

Signalisation cellulaire

II. Exemples des récepteurs membranaires de type Tyrosine kinase

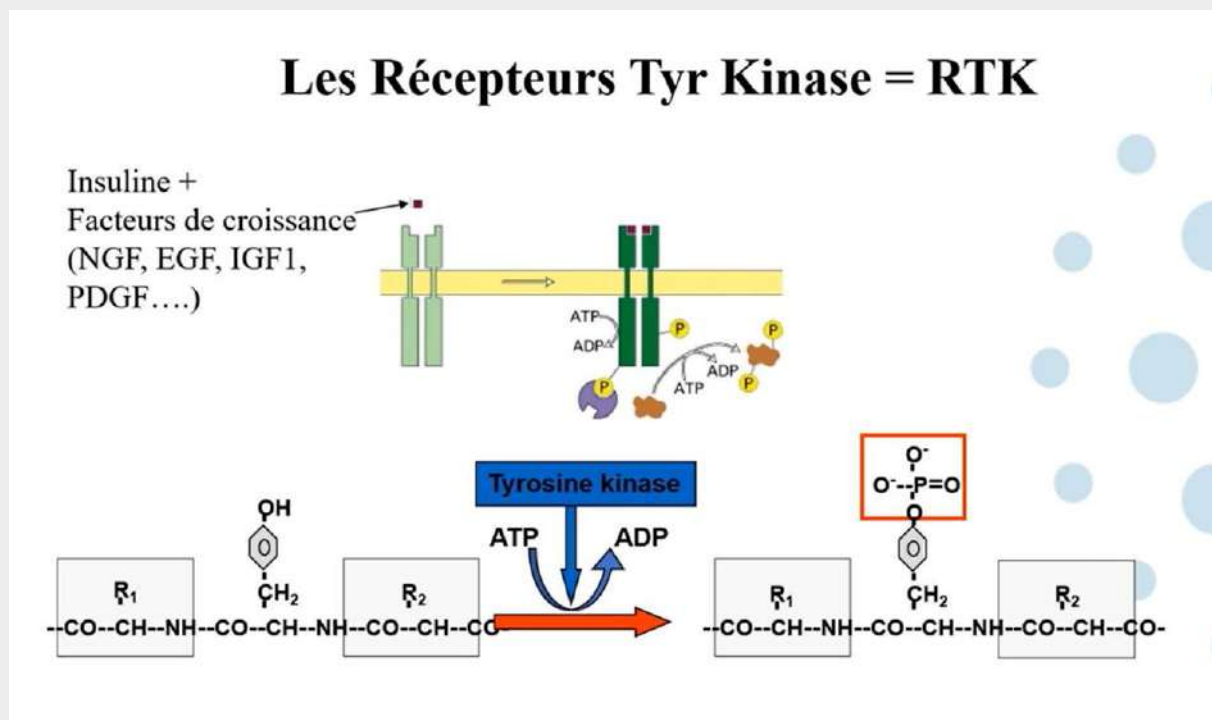
Il existe une multitude de ces récepteurs dans le génome. Ils appartiennent à la grande famille des **récepteurs membranaires** qui contient :

- les **récepteurs enzymes** : le récepteur a lui-même une activité enzymatique (ex : récepteurs de type tyrosine kinase)
- les récepteurs **couplés au tyrosine kinase** : le récepteur s'associe à une enzyme ici une kinase
- les récepteurs couplé au **protéines G**
- les **récepteurs canaux** (qui sont juste cité ici on ne les détaillera pas snif)

Les récepteurs les plus répandues sont les récepteurs **tyrosine kinase**.

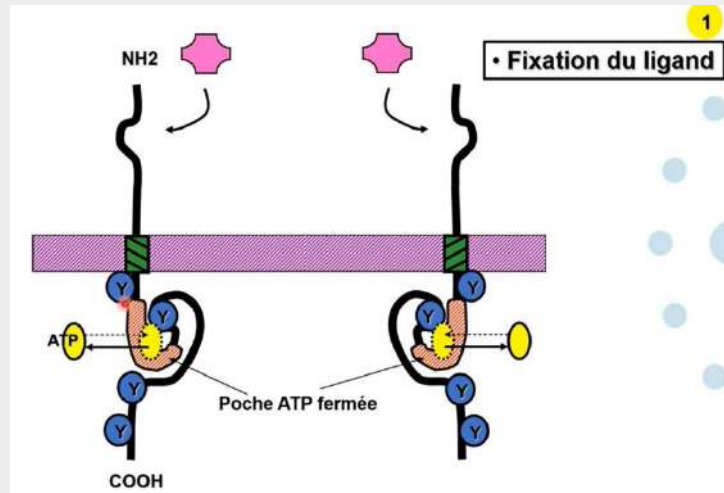
Ils sont codés par une cinquantaine de gènes chez l'humain. Ils possèdent tous un domaine transmembranaire, un domaine extracellulaire glycosylé qui va reconnaître la molécule signalétique et un domaine cytoplasmique qui porte l'activité tyrosine kinase.

