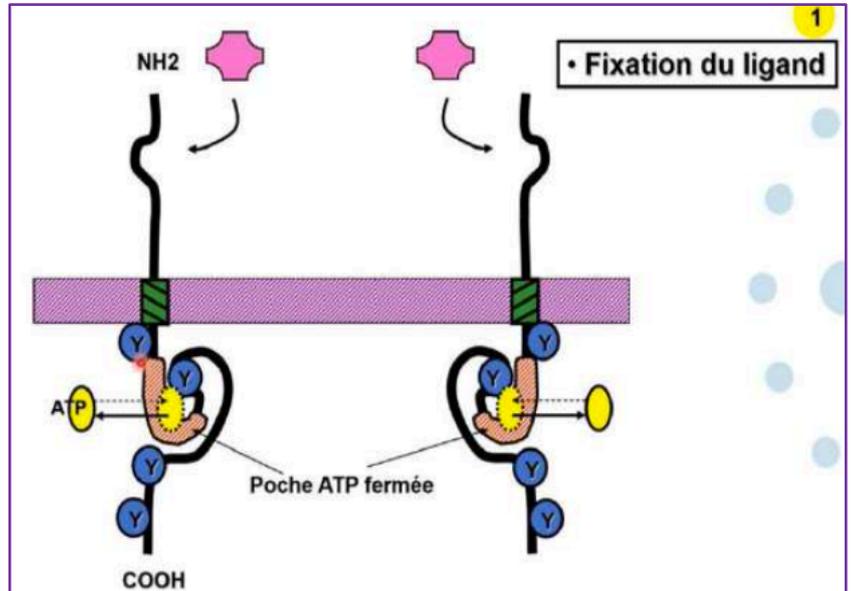


Alors comment fonctionnent les récepteurs tyrosine kinase (RTK) ?

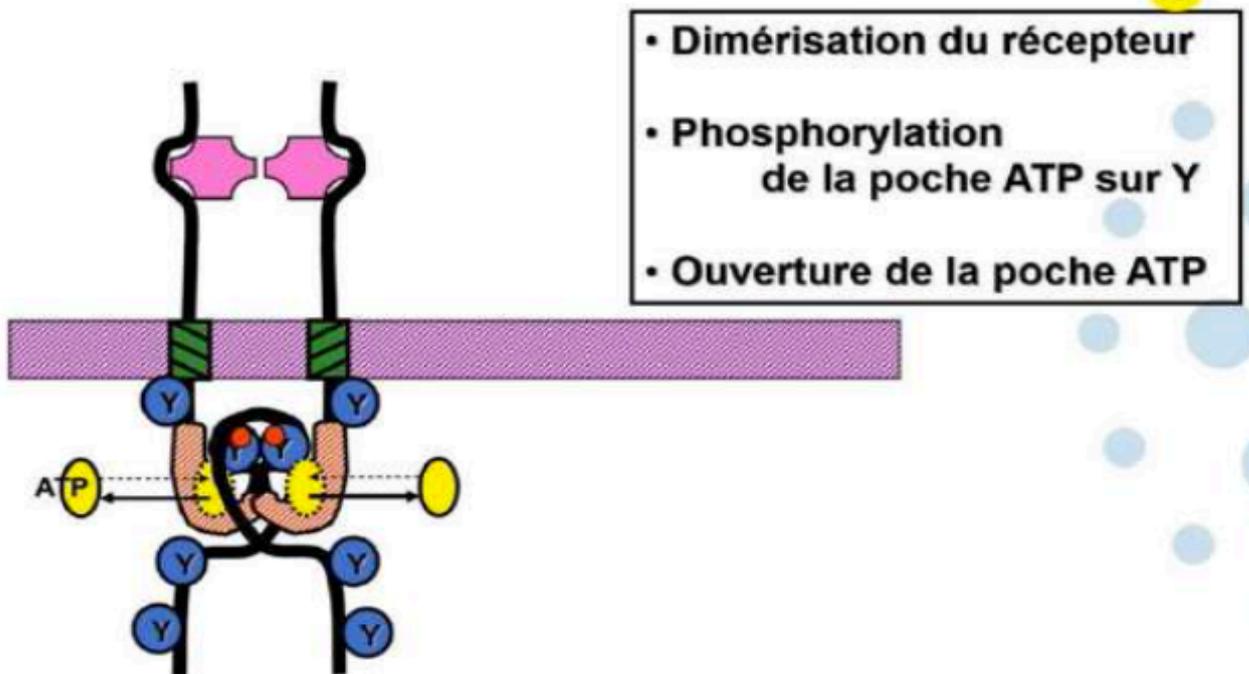
On observe le **ligand** (par exemple l'insuline) qui va venir se fixer sur un **monomère** qui possède un **domaine N-terminal extracellulaire** et **C-terminal intracellulaire** qui possède **l'activité enzymatique** (cf le cours Compartiments Membranaires de ma co-tut Lilapoptose sur la synthèse des protéines dans le RE).

Si par exemple l'**insuline** se lie au **monomère**, le récepteur se lie à un **second monomère**.

C'est ici qu'on voit l'importance des **radeaux lipidiques** riches en **cholestérol** et **récepteurs**. Les monomères ont en effet une **mobilité réduite** qui augmente leur concentration au niveau du radeau et **favorise la dimérisation** et donc la **transduction du signal**.



Suite à la **dimérisation**, au niveau du **site actif**, il va y'avoir une **phosphorylation de la poche ATP** du site actif qui va se faire en **trans**. Un **signal** est ainsi **passé sans passage du ligand** à travers la membrane plasmique. Mais **le signal n'est pas encore audible**. La **transphosphorylation** va **continuer**.



→ Alors, par la suite les **tyrosines kinases phosphorylées** vont permettre la **fixation** et donc servir de **réceptacle** pour des **protéines cibles** du signal sur lesquelles on retrouve des domaines **SH2**. Ces domaines réagissent avec les tyrosines phosphorylées afin de mettre en place un **véritable échafaudage signalétique**. *(alors pour cette notion d'échafaudage il faut juste imaginer plusieurs protéines qui s'accumulent pour amplifier le signal en intracellulaire)*

→ Ces mêmes **protéines cytosoliques** ont un autre domaine **SH3** qui permettent la **fixation** d'autres **protéines de signalisation**. On a donc un **échafaudage** qui lorsqu'il sera **suffisamment important** transmettra un **signal**. Il y'a donc un **effet seuil**. Un **signal faible** ne sera pas forcément entendu par la cellule ce qui évite un **brouillage du signal** par plusieurs **petits signaux** insignifiants.

