

## LES COMMUNICATIONS INTER-CELLULAIRES

### **Partie 1 - Les hormones stéroïdes**

#### **Introduction**

Les hormones sont des molécules libérées par des glandes endocrines : elles permettent la communication entre organes plus ou moins éloignés dans l'organisme. Les hormones stéroïdes dérivent toutes du cholestérol, qui est une molécule de nature lipophile. Il existe d'autres hormones, de nature hydrophile, comme le glucagon ou l'adrénaline. Nous allons voir que cette propriété chimique de solubilité influence le mode d'action de ces messagers. L'exemple choisi est celui des hormones liposolubles, et plus précisément la testostérone, hormone mâle des Mammifères, et l'ecdysone, hormone des Arthropodes impliquée dans la mue et la métamorphose.

#### 1.1 - Les cellules cibles

1) Le nombre de grains d'argent reflète la fixation de la testostérone dans le tissu, et donc la quantité de récepteurs présents. Ainsi, les testicules sont les principales cibles de la testostérone : une forte quantité de testostérone s'y fixe et l'effet observé est la stimulation de la spermatogenèse. Le cerveau est aussi une cible prépondérante à la testostérone où l'hormone est à l'origine du comportement mâle du rat.

Le muscle est aussi un tissu cible. La peau, par contre, ne fixe que peu de testostérone, qui augmente la pilosité. Quant au foie, la testostérone ne s'y fixe pas : il n'y a donc pas de récepteur spécifique à la testostérone dans le foie et donc pas d'effet de cette hormone.

Ce document montre bien que seuls les tissus exprimant des récepteurs spécifiques à une hormone sont capables d'y répondre : ce sont les cibles. Les autres organes ne réagissent pas.

2) La testostérone apparaît comme un point noir. Les cellules sont ici en coupe. On remarque que les cellules nerveuses de l'hypothalamus contiennent une forte quantité de testostérone, ce qui montre que l'hormone peut traverser les membranes et se retrouver à l'intérieur du cytosol voire du noyau. Ceci est à mettre en relation avec la nature chimique de la testostérone qui dérive du cholestérol et est donc de nature lipophile.

Bilan : les cellules cibles sont les cellules qui possèdent un récepteur à l'hormone et dont l'activité est modifiée par l'action de l'hormone. Dans le cas des hormones stéroïdes, l'hormone se retrouve dans le noyau cellulaire.

#### 1.2 - L'action des hormones stéroïdes

1) L'électrophorèse bi-dimensionnelle permet de visualiser les protéines présentes dans les cellules. Chaque «spot» correspond à une protéine distincte. Il est peu probable que deux protéines soient exactement au même niveau, ce qui signifierait qu'elles ont exactement même poids et même pH isolélectrique.

Le témoin montre 7 spots de taille variable (lié à la quantité de la protéine présente).

Après 6 jours de traitement à l'ecdysone, il y a disparition de 2 spots et apparition de deux autres. La quantité des protéines qui sont toujours présentes a augmenté.

Après 10 jours, on retrouve toujours les 5 spots initiaux mais trois nouveaux sont encore apparus. La cuticule adulte se met alors en place. Les spots apparus sont peut-être trois enzymes nécessaires à la formation de cette cuticule.

Ceci montre que l'ecdysone est une hormone qui module l'expression génétique en stimulant l'expression de certains gènes (spots apparus) et en inhibant d'autres gènes (spots disparus).

2) La protéine DRH4 possède un signal de localisation nucléaire donc elle peut entrer dans le noyau après reconnaissance au niveau des pores nucléaires. Son domaine en doigt de zinc permet de se lier à l'ADN donc la protéine pourrait agir sur l'expression génétique.

a) L'électrophorèse montre pour le témoin w<sup>118</sup> :

- que la protéine DRH4 n'est présente qu'au moment de la formation du puparium : elle apparaît 4 heures avant et est de plus en plus présente jusqu'à 4 heures. Puis, DRH4 disparaît peu à peu (moins visible à 6 heures et absente à 8 heures).
- la protéine témoin rp49 est toujours présente, de façon croissante jusqu'aux stades 2 à 8.

L'électrophorèse montre pour le mutant sans DRH4 :

- l'absence logique de DRH4 ;
- l'expression homogène dans le temps du témoin rp49.

On en déduit donc que l'expression de DRH4, récepteur à l'ecdysone est lui-même sous contrôle car il n'est exprimé qu'au moment de la formation du puparium.

b) La seconde expérience permet de préciser ce contrôle.

La ligne du témoin rp49 permet de valider l'expérience : l'extraction protéique et la révélation des protéines est réussie étant donné la présence de rp49 à chaque période testée.

