Chapitre 10

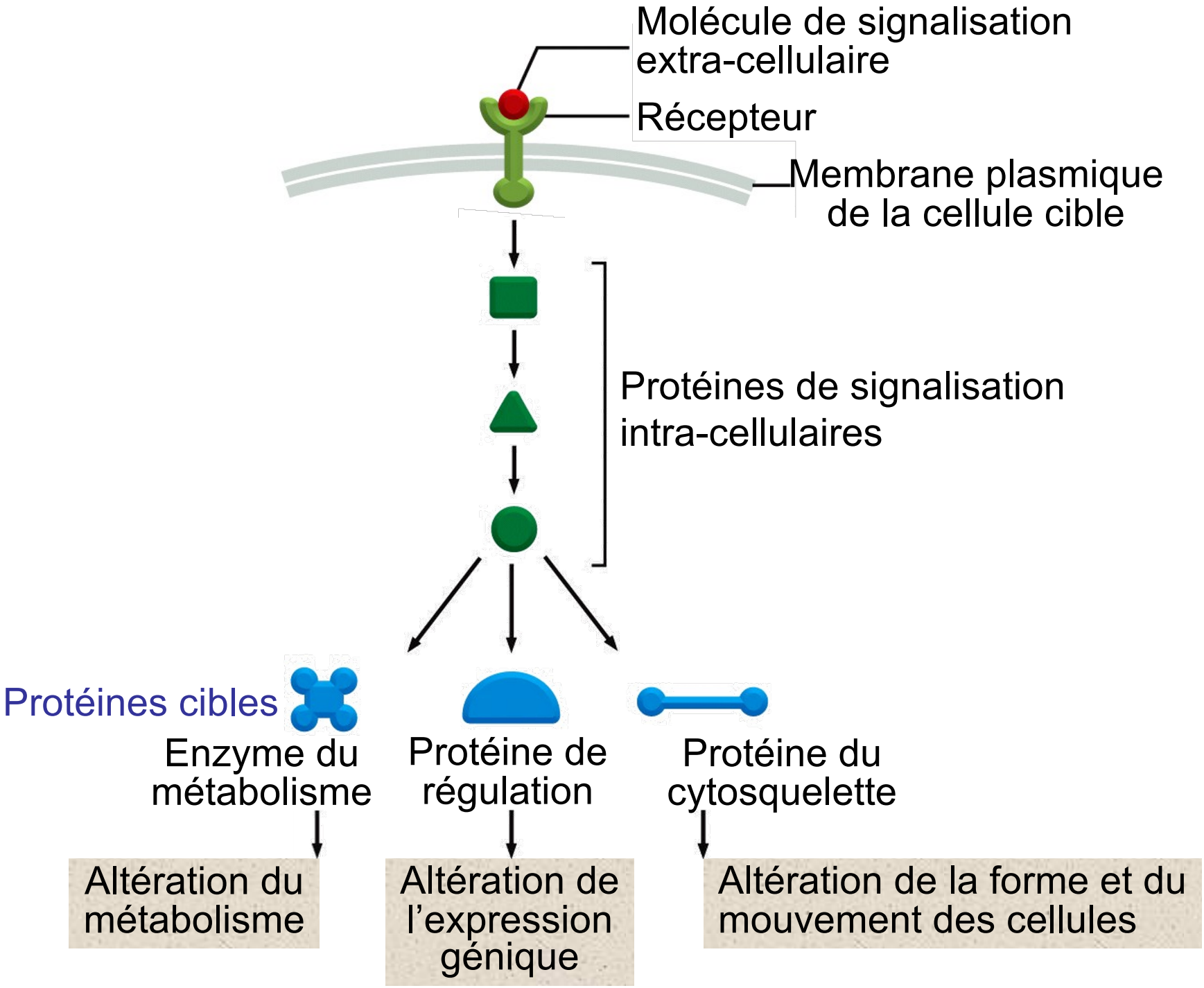
COMMUNICATIONS CELLULAIRES CHIMIQUES ET LEURS RÉGULATIONS

COMMUNICATIONS CELLULAIRES CHIMIQUES ET LEURS RÉGULATIONS

I-INTRODUCTION

Peptide libéré par la pipette : formyl-Met-Leu-Phe

Migration d’une cellule neutrophile attirée par chimiotactisme



Activation d'une voie de signalisation par une molécule extra-cellulaire

Communications cellulaires

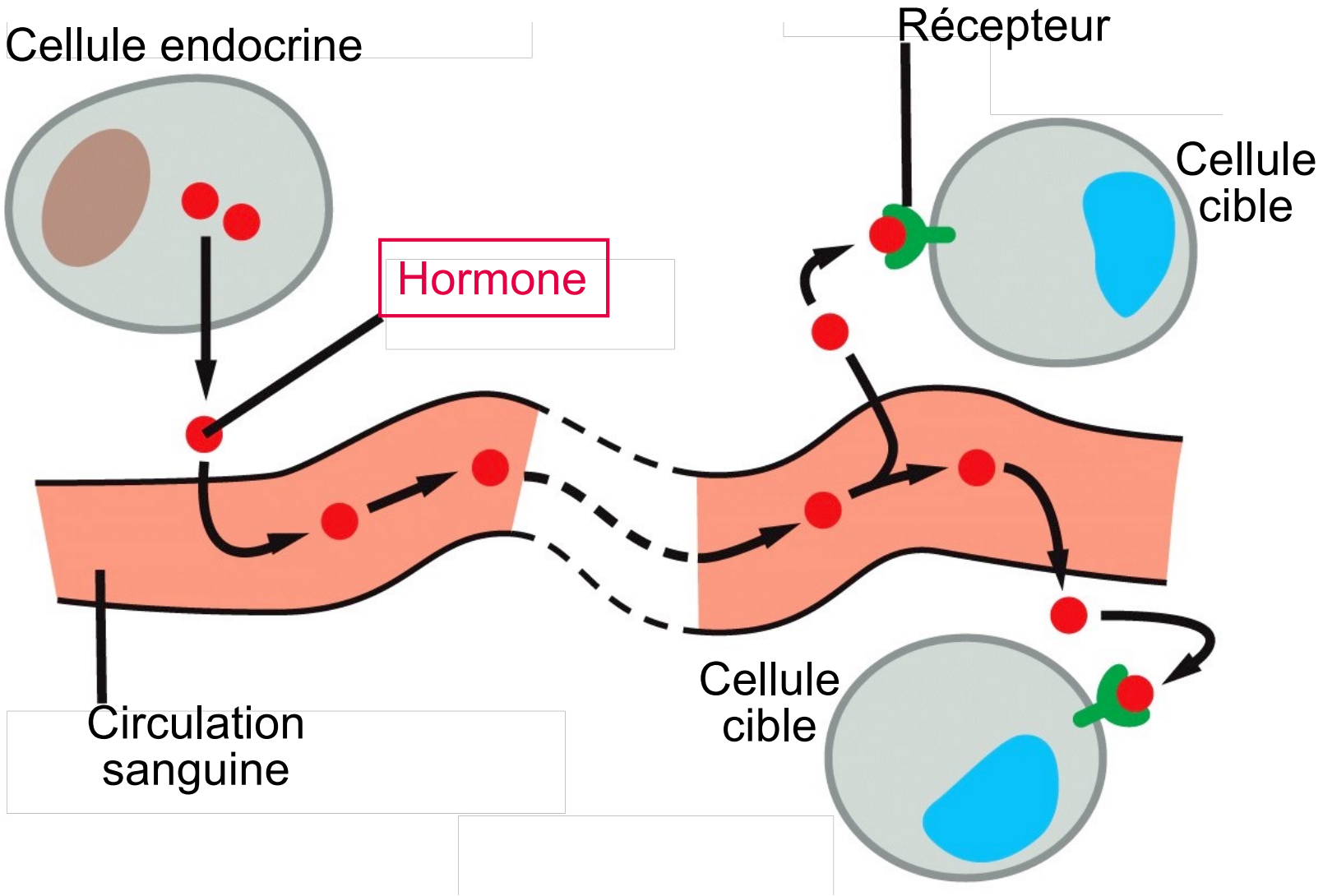
État pluricellulaire : humain de 10 000 à 100 000.10^9 cellules
=> Nécessaire Coordination par communication entre cellules

Communication utilisant des **signaux diffusibles**

- Signalisation autocrine : molécule agit sur cellule émettrice
- Signalisation paracrine : molécule agit sur cellules environnantes

- Signalisation endocrine : molécule agit sur cellules distantes
- Communication neuronale synaptique

Signalisation par **contact cellulaire**

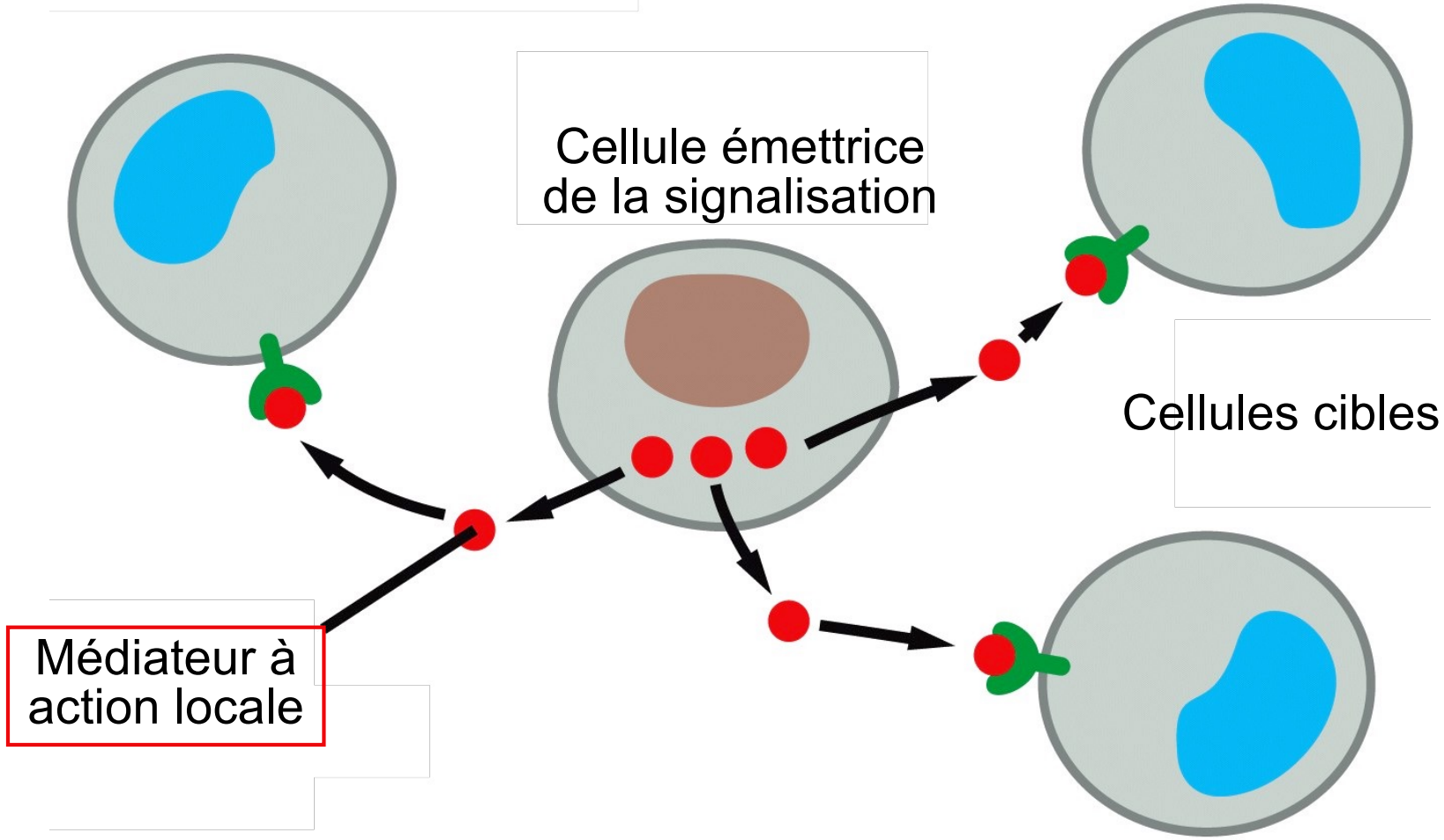


Endocrine (signalisation) : mode de communication qui met en jeu la sécrétion d'hormones dans le sang par des cellules spécialisées, telles que celles de la glande thyroïde ou de l'hypophyse.

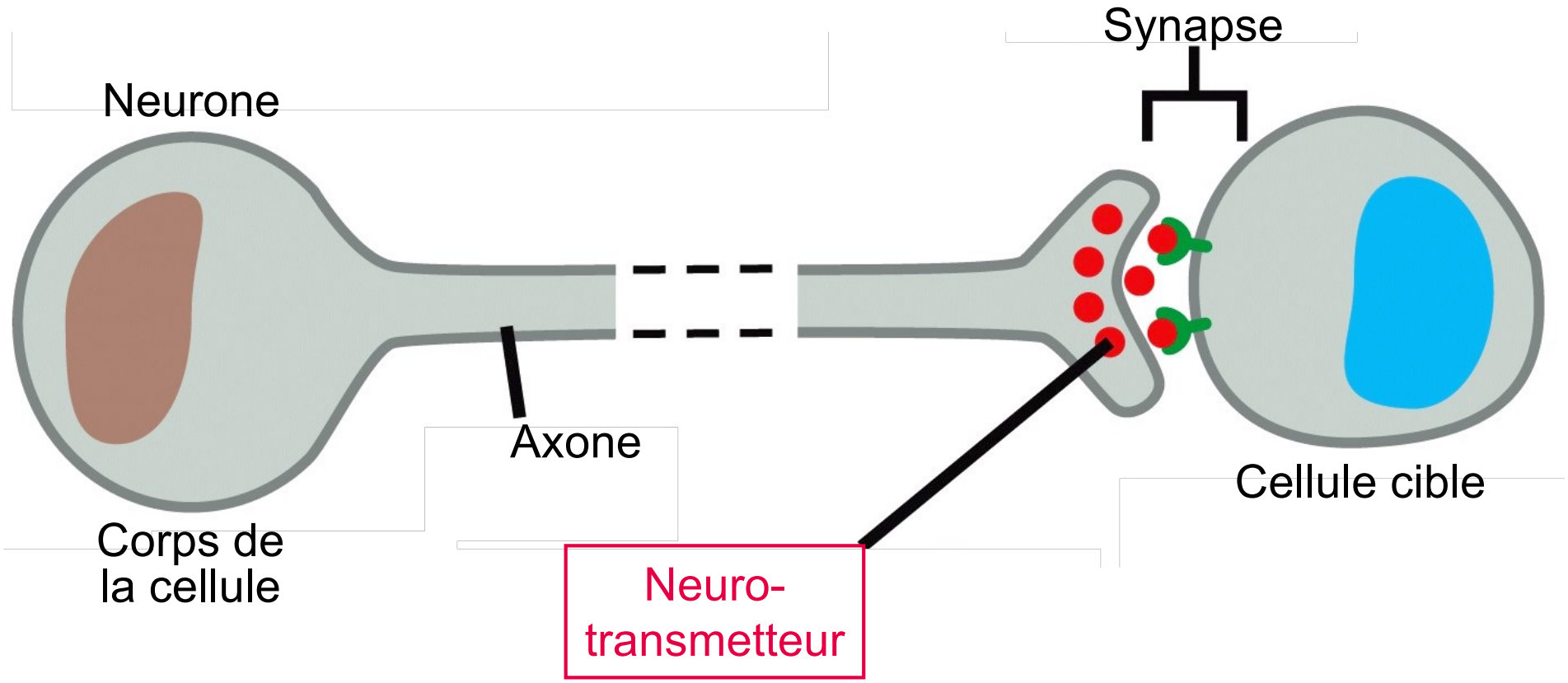
Signalisation endocrine

Paracrine (signalisation) : communication de cellule à cellule, de courte portée, exercée via des molécules de signalisation sécrétées par une cellule ou un groupe de cellules, qui agissent sur les cellules du voisinage.

Autocrine (signalisation) : type de communication au cours de laquelle une cellule sécrète une molécule de signalisation qui agit sur elle-même ou sur des cellules du voisinage du même type.



Signalisation paracrine

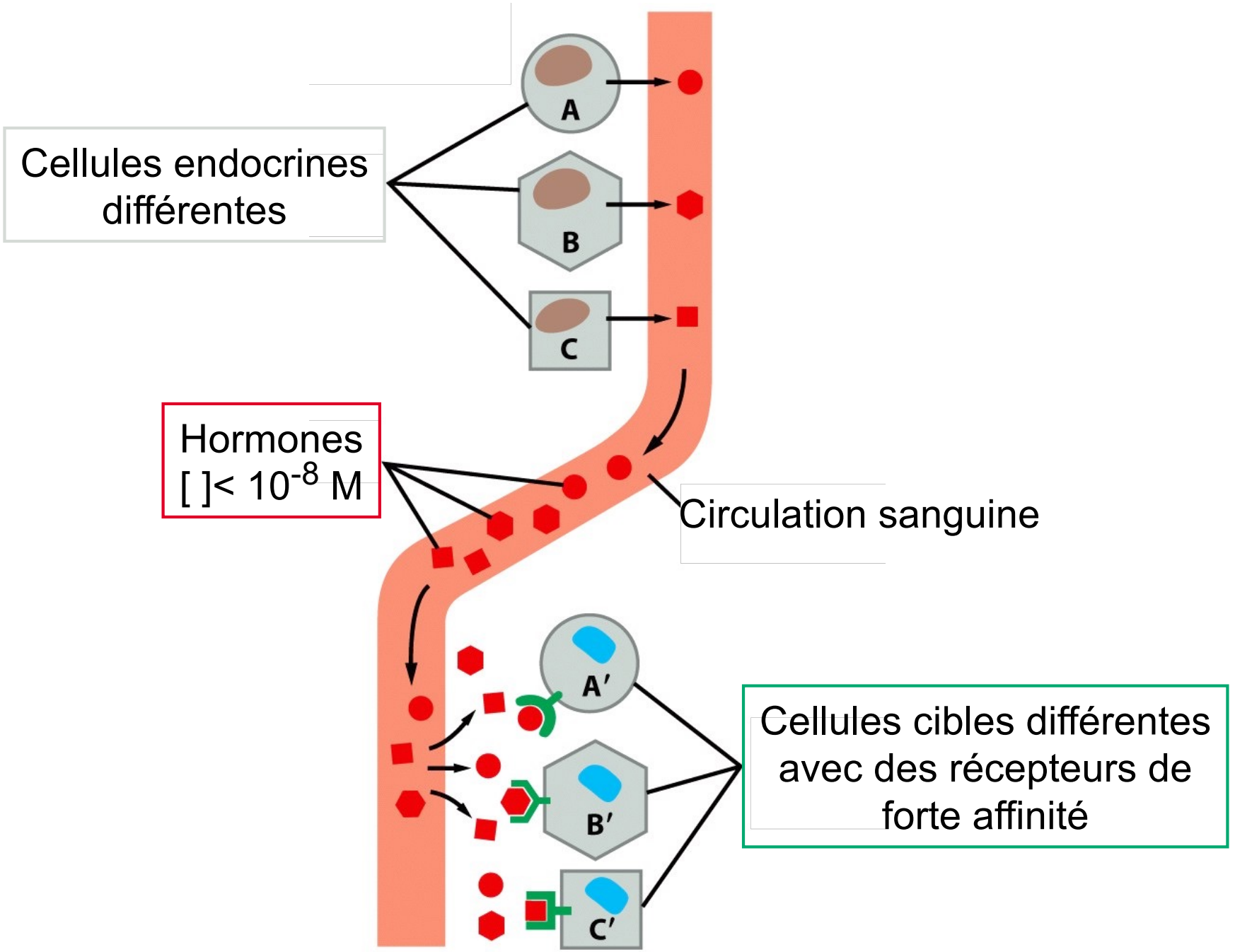


Synapse : jonction qui permet la communication entre une cellule nerveuse et une autre cellule.

Dans une synapse dite chimique, la communication est assurée par une molécule de neurotransmission diffusible.

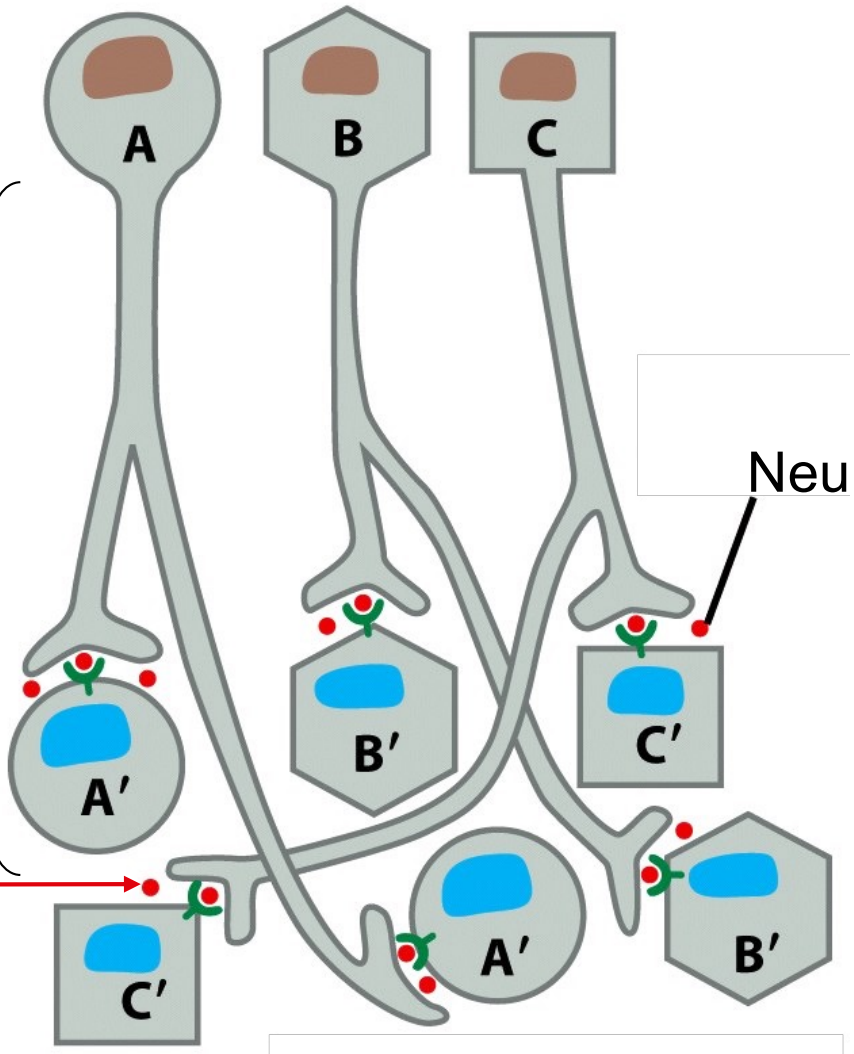
Dans une synapse dite électrique, une connexion directe est assurée entre les cytoplasmes de deux cellules via des jonctions ouvertes (« gap junction »).

Signalisation synaptique



Signalisation endocrine

Trois neurones différents



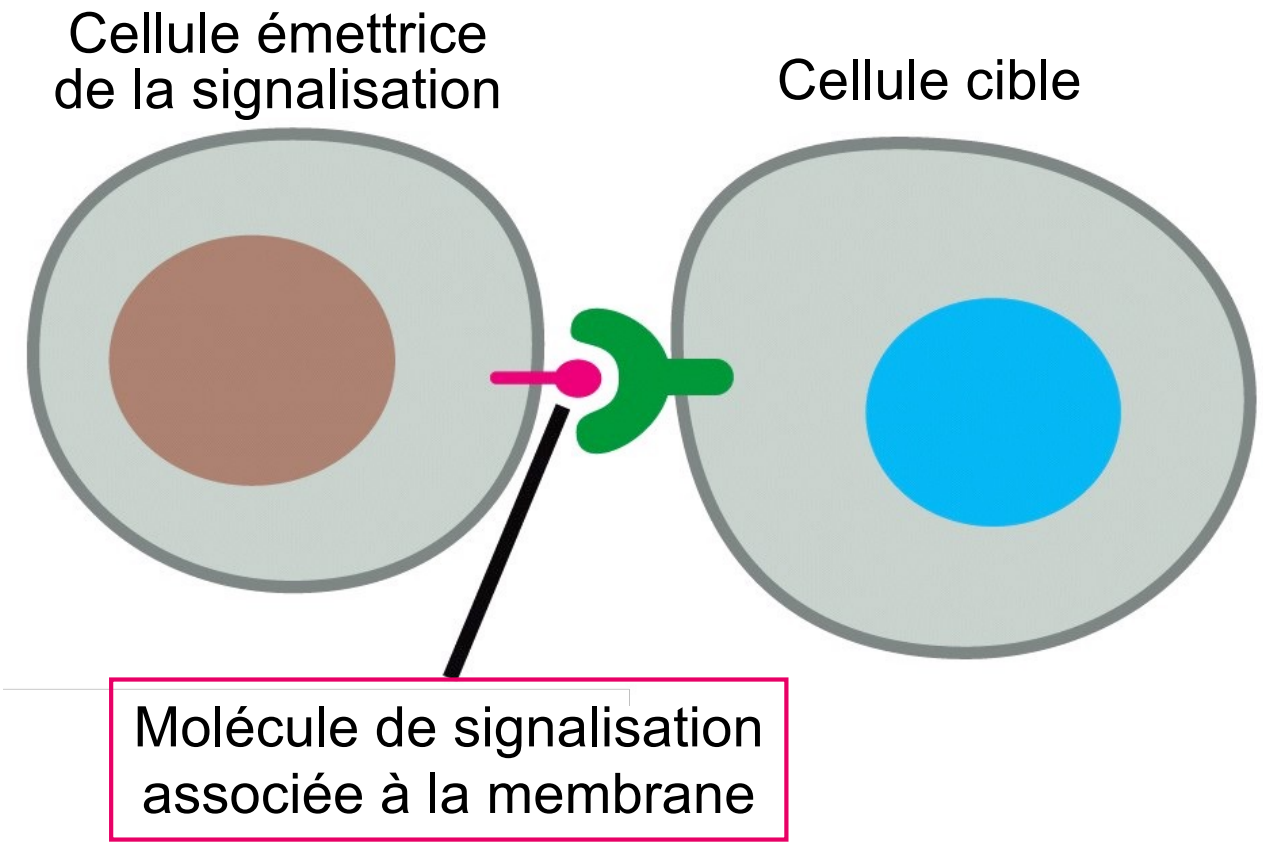
Transmission de l'information à la vitesse de 100 m/sec

Neuro-transmetteur distance < 100 nm [ ] environ 5 x 10^{-4} M

Neuro-transmetteur

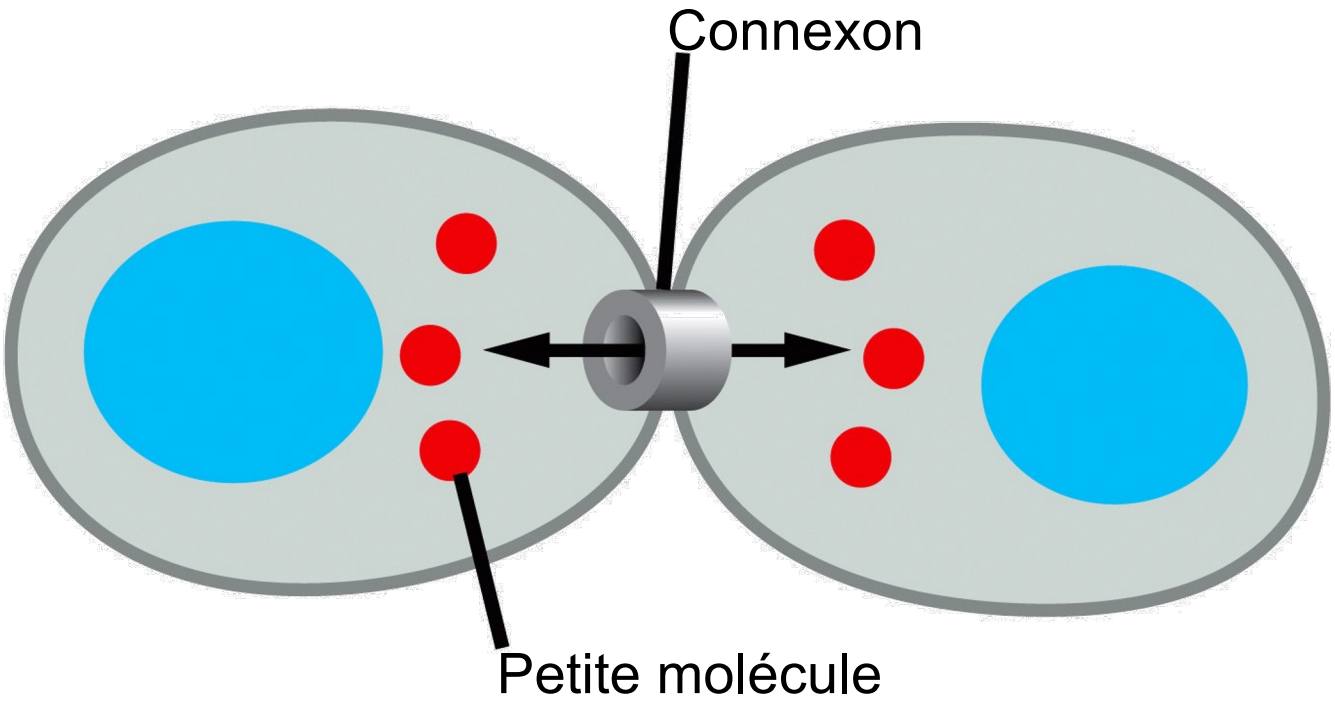
Trois cellules cibles différentes avec des récepteurs de faible affinité

Signalisation synaptique en une milliseconde



Au cours -du développement
-de la réponse du système immunitaire

Signalisation par contact entre cellules



Signalisation interne de cellule à cellule via
des molécules de masse moléculaire < 1.000 Da

Signalisation de cellule à cellule via des jonctions communicantes « gap junction »

Communications cellulaires

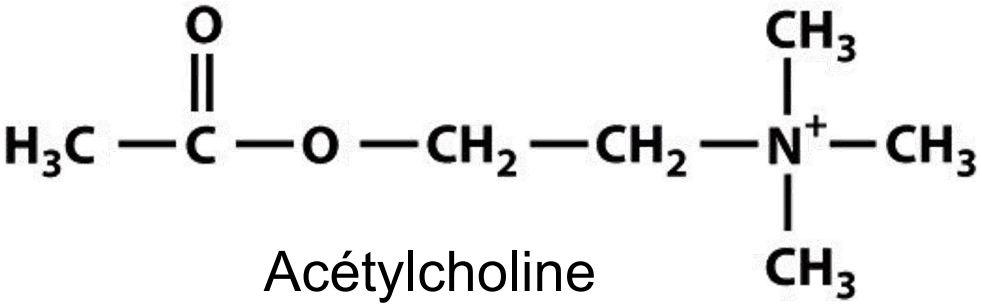
L'impact cellulaire du signal perçu dépend :

- du type de récepteur
- du contexte cellulaire

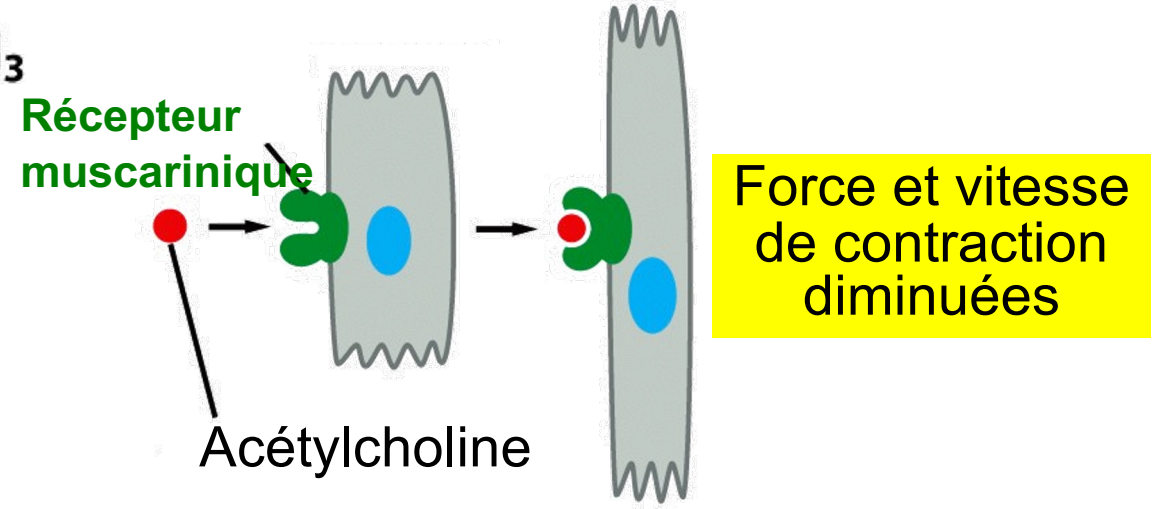
Récepteur : Protéine qui lie une molécule de signalisation extracellulaire (ligand) et entraîne une réponse de la cellule qui en exprime le gène.

Les récepteurs situés à la surface des cellules, tels que le récepteur de l'acétylcholine par exemple ou le récepteur de l'insuline sont localisés dans la membrane plasmique avec leur site de liaison du ligand tourné vers le milieu extracellulaire.

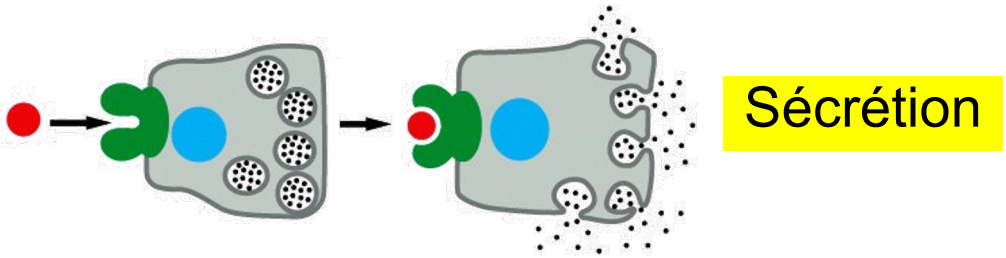
Les récepteurs intracellulaires, tels que les récepteurs des hormones stéroïdes, lient les ligands qui diffusent à l'intérieur de la cellule à travers la membrane plasmique.



