Tables des matières

Voies de signalisation - les voies de transduction du signal **5**

I. Introduction les voies de transduction du signal **5**
I.a. Biologie des systèmes complexes **5**
I.b. réseaux de signalisation **6**
I.b.1. les voies de signalisation sont organisées plutôt de manière "intégrée" que séquencielle ou parallèle. 6
I.c. Systems Biology and Drug Discovery **6**
I.d. Objectifs d'apprentissage : **7**

1. Les composants de la cascade de transduction du signal intracellulaire : **7**
1.a. Liaison du ligand à un récepteur transmembranaire **7**
1.1.a. classes de récepteurs de surface cellulaire 7
1.1.b. Signalisation entre différents types de cellules 8
1.1.c. Définition générale de la transduction du signal 8
1.1.c.1. Une définition plus spécifique de la transduction du signal 8
1.1.c.2. Composants des voies de transduction du signal 9
1.1.c.3. La liaison du ligand à un récepteur dépend de liaisons non-covalentes 9
1.c. Molécules de poids moléculaire bas du type «second messagers **9**
1.1.c.4. Messagers secondaires 9
1.b. Les classes majeures de protéines **10**
1.1.c.5. Protéines intermédiaires de la tranduction du signal 10
1.1.c.5.a. Protéines kinases et phosphatases 10
2.a.1.b.protéines kinases possèdent un domaine régulateur. 11
1.1.c.5.b. Les protéines G (Liant le GTP) 13
2.b.1. ..... **13**
1.1.c.5.c. Les phospholipases 14
2.c.1.b. contrôle l'activité d'une Ser/Thr protéine kinase 15
2.c.1.c. Ouvre les canaux de Ca^{2+} 15
2.c.2. Calmodulin 15
1.1.c.6. Spécificité du signal 16
1.1.c.6.b. Le clustering de complexes de signalisation peut se produire par **deux types de mécanismes de liaison** 17
2.c.2.b. Cibles de la cascade de signalisation 18
2.c.2.c. Inactivation du signal 18

2. Les récepteurs couplés à la protéine G **18**
2.a Les « grandes » protéines G sont formées de trois sous- unités : α, β, γ **19**
2.a.1. récepteur activé se lie à la sous-unité G **α** 20
3.a.1.b. L'hydrolyse de GTP en GDP stoppe le processus: 20
3.a.1.b.1. L'adenylate cyclase 20
2.a.3. 2 types de protéines G **α** 21
3.a.2.a. cellules, Gs **α** et Gi **α** peuvent être activées par des récepteurs 21
3.a.2.b. cellules différentes, la même hormone peut activer deux types de récepteurs 21
2.d. Contrôle de l'expression de gènes par AMPc/PKA **21**
Contrôle de l'expression de gènes par AMPc/PKA 22
2.d.1. Régulation de la transcription au niveau de la chromatine 22
2.d.1.a. chromatine 22
2.d.2. AMPc retourne-t-il à un niveau basal 22
2.c. Des récepteurs couplés à la protéine G **23**
2.c.1. IP_3/DAG (*phospholipase*), ... 23

3. Les récepteurs Tyrosine-Kinases (RTKs) **24**
3.1. La voie de signalisation TK est importante pour **24**
3.2. Cicatrisation de la plaie cutanée implique l'interaction de nombreux facteurs **24**
3.3. Récepteurs tyrosine-kinases (RTKs) **25**
3.3.a. tous en commun la même structure 25
3.3.b. ligand peut induire des changements conformationnels au niveau du domaine extracellulaire d'un RTK monomère 26
3.3.b.1. dimérisation du complexe RTK-ligand 26
La phosphorylation Tyr de la "lèvre" du site d'activation ouvre 26
3.4. récepteur HER2 peut être activée par deux mécanismes: **27**
3.5. phosphorylation Tyr d'autres sites les convertit en des sites de liaison pour d'autres protéines de signalisation **27**
3.6. protéines cytosoliques contiennent 2 types de domaines de liaison **27**
3.6.a. protéines cytosoliques contenant SH2 27
3.6.b. Interaction d'un recepteur tyr-kinase et c-src 28
3.6.b.1. Régulation de l'activité kinase src 28
3.7 L'activation de RTK induit 3 cascades majeures de signalisation: **29**
3.a. La voie Ras-MAPK : Voie Ras-MAPK kinase **29**
3.a.1. Ras est une petite protéine G monomérique 29
3.a.2. Les mutations de l'oncogène Ras 30
3.a.2.a. Fibroblastes "transformés" par le oncogène ras 30
3.b.6.a.3. C-terminale des protéines Ras 30
3.a.3. Les protéines Ras fonctionnent en aval de l'activation de RTK pour transmettre le signal mitogénique: 31

3.a.4. La connexion biochimique entre l'activation RTK et Ras est dépendante d'une protéine adaptatrice et d'un GEF 31
3.a.4.a. La liaison avec le ligand provoque la dimérisation de récepteur et la phosphorylation des résidus tyrosine cytosolique 32
3.a.4.b. La liaison de GRB2 et SOS couple le récepteur à Ras inactif 32
3.a.5. La kinase Raf est une cible directe de Ras activé 32
3.a.6. Contrôle de la transcription par activation de MAPK. 33
3.a.7. L'activation de Ras entraîne l'activation de la cascade MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase). 34
3.b. Les voies de phospholipase (protéine kinase C et signalisation calcique) : Voie Phospholipase C 34
La Phospholipase C 34
3.b.1. PIP_2 est clivé par la phospholipase C pour générer deux autres seconds messagers : 35
3.b.1.a. DAG (1,2 diacylglycerol) 35
3.b.1.b. IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate). 36
3.b.2. Signalisation de PKC 36
3.b.3. développement du cancer en plusieurs étapes 37
3.b.3.a. Carcinogenèse à plusieurs étapes dans le modèle de la peau de souris 37
3.b.4. Signalisation du calcium: La Calmoduline 38
3.b.4.a. enzymes calmoduline-dépendantes 38
3.b.4.a.1. Calcineurine 39
3.c. Les voies de phosphatidyl inositol : Voie PI3 kinase 41
3.c.1. Phosphatidylinositol-3 kinases (PI3K) 41
3.c.2. Les phosphates PI(3)P servent d'ancrage 42
3.c.2.a. production de PI(3)P, une seconde kinase contenant un domaine PH, PDK1, ... 42
3.c.2.b. l'activation de RTK / PI3 kinase, conduit, par l'intermédiaire 43
de l'activation de PKB 43
3.c.2.b.1. La perte de PTEN entraîne l'activation constitutive du PKB (Akt), augmentation de la survie cellulaire et de la croissance tumorale. 43
Vers la mise en place de réseaux de signalisation 44
Principaux régulateurs de la croissance cellulaire 45
3.c.2.c. La signalisation PI3K / PKB est liée à la voie de mTor dans la régulation de la croissance cellulaire 45
3.c.2.c. 1. mTor (mammalian target of rapamycin) est une ser/thr kinase de la famille PI3K. 45

4. Récepteurs des cytokines 46
4.a. Protéines transmembranaires sont dépourvues d'activité enzymatique 46
4.b. cytokines structures basées sur 4 hélices pliées ensemble. 47
4.c. L'activation du récepteurs de cytokine déclenche trois voies en commun 47
4.d. Conséquences biologiques de la suppression de Jak médiée par SHP1: 48
4.d.1.Plusieurs inhibiteurs de Jak/Stat sont en cours de développement pour traiter divers types de cancer et d'autres pathologies 49

5. Récepteurs pour TGF-ß 49
5.a. Pléiotropisme" de TGF-ß 50
5.a.1 le TGF-ß joue une double fonction dans le développement du cancer: 50
5.a.1.a. Le TGF-ß "mature" est une molécule avec deux monomères liés par un pont disulfure (jaune) 50
5.a.2. TGF-ß est contrôlé à deux niveaux principaux 51
5.a.2.a. Régulation post-transcriptionnelle du TGF-ß. 51
5.a.3. 3 types de récepteurs au TGF-ß 53
5.a.4. Les facteurs de transcription de la famille Smad 53
5.b. Contrôle pléiotrope du TGF-ß des genes pour la prolifération 54
TGF-ß comme inhibiteur du stade précoce 54
5.c. Contrôle opposé positif et négatif du cycle cellulaire par la voie Ras/MPK versus TGF-ß 55
5.a.3. Activins" et "Inhibins", ... 56

6. Signaux de développement (SHH, Wnt, Notch) 56
6.a. Toutes les cellules qui prolifèrent ne sont pas égales 56
6.a.1.a. hématopoïétique 57
6.a.1.b. Le cancer, résultant du contrôle défectueux des cellules souches; 57
6.a.2. Division des cellules souches 58
6.a.2.a division cellulaire asymétrique 58
6.a.2.b. division cellulaire symétrique 58
6.b. Intégration de réseaux de signalisation : signaux développementaux 58
6.b.1. Etablissement de limites parmi les différentes populations de cellules débutant par des cellules initialement identiques 59
6.b.2. Les signaux développementaux fonctionnent par deux mécanismes au choix: 59
6.b.2.b. gradient de diffusion des morphogènes 60
6.b.2.b.1. La voie de signalisation Sonic HedgeHog (Shh) 60
6.b.2.b.2. Wnts 63
6.b.2.a. mécanisme interrupteur binaire on/off (relais) entre les cellules voisines 66
6.b.2.a.1. Fonctions biologiques complexes de la voie Notch 67
6.b.2.a.2. Programme vertical de différenciation des cellules de l'épiderme dans différentes couches 69

Cellule et tissus
- Biologie des cellules
- Transduction du signal

Transduction du signal

Principes de la transmission du signal – Voies de signalisation (2 heures)

• De quoi dépend la liaison du ligand à un récepteur ?
• Comment exprime-t-on l'affinité de liaison du ligand à un récepteur ?
• Comment identifie-t-on un récepteur à la surface de la cellule ?
• Quelles classes majeures de récepteurs trouve-t-on à la surface de la cellule?
• Qu'est-ce qu'un facteur de croissance?
• Quel est le mode d'action de la transduction du signal? Quelles sont les deux classes majeures de protéines intermédiaires de la transduction du signal?
• De quoi est composée la cascade de transduction du signal? Quelles sont les cibles de la cascade de signalisation?
• Définir amplification, spécificité, inactivation du signal. Quels rôles jouent les molécules du type « seconds messagers »?
• Quelle est la pertinence clinique des études de transduction du signal?
• Au sujet des protéines kinases et phosphatases: appliquer la classification, et expliquer le cycle, le site catalytique, le domaine régulateur (définition, structure et rôle).
• Expliquer la régulation intrinsèque et extrinsèque de l'activité de la protéine kinase.

Les récepteurs couplés à la protéine G

• Comment peut-on classer les protéines G?
• Quelles sont les sous-unités des grandes protéines G?
• Nommer les classes majeures des protéines G trimériques et leurs effecteurs associés.
• Quelle est la fonction de Gα, des protéines Gsα et Giα du complexe Gsα-GTP?
• Expliquer le cycle des protéines G.
• Quel est le rôle des effecteurs?
• Définir les GEFs ; quel rôle jouent-ils au niveau de la protéine G?
• Définir les GAPs ; quel rôle jouent-ils au niveau de la protéine G?
• Quels sont les différents récepteurs couplés à la protéine G?
• Quel rôle jouent les récepteurs couplés à la protéine G?
• Définissez la structure et la fonction de l'adenylate cyclase. Comment l'AMPc retourne-t-il à un niveau basal? Comment la voie de signalisation de l'AMPC/PKA est-elle contrôlée à l'intérieur de la cellule?
• Expliquez comment AMPc/PKA contrôlent l'expression de gènes.

Les récepteurs Tyrosine-Kinases (RTKs)

• Expliquer la structure et la fonction des récepteurs tyrosine-kinase. Décrire le rôle de la voie de signalisation TK. Indiquer le principe de la phosphorylation de Tyr. Nommer les étapes de l'activation de RTK.
• Quelles sont les cascades majeures de signalisation induites par l'activation de RTK?
• Comment se lient les protéines cytosoliques? Expliquer le domaine SH2.
• Connaître l'importance des RTK pour le développement des inhibiteurs pour l'oncologie/thérapies ciblées
• Connaître le principe d'action des inhibiteurs des RTK

La voie Ras-MAPK

• Décrire et expliquer le fonctionnement des (super)familles Ras et des complexes Ras-GDP. Décrire le mécanisme de fonctionnement GDP/GTP, comment agit GTP?
• Comment est activée la cascade MAPK. Définir le rôle de la kinase Raf.
• Expliquer le contrôle de la transcription par activation de MAPK.

Les voies de phospholipase, protéine kinase C et de la signalisation calcique

• Quelle est la fonction de l'enzyme PLC-β? Qu'est-ce que le phosphatidylinositol?
• Comment fonctionnent les seconds messagers DAG et IP3?
• Que contrôle l'activation de PKC et qu'en résulte-t-il?
• Quel est le rôle du calcium et celui de la calmoduline dans la signalisation?
• Quelle est la structure et la fonction de la calcineurine?

Les voies phosphatidyl inositol

• Quelle est la fonction de la PI3 kinase?
• Le mécanisme de l'activation de la kinase PKB (Akt) et sa fonction. Définir les fonctions de PTEN

Récepteurs des cytokines

• Comment un récepteur de cytokine est-il activé?
• Les facteurs de transcription STAT, comment fonctionnent-ils?
• Comment le signal du récepteur de cytokine/Jak se termine-t-il (mécanismes direct et indirect impliqués)?

La famille TGF-ß, les récepteurs TGF-ß et leur modalité de signalisation

• Quels sont les facteurs de la famille TGFβ?
• Comment est-ce que TGF-β mature-t-il?
• À quels niveaux TGF-β est-il contrôlé?
• Quels sont les 3 types de récepteurs au TGF-β?
• Les facteurs de transcription de la famille Smad, comment est-ce qu'ils fonctionnent?
• Quelle est la liaison entre la signalisation TGF-β et le cycle cellulaire ?
• Est-ce que la signalisation TGF-β favorise ou supprime le développement des tumeurs?

Signaux de développement

• Décrire les 2 mécanismes qui peuvent actionner les signaux de développement.
• Qu'est-ce que la voie de signalisation Sonic HedgeHog et la protéine Patched? Qu'est-ce qui active la voie de signalisation SHH?
• Qu'est-ce que la voie de signalisation Wnt?
• Quel est le rôle de la β-caténine dans cette voie?
• La voie de signalisation Notch et le récepteur Notch1.
• Comment Notch est-il activé?
• Comment l'expression des gènes est activé ?

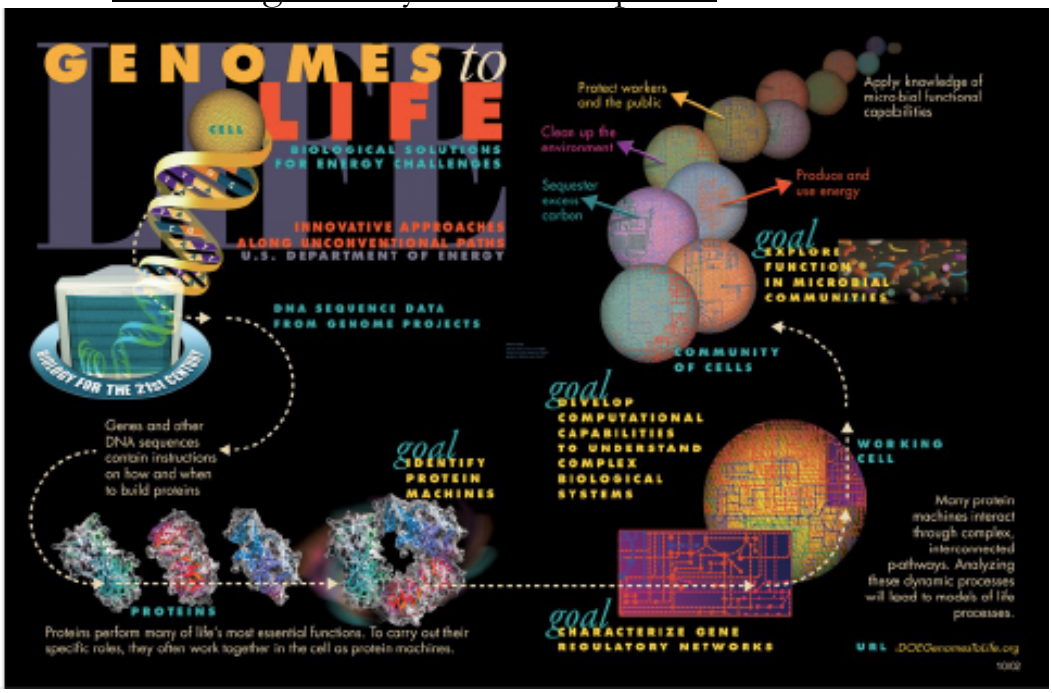
Principes de la transmission du signal – Voies de signalisation

Voies de signalisation - les voies de transduction du signal

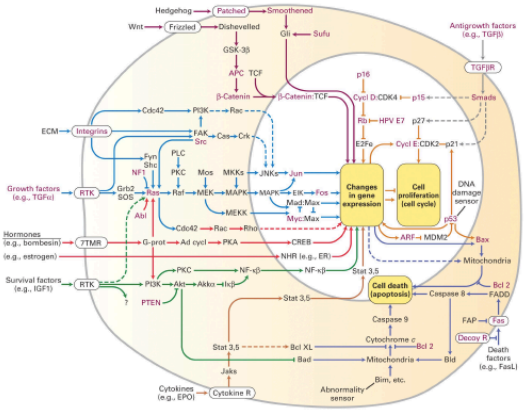
I. Introduction les voies de transduction du signal

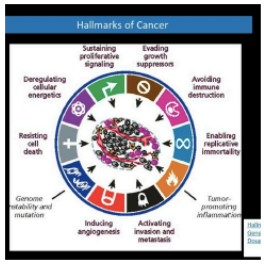
Importance des études sur les voies de transduction du signal :
•1) Principes et connaissances de base des systèmes biologiques complexes;
2) Pertinence théorique et pratique des études vers la conception rationnelle de molecules thérapeutiques
(et une nouvelle discipline appelée "génétique chimique").

I.a. Biologie des systèmes complexes



I.b. réseaux de signalisation

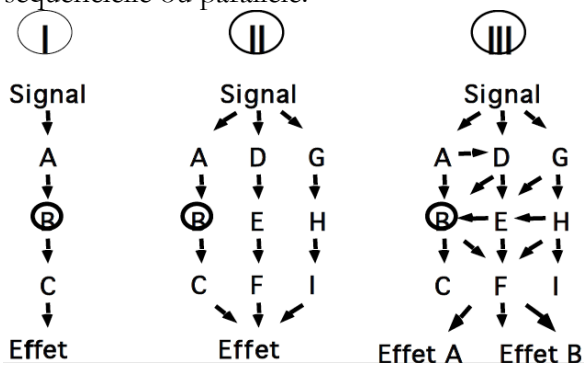




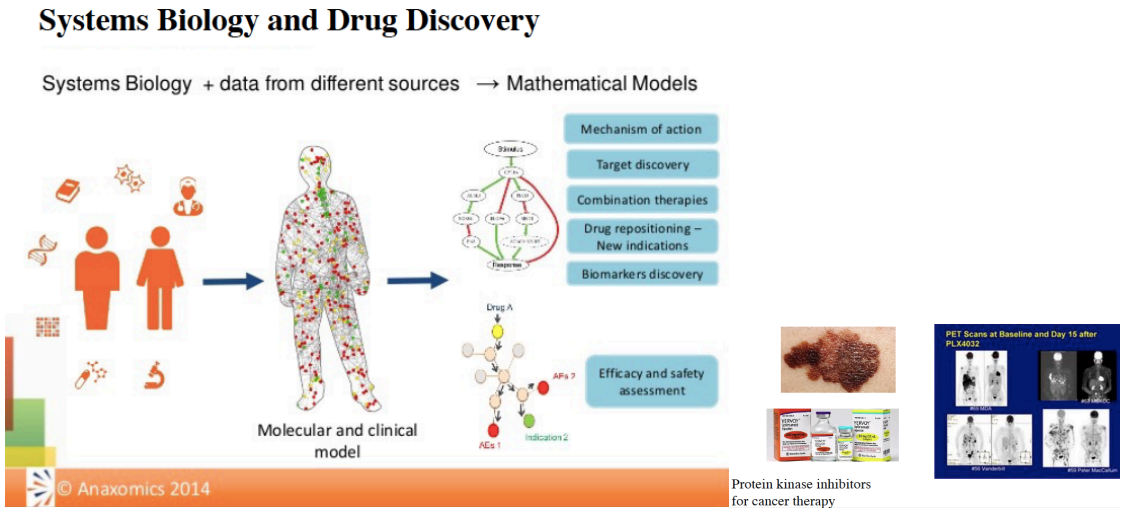
I.b.1. les voies de signalisation sont organisées plutôt de manière "intégrée" que séquencielle ou parallèle.

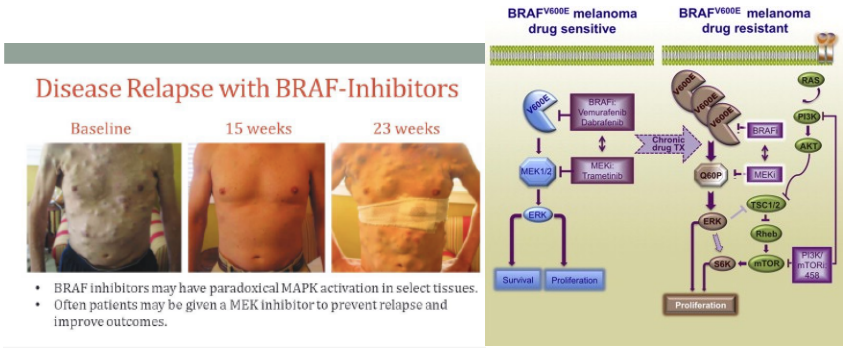
Nous avons l'habitude de penser à des signaux agissant en séquence linéaire.

Cependant, les voies de signalisation sont organisées plutôt de manière "intégrée" que séquencielle ou parallèle.



I.c. Systems Biology and Drug Discovery





I.d. Objectifs d'apprentissage :

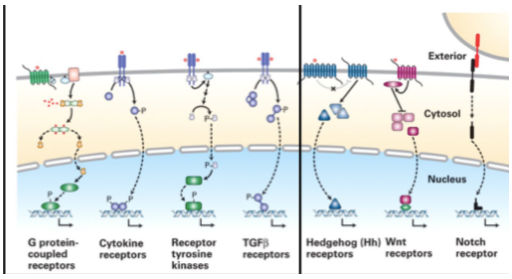
1. Les composants de la cascade de transduction dusignal intracellulaire :
   - -Liaison du ligand à un récepteur transmembranaire
   - -Les classes majeures de protéines
   - -Molécules de poids moléculaire bas de type second messagers
2. Les récepteurs couplés à la protein G
3. Les récepteurs tyrosine-kinase (RTKs)
   - -La voie Ras- MAPK
   - -Les voies de phospholipase (proteine kinase C et signilisation calcique)
   - -Les voies de phosphatidyl inositol
4. Récepteurs des cytokines
5. Récepteurs pour TGF-ß
6. Signaux de développement (SHH, Wnt, Notch)

1. Les composants de la cascade de transduction du signal intracellulaire :

1.a. Liaison du ligand à un récepteur transmembranaire

1.1.a. classes de récepteurs de surface cellulaire

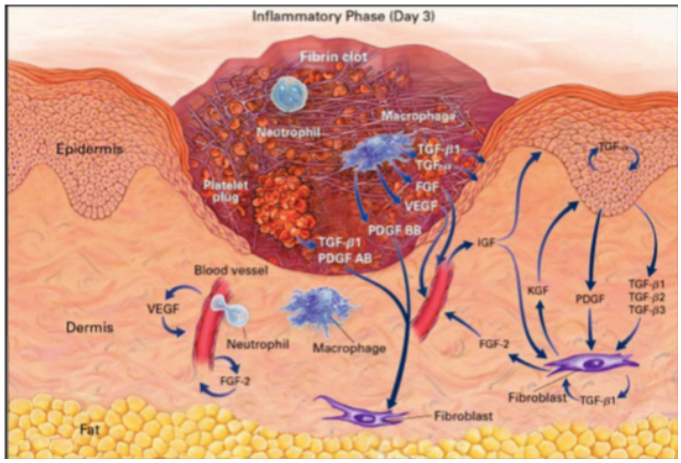
- G proteine coupled receptors
- Cytokine receptors
- Receptor tyrosine kinases
- TGFβ recepteurs
- Hedgehog (Hh) receptors
- Wnt receptors
- Notch receptor



1.1.b. Signalisation entre différents types de cellules

la cicatrisation des plaies cutanées

La cicatrisation des plaies cutanées



1.1.c. Définition générale de la transduction du signal

Définition générale de la transduction du signal :

Conversion d'un signal en réponse.