Une tyrosine kinase est une enzyme qui permet de phosphoryler une tyrosine en hydrolysant une molécule d'ATP (logique vu le nom de l'enzyme).



Alors comment fonctionnent les récepteurs tyrosine kinase (RTK) ?

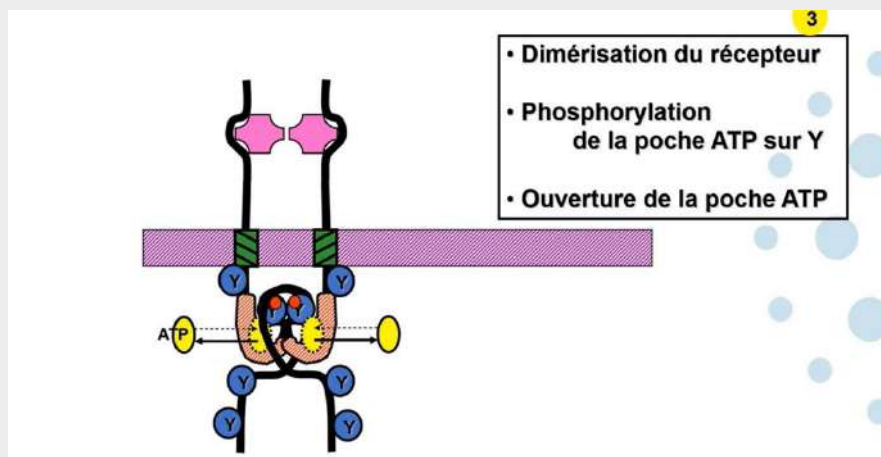
On observe le ligand (par exemple l'insuline) qui va venir se fixer sur un monomère qui possède un domaine N-terminale extracellulaire et C-terminale intracellulaire qui possède l'activité enzymatique (voir cours sur la synthèse des protéines dans le RE pour comprendre l'histoire des domaines N-term et C-term).



Y symbolise les tyrosines.

Si par exemple l'insuline se lie au monomère, le récepteur se lie à un second monomère.

C'est ici qu'on voit l'importance des radeaux lipidiques riches en cholestérol et récepteurs. Les monomères ont en effet une mobilité réduite qui augmente leur concentration au niveau du radeau et favorise la dimérisation et donc la transduction du signal.



Suite à la dimérisation, au niveau du site actif, il va y'avoir une **phosphorylation** de la poche ATP du site actif qui va se faire en **trans**. Un signal est ainsi passé sans passage du ligand à travers la membrane plasmique. Mais le signal n'est pas encore audible. La transphosphorylation va continuer.

Les tyrosines phosphorylées vont servir de réceptacles pour les protéines cibles du signal qui possèdent des domaines **SH2**. Les domaines SH2 interagissent avec les tyrosines phosphorylées. On construit ainsi un **échafaudage signalétique**.

Ces mêmes protéines cytosoliques ont un autre domaine **SH3** qui permettent la fixation d'autres protéines de signalisation. On a donc un échafaudage qui lorsqu'il sera suffisamment important transmettra un signal.

Il y'a donc un effet seuil. Un signal faible ne sera pas forcément entendu par la cellule ce qui évite un brouillage du signal par plusieurs petits signaux insignifiants.

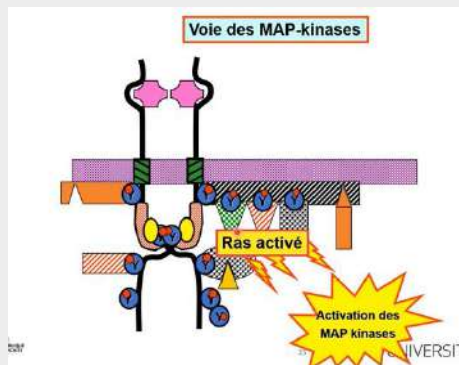
Les deux grandes voies de signalisation dans le cytoplasme :

Une fois l'échafaudage signalétique formé, la cellule a le choix entre la voie des **MAP-kinases** et la voie **des phosphoinositides**.