Acétylcholine

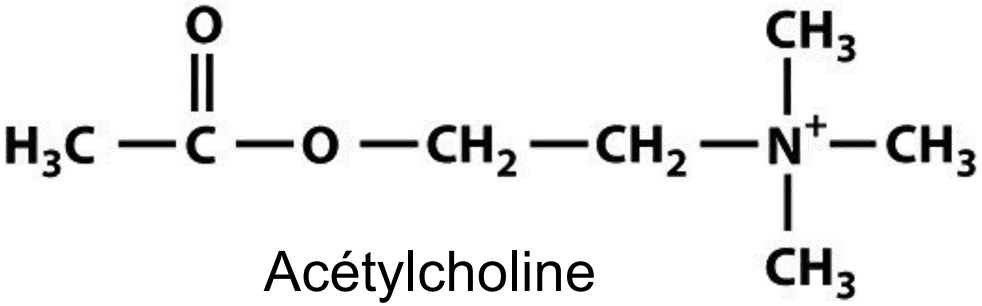


Cellule du muscle cardiaque



Cellule de la glande salivaire

Réponses différentes à la même molécule de signalisation chimique



Acétylcholine

Récepteur nicotinique

Contraction

Cellule du muscle squelettique

Récepteur muscarinique

Acétylcholine

Force et vitesse de contraction diminuées

Cellule du muscle cardiaque

Sécrétion

Cellule de la glande salivaire

Réponses différentes à la même molécule de signalisation chimique

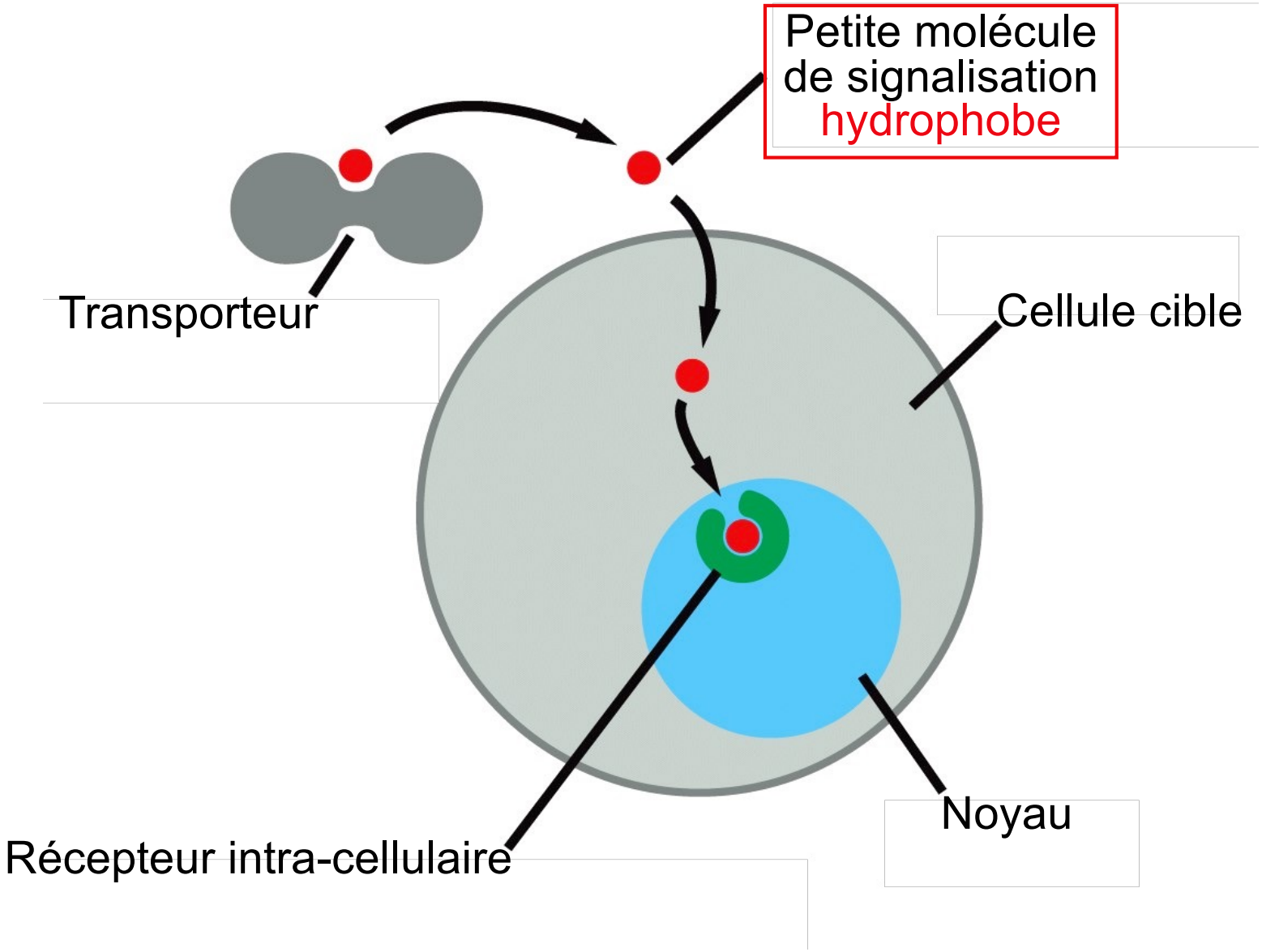
Molécules hydrophobes : transduction directe

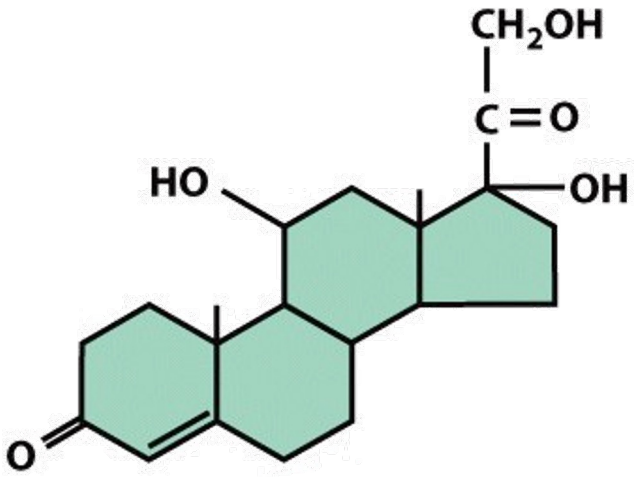
Ex: Hormones stéroïdes (dérivées du cholestérol)
Hormones thyroïdiennes (dérivées de la tyrosine)

Diffusent à travers la membrane
(nécessité d'une protéine de transport dans le sang)

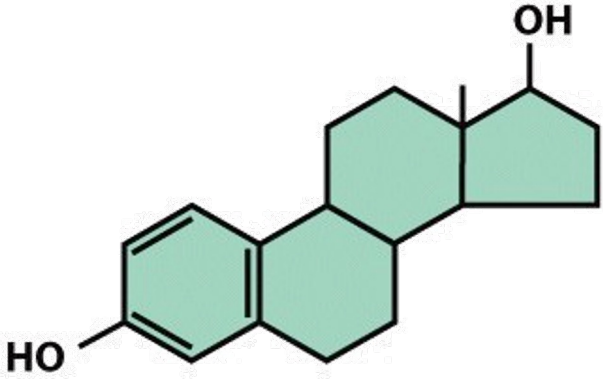
Récepteurs intracellulaires
= facteurs de transcription, dont l'activité est modulée par la fixation du ligand
(donc récepteur est aussi l'effecteur du signal)

Récepteurs intra-cellulaires

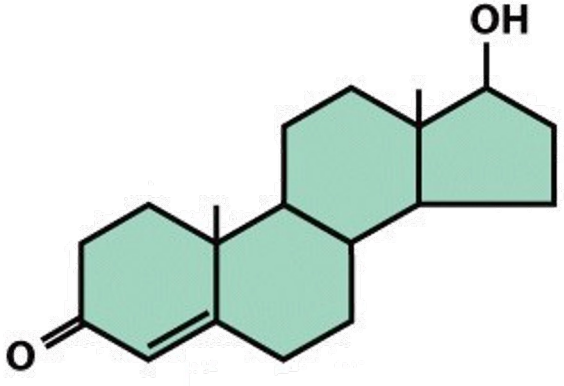




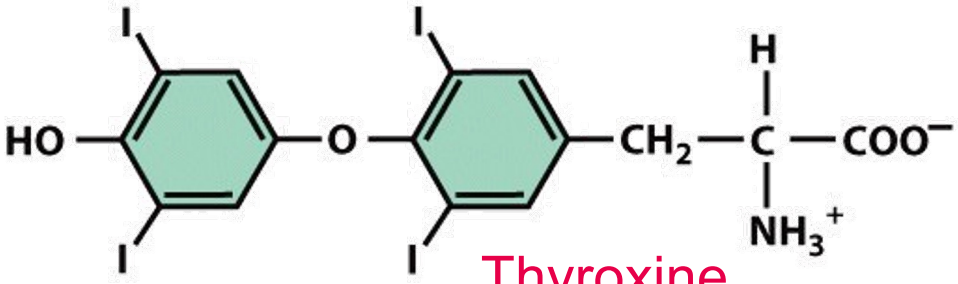
Cortisol



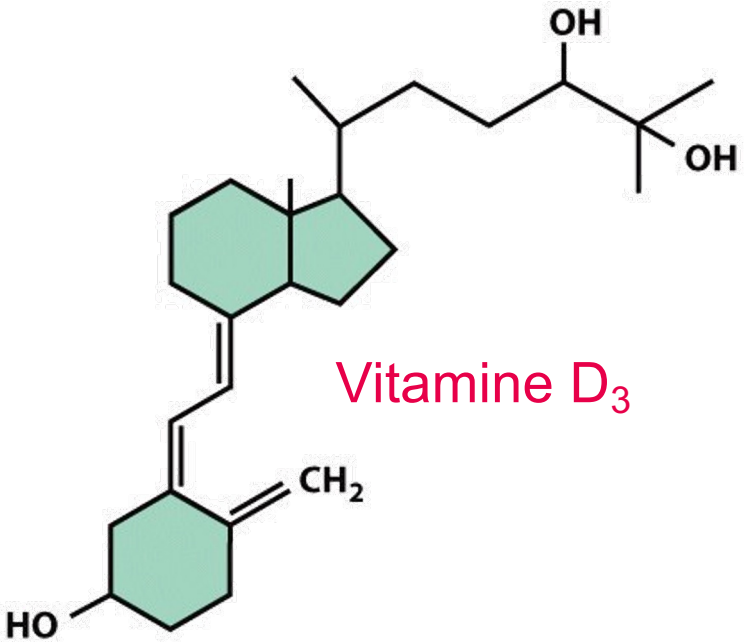
Œstradiol



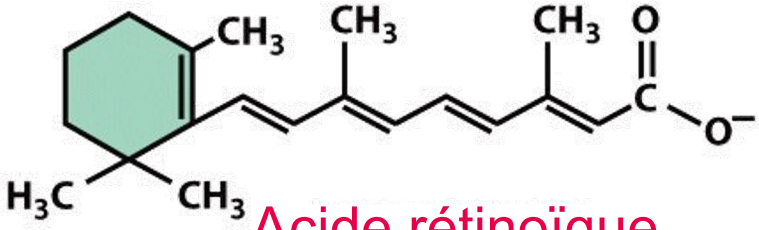
Testostérone



Thyroxine



Vitamine D_3



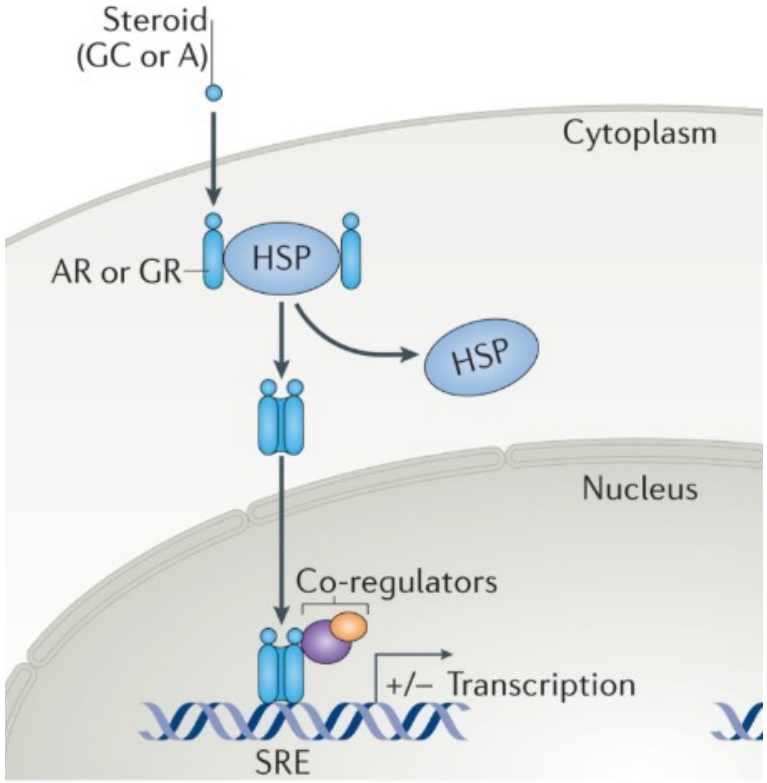
Acide rétinoïque

Quelques molécules de signalisation qui se lient aux récepteurs nucléaires

Récepteurs nucléaires de type I

Ex: R aux androgènes / glucocorticoïdes (A / GC):

- Cytoplasmique
- Lié à un inhibiteur, masquant le NLS et le site d'interaction avec ADN
- Liaison hormone :
  - → changement conformation
  - → départ protéine inhibitrice
  - → transport vers le noyau (exposition de la séquence NLS)
  - → dimérisation
  - → liaison à des séquences particulières ADN (élément de réponse = RE)
  - → recrutement de protéines activant la transcription du gène en aval du RE

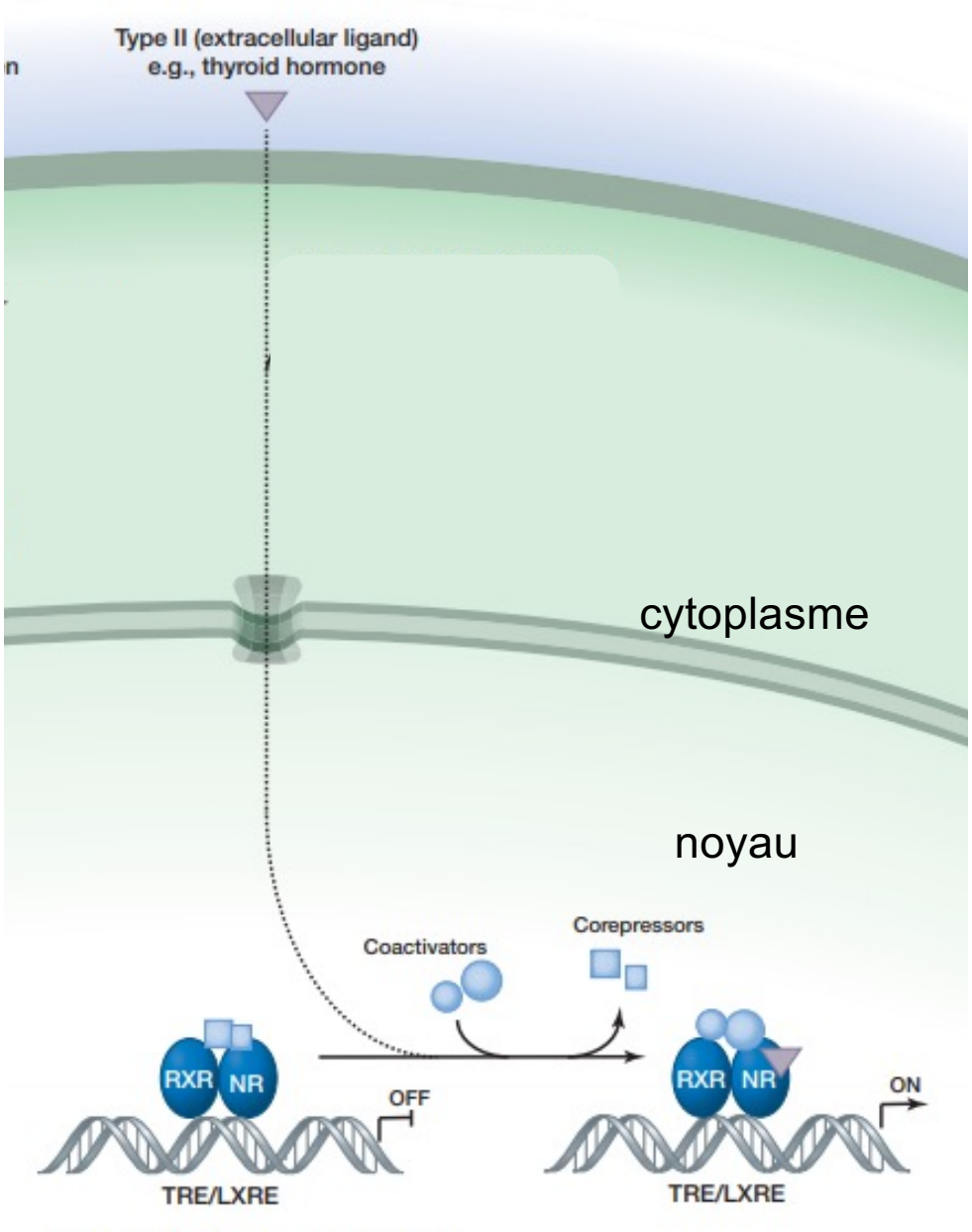


Nat Rev Mol Cell Biol. 2016;
doi:10.1038/nrm.2016.122

Récepteurs nucléaires de type II

R aux hormones thyroïdiennes:

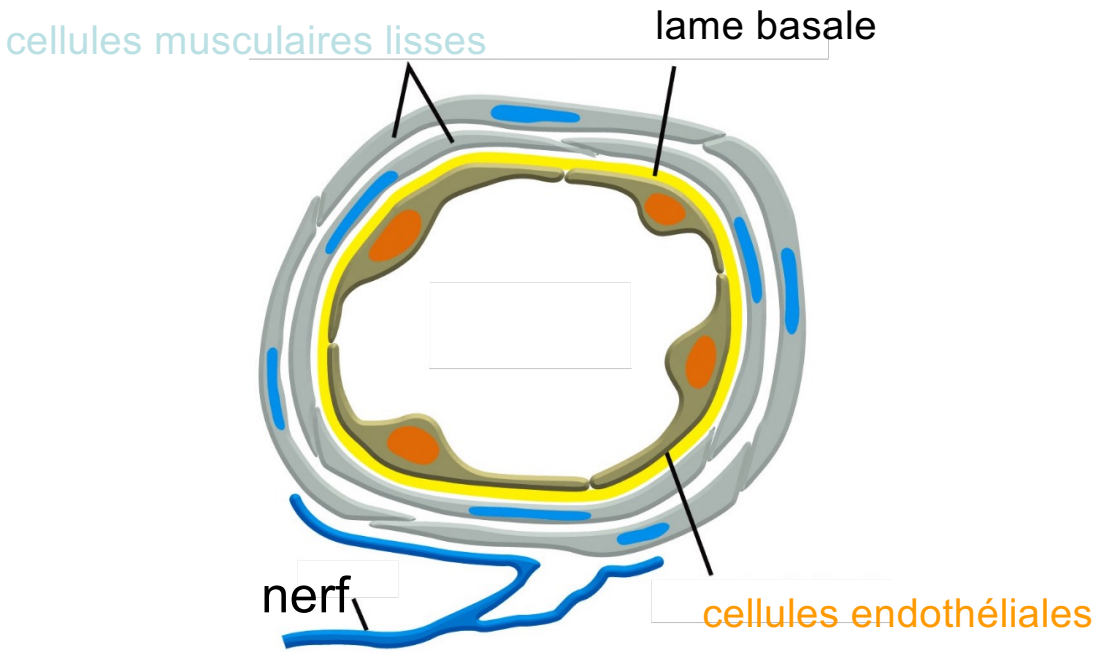
- nucléaire
- Lié aux séquences-cible de l'ADN (RE=responsive element)
- Lié à des facteurs inhibant la transcription (co-répresseurs)
- Liaison hormone :
  - → changement conformation
  - → départ des co-répresseurs,
  - → recrutement de facteurs activant la transcription (co-activateurs)

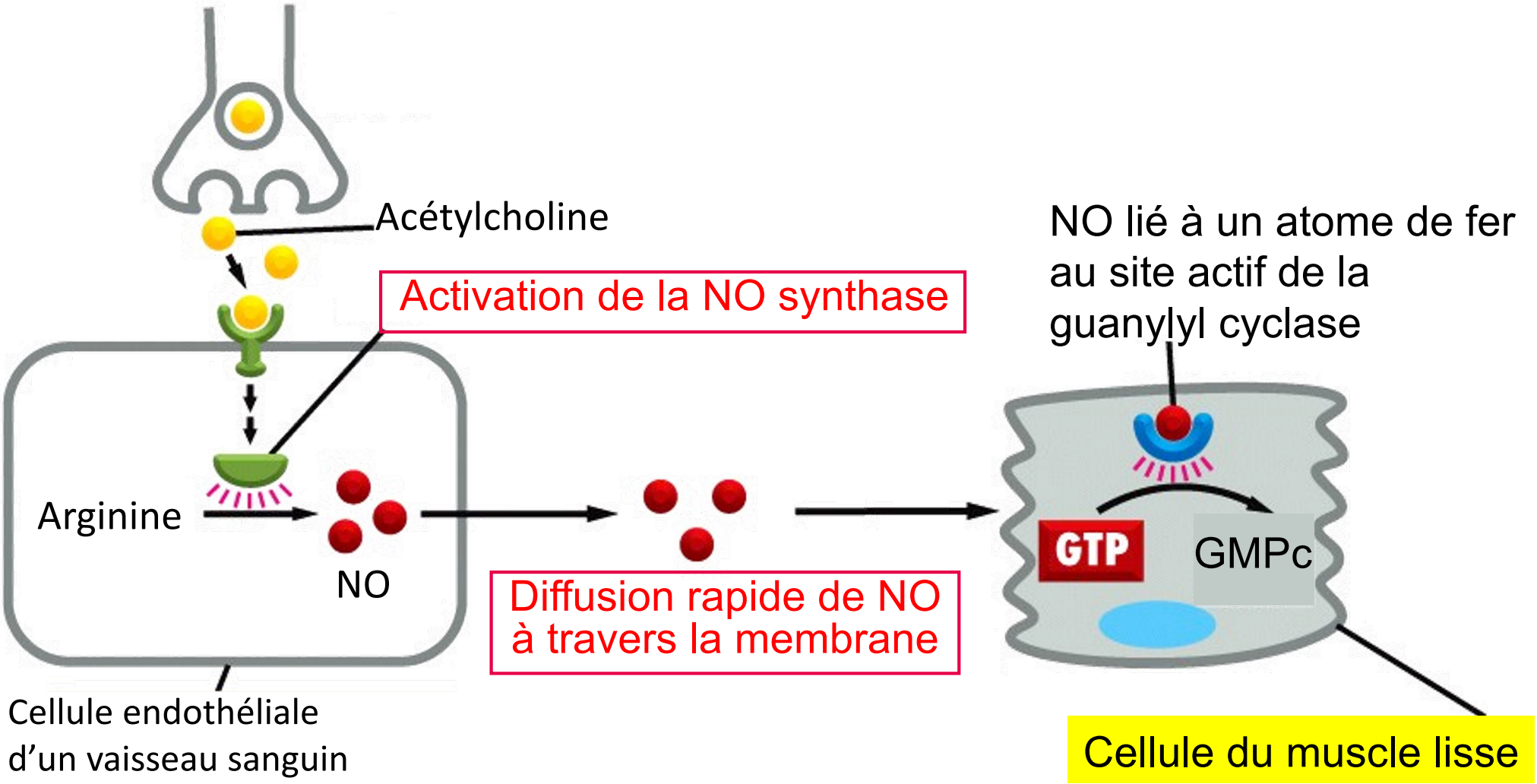


Cold Spring Harb Perspect Biol 2013;5:a016709

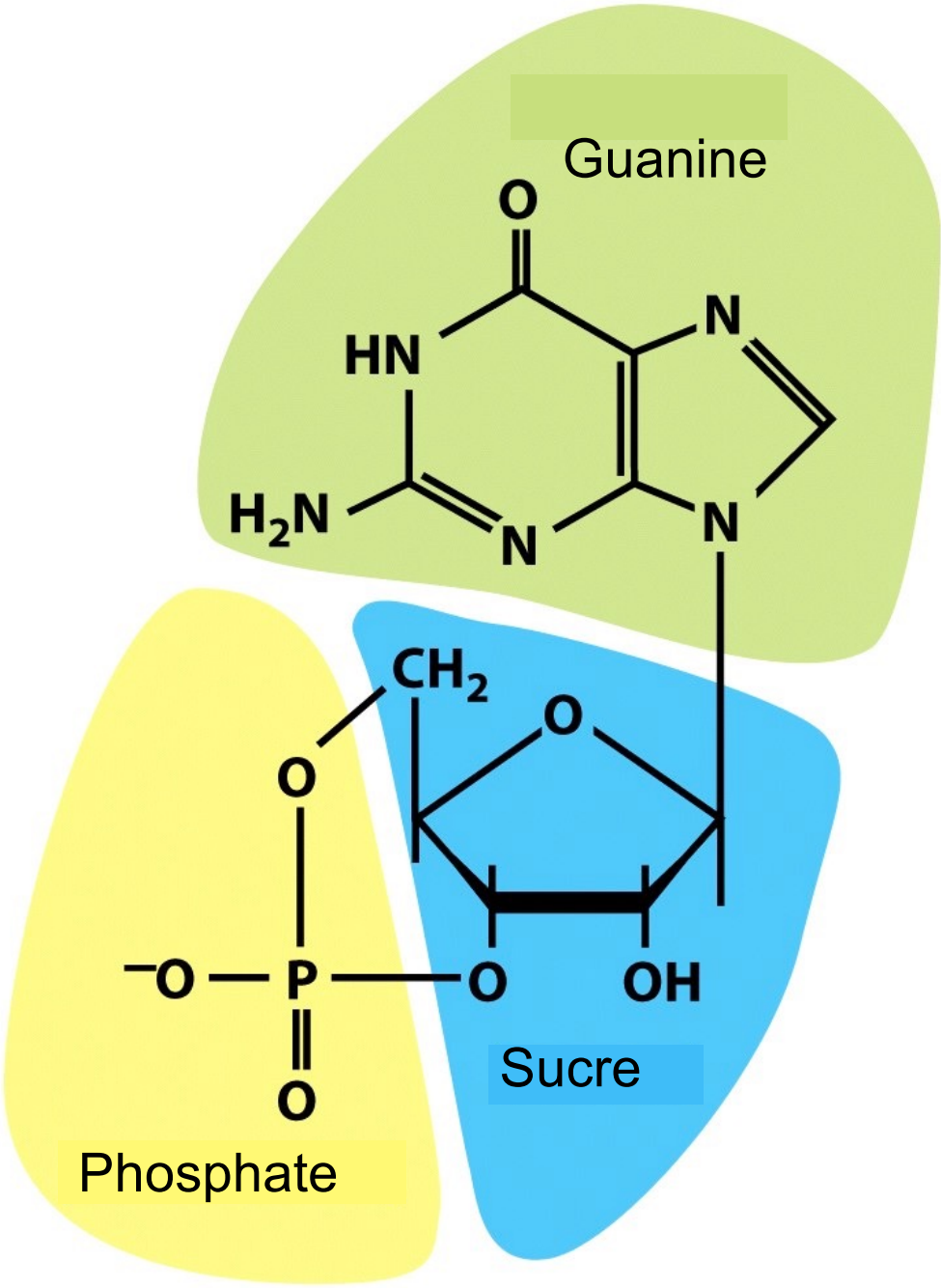
Monoxyde d'azote NO

- NO produit par cellules endothéliales (tapissant face interne des vaisseaux)
- NO = radical libre très réactif, diffusant rapidement vers le cellules voisines, notamment musculaires lisses de la paroi vasculaire (action paracrine à cause de sa demi-vie très courte)

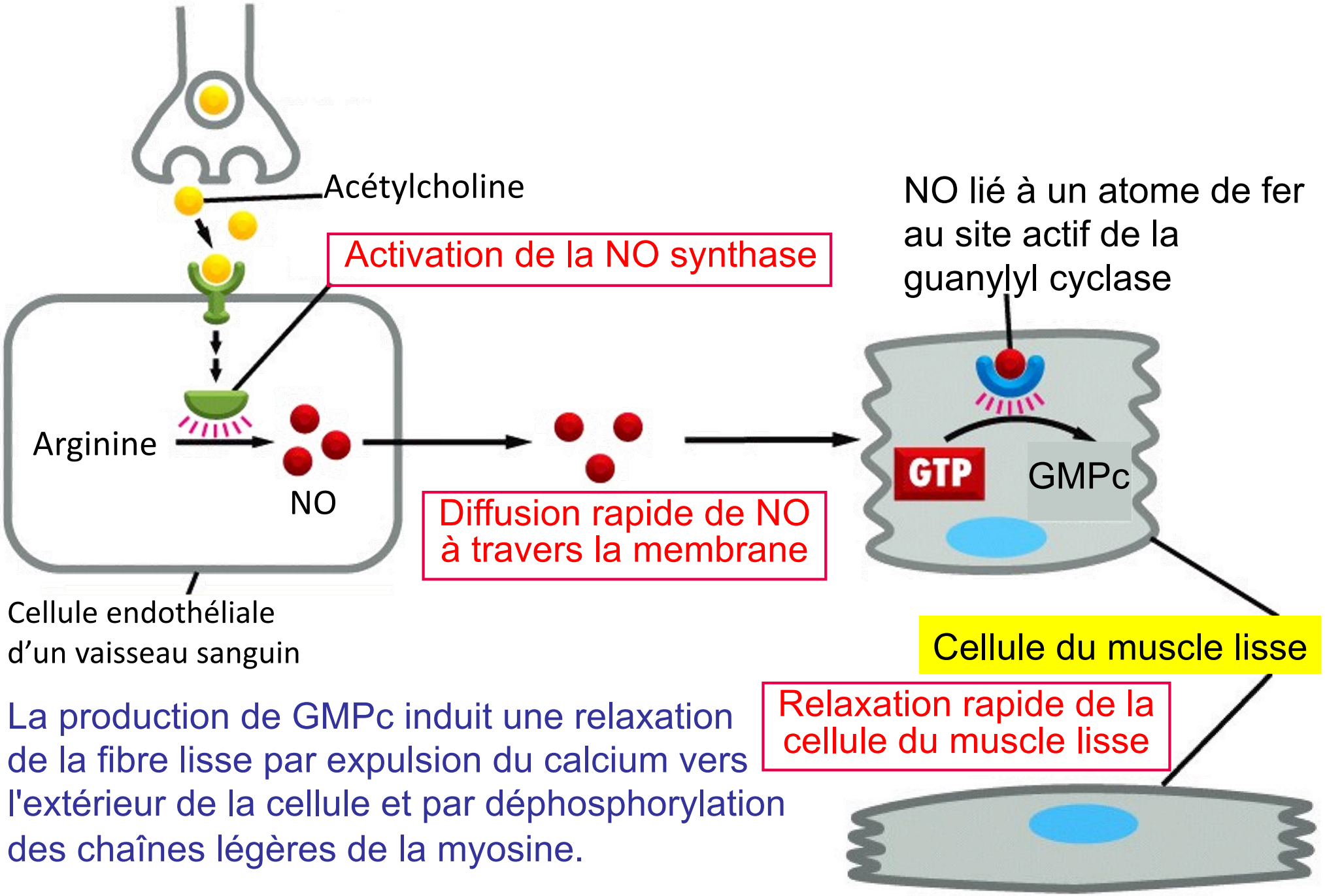




Mécanisme d'action du monoxyde d'azote
dans la relaxation du muscle lisse de la paroi d'un vaisseau sanguin

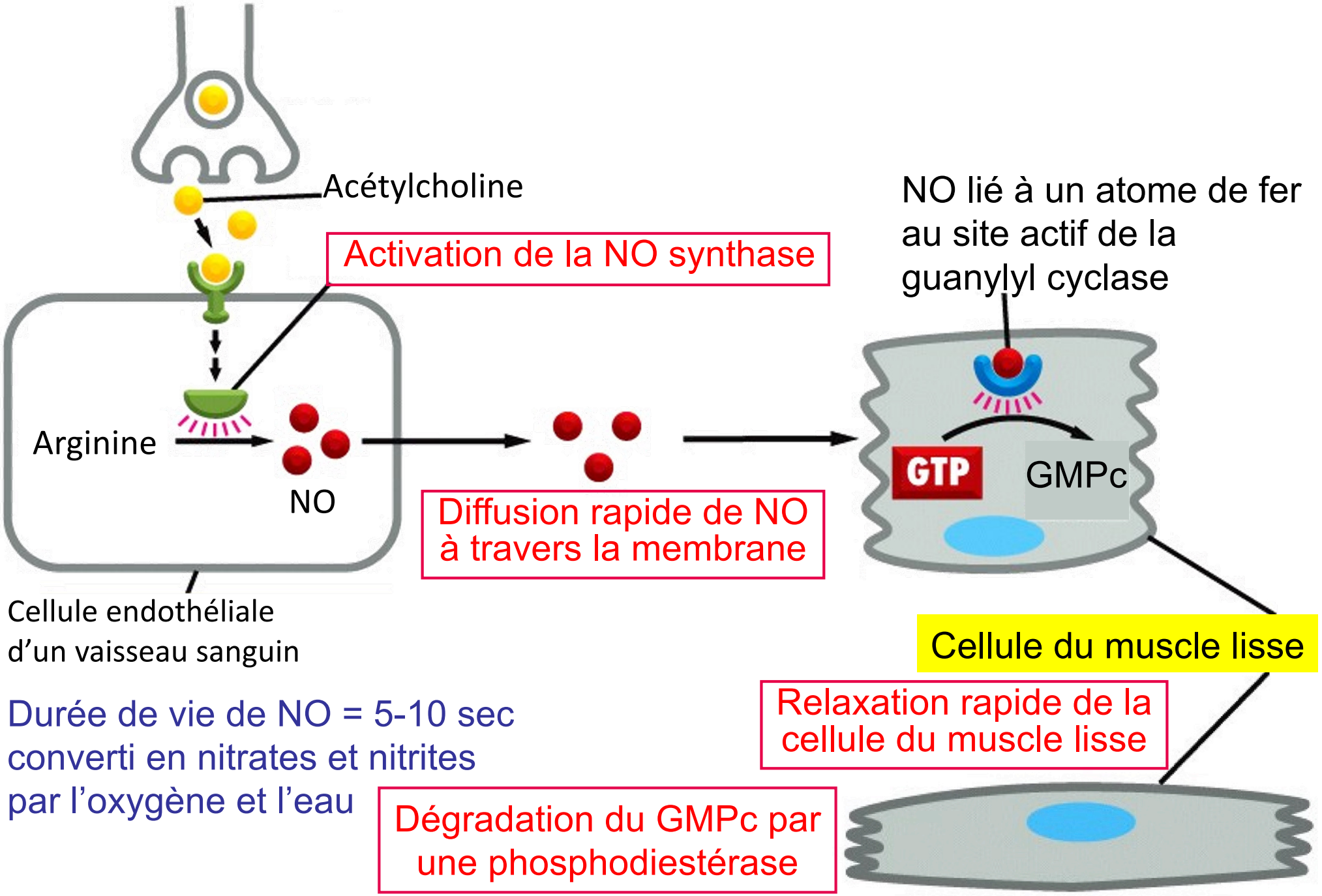


3’, 5’-Guanosine monophosphate cyclique (GMPc)



La production de GMPc induit une relaxation de la fibre lisse par expulsion du calcium vers l'extérieur de la cellule et par déphosphorylation des chaînes légères de la myosine.

Mécanisme d'action du monoxyde d'azote dans la relaxation du muscle lisse de la paroi d'un vaisseau sanguin



Mécanisme d'action du monoxyde d'azote
dans la relaxation du muscle lisse de la paroi d'un vaisseau sanguin

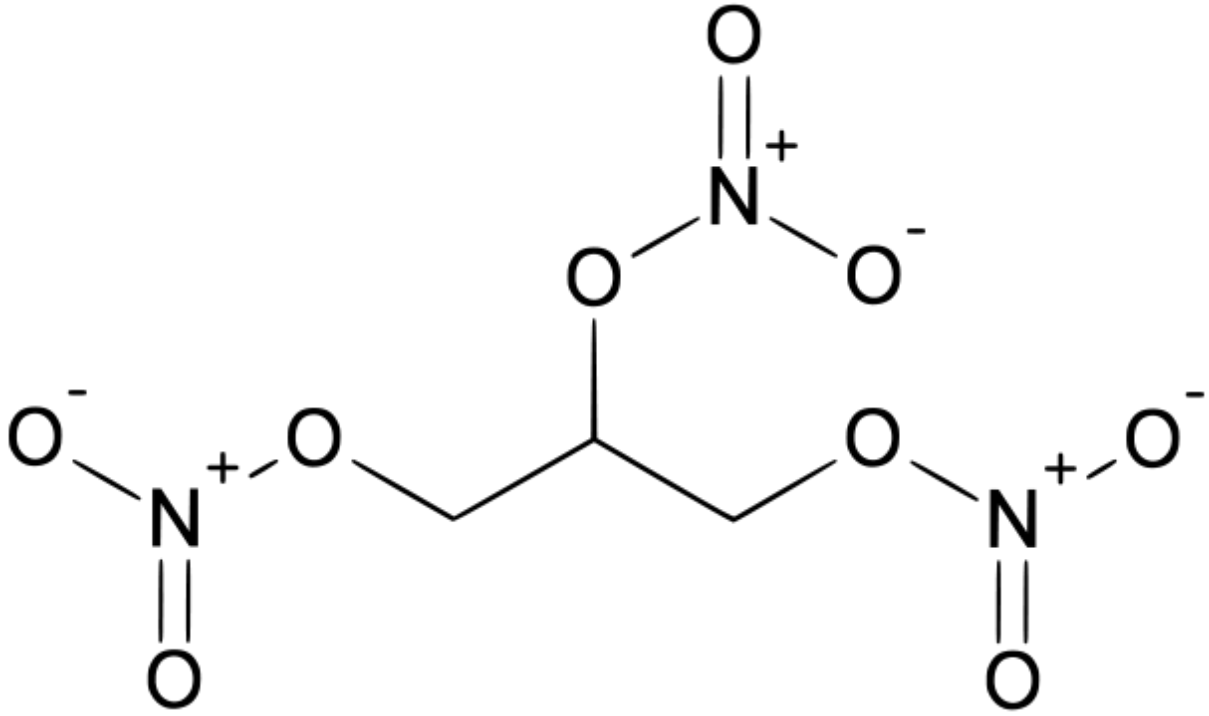
L'angor ou angine de poitrine est dû à une ischémie du myocarde, généralement secondaire à une sténose coronarienne.

