

Introduction :

Un peut organisme contient différent types de cellulaires .Chaque cellules peut être programmée pour répondre à une série de signaux contrôlant :

- la prolifération cellulaire
- la différenciation cellulaire
- la mort cellulaire programmée (apoptose)

❖ Importance des mécanismes de communication cellulaire :

L'altération des mécanismes impliqués dans les processus de communication cellulaire provoque des pathologies et en particulier des cancers. En effet, une cellule cancéreuse est caractérisée par sa capacité à ne plus communiquer avec son environnement, c'est-à-dire d'échapper aux mécanismes de contrôle de la prolifération cellulaire et de perdre ses capacités d'adhérences aux autres cellules.

De nombreuses maladies inflammatoires rhumatologiques ont une altération de la signalisation intracellulaire, ainsi, une meilleure compréhension de ces différentes voies permet d'envisager de nouvelles cibles thérapeutiques avec l'utilisation de petites molécules capables de réguler les protéines de signalisation.

1-La signalisation cellulaire :

Les cellules répondent à des signaux extracellulaires émis par d'autres cellules ou par elles mêmes.

Ce mécanisme, appelé **signalisation cellulaire (ou communication cellulaire)**, permet une communication de cellule à cellule et est nécessaire à la régulation et à l'intégration fonctionnelles d'organismes pluricellulaires.

La transduction de signal désigne le mécanisme par lequel une cellule répond à l'information qu'elle reçoit, par des agents chimiques ou autres signaux (tension,...). C'est la conversion des signaux extracellulaires en signaux intracellulaires.

Les molécules de signalisation (N.D. T : ou molécules informatives) sont soit sécrétées, soit exprimées à la surface d'une cellule. Les molécules de signalisation peuvent se fixer sur des récepteurs de la surface d'une autre cellule ou de la cellule elle-même.

Différents types de molécules de signalisation transmettent l'information dans les organismes pluricellulaires et leurs mécanismes d'action sur leurs cellules cibles sont variés. Certaines molécules de signalisation peuvent agir à la surface de la cellule après fixation sur des récepteurs superficiels; d'autres peuvent traverser la membrane plasmique et se fixer à des récepteurs intracellulaires du cytoplasme ou du noyau.

Lorsqu'une molécule de signalisation se fixe sur son récepteur, elle initie une cascade de réactions intracellulaires qui contrôlent des fonctions capitales telles que la prolifération, la différenciation, la mobilité, le métabolisme et le maintien de l'intégrité de la cellule. En raison de leur rôle majeur dans le contrôle de la croissance normale et de la différenciation cellulaires, les molécules de signalisation ont acquis un intérêt prépondérant dans la recherche en cancérologie.

2-Quatre modalité de communication ...

La communication cellulaire peut se faire par les jonctions communicantes (Jonction GAP). Celles-ci assurent un couplage métabolique et un couplage électrique entre les cellules.

L'adhérence cellule-cellule implique les molécules appelées CAM (Cell Adhesion molecules).il existe plusieurs familles de CAM, les deux principales sont :

- la superfamille des immunoglobulines
- la famille des cadhérines (adhésion Ca²⁺ dépendante).

L'adhérence cellule-matrice extracellulaire. Ces protéines membranaires appartiennent à la famille des intégrines (SAM, Substrat Adhesion Molecules) et représentent les récepteurs membranaires spécifiques des molécules des matrices extracellulaires.

La communication à distances. Elle se fait par l'intermédiaire de molécules sécrétées .Ces molécules sécrétées peuvent être :

- des hormones : hormones stéroïdiennes (lipides), glycoprotéines. On parle de la signalisation endocrine.
- des neurotransmetteurs (acides aminés ou dérivés des acides aminés).
- des facteurs de croissance (et parfois des morphogènes)

On distingue plusieurs modes :

La signalisation de proximité. Dans ce cas, les cellules émettrices et les cellules cibles sont proches .deux types :

- La communication **paracrine** : les cellules émettrices et les cellules cibles appartiennent à deux types cellulaires différents. Les cellules cibles sont à proximité des cellules émettrices.
- La communication **autocrine** : les cellules émettrices et cibles sont du même type cellulaire. Les cellules produisent un signal qui peut se fixer sur leurs propres récepteurs. Ce type de communication permet de coordonner l'action de groupes de cellules.

La signalisation de distance. Deux types de cellules sont spécialisés dans la transmission des signaux à distances :

- **Les neurones** : On parle de transmission synaptique.

Les cellules émettrices (neurones) rentrent en contact avec les cellules cibles (parfois très éloignées) par l'intermédiaire de leurs axones.

- **Les cellules endocrines** qui libèrent des molécules dans le sang (les hormones) et les cellules cibles qui sont situées dans tout l'organisme on parle alors de signalisation endocrine.

Ce mode d'auto-activation des cellules peut-être impliqué dans la multiplication cellulaire. Il est également impliqué dans les cancers.

3-Mécanismes d'action des molécules de signalisation cellulaire :

Les molécules de signalisation cellulaire exercent leur action après fixation sur des récepteurs exprimés par leurs cellules-cibles.

Les récepteurs cellulaires peuvent être exprimés à la surface des cellules-cibles. Certains récepteurs sont des protéines intracellulaires du cytosol ou du noyau des cellules-cibles. Les récepteurs intracellulaires requièrent la diffusion des molécules de signalisation à travers la membrane plasmique.

Les hormones stéroïdes appartiennent à cette classe de molécules-sigaux. Les hormones stéroïdes sont synthétisées à partir du cholestérol et incluent la testostérone, les œstrogènes, la progestérone et les corticostéroïdes.

Les corticostéroïdes sont produits par le cortex de la glande surrénale et se répartissent en deux classes essentielles : **les glucocorticoïdes**, qui stimulent la production de glucose, et les **minéralocorticoïdes**, qui agissent sur le rein pour contrôler l'équilibre entre l'eau et le sodium.

