

**FIȘA DISCIPLINEI**

DENUMIREA DISCIPLINEI	<b>MECANISME DE SEMNALIZAREA CELULARA SI MOLECULARA</b>	COD: MBBM 5
-----------------------	---	-------------

ANUL DE STUDIU	MASTER	SEMESTRUL	I	STATUTUL DISCIPLINEI (AP-aprofundare/CC-obținere competente/F-facultativă)	AP
----------------	--------	-----------	---	--	----

NUMĂRUL ORELOR PE SAPTĂMÂNĂ				TOTAL ORE SEMESTRU	TOTAL ORE ACTIVITATE INDIVIDUALA*	NUMĂR DE CREDITE	TIPUL DE EVALUARE (P-pe parcurs, C-colocviu, E-examen, M-mixt)	LIMBA DE PREDARE
C	S	L	Pr.					
2	1	-	-	42		6	M	Română

TITULARUL DISCIPLINEI	GRADUL DIDACTIC ȘI ȘTIINȚIFIC, PRENUMELE, NUMELE	DEPARTAMENTUL
	PROF. DR. DANA IORDACHESCU	BIOCHIMIE SI BIOLOGIE MOLECULARA

DISCIPLINE ANTERIOR ABSOLVITE	<b>METABOLISM SI INTER-RELATII METABOLICE, BIOLOGIE CELULARA, BIOLOGIE MOLECULARA</b>
-------------------------------	---

<b>OBIECTIVE</b>	<p>Cresterea gradului de intelegere a mecanismelor de control a unor procese biologice majore, ca metabolismul, relatiile celula-celula si celula-matrice extracelulara, proliferarea si apoptoza celulara, precum si a raspunsurilor celulare la diferite mesaje extracelulare. Disciplina lărgeste orizontul cunoasterii studentului si-i permite realizarea unor conexiuni între cunostinte anterioare si noi, explicarea logica a unor evenimente fiziologic normale sau patologice. Pentru progrese în semnalizarea neuronală s-a acordat Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicina în anul 2000 lui Arvid Carlsson, Paul Greengard, Eric Kandel</p>
<b>TEMATICĂ GENERALĂ</b>	<p><b>I. Funcția și structura căilor de semnalizare</b>          I.1. Funcția generală a căilor de semnalizare          I.2. Structura căilor de semnalizare          I.3. Moleculă de semnalizare extra-celulară          I.4. Receptorii hormonilor          I.4. Amplificarea semnalului          I.5. Reglarea semnalizării intra- și extra-celulare          I.6. Ancorarea la membrane și semnalizarea</p> <p><b>II. Receptorii nucleari</b>          II.1. Liganzi ai receptorilor nucleari          II.2. Principii în semnalizarea receptorilor nucleari          II.3. Clasificarea și structura receptorilor nucleari, elemente de legare la DNA, HRE, domeniul de legare la DNA, recunoașterea HRE și structura complexului HRE-receptor, domenii de legare al ligandului, elemente de transactivare a receptorilor nucleari          II.4. Cai de semnalizare care implică receptori ai hormonilor steroizi, activarea complexelor citoplasmice apo-receptor</p> <p><b>III.Receptorii de la suprafața celulei</b>          III.1. Structura receptorilor; domeniul extracelular; domeniul transmembranar; domeniul intracelular; reglarea activității          III.2. Canale ionice          III.3. Receptorii cuplați cu proteinele G: structura, legarea ligandului, mecanismul semnalizării, desensibilizarea, GTPaze reglatoare;          III.4. Receptorii citokinelor          III.5. Receptorii cu activitate tirozin kinazică (TPK) sau asociați cu o TPK          III.6. Receptorii cu activitate guanilat ciclică          III.7. Receptorii ai unor componente ale matricei extracelulare</p> <p><b>IV. Mecanisme de semnalizare a ionilor de calciu.</b>          IV.1. Canale de Ca<sup>2+</sup> în membrana plasmatică (canale operate de voltaj, de liganzi, de rezervele de Ca<sup>2+</sup>)          IV.2. Canale de Ca<sup>2+</sup> intracelulare (receptorii inozitol trifosfatului, receptorii rianodinei)          IV.3. Mecanisme de îndepărtare a Ca<sup>2+</sup> din celulă: Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger, Ca<sup>2+</sup> ATPazele din membrana plasmatică (PMCA) și din RS/RE (SERCA)          IV.4. Rolul mitocondriilor în semnalizarea Ca<sup>2+</sup>          IV.5. Proteine de legare a Ca<sup>2+</sup> și senzori de Ca<sup>2+</sup>          IV.6. Semnalizarea Ca<sup>2+</sup> în cuplarea excitație-contrație în mușchii scheletici și cardiaci          IV.7. Ca<sup>2+</sup> - mesager secund în modularea excitabilității neuronale          IV.8. Semnalizarea morții celulare</p>

