

2019-2020

Université 8 Mai 1945 - GUELMA

Département de Biologie

Semestre 06

3<sup>ème</sup> année Licence : Biologie Moléculaire

Module : Signalisation et Régulation de l'Activité Génique

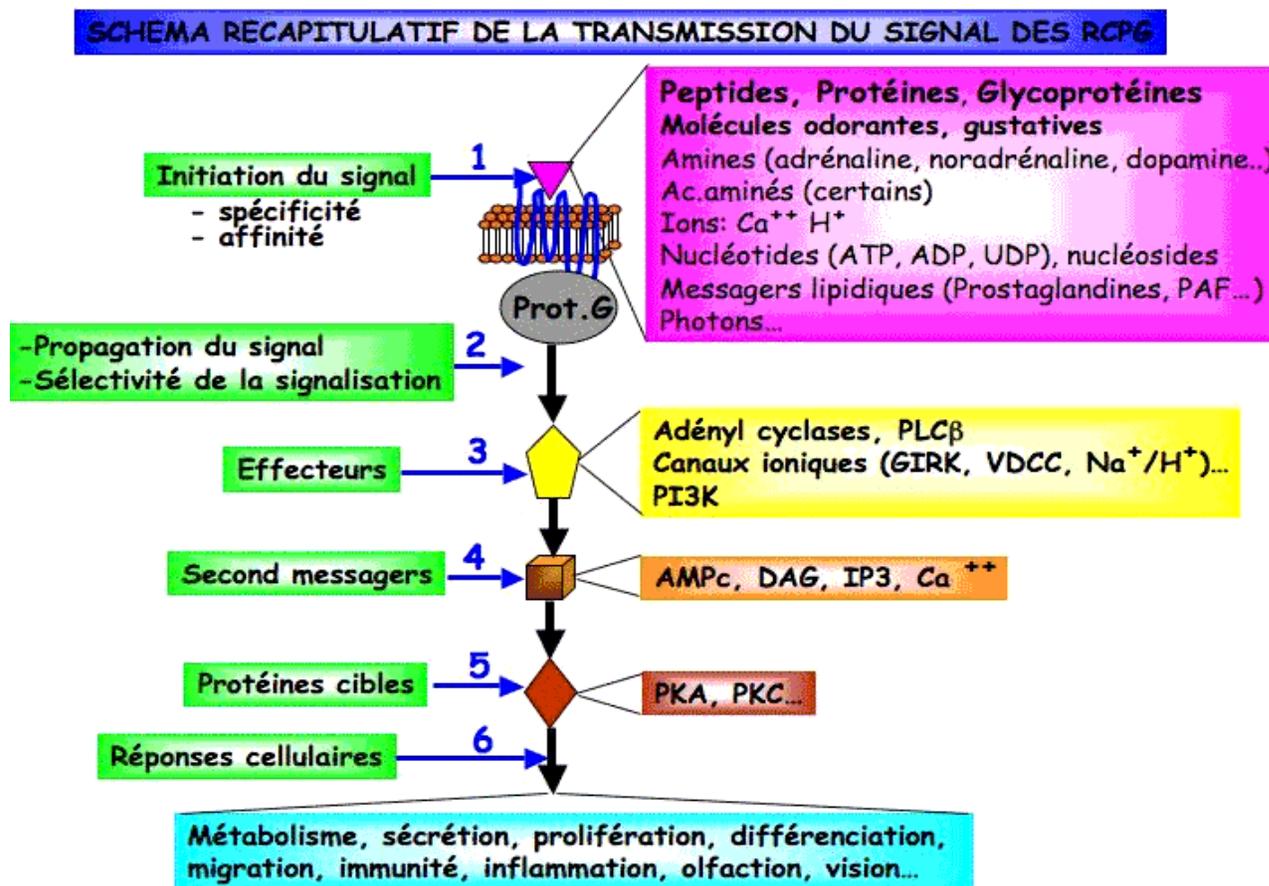
## Chapitre : IV

### Voies de signalisation par les récepteurs couplés aux protéines G

- 1 Introduction
- 2 Protéine hétérotrimeriques G
- 3 Structure des protéines G (sous - unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ )
  - 3.1 Les protéines G et sous-unité  $\alpha$  :  $\alpha_s$ ,  $\alpha_i$ ,  $\alpha_q$  et  $\alpha_{12}$ 
    - 3.1.1 Classe de la sous-unité  $G\alpha_i$
    - 3.1.2 Classe de la sous-unité  $G\alpha_s$
    - 3.1.3 Classe de la sous-unité  $G\alpha_{q/11}$
    - 3.1.4 Classe de la sous-unité  $G\alpha_{12}$
  - 3.2 Cycle d'activation/inactivation de la protéine G
- 4 Activation de l'adenylate cyclase par la sous-unité  $\alpha_s$  de la proteine G
  - 4.1 L'adénylate-cyclase (AC)
- 5 Activation de la phospholipase C $\beta$  (PLC $\beta$ ) par la sous-unité  $\alpha_q$  de la protéine G
  - 5.1 Liberation des second messagers : Diacylglycerol (DAG), inositol-triphosphate (IP3)
  - 5.2 DAG et activation de la Proteine Kinase C (PKC)
  - 5.3 IP3 et mobilisation du calcium intracellulaire
- 6 Implication de la sous unité  $\beta\gamma$  de la protéine G dans l'activation de la PI3-Kinase
- 7 Le facteur de transcription CREB

# 1 Introduction

- Les RCPG forment le plus grand et le plus varié des groupes de récepteurs membranaires chez les eucaryotes.
- L'être humain à lui seul exprime environ 800 de ces récepteurs, dont plusieurs sont co-exprimés en même temps dans chaque cellule du corps.
- Ces récepteurs de surface cellulaire transduisent les signaux de nombreux messagers comme des peptides, des lipides, des métabolites, des sucres ou encore des protéines, ou de la lumière (**Figure 01**).
- Ces messagers renseignent les cellules sur leur environnement.
- Leurs récepteurs jouent un rôle important dans de nombreuses fonctions biologiques et la compréhension de leur fonctionnement a eu un important impact en médecine moderne.



