

## Transduction du signal :

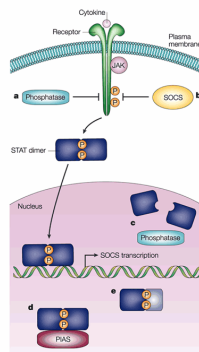
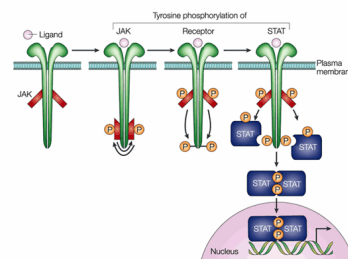
De la membrane au noyau

## Les différentes voies de transduction

- Molécules liposolubles à **récepteur membranaire**  
 ➔ prostaglandines et leukotriènes
- Peptides et protéines ➔ **récepteurs membranaires**
- Molécules lipophiles : dérivés du cholestérol (hormones stéroïdiennes), de la vitamine A (acide rétinoïque), vitamine D, hormone thyroïdienne ➔ **récepteurs nucléaires**
- Molécules dérivées de l'oxygène et NO

- Les récepteurs membranaires
  - Récepteurs tyrosine kinase-linked : la voie JAK/STAT
  - Récepteurs à activité kinase
    - Tyrosine kinase
    - Sérine/thréonine kinase
  - Classe des récepteurs à 7 domaines transmembranaires
  - Récepteurs sans activité associée : cas du TNF
- Les récepteurs nucléaires

### Récepteurs tyrosine kinase-linked

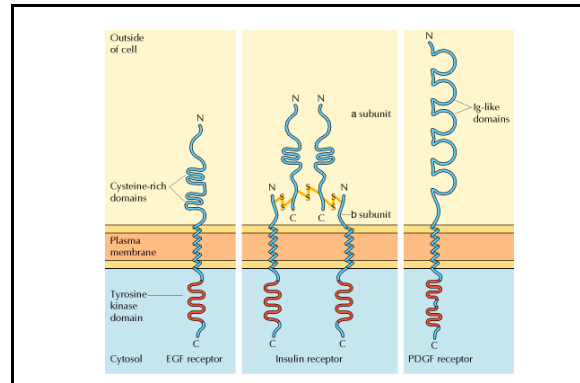


### Quels rôles dans l'inflammation?

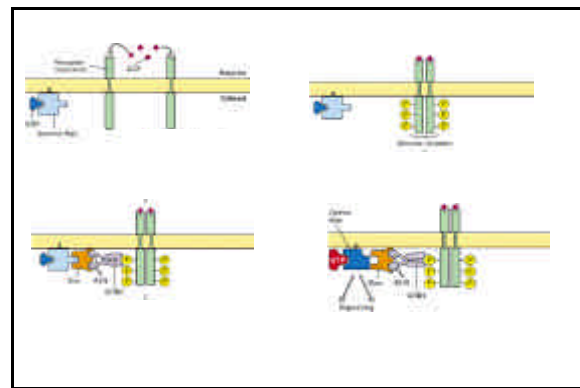
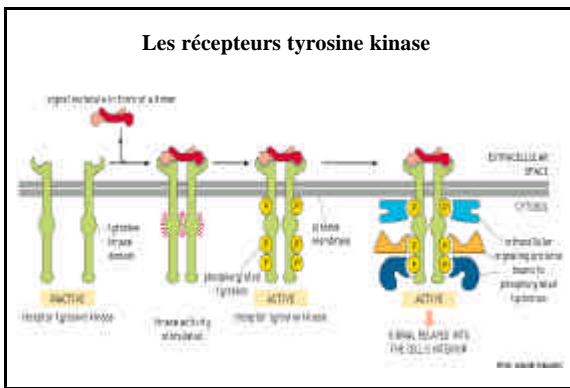
- Voie activée par IL, interférons et hématopoïétines
- IFN $\gamma$  pro-inflammatoire active STAT3.
- IL-10 anti-inflammatoire active STAT3 ➔ rôle?
  - Dans les macrophages, STAT3 anti-inflammatoire via IL-10. Par contre, STAT3 augmente la production d'IL pro-inflammatoires par les cellules épithéliales, les fibroblastes et les cellules T activées.
- SOCs, JAK, STAT cibles thérapeutiques?

