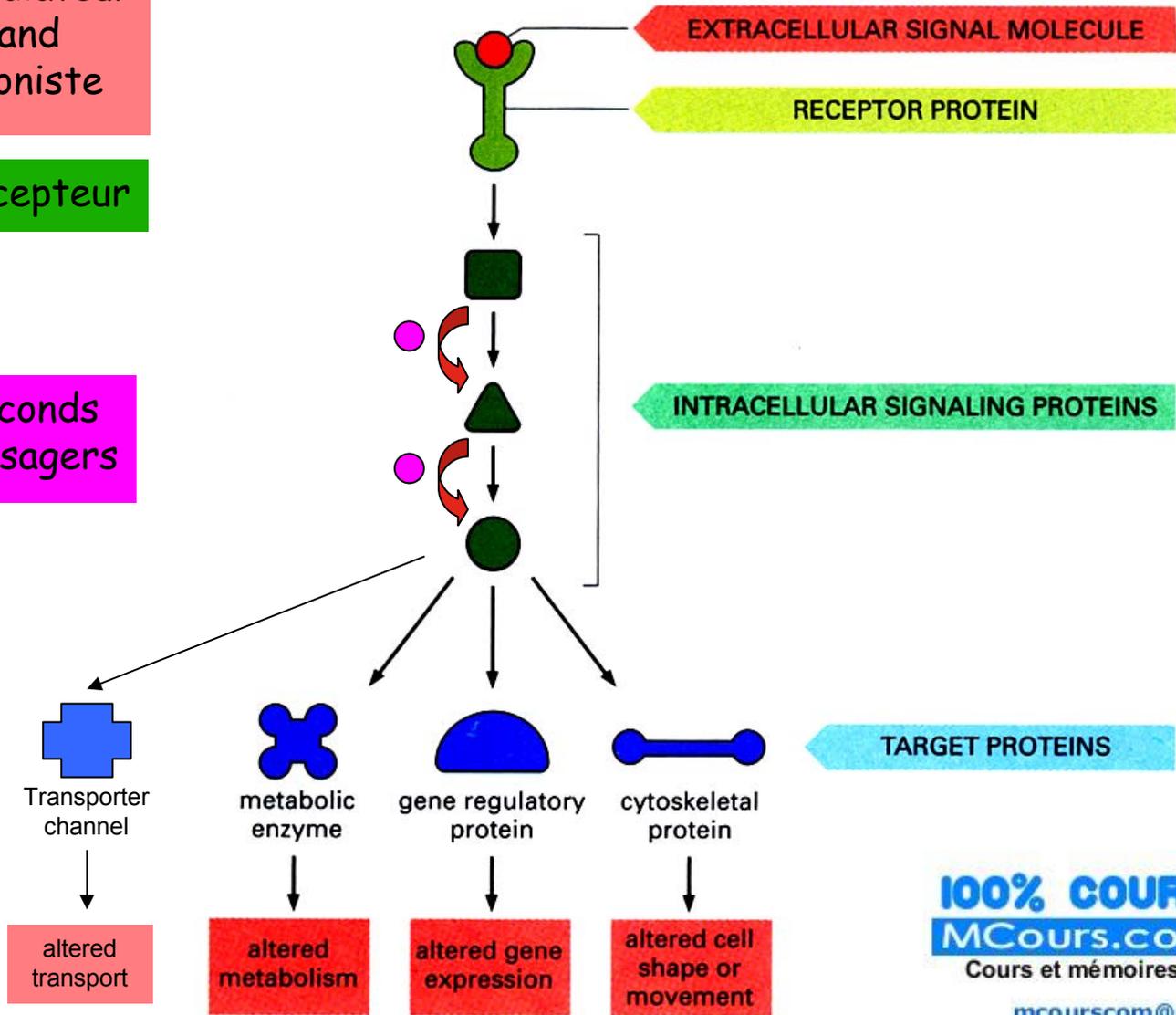


# SIGNALISATION CELLULAIRE

Médiateur  
Ligand  
Agoniste

Récepteur

Seconds  
messagers

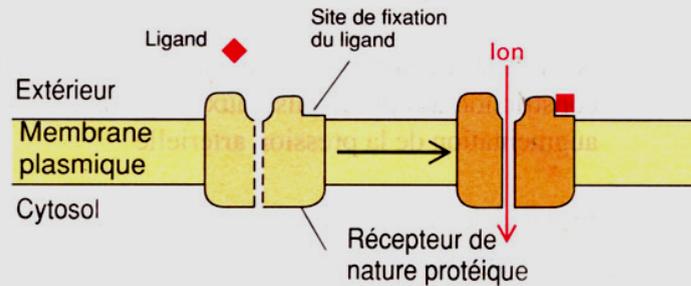


# RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES

## I) Récepteur - canal

- 🔥 plusieurs sous-unités (5)
- 🔥 Canal dont l'ouverture est déterminée par un ligand

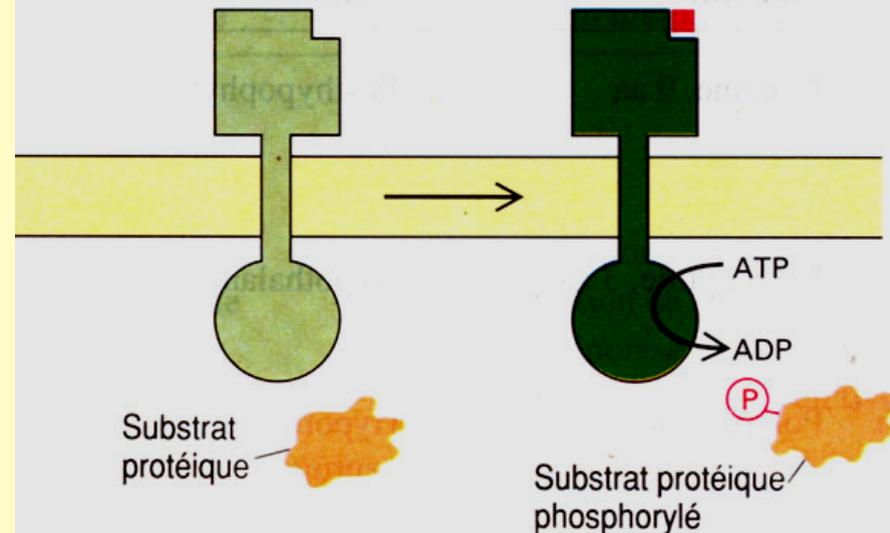
(a) Canal ionique commandé par un ligand (récepteur d'acétylcholine à la jonction neuro-musculaire)



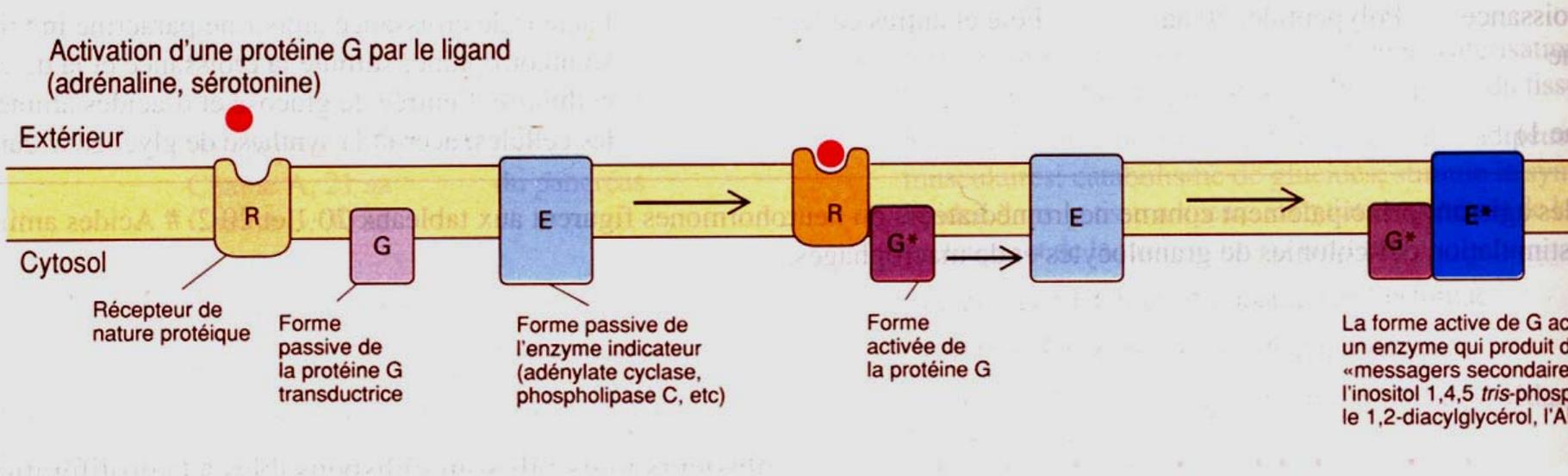
## II) Récepteur-enzyme

- 🔥 souvent monocaténaire
- 🔥 classique récepteur tyrosine kinase (insuline, facteurs de croissance)
- 🔥 autres fonctions enzymatiques
  - 📄 tyrosine phosphatase
  - 📄 Serine kinase
  - 📄 guanylate cyclase etc...

(b) Protéine kinase activée par un ligand (insuline, facteur de croissance épithélial)



# RÉCEPTEUR COUPLÉ AUX PROTÉINES G (RCPG)



## TROIS MODULES

1) Récepteur serpentin à 7 domaines transmembranaires

2) « Transducteur »: protéine G (dépendante des nucléotides guanyliques)  
hétérotrimérique

3) Effecteur : enzymes (adénylyl cyclase, phospholipase C)  
canaux

# RECEPTEURS TYROSINE-KINASES

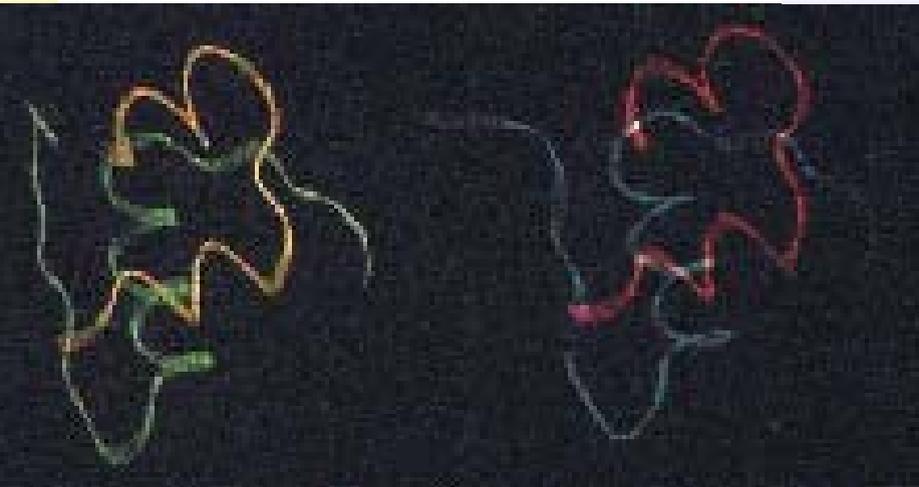
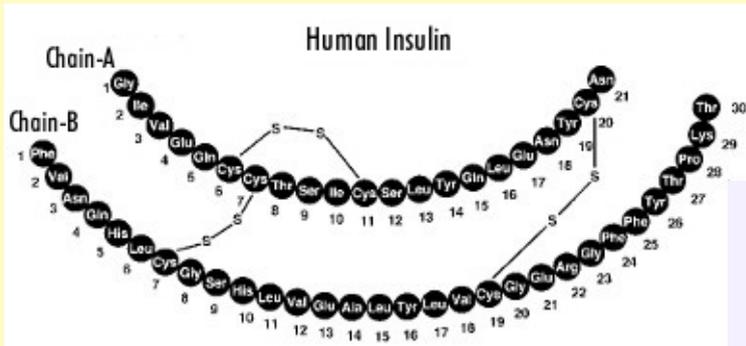
- ✓ L'exemple de l'insuline et de son récepteur
- ✓ La liaison du ligand
- ✓ La tyrosine kinase
- ✓ L'autophosphorylation
- ✓ La signalisation intracellulaire
- ✓ Pathologie des récepteurs TK

# Structure de l'insuline

Découverte en 1921 par Banting et Best  
Sa structure tridimensionnelle (1926)  
Séquence complète par Sanger (1955)

Synthèse chimique (1963)  
Insuline recombinante en 1980

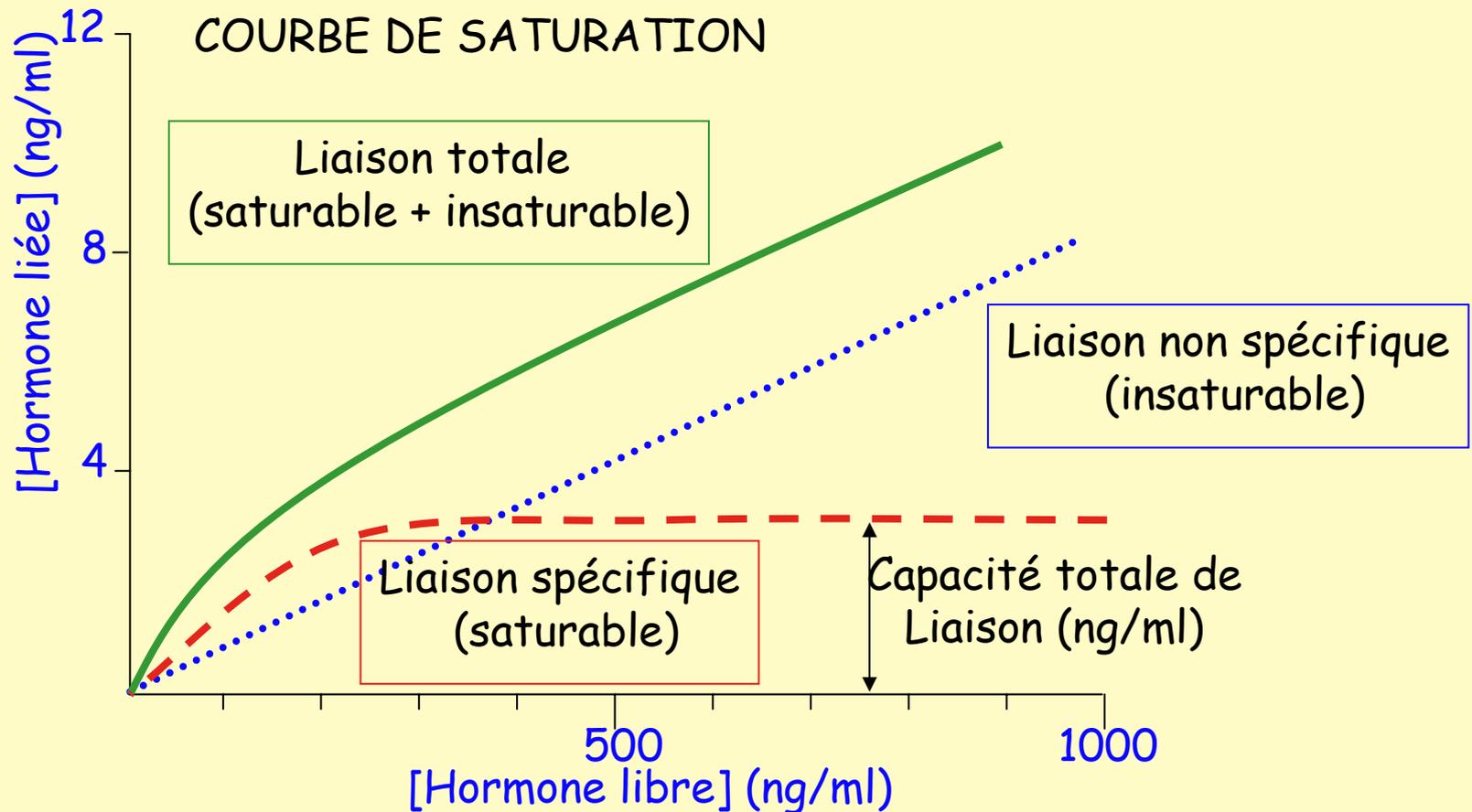
Identification du récepteur (années 70)  
Nature du récepteur (années 80)  
Clonage du récepteur (1985)



# DÉCOUVERTE DES RÉCEPTEURSTYROSINE-KINASES SITE DE LIAISON

Marquage radioactif de l'insuline : fin des années 1960

----> Mise en évidence d'une liaison spécifique et saturable sur les membranes de foie et de tissu adipeux. ---> récepteur



# DÉCOUVERTE DES RÉCEPTEURS TYROSINE-KINASES ACTIVITÉ ENZYMATIQUE INTRINSÈQUE

## I) PREMIÈRE ÉTAPE : PURIFICATION DES RÉCEPTEURS

Anticorps naturels contre le récepteur



Membranes de tissus

Purification

2chaines :  $\alpha = 135$  kDa

$\beta = 95$  kDa

Chromatographies d'affinité

# DÉCOUVERTE DES RÉCEPTEURS TYROSINE-KINASES ACTIVITÉ ENZYMATIQUE INTRINSÈQUE

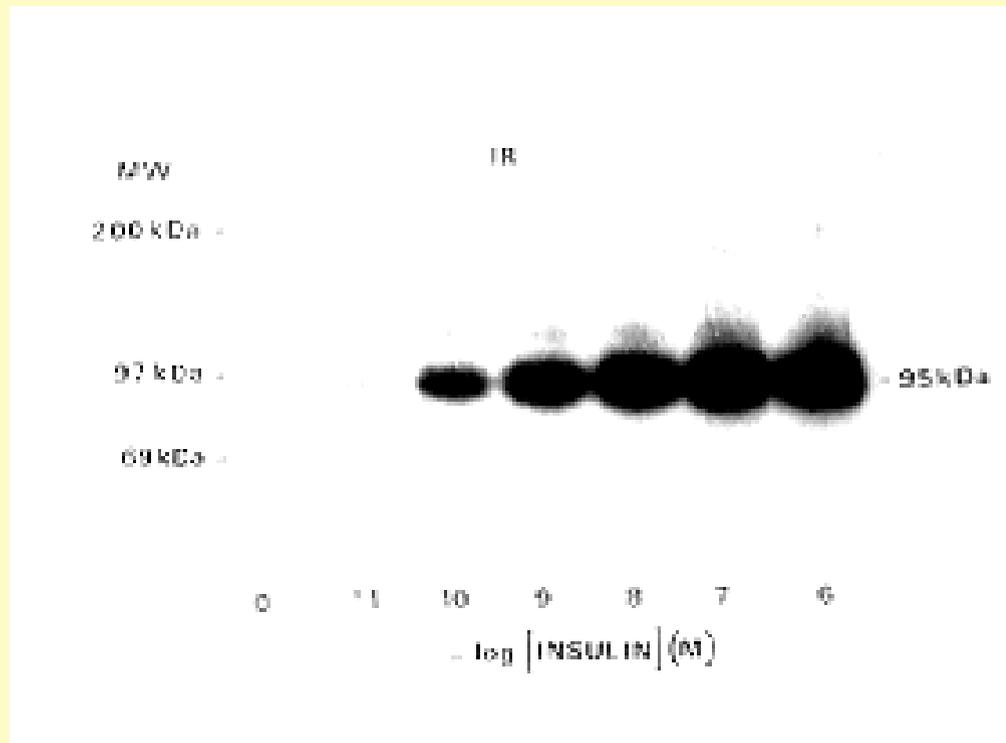
## DEUXIÈME ÉTAPE : ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