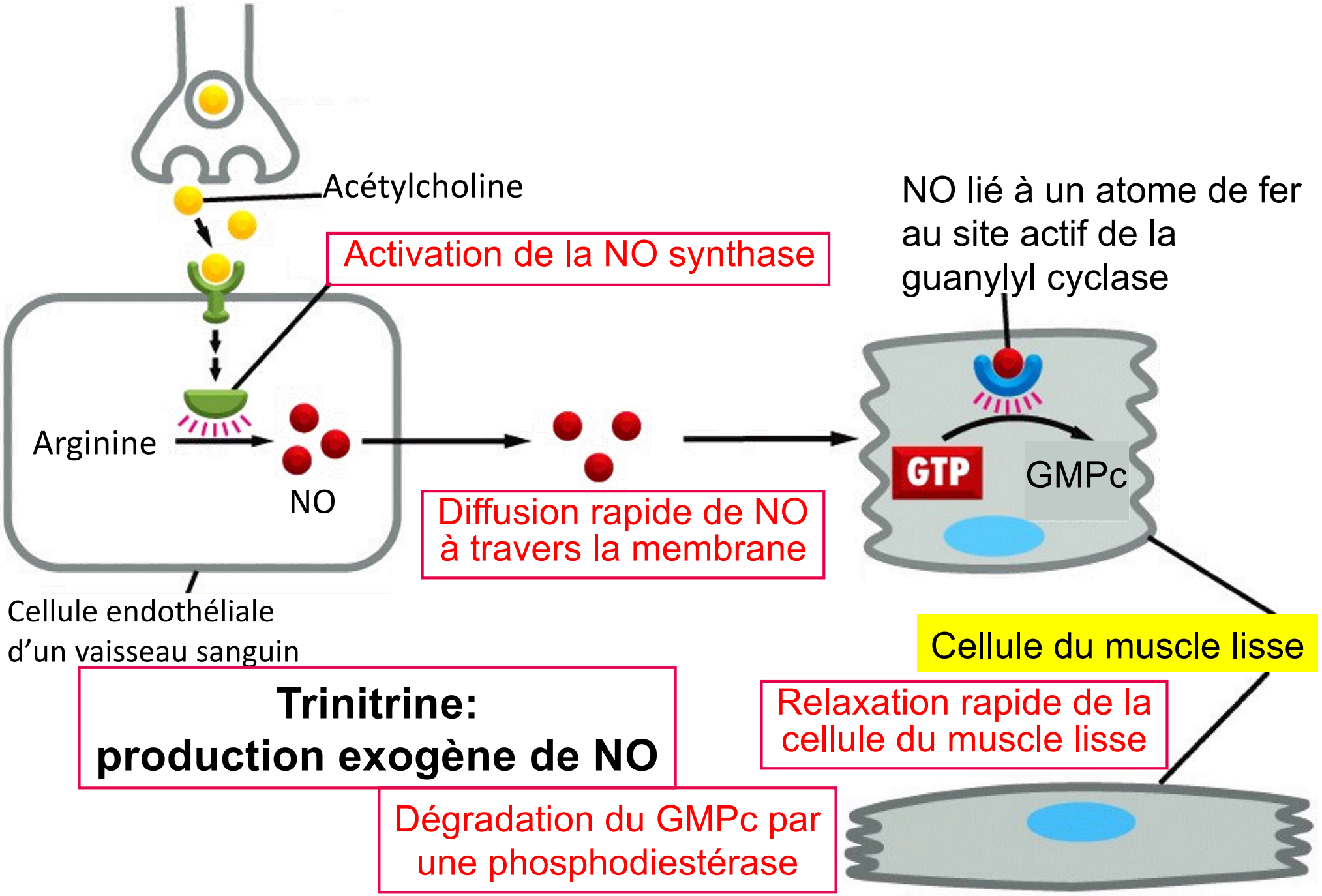
Ce rétrécissement des artères nourricières du cœur est provoqué par la formation d'une plaque d'athérome entraînant une inadéquation entre les besoins en oxygène du myocarde et les apports par la circulation coronarienne.

$CH_2(ONO_2)$-$CH(ONO_2)$-$CH_2(ONO_2)$

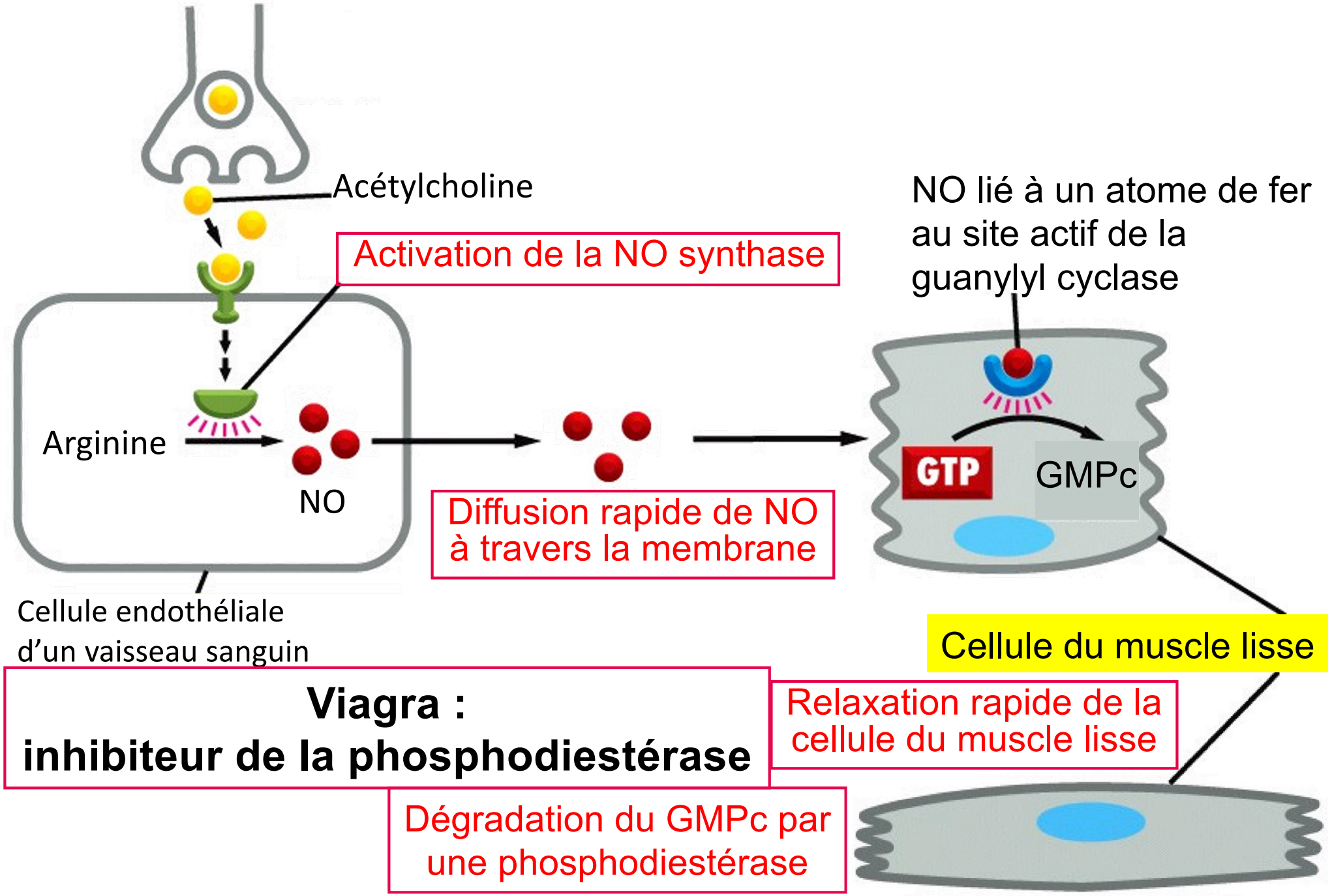
Trinitrine ou trinitrate de glycérine
Nom UICPA : 1,2,3-Tris-nitrooxy-propane

Dégradée en NO par l'aldéhyde déshydrogénase des mitochondries





Mécanisme d'action du monoxyde d'azote
dans la relaxation du muscle lisse de la paroi d'un vaisseau sanguin



Mécanisme d'action du monoxyde d'azote
dans la relaxation du muscle lisse de la paroi d'un vaisseau sanguin

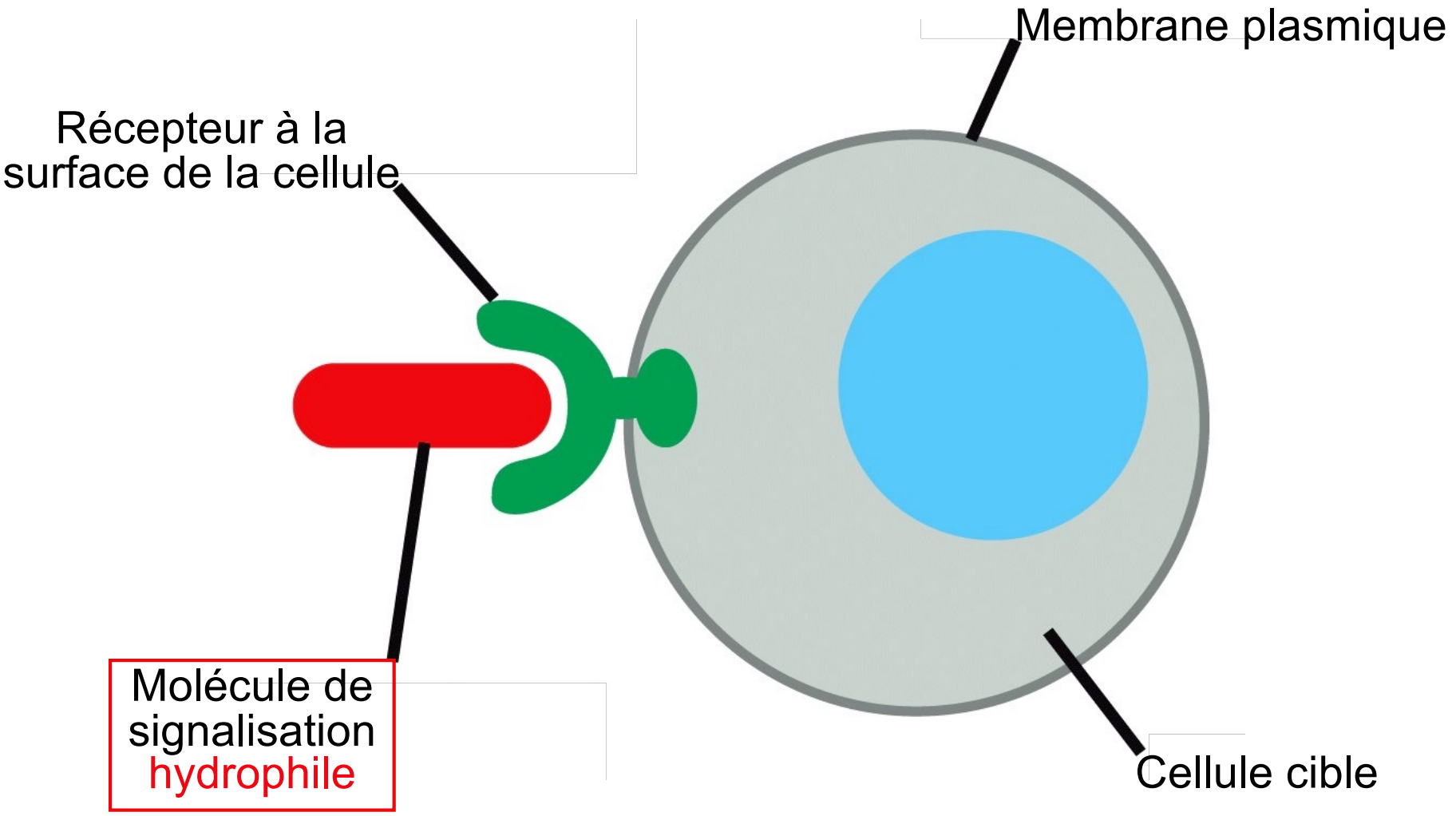
Molécules hydrophiles :
transduction membranaire et second messager

Reconnaissance de la molécule signal à la surface cellulaire par un récepteur
Transmission de l'information dans le cytosol, sous forme d'un « second messager »

3 catégories:

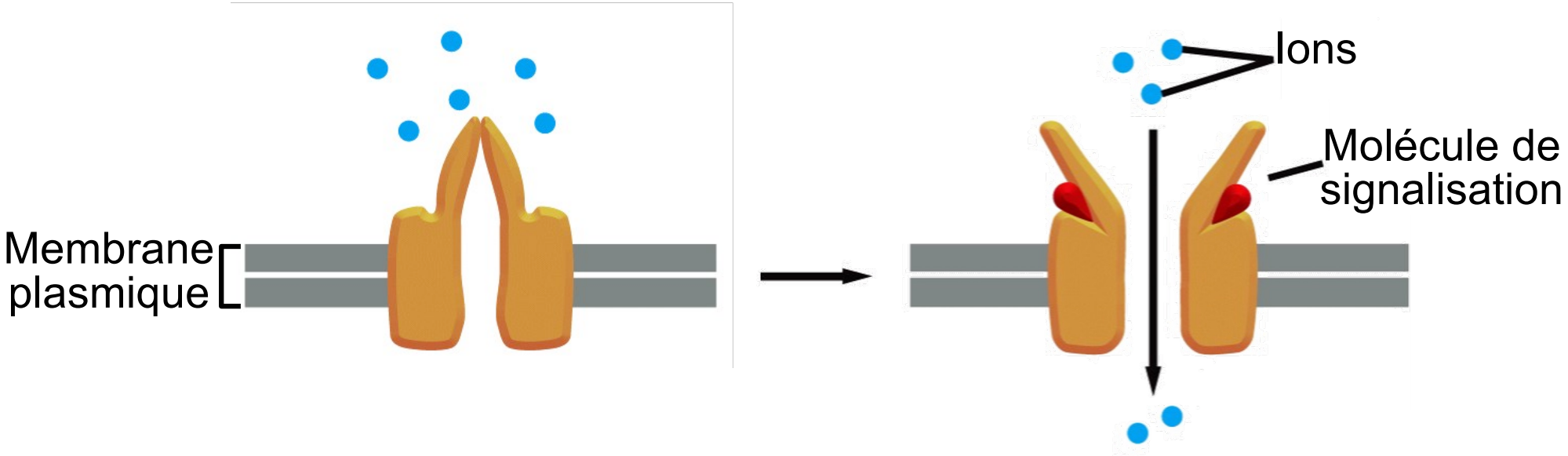
- Récepteurs couplés aux canaux ioniques
- Récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques
- Récepteurs à activité enzymatique

Récepteurs à la surface de la cellule

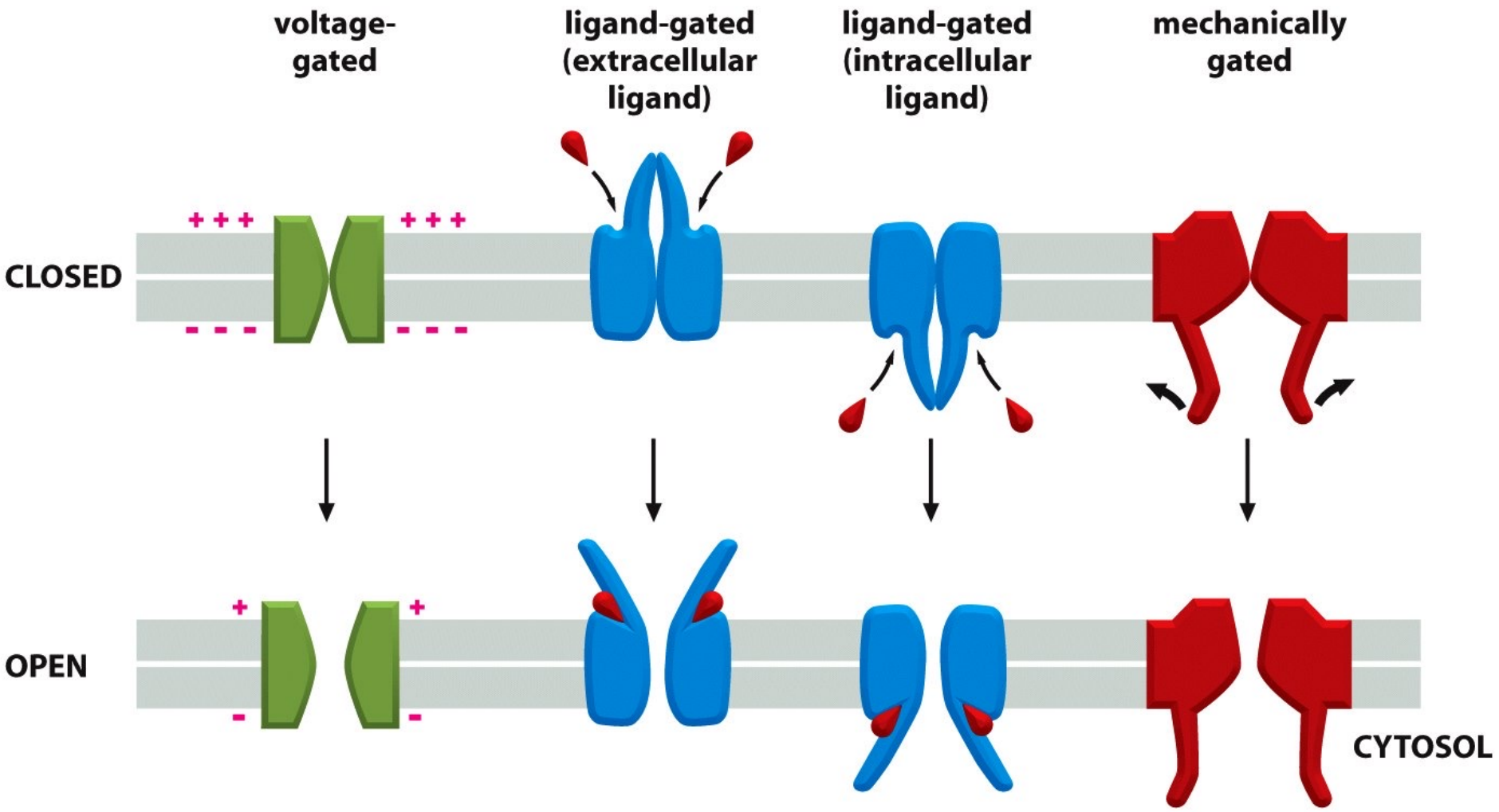


1-Récepteurs canaux ou ionotropes

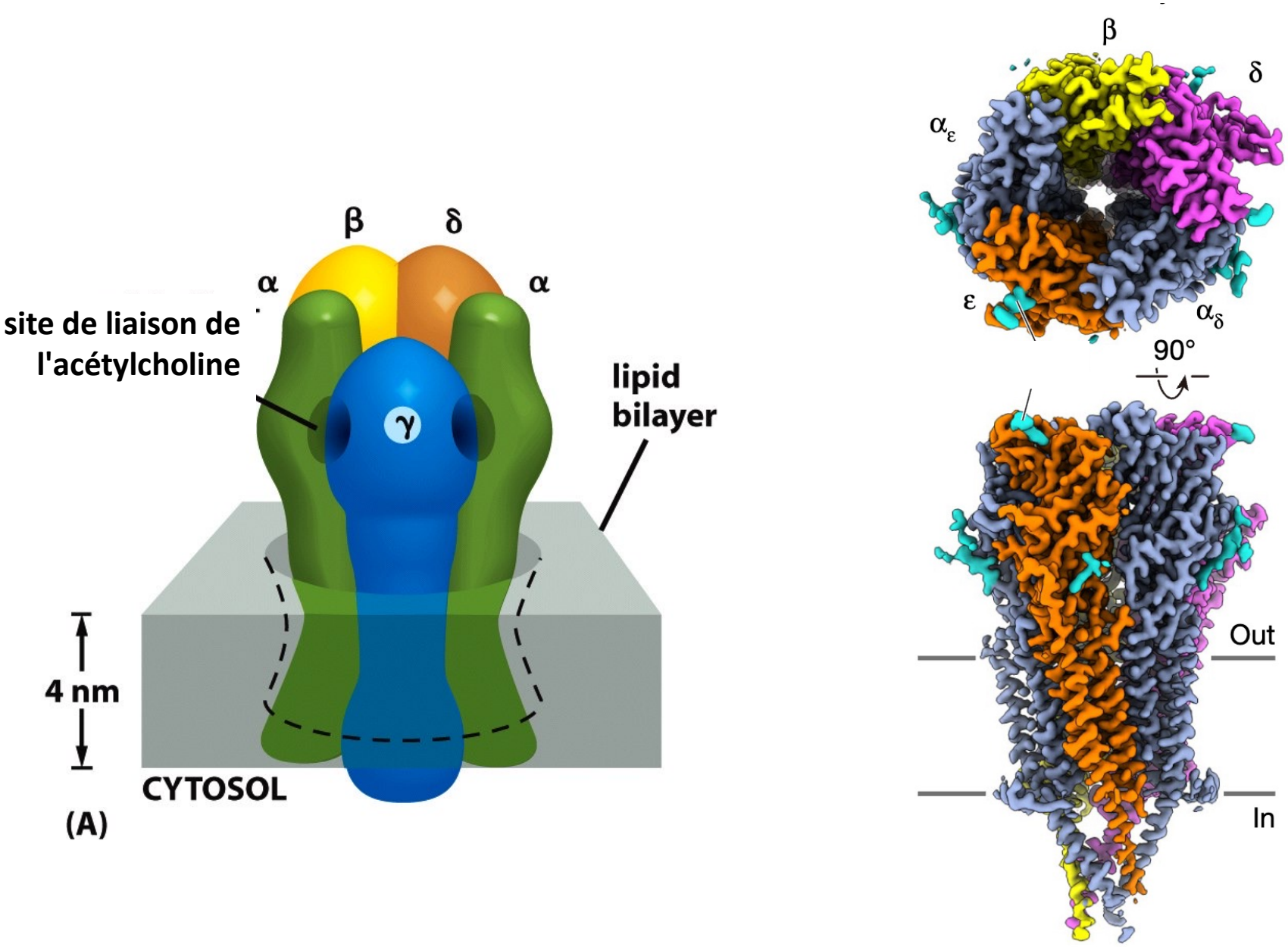
Récepteur = canal ionique membranaire
Ex: neurotransmission
Liaison de la molécule (neurotransmetteur)
→ changement de conformation
→ ouverture du canal : passage de l'ion selon gradient de concentration
(ion ↔ second messager)



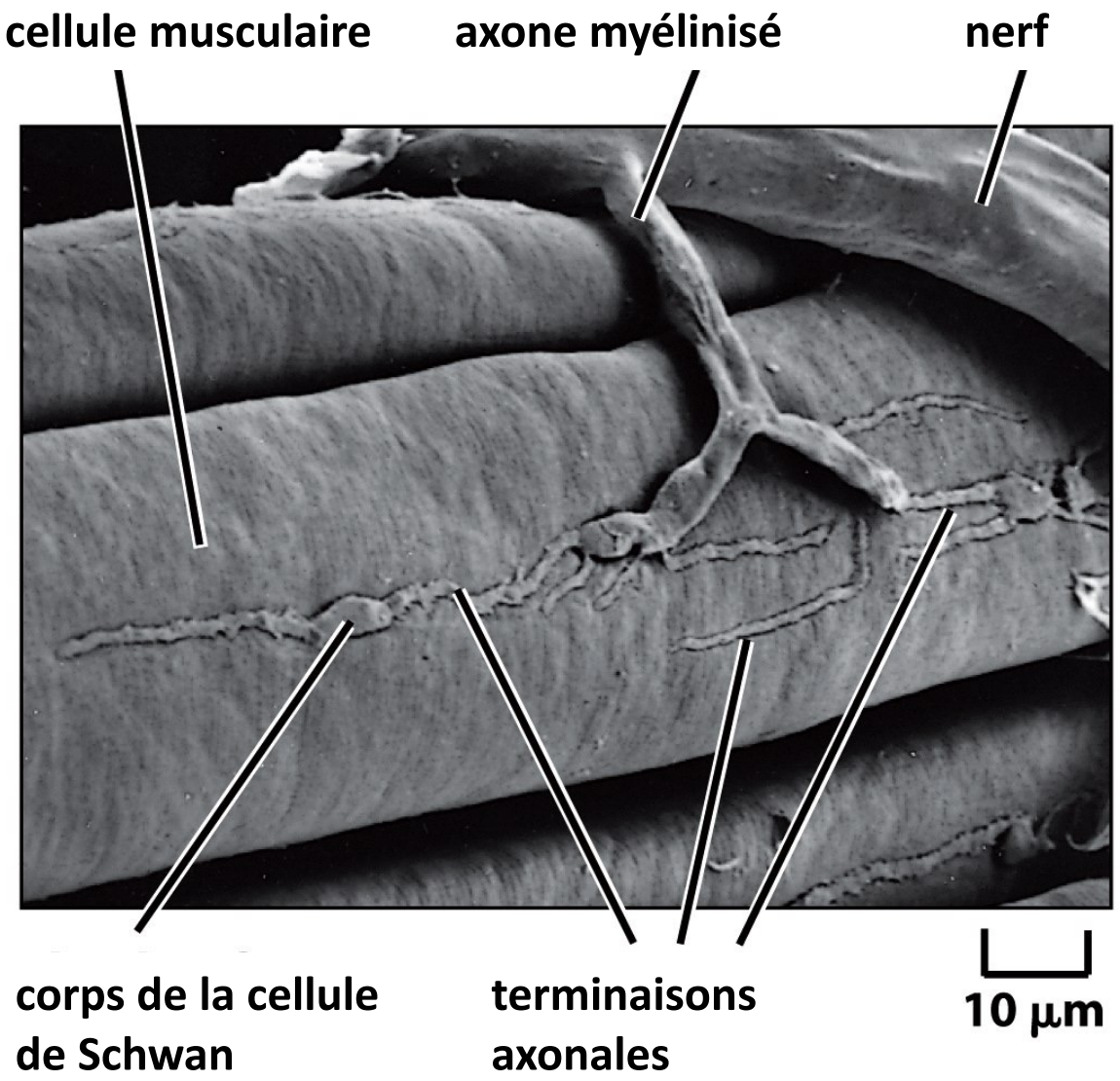
Trois classes de récepteurs à la surface de la cellule



Les vannes des canaux ioniques

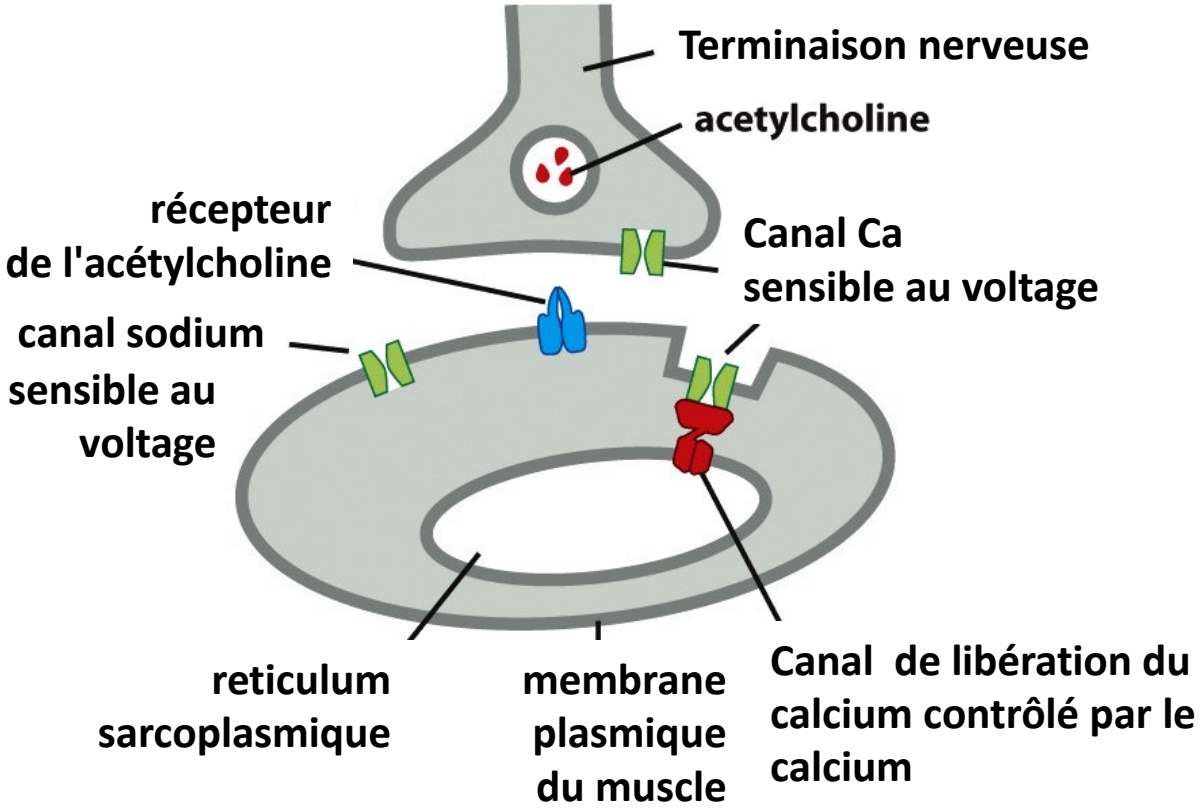


Modèle du récepteur nicotinique (ou ionotrope) de l'acétylcholine



Jonction neuromusculaire de grenouille en ME à balayage

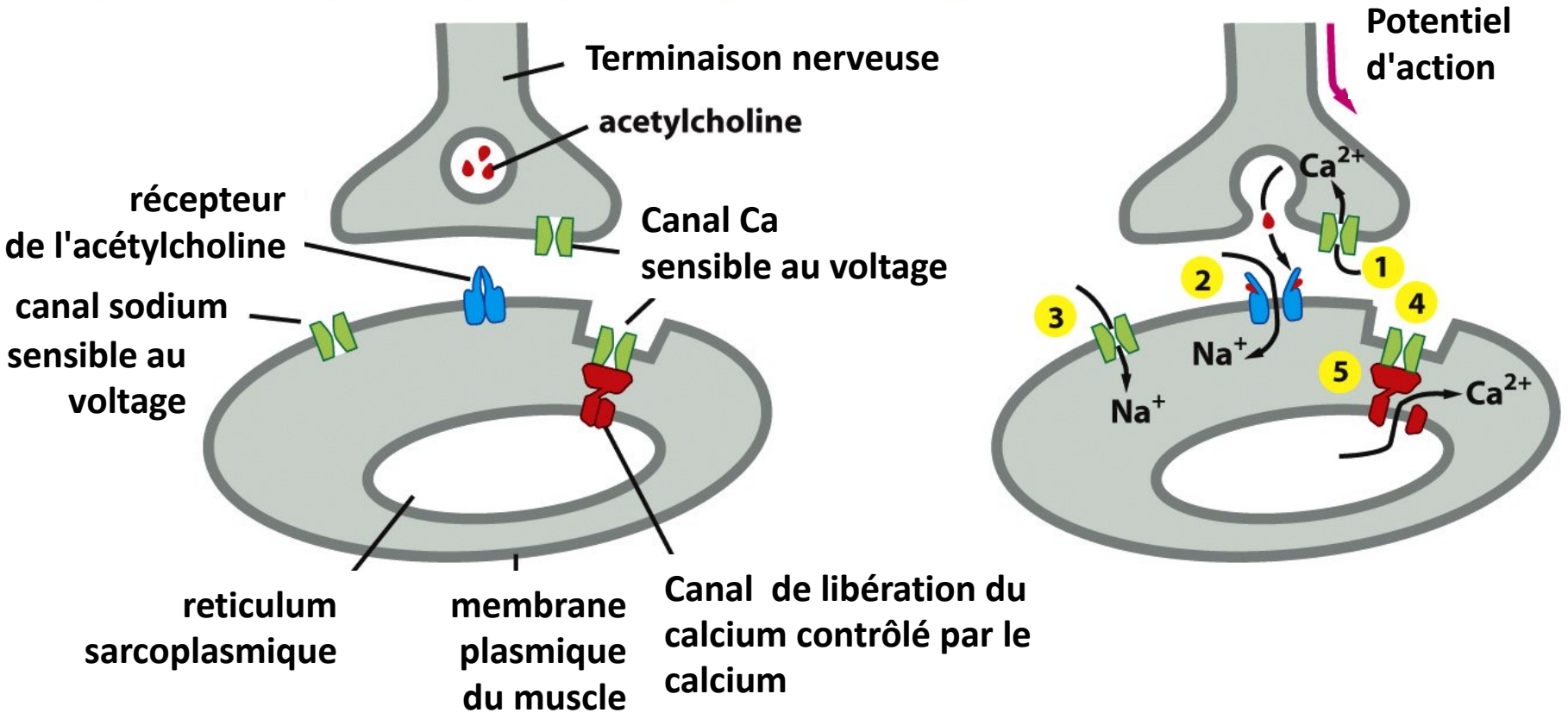
JONCTION NEUROMUSCULAIRE AU REPOS



Système des canaux ioniques d'une jonction neuromusculaire

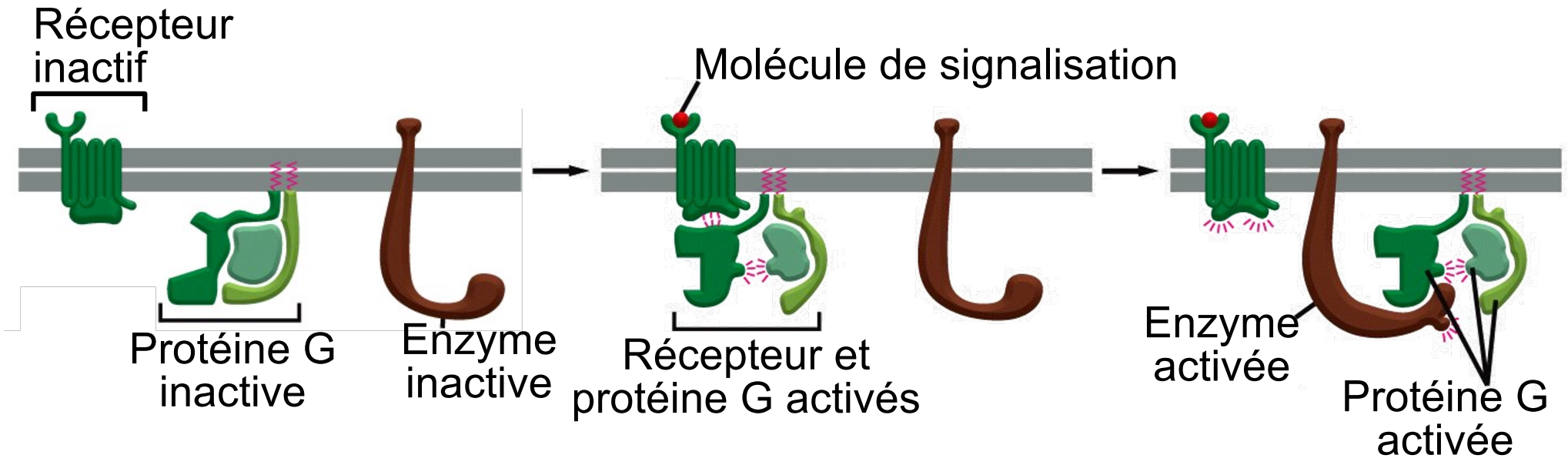
JONCTION NEUROMUSCULAIRE AU REPOS

JONCTION NEUROMUSCULAIRE ACTIVÉE

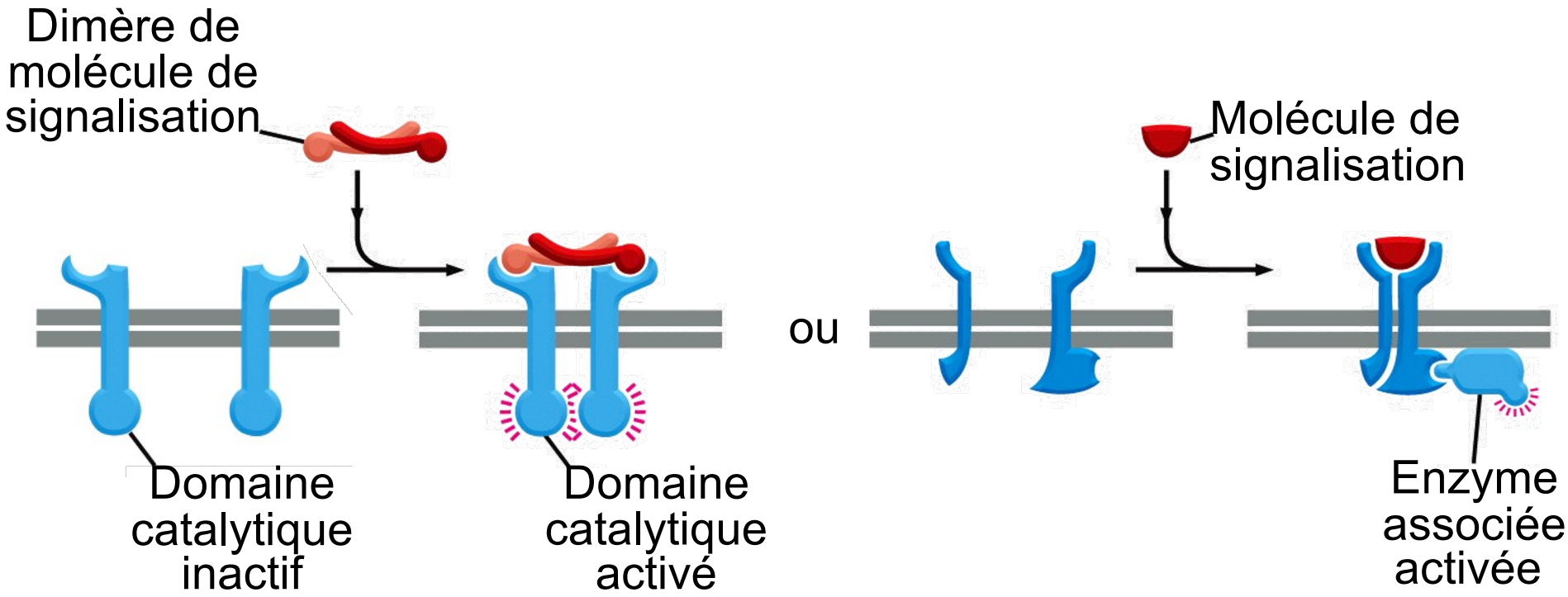


Système des canaux ioniques d'une jonction neuromusculaire

2-Récepteurs couplés aux protéines G



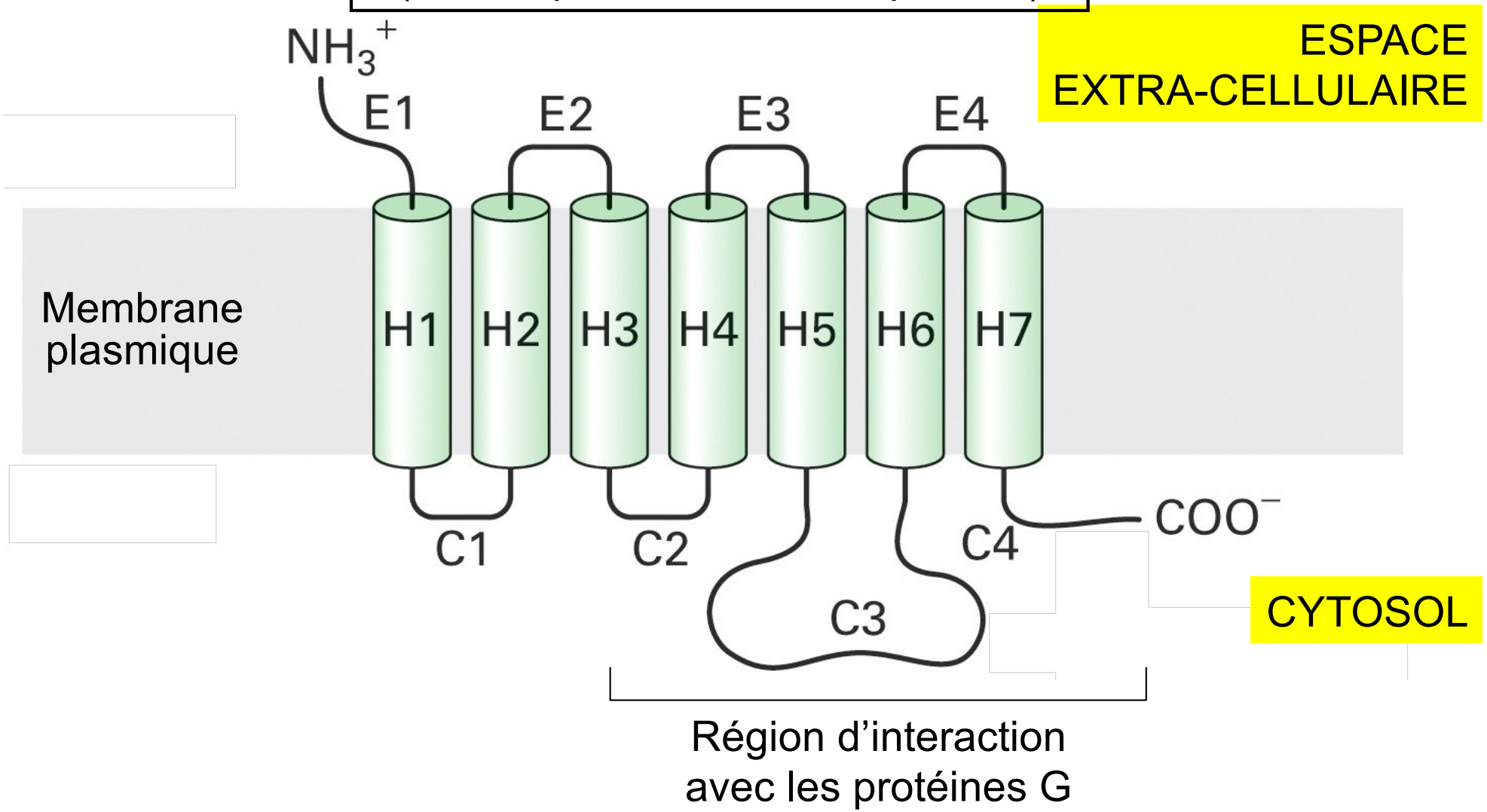
3-Récepteurs à activité catalytique ou liés à une enzyme