## Les récepteurs tyrosine kinase

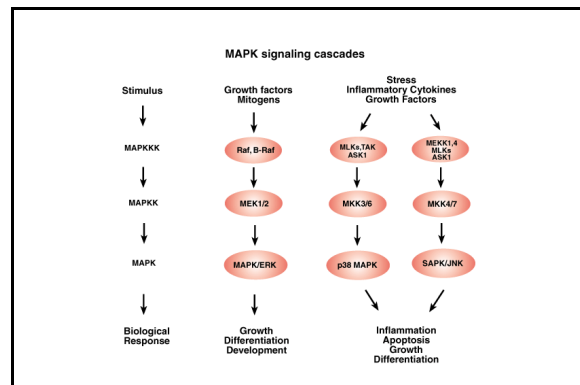
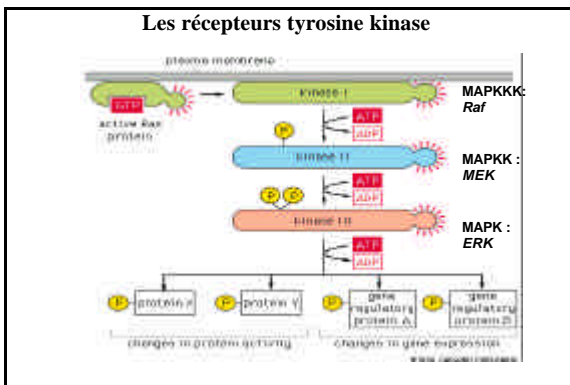
- Au moins 14 sous familles
- Classe I : EGF
- Classe II : Insuline, IGF-1
- Classe III : PDGF
- Classe IV : FGF
- Classe V : VEGF
- Classe VI : HGF
- Classe VII : neurotrophines

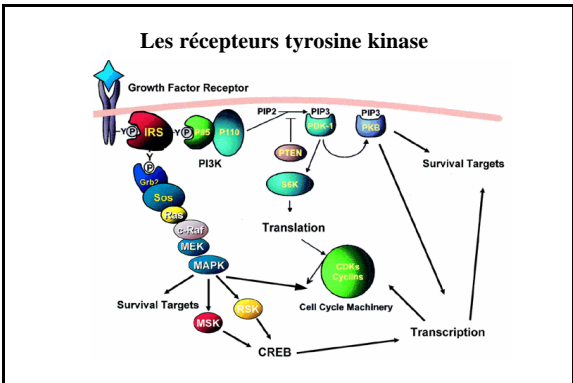


## Les récepteurs tyrosine kinase



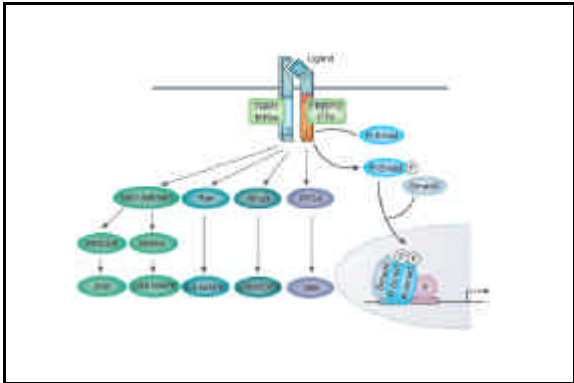
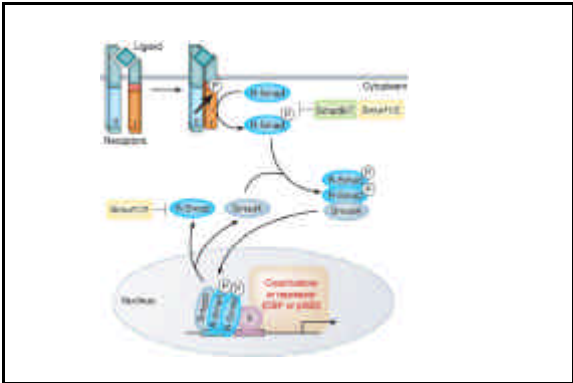
## Les récepteurs tyrosine kinase





