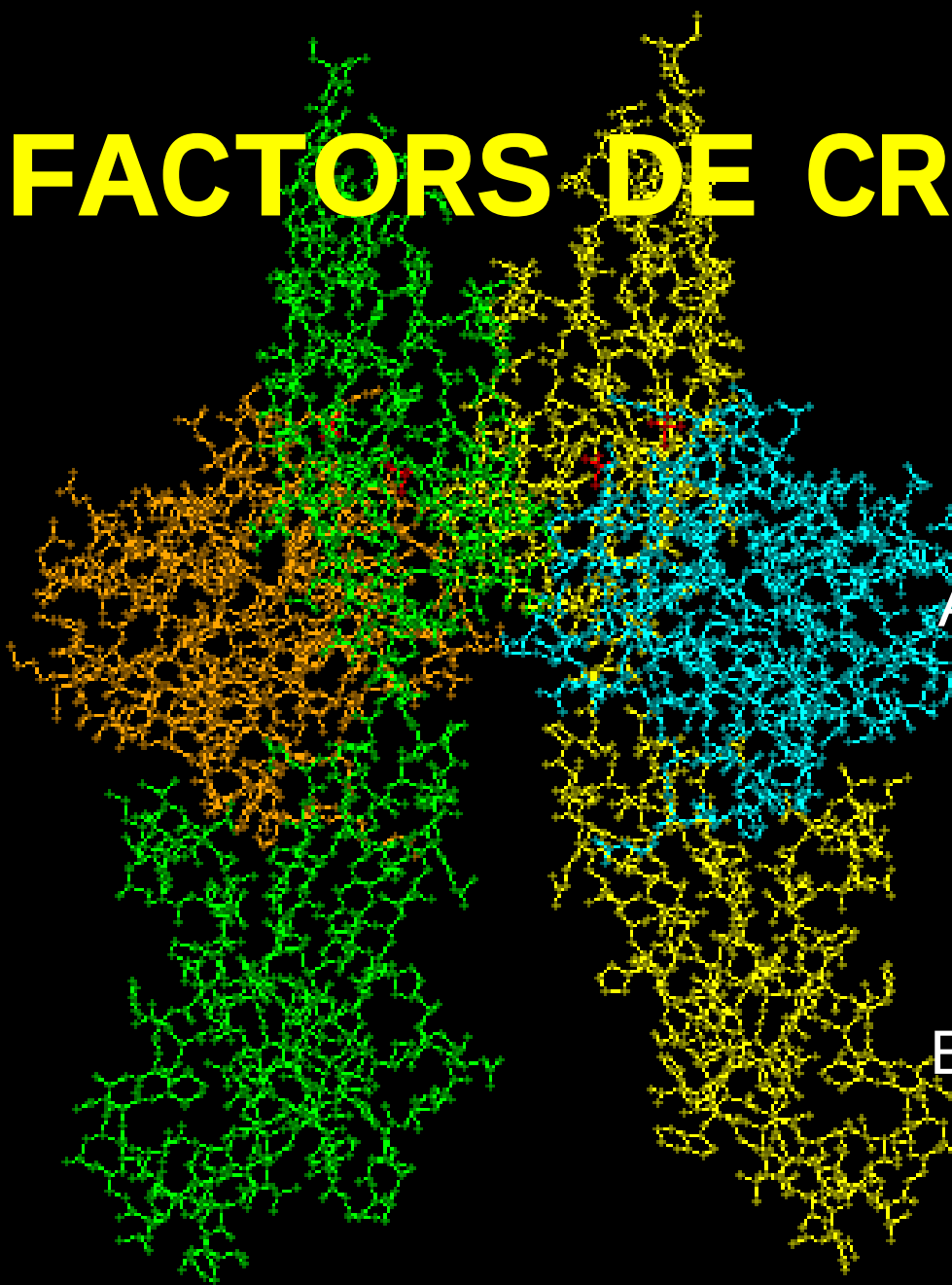


FACTORS DE CREIXEMENT



Adrián Alcalá San Martín

Alba Dalmases Massegú

Jetzabel García Parra

Alex Gómez Garrido

Enric Gutiérrez Martínez

Alba Vidal Torres

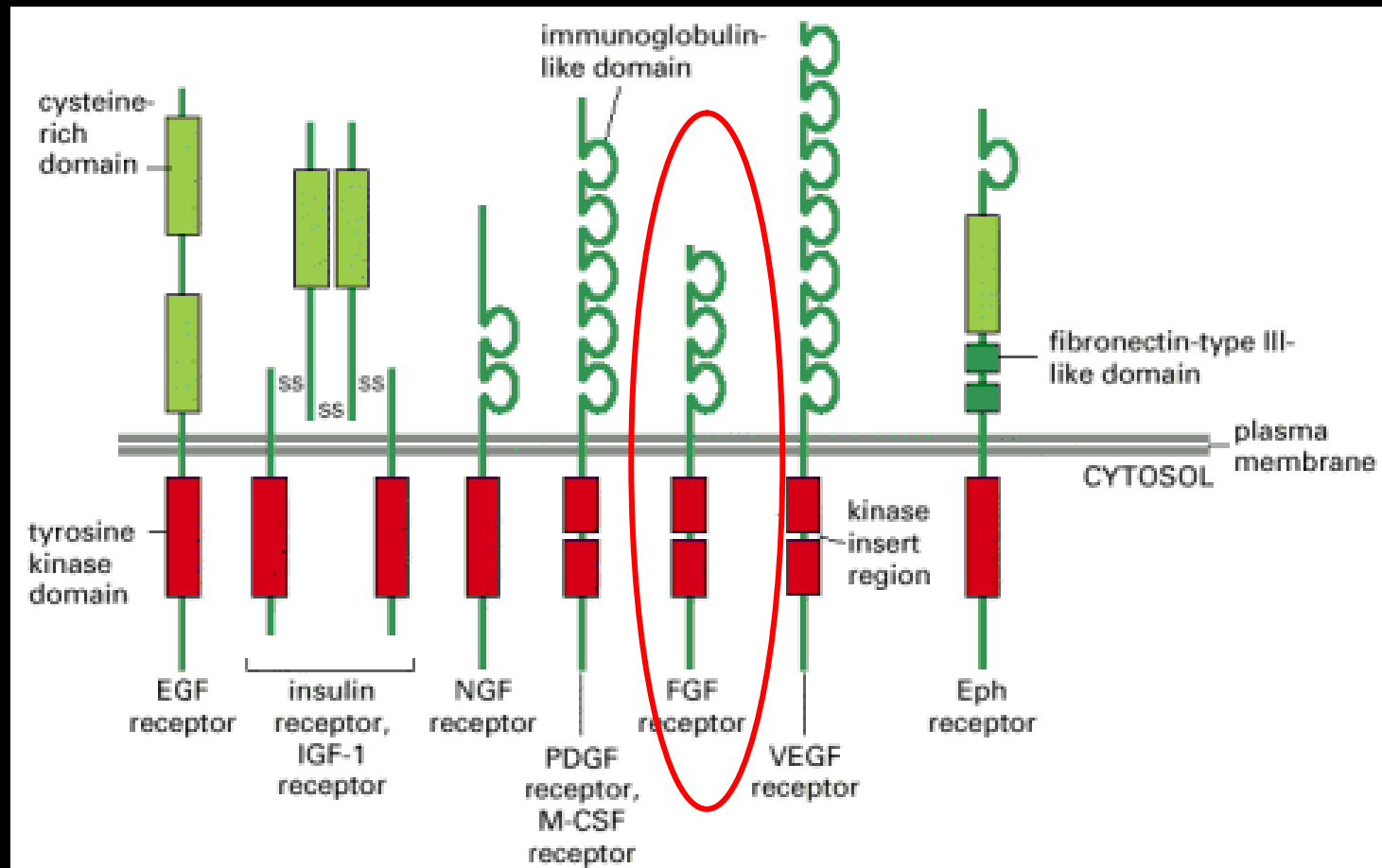
TIPUS DE FACTORS DE CREIXEMENT (GF)

LLIGAND	RECEPTOR	ALGUNES RESPOSTES
Epidermal Growth Factor (EGF)	EGFR	-Estimula proliferació de diferents tipus cel·lulars
Vascular-Endothelial Growth Factor (VEGF)	EphR	-Estimula angiogènesis i guia la migració cel·lular
Nerve Growth Factor (NGF)	NGFR	-Estimula proliferació i supervivència d'algunes neurones

TIPUS DE FACTORS DE CREIXEMENT (II)

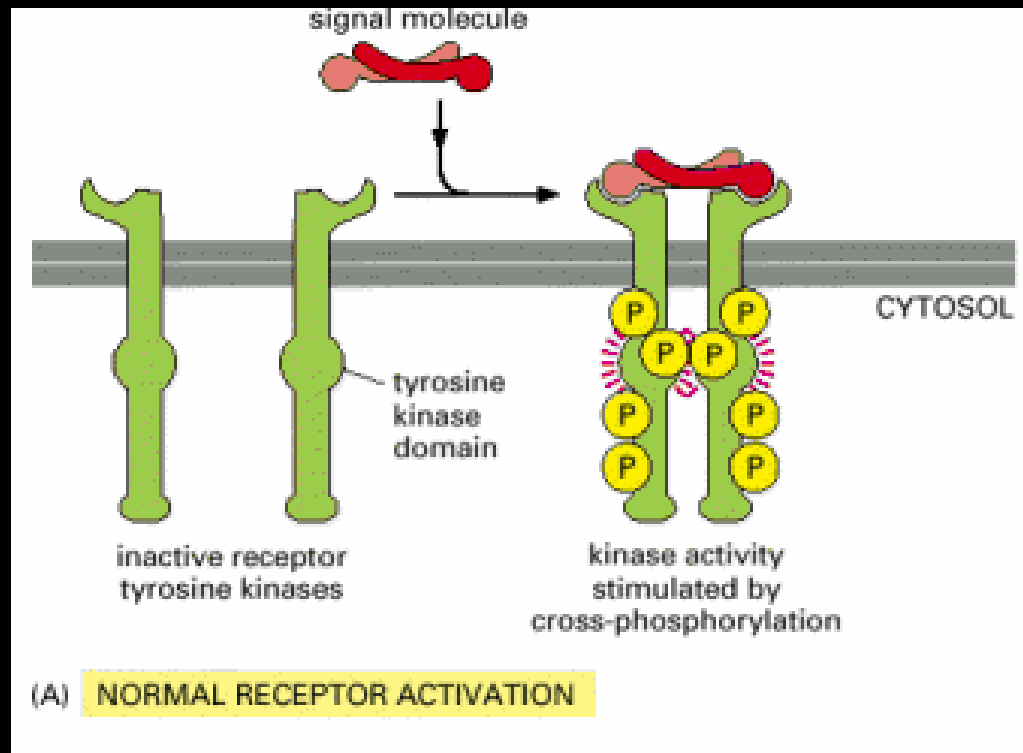
LLIGAND	RECEPTOR	ALGUNES RESPOSTES
Insuline-like Growth Factor (EGF)	IGF-receptor1	-Estimula creixement i supervivència cel·lulars
Plateled-derived Growth Factor (PDGF)	PDGFR	-Estimula creixement, supervivència i proliferació de diferents tipus cel·lulars
Fibroblast Growth Factor (FGF)	FGFR	Estimula proliferació de diferents tipus cel·lulars -Inhibeix diferenciació d'alguns precursors cel·lulars -Senyals durant el desenvolupament

FAMÍLIES DE RECEPTORS TIROSINA-QUINASA



- 7 Subfamílies de receptors tirosina-quinasa

ACTIVACIÓ DELS TRKR PER L'UNIÓ DEL LLIGAND

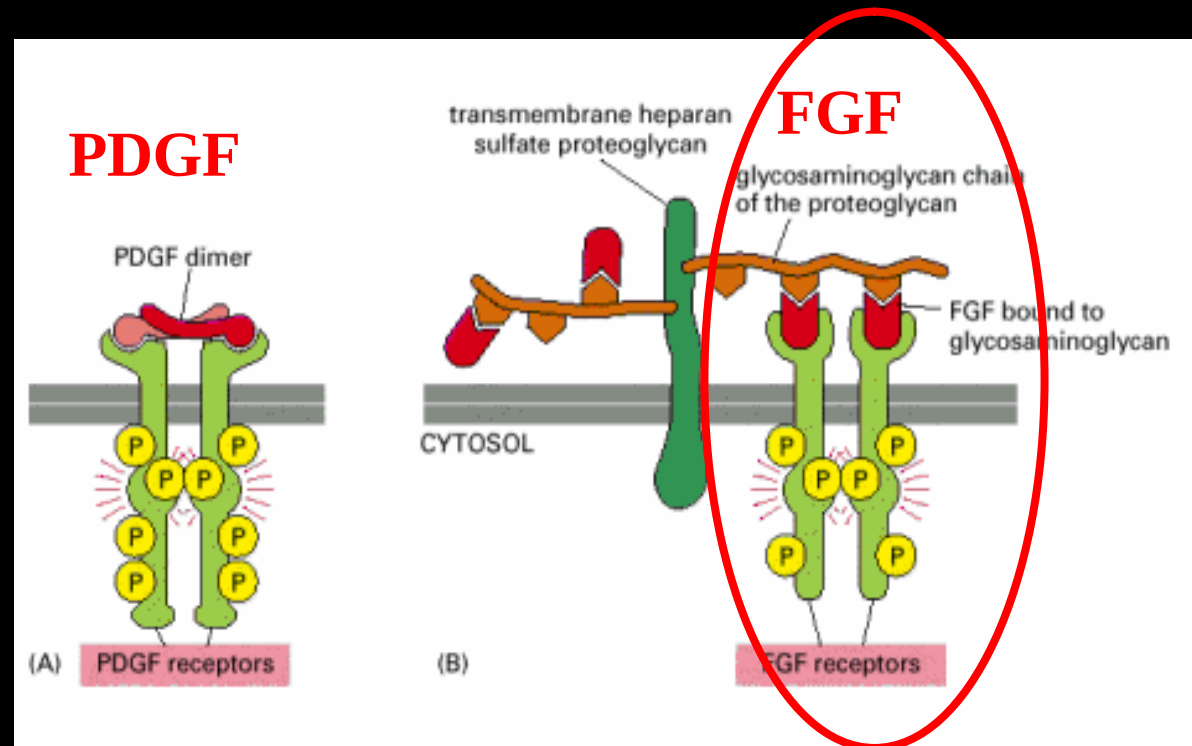


Passos del procés d'activació:

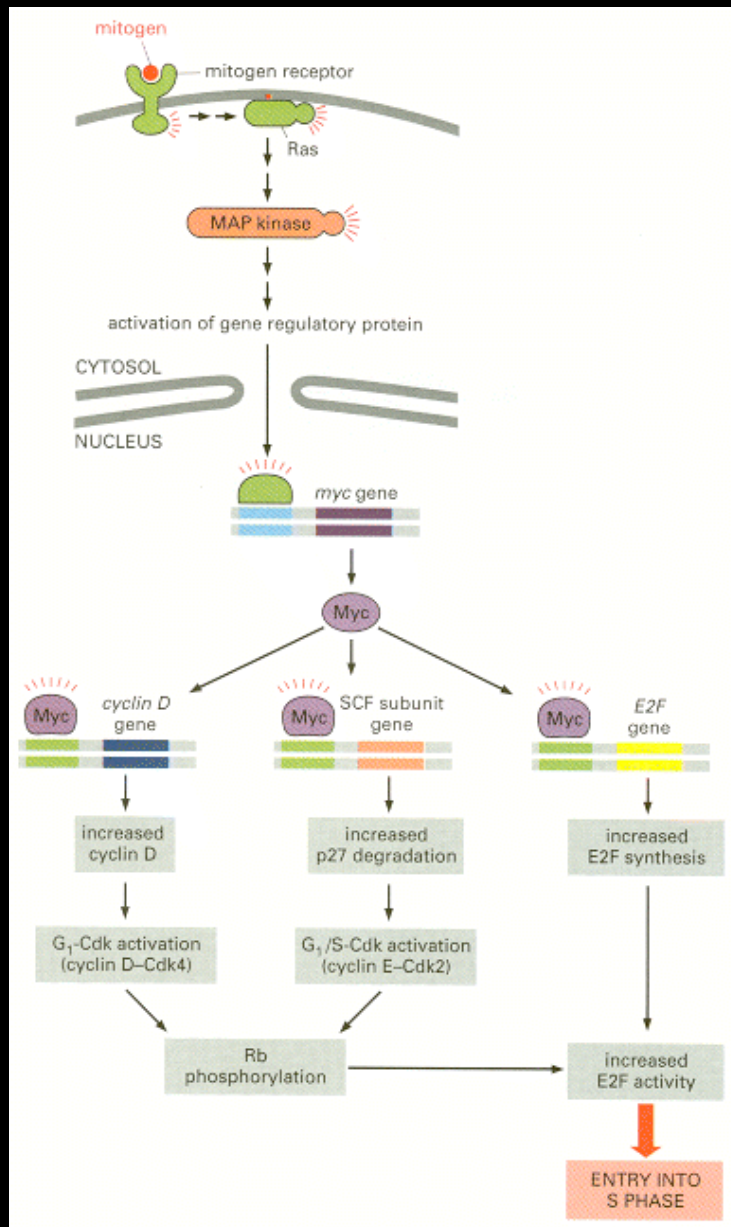
1. Unió del lligand al receptor o bé unió del receptor prèvia al lligand
2. Dimerització dels receptors
3. Fosforilació dels dominis intracel·lulars en Y per ATP
4. Autofosforilació del receptor i de proteïnes intracel·lulars

DIFERENTS TIPUS D'UNIÓ LLIGAND-RECEPTOR

- Existeixen diferents models d'interacció R-L:
- PDGF — Els lligands són dímers capaços d'unir-se al receptor per dos llocs diferents permetent la dimerització immediata del complexe .
- FGF — La unió entre lligand i receptor està reforçada per la participació de l'heparina



EFFECTES A NIVELL INTRACEL·LULAR



Un exemple de funció:

- La unió de mitògens (Growth factors) activa Ras i MAPK.
- Augment de la transcripció de myc
- Myc incrementa les ciclines D
- Es produeix la fosforilació de RB que activa E2F que actua com factor de transcripció permetent l'entrada a S.

CLASSIFICACIÓ DELS FACTORS DE CREIXEMENT

- SMALL PROTEINS
- ALL ALPHA PROTEINS
- ALL BETA PROTEINS

CLASSE

SMALL PROTEINS

PLEGAMENT

Cystine-knot cytokines

Knottins

Hairpin loop containing domain-like

Insulin-like



SUPERFAMÍLIA

Cystine-knot cytokines

EGF/laminin

Hairpin loop containing domain-like

Insulin-like



FAMÍLIA

IGF - B

Platelet-derived growth factor-like

Neurotrophin

EGF-type module

Hairpin loop containing domain

Insulin-like



PROTEÍNES

•TGF-B
1,2,3
•GDNF

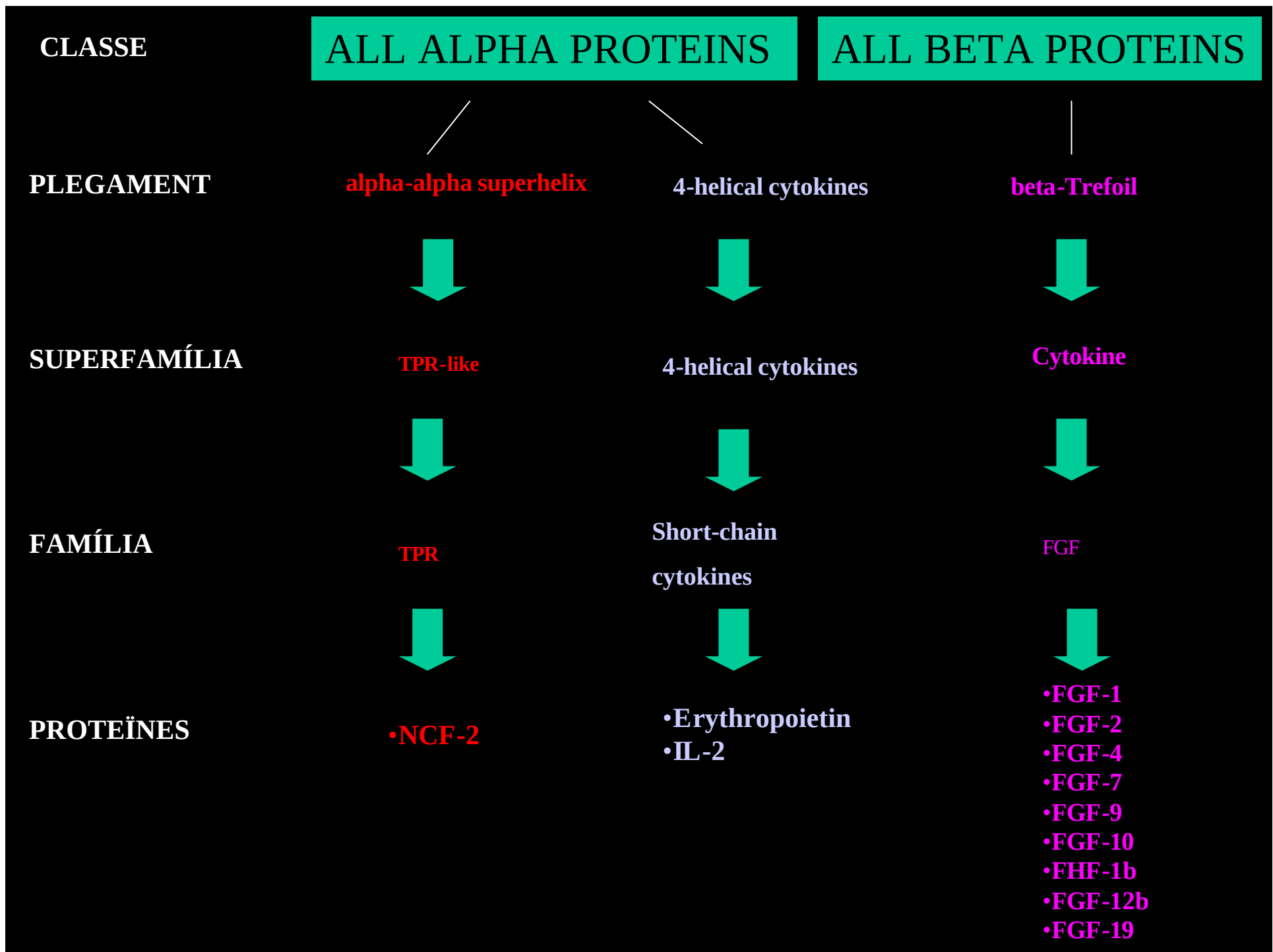
•VEGF
•PDGF
BB
•PLGF -1

•BDNF
•B-NGF

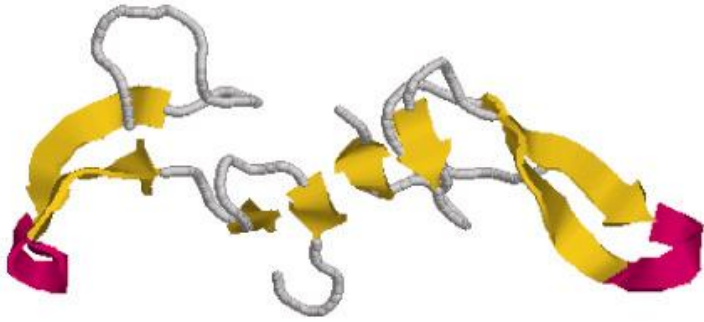
•EGF
•TGF alpha

•HGF

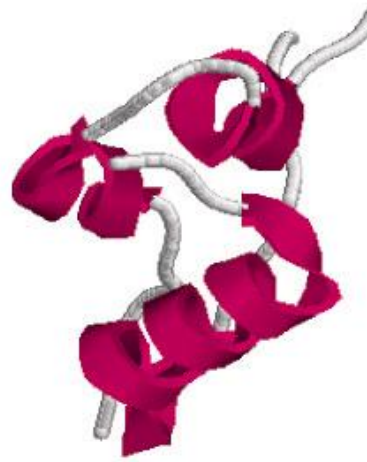
•ILGF



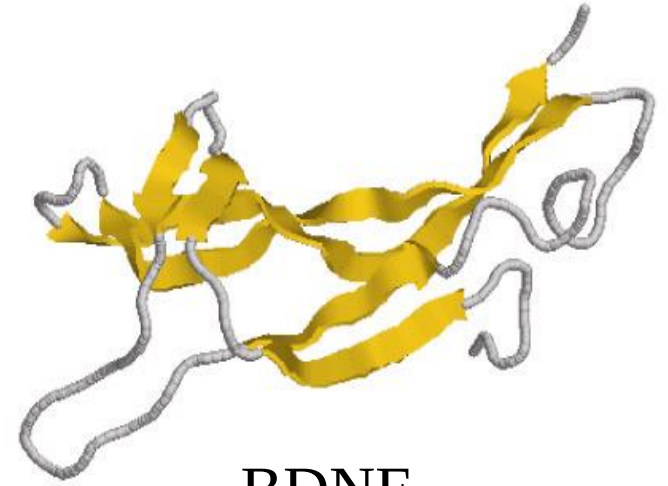
Factors de creixement



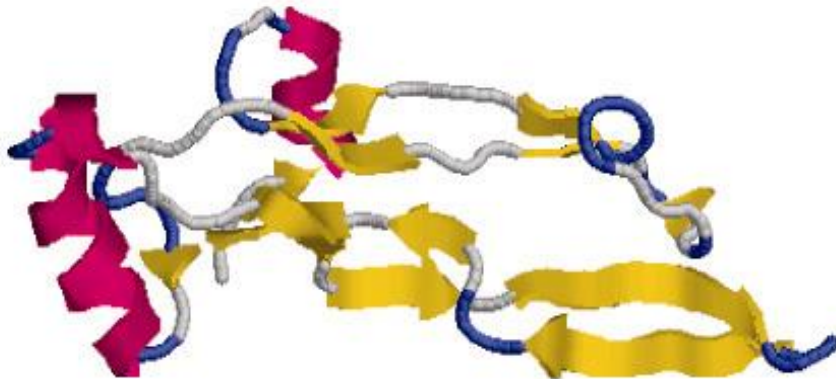
EGF



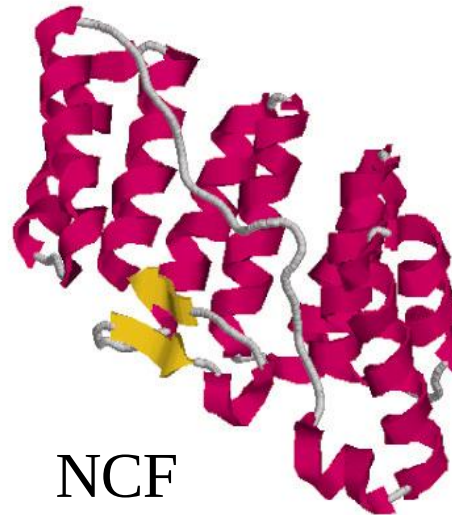
IGF



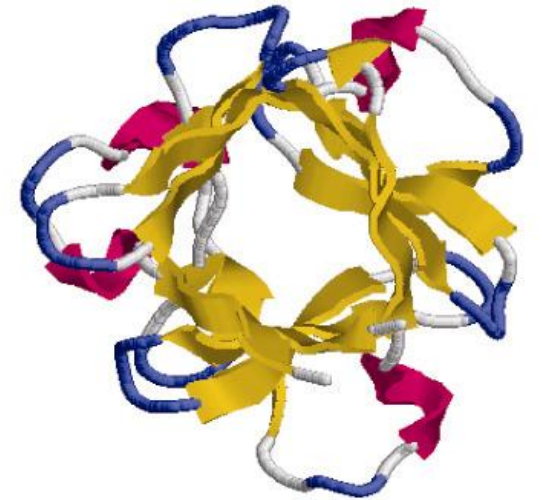
BDNF



TGF-beta



NCF



FGF

Alineament de seqüència d'alguns factors de creixement

EGF	-----
IGF	-----
FGF	-----
TGF	-----
NCF	SLVEAISLWNEGVLAADKKDWKGALDAFSAVQQDPHSRICFNIGCMYTIILKNMTEAEKA
BDNF	-----

EGF	-----
IGF	-----
FGF	-----PKRLYCKNGGFFLRHPDGRVDGVREKSDPHIKLQLQAEERGVSISIKGVC
TGF	-----ALDTNYCFRNLEEN--CCVRP--LYIDFRQDLG-WKWVHEPKGY
NCF	FTRSINRDKHLAVAYFQRGMLYYQTEKYD--LAIKD--LKEALIQLRGNQQLIDYKILGL
BDNF	-----RGEYSVCDSESL--WTD--KSSAIDIRG-HQVTVLGEIKT

EGF	-----CPLSHDGYCLHDG--VCMYIEALDKYACN--CVVGYIGERCQYRDL----
IGF	ET--LCGAELVDALQFVCGDRG--FYFNKPTGYPQTGIVDECCFRSCDLRRLEMYCAPLK
FGF	ANRYLAMKEDGRL LASKCVTDECFFFERLESNNYNTYRSRKYTSWYVALKRTGQYKLGSK
TGF	AN--FCSGPCPYLRSADTTHST--VLGLYNTLNPEASAS-PCCVPQDLEPLTILYYVGRT
NCF	QQ--FKLFACEVLYNIAFMYAK--KEEWKKAEEQLALATSMKSEPRHSKIDKAMECVWKQ
BDNF	GN---SPVKQYFYETRCKEAR-PVKNGCRGIDDKHWNS--QCKTSQTYVRALTSENNKL

EGF	-----
IGF	P-----
FGF	TGPGQKAILFLPMS-----
TGF	PKVEQLSNMVVKSCKS-----
NCF	KLYEPVVIPVGRRLFRPNERQVAQL
BDNF	VGWRWIRIDTSCVCALSRK-----

EGF vs TGF-alfa

Seqüència

```
1JL9A      -----CPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDL---  
1JL9B      -----CPLSHDGYCLHDGVCMYIEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDLKWW  
1yug__SEQR VVSHFNDCPDSHTQFCFH-GTCRFLVQEDKPACVCHSGYVGARCEHADLLA-
```

