

COMMUNICATION CELLULAIRE

- I. **Généralités**
 - A. **Les recepteurs**
 - B. **Facteur de signalisation (ligands)**
 - C. **Interaction ligand-recepteur**
 - D. **Voie de transport de signaux**
 - E. **Facteur de signalisation**
 - F. **Caractéristiques des interactions recepteurs /ligand**

- II. **Recepteurs transmembranaire**
 - A. **Recepteurs transmembranaires associés aux protéines G heterotrimérique**
 - a. Structure particulière de 7 domaines transmembranaire
 - b. Rôles principaux
 - c. Recepteurs adrenergique
 - d. Recepteur beta2 adrénergique
 - e. Amplification du signal
 - B. **Les cascades**
 - a. Mécanisme d'activation de la protéine G
 - b. Transmission d'une information via l'AMPc
 - c. PKA: nombreux effet sur la cellule déclenchée par un seul signal

- III. **Généralisations des observations**
 - A. **Recepteurs à AMPc**
 - B. **Protéines G**
 - C. **Second messenger**
 - D. **Contrôle de réponse**
 - a. Soit augmentation de la réponse par augmentation de recepteurs
 - b. Soit diminution (désensibilisation)

- IV. **Recepteur des facteurs de croissance et des cytokines**
 - A. **Recepteur à activité tyrosine kinase intrinsèques (RTK)**
 - a. Structure
 - b. Les mécanismes
 - c. La protéines RAS
 - d. Recrutement des facteurs qui réguleront RAS
 - B. **Recepteurs des cytokines**
 - a. Recepteurs à serine/threonine kinase intrinsèque
 - b. Recepteurs membranaires à Tyrosine Kinase associée
 - c. Recepteurs membranaires à Serine/threonine kinase associées
 - 1. *Rôle physiologique*
 - 2. *Action de transmission de signalisation*
 - 3. *Cascade signalisé*
 - C. **Second niveau de régulation**
 - D. **Troisième niveau de régulation**
 - E. **Contrôle par réactif post-traductionnel sur le recepteur**
 - F. **Rôle multiple**

- V. **Recepteur impliqués dans les interactions cellules-substrats**
 - A. **Interaction mesenchyme-epithélium**
 - B. **Recepteurs membranaires de la MeC**
 - a. Integrine: definition
 - b. Integrine et connexion au cytosquelette
 - c. Les jonctions focales
 - d. Régulation des fonctions
 - C. **Interaction cellule-cellules**
 - a. Molécules d'interactions
 - b. Signalisation juxtacrine

Les
doivent
➤

cellules
pouvoir
Se
reperer
dans
l'espace
et dans

COMMUNICATION CELLULAIRE

- le temps
- Déterminer qui sont les cellules voisines
- Reperer les variations de son environnement

Ex: dans le bourgeon de membre de l'embryon de poulet: une cellule doit savoir si elle est dans le membre supérieur ou le membre inférieur, coté proximal ou distal, quelle cellule elle est, quelles sont les voisines, et dans quelle voie va -t-elle s'engager.

Donc

- Développement de systèmes complexes et interconnectés de réception des signaux extracellulaire ainsi que de transmission de ces signaux à l'intérieur de la cellule permettant l'adaptation des cellules
- Reconnaissance par interaction directe cellule-cellule ou cellule-substrat ou par la voie de signaux de communication secrétés.

L'existence de ces signaux ont été décrite aux alentours du 20ième siècle, on décrit la *secrétine* lorsque le bol alimentaire arrive dans le duodénum qui allait activer la production d'enzyme de digestion par les enzymes du pancreas. Il a été montré qu'il y avait des interactions entre différents organes.

Lors de l'ablation du rein embryonnaire il y a un défaut de croissance du membre du même coté. Avec ce genre d'expérience on peut montrer les interactions entre organes qui sont normalement très éloigné les un des autres

Deux concepts dégagés:

- **Hormone**: molécules informatives produites par des cellules sécrétrices à distance et pouvant moduler une fonction de la cellule receptrice (cellule cible).
- Sur la cellule receptrice: existence de molécule permettant de capter ces signaux et envoyant un **second messager**: petites molécules formées ou libérées dans le cytoplasme en réponse à un signal extracellulaire pouvant relayer cette information à l'intérieur de la cellule (effet du glucagon sur le clivage du glycogène). Existence de cellule dont la concentration dépendait de l'intensité des signaux envoyés.

I. Généralités

A. Les récepteurs

Molécules protéiques (ou des glycoprotéines) allostériques, c'est à dire que leur structure tridimensionnelle est modifiée de façon réversible par la fixation spécifique des signaux chimiques (ligands). Un millionième des protéines de la cellule permettant une certaine finesse de réaction.

B. Facteur de signalisation (ligands)

Tout signal chimique capable d'être reconnu de façon spécifique par un récepteur cellulaire dont la liaison déclenchera une réponse de la cellule (activation d'une enzyme, ouverture d'un canal ionique..).

Modification de la prolifération, état de différenciation ou métabolisme.

Ces facteurs sont variables et l'enjeu de découverte de leur structure est très important en pharmacologie.

Les facteurs de signalisation sont reconnus par deux types de récepteurs:

- **Facteur** de signalisation **ancrés** à la membrane, facteur transmembranaire reconnaissant des facteurs de signalisation qui ne pourront pas rentrer dans la cellule et donc transmettront le signal.
- **Récepteur** intra-cellulaire **cytosolique** ou **nucléaire** capable de reconnaître des facteurs de signalisation qui pourront rentrer dans la cellule.

