

COMMUNICATION CELLULAIRE:

I. Introduction:

1. Toutes les Cellules Communiquent

Tous les organismes se doivent de détecter les signaux dans leur environnement et de réagir en conséquence, afin d'être en mesure d'éviter les prédateurs, de s'accoupler, et d'acquérir des éléments nutritifs. Les organismes unicellulaires accomplissent ceci en détectant les produits chimiques extracellulaires, qui, par exemple, peut les diriger vers une source de nourriture, ou loin des prédateurs. Le signal extracellulaire est détecté, l'information est traitée dans la cellule, et la cellule formule alors la réponse appropriée.

Les organismes multicellulaires tels que les humains ressentent et réagissent à l'environnement aussi. Par exemple, s'il fait chaud, on transpire. Si nous sentons la nourriture, nous salivons. Et lorsque nous nous approchons d'un feu de circulation rouge, nous arrêtons la voiture.

Les réponses d'un organisme unicellulaire et d'un organisme multicellulaire à des stimuli environnementaux peuvent apparaître complètement différentes, mais le concept sous-jacent est le même. La principale différence est que, dans les organismes multicellulaires, il y a une division du travail entre les cellules. Certaines cellules sont responsables de la détection, certaines pour interpréter l'information, et d'autres pour répondre.

Cette détection, interprétation et modulation de la réponse chez les organismes multicellulaire, existent aussi de façon simultanée au niveau de chaque cellule. Autrement dit, chaque cellule peut également détecter les signaux provenant d'autres cellules, de traiter cette information et de générer une réponse. C'est donc l'effet combiné et intégré de cette communication au niveau cellulaire entre toutes les cellules du corps, qui donnent lieu à la réponse multicellulaire auxquelles nous associons la transpiration, la salivation, ou le mouvement des muscles. Quand on regarde la communication de cette façon, nous voyons que chaque cellule dans un organisme multicellulaire détecte les signaux, interprète les informations, et provoque une réponse, d'une manière similaire à celle d'un organisme unicellulaire.

Il y a une différence importante cependant. Bien que l'objectif d'un organisme unicellulaire soit la survie de la cellule, l'objectif d'un organisme multicellulaire est la survie de l'organisme. Cela signifie que les cellules dans un organisme multicellulaire ne travaillent pas pour leur survie individuelle, mais plutôt pour la survie de l'organisme multicellulaire. La communication cellulaire affecte presque tous les aspects de la structure cellulaire et leur fonction, y compris la forme des cellules, le mouvement, le métabolisme, l'expression des gènes, la croissance et la division. La communication cellulaire est responsable des événements du développement embryonnaire et de la différenciation cellulaire. Elle permet aux plantes d'être en mesure de répondre à la lumière ou l'obscurité, ce qui dirige la floraison. En fait, dans un organisme multicellulaire, les cellules qui ne reçoivent pas de signaux provenant d'autres cellules seront tuées par défaut par apoptose: la mort cellulaire programmée.

2. Comment les Cellules Communiquent

Les informations sont transmises entre les cellules sous la forme de molécules. Une cellule va envoyer une molécule signal à une cellule cible, et cette cellule cible recevra le message moléculaire et répondra de façon appropriée. Comme vous pouvez l'imaginer, il y a une multitude de différentes molécules de signalisation utilisées dans les organismes multicellulaire à des fins différentes. Celles-ci comprennent des protéines, des peptides, des acides aminés et dérivés, y compris le glutamate, la glycine, l'acétylcholine, la dopamine, l'épinéphrine, et l'hormone de la thyroïde, ainsi que des nucléotides, des stéroïdes, des dérivés d'acides gras, les eicosanoïdes, et même les gaz dissous tels que l'oxyde nitrique.

Chaque molécule de signalisation est reconnue par un récepteur spécifique d'une cellule cible spécifique. Le récepteur sur la cellule cible convertit le signal extracellulaire en un signal intracellulaire. Ce signal intracellulaire déclenche des événements à l'intérieur de la cellule telles que l'activation ou la désactivation de certaines protéines, ce qui conduit éventuellement à une réponse. La particularité de la réponse dépendra de la molécule initiale de signalisation, le récepteur, les événements intracellulaires, et le type de cellule.

Des exemples de réponses comprennent un changement dans l'expression génique, l'activation des enzymes métaboliques, le réarrangement du cytosquelette, une augmentation de la motilité cellulaire, la synthèse de l'ADN, la survie, la croissance, la différenciation ou la mort cellulaire programmée même. La plupart des cellules peuvent à la fois envoyer et recevoir des signaux, et donc agissent à la fois, pour des signaux différents, comme des cellules de signalisation et des cellules ciblées

3. Modes de communication :

Malgré le nombre impressionnant de différents événements de signalisation qui se produisent entre les cellules dans un organisme multicellulaire, on peut regrouper ces modes de communication en cinq catégories principales. Ces catégories sont basées sur le mécanisme par lequel la molécule signal se déplace, ainsi que la distance entre le signal et la cellule cible.

Endocrine:

Une molécule signal est sécrétée dans la circulation sanguine à partir d'un petit groupe de cellules endocrines localisées. La molécule est donc diffusée dans tout l'organisme, donc entre en contact avec toutes les cellules du corps. Ces molécules de signal sont appelées hormones. Ce sont des messages importants qui nécessitent habituellement l'action de plusieurs types de cellules cibles. Ceci est appelé la signalisation endocrinienne.

Paracrine:

Une cellule libère une molécule de signal dans son environnement local, la matrice extracellulaire. La molécule diffuse ensuite localement jusqu'aux cellules voisines. Parce que ces molécules de signal ne pénètrent pas dans le sang, elles ne se déplacent pas aussi loin que la diffusion le permet, et restent donc dans le voisinage local, de façon à cibler uniquement les cellules voisines. Ceci est appelé la signalisation paracrine.

Autocrine:

Parfois, la signalisation paracrine affectera aussi la cellule d'origine qui envoie le signal. Autrement dit, la cellule qui envoie le signal possède également le récepteur spécifique de cette molécule signal. Ceci est appelé la signalisation autocrine.

Communication cellule à cellule:

Les cellules qui sont en contact direct peuvent communiquer entre elles non pas en sécrétant des molécules signales dans la matrice extracellulaire, mais par l'intermédiaire de jonctions cellulaires nées des interactions entre des protéines membranaires à la surface des deux cellules voisines.

Communication neuronale:

Les neurones peuvent transmettre des messages de façon très rapide et sur de longues distances à des cellules cibles spécifiques. Ces signaux électriques se déplacent vers le bas de l'axone du neurone. À la fin de l'axone, le signal électrique est converti en un signal chimique, et les molécules de signalisation, appelées neurotransmetteurs, sont libérées directement sur la membrane cellulaire de la cellule cible.

Comme vous pouvez le voir à partir de ces différents modes de communication, les messages sont soit public, privés, ou quelque part entre les deux.

4. Filtrer le Bruit et Interpréter le Message

Les cellules dans les organismes multicellulaires sont exposées à des centaines de molécules de signalisation en provenance d'autres cellules. Chaque cellule doit déterminer quelles informations détecter, et quelles informations ignorer. Par exemple, les hormones se déplacent dans tout le corps, mais sont uniquement destinées à stimuler certaines cellules. Toutes les autres cellules pourraient ignorer ce message. La décision de détecter ou ignorer une molécule de signal est déterminée par l'ensemble des récepteurs présents chez la cellule cible. Chaque cellule possède un ensemble limité de récepteurs, afin de n'écouter que les signaux qui les concernent.

Des cellules différentes, possédant le même récepteur pour une molécule de signal donnée, peuvent réagir différemment au même signal, en fonction du type de cellule. Ceci est possible car les différents types de cellules possèdent aussi différentes molécules de signalisation intracellulaire. Par conséquent, l'effet d'une molécule de signalisation sur une cellule cible n'est pas uniquement déterminé par cette molécule, mais aussi par le type de cellule, le type récepteur, et les molécules de signalisation intracellulaire en aval du message original qui sont exprimés dans la cellule cible. Ceci serait l'équivalent d'envoyer un message aux services d'urgence d'une ville, demandant à ceux-ci de se mobiliser : et le corps policier, et le corps de pompier et peut-être même les ambulanciers se mobiliseraient. Ils auraient chacun une réponse particulière à ce message, même s'ils travailleraient tous ensemble afin de répondre à l'urgence pour le bien commun de la société. La même chose est vraie pour les cellules dans un organisme multicellulaire. Par exemple, le signal de l'acétylcholine provoque une diminution du taux de contractions des cellules du muscle cardiaque, tout en stimulant les cellules des glandes salivaires à sécréter la salive. Le processus de conversion du signal extracellulaire en un signal intracellulaire est appelé transduction du signal.

Chaque cellule possède plusieurs types de récepteurs, avec plusieurs copies de chacun, et est donc sensible à une variété de signaux. Cependant, une combinaison de molécules de signalisation ne génère pas toujours un résultat global qui est égal à la somme des effets individuels. En effet, il y a une interaction entre les différents systèmes de relais intracellulaires. Cela signifie que la présence d'un signal peut modifier la réponse à un autre signal. Nous allons en apprendre davantage sur la diaphonie, ou le crosstalk, entre les différentes voies de transduction du signal intracellulaire dans une section ultérieure.

5. Introduction-Résumé :

Tous les organismes doivent détecter les signaux dans leur environnement et y réagir en conséquence, afin d'éviter les prédateurs, de s'accoupler et d'acquérir des éléments nutritifs. La communication cellulaire affecte presque tous les aspects de la structure et de la fonction cellulaire. Cependant, malgré le nombre accablant de différents événements de signalisation qui se produisent entre les cellules, chacun de ces événements tombe généralement dans l'une des cinq catégories suivantes: endocrine, paracrine, autocrine, communication cellule à cellule et signalisation neuronale.

Chaque cellule possède de nombreux types de récepteurs, avec de nombreuses copies de chacun, et est donc sensible à une variété de signaux. Les cellules doivent donc déterminer quelles molécules de signalisation elles doivent détecter et lesquelles elles doivent ignorer.

II. Introduction aux récepteurs :

1. Aperçu général :

Les récepteurs sont des protéines qui permettent de détecter un signal extracellulaire et d'initier les événements intracellulaires en aval à l'intérieur la cellule. Ces événements en aval impliquent généralement une cascade de protéines de signalisation, chaque molécule activée en activant une autre de façon séquentielle, pour aboutir finalement à l'effet cellulaire. L'effet peut être, par exemple, la croissance, la division cellulaire, la motilité ou l'expression génique. Ce processus peut être extrêmement rapide, se produisant en millisecondes, ou très lent, comme dans le cas de l'expression génique, qui se produit typiquement de quelques minutes à plusieurs heures après l'activation du récepteur.

Certaines molécules de signalisation, telles que des stéroïdes et le monoxyde d'azote, sont de petite taille et suffisante pour traverser la membrane cellulaire et de se lier à des récepteurs intracellulaires hydrophobes. Toutefois, la grande majorité ne sont pas hydrophobe, et par conséquent se lie à des récepteurs situés dans la membrane cellulaire. Nous allons nous concentrer sur ces récepteurs de la membrane cellulaire, et discuter des récepteurs intracellulaires dans une section ultérieure.

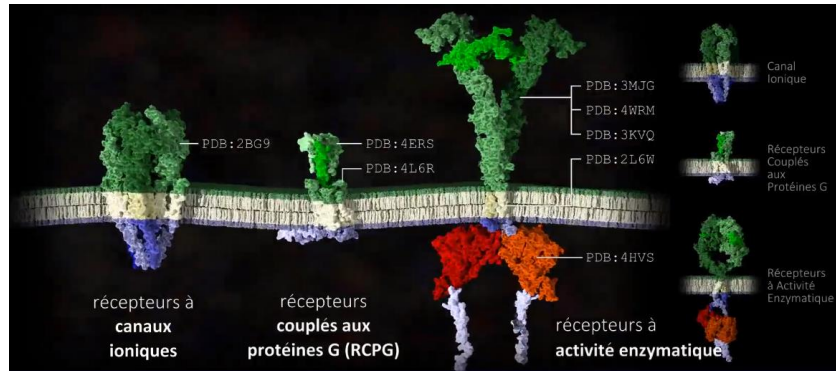
Les récepteurs de la membrane cellulaire possèdent généralement un domaine extracellulaire, un domaine intracellulaire et un domaine transmembranaire. Le domaine extracellulaire se lie à la molécule signal. Le domaine intracellulaire subit généralement un changement de conformation lors de la liaison au ligand, initiant ainsi la cascade de signalisation intracellulaire. Le domaine transmembranaire relie les domaines extracellulaire et intracellulaire. Dans ce module, les domaines extracellulaires sont colorés avec des nuances de vert, tandis que les domaines intracellulaires sont colorés des nuances de bleu.

Chaque récepteur peut activer de nombreuses protéines cibles, et chacune de ces protéines cibles activées peuvent à leur tour activer un grand nombre de leur propres protéines cibles, conduisant ainsi à une amplification significative du signal à chaque étape de la cascade de signalisation. De cette façon, un très petit nombre de molécules de signalisation extracellulaire peut entraîner l'activation de milliers de protéines de signalisation intracellulaire. En outre, une protéine de signalisation peut conduire à l'activation de plusieurs types d'effecteurs en aval, chacun conduisant à un effet différent.