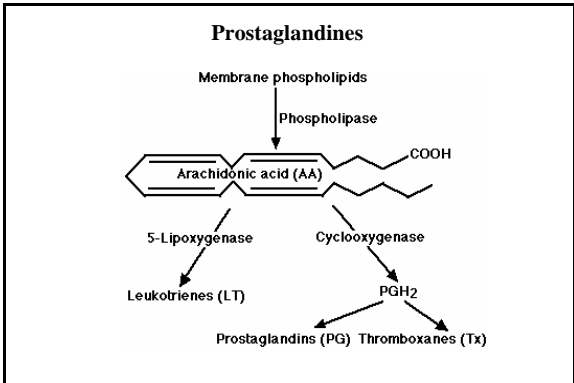
### Les récepteurs Ser/Thr Kinase

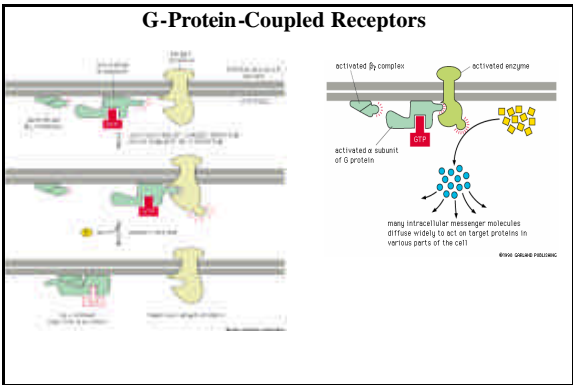
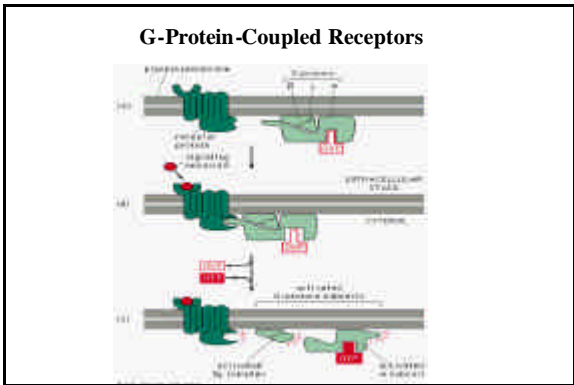
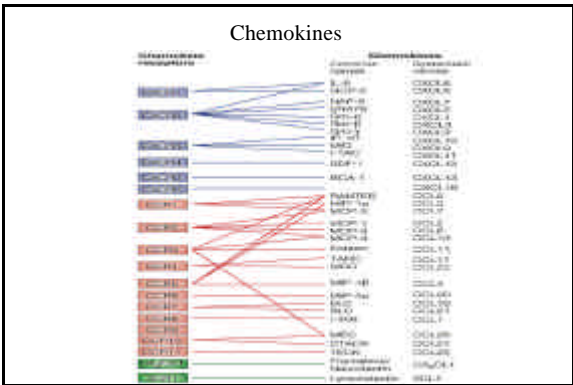
- Famille TGF  $\beta$  :
  - TGF $\beta$  1, 2 et 3
  - Activines
  - BMP
- TGF  $\beta$  immuno-suppresseur et anti-inflammatoire
  - Souris KO  $\rightarrow$  pb inflammatoires au niveau des voies aérodigestives en particulier
  - Peu d'activité TGF $\beta$  chez les patients atteints d'inflammation chronique de l'intestin



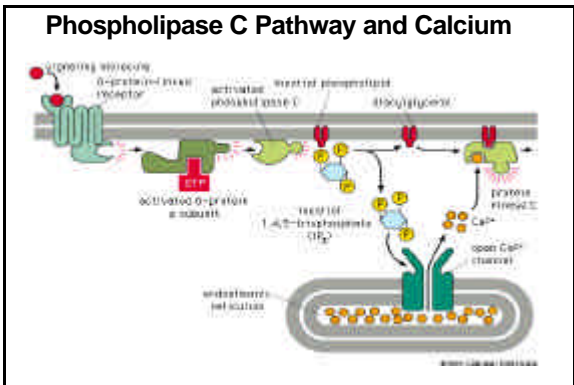
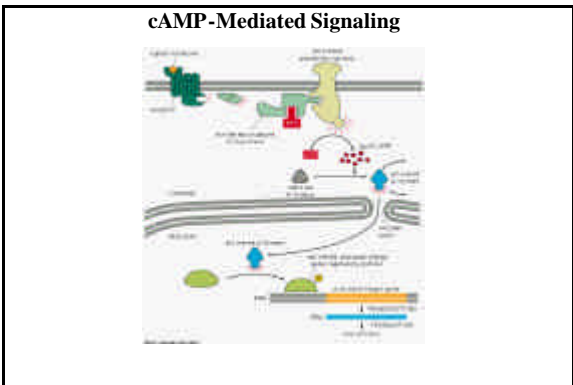
### Les récepteurs à 7 domaines transmembranaires : GPCR