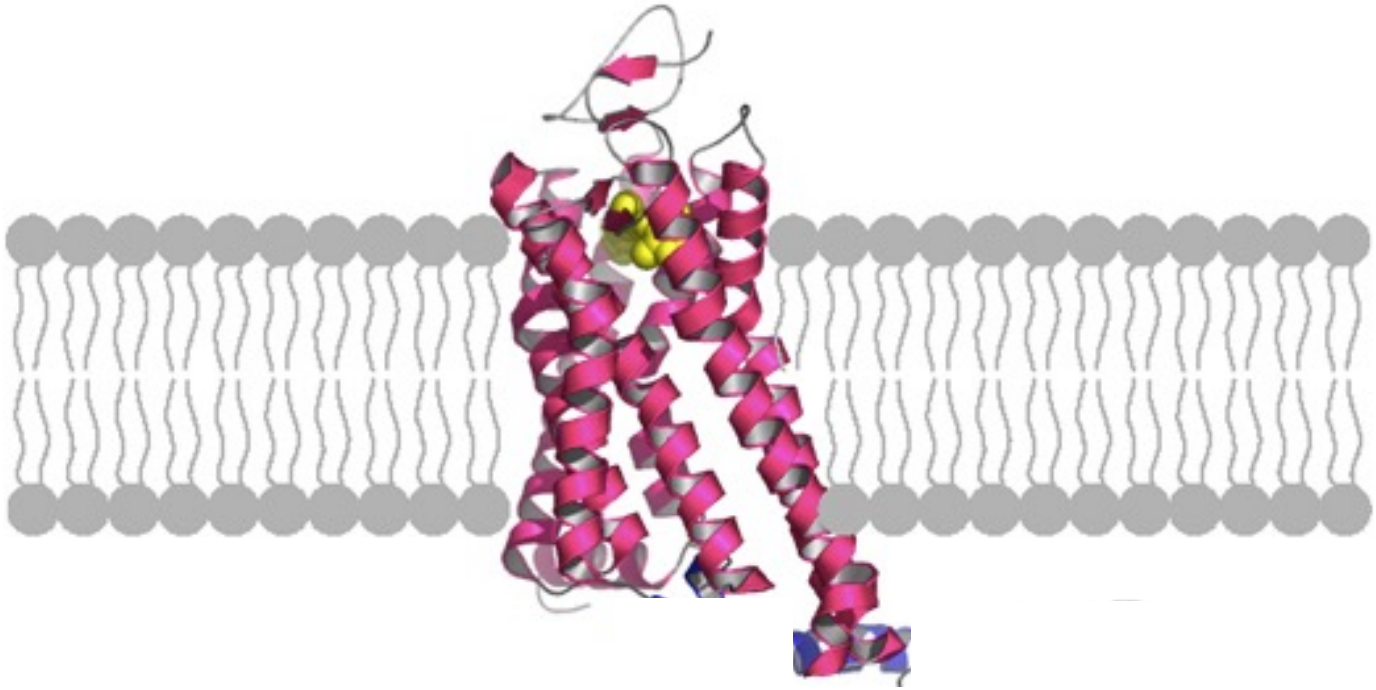
IV-SIGNALISATION VIA DES RÉCEPTEURS TRANSMEMBRANAIRES

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

GPCR = **G**-**p**rotein-**c**oupled **r**eceptor
(ou récepteur 7-TM ou serpentine)



Récepteur couplé aux protéines G



Récepteur couplé aux protéines G

Récepteurs couplés aux protéines G

Considérable diversité des ligands :

- -Hormones
- -Neuro-transmetteurs
- -Médiateurs chimiques à action locale

Considérable variété de structure de ces ligands:

- -Protéines
- -Petits peptides
- -Amino-acides
- -Dérivés d'acides gras

Plusieurs récepteurs pour un même ligand :

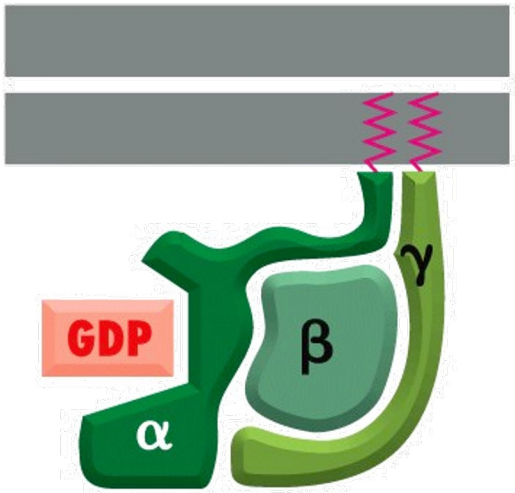
- -9 pour l'adrénaline
- -5 pour l'acétylcholine
- -15 pour la sérotonine
- -etc… …

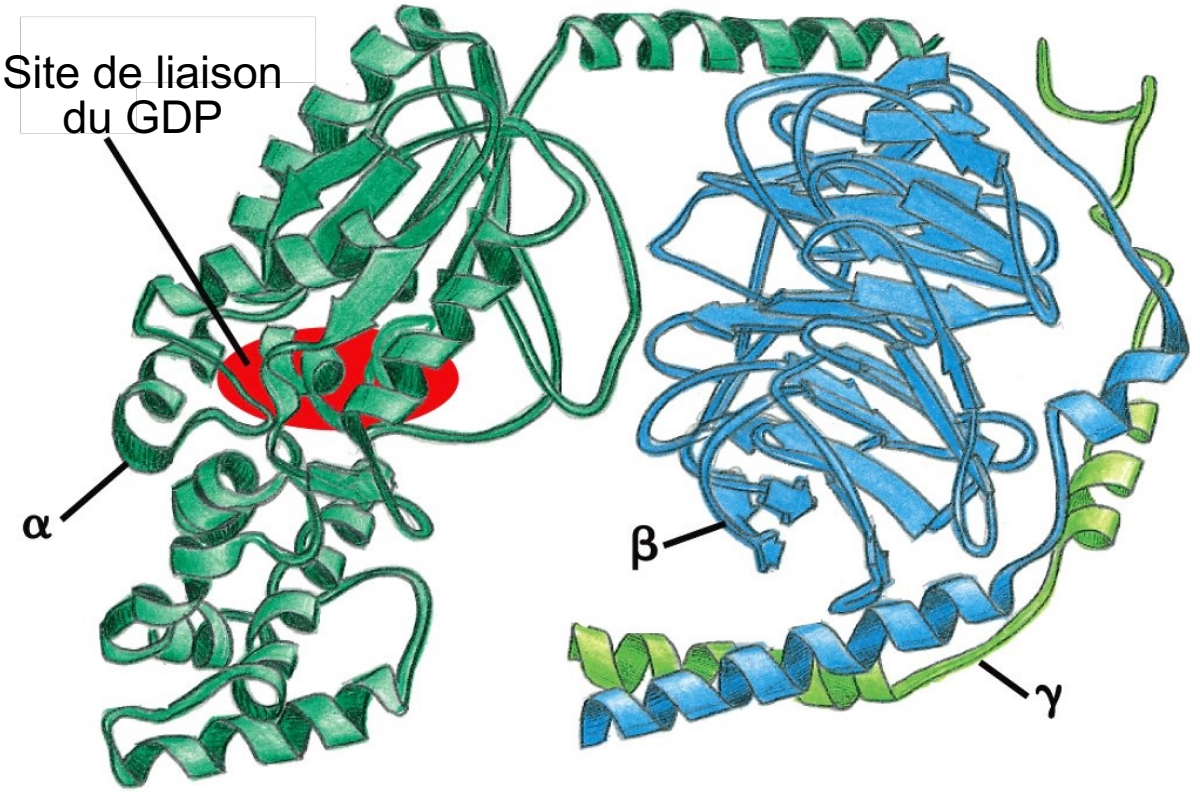
Conclusion : la plus grande famille de récepteurs (>700 chez l'homme)

Parfaitement stupide d'essayer de les mémoriser

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère





Protéine G : protéine trimérique de liaison au nucléotides guanine

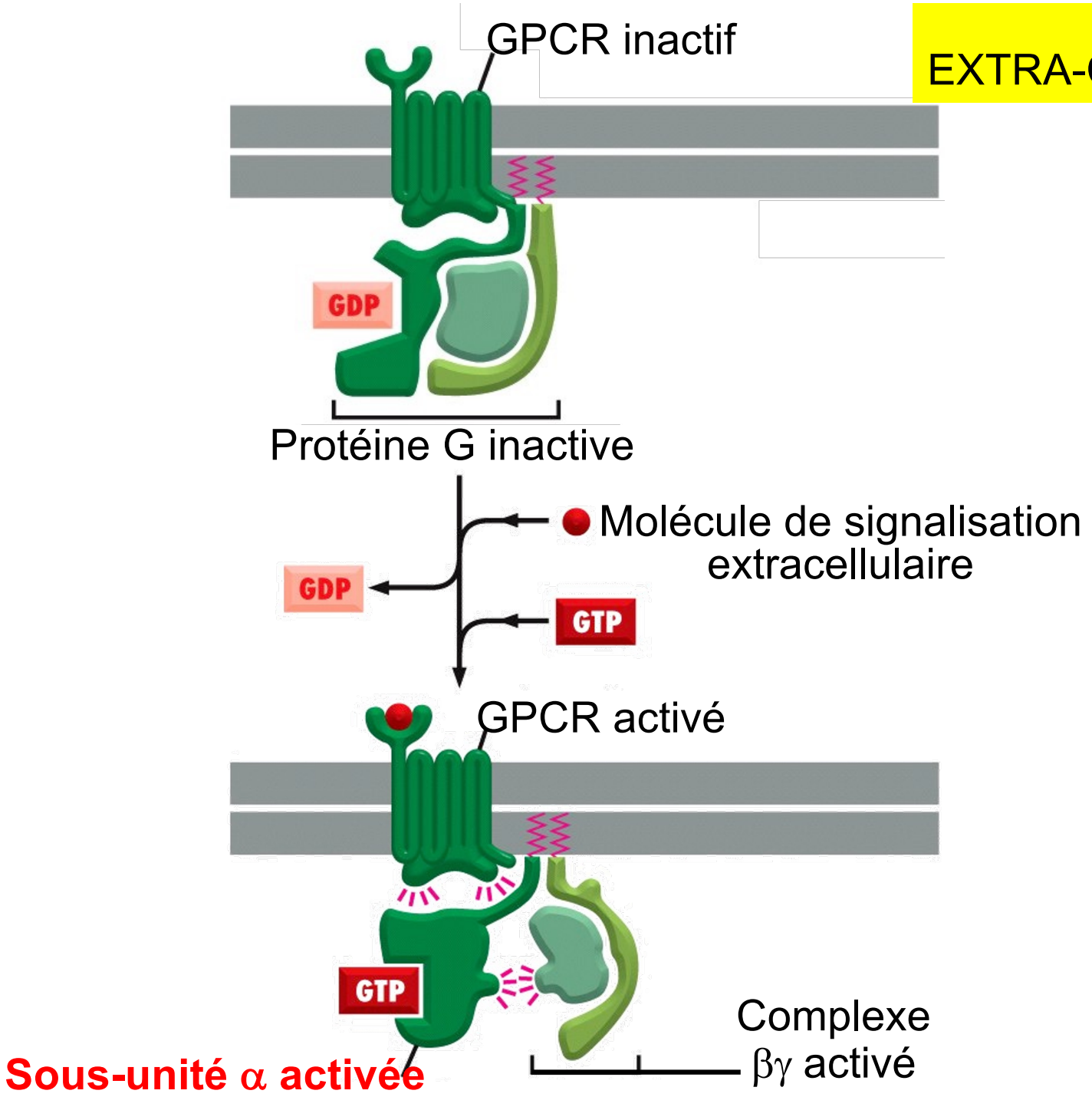
Sous-unité α : GTPase, capable d'hydrolyser le GTP en GDP

Structure d'une protéine G inactive sous forme de trimère

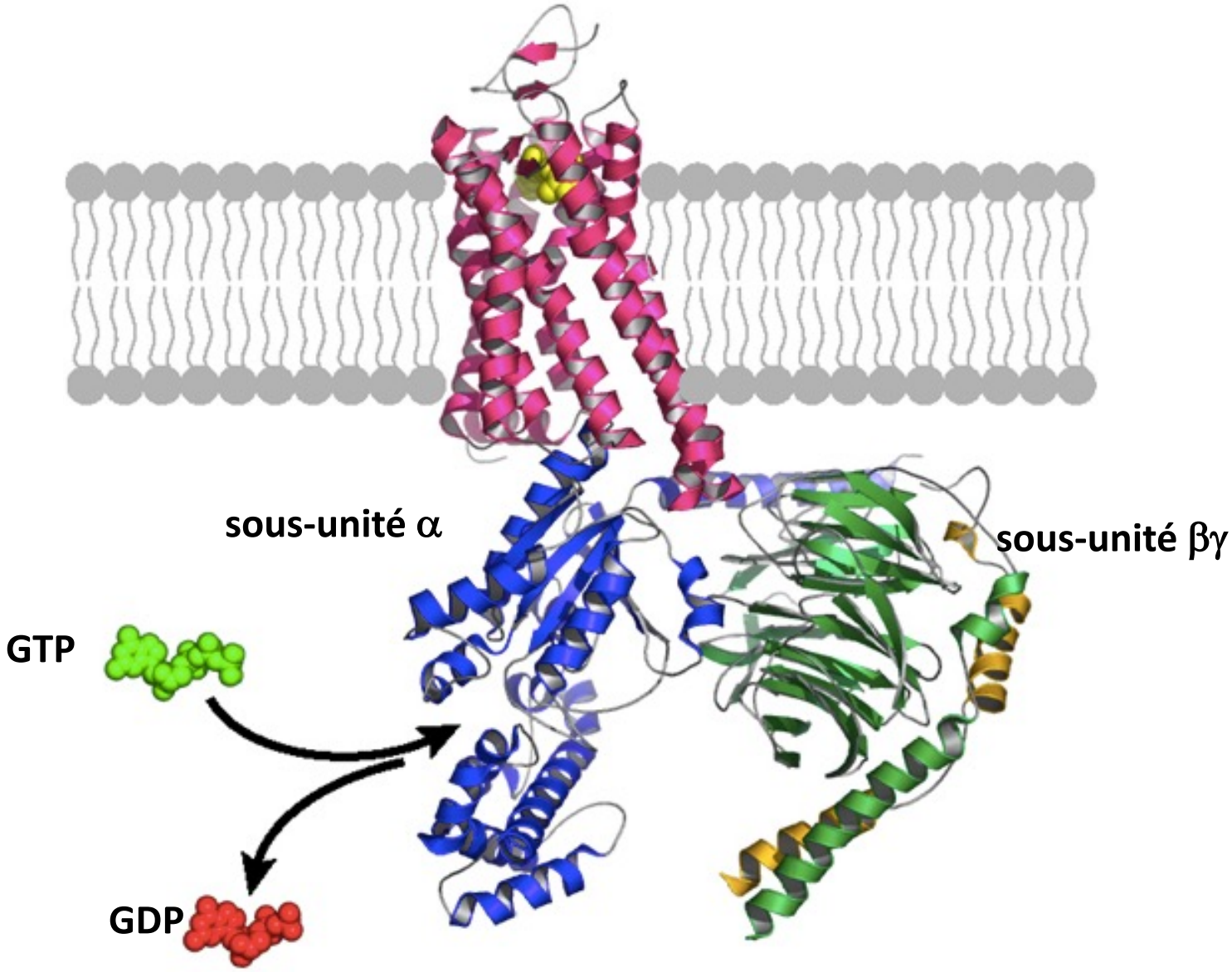
A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

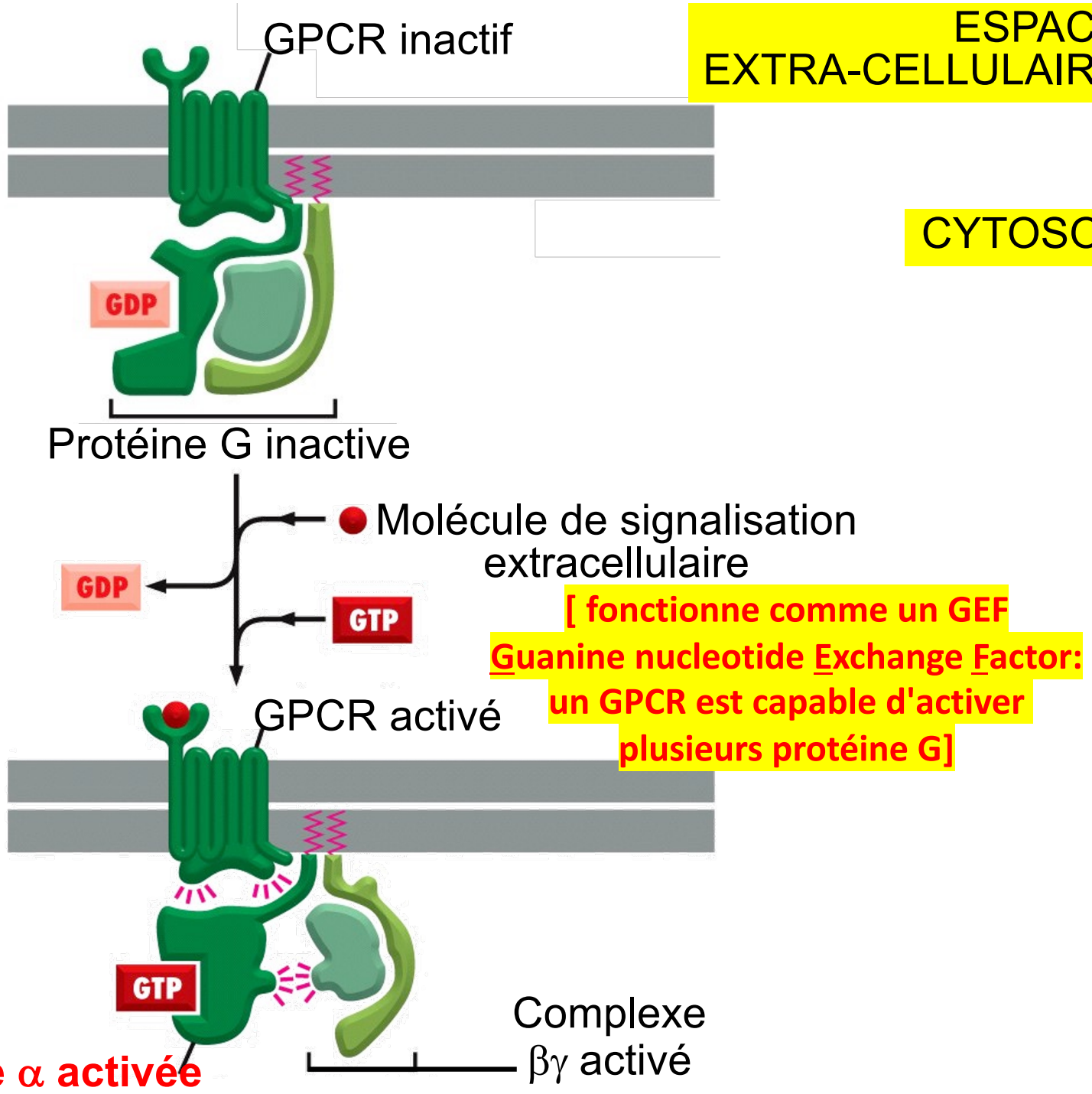
2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G



Activation d'une protéine G par un GPCR activé



Activation d'une protéine G par un GPCR activé



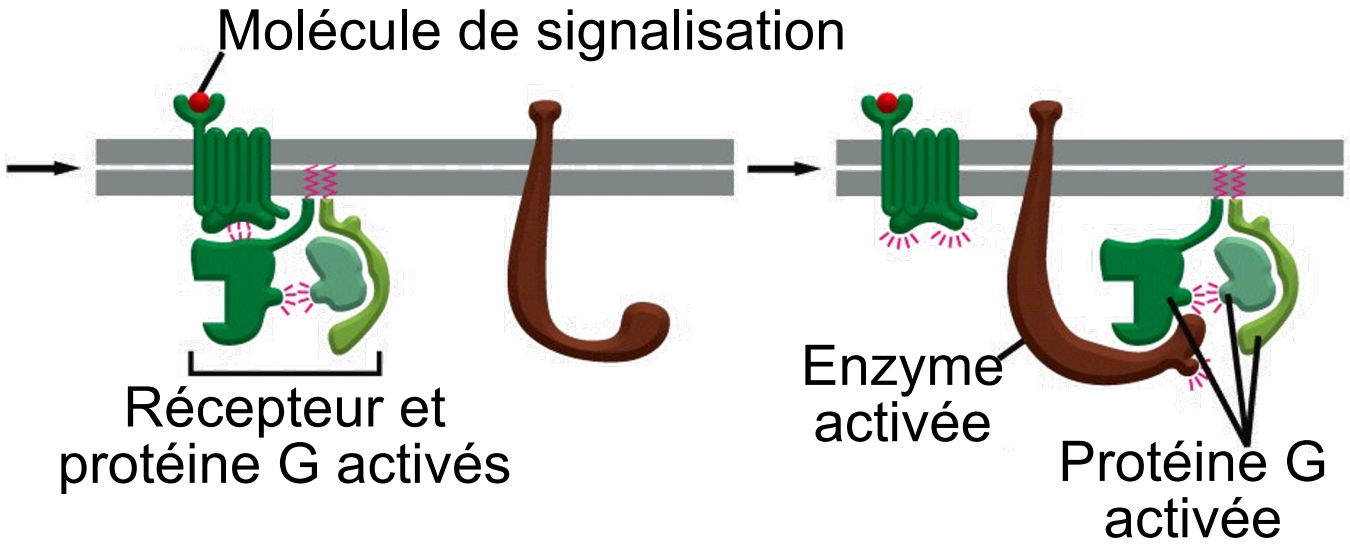
Activation d'une protéine G par un GPCR activé

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée



A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité a activée

-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

Hydrolyse du GTP grâce à l'intervention d'une « RGS » membre des « GAP »

RGS (« **R**egulator of **G** protein **S**ignaling »)

membre des GAP (« **G**TPase **A**ctivating **P**rotein »)

Environ 25 gènes différents de RGS dans le génome de l'être humain

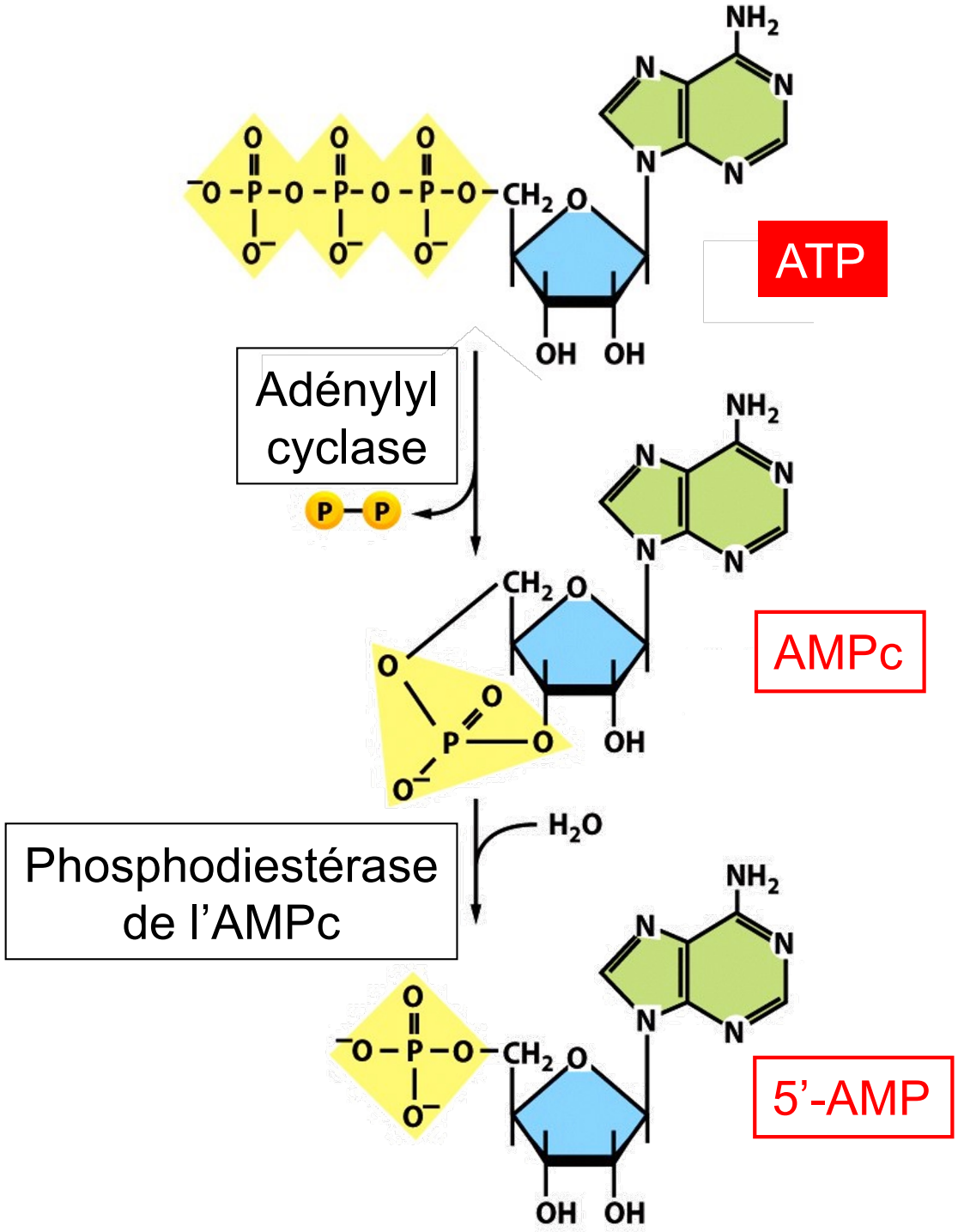
A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

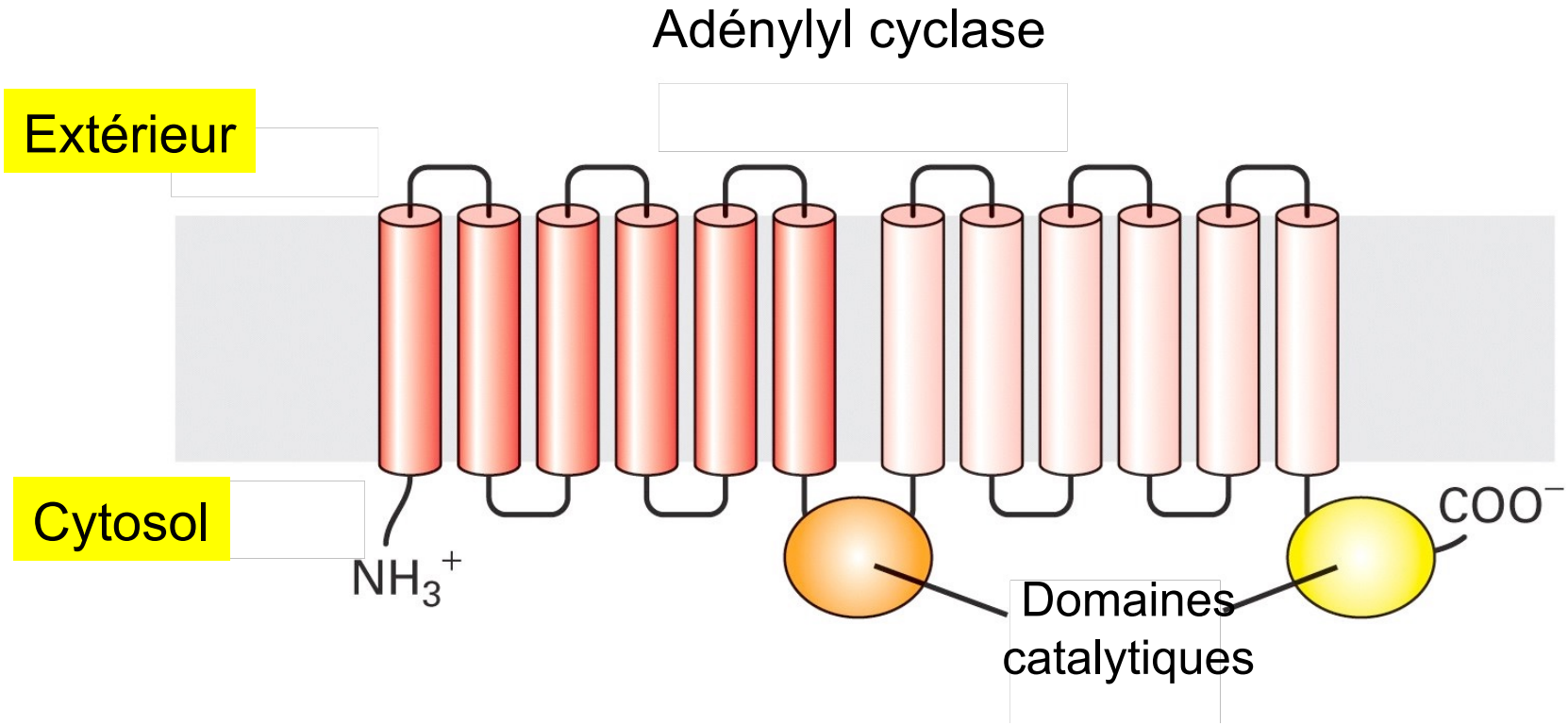
B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase



Synthèse et dégradation de l'AMPc

Adénylyl cyclase

Protéine plusieurs fois trans-membranaire au domaine catalytique dans le cytosol, dont il existe au moins 8 isoformes chez les mammifères et dont l'activité est régulée à la fois par les sous-unités α des protéines G sous forme de trimères et la concentration en ions Ca^{2+}.

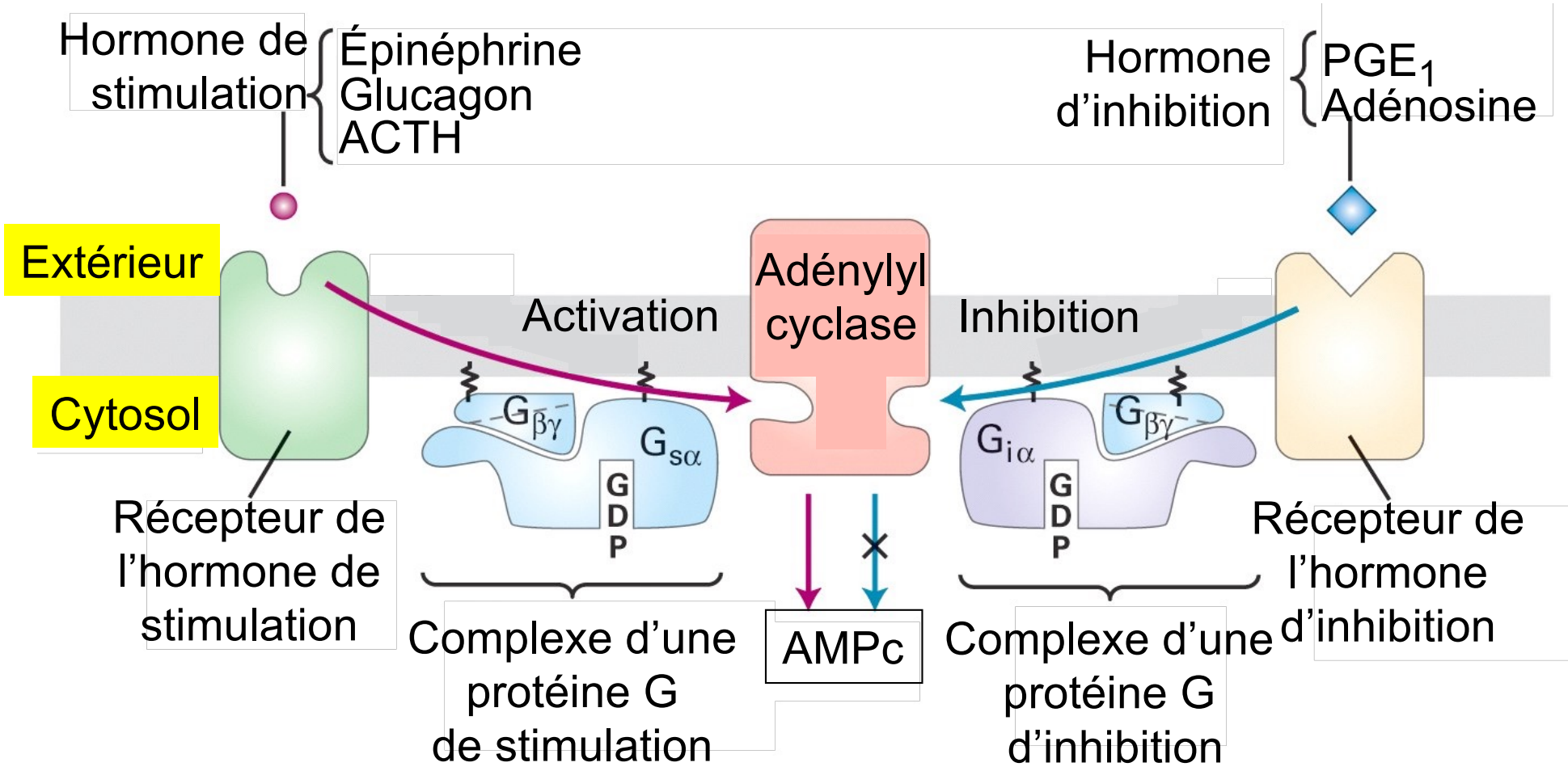


Structure schématique des adénylyl cyclases de mammifère

Protéines Gs de stimulation et Gi d’inhibition

Récepteurs β adrénergiques : activent l'adénylyl cyclase via une protéine Gs (αs)

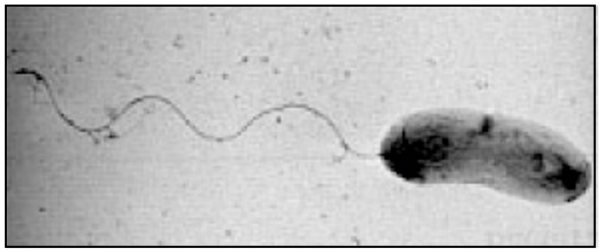
Récepteurs α2 adrénergiques : inhibent l'adénylyl cyclase via une protéine Gi (αi)



Activation et inhibition de l'adénylyl cyclase dans les adipocytes

Les protéines G euvent être la cible de toxines bactériennes

La **toxine du cholera** est une enzyme qui catalyse le transfert de l'ADP ribose sur la sous-unité αs de Gs à partir du NAD^+ intra-cellulaire. Ainsi modifiée, **αs ne peut plus hydrolyser le GTP et reste constamment activée.** L'élévation prolongée du taux d'AMPc dans les cellules de l'épithélium intestinal entraîne une fuite de Na^+ et d'eau, cause de la diarrhée sévère qui caractérise le choléra, conséquence d'une infection par le vibrion cholérique (identifié par Koch en 1883).