1) Voie des MAP-kinases :

C'est une voie très conservée retrouvée dans toutes les cellules eucaryotes qui contrôle de nombreux programmes cellulaires.

L'échafaudage signalétique dans cette voie aboutit à l'activation d'une petite protéine : **RAS** qui appartient à la famille des **petites protéines G**.



Les petites protéines G -Superfamille des petites GTPases Ras-

- Protéines monomériques de masse moléculaire comprise entre 20 et 30KDa*
- Découvertes sur la base de leur homologie aux oncogènes portés par les virus de sarcome de Harvey (H-Ras) et de Kirstein (K-Ras):Rat sarcoma
- Oncogènes cellulaires souvent mutés dans des cancers humains tels que carcinomes mais aussi de la lignée hématopoïétique (30% des leucémies myéloïdes aigues)

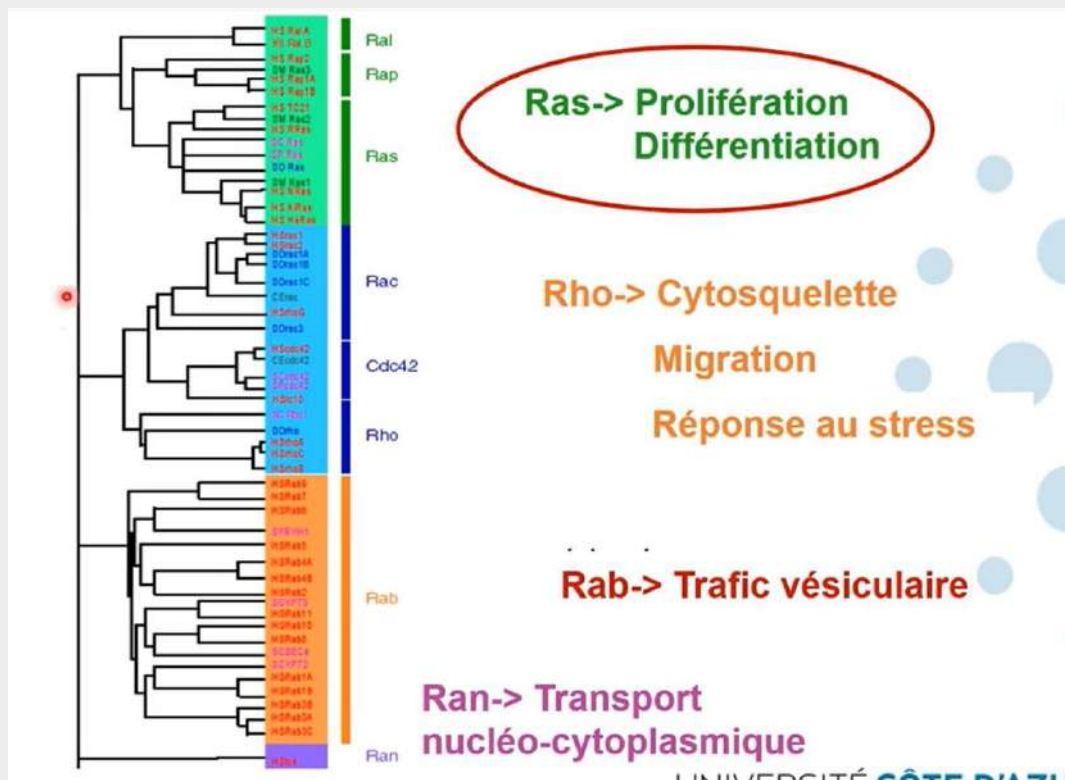
arrest

Petit point sémantique :

Il n'y a pas de gènes sélectionnés par l'évolution pour être oncogène. Un gène normal peut devenir oncogénique par mutation. La dénomination de RAS « normal » est **proto-oncogène** qui devient **oncogène si muté**.