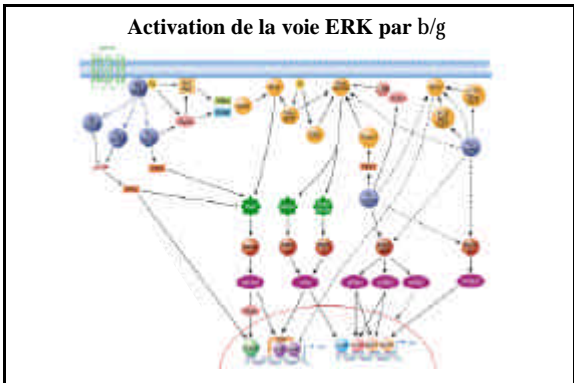
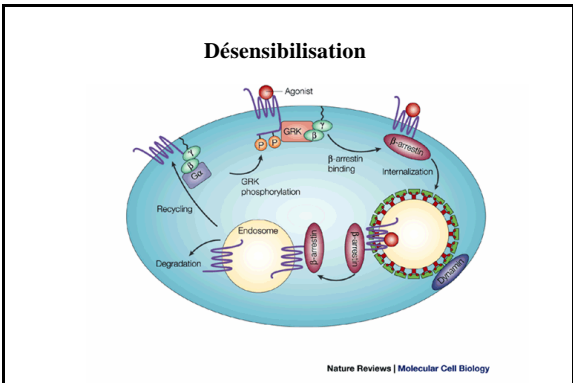
- Classe A : récepteur de la lumière (rhodopsine), adrénaline, sous-groupe olfactif
- Classe B : famille des hormones peptidiques gastrointestinales et GHRH, CRH, calcitonine et hormone parathyroïdienne
- Classe C : métabotrope du glutamate, GABA





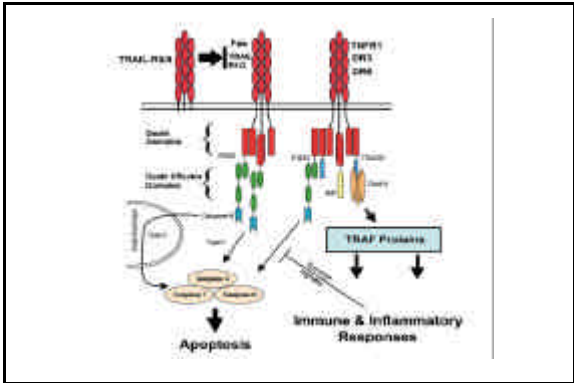
- ### Différentes protéines G/différentes voies
- $G_{\alpha s}$  : augmentation AMPc
  - $G_{\alpha i, 1, 2, 3}$  : diminution AMPc
  - $G_{\alpha q, Ga11, Ga14, 15, 16}$  : augmentation PLC
  - $G_{\alpha 12, G_{\alpha 13}}$  : protéines Rho
  - $G_{\beta\gamma}$  : Kinases (GRK, MAP kinase)





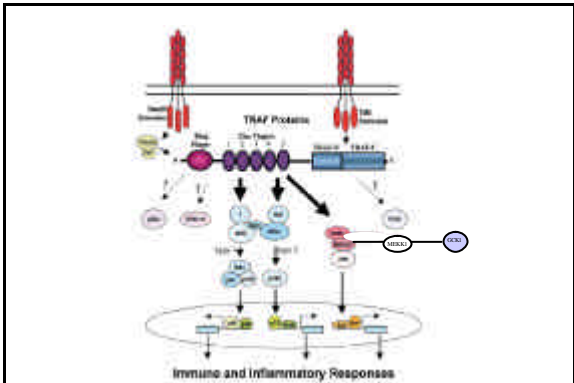
### Transduction du signal de la famille TNF

- Trois types de récepteurs :
  - Fas, TNFR1, DR3, TRAIL-R1, TRAIL-R2 et DR6 : motifs DD (death domain)
  - TNF-R2, CD40, CD30, CD27, RANK : motifs TIM (TRAFF-interacting motif)
  - TRAIL-R3, TRAIL-R4 : pas de motif → compétition?

