

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERHCE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DU 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
« 3^{ème} année Licence BIOCHIMIE »

Polycopié du cours

BIOCHIMIE CELLULAIRE ET FONCTIONNELLE

Présenté par :

Dr. BOUHADDOUDA Nabila
Maitre de Conférences « B » en Biochimie Appliquée

Chef du département

Président du CSD

Avant-propos

La biochimie est l'étude des réactions chimiques qui se déroulent au sein des êtres vivants, et notamment dans les cellules. La cellule présente toutes les caractéristiques fondamentales du vivant : elle transfère différentes formes d'énergie de manière à effectuer un travail, elle exprime une information génétique contenue dans des acides nucléiques, elle échange avec son environnement, elle peut se reproduire, et enfin, elle meurt. De plus, La vie des organismes pluricellulaires impose l'existence d'une communication entre les cellules, moyen essentiel de leur coordination. Même si les cellules semblent être de très petite taille, elles présentent une très grande complexité mettant en jeu des centaines de milliers d'interactions de tous ordres, entre gènes, protéines, petites molécules et cytosquelette.

Ce cours intitulé « Biochimie Cellulaire et Fonctionnelle » permet d'assimiler la relation entre chaque structure cellulaire, ses fonctions propres et son intégration dans le bon fonctionnement cellulaire.

Le cours contient six chapitres. Le premier chapitre fait office d'un rappel sur les principaux constituants cellulaires et leur fonction, déjà vu en 1^{ère} année Licence sciences biologiques. Le deuxième chapitre traite la composition des membranes, leur architecture biomoléculaire, les échanges membranaires ainsi que différents aspects des protéines membranaires les constituants. Le troisième et quatrième chapitre englobent la description détaillée de toutes les structures et fonctions se déroulant au niveau des organites et inclusions cellulaires dont chacun apporte sa spécificité à la cellule. Le cinquième chapitre s'intéresse à la notion de la communication cellulaire incluant tous les facteurs responsables de la transduction du signal, avec quelques exemples de cascades de signalisation. Au final, une description des causes de pathologies liées au dysfonctionnement cellulaire est présentée.

Pour une bonne assimilation de ce cours, des connaissances préalables sont recommandées. L'étudiant devra connaître les bases fondamentales de la biochimie structurale et de la biologie cellulaire.

Objectifs du cours

Ce polycopié est destiné aux étudiants de troisième année Licence Biochimie qui suivent leur enseignement au sein de département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université du 20 août 1955, Skikda

Les objectifs généraux de ce cours sont les suivants :

- ✓ Connaître la structure des différents composants de la cellule.
- ✓ Démontrer les aspects fonctionnels de ces composants.
- ✓ Apprécier la relation entre la structure des compartiments intracellulaires et leur intégration dans la fonction cellulaire.
- ✓ Connaître les principales étapes de la synthèse et adressage des de protéines.
- ✓ Décrire et comprendre les voies de signalisation cellulaire.
- ✓ Connaître quelques anomalies de signalisation et pathologies liées.

Dr. BOUHADDOUDA Nabila

Maitres de Conférences « B » en Biochimie Appliquée

Enseignante-chercheur à l'Université 20 Aout 1955-Skikda

E-mail : bouhaddouda.n@hotmail.fr

n.bouhaddouda@univ-skikda.dz

Plan du cours

Avant-propos

Objectifs du cours

Chapitre 1 : Compartimentation fonctionnelle de la cellule (vue d'ensemble)

Chapitre 2 : Biomembranes

1. Composition des membranes : isolement, composition
2. Architecture biomoléculaire des membranes
3. Les échanges membranaires : transport passif, transport actif, transport vésiculaire
4. Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire (protéines récepteurs, translocons...)
5. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires
6. Récepteurs, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire

Chapitre 3 : Relation structure-fonction de la cellule

1. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion
2. Le cytosquelette : Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimiques et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale (Les fibres de stress). Exemples de l'implication du cytosquelette dans diverses voies de signalisation cellulaire.
3. La fibre et la contraction musculaire : structure et fonction des micro filaments d'actine et de myosine
4. La mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative : structure, fonction, les sites de couplage, fractionnement du système oxydo-phosphorylant
5. Ribosome : synthèse protéique, maturation et adressage des protéines.
6. Le Système ubiquitine /protéasome : structure et fonction
7. Le Système lysosomal : structure et fonction
8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette

Chapitre 4 : La glycosylation des macromolécules et rôle biologique

1. Les glycoprotéines
2. Les glycolipides : les glycérolipides, les glycosphingolipides (structure et fonction)

Chapitre 5 : Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire

1. Récepteurs et ligands
2. Transducteurs et Facteurs de couplage
3. Amplification du signal via les seconds messagers
4. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases

Chapitre 6 : Anomalies de signalisation et pathologies

1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie
2. Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires

Références bibliographiques

Chapitre 1. Compartimentation fonctionnelle de la cellule (vue d'ensemble)

1. Généralités :

La cellule (en latin *cellula* signifie petite chambre) est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant les organismes vivants. Chaque cellule est une entité vivante qui, dans le cas d'organismes multicellulaires, fonctionne de manière autonome, mais coordonnée avec les autres ; d'ailleurs, l'organisme dépend de l'activité des cellules isolées ou groupées en tissus pour assurer ses différentes fonctions.

Les cellules représentent donc l'unité fondamentale de la vie et elles existent sous une variété extraordinaire de taille et de forme (bactéries, globules rouges, algues, cellule végétale etc.).

L'univers de la biologie se compose de deux types de cellules : les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes. Nous aborderons dans ce chapitre la diversité des cellules, leurs constituants élémentaires et leurs fonctions essentielles.

2. Les variétés cellulaires :

On considère généralement deux types fondamentaux de cellules selon qu'elles possèdent ou non un noyau enveloppé d'une membrane nucléaire :

2.1. Les cellules procaryotes :

Les cellules procaryotes, telles les bactéries et les algues bleues sont constituées d'un compartiment unique entouré d'une membrane plasmique, ne possèdent pas de noyau bien défini et ont une organisation interne simple. Ces cellules contiennent un chromosome unique formé d'une molécule d'ADN circulaire ou linéaire libre (appelé aussi nucléoïde) situé dans le cytoplasme.

2.2. Les cellules eucaryotes :

Les cellules eucaryotes (ou vrai noyau en latin) se caractérisent par une enveloppe nucléaire qui divise la cellule en deux compartiments principaux : le noyau et le cytoplasme. À son tour, le cytoplasme est délimité par la membrane plasmique. Dans la cellule végétale, la membrane plasmique est recouverte et protégée extérieurement par une paroi cellulaire plus épaisse percée de canalicules, les plasmodesmes, sites de communications avec les cellules voisines grâce à de fins prolongements cytoplasmiques.

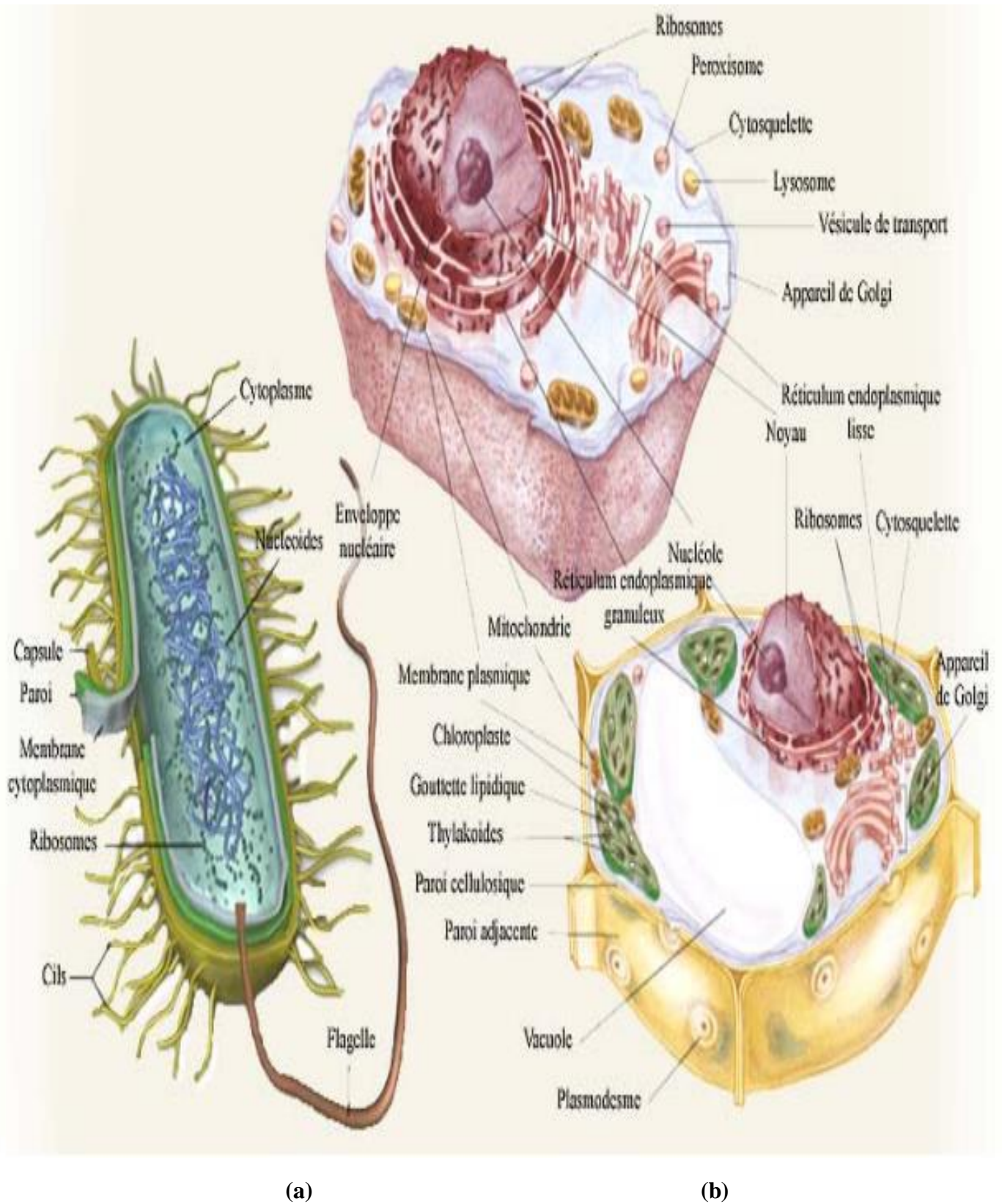


Figure 1 : Représentation schématique (3D) des cellules procaryotes (a) et eucaryotes (b)

Les principales différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes, entre la cellule végétale et animale sont illustrées dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 1 : Comparaison entre la cellule Procaryote et Eucaryote

	Procaryotes	Eucaryotes
Organismes typiques	Bactéries	Champignons, plantes, animaux
Taille typique	~1-10 μm	~10-100 μm
Type de noyau	Nucléotide ; pas de véritable noyau	Vrai noyau avec double membrane
ADN	Circulaire	Molécule linéaire (chromosome) avec des protéines histone
ARN/synthèse des protéines	Couplé au cytoplasme	Synthèse d'ARN dans le noyau/ synthèse de protéines dans le cytoplasme
Structure cytoplasmique	Très peu de structures	Très structuré par des membranes intracellulaires et un cytosquelette
Métabolisme	Anaérobie ou aérobie	Habituellement aérobie
Mitochondries	Aucune	De une à plusieurs douzaines
Chloroplastes	Aucun	Dans les algues et les plantes
Organisation	Habituellement des cellules isolées	Cellules isolées, colonies, organismes évolués avec des cellules spécialisées
division de la cellule	Divisions simple	Mitose (réplication de la cellule) Méiose (formation de gamètes)

Tableau 2 : Comparaison entre la cellule animale et végétale

Cellule Végétale	Cellule Animale
Présence d'une paroi pecto-cellulosique	Absence d'une paroi pecto-cellulosique
Présence de vacuoles de grande taille	Présence de vacuoles de petite taille
Présence de chloroplastes	Absence de chloroplastes
Présence de peroxyosome	Présence de lysosomes et peroxyosome
Absence du complexe centriolaire	Présence du complexe centriolaire

3. Description et fonctions des constituants cellulaires :

La cellule est délimitée par une membrane appelée membrane plasmique. L'observation microscopique des cellules a mis en évidence de nombreuses substances internes appelées organites intracellulaires qui assurent des fonctions bien spécifiques servant à maintenir la cellule en vie. Nous pouvons ainsi citer le noyau, le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les vésicules, les mitochondries...etc.

La cellule est donc constituée d'un système complexe de membranes délimitant des compartiments avec des micro-environnements aux propriétés physicochimiques différentes et au sein desquels vont se dérouler des réactions biochimiques bien définies.

En gros, l'intérieur de la cellule peut être divisé en noyau et cytoplasme.

Le cytoplasme contient : le cytosol et des particules insolubles : les inclusions et les organites cellulaires.

Nous allons maintenant étudier le fonctionnement de chacun des ateliers de l'usine cellulaire.

3.1. La membrane cytoplasmique :

Cette membrane sépare la cellule vivante de son environnement ; elle agit comme un filtre et un système de communication avec l'extérieur.

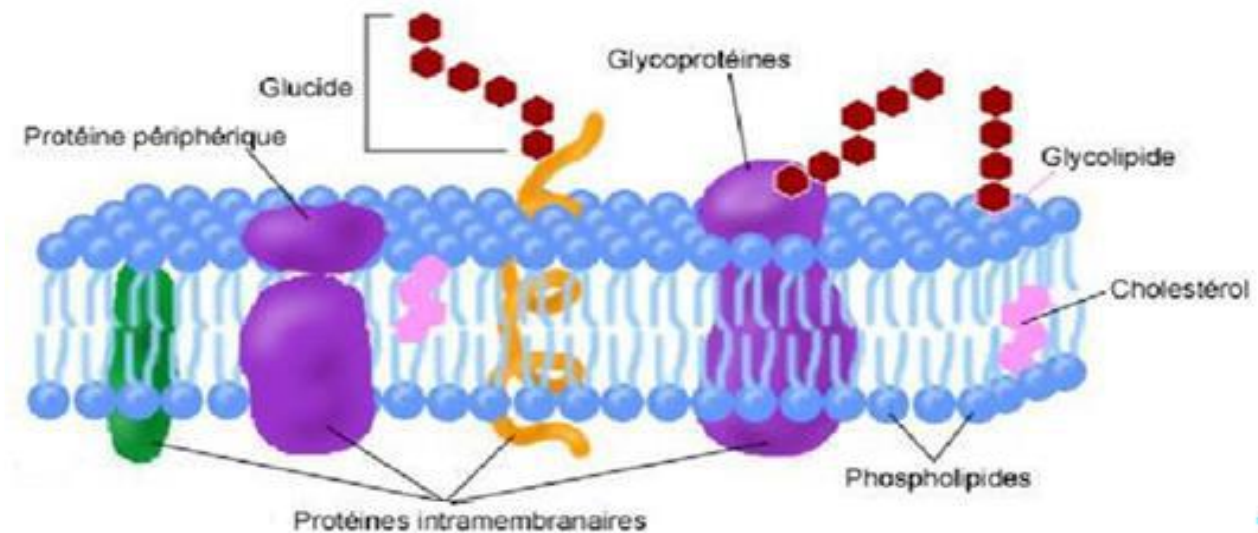


Figure 2 : Eléments structuraux de la membrane plasmique

3.2. Le noyau :

Le noyau est l'organite qui a donné son nom aux eucaryotes. C'est une grosse structure entouré d'une double membrane, l'enveloppe nucléaire, qui le sépare du cytoplasme. Les membranes fusionnent à quelques endroits, laissant des ouvertures appelées « pores nucléaires », permettant l'échange de molécules entre le noyau et le cytoplasme (échanges nucléo-cytoplasmiques).

L'enveloppe nucléaire est en continuité avec le réticulum endoplasmique granuleux, qui est donc collé au noyau.

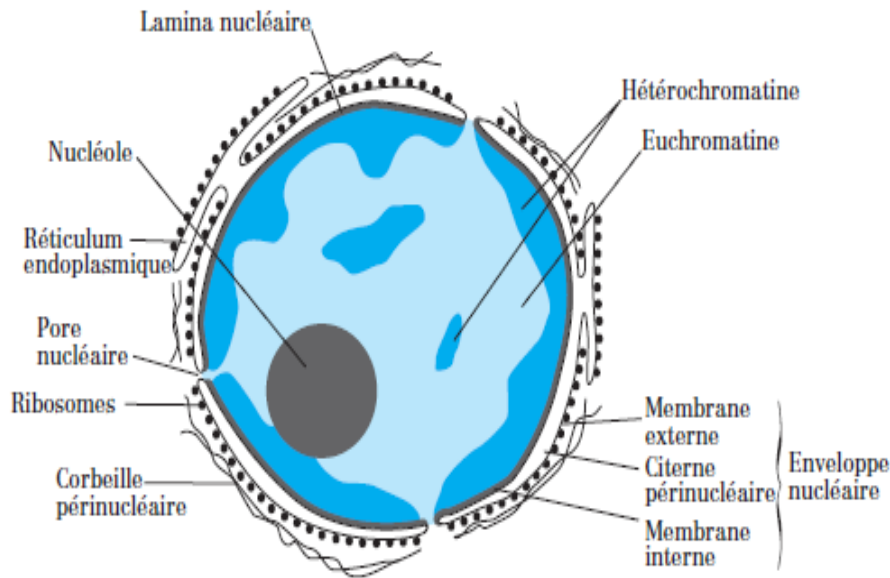


Figure 3 : Schéma d'un noyau cellulaire eucaryote

Le noyau contient le génome nucléaire, constitué d'ADN. L'ADN, lié à des protéines, prend deux formes, plus ou moins condensées :

- L'euchromatine : moins compactés, où les gènes peuvent être exprimés ;
- L'hétérochromatine : plus compactés, en périphérie du noyau, les gènes sont éteints ou peu exprimés.

Le noyau est le siège principal de la synthèse d'ADN (lors de la réplication pour la division cellulaire) et d'ARN (pour la transcription). Le noyau renferme également une structure particulière, le nucléole, lieu de la transcription des ARN ribosomiques.

3.3. Le cytoplasme :

Le cytoplasme est défini comme le matériel biologique contenu entre la membrane plasmique (membrane cellulaire) et l'enveloppe nucléaire.

Il s'agit d'une phase liquide plus exactement d'une émulsion colloïdale appelée cytosol qui comporte de nombreux organites et structures en suspension.

3.3.1. Le cytosol (ou hyaloplasme) :

Représente la phase liquide, c'est une sorte de gel colloïdal translucide 4 fois plus visqueux que l'eau du fait qu'environ 20% de son poids est formé par des protéines, son pH est neutre autour du 7.

Il représente environ la moitié du volume total de la cellule. Outre les organites cellulaires, il contient des inclusions, notamment les ribosomes et renferme des milliers d'enzymes et de protéines qui catalysent, entre autre, les réactions de la glycolyse, de la biosynthèse des sucres, acides gras, des acides aminés et nucléotides. Il renferme aussi les protéines du cytosquelette, les gouttelettes lipidiques (stockage des triglycérides) et des grains de glycogènes (stockage du glucose).

Le cytosol est également riche en ions notamment en Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} . Il comporte aussi certains gaz dissous comme l' O_2 et CO_2 .

Les principales fonctions du cytosol sont donc au nombre de trois :

✓ **Reserve de matériaux :**

Le cytosol constitue d'abord une réserve de matériaux pour de nombreuses fonctions cellulaires, il participe à la régulation des pH intra et extracellulaire grâce à sa grande quantité d'eau et d'ions. Il s'agit d'une réserve énergétique grâce aux vacuoles lipidiques et glycogéniques et une réserve de matériaux nécessaires à la construction des édifices macromoléculaires. Enfin, le cytosol permet le transit de molécules protéiques et de macromolécules.

✓ **Carrefour de voies métaboliques :**

Sa deuxième fonction est celle d'un carrefour de voies métaboliques en permettant le déroulement de nombreuses réactions enzymatiques et l'échange de métabolites et produits de réaction avec les autres compartiments.

Le cytosol est le milieu de réaction anabolique et catabolique des glucides, des acides aminés, des acides gras et des nucléotides.

✓ **Transduction du signal :**

Sa troisième fonction est de transmettre des signaux à partir de la membrane plasmique vers les organites et le noyau, il s'agit de la transduction du signal qui fait appel à de nombreuses protéines notamment des enzymes fixées sous la membrane plasmique ou en solution.

3.3.2. Les inclusions :

Ce sont des particules insolubles, pas forcément des éléments fonctionnels mais des substances chimiques qui peuvent être présentes ou non, selon le type de cellule considéré.

- ✓ Substances de réserve pour certaines, on pourrait alors citer par exemple les nutriments emmagasinés, comme les granules glycogène qui se trouvent en abondance dans les cellules du foie et des muscles, les gouttelettes de lipides communes dans les cellules adipeuses, les granules de pigments (mélanine) présentes dans certaines cellules de la peau et dans les poils.
- ✓ D'autres assurent des fonctions spécifiques dans la cellule :

○ Les ribosomes :

Le ribosome est un complexe dense de petite taille, composé d'ARNr ribosomique (portant l'activité catalytique) et de protéines ribosomiques, fixé à la surface externes des organites ou baignant dans le cytosol.

Leur fonction est de synthétiser les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messenger.

Commun à toutes les cellules (procaryotes et eucaryotes),

le ribosome (et surtout sa composition) varie en fonction des organismes, même s'il est toujours composé de deux sous-unités, une plus petite qui « lit » l'ARN messenger et une plus grosse qui se charge de la polymérisation des acides aminés pour former la protéine correspondante.

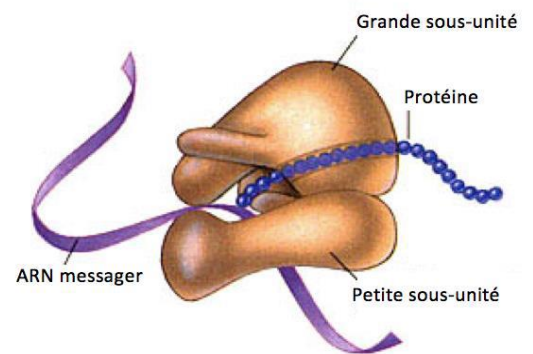


Figure 4 : Structure 3D du ribosome

○ Les protéasomes :

Les protéasomes sont des complexes enzymatiques multiprotéiques que l'on retrouve chez les eucaryotes, ainsi que chez quelques bactéries. Leur fonction principale est de dégrader les protéines mal repliées, dénaturées ou obsolètes de manière ciblée.

○ Le cytosquelette :

Le cytosquelette est un polymère de molécules protéiques, classées en fonction de leur taille en 3 types :

- ✓ *Microfilament* : fibres d'actines.
- ✓ *Filaments intermédiaires* : kératine dans la peau, myosine dans le muscle, et protéine des neurofilaments dans les neurones.
- ✓ *Microtubules* : fibres creuses formées de la tubuline et qui forment des structures complexes qui sont : le centrosome (2 centrioles intervenant dans la division cellulaire en dirigeant le mouvement chromosomes), les cils et les flagelles (qui, grâce à leurs mouvements, créent un courant extracellulaire chez certaines cellules possédant la capacité de motilité ; Par exemple, les cils des

cellules qui tapissent la trachée expulsent des poumons le mucus chargé de débris. De même, les spermatozoïdes des animaux, ainsi que les gamètes des algues sont flagellés).

Le cytosquelette permet de maintenir la forme de la cellule et l'agencement de ses organites dans le cytoplasme. Il est aussi responsable des mouvements cellulaires et du trafic intracellulaire. Il est également important lors de la division cellulaire.

