

# Biologie Cellulaire

On en était restés aux **protéines G** et au système d'activation grâce au second messager **AMP cyclique (= AMPc)**, qui a pour cible la **protéine kinase A = PKA**.

La protéine kinase a une multitude d'effets intracellulaires, essentiellement d'activation (par phosphorylation), sur des systèmes enzymatiques surtout. Cela active des phosphorylations cytosoliques, ou bien des phosphorylations qui sont impliquées dans la lecture du signal génétique, dans le noyau.

## I. Autres systèmes de transduction du signal par l'intermédiaire de récepteurs à protéines G trimériques :

On a la protéine *G<sub>s</sub>* (s comme «stimulante») qui active l'adénylate cyclase (crée l'AMPc), la protéine *G<sub>i</sub>* (i comme «inhibitrice») qui inhibe l'adénylate cyclase, et on va aborder la protéine *G<sub>t</sub>*.

### 1. Récepteurs à protéines G<sub>t</sub> :

Système dans lequel la sous-unité «**αt**» de **G<sub>t</sub>** active un système enzymatique qui est la **GMPc phosphodiesterase**. On le retrouve dans les cellules à bâtonnets de la rétine.

Qu'est ce que le GMP cyclique ? Cela ressemble à l'AMPc, excepté qu'au lieu d'être issu de l'ATP, il est issu du GTP. Au lieu d'être de l'adénosine, c'est de la guanosine.

Ce système fonctionne de la même façon, avec une enzyme activatrice : la **guanilate cyclase** (transforme le GTP en GMPc) et une enzyme de destruction / inhibitrice : la **GMPc phosphodiesterase** (qui détruit / transforme ce GMPc en GMP). Ces 2 enzymes ont chacune un système d'activation et d'inactivation :

- La **guanilate cyclase** (qui augmente la [GMPc]) est activée par un signal = la **recoverine** (calcium dépendante, plus il y a de Ca dans la cellule, plus la guanilate cyclase est activée).
- La **GMPc phosphodiesterase** a un système activateur qui dépend d'un récepteur couplé à la protéine G<sub>t</sub>, dont la sous-unité αt est photon-dépendante (l'enzyme sera en fait activée par la lumière). Ce récepteur est tout à fait particulier puisqu'au lieu d'avoir une activation due à des molécules chimiques, on a une activation par la lumière = des photons.

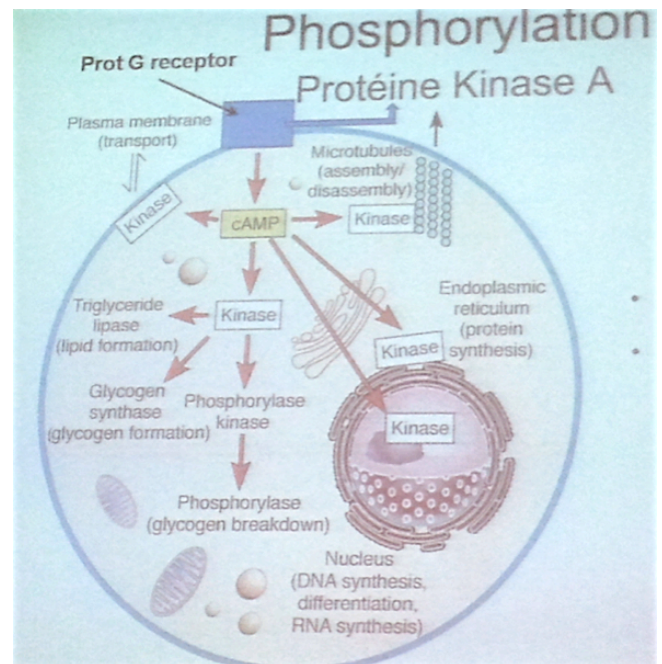
Le GMPc active des canaux ioniques, et donc modifie la polarisation de la cellule. Il va permettre la traduction/le déclenchement d'un signal nerveux, c'est-à-dire d'un signal électrique. En fonction de la quantité de GMPc dans le milieu on aura des canaux ouverts ou fermés, et donc différents états de polarisation de la membrane. Un signal pourra être envoyé depuis la rétine vers le cerveau.

Chaîne d'événements :

- Le photon frappe son récepteur,
- Modification chimiques dans la cellule à bâtonnets de la rétine,
- Ouverture ou fermeture de canaux ioniques selon l'état d'activation,
- Envoi de signaux de la rétine au cerveau. Renseignements sur la luminosité.

Comment fonctionne la cellule à bâtonnets de la rétine ?

Cellule à forme un peu particulière, avec un noyau ; c'est une cellule nerveuse, elle a donc un prolongement : l'axone qui va de la terminaison synaptique au noyau. Puis on a la partie capteur, faite de 2 segments : le premier est un «empilement» de disques faits de membranes photoréceptrices, et le deuxième a beaucoup de mitochondries (il faut beaucoup d'énergie), d'organites = la machinerie.



Que se passe-t-il à l'échelle moléculaire ?

La membrane est trouée de canaux ioniques GMPc-dépendants ouverts ou fermés, qui laissent passer des ions (charges électriques) qui changent la polarité de la cellule : création de ddp et donc de courants électriques.

Sur les disques (constitués de membranes photoréceptrices) on a des récepteurs couplés à des protéines Gt, qu'on appelle «**rhodopsine**» ou «**opsine**» (représentés par les points noirs sur les ovales) qui sont sensibles à la lumière.

La cellule existe sous 2 états : nuit/soleil. La nuit, les canaux ioniques sont ouverts : il y a polarisation de la membrane, qui se traduit par une sécrétion de neurotransmetteurs. (Il y a écrit dépolarisée sur la diapo, c'est une erreur. Même si normalement il faut une dépolarisation pour avoir un influx électrique, ici par rapport à l'hyperpolarisation, une simple polarisation suffit.)