## **V. Semnalizarea insulinei**

- V.1. Rolul insulinei in metabolismul celular
- V.2. Sinteza si turnoverul insulinei
- V.3. Transportorii GLUT
- V.4. Receptorul insulinei: structura, autofosforilare
- V.5. Endocitoza mediata de receptor a complexului hormon-receptor
- V.6. Defosforilarea receptorului insulinei
- V.7. Sistemul de semnalizare IRS (insulin receptor substrate)
- V.8. Efectele metabolice ale insulinei: calea PI3-kinazei
- V.9. Efectele mitogenice ale insulinei: calea IRK-SHc.Grb 2.Sos. Ras

## **VI. Semnalizarea unei citokine: TGF- $\beta$**

- VI.1. Izoforme TGF- $\beta$  si receptorii
- VI.2. Functiile TGF- $\beta$
- VI.3. Promotorul TGF- $\beta$ 1 si factorii transcriptionali reglatori
- VI.4. Reglarea expresiei genice
- VI.5. Ciclul celular si TGF- $\beta$
- VI.6. Semnalizarea indusa de TGF- $\beta$ 1, proteinele SMAD
- VI.7. Alterarea receptorului TGF- $\beta$ 1 in cancer
- VI.8. Alterarea semnalizarii TGF- $\beta$ 1 in cancer

## **I. Fosforilarea proteinelor – etapa a semnalizarii celulare**

- I.1. Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicina (Krebs si Fischer) 1992
- I.2. Descoperirea fosforilarii proteinelor
- I.3. Comparatie fosforilarea proteinelor la procariote si eucariote
- I.4. Protein kinazele eucariotice : trasaturi comune si diferente, autoinhibitia si controlul intrasteric, specificitatea de substrat, semnale reglatoare și exemple de semnalizare «cross talk»
- I.5. Protein tirozin fosforilarea si integritatea organismelor multicelulare
- I.6. Stingerea semnalelor prin defosforilarea proteinelor
- I.7. Cancerul – o psihoza celulara

## **II. Defosforilarea proteinelor**

- II.1. Protein Ser/Thr fosfataze: protein fosfatazele 1, 2A, 2, 2B, 2C
- II.2. Protein Tyr fosfataze
- II.3. Protein fosfataze cu functie mixta

## **III. Protein kinaza cAMP dependenta (PKA) – prototip al Ser/Thr protein kinazelor**

- III.1. Purificarea și analiza structurii holoenzimelor PKA
- III.2. Aspecte structurale ale functiei PKA: structura cristalina a subunitatii C, subunitatii R si a inhibitorului
- III.3. Controlul activitatii PKA in vivo si dinamica mecanismului «*substrate-induced fit*» în solutie
- III.4. Aspecte celulare ale functiei și controlului PKA : controlul in vivo a PKA si localizarea celulara a subunitatilor PKA

## **IV. Protein kinaza C**

- IV.1. Familia izoenzimelor PKC
- IV.2. Structura PKC conventionale
- IV.3. Reglarea activitatii PKC
- IV.4. Functiile celulare ale PKC
- IV.5. Specificitatea de substrat a PKC
- IV.6. Proteine de legare a PKC
- IV.7. PKC in diferite conditii patologice