**Figure 01** : Schéma récapitulatif de l'ensemble des molécules de la voie de signalisation des RCPG : protéines G, effecteurs, seconds messagers, protéines cibles et réponses cellulaires.

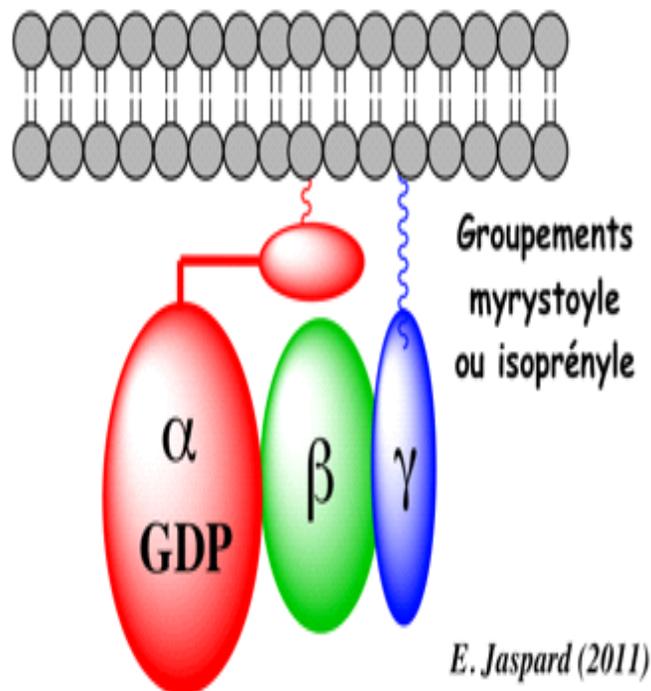
## 2 Protéine hétérotrimeriques G

- Comme leur nom l'indique, les RCPG interagissent avec les protéines G au niveau de la membrane plasmique.
- Lorsqu'un ligand se lie à un RCPG, il induit un changement conformationnel du récepteur, conduisant à des interactions de proximité avec les protéines G.
- Les protéines G s'associant aux RCPG sont hétérotrimeriques.

- Lorsque la protéine G est activée par le récepteur, elle se dissocie en deux parties indépendantes, la sous-unité  $\alpha$  et le complexe  $\beta\gamma$  (dissociation du complexe triprotéique).
- Les entités formées, G  $\alpha$  et G  $\beta\gamma$  vont l'un et l'autre interagir avec des protéines effectrices intracellulaires afin de moduler leur fonction et engendrer une réponse cellulaire adaptée.
- L'existence de nombreuses sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  différentes, a été rapportée.

### 3 Structure des protéines G (sous - unités $\alpha$ , $\beta$ et $\gamma$ )

- Les protéines G sont constituées de trois sous-unités différentes : une sous-unité alpha «  $\alpha$  », bêta «  $\beta$  » et gamma «  $\gamma$  ».
- Le poids moléculaire des sous unités :
  - $\alpha$  est de 39-46 kDa,
  - $\beta$  est de 35 - 39 kDa,
  - et  $\gamma$  est de 8 kDa.
- Ils se distinguent des petites protéines G par le fait que la sous unité  $\alpha$ , sous sa forme inactive (liée au GDP), se fixe à un dimère  $\beta\gamma$ .
- Les protéines G appartiennent à la famille des enzymes GTPases (E.C. 3.6.5) qui hydrolysent la guanosine triphosphate (GTP).
- Les protéines G sont des protéines hétérotrimétriques liées à la membrane par des ancrages lipidiques.
  - Deux sous-unités sont directement liées à la membrane : l'extrémité N-terminale de la sous-unité  $\alpha$  et l'extrémité C-terminale de la sous-unité  $\gamma$  sont modifiées par des groupements lipidiques myristoylé ou isoprényle (**figure 02**).

