

9. Les récepteurs tyrosine kinases

La signalisation par les récepteurs tyrosine kinase (RTKs) affecte la prolifération, la différenciation, la migration et le métabolisme. La famille des RTKs inclue les récepteurs de nombreux facteurs de croissance tels que le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance insuline-like (IGF1), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs) et le facteur de croissance vasculaire endothélial (VEGF) ainsi que le récepteur de l'insuline. Les RTKs sont essentiels au développement embryonnaire et à la maintenance et la régénération des tissus adultes.

9.1. Architecture des RTKs

Les RTKs forment une large et importante famille de récepteurs de surface (Fig. 7.22). Presque tous les RTKs sont présents à la surface de la cellule sous forme d'une seule chaîne et sont monomériques en absence du ligand. Les exceptions incluent la sous-famille du récepteur Met et la sous-famille du récepteur de l'insuline. Met, le récepteur du HGF (hepatocyte growth factor) comprend une courte chaîne α extracellulaire liée par un pont S-S à une chaîne β transmembranaire. Les récepteurs de l'insuline et de l'IGF1 (insulin-like growth factor) comprennent deux grandes chaînes α extracellulaires liées par des ponts S-S à deux chaînes β transmembranaires, formant un tétramère $\alpha_2\beta_2$. Les ligands polypeptidiques qui se fixent et activent les RTKs sont pour la plupart solubles sauf les ephrines, les ligands des récepteurs de la famille Eph, qui sont soit transmembranaires soit ancrés à la membrane par un glycosylphosphatidylinositol (GPI).

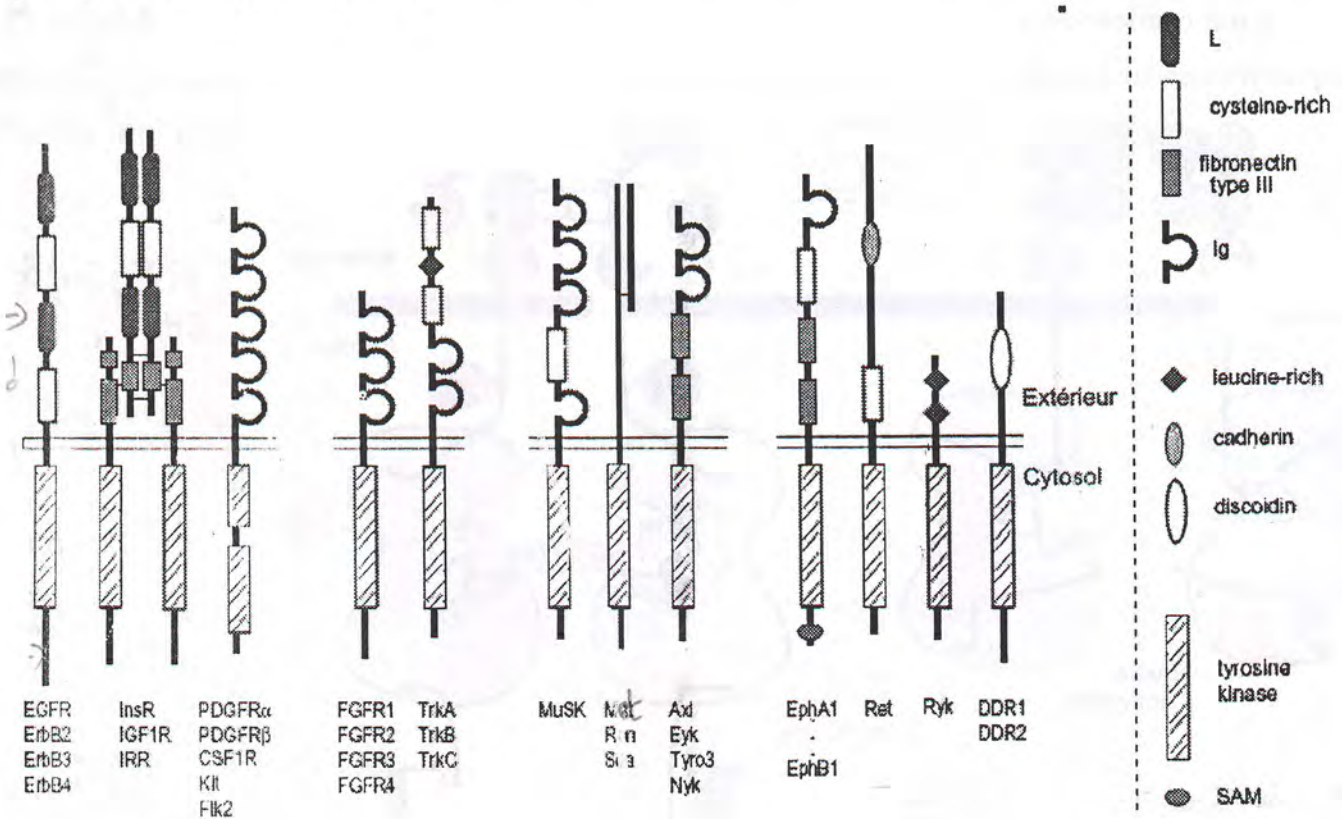


Figure 7.22

La portion extracellulaire des RTKs est formée d'un large spectre de domaines : domaines Ig-like, domaines fibronectine type III-like, domaines riches en cystéine, domaines EGF-like (Fig. 7.22) Seul un petit ensemble de domaines au sein de l'ectodomaine d'un RTK est impliqué dans la fixation du ligand. L'organisation du domaine intracellulaire est plus simple, comprenant une région juxtamembranaire suivie par un domaine kinase caractérisé par la présence d'une boucle d'activation puis une région C-terminal. Ces trois régions varient en longueur et séquence parmi les RTKs et contiennent des sites de phosphorylation tyrosine et serine/thréonine régulateurs qui sont phosphorylés par les récepteurs eux-mêmes (autophosphorylation) ou par des protéines kinases hétérologues. Tous les RTKs catalysent le transfert du phosphate γ de l'ATP sur les groupes hydroxyle de la tyrosine des protéines cibles.

9.2. Mécanisme général de l'activation des RTKs

En absence de ligand, divers domaines cytosoliques du récepteur, comme la boucle d'activation et le domaine juxtamembranaire, interfèrent avec la fixation du substrat ou bien déforment le site actif (fente) dans le domaine kinase. De plus, des domaines dans la portion extracellulaire peuvent masquer le site de fixation. A la suite de la stimulation du récepteur par la fixation du ligand, un récepteur dimère est stabilisé et fournit le moyen de la trans-autophosphorylation des tyrosines dans la boucle d'activation, la région juxtamembranaire et la queue C-terminal (Fig. 7.22). L'autophosphorylation lève l'autoinhibition permettant ainsi à l'ATP et aux protéines cibles d'accéder au site actif, et crée des sites de fixation pour les protéines effectrices qui contiennent des modules de reconnaissance de la phosphotyrosine comme le domaine PTB (phosphotyrosine-binding domain) ou le domaine SH2 (Src homology 2).