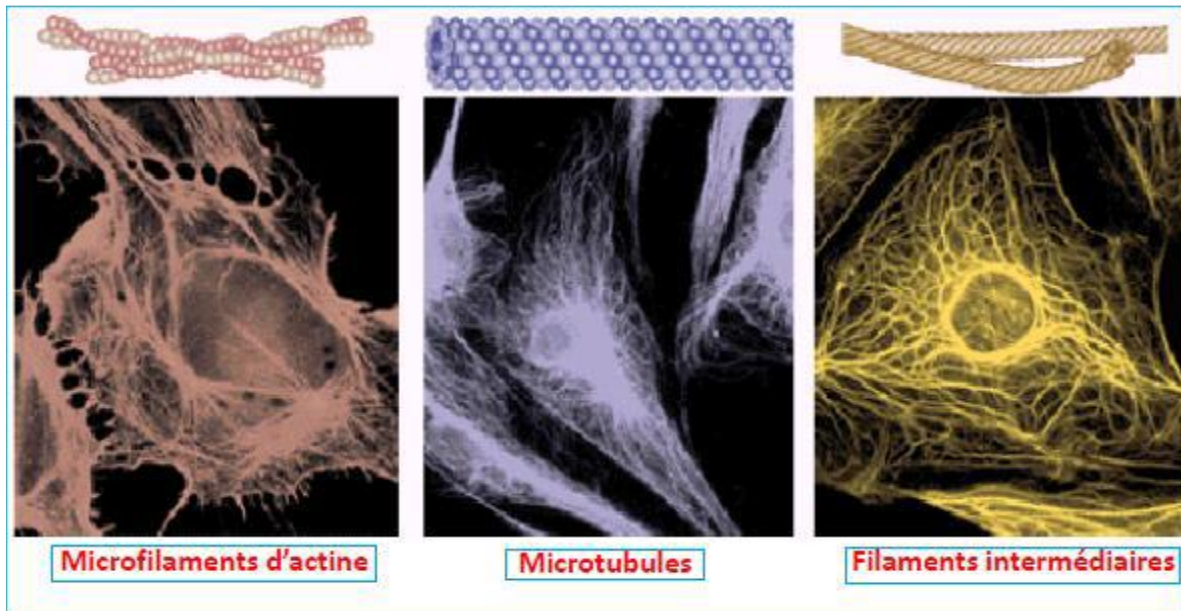


Figure 5 : Structure 3D du cytosquelette

3.3.3. Les organites cellulaires :

Les organites sont séparés du cytosol par une ou deux membranes de structures analogues à celle de la membrane plasmique. Ces membranes isolent des compartiments ayant des fonctions propres et précises.

❖ Les mitochondries :

Elles jouent un rôle important dans le métabolisme de la cellule. Elles contiennent leur propre petite partie d'ADN (l'ADN mitochondrial). C'est là que se déroulent la respiration cellulaire et la fabrication de l'énergie, l'ATP (Adénosine TriPhosphate). Cette énergie est indispensable aux réactions métaboliques, ce qui leur a valu le nom de « centrale énergétique de la cellule ».

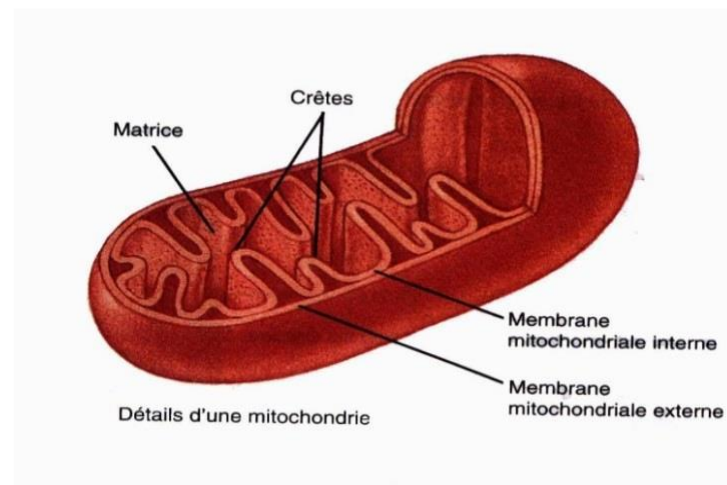


Figure 6 : Structure 3D de la mitochondrie

❖ Le réticulum endoplasmique (RE)

C'est une extension de la membrane du noyau. Nous distinguons le RE lisse (REL) et le RE granuleux (rugueux) (RER), en fonction de son apparence au microscope. Il est formé de feuilles ou de tubules. Il contient des récepteurs permettant de lier les ribosomes impliqués dans la traduction de l'ARN messager pour la sécrétion des protéines et notamment de la majorité des protéines transmembranaires (RER). Il est aussi le site de la synthèse lipidique (REL). Du RE, les protéines sont transportées vers l'appareil de Golgi grâce à des vésicules.

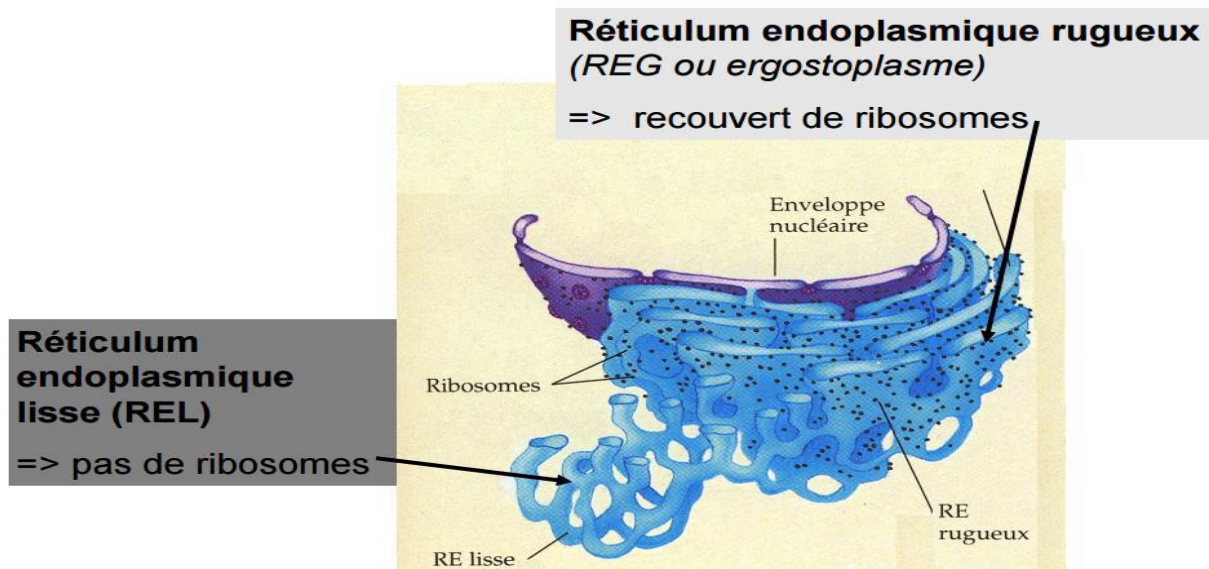


Figure 7 : Structure 3D de réticulum endoplasmique

❖ L'Appareil de Golgi :

Il s'agit d'un empilement de vésicules membranaires où s'opèrent la glycosylation (ajout de chaînes glucidiques complexes) et l'encapsulation des protéines sécrétées. Il intervient dans la maturation des protéines et des lipides provenant du réticulum endoplasmique.

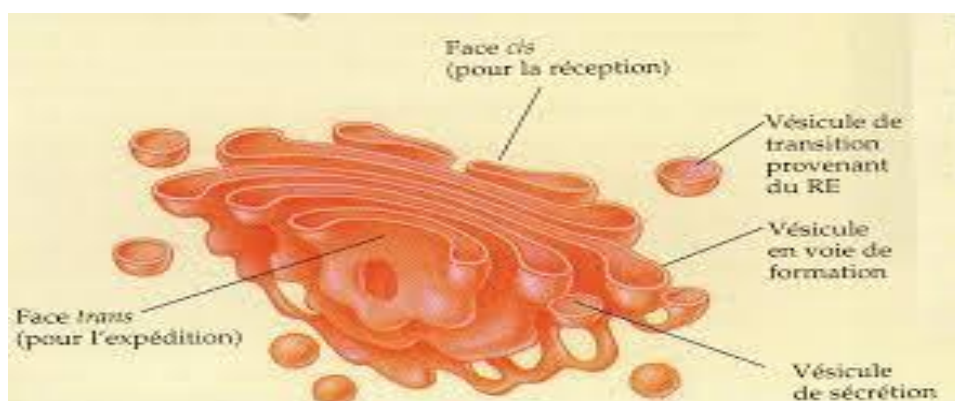


Figure 8 : Structure 3D de l'appareil de Golgi

❖ Les lysosomes :

Organites intracellulaires qui renferment des enzymes hydrolytiques, ils sont responsables de la lyse cellulaire c'est à dire la dissolution d'éléments organiques (organites, cellules, microorganismes) arrivés au terme de leur vie ainsi que les molécules prélevées dans le milieu extracellulaire par endocytose.

❖ Les peroxysomes :

Ce sont des sacs membraneux contenant des enzymes puissants que l'on appelle des Oxydases qui vont être capables de dégrader des métabolites nuisibles ou toxiques à la cellule en consommant de l'oxygène. L'oxygène provient de la mitochondrie et diffuse à travers la membrane. Et ces Oxydases vont produire, outre la dégradation du métabolite, du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , molécule toxique pour la cellule qui doit à son tour être dégradée.

Les oxydases des peroxysomes participent au :

- Métabolisme des lipides : On trouve des enzymes impliquées dans la β -oxydation. La β -oxydation qui consiste en la dégradation d'acides gras à très longues chaînes carbonées (AGTLC) qui ont plus de 22 atomes de Carbones. Et ces enzymes vont donc réduire progressivement la taille de ces AGTLC et les raccourcir jusqu'à ce qu'ils fassent moins de 12 atomes de carbones, et produire en parallèle, de l'Acétyl-Coenzyme A.

- Synthèse des Acides Biliaires : C'est dans le Peroxysome que vont être synthétisés les acides biliaires à partir de l'oxydation de la chaîne latérale du Cholestérol. Ceci explique la forte concentration de Peroxysomes dans les hépatocytes

- Dégradation des protéines et des Acides Aminés : Les oxydases spécifiques à la dégradation des acides aminés ou des protéines ; ce sont des Amino-Oxydases.

- Et enfin, il existe une Oxydase particulière : la Catalase. C'est l'enzyme la plus importante sur le plan quantitatif et le plan qualitatif. Elle a la particularité, non pas d'utiliser de l'oxygène, mais d'utiliser le peroxyde d'hydrogène pour dégrader un substrat et produire de l'eau, ou bien dégrader le peroxyde d'hydrogène en produisant de l'eau et de l'oxygène. Ce rôle est fondamental dans la protection de la cellule contre le peroxyde d'hydrogène (rôle détoxifiant).

❖ Les vésicules :

La cellule contient également de nombreuses vésicules qui servent de transporteurs entre les organites ou qui communiquent avec la membrane plasmique lors du processus d'endocytose ou d'exocytose.

Dans les cellules végétales, se trouvent également :

❖ La paroi cellulosique :

Elle entoure toute cellule végétale, elle est essentiellement composée de polysaccharides : cellulose et pectine, d'où l'appellation « paroi pecto-cellulosique ». La paroi est composée de trois parties :

Paroi primaire : de nature pecto-cellulosique.

Paroi secondaire : elle est constituée de cellulose et d'hémicellulose et enrichie en composés phénoliques (lignine, subérine).

Lamelle moyenne : la partie la plus externe de la paroi, elle est constituée de matières pectiques seulement.

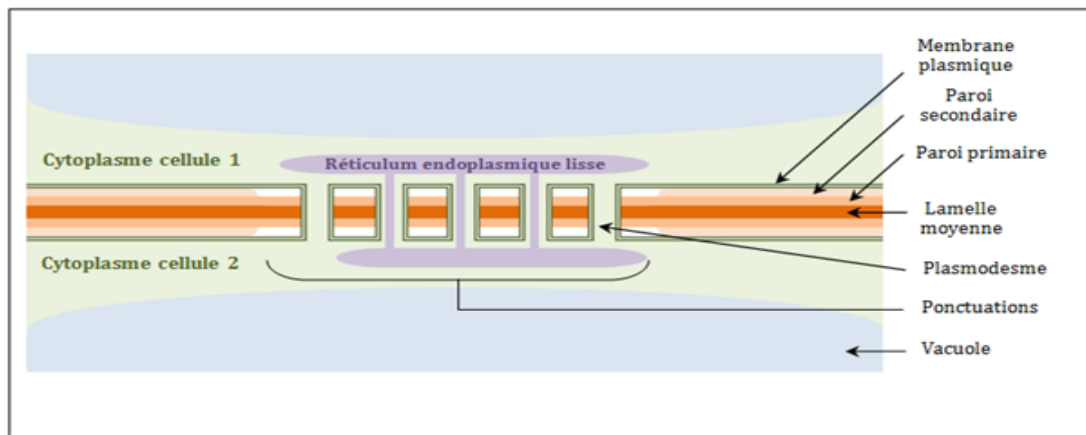


Figure 9 : Schéma simplifié de l'organisation structurale de la paroi végétale.

❖ Chloroplastes :

Ces organites sont présents dans les plantes et les algues (organismes photosynthétiques). Ils convertissent l'énergie lumineuse du soleil en énergie chimique utilisée pour fabriquer des sucres à partir de dioxyde de carbone. Ils contiennent également de l'ADN.

❖ Vacuoles :

Fragments inertes, présentes à l'état physiologique ou pathologique dans le cytoplasme d'une cellule végétale et pouvant contenir des substances diverses. Sont différents des vésicules par ce que les vacuoles :

1. Ont une vie plus longue.
2. Sont relativement stationnaires (statiques).
3. Sont souvent très grosses.

Chez les végétaux on rencontre une grande vacuole qui occupe environ 80% du volume cellulaire : la vacuole centrale lieu de stockage de déchets et de nutriments, elle sert à la croissance de la cellule.

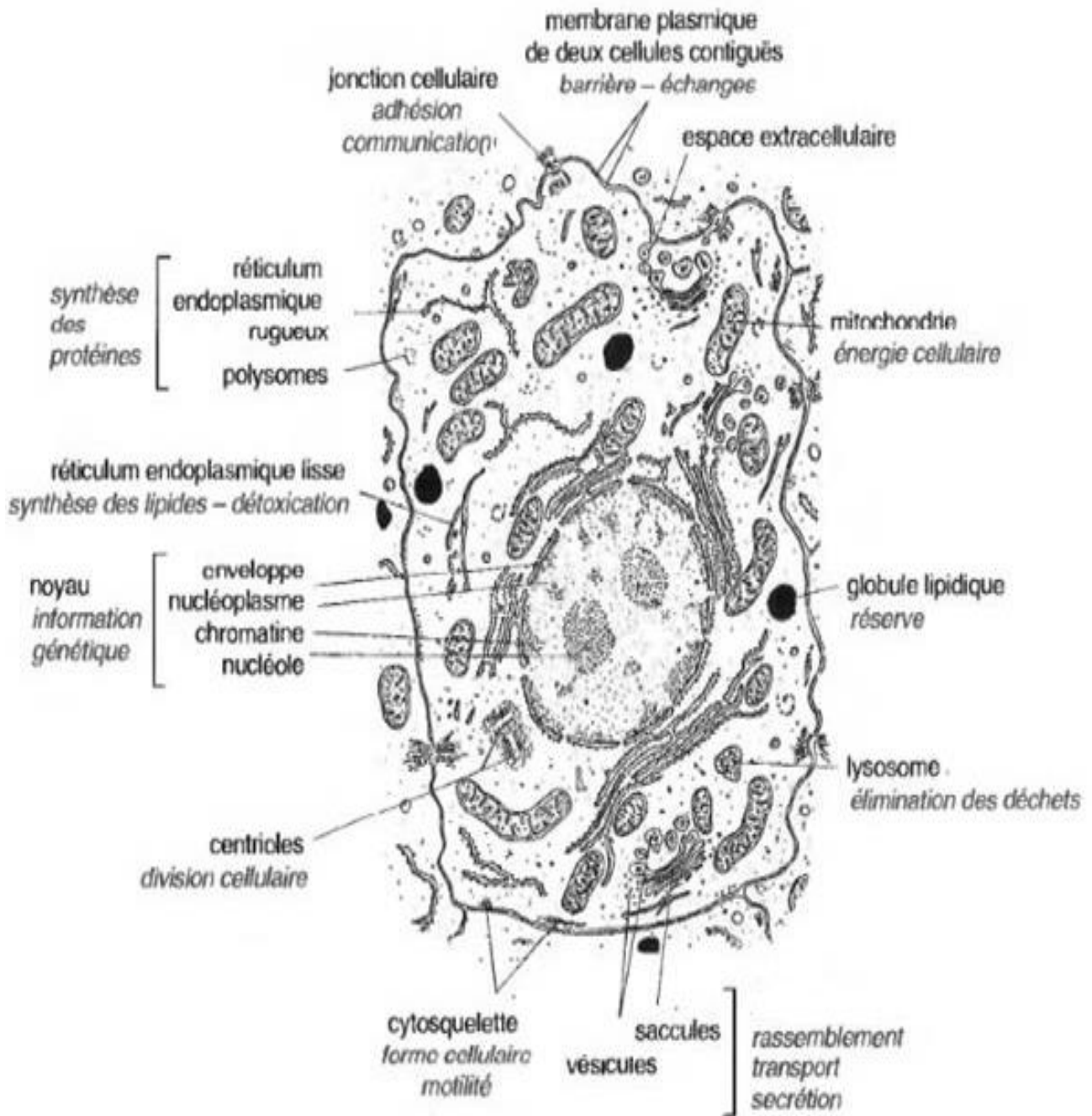


Figure 10 : Organisation d'une cellule animale (organites et fonctions)

Chapitre 2. Biomembranes

1. Composition des membranes :

Au cours de ces dernières années, il est devenu de plus en plus évident que les membranes occupent une place fondamentale en biologie cellulaire.

D'un point de vue quantitatif, on peut calculer que 1 ml (1cm^3) de foie contient 18 m^2 de membranes ; les membranes occupent donc une portion importante des volumes cellulaires.

Qualitativement, on s'est aperçu que les membranes ne servent pas uniquement à créer des compartiments dans la cellule, mais qu'elles sont également le siège de nombreuses réactions métaboliques et qu'elles remplissent multiples fonctions biologiques.

Fonctions de la membrane biologique :

- La compartimentation et maintien de l'intégrité de la cellule (frontière entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule, structure délimitant les organites)
- Les échanges d'informations avec d'autres cellules (récepteur hormonaux.)
- Régulation du transport des ions, sucres, lipides....
- Mouvement mécanique (endocytose, exocytose)
- Phénomènes de reconnaissance (Ag de surface)
- La régulation du métabolisme (transduction intracellulaire des signaux extracellulaire)

Ce second chapitre sera consacré essentiellement à la membrane plasmique, c'est à dire la membrane qui constitue autour de la cellule une enveloppe, mince et continue, séparant le milieu intracellulaire du milieu extracellulaire.

1.1. Isolement des fractions de la membrane plasmique :

La mise au point de méthodes d'isolement des membranes plasmiques a permis d'étudier la composition chimique de cet élément, et de concevoir quelle peut être son architecture moléculaire.

Il est relativement difficile d'obtenir une fraction de membrane plasmique dépourvue d'autres contaminants membranaires. Le problème a été résolu en choisissant un type cellulaire favorable. Ainsi, l'isolement de membranes plasmiques pures se fait très facilement en utilisant les hématies (globules rouges ou érythrocytes), vu qu'elles ne sont pratiquement constituées que d'hémoglobine entourée d'une membrane plasmique (dépourvues de noyau et d'organites cytoplasmiques).

La technique d'isolement de membranes plasmiques d'hématies :

- ✓ Les hématies sont dans un premier temps séparées du sérum par centrifugation de façon à éviter une contamination par les protéines de ce sérum.
- ✓ Elles sont recueillies dans un milieu physiologique le plus isotonique possible par rapport au sérum (on utilise généralement du NaCl à 0.9%).
- ✓ On provoque l'hémolyse des hématies (rupture de leur membrane plasmique) par un choc osmotique. Pour cela, les globules rouges sont placés dans une solution hypotonique qui a pour effet de faire gonfler et éclater ces cellules (diffusion d'hémoglobine hors des cellules).
- ✓ Centrifugation des hématies lysées afin d'obtenir un culot de fractions pures de membranes plasmiques qui sont aussi appelées fantômes d'hématies.

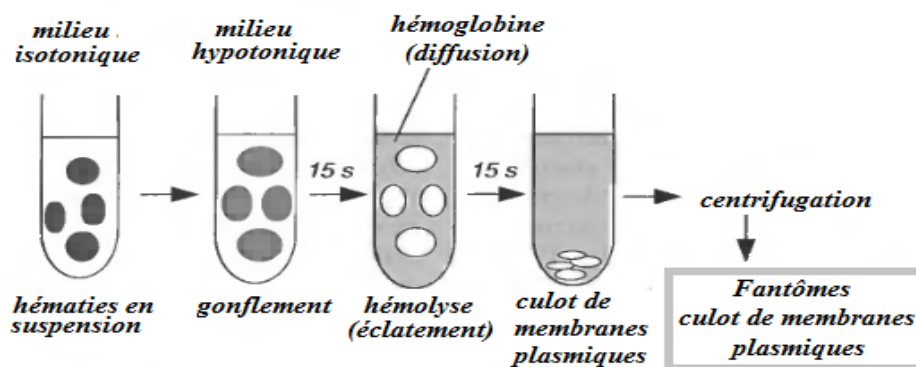


Figure 11 : Isolement de « fantôme », culot de membranes plasmiques, à partir d'hématies de mammifère.

- ❖ Une fois les membranes plasmiques isolées on étudie leur composition chimique.

1.2. Composition chimique de la membrane plasmique :

La membrane plasmique présente de grandes variations de composition chimique d'un type cellulaire à un autre. L'analyse chimique de la membrane des globules rouges a permis d'établir un modèle unitaire dans lequel la membrane plasmique est constituée en moyenne 40% de lipides et 60% de protéines.

1.2.1. Les lipides membranaires :

Les lipides constituent l'élément architectural de la membrane, sa matrice. Il est facile de s'en apercevoir en faisant agir sur la membrane, soit des détergents, soit des enzymes de type lipase : dans les deux cas la membrane s'effondre totalement.

Les membranes contiennent plusieurs types de lipides : tous sont amphipathiques ; cela signifie qu'ils possèdent en même temps des régions hydrophiles et hydrophobes.

Du fait de leur nature amphiphile, ils s'organisent spontanément en une double couche : les têtes polaires sont en contact avec le milieu aqueux (extracellulaire ou intracellulaire) et les chaînes hydrophobes s'associent face à face.

❖ Ils constituent ainsi une barrière imperméable aux molécules hydrosolubles.

Il existe trois types principaux de lipides membranaires :

➤ **Les phospholipides :**

Ce sont des molécules complexes contenant, outre C, H et O, du phosphore et éventuellement de l'azote. L'alcool, qui est lié à un ou deux acides gras, est soit le glycérol, soit un alcool aminé à chaîne grasse : la sphingosine. On parle donc, selon le cas, de **glycérophospholipide** ou de **sphingophospholipide**.

- Les glycérophospholipides comportent une queue hydrophobe formée de deux chaînes aliphatiques d'acides gras saturés ou non liés par une liaison ester au 2 carbones du glycérol, le 3^{ème} carbone du glycérol est alors lié à un groupement phosphate ce qui constitue une tête phosphorylée hydrophile.