Il existe **trois molécules de signalisation structurellement et fonctionnellement** distinctes des stéroïdes mais qui agissent sur des cellules-cibles par fixation sur des récepteurs intracellulaires après avoir pénétré dans la cellule par diffusion à travers la membrane plasmique. Il s'agit de l'hormone

thyroïdienne (produite dans la thyroïde pour réguler le développement et le métabolisme), de la vitamine D3 (qui contrôle le métabolisme du calcium et la croissance osseuse) et des rétinoïdes (synthétisés à partir de la vitamine A pour contrôler le développement).

Les récepteurs des hormones stéroïdes font partie de la superfamille des récepteurs des stéroïdes. Ils agissent comme des facteurs de transcription à travers leurs domaines de liaison à l'ADN, qui ont pour fonction d'activer ou de réprimer la transcription. Les hormones stéroïdes et les molécules qui s'en rapprochent peuvent de ce fait réguler l'expression d'un gène.

Oxyde nitrique :

L'oxyde nitrique est une molécule-signal. C'est un gaz simple synthétisé à partir d'un acide aminé, l'arginine, par une enzyme appelée **oxyde nitrique synthase**. Elle agit comme une molécule de signalisation paracrine dans les systèmes nerveux, immunitaire et circulatoire. Comme les hormones stéroïdes, l'oxyde nitrique peut diffuser à travers la membrane plasmique de ses cellules-cibles. Mais contrairement aux hormones stéroïdes, l'oxyde nitrique ne se fixe pas sur un récepteur intracellulaire pour réguler la transcription. En réalité, il régule l'activité d'enzymes intracellulaires cibles.

L'oxyde nitrique possède les caractéristiques suivantes :

1. C'est une molécule instable à demi-vie limitée (secondes).
2. Il provoque des effets locaux.
3. Une fonction bien connue de l'oxyde nitrique est **la dilatation des vaisseaux sanguins**. Par exemple, la libération d'acétylcholine, un neurotransmetteur, par les terminaisons des cellules nerveuses dans la paroi musculaire du vaisseau sanguin stimule la libération d'oxyde nitrique par les cellules endothéliales. L'oxyde nitrique augmente l'activité du second messager guanosine mono phosphate cyclique (GMPC) dans les cellules musculaires lisses, provoquant un relâchement de la cellule musculaire et une dilatation du vaisseau sanguin. La nitroglycérine, un agent pharmacologique utilisé dans le traitement de cardiopathies, est transformée en oxyde nitrique, qui augmente le débit sanguin cardiaque par dilatation des vaisseaux sanguins coronariens.

4-Fixation des molécules de signalisation cellulaire sur des récepteurs de la surface cellulaire

Une grande variété de molécules-sigaux se fixent sur des récepteurs de la surface cellulaire. On en reconnaît plusieurs groupes:

1. **Les peptides:** Ce groupe inclue des **hormones peptidiques** (insuline, glucagon et hormones sécrétées par l'hypophyse) , **des neuropeptides** sécrétés

par les neurones (**enképhalines et endorphines**, qui atténuent les réponses douloureuses dans le système nerveux central), et **des facteurs de croissance** qui contrôlent la croissance et la différenciation cellulaires (**facteur de croissance nerveux, *nerve growth factor*, NGF ; facteur de croissance épidermique, *epidermal growth factor*, EGF ; facteur de croissance d'origine plaquettaire, *platelet-derived growth factor*, PDGF, et cytokines**).

Le NGF est un membre de la famille des peptides appelés **neurotrophines** qui régulent le développement et la viabilité des neurones. L'EGF stimule la prolifération cellulaire et joue un rôle essentiel au cours du développement embryonnaire et chez l'adulte.

Le PDGF est stocké dans les plaquettes sanguines et libéré au cours de la formation du caillot.

2. Les neurotransmetteurs: Ces molécules de signalisation cellulaire sont libérées par les neurones et agissent sur des récepteurs cellulaires de surface présents sur les neurones et d'autres types de cellules-cibles (comme les cellules musculaires).

Ce groupe inclut **l'acétylcholine, la dopamine, l'adrénaline** (épinéphrine), **la sérotonine, l'histamine, le glutamate et l'acide γ -aminobutyrique** (GABA). La libération des neurotransmetteurs par les neurones est déclenchée par un potentiel d'action. Les neurotransmetteurs libérés diffusent à travers la fente synaptique et se fixent sur des récepteurs de surface des cellules-cibles.

Tous les neurotransmetteurs **n'ont pas le même mécanisme d'action**. Par exemple, ***l'acétylcholine est un canal ionique ligand-dépendant***. Elle induit un changement de conformation des canaux ioniques pour contrôler le flux des ions à travers la membrane plasmique des cellules-cibles.

Certains neurotransmetteurs ont une **double fonction**. Par exemple, l'adrénaline (produite par la médullo-surrénale) peut agir comme un neurotransmetteur mais aussi comme une hormone pour induire la dégradation du glycogène dans les cellules musculaires.

3. Les eicosanoïdes et les leucotriènes : Ce sont des molécules de signalisation cellulaire contenant des lipides qui, **contrairement aux stéroïdes, se fixent sur des récepteurs cellulaires de surface**.

Les **prostaglandines**, la **prostacycline**, les **thromboxanes** et les **leucotriènes** font partie de ce groupe de molécules. Ils stimulent l'agrégation des plaquettes, les réponses inflammatoires et la contraction musculaire lisse.

Les eicosanoïdes sont synthétisés à partir **d'acide arachidonique**. Au cours de la synthèse des prostaglandines, l'acide arachidonique est converti en prostaglandine H₂ par une enzyme, la prostaglandine-synthase. Cette enzyme est inhibée par **l'aspirine** et par les **anti-inflammatoires**. *L'inhibition de la prostaglandine-synthase par l'aspirine diminue la douleur, l'inflammation,*

l'agrégation plaquettaire et la formation du caillot sanguin (prévention des thromboses).

5-La réception des signaux hydrosolubles implique la présence de récepteurs membranaires

La membrane plasmique est imperméable au matériel hydrosoluble (ions, petite molécules inorganique, polypeptides, protéines).pour exercer une action sur une cellule toute molécules hydrophile doit réagir avec une protéine membranaire.