Vibrion cholérique *Vibrio choleræ*
agent causal du choléra responsable d'épidémies

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

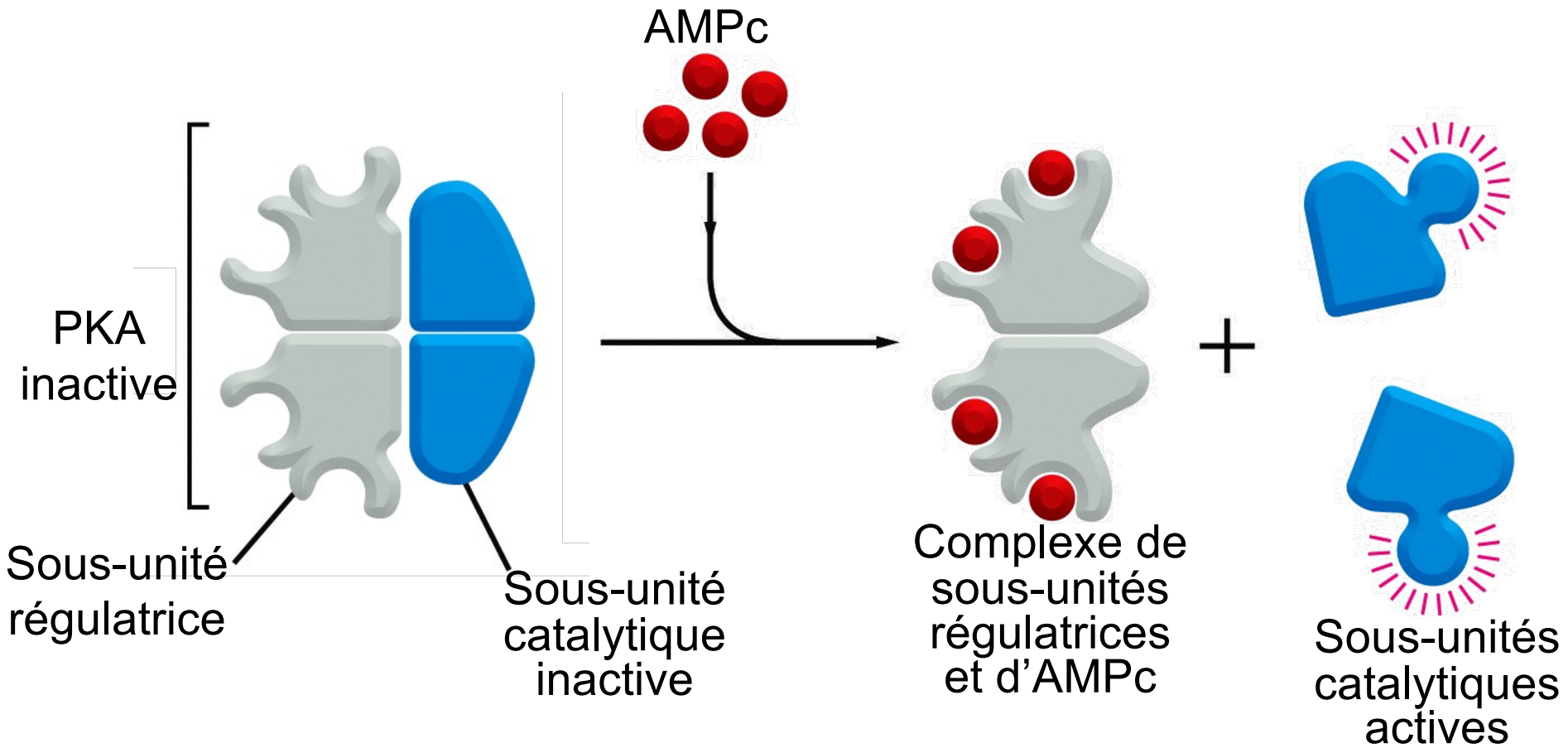
-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase

1-Synthèse et dégradation de l'AMPc

2-Protéines Gs de stimulation et Gi d'inhibition

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



Activation de la protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA)

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

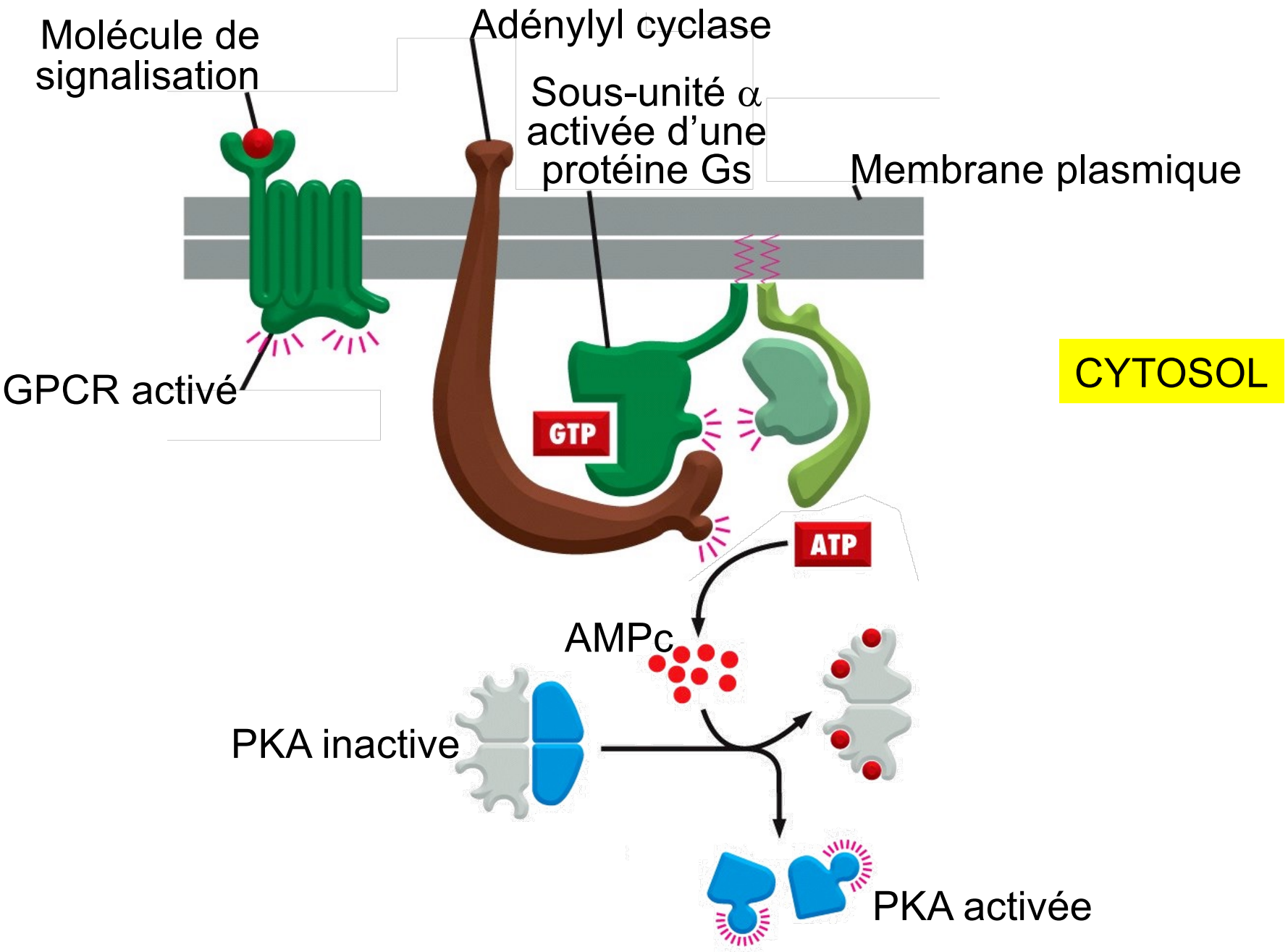
B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase

1-Synthèse et dégradation de l'AMPc

2-Protéines Gs de stimulation et Gi d'inhibition

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

-Effets immédiats de l'élévation de la concentration de l'AMPc



La PKA activée peut phosphoryler des résidus sérines et thréonines

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

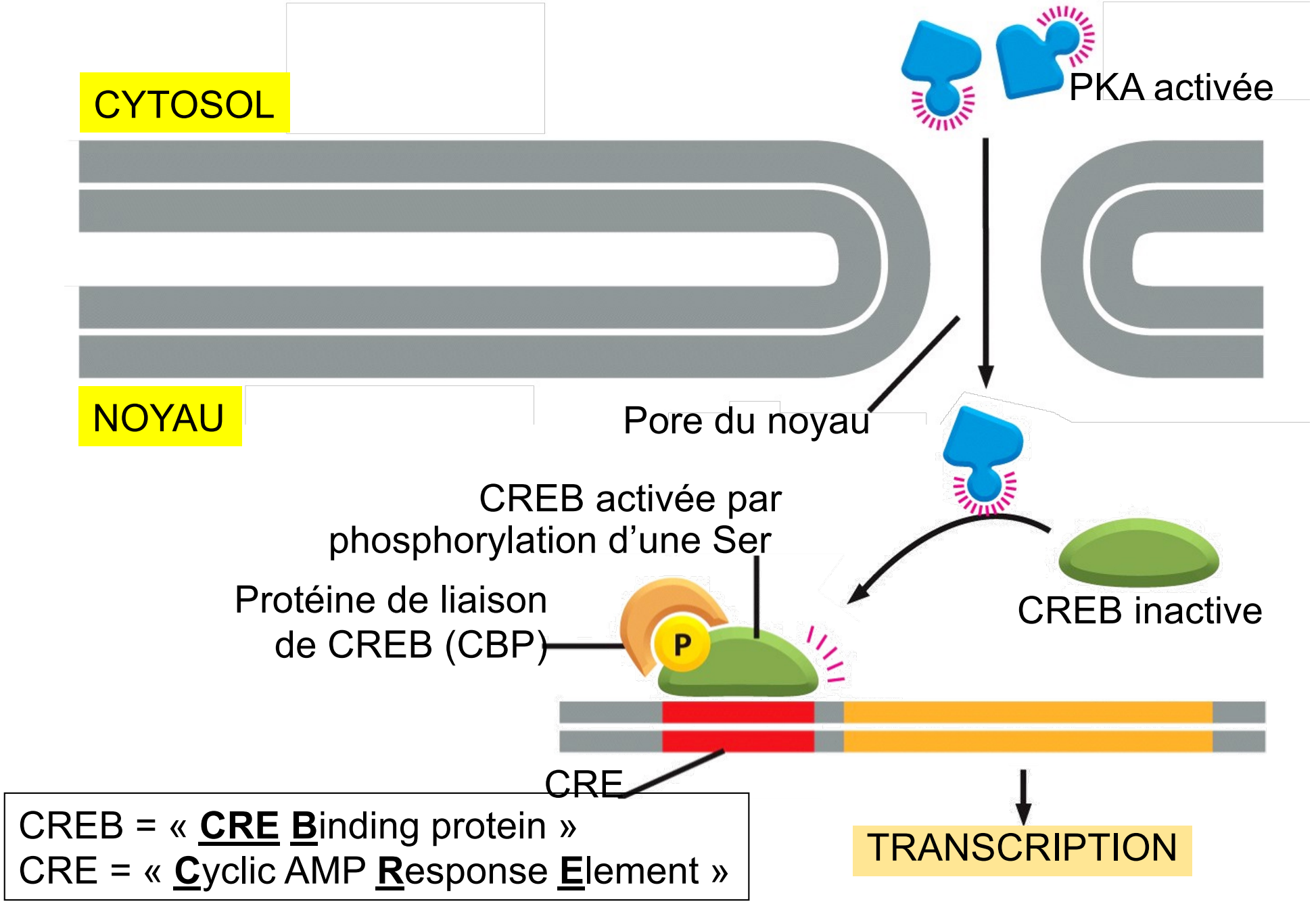
B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase

1-Synthèse et dégradation de l'AMPc

2-Protéines Gs de stimulation et Gi d'inhibition

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

-Effets immédiats de l'élévation de la concentration de l'AMPc
-Effets à plus long terme sur l'expression génique



CREB = « **CRE** **B**inding protein »
CRE = « **C**yclic AMP **R**esponse **E**lement »

Activation de la transcription génique à la suite de l'élévation de la concentration d'AMPc

Tissu cible	Hormone	Réponses principales
Glande thyroïde	TSH	Synthèse et sécrétion des hormones thyroïdiennes
Cortico-surrénale	ACTH	Sécrétion du cortisol
Ovaire	LH	Sécrétion de progestérone
Muscle	Adrénaline	Dégradation du glycogène
Os	Parathormone	Résorption de l'os
Cœur	Adrénaline	Augmentation du rythme cardiaque et de la force de contraction
Foie	Glucagon	Dégradation du glycogène
Rein	Vasopressine	Réabsorption de l'eau
Adipocytes	Adrénaline, ACTH, Glucagon	Dégradation des triglycérides

Réponse de quelques cellules dans lesquelles les récepteurs couplés aux protéines G activent la production de l'AMPc

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase

1-Synthèse et dégradation de l'AMPc

2-Protéines Gs de stimulation et Gi d'inhibition

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

-Effets immédiats de l'élévation de la concentration de l'AMPc
-Effets à plus long terme sur l'expression génique

C-Voie d'activation des inositol-phospholipides via une phospholipase C-β

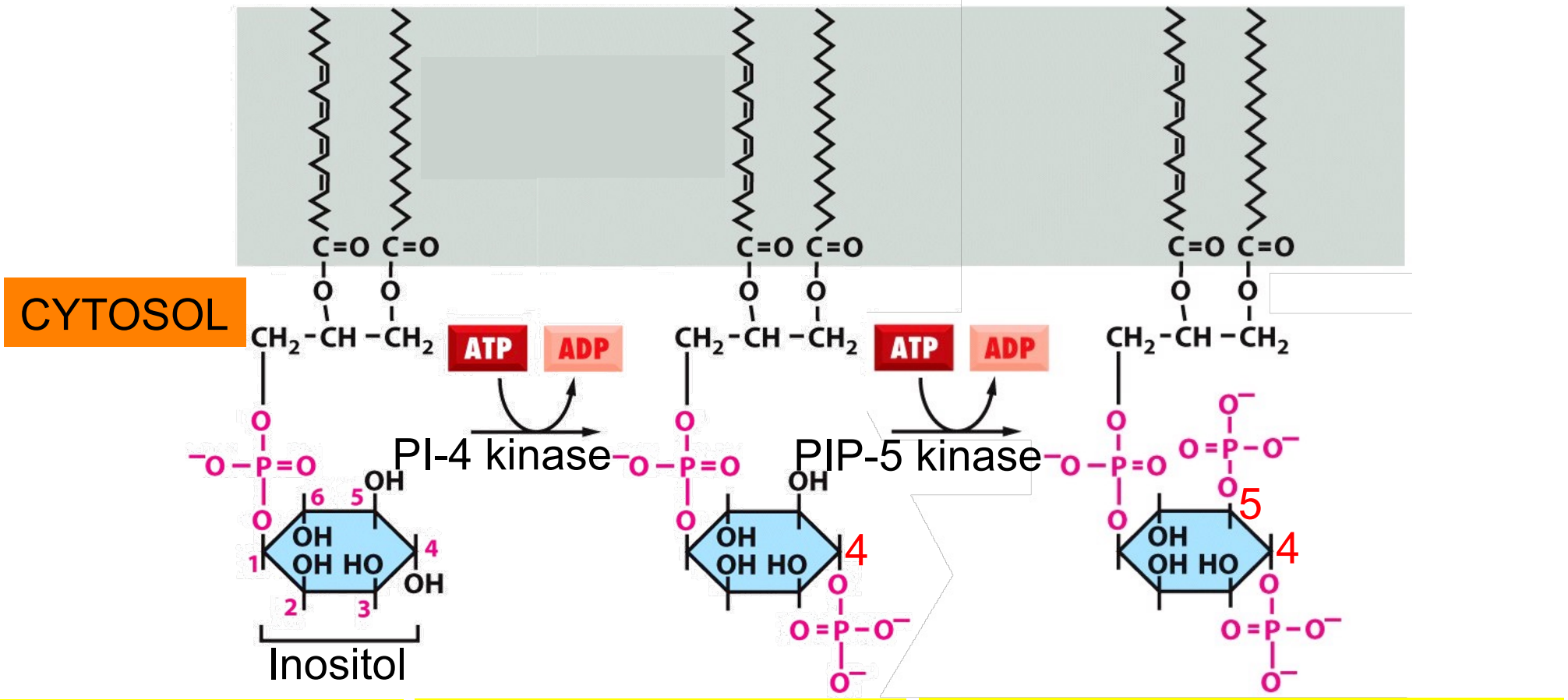
Les protéines Gq activent la PLC

(Phospholipase C-β)

Tissu cible	Molécule de signalisation	Réponse principale
Foie	Vasopressine	Dégradation du glycogène
Plaquettes	Thrombine	Agrégation des plaquettes
Pancréas	Acétylcholine	Sécrétion d'amylase
Muscle lisse	Acétylcholine	Contraction du muscle

Réponse de quelques cellules dans lesquelles les récepteurs couplés aux protéines G activent la voie des inositol-phospholipides

Chaînes d'acides gras de la mono-couche lipidique externe de la membrane plasmique



Synthèse du PI 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P2] à partir du phosphatidylinositol

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

1-Structure et localisation des protéines G sous forme de trimère

2-Relais de la signalisation du GPCR activé par le trimère de protéines G

-Activation des protéines cibles par la sous-unité α activée
-Hydrolyse du GTP et inactivation du trimère de protéines G

B-Production de l'AMPc par régulation de l'activité de l'adénylyl cyclase

1-Synthèse et dégradation de l'AMPc

2-Protéines Gs de stimulation et Gi d'inhibition

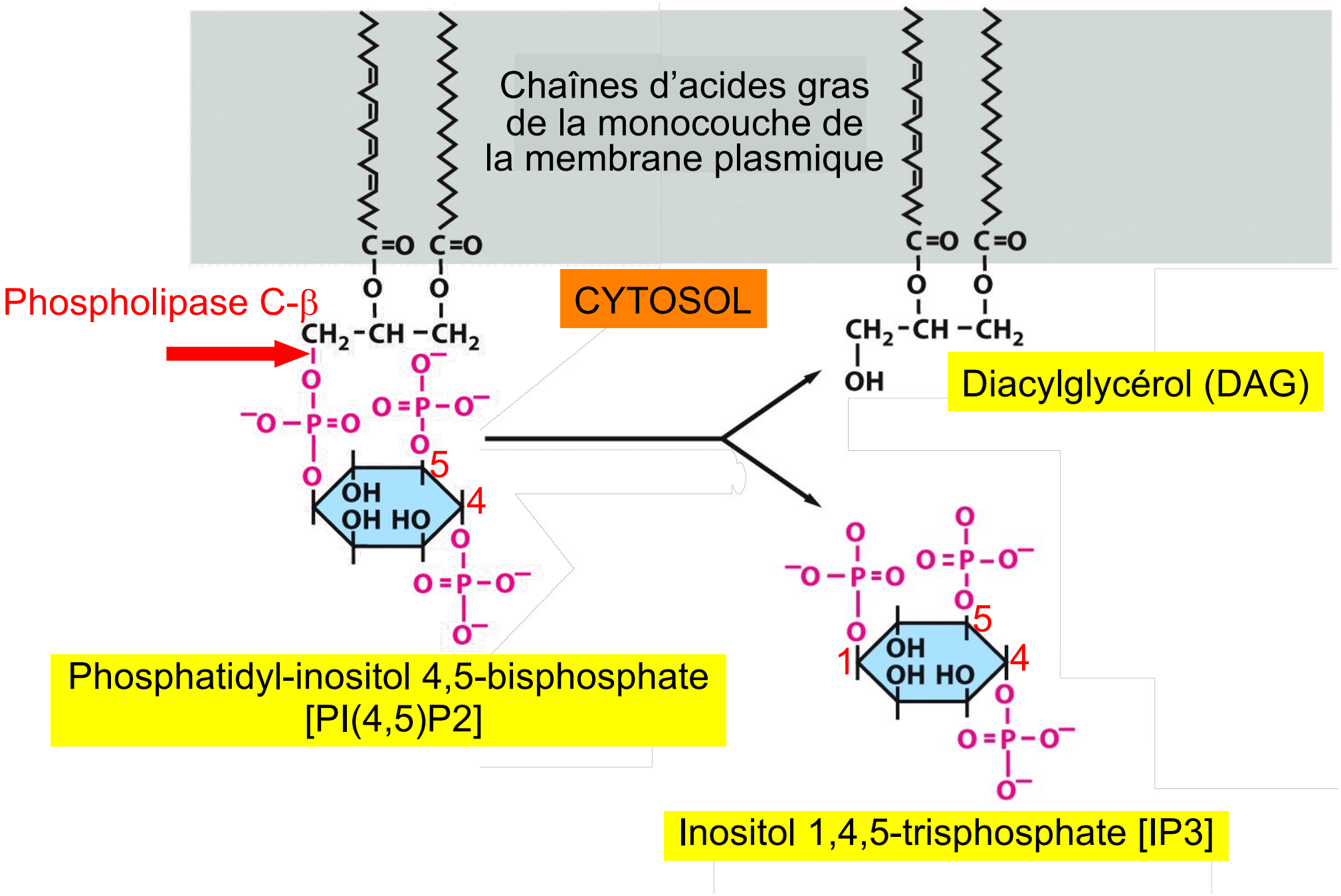
3-Activation de la protéine kinase A (PKA) par l'AMPc

-Effets immédiats de l'élévation de la concentration de l'AMPc
-Effets à plus long terme sur l'expression génique

C-Voie d'activation des inositol-phospholipides via une phospholipase C-β

1-Origine des inositol-phospholipides

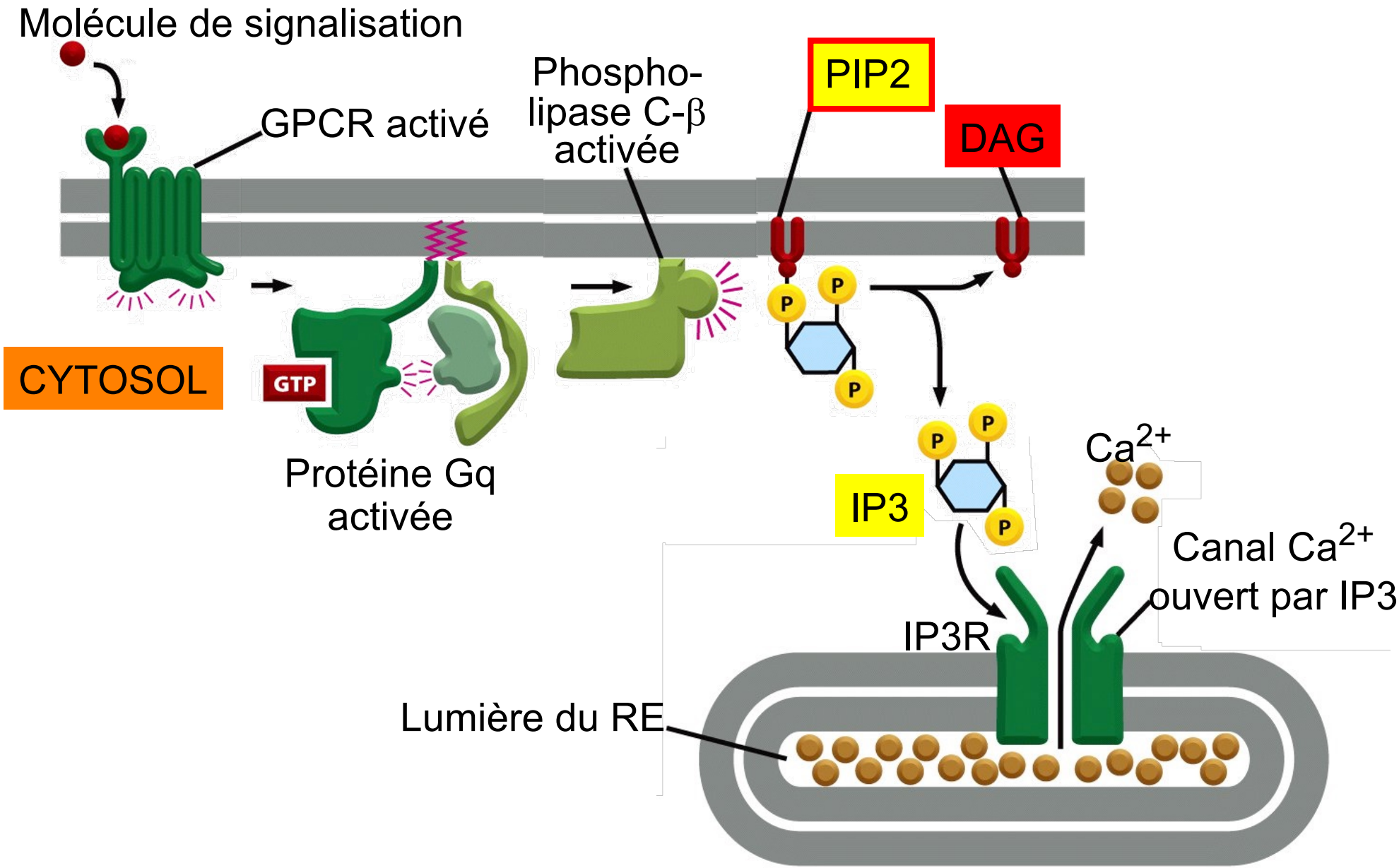
2-Activation de la phospholipase C-β par des protéines Gq



Hydrolyse du PIP2 en IP3 + DAG par la phospholipase C-β

3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3



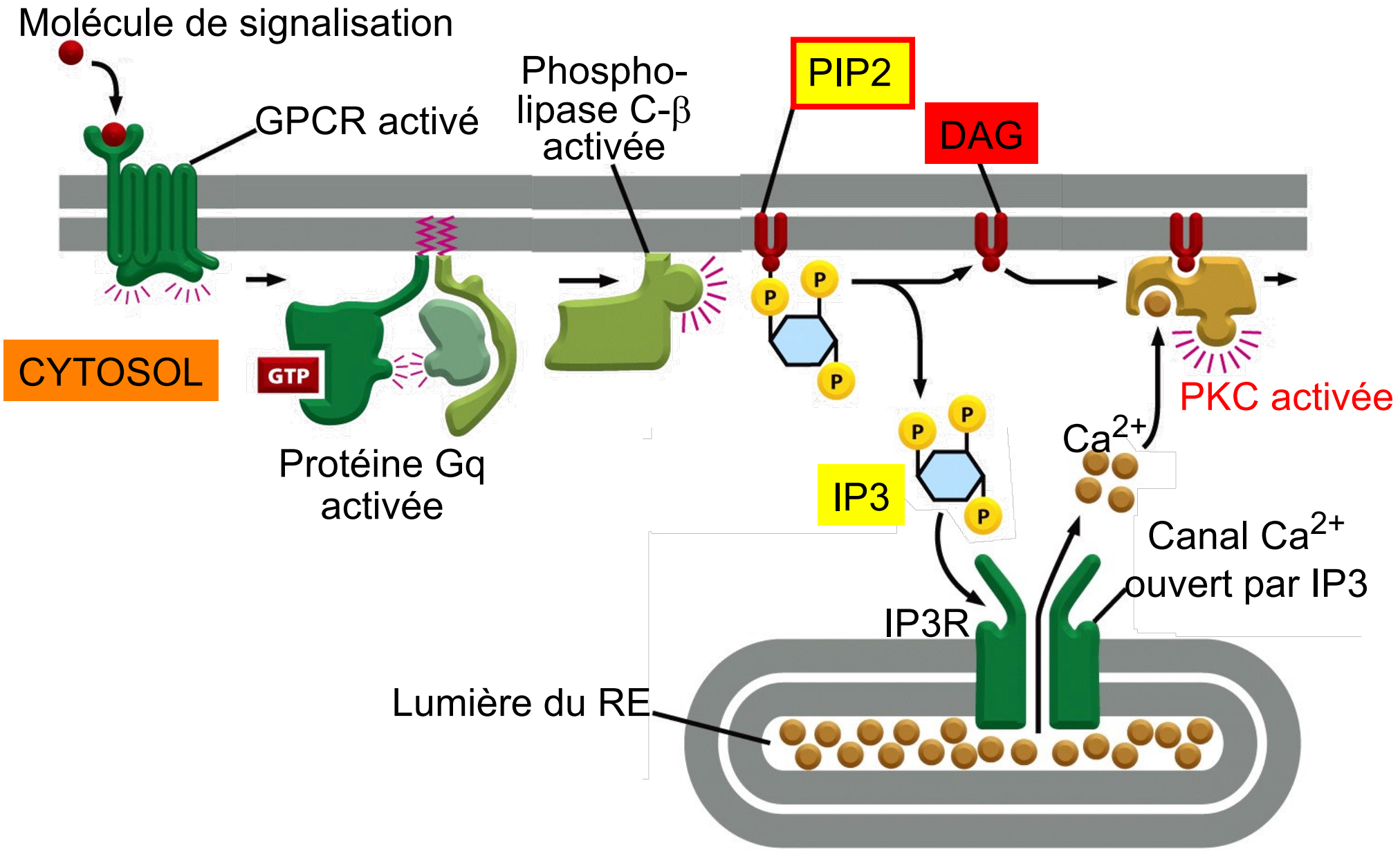
L'IP3 provoque la libération de calcium à partir du RE

3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3

-Activation de la PKC par le DAG et le Ca^{2+}

PKC = « Protéine kinase C »



Activation de la PKC par le DAG et le Ca^{2+}

3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3
-Activation de la PKC par le DAG et Ca^{2+}

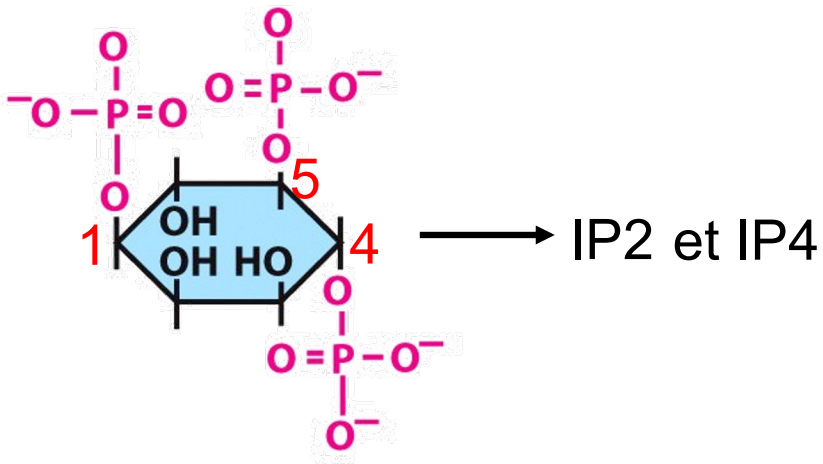
4-Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

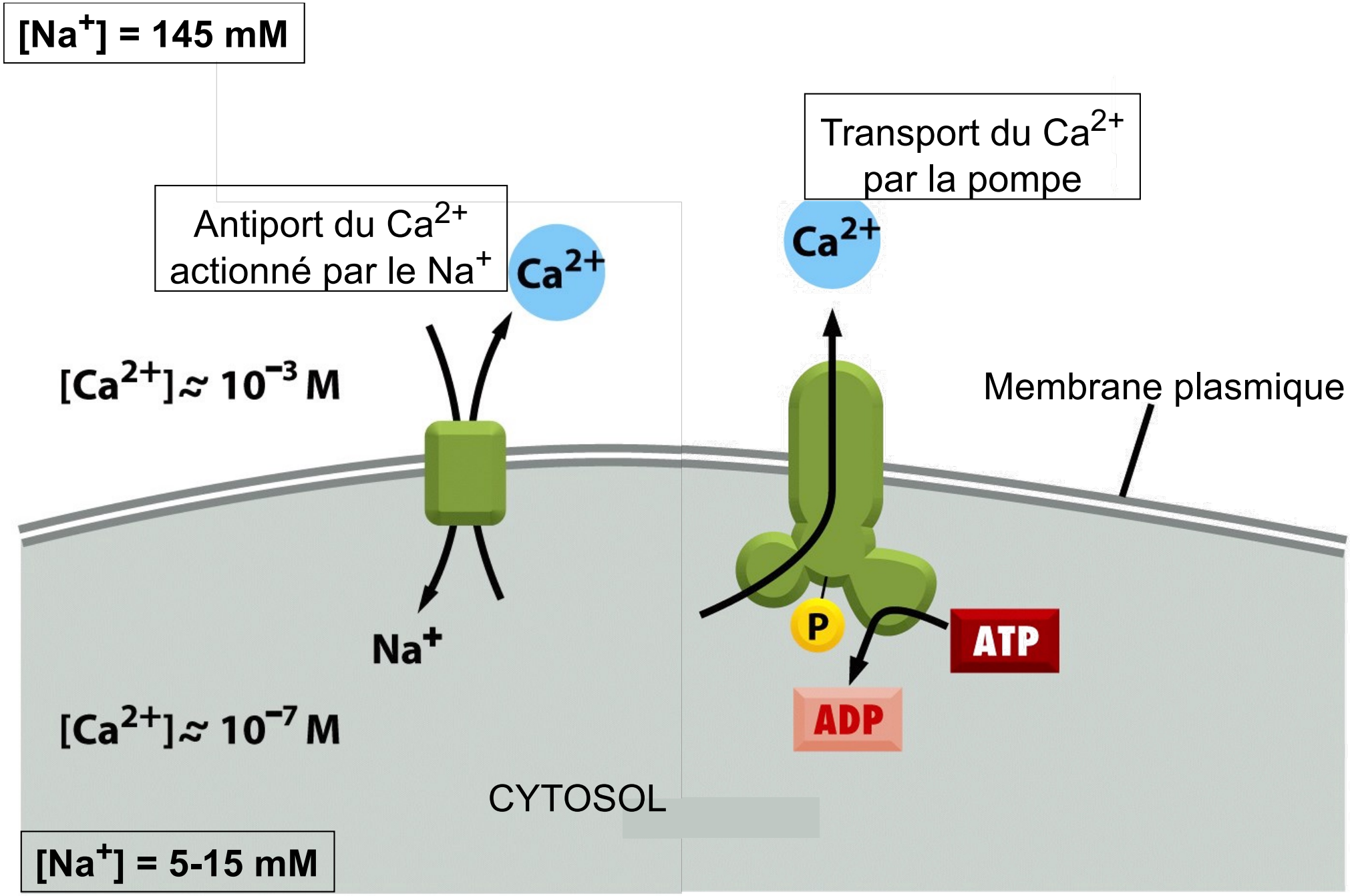
1-Déphosphorylation rapide de IP3 par des phosphatases pour former IP2

2-Phosphorylation de IP3 en IP4

3-Pompage du Ca^{2+}, principalement à l'extérieur de la cellule mais aussi à l'intérieur de compartiments spécialisés