Une molécule supplémentaire se lie à l'acide phosphorique, elle peut être un alcool (le glycérol, l'inositol, la choline, l'éthanolamine) ou un acide aminé (la sérine)

C'est cette dernière molécule qui confère son identité au lipide en question. On peut alors trouver :

Phosphatidylsérines	= Acides Phosphatidiques + Sérine
Phosphatidyléthanolamines	= Acides Phosphatidiques + Ethanolamine
Phosphatidylcholines	= Acides Phosphatidiques + Choline
Phosphatidylinositols	= Acides Phosphatidiques + Inositol

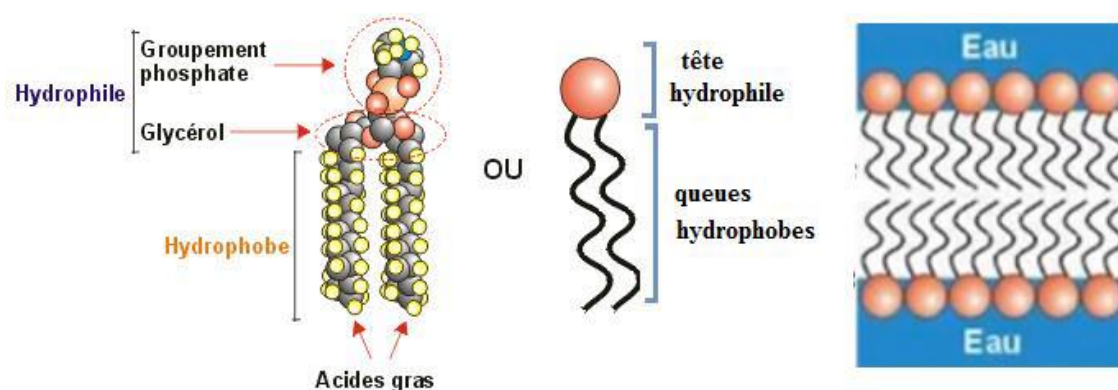


Figure 12 : Représentation schématique d'un phospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique.

1.2.2. Les protéines membranaires :

Les protéines de la membrane plasmique sont nombreuses et très diversifiées. Suivant le type de cellule et d'organite cellulaire, une membrane peut contenir des centaines de protéines différentes. Les membranes des organites sont beaucoup plus riches en protéines, enzymes principalement, en relation avec leurs fonctions.

Une des caractéristiques des protéines liées à la membrane plasmique est de posséder un ou plusieurs domaines hydrophobes qui seront en contact avec les lipides, et un ou plusieurs domaines hydrophiles qui seront en contact avec les régions riches en eau de l'environnement cellulaire (cytosol, milieu extracellulaire). Les protéines de la membrane sont des protéines amphiphiles.

❖ Ces protéines ont des fonctions extrêmement variées : elles y jouent des rôles de récepteurs (d'hormones par exemple) et de transporteurs (de matière ou d'information), des rôles de reconnaissance (Ag) et d'adhérence entre cellules, d'accrochage à la matrice extracellulaire ou tout simplement de catalyse enzymatique.

❖ Classe des protéines membranaires :

a. Les protéines intrinsèques (transmembranaires) :

Protéines hydrophobes, elles pénètrent dans la bicouche lipidique. Ce sont des protéines transmembranaires, c'est-à-dire qu'elles traversent toute la bicouche lipidique et possèdent donc des domaines sortant des faces extracellulaires et cytoplasmiques de la membrane. Elles peuvent s'étendre à travers la double couche sous la forme d'une hélice α unique, de plusieurs hélices α , ou d'un feuillet β fermé. (Figure 15A)

b. Les protéines périphériques (extrinsèques) :

Ce sont des protéines hydrophiles, elles sont entièrement situées à l'extérieur de la bicouche lipidique, soit à la face cytoplasmique soit à la face extracellulaire, mais qui sont souvent liées aux protéines transmembranaires par des liaisons non covalentes faibles (liaison hydrogène, ionique,...) (Figure 15C).

c. Les protéines ancrées aux lipides :

Situées à l'extérieur de la bicouche lipidique, soit à la face extracellulaire, soit à la face cytoplasmique, mais unies par covalence (liaison stable, forte) à une molécule de lipide (acide gras) située au sein de la bicouche (figure 15B).

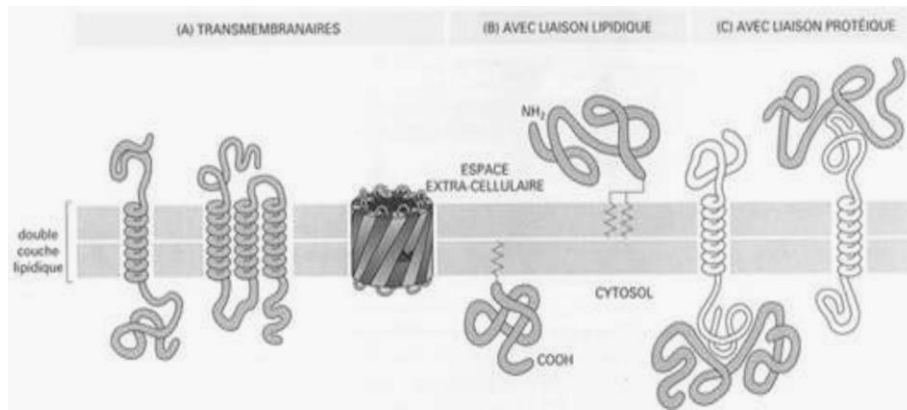


Figure 15 : Associations des protéines membranaires avec la bicouche lipidique.

❖ L'ensemble de glycannes (polymères glucidiques) liés de manière covalente aux protéines et lipides de la membrane plasmique (glycoprotéines et glycolipides respectivement) forme un revêtement fibreux nommé « cell-coat » ou « glycocalyx ». Ces glycannes sont présents uniquement sur la face externe de la membrane. Ils permettent la protection de la cellule contre la déshydratation, contre les agressions chimiques, et constituent un gel hydraté assurant une protection mécanique. Les glycoprotéines et les protéoglycanes ont un rôle dans la reconnaissance cellule-cellule.

2. Architecture biomoléculaire des membranes :

2.1. La bicouche lipidique :

Toutes les biomembranes ont une structure similaire de bicouche. En effet, l'étude par microscopie électronique de coupes membranaires fines marquées à l'aide de tétraoxyde d'osmium, qui se fixe fortement aux groupements polaires de tête des phospholipides, révèle la structure en bicouche.

Ces coupes ressemblent à une voie ferrée (Fig. a) : deux lignes sombres fines (les complexes dont les groupements de tête sont marqués) séparées par un espace clair uniforme large d'environ 2 nm (les queues hydrophobes). La figure (Fig. b) est une interprétation schématique de la bicouche phospholipidique dans laquelle les groupements polaires sont tournés vers l'extérieur pour protéger les queues hydrophobes d'acides gras de l'eau. Les interactions hydrophobes et de Van der Waals entre les queues d'acides gras sont à l'origine de l'assemblage de la bicouche.

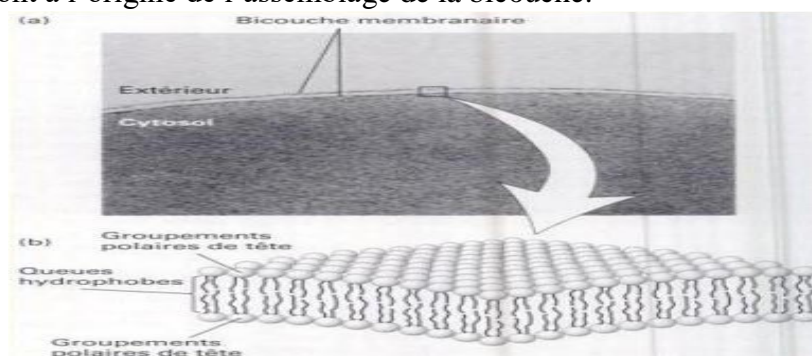


Figure 16 : La structure en bicouche des biomembranes

➤ La bicouche lipidique possède deux caractéristiques importantes :

a. Tout d'abord, le cœur hydrophobe est **une barrière imperméable** qui empêche la diffusion des solutés hydrosolubles (hydrophiles) à travers la membrane. Il est important de noter que cette fonction de barrière simple est modulée par la présence de protéines membranaires permettant le passage de molécules spécifiques à travers cette bicouche, qui sans cela, serait imperméable.

b. La deuxième propriété de la bicouche est sa **stabilité** ; c'est-à-dire qu'elle est capable de conserver son architecture grâce à des interactions hydrophobes et de van der Waals entre les chaînes lipidiques.

2.2. Le modèle membranaire « en mosaïque fluide » :

Le modèle de *mosaïque fluide* a été proposé en 1972 par Singer et Nicolson. Il repose sur différents types d'expériences dont le but était de localiser les protéines dans l'édifice membranaire.

Les lipides sont organisés en une bicouche faite de phospholipides et de cholestérol, dans laquelle s'intercalent plusieurs protéines (transmembranaire, périphériques et ancrés).

Les caractéristiques qui peuvent être dégagées des observations et des expériences concernant la membrane plasmique sont les suivantes :

- **La membrane est mosaïque** : c'est une mosaïque car elle est constituée de la juxtaposition d'éléments différents : deux couches de lipides dans lesquelles s'insèrent des protéines.
- **La membrane est fluide** : ce sont des structures quasi fluides grâce aux mouvements des lipides qui peuvent être classés en mouvements fréquents et rapides (diffusion latérale et rotation dans une même couche lipidique) et en mouvements transversale rares et très lent entre les deux couches lipidiques (bascule ou flip-flop). La fluidité de la membrane augmente proportionnellement avec le pourcentage d'acides gras insaturés (des phospholipides) et diminue avec celui du cholestérol.

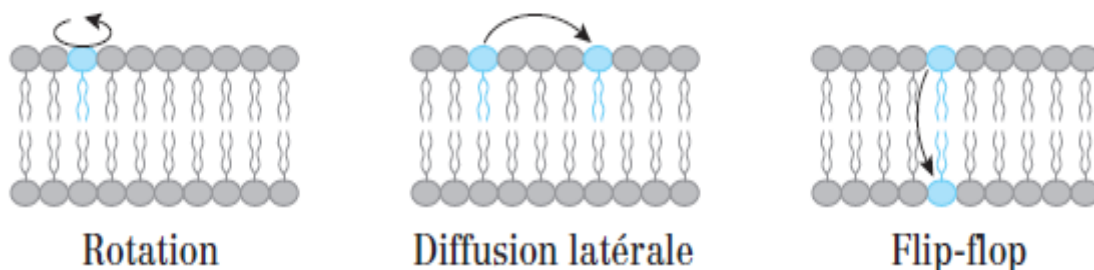


Figure 17 : mouvements des lipides dans la membrane

Les mouvements des protéines sont moins fréquents, à cause de la grande taille de ces molécules, comparée à celle des molécules lipidiques. Ils sont lents et représentés principalement par le mouvement de diffusion latérale et rotation au sein de la bicouche lipidique.

- **La membrane est asymétrique**, elle est asymétrique car les deux couches lipidiques n'ont pas exactement la même composition. En ce qui concerne les protéines, l'asymétrie joue à la fois pour les protéines périphériques et les protéines intégrées. Les résidus osidiques liés aux protéines membranaires ou aux lipides ne se trouvent que sur la face extracellulaire de la membrane.

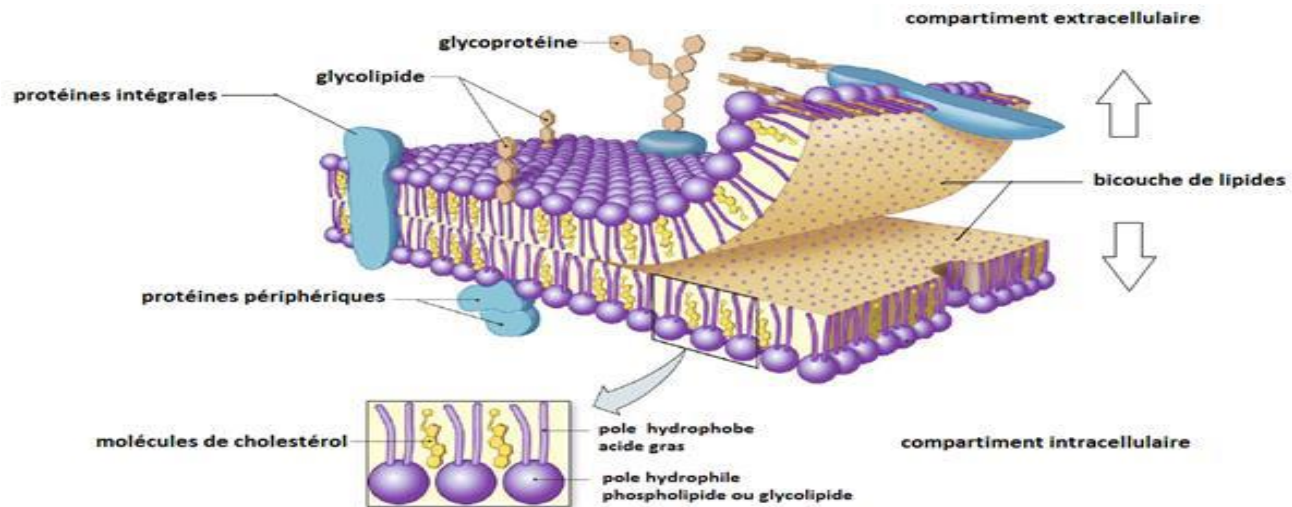


Figure 18 : Composition de la membrane plasmique

3. Les échanges membranaires :

Une des stratégies importantes pour la cellule est de pouvoir contrôler les passages à travers sa membrane, que ce soit l'entrée des substances nutritives, la sortie des déchets et le passage des ions de façon à maintenir une concentration ionique optimale.

Les membranes biologiques laissent passer l'eau et les molécules non polaires par une simple diffusion physique. Le passage de l'eau est facilement mis en évidence par observation des changements de forme d'une hématie soumise à des variations de flux osmotiques.

Les membranes biologiques sont perméables à certaines molécules polaires. Elles laissent ainsi passer des ions, des oses, des acides aminés, des nucléotides. La membrane plasmique est donc une **barrière sélective**.

Nous allons envisager successivement les modalités de transport des petites molécules et des macromolécules.

3.1. Transport sans déformation de la membrane plasmique :

Il s'agit de transports des ions et des petites molécules, sans intervention du cytosquelette. On distingue deux types de transport : le transport **passif** qui ne nécessite pas d'énergie et le transport **actif** qui est nécessairement couplé à une consommation d'énergie.

3.1.1. Transport passif :

C'est le transport qui s'effectue dans le sens normal des forces de diffusion, c'est à dire dans le sens du gradient de concentration. On peut distinguer trois modalités de transport passif :

→ Le transport par simple diffusion physique :

C'est le cas le plus simple. Il concerne les substances liposolubles non chargées (CO_2 , O_2 , N_2 , éthanol...).

→ Le transport par diffusion accélérée :

Ce transport fait intervenir des protéines spécifiques intégrées dans la membrane. Elles forment souvent un conduit continu à travers cette membrane. Lorsque ce conduit transmembranaire permet le passage d'ions on parle de canal ionique spécifique (Na^+ , K^+ , Cl^-). C'est aussi le mode de transport de petites molécules polaires comme l'eau par les canaux hydriques (aquaporines).

→ Le transport par diffusion facilitée :

Une substance diffuse toujours à travers une membrane en partant d'une région à forte concentration vers une région à faible concentration sans passer nécessairement par la bicouche lipidique ou un canal.

Très souvent, la substance diffuse après s'être unie sélectivement à une protéine porteuses transmembranaire, ou protéine de transport (perméase), qui facilite la diffusion.

C'est l'exemple du transport de nombreux oses et acides aminés. Le passage du glucose à travers la membrane plasmique en est un exemple type. On pense que l'association du soluté au transporteur d'un côté de la membrane déclenche une modification de conformation de la protéine qui expose le soluté de l'autre côté de la membrane, d'où il peut diffuser suivant le gradient de concentration.

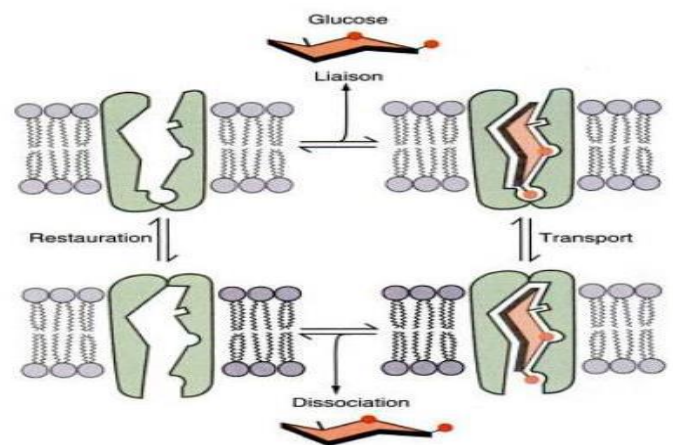


Figure 19 : Diffusion facilitée

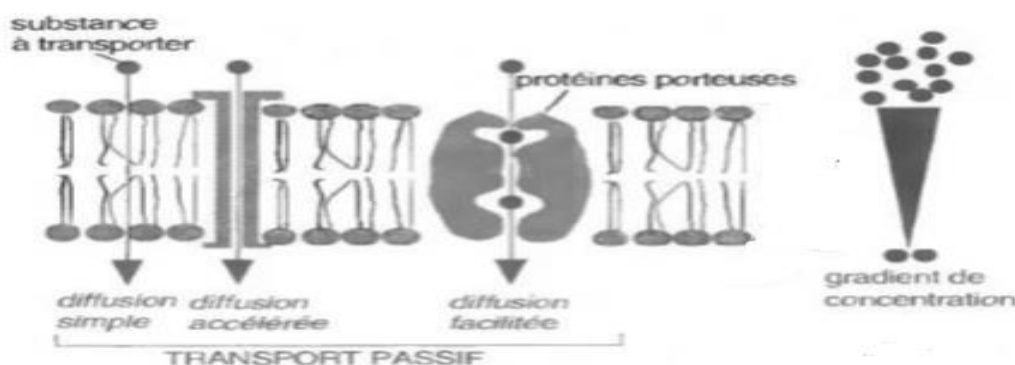


Figure 20 : Transport passif à travers les membranes biologiques.

3.1.2. Transport actif :

C'est le transport qui s'effectue à l'opposé du gradient de concentration. Ce transport doit être alors couplé à une source d'énergie métabolique. En fonction du type d'énergie fournie on distingue :

- ❖ **Transport actif Primaire** : appelé transport actif direct, il consomme de l'énergie obtenu par l'hydrolyse de l'ATP et se fait contre le gradient de concentration. Il fait intervenir des enzymes dites ATPases transmembranaires (protéines transmembranaires possédant un ou plusieurs sites de liaison pour l'ATP situées sur la face cytosolique de la membrane) ou pompes (ex. pompe $\text{Na}^{2+}/\text{K}^+$, pompe à H^+ et pompe à Ca^{2+}).
- ❖ **Transport actif Secondaire** : contrairement au transport actif direct, celui-ci n'utilise pas l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP, c'est la différence de potentiel électrochimique (charge des molécules) qui est utilisée. L'énergie est fournie par le co-transport d'un soluté suivant son gradient de concentration. Les deux principales formes sont :
 - **Le symport** : les deux substances de natures différentes sont transportées dans la même direction, l'une l'est dans le sens de son gradient de concentration (transport passif) et l'autre dans le sens opposé à son gradient de concentration (transport actif).
 - **L'antiport** : transport de deux ou plusieurs substances de nature différentes dans des directions opposées (contre-transport). L'une est transportée dans le sens du gradient de concentration et l'autre contre gradient de concentration.

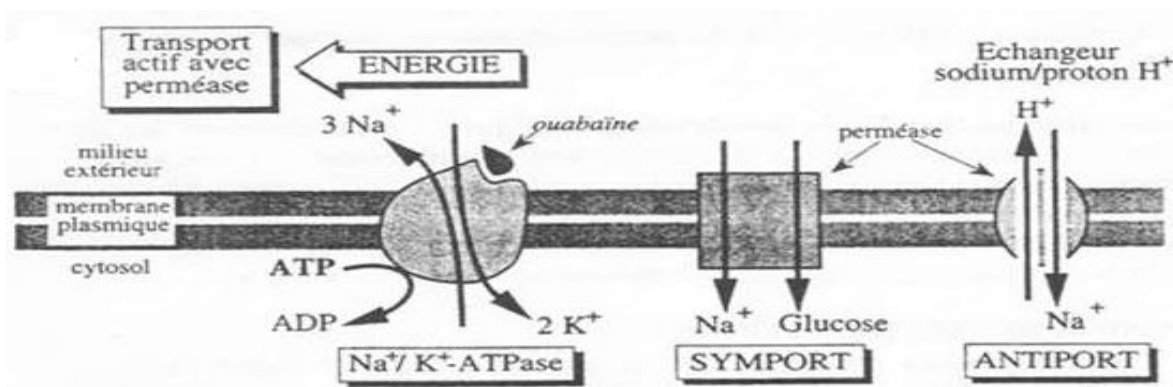


Figure 21 : Transport actif

3.2. Transport avec déformation de la membrane plasmique (transport vésiculaire) :

C'est le transport des macromolécules et des particules avec intervention du cytosquelette, cas de l'endocytose (entrée) et l'exocytose (sortie).

3.2.1. L'endocytose :

L'endocytose est un phénomène propre aux cellules eucaryotes sans paroi. Des substances extracellulaires pénètrent dans la cellule par invagination de la membrane plasmique avec formation d'une vésicule entourée d'une membrane. On différencie trois modalités d'endocytose où les éléments transportés sont de nature et de tailles différentes :

a. La phagocytose :

C'est une ingestion par la cellule de particules de grande taille (bactéries ou virus) par l'intermédiaire de grosses vésicules appelées « phagosome » (diamètre supérieur à 250 nm). La phagocytose est réalisée essentiellement par des cellules spécialisées (macrophage, polynucléaires) qui possèdent des récepteurs spécifiques.

b. La pinocytose :

C'est l'ingestion de fluides et de solutés à l'aide de vésicules de petite taille (diamètre inférieur à 150 nm). Ces vésicules sont appelées « endosomes ». C'est un processus non spécifique qui concerne la plupart des cellules.

c. L'endocytose par récepteur interposé :

C'est au contraire un processus très spécifique.

- ✓ Des récepteurs transmembranaires groupés en une région particulière de la membrane plasmique reconnaissent spécifiquement « un ligand ».
- ✓ La liaison du ligand au récepteur conduit à la formation sur la face cytoplasmique de la membrane d'un réseau de « clathrine ».
- ✓ L'invagination de la membrane plasmique forme une vésicule tapissée de clathrine (coated vesicle) qui perd progressivement son revêtement pour fusionner avec des vésicules intercellulaires et devenir un « endosome ».
- ✓ Entre-temps, les récepteurs s'isolent et se recyclent.

Ce type de mécanisme permet par exemple l'apport de cholestérol et d'acide gras aux cellules par fixation spécifique des lipoprotéines (le cholestérol sanguin est transporté dans le plasma associé à diverses molécules dont les LDL. Ces LDL ne peuvent céder leur cholestérol à la cellule qu'après fixation sur des

récepteurs spécifiques de la membrane plasmique. Il s'ensuit l'endocytose du couple récepteur/LDL). Il permet également d'apporter le fer aux cellules grâce à la reconnaissance de la transferrine par des récepteurs.

3.2.2. L'exocytose :

C'est le mécanisme selon lequel des substances sont exportées à l'extérieur de la cellule. Très souvent déclenchée par un signal provenant de la surface de la cellule, tel que la liaison d'une hormone à un récepteur membranaire, le mécanisme de l'exocytose permet la sécrétion d'hormones, dans certains cas l'élimination des déchets (l'exocytose peut être conséquence de la phagocytose : les particules ingérées après dégradation par les lysosomes forment des résidus qui sont rejetés hors de la cellule).

Remarque : La formation et le transport des vésicules sont des processus consommateurs d'énergie.