C. Interaction ligand-récepteur

Les ligands et récepteurs vont se reconnaître par des mécanismes de **stéréospécificité**, de même type que enzyme/substrats ou antigène/anticorps, permet au ligand de se positionner dans un site et aura lieu des **liaisons non-covalente**, et si elles sont correcte, la stéréospécificité sera complète et on aura une spécificité complète. Les liaisons sont de types **hydrogènes**, **hydrophobe** ou bien des liaisons de proximité (**Van Der Waals**)

Ces fixations sont très généralement **réversible**, permet de réguler sa sensibilité à un facteur de signalisation extracellulaire.

COMMUNICATION CELLULAIRE

D. Voie de transport de signaux

Plusieurs voies de transport de signaux:

- **Endocrine:** la cellule envoie le signal dans la voie sanguine, jusqu'à la cellule receptrice. Hormone, action à distance, lente, concentration de 10^{-8} M environ. Il y a une imprégnation complète de l'organisme par l'hormone. La cellule receptrice sera une des seules cellules à avoir le récepteur spécifique.
- **Paracrine:** Libération dans le milieu extracellulaire, agit par diffusion de facteur de croissance, rapide et proche, d'une dizaine de cellules. A permis de comprendre le rôle du **morphogène**.
- **Autocrine:** La cellule est émettrice et receptrice. La cellule produit son propre facteur de stimulation, inhibition. Permet à plusieurs cellules identiques d'amplifier le signal développement en groupe possible. Largement utilisé par les cellules cancéreuses pour échapper à la contrainte de l'environnement.
- Neurocrine
- Juxtacrine: par contact direct

E. Facteur de signalisation

Varié: photon pour la rétine aux peptides, dérivés d'acide aminé (neurotransmetteur), molécules olfactives

- **Hydrosoluble**
 - Hormones **glycoprotéiques**, facteur de **croissance**, **neurotransmetteur**
 - Ne **traverse pas** la membrane plasmique
 - Doit être reconnu par des **récepteurs** présents à la **surface** des cellules
 - Durée de **vie courte** (ms à minute)
 - **Faible concentration**
- **Liposoluble**
 - Hormones: **stéroïdienne**, **thyroïdienne**, **rétinoïde** (dérivé de Vitamine A)
 - Reconnu par des facteurs **intracellulaires**
 - **Traverse** la membrane plasmique
 - Durée de **vie** plus ou moins **longue** de quelques heures à quelques jours
 - **Agoniste:** structure analogue à la molécule naturelle à effet commun ou plus intense, avec d'autres effets secondaires.
 - **Antagoniste:** Effet opposé.

L'adrénaline a un effet bronchoconstricteur, donc doit être inhibé lors d'asthme. Histamine produite par les monocytes, les anti-histaminiques neutralisent les récepteurs de l'histamine

L'acétylcholine provoque la contraction du muscle strié squelettique, mais induit la relaxation du muscle lisse.

Récepteurs spécifiques:

- Récepteurs membranaires capables de reconnaître des facteurs de signalisation hydrosolubles
- Intracellulaire (nucléaire) capable de lier des molécules liposolubles.

Premier récepteur cloné: Rhodopsine.

Il existe plusieurs centaines de récepteurs olfactifs, de récepteurs de neurotransmetteurs, on a plus d'un millier de récepteurs capables de reconnaître les facteurs solubles.

Il existe aussi plusieurs centaines de récepteurs nucléaires.

Il se peut qu'un ligand reconnaisse une molécule différente avec une affinité moins forte mais qui pourra quand même déclencher une réponse.

F. Caractéristiques des interactions récepteurs/ligand

Grande spécificité de réponse physiologique:

- **Relation** entre **nombre** de sites et **réponse**
- **Récepteurs** en **faible quantité**, si ils sont en très grande quantité, ils sont pas spécifiques.
- **Faible concentration** de **ligand** nécessaire pour arriver à une réponse forte.

Donc: **Affinité forte**

Permet de déterminer des analogues ayant des effets agoniste/antagoniste sur une molécule spécifique. Concentration de récepteur et constante de dissociation seront caractéristiques du récepteur.

COMMUNICATION CELLULAIRE

La liaison recepteur ligand doit etre:

- **Haute affinité**
- **Reversibilité** du à la non covalence
- **Spécificité**
- **Saturable**: le nombre de recepteurs ne varie pas durant l'experience

Pour faire cette experience il faut

- Un ligand radioactif (quantifiable), ligand non radioactif en grande quantité
- Tissu intact ou sous forme d'homogénat, membrane, cytosol voir meme des recepteurs purifiés

Relation décrivant la liaison Recepteur ligand

Entre le nombre de recepteurs fixés et libre

$R+H \rightleftharpoons Rh$
R= recepteur libre; H = Ligand libre ; RH ligand lié. 1 site par R, pas de dégradation
Kd est la constante de vitesse de dissociation ; Ka est la constante de vitesse d'association

Expérience de l'affinité recepteur:ligand

- Serie A: Aliquot d'homogénat de cellule ou **tissus répondant à l'hormone**. On met de l'hormone radioactive de concentration croissante, et on mesure toute les molécules qui pourront fixer le ligand (recepteurs spécifique + autre molécules parasites de manière covalente)
- Serie B: Série de tubes doublées avec un ligand radioactif et un ligand froid en excès permet l'étude de la liaison **non spécifique**. L'hormone froide va déplacer l'hormone radioactive . Dans cette série, tout ce qui sera spécifique sera déplacé par de l'hormone froide.

Il faut maintenant séparer l'hormone lié de l'hormone libre par Filtration: les recepteurs seront bloqués par le filtre.

Dans la série B on mesure que ce qui est non-spécifique.

