

# **COMMUNICATION / SIGNALISATION CELLULAIRE**

**Unité d'Enseignement (2011-2012)**

## Plan

### **I- Introduction**

- Pourquoi, comment
- Les différents signaux
- Les différentes classes d'hormones

### **II- Récepteurs : généralités**

- Récepteurs et messagers secondaires
- Spécificité et affinité des récepteurs
- Les différentes classes de récepteurs

### **III - Les récepteurs ionotropiques**

- Définition
- Mécanismes d'action

### **IV- Les récepteurs couplés à des tyrosine kinases**

- Définition
- Mécanismes d'action

## Plan

### **V- Les récepteurs à activité tyrosine-kinase (RTK)**

- Définition des RTK
- Signalisation par les facteurs de croissance

### **VI- Récepteurs couplés aux protéines G**

- Structure et activation des protéines Gs
- La protéine kinase A
- Les autres types de protéines G
- Les phospholipase
- Signal calcique

### **VII - Les récepteurs "nucléaires"**

- Notion de récepteur "nucléaire"
- Exemple des PPARs

## **Principes généraux de la communication cellulaire**

**Les cellules doivent communiquer entre elles afin de pouvoir proliférer, se différencier, migrer et conserver un état fonctionnel**

**La communication cellule-cellule permet la mise en place de fonctions coordonnées entre cellules et/ou entre les tissus, jusqu'au niveau de l'organisme**

**Les objectifs des voies de signalisation sont d'informer les cellules :**

- de ce qu'elles sont,**
- où elles sont,**
- de ce qu'elles doivent faire**

# Communication au sein de l'organisme : comment ?

## Principes généraux de la communication cellulaire

### Les cellules communiquent :

Jonctions intercellulaires communicantes (*de type gap*) →

échanges inter-cytoplasmiques (petites molécules; signaux électriques)

Molécules d'adhésion à la surface des cellules →

contacts / interactions directs avec l'extérieur

Sécrétion de signaux chimiques →

communication à distance, mise en jeu de récepteurs cellulaires



différents types de signaux chimiques impliqués :

molécules hydrosolubles (peptides, protéines...)

molécules hydrophobes (stéroïdes,...)

radicaux libres

## Principes généraux de la communication cellulaire

Deux types de récepteurs :

Membranaires

Nucléaires

### Récepteurs membranaires

Caractéristiques des molécules de signalisation extracellulaire

Trois grandes classes de protéines récepteurs membranaires:

- récepteurs associés à un canal ionique
- récepteurs associés aux protéines G
- récepteurs associés à une activité enzymatique intrinsèque ou non

# Communication au sein de l'organisme : comment ?

## Principes généraux de la communication cellulaire

### Récepteurs membranaires

L'essentiel des récepteurs membranaires activés relayent des signaux via de petites molécules (**effecteurs secondaires**) et un **réseau de protéines de signalisation intracellulaire**

La formation de complexes de signalisation intracellulaires favorise la **vitesse**, **l'efficacité** et la **spécificité** de la **réponse**

Les interactions entre les protéines de signalisation intracellulaires sont médiées par des **domaines de liaison spécifiques**

Les cellules sont capables d'ajuster leur sensibilité à un signal

# Communication au sein de l'organisme : comment ?

## Principes généraux de la communication cellulaire

Les différentes formes de communications :

Autocrine

Paracrine

Endocrine

Juxtacrine

Le devenir d'une cellule dépend de l'intégration de différents signaux



Le réseau de traduction cellulaire

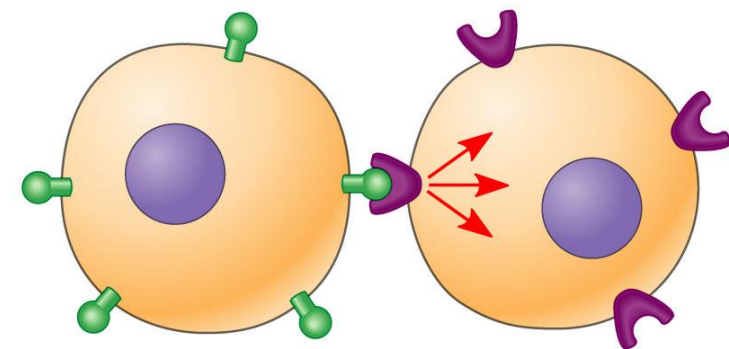
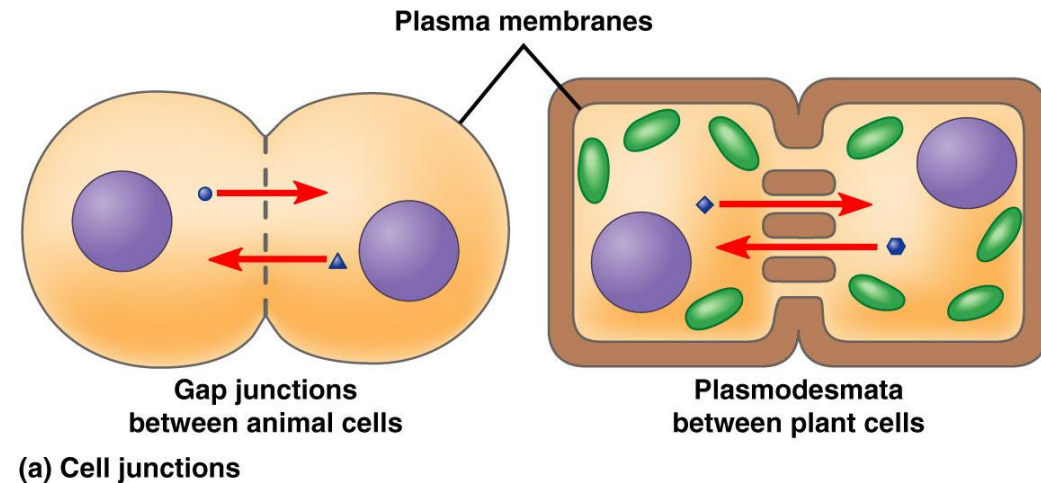
# Communication directes entre cellules

## Les cellules communiquent :

Les cellules peuvent communiquer par la mise en place de contacts directs via le développement de jonctions intercellulaires communicantes

Des substances solubles dans le cytosol transitent librement entre les cellules adjacentes

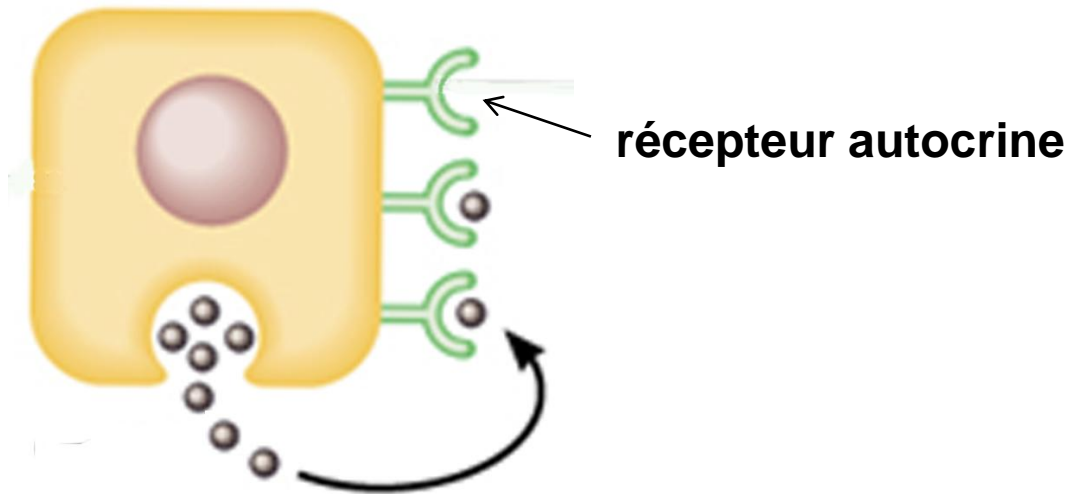
Les cellules peuvent également communiquer entre elles via la mise en place d'interactions directes entre des éléments présents à la surface de la membrane plasmatisque



(b) Cell-cell recognition

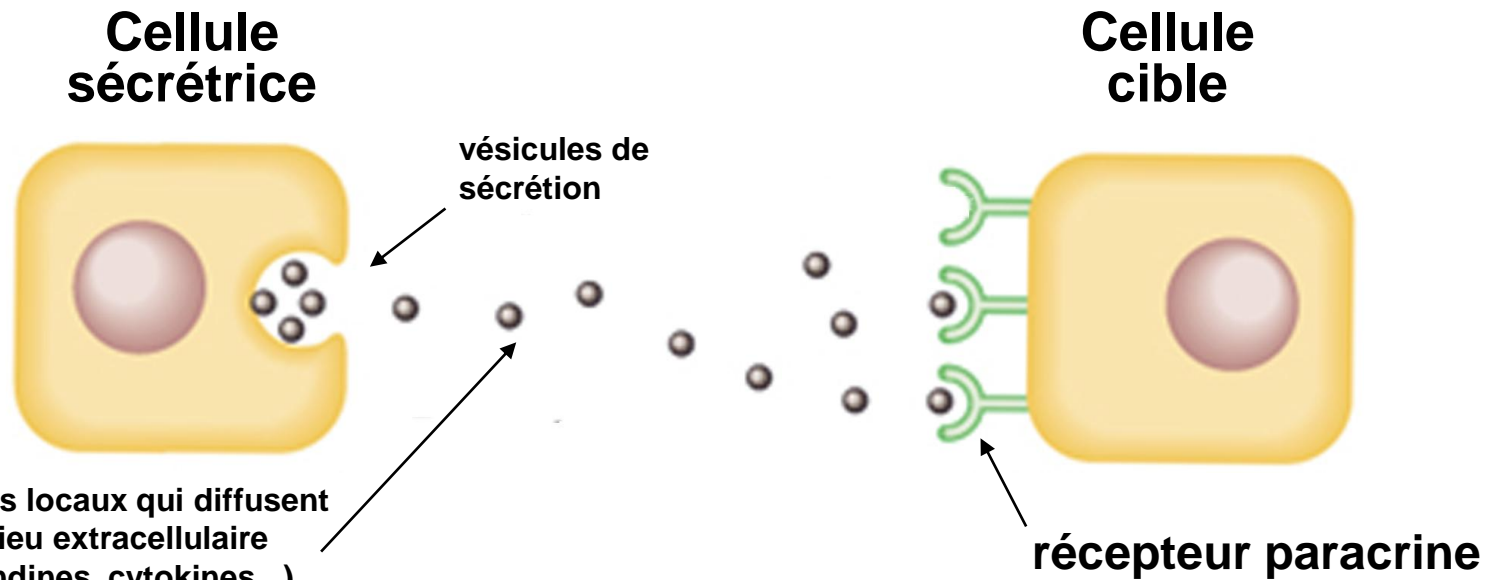
# Communication autocrine (retour de la molécule signal sur la cellule sécrétrice)

Régulateurs locaux qui diffusent dans le milieu extracellulaire (prostaglandines, cytokines...)

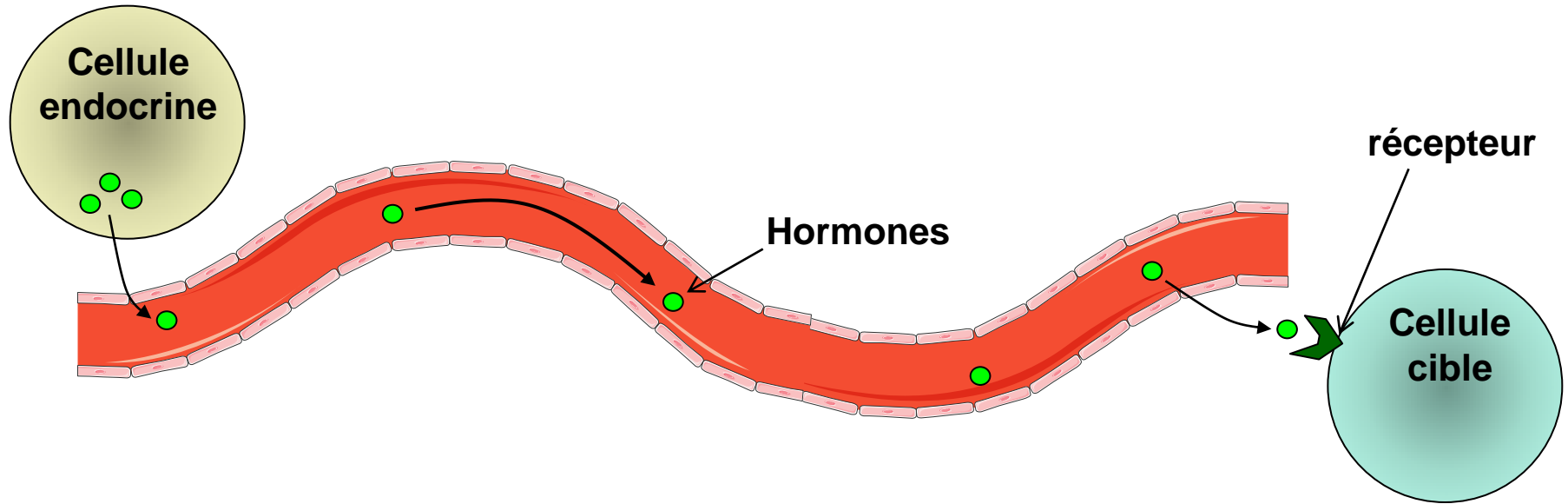


# Communication paracrine (entre cellules / tissus proches)

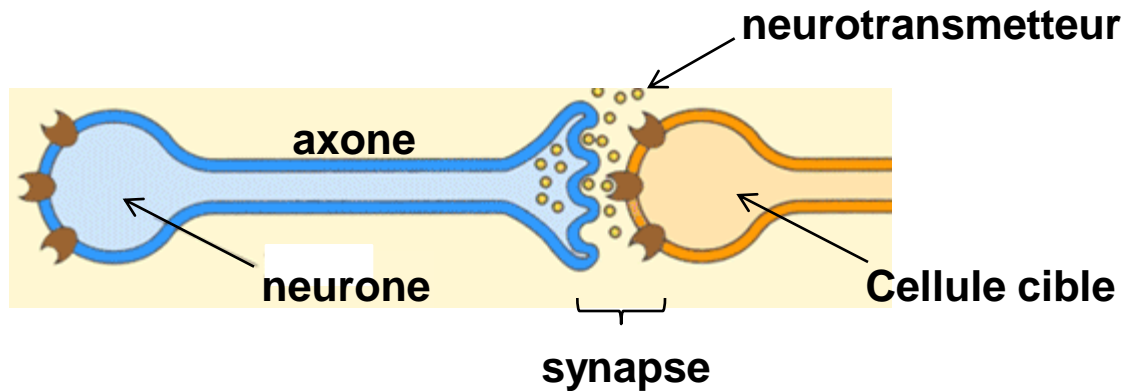
Régulateurs locaux qui diffusent dans le milieu extracellulaire (prostaglandines, cytokines...)



# Communication endocrine (entre tissus éloignés)

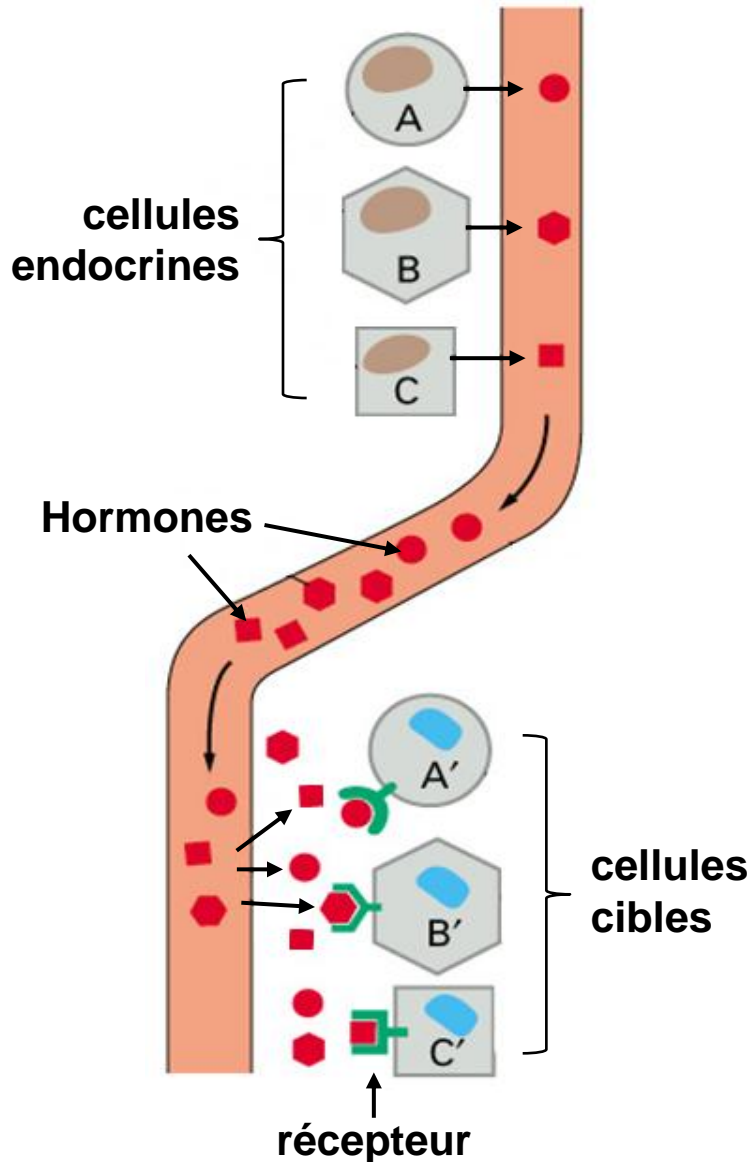


# Communication juxtacrine (entre neurone et cellule cible)

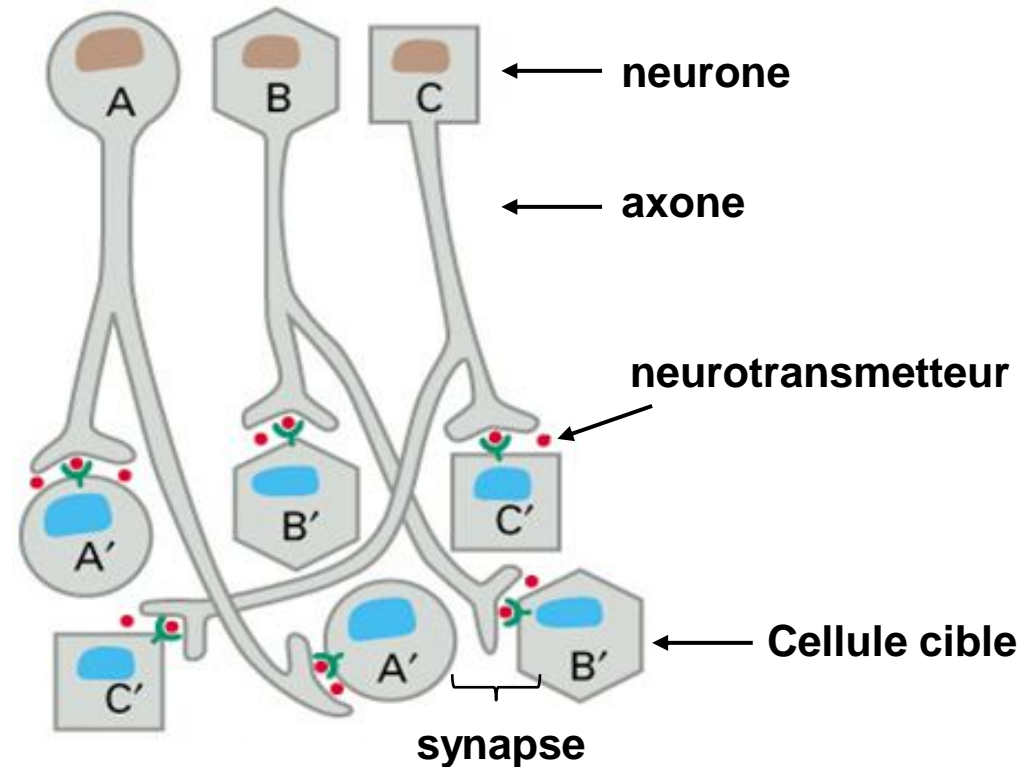


# Communication endocrine / juxtacrine

Les signaux endocrines sont systématiquement transmis via la circulation sanguine

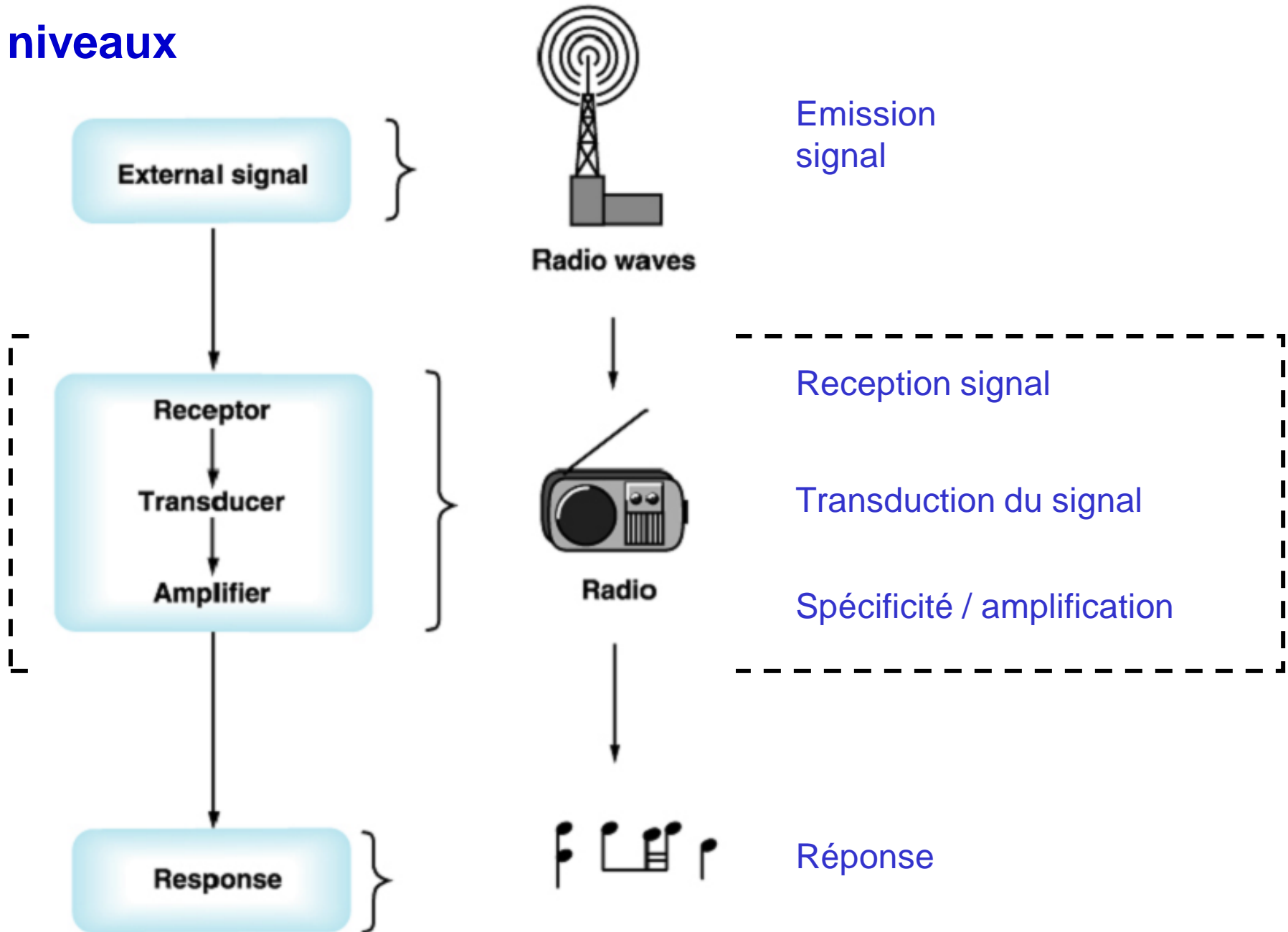


Les signaux synaptiques sont libérés uniquement dans la zone de la synapse



# Transduction du signal

## Trois niveaux



# Communication dans l'organisme : comment ?

Modification de l'environnement, besoin



enregistrement



départ signal (SNC)



réponse primaire

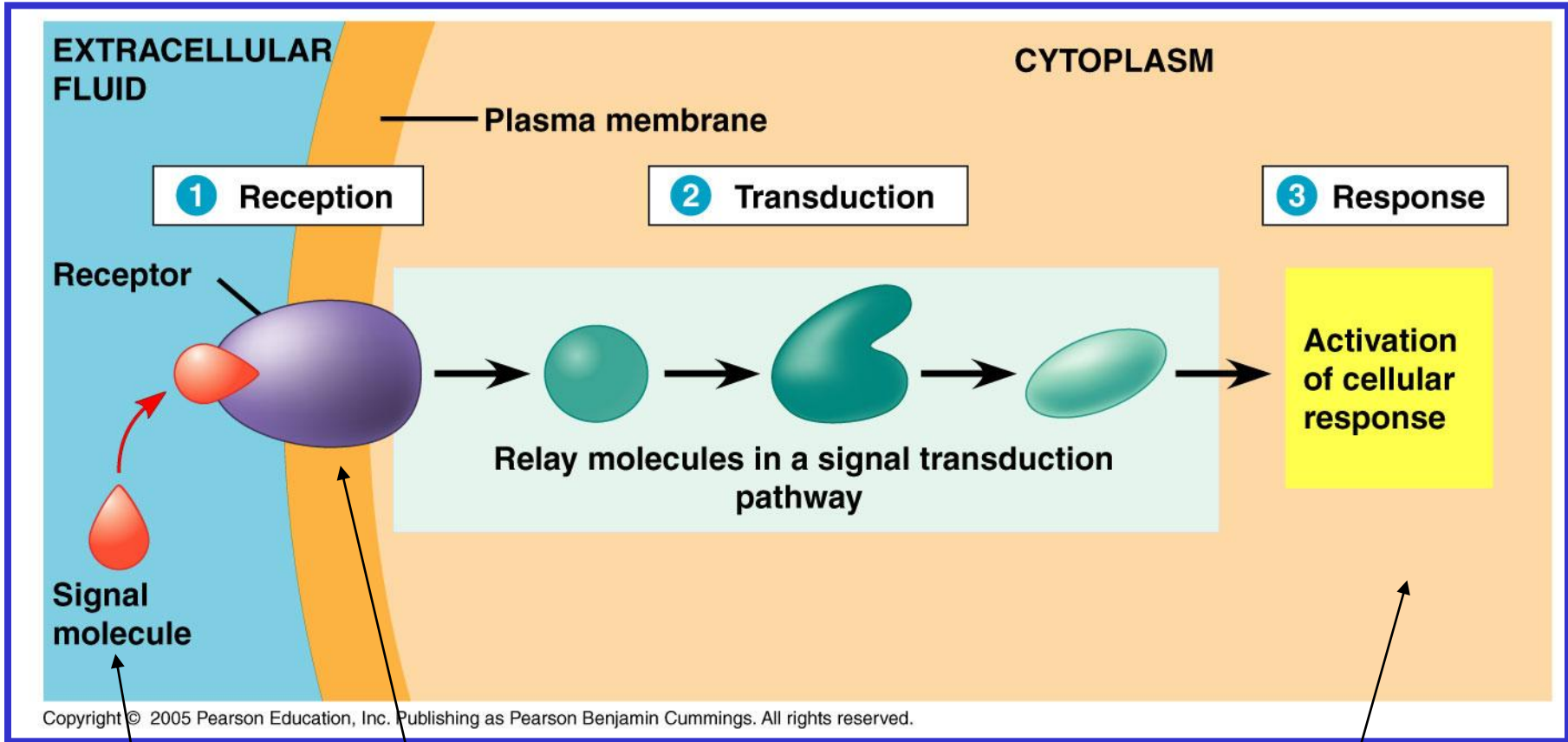
organe 1 → sécrétion médiateur



réponse secondaire

organe 2 → activation enzyme  
(signalisation intracellulaire)

# Transduction du signal

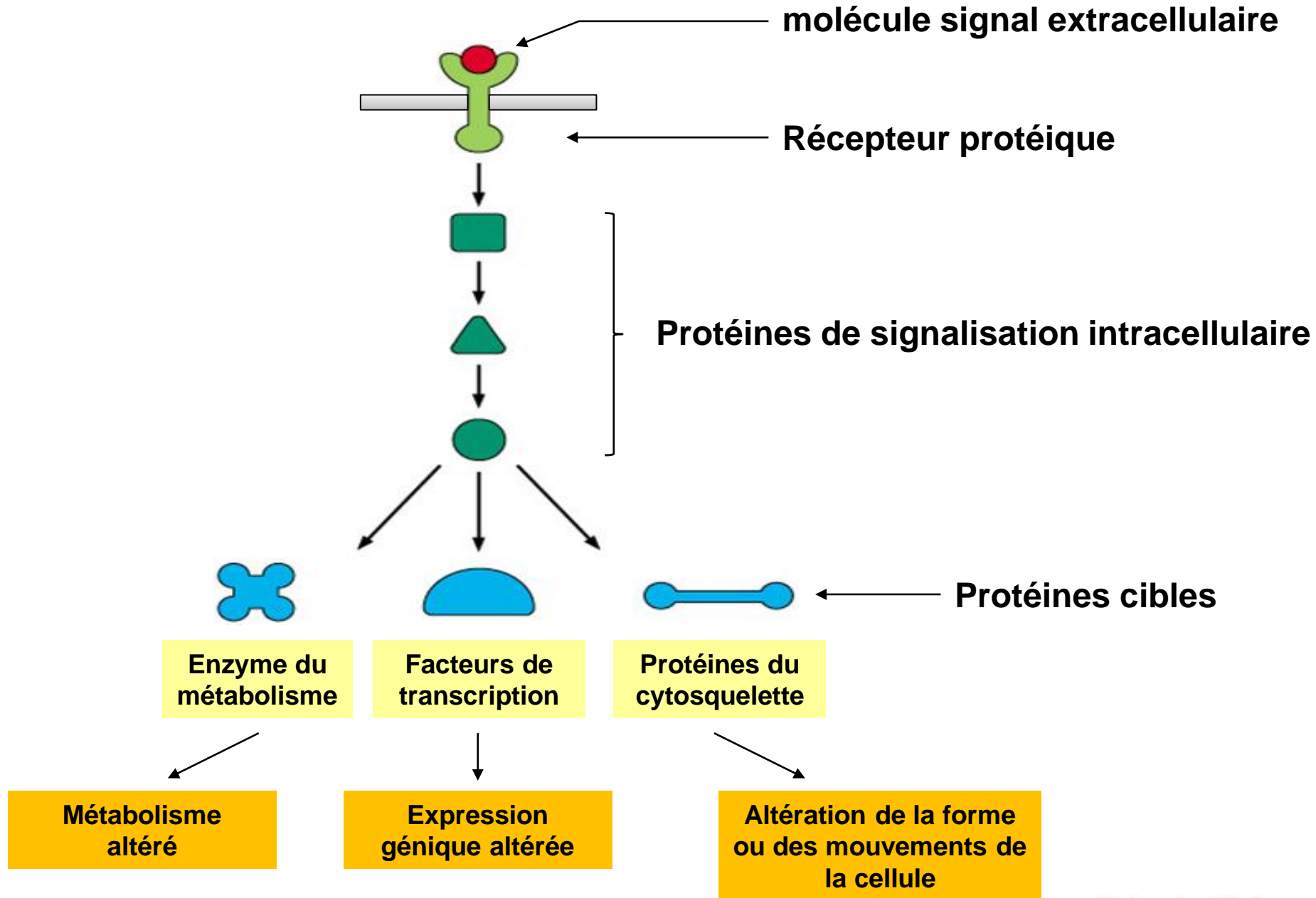


ligand

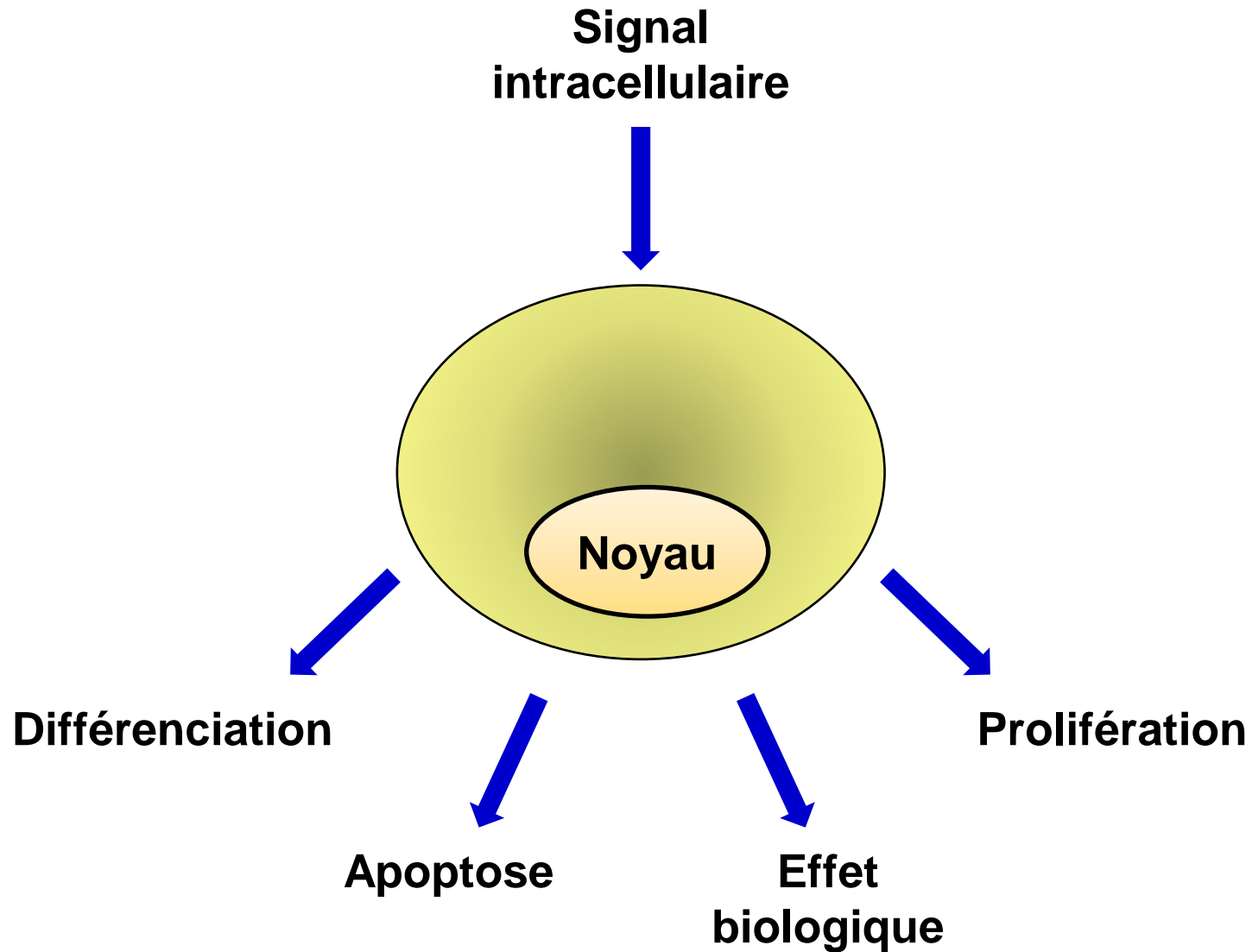
récepteur  
membranaire

réponse : activation ou  
inhibition d'enzymes

# Transduction du signal

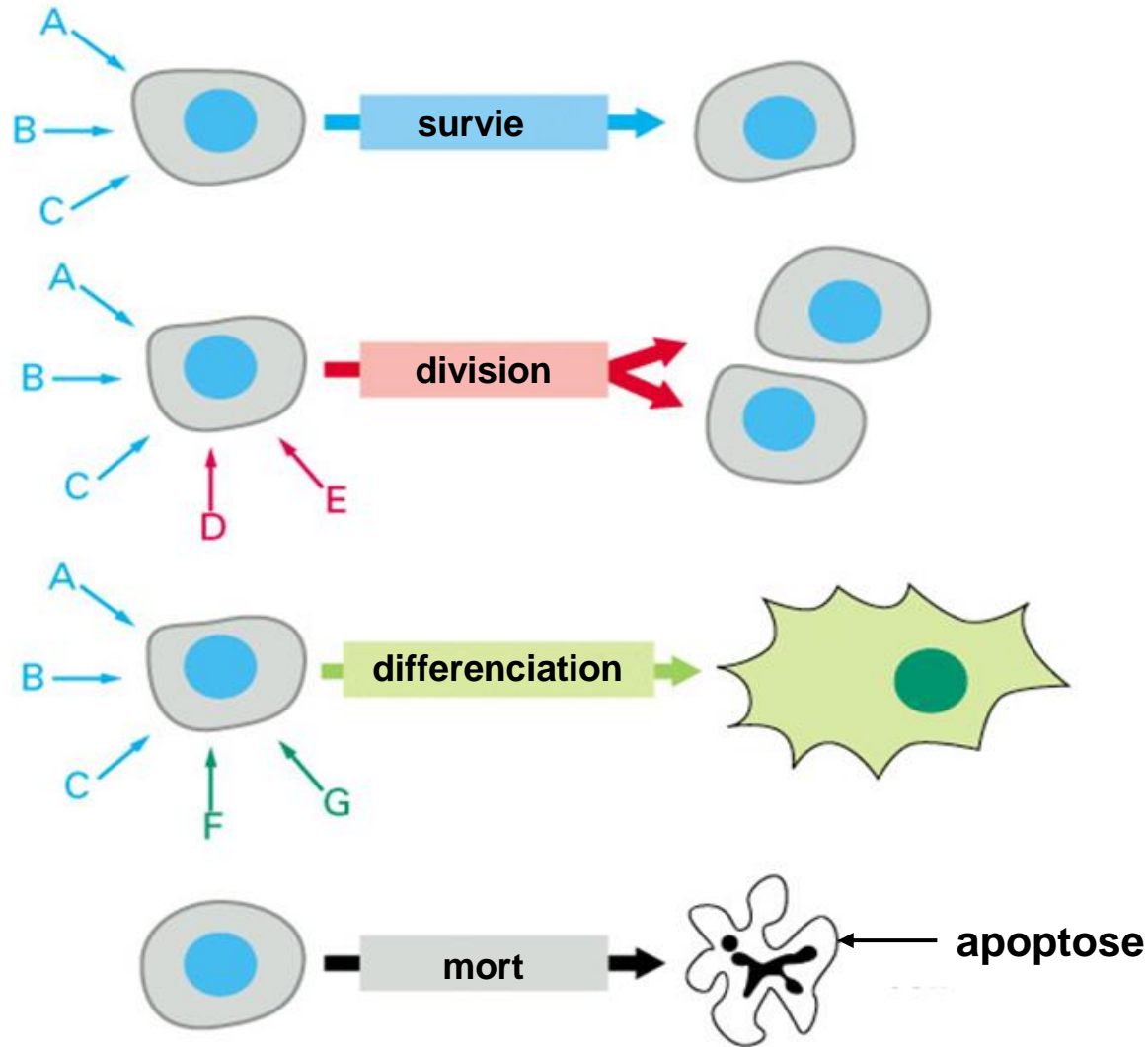


# Réponse des cellules aux signaux



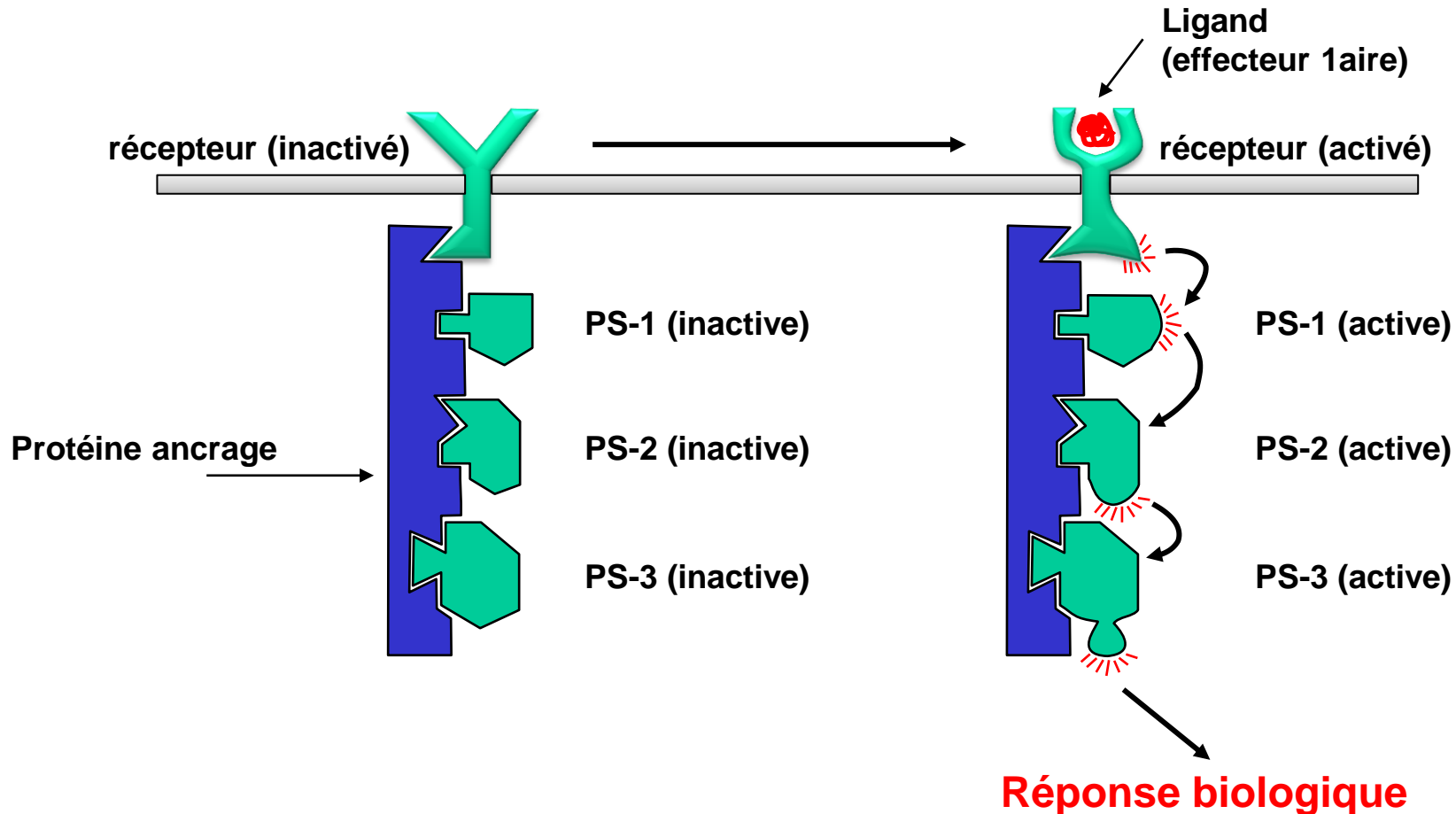
# Réponse des cellules aux signaux

Chaque cellule est programmée pour répondre à des associations spécifiques de molécules signaux extracellulaires



