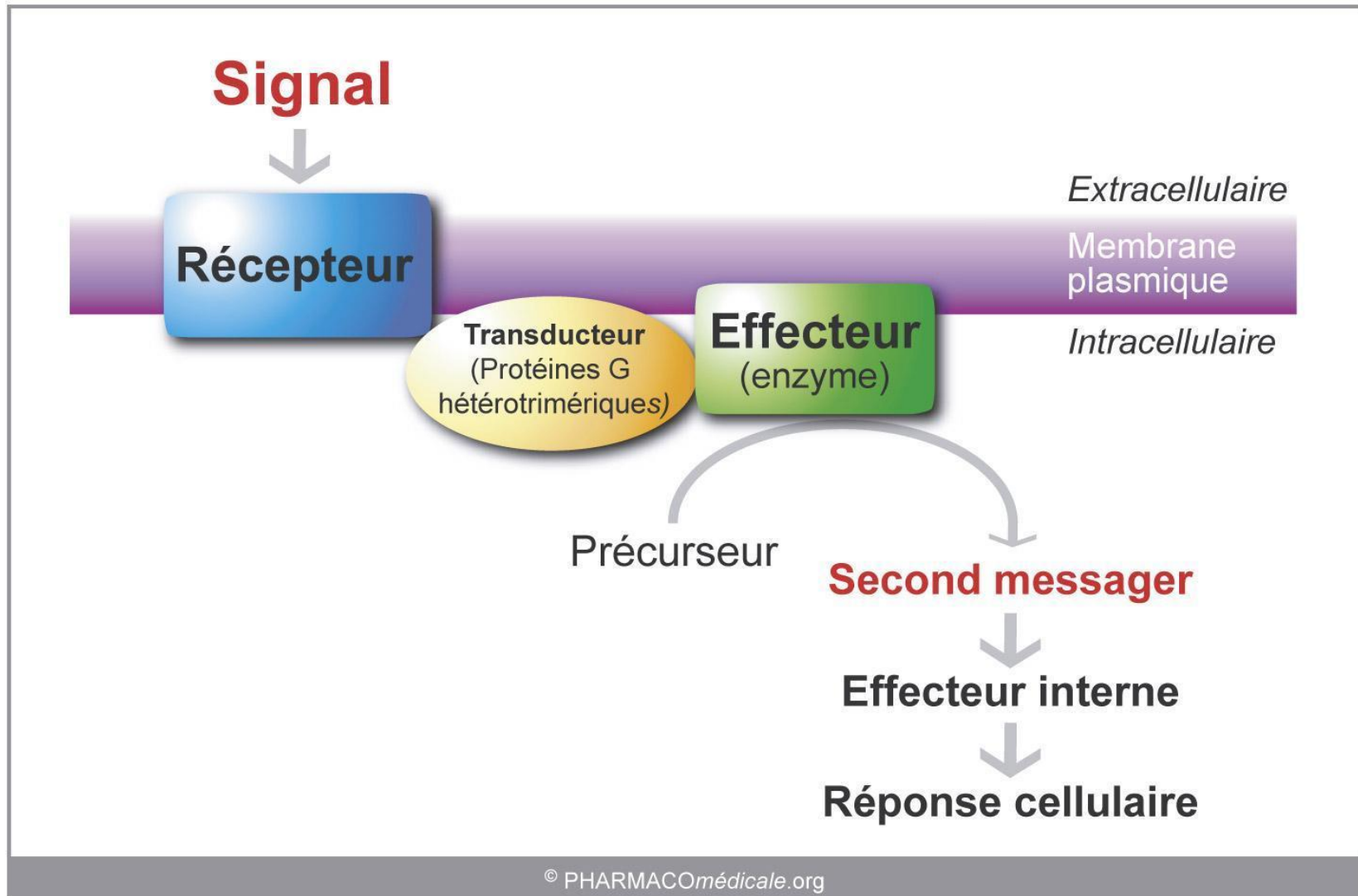


Chap.4. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire



4.1 Récepteurs et ligands

La communication cellulaire est indispensable à la vie des organismes: les cellules doivent impérativement échanger les informations nécessaires à la coordination de leurs actions.

La signalisation requiert une molécule de signalisation, appelée **ligand**, et une molécule sur laquelle le ligand se fixe, appelée **protéine réceptrice**

Lorsqu'un ligand entre en contact avec un récepteur protéique de forme complémentaire, les deux se lient en un complexe. La liaison entraîne un changement de conformation de la protéine réceptrice qui, à son tour, induit une réponse dans la cellule via une voie de transduction de signal.

■ *Nature des molécules de signalisation*

Les cellules des organismes pluricellulaires utilisent diverses molécules comme signaux, qui sont de différentes natures chimiques :

⌚ soit de nature **hydrophile** (acides aminés et leurs dérivés, peptides, protéines) ne peuvent entrer dans les cellules, faute de pouvoir traverser les membranes ; il existe donc nécessairement un récepteur membranaire apte à recevoir le message, à le comprendre, et à transduire l'information au-delà ;

⌚ soit de nature **lipidique** (dérivés stéroïdiens, acides gras et leurs dérivés, etc.) et les composés de structure très simple (oxygène, oxyde nitrique) sont capables de diffuser à travers les membranes et d'atteindre directement leurs cibles, dans le cytoplasme ou dans le noyau (récepteurs nucléaires) ;

⌚ soit de nature **ionique** (Na^+ , K^+ , Cl^- et Ca^{2+}) sont capables d'induire l'ouverture ou la fermeture transitoire de canaux ioniques permettant la génération de courants transmembranaires ; ces courants correspondent au passage de l'influx nerveux dans les neurones, mais ils sont aussi à l'origine de nombreux événements intracellulaires.