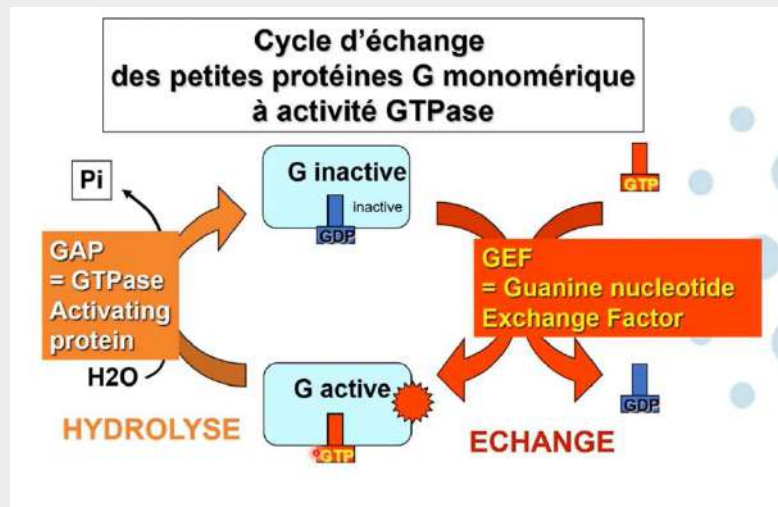
Carcinomes = cancers issus des épithéliums

La superfamille des petites protéines G :



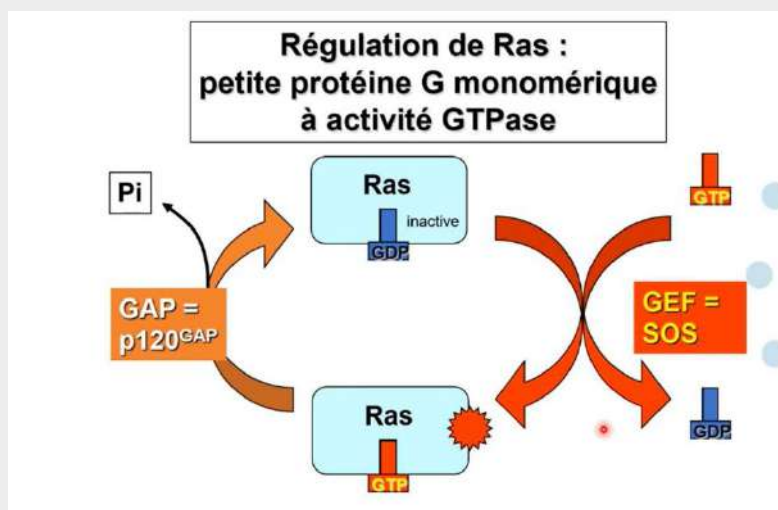
On a quatre familles au sein de cette superfamille qui possèdent chacune leur propre implication.

Les petites protéines G ont en commun leurs modalités d'activation.



Elles sont **inactives** associées au **GDP** et **actives** associées au **GTP**. Pour passer du GDP au GTP, une autre famille de protéines, les **GEF**, intervient en **échangeant** le GDP par un GTP et non pas par phosphorylation. L'inverse est obtenu par une autre famille de protéine, les **GAP**, qui hydrolysent le GTP en GDP.

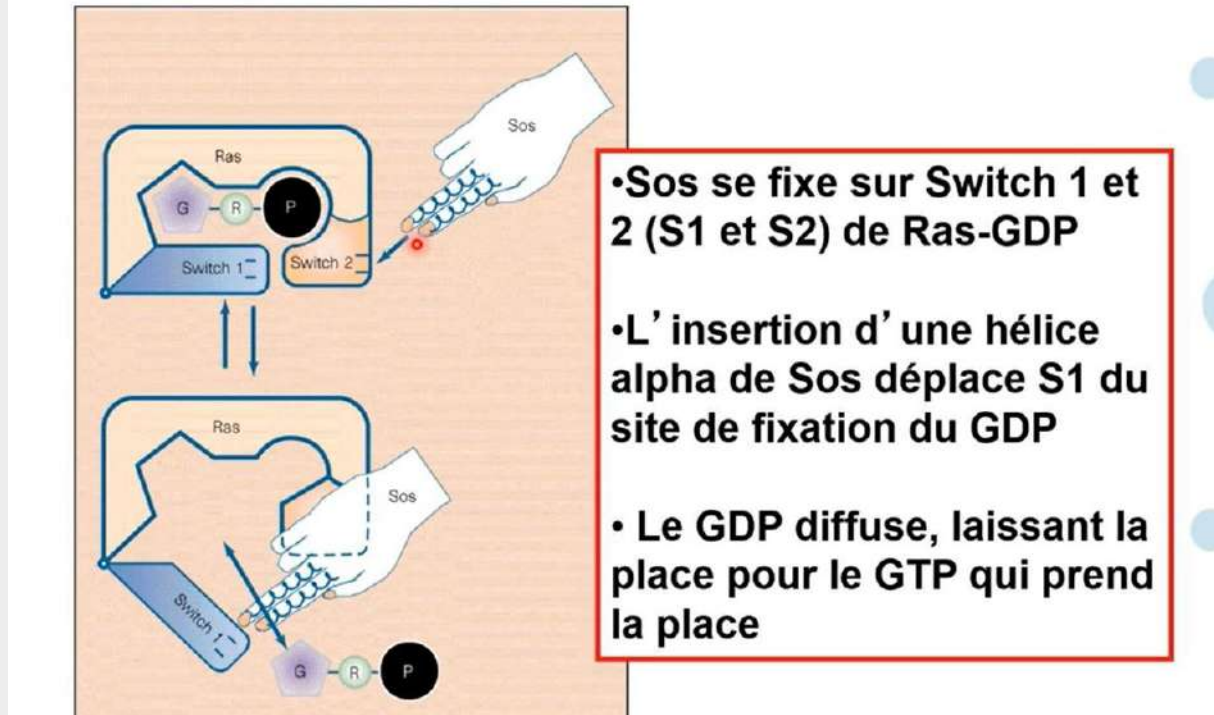
RAS est associé à sa propre GEF (SOS) et sa propre GAP dont le professeur ne vous demande pas de connaître le nom par cœur.