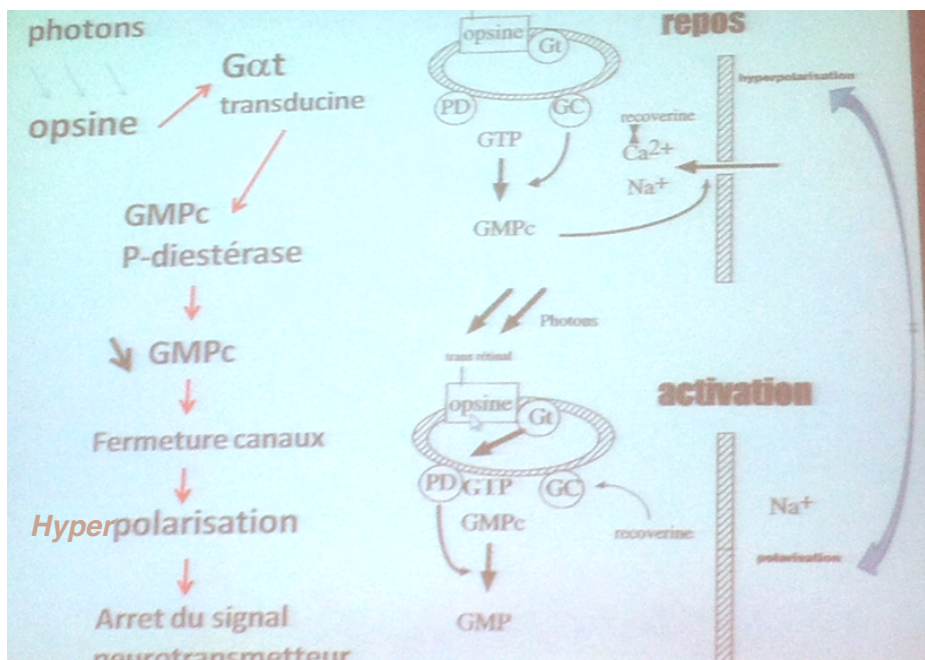
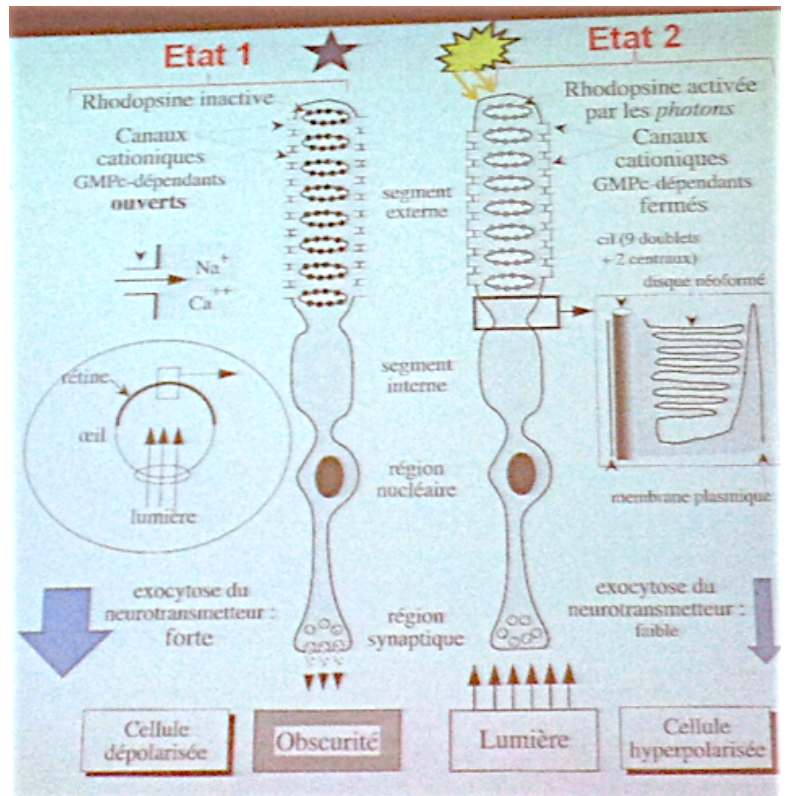
Le jour, la rhodopsine est activée par les photons, les canaux ioniques sont donc fermés (car la concentration en GMPc baisse, et ils sont GMPc-dep) ; la cellule est hyperpolarisée donc inactive. Donc pas de sécrétion dans la région synaptique, pas de signal. C'est comme un système on/off : lumière = off, obscurité = on.

Opsine = rhodopsine = récepteur à photons. C'est le récepteur couplé à la protéine Gt, qui active la phosphodiesterase (qui fait baisser [GMPc]).

Quand il n'y a pas de photons, la phosphodiesterase n'est pas activée, on ne détruit plus de GMPc. La guanylate cyclase est activée par la recoverine ([Ca<sup>2+</sup>]-dep, la [Ca<sup>2+</sup>] étant elle-même dépendante de l'ouverture et de la fermeture de canaux GMPc-dep), et produit du GMPc.