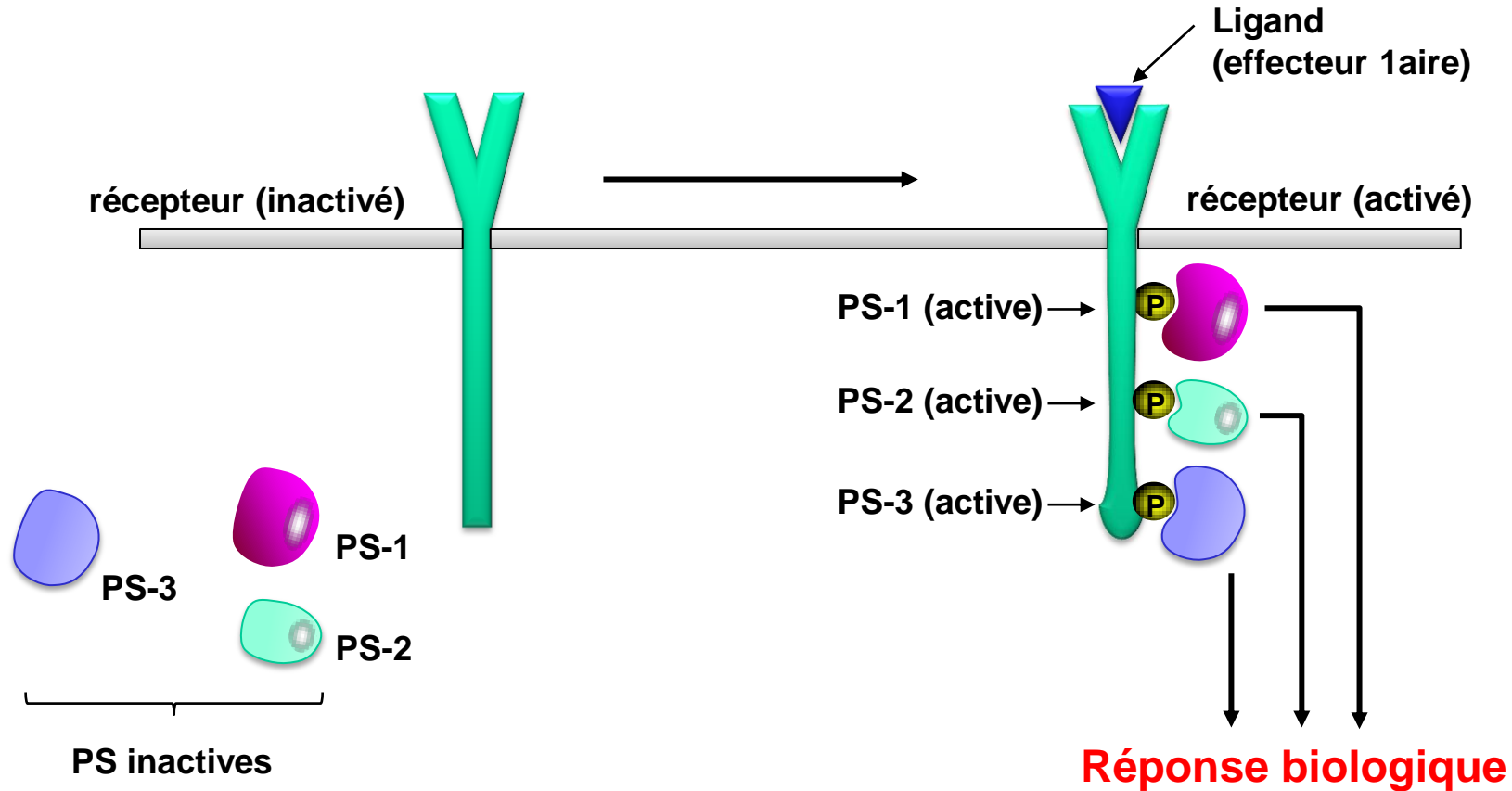
# Réponse des cellules aux signaux

Des complexes de signalisation **peuvent être pré-assemblés** pour induire une réponse plus rapide et plus spécifique



# Transduction du signal

Des complexes de signalisation peuvent être assemblés **une fois le ligand fixé** pour induire une réponse plus rapide et plus spécifique



# Transduction du signal

Les voies de signalisation intracellulaire permettent la transmission d'un signal extracellulaire jusqu'au noyau

## Protéines signalisation relais

permettent la transduction du signal (message)

## Protéines adaptatrices

participent à la transduction du signal /  
spécificité / amplification

## Amplificateurs

amplifient le signal (1 information / multiples  
activations)

## Protéines de bifurcation (carrefour)

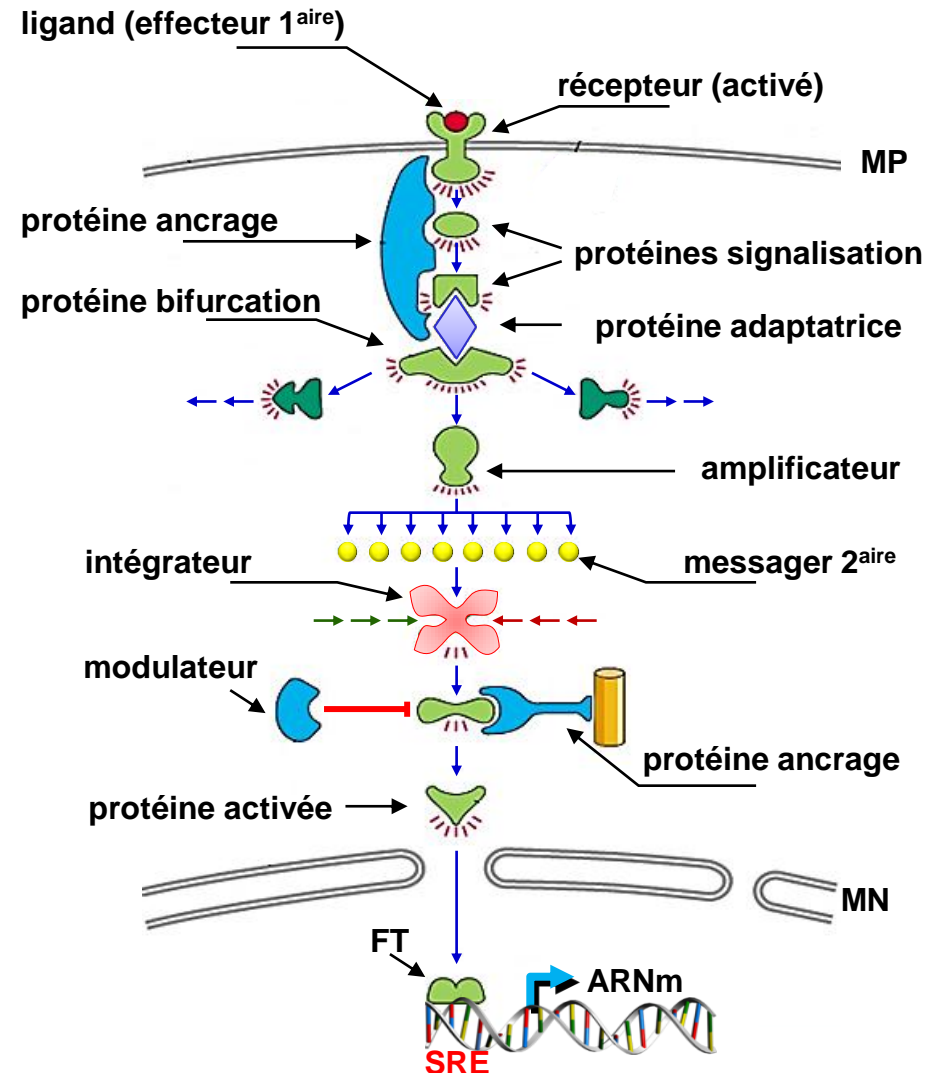
propagent un signal d'entrée vers d'autres  
voies de signalisation

## Intégrateurs

acceptent plusieurs signaux d'entrée pour  
générer un signal conditionnel de sortie

## Modulateurs

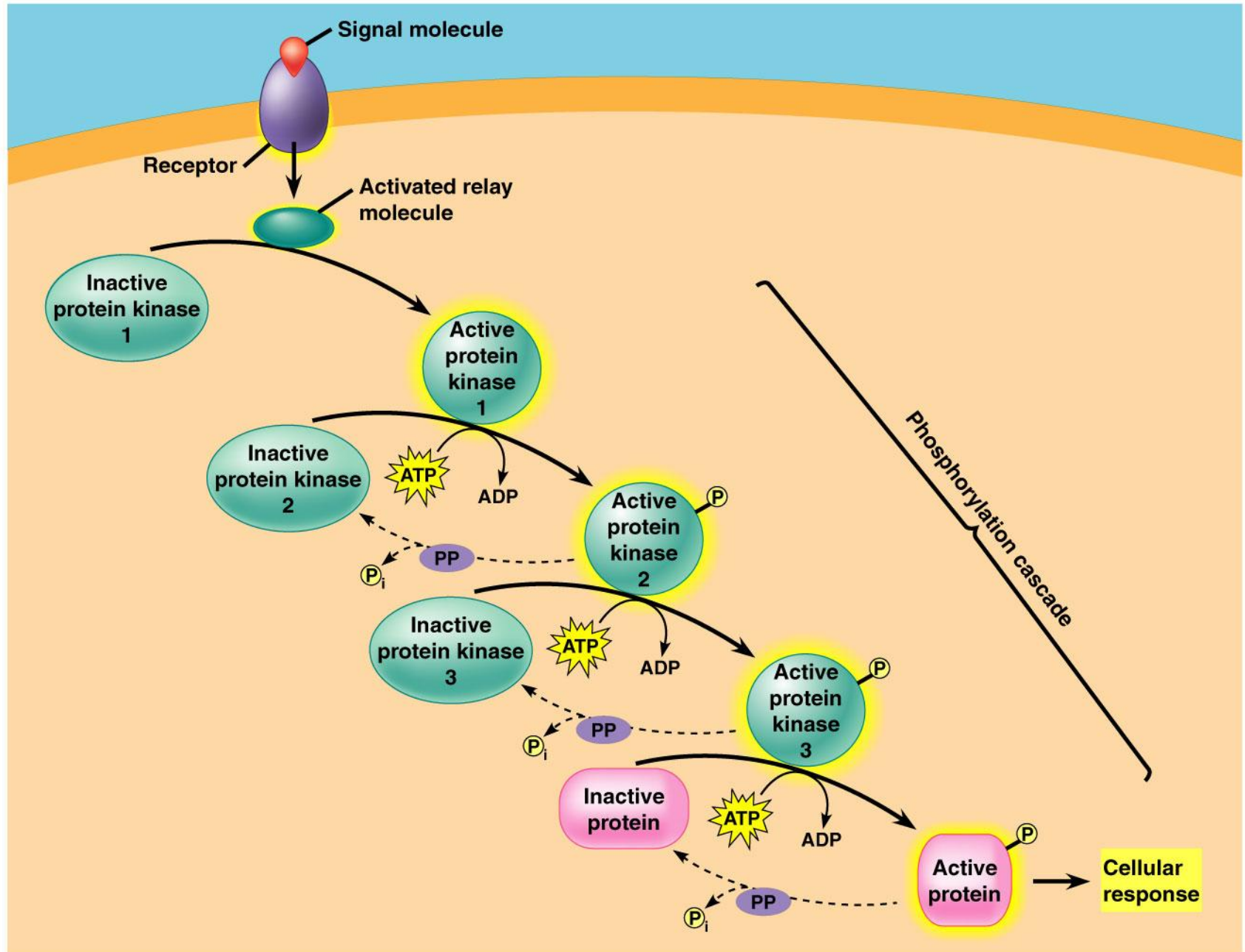
régulent (+/- l'intensité du signal)



FT: facteur transcription / SRE: Signal Response Element



# Cascade de phosphorylations



# Communication dans l'organisme : comment ?

réponse primaire

organe 1 : **sécrétion médiateur** → hormone; F de croissance

réponse secondaire

organe 2 : **activation / induction d'enzymes**

## Activation / induction enzymatique

### Activation

- augmentation de **l'activité**
- changement
- phosphorylation

Signalisation cytoplasmique

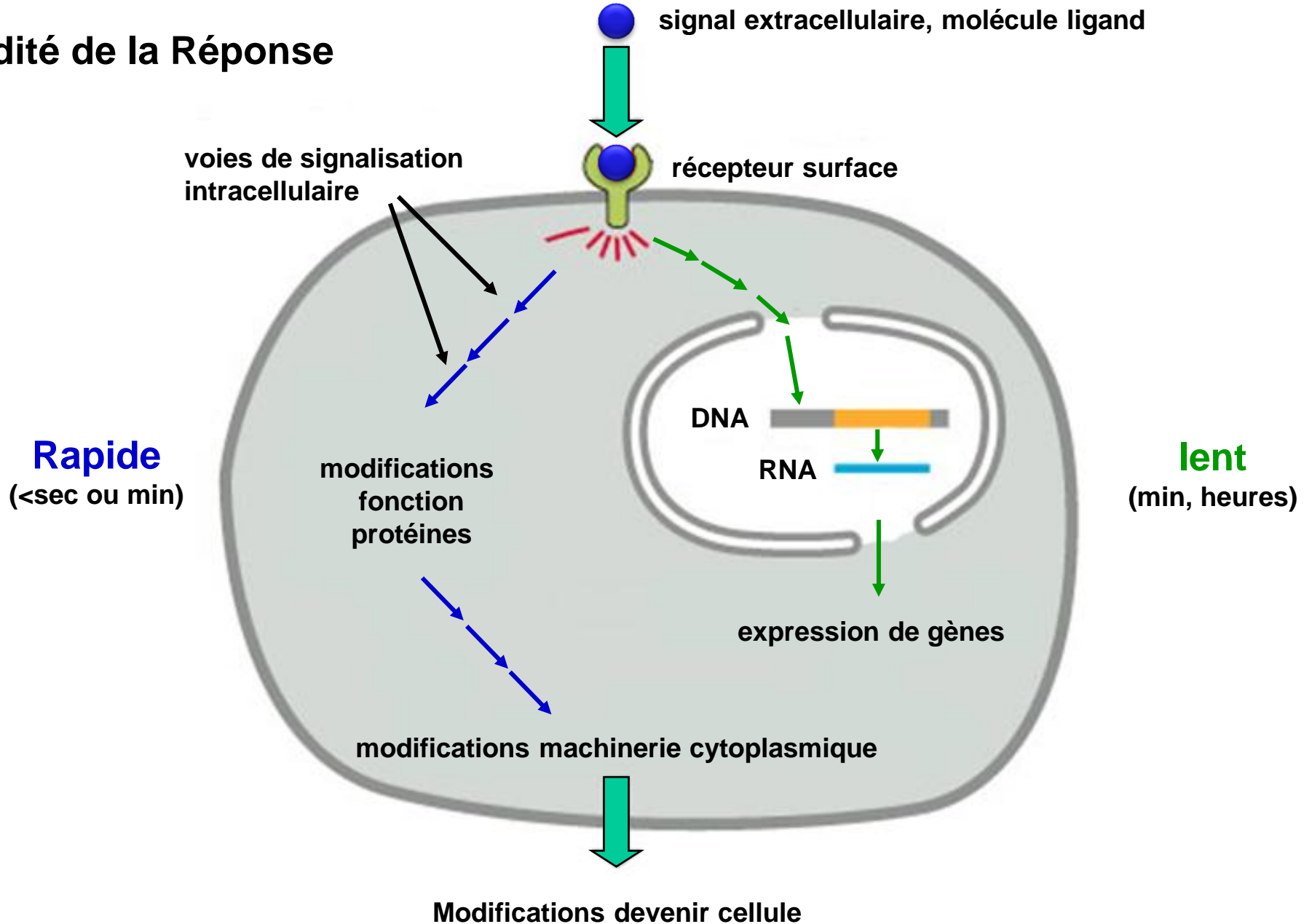
### Induction

- augmentation de la **quantité** d'enzyme
- Modification de l'expression de gènes

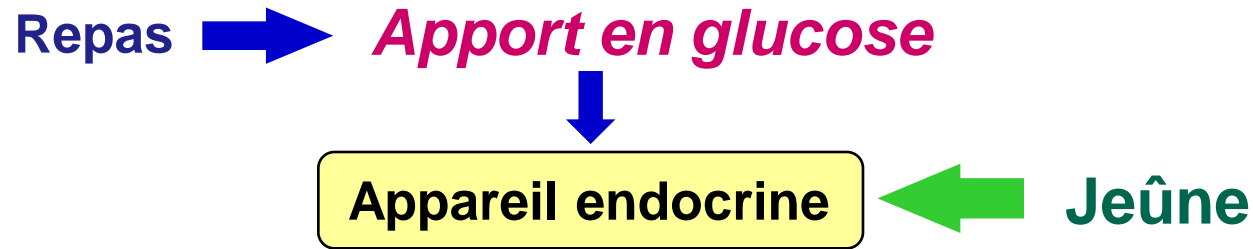
Signalisation nucléaire

# Communication dans l'organisme : comment ?

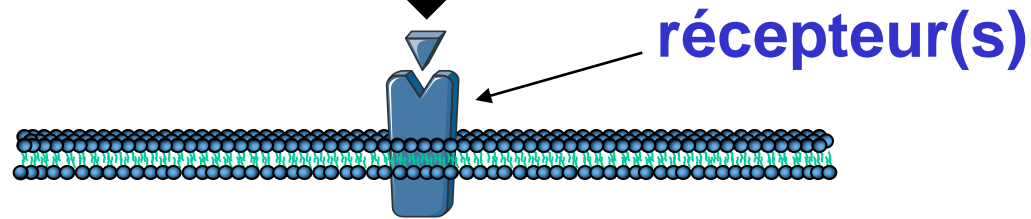
## Rapidité de la Réponse



# Communication dans l'organisme : comment ?



Signal primaire → **hormone(s)**



Transduction du signal

*Activation*

*Induction*

kinase(s), phosphatase(s)

Facteur(s) de transcription

↓

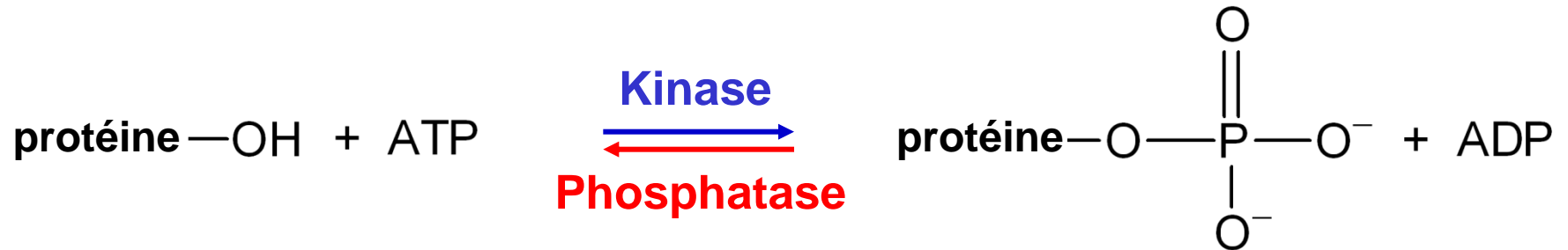
Activation enzymatique  
**(GS)** / **(GP)**

↓

Induction expression gène,  
synthèse protéique (**PEPCK**)

# Communication dans l'organisme : comment ?

## Protéines Kinases / Phosphatases



Réversibilité du signal

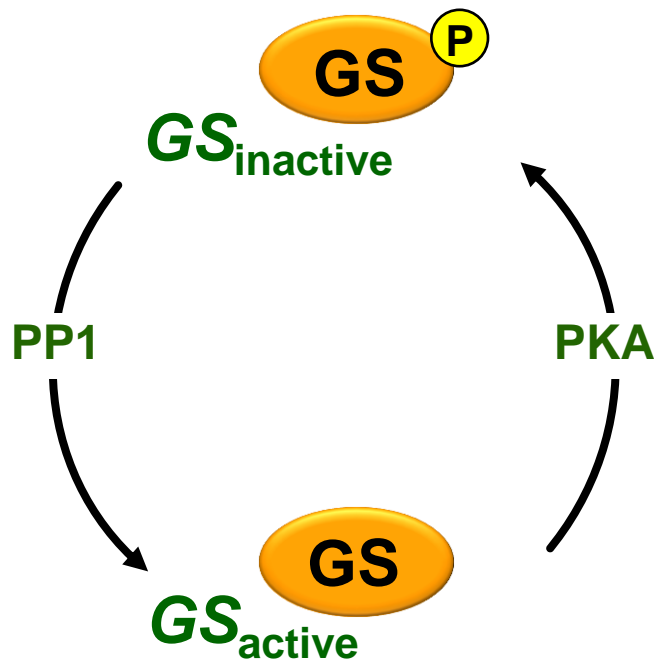
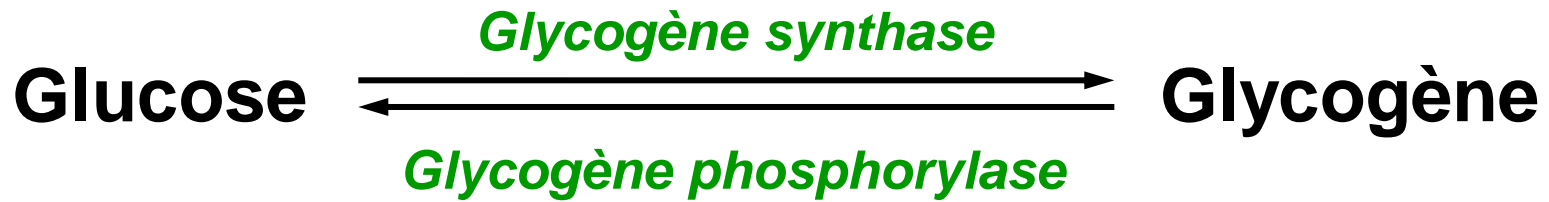
La réversibilité contribue à la dynamique cellulaire

Les réponses auront tendance à se maintenir, voire s'amplifier aussi longtemps que la signalisation est maintenue

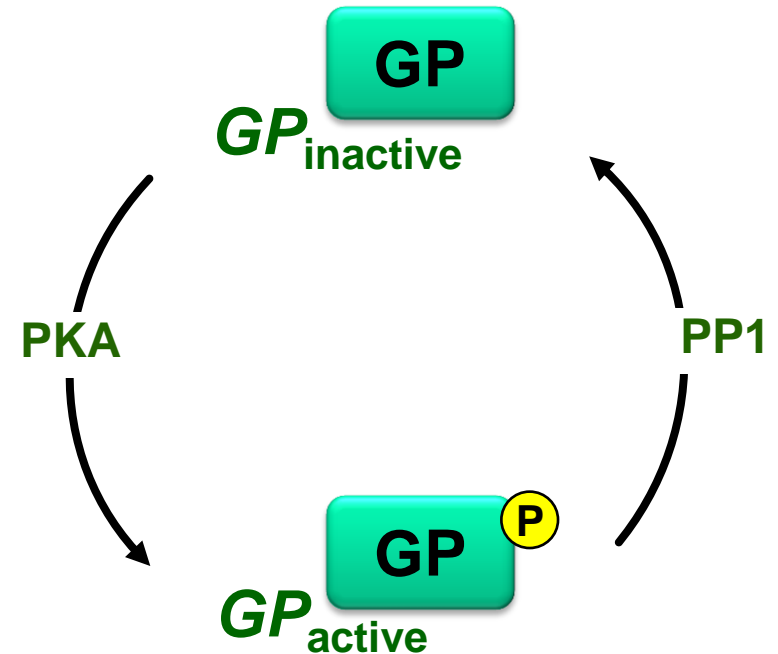
# Communication dans l'organisme : comment ?

*Activation*

**Foie**



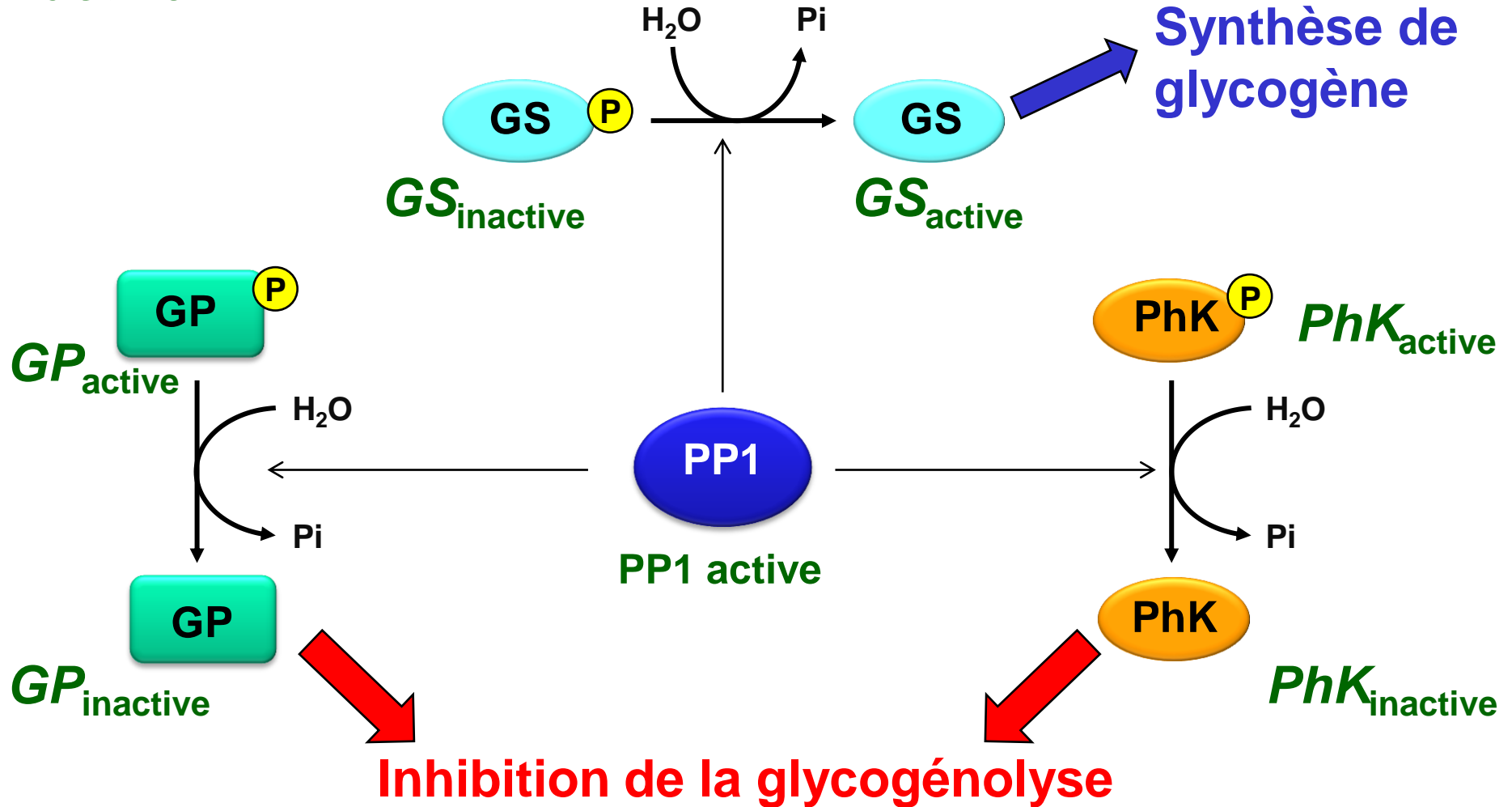
*GS : Glycogène synthase*



*GP : Glycogène phosphorylase*

# REGULATION DE LA GLYCOGENOLYSE

PP1 active



GS : Glycogène Synthase

PhK : Phosphorylase Kinase

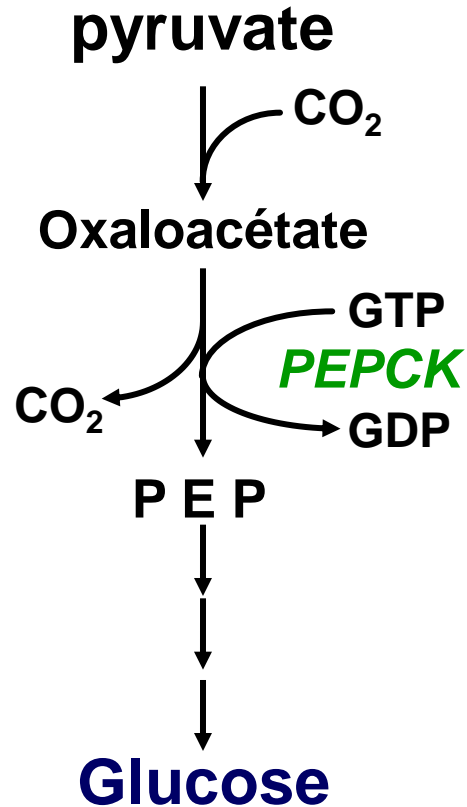
GP : Glycogène Phosphorylase

# Communication dans l'organisme : comment ?

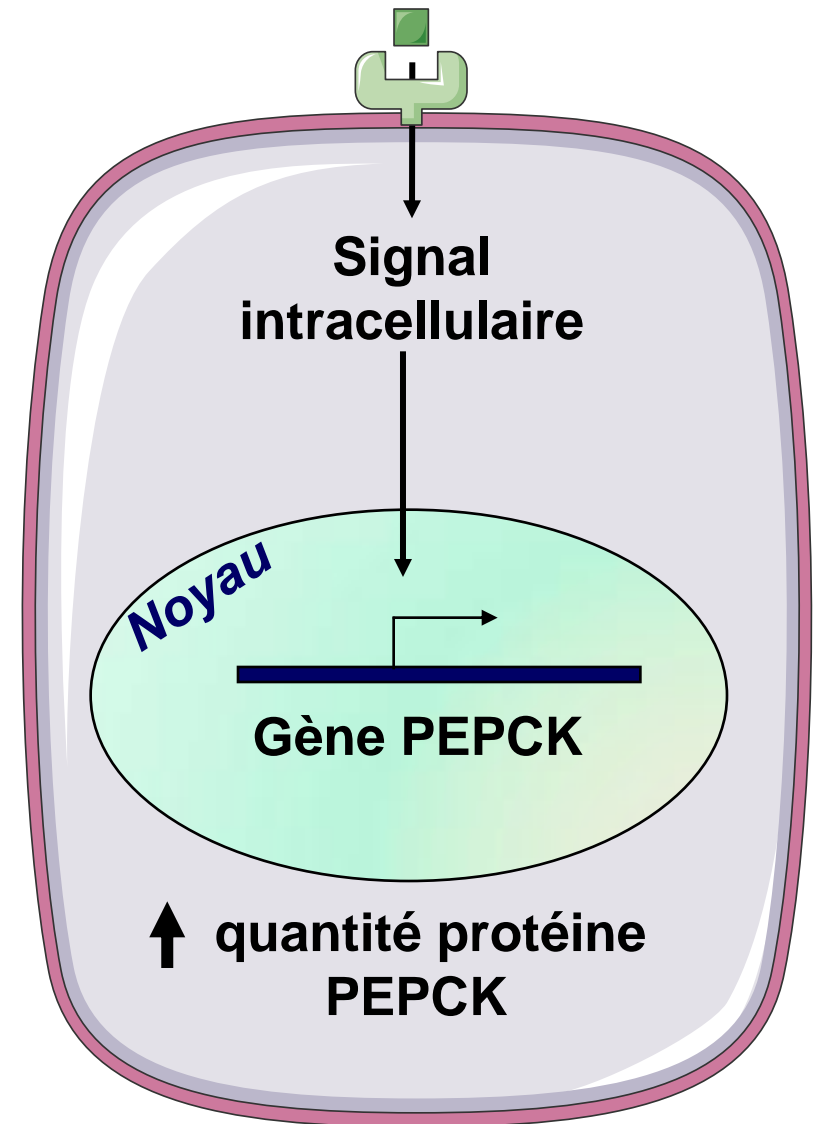
## Exemple néoglucogenèse

*Induction*

*Néoglucogenèse*



Foie



Maintien glycémie (fonction cérébrale)

*PEPCK : PEPCarboxyKinase*

# LES HORMONES

## Introduction

Le système endocrinien constitue un des deux grands systèmes de communication de l'organisme

Rôle essentiel lors du développement, pour la réalisation de certaines grandes fonctions physiologique et de l'homéostasie (maintien constant du milieu intérieur)

## Le système endocrinien se compose :

- d'organes sécréteur : **les glandes endocrines**, qui synthétisent et libèrent des hormones dans l'organisme
- Des cellules et organes sensibles aux hormones → des **cellules ou des organes cibles**

Les hormones sont des **messagers chimiques** véhiculés par le sang jusqu'aux **cellules cibles** sur lesquelles elles agiront

# LES HORMONES

**Le système endocrinien fait intervenir plusieurs dizaines d'hormones différentes.**

**La sécrétion d'Ho peut être déclenchée par des stimulations produites par :**

- **des influx nerveux**
- **des variations homéostatiques (concentration en ions, en nutriments...)**
- **des variations environnementales (stress)**
- **d'autres hormones**

**Les hormones se répartissent en 3 groupes en fonction :**

- **de leurs natures biochimiques**
- **de leurs mécanismes d'action**

# LES HORMONES

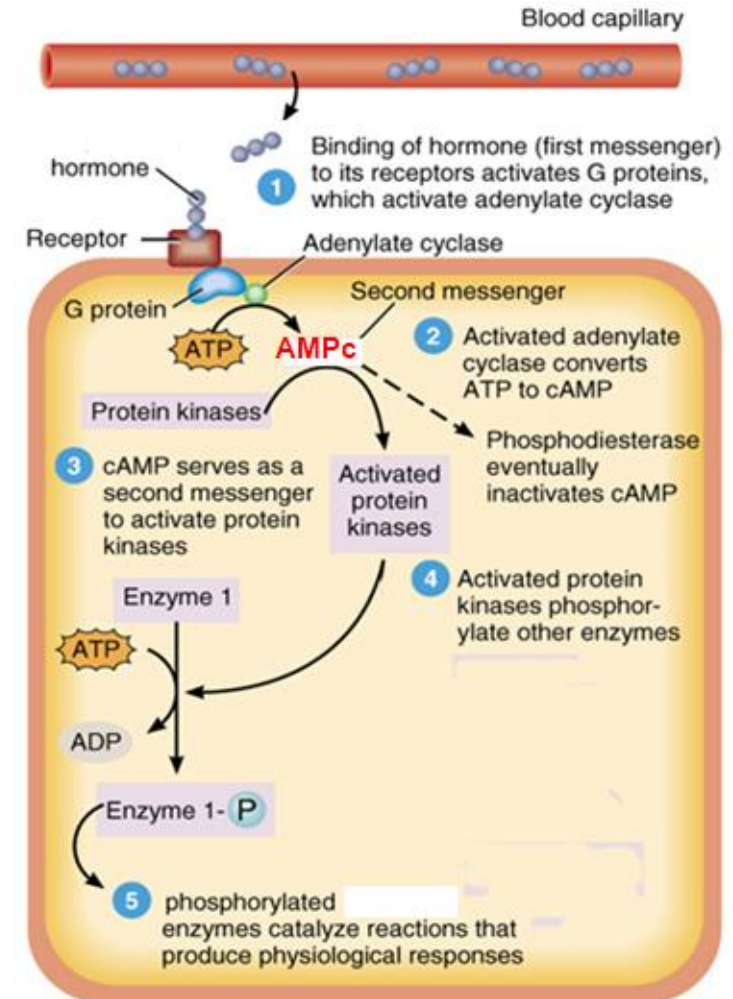
## Les hormones peptidiques

Petites protéines synthétisées par les ribosomes puis empaquetées par l'appareil de Golgi dans des vésicules sécrétoires (permettent aux hormones de franchir la bicouche lipidique de la membrane plasmique)

Une fois sécrétées dans le sang, les hormones peptidiques circulent librement

Elles agissent sur les **cellules cibles** par l'intermédiaire de **récepteurs protéiques** (Re) traversant la membrane plasmique des cellules cibles

Les récepteurs sont **spécifiques** pour une hormone donnée mais une hormone peut avoir plusieurs types de récepteurs membranaires



# LES HORMONES

## Les hormones stéroïdiennes

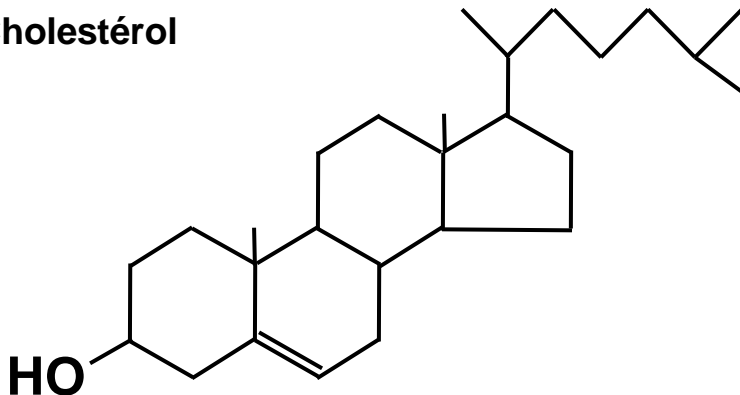
Dérivent de **lipides**, synthétisés dans le cytosol à partir du **cholestérol** peuvent facilement entrer dans les cellules par diffusion simple à travers la membrane plasmatique

**PROBLEME** : comment se déplacent-elles dans le flux sanguin, milieu hydrophile?

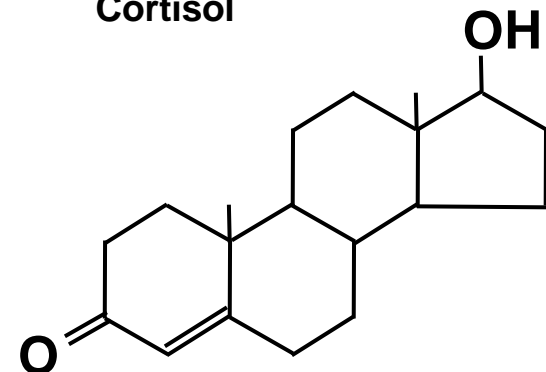
**REPONSE** : Elles se déplacent **complexées à des protéines transporteur**

Une fois proche du tissu cible, elle se dissocient de la protéine transporteur entrent dans une cellule cible et **induisent un effet ou une réponse cellulaire spécifique**

Cholestérol

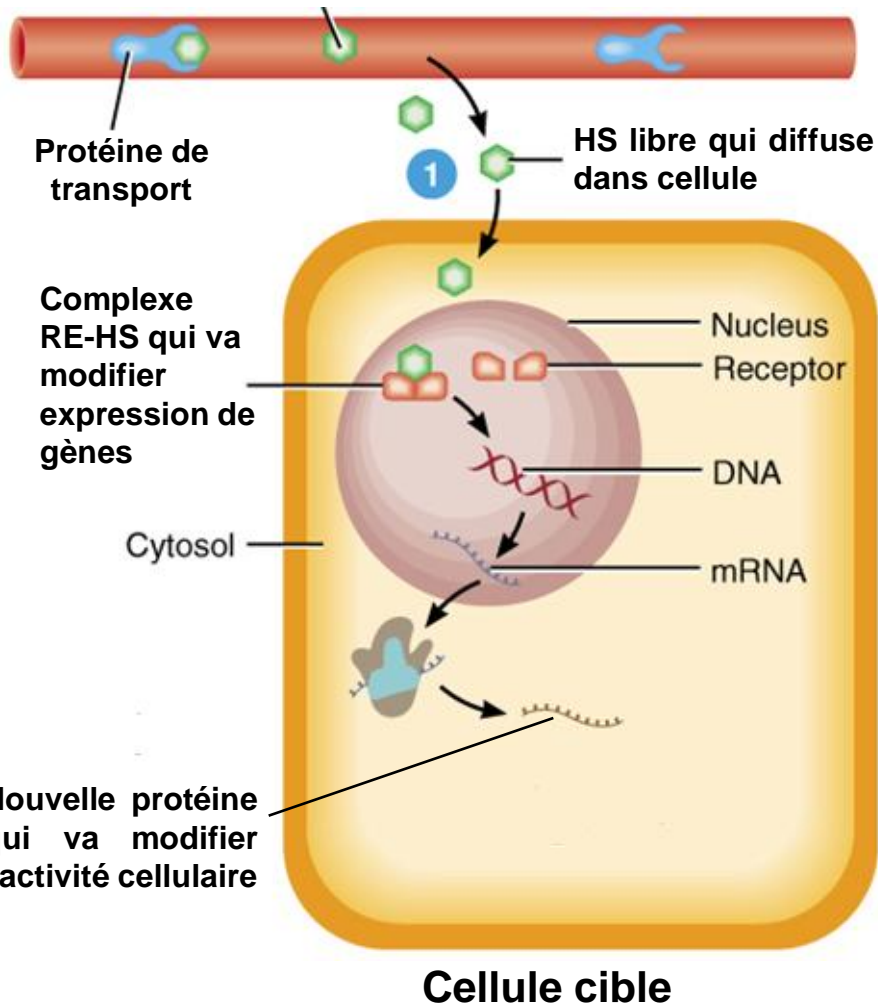


Cortisol

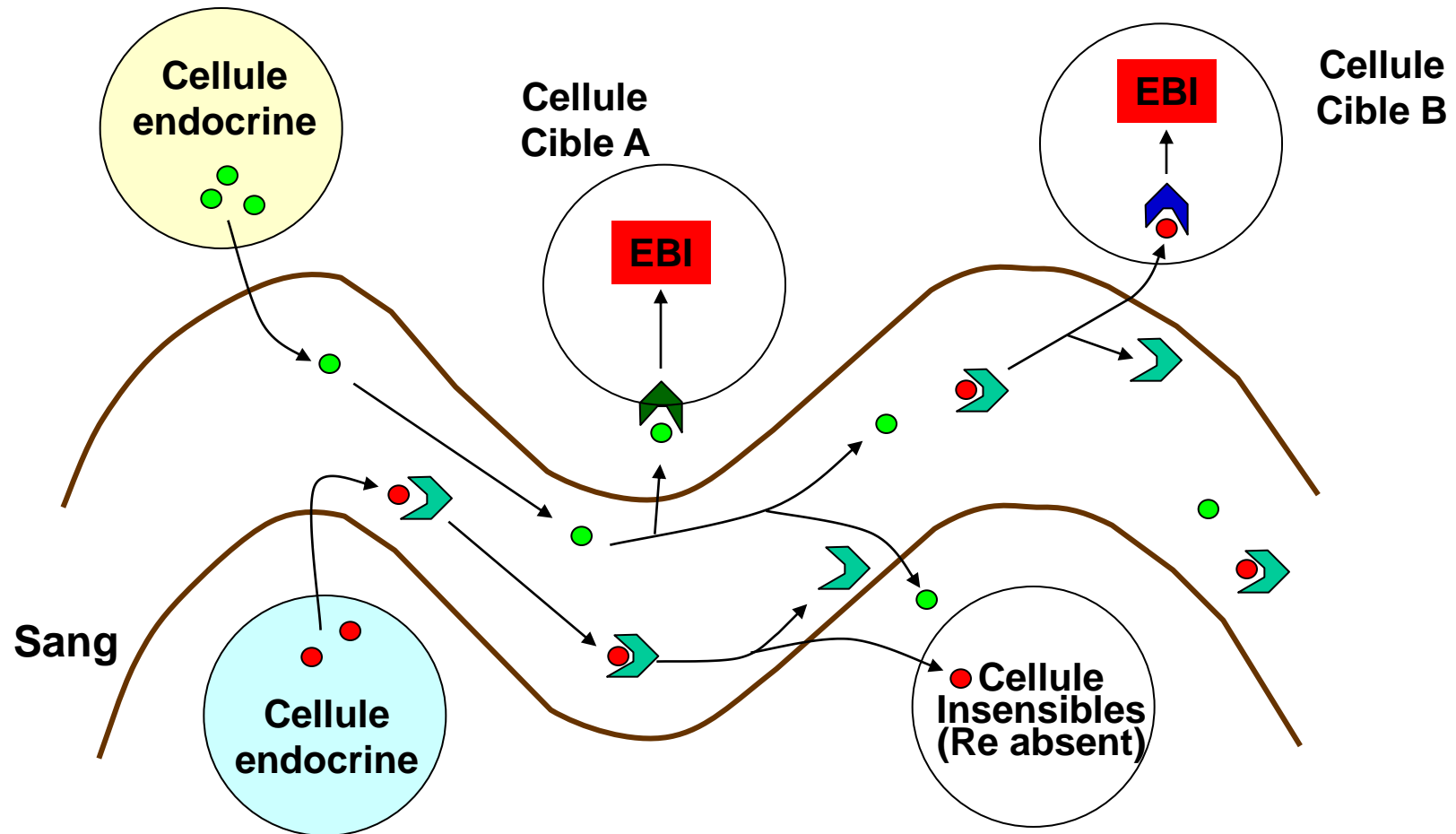


# LES HORMONES

## Les hormones stéroïdiennes



- Le complexe stéroïde-protéine est inactif, seule l'hormone stéroïde libre possède une action endocrine
- La protéine de transport ne libère l'hormone stéroïde (HS) qu'au niveau des capillaires sanguins qui irriguent les organes cibles
- Une fois libéré, HS traverse la paroi du capillaire.  
Au contact de leurs cellules cibles, les stéroïdes franchissent la membrane plasmique et interagissent avec des Récepteurs intracellulaires (RE) afin de modifier l'expression génique de la cellule cible