En présence d'ecdysone, DRH4 apparaît progressivement dès 1,5 heures après l'injection, avec une forte quantité 4 et 6 heures après l'injection. Avec un inhibiteur de synthèse protéique, DRH4 est absente de tous les puits. Donc, DRH4 est synthétisée par les cellules selon une voie de synthèse protéique classique (il ne s'agit pas de maturation, de libération de DRH4 stockée par exemple).

La ligne 20E + Cyc permet de dire que l'ecdysone induit au contraire la synthèse de DRH4 car malgré la présence de Cyc, il y a un peu de DRH4 formée.

Donc l'ecdysone induit la synthèse protéique de DRH4. Cette hormone agit donc sur le génome.

Bilan : l'ecdysone module l'expression génétique des cellules cibles et permet notamment l'apparition d'un récepteur à l'ecdysone, DRH4, qui module la formation du puparium.

**Conclusion** : Les hormones stéroïdes possèdent des récepteurs spécifiques. Les hormones passent la membrane plasmique, sont fixées sur leur récepteur et vont moduler l'expression génétique en interagissant avec les promoteurs des gènes. Ces récepteurs peuvent passer les pores nucléaires. Leur présence est elle-même sous le contrôle des hormones, ce qui signifie qu'il y a différents récepteurs hormonaux, se modulant les uns les autres.

## **Partie 2 - Les bâtonnets, photorécepteurs rétiniens**

### **2.1 - Etude des potentiels membranaires des bâtonnets**

Le potentiel de repos est de -35 mV à l'obscurité. Cette valeur est élevée car des canaux à cations sont ouverts à l'obscurité : des ions Na<sup>+</sup> sont alors susceptibles d'entrer dans la cellule, conduisant à un potentiel membranaire plus proche de l'équilibre du sodium, donc plus élevé.

L'effet de la lumière est une hyperpolarisation : en effet, le potentiel membranaire diminue 0,06 s (soit 60 ms) après le flash lumineux. Après le flash, le potentiel revient à sa valeur de repos en environ 350 ms (phénomène lent).

L'intensité des flashes de lumière semble avoir un effet sur l'hyperpolarisation. En effet, plus le flash est intense, plus la valeur de potentiel membranaire est basse (jusqu'à -55 mV pour L3).

idée : au repos, les canaux cationiques sont ouverts et laissent passer Na<sup>+</sup>. La lumière provoque une hyperpolarisation donc semble empêcher l'entrée de sodium. La lumière provoquerait la fermeture des canaux cationiques ?

## 2.2 - Etude des canaux cationiques des bâtonnets

Le montage de patch-clamp est réalisé sans  $K^+$ . On ne va donc tester que les flux de  $Na^+$ .

La technique de voltage imposé est réalisée avec ou sans GMPc, appliqué sur la face interne de la membrane (donc d'origine cytosolique *in vivo*). L'enregistrement en patch-clamp montre :

- qu'en absence de GMPc, le canal est toujours fermé puisqu'aucun courant entrant n'est enregistré ;
- en présence de GMPc à  $2 \mu M$ , le canal s'ouvre et se ferme, provoquant un courant entrant de  $Na^+$ .

Donc le canal cationique étudié est sensible à GMPc. Il s'agit d'un **canal chimio-dépendant**.

## 2.3 - Lien avec les photons

La membrane des disques empilés présente la rhodopsine qui contient du rétinale 11-cis : celui-ci change de conformation à la lumière et devient du trans-rétinale. Ce changement stérique provoque un changement de conformation de la partie protéique : l'opsine.

En 1978, Liebman a montré que la lumière détruit le GMPc car elle active la PDE. Il y a donc un lien lumière/PDE, étudié par Stryer, qui met en jeu la transducine (qui semble de même nature qu'une protéine G car elle a trois sous-unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  et car elle est capable de se lier au GTP).

Document 8 : Le GTP étant non hydrolysable, la liaison de la transducine au GTP est rendue «éternelle». On se rend compte que plus la lumière active la rhodopsine, plus la transducine fixe l'analogue du GTP.

Donc, la lumière provoque un changement de conformation de la rhodopsine qui interagit alors avec la transducine qui fixe du GTP (comme une protéine G).

Ce GTP est ensuite hydrolysé en GDP (d'après l'expérience suivante).