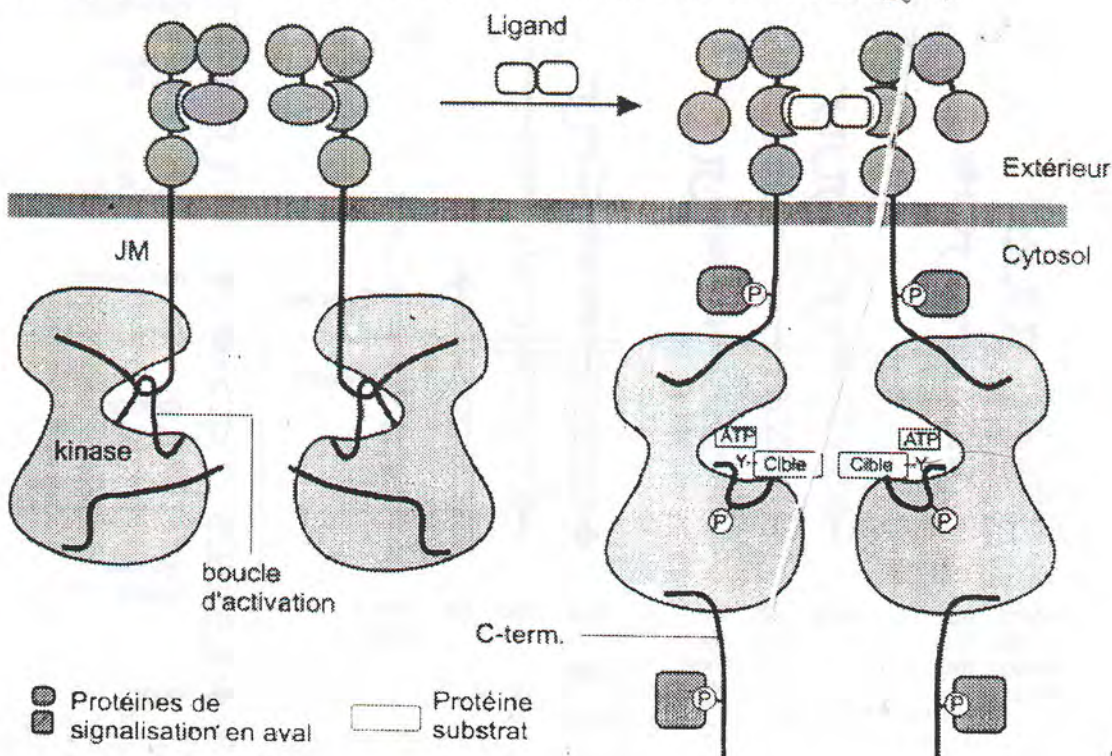


Figure 7.23

Les protéines effectrices peuvent être des enzymes ou des protéines qui possèdent une fonction d'adaptation (Nck, Crk, Shc et Grb2: Growth factor receptor-binding protein 2) et lient d'autres protéines au récepteur activé via des interactions protéine-protéine. Les adaptateurs ont souvent des domaines additionnels (SH3, PTB et PH: plekstrin homology) et qui sont impliqués dans les interactions avec d'autres molécules. La fixation des protéines de signalisation aux sites d'autophosphorylation procure un mécanisme pour l'assemblage et le recrutement des complexes de signalisation par les RTKs.

Les RTKs activés transmettent les signaux à une variété de voies de signalisation intracellulaires. Une multitude de protéines effectrices sont recrutées dans la signalisation par les RTKs. Les exemples les plus importants sont (Fig. 7.24):

1. La sous-unité p85 de la phosphoinositide-3-kinase (PI3-kinase)
2. La phospholipase $C\gamma$
3. Les tyrosine kinases non récepteurs de la famille Src
4. La protéine p120 GAP, une protéine activatrice de la GTPase de la transduction du signal par Ras
5. Les protéines adaptatrices Grb2 et Shc de la transduction du signal par Ras et la protéine d'échafaudage IRS1 (insulin receptor substrate 1)
6. Les tyrosine phosphatases spécifiques SH-PTP2

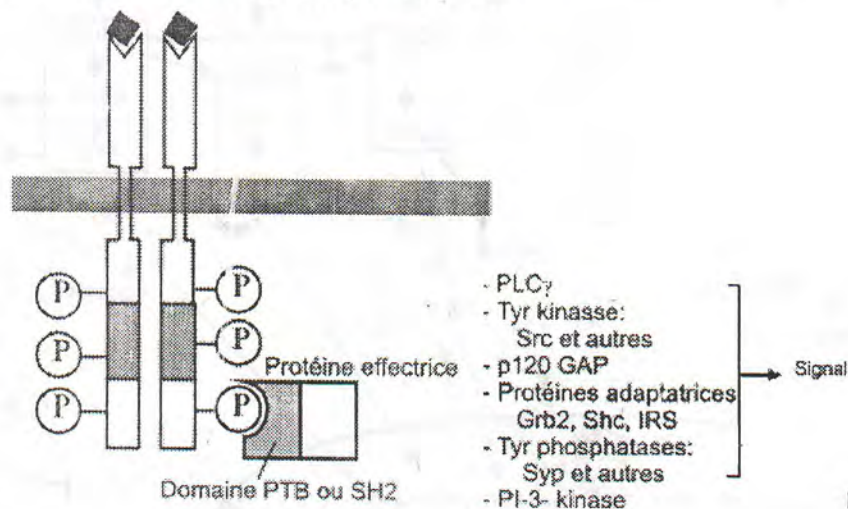


Fig. 7.24

L'exemple du récepteur de l'EGF fournit un exemple du fonctionnement des adaptateurs (Fig. 7.25). Un domaine SH2 dans Grb2 se fixe à un résidu phosphotyrosine spécifique du récepteur de l'EGF activé. Grb2 contient aussi deux domaines SH3 qui se fixent spécifiquement à la protéine cytosolique Sos (homologue de Sevenless-of-son) pour la relocaliser sur la membrane plasmique. Dans sa forme active, Sos fonctionne comme une protéine d'échange de la guanine (GEF, guanine nucleotide-exchange factor); la fixation de GEF à Ras.GDP convertit Ras en une forme active fixant le GTP à la place du GDP et qui va initier alors la cascade des protéines kinases.

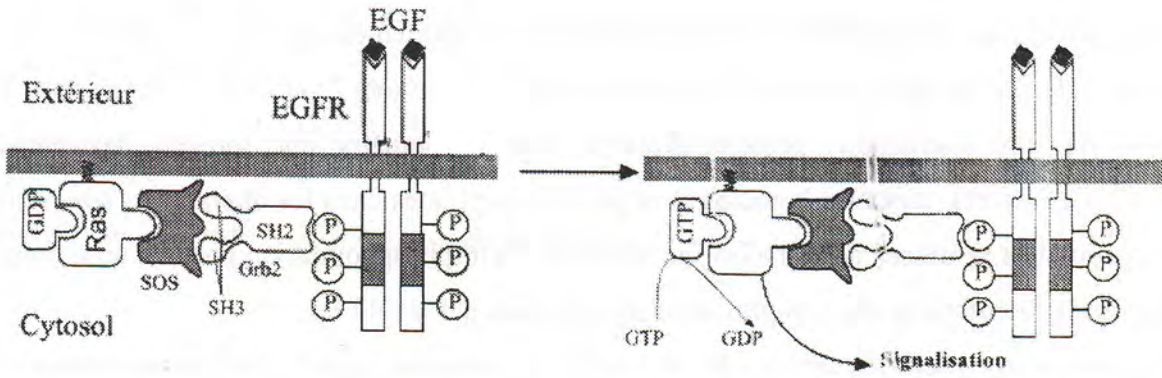


Figure 7.25

9.3. Les voies de signalisation des RTKs

La diversité des protéines effectrices qui se lient aux phosphotyrosines des récepteurs activés reflète la diversité des voies de signalisations induites en aval du récepteur. La figure 7.26 illustre le flux des signaux à partir des RTKs.

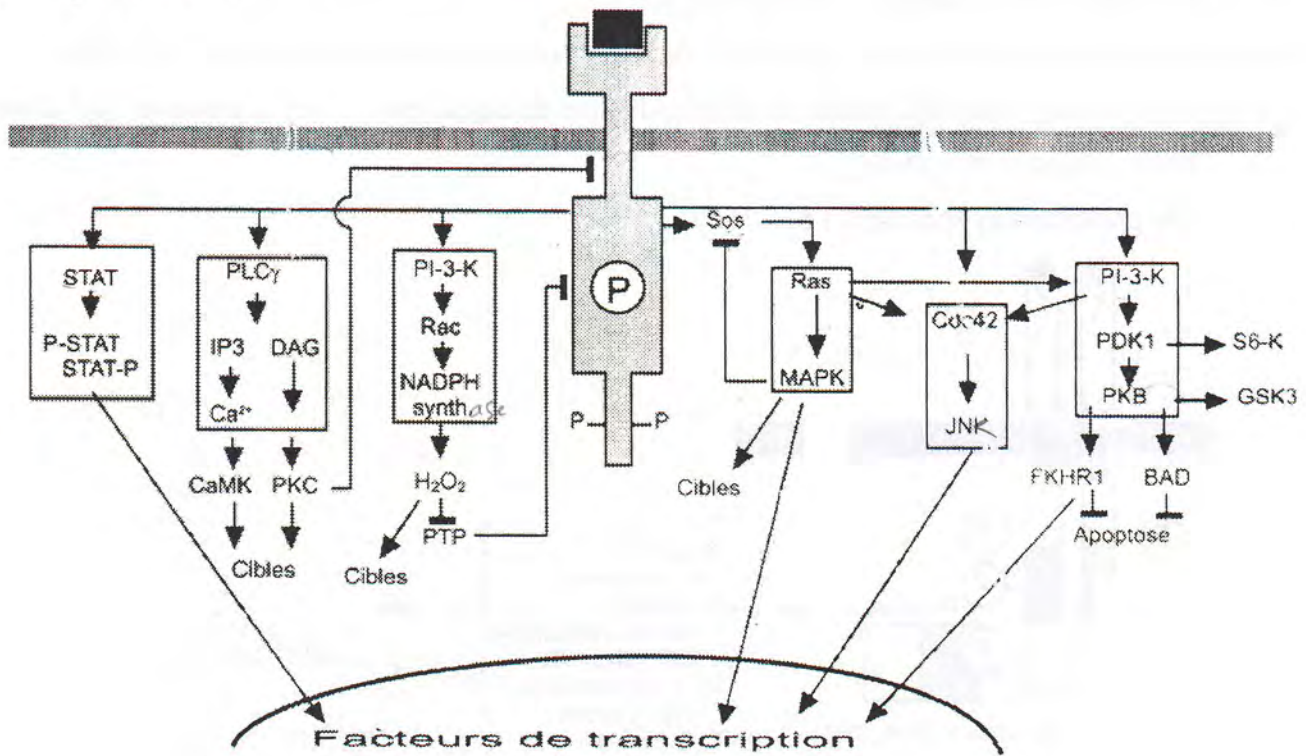


Fig. 7.26. STAT: Signal transducer and activator of transcription, Cdc42 Cell division cycle 42/JNK. Jun kinase, PTP: protein tyrosine phosphatase; FKHR: Forkhead transcription factor; S6-K ribosomal protein S6 kinase, GSK-3: glycogen synthase kinase 3