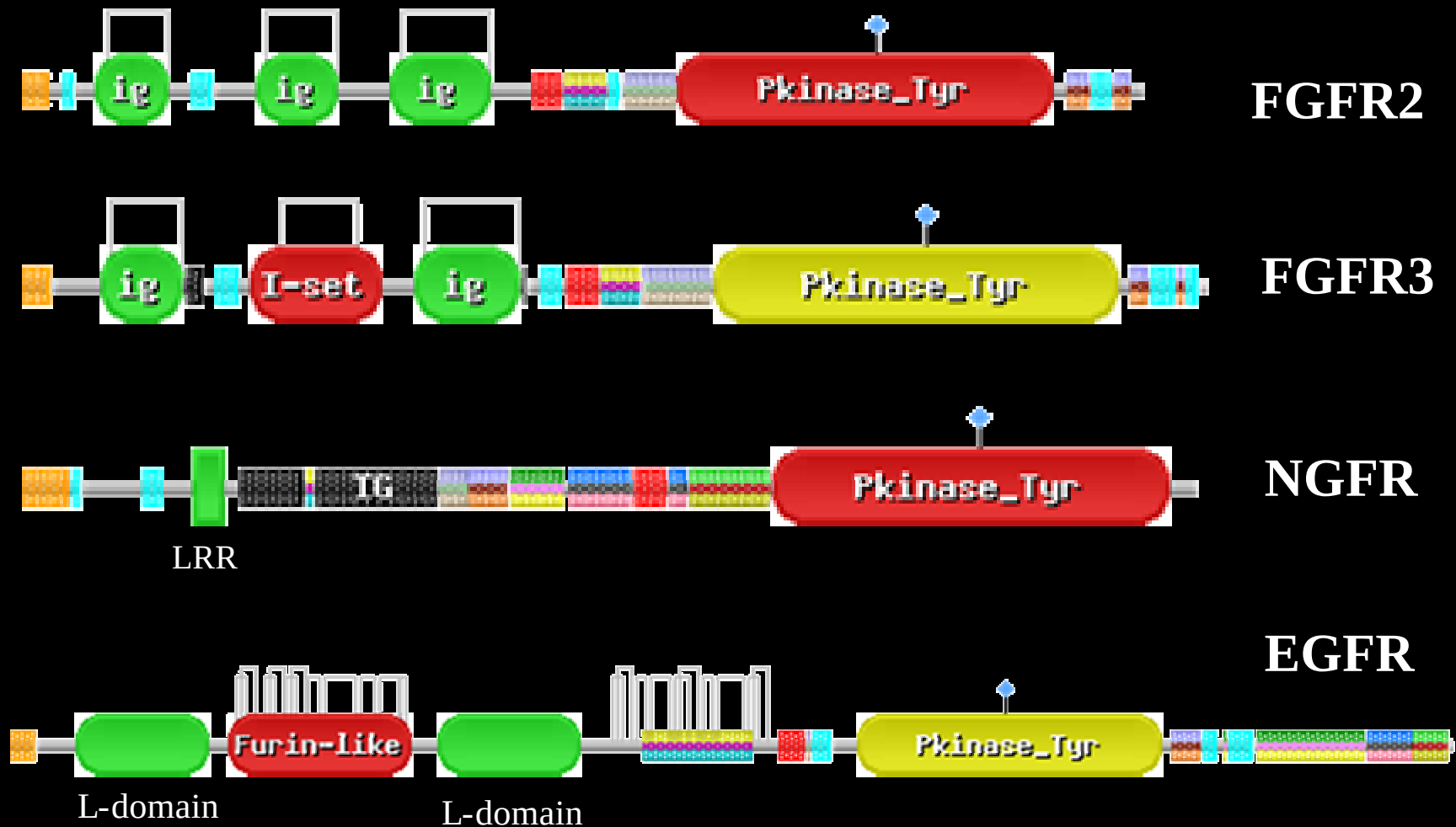
Estructura

```
1yug_      vvshfndCP-DSHTQFCF-HGTCRFLVQ-EDKPACVCHSGYVGARCEHADLLa  
1JL9A      .....CPLS-HDGYCLHDGVCMY-IEALDKYACNCVVGYIGERCQYRDL..
```

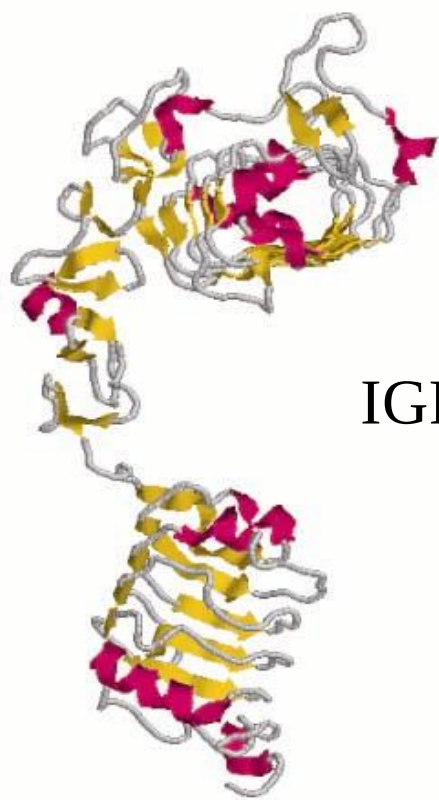
RMS: 1,8



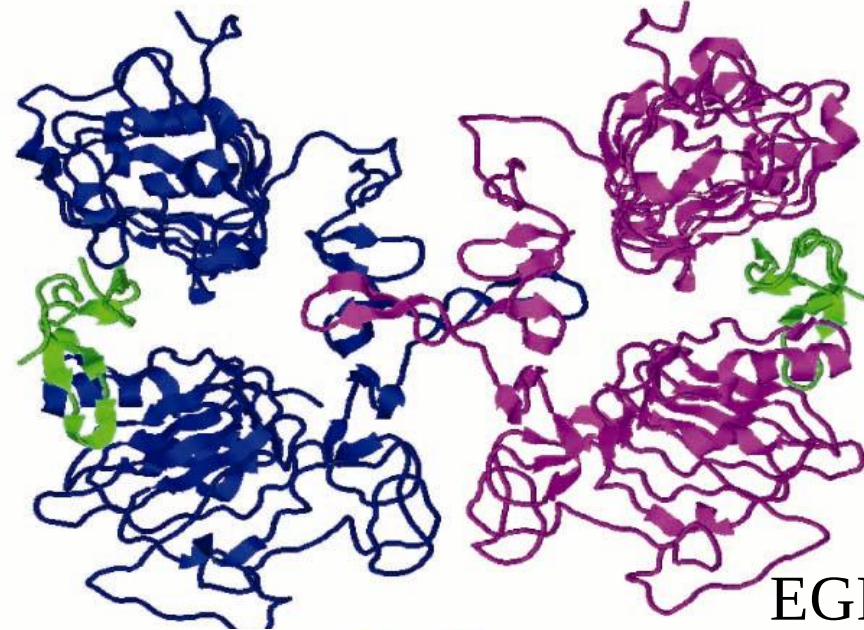
Receptors Tirosina kinasa dels factors de creixement



DOMINIS EXTRACEL·LULARS



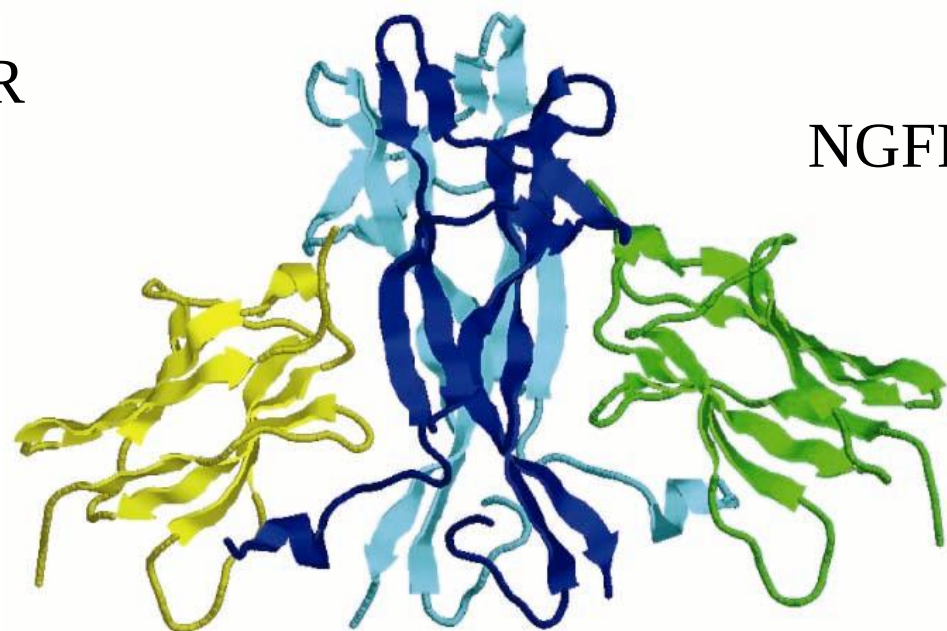
IGFR



EGFR



FGFR



NGFR



FGF2



FGF1



FGF12

FGFs



FGF19



FGF9



FGF4



FGF10

Funcions biològiques dels FGF

- Superfamília de FGF consta de 23 membres.
- Factors paracrins que actuen durant el desenvolupament de l'embrió.
- Proliferació de fibroblasts, i altres tipus cel·lulars (condròcits, miocits, cèl·lules endotelials, astròcits...)
- Mesoderm i neuroectoderm.
- També juguen un paper fonamental angiogènesis, hematopoiesis, generació de tumors.

Classificació Scop dels FGFs

Classe	Tot Beta
Plegament	Beta-trefoil
Super família	Citoquines
Família (FGF)	Factors de Creixement Fibroblàstics

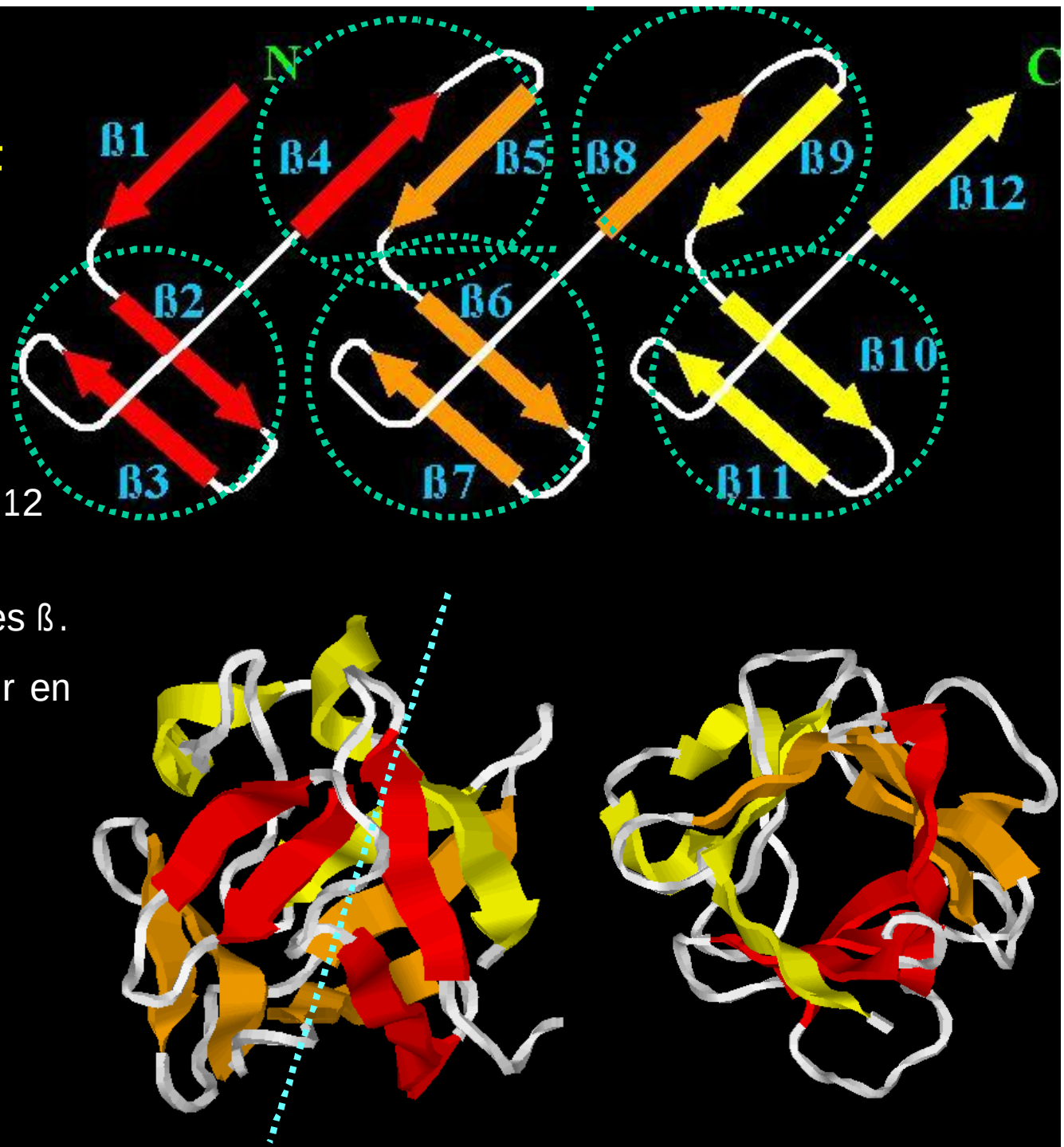
Plegament FGF

- β trefoil
- 3 fulles β formades per 12 cadenes β .
- S'agrupen en 6 forquilles β .

El plegament es pot dividir en dos:

- Superior : Barril β
- Inferior: 3 forquilles β

Estructura del core molt conservada.



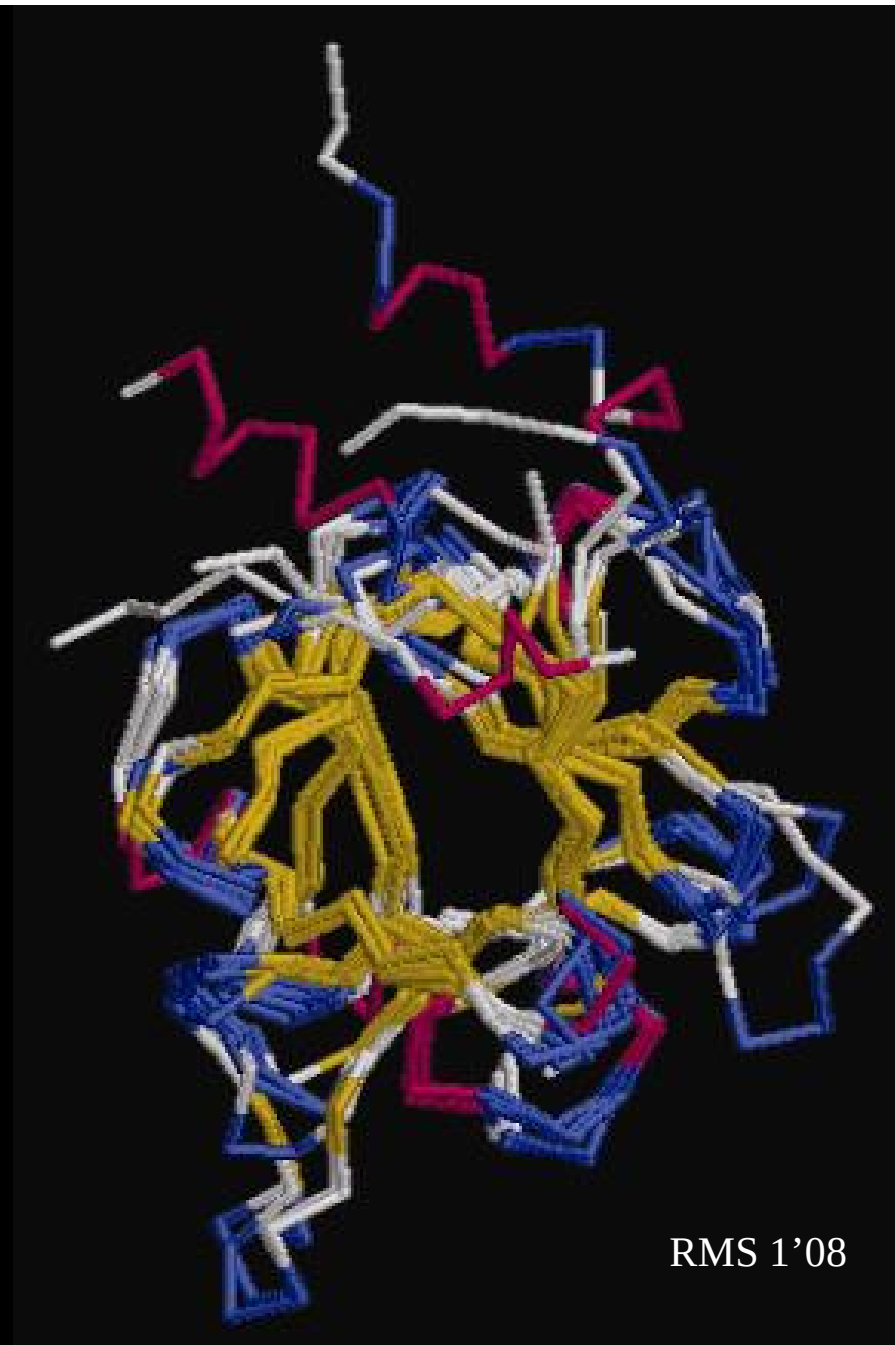
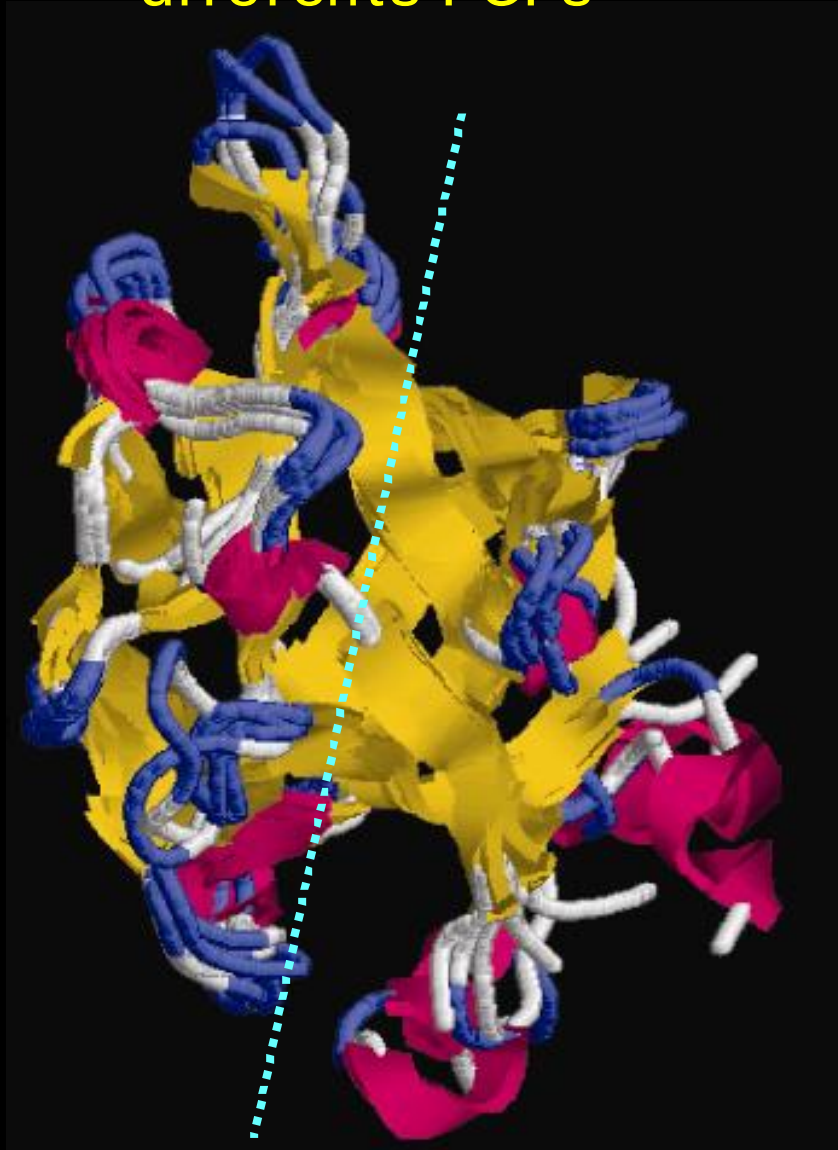
CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

FGF19	-----PIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG-QSAHSLLEIKAVLR
FGF9	---TDLHLKGILRRRQLYC-----RTGFHLEIFPNGTIQGTRKDHRSRFGILEFISIAVG
FGF12b	----PQ--LK--GIVTRLFS-----QQGYFLQMHPDGTIDGTDKENS DYTLFNLIPVGLR
FGF10	SYNHLQ--GD--VRWRKLFS-F----TKYFLKIEKNGKVSGTKKENC PYSILEITSVEIG
FGF4	-----GI--KRLRRLYC-N--VGIGFHLQALPDGRIGGAHA-DTRDSLLELSPVERG
FGF2	-----HF--KDPKRLYC-K--N-GGFFLRIHPDGRVDGVREKSDPHIKLQLQAEERG
FGF1	-----Y--KKPKLLYC-S--N-GGHELRILPDGTVDGTRDRSDQHIIQLQLSAESVG
	β1 β2 β3 β4

FGF19	TVAIKGVH SVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEETIRPDGYNVYRSE-K-----HR
FGF9	LVSIRGVDSGLYLGMNEKGELYGSEKL-TQECVFREQFEENWYNTYSSN-LYKHVDTGRR
FGF12b	VVAIQGVKASLYVAMNGEGYLYSSDVF-TPECKFKESVFENYYVIYSST-LYRQQESGRA
FGF10	VVAVKAINS NYYLAMNKKGKLYGSKEF-NNDCKLKERIEENGYNTYASFN-WQH--NGRQ
FGF4	VVSIFGVASRFFVAMSSKGKLYGSPFF-TDECTFKEILLPNYNAYESYK-Y-----PG
FGF2	VVSIKGV SANRYLAMKEDGRLLASKSV-TDECFFFERLESNNYNTYRSRKY-----T-S
FGF1	EVYIKSTETGQYLA MDTDGLLYGSQTTP-NEECLELERILEENHYNTYISKKHA-----EKN
	β5 β6 β7 β8 β9

FGF19	LPVS-----L-----S---LPLSHFLPMLPMV-----PE-EP-----
FGF9	YYVALNKDGT PREGTRTKRHQKFTHFLPRPV-DPDKVPEL-YKDILSQS
FGF12b	WFLGLNKEGQIMKGNRVKKT KPSSHFPVKPI-EV-----
FGF10	MYVALNGKGAPRRGQKTRRKNTSAHFLPMVV-H-----
FGF4	MFIALGKNGKTKKGNRVSP TMKVTHFLPRL-----
FGF2	WYVALKRTGQYKLGSKTGPGQKAILFLPMSA-----
FGF1	WFGVLKKN GSCKRGPRTHYGQKAILFLPLPV-S-----
	β10 β11 β12

Aliniament estructural del diferents FGFs



Estructura FGFR

Domini extracel·lular

Domini 1

Domini 2

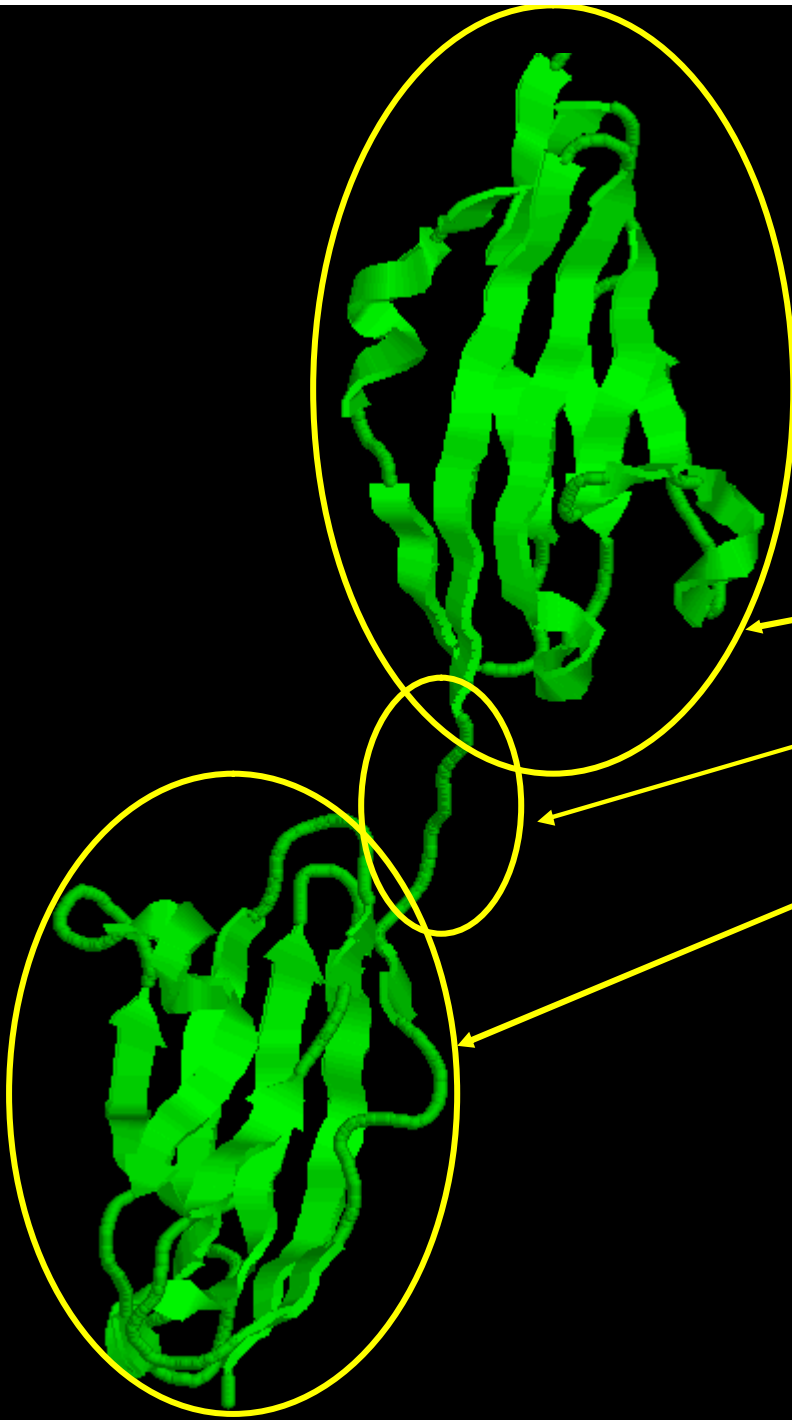
Linker D2-D3

Domini 3

Transmembrana

Domini intracel·lular

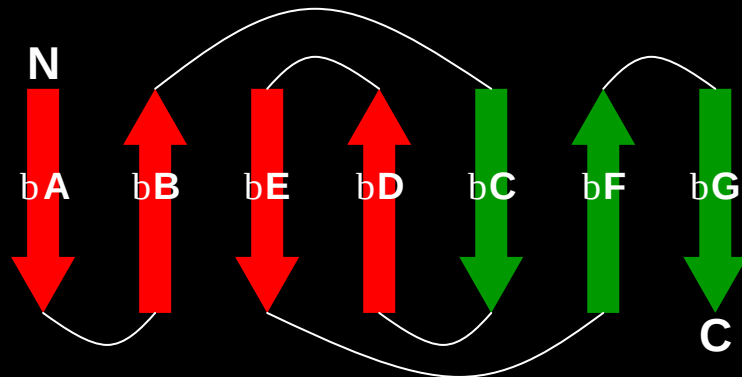
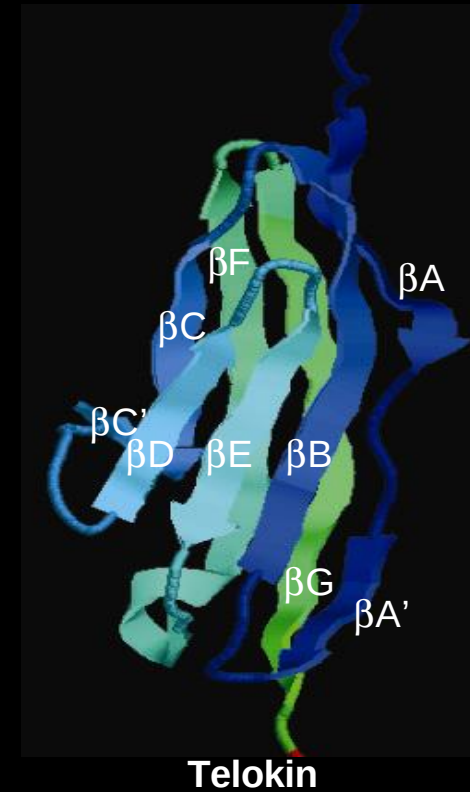
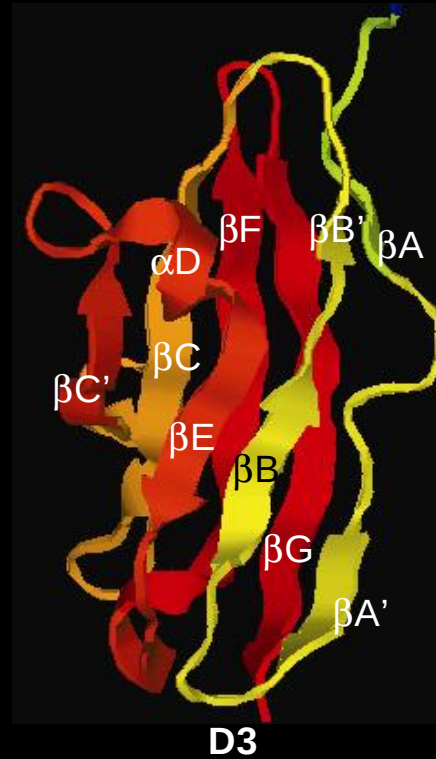
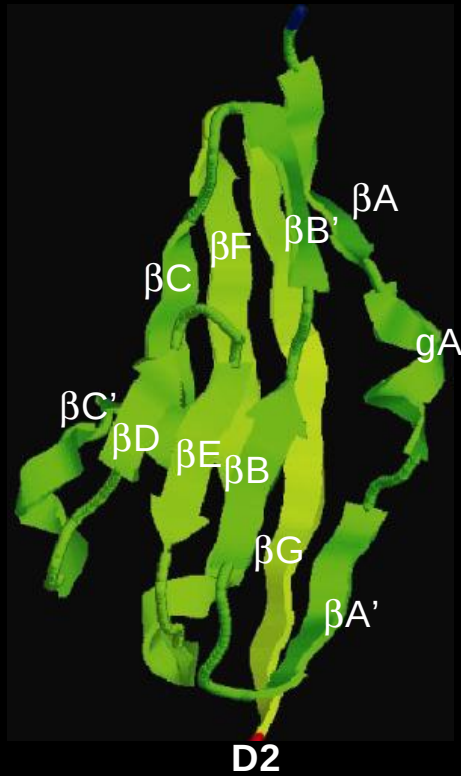
Domini tirosin
kinasa