Fonctionnement de SOS, GEF associée à RAS

SOS peut être représentée par une main avec deux doigts (=hélices alpha) qui reconnaissent Switch 2 et Switch 1 (structures de la protéine qui enferment le GDP). Le GDP va ainsi diffuser en dehors de la protéine RAS.

Activation de Ras par SOS



Que se passe-t-il lors de l'activation de RAS ?

Lorsque RAS est activée (physiologique ou pathologique) on peut avoir plusieurs événements.

On peut avoir une modification du cytosquelette par exemple qui même si plus tôt nous avons dit que c'était le rôle de Rho nous sommes dans des systèmes complexes et RAS peut lui aussi avoir cet effet.

RAS a surtout des effets importants sur la **prolifération**. Des mutations gain de fonction peuvent activer RAS en permanence de manière supra physiologique pouvant induire certains **cancers**. Cette protéine peut aussi induire l'apoptose.

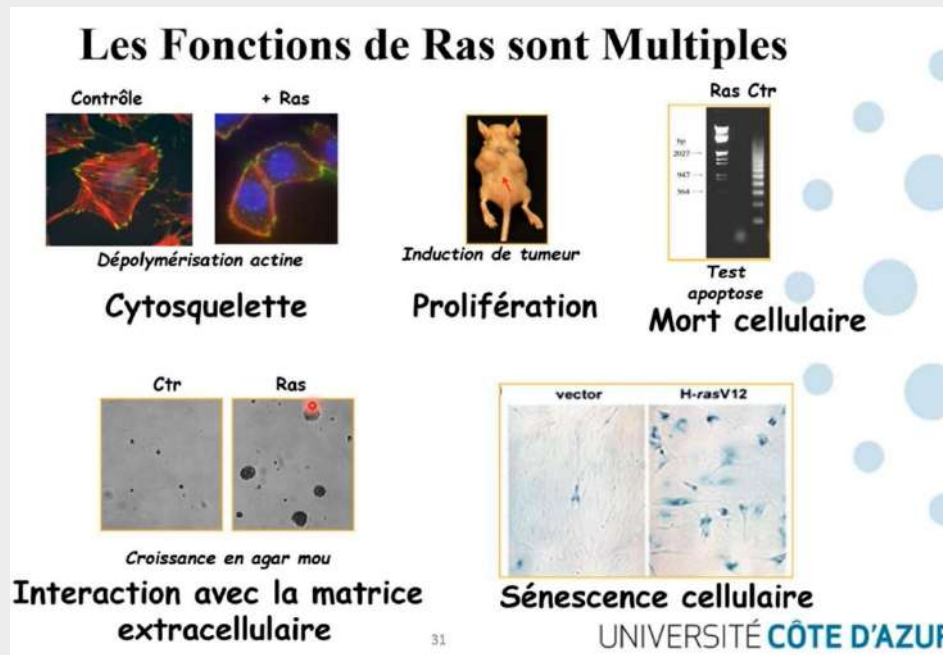
Cette protéine peut aussi lorsqu'anormalement activée permettre à la cellule de se diviser en trois dimensions.

