

# LA SIGNALISATION

## Introduction : Késako ?

### A/ Définition et fonctionnement

La signalisation est la capacité d'une cellule à **percevoir, intégrer et à agir** en fonction de signaux reçus. La cellule aura donc des **devenirs très variés** en fonction de ces signaux qui peuvent être parfois contradictoires. Elle peut :

- se différencier, se diviser, migrer, entrer en quiescence, sénescence ou encore mourir.

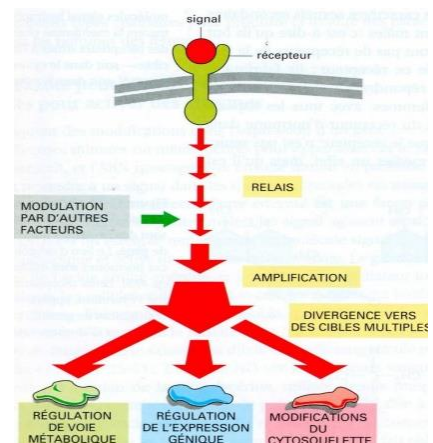
Chaque cellule va être programmée pour répondre à certains signaux.

*Rappel : on compte plus de 200 types cellulaires différents.*

Comment se fait la transduction du signal ?

On retrouve un système de **cascade moléculaire**, permettant d'avoir une transduction du signal qui suit un schéma toujours identique :

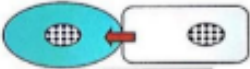

- **Fixation** d'une molécule de signalisation (structure simple que la cellule va reconnaître) sur un récepteur spécifique (présent sur la membrane ou dans le cytoplasme) qui la reconnaît
- **Transduction du signal** par une cascade de transmission à l'intérieur de la cellule
- Amplification du signal (**effet seuil**)
- Action au niveau des **cibles** (expression au niveau de gènes (transcription) ou modification post-traductionnelles) provoquant des effets (division, différenciation...)

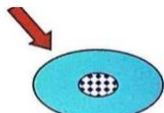
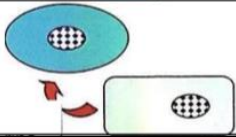
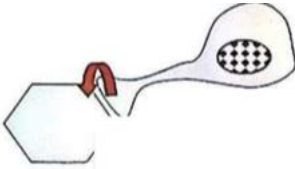
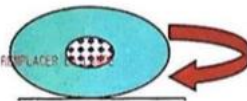


### B/ Signalisation

#### 1- Types de signalisation

On retrouve différents types de signalisation chacune caractérisées par des interactions entre la cellule et son environnement.

Contact Intercellulaire	<b>Jonctions communicantes / gap jonctions</b> Transmission de petites molécules hydrophiles (ATP, ions, peptide)	
Matrice extracellulaire	Intégrines (CAM et SAM) reconnaissant la matrice extracellulaire puis formation d'une réponse	

Endocrine	Transport d'une molécule de signalisation (hormone ou facteur de signalisation non hormonaux) dans tout l'organisme par la <b>circulation sanguine</b>	
Paracrine	Diffusion de la molécule de signalisation dans le tissu (effet régional) <b>sans passer par le sang</b>	
Synaptique/Neurocrine	Transport d'une molécule de signalisation (neurotransmetteur) localement : -Entre <b>deux neurones</b> = <b>synapse interneuronale</b> -Entre <b>une neurone et une cellule musculaire</b> = <b>jonction neuromusculaire</b>	
Autocrine	Sécrétion d'une molécule par la cellule <b>qui va directement agir sur elle</b> (ex : cellule cancéreuse et facteur de croissance avec stimulation de sa croissance).	

## 2- Types de molécules signalisation

**Molécules hydrophiles/lipophobes** : Elles ne sont pas capables de traverser la membrane plasmique et se fixent donc sur des récepteurs membranaires au niveau de la membrane cytoplasmique, puis amplification du signal.

Exemple : glucagon, prostaglandines, facteurs de croissance.