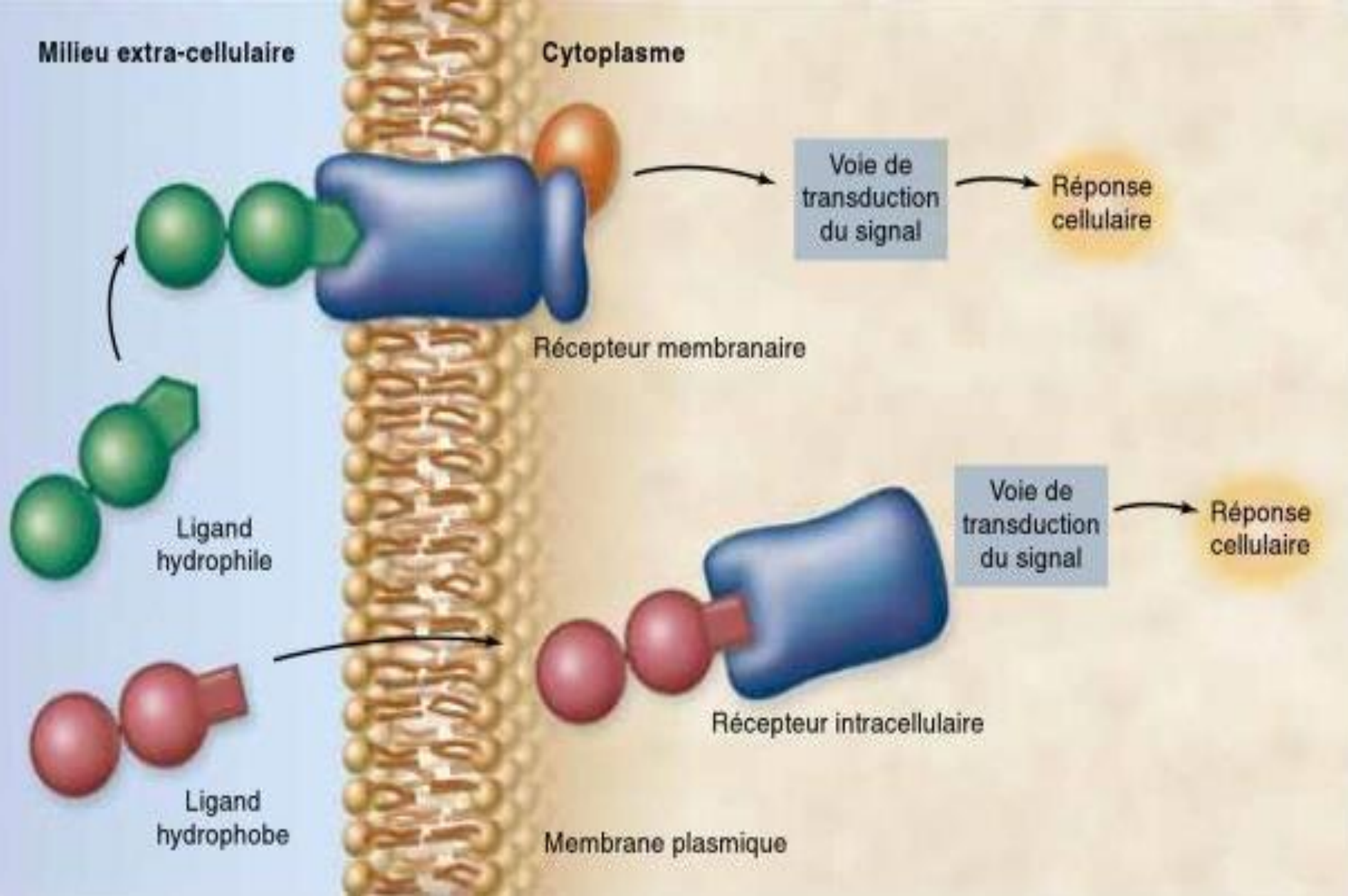


Fig. 1. Aperçu de la signalisation cellulaire.

🔴 *Le cas d'Adrénaline (Récepteurs et ligands)*

Les hormones **glucagon** et **adrénaline** stimulent toutes deux la mobilisation du glucose dans les cellules du foie, agissent par la même **voie de transduction de signal** pour stimuler la dégradation et inhiber la synthèse du glycogène.

La fixation de l'une ou de l'autre de ces hormones à son récepteur active une **protéine G** stimulant l'adénylate cyclase. La production **d'AMPc** entraîne l'activation de **PKA**, qui à son tour active une autre protéine kinase, appelée **phosphorylase kinase**. Activée, cette dernière active **la glycogène phosphorylase**, qui détache le glucose 6-phosphate du glycogène (**Fig.2**). Ici encore l'action de kinases multiples provoque une amplification permettant à un petit nombre de molécules de signalisation de libérer de grandes quantités de glucose.

Simultanément, la PKA phosphoryle la glycogène synthase, mais dans ce cas elle l'inhibe, empêchant donc la synthèse de glycogène. La PKA phosphoryle par ailleurs d'autres protéines qui stimulent l'expression de gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse de glucose. Cette convergence de voies de transduction de signaux provenant de divers récepteurs conduit au même résultat, la mobilisation de glucose.

Le cas d'insuline (Récepteurs et ligands)

L'insuline est une enzyme faisant partie du système de contrôle du taux de glucose dans le sang. Son rôle consiste à abaisser ce taux.

Une autre protéine, la protéine de réponse à l'insuline, se lie à **un récepteur phosphorylé** et est elle-même phosphorylée. Elle transmet le signal en se fixant sur **d'autres protéines** qui induisent **l'activation de la glycogène synthase**, responsable de la conversion du glucose en glycogène et donc de la diminution du taux de glucose sanguin (**Fig. 3**).

D'autres protéines activées par le récepteur de l'insuline inhibent la synthèse d'enzymes impliquées dans **la synthèse du glucose** et accroissent le nombre de protéines de transport du glucose dans la membrane plasmique.