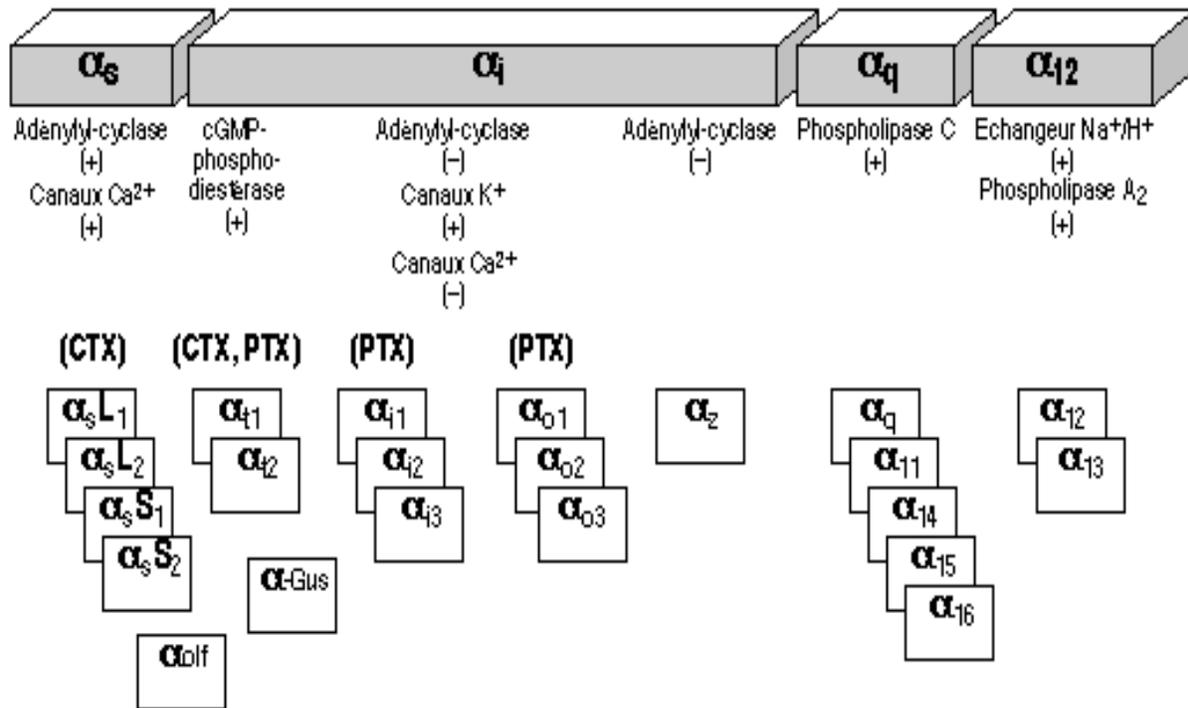


**Figure 02** : Structure des protéines G hétérotrimériques.

### 3.1 Les protéines G et sous-unité $\alpha$ : $\alpha_s$ , $\alpha_i$ , $\alpha_q$ et $\alpha_{12}$

– Les sous-unités **G $\alpha$**  sont au nombre de 16 et portent l'activité principale «activité GTPase" des protéines G hétérotrimériques.

– Les protéines-G $\alpha$  peuvent être réparties en quatre classes, en fonction des homologies de séquence (**figure 03**) : **G $\alpha_s$** , **G $\alpha_i/o$** , **G $\alpha_q/11$**  et **G $\alpha_{12}$** .



**Figure 03** : Classification des sous-unités G $\alpha$ .

(+) : stimule ; (-) : inhibe ; toxines cholérique (CTX) et pertussique (PTX).

**Remarque** : La toxine pertussique ou PTX catalyse l'ADP-ribosylation d'un résidu cystéine de G $\alpha_i$  ce qui rend impossible l'interaction de G $\alpha_i$  avec le récepteur, maintenant G $\alpha_i$  dans une conformation inactive, donc incapable d'inhiber la production d'AMPc par l'adénylyl cyclase. La toxine cholérique ou CTX catalyse le transfert d'un groupement ADP-ribose d'un nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) sur un résidu arginine (Arg201 des sous-unités G $\alpha_s$ ). Cette modification inhibe l'activité GTPasique de G $\alpha$ , la rendant constitutivement active et provoquant une stimulation prolongée de l'adénylyl cyclase.

#### 3.1.1 Classe de la sous-unité G $\alpha_i$

– Cette classe de protéines G $\alpha$  est composée des protéines :

- **G $\alpha_i$**  "inhibitrice" (trois sous unités G $\alpha_i$ ),
- **G $\alpha_o$**  "others" (trois sous unités G $\alpha_o$ ),
- **G $\alpha_t$**  "transducine, impliquée dans la vision" ( $\alpha_{t1}$ ,  $\alpha_{t2}$  - cellules en bâtonnet et en cône de la rétine),
- **G $\alpha_{Gust}$**  (gustducin, impliquée dans le gout, dont les récepteurs sont trouvés sur la langue) et
- **G $\alpha_z$** .

- Les sous-unités  $G\alpha_i$ ,  $G\alpha_o$  et  $G\alpha_z$ , lorsqu'activées, vont inhiber l'adénylate cyclase.
- Suite à l'inactivation de l'adénylate cyclase, la concentration intracellulaire en AMPc va diminuer et ainsi mener à l'inactivation de la protéine kinase A (PKA).

### 3.1.2 Classe de la sous-unité $G\alpha_s$

- La sous-unité  $G\alpha_s$  (pour stimulatrice) a pour rôle direct d'activer l'adénylate cyclase. Contrairement à la sous-unité  $G\alpha_i$ , l'activation de la sous-unité  $G\alpha_s$  va lui permettre de fixer l'adénylate cyclase et de l'activer.
- Suite à l'activation de l'adénylate cyclase, il y a une augmentation de la concentration d'AMPc, induisant une activation de la PKA.
- La protéine  $G\alpha_{olf}$  fait partie de la même famille, mais est essentiellement retrouvée dans le système olfactif.

### 3.1.3 Classe de la sous-unité $G\alpha_q/11$

- Les sous-unités  $G\alpha_q/11$  contiennent les sous-unités  $G_q$ ,  $G_{11}$ ,  $G_{14}$ ,  $G_{15}$  et  $G_{16}$ .
- La cible de  $G\alpha_q$ -GTP et  $G\alpha_{11}$ -GTP est la phospholipase C (PLC).

