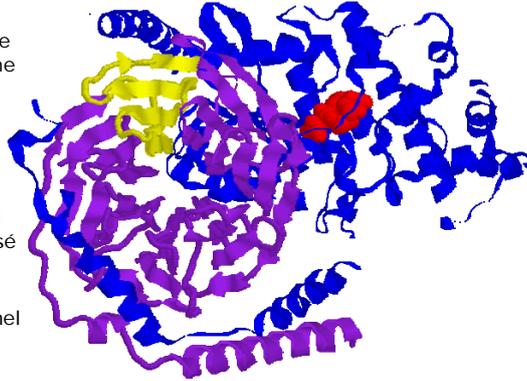
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

60

Proteine G – subunità β

- La struttura della subunità β dell'eterotrimerico è estremamente interessante.
- È un "β-propulsore" formato da sette domini β-sheet arrangiate come lame in un propulsore
- L'estremità N-terminale della subunità β contiene un α -elica di 25 residui (26-45) e un loop che connette l'elica con il propulsore.
- Le lame del propulsore sono fatte di un **β-sheet antiparallelo** avvolto su sé stesso.
- La presenza di questa struttura a sette lame sembra esser coinvolta nel legame con le proteine bersaglio.



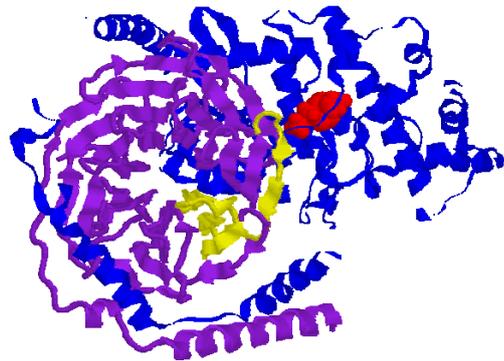
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

61

Proteine G – subunità β

- La subunità β contiene anche il motivo WD :
[x6-94-(GH-x23-41-WD)]
che possiede un dominio N-terminale variabile seguito da un core di lunghezza costante legato attraverso una coppia GH (Gly-His) ad una estremità ed da una coppia WD (Trp-Asp) all'altra
- Proteine che possiedono questo motivo contengono generalmente da quattro ad otto motivi connessi.



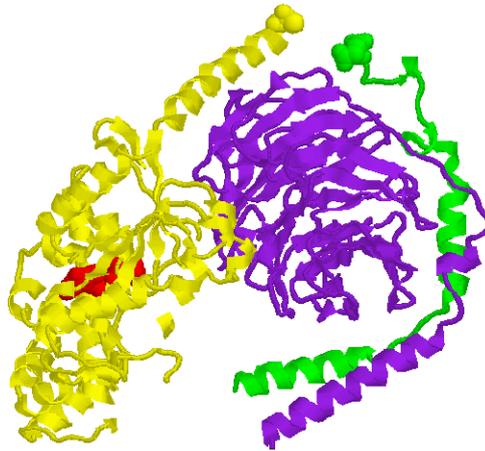
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

62

Proteine G – Interazione con la membrana

- Sia la subunità α che la subunità γ sono ancorate ai lipidi della membrana.
- La subunità α può avere il suo N-terminale legato ad una catena miristoile o palmitoile mentre la subunità γ può essere legata a farnesile o geranylgeranile al C-terminale
- I due terminali sono giustapposti suggerendo una stretta interazione con il bilayer.



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

63

Come riferimento

- The G-protein nanomachine
- <http://cti.itc.virginia.edu/~cmg/Demo/pdb/gprot/gprot.htm>

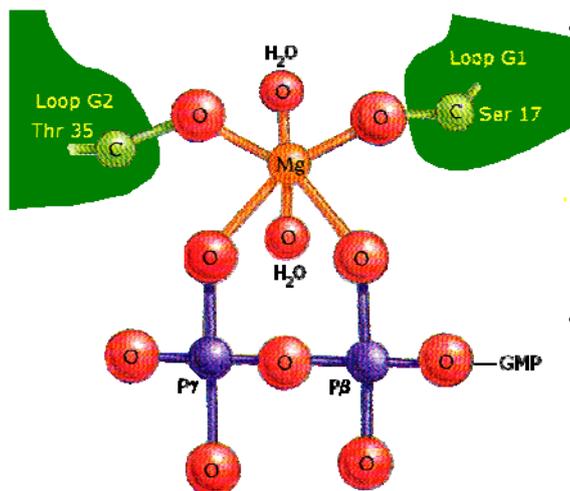
gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