Ainsi, tout comme différentes cellules peuvent réagir différemment à la même molécule de signalisation extracellulaire, différents effecteurs de protéines dans chaque cellule peuvent réagir différemment au même activateur en amont. Autrement dit, il y a à la fois une délégation des tâches entre les différentes cellules d'un organisme multicellulaire, ainsi qu'une délégation des tâches à un niveau inférieur, soit au sein de chaque cellule.

2. Trois Catégories de Récepteurs Membranaires :

Il existe trois grandes catégories de récepteurs membranaires: **les récepteurs à canaux ioniques**, **les récepteurs couplés aux protéines G**, ou **RCPG**, et **les récepteurs à activité enzymatique**. Chaque catégorie de récepteur peut être utilisée pour différents types d'évènements de signalisation, soit la signalisation endocrinienne, paracrine ou neuronale.



A. Récepteur couplé à un canal ionique

Les récepteurs couplés à des canaux ioniques **régulent le flux d'ions à travers la membrane cellulaire**. Différents récepteurs régulent différents ions. Ils sont **très variés en forme, mais sont généralement composés de sous-unités multiples qui forment un canal central à travers lequel les ions circulent**. Ils possèdent donc tous des domaines transmembranaires composés de **plusieurs hélices alpha**. L'ouverture et la fermeture du canal central sont régies par la liaison d'une molécule de signalisation spécifique.

Les récepteurs couplés à des canaux ioniques sont utilisés par des cellules spécialisées telles que les **cellules musculaires et les neurones**. Le flux d'ions à travers le canal est entraîné par un gradient électrochimique et peut changer le potentiel de la membrane en quelques millisecondes. Ainsi, les canaux ioniques peuvent convertir **un signal chimique, la molécule de signalisation, en un signal électrique, la variation du potentiel de membrane**.

B. RCPGs

Contrairement aux récepteurs couplés à des canaux ioniques, qui sont variés dans leur forme, les RCPGs sont **structurellement similaires**. Ils sont composés **d'une seule chaîne polypeptidique qui possède un domaine extracellulaire de liaison du ligand, sept hélices alpha transmembranaires et un domaine intracellulaire capable d'interagir avec une protéine G hétérotrimériques**. En réponse à une molécule de signalisation extracellulaire, les RCPGs activent les protéines G hétérotrimériques, qui ensuite transmettent le signal à l'intérieur de la cellule à travers une cascade de signalisation en aval. Dans certains cas, **la cascade de signalisation résultant de l'activation d'un RCPG pourra éventuellement conduire à l'activation d'un canal ionique**.

C. Récepteurs à activité enzymatique (ou récepteurs-enzymes ou récepteurs enzymatiques)

Le type le plus commun de récepteur à activité enzymatique sont **des récepteurs tyrosine kinase, ou RTK**. Ces récepteurs sont constitués **d'une chaîne polypeptidique possédant un domaine extracellulaire de liaison au ligand, une seule hélice alpha transmembranaire et un domaine tyrosine kinase intracellulaire**. Cependant, le domaine kinase de chaque monomère est initialement inactif. Lorsqu'une molécule de signalisation se lie à un récepteur monomérique, ceci provoque un changement de conformation au niveau de son domaine extracellulaire, permettant ainsi aux domaines extracellulaires de deux RTK de se dimériser. Cette dimérisation rapproche les domaines kinase intracellulaires de ces

récepteurs, ce qui entraîne leur activation. Nous allons en apprendre davantage sur la façon dont cette activation se produit dans une section ultérieure.

D. Comparaison des types de récepteurs différents

La structure de ces récepteurs est directement liée à leur fonction. Voici un résumé des différences structurelles entre ces trois groupes: les récepteurs couplés à des canaux ioniques sont généralement composés de plusieurs sous-unités, les RCPG sont constitués d'une seule chaîne polypeptidique et les RTK sont composés d'un monomère polypeptidique qui se dimérise suite à la liaison du ligand. Les récepteurs couplés à des canaux ioniques et RCPG traversent plusieurs fois la membrane cellulaire, tandis que chaque monomère des RTK ne la traverse qu'une seule fois. Bien que tous les récepteurs aient un domaine de liaison du ligand extracellulaire, seulement les RTK possèdent des domaines kinases intracellulaires.

3. Les interrupteurs intracellulaires – ATP :

Certaines des protéines de signalisation intracellulaire activées par les récepteurs agissent comme des interrupteurs (ou en anglais switch) moléculaires, en basculant entre un état actif ou inactif (en anglais on ou off). Il existe deux principaux types de ces interrupteurs; ceux qui utilisent l'ATP, par l'intermédiaire d'une phosphorylation ou une déphosphorylation, et ceux qui utilisent GTP, par l'intermédiaire des protéines de liaison au GTP.

a. ATP

La phosphorylation est la fixation covalente d'un groupement phosphate de l'ATP à un résidu spécifique d'une protéine cible. Cette réaction est réalisée par des protéines appelées kinases. Les RTK utilisent l'interrupteur ATP, par l'intermédiaire de leur domaine kinase intracellulaire. Le processus se déroule comme suit: Tout d'abord, une molécule d'ATP pénètre dans le site actif de la kinase. Ensuite, la kinase clive le troisième phosphate de la molécule d'ATP, elle transfère le groupement phosphate clivé à la protéine cible et l'attache de façon covalente. La molécule d'ADP restante diffuse dans le cytoplasme.

La fixation covalente d'un groupement phosphate modifie la conformation de la protéine, la faisant basculer ainsi entre un état actif ou inactif, selon la nature de la protéine cible. Les kinases peuvent phosphoryler un ou plusieurs résidus d'une même protéine cible. Le phosphate peut ensuite être retiré par des protéines appelées phosphatases. Le niveau d'activité de la protéine cible est déterminé par l'effet net des kinases et des phosphatases spécifiques à cette protéine.

Les kinases et les phosphatases reconnaissent leurs substrats avec une grande précision. Ces protéines cibles peuvent être de nature variée, y compris d'autres kinases ou des enzymes, des canaux ioniques, des protéines structurales ou des facteurs de transcription. En effet, 50% des protéines transmembranaires et cytoplasmiques sont phosphorylés au niveau d'un ou plusieurs sites.

Il existe deux types de kinases: les sérine/thréonine kinases phosphorylent des résidus sérine ou thréonine des protéines cibles, et les tyrosine kinases phosphorylent les résidus de tyrosine sur des protéines cibles.

4. Les Interrupteurs Intracellulaires | GTP

b. GTP

Alors que le système phosphorylation/déphosphorylation peut être comparé à un interrupteur on/off, des protéines liant le GTP, simplement appelées les protéines G, travaillent en fait comme des minuteries moléculaires. Elles sont activées par la liaison non covalente d'une molécule de GTP. Dans ce module,

les molécules de GTP sont colorées en rouge, et les protéines G sont de couleur orange. Ce sont les RCPG qui contrôlent ces minuteries moléculaires, par l'activation des protéines G hétérotrimériques.

Dans sa forme inactive, la protéine G est liée à un GDP. Suite à sa liaison à une protéine d'activation des protéines G, la protéine G change de conformation et libère le GDP. Ceci permet à une molécule de GTP se lier à la protéine G, ce qui l'active et lui permet d'interagir avec des cibles en aval. La capacité des protéines G à hydrolyser GTP est faible, et en tant que tel, plusieurs secondes passent avant que la molécule de GTP soit hydrolysée en GDP et Pi. Pendant ce temps, la protéine G reste active et continue à activer des protéines cibles en aval.

Après que plusieurs secondes se soient écoulées, la protéine G hydrolyse finalement le GTP. Le Pi diffuse dans le cytoplasme, tandis que le GDP, lui, reste lié au site actif et la protéine retrouve ainsi sa forme inactive. Afin de réactiver la protéine G, le GDP doit être à nouveau libéré, ce qui ne peut être déclenché que par une protéine activatrice de protéine G, qui doit elle-même être activée.

Il existe deux types de protéines G: monomérique et hétérotrimérique. Les protéines G monomériques sont constituées d'une seule chaîne polypeptidique qui lie le GTP et peuvent être soit cytosolique ou attaché à la membrane interne. Les protéines G hétérotrimériques sont constituées de trois sous-unités: une sous-unité alpha, une sous-unité bêta, et une sous-unité gamma et sont toujours attachées à la membrane interne. Le domaine de liaison au GTP de la sous-unité alpha est structurellement similaire à des protéines G monomères.

Les RCPG sont les activateurs de cette minuterie moléculaire GTP, grâce à l'activation des protéines G hétérotrimériques, tandis que les RTK utilisent l'interrupteur moléculaire ATP, par l'intermédiaire de leur domaine kinase intracellulaire. Cependant, dans les événements de signalisation intracellulaire suivant, les deux types d'interrupteurs, ATP et GTP, peuvent être utilisés dans les deux voies de signalisation.

5.Introduction aux récepteurs-RÉSUMÉ :

Les récepteurs sont des protéines qui détectent un signal extracellulaire et déclenchent des événements de signalisation intracellulaires en aval dans la cellule. Il existe trois catégories principales de récepteurs à membrane cellulaire: les récepteurs couplés aux canaux ioniques, les récepteurs couplés aux protéines G (aussi nommés les RCPGs) et les récepteurs à activité enzymatique (aussi appelés récepteurs-enzymes ou récepteurs enzymatiques).

Certaines des protéines de signalisation intracellulaire activées par ces récepteurs agissent comme commutateurs moléculaires, basculant ou non, dans un état actif ou inactif. Il existe deux types principaux de commutateurs : ceux qui utilisent l'ATP, via la phosphorylation ou la déphosphorylation, et ceux qui utilisent le GTP, via des protéines de liaison au GTP.

Alors que le système de phosphorylation / déphosphorylation peut être comparé à un commutateur marche / arrêt, les protéines de liaison au GTP, aussi simplement nommées protéines G, fonctionnent plutôt en tant que minuteries moléculaires. Elles sont activées ou désactivées par la liaison non covalente de GTP.

III. Les récepteurs couplés à des protéines G (RCPG)

1. Aperçu Générale de la Relation Structure/Fonction des RCPG

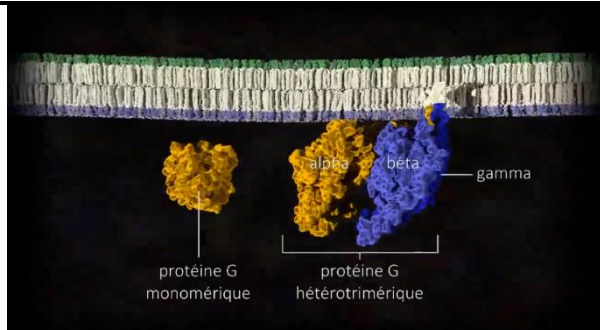
Les récepteurs couplés à la protéine G ou RCPG, sont des récepteurs de la membrane cellulaire qui activent les protéines G hétérotrimériques en réponse à la liaison du ligand. Ils représentent la plus grande famille de récepteurs de surface cellulaire. Leur origine date du tout début de l'évolution cellulaire, même les bactéries possèdent des protéines structurellement similaires, bien qu'elles ne se lient pas aux protéines G hétérotrimériques. Il existe des milliers de types différents de RCPG dans des organismes allant de la levure, aux plantes à fleurs, aux mammifères. Les souris possèdent plus de 1000 RCPG consacrés uniquement à l'odeur.

En effet, les RCPG représentent la plus grande superfamille de protéines chez les animaux. Par conséquent, ces récepteurs sont responsables d'une grande variété de processus cellulaires dans différents types cellulaires. Les humains possèdent plus de 800 isoformes de RCPG impliqués dans une multitude de processus, y compris la vue, le goût, l'odeur, la communication neuronale, la régulation cardiovasculaire, l'activité du système endocrinien, et les fonctions de reproduction. En fait, environ la moitié de tous les médicaments connus manipule les RCPG.

Malgré la grande diversité dans leurs fonctions, les RCPG sont structurellement similaires. Ces protéines sont constituées d'une chaîne polypeptidique unique qui passe à travers la membrane 7 fois. Les RCPG sont donc parfois appelés les récepteurs à 7 domaines transmembranaires ou 7TMs. Le domaine N-terminal se trouve sur le côté extracellulaire, tandis que le domaine C-terminal est situé sur le côté intracellulaire. Il y a aussi trois boucles extracellulaires, qui sont impliqués dans la liaison du ligand, et trois boucles intracellulaires, dont la troisième est impliqué avec la liaison de la protéine G hétérotrimériques.

Quand aucun ligand est lié, les interactions hydrophobes entre les 7 hélices transmembranaires alpha stabilisent la protéine dans son état inactif. Lorsqu'un ligand se lie aux domaines extracellulaires, les hélices alpha transmembranaires se décalent les unes par rapport aux autres, causant un réarrangement des domaines intracellulaires. Ceci conduit à une plus grande affinité du récepteur pour la protéine G hétérotrimérique, qui se lie ensuite au RCPG.