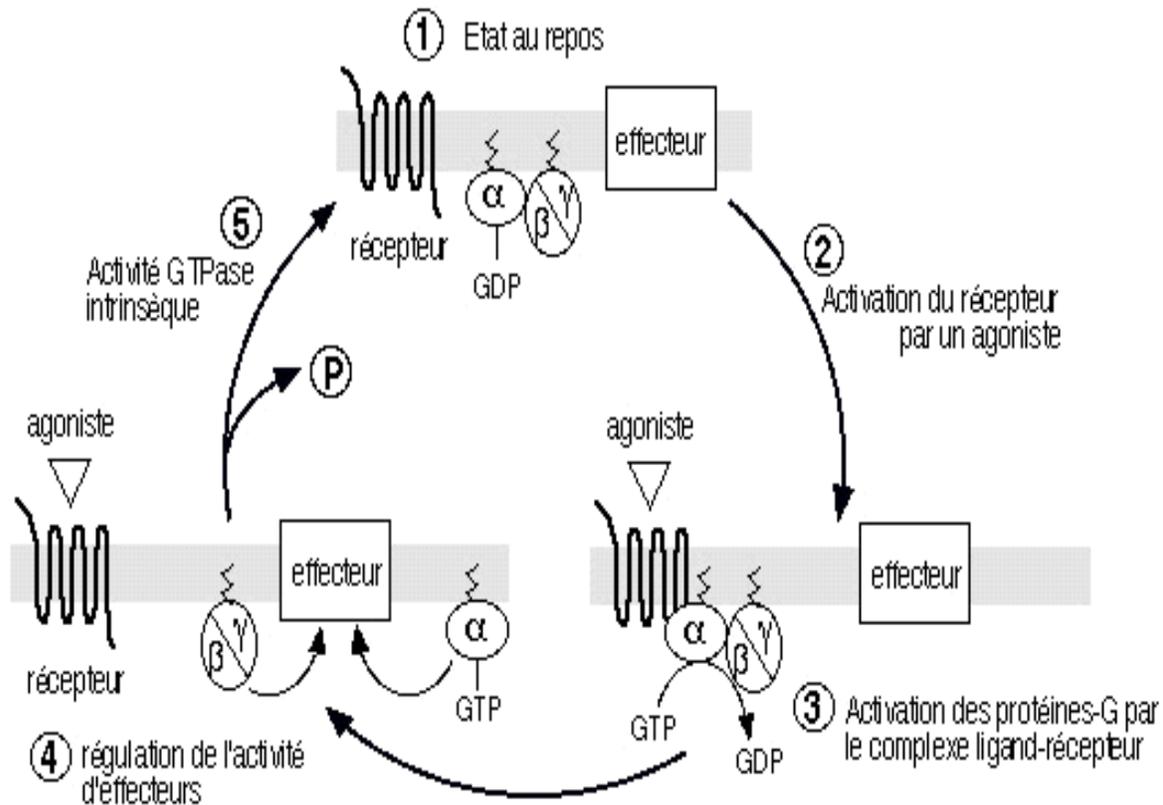
### 3.1.4 Classe de la sous-unité $G\alpha_{12}$

- La classe  $G\alpha_{12}$  contient les sous-unités  $G_{12}$  et  $G_{13}$ .
- La  $G\alpha_{12}$  active Rho ce qui permet la conversion de Rho-GDP en Rho-GTP (Ex : activation du récepteur de la thrombine dans les plaquettes sanguines).

## 3.2 Cycle d'activation/inactivation de la protéine G

- L'activation des protéines G par les RCPG se fait par un mécanisme double.
  - Des changements conformationnels au niveau des sous-unités de la protéine G,
  - et l'échange de GDP par du GTP.
- Le mécanisme est le suivant (**figure 04**) :
  - Quand une hormone se fixe à son récepteur sur la face externe de la membrane plasmique, celui-ci change de conformation.
  - Le récepteur peut alors se fixer à une protéine G (inactive - chargée en GDP) située sur la face interne de la membrane plasmique.
  - Le récepteur (activé) induit un changement conformationnel de la sous-unité  $G\alpha$  ce qui lui permet de libérer son GDP et de lier du GTP.
  - ✓ Le récepteur agit comme catalyseur de la réaction d'échange de GDP par du GTP au niveau de la protéine G. Il agit donc comme un facteur d'échange du GDP en GTP (guanine exchange factor=GEF).
  - La sous-unité  $G\alpha$ -GTP se dissocie alors du dimère  $\beta\gamma$ .
  - La sous-unité  $G\alpha$ -GTP "forme activée" et le dimère  $\beta\gamma$  vont interagir avec des effecteurs et moduler leur activité.

- ✓ La sous-unité  $G\alpha$ -GTP active ses effecteurs en hydrolysant le GTP grâce à son domaine GTPase se retrouvant à l'état inactif lié au GDP.
- Le déclenchement de l'activité phosphatase, intrinsèque à la sous-unité  $G\alpha$  entraîne la réassociation des sous-unités  $G\alpha$  et  $G\beta\gamma$  et le retour à l'état initial.
- L'activité d'hydrolyse des groupements phosphates des protéines G est faible.
- ✓ Les protéines GAP ("GTPase-Activating Proteins" ou "GTPase-Accelerating Proteins") stimulent l'activité GTPase de la sous-unité  $\alpha$ . Elles contribuent donc à la terminaison du cycle en accélérant l'hydrolyse du GTP.