➔ Le transport vésiculaire se déroule en six étapes :

- 1) Tri moléculaire.
- 2) Bourgeoisement des vésicules à partir du compartiment donneur, avec mise en place du : « manteau de clathrine » (enveloppant les bourgeoisements issus de l'appareil Golgi et de la membrane plasmique), « manteau de COPI » (pour coating Proteins) (bourgeoisements issus de l'appareil de Golgi) et « manteau de COPII » (bourgeoisements issus du RE).
- 3) Fission : détachement des vésicules possédant un revêtement cytosolique protéique (coatomes ou clathrine). Les vésicules se « déshabillent » permettant ainsi l'interaction entre les protéines motrices du cytosquelette et les vésicules afin de permettre le transport sur de longues distances.
- 4) Vectorisation : transport des vésicules entre le compartiment donneur et le compartiment receveur.
- 5) Ancrage des vésicules.
- 6) Fusion des vésicules avec le compartiment accepteur (ou receveur).

La fusion nécessite une reconnaissance vésicule/membrane plasmique par l'intermédiaire d'un complexe protéique « SNARE ». Les SNARE (Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein Receptor) (pour SNAP Receptor) sont des protéines transmembranaires qui catalysent les réactions de fusion membranaire au cours du transport vésiculaire. La spécificité et l'énergie nécessaires à cette fusion sont apportées par l'interaction entre deux protéines SNARE complémentaires :

- v-SNARE : localisées dans la membrane du compartiment donneur, v provient du mot *vesicular* qui signifie « vésiculaire ».
- t-SNARE : localisées dans la membrane du compartiment accepteur, t provient du mot *target* qui signifie « cible ».

La liaison entre les 2 SNAREs est rendue possible par une GTPase qui se trouve sur la membrane vésiculaire. Le complexe trans-SNARE qui en résulte verrouille les deux membranes ensemble, ce qui permettra la fusion et le déversement du contenu des vésicules à l'extérieur de la cellule.

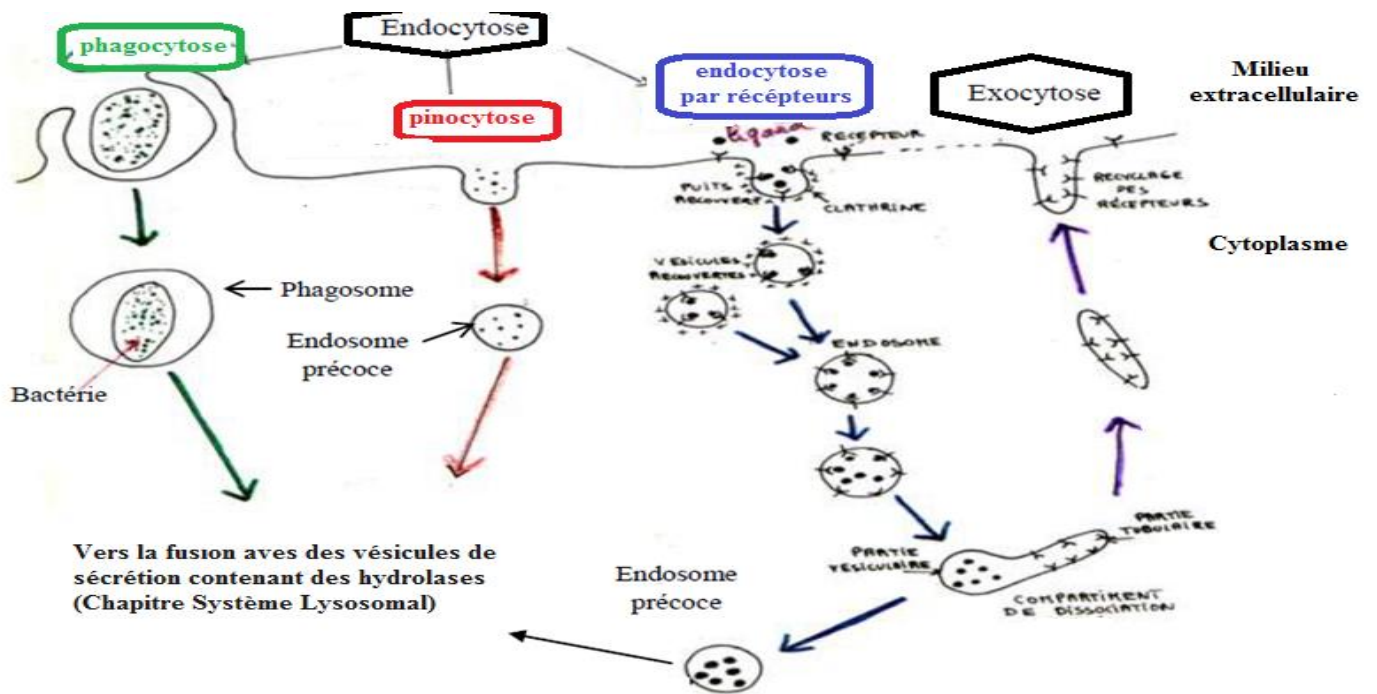


Figure 22 : Echanges avec déformation de la membrane plasmique.

4. Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire :

La majorité des cellules animales pluricellulaires est organisée en ensembles coopératifs appelés tissus, qui s'associent à leur tour selon diverses combinaisons en unités fonctionnelles de plus grandes dimensions : les organes. Les cellules des tissus sont habituellement en contact avec un réseau complexe de macromolécules extracellulaires sécrétées : la matrice extracellulaire (MEC). Cette matrice aide à assurer la cohésion cellulaire et tissulaire et constitue une trame structurée à l'intérieur de laquelle les cellules peuvent migrer et interagir les unes avec les autres. Les cellules d'un tissu sont également maintenues en place par l'adhérence directe des cellules entre elles.

Toutes ces interactions sont dues à des protéines membranaires spécialisées : les molécules d'adhérence. Elles jouent un rôle très important à la fois dans le développement et l'intégrité anatomique des tissus.

Ces molécules se caractérisent par leur nature transmembranaire. Chaque protéine adhésive traverse la membrane plasmique : elle comporte un domaine extracellulaire en contact avec les autres cellules ou le tissu conjonctif, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire, au contact avec le cytoplasme, où il est fixé sur les molécules du cytosquelette.

L'adhésion cellulaire peut s'effectuer donc à différents niveaux :

- ✓ Adhésion intercellulaire spécifique entre cellules adjacentes.
- ✓ Adhésion entre cellule et environnement matriciel.

Ces deux types d'interactions coexistent le plus souvent dans un même tissu.

4.1. Les protéines adhésives :

4.1.1. Protéines responsables d'interactions cellule-cellule :

➤ Les cadhérines :

Les cadhérines (nom fabriqué à partir de **Ca** et **adhésion**) sont des glycoprotéines transmembranaires qui nécessitent la présence de l'ion **calcium** pour se fixer. Par leur domaine cytoplasmique les cadhérines sont le plus souvent associées au cytosquelette terminal via d'autres protéines de liaison, ce qui renforce les accrochages cellules/cellules.

Les cadhérines sont classées en quatre sous-familles, leur nomenclature fait appel à l'utilisation d'une lettre majuscule qui correspond à l'initiale du type cellulaire où elles ont été mises en évidence et où elles sont généralement le plus abondamment représentées : on distingue ainsi la cadhérine E (épithélium), la cadhérine N (neurones), la cadhérine P (placenta) et la cadhérine V (vasculaire).

Les cadhérines interviennent de manière capitale dans la reconnaissance cellulaire au cours de l'embryogenèse, puis dans la cascade complexe d'événements permettant la cohésion tissulaire.

➤ **CAM (Cell Adhesion Molecule) :**

Une autre classe est constituée par les glycoprotéines, indépendantes du calcium, qui sont membres de la superfamille des immunoglobulines. Elles sont très représentées dans le tissu nerveux.

4.1.2. Protéines responsables d'interactions cellule-matrice extracellulaire :

➤ **Les intégrines :**

En ce qui concerne l'adhérence cellule/milieu extracellulaire, une autre catégorie de molécules adhésives est constituée par les intégrines, qui sont les récepteurs permettant aux cellules animales de se lier à la matrice extracellulaire.

Elles sont composées de deux sous-unités glycoprotéiques transmembranaires, les sous-unités α et β . Les intégrines sont très abondantes en surface. Les intégrines sont aussi souvent liées au cytosquelette par des protéines de liaison : elles permettent donc au cytosquelette et à la matrice extracellulaire de « communiquer » à travers la membrane plasmique. Elles assurent ainsi une certaine transduction de signaux et sont souvent à l'origine de l'activation de cascades de réactions intracellulaires.

➤ **Les sélectines :**

Ce sont des glycoprotéines transmembranaires. Leurs ligands sont de type osidique : glycoprotéines, glycolipides. Ce sont des molécules Ca^{2+} dépendantes. Elles jouent un rôle essentiel dans l'adhérence des cellules à l'endothélium vasculaire et qui contrôlent les phénomènes d'inflammation. Il y a trois grands types de sélectines :

L- sélectine: tous les Leucocytes circulants ;

P- sélectine: Plaquettes et cellules endothéliales ;

E- sélectine: cellules Endothéliales activées ;

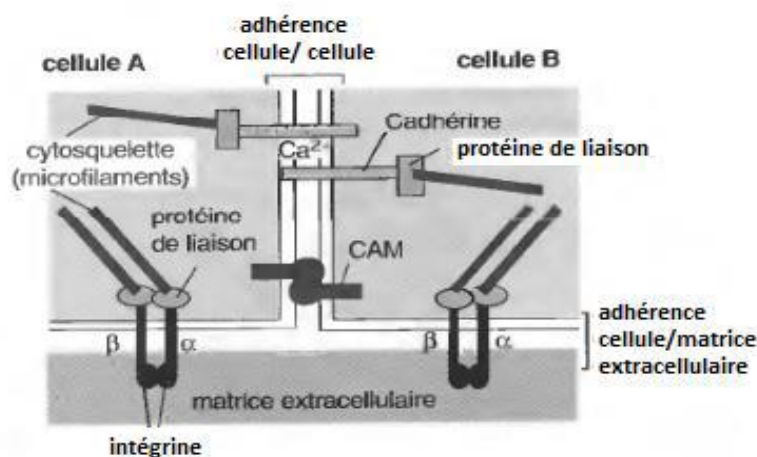


Figure 23 : Mécanismes d'adhérence cellule/cellule et cellule/matrice

Les liaisons intercellulaires peuvent se faire de deux façons :

- ❖ Selon le type de molécules :
 - Liaison homophile : Molécule d'adhésion (x) portée par la cellule (A) se fixe sur la même molécule (x) portée par la cellule (B).
 - Liaison hétérophile : Molécule d'adhésion (x) portée par la cellule (A) se fixe sur la molécule (y) portée par la cellule (B).
- ❖ Selon le type de cellules :
 - Liaison homotypique : cellules liées identiques.
 - Liaison hétérotypique : cellules liées différentes.

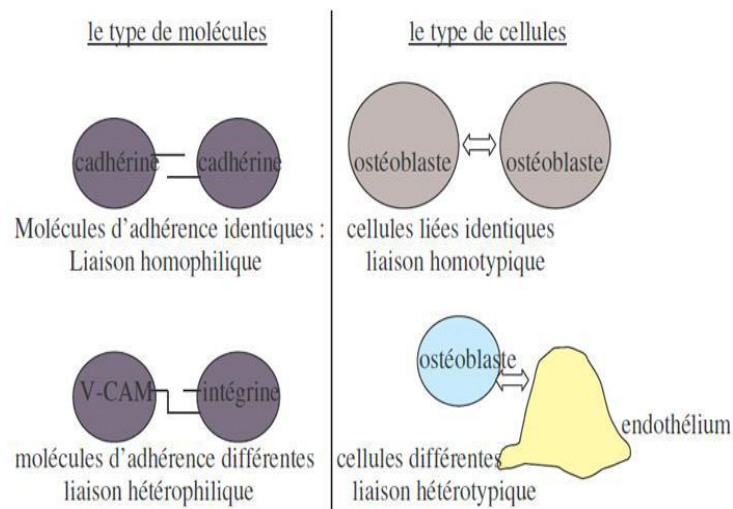


Figure 24 : les liaisons intercellulaires

5. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires :

5.1. Expression d'antigènes :

A l'exception des vrais jumeaux, chaque individu est unique. Le soi d'un individu est représenté par l'ensemble des molécules résultant de l'expression de son génome.

En effet, toutes les cellules possèdent à la surface de leur membrane plasmique des macromolécules qui donnent l'identité aux cellules : les marqueurs cellulaires.

L'espèce humaine possède plusieurs systèmes de marqueurs cellulaires appelés encore « antigènes » :

- ✓ Le système ABO (groupes sanguins).
- ✓ Le système rhésus.
- ✓ Le système CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité).

Chaque cellule synthétise des glycoprotéines membranaires spécifiques du système dit CMH caractéristiques du soi à partir de gènes précis situés sur le chromosome 6. Ces antigènes du soi CMH permettent à certaines cellules immunitaires de distinguer le soi du non soi, et ainsi d'éviter d'attaquer le soi dans une autodestruction de l'organisme.

Les molécules du CMH participent donc à la reconnaissance antigénique, appelée présentation antigénique. On distingue deux grands types :

- a. **CMH de classe I** : sont des glycoprotéines composées d'une chaîne lourde (α) associée à la β -2-microglobuline, exprimées à la membrane de la presque totalité des cellules nucléées de l'organisme. Ils présentent un peptide endo-cellulaire aux lymphocytes T CD8.
- ❖ Peptide endo-cellulaire est un peptide antigénique produit dans la cellule, correspondant soit aux antigènes du soi (protéines tumorales), soit aux antigènes provenant de **virus** mais synthétisé par la cellule. Les molécules antigéniques vont être dégradées par le **protéasome** en **peptides de taille bien défini** (9 acides aminés).
- b. **CMH de classe II** : sont des glycoprotéines composées de deux chaînes α et β exprimées à la membrane des lymphocytes B, des monocytes-macrophages et de certaines cellules épithéliales après activation. Ils présentent un peptide, provenant d'une protéine extracellulaire ou membranaire endocytosée, aux lymphocytes T CD4.
- ❖ Les peptides antigéniques produits à l'extérieur de la cellule, correspondent soit à des agents pathogènes soit à des corps apoptotiques. Autrement dit, on considère ici des **peptides exogènes** provenant du **milieu extracellulaire** et internalisés par endocytose. L'antigène sera cette fois-ci dégradé par le **système endo-lysosomal** en **peptide de taille variable** (entre 12 et 25 acides aminés).

Les lymphocytes T reçoivent l'information et peuvent enclencher la réponse ciblée grâce à la reconnaissance de signatures spécifiques. On passe d'une réponse immunitaire non spécifique (destruction d'un élément quelconque du non-soi par phagocytose ou endocytose) à une réponse immunitaire spécifique (destruction d'un élément précis du non-soi).

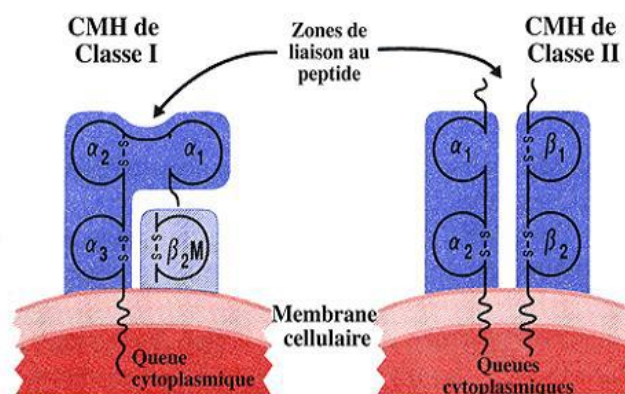


Figure 25 : Structure des molécules CMH de classe I et de classe II.

5.2. Marqueurs de virulence :

La pathogénicité de certaines bactéries repose sur de nombreux facteurs de virulence. Un facteur de virulence est une molécule produite par un agent infectieux (bactéries, virus, mycètes, protozoaires) qui contribue au caractère pathogène (la virulence) de ces organismes en leur permettant :

- ✓ D'occuper une niche chez l'hôte (colonisation), ce qui passe par l'attachement à ses cellules ;
- ✓ D'échapper au système immunitaire de l'hôte (immuno-évasion) ;
- ✓ D'inhiber le système immunitaire de l'hôte (immunosuppression) ;
- ✓ D'entrer et de sortir des cellules de l'hôte dans le cas des infections intracellulaires (typiquement pour les virus) ;
- ✓ D'absorber les nutriments de l'hôte.

Certaines bactéries colonisent la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire, étape indispensable à l'infection. Ces bactéries se fixent aux cellules par l'intermédiaire de protéines de surface, « les adhésines », qui sont ancrées dans le peptidoglycane de la paroi bactérienne.

Exemple de marqueurs de virulence « les colicines » :

Les colicines forment une famille d'antibiotiques naturels (bactériocines) produits par des bactéries gram-négatives qui n'agissent que sur des souches bactériennes de la même espèce ou d'espèces voisines. Le mode d'action de toutes les colicines peut être divisé en trois étapes : la colicine se lie d'abord à un récepteur sur la membrane externe de la bactérie cible, traverse ensuite l'enveloppe bactérienne pour finalement rejoindre la cible cellulaire où elle va exercer son activité létale.

Le groupe le plus important, est celui des colicines A qui forment des pores ioniques dans la membrane cytoplasmique des bactéries, induisant une dépolarisation de la cellule (elles engendrent un flux sortant massif du K^+ intracellulaire).

5.3. Récepteurs cellulaires:

Pour comprendre la communication cellulaire, il y a lieu de considérer d'abord les récepteurs. Pour être capable de réagir à une molécule de signalisation donnée, la cellule doit posséder un récepteur spécifique pour cette molécule. Les récepteurs sont classés selon leur localisation. On distingue :

a. Les récepteurs de membrane :

Un récepteur membranaire est une protéine transmembranaire capable de reconnaître et de fixer une substance spécifique extérieure à la cellule et porteuse d'une information ou d'un signal (le ligand) : hormone, neurotransmetteur, facteur de croissance, etc. Ce faisant, il provoque des modifications chimiques à l'intérieur de la cellule, qui se traduit par une réponse spécifique. Il transmet donc l'information, mais pas la molécule de signalisation, à travers la membrane.

On distingue trois catégories de récepteurs de membrane :

- **Les récepteurs ionotropes** : ce sont des canaux ioniques chimio-dépendants qui permettent le passage d'ions spécifiques par un pore central. Ils sont impliqués essentiellement dans la signalisation synaptique rapide entre les cellules électriquement excitables. Ce type de signalisation s'effectue par l'intermédiaire de neurotransmetteurs qui ouvrent et ferment transitoirement le canal ionique formé par des protéines à plusieurs domaines transmembranaires.
- **Les récepteurs enzymatiques** : lorsqu'ils sont activés, ces récepteurs fonctionnent directement comme une enzyme ou sont directement associés aux enzymes qu'ils activent. La grande majorité de ces récepteurs sont des protéine-kinases, ou sont associés à des protéine-kinases et les ligands qui s'y fixent provoquent la phosphorylation de groupes spécifiques de protéines dans la cellule cible.
- **Les récepteurs couplés à une protéine G** : régulent directement l'activité d'une autre protéine liée à la membrane plasmique, qui peut être soit une enzyme soit un canal ionique. L'interaction entre le récepteur et la protéine se fait par l'intermédiaire de la protéine trimérique de liaison au GTP (ou protéine G).

b. Les récepteurs intracellulaires :

De nombreux signaux sont liposolubles et traversent facilement la membrane plasmique avant de se lier à des récepteurs situés dans le cytoplasme ou le noyau (récepteurs d'hormones stéroïdes, vitamine D).

6. Récepteurs, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire :

La réponse cellulaire peut consister en la régulation d'une activité enzymatique, ou la synthèse d'enzymes ou d'autres protéines.

La régulation de la réponse cellulaire aux différentes signalisations (un ligand, tel une hormone) est étroitement liée à la régulation des récepteurs postés à la surface de cette cellule. En effet, la quantité d'un récepteur hormonal fonctionnel à la surface cellulaire n'est pas fixe, mais augmente (sensibilisation) ou diminue (désensibilisation), de sorte que la cellule peut répondre de façon optimale aux faibles variations du taux d'une hormone.

D'habitude, quand une cellule est exposée à une hormone pendant une période prolongée, les récepteurs fonctionnels se raréfient à sa surface ce qui « désensibilise » la cellule envers l'hormone.

❖ Mécanismes d'atténuation du signal : désensibilisation

La liaison de l'hormone à son récepteur membranaire déclenche aussi divers événements qui ont comme conséquence de réduire l'intensité de la réponse cellulaire à une stimulation hormonale continue ou répétée. Cette diminution de la réponse cellulaire à toute stimulation ultérieure est appelée « désensibilisation ».

Elle dépend de la concentration hormonale et de la durée d'exposition des cellules à l'hormone.

Pour réduire la densité des récepteurs membranaires superficiels actifs, la cellule utilise plusieurs moyens:

- Les récepteurs sont endocytés, puis détruits, ou ils sont endocytés puis mis en réserve dans des vésicules intracellulaires (les complexes récepteur/hormone de plusieurs hormones peptidiques comme l'insuline, le glucagon quittent généralement la surface de la cellule par un mécanisme d'exocytose)
- Les récepteurs restent à la surface cellulaire et sont modifiés de telle façon qu'ils ne fixent plus le ligand et cela par un mécanisme de phosphorylation, ou qu'ils le fixent encore, mais sans que le complexe « récepteur/ligand » enclenche encore la réponse normale à l'hormone.

La phosphorylation est catalysée par diverses protéines Kinases spécifiques. Ces enzymes phosphorylent le récepteur ce qui inhibe les interactions (découplage) et qui atténuent ainsi la réponse cellulaire.

Chapitre 3. Relation structure-fonction de la cellule

1. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion :

Généralités :

La biosynthèse des lipides et des protéines se fait au niveau du réticulum endoplasmique (RE). C'est un ensemble complexe de membranes délimitant des cavités closes (cisternes). Elles comportent deux faces :

- Une face cytoplasmique tournée vers le cytosol ;
- Une face luminale, tournée vers la lumière des cisternes.

Le RE existe sous deux formes correspondant à deux aspects fonctionnels :

- **Le réticulum endoplasmique rugueux ou granulaire (RER ou REG) :** il est très souvent périmoléculaire, il comporte des ribosomes et des polysomes. Développé dans les cellules synthétisant les protéines (ex. cellules du pancréas exocrine / endocrine).
- **Le réticulum endoplasmique lisse (REL) :** ses membranes ne portent pas de ribosomes. Il peut être en continuité avec le RER. Développé dans les cellules qui synthétisent les lipides (ex. adipocytes).

Les membranes du réticulum endoplasmique n'ont pas la même composition que la membrane plasmique, et sont constituées de 70 % de protéines et 30 % de lipides :

Les protéines sont essentiellement :

- Des enzymes nécessaires à la synthèse de protéines, au métabolisme des lipides, aux phénomènes de détoxification.
- Des enzymes intervenant dans le transfert de sucres sur les protéines, les glycosyl transférases.
- Des enzymes intervenant dans la synthèse de stéroïdes et la biosynthèse de phospholipides.

Les lipides : la richesse en acides gras insaturés, et une faible teneur en cholestérol sont responsables d'une augmentation de la fluidité membranaire.

❖ Rôles du réticulum endoplasmique :

- ✓ La synthèse des protéines qui vont rester dans la cellule (protéines des ribosomes, des membranes...) et celles exportées (hormones, enzymes...).
- ✓ Synthèse des lipides (phospholipides et cholestérol).
- ✓ La glycosylation : transformation des protéines et des lipides en glycoprotéines et glycolipides.
- ✓ La détoxification en transformant les substances toxiques en substances non toxiques.