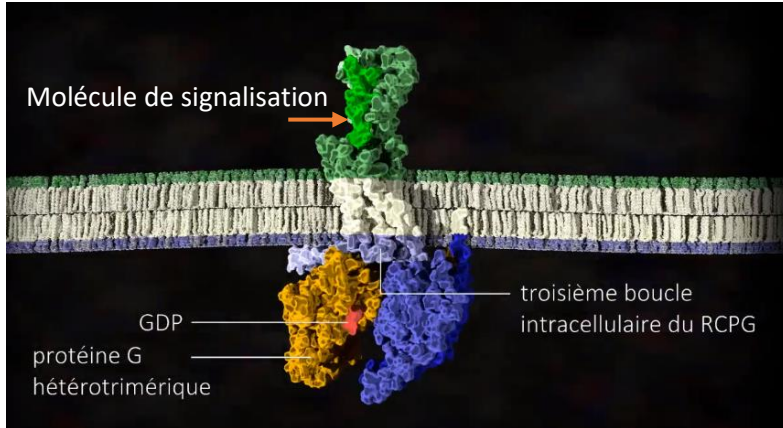
2. La Relation Structure/Fonction de la Protéine G Hétérotrimérique



Les protéines G monomériques sont composées d'une seule chaîne polypeptidique qui lie le GTP. Les protéines G hétérotrimériques, par contre, possèdent une sous-unité de liaison au GTP similaire, appelée la sous-unité alpha, ainsi que de deux sous-unités supplémentaires, appelées les sous-unités bêta et gamma. Les sous-unités alpha et gamma possèdent un motif hydrophobe qui s'insère dans le côté cytoplasmique de la membrane cellulaire, et par conséquent, les protéines G hétérotrimériques restent attachés à la membrane.

De nombreux isoformes existent, chacun avec des objectifs différents et chacun responsable des différentes fonctions en aval. Par exemple, les humains possèdent des gènes pour 16 sous-unités alpha, 5 sous-unités bêta et 12 isoformes gamma. Bien que les différents isoformes soient responsables de différentes fonctions, ils sont tous structurellement similaires. En outre, différents isoformes peuvent se

jumeler de différentes manières, ce qui donne lieu à de nombreuses combinaisons de protéines G hétérotrimériques.

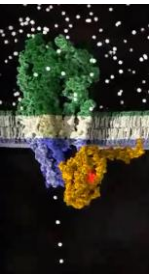


Quand une molécule de signalisation extracellulaire se lie à et active un RCPG, une protéine G hétérotrimérique liée à un GDP, se liera à la troisième boucle intracellulaire du RCPG. Dans certains cas, des protéines chaperonnes peuvent se lier à l'extrémité C-terminale du RCPG pour améliorer la liaison avec la protéine G hétérotrimérique. Cette interaction provoque un changement conformationnel dans la sous-unité alpha, qui déplace le GDP lié. Ceci

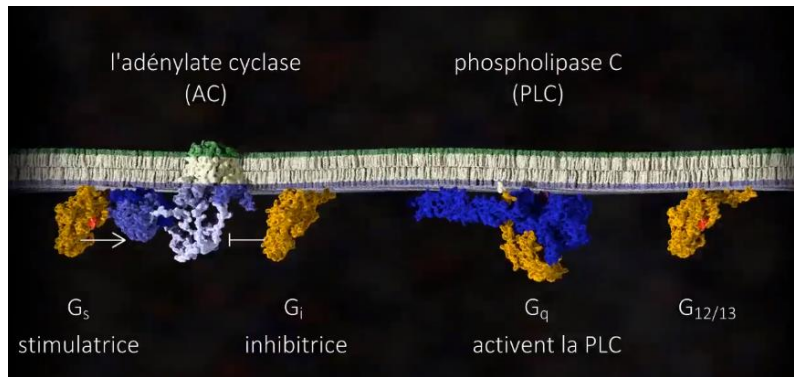
permet à une molécule de GTP se lier, ce qui active la protéine. La protéine quitte alors le RCPG, et la sous-unité alpha se détache des sous-unités bêta et gamma. Cela se produit de nombreuses fois, aussi longtemps que la molécule de signalisation extracellulaire est liée au RCPG, conduisant à une amplification du signal. Tant la sous-unité alpha, que les sous-unités bêta gamma, iront activer des protéines cibles, débutant ainsi la cascade de signalisation intracellulaire.

3. Les cibles des protéines G hétérotrimériques :

Parce qu'elles sont attachées à la membrane, les protéines G hétérotrimériques activées activeront des protéines cibles qui sont aussi liées à la membrane. Ces protéines cibles sont soit des canaux ioniques ou des enzymes. Dans le cas des canaux ioniques activés, le canal ionique lui-même est l'effecteur, et l'afflux d'ions représente une réponse cellulaire immédiate de la molécule de signalisation extracellulaire.



Contrairement aux canaux ioniques, les enzymes liées à la membrane ciblés par les protéines G hétérotrimériques ne sont pas elles-mêmes les effecteurs. Au lieu de cela, ces enzymes déclenchent une cascade de signalisation intracellulaire, menant éventuellement à une réponse cellulaire en aval. Pour cette raison, le temps de réponse de ces voies n'est pas aussi immédiat que pour les canaux ioniques. Plus le temps de liaison de la protéine G à sa protéine cible est long, plus l'amplification du signal est d'envergure. Cependant, après quelques secondes, le GTP lié sera finalement hydrolysé en GDP, ce qui conduit à l'inactivation de la protéine G. Les deux enzymes liées à la membrane les plus couramment utilisées, qui sont ciblées par les protéines G hétérotrimériques, sont l'adénylate cyclase ou AC, et la phospholipase C ou PLC.

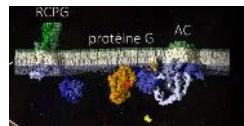


Les protéines G hétérotrimériques sont classées en quatre groupes en fonction des enzymes membranaires qu'elles ciblent, et selon l'isoforme de la sous-unité alpha qui est utilisée. Les protéines G hétérotrimériques qui activent les AC sont classées comme G_s, où le s signifie stimulatrice. Celles qui inhibent AC sont classées comme G_i, où le i représente inhibitrice. Les isoformes G_q activent la PLC, et peu de choses sont connues au sujet de la quatrième catégorie, les G_{12/13}.

Rappelez-vous que différents types de cellules expriment des isoformes différents, et la même molécule de signalisation extracellulaire peut donc conduire à l'activation de différents types de protéines G hétérotrimériques dans les cellules différentes.

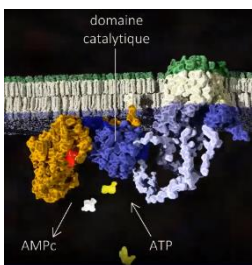
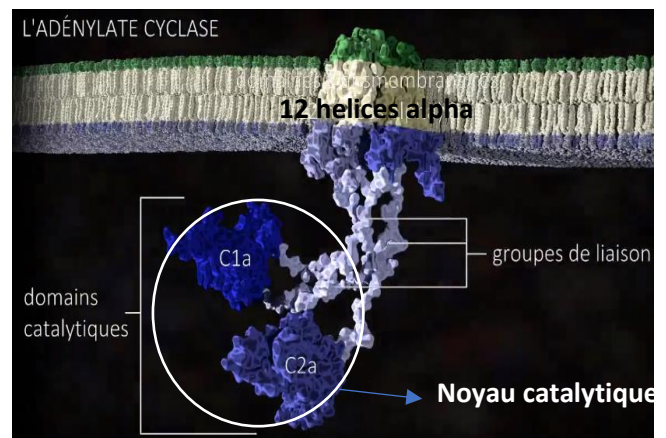
En outre, différents isoformes de AC et de PLC sont utilisés par une variété de cellules pour une variété d'événements de signalisation en aval. En dépit de la grande variété de protéines G, AC et isoformes PLC, les principaux événements de ces voies de signalisation sont conservés.

4. AC et PKA



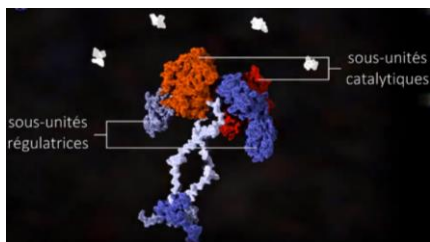
L'adénylate cyclase, ou AC, est une enzyme composée d'une seule chaîne polypeptidique. Elle se compose de 12 hélices alpha transmembranaires, deux domaines catalytiques intracellulaires, C1a et C2a, et plusieurs groupes de liaison qui relient les domaines catalytiques intracellulaires aux domaines transmembranaires.

C1a et C2a s'associent pour former le noyau catalytique de l'enzyme. L'AC est activée par l'interaction avec la sous-unité alpha activée, et liée à un GTP, de la G_s, une protéine G hétérotrimérique. Cette interaction catalyse la conversion de l'ATP en AMP cyclique (AMPc) par le domaine catalytique de l'AC.

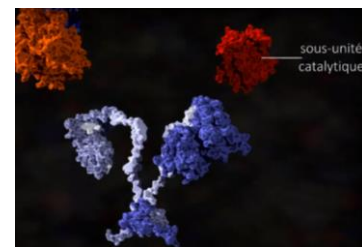


Si la molécule de signalisation extracellulaire d'origine est considérée comme le message primaire, l'AMPc peut être considéré comme un message secondaire. Bien que l'amplification du signal se produit à plusieurs étapes, y compris l'activation du RCPG, une protéine G hétérotrimérique et l'AC, ces événements sont tous localisés au niveau de la membrane cellulaire. Lorsque l'AMPc est produit, il peut diffuser

librement à travers toute la cellule. Dans les voies impliquant l'AC, l'AMPc produit inonde le cytosol et propage rapidement le signal à une multitude de cibles en aval. Comme vous pouvez maintenant l'imaginer, différentes cellules produisent des protéines cibles de l'AMPc qui sont aussi différentes. Ainsi l'AMPc aura des effets différents dans des cellules différentes.

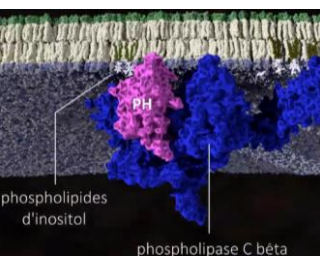


L'une des principales cibles en aval de l'AMPc est la protéine kinase A, ou PKA. La PKA est composée de deux sous-unités régulatrices, et deux sous-unités catalytiques. Dans son état inactif, les sous-unités régulatrices sont liées aux sous-unités catalytiques, inhibant ainsi leur fonctionnement. Lorsque l'AMPc se lie aux sous-unités régulatrices, il induit un important changement de conformation, ce qui libère les sous-unités catalytiques. Ces kinases catalytiques peuvent maintenant phosphoryler les sérines et thréonines de leur protéines cibles.

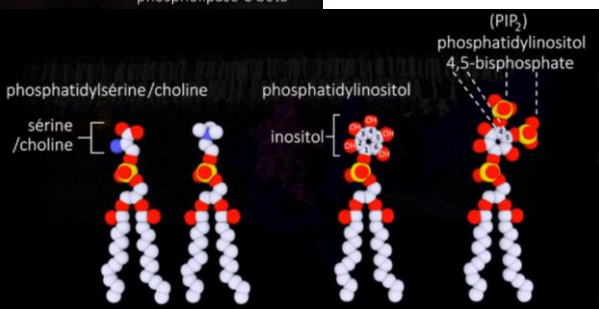


Il existe plus de 100 substrats de PKA dans le cytosol et le noyau, exprimés par des cellules différentes. Il y a aussi plus de 30 types de protéines d'ancrage de la PKA, ou AKAP, qui interagissent avec la PKA et recrutent ses protéines cibles, créant ainsi une plaque tournante de signalisation. Les protéines cibles de la PKA qui sont recrutées par AKAP sont les premières et les plus faciles pour PKA à phosphoryler. Les réponses modérées par la PKA peuvent être soit lente ou rapide, en fonction des événements de signalisation en aval. L'une des cibles les plus remarquables de la PKA est une protéine nucléaire, la protéine liant l'élément de réponse de l'AMPc, aussi appelée la protéine CREB, un facteur de transcription. Les dimères de CREB lient des éléments de réponse de l'AMPc, ou CRE, dans le génome, aux séquences TGACGTCA. Ceci augmente le taux d'initiation de transcription des gènes voisins. Parce qu'elle implique la transcription des gènes, cette réponse est lente. L'effet final dépendra des cibles spécifiques de la PKA qui sont présentes dans un type de cellule particulier.

5. Phospholipase C (PLC), Inositol 1,4,5-Trisphosphate (IP3), et Diacylglycérol (DAG) – PARTIE 1 :



L'autre enzyme liée à la membrane la plus couramment utilisée comme cible par les protéines G hétérotrimériques est la phospholipase C bêta, ou PLC-bêta. La PLC-bêta possède un domaine PH (Pleckstrin homology) qui a pour fonction d'attacher la PLC à la membrane cellulaire interne, par l'intermédiaire de l'interaction du domaine de PH, avec des phospholipides d'inositol. Certains phospholipides jouent un rôle clé dans la voie PLC-bêta. Il est donc nécessaire de faire une parenthèse, afin de se remémorer la structure chimique de ces phospholipides.