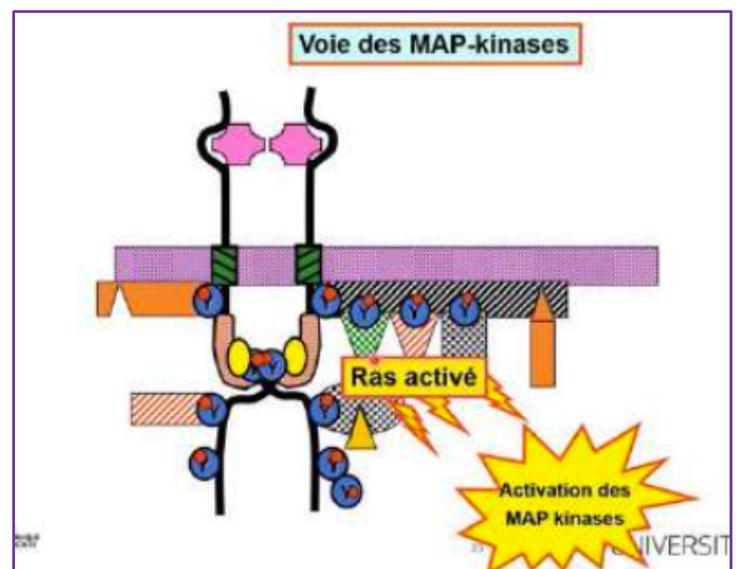
Les deux grandes voies de signalisation dans le cytoplasme :

Une fois **l'échafaudage signalétique** formé, la cellule a le choix entre la voie des **MAP-kinases** et la voie **des phosphoinositides**.

1) Voie des MAP-kinases :

- C'est une voie **très conservée** retrouvé dans **toutes les cellules eucaryotes** qui contrôle de nombreux programmes cellulaires.

- **L'échafaudage signalétique** dans cette voie aboutit à l'**activation** d'une petite protéine : **RAS** qui appartient à **la famille des petites protéines G**.



Je vous mets alors la diapo du prof avec toutes les infos à propos de cette superfamille dont fait partie RAS :

Les petites protéines G -Superfamille des petites GTPases Ras-

- Protéines monomériques de masse moléculaire comprise entre 20 et 30KDa^o
- Découvertes sur la base de leur homologie aux oncogènes portés par les virus de sarcome de Harvey (H-Ras) et de Kirstein (K-Ras): Rat sarcoma
- Oncogènes cellulaires souvent mutés dans des cancers humains tels que carcinomes mais aussi de la lignée hématopoïétique (30% des leucémies myéloïdes aiguës)

● Comme vu au-dessus, **la protéine RAS** est une protéine de la famille des **petites protéines G**. Celle-ci possède la particularité de pouvoir **fixer** le GTP ou le GDP (pour rappel, GTP signifie Guanosine Triphosphate est celui-ci est une molécule énergétique qui a la manière de l'ATP possède des liaisons énergétiques, comme la gamma γ , qui peuvent être rompu lors de l'hydrolyse afin de libérer de l'énergie permettant le changement de conformation est donc l'activation de la dite protéine)

Petit point sémantique : (qui fait zizir je sais je sais)

Il n'y a **pas de gènes** sélectionnés par l'évolution pour être **oncogène**. Un gène normal peut devenir oncogénique par mutation. La dénomination de RAS « normal » est **proto-oncogène** qui devient **oncogène si muté**.

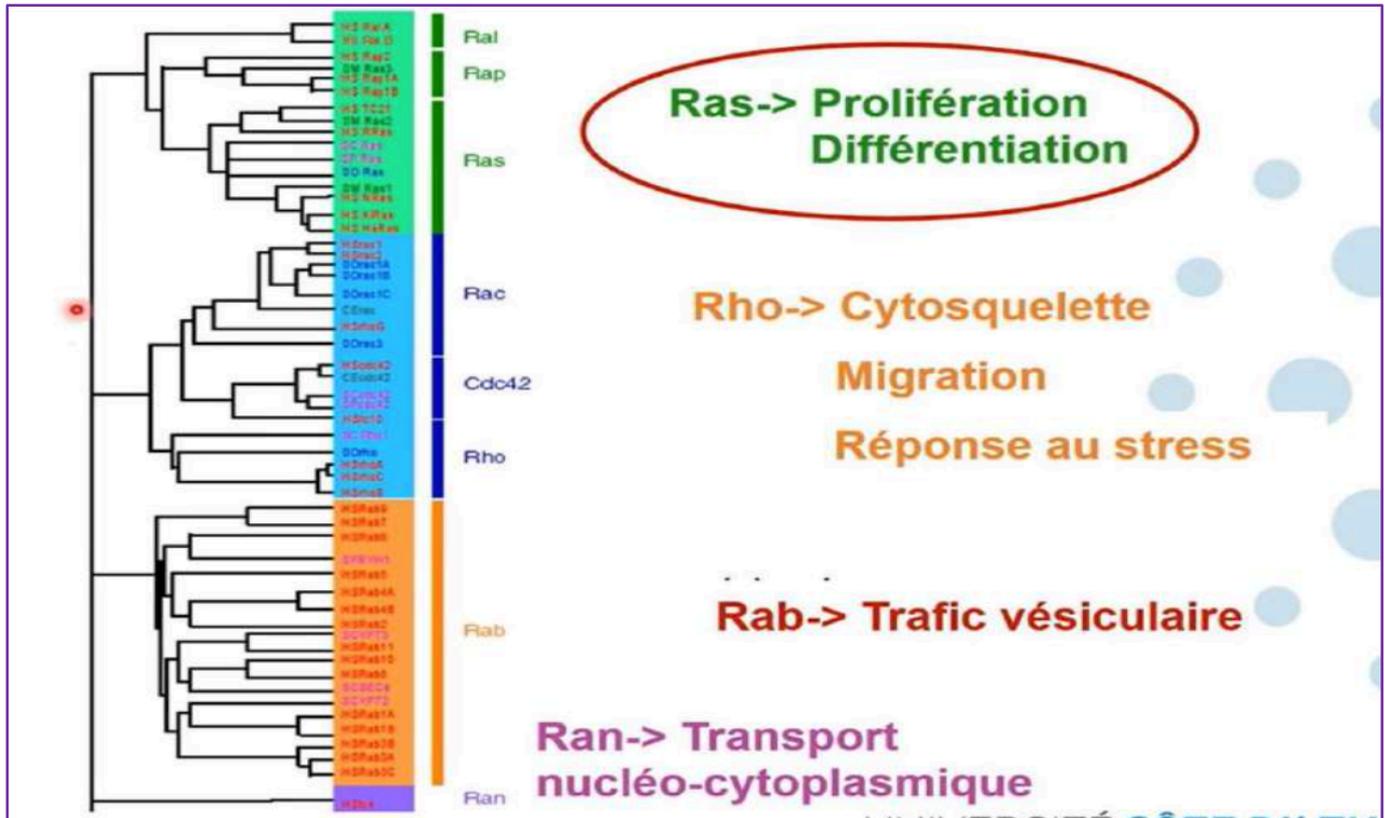
(en gros la team, ce qu'il faut retenir c'est que certains gènes vont physiologiquement servir à favoriser la division cellulaire ou du moins à coder pour des protéines favorisant de par une cascade de phosphorylation, comme pour la protéine RAS, l'expression de certains gènes liés à la prolifération. Ils sont naturellement bridés par des gènes qu'on appelle « suppresseur de tumeur » dont on va parler dans la suite du cours SAUF qu'il arrive que ces gènes soient mutés et deviennent responsables de l'établissement de tumeur. On parle de mutation gain de fonction et la présence d'un seul allèle muté est nécessaire vous verrez tout ça dans en biomol dans le module 4 avec Victorsion)

