

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministry of Higher Education and Scientific Research

Abbas Laghrou University - Khenchela
Faculty of Natural and Life Sciences
Department of Molecular and Cell Biology



جامعة عباس لغرور - خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Polycopié pédagogique

Communication et Signalisation Cellulaire

Destiné aux étudiants :

1^{ère} année master Microbiologie appliquée

Dr. LEULMI Nassima

Année universitaire 2024/2025.

Avant-propos

Ce polycopié est destiné principalement aux étudiants en master 1 Microbiologie appliquée. Il vise à développer la compréhension de la communication cellulaire et de la transduction des signaux, ainsi qu'à acquérir une connaissance approfondie des principaux mécanismes régulant la communication cellulaire. Cela inclut l'étude des voies de signalisation intracellulaire et des réponses biologiques induites.

Les connaissances de base recommandées pour aborder cette matière avec succès :

- Des connaissances de base en enzymologie (enzymes aux fonctions kinases, phosphatases...);*
- Des connaissances sur le fonctionnement normal des cellules et des organes pour comprendre la contribution de la signalisation cellulaire aux processus physiologiques.*

Ce polycopié résume différents aspects des voies de communication et signalisation cellulaire entre les cellules normales et les voies de transduction intracellulaires. Ainsi que les différents types de récepteur membranaire et intracellulaires, leurs classifications seront étudiées à savoir leurs structure, fonction et transduction du signal.

Ensuite, une part importante du cours portera sur les mécanismes du pouvoir pathogène des microorganismes végétaux et les mécanismes de défense de la plante.

Le chapitre suivant abordera le phénomène du quorum sensing qui permet la communication entre les cellules bactériennes.

En fin, le dernier chapitre est consacré à étudier les molécules d'adhérences cellulaires. Les différentes classes de protéines responsables de phénomène d'adhésion seront étudiées.

Table des matières

<i>Chapitre 01 : Principes généraux de signalisation cellulaire</i>	
1. La communication cellulaire	01
1.1. Définition de quelques outils de la communication cellulaire	01
1.2. Caractéristiques des signaux émis par les cellules	05
<i>Chapitre 02 : Les récepteurs cellulaires et la transduction du signal</i>	
I. Les récepteurs membranaires	11
I.1. Les récepteurs membranaires sans activité catalytique.	12
I.1.1. Les récepteurs couplés aux protéines G	12
I.1.2. Les récepteurs couplés aux canaux ioniques	18
I.1.3. Les récepteurs cytokines	22
I.2. Les récepteurs à activité enzymatique (RE)	26
I.2.1. Les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)	26
I.2.2. Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase (STK)	30
I.2.3. Récepteurs à activité guanylate cyclase	31
II. Les récepteurs intracellulaires (nucléaires)	34
II.1. Récepteurs nucléaires dits de type I	37
II.2. Récepteurs nucléaires dits de type II	38
III. Autres récepteurs	39
III.1. Récepteurs liés à l'apoptose	39
III.2. Récepteurs spécifiques de l'antigène	46
III.2.1. Qu'est-ce qu'un antigène	46
III.2.2. Le récepteur à l'antigène des lymphocytes T	47
III.2.3. Le BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B	49
<i>Chapitre 03 : Les mécanismes du pouvoir pathogène des microorganismes phytopathogènes et les mécanismes de défense de la plante</i>	
1. La résistance passive et active de la plante	51
1.1. Prévenir les attaques : La résistance passive	51
1.2. Réagir : la résistance active	52
1.2.1. La résistance basale non spécifique : Résistance quantitative	53
1.2.2. La résistance spécifique totale : Résistance Qualitative	54
1.2.3. La résistance systémique Acquise (la SAR)	55
1.2.4. Induire une résistance systémique basale par les Stimulateurs de Défense Naturel (SDN)	56
2- Mécanismes moléculaires impliqués dans la perception extracellulaire de l'agent pathogène par la plante	56
2-1. Les éliciteurs PAMPs, MAMPs et DAMPs	56
2.2. Reconnaissance des agents pathogènes et initiation du signal de danger	57
2-3- Transduction et intégration des signaux de danger	57
3- Les effecteurs, déterminants clés du pouvoir pathogène	58
3.1. Le rôle des effecteurs dans la virulence des agents pathogènes	58
<i>Chapitre 04 : Communication chez les microorganismes : Le quorum sensing</i>	
1. Définition du QS	60
2- Notion des autoinducteurs	60

2.1. Acyl Homosérine Lactones (AHLs)	62
2.1.1. Biochimie du signal : Lux I et Lux R	62
2.1.2. QS chez les bactéries Gram négatif	64
2.2. Peptides (G+)	68
2.2.1. Biochimie du signal	68
2.2.2. QS chez les bactéries Gram positif	68
2.3. QS chez <i>Vibrio harveyi</i> : système hybride	70
3. QS et pathogénicité bactérienne	70
4. Contrôle du QS par des substances naturelles	71
<i>Chapitre 05 : Mécanismes d'adhérence cellulaire</i>	
I-Adhérence cellulaire chez la cellule animale	72
I.1. Définition des molécules d'adhésions	74
I.2. Rôle des molécules d'adhésion	78
II-Les molécules d'adhérence chez les microorganismes	79
II.1. Les adhésines	79
II.2. Les adhésines fimbriales	80
II.3. Les lectines	81
II.4. D'autres molécules d'adhérence	82
II.5. Les jonctions adhérentes comme récepteurs pour les micro-organismes	82
II.6. Le biofilm	83
II.6.1. Définition	83
II.6.2. Diversité et caractéristiques des biofilms	83
II.6.3. Composition de la matrice de biofilm	84
II.6.4. Les étapes de la formation de biofilm pour la communauté bactérienne	85
Références bibliographiques	

Liste des figures

Figure 01 : La communication des cellules.	01
Figure 02 : Schéma des principales protéines adaptatrices.	03
Figure 03 : Structures de principales protéines adaptatrices.	04
Figure 04 : Fonctions de protéines d'échafaudage.	04
Figure 05 : Les différentes voies de signalisation.	06
Figure 06 : Même ligand agit différemment sur des cellules différentes.	07
Figure 07 : Le signal extracellulaire peut agir lentement ou rapidement	08
Figure 08 : Une cellule animale dépend de multiples signaux extracellulaires.	09
Figure 09 : Le récepteur active une ou plusieurs voies de signalisation intracellulaire.	09
Figure 10 : Les molécules de signalisation extracellulaire se lient soit à des récepteurs membranaires, soit à des enzymes ou des récepteurs intracellulaires.	10
Figure 11 : La transduction du signal.	11
Figure 12 : Schéma des différents types de récepteurs membranaires.	12
Figure 13 : Ligands très diversifiés des RCPG.	13
Figure 14 : Structure générale des RCPG.	14
Figure 15 : Organisation structurale des GPCR. Représentation schématique de la structure générale des principales classes de GPCR.	15
Figure 16 : Activation de récepteurs membranaires couplés aux protéines G.	16
Figure 17 : Structure de l'Adénylate Cyclase.	17
Figure 18 : Mécanismes d'activation catalytique de l'AC.	18
Figure 19 : Fente synaptique.	19
Figure 20 : Schéma d'une synapse et des deux principaux types de récepteurs.	19
Figure 21 : Structure et assemblage des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine.	21
Figure 22 : La structure des récepteurs cytokine de type 1 et de type 2.	24
Figure 23 : Signalisation par le système JAK/STAT.	25
Figure 24 : Structure d'un récepteur couplé à une enzyme.	26
Figure 25 : Dimérisation du récepteur et autophosphorylation des tyrosines.	29
Figure 26 : Modules protéiques intervenant dans le contrôle de la signalisation intracellulaire.	29
Figure 27 : Activation du récepteur a activité tyrosine kinase par le facteur de croissance épidermique EGF.	30
Figure 28 : Voie de signalisation de récepteur STK dépendant de Smad activée par TGF-B.	31
Figure 29 : Une des protéines cibles qui peut être activée par NO est la guanylate cyclase.	32
Figure 30 : Illustration schématique de mécanisme par lequel les messagers primaires stimulent la guanylyl cyclase.	33
Figure 31 : Représentation schématique des isoformes de guanylate cyclase.	34
Figure 32 : Structure des récepteurs nucléaires.	36
Figure 33 : Schéma représentant la structure générale du DBD et les motifs importants.	36

Figure 34 : Mode de liaison des récepteurs nucléaires à l'ADN.	37
Figure 35 : Mécanisme d'action des récepteurs nucléaires de type 1.	38
Figure 36 : Mécanisme d'action des récepteurs nucléaires de type 2.	39
Figure 37 : Structure des caspases.	41
Figure 38 : Les types de caspases.	42
Figure 39 : Les cibles cellulaires des caspases effectrices.	43
Figure 40 : Voies de signalisation intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose.	45
Figure 41 : Le TCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes T.	47
Figure 42 : Association TCR/CD4 ou CD8.	48
Figure (43) : Le BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B.	50
Figure 44 : La résistance passive de la plante.	51
Figure 45 : La résistance active de la plante.	53
Figure 46 : Modèle schématique du QS	61
Figure 47 : Le QS chez les bactéries G^+ et G^- .	62
Figure 48 : Structure chimique des HLS/R aucune substitution OXO ou H.	62
Figure 49 : Schéma général de la biosynthèse d'AHL (acylated homoserin lactone) par une protéine homologue de LuxI.	63
Figure 50 : Le cycle de diffusion membranaire de AHL et fixation sur le système LuxR.	64
Figure 51 : Modèle schématique de synthèse et de transduction du signal AHL au sein d'une cellule bactérienne à Gram négatif.	65
Figure 52 : Modèle d'activation de la bioluminescence chez <i>Vibrio fischeri</i> par le système de détection du quorum LuxR/LuxI.	66
Figure 53 : Les systèmes hiérarchiques de détection de quorum de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	67
Figure 54 : Le système de détection du QS du régulateur de gène (<i>agr</i>) de <i>S. aureus</i> .	70
Figure 55 : Les jonctions d'adhérence.	73
Figure 56 : Les types d'interaction des molécules d'adhérences.	74
Figure 57 : Structure de l'immunoglobuline.	74
Figure 58 : Cadhérine et son lien avec le cytoplasme.	75
Figure 59 : Représentation schématique de la structure des sélectines.	76
Figure 60 : Intégrine avec autres molécules d'adhérence.	77
Figure 61 : A) Organisation du domaine et structure d'une intégrine générique, B) Activation des intégrines.	77
Figure 62 : Les molécules d'adhérence dans la compaction embryonnaire.	78
Figure 63 : Les sélectines, intégrines, CAM et la migration transendothéliale.	78
Figure 64 : Les adhésines de <i>Staphylococcus aureus</i> .	80
Figure 65 : L'adhésine bactérienne FimH.	81
Figure 66 : Le complexe de reconnaissance de l'intégrine et de la E-cadhérine dans son contexte cellulaire.	83
Figure 67 : Développement d'un biofilm bactérien sur une surface.	85

Chapitre 1 : Principes généraux de signalisation cellulaire

Le corps humain est composé de milliards de cellules, possédant des fonctions variées, qui, regroupées en organes, doivent agir de concert pour assurer l'homéostasie et ajuster le corps à son environnement. Le processus qui permet aux cellules de communiquer les unes avec les autres est nommée signalisation cellulaire. Ce terme global peut représenter une panoplie de mécanismes moléculaires et cellulaires, car plusieurs cellules de natures différentes doivent communiquer entre elles, parfois sur de courtes distances, parfois sur l'entièreté ou presque du corps.

À cette fin, les cellules émettent une multitude de molécules de signalisation, tels des hormones, neurotransmetteurs, etc. Ces molécules de signalisation sont de tailles variables, pouvant être aussi petites que des ions et aussi larges que des protéines.

Les **molécules de signalisation** sont plus ou moins diffusibles, synthétisées et sécrétées par différents types cellulaires (en particulier dans le système nerveux, les régulations hormonales, les processus immunitaires, l'hématopoïèse) et se lient après un trajet plus ou moins long à des **récepteurs** membranaires, cytoplasmiques ou nucléaires de cellules-cibles, capables de les reconnaître.

2. La communication cellulaire

La communication cellulaire est l'ensemble des signaux moléculaires (ou messagers) émis par une cellule (dite émettrice) et reconnus par une autre cellule (dite réceptrice, sachant que la cellule émettrice peut être également la cellule réceptrice) (**Fig. 01**).

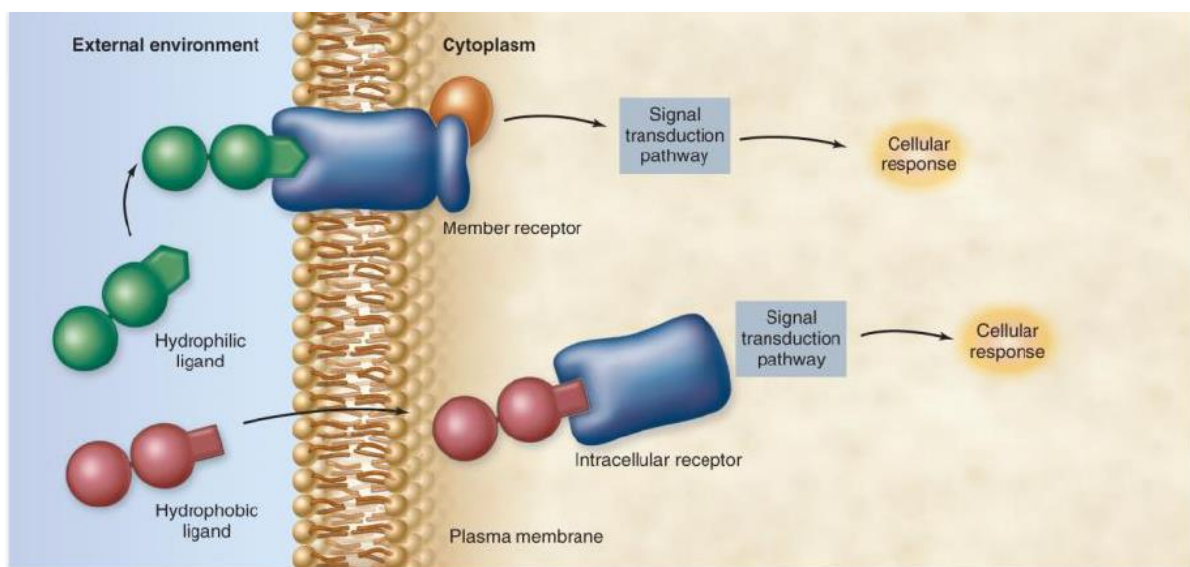


Figure 01 : La communication des cellules.

La communication cellulaire est un phénomène essentiel et indispensable à tous les organismes vivants. Les processus de reconnaissance s'établissent entre les cellules et leur environnement grâce à deux acteurs principaux, **un récepteur et un ligand**, via des interactions spécifiques plus ou moins fortes.

Les récepteurs et les ligands impliqués dans les interactions sont de natures diverses : protéines, oligosaccharides, peptides, petites molécules organiques. Les récepteurs cellulaires reçoivent les informations de l'environnement extracellulaire et les transforment en signaux intracellulaires.

1.1. Définition de quelques outils de la communication cellulaire

- ❖ **Molécules informationnelles** : Corps chimique produit par une cellule vivante pour transmettre un signal à une autre cellule qui reçoit ce signal par un récepteur spécifique.
- ❖ **Les seconds messagers** : Ce sont des molécules intracellulaires activées par l'activation d'un récepteur suite à la liaison avec son ligand qui activent d'autres molécules à leur tour (cascade d'activation).
- ❖ **Effecteur** : Molécule qui traduit le signal reçu par un récepteur membranaire en un effet intracellulaire : transport passif ou actif, synthèse d'un second messager.
- ❖ **Ligand** : Toute substance capable de se lier au récepteur. La liaison récepteur-ligand peut se traduire ou non par l'apparition d'un effet physiologique.
- ❖ **Les messagers** : Une molécule libérée par une cellule A est informative lorsqu'elle interagit spécifiquement avec une structure appelée récepteur d'une cellule B pour y initier des réactions conduisant à des effets spécifiques. Les messagers sont de nature chimique diverse : dérivés d'acides aminés (noradrénaline, angiotensine...), des dérivés d'acides gras (prostaglandines...) ou des dérivés de cholestérol (cortisol, stéroïdes...). Leur classification repose sur la distance qui sépare leur site de libération de leur site d'action.

On retrouve alors :

-Les hormones : Véhiculées par le sang depuis la glande qui les libère jusqu'à l'organe où elles exercent leurs effets. Exemple : la corticotrophine est libérée par l'hypophyse et stimule la glande cortico-surrénale ;

-Les médiateurs : libérés à l'extrémité d'un nerf, ils transmettent une information à une structure qui peut être un nerf ou un muscle. Exemples : la catécholamine, l'acétylcholine ;

-Les cytokines : Elles peuvent agir sur la même population de cellules que celles qui les fabriquent ou sur une population différente (mode paracrine), elles peuvent agir sur les cellules qui les synthétisent (mode autocrine), elles peuvent agir à distance, transportées par le flux sanguin sur d'autres tissus comme la moelle osseuse, les os, le foie, le système nerveux central (mode endocrine).

❖ **Les protéines adaptatrices et protéines d'échafaudage**

Il existe des protéines adaptatrices et des protéines d'échafaudage. Toutes peuvent relier différentes protéines de signalisation et sont essentielles à bon nombre de voies de signalisation malgré leur absence d'activité enzymatique intrinsèque.

Les protéines adaptatrices, bien que dépourvues d'activité enzymatique intrinsèque, jouent un rôle essentiel dans la biologie des cellules en régulant l'assemblage de complexes multimoléculaires de signalisation essentiels à la transmission intracellulaire des signaux extracellulaires reçus par la cellule.

Les protéines adaptatrices sont des petites protéines de la famille des « seconds messagers » contenant habituellement 2 à 3 domaines. Ces domaines structuraux consensus (SH₂, SH₃, PTB, etc) nécessaires aux interactions protéine-protéine et protéine-lipide et à la transduction du signal. Ces domaines leur permettent de connecter plusieurs protéines entre elles sur une durée précise, et de localiser, de façon optimale dans la cellule, différents complexes multi protéiques et de moduler positivement ou négativement la transduction du signal (**Fig. 02 et 03**).

Cet assemblage de complexes signalisateurs par les protéines adaptatrices est retrouvé pour tous les types de récepteurs membranaires, quelle que soit la réponse cellulaire impliquée : prolifération, mort cellulaire, différenciation, motilité et polarisation, et quel que soit le type cellulaire.

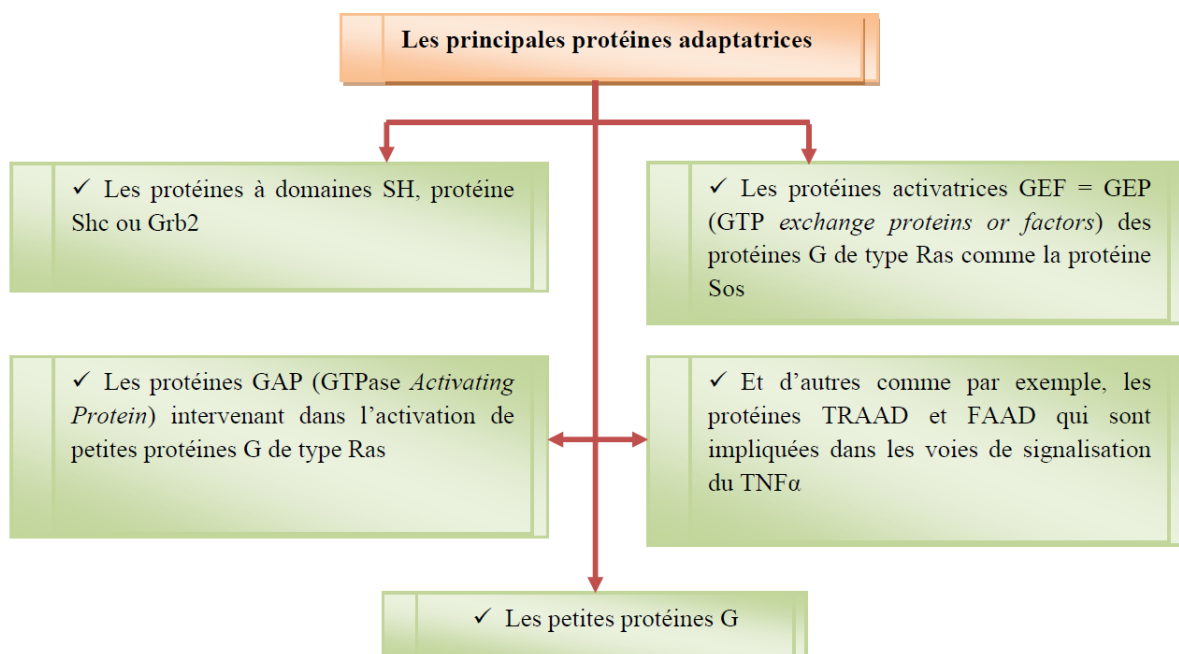


Figure 02 : Schéma des principales protéines adaptatrices.

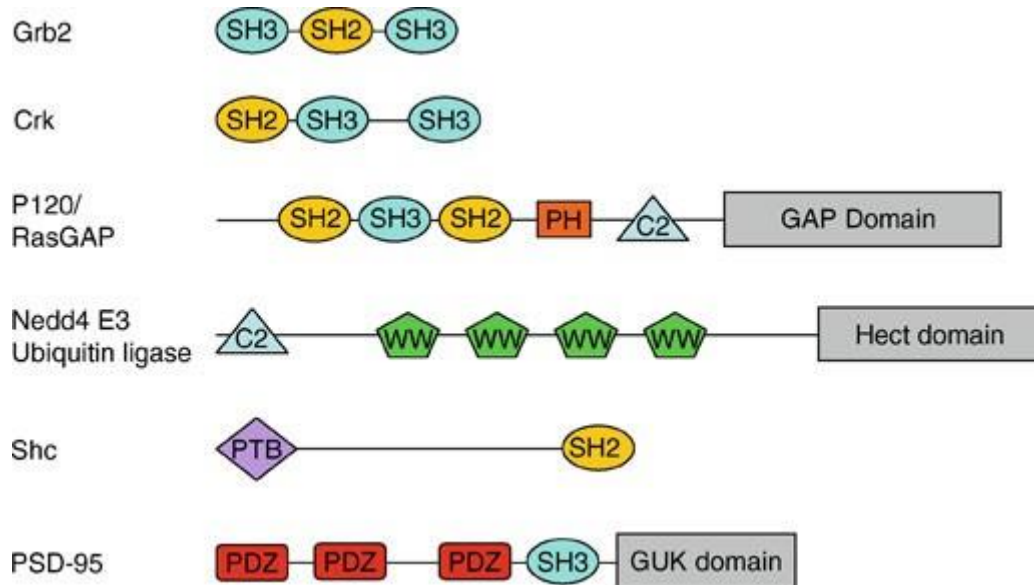


Figure 03: Structures de principales protéines adaptatrices.

Les **protéines d'échafaudage** jouent un rôle clé en fournissant une plate-forme pour l'assemblage des molécules de signalisation, en favorisant la localisation des molécules de signalisation sur des sites spécifiques et en coordonnant les signaux de rétroaction positifs et négatifs pour la régulation des voies (**Fig. 04**).

La fonction d'une **protéine d'échafaudage** est de réunir deux ou plusieurs protéines dans une configuration relativement stable, d'où leur nom. De nombreuses protéines d'échafaudage se trouvent dans la nature, beaucoup ayant plusieurs modules d'interaction protéine-protéine.

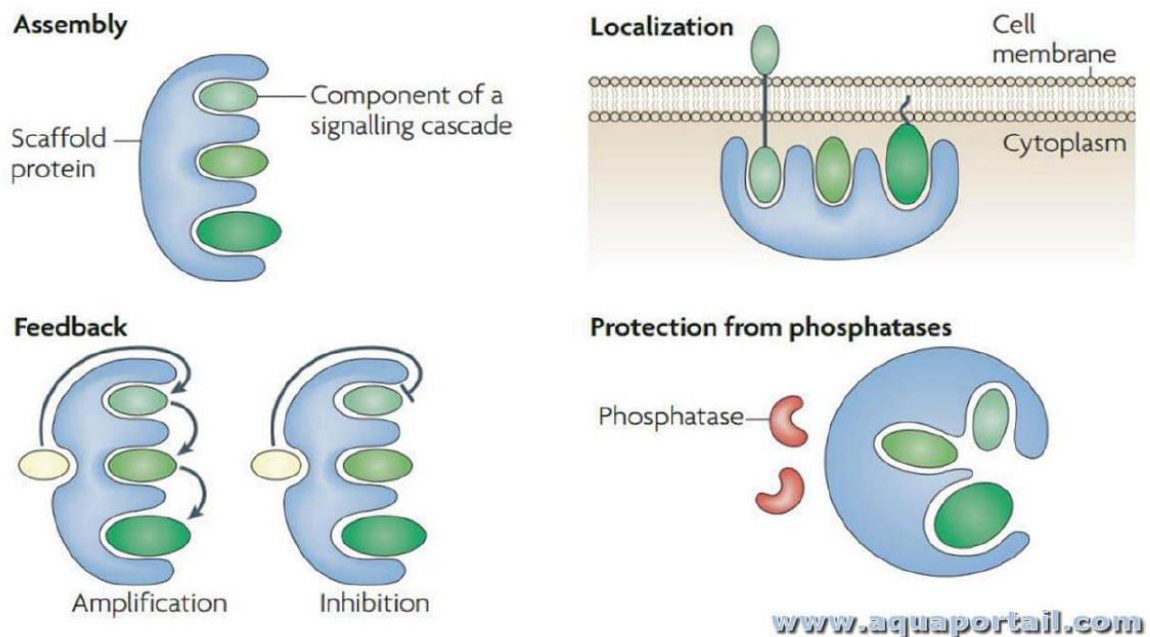


Figure 04 : Fonctions de protéines d'échafaudage.

2.2.Caractéristiques des signaux émis par les cellules

➤ **Les cellules animales peuvent s'envoyer des signaux de différentes façons :**

- (A) **Voie endocrine** : Les hormones produites par les glandes endocrines sont sécrétées dans la circulation sanguine et distribuées à travers tout le corps. Les molécules de signalisation utilisées de cette manière sont appelées **hormones** et, chez les animaux, les cellules qui les produisent sont appelées cellules endocrines (**Fig. 05**). Par exemple, une partie du pancréas est une glande endocrine qui sécrète l'insuline, une hormone qui assure la captation du glucose par les cellules dans tout l'organisme.
- (B) **Voie paracrine** : Les signaux paracrines sont libérés par les cellules dans le liquide extracellulaire voisin et agissent localement. Dans ce cas, les molécules de signalisation n'entrent pas dans le courant sanguin, mais diffusent localement, à travers le milieu extracellulaire, restant au voisinage des cellules qui les ont sécrétées. Elles agissent comme des médiateurs locaux sur les cellules voisines (**Fig.05**). Parmi les molécules de signalisation qui contrôlent l'inflammation sur le site d'une infection, ou contrôlent la prolifération cellulaire d'une blessure en train de cicatriser, beaucoup agissent de cette manière.
- (C) **Voie neuronale** : Les signaux neuronaux sont transmis le long des axones jusqu'à des cellules cibles éloignées. Comme les cellules endocrines, les cellules nerveuses (neurones) peuvent délivrer leurs messages à de grandes distances. Cependant, dans le cas de la signalisation neuronale, le message n'est pas diffusé très largement, mais délivré très rapidement et de manière spécifique par une ligne privée, à une cellule cible particulière, l'axone d'un neurone se termine au niveau de jonctions spécialisées (synapses), sur des cellules cibles qui se trouvent loin du corps cellulaire du neurone (**Fig. 05**).
- (D) **Voie dépendante du contact** : Dans la signalisation dépendant du contact, une molécule de signalisation à la surface d'une cellule se lie à un récepteur protéique sur la cellule adjacente. Les mêmes types de molécules de signalisation peuvent être utilisés pour la signalisation endocrine, paracrine et neuronale (**Fig.05**). Ce mode de communication intercellulaire le plus discret est celui qui voyage le moins loin – ne nécessite pas la libération d'une molécule sécrétée. Au contraire, les cellules entrent directement en contact par l'intermédiaire de molécules de signalisation qui font partie de la membrane plasmique de la cellule émettrice et de récepteurs protéiques inclus dans la membrane plasmique de la cellule cible.
- (E) Dans certains cas, les cellules peuvent répondre à des médiateurs locaux qu'elles produisent elles-mêmes, c'est une forme de communication paracrine appelée **signalisation autocrine**. De cette manière, les cellules cancéreuses favorisent parfois leur propre survie ou leur prolifération.

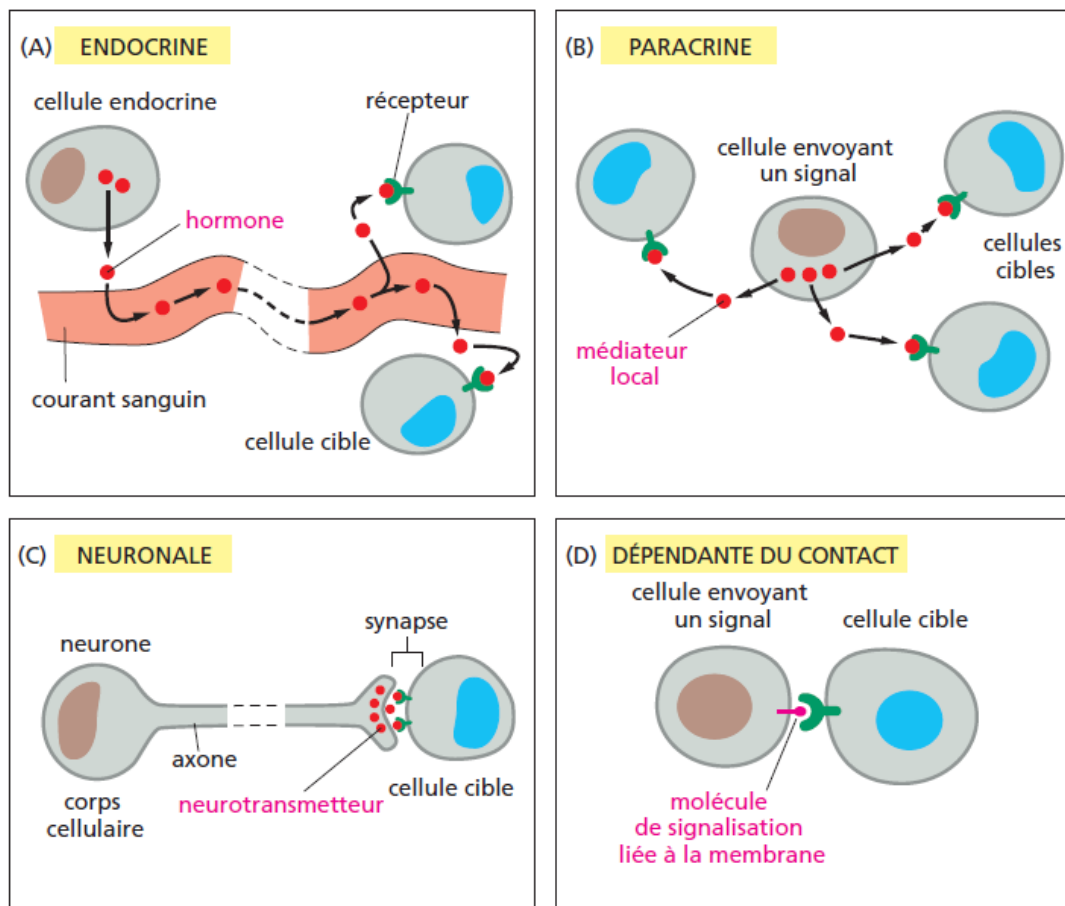


Figure 05 : Les différentes voies de signalisation.

- **Chaque cellule répond à un nombre limité de signaux en fonction de son histoire et de son état présent**

Une cellule type dans un organisme multicellulaire est exposée, dans son environnement, à des centaines de molécules de signalisation différentes. Celles-ci peuvent être libres dans le milieu extracellulaire, faire partie de la matrice extracellulaire sur laquelle la plupart des cellules reposent, ou être liées à la surface des cellules voisines. **Chaque cellule doit répondre de manière sélective à ce mélange de signaux**, en ignorant certains et en réagissant à d'autres, en fonction de sa spécialisation.

Pour qu'une cellule réponde à une molécule de signalisation, la première condition est qu'elle possède une protéine réceptrice ou récepteur, pour ce signal.

Chaque récepteur est généralement activé par un seul type de signal. Sans le récepteur approprié, la cellule est sourde au signal et n'y répond pas. En ne produisant qu'un petit nombre de récepteurs parmi les milliers possibles, la cellule limite le nombre de signaux qui peuvent l'atteindre.

Mais un petit nombre de molécules de signalisation extracellulaire peut affecter le comportement de la cellule cible de nombreuses façons. Elles peuvent modifier la forme, le

mouvement ou le métabolisme cellulaire, et l'expression génique de la cellule ou plusieurs de ces facteurs.

Par exemple, quand une cellule de muscle cardiaque est exposée au neurotransmetteur acétylcholine, la vitesse et la force de ses contractions diminuent. Quand une glande salivaire est exposée au même signal, elle sécrète les composants de la salive, bien que les récepteurs soient les mêmes dans les deux types cellulaires. Dans le muscle squelettique, l'acétylcholine provoque la contraction en se liant à un récepteur différent (**Fig. 06**). Ainsi, la molécule de signalisation extracellulaire n'est pas, à elle seule, le message : l'information apportée par le signal dépend aussi de la manière dont la cellule la reçoit et l'interprète.

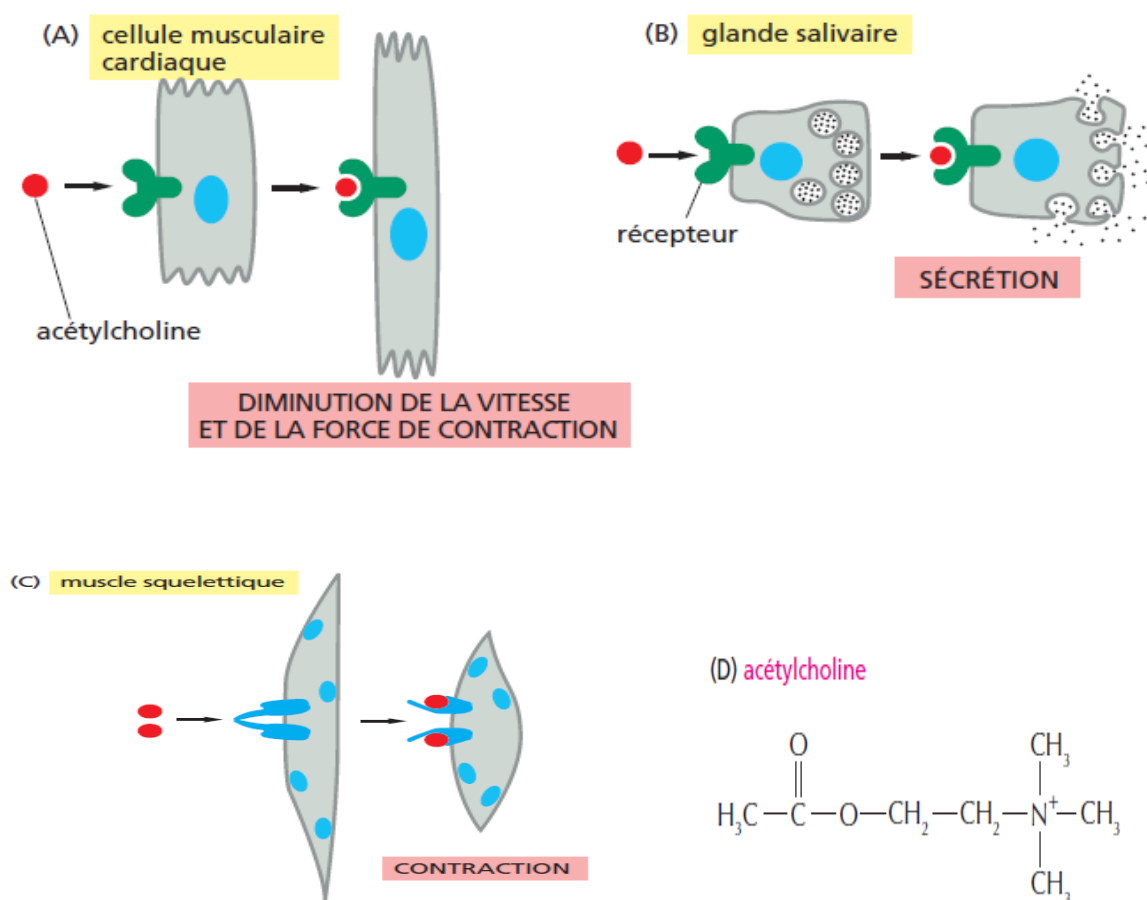


Figure 06 : Même ligand agit différemment sur des cellules différentes.

➤ **La réponse d'une cellule à un signal peut être rapide ou lente**

Le temps nécessaire à une cellule pour répondre à un signal extracellulaire varie beaucoup et dépend de ce qui va se produire une fois que la cellule a reçu le message. Certains signaux extracellulaires agissent rapidement : l'acétylcholine peut stimuler la contraction d'un muscle squelettique en quelques millisecondes, et la sécrétion d'une glande salivaire en environ une minute.

De telles réponses rapides sont possibles parce que le signal affecte l'activité de protéines ou d'autres molécules, qui sont déjà présentes dans la cellule, attendant leur ordre de marche.

D'autres réponses prennent plus de temps. La croissance et la division cellulaires, quand elles sont déclenchées par les molécules de signalisation appropriées, peuvent prendre des heures pour se produire. En effet, la réponse à ces signaux extracellulaires nécessite des modifications de l'expression génique et la production de nouvelles protéines (**Fig. 07**).