Classificació SCOP dels dominis IG del FGFR

Classe	proteïnes tot beta
Plegament	Immunoglobulin-like beta-sandwich <i>(sandwich; 7 strands in 2 sheets; greek-key some members of the fold have additional strands)</i>
Superfamília	Immunoglobulin
Família	I-set domains

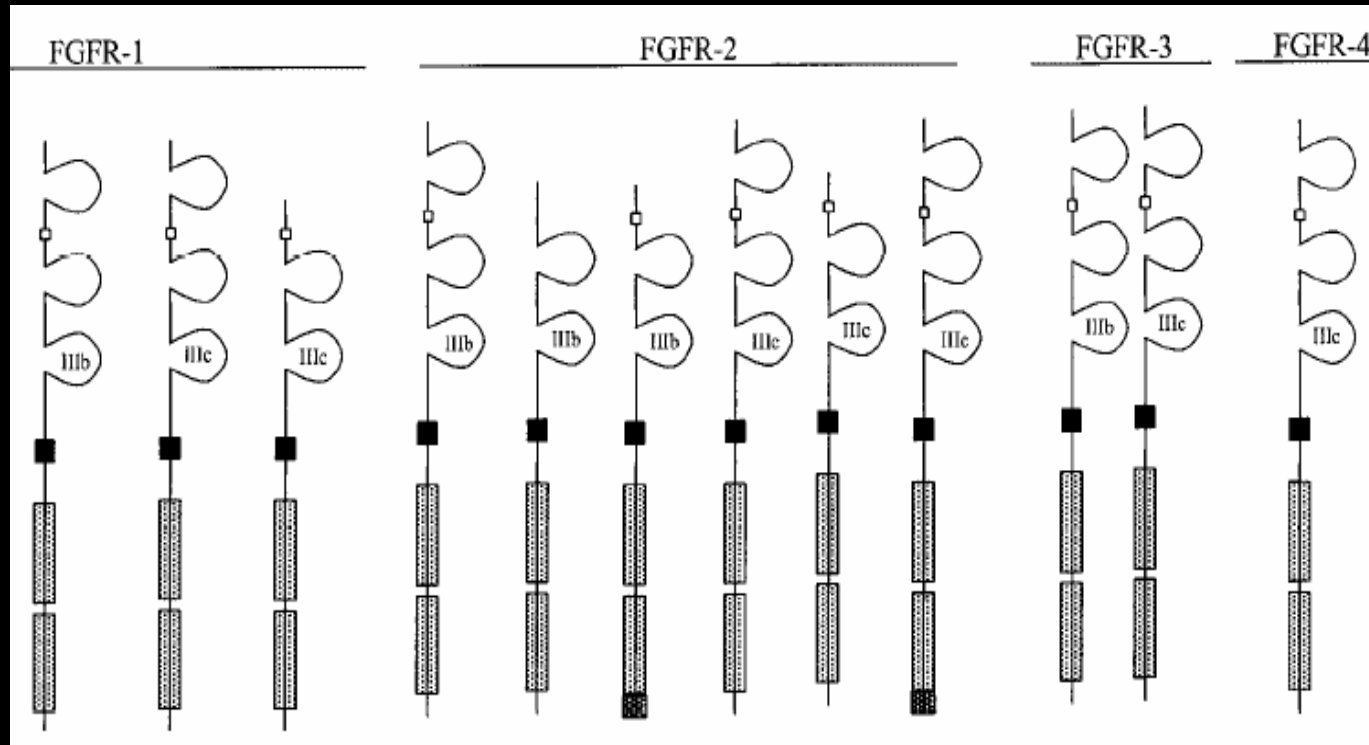
ESTRUCTURA EXTRACEL·LULAR FGFR



D1, D2 i D3 : **Dominiis Ig-like**

Altres de la superfamília de les Ig amb dominiis TK: PDGF α R, PDGF β R i IL1R

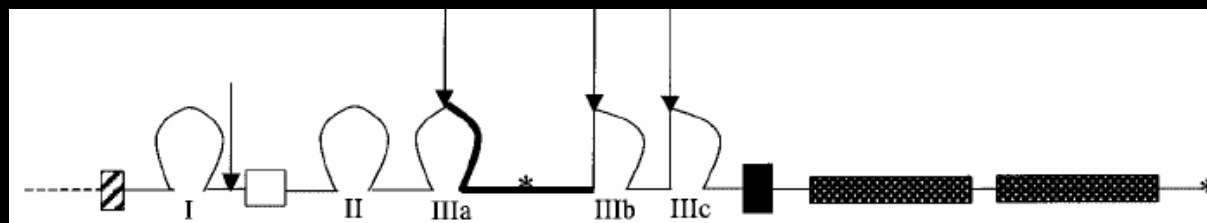
DIVERSITAT DE FGFR



Gran diversitat de factors implica una necessitat de diversitat de receptors.

Mecanismes de diversitat:

- Diferents gens
- Variants d'splicing (isoformes)



Alineament de seqüències dels FGFR

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

FGFR1  MWSWKCLLFMAVLVTATLCTARPSPTLPEQAQPGAP-----VEVESFLVHPGDLLOL
FGFR2  MVSWGRIICLVVVTMATLSLARPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYVAAPGESLEV
FGFR3  MGAPACALALCVAIVAAGASSESLGTEQRVVGRAAAEVPGP-EPGQQEQLVFGSGDAVEL
FGFR4  -----MRLLLALLGVLLSVPGPPVLSLEAEEVELEPCLAPSLEQQEQELTVAGQPVR
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

FGFR1  RCRLRDD--VQSINWLRDGVQLAESNRTRITGEEVEVQDSVPADSGLYACVTSSPSGSDT
FGFR2  RCLLKD---AAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPRDSGLYACTASRTVDSET
FGFR3  SCPPPGGGPMGPTVWVKDGTGLVPSERVLVGPQRLQVLNASHEDSGAYSCRQLTQR-VL
FGFR4  CCGRAE---RGGHWYKEGSRAPAGRVGRGRLEIASFLPEDAGRYLCLARGSMIVLC
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

FGFR1  TYFSVNVSADALPSSEDDDDDDDSSSEKETDNTKPNRMPVAPYMTSPEKMEKKLHAVPAA
FGFR2  WYFMVNVTDAISSGDDDDDDTDGAEDFVSSENSNKR-----APYWTNTEKMEKKLHAVPAA
FGFR3  CHFSVRVTDAPSSGDDDEDGED-----EAEDTGVDTG----APYWTNTEKMEKKLHAVPAA
FGFR4  NLTLLTQDLSLTSSNDDDEPKS-----HRDPSNRHSYPQQAQPYWTHPQMEKKLHAVPAG
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

FGFR1  KTVKFKCPSSGTPNPTLRWLKNGKEFKPDHRIGGYKVRYATWSIIMDSVVPDKNYTCI
FGFR2  NTVKFRCPAGGNPMPTRWLKNGKEFKQEHRRIGGYKVRNQHWLSLIMESVVPDKNYTCV
FGFR3  NTVRFRCPAAGNPTPSISWLKNGREFRGEHRIGGIKLRHQWLSLIMESVVPDKNYTCV
FGFR4  NTVKFRCPAAGNPTPTIRWLKDGQAFFHGENRIGGIRLRHQWLSLIMESVVPDKNYTCV
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

FGFR1  VENEYGSINHTYQLDVVERSPHRPILQAGLPANKTVALGNSVEFMCKVYSDPQPHIQWLK
FGFR2  VENEYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPANASTVVGDDVEFVCKVYSDAQPHIQWIK
FGFR3  VENKFGSIRQTYTLVDLERSPHRPILQAGLPANQAVLGSDVEFVCKVYSDAQPHIQWLK
FGFR4  VENAVGSIRYNYLVDLERSPHRPILQAGLPANTTAVVGSDVELLCKVYSDAQPHIQWLK
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

FGFR1  HIEVNGSKIGPDNLPYVQILKTAGVNTTDEKEVEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSH
FGFR2  HVEKNGSKYGPDPGLPYLKVLAAGVNTTDEKEIEVLYIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISF
FGFR3  HVEVNGSKVGPDPGTPYVTVLKTAGANTTDEKEVEVLHNRVTFEDAGEYTCLAGNSIGFSH
FGFR4  HIVINGSSFGADGFPYVQVLTADINSS--EVEVLYLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSY
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *
    
```

```

HSAWLTVLEALEE-RPAMVMTSPLYLEIIIIYCTGAFLTSCMVGSVIVYKMKSGTKKSDFH
HSAWLTVLPAPGR-EKEITASPDYLEIAIYICIGVFLIACMVVTILCRMKNNTTKKPDFS
HSAWLVVLPAAEELVEADEAGSVYAGILSYGVGFLLFILVVAAVTLCRLRSPPKKG--L
QSAWLTVLPEDPTWTAAAPARYTDIILYASGSLALAVLLLLAGLYRQALHGRHP-RI
          *****

QMAVHKLAKSIPLRRQVTVSADSSASMNSGVLLVRPSR--LSSSGTPMLAGVSEYELPEI
QPAVHKLTKRIPLRQVTVSAESSMNSNTPLVRITTRLSTADTPMLAGVSEYELPEI
SPTVHKISR-FPLKRQVLESN--ASMSSNTPLVRIAR--LSSGEGPTLANVSELELPAI
PATVQKLSR-FPLARQFSLESG--SSGKSSSSLVRGVR--LSSSGPALLAGLVSLDLPLI
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

PRWELPRDLVLGKPLGEGCFGQVVLAAEIGLDKDKPNRVTKVAVKMLKSDATEKDLSDI
PKWEFPRDKLTGKPLGEGCFGQVVMMAEAVGIDKDKPKEAVTVAVKMLKDDATEKDLSDI
PKWELSRARLTGKPLGEGCFGQVVMMAEAIGIDKDRAAKPVTVAVKMLKDDATDKDLSDI
PLWEFPRDLVLGKPLGEGCFGQVVRAEAFGMDPARPDQASTVAVKMLKDNASDKDLADI
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

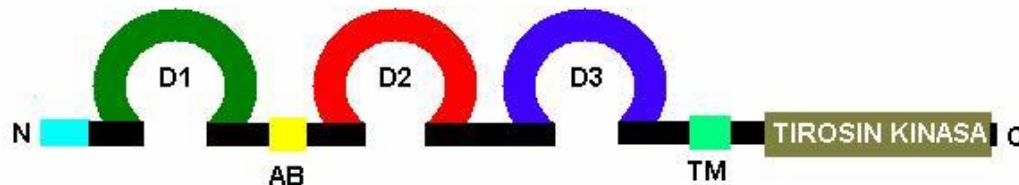
VSEMEMMKMIGKHKNIIINLLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLREYLQARRPPGLEICYNP
VSEMEMMKMIGKHKNIIINLLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLREYLARRPPGMEYSYDI
VSEMEMMKMIGKHKNIIINLLGACTQGGPLYVIVEYAAKGNLREFLRARRPPGLDYSFDI
VSEMEMMKMIGKHKNIIINLLGACTQGGPLYVIVEYAAKGNLREFLRARRPPGLDYSFDI
VSEMEMMKMIGKHKNIIINLLGACTQGGPLYVIVEYAAKGNLREFLRARRPPGLDYSFDI
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

HNPEEQQLSSKDLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARNVLTEDNVMKIADFGLARD
RVPEEQMTFKDLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARNVLTEDNVMKIADFGLARD
KPPEEQMTFKDLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARNVLTEDNVMKIADFGLARD
RSSEGPLSFPLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARNVLTEDNVMKIADFGLARD
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

HHIDYYKKTNGRLPVKWMMAPEALFDRIVYTHQSDVWSFGVLLWEIFTLGGSPYPGPVPEI
NMIDYYKKTNGRLPVKWMMAPEALFDRIVYTHQSDVWSFGVLLWEIFTLGGSPYPGPVPEI
HMLDYYKKTNGRLPVKWMMAPEALFDRIVYTHQSDVWSFGVLLWEIFTLGGSPYPGPVPEI
HHIDYYKKTNGRLPVKWMMAPEALFDRIVYTHQSDVWSFGVLLWEIFTLGGSPYPGPVPEI
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

LFKLLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCWHAVPSSQRPTFKQLVEDLDRIVALTNSQEYLI
LFKLLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCWHAVPSSQRPTFKQLVEDLDRILTLTTNEEYLI
LFKLLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCWHAVPSSQRPTFKQLVEDLDRIVALTNSQEYLI
LFKLLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCWHAVPSSQRPTFKQLVEDLDRIVALTNSQEYLI
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *

LSMPLDQYSPSPDTRSSCTSSGSDSVFSHEPLPEEPCLPRHPAQLANGGLKRR
LSQPLEQYSPSPDTRSSCTSSGSDSVFSHEPLPEEPCLPRHPAQLANGGLKRR
LSAPFEQYSPSPDTRSSCTSSGSDSVFSHEPLPEEPCLPRHPAQLANGGLKRR
LRLTFGPYSPSPDTRSSCTSSGSDSVFSHEPLPEEPCLPRHPAQLANGGLKRR
          *      *      *      *      *      *      *      *      *      *
    
```



Interaccions:

Rc-FGF:

-D2-FGF

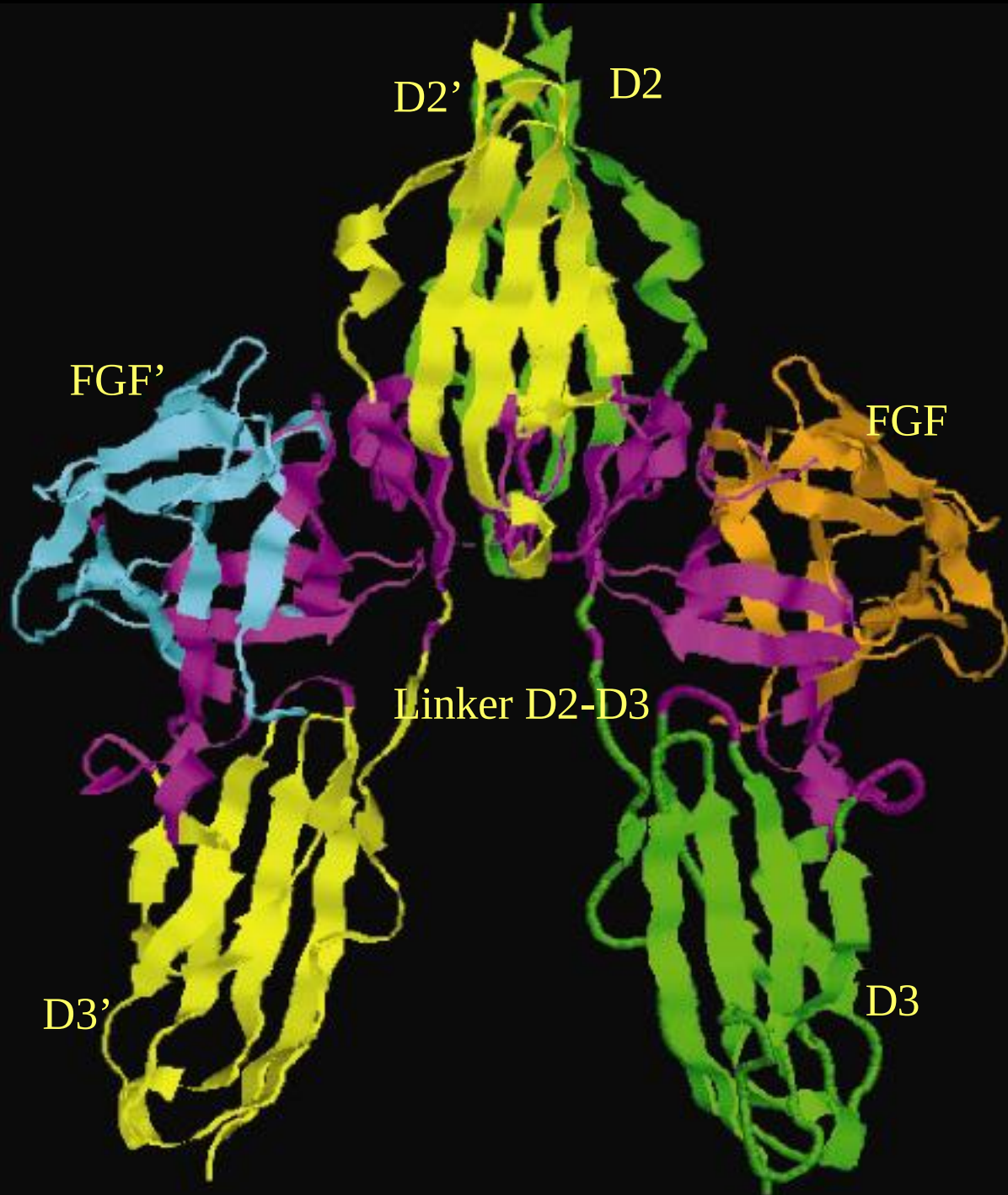
-linker D2-D3 - FGF

-D3 - FGF

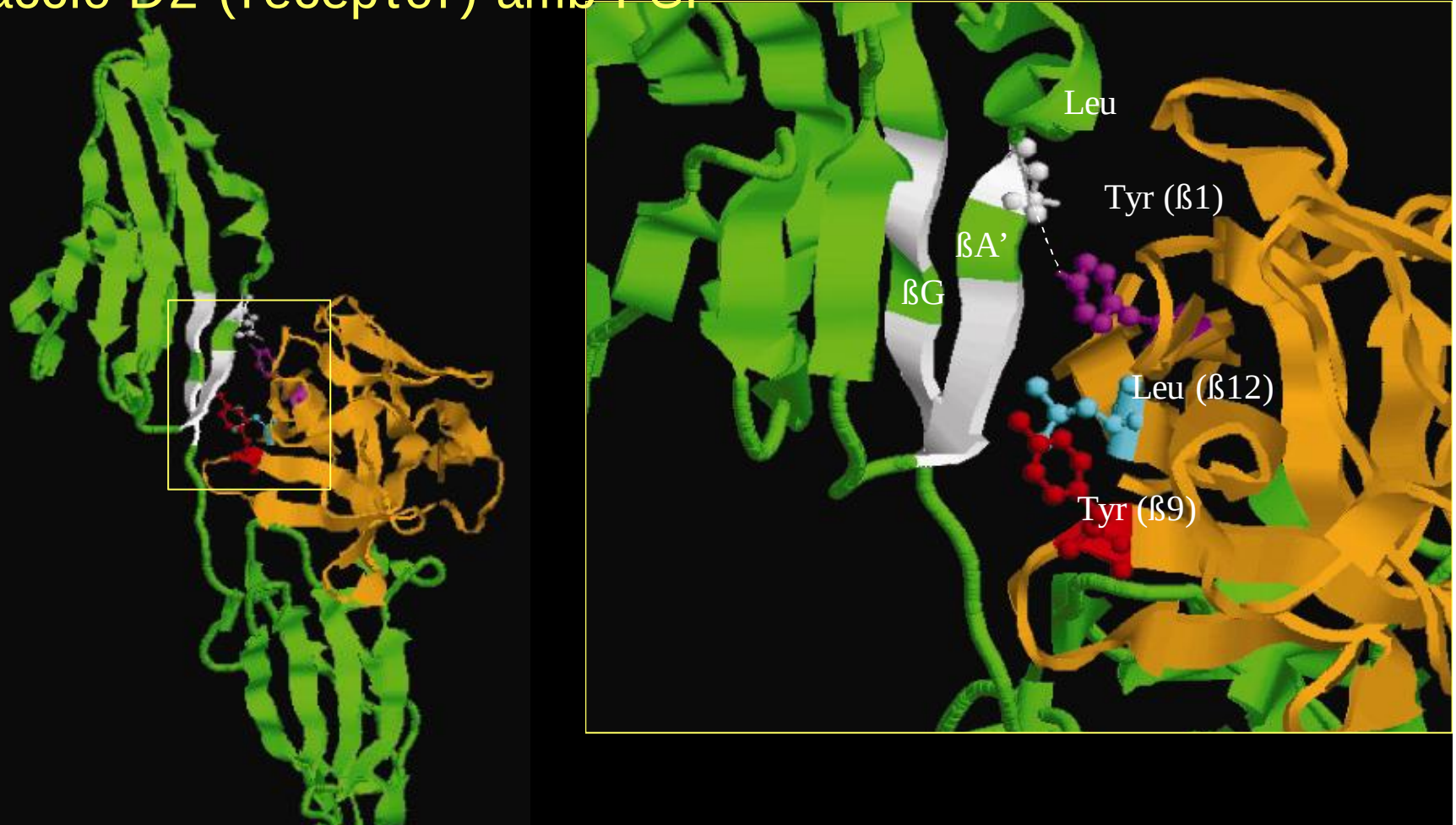
Formació dímer:

-D2- FGF'

-D2-D2'



Interacció D2 (receptor) amb FGF



- Superfície Hidrofòbica del lligand ($\beta 1$, loop $\beta 1$ - $\beta 2$, $\beta 3$ - $\beta 4$, $\beta 8$ - $\beta 9$, $\beta 9$, $\beta 12$) interacciona amb superfície hidrofòbica de D2 ($\beta A'$ i C-ter de βG).
- 3 residus conservats en FGF (Tyr $\beta 1$, Leu $\beta 12$, Tyr $\beta 9$)
- Pont d'hidrogen entre Tyr (FGF) i Leu (D2) determina la orientació.

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```
1nun      ----KRAPYWTNT-EKEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-P-PTRWLKNGKEFKQEHRIGG
1ry7      -----APYWTRPERMDKKLLAVPAANTVRFRCPAAGNPTPSISWLKNGREFRGEHRIGG
1cvs      ---MPVAPYWTSPEKMEKKLHAVPAAKTVKFKCPSSGTPQPTLRWLKNGKEFKPDHRIGG
1djs      TLEPEGAPYWTNTE-KEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-PP-TRWLKNGKEFKQEHRIGG
```

```
1nun      YKVRNQHWS-LIESVVP SDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDVVERS PHRPILQAGLPANA
1ry7      IKLRHQQWSLVMESVVP SDRGNYTCVVENKFGSIRQTYTLDV LERS PHRPILQAGLPANQ
1cvs      YKVR YATWSIIMDSVVP SDKGNYTCIVENEYGSINHTYQLDVVERS PHRPILQAGLPANK
1djs      YKVRNQHWSL-IESVVP SDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDVVERS PHRPILQAGLPANA
```

```
1nun      STVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVEKNGS-KYGPDGLPYLKVL--KHSGINS----
1ry7      TAVLGSDVEFHCKVYSDAQPHIQWLKHVE-VNGSKVGPDGTPYVTVLKTA-----GANTT
1cvs      TVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIE-VNGSKIGPDNLPYVQILK--TAGVNTTD--
1djs      STVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHV-----E-K-----PYLKVLK--AAGVNTTD--
```

```
1nun      --SNAEVLALFNVTEADAGEYICKVSNYIGQANQSAWLT VLP-----
1ry7      DKEL-EVLSLHNVT FEDAGEYTCLAGNSIGFSHHS AWLVVLP AEEE
1cvs      --KEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSHHS AWLT VLP-----
1djs      --KEIEVL YIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISFHSAWLT VLP A---
```

Conservació de la la Leucina
que forma pont d'H amb
FGF entre diferents FGFr.

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

FGF19      -----PIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG-QSAHSLLEIKAVALR
FGF9       ---TDLHLKGILRRRQLYC-----RTGFHLEIFPNGTIQGTRKDHSRFGILEFISIAVG
FGF12b     ----PQ--LK--GIVTRLFS-----QQGYFLQMHPDGTIDGTDKENS DYTLFNLIPVGLR
FGF10      SYNHLQ--GD--VRWRKLFS-F----TKYFLKIEKNGKVS GTKKENC PYSILEITSVEIG
FGF4       -----GI--KRLRRLYC-N--VGIGFHLQALPDGRIGGAHA-DTRDSLLELSPVERG
FGF2       -----HF--KDPKRLYC-K--N-GGFFLRIHPDGRVDGVREKSDPHIKLQLQAEERG
FGF1       -----Y--KKPKLLYC-S--N-GGHFLRILPDGTVDGTRDRSDQHIQLQLSAESVG
  
```

```

FGF19      TVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEEIRPDGYNVYRSE-K-----HR
FGF9       LVSIRGVDSGLYLGMNEKGELYGSEKL-TQECVFREQFEENWYNTYSSN-LYKHVDTGRR
FGF12b     VVAIQGVKASLYVAMNGEGYLYSSDVF-TPECKFKESVFENYYVYIYSST-LYRQQESGRA
FGF10      VVAVKAINS NYYLAMNKKGKLYGSKEF-NNDCKLKERIEENGYNTYASFN-WQH--NGRQ
FGF4       VVSIFGVASRFFVAMSSKGKLYGSPFF-TDECTFKEILLPNNYNAYESYK-Y-----PG
FGF2       VVSIKGVSANRYLAMKEDGRLLASKSV-TDECFFFERLESNNYNTYRSRKY-----T-S
FGF1       EVYIKSTETGQYLAMDTDGLLYGSQTP-NEECLFLERLEENHYNTYISKKHA-----EKN
  
```

