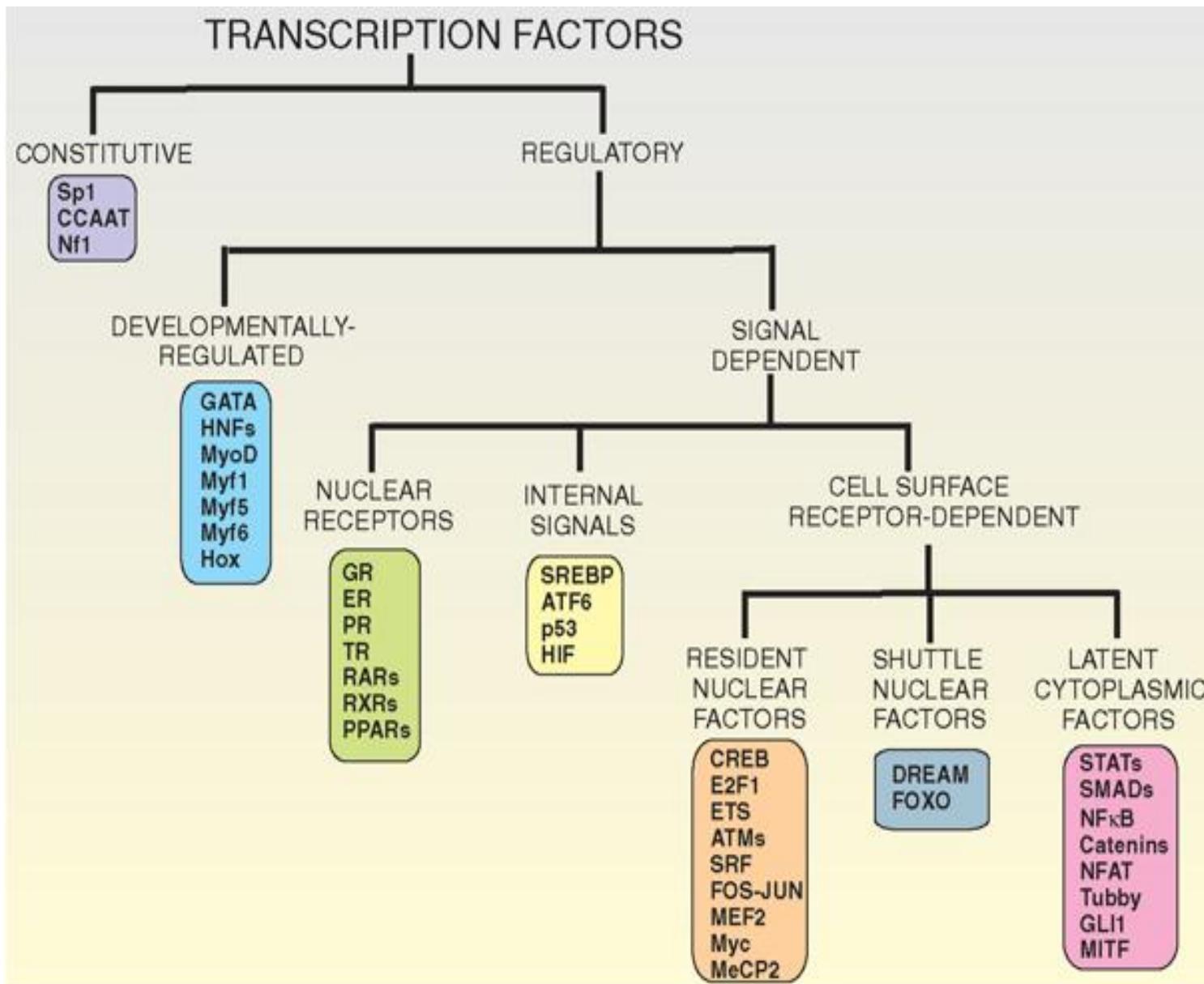


# Facteurs de transcription dépendants du signal

## 1-Classification simplifiée des facteurs de transcription:



## 1-1- Facteurs de transcription constitutivement actifs

Certains FT sont toujours présents dans le noyau et actifs constitutivement comme sp1.

## 1-2- Facteurs de transcription régulés

### 1-2-1 Facteurs de transcription régulés par un signal membranaire

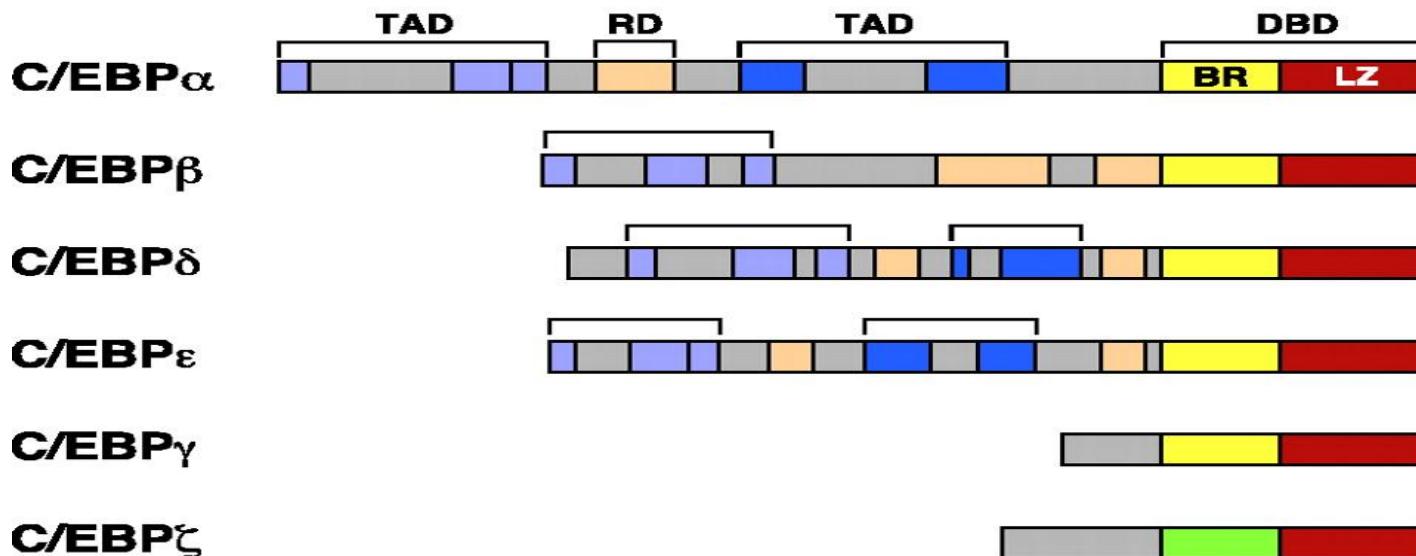
#### 1-2-1-1 Facteurs à localisation nucléaire: Comme les protéines C/EBP et AP-1

**CCAAT-enhancer-binding proteins (or C/EBPs)** : famille de facteurs de transcription composée de 6 membres, nommés de C/EBP $\alpha$  à C/EBP $\zeta$ . Ils induisent l'expression de certains gènes à travers l'interaction avec leurs promoteurs. Une fois liée à l'ADN, C/EBPs peuvent recruter des co-activateurs (comme CBP).

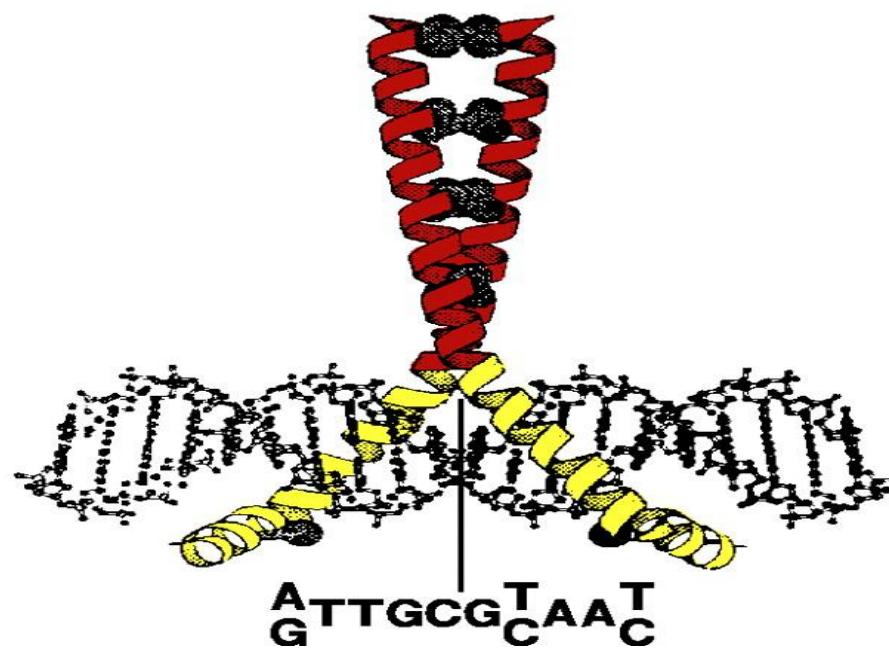
Les protéines C/EBP interagissent avec la boîte CCAAT présente dans les régions promotrices de plusieurs gènes. Elles sont caractérisées par la présence d'un domaine très conservé : basic-leucine zipper (bZIP) dans la partie C-terminal.

# Facteurs de transcription dépendants du signal

**A**



**B**



## 1-2-1-2 Facteurs à localisation cytoplasmique:

### A- STAT (*Signal Transducers and Activators of Transcription*)

- Impliqués dans la régulation de différents processus cellulaires : la croissance, la différenciation, la survie ou l'apoptose.
- Mis en œuvre lors de l'activation de la voie JAK-STAT.
- La phosphorylation des STAT entraîne leur dimérisation et leur entrée dans le noyau où ils jouent un rôle de facteur de transcription.