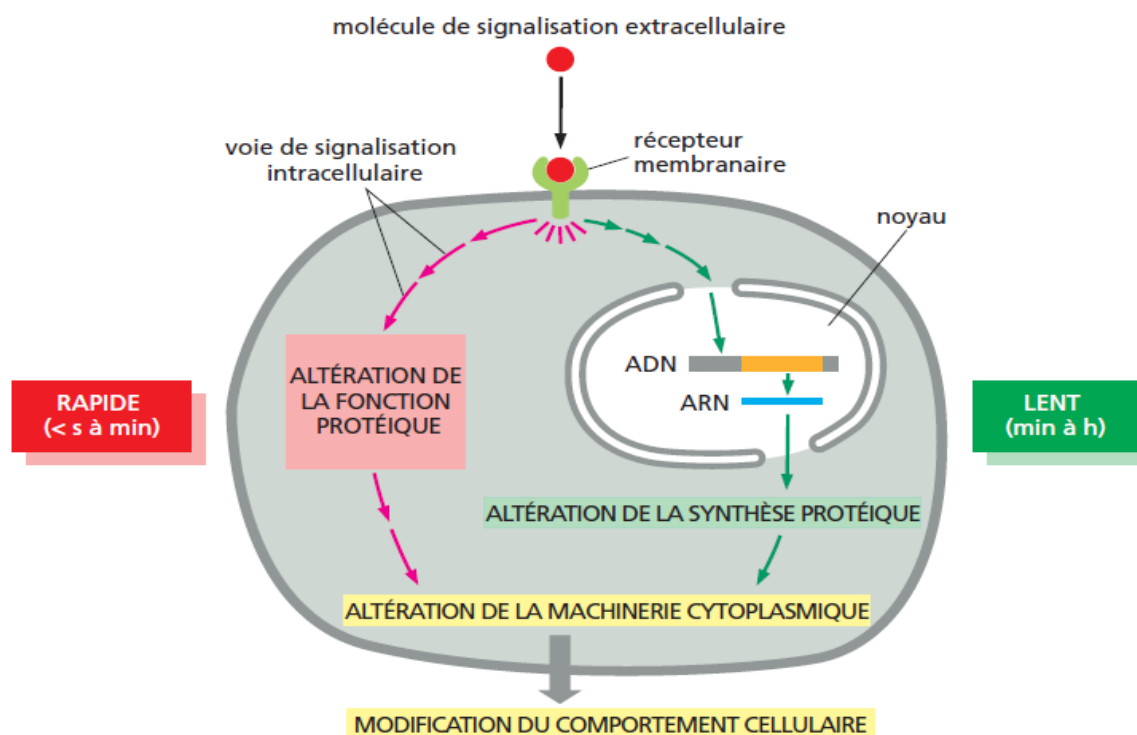


Figure 07 : Le signal extracellulaire peut agir lentement ou rapidement.

➤ **Une cellule est dépendue de multiples signaux extracellulaires**

Chaque type cellulaire dispose d'un ensemble de récepteurs qui lui permet de répondre à un ensemble spécifique de molécules de signalisation produites par d'autres cellules.

Comme le montre la figure, les cellules peuvent avoir besoin de plusieurs signaux pour survivre (flèches bleues), d'autres signaux pour grossir et se diviser (flèches rouges), et d'autres encore pour se différencier (flèches vertes).

En l'absence de signaux de survie, la plupart des cellules subissent une forme de suicide cellulaire connue sous le nom de mort cellulaire programmée, ou apoptose (**fig.08**).

➤ **Le récepteur active une ou plusieurs voies de signalisation intracellulaire** : chacune par l'intermédiaire d'une série de molécules de signalisation intracellulaire qui peuvent être des protéines ou des molécules de petits messagers. Certaines de ces molécules de signalisation interagissent avec des protéines effectrices et les modifient, pour aboutir au changement de comportement cellulaire (**Fig. 09**).

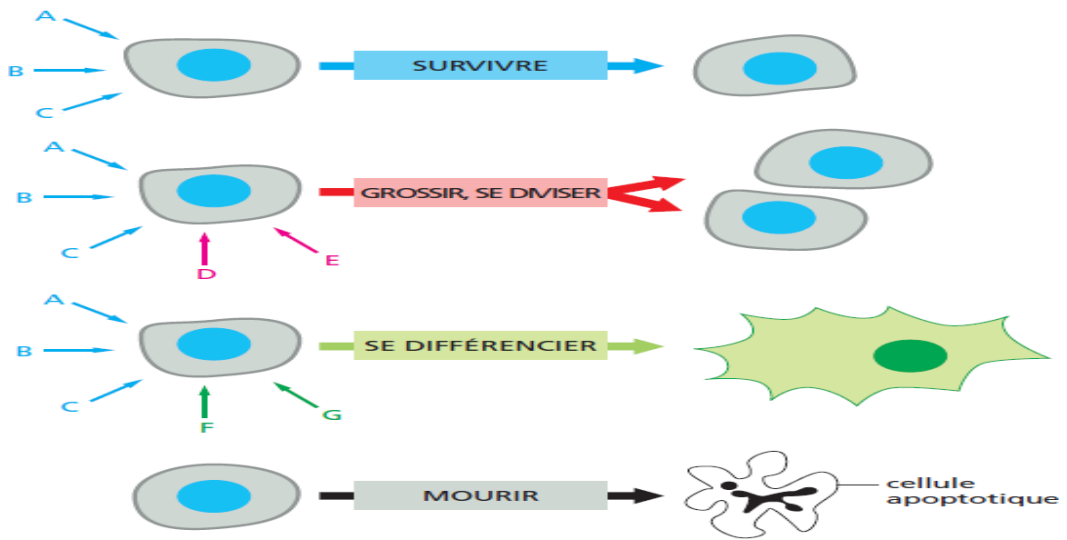


Figure 08 : Une cellule animale dépend de multiples signaux extracellulaires.

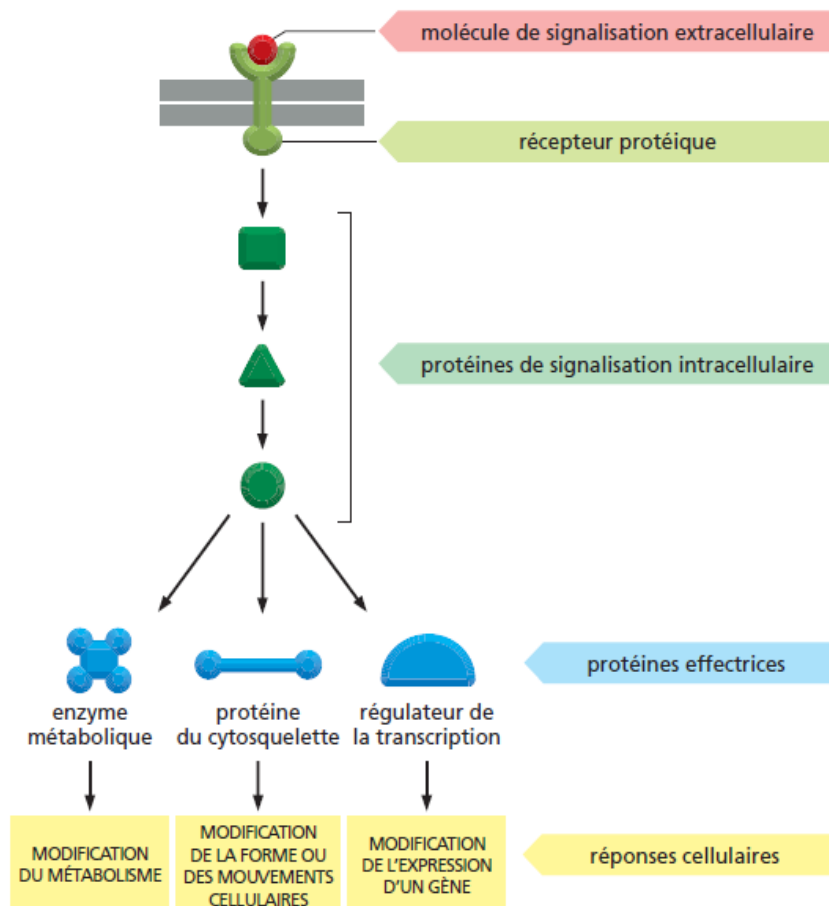


Figure 09 : Le récepteur active une ou plusieurs voies de signalisation intracellulaire.

Chapitre 02 : Les récepteurs cellulaires et la transduction du signal

Un **récepteur** peut être défini comme une structure moléculaire (*protéine, souvent une glycoprotéine*) qui interagit spécifiquement avec un « messenger » (hormone, facteur de croissance, cytokine, contact cellulaire). Cette interaction crée une modification du récepteur qui conduit à une ouverture d'un canal ou à une cascade de réactions enzymatiques, par exemple induisant ainsi à un **effet biologique**.

Les **récepteurs cellulaires** peuvent être **membranaires** (absence de pénétration du médiateur dans la cellule) ou **intracellulaire** (pénétration du médiateur dans la cellule). Une même cellule comporte généralement plusieurs types de récepteurs (**Fig. 10**).

(A) La plupart des molécules de signalisation extracellulaire sont grandes et hydrophiles et ne peuvent donc pas traverser la membrane plasmique directement ; elles se lient à des récepteurs membranaires qui engendrent un ou plusieurs signaux à l'intérieur de la cellule cible.

(B) En revanche, quelques petites molécules de signalisation hydrophobes diffusent à travers la membrane plasmique de la cellule cible et activent des enzymes ou se lient à des récepteurs intracellulaires – soit dans le cytosol, soit dans le noyau (comme indiqué).

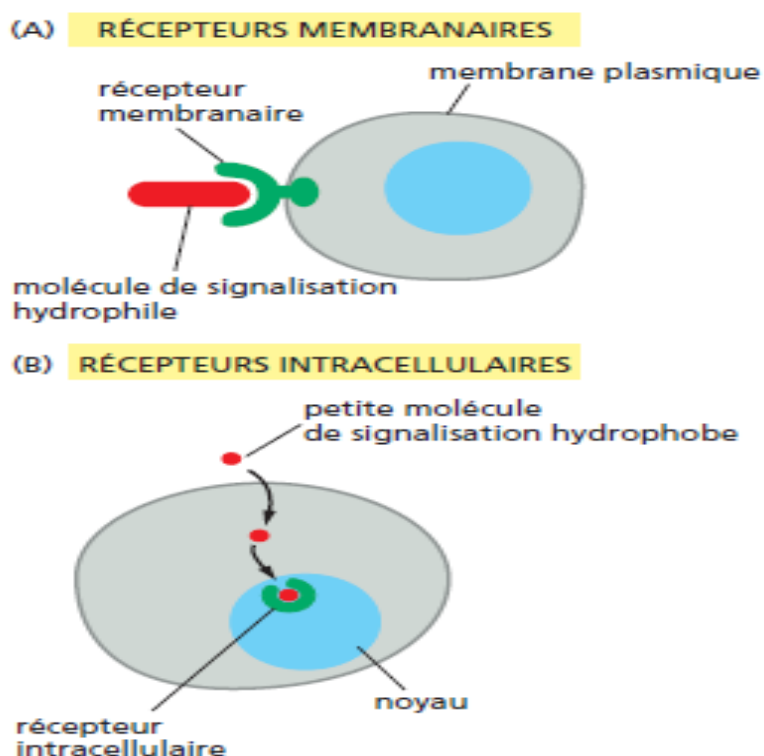


Figure 10 : Les molécules de signalisation extracellulaire se lient soit à des récepteurs membranaires, soit à des enzymes ou des récepteurs intracellulaires.

La transduction du signal désigne l'ensemble des processus biochimiques par lesquels les cellules traduisent des signaux extracellulaires provenant de leur environnement en réponses spécifiques (**Fig. 11**).

La liaison du signal extracellulaire (ou ligand) qui peut être une cytokine inflammatoire ou non, un composant microbien, une structure microparticulaire, un acide aminé, un nucléotide, un gaz, etc... à son récepteur spécifique déclenche une cascade d'activation de protéines intracellulaires aboutissant à une modification du comportement de la cellule.

Les protéines de signalisation intracellulaire comportent des kinases, des phosphatases, des protéines de liaison au GTP (guanosine triphosphate) et beaucoup d'autres protéines avec lesquelles elles interagissent. Le signal se traduit par une modulation de la croissance, la prolifération ou la mort cellulaire, la différenciation, la migration et l'activation cellulaires, la réponse immune ou d'autres fonctions cellulaires via la régulation de gènes codant pour des facteurs de croissance, des cytokines, des chimiokines, des protéases, etc...

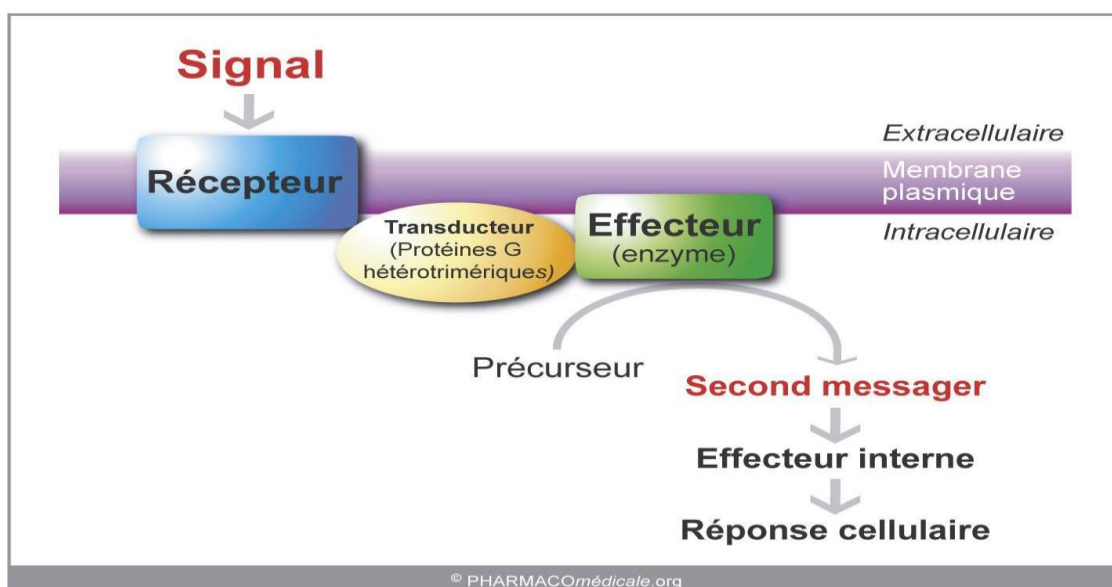


Figure 11 : La transduction du signal.

I. Les récepteurs membranaires

Un récepteur membranaire comporte une partie extracellulaire, où se trouve le site de reconnaissance de la molécule informative, une partie transmembranaire et une partie intracellulaire. La fixation de la molécule informative active le récepteur membranaire.

L'activation du récepteur membranaire ne nécessite pas la pénétration de la molécule informative dans la cellule. Cette activation va induire des modifications qui vont soit être localisées à la membrane, soit s'étendre au cytoplasme ou bien atteindre le noyau. L'ensemble des réactions entre activation du récepteur membranaire et effet cytoplasmique ou nucléaire est appelé transduction du signal.

-Il existe plusieurs types de récepteurs membranaires (**Fig. 12**).

-**Les récepteurs canaux** : ils comportent un canal faisant communiquer le cytoplasme avec le milieu extracellulaire. Le messenger module l'ouverture du canal et régule l'entrée dans la cellule des ions (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-). La réponse est instantanée et de courte durée ;

-**Les récepteurs liés aux protéines G** : leur activité nécessite la présence de GDP (guanosine di phosphate) qui phosphorylé donne le GTP guanosine triphosphate. Les protéines G entrent en contact avec le récepteur et transmettent le signal à des enzymes (adénylcyclase, phospholipase C....) ;

-**Les récepteurs enzymes** : le récepteur possède sa propre activité enzymatique. La fixation du messenger sur le récepteur active son site enzymatique. Le récepteur de l'insuline est un récepteur qui possède une activité «kinase». Une «kinase» est une protéine enzymatique qui a la fonction d'ajouter un phosphate. Cette action s'appelle une «phosphorylation».

-**Les récepteurs cytokines** : Les récepteurs de ces molécules ne possèdent pas d'activité tyrosine kinase, **mais sont couplés à une tyrosine kinase intracytoplasmique** qui assure, après activation du récepteur, la transduction d'un message aboutissant à la transcription de gènes cibles.

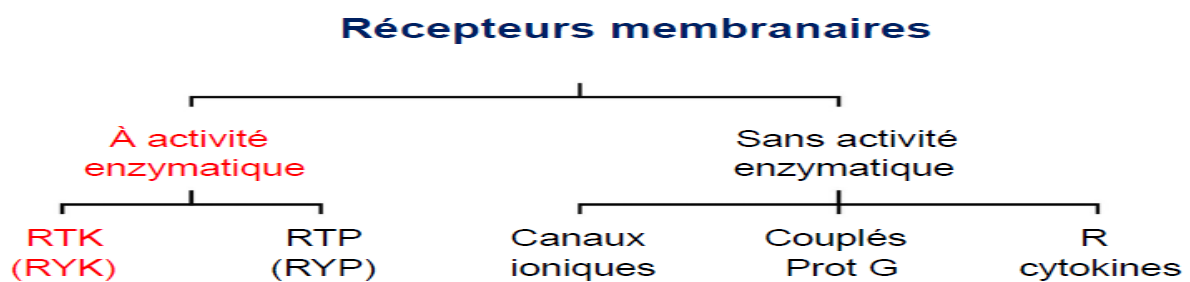


Figure (12) : Schéma des différents types de récepteurs membranaires.

I.1. Les récepteurs membranaires sans activité catalytique

I.1.1. Les récepteurs couplés aux protéines G

Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs) sont des protéines membranaires ayant une structure à sept domaines transmembranaires (TM). Ils sont ubiquitaires et contrôlent les principales fonctions de l'organisme tels que l'odorat, le goût, la vision, ainsi que la réponse cellulaire aux hormones et neurotransmetteurs. Chez l'homme, il existe plus de 1000 RCPG différents, dont plus de la moitié, sont des **récepteurs olfactifs**.

Les 7 domaines TM sont des hélices α reliées par trois boucles intracellulaires (i1 à i3) et trois boucles extracellulaires (e1 à e3) (**Fig. 13**) chargées de reconnaître des messages externes (lumière, odeurs, etc.) ou internes (hormones, neurotransmetteurs).

La transmission de la majorité des signaux cellulaires à travers la membrane plasmique se fait par l'intermédiaire des RCPG. Ainsi, toute perturbation dans leur fonctionnement peut conduire

à des pathologies comme l'allergie, l'hypertension artérielle, la maladie d'Alzheimer ou encore la schizophrénie.

Les RCPG sont certainement parmi les plus anciens transducteurs de signaux. En effet, ils sont présents chez les plantes, les levures, les champignons, ainsi que les protozoaires et les métazoaires. Ils interviennent dans tous les grands systèmes de communication intercellulaire.

Les ligands des RCPG sont d'une très grande diversité chimique. Ils incluent des photons, des ions (Ca^{2+}), des stimuli sensoriels (molécules olfactives, gustatives et phéromones), des petites molécules endogènes (acides aminés, nucléotides, lipides et peptides endogènes), des composés exogènes (cannabinoïdes, peptides d'amphibiens : ranatensine ou bombésine), des composés impliqués dans les réactions du système immunitaire (chimiokines, peptides N formylés chimiotactiques) et des protéines (hormones glycoprotéiques, protéases) (**Fig. 13**).

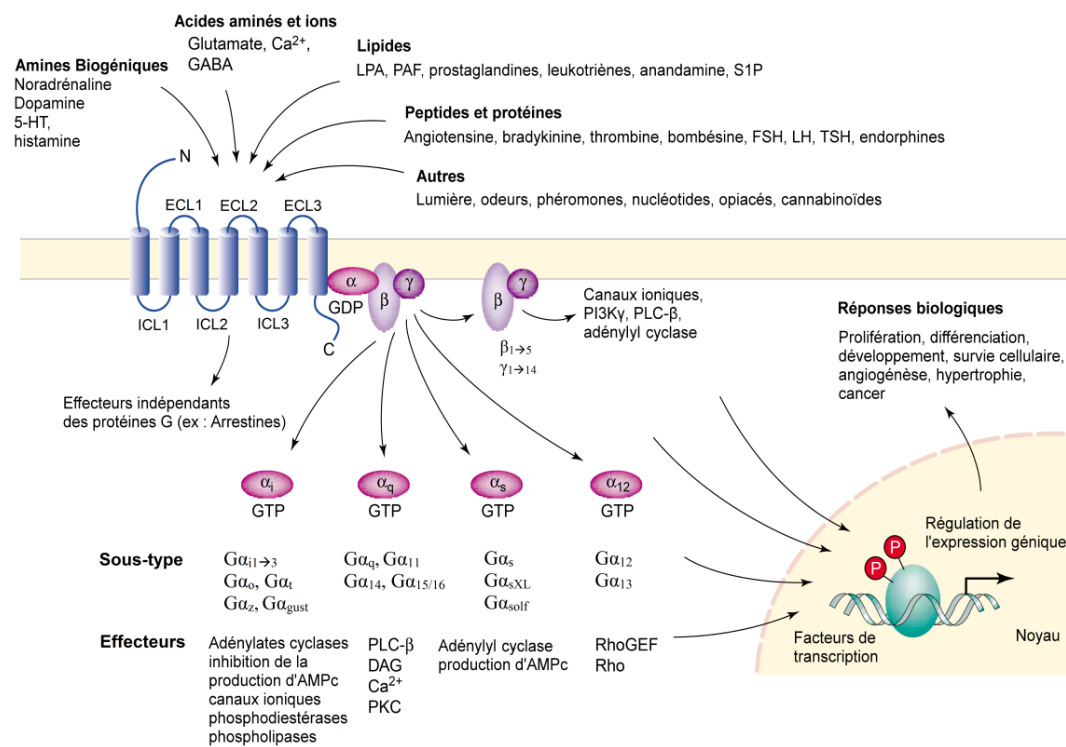


Figure 13 : Ligands très diversifiés des RCPG.

Le signal apporté par le stimulus extracellulaire est transmis à l'intérieur de la cellule par l'intermédiaire du récepteur qui la plupart du temps active **une protéine hétérotrimérique**, liant les nucléotides guanyliques di- ou triphosphate (GDP/GTP), aussi appelée protéine G, d'où l'appellation récepteurs couplés aux protéines G. Ces protéines transmettent le signal provenant du récepteur à différents effecteurs intracellulaires permettant **l'amplification du signal et la genèse d'une réponse cellulaire appropriée**.

Les protéines G (le trimère) sont composées de 3 sous-unités. La sous-unité α porte le site de fixation GDP/GTP alors que les deux autres restent associées et sont appelées dimère $\beta\gamma$.

La sous-unité α a longtemps été considérée comme **la sous-unité active du trimère**. Les protéines G sont donc classifiées en fonction de cette dernière en quatre grandes familles : les Gi, Gs, Gq, et G12. La famille des Gi, qui comprend également les Go et Gz, a été caractérisée comme inhibant l'adénylate cyclase ; cette dernière étant au contraire stimulée par la famille des Gs. Les Gq et G12 vont activer différentes phospholipases. Enfin la protéine Gt, ou transducine, est la protéine G spécifique à la rhodopsine.

a) Structure des RCPG

Le couplage aux protéines G hétérotrimériques intracellulaires est la première caractéristique commune de cette famille, d'où leur nom. Ce sont des récepteurs qui contrôlent, par l'intermédiaire de la protéine G (protéine trimérique de liaison au GTP), l'activation soit d'une enzyme intrinsèque, soit d'un canal ionique de la membrane plasmique.

Ils sont également appelés couramment récepteurs à 7 domaines transmembranaires car ils possèdent tous une structure avec 7 hélices α traversant la membrane plasmique connectés par des boucles, alternativement, intra- (i1, i2, i3) et extracellulaires (e1, e2, e3). En outre, leur extrémité N-terminale est toujours extracellulaire (eNT) et leur extrémité C-terminale toujours intracellulaire (iCT). Cette dernière peut être phosphorylée sur différents résidus par la kinase A, la protéine kinase C ou les GRK (G-protein-receptor kinase). Elle possède (l'extrémité C terminale) parfois des sites d'ancrages lipidiques dans la membrane (création d'une quatrième boucle, I4) qui résultent d'une modification réversible de cystéines par palmitoylation.

Les boucles e1 et e2 sont généralement connectées entre elles par un pont disulfure entre des cystéines de chacune d'elles. Un tel pont limite les mouvements des segments TM3 et TM4 l'un par rapport à l'autre. Des sites de glycosylation potentiels sont situés sur l'extrémité N-terminale externe (**fig. 14**).

Le domaine transmembranaire forme le cœur de la structure de ces récepteurs et ses transconformations jouent un rôle majeur dans la transduction du signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule.

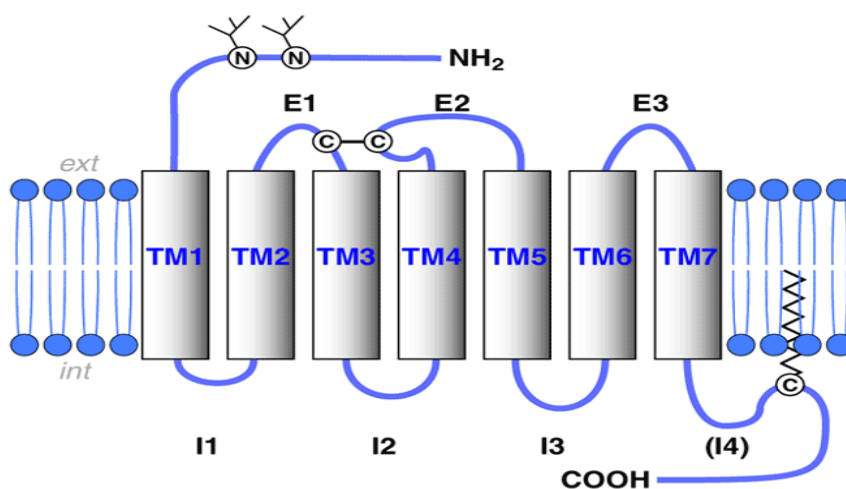


Figure 14 : Structure générale des RCPG.

b) Classification

De manière plus générale, les GPCR référencés chez l'humain peuvent être séparés selon 3 grandes classes :

- la classe A qui regroupe les récepteurs similaires à la rhodopsine ;
- la classe B qui regroupe les récepteurs similaires au récepteur de la sécrétine
- la classe C qui regroupe les GPCR apparentés au récepteur du glutamate.

De plus, les classes B et C peuvent se subdiviser pour donner respectivement la classe des récepteurs d'adhésions et la classe des récepteurs Frizzled, permettant de former le système de classification GRAFS (Glutamate, Rhodopsine, Adhésion, Frizzled/Taste2 et Sécrétine) le plus récent à ce jour (**Fig. 15**).

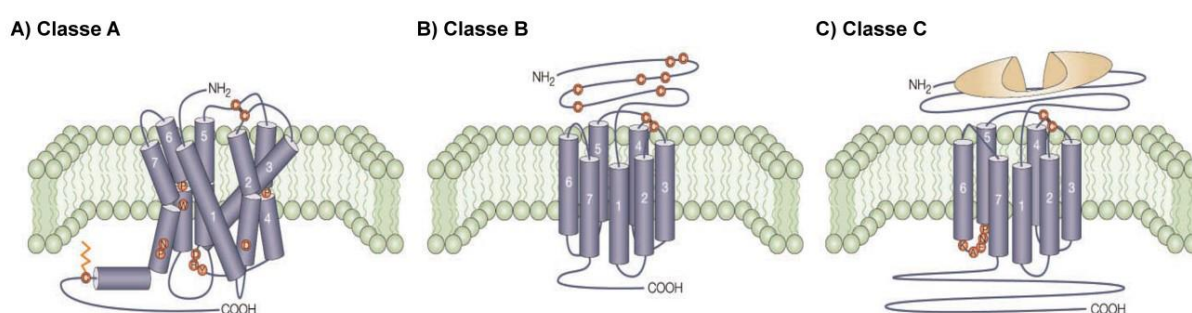


Figure 15 : Organisation structurale des GPCR. Représentation schématique de la structure générale des principales classes de GPCR : la classe A (A) la classe B (B) et la classe C (C).

c) Mécanisme d'action

Schématiquement, tous les groupes de GPCR agissent selon le même schéma (**Fig. 16**):

- La fixation des ligands (décrit comme premier messager) sur le récepteur provoque l'activation d'un transducteur, une protéine G, qui transduit le signal à un effecteur, lequel peut être soit une enzyme comme **adénylate cyclase**, soit un **canal ionique**. Ainsi, les récepteurs couplés aux protéines G règlent l'activité d'une autre **protéine cible** de la membrane plasmique.
- A l'état inactif, les protéines G hétérotrimérique sont situées dans le cytoplasme sous membranaire, elles se composent de **3 sous unités différents (α , β , σ)**. La sous unité α ($G\alpha$) est associée au GDP (guanosine diphosphate). En effet, L'interaction $\alpha\beta\gamma$ est plus forte quand α est sous la forme GDP, l'échange par le GTP réduit l'affinité de α pour le dimère $\beta\gamma$.
- L'activation de récepteur **stimule la libération du GDP** qui sont remplacé par le GTP. Le complexe formé par le récepteur, le complexe $\beta\sigma$ et la S/U $G\alpha$ -GTP, se dissocie. $G\alpha$ -GTP libérée s'associe à l'adényl cyclase (ou un canal ionique) et **l'active**.

Cycle GDP / GTP : L'hydrolyse du GTP en GDP (activée par la protéine GAP) sépare la sous-unité α de son effecteur et permet de recréer le trimère $\alpha\beta\gamma$.

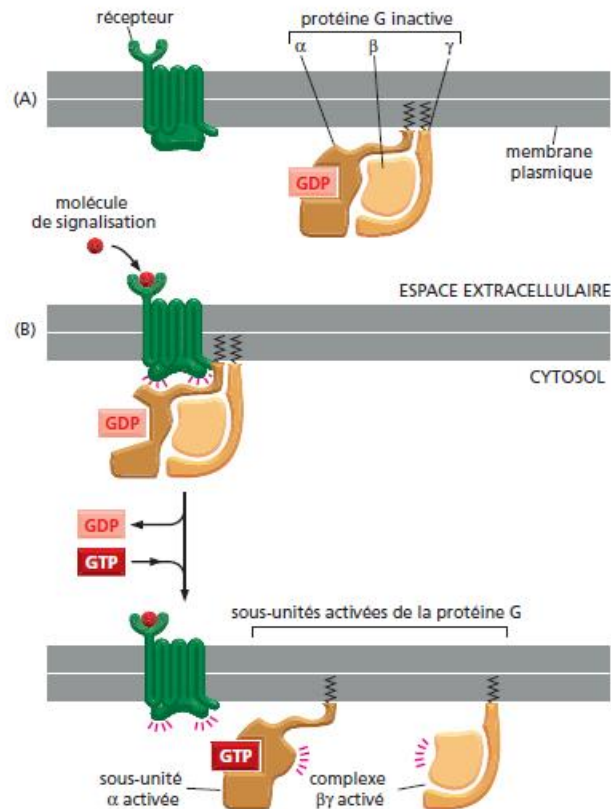


Figure 16 : Activation de récepteurs membranaires couplés aux protéines G.

d) Les effecteurs activés par la sous-unité $G\alpha$

Les protéines dont la fonction est régulée par un RCPG (effecteurs) sont très nombreuses, les plus connues étant l'adénylate cyclase, les phospholipases ou les canaux ioniques (sodium, calcium, ...). On peut également évoquer des kinases (tyrosines, Ark, ...) ou bien les protéines Rho. De plus, ces effecteurs libèrent par la suite des messagers secondaires (AMP cyclique, inositol triphosphate, ...) qui induisent eux-mêmes d'autres effets, et peuvent également déclencher d'autres voies de signalisation.

➤ **L'adénylate-cyclase (AC)**

L'AC est une enzyme membranaire qui synthétise le AMPc (adénosine 3-5 mono-phosphate cyclique) à partir de l'ATP (Adénosine TriPhosphate) (**Fig. 17** et **Fig.18**). La réaction nécessite du magnésium (Mg^{2+}) et provoque la libération de pyrophosphate (PPi).

L'AMPc joue le rôle de messager secondaire en devenant à son tour un activateur allostérique de plusieurs effecteurs intracellulaires, dont le plus connu est la PKA.

La protéine kinase A (PKA) est une protéine cytoplasmique organisée en tétramères (holoenzyme), composée de **deux sous-unités catalytiques** (qui lui permet de réaliser ses fonctions) et **deux sous-unités régulatrices**. La liaison de (AMPc) sur les sous-unités

régulatrices ($R_{I\alpha}$ et $R_{II\alpha}$) entraîne la libération des sous-unités catalytiques qui vont pouvoir exercer leur activité sur différents substrats.

Les PKA sont impliquées dans de nombreuses fonctions cellulaires et, en particulier, dans la régulation du métabolisme, le cycle de progression cellulaire, la mémoire et l'apoptose.

Leur activation dépend du taux d'AMPc qui, lui, est régulé par différentes adénylates cyclases et phosphodiéstérases. Cette activation dépend également de protéines d'échafaudage (*scaffold protein*) appelées *A-kinase anchoring proteins* (AKAP) qui compartimentalisent la PKA dans des régions cellulaires précises.

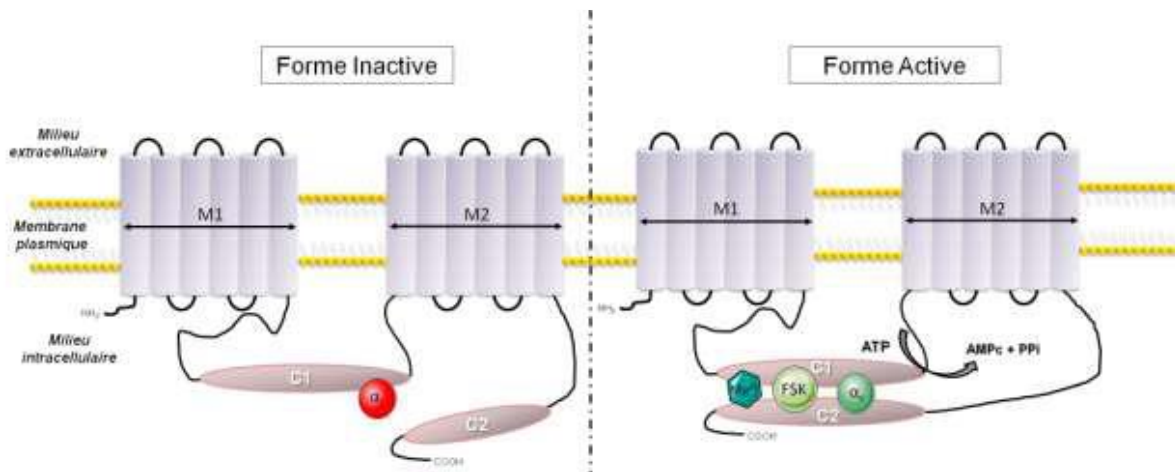


Figure 17 : Structure de l'Adénylate Cyclase.

L'AC est une protéine ancrée dans la membrane cellulaire par douze domaines transmembranaires répartis en 2 régions M1 et M2. Le cœur catalytique de l'AC est formé par le rapprochement des domaines cytoplasmiques C1 et C2. L'ATP se fixe au niveau des sites de liaisons localisés sur le domaine C1 (domaine catalytique) où il sera hydrolysé en AMPc + pyrophosphate (PPI). Le domaine C2 est le domaine régulateur où se trouve le site de liaison des sous-unité α de la protéine G ainsi que des sites de liaison de la forskoline (FSK) ou encore du magnésium. La sous-unité de type α_i inhibe l'AC en empêchant que le cœur catalytique soit formé. A l'inverse la sous-unité de type α_s stimule la formation de ce cœur catalytique en favorisant le rapprochement des domaines C1 et C2.

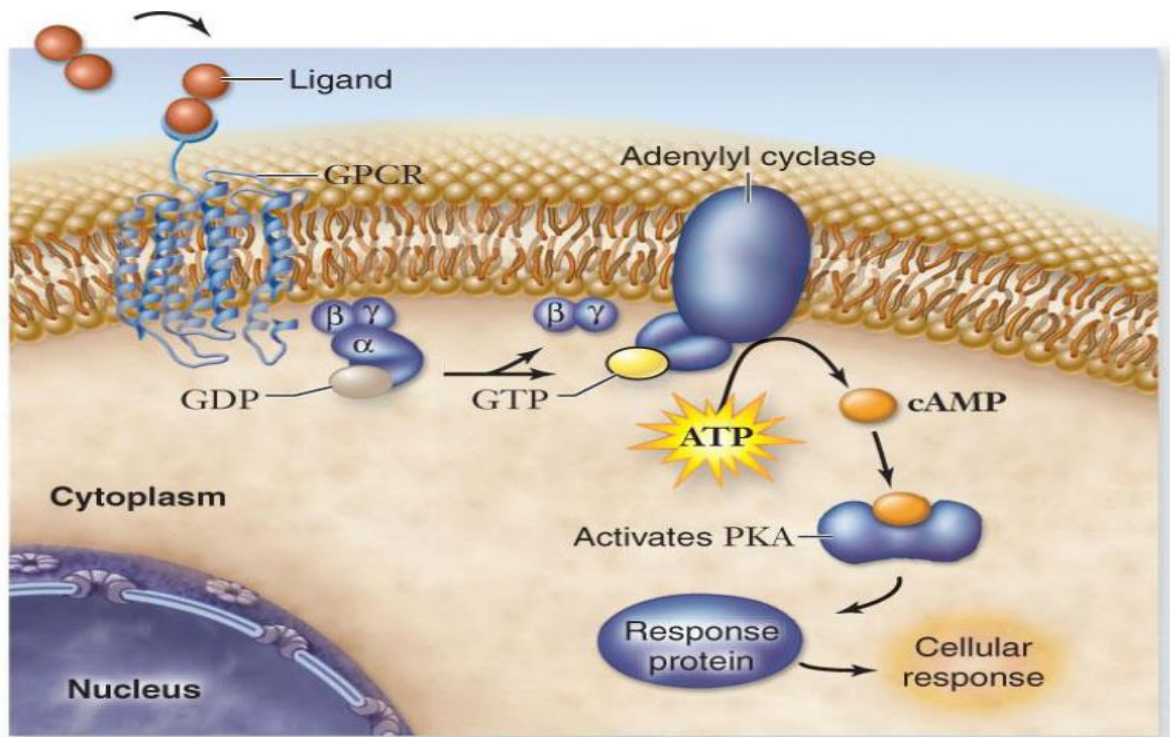


Figure 18 : Mécanismes d'activation catalytique de l'AC.

➤ Les phospholipases C (PLC)

Les phospholipases C (PLC) sont des enzymes indispensables dans la transmission des signaux cellulaires via l'hydrolyse des phospholipides membranaires et régulent, par exemple, l'activité de protéines et de canaux ioniques. Les PLC génèrent des seconds messagers tels que le DAG et l'IP₃ qui vont respectivement activer la protéine kinase C (PKC) et augmenter le Ca²⁺ intracellulaire.