Un tel signal peut provenir de :

a) L'intérieur de la même cellule
b) Différentes cellules au sein du même organisme
c) De l'environnement (par exemple, en réponse à la lumière, chaleur, toucher, odeurs, bruit)

1.1.c.1. Une définition plus spécifique de la transduction du signal

a) Un ligand se lie à un récepteur.
b) La liaison du ligand induit un changement de conformation du récepteur.
c) Le changement de conformation du récepteur déclenche une cascade de signalisation en aval.

d) terminaison du signal par divers mécanismes complémentaires :

- au niveau des interactions ligand-récepteur
- de l'expression du récepteur
- de la réinitialisation des voies de signalisation en aval et de l'expression des gènes

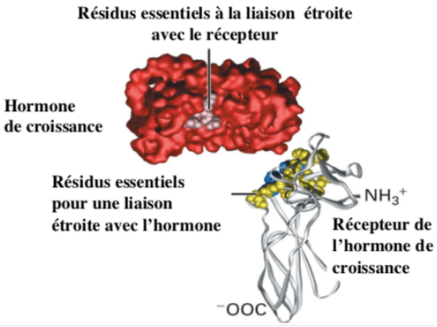
1.1.c.2. Composants des voies de transduction du signal

Composants des voies de transduction du signal:

- Ligand
- Récepteur, avec un changement de conformation déclenché par la liaison du ligand
- Protéines intermédiaires de la transduction du signal.
- Messagers secondaires pour transmettre et amplifier le signal de nombreux récepteurs.
- Cibles terminales (régulateurs de la transcription de gènes, de la structure de la cellule et de son architecture, de la mobilité cellulaire et de la division cellulaire)

1.1.c.3. La liaison du ligand à un récepteur dépend de liaisons non-covalentes

La liaison du ligand à un récepteur dépend de liaisons non-covalentes de faible énergie (liaisons ioniques, de van der Waals, interactions hydrophobes)



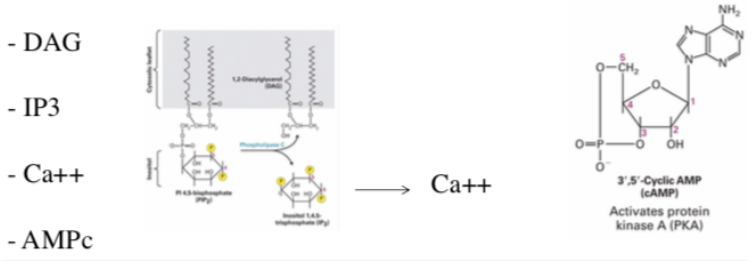
1.c. Molécules de poids moléculaire bas du type «second messagers

1.1.c.4. Messagers secondaires

- DAG
- IP3
- Ca++
- AMPc

Messagers secondaires molécules de courte durée de vie et de faible masse moléculaire pour transmettre et amplifier le signal de nombreux récepteurs.
telles que :

- DAG
- IP3
- Ca++
- AMPc



1.b. Les classes majeures de protéines

1.1.c.5. Protéines intermédiaires de la tranduction du signal

Protéines intermédiaires de la tranduction du signal :

1) Les protéines kinases et les phosphatases
2)Les protéines G (Liant le GTP)
3) Les phospholipases

Autres transducteurs de signal :

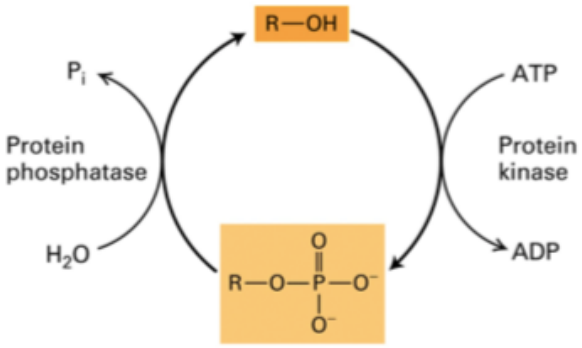
- les protéases
- les facteurs de transcription faisant directement la navette entre le récepteur et le gène

1.1.c.5.a. Protéines kinases et phosphatases

Protéines kinases et phosphatases :
Dans le génome humain: 500 protéines kinases et 100 phosphatases

Deux types Protéines kinases et phosphatases :

1) Les Ser/Thr kinases et phosphatases
2) Les Tyr kinases et phosphatases



Protein Kinases

TABLE 8.3 Six major classes of enzymes

Class	Type of reaction	Example	Chapter
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction	Lactate dehydrogenase	16
2. Transferases	Group transfer	Nucleoside monophosphate kinase (NMP kinase)	9
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)	Chymotrypsin	9
4. Lyases	Addition or removal of groups to form double bonds	Fumarase	18
5. Isomerases	Isomerization (intramolecular group transfer)	Triose phosphate isomerase	16
6. Ligases	Ligation of two substrates at the expense of ATP hydrolysis	Aminoacyl-tRNA synthetase	29

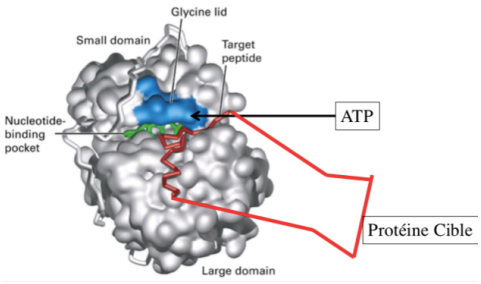
Protein Phosphatases

Certaines kinases et phosphatases sont des récepteurs transmembranaires et sont directement activées par la liaison du ligand

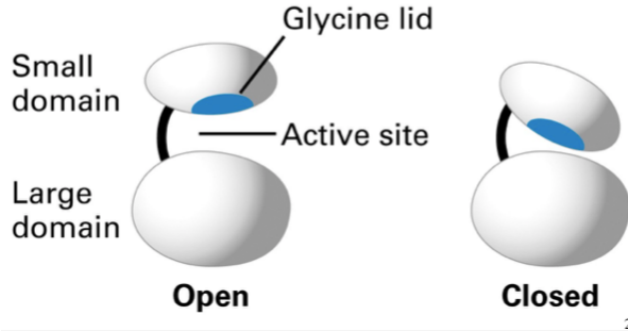
Certaines kinases et phosphatases sont directement associées aux récepteurs transmembranaires et sont directement contrôlées par l'activation du récepteur.

Certaines kinases et phosphatases font partie de la cascade de signalisation en aval, et sont directement contrôlées par des messagers secondaires, des protéines G et d'autres kinases et phosphatases.

1.1.c.5.a.1. Protein Kinases : transferases
protéines kinases ont un site catalytique
Toutes les protéines kinases ont un site catalytique avec une structure de base similaire



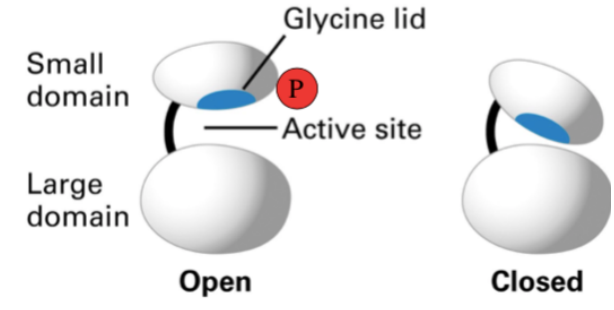
L'activité de la protéine kinase dépend de la position "ouverte" ou "fermée" du site catalytique.



1.1.c.5.a.2. Protein Phosphatases : hydrolases

Ouverture du site catalytique par phosphorylation de résidus critiques au niveau du "glycine lid" par

- réaction intramoléculaire d'auto-phosphorylation
- réaction de phosphorylation réciproque après dimérisation de la kinase



2.a.1.b.protéines kinases possèdent un domaine régulateur.

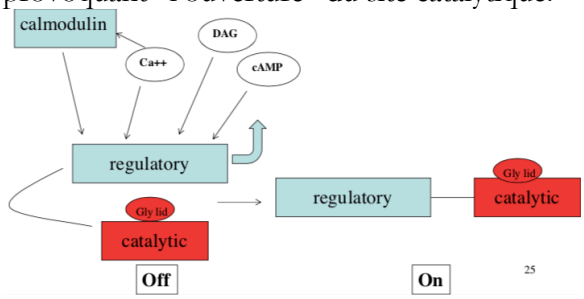
En plus de leur site catalytique, de nombreuses protéines kinases possèdent un domaine régulateur.



régulation de l'activité de la protéine kinase par blocage du site catalytique par le domaine régulateur, grâce à un recouvrement intra-moléculaire.



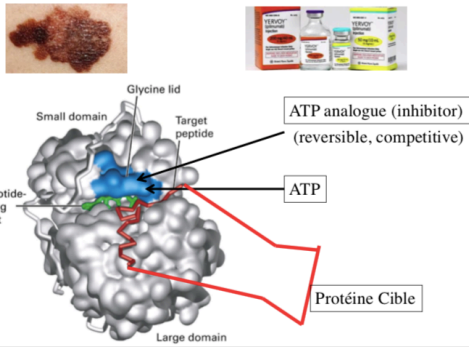
régulation de l'activité de la protéine kinase par liaison des messagers secondaires (comme le calcium, le DAG, la cAMP) ou d'autres protéines au domaine régulateur (comme la calmodulin), provoquant "l'ouverture" du site catalytique.



1.1.c.5.a.3. Pertinence clinique des études de transduction du signal
- dans la conception Rationnelle de molécules thérapeutiques
- diagnostic moléculaire

De récents développements très intéressants dans la **conception Rationnelle de molécules** thérapeutiques sont basés sur:
- l'identification d'inhibiteurs kinase-spécifiques de faible poids moléculaire
- des anticorps spécifiquement dirigés contre les kinases

De récents développements en diagnostic moléculaire sont basés sur: - l'identification d'anticorps phospho-spécifiques qui reconnaissent sélectivement les formes actives phosphorylées de chaque protéine kinase.



diagnostic moléculaire

Diagnostic moléculaire

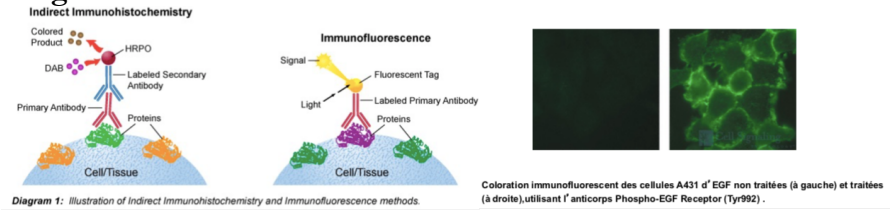
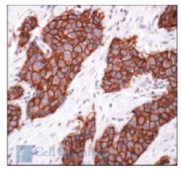
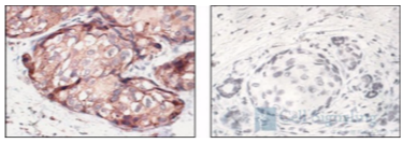


Diagram 1: Illustration of Indirect Immunohistochemistry and Immunofluorescence methods.

Coloration immunofluorescent des cellules A431 d' EGF non traitées (à gauche) et traitées (à droite),utilisant l' anticorps Phospho-EGF Receptor (Tyr992) .



Immunohistochemical staining of HER2/ErbB2 in paraffin-embedded human breast carcinoma showing membrane localization, using HER2/ErbB2 Antibody.



Immunohistochemical staining of paraffin-embedded human breast tumor, using Phospho-HER2/ErbB2 (Tyr1248)/EGFR (Tyr1173) Antibody (left) or the same antibody preincubated with specific phospho-peptide (right).

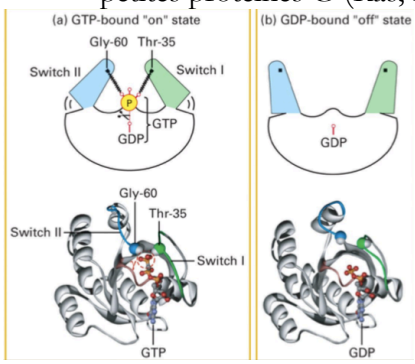
1.1.c.5.b. Les protéines G (Liant le GTP)

Protéines G :

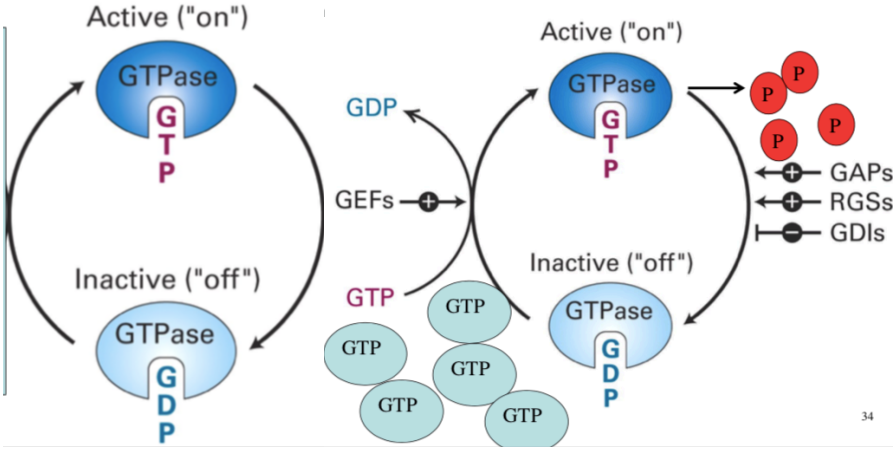
GTPases, passant d'une forme active liée au GTP à une forme inactive liée au GDP (examen)

2 classes de protéines G :

- grandes protéines G (multimerique a, b/g)
- petites protéines G (Ras, Rho/Rac)



2.b.1.



1.1.c.5.b.1. L'activité intrinsèque GTPase des protéines G est régulée par

- GEFs ("Guanine nucleotide Exchange Factors")
- GAPs ("GTPase Activating Proteins")

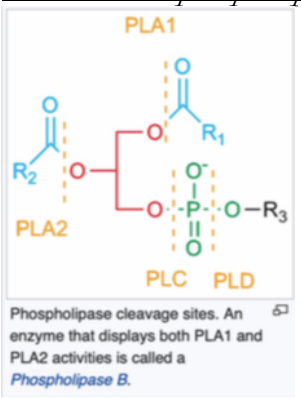
L'activité intrinsèque GTPase des protéines G est régulée par:

L'activité intrinsèque GTPase des protéines G est régulée par: (examen)

1) Les GEFs ("Guanine nucleotide Exchange Factors"), facteurs qui entraînent la libération de GDP de la protéine G, puis la fixation de GTP, qui est favorisée par son importante concentration intracellulaire. Donc les GEFs sont des régulateurs positifs qui "activent" la protéine G, qui alors sous sa forme active se lie aux effecteurs en aval (aux protéines kinases par ex.).

2) Les GAPs ("GTPase Activating Proteins") qui augmentent l'activité intrinsèque GTPase de la protéine G. Donc les GAPs sont des régulateurs négatifs qui "désactivent" la protéine G qui alors inactive se dissocie de ses effecteurs en aval.

1.1.c.5.c. Les phospholipases

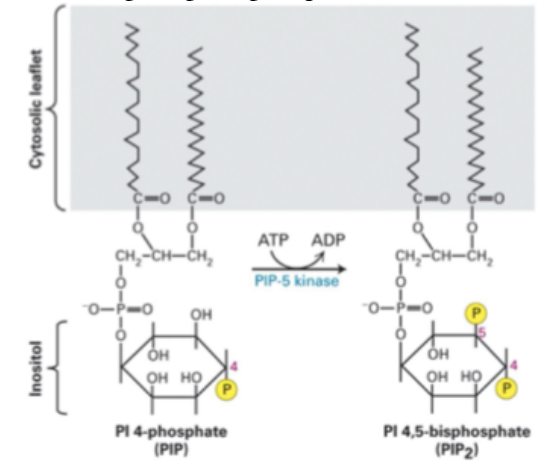


Phospholipase cleavage sites. An enzyme that displays both PLA1 and PLA2 activities is called a *Phospholipase B*.

1.1.c.5.c.1. Phosphatidylinositol

Phosphatidylinositol :

- élément phospholipidique de la membrane cytoplasmique;

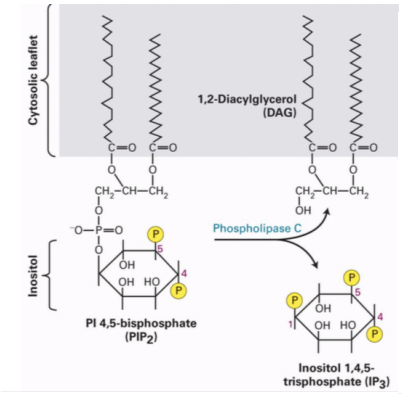


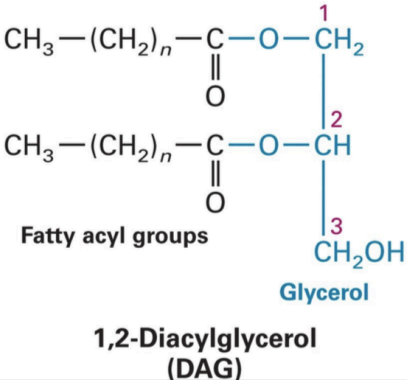
*1.1.c.5.c.2. PIP_2 est clivé par la **phospholipase C***

PIP_2 est clivé par la phospholipase C pour générer deux messagers secondaires de faible masse moléculaire

deux messagers secondaires de faible masse moléculaire

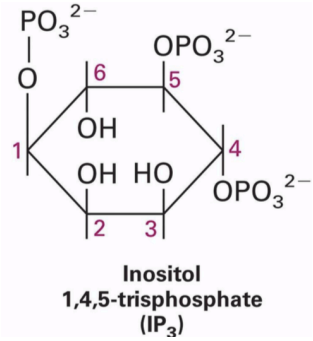
- DAG (1,2 diacylglycerol);
- IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate).





2.c.1.b. contrôle l'activité d'une Ser/Thr protéine kinase

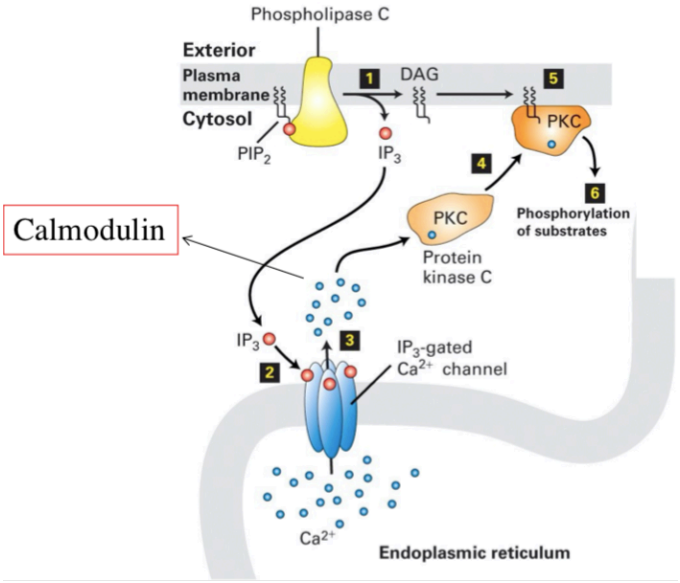
contrôle l'activité d'une Ser/Thr protéine kinase :
la protéine kinase C (PKC).



2.c.1.c. Ouvre les canaux de Ca^{2+}

Ouvre les canaux de Ca^{2+} dans le réticulum endoplasmique

2.c.2. Calmodulin



1.1.c.6. Spécificité du signal

Spécificité du signal

L'activation de nombreux récepteurs utilise les mêmes seconds messagers cellulaires et/ou les molécules intermédiaire en aval.

Cependant:

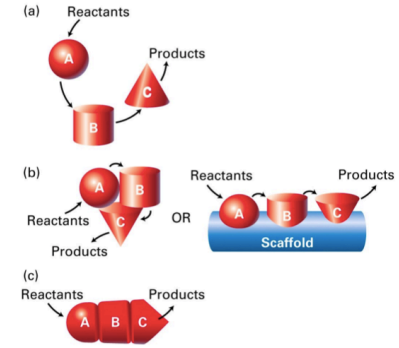
1) L'activation de chaque récepteur a des conséquences différentes des autres récepteurs, même au sein de la même famille.
2) Les récepteurs déclenchent souvent des réponses différentes dans différents types de cellules.
3) Même à l'intérieur d'une cellule, des récepteurs individuels peuvent déclencher différentes réponses, localement dans des compartiments subcellulaires (par exemple à l'arrière et à l'avant d'une cellule pendant la migration cellulaire).

1.1.c.6.a. Le clustering des molécules de la transduction du signal

a. Le clustering des molécules de la transduction du signal :

Le clustering des molécules de la transduction du signal :

Alors que les seconds messagers peuvent généralement diffuser à travers la cellule, les récepteurs trans-membranaires, les protéines intermédiaires de la transduction du signal et leurs substrats sont souvent regroupés en complexes de signalisation, augmentant ainsi spectaculairement la concentration locale de l'enzyme et du substrat.



*1.1.c.6.b. Le clustering de complexes de signalisation peut se produire par **deux types de mécanismes de liaison***

Le clustering de complexes de signalisation peut se produire par deux types de mécanismes de liaison :

1) Les interactions protéine-protéine grâce à des domaines spécifiques de liaison de la protéine.

2) L'association à des régions discontinues de la membrane plasmique avec une composition lipidique sélective, les "radeaux lipidiques" ou "lipid rafts" (riches en cholesterol et sphingomyelin).

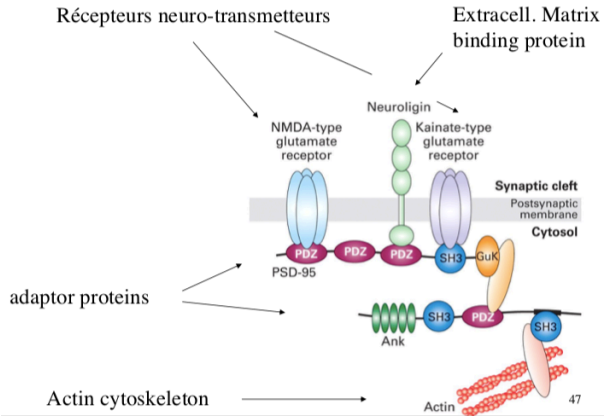
1.1.c. 6.b.1. Domaine de liaison aux proteines

- PDZ domains
- SH2 ou PTB domains
- SH3 domains

Domaine de liaison aux proteines séquence limitée d'acides aminés (généralement >50) avec une sequence primaire consensus ayant une structure secondaire similaire predictible.

- PDZ domains : lient le C-terminal de proteines membranaires cibles en reconaissant les 3 derniers acides aminés (tels que Ser/Thr-X-F or F-X- F).
- SH2 ou PTB domains : lient la phosphotyrosine, dans le cas d'une séquence de 4 acides aminés, avec p-Tyr en 5'ou en 3'
- SH3 domains : lient les séquences d'acides aminés riches en Pro-rich

Clustering par interactions protéine-protéine dans une membrane post-synaptique



2.c.2.b. Cibles de la cascade de signalisation

Cibles de la cascade de signalisation :
- Transcription de gène
  - Cycle cellulaire
  - Différenciation
  - Activités métaboliques/ secrétoires
- Structure/attachement/mobilité cellulaire

- Adhésion cellule/cellule et communication

2.c.2.c. Inactivation du signal

Inactivation du signal
- Au niveau du récepteur
- En aval du récepteur

Au niveau du récepteur :
1) Désensibilisation du récepteur par un signal persistant ou fort (par des changements en phosphorylation, association avec d'autres
éléments de signalisation);

2) Down-modulation du récepteur (endocytose avec recyclage; clivage protéolytique et dégradation).

