

GENERALITES

I- Le principe de la transduction du signal

Un message répondant à *l'environnement* (ex : hyperglycémie) ou à un *besoin* (ex : nécessité de stocker le glucose) va générer un *médiateur primaire* (ex : insuline). L'information que porte ce médiateur primaire (ex : « Cellules, vous devez stocker ou consommer ce glucose ! ») doit impérativement être *transcrit sans modification du message* et *uniquement dans les cellules* où ces informations doivent être apportées (ex : cellule du foie et du muscle).

⚠ Ce message doit être transmis par un *ensemble de protéines* pour que la réponse biologique *corresponde exactement* à l'information portée par le message et seules les cellules qui doivent répondre doivent être *sensibles* à cet effecteur.

II- Caractéristiques de la transduction du signal

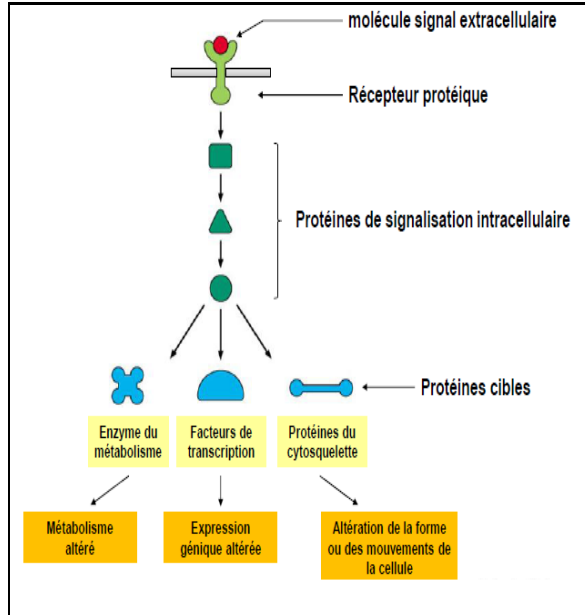
- ✓ **Spécificité du message** : réponse univoque de la cellule à l'information portée par l'effecteur primaire.
- ✓ **Mécanisme d'amplification**.

Lorsque l'effecteur primaire se fixe sur son récepteur spécifique, *seules les cellules qui doivent répondre à ce message seront sensibilisées* car ce sont *les seules à posséder un récepteur* spécifique à ce message.

Ensuite, ces cellules doivent posséder tout un *ensemble de protéines spécialisées* dont la fonction sera d'une part de *recupérer l'information* que possède l'effecteur primaire pour le transférer au sein de la cellule et d'autre part *d'amplifier l'information* de façon à ce que la réponse cellulaire soit la mieux adaptée possible pour répondre aux besoins extérieurs.

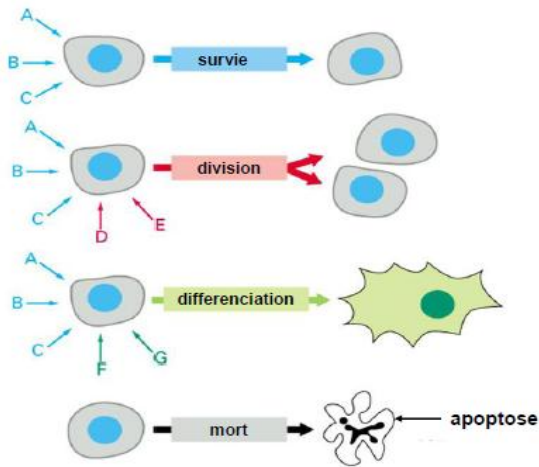
III- Les différentes informations apportées par l'effecteur primaire

L'information de l'effecteur primaire est *très variée* et peut aboutir à une *multitude de réponses biologiques*. *En fonction de la nature du signal extérieur* et des *protéines intracellulaires de signalisation* impliquées dans le transfert du signal, l'information pourra être :