Les PKC une famille d'enzymes de type protéine kinase qui sont impliquées dans le contrôle de la fonction d'autres protéines par la phosphorylation des groupes hydroxyles des résidus d'acides aminés sérine et thréonine sur ces protéines.

e) Les effecteurs activés par le complexe $\beta\gamma$

Le dimère G $\beta\gamma$ est impliqué dans l'activation de nombreux effecteurs tels que : l'AC, la PLC (Phospholipase C), la calmoduline, les canaux calciques, la protéine kinase D (PKD), la tubuline, le phosphatidyl-inositol, d'activateur direct des canaux potassiques de la rectification entrante (GIRK).

I.1.2. Les récepteurs couplés aux canaux ioniques

La conduction de l'influx nerveux, qui est une voie majeure de signalisation des organismes pluricellulaires, fait appel à des canaux ioniques disposés au niveau de la membrane plasmique des cellules excitables. L'ouverture et la fermeture de ces canaux sont commandées par le degré de polarisation des membranes et ils sont dits pour cela dépendant du voltage. Au niveau des synapses, la transmission de l'influx nerveux d'un neurone à un autre ou à une cellule

musculaire se fait grâce à la libération, dans la fente synaptique, de transmetteurs qui activent l'ouverture de nouveaux canaux ioniques. (**Fig. 19**). Les neurones qui libèrent des neurotransmetteurs sont appelés neurones présynaptiques. Les neurones qui reçoivent des signaux de neurotransmetteurs sont appelés neurones post-synaptiques (**Fig. 20**).

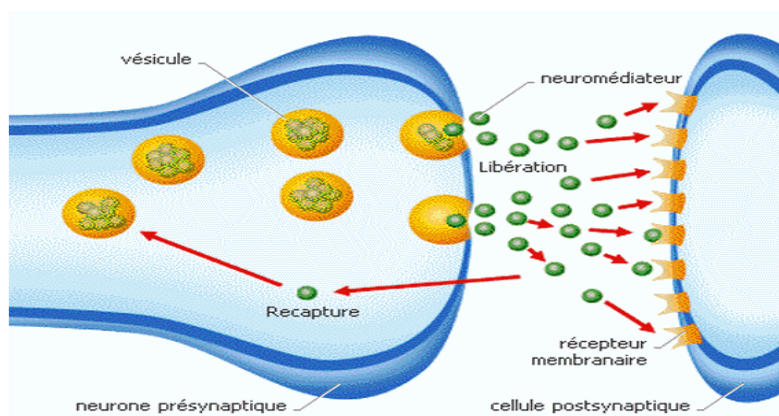


Figure 19 : Fente synaptique.

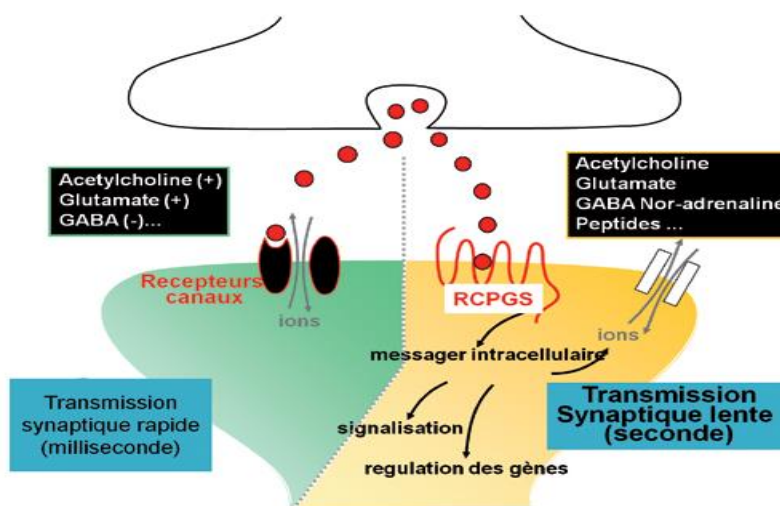


Figure 20 : Schéma d'une synapse et des deux principaux types de récepteurs : les récepteurs canaux (à gauche) et les récepteurs membranaires couplés aux protéines G (à droite). En haut : neurone pré-synaptique, en bas : neurone post-synaptique.

Les récepteurs-canaux ou récepteurs ionotropiques sont des protéines transmembranaires qui vont exciter ou inhiber un neurone ou plus généralement une cellule excitable en modifiant leur perméabilité aux ions.

Les récepteurs couplés à un canal ionique, laissent passer à travers la membrane, un flux d'ions qui produit un courant électrique. Ces canaux sont aussi appelés canaux ioniques à ouverture contrôlée par un transmetteur. L'interaction du signal chimique avec le site de liaison du récepteur provoque l'ouverture ou la fermeture d'un pore du canal ionique dans une autre partie de la même molécule. Les canaux ioniques sont présents dans la membrane de toutes les

cellules. Ils ont un rôle central dans la physiologie des cellules excitables comme les neurones ou les cellules musculaires et cardiaques.

Les neurotransmetteurs à action rapide, activent des récepteurs-canaux situés, le plus souvent, au niveau post-synaptique. L'ouverture du canal crée un « tapis roulant », un flux d'ions à travers la membrane. Pour les récepteurs du glutamate, de l'acétylcholine, de l'ATP ou de la sérotonine qui sont perméables aux ions positifs (cations), leur ouverture provoque une entrée nette de charges positives (on parle de courant entrant) qui dépolarise la membrane cellulaire. Ces courants entrants augmentent l'excitabilité neuronale et sont dits excitateurs.

Les récepteur canaux ont pour ligands : des neurotransmetteurs, acétylcholine, sérotonine, acides aminés, nucléotides puriques (ATP)...etc.

a) Les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine

Les récepteurs nicotiques (nAChRs) sont des récepteurs ionotropes (ont une action sur la perméabilité ionique) appartenant à la superfamille des récepteurs pentamériques à boucle cystéine, Ils sont composés de 5 sous unités identiques ou hétérologues (2α , 1β , 1γ , 1δ , 1ε) arrangées d'une manière à former un canal ionique (**Fig.21**). **La fixation d'une molécule d'ACh sur chacune des deux sous-unités α provoque l'ouverture du canal et une dépolarisation de la plaque motrice.** Ces récepteurs-canaux sont présents dans la plupart des cellules du corps humain. Ils sont activés par l'acétylcholine, leur ligand endogène, mais aussi par la nicotine chez les fumeurs.

La stimulation des nAChRs induit un influx calcique soit directement via les nAChRs, soit à travers un changement de potentiel membranaire qui mène à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. Cette stimulation assure une transmission rapide du signal notamment au niveau des synapses et l'activation de nombreuses voies de signalisation.

L'acétylcholine est synthétisée à partir de la choline qui provient de l'alimentation mais est aussi synthétisée par le foie sous forme de phosphatidylcholine. Cette dernière molécule est présente en grande quantité dans la membrane des axones des neurones ce qui fait de cette molécule un composant très important du cerveau et des nerfs. La choline va être associée directement au niveau des fibres nerveuses à l'acétyl-coenzyme A pour donner de l'acétylcholine. Cette réaction consomme de l'énergie et est catalysée par la choline-acyltransférase.

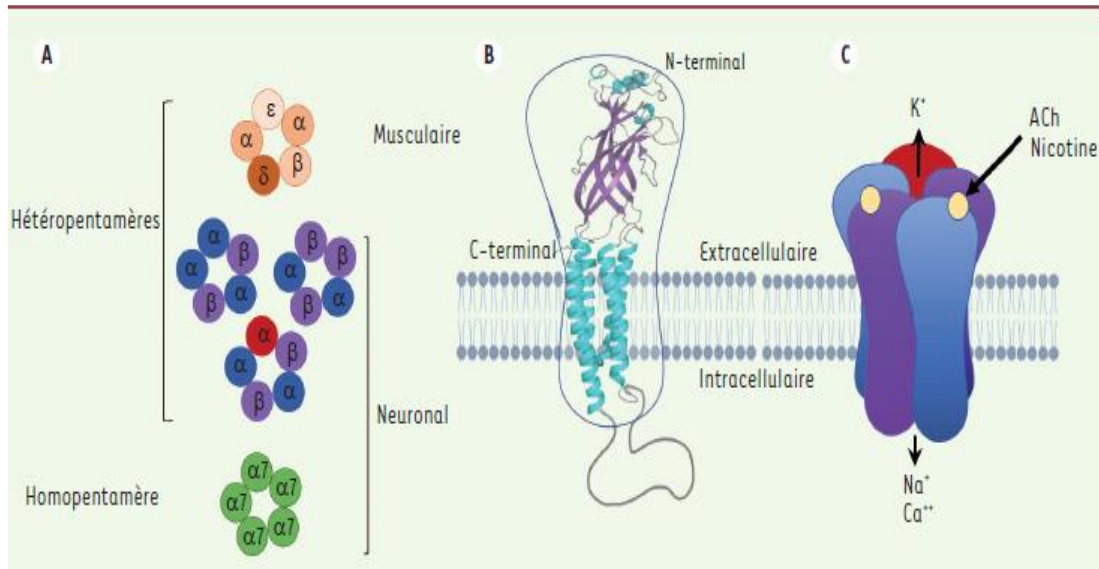


Figure 21 : Structure et assemblage des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine. A. Représentation des différents assemblages de sous-unités nicotiniques. B. Représentation schématique d'une sous-unité de récepteur nicotinique avec ses quatre hélices intramembranaires, son domaine extracellulaire N-terminal, son extrémité C-terminale et son long domaine intracellulaire. C. Modèle d'assemblage des pentamères avec les sites de liaison de ligands, comme l'acétylcholine (ACh) ou la nicotine, et l'ouverture du canal cationique après activation du récepteur par le ligand.

Il existe deux isotopes des récepteurs nicotiniques :

- 1) **les récepteurs de type musculaire** que l'on retrouve au niveau des jonctions neuromusculaires des muscles somatiques, composés de 2 sous-unités α d'une sous-unité β , d'une sous-unité γ ou ϵ et d'une sous-unité δ .
- 2) **les récepteurs de type neuronal** qu'on retrouve au niveau du système nerveux central et périphérique et dans les cellules non-neuronales comme les cellules épithéliales respiratoires (bronchiques, alvéolaires, glandulaires etc..).

- **Rôle des récepteurs nicotiniques (nicotiniques neuronaux)**

Les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) de type neuronal jouent un rôle essentiel dans la communication entre les neurones. Ils assurent la transformation d'un message chimique, l'acétylcholine, en un message électrique et sont impliqués dans des processus cognitifs variés.

Ce récepteur, distribué partout dans le cerveau, tient son nom d'un de ses agonistes, la nicotine, un alcaloïde du tabac reconnu pour ses propriétés de dépendance. La grande diversité de ces récepteurs et leur présence ubiquitaire dans le cerveau sous-tendent leur rôle de neuromodulateur.

Les dysfonctionnements associés au système nicotinique sont multiples mais l'un des plus importants a pour origine la consommation de nicotine via le tabac. L'effet primaire de la

nicotine sur le système nerveux central (SNC) est de se lier à ces récepteurs, modifiant ainsi l'activité électrique des neurones

Les nAChR neuronaux jouent un rôle modulateur important dans l'apprentissage, la mémoire et l'attention, et sont impliqués dans de nombreuses pathologies aussi variées que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, l'épilepsie, la schizophrénie ou encore l'addiction à la nicotine.

b) **Les récepteurs GABA (acide γ -aminobutyrique)**

Le GABA fait partie des acides aminés de structure simple, mais dont le rôle est essentiel dans le monde vivant. C'est un neurotransmetteur, il module l'activité du système nerveux central (SNC), inhibiteur à l'âge adulte et excitateur du développement embryonnaire chez l'Homme.

Le GABA est formé à partir de glutamate sous l'action de la décarboxylase de l'acide glutamique au niveau des mitochondries.

Il agit sur trois types de récepteurs : **GABA A**, **GABA B** et **GABA C**.

- Les récepteurs GABA A et GABA C sont **ionotropiques** (fait partie de la famille des récepteurs à canaux ioniques) et la fixation du GABA sur ces protéines ouvre un canal ionique qui permet un flux entrant d'ion chlorure, ce qui hyperpolarise le neurone.

Le récepteur GABA B est couplé à une protéine G ; son activation est liée à différentes voies intracellulaires qui contribuent à l'inhibition de l'activité neuronale.

En effet, le récepteur GABA B est un hétéro-dimère, constitué de deux sous-unités et présentant deux isoformes. **C'est un récepteur métabotrope**, car le flux d'ions qu'il induit dépend des étapes métaboliques en activant des protéines transductrices dites protéines G, dans ce cas G_o ou G_i , liant le guanosine triphosphate (GTP). Les protéines G peuvent ainsi modifier les propriétés des canaux ioniques calciques, potassiques, etc., directement ou indirectement par activation de diverses voies intracellulaires.

I.1.3. Les récepteurs cytokines

Le développement de la réponse immunitaire met en œuvre des cellules lymphocytaires, des cellules inflammatoires ainsi que des cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques. Ces interactions entre les cellules sont complexes et sont médiées par un groupe de protéines collectivement appelé les cytokines qui désignent leurs rôles dans la communication cellule-cellule et leurs participations à la régulation du développement des effecteurs immunitaires.

Les cytokines sont des facteurs solubles de communication intercellulaire, qui permettent le dialogue entre différents organes, elles sont une sorte de messagers. Ce sont des médiateurs moléculaires des grands mécanismes physio-pathologiques : réactions inflammatoires ou immunitaires, cancer,.....etc.

Les cytokines sont produites majoritairement après activation cellulaire (cellules immunitaires ou mésenchymateuses), puis secrétées, transportées via le flux sanguin vers d'autres systèmes

et reconnues par des récepteurs spécifiques ou non. Elles contrôlent et sont impliquées dans les principales fonctions biologiques et cellulaires : prolifération, différenciation, apoptose ...

a) Définition des cytokines

Les cytokines constituent un réseau extrêmement complexe d'une centaine de molécules de nature protéique ou glycoprotéique de faible taille moléculaire (PM : 15-60Kda). Elles sont synthétisées de novo en réponse à une activation spécifique (Ag) ou non spécifique (mitogènes).

Ces molécules peuvent être solubles ou membranaires. Elles sont sécrétées par des leucocytes et par diverses autres cellules en réponse à de nombreux stimuli, elles agissent sur plusieurs cellules cibles et induisent des actions variées. Exemple : Les cytokines produites par le lymphocyte T helper (LTH) activé peuvent activer les LB, les LT cytotoxique, les NK, les macrophages, les granulocytes et les cellules hémo-poétiques. Ils activent ainsi tout un réseau d'interactions cellulaires.

La cytokine a surtout un rôle systémique donc à distance du site de production. Certaines cytokines sont sécrétées et véhiculées par le système, et d'autres cytokines, à l'inverse sont stockées soit dans la cellule productrice soit dans la matrice de la cellule et va donc avoir une action uniquement autocrine ou paracrine.

Le terme cytokine est un terme général utilisé pour décrire ce groupe important de protéines, mais il y a d'autres termes qui sont couramment utilisés pour décrire certains types de cytokines. Il s'agit notamment de:

Monokines: cytokines produites par les phagocytes mononucléés (monocytes, macrophages).

Lymphokines : cytokines produites par des lymphocytes activés, notamment les cellules Th.

Interleukines : cytokines agissant comme médiateurs entre leucocytes.

Chimiokines : petites cytokines responsables de la migration des leucocytes.

Deux propriétés essentielles des cytokines :

La Redondance : Des cytokines différentes peuvent avoir des actions identiques.

La Pléiotropie : Une cytokine donnée peut agir sur plusieurs types cellulaires différents.

Une cytokine donnée peut avoir des effets différents en agissant sur une cellule donnée.

On décrit différents modes d'action aux cytokines :

- **Mode autocrine,** la cytokine agit sur la cellule productrice.
- **Mode juxtacrine,** la cytokine agit localement sur des cellules adjacentes à la cellule productrice.
- **Mode paracrine,** la cytokine agit localement dans le voisinage de la cellule productrice.
- **Mode endocrine,** la cytokine agit sur sa cellule cible à distance de la cellule productrice, après passage par la circulation sanguine.

b) Classification des cytokines

Les cytokines sont classées en plusieurs manières selon plusieurs critères. Leur classification reste difficile, car la majorité des cytokines ont encore différentes appellations. Parmi ces types de classification y a celle qui se base sur des homologies structurales des domaines de liaison de cellules extracellulaires aux cytokines et le type de signalisation intracellulaires induite :

Récepteurs de cytokines de type 1, récepteurs de cytokines de type 2, récepteur du facteur de nécrose tumorale, famille des récepteurs de l'interleukine 1 (IL-1). La famille de récepteurs de cytokines de type 1 comprend les récepteurs de l'IL-2, de l'IL-3, de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15. Les récepteurs des cytokines de type 1 sont également connus sous le nom de récepteurs de l'hématopoïétine.

c) Structure des récepteurs cytokines

Les récepteurs de cytokines sont en général composés de structures oligomériques qui sont des homodimères (c'est-à-dire l'association de 2 structures identiques comme pour les facteurs de croissance) ou des hétérodimères avec une chaîne α et une chaîne β , ou des hétéro-oligomères avec 2 chaînes α et deux chaînes β ou une chaîne α , une chaîne β , et une chaîne γ .

Les récepteurs des cytokines sont des protéines membranaires à un seul domaine transmembranaire et ayant leur partie N-terminale du côté extracellulaire.

Ils sont caractérisés par la présence de résidus cystéine du côté N-terminal du domaine extracellulaire et d'un motif à deux tryptophanes et deux sérines (WSXWS) du côté C-terminal de ce même domaine (Fig. 22). En effet, les récepteurs de cytokines possèdent la même structure que les récepteurs à activité tyrosine kinase. Cependant, les domaines cytoplasmiques (intracellulaire) de récepteurs de cytokines n'ont pas d'activité catalytique mais plusieurs domaines assez conservés, en particulier la Box 1, proche du domaine transmembranaire, caractérisée par la présence d'un motif de huit acides aminés, riche en proline, et la Box 2, faite d'un groupe d'acides aminés hydrophobes prolongeant l'hélice α du domaine transmembranaire, suivi d'une série d'acides aminés chargés et de résidus tyrosine destinés à recevoir un groupement phosphate.

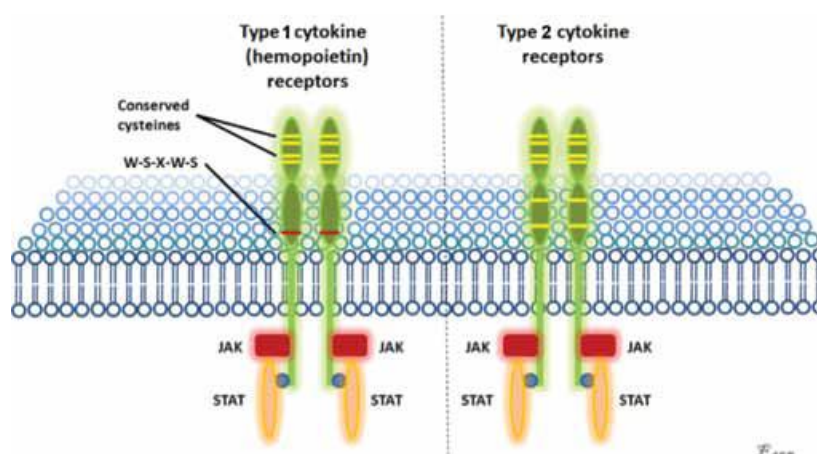


Figure 22 : La structure des récepteurs cytokine de type 1 et de type 2.

d) La liaison cytokine-récepteur et la transduction du signal

- Chaque cytokine peut reconnaître un ou plusieurs récepteurs spécifiques de haute affinité, soit membranaire, soit soluble dans le milieu extracellulaire.
- L'interaction cytokine/récepteur induit un signal intracellulaire (activant différentes voies de signalisation intracellulaires) qui modifie le comportement de la cellule (expression génique).
- Les réponses cellulaires à l'action des cytokines s'expriment par l'augmentation ou la diminution d'expression des protéines membranaires (y compris les récepteurs aux cytokines), par la différenciation, l'activation, la prolifération ou la mort cellulaire et la sécrétion de molécules effectrices.
- Les récepteurs de ces molécules ne possèdent pas d'activité tyrosine kinase, **mais sont couplés à une tyrosine kinase intracytoplasmique** qui assure, après activation du récepteur, la transduction d'un message aboutissant à la transcription de gènes cibles. En effet, Plusieurs tyrosine kinases appartenant à deux familles différentes, les kinases de type Jak (acronyme de Just another kinase) et les kinases de type Src, semblent activées par un même récepteur de cytokine avec des connexions vers la voie des MAP kinases et celle de la PI3 kinase.
 - La première étape de la signalisation des récepteurs de cytokine est **la dimérisation de récepteur** induite par la fixation du ligand et la phosphorylation croisée de tyrosine kinase non réceptrices associée.
 - La dimérisation **activent les JAK** qui, alors, phosphorylent des activateurs de transcription appelée STAT (sont des protéines traductrices) (Signal traducer and activation of transcription). Les STAT pénètrent dans le noyau en induisant la transcription de différents gènes cellulaires (exemple : l'IL-6 et les Interférons) (**Fig. 23**).

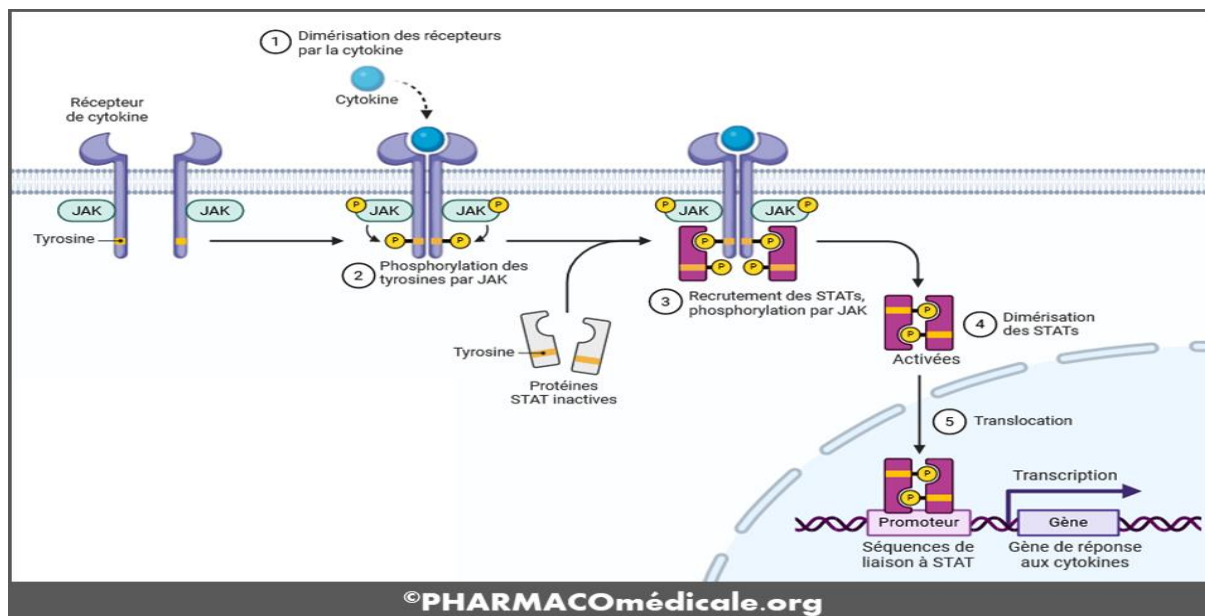


Figure 23 : Signalisation par le système JAK/STAT.

I.2. Les récepteurs à activité enzymatique (RE)

Le séquençage du génome humain (Human Genome Project) a révélé qu'environ 20% des 32000 gènes humains codent des protéines impliquées dans la transduction du signal.

Ces protéines sont des récepteurs transmembranaires, des sous-unités des protéines G et des enzymes impliqués dans la génération de signaux. Parmi ces protéines, plus de 520 sont des protéines kinases et 130 des protéines phosphatases, qui exercent un contrôle rigoureux et réversible sur la phosphorylation. Ces enzymes ont une activité catalytique spécifique des tyrosines ou des sérines/thréonines, etc.

Les récepteurs à activité enzymatiques sont des protéines transmembranaires monomériques ayant un domaine de liaison extracellulaire et un domaine catalytique intracellulaire activé par la liaison du ligand (**Fig. 24**) par exemple un facteur de croissance (PDGF: Platelet-Derived Growth Factor), facteur de croissance dérivé des plaquettes), EGF (Epidermal Growth Factor, facteur de croissance épidermique) ou l'insuline, **déclenchant ainsi un développement d'une activité enzymatique** intracellulaire exp: kinases, phosphatases, guanylate cyclase, sphingomyélinases.

-Les récepteur couplés à une enzyme (activité intrinsèque) sont :

Récepteurs à activité tyrosine kinase : Exemples : récepteurs de l'insuline, du VEGF.

Récepteurs sérine / thréonine kinase : Exemples : récepteurs du TGF et des BMP.

Récepteurs guanylate cyclase etc... Exemples : récepteurs de l'ANP et du BNP.

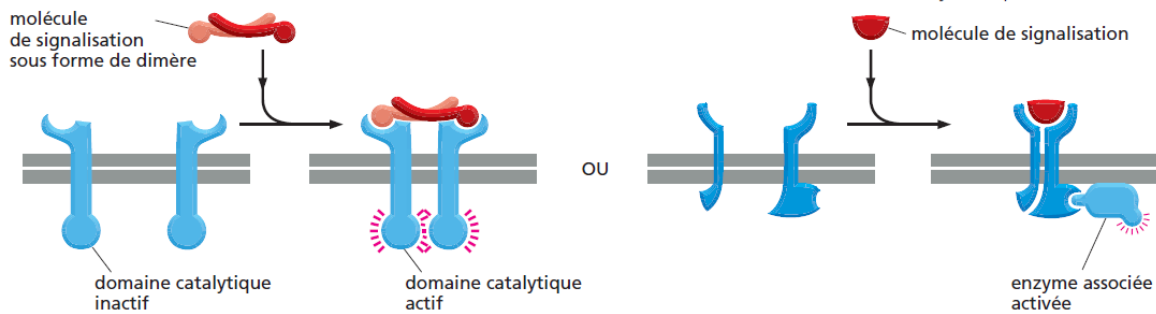


Figure 24 : Structure d'un récepteur couplé à une enzyme.

La liaison d'une molécule de signalisation à un récepteur couplé à une enzyme déclenche l'activité de l'enzyme située à l'autre extrémité du récepteur, à l'intérieur de la cellule. De nombreux récepteurs couplés à une enzyme ont une activité enzymatique propre (à gauche), mais d'autres fonctionnent avec des enzymes qui leur sont associées (à droite).

I.2.1. Les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK)

Sont des récepteurs de surface cellulaire liés à des enzymes. Une kinase est une enzyme qui transfère des groupes phosphates de l'ATP à une autre protéine. Les tyrosines kinases sont une sous-classe de la protéine kinase. Le groupe phosphate est attaché à l'acide aminé tyrosine sur la protéine.

L'activité tyrosine kinase est localisée soit au niveau de la partie intracellulaire du récepteur qui s'autophosphoryle lors de l'activation par le ligand (récepteurs à tyrosine kinase intrinsèque - RTK) soit à l'intérieur du cytoplasme (récepteurs à tyrosine kinase associée).

La phosphorylation de la tyrosine a comme fonction principale la régulation de signaux intercellulaires aboutissant à la croissance, la différenciation, le métabolisme, l'adhésion, la motilité et mort cellulaire par apoptose.

Les protéine-kinases phosphorylent des protéines spécifiques sur des résidus d'acides aminés comme la sérine, la thréonine ou la tyrosine.

Les RTKs sont classés en 20 familles selon la structure de leurs domaines extracellulaire et intracellulaire. Parmi ces différentes familles, on distingue les récepteurs à l'insuline (IR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'épiderme (EGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance des plaquettes (PDGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR) et les récepteurs aux facteurs de croissance des fibroblastes (FGFR).

a) Structure des RTK

Tous ces récepteurs ont une structure globale et des mécanismes d'activation relativement similaires. Les RTKs sont des glycoprotéines membranaires composées d'un site de fixation du ligand appartenant au domaine extracellulaire relié au domaine cytoplasmique par une simple hélice transmembranaire de 20 acides aminés. L'activité enzymatique (le domaine à activité tyrosine kinase) est localisée dans le cytoplasme et permet le transfert du phosphate γ de l'ATP vers l'hydroxyle des tyrosines des protéines cibles et/ou du récepteur lui-même. C'est ce qu'on appelle l'autophosphorylation.

-La région extracellulaire est très variable entre les RTKs. On peut y retrouver par exemple, des domaines riches en cystéine ou en leucine, des domaines Immunoglobulin-like (Ig) ou encore des domaines fibronectine de type III. Ce sont ces différents domaines qui vont conférer aux RTKs leur spécificité de liaison au ligand.

-La région cytoplasmique contient quant à elle **un domaine kinase** très conservé entre les RTKs. Après liaison avec leur ligand, les RTKs vont **se dimériser, et s'autophosphoryler** entraînant un changement conformationnel responsable de leur activation. C'est dans cette nouvelle forme active qu'ils vont pouvoir initier l'activation de différentes voies de signalisation comme la voie des MAPK (mitogene-activated protein kinase), PI3K (phosphoinositide-3 kinase) et SRC (sarcome proto-oncogene).

b) Activation des récepteurs tyrosine kinase et transduction du signal (TKR)

Les TKR généralement, des monomères lorsqu'ils ne sont pas actifs. La fixation d'un ligand, déclenche des interactions et une cascade de réactions dont le composant clé sont la protéine Ras (protéine Ras est une GTPase monomérique qui joue un rôle majeur dans la signalisation des récepteurs à activité tyrosine-kinase).

Les ligands des RTKs sont des molécules extracellulaires diverses regroupant les facteurs de croissance, les facteurs neurotrophiques, les cytokines ou encore les hormones.

Dimérisation du récepteur et autophosphorylation des tyrosines

L'activation du récepteur par la fixation du ligand sur le domaine extracellulaire, déclenche la dimérisation du récepteur (l'activation entraîne alors un changement conformationnel permettant ainsi une augmentation de leur activité tyrosine kinase) et l'autophosphorylation (le transfert du phosphate γ de l'ATP vers l'hydroxyle des tyrosines des protéines du récepteur lui-même) des tyrosines situées dans la partie cytoplasmique. Mais cette phosphorylation s'intéresse également des protéines cibles intracellulaire qui propagent le signal induit par la liaison du ligand (**Fig.25**).

En effet, la **dimérisation concerne la majorité des récepteurs** après fixation de leur ligand (à l'exception des récepteurs qui forment déjà de grands complexes protéiques tels que le récepteur nicotinique de l'acétylcholine). Souvent, le ligand possède deux ou plusieurs sites de liaison ce qui lui permet de regrouper plusieurs récepteurs (dimérisation ou oligomérisation). La dimérisation est nécessaire pour faire passer le signal vers l'intérieur.

Les résidus tyrosines phosphorylés peuvent alors être complexés par les domaines SH2 (**domaine homologue à src de type 2**) ou PTB (**phosphotyrosine binding**) de protéines adaptatrices telles que SHC ou p85 PI3 kinase (**Fig.26**). La protéine SHC est à son tour phosphorylée sur la tyrosine 317, permettant au complexe GRB2/SOS de se fixer et d'activer la voie RAS.

Ces protéines adaptatrices capables de mettre en contact différentes protéines grâce à leurs multiples domaines d'interaction. Ces interactions, réglées par phosphorylation/déphosphorylation, permettent la mise en place d'un réseau d'interactions protéiques indispensables à la transmission du signal.

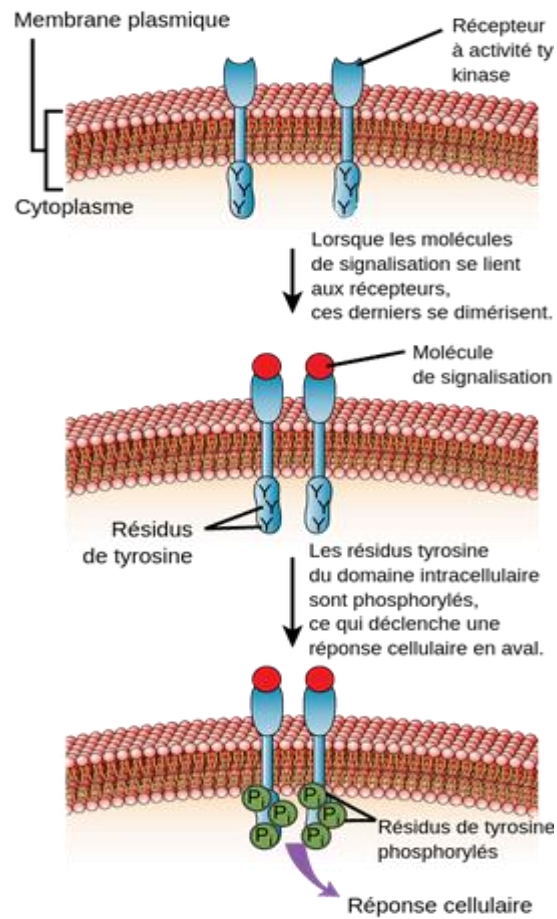


Figure 25 : Dimérisation du récepteur et autophosphorylation des tyrosines.

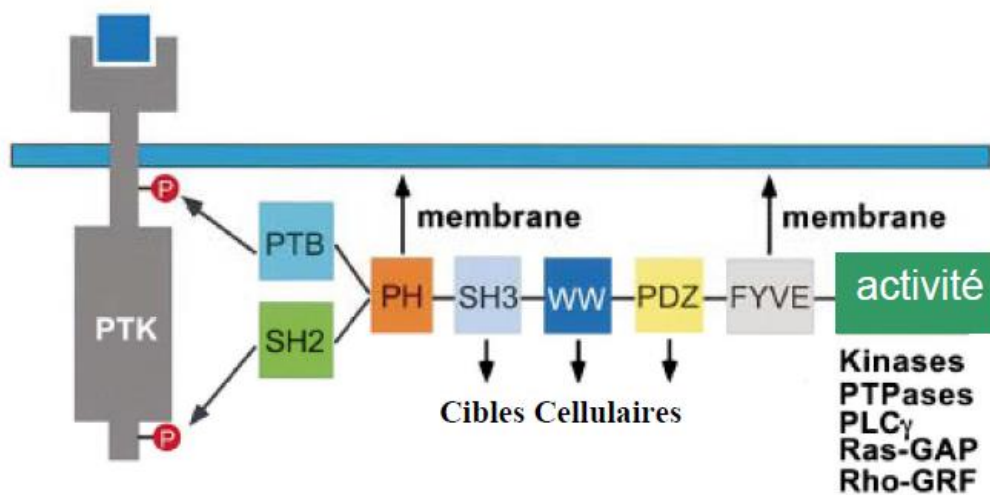


Figure 26 : Modules protéiques intervenant dans le contrôle de la signalisation intracellulaire. Le domaine SH2 se fixe au RTK via une phosphotyrosine, alors que le domaine PTB peut se fixer via une tyrosine phosphorylée ou non.

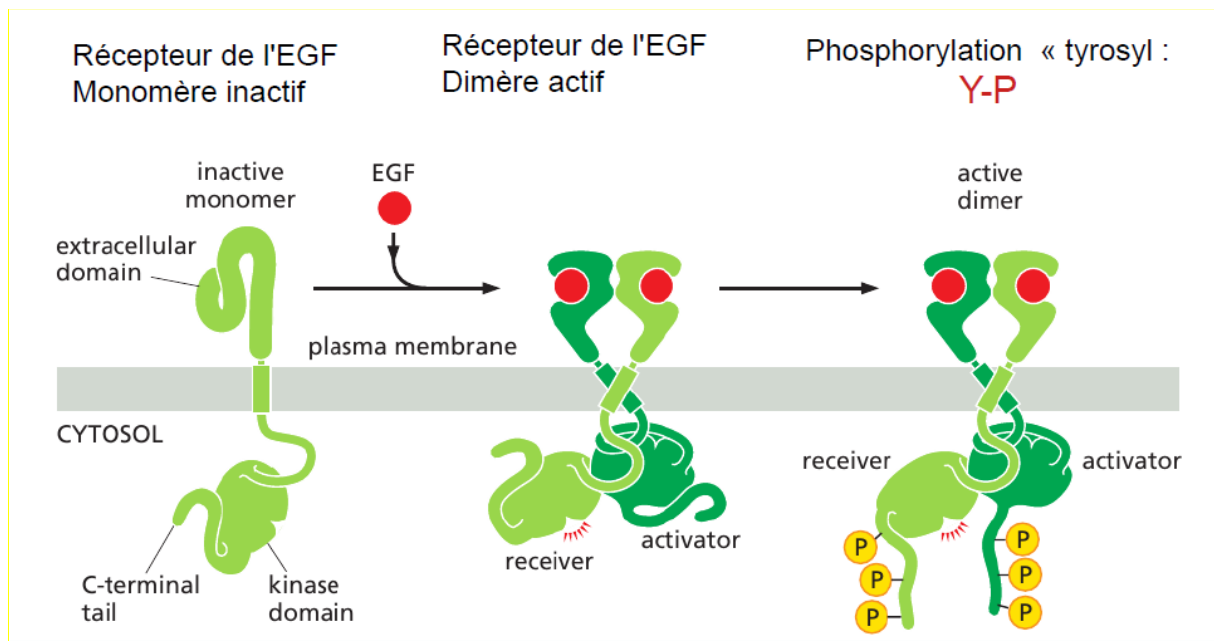


Figure 27 : Activation du récepteur à activité tyrosine kinase par le facteur de croissance épidermique EGF.

I.2.2. Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase (STK)

Les sérine/thréonine kinases sont des enzymes dont la fonction est de catalyser le transfert d'un groupement phosphate de l'ATP vers une protéine substrat et plus précisément sur un acide aminé, sérine ou thréonine. En effet, ce type de récepteur représente une classe d'enzymes impliquées dans la réponse cellulaire au cours de la maturation postnatale. Ils ont un rôle important dans le contrôle de la prolifération la différenciation, la migration et l'apoptose.

a) Structure des récepteurs et des ligands

Les récepteurs STK sont constitués de deux sous unités séparées, activé par la liaison du ligand et par la trans-phosphorylation. Les sous unités possèdent chacun un domaine récepteur extracellulaire, un sel domaine en hélice α transmembranaire et un domaine cytosolique ayant une activité sérine/thréonine kinase.

Parmi les ligands de ce type de récepteurs : Le Facteur de croissance transformant bêta (TGF- β).

b) Mécanisme de fonctionnement

Schématiquement, en absence de ligand, les récepteurs existent sous la forme de monomères. Le ligand se fixe ensuite sur RI dimérique inactif, ce qui rapproche les récepteurs l'un de l'autre. Le récepteurs RII active RI en phosphorylant son domaine cytosolique (Fixation de phosphate sur les sérines et les thréonines). RI peut alors, à son tour, phosphoryle les protéines régulatrices, **les Smad**. Ces facteurs de transcription gagnant le noyau afin d'activer ou inhiber la transcription des gènes spécifiques (**Fig.28**).