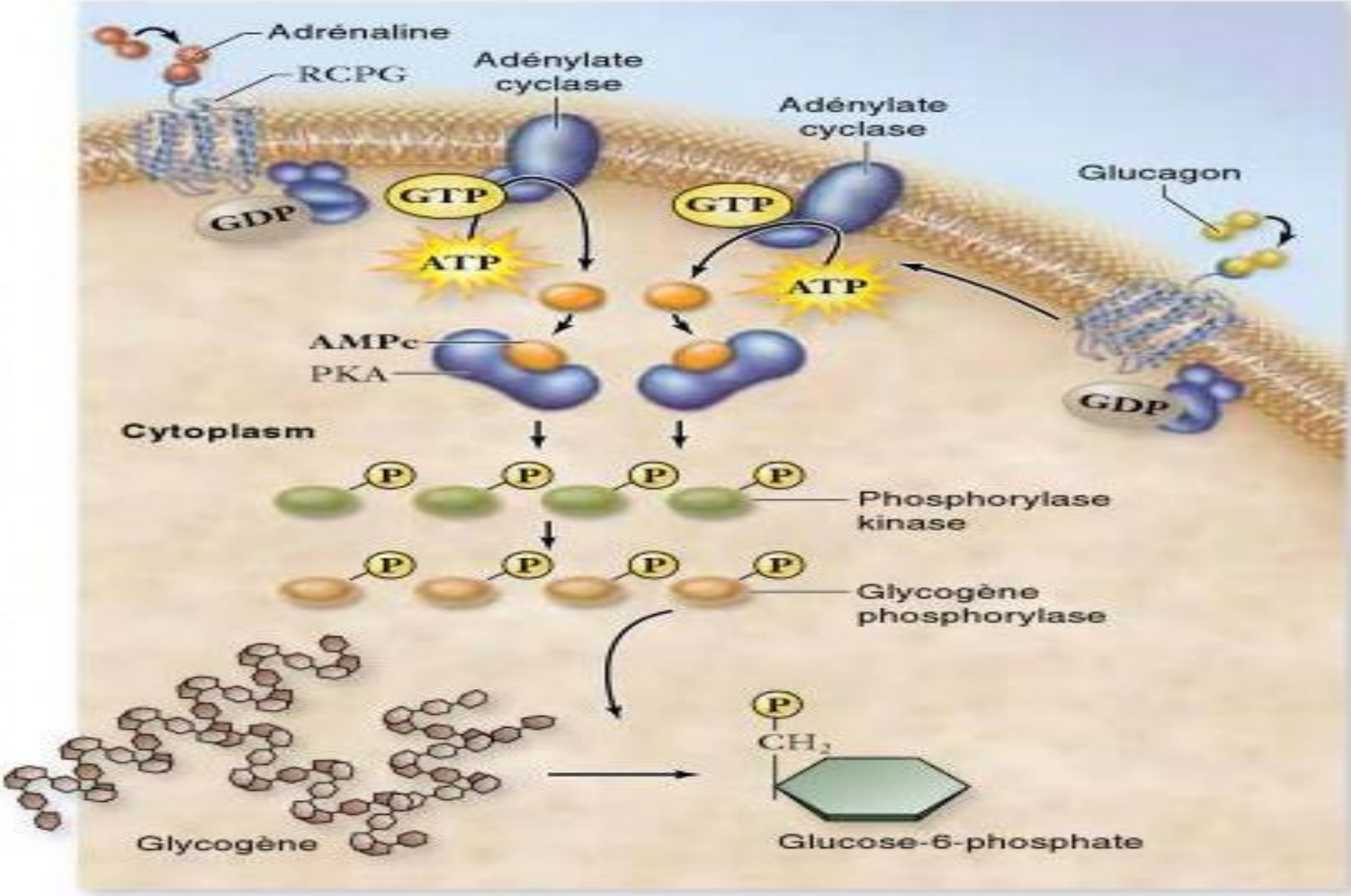


Fig. 2. La voie de signalisation pour le cas l'Adrénaline

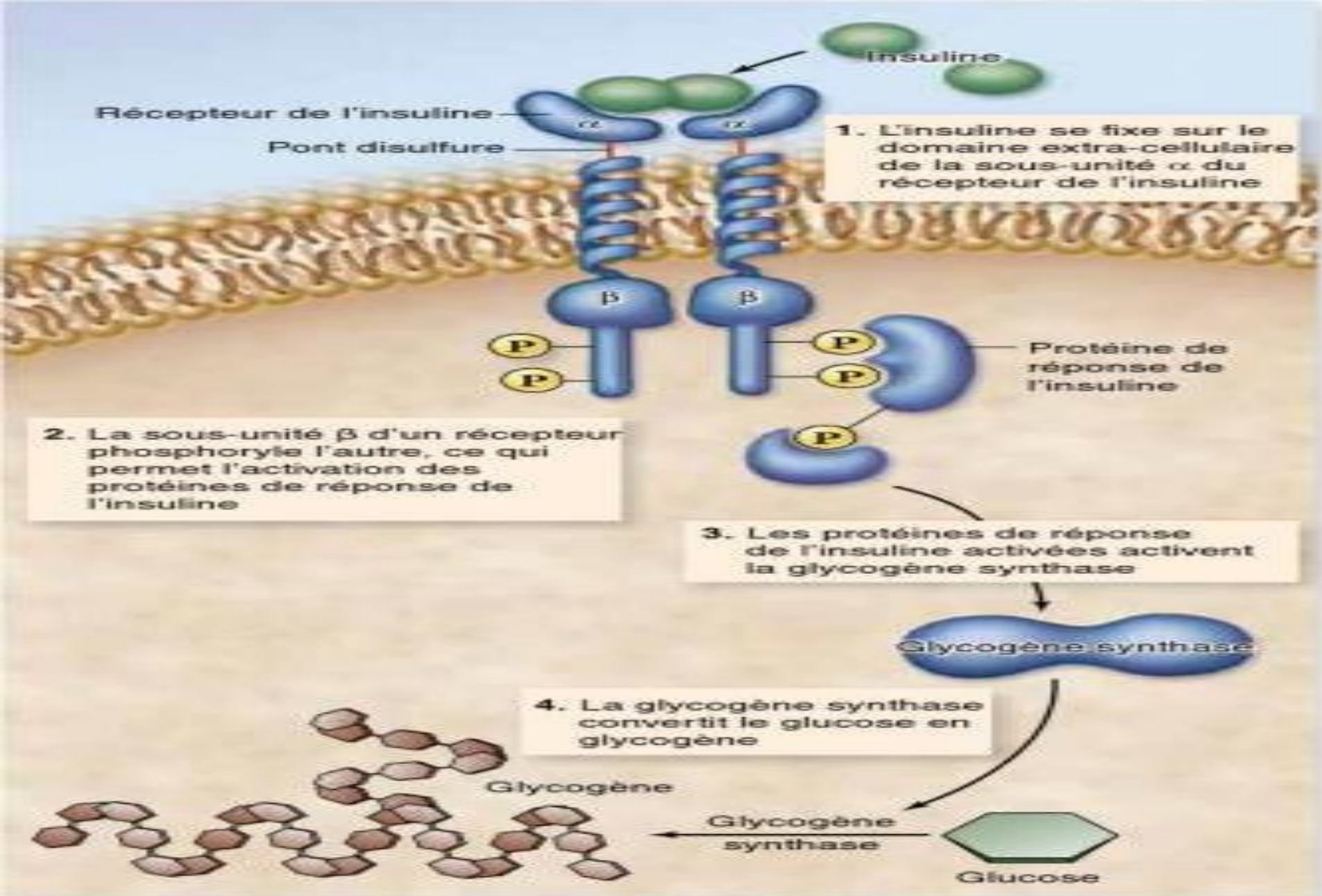


Fig. 3. La voie de signalisation pour le cas de l'insuline

Le cas des facteurs de croissance (Récepteurs et ligands)

Les facteurs de croissance sont des polypeptides, Ils sont sécrétés par de nombreux types cellulaires

Par analogie et par opposition aux hormones qui sont véhiculées dans le sang (système endocrine), on dira que les facteurs de croissance sont des facteurs paracrines (agissant au voisinage de la cellule qui leur a donné naissance), parfois juxtacrines (agissant sur la cellule liée par jonction serrée à la cellule d'origine), et même autocrines (agissant sur la cellule même qui les a produits).

➤ MAP kinases :

Les protéines kinases activées par des signaux mitogènes (mitogen-activated protein-MAP-kinases) assurent la liaison entre l'activation des récepteurs membranaires et celle des gènes du noyau. jouent un rôle fondamental dans de nombreux processus impliquant la multiplication cellulaire.

La mise en route des MAP kinases met en jeu une série d'activations en cascade, que l'on peut schématiquement décomposer en cinq étapes (**Fig.4**) :

- 1-** Activation d'un récepteur transmembranaire par un signal extracellulaire (par exemple, le facteur de croissance **EGF, epidermal growth factor**) ;
- 2-** Assemblage de diverses petites molécules intracytosoliques, comme l'adaptateur moléculaire **Grb2** (growth factor receptor-bound protein 2) et le facteur d'échange nucléotidique **Sos** (son of sevenless) (**Fig .4**), aboutissant ainsi à l'activation de la **petite protéine G monomérique Ras**.

3- Déclenchement d'une série de réaction en cascade de réactions selon la séquence suivante :

- la protéine Ras (activé par Sos) active la MAP-KKK,
- une fois activée, la MAP-KKK activera à son tour la MAP-KK (en la phosphorylant),
- cette dernière effectuera alors la deuxième phosphorylation sur la MAP kinase qui pourrait ainsi devenir active si elle était préalablement phosphorylée par Raf (Fig.4) ;

4- implication des facteurs de transcription rendus actifs grâce à leurs phosphorylations par les MAP kinases ;

5- transcription des gènes contrôlés par les facteurs de transcription activés par voie des MAP kinases.

Facteurs de croissance
(PDGF, EGF,...)