### RÉCEPTEUR PURIFIÉ

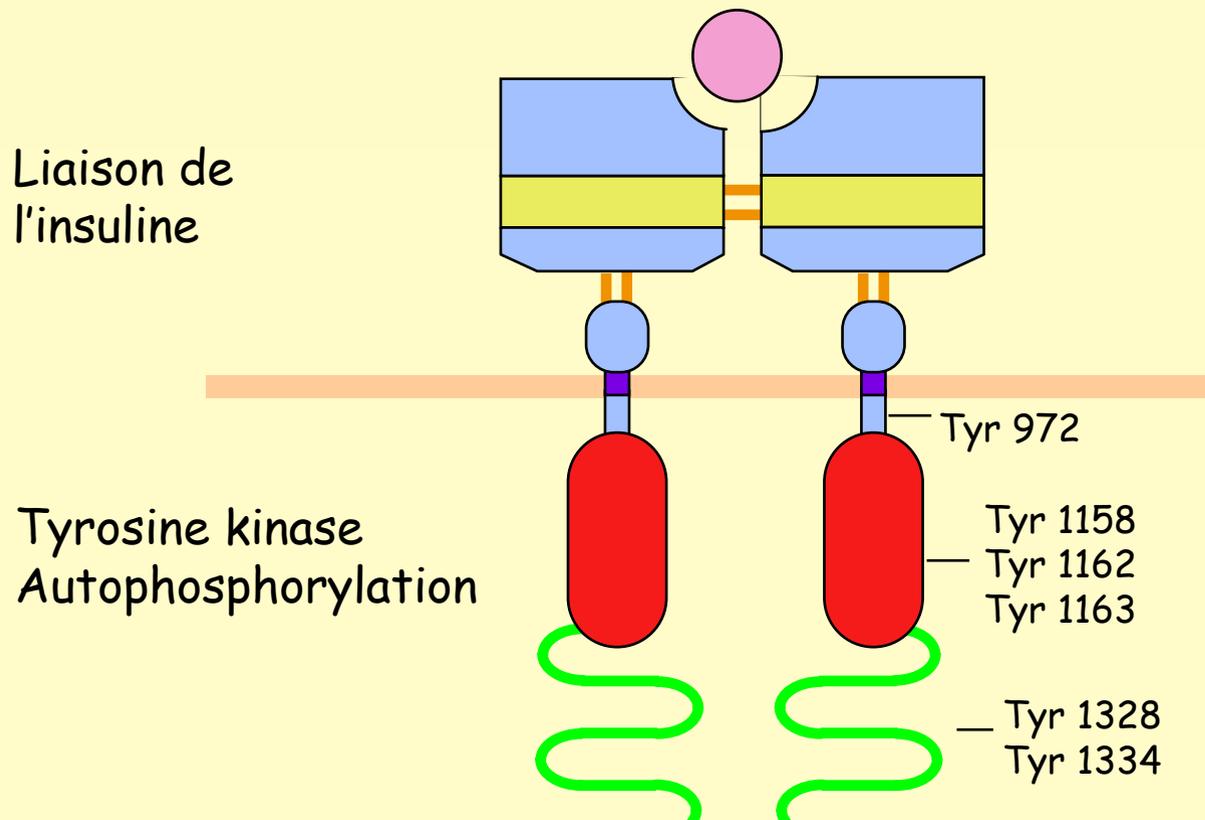
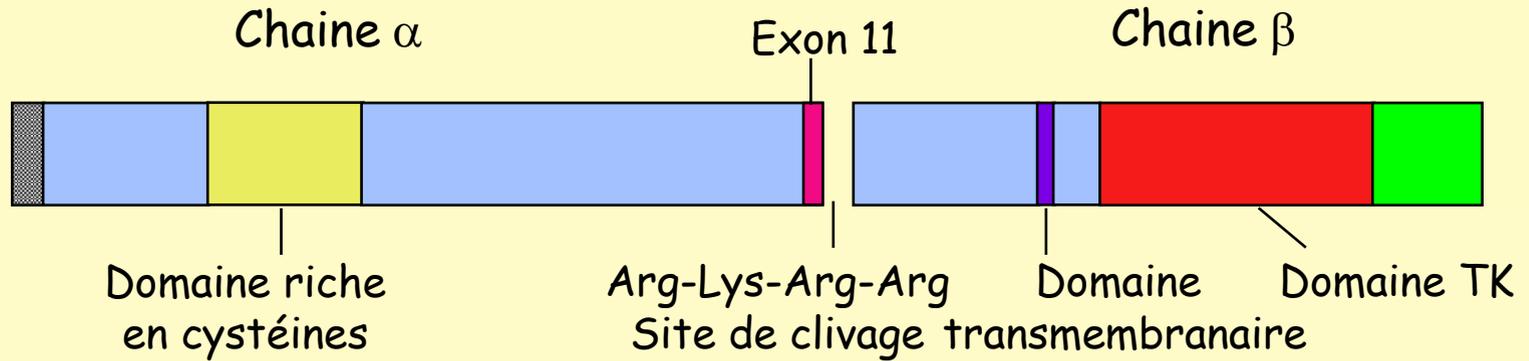
- +  $^{32}\text{P}$ -ATP \*
- + INSULINE
- + IONS DIVALENTS

### PHOSPHORYLATION

- de la chaîne  $\beta$
- de protéines naturelles
- de polymères synthétiques contenant des tyrosines.

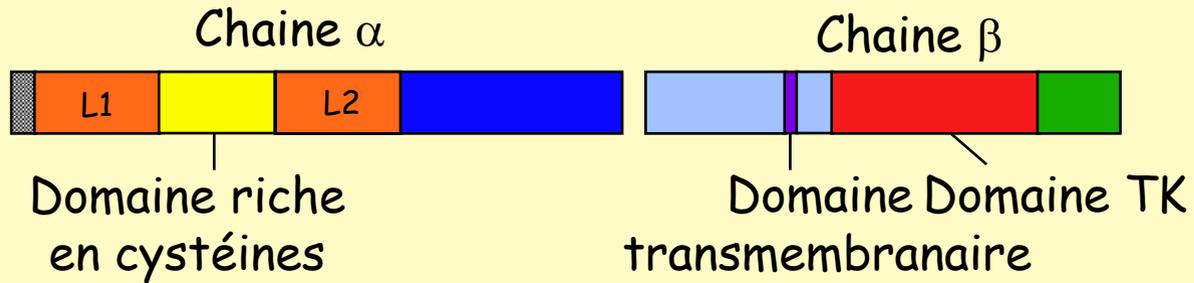


# Structure du récepteur de l'insuline

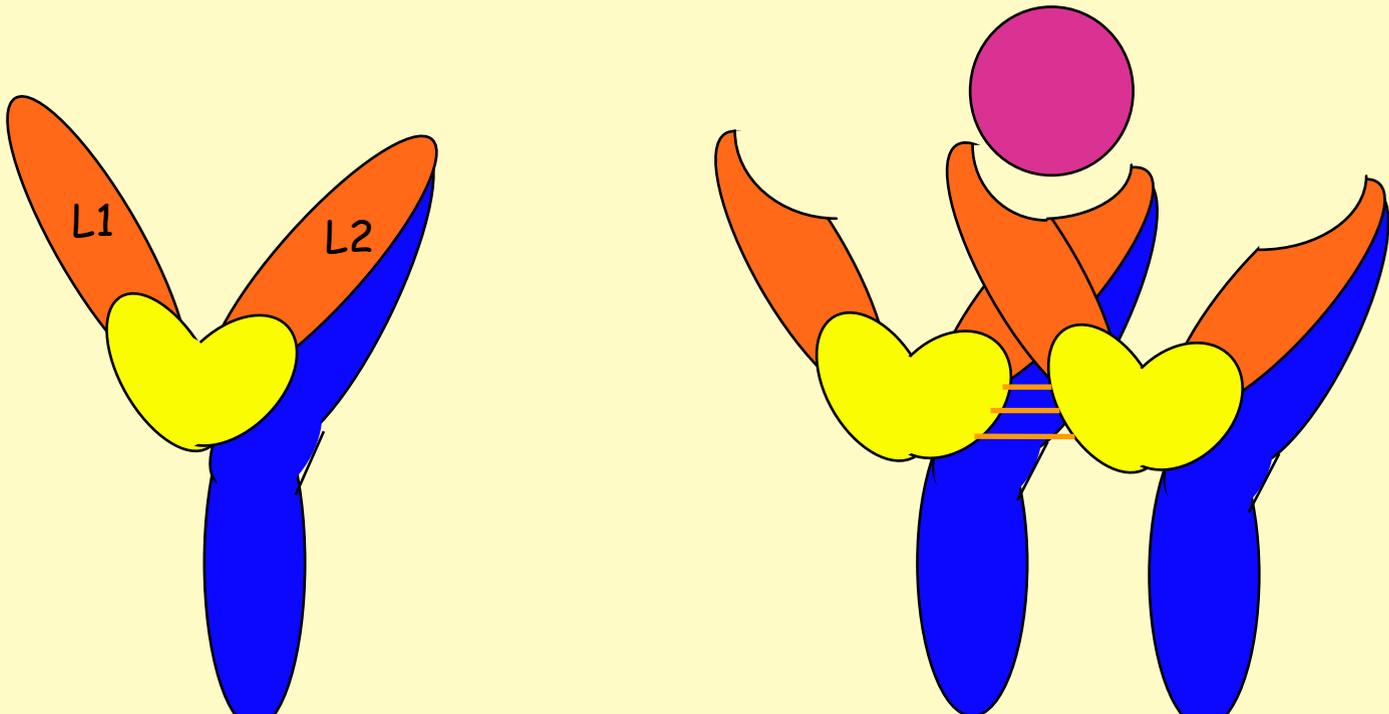




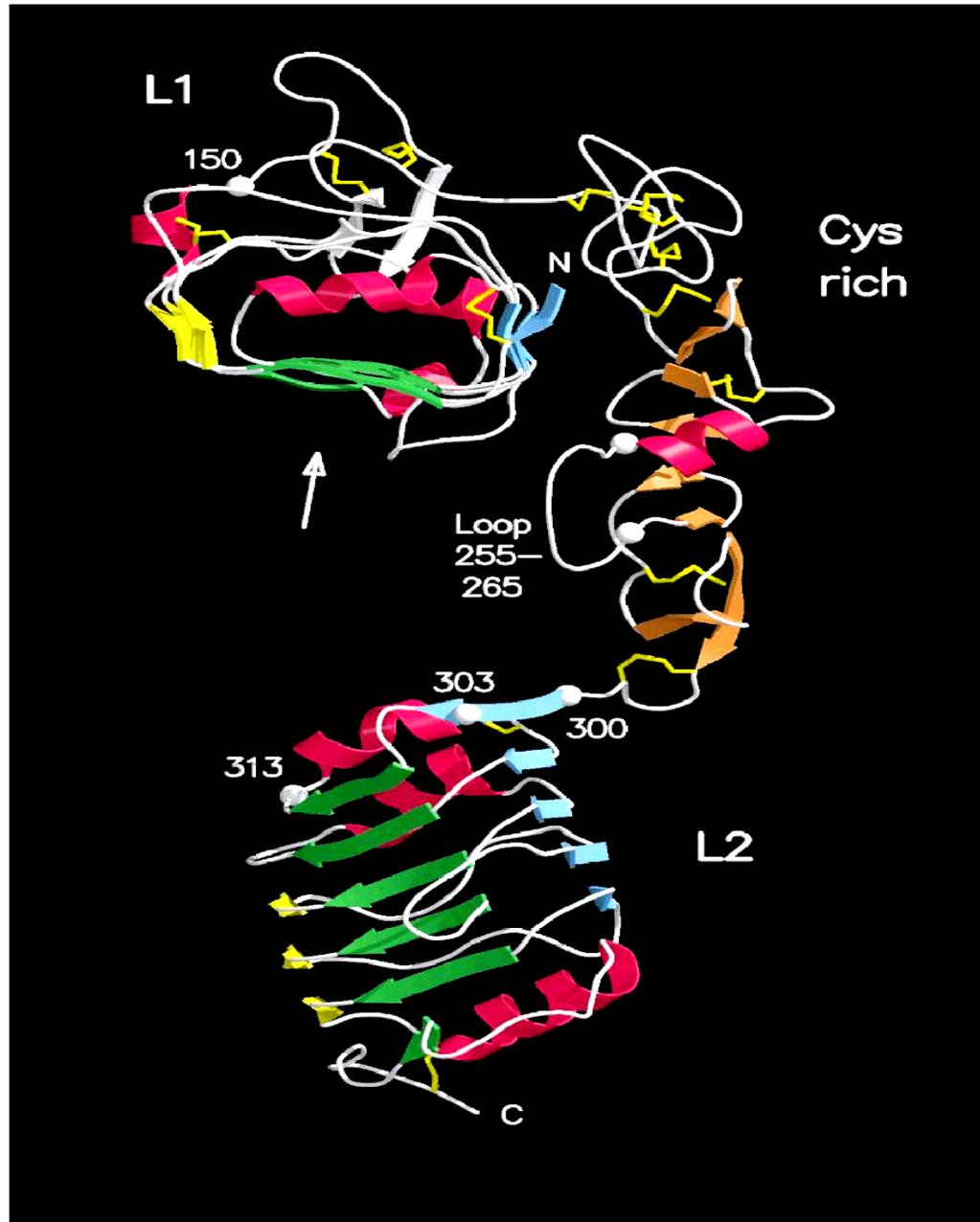
# Site de liaison de l'insuline



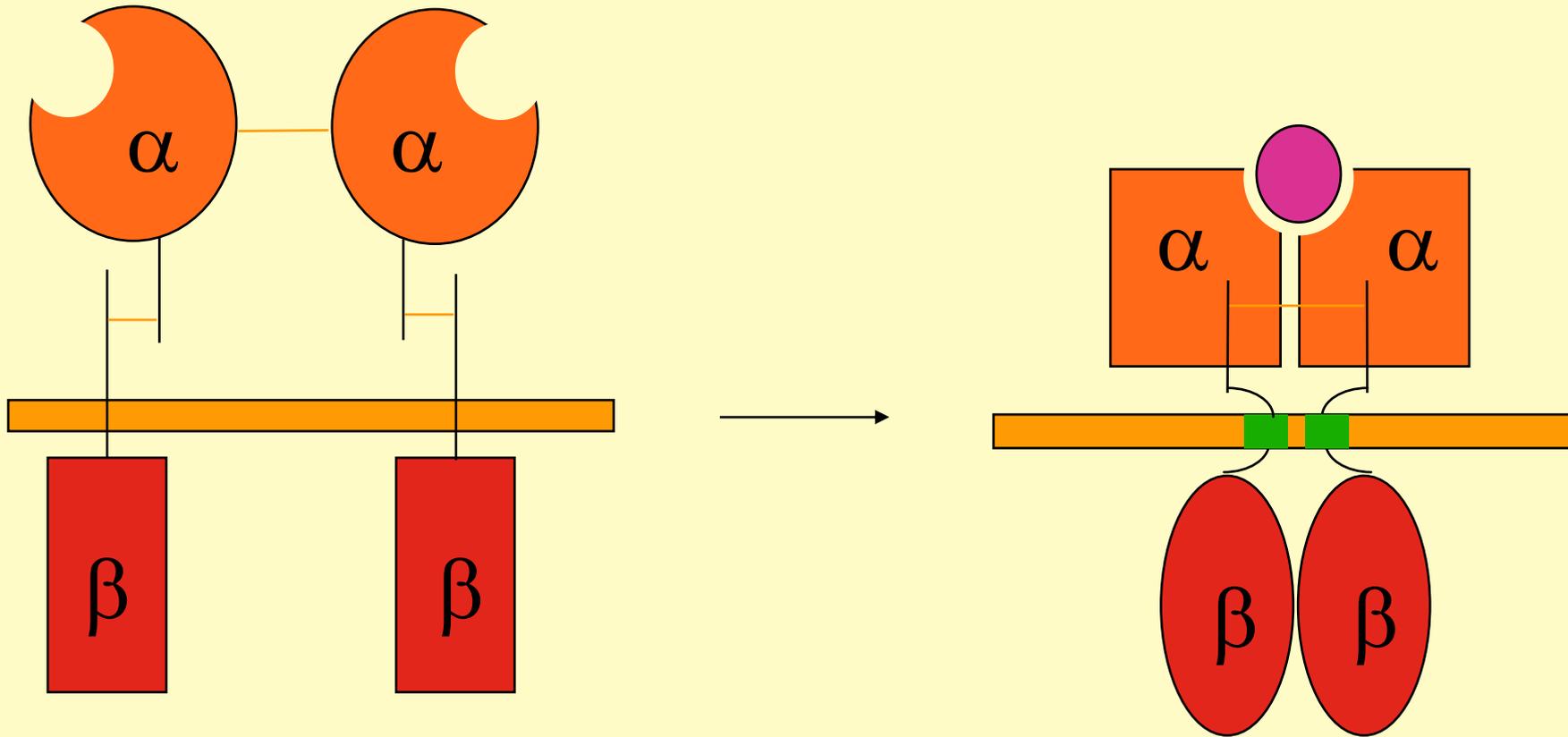
Comme le montre la mutagenèse dirigée, plusieurs courtes séquences des domaines L1 et L2 sont importantes pour la liaison de l'insuline