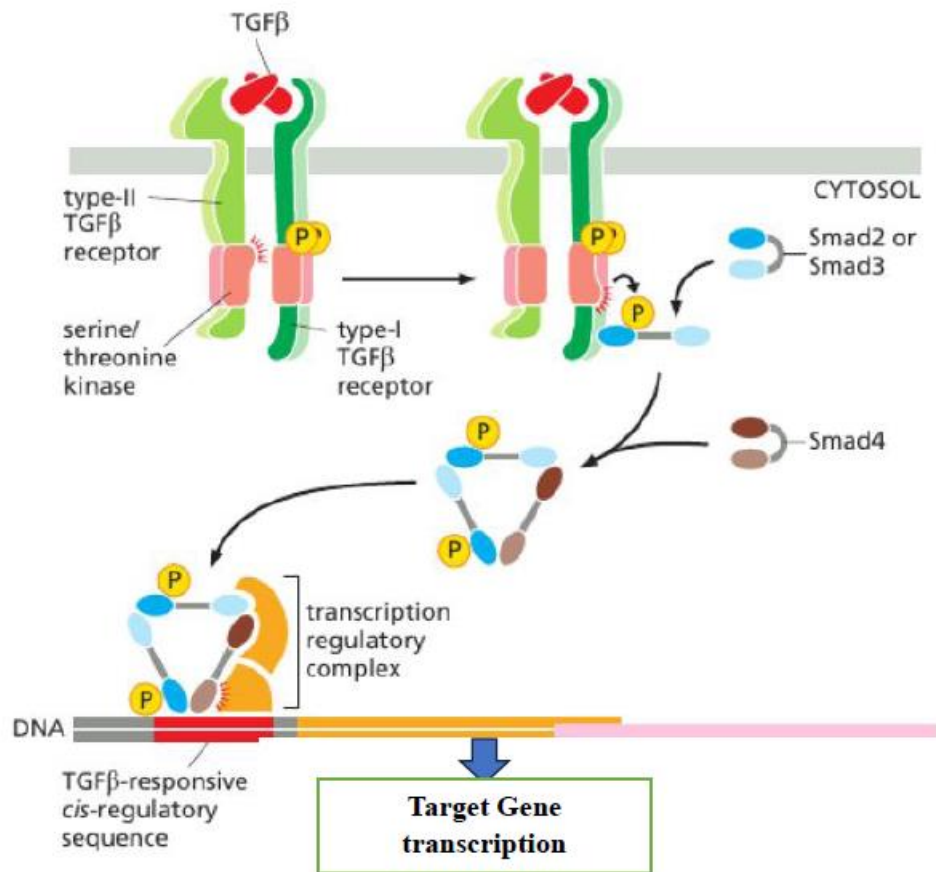


Figure 28 : Voie de signalisation de récepteur STK dépendant de Smad activée par TGF-B.

I.2.3. Récepteurs à activité guanylate cyclase

Sont des protéines transmembranaires, certaines solubles se retrouvant dans la fraction cytosolique des cellules et d'autres associées à la membrane, se retrouvant dans la fraction particulaire.

➤ La guanylate cyclase soluble

Est exprimée dans le cytoplasme de presque toutes les cellules de mammifères. Elle est impliquée dans un large éventail de fonctions physiologiques telles que l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, la relaxation du muscle lisse, la vasodilatation, la transduction du signal neuronale et l'immunomodulation.

-La guanylate cyclase est une enzyme hétérodimérique, formée de 2 sous-unités α et β , toutes deux essentielles à l'activité enzymatique. Chaque sous unité est formée d'un domaine régulateur N-terminal, d'un domaine de dimérisation en hélice et d'un domaine catalytique guanylate cyclase en C-terminal.

La guanylate cyclase soluble est activée par le **monoxyde d'azote (NO)**, dont la liaison augmente l'activité guanylate cyclase de 200 à 300 fois (**Fig.29**). Tout comme les Guanylate cyclase membranaire, elle catalyse la transformation du substrat GTP en GMPC et pyrophosphate (PPi).

Le GMC cyclique a de nombreux effet :

-
- **Directement** : en activant les phosphodiésterases et certains canaux de la membrane plasmique.
 - **Indirectement** : par l'intermédiaire de la protéine Kinase G (PKG) qui par phosphorylation de plusieurs protéines entraîne divers effets.

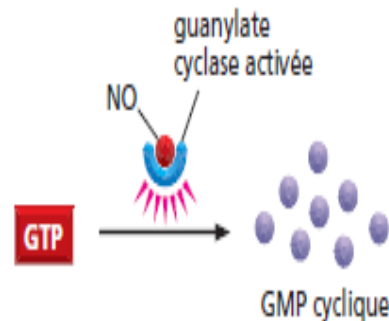


Figure 29 : Une des protéines cibles qui peut être activée par NO est la guanylate cyclase. La cyclase activée catalyse la production de GMPc à partir de GTP.

➤ Les guanylates cyclases membranaires

Il existe 7 isoformes de guanylates cyclases membranaires chez les mammifères ont été clonées : GC-A à GC-G. mais seules les GC-A, -B et -C ont actuellement des ligands et des fonctions bien caractérisées.

Les GC-A et B, plus communément appelés NPRA et NPRB, sont **les récepteurs des peptides natriurétiques**.

La GC-D est présente sur les neurones olfactifs suggérant un rôle de récepteur de molécules odorantes ; elle est activée par l'uroguanyline et par des concentrations faibles en CO₂, via les ions bicarbonates intracellulaires.

La localisation de la GC-E et de la GC-F dans les cellules rétinienne indique un rôle important dans la vision...

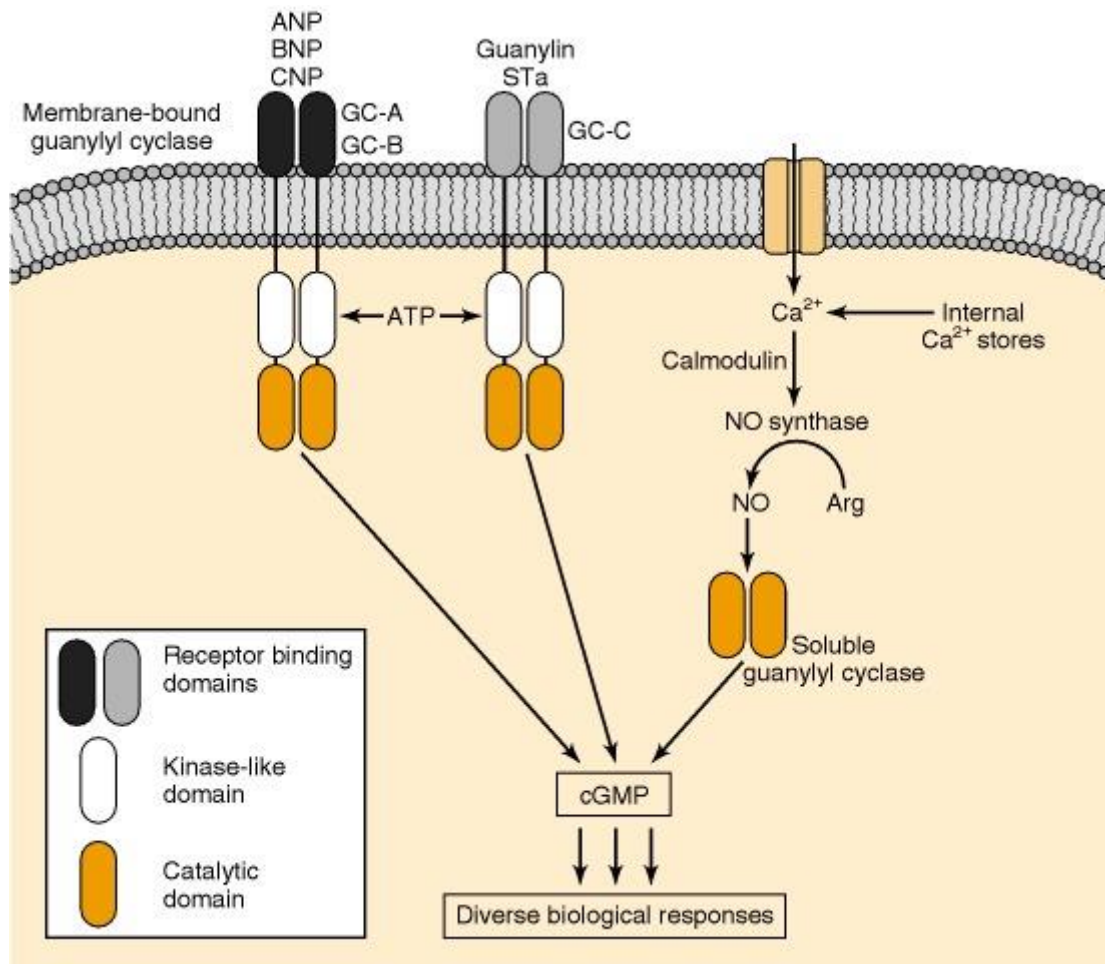


Figure 30 : Illustration schématique de mécanisme par lequel les messagers primaires stimulent la guanylyl cyclase.

❖ Les récepteurs peptidiques natriurétiques

Les peptides natriurétiques (NP) de types B (BNP) et A (ANP) sont les principaux peptides natriurétiques produits par le cœur dans la circulation sanguine et en tant que tels constituent des hormones produites par le cœur fonctionnant comme une glande endocrine.

Chez les sujets normaux, ces hormones agissent en tant que régulateurs intervenant dans l'éhoméostasie circulatoire, en influençant le tonus vasculaire et en augmentant le niveau de diurèse et de natriurèse..

Les peptides natriurétiques de types A et B ont des propriétés endocrines, s'exerçant essentiellement au niveau vasculaire et rénal. Ces effets sont médiés par le récepteur membranaire NPR-A (natriuretic peptide receptor A) (**Fig. 31**).

Le récepteur NPR-A possède une activité guanylate cyclase, responsable de la synthèse de GMP cyclique à l'intérieur des cellules cibles. Il est fortement exprimé dans les vaisseaux et le rein, qui sont les principales cibles physiologiques de l'ANP.

Ces récepteurs sont des homodimères (formée de 2 sous-unités homologues α et β , toutes deux essentielles à l'activité enzymatique) qui possèdent deux domaines cytosoliques : un domaine

cytosolique probablement inactif indispensable pour que la liaison du ligand stimule l'activité de guanylate cyclase du deuxième domaine.

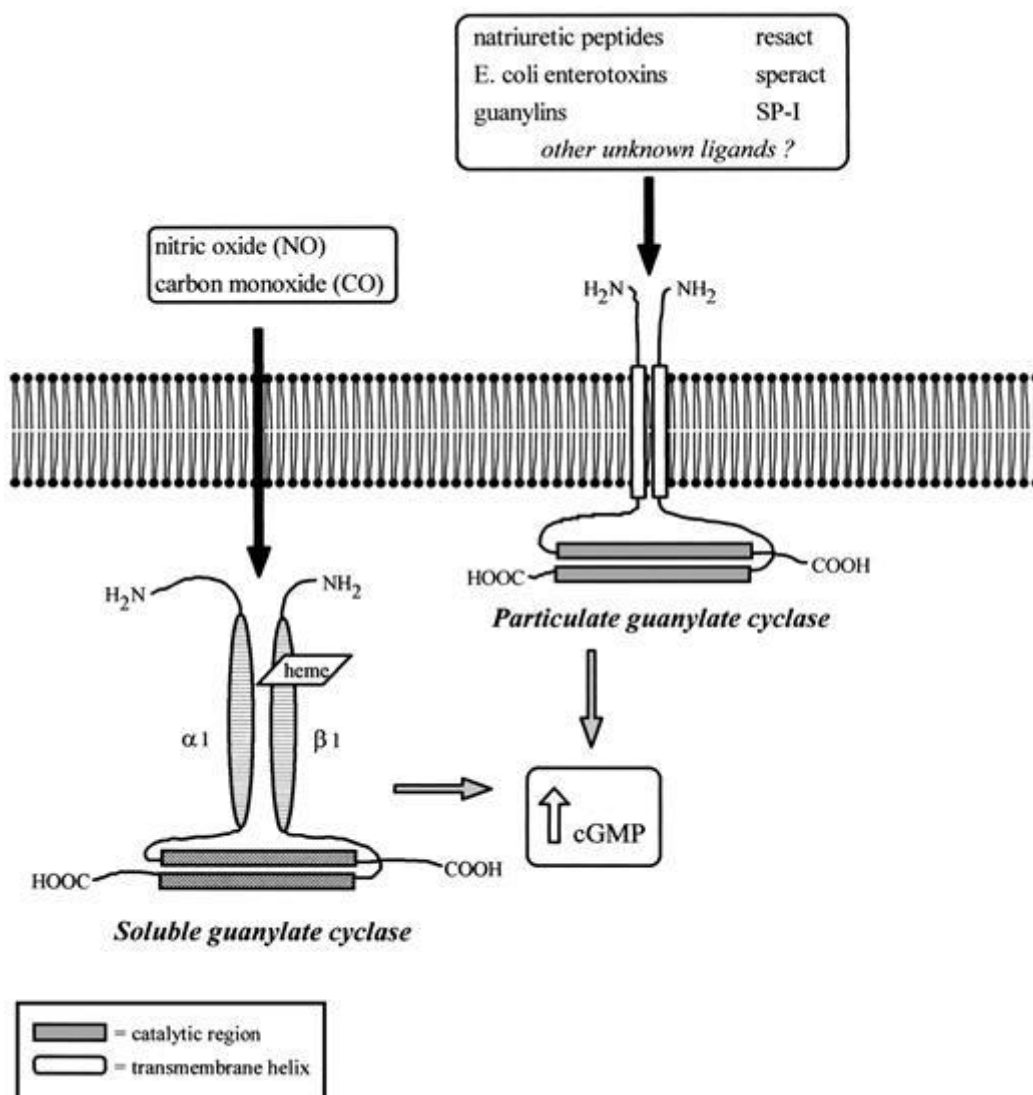


Figure 31 : Représentation schématique des isoformes de guanylate cyclase.

II. Les récepteurs intracellulaires (nucléaires)

Le développement embryonnaire, la croissance et le maintien de l'homéostasie d'un organisme complexe requièrent un contrôle spatial et temporel précis de l'expression de gènes spécifiques de chaque tissu. Les hormones lipophiles, telles que les hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes, jouent un rôle central dans ces processus physiologiques. Ces hormones, capables de traverser librement les membranes cellulaires, se lient à des récepteurs nucléaires dont la fonction est de transmettre le signal hormonal directement au noyau.

Les récepteurs intracellulaires logent, soit dans **le cytoplasme**, soit dans **le noyau** des cellules cibles. Ces récepteurs sont appelés **récepteurs nucléaires** (NRs ; Nuclear Receptors) ; car lorsqu'ils sont activés, ils agissent comme **régulateurs** ou **facteurs de la transcription** dans le noyau.

Les récepteurs nucléaires sont formés une superfamille de récepteurs intracellulaires qui fonctionnent comme des facteurs de transcription dont l'activité est modulée par la présence de ligands spécifiques habituellement **lipophile**. La nature des ligands leur permet de franchir facilement les membranes cellulaires, même si des transporteurs membranaires ont parfois été décrits et d'activer leurs récepteurs dont la localisation est intra-cellulaire.

Les récepteurs nucléaires contrôlent des réseaux géniques complexes impliqués dans le développement embryonnaire, la différenciation cellulaire et l'homéostasie.

La grande famille des récepteurs nucléaires inclut des récepteurs des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes, et des dérivés actifs des vitamines A et D.

Les ligands sont des petites molécules lipophiles cholestérols, les hormones stéroïdes, les acides biliaries, des dérivés d'acides aminés donc d'origine endogène (produits du métabolisme) ou exogène (dérivés alimentaires, médicaments, polluants regroupés sous le terme de xénobiotiques).

a) Structure biochimique des NRs

Les récepteurs nucléaires ont une taille variant de 40 à 100 kilodaltons et présentent la même structure générale, comprenant généralement deux domaines (**Fig. 32 et 33**) :

Un domaine de liaison de l'ADN (DBD ; DNA Binding Domain) sur des séquences d'ADN particulière qui se trouvent à proximité des gènes qu'elles régulent. Ce domaine est caractérisé par la présence de deux doigts de zinc de type C2C2. Dans chaque doigt, la disposition de quatre cystéines invariables permet la chélation d'un ion de zinc. Le DBD possède une taille de 66 à 70 acides aminés. Il est composé de deux hélices alpha et sa séquence protéique est riche en acides aminés basiques.

Domaine de liaison au ligand LBD (ligand binding domain) : LBD participe aussi à la liaison des cofacteurs du récepteur (Co- activateur et Co-répresseurs).

Le domaine N-terminal (domaine A/B) : Ce domaine, également appelé domaine modulateur ou domaine A/B, est le plus variable dans la superfamille des NRs aussi bien en longueur qu'en séquence. Ce domaine porte une fonction activatrice AF1 (Activating Function 1) qui est dépendante du contexte cellulaire.

Domaine D : Cette région charnière entre les domaines C et E est faiblement conservée. Elle confère au récepteur sa flexibilité participant à la fixation sur l'ADN. Ce domaine comprend des éléments pouvant intervenir dans la localisation nucléaire du récepteur.

Domaine F (domaine de dimérisation) : Cette région très variable, absente chez certains récepteurs exercerait une action régulatrice.

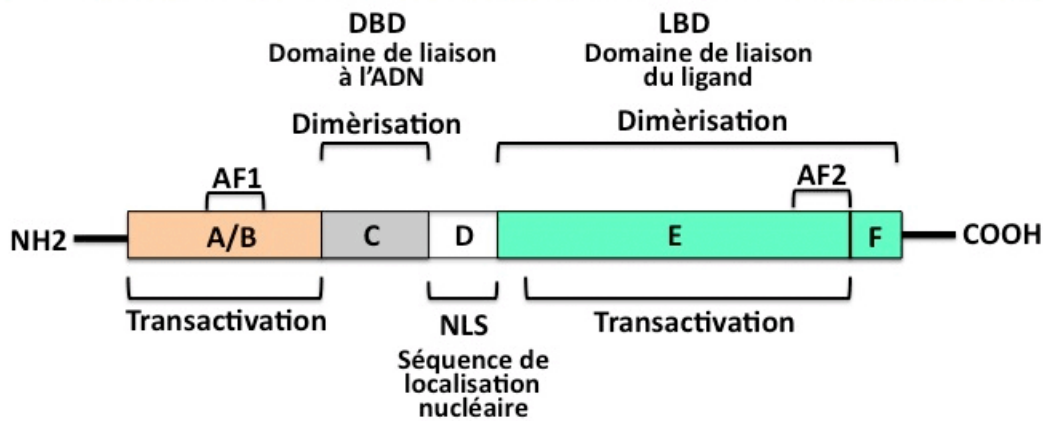


Figure 32 : Structure des récepteurs nucléaires.

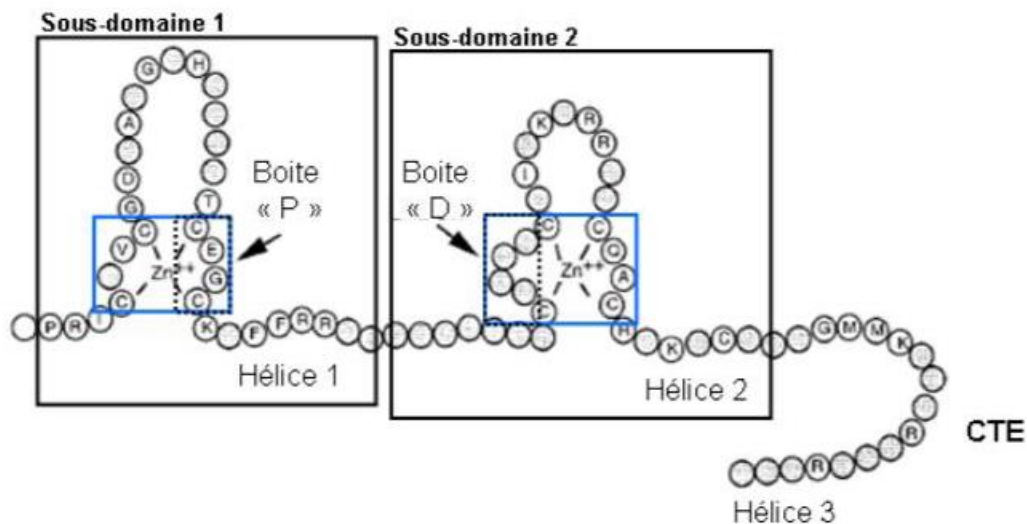


Figure 33 : Schéma représentant la structure générale du DBD et les motifs importants.

Un fois activés, ces récepteurs se fixent sur l'ADN sous forme Homo ou hétérodimères. Les acides aminés impliqués dans la dimérisation des récepteurs se trouve dans les domaines C et E/F.

b) Interactions récepteur-ADN

- L'interaction entre les récepteurs nucléaires et l'ADN se fait à un niveau de séquences HRE (Hormone Responsive Element : les éléments de réponse aux hormones). Elles sont des éléments bipartites composés de deux séquences hexamériques appelées demi-sites. Ces séquences forment des répétitions directes (DR), indirectes (IR, ou palindromes) ou inversées (ER) qui sont deux demi-sites séparés par une courte séquence nucléotidique variable (**Fig. 34**). Il s'agit des séquences d'ADN situées dans les promoteurs des gènes régulés par les récepteurs nucléaires. Ces séquences permettent aux récepteurs de s'y lier et elles varient selon les classes de récepteurs.

- L'interaction entre les récepteurs nucléaires et leurs séquences HRE implique généralement une dimérisation du récepteur.
- Les récepteurs nucléaires se lient aux éléments de réponse sous forme de monomères, d'homodimères ou d'hétérodimères (**Fig. 34**).

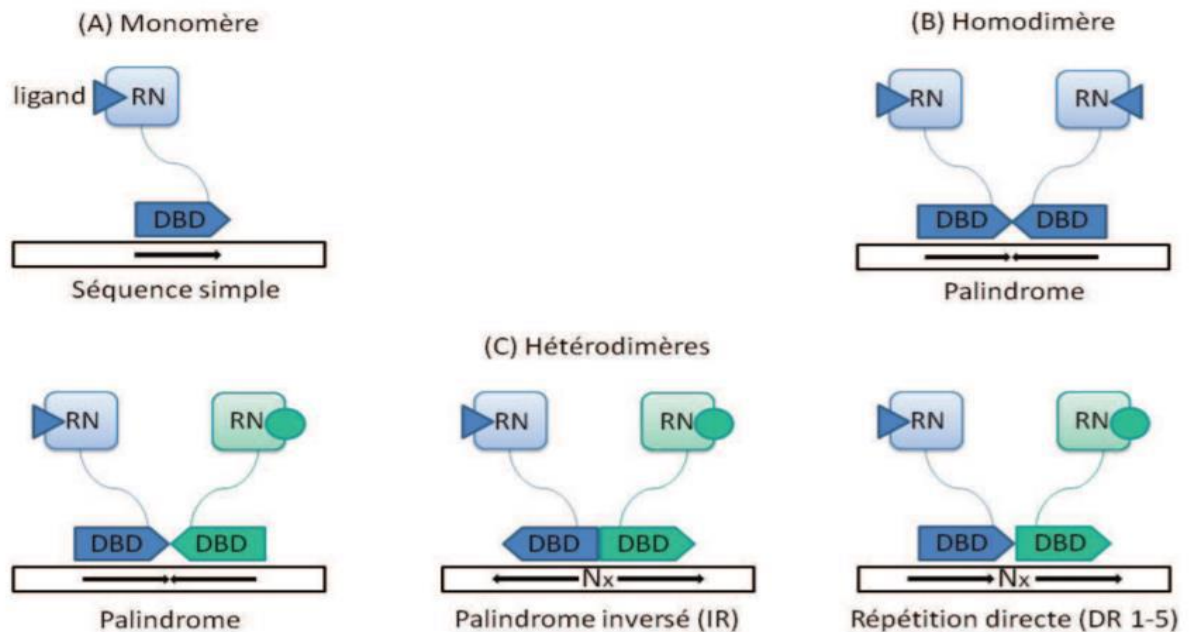


Figure 34 : Mode de liaison des récepteurs nucléaires à l'ADN.

c) Classification et mode d'action

Selon leur localisation initiale (à l'état inactivé), on classe la superfamille de récepteurs nucléaires en deux grandes familles :

- ❖ Récepteurs dits de type I situés dans le cytosol, puis délocalisés dans le noyau.
- ❖ Récepteurs dits de type II, situés et activés exclusivement dans le noyau.

1-Récepteurs nucléaires dits de type I

La fixation du ligand sur un récepteur nucléaire de type 1 initialement situé dans le cytosol induit (**Fig. 35**) :

- 1-La dissociation d'une protéine de choc thermique HSP (Heat shock proteins).
- 2-l'Homodimérisation du récepteur nucléaire.
- 3-La translocation du RN (via un transport actif du cytoplasme dans le noyau).
- 4-la fixation du RN sur une séquence spécifique de l'ADN appelé élément de réponse à l'hormone.

En effet, les récepteurs nucléaires de type I regroupent les récepteurs : des androgènes : hormones stéroïdes sexuelles, testostérone chez le mâle et progestérone chez la femelle, des œstrogènes : des glucocorticoïdes, de la progestérone.

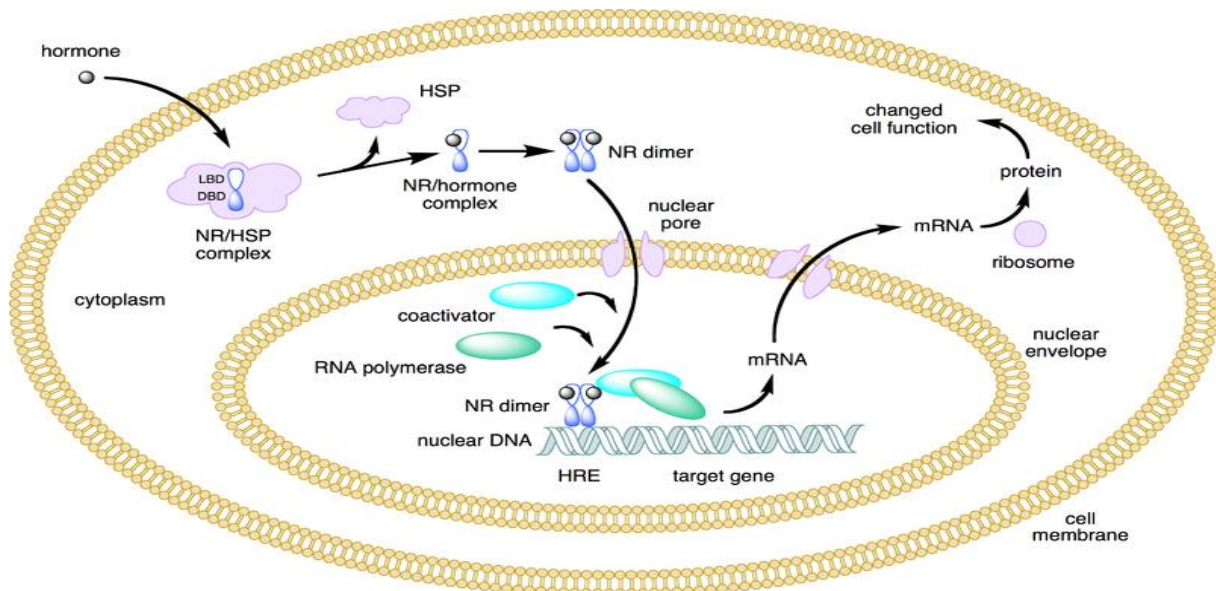


Figure 35 : Mécanisme d'action des récepteurs nucléaires de type 1.

2-Récepteurs nucléaires dits de type II

-Quel que soit leur l'état (ligand fixé et non fixé), les récepteurs de type II sont toujours maintenus dans le noyau et ils sont fixés sous forme hétéro-dimères à l'ADN, Exp hormone de la thyroïde.

1-En absence de ligand, les récepteurs nucléaires de type II sont souvent complexés à des protéines corépresseurs (**Fig. 36**).

2- La fixation du ligand sur un récepteur nucléaire de type II induit : la dissociation des corépresseurs et le recrutement de protéine co-activatrices de la transcription.

3-Des protéines supplémentaires -dont l'ARN polymérase sont ensuite recrutées par le complexe (Récepteur nucléaire de type II-ADN) pour la transcription de l'ADN en ARN messenger.

-Tant que le récepteur n'a pas fixé le ligand, il est dans une conformation inactivée car le domaine DBD est bloqué par un complexe protéique inhibiteur.

-Quand le domaine LBD a fixé le ligand, il change de conformation et l'inhibiteur est relargué.

-Le domaine DBD est libre et il se fixe sur la séquence d'ADN spécifique HRE (Hormone Responsive Element) ce qui induit l'activation de la transcription des gènes.

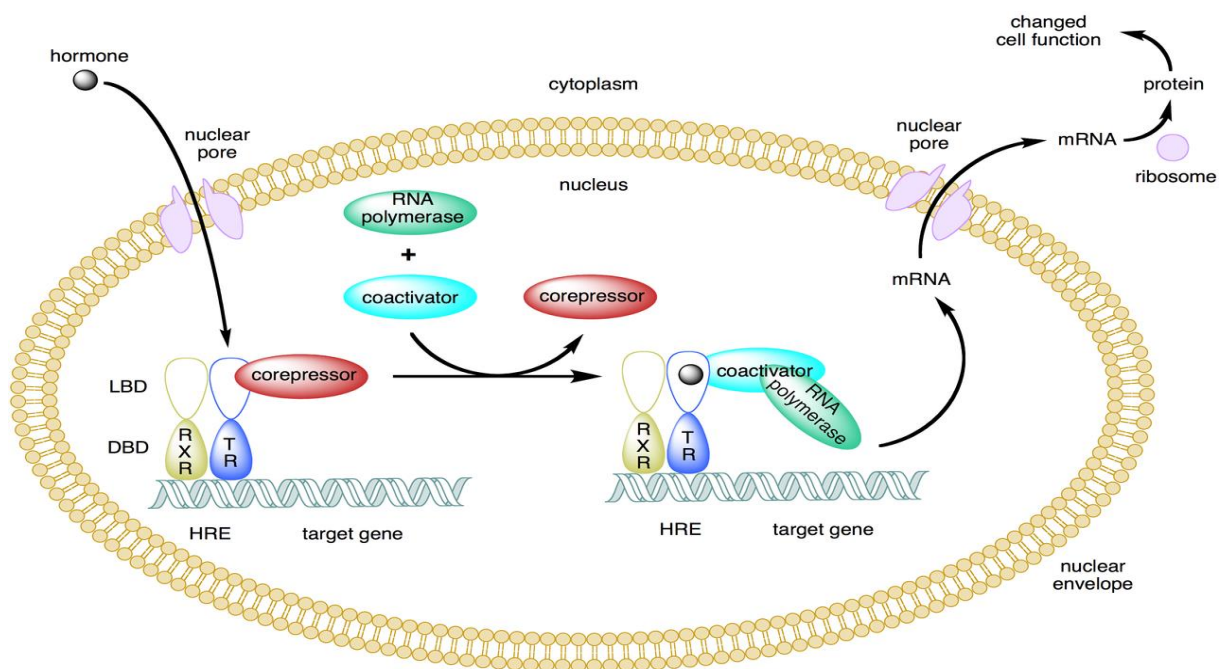


Figure 36 : Mécanisme d'action des récepteurs nucléaires de type 1.

III- Autres récepteurs

III-1-Récepteurs liés à l'apoptose

L'apoptose est une forme active de mort cellulaire, qui constitue une réponse de l'organisme à des stimuli physiologiques ou pathologiques provoquant un déséquilibre entre production et élimination de cellules.

L'apoptose fait partie intégrante de la physiologie normale d'un organisme. Ainsi au cours des nombreuses mitoses et différenciations cellulaires qui permettront de créer un organisme à partir d'un œuf, il est en permanence nécessaire d'éliminer les cellules superflues ou potentiellement dangereuses. Ce phénomène d'élimination sélective des cellules est médié par un processus appelé APOPTOSE (le nom apoptose fait référence à la chute programmée des feuilles à l'automne ; apo pour éloignement et ptose pour chute).

Est un processus génétiquement contrôlé jouant un rôle fondamental dans le développement et l'homéostasie cellulaire. Les cellules ont la capacité de répondre à des signaux très différents en activant un ensemble d'événements conduisant à leur mort par apoptose. Cette apoptose s'effectue selon un processus stéréotypé et conservé suggérant l'existence d'un mécanisme général de destruction. Les cellules apoptotiques sont caractérisées par des modifications morphologiques (boursoufflements de la membrane plasmique, condensation de la chromatine dans le noyau) qui s'accompagnent d'une fragmentation de la cellule et de la formation de corps apoptotiques.

a) Les principaux inducteurs de l'apoptose

L'apoptose peut être induite par différents facteurs incluant :

- L'activation de récepteurs membranaires apoptogènes (notamment le TNF- α ou les ligands des récepteurs de mort cellulaire comme Fas).
- L'activation de récepteurs nucléaires (glucocorticoïdes).
- L'exposition à divers stress (infection virale, hypoxie, radiations ionisantes avec mutation de l'ADN, etc).
- La suppression d'un signal de survie tel que le retrait d'un facteur de croissance (NGF, BDNF, CNTF).

b) Les acteurs moléculaires de l'apoptose

Les caspases

Les caspases (cysteinyll aspartate-specific proteinases) sont des protéases à cystéines qui jouent un rôle primordial dans l'exécution de l'apoptose en clivant les protéines cibles qui maintiennent l'intégrité de la cellule (Cibles cellulaires des caspases). Ces protéases possèdent un site catalytique comprenant un résidu cystéine localisé dans un pentapeptide très conservé QACXG (cystéine impliquée dans le processus catalytique). Ces enzymes reconnaissent et clivent des protéines cibles en position carboxy terminale (C-Ter) d'un résidu aspartate (D) situé en P1 d'un tétrapeptide p4XXXDp1.

On connaît maintenant 14 caspases différentes. Ces enzymes reconnaissent, puis clivent, des chaînes polypeptidiques au niveau d'un résidu aspartique de la partie carboxy-terminale. La spécificité des caspases pour leur substrat est déterminée en particulier par la nature du résidu en position P4 du site de clivage/reconnaissance (WEXD, DEXD ou [L/V]EXD) qui a permis de définir trois sous-familles. Ces enzymes existent dans le cytoplasme sous une forme inactive (zymogène). Dans cette forme inactive (procaspase ou zymogène), les caspases sont constituées d'un prodomaine, d'une grande sous-unité (portant le site catalytique) et d'une petite sous-unité. Toutes les caspases possèdent en position amino terminale (N-ter) un prodomaine de taille variable (**Fig.37**).

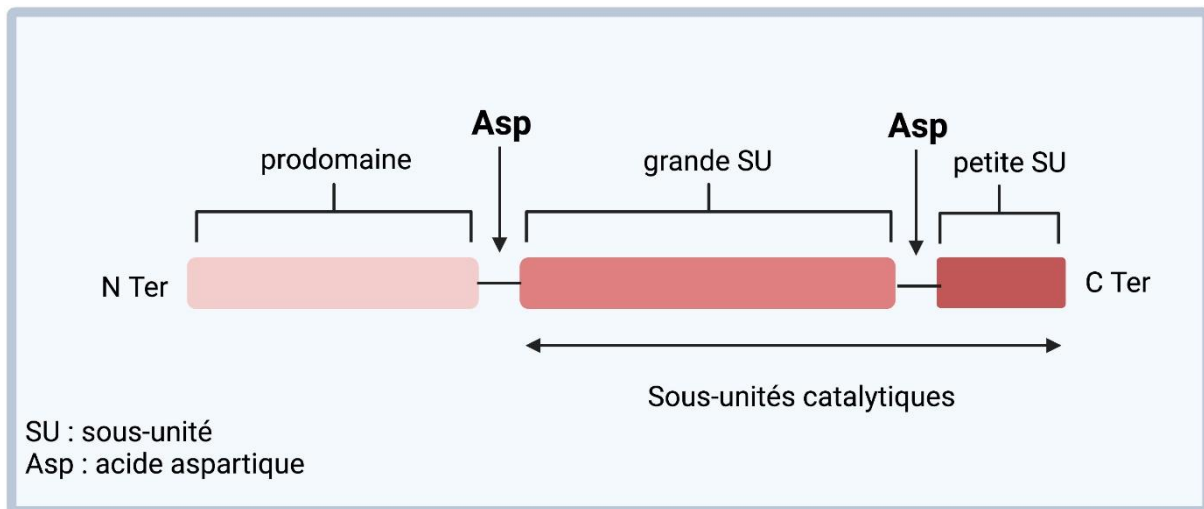


Figure (37) : Structure des caspases.

Deux types de caspases sont répertoriées :

Les caspases initiatrices (caspase 2, 8, 9, 10) et les caspases effectrices (caspases 3,6,7).

- **Les caspases initiatrices** sont les premières à être activées lors de l'apoptose. Elles possèdent un long prodomaine constitué par des motifs d'interaction protéine-protéine, tels que les domaines DED (Death Effector Domain) pour les caspases 8 et 10 ou les domaines CARD (Caspase Activation Recruitment Domain) pour les caspases 9 et 2. Ces domaines DED et CARD jouent un rôle primordial dans l'activation des caspases initiatrices. L'activation des caspases initiatrices nécessite une dimérisation des procaspases au niveau des domaines DED ou CARD et leur auto-clivage au niveau du prodomaine et entre les grandes et petites sous-unités.

- **Les caspases effectrices** quant à elles possèdent un prodomaine plus court et ne possèdent pas de domaine DED ou CARD leur permettant d'être recrutées et de s'oligomériser en dimère comme les caspases initiatrices. Les caspases effectrices vont être activées par clivage par une caspase initiatrice active (**Fig. 38**).