### B- SMAD

Smads (ou SMADs): une famille de protéines structurellement sémilaires qui sont les transducteurs principaux du signal du récepteur de la superfamille du TGF-B.

Très importants pour la régulation du développement et de la croissance cellulaires.

## C- NF-κB (*nuclear factor-kappa B*):

Protéine impliquée dans la réponse immunitaire et la réponse au stress cellulaire.

Son activation par la libération de sa protéine inhibitrice (IKB) déclenche la transcription des gènes anti-apoptotiques dans le noyau.

Elle effectue donc un rétrocontrôle négatif de l'apoptose.

## 2- Activation des facteurs de transcription STAT par la voie des cytokines

### 2-1 Définition et classes de cytokines

Molécules de communication entre cellules de différents systèmes.

- Formes solubles et membranaires
- Interactions spécifiques avec des récepteurs membranaires et solubles
- Facteurs non-spécifiques

#### Classification:

- Interleukines: 1 à 35
- TNF/ lymphotoxines
- Interférons
- Facteurs de croissance hématopoïétiques
- Chémokines

## 2-2 Récepteurs couplés à une JAK (Janus Kinase)

Janus Kinase (ou Just Another Kinase) (JAK) est une famille de tyrosines kinases intracellulaires, non-récepteur qui permet la transduction des signaux transférés par la cytokine via JAK-STAT.

### Membres de la famille JAK

Quatre membres :

Janus kinase 1 (JAK1)

Janus kinase 2 (JAK2)

Janus kinase 3 (JAK3)

Tyrosine kinase 2 (TYK2)

## Facteurs de transcription dépendants du signal

- La voie JAK (*Janus kinase*) est la voie d'activation de nombreuses cytokines comme l'interféron, l'IL-6, IL-15 et de facteurs de croissance comme l'hormone de croissance.

Les JAK (Jak1, Jak2, Jak3 et Tyk2) sont des tyrosine-kinases intracytoplasmiques.

Elles régulent l'expression de gènes impliqués dans l'activation, la prolifération et la différenciation cellulaires.

- L'activation des JAK stimule la phosphorylation des protéines STAT qui induisent la transcription des gènes cibles. JAK stimule aussi les voies de Ras/MAPK et de PI3K et Akt.

## Les protéines STAT

La famille STAT se compose, chez les mammifères, de 7 membres : STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b et STAT6.

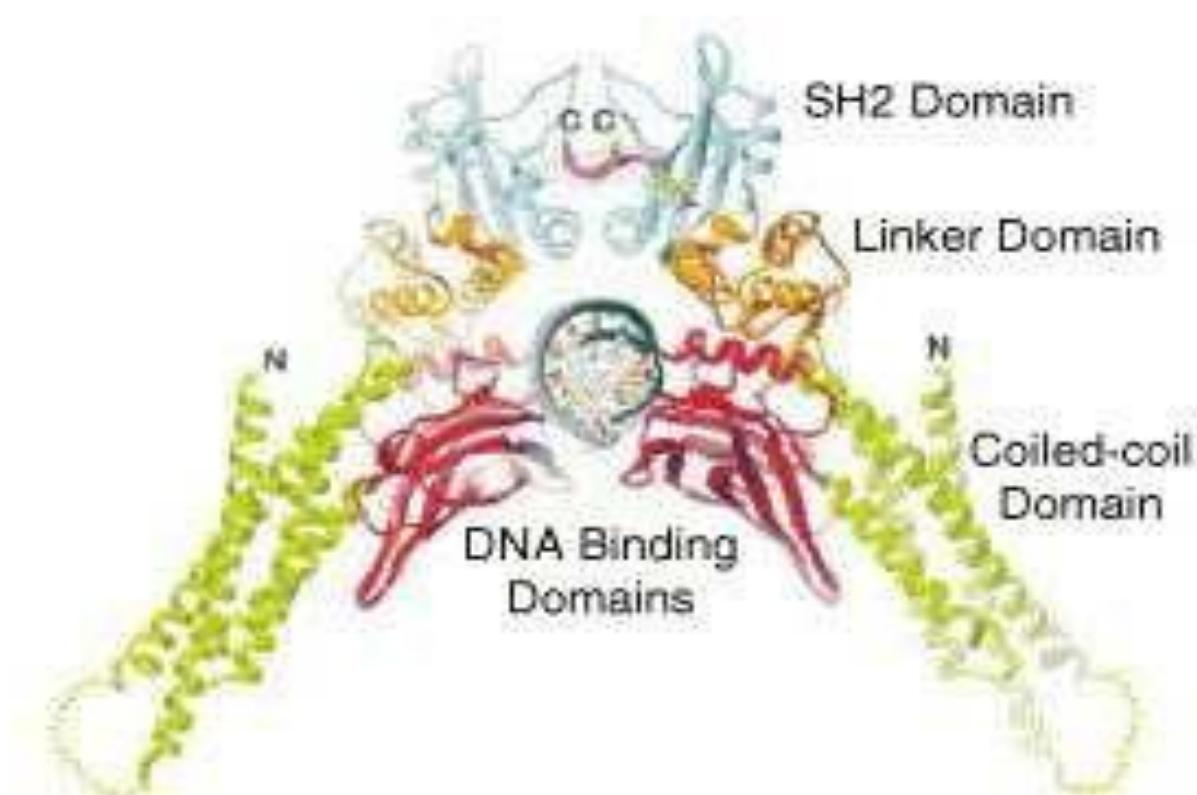
### Structure

Extrémité N-term : domaines coiled-coil assurant leur dimérisation ainsi que leur ancrage aux récepteurs des cytokines. Ceci est permis aussi par une région SH2 permettant la fixation d'un acide aminé Tyrosine phosphorylé sur le récepteur, phosphorylation catalysée par un domaine de JAK.

L'extrémité N-term présente une région d'autophosphorylation des Tyrosines de STAT, le récepteur des cytokines fixé ne posséde aucune activité enzymatique. Cette extrémité permet également la translocation nucléaire de STAT.

C-term : un domaine de transactivation, qui, une fois dans le noyau, fixe les facteurs généraux de la transcription, et active l'expression des gènes impliqués dans la différenciation des lymphocytes, par exemple (STAT4).

# Facteurs de transcription dépendants du signal

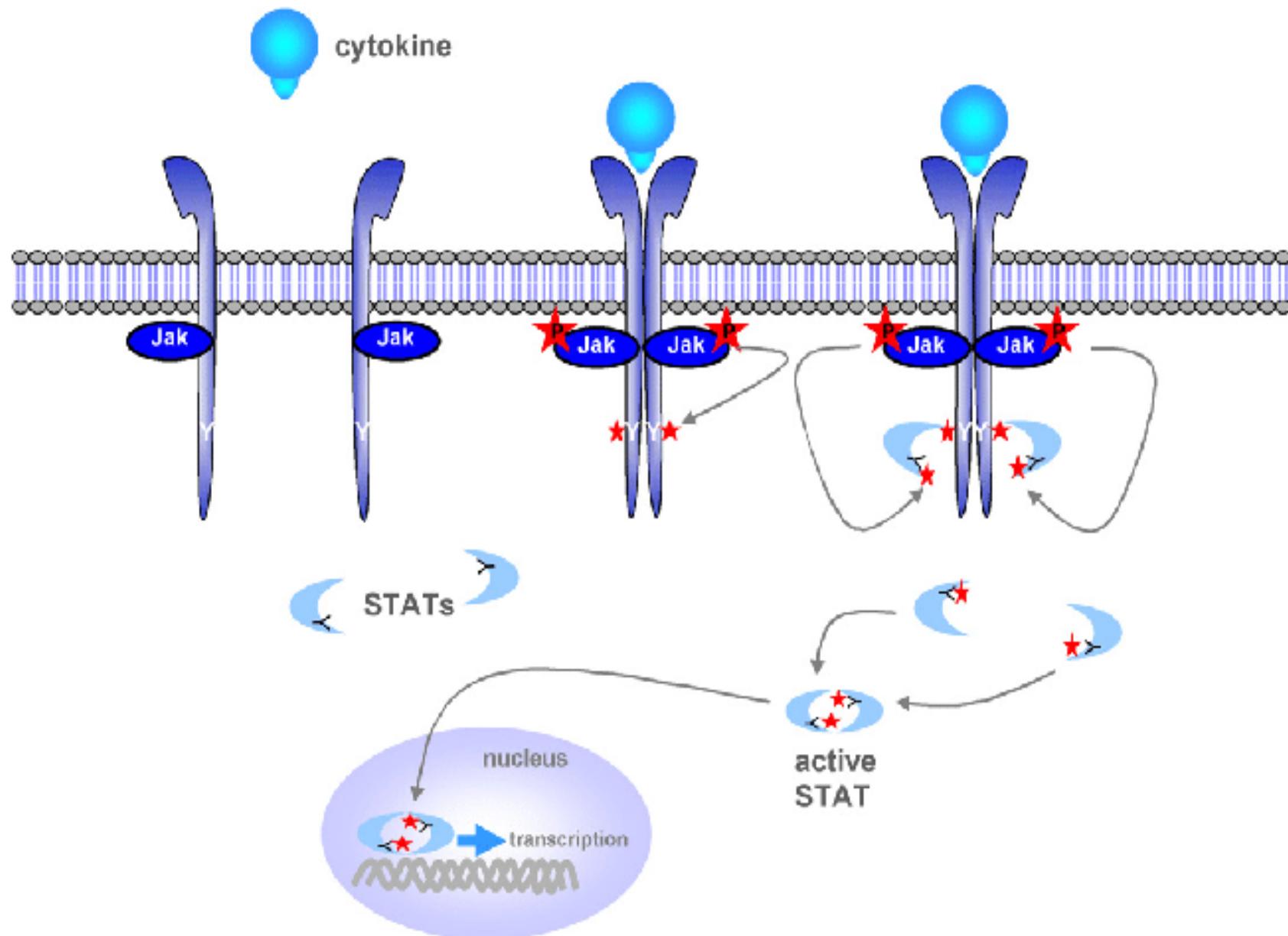


## Facteurs de transcription dépendants du signal

- 7 protéines STAT sont actuellement identifiées. (Elles possèdent toutes un domaine SH2 qui permet leur liaison sur la tyrosine phosphorylée du récepteur activé. Le domaine SH2 permet aussi la formation de dimères (homodimères et hétérodimères) entre les protéines STAT activées.