Étymologie d'oncogène : De onco- (« tumeur »), lui-même du grec ancien ὄγκος, onkos, (« tas, masse »), et -gène (qui engendre).

On distingue **quatre familles** au sein de cette *superfamille* qui possèdent chacune leur **propre implication** :

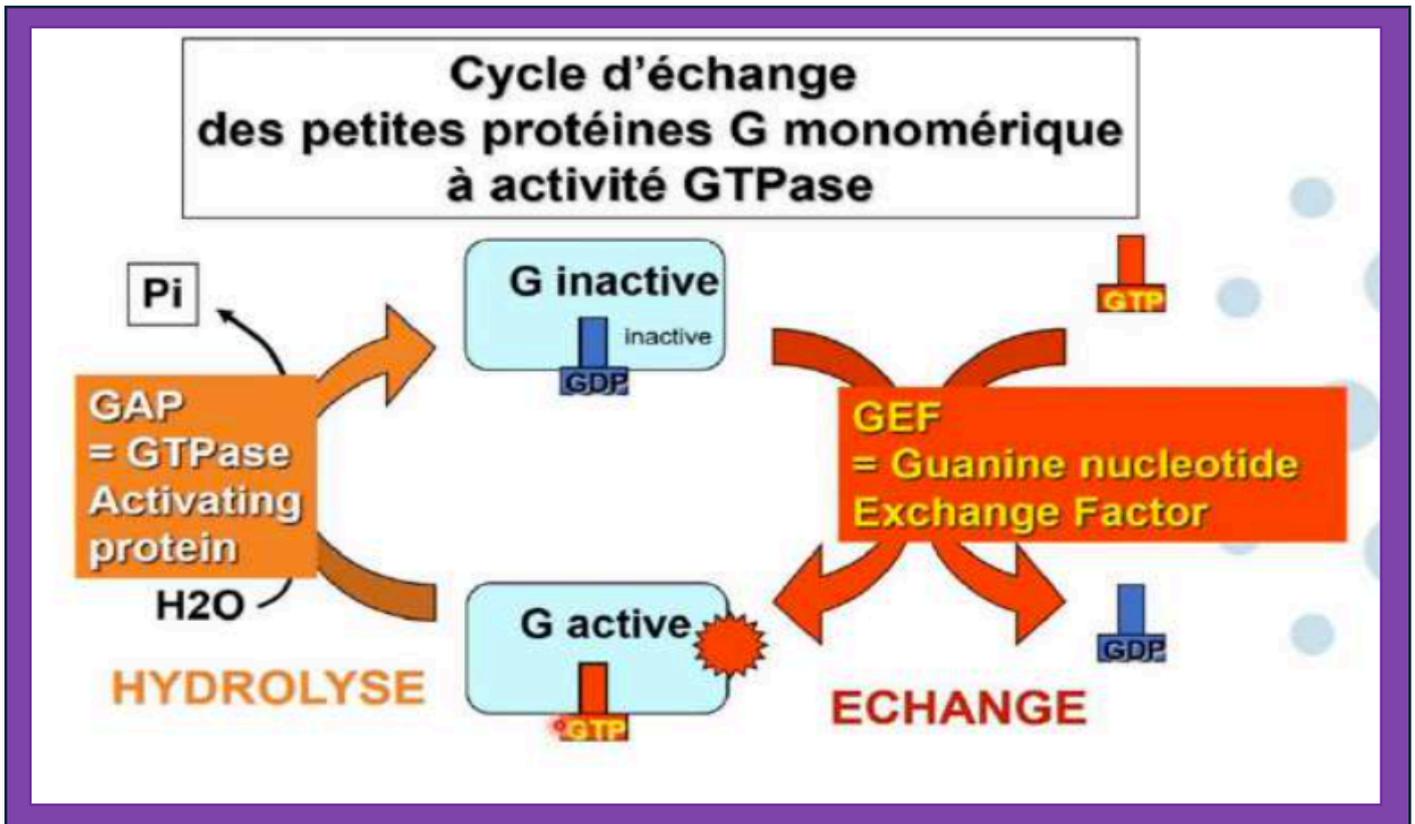
- **RAS** (prolifération et différenciation)
- **RHO** (cytosquelette, migration et réponse au stress)
- **RAB** (trafic vésiculaire)
- **RAN** (transport nucléo-cytoplasmique)

Les petites protéines G ont en **commun** leurs **modalités d'activation**.