Inositol 1,4,5-tris phosphate ou IP3

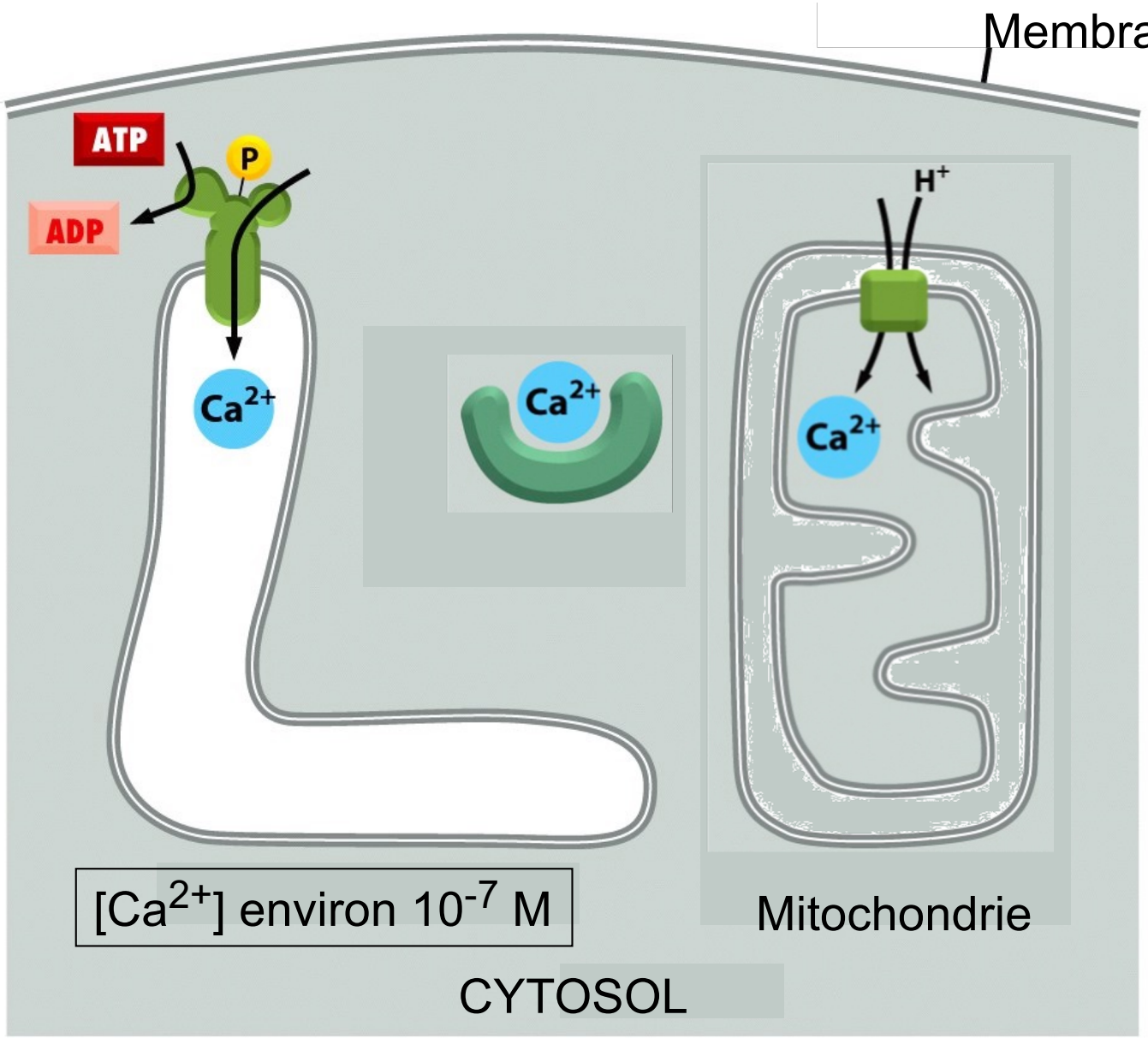


Pompage du calcium à l'extérieur de la cellule

Pompe à Ca^{2+} dans la membrane du RE

Molécule qui lie le Ca^{2+} libre dans le cytoplasme

Transport actif du Ca^{2+} dans la mitochondrie



Gradient électrochimique engendré au cours de la phosphorylation oxydative

Pompage du calcium à l'intérieur de la cellule

3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3
-Activation de la PKC par le DAG et Ca^{2+}

4-Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

5-Élévation de la [Ca^{2+}] relayée par des CaM-kinases intracellulaires

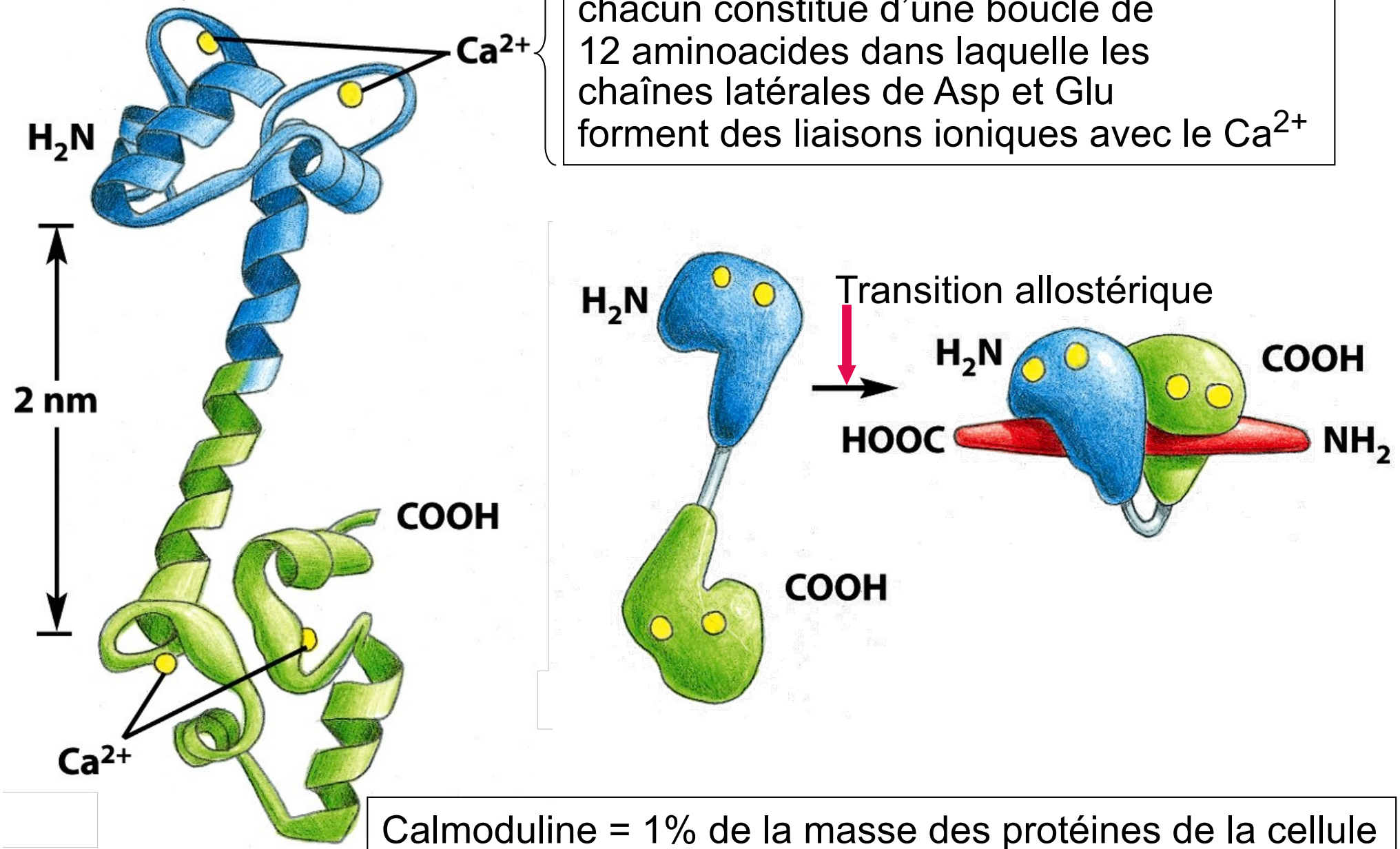
3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3
-Activation de la PKC par le DAG et Ca^{2+}

4-Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

5-Élévation de la [Ca^{2+}] relayée par des CaM-kinases intracellulaires

-Calmoduline protéine de liaison du Ca^{2+}



Structure et changement de conformation de la Ca^{2+}/calmoduline d'après les données de diffraction des rayons X et de RMN

3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3
-Activation de la PKC par le DAG et Ca^{2+}

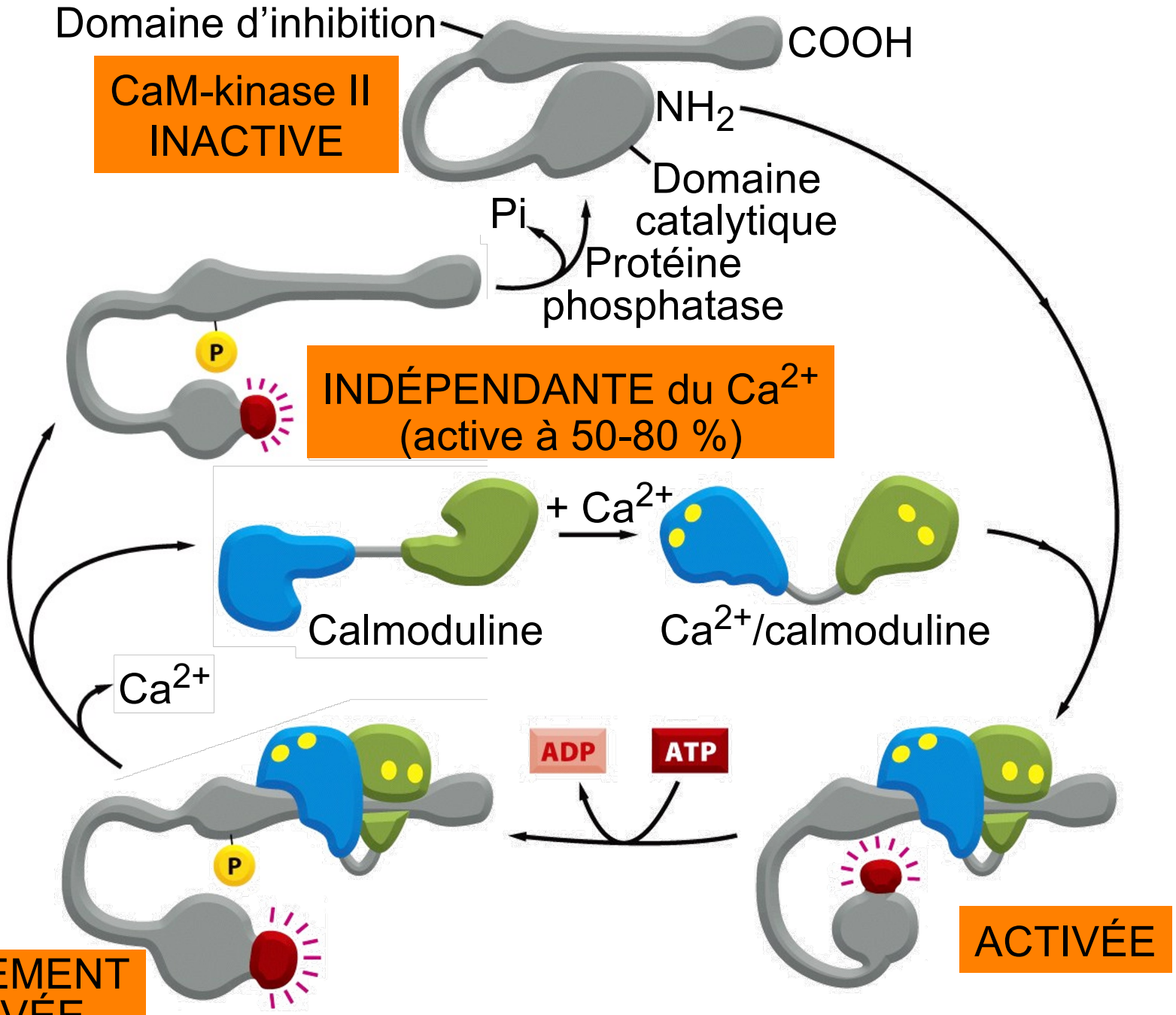
4-Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

5-Élévation de la [Ca^{2+}] relayée par des CaM-kinases intracellulaires

-Calmoduline protéine de liaison du Ca^{2+}
-Activation de la CaM-kinase II par la Ca^{2+}/calmoduline

CaM-kinase = « Ca^{2+}/calmoduline dependent protein kinase »

Protéine-kinase dépendante du Ca^{2+} et de la calmoduline



Activation de la CaM-kinase II
(complexe formé de 12 sous-unités
qui représentent jusqu'à 2% de la masse de certaines cellules du cerveau)

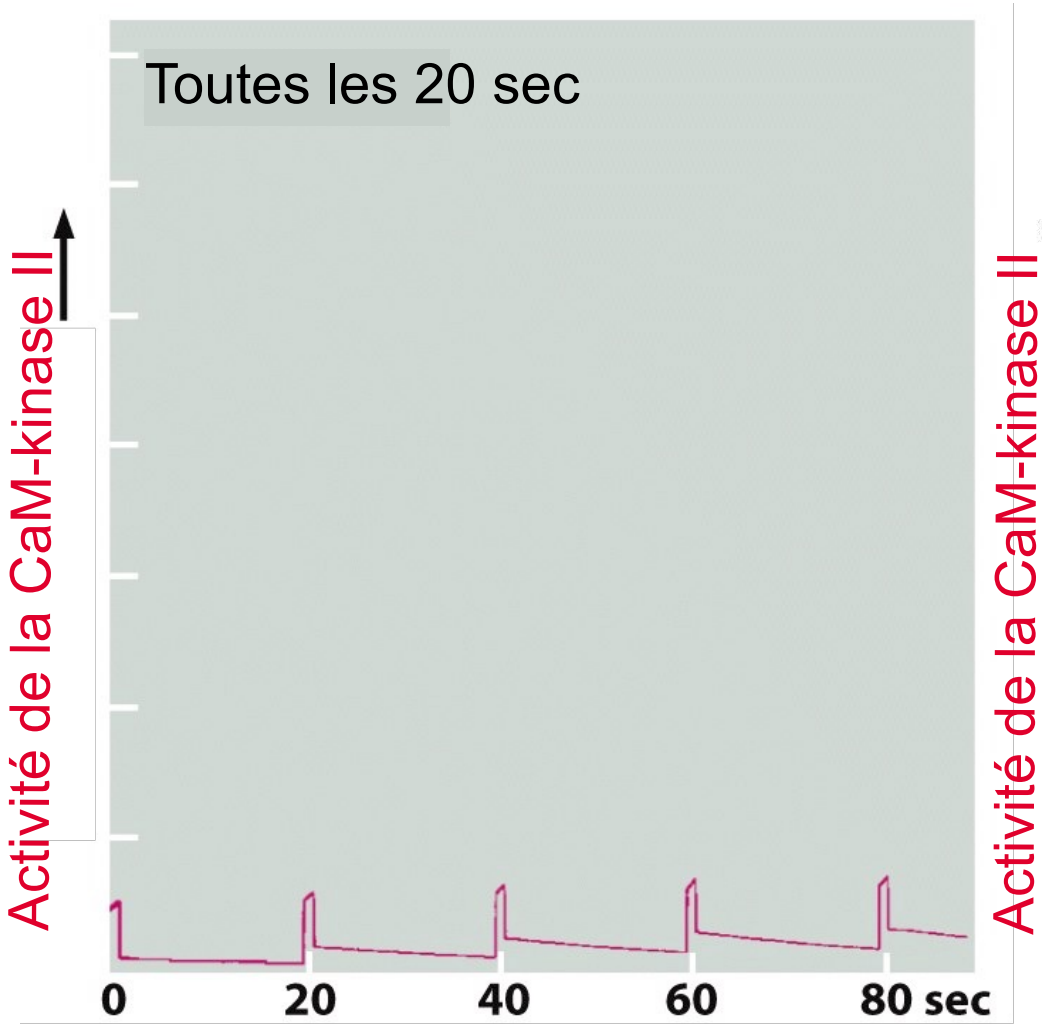
3-Deux branches sur la voie des inositol phospholipides, IP3 et DAG

-Augmentation du Ca^{2+} à la suite de la libération d'IP3
-Activation de la PKC par le DAG et Ca^{2+}

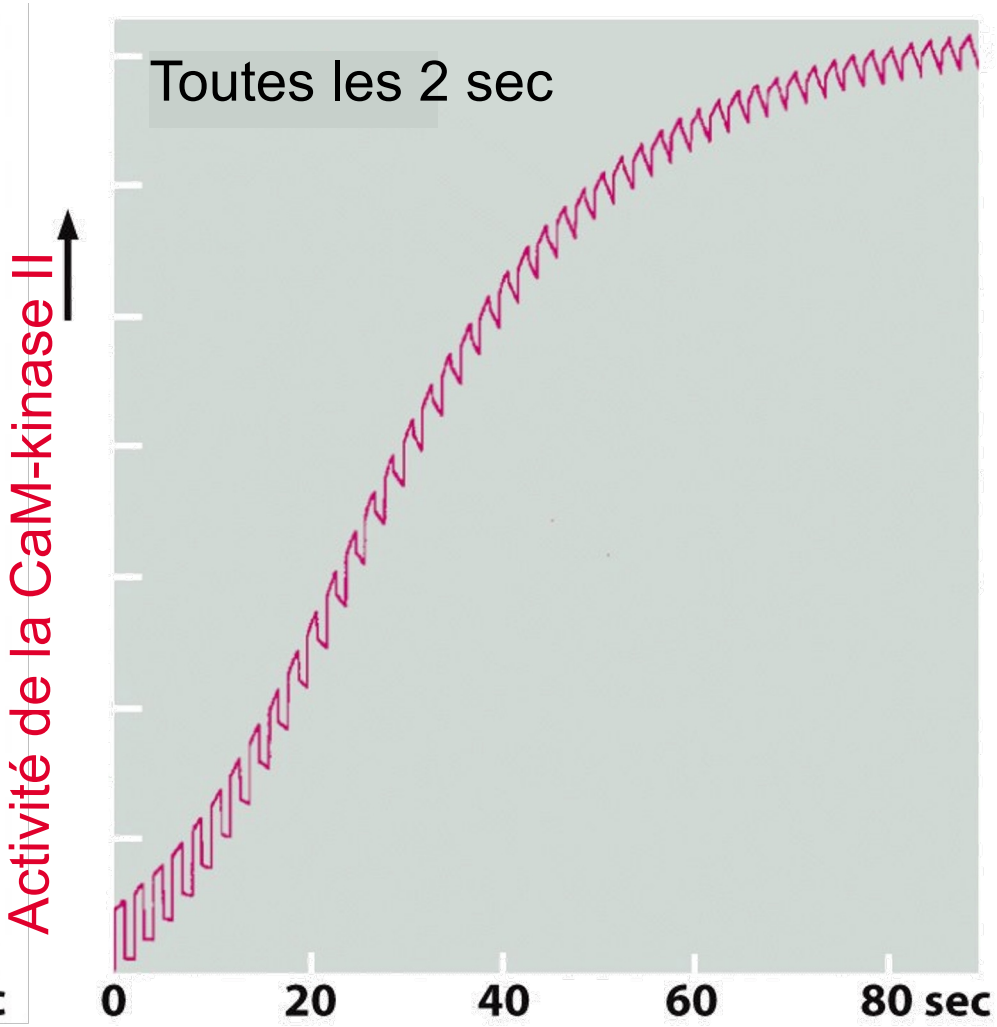
4-Mécanismes d'arrêt de l'élévation du calcique après libération d'IP3

5-Élévation de la [Ca^{2+}] relayée par des CaM-kinases intracellulaires

-Calmoduline protéine de liaison du Ca^{2+}
-Activation de la CaM-kinase II par la Ca^{2+}/calmoduline
-CaM-kinase II décodeur des oscillations de [Ca^{2+}]

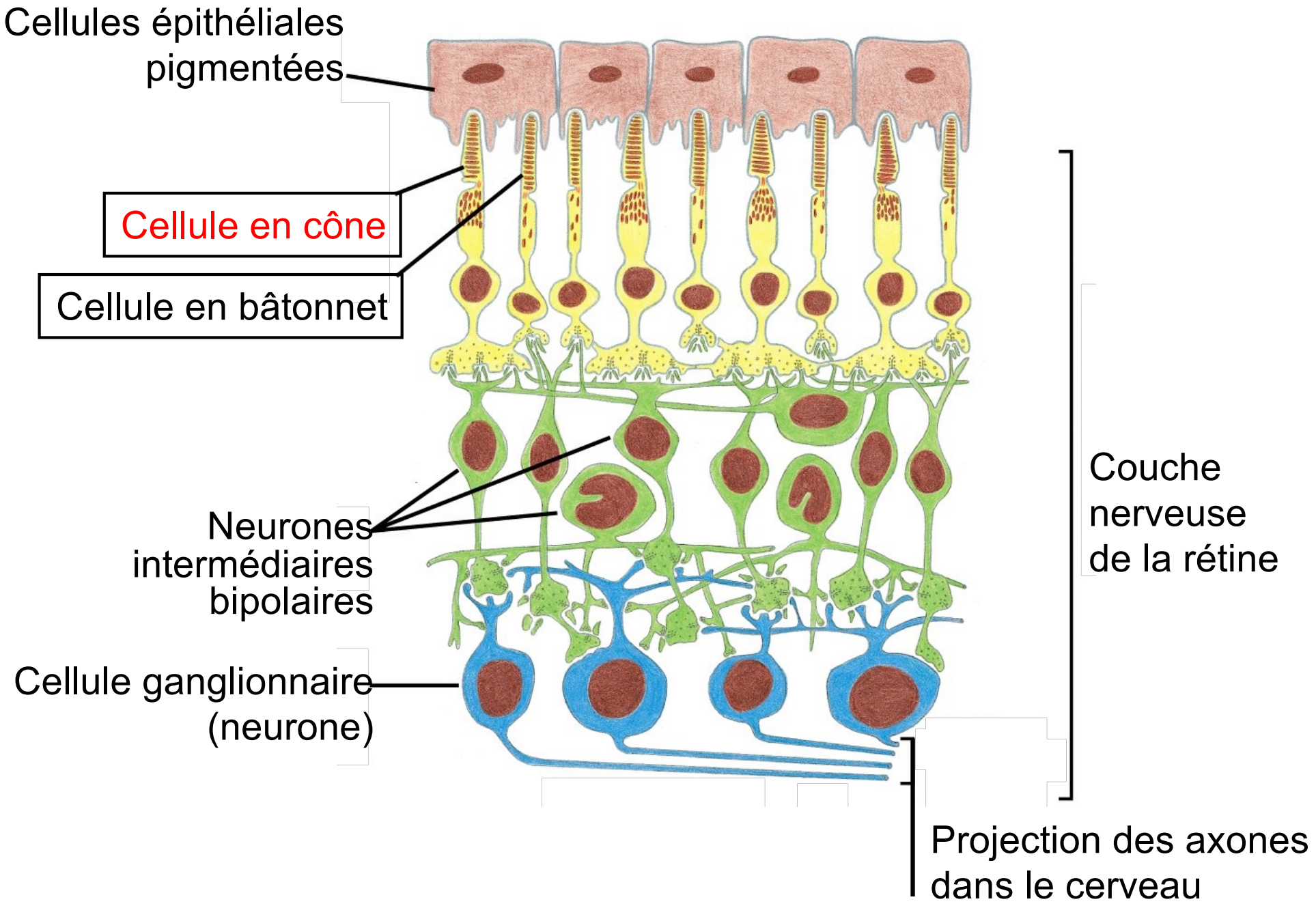


Basse fréquence de
l'oscillation de la [Ca^{2+}]



Haute fréquence de
l'oscillation de la [Ca^{2+}]

CaM-kinase II en tant que décodeur
des oscillations de la concentration en Ca^{2+}

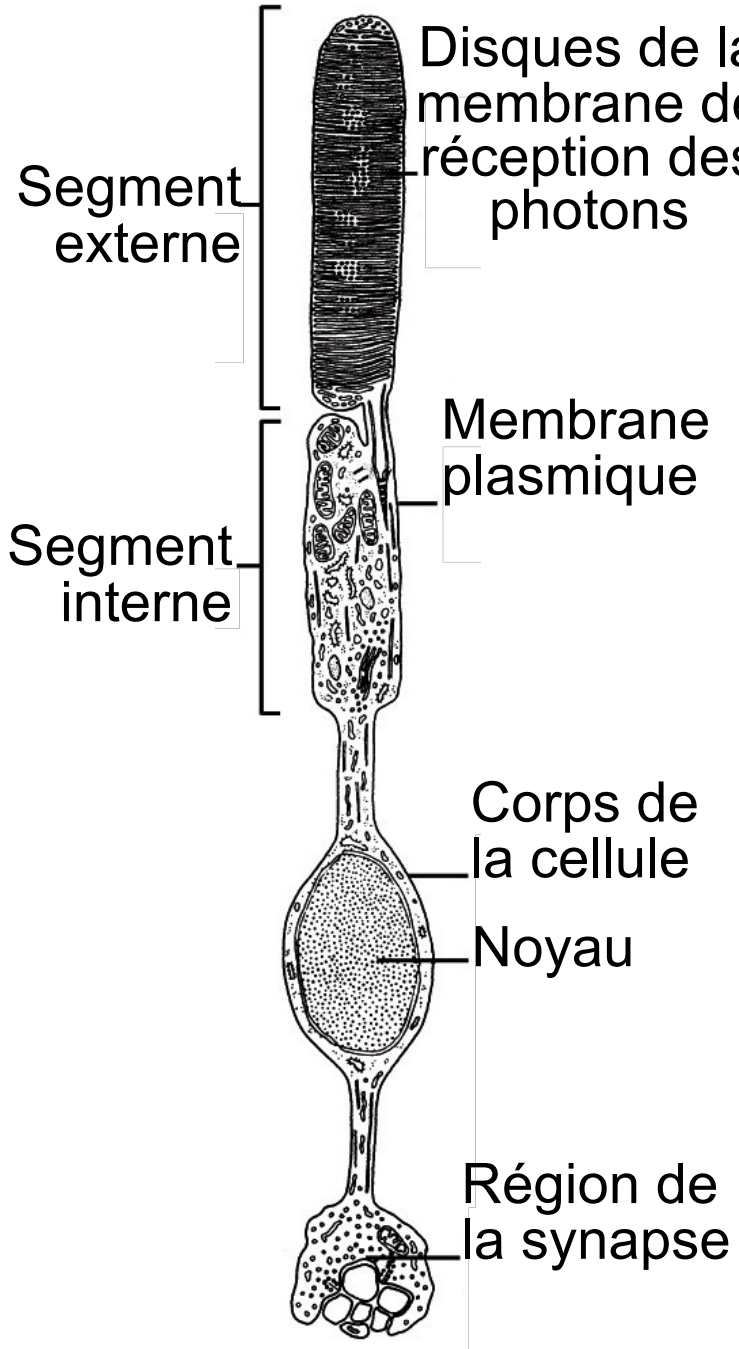


Structure de la rétine

Deux types de cellules qui portent les photorécepteurs

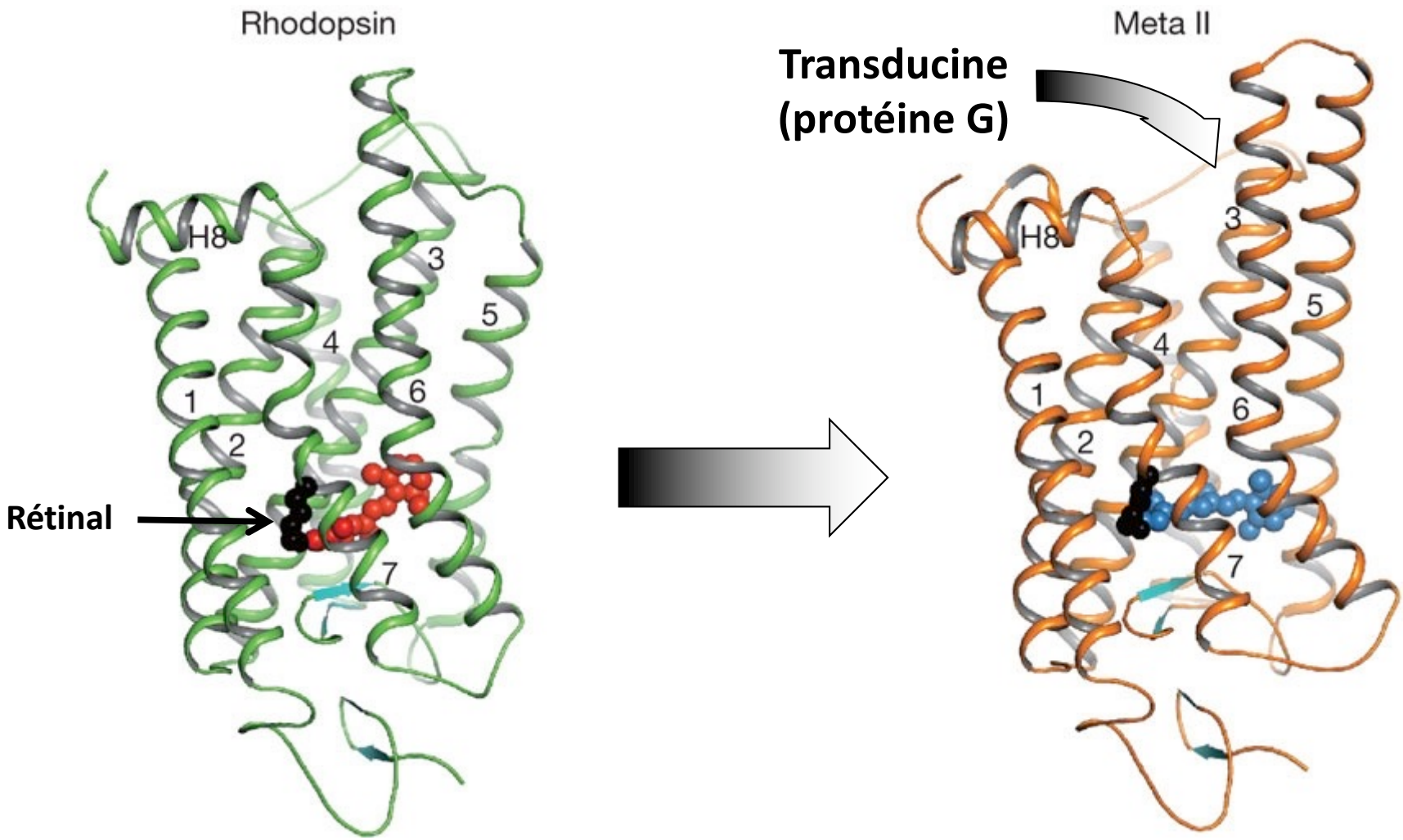
Cellules en bâtonnet responsables de la vision nocturne
(vision monochromatique)

Cellules en cône responsables de la vision de jour et des couleurs



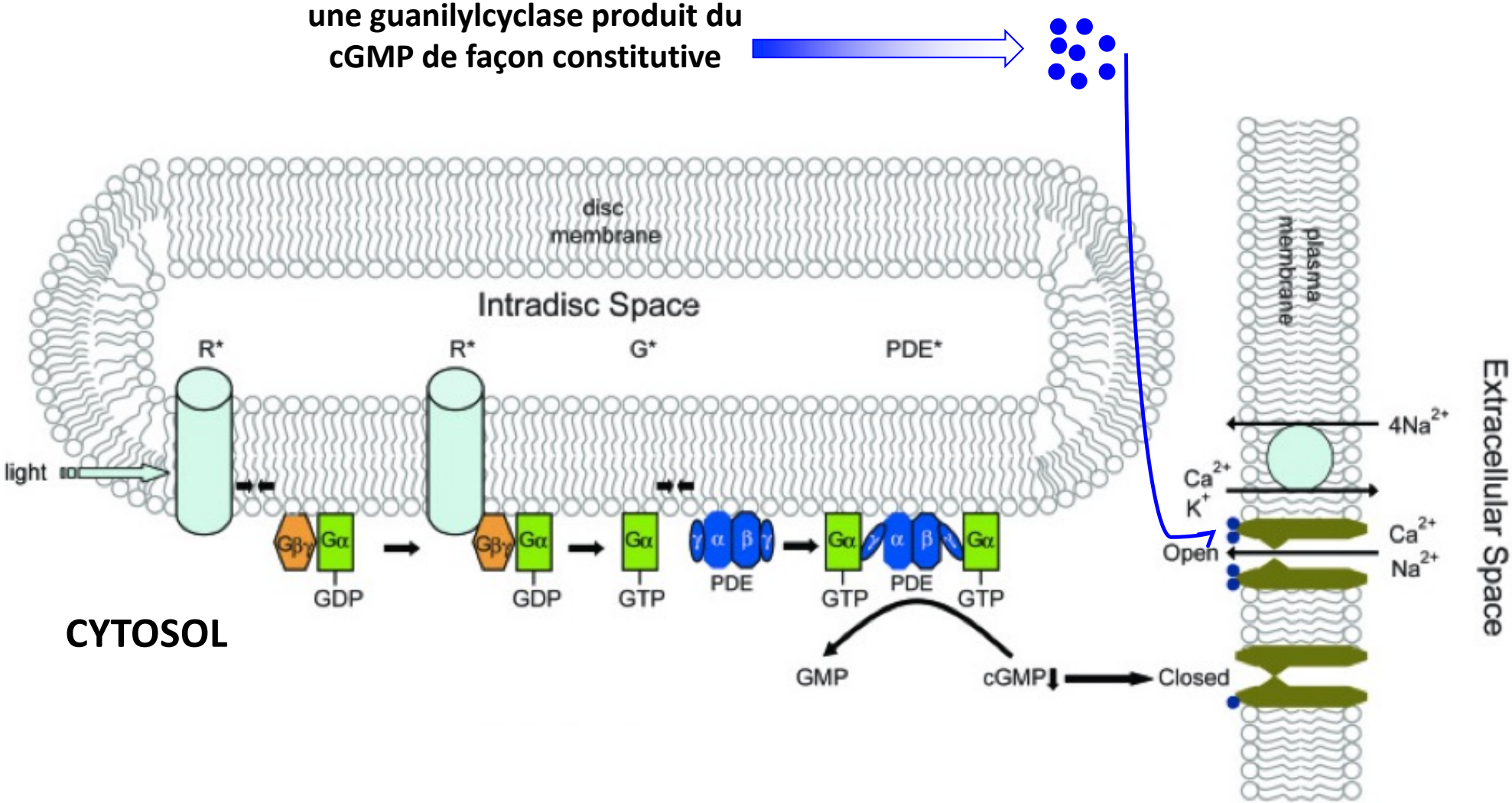
Chaque disque est formé d'un sac avec une membrane non connectée à la membrane plasmique