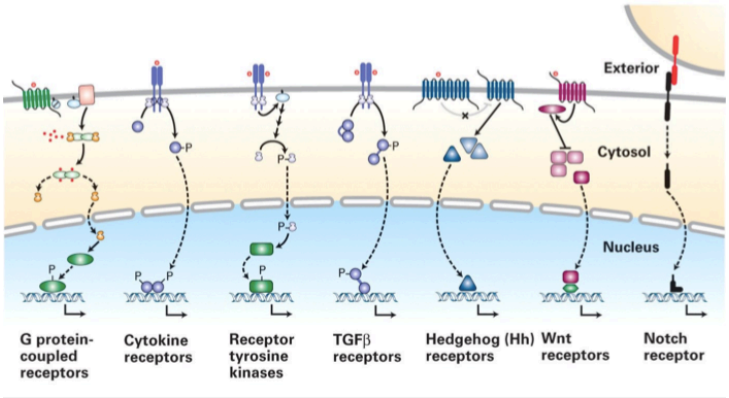
En aval du récepteur :
1) Dégradation du messager secondaire;

2) Désactivation des protéines de signalisation (conversion GTP-GDP, (de-)phosphorylation de résidues critiques des protéines kinases , etc.);

3) Changements dans l'expression génique.

2. Les récepteurs couplés à la protéine G

7 classes majeures de récepteurs à la surface de la cellule



Récepteurs couplés à la protéine G

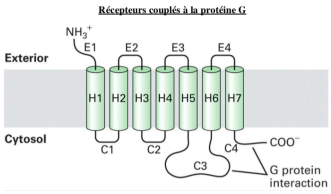
1) Un très grand nombre de récepteurs, pour les hormones et les neurotransmetteurs (glucagon, vasopressin, ACTH, serotonin, épinephrine), la lumière, les odorants

2) Des protéines transmembranaires de type I, avec 7 domaines transmembranaires

3) Couplés à de grandes protéines G;

4) Signalisation à travers

- IP$_3$/DAG (phospholipase),
- AMPc (adenylate cyclase),
- ou des fluxs d'ions (*canaux ioniques*).

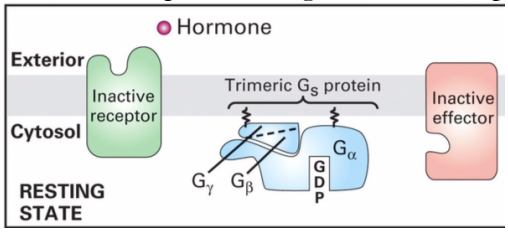


2.a Les « grandes » protéines G sont formées de trois sous- unités : **α, β, γ.**

Les « grandes » protéines G sont formées de trois sous- unités : a, b, g.

- (Dans le génome humain: 27 Ga, 5Gb, 13Gg). Ga est un « commutateur » qui traduit généralement le signal, activant, ou inhibant parfois, les effecteurs en aval.

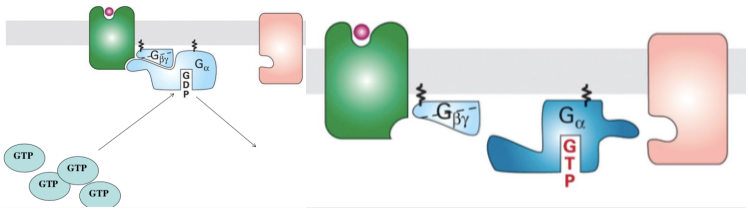
- Quelquefois le signal est traduit par les sous-unités Gb/g.



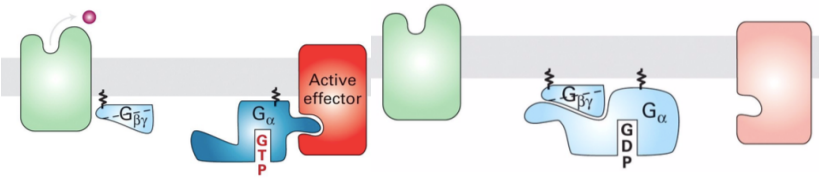
2.a.1. récepteur activé se lie à la sous-unité G **α**

Les protéines G sont fixées à la membrane cellulaire à l'état inactif

Le récepteur activé se lie à la sous-unité Ga et fonctionne comme facteur d'échange GDP-GTP, du GDP lié à Ga avec le GTP du cytoplasm



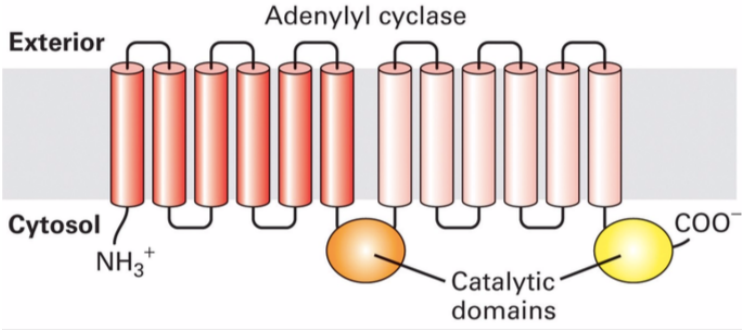
Ga échange GDP avec GTP et la forme activée de G **α** combinée à GTP se dissocie des sous-unités Gbg.



La forme activée de G **α** liée à GTP se fixe à l'effecteur en aval et l'active

3.a.1.b. L'hydrolyse de GTP en GDP stoppe le processus:

L'hydrolyse de GTP en GDP stoppe le processus:
Ga se dissocie de l'effecteur et se réassocie à Gbg.



3.a.1.b.1. L'adenylate cyclase

L'adenylate cyclase est une cible principale de l'activation du récepteur couplé à la protéine G

C'est une grande enzyme avec 2 domaines catalytiques cytosoliques et 2 domaines intégrés à la membrane, chacun contenant 6 hélices transmembranaires ∝

Des toxines bactériennes telles que Cholera, *Escherichia Coli* et Pertussis fonctionnent en "verouillant" les protéines Ga dans une configuration active (liée au GTP) (par des modifications chimiques qui inhibent son activité GTPase).

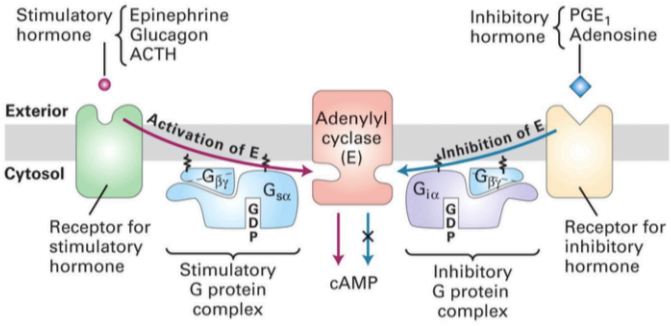
Cela se traduit par une augmentation constitutive de la production d'AMPc dans les cellules épithéliales cibles de l'intestin ou aériennes, avec une perte associée d'électrolytes et d'eau.

2.a.3. 2 types de protéines G **α**

G**s α** **s**timule l'activité de l'adenylate cyclase
G**i α** **i**nhibe l'activité enzymatique en liant des différentes régions de la protéine

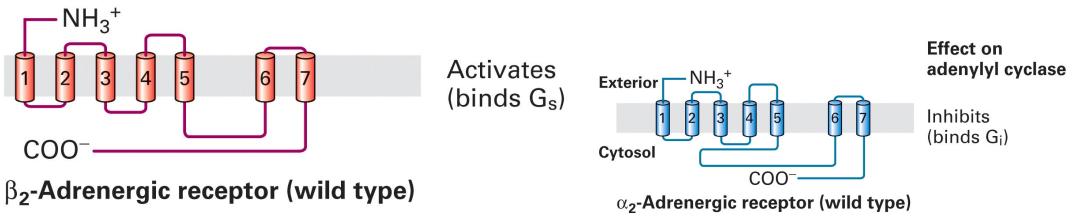
3.a.2.a. cellules, Gs α et Gi α peuvent être activées par des récepteurs

Dans les mêmes cellules, Gsa et Gia peuvent être activées par des récepteurs pour différentes hormones, déclenchant des effets opposés.



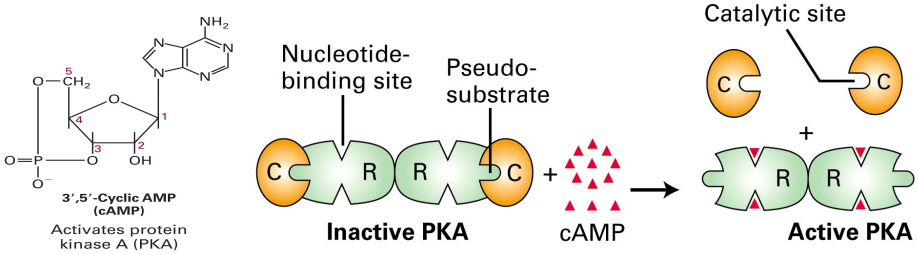
3.a.2.b. cellules différentes, la même hormone peut activer deux types de récepteurs

Dans des cellules différentes, la même hormone peut activer deux types de récepteurs qui sont couplés soit aux protéines Gs **α** ou Gi **α**



2.d. Contrôle de l'expression de gènes par AMPc/PKA

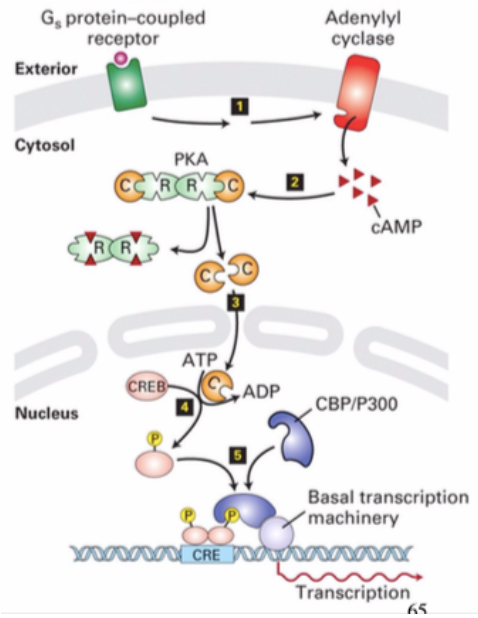
Dans les organismes multicellulaires, tous les effets divers de l'AMPc sont dépendants de la protéine kinase A (PKA)



PKA est un tétramère avec 2 sous-unités régulatrices R et deux sous-unités catalytiques C.

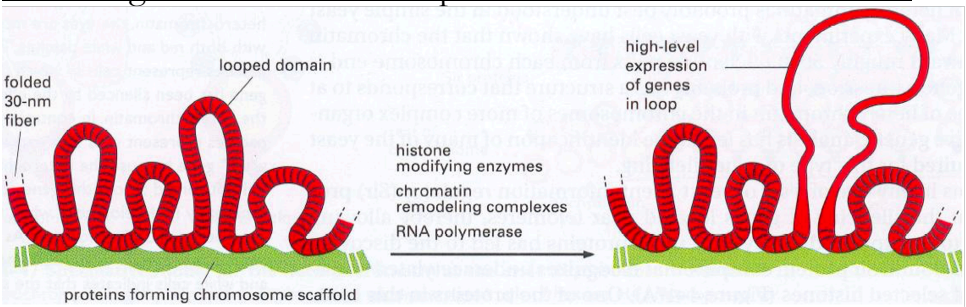
L'AMPc en se liant coopérativement aux sous-unités R dissocie et libère les sous-unités C qui deviennent actives.

Contrôle de l'expression de gènes par AMPc/PKA

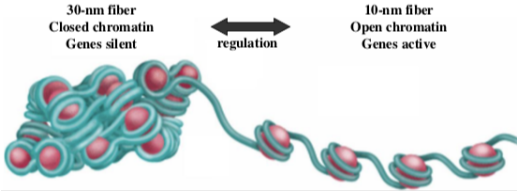


Après activation, les sous-unités catalytiques de la PKA effectuent une translocation vers le noyau et phosphorylent le facteur de transcription CREB.
CREBp s'associe au CBP/p300 et induit la transcription.

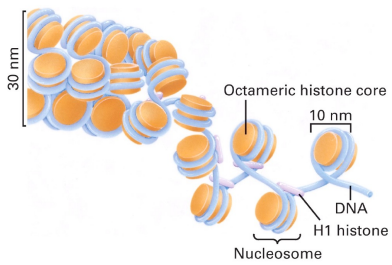
2.d.1. Régulation de la transcription au niveau de la chromatine



30-nm fiber Closed chromatin Genes silent --- regulation --- 10-nm fiber Open chromatin Genes active



2.d.1.a. chromatine



2.d.2. AMPc retourne-t-il à un niveau basal

(comment le signal est-il inactivé) ?

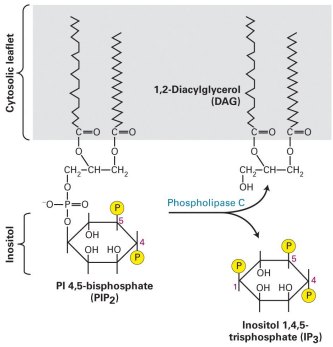
1) Hydrolyse de GTP en GDP par Gsa;

2) phospho-diestérase d'AMPc (l'AMPc est hydrolysé en 5'AMP);

3) Désensibilisation du récepteur : phosphorylation PKA du récepteur ligand b-adrénergique , ainsi que d'autres récepteurs couplés à la protéine G (désensibilisation hétérologue)

2.c. Des récepteurs couplés à la protéine G

1) Réguler des canaux ioniques
2) ou déclencher une **signalisation en activant la phospholipase C**



2.c.1. IP_3/DAG (*phospholipase*),

- DAG (1,2 diacylglycerol)
contrôle l'activité d'une Ser/Thr protéine kinase : la protéine kinase C (PKC)

- IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate)
contrôle la libération du calcium intra-cellulaire

Question examen

Réponse fausse concernant : **la signalisation AMPc (adénosine monophosphate cyclique)** :

- A. l'adénylate cyclase est une cible principale de l'activation du récepteur couplé à la protéine G.

- B. les toxines de bactéries telles que celles de *Vibrio cholerae*, fonctionnent en "verrouillant" les protéines
Ga dans une configuration active (liée au GDP) et en entraînant une diminution constitutive de la production d'AMPc dans les cellules épithéliales cibles.

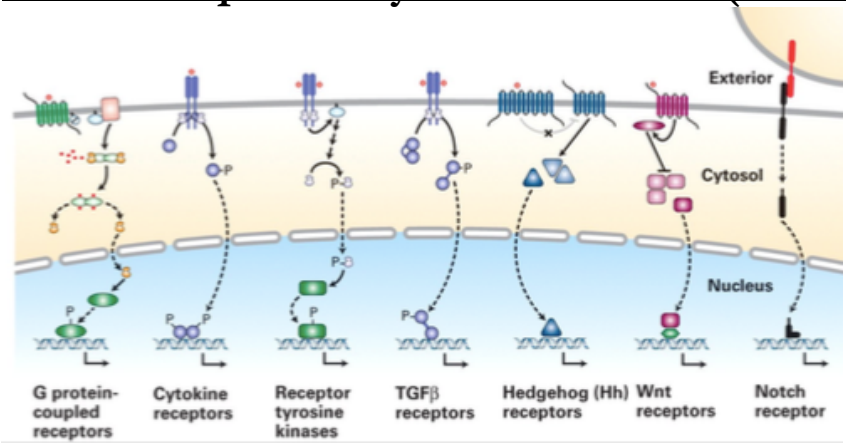
- C. la PKA (protéine kinase A) agit sur différents substrats, dans des cellules différentes, mais elle phosphoryle toujours le même motif.

- D. la PKA est un tétramère avec 2 sous-unités régulatrices R et deux sous-unités catalytiques C. L'AMPc, en se liant aux sous-unités R dissocie et libère les sous-unités C qui deviennent actives.

- E. les sous-unités catalytiques de la PKA, une fois activées, sont transloquées vers le noyau pour phosphoryler un facteur de transcription (CREB).

Fausse - B. les toxines de bactéries telles que celles de *Vibrio cholerae*, fonctionnent en "verrouillant" les [1]SEP protéines Ga dans une configuration active (liée au GDP) et en entraînant une diminution constitutive de la production d'AMPc dans les cellules épithéliales cibles.

3. Les récepteurs Tyrosine-Kinases (RTKs)



Récepteurs Tyrosine-Kinases (RTKs) :
Récepteurs Tyrosine-kinases transmembranaires
Récepteurs pour des peptides solubles ou liés à la membrane et pour des protéines impliquées dans le contrôle de la croissance cellulaire et/ou de différenciation,

tels que:
- Insulin et Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) (toutes les cellules)
- Epidermal Growth Factor (EGF) (cellules épithéliales)
- Platelet-derived Growth Factor (cellules mesenchymales)
-Vascular Endothelial Growth Factors (angiogenèse)
- Nerve Growth Factor (NGF) (cellules neuronales)
- Stem cell factor (cellules souches embryonnaires; cellules souches hématopoiétiques; germ cells; mélanocytes)

3.1. La voie de signalisation TK est importante pour

La voie de signalisation TK est importante pour :
- Le contrôle des voies métaboliques (par exemple augmentation/utilisation de glucose)

- L'équilibre entre le renouvellement des cellules souches et la différenciation (homéostase des tissus)

- Réparation des tissus et conditions régénératives (par exemple guérison d'une plaie)

- Conditions pathologiques hyperplastiques (par exemple le psoriasis)
- Développement de tumeurs (par exemple cancer du sein)

3.2. Cicatrisation de la plaie cutanée implique l'interaction de nombreux facteurs

Cicatrisation de la plaie cutanée implique l'interaction de nombreux facteurs pour:

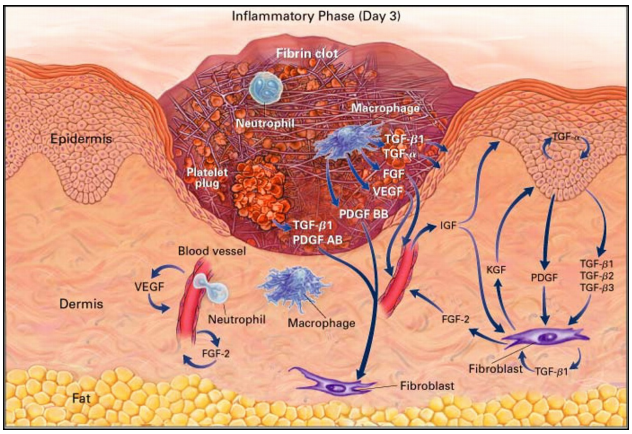
- Mouvements et contractions cellule;
- Prolifération cellulaire (production de nouvelles cellules);
- Re-différenciation des cellules.

Facteurs qui agissent par activation des récepteurs Tyrosine Kinases:

- KGF (keratinocyte growth factor);
- FGF (fibroblast growth factor);
- VEGF (vascular endothelial growth factor);
- PDGF (platelet-derived growth factor);
- IGF-1 (insulin-like growth factor);.

Facteurs qui agissent par activation des autres récepteurs :

TGF-ßs (transforming growth factors) :
Interleukins (IL1, etc.)

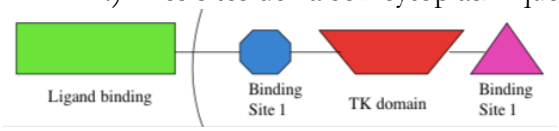


3.3. Récepteurs tyrosine-kinases (RTKs)

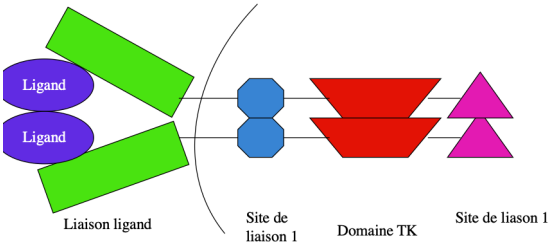
3.3.a. tous en commun la même structure

Ils ont tous en commun la même structure :

1) Un domaine de liaison au ligand extra-cellulaire;
2) Un seul domaine transmembranaire;
3) Un domaine cytoplasmique tyrosine-kinase
4) Des sites de liaison cytoplasmiques pour d'autres protéines de signalisation

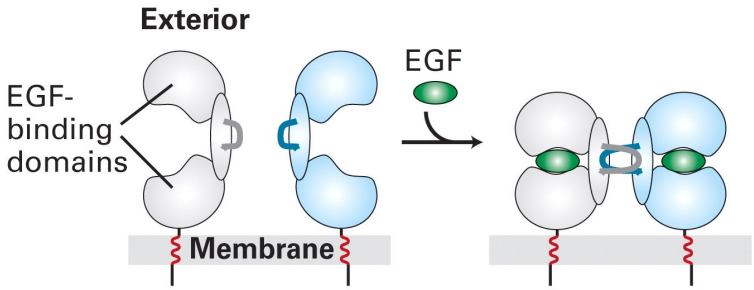


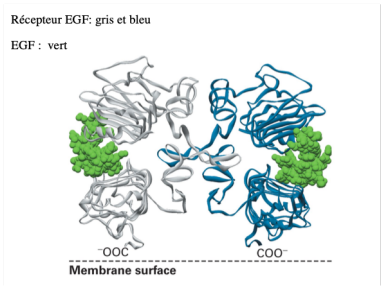
La plupart d**es RTKs sont monomériques en phase inactive**
La liaison du ligand induit la dimérisation de RTK.
Le ligand peut servir de pont entre deux RTKs :



3.3.b. ligand peut induire des changements conformationnels au niveau du domaine extracellulaire d'un RTK monomère

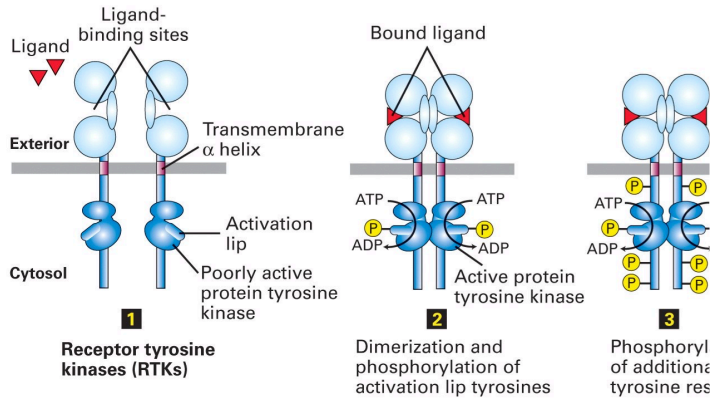
Alternativement, un ligand peut induire des changements conformationnels au niveau du domaine extracellulaire d'un RTK monomère qui se lie à un autre.





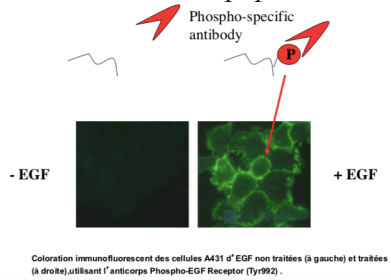
3.3.b.1. dimérisation du complexe RTK-ligand

La dimérisation du complexe RTK-ligand est essentielle pour l'activation en promouvant la phosphorylation Tyr inter-moléculaire



La phosphorylation Tyr de la "lèvre" du site d'activation ouvre

La phosphorylation Tyr de la "lèvre" du site d'activation ouvre le site catalytique TK à l'ATP et/ou au substrat peptide.



Coloration immunofluorescent des cellules A431 d' EGF non traitées (à gauche) et traitées (à droite),utilisant l' anticorps Phospho-EGF Receptor (Tyr992) .