Rq : l'interaction avec une protéine membranaire n'est pas nécessaire pour les molécules liposolubles (hormones stéroïdiennes, acide rétinoïque,...) En effet, celles-ci peuvent diffuser à travers la membrane plasmique jusqu'au cytoplasme ou elles réagissent avec des protéines cibles. Dans le cas des molécules << signal >> liposolubles, les récepteurs ne sont pas membranaires, ils sont en général cytoplasmiques. C'est le cas pour les hormones hydrophobes (hormone thyroïdiennes : T3, T4 ; certains stéroïdes ; les glucocorticoïdes ; l'acide rétinoïque,.....).

Les signaux reçus par les protéines membranaires sont transmis dans la cellule soit par transport au travers de la bicouche lipidique (canaux ioniques, transporteur, endocytose), soit par modification de l'activité du domaine cytosolique de la protéine membranaire ayant fixée un ligand. Chaque récepteur est spécifique d'un ligand, et possède une affinité pour celui-ci. Il change de conformation lors de la fixation du ligand et déclenche une réponse dans le cytoplasme .Ce changement de conformation est réversible et déclenche une réaction cellulaire .on parle de **TRANSDUCTION** car la nature du stimulus reçu par le récepteur à la surface cellulaire est totalement différents du signal induit à l'intérieur de la cellule.

Ex : ouverture d'un canal ionique, modification d'une activité enzymatique, activation d'une cascade de réaction intracellulaires, modification de la transcription des gènes.

La transduction implique une interaction entre un ligand et un récepteur qui possède à la fois des domaines extracellulaire et cytoplasmique, la fixation du ligand sur la partie extracellulaire exerce une activité sur le domaine situé sur la face cytoplasmique. La transduction d'un signal dans la cellule implique le passage de l'information par des voies de transduction des signaux. Lors du passage de l'information, les composants de chacune de ces voies sont modifiés

par l'élément amont et modifient à leur tour celui ou ceux qui se trouvent en aval.

Les protéines de la voie de transduction de signaux fonctionnent en modifiant la conformation de la protéine qui les suit dans la série en l'activant ou en l'inhibant. La phosphorylation (et la déphosphorylation) est un des moyens utilisés pour contrôler les changements rapides et réversibles de l'activité cellulaire. Une autre caractéristique marquante des voies de transmission cellulaire est l'utilisation de protéines liant le GTP (voir plus loin)

6-Récepteur membranaire et transduction :

Les récepteurs sont des protéines membranaires glycosylées possédant généralement :

- Un domaine extracellulaire dont la propriété est de fixer un ligand
- Un ou plusieurs domaines transmembranaires
- Un domaine cytoplasmique qui a une fonction effectrice, c'est -à-dire qui assure la transformation et la transmission de l'information (TRANSDUCTION) sous la forme d'un signal intracellulaire (second messenger).

La forme active d'un récepteur stimule en général une activité catalytique qui engendre un signal cytosolique d'une amplitude supérieure à celle du signal extracellulaire (le ligand).

Le signal cytosolique prend la forme d'une augmentation de la concentration intracellulaire d'une petite molécule.

Une molécule produite en réponse à la transduction d'un signal extracellulaire est appelée second messenger (le premier messenger étant le ligand).

La transduction induira une **réaction en cascade**, généralement des cascades de phosphorylation, qui peuvent modifier le fonctionnement de tous les compartiments cellulaires.

Rq :

-différents types cellulaires peuvent présenter différents récepteurs pour le même ligand, chaque récepteur pouvant induire une réponse cellulaire différente

-le même récepteur peut exister sur des types cellulaires différents et la liaison du même ligand peut induire des réponses différentes. L'activité d'un récepteur peut être modulée expérimentalement par :

- **Des antagonistes** : ce sont des molécules qui se lient aux récepteurs sans induire l'effet du ligand (par exemple une hormone), il entre en compétition avec le ligand naturel.
- **Des agonistes** : molécules qui miment les effets du ligand en se liant aux récepteurs et en induisant une réponse cellulaire.

7-les différents types de récepteurs membranaires et les deux grands types de transduction

- Les récepteurs couplés aux protéines G (ex : le récepteur β adrénergique)
- Récepteurs dont la partie cytosolique possède une activité enzymatique, qui induit la phosphorylation de protéines intracellulaires .Récepteurs à activité Tyrosine Kinase(RTK) (exemple : récepteur de l'EGF, Insuline IGF, NGF, FGF, PDGF,...)
- Récepteurs couplés à des protéines tyrosine kinase (récepteurs sans activité enzymatique mais capable de recruter une protéine à activité TK,ex : Récepteur érythropoïétine, interleukine, interféron,...)
- Récepteurs à activité sérine /thréonine kinase .Exemple : Récepteurs au TFG β (Transforming Growth Factor)
- Récepteurs à activité phosphatase.
- Récepteurs canaux ioniques.

7-1- Les récepteurs couplés aux protéines G

Ils sont monomérique avec 07 domaines transmembranaires (R7G, on parle parfois de récepteur serpentins) .C'est la plus grande famille de récepteurs .Chez la drosophile ,1% des gènes codent pour les R7G .Chez l'homme, plus de 1% des gènes codent pour les R7G et 50% des agents thérapeutiques ont pour cible des R7G. Ils interviennent dans la reconnaissance des hormones, des neurotransmetteurs et la perception sensorielle.

- **Les ligands peuvent être non peptidiques.** Ex : l'adrénaline (la fixation du ligand se fait dans le plan de la membrane et se fait au niveau des régions transmembranaires du récepteur). Pour l' α -adrénaline, il existe différentes sous familles de récepteurs, $\alpha 1a$, $\alpha 1b$, $\alpha 2A$, $\alpha 2B$, pour la β -adrénaline $\beta 1$, 2 , 3 . Tous ces récepteurs sont codés par des gènes différents et possèdent des propriétés pharmacologiques différentes.
- **D'autres récepteurs ont des ligands peptidiques.** Ex : récepteur de la sécrétine, du VIP (Vaso-Intestinal Peptide), du glucagon (pancréas), de la substance P, de l'angiotensine (Cœur), de la somatostatine, les récepteurs sensoriels, pour la perception du goût, des odeurs et de la lumière sont également couplés aux protéines G.