● Ho hydrophobe



Re membranaire

● Ho hydrophile



Re cellulaire



Protéine de transport



EBI Effet Biologique Induit

# LES HORMONES

## Les hormones monoaminées

Dérivent presque toutes d'un acide aminé la **tyrosine**

→ Adrénaline, noradrénaline, dopamine et mélatonine (tryptophane)

Ces hormones aminées **circulent librement** dans le sang et agissent sur les cellules cibles par l'intermédiaire de **récepteurs spécifiques**

Certaines d'entre elles (NA et DA) existent aussi dans le système nerveux où elles fonctionnent comme **neurotransmetteur**

# LES HORMONES

## Les hormones monoaminées

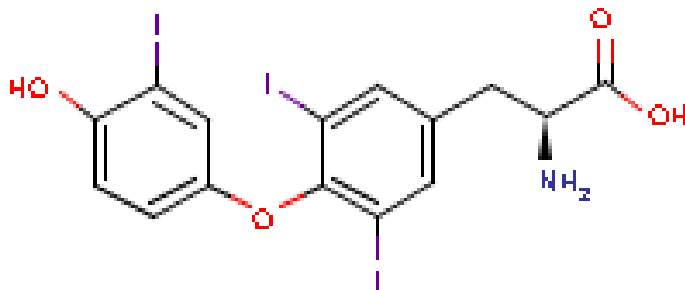
Dérivent presque toutes d'un acide aminé la **tyrosine**

Autre sous-groupe d'hormones monoaminées :

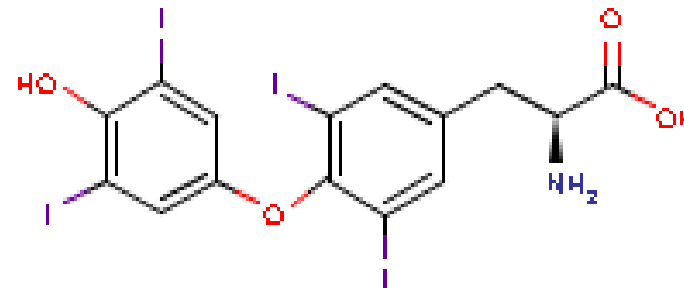
Les hormones thyroïdiennes. La **triiodothyronine (T3)** et la **thyroxine (T4)**

- Elles contiennent des atomes d'**iode**
- Elles sont liées à des protéines plasmatiques pendant leur transport sanguin (ce qui les inactive transitoirement)
- Elles agissent sur des Re intracellulaires et modifient l'expression des gènes comme le font les stéroïdes

triiodothyronine (T3)



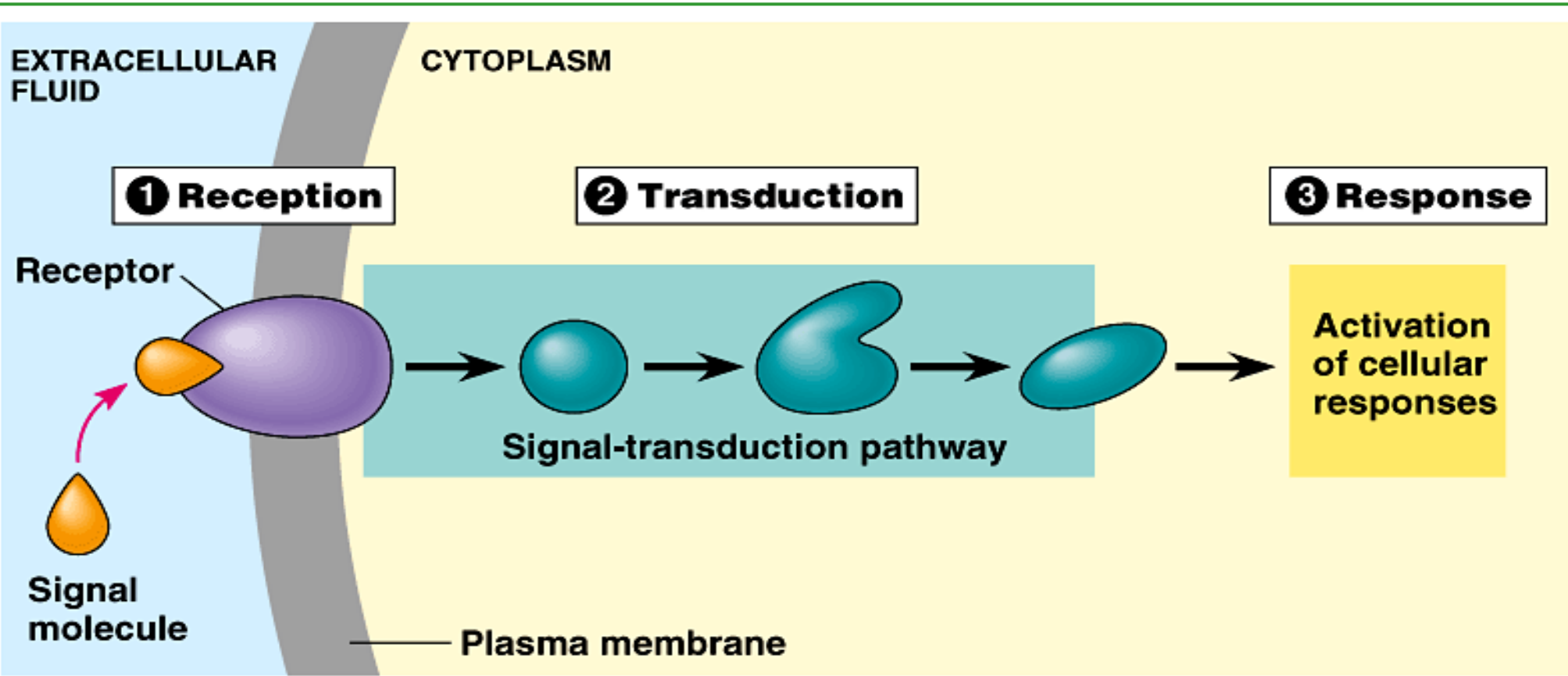
thyroxine (T4)



# LA TRANSDUCTION DU SIGNAL

## Les étapes essentielles

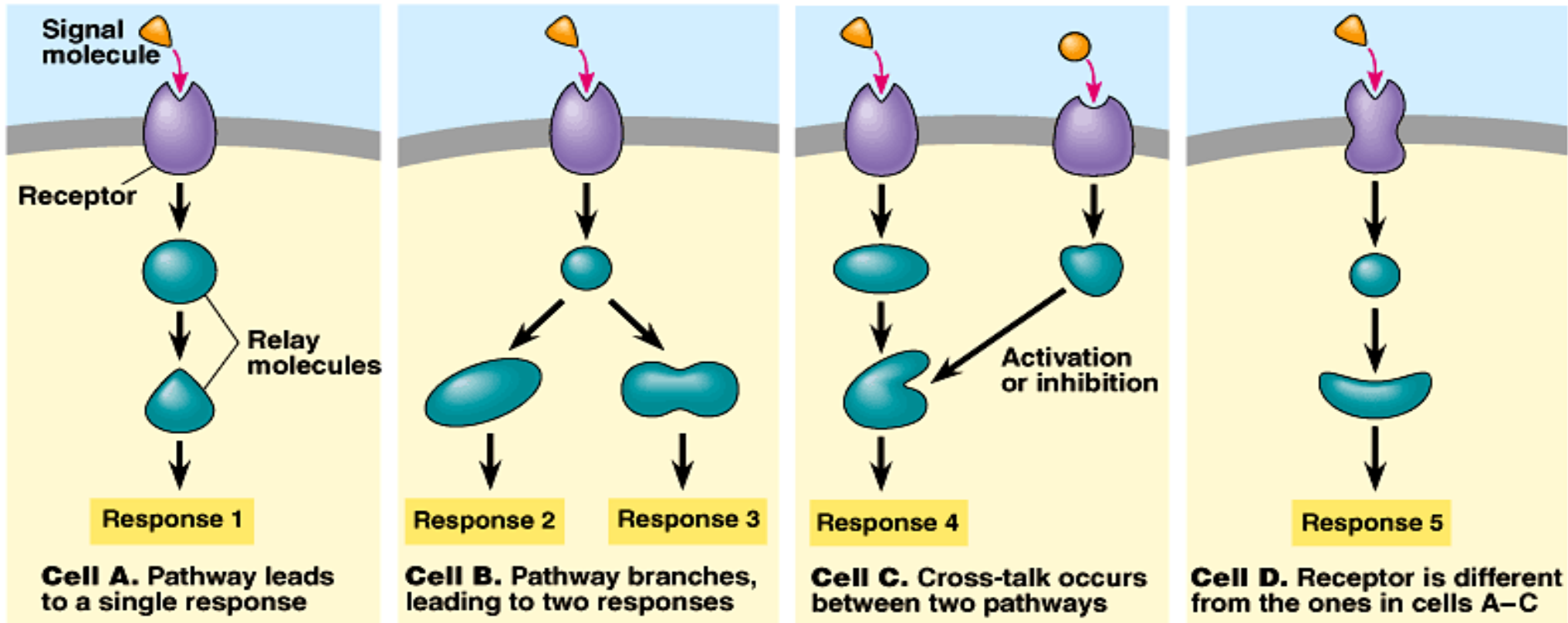
Une cellule ciblée par un signal chimique particulier doit posséder une protéine récepteur qui reconnaît spécifiquement la molécule signal



# LA TRANSDUCTION DU SIGNAL

## Les étapes essentielles

La réponse d'une cellule donnée à un signal dépend de la nature et du type des protéines qu'elle possède



# **LES RECEPTEURS MEMBRANAIRES**

# Récepteurs : généralités

## Récepteurs

- Molécules spécialisée dans la **reconnaissance de signaux**
- Peuvent être **à l'intérieur ou à l'extérieur** de la cellule
- Sont **spécifiques d'un signal** → ne reconnaissent que le signal pour lesquels ils sont présents
- **L'énergie du signal** (impulsion) ou **la liaison du ligand** modifie la structure du récepteur

## Ligands

- Substances qui s'associent aux récepteurs avec une affinité élevée
- L'interaction ligand-récepteur est à la base de la réponse biologique
- Le ligand peut être
  - Endogène ou exogène
  - agoniste → réponse biologique du même type que le ligand endogène
  - antagoniste → s'associe au récepteur et bloque la réponse biologique

# Récepteurs : généralités

## Pour qu'une protéine soit un récepteur

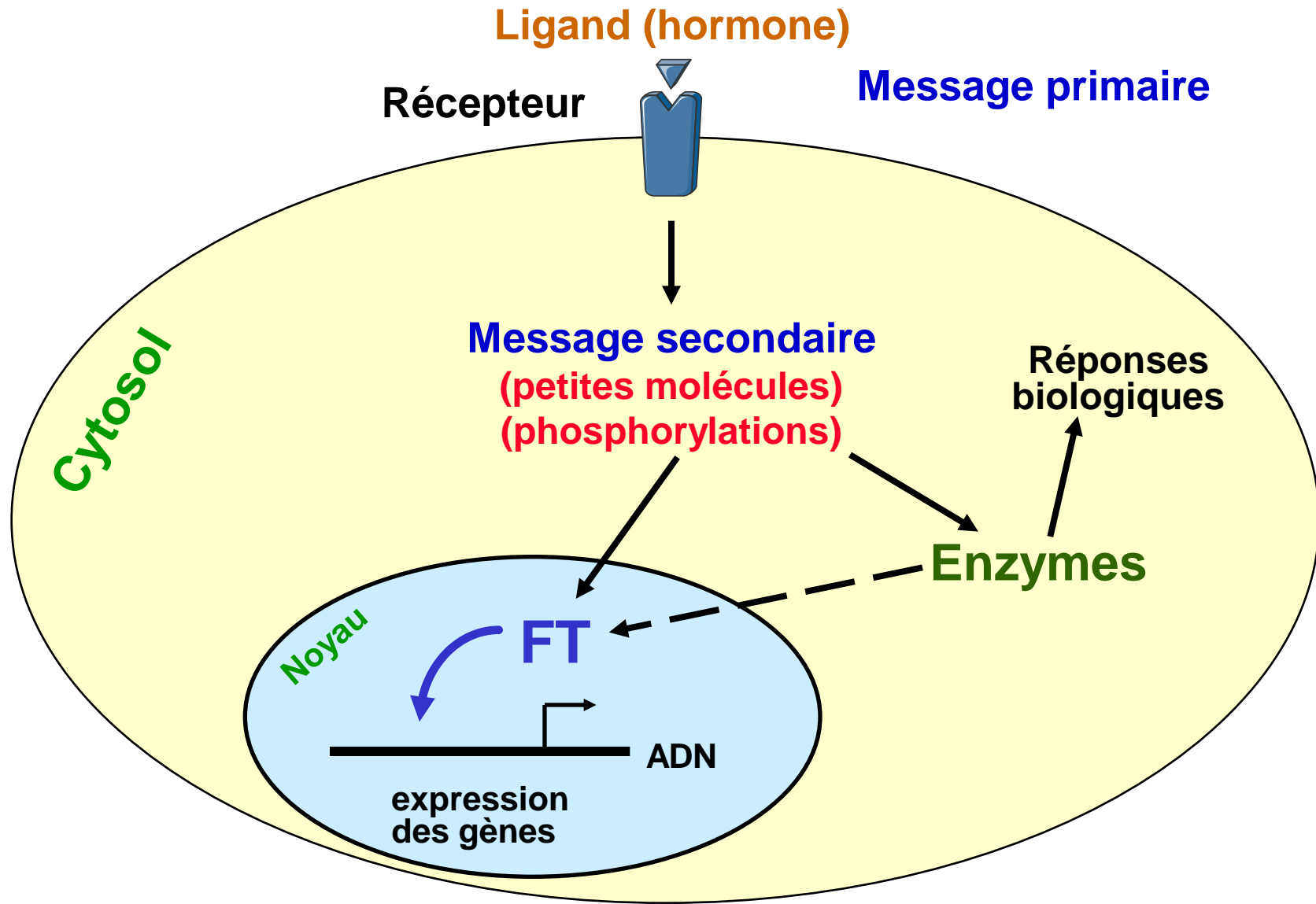
- Doit avoir obligatoirement un **ligand endogène**
- Doit **s'associer à ce ligand avec grande affinité**
- Doit pouvoir **discriminer** entre **le ligand biologiquement** actif et d'autres molécules similaires (notion de spécificité)
- L'**interaction ligand – récepteur** doit être à la base de la réponse biologique

**Toutes ces conditions doivent être remplies !!!**

## Définition d'un récepteur

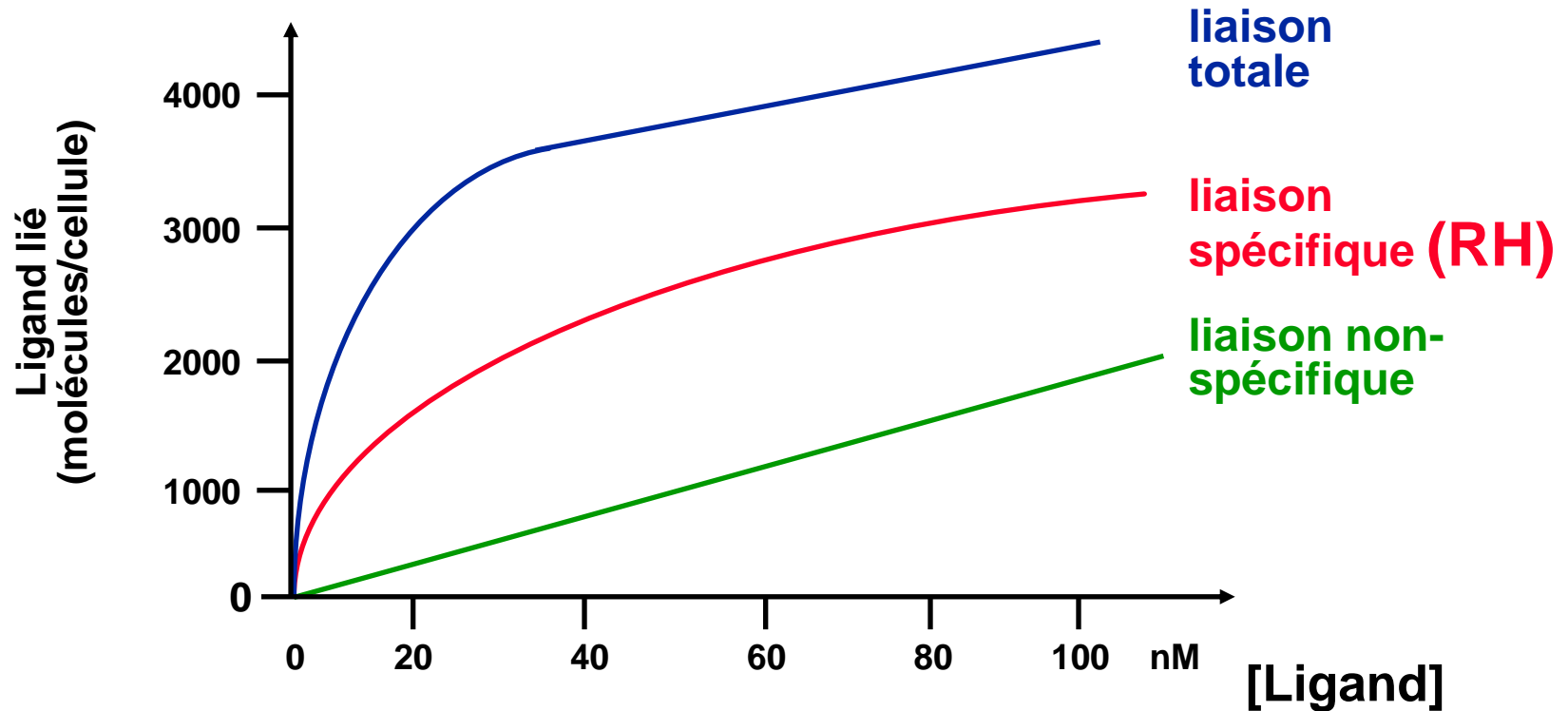
Molécules localisées soit à l'intérieur ou soit à la surface des cellules cibles. L'association, avec **haute affinité et spécificité**, de cette molécule à une **substance endogène** à l'organisme, est à la base d'une étape essentielle dans la modification de la fonction cellulaire

# Récepteurs : généralités



# Spécificité - affinité des récepteurs

Récepteurs hormones polypeptidiques = protéines membranaires



Interactions de faibles énergie réversible (ioniques, hydrophobes)

Liaison non spécifique avec lipides et autres protéines de la membrane plasmique

# Spécificité - affinité des récepteurs

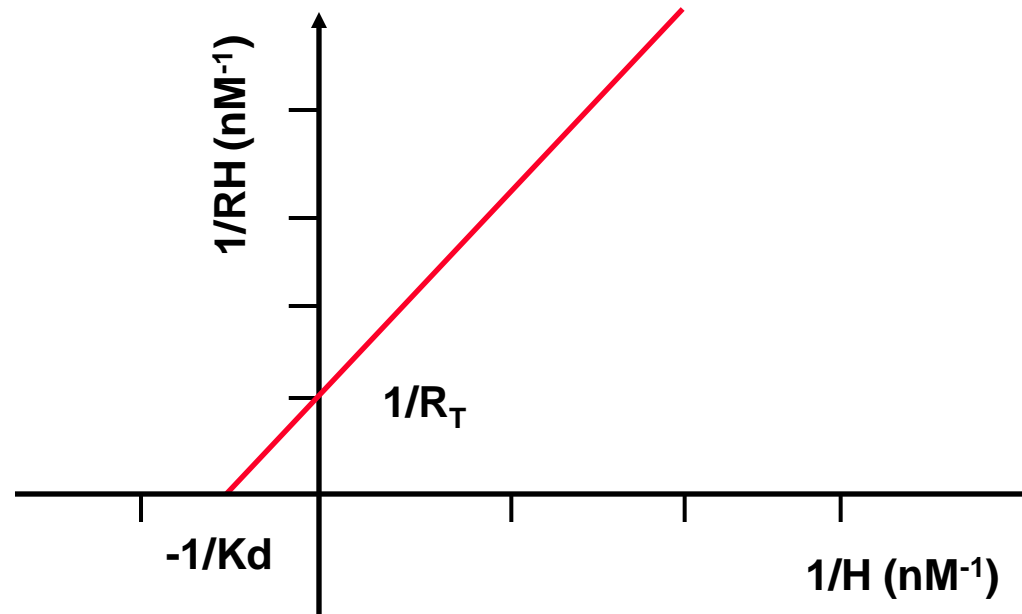
Représentation en double inverse



$$R_T = R + RH$$

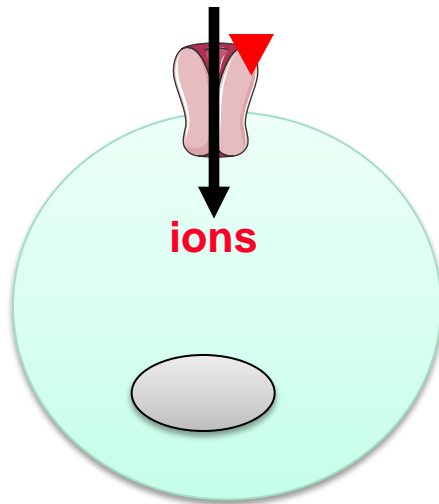
$$K_d = \frac{[R][H]}{[RH]}$$

$$\left. \begin{array}{l} R_T = R + RH \\ K_d = \frac{[R][H]}{[RH]} \end{array} \right\} \Rightarrow [RH] = \frac{R_T}{1 + K_d/[H]} \Rightarrow \frac{1}{[RH]} = \frac{1}{R_T} + \frac{K_d}{R_T[H]}$$

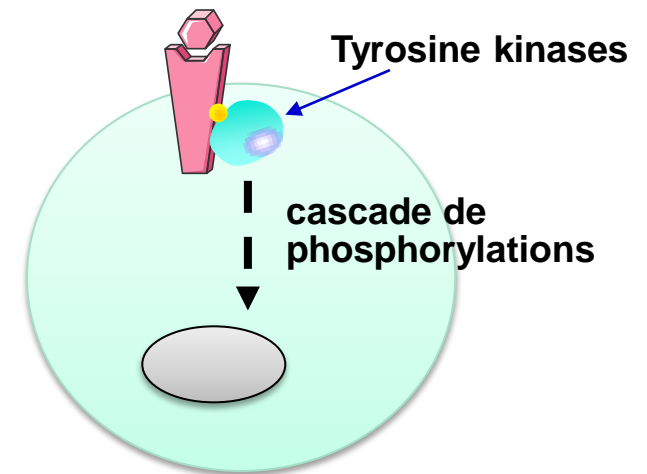


# 4 grands types de récepteurs

## Les récepteurs ionotropiques

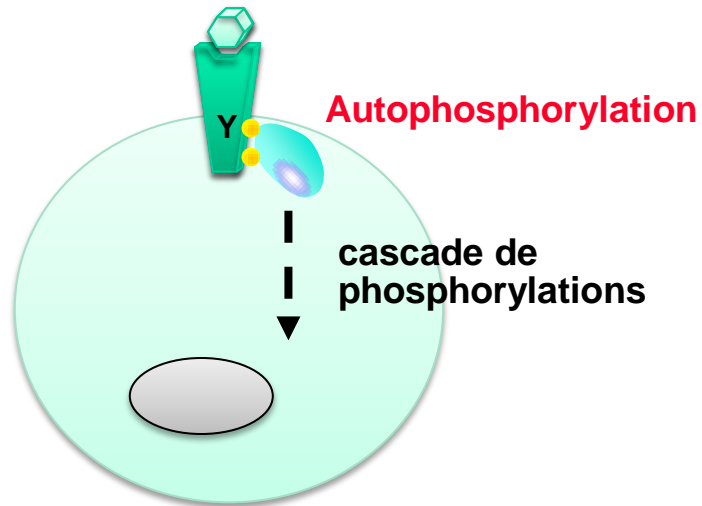


## Les récepteurs couplés à des tyrosine kinases

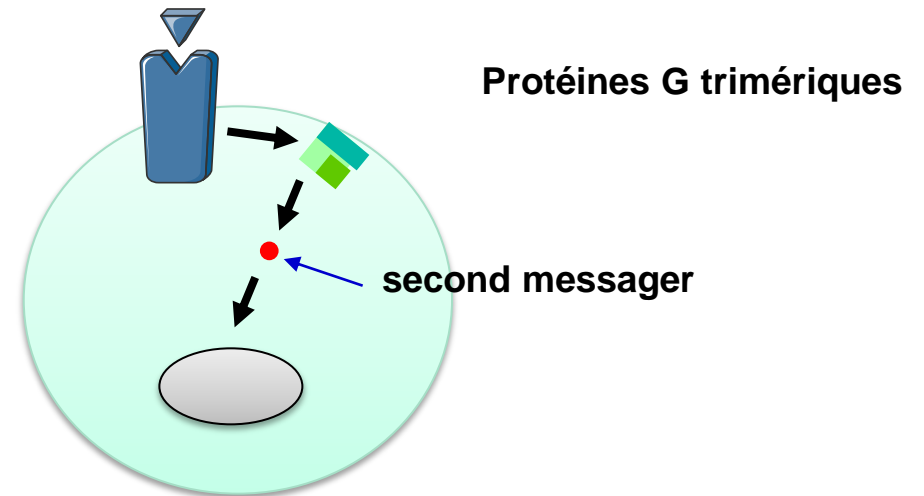


# 4 grands types de récepteurs

## Les récepteurs à activité enzymatique intrinsèque

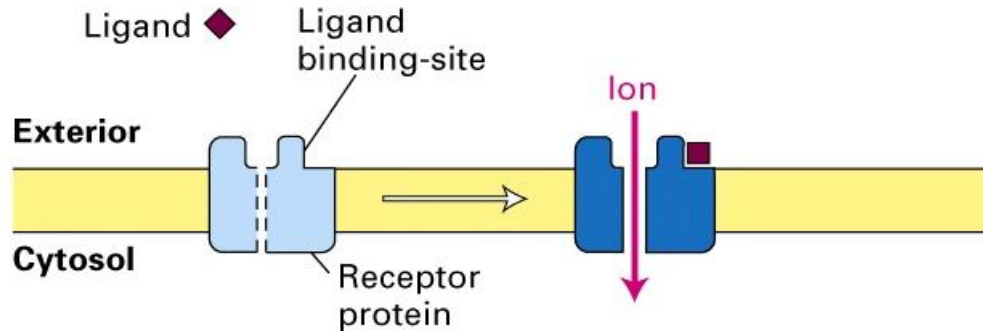


## Les récepteurs couplés aux protéines G



# 4 grands types de récepteurs

## Les récepteurs ionotropiques



La molécule est à la fois un **récepteur pour un ligand** et **un canal ionique**

La liaison du ligand modifie la conformation du récepteur → des ions traversent spécifiquement la membrane. Ce mouvement d'ions modifie le potentiel électrique de part et d'autre de la membrane plasmatique

**Ligands qui utilisent ce type de récepteurs :**

Histamine / Sérotonine ; acétylcholine

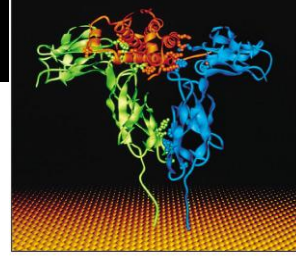
Systemes associés aux notions de chaleur et froid

Systemes associés aux déformations mécaniques de la membrane

# **LES RÉCEPTEURS COUPLÉS À DES TYROSINE KINASES**

**Les récepteurs aux cytokines**

# RECEPTEURS COUPLÉS À DES TYROSINE KINASES



## Structure des récepteurs (récepteur GH, PRL, EPO, la leptine...)

Protéines monocaténares → un seul segment transmembranaire

**Le domaine extracellulaire** → le site de liaison spécifique à l'hormone

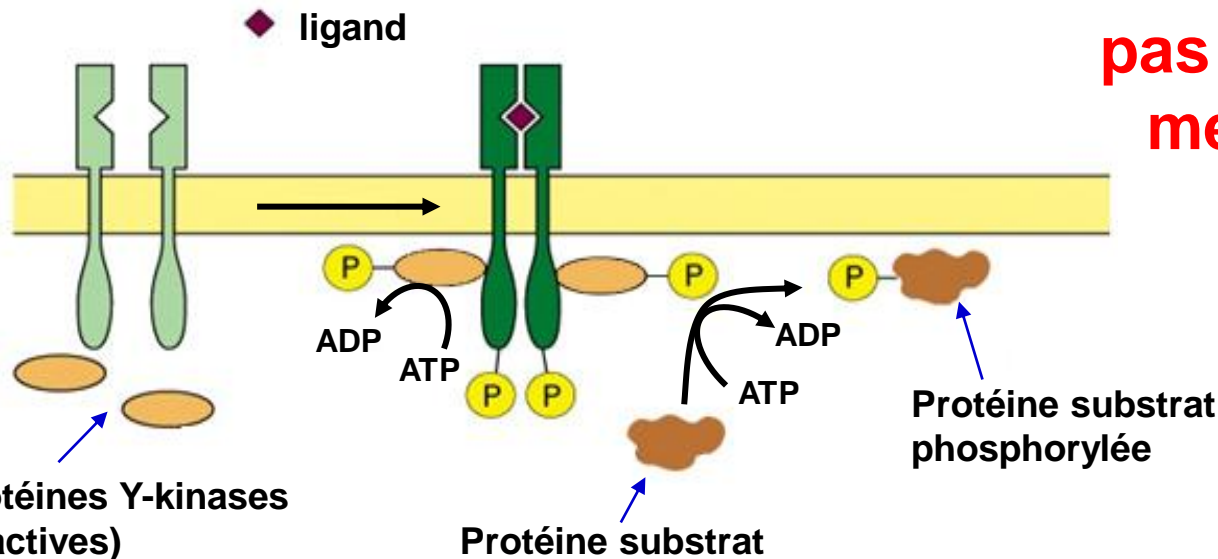
**Le domaine intracellulaire**

→ **ne présente pas activité catalytique**

→ peut interagir directement avec des Protéines Kinases cytoplasmiques

→ active ces *Protéines Kinases*

pas intervention de second messenger intracellulaire



# LES RECEPTEURS AUX CYTOKINES

## STRUCTURE AU REPOS

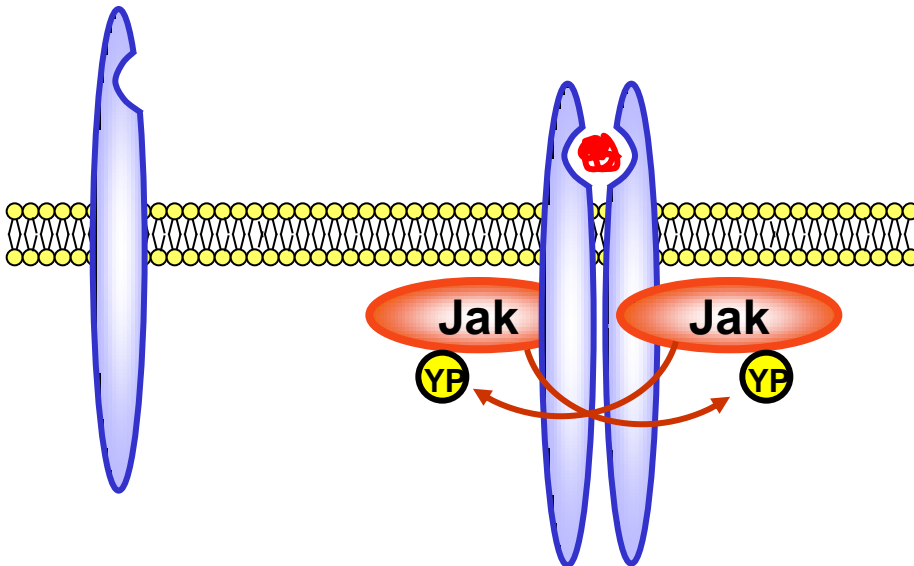
Protéines monocaténaire → un seul segment transmembranaire

Le domaine extracellulaire → le site de liaison spécifique à l'hormone

## FIXATION / ACTIVATION

la liaison de Ho → **homodimérisation du Re**

**Homodimérisation** → changement de conformation du Re → Fixation de **JAK**, protéine tyrosine-kinase, sur chacun des deux domaines intracellulaires de l'homodimère



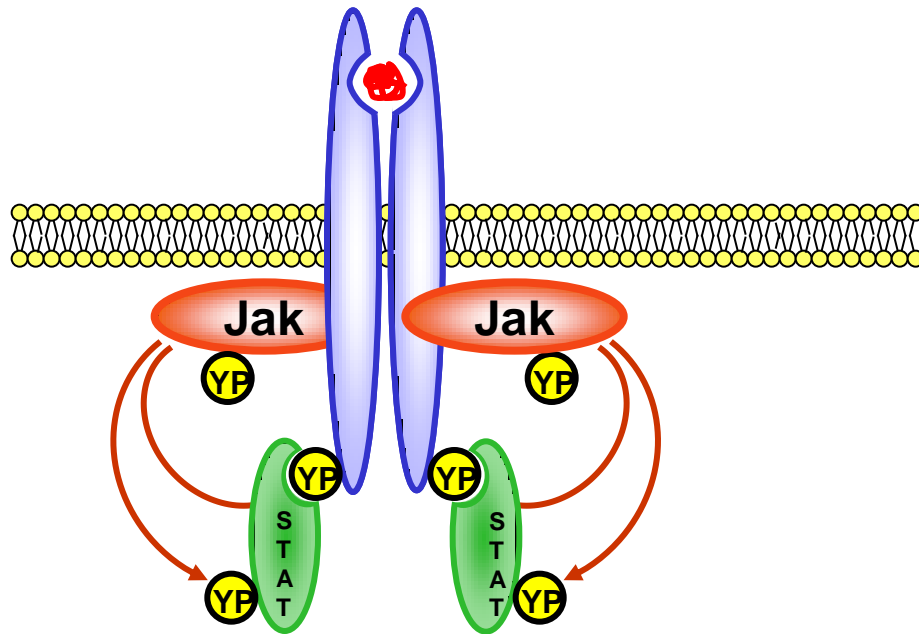
## Phosphorylation

phosphorylation réciproque des deux molécules de JAK → **JAK-P activées**

**JAK: Janus kinase**

# LES RECEPTEURS AUX CYTOKINES

## ACTIVATION / PHOSPHORYLATION



JAK-P va phosphoryler sur Y :

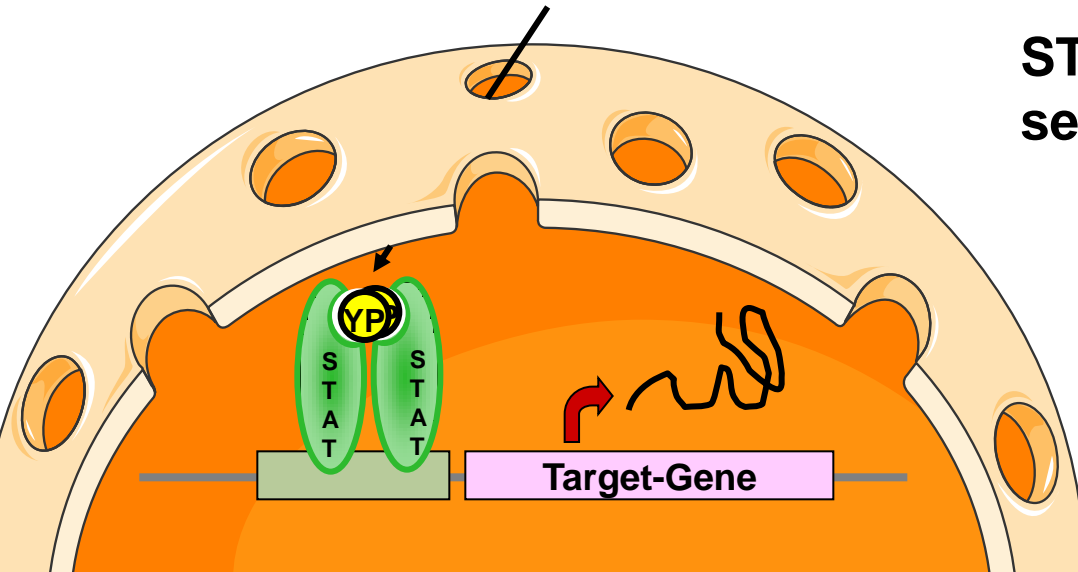
- la région C<sub>t</sub> du domaine intracellulaire du récepteur
- le facteur de transcription STAT

STAT, se lie au Re au niveau de YP phosphorylées par JAK-P, puis sera lui-même phosphorylé et activé par JAK-P

STAT phosphorylée sur certaines Y va se dimériser

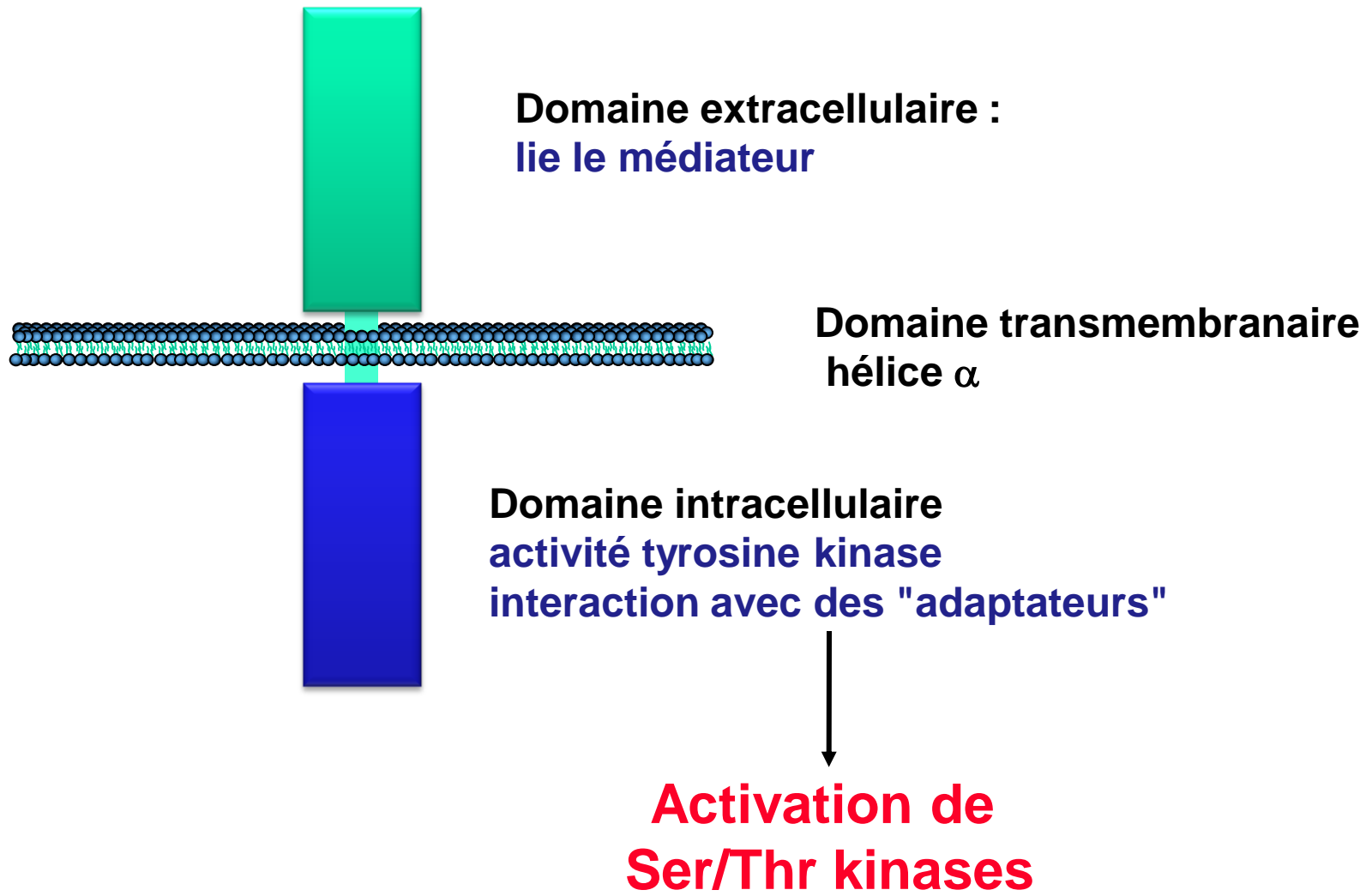
- translocation dans le noyau
- stimulation spécifique de la transcription de gènes

**STAT: Signal Transducer and Activator of Transduction**

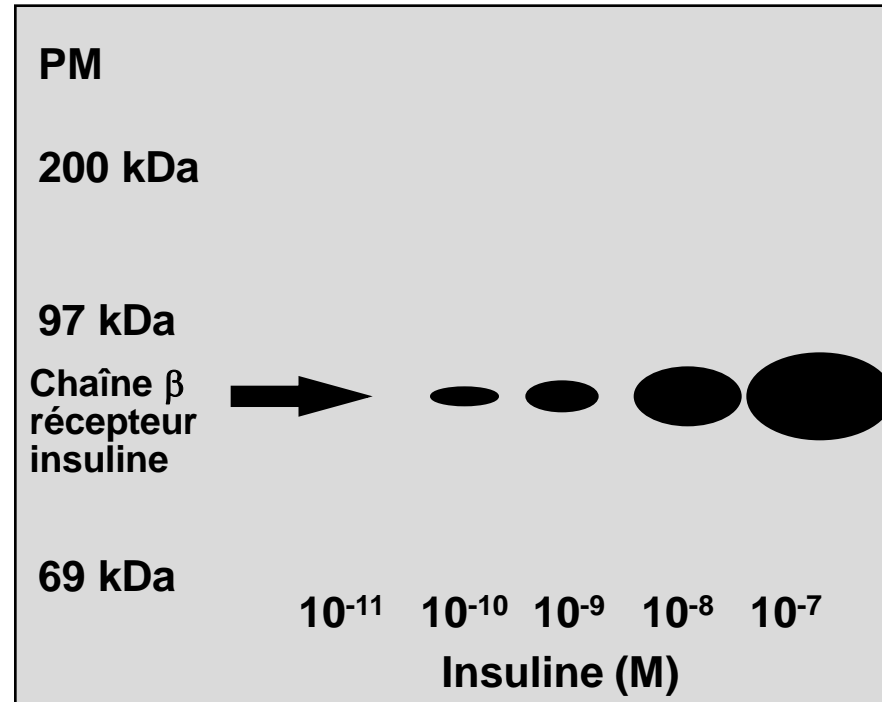
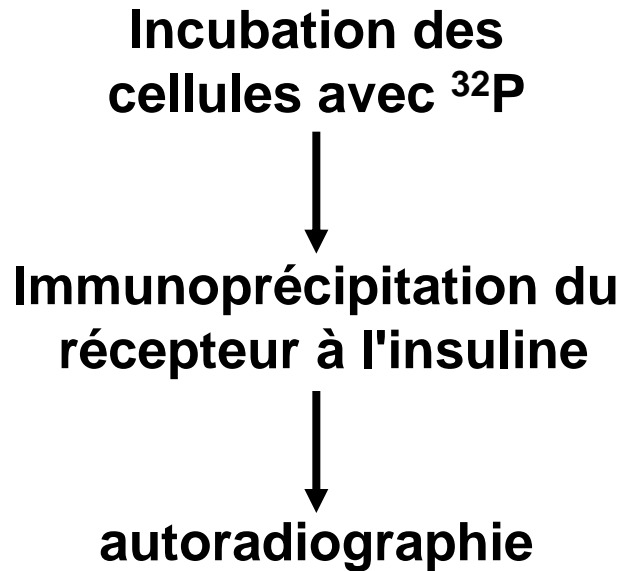