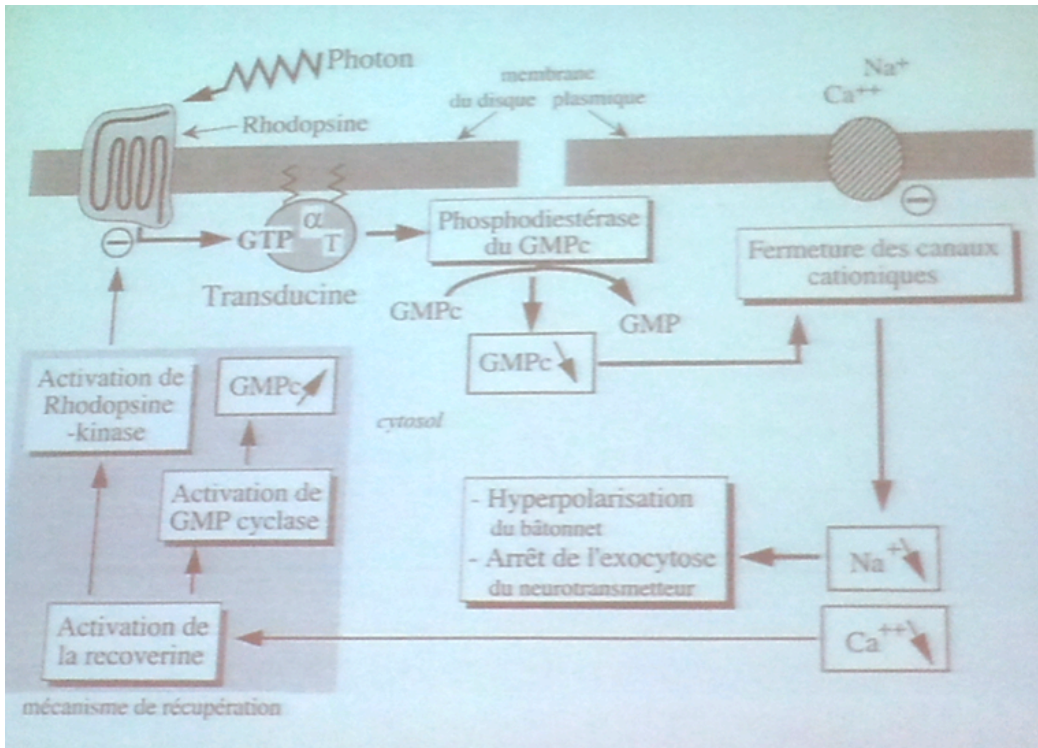
Si il y a du GMPc (parce qu'il n'est plus détruit par la phosphodiesterase, vu que l'opsine ne capte pas de photons), le canal Ca<sup>2+</sup>/Na<sup>+</sup> s'ouvre : conséquences :

- Entrée d'ions Ca, et donc activation de la **recoverine**. La recoverine active la guanylate cyclase, qui va produire encore plus de GMPc, et encore plus de canaux s'ouvrent.
- Entrée d'ions Na : changement de la polarité de la membrane : signal électrique.



L'opsine a une partie extérieure, qui sera sensible aux photons, et une partie intérieure avec la protéine G couplée. Le système de messageur secondaire est celui de fabrication/destruction du GMPc.

Transduction du signal par le photon : système d'amplification important : un seul photon va activer plusieurs récepteurs de type couplé aux protéines G = rhodopsine. Le GMPc est le second messageur. Il inhibe ou active la cellule en contrôlant l'ouverture/fermeture des canaux ioniques (par sa concentration).



*NDLR : bon encore une diapo qui contredit le prof (là où soit-disant la baisse de Ca active la recoverine, je pense qu'on doit s'en tenir à ce qu'il a dit... :s).*

## 2. Récepteurs à protéine Gq :

Le récepteur à protéine **Gq** a une sous-unité «**αq**» ; sa cible est la *phospholipase Cβ*. C'est une enzyme qui est dans la membrane ; elle est activée par la protéine Gq via une cascade qui implique les **protéines kinases C**, et l'**IP3** (= messageur intra-cellulaire).

*Quels sont les récepteurs à protéine Gq ?*

Les récepteurs de l'**acétylcholine** (pancréas exocrine, muscle lisse...), les récepteurs de la **vasopressine** (enzyme du foie), les récepteurs de **certaines antigènes** (les Ag activent les mastocytes = éléments dérivés du sang, importants dans les mécanismes de réaction allergiques puisqu'ils sécrètent de l'histamine), et les récepteurs de la **thrombine** (qui induit l'agrégation des plaquettes sanguines = formation d'un thrombus) sont tous des récepteurs à protéine Gq.

Ces récepteurs font appel à l'environnement lipidique (ils sont inclus dans la membrane plasmique).

Rappel : membrane = bicouche lipidique.

Le récepteur est une protéine qui va «nager» dans cette membrane lipidique, il la traverse : il est constitué d'éléments lipidiques (en gros c'est une protéine transmembranaire avec la partie intra-membranaire hydrophobe X).

Les structures lipidiques de la membrane peuvent changer d'état (dégradation, fabrication,... ils peuvent être affectés par des kinases, par exemple).

Une **kinase** va transformer les **phosphatidyl inositol** (composant structural de la membrane) en **phosphatidyl inositol 4,5 biphosphate = PIP 2**. («C'est donc une réaction chimique/enzymatique qui se produit dans la membrane plasmique.»)