	<p>... Une régulation de l'enzyme clé de la voie métabolique si besoin de régulation d'une voie métabolique.</p> <p>... Une modulation de certains facteurs de transcription (inducteur/répresseur) avec régulation de l'expression génique si besoin régulation dans l'expression d'une protéine.</p> <p>... Une modification les protéines du cytosquelette si besoin de modification de la forme ou des mouvements de la cellule pour réaliser un travail ou interagir avec différentes cellules dans une fonction plus vaste.</p>	<p>Si altération....</p> <p>→ <i>L'altération de l'enzyme du métabolisme du glucose entraîne un diabète.</i></p> <p>→ <i>La dérégulation de certains facteurs de transcription peut être associée à des phénomènes d'oncogénie.</i></p> <p>→ <i>L'altération de la forme de la membrane de la cellule peut aboutir à la mise en apoptose de la cellule.</i></p>
--	---	---

IV- Discrimination de l'information

Une même cellule peut être *sensibilisée à une multitude d'effecteurs primaire*. Chaque cellule est *programmée pour répondre à des associations spécifiques* de signaux extracellulaires. En effet pour que la cellule puisse discriminer l'information entre un signal de division ou un signal de différenciation, l'information doit être multiple.



Exemple théorique :

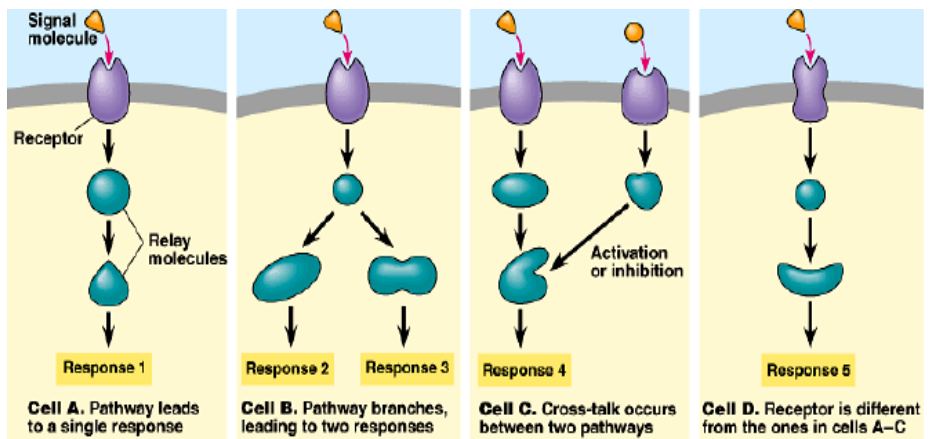
- **Survie de la cellule** : elle doit être stimulée régulièrement par les *effecteurs ABC*.
- Si *addition des effecteurs DE* alors on aura une **division**.
- Si *addition effecteurs FG* : transmission à la cellule d'une information de **différenciation**.
Ex : différenciation d'un fibroblaste en adipocyte ou en ostéoblaste au labo en modifiant les effecteurs primaires qu'on va mettre en présence pour initier la différenciation.
- Par contre *une cellule totalement indépendante de son environnement*, c'est-à-dire qui ne reçoit plus d'information extérieure pour affiner son métabolisme va entrer en **apoptose** de façon à être éliminée.

V- Les différents types de voies de signalisation

Toutes voies de signalisation portées par un effecteur hydrophile nécessitent un récepteur membranaire et la réquisition ordonnée d'un ensemble protéique (voir ci-dessous).

Les différents signaux amenés par un ligand hydrophile via un récepteur membranaire sont :

- une **réponse univoque** de type 1
- une **réponse donnant plusieurs voies** de type 2 et 3 via une **protéine carrefour**
- une réponse de type 4 permise par **deux effecteurs primaires**
- une **réponse de type 5 différente** de la type 1 avec le **même effecteur** mais sur un **autre récepteur dans une autre cellule**. Ce dernier type de réponse s'explique par l'existence **d'isoformes de récepteur**. Pour un bon nombre d'effecteurs primaires, il existe des isoformes (ex : le récepteur de l'adrénaline, en fonction de la cellule et de l'isoforme du récepteur on peut avoir une réponse voisine ou même une réponse totalement opposée)