Une des voies de signalisation la plus importante est la cascade des kinases qui transmet les signaux vers l'aval de la protéine Ras, Rap1 ou Rac activée de façon séquentielle: mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAPKKK) → MAPKK → MAPK (Fig. 7.27). Dans le cas des facteurs de croissance et de différenciation

- a) La protéine Ras activée se fixe au domaine N-terminal de la protéine Raf, une sérine/thréonine kinase;
- b) La protéine Raf se fixe et phosphoryle la protéine MEK (MAPK/ERK kinase), une protéine kinase avec une double spécificité qui phosphoryle les résidus tyrosine et sérine;

- c) La protéine MEK phosphoryle et active ERK (extracellular-signal-regulated kinase), une autre sérine/thréonine kinase. La MAP kinase phosphoryle de nombreuses protéines différentes incluant les facteurs de transcription qui régulent certaines protéines importantes du cycle et de la différenciation cellulaires.

La protéine Ras.GTP activé peut activer directement c-Raf ou indirectement via la voie PI3K → Rac → PAK. Une seconde voie d'activation des MAP kinases passe par B-Raf activée directement par Rap1.GTP ou indirectement par AMPc → Epac. L'activité des MAP kinases est modulée par un certain nombre de phosphoprotéines phosphatases (PP1, PP2A, MK1/2, MKP3).

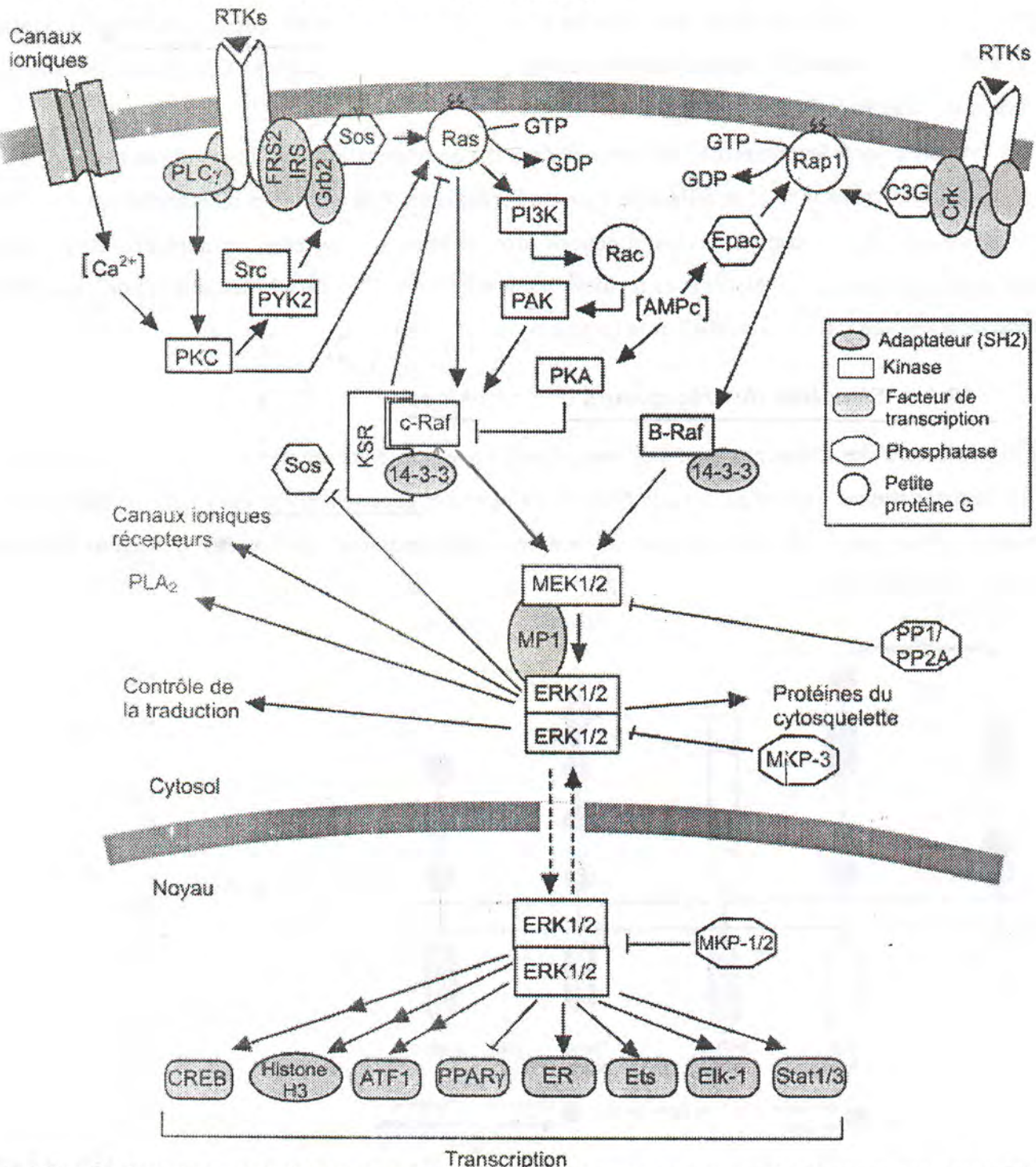


Figure 7.27. ATF Activating transcription factor; c-Myc Cellular homologue of avian myelocytomatosis virus oncogene; Elk-1 Ets

domain protein; **EPAC** Exchange protein activated by cAMP; **ER** Estrogen receptor; **Erk** Extracellular signal-regulated kinase; **FRS2** Lipid anchored Grb2 binding protein activated by FGF receptor; **IRS** Insulin receptor substrate; **KSR** Kinase suppressor of Ras; **MKP** MAP kinase phosphatase; **MP-1** MEK partner 1; **PI3K** Phosphoinositide 3 kinase; **PYK2** Proline-rich tyrosine kinase 2; **Rap1** Ras-related protein RAP-1A; **Shc** SH2-containing collagen-related proteins; **Sos** Son of sevenless guanine nucleotide exchange factor; **Stat** Signal transducer and activator of transcription

10. Les récepteurs des cytokines et la voie JAK/STAT

Les récepteurs associés aux tyrosine kinases activés par la fixation du ligand créent un signal sous forme de protéines intracellulaires phosphorylées au niveau de certaines résidus tyrosines. La phosphorylation intervient à la suite de l'activation des tyrosine kinases. Dans la majorité des cas, la tyrosine kinase est associée en permanence au récepteur; dans les autres cas, l'enzyme est localisée dans le cytosol et ne se fixe au récepteur qu'après la fixation du ligand.

Les cytokines sont des molécules qui servent dans la communication cellule-cellule et réalisent diverses fonctions dans la croissance et la différenciation de l'organisme. Les cytokines représentatives contrôlent la prolifération, la différenciation et les fonctions des cellules du système immunitaire et du système érythropoïétique. Les cytokines connues incluent les interleukines (IL), l'érythropoïétine (Epo), l'hormone de croissance (GH), les interférons (INF) et le facteur nécrosant des tumeurs (TNF)

10.1. Structure des récepteurs des cytokines

Les récepteurs des cytokines sont des polypeptides avec un seul segment transmembranaire avec des motifs caractéristiques extracellulaires de fixation du ligand et aucune activité enzymatique connue dans les domaines cytosoliques. Au moins 4 types de récepteurs des cytokines peuvent être distingués en se basant sur des similitudes dans la séquence (Fig. 7.28).