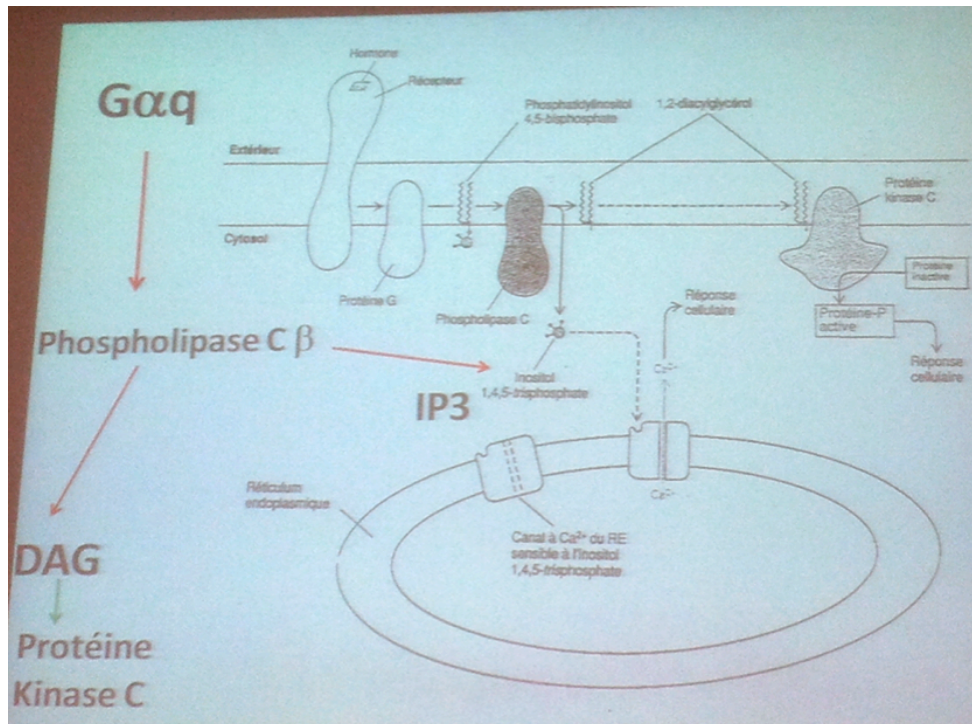
Ce PIP2 est capable de donner 2 composants chimiques (en étant coupé en 2) :

- la **DAG** = 1,2 diacylglycérol,
- et l'**inositol 1,4,5 triphosphate = IP3**.

Cette scission de PIP<sub>2</sub>, donnant DAG et IP<sub>3</sub>, se fait par l'intermédiaire d'une enzyme = la *phospholipase Cβ*, qui est une enzyme membranaire.

On se situe dans un environnement lipidique, avec des éléments capables de créer du PIP<sub>2</sub> ; la sous-unité αq du récepteur à protéine Gq va activer la *phospholipase Cβ*, qui peut couper en 2 le PIP<sub>2</sub>. Quand le récepteur est activé, la *phospholipase Cβ* sera activée.

Le DAG reste accroché à la membrane, et l'IP<sub>3</sub> est largué dans le cytosol. C'est donc un signal (hydrophile : il peut aller dans le cytosol) qui peut diffuser à distance du récepteur, pour transmettre l'information dans la cellule. Le DAG peut aussi migrer sur la membrane pour relayer le message. Ici l'IP<sub>3</sub> est un second messager.



On va voir quel est le devenir de ces signaux secondaires :

**IP<sub>3</sub>** = produit de dégradation de PIP<sub>2</sub> : il active des récepteurs se trouvant sur le réticulum endoplasmique, qui sont des récepteurs-canaux ioniques Ca. On sait déjà que le RE est, entre autre, un lieu de stockage de Ca (mais il est aussi et surtout impliqué dans la lecture des ARN et la synthèse des protéines). Donc l'IP<sub>3</sub> active l'ouverture de ces canaux, et le Ca est libéré dans la cellule.

Donc les systèmes d'activation par des récepteurs à protéine Gq sont en fait des systèmes d'activation via l'augmentation de la concentration calcique [Ca]. C'est le Ca qui va être le véritable messager intracellulaire actif, il va agir sur énormément d'enzymes qui sont Ca-dépendantes.

**DAG** = 1,2 diacylglycérol : il va aller au contact d'une enzyme intra-membranaire, qui est la **protéine kinase C** (on a déjà vu la protéine kinase A, c'est une protéine soluble qui active des éléments par phosphorylation). Ici la PKC est une enzyme phosphorylante membranaire : elle n'a pas les mêmes mécanismes d'action ni les mêmes cibles.

Elle existe sous 2 états : actif/inactif, selon l'activation par le DAG. Elle a une structure avec 2 sous-unités : une s-u dite «régulatrice», et une s-u dite «catalytique».

A l'état de repos : les 2 s-u (R et C) sont reliées par un pseudo-substrat = molécule qui reconnaît le site de fixation sur lequel va se fixer le substrat d'activation de la PKC (et qui empêche donc le vrai substrat de se fixer).

A l'état actif : si le véritable substrat arrive, le pseudo-substrat se sépare des 2 sous-unités, ce qui libère l'accessibilité au site de fixation du vrai substrat → activation. Ce mécanisme est donc régulé par la *phospholipase Cβ* (indirectement), et par la présence ou non du substrat.

Il y a 2 grandes cibles de la PKC :

- L'activation des cascades de phosphorylation par les **MAP kinases** (surtout impliquées dans des mécanismes de transcription),
- Le système **NFκB**, qui est aussi un régulateur de la transcription, c'est un récepteur intra-cellulaire = protéine régulatrice, qui est activée par phosphorylation par la PKC.