L'information est transmise par l'intermédiaire de protéines G hétérotrimériques (formées de trois sous unités α , β , δ) qui transmettent le signal.

Les protéines G régulent l'activité d'effecteurs primaires qui contrôlent la concentration intracellulaire de second messagers (AMP_C , $IP3$, DAG , Ca^{2+} , ...) .Les seconds messagers agissent à leur tour sur les effecteurs secondaires qui déclenchent une modification de l'activité cellulaire.

Un messenger secondaire produit à l'intérieure du cytoplasme est capable d'induire des activités cellulaires différentes. L'utilisation de messagers secondaires permet aux cellules d'élaborer une réponse coordonnée de grande amplitude après une stimulation par un ligand extracellulaire.

7-2-Les effecteurs et les seconds messagers :

Adénylate cyclase :

L'adénylate cyclase est une enzyme de la membrane plasmique qui transforme l'ATP en AMP_C (une molécule considérée comme un messenger secondaire) dans le cytoplasme .les variations de la concentration de l' AMP_C dans la cellule peuvent contrôler de nombreux processus. L'adénylate cyclase est activée par la sous unité αs .

Récepteurs couplé : β -adrénergique, glucagon, sécrétine,...

L'AMP_C provoque une réponse en déclenchant une série de réactions dont plusieurs impliquent la modification covalente d'une enzyme par une autre.

L'AMP_C active **PKA (Protéine AMP_C Kinase dépendante)**. L'AMP_C se fixe sur une sous unité régulatrice de protéine kinase AMP_C dépendante (kinase A ou PKA). La fixation entraîne la séparation des sous unités catalytiques sous forme active, celles-ci peuvent alors pénétrer dans le noyau. En effet, les conséquences de l'augmentation de l'AMP_C s'observent dans le cytoplasme mais aussi dans le noyau, les sous unités catalytiques de la PKA activées rentrent dans le noyau où elles phosphorylent des protéines kinases nucléaires ainsi que la protéine CREB. Tous les gènes régulés par l'AMP_C possèdent une région régulatrice appelée CRE (cAMP Response Element) qui se lie à la forme phosphorylée de la protéine CREB (cAMP Response Element Binding protein) ; La forme phosphorylée de CREB se fixe sur l'ADN avec un co-activateur pour la transcription de gènes cibles. Ces gènes cibles peuvent coder par exemple pour certaines enzymes métaboliques nécessaires à la production de glucose (gluconéogenèse).

L'AMP_C est détruite dans le cytoplasme par une enzyme : la phosphodiesterase ce qui met un terme à la réponse cellulaire.

La fixation d'une seule hormone peut activer plusieurs adénylates cyclases et chacune d'elle peut produire un grand nombre de molécules d'AMP_C en peu de temps. La production d'un second messager présente une étape importante d'amplification.

Une seule molécule de PKA est capable de phosphoryler un grand nombre de protéines cibles (exemple : phosphorylase kinase)

Comme on le verra il existe plusieurs sous unités G α , certaines activent l'adénylate cyclase d'autres la répriment. Ex : les protéines alpha off (G α off) spécifiques des épithéliums olfactifs activent l'adénylate cyclase et provoquent l'ouverture des canaux (dépolérisation membranaire). G α i activée par les récepteurs α -adrénergiques inhibe l'adénylate cyclase

Les phosphodiesterases : PDE

Elles coupent les ponts phosphodiesters de l'AMP_C ou du GMP_C (dans le cas de la transduction visuelle). Elle transforme GMP_C en GMP et conduit à une

diminution de la concentration intracellulaire en GMP_C . Cette baisse provoque la fermeture de canaux et une dépolarisation membranaire. Le PDE est activée par $G_{\alpha t}$ (transducine) qui est elle-même couplée Au récepteur des photons (dans la rétine) : la rhodopsine.

Des canaux ioniques sont directement couplés aux protéines G

Ce peut être des canaux Ca^{++} , K^+ , Na^+ . Ex : récepteur de la somatostatine récepteur muscarinique de l'acétylcholine, de la sérotonine,....

Les phospholipases

Ces enzymes produisent des messagers secondaires à la suite du clivage d'acides phosphatidique(phosphatidyl inositol, phosphatidyl serine, phosphatidyl choline,...) dans la bicouche membranaire.

Phospholipases $C\beta$ (PLC β). Ces enzymes sont situés à la surface interne de la membrane plasmique. Il transforment le **PIP2** (Phosphatidyl inositol bis phosphate) en **DAG** (Diacylglycérol) et **IP3** (inositol triphosphate)

Le **DAG** qui reste dans la bicouche lipidique active la **protéine kinase C (PKC : calcium dépendante)**. C'est une sérine /thréonine kinase qui phosphoryle des protéines cibles. La PKC est impliquée dans de nombreuses réponses cellulaires, l'IP3 se fixe à son récepteur (récepteur canal Ca^{2+}) dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse et provoque la sortie du Ca^{++} du RE et une activation de la PKC. Le Ca^{++} est un second messenger. La PLC est activée par $G_{\alpha q}$ et $G_{\alpha 11}$.

Les récepteurs de la sérotonine sont couplés à la PLC

Phospholipase D : Cet enzyme est spécifique de phosphatidyl choline qui est clivé en acide phosphatidique et en choline, elle peut être activé à la fois par $G_{\alpha i}$ et les sous unités $\beta\gamma$

Phospholipase A2(PLA2). Le phosphatidyl choline est clivé en acide arachidonique et lysophosphatidylcholine. Cette phospholipase intervient dans la synthèse des prostaglandines et des leucotriènes, molécules impliquées dans la régulation du tonus des muscles lisses et dans le processus d'agrégation plaquettaire au moment de la cicatrisation. Elle peut aussi être activée par αi et $\beta\gamma$. Elle est couplée aux récepteurs de la thrombine et de l'ACTH.