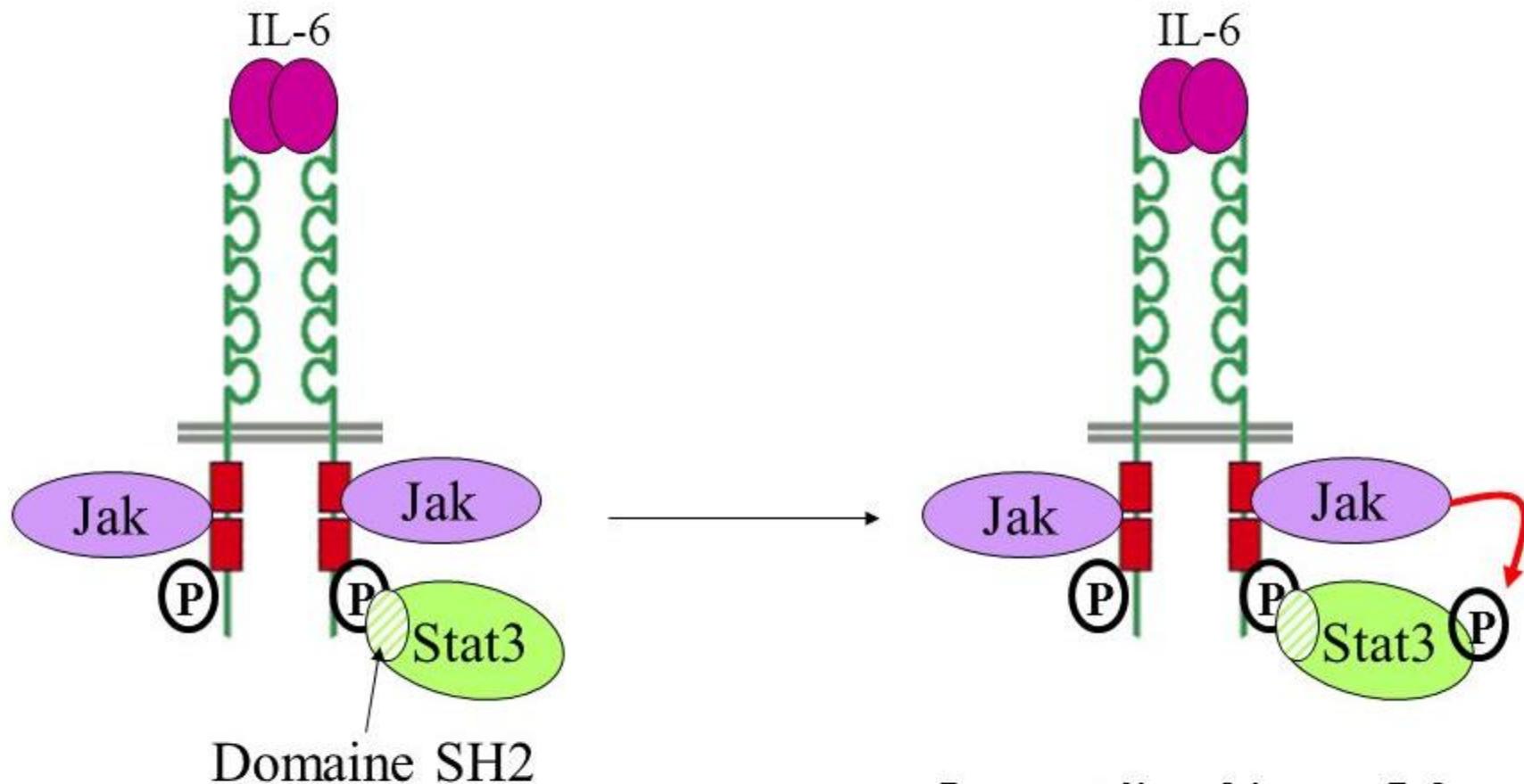
Les dimères activés de STAT migrent ensuite dans le noyau nucléaire pour stimuler des gènes spécifiques.

# Facteurs de transcription dépendants du signal



# Facteurs de transcription dépendants du signal

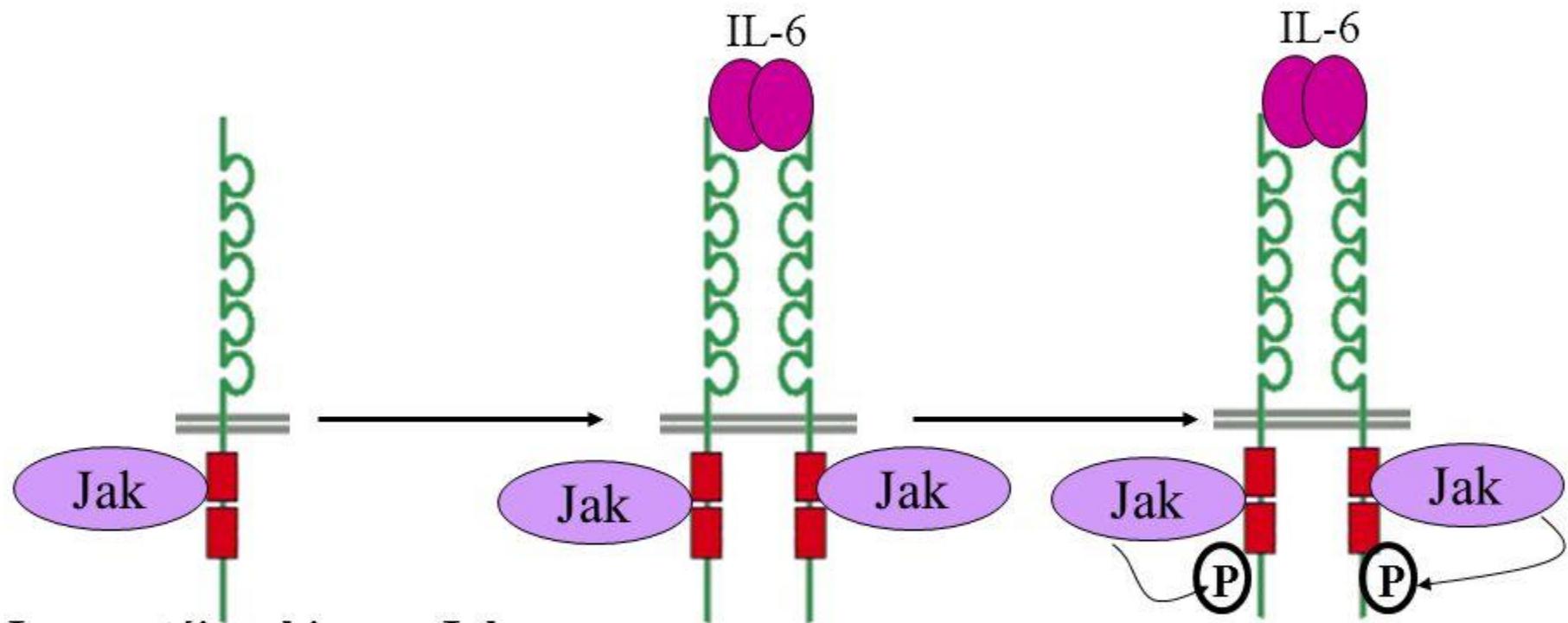
## Activation de la voie JAK/STAT par IL-6



Les facteurs de transcription Stat3 sont recrutés au niveau du promoteur via leur domaine SH2

Les protéines kinases Jak phosphorylent les facteurs Stat3 sur un résidu tyrosine