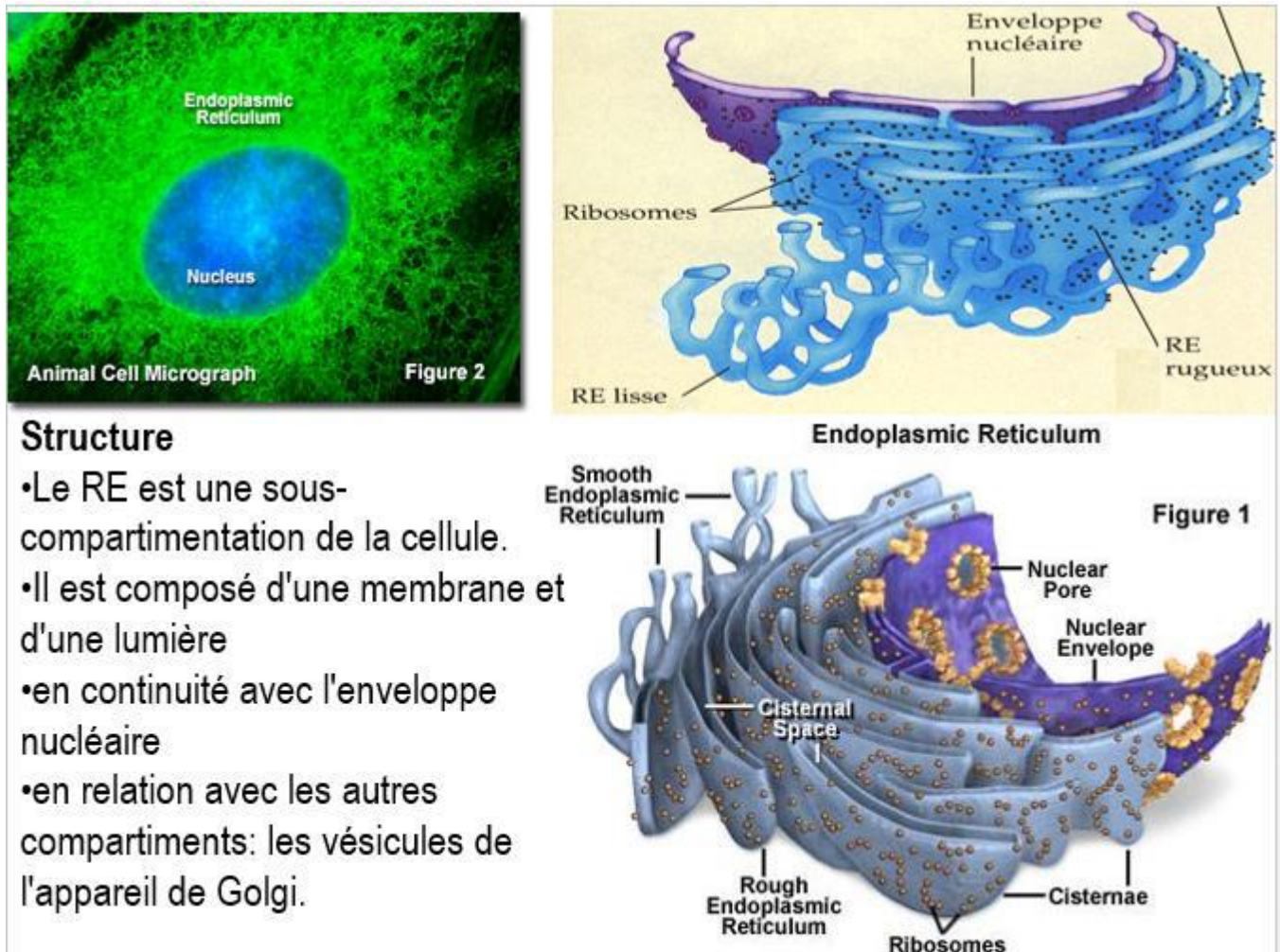


Figure 26 : Le réticulum endoplasmique

1.1. Biosynthèse des lipides membranaires :

Cette synthèse se déroule essentiellement au niveau du réticulum endoplasmique. Les membranes du réticulum possèdent en effet les enzymes, catalysant les réactions de la biosynthèse lipidique qui sont insérées dans la membrane du réticulum lisse dont leurs sites actifs faisant face au cytosol. Aussi, Les métabolites de base qui sont nécessaires à la synthèse des lipides membranaires sont produits et stockés dans le cytosol.

1.1.1. Biosynthèse des phospholipides :

La synthèse des phospholipides est très importante dans la mesure où elle va permettre d'assurer le renouvellement des membranes.

- La biosynthèse se fait par **élongation** (allongement des chaînes des acides gras saturés au-delà de 16 atomes de carbone par des *acides gras élongases*) et **désaturation** (grâce à une *acide gras désaturase* qui est une oxydoréductase introduisant, par déshydrogénation, une double liaison C=C dans la chaîne carbonée d'un acide gras) à partir d'acides gras simples présents dans le cytosol (sous forme d'acyl-CoA).
- Le glycérol 3-phosphate est issu de la glycolyse. Deux acyl-CoA réagissent avec le glycérol 3-P pour donner l'acide phosphatidique. Cette réaction est catalysée par une acyl transférase.
- La phosphatidate phosphatase catalyse l'hydrolyse de l'acide phosphatidique du cytoplasme et fixe le produit, un diglycéride insoluble, dans la membrane du réticulum endoplasmique.
- La choline phosphotransférase combine une phosphocholine (provenant soit d'un apport alimentaire soit de la dégradation des phospholipides endogènes) au diglycéride pour former la phosphatidylcholine.

Les enzymes impliquées sont situées sur la face cytosolique du réticulum endoplasmique.

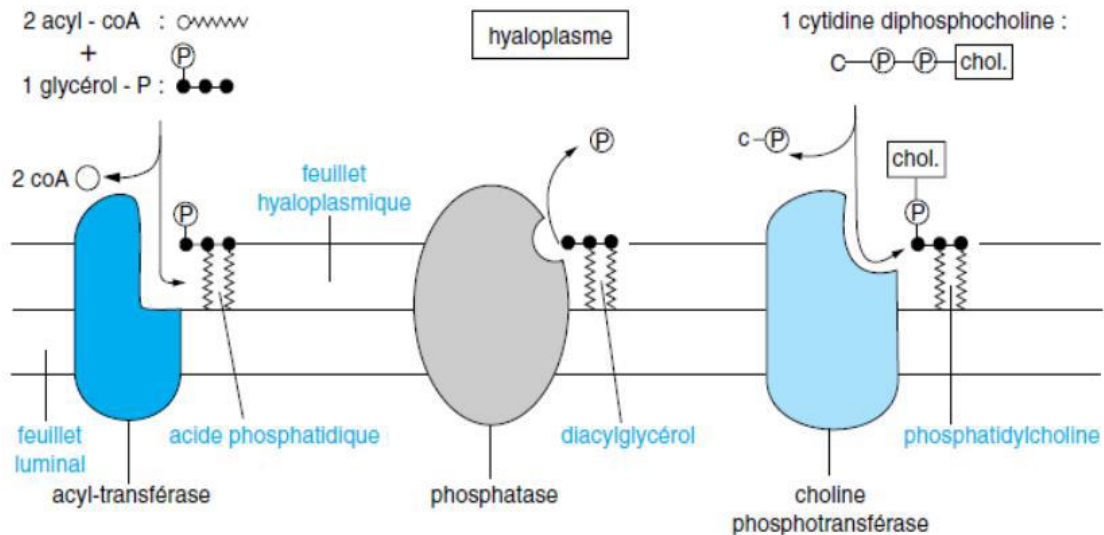


Figure 27 : Etapes de la synthèse des phospholipides membranaires (phosphatidyl choline)

→ Les phospholipides membranaires sont ensuite déplacés vers la face luminale, c'est-à-dire interne, par des enzymes appelées *translocases*. Ces phospholipides vont transiter tranquillement jusqu'à la membrane plasmique par le biais des vésicules, dont certaines passeront par le Golgi en transportant plein d'autres choses, ils participeront donc au renouvellement des constituants membranaires.

1.1.2. Biosynthèse du cholestérol :

Au niveau des cellules animales, la synthèse du cholestérol s'effectue dans le cytoplasme des hépatocytes où un important réticulum endoplasmique lisse est abondant. Une voie compliquée impliquant de multiples enzymes et une variété de cofacteurs est nécessaire pour réaliser la biosynthèse du cholestérol à partir de l'acétate qu'on retrouve sous forme activée : l'acétyl coenzyme A (acétyl-CoA).

- La condensation de 3 acétyl-CoA donne le HMG-CoA (l'hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA). Ce produit est converti en mévalonate par HMG-CoA réductase qui est l'enzyme du REL. C'est l'enzyme clé de la régulation de la biosynthèse du cholestérol.
- Le mévalonate est ensuite décarboxylé en isoprénoïdes à cinq carbones : l'isopentényl pyrophosphate (IPPP) et le diméthylallyl pyrophosphate (DMPP).
- La condensation de six molécules d'isoprénoïdes aboutit au squalène (6×5=30 carbones).
- Enfin, le squalène, molécule linéaire, subit l'action de la squalène cyclase qui crée les cycles du cholestérol à partir des insaturations présentes dans le squalène.

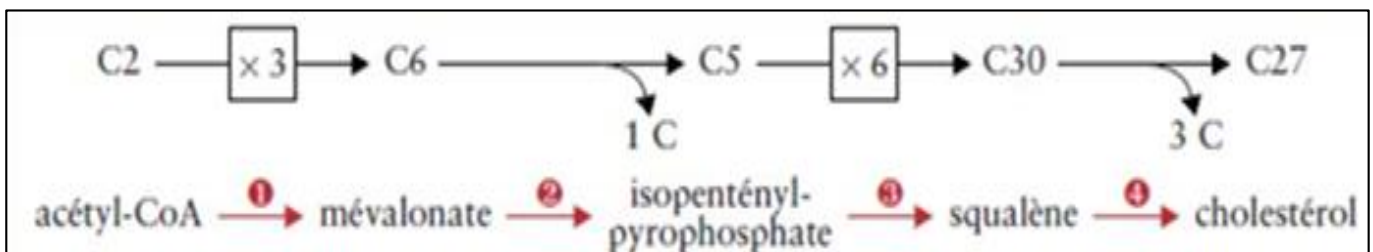


Figure 28 : Schéma de la synthèse du cholestérol

→ Une classe de protéines cellulaires appelées cavéolines lie le cholestérol à un ratio de 1:1 et sont impliquées dans le transport du cholestérol synthétisé du RE à la membrane plasmique.

1.2. Biosynthèse des protéines membranaires et des protéines de sécrétion :

La synthèse des protéines se fait au niveau des polyribosomes. On distingue deux types de protéines :

➤ **Les protéines cytosoliques** : synthétisées par les polysomes libres dans le cytosol.

Ce sont les protéines qui ne sont pas adressées à un organite ou au noyau. On n'y a pas trouvé de séquence d'adressage. Certaines sont solubles dans le cytosol (protéines du cytosquelette, enzymes, protéines nucléaires : histone, lamine...), mais certaines sont des protéines périphériques qui se lient soit à des protéines intrinsèques soit à des lipides de la membrane plasmique.

- **Les protéines de sécrétion (ou d'exportation)** telle que les hormones, **les protéines intrinsèques de membranes** (réticulum endoplasmique, membrane plasmique), **protéines destinées au compartiment interne** (lysosome ou vacuole) : elles sont synthétisées sur les polysomes liés au réticulum endoplasmique rugueux (RER).

Toutes les protéines prennent naissance sur les ribosomes du cytosol et, de là, sont dirigées vers deux embranchements principaux.

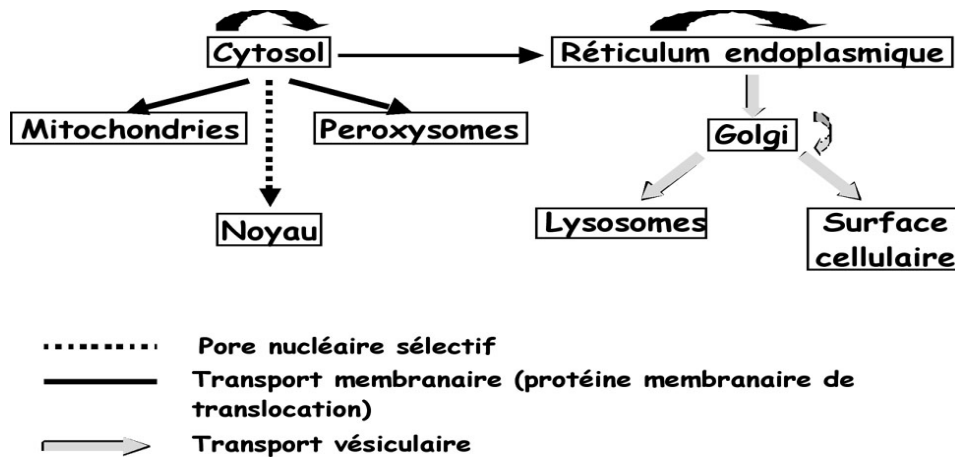


Figure 29 : Différentes voies de la circulation protéique

❖ Adressage des protéines :

C'est la nature de la protéine elle-même qui détermine sa destination grâce à la présence de séquences peptidiques spécifiques (étiquettes), de longueur variable (3 à 30 acides aminés) : c'est l'adressage des protéines :

- Un premier étiquetage porte sur l'éventuelle présence d'une séquence linéaire hydrophobe N-terminale qui servira à l'ancrage sur le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et qui rangera la protéine en synthèse dans la catégorie des protéines de sécrétion et membranaires. Les protéines qui ne portent pas cette séquence appartiennent toutes à la catégorie des protéines cytosoliques. Cette étiquette N-terminale, est nommée « **peptide signal** » (signal peptide ou SignalP). Ce peptide signal est le plus souvent clivé de la protéine mature par une signal peptidase.
- Un second étiquetage, porte sur l'éventuelle présence d'autres séquences (non obligatoirement N-terminales, hydrophobes ou linéaires) qui serviront à déterminer, de plus en plus précisément, la place de la protéine en cours d'acheminement vers son site définitif. Cette étiquette responsable d'un tri qualifié de post-traductionnel, est nommée « **peptide de destination** » (target peptide ou TargetP).

1.2.1. Biosynthèse d'une protéine exportable :

Les ribosomes, libres dans le cytosol, se fixent sur l'ARNm au niveau d'un codon AUG (codon de départ). La séquence signal du polypeptide est guidée au RE par l'intervention de deux systèmes :

- Une particule qui reconnaît le peptide signal, appelée particule SRP (signal recognition particule). La particule SRP s'attache à la fois au ribosome et au peptide signal de la protéine ; elle fait la navette entre le RE et le cytosol ;
- Un récepteur de la particule SRP qui est présent sur la face cytosolique du RER et qui permet la fixation du ribosome sur le RER.

Lors de la fixation du complexe ribosome/particule SRP sur le récepteur de la SRP, le peptide signal est reconnu par un récepteur, protéine intrinsèque de la membrane du RER et favorise ainsi le rapprochement du ribosome de la membrane du RER qui se fixe ainsi sur un deuxième complexe protéique « le translocon », qui s'ouvre dès que 70 à 80 amino-acides de la protéine sont sortis du ribosome permettant ainsi le passage du polypeptide en cours de synthèse dans la citerne du RER. Le polypeptide est alors synthétisé dans son entier par lecture du message de l'ARNm.

Dans la cavité du RER, à la fin de l'élongation, c'est à dire lors de la lecture du codon stop, la séquence signal est très rapidement reconnue et excisée par l'intervention d'une signal-peptidase (ou clipase liée au canal de translocation) présente sur la face luminale du RER. Le polypeptide donc dépourvu de son peptide signal peut être libéré dans la cavité du RER (protéines sécrétoires).

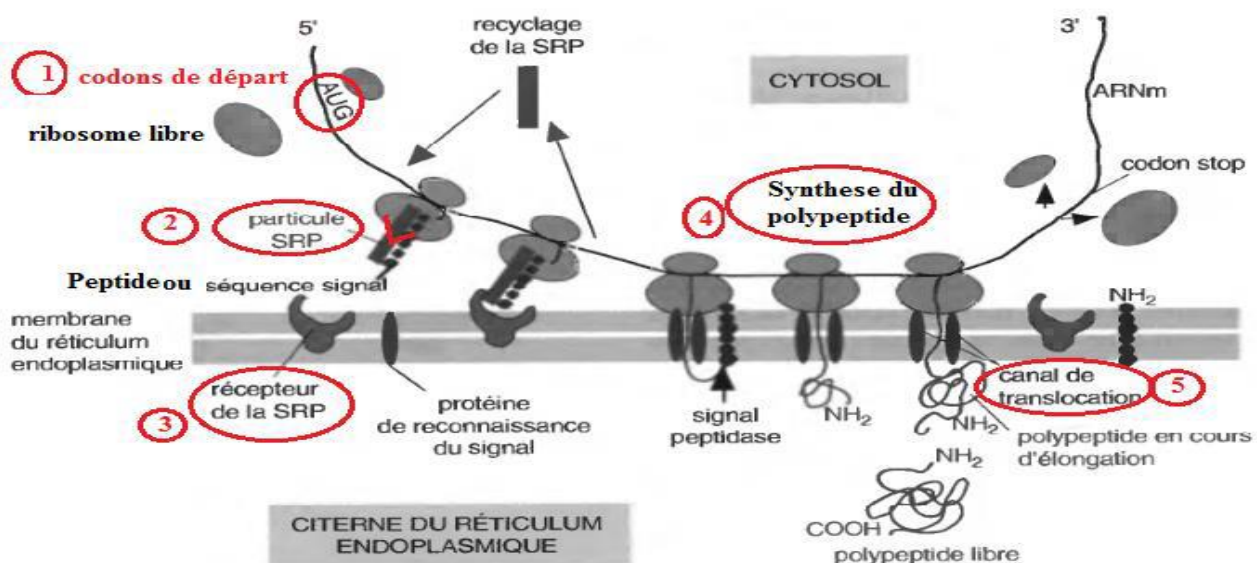


Figure 30 : Mécanisme de la Biosynthèse d'une protéine exportable

Les protéines sont transportées dans des vésicules formées par bourgeonnement de la membrane du RER. Les protéines contenues dans ces vésicules subissent diverses transformations en traversant l'appareil de Golgi. Une fois les transformations et les synthèses réalisées, des étiquettes d'identification moléculaire sont ajoutées aux produits obtenus afin d'organiser leur distribution vers les différentes destinations possibles (peptide de destination), et des vésicules de transport sont émises par bourgeonnement de la membrane de l'appareil de Golgi en vue d'être sécrétées hors de la cellule ou simplement envoyées vers d'autres parties de la cellule.

1.2.2. Pour les protéines membranaires :

Les protéines membranaires peuvent posséder un seul ou plusieurs domaines transmembranaires :

- Les protéines transmembranaires dont le C-terminal est cytosolique et le N-terminal face lumière du RER perdent leur peptide signal et restent ancré à la membrane avec un seul domaine transmembranaire.

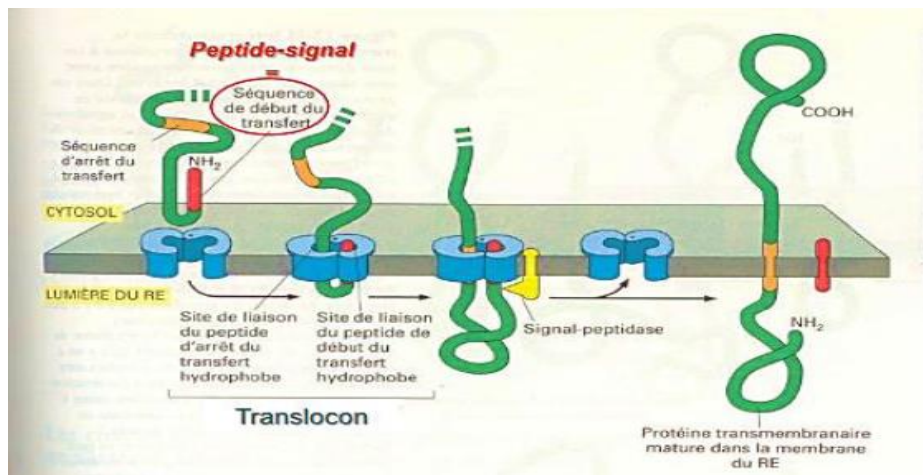


Figure 31 : biosynthèse d'une protéine transmembranaire

- Pour les autres, le peptide signal est préservé et persiste sous forme d'hélice α comme site d'insertion dans la membrane.

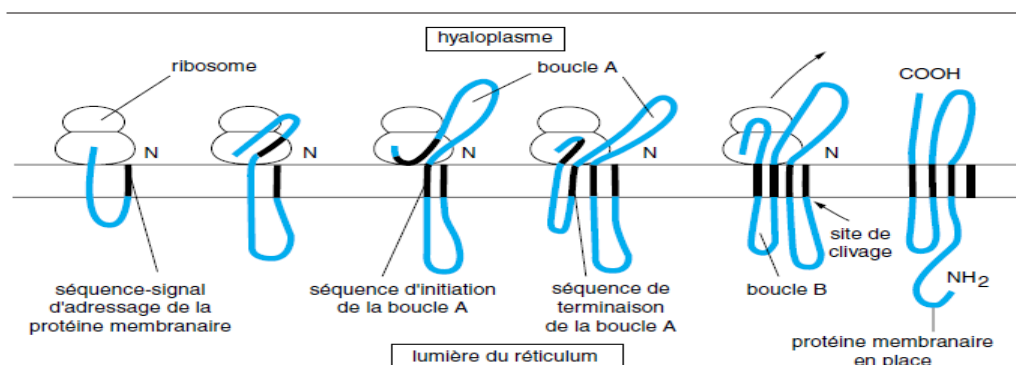


Figure 32 : biosynthèse d'une protéine à plusieurs domaines transmembranaires

2. Le cytosquelette : réponse du cytosquelette aux stimuli biochimique et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale (les fibres de stress) :

Les jonctions d'ancrage permettent aux tissus de **résister aux tensions mécaniques** car ce sont des structures reliant les filaments du cytosquelette d'une cellule à une autre et d'une cellule à la matrice extracellulaire. Elles sont largement réparties dans les tissus animaux et plus abondantes dans les tissus soumis à d'importantes contraintes mécaniques (cœur, muscles et épiderme).

Les jonctions d'ancrage sont composées de deux classes de protéines :

- Les **protéines d'ancrage intracellulaires** qui forment une plaque cytosolique sous la membrane plasmique et qui relie les jonctions aux filaments du cytosquelette (microfilaments d'actine).
- Les **protéines d'adhésion transmembranaires** qui ont un domaine cytosolique qui interagit avec les protéines d'ancrage et un domaine extracellulaire qui interagit soit avec des molécules de la matrice extracellulaire, soit avec des protéines transmembranaires d'adhésion situées sur d'autres cellules.

Le mécanisme de réponse aux stimuli biochimiques et mécaniques fait intervenir trois éléments essentiels des **contacts focaux**, responsables d'**adhésion cellule/matrice extracellulaire** :

I. La matrice extracellulaire (via la fibronectine)

II. Le cytosquelette (via les microfilaments d'actine)

III. Les molécules d'adhérence (via les intégrines)

2.1. La matrice extracellulaire :

La matrice extracellulaire (MEC) est un ensemble structuré de macromolécules (protéines et polysaccharides) synthétisées par les cellules dans leur environnement immédiat.

La matrice extracellulaire des tissus conjonctifs est sécrétée par les fibroblastes (tissu conjonctif lâche), les chondroblastes (cartilage) et les ostéoblastes (os).