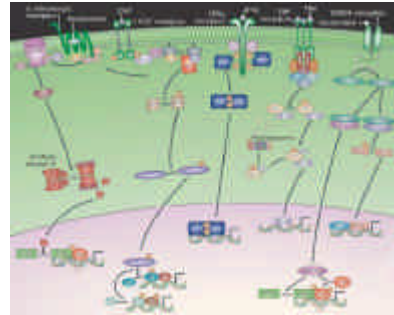
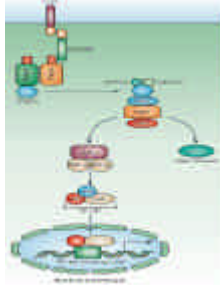


### Les protéines TRAF

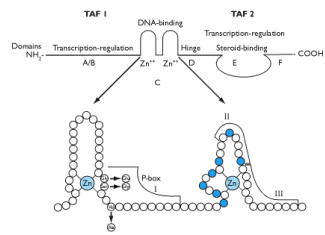
- 6 TRAF (1-6) qui interagissent avec récepteurs TNF et les récepteurs IL-1/Toll-like
- Pas d'activité enzymatique propre
- Induction des cascades de kinases (JNK, p38, ERK, NF-κB)
- Hétéro ou homodimères (1/2, 3/5, 3/6, 2/6)



### Récepteurs Toll-like



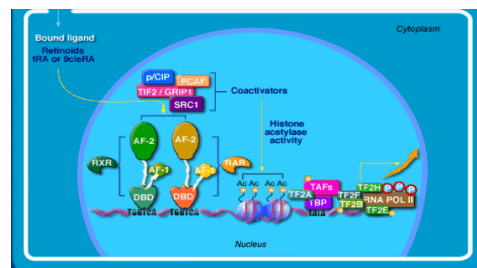
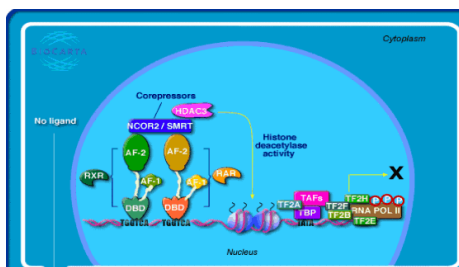
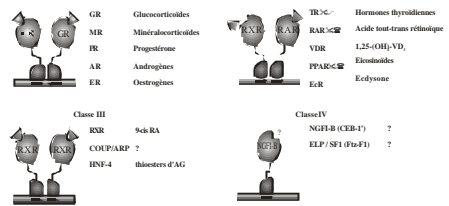
### Les récepteurs nucléaires

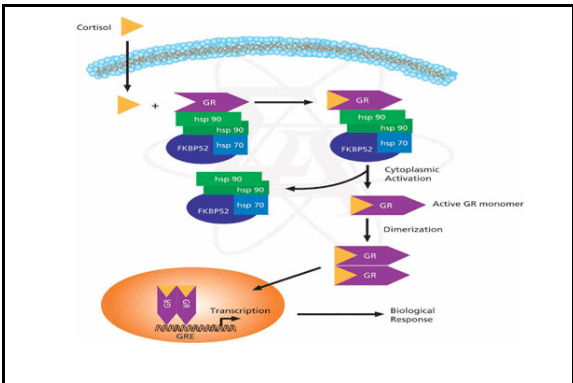


a)

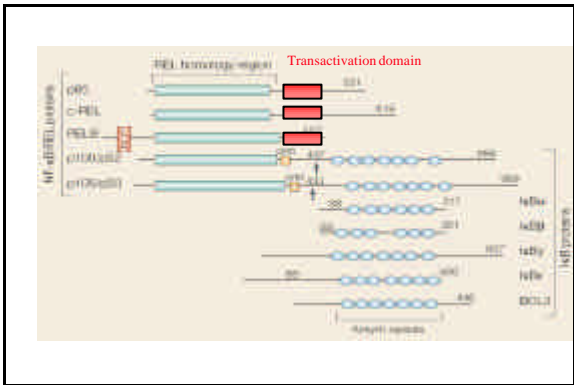


b)