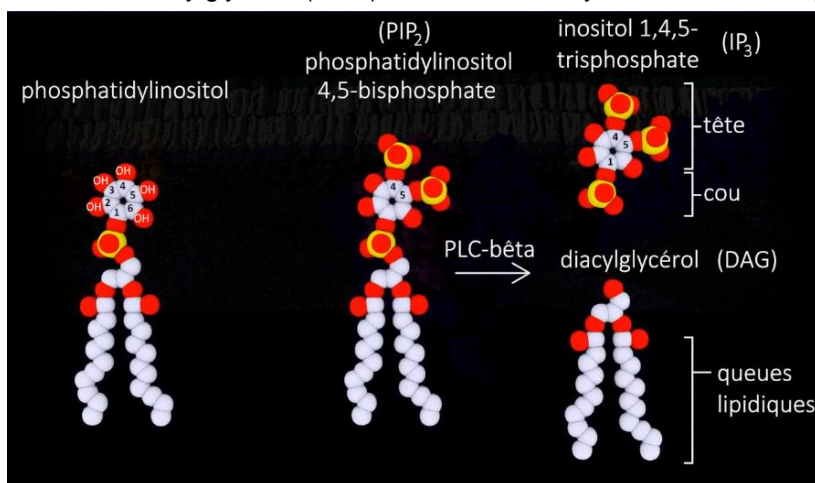


Tous les phospholipides sont constitués d'une tête hydrophile reliée par un phosphate à des queues lipidiques. D'où le nom, phospholipide. La plupart des phospholipides possèdent un petit groupe de tête composé soit d'une sérine ou d'une choline. Ces phospholipides sont appelés respectivement la phosphatidylsérine et la phosphatidylcholine. Cependant, une petite minorité de phospholipides possèdent un plus grand groupe de tête, composé d'un cycle inositol. L'inositol est composé d'un cycle à 6 carbones auquel sont attachés plusieurs groupes alcool. Ces phospholipides contenant un inositol sont ainsi appelés les phosphatidylinositols.

Certains phosphatidylinositols possèdent deux groupes phosphates fixés au cycle du carbone, aux positions 4 et 5 sur le carbone. Ces phosphatidylinositols sont appelés phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, où bisphosphate signifie deux phosphates. Le nom du phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate est généralement écourté pour PIP2.

Lorsqu'elle est activée par la sous-unité alpha liée au GTP, la PLC-bêta clive le phosphatidylinositol-4,5-diphosphate (PIP₂) en deux morceaux. La tête possèdent un cycle inositol avec trois groupements phosphates fixés aux carbones 1, 4 et 5. Cette partie est ainsi appelée inositol 1,4,5-triphosphate, où triphosphate veut tout simplement dire trois phosphates. Le nom de l'inositol 1,4,5-triphosphate est généralement écourté pour inositol triphosphate, ou IP₃.

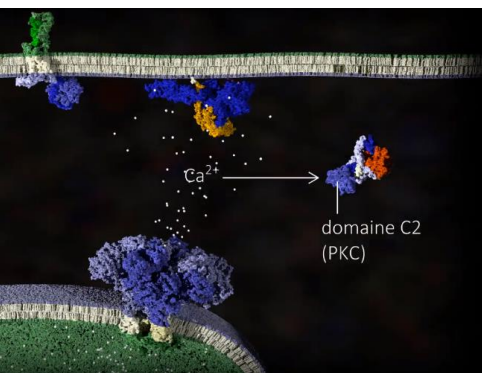
La deuxième partie, qui est le reste de la molécule originale phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂), est désignée sous le nom de diacylglycérol (DAG), où le terme diacyle décrit les deux queues lipidiques.



6. Phospholipase C (PLC), Inositol 1,4,5-Trisphosphate (IP₃), et Diacylglycerol (DAG) | PARTIE 2

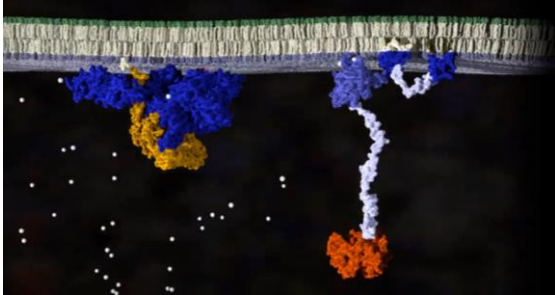
Les phospholipides inositol sont également utilisés dans la signalisation modérée par les RTK, cependant, nous allons discuter de ces événements dans la section RTK. Lorsqu'elles sont activées par la sous-unité alpha lié à un GTP, la PLC-bêta clive le phosphatidylinositol-4,5-diphosphate (PIP₂) en deux pièces; IP₃ et DAG. Prenez un moment pour vous souvenir de la structure du PIP₂, IP₃ et DAG de la partie 1.

IP₃ est une petite molécule hydrophile, tandis que DAG est hydrophobe. Par conséquent, une fois clivé, IP₃ diffuse rapidement à travers le cytoplasme. Elle interagit avec le récepteur de l'IP₃, un grand canal ionique tétramérique, situé dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse. Cette interaction se traduit par l'ouverture du canal, et la libération de Ca²⁺ du RE lisse. Le RE lisse est utilisée comme installation de stockage de Ca²⁺ dans une variété de cellules, pour une variété de procédés. Parce que le Ca²⁺ est une petite molécule qui inonde rapidement le cytosol lors de sa libération, le Ca²⁺ peut également être considéré comme un second messager, semblable à la production d'AMPc par l'AC.



Le joueur suivant dans cette voie est la protéine kinase C, ou PKC. La PKC est une protéine cytosolique composée de plusieurs domaines: C1A, C1B, C2 et catalytique. Bien que ces domaines soient tous reliés par des molécules de liaison flexibles, ils sont enroulés ensemble de façon serrée. Le site de liaison de l'ATP au niveau du domaine catalytique est donc caché et inactif. Lorsque suffisamment d'ions Ca²⁺ sont présents dans le cytoplasme, ces ions se fixent sur le domaine C2 de la PKC. Ceci permet à la PKC d'interagir avec la membrane cellulaire. Les ions Ca²⁺ agissent comme un pont ionique entre le domaine C2 et les phospholipides membranaires. Plus précisément, la phosphatidylsérine et la phosphatidyl-4,5-bisphosphate (PIP₂).

Cette interaction provoque l'insertion des deux domaines de C1, de façon consécutive dans la membrane. Ces domaines C1 interagissent avec plusieurs molécules de DAG. Ceci à son tour, se traduit par le dépliage des molécules de liaison flexibles reliant le domaine C2 au domaine catalytique et le domaine catalytique est alors libre de phosphoryler les résidus sérine ou thréonine de ses protéines cibles. Notez que les deux Ca^{2+} et DAG sont nécessaires pour activer la PKC. Bien que la PKC est la plus étudiée, d'autres protéines cytosoliques possédant des domaines C1 pourront également être recrutés aux molécules de DAG dans la membrane cellulaire.



7. Exemple; Régulation de la concentration du glucose sanguin :

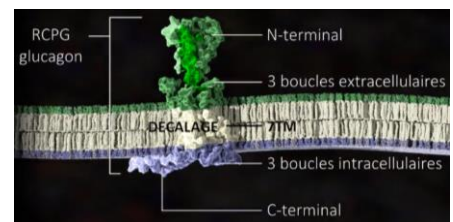
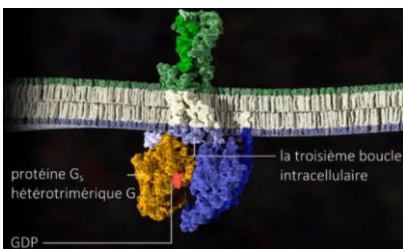
Dans cette section, nous allons examiner toutes les informations que nous avons apprises sur les voies RCPG en utilisant un exemple spécifique. Cette voie introduira également de nouveaux acteurs à la voie que nous venons d'apprendre.

Le glucose est utilisé comme source d'énergie par toutes les cellules du corps, et en tant que telle, sa concentration dans le sang doit être régulée à l'intérieur d'une plage étroite. Cette plage est surveillée et contrôlée par les cellules du pancréas. Une diminution du taux de glucose peut entraîner une perte de conscience ou un coma. Une augmentation pourrait entraîner la perte de liquides et d'électrolytes dans l'urine, pour aboutir finalement à des problèmes de santé graves. L'une des façons dont les niveaux de glucose dans le sang sont régulés est de stocker l'excès de glucose sous forme de longs polymères, appelés glycogène, dans les cellules hépatiques. Lorsque la glycémie est faible, le glycogène peut être catabolisé en monomères de glucose, et quand la glycémie est élevée, le glucose peut être polymérisé en glycogène.

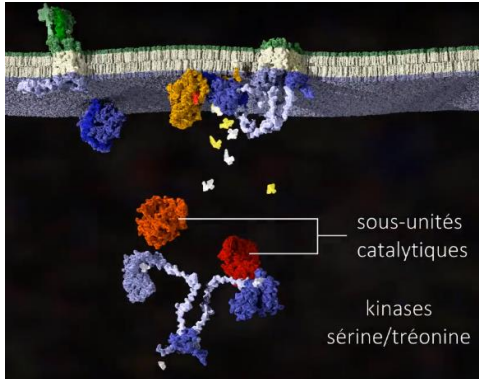
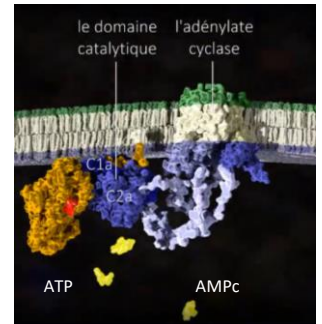
La dégradation du glycogène en réponse aux faibles taux de glucose dans le sang est régulée par une voie médiée par un RCPG, que nous allons maintenant examiner en détail. La synthèse de glycogène en réponse à des niveaux élevés de glucose sanguin est régulée par une voie médiée par les RTK, que nous examinerons dans une prochaine section.

En réponse à de faibles niveaux de glucose dans le sang, les cellules alpha du pancréas sécrètent l'hormone glucagon. Le glucagon est une petite protéine composée de seulement 29 acides aminés. Glucagon se déplace à travers la circulation sanguine vers le foie, où il se lie au domaine N-terminal et trois boucles extracellulaires du RCPG spécifique au glucagon. Cette liaison conduit à un décalage des 7 hélices transmembranaires alpha dans le RCPG, ce qui entraîne un changement conformationnel dans le domaine C-terminal et change aussi la conformation des trois boucles intracellulaires. La protéine G hétérotrimérique G_s , liée à un GDP, se lie à la troisième boucle intracellulaire, ce qui entraîne la libération du GDP et permet au GTP de se lier à G_s . La protéine G hétérotrimérique se dissocie alors du RCPG,

et la sous-unité alpha se sépare des sous-unités bêta et gamma.



La sous-unité alpha activée diffuse à travers la membrane et active le domaine catalytique de l'AC, constitué de C1a et C2a, et qui convertit l'ATP en AMPc, le deuxième messager. Une incroyable quantité d'AMPc est produite pour chaque protéine extracellulaire de glucagon qui est lié à son RCPG en raison de l'amplification du signal se produisant à plusieurs étapes.

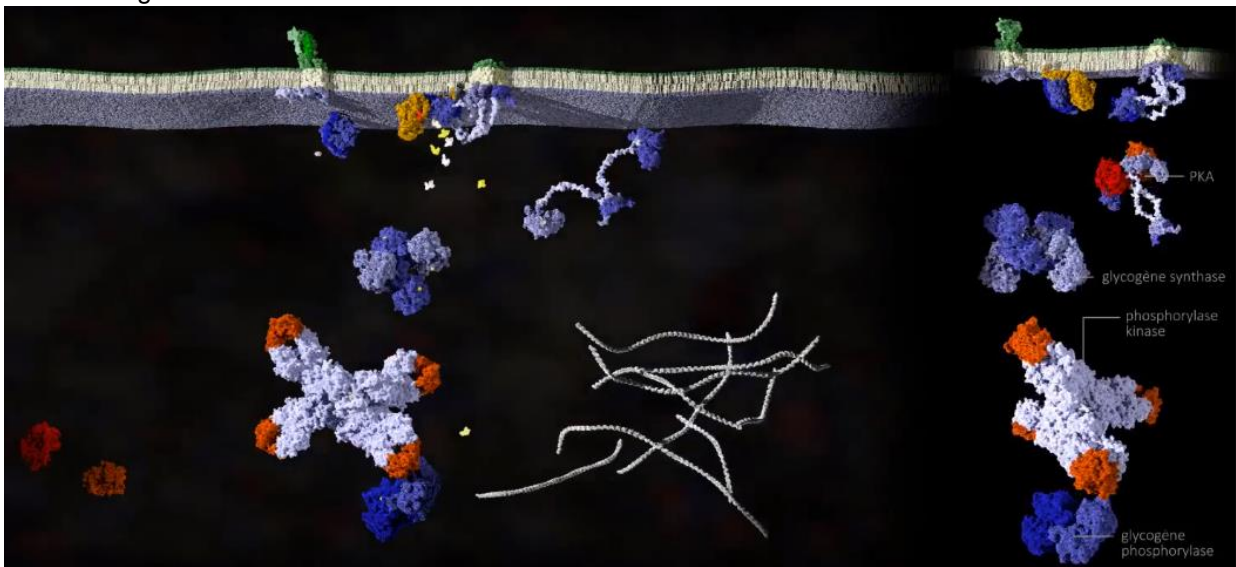


AMPc inonde rapidement le cytoplasme et se fixe sur les deux sous-unités régulatrices de la PKA. Ces sous-unités régulatrices subissent un changement conformationnel important, libérant les deux sous-unités catalytiques. Ces sous-unités catalytiques de la PKA sont des kinases sérine / thréonine.