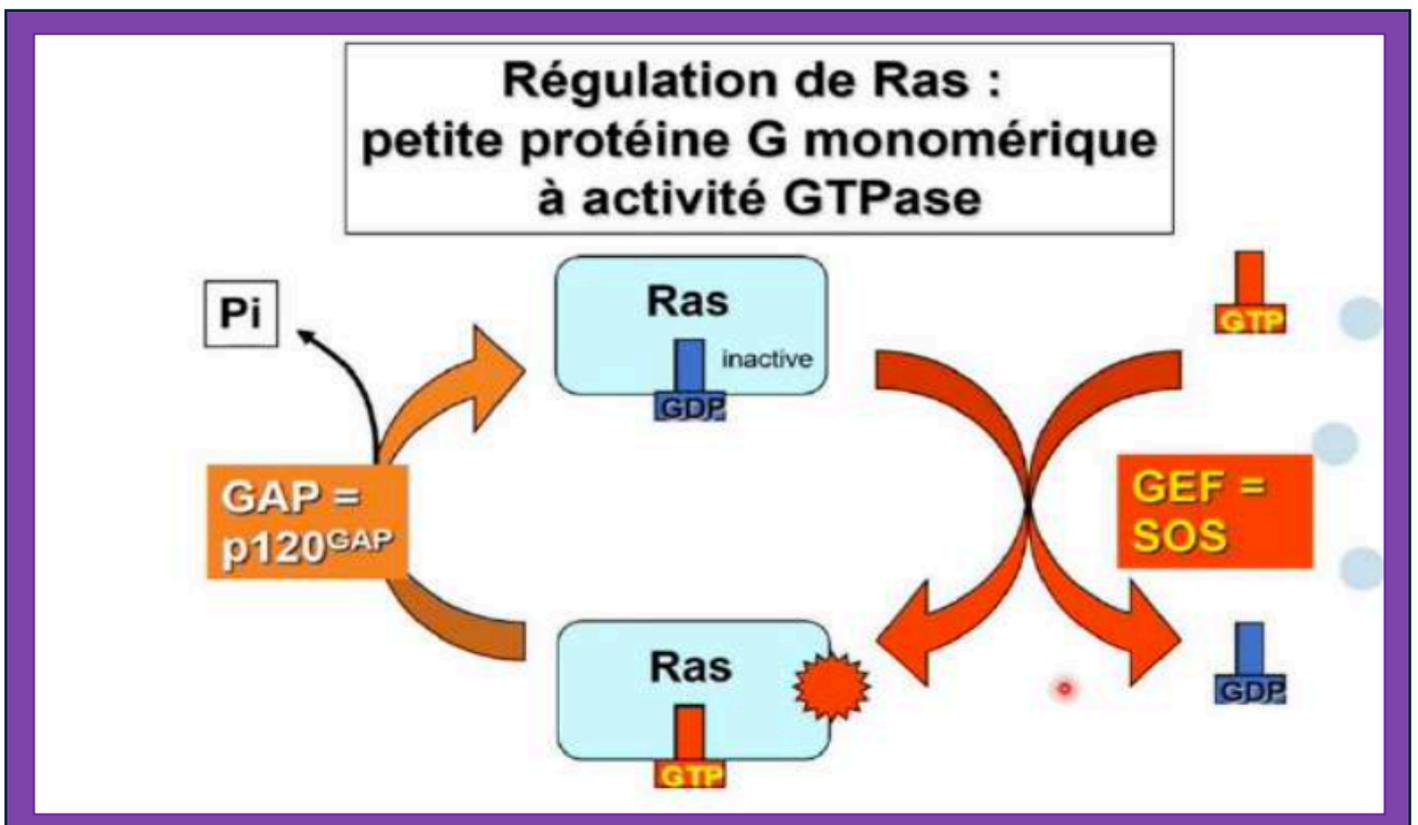


Mais comment fonctionnent les petites protéines G ?

● Elles sont **inactives** associées au **GDP** et **actives** associées au **GTP**. Pour passer du GDP au GTP, une autre famille de protéines, les **GEF** (Guanine nucleotide Exchange Factor), intervient en **échangeant** le GDP par un GTP et **non pas par phosphorylation**. L'inverse est obtenu par une autre famille de protéine, les **GAP** (GTPase Activating Protein), qui **hydrolysent** le **GTP** en **GDP**. **RAS** est associé à sa propre **GEF** (**SOS**) et sa propre **GAP** dont le professeur ne vous demande pas de connaître le nom par cœur...



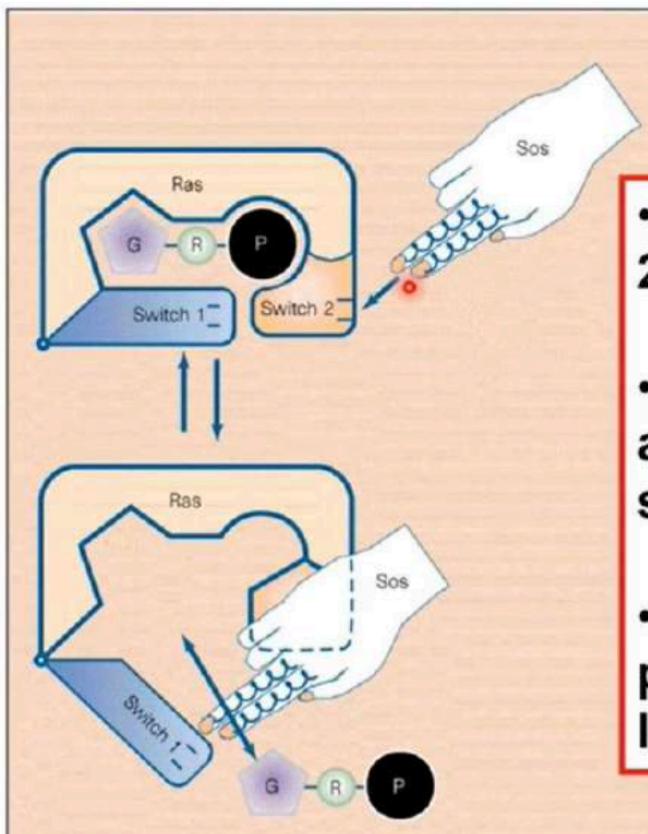
On a ici le schéma correspondant à l'activation/désactivation pour la protéine RAS →