## L'exemple de l'IL-6



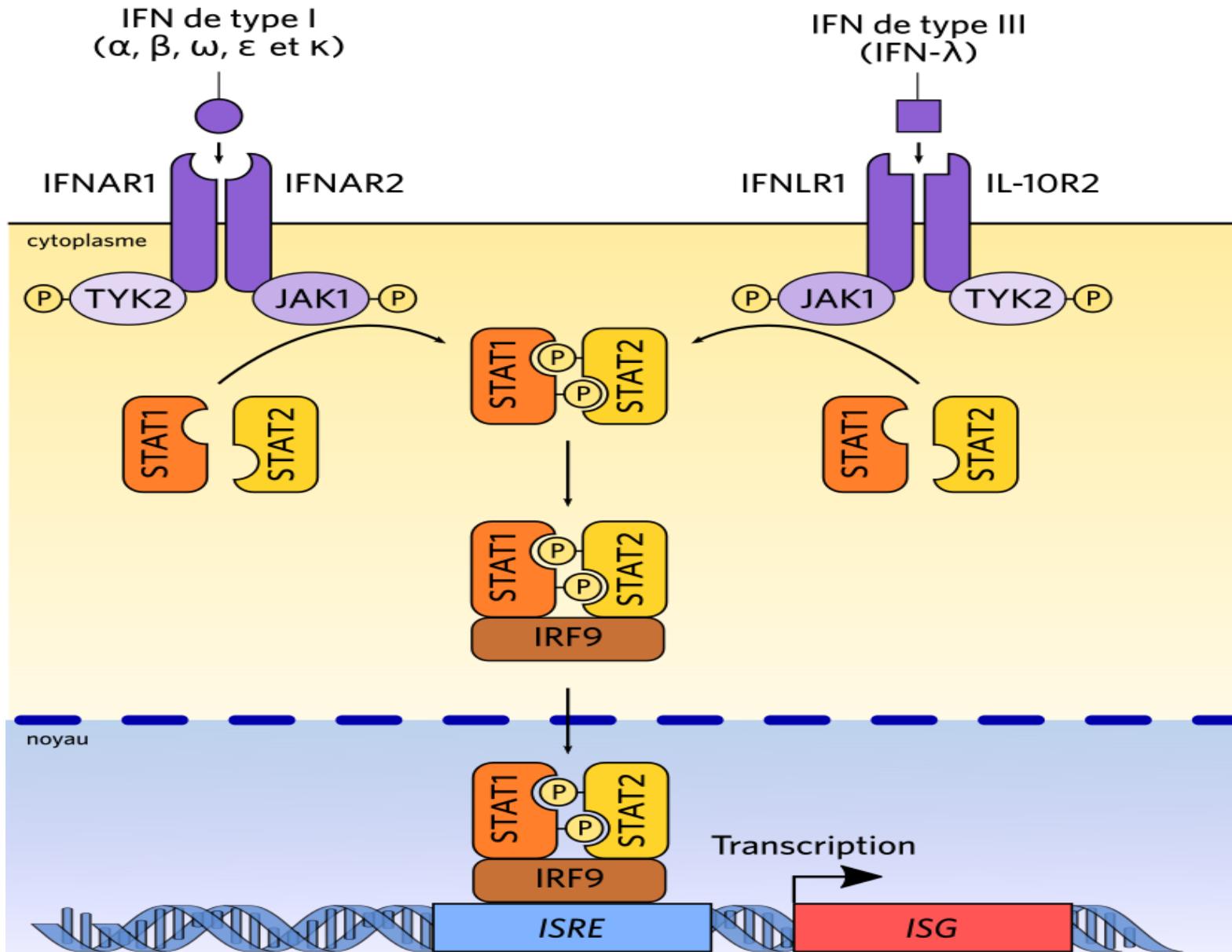
Les protéines kinases Jak (Janus kinase) sont constitutivement associées aux récepteurs

Dimérisation du récepteur et activation des protéines Jak

Dimérisation du récepteur et activation des protéines Jak

# Facteurs de transcription dépendants du signal

## Activation de la voie JAK/STAT par IFN- $\gamma$



## Membres de la famille SMAD

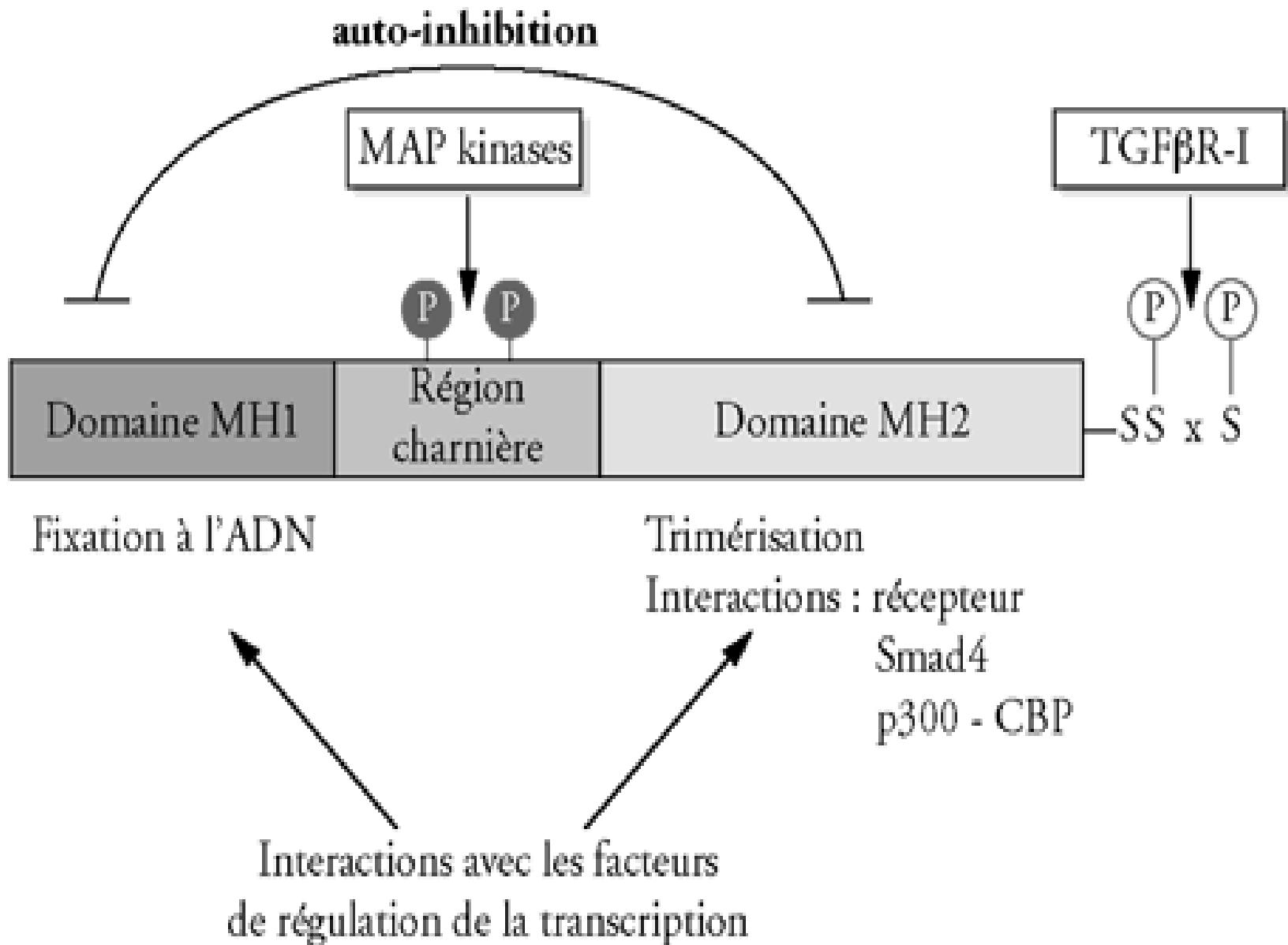
**3 classes** différentes de Smads: receptor-regulated Smads (R-Smads), common partner Smads (Co-Smads), et inhibitory Smads (I-Smads). Les 8 membres de la famille Smad sont répartis sur ces classes.

R-Smads : Smad1, Smad2, Smad3, Smad5 and Smad8/9, impliqués dans la signalisation directe à partir du récepteur du TGF-B.

## Structure

Protéines qui partagent des structures similaires : les domaines conservés : amino (MH1) et carboxy-terminal (MH2), et la région la moins conservée au milieu (linker region).

# Facteurs de transcription dépendants du signal



## Facteurs de transcription dépendants du signal

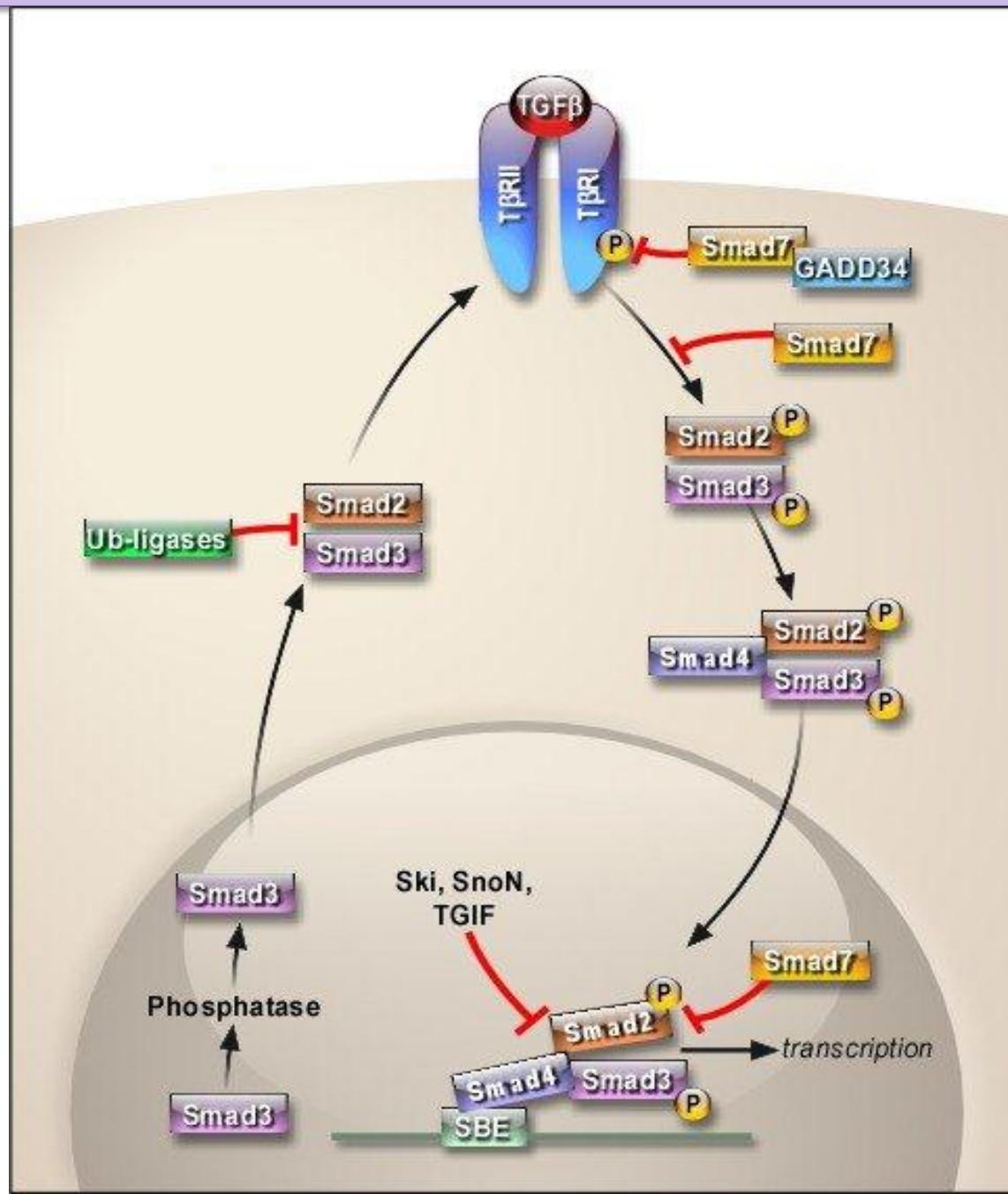
### Voie canonique d'activation des SMAD par les récepteurs Sérine/thréonine kinase