**Molécules lipophiles/hydrophobes** : Elles sont capables de traverser la membrane plasmique et l'enveloppe nucléaire et se fixent sur des récepteurs nucléaires. Elles sont en mesure d'induire une signalisation directe au niveau du noyau et peuvent agir comme facteurs de transcription. On ne retrouve pas d'amplification du signal.

Exemple : hormones stéroïdiennes, hormones thyroïdiennes.

On retrouve dans les deux cas une **modification de la programmation transcriptionnelle** de la cellule.

Nous allons à présent nous intéresser aux **Récepteurs Tyrosine Kinase (RTK)**, qui agissent sur un récepteur présent sur la membrane (molécule de signalisation hydrophiles).

### I – Récepteurs Tyrosine Kinase

Les RTK sont les récepteurs les plus répandus de la famille des récepteurs enzymes. Ce sont des **molécules transmembranaires** ayant une activité **tyrosine kinase** (capacité à phosphoryler des résidus tyrosines) provoquant des conséquences fonctionnelles. Les RTK comportent :

- Une partie **extracellulaire** (reconnaissant la molécule de signalisation)
- Une partie **intracellulaire** (siège de l'activité tyrosine kinase)
- Un domaine **transmembranaire hydrophobe**.

Leurs **ligands** (molécules de signalisation) peuvent être des **facteurs de croissance ou de l'insuline**.

*Comment les RTKs peuvent-elles transmettre le signal ?*

- 1- Fixation du ligand sur forme monomérique du RTK
- 2- Homodimérisation du RTK dans la membrane
- 3- Rapprochement des deux domaines kinases
- 4- Autophosphorylation de tyrosines présentes dans poches à ATP
- 5- Changement de conformation poche ATP
- 6- Ouverture poche à ATP
- 7- Transphosphorylation des tyrosines des deux chaînes
- 8- Reconnaissance des phosphotyrosines du RTK par des protéines adaptatrices
- 9- Recrutement d'autres protéines avec un domaine SH3

Il y a un effet seuil : le signal doit être suffisamment fort pour déclencher une réaction.

La transmission du signal peut se faire par deux grandes voies de signalisation :

- Voie des MAP kinase
- Voie des phosphoinositides.

## II/ Super famille des petites protéines G

### A / Généralités

= **petites protéines G monomériques** avec une activité GTPase avec une masse moléculaire comprise entre 20 et 30 kDa.

Ces protéines G sont souvent mutées dans les cancers humains tels que les carcinomes mais aussi ceux de la lignée hématopoïétique.

Dans cette superfamille, on distingue plusieurs membres :

- Famille **RAN** : impliquée dans le transport nucléo-cytoplasmique
- Famille **RAS** : impliquées dans l'activation des voies mitogènes et la prolifération cellulaire
- Famille **RHO** : impliquées dans la gestion du cytosquelette, la migration cellulaire...
- Famille **RAB** : impliquées dans le trafic vésiculaire.

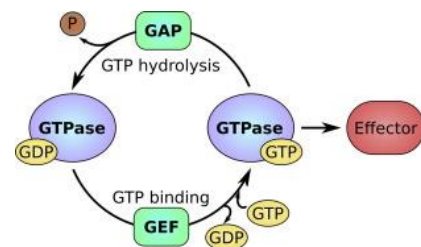
Leur fonctionnement est lié à un **cycle d'échange GTP/GDP**, sachant que la forme active est liée au GTP et la forme inactive au GDP.

*Mémo : GTP = Travail = Actif*

#### Cycle d'échange GTP-GDP

La protéine G **inactive** échange du **GDP** par du **GTP** grâce à des protéines **GEF** ce qui lui permet de passer de l'état inactif à l'état actif.

Pour un retour à la forme inactive, on observe ensuite une **hydrolyse du GTP lié à la protéine G en GDP**, ce qui est permis par les protéines régulatrices **GAP**.



### B / Protéine Ras

La protéine RAS est caractérisée par **des fonctions multiples** au niveau du cytosquelette, de la prolifération, de l'interaction avec la MEC ou encore dans la sénescence cellulaire.

La protéine RAS a un rôle fondamental dans la formation de **tumeurs**.