```

FGF19      LPVS-----L-----S---LPLSHFLPMLPMV-----PE-EP-----
FGF9       YYVALNKDGTREGTRTRKRHQKFTHFLPRPV-DPDKVPEL-YKDILSQS
FGF12b     WFLGLNKEGQIMKGNRVKKT KPSSHFPKPI-EV-----
FGF10      MYVALNGKGAPRRGQKTRRKNTSAHFLPMVV-H-----
FGF4       MFIALGKNGKTKKGNRVSP TMKVTHFLPRL-----
FGF2       WYVALKRTGQYKLGSKTGPGQKAILFLPMSA-----
FGF1       WFVGLKKNGSCKRGPRTHYGQKAILFLPLPV-S-----
  
```

Residus conservats
en FGF per
interaccionar amb
D2.

Tyrosina conservada
entre diferents
FGFs.

Phe

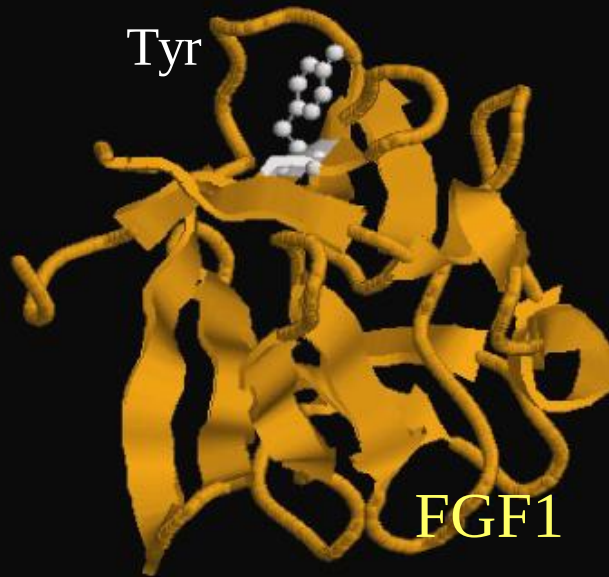
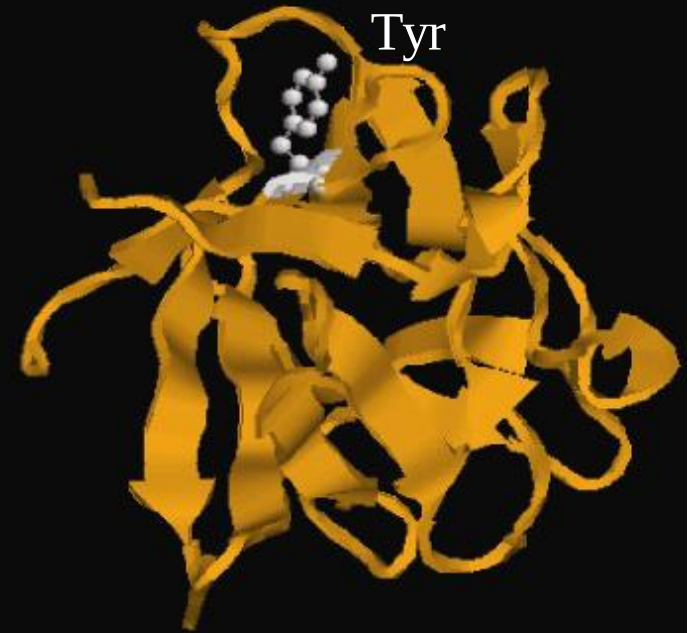
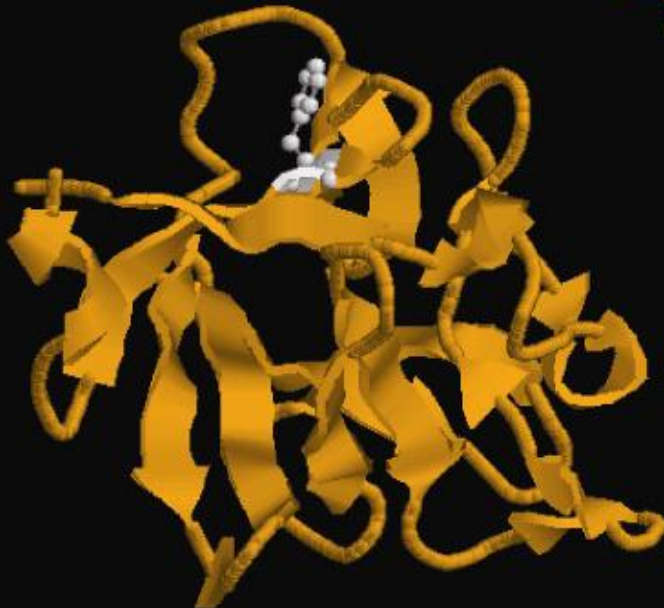
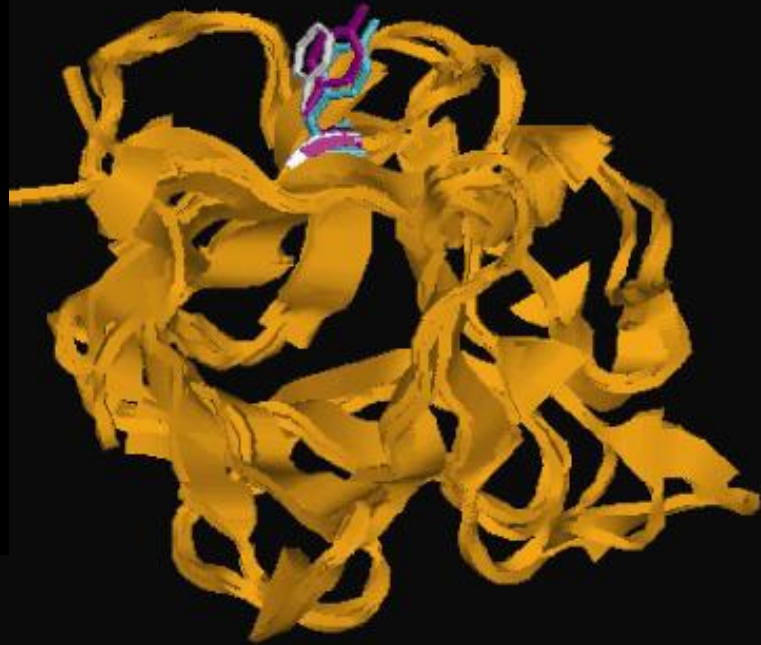
Tyr

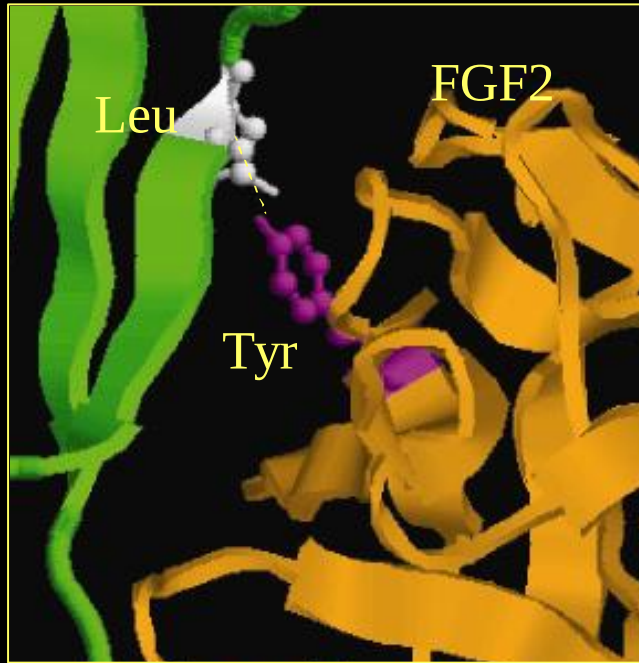
Tyr

FGF10

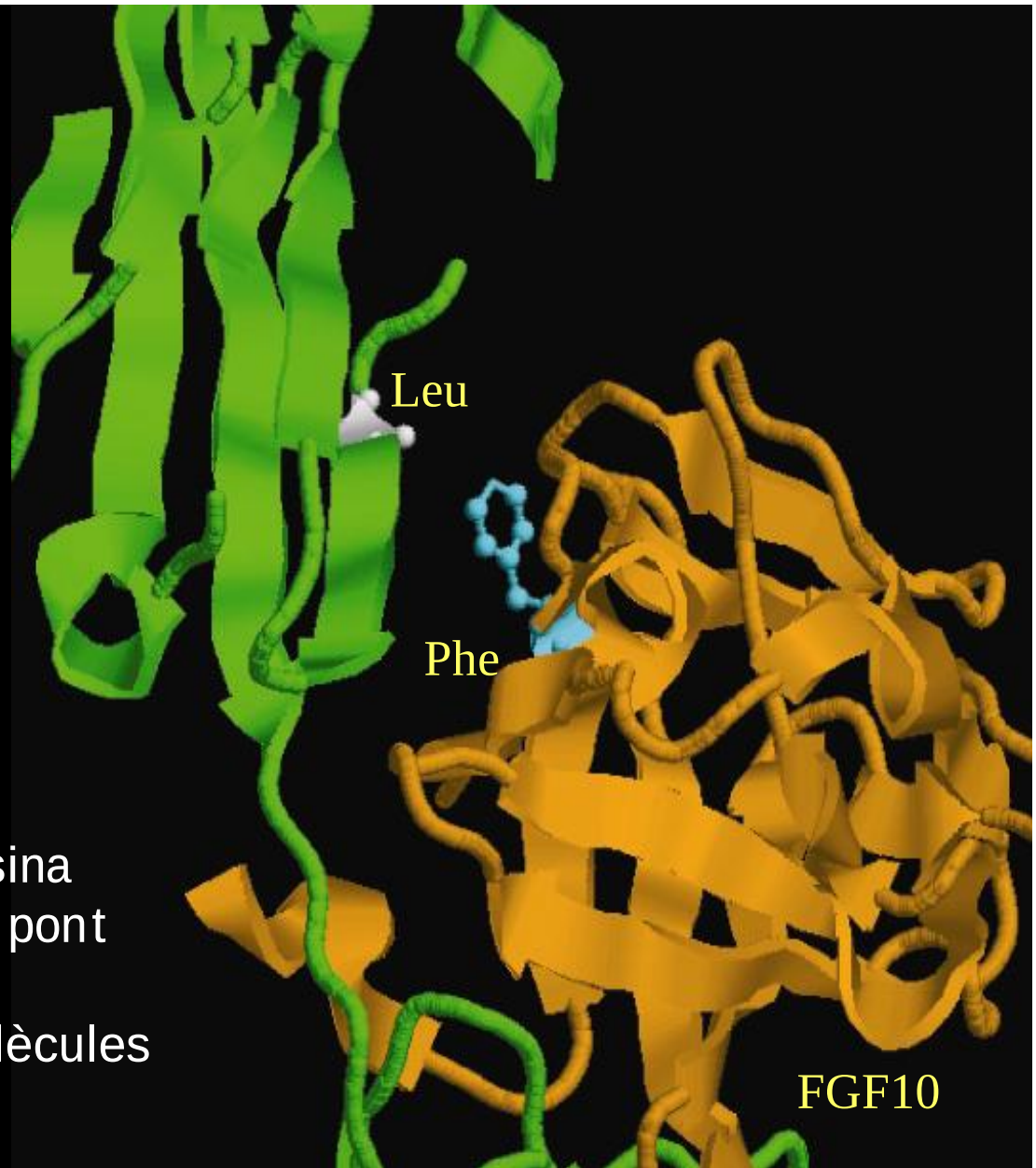
FGF1

FGF2

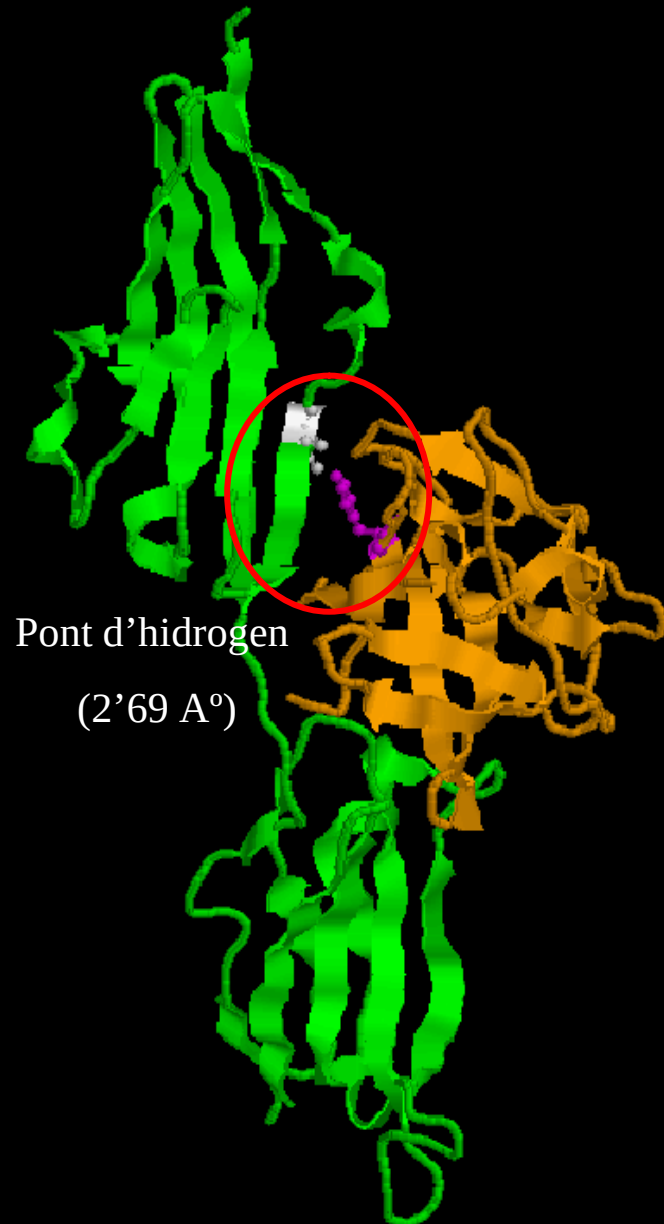




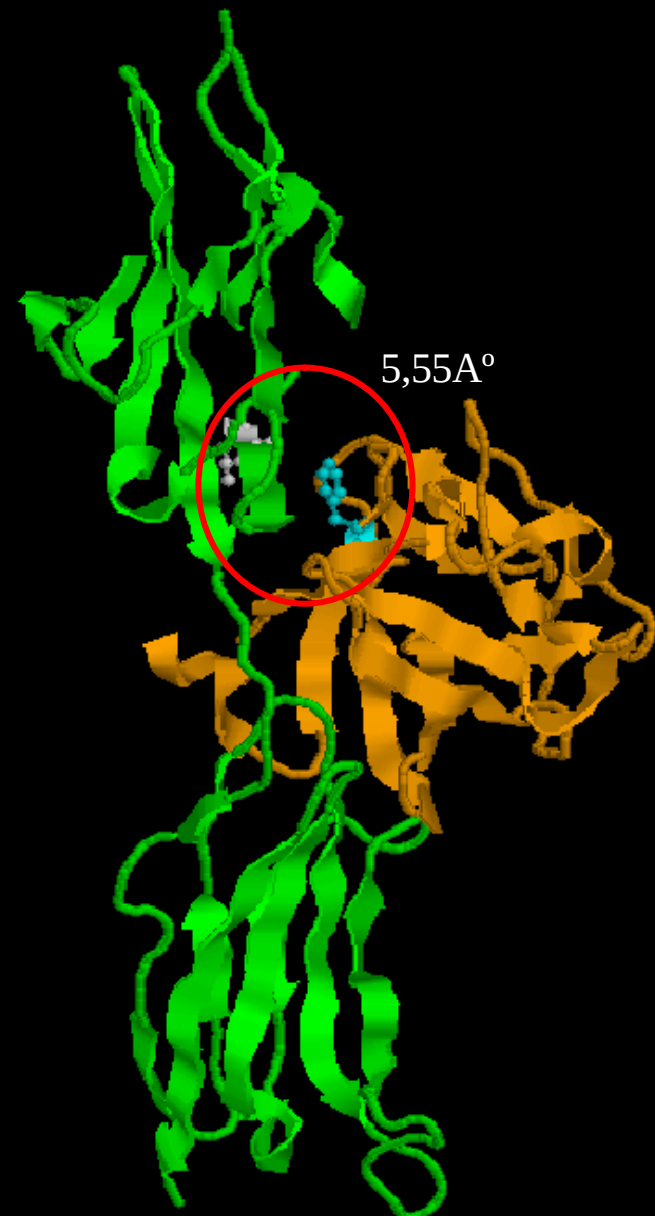
FGF10 substitució de la tirosina per fenilalanina, no es forma pont d'hidrogen. Orientació de la interacció entre les dues molècules diferent.



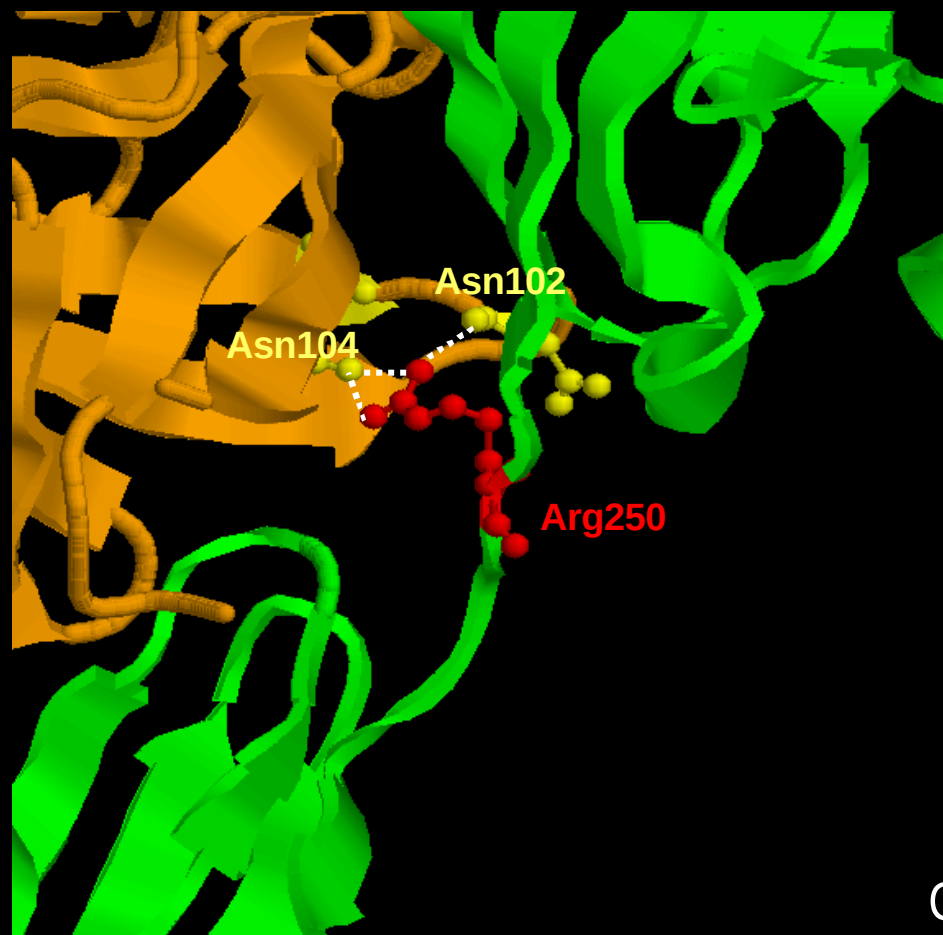
FGF2 - FGFR1



FGF10 - FGFR2



Interfase LINKER D2-D3



CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

1nun  ----KRAPYWTNT-EKEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-P-PTRWLKNKGEFKQEHRIGG
1ry7  -----APYWTRPERMDKKLLAVPAANTVRFRCPAAGNPTPSISWLKNGREFRGEHRIGG
1cvs  ---MPVAPYWTSPKEKMKLLHAVPAAKTVKFKCPSSGTPQPTLRWLKNGKEFKPDHRIGG
1djs  TLEPEGAPYWTNTE-KEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-PP-TRWLKNGKEFKQEHRIGG
    
```

```

1nun  YKVRNQHWS-LIESVVPSPDKGNYTCVENEYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPANA
1ry7  IKLRHQQWSLVMESVVPSPDRGNYTCVVENKFGSIRQTYTLDVLERSPHRPILQAGLPANQ
1cvs  YKVRATWSIIMDSVVPSPDKGNYTCIVENEYGSINHTYQLDVVERSPHRPILQAGLPANK
1djs  YKVRNQHWSL-IESVVPSPDKGNYTCVENEYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPANA
    
```

```

1nun  STVVGDDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVEKNGS-KYGPDGLPYLKVLP--KHSGINS----
1ry7  TAVLGSDVEFHCKVYSDAQPHIQWLKHVE-VNGSKVGPDPGTPYVTVLKTA-----GANTT
1cvs  TVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIE-VNGSKIGPDNLPYVQILK--TAGVNTTD--
1djs  STVVGDDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHV-----E-K-----PYLKVLP--AAGVNTTD--
    
```

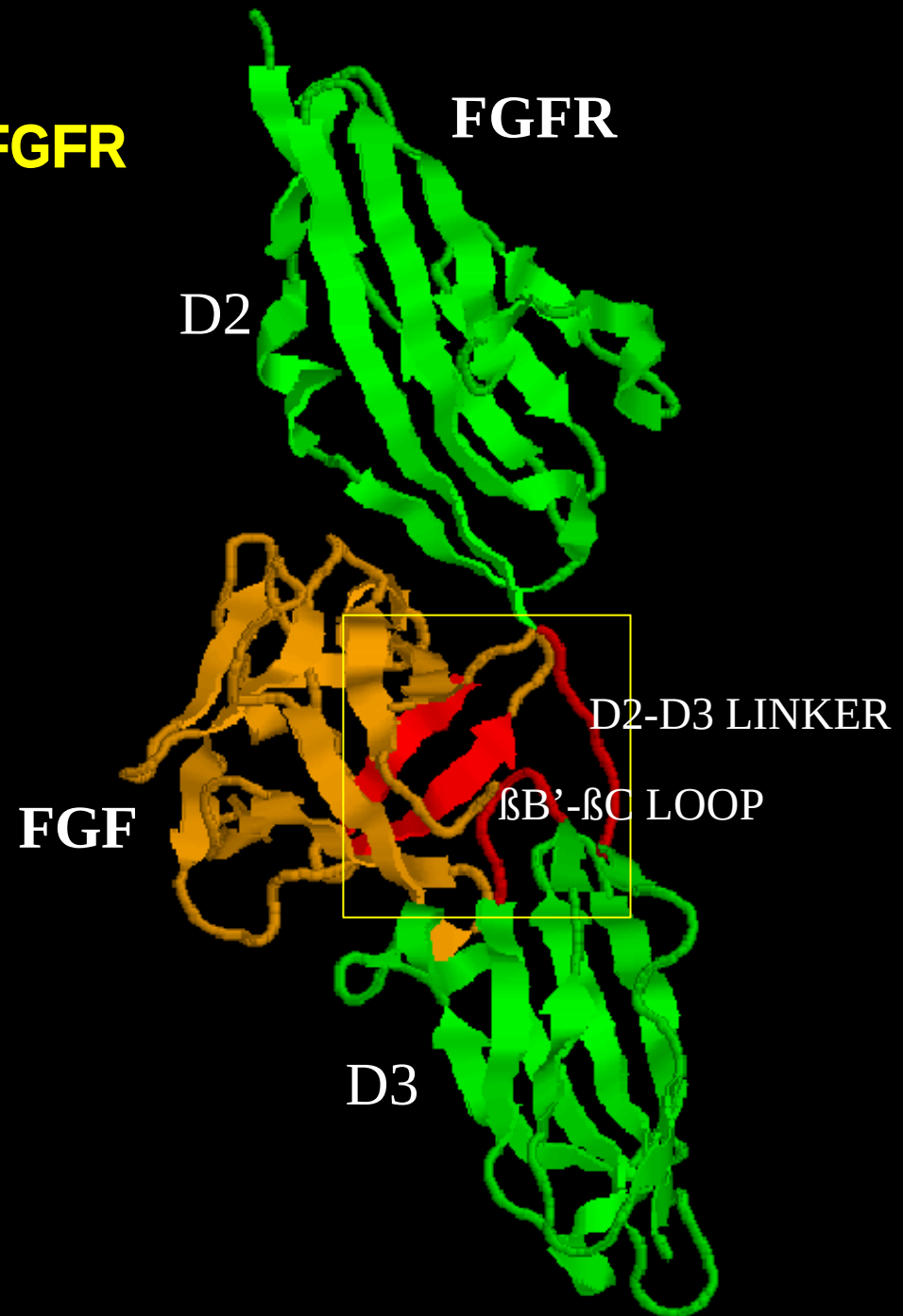
```

1nun  --SNAEVLALFNVTEADAGEYICKVSNYIGQANQSAWLTVLP----
1ry7  DKEL-EVLSLHNVTEDAGEYTCLAGNSIGFSHHSAWLVVLPAAEE
1cvs  --KEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSHHSAWLTVL-----
1djs  --KEIEVLYIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISFHSAWLTVLPA--
    
```

Conservació de l'arginina del linker D2-D3 entre els diferents FGFr.

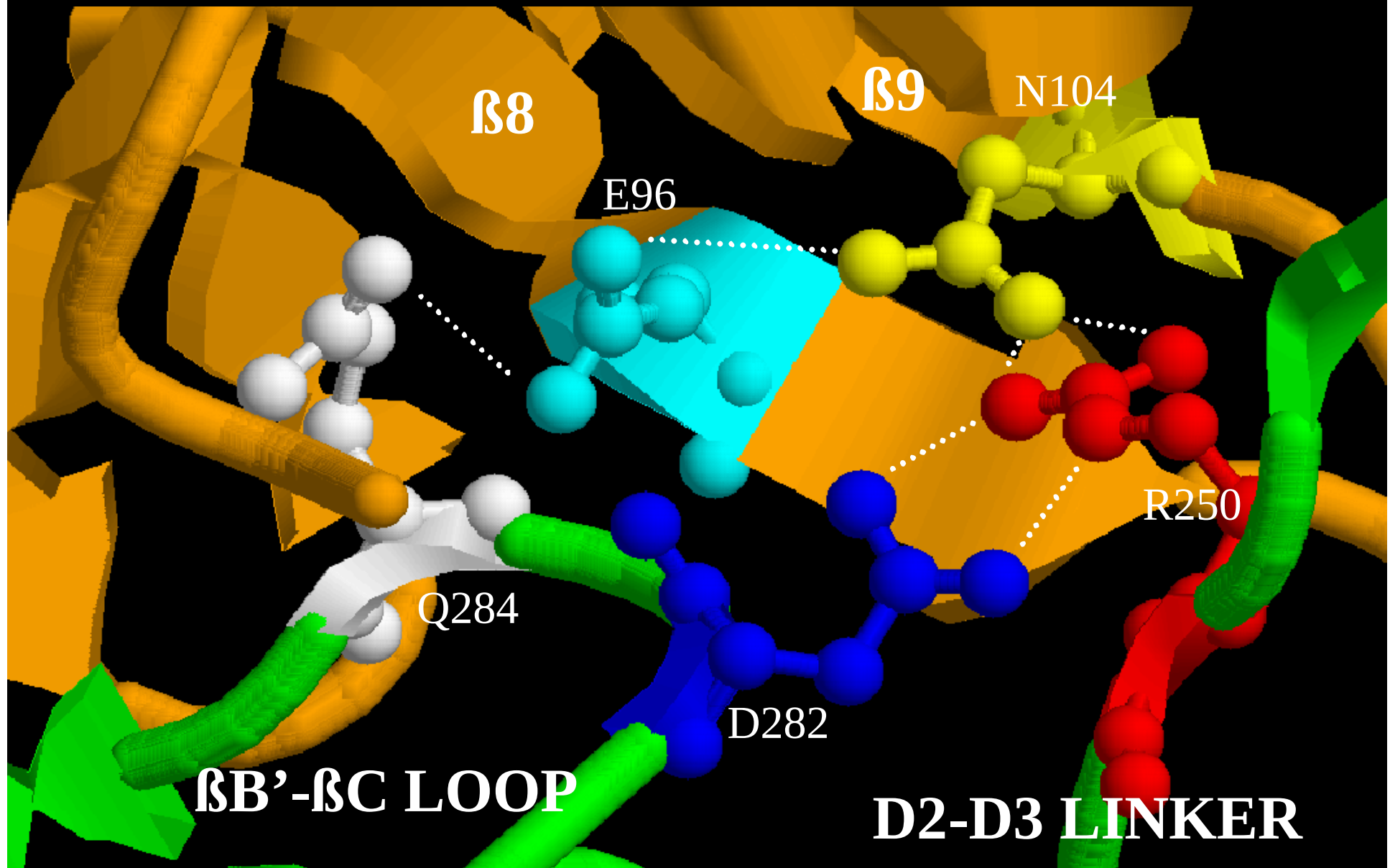
INTERACCIÓ FGF-FGFR D3

- $\beta B' - \beta C$ LOOP
- D2 - D3 LINKER



INTERACCIÓ FGF-D3

β B'- β C LOOP i D2-D3 LINKER



CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

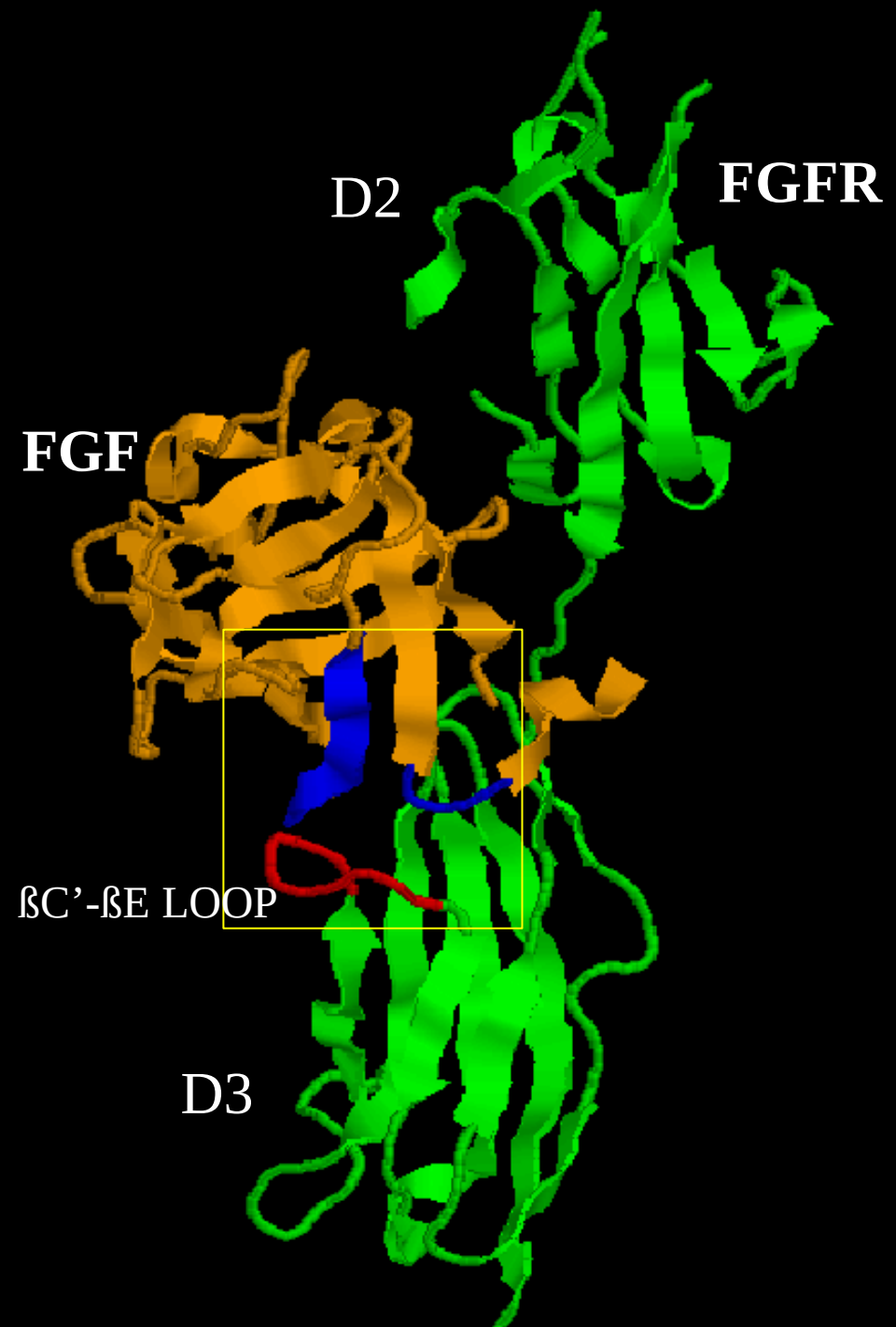
```
FGF19      - - - - -PIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG-QSAHSLLEIKAVALR
FGF9       - - -TDL DHLKGILRRRQLYC- - - - -RTGFHLEIFPNGTIQGTRKDH SRFGILEFISIAVG
FGF12b     - - - -PQ- -LK- -GIVTRLFS- - - - -QQGYFLQMHPDGTIDGTKDENS DYTLFNLIPVGLR
FGF10      SYNHLQ- -GD- -VRWRKLFS-F- - - -TKYFLKIEKNGKVSGTKKENCPYSILEITSVEIG
FGF4       - - - - -GI- -KRLRRLYC-N- -VGIGFHLQALPDGRIGGAHA-DTRDSLLELSPVERG
FGF2       - - - - -HF- -KDPKRLYC-K- -N- GGFFLRIHPDGRVDGVREKSDPHIKLQLQAEERG
FGF1       - - - - -Y- -KKPKLLYC-S- -N- GGHFLRILPDGTVDGTRDRSDQHIQLQLSAESVG
```

```
FGF19      TVAIKGVH SVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EIRPDGYNVYRSE-K- - - - -HR
FGF9       LVSIRGVDSGLYLGMNEKGELYGSEKL-TQECVFREQFEENWYNTYSSN-LYKHVDTGRR
FGF12b     VVAIQGVKASLYVAMNGEGYLYSSDVF-TPECKFKESVFENYYV IYSST-LYRQQESGRA
FGF10      VVAVKAINS NYYLAMNKKGKLYGSKEF-NNDCKLKERIEENGYNTYASFN-WQH- -NGRQ
FGF4       VVSIFGVASRFFVAMSSKGKLYGSPFF-TDECTFKEILLPNNYNAYESYK-Y- - - - -PG
FGF2       VVSIKGV SANRYLAMKEDGRL LASKSV-TDECFFFERLESNNYNTYRSRKY- - - - -T-S
FGF1       EVYIKSTETGQYLAMDTDGLLYGSQTP-NEECLFLERLEENHYNTYISKKHA- - - - -EKN
```

```
FGF19      LPVS- - - - -L- - - - -S- - -LPLSHFLPMLPMV- - - - -PE-EP- - - - -
FGF9       YYVALNKDGT PREGTRTKRHQKFTHFLPRPV-DPDKVPEL-YKDILSQS
FGF12b     WFLGLNKEGQIMKGNRVKKT KPSSHFPKPI-EV- - - - -
FGF10      MYVALNGKGAPRRGQKTRRKNTSAHFLPMVV-H- - - - -
FGF4       MFIALGKNGKTKKGNRVSPTMKVTHFLPRL- - - - -
FGF2       WYVALKRTGQYKLGSKTGPGQKAILFLPMSA- - - - -
FGF1       WFGVGLKKN GSCKRGPRTHYGQKAILFLPLPV-S- - - - -
```