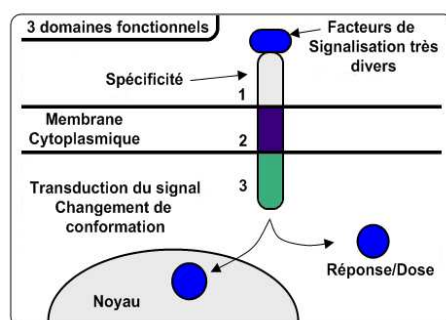
On obtient une asymptote de saturation. A l'équilibre, la vitesse d'association est égale à la vitesse de dissociation, dépendant du nombre de recepteur libre/occupé et hormones liées.

$$K_D = \frac{k_d}{k_a} = \frac{[H_{\text{marqué}}][R]}{[RH]}$$

C'est la constante dissociation. Montrant qu'avec un même type de ligand, on peut le fixer à plusieurs récepteurs.

II. Recepteurs transmembranaire

- Ce sont des protéines intrinsèques,
- Souvent glycosylées et phosphorylée
- Reconnaisant des molécules hydrosolubles qui induisent une réponse physiologique après fixation de facteur de signalisation
- Structure générale: 3 domaines fonctionnels



- Domaine extra-cellulaire doit etre spécifique.
- Domaine trans-membranaire doit être hydrophobe (helice α ...)
- Domaine intra-cellulaire responsable de la transmission du signal et qui va interagir et recruter une machinerie qui va déclencher une cascade de signalisation

COMMUNICATION CELLULAIRE

- Modifiant des doses et des réponses dans le cytoplasme et donc réguler le métabolisme. Peut avoir un rôle dans la transcription des gènes au niveau du noyau.
- Cette transmission du signal de l'extérieur vers l'intérieur se fait par un changement de conformation qui se transmet à l'intérieur de la cellule et modifie l'interaction avec les protéines.

Types de récepteurs membranaires, caractérisés par leur structure et par leur fonction

- Récepteurs à canaux ioniques: permettant l'ouverture/fermeture d'un canal à ion
- Récepteurs couplés à protéines G activant des voies de signalisation pouvant aller jusqu'au noyau
- Récepteur à activité enzymatique intrinsèque, Récepteurs Enzyme
- Récepteur directement couplé à une enzyme

Le domaine N-terminal peut être dans la région intra-cellulaire ou extra-cellulaire. Ces récepteurs vont être responsables de la modification/réponse d'une cellule à son environnement.

A. Récepteurs transmembranaires associés aux protéines G hétérotrimérique

Les protéines G sont appelées ainsi parce qu'elles sont associées à une activité GTPasique. Responsable entre autres des récepteurs olfactifs, neurotransmetteur.

a. Structure particulière de 7 domaines transmembranaire

Le domaine C-terminal est intra-cellulaire, le N-terminal est extra-cellulaire. Les boucles cytoplasmiques seront de part et d'autre de la membrane, participant à la reconnaissance du ligand ou utile à l'activation de la cascade enzymatique.

Ces domaines sont repliés sur eux-mêmes et donc on ne peut pas les étudier purifiés (ils perdent leur structure native, leur domaine d'interaction ne sera plus conservé). On peut les ancrer dans des vésicules lipidiques (liposomes) ou les cloner dans des cellules qui ne les expriment normalement pas.

Le ligand peut entrer dans la structure en tube. Les boucles cytoplasmiques et l'extrémité C-terminale servent à la transmission de signal.

b. Rôles principaux

- Régulation d'activité enzymatique
- Ouverture/Fermeture de canaux ioniques
- Effet sur
 - la modulation du potentiel de membrane
 - la croissance et la prolifération
 - l'expression de gène
- Fonctionnent généralement via des seconds messagers (molécules relais intracellulaires)

c. Récepteurs adrenergiques

Récepteur de l'adrénaline (dérivé de la noradrénaline dans les neurones, c'est un neurotransmetteur principal du SNP sympathique). Réponse à une situation de stress, l'adrénaline et la noradrénaline sont dérivées des **catécholamines**.

Il existe plusieurs récepteurs capables de reconnaître ces molécules, mais chaque récepteur aura une affinité différente pour l'adrénaline ou la noradrénaline.

Il y a deux types de récepteurs: α et β . Il y a des divergences de récepteurs, mais ils ont globalement les mêmes rôles.

Augmentation de la glycolyse hépatique	Alpha1 Beta 2
Augmentation de la néoglucogénèse hépatique	Beta2
Augmentation de la lipolyse	Beta3
Contraction des muscles lisses vasculaires	Alpha2
Contraction des myocytes	Beta1

COMMUNICATION CELLULAIRE

Relaxation des muscles lisses vasculaires

Beta2

Cascade de signalisation, chronologie

- **Ligand** se lie au récepteur membranaire
- **Protéine G** transducteur active un **Effecteur primaire**
- **Modification** de la **concentration** d'un **Second messenger** induit un **Effecteur secondaire**.

Différents acteurs:

- Gs: grande (heterotrimérique) protéine G stimulatrice
- Ac: Adenylate Cyclase: effecteur 1
- **AMPc**: 2nd messenger
- PKA: Protéine Kinase A: effecteur 2
- PDR: PhosphoDiEsterase retrocontrôlant la concentration d'AMPc

Les concentration d'AMPc sont 10-100x plus forte, il y a amplification de signal.

Des expériences ont montré que l'AMPc est bien sous contrôle de l'adrenaline

d. Récepteur beta2 adrénergique

L'adrenaline/noradrenaline active la protéine Gs, activant l'adenylate cyclase, créant de l'AMPc pouvant activer la PKA.

La caféine empêche la dégradation de l'AMPc, et maintient une concentration élevée.

e. Amplification du signal

L'adrenaline active plusieurs adenylate cyclase, synthétisant plusieurs AMPc n'activant qu'une seule enzyme PKA, chaque PKA peut activer plusieurs molécule en aval.