# Structure tridimensionnelle du domaine de liaison de IGF1R



# Activation par dimérisation du récepteur de l'insuline



La dimérisation est un processus essentiel pour la liaison du ligand participe à l'activation de la tyrosine kinase  
L'utilisation d'anticorps anti-récepteurs démontre le rôle de la dimérisation

# Structure du domaine tyrosine kinase

Site régulateur 1158Y-X-X-X-Y-Y1163

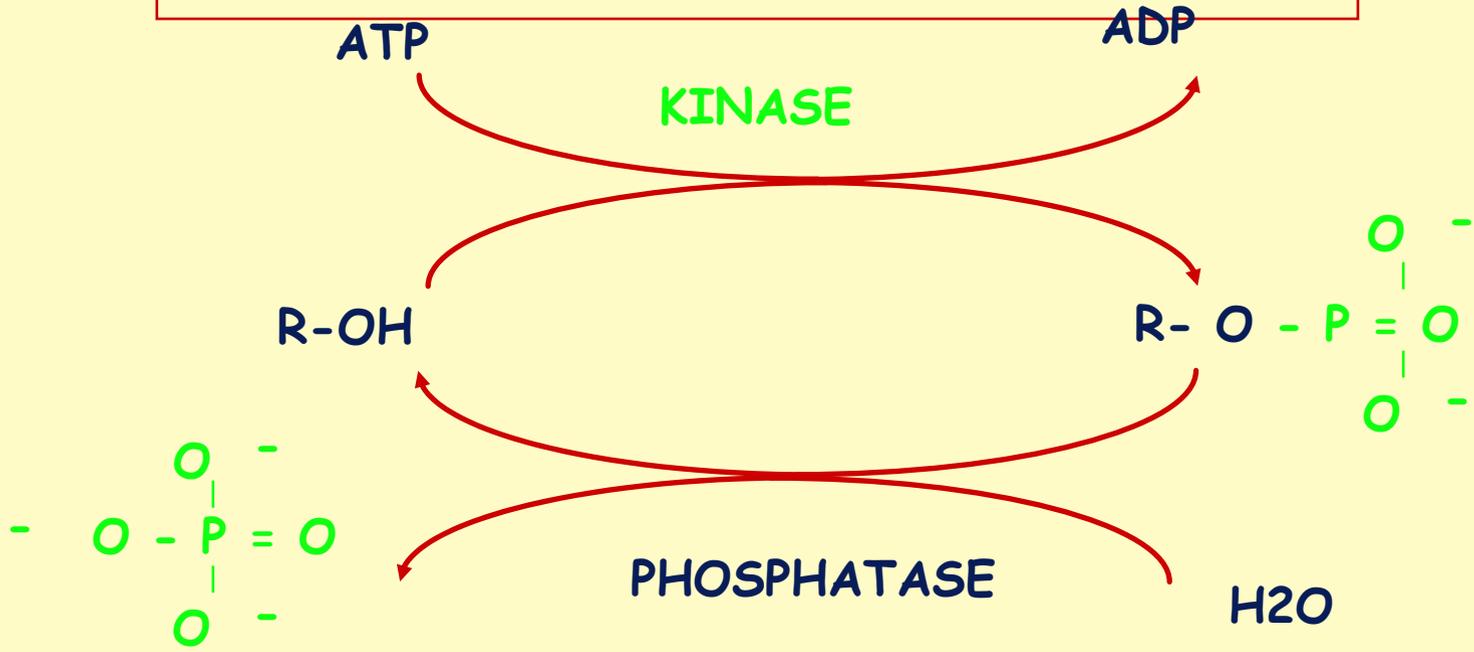


Site de liaison de l'ATP :  
1003G-X-G-X-X-G ...K1030

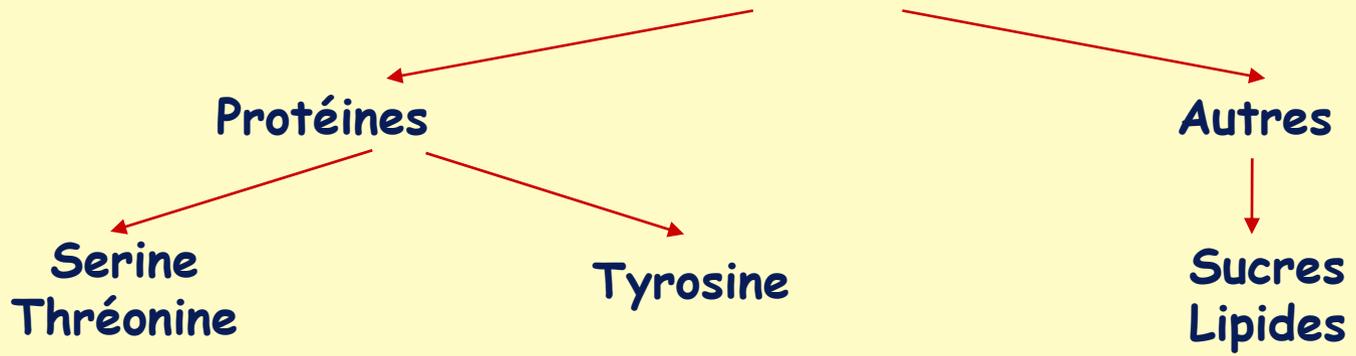
Site catalytique

1131R-D-L-A-A-R-N1137 et 1172P-V-R-M-H-A-P-E1179

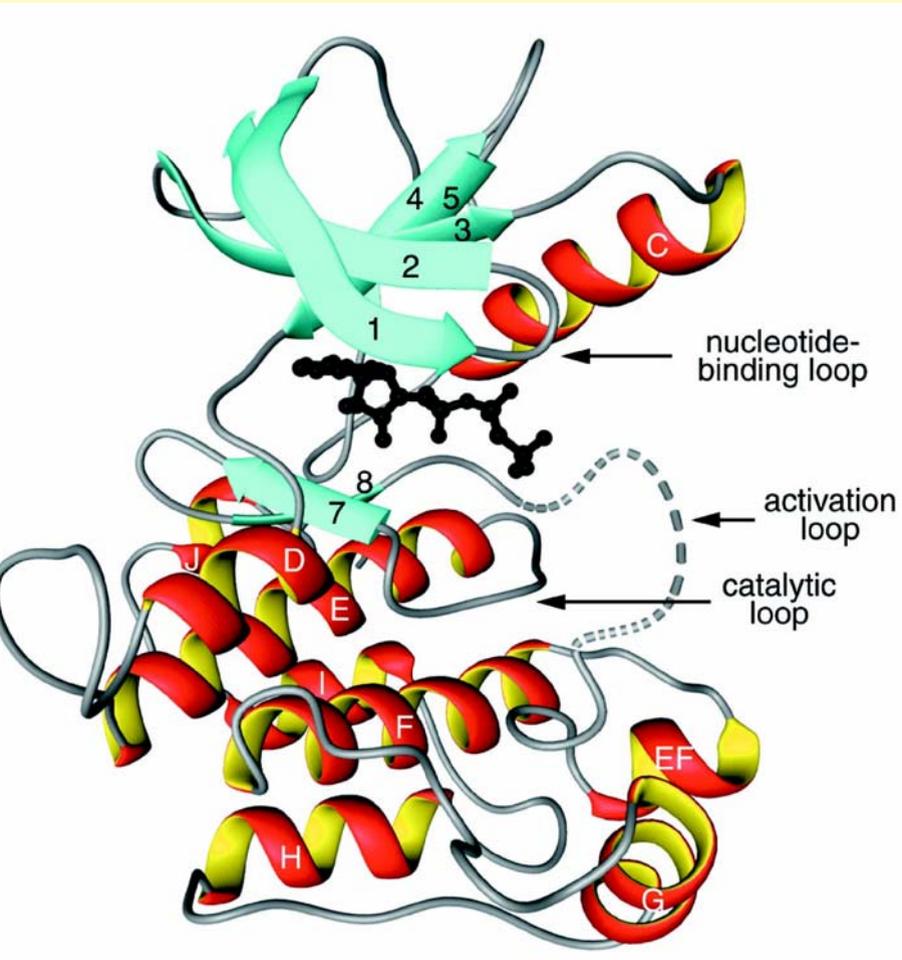
# PHOSPHORYLATIONS CELLULAIRES



## Kinases et Phosphatases

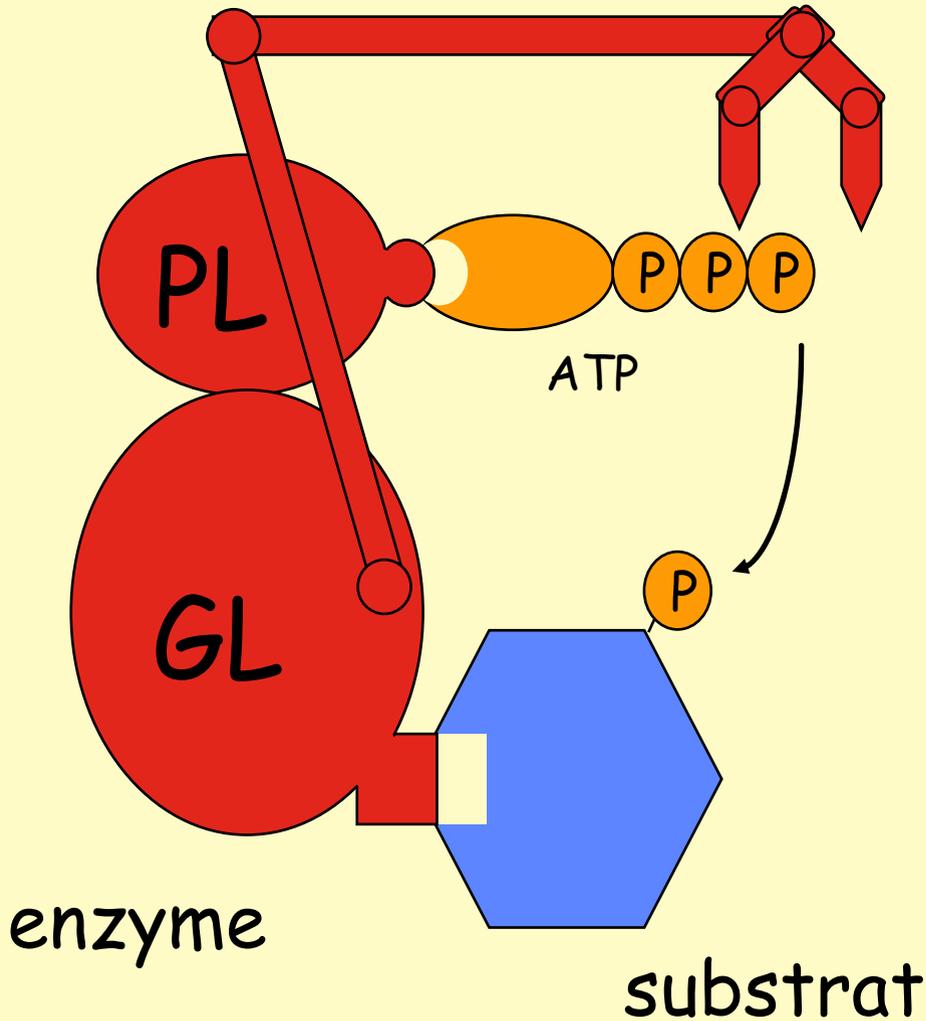


# Structure tridimensionnelle de la TK



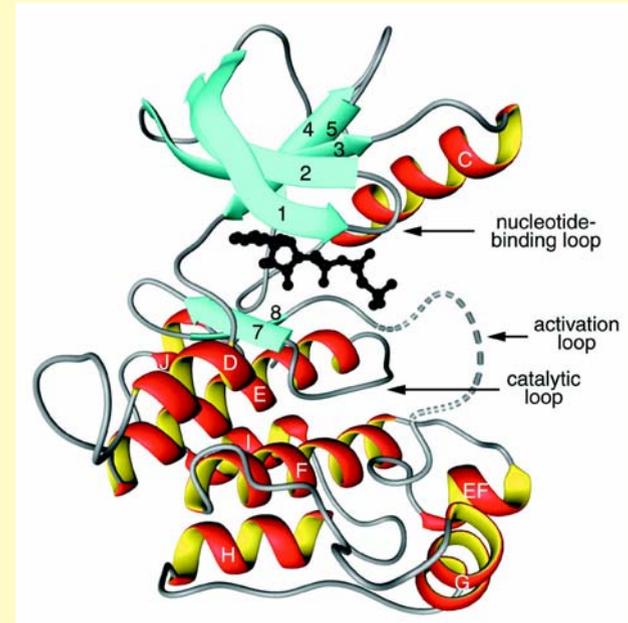
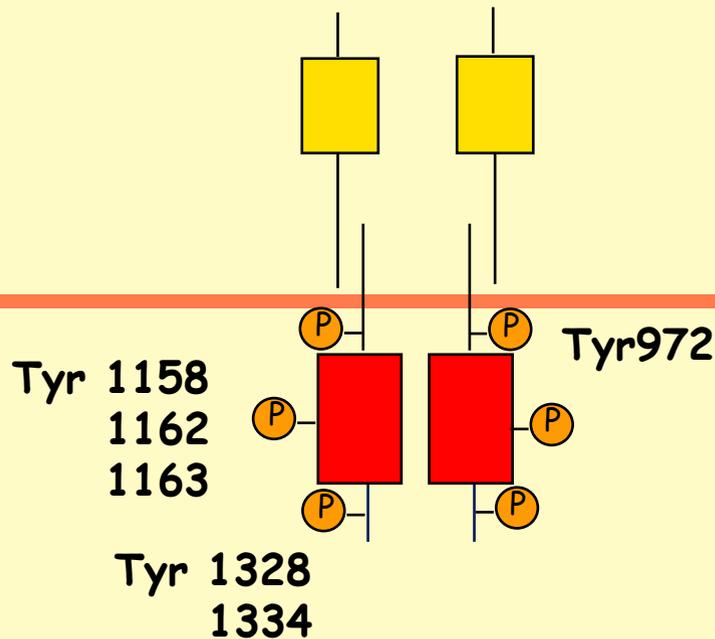
- 2 lobes : petit lobe = feuilletés  $\beta$   
grand lobe = hélices  $\alpha$
- site de liaison de l'ATP =  
boucle sur petit lobe (PL)
- site catalytique =  
2 boucles sur le grand lobe (GL)
- site régulateur =  
boucle devant le site catalytique

# Fonction tyrosine kinase



- Essentielle pour la signalisation :  
Mutations --> Pas de signalisation
- Activation de l'enzyme :  
liaison du ligand  
--> changement de conformation  
de la chaîne  $\alpha$  puis  $\beta$

# Autophosphorylation du récepteur de l'insuline



Seules certaines tyrosines intracellulaires sont phosphorylées

Les tyrosines sont phosphorylées spécifiquement par la TK du récepteur mais il s'agit d'une transphosphorylation plutôt qu'une autophosphorylation.

Les rôles de ces tyrosines phosphorylées sont

- \* d'activer la tyrosine kinase par démasquage du site catalytique
- \* de servir de site d'ancrage du substrat (protéine à domaine SH2).

# Protéines de signalisation à domaines SH2

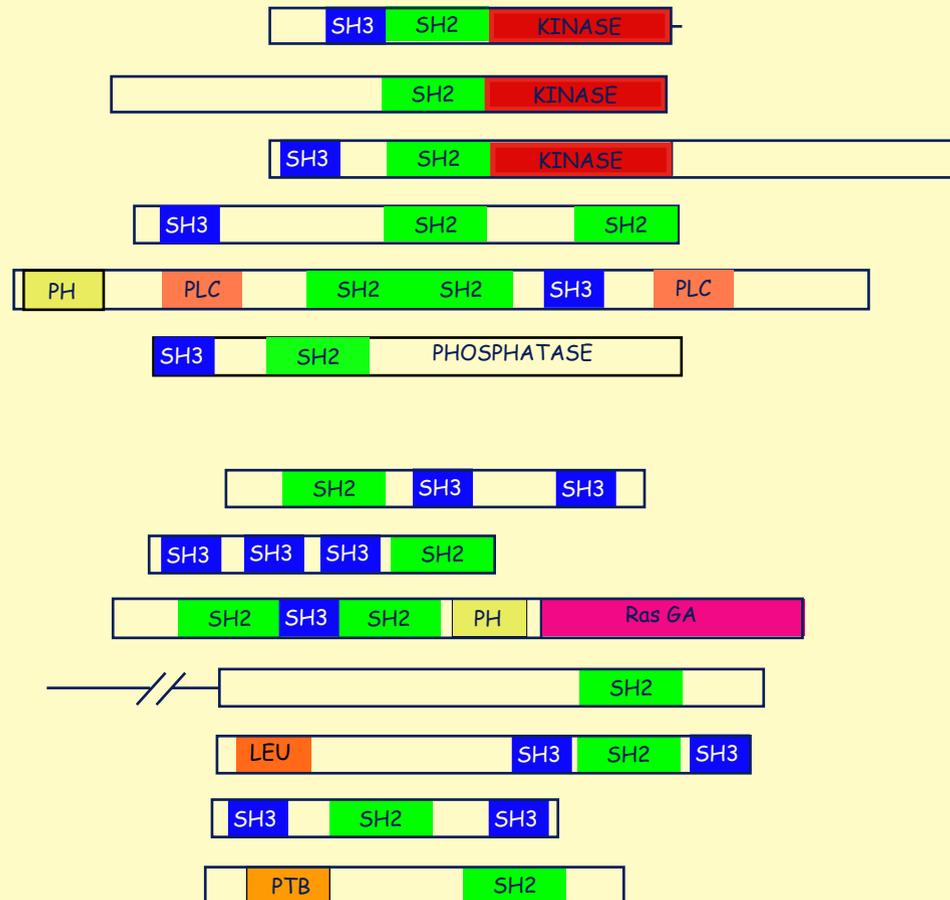
- Domaine SH2 :
- Src homologue 2
  - Oncogène Src-tyrosine kinase reconnaît spécifiquement des Tyr -P
  - d'autres domaines reconnaissant les Tyr-P identifiés depuis (PTB etc...)