Ligand

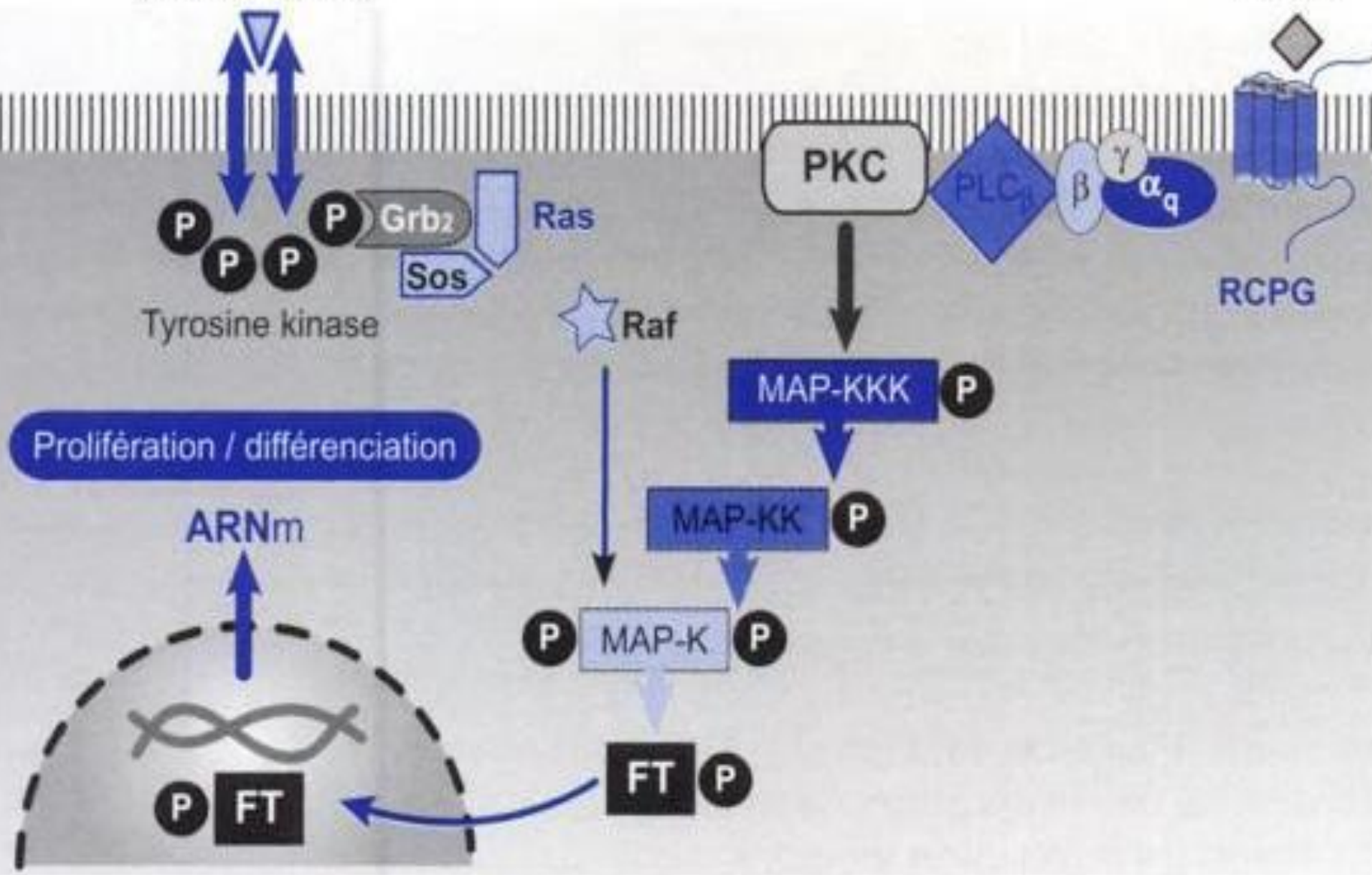


Fig. 4 Activation des MAP kinases.

4. 2 Transducteurs et facteurs de couplage

Cycle d'activation des protéines G trimériques

La famille des récepteurs la plus importante dans les cellules animales est celle des **récepteurs couplés à une protéine G (RCPG)**.

Les **protéines G** sont des protéines qui, comme la protéine Ras, fixent des nucléotides à guanosine (**GDP, GTP**).

Les **protéines G** sont des protéines membranaires qui participent aux voies de transduction des signaux, en recevant ceux-ci d'un récepteur membranaire et en les transmettant à **un effecteur** (protéine qui traduit le signal reçu par le récepteur membranaire en un effet intracellulaire).

La fonction de la **protéine G** dans la signalisation par les **RCPG** est d'assurer un lien entre un **récepteur de signal** et une **protéine effectrice** responsable de la réponse de la cellule (**Fig. 1**).

En position de marche, la protéine G active la protéine effectrice pour provoquer une réponse de la part de la cellule.

Lorsqu'elles sont liées au **GDP**, les **protéines G** sont **inactives** et la **transmission du signal** est liée à la fixation d'un **GTP**.

Lorsqu'un ligand se lie à une RCPG et active sa protéine G associée, la protéine G remplace GDP par GTP et se dissocie en deux parties, une sous-unité **G α** liée à la **GTP** et la sous-unité **G $\beta\gamma$** (**Fig.1**).

La sous-unité α , activée par le GTP lié, transmet le signal à l'effecteur (**adénylate cyclase, phospholipase, etc...**) en l'**activant** ou en l'**inhibant**.

La sous-unité α , liée à l'effecteur, hydrolyse le GTP en GDP + phosphate (extinction du signal), ce qui la détache de l'effecteur et permet la réassociation des trois sous-unités de la protéine G qui reprend sa structure initiale au contact du récepteur.

Les protéines effectrices sont généralement des enzymes. Une protéine effectrice peut être une **kinase** qui propage directement le signal en phosphorylant des protéines, ou elle peut produire un second messenger pour initier une voie de transduction de signal.