**Figure 04 :** Cycle d'activation de la protéine G hétérotrimérique.

## 4 Activation de l'adénylate cyclase par la sous-unité $\alpha_s$ de la protéine G

### 4.1 L'adénylate-cyclase (AC)

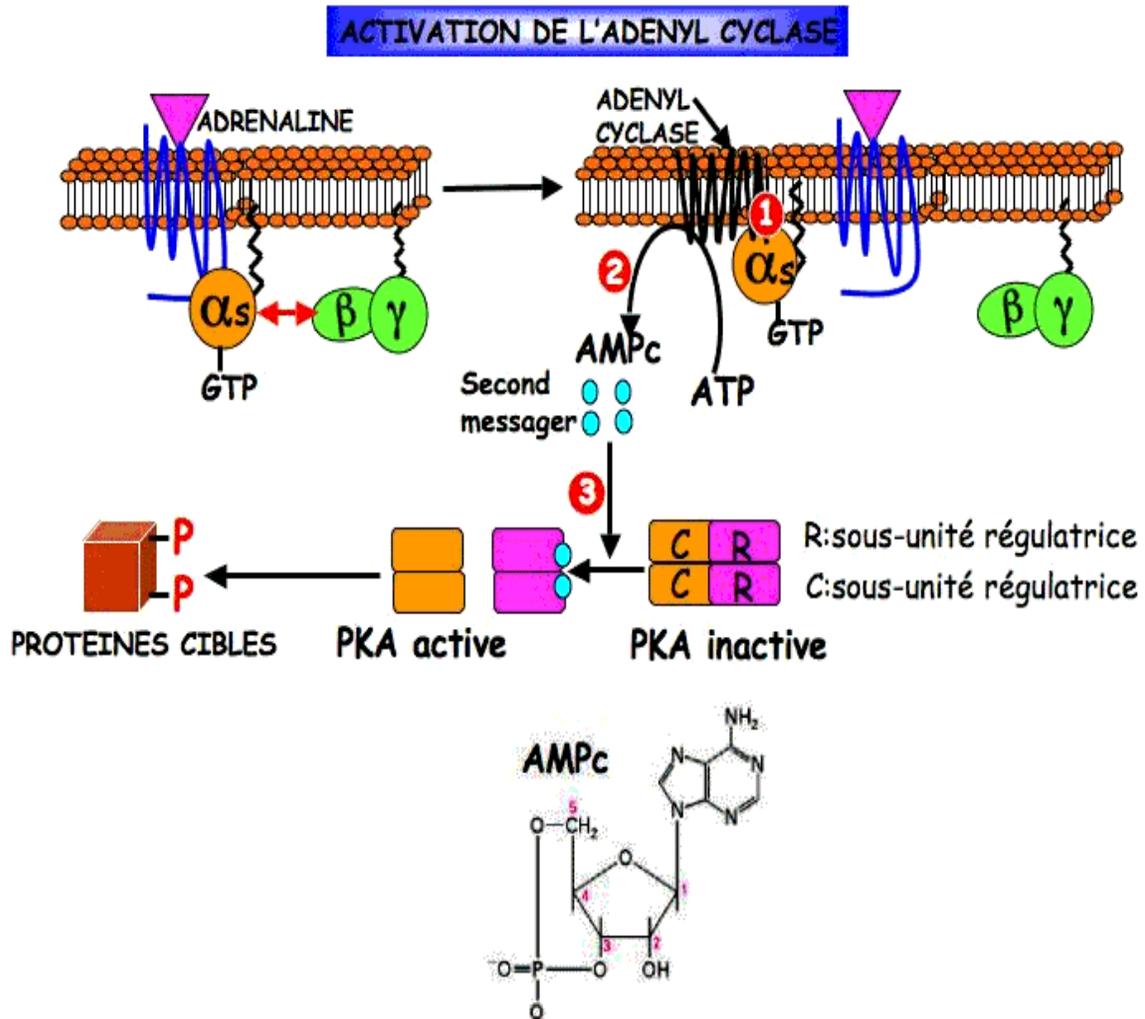
– Il en existe 10 isoformes chez l'homme :

- neuf sont transmembranaires (enzyme membranaire, avec 12 régions transmembranaires),
- et une (01) qui est soluble.

– Les isoformes transmembranaires sont connues pour être la cible des protéines  $G_{\alpha s}$  dans la signalisation des RCPG, alors que l'isoforme soluble est directement activée par les ions  $Ca^{2+}$ , et sert de senseur du pH, de la concentration en ATP cellulaire, ou encore en bicarbonate.

– L'adénylate cyclase est activée spécifiquement par la sous-unité  $G\alpha_s$  liée au GTP ( $G\alpha_s$ -GTP) (**figure 05**), alors qu'elle est inhibée spécifiquement par la protéine  $G\alpha_i$ -GTP.

– Lorsque la concentration en AMPc intracellulaire est élevée, deux molécules d'AMPc se fixent sur les deux sous-unités régulatrices de la PKA. Ceci induit une dissociation du complexe et l'activation des deux sous-unités catalytiques qui vont alors phosphoryler leurs protéines cibles.



**Figure 05 :** Activation de l'Adenyl cyclase par les RCPG.

– **Remarque :** la PKA a pour cible des protéines qui peuvent être (**figure 06**) :

- **Cytosoliques :**

- ✓ Enzymes du métabolisme :

- La phosphorylase b kinase qui lorsqu'elle est phosphorylée active la phosphorylase responsable de la dégradation du glycogène.
- La lipase hormono sensible qui est responsable de la dégradation des triglycérides (lipolyse) du tissu adipeux.

- **Membranaires**

- ✓ Canaux ioniques calciques :

- situés dans la membrane plasmique (L-DVCC) ou dans le réticulum sarcoplasmique (récepteur de la ryanodine qui est fonctionnellement analogue au récepteur de l'IP3).
- **nucléaires**
  - ✓ Il s'agit essentiellement :
    - du facteur transcriptionnel CREB (cAMP response element binding protein). Pour ne citer qu'un exemple : la phosphorylation de CREB permet la progression du cycle cellulaire (de la phase G1 en S) en stimulant la transcription des cyclines D et E.
    - et de CREM (cAMP-responsive-element-binding modulator) qui modulent la transcription de nombreux gènes.