Le ligand TGF se fixe sur le récepteur de type II du TGF (TGF-RII) présent à la surface des cellules. Deux récepteurs aux TGF-RII possédant une activité sérine thréonine vont ensuite recruter deux récepteurs de type I du TGF (TGF-RI) pour former un complexe hétérotétramérique.

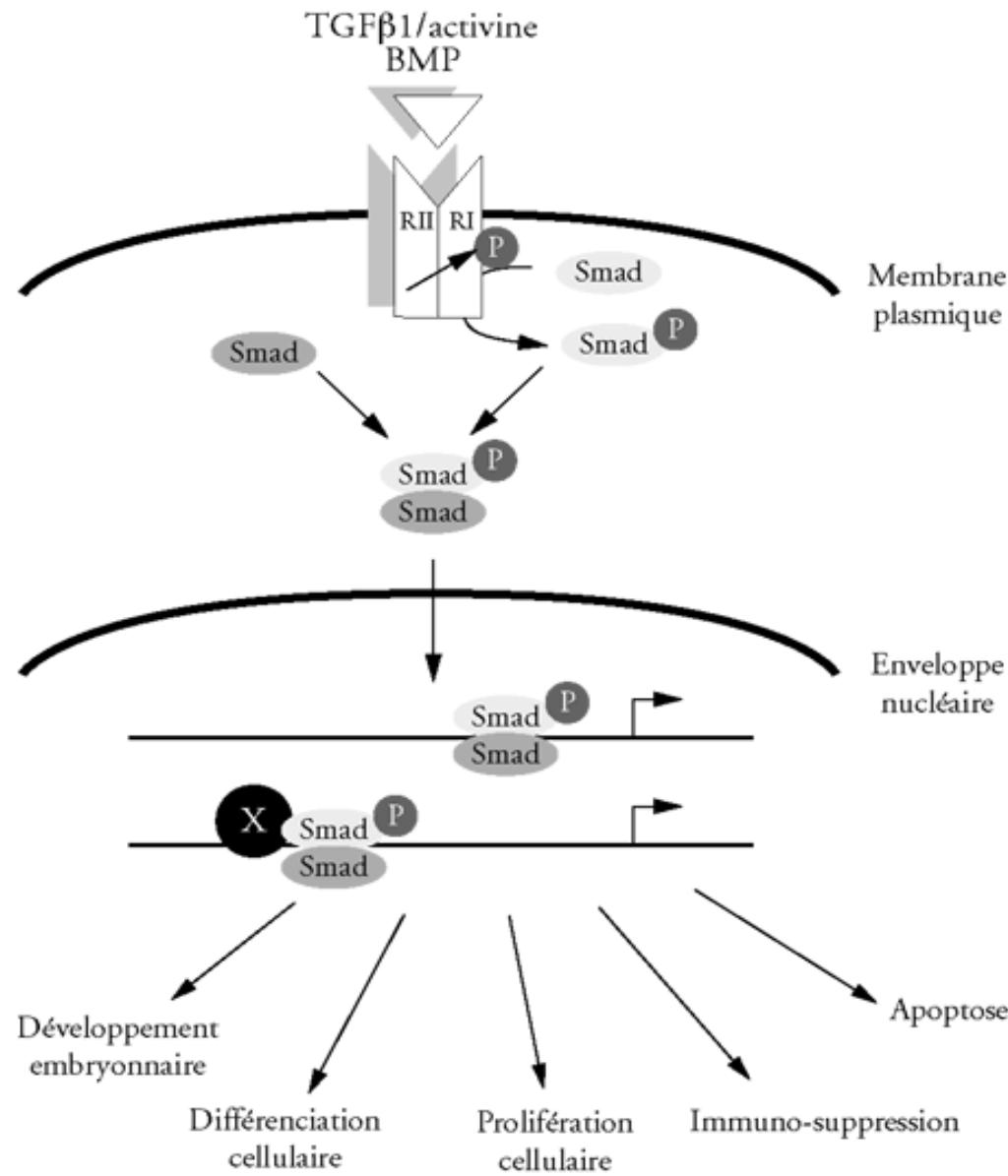
Les récepteurs aux TGF-RI vont être phosphorylés dans leur partie cytoplasmique et provoquer la phosphorylation et l'activation des protéines RSMAD (SMAD2 et SMAD3).

SMAD2 et SMAD3 phosphorylés vont ainsi former un complexe protéique avec SMAD4 puis migrer vers le noyau pour activer la transcription de gènes cibles comme les gènes régulant la prolifération cellulaire ou l'apoptose.

# Facteurs de transcription dépendants du signal



# Facteurs de transcription dépendants du signal



## 4-Voie canonique d'activation du NF-κB par l'IL-1β et le TNF-α

### 4-1- NF-κB

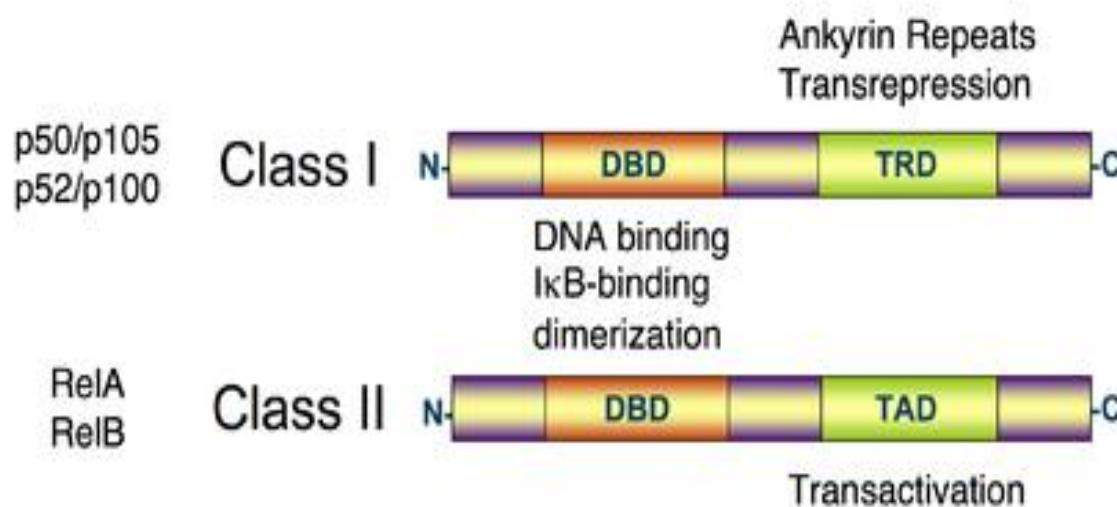
La famille de NF-κB comporte 5 membres chez les cellules des mammifères : RelA (ou p65), RelB, RelC, p50 (ou NF-κB1) et p52 (ou NF-κB2) qui s'associent pour former des homodimères et des hétérodimères.

Les dimères de NF-κB sont maintenus inactifs par les protéines de la famille des inhibiteurs de NF-κB (IκB ou *inhibitors of NF-κB*).

9 membres de IκB : IκB $\alpha$ , IκB $\beta$ , IκB $\gamma$ , IκB $\epsilon$ , p100 et p105 sont, respectivement, les précurseurs de p50 et p52, IκB $\zeta$  et IκBNS (ou IκB $\delta$ ).

# Facteurs de transcription dépendants du signal

Chaque membre de la famille NF- $\kappa$ B/Rel contient dans sa partie N-terminale, un domaine d'homologie Rel (RHD, Rel Homology Domain). Ce domaine contient le signal de localisation nucléaire (NLS) responsable de la liaison à l'ADN, de la dimérisation et de l'association avec I $\kappa$ B.



## Protéines inhibitrices I kB (α et β)

Inhibiteur de la famille I kB: I kB<sub>α</sub>, I kB<sub>β</sub>, I kB<sub>γ</sub>, I kB<sub>ε</sub>, Bcl-3 et les précurseurs p100 et p105 chez les mammifères.

Caractérisées par la présence de motifs ankyrine, responsables de l'interaction avec le RHD du NF-kB. Cette interaction masque le signal de localisation nucléaire du NF-kB, conduisant à sa séquestration dans le cytoplasme.