Une molécule de ligand peut produire 10 000 molécules finales.

B. Les cascades

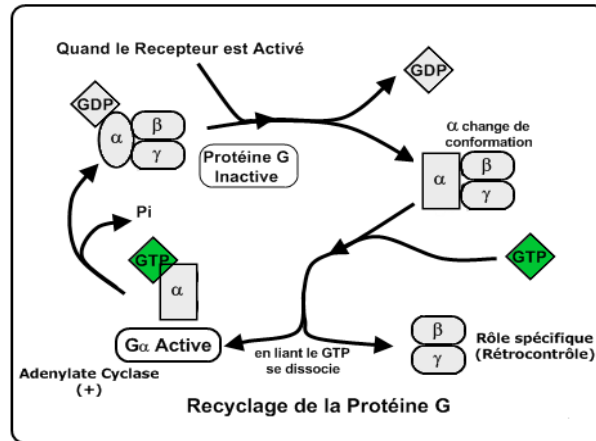
a. Mécanisme d'activation de la protéine G

- La protéine G est une molécule trimérique ancrée dans la membrane.
- Plusieurs gènes codent pour les différentes chaînes
- La sous-unité α (environ 40kDa) possède une activité GTPasique
- G α est actif lorsqu'il est couplé à GTP
- G α est inactif lorsqu'il est couplé au GDP.

Famille de nombreuses protéines avec fonctions différentes. La réponse de la fixation d'un ligand à son récepteur sera contrôlée par le type de G_α couplé au récepteur.

b. Transmission d'une information via l'AMPc

COMMUNICATION CELLULAIRE



Un même récepteur sera actif suffisamment longtemps pour activer une centaine de protéines G avant de retourner à un état inactif.

- La protéine Kinase A, sous forme de tétramère est inhibé, mais lors de la fixation de l'AMPC, il y a dissociation des SU catalytiques, et peut phosphoryler des serines et thréonine.

c. PKA: nombreux effet sur la cellule déclenchée par un seul signal

- Effet dépendant du type de cellule
 - Effet négatif ou positif sur la synthèse de glycogène
 - Aura un effet positif sur la dégradation du glycogène
- Effet de la PKA sur les facteurs de transcription
 - rôle dans le rôle transcriptionnel de gènes au niveau de noyaux
- Dans les cellules hépatiques, l'adrénaline provoque
 - Augmentation de la glycémie
 - Effet positif sur la néoglucogenèse
 - Effet positif sur la glycogénolyse
 - Effet négatif sur la synthèse du glycogène
 - Effet multiple sur les fonctions enzymatiques

La PKA peut phosphoryler les canaux ioniques dans les muscles lisse et favoriser l'entrée de calcium et provoquer une contraction.

En résumé:

- Un même récepteur peut avoir des effets positifs et négatifs au sein d'une même cellule pour la régulation d'une fonction cellulaire (phosphorylation d'inhibiteur ou d'activateur)
- Un même ligand peut avoir des effets différents avec le même effecteur secondaire en se liant à des récepteurs différents (myocarde/foie)
- Différents ligands peut agir sur le même effecteur secondaire (adrénaline/glucagon)

III. Généralisations des observations

A. Récepteurs à AMPc

Hormones agissant par la voie AMPc

Augmentant la concentration AMPc	Réduisant
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Noradrénaline (beta1/Beta2) ➤ Glucagon ➤ Dopamine D1 ➤ Sérotonine 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Noradrénaline (alpha 2) ➤ somatostatine ➤ Dopamine (D2) ➤ Opioïdes

COMMUNICATION CELLULAIRE

Action avec les protéines Gs(stimulatrice) ou Gi (inhibitrice)

B. Protéines G

- G α_s : active AC, augmentation du Ca⁺⁺
- G α_i : inhibe AC, augmentation de K⁺
- G α_q : active la PLC-Beta
- G α_{12} : active PLA2 (acide arachidonique)

α_s est inhibée par toxine cholérique

α_i est inhibée par la toxine pertussique

C. Second messenger

Exemple: Recepteur muscarinique l'acétylcholine

- Système nerveux parasympathique, effet inverse de la noradrénaline
- Deux récepteurs M1 et M2, canaux et nicotinique
- Transducteur: protéines Gq

Voie de la Phospholipase C-Beta: PLC beta

- Substrat: **PIP2** (phosphatidyl inositol biphosphate) qui sera hydrolysé
- Second messenger: **DAG** (diacylglycerol) et **IP3** (inositol triphosphate)

Le calcium libéré va permettre la contraction du muscle squelettique, ou va agir sur la calmoduline K (Myosine P et contraction du muscle lisse), ou sur la PKC (équivalent de la PKA).

L'acétylcholine aura des rôles de contraction de certains muscles lisses et de certains muscles squelettiques.

Dans le myocarde, c'est le récepteur muscarinique M2 de l'acétylcholine (inhibiteur). La fixation de l'Ach provoque la dépolarisation de la cellule et entraîne la relaxation de la cellule cardiaque.

D. Contrôle de réponse

a. Soit **augmentation** de la **réponse** par augmentation de récepteurs

- **Augmentation du nombre de récepteur** à la surface en synthétisant, réaction lente vu qu'il faut amorcer la transcription.
- Pendant la cascade intra-cellulaire, la synthèse d'un produit peut influencer l'activité de l'enzyme contrôlée par le récepteur. **Stabilisation du récepteur en forme active**

b. Soit **diminution** (désensibilisation)

Par **phosphorylation**: rapide. La phosphorylation de la PKA fait que cette protéine peut phosphoryler le récepteur lui-même: le récepteur a moins d'affinité pour le ligand, il y aura dissociation du ligand.