## **V. Raf Ser/Thr protein kinaze**

- V.1. Proto-oncogene, oncogene, proto-oncogene *raf*
- V.2. Structura izoformelor Raf kinazelor
- V.3. Activarea Raf kinazelor: recrutarea la membrana, fosforilare-defosforilare, interactii proteina-proteina
- V.4. Modele pentru mecanismele de activare a Raf-1 si B-Raf

## **VI. Superfamilia MAPK (*mitogen –activated protein kinases*)**

- VI.1. MAPK kinaza kinaze (MEKK)
- VI.2. MAPK kinaze (sau MEK)
- VI.3. MAPK: ERK (*extracellular signal-regulated protein kinases*); JNK/SAPK (*c-Jun N-terminal kinases sau stress activated protein kinases*) și P38 kinaze
- VI.4. Determinanti ai specificitatii modulelor MAPK
- VI.5. Substrate ale MAPK: proteine citoplasmatic, membranare și nucleare
- VI.6. Proteine «*scaffolding*» pentru modulele MAPK

## **VII. Cazein kinaze CK**

- VII.1. Clase de cazein kinaze
- VII.2. CK1: substrate, roluri fiziologice, localizare subcelulara si reglare
- VII.3. CK2: genele CK2 si localizarea lor cromozomala, caracteristici biochimice si efectori, structura subunitatilor