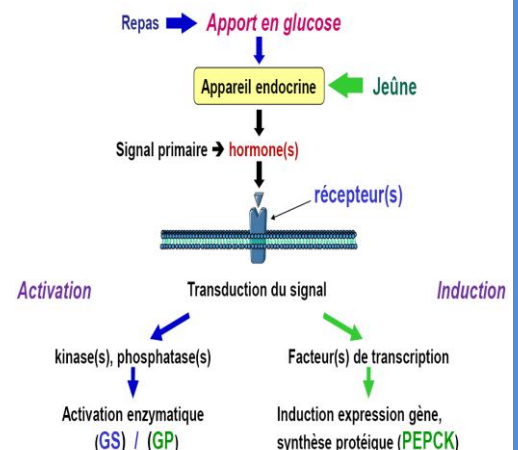
VI- Induction/Activation

Les différentes voies de signalisation aboutissent soit à une voie dite « d'activation », soit à une voie dite « d'induction ».

- **Voie d'activation** : voie qui a pour objectif de moduler *les activités des enzymes* via des *niveaux de phosphorylation* dans le cytoplasme. Ex : l'insuline va permettre la modulation l'activité de la glycogène synthase.
- **Voie d'induction** : voie qui a pour objectif de moduler *la synthèse de protéine* via de la *régulation génique* au niveau nucléaire avec une modification de *la quantité d'enzymes*.

Exemple de la régulation de l'homéostasie du glucose :

L'apport en glucose et le jeûne sont des modulateurs externes de l'environnement qui agissent sur l'appareil endocrine via les organes primaires (cellules α ou β pancréatiques) qui sécrètent en réponse une hormone (le glucagon ou l'insuline).



Hormones	Effets	Type de voie
Insuline	Activation de la glycogène synthase	Voie d'activation (quelques secondes)
Glucagon <i>(Une protéine carrefour permet la dichotomie de la voie)</i>	Répression de la glycogène synthase et activation de la glycolyse via la glycogène phosphorylase	Voie d'activation (quelques <i>secondes</i>)
	Activation du gène de la PEPCK pour augmenter la synthèse et la <i>quantité</i> de PEPCK présente dans la cellule	Voie d'induction (quelques <i>min/h</i> , + lente)

RELATION STRUCTURE/FONCTION LORS DE LA TRANSDUCTION

I- Du ligand aux protéines de signalisation...

Lors de la fixation du ligand, deux systèmes permettent d'induire une réponse plus rapide et plus spécifique :

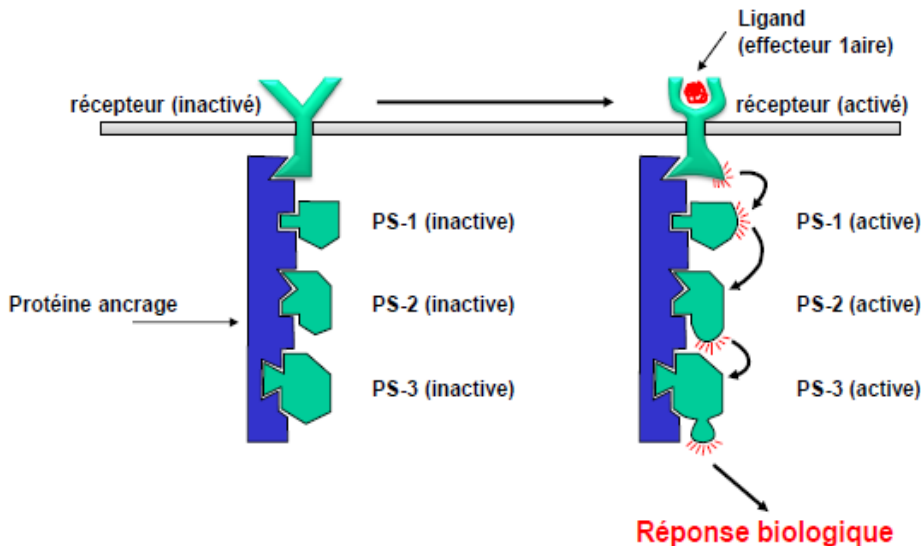
1. Des complexes de signalisation peuvent être préassemblés.