- Cette désensibilisation est **non spécifique**, la PKA est régulée par de nombreux autres ligands et récepteurs.
- Mais les **phosphorylations spécifiques** sont faites par **BARK**, spécifique du récepteur adrénergique, ce récepteur phosphorylé sera reconnu par une protéine spécifique du récepteur adrénergique: la **beta arrestine**, et il y aura **dégradation du récepteur**.
- Par **endocytose**: dégradation par lysosome ou recyclage du récepteur.

Conclusion:

- Les récepteurs à 7 TMD agissent majoritairement par l'intermédiaire de protéines G trimériques.
- la protéine Gs contient α β γ : alpha inactif lie le GDP, alpha actif lie le GTP.
- **Les protéines G agissent sur des effecteurs spécifiques** (AC, PLC....)
- Ces effecteurs transduisent le signal en un second messenger qui active un effecteur secondaire
- L'effecteur secondaire est responsable des modifications physiologiques

COMMUNICATION CELLULAIRE

- Un même récepteur peut avoir des effets positifs et négatifs au sein d'une même cellule pour la régulation d'une fonction cellulaire (phosphorylation d'inhibiteur et activateurs)
- Un même ligand peut avoir des effets différents avec le même effecteur secondaire en se liant à des récepteurs différents (myocarde/foie)
- Différents ligands peuvent agir sur le même effecteur secondaire (adrénaline/glucagon)
- La complexité du système de communication repose sur la possibilité d'interaction multiple au niveau d'un même effecteur secondaire

IV. Récepteur des facteurs de croissance et des cytokines

Facteur de croissance: facteur de signalisation de nature polypeptidique qui permettent la communication entre les cellules participant aux différentes fonctions biologiques. Ils agissent souvent de façon paracrine ou autocrine.

Cytokines: tout d'abord décrit comme des lymphokines puis des interleukines impliquées dans tous les processus de l'hématopoïèse et la réponse immunitaire.

Les deux notions sont souvent confondues

Rôle:

- Contrôlent la **croissance** de la cellule (EGF, FGF, etc...)
- Mais aussi: **prolifération, différenciation, mobilité**, survie (apoptose)
- Transmission par cascades d'activités enzymatiques

Plusieurs classes de récepteurs selon l'activité enzymatique qui est activées:

- Activité enzymatique intrinsèque
- Activité enzymatique associée (cytosolique)
- Généralement **pas de seconds messagers**
- Activent majoritairement des cascades de phosphorylations

A. Récepteur des facteurs de croissance: Récepteur à activité tyrosine kinase intrinsèques (RTK)

- Présence d'une activité tyrosine kinase dans la molécule de récepteur
- Monomères de récepteurs qui peuvent s'associer
- Ligand polypeptidique (6 à 35kDA)
- Nombre variable de 100 à 100 000 sites

Transmission de signal EGFR (récepteur de croissance épithéliale): Epidermal Growth Factor Receptor

- Activité tyrosine kinase
- **Stimule la prolifération de nombreux types cellulaires**
 - Keratinocytes
 - Fibroblastes
 - Chondrocytes
- Augmente les transports ioniques
- Stimule le **catabolisme** du **glucose**

a. Structure

Monomère à 3 grands domaines: un domaine extra-cellulaire, un domaine trans-membranaire, et un domaine intra-cellulaire plus important qui comporte:

COMMUNICATION CELLULAIRE

- **L'activité catalytique** de l'enzyme
- Site de **liaison** de l'ATP
- Site de **regulation**

L'extrémité C-terminale est du côté intra-cellulaire, l'extrémité N-terminale est du côté extra-cellulaire.

Différents domaines des récepteurs:

- Domaine extracellulaire riche en **cystéine** ou **analogue avec les Ig**
- Chaque type de récepteur sera capable de lier des facteurs de croissance différents
- Motifs intracellulaires différents

b. Les mécanismes

- **Activation** des récepteurs
 - Liaison du ligand entraîne un **changement conformationnel** qui permet la dimérisation de deux monomères
 - Changement conformationnel entraîne l'activation de la tyrosine kinase de chaque monomère qui vont phosphoryler réciproquement l'autre monomère
 - On parle d'autophosphorylation, mais c'est mieux de dire **transphosphorylation**
 - Permet la formation de tyrosines phosphorylées qui vont apparaître sur chaque monomère.
 - Chacune des tyrosines phosphorylées vont pouvoir interagir avec des molécules différentes
- **Transmission** du signal
 - **Recrutement** de **protéines** et par des cascades vont aller **modifier l'expression** de **gènes** et modifier des métabolismes.
 - Il peut y avoir plusieurs voies de signalisations qui peuvent être activées simultanément.

c. La protéine RAS

- Voie de signalisation principalement associée
 - Les récepteurs à tyrosine kinase activent une protéine G monomérique: **RAS**
 - Possède une activité **GTPasique**
 - RAS localisation sous membranaire, ancrage dans la membrane à l'aide d'un farnésyl et d'un acide palmitique en C-terminal.
 - **RAS inactivée** est **cytosolique**
 - RAS **activée** est **ancrée** dans la **membrane** plasmique.
- La protéine RAS transmet le signal extra-cellulaire grâce à son activité GTPasique
 - Présente sous forme mutée dans le virus de Harvey, de Kirsten et responsable de sarcomes et d'érythroleucose
 - Un des premiers oncogène connu (muté dans 30% des tumeurs)
- Grande familles de protéines (transport, signalisation, cytosquelette)
- Recyclage de RAS: avec un cofacteur elle échange du GDP pour du GTP, entraîne un changement conformationnel qui permet d'activer la cascade. La protéine est recyclée avec la GAP qui hydrolyse le GTP en GDP

d. Recrutement des facteurs qui réguleront RAS

- GRB2: adapte avec des sites SH2 et SH3 (SH2: src homology 2)
- RAS-GEF: sos: échangeur de GDP en GTP (activateur de RAS)
- GAP: GTPase Activating Protéin pour hydrolyser le GTP (désactive RAS)

B. Récepteurs des cytokines

a. Récepteurs à serine/threonine kinase intrinsèque

- Famille de récepteur lié au développement embryonnaire
- Impliqué dans la différenciation du mésoderme et du cycle cellulaire.