64

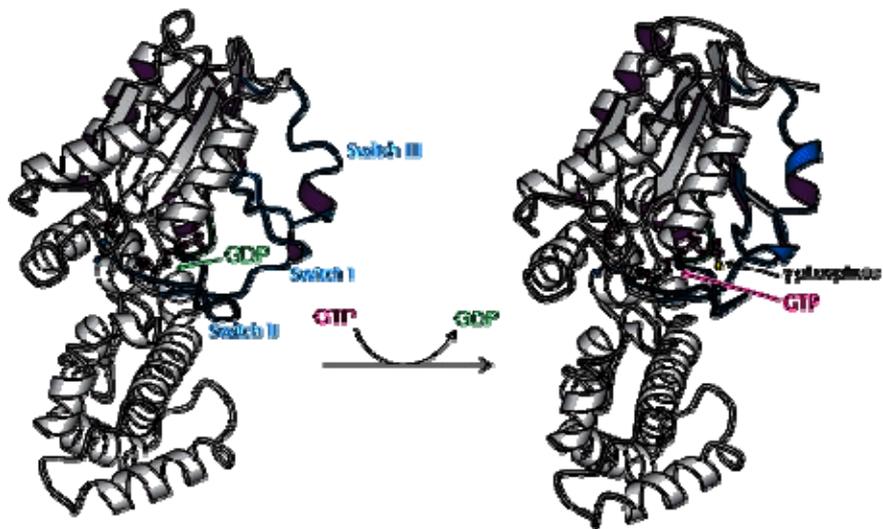
Attività GTPasica

- L'attività GTPasica della subunità $G\alpha$ determina la durata della permanenza del segnale nella forma attiva;
- l'idrolisi del GTP a GDP riporta la subunità $G\alpha$ nella forma inattiva che si lega al dimero $G\beta\gamma$.



- Quasi tutti gli enzimi che idrolizzano nucleosidi fosfati trifosfati, compresi Ras e $G\alpha$, richiedono ioni Mg^{2+} per l'attività catalitica. Il Mg^{2+} è coordinato a un atomo di ossigeno del fosfato β e γ del GTP e alle catene laterali dei residui Ser 17 e Thr 35 di Ras.
- Due molecole di acqua completano la coordinazione del magnesio.

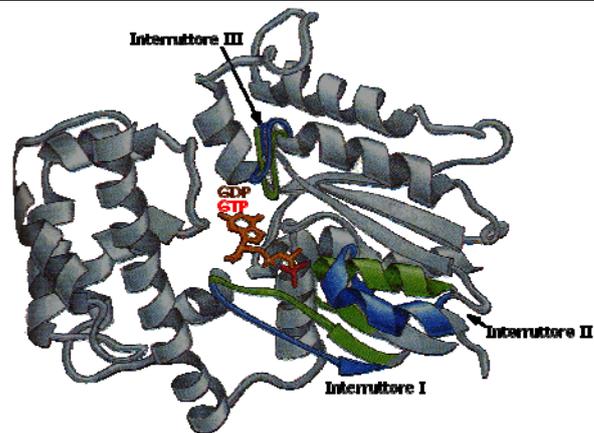
Attività GTPasica



gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

67

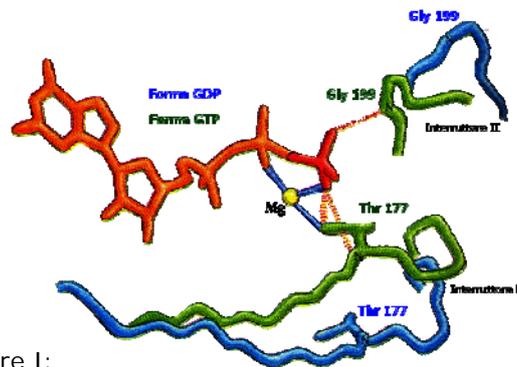


- Passando da $G\alpha$ -GDP inattiva a $G\alpha$ -GTP attiva le differenze strutturali interessano le tre regioni del dominio GTPasico: l'interruttore I e II, l'interruttore III è un loop che collega $\beta 4$ con $\alpha 3$, corrispondente alla regione G4 in Ras.
- L'elemento che scatena il cambiamento conformazionale della forma GDP alla forma GTP sembra essere la formazione di legami idrogeno tra la proteina e il fosfato γ del GTP accoppiata alla formazione di nuovi legami con lo ione Mg^{2+} da parti di ligandi della proteina.