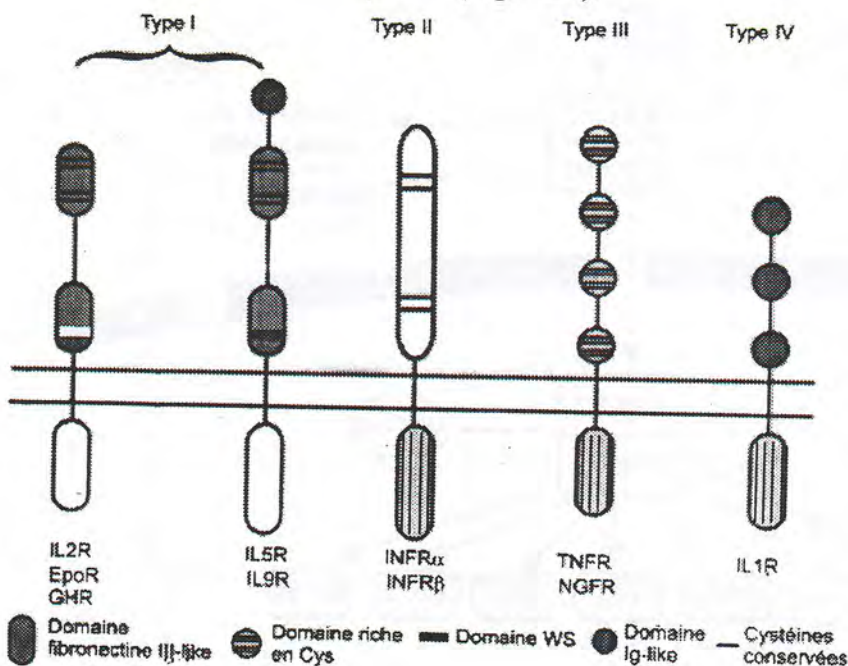


Fig. 7.28

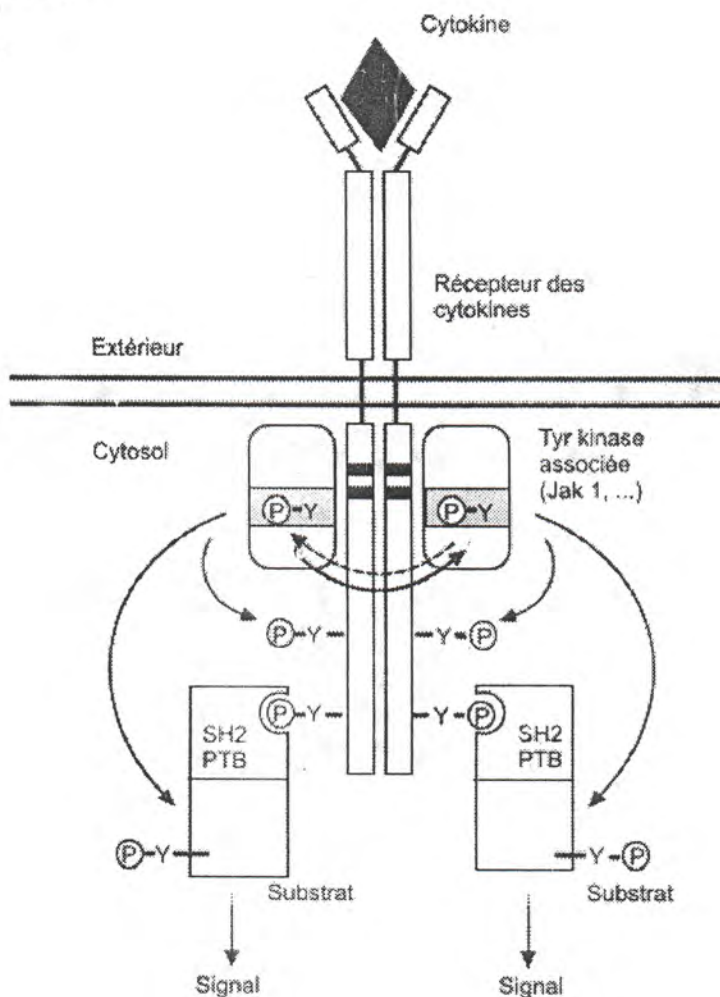
De nombreux membres des récepteurs des cytokines de type I régulent la croissance et transmettent les signaux mitogènes au noyau. Les récepteurs de type II incluent les récepteurs de l'interféron α et β . Le type III inclut les récepteurs du TNF et du CD40, présents sur les lymphocytes T.

Les récepteurs des cytokines possèdent au niveau du domaine extracellulaire des séquences spécifiques de chaque type de récepteur: domaines riches en cystéine, domaines fibronectine-type III-like, domaines Ig-like.

10.2. Activation des tyrosine kinases cytosoliques

L'activation d'une activité tyrosine kinase est une conséquence de la fixation du ligand au récepteur. Dans la plupart des cas, la tyrosine kinase est associée en permanence à l'une des sous-unités du récepteur et devient active à la suite de la restructuration du récepteur induite par le ligand ou à la suite de l'hétéro-oligomérisation du récepteur. Les tyrosine kinases les plus fréquemment associées aux récepteurs des cytokines appartiennent à la famille des Janus kinases.

Les étapes de la signalisation par les récepteurs des cytokines peuvent être décrites comme suit (Fig. 7.29):



- a. **Activation de la tyrosine kinase associée** par *trans*-autophosphorylation. Cette étape a lieu immédiatement après la fixation du ligand.
- b. **Phosphorylation des sous-unités du récepteur.** La tyrosine kinase activée phosphoryle alors les résidus tyrosine du domaine cytosolique du récepteur. Les phosphotyrosines servent comme point d'attache pour le recrutement d'autres protéines de signalisation.
- c. **Fixation d'autres protéines de signalisation** Des résidus phosphotyrosine distincts sont utilisés pour attacher des protéines de signalisation qui portent des domaines PTB comme les domaines SH2 et PTB. De cette manière, des protéines adaptatrices comme Shc et IRS sont recrutées sur le récepteur. En conséquence, les signaux sont transmis à une variété de voies de signalisation intracellulaires.
- d. **Phosphorylation des substrats.** Les protéines de signalisation qui ont été recrutées sur le récepteur activé sont souvent des substrats pour leur phosphorylation par la tyrosine kinase activée. Les exemples sont les protéines Stat, la protéine adaptatrice Shc et la PI-3-kinase. Le récepteur de l'interleukine-2 active la PI-3-kinase en induisant la phosphorylation des résidus tyrosine de la sous-unité régulatrice p80 et en recrutant la PI-3-K (p110) sur la membrane plasmique.