La MEC est composée par l'association de trois grandes classes de composants :

- a.** Des **protéines fibreuses** très volumineuses : les **fibres de collagène** et les **fibres élastiques**.
- b.** Des **glycoprotéines de structure** moins volumineuses, permettant l'adhésion des différentes molécules de la MEC entre elles et l'adhésion entre les molécules de la MEC et les cellules : la **fibronectine** et la **laminine** sont les mieux connues. Elles servent d'intermédiaires dans l'adhésion cellule-matrice (contact focal ou adhérence focale). En effet, ces glycoprotéines sont reconnues et liées par des récepteurs spécifiques de la famille des intégrines en surface des cellules épithéliales et des cellules conjonctives.

c. Des **chaînes polysaccharidiques** de la famille des **glycosaminoglycanes (GAG)**, généralement liées de façon covalente à des protéines pour former des **protéoglycanes (PG)**. Ces molécules piègent l'eau et constituent un gel hydraté : la **substance fondamentale** dans laquelle sont noyées les protéines précédentes.

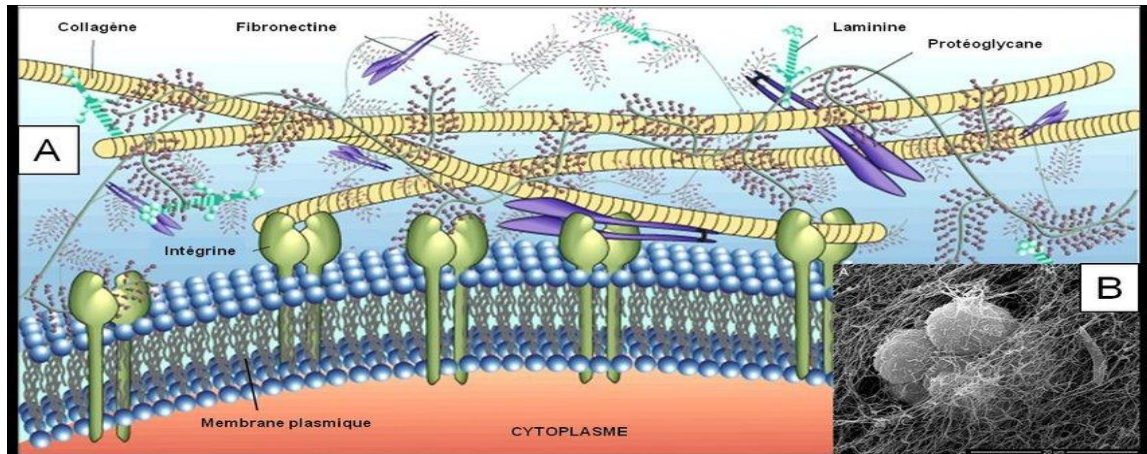


Figure 33 : La matrice extracellulaire

o **La fibronectine :**

La fibronectine contribue à la fois à organiser la matrice et à favoriser l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire. La fibronectine, constituée de deux sous-unités α et β réunies par une paire de ponts disulfure, forme un réseau fibrillaire.

Différents sites d'interactions spécifiques avec d'une part les constituants moléculaires de la matrice extracellulaire (formation d'une trame) et d'autre part les cellules (par l'intermédiaire des intégrines).

En se liant à l'intégrine, la fibronectine peut déclencher la réorganisation du cytosquelette à l'intérieur de la cellule, qui affecte la forme et la motilité des cellules.

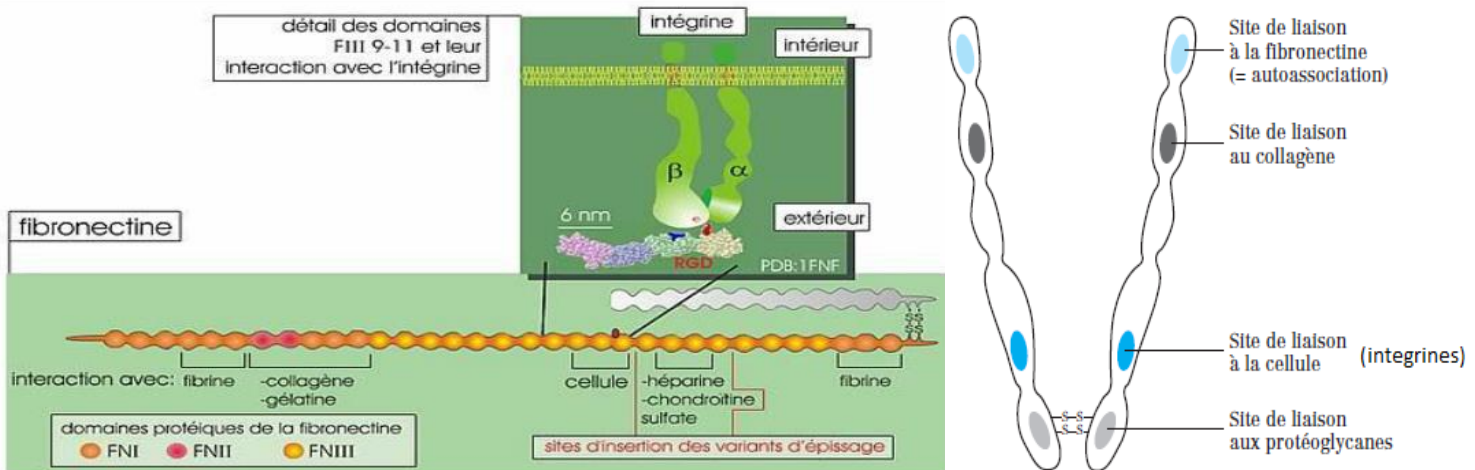


Figure 34 : Fibronectine, composant de la matrice extracellulaire, et son interaction avec les intégrines.

La protéine (fibronectine) est libérée dans le milieu extracellulaire sous forme globulaire soluble. Le contact avec les intégrines linéarise la fibronectine, qui peut ainsi s'associer avec ses homologues et d'autres composants de la matrice extracellulaire.

2.2. Le cytosquelette :

À la différence des Bactéries, les cellules eucaryotes présentent un degré d'organisation interne très élevé et une grande diversité de formes, y compris au sein d'un même organisme. De plus, elles sont capables de déplacer leurs organites à l'intérieur de l'hyaloplasme et, pour certaines d'entre elles, de se mouvoir à l'aide de structures spécialisées ou en modifiant leur forme. Toutes ces propriétés sont liées à l'existence du « cytosquelette ».

Le cytosquelette est un réseau complexe de filaments et tubules protéiques qui s'étend dans tout le cytoplasme et donne à la cellule sa forme et sa résistance mécanique. Le cytosquelette est constitué de trois classes de filaments non spécifiques et ubiquitaires les microtubules (MT), les microfilaments d'actine (MFA) et les filaments intermédiaires (FI).

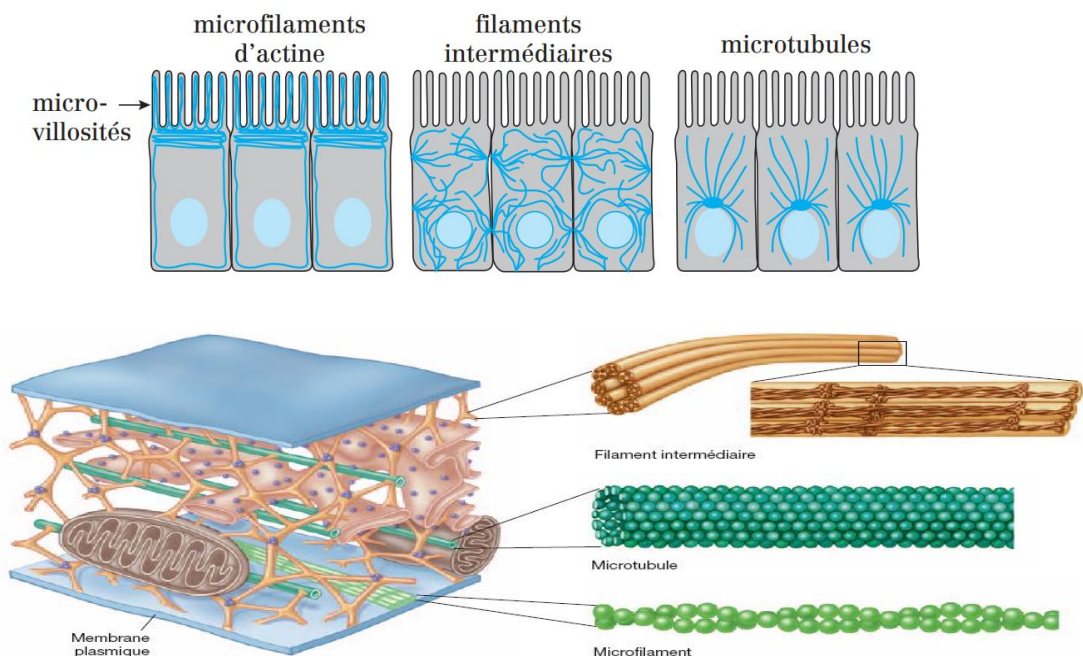


Figure 35 : Répartition des trois types de filaments protéiques du cytosquelette dans les cellules épithéliales

2.2.1. Les microtubules :

Les microtubules sont des polymères présents dans le cytoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Ce sont des tubes creux formés par la polymérisation de protéines globulaires : les tubulines. Deux types de tubulines, α et β , s'associent en hétérodimères. Les dimères s'alignent pour constituer un protofilament. 13 protofilaments s'assemblent pour donner un microtubule de 25 nm de diamètre.

Les MT sont polarisés car ils possèdent deux extrémités différant par leur vitesse de polymérisation :

- L'extrémité (+) où la polymérisation est rapide. C'est l'extrémité distale, orientée vers la périphérie de la cellule ;
- L'extrémité (-) où la polymérisation est plus lente. C'est l'extrémité proximale, elle est située dans la région centrale de la cellule, appelée centrosome.

Cette dynamique est à l'origine du *treadmilling* ou vissage par vis sans fin : le filament ajoute des sous-unités à son extrémité (+) et perd simultanément des sous-unités à son extrémité (-).

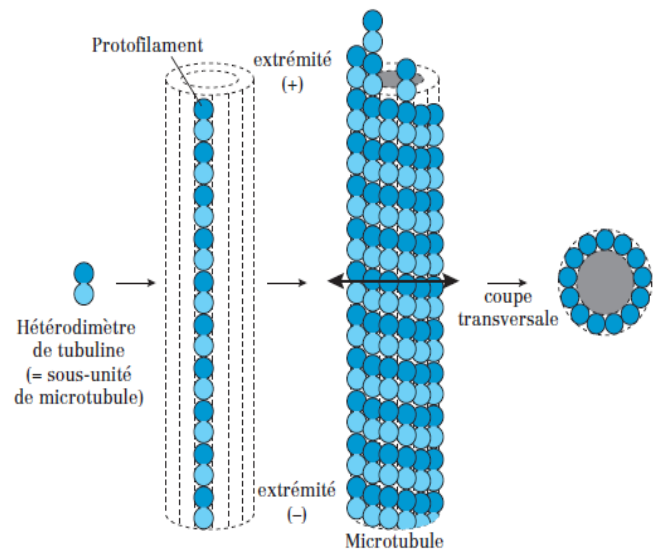


Figure 36 : Structure des microtubules

Il existe deux variétés de microtubules :

a. Les microtubules stables : qui sont organisés en structures complexes (les centrioles, les cils et les flagelles).

- ❖ **Le centrosome** : Localisé près du noyau, dans l'aire golgienne, le centrosome est considéré comme le centre organisateur des MT car ils s'organisent de façon radiaire autour de ce dernier. Le centrosome est composé de deux centrioles, disposés perpendiculairement l'un à l'autre, baignant dans le matériel péricentriolaire (composé d'une matrice protéique contenant des complexes en anneau de tubuline γ et des protéines Hsp nécessaires à la nucléation).

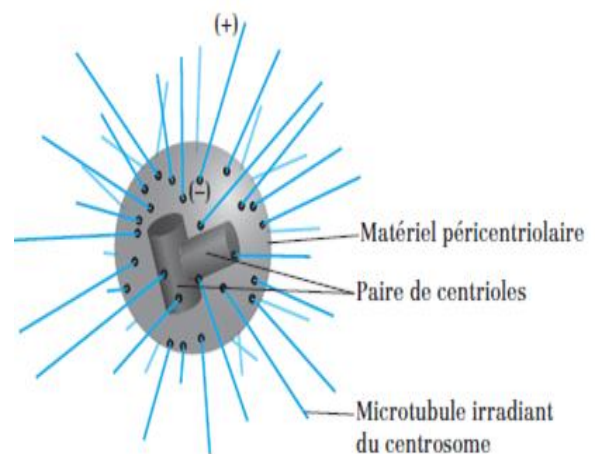


Figure 37 : Structure du centrosome

Chaque centriole est un cylindre creux constitué de 9 triplets de microtubules dont l'extrémité (-) des microtubules est orientée vers le centrosome. L'extrémité (+) est libre dans le cytoplasme.

- ❖ **Les cils et les flagelles** : Les mouvements des cils et des flagelles permettent le déplacement du milieu péricellulaire (environnement proche) et celui des cellules. Les cils et les flagelles (plus longs) sont des expansions de la membrane plasmique contenant un squelette organisé de microtubules appelé axonème, et ancrées dans le cytosol par un corpuscule basal (structure similaire au centriole).

b. Les microtubules labiles (instables) : sont isolés les uns des autres et sont souvent de grande taille comme dans l'axone des neurones. Ils parcourent l'hyaloplasme des cellules en interphase et forment un fuseau dans les cellules mitotiques. Les microtubules constituent un réseau dynamique et polarisé qui irradie du centrosome vers la périphérie des cellules.

☒ Protéines associées aux microtubules :

Les MT sont associés à des protéines MAP (Microtubule Associated Protein), ce sont des ATPases. Certaines d'entre elles ont un rôle dans la stabilisation des MT, les autres sont spécialisées dans le mouvement des vésicules et des organites le long des MT :

- **Les MAP structurales** qui stabilisent le réseau des microtubules en reliant les microtubules parallèles entre eux, ex : MAP2. Dans les axones neuronaux, il existe une autre MAP : la protéine Tau dont l'altération est à l'origine de la maladie d'Alzheimer.

- **Les MAP motrices** assurant les mouvements des organites et des vésicules le long des microtubules ; elles présentent trois domaines : un domaine de tête qui se fixe au microtubule, un segment intermédiaire et un domaine (queue) qui se fixe à la membrane des vésicules ou des organites à transporter. Ces protéines assurent un transport orienté : les Kinésines transportent vers l'extrémité (+) et les Dynéines vers l'extrémité (-).

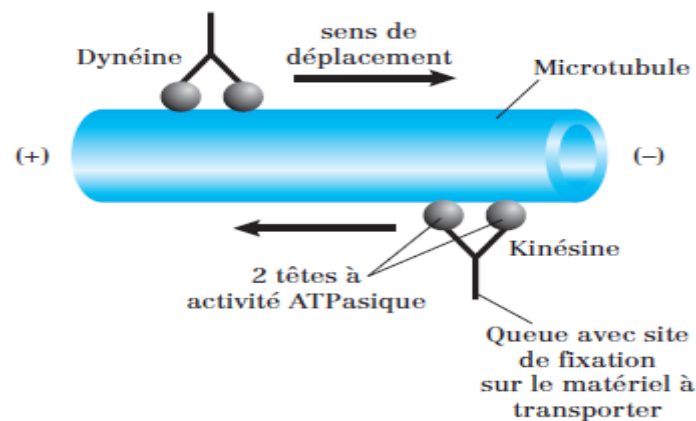


Figure 38 : Kinésine et dynéine disposées sur un microtubule

2.2.2. Les microfilaments :

L'actine est la protéine intracellulaire prépondérante dans la cellule eucaryote, et représente, selon les types cellulaires, de 1 à 10% de la quantité totale des protéines cellulaires. Cette protéine de taille moyenne (375 acides aminés) se présente dans la cellule soit sous forme de monomère globulaire (actine G) soit sous forme de polymère (actine F) de diamètre compris entre 7 et 9 nm.

Le réseau d'actine est localisé d'une part juste sous la membrane plasmique, où il constitue un maillage associé à la membrane, et au sein de la cellule, où il constitue un réseau conférant un aspect gélatineux au cytosol :

- **Le cortex cellulaire :** C'est un réseau de microfilaments d'actine situé sous la membrane plasmique à laquelle il est fixé par de nombreux points d'ancrage. Ce cortex est responsable des mouvements d'expansion et de rétraction cellulaire et de déplacement des cellules sur leur support. Il intervient également dans les mouvements de la membrane plasmique pendant l'exocytose et l'endocytose et pendant la formation des pseudopodes dans les macrophages.
- **L'appareil contractile :** Les sarcomères qui représentent les unités de contraction musculaire. Le sarcomère résulte de l'assemblage hautement organisé de l'actine, de la myosine et de protéines associées.

2.2.3. Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires ont un diamètre de 10 nm, intermédiaire entre celui des microfilaments d'actine et les microtubules, d'où leur nom. Ils proviennent de la polymérisation de monomères fibreux. Contrairement à la plupart des microfilaments d'actine et aux microtubules, les filaments intermédiaires sont des polymères stabilisés et non polarisés ayant un rôle plutôt structural dans la cellule : leur principale fonction est de constituer une charpente qui contribue au maintien de la forme et de l'intégrité de la cellule, ainsi qu'à l'ancrage des organites cellulaires.

Leur fonction dépend donc essentiellement du type de filament intermédiaire :

- Dans les épithéliums, les cytokératines relient les cellules entre elles par l'intermédiaire des desmosomes. Elles assurent ainsi leur cohésion et leur stabilité mécanique ;
- Dans les cellules nerveuses, les neurofilaments assurent la continuité et l'élasticité des neurones ;
- Dans les noyaux, les lamines assurent la stabilité de l'enveloppe nucléaire interne et son interaction avec la chromatine.

2.3. Les molécules d'adhérence :

Les molécules d'adhérence assurent le contact mécanique entre la cellule et son environnement et jouent un rôle de mécano-transduction crucial.

Une jonction mécanique peut se former entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette intracellulaire : c'est la plaque d'adhésion cellulaire qui opère au travers des récepteurs transmembranaires notamment « les intégrines ».

○ Les intégrines :

Les intégrines appartiennent à la grande famille des glycoprotéines. Elles sont composées de deux sous-unités transmembranaires associées de façon non covalente : β et α . Ces molécules d'adhérence transmembranaires, se présentent sous forme de chaînes avec trois portions distinctes :

- Une portion extracellulaire importante, qui se lie à certains sites spécifiques des filaments de la matrice extracellulaire (fibronectine, collagènes, laminine...)
- Une portion transmembranaire enchâssée dans la membrane ;
- Une portion intracellulaire, qui via des protéines d'adaptation se lie aux microfilaments d'actine du cytosquelette.

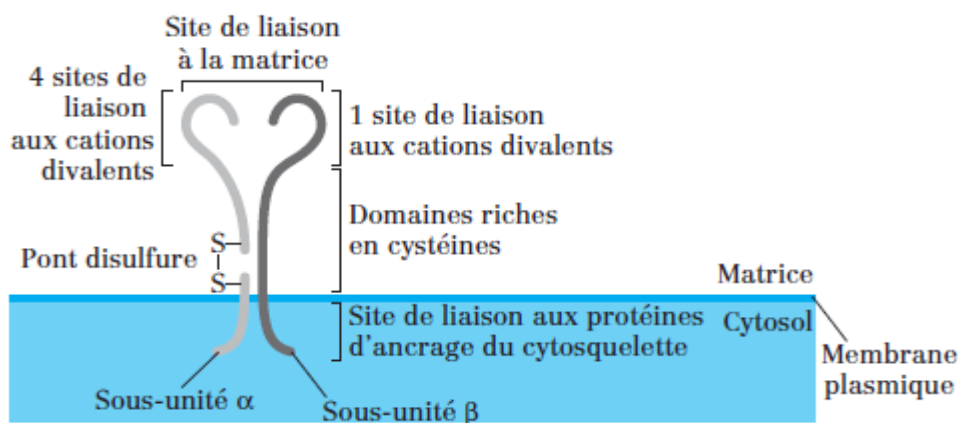


Figure 39 : Structure des intégrines

La liaison des intégrines à leurs ligands est dépendante de cations bivalents extracellulaires (le Mn^{2+} ou le Ca^{2+}).

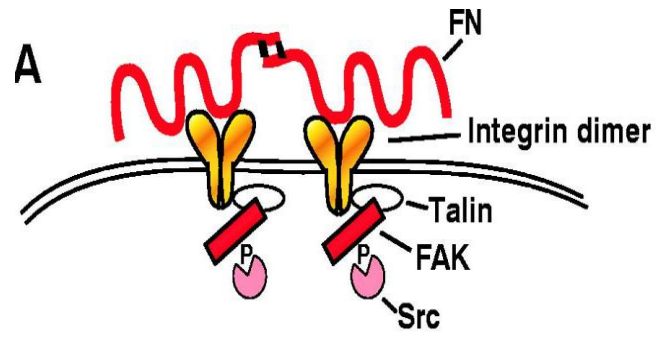
Pour leur interaction avec la matrice extracellulaire, les intégrines sont assemblées en amas, formant ainsi un « point focal d'adhérence ». Du côté intracellulaire, ces amas ponctuels d'intégrines recrutent plusieurs types de protéines qui servent d'intermédiaires de liaison avec l'actine constituant le cytosquelette : taline, vinculine et α -actinine, Src, la MAP kinase (Microtubul Associated Protein), les protéines rho, la focal adhesion kinase (FAK)...etc.

2.4. L'adhésion focale :

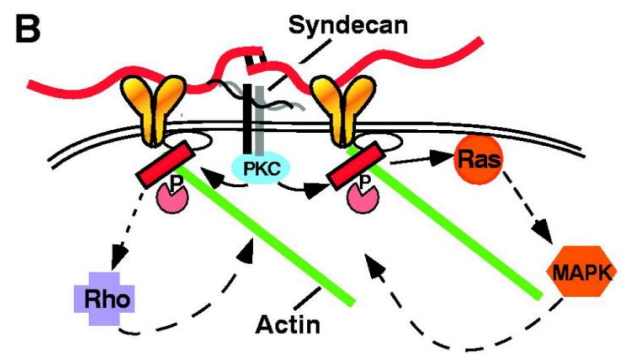
Le complexe d'adhérence focale est maintenant bien connu et est constitué de protéines connectées entre elles. Les intégrines sont une des voies majeures de la transduction des signaux venus de la matrice extracellulaire à destination des cellules. Quand les cellules adhérentes se détachent de leur matrice extracellulaire, elles meurent par un processus spécifique que l'on appelle mort programmée ou apoptose.

○ **Modèle d'assemblage de la fibronectine-intégrine-actine (complexes focaux) :**

1. La liaison de fibronectine repliée inactive à des molécules d'intégrine dispersées entraîne leur agrégation en amas (phénomène de clusterisation de intégrines) et la co-localisation avec la Taline et la Kinase d'Adhésion Focal (FAK) ainsi que leur activation. L'autophosphorylation de la FAK (P) recrute Src (Tyrosine kinase).



2. Les intégrines agrégées avec le syndécan (protéine d'adhérence cellule / matrice extracellulaire) organisent le cytosquelette d'actine. L'adhésion cellulaire à la fibronectine, qui initie les forces de traction, favorise la transformation de la fibronectine inactive en forme active déroulée, ce qui permet d'exposer ses sites cachés et activer des molécules de signalisation dont Ras/MAP kinase, GTPase et la protéine kinase C (PKC).



3. La concentration de dimères de « fibronectines actives » déclenche les interactions FN-FN et la formation des fibrilles (fibres de stress). Le mouvement des intégrines et des protéines associées le long des fibres de stress vers le centre de la cellule redistribue les composants intracellulaires pour former des adhésions focales riches en paxilline et des adhésions riches en tensine.