8. Partie 2 :

Elles phosphorylent trois importantes protéines cibles: la glycogène synthase, la phosphorylase kinase et les protéines CREB.

La phosphorylation de la glycogène synthase inactive l'enzyme, ce qui empêche la polymérisation du glycogène à partir de monomères de glucose. La phosphorylation de la phosphorylase kinase, par contre, active cette enzyme. La phosphorylase kinase phosphoryle alors la glycogène phosphorylase. La glycogène phosphorylase, maintenant active, commence à cliver les polymères de glycogène en monomères de glucose-1-phosphate. Ces monomères sont convertis en glucose, puis diffuse dans la circulation sanguine.



Remarquez que la phosphorylation d'une enzyme, la glycogène synthase, a pour résultat la désactivation, tandis que la phosphorylation d'une autre enzyme, la glycogène phosphorylase, conduit à son activation. Notez également la grande taille de la phosphorylase kinase. Bien que la structure moléculaire exacte ne soit pas encore déterminée, des expériences de cryo-microscopie électronique ont révélé sa taille générale et sa forme.

Tandis que l'activation ou la désactivation de ces enzymes résulte en des effets quasi immédiats, les sous-unités catalytiques de la PKA entrent dans le noyau afin d'y phosphoryler des facteurs de transcription. Le plus notable, la protéine de liaison des CRE, ou CREB, se lie à des éléments de réponse à l'AMPc, ou CRE, dans le génome. Ceci augmente la transcription de plusieurs gènes codant pour des enzymes impliquées dans la gluconéogenèse. Bien entendu, ces réactions sont beaucoup plus lentes que la dégradation du glycogène en glucose, car elles impliquent la transcription des gènes. La liaison du glucagon au RCPG du glucagon dans les cellules hépatiques résulte donc non seulement dans la dégradation des polymères de glycogène en monomères de glucose, mais favorise également la production d'enzymes nécessaires pour la synthèse du glucose.

Même si les niveaux de glucose dans le sang sont à des concentrations normales, le corps peut parfois nécessiter une dépense d'énergie pendant l'activité physique ou lors de situations stressantes. Lorsque cela se produit, les cellules bêta-adrénergiques dans les glandes surrénales sécrètent l'hormone adrénaline, maintenant appelée épinéphrine. L'épinéphrine est une petite molécule dérivée de l'acide aminé tyrosine. L'épinéphrine circule dans le sang et se lie aux récepteurs RCPG bêta-adrénergiques situés dans la membrane des cellules musculaires. La même voie de signalisation est activée, ce qui entraîne la production de glucose. La cellule musculaire utilise ensuite ce glucose en énergie.

La structure du glucagon et de l'adrénaline n'est pas similaire, mais les deux se lient à des RCPG et ont le même effet intracellulaire. Ainsi, deux stimuli différents, se liant à deux récepteurs différents, sur des cellules différentes, peuvent avoir le même effet. Cette voie de signalisation de l'adrénaline stimule également la dégradation des triacylglycérols en acides gras, ce qui est une source d'énergie immédiate. Cette voie est très rapide. Dans les cellules du muscle squelettique, le glycogène est dégradé en quelques secondes suite à la liaison de l'épinéphrine.

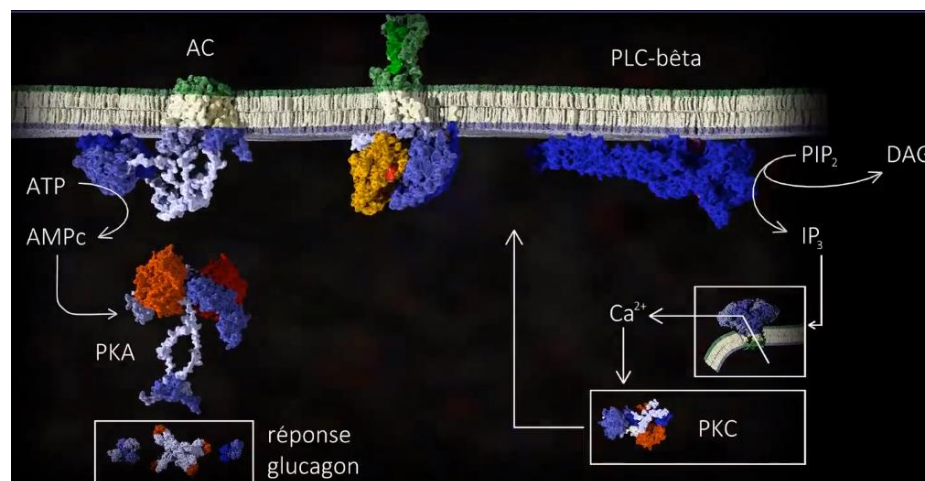
9. RÉCEPTEURS COUPLÉS AUX PROTÉINES G (RCPGs) – résumé

Les récepteurs couplés aux protéines G, ou RCPGs, sont des récepteurs de membrane cellulaire qui sont constitués d'une seule chaîne polypeptidique qui traverse la membrane 7 fois. Les RCPGs activent les protéines G hétérotrimériques en réponse à la liaison au ligand.

Les protéines G hétérotrimériques sont composées d'une sous-unité de liaison du GTP appelée sous-unité alpha, ainsi que de deux sous-unités supplémentaires appelées sous-unités beta et gamma. Les deux enzymes membranaires les plus couramment ciblées par les protéines G hétérotrimériques sont l'adénylate cyclase (AC) et la phospholipase C bêta (PLC-bêta).

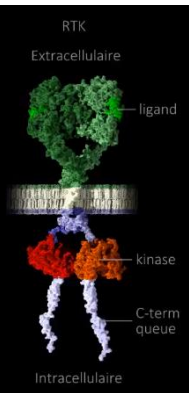
L'AC convertit l'ATP en AMP cyclique (AMPc), un second messager. L'une des principales cibles en aval de l'AMPc est la protéine kinase A (PKA). La réponse de la cellule à de faibles niveaux de sucre dans le sang utilise cette voie et implique le glucagon comme messager.

La PLC-bêta clive PIP₂ en deux molécules : IP₃ et DAG. IP₃ diffuse rapidement à travers le cytosol et stimule la libération de Ca²⁺ du réticulum endoplasmique (RE) lisse. Les ions Ca²⁺ se lient ensuite à la protéine kinase C (PKC), ce qui permet à la PKC d'interagir avec DAG sur la membrane cellulaire, activant ainsi la PKC.



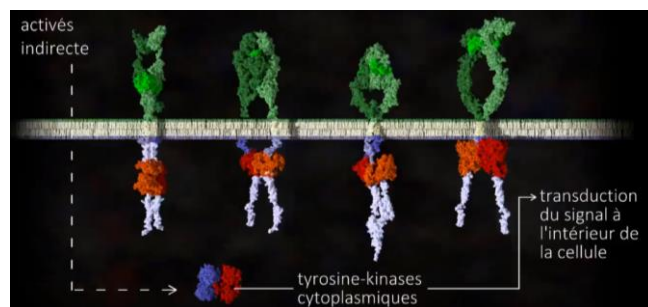
IV. Les récepteurs à activité enzymatique (ou récepteur enzymatique) :

1) Aperçu général :



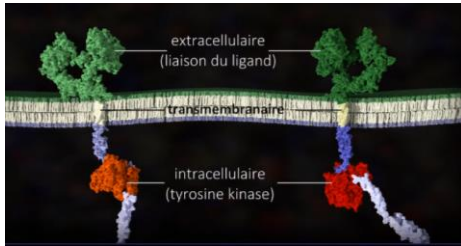
Les récepteurs enzymatiques sont des protéines transmembranaires qui sont responsables d'un grand nombre de réponses cellulaires telles que la croissance, la prolifération, la différenciation, la migration et la survie. Ces voies impliquent plusieurs étapes de transduction du signal qui conduisent éventuellement à des altérations de l'expression des gènes, et les temps de réponse sont donc typiquement plus lents, de l'ordre de plusieurs heures. Cependant, certains récepteurs provoquent des changements au niveau du cytosquelette par exemple, et modifient la forme et le mouvement de la cellule sans qu'une altération de l'expression des gènes soit nécessaire. Les temps de réponse pour ces effets sont donc beaucoup plus rapides, de l'ordre de quelques minutes.

Il existe plusieurs classes de récepteurs enzymatiques. Dans cette section, nous allons nous concentrer sur le plus grand groupe de ces récepteurs, les RTK. Les RTK sont une grande famille de récepteurs. On retrouve une soixantaine de gènes codant pour des RTK dans le génome humain. Les RTK sont souvent activés par des facteurs de croissance et de différenciation extracellulaire. Par exemple, le facteur de croissance épidermique (EGF pour epidermal growth factor) active le récepteur de l'EGF (EGFR pour EGF receptor). Chez les humains, il existe aussi 32 tyrosine-kinases cytoplasmiques qui ne sont pas des récepteurs mais jouent également un rôle important dans la réponse cellulaire. Celles-ci sont activées ou désactivées de façon indirecte en réponse à des stimuli externes et jouent un rôle crucial dans la transduction du signal à l'intérieur de la cellule.



Les deux classes de tyrosine-kinases, les RTK sur les membranes ou les protéines tyrosine-kinases cytosoliques, phosphorylent les résidus de tyrosine sur des protéines cibles. Notez que toutes les autres kinases que nous avons vu jusqu'à présent, y compris la PKA et la PKC, sont des kinases sérine/thréonine, tandis que les RTK sont des tyrosines kinases.

2) Dimérisation et relation structure/Fonction des RTK – PARTIE 1



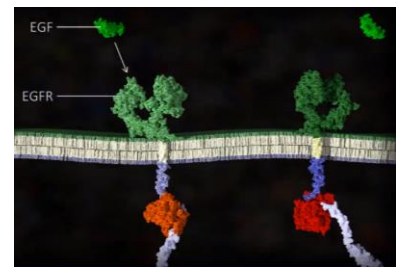
Sauf quelques exceptions, tel le récepteur de l'insuline par exemple, la majorité des RTK sont retrouvés sous forme monomérique à la surface cellulaire lorsqu'ils sont inactifs. Les RTK sont majoritairement composés d'une chaîne polypeptidique simple que l'on peut diviser en trois parties : un domaine extracellulaire qui se trouve à être le site de liaison du ligand, une hélice alpha hydrophobe et transmembranaire, et une partie intracellulaire ayant des domaines tyrosine kinase. La liaison d'une molécule de signalisation extracellulaire, appelée ligand, à un récepteur monomérique favorise



la dimérisation des domaines extracellulaires de deux monomères. La dimérisation des récepteurs est une étape importante de l'activation des RTK. Pour certains récepteurs, cette dimérisation peut être provoquée soit par le ligand, soit par le récepteur.

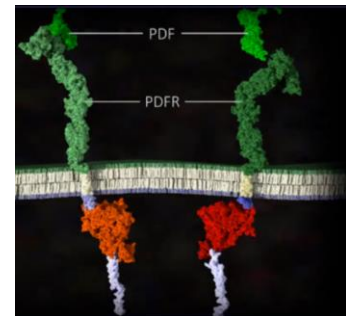
Dimérisation provoquée par le récepteur :

Par exemple, dans le cas du facteur de croissance épidermique (EGF), un ligand EGF se lie à chaque monomère du récepteur de l'EGF (EGFR), causant un changement de conformation au niveau des monomères, ce qui favorise leur dimérisation. Ce sont donc les interactions entre les deux monomères qui retiennent le dimère dans sa conformation active.

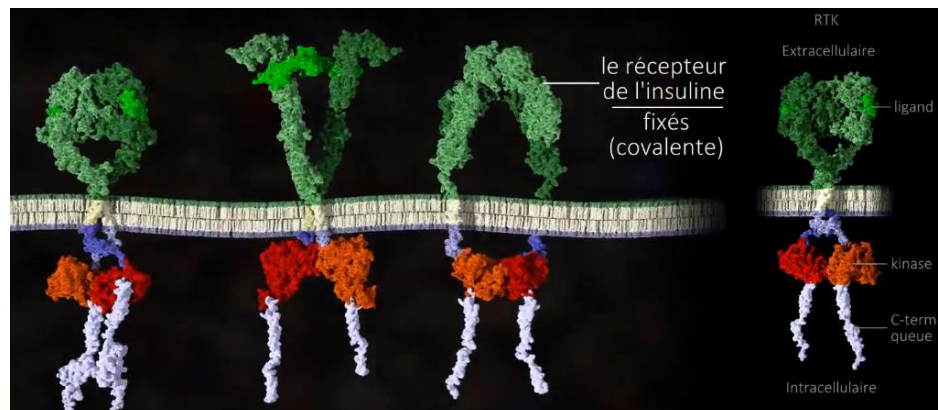


Dimérisation provoquée par le ligand :

Par exemple, dans le cas des facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDF), la dimérisation n'est PAS médiée par des interactions entre les monomères du récepteur de PDF (PDFR), mais plutôt par la liaison d'un seul ligand (PDF) faisant le pont entre deux monomères du PDFR. Les deux monomères du PDFR sont donc retenus en dimère par l'intermédiaire du ligand.