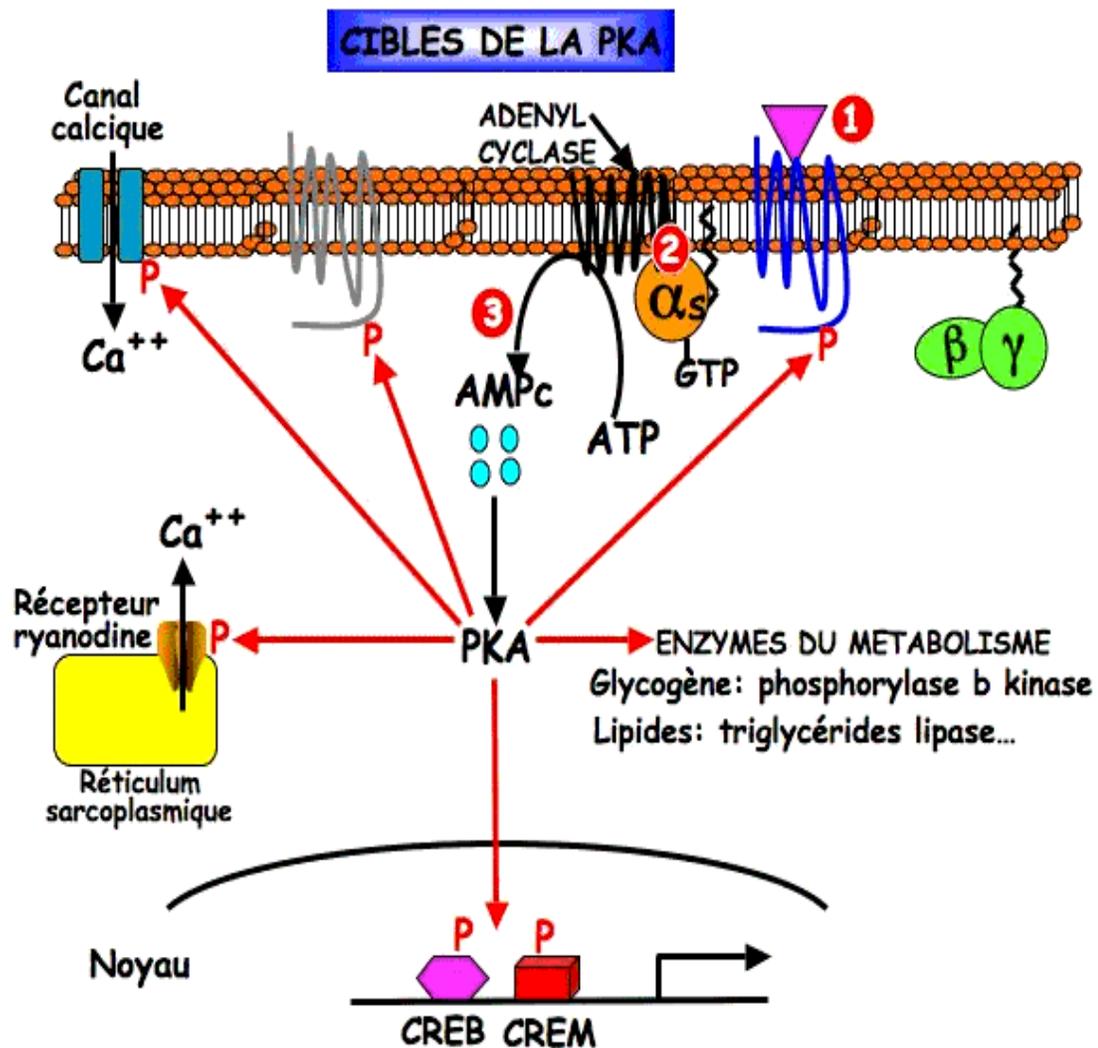


Figure 06 : Les différentes Cible de PKA.

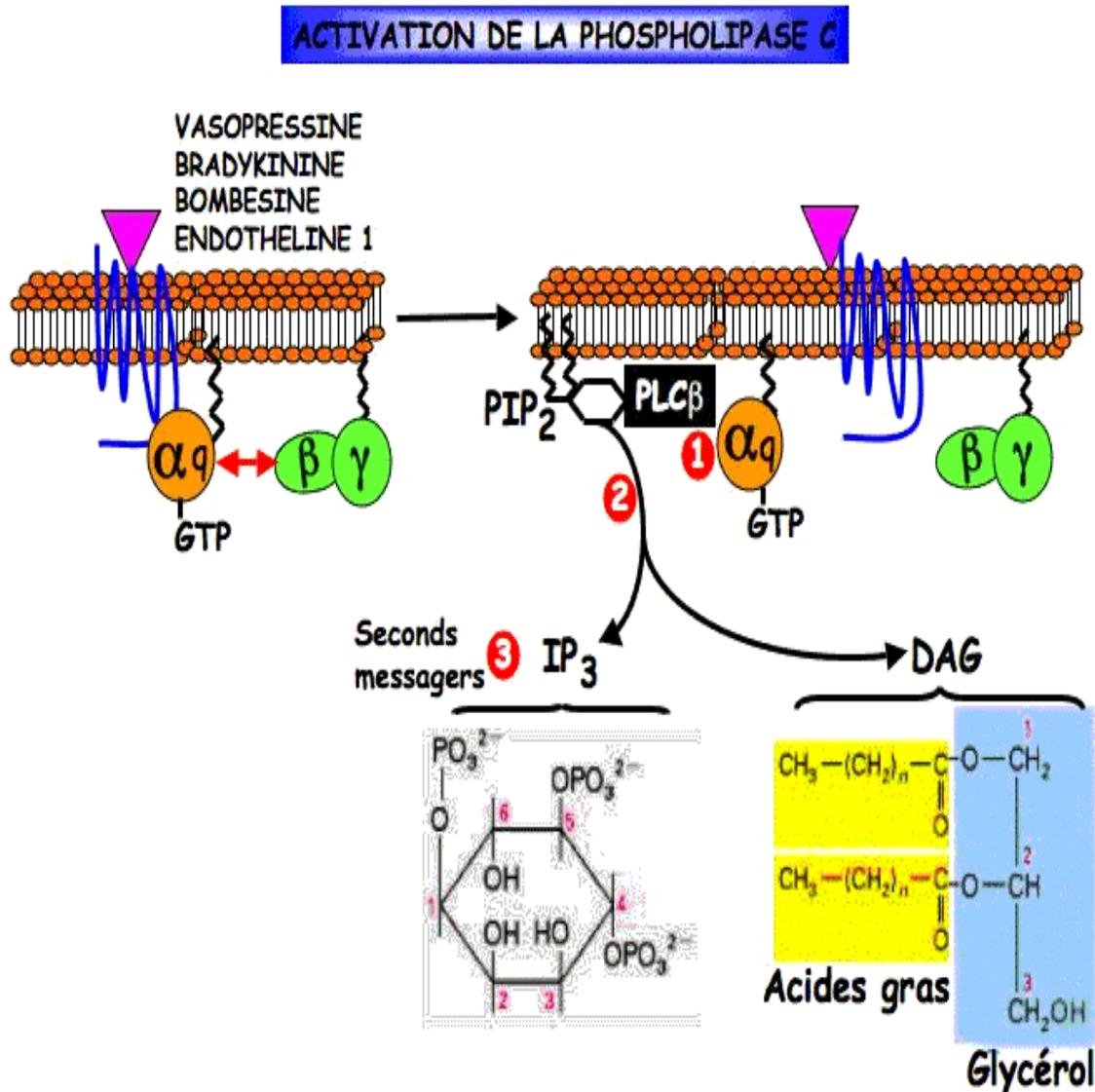
## 5 Activation de la phospholipase C $\beta$ (PLC $\beta$ ) par la sous-unité $\alpha_q$ de la protéine G