Elle possède un **cycle d'échange GTP-GDP** similaire à celui vu précédemment hormis le fait que :

- GEF s'appelle SOS et permet la fixation du GTP par l'insertion de l'hélice  $\alpha$  entre deux domaines de RAS : Switch1 et Switch2.
- L'hélice ouvre Switch1 et donc le GDP sort et diffuse laissant la place au GTP.



### III/ Voie de diffusion du signal

#### A/ Voie des phosphoinositides

Cette voie permet de nombreuses réponses signalétiques :

- Soit par l'activation de la PI3-K (phosphatidylinositol 3-kinase)
- Soit par activation de la PLC (phospholipase C)

##### 1- Signalisation par la PI3-K

##### Etapes :

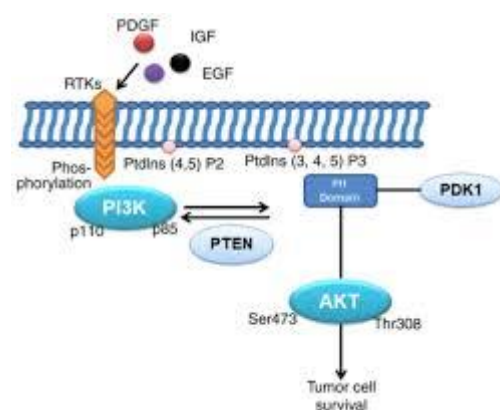
- 1) Phosphorylation de PI-3K par le récepteur tyrosine kinase activé.
- 2) Phosphorylation de PIP2 par PI-3K, PIP2 devient PIP3 (second messenger).
- 3) Recrutement et activation d'AKT par PIP3 grâce au changement de conformation de son domaine PH

Variante : Recrutement et activation de BKT (possède également un domaine PH qui peut activer la PLC) au lieu d'ATK ce qui permet d'inactiver toute la voie.

La régulation se fait par la phosphatase **PTEN** qui **déphosphoryle PIP3** en **PIP2** (antagoniste de l'activité de la PI3-K).

##### Rôle d'AKT

Son rôle est d'**activer la prolifération cellulaire, d'interagir avec mTOR** (qui active la traduction et l'angiogenèse favorisant le transport d'oxygène aux cellules en division), inhibe l'apoptose et active la télomérase.



##### 2- Signalisation par la PLC :

On ne retrouve pas de cascade phosphorylation dans la signalisation par la PLC.

##### Etapes :

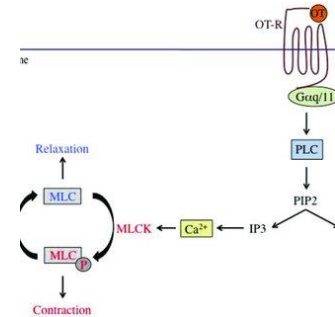
L'activation de **PLC** est faite par le récepteurs tyrosine kinase activé puis on retrouve une hydrolyse de **PIP2** par **PLC** en deux seconds messagers : **DAG** et **IP3**.

DAG est un lipide ancré dans la membrane et provoque l'activation d'une autre kinase, la **PKC** (calcium-dépendant) qui phosphoryle **des protéines cytoplasmiques** et permet la retro inhibition du récepteur tyrosine kinase par l'action des phosphatases.

**IP3** est soluble et induit une **libération des réserves d'ion calcium** contenues dans le réticulum endoplasmique et dans les mitochondries qui se fixera à la calmoduline dans le cytoplasme. La **calmoduline** deviendra active en changeant de conformation et provoquera par la suite l'activation de protéine kinases (ex : PKC).

La PKC va ensuite permettre l'activation d'autres voies de signalisation et la retro inhibition du récepteur tyrosine kinase par l'activation de phosphatases qui vont le déphosphoryler.

Si cette retro inhibition n'est pas effectuée, les signaux mitogènes vont être amplifiés dans la cellule, pouvant être la cause cancer par exemple.