# **LES RECEPTEURS A ACTIVITE KINASE**

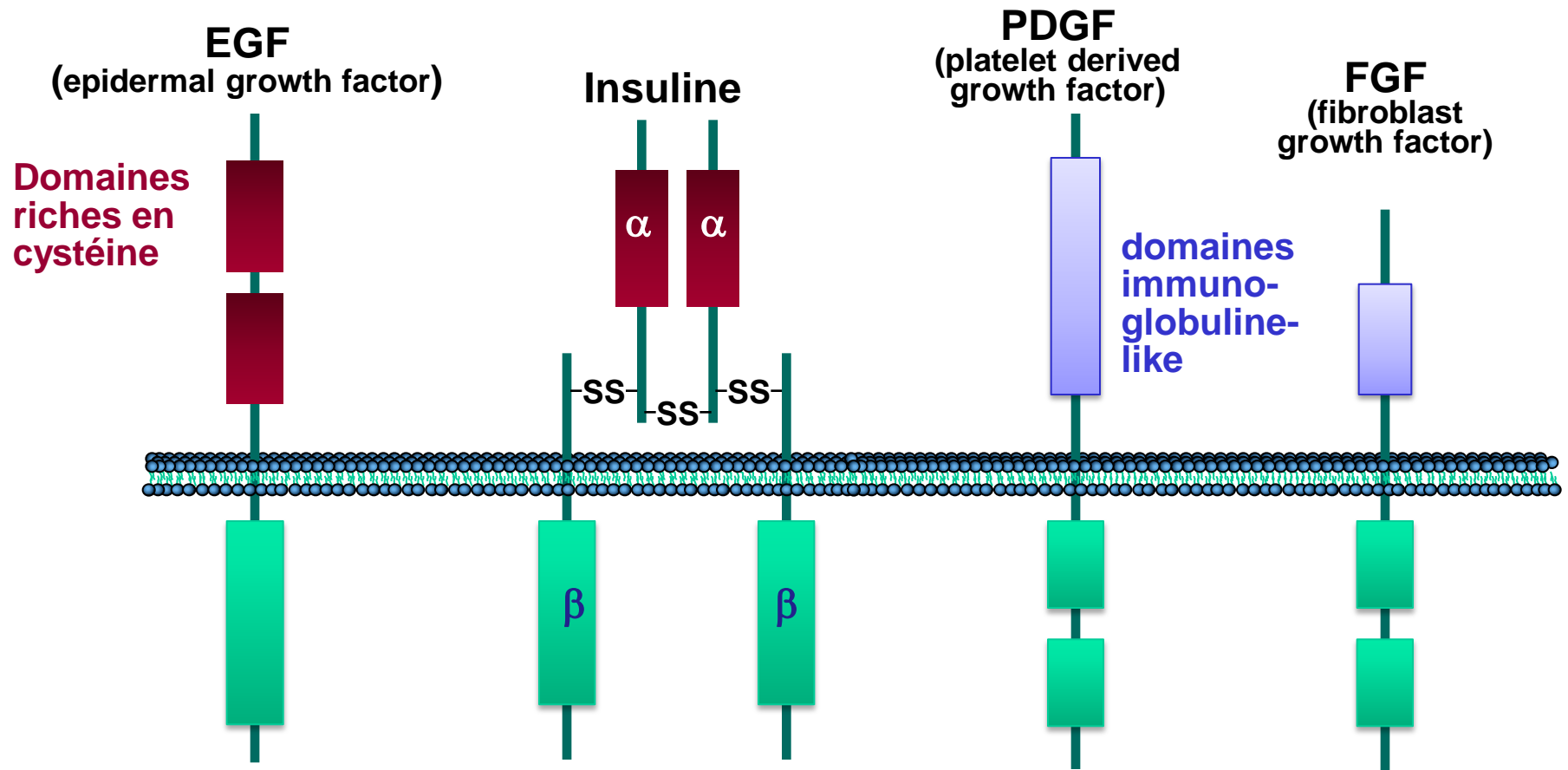
# Les récepteurs à activité tyrosine-kinase



# Mise en évidence de l'activité d'un récepteur à activité tyrosine kinase



# Exemples de récepteurs à activité tyrosine-kinase



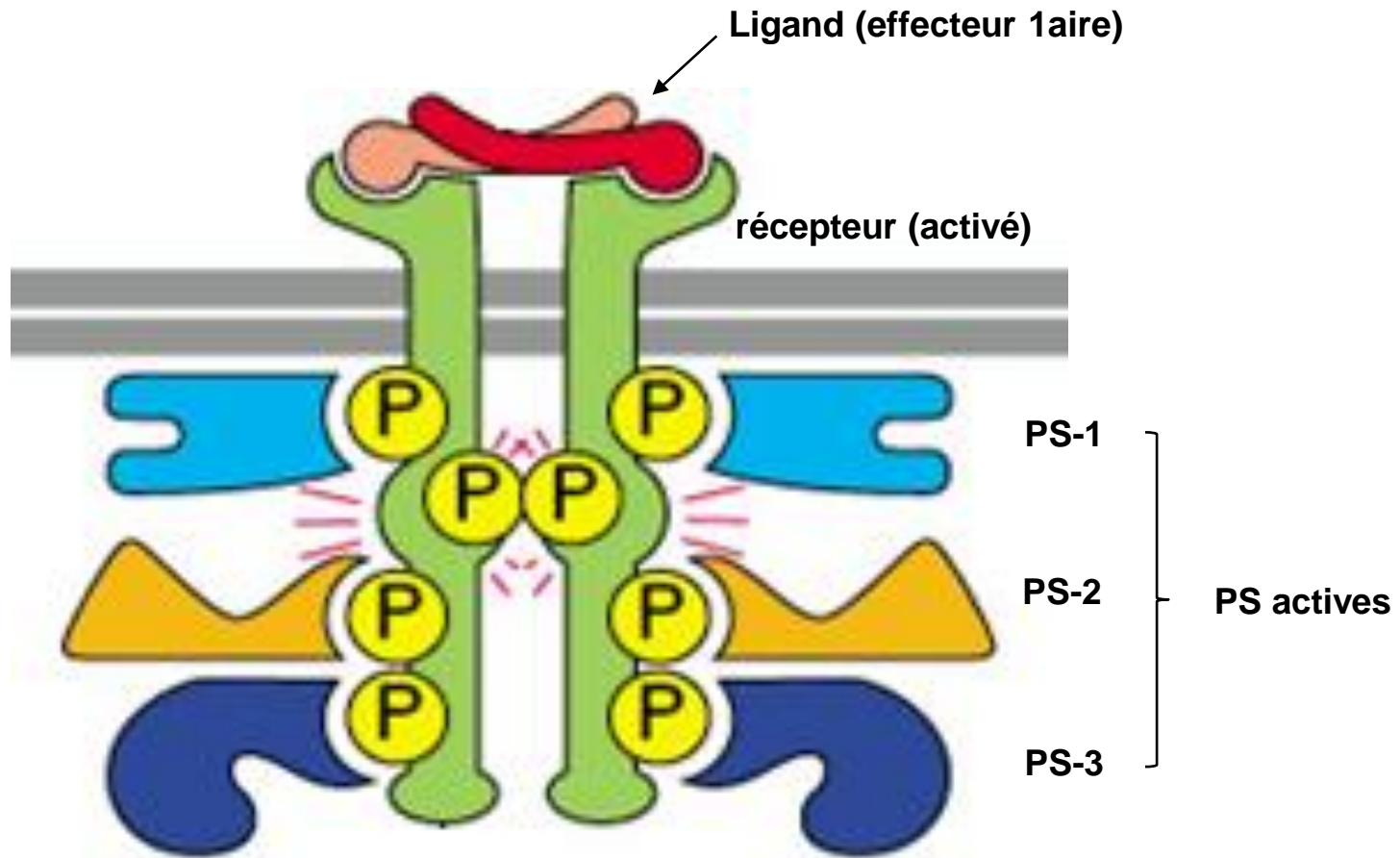
liaison du ligand  $\longrightarrow$  dimérisation (sauf récepteur à l'insuline)

dimérisation  $\longrightarrow$  transphosphorylation (coté cytoplasmique)

Seules certaines tyrosines entourées de résidus acides sont phosphorylées

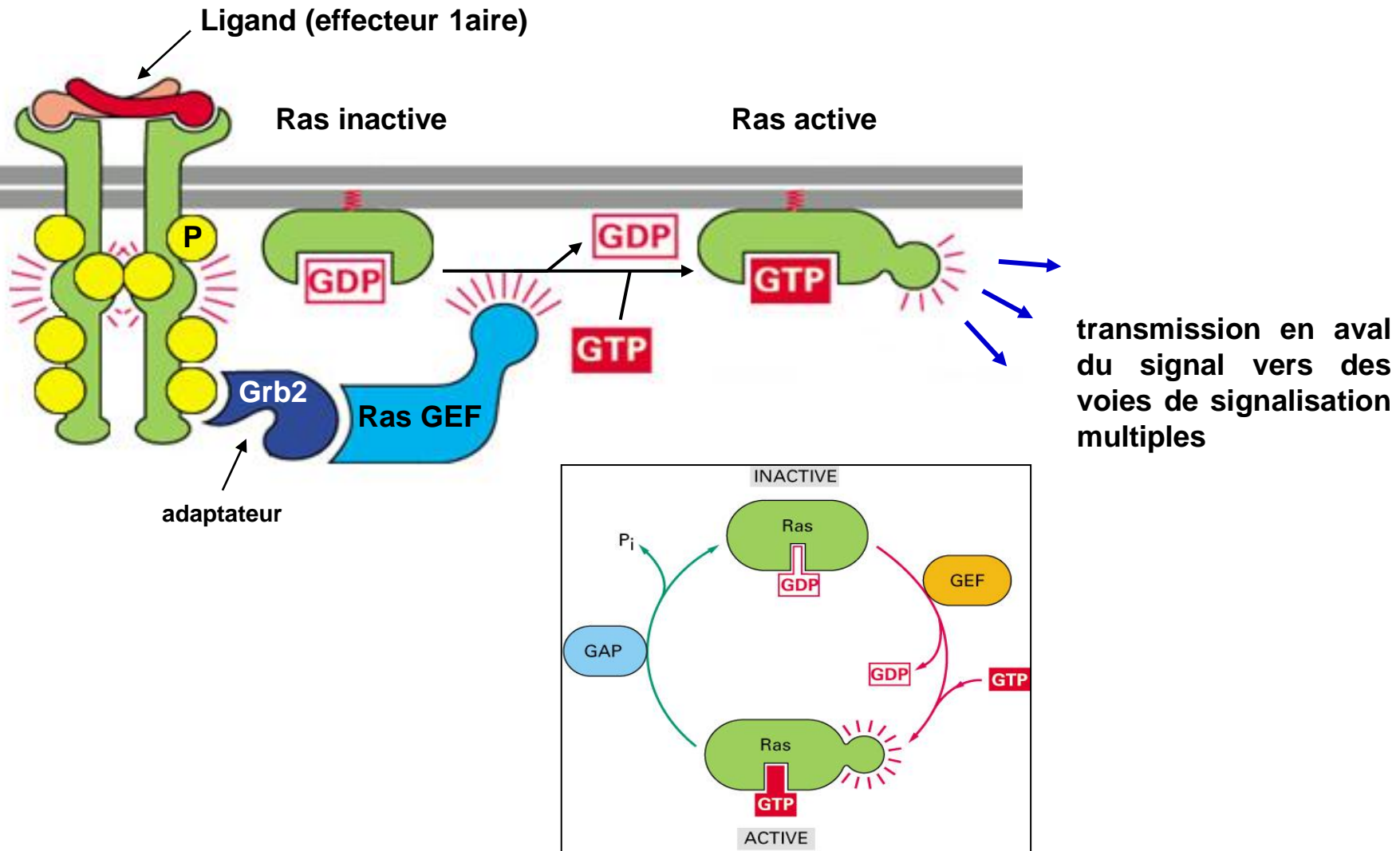
# Récepteurs à activité tyrosine-kinase

Les tyrosines phosphorylées servent de point d'ancrage pour des protéines possédant un ou plusieurs domaine(s) SH2

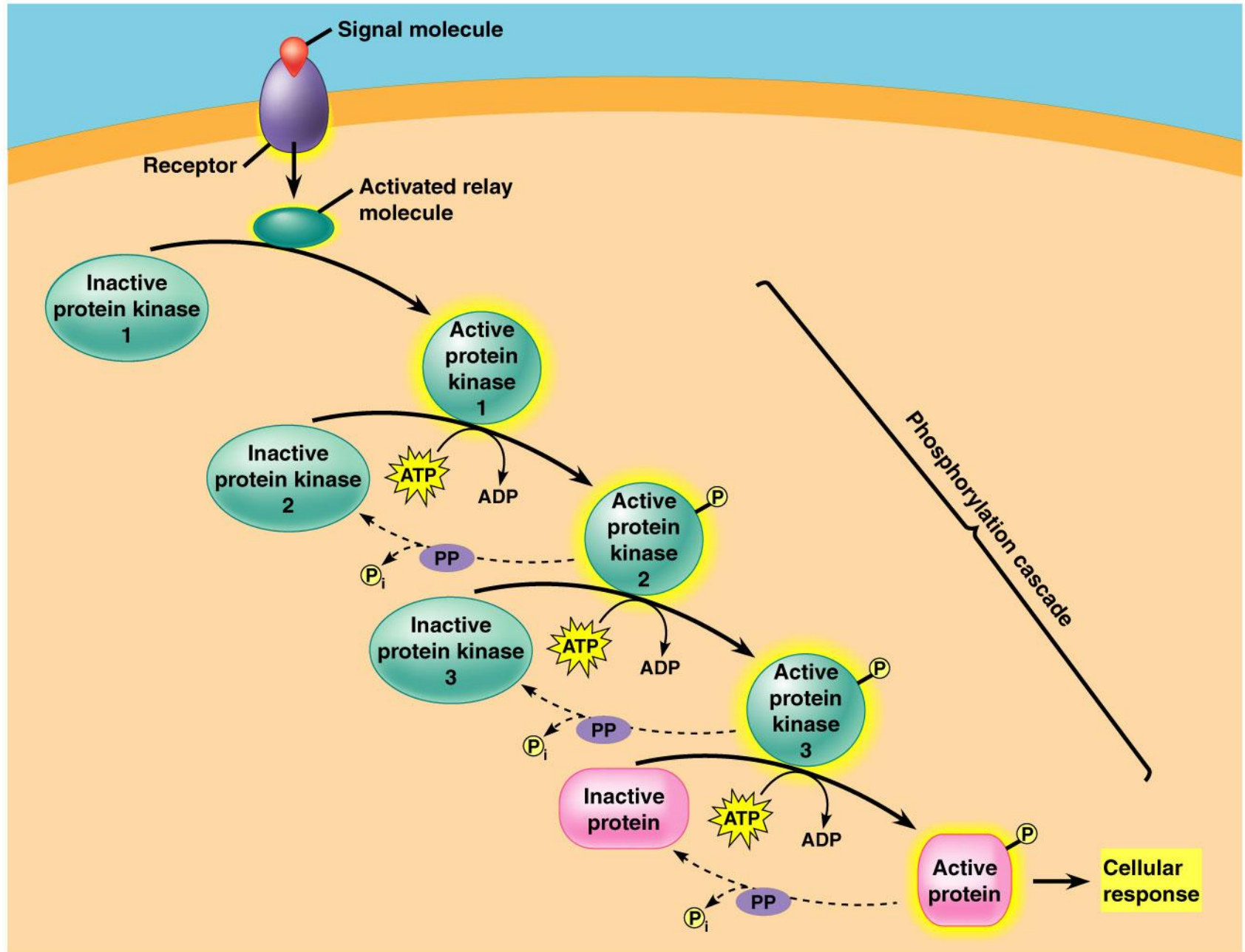


# Récepteurs à activité tyrosine-kinase

Ras activée permet l'activation par phosphorylation de S/T kinases incluant les MAP-kinases

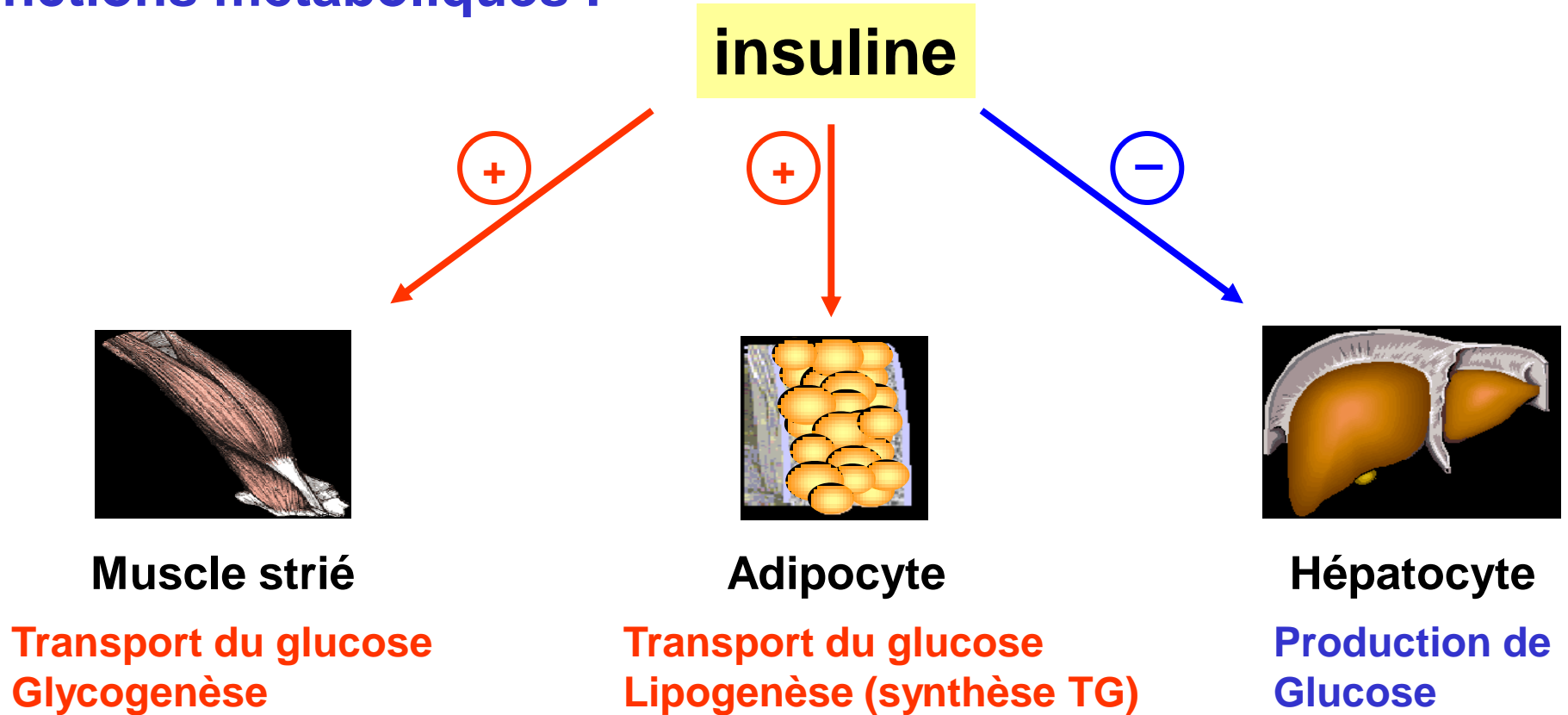


# Cascade de phosphorylations



# Récepteur à activité tyrosine kinase : Récepteur insuline

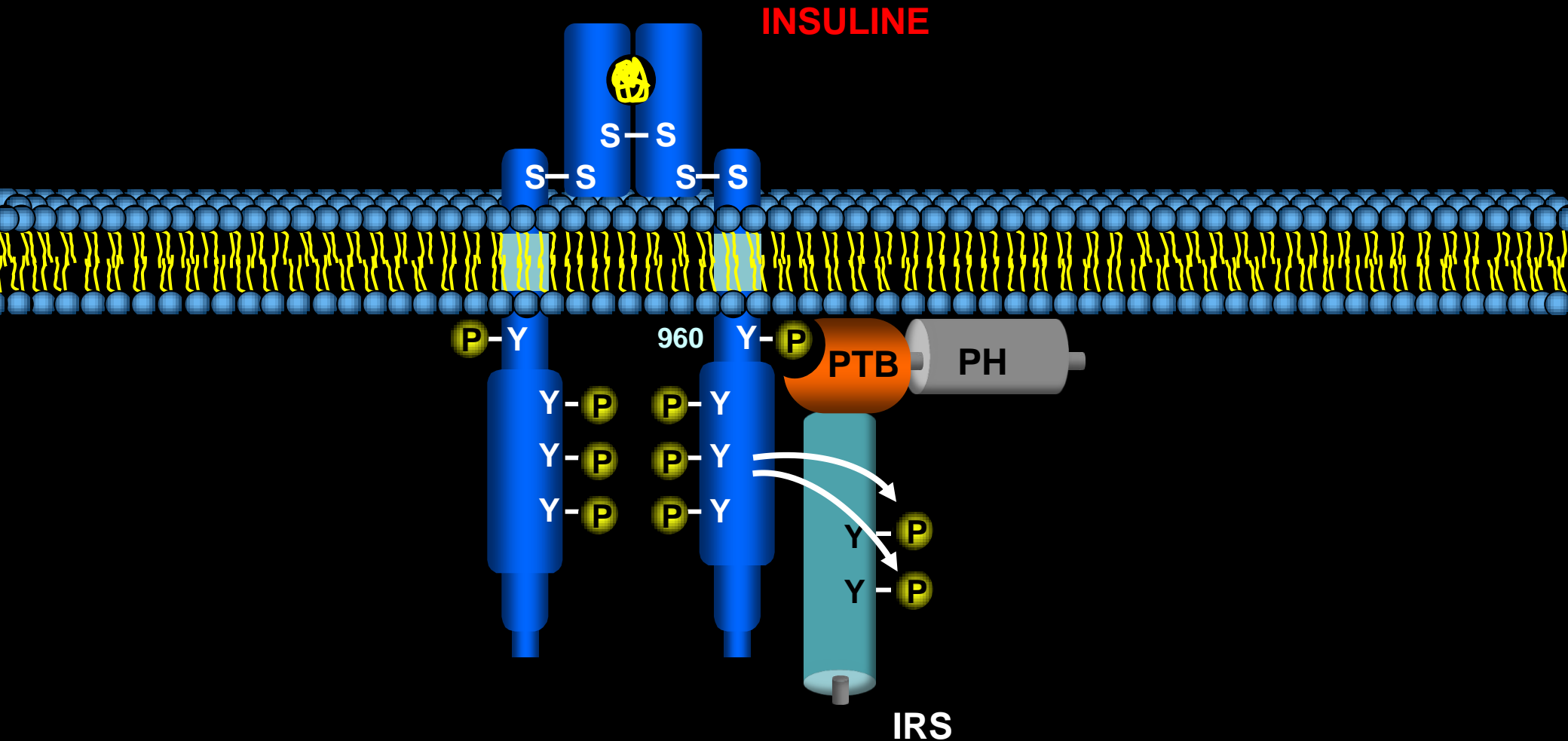
## Fonctions métaboliques :



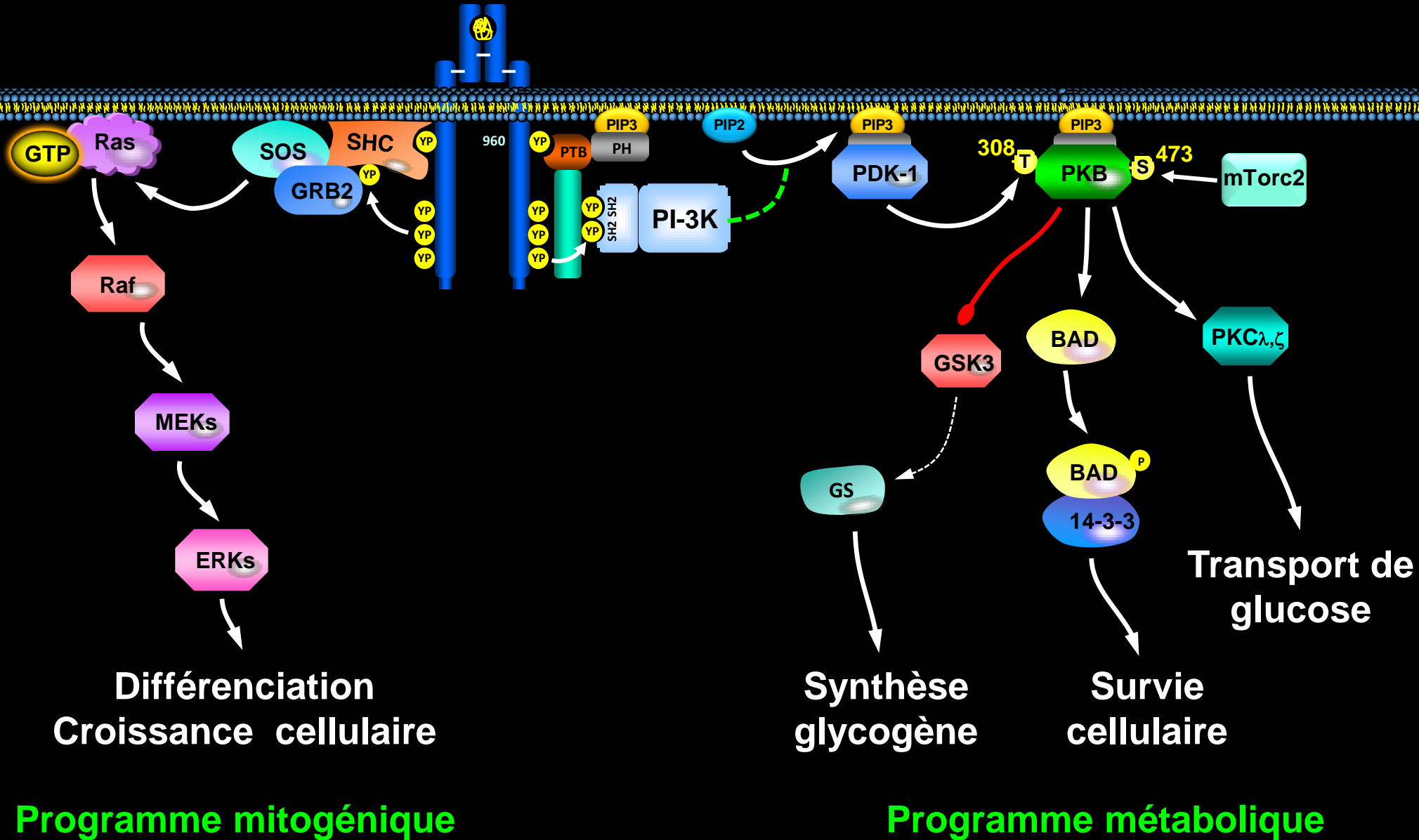
## Autres fonctions :

Croissance cellulaire, apoptose, expression de gènes, synthèse protéique

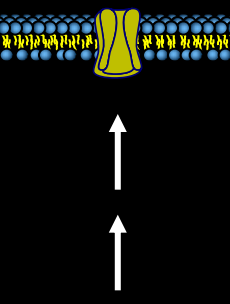
# LES DOMAINES D'INTERACTIONS



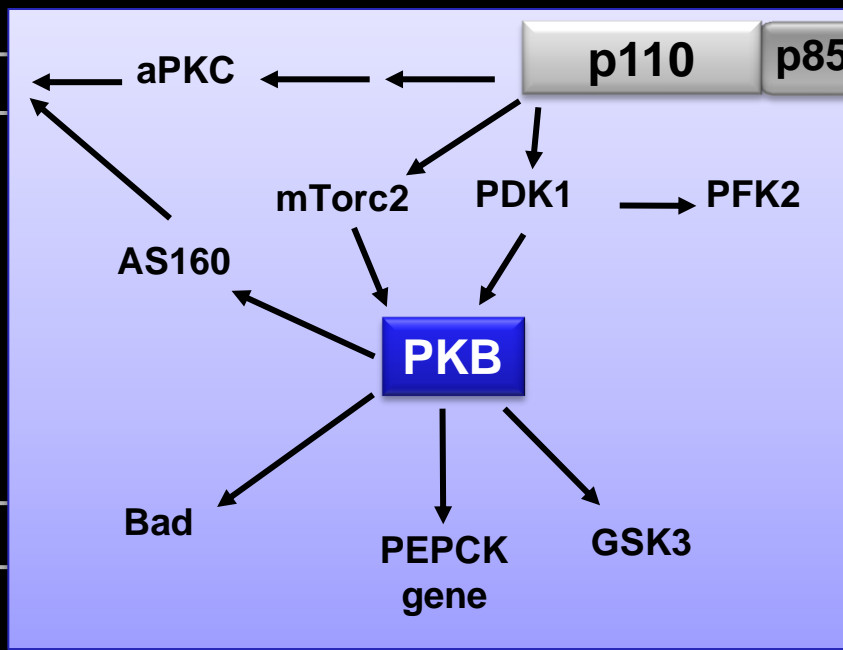
# VOIES DE SIGNALISATION DE L'INSULINE



**Glucose  
Transport**

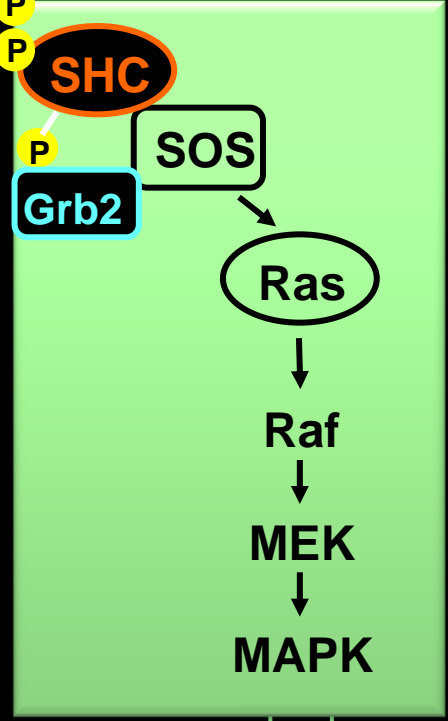
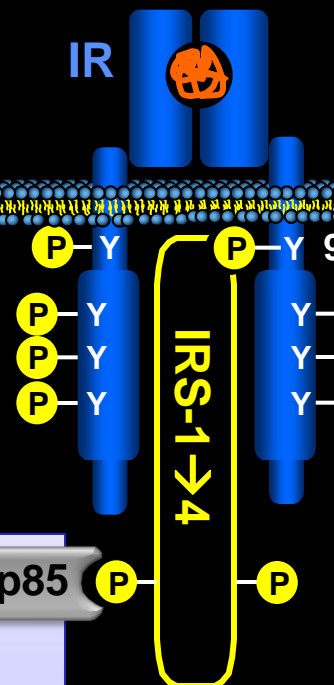


**Survie**



**métabolisme  
Glucidique et Lipidique**

**IR**



**Prolifération  
Différenciation**

# **LES RECEPTEURS À 7 DOMAINES TRANSMEMBRANAIRES**

**Les récepteurs couplés aux protéines G**

# Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)

Une majorité d'Ho se lient à des récepteurs protéiques complexes traversant la membrane plasmique à sept reprises → **récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)**

Après liaison de Ho → Re interagissent avec divers composants membranaires conduisant à la biosynthèse de un ou plusieurs **2nds messagers intracellulaires**

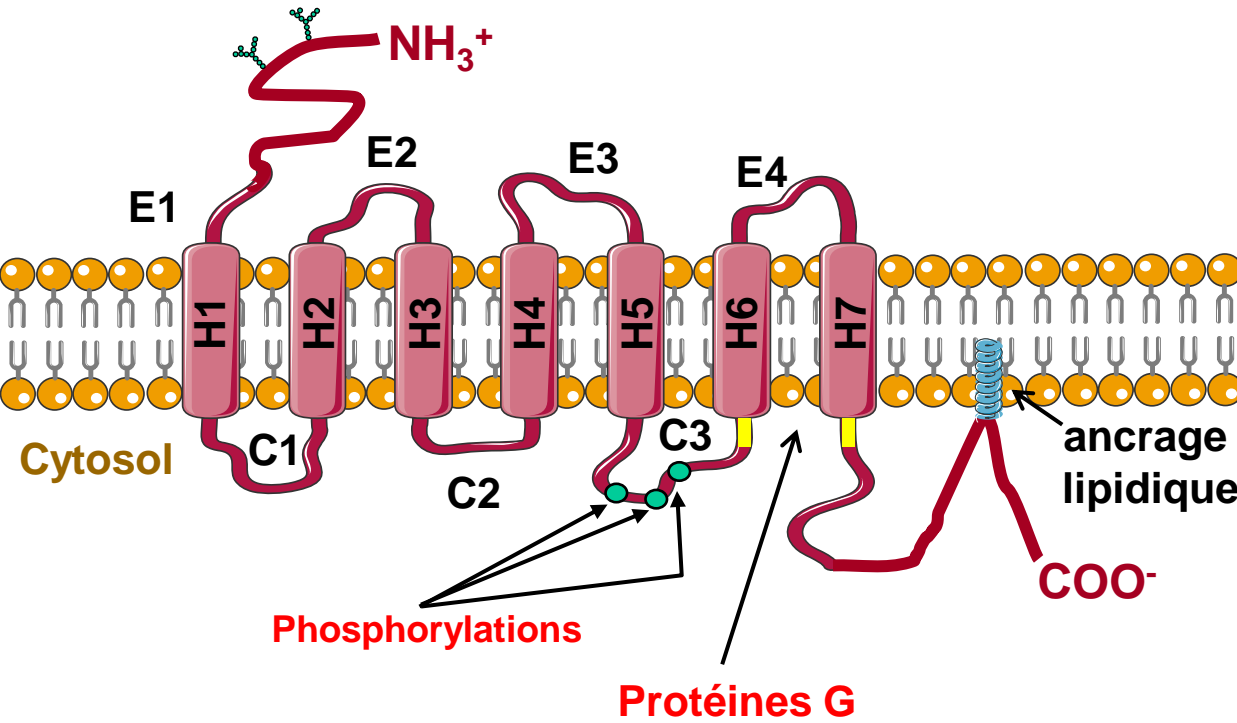
Ces **2nd messagers** activent à leur tour des **protéines kinases** spécifiques

## Structure générale

Les RCPG constituent une grande famille de protéines. Ils jouent un rôle essentiel chez tous les êtres vivants :

- pour les diverses perceptions sensorielles (odeurs, lumière, goût, ions)
- pour la liaison d'hormones

# Structure des récepteurs couplés aux protéines G



## Ligands

- Sérotonine
- *Catécholamines*
- Prostaglandines
- *Glucagon*
- ACTH
- PTH

- 1 seule chaîne polypeptidique / 7 segments transmembranaires / 7 hélices  $\alpha$
- N-ter extracellulaire → site de fixation du ligand
- C-ter intracellulaire → sites de phosphorylation + ancrage à la membrane
- 3ème boucle intracellulaire → couplage avec protéine G

# **Les autres intervenants**

# Les protéines G

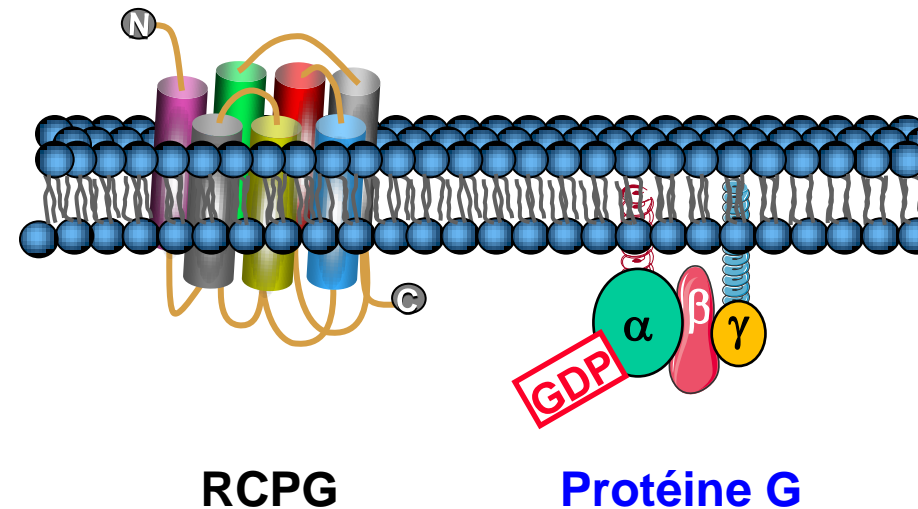
## 2 types de Protéines G

**PG monomériques (petites pGs)** : Très nombreuses ; interviennent dans la régulation du CC, du réarrangement du CS, trafic cellulaire de vésicules membranaires; contrôle synthèse protéine

**Protéines G hétérotrimériques** : sous membranaires, coté cytoplasmique, impliquées dans la transduction du message hormonal

Les trois sous unités  $\alpha\beta\gamma$  sont associées entre elles de manière non covalente

Les protéines G sont des **interrupteurs moléculaires** des voies de signalisation dont les états actifs / inactifs dépendent de la liaison du **GTP**



# Les protéines G

## Chaîne $\alpha$ ( $\alpha$ S)

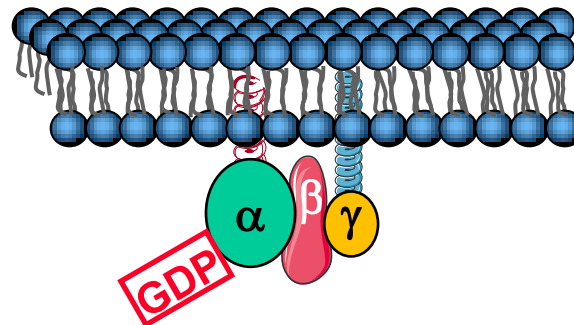
- Membranaire 39 à 46 kDa
- **Fixation et hydrolyse du GTP**
- Liaison au récepteur
- Liaison aux effecteurs (adénylate cyclase...)
- Liaison aux chaînes  $\beta$  et  $\gamma$

## Chaîne $\beta$

37 kDa

## Chaîne $\gamma$

8 kDa, membranaire



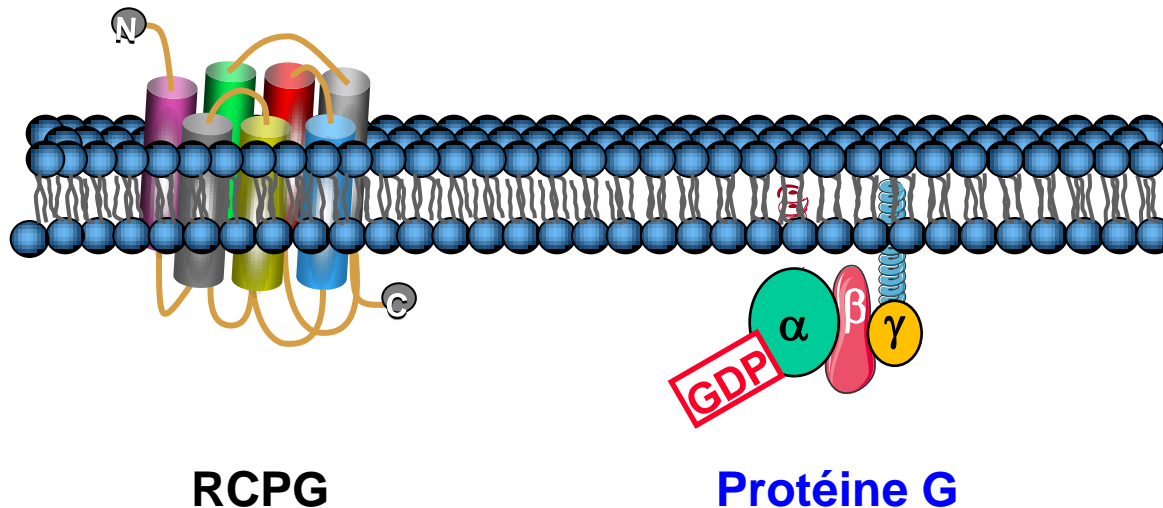
# Les protéines G

Grande variété de protéines G → grande diversité d'interactions avec les différents RCPG

Cette grande diversité est surtout due aux sous unités  $\alpha$

**Les protéines G ne sont pas transmembranaires** mais sont positionnées sous la membrane plasmique par l'intermédiaire de chaînes lipidiques sur la sous unité  $\gamma$

**Exemples :** Adrénaline, TRH, **glucagon**, LH



# Diversité des protéines G $\alpha$

PG	Effecteur primaire	Second messenger	Effecteurs secondaires	Effets biologiques
<b>G<math>\alpha</math>s</b>	AC (activation)	<b>AMPc</b>	PKA	Phosphorylations $\uparrow$
<b>G<math>\alpha</math>i</b>	AC (inhibition)			Phosphorylations $\downarrow$
<b>G<math>\alpha</math>q</b>	PLC $\beta$ (activation)	<b>IP3</b>	Ouverture canaux <b>Ca<math>^{++}</math></b> du RE	Activation PKC phosphorylations $\uparrow$
<b>G<math>\alpha</math>q</b>	PLC $\beta$ (activation)	<b>DAG</b>	Activation PKC Ca $^{++}$ /dépendantes	Phosphorylations Activation PKC $\uparrow$

*AC : Adénylate cyclase*

*PLC $\beta$  : Phospholipase C $\beta$*

# Protéines de signalisation

## Protéines G : implications médicales

### CHOLERA

Inhibition de l'activité GTPasique de  $\alpha_s$  → augmentation [AMPc] → diarrhées par inversion des transports d'eau et de chlore

### COQUELUCHE

Pas de fixation de  $\alpha_i$  au récepteur → augmentation [AMPc] → sécrétion massive de liquide responsable de la toux

### MUTATIONS DES SOUS-UNITES $\alpha$

Mutations de  $\alpha_s$  → tumeurs de l'hypophyse

Mutations de  $\alpha_i$  → tumeurs ovariennes / tumeurs cortico surrénaliennes

# Les protéines G

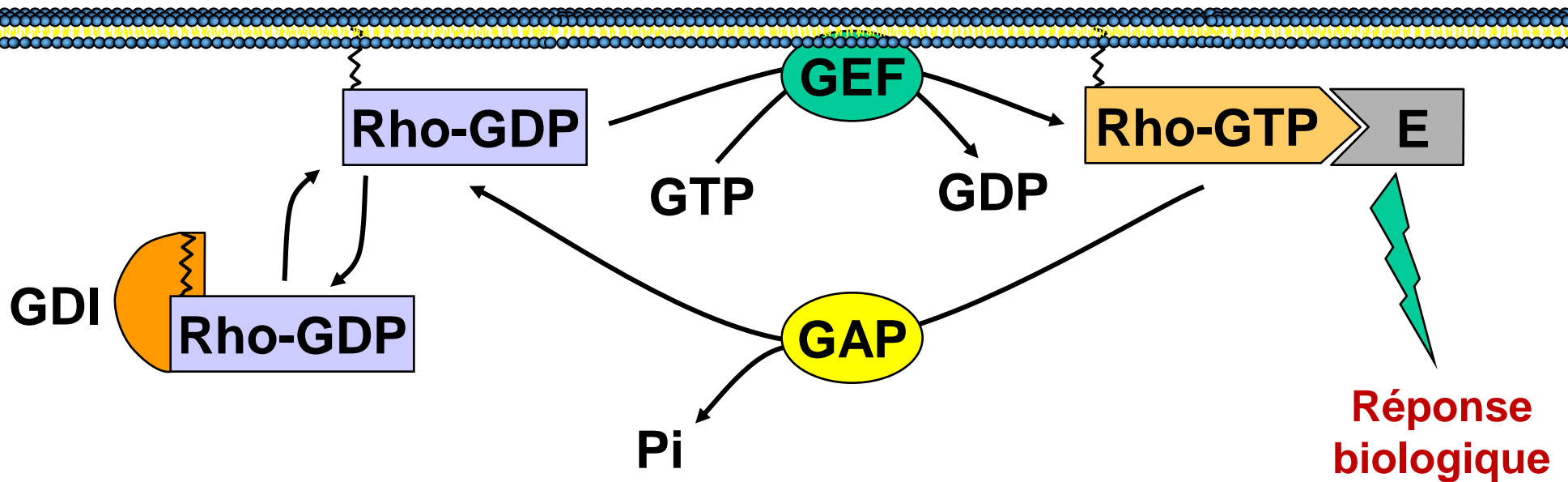
## Protéines G

Activation → passe par un échange du GDP en GTP

Échange stimulé par le GEF (Guanosine nucléotide Exchange Factor)