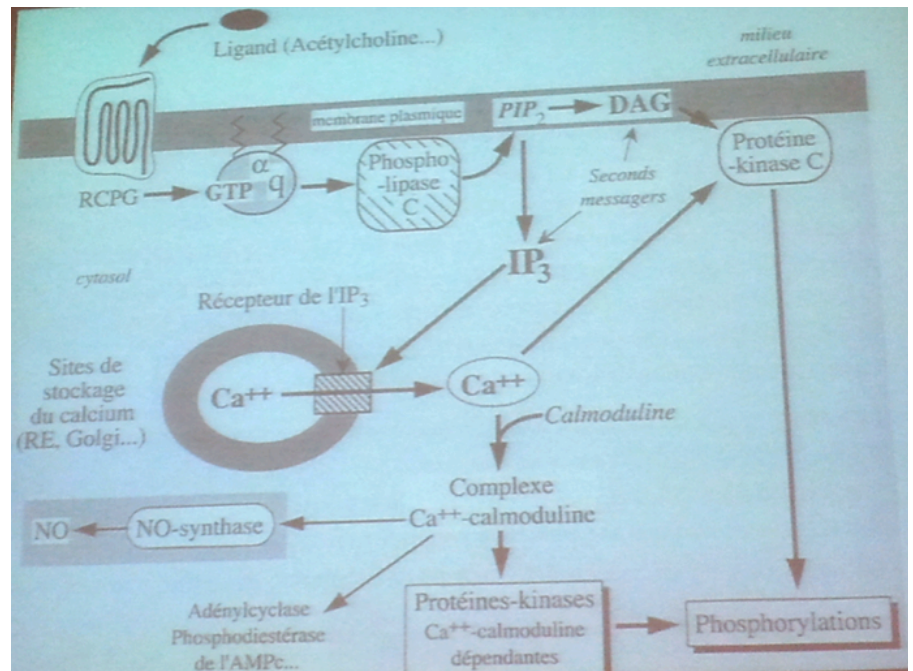
La phospholipase C existe sous différents types (car un même gène ne donne pas forcément exactement la même protéine selon la cellule dans lequel il s'exprime) = isoformes : on va étudier plus tard l'isoforme  $\gamma$  → phospholipase  $C\gamma$ . Elle est activée par des récepteurs tyrosine kinase (RTK).  
 Il y a toujours des interrelations entre l'environnement et les cellules, qui modulent les réponses des tissus.

## II. Le système Ca-Calmoduline :

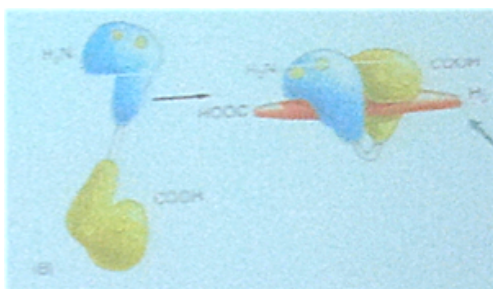
On revient à l'IP<sub>3</sub> pour introduire le système **calmoduline** : le Ca (libéré du RE par la fixation de l'IP<sub>3</sub> à des récepteurs spécifiques) n'agit pas tout seul, mais généralement par l'intermédiaire d'un complexe Ca-Calmoduline.

La calmoduline est une protéine qui a **4 sites de fixation au Ca**. Elle va se lier à d'autres protéines pour les activer. Ex : activation de protéines kinases, de la NO-synthase (pour créer des signaux gazeux : monoxyde d'azote).

La calmoduline lie 4 ions calcium, ce qui induit un changement de conformation. C'est une molécule étirée de 2 nm de longueur, mais quand elle est saturée elle se replie sur elle-même, en se recroquevillant sur une autre protéine qu'elle veut activer : ex : une kinase  $Ca^{2+}$ -CAM dépendante. CAM étant la calmoduline. On les appelle en fait des CAM-kinases. Elles seront activées par la calmoduline et transmettront des message à l'intérieur de la cellule.



Il y a 4 étapes à l'activation de la CAM-kinase 2 :



**Notion d'auto-activation** : la cellule a une mémoire, il suffit qu'une molécule ait rencontré une autre molécule pour qu'elle en garde mémoire, bien qu'elle ne soit pas forcément encore en contact avec. Cette molécule sera donc encore en état d'activation après la fin du contact molécule/molécule.

1. Le complexe Ca/CAM active le domaine catalytique de notre protéine CAM-kinase 2. Donc la protéine acquiert un «premier degré» d'activation.
2. Le deuxième degré d'activation de cette protéine se fait quand son domaine catalytique phosphoryle le domaine inhibiteur → activation maximum.
3. Lorsque  $[Ca^{2+}]$  baisse, CAM libère le Ca et se dissocie de la CAM-kinase 2 → baisse de l'activité de la CAM-kinase 2 (la CAM libre recommence un nouveau cycle), mais elle est toujours active car elle est toujours phosphorylée (auto-activation).
4. Inactivation par PPase (déphosphorylation).

On est donc dans des systèmes de cascades d'activations/inactivations, régulées à chaque étapes, ce qui permet la finesse d'adaptation de la réponse cellulaire.

On parle de coopération entre l'activation d'IP<sub>3</sub> et de la DAG membranaire. Le Ca est un activateur de la protéine kinase C. Le système marche en boucle. In fine on agit sur des mécanismes de phosphorylation, qui sont à la fois dépendants d'enzymes = kinases et des concentrations calciques environnantes.

### III. Autres phospholipases et RCPG :

#### 1. Autres phospholipases :

Il existe d'autres phospholipases : A1, A2, C, D... Le terme *phospholipase* désigne une famille dont les molécules, selon leur composition chimique, auront différentes propriétés.

La phospholipase A2 est intéressante :

Elle est à l'origine de la fabrication d'autres lipides, comme **l'acide arachidonique** ou les **prostaglandines** (qui sont des molécules signal de proximité : ex : les canaux à protons H<sup>+</sup> de l'estomac sont modulés par les prostaglandines).

Métabolites de l'acide arachidonique : les écosanoïdes :

Acide arachidonique → Cyclooxygénases → prostaglandines, prostacycline, thromboxanes

Acide arachidonique → Lipoxygénases → leucotriènes.

Tous ces métabolites sont des **molécules signal**. Leurs actions varient :

- Prostaglandines = PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> : contraction du muscle lisse (ex : artères, myomètre) + réponse inflammatoire ;
- Prostacycline = PGI<sub>2</sub> : impliquée dans les mécanismes de relaxation des muscles lisses (ex : artères, myomètre) ;
- Thromboxanes = TXA<sub>2</sub> : coagulation du sang par agrégation plaquettaire ;
- Leucotriènes : réaction inflammatoire + contraction du muscle lisse : bronches, ...