Fonctionnement de SOS, GEF associée à RAS

→ **SOS** peut être représentée par une **main avec deux doigts** 😊😊 (=hélices alpha) qui reconnaissent **Switch 2** et **Switch 1** (structures de la protéine qui enferment le GDP). Le GDP va ainsi **diffuser en dehors** de la protéine **RAS**. Par la suite le **GTP** se fixe et cela permet le **changement de conformation** de la protéine **RAS** entraînant alors certains **programmes cellulaires**.

Activation de Ras par SOS



- **Sos se fixe sur Switch 1 et 2 (S1 et S2) de Ras-GDP**
- **L'insertion d'une hélice alpha de Sos déplace S1 du site de fixation du GDP**
- **Le GDP diffuse, laissant la place pour le GTP qui prend la place**



Que se passe-t-il lors de l'activation de RAS ?

Lorsque **RAS** est activée (physiologique ou pathologique) on peut avoir **plusieurs événements** :

- On peut avoir **une modification du cytosquelette** par exemple qui même si plus tôt nous avons dit que c'était le rôle de **RHO** nous sommes dans des systèmes *complexe* et **RAS** peut lui aussi avoir cet effet.
- **RAS** a surtout des effets importants sur **la prolifération**. Des **mutations gain de fonction** peuvent **activer RAS** en permanence de manière *supra physiologique* pouvant induire certains **cancers**.

En gros on suractive le gène RAS de par la mutation ce qui va favoriser une prolifération cellulaire car la protéine RAS est naturellement capable d'induire l'expression de gènes de la division cellulaire comme on le verra à la suite de la cascade de phosphorylation

- Cette protéine peut aussi induire **l'apoptose**.
- Cette protéine peut aussi lorsqu'**anormalement activée** permettre à la cellule de se **diviser en trois dimensions**. Une **cellule normale** interagit avec la **matrice extracellulaire** (MEC) qui **contrôle** sa **division**. Si la cellule **n'a pas de contact avec la MEC**, elle ne se divisera pas. En laboratoire, une **cellule adhérente** considère le plastique de la même **manière** que la MEC. En mettant la cellule dans de *l'agar mou*, elle ne va donc **pas croître**. En **activant RAS** en revanche elle **se divisera** malgré **la perte de contact** avec son support. C'est ce qui se passe dans **les cancers**.
- **RAS** dans les cellules primaires est capable **d'induire la sénescence**. C'est la première fois qu'on a montré qu'un **oncogène** (H-rasV12) était capable d'induire le **vieillessement prématuré** d'une cellule.

Les Fonctions de Ras sont Multiples

Contrôle + Ras

Dépolymérisation actine

Cytosquelette

Induction de tumeur

Prolifération

Ras Ctr

Test apoptose

Mort cellulaire

Ctr Ras

Croissance en agar mou

Interaction avec la matrice extracellulaire

vector H-rasV12

Sénescence cellulaire

31 UNIVERSITÉ CÔTE D'AZUR

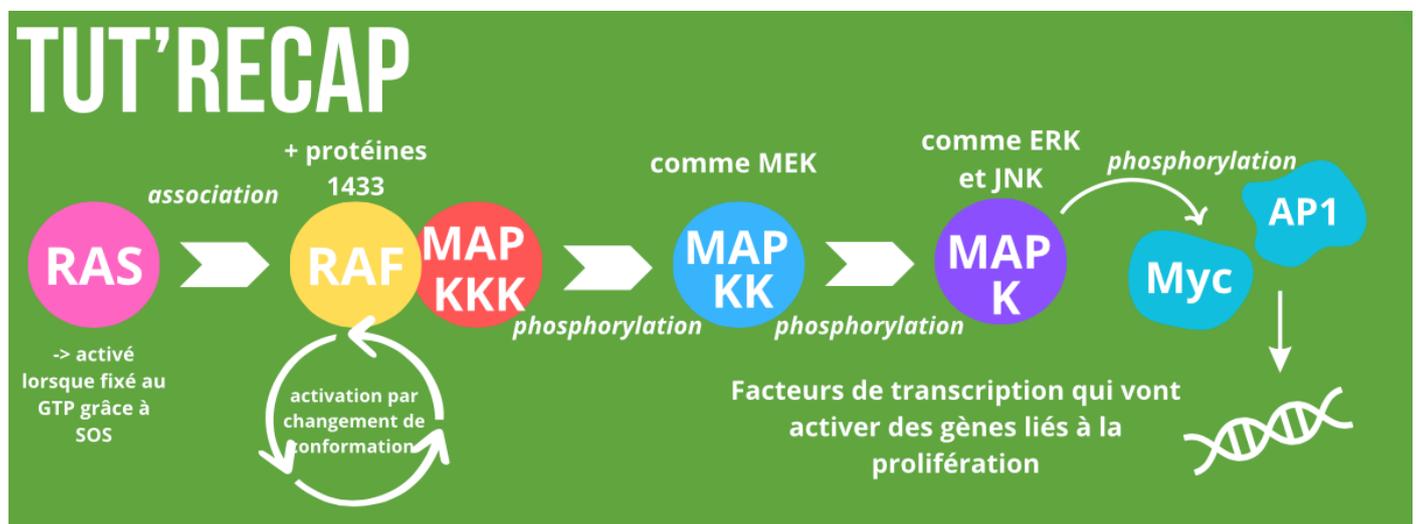
• Que se passe-t-il après l'activation de RAS ?