Les protéines I kB<sub>s</sub> jouent également un rôle important dans l'arrêt de l'activation du NF-kB. L'expression des I kB<sub>s</sub> (à l'exception de I kB<sub>β</sub>) est sous le contrôle de NF-kB. Lorsque ce dernier est activé, les I kB<sub>s</sub> sont néosynthétisés. Elles peuvent entrer dans le noyau, décrocher le NF-kB fixé sur l'ADN et, dans le cas d'I kB<sub>α</sub>, retourner dans le cytoplasme en l'entraînant avec elle. Ce retrait est rendu possible car l'affinité du NF-kB est plus grande pour I kB que pour l'ADN.

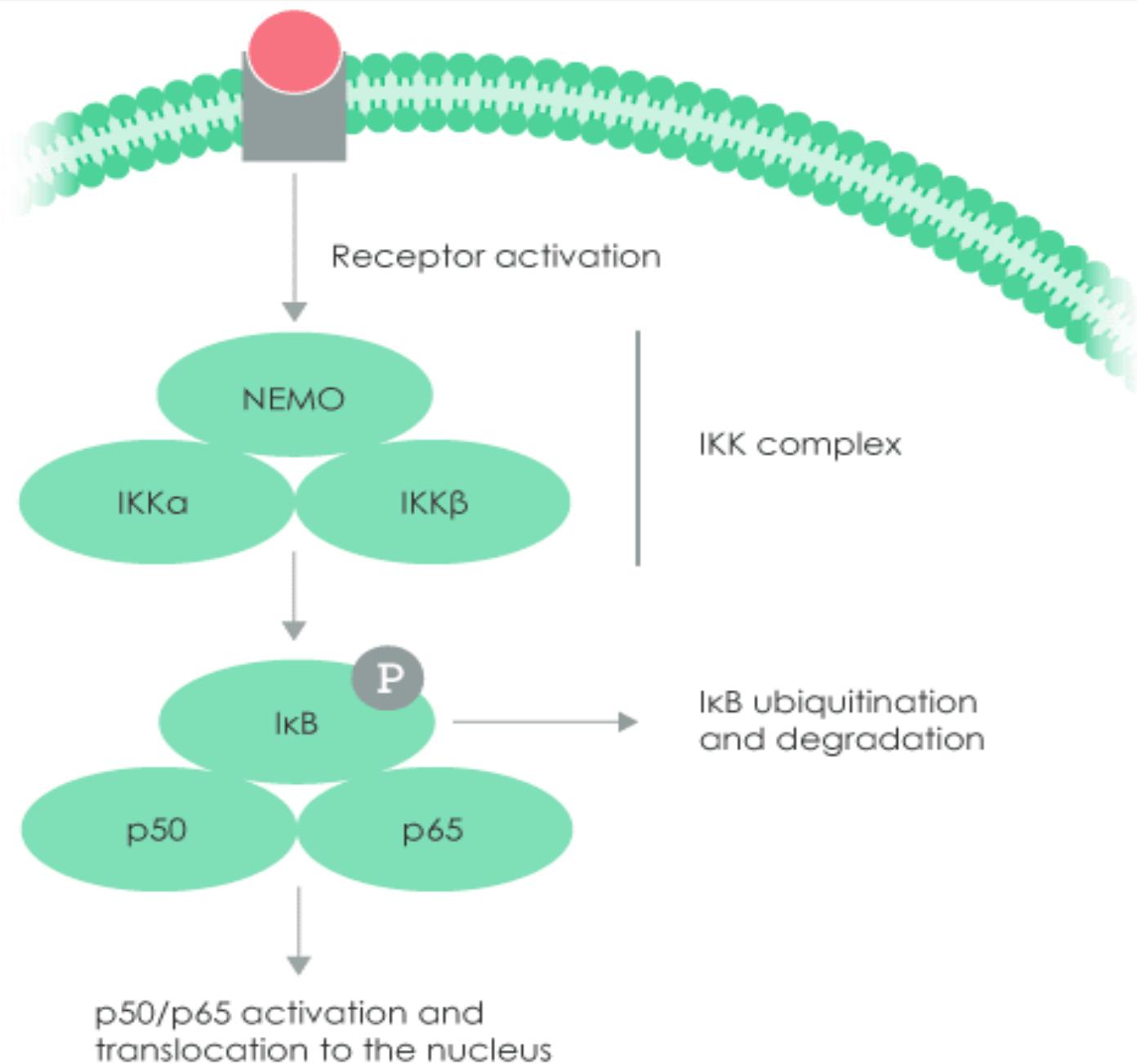
## Kinase IKK (I $\kappa$ B kinase)

L'activation de NF- $\kappa$ B est sous le contrôle de I $\kappa$ B kinase (IKK).

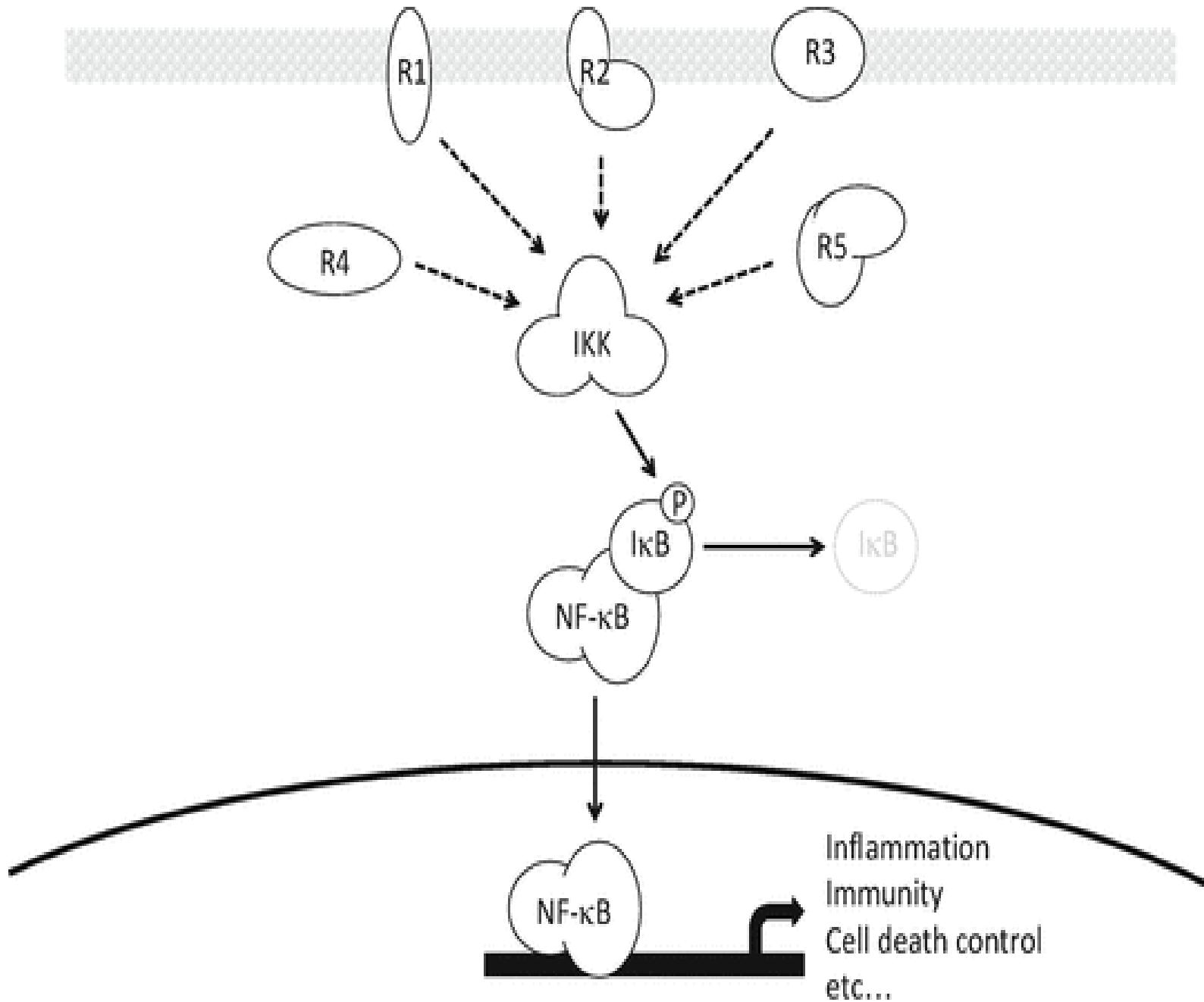
IKK : complexe trimérique composé de deux sous-unités catalytiques (IKK $\alpha$  ou IKK1 et IKK $\beta$  ou IKK2) et de la sous-unité régulatrice NEMO (ou IKK $\gamma$ ).

Lorsque la voie de NF- $\kappa$ B est activée, IKK phosphoryle les protéines I $\kappa$ B sur des résidus sérines et thréonines spécifiques. I $\kappa$ B phosphorylé subit une ubiquitinylatation et sera dégradé par le protéasome permettant ainsi aux dimères NF- $\kappa$ B libres de migrer vers le noyau et d'activer les gènes cibles.