COMMUNICATION CELLULAIRE

- Nombreux ligand connus (BMP, Activine...)

Exemple: Le TGF beta est un facteur de croissance transformant les cellule fibroblastique en cancreuse.

Rôle important en favorisant la synthèse de proteine à action inhibitrice en cellule agissant sur le cucle cellulaire. Ralentit G1 et permet à la cellule d'échaper à un cycle.

Rôle est un hétérotetramère: proteine à activité ser/thr kinase: 2x 2 monomère identiques. Initiation d'activation de cascade de reconnaissance du ligand: transphosphorylation de RI.

Activation directe du facteur de transcription au niveau des recepteurs de type R1

- Tetramérisation- autophosphorylation/transphosphorylation
- FT
- FT activé: dimérisation
- Retrocontrole / inhibiteur spé

b. Recepteurs membranaires à Tyrosine Kinase associée

- Pas de kinase intrinsèque, mais recruté au niveau du recepteur.
- Recepteurs des interleukines (produit / cellule sanguines)
 - CSFs (Colony Stimulating factors)
 - Interférons (1st interleukines)
- Regroupe de très nombreux recepteurs
- Trois classes de recepteurs regroupé en sous famille selon les monomères présent (un est commun par famille)
- Un monomère est capable de reconnaître un ligand spécifique. Il y a une grande redondance d'activité de ce recepteurs
 - Exemple: IL-6 est reconnu dans le SNC, fièvre, differenciation cellulaire...
- Acteur d'une voie de signalisation
 - JAK (Just Another Kinase): Tyrosine Kinase associé au recepteur et activé lors de liaison
 - STAT: facteur de transcription, la cellule se dimérise.
- Certains recepteur répondat à un type de ligand et pas à d'autre
- Cascade de Phosphorylations
 - Recepteur lié et dimérisé, proteine JAK se rapproche et transphosphorylation. JAK active phosphoryle le receteur fait apparaître à

Résumé JAK:

- apparaît dimérisé, autophosphorylation
- Phosphoryle le recepteur sur la tyrosine
- Phosphoryle les STAT
- Inactivation/ phosphorylase et inhibiteurs
- Peut activer d'autres voies de signalisations
- Mutation JAK: très importante dans les hemopathie maligne

c. Recepteurs membranaires à Serine/threonine kinase associées

1. Rôle physiologique

Recepteur TNF a plus d'une dizaine de recepteur dans cette famille.

- Impliqué dans les réponses aux stress
- Induit la mort cellulaire
- Réponse immunitaire et anti tumorale
- Impliqué dans les chocs septiques (cachexine)

2. Action de transmissions de signalisation

- Transmet le signal extérieur avec un grand nombre de protéines.
- La cellule ciblée entre en apoptose

3. Cascade signalisé

COMMUNICATION CELLULAIRE

Le ligand sous forme trimérique

En résumé:

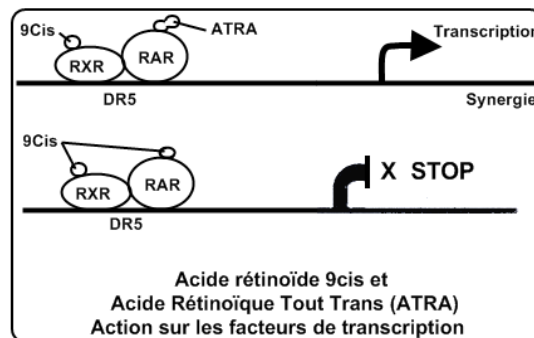
- TNF alpha liaison actine 1 R
- Trimérisation
- Recrutement Fast /DD
- Retruement caspase et activation de caspases P
- Recrutement de cascade activatrice de réaction inflammatoire
- Retrocontrôle ou inhibition

Conclusion:

- Liaison sur recepteur membranaire
- Recepteur membranaire et ligand sont varié
- 1 même recepteur peut lier plusieurs ligands si ils sont proche
- Un même ligand peut se fixer sur plusieurs recepteurs
- Voie + spé d'une ligne de recepteur
- Mais de plus e plus de réaction permettent moduler la réponse
- **EGFR active STAT et active RAS**

C. Second niveau de régulation

RAR peut reconnaître 2 isomères de l'acide rétinoïque, mais le RXR qu'un seul



Si les deux recepteurs ont le même ligand il n'y a pas de transcription possible.

D. Troisième niveau de régulation

Intervient avec la machinerie transcriptionnelle: dépend de présence de ligand. Une cellule lié à un agoniste interagit avec un co-activateur.

Ex: cellule de l'acetylase ou désacetylase sur les histones: une co-activation va acetyler l'histone pour destabiliser les nucléosomes. Les co-represseurs font une deacetylation.

E. Contrôle par réactif post-traductionnel sur le recepteur

- Activation par Phosphorylation des domaines N-terminal ou C-terminal par MAPK, CDK. Phosphorylation des domaines E par les MAPK (RXR) par la PKA (RAP)
- Inhibition par la Phosphorylation des BCD par la PKA (ER) par la PKC (RAR)
Dégradation par ubiquitylation après phosphorylation ACB.