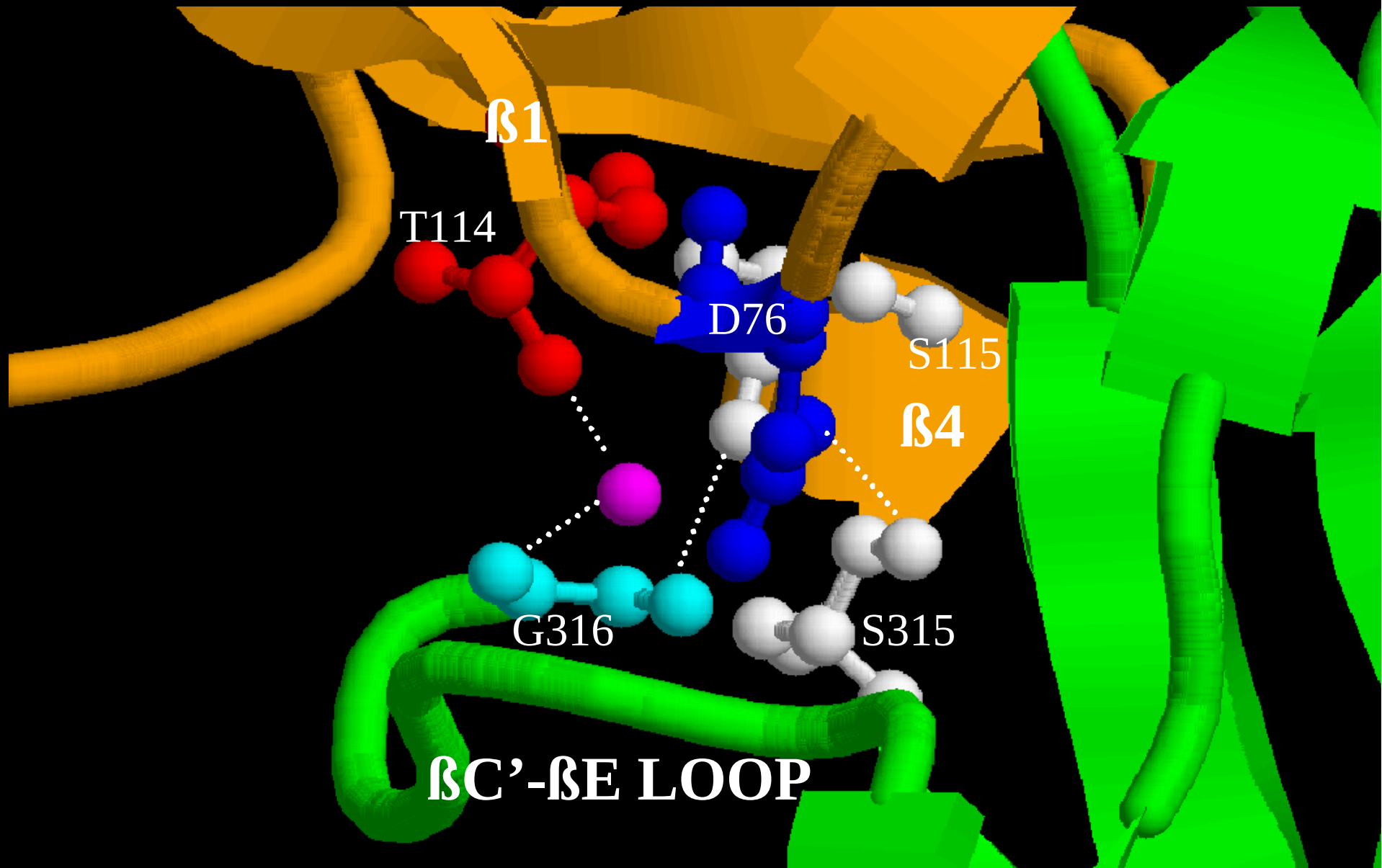
INTERACCIÓ FGF-D3

β C'- β E LOOP



INTERACCIÓ FGF-D3

β C'- β E LOOP



CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```
1nun      ---KRAPYWTNT-EKEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-P-PTRWLKNGKEFKQEHRIIGG
1ry7      -----APYWTRPERMDKKLLAVPAANTVRFRCPAAGNPTPSISWLKNGREFRGEHRIGG
1cvs      ---MPVAPYWTSPEKMEKKLHAVPAAKTVKFKCPSSGTPQPTLRWLKNGKEFKPDHRIGG
1djs      TLEPEGAPYWTNTE-KEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGN-PP-TRWLKNGKEFKQEHRIIGG
```

```
1nun      YKVRNQHWS-LIESVVP SDKGNYTCVVEN EYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPANA
1ry7      IKLRHQQWSLVMESVVP SDRGNYTCVVEN KFGSIRQTYTLDVLESPHRPILQAGLPANQ
1cvs      YKVRATWSIIMDSVVP SDKGNYTCIVEN EYGSINHTYQLDVVERSPHRPILQAGLPANK
1djs      YKVRNQHWSL-IESVVP SDKGNYTCVVEN EYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPANA
```

```
1nun      STVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVEKNGS-KYGPDGLPYLKVL--KHS GINS----
1ry7      TAVLGSDVEFHCKVYSDAQPHIQWLKHVE-VNGSKVGPDGPYVTVLKTA----GANTT
1cvs      TVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIE-VNGSKIGPDNLPYVQILK--TAGVNTTD--
1djs      STVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHV-----E-K-----PYLKVLK--AAGVNTTD--
```

```
1nun      --SNAEVLALFNVTEADAGEYICKVSNYIGQANQSAWLTVLP-----
1ry7      DKEL-EVLSLHNVT FEDAGEYTCLAGNSIGFSHHS AWLVVLP AEEE
1cvs      --KEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSHHS AWLTVL-----
1djs      --KEIEVL YIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISFHSAWLTVLP A---
```

Conservació de l'aspàrtic i la glutamina
que uneixen FGF entre els diferents FGFR.

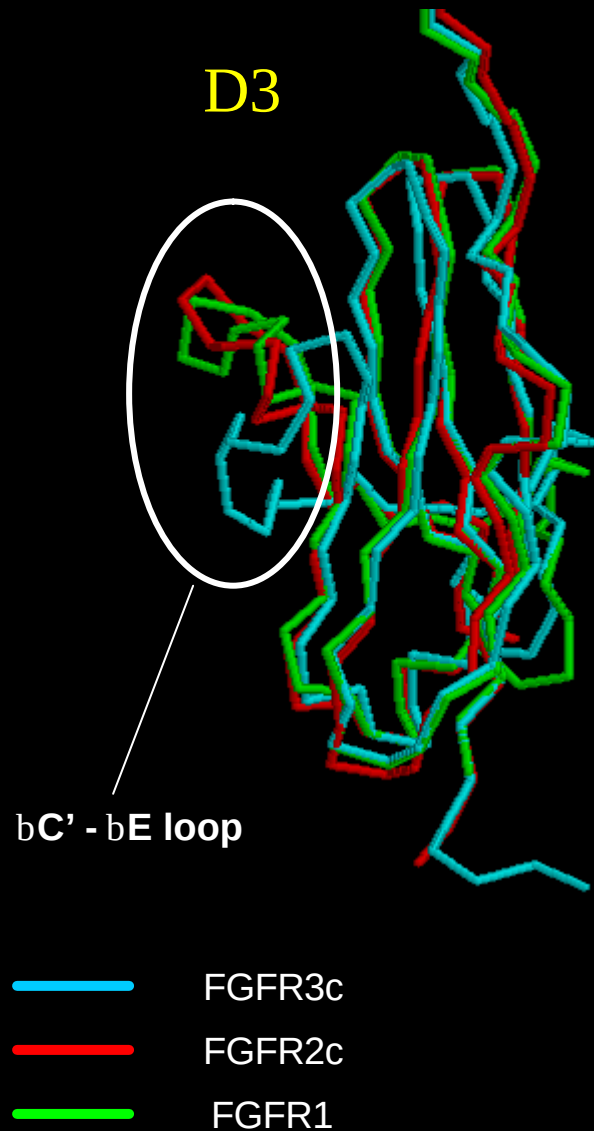
CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```
FGF19      - - - - - - - - - PIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARG-QSAHSLLEIKAVLR
FGF9       - - -TDL D H L K G I L R R R Q L Y C - - - - -RTGFHLEIFPNGTIQGTRKDH S R F G I L E F I S I A V G
FGF12b     - - - - -PQ - - L K - - G I V T R L F S - - - - -Q Q G Y F L Q M H P D G T I D G T K D E N S D Y T L F N L I P V G L R
FGF10      S Y N H L Q - - G D - - V R W R K L F S - F - - - -T K Y F L K I E K N G K V S G T K K E N C P Y S I L E I T S V E I G
FGF4       - - - - - - - G I - - K R L R R L Y C - N - - V G I G F H L Q A L P D G R I G G A H A - D T R D S L L E L S P V E R G
FGF2       - - - - - - - H F - - K D P K R L Y C - K - - N - G G F F L R I H P D G R V D G V R E K S D P H I K L Q L Q A E E R G
FGF1       - - - - - - - Y - - K K P K L L Y C - S - - N - G G H F L R I L P D G T V D G T R D R S D Q H I Q L Q L S A E S V G
```

```
FGF19      T V A I K G V H S V R Y L C M G A D G K M Q G L L Q Y S E E D C A F E E E I R P D G Y N V Y R S E - K - - - - - - - H R
FGF9       L V S I R G V D S G L Y L G M N E K G E L Y G S E K L - T Q E C V F R E Q F E E N W Y N T Y S S N - L Y K H V D T G R R
FGF12b     V V A I Q G V K A S L Y V A M N G E G Y L Y S S D V F - T P E C K F K E S V F E N Y Y V I Y S S T - L Y R Q Q E S G R A
FGF10      V V A V K A I N S N Y Y L A M N K K G K L Y G S K E F - N N D C K L K E R I E E N G Y N T Y A S F N - W Q H - - N G R Q
FGF4       V V S I F G V A S R F F V A M S S K G K L Y G S P F F - T D E C T F K E I L L P N N Y N A Y E S Y K - Y - - - - - - - P G
FGF2       V V S I K G V S A N R Y L A M K E D G R L L A S K S V - T D E C F F F E R L E S N N Y N T Y R S R K Y - - - - - - - T - S
FGF1       E V Y I K S T E T G Q Y L A M D T D G L L Y G S Q T P - N E E C L F L E R L E E N H Y N T Y I S K K H A - - - - - - - E K N
```

```
FGF19      L P V S - - - - - L - - - - - S - - - L P L S H F L P M L P M V - - - - - - - P E - E P - - - - -
FGF9       Y Y V A L N K D G T P R E G T R T K R H Q K F T H F L P R P V - D P D K V P E L - Y K D I L S Q S
FGF12b     W F L G L N K E G Q I M K G N R V K K T K P S S H F V P K P I - E V - - - - - - - - - - - - -
FGF10      M Y V A L N G K G A P R R G Q K T R R K N T S A H F L P M V V - H - - - - - - - - - - - - -
FGF4       M F I A L G K N G K T K K G N R V S P T M K V T H F L P R L - - - - - - - - - - - - -
FGF2       W Y V A L K R T G Q Y K L G S K T G P G Q K A I L F L P M S A - - - - - - - - - - - - -
FGF1       W F V G L K K N G S C K R G P R T H Y G Q K A I L F L P L P V - S - - - - - - - - - - - - -
```

bC' - bE loop



S'observa que la conformació del bC' - bE loop de D3 difereix bastant entre els tres receptors.

Està dictada pels contactes específics entre cada FGF i D3 del FGFR.

Aquest loop és molt flexible i juga un paper decisiu en l'unió de lligand donant especificitat.

A més a més, aquesta flexibilitat dificulta el modelatge.

D2



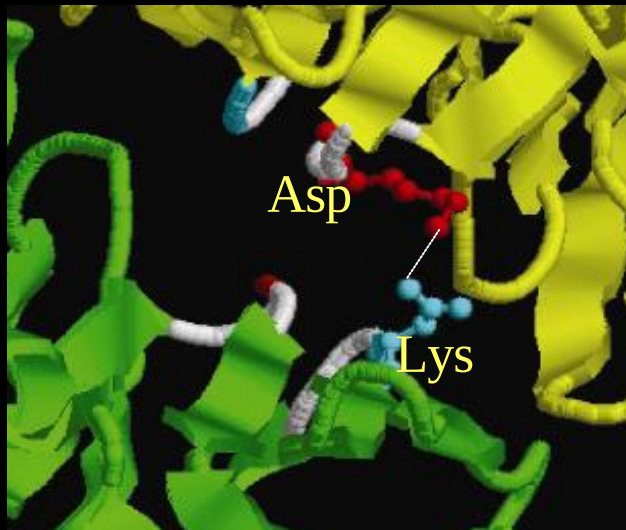
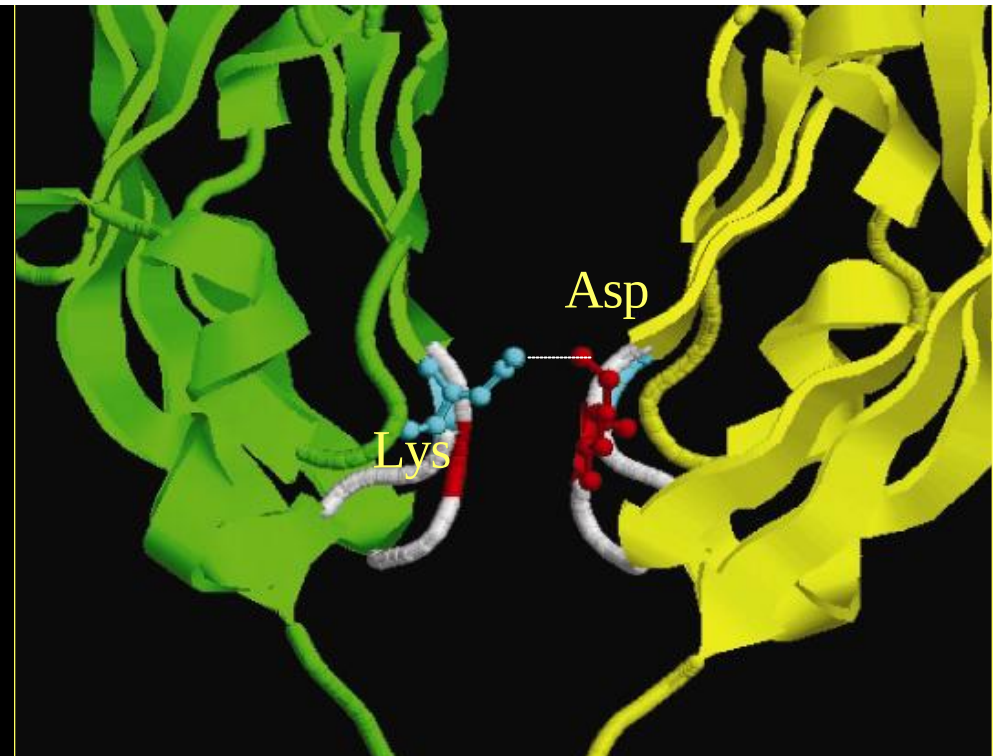
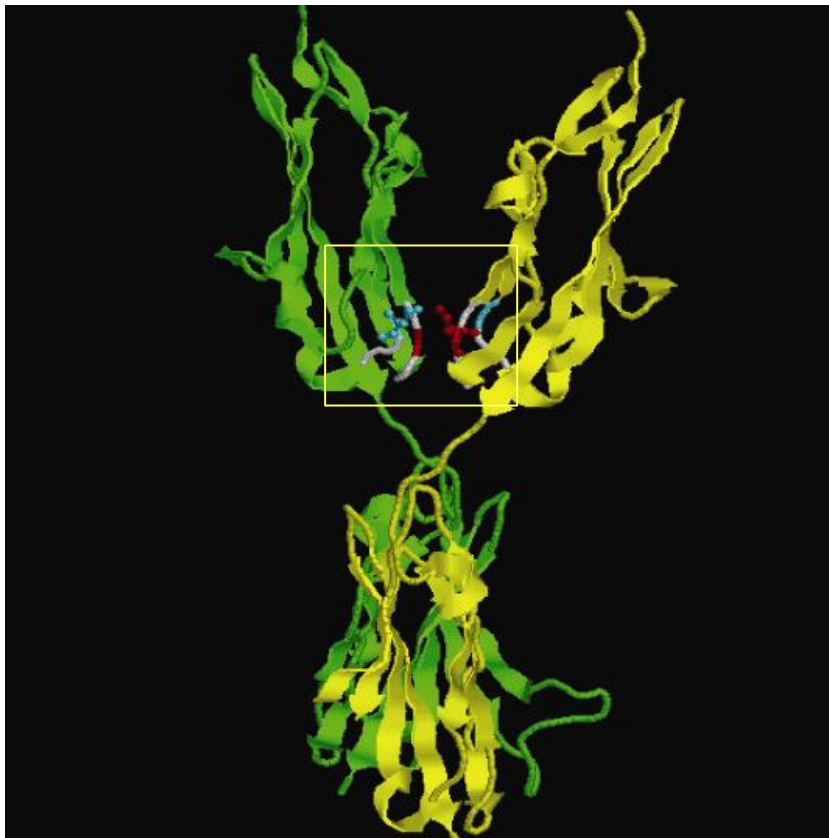
RMS: 0.72

Dimerització

D2 – FGF'

D2 – D2'





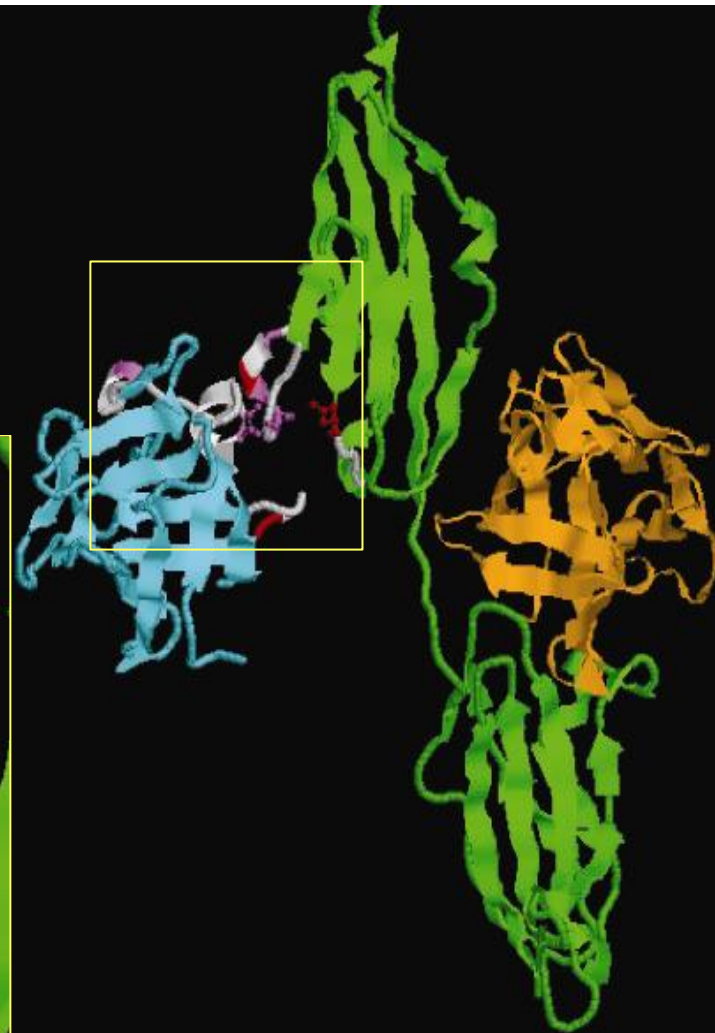
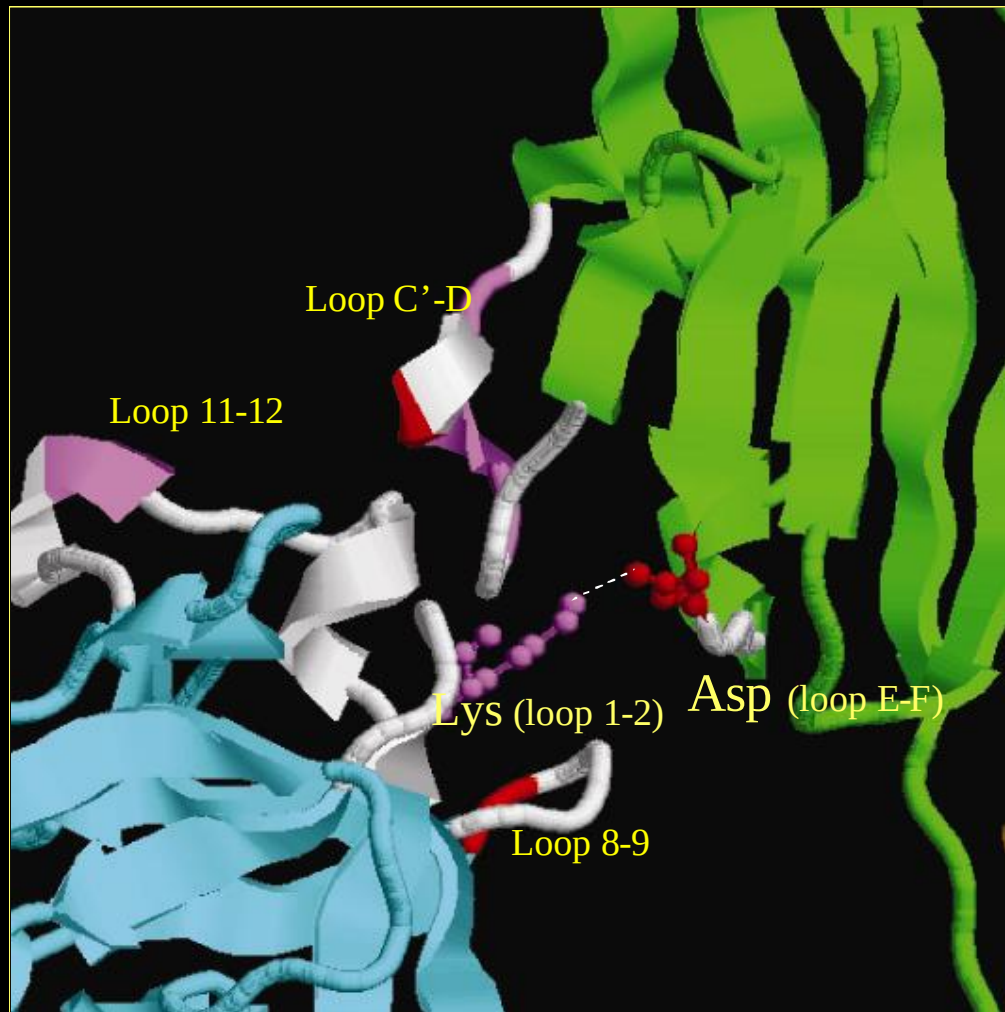
Interacció entre receptors (D2-D2):

- Loop $\beta A'$ - βB . Regió hidrofòbica amb una Lysina
- Loop βE - βF . Regió hidrofòbica amb un Aspartat.
- Interacció Lys- Asp. (2'76 Å)

Interacció D2 – FGF':

-D2: Loops $\beta C'-\beta D$ i $\beta E-\beta F$.

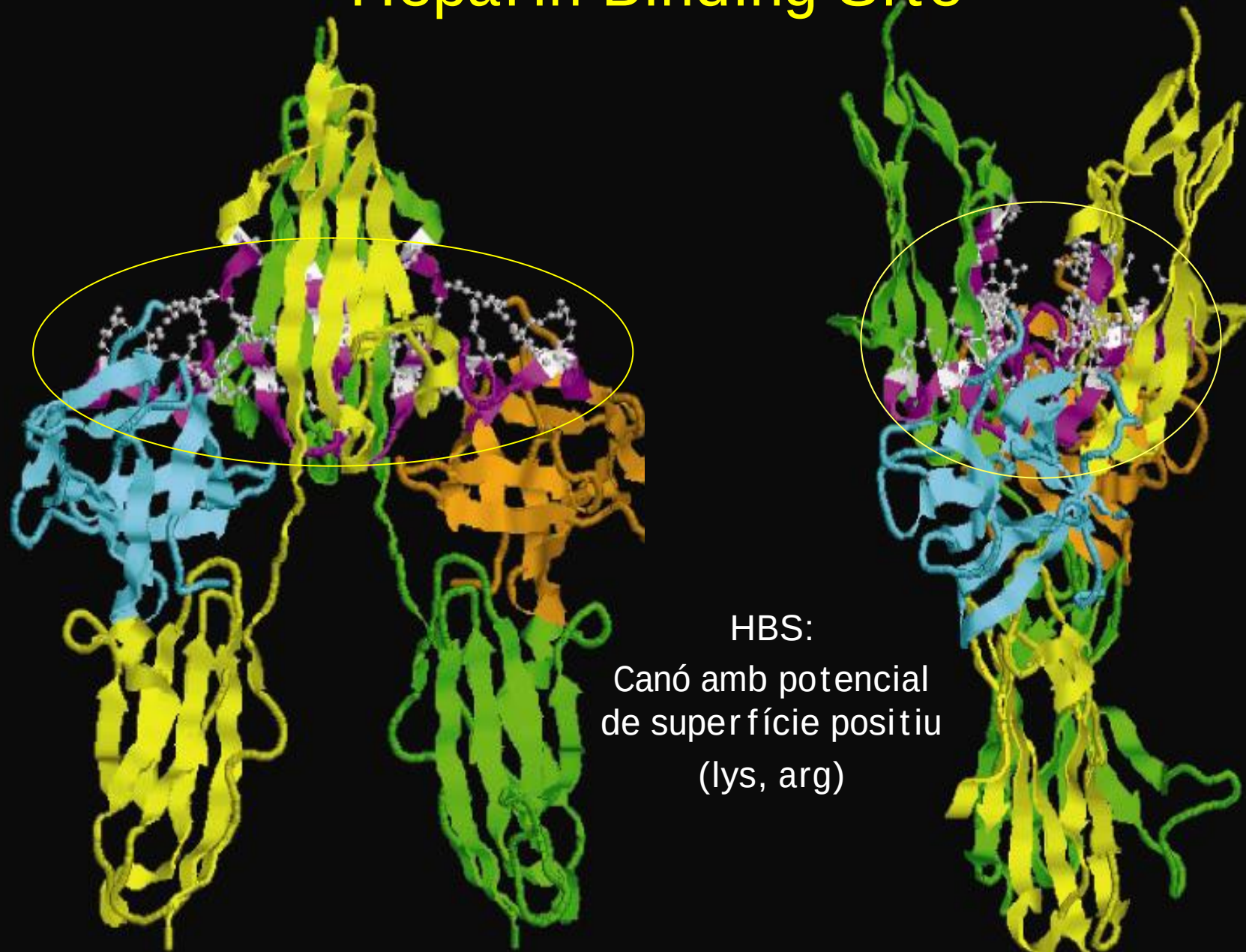
-FGF' : Loops $\beta 1-\beta 2$, $\beta 8-\beta 9$, $\beta 11-\beta 12$.



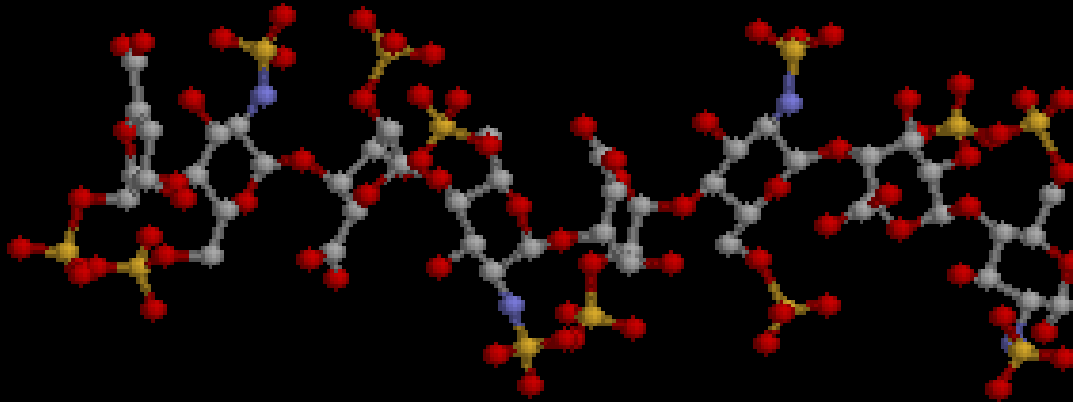
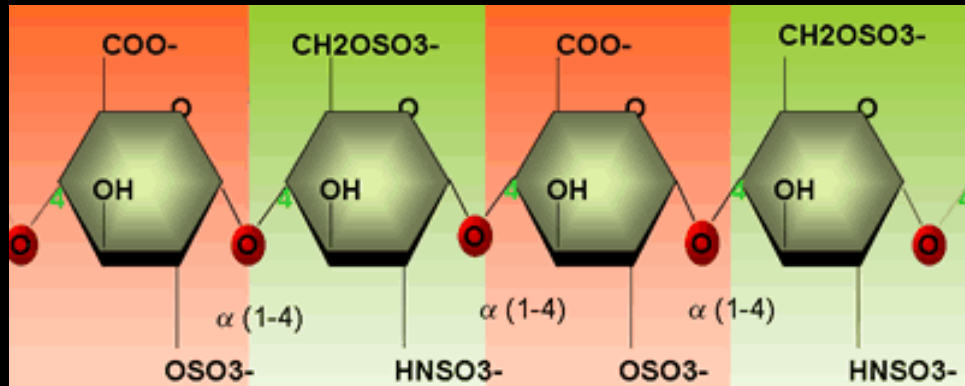
-Superfícies hidrofòbiques.

- Asp de D2 interacciona amb Lys de FGF'. (2'59 Å)

Heparin Binding Site



Heparina



Mucopolisacàrid sulfatat format per la repetició del disacàrid compost per àcid **L-idurònic** (Idu) i d-**Glucosamida-sulfat** (GlcN) units per enllaços glicosídics α 1-4.