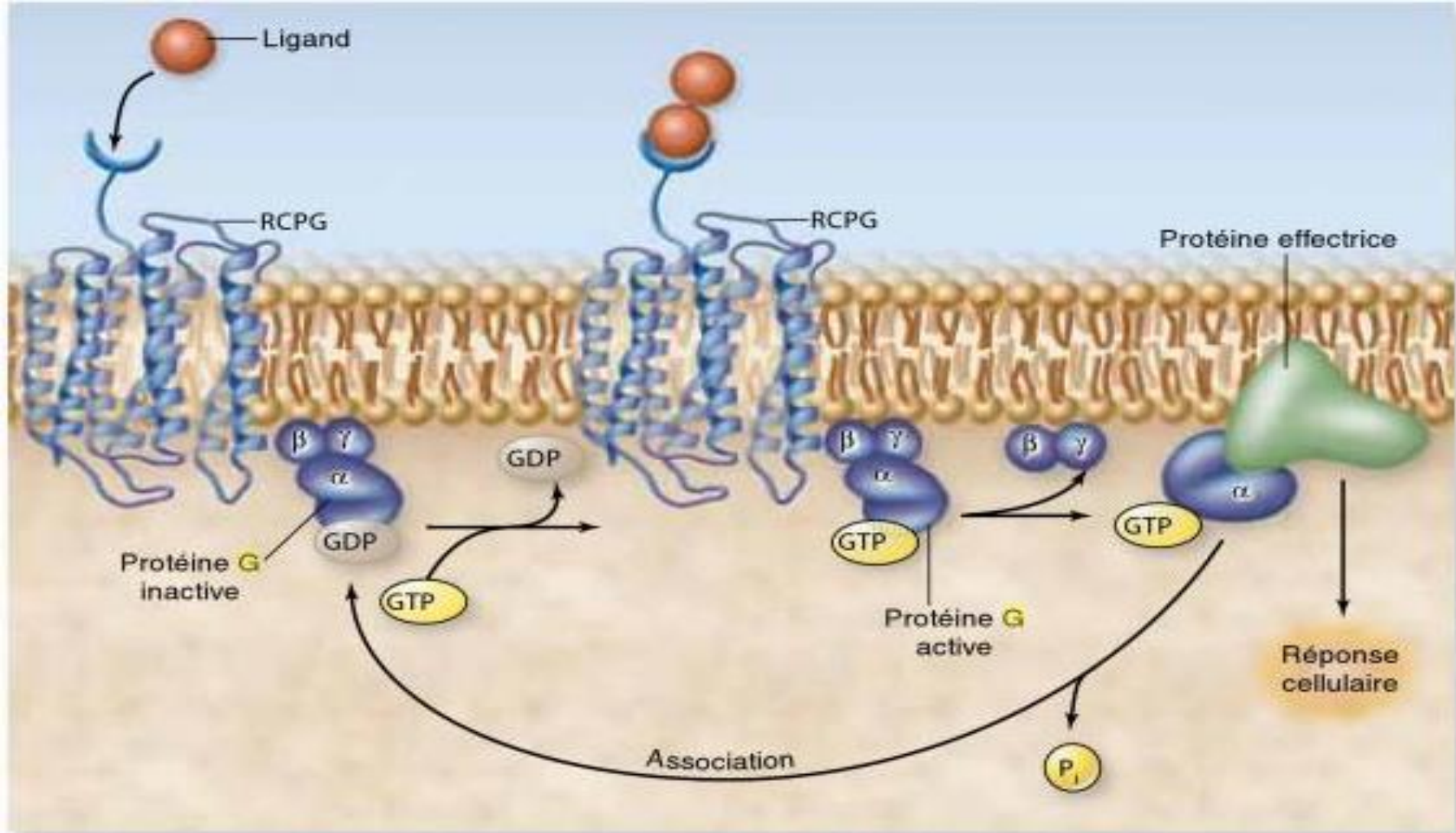


Fig. 1. Activation des protéines G

NB : l'adénylate cyclase est une enzyme membranaire intrinsèque qui catalyse la réaction de cyclisation de l'ATP en AMPc. L'AMPc, deuxième messager déclenche une cascade de réactions enzymatiques.

Cycle d'activation des protéines G monomériques (RAS)

La principale différence entre les **protéines G dans les RCPG** et la **protéine Ras** est que les premières sont composées de trois sous-unités, α , β et γ ; elles sont d'ailleurs souvent désignées protéines G hétérotrimériques.

Les récepteurs de facteurs de croissance sont souvent liés à la cascade de MAP kinase par une protéine Ras.

Le lien entre RTK (récepteur de facteur de croissance) et cascade de MAPK est une petite protéine G dénommée **RAS**. Cette protéine est présente sous forme mutée dans de nombreuses tumeurs humaines, ce qui suggère son rôle central dans la relation entre récepteurs de facteur de croissance et réponse de la cellule.

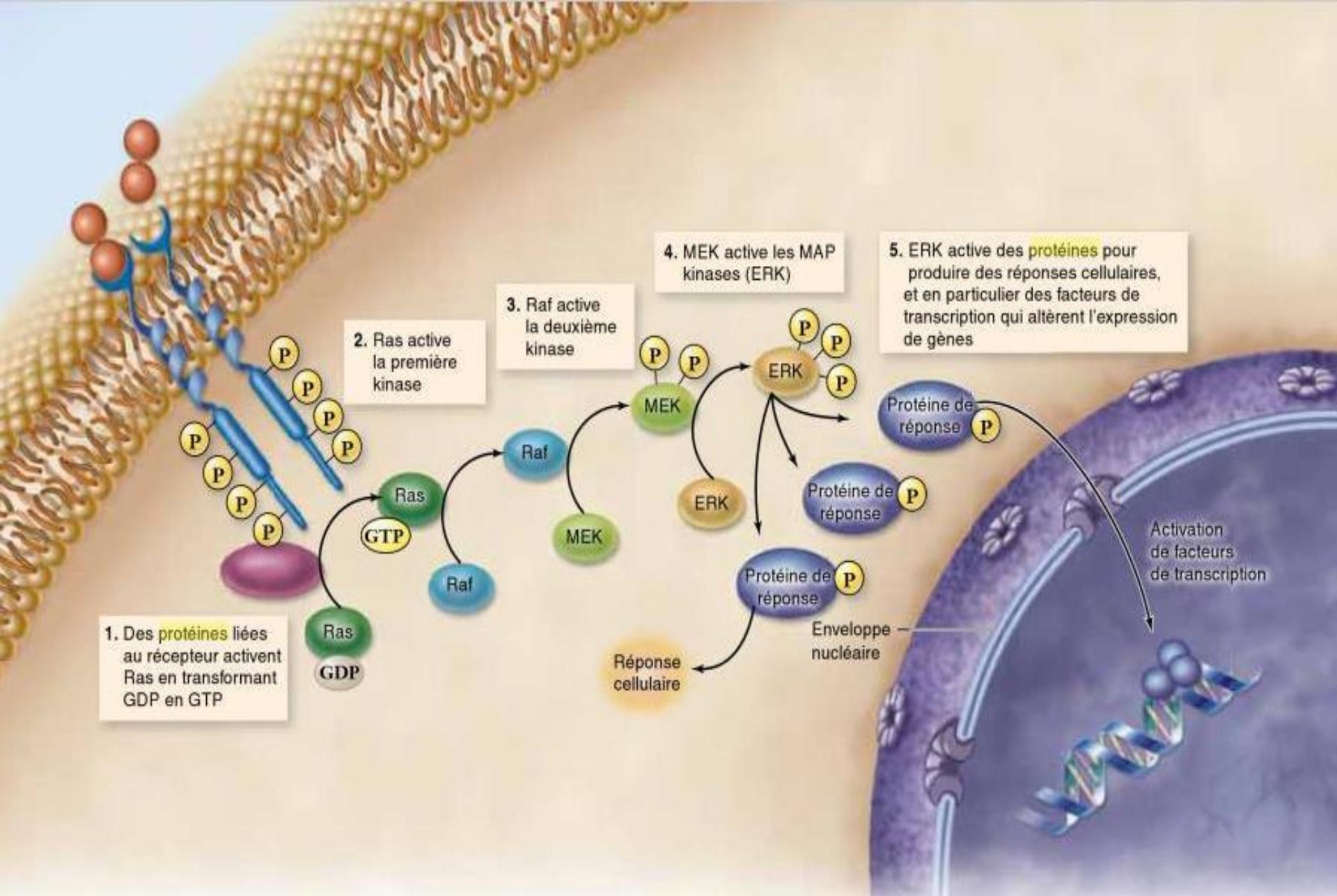


Fig. 2. La protéine RAS lie le récepteur à activité tyrosine kinase à la cascade de MAP kinase.

La protéine RAS est active lorsqu'elle est liée à une GTP, inactive lorsqu'elle est liée à une GDP. Lorsqu'une RTK, un récepteur de facteur de croissance par exemple, est active, elle se lie à **une protéine d'adaptation**, qui agit sur RAS pour stimuler le remplacement de GDP par GTP, activant ainsi la protéine RAS ; celle-ci active alors la première kinase de la cascade (Fig. 2).

La protéine RAS possède une activité GTPase intrinsèque, capable d'hydrolyser GTP en GDP et Pi tout en laissant GDP fixé à la protéine Ras qui, par ce fait, est inactivée.

➤ *Les RTK sont inactivées par internalisation*

Il est important pour les cellules que les voies de signalisation ne soient activées que transitoirement. Il existe en effet deux mécanismes d'inactivation des récepteurs à activité tyrosine kinase ; la **déphosphorylation et l'internalisation**. Dans l'**internalisation**, le récepteur est introduit dans le cytoplasme par une vésicule d'endocytose, où il est dégradé ou recyclé.