#### 2. Les PAR :

Type particulier de RCPG : les récepteurs activés par les protéases = PAR.

C'est un RCPG dont l'activation fonctionne ainsi : la thrombine (impliquée par ex dans les mécanismes de coagulation) va **cliver un peptide en N-term.** du récepteur et ainsi démasquer la séquence ligand endogène (elle était auparavant dissimulée par ce peptide), ce qui active le récepteur. Le récepteur est au repos quand cette zone d'AA est cachée, et quand elle est découverte, c'est un domaine d'auto-activation.

Ce n'est donc pas un récepteur au sens propre du thème, il n'y a pas de zone qui va fixer la thrombine, elle va juste couper un bout du récepteur à un endroit particulier : elle agit comme une enzyme protéolytique (d'où le nom protease-activated).

### IV. Les sous-types de récepteurs à protéine G :

Des récepteurs différents peuvent être reconnus par le(s) même(s) ligand(s) naturel(s) : à un ligand donné peut correspondre des réponses biologiques multiples.

- Même famille:

RCPG : (nor)adrénaline, angiotensine II, sérotonine, histamine, adénosine, dopamine...

RTK : sensibles à différents facteurs de croissance comme VEGF, NGF...

Canaux : glutamate (NMDA, AMPA, kainate).

- Familles différentes : récepteurs canaux ioniques +++

Acétylcholine: récepteur nicotinique (canal Na<sup>+</sup>) et récepteur muscarinique (RCPG).

Glutamate: ionotropes (récepteurs canaux ioniques comme NMDA, AMPA, kainate) et métabotropes (RCPG)

Sérotonine. RCPG et récepteurs canaux ioniques différents.

#### **Les sous-types de récepteurs: exemple des récepteurs adrénérgiques**

A l'intérieur d'une même famille de récepteurs il peut y avoir des variétés :

Exemple: les récepteurs adrénérgiques:

- Affinité identique pour l'adrénaline et la noradrénaline.

- Classification en  $\alpha$  et  $\beta$  basée sur les différences d'affinité pour des analogues synthétiques de l'adrénaline :

$\alpha$  : *phentolamine* > adrénaline = noradrénaline > isoproterenol = propranolol ( $\beta$ -bloquant)

$\beta$  : *isoproterenol* = *propranolol* > adrénaline = noradrénaline > phentolamine.

Ils ont aussi des effets biologiques différents :

$\alpha$ : *vasoconstricteur*,  $\beta$ : *vasodilatateur*

- Sous-classification des  $\alpha$  et  $\beta$  basée sur les différences d'affinité pour d'autres analogues synthétiques ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  et  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ , en fonction du type de protéines G avec lesquelles ils sont couplés, et donc avec lesquelles ils ont le plus d'affinité)

Signification fonctionnelle:

$\alpha 1$  agit avec *Gq* (système IP3...) → vasoconstricteur périphérique.

$\alpha 2$  : *Gi* (inhibiteur de l'AC adénylate cyclase), vasodilatateur central.

$\beta 1$  : *Gs* (stimulateur de l'AC), cœur → effet chronotrope + (augmentation de la fréquence cardiaque) et inotrope + (augmentation de la contractilité myocardique).

$\beta 2$  : *Gs*, artères, bronches, utérus → effet myorelaxant.

$\beta 3$  : *Gs*, adipocytes bruns → lipolyse, thermogénèse.

→ Multiples réponses en fonction des récepteurs qui fonctionnent toujours sur le même principe (RCPG) mais qui ont des fonctions différentes selon de type de sous-unité ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) et la cible (le tissu)

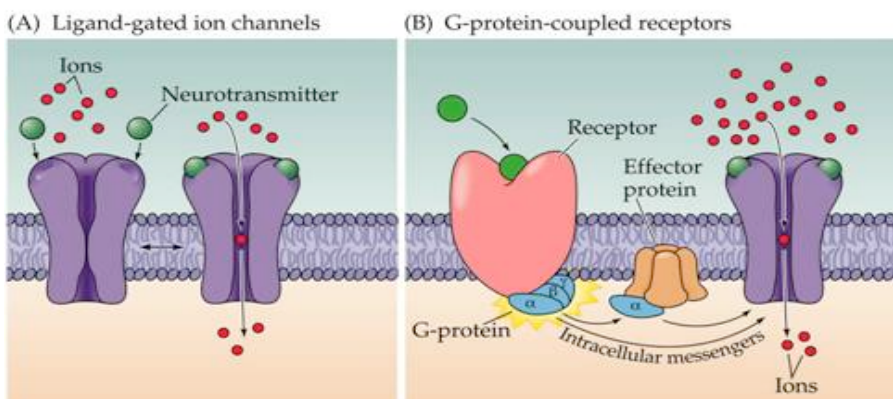
Implications thérapeutiques:

Les  $\beta$ -bloquants sont utilisés comme antihypertenseurs.

Inconvénients : ils bloquent les effets ino- et chronotropes de l'adrénaline (+) mais aussi les effets vaso- et bronchodilatateurs (-) => contre-indiqué chez les asthmatiques.

Avantage des  $\beta 1$ -bloquants sélectifs : ils n'agissent qu'au niveau cardiaque SAUF à trop fortes doses → perte de sélectivité car ils se lient alors aussi aux récepteurs  $\beta 2$  !