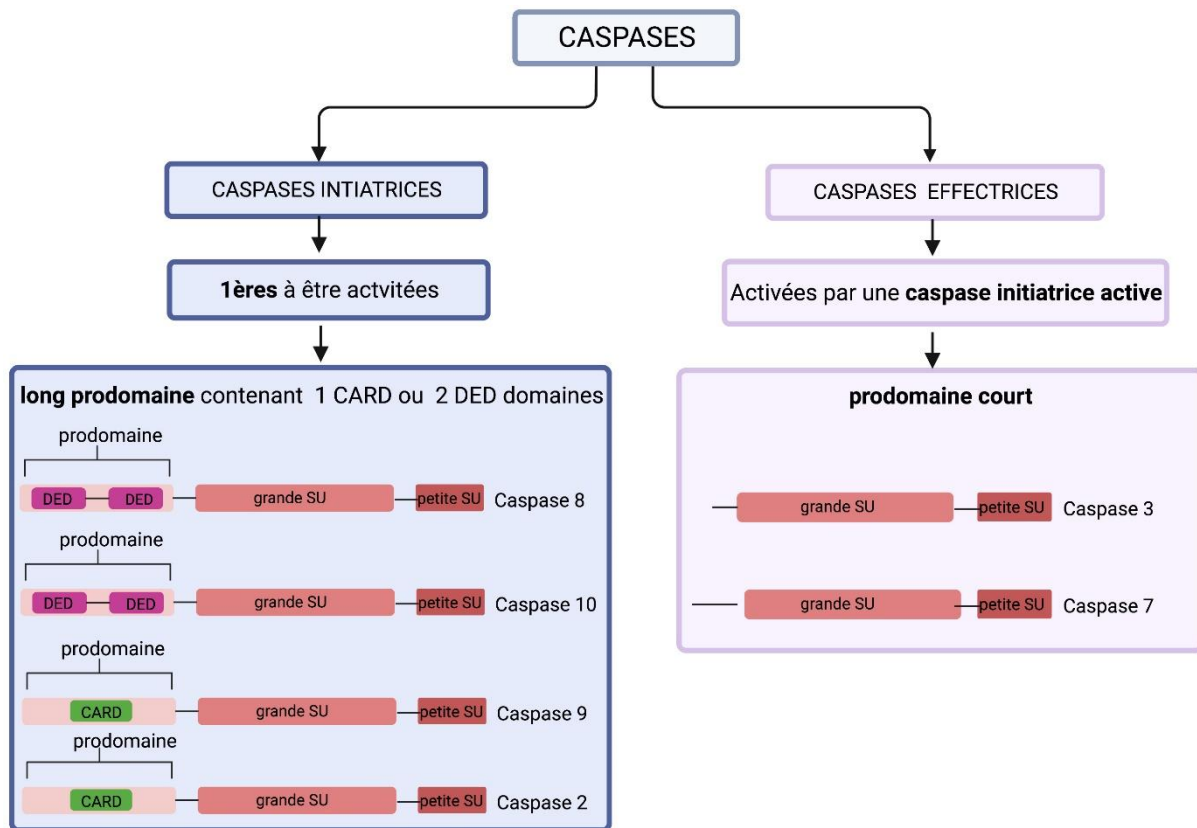


Figure (38) : Les types de caspases.

Les caspases effectrices une fois activées vont avoir pour substrat des protéines qui jouent un rôle indispensable dans l'intégrité des cellules. Le clivage de ces différentes protéines substrats sont à l'origine de la plupart des événements morphologiques et biochimiques de l'apoptose. De nombreuses protéines sont clivées par les caspases lors de l'apoptose.

Le clivage des protéines de structure comme les protéines du cytosquelette (actine, gelsoline, vimentine) va entraîner la condensation du cytoplasme et le bourgeonnement de la cellule.

Le clivage des lamines nucléaires va conduire à la condensation de la chromatine. Les caspases ont aussi des enzymes comme cibles. C'est le cas par exemple de la poly (ADP ribose) polymérase (PARP) qui participe à la réparation de l'ADN en absence d'apoptose. Les caspases clivent également ICAD (Inhibitor of Caspase Activated DNase) ce qui entraîne la libération de la CAD (Caspase Activated DNase) qui peut alors catalyser le clivage internucléosomique de l'ADN qui est caractéristique de l'apoptose (**Fig.39**).

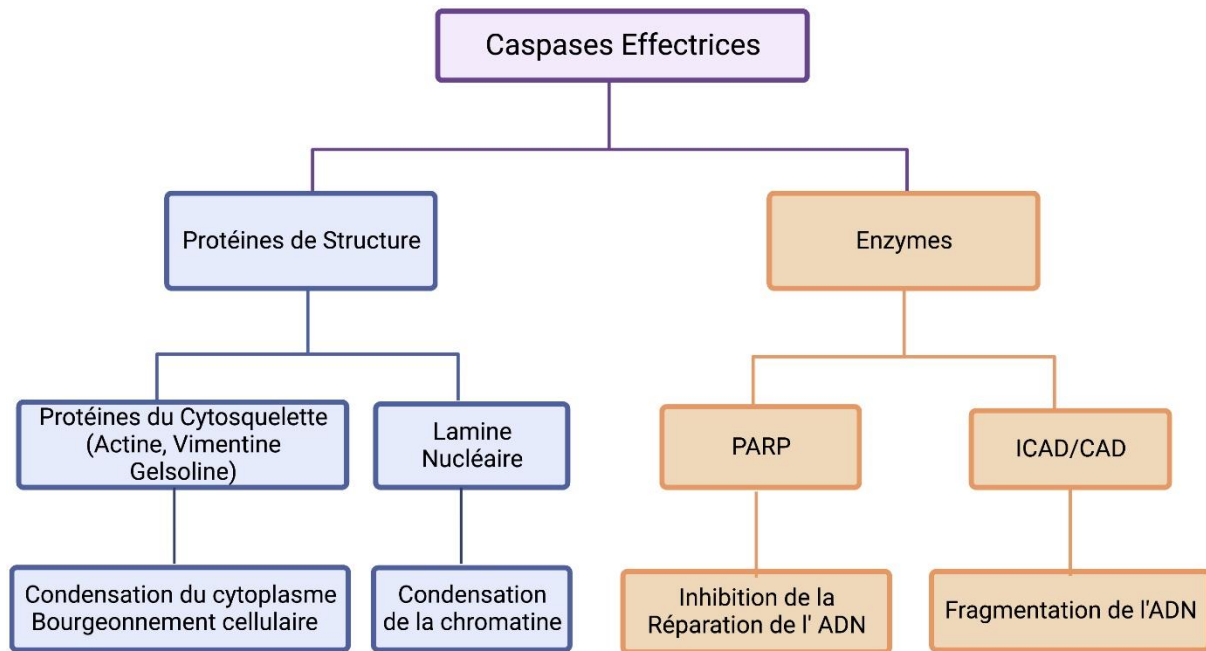


Figure (39) : Les cibles cellulaires des caspases effectrices.

c) Les voies de signalisation impliquées dans l'activation des caspases

L'activation des caspases est déterminante dans l'amplification initiale de l'apoptose. Deux grandes voies moléculaires conduisent à l'activation des caspases (**Fig. 40**) :

- La voie déclenchée au niveau de la membrane plasmique par l'activation de **récepteurs membranaires** : cette voie est appelée la voie des récepteurs de mort voie extrinsèque de l'apoptose ;
- La voie déclenchée par les facteurs apoptogènes libérés lors de la perméabilisation de la membrane mitochondriale externe : cette voie est appelée voie mitochondriale ou voie intrinsèque de l'apoptose.

Ces deux voies de signalisation aboutissent à l'activation des caspases, famille de protéases ayant un rôle clef dans l'apoptose et, par conséquent, elles sont qualifiées de voies signalétiques dépendantes des caspases.

Suite à son déclenchement, le processus apoptotique **se déroule en trois phases** :

1. Une phase d'induction variant en fonction des signaux déclencheurs;
2. Une phase effectrice nécessitant l'activation des caspases ;
3. Une phase de dégradation caractérisée par des changements morphologiques typiques.

La voie intrinsèque « mitochondriale »

La mitochondrie, depuis longtemps identifiée comme l'organite indispensable à la production d'ATP, a été plus récemment également impliquée dans la régulation des mécanismes moléculaires de mort cellulaire.

En effet, dans une cellule engagée dans un processus de mort cellulaire (à la suite de stimulus engendrant un stress ou un dommage cellulaire, que ce soit à la suite d'un choc thermique ou osmotique, de radiations ionisantes, ou d'un sevrage en cytokines), on observe une perméabilisation des membranes mitochondriales (à l'origine de la libération de protéines pro-apoptotiques de l'espace intermembranaire vers le cytosol) accompagnée dans la plupart des cas d'une chute du potentiel transmembranaire mitochondrial (**Fig.40**). La perturbation du potentiel membranaire mitochondrial a pour principales conséquences l'altération de la production d'ATP.

Le facteur inducteur de l'apoptose « AIF », la protéine inhibitrice des protéines activatrices de l'apoptose, nommée selon leurs fondateurs Diablo ou Smac (Smac/Diablo, pour Second Mitochondria-derived Activator of Caspases/Direct IAP-Binding protein with Low pI) et le cytochrome C sont parmi les principaux facteurs impliqués dans cette voie intrinsèque.

Une fois libéré par la mitochondrie, le cytochrome C s'associe au facteur d'activation des protéases apoptotiques Apaf-1, qui s'unit à la procaspase 9 en présence d'ATP pour former l'apoptosome. Dans ce complexe, la caspase 9 est activée et clive les protéases « effectrices » (caspases 3, 6 et 7) qui entraînent l'activation de la mort cellulaire par apoptose.

La voie extrinsèque des récepteurs membranaires

Dans cette voie extrinsèque de l'apoptose, l'activation des différents récepteurs de mort se trouvant ancré à la membrane cytoplasmique aboutit à l'activation d'une voie de signalisation intracellulaire complexe.

Les récepteurs de mort sont classés en sept familles ; Fas (CD95/APO-1), les récepteurs de mort DR3, DR6, p75NGFR (facteurs de croissance nerveux), ainsi que les deux récepteurs de TRAIL, les molécules DR4 (TRAIL-R1) et DR5 (TRAIL-R2) et le facteur de nécrose tumorale TNF-R1 (p55/CD120a).

Cette dernière, comprend au moins une vingtaine de membres classés en deux groupes selon leurs structures :

1 **Le premier groupe** comprend les récepteurs qui possèdent un domaine de mort (DD) intracellulaire comme le TNF-R1. Ils assurent la transmission d'un signal apoptotique par activation des caspases.

2 **Le deuxième groupe** comprend les récepteurs qui ne possèdent pas de DD, comme pour TNF-R2. Ces récepteurs recrutent d'autres molécules capables d'activer le facteur de transcription NF- κ B, connu pour son rôle dans le maintien de la survie cellulaire.

Certains de ces récepteurs nécessitent des molécules adaptatrices pour assurer leurs fonctions pro-apoptotiques. On cite, à titre d'exemple, les protéines associées au domaine de mort du récepteur Fas (FADD) ou du récepteur TNF-R1 (TRADD) qui vont se lier respectivement au Fas-R et au TNF-R1 pour assurer le recrutement des caspases. Ce mode d'activation varie d'un récepteur à un autre.

Dans le cas des récepteurs TNF-R ou Fas-R, par exemple, après fixation du ligand, le récepteur se trimérise et entraîne une modification de conformation du domaine DD. Ce changement de conformation permet la fixation de la protéine, associée au TNF-R1, avec le domaine de mort (TRADD) sur le TNF-R1 et l'association de FADD avec Fas-R.

Une fois fixée au récepteur, TRADD ou FADD s'associe à la procaspase 8 pour former un complexe de signalisation de mort dit DISC, assurant l'auto-clivage de la procaspase 8 ou 10. La caspase 8/10 activée déclenche une cascade d'activation d'autres caspases, dont la caspase 3, qui clivent alors certaines protéines cellulaires essentielles à la survie (PARP, la protéine Tau, les protéines de cytosquelette...).

Cette étape peut être régulée par une protéine appelée c-Flip (pour FLICE inhibitory protein; c Flip contient deux domaines effecteurs de mort cellulaire (DED) qui vont lui permettre de se lier aux prodomaines des caspases 8 ou 10, et ainsi empêcher leur recrutement aux récepteurs de mort (notamment Fas-R et TNF-R. (Fig.40).

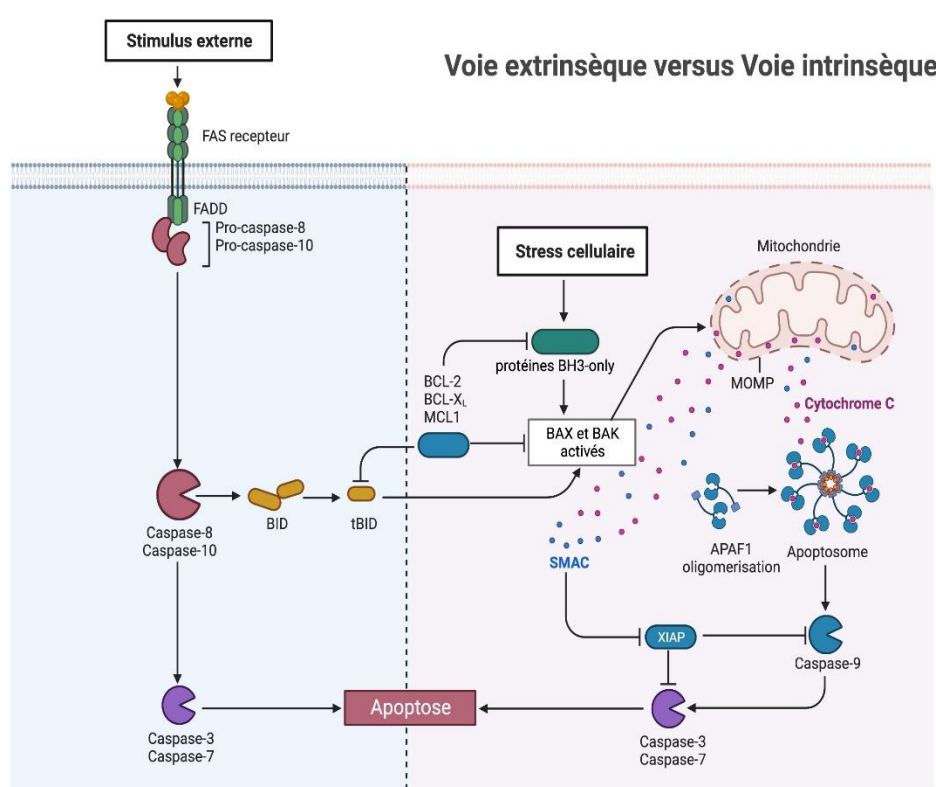


Figure (40) : Voies de signalisation intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose.

La fixation d'un ligand pro apoptotique sur un récepteur de mort cellulaire permet la formation d'un complexe DISC (Death Inducing Signal Complex) entraînant une voie de signalisation extrinsèque permettant l'activation de la caspase 8 et de l'intermédiaire Bid. La caspase 8 va permettre l'activation des caspases 3/7 effectrices de l'apoptose et l'intermédiaire Bid va induire la voie de signalisation intrinsèque.

Des stress intracellulaires peuvent permettre une activation intrinsèque de l'apoptose via l'activation des facteurs pro apoptotiques BAK/BAX. Ces facteurs vont former des canaux au sein des mitochondries pour en libérer le contenu apoptogène.

Les effecteurs proapoptotiques mitochondriaux (Cytochrome C, Smac / Diablo et HtrA2/ Omi) vont entraîner la formation du complexe, l'apoptosome, qui va activer la caspase 9. La caspase 9 activée entraîne l'activation des caspases 3/7 effectrices de l'apoptose.

III.2. Récepteurs d'antigènes

Le système immunitaire permet au corps de se défendre contre les bactéries et les virus. Ce système permet également d'éliminer les cellules anormales ou cancéreuses qui peuvent se développer.

Le système immunitaire est constitué d'un ensemble complexe d'organes individualisés et de tissus entre lesquels circulent en permanence des cellules de l'immunité innée et de l'immunité adaptative. Cette organisation en réseau de communication confère au système immunitaire trois propriétés essentielles :

- **Une importante capacité d'échange d'informations**, par contacts membranaires intercellulaires ou par libération de médiateurs solubles. Ces échanges ont lieu entre des acteurs du système immunitaire (par exemple des interactions entre les cellules de l'immunité innée et celles de l'immunité adaptative), mais également avec d'autres systèmes (par exemple des échanges neuro-immuno-endocriniens) ;
- **Un bras effecteur performant** capable de protéger l'intégrité de l'organisme ;
- **Une forte régulation** qui est cruciale pour préserver, à tout moment et à tout endroit, l'équilibre du système immunitaire ou homéostasie et garantir une réponse immunitaire adaptée.

III.2.1. Qu'est-ce qu'un antigène

Les récepteurs d'antigènes, exprimés par les lymphocytes B et T de notre système immunitaire adaptatif, jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance et l'élimination des agents pathogènes et des infections. Un antigène est une molécule de toute nature (organique ou non) pouvant être reconnue par un récepteur à l'antigène de l'immunité adaptative qui sont de deux types :

Le récepteur à l'antigène des lymphocytes B (BCR, pour B-Cell Receptor) devenant anticorps lorsqu'il est sécrété,

Le récepteur à l'antigène des lymphocytes T (TCR, pour T-Cell Receptor). La propriété de liaison de l'antigène aux différents récepteurs lui confère son antigénicité.

Cependant, les BCR reconnaissent toutes formes d'antigènes, à l'état natif, les TCR ne reconnaissent que des antigènes protéiques sous forme peptidique, et lorsqu'ils sont associés aux molécules du Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Les protéines antigéniques, pour être reconnues par les lymphocytes T, doivent au préalable être rendues accessibles, c'est-à-dire « présentées » sous forme de courts peptides, au récepteur pour l'antigène présent à la surface du lymphocyte T (TCR). Cette fonction de présentation de l'antigène (en réalité un peptide) est la mission essentielle des molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH).

III.2.2. Le récepteur à l'antigène des lymphocytes T

Le récepteur antigénique des lymphocytes T (*T Cell Receptor* ou TCR) est un élément clé de l'immunité adaptative et de son caractère spécifique de l'antigène cible de la réponse. Il se présente sous la forme d'un complexe moléculaire transmembranaire situé à la surface des différentes catégories de lymphocytes T matures et est formé de 2 chaînes peptidiques différentes permettant la reconnaissance de l'antigène (il s'agit donc d'un hétérodimère) : soit un couple chaîne α + chaîne β pour la grande majorité des lymphocytes matures (environ 95 %), soit (mais donc beaucoup plus rarement) un couple chaîne γ + chaîne δ essentiellement présent sur des lymphocytes immatures ou dans certaines populations très particulières, notamment au sein des muqueuses.

Cet hétérodimère présente à son extrémité 2 domaines externes hypervariables reconnaissant l'antigène et reliés par des ponts disulfures.

Le TCR est associé à la molécule CD3, également membranaire, sous forme d'un complexe assurant la mise en place de la réponse immunitaire adaptative vis-à-vis de l'antigène reconnu par le TCR (**Fig.41**).

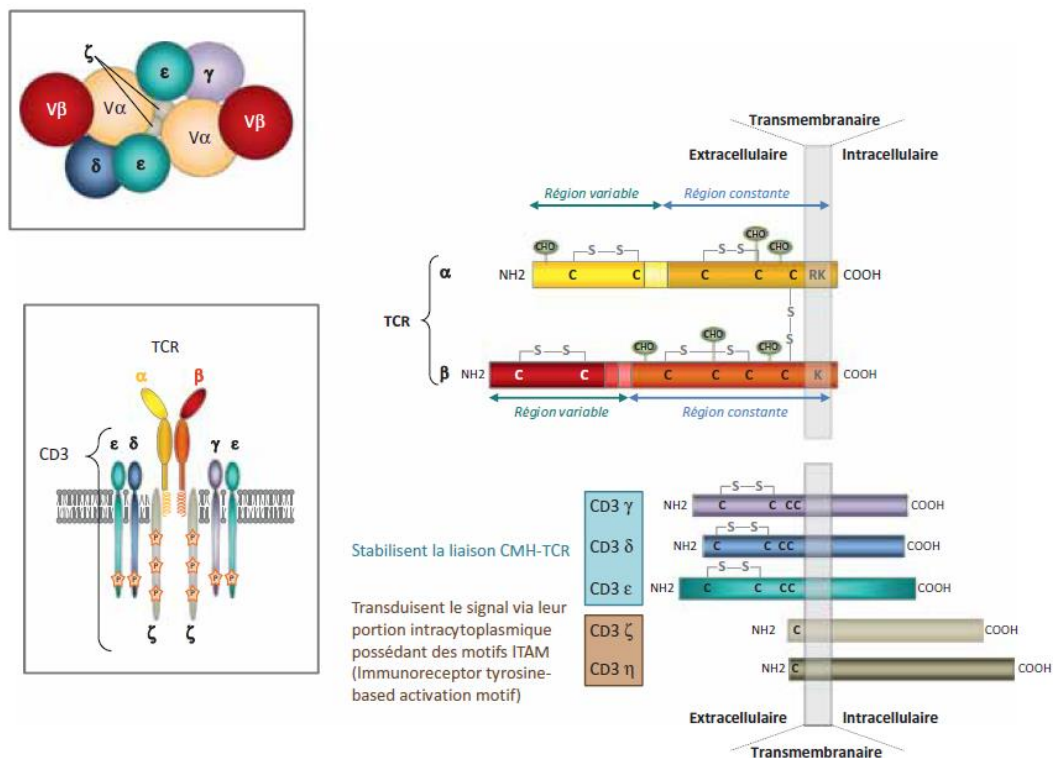


Figure (41) : Le TCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes T.

➤ **Le module de transduction du signal : le complexe CD3**

Le TCR qui reconnaît l'antigène est associé au complexe CD3 qui transmet un signal à l'intérieur de la cellule. Contrairement au TCR, le complexe CD3 est formé de plusieurs peptides invariants : les chaînes γ , δ , ϵ et ζ/η . Les chaînes γ , δ , ϵ du complexe CD3 ont, comme les chaînes du TCR, font partie de la superfamille des immunoglobulines, mais possèdent toutefois une queue intracytoplasmique un peu plus longue. Les chaînes ζ et leur variant la chaîne η (contenant 42 AA de plus en position C terminal), comportent à l'inverse une longue portion intracytoplasmique avec plusieurs motifs de type ITAM (Immuno-receptor Tyrosine Activation Motif) sièges de résidus tyrosine cibles de phosphorylation par des protéines kinases spécifiques à l'origine de la transduction d'un signal d'activation. Il y a aussi des ITAM sur les autres chaînes du CD3, avec 10 ITAM en tout pour un complexe TCR-CD3.

➤ **Les molécules CD4 et CD8 (des corécepteurs)**

Les molécules CD4 et CD8 sont des déterminants majeurs des lymphocytes T et permettent de distinguer en périphérie des lymphocytes auxiliaires exprimant la molécule CD4 et des lymphocytes cytotoxiques exprimant la molécule CD8 (**Fig.42**). Ces molécules corécepteurs pour le TCR, également importantes pour distinguer les différents stades de maturation des thymocytes au cours de l'ontogénie, appartiennent à la superfamille des immunoglobulines.

Les molécules CD4 et CD8 stabilisent l'interaction CMH/TCR en interagissant avec une partie faiblement polymorphe du CMH et participent à la signalisation intra-cellulaire en recrutant des kinases de type Src, les protéines p56lck.

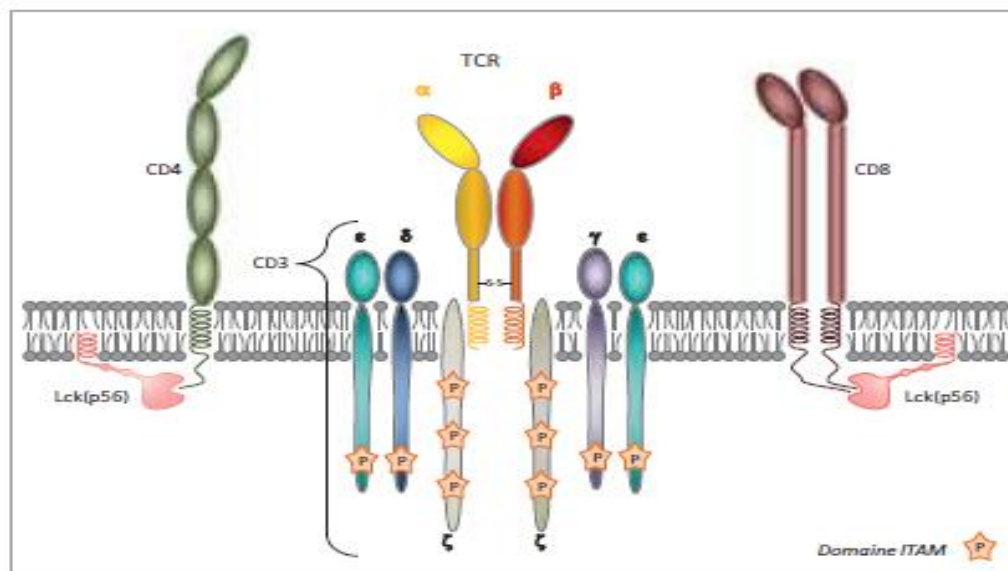


Figure 42 : Association TCR/CD4 ou CD8.

Les molécules CD4 et CD8 vont venir stabiliser le complexe CMH/TCR. Leurs tailles leur permettent de se fixer au MHC (classe I pour les CD8, classe II pour les CD4) sur la cellule présentatrice d'antigène. Les protéines p56lck recrutées à la partie intracytoplasmique des molécules CD4 et CD8 participent à la signalisation intra-cellulaire.

La molécule CD4 : Le CD4 est une molécule composée de quatre domaines de type Ig. Les deux premiers domaines (D1 et D2) sont solidement associés l'un à l'autre formant ainsi une structure rigide de 60Å de long. D1 et D2 sont reliés par une région charnière flexible aux deux autres domaines D3 et D4 qui forment eux aussi une structure rigide ancrée à la membrane. La région intracytoplasmique du CD4 interagit fortement avec la protéine tyrosine kinase p56Lck. Cette propriété permet à la molécule de CD4 de participer activement à la transduction du signal des lymphocytes T auxiliaires. Le CD4 interagit avec le domaine b2 de la molécule de classe II du CMH par l'intermédiaire de ses deux domaines D1 et D2.

La molécule CD8 : Bien que le CD4 et le CD8 agissent tous deux comme co-récepteurs du TcR, leur structure est très différente. La molécule de CD8 est un hétérodimère composé d'une chaîne a et b constituées d'un domaine unique de type Ig. Chaque domaine des chaînes a et b est ancré à la membrane par une grande chaîne peptidique fortement glycosylée. Le CD8 se fixe sur le domaine a3 des molécules de classe I du CMH (major histocompatibility complex). Comme le CD4, la partie intracytoplasmique de la chaîne a du CD8 permet le recrutement de la p56Lck.

III.2.3. Le BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B

Les lymphocytes B représentent environ 5 à 15 % des lymphocytes circulants et sont définis par la présence d'immunoglobulines (Ig) de surface. Ces immunoglobulines, produites par la cellule elle-même, jouent le rôle de récepteur spécifique pour l'antigène (BCR). Les immunoglobulines sont des hétérodimères protéiques composées de deux chaînes lourdes H (pour heavy) identiques, et deux chaînes légères L (pour light) identiques. Chaque chaîne est composée d'une région constante C et d'une région variable V.

Le BCR est associé à des molécules responsables de la transduction du signal après contact avec l'antigène : les chaînes Ig α ou CD79a et Ig β ou CD79b (**Fig. 43**). D'autres molécules sont présentes à la surface du lymphocyte B, associées aux différentes fonctions de ces cellules. Leur expression varie en fonction de l'état de différenciation et/ou d'activation des lymphocytes B.

Les lymphocytes B après activation se différencient en plasmocytes qui sécrètent des immunoglobulines (anti corps) de la même spécificité que leur BCR. La nature des chaînes lourdes détermine des classes d'immunoglobulines ou isotopes. Il existe également des sous-classes. On décrit ainsi cinq types de chaînes lourdes : IgG ou γ (gamma), IgA ou α (alpha), IgM ou μ (mu), IgD ou δ (delta) et IgE ou ϵ (epsilon), subdivisées en neuf sous-classes IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgM, IgD et IgE. Les chaînes légères sont soit κ (kappa) soit λ (lambda).

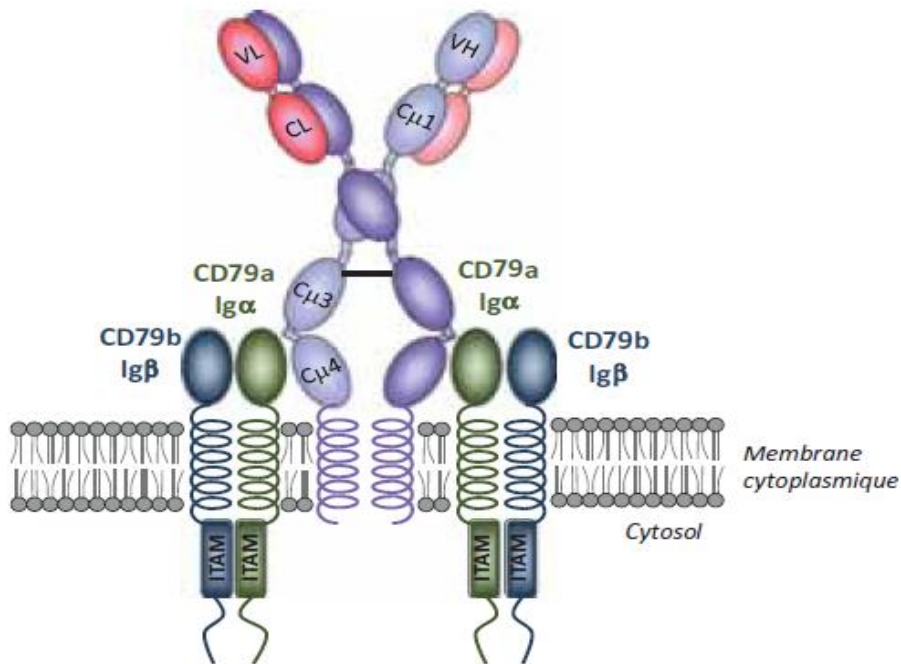


Figure (43) : Le BCR, récepteur pour l'antigène des lymphocytes B.

Le BCR est, à la surface du lymphocyte B, un complexe multimoléculaire comportant :

Une immunoglobuline de surface (ici une IgM) avec une partie transmembranaire et quelques acides aminés intracytoplasmiques ;

-De part et d'autre, deux hétérodimères CD79a (Ig α) et CD79b (Ig β) dont chaque chaîne comporte un domaine de la superfamille des immunoglobulines extra-cellulaires et une longue portion intracytoplasmique portant un motif d'activation ITAM (Immunoreceptor Tyrosine Activating Motif).

La reconnaissance spécifique de l'antigène est la caractéristique majeure de la réponse immunitaire adaptative. La molécule impliquée dans ce processus au niveau du lymphocyte B est une immunoglobuline exprimée à sa surface (BCR). Le répertoire lymphocytaire B d'un individu comporte plusieurs millions de lymphocytes B se distinguant par la spécificité de leur immunoglobuline.

Chapitre 03 : Les mécanismes du pouvoir pathogène des microorganismes phytopathogènes et les mécanismes de défense de la plante

Toute plante peut développer une maladie. Mais souvent, elle se montre capable de lui résister, grâce à l'activation de ses mécanismes de défense. En effet, à chaque instant, les plantes doivent faire face à l'agression de champignons, de bactérie, de virus et de nématode. Elles ont donc élaboré au cours de leur évolution des défenses efficaces contre les divers agents pathogènes. Cependant tout dépendra du dialogue moléculaire qui s'établira entre le végétal et son agresseur.

1-La résistance passive et active de la plante

1.1. Prévenir les attaques : La résistance passive

Dans la nature, la plupart des espèces végétales sont protégées contre la plupart des microorganismes. Ces derniers sont généralement incapables de franchir les barrières protectrices externes des plantes qui constituent **une résistance passive** (interaction incompatible) qui est représenté par:

- La cuticule qui recouvre les organes aériens ;
- La paroi pecto-cellulosique, enveloppe semi-rigide qui entoure les cellules végétales (la pectine et la cellulose sont les deux principaux constituants de cette paroi) ;
- Composés antimicrobiens qui constituent un rempart naturel à l'encontre d'un large spectre d'agresseur (**Fig. 44**).
- Deux types de substances sont essentielles comme barrières de protection intégrées à la surface de la paroi : la cutine, formée de chaînes d'acides gras et qui est la composante principale de la cuticule, et les cires, elles aussi à base d'acides gras et autres molécules protectrices qui forment un film superficiel à la surface de la cuticule.

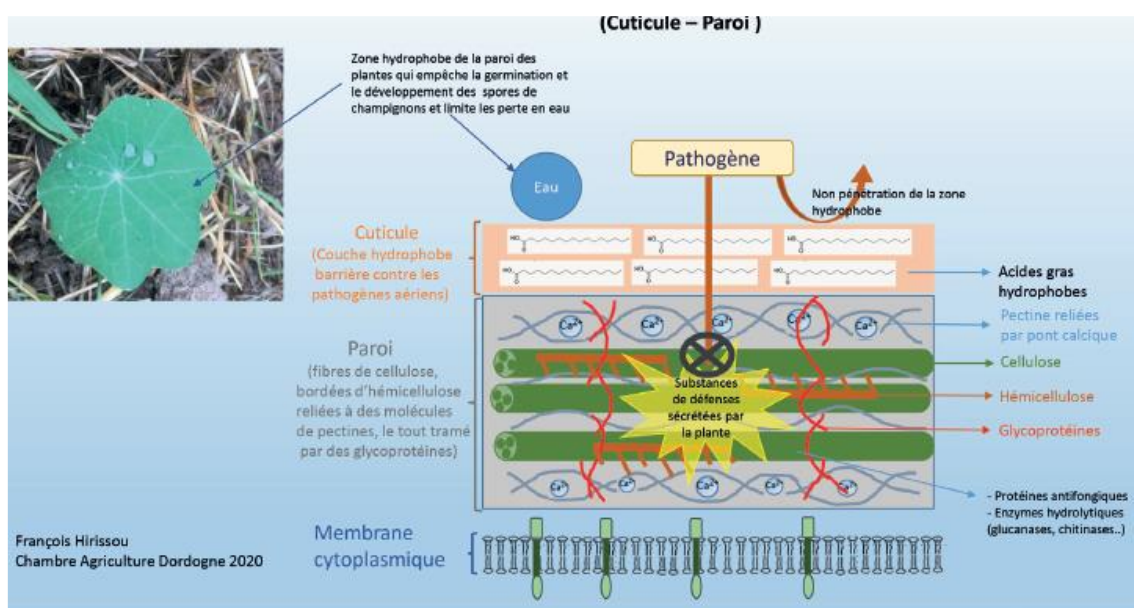


Figure 44 : La résistance passive de la plante.

1.2. Réagir : la résistance active

Malgré les barrières de protection constitutives de la cellule, la présence d'ouvertures nécessaires pour la plante que sont les stomates (respiration, photosynthèse) ou les blessures infligées par les insectes ou autres agressions mécaniques sont autant de portes d'entrées pour les organismes pathogènes. À partir du moment où elle les a détectés, la plante utilise une deuxième ligne de défense fondée sur la reconnaissance de motifs moléculaires du pathogène par des récepteurs protéiques qui enclenchent une suite de signaux aboutissant à la mise en place des mécanismes de défense (**Fig.45**). Ces **motifs moléculaires associées au pathogènes appelés (PAMPs : Pathogen-Associated Molecular-Pattern)**).

La perception de ces motifs (PAMPs) par la plante pourra initier une réponse immunitaire de base (PAMP- Triggered Immunity, PTI), afin de limiter l'invasion (**résistance active**). Cependant, si les défenses mises en place sont inappropriées, si la plante ne réagit pas assez rapidement ou si les voies de défenses sont (**désactivés**), l'interaction entre la plante et le microorganisme sera compatible et suivi par une prolifération du pathogène.

Ces mécanismes de défense se déroulent en trois phases :

- **La perception** est l'étape de reconnaissance de l'agent pathogène et elle est essentielle car sans elle, les étapes ultérieures ne se déclenchent pas.
- **La signalisation** est l'étape où s'effectue l'activation d'une cascade de signaux dans les cellules attaquées et la transmission des signaux d'alerte aux cellules environnantes et à la plante entière.
- **Réactions de défense** : Au cours de cette troisième étape, la réaction de défense s'exprime. Ce scénario est celui de toute méthode de défense active contre un agresseur.

En effet, les pathogènes ont appris à masquer leur présence en interférant avec les voies de défense de la plante. Cette désactivation s'effectue via la sécrétion par le pathogène d'effecteurs appelés protéines d'avirulence qui sont directement injectés dans la cellule hôte par un système spécifique permettant la mise en place de conditions favorables à l'infection (facteur de virulence). Cependant la reconnaissance de ces effecteurs par la plante peut induire des mécanismes de défense, faisant de ces protéines un facteur d'avirulence qui conduit à l'immunité de la plante.

En parallèle aux protéines d'avirulence, certaines plantes ont développé des protéines polymorphiques NBS-LRR (à domaine *Nucléotide Binding Site* et *Leucine Rich Repeat*), codés par les gènes de résistance R. Cette interaction préférentiellement intracellulaire entre les produits de gènes d'avirulence de pathogène (Avr) et de résistance de l'hôte végétal (R) est appelés **résistance (gène pour gène)**.

La réponse en découlant est notamment décrite comme l'immunité déclenchée par les effecteurs (**Effector-Triggered Immunity, ETI**). L'immunité ETI peut être considérée comme une version amplifiée de l'immunité PTI et est souvent décrite comme menant à une mort cellulaire programmée localisée au niveau des tissus infectés : **la réponse hypersensible (HR)**.

PAMP : Pathogen-Associated Molecular-Pattern : Motif protéique dont la reconnaissance par la plante entraîne la mise en place de mécanismes de défenses.

Réaction hypersensible RH : Réaction de défense de la plante qui se traduit par une mort cellulaire programmée restreinte aux zones de contact avec l'agent pathogène, stoppant ainsi son développement.

ETI : Ensemble des mécanismes immunitaires induits chez une plante à la suite de la perception d'un effecteur cytoplasmique.

PTI PAMPs-Triggered-Immunity : Ensemble des mécanismes immunitaires induits chez une plante à la suite de la perception d'un PAMP.

Gène Avr : Gène d'Avirulence : Gène d'un agent pathogène qui entraîne une perte de virulence chez ce microorganisme.