Conté 3 grups sulfats:

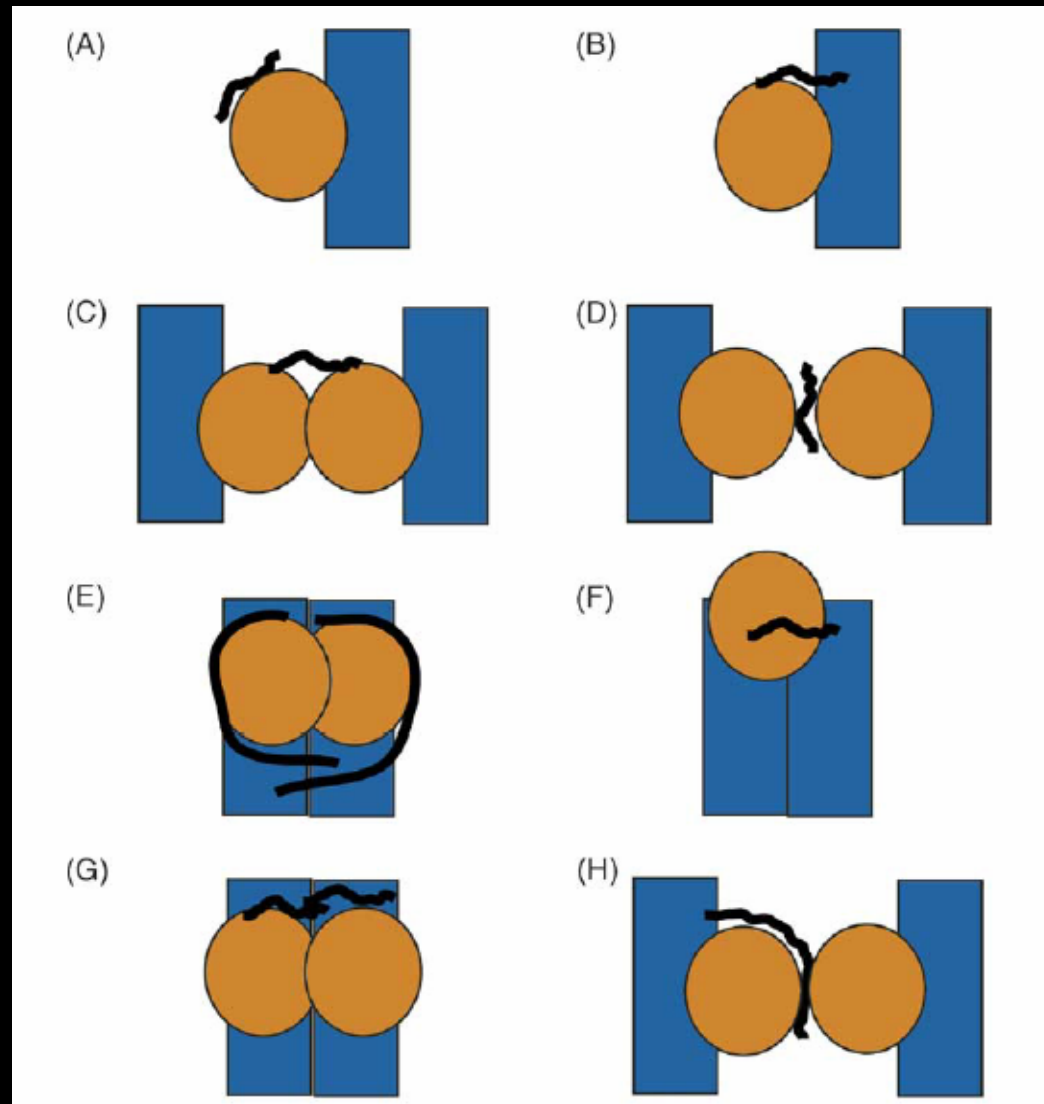
- 1 a Idu en 2-hidroxil
- 2 a GlcN en 2-amido i 6-hidroxil

Sola no té cap activitat biològica

Protegeix de la degradació els FGFs lliures.

Ajuda a la creació d'un reservori de GF important per la regulació de la senyalització

MODELS PROPOSATS DE DIMERITZACIÓ



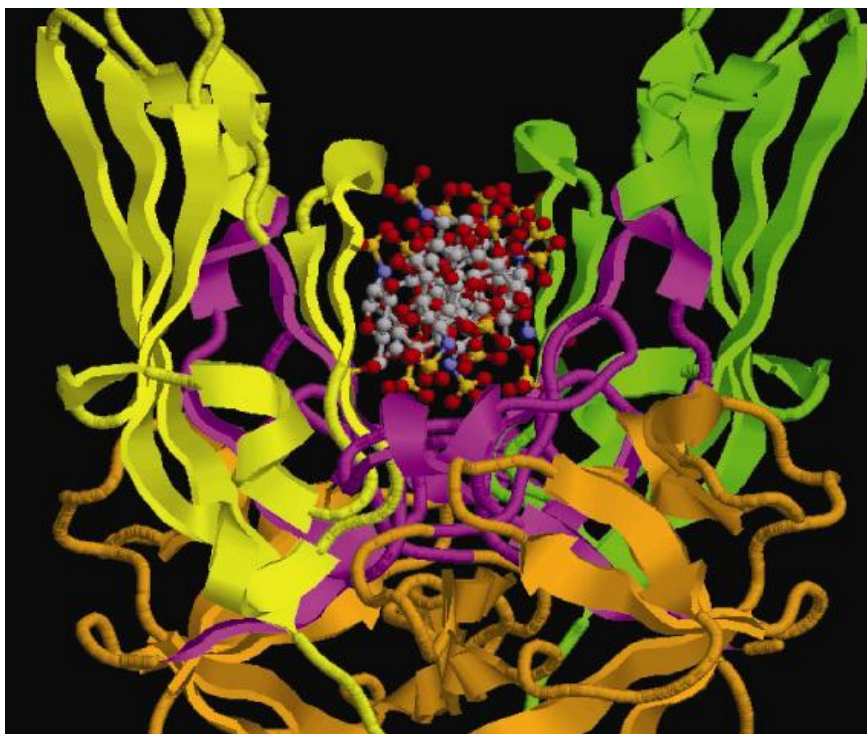
Models obtinguts d'estudis sobre l'efecte de mutacions en HBS de FGF2.

FGF2-FGFR1c-Heparina



Model symmetric
“two end”

■ HBS



**Disposició en el
canó bàsic**

Cada heparina:

30 H-bonds:

- **25** amb complex binari

(16 amb B1-B2 loop, B10-12
strand de HBS – FGF)

- **5** amb D2 de FGFR adjacent

**Extrems no
reduïts**



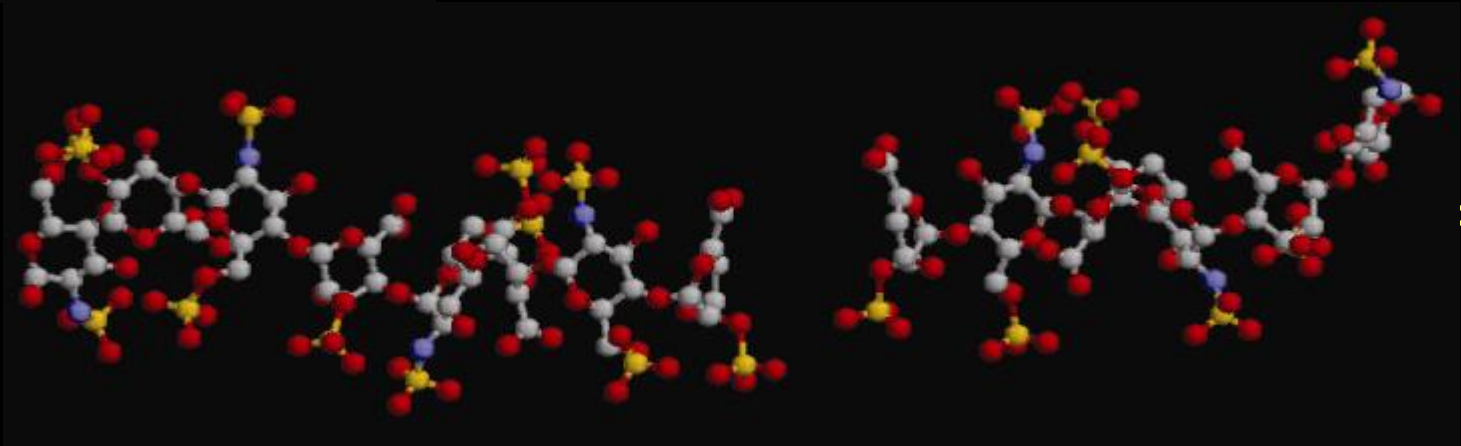
**Extrems
reduïts**

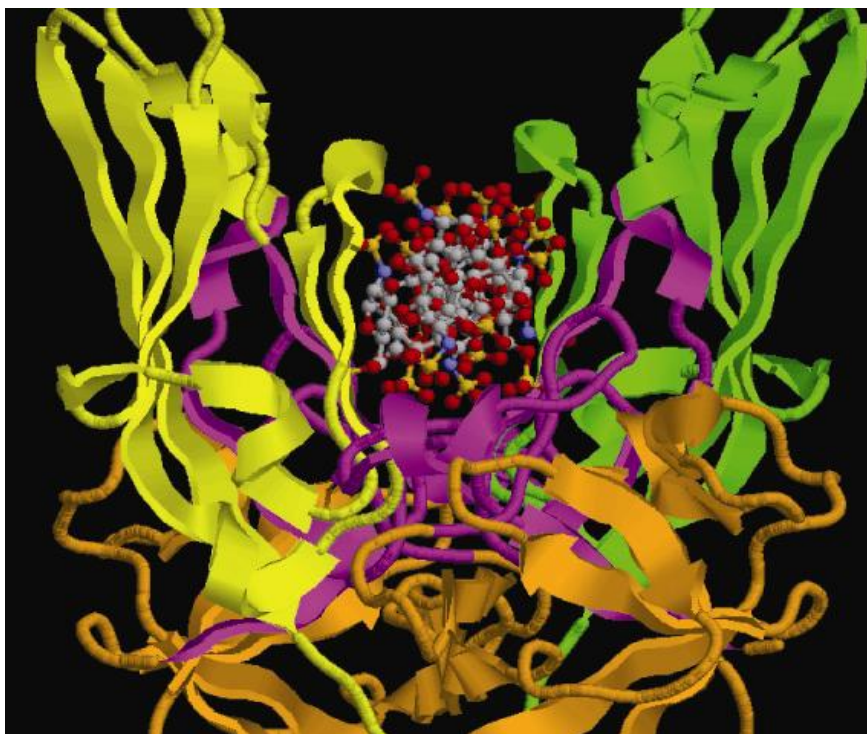


**L'HEPARINA ACTUA COM FACILITADORA
DE LES INTERACCIONS PROTEINA-
PROTEINA QUE PORTEN A LA FORMACIÓ
DEL COMPLEX.**

**Diferents tipus de cristallitzacions han
demostrat que aquesta és realment la
disposició de l'heparina interaccionant amb
el complex FGF-FGFR**

**El patró de sulfats i la composició de
carbohidrats és crític per la dimerització, els
més crítics per l'aproximació dels
complexos i transmissió de senyals són els
6-O-SULFATS.**





**Disposició en el
canó bàsic**

Cada heparina:

30 H-bonds:

- **25** amb complex binari

(16 amb B1-B2 loop, B10-12
strand de HBS – FGF)

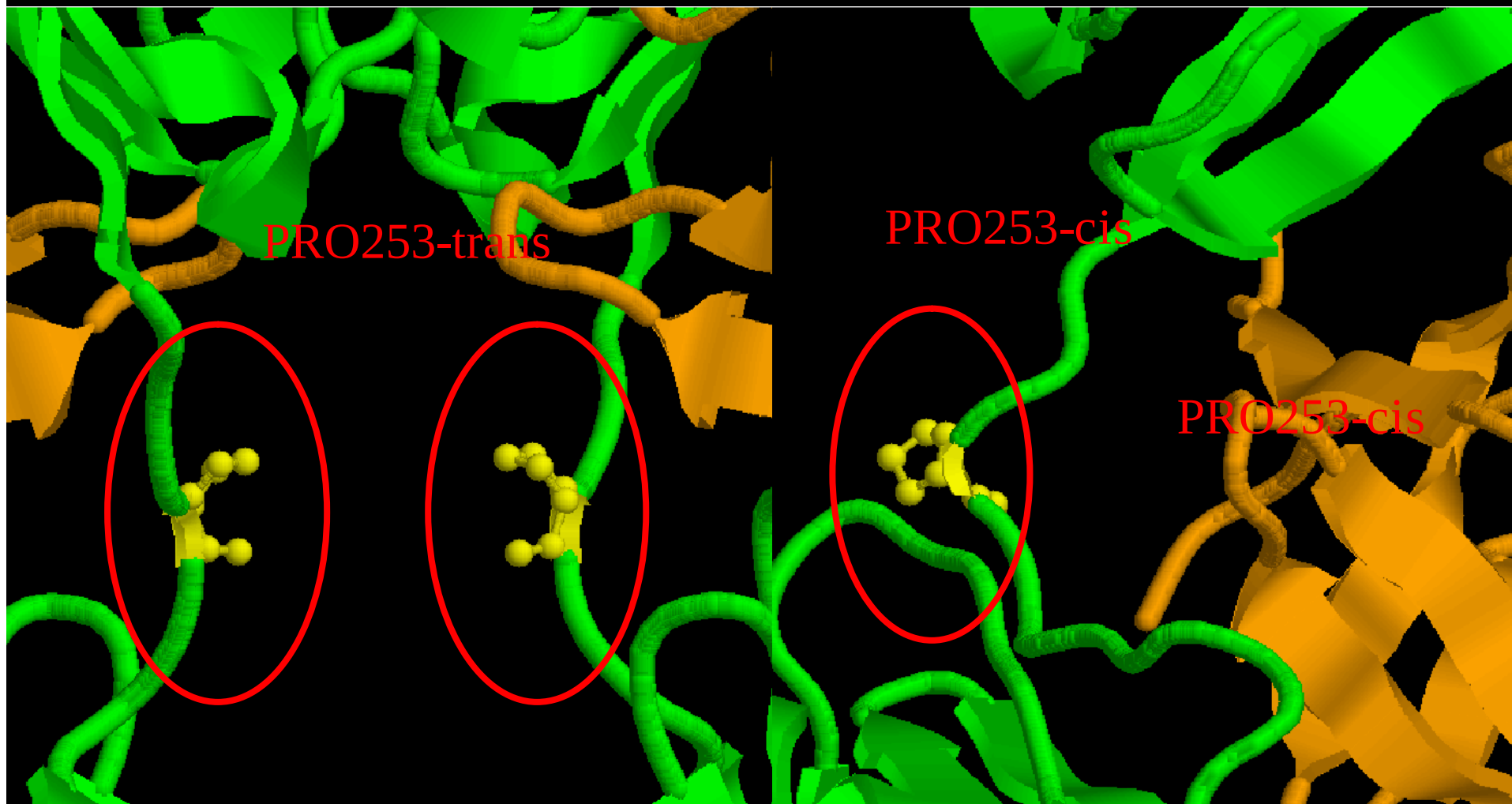
- **5** amb D2 de FGFR adjacent

**Extrems no
reduïts**



**Extrems
reduïts**

¿QUINA ES LA FORMA ACTIVA -CIS O -TRANS?



DIFERÈNCIES EN LA DIMERITZACIÓ



- No hi ha interaccions receptor/recptor
- La unió de la heparina és asimètrica
- Només un complexe FGFR/FGF/heparina



¿ QUINA ÉS LA FORMA BIOLÒGICAMENT ACTIVA ?

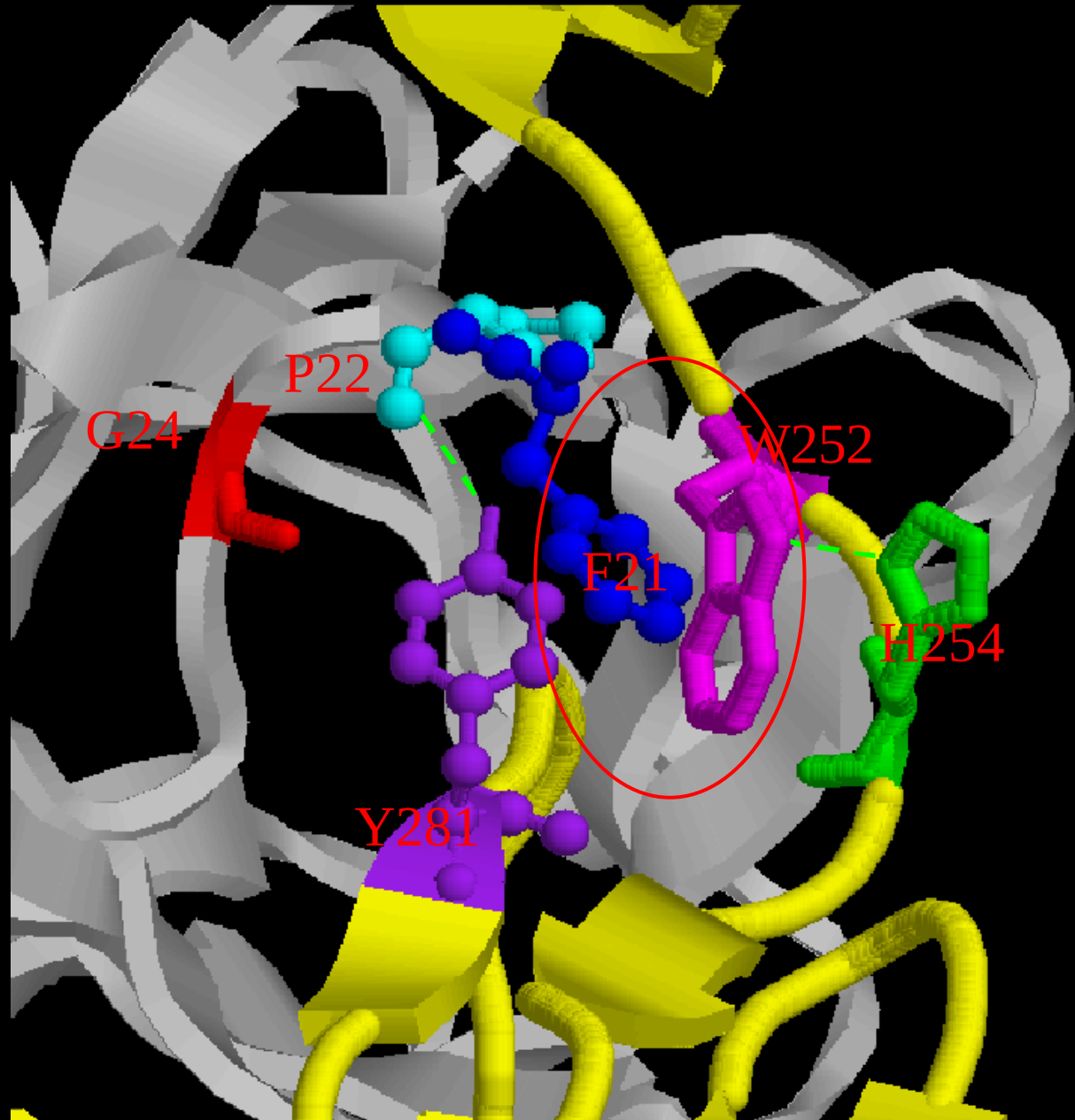
Síndrome d'Apert

PPellegrini et.al:

-S252W. Causa transició *trans-cis*

-No és cert:
Energèticament molt difícil i a més:

- S252W reforça unió lligand-receptor en la forma *-trans*



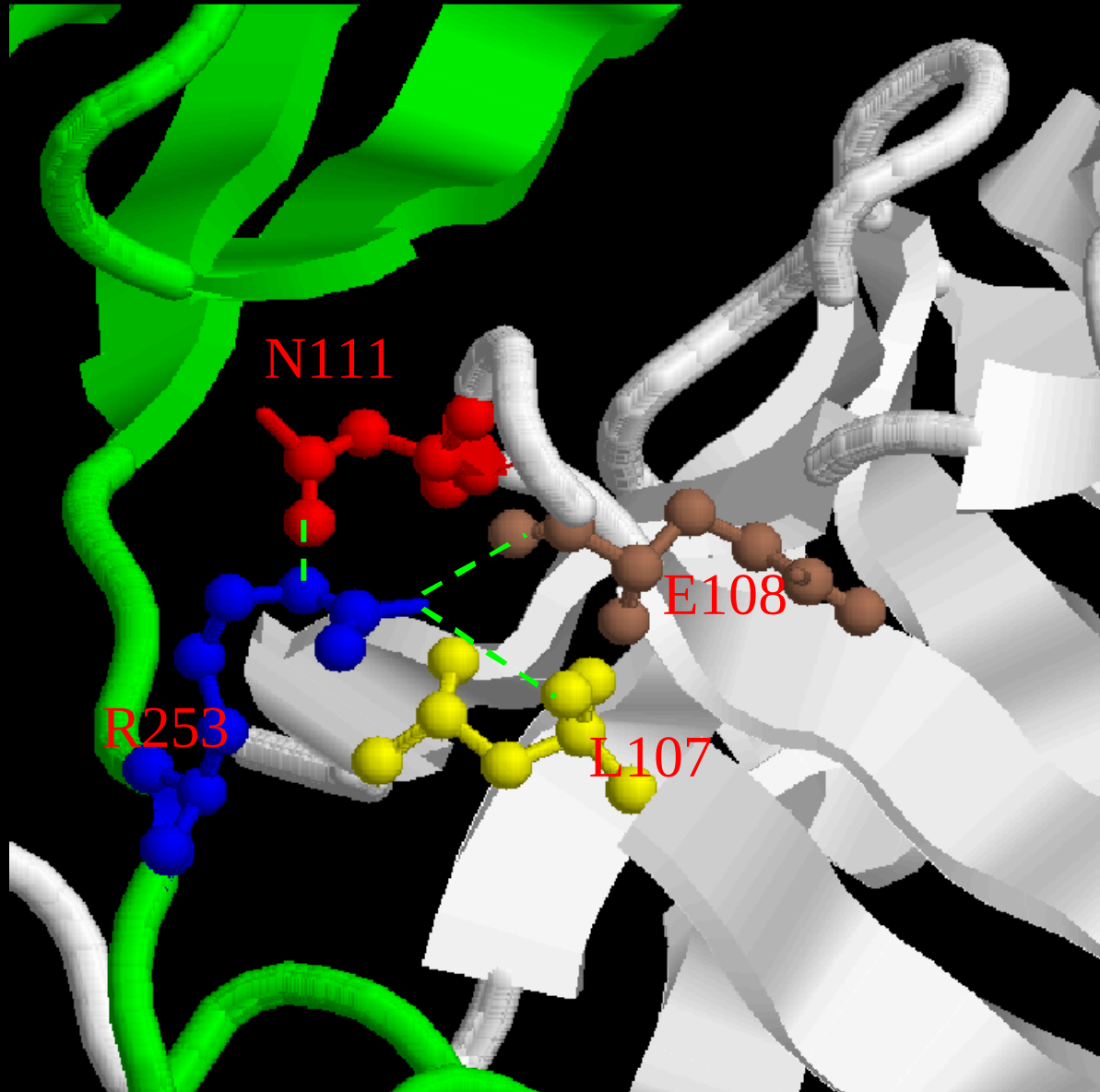
Més evidències de β -trans com la forma activa

Mutació P253R

La forma β -trans és
estabilitzada per
ponts d'H :

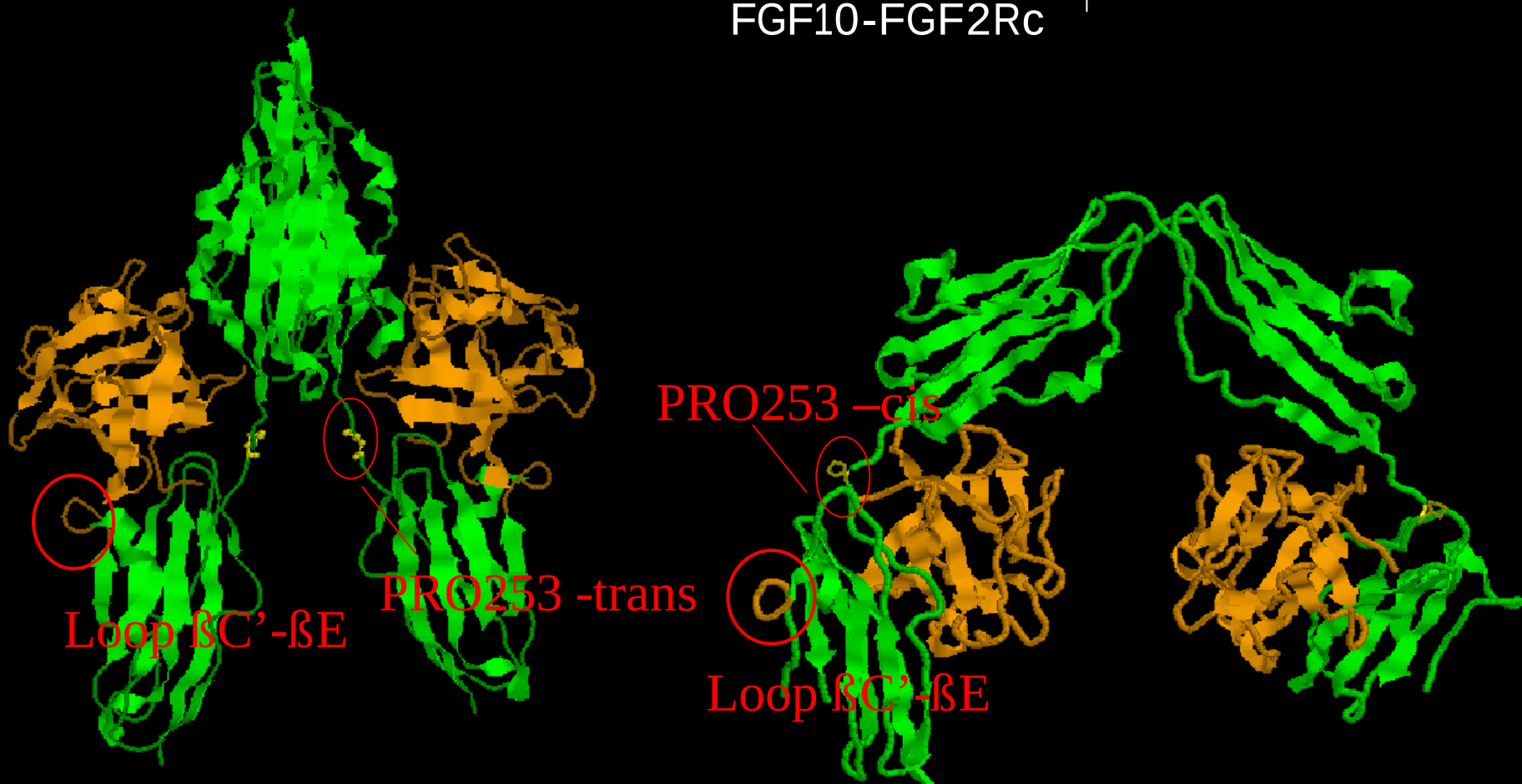
R253

(E108,N111,L107)

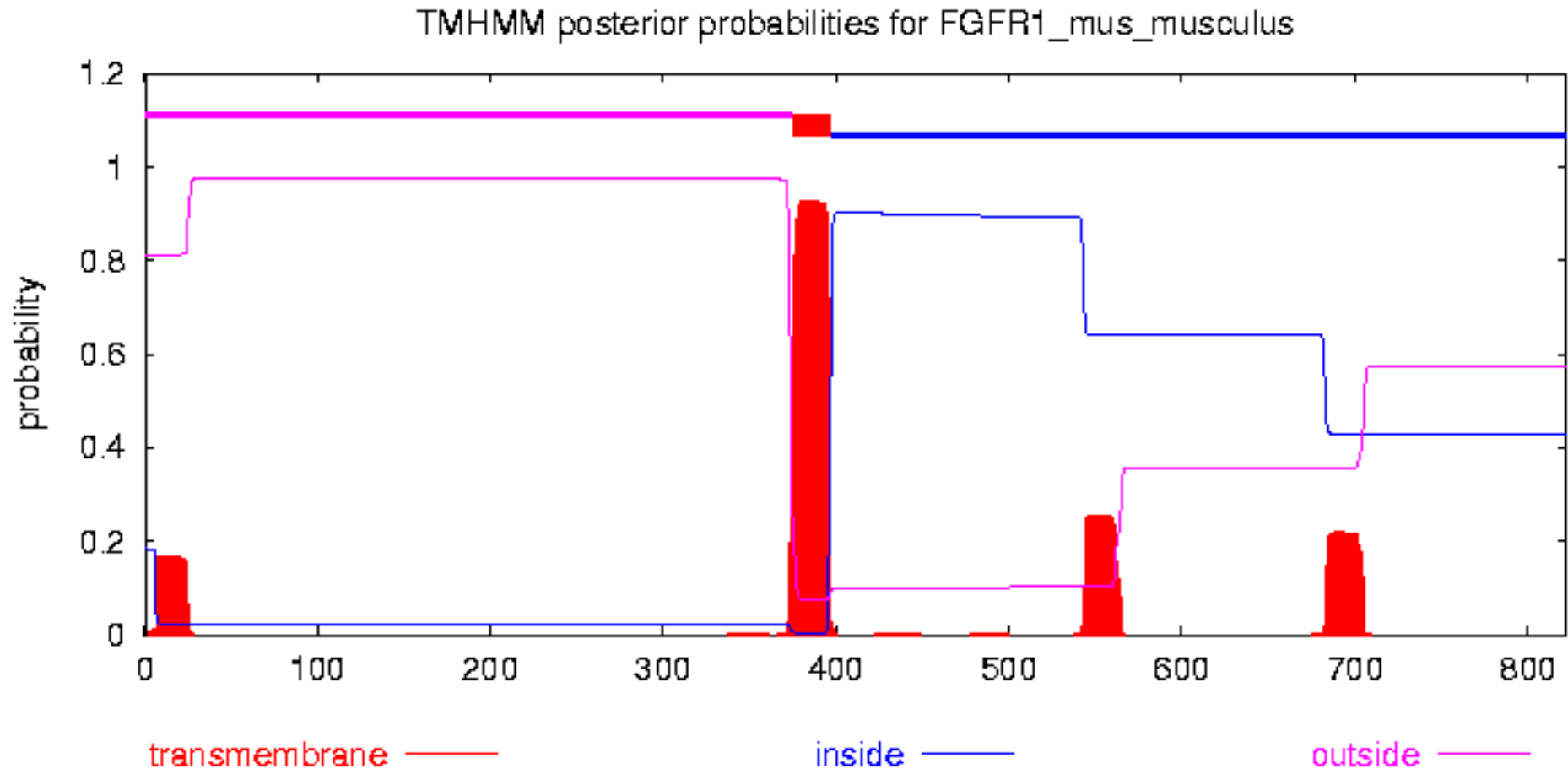


ALTRES PROVES A FAVOR DE LA CONFORMACIÓ -TRANS

Síndrome AS : Mutacions D321A, -D321A pèrdua d'afinitat entre
A315S. FGF2-FGFRc i d'afinitat entre
FGF10-FGF2Rc