MAP KKK : MAP Kinase-Kinase-Kinase

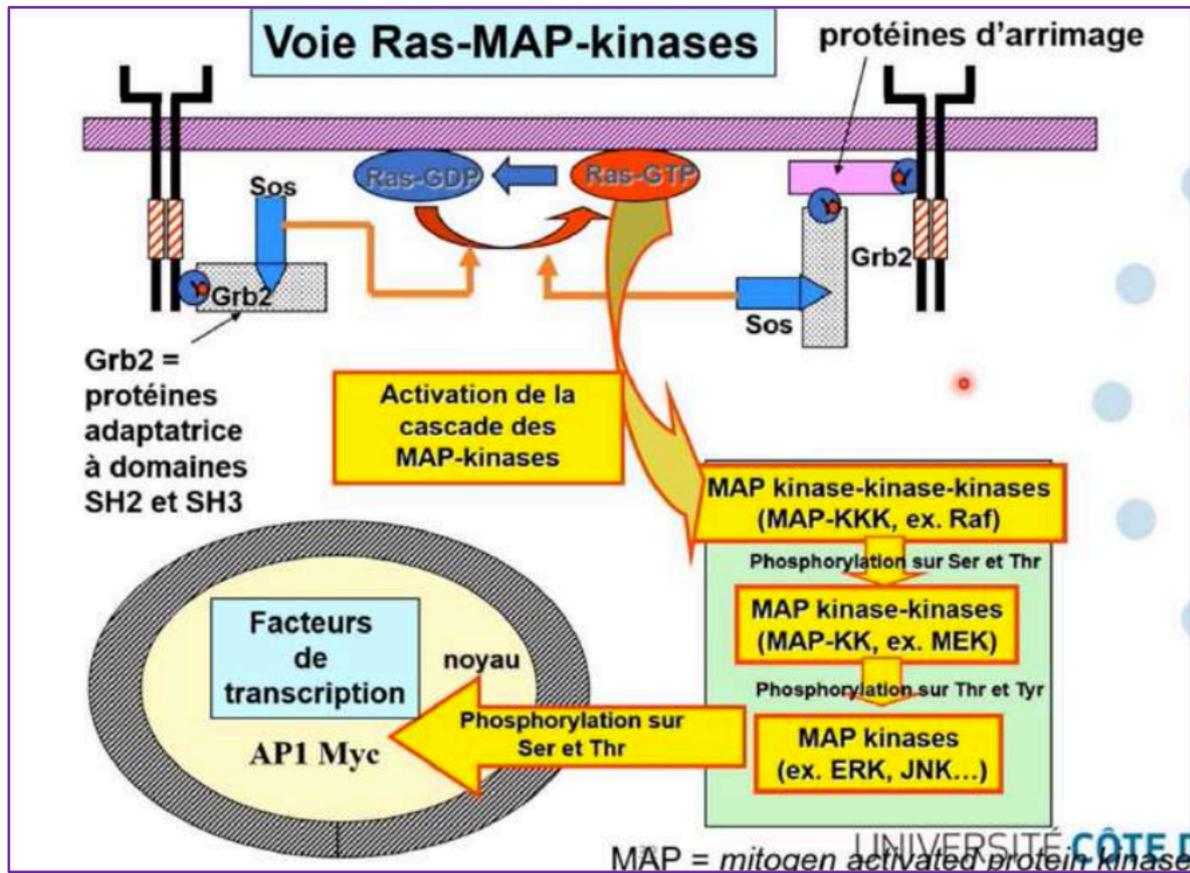
MAP KK : MAP Kinase-Kinase

MAP K : MAP Kinase

- ① **Ras** activé va s'associer avec une **première protéine** telle que **Raf**.
- ② Ceci va modifier la fonction de **Raf** en **modifiant ses interactions** avec une autre famille de protéines dans le cytosol nommées **1433**. Ceci va faire que **Raf** va modifier sa conformation et devenir **active**. Raf est une **MAP kinase-kinase-kinase** (1er étage).
- ③ Elle est capable de **phosphoryler** des **MAP-kinase-kinase** (2ème étage) sur **Sérine et Thréonine** (AA voir les tuts de biochimie) tel que la protéine **MEK**.
- ④ **MEK** peut elle-même agir sur les **MAP kinases** (3ème étage) telles que **ERK** et **JNK** par phosphorylation sur **Thréonine et Tyrosine** ce qui va les activer et les faire transloquer dans le noyau.
- ⑤ Il va enfin y'avoir **phosphorylation** de **facteurs de transcription** tel que les protéines de la famille **AP1** et la protéine **Myc** qui vont activer des **gènes liés à la prolifération**. Par exemple, AP1 va augmenter l'expression de **cycline D** vue dans dans le cours sur le cycle cellulaire avec ma co-tut Lilapoptose.



N'hésitez pas à vous aider du schéma et de mon tut récap juste en dessous ça peut être un peu barbare et incompréhensible sans visualisation

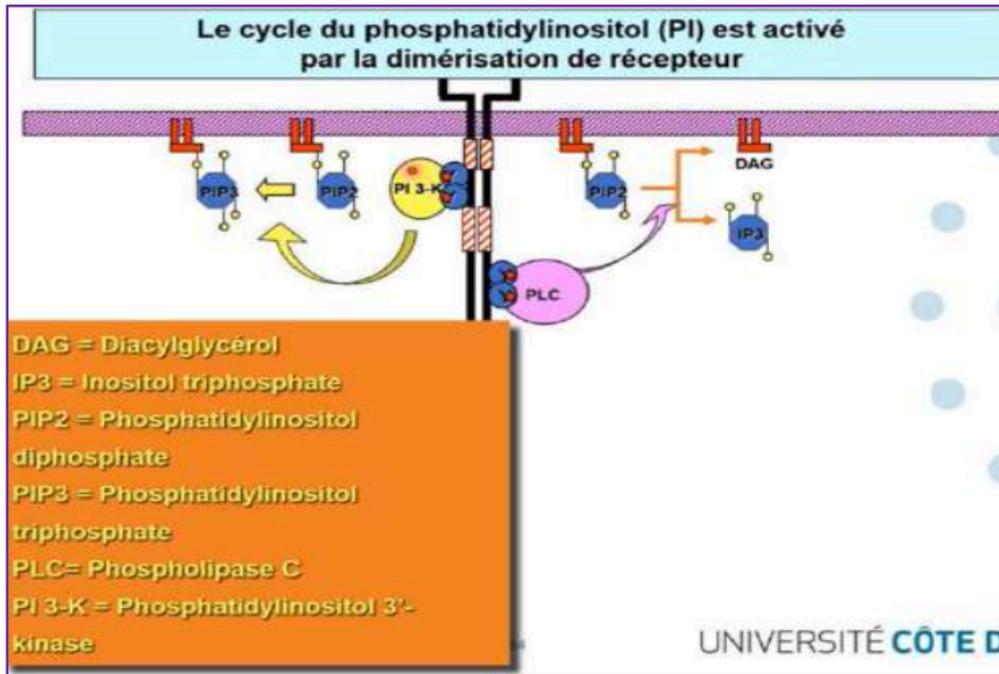


2) Voie des Phosphoinositides :