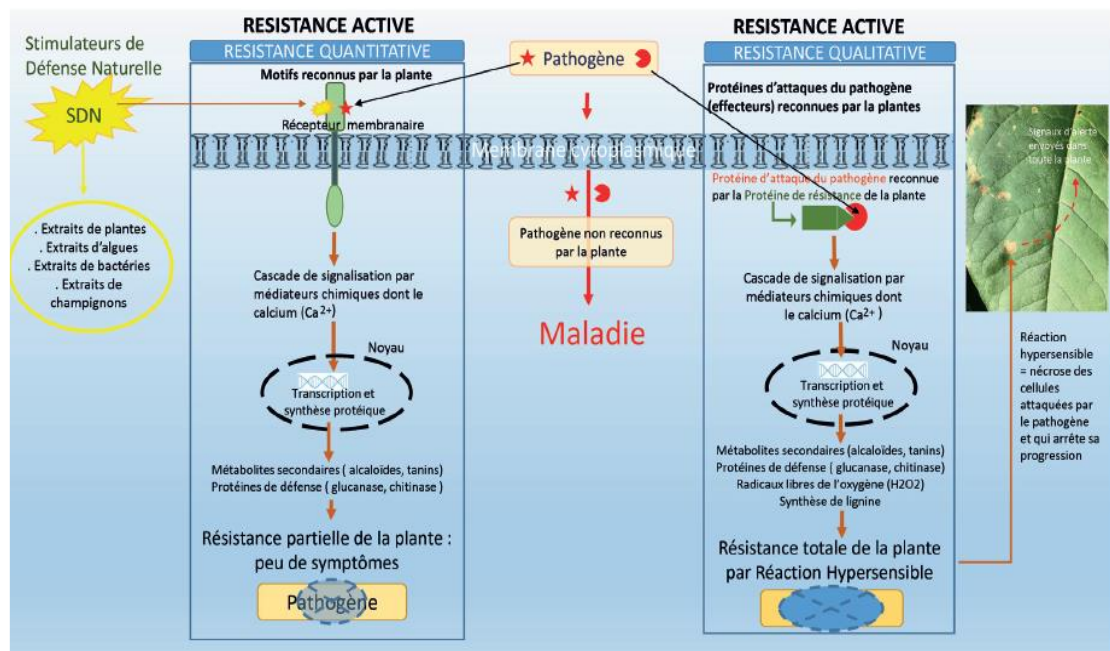


Figure 45 : La résistance active de la plante.

1.2.1. La résistance basale non spécifique : Résistance quantitative

Cette résistance mise en œuvre par la cellule est déclenchée par des signaux que génèrent les pathogènes à partir de motifs moléculaires qui vont être reconnus par la plante comme agents étrangers. Ces motifs, **appelés éliciteurs**, sont des molécules constitutives des agresseurs comme la chitine des parois des champignons, les chaînes de glucose ou les protéines des parois d'oomycètes, les protéines des flagelles bactériens, les acides nucléiques des virus. Elles sont d'origine polygéniques, toujours présentes, et ne peuvent pas être cachées par l'agresseur ou subir des mutations. La cellule de l'hôte dispose de récepteurs qui fixent et identifient ces

motifs. La signalisation peut être déclenchée également par la fixation de molécules propres à la plante et provenant de sa dégradation par le pathogène.

Il faut souligner enfin que des motifs moléculaires provenant d'autres sources que les pathogènes ou la plante mais proches dans leur composition chimique peuvent déclencher les processus de signalisation et défense. Il s'agit des substances qui forment les Stimulateurs de Défenses Naturelles des plantes (SDN). La liaison de ces motifs aux récepteurs situés sur la membrane cellulaire déclenche une dépolarisation de celle-ci et l'entrée de calcium dans la cellule. Il est désormais établi que le calcium intervient en tant que messager intra-cellulaire dans le contrôle de nombreuses réponses physiologiques chez la plante.

1.2.2. La résistance spécifique totale : Résistance Qualitative

Des stratégies de contournement des défenses basales de la plante ont été acquises par les organismes pathogènes à partir de mutations génétiques. Ces organismes ont en effet sélectionné des molécules de défense appelées effecteurs ou facteurs de virulence, propre à chaque couple pathogène-plante, et qui agissent au niveau de la paroi (dégradation) ou dans la cellule (arrêt de la signalisation, inhibition des molécules de défense). L'injection de ces effecteurs dans les cellules de la plante bloque ainsi les mécanismes de défense et permettent la poursuite de la maladie. Ces facteurs de virulence ont à leur tour été neutralisés par les plantes qui par les processus d'adaptation évolutive ont sélectionnées des gènes codant pour la synthèse de protéines de résistance R. Ces protéines neutralisent les effecteurs et conduisent à l'arrêt du développement du pathogène.

Cette forme **de résistance ciblée** utilise les mêmes modes de défense que la résistance non spécifique (renforcement de la paroi, phytoaléxines, protéines de défense) mais est beaucoup plus intense et active un programme génétique supplémentaire : la réaction hypersensible.

Ce processus entraîne la mort des cellules qui entoure le site d'infection, pour arrêter la progression du pathogène, et produit des nécroses ponctuelles que l'on observe à la surface des feuilles.

Ce type de défense dit « gène pour gène » repose sur la reconnaissance moléculaire entre la plante-hôte et l'agent pathogène.

Selon ce mécanisme, une plante exprime une résistance spécifique à un agent pathogène spécifique lorsque le produit d'un gène de résistance R chez la plante entre en contact avec un effecteur de l'agent pathogène. Cette reconnaissance spécifique de ces deux gènes « complémentaires » déclenche une cascade d'évènements qui empêchent le développement de la maladie.

Dans le cas contraire (non reconnaissance des deux facteurs) la maladie se développe. Autrement dit, une plante portant un gène de résistance R donné ne sera résistante qu'à une souche de pathogène portant un gène dit d'avirulence Avr (gène de l'effecteur) correspondant, spécifique de ce gène R.

Par contre cette résistance sera totale vis-à-vis des individus avirulents, mais inefficace vis-à-vis des individus virulents, et donc qualifiée de **qualitative**.

1.2.3. La résistance systémique Acquisée (la SAR)

En même temps que sont mis en place des processus de défense sur le site de l'attaque, (résistance basale et/ou résistance spécifique) des signaux d'alerte vont être envoyés à tout le reste de la plante pour développer une résistance accrue aux attaques suivantes. Il s'agit de la Résistance Systémique Acquisée (**Systemic Acquired Resistance SAR**). Une phytohormone, l'acide salicylique, est synthétisée au lieu de l'attaque et va diffuser dans toute la plante pour potentialiser les mécanismes de résistance, en accumulant des transcrits de gènes de défense qui seront activés dès la première attaque. Cette course de vitesse et les réponses rapides apportées sont essentielles pour limiter voire supprimer l'infection. Cette protection, qui peut durer plusieurs semaines, va permettre à la plante de se prémunir contre l'attaque ultérieure d'un large spectre de pathogènes.

Plusieurs molécules du signal activées lors de la SAR :

- **Acide salicylique**

Cette molécule joue un rôle clé de molécule de signal **dans la résistance systémique acquise**. Sa production augmente après infection par différents types d'agents pathogènes. L'agent salicylique participe à la fois au confinement de l'agresseur sur le site primaire d'infection et à la mise en place de la résistance systémique acquise. Il déclenche l'expression des protéines de défenses, notamment **des protéines PR (Pathogenesis Related : gène de défense de la plante)**.

La SAR est associée avec une augmentation de la concentration d'AS endogène à la fois localement au niveau du site d'infection, mais aussi de manière systémique dans les tissus distants.

- **L'éthylène**

C'est une hormone végétale volatile qui participe au murissement et au vieillissement des plantes, mais aussi à leur mécanisme de défense. Ethylène étant un gaz, il diffuse partout dans la plante, il jouerait un rôle de signal endogène mobile.

- **L'acide jasmonique et son dérivé**

Le méthyle jasmonate, son synthétisés à partir l'acide linoléique (C18/ 3). Ils participent à la croissance et au développement des plantes, mais aussi à la signalisation aboutissant aux réactions de défense.

- **Autres molécules**

Les ROS constituent des signaux de la résistance systémique acquises. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) générées naturellement au cours du développement des plantes le sont de manière plus importante, plus rapide et plus localisée lors de l'attaque parasitaire. Ce phénomène est appelé « bouffée oxydante » et fait intervenir le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), son précurseur l'anion superoxyde (O₂⁻) et le radical hydroxyle (OH).

L'excès de ROS (Les espèces réactives de l'oxygène) au site d'infection est sans doute responsable de la mort des cellules.

1.2.4. Induire une résistance systémique basale par les Stimulateurs de Défense Naturel (SDN)

Un stimulateur de défense naturelle (SDN) est une molécule capable d'être reconnue par la plante et de déclencher les événements bio chimiques et cytologiques menant à l'expression de la résistance non spécifique basale. En d'autres termes, un SDN est une sorte de vaccin » susceptible d'activer le « système immunitaire » de la plante de telle sorte qu'une plante initialement sensible à un pathogène devienne résistante. Les SDN peuvent avoir une origine végétale, animale ou microbienne.

2- Mécanismes moléculaires impliqués dans la perception extracellulaire de l'agent pathogène par la plante

2-1. Les éliciteurs PAMPs, MAMPs et DAMPs (Les éliciteurs de pathogènes)

La résistance des plantes à la plupart des attaques qu'elles subissent dans la nature, viendrait en grande partie du fait qu'elles sont capables de percevoir la présence de l'agent pathogène. En effet, suite au premier contact avec la plante, l'agent pathogène peut être perçu soit à l'extérieur de la cellule végétale par la reconnaissance simultanée de motifs spécifiques présents à la surface du microorganisme, soit sur des effecteurs sécrétés par l'agent pathogène à l'extérieure de la cellule végétale, à proximité de la membrane plasmique (effecteurs apoplastiques : sécrétés dans l'espace inter-cellulaire). Ces motifs sont appelés « motifs associés à des molécules d'agents pathogènes » (**Pathogen-Associated Molecular-Patterns ; PAMPs**) ou « motifs associés à des molécules de microorganismes » (**Microbial-Associated-Molecular-Pattern ; MAMPs**).

-**Les PAMPs** interviennent dans l'immunité PTI et appartiennent à une large classe de molécules incluant des composés lipidiques, des glycolipides, des polymères de sucres, ou des (glyco-) peptides et protéines. Les structures des différentes classes de PAMPs sont hautement conservées d'un microorganisme à l'autre. **Ces éliciteurs**, isolés de virus, bactéries, champignons, oomycètes ou algues marines, sont produits de manière constitutive par le pathogène car ils sont généralement essentiels à son bon fonctionnement. Ces PAMPs correspondent à des molécules très conservées car essentielles pour l'agent pathogène.

Les récepteurs des PAMPs, les PRRs (Pattern Recognition Receptors) ou RLK (Extracellular receptor-Like Kinases), n'ont pas encore été tous identifiés. Cependant, la plupart de ceux connus sont constitués de trois domaines distincts : un domaine extracellulaire (riche en leucine) interagissant avec le PAMP, un domaine transmembranaire et un domaine kinase, responsable de la transmission du signal. En effet, l'induction de la PTI aura lieu suite à la reconnaissance d'un PAMP par un PRR.

Des **élicitines** qui forment une famille de protéines de structure proche jouant souvent le rôle de PAMP. En effet, ces protéines initialement décrites chez différents *Phytophthora* (une moisissure) induisent des réactions nécrotiques chez le tabac. On peut citer également, la flagelline, les lipopolysaccharides ou le facteur d'élongation EF-Tu des bactéries, la chitine des champignons ou les glucanes des oomycètes

-DAMPS : Les plantes peuvent aussi percevoir des molécules issues de la dégradation des composants de la cellule végétale ou du micro-organisme appelées « motifs moléculaires associés à une situation de danger » (**Danger-Associated-Molecular-Patterns ; DAMPs**). Par exemple, les chitinases secrétées par la plante sont capables de dégrader la paroi des champignons en s'attaquant aux liaisons glycosidiques des molécules de chitine. Cette dégradation impacte, non seulement la croissance des agents pathogènes fongiques par la disruption de leur paroi, mais entraîne également la production de PAMPs qui pouvaient être perçus par la plante.

Des composés endogènes de la plante sont libérés lors de l'attaque des cellules végétales par l'agent pathogène : l'acide galacturonique et des oligogalacturonides sont relargués suite à la dégradation de la paroi cellulaire, des fragments de cutines sont produits suite à l'action de cutinases... Ces molécules ont été regroupées sous le terme de DAMPs.

2-2. Reconnaissance des agents pathogènes et initiation du signal de danger

La perception extracellulaire des micro-organismes présents dans l'environnement se ferait principalement par l'intermédiaire de récepteurs de la plante appelés **Pattern-Recognition Receptors (PRR)** organisés en complexes membranaires. Contrairement aux mammifères qui présentent des PRRs localisés aussi bien à l'intérieur qu'à la surface de leurs cellules, tous les PRRs de plantes connus sont situés au niveau de la surface cellulaire.

Deux types de PRRs sont connus aujourd'hui : les Receptor-Like Kinase (RLK) et les Receptor-Like Protein (RLP). Ce qui différencie les RLKs des RLPs est la présence d'un domaine kinase intracellulaire chez les RLKs alors qu'il est absent chez les RLPs

Tous ces PRRs présentent un domaine transmembranaire et un domaine extracellulaire qui peut être de type Répétitions Riches en Leucine (LRR), Motif Lysine (LysM), Lectine ou encore Epidermal Growth Factor (EGF)-like.

2-3-Transduction et intégration des signaux de danger

La transduction du signal de danger se fait à travers un réseau complexe et redondant pouvant faire intervenir **des kinases, des signaux calciques, des espèces réactives de l'oxygène (ROS)**, ainsi que le trafic vésiculaire et l'autophagie qui désigne la dégradation de composants cellulaires par ses propres lysosomes.

❖ Autophagie et immunité chez les plantes

La mort cellulaire programmée chez les végétaux est un mécanisme immunitaire de défense spécifique contre les agents pathogènes connu sous le nom de réponse hypersensible (HR).

Lorsqu'une plante est infectée par une forme avirulente de l'agent pathogène, les cellules infectées déclenchent des mécanismes de mort cellulaire programmée associés à la réaction hypersensible autour du site de l'infection créant ainsi un environnement défavorable à la dispersion de l'agent pathogène. La HR est provoquée par la reconnaissance spécifique de l'agent pathogène par la plante *via* des interactions gènes d'Avirulence (Avr)-gènes de résistance (R).

L'activation des voies de signalisation de défense au site de perception du parasite engendre la production de messagers secondaires, hormonaux tels que l'acide salicylique, ou encore de ROS qui provoquent la mort des cellules attaquées et sont également véhiculés à distance dans les tissus adjacents.

3-Les effecteurs, déterminants clés du pouvoir pathogène

Afin de contourner les mécanismes de perception et de défense de la plante, la plupart des agents pathogènes seraient capable de sécréter des effecteurs apoplastiques ou cytoplasmiques.

- **Les effecteurs apoplastiques** : Ces protéines sont sécrétées dans l'espace apoplastique où ils agissent en tant que facteur de virulence.
- **Les effecteurs cytoplasmiques** : Chez les bactéries, les effecteurs cytoplasmiques sont injectés directement dans la cellule végétale par un système de sécrétion. Chez les oomycètes et les champignons, les effecteurs cytoplasmiques sont sécrétés de la même façon que les effecteurs apoplastiques mais les modalités et sites d'entrée de ces protéines dans le cytoplasme de la cellule végétale font toujours débat.

3.1. Le rôle des effecteurs dans la virulence des agents pathogènes

Au cours de l'évolution, les microorganismes phytopathogènes sélectionnés par l'environnement sont ceux ayant développé, à travers l'utilisation des effecteurs (apoplastiques et cytoplasmiques), différentes stratégies permettant : (i) la remobilisation des nutriments de l'hôte et (ii) l'inhibition des mécanismes de défense mis en place par la plante suite à la reconnaissance extracellulaire des différents agents pathogènes.

a) Dégradation des parois végétales : Un des rôles de la paroi des cellules végétales est de faire office de barrière naturelle et préformée contre les agents pathogènes. Les effecteurs apoplastiques de type Cell Wall Degrading Enzymes (CWDE), identifiés chez les bactéries et les champignons, jouent un rôle essentiel dans la pénétration et la colonisation de la plante en participant à la dégradation de la paroi qui entoure les cellules végétales. Parmi ces enzymes, des hydrolases impliquées dans la dégradation de la cellulose, du xyloglucans et de la pectine ont été identifiés chez les oomycètes.

b) Inhibition directe des molécules et enzymes de défense de la plante : Une autre stratégie consiste à inhiber directement les molécules et enzymes de défense sécrétés par la plante (protéases, enzymes dégradant la paroi, hydrolases) en utilisant des effecteurs apoplastique de type protéases. C'est le cas des protéines inhibitrices de glucanases de plantes identifiées chez *Phytophthora sojae*, *Phytophthora ramorum* et *Bremia lactucae* (c'est un Oomycète parasite les plantes).

c) Inhibition des mécanismes de défenses de l'hôte (Jeu de cache-cache) : Les effecteurs apoplastiques peuvent, par plusieurs moyens, empêcher le déclenchement des mécanismes de défense/résistance chez la plante, en évitant par exemple la perception des microorganismes par l'hôte. Pour ce faire, la stratégie la plus simple est d'empêcher la reconnaissance des microorganismes par les PRRs de plantes via la modification des motifs protéiques de type PAMPs.

Certains micro-organismes ont développé au cours de l'évolution des mécanismes faisant intervenir des effecteurs apoplastiques permettant de dégrader ou de camoufler les PAMPs aux « yeux » de la plante. Par exemple, la bactérie symbiotique *Sinorhizobium meliloti* produit des lipopolysaccharides capables de former une couche protectrice empêchant la perception de certains PAMPs par les PRRs de plante.

d) Manipulation de l'hôte : les micro-organismes peuvent également utiliser des effecteurs capables de cibler le noyau de la cellule végétale et d'interagir avec la machinerie cellulaire pour induire ou inhiber, directement ou non, l'expression (transcription ou traduction) de gènes de défense de la plante. L'effecteur HopU1 de *Pseudomonas syringae* contrôle l'expression des gènes de la plante en se liant à deux protéines chaperonnes AtGrp7 et AtGrp8 intervenant dans le turnover de certains ARNs.

e) Inhibition des réponses de défense de la plante utilisant le transport vésiculaire :

Les composés activateurs de défenses peuvent se déplacer de cellule à cellule et par voie systémique par le système vasculaire de la plante. Cette dernière stratégie vise à empêcher l'acheminement des molécules anti-microbiennes produites par la plante jusqu'au site d'infection en jouant sur le trafic vésiculaire qui constitue un goulot d'étranglement dans l'immunité végétale. C'est par exemple le cas des effecteurs de *Pseudomonad syringae* AvrE et HopM1.

Chapitre 04 : Communication chez les microorganismes : Le quorum sensing

Depuis plusieurs années, nous savons que les bactéries sont capables de communiquer entre elles et de changer leur comportement en fonction de leur densité cellulaire grâce à un processus appelé quorum sensing ou (QS). Cette communication intercellulaire repose sur des signaux chimiques que les bactéries synthétisent et secrètent dans le milieu extérieur et qui sont reconnus par les bactéries avoisinantes. Ceci conduit à une réponse synchronisée de la communauté par le biais de mécanismes génétiques de régulation. L'expression de facteurs de virulence, la sporulation, la production d'antifongiques ou d'antibiotiques, l'organisation en biofilm sont quelques-unes des fonctions régulées par QS.

Le quorum sensing a été découvert dans les années 70 au cours de l'étude d'un phénomène fascinant, celui de la **bioluminescence**. Dans l'eau de mer, *Vibrio fischeri* peut être retrouvé soit à l'état libre, soit en symbiose dans des organes particuliers de certains poissons comme l'espèce de calamar (*Euprymna scolopes*).

A l'état libre dans l'eau de mer (correspondant à une concentration bactérienne faible), *V. fischeri* n'émet pas de lumière. A l'opposé, lorsque *V. fischeri* se retrouve concentré dans l'organe spécialisé de *Euprymna scolopes* à une concentration de l'ordre de 10^{10} à 10^{11} CFU/ml, il émet une lumière. En effet, *V. fischeri* colonise l'organe de luminescence du calmar grâce à des pores qui s'y trouvent. Dans cet organe, *V. fischeri* croît à une forte densité (10^{10} - 10^{11} cellules/mL), produit un signal diffusible qui s'accumule et induit l'expression des gènes nécessaires à l'émission de la bioluminescence.

Cette symbiose entre les calamars et *V. fischeri* permet aux calamars d'échapper à leurs prédateurs. Les calamars sont repérés par leurs prédateurs situés en dessous d'eux grâce à l'ombre qu'ils provoquent en passant devant la lumière de la lune. Devenant lumineux grâce à *V. fischeri*, les calamars ne provoquent plus d'ombre et peuvent se nourrir en toute tranquillité.

Le calmar utilise la lumière émise par la bactérie comme contre-éclairage pour masquer son ombre, afin d'éviter les prédateurs. En retour, la bactérie bénéficie d'un environnement plus riche en nutriments au sein de l'organe du calmar, afin de pouvoir proliférer.

1. Définition du QS

Le QS est un mode de communication intra et inter espèces bactériennes qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées **autoinducteurs**, produites au cours de la croissance bactérienne. Lorsque la concentration des autoinducteurs atteint un seuil critique dans le milieu, ceux-ci pénètrent dans la cellule et interagissent avec un régulateur transcriptionnel qui permet l'expression de gènes spécifiques en réponse à la forte concentration de cet autoinducteur pour réguler certaines fonctions telles que la résistance aux antibiotiques, la formation de biofilms, l'expression génique des facteurs de virulence, la bioluminescence, la sporulation et l'accouplement (**Fig.46**).

2-Notion des autoinducteurs

Les auto-inducteurs sont de petites molécules de signal chimique, diffusibles et produites par les bactéries qui possèdent un système de régulation de type QS. Leur concentration externe

augmente en fonction de la **densité cellulaire**. La concentration seuil des auto-inducteurs est détectée comme un signal par les bactéries, qui en réponse expriment certains gènes et donc certains phénotypes ou comportements bactériens.

Ce système **signal-réponse** va permettre aux bactéries de synchroniser leur comportement et d'agir comme **des organismes multicellulaires**. Les auto-inducteurs du QS sont spécifiques au type de Gram des bactéries et à chaque espèce.

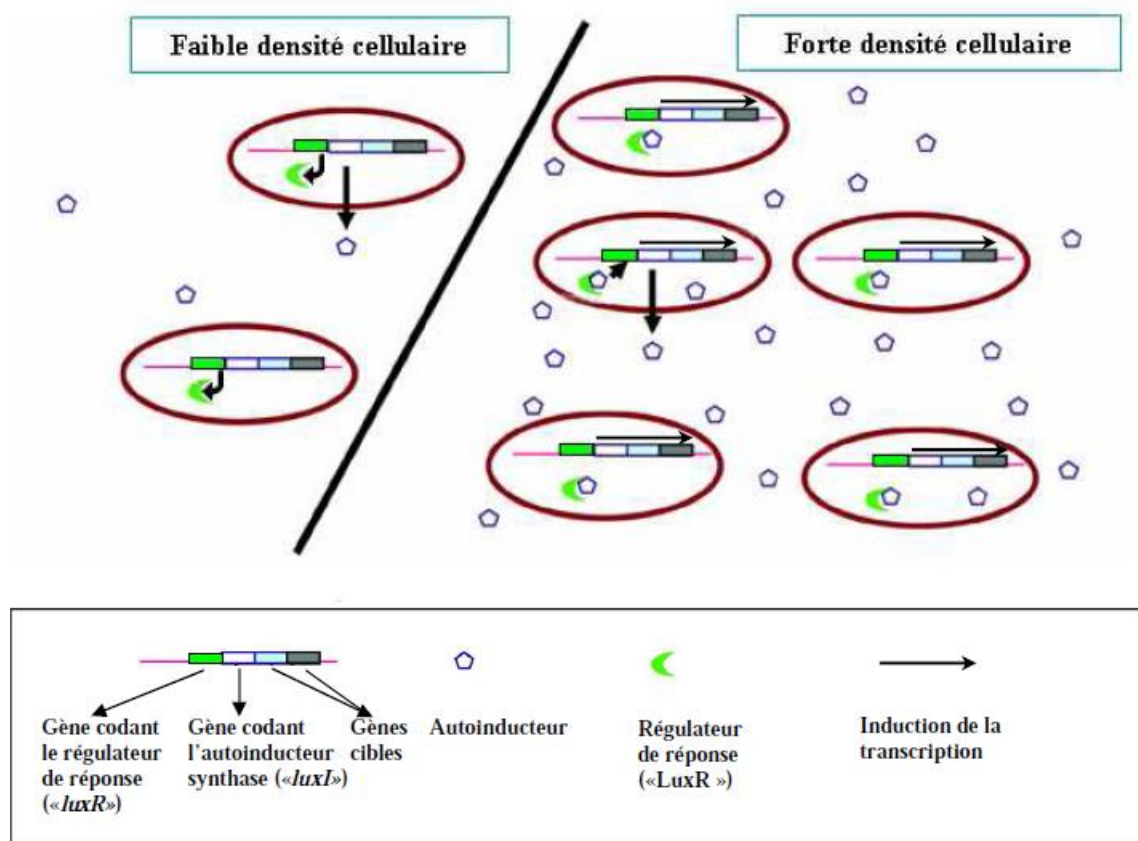


Figure 46 : Modèle schématique du quorum-sensing.

L'expression des auto-inducteurs dépend de la nature des bactéries (Gram- ou Gram+) (**Fig. 47**) et de son état physiologique (densité cellulaire), mais aussi elle nécessite la présence d'autres éléments : les signaux synthèses, les signaux récepteurs, les gènes et les signaux régulateurs.

Les bactéries à Gram- produisent des auto-inducteurs à partir d'un précurseur initial appelé homosérine lactone acylée (**HLA ou N-acyl homoserine lactones, AHL**). La synthèse d'HLA est catalysée par les enzymes de la famille de signal synthase (LuxI), (enzymes codées par l'opéron Lux). La transcription d'opéron Lux dépend de la densité cellulaire ; son activation nécessite une densité cellulaire significative. Ce système est très connu chez plusieurs espèces bactériennes à Gram- telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Agrobacterium tumefaciens*. Ces deux espèces sont capables de coupler leur expression génique en fonction des fluctuations de la densité cellulaire.

Les bactéries à Gram+ utilisent un autre système pour établir les signaux du QS. Elles génèrent a priori des peptides intracellulaires pour activer le fonctionnement du QS. Ces **peptides** sont exportés au milieu extracellulaire sous forme d'oligopeptides, ces derniers ont une affinité aux récepteurs membranaires externes riches en histidine. Cette interaction conduit a posteriori à la transduction du signal qui génère des voies de signalisation permettant l'activation et/ou la répression des gènes spécifiques, de telle façon que chaque protéine transcrite soit spécifiquement sélective à un peptide signal donné.

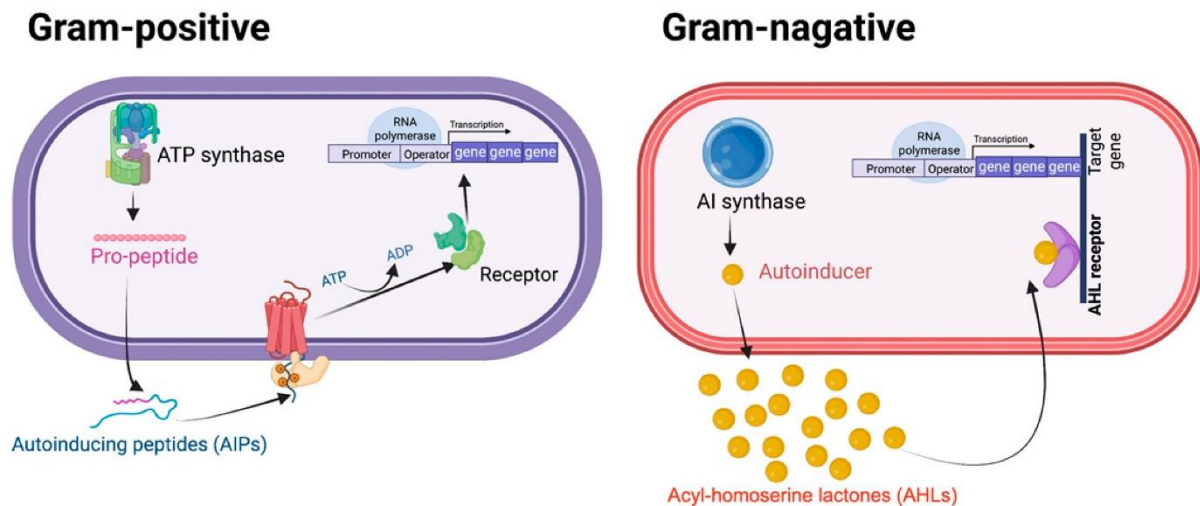


Figure 47 : Le QS chez les bactéries G^+ et G^- .

2.1. Acyl Homosérine Lactones (AHLs)

Les AHLs sont de petites molécules chimiques composées d'un noyau lactone et d'une chaîne acyle latérale, qui varie selon la longueur et selon la présence ou non d'un groupement substitué (oxo ou hydroxy), sur le carbone en position B. Leur caractère amphiphile leur permet de diffuser librement à travers les membranes cellulaires et dans le milieu extracellulaire (**Fig.48**).

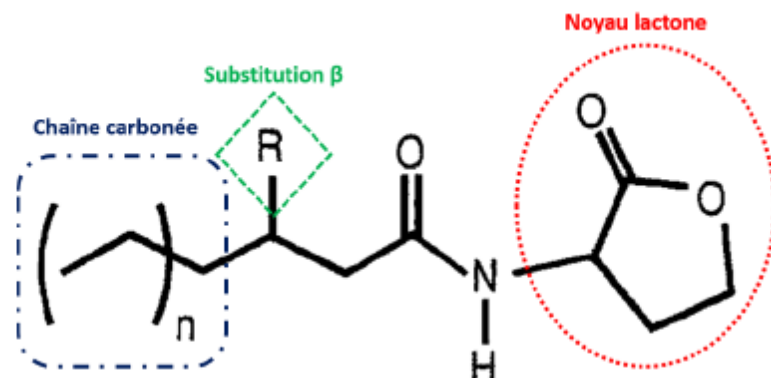


Figure 48 : Structure chimique des HLS/R aucune substitution OXO ou H.

2.1.1. Biochimie du signal : Lux I et Lux R

La protéine LuxI (synthase) est une enzyme qui permet :

- La biosynthèse de l’AHL, à partir de deux précurseurs : la S-adenosyl-méthionine (SAM) et une protéine porteuse d’acide gras (acyl- carrier protein ou ACP).
- La Formation d’une liaison amide entre SAM et partie acyl de acyl-ACP
- Lactonisation de la molécule intermédiaire formée.
- La formation de la molécule acyl-HSL (AHL)(**figure 49**).

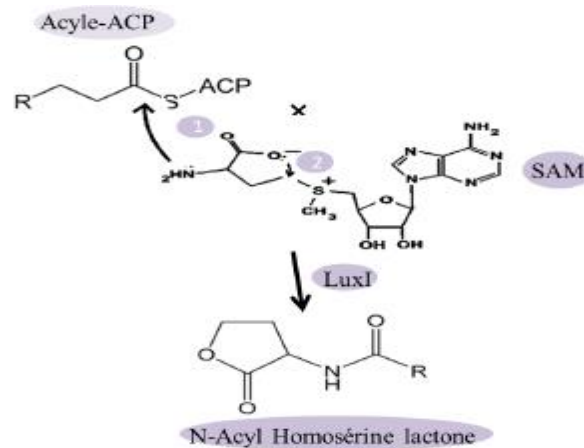


Figure 49 : Schéma général de la biosynthèse d’AHL (acylated homoserin lactone) par une protéine homologue de LuxI.

La protéine LuxR essentiellement cytoplasmique, cependant il arrive parfois qu’elle présente un caractère faiblement membranaire, associée à d’autres protéines (protéines membranaires périphériques), elle contient :

- Domaine N-terminal : fixation à acyl-HSL avec reconnaissance spécifique.
- Domaine C-terminal : motif très conservé hélix-turn-hélix responsable de la fixation à l’ADN (promoteur gène cible).
- Domaine C-terminal : interaction avec la $\text{ssu-}\alpha$ de l’ARN polymérase.
- Si LuxR seul : inhibition de la fixation à l’ADN par le domaine N-terminal.

Les AHLs diffusent librement et s’accumulent dans le milieu extracellulaire (**Fig. 50**). Lorsque le quorum est atteint, la concentration d’AHLs dépasse un seuil. Les AHLs se fixent alors sur leur récepteur intra bactérien LuxR conduisant à la dimérisation de ce dernier qui agit alors comme régulateur transcriptionnel. Il active la transcription des gènes de la bioluminescence en se fixant sur l’opéron luxI CDABE mais également la transcription des gènes de LuxI et LuxR effectuant ainsi un rétrocontrôle positif ou auto-induction.

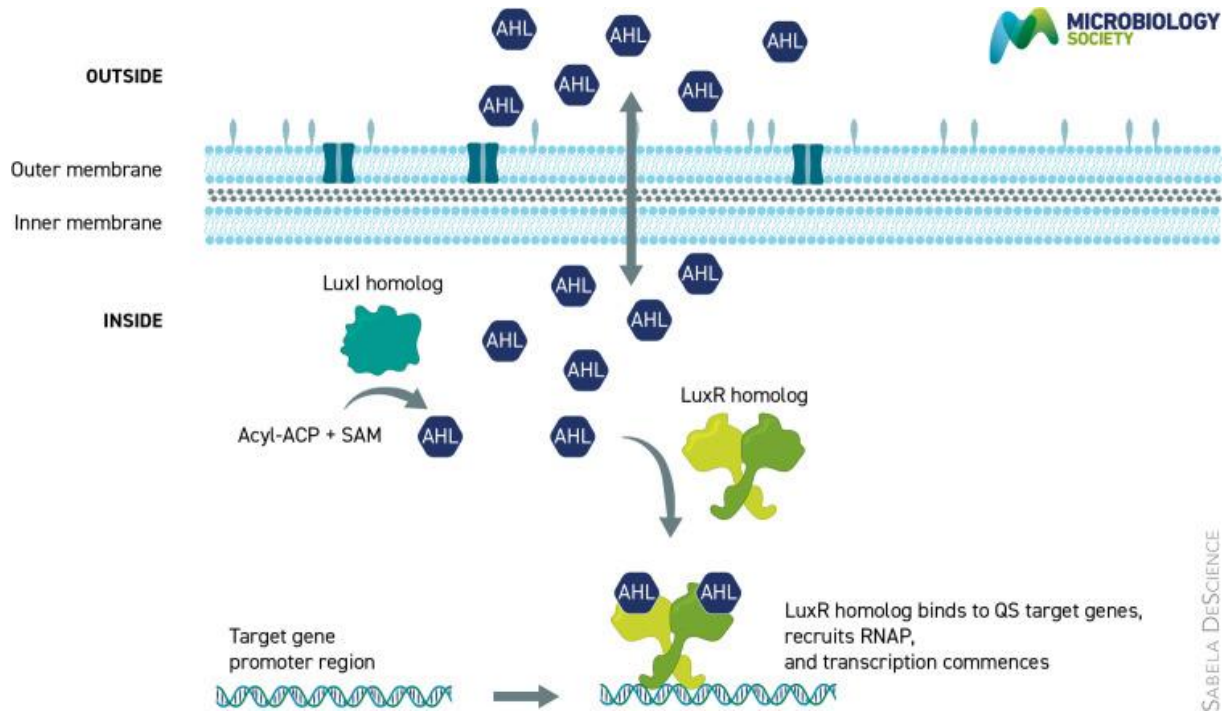


Figure 50 : Le cycle de diffusion membranaire de AHL et fixation sur le système LuxR.

2.1.2. QS chez les bactéries Gram négatif

Les AHLs sont synthétisées par une protéine homologue de LuxI et sortent des cellules par simple diffusion pour les courtes chaînes d'AHLs ou par transport actif pour les longues chaînes. Lorsque leur concentration atteint un seuil critique, elles entrent dans les cellules et se fixent à un récepteur homologue de LuxR.

Le complexe AHL-LuxR active la transcription de gènes spécifiques. En absence d'AHL, le récepteur de type LuxR se dégrade rapidement. Inversement, la fixation de l'AHL au récepteur stabilise celui-ci contre la protéolyse.

Un grand nombre de bactéries Gram négatif possède des protéines de type LuxI-LuxR et de ce fait, communique avec des signaux AHLs. C'est l'exemple, de *P. aeruginosa* et *Pseudomonas aureofaciens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia stewartii*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Yersinia enterocolitica*, *Chromobacterium violaceum*.... Ainsi, nombres de phénotypes sont régulés par le QS (**Fig.51**).

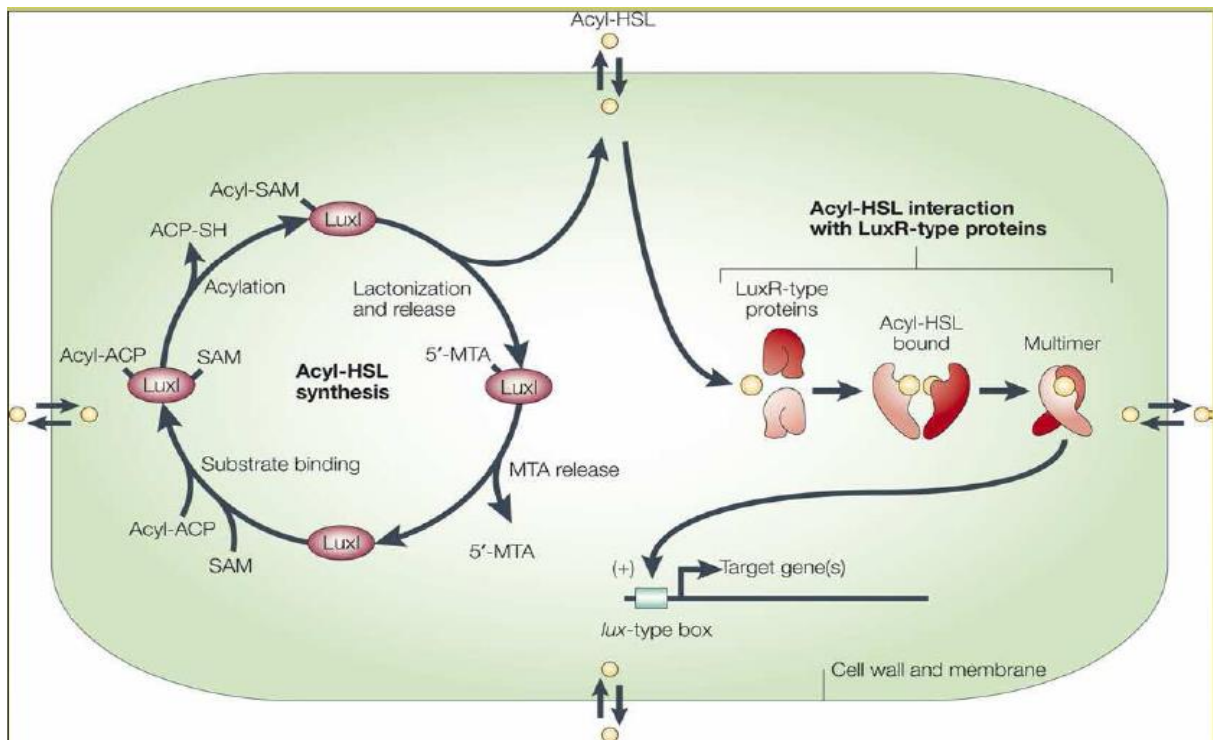


Figure (51) : Modèle schématique de synthèse et de transduction du signal AHL au sein d'une cellule bactérienne à Gram négatif.