Predicció hèlix transmembrana



FGFR1_mus_musculus	TMHMM2.0	outside	1- 374	
FGFR1_mus_musculus	TMHMM2.0	Tmhelix	375- 397	(377-397 Scop)
FGFR1_mus_musculus	TMHMM2.0	inside	398 - 822	

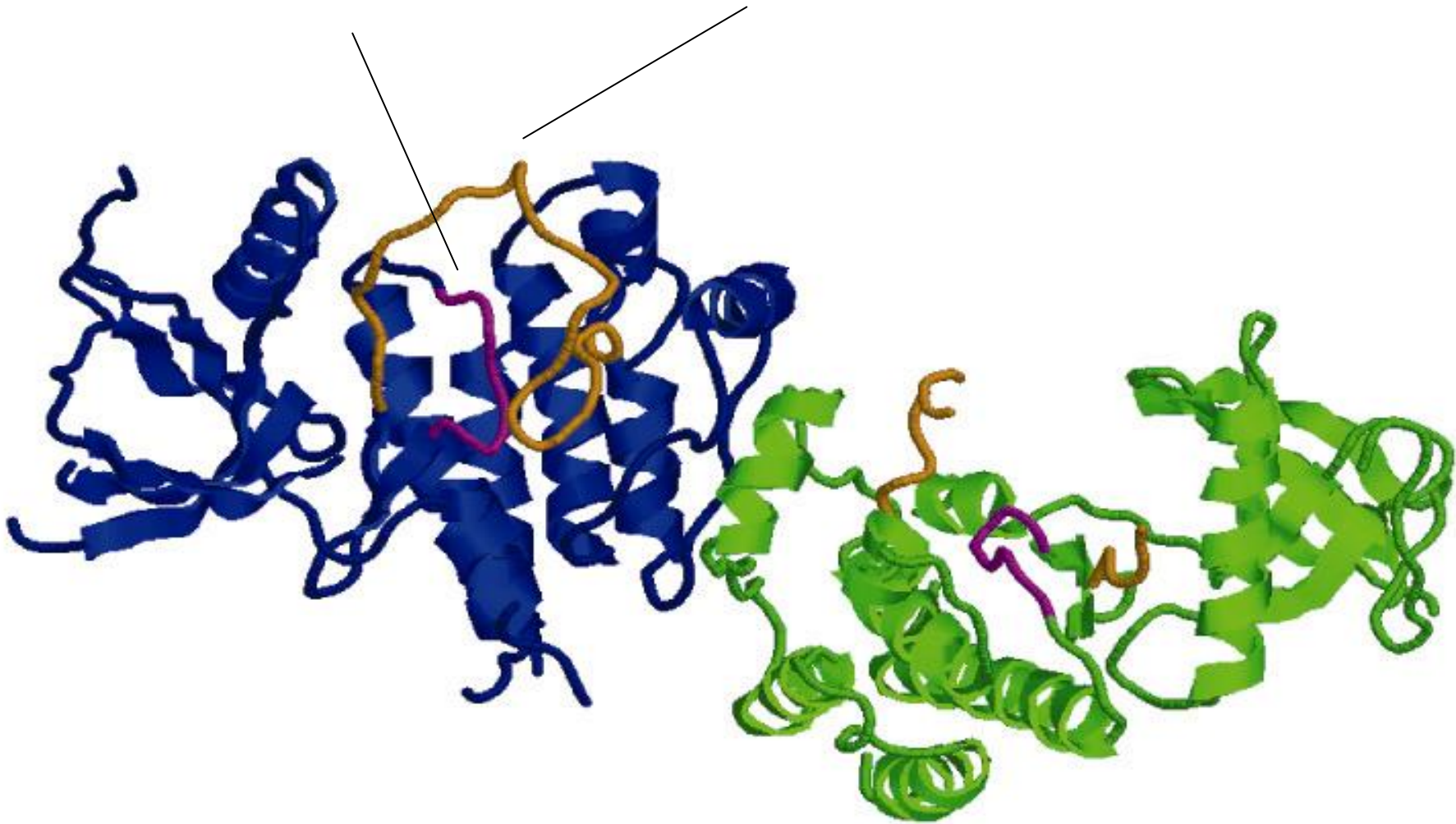
DOMINI TIROSINA QUINASA

Classe	Proteïnes Alfa + Beta (antiparallel beta sheets)
Plegament	Protein kinase-like (two alpha+beta domains)
Superfamília	Protein kinase-like
Família	Protein kinases

Domini Tirosina quinasa

Loop catalític

Loop d'activació



Alineament per seqüència

```

FGFR1_B      -----SEYELPEDP-RWELPRD--RLVLGKPLGEGAFGQVVLAEAIGL--PNROT
FGFR2_A      -----ELPEDP-KWEFPRD--KLTLGKPLGEGCFGQVUMAEAVGIK-PKEAV
EGFR         -----GEAPNQALLRILKET--EFKKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEG-EKVKI
VEGFR2       MDPDELPLDENCRLPYDASKWEFPRD--RLKLGKPLGRGAFGQVIEADAFGIDKTATCR
HGFR         -NTVHIDLIALNPVLQAVQHVVIGPSSLIVHFNEVIGRGHFGCVYHGTLLDN--DGKKI
IGFR1        -----GSFSAADVYUPDEWEVARE--KITMSRELGGGSGFMVYEGVAKGVAKDEPET
              * * * *

```

FGFR1_B KVAVMLKSDATEKDLSDLISEMEMMKMIGKHKNINILLGACTQDG-PLYVIVEYASKGN
 FGFR2_A TVAVMLKDDATEKDLSDLVSEMEMMKMIGKHKNINILLGACTQDG-PLYVIVEYASKGN
 EGFR PVAIKELREATSPKANKEILDEAYMASVDNPHVCCRLLGICLTST--VQLITQLMPFGC
 VEGFR2 TVAVMLKEGATHSEHRLMSELKILIHIGHHLNVVNLGACTKPGGPLMVIVEFCKFGN
 HGFR HCASKSLNRITDIGEVSQFLTEGIMKDFSHPN-VLSLLGICLRSEGSPLVWLPYMKHGD
 IGFR1 RVAIKTUNEAAAMRERIEFLNEASUMKEFWCHN-VVRLLGUVSQGQ-PTLVIMELMTRGD
 * * * * *

```

FGFR1_B      LREYLQARR-----QLSSKDLVSCAYQVARGMEYLAASKKINRDLAARN
FGFR2_A      LREYLRRARRE-----QMTFKDLVSCITYQLARGMEYLAQSKKINRDLAARN
EGFR         LLDYUREHKDN-----IGSQYLLNWCWQIRKGMNYLEDRLVNRDLAARN
VEGFR2       LSTYLRSKRNEFVPYKVAPEDLYKDFLTLEHLICYSFQVARGMEYLAASKKINRDLAARN
HGFR         LRNFIRMETHN-----PT-VKDLIGFGLQVARGMKFLASKKFVNRDLAARN
IGFR1        LKSYLRSLRPEME-----NNPVLAPPSLSKMIQMAEIRDGMAYLNANKFVNRDLAARN
*           *           *           *           *           *           *           *

```

[illegible]

FGFR1_B	FGULLWE IFTLGGSPYPGPVVEELFK-LLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCUHAUVP3QR
FGFR2_A	FGULMWE IFTLGGSPYPGIPVEELFK-LLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCUHAUVP3QR
EGFR	YGUTVWELMTFGSKPYDGIPASEISS-ILEKGERLPQPPICTIDVYMIWVKCUMIDADSR
VEGFR2	FGULLWE IFSLGASPYPGVUKIDEEFCRRLKEGTRMRAPDYTPPEMYQTSLDCUHGEP3QR
HGFR	FGULLWELMTRGAPPYPDUNTFDITV-YLLQGRRLQPEYCPDPLYEVLKCKWHPKAEMR
IGFR1	FGULVWE IATLAEPQYQGLSNEQVLR-FUMEGGLLDKPDNCPDMLFELMRMCWQYNPKMR
	* * * * *

```

FGFR1_B      PTFKQLVEDLDRIVALT-----
FGFR2_A      PTFKQLVEDLDRILTLT-----
EGFR         PKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLMDEEDMDVVWDAD EYL IP
VEGFR2       PTFSELVEHLGNLLQANAQQD-----
HGFR         PSFSELVSRISAIFSTFIGEHYVHVMATYVNVK-----
IGFR1        PSFLEIISSIKEEMEPGFREVSFYSEENK-----
              * *

```

Alineament per estructura

RMS: 1,21

```

HGFR      TVHIDLSA-LNPVLQAVQHVIVIGPSSLIVHFMVIGRGHFGCVYHGTL-----LK
IGFR1     --A-D---V---YV--P-DEWEVAREKITM--SRELGGGSFGMVYEGVA-KGVVKDE-PE
EGFR      ---GE--APN--QA--L--LRILKETEFKK--IKVLGGGAFGTVYKGLWIPE---GEKVK
FGFR2     -----E-L---P--EDPKWEFPRDKLTL--GKPLGEGCFGQVUMAEA--VGI-KPKEA
FGFR1     --SEY--EL---P---EDPRWELPRDLVL--GKPLGEGAFGQVULAEAI--G--LPMRV
VEGFR2     -----L--PY--DASKWEFPRDLKL--GKPLGRGAFGQVIEADAF-GID-KTATC

HGFR      IHCVKSL--NRITDIGEVSQFLTEGIIMK-DFSHPNVLSLLGI-CLRSEGSPLVVLPMY
IGFR1     TRVAIKTUMEAAS--MRERIEFLNEASUMK-EFNCNHHVURLGVV-SQG-QPTLVIMELM
EGFR      IPVAIKELREATS--PKANKEILDEAYUMAS-UDNPHVCRLGII--CLT-STVQLITQLM
IGJ0A     VTVAVKMLKDDAT--EKDLSDLVSEMEMMKMIGKHKNINLLGAC-TQD-GPLVYVIVEYA
FGFR1     TKVAVKMLKSDAT--EKDLSDLISEMEMMKMIGKHKNINLLGACT-QD-GPLVYVIVEYA
VEGFR2     RTVAVKMLKEGAT--HSEHRALMSELKILINIGHHLNVVNLGACTKPG-GPLMVIVEFC

HGFR      KHGDLRNFIRNET-----HNPTVKDLIGFGLQVAKGMKFLASKKFVHRDLAARN CML
IGFR1     TRGDLKSYLRS-LR-P-----PPSLSKMIQMAE IADGMAYLNANKFVHRDLAARN CMV
EGFR      PFGCLLDYURE-HK-----DNIGSQYLLNWCUVQ IAKGMNYLEDRLVHRDLAARN VLV
FGFR2     SKGNLREYLRA--RR-----EQMTFKDLVSCITYQLARGMEYLASQKCIHRDLAARN VLV
FGFR1     SKGNLREYLQA-R-R-----QLSSKDLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARN VLV
VEGFR2     KFGNLSTYLR3-KRNEFVPYKDFLTLEHLICYSFQVAKGMFLASRKC IHRDLAARN ILL

HGFR      DE-KFTVKVADFGL-----ARMY-----LPVKUMALESL
IGFR1     AE-DFTVKIGDF---GM-T---Y-YRK-----G----GK-----GLLPURUMSPESL
EGFR      -KTPQHVKITDF--GLAKLLGAEKEY-HAE-G-----G-----KVP IKUMALESI
FGFR2     TEN-NUMKIADE--GLARDIN-MIDYY-KKTTNG-----R-----LPVKWHAPERL
FGFR1     TED-NUMKIADE--G-----LADYYK--KGRLPVKWHAPERL
VEGFR2     SEK-NVVKIC-----DIDARLPLKUMAPETI

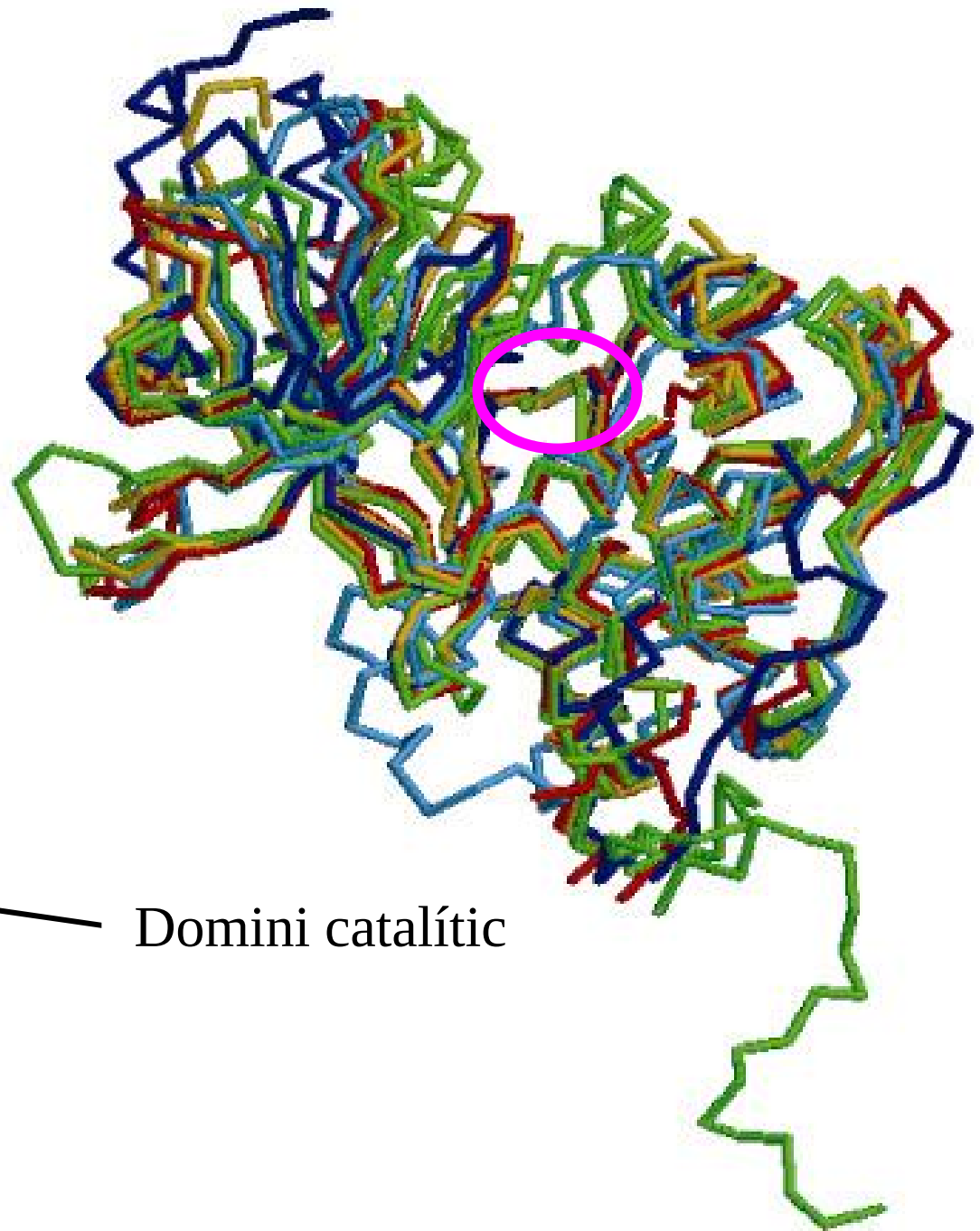
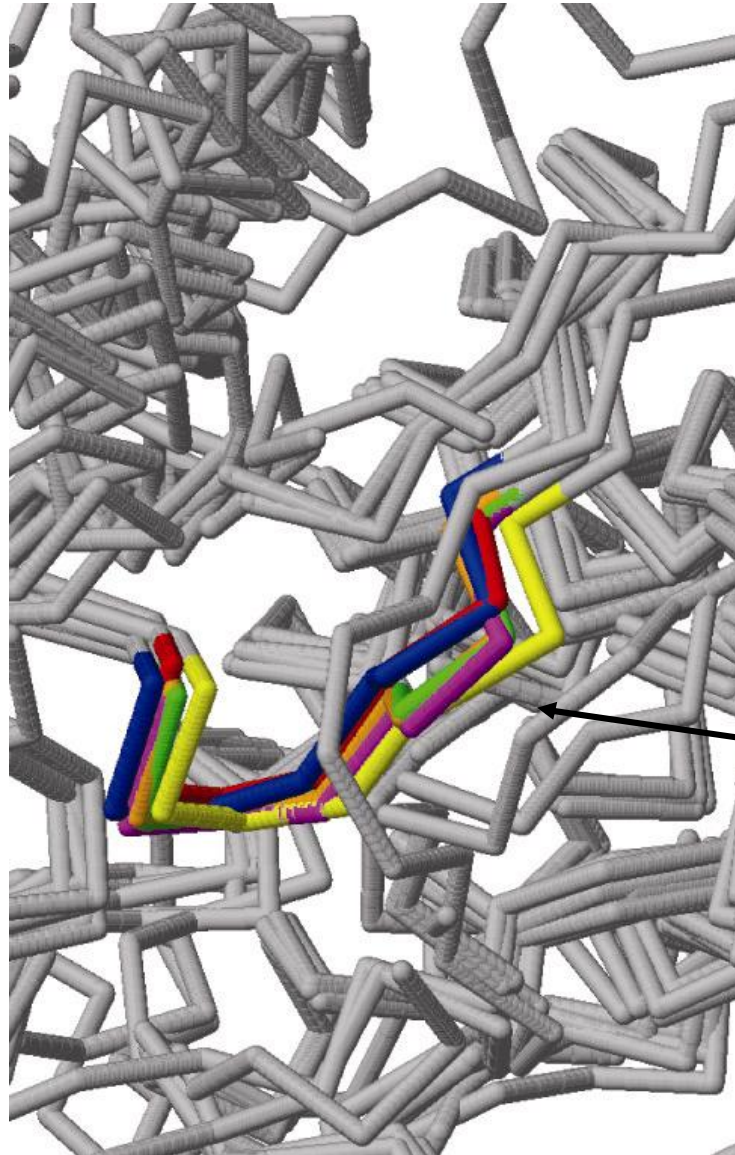
HGFR      QTQKFTTKSDVWSFGULLWELMTRGAPP-Y-P---DITVYLLQGRRLQPEYCPDPLYE
IGFR1     KDGVFTTYSDVWSFGVULWEIATLAEQPYQGL-SNEQVLRFMEGGLLDKPDNCPDMLFE
EGFR      LHRITYTHQSDVWSYGUTVWELMTFGSKPYDGIP-ASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYM
FGFR2     FDRVYTHQSDVWSFGULMWEIFTLGGSPYPGIP-VEELFKLLKEGHRMDKPSNCTMELYM
FGFR1     FDRITYTHQSDVWSFGULLWEIFTLGGSPYPGVPV-EELFKLLKEGHRMDKPSNCTMELYM
VEGFR2     FDRVYT IQSDVWSFGULLWEI FSLGASPYPGVKIDEEFCRRLKEGTRMRAPDYTTPEMYQ

HGFR      VMLKCMHPKAEMRPSFSELVSRISAIFSTFIG---ENYVHVNATYVNVK-----
IGFR1     LMRMCWQYNPKMRPSFLEISSIKEE---M--EPGFREVSYFYSEENK-----
EGFR      IMVKCMIDADSRPKFRELIEFSKMARDP--QRYLVIQGDERMHLMDEEDMDDVVDAD
FGFR2     MMRDCWHAUPSQRPTFKQLVEDLDRILTLT-----
FGFR1     MMRDCWHAUPSQRPTFKQLVEDLDRIVALT-----
VEGFR2     TMLDCWHEGPSQRPTFSELVEHLGNLLQAN--A-----

HGFR      ----
IGFR1     ----
EGFR      YLIP
FGFR2     ----
FGFR1     ----

```

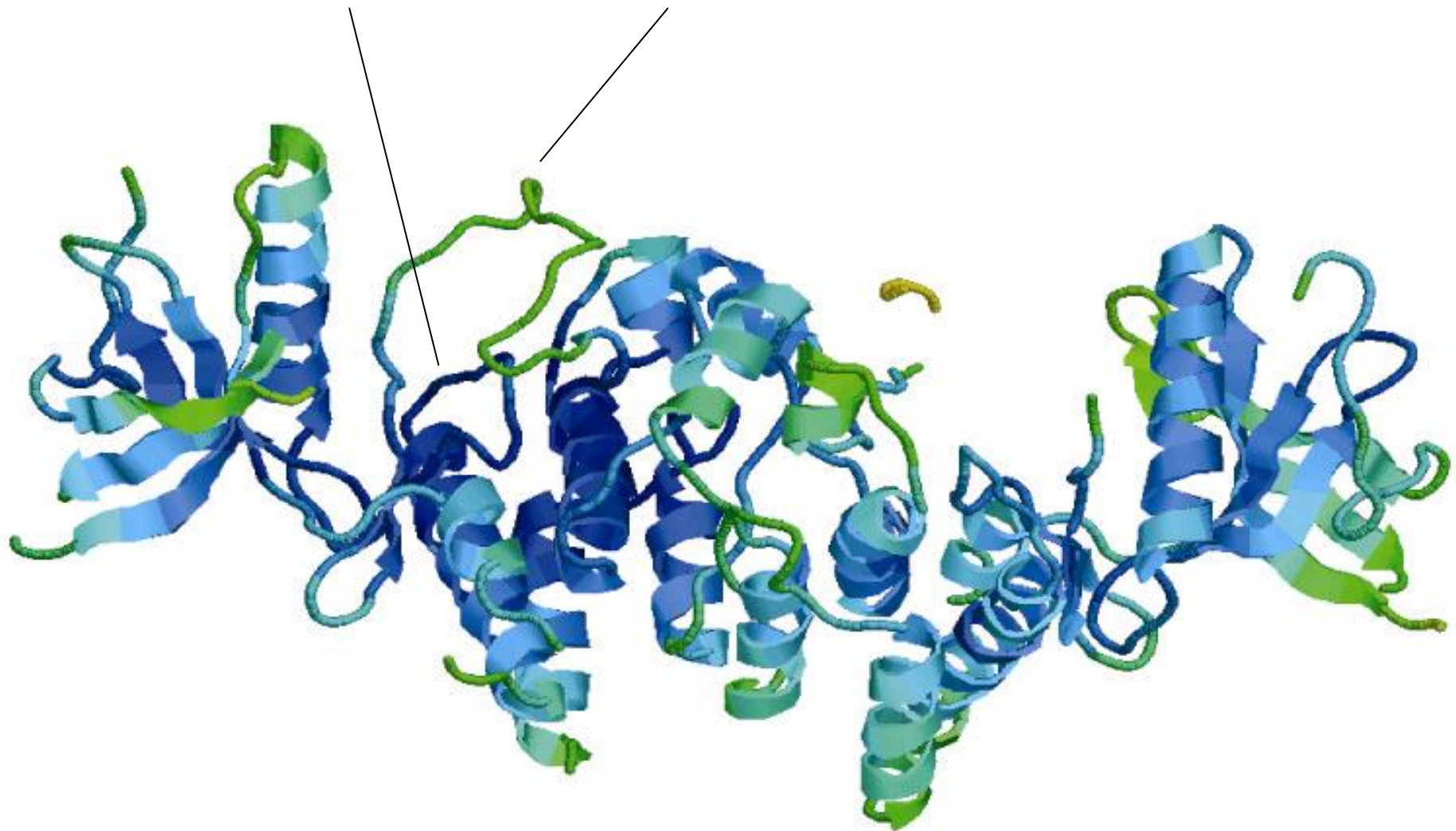
Alineament del domini quinasa

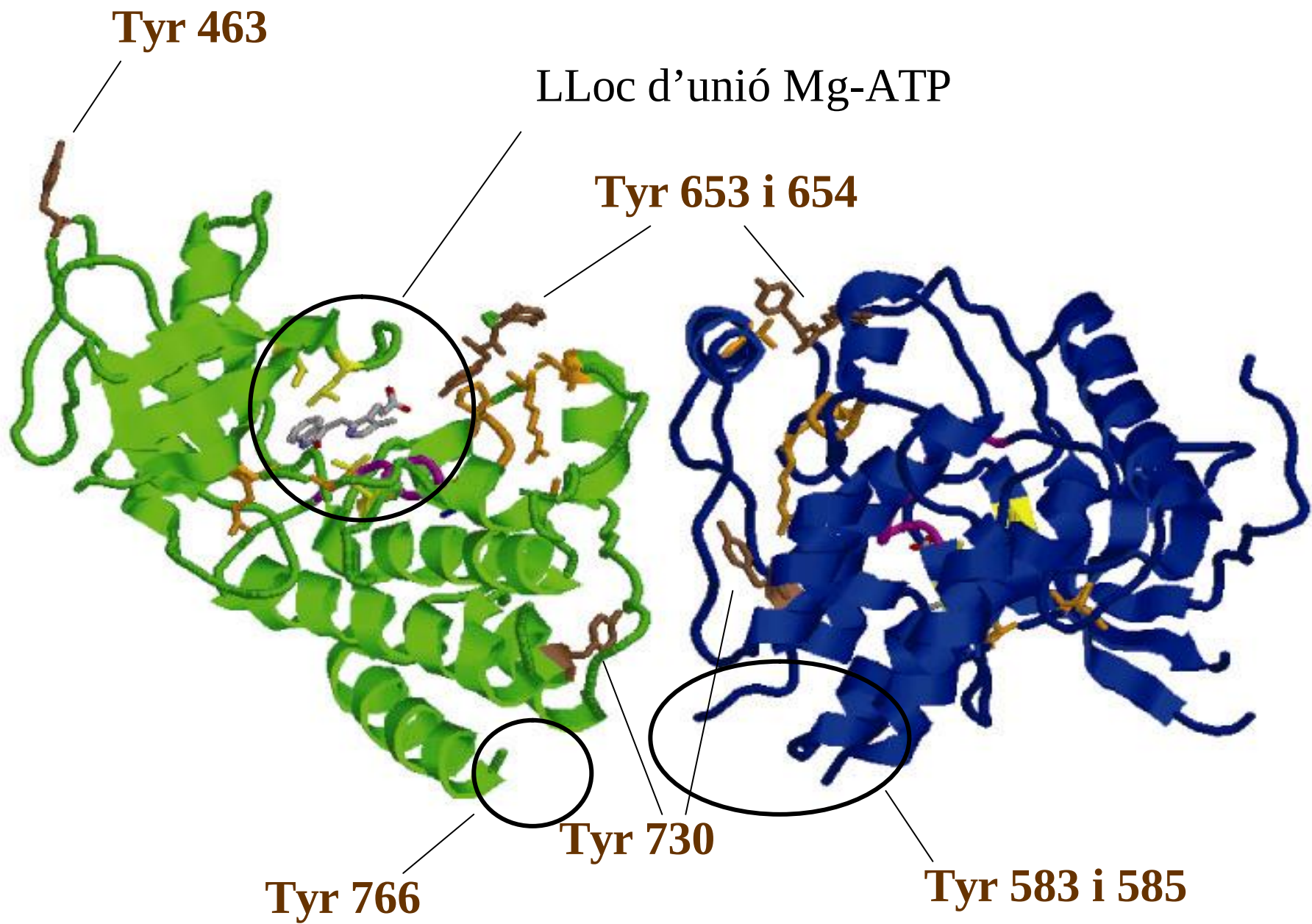


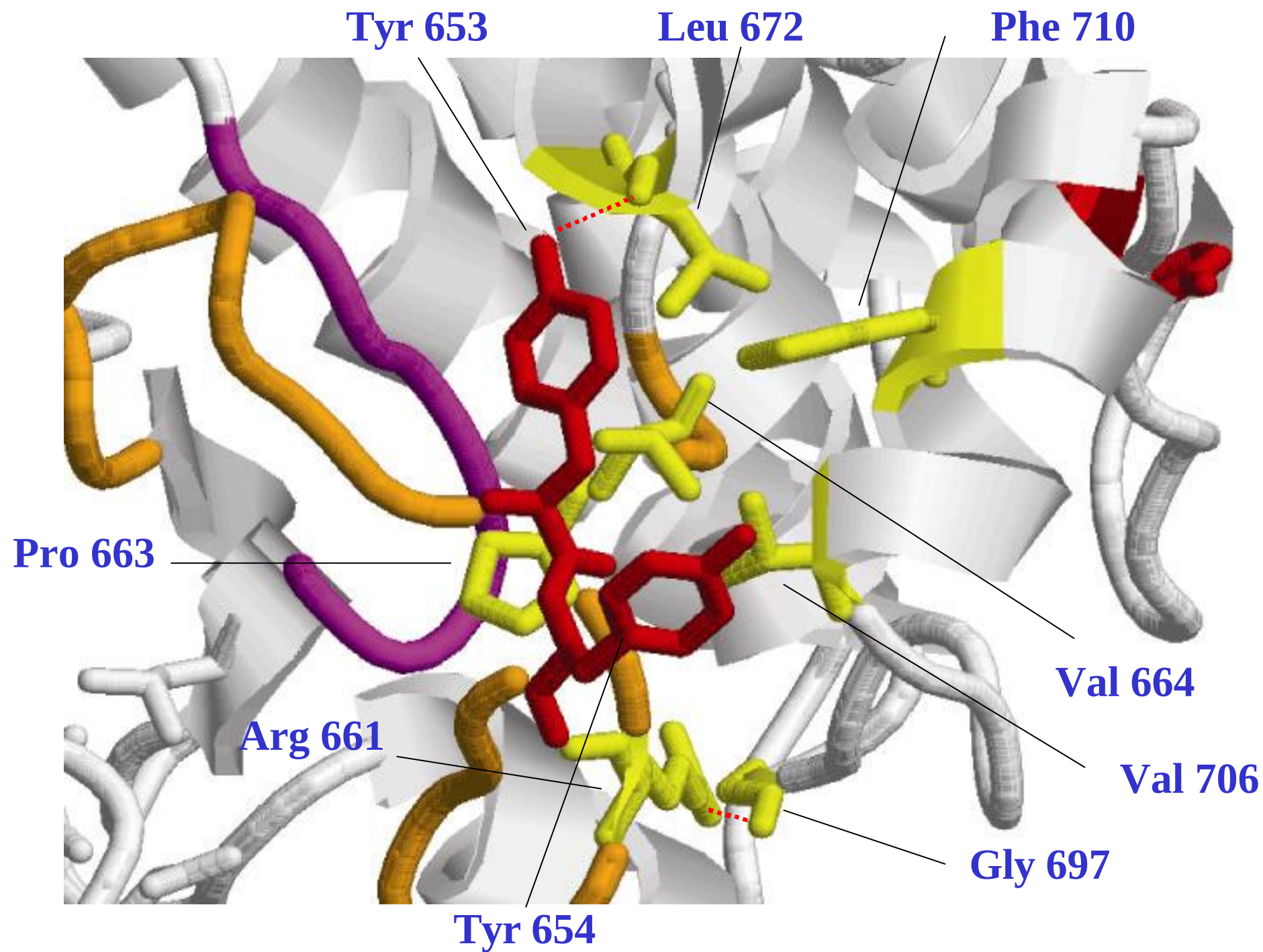
Domini catalític

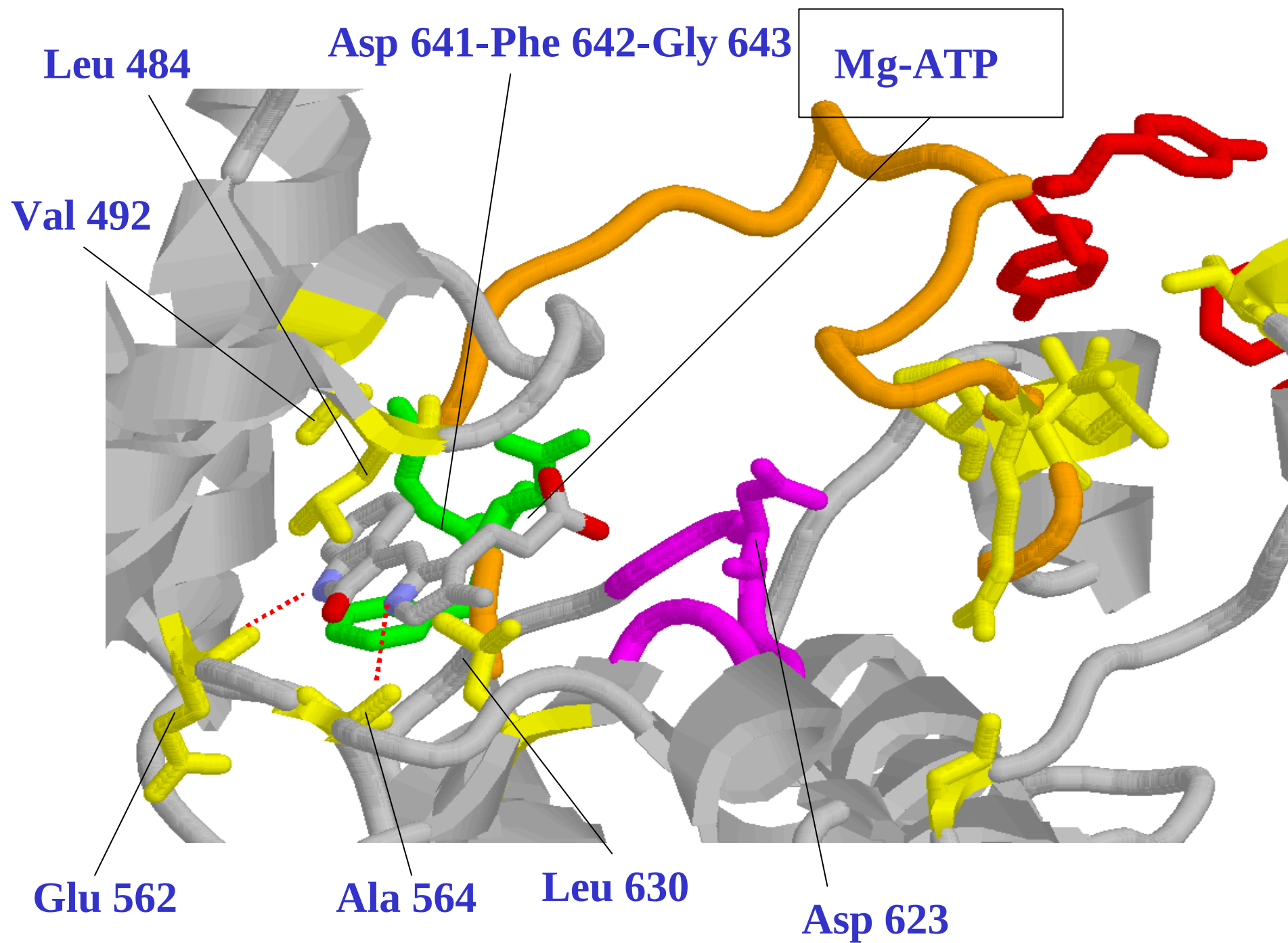
Zona “estàtica” (freda)