Phosphatidylcholine phospholipase C. Elle clive le phosphatidylcholine en DAG et phosphocholine. Ex : elle intervient dans la réponse à l'interleukine I.

4-3 Les protéines G :

La relation fonctionnelle entre un récepteur à 7 segments transmembranaires et une protéine G hétérotrimérique est un mécanisme universel qui permet à des messagers extracellulaires de déclencher la mobilisation de messagers secondaires.

Ces protéines appartiennent à la super famille de protéines (protéines G) qui lient le GTP (et le GDP).

Cette super famille comprend **des protéines G monomériques** (dites aussi petite G) elles ont en générale peu ou pas d'activité GTP asique. Il existe plusieurs sous familles :

- Rab qui régule les flux membranaires
- Rho, rac, qui interviennent dans l'organisation du cytosquelette, le changement de la forme des cellules, dans la motilité cellulaire, l'endocytose et l'exocytose.
- Ras qui est impliquée dans la transmission des signaux mitotiques
- Ran qui intervient dans le transport des protéines dans le noyau
- Eftu (qui intervient dans le mécanisme de traduction des protéines)
- Dynamine (pour l'endocytose)

En général, les petites G ne sont pas les transducteurs des récepteurs couplés aux protéines G.

Les protéines trimériques constituent une autre catégorie de protéines G, elles comportent trois sous unités : α , β , δ . La fonction de ces protéines dépend de leur capacité à se dissocier en un monomère α (noté en général $G\alpha$) et un dimère $\beta\delta$.

Cette dissociation à lieu lors de l'activation du récepteur

- α et $\beta\gamma$ sont liés à la membrane plasmique par un ou plusieurs acides gras
- La fixation du ligand sur le récepteur active la protéine G. La forme trimérique associée au GDP est la forme inactive. Lors de la fixation du ligand, le GDP est échangé par du GTP sur $G\alpha$ qui

possède une activité GTPasique (rq : la concentration du GTP dans le cytoplasme est nettement supérieure à la concentration en GDP). Cet échange induit une dissociation de $G\alpha$ GTP du dimère $\beta\delta$. la sous unité $G\alpha$ GTP et le couple $\beta\delta$ activent ensuite des protéines cibles : les effecteurs en générale associés à la membrane plasmique .les sous unité alpha peuvent moduler l'activité de : l'adényl cyclase, de phospholipases, de canaux ionique,....

- L'auto-activation du GTP par la sous unité $G\alpha$, provoque l'arrêt de l'activation et la reconstitution du trimère $\alpha\beta\delta$ inactif.

Il existe au moins **20 sous unité $G\alpha$** différente, (**5 β et 11 δ**).On distingue deux catégories de $G\alpha$:

- Les stimulatrices : $G\alpha_s$ (alpha,s),active l'adénylate cyclase, ce qui augmente la concentration en AMP_C .
- Les inhibitrices : $G\alpha_i$ (alpha,i), inhibe l'adénylate cyclase ce qui provoque une diminution de la concentration en AMP_C .

La durée de l'activation d'une protéine G est contrôlée par la sous unité α .

Toute les sous unités $G\alpha$ sont des GTPases et chacune hydrolyse le GTP à une vitesse caractéristique (qui est considérée comme assez lente). Lorsque le GTP est hydrolysé en GDP, la sous unité α se réassocie à $\beta\delta$. **Après la dissociation d'une protéine G du récepteur activé, le récepteur fixe un autre trimère et le cycle redémarre. En conséquence, un complexe ligand/récepteur peut activer de nombreuses protéines G. Le signal est donc amplifié et conduit à une cascade catalytique.**

Le couple $\beta\gamma$ peut aussi, dans certain cas, interagir avec une protéine effectrice.

Une protéine G peut donc avoir plusieurs effecteurs et active différentes voies réactionnelles. **Quelle que soit la sous unité, une protéine G agit toujours sur une enzyme effectrice qui à son tour modifie la concentration d'une ou plusieurs petites molécules dans la cellule.**

La stimulation par un récepteur passe par plusieurs étapes

- **Première étape** : activation de la protéine G par son récepteur. La fixation du ligand à son récepteur provoque un changement de conformation du récepteur qui accroît son affinité pour la protéine G. Le récepteur s'unit à la protéine G à la face interne de la membrane plasmique. La sous-unité α libère le GDP qui lui est fixé et le remplace par du GTP, qui fait passer la protéine G sous sa forme active. Sous sa forme active un seul récepteur est capable d'activer plusieurs protéines G ce qui représente la première étape d'amplification de la voie.
- **Deuxième étape** : passage du signal de la protéine G à l'effecteur. L'échange GDP par du GTP modifie la conformation de $G\alpha$ et provoque sa séparation du récepteur et des autres sous unités de la protéine G qui restent assemblées (couple $\beta\delta$). Les sous unités $G\alpha GTP$ sont libres d'activer les protéines effectrices qui mettent en route les systèmes de messager secondaire. Comme mentionné précédemment, le couple $\beta\delta$ peut aussi activer des effecteurs spécifiques.
- **Troisième étape** : fin de la réponse. La sous unité α possède sa propre activité GTPasique. La sous unité s'inactive elle-même en hydrolysant le GTP et se réassocie à $\beta\delta$.

Rq : dans certain cas, la séparation de la protéine G lors de l'activation de récepteur modifie la conformation du récepteur qui perd ainsi son affinité pour le ligand qui libère son site de fixation (dans ce cas la transmission de l'information se fait de la cellule vers l'extérieur).

Mise en évidence expérimentale du couplage :

Expérimentalement, en utilisant des membranes cellulaires purifiées ou des cellules en culture, il est possible de démontrer qu'un récepteur particulier est couplé à une ou des protéines G spécifiques. Des toxines ont aussi été très utiles pour étudier les propriétés des protéines G. Ces toxines sont des ADPribosyl transférase, elles figent les protéines G dans une seule conformation.