Document 9 : Lors de la chromatographie (filtration sur colonne), on observe que la transducine possède deux entités :

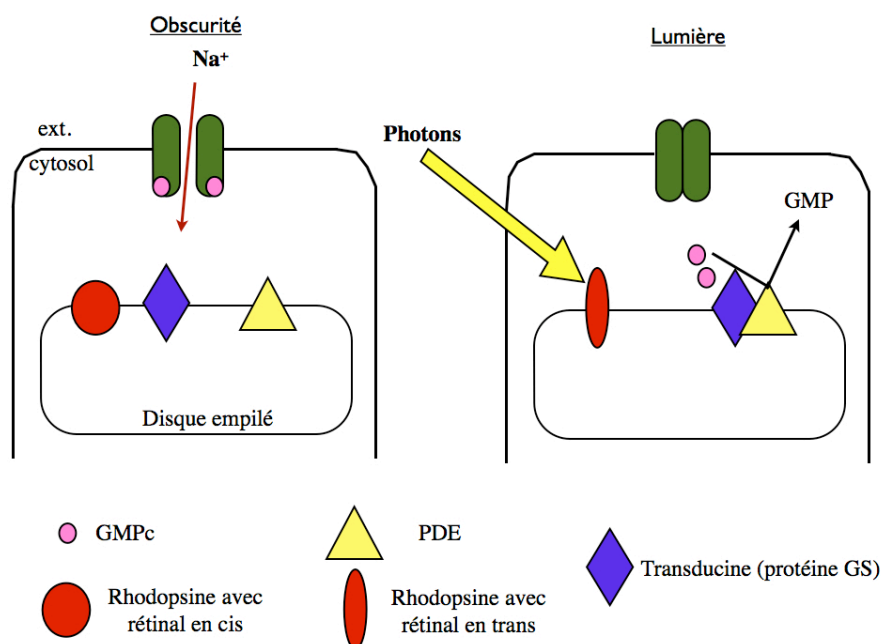
- la plus grosse est la sous-unité  $\alpha$ , qui sort dans les fractions 36 à 42 ;
- la plus petite est l'association  $\beta$ - $\gamma$  qui sort dans les fractions 43 à 48 environ.

La deuxième analyse montre que c'est la sous-unité  $\alpha$  qui lie le GTP et l'hydrolyse.

La troisième étude montre clairement que la sous-unité  $\alpha$  avec le GTP active l'enzyme PDE responsable de la disparition du GMPc.

### BILAN

A l'obscurité, le GMPc présent dans le cytosol permet l'entrée de  $Na^+$  qui dépolarise la membrane et permet un potentiel de repos de  $-35mV$ . A la lumière, les photons provoquent le changement cis-trans du rétinale qui induit le changement de conformation de la rhodopsine. Celle-ci, reliée à la transducine, une protéine G, déclenche l'activation de la PDE qui dégrade le GMPc. Cette molécule disparaît donc le canal à  $Na^+$  se ferme, ce qui conduit à une hyperpolarisation à l'origine du signal visuel.



Grille de correction

NOM

1	Partie 1	
	Introduction	/3
1.1	1) nombre de grains reflète la fixation donc la présence de récepteurs discussion selon les organes (fixation et effet) - définition de cible	/2 /3
	2) localisation de la testostérone (cytosol et même noyau) - discussion lipophile	/3
1.2	1) intérêt électrophorèse 2D discussion des spots (-2 et +2 à 6 j / +3 encore à 10j) et lien avec l'apparition de la cuticule - expression génétique modulée par l'ecdysone	/1 /3 /2
	2a) témoin rp49 +/- constant : DRH4 au moment de la formation du puparium - DRH4 et SLN idée de récepteur à ecdysone sous contrôle de l'hormone	/4 /2
	2b) témoin rp49 - synthèse protéique de DRH4 sous contrôle de l'ecdysone. Discussion Cyc.	/3
	Conclusion : mode d'action des hormones stéroïdes : entrée et action via un récepteur nucléaire	/2
2	Partie 2	
2.1	explication de la valeur de -35mV effet de la lumière (hyperpolarisation) effet de l'intensité et hypothèse sur le canal à cations	/2 /2 /2
2.2	Absence de K <sup>+</sup> donc effet de Na <sup>+</sup> seul Effet de GMPc Canal chimio-dépendant (ouvert par GMPc)	/2 /2 /2
2.3	effet de la lumière sur la rhodopsine - idée que transducine = protéine G doc 8 : courbe analysée - effet de la lumière sur la rhodospine qui active la transducine hydrolyse du GTP par la trasnducine doc 9 : transducine à 3 sous-unités - la sous-unité $\alpha$ fixe GTP, l'hydrolyse et active la PDE	/2 /2 /1 /3
	BILAN COMPLET : obscurité et lumière	/10
	Clarté - Rigueur - Concision - Soin - Rédaction	/2
	Total	/60