Zona “mòbil” (calenta)



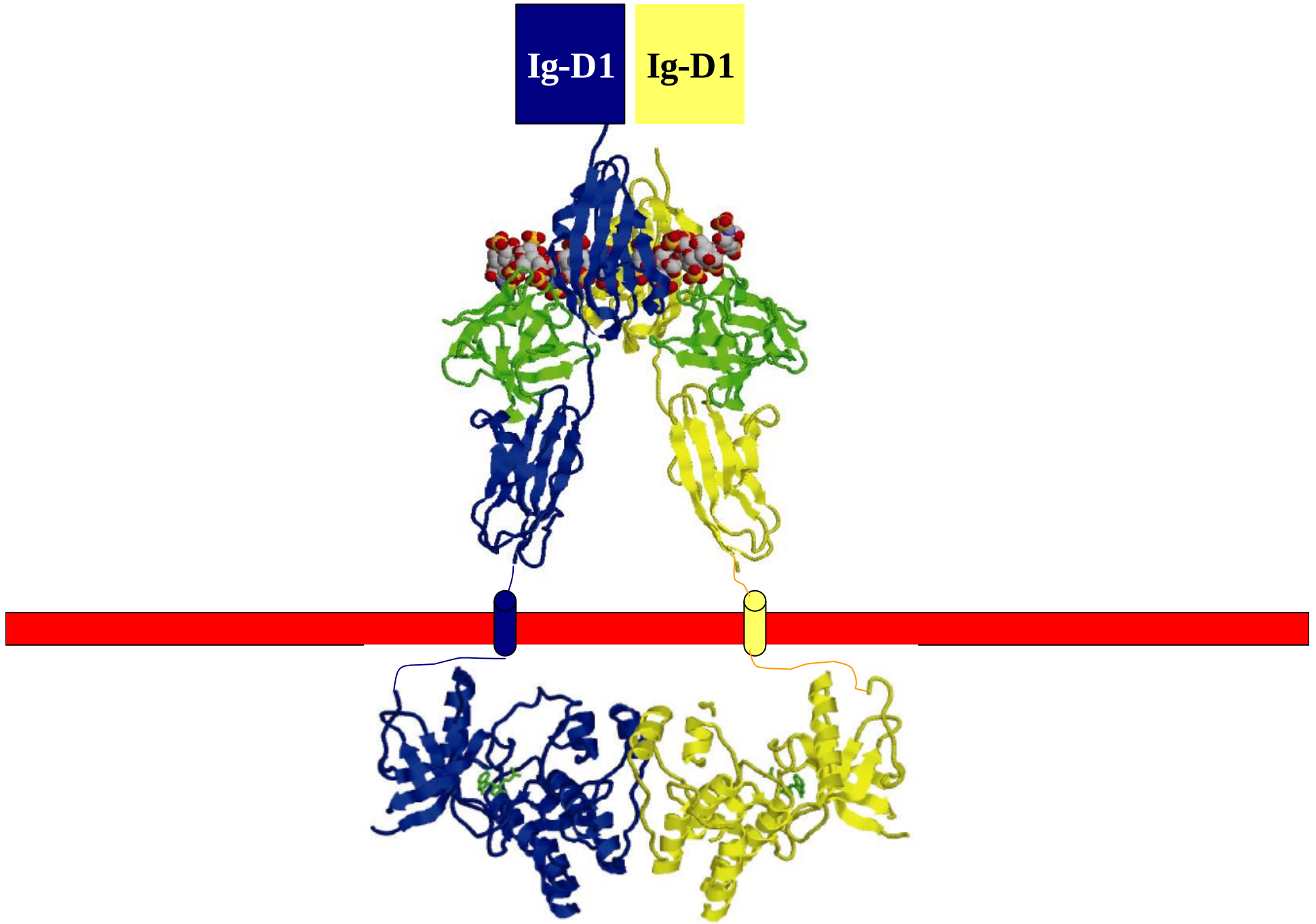






Ig-D1

Ig-D1



Bibliografia

- Mohammadi Moosa et al. Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation. Cytokine Growth Factor Rev. 2005. 16, 107-137.
- Powers CJ et al. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. Endocr Relat Cancer. 2000. 7, 165-197.
- Mohammadi Moosa et al. Structure of the FGF Receptor Tyrosine Kinase Domain Reveals a Novel Autoinhibitory Mechanism. 1996. 86, 577-587.
- McInnes C. Growth Factor Receptors: Structure, Mechanism, and Drug Discovery. Biopolymers. 1997;43(5):339-6
- Osigo H. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. Cell. 2002 Sep 20;110(6):775-87.
- Manual de Pràctiques de Bioestructural. UPF.
- Cooper. The Cell-A Molecular Approach. 2nd ed. 2000
- Alberts. Molecular Biology of the Cell. 4th ed. 2002
- Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. Schlessinger J, Plotnikov AN, Ibrahimi OA, Eliseenkova AV, Yeh BK, Yayon A, Linhardt RJ, Mohammadi M.
- Mol Cell. 2000 Sep;6(3):743-50.

Bases de dades

Protein data bank: <http://www.rcsb.org/pdb>

Pfam: <http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/>

Swissprot: <http://www.expasy.org/sprot/>

Servidors

TMHMM: <http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>

http://www.rndsystems.com/asp/g_sitebuilder.asp?bodyId=308#FGF-1

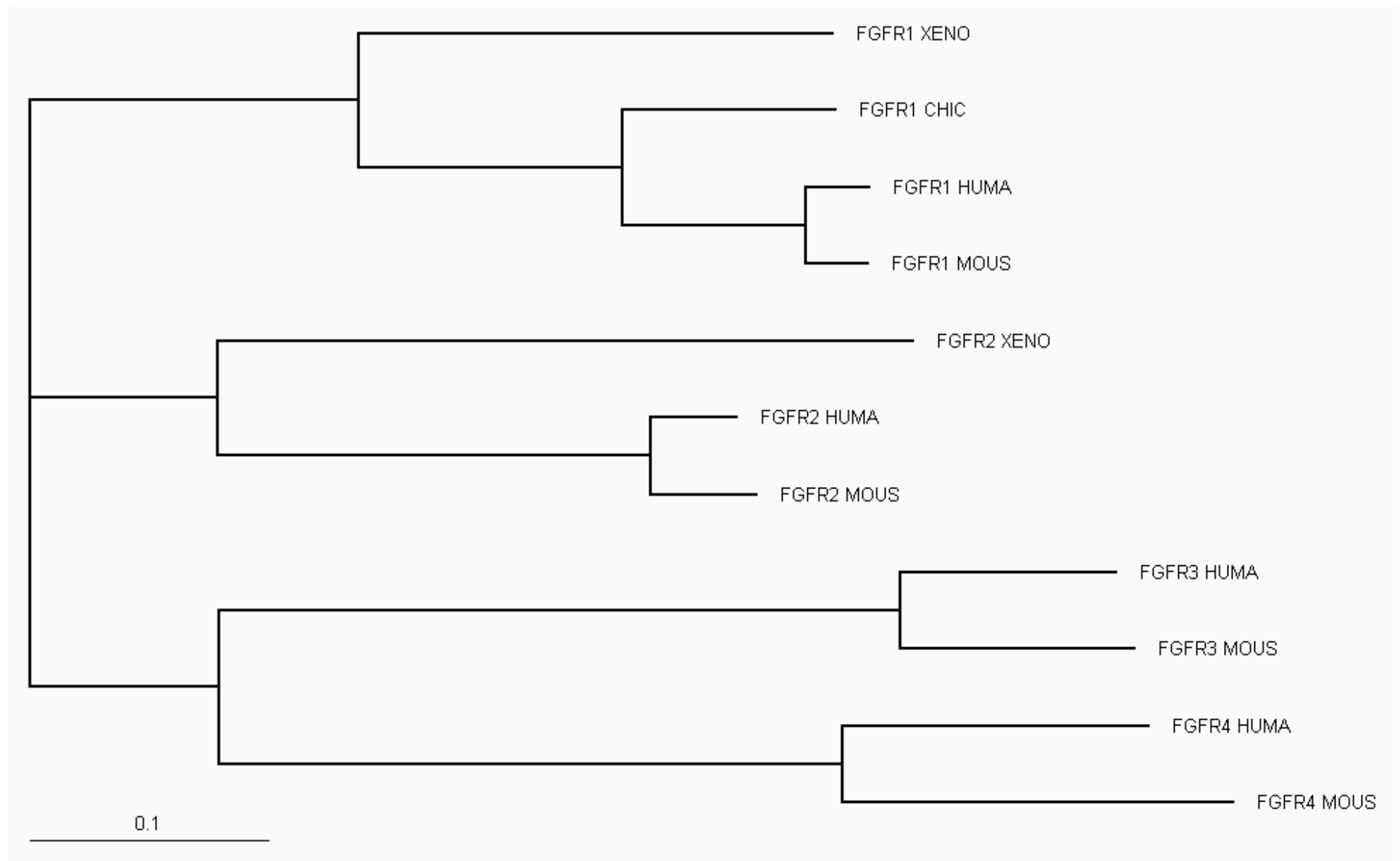
http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000024/lecciones/cap01/01_01_06.htm

Programari utilitzat

- Psi-blast
- Rasmol
- Stamp
- Clustalw
- Hmmer
- Modeller
- DSSP
- Psi-pred

ANNEX

Arbre filogenétique FGFR



Alineament D2 amb HMM

A partir del HMM dels dominis Ig-like de Pfam

} Indica les cadenes beta

```

FGFR1_CHICK      EDQAYAPVSTVPEKMEKKlhavpAKTVKFKCP3--GGTPNPTLRQLKNG
FGFR1_HUMAN      .....PEKMEKKlhavpAKTVKFKCP3--GGTPNPTLRQLKNG
FGFR1_MOUSE      .....PEKMEKKlhavpAKTVKFKCP3--GGTPNPTLRQLKNG
FGFR1_XENOPUS    .....PEKMEKKlhavpAKTVKFKCPA--NGTPPTLRQLKNG
FGFR2_HUMAN      .....APVSTNTSEKMEKKlhavpANTVKFKCPA--GGNPMPTLRQLKNG
FGFR2_MOUSE      .....PVSTNTSEKMEKKlhavpANTVKFKCPA--GGNPTSTRQLKNG
FGFR2_XENOPUS    .....PVSTNTSEKMEKKlhavpANTVKFKCPA--REPHPSNEQLKNG
FGFR3_HUMAN      .....PVSTTPERQDKElhavpANTVRFKCPA--AGNPTPSISQLKNG
FGFR3_MOUSE      .....PVSTTPERQDKElhavpANTVRFKCPA--AGNPTPSISQLKNG
FGFR4_HUMAN      .....PQMEKKlhavpGNTVKFKCPA--AGNPTPTIRQLKDG
FGFR4_MOUSE      .....PQMEKKlhavpGNTVKFKCPAC--RNPMPPTIRQLKDG
MGFR_ELEGANS     ....PVIKNDHIYVLItbhlpGRTLKLNCRAK--GYPEPQIIQYKNG
VEGFR2_COTJA     .....PRITVAPatqptRESMILLCTA--DGMTTENLTQYKLG
#=GC RF          .....XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

FGFR1_CHICK      KFKpDHRIG GSKVRYATWS--.....-IIMDSVVPPS
FGFR1_HUMAN      KFKpDHRIG GSKVRYATWS--.....-IIMDSVVPPS
FGFR1_MOUSE      KFKpDHRIG GSKVRYATWS--.....-IIMDSVVPPS
FGFR1_XENOPUS    RFQqDQRI GSKVRSQTWS--.....-LIMDSVVPPS
FGFR2_HUMAN      KFKqDHRIG GSKVRNQHWS--.....-LIMESVVPPS
FGFR2_MOUSE      KFKqDHRIG GSKVRNQHWS--.....-LIMESVVPPS
FGFR2_XENOPUS    KFKqDHRIG GSKVRNQHWS--.....-LIMESVVPPS
FGFR3_HUMAN      RFBqDHRIG qIKLEHQHWS--.....-LVMESVVPPS
FGFR3_MOUSE      KFBqDHRIG qIKLEHQHWS--.....-LVMESVVPPS
FGFR4_HUMAN      QqFHqDHRIG qIKLEHQHWS--.....-LVMESVVPPS
FGFR4_MOUSE      QqFHqDHRIG qIKLEHQHWS--.....-LVMESVVPPS
MGFR_ELEGANS     KmLNk3-----SABSGGYEFKFn.....m3LEVEDAVVA
VEGFR2_COTJA     3_QA+SVHME ESLTPVKKNLDAlwklgtvifsnstndilIVAFQNASLQ
X.XX.XXXX.XXXXXXXXXX.....XXXXXXXXXX

FGFR1_CHICK      DKGMVTCIVenkyasinhevald
FGFR1_HUMAN      DKGMVTCIVenkyasinhevald
FGFR1_MOUSE      DKGMVTCIVenkyasinhevald
FGFR1_XENOPUS    DKGMVTCIVenkyasinhevald
FGFR2_HUMAN      DKGMVTCIVenkyasinhevbld
FGFR2_MOUSE      DKGMVTCIVenkyasinhevbld
FGFR2_XENOPUS    DKGIYTCIVenkyasinhevbld
FGFR3_HUMAN      DRGMVTCIVenkyasinhevtld
FGFR3_MOUSE      DRGMVTCIVenkyasinhevtld
FGFR4_HUMAN      DRGTVTCIVenkyasinhevvld
FGFR4_MOUSE      DRGTVTCIVenkyasinhevvld
MGFR_ELEGANS     DSGFHCFAlnkyasinhevbvi
VEGFR2_COTJA     DQGMVTCSAqdketdkrbevlka
#=GC RF          XXXXXXXX.....

```

Alineament D3 amb HMM

A partir del HMM dels dominis Ig-like de Pfam

Indica les
cadenes beta

Indica les hèlix
alfa

```

FGFR1_CHICK      .pilqaglpanktvalGSMVEFVCKV--YSDFQPHIQWL...KhievNG
FGFR1_HUMAN      .pilqaglpanktvalGSMVEFMCKV--YSDFQPHIQWL...KhievNG
FGFR1_MOUSE      .pilqaglpanktvalGSMVEFMCKV--YSDFQPHIQWL...KhievNG
FGFR1_XENOPUS    .pilqaglpantstvvtvGTTAEF3CKV--YSDFQPHIQWL...R...HI
FGFR2_HUMAN      .pilqaglpantstvvgGDVEFVCKV--YSDAQPHIQWikhveK...NG
FGFR2_MOUSE      .pilqaglpantstvvgGDVEFVCKV--YSDAQPHIQWikhveK...NG
FGFR2_XENOPUS    .pilqaglpanttavvgGDAEFVCKV--YSDAQPHIRWV...R...YI
FGFR3_HUMAN      .pilqaglpangtavlgSDVEFHCKV--YSDAQPHIQWL...KhvevNG
FGFR3_MOUSE      .pilqaglpangtailgSDVEFHCKV--YSDAQPHIQWL...KhvevNG
FGFR4_HUMAN      .pilqaglpanttavvgSDVELLCKV--YSDAQPHIQWL...K...HI
FGFR4_MOUSE      .pilqaglpanttavvgSDVELLCKV--YSDAQPHIQWL...K...HV
MGFR_ELEGANS      ppiivpnailangsvniNDTATFHCKV--VSDLLPHIIRWV...R...IN
VEGFR2_COTJA     ..pmitgnlengtttiGETIEVUCPT--SGMPTPLITWF...K...DN
#=GC RF          .....XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX...X...XX

```

```

FGFR1_CHICK      3kIGpDNLPLYVQ ILKT AGUNTT dk.....emeVLHLRNVS FED
FGFR1_HUMAN      3kIGpDNLPLYVQ ILKT AGUNTT dk.....emeVLHLRNVS FED
FGFR1_MOUSE      3kIGpDNLPLYVQ ILKT AGUNTT dk.....emeVLHLRNVS FED
FGFR1_XENOPUS    E iNgSRVASDGFPYVE ILKT AGvnt s.....dkdmeVLHLRNVT FED
FGFR2_HUMAN      3kYGpDGLPYLKVLKAAGUNTT dk.....eieVL YIRNVT FED
FGFR2_MOUSE      3kNGpDGLPYLKVLKAAGUNTT dk.....eieVL YIRNVT FED
FGFR2_XENOPUS    EkNGSRFGVDGLPYFKVLKAAGvnt.....deeieVL YURNVS FED
FGFR3_HUMAN      3kVGpDGTPYOTVLKT AGANTT dk.....eleVL SLHNVT FED
FGFR3_MOUSE      3kVGpDGTPYOTVLKT AGANTT dk.....eleVL SLHNVT FED
FGFR4_HUMAN      ViNgSRFGADGFPYQVLKT ADins.....seveVL YLRNVS AED
FGFR4_MOUSE      ViNgSRFGADGFPYQVLKTTD ini.....sevgVL YLRNVS AED
MGFR_ELEGANS     K. iNgSYSYNMS AEEYMFNYT emdtfdk ahvhvgdes TLT IFNVSLDD
VEGFR2_COTJA     EtLVeDSGIVLKDGMRN----- -LT IRRURKED
#=GC RF          x.xx.xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx.....xxxxxxxxxxxxx

```

```

FGFR1_CHICK      AGEYTCLAGnsgishhsawlt
FGFR1_HUMAN      AGEYTCLAGnsgishhsawlt
FGFR1_MOUSE      AGEYTCLAGnsgishhsawlt
FGFR1_XENOPUS    AGQYTCLAGnsgishhsawlt
FGFR2_HUMAN      AGEYTCLAGnsgisfhsawlt
FGFR2_MOUSE      AGEYTCLAGnsgisfhsawlt
FGFR2_XENOPUS    AGEYTCIAGnsgisqhsawlt
FGFR3_HUMAN      AGEYTCLAGnsgifshhsawl
FGFR3_MOUSE      AGEYTCLAGnsgifshhsawl
FGFR4_HUMAN      AGEYTCLAGnsglsyqsawlt
FGFR4_MOUSE      AGEYTCLAGnsglsyqsawlt
MGFR_ELEGANS     QGIYACLSgnslgmsmanatlt
VEGFR2_COTJA     GGLYTCQAGcnvlgcaraetlfi
#=GC RF          xxxxxxxxxx

```

Preguntes d'elecció múltiple

Dins de quina classe de proteïnes pertanyen els factors de creixement?

- a) Small proteins
- b) All alpha proteins
- c) Les dues anteriors
- d) All beta proteins
- e) Totes les anteriors**

La resposta correcta és la e.

Els factors de creixement fibroblàstic (FGF's) es caracteritzen per ser de la classe:

- a) Tot alfa
- b) Tot beta**
- c) Alfa/beta
- d) Alfa + beta
- e) Cap de les anteriors

La resposta correcta és la **b**

Assenyala la resposta correcta respecte a la unió entre els FGFs i els FGFRs:

- a) La unió del FGF amb el domini D2 del receptor es fa bàsicament gràcies a interaccions hidrofòbiques.
- b) La unió del FGF amb el domini D3 del receptor es fa bàsicament gràcies a ponts d'hidrògen.
- c) Un dels residus implicats en aquests ponts d'hidrògen és la asparagina 104 conservada a tots els membres de la família dels FGFs.
- d) Una de les principals causes de que els homòlegs de FGF no puguin unir-se als FGFRs és l'absència d'aquesta asparagina 104
- e) Totes les anteriors són correctes.**

La resposta correcta seria la e.

Assenyala la resposta correcta:

- a) La interacció entre 2 complexos binaris (FGF + recpt) per tal de que és dongui la senyalització intracel·lular és mitjançant els dominis D3 del receptor.
- b) La interacció entre el domini D3 del receptor i FGF és mitjançant forces hidrofòbiques.
- c) Els ponts d'hidrogen no juguen cap paper en la interacció del domini D2 (recept) i FGF.
- d) Els dos receptors interaccionen per la presència de forces electrostàtiques.(Àcid - base)**
- e) Els dos receptors interaccionen per la formació d'enllaços covalents entres ells.

La resposta correcta seria la d.

Assenyala la resposta correcta respecte a la regió del linker entre D2 i D3 dels FGFR:

- a) En tots hi ha una arginina conservada.
- b) Aquesta arginina és fonamental per mantenir l'estructura ja que fa ponts d'hidrogen amb l'FGF i el domini D3 del receptor.
- c) Les dues anteriors son correctes**
- d) El linker entre D2 i D3 No és important per l'estructura del receptor i per això no conté cap residu conservat entre els diferents FGFRs
- e) Totes les anteriors són correctes.

La resposta correcta seria la c.

Assenyala la resposta correcta respecte dels ponts d'hidrogen:

- a) Són una de les interaccions que pot establir-se entre aminoàcids d'una mateixa cadena.
- b) Són una de les interaccions que pot establir-se entre aminoàcids de diferents cadenes
- c) Les dues anteriors són certes
- d) Poden establir-se entre residus situats a més de 4 Amstrongs quan estan mediats per aigua
- e) Totes les anteriors són correctes**

La resposta correcta seria la e.

Respecte les conformacions –cis i –trans del FGFR assenyala quina és la resposta correcta

- a) En la forma –cis la interacció entre el loop $\beta C'$ - $\beta E'$ i l'FGF és essencial per l'activació del receptor
- b) En la forma –trans diverses mutacions que afecten al loop $\beta C'$ - $\beta E'$ estan correlacionades amb un increment de l'activitat del receptor unit al lligand FGF10
- c) La forma –trans és la forma fisiològicament activa
- d) Les dues anteriors són certes**
- e) Cap de les anteriors és certa

La resposta correcta és la d.

Assenyala la resposta correcta:

- a) La prolina 253 defineix dues conformacions distintes del FGFR segons estigui en –cis o –trans
- b) La mutació S252W a la regió del linker incrementa l'activitat del receptor al induir una transició de la forma –trans a –cis
- c) Les dues anterior són certes
- d) La mutació S252W a la regió del linker incrementa l'activitat del receptor al reforçar la unió lligand – receptor en la forma –trans
- e) Les respostes a i d són certes**

La resposta correcta és la e.

Indica la opció correcta, sobre el domini transmembrana dels receptors tirosina quinasa.

- a) Es pot predir la seva localització utilitzant un model de markov ocult.
- b) Es poden predir per les seves característiques hidrofòbiques.
- c) Estan formats per una única hèlix.
- d) a i b són certes.
- e) Totes són certes.**

La opció e és la correcta.

Assenyala l'afirmació falsa:

a) El plegament dels dominis extracel·lulars del receptor FGF són del tipus immunoglobulina.

b) La regió extracel·lular dels FGFR conté 4 dominis; D1, D2, D3, D4.

c) En el model simètric de dimerització dels FGFR, 2 oligosacàrids d'heparina es disposen a l'anomenat canó bàsic de forma polaritzada.

d) En el model simètric l'heparina ajuda a promoure la dimerització estable.

e) El patró de sulfatació de l'heparina és crític per promoure la dimerització, són especialment importants els 6-O-sulfats.

La opció correcta és la b.

Preguntes d'assaig

Cita i comenta algunes característiques dels diversos dominis dels Receptors de FGF (fibroblast growth factors).

En la part extracel·lular el receptor consta de 3 dominis Immunoglobulin-like, anomenats D1, D2 i D3. Aquests dominis s'encarreguen de la unió del FGF al receptor, concretament a partir dels dominis D2 i D3 i del loop que uneix el D2 i el D3, anomenat D2-D3 linker. Aquests dominis també s'encarreguen de la interacció de dos Receptors de FGF en el procés de dimerització, concretament a partir dels dominis D2.

El domini transmembrana, està format per una única hèlix transmembrana. Aquesta hèlix es caracteritza per tenir les cadenes laterals dels residus hidròfobics orientades cap a fora de l'hèlix, ja que es troba en un medi hidròfob com és la membrana.

En la part intracel·lular el receptor conté un domini tirosina quinasa. Aquest domini es troba molt conservat entre tots els receptors de factors de creixement. S'encarrega de transmetre el senyal a l'interior de la cèl·lula. Aquest domini s'activa amb la fosforil·lació de certes tirosines específiques, això té lloc després de la dimerització, ja que l'altre receptor és l'encarregat d'aquestes fosforil·lacions, creant-se així llocs d'unió per proteïnes amb funcions de transmissió del senyal. També a partir de la seva activitat quinasa fosforila tirosines de l'altre receptor.

Descripció de les interaccions més importants del model de dimerització simètric dels receptors de FGF.

En primer lloc, les interaccions que es donen entre FGF i el corresponent receptor és poden analitzar a grans trets en tres interfases bàsiques:

- Interfase FGF i domini 2 (D2) del FGFR:

Bàsicament es donen interaccions hidrofòbiques. Els residus de D2 que permeten aquest tipus d'interacció amb la superfície hidrofòbica dels FGF estan molt conservats.

També conté un reduït nombre de ponts d'hidrogen que són crítics per fixar l'orientació de D2 en relació a FGF.

- Interfase FGF i linker:

Mediada per tres ponts d'hidrogen invariables.

- Interfase FGF i domini 3 (D3) del FGFR:

Bàsicament hi tenen lloc ponts d'hidrogen mediat per aigua.

Aquesta interfase juga el paper més important en conferir afinitat i especificitat en l'unió dels FGF.

(Continuació de la segona pregunta d'assaig)

Com a detalls a destacar; el loop $\beta C'$ - βE del FGFR és molt flexible i la seva conformació vindrà determinada pels contactes específics que és donin amb el FGF que s'hi uneixi; mentre que el loop $\beta B'$ - βC s'inserta de manera “lock and key” en una cavitat de la base de l'estructura barril β del FGF unit.

En segon lloc, els contactes que es donen en l'estructura dimeritzada són, per una banda, entre els receptors a través dels dominis D2, i per l'altra, contactes secundaris dels FGFs amb el receptor adjacent.

L'últim aspecte a tenir en compte en les interaccions que es donen en el model simètric és el paper de l'heparina. En aquest model, dos oligosacàrids d'heparina es disposen de forma polaritzada en l'anomenat canó bàsic. El canó bàsic el formen els Heparin Binding Sites (HBS) dels D2 dels receptors i els HBS dels FGF, és ric en lysines i arginines i això li confereix un potencial electrostàtic molt positiu ideal per la unió de l'heparina mitjançant un elevat nombre de ponts d'hidrogen i caracteritzada per un patró de sulfats crític per la dimerització. D'aquesta manera l'heparina juga un paper determinant en la formació i estabilització d'aquest gran complex.