● Cette **voie** est impliquée dans de **nombreuses réponses** MAIS elle reste **moins utilisée** que la précédente, à savoir **RAS/MAP-Kinase**. On part du même récepteur qui s'est **dimérisé** au préalable : le **récepteur tyrosine kinase** SAUF que la logique moléculaire est **différente** !

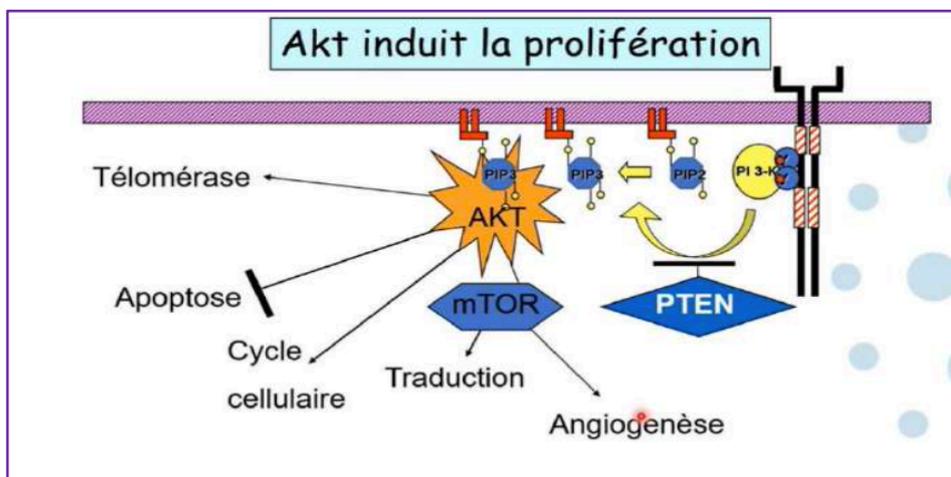
Nous avons **deux possibilités** suite à la **phosphorylation des tyrosines** au niveau du **domaine intracellulaire** :

- La **phosphorylation du récepteur** va entraîner la **fixation** du **PI3-K** (phosphoinositide 3-kinase) qui va comme son nom l'indique **phosphoryler PIP2** (phosphatidylinositol-biphosphate) en **PIP3** (phosphatidylinositol-triphosphate) qui sont associés à un **lipide membranaire** et donc fixer à la membrane cytoplasmique.
- Ou bien de l'autre côté, d'autres **tyrosines phosphorylées** peuvent fixer le **PLC** (phospholipase C) qui va libérer à partir de **PIP2** associé à un **lipide membranaire** un **IP3 libre** dans le cytosol et un **DAG** (diacylglycérol).



On peut alors se demander quelle est la conséquence de la première option ??

- **PIP3** peut être reconnu et interagir donc amener sur la **face cytosolique** une protéine nommée **AKT**. Le **domaine** d'AKT qui permet d'interagir avec **PIP3** se nomme **PH** (Pleckstrin Homology). *(en gros AKT a un domaine protéique, qui d'ailleurs est constitué d'environ 120 acides aminés, qui peut naturellement se lier à des lipides tels que les phosphatidylinositol (tri et diphosphate) -> ici PIP3*
- Cette **interaction** va permettre un changement de conformation de **AKT** qui va pouvoir être **phosphorylée et activée**. AKT phosphorylée va agir sur la **prolifération**. Il active :
- le **cycle cellulaire**,
 - la **téломérase**
 - Il va **bloquer l'apoptose**.
 - Il va **augmenter** la **traduction protéique** à travers la protéine **mTOR**.



Aparté sur la protéine mTOR :

Celle-ci est une **sérine-thréonine kinase** qui se trouve sur le contrôle de la **voie des PI-3K-AKT**.

En effet, elle **module** la **traduction** de **différents ARNm** en phosphorylant les **protéines régulatrices**, et ainsi on retrouve suite à son **activation** :

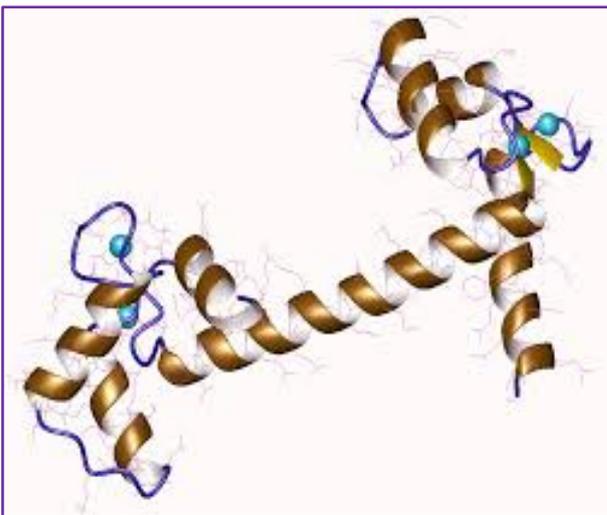
Augmentation de l'angiogenèse
(formation de vaisseaux
sanguins permettant l'apport
d'oxygène nécessaire à la
prolifération de la cellule)

Induction de la traduction de
diverses protéines

◇ On est sur des **voies très importantes** pour la **prolifération** mais aussi des voies **détournées** par les **cellules cancéreuses** qui vont les **suractiver** (*cela peut constituer notamment un signal oncogénique supra-physiologique lorsqu'un des gènes contrôlant ces voies est muté et donc surexprimé*). Des actions qui **inhibent** ces voies vont avoir des **actions anti-cancéreuses**.