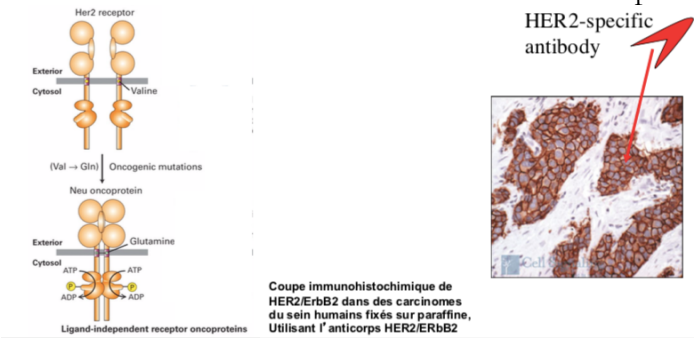
3.4. récepteur HER2 peut être activée par deux mécanismes:

- sur-expression du récepteur
- Activation par une mutation en son domaine transmembranaire

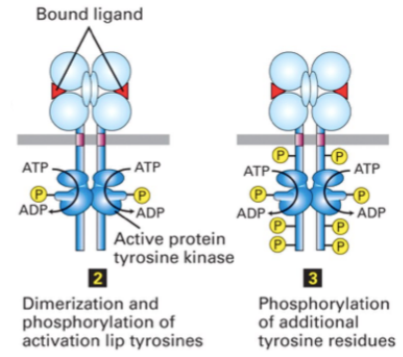
Le récepteur HER2 peut être activée par deux mécanismes:

-la sur-expression du récepteur provoquée par l'amplification du gène, comme cela se produit souvent dans le cancer du sein;

-Activation par une mutation en son domaine transmembranaire qui conduit à la dimérisation et l'activation constitutive indépendante du ligand.



3.5. phosphorylation Tyr d'autres sites les convertit en des sites de liaison pour d'autres protéines de signalisation



La phosphorylation Tyr d'autres sites les convertit en des sites de liaison pour d'autres protéines de signalisation:

3.6. protéines cytosoliques contiennent 2 types de domaines de liaison

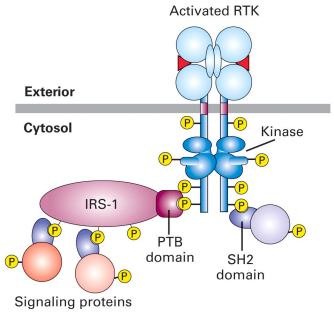
2 types de domaines de liaison

- phospho-Tyr, domaines SH2 ou
- PTB, par lequel ils se fixent à des sites spécifiques tyrosine

Des protéines cytosoliques contiennent 2 types de domaines de liaison phospho-Tyr, domaines SH2 ou PTB, par lequel ils se fixent à des sites spécifiques tyrosine-phosphorylés du récepteur

3.6.a. protéines cytosoliques contenant SH2

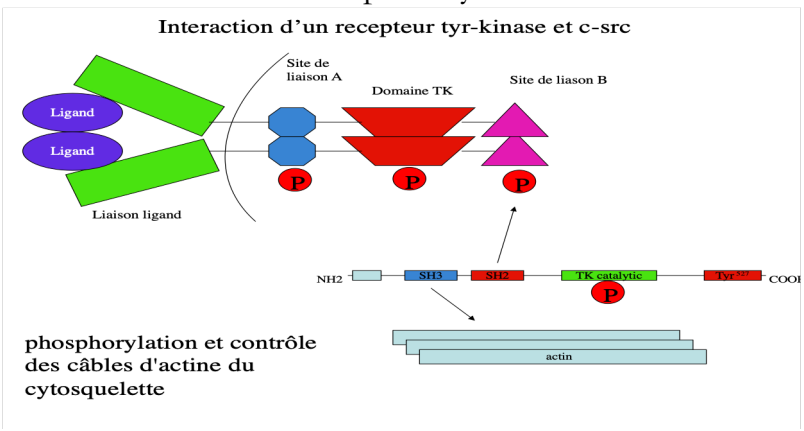
Certaines protéines cytosoliques, telles que IRS-1 (Insulin Receptor Substrate- 1), sont elles-mêmes phosphorylées sur Tyr et reconnues par d'autre protéines contenant des domaines SH2 ou PTB



D'autres protéines cytosoliques contenant SH2, telles que c-src, sont elles-mêmes des Tyr-kinases :



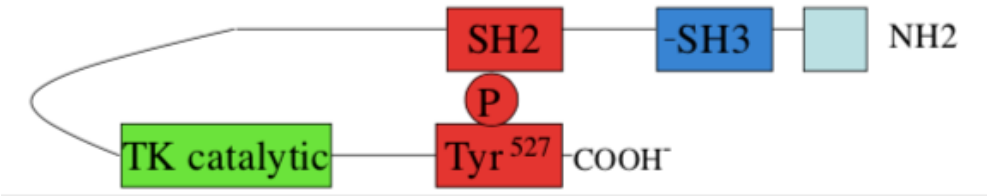
3.6.b. Interaction d'un recepteur tyr-kinase et c-src



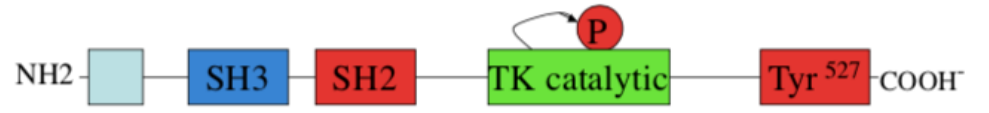
phosphorylation et contrôle des câbles d'actine du cytosquelette

3.6.b.1. Régulation de l'activité kinase src

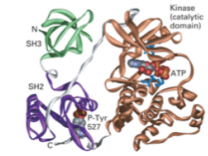
Au repos, la protéine Src est "repliée" avec le domaine SH2 liant la Tyr^{527} à l'état phosphorylé, et le domaine TK est empêché d'accéder au substrat:

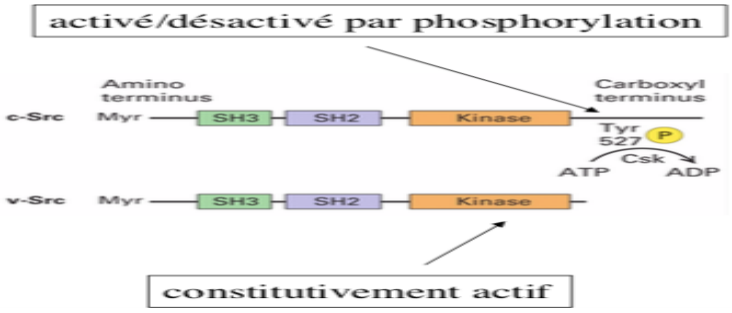


L'activation se traduit par un déploiement de la protéine avec dé- phosphorylation de Tyr^{527}, auto-phosphorylation d'un Tyr dans la "lèvre" du site catalytique de la kinase et liaison à d'autres protéines Tyr phosphorylées, RTKS y compris:



La perte de Tyr527 par une petite délétion génétique conduit à une protéine Src constitutivement active, qui peut induire une prolifération cellulaire dérégulée et la formation de tumeurs





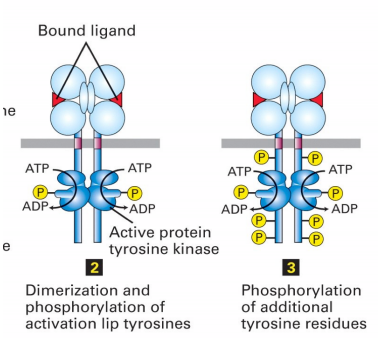
La perte de Tyr527 par une petite délétion génétique conduit à une protéine Src constitutivement active, qui peut induire une prolifération cellulaire dérégulée et la formation de tumeurs

activé/désactivé par phosphorylation

constitutivement actif

3.7 L'activation de RTK induit 3 cascades majeures de signalisation:

1) Voie Ras-MAPK kinase;
2) Voie Phospholipase C ;
3) Voie PI3 kinase.

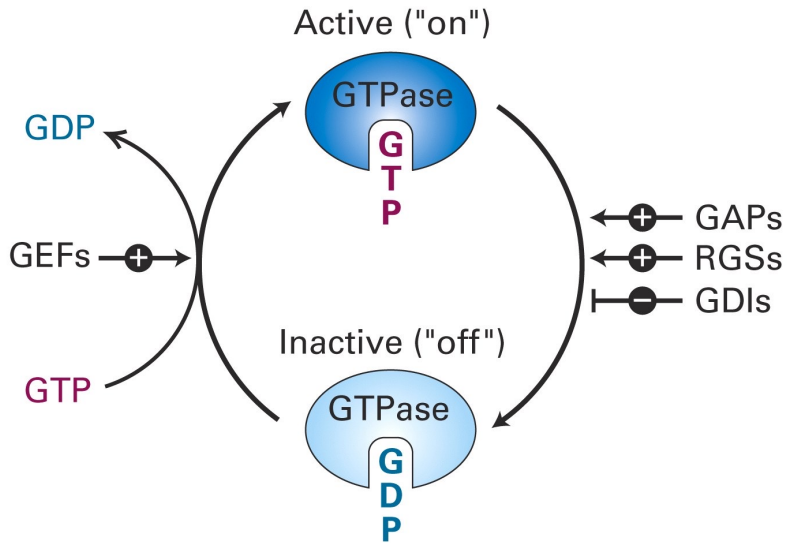


3.a. La voie Ras-MAPK : Voie Ras-MAPK kinase

La voie de Ras-MAPK kinase

3.a.1. Ras est une petite protéine G monomérique

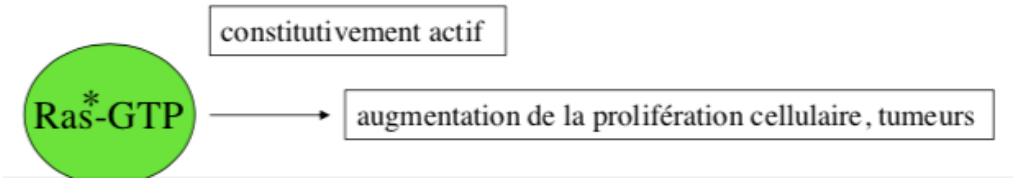
Ras est une petite protéine G monomérique avec une activité GTPase intrinsèque, similaire à la sous-unité Ga des protéines G trimériques. Elles sont aussi régulées par des facteurs d'échange GTP (GEFs) ainsi que par GAPs (protéines d'activation GTPase)



3.a.2. Les mutations de l'oncogène Ras

Les mutations de l'oncogène Ras consistent en des substitutions d'un seul acide aminé qui supprime l'activité intrinsèque GTPase de ces protéines, si bien qu'elles sont "verrouillées" en configuration active liée au GTP.

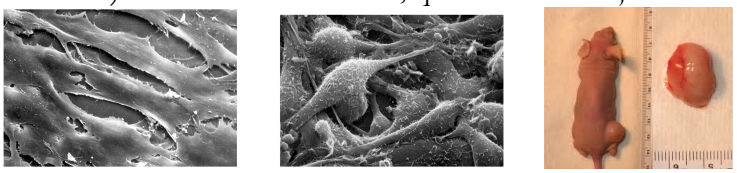
On les trouve dans > 50 % des tumeurs humaines



3.a.2.a. Fibroblastes "transformés" par le oncogène ras

Fibroblastes "transformés" par le oncogène ras

1) changements morphologiques
2) Prolifération dérégulée
3) formation de tumeurs, quand ils sont injectés à des souris.



contrôle Ras*

3.b.6.a.3. C-terminale des protéines Ras

La C-terminale des protéines Ras est reconnue par des enzymes responsables de la modification lipidique covalente (trans- farnésylation) nécessaire pour l'ancrage à la membrane plasmique. Cette localisation membranaire est requise pour l'activité des protéines Ras normales et aussi avec une mutation oncogènique.

Les inhibiteurs de la Farnesyl-transférase ont été développés en qualité d'agents anti-tumoraux pour supprimer les effets de l'oncogène *ras*.

3.a.3. Les protéines Ras fonctionnent en aval de l'activation de RTK pour transmettre le signal mitogénique:

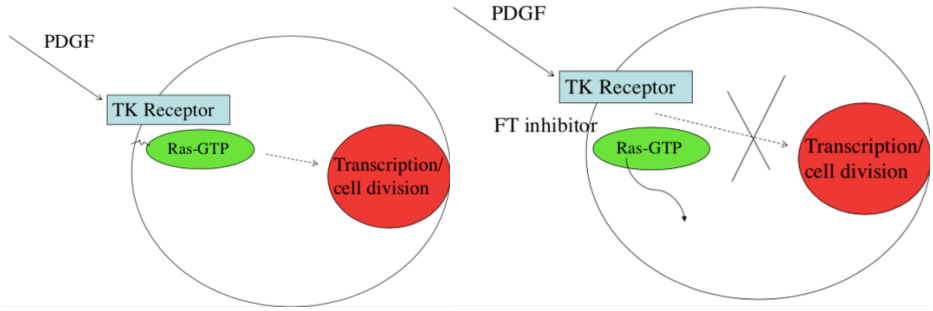
Expérience sur des cellules dont la croissance a été stoppée par la privation de sérum :

1. **GF stimulation** --------Entry into Replication (DNA synthesis)
   Treatment with Farnesyl
   Un approch expértrimantal ~~esnftearlaespeoinuhri~~ bloquer la voie de signalisation ras

2. G**F stimulation** ----------Entry into Replication (DNA synthesis)

   Micoinjection of neutralizing anti-ras antibodies
   Microinjection of Dominant negative ras protein

Les protéines Ras fonctionnent en aval de l'activation de RTK pour transmettre le signal mitogénique:



3.b.6.a.4.a. Le signal conduisant à la prolifération cellulaire

Le signal conduisant à la prolifération cellulaire est bloqué par l'inhibiteur de la farnésyl transférase

3.a.4. La connexion biochimique entre l'activation RTK et Ras est dépendante d'une protéine adaptatrice et d'un GEF

1) GRB2 contient un domaine SH2
2) SOS est un facteur d'échange GTP (GEF)

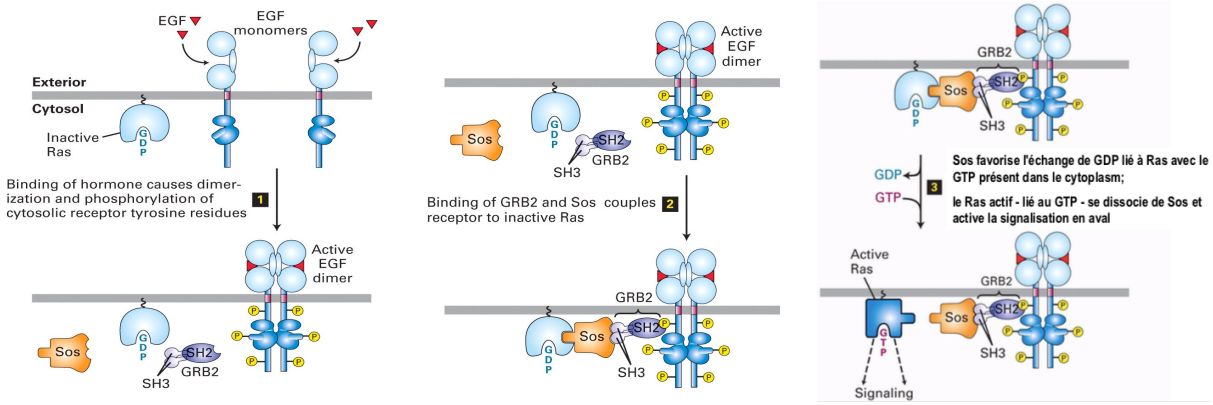
La connexion biochimique entre l'activation RTK et Ras est dépendante d'une protéine adaptatrice et d'un GEF:

1) **GRB2** contient un domaine SH2 se liant à un site phosphorylé Tyr spécifique d'un RTK activé, ainsi que 2 domaines SH3 qui se fixent à la séquence poly-proline de SOS;

2) **SOS** est un facteur d'échange GTP (GEF) qui fonctionne comme activateur de la fonction Ras, se lie au domaine SH3 de GRB2 via sa région riche en proline et est ainsi amené tout près de Ras à la membrane cytoplasmique.

3.a.4.a. La liaison avec le ligand provoque la dimérisation de récepteur et la phosphorylation des résidus tyrosine cytosolique

Etape 1 :
La liaison avec le ligand provoque la dimérisation de récepteur et la phosphorylation des résidus tyrosine cytosolique



3.a.4.b. La liaison de GRB2 et SOS couple le récepteur à Ras inactif.

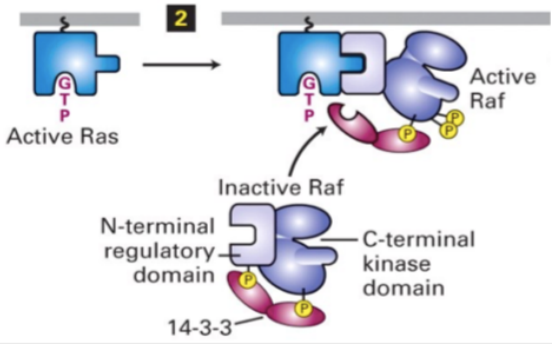
Etape 2 :
La liaison de GRB2 et SOS couple le récepteur à Ras inactif.
Étape 3 :
Sos favorise l'échange de GDP lié à Ras avec le GTP présent dans le cytoplasm;
le Ras actif - lié au GTP - se dissocie de Sos et active la signalisation en aval

3.a.5. La kinase Raf est une cible directe de Ras activé

La kinase Raf est une cible directe de Ras activé

Raf est une ser/ther kinase cytosolique.

Ras-GTP lie le domaine régulateur N-terminal de Raf et induit sa translocation à la membrane et son activation.

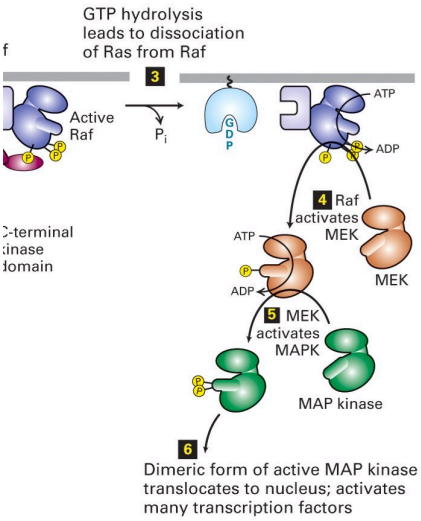


L'hydrolise de GTP entraîne la dissociation Ras-Raf

Raf activé phosphoryle et active une protéine kinase intermédiaire, MEK, avec une double spécificité pour Ser/Thr et Tyr.

A son tour MEK activé active MAPK par phosphorylaton de la "lèvre" kinase aux résidus spécifiques Thr et Tyr.

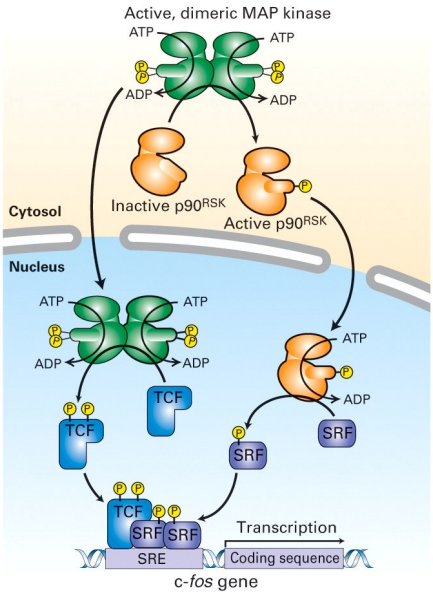
La forme dimérique active de la kinase MAP est transloquée au noyau; elle active de nombreux facteurs de transcription.



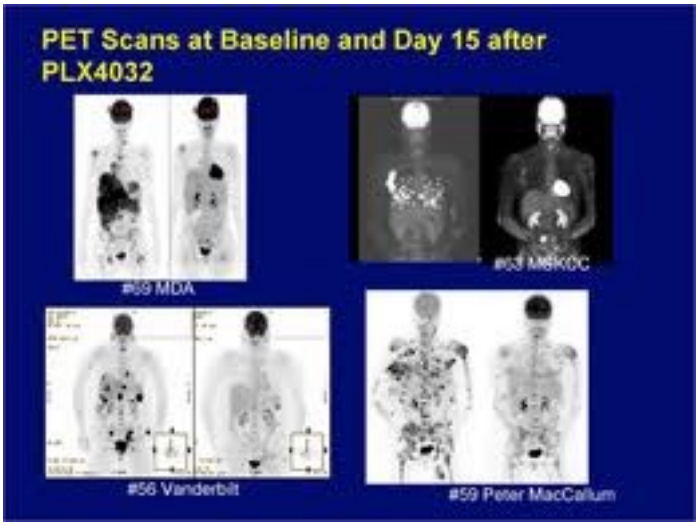
3.a.6. Contrôle de la transcription par activation de MAPK.

A) Les MAPKs activés forment des dimères qui sont transloqués au noyau, où elles activent un facteur de transcription spécifique, TCF, par phosphorylation directe.

B) La MAPK cytoplasmique phosphoryle et active une kinase en aval, la p90RSK, qui est transloquée au noyau où elle phosphoryle et active un autre facteur de transcription, SRF, qui contrôle la transcription en synergie avec TCF.



La kinase B-Raf est souvent activée dans le mélanome: Les patients atteints de mélanomes avec des mutations de B-Raf répondre favorablement aux inhibiteurs de B-Raf



3.a.7. L'activation de Ras entraîne l'activation de la cascade MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase).

L'activation de Ras entraîne l'activation de la cascade MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase).

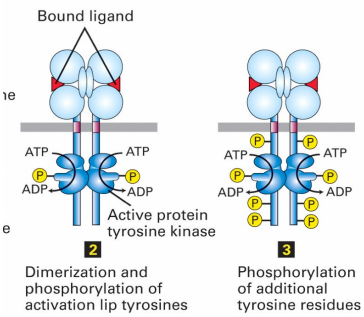
MAPK activée est tranloquée au noyau, où elle phosphoryle des facteurs de transcription spécifiques, contrôlant la transcription.

Facteur de croissance
Récepteur
Tyrosine Kinase
Ras MAPK
Transcription

L'activation de RTK induit trois cascades majeures de signalisation:
1) La Ras-MAPK kinase
2) La Phospholipase C
3) La PI3-kinase

3.b. Les voies de phospholipase (protéine kinase C et signalisation calcique) : Voie Phospholipase C

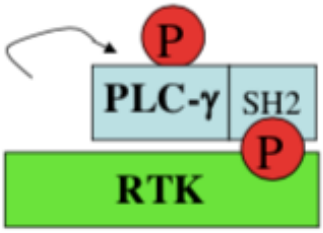
La Phospholipase C



De nombreux RTKs activent une isoforme spécifique de phospholipase C, PLC-**γ**.

PLC-**γ** lie des résidus spécifiques p-Tyr dans les RTKs par l'intermédiaire de son domaine SH2.

A son tour, le RTK provoque la phosphorylation Tyr et l'activation de PLC-**γ**



3.b.1. PIP_2 est clivé par la phospholipase C pour générer deux autres seconds messagers :

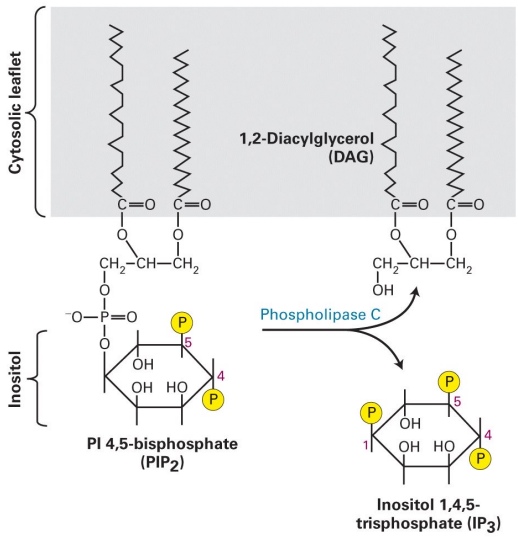
PIP_2 est clivé par la phospholipase C pour générer deux autres seconds messagers :

- DAG (1,2 diacylglycerol);
- IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate).



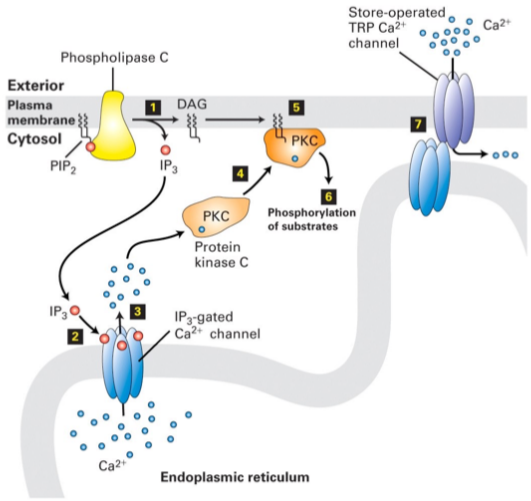
3.b.1.a. DAG (1,2 diacylglycerol)

DAG (1,2 diacylglycerol) contrôle l'activité d'une Ser/Thr protéine kinase : la protéine kinase C (PKC).