F. Rôle multiple

Recherche agoniste et antagoniste avec effets secondaire limité.

Exemple:

- Tamoxifene: inhibition du recepteur ER

COMMUNICATION CELLULAIRE

- Diethyl stylebostrol: pillule à problème pour la descendance
- Pillule du lendemain: antagoniste du PR
- Antagoniste du PR: RU 486

V. Recepteur impliqués dans les interactions cellules-substrats

Un des mécanismes régissant la différenciation cellulaire est basé sur l'affinité différentielle des cellules entre elles ou avec la MeC faisant intervenir les récepteurs.

A. Interaction mésenchyme-épithélium

La lame basale:

- Grande densité de composant dans la MeC
- Distribution contrôlée: un grand nombre d'isoformes contribue à la diversité des fonctions de la MeC
- Organisation spécifique: la lame basale

Rôle de la membrane basale:

- Isolement
- Empêche le contact direct
- Guide la régénération

Mise en évidence: développement des glandes salivaires, et mise en évidence du rôle du mésenchyme.

Influence réciproque entre cytosquelette et MeC: Propagation d'un réseau de MeC

B. Récepteurs membranaires de la MeC

a. Intégrine: définition

- Faible affinité et Abondante
- Fixation multiple Ca^{++} dépendant
- Hétérodimère α / β
- Liaison hétérophile
- 100 kDa

Le domaine intra-cellulaire est court et n'a pas d'activité enzymatique: nécessité de recrutement
Intégrine peut être à l'origine d'hémophilie ou maladie bulleuse

b. Intégrine et connexion au cytosquelette

Après reconnaissance d'un ligand, le domaine C-terminal intra-cellulaire des intégrines β interagit avec les composants du cytosquelette.

Fonction d'un réseau:

- Contact focal (actine)
- Hemidesmosome (filament intermédiaire)

c. Les jonctions focales

Les intégrines sont normalement réparties sur la surface de la membrane, mais leur activation va permettre un regroupement pour leur interaction.

d. Régulation des fonctions

- Transmission d'un signal dans les **deux** sens
- Contrôle l'activité des intégrines (inside-out)
- MeC comme signal extra-cellulaire (outside-in)
- **Phosphorylation/Desphosphorylation** du complexe
- L'attachement à la MeC des intégrines entraîne leur phosphorylation et l'adhésion au cytosquelette. C'est un mécanisme important pour la mobilité cellulaire.
- Quand la cellule veut se détacher, l'actine se détache à l'intérieur, ce qui va du coup détacher l'intégrine de la MeC (inside-out)
- Activation du nombre de signalisation, formant une jonction focale, recrutement de nombreux facteurs et protéines de type Tyrosine-Kinase (**FAK: Kinase d'Adhésion Focale**), capable de recruter.

COMMUNICATION CELLULAIRE

- La régulation des intégrines se fait par phosphorylation au niveau de la tyrosine mais aussi au niveau de sérine et de thréonine.
- La grande nombre d'intégrines permet ainsi une grande variabilité de réponse

Régule:

- **L'organisation du cytosquelette**
- La **coordination** des **signaux** de GF et par la meme la modulation de l'expression de gènes nécessaire à la prolifération et la diferenciation

Les intégrines peuvent collaborer avec les protéoglycanes et/ou les recepteur de facteurs de croissance (GF): Peptide/mitogène comme l'ancrage via intégrine agissent sur le contrôle du cyle cellulaire

Il y a une cooperation entre les intégrines et facteur de croissance

La cellule régule le signal de l'interieur vers l'exterieur:

- Lorsque la cellule est libre
- Activation par voie de recepteur qui module le niveau de phosphorylation des integrine , change sa conformation et permet de s'attacher.
- Un recepteur de croissance va moduler la phosphorylation des intégrine alors qu'elle sont sous foforme de jonction focales
- Il y aura interaction avec les facteur extra-cellulaire

Cooperation entre integrine et R de FC: acces à la regulation des cyclines qui vont augmenter la proliferation.

Ainsi:

- **La prolifération et la différenciation des cellules**
 - résulte d'une **cascade d'interaction** successive ou d'effets synergique
 - dépend aussi de **l'émission** et la **diffusion** de **facteur de croissance** ou de **cytokines**
- Ces facteurs ont des **effets agonistes** ou **antagonistes**, sur la synthèse de protéines impliquées dans la cascade d'événements restreignant ainsi le lieu d'expression de ces protéines.

C. Interaction cellule-cellules

Mécanismes impliquant les **jonctions d'adhérences** et les **cadhérines**

- Dissociation cellulaire ex: migration de cellules neurales
- Segregation des tissus: formation du tube neurale
- Condensation/compaction: mésenchyme lache à cartilage
- Changement de forme: organe/neurulation

a. Molécules d'interactions

Mise en évidence de la spécificité de l'interaction cellulaire:

Experience de Holfreter et Townes (1955). recombinaison de tissus embryonnaires.

Segregation des celules par origine embryonnaire: l'ectoderme se place à la surface, le neurectoderme au sein de l'embryon et l'endoderme au milieu. Les cellules se sont reconnues et se sont exclus

■ Jonction cellulaire adherente via CAM (Cellular Adherens Molécules)

- Via CAM de **type Ig**

Jonction Ca^{++} dependante sous le nom de **N-CAM homophile**. La structure est semblable aux Ig Facilite le rapprochement de deux cellules adjacente grace à la glycosylation, plus ou moins chargé négativement par l'acide sialique. **Plus ces CAM seront chargé négativement, plus elle se repousseront**. Si elles sont peu chargées, les deux membranes pourront se rapprocher et les CAM pourront interagir entre elles.