- La phospholipase C $\beta$  est une enzyme est cytosolique mais localisée à la membrane plasmique.
- Elle est activée par les sous-unités de la classe **G<sub>q/11</sub>** et a pour substrat des phosphoinositides (phospholipides) membranaires (phosphatidyl-inositol 4,5 biphosphate ou Ptd Ins 4,5P2 ou **PIP2**).

## 5.1 Libération des second messagers : Diacylglycerol (DAG), inositol-triphosphate (IP3)

– Lorsque la phospholipase C $\beta$  est activée par une protéine G $q$ , le PIP $_2$  membranaire est clivé en inositol 1, 4,5 triphosphate (Ins 1, 4,5 P3 ou IP3) qui diffusent dans le cytoplasme et diacylglycérol (DAG) qui reste au contact de la membrane lipidique (**figure 07**).

– Exemple : activation de la phospholipase C $\beta$  par le récepteur de la vasopressine (hormone antidiurétique sécrétée par la post-hypophyse).



**Figure 07 :** Activation de la phospholipase C $\beta$ .

## 5.2 DAG et activation de la Protéine Kinase C (PKC)

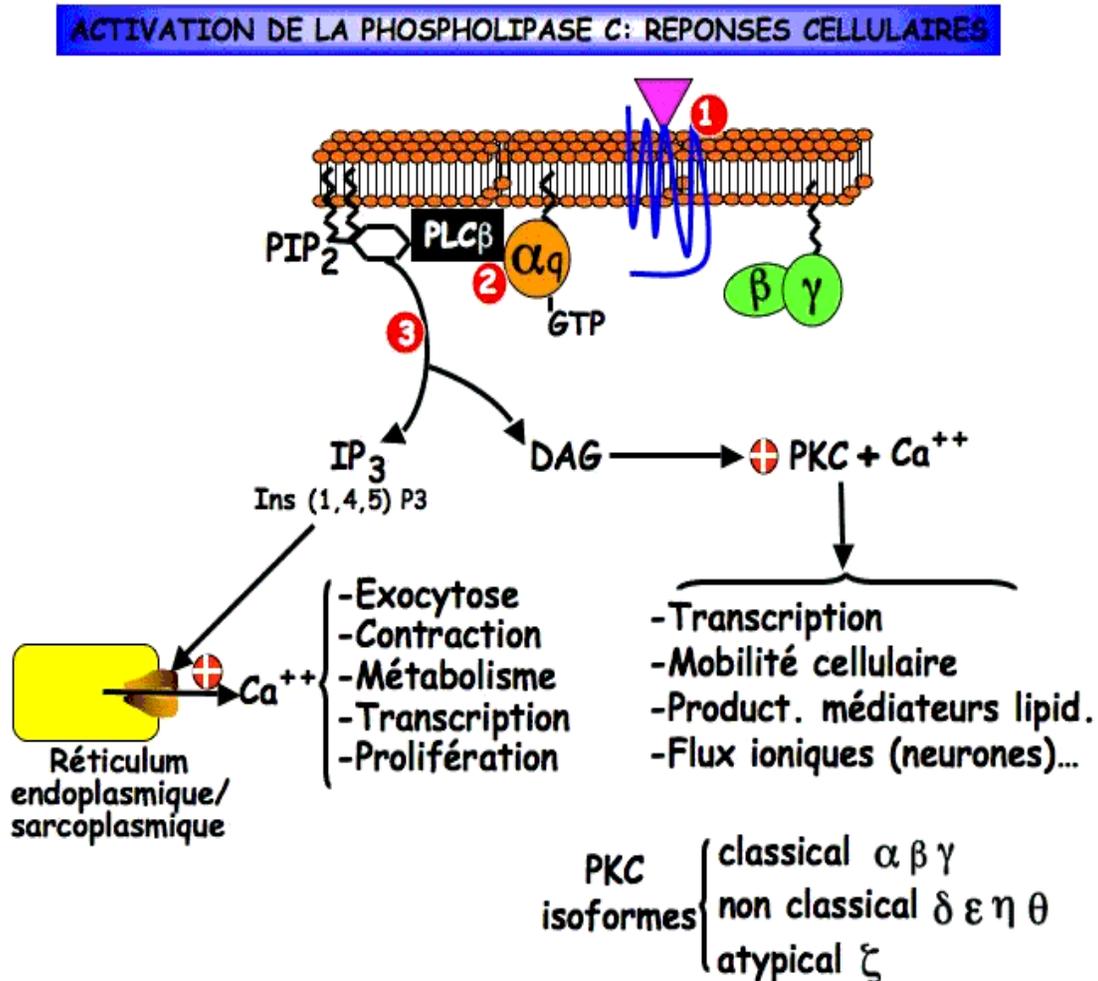
– le DAG reste ancré dans la membrane plasmique et provoque la phosphorylation des protéines cibles par l'intermédiaire de l'activation de la protéine kinase C (PKC ou Ca $^{++}$ /phospholipid-activated protein kinase C).

– La PKC est activée par la formation d'un complexe quaternaire [protéine kinase C - DAG - phospholipide - Ca $^{2+}$ ]. Le phospholipide le plus efficace pour cette activation est la phosphatidylsérine.

– Après activation, la protéine kinase C est transférée du cytoplasme vers la membrane où elle phosphoryle

des protéines sur les résidus sérine et thréonine (**figure 08**).