3.b.1.b. IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate).

IP_3 (inositol 1,4,5 triphosphate) contrôle la libération du calcium intra- cellulaire.

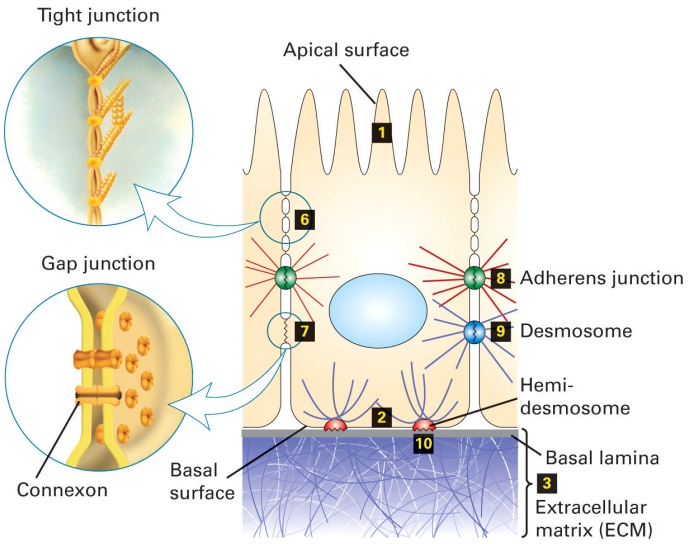


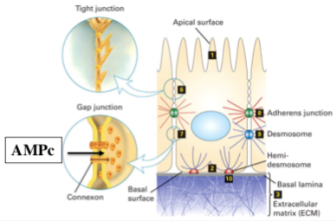
3.b.2. Signalisation de PKC

Les protéines kinases de la famille des protéines-kinases C, comme les MAPKs, sont des régulateurs importants de la transcription des gènes

En plus des voies régulatrices intra-cellulaires, l'activation de PKC contrôle la communication inter- cellulaire, par phosphorylation directe des protéines de *gap junction*.

Le passage de l'AMPc d'une cellule à sa voisine à travers des *gap junctions* est un mécanisme de contrôle inter-cellulaire de la prolifération

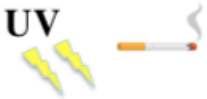


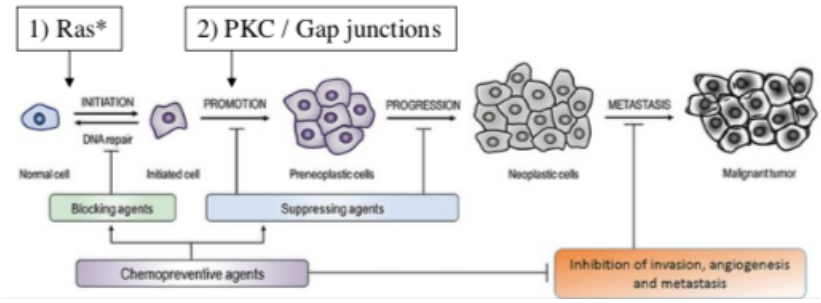


3.b.3. développement du cancer en plusieurs étapes

développement du cancer en plusieurs étapes :

1) mutations génétiques
2) altérations de la communication entre les cellules
3) Autres mutations génétiques et altérations du microenvironnement extracellulaire

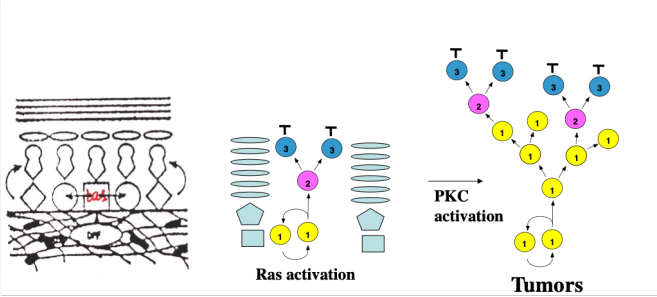




3.b.3.a. Carcinogenèse à plusieurs étapes dans le modèle de la peau de souris

Etape 1 : L'exposition à de "vrais carcinogènes", c'est-à-dire des agents chimiques mutagènes (ou des rayons UV),
entraîne des mutations ponctuelles qui activent l'oncogène *ras*.

Etape 2 : Des expositions répétées aux "promoteurs de tumeur", tels que les agents chimiques non-mutagènes qui activent PKC suppriment la communication entre les cellules normales et les cellules avec Ras muté, et ces dernières peuvent proliférer sans contrôle des cellules voisines.



CONSEQUENCES IMPORTANTES : Ce n'est jamais trop tard !

La fumée de cigarette contient de nombreux composants avec une activité favorisant la tumeur.

Initialement, la formation de tumeur dépend de l'exposition continuelle aux promoteurs de tumeur, alors que plus tard elle devient indépendante.

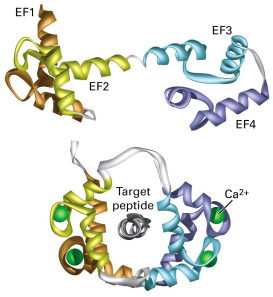
Arret de fumer peut arrêter les effets produits par les promoteurs de tumeur et la formation de la tumeur, même au stade où les mutations oncogéniques (telle que l'activation de *ras)* se sont déjà produites.

3.b.4. Signalisation du calcium: La Calmoduline

Signalisation du calcium:

La Calmoduline fonctionne comme une "calcium-sensor switch protein" dans de nombreuses fonctions cellulaires.

Elle consiste en des 4 "EF hand motifs" qui lient le calcium de manière coopérative et l'associent ensuite à de nombreuses protéines cibles.



3.b.4.a. enzymes calmoduline-dépendantes

Quelques enzymes calmoduline-dépendantes:

1) La myosine kinase à chaîne légère, qui contrôle l'activité de la myosine dans les muscles;

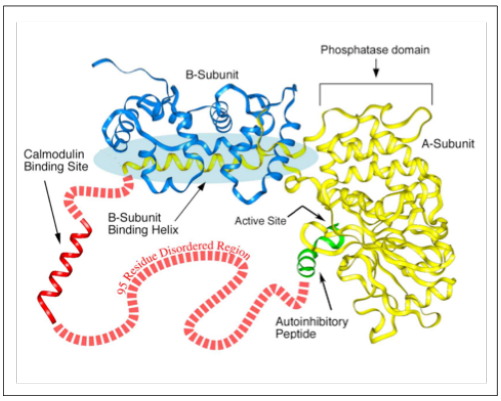
2) AMPc phosphodiestérase, qui contrôle négativement la signalisation d'AMPc;

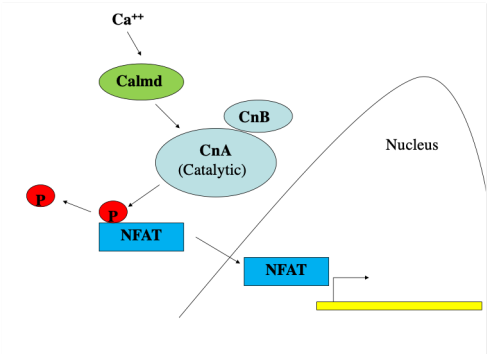
3) La CAM kinase(protéine kinase Calcium/Calmoduline- dépendante) qui contrôle des facteurs de transcription, dans le cerveau par exemple;

4) La Calcineurine, la seule phosphatase Calcium/Calmoduline- dépendante qui contrôle des facteurs de transcription, comme dans le système immune.

3.b.4.a.1. Calcineurine

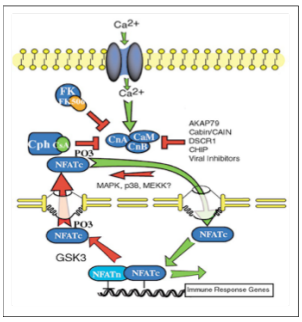
Calcineurine





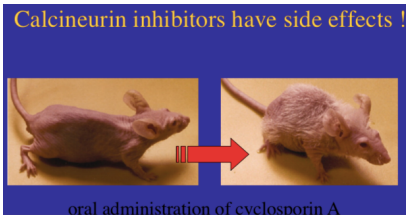
Calcineurin couples Ca^{2+}-mediated signals to different cellular responses through NFAT transcription factors

- Immune response
- Skeletal muscle differentiation
- Cardiovascular system development
- Memory formation
- Keratinocyte growth and differentiation.

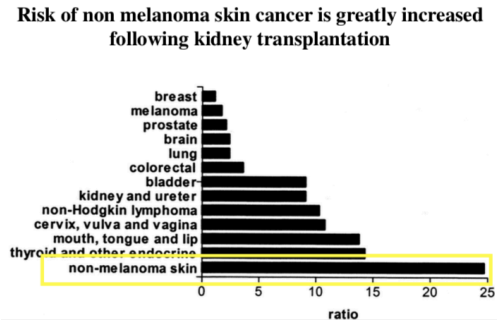


La Cyclosporine A est un médicament immuno-suppresseur majeur, qui bloque la fonction de la calcineurine.

Mais

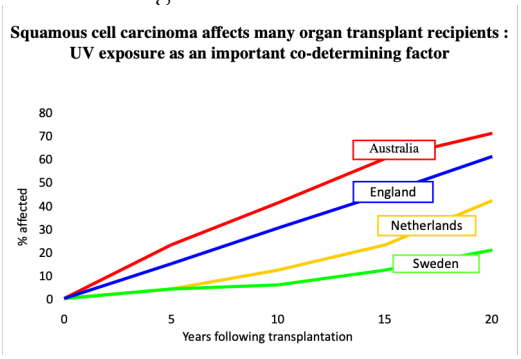


Calcineurin inhibitors have side effects ! **oral administration of cyclosporin A**



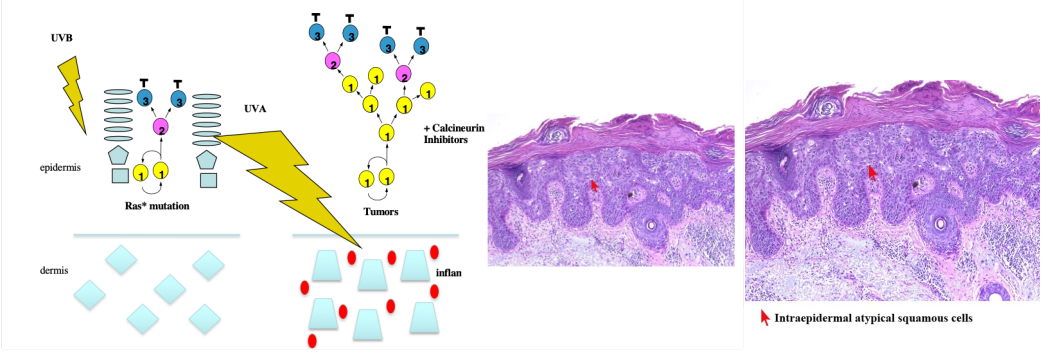
Risk of non melanoma skin cancer is greatly increased following kidney transplantation

Squamous cell carcinoma affects many organ transplant recipients : UV exposure as an important co-determining factor

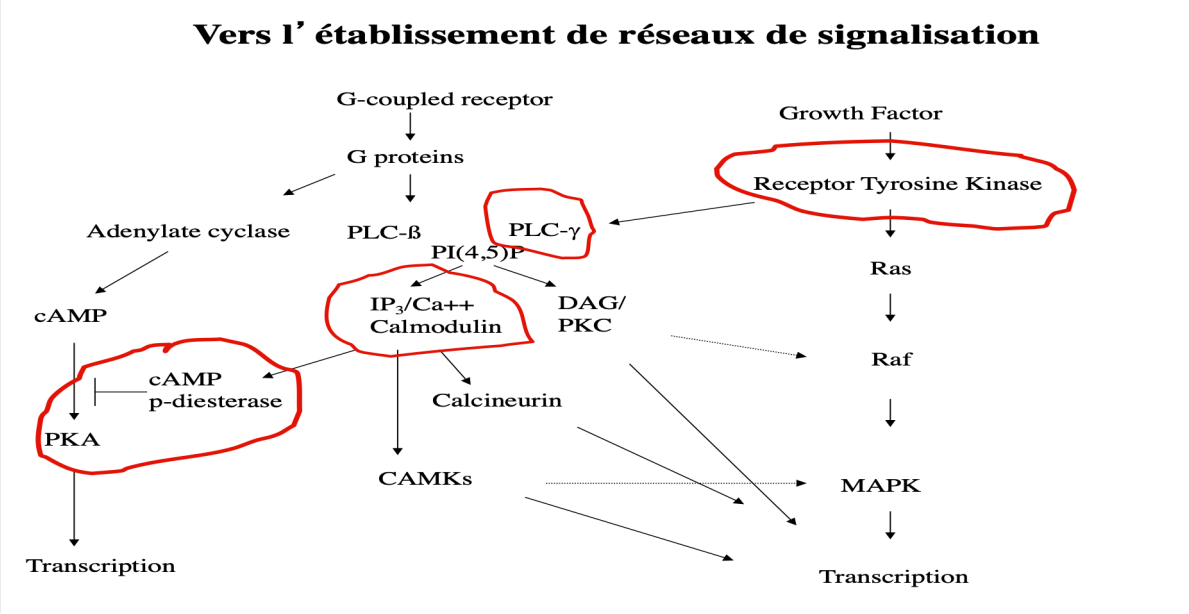


La différenciation est inversement liée à la prolifération et supprime le développement tumoral.

L'inhibition de l'activité de la calcineruine, en supprimant la différenciation des kératinocytes, favorise le développement de tumeurs dérivées des kératinocytes.



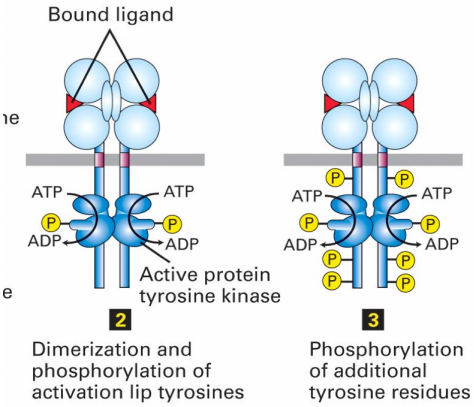
3.c. Les voies de phosphatidyl inositol : Voie PI3 kinase



L'activation de RTK induit Trois cascades majeurs de signalisation:

1) La voie Ras-MAPK
2) La voie Phospholipase C
3) La voie PI3 kinase.

3.c.1. Phosphatidylinositol-3 kinases (PI3K)

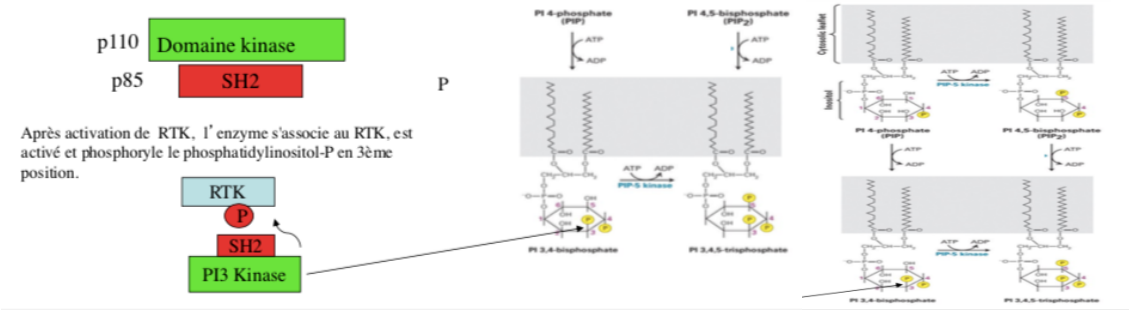


Phosphatidylinositol-3 kinases (PI3K)

Une famille d'enzymes Important pour la proliferation et survie cellulaire

La forme liée aux récepteurs de la tyrosine kinase: dimère formé d'une sous-unité catalytique (p110) et d'une sous- unité régulatrice avec un domain SH2 (p85) :

Après activation de RTK, l'enzyme s'associe au RTK, est activé et phosphoryle le phosphatidylinositol-P en 3ème position

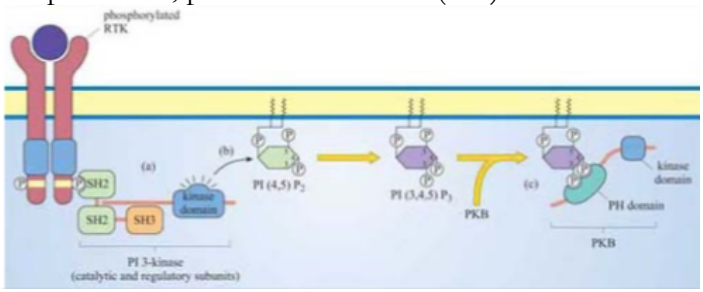


3.c.2. Les phosphates PI(3)P servent d'ancrage

Les phosphates PI(3)P servent d'ancrage pour d'autres protéines de signalisation à la membrane cytoplasmatique.

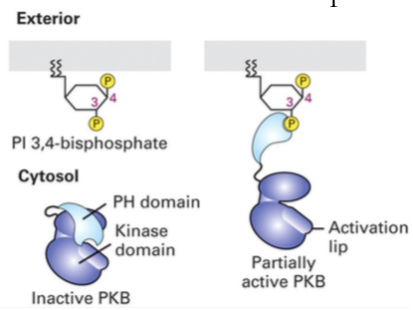
3.b.6.c.1.b. kinase PKB (Akt)

En particulier, pour la kinase PKB (Akt).



PKB : une Ser/Thr kinase avec un domain PH (homologie plectrine), qui lie PI(3)P.

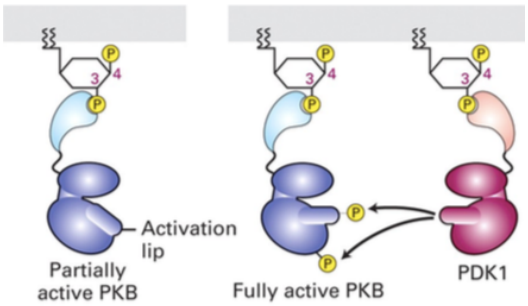
PKB est inactive dans le cytoplasme; après production de PI(3)P, elle est transloquée à la membrane où elle devient partiellement activée.



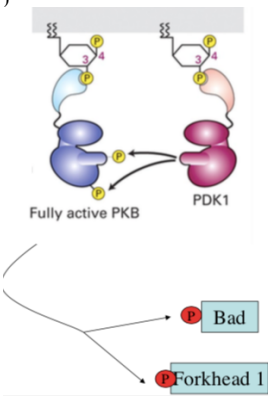
3.c.2.a. production de PI(3)P, une seconde kinase contenant un domaine PH, PDK1,

Après production de PI(3)P, une seconde kinase contenant un domaine PH, PDK1, est aussi recrutée à la membrane.

PDK1 phosphoryle PKB au "lip" du site catalytique, entraînant l'activation complète de PKB .



PKB complètement activée se dissocie de la membrane plasmique et phosphoryle des protéines jouant un rôle clé dans l'apoptose, et bloquent leur fonction.



3.c.2.b. l'activation de RTK / PI3 kinase, conduit, par l'intermédiaire de l'activation de PKB

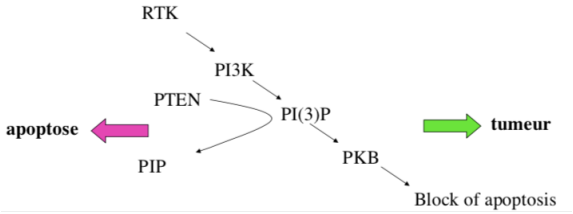
Donc, l'activation de RTK / PI3 kinase, conduit, par l'intermédiaire de l'activation de PKB, à bloquer les protéines pro-apoptotiques et augment la survie cellulaire.

RTK
PI3K
PI(3)P
PKB
Block of apoptosis

3.c.2.b.1. La perte de PTEN entraîne l'activation constitutive du PKB (Akt), augmentation de la survie cellulaire et de la croissance tumorale.

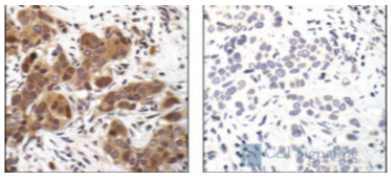
Le système est remis à zéro (c-a-d. revient au niveau de base) par une phosphatase comportant une spécificité inhabituelle, la PTEN, qui ôte les phosphate(s) de PI(3)P:

RTK
PI3K
apoptose PTEN PI(3)P **tumeur**
PKB
PIP Block of apoptosis



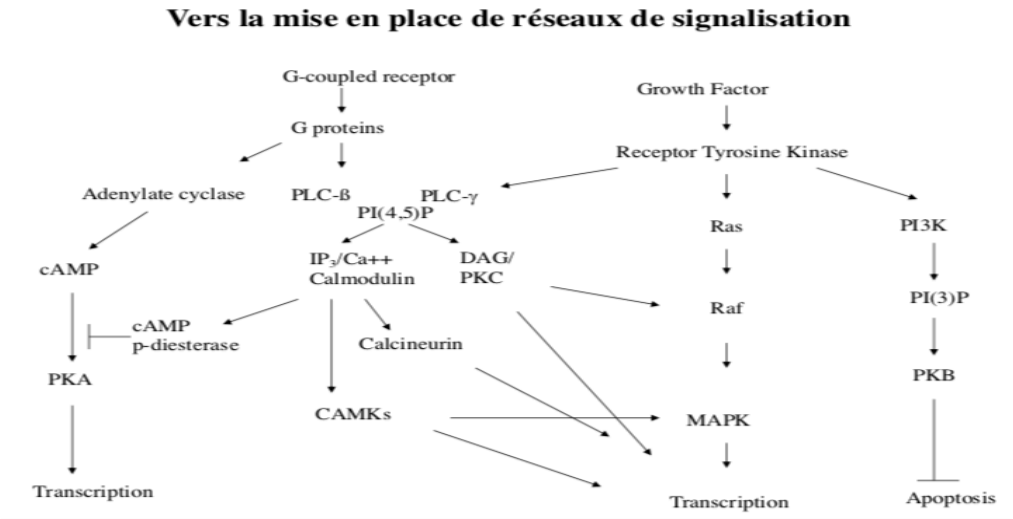
La perte du gène PTEN est souvent associée au développement de la tumeur:
en favorisant l'apoptose, PTEN est un suppresseur de tumeur important.

La perte de PTEN entraîne l'activation constitutive du PKB (Akt), augmentation de la survie cellulaire et de la croissance tumorale.



Immunohistochemical staining of phosphorylated Akt in paraffin-embedded human breast carcinoma showing cytoplasmic nuclear and membrane localization using Phospho-Akt (Ser473) Antibody (IHC Specific) (left).