Inactivation → passe par l'hydrolyse du GTP en GDP

Hydrolyse favorisée par le GAP (GTPase activating protein)



# Les messagers secondaires

## Définition

Petites molécules qui transduisent les signaux à l'intérieur de la cellule

## Modulation

La concentration: une augmentation ou diminution suffit à transmettre le signal de la source à la cible

La vitesse ou la fréquence de fluctuation

## Diversité chimique

- Lipides hydrophobes confinés aux bicouches membranaires (DAG / PiP3)
- Ion inorganique ( $\text{Ca}^{2+}$ )
- Nucléotides (AMPc, GMPc)
- Gaz (NO)

# Les messagers secondaires

Ces messagers sont produits en réponse à l'activation de RCPGs et RTKs

## AMPc

La stimulation des RCPGs entraîne l'activation de *l'adenylyl cyclase* et la synthèse d'un second messenger → AMPc

- N'est pas directement produit par les voies impliquant des RTKs
- active spécifiquement les Protéines Kinases AMPc-dépendantes (**cAMP-dependent protein kinases**)

AMPc → est à la base d'une grande variété de réponses biologiques dépendantes du **type de cellule, de l'activation des PKAs et autres kinases en aval**

- dans les **adipocytes**, AMPc active une PKA qui **stimule la production d'acides gras**
- dans les **cellules ovariennes** une PKA, en réponse à l'AMPc, induit une augmentation de la **synthèse d'œstrogène**

AMPc → à la base d'un système d'amplification du signal extracellulaire

Une molécule d'adrénaline en se fixant sur son récepteur → entraîne la synthèse de plusieurs molécules d'AMPc qui pourront activer et amplifier plusieurs PKAs

# Les messagers secondaires

Ces messagers sont produits en réponse à l'activation de RCPGs et RTKs

## Autres messagers

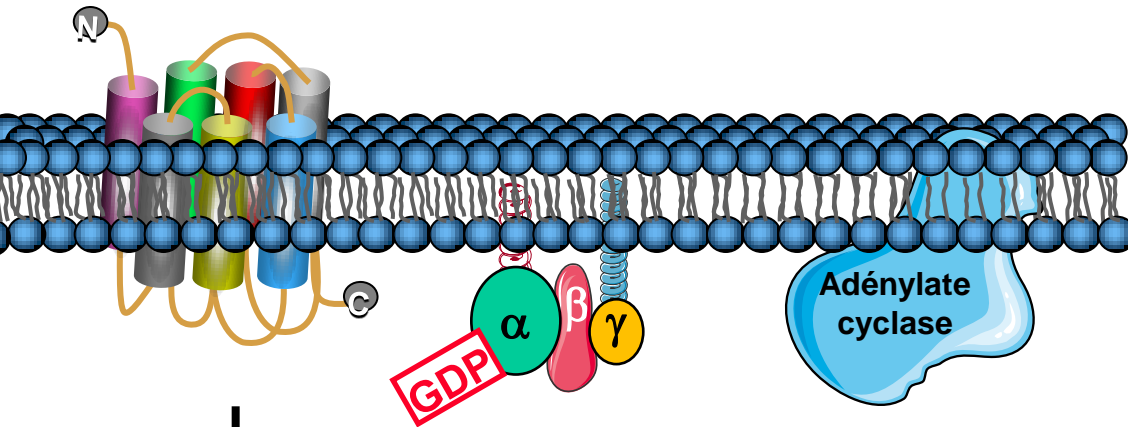
### IP3 et DAG

Produits de dégradation du lipide **phosphatidyl inositol (PI)** en réponse à l'activation de récepteurs de type RCPG et RTK

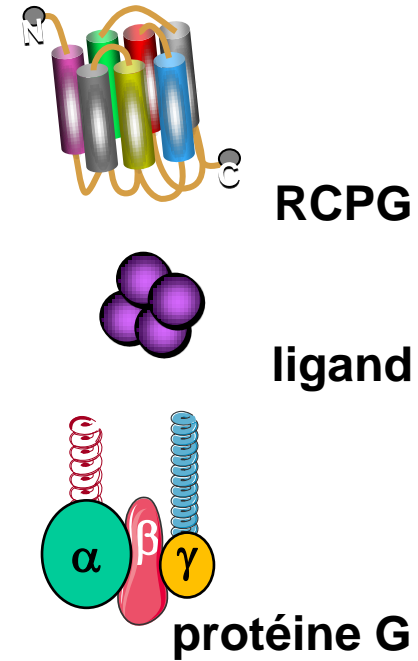
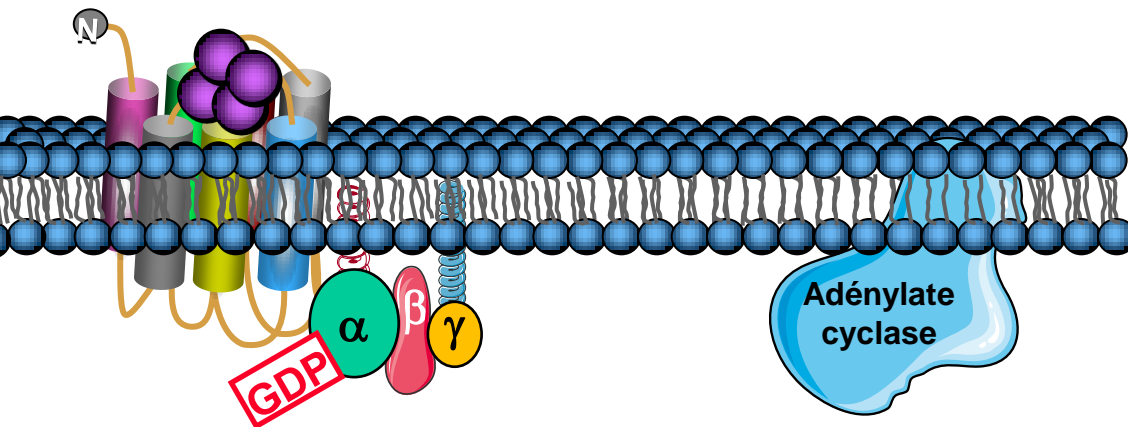
### Calcium

- Conséquence d'une augmentation intracellulaire d'IP3
- La fixation IP3 sur son récepteur de la membrane du RE → ouverture des canaux calciques → libération de calcium dans le cytosol
- Une hausse de la concentration de calcium dans le cytosol :
  - est à la base de la sécrétion de l'insuline dans les cellules  $\beta$  du pancréas
  - est à la base de la contraction des cellules musculaires
- De nombreuses études ont montré l'association du **calcium** à la **calmoduline** et l'effet de ce complexe sur l'**expression génique**

# Activation des Protéines G (Gs) : première étape



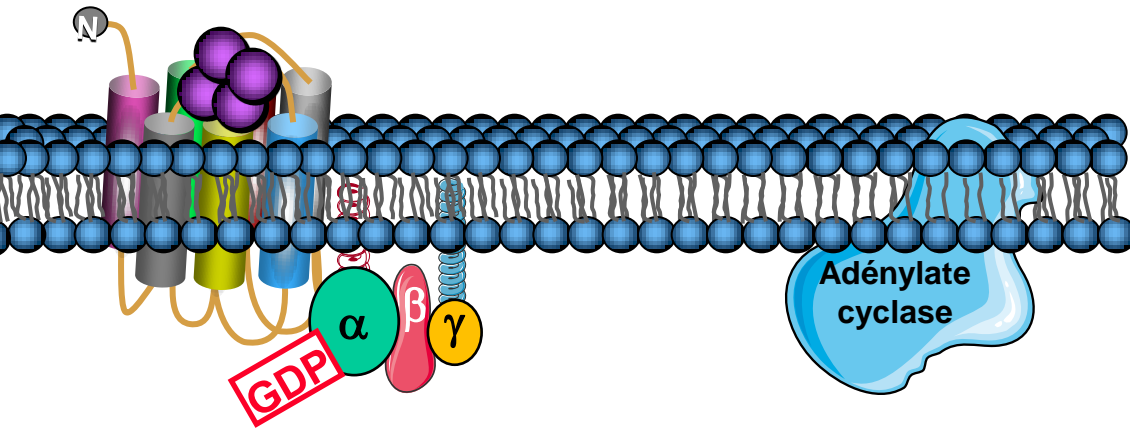
- 1- Liaison du ligand
- 2- Changement de conformation du récepteur
- 3- Diffusion protéine Gs
- 4- Association Gs au complexe récepteur-ligand
- 5- Diminution de l'affinité de  $\alpha$ S pour le GDP



sous unité  $\alpha$  est associée à un GDP  
association Ho-Re avec protéine G :

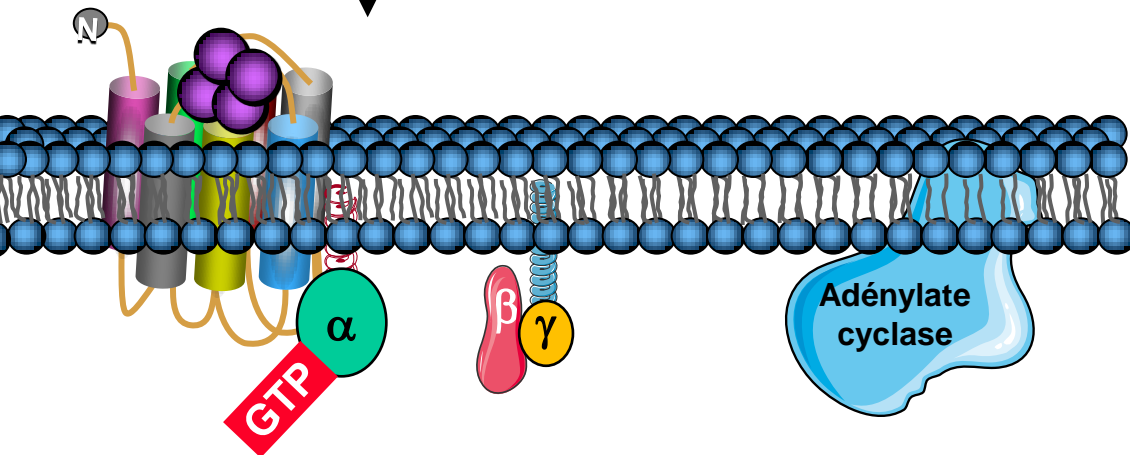
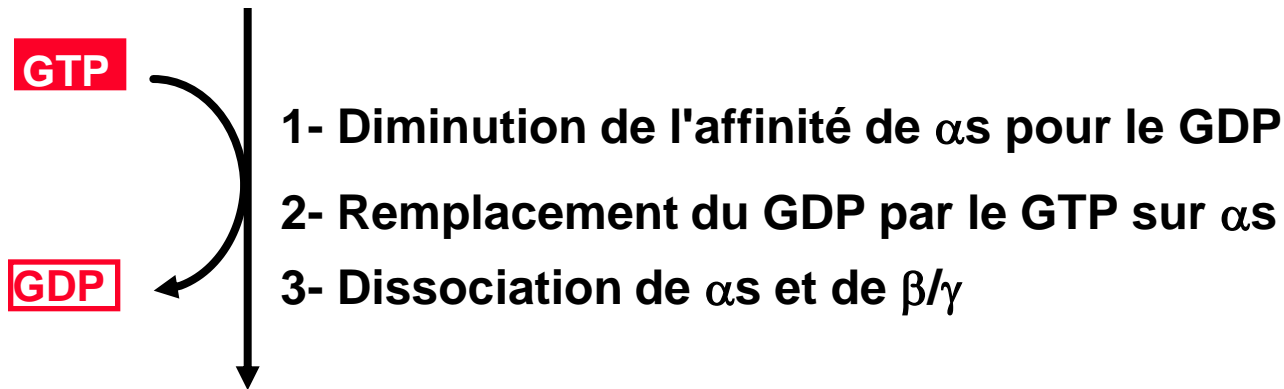
- **affaiblit considérablement  $K_a$  du GDP pour la sous unité  $\alpha$**
- **augmente la valeur de  $K_a$  du GTP pour cette même sous unité.**

# Activation des Protéines G (Gs) : deuxième étape

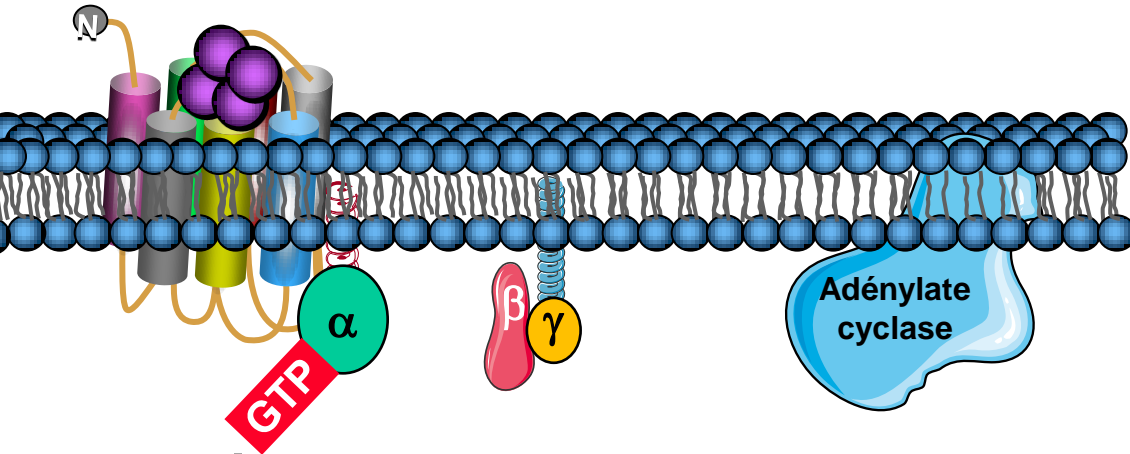


Echange du GDP en GTP sur le site de la sous unité  $\alpha$   
→ entraîne la désagrégation de l'ensemble en trois entités:

- la sous-unité  $\alpha$ ,
- l'hétérodimère  $\beta\gamma$
- le complexe Ho-Re



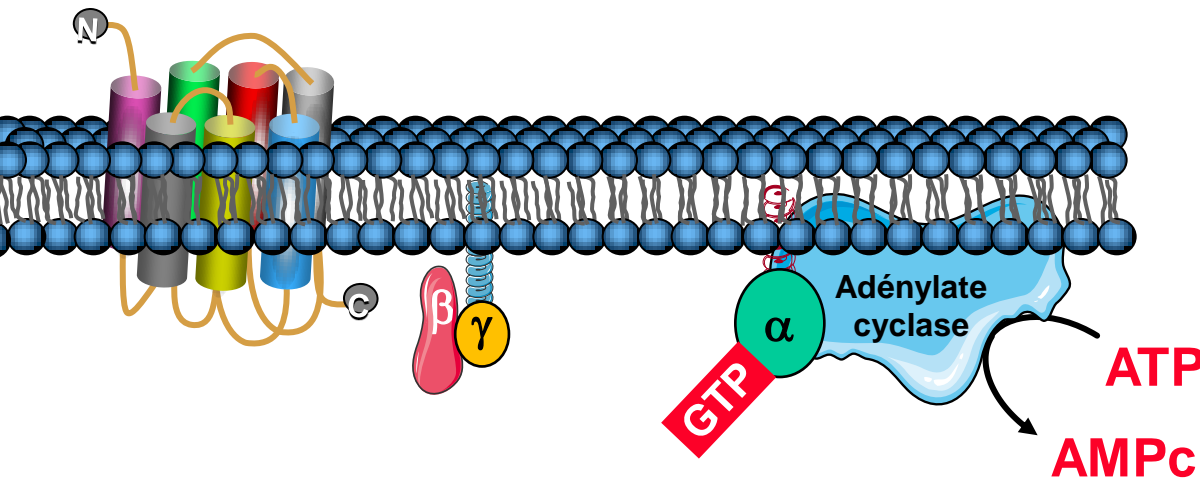
# Activation des Protéines G (Gs) : troisième étape



$\alpha$ -GTP → une **molécule-clé de la transduction**

Elle interagit avec effecteur membranaire responsable de la synthèse du (ou des) second(s) messenger(s) intracellulaire(s)

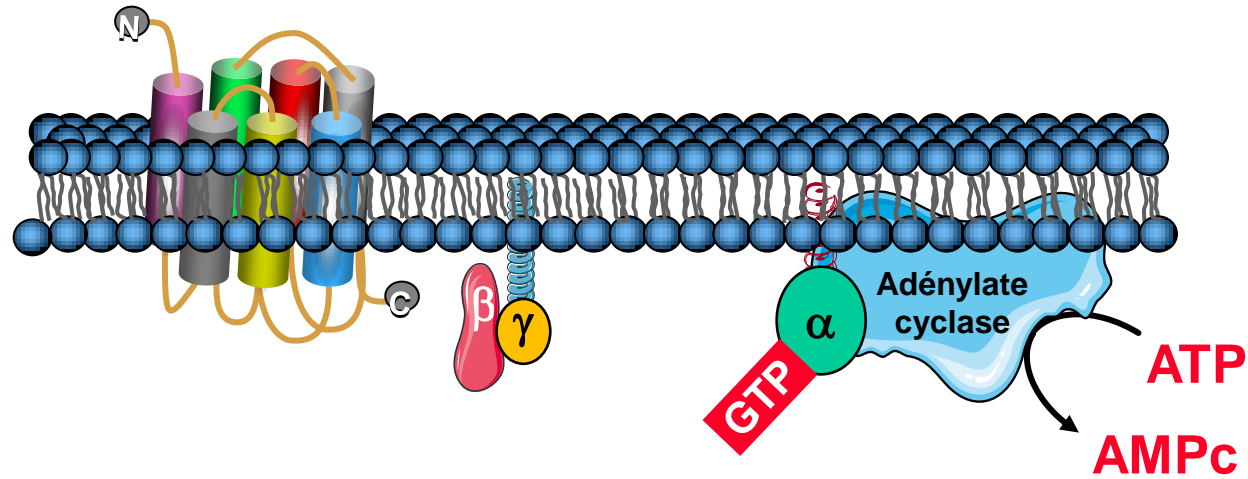
- 1- Libération du ligand
- 2- Changement conformation et désensibilisation du récepteur
- 3- Couplage de  $\alpha$ s à l'adénylate cyclase et activation de l'adénylate cyclase



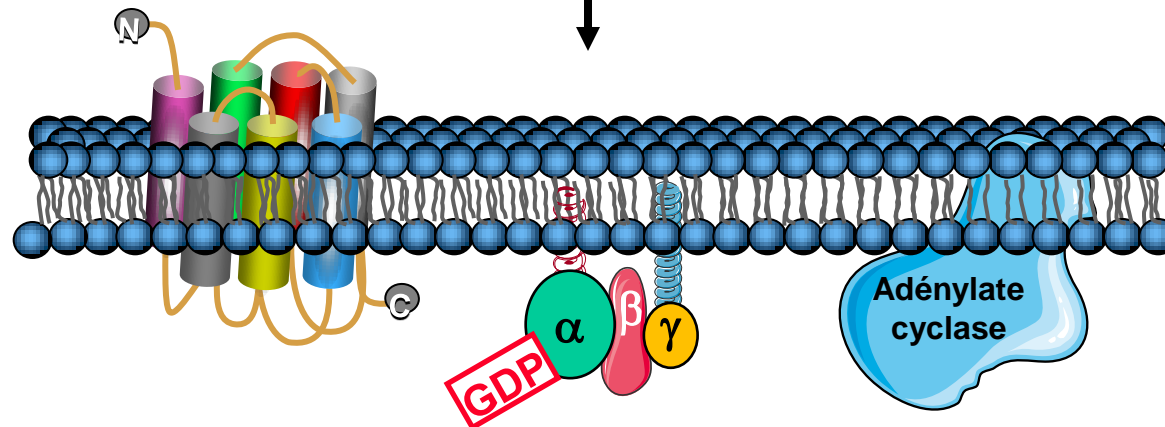
Les effecteurs sont :

**adénylate cyclase**  
**phospholipase C**

# Activation des Protéines G (Gs) : quatrième étape



- 1- Activation de l'activité GTPase de  $\alpha$ s
- 2- réassociation de  $\alpha$ s à  $\beta/\gamma$
- 3- Retour à l'état initial



# Adénylate Cyclase → APMc → PKA

**AMPc** → *second messenger* de l'action de très nombreuses hormones

Effecteur impliqué → **adénylate cyclase** :

12 segments transmembranaires

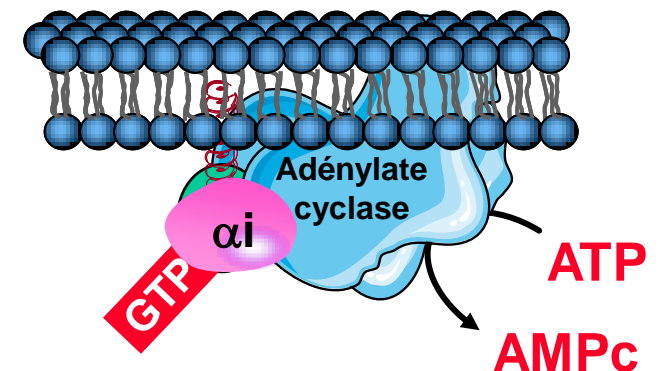
2 domaines cytoplasmiques catalytiques

L'adénylate cyclase catalyse la réaction  $ATP \longrightarrow AMPc + PPI$

L'adénylate cyclase est activée par la sous unité  $\alpha_s$ -GTP provenant de l'activation d'un RCPG par son Ho spécifique

Dans certains cas, fixation ligand entraîne une inhibition de l'activité de l'adénylate cyclase

Dans ces cas, la pG impliquée est une **protéine Gi** dont la sous unité  $\alpha_i$  liée au GTP ( $\alpha_i$ -GTP) **inhibe l'activité de l'adénylate cyclase**



# Adénylate Cyclase → APMc → PKA

La concentration intracellulaire de l'AMPc est contrôlée :

- au niveau de sa synthèse par l'*adénylate cyclase (AC)*
- niveau de sa dégradation en 5'AMP par une *phosphodiesterase (PDE)*

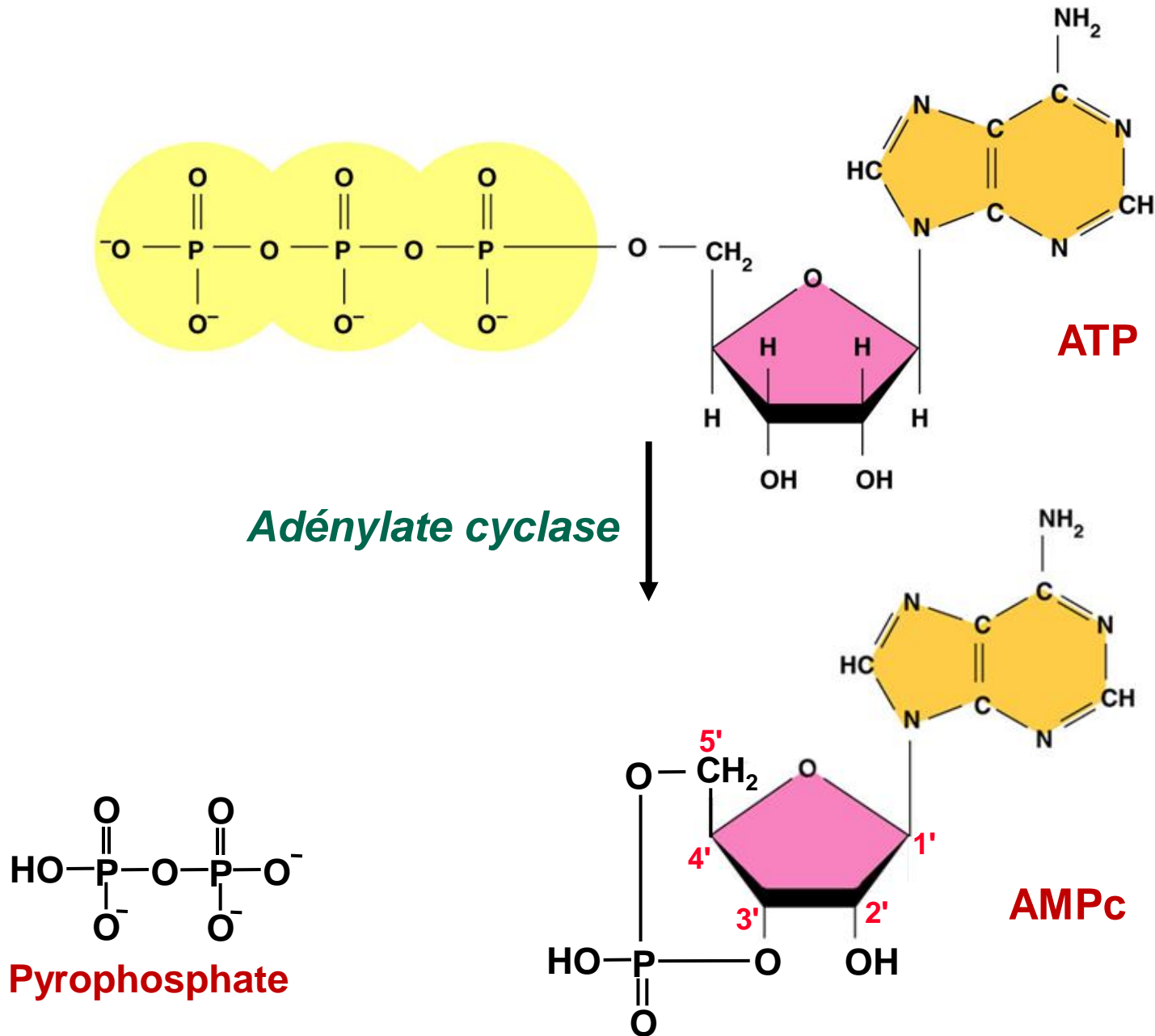
*PDE* sont extrêmement actives → la [AMPc] n'augmente que si :

**vitesse de synthèse par AC >> vitesse de dégradation par PDE**

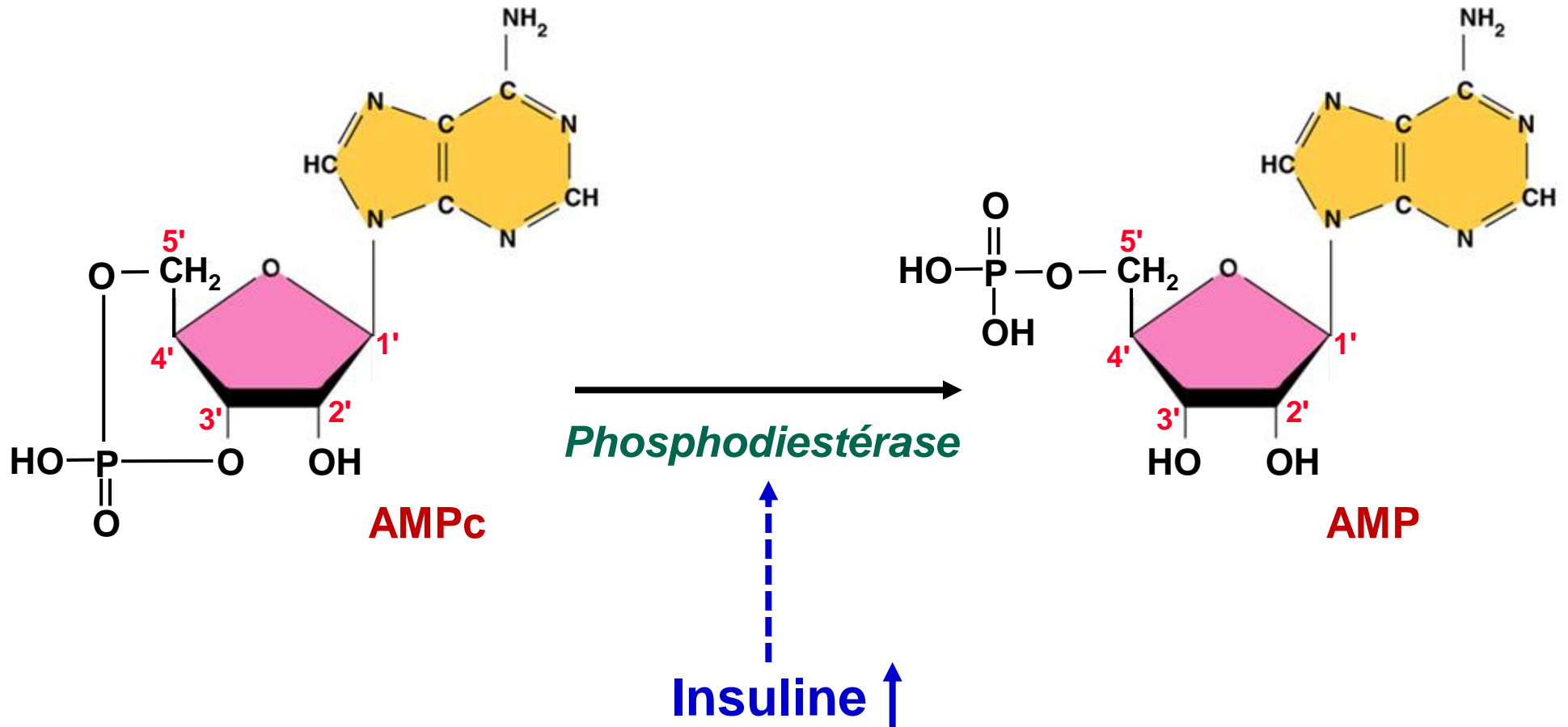
La [AMPc] intracellulaire est corrélée aux variations de [Ho] extracellulaire. L'AMPc disparaît lorsque Ho ne stimule plus l'activité de l'adénylate cyclase

Des inhibiteurs des *PDE* (caféine) potentialisent l'action des Ho via le ralentissement de la dégradation de l'AMPc

# L'AMP cycliste

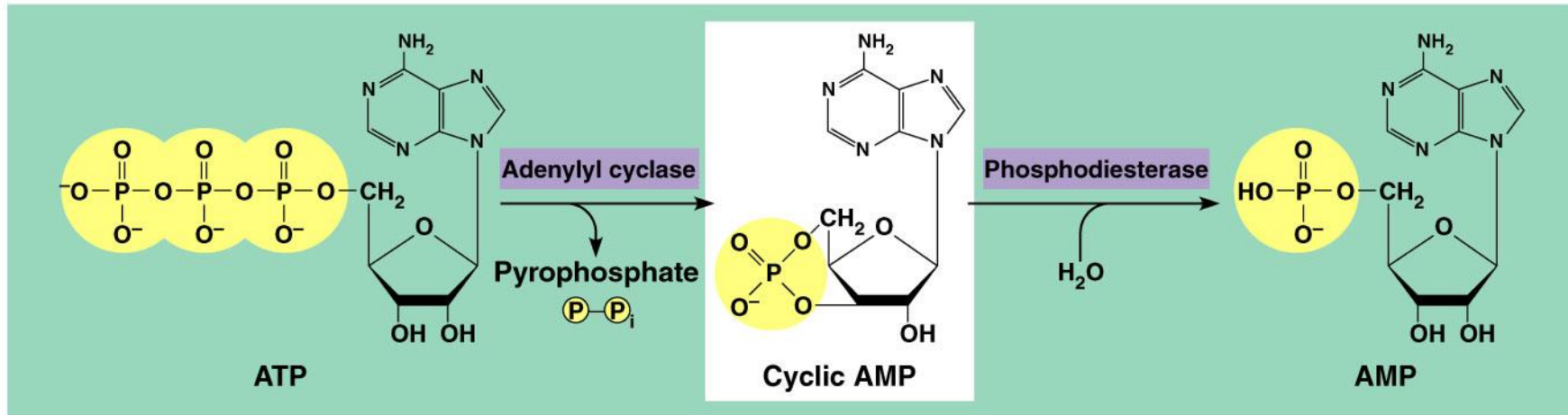


# Dégradation de l'AMP cyclique



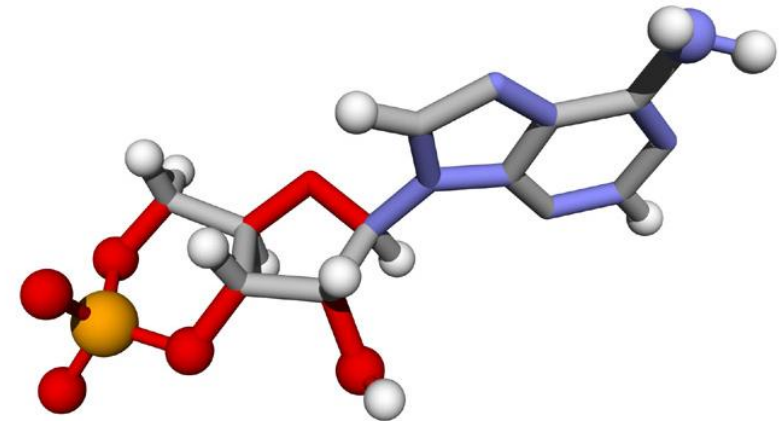
# Dégradation de l'AMP cyclique

Les messengers secondaires ne sont pas des protéines



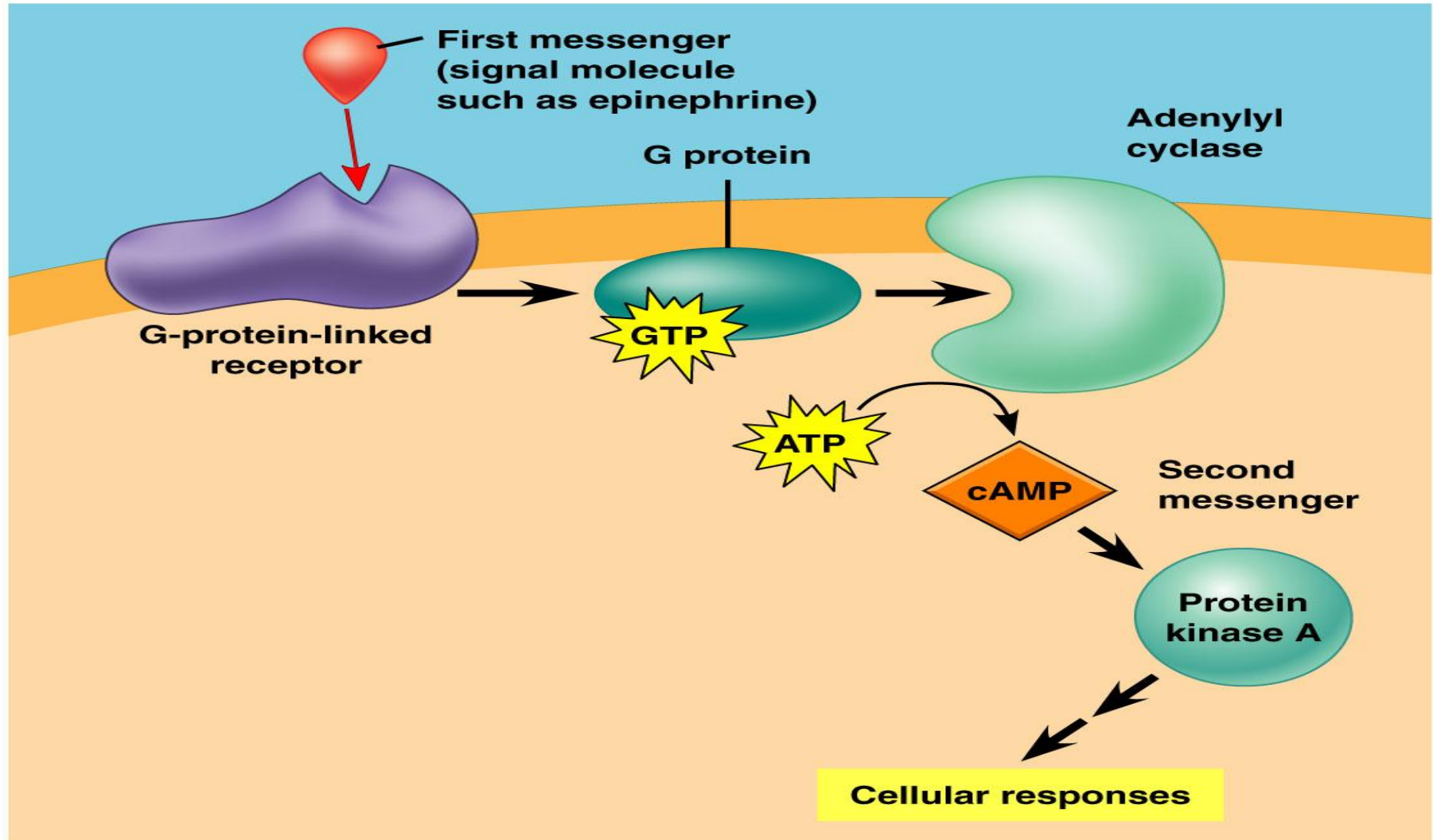
Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. Publishing as Pearson Benjamin Cummings. All rights reserved.