Mais:

- Existence d'autres familles CAM appartenant la super famille des Ig dont celles impliqué dans l'adhesion lymphocytaire
- Certaines sont présente spécifiquement les cellules endothéliales ou non comme les I-CAM (intercellulaire CAM) présente aussi sur les lymphocytes
- **Interaction heterophile** (se lient avec les intégrines)

COMMUNICATION CELLULAIRE

- Via **cadherines** et **caténines**

- Structure: site de reconnaissance pour une autre cadherine du même type, site de liaison pour le calcium, domaine intracellulaire court et la liaison à l'actine se fait de façon indirecte via des molécules que sont des caténines (alpha/beta/gamma, dont gamma est celle du desmosome)
- Possibilité d'une phosphorylation.
- Liaison Ca⁺⁺ dépendante
- Au jonction d'adhérence les interactions sont homophiles
- Liaison homophile par la région N-terminale
- Interaction cytoplasmique avec l'actine par l'intermédiaire des Beta caténines
- Mise en évidence: uvomoruline dans la morula E-Cadherine

- **Signalisation via cadherine/caténines**

- 3 caténines: α , β et γ (plakoglobine dans le desmosome)
- Environ 120kda
- 60% d'homologie entre elles
- Clonage d'armadillo (analogue chez drosophile) impliqué dans la voie WNT (mise en place de la polarité et symétrie de l'embryon) qui est un homologue de la beta caténine
La beta caténine est à la fois stabilisée dans la jonction d'adhérence et sous le contrôle de la voie de signalisation de prolifération
- Les **caténines** ont un rôle essentiel car se sont aussi des **facteurs de transcription**

La protéine APC:

- Régule la stabilité de la β -caténine cytoplasmique contrôle le pool de β -caténine libre
- B-caténine peut entrer dans le noyau et se lier à des facteurs de transcription et ainsi réguler l'expression de gènes de prolifération et de différenciation (cycline D1, Myc)
- APC muté dans des cancers familiaux polyposique du colon n'induit plus la dégradation de b-caténine donc augmentation de la concentration de b-caténine libre
- Souvent la b-caténine est trouvée mutée dans les cancers, héréditaire ou non.
- Si le gène APC est muté ou la beta caténine est mutée, il y a risque de cancer du colon

En plus des signalisations paracrines, autocrine et endocrines, il existe une signalisation entre cellules juxtaposées faisant intervenir des récepteurs de facteur de signalisation transmembranaire.

b. Signalisation juxtacrine

- **Activation (Boss/sevenless)**

Exemple: Oeil de drosophile 1 unité visuelle est constituée de 8 cellules photoréceptrice + cellules accessoire.
La 7ième cellule est sous contrôle de la cellule centrale (Boss)

- **Inhibition latérale (Delta/Notch)**

Au cours du développement embryonnaire, se pose la question du : comment une des cellules à même potentialité, quelques cellules pouvait acquérir un développement différent, c'est en étudiant la drosophile du poil sensoriel de la surface de la drosophile et on a découvert des mécanismes du développement embryonnaire, de la mise en place des tissus et organes, que ces fonctions existent chez l'homme et sont important comme cible anticancerceux.

Le poil sensoriel est un petit organe à 4 cellules: 1 neuronale et le poil lui même, en étudiant les mutation (Delta et Notch) on se rend compte que la distribution des poil sensoriel:

- Une des cellules donne un poil et les autres donnent de l'épiderme
- En mutant Notch, toutes les cellules deviennent des poils sensoriel.

Ca a permis de comprendre que des cellules à même potentialité sont capable d'échanger des signaux et de s'inhiber les uns les autres. Delta et Notch s'envoient des signaux;

Si Notch reconnaît Delta, il y a transmission de signal, **Notch est clivé**, et une partie du récepteur **devient un facteur de transcription**. Si une cellule reçoit beaucoup de signal delta, elle ne va pas pouvoir s'engager dans la voie neuronale et va rester et devenir de l'épiderme

COMMUNICATION CELLULAIRE

Si une cellule reçoit peu de signal delta, il peut y avoir un engagement dans la voie neuronale. C'est le **concept d'inhibition latérale**.

Exemple:

- Une cellule a 3 récepteurs activés, gène proneuronal plus inhibé: inhibition de la voie neuronale différenciation épidermique
- 2 récepteurs activés: gène proneuronal moins inhibé: activation de la voie neuronale

Ainsi: la voie de signalisation par Notch a ainsi permis de mettre en évidence un mécanisme qui permet au sein d'un groupe de cellules équipotentes de contrôler le nombre de cellules qui choisiront un même devenir (ici neuronale)

Plus grande souplesse et adaptabilité de développement. importance du hasard dans le choix de la cellule.

Des gènes humains analogues de Notch et Delta:

- Chez l'homme, l'expression de **Notch muté** actif entraîne une **inhibition de la différenciation en myotubes**
- Les récepteurs Notch sont impliqués dans de nombreux mécanismes de différenciation chez l'homme et la souris.
- **Notch est muté dans certaines leucémies.**

En conclusion

- L'ensemble des signaux décrit par la cellule cible résulte au sein de la cellule en la mise en place d'un réseau complexe de régulation qui peuvent se contrôler réciproquement conduisant à des modifications extrêmement précises du métabolisme de ces cellules et/ou de la transcription de gènes
- La connaissance de ce réseau permet:
 - de comprendre la physiologie de ces cellules ou tissus
 - de **déterminer l'origine d'une maladie génétique**
 - **d'évaluer l'extrême complexité** des atteintes observées dans les cellules **cancéreuses**
- Eventuellement **élaborer des traitements** ciblés ayant le moins d'effets secondaires non désirables.