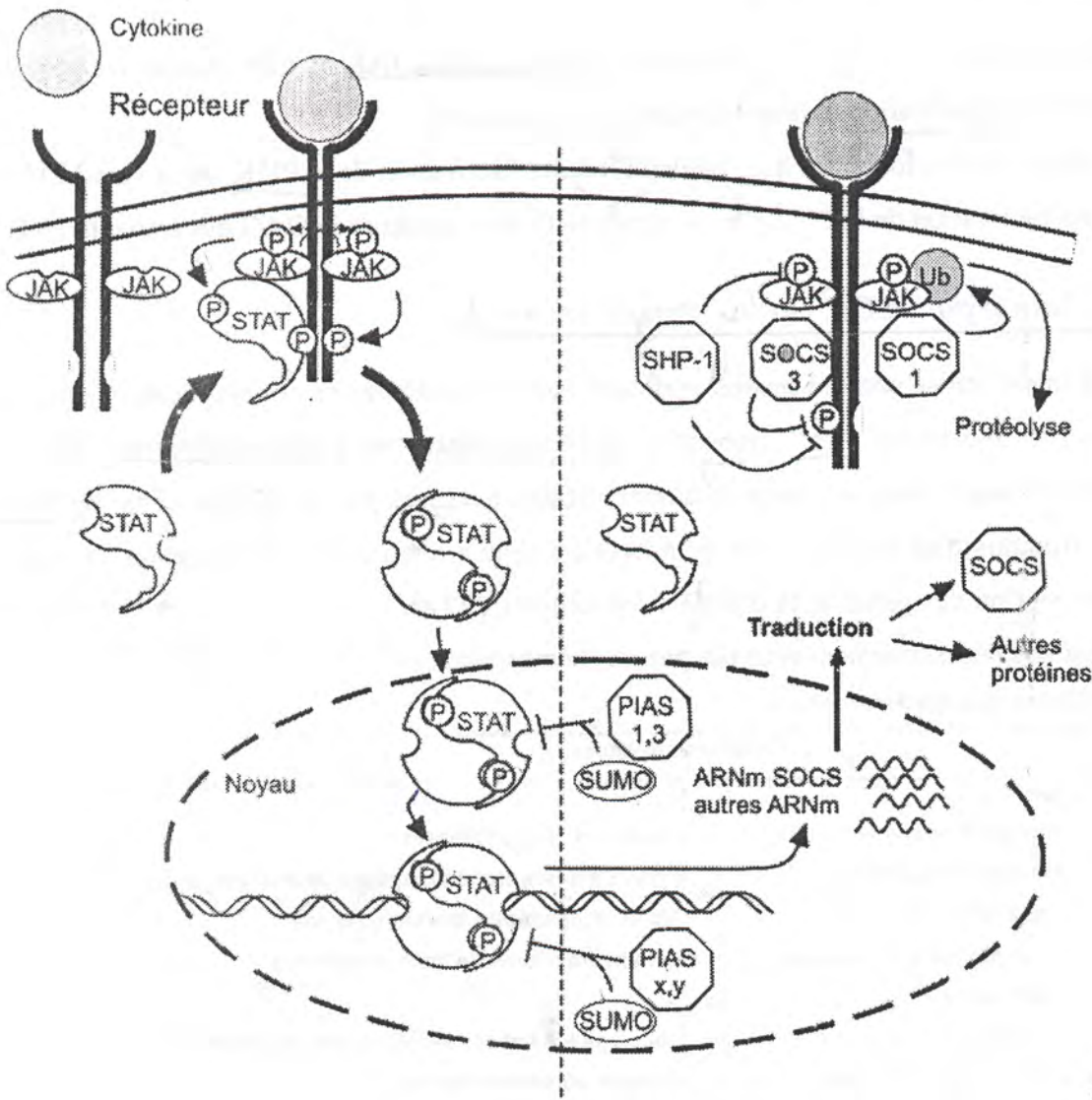


Fig. 7.30

L'activation des tyrosine kinases peut aussi initier une cascade de phosphorylations et de déphosphorylations qui met en jeu plusieurs autres protéine kinases et phosphatases. Lorsqu'une cytokine (ex: interleukine) se fixe sur son récepteur (non-RTK), le récepteur dimérise, les protéines JAK (Janus kinase) associées au récepteur sont alors activées. Les protéines JAK activées phosphorylent le récepteur, créant des sites de fixation pour les protéines STATs (signal transducers and activators of transcription) qui sont aussi phosphorylés par JAK. Une fois phosphorylés, les protéines STAT dimérisent et migrent vers le noyau où elles se fixent à un élément spécifique de l'ADN pour induire la transcription des gènes régulés par les cytokines (Fig. 7.30).

La transduction du signal par STAT est réprimée par trois mécanismes distincts. La protéine SHP-1 (SH2-containing phosphatase 1) peut déphosphoryler les JAKs ou les récepteurs activés. Les protéines PIAS (Protein inhibitors of activated STATs) fixent la protéine SUMO (sumoylation) aux protéines STAT pour inhiber l'activation de la transcription. Les protéines SOC (Suppressor of cytokine signaling) sont induites en

réponse à la signalisation par les cytokines et peuvent inhiber l'activité JAK ou bien marquer les protéines de signalisation pour leur ubiquitination et leur dégradation (protéasome)

D'autres interactions via les domaines SH2 peuvent induire l'activation de la PI3K, de la voie MAP kinase (via Shc et Grb2) ou l'activation de la PLC via une protéine G pour produire le DAG qui active la PKC.

11. La médiation par le Ca^{2+} et les phosphoinositides

L'AMPc est largement utilisé comme second messenger dans les systèmes de communication entre cellules animales. Trois autres molécules - Ca^{2+} , inositol 1,4,5-triphosphate et 1,2-diacylglycérol- fonctionnent comme des seconds messagers dans les voies de communications initiées par les RCPGs et par les RTKs.

Le Ca^{2+} est un stimulus d'un large spectre de processus cellulaires, incluant la sécrétion, la contraction musculaire, la transcription des gènes et la prolifération cellulaire (Tab. 7.6). Bien que ces activités utilisent le Ca^{2+} , elles ne sont pas nécessairement activées par les mêmes signaux (Fig. 7.30).

Tab.7.6. Fonctions cellulaires modulées par le calcium

Fonctions cellulaires

Génération de l'énergie	
Glycogénolyse (phosphorylase kinase b)	Lipases et phospholipases
Alpha-glycérophosphate déshydrogénase	Pyruvate déshydrogénase, phosphate phosphatase
Isocitrate déshydrogénase NAD-dépendante	Alpha-cétoglutarate déshydrogénase
NADH-déshydrogénase (mitochondrie végétale)	Bêta-hydroxybutyrate déshydrogénase
Fonctions liées à la membrane	
Couplage excitation-contraction	Couplage Excitation/sécrétion (neurotransmetteurs)
Certains canaux de la membrane plasmique	Certains potentiels d'action
Jonctions serrées	Contact cellulaire
Régulation hormonale	
Formation/dégradation de GMPc et AMPc	Libération d'hormones des vésicules de stockage
Systèmes contractiles et motiles	
Myofibrilles musculaires	Cils et flagelles
Microtubules et microfilaments	Courant cytoplasmique
Formation de pseudopodes	
Autres fonctions	
Emission de lumière	Cycle cellulaire
Fertilisation	Certaines enzymes protéolytiques
Couplage excitation-transcription	Certaines protéines kinases
Une protéine phosphatase (calcineurine)	Production de messagers (NO)
Vision	Génération et stockage de la mémoire
Apoptose	

11.1. Les voies de commutation du signal Ca^{2+}

La majorité des ions Ca^{2+} sont séquestrés dans les mitochondries, et le réticulum endoplasmique ou d'autres vésicules cytoplasmiques. La concentration de Ca^{2+} libre dans le cytosol est maintenue en dessous

de $0.2 \mu\text{M}$ grâce à un certain nombre de processus (Fig. 7.30). Des augmentations localisées du taux de Ca^{2+} libre dans le cytosol sont critiques pour sa fonction comme second messenger (Fig. 7.30).

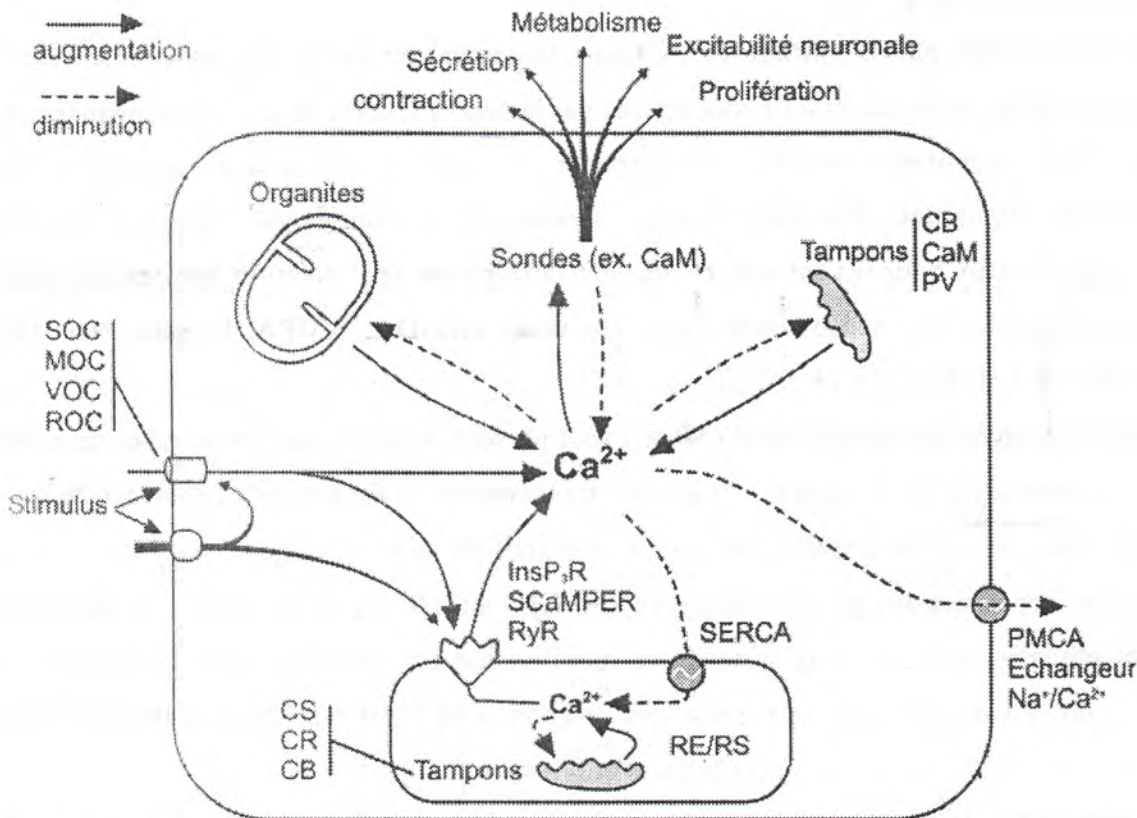


Figure. 7.30. SOC: Store-operated channel; MOC: Mechanically-activated channel; VOC: voltage-operated channel; ROC: receptor-operated channel; PMCA: Plasma membrane Ca-ATPase; CaM: calmodulin; CB: calbindin; PV: parvalbumin; CS: calsequestrin; CR: calreticulin;