◇ Il existe aussi des **modulateurs endogènes** et un **acteur central** qui joue un rôle de **pédale de frein** est la protéine **PTEN** qui est une **phosphatase** qui va **inverser** la phosphorylation de **PIP3** qui va donc redevenir **PIP2** et ainsi empêcher **l'activation d'AKT**.

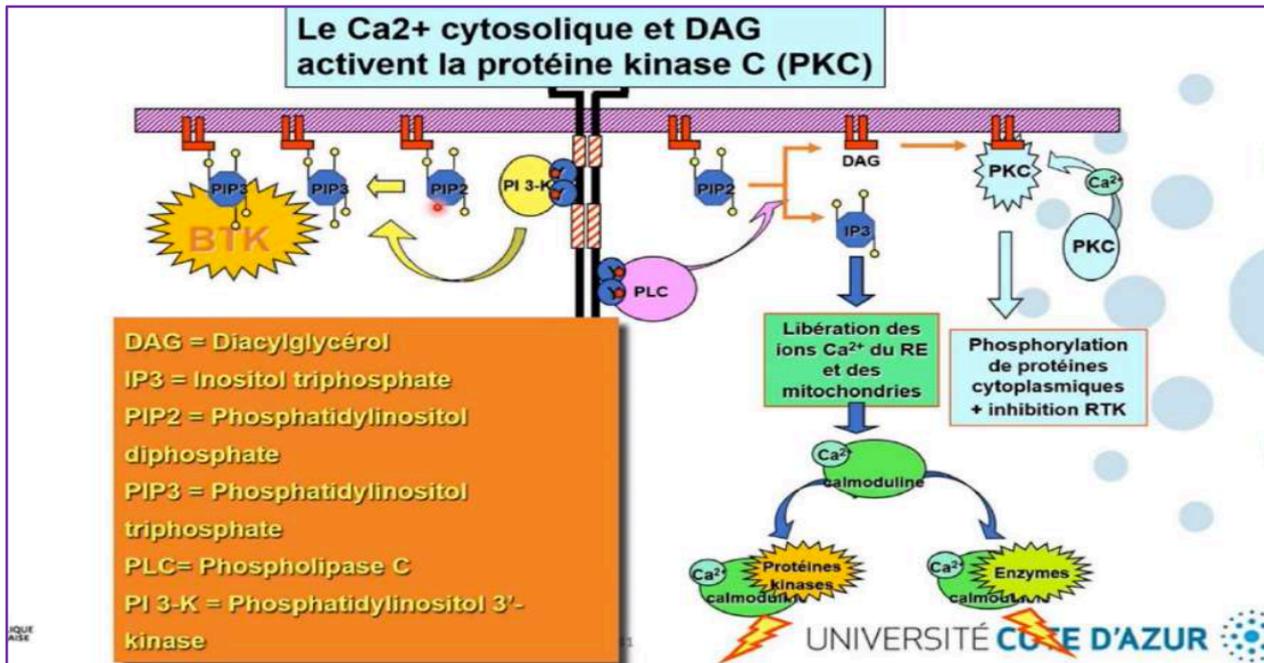
◇ **PTEN** est un exemple de **gène suppresseur de tumeur**. Une **mutation perte de fonction du gène** (cf Biomol Module 4) de **PTEN** entraîne une **suractivation d'AKT** et donc une **prolifération anormale**.



Ici la structure quaternaire de la calmoduline avec les sites de fixation au calcium...

◇ Une **autre protéine** peut réguler l'activation d'AKT : **BTK**. Cette dernière se fixe en **remplaçant AKT** et active la **phospholipase C** qui agit sur **PIP2** pour former de l'**IP3** et un **DAG**.

◇ Le **DAG hydrophobe** va rester au sein de la **bicouche lipidique** mais l'**IP3** est libéré dans le **cytosol** où il va se **fixer** avec un **récepteur du Golgi** et va libérer des **ions calcium Ca²⁺**.



● Les **ions calcium** se fixent sur la **calmoduline** provoquant sa transconformation lui permettant d'activer de **nombreuses enzymes** comme la *NO-synthase constitutive* qui va synthétiser le **monoxyde d'azote**, radical libre gazeux constituant un **signal chimique** local notamment dans le **tonus vasculaire**.

● Le **DAG** a aussi une **fonction de signalisation** en interagissant avec une autre protéine kinase, la **protéine kinase C (PKC)** également activée par le **calcium** (toutes ces voies sont en interconnexion) entraînant une **phosphorylation de protéines cytoplasmiques** et **inhibition** des **RTK** (récepteur à la tyrosine kinase).

● Lorsque l'on active une voie de signalisation on l'**éteint** au bout d'un moment sauf lorsque **le signal persiste** (*à partir de là la situation n'est plus physiologique mais pathologique ou du moins anormal*).



PLACE AUX DÉDIS : (ouais encore des dédis j'ai pas mal de fiche donc bon je peux me permettre, ceci était une réflexion personnel)

*Dédis à Sir Victor De Bauge Preux Chevalier et Guérisseur du Roi ce gros malade
Dédis à Noélie que j'ai éclaté à Mario Kart 8 (ca va le faire tu auras une revanche un jour)*

Dédis à Enzoonose mon co-parrain, co-fillot et partenaire dans la connerie

Dédis à Anouck qui a fini par me faire des dédis après notre discussion sérieuse à ce sujet...

Dédis à El Papino l'élus de la promo et l'élus de mon cœur

Dédis à Roberto De Zerbi qui va faire du bon taff à l'OM

Dédis à Yan qui correspond entre nous à la définition même du GV

Dédis au mec de la sécu du Petit Valrose

Dédis à Émilien le plus sympa des parrains

Et pour finir Dédis à la mer Méditerranée

Maintenant quelques Anti-Dédis :

Anti-Dédis au coin de la table (de la part de mon pied)

Anti-Dédis à l'opercule qui s'ouvre mal

Et anti-dédis à Yaël parce que j'ai envie