La synthèse des AHLs réalisée par les protéines de type LuxI ainsi que l'interaction des AHLs avec les protéines de types LuxR sont représentées d'une manière générale. La double flèche noire au niveau de l'enveloppe cellulaire indique la capacité des AHLs à diffuser vers l'extérieur ou l'intérieur de la cellule. La fixation des AHLs aux protéines LuxR et la multimérisation sont présentées comme des événements distincts, mais il est probable que ces deux processus soient simultanés. ACP, "acyl carrier protein" ; MTA, méthylthioadénosine ; SAM, S-adénosylméthionine ; HSL, homosérine lactone; AHL, N-acyl-homosérine lactone.

❖ QS chez *V. fischeri*

le QS implique un couple de protéines appelées LuxI-LuxR. LuxI est la protéine qui catalyse la synthèse de l'autoinducteur de *Vibrio*; la 3-oxo-hexanoyl-L-homosérine lactone (3-oxo-C6-HSL). Cette molécule diffuse passivement à travers la membrane cellulaire des bactéries. Lorsque sa concentration atteint un seuil critique à l'extérieur de la cellule, soit à forte densité cellulaire (environ 10^{11} cellules/mL), elle pénètre dans la cellule, se fixe à la protéine réceptrice LuxR.

Le complexe **3-oxo-C6-HSL-LuxR** se fixe à son tour au promoteur d'un groupe de gènes appelé lux-boxes (lux-CDABE) qui codent pour la bioluminescence, pour en réguler leur transcription (**Fig.52**).

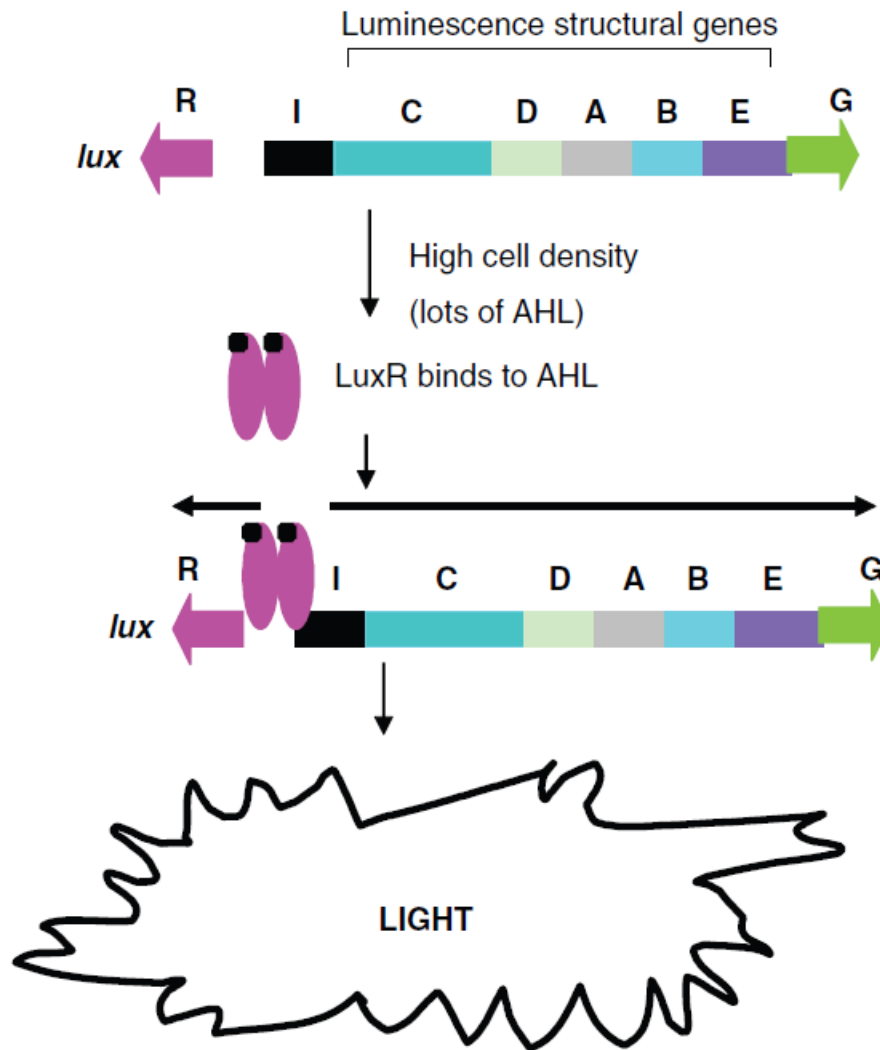


Figure 52 : Modèle d'activation de la bioluminescence chez *Vibrio fischeri* par le système de détection du quorum LuxR/LuxI.

❖ QS chez *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie qui est retrouvée dans l'eau et dans le sol. C'est un pathogène opportuniste de l'homme, des animaux et des plantes. L'une des raisons de sa pathogénicité est qu'elle produit de nombreux facteurs de virulence tels que les exoprotéases, des lipases et des sidérophores. Chez *P. aeruginosa*, plusieurs facteurs de virulence sont contrôlés par le QS.

Deux systèmes de QS ont été découverts, le système las/ 3-oxo-C12-HSL (homologues Lux I et Lux R) et le système rhl/C4-HSL/RhlR (homologues Lux I et Lux R), contrôlant la transcription de plusieurs gènes impliqués dans la virulence.

Le système las, le premier à avoir été décrit, comprend le gène lasR codant pour la protéine régulatrice LasR et le gène lasI codant pour une enzyme, auto-inducteur synthase, LasI, nécessaire à la synthèse d'un type d'AHL : N-(3oxododecanoyl)-L-homosérine lactone (3-oxo-C12-HSL).

Comme chez *V. fischeri*, les 3-oxo-C12-HSL (un type d'autoinducteur) possèdent la propriété de traverser facilement les membranes bactériennes et constituent ainsi un véritable moyen de communication entre les bactéries.

Lorsque la concentration en 3-oxo-C12HSL atteint un seuil critique, témoin d'une concentration bactérienne élevée, une molécule d'AHL se lie à deux protéines LasR pour constituer un complexe activateur de la transcription de plusieurs gènes.

Cette activation est déclenchée de manière synchrone dans toute la population bactérienne à la jonction entre la phase de croissance exponentielle et le début de la phase stationnaire (**Fig.53**).

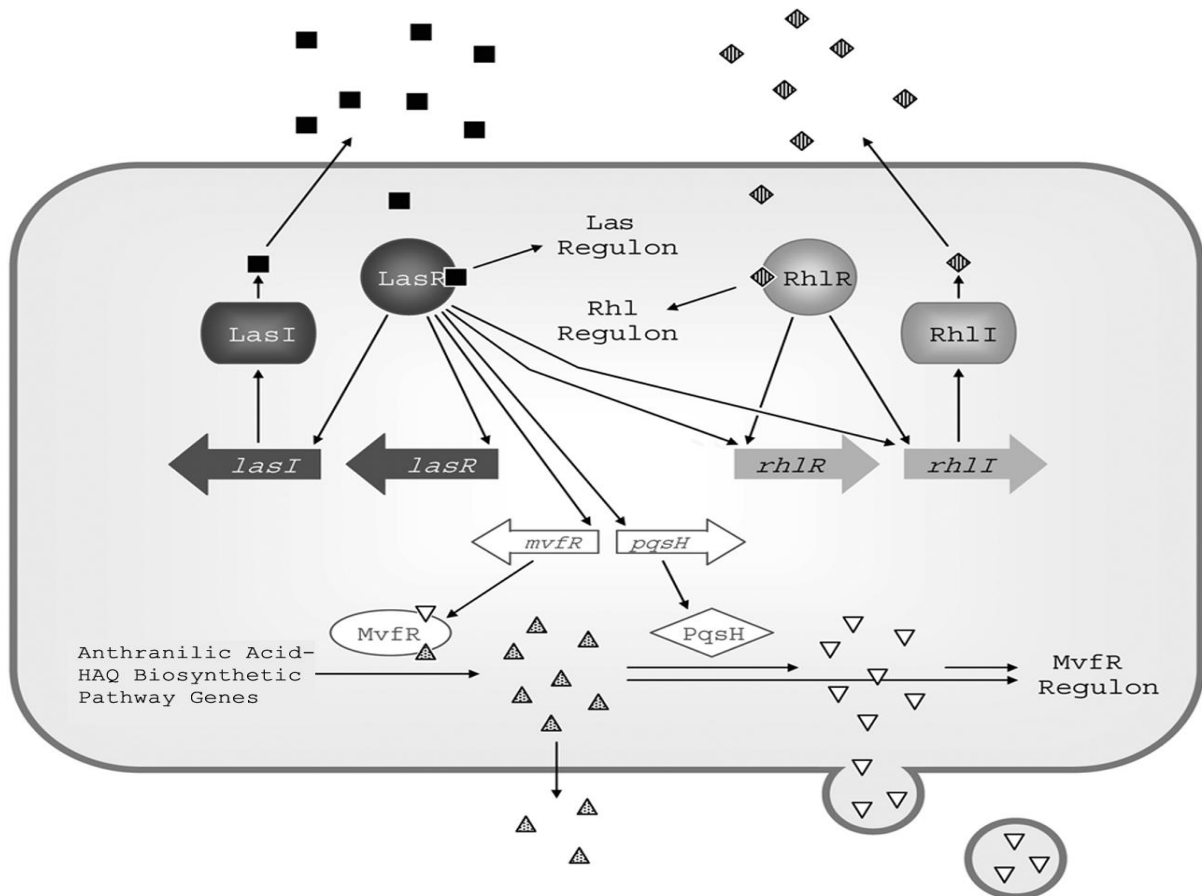


Figure (53) : Les systèmes hiérarchiques de détection de quorum de *Pseudomonas aeruginosa*. (HAQ, 4-hydroxy-2-alkylquinoléine).

Selon la figure 53 :

- *P. aeruginosa* contient 2 systèmes de détection de quorum de type LuxR/LuxI, appelés las et rhl. LasI produit l'autoinducteur d'acyl-homosérine lactone N-3-oxododécanoyl homosérine lactone (OdDHL; carrés), tandis que RhlI produit de la N-butanoyl homosérine lactone (BHL; diamants).

-OdDHL et BHL se lient respectivement à leurs récepteurs apparentés, LasR et RhIR.

-Les LasR ou RhlR activés induisent l'expression d'un complément de gènes, y compris leurs propres locus. Le LasR activé améliore également l'expression du locus rhl, ainsi que du mvfR, conduisant à une production accrue de 4-hydroxy-2-heptylquinoline (HHQ ; triangles) et du PQS (Pseudomonas Quinolone Signal) (PQS ; triangles inversés). Ainsi, le système las est placé carrément au-dessus des systèmes rhl et mvfR dans une cascade hiérarchique de régulateurs de virulence.

-Le système Las contrôle la synthèse de l'exoprotéase, de l'élastase, de la lectine, de la pyocyanine et le développement du biofilm. Le système Rhl déclenche la biogenèse des rhamnolipides. Le système PQS régule positivement les systèmes Las et Rhl et déclenche la production de pyoverdine et de pyochéline.

Le système LasI/LasR-RhlI/RhlR interviennent dans :

- La virulence : enzymes, biosurfactants, antibiotiques, formation de biofilm, etc.
- Formation de microcolonies et biosynthèse d'alginat (EPS) régulées par système Rhl.
- Maturation du biofilm régulée par système Las.

2.2. Peptides (G+)

Les oligopeptides sont des molécules de signalisation de cellule à cellule, couramment rencontrées chez les bactéries Gram positif. Ce sont des molécules intracellulaires qui interagissent avec des récepteurs membranaires, afin d'éviter la dégradation par des peptidases intracellulaires. Contrairement aux AHLs, les peptides ne sont pas diffusibles à travers la membrane, d'où la nécessité d'un transport actif par des transporteurs spécialisés d'oligopeptides situés sur la membrane cellulaire. Tout comme dans le cas des AHLs, la signalisation par les peptides est dépendante de la densité cellulaire. En plus, les peptides possèderaient également une spécificité pour un récepteur donné.

2.2.1. Biochimie du signal

-Sécrétion de peptides via un ABC-binding cassette transporteur.

-Détection des peptides par une protéine sensor histidine kinase transmembranaire => autophosphorylation sur histidine H (résidu conservé).

-Transfert du phosphate sur résidu conservé aspartate D : **response regulator protéine** => régulation de l'expression des gènes cibles

2.2.3. QS chez les bactéries Gram positif

Les bactéries Gram positif utilisent des dérivés peptidiques comme signaux de communication. Le signal peptidique est produit par une protéine précurseur et est excrété en dehors de la cellule par transport actif. Lorsque sa concentration extracellulaire atteint un niveau de stimulation minimale, le signal peptidique est détecté par deux composants membranaires **histidine kinases qui jouent le rôle de récepteurs**.

-L'interaction **du récepteur avec le ligand peptidique** initie une cascade de phosphorylation qui aboutit à celle de la protéine régulatrice. La série de phosphorylation active donc un récepteur qui vient se fixer à l'ADN et régule ainsi la transcription des gènes cibles. Tout comme chez les bactéries Gram négatif, ce type de système QS est aussi régulé de façon dépendante de la densité cellulaire.

❖ QS chez *Staphylococcus aureus*

L'un des systèmes de régulation à base de peptides parmi les plus décrits est le système *Agr* (accessory gene regulator).

A faible densité cellulaire, la bactérie se contente de sécréter des facteurs protéiques qui favorisent l'attachement et la colonisation des surfaces. Lorsque sa densité cellulaire est élevée, elle réprime la sécrétion des facteurs protéiques et se lance dans la sécrétion de protéases et de toxines qui sont sans doute nécessaires à l'établissement de l'infection.

Le système *agr* comprend l'ARNI, l'ARNII et ARNIII. L'opéron ARNII comprend les gènes *agr*, tels que *agrB*, *agrD*, *agrC* et *agrA*.

Les promoteurs P2 et P3 des régions ARNII et ARNIII sont activés en conséquence par *AgrA* phosphorylé. La voie de signalisation est initiée par la production d'un peptide codant pour *agrD*, qui est ensuite modifiée par une protéine membranaire intégrale nommée « *AgrB* ». Le peptide modifié agit comme un AIP (autoinducteur peptide) ultime.

Cette machinerie à deux composantes, composée d'*AgrA* et *AgrC*, ainsi que d'un domaine de liaison à l'AIP, participe à la transduction de l'histidine kinase.

La stimulation du système à deux composants active l'opéron RNAII, qui agit comme un régulateur de la transcription de l'ARNIII.

L'ARNIII peut déclencher la génération de toxine, tout en inhibant l'expression des protéines A et B liant la fibronectine, du peptide A, l'oligopeptide perméase, la coagulase et d'autres protéines de surface (**Fig. 54**).

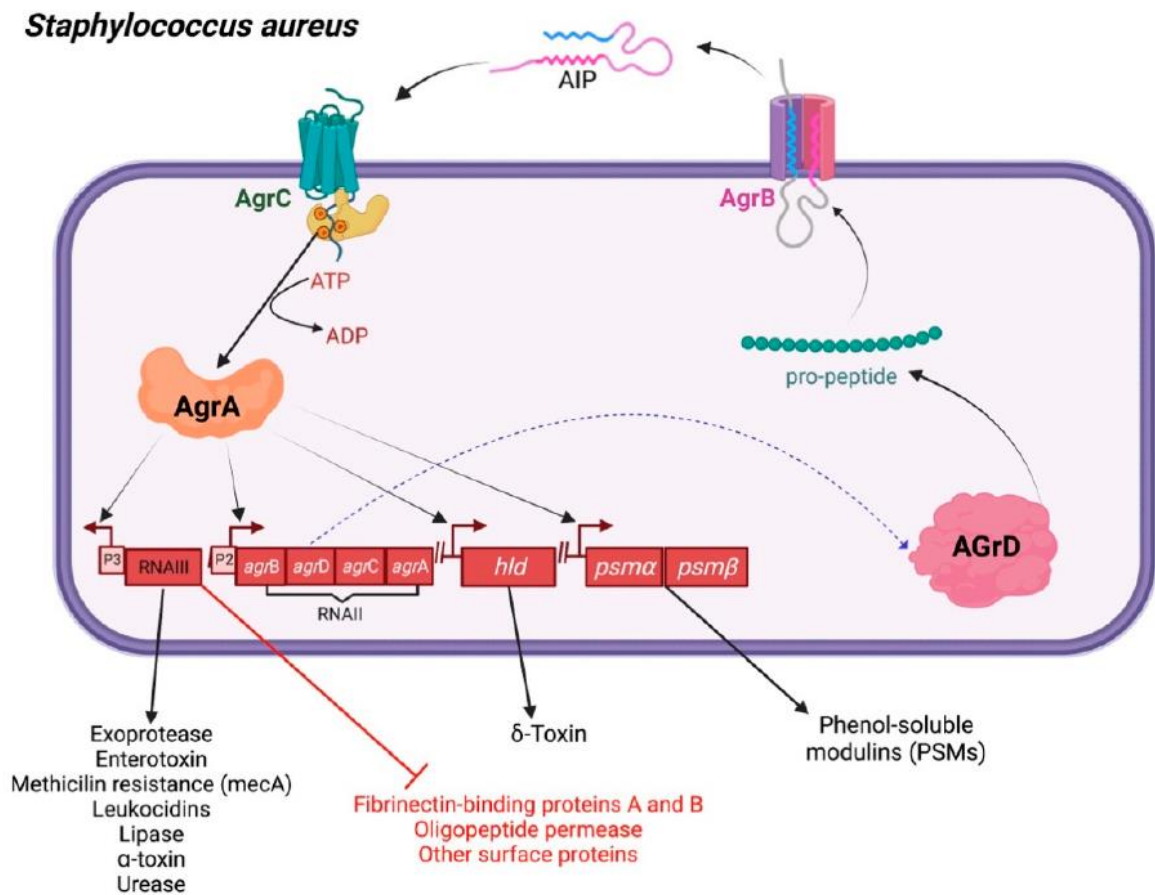


Figure (54): Le système de détection du QS du régulateur de gène (agr) de *S. aureus*.

2.3. QS chez *Vibrio harveyi* : système hybride

Ce type de QS a été décrit pour la première fois chez *Vibrio harveyi*, qui il contrôle la synthèse de la bioluminescence.

V. harveyi produit deux auto inducteurs nommés HAI1 et AI-2.

Le premier signal, HAI-1 est une AHL, bien qu'il ait été montré que sa synthèse ne dépend pas de l'enzyme type LuxI. Il s'agit de la 3-OH-C4-HSL.

Le second autoinducteur, AI-2 est un furanosyl-borate diester. La synthèse de l'AI-2 est dirigée par le produit du gène luxS qui est largement conservé chez bactéries Gram négatif et positif.

3. QS et pathogénicité bactérienne

Plusieurs études ont montré l'implication des signaux intercellulaires du QS dans différentes phases de développement de biofilms. Par exemple, la formation de biofilms chez *Pseudomonas aeruginosa* passe par plusieurs étapes, et dans chacune de ces étapes, la régulation de la population bactérienne est contrôlée par le système du QS. La matrice du biofilm est principalement constituée d'exopolysides (EPS), et sa production est sous le contrôle du QS.

Certaines bactéries, sous le contrôle des signaux du QS, libèrent des copies de leur ADN dans le milieu extracellulaire. D'autres bactéries meurent et se lysent au sein de biofilms et libèrent leur ADN au sein de la matrice. L'ADN très chargé négativement s'accumule autour des bactéries et les protège contre l'activité des composés cationiques bactéricides (peptides antimicrobiens, certains antibiotiques).

L'ADN représente donc une molécule idéale pour assurer la formation d'un échafaudage de biofilms, qui permet l'échange des gènes au sein de ce biofilm, et peut éventuellement servir comme source de nutriments dans des conditions oligotrophiques.

La pathogénicité des bactéries et leur capacité à former les biofilms ont de plus en plus aggravantes lors que leur densité cellulaire est importante. Cette caractéristique est liée à la présence d'autres espèces bactériennes et à l'interaction cellule-cellule, ce qui influence la capacité de chaque espèce à produire les signaux du QS.

4. Contrôle du QS par des substances naturelles

Plusieurs études suggèrent la nécessité de contrôler les infections bactériennes via l'inhibition du QS par plusieurs mécanismes. En effet, on peut agir a priori sur la synthèse du signal HLA par : l'inhibition de la synthèse des acyles porteurs des protéines, l'inhibition d'HLA synthase et l'inhibition du transport des molécules HLA vers l'extérieur.

L'action peut être aussi orientée a posteriori vers l'inhibition de la réception des signaux de molécules d'HLA par leur séquestration ou leur dégradation au niveau intracellulaire et par l'inhibition compétitive.

Plusieurs molécules de natures diverses ont été testées pour leurs effets anti-QS. Ces molécules ont montré souvent des actions spécifiques contre certaines cibles citées. Par ailleurs, la diversité hétérogénétique des micro-organismes et, par conséquent, les molécules du QS exprimées rendent compte de la recherche dans ce sens très colossale. Dans ces dernières années, les chercheurs ont remarqué qu'un mimétisme moléculaire existe entre les médiateurs du QS et les métabolites secondaires de certaines plantes. Ces dernières sont dotées de métabolites secondaires de structures chimiques extrêmement complexes et variables.

Les huiles essentielles et les extraits organiques de ces plantes ont montré leur capacité d'inhiber les phénotypes liés au fonctionnement du QS tels que le biofilm, la motilité et les facteurs de virulence. En effet, l'huile essentielle de *Citrus reticulata* a inhibé la formation de biofilms et la production de la molécule HLA, précurseur principal de construction du QS. Cette action a été attribuée au limonène ; composé majeur de cette huile essentielle.

Chapitre 05 : Mécanismes d'adhérence cellulaire

L'adhérence cellulaire gouverne la morphogenèse et l'intégrité des tissus biologiques, ainsi que la communication entre les cellules et leur environnement. Ces mécanismes font intervenir des complexes multimoléculaires, composés en particulier de trois types d'éléments fonctionnels : les molécules d'adhérence, les protéines de la matrice extracellulaire et les protéines d'ancrage intracellulaire. Les molécules d'adhérence, présentes au niveau de la membrane plasmique, sont les premiers acteurs des interactions intercellulaires. Leur association est régie par un ensemble d'interactions en perpétuelle dynamique. Cette dynamique d'interaction sera primordiale dans la régulation du développement des contacts entre cellules.

L'adhérence cellulaire est un processus complexe, elle inclue des contacts entre :

- Les cellules et la matrice extracellulaire.
- Contacte entre deux cellules : homotypique (deux cellules de même type) et hétérotypique (deux cellules de nature différentes).

L'adhérence cellulaire se définit comme l'ensemble des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en œuvre pour faire lier les cellules entre elles ou avec le milieu qui les entoure. Cette adhérence cellulaire est essentielle pour l'intégrité des cellules, leur croissance et la communication avec d'autres cellules.

I-Adhérence cellulaire chez la cellule animale

❖ **Adhésions et jonctions cellulaires**

Adhésion : base de la formation des êtres pluricellulaires pour former des tissus impliquent des reconnaissances : transitoires=adhésions, ou plus fixes =jonctions (plus spécifiques). Jonction : reconnaissance spécifique avec le cytosquelette.

❖ **Notion de l'épithélium et L'endothélium**

L'épithélium peut se définir comme un assemblage de cellules (en couches plus au moins nombreuses) qui constitue une barrière entre l'organisme et son environnement. Exemples : la peau, la muqueuse de la vessie et du tube digestif sont recouvertes par des épithéliums.

L'endothélium est le revêtement interne monocouche des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et constitue une barrière entre deux compartiments corporels.

Les jonctions intercellulaires des cellules épithéliales peuvent être classées en trois groupes (selon leur ultrastructure et leur fonction) (**Fig. 55**) :

- **Les jonctions étanches**, « jonctions serrées » ou « zonula occludens » capables de limiter la perméabilité de l'épithélium (ou de l'endothélium),
- **les jonctions d'ancrage**, « zonula adherens » et « desmosomes », qui permettent l'attachement mécanique des cellules entre elles,

- **Les jonctions communicantes**, « jonctions de type gap », qui permettent le passage de signaux chimiques ou électriques entre les cellules.

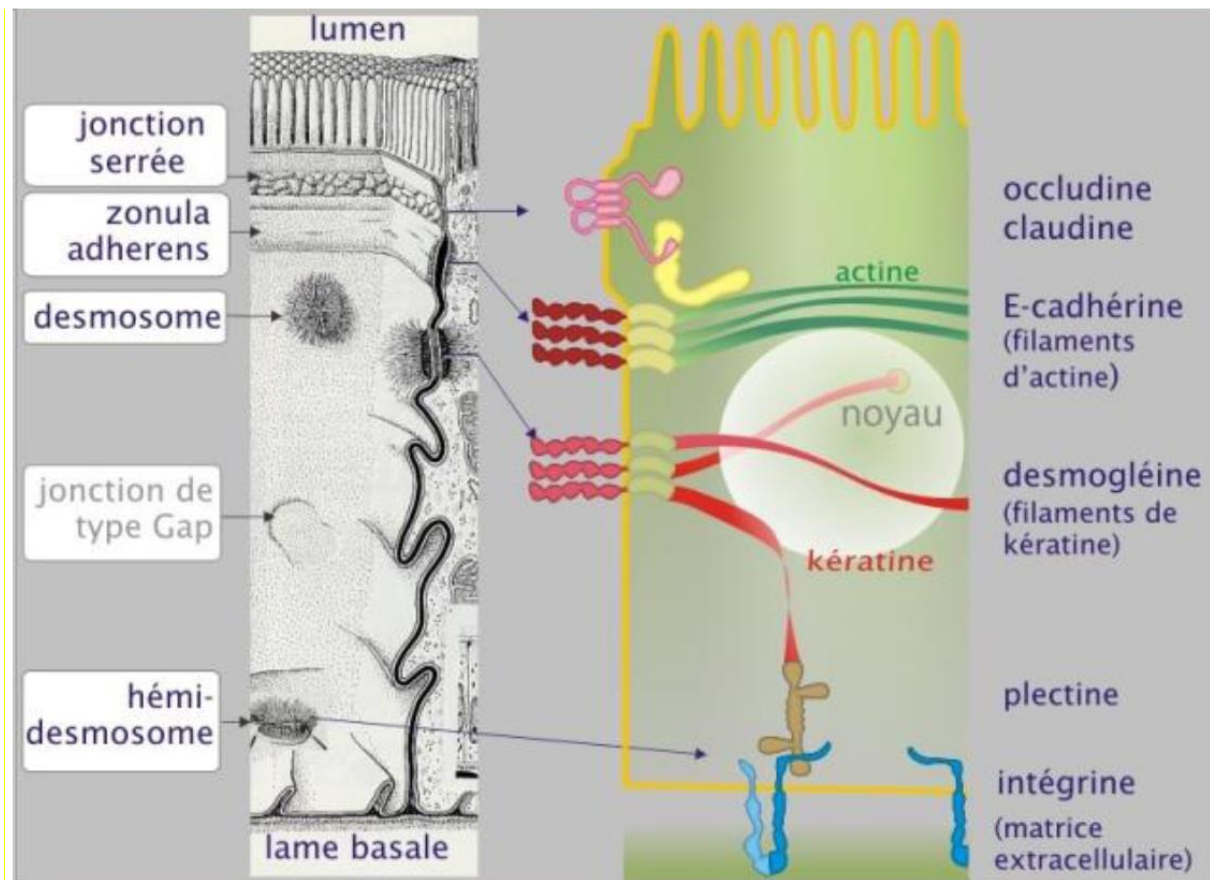


Figure (55) : Les jonctions d'adhérence.

Les molécules d'adhérence sont représentées par deux types de molécules :

- ✓ Les CAM (CellAdhesionMolecules) qui permettent l'interaction entre les cellules.
- ✓ Les SAM (SubstrateAdhesionMolecules) qui permettent l'interaction entre la cellule et la matrice extracellulaire.

CAM signifie molécule d'adhésion cellulaire et permet l'adhérence intercellulaire c'est-à-dire qu'elle permet de relier deux cellules entre elles.

SAM signifie molécule d'adhésion au substrat et va assurer l'adhérence des cellules avec un substrat, le plus souvent la matrice extracellulaire. Cette adhérence est assurée grâce aux membranes basales pour les épithéliums. soit des simples rapprochements : **transitoires** soit et surtout des mécanismes d'adhérences : **jonctionnelles**.

Ces interactions peuvent être **homophile**, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux mêmes protéines, et **hétérophile**, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux protéines différentes (**Fig. 56**).

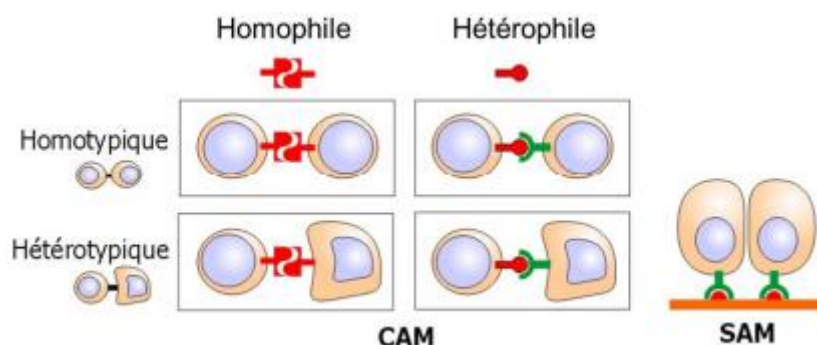


Figure (56) : Les types d'interaction des molécules d'adhérences.

I.1.Définition des molécules d'adhésions

Ce sont des glycoprotéines membranaires qui possèdent des ligands exprimés sur une autre cellule ou appartient à la matrice extracellulaire. Leur expression sur la membrane cellulaire est soit constitutive ou induite. De multiples molécules ont été identifiées. On les a classées en quatre grandes familles : ▪ Les sélectines (CAM) ▪ Les intégrines (SAM/CAM) ▪ La superfamille des immunoglobulines (CAM) ▪ cadhérine (CAM).

a) *Immunoglobuline*

Ce sont des glycoprotéines transmembranaires Calcium-indépendantes dont la partie extracellulaire contient un nombre variable de domaines Ig like riche en cystéine. Les molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines lient les intégrines (**Fig. 57**).

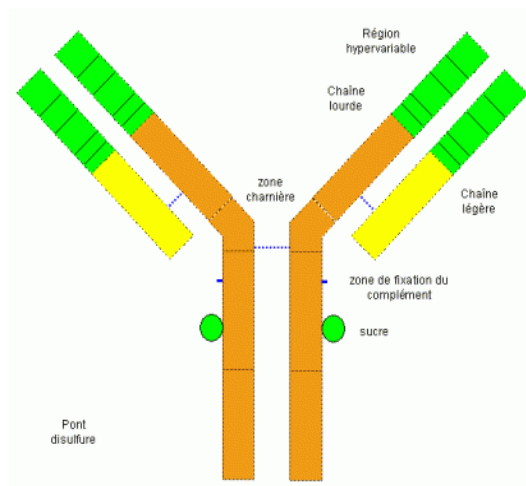


Figure (57) : Structure de l'immunoglobuline.

b) Cadhérine

Les cadhérines sont des glycoprotéines sous la forme de monomère, possédant une extrémité N-terminale extracellulaire et étant **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante**. Les différents types de cadhérines sont spécifiques au tissu.

Ces molécules jouent un rôle principal dans les jonctions intercellulaires de type **desmosomes**.

Quand le Ca^{2+} se lie aux domaines cadhérines répétés, elles peuvent changer de conformation et se lier aux domaines semblables d'une cellule adjacente. De même, la diminution du Ca^{2+} extracellulaire peut entraîner la dissociation des cellules. nd le Ca^{2+} se lie aux domaines cadhérines répétés, elles peuvent changer de conformation et se lier aux domaines semblables d'une cellule adjacente. De même, la diminution du Ca^{2+} extracellulaire peut entraîner la dissociation des cellules (**Fig. 58**).

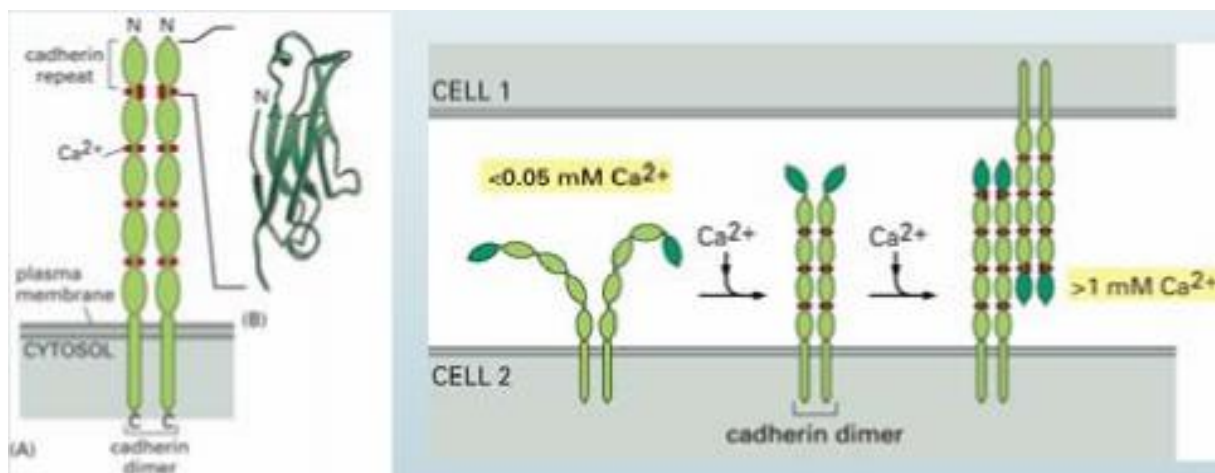
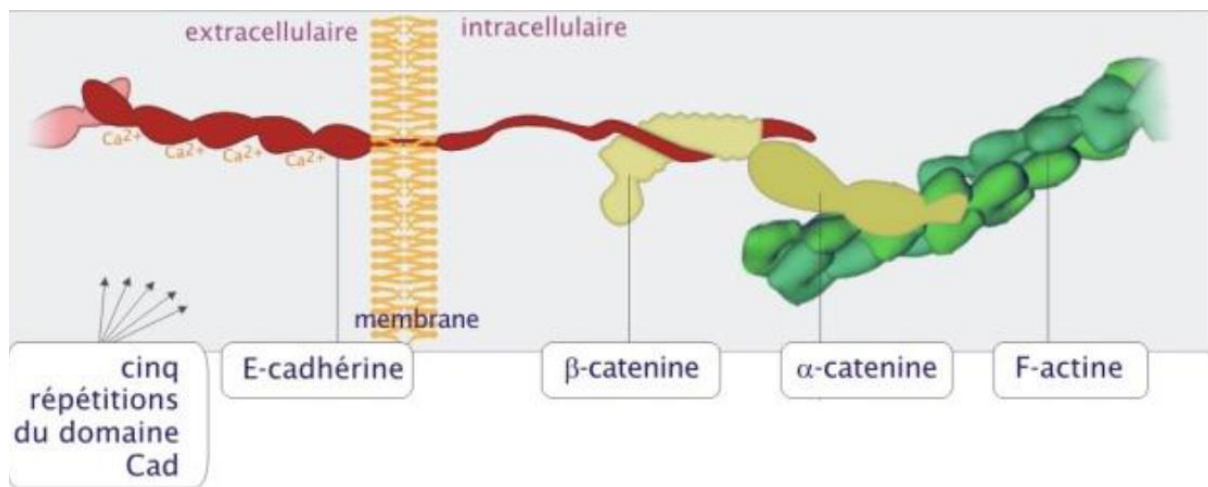


Figure (58) : Cadhérine et son lien avec le cytoplasme.

c) Sélectine

Les sélectines font partie de la famille des molécules d'adhérence et ont la particularité de posséder un domaine de liaison aux sucres, le CRD (Carbohydrate Recognition Domain).

Les sélectines sont des glycoprotéines sous forme de monomère possédant une extrémité N-terminale extracellulaire. Les sélectines sont des lectines **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante** qui ont la spécificité de reconnaître les groupements glucidiques d'autres glycoprotéines (le ligand).

Ils jouent un rôle essentiel dans l'adhérence des cellules à l'endothélium vasculaire et qui contrôlent les phénomènes d'inflammation.

On distingue trois types de sélectine : la L-sélectine (CD62L) qui est exprimée constitutivement par la plupart des populations leucocytaires, la P-sélectine (CD62P) qui est retrouvée sur les plaquettes et les cellules endothéliales et la E-sélectine (CD62E) exprimée par les cellules endothéliales activées (**Fig.59**).

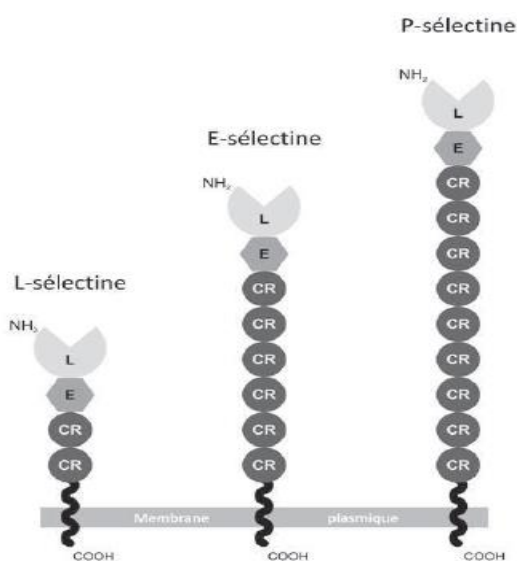


Figure (59) : Représentation schématique de la structure des sélectines.