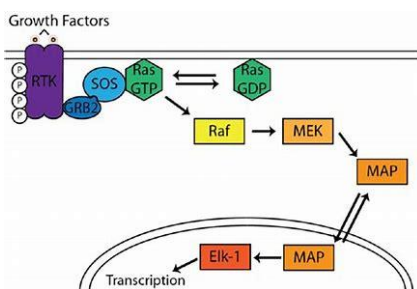


### B/ Voie Ras-MAP-kinases

Elle contrôle de **nombreux programmes cellulaires** et est activée par une cascade de phosphorylation. Elle va associer la protéine GRB2 et son domaine SH3 avec GEF, RAS et tout le reste de la voie.

Son mécanisme d'activation est une cascade :

- Recrutement de SOS par le domaine SH3 de GRB2
- Activation de Ras par SOS
- Association de Ras avec une MAP-KKK (ex : RAF)
- Activation des MAP-KK par des MAP-KKK (ex : MEK) par une phosphorylation de résidus sérine et thréonine.
- Activation des MAP-K par des MAP-KK (ex : ERK ou JNK) par une phosphorylation des résidus thréonine et tyrosine.
- Migration des MAP-K activées dans le noyau
- Phosphorylation des facteurs de transcription sur des sérines et thréonines
- Transcription des gènes mitogènes (ex : AP1 et Myc), entraînant une prolifération cellulaire.



## IV/ Les Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPG)

Les RCPG ont une **structure commune constituée de 7 domaines transmembranaires** et sont **couplés à des protéines G trimériques**.

La protéine G est **un hétérotrimère** composé de trois sous-unités :  $\alpha, \beta, \gamma$ .

Il existe un très grand nombre de RCPG (plus de 1000 chez l'Homme).

Un ligand peut se fixer sur plusieurs RCPG différents : par exemple, l'**adrénaline** possède plus de 9 récepteurs et l'**acétylcholine** en possède plus de 5.

Les RCPG sont la **cible de molécule physiologiques, pharmaceutiques** mais également **pathogènes** et sont donc très utilisés dans l'industrie pharmaceutique.

#### Comment se passe la transmission du signal ?

- Fixation de la molécule de signalisation au récepteur

*Molécule de signalisation pour les RCPG = acides aminés ou dérivés, glycoprotéines ou peptide, lipides hydrosolubles...*

- Activation de la protéine G
- Activation d'effecteurs par la protéine G
- Envoi de second messager par les effecteurs pour effectuer une tâche spécifique au niveau cellulaire

On peut voir que la protéine G va se dissocier en :

- Un dimère de sous-unités  $\beta$  et  $\gamma$  liés de façon covalente et capables d'activer d'autres récepteurs (ex : récepteurs tyrosine kinase SARC).
- Un monomère  $\alpha$  libre de se dissocier lorsqu'elle est activée par le RCPG. Sa dissociation va activer des molécules effectrices à distance du récepteur.

Les effecteurs peuvent être par exemple l'**adénylate cyclase** ou la **PLC**, et les seconds messagers peuvent donc être l'**AMP cyclique** pour l'**adénylate cyclase** ou encore l'**IP3** pour la **PLC**.

Si on stimule de façon prolongée le RCPG cela peut entraîner sa **neutralisation**.

La réponse à la suite de l'activation des RCPG varie en fonction du type de sous-unités  $G\alpha$  et en fonction du récepteur.

Un ligand peut donc avoir plusieurs récepteurs-cibles différents.

*Exemple : l'adrénaline agit sur les récepteurs-cibles  **$\beta$ -adrénergiques** et  **$\alpha 2$ -adrénergiques**.*

- Si on se met sur le récepteur cibles  **$\beta$ -adrénergiques**, on vient activer  **$G_{\alpha s}$** , ce qui permet une activation (**stimulation**) de l'adénylate cyclase, une augmentation de la production d'AMPc.
- Si on se met sur le récepteur cibles  **$\alpha 2$ -adrénergiques**, on vient activer  **$G_{\alpha i}$** , qui **inhibe** l'adénylate cyclase et diminue ainsi la concentration en AMPc.