La spécificité de la réponse biologique est permise par l'existence des **protéines d'ancrage**, encore appelée **protéine d'échafaudage**, et **associent les différents intervenants** protéiques de la voie métabolique.

Des protéines de signalisation PS1, PS2 et PS3 (placées et nommées dans l'ordre d'intervention dans la cascade de réponse) sont associées à la protéine d'ancrage (en bleue).

- Ces protéines peuvent exister **à l'état inactif sur la protéine d'ancrage**. Tant que l'effecteur primaire ne vient pas s'associer au récepteur, il n'y aura **aucun effet biologique** généré.

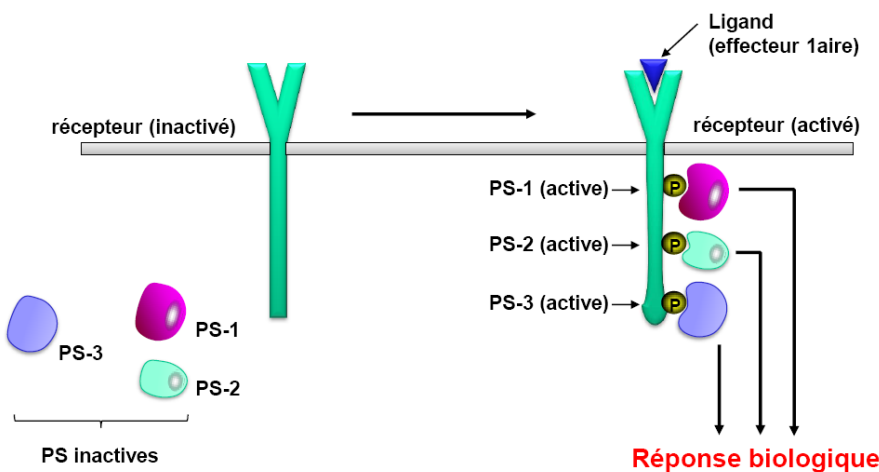
- Lorsque l'effecteur se fixe sur le récepteur, ce dernier va induire une **modification structurale du récepteur**. Ces modifications ont pour conséquences et objectifs de **transférer l'information** portée par l'effecteur primaire à l'intérieur de la cellule et le transfert va se faire **de proche en proche** via ces protéines de signalisation. **Le transfert sera optimisé et spécifique** : en effet, seules des protéines associées à cette protéine d'ancrage participeront à la construction du signal.



Ces protéines d'échafaudage **sont associées aux PKA**. Elles sont multiples et portent donc **la spécificité induites par les PKA**. Bien qu'il existe une multitude de PKA, seul l'effet porté par l'effecteur primaire sera transmis par les PKA.
 Ex : PKA = PS3 : seule la protéine associée à l'échafaudage sera activée en réponse à l'effecteur et donc c'est elle qui portera la spécificité de la réponse.

2. Des complexes de signalisation peuvent être assemblés une fois le ligand fixé.

A la place des protéines d'échafaudage, une portion intracellulaire du récepteur est phosphorylée à la fixation du ligand. Les différents groupements phosphorylés (généralement des tyrosines) vont constituer des points d'ancrage pour les différents intervenants moléculaires.



- Lorsqu'il n'y a **pas de groupements tyrosines phosphorylés**, la PS1 sera **soluble** dans le cytosol.

- Quand le récepteur a ses **tyrosines phosphorylées**, PS1 a une **partie complémentaire** à cette tyrosine mais est **indépendante des deux autres tyrosines**. Une fois que toutes les protéines seront associées, PS1 va agir sur PS2 qui va agir sur PS3 qui va aboutir à la réponse biologique.

Donc on voit qu'il s'agit soit de protéine d'échafaudage, soit des interactions spécifiques au niveau de la queue cytoplasmique du récepteur qui sera à la base de la spécificité de la réponse.