- Il existe 4 isoformes de protéine kinase C :
  - forme  $\beta$  (activée par les RCPG),
  - forme  $\gamma$  (activée par les récepteurs à activité tyrosine kinase),
  - forme  $\delta$  (EC 2.7.11.13 - activée par l'IP3)
  - et forme  $\varepsilon$ .



**Figure 08** : Les réponses biologiques de l'activation de la phospholipase C $\beta$ .

### 5.3 IP3 et mobilisation du calcium intracellulaire

- La fonction principale de l'IP3 est la mobilisation du calcium intracellulaire essentiellement stocké dans le réticulum endoplasmique (RE).
- Pour cela l'IP3 est libéré dans le cytoplasme.
- L'IP3 possède des récepteurs sur la face cytoplasmique de la membrane du RE (**figure 08**).
  - Il se lie à son récepteur IP3-R (fonctionnant comme un récepteur canal) situé sur le réticulum endoplasmique (RE) et sarcoplasmique (RS), ce qui a pour effet de libérer du Ca<sup>++</sup> de ses deux organites.
  - L'élévation du calcium libre intracytoplasmique entraîne l'activation d'un certain nombre de processus

dépendants du calcium et notamment une protéine prenant en charge le calcium, la calmoduline.

- Le complexe calcium-calmoduline peut activer d'autres enzymes telles que l'AMPC phosphodiesterase, la GMPc phosphodiesterase, la phospholipase A2.

– selon le type cellulaire l'augmentation transitoire du  $Ca^{++}$  intracellulaire (fréquence et durée) déclenche diverses réponses telles que : dégradation du glycogène, libération de neurotransmetteurs, contraction musculaire, prolifération cellulaire, transcription etc...

## 6 Implication de la sous unité $\beta\gamma$ de la protéine G dans l'activation de la PI3-Kinase

– Le rôle habituel du complexe  $\beta\gamma$  est d'inhiber l'activité de la sous-unité  $G\alpha$  en induisant le retour au complexe hétérotrimérique inactif.

– Cependant, le complexe  $G\beta\gamma$  a une signalisation propre, il est capable d'activer des enzymes telles que la PLC ou la **PI3K**  $\gamma$  qui pourra activer la Kinase AKT.

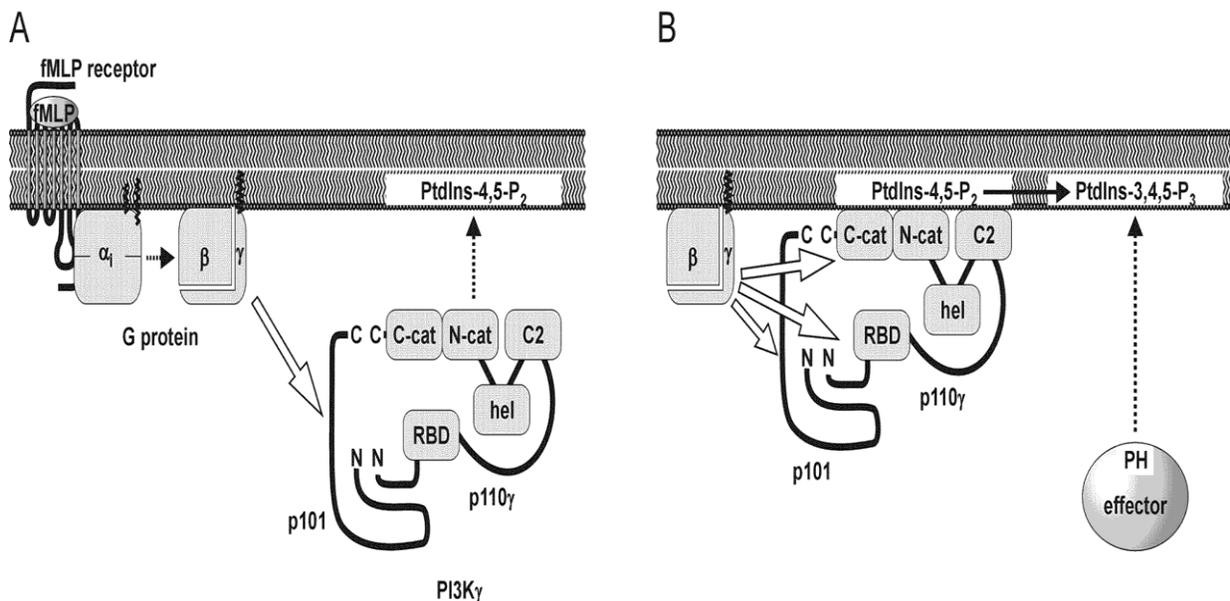
– Les sous-unités  $\beta$  et  $\gamma$  ne sont pas des enzymes, elles n'ont donc pas de site catalytique :

- elles agissent donc comme des modulateurs dans la signalisation liée aux protéines G via des interactions protéine - protéine qu'elles régulent.

– Dans le cas de l'activation de la PI3-Kinase, la sous-unité  $G\beta\gamma$  recrute l'hétérodimère PI3K $\gamma$  dans la membrane plasmique en se liant à la sous unité régulatrice **p101** de la PI3-Kinase (**figure 09**).

– En conséquence,  $G\beta\gamma$  fonctionnent comme molécule d'ancrage vis avis de la sous-unité p101, qui elle-même fonctionne comme une molécule adaptatrice nécessaire pour recruter la sous-unité catalytique p110 à la membrane plasmique.

–  $G\beta\gamma$  peut aussi se lier à la partie NH2 et COOH-terminal de la sous unité catalytique p110 $\gamma$ . Ainsi,  $G\beta\gamma$  peut activer la fonction enzymatique PI3K $\gamma$  par un changement de conformation dans le domaine catalytique.



**Figure 09 :** Activation de la PI3K  $\gamma$  par complexe  $G\beta\gamma$ .