## Enzymes

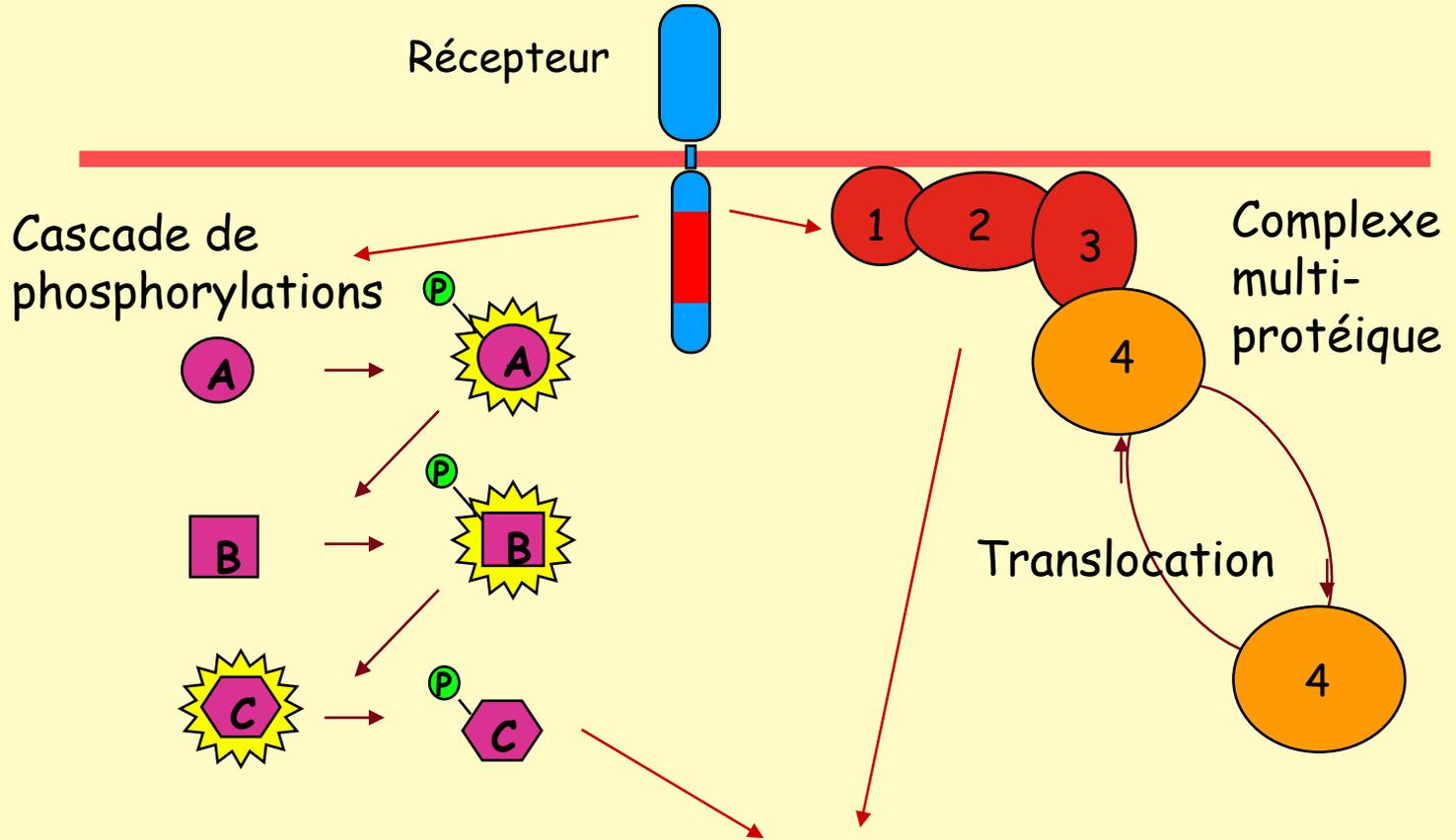
Src  
Fps  
Abl  
p85 - PI3K  
PLC $\gamma$   
PTP1C (Syp)

## Adapteurs

v-Crk  
Nck  
GAP  
Tensin  
Vav  
Grb2  
Shc

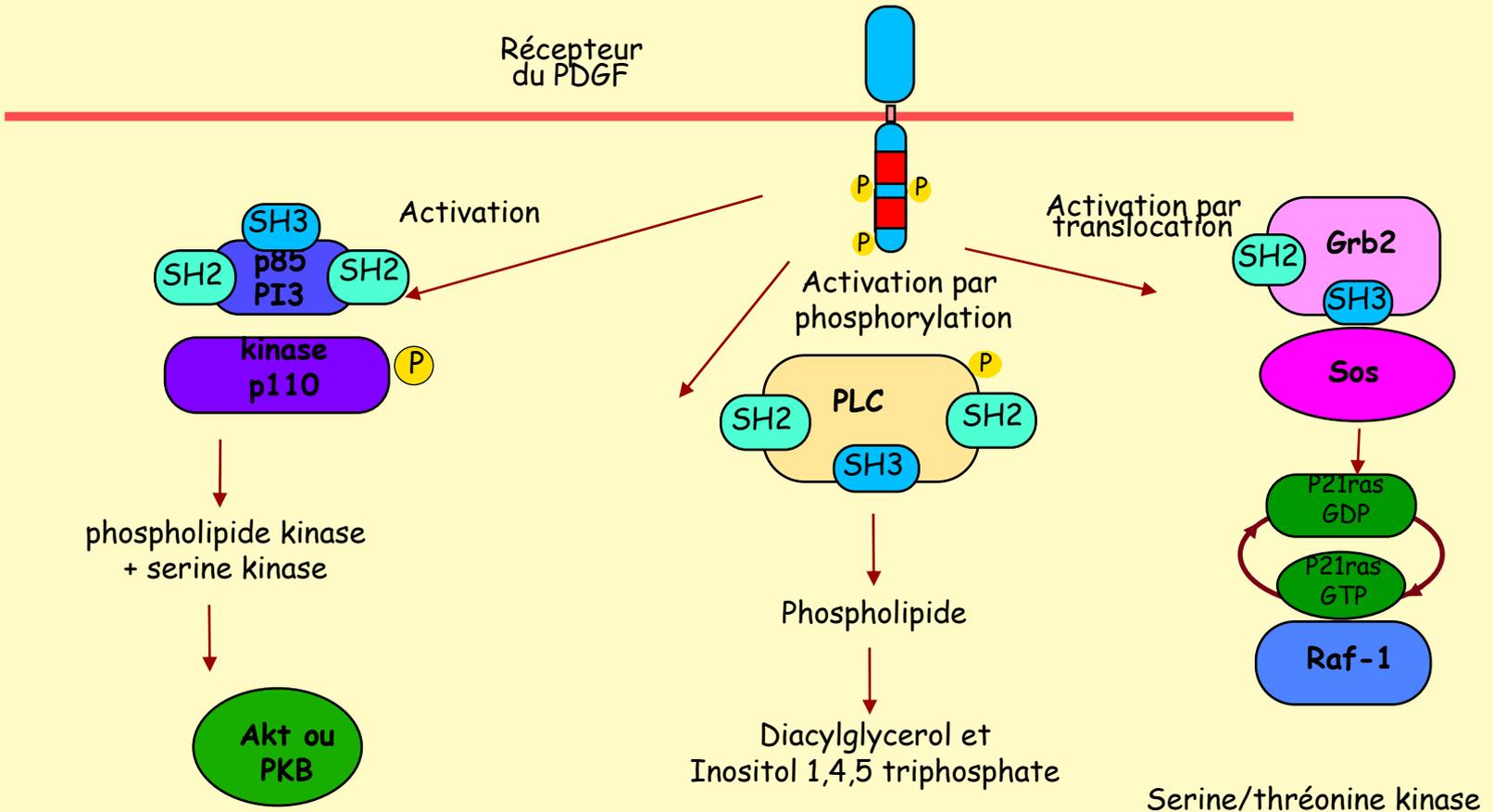


# LES GRANDS PRINCIPES DE LA SIGNALISATION CELLULAIRE



Modulation de facteurs transcriptionnels  
Modulation d'activités enzymatiques

# Premières étapes de la signalisation des récepteurs TK

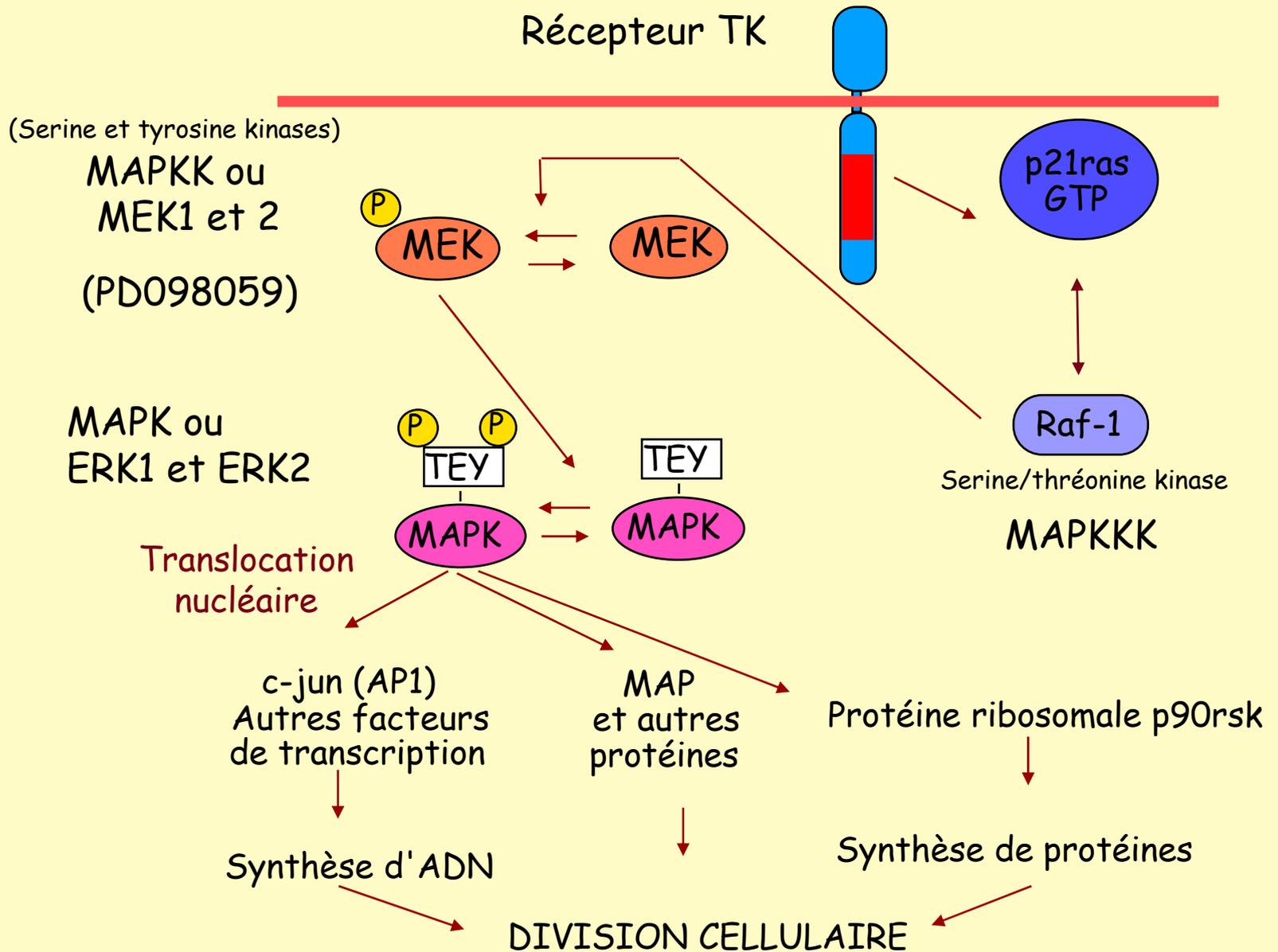


Etape 1 : Reconnaissance spécifique des protéines SH2

Etape 2 : Activation des protéines SH2 par phosphorylation ou translocation

Etape 3 : Génération de second messagers de petits poids moléculaires ou protéiques.

# La cascade des MAP kinases

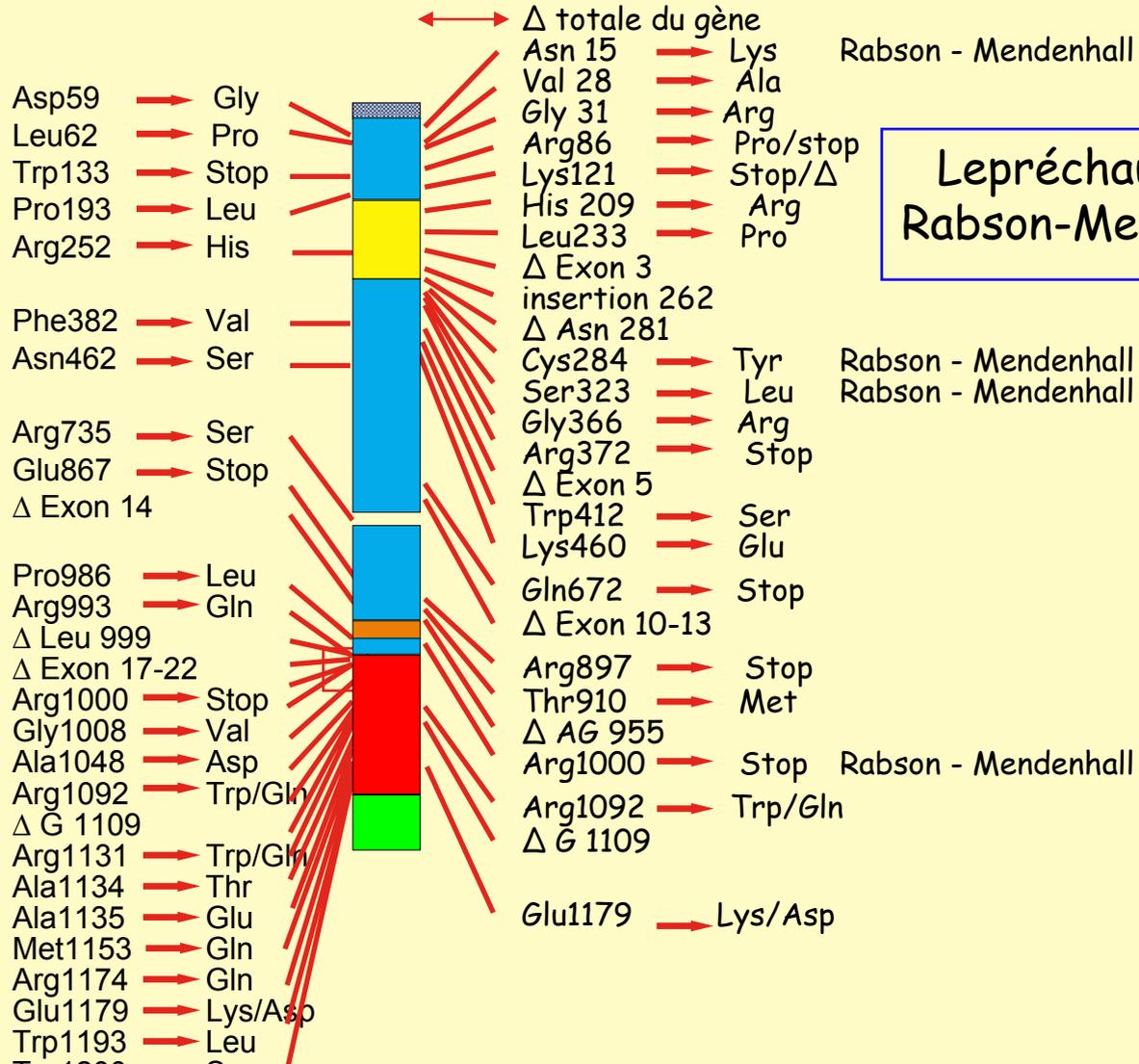


# Résistances extrêmes à l'insuline

	<b>Leprechaunisme</b>	<b>IR de Type A</b>	<b>Rabson - Medenhall</b>	<b>Diabète lipoatrophique</b>
<b>Clinique</b>	Malformations de la face et des membres Retard de développement Hirsutisme	Hyperandrogénie Acanthosis nigricans	Malformations Retard de développement Hyperplasie des surrénales	Atrophie du tissu adipeux sous-cutané Hepatomegalie
<b>Biologie</b>	Résistance à l'insuline	Résistance à l'insuline	Résistance à l'insuline	R. à l'insuline Diabète Anomalies lipidiques
<b>Anomalies du récepteur de l'insuline</b>	Quantitatives Liaison	Quantitatives Liaison Tyrosine kinase	Quantitatives Liaison	Tyrosine kinase