3. Les interactions des protéines de signalisation

Les interactions des protéines de signalisation doivent se faire comme des interactions entre l'enzyme et le substrat selon la cascade suivante :

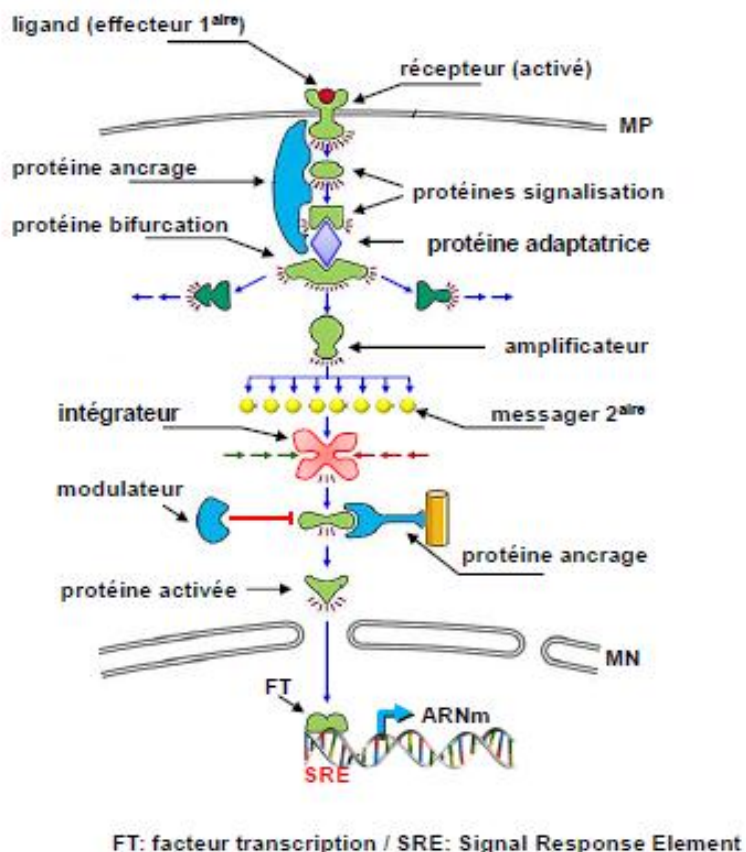
- La protéine de signalisation 1 (PS1) est substrat du récepteur
- PS2 est substrat de la PS1
- PS3 est substrat de la PS2 ou du récepteur si ce dernier devient une enzyme.

La protéine activée agit sur les autres protéines qui ont le domaine complémentaire au domaine d'interaction de la première protéine.

Les modifications induites par cette cascade sont des niveaux de phosphorylation.

II- Intermédiaires réactionnels :

Récepteur	<p>✓ Inactif quand le ligand n'est pas fixé</p> <p>✓ Actif quand le ligand se fixe sur le récepteur. Il transduit l'information portée par l'effecteur primaire au travers de la membrane plasmique via une modification structurale.</p>
Prot. d'ancrage	<p>Les protéines de signalisation associées à cette protéine d'échafaudage se transfèrent l'information de l'une à l'autre.</p> <p>Généralement ce transfert d'information se fait par des niveaux de phosphorylation.</p>
Protéine adaptatrice	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Présente soit en relation directe avec le récepteur en amont ou en aval après certaines protéines (ex : prot. de signalisation/bifurcation) ❖ Rôles: <i>transduction</i>, <i>spécificité</i> et <i>amplification</i> de la réponse. ❖ Aucune fonction enzymatique ❖ Modifiée lors de son activation pour constituer un ou plusieurs points d'ancrage spécifiques aux protéines en aval. Les modifications de ces protéines sont généralement des phosphorylations. Les protéines d'aval vont venir se fixer sur ces résidus phosphorylés devenir actives du même coup (Ex : très présent dans le cas de l'insuline)
Protéine-carrefour ou de bifurcation	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Parfois associée à la voie de signalisation. ❖ A partir de cette protéine, vont partir des voies annexe de signalisation qui ont généralement pour objectif de compléter l'effet biologique attendu (Ex : une cellule musculaire reçoit l'information de l'insuline avec comme objectifs : 1, faire exocytose des réserves de vésicules de GLUT 4 vers la membrane plasmique et 2, stocker le glucose entré sous forme de glycogène. La protéine de bifurcation permet la dichotomie entre la voie de l'exocytose et la voie de l'activation de la glycogène-synthase)
P. amplificatrice	<p>Protéine qui va générer une multitude de messagers secondaires (molécules non protéiques présentes à l'intérieur de la cellule qui portent exactement et strictement l'information que portait l'effecteur primaire): 1 protéine → plusieurs activations.</p>