Il est important de noter qu'il y a des exceptions à ces deux modèles d'activation des RTK. Tel que mentionné plus tôt, le récepteur de l'insuline est constitué de deux monomères qui sont fixés de manière covalente l'un à l'autre, par des liaisons disulfures, indépendamment de la présence d'insuline. Dans cet exemple, on pense que la liaison de l'insuline à son récepteur entraîne un changement dans la position relative des deux domaines transmembranaires du récepteur. On croit que c'est ce changement de conformation qui conduit à l'activation des domaines kinases intracellulaires du récepteur de l'insuline.



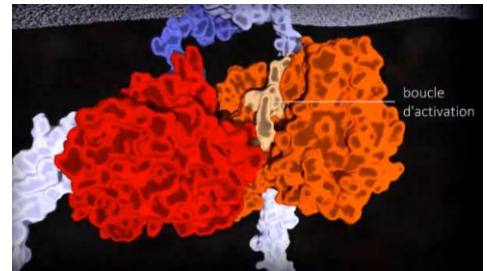
3) Dimérisation et relation structure/Fonction des RTK – PARTIE 2

Au contraire des RCPG et des canaux ioniques, où les domaines extracellulaires et intracellulaires sont reliés entre eux par des passages multiples dans la membrane, les domaines extracellulaires et intracellulaires des monomères de RTK sont reliés par une seule hélice alpha traversant la membrane. Donc peu importe l'ampleur du changement de conformation dans le domaine extracellulaire d'un monomère suite à la liaison du ligand, il est extrêmement difficile pour ce changement structurel d'être traduit en information à l'intérieur de la cellule en ne passant que par l'intermédiaire d'une seule hélice alpha.

Dans le cas des RCPG, les sept hélices alpha transmembranaires peuvent changer de position les unes par rapport aux autres, relayant ainsi des informations structurales d'un côté de la membrane à l'autre. Les RTK contournent ce problème en utilisant plutôt la dimérisation pour leur activation.

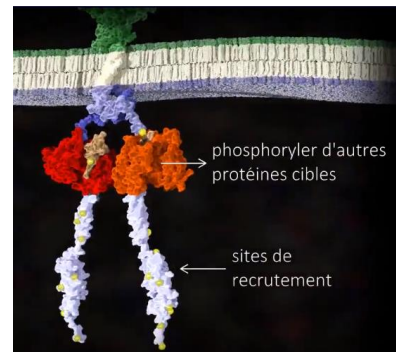
4) Activation par l'autophosphorylation en Trans :

La dimérisation des domaines extracellulaires favorise aussi l'entrer en contact des domaines intracellulaires du récepteur tyrosine kinase. Les tyrosines kinases ont besoin de molécules d'ATP comme substrat. Elles enlèvent un groupement phosphate de l'ATP afin de le transférer à une protéine cible. Chaque domaine tyrosine kinase possède un site de liaison au substrat qui logera une molécule d'ATP au cours d'une réaction de phosphorylation. Dans un premier temps, ce site est partiellement bloqué par une région de la kinase appelée la **boucle d'activation**. Cependant, malgré ce blocage du site de liaison au substrat, les kinases sont encore capables de fonctionner, quoique leur activité soit beaucoup plus faible. Ce taux d'activité basal est par contre suffisant pour être capable de phosphoryler un résidu tyrosine spécifique dans la boucle d'activation du monomère adjacent. Ainsi, chaque monomère phosphoryle l'autre.



Cette autophosphorylation en trans d'un résidu tyrosine critique de la boucle d'activation résulte en un repositionnement de la boucle, ce qui expose le site de liaison au substrat. Une fois que ce site est exposé, l'enzyme est pleinement active et capable de phosphoryler des protéines cibles à une fréquence normale. Ces kinases activées phosphorylent ensuite des résidus tyrosine spécifiques dans la queue C-terminale du monomère adjacent. Ces résidus phosphorylés deviendront plus tard des sites de recrutement pour les protéines cibles en aval, comme nous le verrons dans la section suivante.

À ce stade, les événements de signalisation divergeront de deux façons. Premièrement, les deux domaines tyrosine kinase actifs pourront phosphoryler d'autres protéines cibles en aval. Deuxièmement, les deux queues C-terminales phosphorylées agiront en tant que sites de recrutement pour des protéines cibles additionnelles. Au total, des dizaines de protéines s'accumuleront sur ce site, chacune d'elle transmettant un message le long d'un itinéraire différent, pour différentes destinations cellulaires.



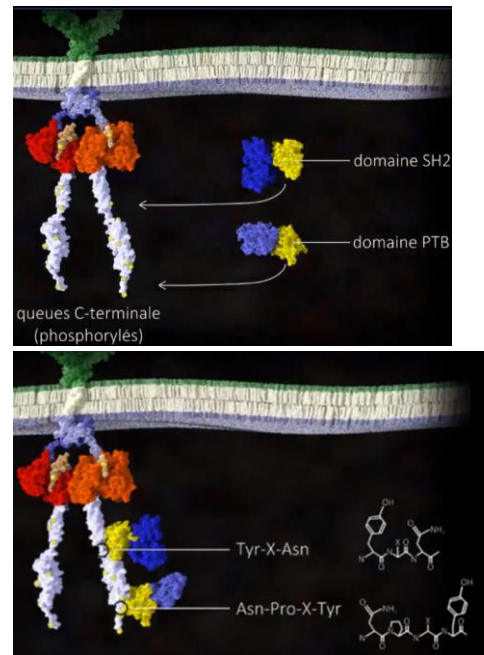
Les effets en aval des voies de signalisation des RTK sont donc complexes et hautement coordonnée, ce qui est approprié, considérant la multitude d'effets cellulaires complexes dans lesquels ces récepteurs sont impliqués, tels que la croissance cellulaire, la différenciation et la prolifération.

5) Recrutement des protéines de signalisation intracellulaire- Partie 1 :

Plusieurs protéines différentes peuvent être recrutées sur la queue C-terminale phosphorylée des RTK activés. Ces protéines seront spécifiques à la voie de signalisation activée et au type cellulaire affecté. Par contre, il y a quelques joueurs clés qui sont bien connus et conservés. Ceux-ci sont impliqués dans de nombreuses voies de signalisation.

Par exemple, des protéines qui possèdent un domaine d'homologie Src 2 (SH2) ou un domaine de liaison à la phosphotyrosine (PTB pour phosphotyrosine-binding), seront en mesure de reconnaître et de se lier à des résidus phosphorylés sur les queues C-terminales des RTK.

Les domaines SH2 se lient aux résidus tyrosine phosphorylés à l'intérieur du motif: X-Tyr-Asn. Les domaines PTB, par contre, se lient aux résidus tyrosine phosphorylés à l'intérieur du motif: Asn-Pro-X-Tyr. Bien que les domaines SH2 soient généralement conservés, les domaines PTB ne le sont pas.

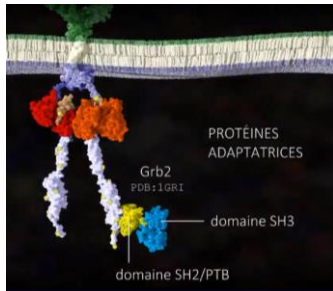


Bien que le terme « recruté » est souvent utilisé dans la littérature scientifique, rappelez-vous que cela ne signifie pas que les protéines cibles seront en quelque sorte capable de détecter la queue C-terminal phosphorylée de loin, pour ensuite presque consciemment se diriger vers le site. Toutes les protéines dans la cellule se déplacent de façon aléatoire et toute rencontre avec une protéine avec laquelle elle peut interagir ce fait majoritairement par hasard. Le terme « recruté » signifie que quand une rencontre fortuite se produit, les deux protéines restent liés les unes aux autres.

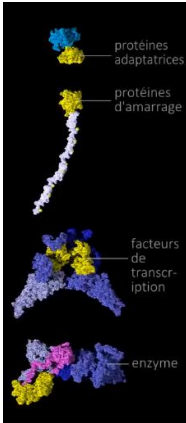
6) Recrutement des protéines de signalisation intracellulaire – Partie 2 :

Il existe quatre principaux types de protéines ayant des domaines SH2 ou PTB: des protéines adaptatrices, des protéines d'amarrage, des facteurs de transcription, et des enzymes.

Protéines adaptatrices:

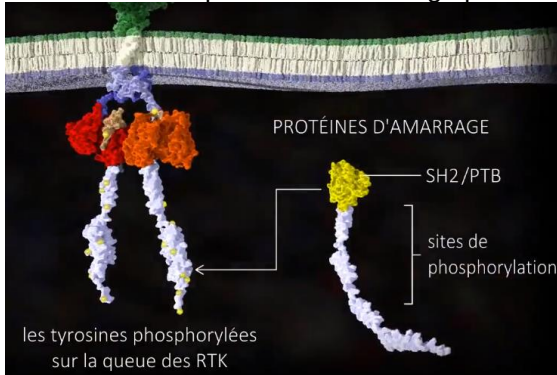


Les protéines adaptatrices connectent les RTK avec d'autres protéines intracellulaires. À ce titre, elles doivent posséder un domaine SH2 ou PTB afin de se lier avec la queue C-terminale de la tyrosine phosphorylée du RTK, ainsi qu'un autre domaine d'interaction protéine-protéine afin de se lier avec la cible intracellulaire. Un exemple commun d'un tel domaine d'interaction protéine-protéine est le domaine SH3. Il y a plus de 300 protéines contenant un domaine SH3 chez les humains, et elles se lient toutes à des motifs riches en proline. Un exemple classique d'une protéine adaptatrice contenant un domaine SH3 est Grb2. Nous allons en apprendre davantage sur Grb2 dans une section ultérieure.



Protéines d'amarrage (docking proteins):

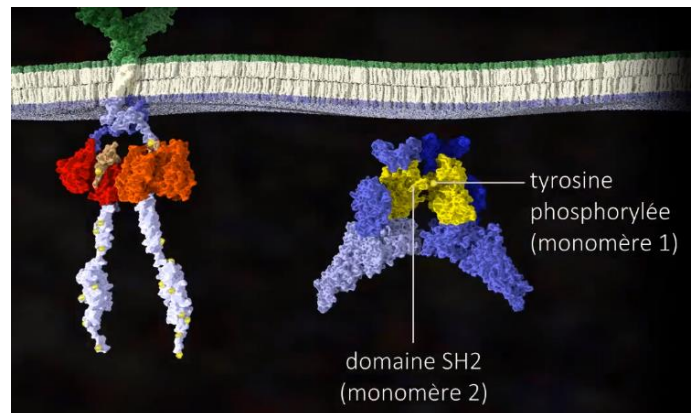
Les protéines d'amarrage peuvent être considérées comme un hub USB connecté à votre ordinateur.



L'appareil se branche dans un port USB et contient des entrées pour plusieurs périphériques USB, augmentant ainsi le nombre de périphériques qui peuvent se connecter avec votre ordinateur. De façon semblable, les protéines d'amarrage contiennent un domaine SH2 ou PTB qui se lie sur les tyrosines phosphorylées sur la queue des RTK activés. Elles possèdent également plusieurs sites de phosphorylation supplémentaires. Une fois phosphorylés par d'autres kinases, ces sites de phosphorylation additionnels permettent de recruter plusieurs autres protéines contenant un domaine SH2 ou TBP. Un exemple d'une protéine d'amarrage est le substrat du récepteur de l'insuline (IRS pour Insulin Receptor Substrate), sur lequel nous en apprendrons davantage dans une section ultérieure.

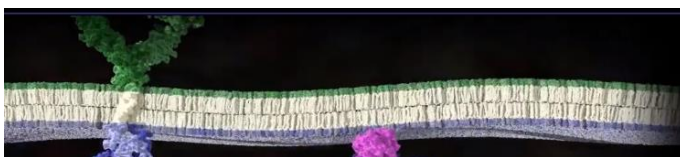
Les facteurs de transcription:

Certains facteurs de transcription, tels que les dimères du transducteur de signal et activateur de la transcription (STAT pour Signal Transducer and Activator of Transcription), sont également activés par des récepteurs RTK. Chaque monomère STAT possède un domaine SH2 et un site de phosphorylation de la tyrosine. Une fois que les deux monomères sont phosphorylés, ils se dimérisent par l'entremise du résidu tyrosine phosphorylé d'un monomère et le domaine SH2 de l'autre. Le dimère STAT activé pénètre alors dans le noyau pour réguler la transcription des gènes.



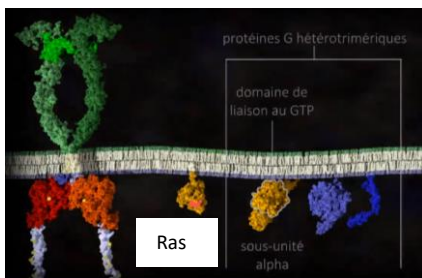
Les enzymes de signalisation:

Les enzymes de signalisation comprennent des protéines kinases, des protéines phosphatases, des kinases lipidiques et des phospholipases. Par exemple, PLC-gamma est utilisé dans de nombreuses voies RTK et fonctionne de la même manière que la protéine PLC-béta que nous avons vu dans la voie



RCPG, qui clive PIP2 en IP3 et DAG. Toutes ces enzymes possèdent des domaines SH2 et, par conséquent, peuvent se lier à une tyrosine phosphorylée sur la queue C-terminale d'un RTK activés.