Une cellule normale interagit avec la matrice extracellulaire (MEC) qui contrôle sa division. Si la cellule n'a pas de contact avec la MEC, elle ne se divisera pas.

En laboratoire, une cellule adhérente considère le plastique de la même manière que la MEC. En mettant la cellule dans de l'agar mou, elle ne va donc pas croître.

En activant RAS en revanche elle se divisera malgré la perte de contact avec son support. C'est ce qui se passe dans les cancers.

RAS dans les cellules primaires est capable d'induire la sénescence. C'est la première fois qu'on a montré qu'un oncogène (H-rasV12) était capable d'induire le vieillissement prématuré d'une cellule.



Que se passe-t-il après l'activation de RAS ?

Ras activé va s'associer avec une première protéine telle que **Raf**.

Ceci va modifier la fonction de Raf en modifiant ses interactions avec une autre famille de protéines dans le cytosol nommées 1433.

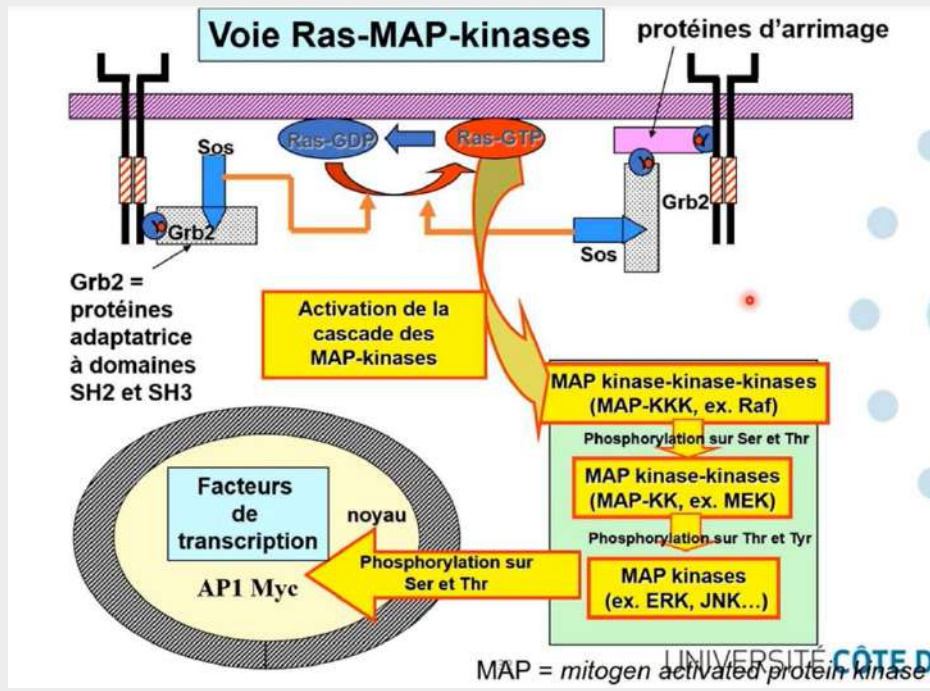
Ceci va faire que Raf va modifier sa conformation et devenir active.

Raf est une MAP kinase-kinase-kinase (1^{er} étage). Elle est capable de phosphoryler des MAP-kinase-kinase (2^{ème} étage) sur Ser et Thr (AA cf bioch) tel que la protéine MEK.

MEK peut elle-même agir sur les MAP kinases (3^{ème} étage) telles que ERK et JNK par phosphorylation sur Thr et Tyr ce qui va les activer et les faire transloquer dans le noyau.

Il va enfin y'avoir phosphorylation de facteurs de transcription tel que les protéines de la famille AP1 et la protéine Myc qui vont activer des gènes liés à la prolifération. Par exemple, AP1 va augmenter l'expression de cycline D vue dans un autre cours.