Ex : la toxine cholérique (CTX) bloque l'activité ATPasique de la sous unité $G\alpha_s$, la sous unité devient active en permanence. Une conséquence grave est que la concentration en AMP_C augmente. Cela provoque la

sécrétion de grande quantité de liquide intestinal dans la lumière intestinal. La perte d'eau associée à cette réponse inappropriée conduit à la mort par déshydratation. Inversement, la toxine pertussique (PTX) agit sur G α i et verrouille cette protéine dans sa conformation inactive.

Des protéines contrôlent l'activation des protéines G

Il existe différentes protéines régulatrices :

- **Les protéines GAP** : favorisent l'activité GTPasique des G α , elles inactivent les protéines G ;
- **Les protéines GNRF ou GEF** : favorisent le remplacement de GDP par GTP sur la sous unité G, on parle parfois de protéines d'échange GDP/GTP (GEF : protéine d'échange des nucléotides GTP/GDP). Elles activent donc la protéine G α .
- **Les protéines GDI** : inhibent la dissociation des nucléosides guanine .Elles inhibent la libération de GDP et maintiennent la protéine G inactive.

Les différents types de couplage

Rq : plusieurs récepteurs peuvent activer les mêmes protéines G, et comme nous l'avons vu, une protéine G peut avoir plusieurs effecteurs.

1- Couplage simple

Un ligand (L) active un récepteur (R) couplé à une protéine G, celle-ci pouvant agir sur un (ou plusieurs) effecteur(s)

2- Deux messagers primaires agissent sur les mêmes effecteurs :

Plusieurs ligands agissant sur leurs récepteurs respectifs qui sont tous couplés à la même protéine G

Ex : des cellules pancréatiques exposées à la thrombine et cholécystokinine (CCK), ces molécules agissent sur leurs récepteurs membranaires spécifiques.

3- Un récepteur pour plusieurs protéines G :

Un messenger primaire peut aussi avoir par exemple deux effecteurs (et parfois trois) Exemple : le récepteur de la thrombine est couplé à la G α i ,la su alpha inhibe adénylate cyclase et les sous unités $\beta\delta$ activent la PLC.

Ce type de couplage permet d'augmenter la diversité des réponses biologiques pour un seul messenger primaire.

Ex : récepteur muscarinique il agit à la fois sur G α i (inhibe l'adénylate cyclase), sur G β (qui active la PLC), et sur G γ (active le canal potassium)

4- Le même ligand peut avoir plusieurs récepteurs :

Ils agissent sur des protéines G différentes qui activent des cibles (ou effecteurs) différents.

Rq : la spécificité des réponses aux protéines G.

- Un récepteur à un ligand peut exister sous différentes formes (isoformes) qui ont des affinités différentes pour les protéines G (il existe par exemple 09 isoformes du récepteur adrénergique, 15 isoformes du récepteur de la sérotonine). Plusieurs isoformes peuvent exister à la surface de la même cellule.
- Les protéines G peuvent exister sous différentes formes (20 α , 5 β , et 7 γ)
- Les messagers secondaires provoquent des réponses différentes dans des cellules différentes car ils activent des kinases capables de phosphoryler des lots différents de protéines selon les types cellulaires

Désensibilisation des R7G

Ces récepteurs couplés aux protéines G sont la cibles de mécanismes de régulations fonctionnelles appelées désensibilisation .La conséquence est une atténuation du signal intracellulaire induit par l'hormone.la désensibilisation à pour but d'arrêter le couplage entre les récepteurs activés et les protéines G. Ce mécanisme peut avoir lieu de deux manières différentes :

- La désensibilisation peut être homologue par un mécanisme qui nécessite deux familles de protéines les sérines /thréonine kinases GRKs (G-protein coupled Receptor Kinases) qui phosphorylent les récepteurs activés, et les arrestines, qui se fixent aux récepteurs phosphorylés prévenant de cette manière le couplage des protéines G au récepteur. Ce type de désensibilisation a été démontré pour différents récepteurs parmi lesquels le récepteur β -adrénergique.

- La désensibilisation peut également être hétérologue, c'est -à-dire indépendante d'un ligand spécifique mais provoquée par l'activation d'un autre récepteur sur la même cellule. Ce type de désensibilisation fait intervenir la protéine kinase A (PKA) activée par l'AMP_c ou la protéine kinase C (PKC) activée par les diacylglycérols. Ainsi, il a été mis en évidence que la PKA participait à la désensibilisation du récepteur β 2-adrénergique.

Cas du récepteur β adrénergique, il **peut être désensibilisé par phosphorylation**. Lorsque le récepteur est phosphorylé par la Kinase A, celui-ci ne peut plus interagir avec la protéine G, il n'y aura donc plus de signalisation.

Il peut aussi être désensibilisé par internalisation. Lorsque le récepteur est phosphorylé sur plusieurs sites par une kinase spécifique du récepteur (ici la β adréraline récepteur kinase : β ARK), la partie intracellulaire du récepteur interagit avec la β -arrestine, ce qui provoque l'endocytose du récepteur. Il peut être alors dégradé ou recyclé

Les récepteurs à activité tyrosine kinase(RTK) :

Ce sont les récepteurs aux facteurs de croissance. Les ligands (appelés aussi cytokines) sont des petits polypeptides qui stimulent la croissance de types cellulaires particuliers, ils sont sécrétés pour agir sur des cellules cibles.

Ex : le facteur de croissance des cellules épidermiques EGF, facteur de croissance dérivés des plaquettes PDGF, l'insuline, l'interféron, l'interleukine,...

Parfois les ligands sont des composants de la matrice extracellulaire ou des protéines membranaires à la surface d'autres cellules.

Les tyrosine-kinases TK (qui phosphorylent les résidus tyrosines) appartiennent à une superfamille de protéines distincte des sérine/thréonine kinases. Les TK interviennent principalement dans le contrôle de la croissance, de la différenciation et de la survie cellulaire, mais aussi au cours du développement dans la prolifération cellulaire.