Cellule en bâtonnet de la réception de la lumière

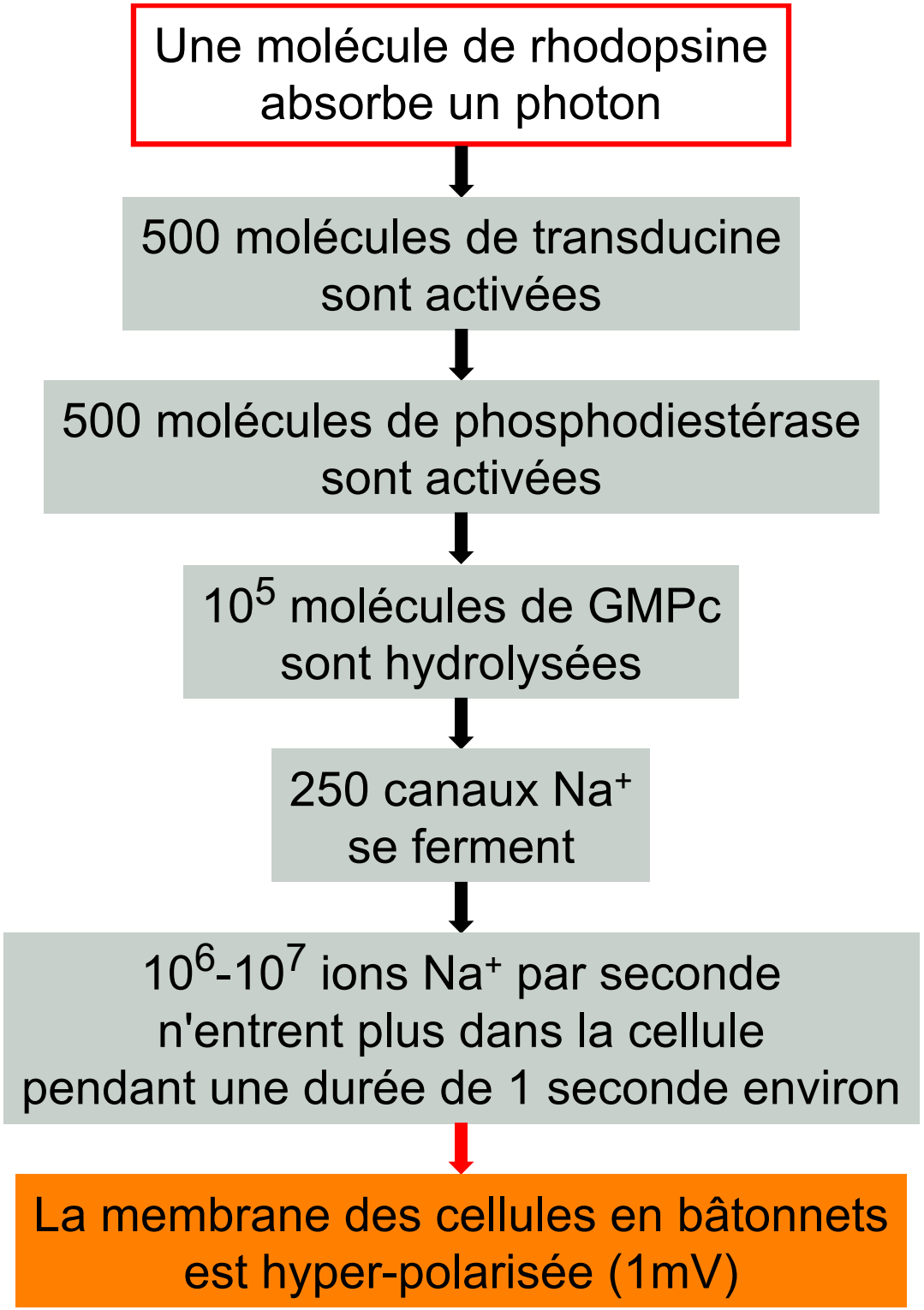


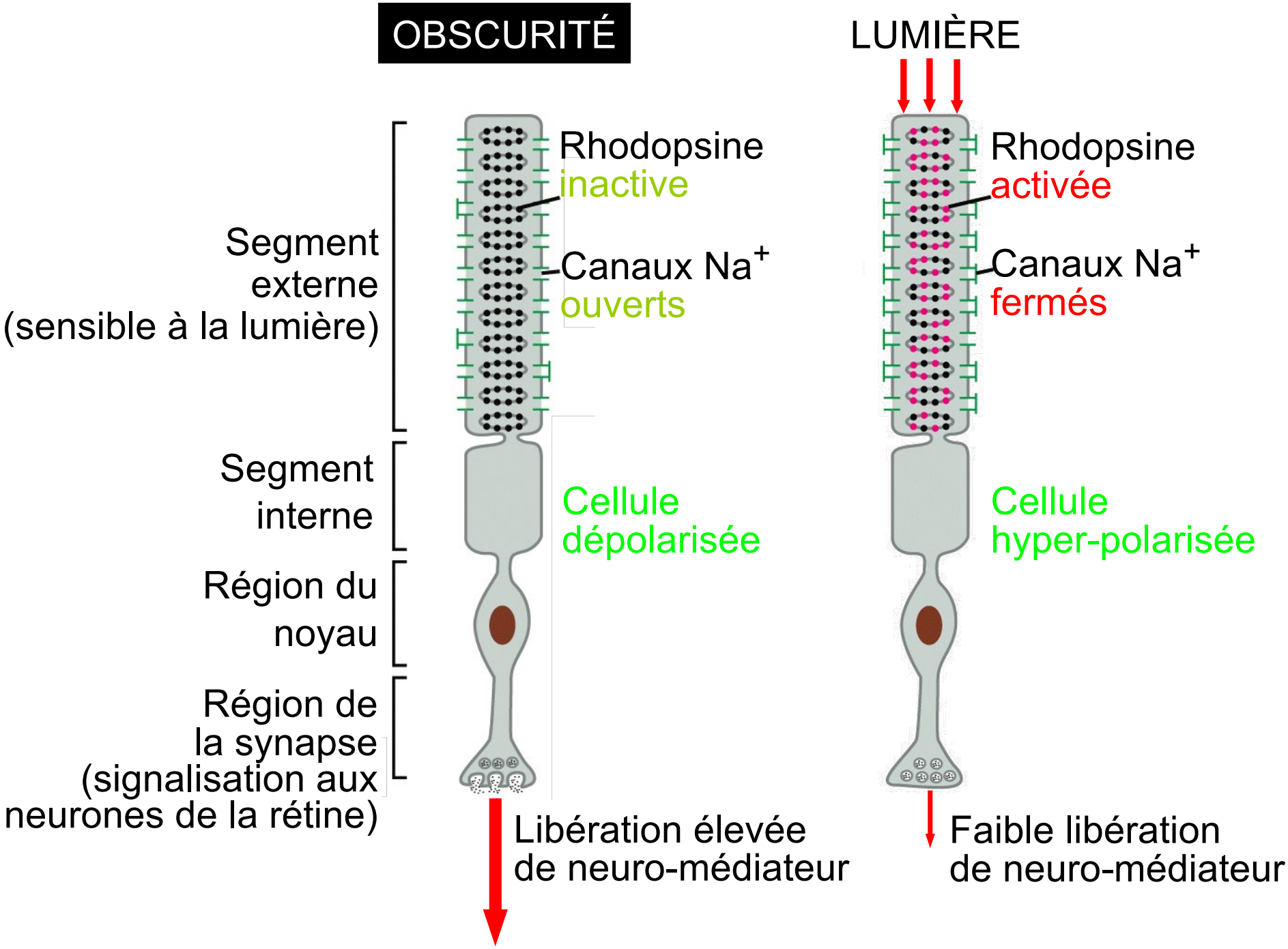
Un photon provoque l'isomérisation du rétinal et le changement de conformation de la rhodopsine qui permet son interaction avec la transducine

une guanilylcyclase produit du
cGMP de façon constitutive



Couplage de l'absorption de la lumière par la rhodopsine à l'activation de la phosphodiestérase du GMPc dans les cellules en bâtonnet


Une molécule de rhodopsine absorbe un photon
500 molécules de transducine sont activées
500 molécules de phosphodiestérase sont activées
10^5 molécules de GMPc sont hydrolysées
250 canaux Na^+ se ferment
10^6-10^7 ions Na^+ par seconde n'entrent plus dans la cellule pendant une durée de 1 seconde environ
La membrane des cellules en bâtonnets est hyper-polarisée (1mV)



Réponse à la stimulation par la lumière d'une cellule en bâtonnet

COMMUNICATIONS CELLULAIRES CHIMIQUES ET LEURS RÉGULATIONS

I-INTRODUCTION

II-PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA COMMUNICATION CHIMIQUE

III-TRANSPORT DES PETITES MOLÉCULES À TRAVERS LA MEMBRANE

IV-SIGNALISATION VIA DES RÉCEPTEURS TRANSMEMBRANAIRES

A-Signalisation via des récepteurs couplés aux protéines G

B-Voie de production de l'AMPc par régulation de l'adénylyl cyclase

C-Voie d'activation des inositol-phospholipides via une phospholipase C-β

D-Odorat et vision dépendants de récepteurs couplés aux protéines G

E-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

Principales classes de récepteurs associés à une enzyme

1-Récepteurs à activité tyrosine-kinase : phosphorylent des Tyr sur eux-mêmes et sur à un petit groupe de protéines de signalisation intra-cellulaires.

2-Récepteurs associés à des tyrosine-kinases : s'associent à des protéines intra-cellulaires qui possèdent une activité tyrosine-kinase.

3-Tyrosine-phosphatases ressemblant à des récepteurs : hydrolysent des phosphate sur des Tyr de protéines de signalisation intra-cellulaires.

4-Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase : phosphorylent des Ser ou des Thr sur des protéines associées de régulation latente de l'expression génique.

5-Récepteurs à activité guanylyl cyclase : catalysent directement la production de GMPc dans le cytosol.

E-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

1-Les récepteurs à activité tyrosine-kinase

RTKs: la majorité sont des récepteurs de facteurs de croissance
(→ action sur le cycle cellulaire)

> 60 chez l'homme
Ex:

- R à l'insuline
- R à l'EGF (epidermal growth factor)
- R au NGF (nerve growth factor)
- R au FGF (fibroblast growth factor)
- R au VEGF (vascular endothelial growth factor)

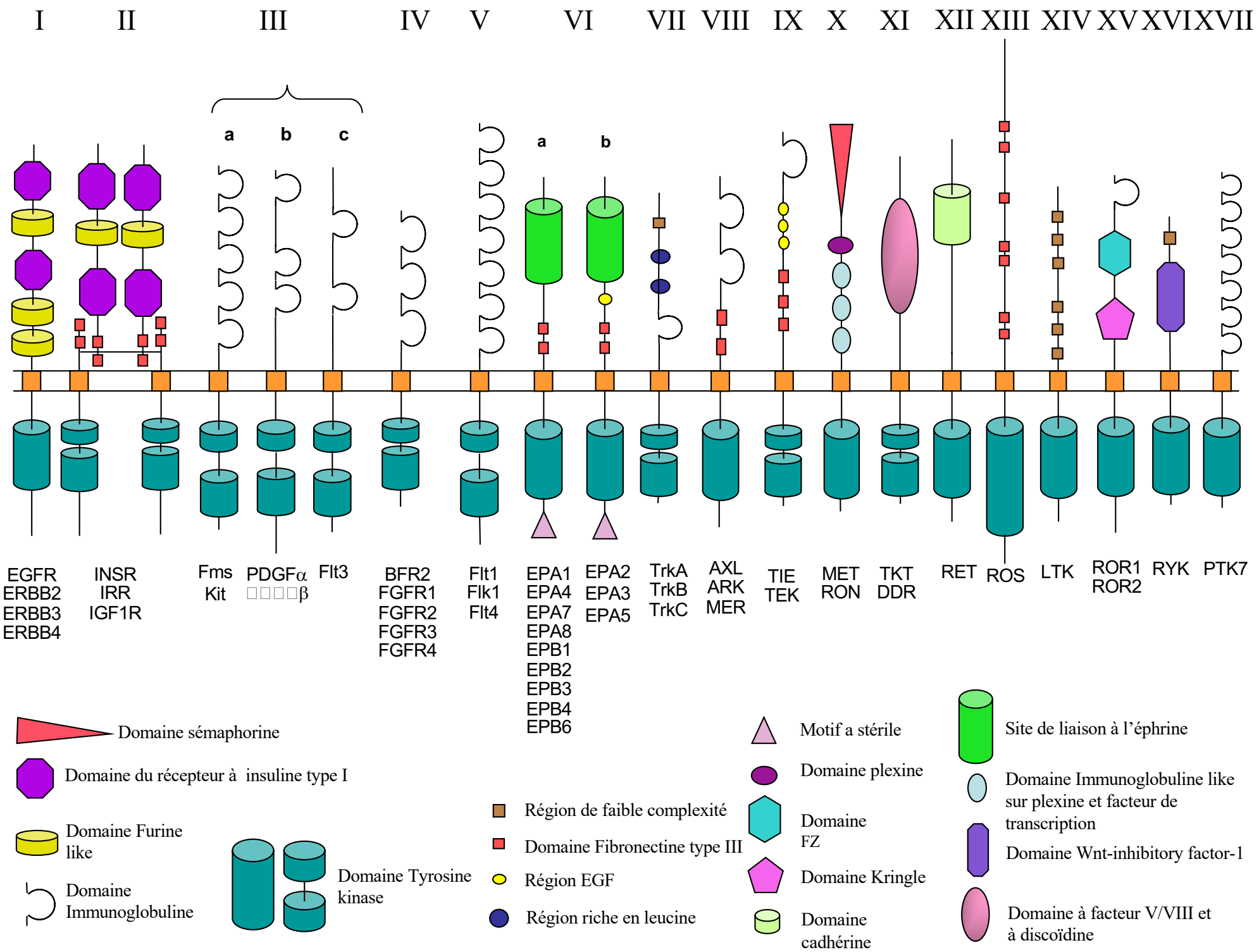
E-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

1-Les récepteurs à activité tyrosine-kinase

-Structure des récepteurs à activité tyrosine-kinase

Récepteurs à 1 seul domaine transmembranaire

Activité enzymatique, localisée dans le domaine cytosolique, activée par la liaison du ligand au domaine extra-cellulaire

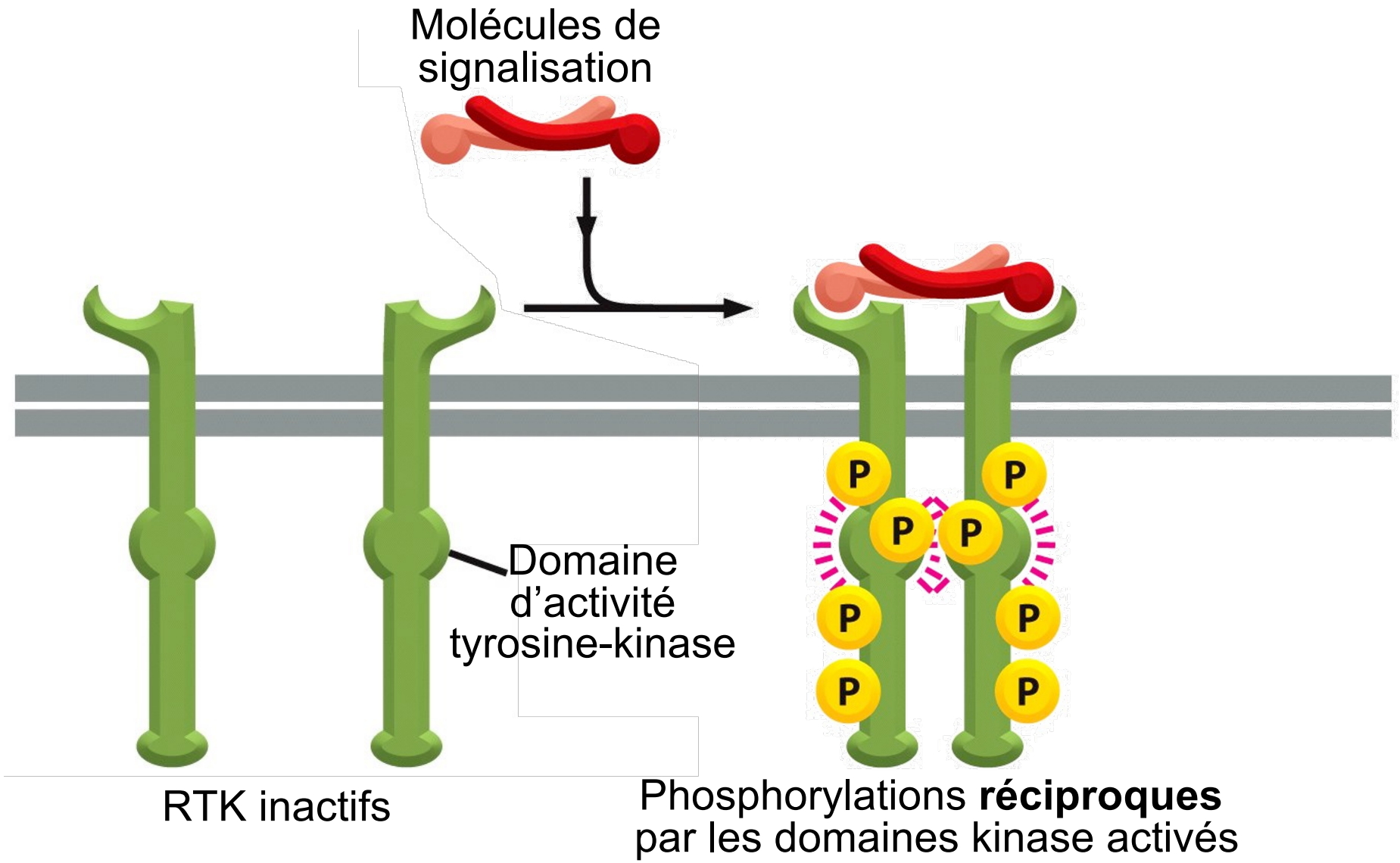

I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII
IX
X
XI
XII
XIII
XIV
XV
XVI
XVII
a
b
c
a
b
EGFR
ERBB2
ERBB3
ERBB4
INSR
IRR
IGF1R
Fms
Kit
PDGFα
□□□□β
Flt3
BFR2
FGFR1
FGFR2
FGFR3
FGFR4
Flt1
Flk1
Flt4
EPA1
EPA4
EPA7
EPA8
EPB1
EPB2
EPB3
EPB4
EPB6
EPA2
EPA3
EPA5
TrkA
TrkB
TrkC
AXL
ARK
MER
TIE
TEK
MET
RON
TKT
DDR
RET
ROS
LTK
ROR1
ROR2
RYK
PTK7
Domaine sémaphorine
Domaine du récepteur à insuline type I
Domaine Furine like
Domaine Immunoglobuline
Domaine Tyrosine kinase
Région de faible complexité
Domaine Fibronectine type III
Région EGF
Région riche en leucine
Motif a stérile
Domaine plexine
Domaine FZ
Domaine Kringle
Domaine cadhérine
Site de liaison à l'éphrine
Domaine Immunoglobuline like sur plexine et facteur de transcription
Domaine Wnt-inhibitory factor-1
Domaine à facteur V/VIII et à discoïdine

F-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

1- Les récepteurs à activité tyrosine-kinase

-Structure des récepteurs à activité tyrosine-kinase

-Association des récepteurs en dimères pour l'auto-phosphorylation



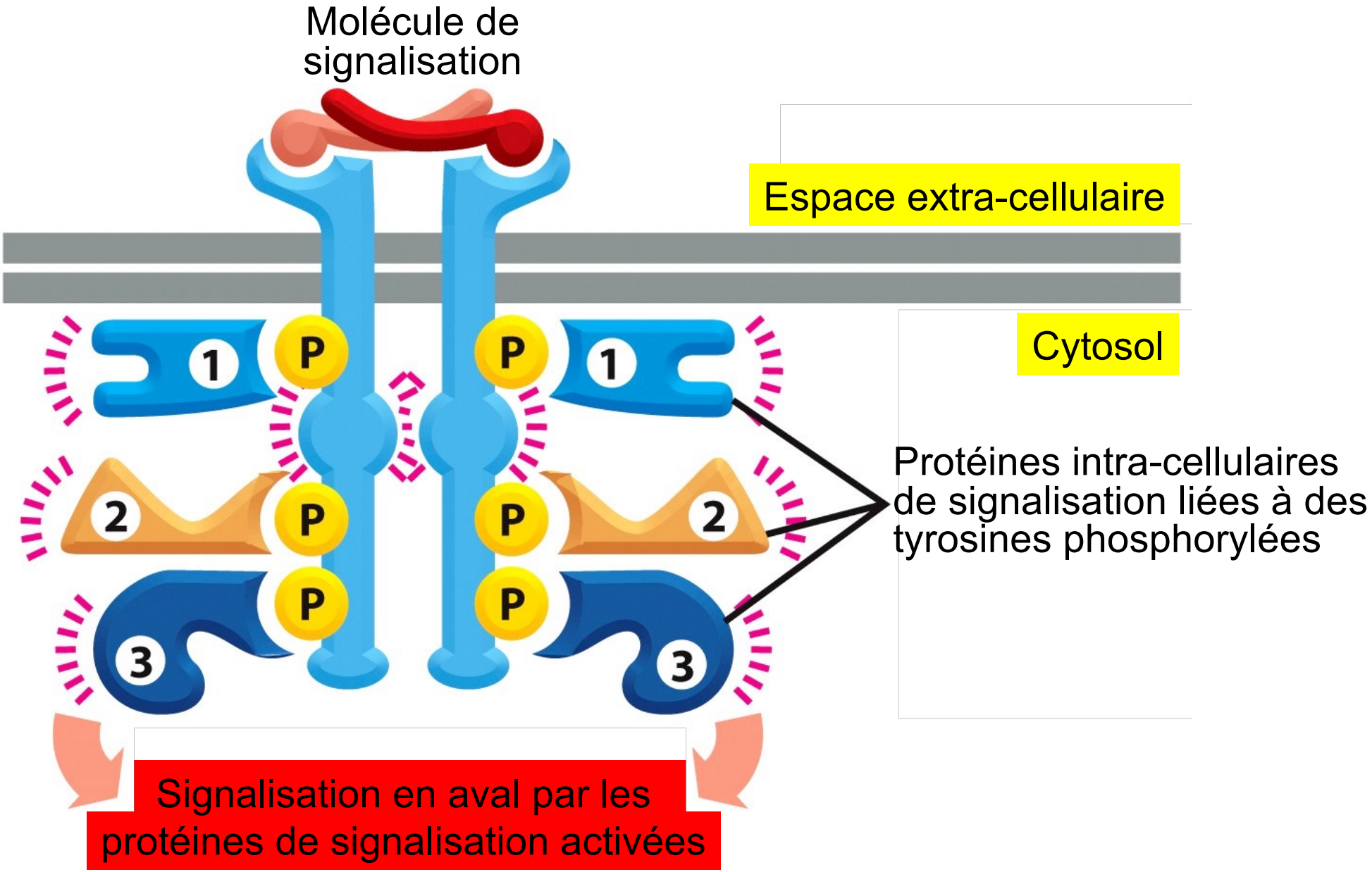
RTK = **R**écepteur à activité **T**yrosine **K**inase

Activation des RTK par formation de dimère

F-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

1- Les récepteurs à activité tyrosine-kinase

-Structure des récepteurs à activité tyrosine-kinase
-Association des récepteurs en dimères pour l'auto-phosphorylation
-Inhibition de la transduction par des récepteurs dominant négatifs
-Arrimage au récepteur activé de protéines intracellulaires de signalisation



Arrimage des protéines de signalisation intra-cellulaires sur le récepteur à activité tyrosine kinase activé

F-Signalisation par l'intermédiaire de récepteurs associés à une enzyme

1-Auto-phosphorylation des récepteurs à activité tyrosine-kinase

-Structure des récepteurs à activité tyrosine-kinase
-Nature des molécules de signalisation et de la réponse induite
-Association des récepteurs en dimères pour l'auto-phosphorylation
-Inhibition de la transduction par des récepteurs dominant négatifs
-Arrimage au récepteur activé de protéines intracellulaires de signalisation

2-Ras activée par le récepteur phosphorylé

Protéines Ras : appartiennent à la super-famille des petites GTPases monomériques

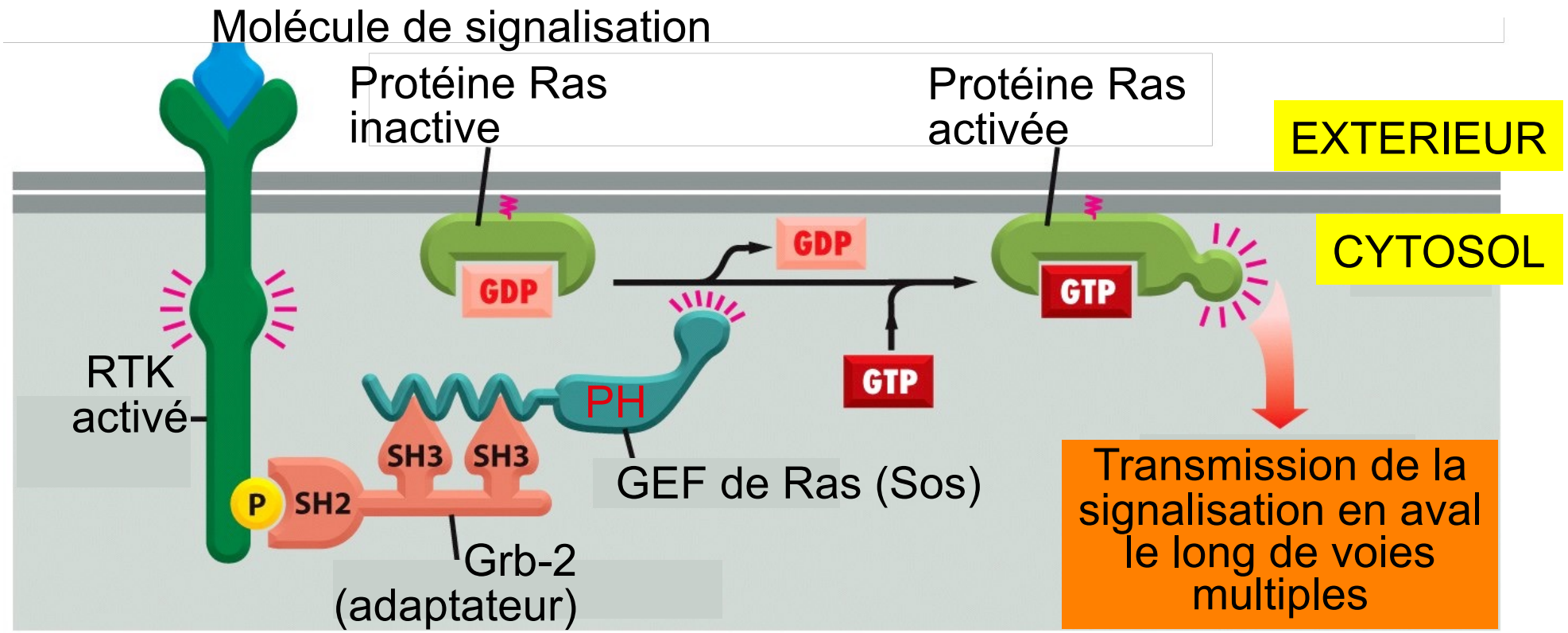
associées à la membrane par un groupement myristyl

Chez l'être humain, trois sortes de Ras : H-, K- et N-Ras qui fonctionnent de la même façon

Elles font partie d'une super-famille qui contient aussi :

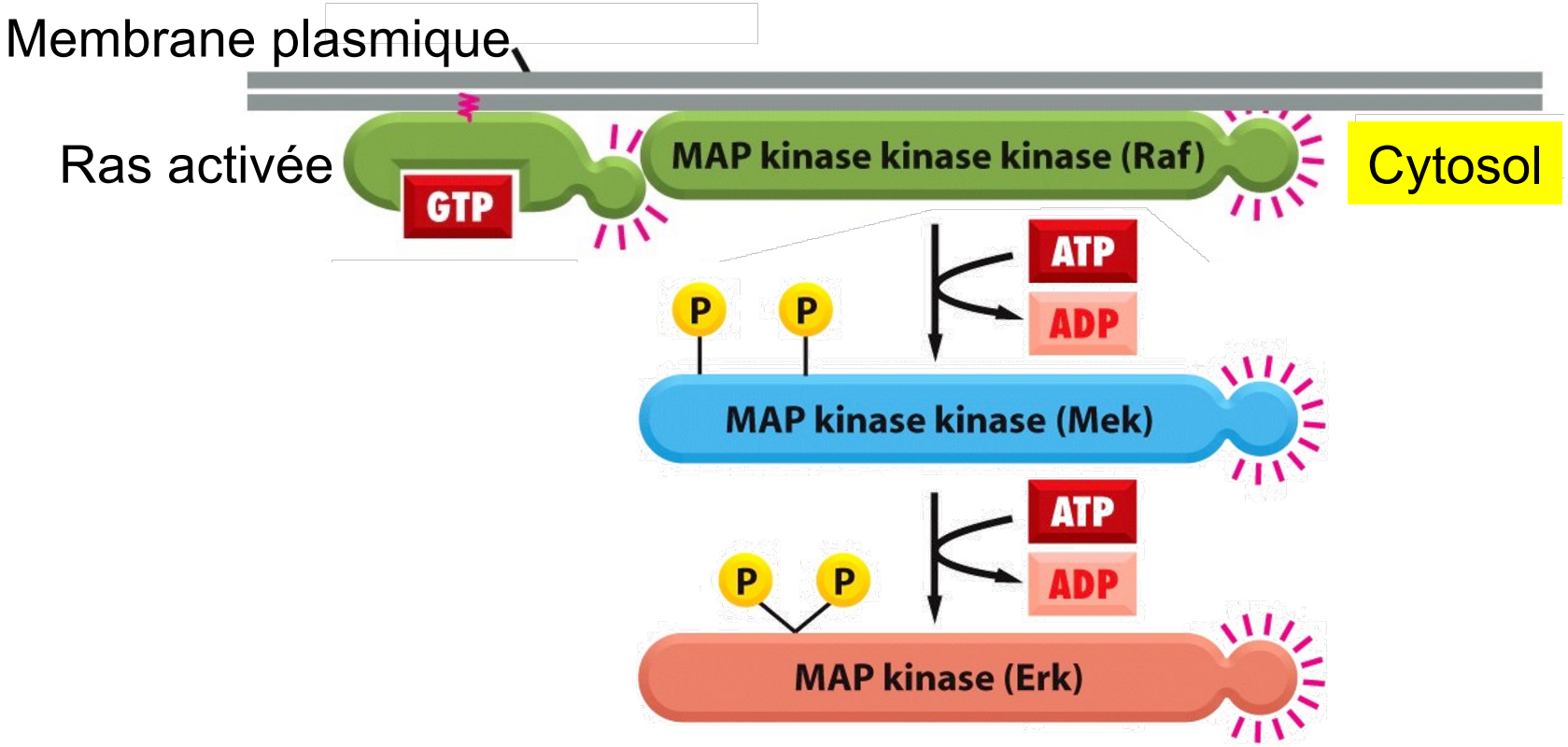
-la famille **Rab** qui régule le trafic des vésicules de transport intra-cellulaire ;

-la famille **Ran** qui régule le transport de l'ARN et des protéines à travers les pores du noyau.



Activation de Ras par un récepteur à activité tyrosine kinase (RTK) via Grb2/Sos cette dernière possédant aussi un domaine PH

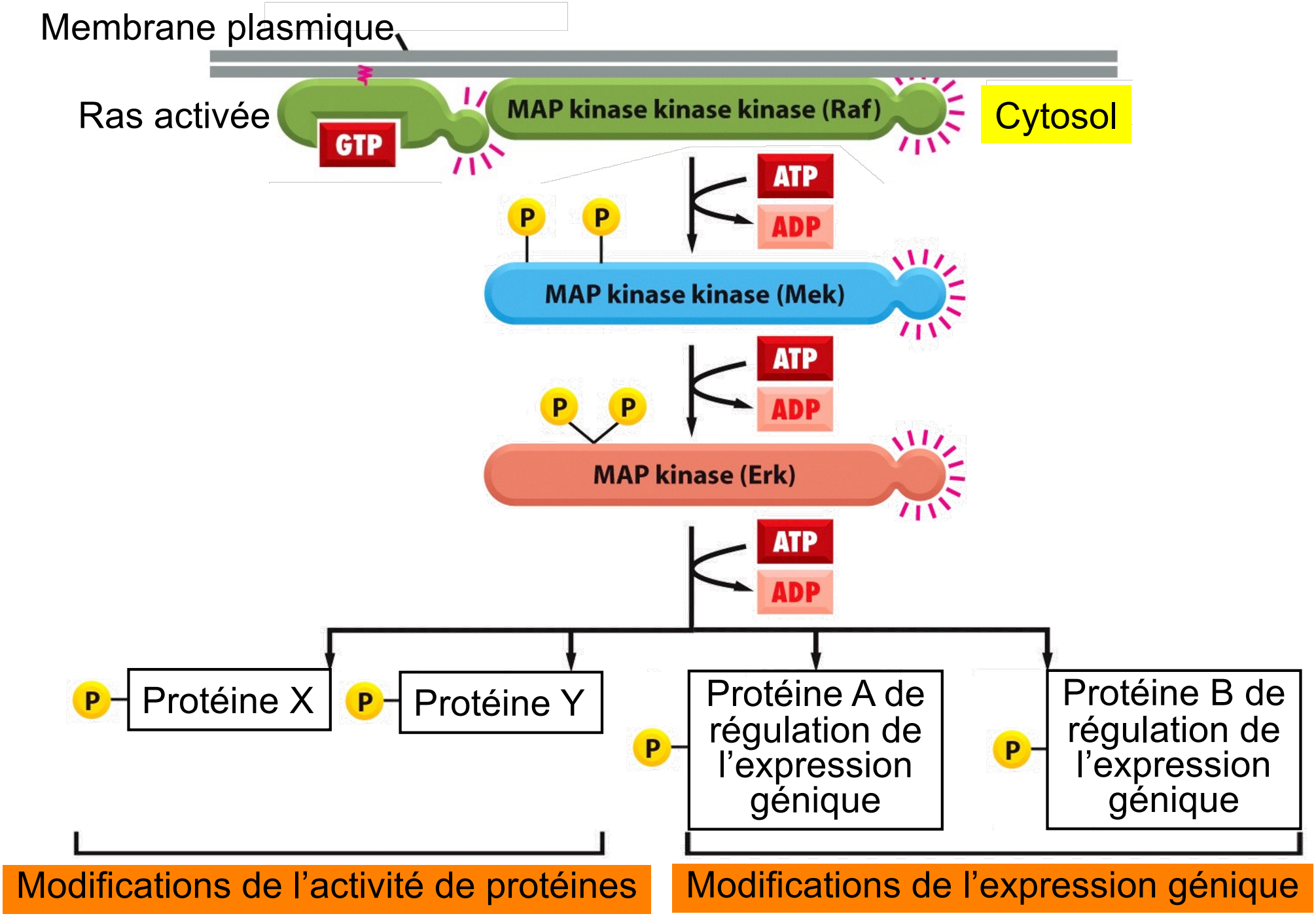
3-Activation par Ras de Ser/Thr- et de Thr/Tyr-kinases en cascades



MAP-kinase = « **M**itogen-**A**ctivated **P**rotein-kinase »
Protéine kinase activée par un agent mitogène

Mitogène (agent mitogène) : Toute molécule extracellulaire, telle qu'un facteur de croissance, qui promeut la prolifération cellulaire.