# Mutations du récepteur de l'insuline et résistances extrêmes à l'insuline

Insulino-résistance de type A



Lepréchaunisme  
Rabson-Mendenhall

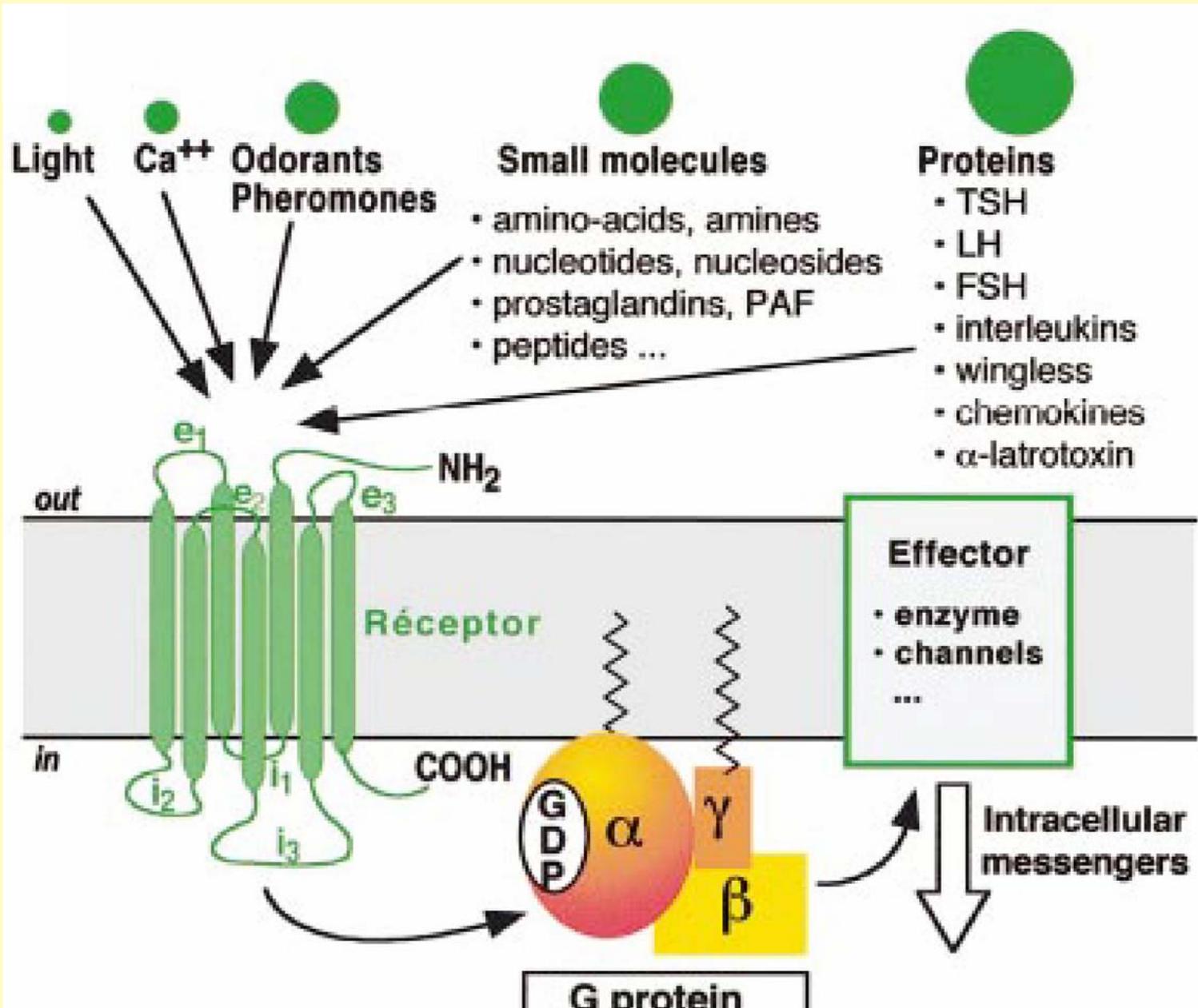
# RÉCEPTEURS COUPLÉS AUX PROTÉINES G

- ✓ Structure des RCPG
- ✓ Liaison du ligand
- ✓ Activation du récepteur
- ✓ Couplage aux protéines G
- ✓ Les protéines G
- ✓ Les effecteurs et leurs seconds messagers
  - adenylyl cyclase
  - phospholipase C

# LES SYSTÈMES DE SIGNALISATION CELLULAIRE

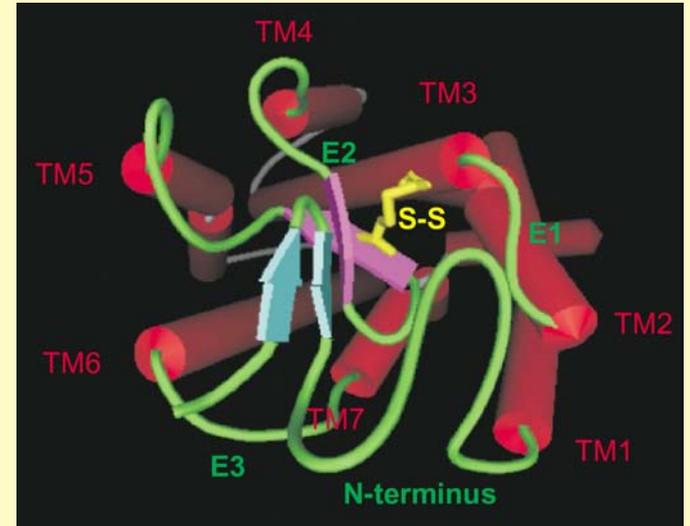
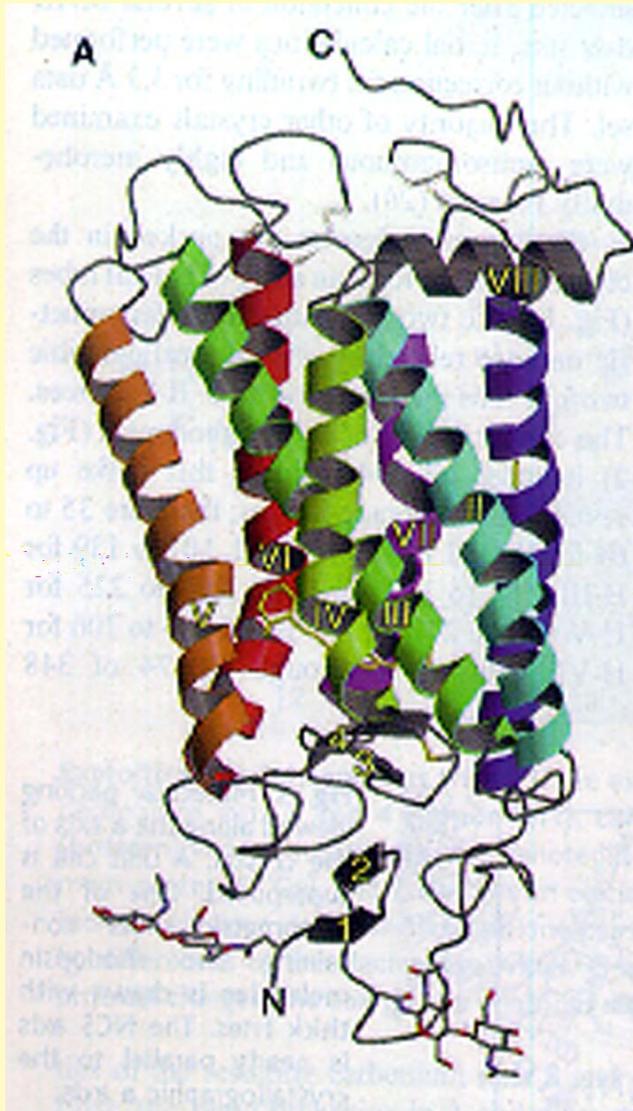
- I. Les RCPGs font partie d'un système de signalisation à 3 modules
  - ✓ Le récepteur à 7 DTM ou serpentins
  - ✓ La protéine G
  - ✓ L'effecteur
  
- II. Les RCPGs appartiennent à une grande famille de gènes
  - ✓ 5% du génome chez *C. elegans* (1100 GPCRs)
  - ✓ 500 à 1000 membres chez l'homme
  - ✓ Protozoaire, plantes, levure, champignons etc...
  - ✓ 50 à 60% des médicaments actuels ciblent les RCPGs
  - ✓ Nombreuses maladies.

# Le système de signalisation membranaire « RCPG »

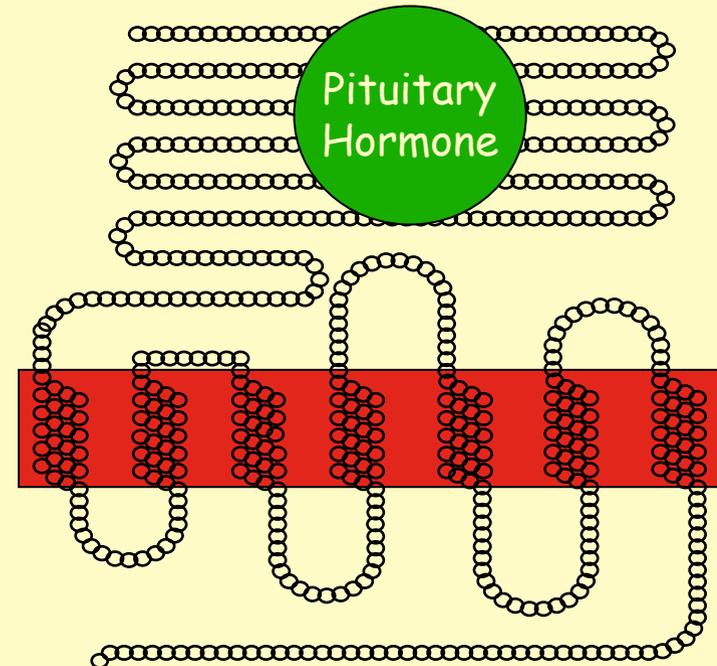
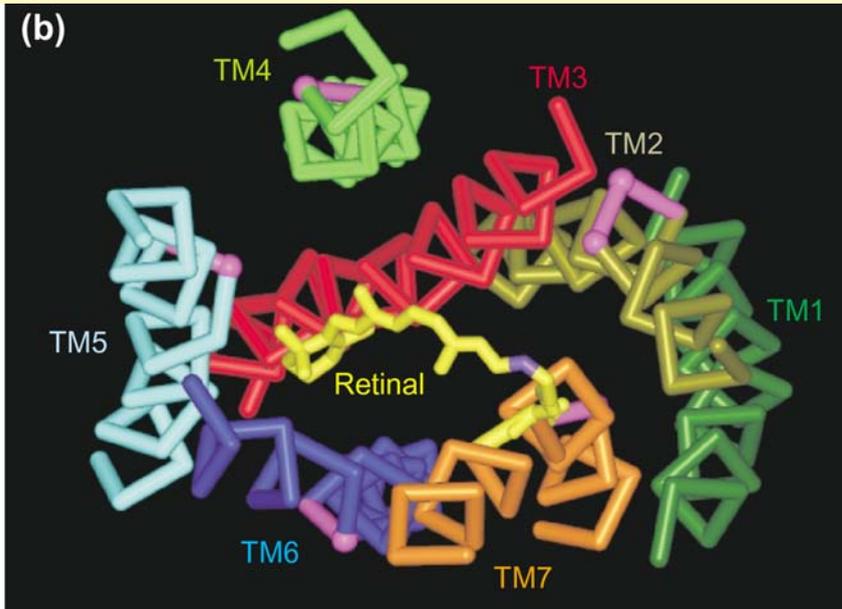
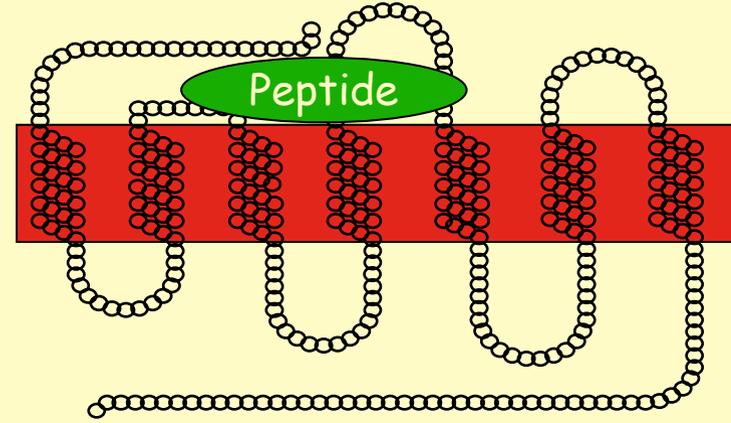
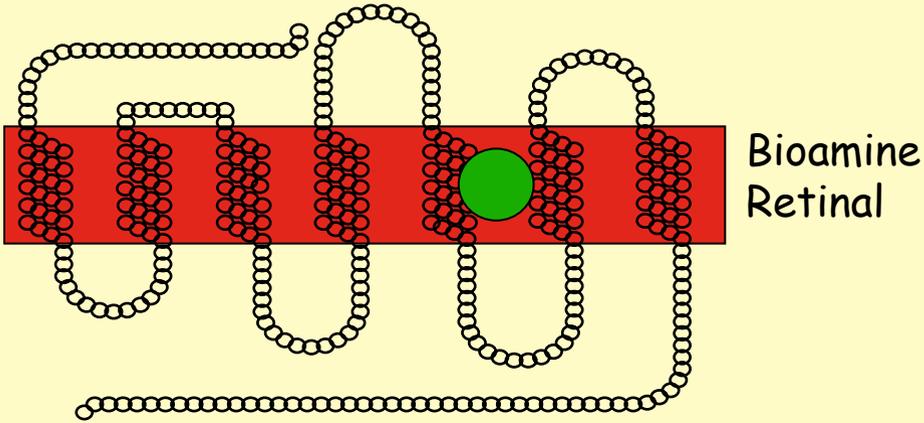




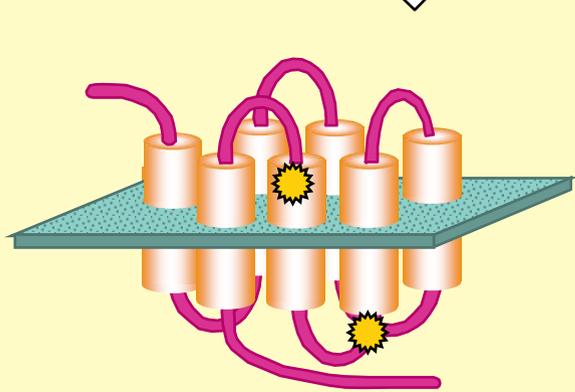
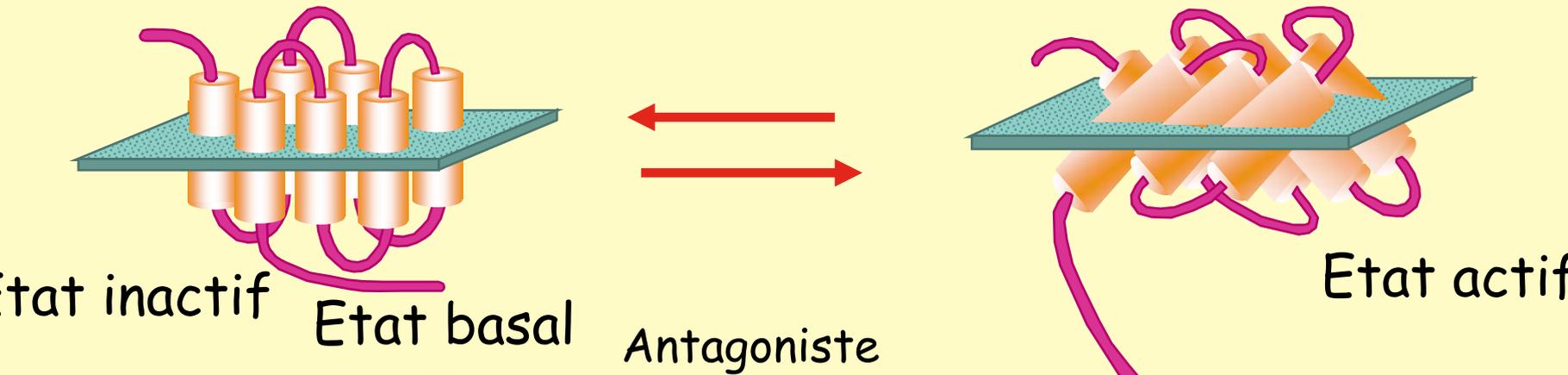
# STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA RHODOPSINE