11.2. Les protéines de liaison du calcium (CaBPs)

La concentration de Ca^{2+} dans la lumière des organites (RE, mitochondrie) est de l'ordre millimolaire. Les CaBPs qui s'y trouvent sont de faible affinité et à haute capacité, elles sont donc adaptées à ces conditions. En fixant le Ca^{2+} , elles permettent son stockage dans les organites pour le libérer lors de la stimulation. Les protéines appartenant à ce groupe sont la calnexine, la calméline, la calréticuline et la calséquestrine. Elles sont toutes associées aux membranes du réticulum (sarco)endoplasmique où elles jouent diverses fonctions (homéostasie du Ca^{2+} , repliement des protéines, adhésion, expression des gènes, etc.). La calnexine est l'une des CaBPs majeures de la membrane du RE et se fixe transitoirement aux protéines de sécrétion nouvellement synthétisées. La calréticuline se fixe aux facteurs de coagulation (facteurs IX et X, prothrombine). La calséquestrine est la CaBP majeure du RS du muscle squelettique et cardiaque. Sa fonction est de stocker le Ca^{2+} et de participer à sa libération.

11.3. Les canaux Ca^{2+}

1. Les canaux d'entrée du Ca^{2+}

Les cellules utilisent différents types de canaux d'influx du Ca^{2+} qui peuvent être groupés sur la base de leurs mécanismes d'activation (Fig. 7.30).

- 1. Les canaux commandés par le voltage (VOC)** sont largement employés par les cellules excitables (cellules musculaires et nerveuses) où ils sont activés par la dépolarisation de la membrane plasmique.
- 2. Les canaux Ca^{2+} récepteurs (ROC)** comprennent un spectre de canaux structurellement et fonctionnellement diversifiés. Plusieurs canaux ionotropiques commandés par un ligand sont relativement non sélectifs pour les cations, et peuvent faire passer des quantités substantielles de Ca^{2+} (récepteurs ionotropiques des neurotransmetteurs glutamate (NMDA; AMPA; kainate), acétylcholine (nAChR), sérotonine (5HT3), et ATP (P2X)).
- 3. Les canaux Ca^{2+} activés mécaniquement (MOC)** sont présents dans de nombreux types de cellules et répondent à la déformation de la cellule. Ces canaux transmettent l'information à l'intérieur de la cellule concernant les changements de stress/forme qu'ils sont entrain de subir.
- 4. Les canaux Ca^{2+} commandés par les réserves (SOC)** sont activés en réponse à la déplétion des réserves intracellulaires de Ca^{2+} à la suite de sa mobilisation par des messagers ou par des agents pharmacologiques. La modification structurale des récepteurs de l'InsP3 et de la ryanodine (RyR) est transmise aux canaux SOC via l'interaction physique entre les protéines.
- 5. Les canaux activés par les messagers** comprennent un grand nombre de voies d'entrée du Ca^{2+} qui sont activés par des messagers/métabolites intracellulaires. Les messagers qui activent l'entrée de Ca^{2+} varient des acides gras à longue chaîne (acide arachidonique) aux petites molécules comme l'oxygène ou le NO et même le Ca^{2+} lui-même.

2. Les canaux de libération du Ca^{2+}

La libération du Ca^{2+} stocké dans le RE/RS se fait grâce à plusieurs types de canaux (Fig. 7.31).

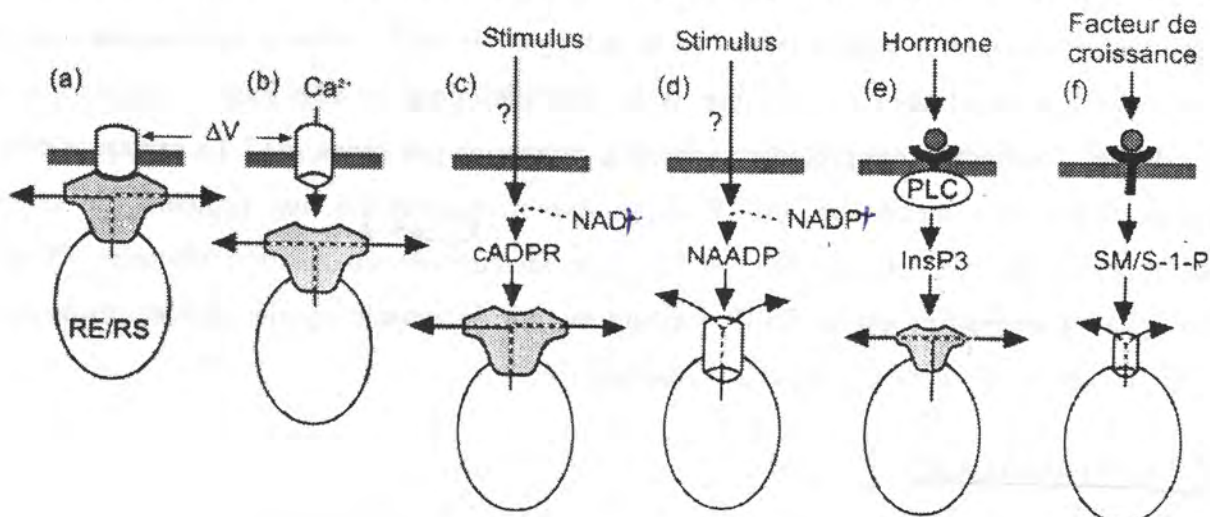


Figure 7.31. (a, b, c) libération du Ca²⁺ par RyR respectivement dans les cellules musculaires squelettique, cardiaque et les cellules utilisant le cADPR. (d) libération du Ca²⁺ par NAADP se fixant sur un récepteur putatif. (e) libération du Ca²⁺ par InsP₃R. (f) libération du Ca²⁺ par sCaMPEP (SM: sphingomyéline; S-1-P: sphingosine-1-phosphate).

1. **Les récepteurs de l'inositol 1,4,5-trisphosphate (InsP₃Rs).** La fixation de nombreuses hormones et facteurs de croissance à des récepteurs spécifiques sur la membrane plasmique conduit à l'activation d'une phospholipase C qui catalyse l'hydrolyse du phosphoinositide (PIP₂) (feuillet interne de la membrane) pour produire l'InsP₃ et le diacylglycérol (DAG) comme messagers intracellulaires (Fig. 7.31a). Bien que produit dans la membrane plasmique, l'InsP₃ est hautement diffusible et peut rapidement traverser le cytoplasme. Cependant la molécule d'InsP₃ a une durée de vie de quelques secondes à l'intérieur de la cellule car il est métabolisé par des enzymes en Ins(1,4)P₂ ou en Ins(1,3,4,5)P₄ pour terminer le signal de libération du Ca²⁺ par l'InsP₃ (Fig. 7.31b). Le métabolisme rapide par ces enzymes signifie que son action est restreinte dans l'espace. La fixation de l'InsP₃ modifie la conformation des InsP₃Rs de sorte qu'un pore intrinsèque s'ouvre pour permettre la sortie du Ca²⁺ du RE/RS. Le récepteur de l'InsP₃ est formé de 4 sous-unités (~1200 kDa au total) et nécessite l'InsP₃ de manière absolue pour s'ouvrir, mais son activation est régulée par la concentration de Ca²⁺ sur sa surface cytosolique.