# Facteurs de transcription dépendants du signal



# Facteurs de transcription dépendants du signal

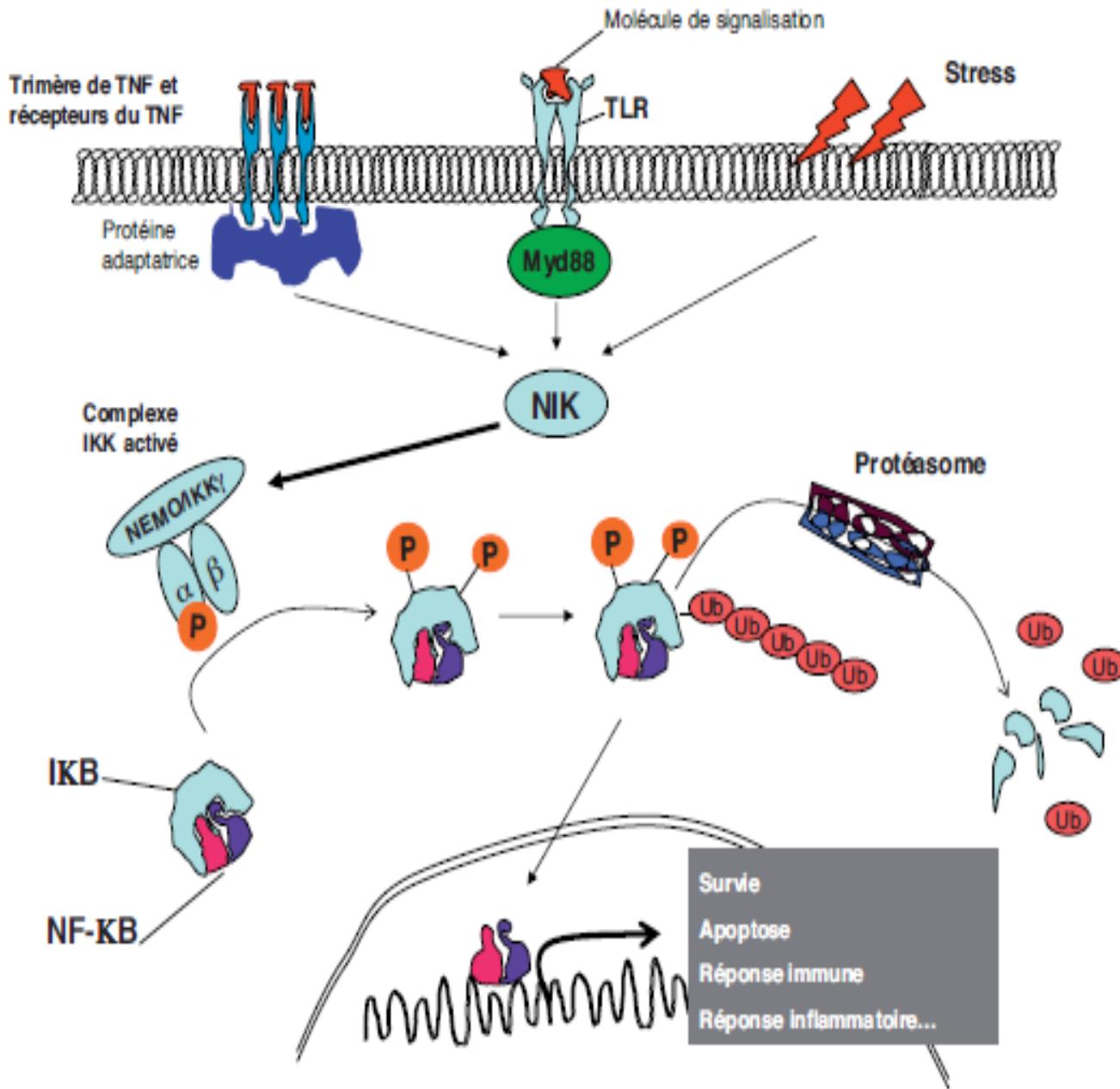


## 4-2- Activation du NF-κB par l'IL-1 $\beta$

NF-κB peut être activé par deux voies principales :

- *La voie classique ou canonique* activée par de nombreux stimuli comme les cytokines inflammatoires, les produits bactériens ou viraux, le stress, les radicaux libres de l'oxygène, les ultraviolets, les rayonnements ionisants,... Ces signaux induisent la dégradation de I $\kappa$ B $\alpha$  et l'accumulation nucléaire, essentiellement, du dimère RelA-p50 qui régule l'expression des gènes impliqués dans la réponse immunitaire et la mort cellulaire.
- *La voie alternative ou non-canonique* activée par des récepteurs impliqués dans l'organogenèse des tissus lymphoïdes et le développement des lymphocytes, comme le récepteur à la lymphotoxine- $\beta$ , ou le récepteur au facteur activateur des lymphocytes B (BAFF ou *B cell-activating factor*).

# Facteurs de transcription dépendants du signal



## Voie de NF-κB

NF-κB est séquestré dans le cytosol par les protéines inhibitrices IκB (*inhibitors of NF-κB*).

L'activation de la voie de NF-κB par les récepteurs du TNF $\alpha$ , les récepteurs TLR ou par un stress (rayonnement ultraviolet, ionisant, dérivés oxygénés) stimule la phosphorylation du complexe IκB kinase-kinases (IKK) (NEMO + deux sous-unités catalytiques IKK $\alpha$  et IKK $\beta$ ).

IKK activé induit la phosphorylation de IκB puis son ubiquitinylatation (Ub) et sa dégradation par le protéasome.

La dégradation de IκB permet alors à NF-κB de se déplacer dans le noyau et d'activer la synthèse de protéines spécifiques impliquées dans la régulation de la survie et de l'apoptose cellulaire, de la réponse immunitaire et inflammatoire.

## 4-3- Activation du NF-κB par le TNF-α

Le TNF-α est une cytokine pro-inflammatoire qui joue le rôle de médiateur dans l'inflammation, l'immunité, la prolifération, la différenciation et l'apoptose. Il exerce ses effets à travers la liaison à deux récepteurs distincts, TNF-R1 (TNF Receptor type 1) et TNFR2.

Ces récepteurs n'ont pas d'activité enzymatique intrinsèque. La transmission du signal est donc réalisée par le recrutement de molécules intracellulaires adaptatrices. Ces molécules activent des protéines effectrices qui activent par la suite des caspases et des facteurs de transcription NF-κB et AP-1 (Activating Protein-1).

Cette liaison induit la trimérisation du récepteur et la dissociation de SODD (Silencer Of Death Domain) du récepteur. Ce qui entraîne le recrutement de plusieurs protéines au niveau du domaine cytoplasmique du récepteur. La première protéine à être recrutée au TNF-R1 est TRADD (TNF-R-Associated Death Domain). Cette interaction fournit un point d'encrage pour d'autres protéines telles que RIP (Receptor Interacting Protein), TRAF2 (TNF Related Associated Factor 2), TAK1 (Transforming Growth Factor- $\beta$ -Activated Kinase 1) et FADD (Fas-Associated Death Domain).

Ces dernières recrutent des enzymes pour l'initiation de deux types de complexes de signalisation impliquées dans les cascades de MAPK et l'activation du complexe IKK, ensuite dans l'apoptose.

Le complexe I, lié à la membrane plasmique, comprend le TNF-R1, TRADD, RIP et TRAF2. La protéine TRAF2 permet le recrutement des IKKs au TNF-R1, et RIP est responsable de l'activation du complexe.

Ces événements conduisent à l'activation du NF- $\kappa$ B et à l'expression de ses gènes cibles. Ce complexe I participe également à l'activation de la cascade des MAPK.

Le complexe II cytoplasmique contient TRADD, RIP, FADD et la caspase-8. Il est essentiel à l'apoptose induite par le TNF- $\alpha$  *via* la cascade des caspases.

Le TNF-R1 est donc capable d'entraîner deux réponses opposées : la survie et l'apoptose.

L'ubiquitination de RIP permet de réguler le changement entre ces deux Voies.

## 4-3-1- Récepteur du TNF- $\alpha$

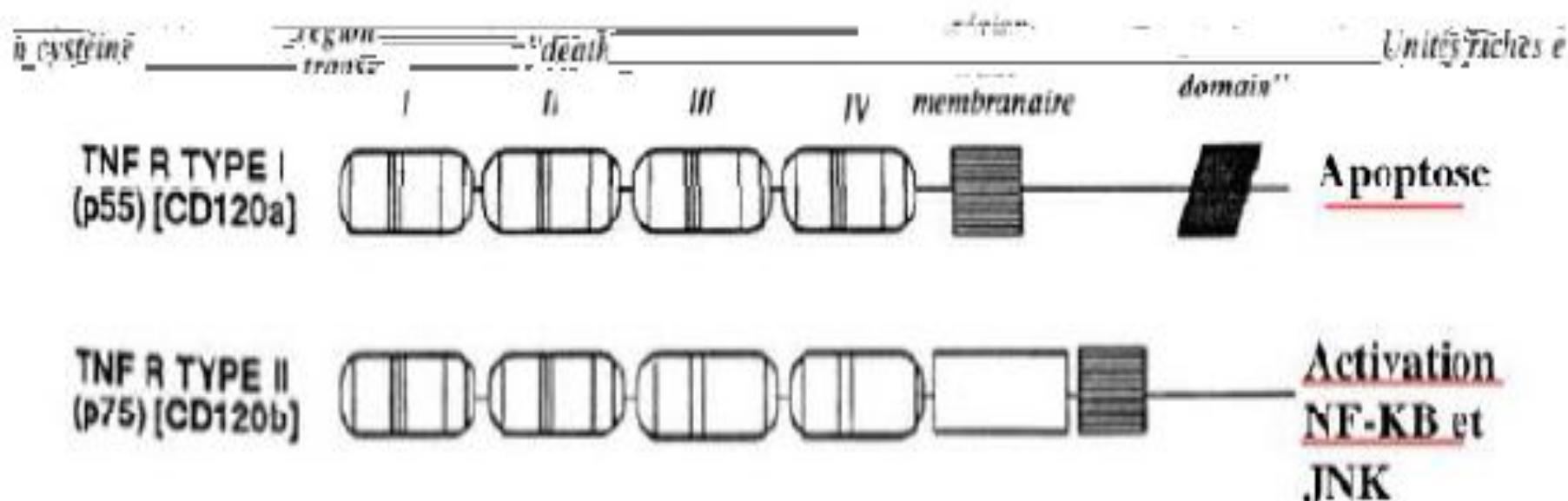
Le TNF- $\alpha$  se lie de manière spécifique à deux récepteurs membranaires : le TNF-R1 ou TNF-R55 (de 55 à 60 KDa) et le TNF-R2 ou TNF-R75 (de 75 à 80 KDa).