# Site de liaison des ligands

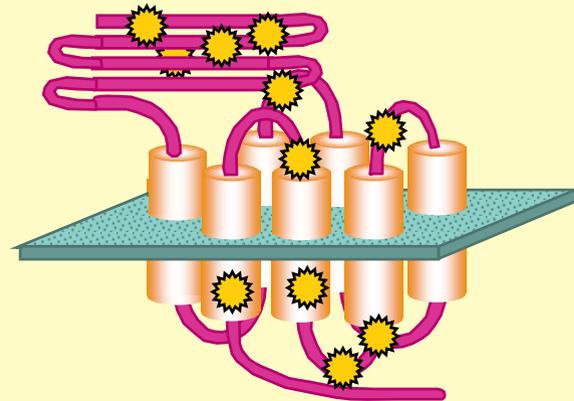


# Activation des récepteurs couplés aux protéines G



$\alpha 1B$ -adrénergique

Mutagénèse dirigée  
Hypertrophie cardiaque chez  
la souris transgénique

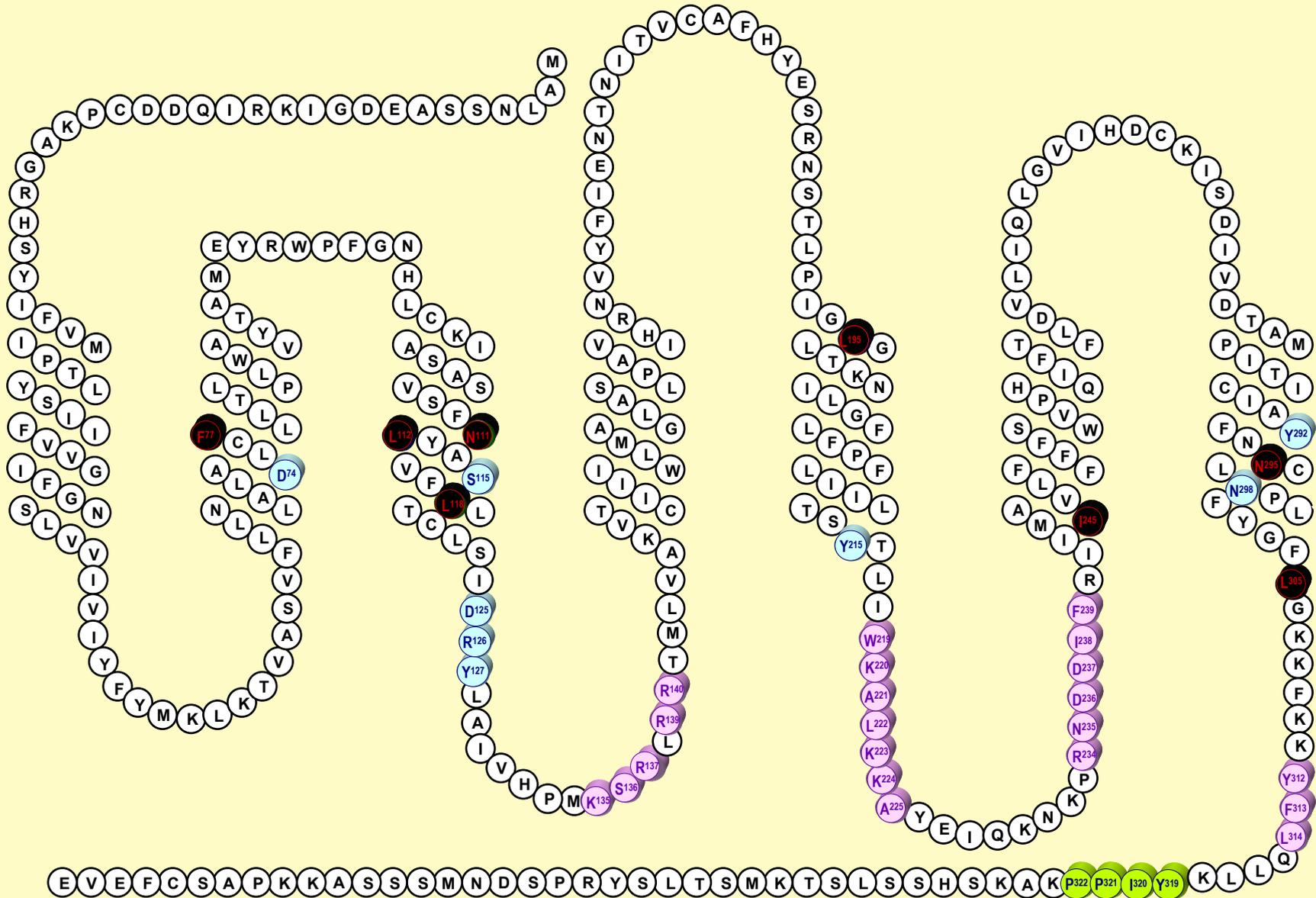


TSH adénome toxique thyroïdien

LH puberté précoce

PTH chondrodysplasie

# Séquences impliquées dans le couplage aux protéines G



# Protéines G et effecteurs

## Biogenic amines

Adrenaline, noradrenaline, dopamine, histamine, acetylcholine

## Amino acids and ions

Glutamate,  $Ca^{2+}$ , GABA

## Lipids

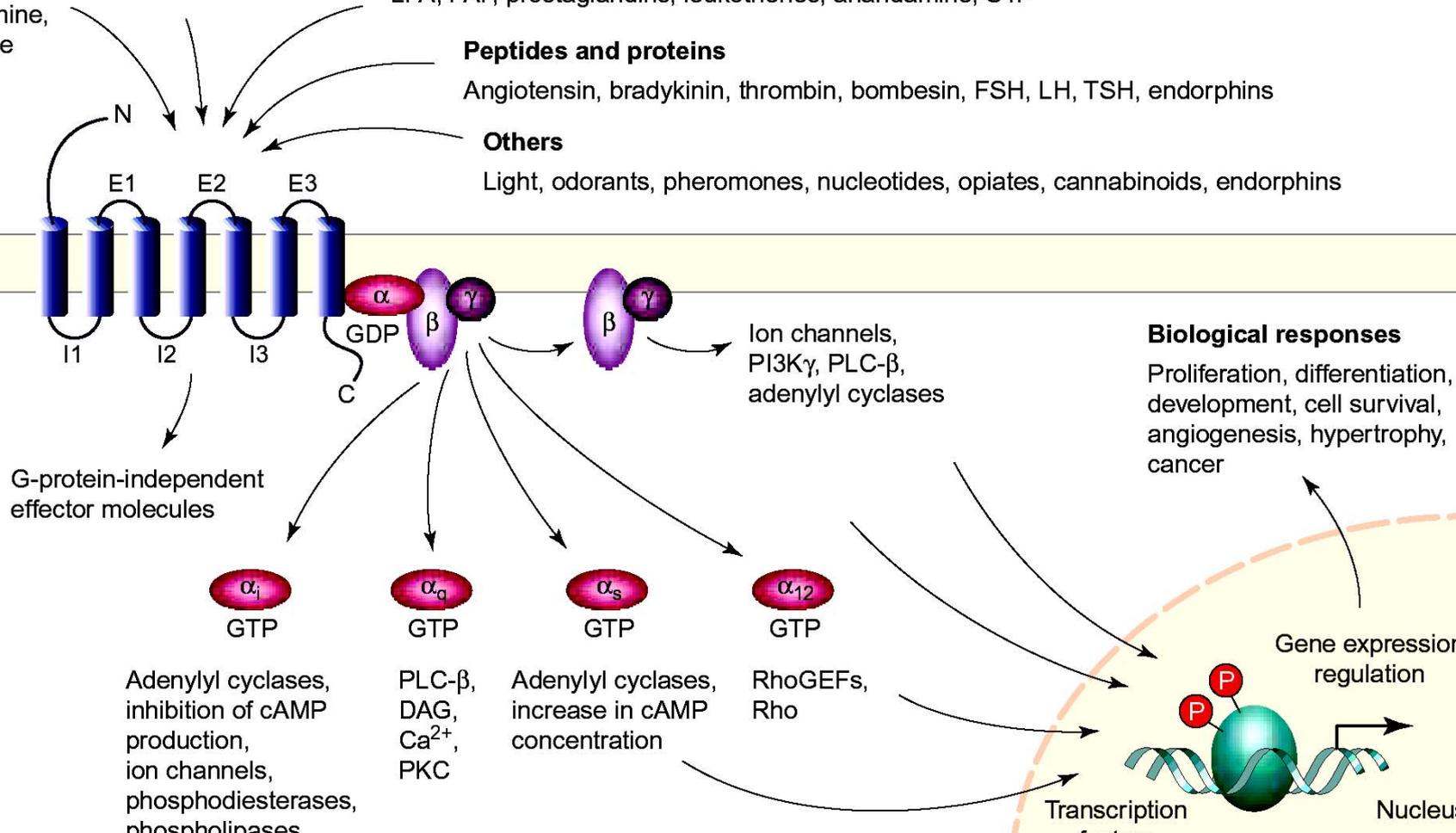
LPA, PAF, prostaglandins, leukotrienes, anandamine, S1P

## Peptides and proteins

Angiotensin, bradykinin, thrombin, bombesin, FSH, LH, TSH, endorphins

## Others

Light, odorants, pheromones, nucleotides, opiates, cannabinoids, endorphins



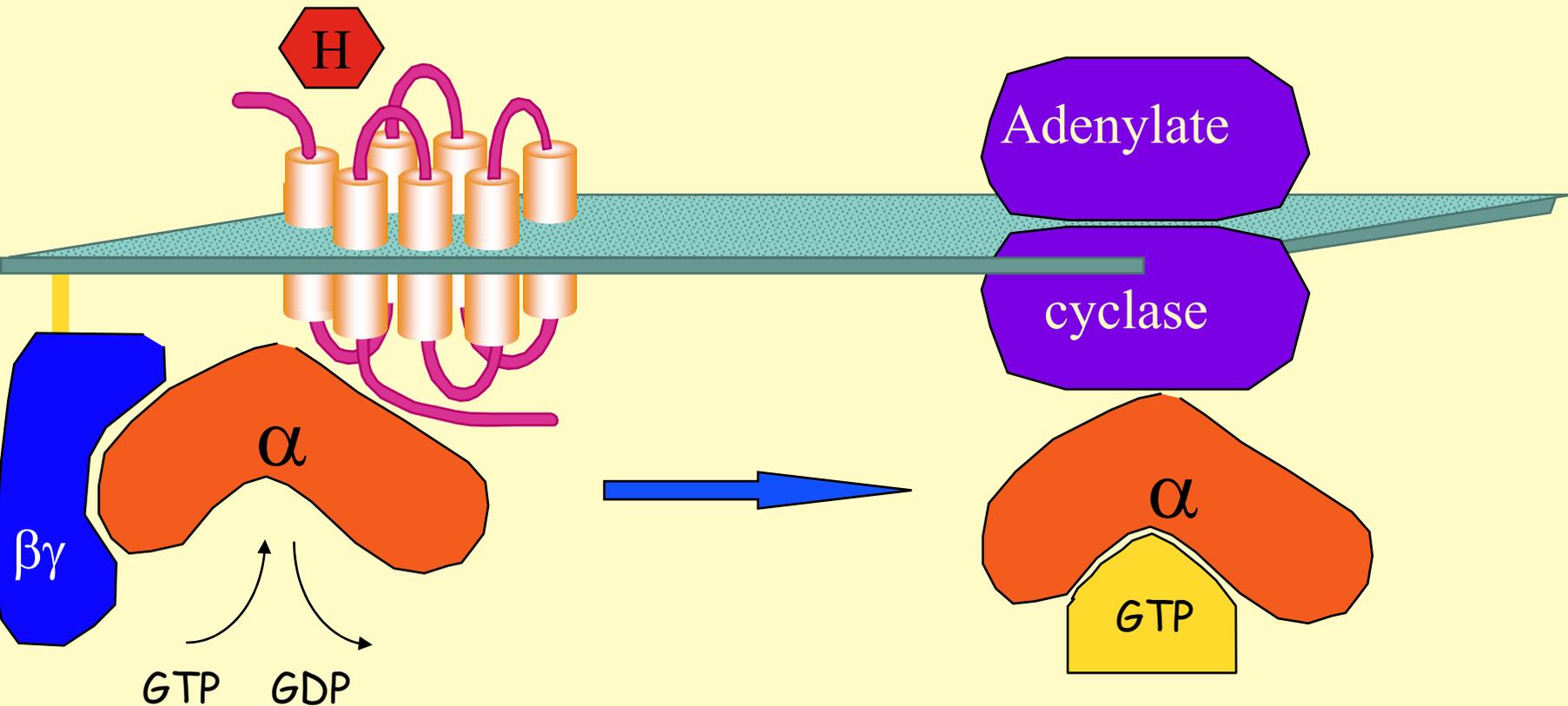
## Biological responses

Proliferation, differentiation, development, cell survival, angiogenesis, hypertrophy, cancer

## Gene expression regulation

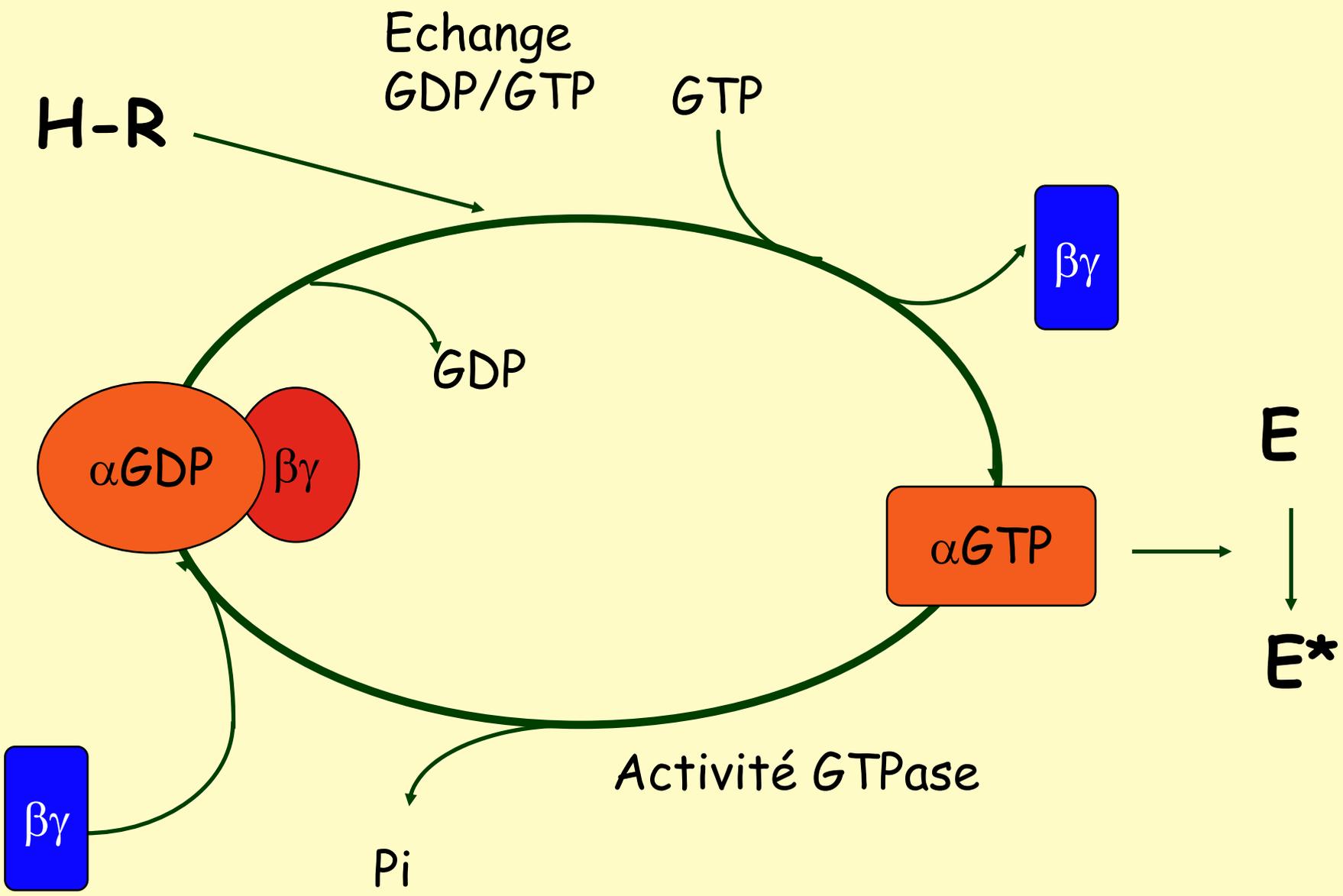
Transcription Nucleus

# FONCTIONNEMENT DES PROTÉINES G



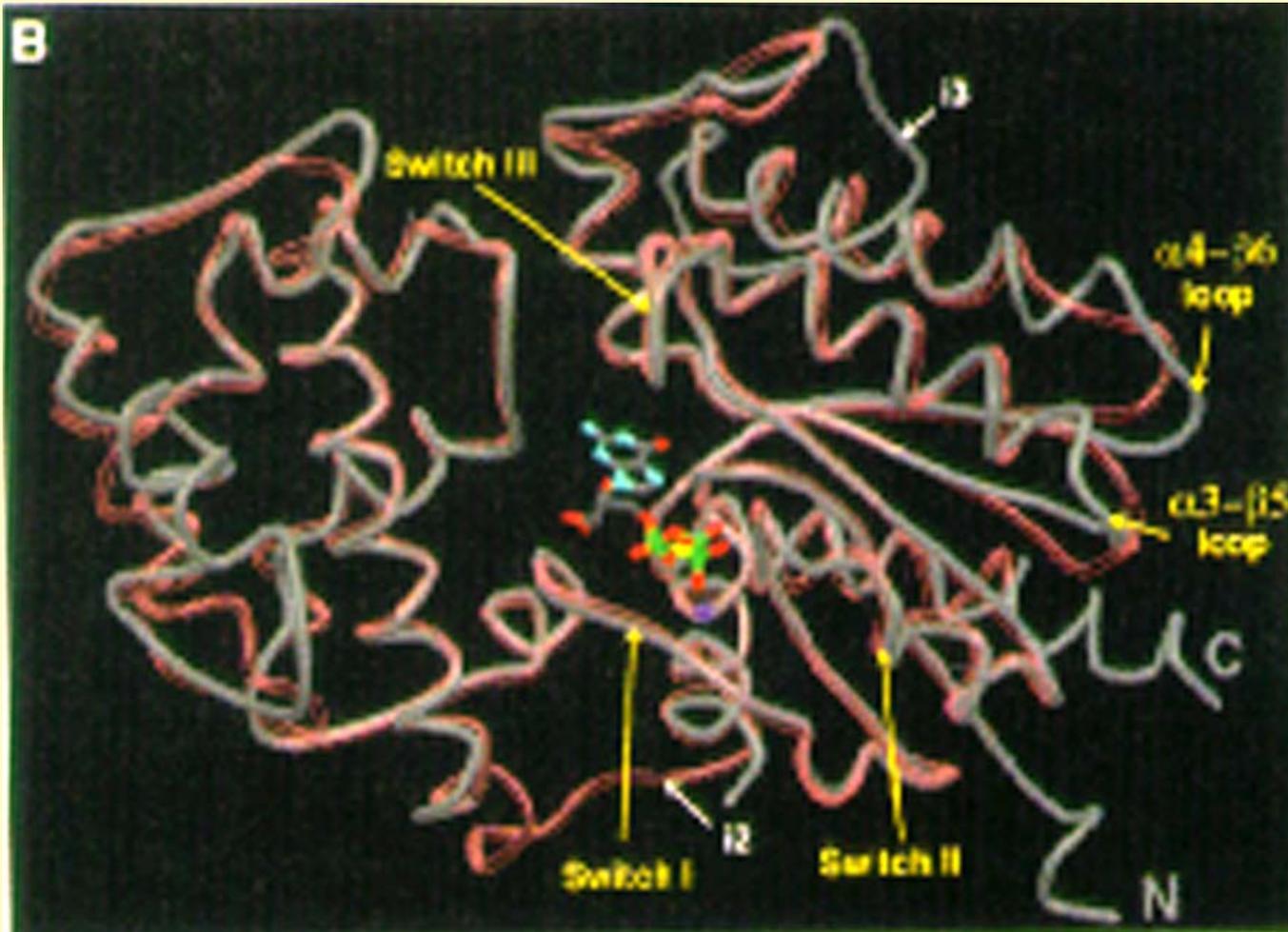
- $G\alpha$  joue le rôle essentiel :
- liaison du nucléotide
  - activation --> échange GDP/GTP
  - activité enzymatique GTPase

# Le cycle de la protéine G



# Structure tridimensionnelle de la protéine $G\alpha$

Effecteur



Récepteur

Chaînes  $\beta\gamma$

# Diversité des chaînes $G\alpha$ , $G\beta$ et $G\gamma$

## Chaîne $G\alpha$ (20)

Soluble ou membranaire, 39 à 46kDa

<b><math>G_s</math></b> :	$\alpha S1, \alpha S2$	ubiquitaires
	$\alpha L1, \alpha L2$	ubiquitaires
	$\alpha olf$	olfactif
<b><math>G_i</math></b> :	$\alpha i1, \alpha i2, \alpha i3$	ubiquitaires
	$\alpha o1, \alpha o2$	cerveau
	$\alpha t1, \alpha t2$	rétine
	$\alpha g$	gout
	$\alpha z$	cerveau
<b><math>G_q</math></b> :	$\alpha q$	ubiquitaire
	$\alpha 11$	ubiquitaire
	$\alpha 14$	poumon, rein, foie
	$\alpha 16$	globules blancs
<b><math>G_{12}</math></b> :	$\alpha 12, \alpha 13$	ubiquitaires