Les enzymes des cascades de kinase sont toutes contrôlées par déphosphorylation par des phosphatases. Ceci met fin à la réponse à la fois au niveau du récepteur et à celui des protéines de réponse.

4.3. Amplification du signal via les seconds messagers

4.3.1. Cascade phospholipases C /DAG/IP3/Ca²⁺

Les protéines effectrices activées par une protéine G produisent le plus souvent un second messenger.

En général le **second messenger** module l'activité d'une protéine qui elle-même module par la phosphorylation d'une protéine substrat (facteur de transcription, canal ionique ou autre) ;

✓ **des canaux ioniques permettant le transfert d'un ion entre les compartiments inter et intracellulaire (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻,...)** ;

Les protéines effectrices les plus fréquentes sont en nombre de deux, il s'agit en effet de **l'adénylate cyclase** productrice **d'AMPc** et la **phospholipase C** productrice **d'IP3 (inositol triphosphate) + DAG (diacyl-glycérol)**.

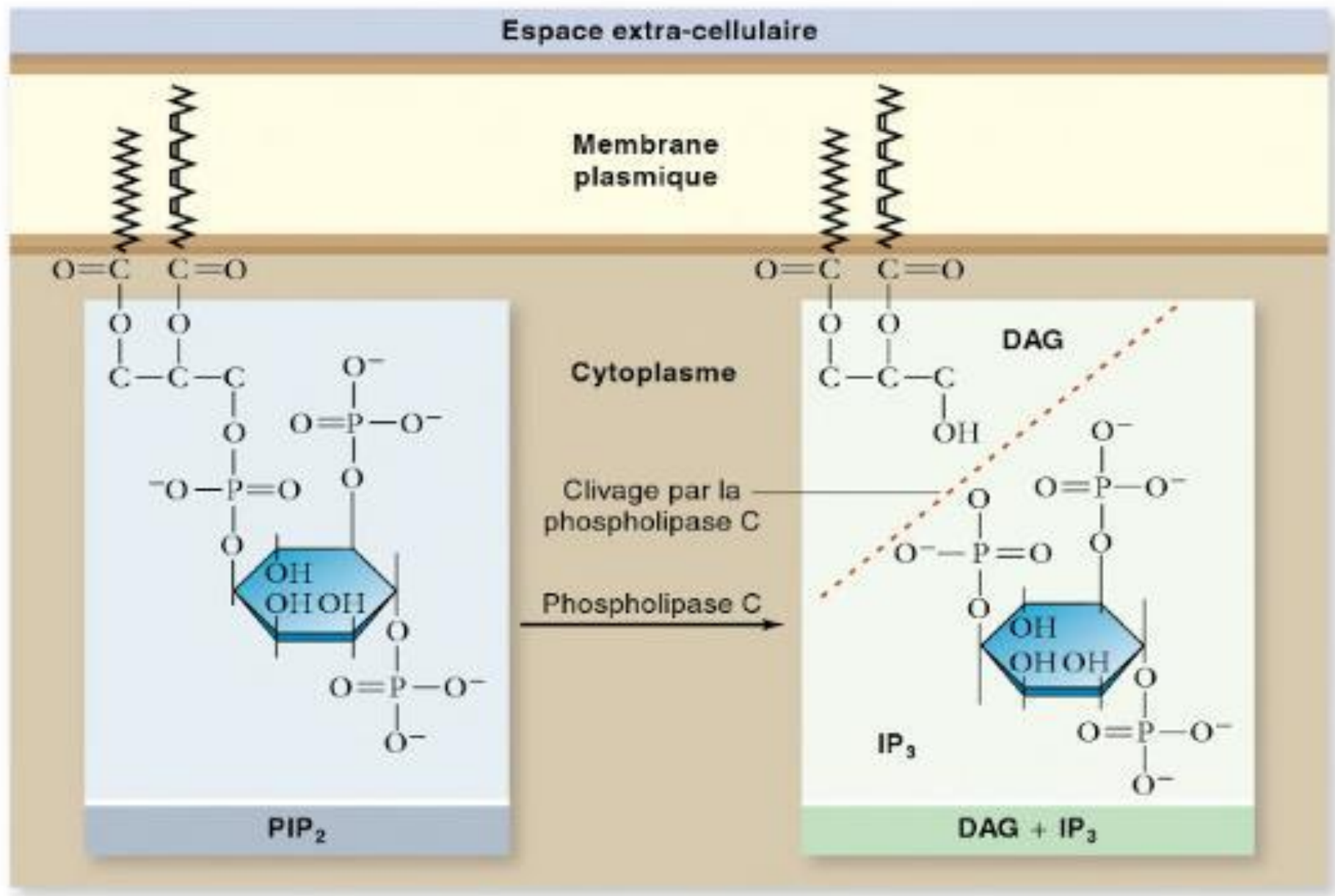


Fig. 1 production du second messenger

(Le phosphatidyl inositol biphosphate (PIP2) est composé de deux acides gras et d'un phosphate fixés sur un glycérol, lui-même portant une molécule d'inositol biphosphate.

PIP2, localisé dans la membrane cellulaire, est clivé par la phospholipase C en deux seconds messagers : **DAG « le glycérol plus les deux acides gras » et IP3 (Inositol triphosphate).**

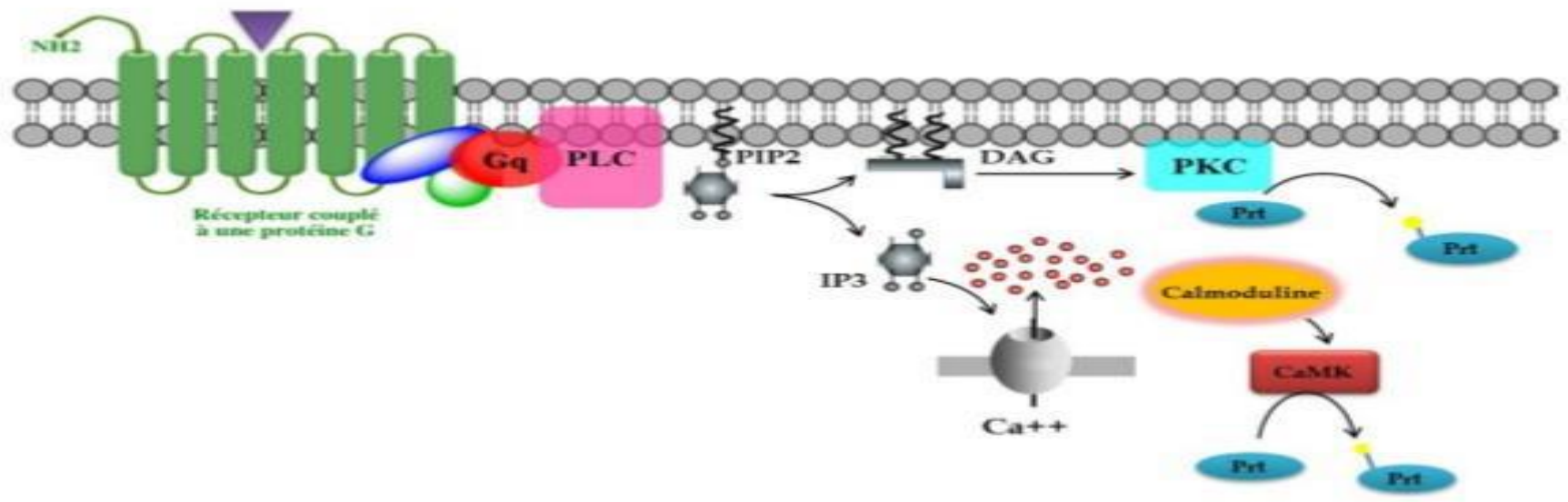
Chacun de ces 2 seconds messagers initie une voie de signalisation propre :

🌀 **l'IP3**, via **le récepteur-canal calcique spécifique IP3R**, mobilise le **Ca⁺⁺** du réticulum endoplasmique : le complexe Ca⁺⁺-calmoduline active par interaction protéine-protéine de nombreuses protéines, en particulier des protéines kinases calcium-calmoduline dépendantes (**CaMK**) qui phosphorylent de nombreux substrats protéiques et ainsi modulent leur activité.