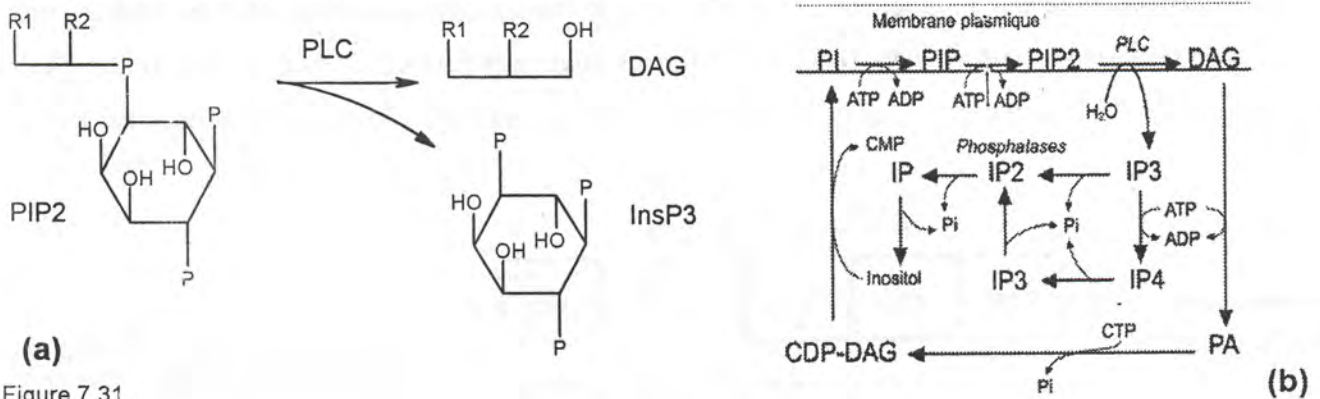
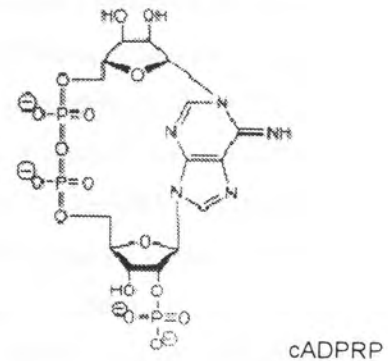
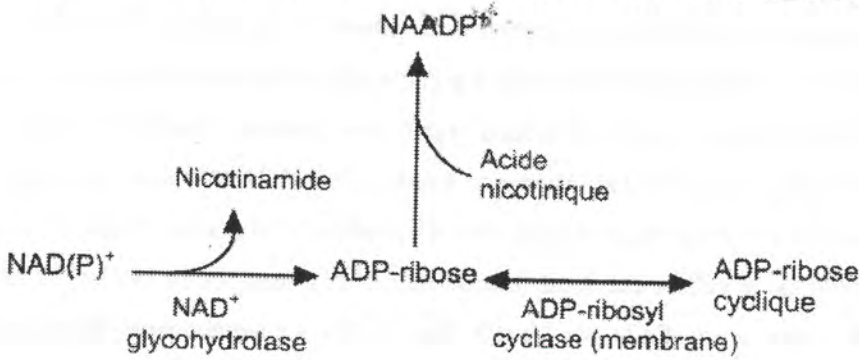


Figure 7.31

2. **Les récepteurs de la ryanodine (RyRs)** sont structurellement et fonctionnellement analogues aux InsP₃Rs mais avec un poids moléculaire et une conductance doubles. Les RyRs sont également sensibles au Ca²⁺ cytosolique (activation à 1–10 mM; inhibition à >10 mM). Les RyRs peuvent être activés par le Ca²⁺ seul, on parle alors de canaux de libération du Ca²⁺ induite par le Ca²⁺ (CICR). L'inhibition du canal par la ryanodine (alcaloïde) est dépendante de l'activation préalable du canal par le Ca²⁺. A la différence des canaux InsP₃Rs qui sont exprimés de manière ubiquitaire dans les cellules de mammifères, les RyRs sont aussi activés par la caféine à des concentrations millimolaires de sorte que les concentrations basales de Ca²⁺ deviennent activatrices. Une autre particularité des RyRs est qu'ils peuvent être activés par l'ADP-ribose cyclique (cADPR). Le cADPR peut initier la libération de Ca²⁺ et sensibiliser RyR pour une activation plus importante par le Ca²⁺. Ce mécanisme de CICR peut conduire à une propagation prolongée des signaux Ca²⁺.
3. **Les récepteurs du NAADP.** L'acide nicotinique adénine dinucléotide phosphate (NAADP) est décrit comme un agent intracellulaire qui mobilise le Ca²⁺. Le NAADP est synthétisé à partir du NADP par une ADP-ribosyl cyclase ou NAD⁺ glycohydrolase; il apparaît mobiliser le Ca²⁺ via un récepteur intracellulaire spécifique qui est lui-même

un canal. Le NAADP semble agir avant l'InsP3 et le cADPR pour procurer suffisamment de Ca^{2+} pour sensibiliser InsP3R et RyR respectivement à l'InsP3 et au cADPR.



11.4. L'activation des PKCs

Il y a au moins 12 isoformes de la PKC qui sont classés selon la structure du domaine régulateur N-terminal qui détermine leur sensibilité au Ca^{2+} et au DAG (Fig. 7.32). Les isoformes classiques cPKC (PKC- α , PKC- β I, PKC- β II et PKC- γ) sont régulées par le Ca^{2+} et le DAG, les isoformes novel nPKC (PKC- δ , PKC- ϵ , PKC- θ and PKC- η) sont insensibles au Ca^{2+} , les isoforme atypiques aPKC (PKC- ζ , PKM- ζ and PKC- ι/λ) ne sont régulés ni par le Ca^{2+} ni par le DAG.

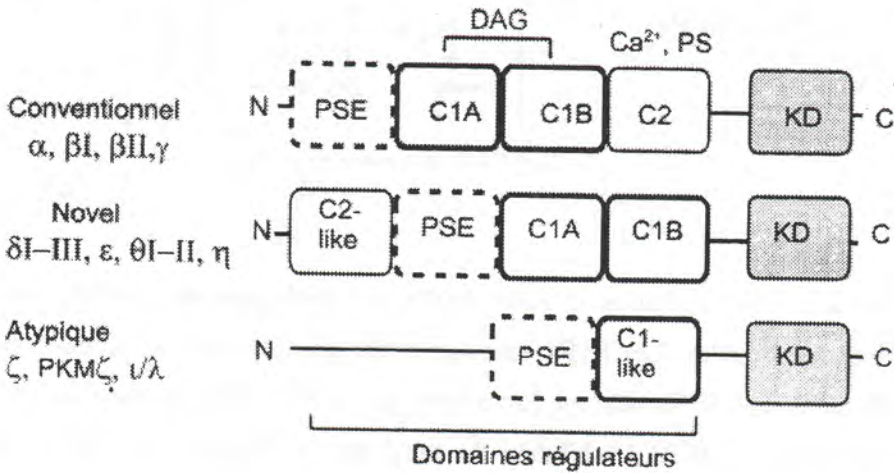


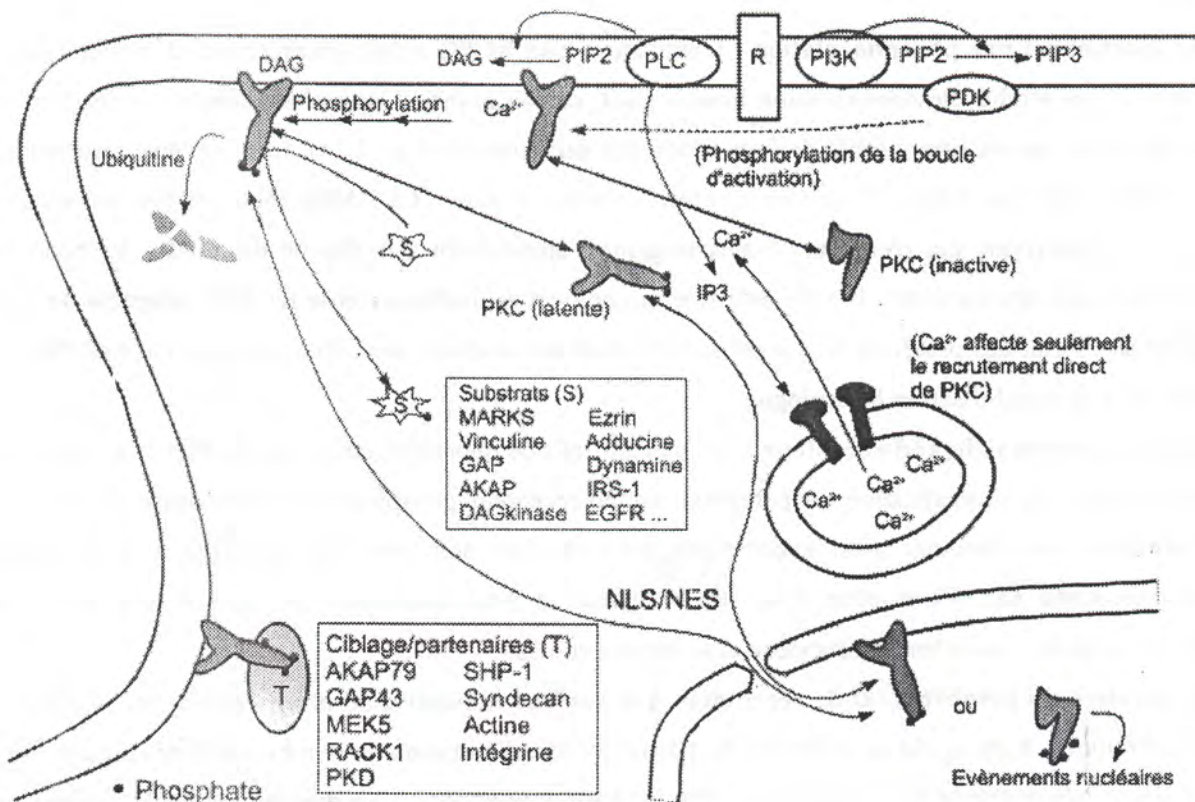
Figure 7.32. Isoformes de la PKC. PSE: pseudosubstrat, C1A et C1B domaine de fixation du DAG, C2 domaine de fixation du Ca^{2+} et de la phosphatidylsérine (PS), KD domaine kinase