Les réactions ne sont pas REVERSIBLES



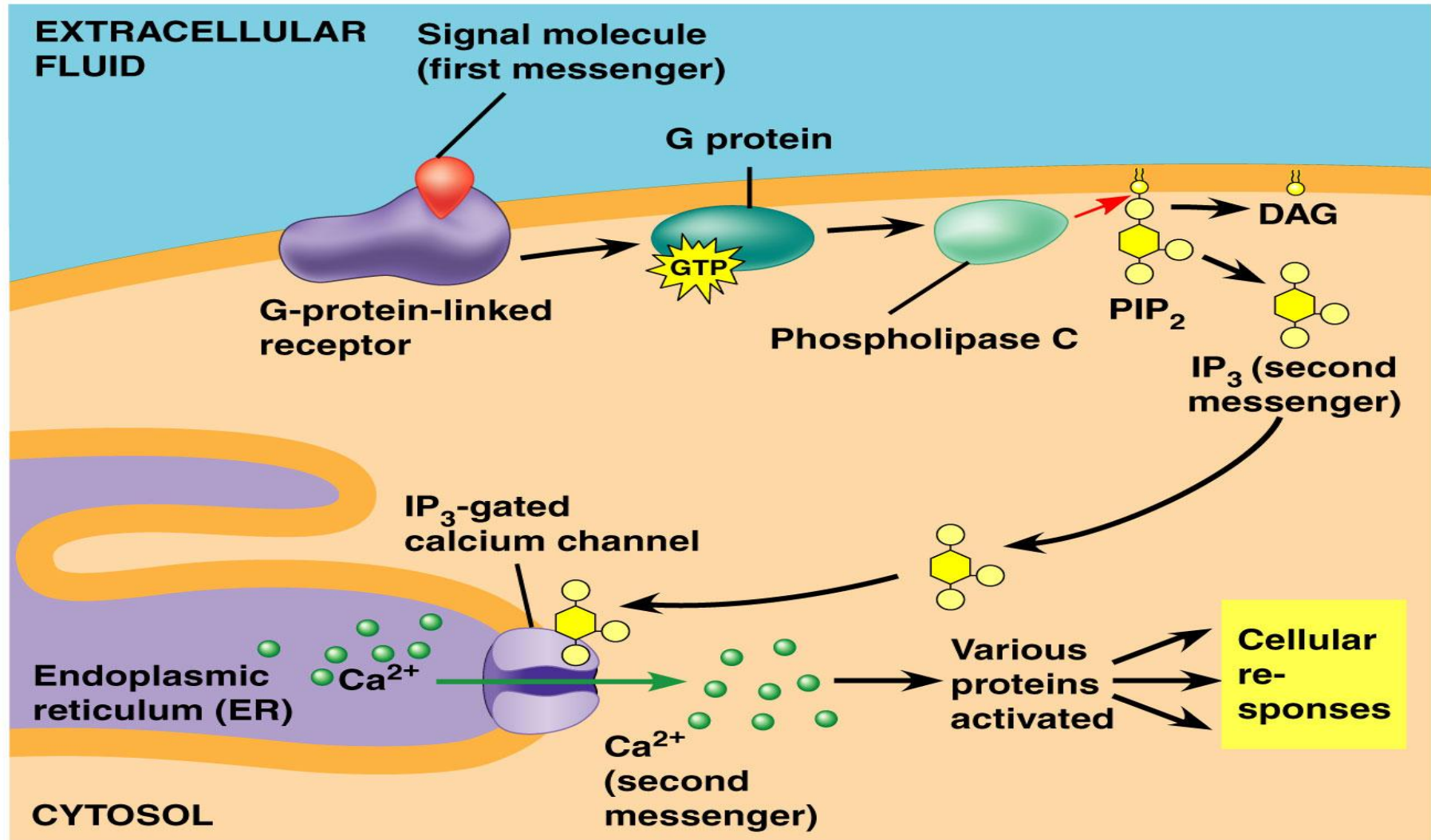
# Dégradation de l'AMP cyclique

Les messengers secondaires ne sont pas des protéines



# Dégradation de l'AMP cyclique

## Les messengers secondaires ne sont pas des protéines



# Adénylate Cyclase → APMc → PKA

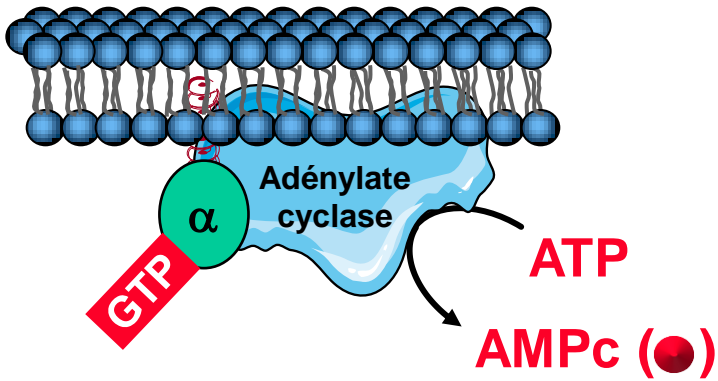
Le site d'action de l'AMPc est une enzyme, la **PKA** qui catalyse la phosphorylation de protéines spécifiques sur certains de leurs résidus Ser ou Thr

Diverses protéines (enzymes, protéines du cytosquelette, facteurs de transcription etc...) sont phosphorylées sur Ser / Thr par **PKA**

Ces phosphorylations entraînent des changements de propriétés de ces protéines qui vont produire la réponse à Ho dans la cellule

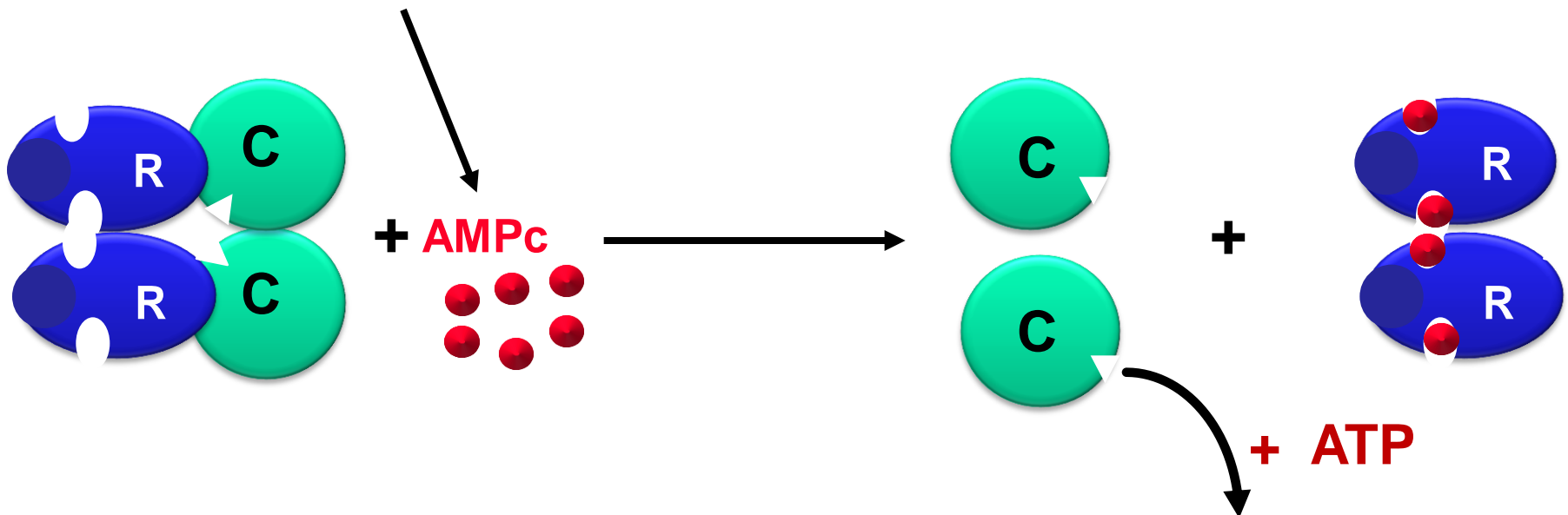
***PKA : Protéine Kinase AMPc dépendante***

# Activation de la protéine kinase A (PKA) par l'AMPc



## Protéine kinase A

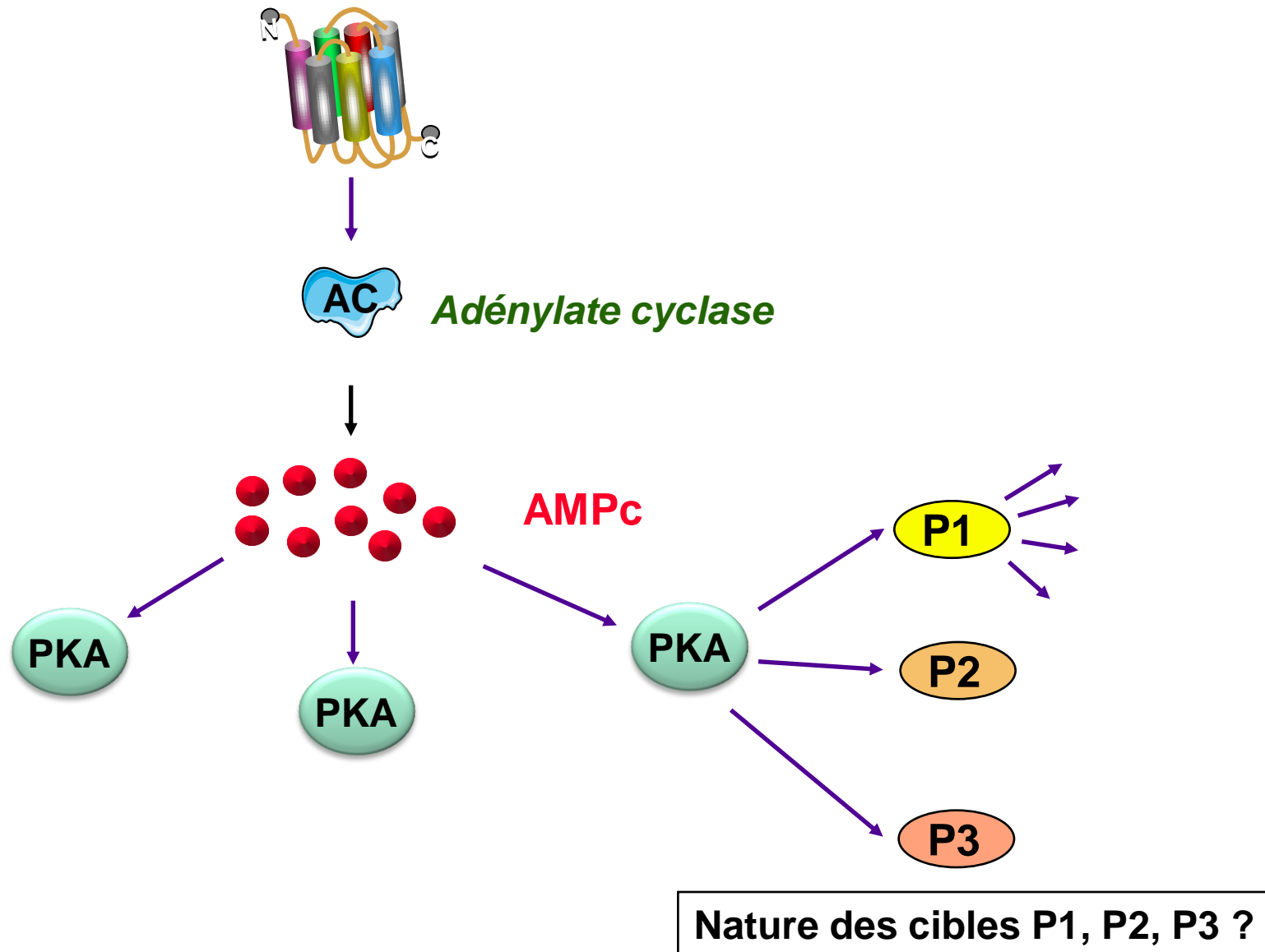
- 2 sous unité catalytique (C)
- 2 sous unités régulatrice (R)



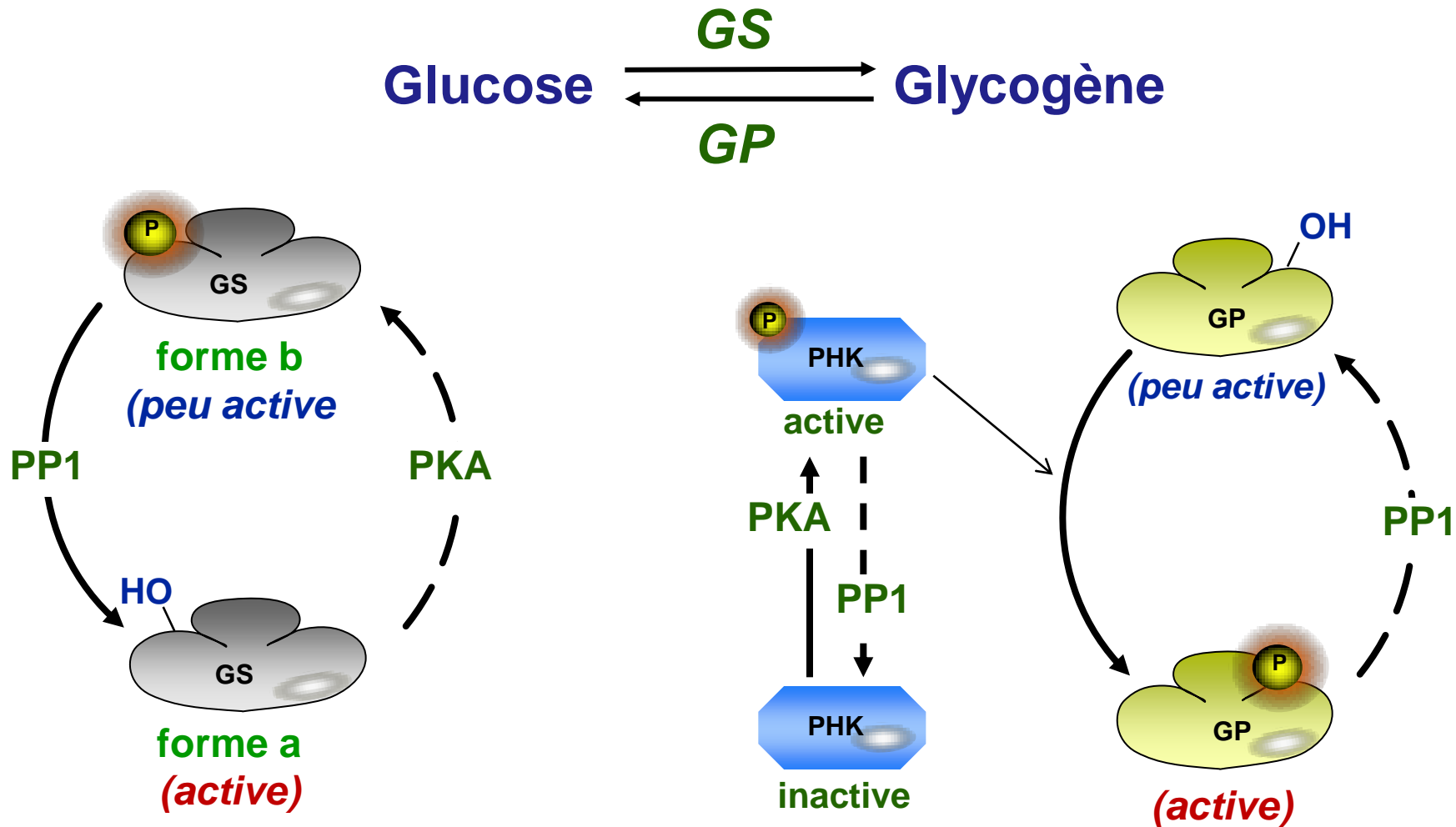
Motif consensus de la PKA : **Arg – Arg/Lys – X – (Ser/thr)**

Protéine kinase A = Sérine / thréonine kinase (T ou S)

# Amplification du signal à partir d'un récepteur couplé aux protéines Gs



# Les enzymes de la production et dégradation du glycogène : cibles de la PKA

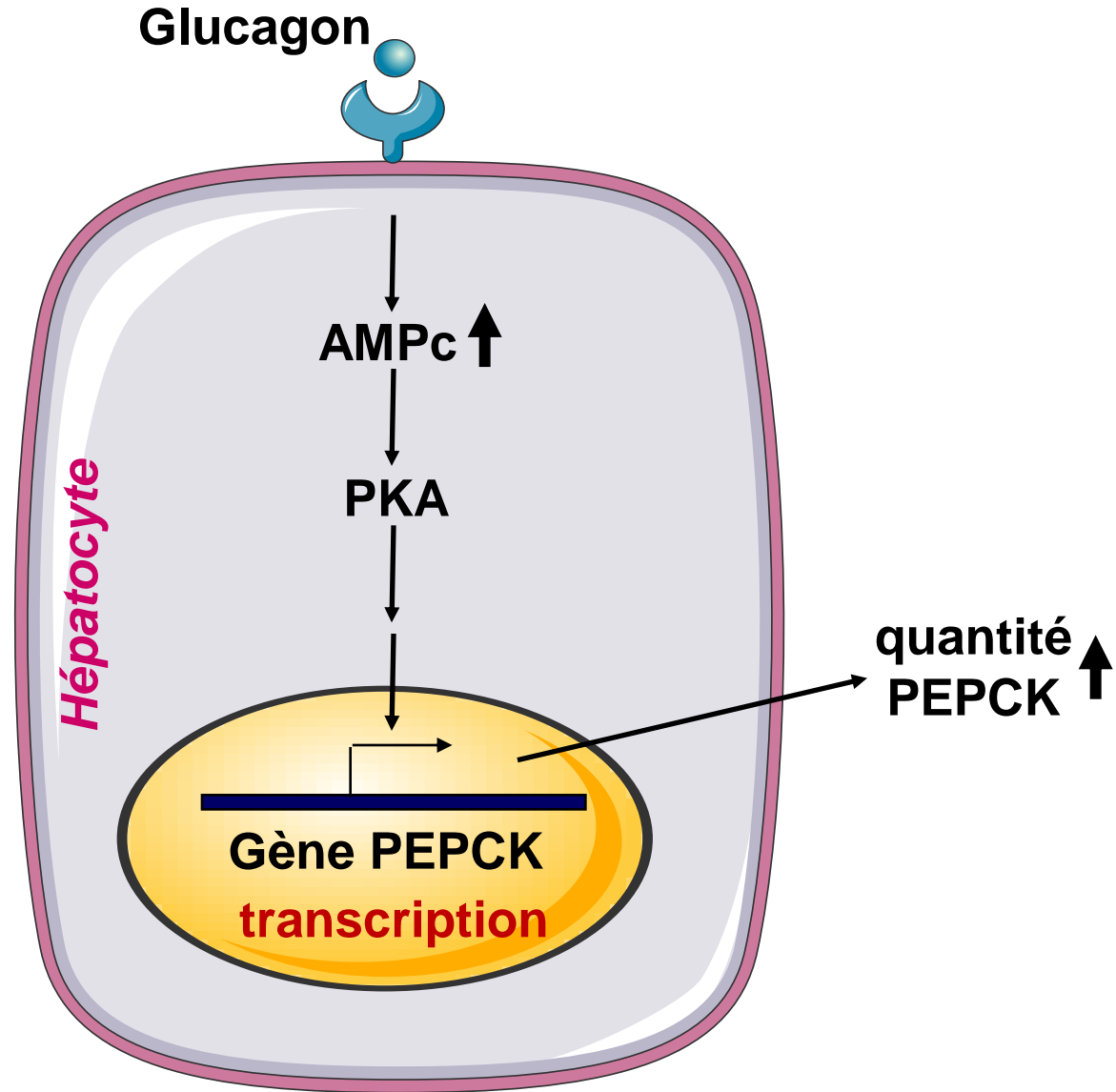
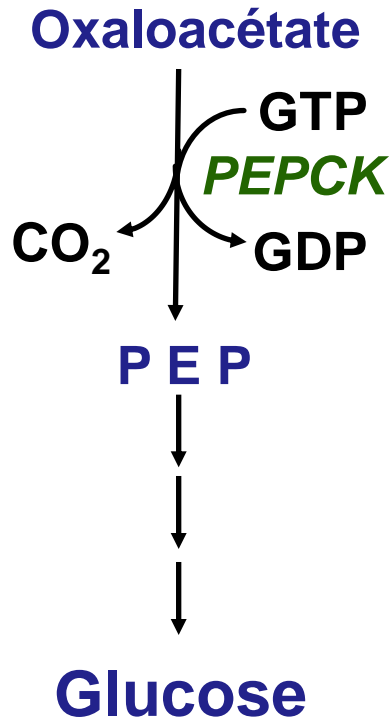


**GS** : Glycogène synthase

**PHK** : Phosphorylase Kinase

**GP** : Glycogène phosphorylase

# Augmentation de la transcription du gène PEPCK par la PKA

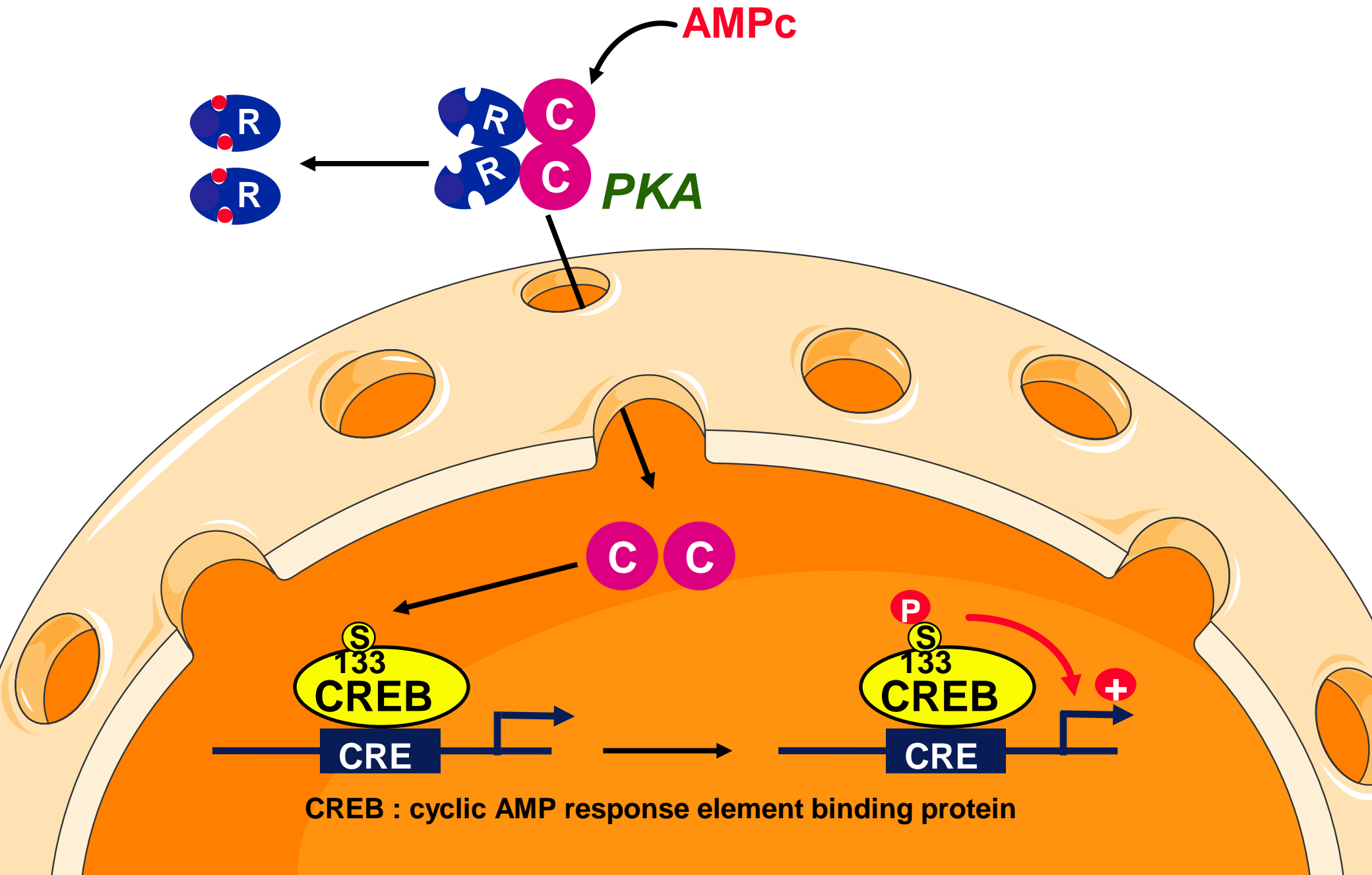


Promoteur PEPCK



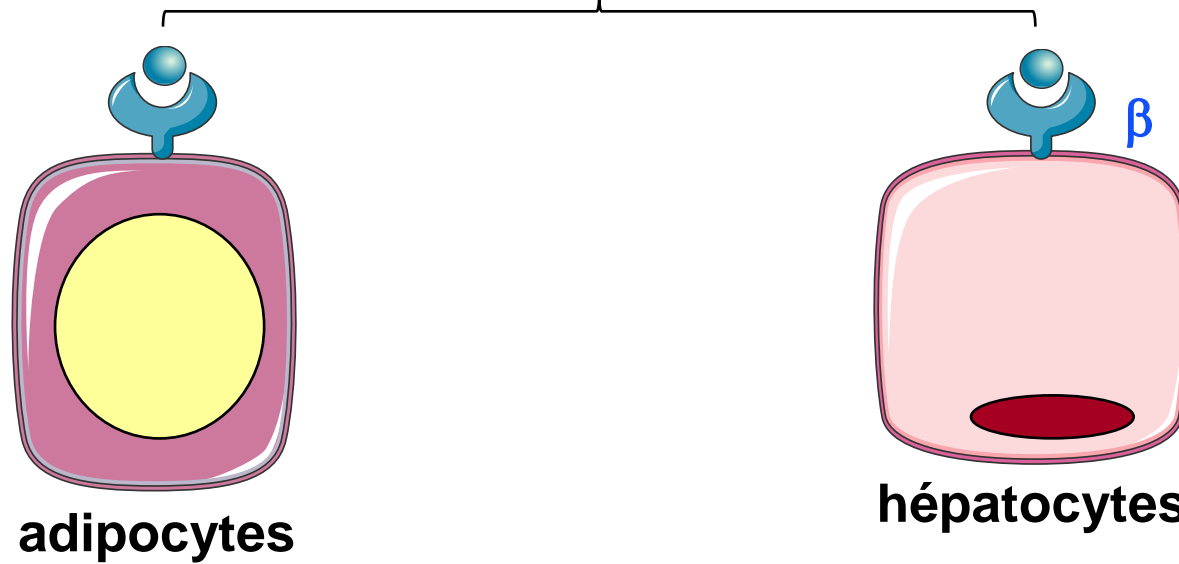
CREB : Cyclic AMP Response Element

# Transcription AMPc- dépendante

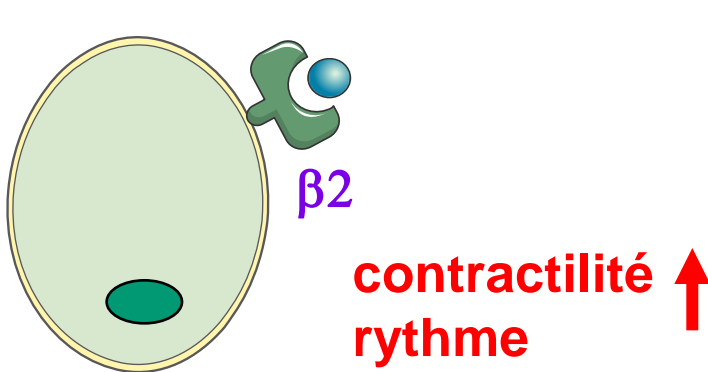


# Les catécholamines ont différents types de récepteurs

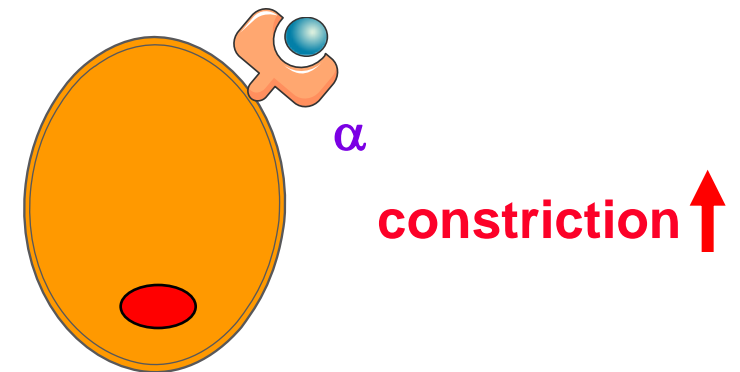
Adrénaline / Noradrénaline



**Libération : Glucose et Acides gras**



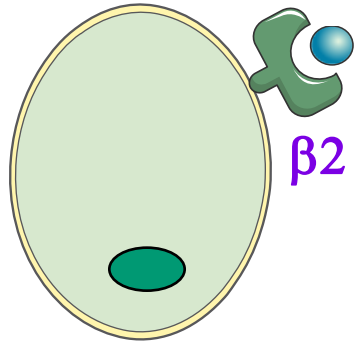
Cardiomyocyte



Cellules musculaires lisses vaisseaux

# Effets antagonistes des catécholamines

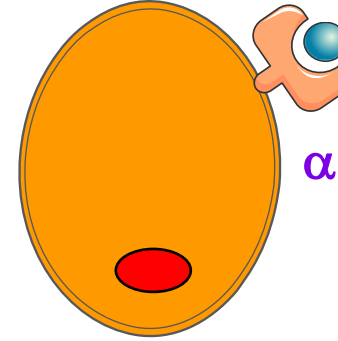
Cardiomyocyte



contractilité ↑  
rythme ↑

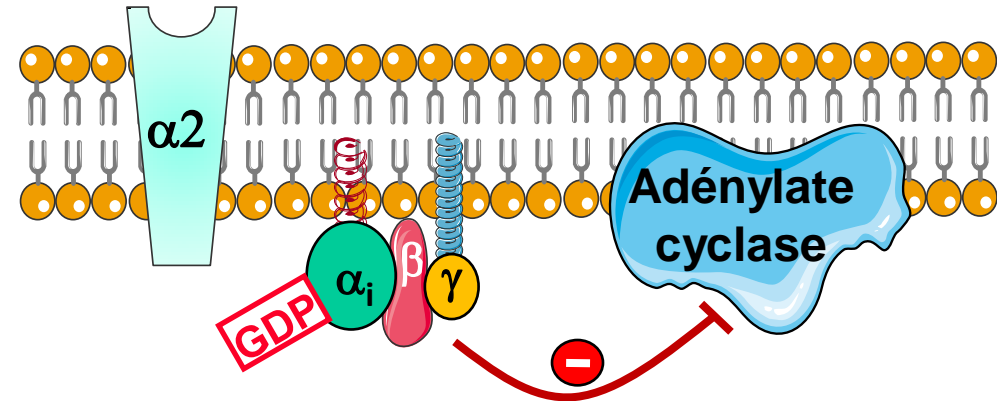
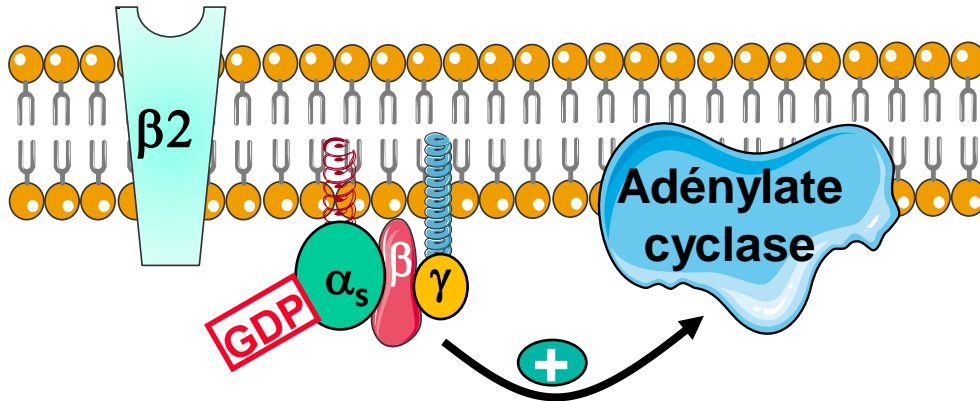
↑ AMPc

Cellules musculaires lisses vaisseaux

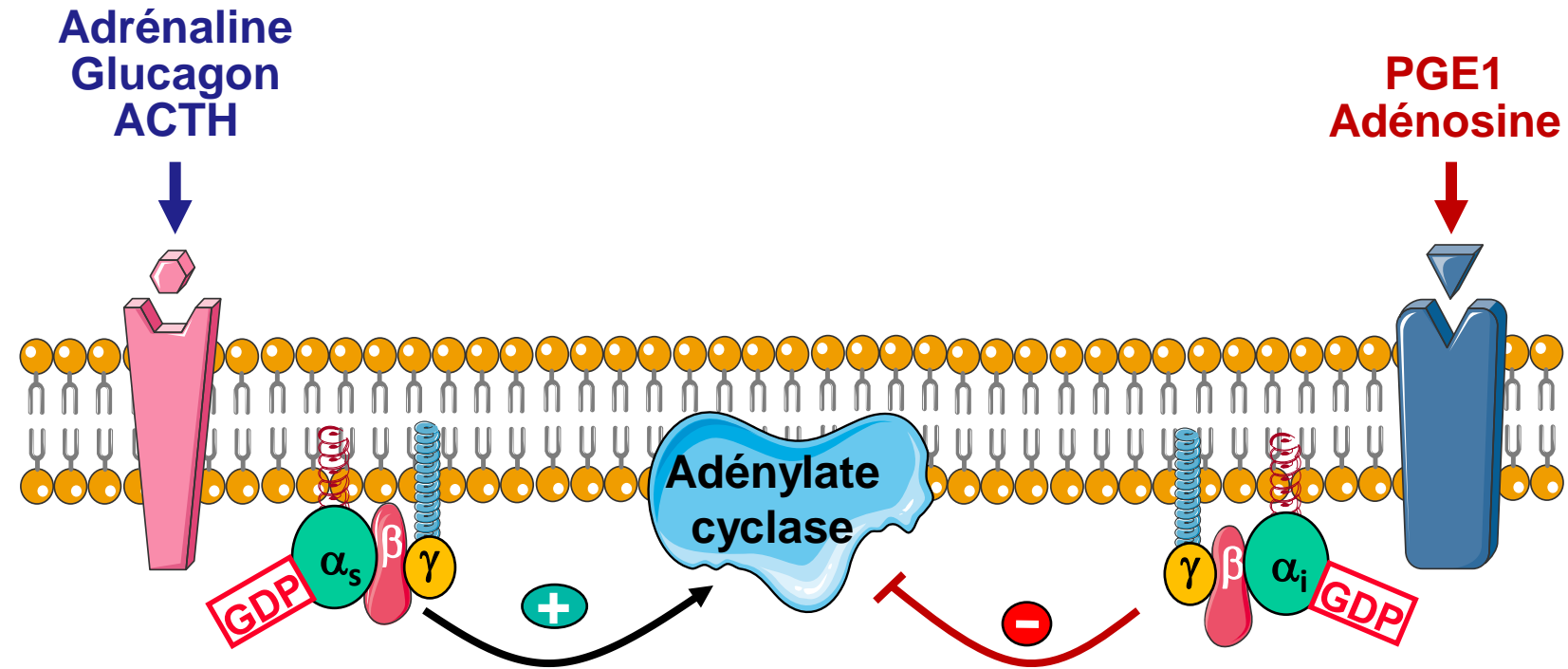


constriction ↑

↓ AMPc

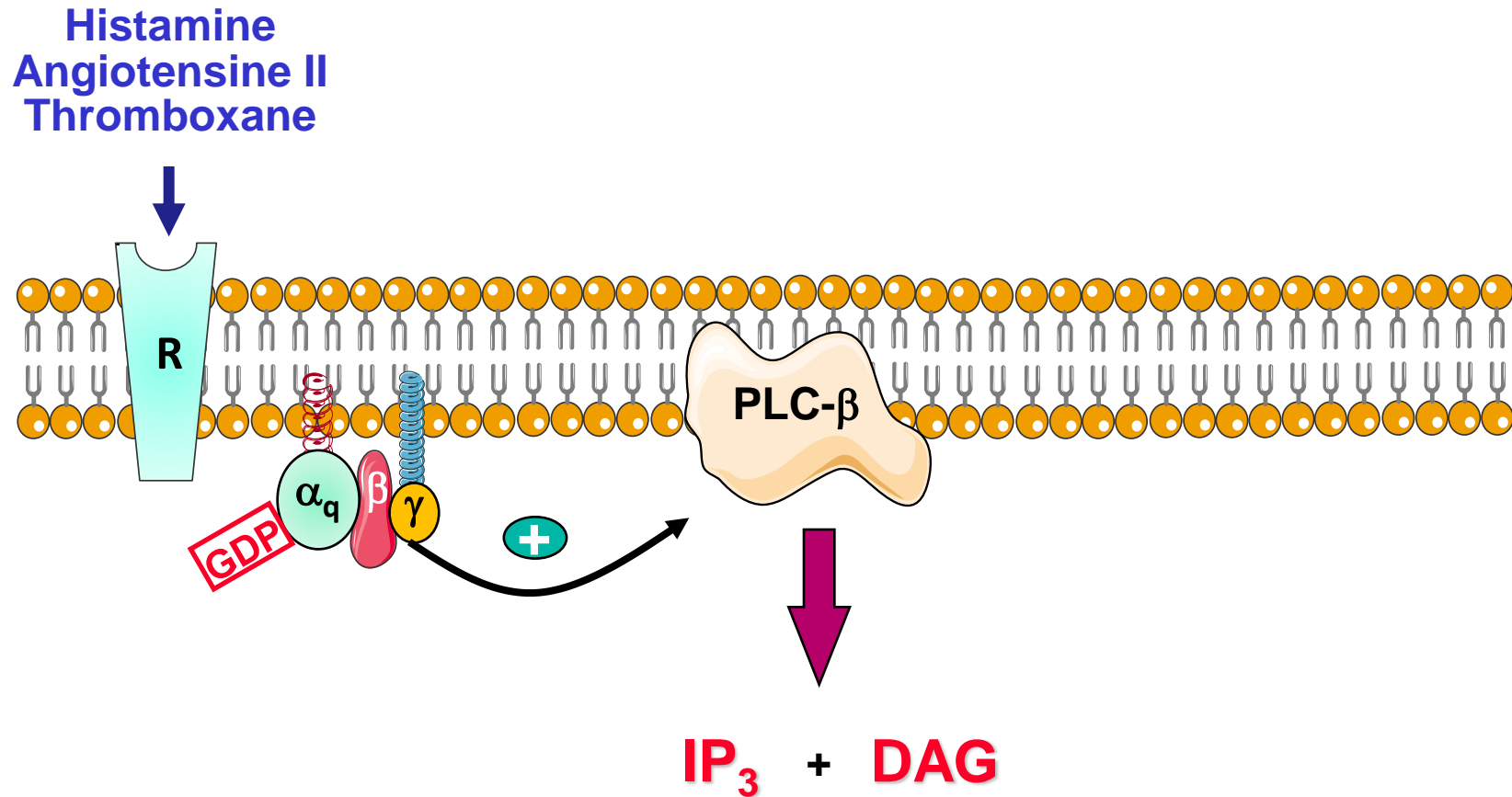


# Inhibition de l'adénylate cyclase par des récepteurs couplés aux protéines Gi



Adipocyte

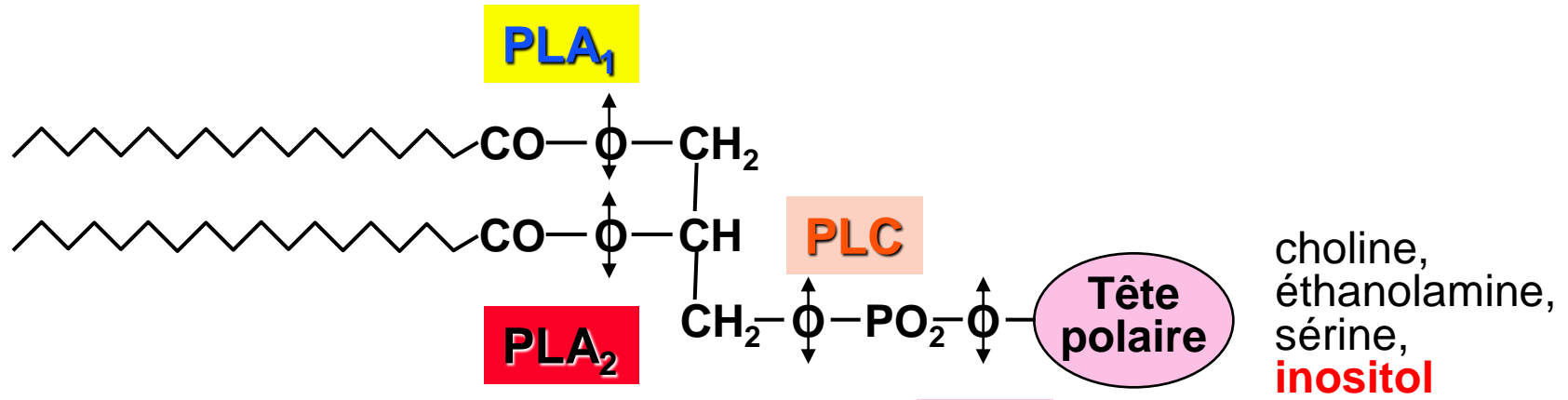
# Activation de la phospholipase C- $\beta$ spécifique des phosphatidylinositol par les protéines Gq



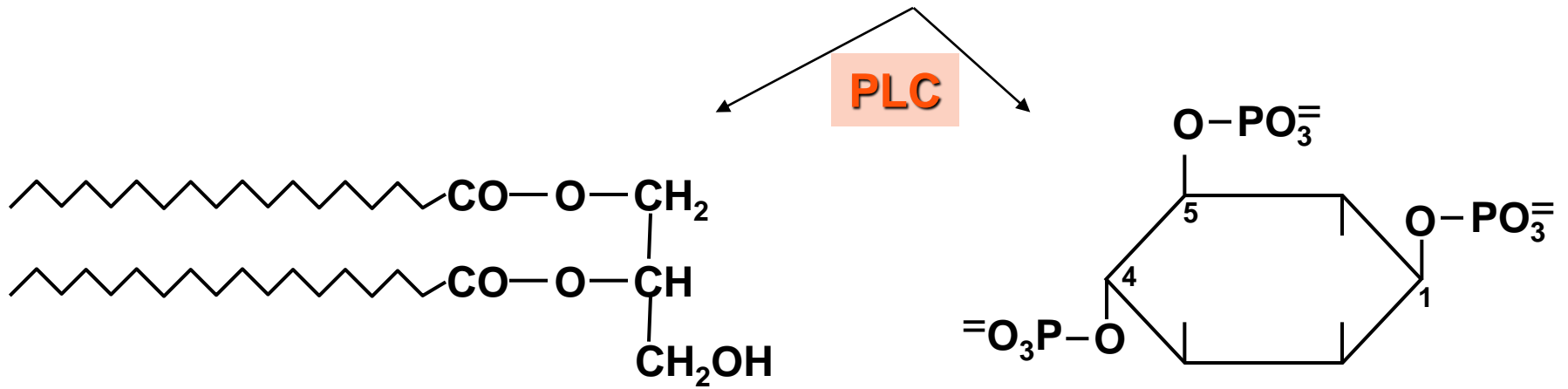
Production de deux messagers lipidiques

**PLC- $\beta$** : Phospholipase spécifique des phosphatidyl inositol (PI)

# Les différents types de phospholipases



Phosphatidyl Inositol = Lipide membranaire



Diacylglycérol : **DAG**

Inositol triphosphate : **IP3**

2nd messagers lipidiques

# Phospholipase C → IP3 + DAG → PKC

Les actions de **DAG** et **IP3** sont complémentaires

La molécule cible du **DAG** est **PKC** dont la localisation membranaire fait suite à l'action préalable de l'**IP3**

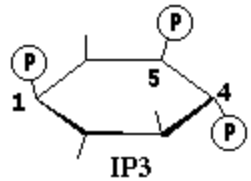
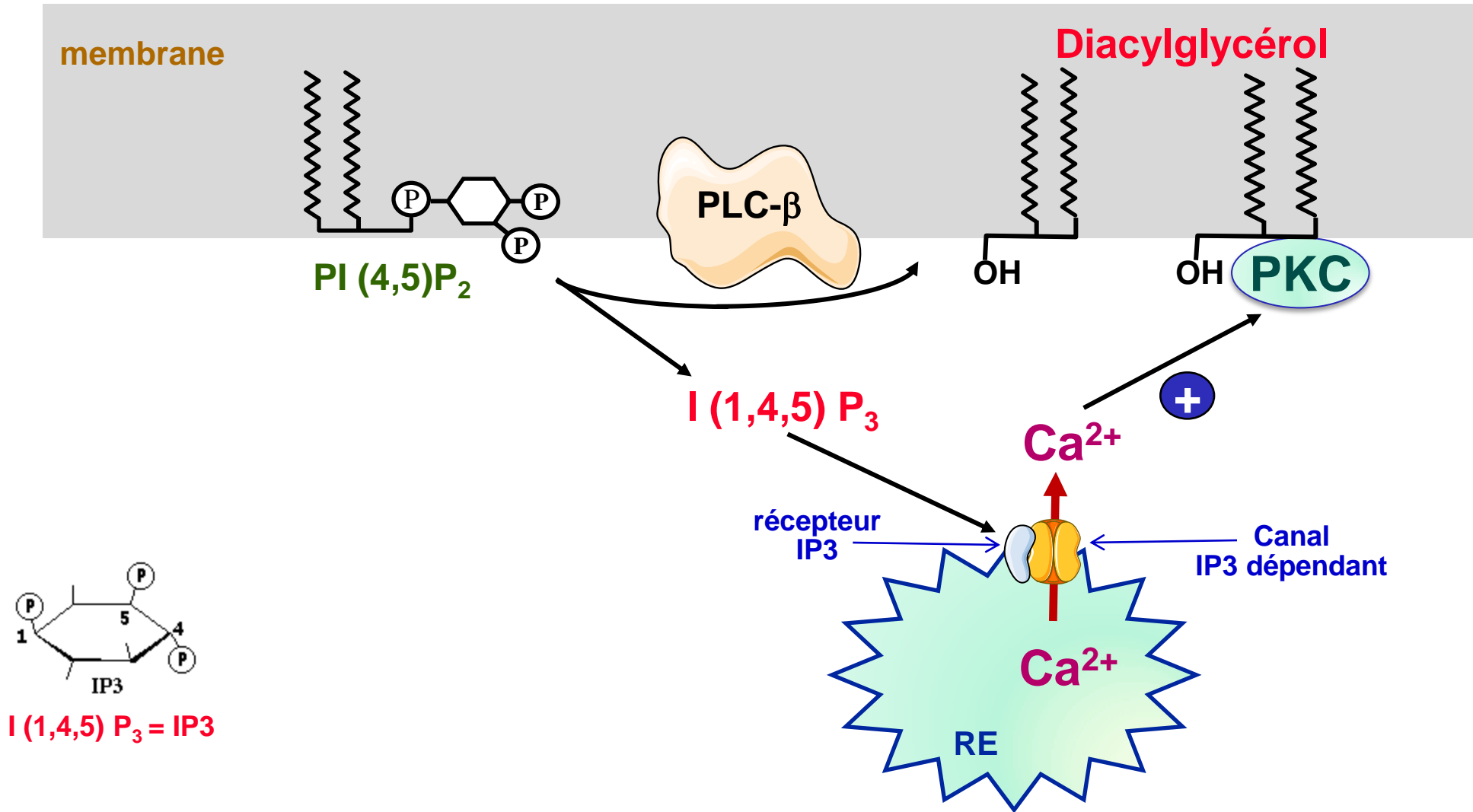
Des récepteurs spécifiques d'**IP3** sont présents dans les membranes des organelles cellulaires stockant le **Ca<sup>++</sup>** (réticulum endoplasmique ...)