## V. Les récepteurs canaux ioniques

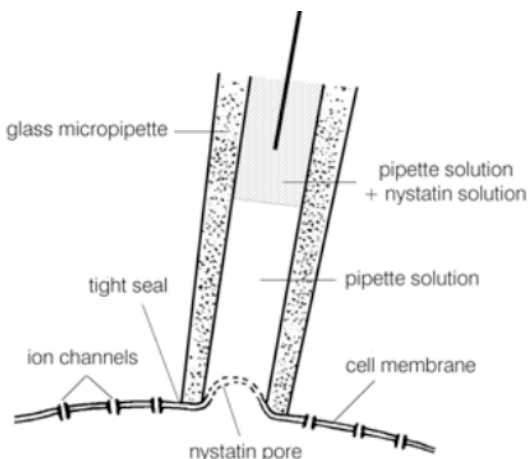


Un canal ionique est un «pore aqueux» dans la membrane plasmique permettant le déplacement **passif** des ions (les ions se déplacent selon un gradient de concentration: du plus au moins concentré), il peut être ouvert ou fermé.

On distingue 2 types de canaux :

-*ionotropiques* : liés seulement au ligand! (messager chimique ou neurotransmetteur)

-*métabotropiques* : couplés à des RCPG



Etude des canaux ioniques et de la perméabilité membranaire grâce au *PATCH CLAMP*: on peut mesurer le courant établi par la fermeture/ouverture de canaux membranaires.

Une micro pipette permet de sélectionner 1 canal, et de mesurer la ddp.

**Récepteur canal ionique : 4 types :**

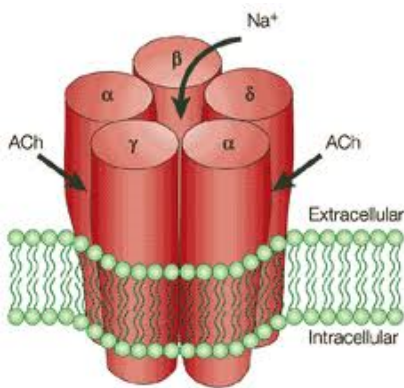
	<b>Ionotropique</b>	<b>Métabotropique</b>
Acétylcholine (ACh)	Nicotinique (muscle squelettique)	Muscarinique (muscle cardiaque)
Glutamate	NMDA, AMDA, kainate	mGluR
GABA	GABA A	GABA B
Autres	Sérotonine	Adrénaline (β-adr)

**Récepteurs cholinergiques : 2 types :**

**Ionotropique** : réponse immédiate (dès que le canal reçoit son signal, il s'ouvre) ; alors que pour le **métabotropique** c'est plus lent, c'est par l'intermédiaire des protéines G.

Type	Ionotropique	Métabotropique
Nom	Nicotinique	Muscarinique
Conduction	Rapide	Lente
Expression SN	SNC (10%) + SNP	SNC (90%) + SNP
Expression périphérique	Muscle squelettique	Muscle cardiaque Cellules endothéliales
Sous-types	7	5
Effets	Excitateur	Excitateur/inhibiteur

**Récepteur nicotinique de l'acétylcholine :**



5 sous-unités (2 α, β, γ, δ, ε): c'est un *pentamère*.  
 Partie transmembranaire : c'est un monomère : 4 hélices α (M1-M4)  
 Activation par 2 molécules d'acétylcholine se fixant sur les zones réceptrices: entre α et δ et α-γ.  
 Passage de 20 000 ions sodium/sec quand il est ouvert.  
*Désensibilisation* très rapide:  
 ACh rapidement dissociée (faible affinité)  
 AChE (ACh estérase: coupe l'ACh en acétate et choline)  
 Phosphorylation → fermeture du canal.

Le récepteur nicotinique est principalement dans la jonction neuro-musculaire.

**La jonction neuro-musculaire :**

L'ACh fabriquée au niveau de l'axone est relarguée dans la fente synaptique. Elle se fixe sur les récepteurs musculaires (unités motrices) et sur les *récepteurs à la dihydropyridine* (canaux Ca<sup>++</sup> voltage-dépendants se trouvant au niveau des replis du sarcolemme formant les tubules T). Transmission de l'influx par les tubules T aux citernes terminales permettant la libération de Ca<sup>++</sup> dans la cellule via les *récepteurs à la ryanodine* (canaux Ca<sup>++</sup> dépendants se situant sur la membrane du réticulum sarcoplasmique).

Triade = tubule T entouré par 2 citernes terminales.

==> CONTRACTION

**Pharmacologie:**

Stimulation du récepteur nicotinique: ACh, tubocurarine, physostigmine.

Blocage du récepteur nicotinique: toxine botulique (se fixe sur la zone récepteur de l'Ach → myorelaxation)

Pathologie : myasthénie (anticorps circulants bloquent les récepteurs de l'Ach à la jonction neuro-musculaire)

### Le récepteur muscarinique :

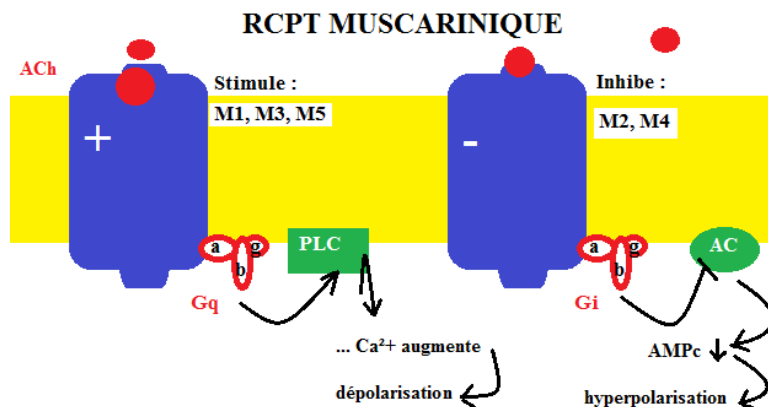
7 traversées membranaires.