N'hésitez pas à vous aidez du schéma ça peut être un peu barbare et incompréhensible sans visualisation

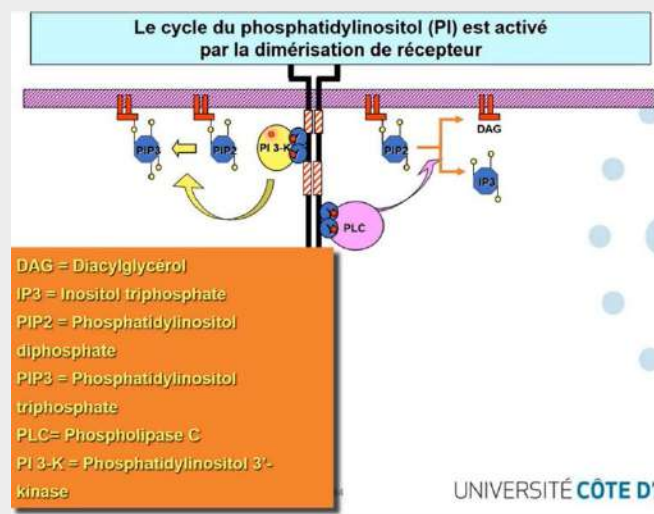


2) Voie des Phosphoinositides

Elle est aussi impliquée dans de nombreuses réponses même si moins utilisée que Ras/MAPK. La logique moléculaire est différente même si l'on part du même récepteur qui s'est dimérisé : le **récepteur tyrosine-kinase** pour rappel.

Nous avons deux possibilités.

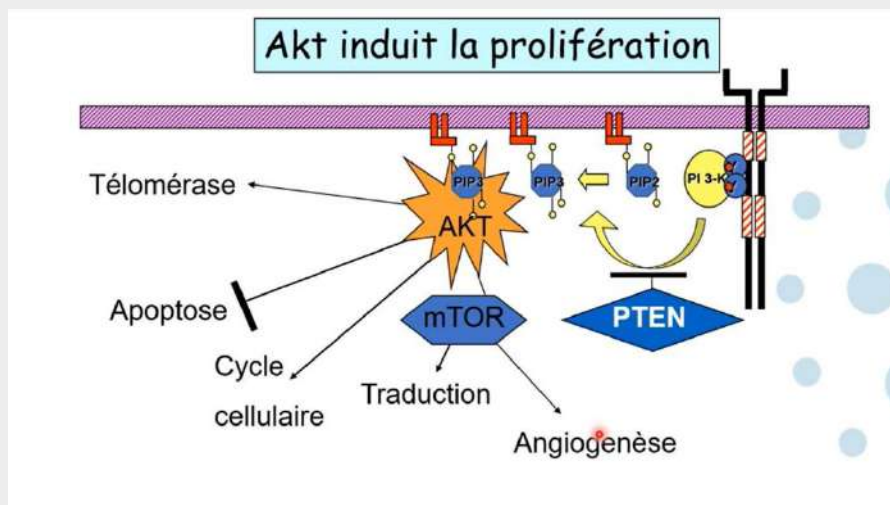
- La phosphorylation du récepteur va entraîner la fixation du **PI3-K** (phosphoinositide 3-kinase) qui va comme son nom l'indique phosphoryler **PIP2** (phosphatidylinositol-biphosphate) et **PIP3** (qui sont associés à un lipide membranaire).
- De l'autre côté, d'autres tyrosines phosphorylées peuvent fixer le **PLC** (phospholipase C) qui va libérer à partir de **PIP2** associé à un lipide membranaire un **IP3** libre dans le cytosol et un **DAG** (diacylglycérol).



Alors quelle est la conséquence de la première option avec phosphorylation de PIP2 en PIP3 ?

PIP3 peut être reconnu et interagir donc amener sur la face cytosolique une protéine nommée **AKT**. Le domaine d'AKT qui permet d'interagir avec PIP3 se nomme PH (Pleckstrin homologie).

Cette interaction va permettre un changement de conformation de AKT qui va pouvoir être phosphorylée et activée. AKT phosphorylée va agir sur la prolifération. Il active le cycle cellulaire, la télomérase. Il va bloquer l'apoptose. Il va augmenter la traduction protéique à travers la protéine mTOR.



La protéine **mTOR** est une sérine-thréonine kinase qui est donc sous le contrôle de la voie PI-3K-AKT qui module la traduction de différents ARNm en agissant sur la phosphorylation de protéines régulatrices.

Son activation va induire la **traduction** et l'**angiogénèse** (formation de vaisseaux sanguins permettant l'apport d'oxygène nécessaire à la prolifération de la cellule).