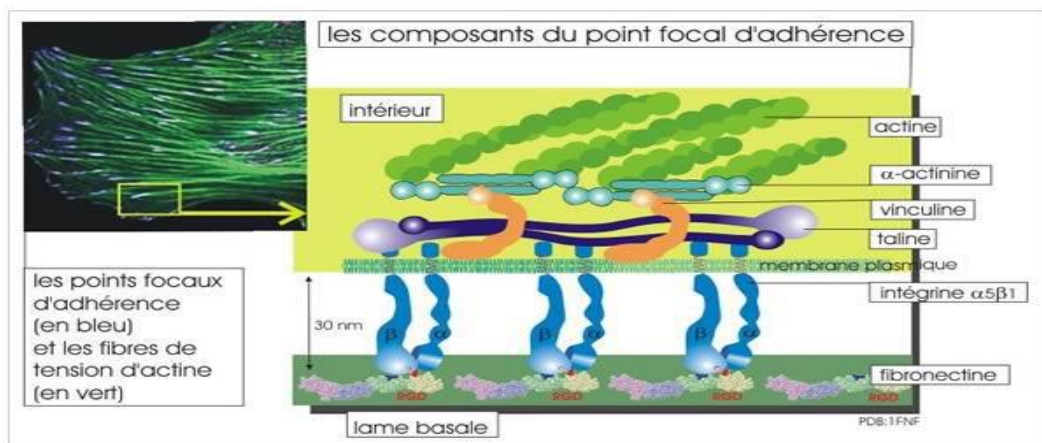
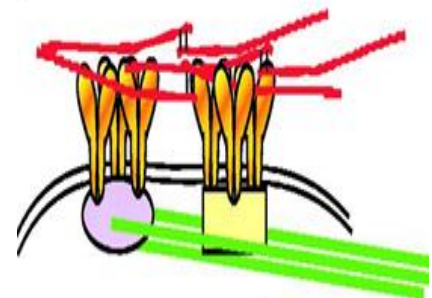


Figure 40 : les composants du point focal d'adhérence

L'agrégation des intégrines au niveau des sites de contact cellule/matrice peut donc activer des voies de signalisation intracellulaire. La plupart du temps, ces voies de signalisation peuvent :

- ✓ Induire des modifications dans l'organisation du cytosquelette à proximité des sites de contact (changement de la forme ou polarité de la cellule).
- ✓ Induire des réponses cellulaires plus globales pouvant impliquer ou non des modifications de l'expression génique (prolifération, migration, survie, différenciation, etc).
- ✓ Être consécutives à la coopération intégrines/récepteurs conventionnels de signalisation pour activer certaines voies.

Ex : voie des Ras/MAP-kinase, dont l'activation par les récepteurs tyrosine-kinase (stimulés par les facteurs de croissance) et les intégrines, induit la prolifération cellulaire. La kinase FAK (*Focal Adhesion Kinase*) est une tyrosine-kinase cytoplasmique impliquée dans l'activation des voies de signalisation intracellulaire par les intégrines.

3. La fibre et la contraction musculaire : structure et fonction des microfilaments d'actine et de myosine :

3.1. Structure de l'actine :

L'actine est l'une des protéines cellulaires les plus abondantes : 1 à 5% de l'ensemble des protéines dans les cellules non musculaires et 20 % dans les cellules musculaires. L'actine peut être observée sous deux formes :

- Sous sa forme monomérique, l'actine globulaire ou « **actine G** » est une protéine dont la masse moléculaire est de l'ordre de 42 000 Da. Elle comprend 376 acides aminés. Chaque molécule d'actine G est liée à du calcium Ca^{2+} qui stabilise sa conformation globulaire et à une molécule d'ATP liée de façon non covalente.
- Par polymérisation il se forme une actine filamenteuse, « l'**actine F** », d'un diamètre de 7 à 9 nm. Elle se fait habituellement aux dépens d'énergie contenue dans l'ATP. Pour cette réaction l'ATP n'est pas indispensable, mais il augmente la vitesse de polymérisation. Cette polymérisation en microfilaments d'actine F est amorcée par l'ajout d'ions Mg^{2+} , K^+ ou Na^+ , selon un processus réversible, l'actine F se dépolymérise quand on abaisse la force ionique de la solution.

Une fois polymérisée, l'actine F forme un filament dans lequel 2 chaînes de molécules globulaires (environ 350 molécules d'actine G) sont enroulées en hélice.

Dans les muscles striés, l'actine est souvent associée à d'autres protéines impliquées la stabilisation des filaments d'actines et la prévention de leur fragmentation :

- « la **tropomyosine** » d'une part, une torsade de deux polypeptides formant des filaments appliqués dans le sillon de l'hélice d'actine, et bloque l'interaction entre l'actine et les têtes de myosine en absence de calcium
- « la **troponine** » d'autre part elle-même constituée de trois sous-unités :
la Tn C qui se lie au Ca^{2+} , la Tn I se lie à une actine et possède une activité inhibitrice de l'activité ATPasique de la myosine et la Tn T se lie à une tropomyosine.

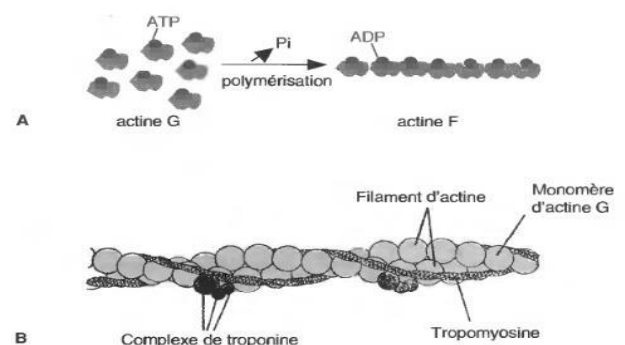


Figure 41 : Structure de l'actine

→ L'actine est liée à de nombreuses autres protéines :

De nombreuses protéines interagissant avec l'actine ont été identifiées : elles sont impliquées dans des fonctions aussi diverses que la consolidation des filaments (ex: tropomyosine), la formation de faisceaux de filaments (ex: fibrine), la fragmentation des filaments (ex: gelsoline), ou encore l'ancrage des filaments à la membrane plasmique (ex: spectrine). Tous ces jeux de protéines liant l'actine peuvent agir de façon coopérative pour engendrer les mouvements de la surface cellulaire, la phagocytose et la locomotion cellulaire. La plus connue de ces protéines de mouvement est « la **myosine** » qui se lie à l'actine et permet la contraction musculaire.

3.2. Structure de la myosine :

Il s'agit d'une très grosse protéine, de masse moléculaire voisine de 500 000 Da.

La molécule apparaît allongée sur une longueur (la queue) à l'extrémité de laquelle se trouvent 2 têtes.

La protéine est constituée de 2 chaînes lourdes qui forment des hélices α enroulées en torsade tout au long de la queue et dont les extrémités N-terminales constituent la tête globulaire et 2 paires de chaînes légères associées à la tête globulaires. Contrairement à la plupart des microfilaments d'actine et aux microtubules, les filaments intermédiaires sont des polymères stabilisés et non polarisés.

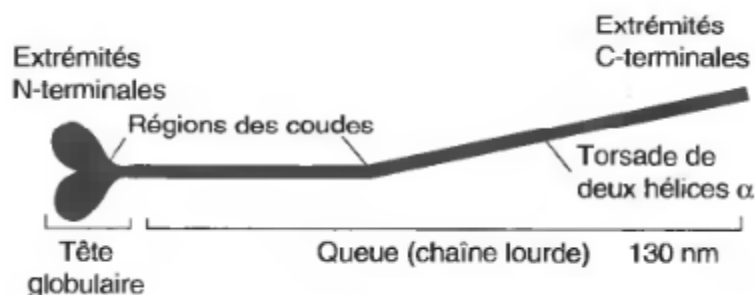


Figure 42 : Structure d'une myosine

En conditions physiologiques les molécules de myosine ont tendance à s'agréger pour former des fibres : elles s'associent par leurs queues, les têtes se répartissent régulièrement tout autour : c'est la phosphorylation de la myosine II qui permet son assemblage en filaments épais qui ont plusieurs centaines de têtes de myosine orientées dans des directions opposées, aux deux extrémités du filament épais.

Les monomères vont s'assembler pour former des dimères parallèles. Les dimères eux vont s'assembler en tétramères de manière antiparallèle. Les tétramères vont s'assembler bout à bout avec l'extrémité C terminale face à l'extrémité N terminale pour former un protofilament. 8 protofilaments vont ensuite s'assembler pour former le filament intermédiaire de 10 nm d'épaisseur.

3.3. Les mécanismes de contraction musculaire des myofibrilles (actine /myosine) :

Il existe deux types de muscles : « le muscle strié », tel que muscle squelettique et cardiaque, et « le muscle lisse », largement présent dans l'organisme (vaisseaux, tube digestif, utérus et bronches). Dans cette partie nous parlerons seulement du muscle strié de type squelettique.

Le muscle squelettique est constitué de cellules géantes, les myocytes.

Dans chaque cellule, le cytosquelette s'agence en de nombreuses unités identiques appelées myofibrilles.

Chaque myofibrille est constituée par une succession linéaire d'unités appelées sarcomères, mesurant $3\mu\text{m}$ environ, liés par leurs disques Z.

Des filaments intermédiaires, constitués de desmine, entourent les myofibrilles au niveau des disques Z du sarcomère. Ils rendent les myofibrilles solidaires les unes des autres et de la membrane de la cellule (géante) et réalisent l'alignement des sarcomères qui confère aux muscles squelettique son caractère strié en microscopie optique.

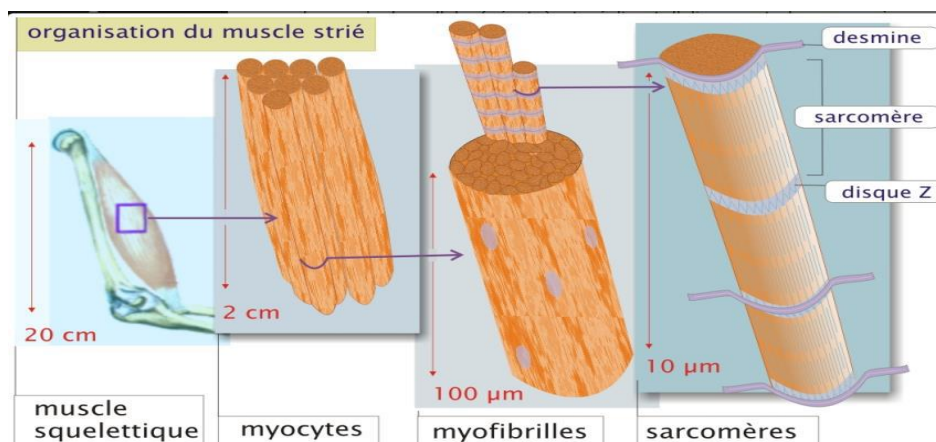


Figure 43 : Organisation du muscle strié

Dans les myofibrilles des cellules musculaires on distingue :

- Les myofilaments fins, de 5 nm de diamètre, constitués d'actine et de protéines associées (tropomyosine et troponine). Ils sont fixés par leur extrémité (+) sur le disque Z et leur extrémité (-) s'étend vers le milieu du sarcomère où elle chevauche les filaments épais.
- Les myofilaments épais, de 10 nm de diamètre, constitués de myosine.

Les interactions entre l'actine et la myosine engendrent une force contractile en convertissant l'énergie chimique en un travail mécanique. En effet chaque tête de myosine fixe l'ATP, l'hydrolyse et utilise l'énergie libérée pour se déplacer vers l'extrémité + d'un filament d'actine.

Dans les muscles squelettiques, ce glissement des filaments épais de myosine le long des filaments fins d'actine qui a lieu au niveau des sarcomères (= unités contractiles du muscle), entraîne la contraction musculaire.

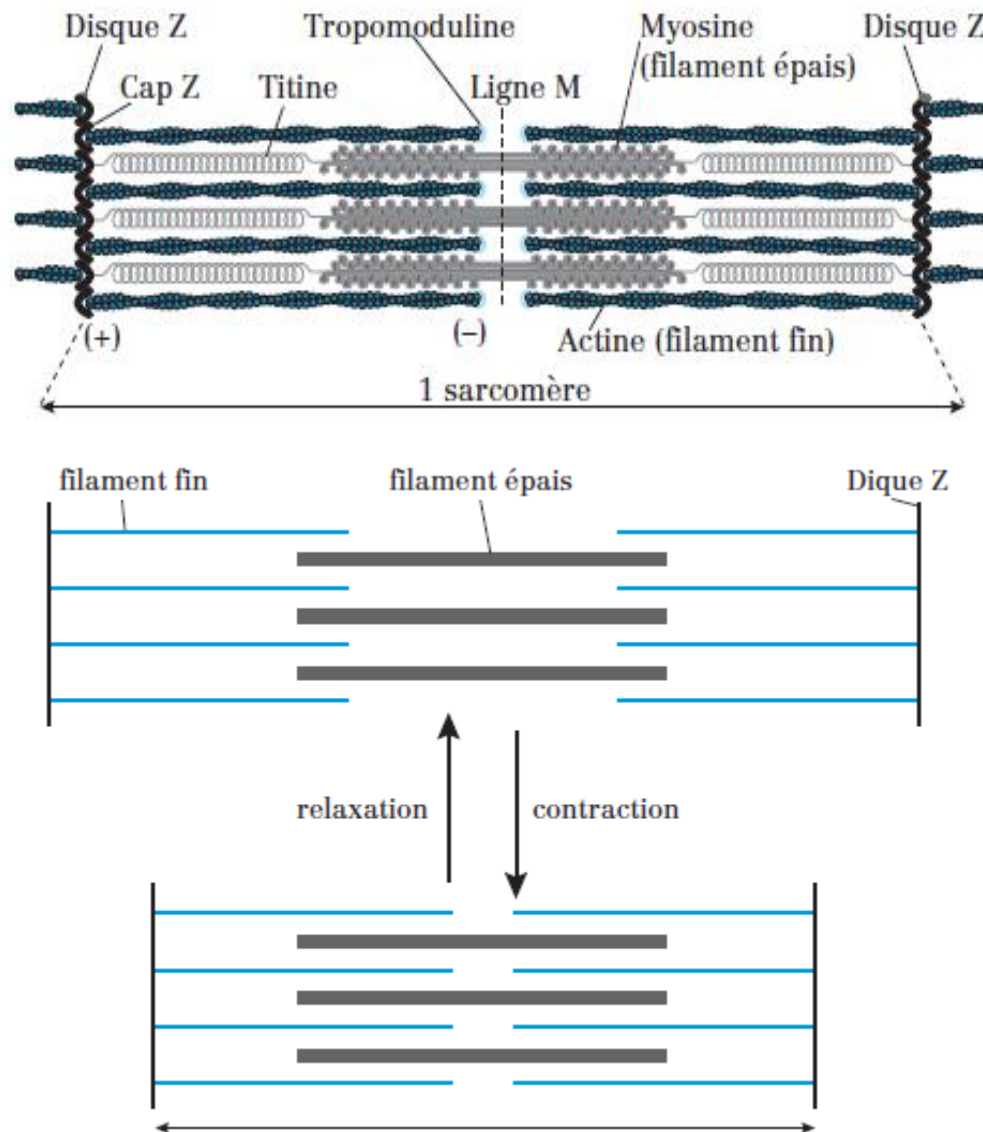


Figure 44 : Le sarcomère comme unité de contraction

Le mécanisme de la contraction des myofibrilles est complexe. Il fait intervenir le Ca^{2+} et nombreuses protéines.

Il est possible de proposer un schéma simplifié montrant comment le déplacement des têtes de myosine le long d'un filament d'actine provoque un changement de conformation et un glissement du filament d'actine par rapport à la tête de myosine. A chaque cycle le filament d'actine est déplacé d'environ 7 nm.

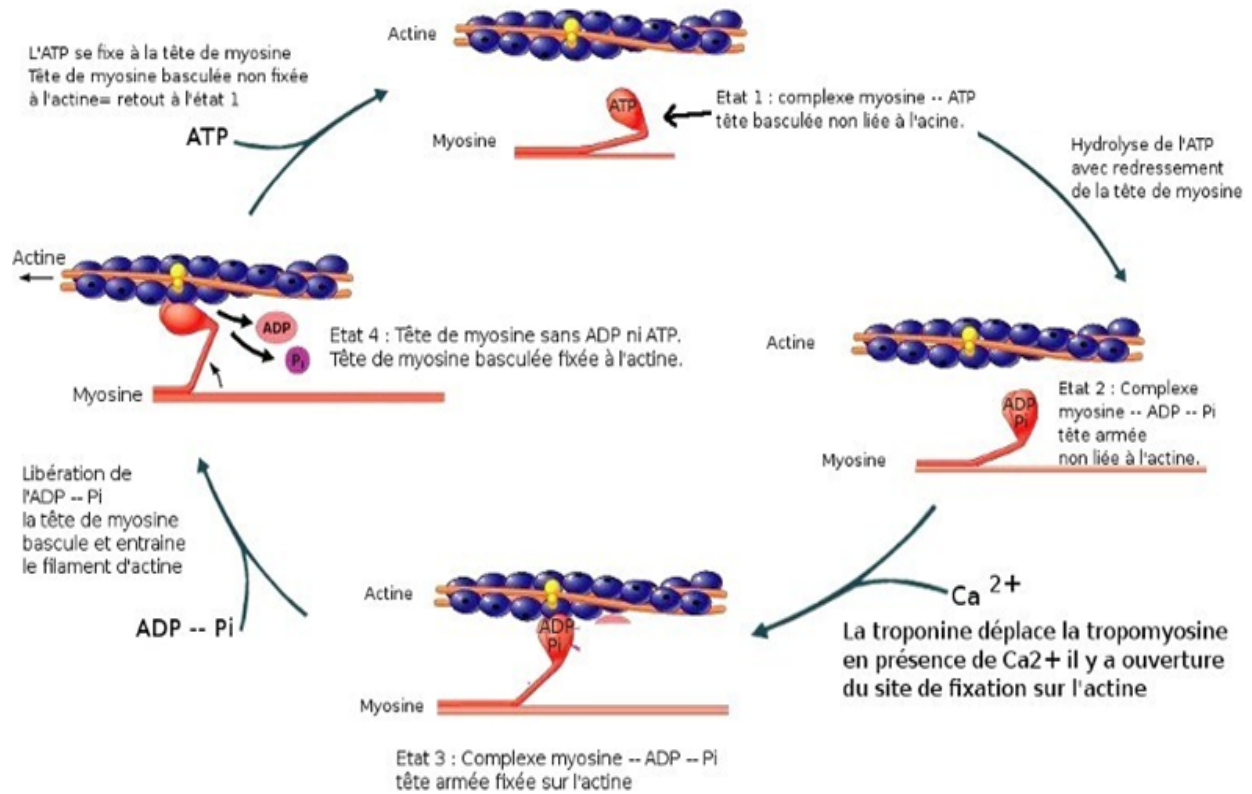


Figure 45 : Interactions actine/myosine dans la contraction musculaire.

- Au repos, la sous-unité TnI de la troponine est liée à l'actine et le filament de tropomyosine s'interpose entre la tête de myosine et l'actine.
- La contraction est déclenchée par les ions Ca²⁺ issus du RE. La fixation de Ca²⁺ sur la sous-unité TnC de la troponine provoque la rupture de la liaison entre l'unité TnI et l'actine et modifie la conformation de la molécule.
- La tropomyosine se déplace légèrement, permettant le contact actine-myosine et la levée de l'inhibition de l'activité ATPase de la tête de myosine et donc la libération de l'ADP et Pi ce qui fournit l'énergie nécessaire à la mobilisation de la tête de myosine qui interagit avec l'actine, réalisant une traction sur le filament d'actine (de 7 à 10 nm environ).
- Ce phénomène est rapide et réversible. La fixation d'une nouvelle molécule d'ATP sur la myosine rompt la liaison actine-myosine.
- Le phénomène peut se répéter si du Ca²⁺ est encore présent.
- Lorsqu'il n'y a pas d'ATP disponible, la liaison actine-myosine est stable. C'est ce qui explique la rigidité cadavérique après la mort.

4. La mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative : structure, fonction, les sites de couplage, fractionnement du système oxydo-phosphorylant :

Il ne peut y avoir de vie cellulaire sans énergie. La compartimentation qui a été mise en place chez les eucaryotes leur a permis de développer, dans des territoires spécialisés, des systèmes de récupération d'énergie qui complètent ou s'ajoutent à celui de la glycolyse, mais qui sont beaucoup plus performant : la respiration et la photosynthèse.

Respiration et photosynthèse sont réalisées dans des organites limités par une enveloppe, c'est-à-dire par une double membrane : les mitochondries et les chloroplastes.

Les mitochondries et les chloroplastes se distinguent des autres organites cellulaires par plusieurs caractères :

- Elles ont une morphologie bien définie et limitées par une double membrane, dont la plus interne, invaginée en crêtes ou en lamelles.
- Elles ont un matériel génétique propre (ADN) qui leur assure une certaine autonomie vis-à-vis du noyau.
- Leur physiologie est orientée vers le métabolisme énergétique (transformation de l'énergie) et vers la production de l'ATP.

Pour cela, on les appelle organites semi autonomes.

4.1. Structure de la mitochondrie :

Les mitochondries sont des organites cellulaires dont l'ensemble constitue le chondriome. Elles se rencontrent dans toutes les cellules eucaryotes, animales et végétales, dont le rôle essentiel est de mettre en réserve, sous forme d'ATP, l'énergie libérée par oxydation enzymatique des molécules nutritives.

Le nombre de mitochondries à l'intérieur d'une cellule varie selon les besoins physiologiques de la cellule (consommation énergétique). On en trouve en quantité élevée dans les cellules à forte demande énergétique comme les cellules musculaires, cellules hépatiques ou les cellules à déplacement rapide comme les spermatozoïdes. À l'inverse, on en trouve en nombre restreint dans les cellules végétales (certaines algues n'ont qu'une seule mitochondrie !).

Les mitochondries ont la capacité de se reproduire de façon autonome. Elles sont aussi capables de se déplacer et de fusionner entre elles. Les mitochondries ressemblent à de petits grains ovoïdes dont la taille et la forme varient très sensiblement selon les types cellulaires et, dans une même cellule, selon son âge et son activité.

La mitochondrie est limitée par deux membranes concentriques : la **membrane interne** et la **membrane externe**, séparées par l'**espace intermembranaire**. Ces deux membranes délimitent une cavité interne : la **matrice**.

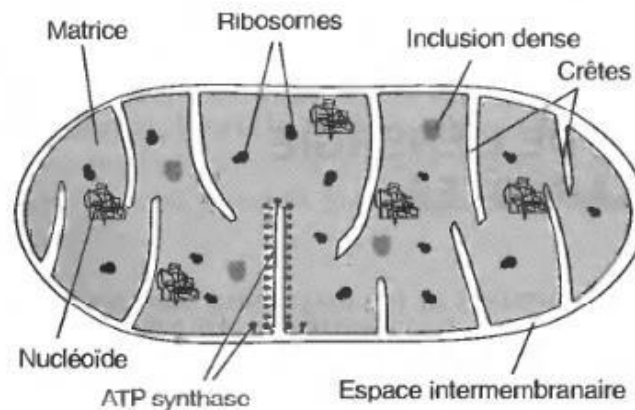


Figure 46 : Mitochondrie observée en microscopie électronique (coupe)

4.1.1. La membrane externe :

La membrane externe, relativement plane et lisse, comporte 60% de protéines et 40% de lipides. Elle possède des protéines de transport mais également des enzymes et des récepteurs protéiques (pour la reconnaissance et l'importation de protéines dans les mitochondries).

La membrane mitochondriale externe se caractérise par une forte perméabilité due à la présence de protéines à plusieurs domaines transmembranaires, les porines, perméases formant des canaux responsables de la perméabilité passive aux ions et aux petites protéines (< 5 kDa).

En conséquence, la composition de l'espace intermembranaire est très voisine de celle du cytosol.

On notera en particulier que la membrane externe est perméable aux protons.

4.1.2. La membrane interne :

Elle émet des invaginations qu'on appelle « les crêtes mitochondriales » qui augmentent la surface d'échange (là où se réalise la phosphorylation oxydative) entre l'extérieur et l'intérieur de la mitochondrie (la matrice).