Ces récepteurs sont également des canaux calciques qui, lors de la liaison d'**IP3**, s'ouvrent et libèrent **Ca<sup>++</sup>** dans le cytoplasme

L'action de l'**IP3** provoque donc une élévation de la [**Ca<sup>++</sup>**] cytoplasmique  
→ peut se lier à **PKC**

Cette association provoque la translocation de **PKC** vers la membrane où elle devient accessible au **DAG** qui est son ligand activateur limitant

# IP3 ouvre les canaux calciques du RE



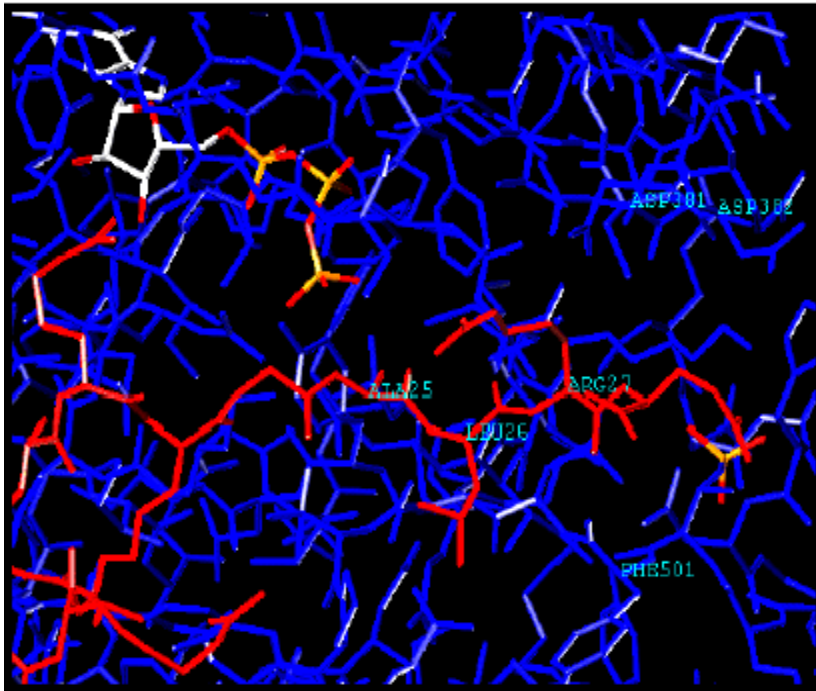
I (1,4,5) P<sub>3</sub> = IP3

PI (4,5)P<sub>2</sub> = Phosphatidyl Inositol 4,5 di phosphate

# Phospholipase C → IP3 + DAG → PKC

PKC → enzymes monocaténares (600 à 740 acides aminés)

PKC catalyse la phosphorylation de Ser et de Thr spécifiques de diverses protéines (enzymes, facteurs de transcription, protéines du cytosquelette, récepteurs ....) qui activées ou inhibées, produiront les réponses cellulaires à Ho



PKC sont constituées :

- d'un domaine régulateur N-terminal qui inhibe l'activité
- d'un domaine catalytique C-terminal

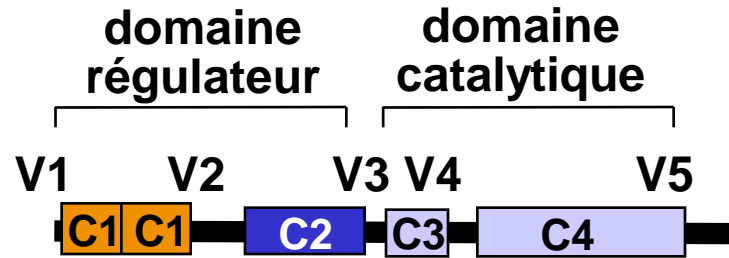
La liaison de PKC à DAG provoque un changement de conformation qui libère le site catalytique → activation

# Les différentes classes de Protéines Kinases C

activateurs → **PKC**  $\alpha, \beta I, \beta II, \gamma$   
 $Ca^{2+}, DAG$

activateurs → **PKC**  $\delta, \epsilon, \eta, \theta$   
**DAG**

activateurs → **PKC**  $\zeta, \lambda$   
**PIP3**



«conventionnelles»



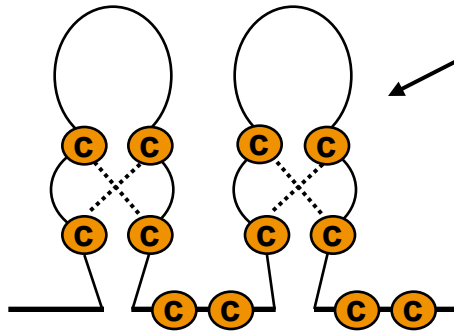
«nouvelles»



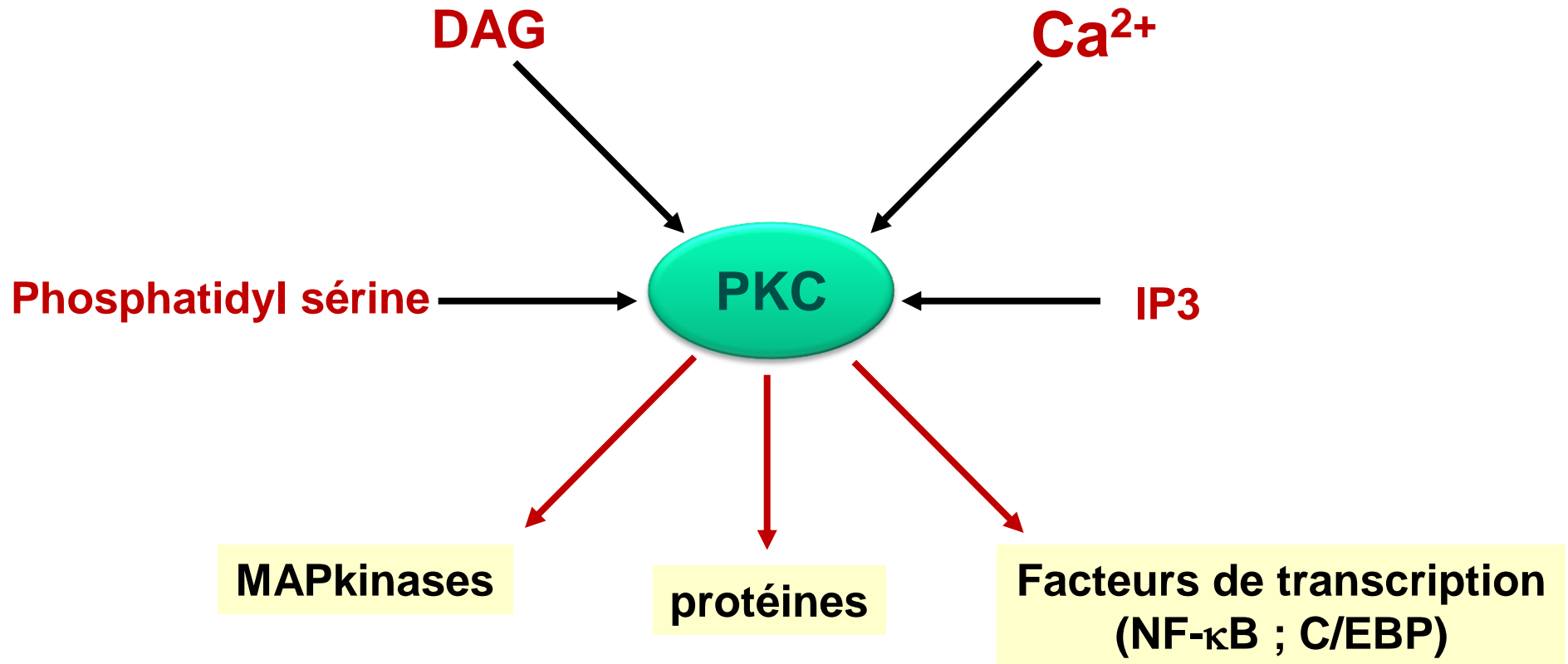
«atypiques»

séquences riches en cystéine

liaison de l'ATP



# Activation et cibles des PKC par DAG et Ca<sup>2+</sup>



Séquence consensus : X R X X S/T X R X

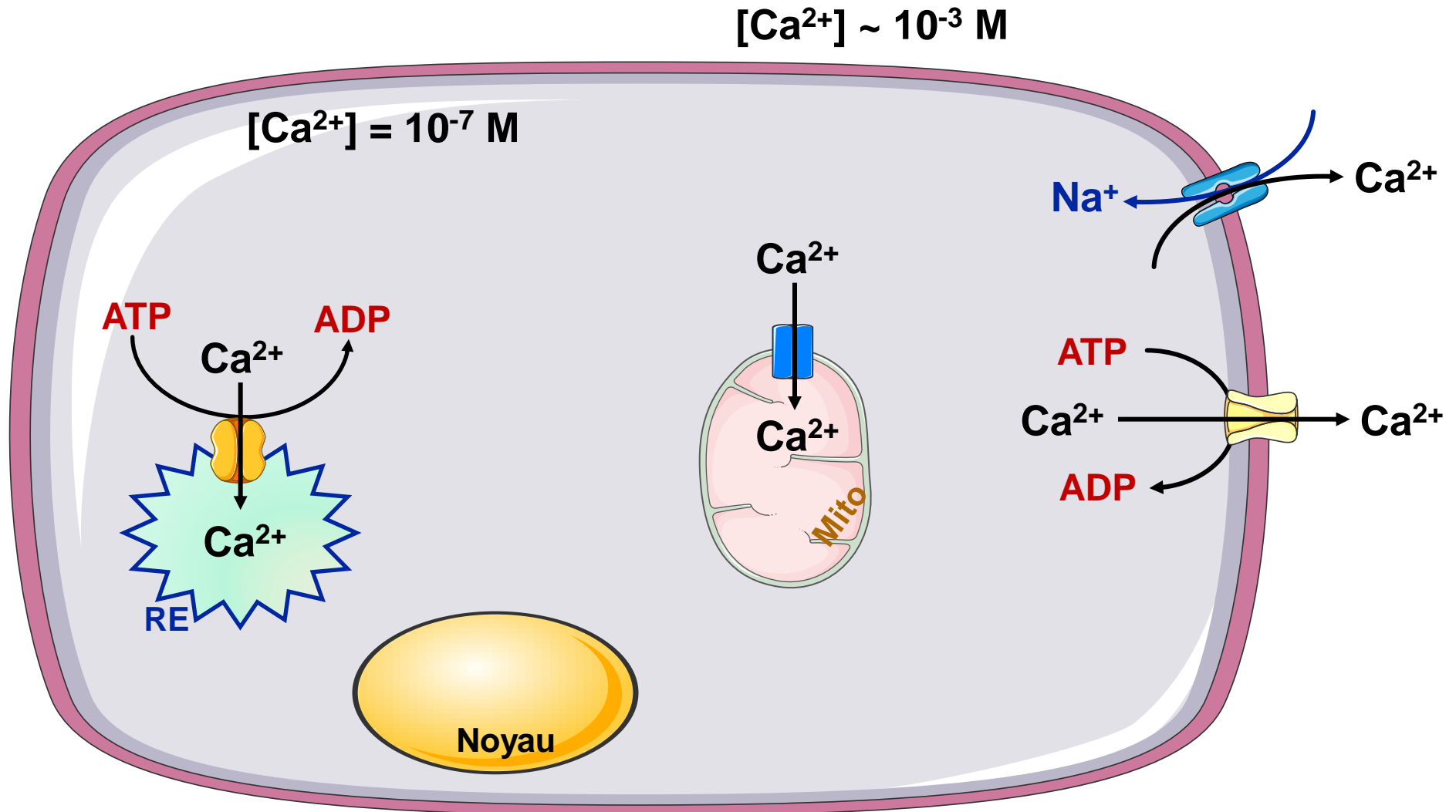
Arg

Ser  
Thr

Arg

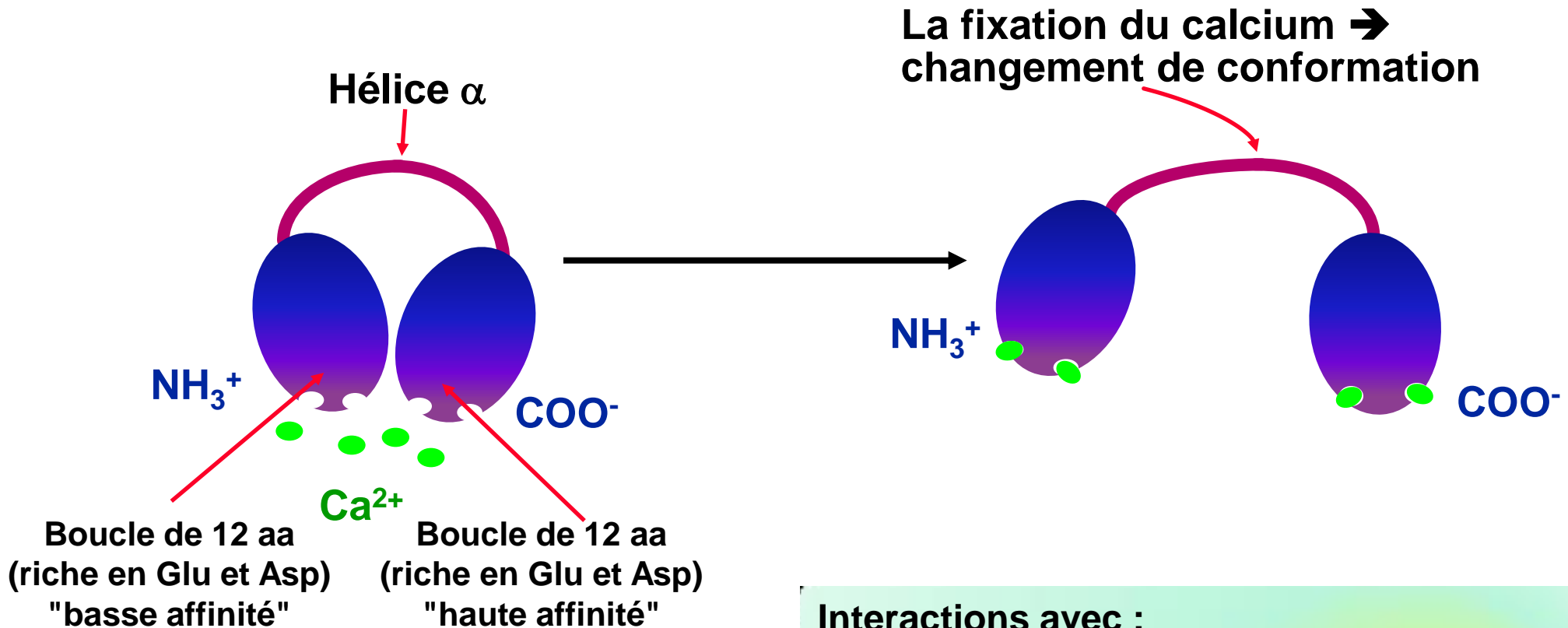
# Ca<sup>2+</sup> : l'autre second messager intracellulaire

[Ca<sup>2+</sup>] cytosolique est maintenue basse à l'état basal



# La calmoduline : un récepteur calcique intracellulaire

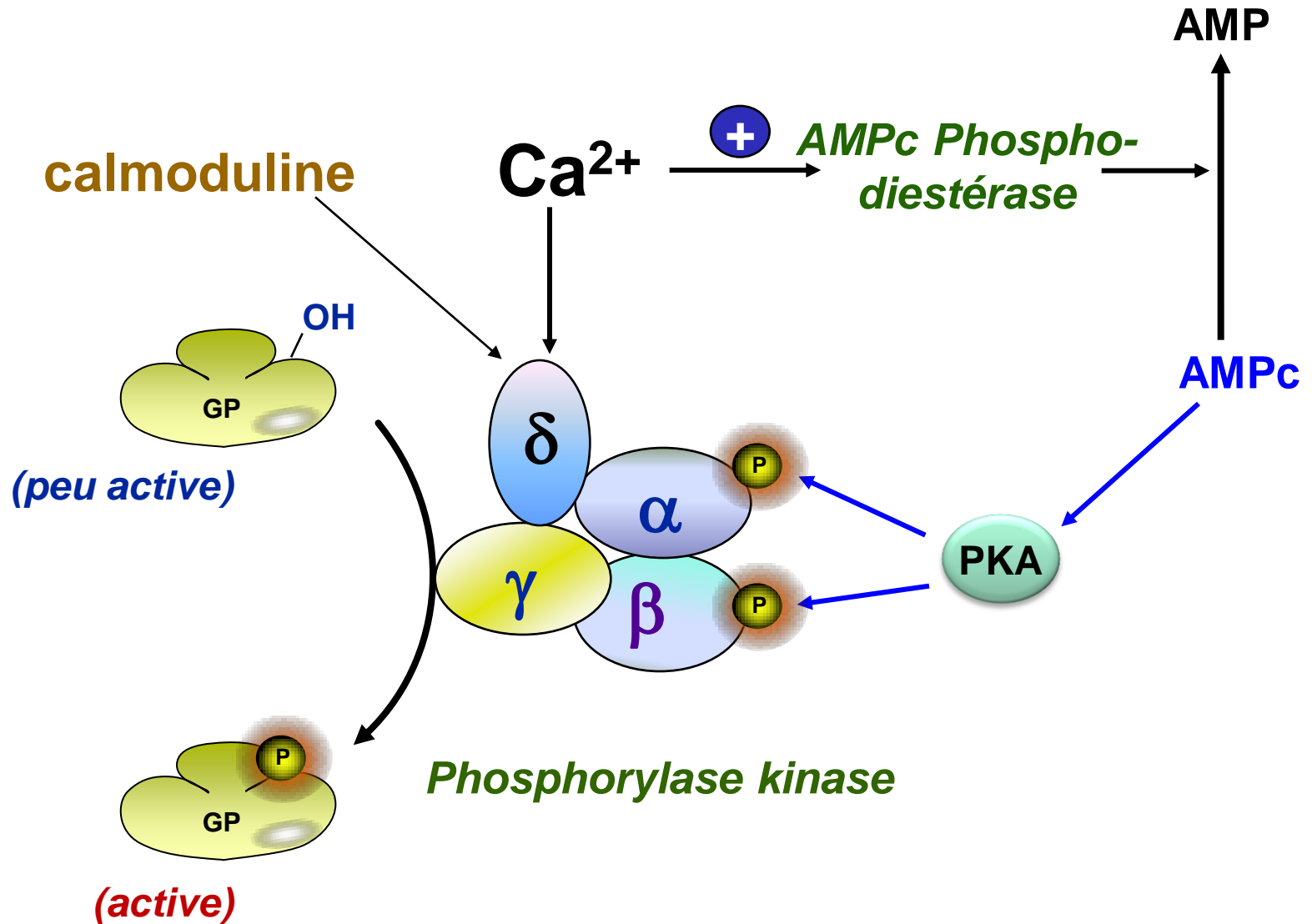
**Calmoduline** : ubiquitaire ( $10^7$  molécules/cellules = 1% des protéines)



Interactions avec :

- Phosphorylase kinase
  - AMPc phosphodiesterase
- Ser/Thr kinases

# Intersections des voies de l'AMPC et du $\text{Ca}^{2+}$

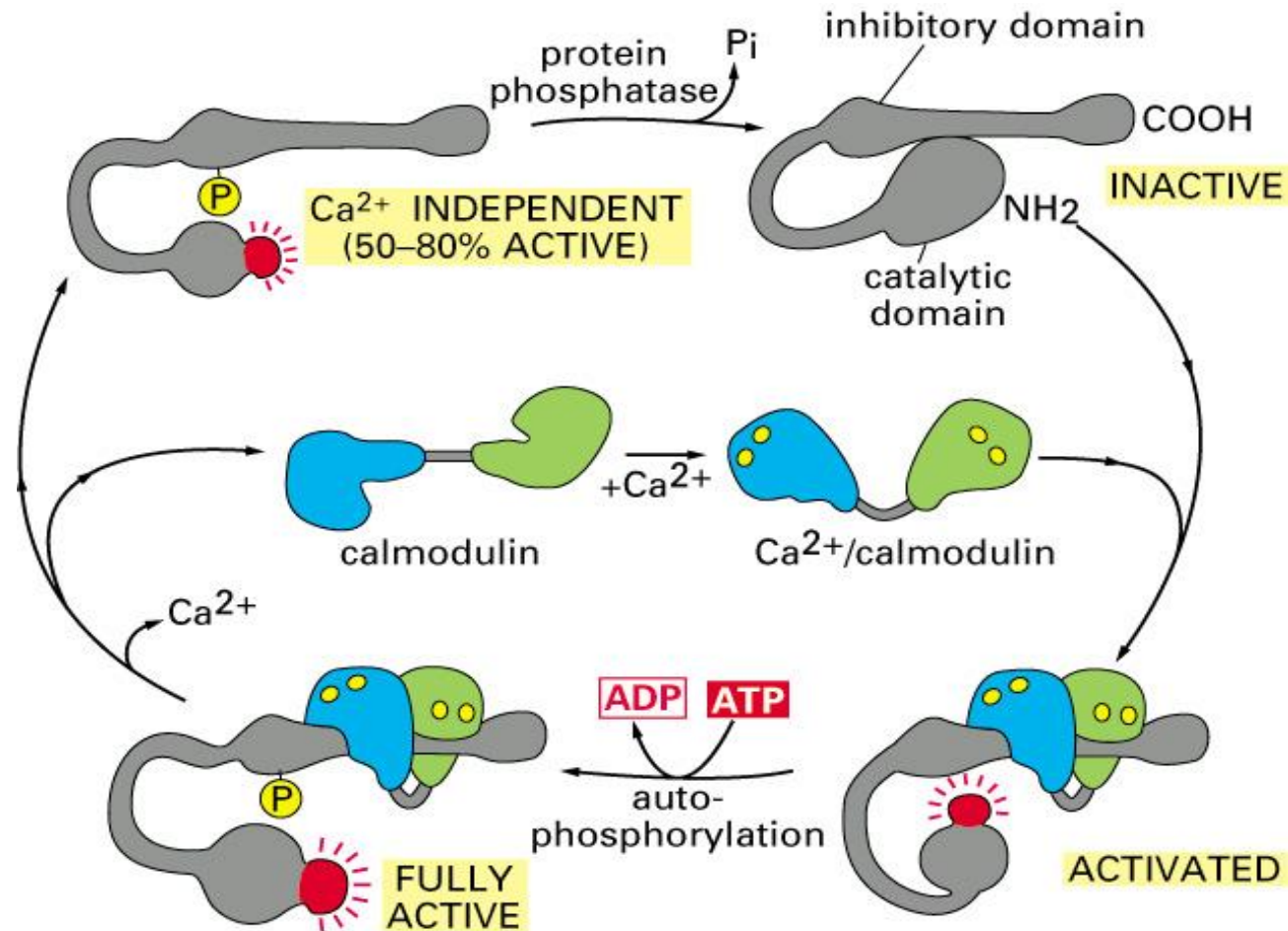


**GYP : Glycogène phosphorylase**

# La calmoduline : un récepteur calcique intracellulaire

**Calmoduline** : ubiquitaire ( $10^7$  molécules/cellules = 1% des protéines)

La  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin-dependent Protein Kinases (CaM-Kinases) Médie plusieurs actions cellulaires dépendantes du  $\text{Ca}^{2+}$



# Interactions des voies de signalisation

L'activation de voies de signalisation induites soit par RCPG ou RTK est souvent **plus complexe qu'une simple cascade linéaire**

La stimulation soit d'un RCPG ou d'un RTK conduit souvent à la **production de multiples messagers secondaires**

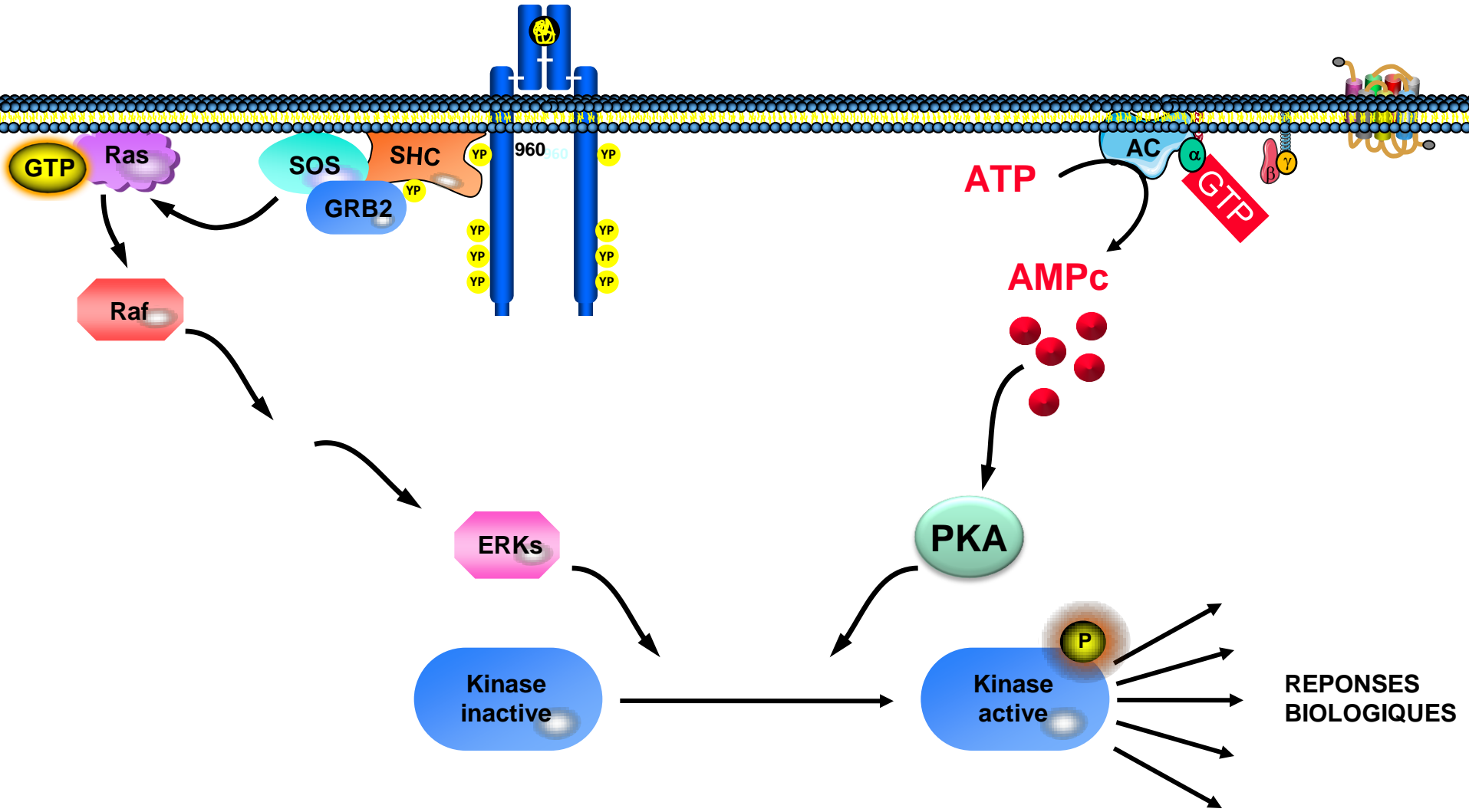
Les deux récepteurs peuvent ainsi **promouvoir ou inhiber** la **production d'un grand nombre de mêmes messagers secondaires**

De plus, un RTK peut promouvoir une voie de signalisation qui en final va agir sur la même cible qu'un RCPG

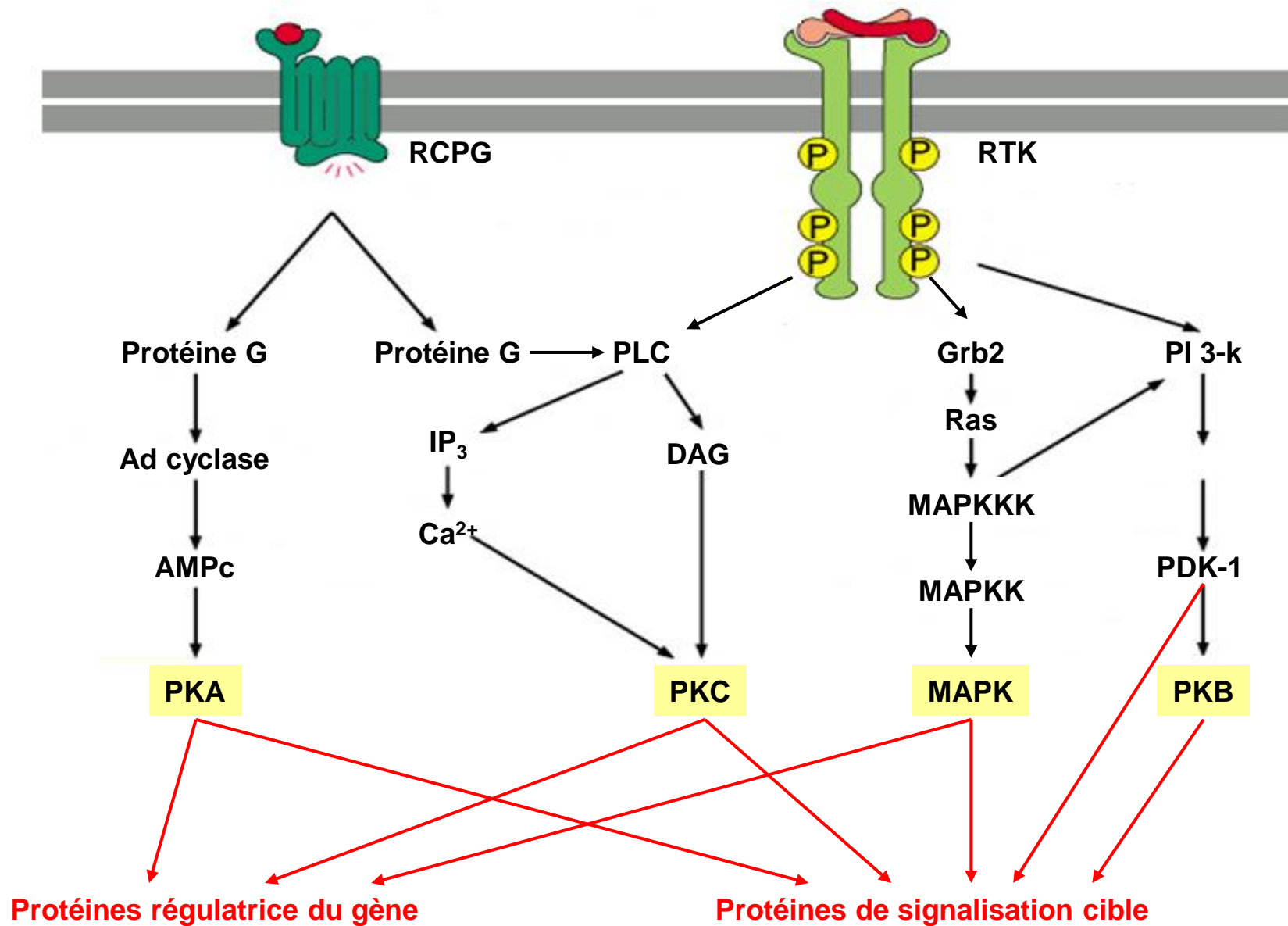
Une **même réponse cellulaire** peut être induite par plusieurs voies de signalisation et/ou par différents mécanismes

Ces interactions entre différentes voies de signalisation est à la base des régulations fines des activités cellulaires

# Interactions des voies de signalisation



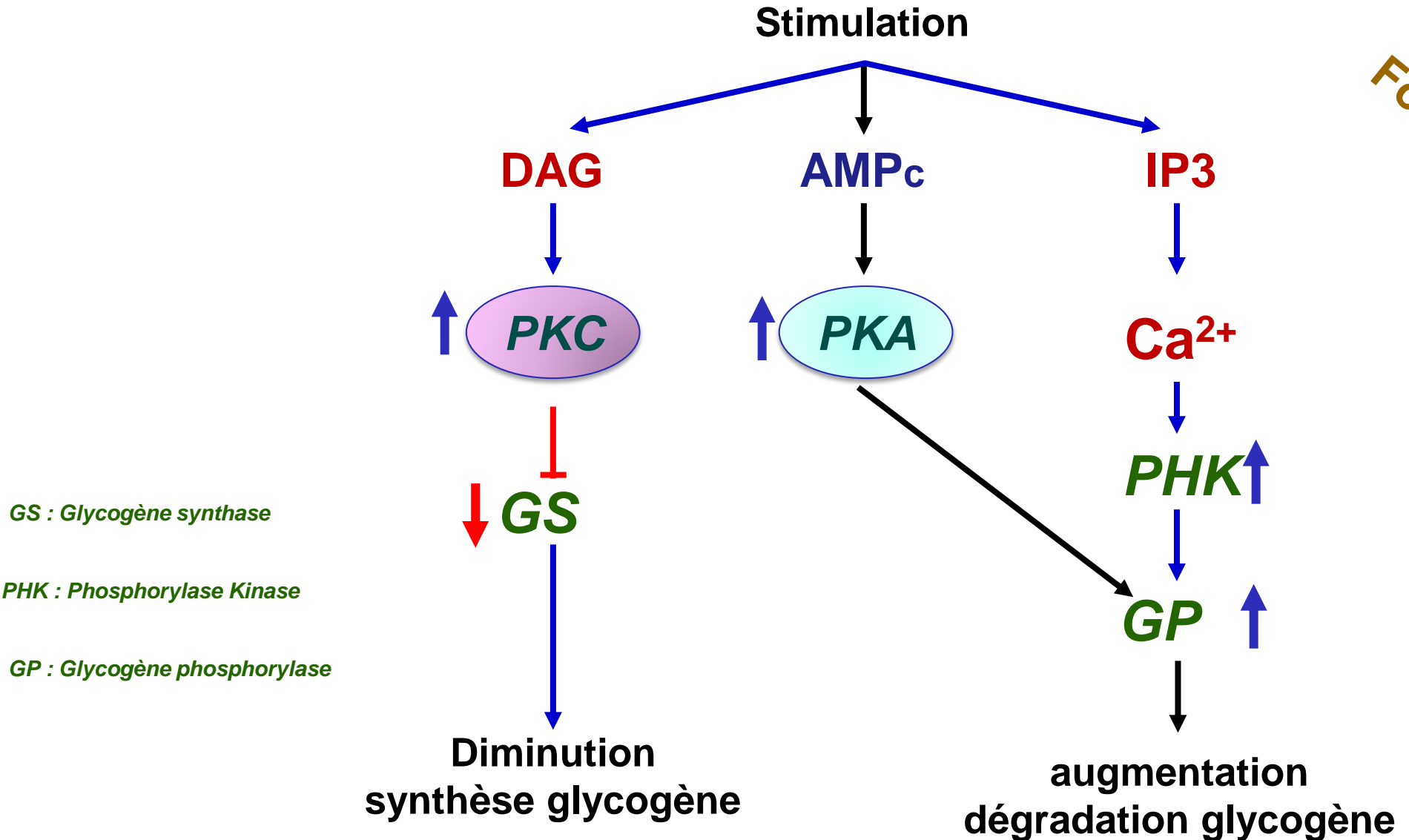
# Interactions des voies de signalisation



# Interactions des voies de signalisation

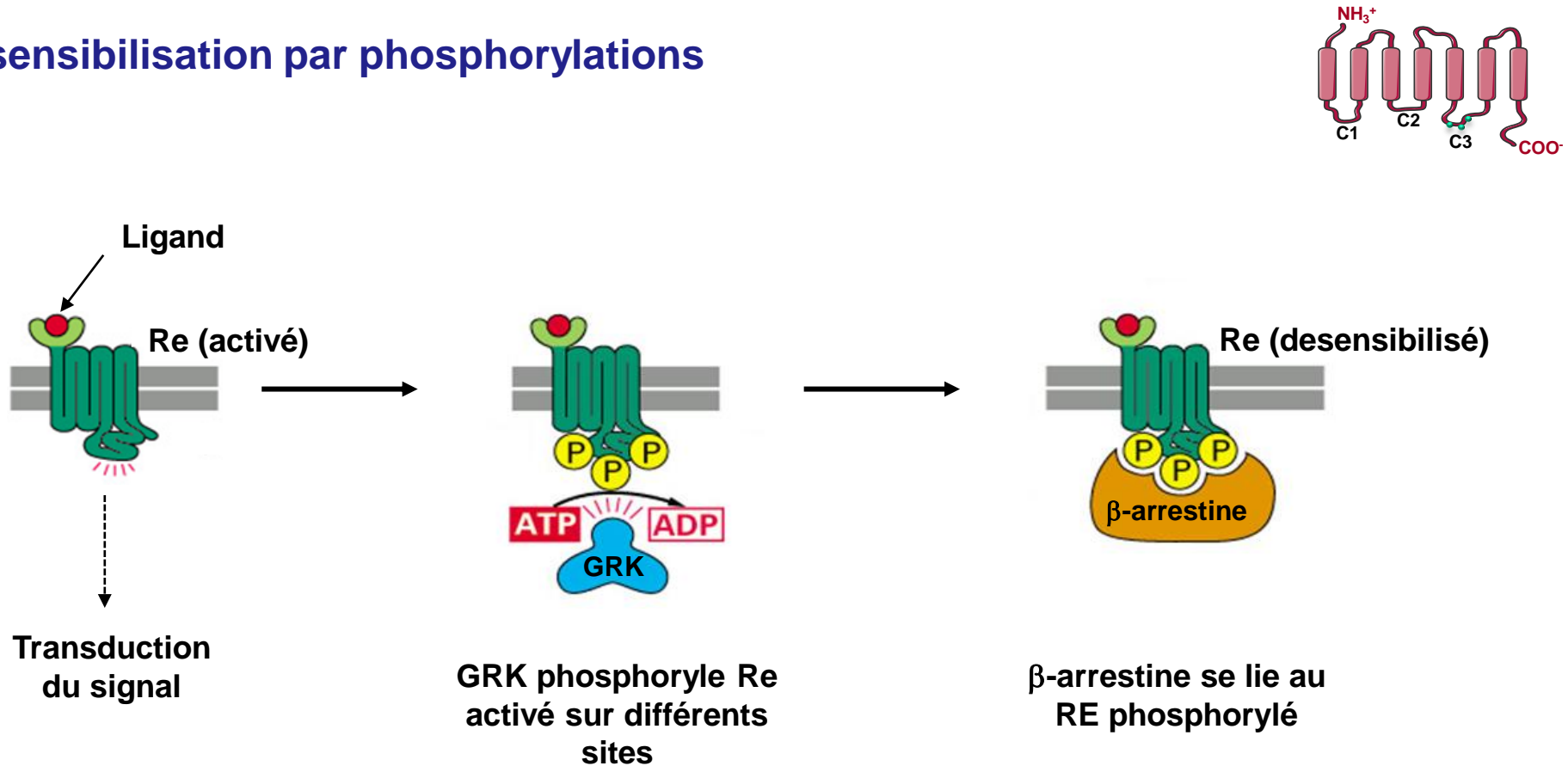
## Coopérativité entre AC et PLC $\beta$

Foie



# Processus de désensibilisation

## Désensibilisation par phosphorylations

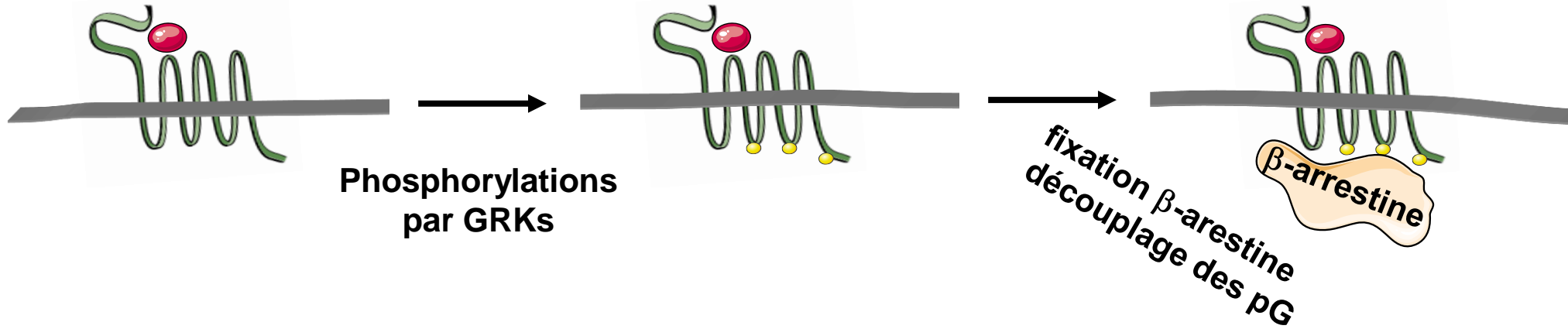


**GRK : protéine G-kinases couplées au(x) récepteur(s) → S/T Kinases**

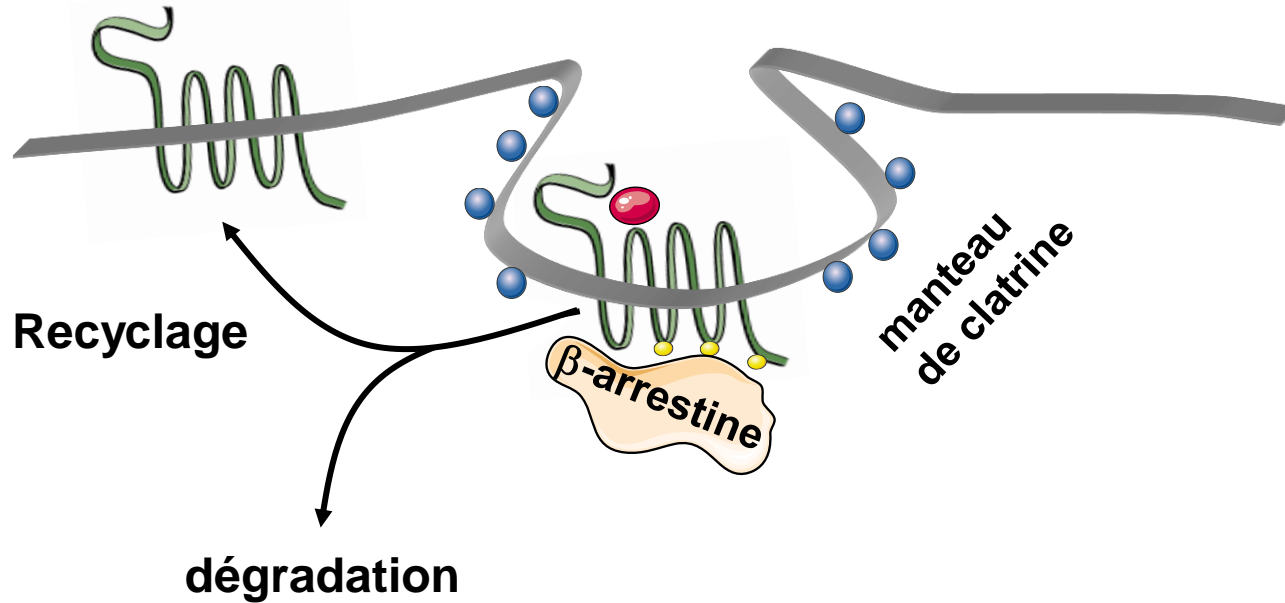
**Re : Récepteur / GRK : G-protein-linked Receptor Kinase**

# Processus de désensibilisation

## Désensibilisation par phosphorylations



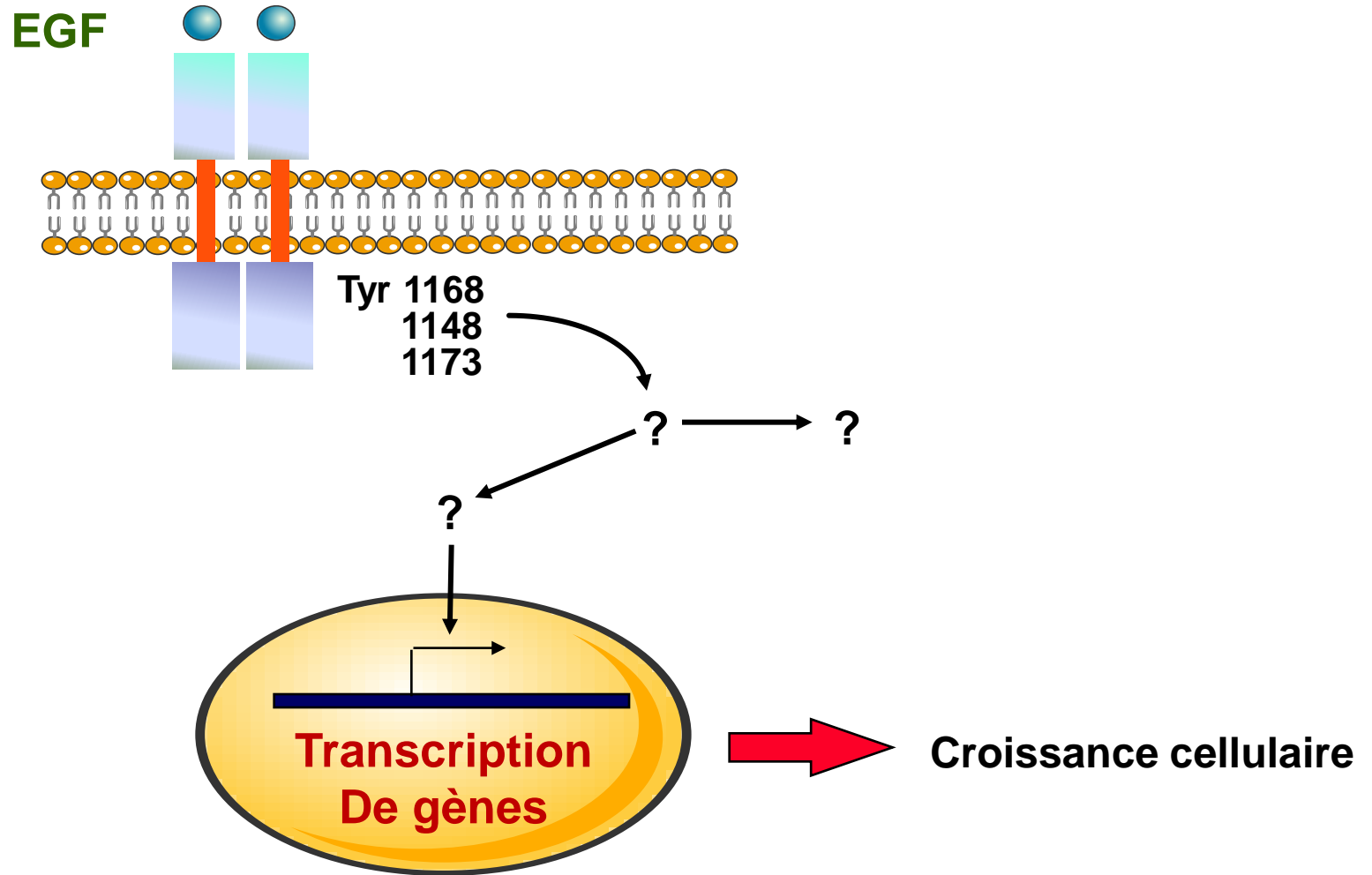
## Internalisation



GRK : protéine G-kinases couplées au(x) récepteur(s)  $\rightarrow$  S/T Kinases

# La transduction du signal des facteurs de croissance

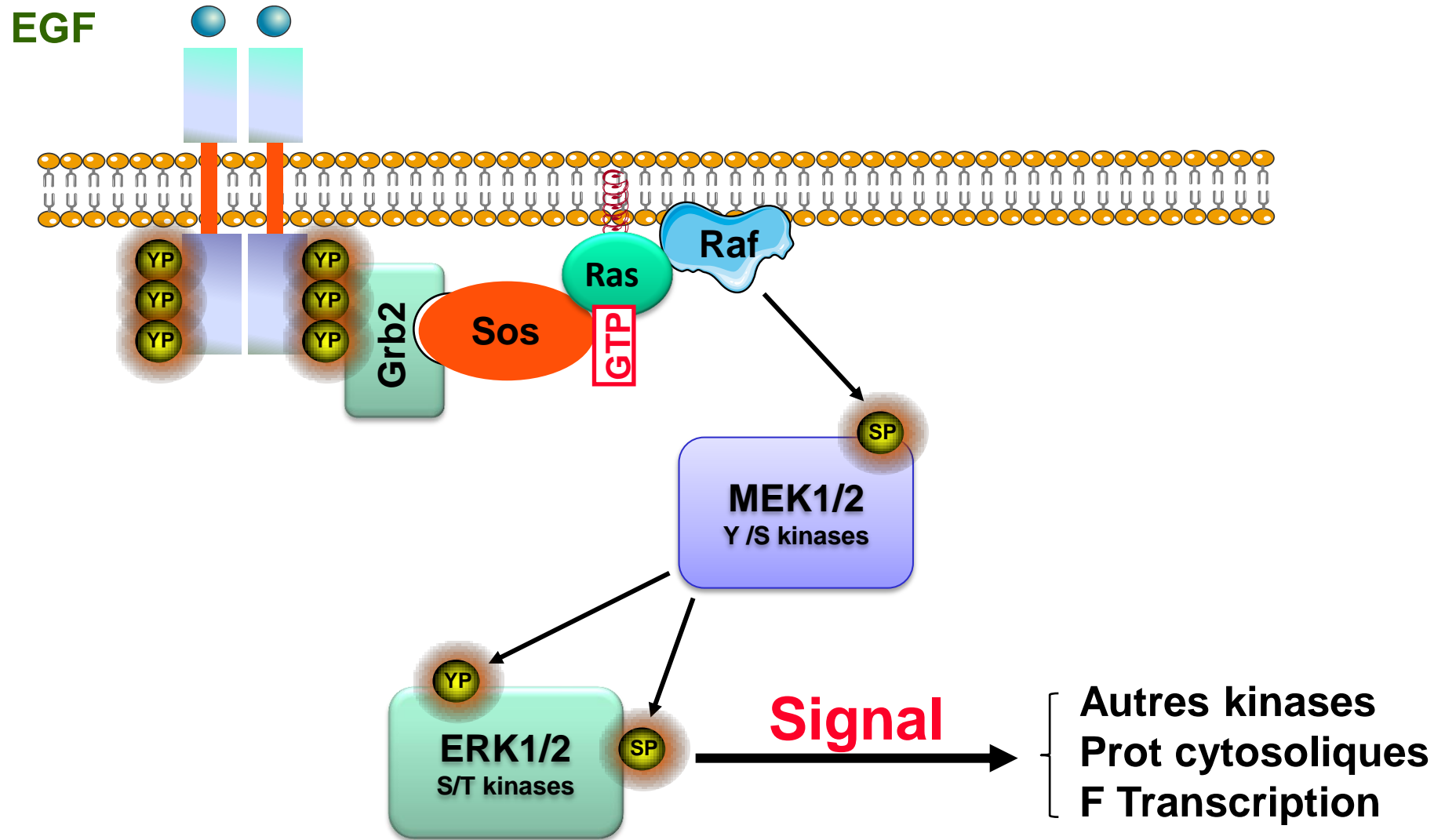
## Exemple des récepteurs à l'EGF



Survie et croissance cellulaire : quel signal ?