Le DAG active, en présence de la phosphatidylsérine membranaire et du Ca^{++} libéré sous l'action de l'IP3, des protéines kinases C (PKC) qui phosphorylent de nombreux substrats protéiques et ainsi modulent leur activité.

Ultérieurement, DAG et IP3 sont rapidement catabolisés, l'un par la DAG kinase ou la DAG lipase, l'autre par des phosphatases.

PHOSPHOLIPASE C



➤ *Les inositols phosphate*

L'inositols phosphate, est un second messenger fréquent qui est produit par des inositolphosphatides. Ces dernières sont des molécules qui sont insérées dans la membrane par leurs extrémités lipidiques tandis que la portion inositol phosphate fait saillie dans le cytoplasme.

Il se trouve que le plus abondant de ces inositolphosphatides est le phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (**PIP2**). Cette molécule constitue un substrat de la phospholipase C, protéine effectrice qui clive le PIP2 en diacylglycérol (DAG) et inositol1,4,5-triphosphate (IP3) (**Fig. 1**).

Ces deux composés agissent comme seconds messagers dans divers évènements cellulaires. Comme l'AMPc, le DAG active une protéine kinase, en l'occurrence la protéine kinase C (PKC).

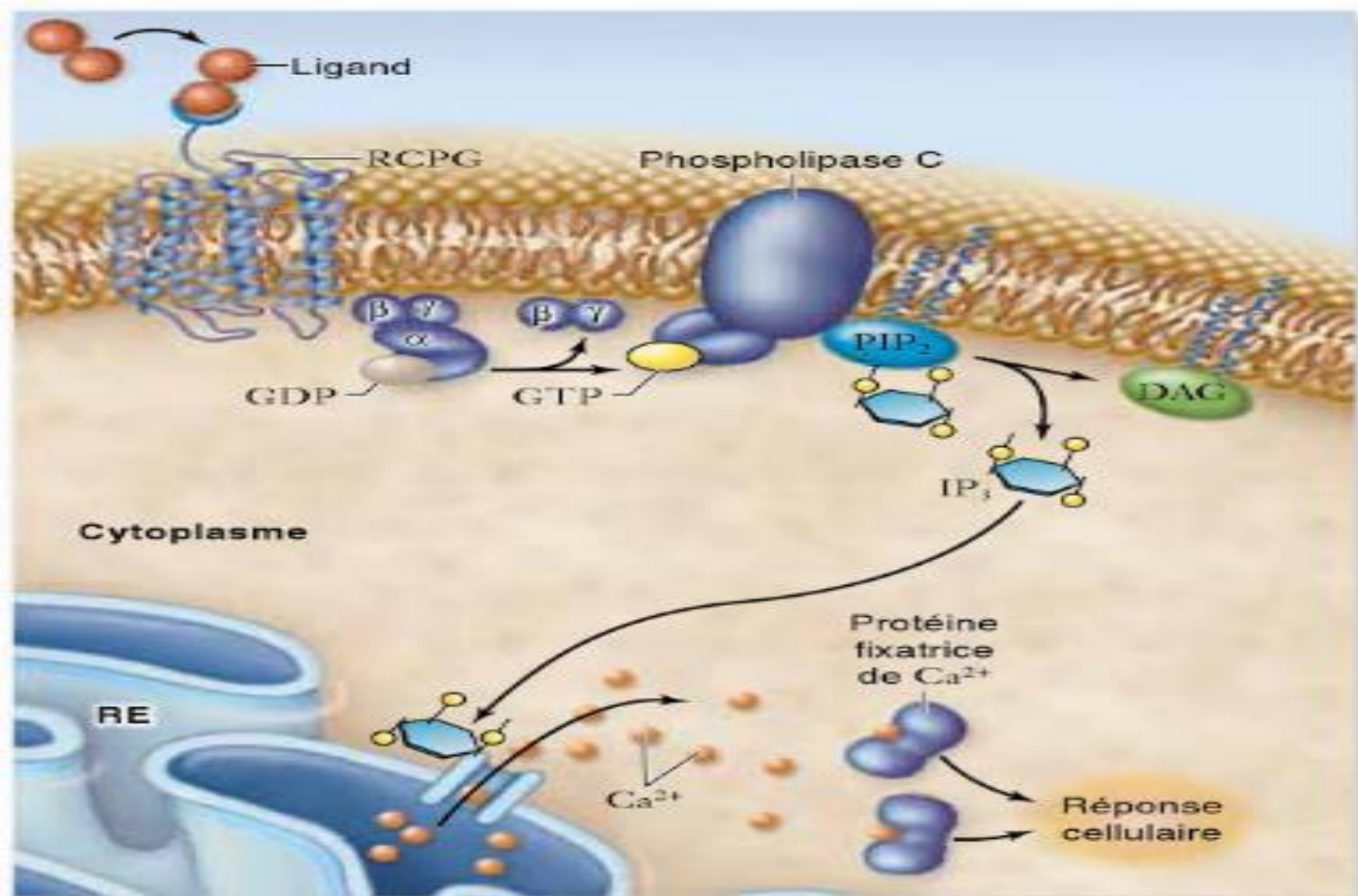


Fig. 2 Signalisation par phosphatidylinositol et Ca²⁺

Un signal extra-cellulaire active une protéine G en se fixant sur un RCPG. La protéine G active à son tour la protéine effectrice phospholipase C, qui convertit PIP2 en DAG et IP3.

IP3 se lie à un récepteur canal du réticulum endoplasmique (RE), provoquant la libération dans le cytosol d'ions Ca^{2+} stockés dans le RE.

Les ions Ca^{2+} se lient enfin à des protéines fixatrices de Ca^{2+} comme la calmoduline et la protéine kinase C (PKC) pour induire une réponse cellulaire.

➤ ***Le calcium***

L'ion calcium (Ca^{2+}) sert abondamment de second messenger. La concentration en Ca^{2+} du cytosol est normalement très faible alors qu'en dehors de la cellule et à l'intérieur du réticulum endoplasmique sa concentration est assez élevée.

Le RE possède des récepteurs qui agissent comme canaux ioniques permettant la sortie de Ca^{2+} (fig. 3). Un de ces récepteurs les plus communs s'ouvre sous l'action du second messenger IP_3 , qui libère donc le Ca^{2+} ; ce dernier sert alors de second (ou plus exactement de troisième) messenger en se fixant sur une protéine de réponse.

La libération du Ca^{2+} à partir du RE est donc déclenchée par la fixation d' IP_3 sur des récepteurs agissant comme canaux ioniques sur le RE.

La signalisation par inositol phosphate et la signalisation par Ca^{2+} sont donc liées dans ce cas.