Ils sont co-exprimés dans la plupart des tissus. Le TNF-R1 est exprimé constitutivement, alors que le TNF-R2 est régulé aux niveaux transcriptionnel et post-transcriptionnel.

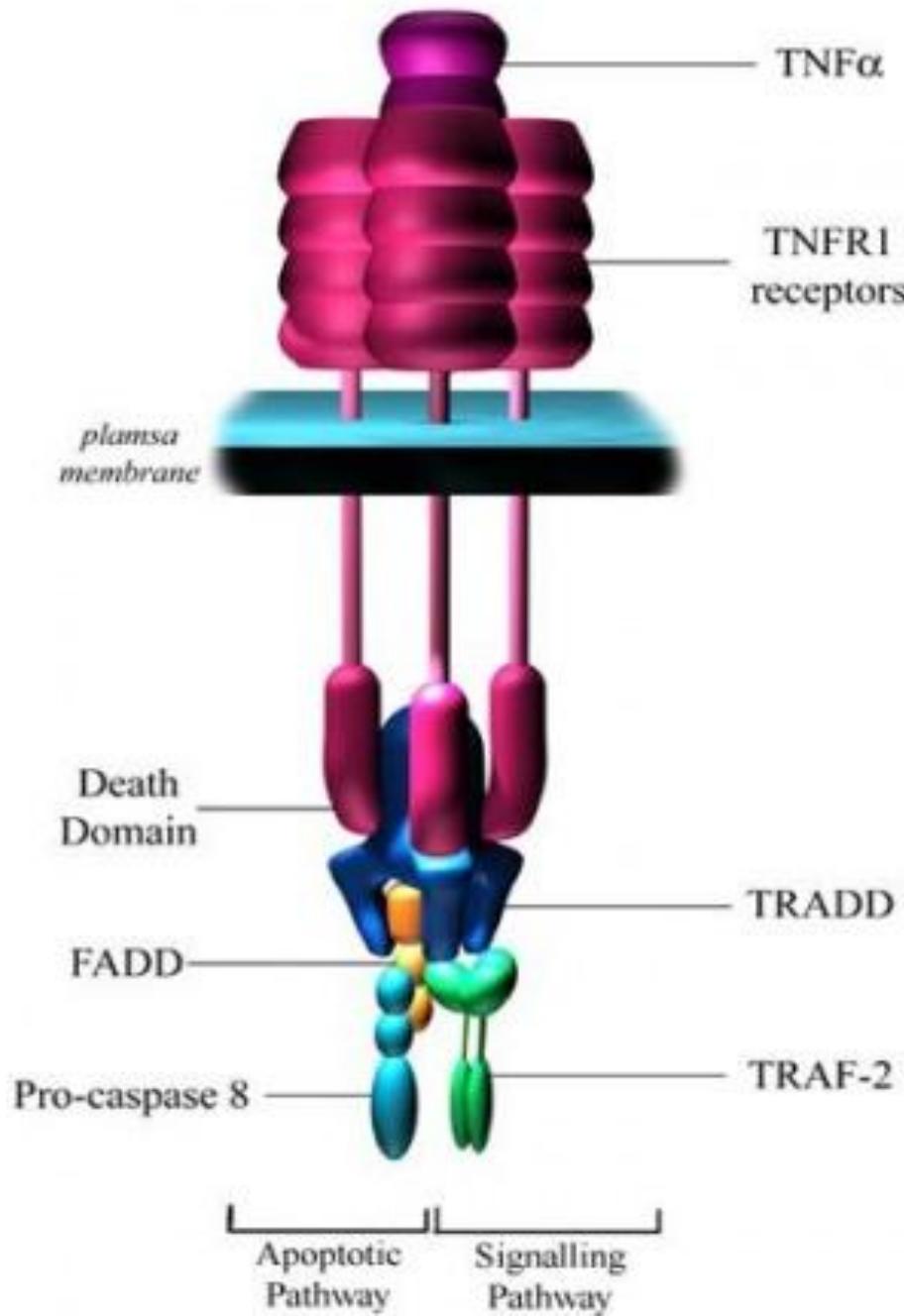
Ces deux récepteurs sont des glycoprotéines transmembranaires de type I (extrémité N-terminale extracellulaire) et leurs domaines extracellulaires présentent 28% d'homologie. Il y a une absence complète d'homologie entre les domaines intracellulaires de ces deux récepteurs, ce qui suggère l'activation de voies intracellulaires distinctes.

Chacun des deux récepteurs a été montré comme inducteur spécifique d'activités du TNF- $\alpha$ . TNF-R55 et TNF-R75 se présentent sous une forme trimérique stabilisée par des ponts disulfure intra-cystéines.

# Facteurs de transcription dépendants du signal

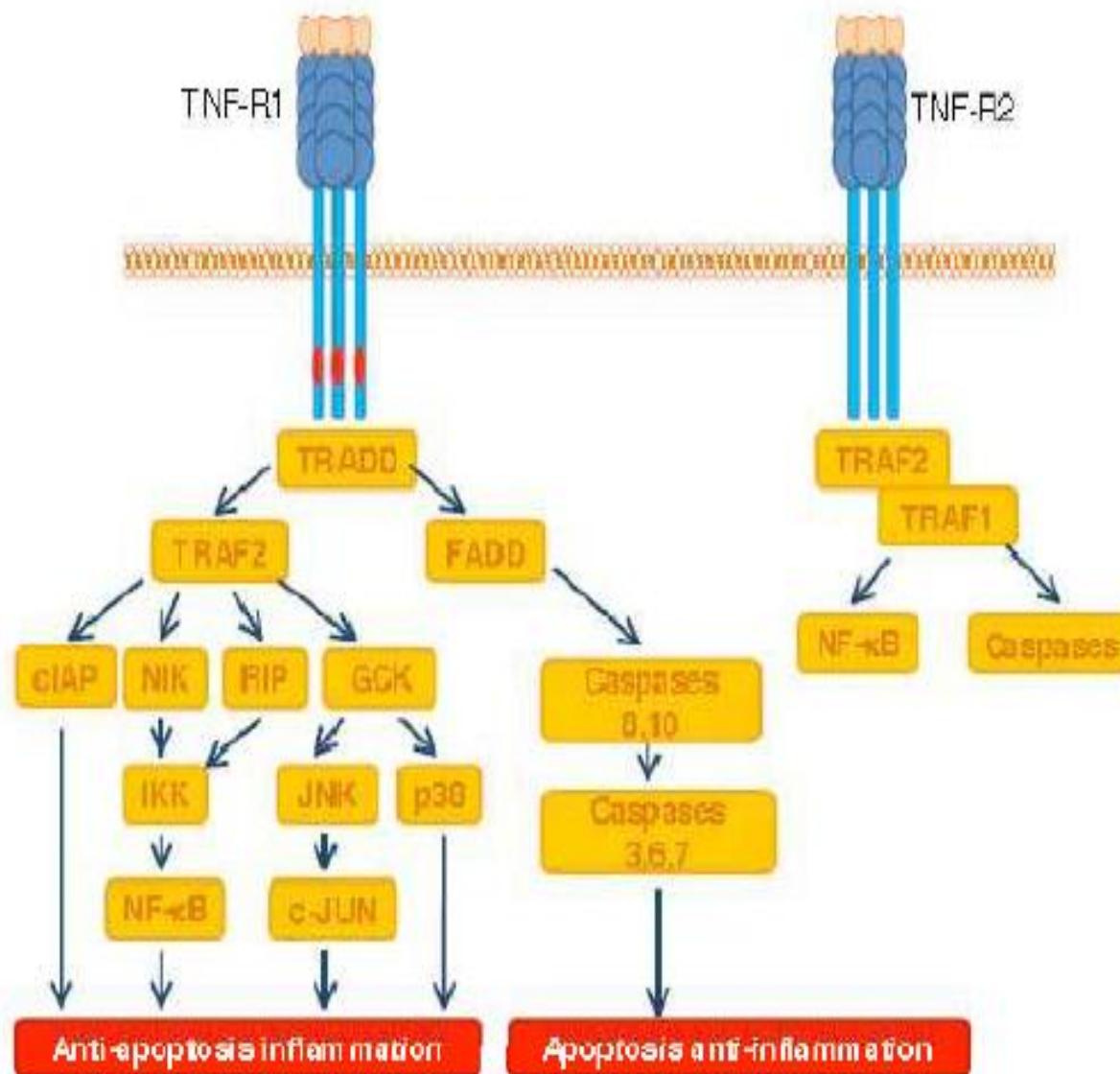


# Facteurs de transcription dépendants du signal



# Facteurs de transcription dépendants du signal

## 4-3-2- Voie de signalisation par le récepteur de type 1 du TNF- $\alpha$



## 4-4- Gènes de réponse au NF-κB

NF-κB active l'expression de plus de 150 gènes cibles.

La majorité des protéines codées par les gènes cibles de NF-κB participent dans la réponse immunitaire. Ceci inclut, par exemple, 27 cytokines et chemokines différents , ainsi que les récepteurs nécessaires pour la reconnaissance immunitaire, comme les molécules du CMH, les protéines impliquées dans la présentation antigénique et les récepteurs nécessaires pour l'adhésion et la migration des neutrophiles à travers les vaisseaux sanguins.