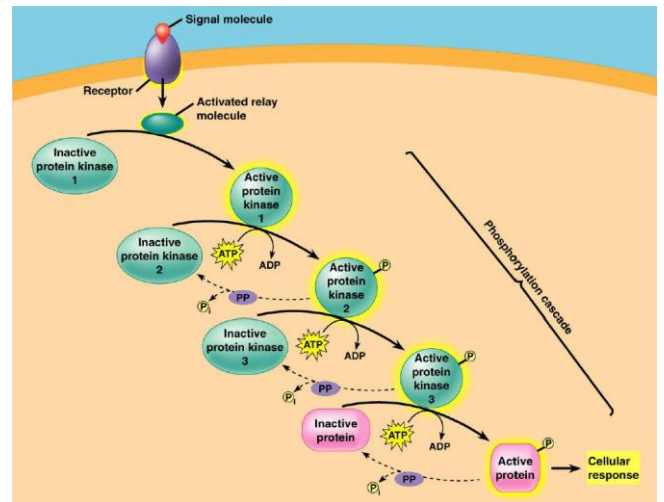
Certaines voies vont avoir toutes ces protéines. D'autres vont être beaucoup plus simple, n'auront pas de protéine d'amplification mais il y aura presque toujours des protéines adaptatrices.

III- La cascade de phosphorylation

La transduction du signal ou « voie de signalisation » implique toujours à l'initiation la reconnaissance du ligand primaire avec son récepteur et ensuite une **activation en cascade** généralement d'enzymes pour arriver à la réponse biologique.

- La protéine adaptatrice active la protéine kinase 1 via son site d'ancrage
- PK1 active la PK2 par phosphorylation.
- PK2 active la PK3 déphosphorylée inactive en PK3 active
- PK3 active phosphoryle la protéine inactive rose
- Cette protéine rose, une fois phosphorylée devient un facteur de transcription/enzyme clé du métabolisme.

L'information est transmise de protéines en protéines par une **cascade de réactions de phosphorylation** (sur tyrosine, sérine ou thréonine, dépendant du récepteur de départ).



La **répression** d'une voie se fait une fois que le signal aura été transmis et que la réponse biologique aura été effectuée. Si l'activation s'effectue **par des kinases**, l'arrêt du signal se fait par **l'activation de phosphatases aspécifiques** qui **déphosphorylent** les protéines activées pour arrêter la voie de signalisation.

Ex des pathologies associées au diabète : la résistance à l'insuline peut être tout simplement un **dysfonctionnement de ces phosphatases**.

Exemple au niveau du foie :

L'activation de la voie se fait par la PKA.

- ✓ Quand la **PKA** est active, elle **phosphoryle la glycogène phosphorylase** pour l'activer et via une protéine carrefour, cette même PKA va pouvoir inhiber la voie opposée.
- ✓ Même chose si on a l'effet inverse : l'inhibition de la glycogénolyse passe par la **PP1** (une phosphatase) qui **déphosphoryle l'ensemble enzymatique**. La glycogène synthase est activée et la glycogène phosphorylase inhibée.