#### Conséquence de l'augmentation de la concentration en AMPc :

*1<sup>ère</sup> étape : Activation de la protéine kinase A (PKA) :*

La PKA est une **protéine hétérotétramérique** constituée de deux couples de deux sous-unités :

→ les sous-unités **catalytiques**, avec une activité kinase

→ les sous-unités **régulatrices** fixant l'AMPc et régulant l'activité kinase.

En absence d'AMPc, les sous-unités régulatrices viennent empêcher l'action des sous-unités catalytiques en se fixant à elles.

En présence d'AMPc, celui-ci va donc venir se fixer sur ces **sous-unités régulatrices** ce qui entraîne une libération des sous-unités catalytiques, transloquées dans le noyau.

*2<sup>ème</sup> étape : Activation de la transcription de gènes cibles*

Une fois les sous-unités catalytiques transloquées dans le noyau, elles vont pouvoir **influencer la transcription de gènes** de part une phosphorylation du facteur CREB.

Une fois activée, la PKA sera à l'origine d'une **cascade de phosphorylation** dans la cellule ce qui permettra l'activation de la transcription de gènes cibles et donc leur expression.

## V/ Transduction du signal de dommage à l'ADN

Les **lésions liées à l'ADN** arrivent très fréquemment et sont à la source d'un signal qui peut être **interne**.

- La lésion va très souvent être reconnue puis va être réparée par des systèmes de réparation
- Si la lésion n'est pas réparée et qu'elle touche des zones codantes, la cellule va entrer en sénescence puis sera éliminée par le système immunitaire.

Si la réponse aux dommages est non fonctionnelle, cela peut entraîner :

- Une **instabilité chromosomique** (qui provoquera un désordre durant la mitose)
- Des **maladies** comme Ataxia telangiectasia (d'où provient le nom d'ATM) ou encore Li Fraumeni (mutation dans les deux allèles de p53)
- La **sénescence cellulaire** si les lésions sont trop importantes et ne peuvent pas être réparées.

### Comment se déroule la transduction du signal du dommage à l'ADN ?

On retrouve des **senseurs** chargés de détecter les lésions, ce qui va entraîner une **phosphorylation en cascade de protéines transducteurs** : des kinases Chk1 et Chk2.

Ces transducteurs vont venir activer des **effecteurs** (par exemple des kinases ATM et ATR qui sont de grosses protéines, membre de la famille PI3K).

Ces **effecteurs** agiront sur le cycle cellulaire en le bloquant par exemple.

### Mécanisme de signalisation par ATM :

- Le complexe **MRN** va reconnaître le dommage et **recruter ATM** qui est alors inactif.
- ATM va être activée par **phosphorylation**.
- ATM phosphoryle le variant histone **H2AX** (qui devient  $\gamma$ -H2AX)
- $\gamma$ -H2AX vient recruter d'autres complexes de protéines comme MDC-1 ce qui va permettre d'amplifier le système
- Cela va entraîner une propagation de la phosphorylation de H2AX et d'ATM sur des milliers de paires de bases
- On obtient ainsi un effet seuil : Chk2 va être recrutée et va phosphoryler p53.
- p53 va agir sur le cycle cellulaire de différentes manières (*cf cours sur le cycle cellulaire*)

### ATM/ATR

- **ATM** est généralement considéré pour les cassures doubles brin de l'ADN.
  - ATM active Chk2 puis active p53 ce qui peut induire l'arrêt du cycle en G1/S ou une apoptose si les dommages sont trop importants.
- **ATR** est recruté dans le cas **des blocages de la réplication ou dans les cassures simple brin**.
  - ATR active Chk1

En absence d'ATM, ATR est activée.

Ils ont plus de 700 cibles différentes et sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, la réparation, le métabolisme de l'ADN, le développement, la transduction du signal, le cytosquelette.

*Ca y est, j'arrive enfin à bout de cette fiche... J'espère qu'elle vous plaira et surtout qu'elle vous sera utile !  
Désolée pour le manque d'image dans cette fiche, je vais essayer de vous les faire moi-même... Si vous avez des retours à me faire, hésitez-pas !  
Restez focus, trois mois ça passe vite donc lâchez rien !  
Dédi à mes co-tuts qui sont bcp trop géniales  
Dédi à Hélène mon binôme de PACES*