Voie de phosphorylation par des MAP-kinases activées par Ras (très conservée au cours de l'évolution de la levure à l'être humain)



Voie de phosphorylation par des MAP-kinases activées par Ras

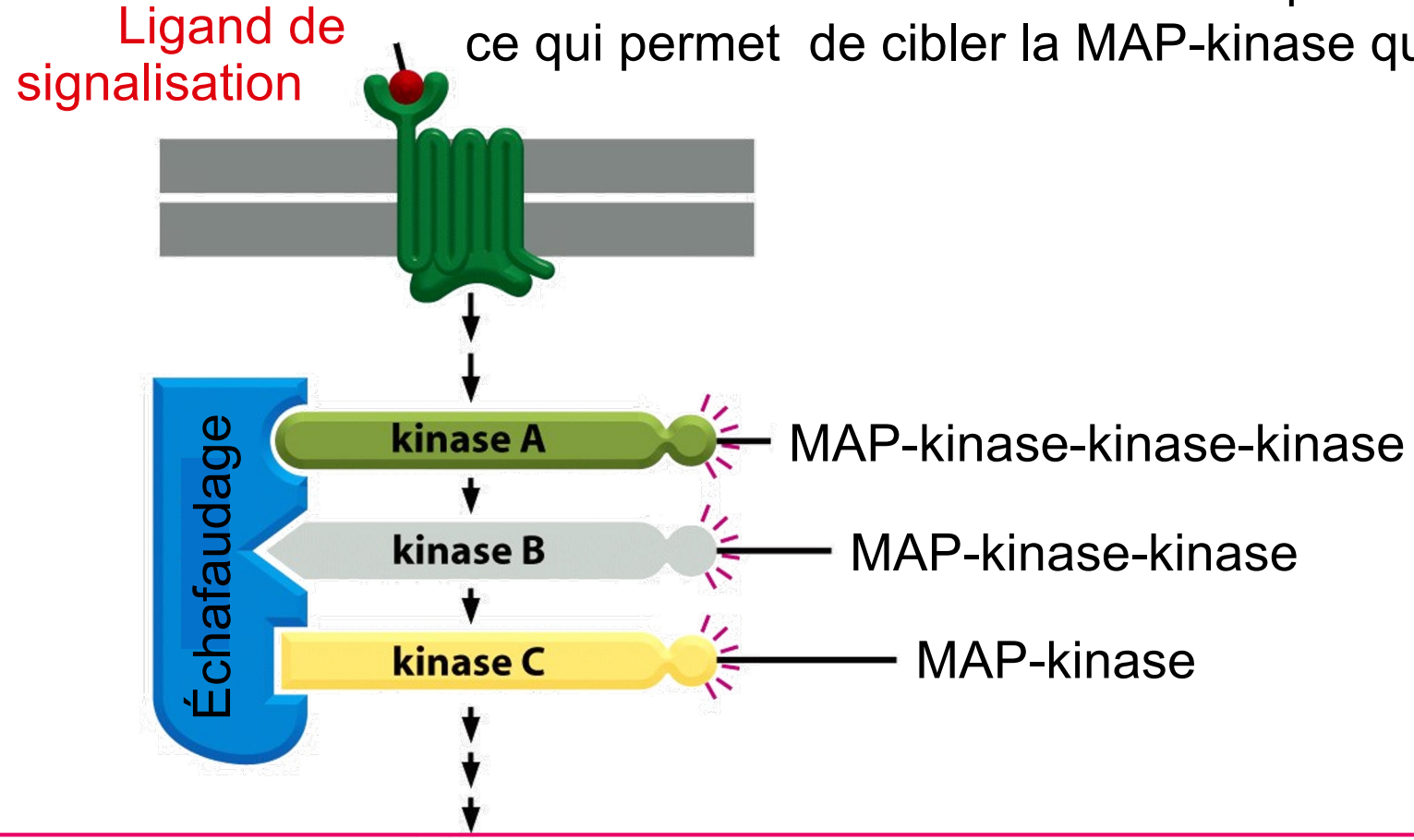
Dans les cellules de mammifère, il existe au moins cinq modules formés de trois composants, à partir de :

12 MAP-kinases

7 MAP-kinase-kinases

7 MAP-kinase-kinase-kinases

Modules formés de trois éléments maintenus ensemble par des **échafaudages** ce qui permet de cibler la MAP-kinase qui doit être activée



Cette voie peut également être activée par certains récepteurs à sept passages transmembranaires couplés aux protéines G associées en trimères

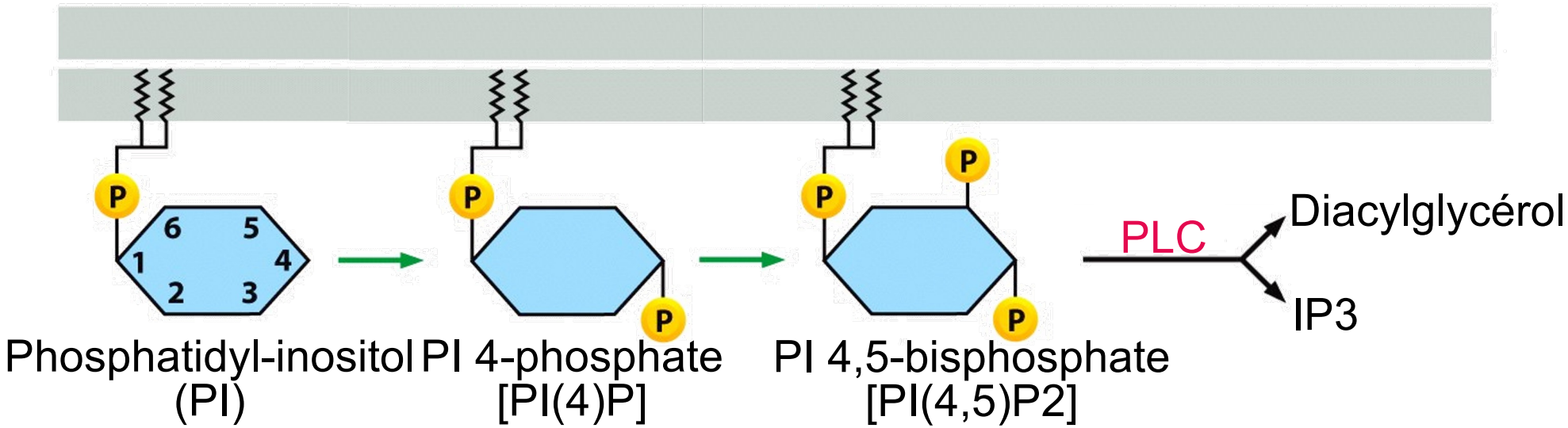
3-Activation par Ras de Ser/Thr- et de Thr/Tyr-kinases en cascades

-Activation d'une MAP-kinase via deux autres kinases
-Deux groupes de substrats phosphorylés par la MAP-kinase
-Au moins cinq modules à trois composants dans les cellules de mammifère

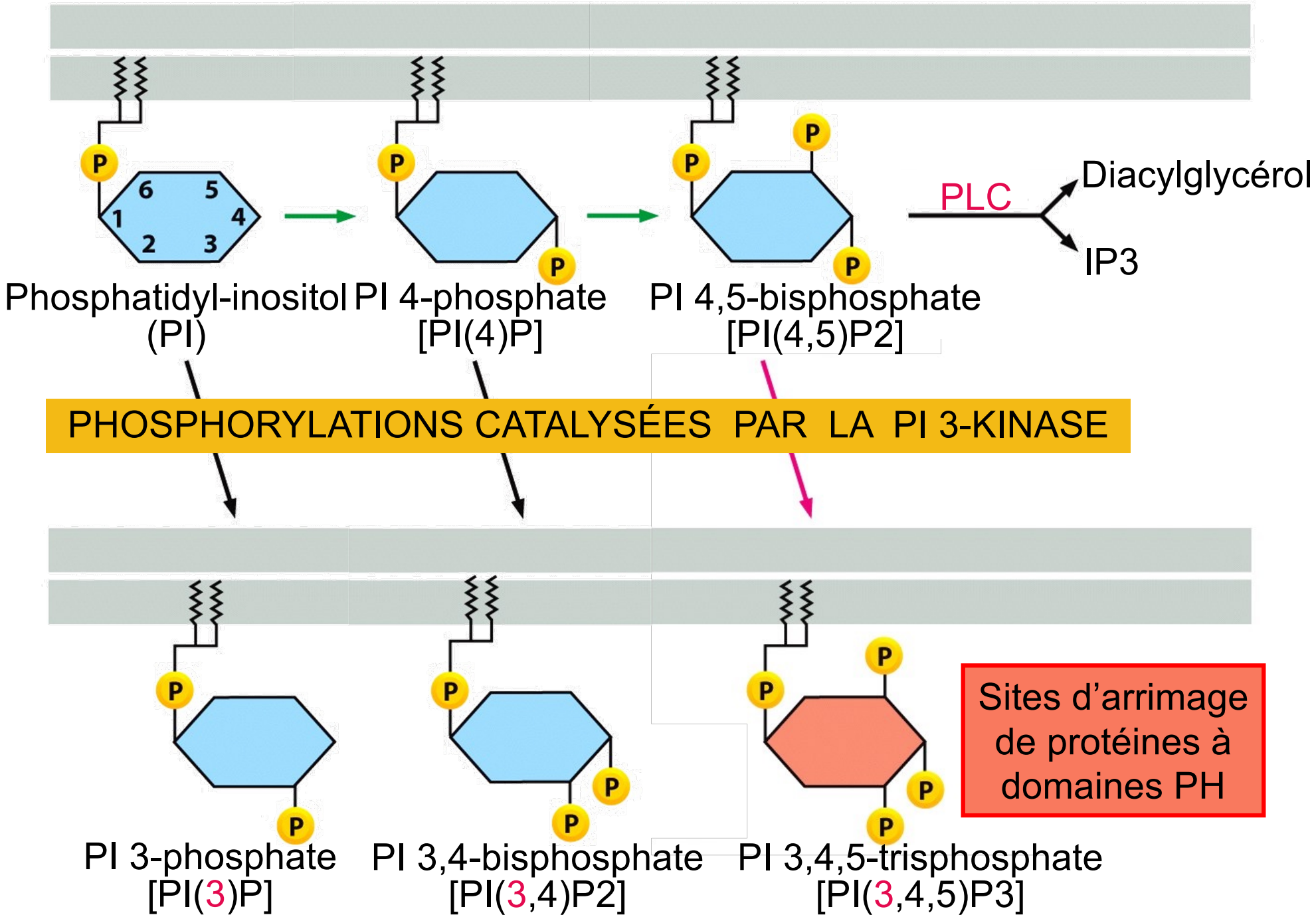
4-Fabrication de sites d'arrimage à la membrane plasmique par la PI 3-kinase

PI 3-kinase : phosphatidyl inositol 3-kinase (nombreuses PI 3-kinases)

phosphoryle les inositol-phospholipides



Synthèse de PIP et de PIP2 à partir du phosphatidyl-inositol (PI)
(puis coupure du PIP2 en DAG et IP3)



Synthèse par la PI 3-kinase des inositol-phospholipides servant d'ancrage aux protéines de signalisation intra-cellulaires

PI 3-kinase : phosphatidyl inositol 3-kinase

phosphoryle les inositol-phospholipides

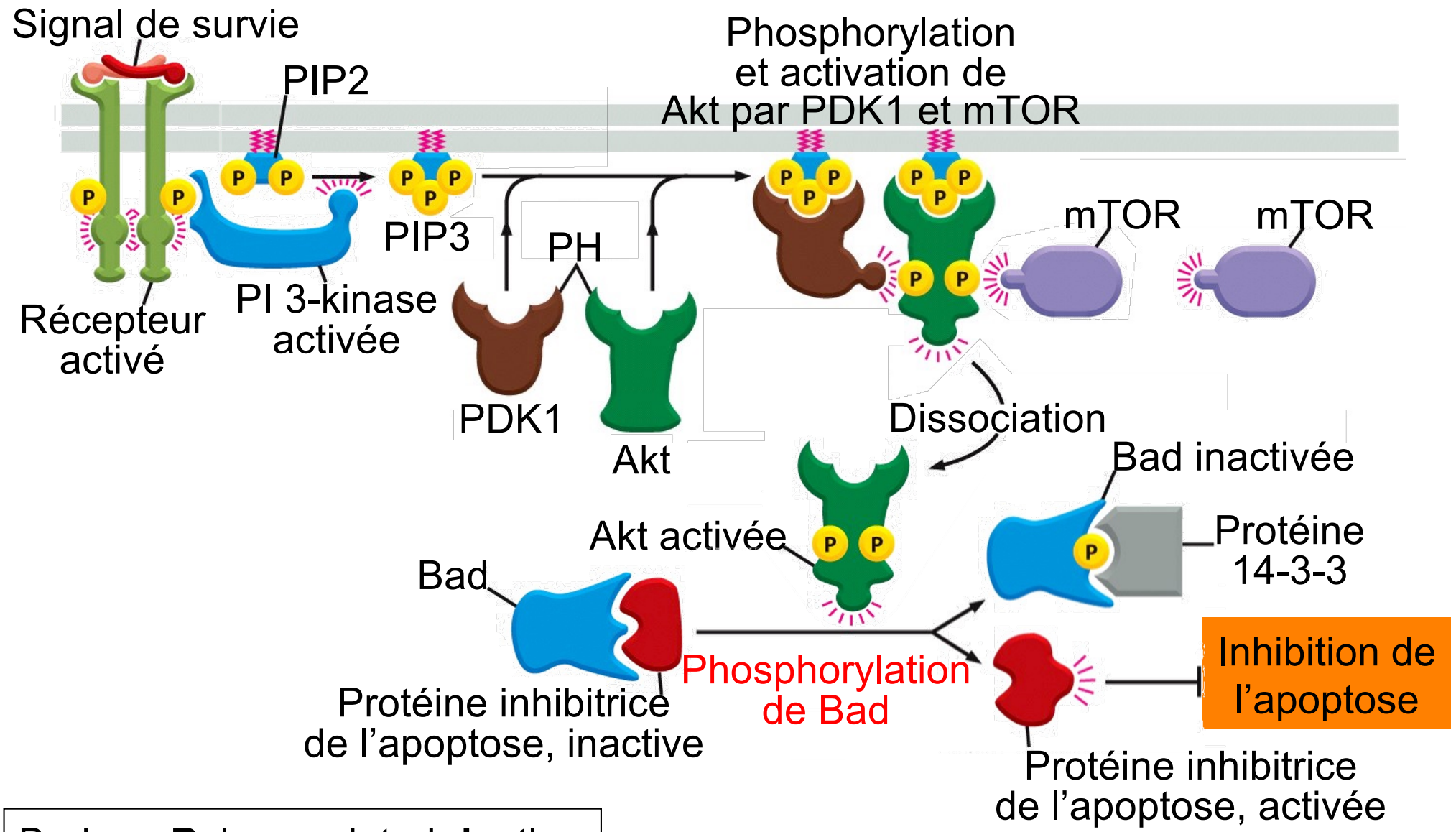
Activée par les récepteurs à activité tyrosine-kinase

et par de nombreux autres récepteurs

y compris ceux couplés aux protéines G via le complexe $\beta\gamma$

et ceux qui activent Ras qui active directement la PI 3-kinase

PDK1 = « **P**hosphatidylinositol-**D**ependent protein-**K**inase 1 »
Akt aussi appelée PKB = « **P**rotein-**K**inase **B** »



Bad = « **B**cl-**a**ssociated **d**eath »

Promotion de la survie des cellules par la PI 3-kinase

4-Activation par Ras de Ser/Thr- et de Thr/Tyr-kinases en cascades

-Activation d'une MAP-kinase via deux autres kinases
-Deux groupes de substrats phosphorylés par la MAP-kinase
-Au moins cinq modules à trois composants dans les cellules de mammifère
-Inactivation des MAP-kinases par des protéines-phosphatases

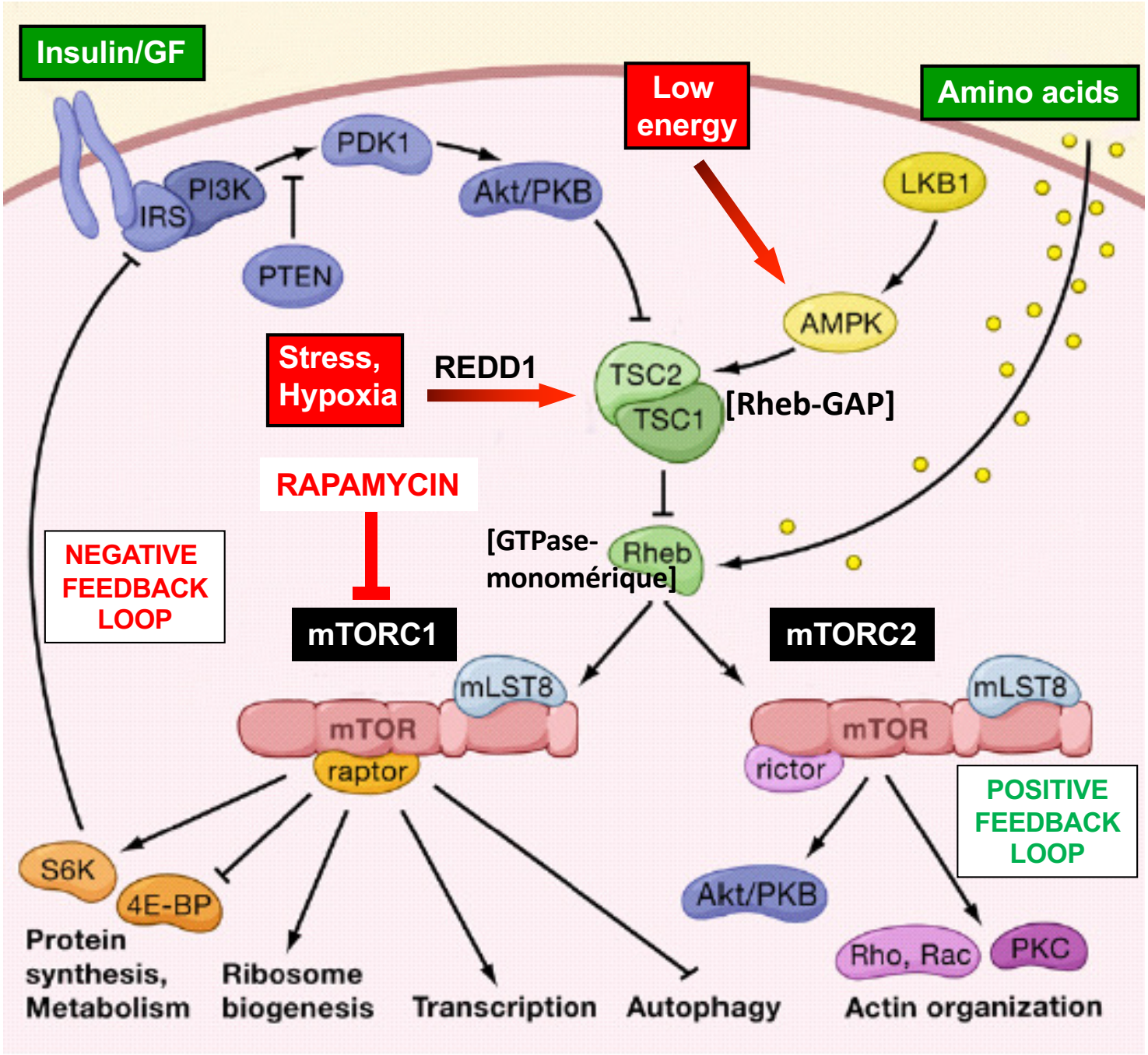
5-Fabrication de sites d'arrimage à la membrane plasmique par la PI 3-kinase

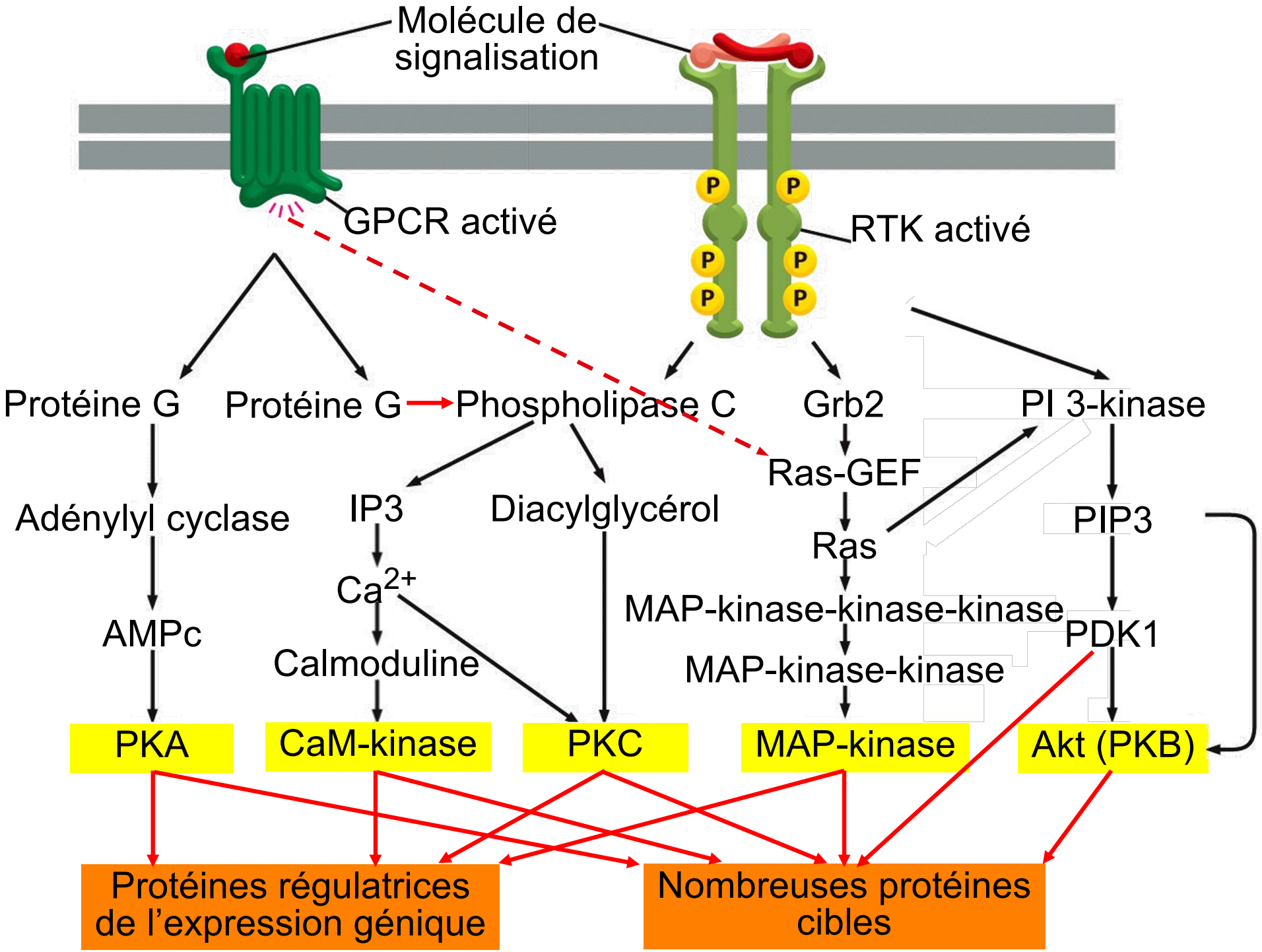
-Origine des substrats de la PI 3-kinase
-Phosphorylation des PI, PIP et PIP2 par la PI 3-kinase
-Activation de la PI 3-kinase par des récepteurs de plusieurs types
-Élimination du 3-phosphate par des inositol phospholipides phosphatases

6-Croissance et survie des cellules stimulées par la voie des PI 3-kinase/Akt

-Survie des cellules sous la dépendance de systèmes qui inhibent l'apoptose
-Rôle de la PI 3-kinase dans la survie des cellules
-Croissance simultanée induite par la PI 3-kinase et la kinase de S6

Le réseau de signalisation mTOR

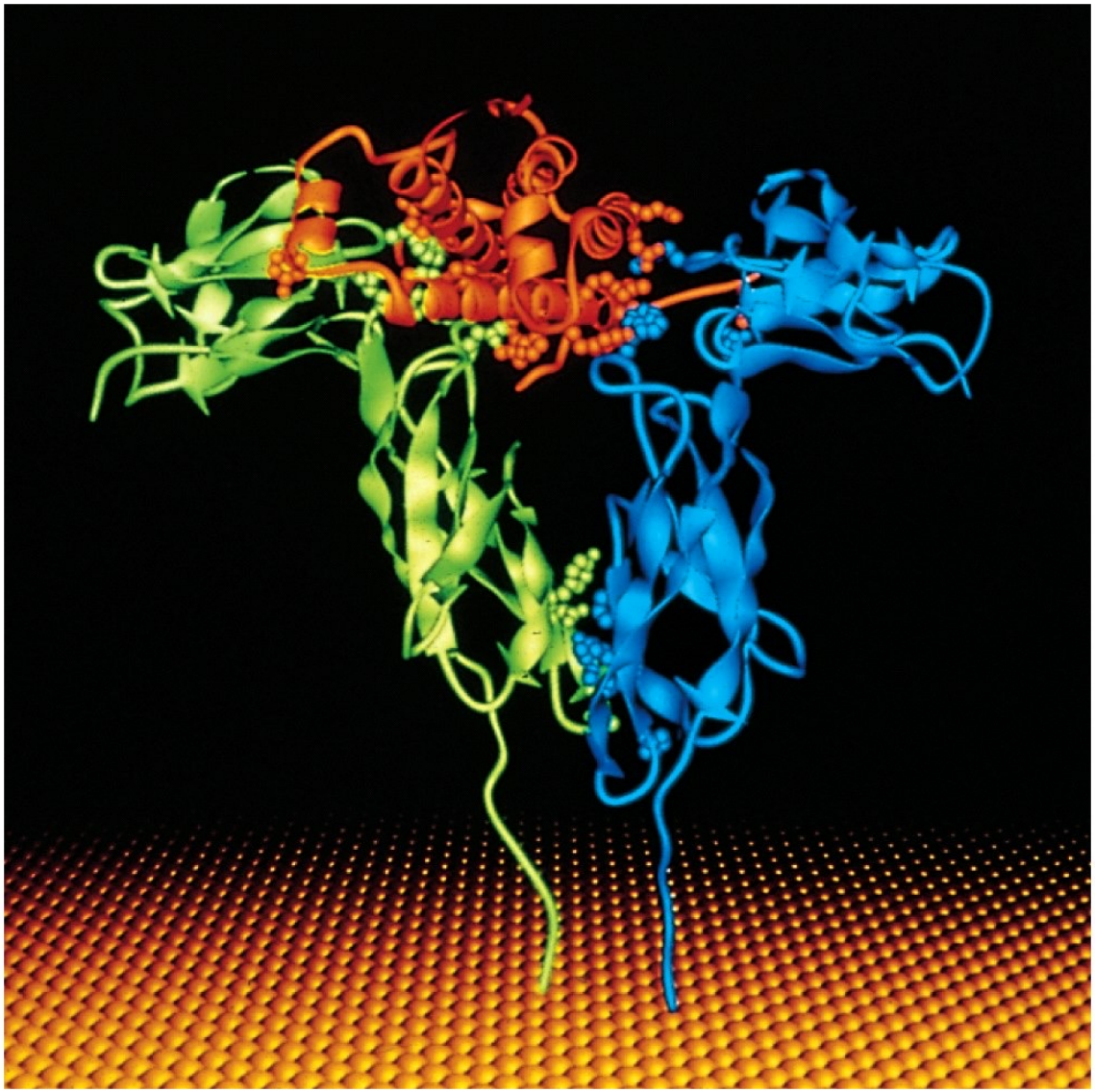




Les voies de signalisation intra-cellulaire sont inter-connectées

8-Récepteurs sans activité tyrosine-kinase associés à des tyrosine-kinases

GH = « **G**rowth **H**ormone »



Structure tri-dimensionnelle de hGH (monomère) liée à son récepteur obtenue par diffraction des rayons X (partie extra-cellulaire uniquement)

Le récepteur n'a pas d'activité tyrosine kinase propre

8-Récepteurs sans activité tyrosine-kinase associés à des tyrosine-kinases

-Tyrosines kinases cytoplasmiques de la famille Src

Src appartient à la plus grande famille des protéines à activité tyrosine-kinase localisées dans le cytoplasme.

Cette famille comprend Src, Yes, Fgr, Fyn, Lck, Lyn, Hck et Blk.

Toutes ces protéines présentent des domaines SH2 et SH3:

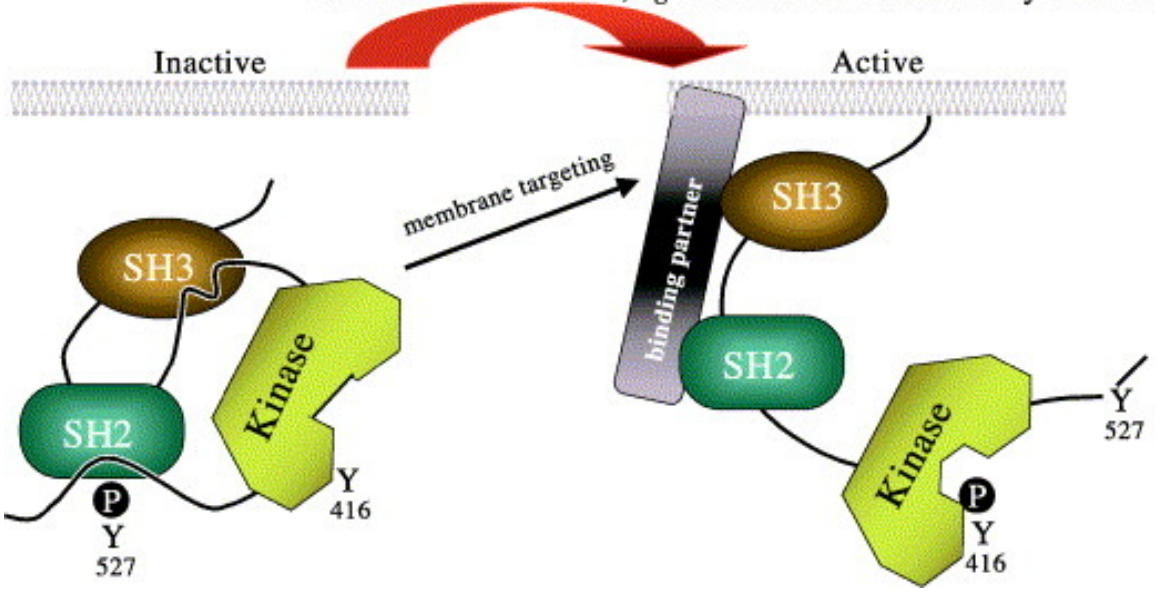
-SH2 (Src Homology domain 2) lie les phosphotyrosines

-SH3 (Src Homology domain 3) lie des séquences riches en Proline.

Les protéines Src sont localisées contre la membrane plasmique, maintenues là par les récepteurs avec lesquels elles interagissent et par des chaînes d'acides gras auxquels elles sont liées de façon covalente.

Src structural domains

Protein tyrosine phosphatases
Reduced Csk activity
Displacement of intramolecular interactions
Mutational activation, *eg* mutation or deletion of tyrosine 527



8-Récepteurs sans activité tyrosine-kinase associés à des tyrosine-kinases

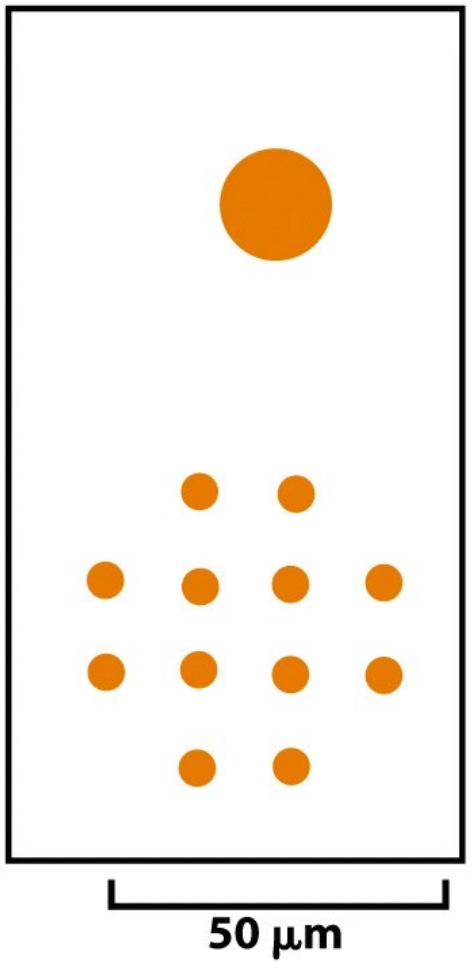
- Tyrosines kinases cytoplasmiques de la famille Src
- Tyrosines kinases cytoplasmiques associées aux intégrines

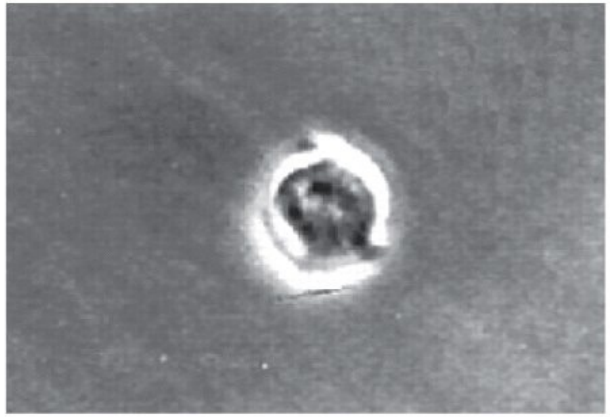
Les intégrines sont des récepteurs une fois transmembranaires qui s'associent avec la matrice extra-cellulaire. L'interaction des intégrines avec des composants de cette matrice peut entraîner une activation de différentes voies de signalisation intra-cellulaire ce qui influence le devenir de la cellule.

Lorsque des intégrines se rassemblent à des sites de contact avec la matrice extra-cellulaire, elles contribuent à former des points d'adhérence focalisée.
Fak (« Focal Adhesion Kinase ») est l'une des protéines du cytosol qui interagit avec ces intégrines par leur queue intra-cytosolique. Elle informe ainsi la cellule, en association avec d'autres protéines à activité tyrosine-kinase dont Src, qu'une surface sur laquelle elle peut poursuivre sa croissance est maintenant disponible.

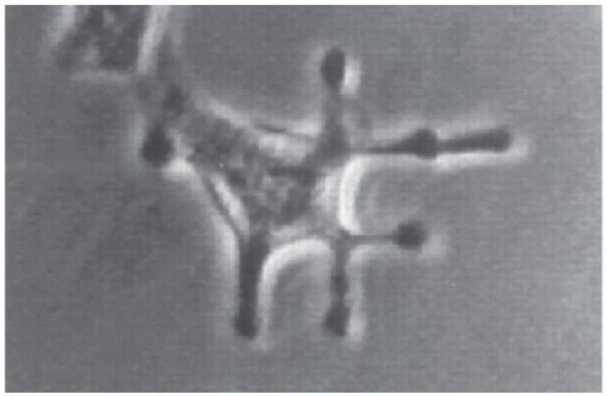
Une quantité définie de fibronectine déposée en un seul point

La même quantité de fibronectine répartie en de nombreux petits points



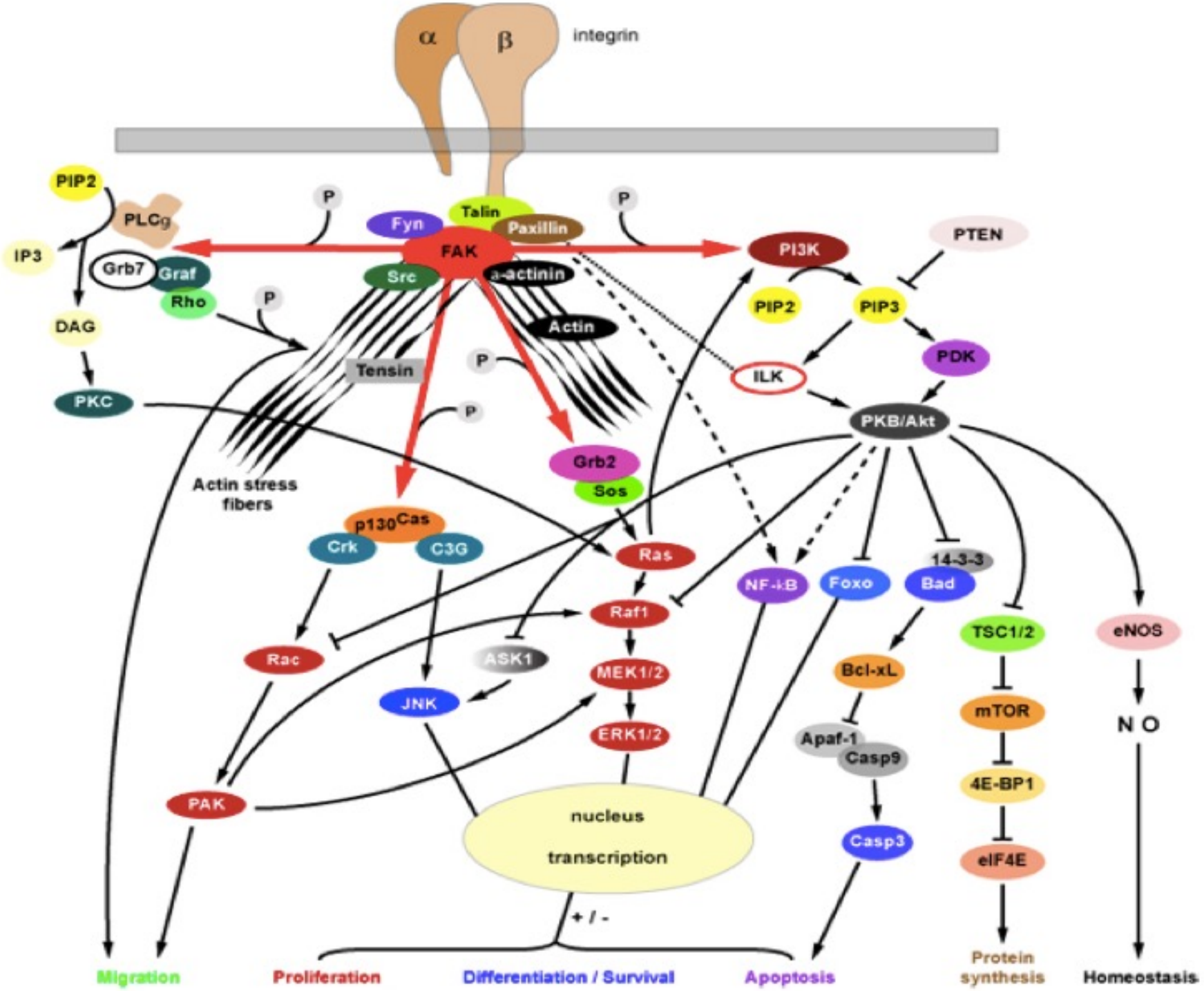


La cellule meurt par apoptose



La cellule s'étale, survit et pousse

Rôle critique de l'adhésion pour la survie cellulaire


α
β
integrin
PIP2
PLCg
IP3
DAG
PKC
Grb7
Graf
Rho
P
Fyn
Talin
Paxillin
FAK
Src
a-actinin
Actin
Tensin
Actin stress fibers
PI3K
PTEN
PIP2
PIP3
PDK
ILK
PKB/Akt
Grb2
Sos
Ras
p130Cas
Crk
C3G
Rac
ASK1
JNK
Raf1
MEK1/2
ERK1/2
PAK
NF-kB
Foxo
14-3-3
Bad
Bcl-xL
Apaf-1
Casp9
Casp3
TSC1/2
mTOR
4E-BP1
eIF4E
eNOS
N O
nucleus
transcription
+ / -
Migration
Proliferation
Differentiation / Survival
Apoptosis
Protein synthesis
Homeostasis

8-Récepteurs sans activité tyrosine-kinase associés à des tyrosine-kinases
Tyrosines kinases cytoplasmiques associées aux intégrines

9-Protéines transmembranaires et cytoplasmiques à activité Tyr-phosphatase

10-Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase

11-Récepteurs à activité guanylyl-cyclase

Fin du chapitre 10

Points importants du chapitre 10 :

- médiateurs hydrophiles-récepteurs membranaires/ hydrophobes-intracellulaires
- signalisation endocrine /paracrine/autocrine – signalisation synaptique
- NO: diffusion à travers membranes, activation guanylyl cyclase
- modalités schématiques du fonctionnement des récepteurs nucléaires
- GPCR, mode de couplage à une protéine G trimérique, activité GEF et RGS
- Gs et Gi modulent l'activité de l'adénylate cyclase (prot. mbranaire). cAMP, production et dégradation
- activation de PKA par dissociation des sous-unités régulatrices, S/T kinase, activation CREB
- Gq, PLC, PIP2 => IP3 + DAG; régulation de [Ca] cytoplasmique; activation PKC
- calmoduline; CaM-kinase
- récepteurs tyrosine kinase, dimérisation et phosphorylation réciproque,
- domaines d'interaction aux phospho-Tyr
- ras est une petite GTPase
- MAPKKK=>MAPKK=>MAPK
- PI3 Kinase
- complexité et intégration des voies de signalisation ;
- (-) x (-) = +; (+) x (-) = + (dans les schémas: → =activation; ⊣ =inhibition)
- tyrosines kinases cytoplasmiques; Src et FAK
- récepteurs à activité S/T kinase (connaitre l'existence)
- récepteurs à activité guanylyl-cyclase (connaitre l'existence)