	<p>catalitice si reglatoare, situsuri de autofosforilare, substrat si roluri fiziologice</p> <p><b>VIII. CDK (cyclin dependent protein kinases)</b></p> <p>VIII.1. Ciclul celular: faze, «checkpoints»</p> <p>VIII.2. MPF (<i>maturation promoting factor</i>): structura si activare</p> <p>VIII.3. Cicline</p> <p>VIII.4. Membrii familiei CDK, situsuri de fosforilare in Cdc2 (CDK1) inhibitoare si activatoare, CAK (<i>CDK activating kinase</i>), Thr-14 kinaza, wee 1 protein kinaza, Cdc 25 protein fosfataza</p> <p>VIII.5. Compozitia «checkpoint» G2 si controlul tranzitiei G2→ M</p> <p>VIII.6. Inhibitorii CDK: Cip/Kip si INK4</p> <p><b>IX. CaM kinaze</b></p> <p>IX.1. Calmodulina si alte proteine de legare a Ca<sup>2+</sup></p> <p>IX.2. CaM kinaze multifunctionale si CaM kinaze specifice</p> <p>IX.3. CaM kinaza II: structura subunitara, domenii in structura subunitatilor, reglarea activitatii si cele patru stari ale CaMK II, efecte cooperative in holoenzima, molecula memorie si detector de frecventa, substrat</p> <p>IX.4. Implicarea CaM kinazelor in procese pre- si post-sinaptice</p> <p>IX.5. Rolul CaM kinazelor in reglarea expresiei genice</p> <p><b>X. Receptor tirozin protein kinaze (RTK)</b></p> <p>X.1. Functii specifice ale RTK realizate de motive structurale</p> <p>X.2. Domeniile de legare a ligandului – module de diferite motive structurale</p> <p>X.3. Domeniile intracelulare ale RTK – regleaza diferite functii</p> <p>X.4. Domeniul tirozin kinazic si raspunsurile biologice mediate</p> <p>X.5. Expresia aberanta a RTK si diferite conditii patologice, inclusiv cancerul</p> <p><b>XI. Non-receptor tirozin protein kinaze (nonRTK)</b></p> <p>XI.1. Familia Src: evolutie, subclasificare, structura, reglare, substrat</p> <p>XI.2. Familia Csk</p> <p>XI.3. Familia JAK</p> <p>XI.4. Familia FAK</p> <p><b>XII. Protein kinaze activate de AMP (AMPK)</b></p> <p>XII.1. Structura complexului heteroproteic a AMPK mamaliene</p> <p>XII.2. Reglarea complexului AMPK</p> <p>XII.3. Activarea AMPK de catre stari de stres provocate de lipsa ATP</p> <p>XII.4. Roluri fiziologice</p> <p>XII.5. Tinte «downstream» ale AMPK</p>
<p><b>TEMATICA SEMINARIILOR</b></p>	<p>I. Semnalizare extracelulara: endocrina, paracrina, autocrina</p> <p>II. Principii mecanisme de actiune hormoni hidrofobi si hidrofilii</p> <p>III. Reglarea transcriptionala a receptorilor nucleari</p> <p>IV. Receptorii PPAR (<i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>)</p> <p>V. Receptorii guanilil ciclazei</p> <p>VI Receptorii ai matricei extracelular</p> <p>VII. Ca<sup>2+</sup>, mitocondria si apoptoza celulara</p> <p>VIII. Rezistenta la insulina</p> <p>VIII. Specificitatea de substrat a protein kinazelor; modele de crestere a specificitatii de substrat in vivo</p> <p>IX. Comparatie intre mecanismele de reglare a activitatii protein kinazelor</p> <p>X. Extinctia semnalelor – protein fosfataze</p> <p>XI. Protein kinaza A: prototip al Ser/Thr protein kinazelor</p> <p>XII. Protein kinaza C: corelatii structura (domenii) izoenzime PKC si diferiti efectori; mecanisme de activare</p> <p>XIII. Protein kinaze implicate in controlul ciclului celular</p> <p>XIV. Fosforilarea factorilor de transcripție</p> <p>XV. Analiza de articole si referate</p>
<p><b>METODE DE PREDARE</b></p>	<p>La curs: prelegere, conversație, problematizare</p> <p>La seminar: lucrul direct cu literatura de specialitate pentru identificare interactivă a criteriilor și metodelor de identificare a soluțiilor optime/alternative la probleme specifice semnalizării celulare; referate, analiza de articole.</p>
<p><b>BIBLIOGRAFIE OBLIGATORIE (SELECTIV)</b></p>	<p>Structure, regulation and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on Guanylyl cyclase, A, M. Kuhn, <i>Circ. Res.</i>, 93, 700-709, 2003</p> <p>Lipid metabolism, metabolic diseases an peroxisome proliferators-activated receptors, CH. Lee, P. Olson, R.M. Evans, <i>Endocrinology</i>, 144, 2201-2207, 2003</p> <p>Integrins and cell proliferation: regulation of cyclin-dependent kinases via cytoplasmic signalling pathways, M.A. Schwartz, R.K. Assoian, <i>J. Cell Sci.</i>, 114, 2553-2560, 2001</p> <p>Cell signalling: mitochondrial longevity pathways, G. Hajnoczky, J.B. Hoek, <i>Science</i>, 315, 607-609, 2007</p>

Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers and permeability transition, P. Bernardi, *Physiol. Rev.*, 79, 1127-1155, 1999

Mechanisms of calcium handling in smooth muscles, K.M. Sanders, *J. Appl. Physiol.*, 91, 1438-1449, 2001

Smooth muscle contraction and relaxation, R.C. Webb, *Adv. Physiol. Education*, 27, 201-206, 2003

Phosphoinositide 3-kinases as a common platform for multi-hormone signalling, E. Hirsh, C. Costa, E. Ciralo, *J. Endocrinol.*, 194, 243-256, 2007

Protein-protein interactions in insulin signalling and the molecular mechanisms of insulin resistance, A. Virkamaki, K. Ueki, C.R. Kahn, *J. Clin. Invest.*, 103, 931-943, 1999

Signalling through the insulin receptor, J.P. Whitehead, S.F. Clark, B. Urso, D.E. James, *Current opinion in cell biology*, 12, 222-228, 2000

PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses, M.A. Lawlor, D.R. Alessi, *J. Cell Sci.*, 114, 2903-2910, 2001