## Chaîne $G\beta$

Soluble, 35 à 36kDa

5 gènes :  $G\beta 1-5$

Presque ubiquitaires

## Chaîne $G\gamma$

Membranaire

Associée à  $G\beta$

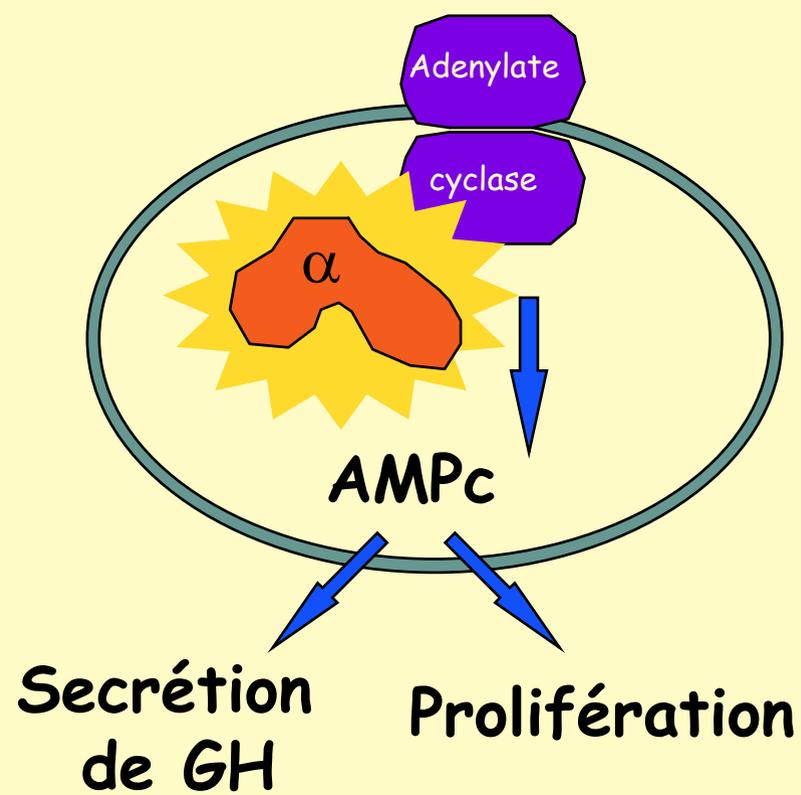
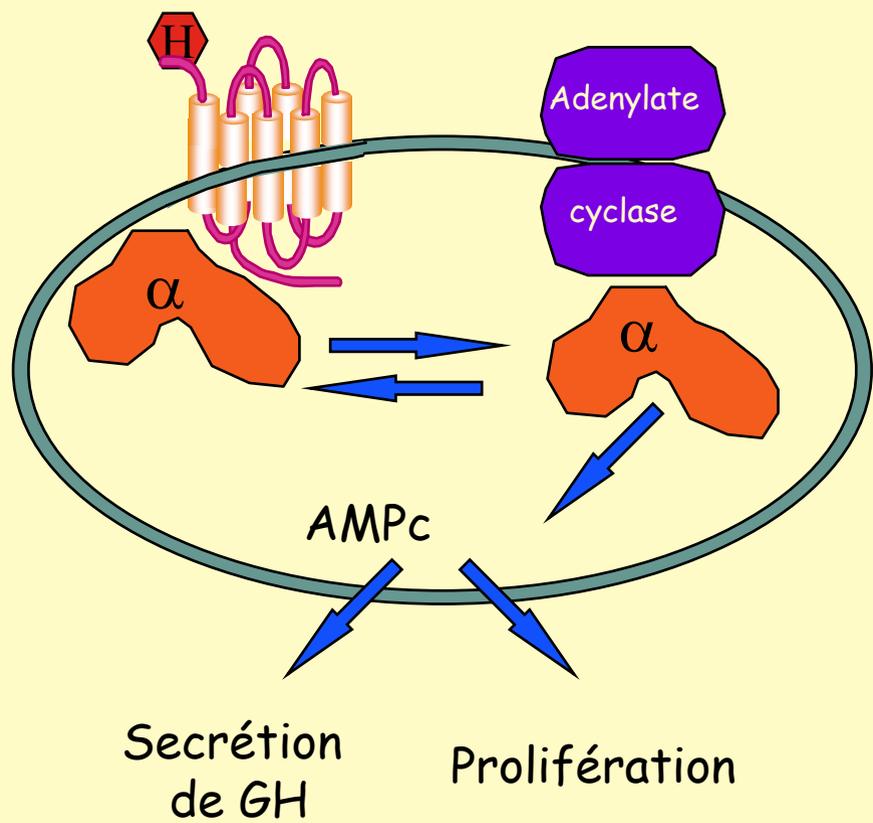
12 gènes :  $G\gamma 1-12$

Tissu-spécifiques

# MUTATIONS DES PROTEINES G

> Activation constitutive de  $Gs\alpha$  (mutation de la GTPase)

Protéine G du récepteur GRF --> Activation non régulée --> hypersecrétion de GH et tumeur. Acromégalie = tumeur à GH

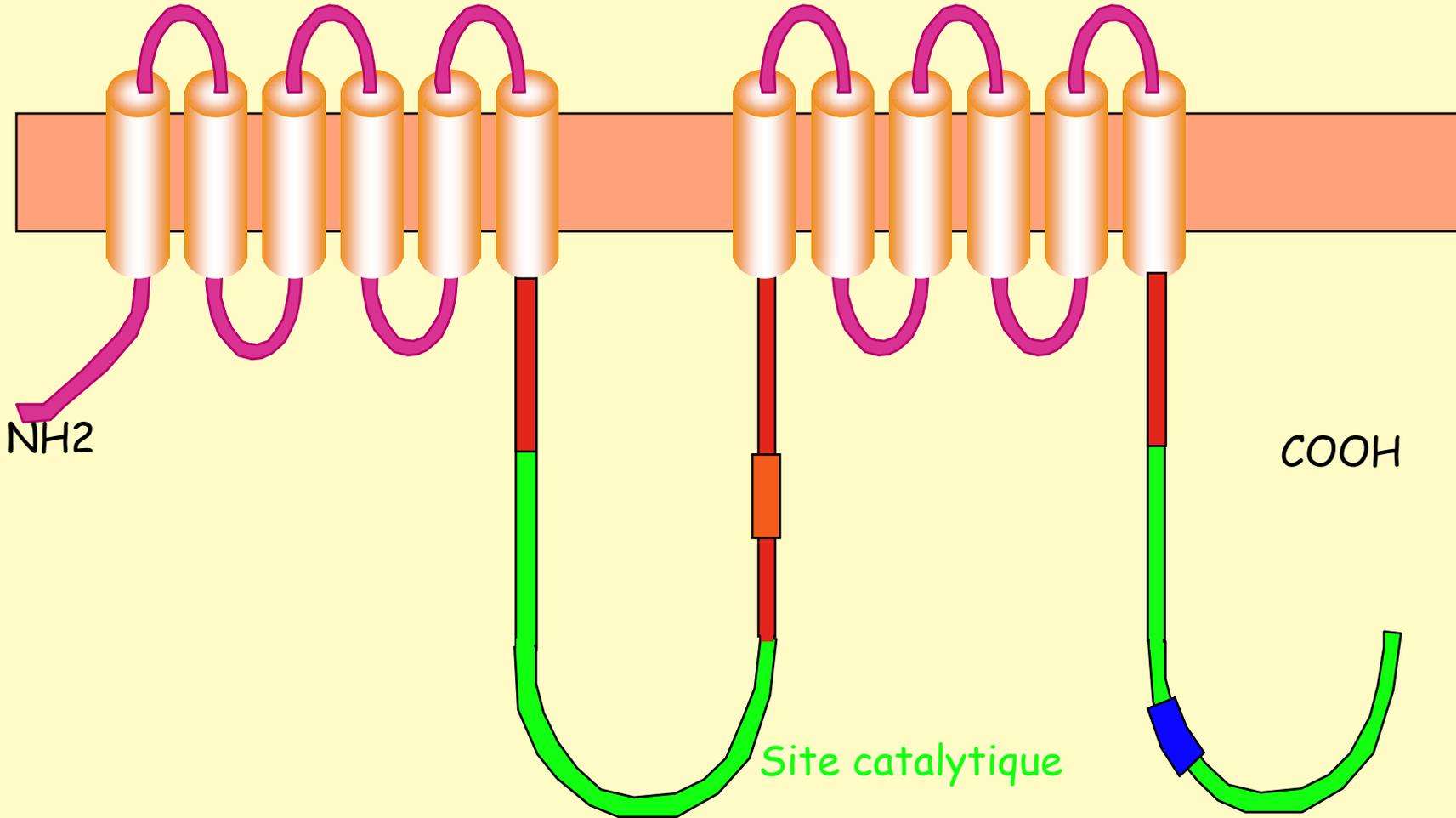


Acromégalie

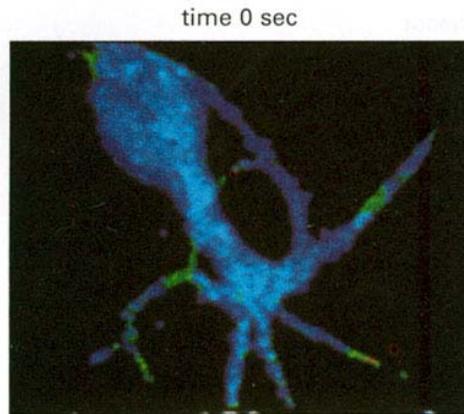
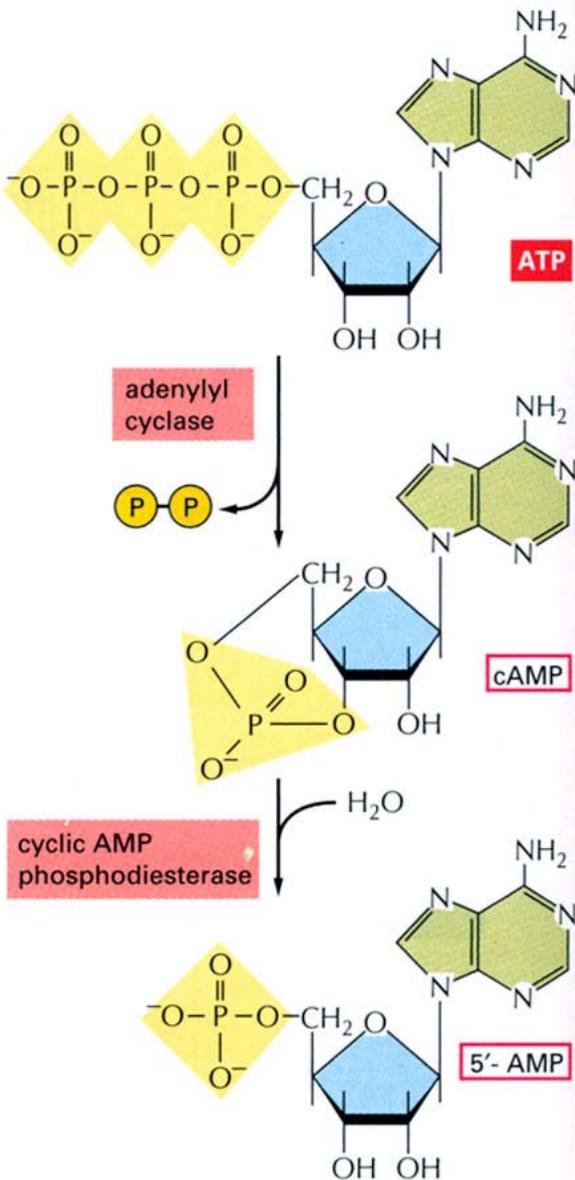
# Les effecteurs des protéines G

Subunit Family	Signaling
G <sub>sα</sub>	<ol style="list-style-type: none"><li>(1) Activation of adenylyl cyclases</li></ol>
G <sub>iα</sub>	<ol style="list-style-type: none"><li>(1) Inhibition of adenylyl cyclases</li><li>(2) Activation of PI3K<sub>γ</sub></li><li>(3) Activation of the Ca<sup>2+</sup> permeable cation channel CD20</li><li>(4) Activation of a voltage-independent Ca<sup>2+</sup> channel in erythroid precursors</li></ol>
G <sub>qα</sub>	<ol style="list-style-type: none"><li>(1) Activation of PLCβ</li><li>(2) Activation of Btk</li></ol>
G <sub>12α</sub>	<ol style="list-style-type: none"><li>(1) Increase Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange</li><li>(2) Increased stress-activated protein kinase activity (G<sub>12α</sub> via a Ras-dependent pathway and G<sub>13α</sub> via a Ras-independent pathway)</li><li>(3) Induction of actin polymerization and focal adhesions (Rho dependent)</li><li>(4) Activation of early response genes and mitogenesis</li><li>(5) Induction of nitric oxide synthase</li></ol>
G <sub>βγ</sub>	<ol style="list-style-type: none"><li>(1) Activation of G protein-coupled receptor kinases</li><li>(2) Activation of PLCβ</li><li>(3) Activation of Src family tyrosine kinases</li><li>(4) Activation of ion channels (I<sub>KG</sub> and I<sub>Ca</sub>)</li><li>(5) Activation of PI3K</li></ol>

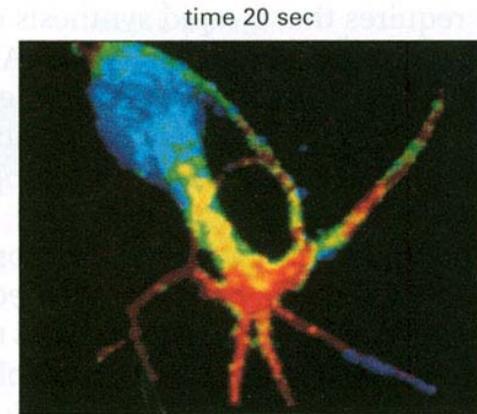
# STRUCTURE DES ADENYLYLCYCLASES



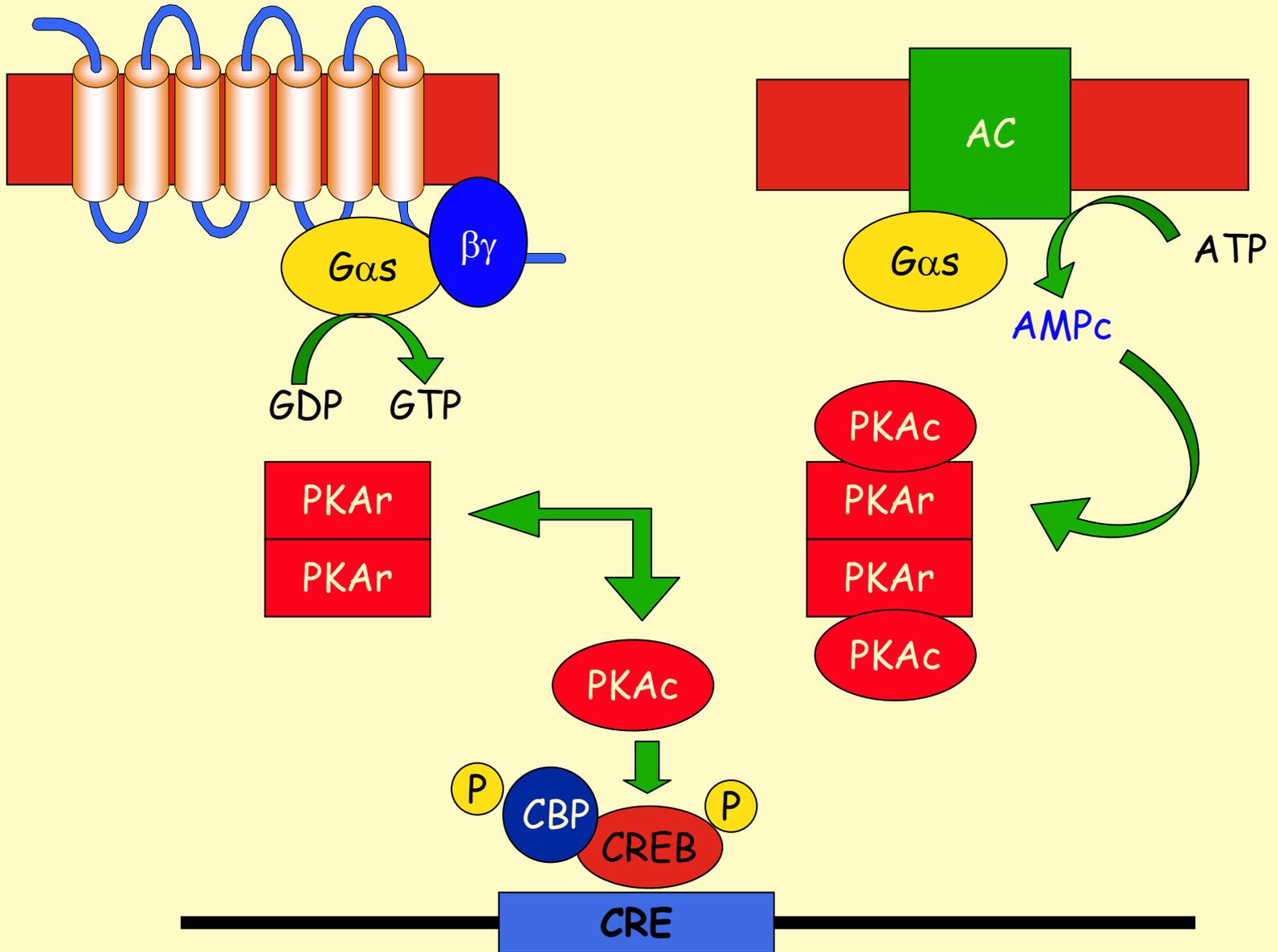
# Les adenylyl cyclases produisent de l'AMP cyclique