APPLICATION A LA PREMIERE ETAPE DE LA VOIE DE SIGNALISATION DE L'INSULINE :

I- La première étape de la voie de signalisation de l'insuline

1. Fixation du ligand

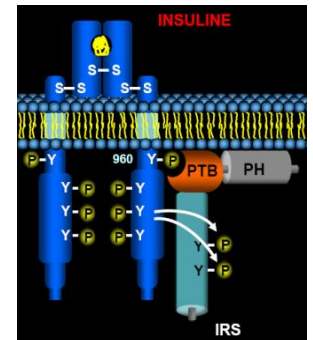
Seules les cellules spécifiques capables de transduire le message (ex : cellules musculaires, hépatiques etc...) possèdent le récepteur.

✓ Le récepteur insuline inactif (= en absence d'insuline) est un **hétéro-dimère** totalement linéaire.

✓ Quand l'insuline se fixe, l'hétéro-dimère se modifie et l'activité enzymatique de sa partie intra-cytoplasmique se démasque. L'activité enzymatique du récepteur est présente uniquement **pendant la durée de fixation du ligand**.

✓ Dès le moment où l'insuline est dissociée, il n'y a plus d'activité.

Le récepteur de l'insuline est une **enzyme tyrosine kinase** qui phosphoryle des tyrosines de différentes protéines intra-cytoplasmiques qui possèdent au moins un **domaine spécifique complémentaire** d'une partie du récepteur (ex : PTB et PH). Un domaine spécifique est une **partie de la protéine +/- important** pouvant aller jusqu'à + de 100 acides aminés.



2. Activation du récepteur

L'activité enzymatique du récepteur se met en place grâce à des **mécanismes d'autophosphorylation** sur les résidus tyrosines. Le récepteur a deux extrémités cytosoliques qui vont se phosphoryler l'une l'autre et en particulier sur une **tyrosine en position 960** (NB : c'est-à-dire que l'acide aminé en position 960 de la partie cytosolique est une tyrosine).

Outre la tyrosine 960, les tyrosines du récepteur sont impliquées dans **l'activité tyrosine kinase et la captation de l'ATP consommé par la transduction du signal** (quantité importante car chaque phosphorylation d'une protéine consomme un ATP).

3. Fixation de la protéine adaptatrice IRS

➤ Cette **tyrosine 960** est le **site de reconnaissance** ou site d'ancrage de l'activité enzymatique du récepteur. La partie substrat (ici, la protéine adaptatrice IRS) de l'activité tyrosine kinase du récepteur peut venir s'y associer, **uniquement lorsque cette tyrosine est phosphorylée**. La tyrosine 960 reconnaît un **domaine PTB** (PhosphoTyrosin Bindind) composé d'une **séquence d'acides aminés dite « consensus »** qui va permettre l'association à la tyrosine des seules protéines à l'exprimer.

➤ Le **domaine PH** (voir le récepteur à l'EGF ci-dessous) de la protéine substrat reconnaît le **phosphatidyl inositol** (phospholipides de la membrane) à condition qu'il soit phosphorylé.

✓ A l'état basal, le phosphatidyl inositol est **phosphorylé en position 4,5**.

✓ Quand il y a une **phosphorylation supplémentaire en position 3**, ce phosphatidyl inositol phosphorylé dit « **PIP3** » permet aux protéines qui ont **le domaine PH de venir s'accrocher à la membrane**.

Seules les **protéines qui possèdent à la fois un domaine PH et un domaine PTB juxta-membranaire** seront des substrats potentiels du récepteur de l'insuline.

La **spécificité** est respectée parce qu'au **maximum une dizaine de protéines** ont une structure leur permettant d'être des potentiels substrats du récepteur à l'insuline.

4. Activation de la protéine adaptatrice

Quand la **protéine adaptatrice IRS** s'est accrochée via les domaines spécifiques (PH et PTB), l'activité tyrosine kinase du récepteur **la phosphoryle sur des résidus tyrosines**.

✓ Quand cette protéine n'est pas phosphorylée, rien ne peut venir s'accrocher.