Protein tyrosine phosphatases: the quest for negative regulators of insulin action, E. Asante-Appiah, B.P. Kennedy, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 284, 663-670, 2003

Specificity, diversity and regulation in TGF- $\beta$  superfamily signalling, E. Piek, C-H. Heldin, P.T. Dijke, *FASEB J.*, 13, 2105-2124, 1999

Mechanisms of TGF- $\beta$  signaling in regulation of cell growth and differentiation, A. Moustakas, K. Peraldi, A. Gaal, C-H Heldin, *Immunology Letters*, 82, 85-91, 2002

Transforming growth factor  $\beta$ 1 and cancer, O. Peralta-Zaragoza, A. Lagunas-Martinez, V. Madrid-Marina, *Salud Publica Mex*, 43, 340-351, 2001

*Localized Effects of cAMP Mediated by Distinct Routes of Protein Kinase A*, K. Tasken, E. M. Aandahl, *Physiol. Rev.* 84, 137-167, 2004

Contributions of Protein Kinase A Anchoring Proteins to Compartmentation of cAMP Signaling in the Heart  
M. S. Kapiloff, *Molecular Pharmacology*, 62, 193-199, 2002

*Move over protein kinase C, you've got company: alternative cellular effectors of diacylglycerol and phorbol esters*, N. Brose, C. Rosenmund, *Journal of Cell Science*, 115, 4399-4411, 2002

*Protein Kinase C as a Therapeutic Target*, B. A. Teicher *Clinical Cancer Research* 12, 5336-5345, 2006

*Mitogen-Activated Protein (MAP) Kinase Pathways: Regulation and Physiological Functions*, G. Pearson, F. Robinson, T. Beers Gibson, B. Xu, M. Karandikar, K. Berman, M. H. Cobb, *Endocrine Reviews* 22, 153-183, 2001

*Mammalian Mitogen-Activated Protein Kinase Signal Transduction Pathways Activated by Stress and Inflammation*, J. M. Kyriakis, J. Avruch, *Physiological Reviews*, 81, , 807-869, 2001

*One-thousand-and-one substrates of protein kinase C K2*. F. Meggio, L.A., Pinna, *FASEB J.*, 17, 349-368, 2003

*The Role of the Cyclin-dependent Kinase Inhibitor p21 in Apoptosis*, A. L. Gartel, A. L. Tyner. *Molecular Cancer Therapeutics*, 1, 639-649, 2002

*Regulation of the Activities of Multifunctional Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-Dependent Protein Kinases*, H. Fujisawa, *J. Biochem*, 129, 193-199, 2001

*Signaling Pathways Regulating Gene Expression, Neuroplasticity, and Neurotrophic Mechanisms in the Action of Antidepressants: A Critical Overview*, D. Tardito, J. Perez, E. Tiraboschi, L. Musazzi, G. Racagni, M. Popoli *Pharmacol Rev* 58:115-134, 2006

The AMP-activated protein kinase pathway – new players upstream and downstream, D. J. Hardie, *J/ Cell.Sci.*, 117, 5479-5487, 2004

Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue, M. Daval, F. Fougelle, P. Ferre, *J. Physiol.*, 574, 55-62, 2005

EVALUARE	condiții	Prezența la curs (minim 60%) și seminar (100%)
	criterii	capacitatea de a înțelege și enunța corect problemele actuale privind fosforilarea proteinelor ca mecanism de reglare și semnalizare capacitatea de a dezvolta subiectul prin activități de documentare individuală, de a sintetiza rezultatul documentării și de a-l prezenta public sub forma unei mini-conferințe, capacitatea de a interpreta un articol de specialitate în domeniu, integrarea în literatura de specialitate, logica experimentală, concluziile studiului și de a prefigura tipul de investigații care se impun în viitor
	forme	Evaluare orală și scrisă
	formula notei finale	Evaluarea participării la activitățile de seminar 25% Răspunsurile la examinarea finală 25% Analiza de articole 25 % Redactarea și prezentarea publică a unui subiect în domeniu 25 %