+ serotonin



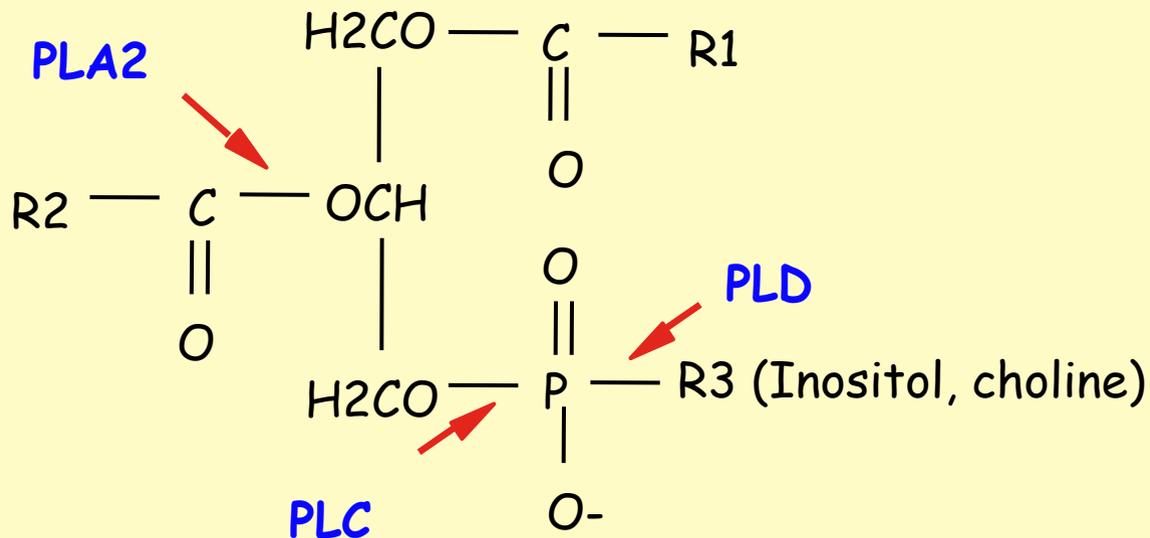
# L'activation de la protéine kinase par l'AMPc



# PHOSPHOLIPASES

Hydrolyse de phospholipides

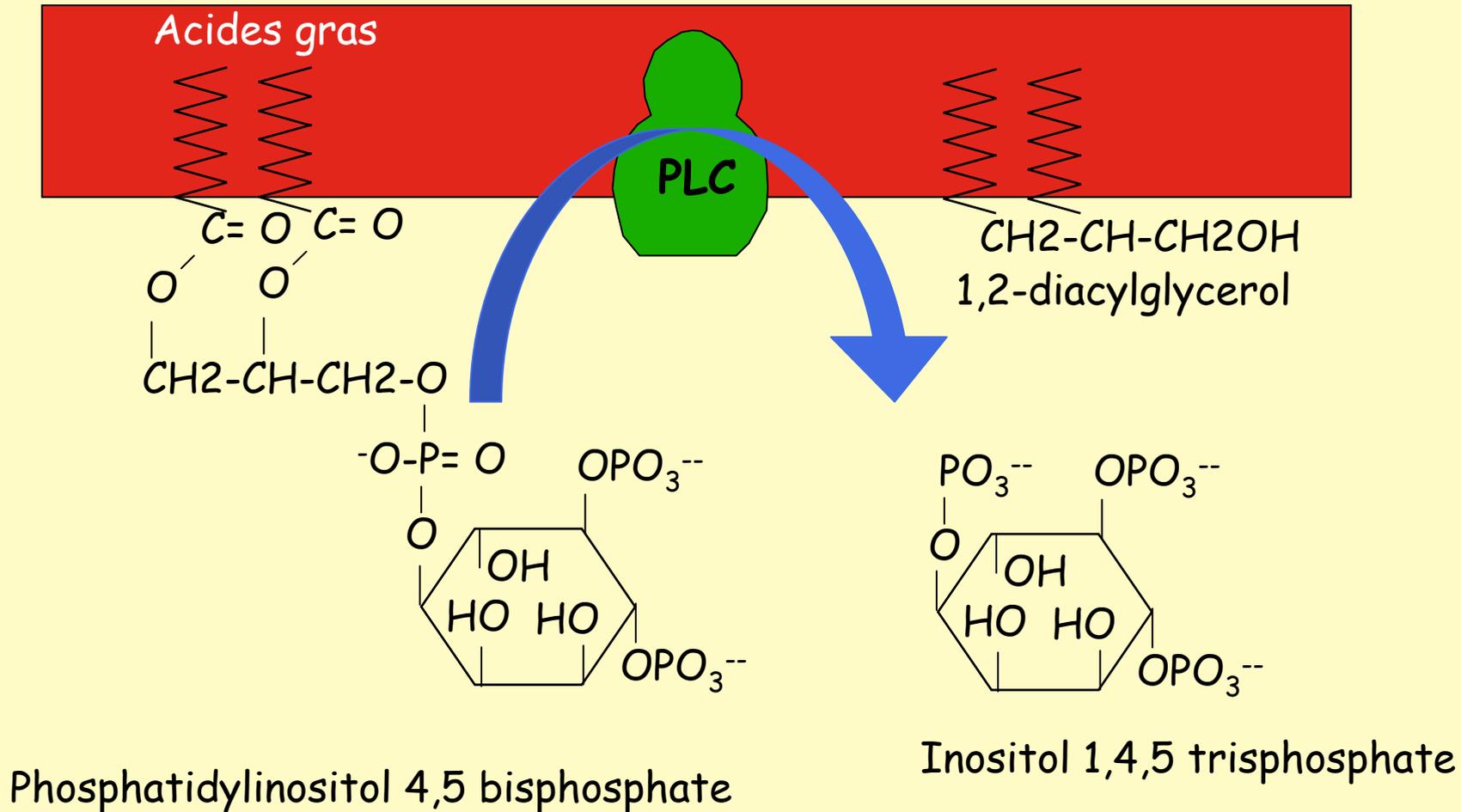
PLC --> site particulier distinct des PLA ou PLD



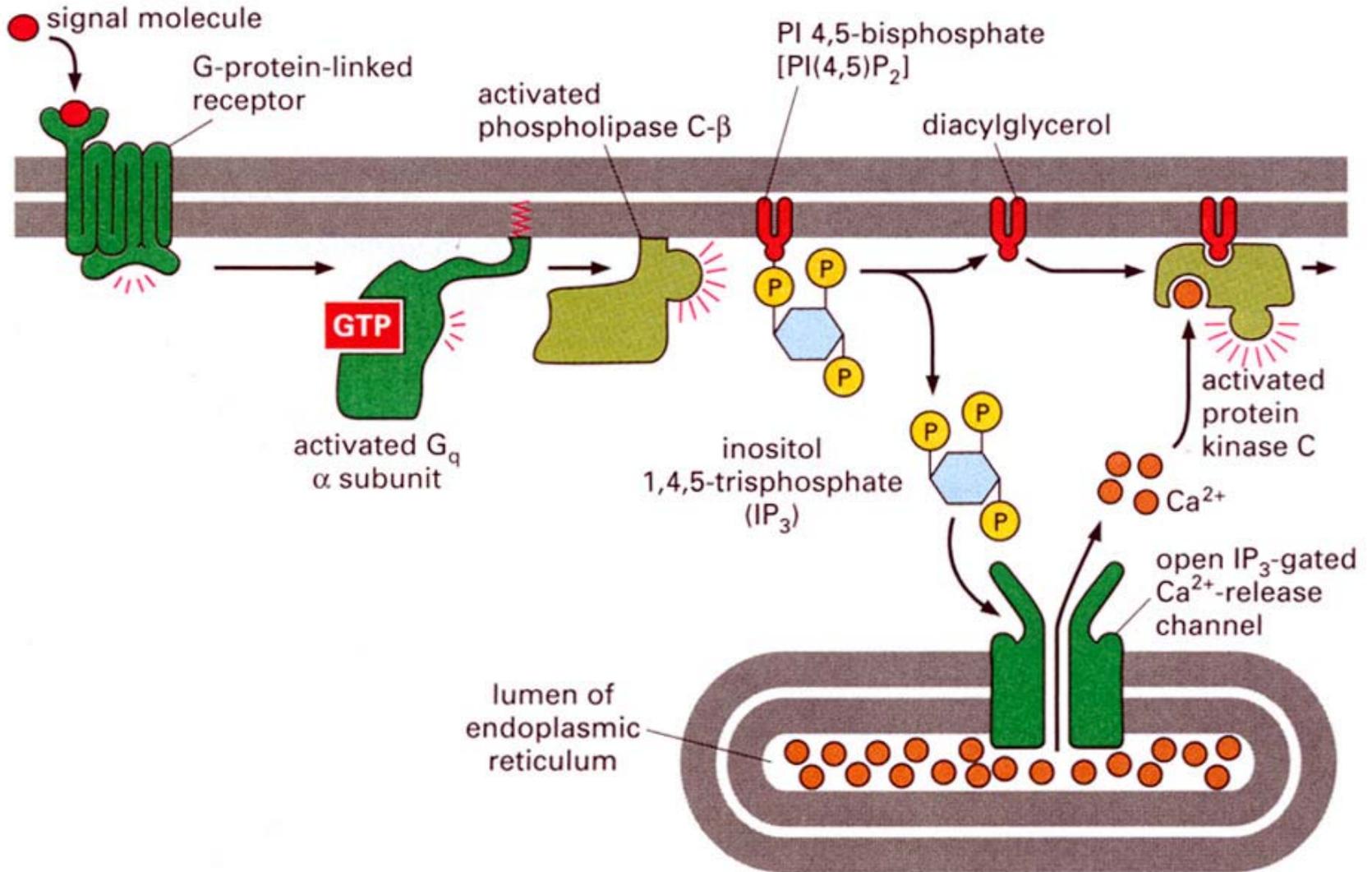
Génération de 2 seconds messagers

- Inositol 1,4,5 trisphosphate : soluble, cytosolique
- Diacylglycerol : lipide membranaire

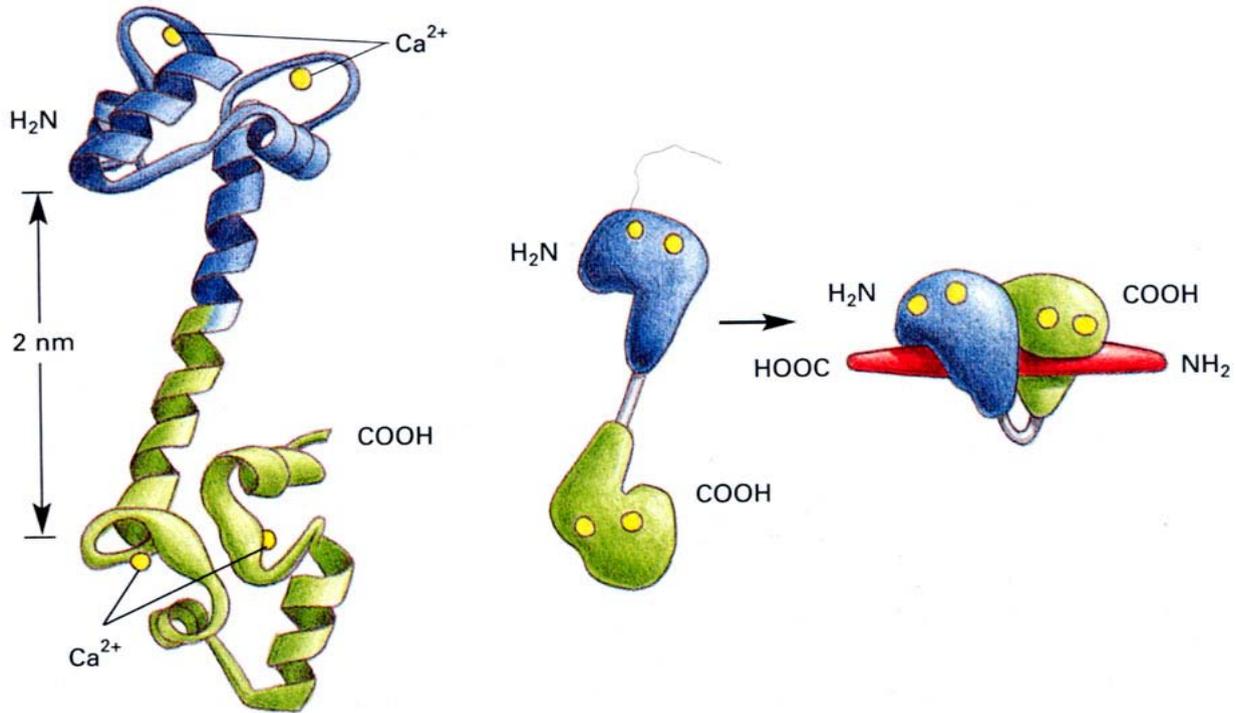
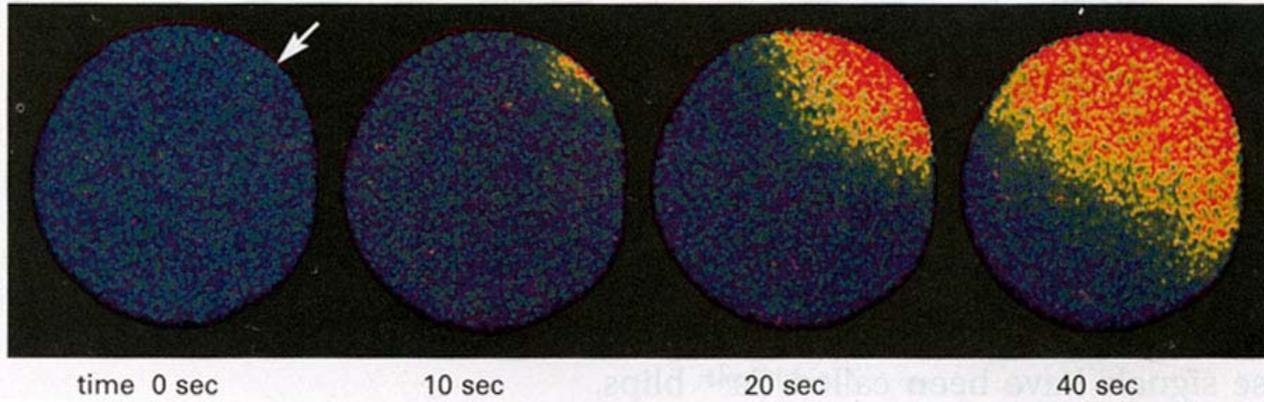
# Les messagers produits par la phospholipase C



# Les IP3 libèrent les stocks intracellulaires de $Ca^{2+}$



# Calcium et calmoduline



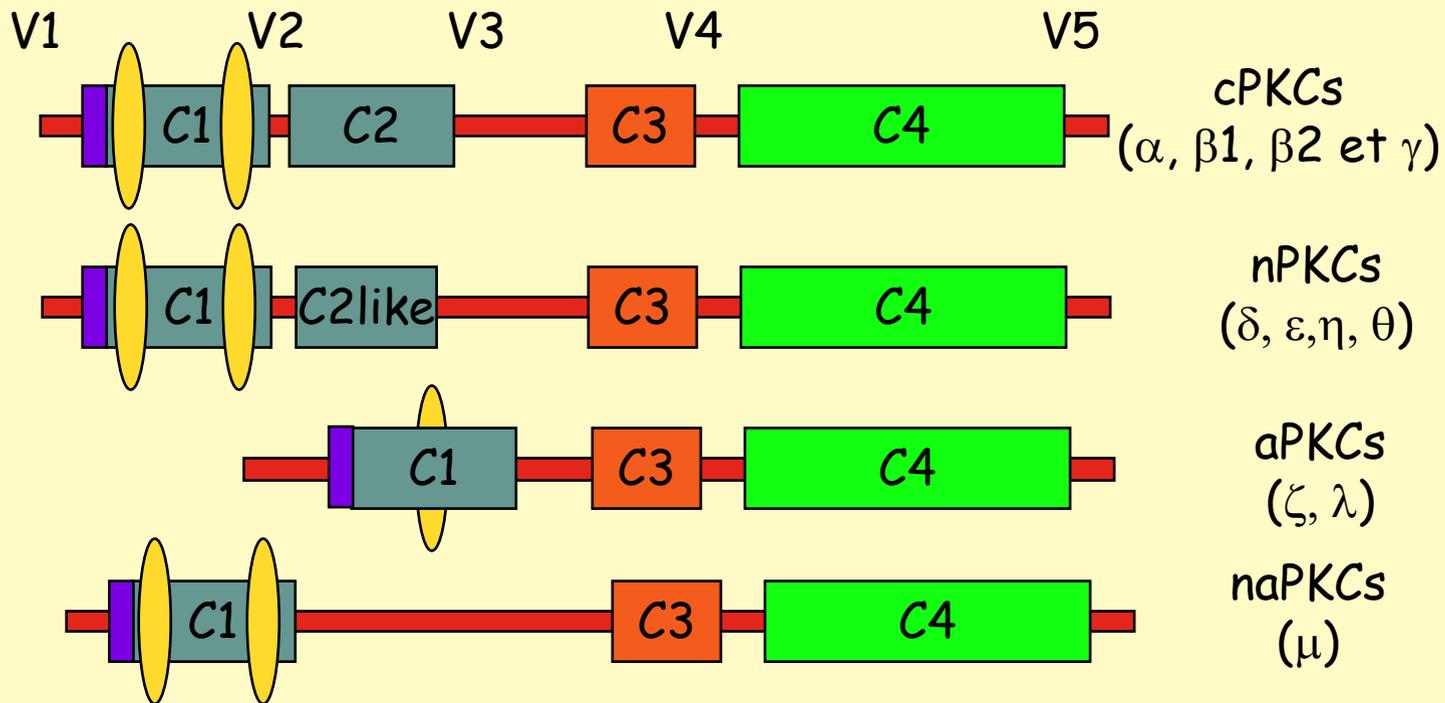
# LE DIACYLGLYCEROL ET LES PROTEINES KINASES C

Le DAG membranaire active les protéines kinases C

Les PKC sont des sérine/thréonine kinases cytosoliques

Les PKC sont une famille de 11 enzymes

- formés de 2 domaines (régulateur (C1+C2) et catalytique (C3-C4))
- divisés en 2 groupes
  - \* Groupe A : activé par calcium (C2) et DAG
  - \* Groupe B : activé par DAG (C1)



# MÉCANISME D'ACTIVATION DES PKCs

Les PKC sont inactives par repliement du domaine régulateur sur le domaine catalytique.

LE DAG - fixe les PKC à la membrane (translocation)

- active les PKC en liant le domaine régulateur (dépliement)

QuickTime™ et un décompresseur  
Photo - JPEG sont requis pour visualiser  
cette image.