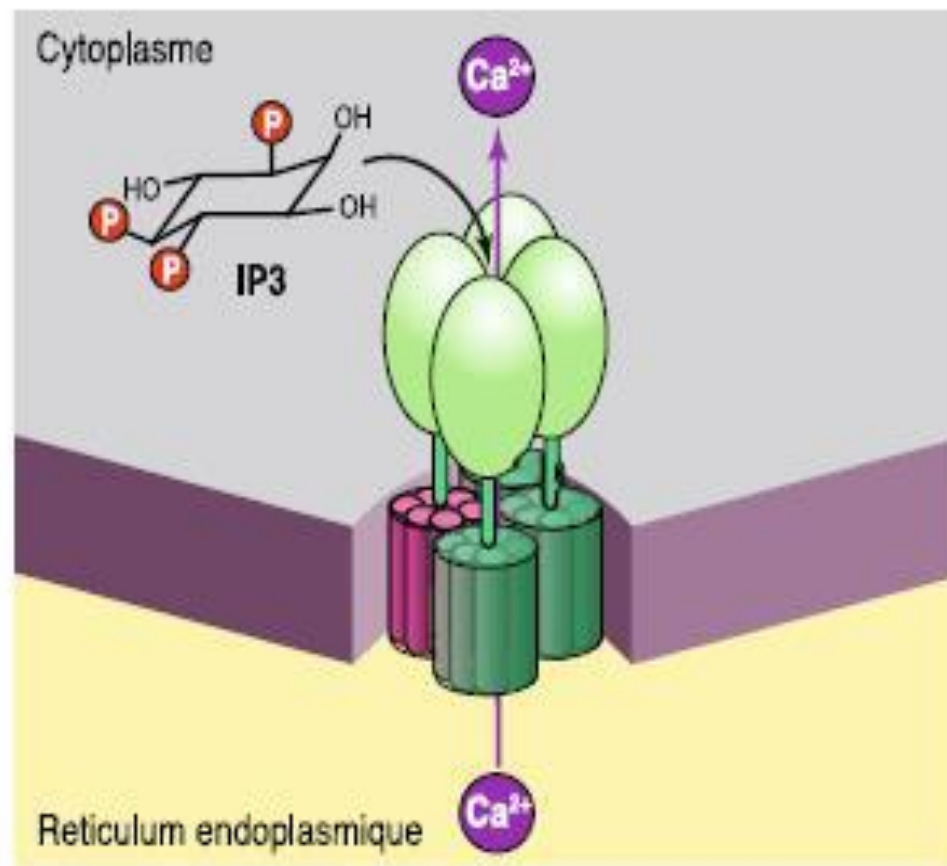
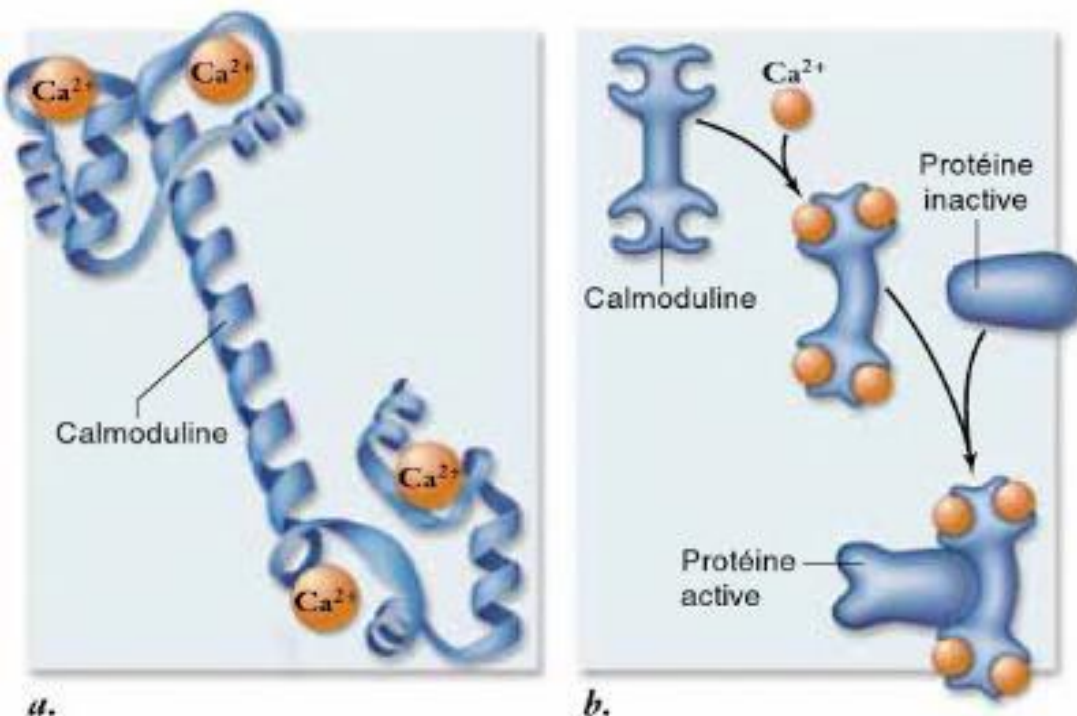


Fig. 3 Les canaux calciques intracellulaires et leurs ligands.

(La structure générale du récepteur de l'IP3 (ITPR). Ce récepteur est constitué de quatre sous-unités, faites de six hélices transmembranaires, l'ensemble délimitant un pore permettant le passage du Ca^{2+} du RE vers le cytoplasme. De volumineux domaines N-terminaux, du côté cytoplasmique, contiennent en particulier le site de reconnaissance de l'IP3.

Le résultat de l'efflux de Ca^{2+} à partir du RE dépend du type de cellule concernée : dans les cellules musculaires squelettiques par exemple, il provoque la contraction des cellules musculaires, alors qu'il entraîne la sécrétion d'hormones par les cellules endocrines.

Le Ca^{2+} se fixe à la calmoduline, une protéine cytosolique (constituée de 148 acides aminés et comprenant quatre sites de fixation du Ca^{2+}) celle-ci active alors d'autres protéines, donnant lieu à diverses réponses (**Fig. 4**).



a : la calmoduline est une protéine constituée de 148 acides aminés et impliquée dans le fonctionnement de Ca^{2+} .

b : lorsque la calmoduline est chargée de quatre Ca^{2+} , sa conformation se modifie, ce qui lui permet de se lier à d'autres protéines cytoplasmiques et d'induire des réponses cellulaires.

Fig. 4 La calmoduline

Quand les quatre sites sont chargés, le complexe calmoduline/**Ca²⁺ active d'autres protéines en s'y fixant.**

Une fois que la calmoduline a fixé le Ca²⁺, elle se lie et active diverses protéines parmi lesquelles :

- 🌀 des kinases comme la glycogène phosphorylase kinase et la glycogène synthase kinase, ce qui renforce l'action de la PKA pour la mobilisation du glycogène ;
- 🌀 des enzymes comme l'adénylate cyclase et la phosphodiesterase, ce qui génère un bref *pulse d'AMP cyclique* ;
- 🌀 des phosphatases comme la calcineurine (CALN), qui permet l'activation du facteur de transcription NFAT ;
- 🌀 des canaux ioniques adénylate cyclase
- 🌀 des protéines réceptrices
- 🌀 la *nitric oxide synthase (NOS)*.

Ces utilisations multiples de l'ion Ca²⁺ en font un des seconds messagers les plus universels.