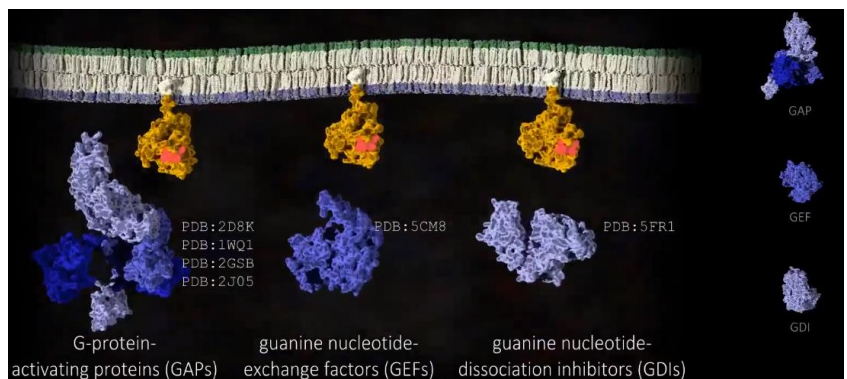
7) Ras (une protéine G monomérique) :



L'enzyme de signalisation le plus couramment utilisé dans presque toutes les voies RTK est Ras. Ras est une protéine G monomérique attachée à la face cytoplasmique de la membrane cellulaire par une queue lipidique. Ras, comme toutes les protéines G monomériques, partage une similarité structurale avec le domaine de liaison au GTP de la sous-unité alpha des protéines G hétérotrimériques. Bien entendu, le cycle de liaison du GTP et de son hydrolyse est le même que celui décrit dans la section sur les protéines G hétérotrimériques. Un peu comme les minuteries sont utilisées dans de nombreux aspects de nos vies telles que la cuisine, les

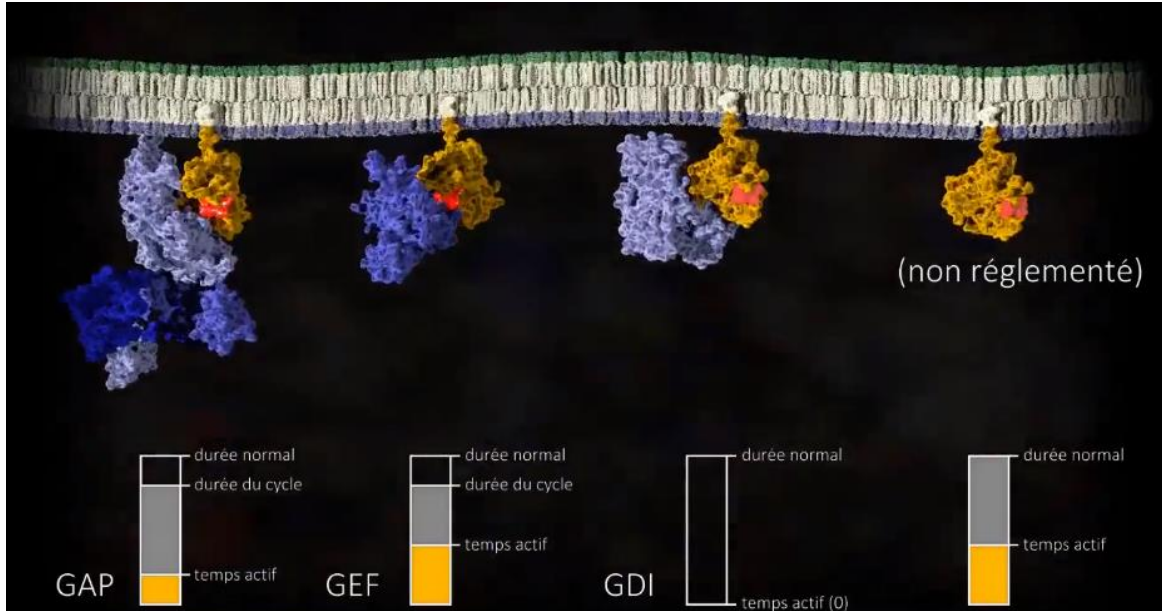
courses, les feux de circulation, et les examens finaux, ces protéines G monomériques sont des minuteries moléculaires utilisées dans de nombreux processus cellulaires, y compris la division cellulaire, la différenciation, l'expression des gènes, l'organisation du cytosquelette, le trafic vésiculaire et le transport nucléocytoplasmique.

Ces minuteries peuvent être régulées par des protéines accessoires afin d'accélérer ou de ralentir la signalisation, ou pour la bloquer soit dans un état actif, soit dans un état inactif. Il existe trois types de ces protéines régulatrices: les protéines d'activation des protéines G (GAP pour *G-protein-Activating Protein*), les facteurs d'échange de nucléotide de guanine (GEF pour *Guanine nucleotide-Exchange Factors*), et les inhibiteurs de la dissociation de nucléotide de guanine (GDI pour *Guanine nucleotide-Dissociation Inhibitors*).



Les GAP accélèrent l'hydrolyse du GTP, ce qui réduit ainsi le temps pendant lequel la protéine G reste active. Les GEF stimulent la libération du GDP, permettant ainsi à la protéine G d'acquies rapidement une nouvelle molécule de GTP et d'être activée. Les GDI inhibent la libération du GDP, ce qui bloque la protéine

G dans un état inactif. Les GAP, les GEF et les GDI sont elles-mêmes régulées par des protéines additionnelles, ce qui rend ces mécanismes très complexes.



Exemple : 1 MAPK

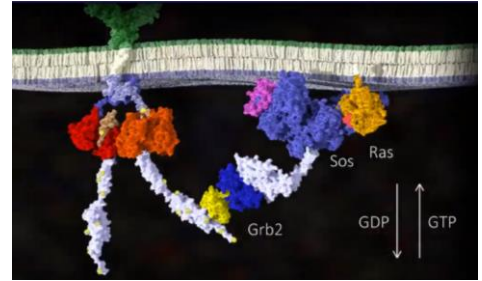
Dans cette leçon, nous allons passer en revue toutes les informations que nous avons apprises sur les événements de signalisation médiés par les RTK en utilisant une voie de signalisation comme exemple. Cet exemple introduira aussi de nouveaux acteurs à la voie de signalisation de base que nous venons de voir.

Le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDF pour Platelet-Derived growth Factor) est impliqué dans le développement embryonnaire, la prolifération cellulaire, la migration et la formation des vaisseaux sanguins. Le facteur de croissance épidermique (EGF pour Epidermal Growth Factor) est impliqué dans la croissance, la prolifération et la différenciation. Les deux utilisent la même voie de base. Nous allons utiliser EGF comme un exemple.

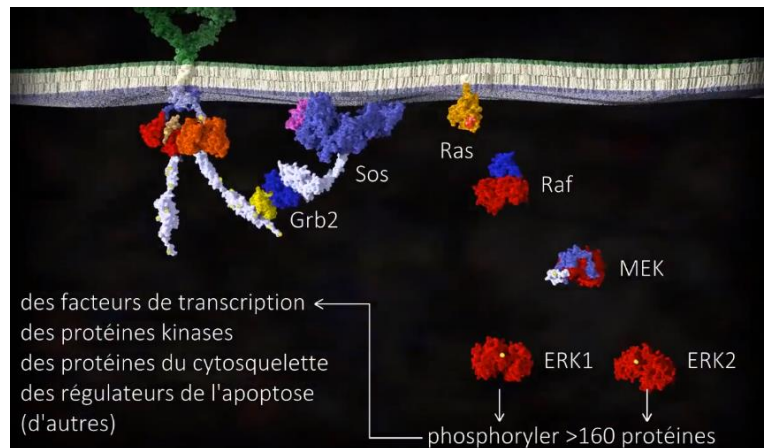
La liaison de l'EGF au récepteur de l'EGF (EGFR) conduit à une dimérisation des domaines extracellulaires d'EGFR. Ceci favorise aussi le contact entre les domaines intracellulaires de chacun des monomères. Les domaines kinases intracellulaires se phosphorylent l'un et l'autre sur le résidu tyrosine de la boucle d'activation, ce qui entraîne un changement conformationnel qui écarte la boucle d'activation du domaine de liaison au substrat. Avec son site actif désormais disponible, l'enzyme est maintenant pleinement active. Chaque kinase phosphoryle les résidus de tyrosine spécifiques sur la queue C-terminale du monomère adjacent. Les domaines tyrosine kinases entièrement activés et les queues C-terminales entièrement phosphorylées commencent alors une cascade de signalisation.

MAPK PART2 :

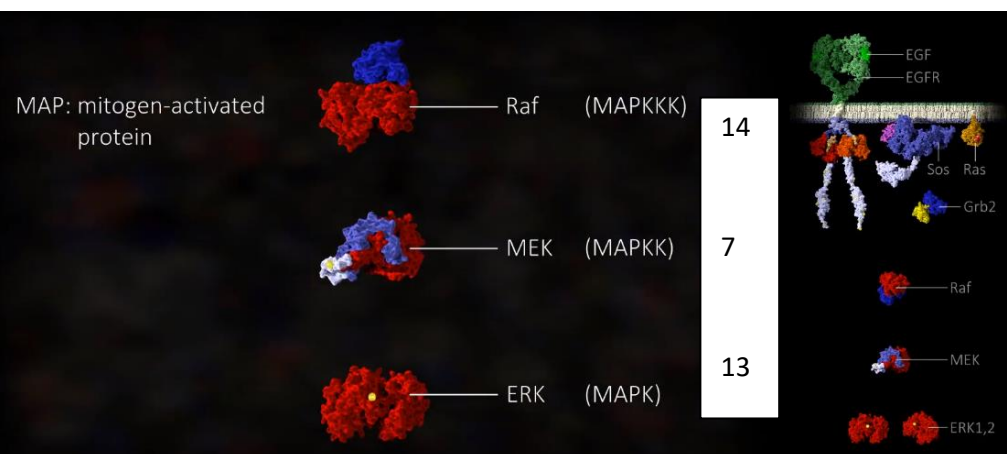
La protéine adaptatrice Grb2 se lie à un résidu de tyrosine phosphorylée sur la queue C-terminale du récepteur, via son domaine SH2. Les deux domaines SH3 situés de l'autre côté de Grb2 recrutent alors la protéine Sos (Son Of Sevenless), qui est un activateur de Ras. Le maintien de Sos à proximité de la membrane cellulaire permet à Sos d'activer Ras en déclenchant l'échange du GDP pour GTP



La protéine Ras activée active à son tour la kinase Raf. Raf phosphoryle la kinase MEK. MEK phosphoryle ensuite deux kinases, ERK1 et ERK2. ERK1 et 2 peuvent phosphoryler plus de 160 protéines dans le cytosol et le noyau, y compris des facteurs de transcription, des protéines kinases, des protéines du cytosquelette, des régulateurs de l'apoptose et d'autres protéines de signalisation. Ceci peut finalement conduire à plusieurs effets cellulaires, dont la croissance, la prolifération ou la différenciation.



Afin de confondre les étudiants de premier cycle, chacune de ces protéines est parfois appelée par un nom différent. Raf, MEK, et ERK sont également connues sous le nom MAPKKK, MAPKK et MAPK, où MAP représente une protéine activée par un mitogène (Mitogen Activated Protein). Les humains possèdent respectivement 14, 7 et 13 de ces types de kinase. De façon similaire aux différents types de protéines G hétérotrimériques qui peuvent être formées en agencant différentes combinaisons de sous-unités, il est possible d'agencer différentes combinaisons de MAPKKK, MAPKK, et MAPK afin d'activer des voies de signalisation différentes. Donc même si le principe général de signalisation reste le même, chaque stimulus extracellulaire déclenchera une réponse intracellulaire unique à ce stimulus, dépendamment de la cellule, du récepteur activé et des différentes combinaisons de protéines de signalisation intracellulaires en aval du signal.



Ex : Insuline- part1 :

Un autre exemple classique d'une voie de signalisation RTK est celui de l'insuline. Nous avons vu dans une section précédente la voie de signalisation du glucagon, médiée par un RCPG, en réponse à de faibles niveaux de glucose dans le sang. Maintenant, nous allons examiner la voie opposée: la voie de signalisation de l'insuline, une hormone peptidique, en réponse à des niveaux élevés de glucose dans le sang.

Une glycémie élevée entraîne la perte d'eau et d'électrolytes dans l'urine, pouvant résulter en de graves problèmes de santé. Lorsque le niveau de glucose dans le sang est trop élevé, les cellules bêta du pancréas sécrètent de l'insuline.

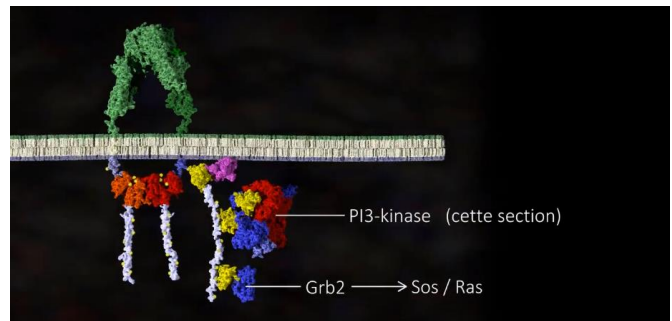
Chaque monomère du récepteur de l'insuline est constituée de deux chaînes polypeptidiques: alpha et bêta. Ces deux chaînes sont dérivées d'un seul précurseur protéique, clivé en deux parties par protéolyse. Elles sont fixées l'une à l'autre de manière covalente par des liaisons disulfures. Contrairement à la plupart des RTK, chaque monomère est également fixé de manière covalente à l'autre, également par l'intermédiaire de liaisons disulfures. Ceci bloque le récepteur dans une configuration dimérique, indépendamment de la présence ou l'absence de son ligand.