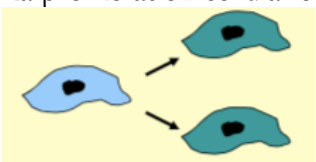
Vers la mise en place de réseaux de signalisation



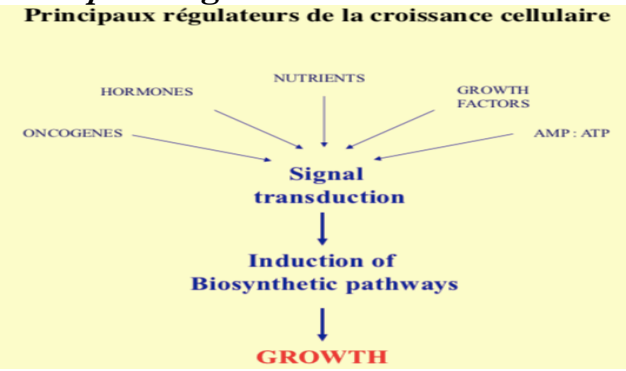
La croissance cellulaire ("cell growth") entraîne une augmentation de la masse et de la taille des



La prolifération cellulaire entraîne une augmentation du nombre de cellules



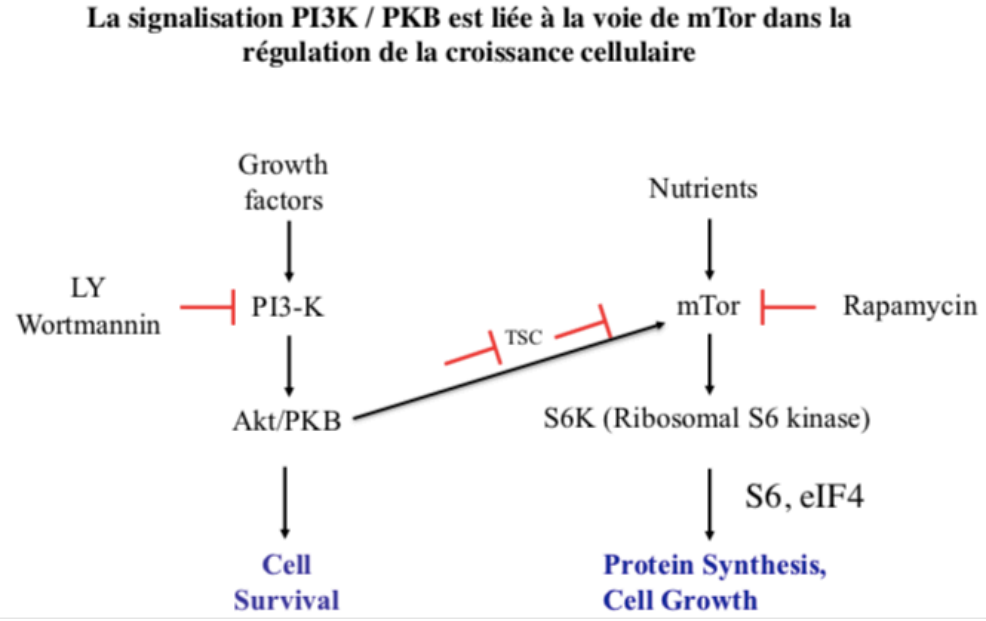
Principaux régulateurs de la croissance cellulaire



- ONCOGENES
- HORMONES
- NUTRIENTS
- GROWTH FACTORS
- AMP : ATP

Signal transduction --- »»
Induction of Biosynthetic pathways --- »»
GROWTH

3.c.2.c. La signalisation PI3K / PKB est liée à la voie de mTor dans la régulation de la croissance cellulaire



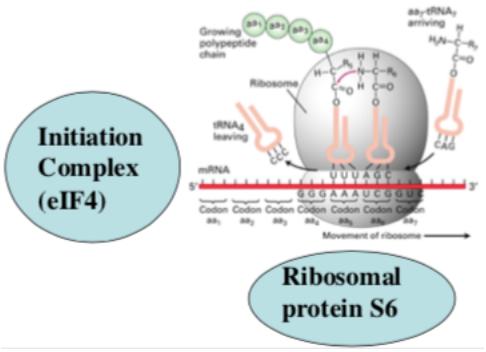
3.c.2.c. 1. mTor (mammalian target of rapamycin) est une ser/thr kinase de la famille PI3K.

mTor (mammalian target of rapamycin) est une ser/thr kinase de la famille PI3K.

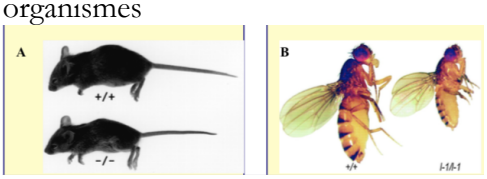
Il fonctionne dans la réponse à de la disponibilité des acides aminés et aux hormones régulatrices du métabolisme (telles que l'insuline).

Il cible, directement ou indirectement, régulateurs clés de la synthèse des protéines

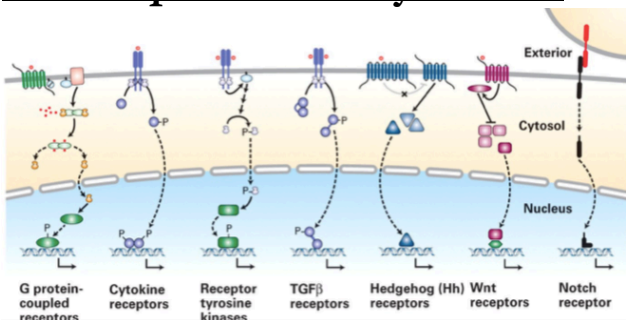
Il est ciblé (inhibé) par la Rapamycine, un agent immuno-suppresseur important.



RSK (Ribosomal S6 Kinase), qui est activée par mTor, régule la taille des cellules et des organismes



4. Récepteurs des cytokines



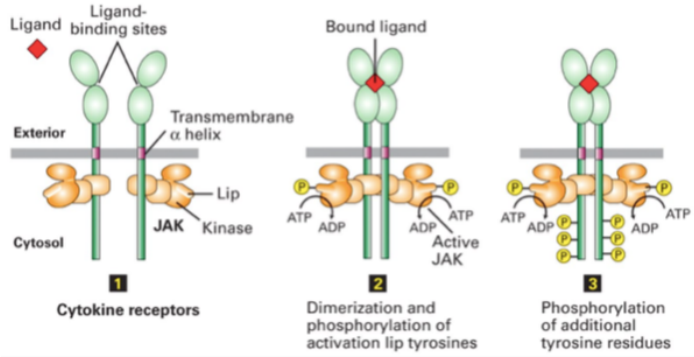
Récepteurs de cytokine

Récepteurs pour des protéines solubles relativement petites (~160 acides aminés), impliqués dans le contrôle de la physiologie cellulaire, de la croissance/différenciation, et du système immunitaire, comme:

- La prolactine (différenciation de la glande mammaire)
- L'érythropoiétine (production d'érythrocytes)
- G-CSF (production de granulocytes)
- La Thrombopoiétine (production de plaquettes/mégakaryocytes)
- L'IL-2 (fonction cellules T)
- L'IL-4 (fonction cellules B)
- L'interféron (réponse anti-virale)

4.a. Protéines transmembranaires sont dépourvues d'activité enzymatique

associées aux tyrosine-kinases cytosoliques de la famille Jak; avec une liaison au ligand induisant la dimérisation et une signalisation en aval comportant de nombreuses similitudes avec les récepteurs TK.

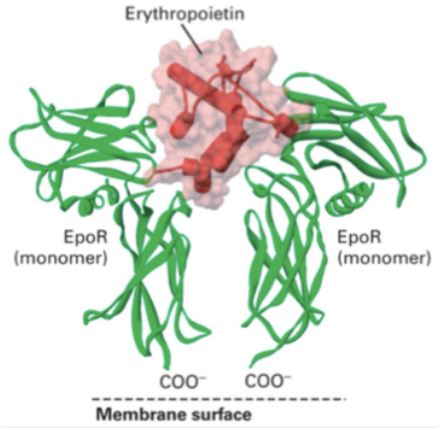


4.b. cytokines structures basées sur 4 hélices pliées ensemble.

Toutes les cytokines ont des structures similaires basées sur 4 hélices pliées ensemble.

Tous les récepteurs de cytokine ont un domaine extracellulaire composé de deux sous- domaines, chacun d'entre eux composé de sept ß brins.
La liaison d'une molécule de cytokine induit la dimérisation de deux récepteurs monomers.

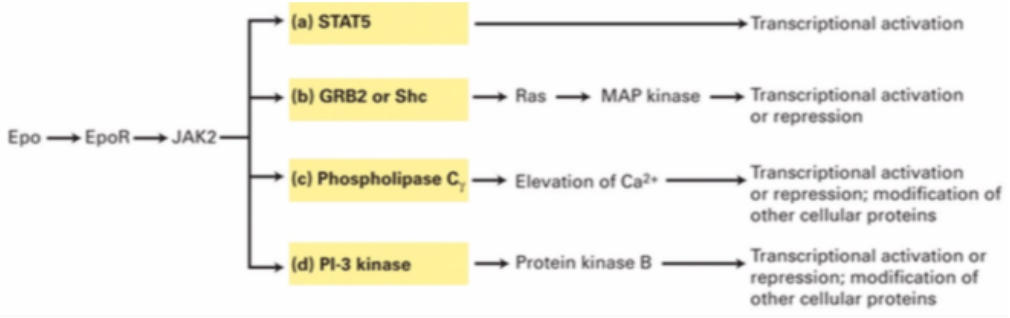
L' érythropoiétine avec deux hélices se lie à un monomère de récepteur d' érythropoiétine et avec les deux autres se lie à un autre monomère.



4.c. L'activation du récepteurs de cytokine déclenche trois voies en commun

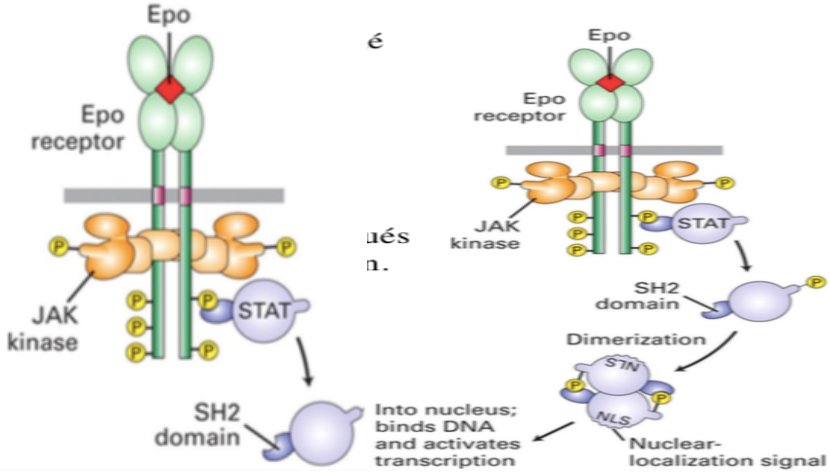
- STATS
- GRB2 ou She
- Phospholipase C
- PI-3 kinase

L'activation du récepteurs de cytokine déclenche trois voies en commun avec les récepteurs TK et une voie spécifique avec une connexion directe aux facteurs de transcription Stats.



1. La dimérisation du récepteur de cytokine entraîne l'activation de la Jak kinase (par phosphorylation à la "lèvre"du cycle catalytique), qui phosphoryle le récepteur à d'autres résidus Tyr.

2. Les facteurs de transcription Stat sont pourvus d'un domaine SH2 qui se lie à des sites phosphorylés spécifiques sur le récepteur de cytokine.



3. Le facteur Stat tyrosine phosphorylé se dissocie du récepteur de cytokine et dimérise grâce à un mécanisme de liaison SH2- Phospho-Tyr.

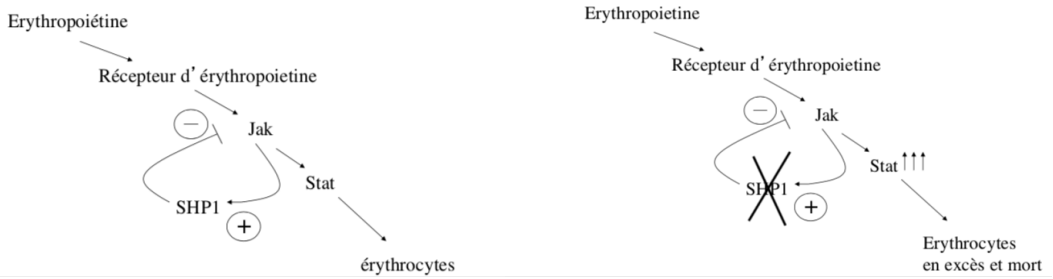
4. La dimérisation de Stat "expose" un signal de localisation nucléaire des dimères de Stat qui sont alors transloqués au noyau où ils activent la transcription.

Terminaison du signal du récepteur de cytokine / Jak :
Activation de la protéine tyrosine phosphatase avec pour conséquence déphosphorylation et désactivation de la kinase Jak.

4.d. Conséquences biologiques de la suppression de Jak médiée par SHP1:

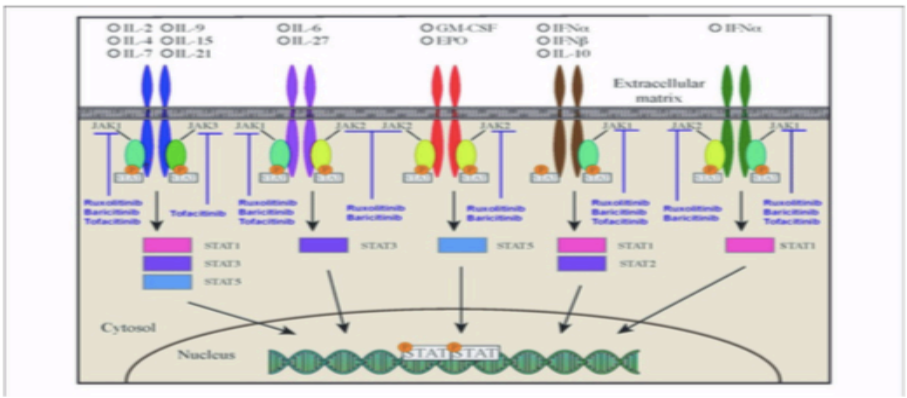
Erythropoiétine
Récepteur d'érythropoietine
Jak
Stat
SHP1
érythrocytes

Conséquences biologiques de la suppression de Jak médiée par SHP1: **Conséquences biologiques de la suppression de Jak médiée parSHP1:**



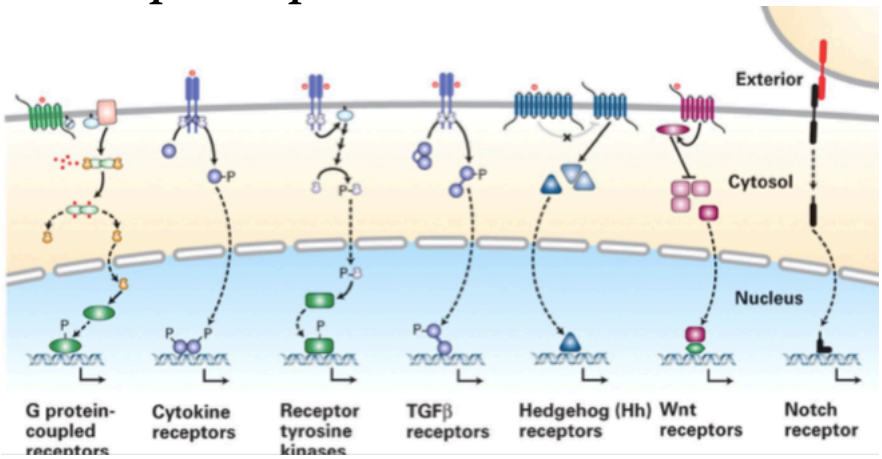
4.d.1.Plusieurs inhibiteurs de Jak/Stat sont en cours de développement pour traiter divers types de cancer et d'autres pathologies

Plusieurs inhibiteurs de Jak/Stat sont en cours de développement pour traiter divers types de cancer et d'autres pathologies



Frontiers in Pediatrics 7:353 DOI: 10.3389/fped.2019.00353

5. Récepteurs pour TGF-ß



La "famille TGF-ß "

La "famille TGF-ß " est une grande famille de facteurs dimériques solubles jouant

un rôle étendu dans:

- prolifération
- différenciation;
- développement;
- migration;
- matrice extracellulaire;
- régulation du système immunitaire;
- contrôle du développement de la tumeur.

- Transforming Growth Factors (facteurs de croissance TGF-ß 1, 2, 3), originellement identifiés lors d'études de croissance de tumeur;
- Bone Morphogenetic Proteins (protéines BMP-2, 4, 6), originellement identifiées comme facteurs inducteurs d'os
- "Activins" et "Inhibins", identifiés comme membres de l'axe "pituitaire".

-Transforming Growth Factors (facteurs de croissance TGF-ß 1, 2, 3), originellement identifiés lors d'études de croissance de tumeur;

5.a. Pléiotropisme" de TGF-ß

1) Il stimule la prolifération des fibroblastes;
2) Il supprime la prolifération des cellules épithéliales normales et des cellules T (par induction d'inhibiteurs du cycle cellulaire);
3) Il stimule la prolifération et l'invasion des cellules tumorales épithéliales qui sont devenues résistantes aux effets d'inhibition de prolifération de ce facteur (par exemple les cellules de carcinome pancréatique);

5.a.1 le TGF-ß joue une double fonction dans le développement du cancer:

Par conséquent, le TGF-ß joue une double fonction dans le développement du cancer:

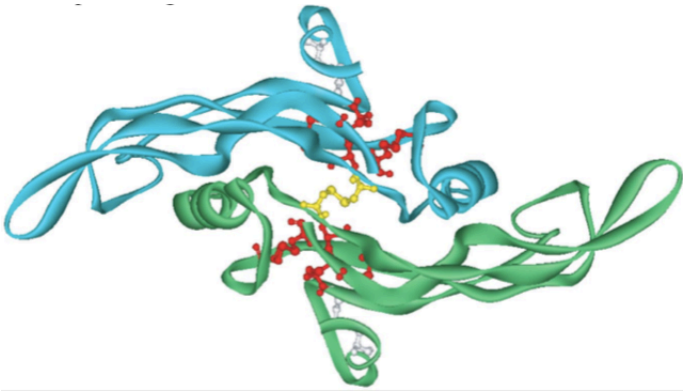
il supprime les étapes précoces, quand les cellules sont sensibles à l'effet d'inhibition de croissance de TGF-ß;

il favorise les étapes tardives, quand les cellules sont devenues résistantes aux effets d'inhibition de croissance de TGF-ß.

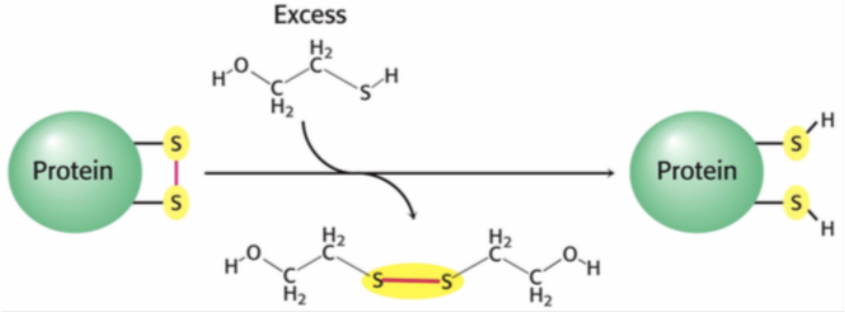
5.a.1.a. Le TGF-ß "mature" est une molécule avec deux monomères liés par un pont disulfure (jaune)

Le TGF-ß "mature" est une molécule avec deux monomères liés par un pont disulfure (jaune).

Chaque sous-unité comporte trois ponts disulfures intra-chaîne (rouge). En conséquence, le TGF-ß est inactivé par des agents réducteurs.



ß-mercaptoethanol réduit les liaisons disulfides de la cystine dans le sulfydryl -SH libre, dans le groupe de cystine.



5.a.2. TGF-ß est contrôlé à deux niveaux principaux

TGF-ß est contrôlé à deux niveaux principaux

1) Transcriptionnellement (par exemple par Ras activé et activation de MAPK)

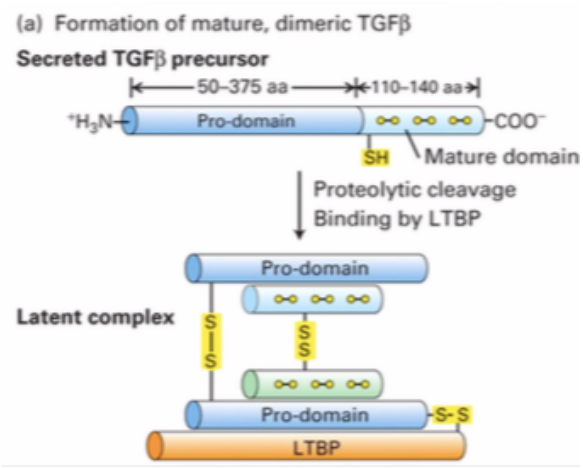
2) Post-transcriptionnellement, au niveau de la secrétion de la protéine, et de sa maturation

5.a.2.a. Régulation post-transcriptionnelle du TGF-ß.

TGF-ß est produit sous forme d'un précurseur de large poids moléculaire qui est sécrété par la cellule.

La "maturation" du TGF-ß a lieu rapidement après sa sécrétion par un processus protéolytique.

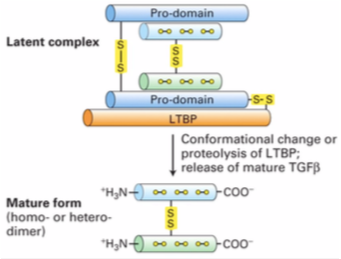
Cela donne lieu à un TGF-ß latent, un complexe formé par TGF-ß mature dimère, son pro-domaine précurseur et un 3ème proteine de liaison (LTBP).



1. L'activation de TGF-ß

L'activation de TGF-ß se produit par la libération du dimère TGF-ß

Après le clivage proteolytique de la proteine LTBP dans le milieu extracellulaire et/ou après changement conformationnel, par exemple par un changement local du pH (comme cela arrive dans la réaction inflammatoire) .

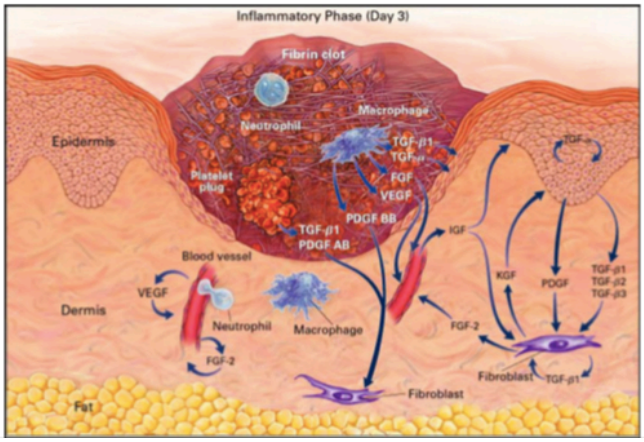


2. La désactivation du TGF-ß

La désactivation du TGF-ß a lieu par la liaison du dimère TGF-ß libre à un nombre de proteines extracellulaires de la matrice.

3. La cicatrisation des plaies cutanées implique l'interaction de nombreux facteurs.

La cicatrisation des plaies cutanées implique l'interaction de nombreux facteurs.



5.a.3. 3 types de récepteurs au TGF-ß

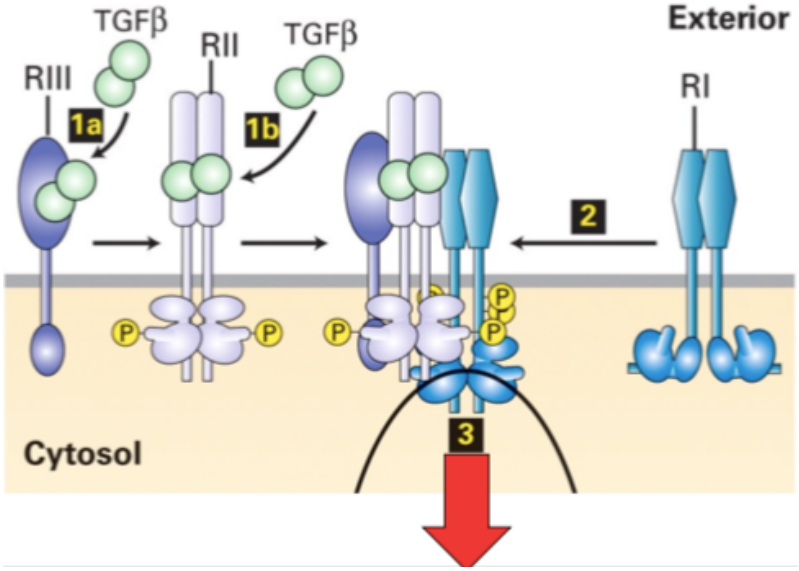
Il y a 3 types de récepteurs au TGF-ß à la surface des cellules (identifiés par l'iodinisation à la surface de la cellule de protéines liant le TGF-ß avec ^{125} I-TGF-ß) :

Le récepteur de type III est un protéoglycane qui n'a pas d'activité catalytique et qui a pour rôle de concentrer le TGF-ß à la surface de la cellule.

Les récepteurs de type I et II sont des protéines dimériques transmembranaires qui ont une activité ser/thr kinase intrinsèque.