Cross talk NF-κB/Glucocorticoïdes



### Formation des dimères

- Nécessaire pour liaison à l'ADN
  - Chaque sous unité interagit avec un demi-site
  - κB-sites sont symétriques: 5'-GGGRNNYYCC-3'
- Différents hétérodimères
  - Exception: RelB interagit uniquement avec p50/p52
  - Forme la plus répandue : p50/p65 (NF κB1/RelA)

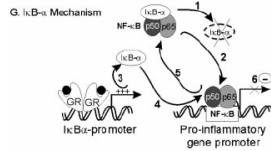
### 1- Interaction GR monomérique/NF-κB : importance du DBD du GR et du domaine RHD de p65

2- Augmentation de l'expression de IκB-α ➔ Séquestration de NF-κB cytoplasmique, inactif

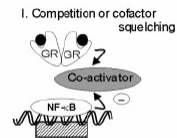
Mécanisme?

pIκB-αLuc inducible par GC mais pas de site classique GRE. Présence de demi-sites

pourquoi pas de répression par GC puisque IκB-α est inducible par NF-κB



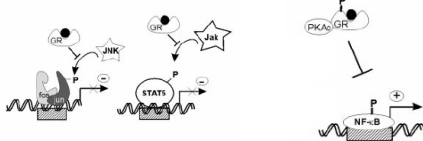
3- Compétition pour co-activateurs communs : p300, CBP, SRC-1



- Interaction CBP/p65 n'est pas modifiée si surexpression de GR
- Mutants du GR pour transactivation/transrepression n'est pas en faveur de cette hypothèse

4- Interférence dans les voies de phosphorylation

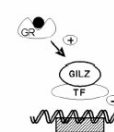
L. Phosphorylation Mechanism



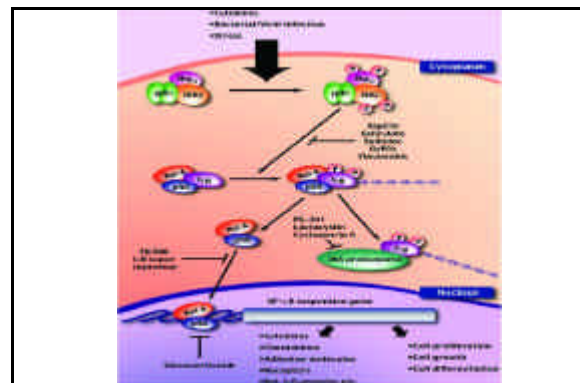
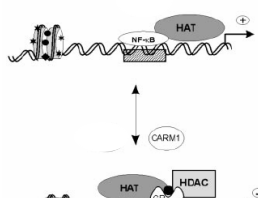
- Augmentation de l'expression de MPK-1?

5- Interaction directe de GILZ (GC induced leucine zipper) avec AP-1 et NF-κB .

N. Association GILZ



6- Recrutement de HDAC2 par GR sur le complexe p65/CBP HAT



### Méthodes d'études de la transduction du signal

- Surexpression d'une protéine
  - In vivo : transgénèse
  - In cellulo : transfection transitoire ou stable
- Extinction d'une protéine
  - In vivo : knock out
  - In cellulo :
    - » Stratégie antisens : ADN, siRNA
- Modulation d'une voie de transduction
  - Anticorps bloquants, récepteurs solubles
  - Inhibiteurs
  - Mutants

### Cibles : Un gène endogène

- Etude de l'expression de l'ARNm
  - Northern Blot Méthodes quantitatives, longues et délicates
  - Rnase protection
  - RT-PCR
- Etude de l'expression de la protéine : western blot

### Cibles : Un gène rapporteur

- Clonage en amont d'un gène rapporteur (luciférase, peroxydase...) des séquences 5' régulatrices d'un gène ou d'une élément de réponse
- Transfection
- Mesure de l'activité

### Etude des interactions protéines/protéines

- In vitro : EMSA



- Au niveau d'un promoteur in cellulo : ChIP

D. Tethering (masking TA domains)



H. Sequestration (TF: AP1, NF-κB, p53, ...)