CR : domaine homologue aux protéines régulatrices du complément, E : domaine homologue au facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor), L : domaine lectinique de type C (calcium dépendant).

d) Intégrine

Les intégrines sont des glycoprotéines sous forme de **dimère (deux chaînes)** ($\alpha\beta$) présentant une extrémité extracellulaire N-terminale et de courts domaine cytoplasmique et étant elles aussi **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante**. Les intégrines interagissent avec les composants de la matrice extracellulaire et de la lame basale tels que les fibronectines, les laminines et le collagène. Elles interagissent également par des interactions hétérogènes avec des immunoglobulines et des cadhérines, et dans le milieu intracellulaire avec le cytosquelette (**Fig. 60**).

Les intégrines sont de véritables récepteurs. En effet leur liaison avec la matrice extracellulaire engendre des signaux cytoplasmiques importants pour la survie cellulaire et pour la réponse proliférative aux facteurs de croissance, comme le facteur épidermique de croissance (EGF)

(voir ressource sur « les récepteurs »). Quand les cellules adhérentes se détachent de leur matrice extracellulaire, elles meurent par un processus spécifique que l'on appelle mort programmée ou apoptose. On pense que ce phénomène est mis en place pour éviter que les cellules ne métastasent. A l'inverse, les cellules transformées (cellules tumorales) survivent au détachement, échappent à l'apoptose, et ont ainsi la capacité de métastaser (coloniser d'autres sites dans l'organisme).

Leurs principaux ligands extra-cellulaires sont les collagènes I et IV, la laminine, la fibronectine.

❖ Activation des intégrines

Les intégrines sont exprimées sur la membrane cellulaire sous leur état inactif (intégrines non fonctionnelles), leur activation est induite par des cytokines et des chimiokines. Lors de l'activation elles subissent un changement de conformation pour leurs permettre d'interagir avec leurs ligands (interaction de forte affinité) (**Fig. 60 et Fig. 61**).

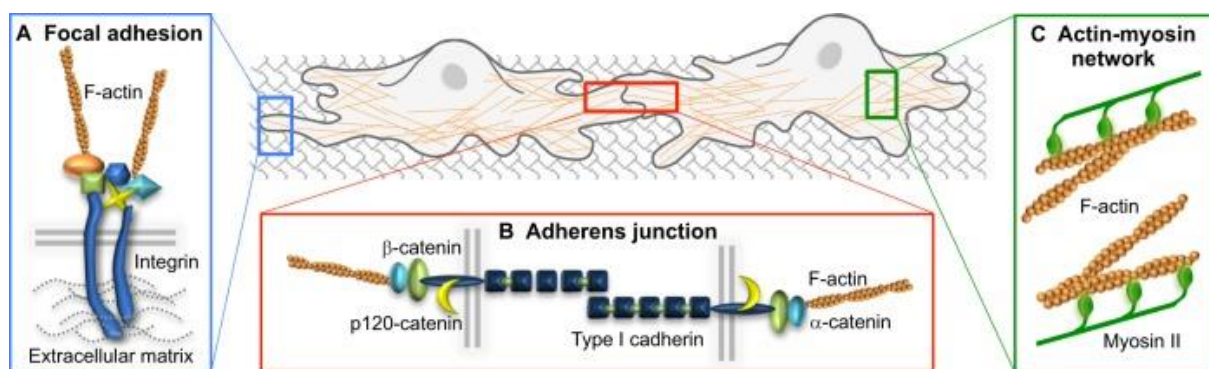


Figure (60) : Intégrine avec autres molécules d'adhérence.

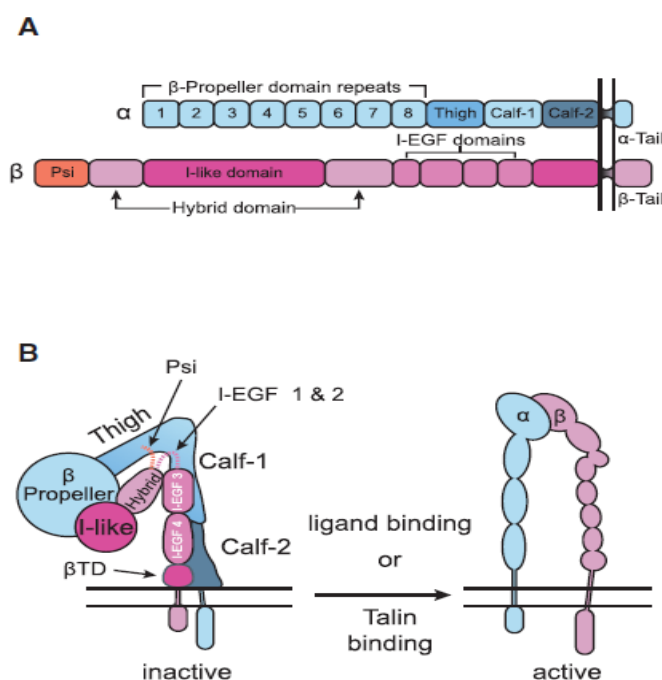


Figure (61) : A) Organisation du domaine et structure d'une intégrine générique, B) Activation des intégrines.

I.2. Rôle des molécules d'adhésion

a) **Dans l'assemblage cellulaire** : Les molécules d'adhérence sont à la base du mécanisme qui permet à une cellule embryonnaire de s'attacher au bon moment à une cellule qu'elle aura identifiée (formant ainsi un tissu puis un organe) (**Fig.62**).

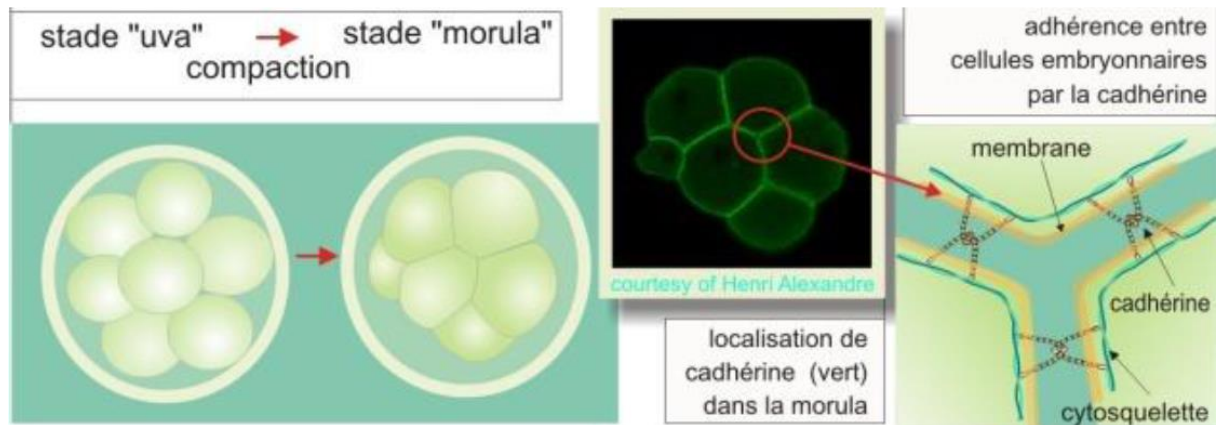


Figure (62) : Les molécules d'adhérence dans la compaction embryonnaire.

b) **Dans la circulation des cellules immunitaires** : Les molécules d'adhérence sont également à la base des processus qui permettent la circulation des cellules du système immunitaire dans l'ensemble des organes. Le phénomène d'inflammation localisé au site de lésion ou d'infection attire les cellules immunitaires compétentes (les leucocytes tels que monocytes, lymphocytes et granulocytes) nécessaires au déclenchement de la réparation tissulaire et de la lutte contre les agents pathogènes. En effet, au niveau du site d'inflammation, les leucocytes quittent la circulation sanguine et s'infiltrent dans le tissu enflammé (**Fig. 63**).

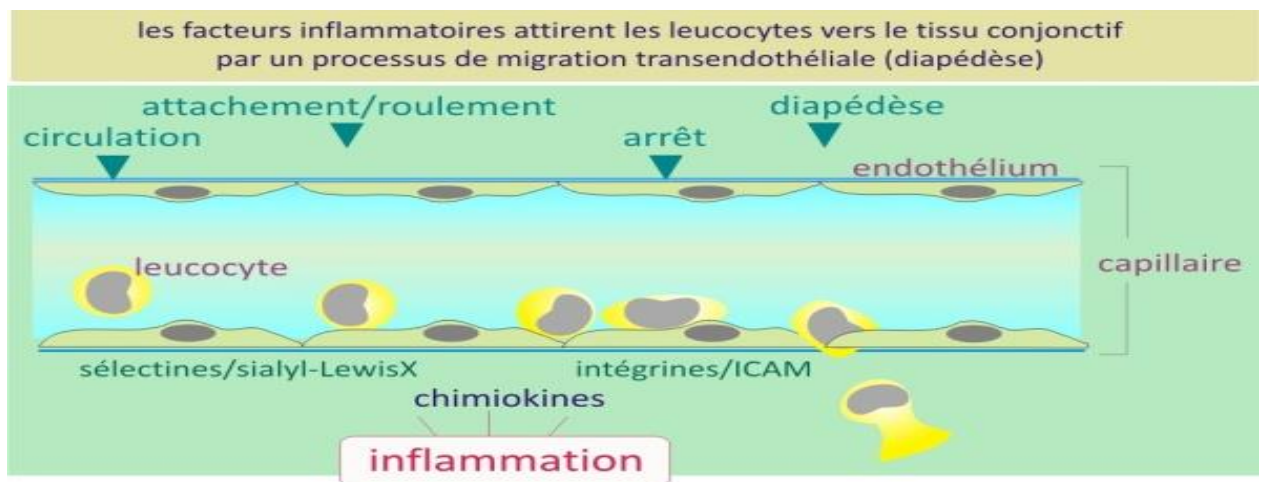


Figure (63) : Les sélectines, intégrines, CAM et la migration transendothéliale.

c) Dans l'altération de la membrane basale et la migration des cellules cancéreuses : Les intégrines sont une famille de récepteurs d'adhésion cellulaire qui jouent un rôle crucial dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire. Ces récepteurs glycoprotéiques régulent diverses fonctions dans les cellules tumorales et sont impliquées dans plusieurs étapes de la progression du cancer.

En prenant l'exemple des carcinomes, les modifications et l'altération dans l'expression des intégrines peuvent entraîner l'attachement des cellules à la membrane basale, notamment par une baisse de l'interaction cellule-cellule. Les intégrines jouent un rôle dans la migration cellulaire, l'invasion et la survie indépendante de l'ancrage. Également pour les sarcomes, une expression exagérée des récepteurs du laminine et collagène de type IV est observée, facilitant l'adhérence des cellules à la membrane basale. Cette adhérence entraîne un déclenchement du signal émis par les intégrines qui par différentes voies interconnectées entraîne le renforcement de plusieurs fonctions de la cellule associant les modifications morphologiques, le renforcement de l'adhésion à la membrane basale et contact avec la matrice extracellulaire, l'activation des gènes codant pour les protéinases, production par les cellules néoplasiques des enzymes protéolytiques dégradant la matrice extracellulaire et migration de ces cellules avec initiation de la néoangiogenèse.

II-Les molécules d'adhérence chez les microorganismes

Dans le domaine de la microbiologie, les adhésines occupent une place importante en raison de leur rôle critique dans les interactions hôte-pathogène et la communication microbienne. En effet, l'adhésion est une étape essentielle dans l'établissement du processus infectieux. Il est reconnu qu'une bactérie, pour s'établir dans l'organisme, doit d'abord adhérer aux cellules de l'hôte ou à la matrice extracellulaire, afin de pouvoir résister aux différents mécanismes susceptibles de l'éliminer, comme le flux urinaire ou le péristaltisme intestinal.

Les fonctions principales des adhésines peuvent être résumées comme suit :

- Facilitation de l'attachement à la surface.
- Formation de biofilms.
- Amélioration de la colonisation bactérienne.
- Résistance aux défenses de l'hôte.

II.1. Les adhésines

La surface des microorganismes, particulièrement les bactéries, est un organite hautement spécialisé et l'un de ses principaux objectifs est de faciliter l'adhérence. Le nombre de structures de surface capables de médier une adhésion spécifique ou non spécifique aux surfaces est vaste. En fonction de la structure des adhésives, le rôle lors de la colonisation peut varier : il peut s'agir de permettre une adhésion initiale, spécifique et non spécifique, en établissant une interaction hydrophobe avec la surface de l'hôte, surmontant ainsi la répulsion électrostatique entre la surface bactérienne et la surface de la cellule hôte.

Les adhésines sont des protéines qui aident à se fixer aux surfaces biotiques ou abiotiques par adhésion. Les bactéries avec des adhésines se lient à des récepteurs spécifiques à la surface des tissus pour empêcher leur élimination.

Les adhésines peuvent être associées à des toxines et des invasives.

Les adhésines sont des complexes protéiques qui reconnaissent et se lient aux récepteurs protéiques également à la surface de la cellule hôte.

Les adhésines sont des candidats vaccins attrayants car ils sont essentiels à l'infection et sont situés à la surface, ce qui les rend facilement accessibles pour les anticorps.

-Les adhésines se trouvent sur les agents pathogènes bactériens, viraux, fongiques et protozoaires (**Fig. 64**).

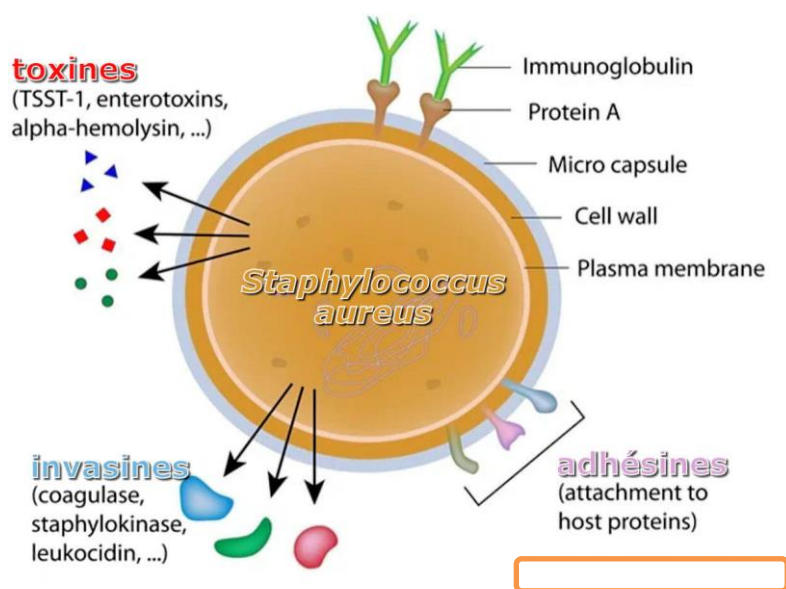


Figure (64) : Les adhésines de *Staphylococcus aureus*.

❖ L'intimine

Est une adhésine de 94 à 97 kDa essentielle à l'attachement intime des cellules bactériennes à la surface de la cellule hôte. L'intimine est localisée au niveau de la membrane externe bactérienne. Elle est composée de deux parties : la région N-terminale ancrée dans la membrane externe de la bactérie et la région C-terminale variable permettant l'interaction avec le récepteur Tir à la surface des cellules épithéliales pour favoriser l'attachement intime.

II.2. Les adhésines fimbriales

Les adhésines fimbriales sont des protéines formant des appendices rigides, droits et filamenteux ancrés dans la membrane bactérienne qui permettent l'adhésion bactérienne aux tissus de l'hôte. Elles sont constituées de centaines, voir de milliers de sous-unités et se

distinguent des flagelles par leur absence de motilité et par leur diamètre de (2 à 8 nm contrairement à 20 nm pour les flagelles).

Les fimbriae possèdent des propriétés adhésives et sont impliqués dans l'adhésion spécifique des cellules bactériennes aux tissus hôtes. Ces propriétés adhésives jouent un rôle important dans la colonisation par une adhésion spécifique aux récepteurs qui sont présent sur certains types de cellules hôtes. Cette spécificité détermine quel organisme et quel tissu spécifique est colonisé par la bactérie (Fig.65).

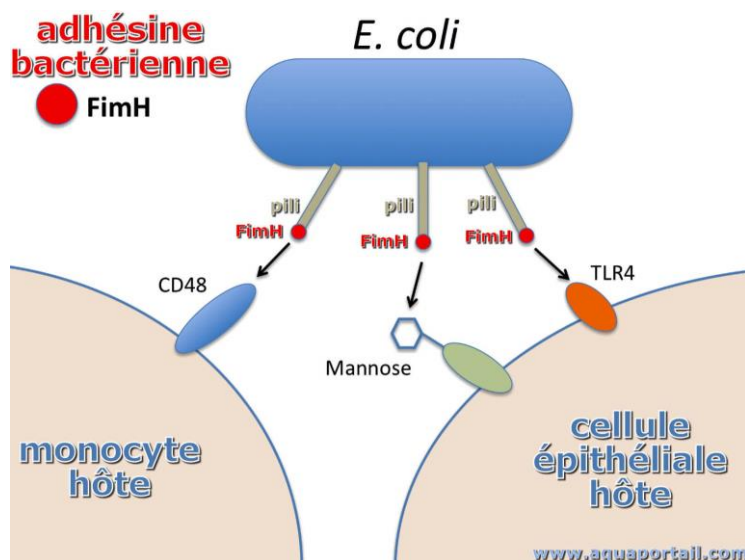


Figure (65) : L'adhésine bactérienne FimH.

La couche externe de la paroi fongique de *C. albicans* est composée principalement de mannoprotéines formant un matériel dense visible en microscopie électronique et constitué d'appendices fibrillaires de 100 à 300 nm de long et de 5 nm de large. Ces fibrilles interviennent dans l'adhérence de *C. albicans* en se liant à un récepteur lipidique, le glycosphingolipide lactosylcéramide, présent au niveau des cellules épithéliales buccales.

Les pili, qui sont des organites polymères ressemblant à des cheveux, dépassant de la surface des bactéries, représentent une première classe de structures impliquées dans la liaison des bactéries aux cellules hôtes. La base de ces structures, découverte initialement chez les bactéries à Gram négatif, est ancrée à la membrane externe bactérienne, alors que la pointe est généralement un facteur d'adhérence conférant la spécificité contraignante de ces structures. Les pili sont de deux types : les pili à conjugaison longue et les pili à attachement court.

II.3. Les lectines

Sont des protéines liant les sucres spécialisés dans la reconnaissance des glycoconjugués de l'hôte et dans l'adhésion cellulaire. Elles comprennent les lectines solubles, les lectines

associées aux organelles adhésives tel les pili (lectines fimbriales ou adhésines) et les flagelles (lectines flagellaires).

Au cours de processus infectieux, la bactérie utilise des lectines qui lui permettent de reconnaître et de fixer spécifiquement les oligosaccharides présents en particulier sur les cellules hôte. Parmi elles, sont retrouvées la lectine soluble PA-IL (lectine à galactose) ainsi qu'une lectine fimbriale nouvellement identifiée, CupB6. Ces protéines seraient impliquées dans l'adhésion aux tissus de l'hôte et dans l'élaboration du biofilm chez l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*. Chez *C. albicans*, des lectines de la paroi fongique se lient à des glycoprotéines de surface des cellules épithéliales contenant du fucose ou du N-acétyl D-glucosamine.

II.4. D'autres molécules d'adhérence

L'implication de protéases sécrétées dans le processus d'adhérence a été particulièrement étudiée chez *C. albicans*. Cette levure possède une famille de dix gènes codant pour des protéases aspartiques sécrétées (Saps), qui jouent un rôle prépondérant dans différents aspects du processus infectieux. Certaines isoenzymes, telles Sap1, Sap2 et Sap3, jouent un rôle important dans les processus d'adhérence et d'invasion de la peau et des muqueuses.

II.5. Les jonctions adhérentes comme récepteurs pour les micro-organismes

Au niveau des jonctions adhérentes, la E-cadhérine est utilisée comme récepteur pour l'adhésion de plusieurs micro-organismes, permettant la persistance microbienne chez l'hôte, et l'augmentation de la pathogénèse.

L'agent pathogène étudié qui utilise la E-cadhérine pour l'adhésion sur les cellules hôtes est *Listeria monocytogenes*. Cette bactérie est un pathogène d'origine alimentaire à Gram positif qui peut provoquer des maladies telles que la gastro-entérite, la méningo-encéphalite et la septicémie.

Pour adhérer dans les cellules hôtes, *L. monocytogenes* utilise les internalines de surface de la paroi cellulaire A (InlA) et B (InlB). Ces molécules sont des protéines de surface trouvées sur *Listeria monocytogenes*. Ils existent sous deux formes connues, InlA et InlB. Ils sont utilisés par les bactéries pour envahir les cellules de mammifères via les protéines transmembranaires des cadhérines et les récepteurs Met (tyrosin kinas ereceptor) respectivement. InlA se lie spécifiquement à la E-cadhérine et recrute les caténines a, b et au site d'entrée bactérienne, déclenchant la polymérisation de l'actine et d'extensions membranaires, aboutissant à une absorption bactérienne (**Fig.66**).

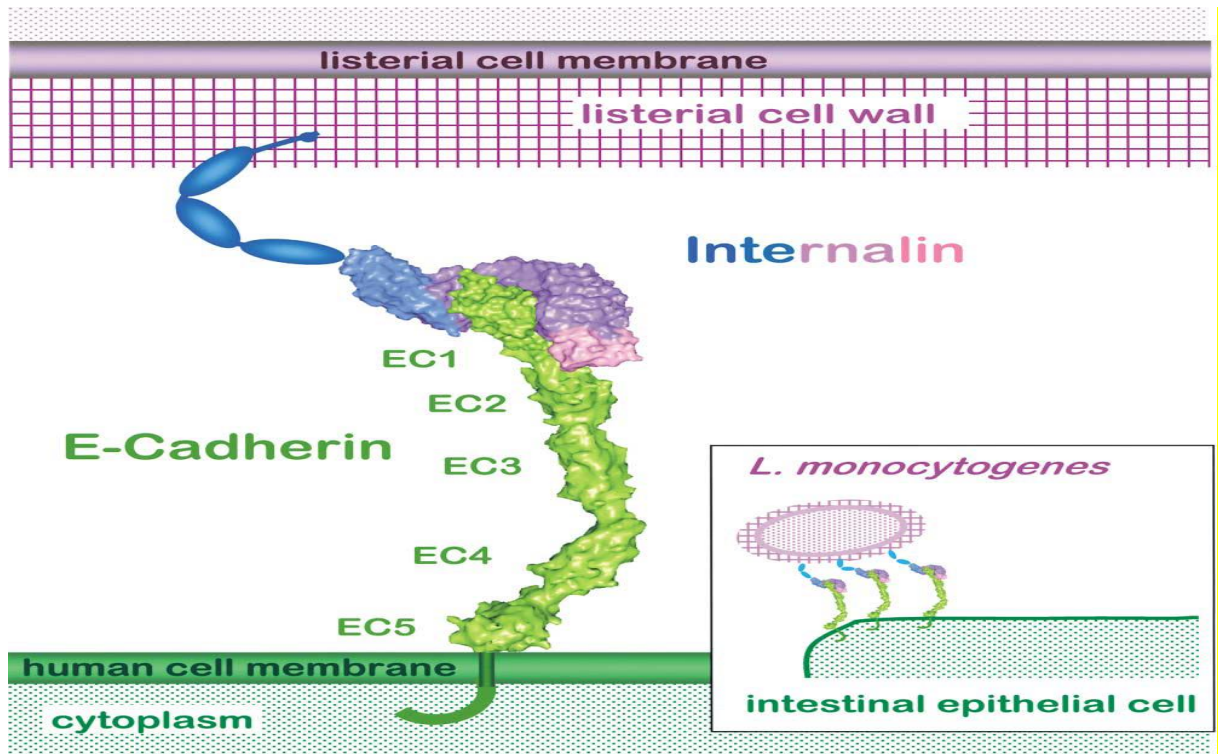


Figure (66) : Le complexe de reconnaissance de l'internaline et de la E-cadhérine dans son contexte cellulaire.

II.6. Le biofilm

II.6.1. Définition

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique. Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique (e.g. cellules de la muqueuse) qu'à une surface abiotique (e.g. plancher ou équipement à la ferme, à l'abattoir ou à l'usine de transformation).

II.6.2. Diversité et caractéristiques des biofilms

- Dans la nature, les bactéries existent sous deux formes : **la forme planctonique** (les bactéries sont libres et flottent dans leur environnement) et sous forme de biofilm et peuvent passer d'une forme à l'autre. Lorsqu'elles sont sous forme planctonique, les bactéries prolifèrent et colonisent les milieux où elles sont présentes. Cette forme est minoritaire. Le mode de vie dominant des bactéries dans l'environnement est sous forme de biofilm. Les bactéries sous forme libre vont s'attacher sur une surface de façon irréversible et vont croître. Durant cette croissance, elles vont produire des polymères extracellulaires qui vont s'accumuler et former une matrice extracellulaire à forte teneur en eau. Les bactéries vont être immobilisées dans cette matrice, leur proximité va permettre de réaliser des échanges de nutriments et de signaux.

- Le mode de vie en biofilm permet à une colonie bactérienne de vivre en ayant une protection contre un certain nombre de stress environnementaux (par exemple l'action d'agents antimicrobiens/antibactériens), ainsi, elle peut persister dans un milieu sans même proliférer.

-
- Les biofilms présentent une grande diversité au niveau structurale, ils peuvent être composés d'une ou de plusieurs espèces de micro-organismes,
 - L'épaisseur de la couche de micro-organismes est variable (une couche ou plusieurs couches de micro-organismes).
 - Au sein du biofilm, les microorganismes présentent des caractéristiques particulières : leur organisation interne, leur métabolisme, la communication chimique que les cellules échangent entre elles.
 - Un biofilm peut se développer sur différentes surfaces naturelles ou artificielles ; dans les eaux, dans les sols, sur les végétaux (racines ou feuilles), sur les animaux (épidermes, plaque dentaire, muqueuse intestinale...). Ils peuvent être présents sur n'importe quel tissu en contact avec une atmosphère non stérile et ce dans des milieux naturels, industriels ou hospitaliers.
 - Les biofilms ont des propriétés émergentes, qui ne sont pas prévisibles en étudiant les bactéries planctoniques (libres) :
 - i. **Coopération:** le transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques et de virulence est favorisé à l'intérieur des biofilms.
 - ii. **Survie:** les biocides sont principalement testés contre les bactéries libres (planctoniques), et non contre les biofilms. Les propriétés structurelles et fonctionnelles de la matrice de biofilm augmentent les chances de survie des bactéries au contact des biocides.
 - iii. **Complexité :** les cellules dans les biofilms subissent une différenciation qui confère une hétérogénéité au biofilm. Chaque biofilm est doté d'une matrice dont la composition est évolutive et spécifique.

II.4.3. Composition de la matrice de biofilm

La matrice du biofilm est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à **97 % d'eau** pour maintenir la structure et la stabilité de la matrice du biofilm Elle peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides et de cations.

La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance. Un des exopolysaccharides le plus souvent retrouvés est un polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine (polyglucosamine, PGA ou PNAG). On retrouve ce polymère chez plusieurs espèces bactériennes, dont *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia pestis*, *Bordetella* spp. et *Actinobacillus* spp.

La cellulose, un polymère linéaire de glucose, est également retrouvée fréquemment chez diverses espèces et genres bactériens, dont *E. coli*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Pseudomonas*. Il existe plusieurs autres polysaccharides dont le glucane chez *Streptococcus mutans* et l'alginate retrouvé chez *Pseudomonas*.

II.4.4. Les étapes de la formation de biofilm pour la communauté bactérienne

1-Suite à l'adhésion bactérienne, les bactéries peuvent proliférer et changer de mode de vie, formant une « communauté bactérienne », appelé biofilm bactérien (Fig.67). Dans le biofilm, elles renforcent leur protection vis-à-vis des agents extérieurs et peuvent devenir par exemple beaucoup plus résistantes aux antimicrobiens.

2-Les bactéries adhérentes à la surface commencent d'abord à se multiplier. A partir d'une certaine densité bactérienne, les bactéries vont excréter des polysaccharides, des protéines, de l'ADN ou des lipides. Ces différents composants vont former une matrice extracellulaire qui les relie entre elles et leur permet de « communiquer » : **des micro-colonies** bactériennes se forment. Cette matrice est très bien organisée : des canaux aqueux vont être créés afin d'apporter les différents nutriments ou l'oxygène aux bactéries par des diffusions sous l'effet de gradients de concentration. Ces canaux permettent également de faire circuler des molécules de signalisation (appelées « quorum sensing ») pouvant alerter les bactéries d'une « attaque extérieure » : les bactéries sont alors dans la capacité de réaliser des mutations physiologiques les prémunissant de l'agent attaquant. De plus, du matériel génétique pouvant accroître la résistance des cellules contre des hôtes hostiles peut aussi diffuser dans ces canaux.

3-Enfin, les différentes micro-colonies vont se réunir pour former ce qu'on appelle **le biofilm mature**, communément appelé biofilm bactérien. Des changements de l'état métabolique des cellules bactérienne dépend de leur localisation au sein du biofilm : les bactéries peuvent reprendre leur état planctonique afin de coloniser d'autres milieux.

4- Enfin, l'étape ultime consiste en une phase de dispersion, avec détachement d'un certain nombre de bactéries du biofilm isolées ou sous forme de micro agrégats, susceptibles de coloniser d'autres surfaces.

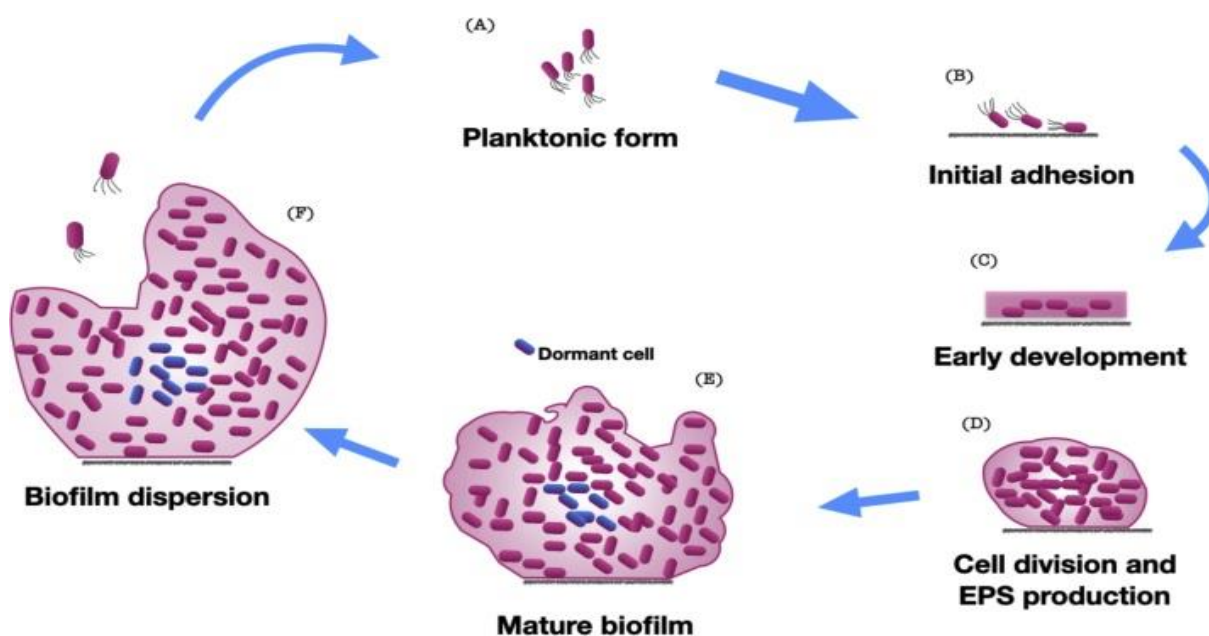


Figure (67) : Développement d'un biofilm bactérien sur une surface.

Références bibliographiques

Abbas A.K., Lichtman A.H., Pillai S. (2012). Immune Receptors and Signal Transduction. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, editors. Cellular and Molecular Immunology. Philadelphia:

Alberts B., Hopkin J., Lewis R., Roberts W. L'essentiel de la biologie cellulaire. Médecine Sciences Publications. Lavoisier. 3eme Edition.

Arnaud C., Zoltán H., Anne-Odile H. (2002). Régulation de la mort cellulaire programmée : vers une conception plus dynamique. *Medecine science* : 18 : 841-52.

Baldo A., Mathy A., Vermout S., Tabart J., Losson B., Mignon B. (2007). Les mécanismes d'adhérence des champignons responsables de mycoses superficielles. *Ann. Méd. Vét., 151, 192-199.*

Bazan J. (1999). Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A, 87:6934-8.*

Behrendt C.E. (2005). Mild and moderate-to-severe COPD in nonsmokers. *Chest ; 128 : 1239-44.*

Benhamou N. (2010). La résistance chez les plantes. Editions Tec et Doc – Lavoisier.

Bolotin, D.A., Poslavsky, S., Mitrophanov, I., Shugay, M., Mamedov, I.Z., Putintseva, E.V, Chudakov, D.M. (2015). MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. *Nat Methods, 12, 380-381.* [CrossRef] [PubMed] [Google Scholar].

Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. (1999). Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Biol ; 15 : 269-90.*

Dolly D., Trevor G., Shepherd. (2022). Molecular and cellular mechanisms controlling integrin-mediated cell adhesion and tumor progression in ovarian cancer metastasis. *Clinical & Experimental Metastasis 39:291–301* <https://doi.org/10.1007/s10585-021-10136-5>.

Emilie P., Olivier C., Sylvain V. & Hélène F. (2004). Aspects moléculaires de l'adhérence cellulaire cadhérine-dépendante : les premiers moments de l'interaction. *J S. B., 198 (4), 357-363.*

Fredriksson R., Lagerstrom M. C., Lundin L. G., Schioth H. B. (2003). The G-proteincoupled receptors in the human genome form five main families. phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol pharm, 63(6), 1256-1272.*

Gonzalez J. E. and Keshavan N. D. (2006). Messing with bacterial quorum sensing. *Microbiol Mol Biol Rev., 70, 859-875.*

Hirissou F. (2020). La résistance des plantes agronomie. Chambre d'agriculture Dordogne.

Immunologie fondamentale et immunopathologie, 2e édition, de l'ASSIM : Collège des Enseignants d'Immunologie © 2018, Elsevier Masson SAS ISBN : 978-2-294-75658-0 e-ISBN : 978-2-294-75775-4.

Jean-Paul B., Emmanuel F., Ben M., Daniel B. (1997). PTB, un domaine d'interaction protéine-protéine important dans le « jeu de dominos » de la transmission du signal. *Médecine sciences ; 13* : 647-56.

Jed J., Jebali Charlotte C.H. J., Amine A. B., Sylvie S. M., Mohamed M. E., et al. (2011). Les sélectines : acteurs de l'adhérence cellulaire et potentiel cible thérapeutique. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 88 (1-4), pp.3-18. Pasteur-00755430.*

Julie G., Véronique M., Céline M., Cécile B., Mireille L. & René-Marc M. (2004). La régulation de l'adhérence cellulaire par la région cytoplasmique des cadhérines. *J. S. B., 198 (4), 365-374.*

Leonard W.J., Lin J.X. (2000). Cytokine receptor signaling pathways. *J Allergy Clin Immunol, 105* :877-88.

Ludovic B., Anaëlle D., Fanny M., Giuseppe C., Vinothkumar K. R., Cyril G., Guillaume L. (2022). Les avancées récentes dans le domaine de la biologie structurale des récepteurs couplés aux protéines G de classe C: Le récepteur métabotrope du glutamate. *Biologie Aujourd'hui*. <https://doi.org/10.1051/jbio/2021013>.

Marc Landry et Frederic Nagy. (2009). Recepteurs GABAB et sensibilisation douloureuse. *J. Soc Biol., 203 (1), 87-97, DOI: 10.1051/jbio:2009009.*

Martin P., Soto-Aceves1., Stephen P. D. and Peter E. G. (2023). Microbial Primer: LuxR-LuxI Quorum Sensing. *Microbiol., 169:001343 DOI 10.1099/mic.0.001343*

Naghavi M., Abajobir A., Abbafati C., et al. (2017). a systematic analysis for the Global Burden of Disease. *16 ;390(10100):1151-1210. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32152-9.*

Naglik J.R., Chalacombe S.J., Hube B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev., 2003, 67, 400-428.*

Nasrallah C., Cannone G., Briot J., Rottier K., Berizzi A.E., Huang C.Y., Quast R.B., Hoh F., Banères J.L., Malhaire F., et al. (2021). Agonists and allosteric modulators promote signaling from different metabotropic glutamate receptor 5 conformations. *Cell Rep 36, 109648.*

Rabe K.F., Watz H. (2017). Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet ; 389* : 1931-40.

Remy I., Wilson I.A., Michnick S.W. (1999). Erythropoietin receptor activation by a ligand-induced conformation change. *Science, 283* :990.

Ren D., Bedzyk L.A., Thomas S.M., Ye R.W., Wood T.K. (2004). Gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Appl. Microbiol. Biotechnol., 64, 515-524.*

Schnupf P., Gaboriau-Routhiau V., Sansonetti P.J., Cerf B. N. (2017). Segmented filamentous bacteria, Th17 inducers and helpers in a hostile world. *Curr Opin Microbiol., 35* : 100-9.

Schwartz M.A. (2001). Integrin signaling revisited. *trends in Cell Biology*.11(12): 466-470.

Seven A.B., Barros-Álvarez X., Lapeyrière M., Papasergi-Scott M.M., Robertson M. J., Zhang C., Nwokonko R.M., Gao Y., Meyerowitz J.G., Rocher J.P., et al. (2021). G-protein activation by a metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 595, 450–454.

Sirijan S., Nitat S. and Nitaya I. (2022). Quorum Sensing in ESKAPE Bugs: a target for combating antimicrobial resistance and bacterial virulence. *Biolo.*, 11, 1466. <https://doi.org/10.3390/biology11101466>.

Soler Artigas M., Wain L.V., Repapi E., et al. (2011). Effect of five genetic variants associated with lung function on the risk of chronic obstructive lung disease, and their joint effects on lung function. *Am J Respir Crit Care Med* ; 184 : 786-95.

Stockley R.A., Mannino D., Barnes P.J. (2009). Burden and pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* ; 6 : 524-6.

Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases : enemies within.(1998). *Science* ; 281 : 1312-6.

Valentine B., Florence P.F., Emma R. (2019). L'adhérence de microorganismes aux cellules intestinales induit une réponse immunitaire de type Th17. *m/s n° 6-7, vol. 35, juin-juillet 2019* <https://doi.org/10.1051/medsci/2019112>.

Yuan J., Shaham S., Ledoux S., Ellis H., Horvitz H. (1993). The *C. elegans* cell-death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta converting enzyme. *Cell* ; 75 : 641-52.