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

68

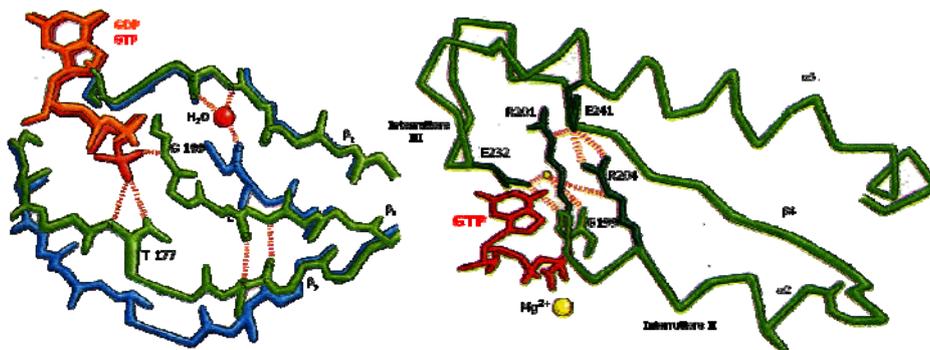


- Interruttore I:
 - la regione viene tirata verso il fosfato γ in modo da portare la catena laterale del residuo di Thr 177 in posizione per formare un legame idrogeno con l'atomo di ossigeno del fosfato e anche in prossimità del Mg^{2+} , dove sostituisce una delle due molecole di acqua presenti nella forma legata al GDP.
- Interruttore II:
 - si forma un legame a idrogeno tra il gruppo NH della catena appartenente al residuo Gly 199 e il fosfato γ del GTP.

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

69

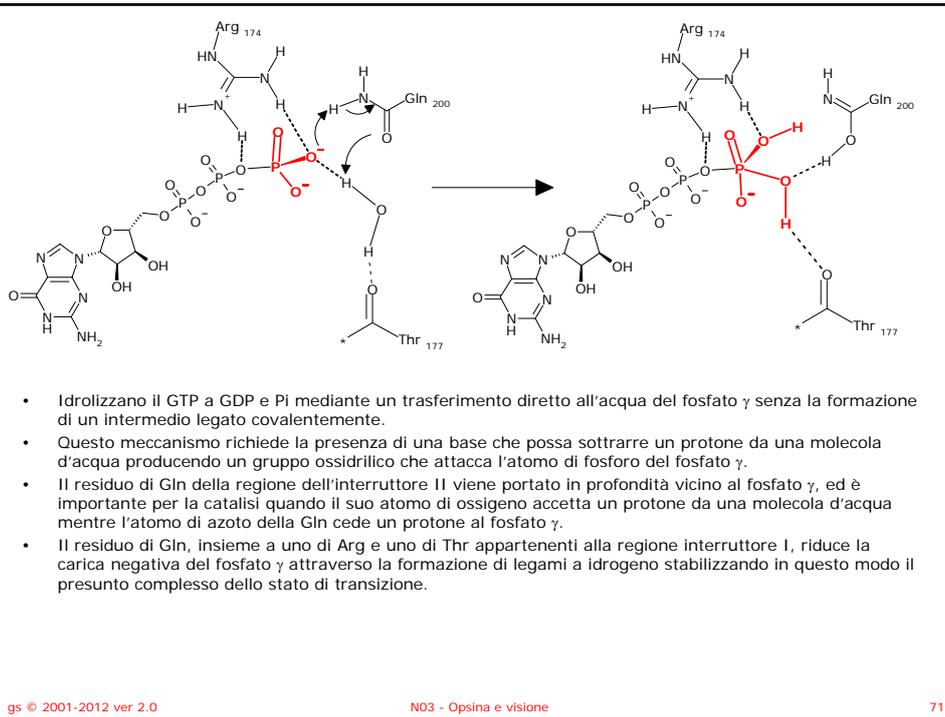


- Il loop contenente la Gly 199 è accoppiato all'elica $\alpha 2$ e il movimento di questo loop comporta lo stiramento e la rotazione con conformazione diversa da quella che assume nella forma legata al GDP.
- Ne consegue che l'estremità $\beta 3$ si sposta da $\beta 1$ interrompendo due legami a idrogeno. La nuova conformazione è stabilizzata da altri legami idrogeno tra $\beta 3$ e $\beta 2$ e da ponti salini tra residui di Arg presenti nell'interruttore II e residui di glutammato nella regione III.
- Interruttore III: la regione non ha interazioni dirette con il fosfato γ ma forma una rete di interazioni altamente conservate con residui presenti nell'interruttore II.
- I cambiamenti strutturali negli interruttori I e II, innescati dal fosfato γ si propagano indirettamente all'interruttore III.
- Questi tre interruttori sono collocati in un'area della subunità $G\alpha$ che è implicata in interazioni sia con la subunità β di $G\beta\gamma$ sia con le molecole attivatrici della funzione GTPasica.

gs © 2001-2012 ver 2.0

N03 - Opsina e visione

70



Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it