Caractéristiques structurales et fonctionnelles des RTK :

Ce sont des protéines transmembranaires de type I (qui traversent la membrane une seule fois et dont le domaine NH₂ terminal est extracellulaire). Ils sont monomériques (récepteur de l'EGF et du PDGF) ou dimériques (insuline). Il existe une cinquantaines de RTK identifiés chez l'homme. Ils ont le même mode de fonctionnement, se sont des kinases qui transfèrent des groupements phosphate sur des protéines cibles.

Rq sur les kinases : on distingue deux groupes de kinases en fonction de l'acide aminé qu'elles phosphorylent :

- Les tyrosines kinases qui sont en général membranaires
- Les sérines/thréonine kinases qui sont en générale cytoplasmique. certaines sont encrées dans la membrane par l'intermédiaire d'un lipide (ex : la protéine Src).

Il existe aussi des kinases à double spécificité qui peuvent phosphoryler à la fois les sérines et les tyrosines .les RTK phosphorylent seulement les tyrosines qui se trouvent dans certaines séquences d'acides aminés que l'on appelle motifs de phosphotyrosine . Il existe également des phosphatases qui corresponde à chaque type de kinase et permettent d'hydrolyser les groupements phosphates.les événements de phosphorylation sont donc réversibles

Activation des RTK

Le domaine extracellulaire des RTK contient des motifs répétés (ex :domaine de type immunoglobuline) et un site de reconnaissance au ligand. Le domaine cytoplasmique est un domaine catalytique. Quand un ligand se fixe ,l'activité catalytique du domaine cytoplasmique est déclenchée. La phosphorylation de la tyrosine est l'événement clé de l'activation des RTK, les mutations affectant le domaine tyrosine kinases rendent les récepteurs inactifs bien qu'ils puissent fixer le ligand (on parle parfois de récepteurs dominant négatifs, car il peuvent bloqués une voies de signalisation). La fixation du ligand entraine la diffusion des récepteurs dans la membrane et la dimérisation des domaines extracellulaires (pour les protéines membranaires de groupe I). Après dimérisation , il y a juxtaposition des domaines cytoplasmiques qui interagissent et change de conformation. Il y a alors mise en route de l'activité kinase et auto

phosphorylation d'une sous unité par l'autre et inversement. La phosphorylation des deux sous unités est nécessaire pour l'activation du récepteur.

L'auto phosphorylation a deux conséquences :

- La phosphorylation des domaines kinases augmente l'activité catalytique et le passage du signal aux composants avals de la chaîne réactionnelle
- D'autre part la phosphorylation d'un ou plusieurs résidus tyrosines dans le domaine cytoplasmique entraîne l'association de ce domaine avec des protéines cibles (ou effecteurs des RTK).

Les protéines cibles des RTK :

Les RTK ont divers protéines cibles ou effectrices :

- Des molécules adaptatrices sans activité catalytique
- Des enzymes (ex : PI3K). Ces enzymes sont activées soit par leur fixation directe aux RTK phosphorylés, soit par phosphorylation (ex : csrc tyrosine kinase cytoplasmique). Certaines cibles phosphorylées, dite « cibles terminales » sont des protéines du cytosquelette.

Cibles à domaine SH2 et SH3

Les récepteurs TK activés peuvent interagir avec des protéines cibles. Les protéines cibles sont capables de reconnaître les tyrosines phosphorylées sur le récepteur activé. Le domaine SH2 des protéines cibles reconnaît les phosphotyrosines. Ce domaine d'interaction a initialement été découvert dans la protéine Src (**SH2 signifie : domaine d'Homologie de type 2 avec la protéine Src**). Les cibles sont des protéines cytoplasmiques impliquées dans la transduction du signal. Ex : la protéine src, la phospholipase C,....)

Une protéine qui contient un domaine SH2 est activée lorsqu'elle se fixe dans un site de liaison SH2 (c'est-à-dire une phosphotyrosine) ce qui déclenche des activités enzymatiques de type kinase, phosphatase ou phospholipase.

Cette activation peut être directe quand la protéine qui possède un domaine SH2 a une activité enzymatique ou indirecte c'est -à-dire par l'intermédiaire d'une protéine adaptatrice (exemple la protéine Grb2). La protéine Grb2 (qui contient environ 100 acides aminés) se fixe sur la tyrosine phosphorylée du

récepteur de l'EGF. Le site de liaison au domaine SH2 comporte 3 à 5 acides aminés : la phosphotyrosine plus des acides aminés du côté COOH terminal. Grb2 est une protéine adaptatrice intervenant dans les voies de signalisation EGF et PDGF. La protéine Grb2 contient seulement un domaine SH2 et SH3. Le domaine SH3 se fixe sur le motif PXXP (proline-x-x-proline) de manière spécifique porté par les kinases cibles de Grb2. Le domaine SH3 assure la fonction effectrice grâce à laquelle certaines protéines SH2 se fixent à un composant en aval de la voie de signalisation.

Une protéine peut avoir plusieurs domaines SH2 différents qui lui permettent de se fixer à plusieurs phosphoprotéines. Un récepteur peut contenir plusieurs sites de liaison à des domaines SH2 différents lui permettant d'activer plusieurs protéines cibles, ceci permet d'augmenter la diversité du potentiel de signalisation par un récepteur **Ex** : le récepteur au PDGF possède 10 sites de liaison SH2, chacun généré par un événement de phosphorylation différent. Ce récepteur peut interagir avec de nombreuses protéines : PLC β , src, Grb2, Ras GAP.

Autres exemples de protéines adaptatrices : les IRS (Insuline Receptor Substrat) elles possèdent des domaines SH2 et SH3. Elles interviennent dans les voies de signalisation de l'insuline. Les IRS sont phosphorylées par le récepteur de l'insuline puis interagissent avec plusieurs protéines à domaine SH2 différentes, chacune de ces protéines peut activer une voie de transduction différente ce qui peut entraîner des réponses cellulaires très variées, comme la synthèse d'ADN et la division cellulaire, la synthèse protéique, l'activation de facteurs de transcription spécifiques, l'importation de glucose.....