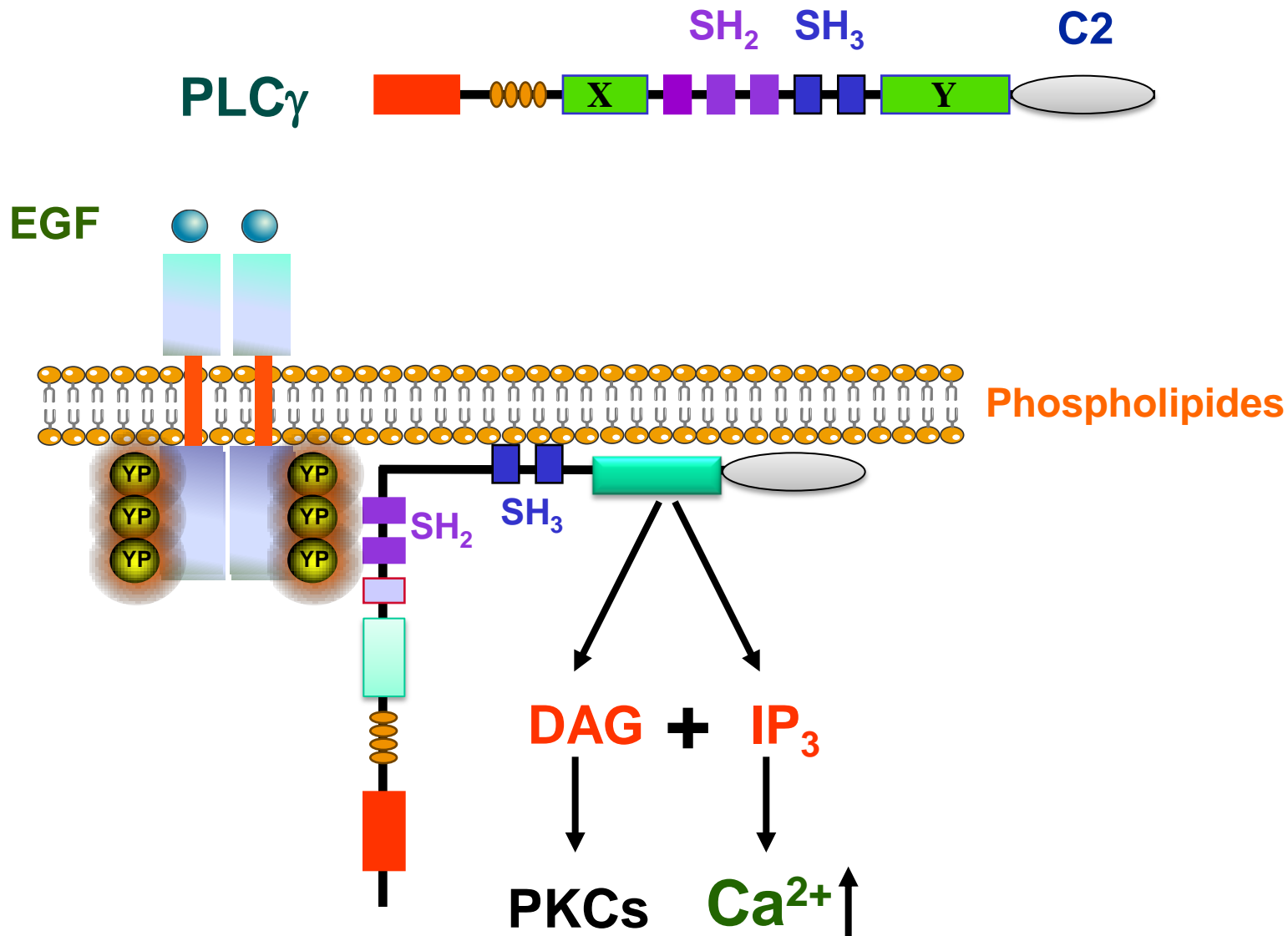
# La transduction du signal des facteurs de croissance

## Exemple des récepteurs à l'EGF



ERK ½ = MAPK: microtubules associated proteins kinases

# Les récepteurs des facteurs de croissance recrutent la phospholipase C- $\gamma$



# **LES RECEPTEURS INTRACELLULAIRES**

# Les récepteurs "nucléaires"

Dans les organismes, l'essentiel des éléments régulateurs interviennent via l'intermédiaire de récepteurs de membranaires

Certains de ces éléments régulateurs (surtout des hormones) possèdent des **récepteurs intracellulaires**

Les **ligands** de ces récepteurs intracellulaires **sont de petites molécules hydrophobes**

Une fois associés au ligand, ces récepteurs intracellulaires, ou récepteurs nucléaires vont fonctionner comme des **facteurs de transcription actifs** → protéines qui stimulent, ou réduisent l'activité transcriptionnelle

Différents ligands aux récepteurs nucléaires :

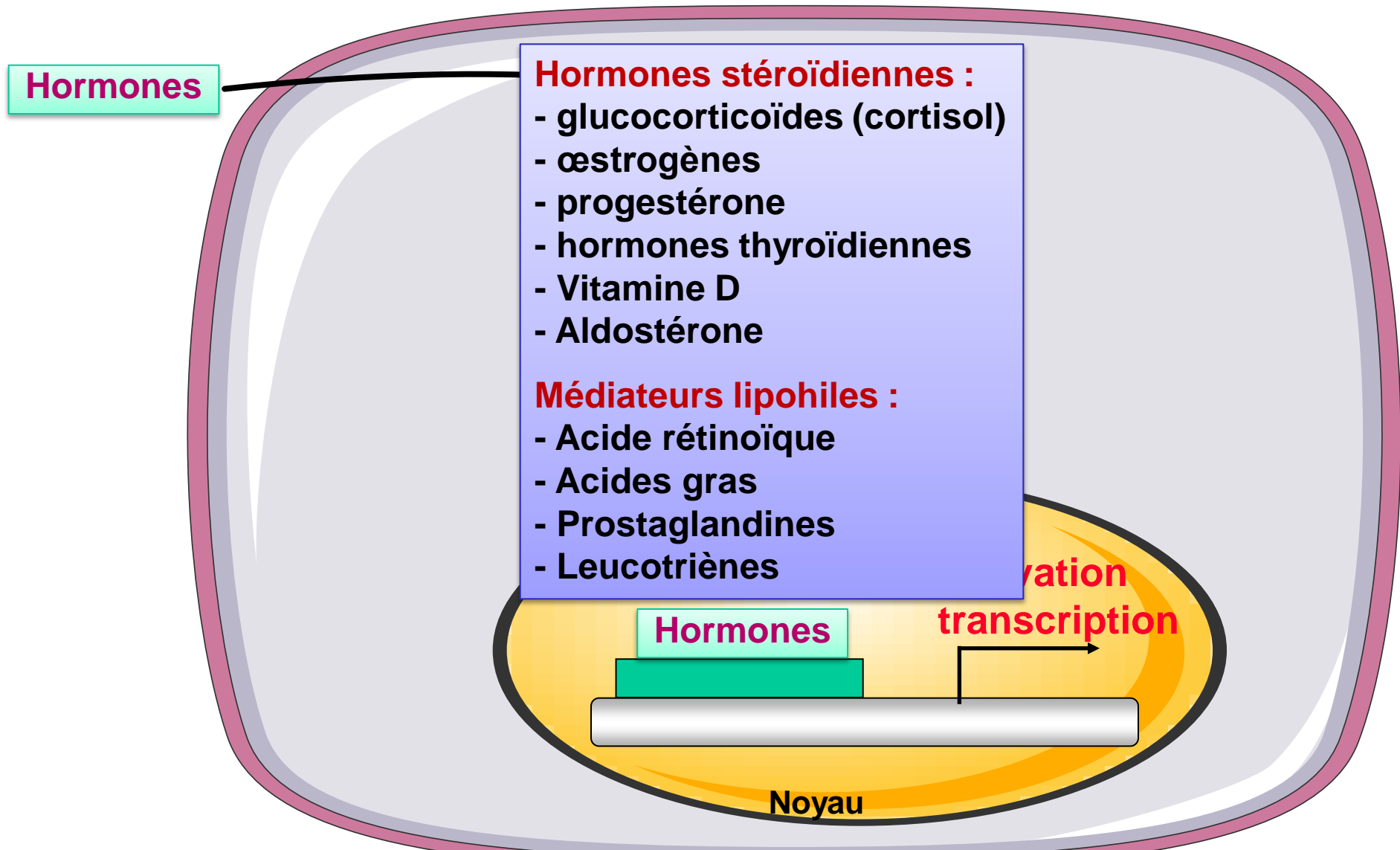
Hormones stéroïdiennes

Hormones thyroïdiennes

Vitamines D et A

# Les récepteurs "nucléaires"

Les hormones ou médiateurs lipophiles traversent la membrane et se fixent sur des récepteurs intracellulaires



# Les récepteurs "nucléaires"

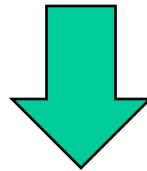
Récepteurs intracellulaires : une fois activés par leur ligand → facteurs de transcription

L'effecteur primaire peut traverser la membrane plasmique (lipophile) → doit se lier à des récepteurs intracellulaires

Récepteurs intracellulaires localisés :

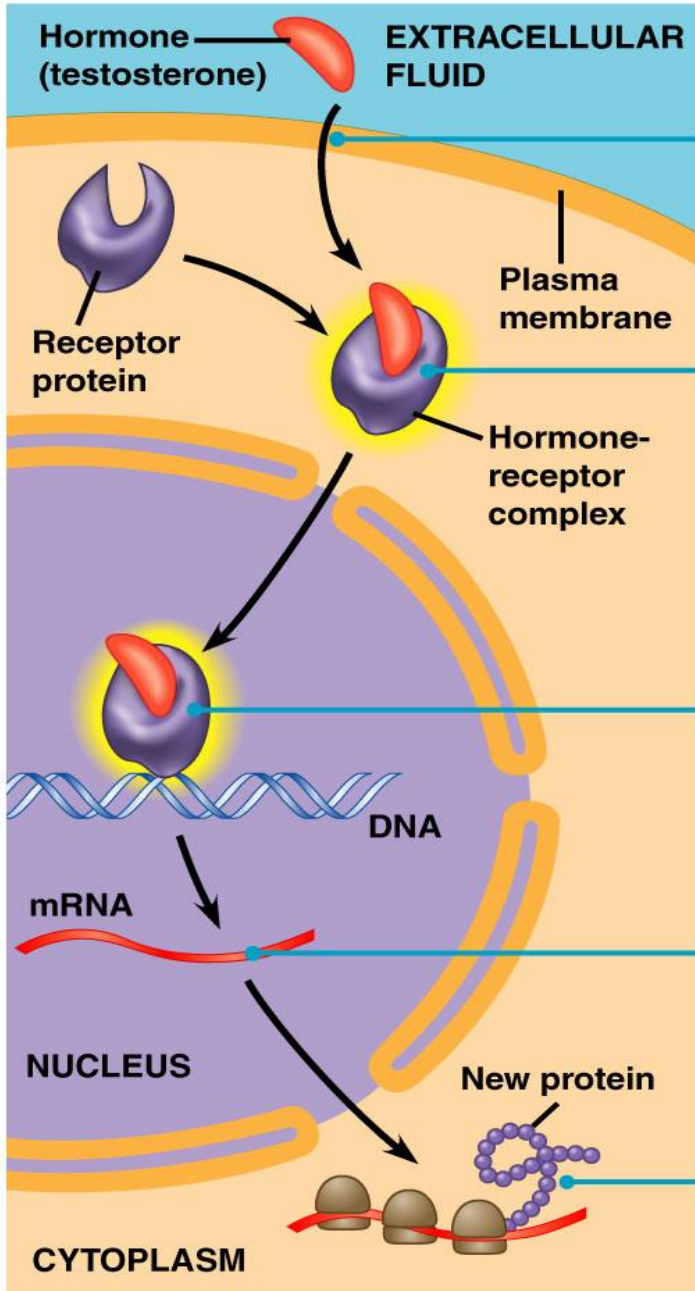
**soit dans le cytoplasme** → une fois activés Re-L →  
translocation dans le noyau

**soit dans le noyau**



**Effets Génomiques**

# Les récepteurs "nucléaires"



1 L'Ho stéroïdienne (testostérone) passe la membrane plasmique

2 La testostérone se lie à son récepteur localisé dans le cytosol → active ce dernier

3 Le complexe récepteur-hormone migre dans le noyau et se fixe sur l'ADN niveau séquences spécifiques

4 La fixation sur l'ADN stimule la transcription du gène en ARNm

5 L'ARNm est traduit en protéine

# Les récepteurs "nucléaires"

## Localisation cellulaire des récepteurs nucléaires inactifs

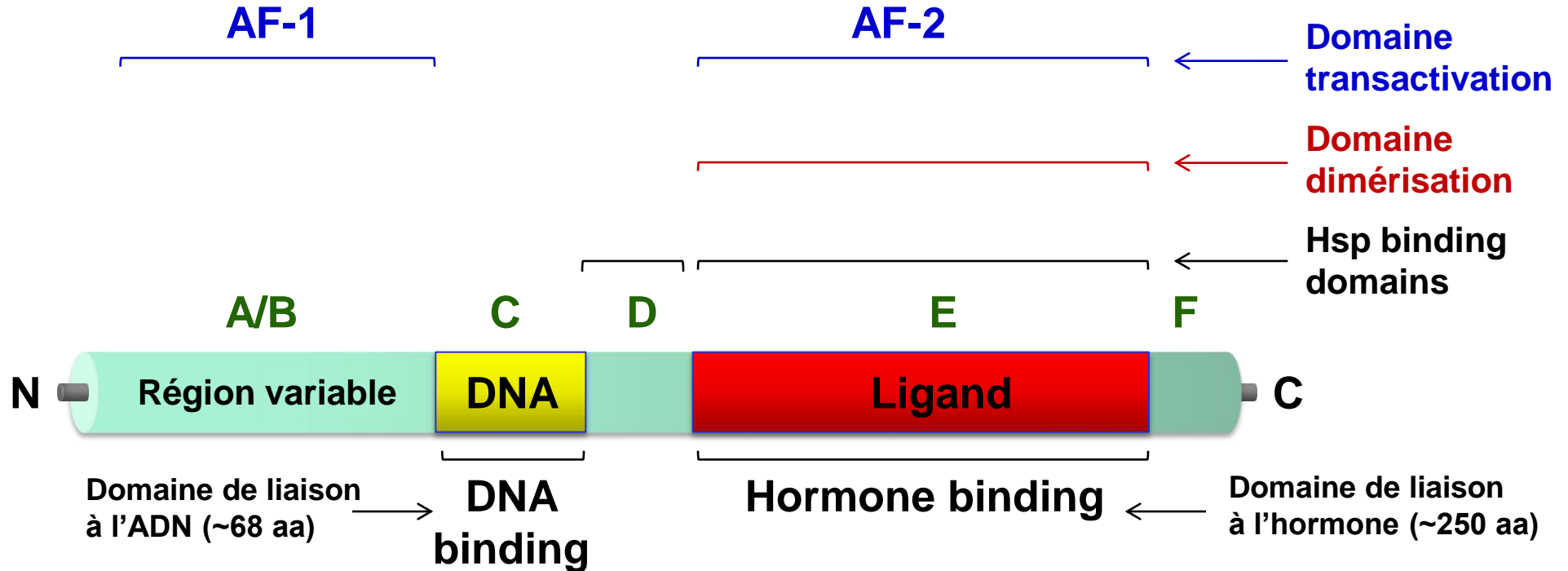
Actuellement il est admis que les récepteurs non associés à leur ligand se **déplacent entre le cytoplasme et le noyau**

Cette répartition dynamique des récepteurs entre les deux compartiments est spécifique du récepteur

- Les récepteurs inactifs du **cortisol**, de la **testostérone** et de **l'aldostérone** sont principalement localisés dans le cytoplasme
- Les récepteurs inactifs des hormones **thyroïdiennes**, de la **vitamine D** et des **réтиноïdes** sont retrouvés dans le noyau

# Les récepteurs "nucléaires"

## Structure des récepteurs nucléaires



**Domaine C** → domaine de liaison à l'ADN → présente un fort degré d'homologie entre les récepteurs

**Domaine E** → domaine de liaison du ligand → montre un faible degré d'homologie. Une grande homologie peut être observée au niveau du domaine E si les ligands sont similaires

# Les récepteurs "nucléaires"

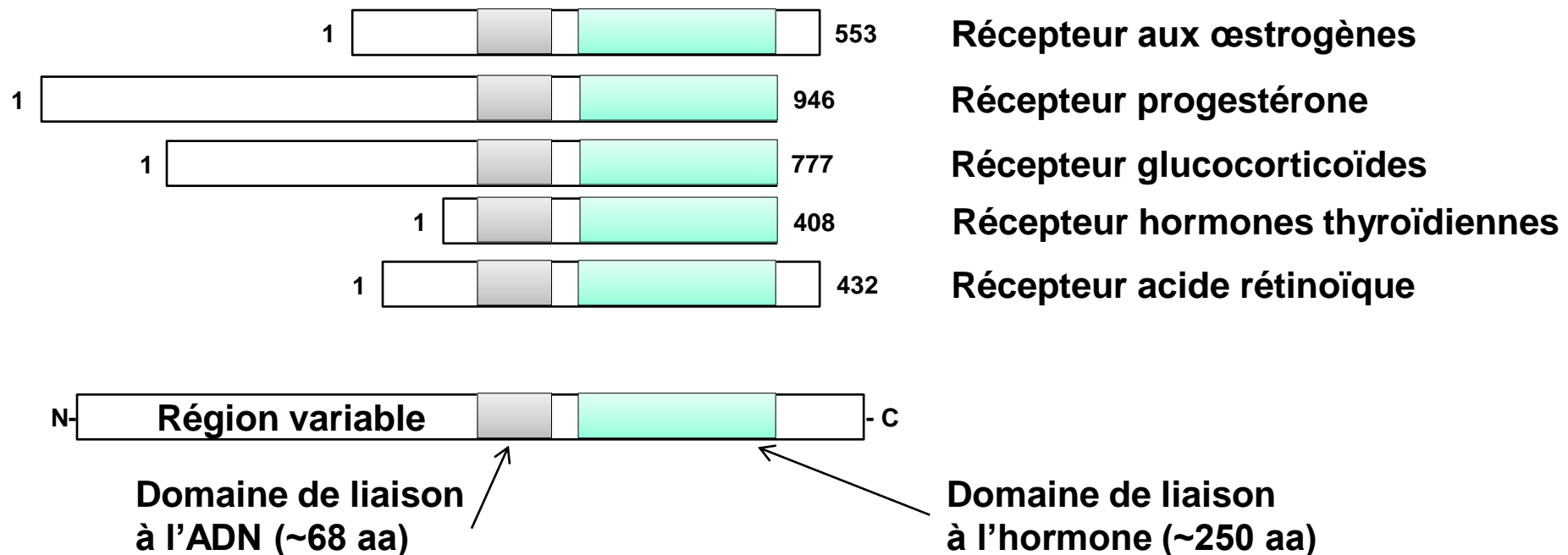
## Structure des récepteurs nucléaires

Super famille des facteurs de transcription activés par le ligand

Fixation sous forme de dimères à des séquences spécifiques de l'ADN

Similarité de structure et forte homologie

Deux régions fortement conservées



# Les récepteurs "nucléaires"

## Fonctionnement des récepteurs nucléaires

Un récepteur intracellulaire libre de ligand est monomérique et interagit avec plusieurs protéines, en particulier des **protéines de choc thermique (HSP)**

La composition de ces complexes varie quelque peu en fonction des récepteurs, mais tous incluent la **protéine HSP90**

Ces **complexes inactifs** peuvent être localisés soit dans le **cytoplasme**, soit dans le **noyau**

La fixation du ligand à son récepteur → **dislocation du complexe** → **deux molécules récepteur-ligand activés vont s'associer** → formation d'un homodimère

**Homodimère** migre dans le noyau et fonctionne comme un **facteur de transcription**.

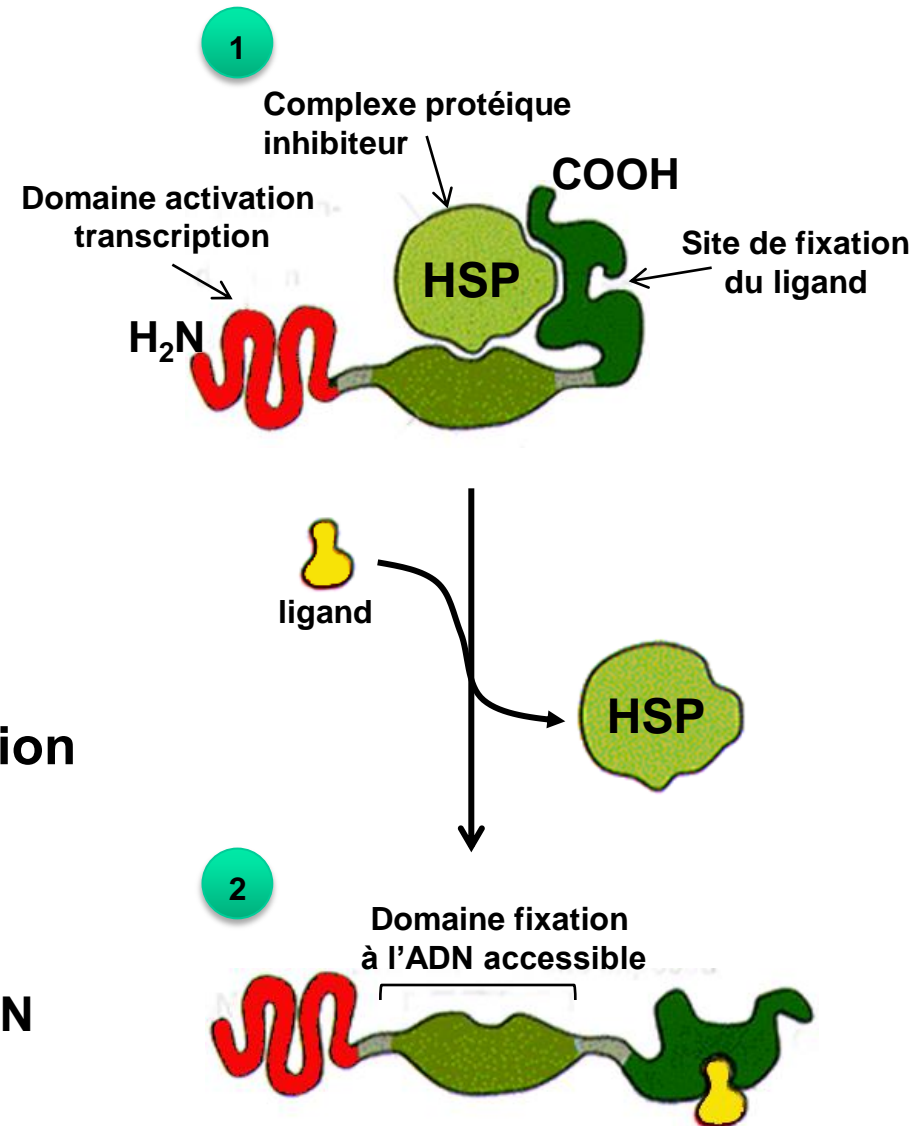
# Les récepteurs "nucléaires"

## Fonctionnement

En absence du ligand → complexes inactifs → l'activation transcriptionnelle est inhibée

En présence du ligand → l'activation transcriptionnelle est levée :

- 1 Dissociation complexe protéique inhibiteur
- 2 Démasquage du domaine de fixation à l'ADN



# Les récepteurs "nucléaires"

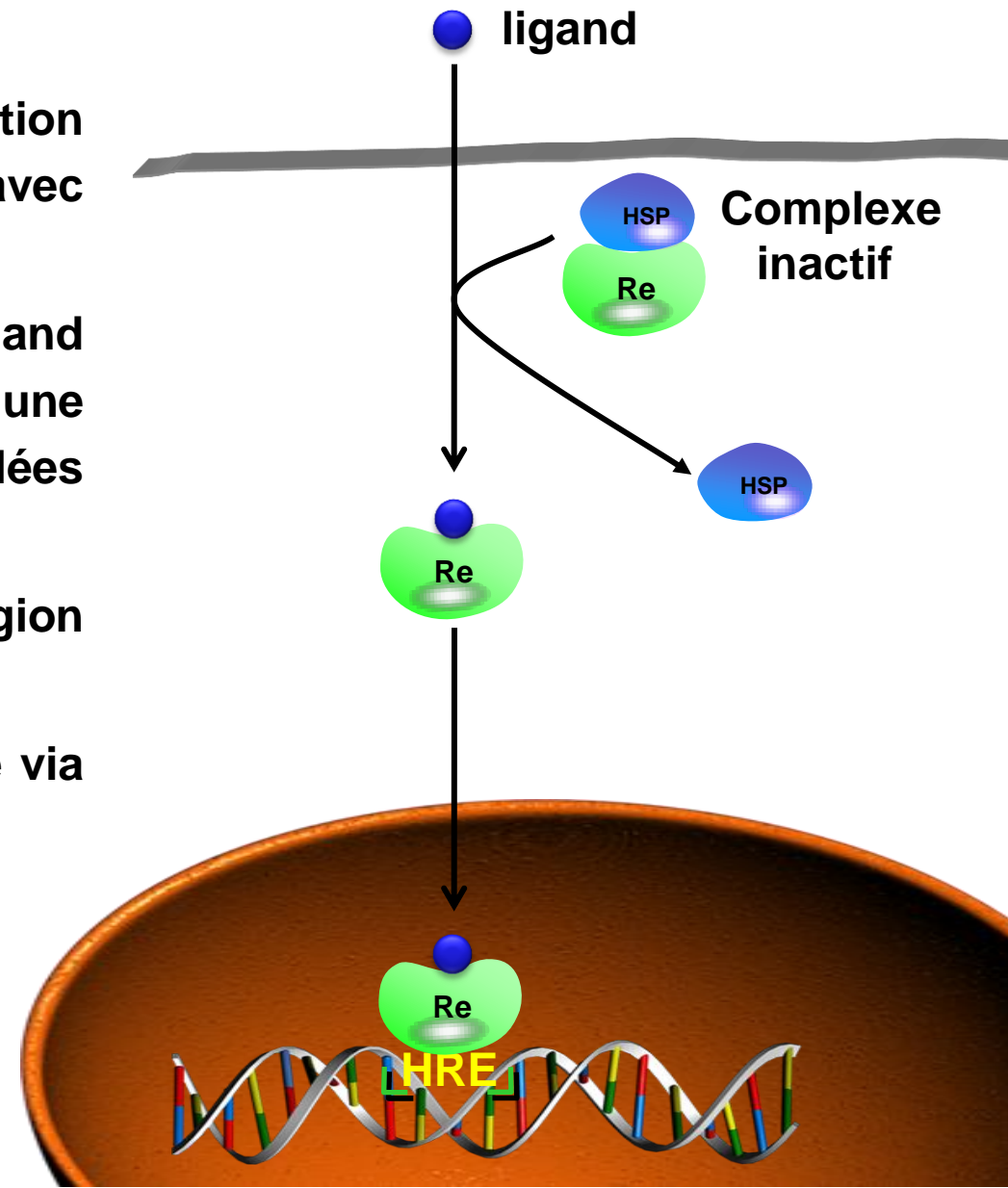
## Fonctionnement

Fixation ligand → changement conformation  
→ active le récepteur par dissociation avec HSPs

Une fois activé, le complexe récepteur-ligand migre dans le noyau et se fixe sur une séquence de régulation de l'ADN appelées HRE pour *Hormone Response Elements*

Cette séquence est localisée dans la région 5' proche des gènes cibles

L'activation de la transcription s'effectue via les domaines AF-1 et AF-2



# Les récepteurs intracellulaires

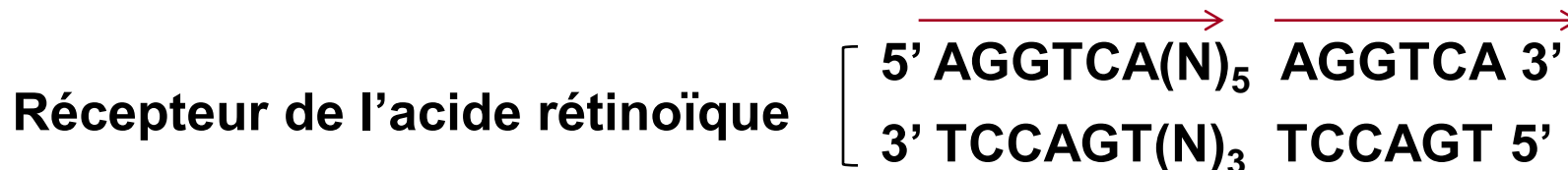
## Structure des récepteurs nucléaires

Le récepteur activé peut se lier à l'ADN au niveau des séquences appelées «**HRE**» pour **Hormone Response Elements**

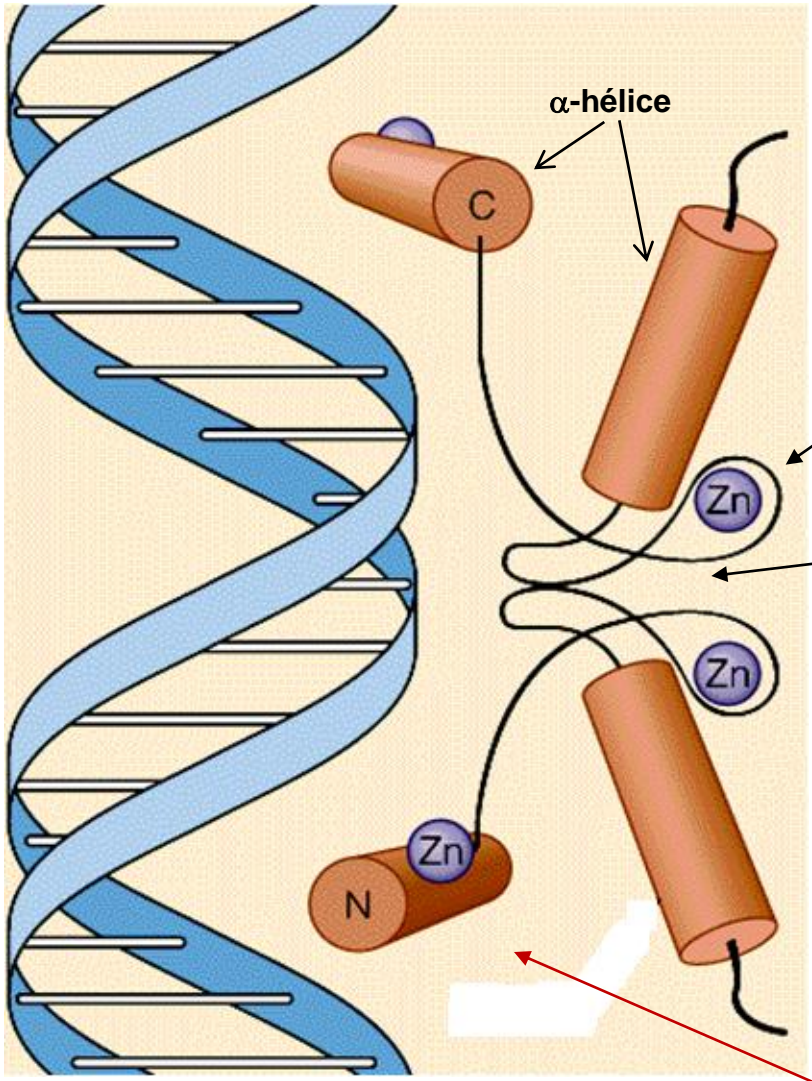
HRE → localisé dans la région 5' du gène cible

La partie N-ter du récepteur activé peut exercer sa fonction d'activation de la transcription

HRE → séquence consensus



# Structure d'un homodimère du domaine de liaison de L'ADN d'un récepteur nucléaire



Les doigts de zinc plus éloignés et localisés dans la zone dimérisation permettent de positionner le complexe au niveau de la crevasse mineure de l'ADN

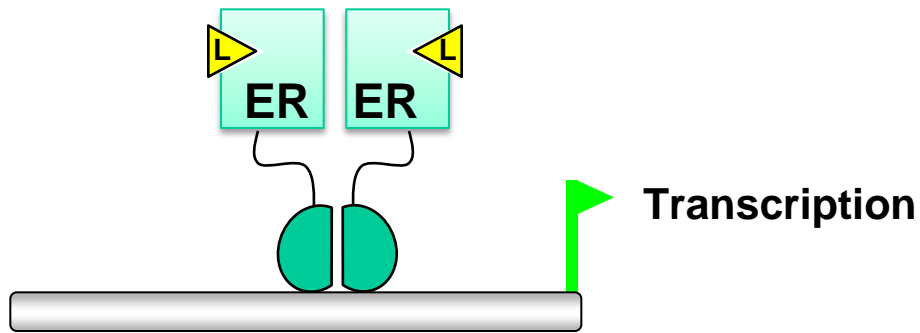
zone de dimérisation

Les doigts de zinc proches des extrémités N-terminales des monomères permettent de positionner le complexe au niveau de la crevasse majeure de la double hélice d'ADN

# Les récepteurs intracellulaires

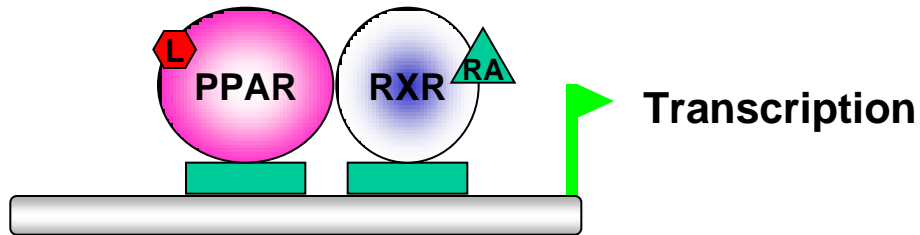
## Structure des récepteurs nucléaires

Fixation sous forme de dimères à des séquences spécifiques de l'ADN



Récepteur aux œstrogènes

Fixation sous forme homodimères



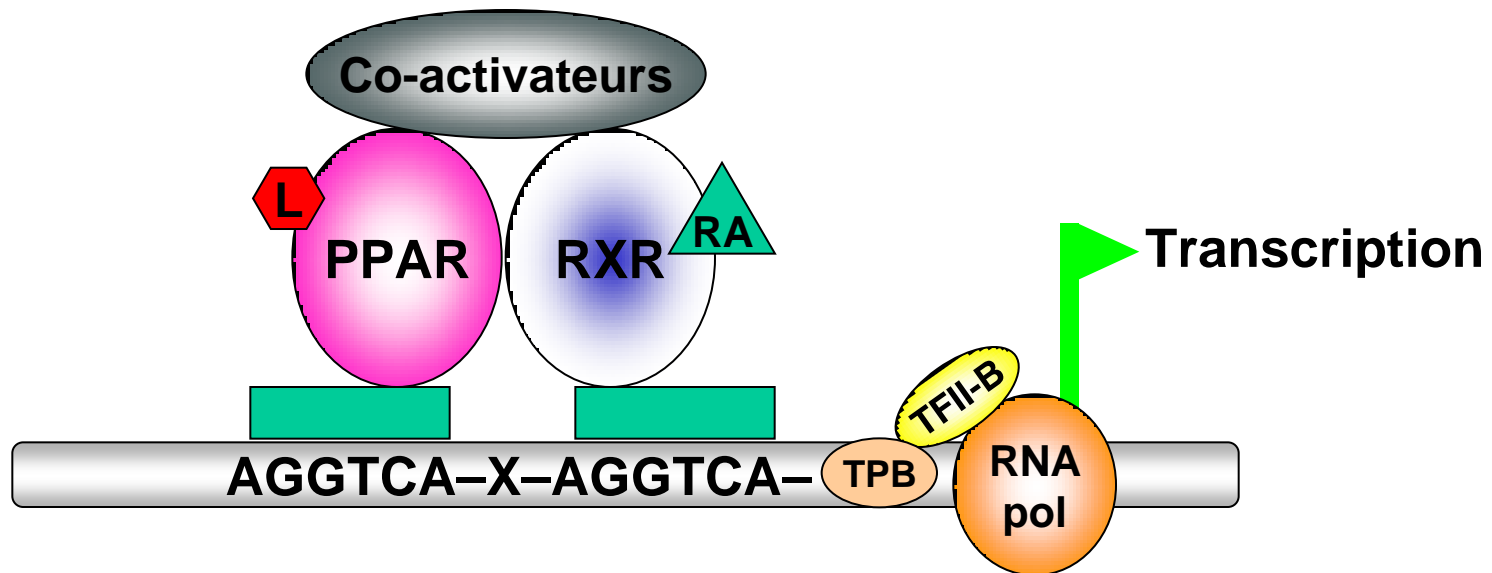
Récepteur PPAR

Fixation sous forme hétérodimères

# Exemples des PPARs

## Peroxisome Proliferator-Activated Receptors

- Ces récepteurs sont des facteurs de transcription
- Leur activité est modulée par l'interaction avec un ligand spécifique
- Interviennent dans l'homéostasie lipidique et glucidique
- Interviennent dans le contrôle et la différenciation cellulaire



L = ligand; RA = 9-cis-retinoic acid.

# Altérations de la signalisation et cancers

Niveaux d'altération au niveau des voies de signalisation	Approches thérapeutiques
<b>FACTEURS DE CROISSANCE</b> Récepteurs : constitutivement actifs expression trop importante inactivation	<b>INHIBITION DE L'ACTIVITE TYROSINE KINASE</b> des RTK : Ac monoclonaux ou composés chimiques des Kinases intracellulaires : composés chimiques
<b>PROTEINES G MONOMERIQUES</b> Constitutivement active	<b>MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES DES PROTEINES</b> Protéines G monomériques : inhibiteur de la farnélylation
<b>PROTEINES KINASES CYTOPLASMIQUES</b> Activation constitutive (MAPKKK, Src)	<b>INHIBITION DES ACTIVITES KINASES</b>
<b>FACTEURS DE TRANSCRIPTION</b> Mutation gène codant NFκB, SMAD	<b>ACTION AU NIVEAU DE LA TRANSCRIPTION</b> Répression de la machinerie transcriptionnelle

# Conclusion I

**Messagers secondaires communs à toutes les cellules :**

**Ca<sup>2+</sup>, AMPc, DAG, IP3 etc..**

**Grandes voies de transduction communes :**

**PKA, PKC, MAP kinases...**

**Diversité des composantes de chacune de ces voies**

**Régulations entrecroisées entre les voies**



**Spécificité de la réponse à un effecteur donné**

# Conclusion II

## Hormone

Récepteurs membranaires



Messagers secondaires  
Cascades de phosphorylation



Phosphorylations enzymes cytosolique  
Activation facteurs de transcription

Récepteur cytosolique  
ou nucléaire



Activation transcription  
(Signal rapide)

## Identification

- des récepteurs
- des protéines couplées aux récepteurs
- des protéine kinases



Détermination de cibles thérapeutiques