RII - mais pas RI - est constitutivement une kinase active.
TGF-ß se lie initialement à RII.
RI s'associe au complexe
RII-TGF-ß. RII phosphoryle et active RI.
RI phosphoryle des substrats en aval.

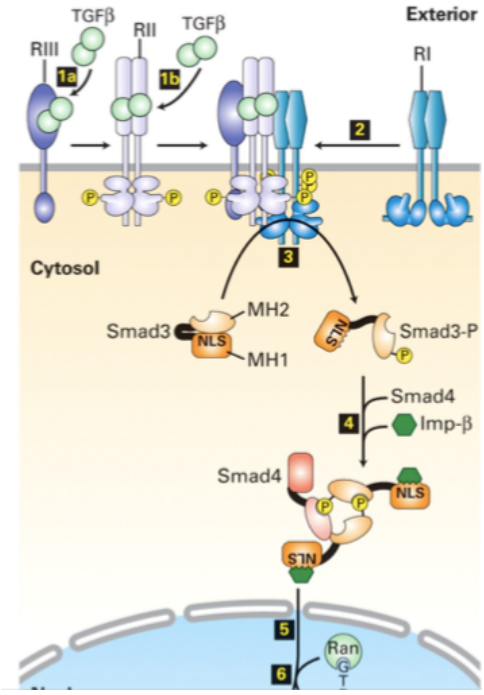


5.a.4. Les facteurs de transcription de la famille Smad

Les facteurs de transcription de la famille Smad sont les substrats directs principaux de l'activation du récepteur à TGF-ß .

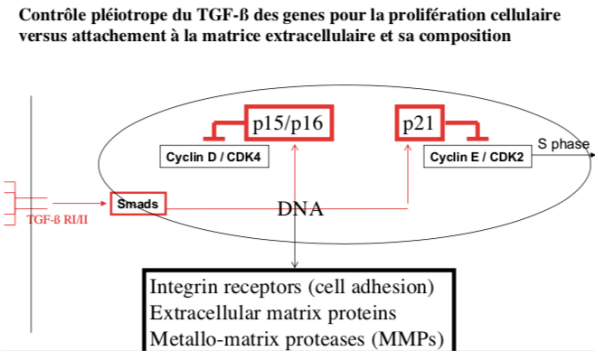
Leur phosphorylation entraîne:

- leur dimérisation,
- une exposition à la surface de la protéine d'un signal de localisation nucléaire,
- une translocation nucléaire,
- une liaison à des séquences de reconnaissance d'ADN spécifiques
- une expression induite de gènes cibles



5.b. Contrôle pléiotrope du TGF-ß des genes pour la prolifération

Contrôle pléiotrope du TGF-ß des genes pour la prolifération cellulaire versus attachement à la matrice extracellulaire et sa composition

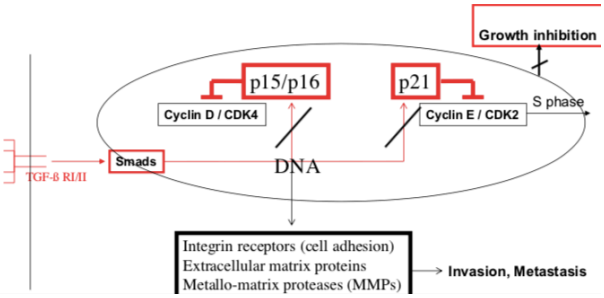


Integrin receptors (cell adhesion)
Extracellular matrix proteins
Metallo-matrix proteases (MMPs)

TGF-ß comme inhibiteur du stade précoce

TGF-ß comme inhibiteur du stade précoce et promoteur du cancer épithélial à un stade avancé.

Multiples mécanismes affectant les composants de la voie TGFß et les cibles en aval peuvent être responsables de l'acquisition à des stades tardifs d'une résistance à l'inhibition de la prolifération par le TGFß.

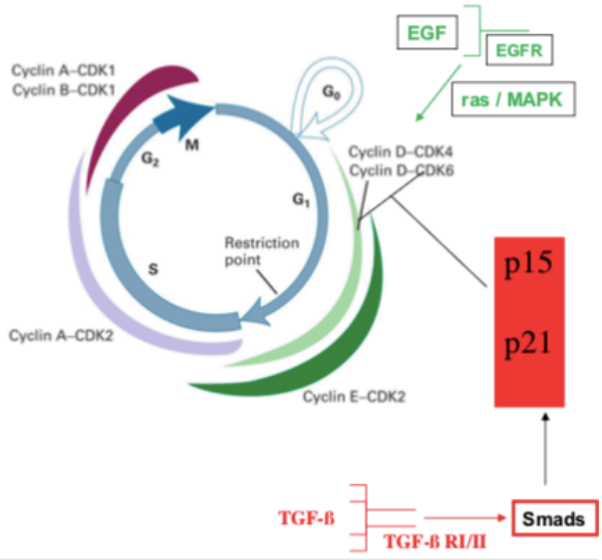


Integrin receptors (cell adhesion)
Extracellular matrix proteins
Metallo-matrix proteases (MMPs)

5.c. Contrôle opposé positif et négatif du cycle cellulaire par la voie Ras/MPK versus TGF-ß

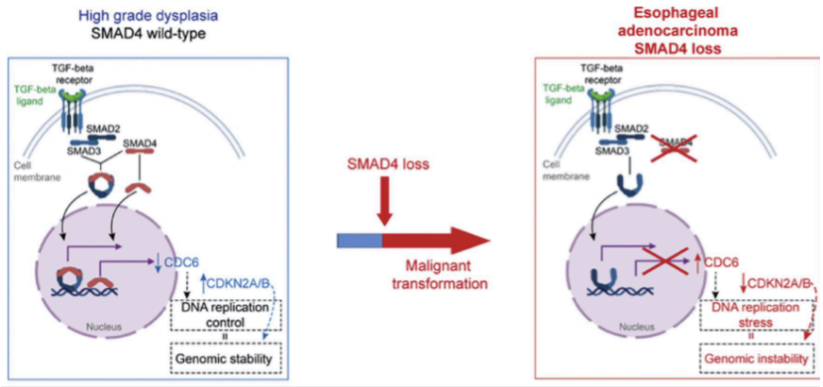
Contrôle opposé positif et négatif du cycle cellulaire par la voie Ras/MPK versus TGF-ß

Contrôle opposé positif et négatif du cycle cellulaire
par la voie Ras/MPK versus TGF-ß



TGF-ß est un puissant inhibiteur de croissance des cellules épithéliales normales (via l' induction d'inhibiteurs de CDK comme p21 et p15).

Dans la plupart des cancers du pancréas, et dans des autres cancers, on observe une délétion du gène de Smad4 qui qui se traduit par une résistance aux effets inhibiteurs de la prolifération du TGFß.

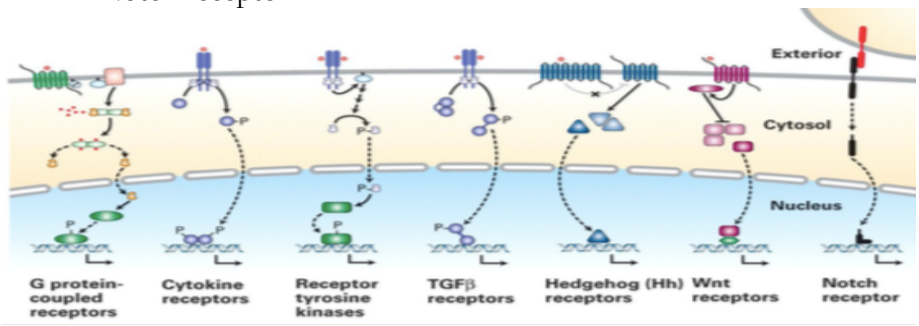


5.a.2. Bone Morphogenetic Proteins
-Bone Morphogenetic Proteins (protéines BMP-2, 4, 6), originellement identifiées comme facteurs inducteurs d'os

5.a.3. Activins" et "Inhibins",
- "Activins" et "Inhibins", identifiés comme membres de l'axe "pituitaire".

6. Signaux de développement (SHH, Wnt, Notch)

- SHH, -Hedgehog (Hh) receptors
- Wnt receptors
- Notch receptor

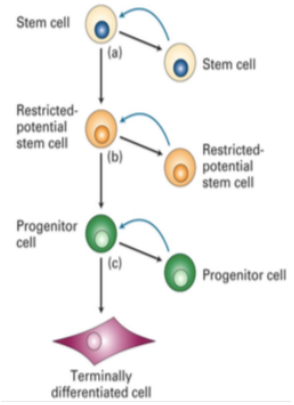


6.a. Toutes les cellules qui prolifèrent ne sont pas égales

1. "cellules souches", qui se répliquent indéfiniment et sont capables de produire divers types de cellules d'une certaine lignée cellulaire (hématopoïétique, épidermique, pigmentée)

2. "cellules engagées" (committed), qui se reproduisent activement mais pour un nombre limité de fois et produisent un répertoire plus limité de cellules d'un certain lignée cellulaire.

3. "cellules en différenciation terminale", qui vont quitté le cycle cellulaire et sont vouées à la différenciation de manière irréversible.



6.a.1. cellules souches

- hématopoïétique,
- épidermique,
- pigmentée

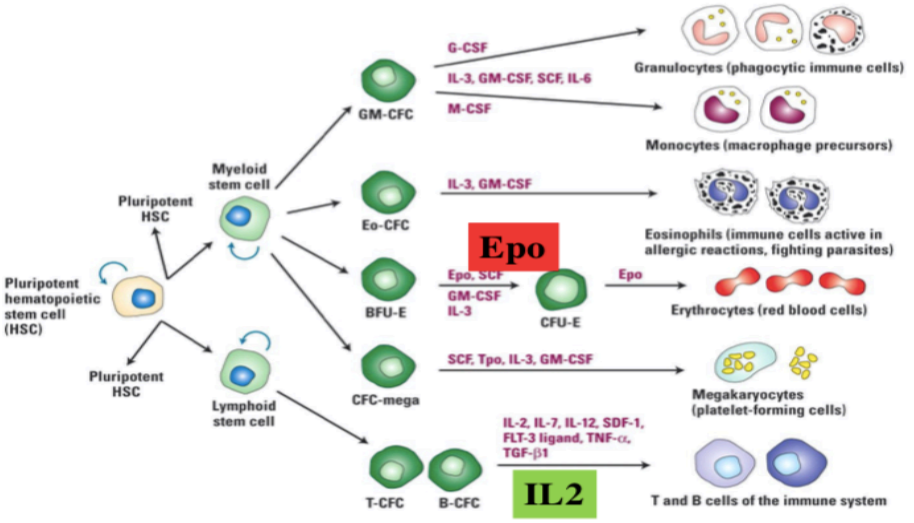
Les cellules souches sont :

1) **Capables d'auto-renouvellement**: elles se divisent pour un nombre indéterminé de fois mais effectuent souvent un cycle lent, c-a-d se multiplient à un taux très faible

2) **Capables de générer toutes les autres cellules** plus différenciées dans la même lignée ou même parmi des lignées différentes;

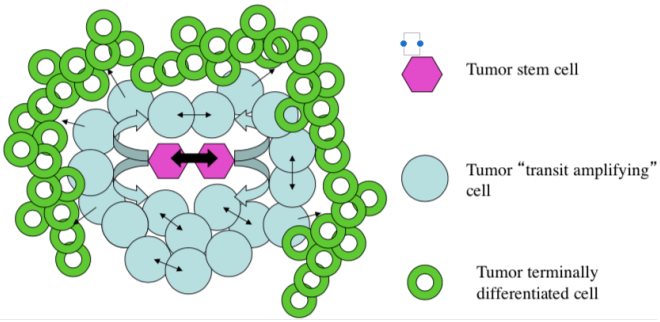
6.a.1.a. hématopoïétique

Le système hématopoiétique est composé de de populations de cellules souches pluripotentes qui peuvent générer toutes les lignées et les cellules progénitrices plus engagées qui donnent lieu aux lignées sélectionnées.



6.a.1.b. Le cancer, résultant du contrôle défectueux des cellules souches;

Le cancer peut être perçu comme un problème résultant du contrôle défectueux des cellules souches;
Il est probable que les tumeurs contiennent des cellules souches s'auto- reproduisant (souvent à cycle lent et résistantes à la thérapie) et des
populations de cellules en amplification transitoire (cellules "engagées") qui prolifèrent activement.

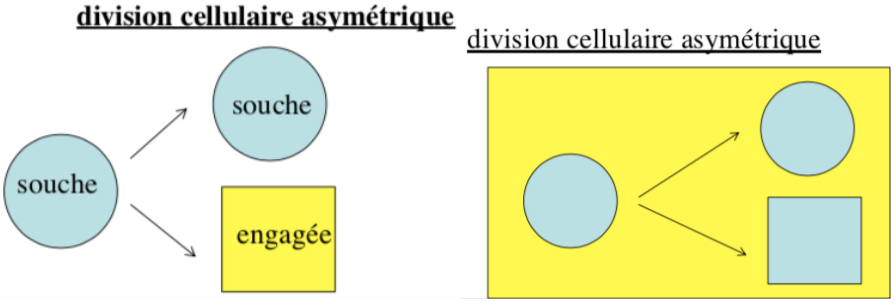


6.a.2. Division des cellules souches

- division cellulaire asymétrique
- division cellulaire symétrique

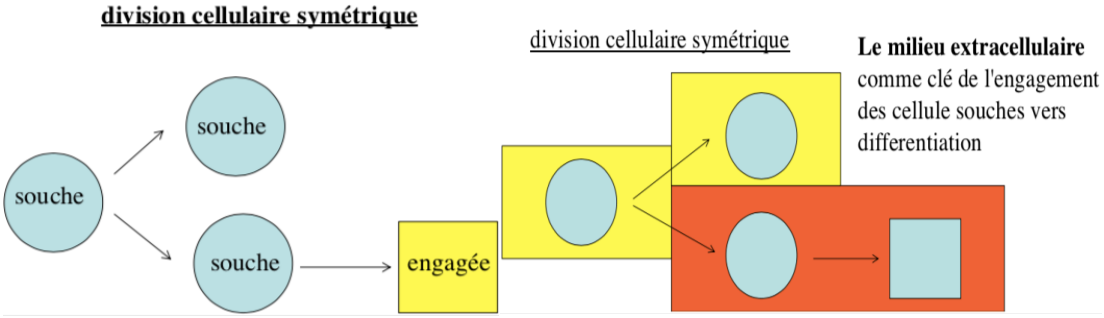
6.a.2.a division cellulaire asymétrique

"une division cellulaire asymétrique", avec division cellulaire d'une cellule souche générant deux cellules filles différentes, dont l'une seule est "engagée"



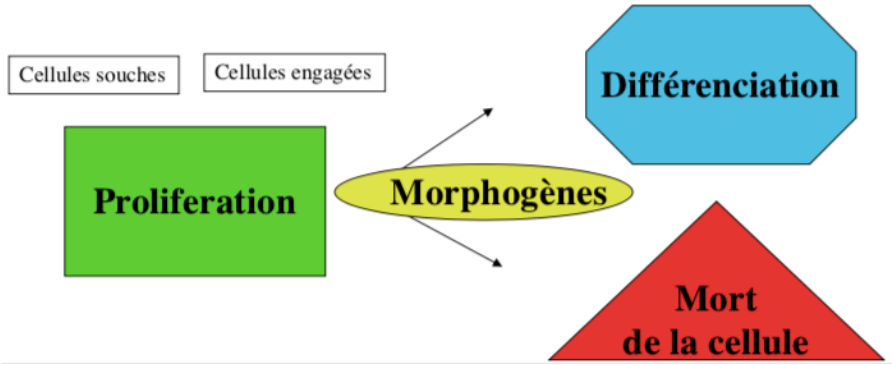
6.a.2.b. division cellulaire symétrique

"une division cellulaire symétrique", avec deux cellules filles identiques, l'une restant cellule souche et l'autre débutant le processus de différenciation par un signal inducteur stochastique ou externe.



6.b. Intégration de réseaux de signalisation : signaux développementaux

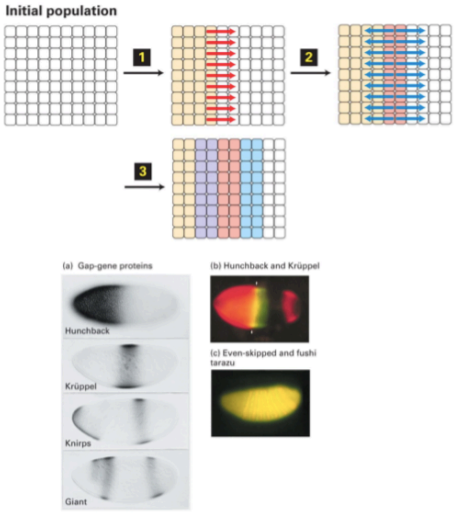
Le développement, comme l'entretien de l'homéostase des tissus normaux, résulte du contrôle intégré de la proliferation, de la différenciation et de la mort programmée cellulaire (apoptose).



Les voies de signalisation développementales jouent un rôle essentiel à la fois durant le développement et dans les tissus et les organes matures. L'altération dans l'une ou plusieurs de ces voies joue un rôle prépondérant pour le développement de tumeur.

6.b.1. Etablissement de limites parmi les différentes populations de cellules débutant par des cellules initialement identiques

Etablissement de limites parmi les différentes populations de cellules débutant par des cellules initialement identiques.



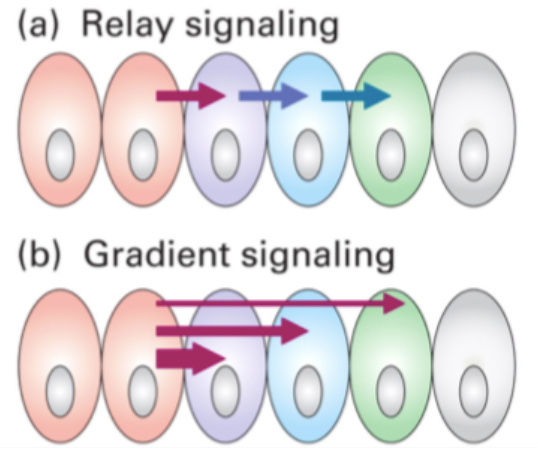
6.b.2. Les signaux développementaux fonctionnent par deux mécanismes au choix:

Les signaux développementaux fonctionnent par deux mécanismes au choix:
a) Un mécanisme interrupteur binaire on/off (relais) entre les cellules voisines.

Exemple : La voie Notch.

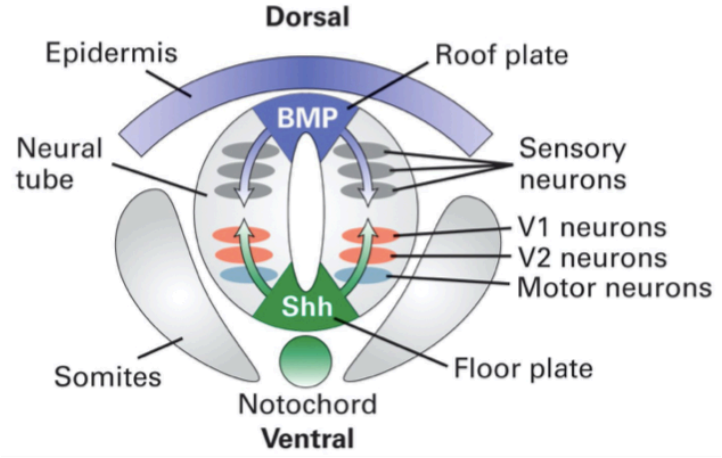
b) Un gradient de diffusion, avec une molécule unique diffusable (morphogène) agissant à distance avec des effets dépendant des seuils de concentration.

Exemples : Sonic HedgeHog (SHH), Wnts, TGF-ß/BMPs.



6.b.2.b. gradient de diffusion des morphogènes

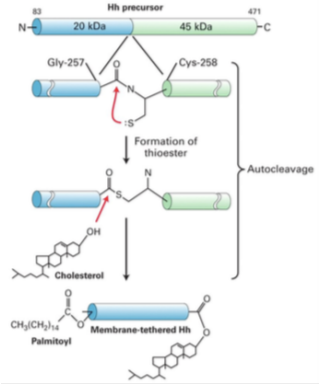
Les facteurs Shh et BMP /TGF-ß agissent comme des morphogènes pendant le développement



6.b.2.b.1. La voie de signalisation Sonic HedgeHog (Shh)

Un ligand diffusable secrété, **Shh**, activé par un auto- clivage et une liaison covalente au cholestérol et palmytoylation.

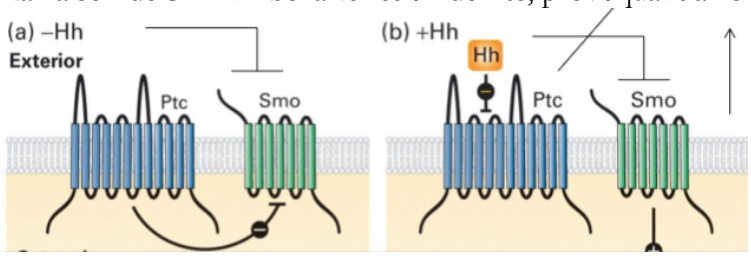
L'hydrophobicité est importante car elle favorise la liaison de Shh à la membrane cellulaire et limite son taux de diffusion.



Le récepteur de Shh est Patched (Ptc), une protéine à 12 segments transmembranaires.

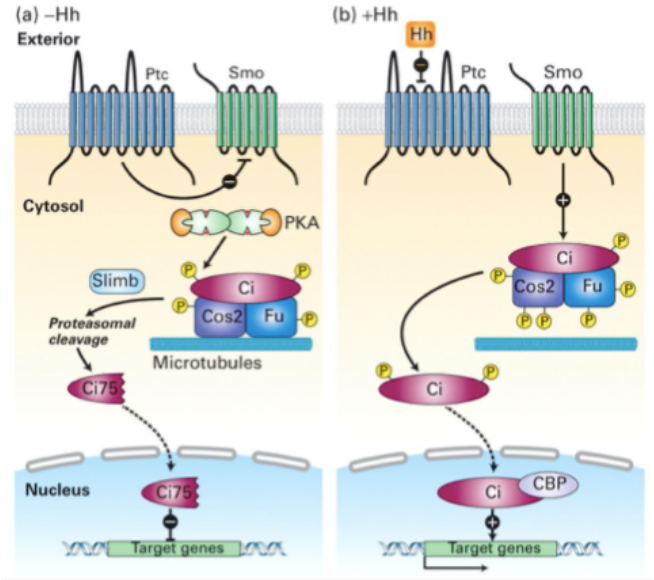
En l'absence de Shh, Ptc supprime la fonction de Smoothened, une autre protéine transmembranaire.

La liaison de Shh inhibe la fonction de Ptc, provoquant ainsi la activation de Smoothened.

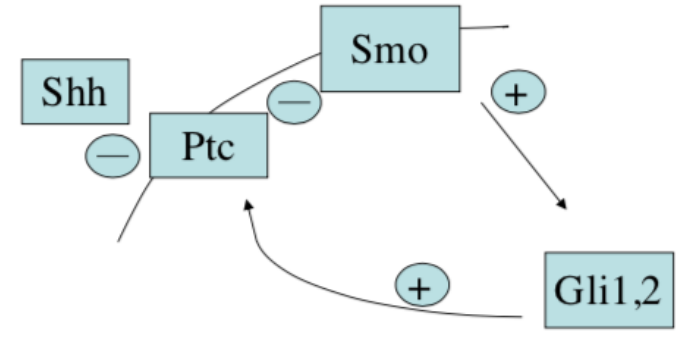


6.b.2.b.1.a. L'activation de Smoothened entraîne l'activation d'une cascade intermédiaire

L'activation de Smoothened entraîne l'activation d'une cascade intermédiaire, dont la kinase PKA, qui conduit à terme à l'activation de facteurs de transcription spécifiques (Gli 1,2,3 chez les mammifères; Ci dans la Drosophile).