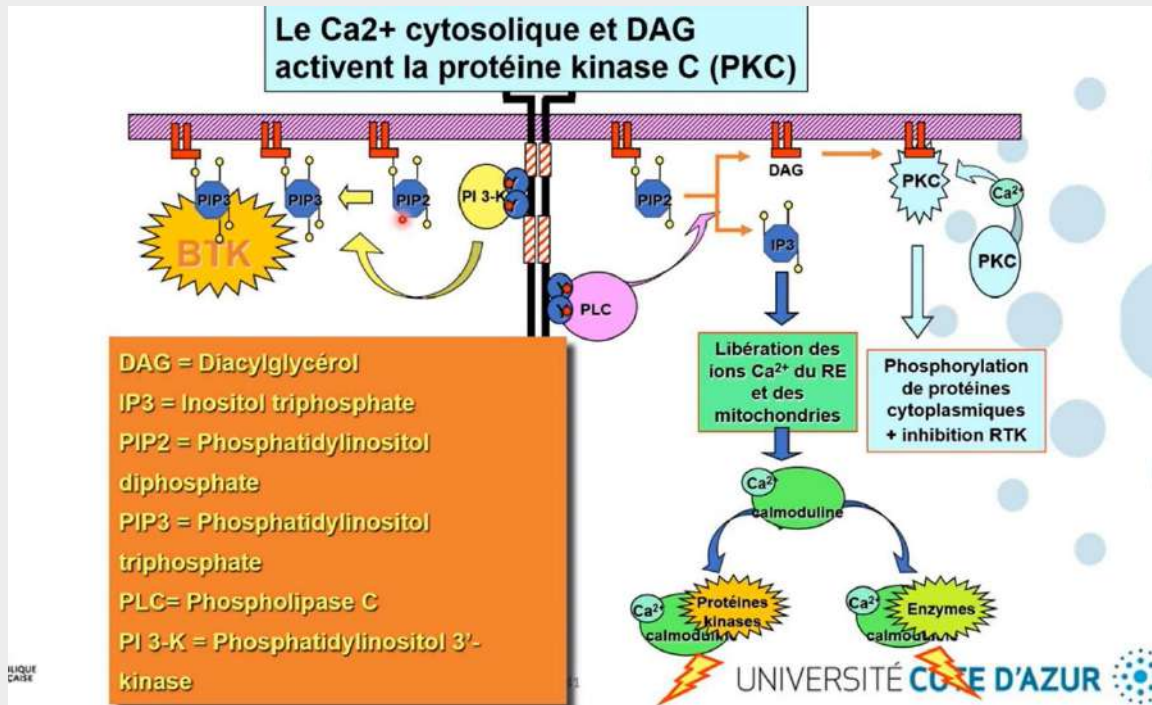
On est sur des voies très importantes pour la prolifération mais aussi des voies détournées par les cellules cancéreuses qui vont les suractiver. Des actions qui inhibent ces voies vont avoir des actions anti-cancéreuses.

Il existe aussi des modulateurs endogènes et un acteur central qui a un rôle de pédale de frein est la protéine **PTEN** qui est une **phosphatase** qui va inverser la phosphorylation de PIP3 qui va donc redevenir PIP2 et ainsi empêcher l'activation d'AKT.

PTEN est un exemple de gène suppresseur de tumeur. Une mutation perte de fonction du gène de PTEN entraîne une suractivation d'AKT et donc une prolifération anormale.

Une autre protéine peut réguler l'activation d'AKT : BTK. Cette dernière se fixe en remplaçant AKT et active la phospholipase C qui agit sur PIP2 pour former de l'IP3 et un DAG.

Le DAG hydrophobe va rester au sein de la bicouche lipidique mais l'IP3 est libéré dans le cytosol où il va se fixer avec un récepteur du Golgi et va libérer des ions calcium.



Les ions calcium se fixent sur la **calmoduline** provoquant sa transconformation lui permettant d'activer de nombreuses enzymes comme la NO-synthase constitutive qui va synthétiser le monoxyde d'azote, radical libre gazeux constituant un signal chimique local notamment dans le tonus vasculaire.

Le DAG a aussi une fonction de signalisation en interagissant avec une autre protéine kinase, la **protéine kinase C (PKC)** également activée par le calcium (toutes ces voies sont en interconnexion) entraînant une phosphorylation de protéines cytoplasmiques et inhibition des **RTK** (récepteur à la tyrosine kinase).

Lorsque l'on active une voie de signalisation on l'éteint au bout d'un moment sauf lorsque le signal persiste.

C'est l'heure des dédis :

Dédi à Cookie

Dédi à Baptiste le plus beau

Dédi à Seth