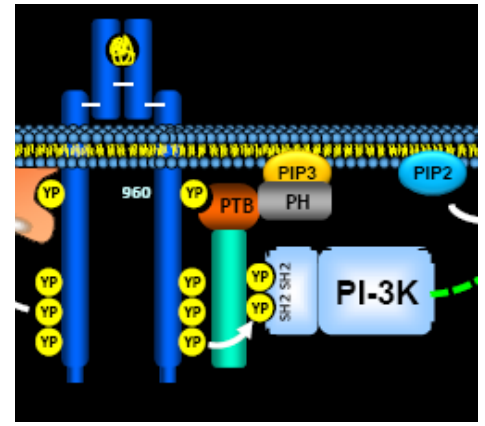
✓ En revanche, ces tyrosines phosphorylées constituent des **points d'ancrage** pour d'autres protéines comme la PI3Kinase qui ont la partie complémentaire à ces domaines phosphorylés. **En s'associant, ces protéines deviennent actives**.

On rappelle que la protéine adaptatrice n'a **pas d'activité kinase**.

5. La PI3Kinase

La PI3Kinase est la *première kinase de la cascade de la signalisation de l'insuline* et est activée lors de sa liaison à la protéine IRS.

Elle possède *dans son domaine régulateur* un autre domaine spécifique qui est le **domaine SH2** qui s'associe à *la portion phosphorylée de la protéine adaptatrice IRS*. Le domaine SH2 reconnaît les tyrosines phosphorylées que si ces dernières sont placées dans une *séquence consensus*.



Bilan de la première étape de la voie de signalisation de l'insuline :

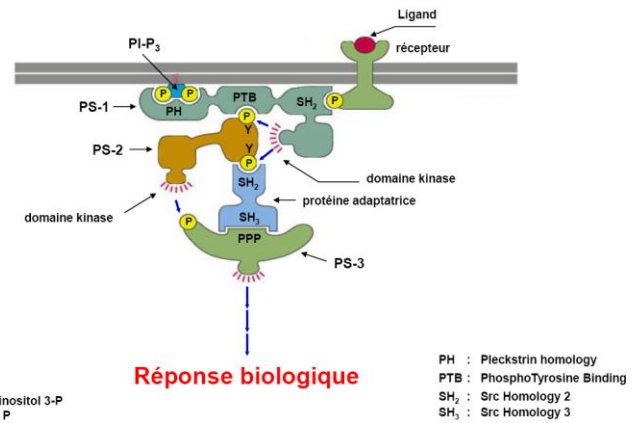
Il existe donc un maximum d'éléments qui vont être mis en place pour générer, à partir du messenger primaire qu'une seule voie. La spécificité se trouve via le domaine PH, le domaine PTB et la reconnaissance entre la protéine d'ancrage et la première kinase via le domaine SH2.

NB : L'insuline, *jusqu'à l'expression du messenger secondaire*, ne présentera que des **tyrosines-phosphorylations** ; *passée le messenger secondaire*, elle présentera des **sérines/thréonine phosphorylations**.

II- Exemple du récepteur de l'EGF

En réponse au ligand, le récepteur phosphoryle et active la protéine qui lui est associée (SH2, PTB, PH). Le domaine kinase de cette protéine est dès lors activé (il s'agit ici d'une protéine kinase et non pas d'une protéine adaptatrice).

La complémentarité se met en place : seules les protéines qui auront un domaine complémentaire au domaine PTB vont pouvoir s'ancrer suffisamment proche de ce domaine kinase pour générer une phosphorylation.



PI-P₃ : phosphatidyl inositol 3-P
PPP : motif riche en P

PH : Pleckstrin homology
PTB : PhosphoTyrosine Binding
SH₂ : Src Homology 2
SH₃ : Src Homology 3

III- Les 4 domaines à retenir

- le **domaine PH** qui reconnaît les *PIP3 de la membrane cytoplasmique*,
- le **domaine PTB** qui est spécifique de *tyrosines*,
- le **domaine SH2** qui est spécifique de *tyrosines* (ce qui va différencier SH2/PTB c'est la *séquence consensus* dans laquelle se trouve la tyrosine),
- le **domaine SH3** qui lui va reconnaître les *séquences Proline-Proline-Proline* c'est-à-dire une séquence très riche en prolines.