Les voies effectrices activées par les RTK

Activation d'activité enzymatique qui conduit à la production de << second messenger >>

L'adénylate cyclase et les phospholipases C (PLC) sont des protéines à domaine SH2 et sont donc des effecteurs des RTK. D'autres protéines cibles sont des phospholipases ou des kinases qui phosphorylent des substrats

lipidiques. La PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) catalyse la réaction de phosphorylation qui conduit à la production de précurseurs de nombreux messagers cellulaires.

La voie des Kinases ou voie Ras :

L'activation d'un récepteur RTK conduit directement ou indirectement à l'activation d'une série de protéines kinases cytoplasmiques. On parle de cascade de phosphorylation. Cette cascade aboutit à la phosphorylation de facteurs de transcriptions (ou des protéines du cytosquelette) qui déclenchent des changements dans le phénotype cellulaire.

Dans une cascade, chaque kinase phosphoryle la kinase suivante de la suite réactionnelle et l'active. Ces processus en cascade permettent une amplification du signal intracellulaire. D'autre part, comme une kinase donnée peut avoir plusieurs cibles cela peut expliquer la diversité des réponses cellulaires.

La protéine Ras : un composant clé dans les cascades de réactions activées par les RTK

Les facteurs de croissances activent toujours une voie impliquant la protéine Ras (notée parfois : p 21 Ras). Les protéines de la famille Ras appartiennent à la famille des petites protéines G (monomérique), elles possèdent plusieurs propriétés :

- Elles possèdent une région impliquée dans la fixation de nucléotides (GTP/GDP), et possèdent une activité GTPasique.
- Leurs extrémités C-T terminale sont liées de façon covalente à un lipide ce qui leur permet de se fixer à la membrane plasmique.
- Elles possèdent un domaine effecteur qui interagit avec les protéines cibles mais aussi un domaine d'interaction avec la protéine Ras GAP (activatrice de l'activité GTPasique de Ras)

Le gène codant pour la protéine Ras est un oncogène viral, c'est-à-dire un gène cellulaire porté par certain virus tumoraux. L'équivalent cellulaire a été ensuite découvert et il a été observé que de nombreuses tumeurs humaines contenaient une forme mutante de Ras.

Des formes mutantes de Ras sont capables in vitro, de transformer des cellules normales en cellules tumorales malignes. L'altération du gène qui code pour la protéine Ras conduit à la perte du contrôle de la croissance cellulaire et de la prolifération des cellules. On sait aujourd'hui que 30 à 40 % de l'ensemble des tumeurs humaines contiennent une forme altérée de la protéine Ras.

L'activation de Ras dépend de sa liaison au GTP (état activé) ou au GDP (état inactif).

Dans la signalisation EGF, la protéine Grb2 se fixe à la protéine SOS grâce à son domaine SH3. La protéine SOS est alors activée (par la fixation à Grb2) et elle active à son tour la protéine Ras en favorisant le remplacement de GDP par GTP. SOS est une protéine d'échange !

Contrôle de l'activité GTPasique de Ras :

Comme beaucoup d'autres petites G, l'activité GTPasique de Ras est régulée par des protéines régulatrices. Deux protéines contrôlent l'état actif ou inactif de Ras :

- La protéine RAS-GAP qui stimule l'activité GTPasique de Ras, ce qui inactive la protéine Ras.
- La protéine SOS qui est un GNRF (ou GEF)

Rq : Toutes les protéines G monomériques peuvent être régulées par une ou plusieurs protéines.

Les étapes de l'activation de Ras par les RTK et la cascade MAPK

Grâce à son domaine SH3, la protéine Grb2 se fixe à la protéine SOS, SOS active à son tour Ras en favorisant le remplacement de GDP par GTP.

Rq : la protéine Ras est impliquée dans plusieurs voies de transduction différentes, c'est un centre à partir duquel rayonnent différentes voies. Ras

active Raf (qui est une ser/thr kinase cytoplasmique). Raf met en route la cascade des MAP kinases (protéine kinase activé par des signaux mitogénique)

Raf phosphoryle la MAPKK, la MAPKK phosphoryle la MAPK,...

Rq : la voie Ras/MAPK permet d'atteindre un degré d'amplification supérieur à 1000.

Les MAPK jouent un rôle central dans le contrôle des changements de phénotype cellulaire

La conséquence finale du système des MAPK est un changement du profil de transcription des cellules. Cela implique des événements nucléaires. Des facteurs de transcription sont activés ou inhibé par les MAPK. Les MAPK peuvent en effet entrer dans le noyau et phosphoryler des facteurs de transcription cibles.

Les MAPK peuvent aussi phosphoryler un facteur cytoplasmique : cela peut être un facteur de transcription qui se déplace ensuite dans le noyau ou une protéine qui régule un facteur de transcription.

La dernière Kinase (MAPK) peut entrer dans le noyau et catalyse la phosphorylation de facteurs de transcription spécifiques qui activent plusieurs gènes qui ont un rôle dans le cycle cellulaire (synthèse d'ADN et division cellulaire). Les MAPK peuvent également agir sur l'initiation de la traduction des protéines).

La cascade des MAPK est présente chez tous les eucaryotes (de la levure aux mammifères), elle est très importante, et beaucoup de protéines de cette voie sont codées par des gènes qui peuvent provoquer des cancers. Cette voie des kinases (appelée voie Ras) est activable par de nombreux systèmes différents et possèdent des effets terminaux spécifiques pour chaque type de cellules. On ne connaît pas encore précisément les mécanismes impliqués dans la spécificité de la réponse cellulaire suite à l'activation de cette voie, mais on pense que l'intensité et la durée de l'activation de cette voie pourrait influencer la réponse cellulaire.

Convergence, divergence et interférence entre différentes voies de transduction des signaux

Dans les voies de transduction (signalisation) il existe des points de convergence et de divergence

Les récepteurs EGF peuvent activer la voie Ras mais aussi une voie indépendante de Ras qui implique des seconds messagers. Le même récepteur peut donc activer plusieurs voies. De plus, la voie EGF et les voies faisant intervenir les récepteurs couplés aux protéines G convergent parfois vers les mêmes effecteurs (par exemple la PLC) et aboutissent donc à la production des mêmes seconds messagers.