Parmi les gènes qui sont induits transcriptionnellement par l'activation de Smoothened et Gli, il y a Patched lui-même, qui, étant donné sa régulation négative de Smoothened, agit comme un mécanisme de retrocontrol négatif pour réguler la voie de signalisation Shh:



6.b.2.b.1.b. L'activation de la voie de signalisation SHH par la mutation/perte du gène de Patched

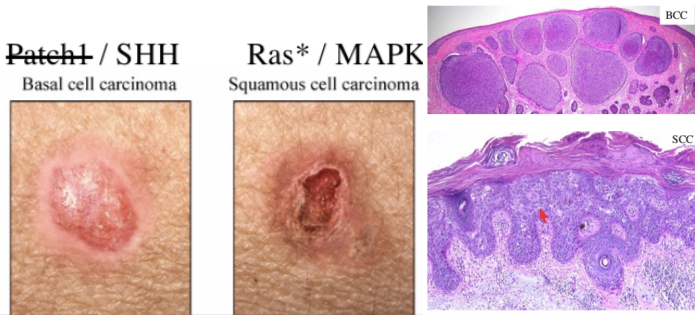
L'activation de la voie de signalisation SHH par la mutation/perte du gène de Patched conduit à des formes familiales et sporadiques de :

Carcinomes des cellules basales de l'épiderme (BCC) :

- Cancer le plus commun dans les populations blanches -900,000 nouveaux cas par an aux Etats-Unis.
- Dérives des kératinocytes de la couche basale de l'épiderme ou plus vraisemblablement du follicule pileux.
- Invasifs seulement localement et rarement métastatiques, puisque leur croissance dépend fortement du stroma environnant

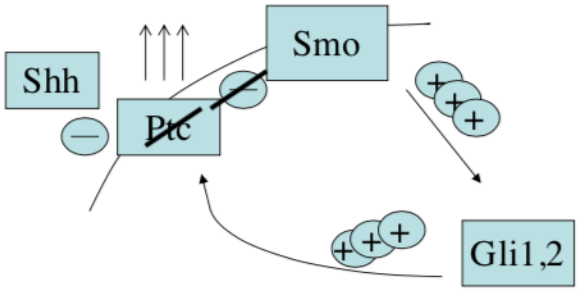
Deux types de tumeurs cutanées dérivées des keratinocytes :

- carcinome basocellulaire et carcinome épidermoïde, par activation de la voie Shh et Ras-MAPK, respectivement.
- Patch1 / SHH : basal cell carcinoma
- Ras* / MAPK : squamous cell carcinoma



6.b.2.b.1.a.1. les gènes qui sont induits transcriptionnellement par l'activation de Smoothened et Gli, mécanisme de retrocontrol négatif

Parmi les gènes qui sont induits transcriptionnellement par l'activation de Smoothened et Gli, il y a Patched lui-même, qui, étant donné sa régulation négative de Smoothened, agit comme un mécanisme de retrocontrol négatif pour réguler la voie de signalisation Shh:



Si la protéine Ptch n'est pas fonctionnelle (pas d'activité suppressive), la SHH est constitutivement active et il faut cibler les molécules en aval de Ptc.

carcinome basocellulaire (BCC) :
localement invasif, non métastatique



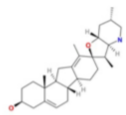
carcinome basocellulaire récurrent et non traité



De petites molécules avec une fonction antagoniste à la voie de signalisation Shh ont été développées pour servir de molécules thérapeutiques contre la formation et progréssion de carcinome basocellulaire.

Des composants naturels avec une fonction anti-Shh (la cyclopamine) conduisent à un défaut de naissance telle que la cyclopie (un seul œil avec fusion du cerveau gauche et droit).







6.b.2.b.2. Wnts

Wnts : terme général pour une grande famille de facteurs diffusables (morphogènes) ayant un rôle étendu aussi bien dans le développement que dans la tumorigenèse.

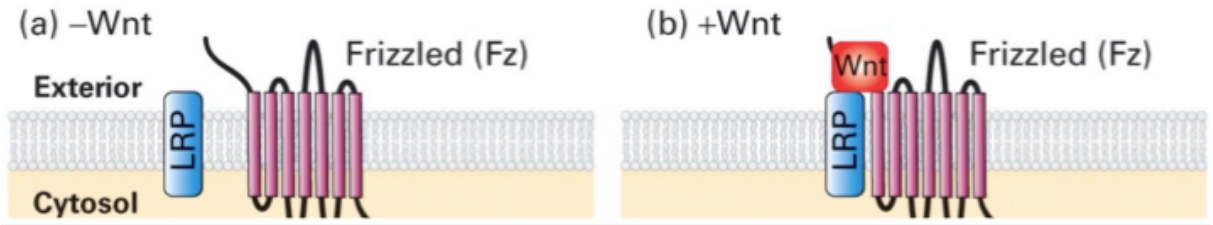
Wingless : un gène de Drosophile codant pour un facteur diffusable dont la mutation, comme Hh, cause la perte de la polarité de segment et de la formation de limites.

Int1 : un homologue de Wingless chez les mammifères, dont l'expression inappropriée entraîne le développement d'un
carcinome mammaire chez la souris.

6.b.2.b.2.a. 2 récepteurs pour Wnts à la surface de la cellule:

2 récepteurs pour Wnts à la surface de la cellule:

- **Frizzled**, une protéine à 7 domaines transmembranaires, ayant des similitudes avec les récepteurs couplés à la protéine G;
- **Lrp**, qui s'associe avec Frizzled en présence de Wnts.



6.b.2.b.2.b. la signalisation de Wnt est la ß-catenine : molécule avec 2 fonctions

Un élément-clé dans la signalisation de Wnt est la ß-catenine, une molécule avec 2 fonctions:

1) Composant structurel des jonctions adhérentes (adherens junctions) entre deux cellules voisines;
2) Activateur de transcription située, en condition basale, dans le cytoplasme, dans un complexe moléculaire avec une kinase ser/thr, la GSK3ß, qui cible la ß-catenine par phosphorylation pour sa dégradation (via le protéasome).

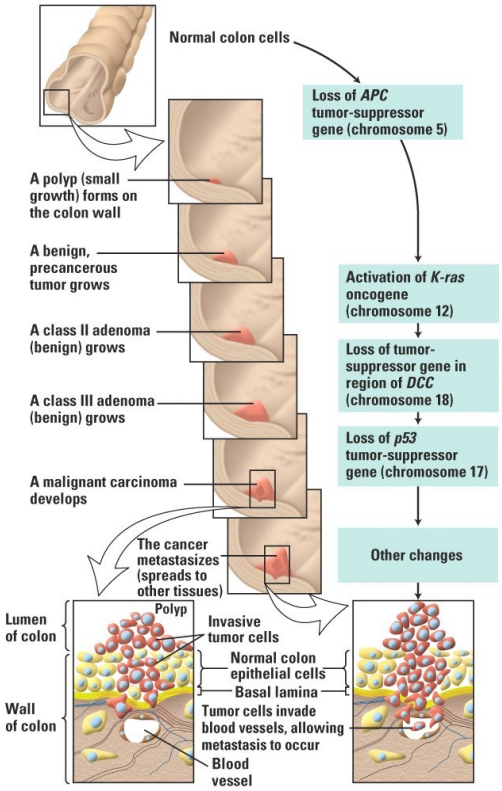
L'activation de Wnt cause la dissociation de la ß-catenine du complexe cytoplasmique (un complexe avec GSK3ß), promouvant sa stabilité et sa translocation au noyau.

Ici, la ß-catenine s'associe avec des facteurs de transcription, induisant l'expression du régulateurs clés du cycle cellulaire telles que la cycline D1.



6.b.2.b.2.c. Activation constitutive de la voie Wnt/ß-catenine amène le développement du cancer

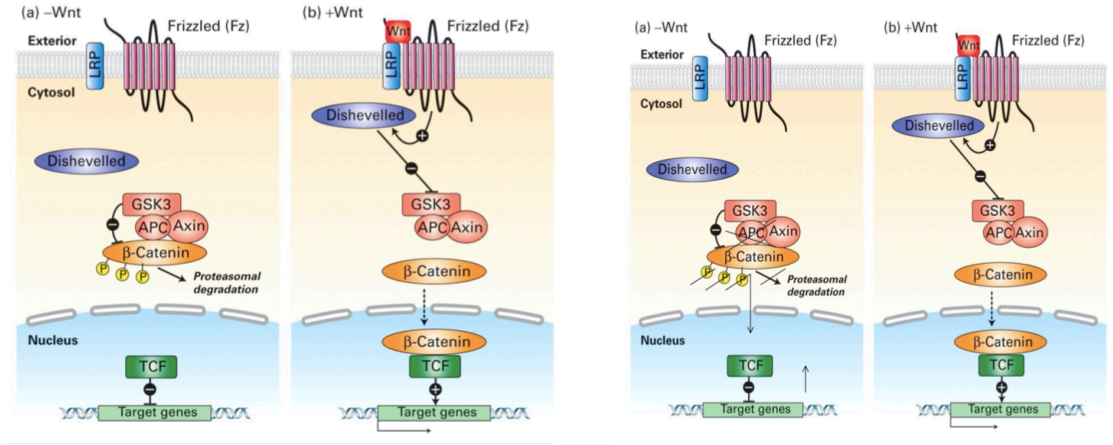
Carcinogenèse du côlon en plusieurs étapes



Activation constitutive de la voie Wnt/ß-catenine amène le développement du cancer.

Le gène APC (Adenomatosis Poliposis Coli) a été identifié par
des études génétiques sur des familles susceptibles de développer le cancer du colon.

La perte mutationnelle du gène APC, est la première étape d'évènements qui conduisent à des polypes du côlon et au cancer.



Les signaux développementaux fonctionnent par deux mécanismes au choix:

a) Un mécanisme interrupteur binaire on/off (relais) entre les cellules voisines.
Exemple : La voie Notch.

b) Un gradient de diffusion, avec une molécule unique diffusable (morphogène) agissant à distance avec des effets dépendant des seuils de concentration.

Exemples : Sonic HedgeHog (SHH), Wnts, TGF-ß/BMPs.

6.b.2.a. mécanisme interrupteur binaire on/off (relais) entre les cellules voisines

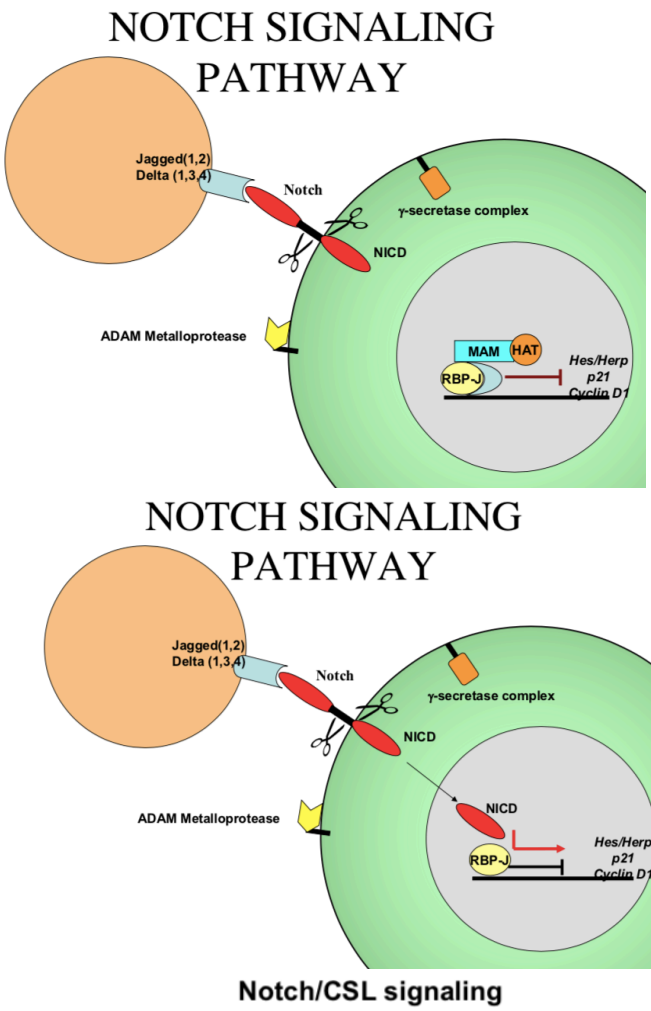
La voie de signalisation Notch fonctionne comme un mécanisme interrupteur on/off entre les cellules voisines,

- pour déterminer le devenir de la cellule,
- pour contrôler le potentiel des cellules souches et
- même pour promouvoir ou supprimer la tumorigenèse.

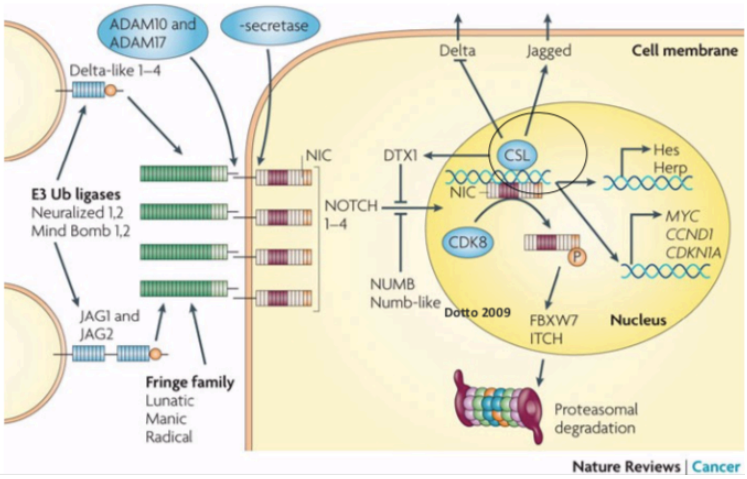
La voie implique des ligands non-diffusables transmembranaires de la famile Jagged ou Delta liant un récepteur à la surface de la cellule transmembranaire, Notch 1-4.

La liaison au ligand déclenche des changements conformationnels du récepteur suivis d'un clivage protéolytique du domaine cytoplasmique.

Le domaine cytoplasmique "activé" du récepteur est alors transloqué au noyau où il se lie à une protéine de liaison à l'ADN induisant ainsi la transcription.



Notch/CSL signaling



L'activation de Notch contrôle l'expression de gènes ayant des fonctions opposées dans différents types de cellules.

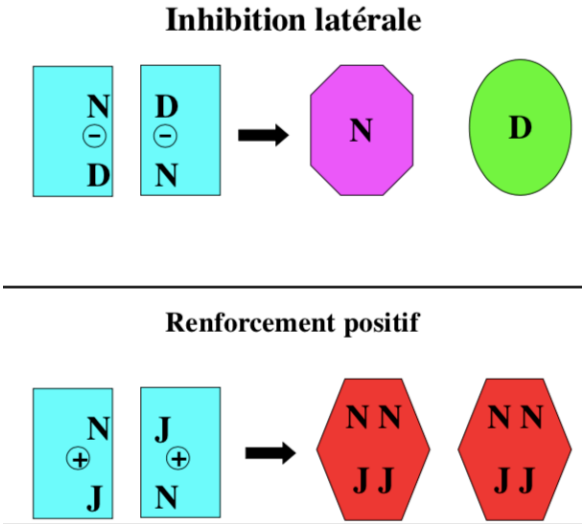
6.b.2.a.1. Fonctions biologiques complexes de la voie Notch

1) l'activation de Notch peut avoir des rôles opposé dans des cellules tumeurs de différents types
   - Dans les cellules T, l'activation de Notch induit l'expression de la cycline D1 et favorise la tumorigenèse (leucémie à cellules T)

- Dans les kératinocytes, l'activation de Notch induit p21 (CDKN1A) et supprime la tumorigenèse

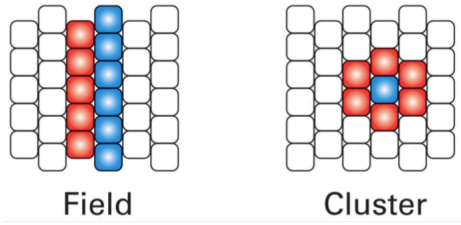
2) Dans le développement et l'homéostasie tissulaire, l'activation de Notch peut
(i) entraîner la génération de cellules avec des destins différents (c. (c'est-à-dire les cellules souches par rapport aux cellules engagées) ou

(ii) la synchronisation des cellules le long d'un programme de différenciation spécifique

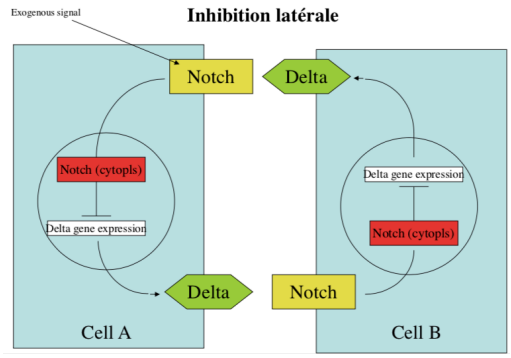


6.b.2.a.1.a. inhibition latérale, l'activation de Notch

Par inhibition latérale, l'activation de Notch peut générer différents domaines de cellules (field) ou différents groupes de cellules (cluster).



Plus spécifiquement, la voie Notch est essentielle pour la maturation équilibrée des cellules précurseur de l'ectoderme, dans les cellules épidermiques ou neuronale

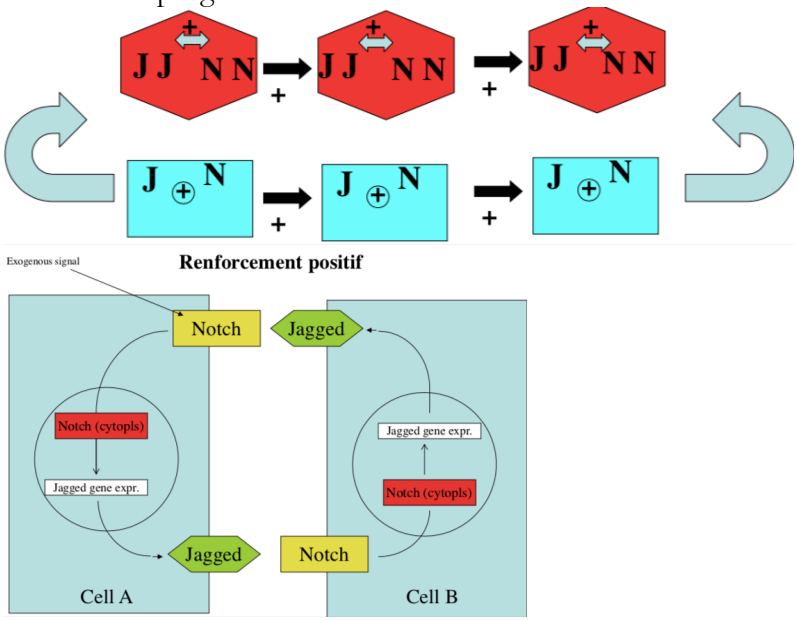


Une petite augmentation initiale de l'activité de Notch dans la cellule A entraîne une diminution de l'expression de ligand Delta, qui à son tour entraîne une diminution de l'activation de Notch dans la cellule B. La diminution de l'activation de Notch dans la cellule B entraîne une diminution

de la suppression du gène Delta, avec une augmentation de expression de la protéine Delta qui renforce à son tour l'activation de Notch dans la cellule A.

6.b.2.a.1.b. renforcement positif

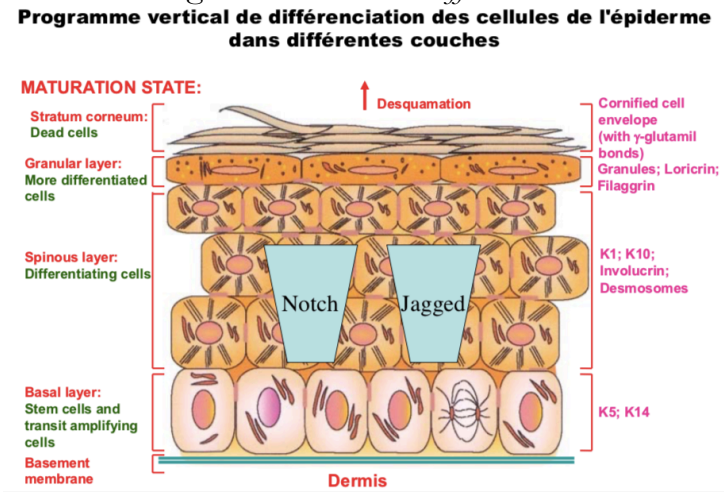
Par renforcement positif, la signalisation Notch est utilisée pour synchroniser des cellules le long d'un certain programme de différenciation.

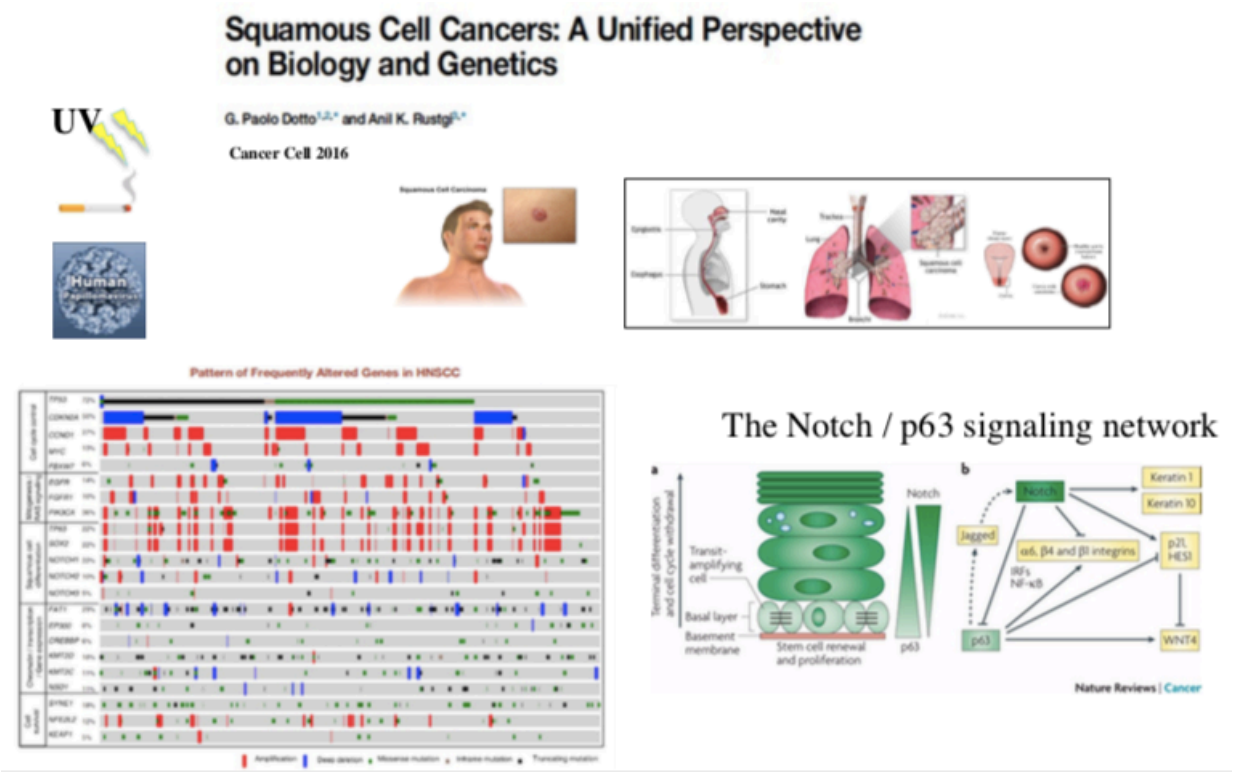


Une petite augmentation initiale de l'activité de Notchdans la cellule A conduit à une expression accrue de ligand Jagged, qui à son tour provoque une activation accrue de Notch dans la cellule B.

L'activation accrue de Notch dans la cellule B provoque une expression accrue du gène Jagged, avec une augmentation de expression de la protéine Jagged qui à son tour renforce l'activation de Notch dans la cellule A.

6.b.2.a.2. Programme vertical de différenciation des cellules de l'épiderme dans différentes couches





Cellules - Transduction du signal

Cellule et tissus - cellules - Transduction du signal 29
https://rumble.com/v7gypxm-cellule-et-tissus-cellules-transduction-du-signal-29.html

Cellule et tissus - cellules - Transduction du signal 30
https://rumble.com/v7gyr24-cellule-et-tissus-cellules-transduction-du-signal-30.html

Cellule et tissus - cellules - Transduction du signal 31
https://rumble.com/v7gyrac-cellule-et-tissus-cellules-transduction-du-signal-31.html

Cellule et tissus - cellules - Transduction du signal 32
https://rumble.com/v7gyrrc-cellule-et-tissus-cellules-transduction-du-signal-32.html