L'activation des isoformes cPKC et nPKC implique leur recrutement sur la membrane plasmique et l'interaction/activation allostérique par le DAG (Fig. 7.33). La formation de DAG induite par les agonistes utilise de multiples mécanismes. Pour les RTKs et les non-RTKs, elle nécessite le recrutement de la PLC spécifique du PtdIns(4,5)P₂ via les domaines SH2. Pour les RCPGs, le couplage est effectué par les membres de la famille PLC β via des interactions allostériques avec G α_q -GTP et G $\beta\gamma$. La PLC ϵ est la cible de Ras. Pour les cPKC, l'étape initiale de recrutement est sensible au Ca^{2+} et elle est conduite par le DAG et les phospholipides anioniques (PS). Pour les 3 classes de PKC, les effets allostériques de ces lipides/protéines sur la PKC conduisent à la perte de l'inhibition exercée par le domaine inhibiteur PSE qui autrement occupe le site actif (KD). L'activité catalytique optimale des PKC nécessite leur phosphorylation (C-terminal) qui est

catalysée par la PKD1 (kinase 1 phosphoinositide-dépendante) qui elle-même est recrutée sur la membrane par le PtdIns(3,4,5)P₃. Le PtdIns(3,4,5)P₃ est formé par la PI-3K couplée aux RTKs, RCPGs et/ou protéines Ras.

Les substrats de la PKC sont très diversifiés (Fig. 7.33). Les protéines associées au cytosquelette contribuent à la réorganisation localisée du cytosquelette. Pour de nombreux substrats, les STICKS (substrates that interact with C-kinases), l'interaction directe kinase-substrat contribue à une action spécifique/efficace. Certains complexes impliquent les protéines d'échafaudage appelées RICKs (receptors for inactive C-kinases) qui peuvent agir avant l'activation de la PKC, restreignant l'accès à la membrane et au substrat; d'autres complexes se forment après activation de la PKC, les RACKs (receptors for activated C-kinases) et déterminent l'accès du substrat.

L'action des PKCs peut être localisée dans de multiples compartiments, incluant la membrane plasmique, les endosomes (recyclants), l'appareil de Golgi et le noyau. La localisation est déterminée en partie par les échafaudages et par les séquences signal intrinsèques de l'isoforme comme les séquences de localisation/exportations nucléaire (NLS/NES).



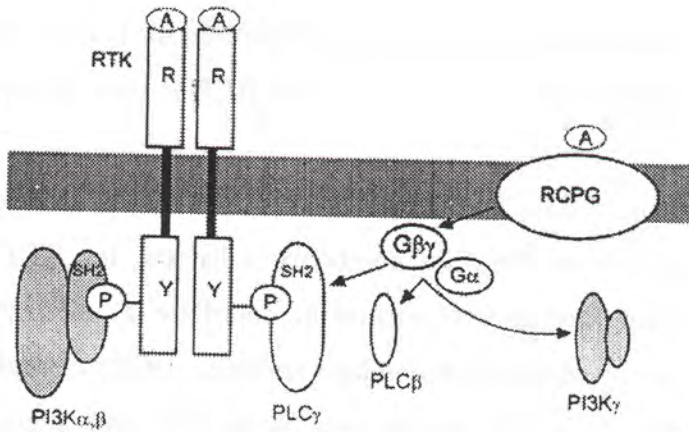


Figure 7.33

12. La régulation des récepteurs de surface

Il existe quatre grands mécanismes qui permettent de terminer le signal apporté par le stimulus extracellulaire (Fig. 7.34)

a) **La régulation de la concentration en agoniste** : Lorsque le ligand est libéré dans une fente synaptique, très souvent, deux mécanismes entraînent une diminution de la concentration synaptique en agoniste : il s'agit de la recapture présynaptique et de la dégradation de l'agoniste par des enzymes spécifiques (exemple : acétylcholine et acétylcholinestérase).

b) **Le découplage fonctionnel par phosphorylation** : L'activation d'un RCPG active les protéines G intracellulaires. Ce couplage est peu à peu inhibé (désensibilisation homologue), car on assiste à une phosphorylation de la région intracellulaire du récepteur qui est responsable de l'activation des protéines G (Fig. 7.34). Les enzymes responsables de cette phosphorylation sont des GRK : *G-protein coupled receptor kinases*. La β ARK (*beta adrenergic receptor kinase*) est une enzyme spécifique des récepteurs β -adrénergiques, appartenant à la famille des GRKs. Le récepteur phosphorylé est reconnu par des protéines de type arrestine qui se lient au récepteur et le rendent incapable d'activer l'échange GDP-GTP au niveau des protéines G. La phosphorylation du récepteur peut être catalysée par une PKA ou PKC; il s'agit alors d'une désensibilisation hétérologue.

c) **L'internalisation du complexe ligand-récepteur** : Les mécanismes de phosphorylation des RCPGs et de liaison de l'arrestine sont suivis par une internalisation du complexe ligand-récepteur phosphorylé, à l'intérieur de vésicules recouvertes de clathrine. Les récepteur ainsi endocytosés peuvent alors soit subir un recyclage à la membrane plasmique (ce qui nécessite une déphosphorylation du récepteur et une élimination du ligand), soit subir une dégradation, avec la fusion des vésicules d'endocytose avec les lysosomes.

d) **La régulation négative du nombre total de récepteurs à la surface cellulaire, ou *down regulation*** : Lors d'une exposition longue, chronique, à un ligand agoniste, on peut observer une diminution du nombre total de récepteurs à la surface cellulaire. Deux phénomènes sont impliqués dans la *down regulation* : une diminution de la synthèse de récepteurs et une augmentation de sa dégradation.

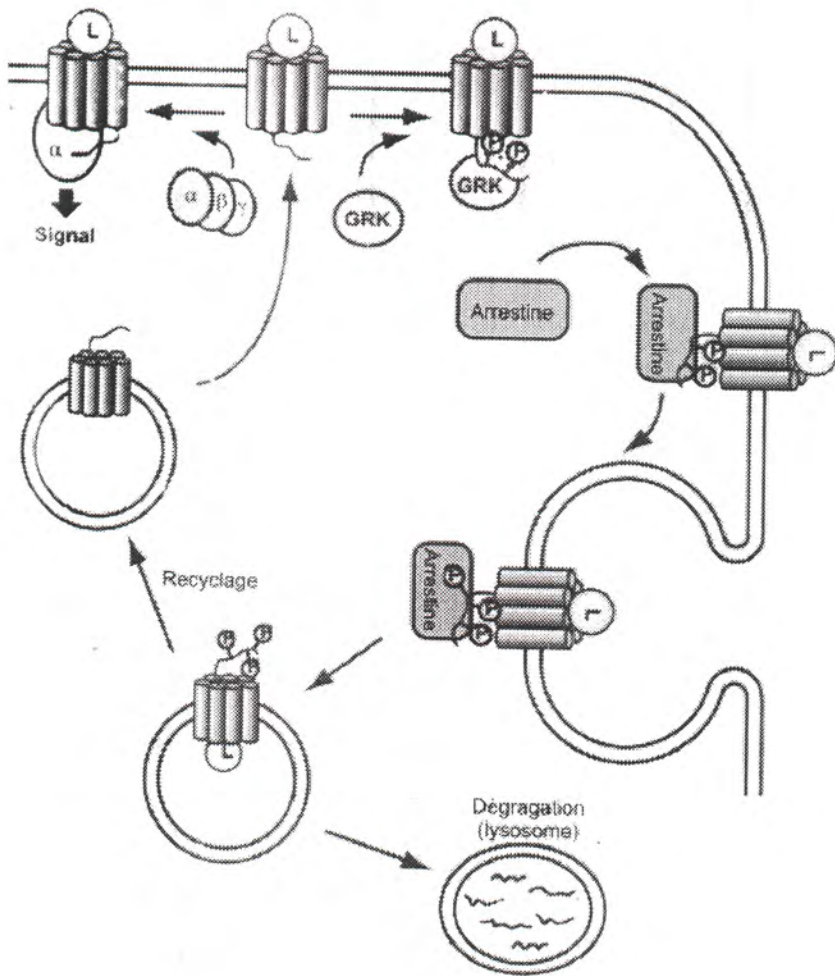


Fig. 7.34. Désensibilisation des RCPGs par phosphorylation, fixation de l'arrestine et internalisation.