Le récepteur est intra-membranaire (dans une zone lipophile) et non pas sur N-term comme vu dans les cas précédents.

Il est couplé à une protéine G

L'effet biologique passe par :

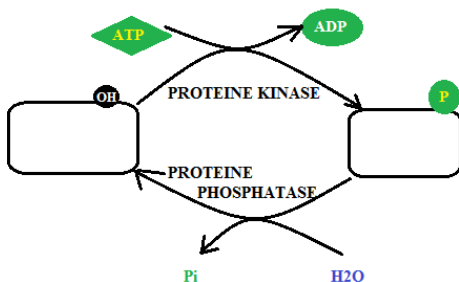
- la phospholipase C si c'est couplé à un Gq → effet activateur.
- l'adénylate cyclase si couplé à Gs → effet stimulateur ou Gi → effet inhibiteur.



## VI. Les récepteurs à activité enzymatique :

Ce sont le RTK (tyrosine kinase) et RTP (tyrosine phosphorylase)

### 1. Généralités :



**Phosphorylation:** (des protéines, AA...)

Sur **tyrosine** (EGF-R, insuline-R...), **sérine** ou **thréonine** (MAPK, PKA, PKC...) car ils possèdent des groupements OH.

Une protéine, au contact d'un donneur de phosphate, va pouvoir devenir phosphorylée.

L'enzyme phosphorylant est la *kinase* (tyrosine kinase, sérine-thréonine kinase...) et celle responsable de la déphosphorylation est la *phosphatase*.

Mise en évidence de la phosphorylation des protéines in vitro:

cellules en culture, ATP marqué au Phosphore 32.

Les cellules ayant été stimulées ont 2 bandes de coloration en radiographie : le phosphore a été transféré de l'ATP aux molécules qui ont été phosphorylées.

### Récepteurs de surface à activité enzymatique intrinsèque :

- Récepteurs à activité guanylate cyclase
- Récepteurs à activité tyrosine kinase
- Récepteurs associés aux tyrosine kinases
- Récepteurs à activité tyrosine phosphatase
- Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase

## 2. Récepteur tyrosine kinase RTK :

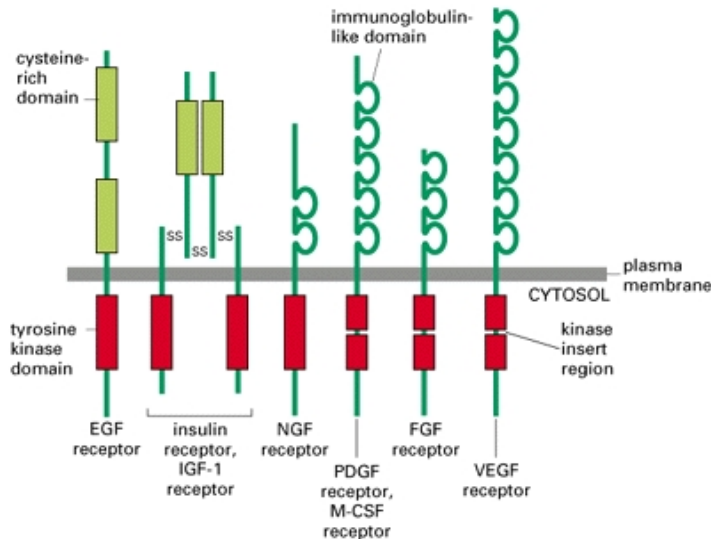
Structure générale :

- Protéines transmembranaires.
- Domaine extra-cellulaire: N-term, glycosylé, riche en cystéines.

Il s'y trouve le *site de reconnaissance du ligand* :

- Domaine transmembranaire: hélice  $\alpha$  (22-25 AA), **une seule traversée membranaire!!**
- Domaine intra-cellulaire: C-term, *domaine à activité tyrosine kinase*, tyrosines.

### Les différents types de récepteurs TK :



Le récepteur à EGF a un domaine riche en cystéines, qui peuvent donner lieu à des ponts.

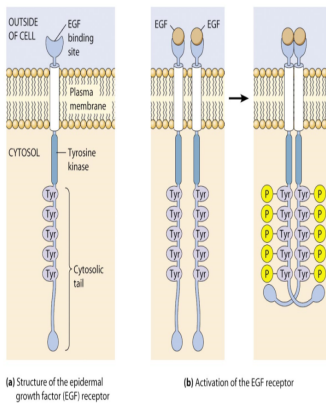
Il y a aussi des récepteurs avec des domaines EC de type immunoglobuliniques (fixation protéine/protéine de type immunologique: même mécanisme d'attache que dans la réaction immunitaire, quand l'Ag et l'Ac se fixent).

Les zones TK du domaine IC peuvent être d'un seul tenant ou être multiples.

*Cas particulier:* le récepteur à l'insuline ou à IGF-1 est dimérique (ou quadrimérique, car 4 sous-unités reliées par des ponts disulfures). Sa particularité est qu'il est déjà dimérisé : 2 sous-unités avec l'activité TK, et 2 sous-unités portant les sites de reconnaissance.

### Principe d'activation :

- 1/ Fixation du ligand
- 2/ Dimérisation du récepteur
- 3/ Activation des domaines TK  $\rightarrow$  autophosphorylation
- 4/ Fixation de protéines IC sur les tyrosines phosphorylées  $\rightarrow$  transmission



### Mise en évidence de l'autophosphorylation :

On met des Ac anti-(EGF-R) avec de l'EGF et de l'ATP radioactif, puis on incube, on centrifuge et on lave, pour ensuite procéder à une électrophorèse et une autoradiographie.

Il y a dans le tube à la fin: les récepteurs dimérisés, et des Ac anti-récepteurs fixés sur le système.