De plus, contrairement à d'autres récepteurs RTK, une seule molécule d'insuline lie le récepteur dimérisé.

Part 2-

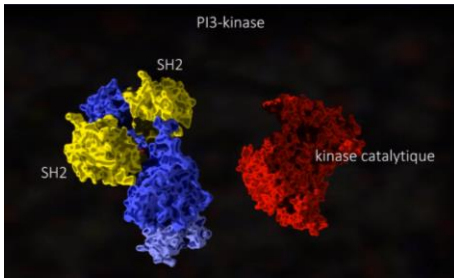
La liaison de l'insuline au dimère résulte en un changement conformationnel mal compris, mais qui déplace les deux domaines transmembranaires l'un par rapport à l'autre. Ceci amène les deux domaines tyrosine kinase intracellulaires à s'autophosphoryler en trans au niveau des résidus tyrosine spécifiques de la boucle d'activation. Chaque boucle d'activation contient trois sites de phosphorylation et le changement de conformation résulte en la pleine activation de chaque kinase. Ensuite, les kinases phosphorylent multiples résidus tyrosines sur la queue C-terminale du monomère opposé, ainsi que des résidus de tyrosine dans la région juxtamembranaire.

Au lieu de recruter directement des protéines ayant des domaines SH2, ces sites de phosphorylation de tyrosine recrutent la molécule IRS (Insuline Receptor Substate). La protéine d'amarrage IRS se lie à des groupes phosphate dans la région juxtamembranaire via son domaine PTB, tandis que son domaine N-terminal PH interagit très probablement avec des phospholipides membranaires. Le domaine tyrosine kinase du récepteur phosphoryle ensuite des résidus tyrosines sur la queue C-terminale de l'IRS. Les résidus phosphorylés sur l'IRS sont ensuite utilisés pour recruter des protéines contenant le domaine SH2 ou PTB. IRS augmente efficacement le nombre de sites d'amarrage phosphorylés, permettant ainsi le recrutement d'un plus grand nombre de protéines contenant le domaine SH2 ou PTB.



Entre autres, plusieurs protéines possédant un domaine SH2, telle PI3-kinase, Grb2 et Shp2 sont recrutées par l'IRS. Le recrutement de Grb2 et Shp2 conduit à leurs propres effets en aval. Il en est de même pour le recrutement de Sos et l'activation de Ras, que nous avons déjà vu dans les sections précédentes. Nous examinerons donc dans cette section seulement la voie de la PI3-kinase.

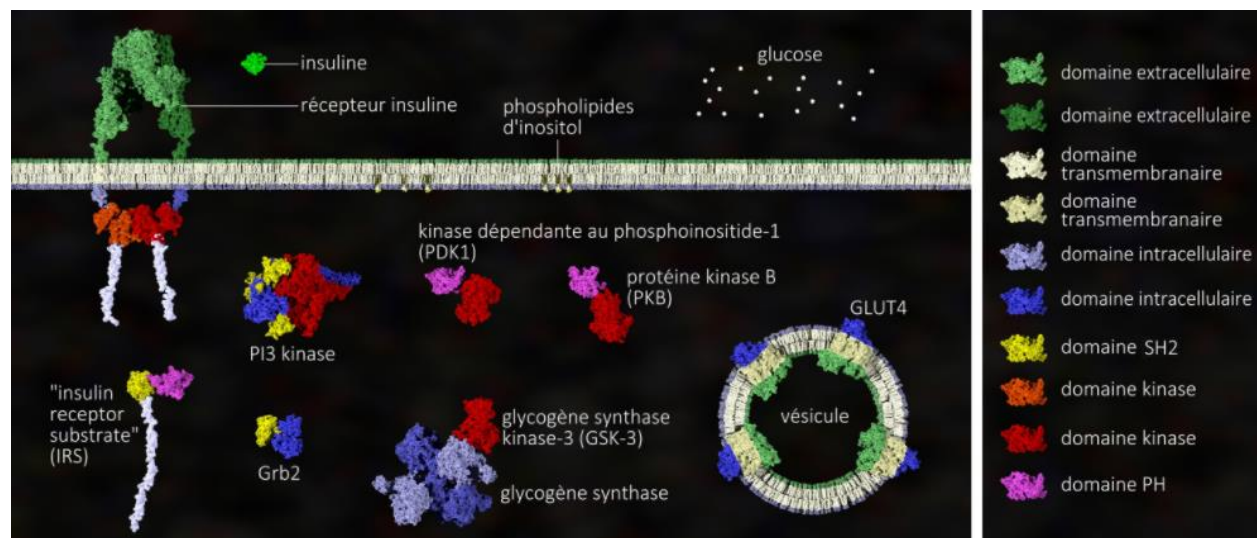
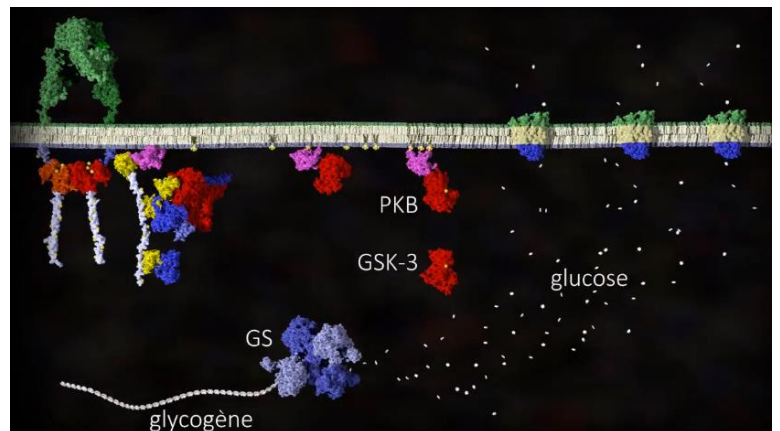
Part 3-



PI3-kinase possède deux sous-unités. L'une contient deux domaines SH2 et l'autre contient un domaine kinase catalytique, d'où le nom PI3-kinase. La PI3-kinase phosphoryle la troisième position sur le cycle inositol des phospholipides d'inositol. On obtient ainsi PI3,4-biphosphate (PIP2) et PI3,4,5-triphosphate (PIP3) qui demeurent dans la membrane cellulaire. PIP2 et PIP3 fournissent des sites d'amarrage pour les protéines contenant un domaine PH. Souvenez-vous que dans la section sur les RCPG, nous avons vu que le domaine PH sert entre autre à attacher la PLC (phospholipase C) à la membrane cellulaire interne, grâce à l'interaction du domaine PH de la PLC avec des phospholipides d'inositol dans

la membrane. La plus notable des protéines contenant un domaine PH est la kinase dépendante au phosphoinositide-1 (PDK1 pour Phosphoinositide-Dependent Kinase-1) et la protéine kinase B (PKB). Il est important de souligner que les deux, PDK1 et PKB, sont des kinases sérine / thréonine, comme toutes les autres kinases que nous avons vu jusqu'à présent à l'exception des RTK. Une fois que PDK1 et PKB sont recrutés à la membrane, PDK1 phosphoryle PKB. PKB doit ensuite être aussi phosphorylée par mTOR avant de devenir complètement active.

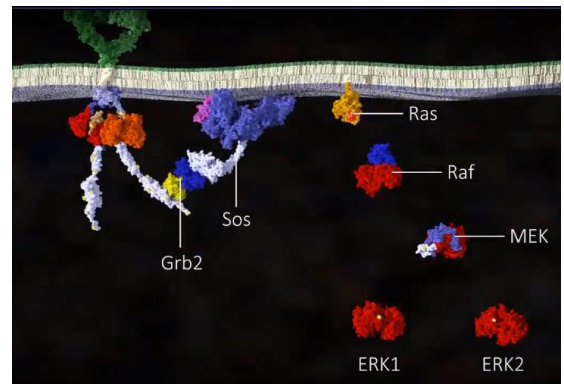
L'activation de la PKB provoque deux évènements principaux. Tout d'abord, elle conduit à d'autres évènements en aval qui se concluent par la translocation vers la membrane cellulaire de vésicules contenant un transporteur du glucose, le GLUT4. L'insertion des GLUT4 dans la membrane plasmique permet aux monomères de glucose de diffuser dans la cellule à partir de la circulation sanguine, réduisant ainsi la concentration de glucose sanguin. En second lieu, l'activation de la PKB aura comme effet final de stimuler la synthèse du glycogène à partir du glucose. En effet, la PKB phosphoryle la glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) ce qui la désactive. La GSK-3 est un régulateur négatif de la glycogène synthase (GS), une enzyme cruciale dans la fabrication du glycogène à partir de glucose. Lorsqu'elle n'est pas phosphorylée, -la GSK-3 conduit à l'inhibition de la production de glycogène en inhibant l'activité de la GS. Mais une fois phosphorylée par PKB, la GSK-3 ne peut plus inhiber la GS et la GS est donc libre de faire la synthèse du glycogène.



6) Les récepteurs à activité enzymatique- RÉSUMÉ

La plus grande famille de récepteurs-enzymes sont les récepteurs tyrosine kinase (RTKs). Les RTKs recouvrent la membrane cellulaire et sont activés par des facteurs de croissance et de différenciation extracellulaires. Contrairement à la PKA et la PKC qui sont des sérine/thréonine kinases, les RTKs sont tyrosine kinases.

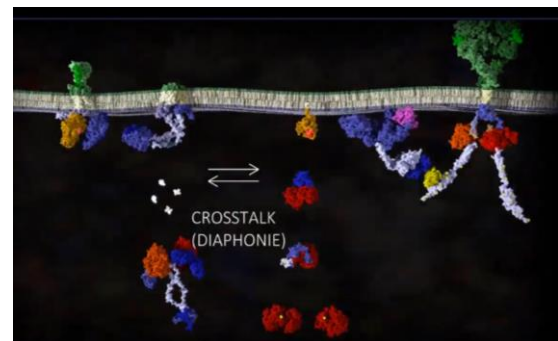
La liaison d'une molécule de signalisation extracellulaire à un RTK conduit à une dimérisation, qui est habituellement médiée soit par le récepteur, soit par le ligand. Ceci conduit à la trans-autophosphorylation du domaine cytosolique de la kinase suivie par la phosphorylation des queues C-terminales. Les queues C-terminales phosphorylées agissent alors comme des sites de recrutement pour des protéines contenant un domaine SH2 ou PTB.



Dans l'exemple que nous avons vu, les queues C-terminales phosphorylées recrutent Grb2, qui recrute ensuite Sos, qui active alors Ras. Ras active Raf, qui phosphoryle alors MEK, qui phosphoryle ensuite ERK1 et ERK2.

V. La signalisation par Crosstalk, aussi nommée la Diaphonie :

Nous avons vu la signalisation par les RCPG et la signalisation médiée par les RTK comme si ces deux voies de signalisation existaient de façon indépendante. En réalité, chacune de ces voies est fortement interconnectée avec d'autres voies de signalisation dans la cellule. Cette communication entre les différentes voies de signalisation est appelée le crosstalk ou la diaphonie. Le crosstalk est important parce que le résultat d'une voie peut dépendre d'autres événements qui se produisent au sein de la cellule. Par exemple, une voie de signalisation qui conduit à la migration cellulaire peut avoir besoin de communiquer avec une autre voie impliquée dans la division cellulaire, de telle sorte que quand il est temps de se diviser, la migration cellulaire est arrêtée. Une bonne analogie serait le crosstalk qui se produit entre les réseaux de neurones, lorsque la réponse issue de la stimulation d'un récepteur peut influencer la réponse d'un autre récepteur, percevant un deuxième stimulus dans le cerveau. Il est donc important de penser à ces voies de signalisation intracellulaires non pas comme des séries d'événements linéaires, mais comme des réseaux complexes.



Des exemples simples de crosstalk peuvent comprendre des signaux divergents ou convergents. Par exemple, la liaison de l'EGF au récepteur EGF active la voie MAPK, qui se traduit par des effets divergents en aval. D'autre part, l'activation de la CaMKII par un RCPG peut converger avec l'activation des MAPK de la voie des RTK suite à l'activation de Ras par la CaMKII.

Nous avons vu que des sites d'amarrage des domaines SH2 sur les RTK mènent à l'activation de la Grb2, SOS, Ras et de la cascade des MAPK, cependant, ces mêmes évènements peuvent également être activés par des protéines G hétérotrimériques. Nous avons également appris que l'AMPc stimule la mobilisation du glucose, mais l'AMPc peut également inhiber la croissance des fibroblastes en bloquant la cascade de signalisation des MAPK. Ceci se produit lorsque l'AMPc active la PKA qui ira ensuite inhiber Raf. Les voies PKA et MAPK peuvent également converger et toutes deux mener à la phosphorylation de CREB.

Pour compliquer davantage les choses, non seulement différentes cellules possèdent différentes protéines effectrices en aval, mais il y a généralement de nombreux isoformes pour toutes les protéines impliquées dans la signalisation, chacune conduisant potentiellement à un résultat différent.

En résumé, la situation est beaucoup plus complexe que ce que nous avons vu dans ces leçons.