Sa composition, très différente, est inhabituelle ; elle comporte en effet 80% de protéines, seulement 20% de lipides et parmi ceux-ci il n'y a pas de cholestérol.

La membrane interne comporte une classe de phospholipides particuliers : les cardiolipines qui représentent 20 % des lipides de la membrane interne et sont responsables de son l'imperméabilité aux ions (notamment aux protons). Seules quelques petites molécules non chargées (CO_2 , H_2O) peuvent la traverser librement, le passage de toutes les autres substances doit faire appel à des transporteurs.

Parmi les protéines de la membrane interne on trouve :

- ✓ Des **perméases**, qui servent aux échanges entre l'espace intermembranaire et la matrice,
- ✓ Des **symports** (ex : pyruvate/H⁺).
- ✓ Des **antiports** (ex : ATP/ADP).
- ✓ Les **complexes de la chaîne respiratoire**, qui sont des transporteurs d'électrons et de protons.
- ✓ Les **ATP synthases** responsables de la synthèse d'ATP.

4.1.3. L'espace intermembranaire (la chambre externe) :

C'est l'espace entre les deux membranes. Sa composition est très proche de celle du cytosol.

Cet espace contient :

- Des molécules provenant du cytosol et traversant la membrane externe grâce aux porines.
- Des enzymes de type kinases, qui catalysent la phosphorylation de diverses molécules
- Des protons (H⁺) provenant de la matrice et traversant la membrane interne grâce à certains complexes de la chaîne respiratoire (on note H⁺ en quantité supérieure à celle de la matrice).
- Des protéines impliquées dans l'apoptose (procaspases et cytochrome c).

4.1.4. La matrice (la chambre interne) :

Fluide dense contenant des polynucléotides (ADN et ARN) et des nucléotides phosphates (ADP, ATP). On trouve également de petits ribosomes qu'on appelle mitoribosomes.

La matrice est très riche en enzymes et coenzymes car de nombreux processus métaboliques s'y déroulent

- **La β-oxydation des acides gras.** C'est une chaîne de réactions qui dégradent les acides gras et aboutit à la formation d'acétylCoA et de co-enzymes réduits : FADH₂ et NADH₂ (NADH, H⁺).
- **La décarboxylation du pyruvate.** Elle aboutit à la formation de CO₂, d'acétylCoA et de NADH₂. Le pyruvate est issu de la glycolyse, qui a lieu dans le cytosol.
- **Le cycle de Krebs.** C'est une chaîne de réactions qui dégrade de l'acétylCoA et aboutit à la formation de CO₂, GTP, FADH₂ et NADH₂.

Enfin, on y trouve des ions Mg²⁺ et Ca²⁺ (20 à 50% du calcium cellulaire est stocké dans les mitochondries).

4.2. Fonctions de la mitochondrie

Les mitochondries sont le siège de la respiration cellulaire, au cours de laquelle l'ATP est formé par phosphorylation oxydative. Elle se situe au carrefour de nombreuses fonctions cellulaires :

- ✓ Participe aux mécanismes de mort cellulaire programmée (apoptose) :

L'apoptose est déclenchée par un ligand qui se fixe sur le récepteur de la mort, induisant la génération de pores au niveau des membranes externe et interne de la mitochondrie. Dans ce processus, la fuite de cytochrome c par un pore nouvellement créé dans la membrane mitochondriale externe, PTPC (permeability-transition pore complex), joue un rôle capital. Le cytochrome c ainsi relargué dans le cytoplasme participe à l'assemblage d'un complexe protéique (apoptosome), responsable de l'activation de protéases, enzymes protéolytiques appelées caspases. Les caspases détruisent d'importants composants moléculaires du noyau et du cytosquelette, ce qui conduit à la mort de la cellule. Cette cellule sera phagocytée par des macrophages ou par des cellules voisines, sans laisser de traces, ce qui évite le déclenchement de la réponse inflammatoire.

- ✓ Joue un rôle important dans la signalisation calcique. En effet, elle participe (avec le réticulum endoplasmique) également à la régulation de la concentration intracellulaire de calcium.
- ✓ La respiration de la cellule et la mise en réserve de l'énergie.

4.3. La chaîne respiratoire « phosphorylation oxydative » :

La principale fonction des mitochondries est la production d'ATP obtenue par la phosphorylation oxydative grâce au fonctionnement de la chaîne respiratoire de la membrane interne.

Rappel :

- Oxydation = perte d'électrons (ou de $H = H^+ + e^-$).
- Réduction = gain d'électrons (ou de $H = H^+ + e^-$).
- Un réducteur est un composé qui fournit des électrons (et des ions H^+).
- Un oxydant est un composé qui capte des électrons (et des ions H^+).

La respiration cellulaire comprend une série de réactions chimiques assez complexes qui consistent à extraire l'énergie des molécules complexes comme le glucose, et la convertir en ATP.

La respiration cellulaire aérobie est la voie catabolique la plus efficace pour la cellule. Elle requiert de l'oxygène, des molécules organiques et une chaîne de transport d'électrons.

La respiration comprend trois stades qui permettent de libérer l'énergie emmagasinée dans le glucose :

- 1) la glycolyse qui a lieu dans le cytosol.
- 2) le cycle de Krebs qui a lieu dans la matrice de la mitochondrie.
- 3) La phosphorylation oxydative qui a lieu dans la membrane de la mitochondrie.

1) La Glycolyse :

La glycolyse peut être définie comme la suite des réactions qui transforment le glucose en 2 molécules d'acide pyruvique (ou pyruvate), donnant 2 molécules de NADH, H^+ et une molécule de CO_2 avec production de 2 molécules d'ATP. Toutes ces réactions se produisent dans le cytosol.

La cellule dégrade d'abord le glucose en 2 molécules de PGAL (phosphoglyceraldéhyde). Durant cette phase, la cellule doit utiliser 2 ATP. Puis, les 2 PGAL sont transformés en 2 molécules de pyruvate. Durant cette deuxième phase, les réactions libèrent de l'énergie sous forme de 2 molécules ATP. Les 2 molécules de pyruvate et de NADH, H^+ sont transférées aux mitochondries où les phénomènes d'oxydation se poursuivent.

2) Cycle de Krebs :

Le cycle de Krebs comprend 8 étapes qui terminent le travail de la glycolyse en dégradant un dérivé de l'acide pyruvique (l'acétyl-CoA) en dioxyde de carbone (CO_2) et en produisant de l'ATP. Le pyruvate est transporté à travers la membrane mitochondriale externe (à travers la porine) et interne (en symport avec le H^+), où il est décarboxylé et combiné à la coenzyme A pour produire l'acétyl CoA et engendrant la formation de NADH, H^+ .

Bilan :

1 pyruvate produit : $2 \text{CO}_2 + 1 \text{GTP}$ (équivalent à l'ATP) + $3 \text{NADH, H}^+ + 1 \text{FADH}_2$.

L'essentiel de l'énergie chimique potentielle est produite sous forme de pouvoir réducteur (NADH, H^+ et FADH_2). Ce pouvoir réducteur est ultérieurement utilisé dans la phosphorylation mitochondriale.

3) La chaîne respiratoire « phosphorylation oxydative » :

La chaîne respiratoire correspond à une association de complexes protéiques présents au sein de la membrane interne de la mitochondrie et responsable, avec l'ATP synthase, de la phosphorylation oxydative.

Ce processus associe **l'oxydation du NADH, H^+ et du FADH_2** , tous deux produits lors des différentes voies cataboliques de l'organisme (glycolyse, cycle de Krebs, β -oxydation...), à la **production d'ATP** et ceci grâce à la formation d'un gradient de protons.

La phosphorylation oxydative est donc le processus par lequel l'ATP est synthétisé lorsque les électrons sont transférés du NADH, H^+ et FADH_2 à l'oxygène par une série de transporteurs d'électrons.

❖ Les transporteurs d'électrons :

La chaîne respiratoire est constituée de quatre complexes membranaires de transporteurs d'électrons ordonnés séquentiellement (les complexes I, II, III et IV) et reliés par deux transporteurs d'électrons mobiles (ubiquinone et cytochrome c) :

Tout au long de la chaîne respiratoire les électrons provenant du NADH, H^+ et du FADH_2 , vont perdre de l'énergie qui sera utilisée pour former le gradient électrochimique de proton entre l'espace inter-membranaire et la matrice mitochondriale. Les électrons riches en énergie ainsi récupérés seront transportés successivement via les différents complexes :

- **Le complexe I (complexe NADH déshydrogénase)** a une action NADH/coenzyme Q réductase, récupérant les électrons du NADH, H^+ et permet le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale à l'espace inter-membranaire.
- **Le complexe II** a une action Succinate/coenzyme Q réductase, récupérant les électrons du FADH_2 et permet le transport d'aucun proton.
- **Le complexe III** a une action Coenzyme Q/cytochrome C réductase, et permet le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale à l'espace inter-membranaire.
- **Le complexe IV** a une action Cytochrome C oxydase, et permet le transport de 2 protons de la matrice mitochondriale à l'espace inter-membranaire.
- **Le coenzyme Q (ou ubiquinone)** permet la transition (établit une navette des électrons) entre le complexe I ou II et le complexe III.
- **Le cytochrome C** permet la transition entre le complexe III et le complexe IV qui, grâce à son site de liaison avec l'oxygène, transfère des (é) du cytochrome C à l'oxygène moléculaire pour former l'eau.

Ainsi, le dernier accepteur d'électrons est l'oxygène et les électrons libérés à la fin de la chaîne respiratoire réagiront avec les molécules d'oxygène et les protons présents dans la matrice mitochondriale afin de former des molécules d'eau : $\text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$.

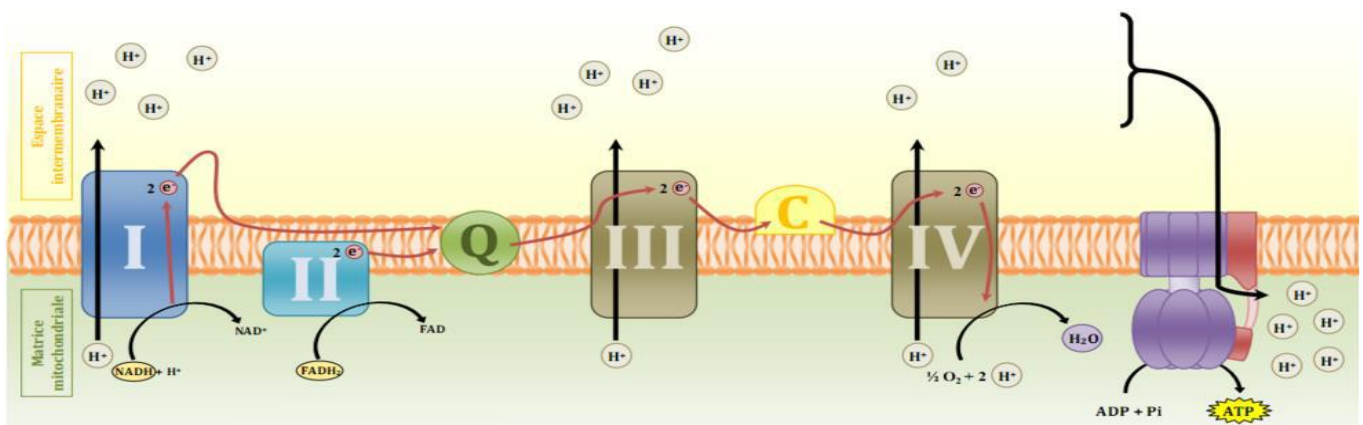


Figure 47 : La chaîne respiratoire et la synthèse d'ATP par phosphorylation oxydative.

❖ L'ATP synthase :

L'ATP synthase est une pompe ionique inversée, qui au lieu de transporter les protons dans le sens inverse du gradient de concentration, entraîne la synthèse d'ATP grâce au passage des protons dans le sens du gradient. L'ATP synthase est un complexe protéique enzymatique constitué de :

- Une sous-unité « **F₀** » intra-membranaire qui joue de rôle de canal protonique (permettant le retour des protons dans la matrice mitochondriale). F₀ comprend un nombre variable de sous-unités membranaires c (entre 10 et 15) portant des acides aminés aspartate (Asp) ayant la particularité d'être chargés négativement. F₀ est mobile dans le plan de la membrane, et peut tourner autour d'un axe constitué par certaines des sous-unités de F₁, d'où sa qualification de « rotor ».
- Une sous-unité « **F₁** » baignant dans la matrice mitochondriale et qui possède une activité ATP-synthase. F₁ est qualifiée de « stator », et comprend trois sous-unités β catalytiques responsables de la synthèse d'ATP, trois sous-unités α structurales, ainsi que les sous-unités ε, γ et δ.
- Une partie statique stabilisant la structure.

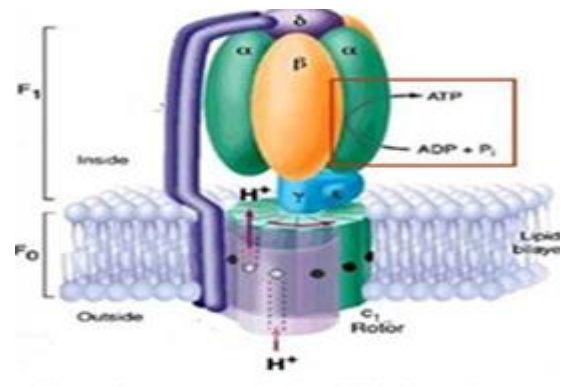


Figure 48 : Structure de l'ATP synthase

Les protons suivent alors le gradient électrochimique et traversent la bicouche lipidique au niveau des rotors F₀, qui constituent pratiquement les seuls points de passage. Ce flux provoque la rotation de F₀, rotation due à la neutralisation par les protons des charges portées par les asparagines, ce qui entraîne des changements de conformation des sous-unités de F₁. Il y a donc conversion de l'énergie osmotique de gradient électrochimique en énergie mécanique de trans-conformation.

Les sous-unités β en particulier connaissent trois conformations qui se succèdent : « lâche (L), serrée (S), ouvert (O) » dans cet ordre. Chacune des trois β est dans l'une de ces trois positions, qui ont un lien direct avec la fixation, la transformation et la libération des réactants de la synthèse de l'ATP :

- En conformation L, le site catalytique de β a une grande affinité pour l'ADP et le phosphate inorganique Pi, ce qui provoque leur fixation.
- En conformation S, le site actif se resserre sur les substrats et les condense en ATP, pour lequel il a une très grande affinité : l'énergie mécanique de contraction du site actif provoque la formation d'une liaison ester phosphorique entre l'ADP et le Pi.

- La conformation O, avec une détente relative du site actif, donc une moindre compatibilité tridimensionnelle avec la molécule d'ATP, permet la libération de celle-ci dans la matrice mitochondriale.

Lors de la phosphorylation oxydative, on considère que l'oxydation de :

- NADH, H^+ par la chaîne respiratoire permet la synthèse théorique de 3 ATP grâce à l'ATP synthase.
- FADH_2 par la chaîne respiratoire permet la synthèse théorique de 2 ATP grâce à l'ATP synthase,

Bilan de la respiration :

La production d'ATP de la voie aérobie s'élève à 38 ATP par molécule de glucose : 2 ATP de glycolyse, 2 ATP du cycle de Krebs et 34 ATP de la chaîne respiratoire.

5. Ribosome : synthèse protéique, maturation et adressage des protéines :

Les nombreuses protéines de la cellule doivent être synthétisées et, de plus, ayant pour la plupart une durée de vie limitée (entre quelques minutes et quelques jours), elles doivent être renouvelées en permanence.

Dans les cellules procaryotes ou eucaryotes, l'information génétique est portée par l'acide désoxyribonucléique ou ADN. Cette macromolécule double-brin contient l'ensemble de l'information génétique, aussi appelé génome, d'un être vivant. L'ADN est composé de 4 bases nucléiques : l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et la thymine (T). Les molécules d'ADN sont stables dans le temps, ce qui assure la pérennité du code génétique, mais elles ne peuvent être directement transformées en protéines.

Une enzyme appelée ARN polymérase va réaliser une copie d'une partie de l'ADN. Cette étape nommée transcription aboutit à la formation de l'ARN messenger (ARNm). Cette copie de l'ADN, qui se dégrade rapidement dans le temps, est une macromolécule simple brin, elle-même composée de 4 sortes de bases nucléiques : l'uracile (U), la cytosine (C), la guanine (G) et l'adénine (A). Après des étapes de maturation qui ont lieu pour les eucaryotes dans le noyau cellulaire, l'ARN messenger est exporté dans le cytoplasme pour y être traduit en protéine.

On appelle le processus de production des protéines traduction car il correspond au passage de l'alphabet de l'ARN messenger (les bases nucléiques A, U, G, C), à l'alphabet des protéines composées d'acides aminés (il en existe 22 sortes différentes). La macromolécule responsable de la traduction est le ribosome.

5.1. La synthèse protéique :

La synthèse protéique est l'ensemble des réactions biochimiques qui, utilisent comme matériaux les acides aminés et aboutit à la formation de protéines. L'ordre des acides aminés est déterminé par l'ordre des bases sur l'ADN : l'information correspondant à un acide aminé est portée par un groupe de 03 nucléotides (triplet) sur l'ADN.

Le processus de la synthèse protéique est réalisé par l'action conjointe et coordonnée de plusieurs acteurs qui sont :

- Les acides nucléiques.
- Le ribosome qui valide le décodage et synthétise la protéine.
- Les facteurs protéiques qui vont permettre la réalisation des différentes étapes du processus.

5.1.1. Les acides nucléiques :

Ce sont des polymères de nucléotides, chaque nucléotide donne par hydrolyse :

- ❖ Une molécule de sucre en 5 C (Pentose) :
 - Désoxyribose pour les acides désoxyribonucléiques (ADN)
 - Ribose pour les acides ribonucléique (ARN)
- ❖ Une molécule d'acide phosphorique (H_3PO_4)
- ❖ Une molécule de l'une des bases azotées suivantes :
 - Adénine (A), Guanine (G), cytosine (C), Thymine (T) pour l'ADN.
 - Adénine (A), Guanine (G), cytosine (C), Uracile (U) pour l'ARN.

Les liaisons peuvent s'établir uniquement entre : A — U , A — T , G — C

a. L'acide désoxyribonucléique (ADN) :

La molécule est en chaîne double, enroulée en hélice, elle est le plus souvent associée à des protéines (histone), et constitue le matériel héréditaire.

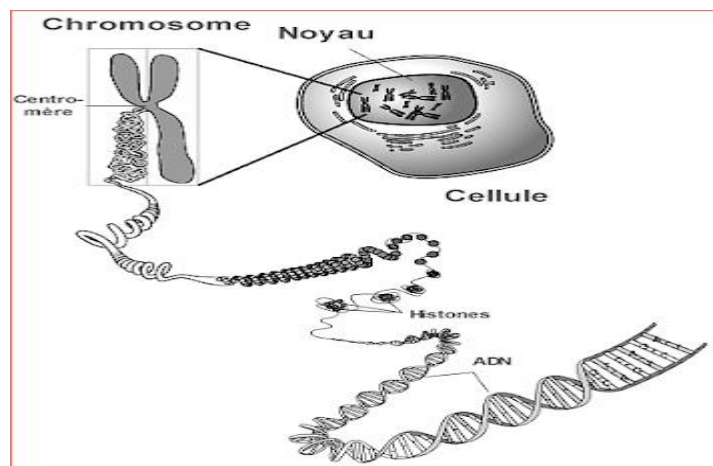


Figure 49 : Structure de l'ADN

b. L'acide ribonucléique (ARN) :

Les molécules sont généralement en chaîne simple, ils sont de 03 types dans la cellule, de caractères et de rôles bien différents :

✓ Les ARNm (messenger) :

Ils transmettent l'information de l'ADN localisé dans le noyau vers le cytoplasme de la cellule. Cette information est représentée par une succession de triplets de bases (codons) complémentaires de la séquence des triplets de bases présentes dans l'ADN.

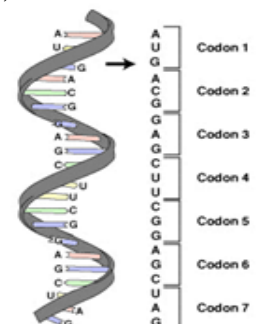


Figure 50 : Structure d'ARNm

✓ Les ARNt (transfert) :

Ce sont de petites molécules stables, l'extrémité 3' pouvant fixer un acide aminé, toujours le même pour un ARNt donné, à l'opposé de cet acide aminé sur la molécule se trouve une zone de 03 bases caractéristiques de l'ARNt c'est l'anticodon. Ce sont les molécules qui portent et ajoutent à l'extrémité en croissance d'une chaîne polypeptidique les acides aminés correspondant à la séquence de bases sur l'ARNm.

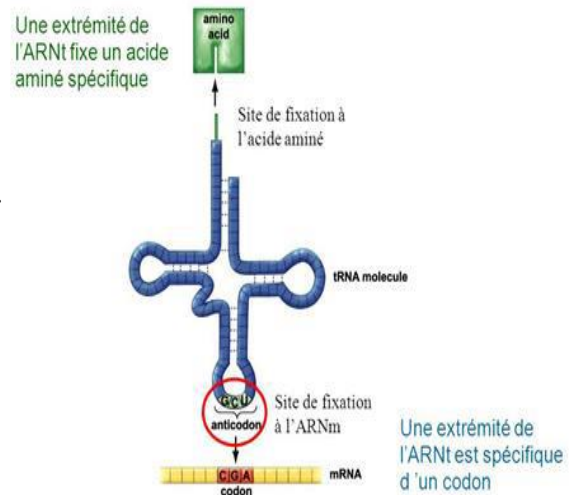


Figure 51 : Structure d'ARNt

✓ Les ARNr (ribosomique) :

Ce sont des molécules stables, ils peuvent s'associer de façon constante avec des protéines pour former les ribosomes. Nous verrons que ces derniers sont capables de coulisser le long de l'ARN messager où est encodée l'information.

5.1.2. Le ribosome :

a. Structure :

Lorsqu'on tente d'établir une liste des fonctions les plus essentielles à la vie cellulaire, celle des ribosomes vient en bonne place. La vie est basée sur les protéines, et les ribosomes sont les « usines » de production de ces dernières. Ils sont parmi les agrégats moléculaires les plus complexes de la cellule.

En utilisant une ultracentrifugation, on peut distinguer selon la vitesse de sédimentation :

- Les ribosomes des Procaryotes qui ont une constante de sédimentation de 70S.
- Les ribosomes des Eucaryotes ont une constante plus élevée qui est de 80S.

S : coefficient de sédimentation (Svedberg).

Chez l'homme, le ribosome est une particule de 30 nm de diamètre, formée de deux sous-unités de taille inégale :

- La petite sous-unité ribosomale 40S se compose de 33 protéines et de l'ARNr 18S. Elle est impliquée dans la traduction en permettant via l'interaction du codon de l'ARNm avec l'anticodon de l'ARNt de décoder l'information génétique portée par les ARNm.
- La grande sous-unité 60S est, elle, constituée de 49 protéines et des ARNr 5S, 28S et 5,8S. Elle contient le centre de peptidyl-transférase qui catalyse la formation de liaisons peptidiques entre les acides aminés incorporés lors de l'étape de l'élongation.

Le ribosome comprend, à l'interface de ces deux sous-unités, trois sites nommés A (aminoacyl site), P (peptidyl site) et E (exit site), dans lesquels se succèdent les ARNt.

Le ribosome présente également deux sites catalytiques très importants : le centre de décodage (DC), où a lieu le décodage de l'ARNm, et le centre peptidyl-transférase (PTC) où est synthétisée la liaison peptidique qui relie un nouvel acide aminé au peptide naissant en cours d'élongation.

Chacune des sous-unités est synthétisée dans le nucléole, d'où elle migre vers le cytoplasme à travers un pore nucléaire. Les deux sous-unités s'assemblent dans le cytosol pour traduire l'ARNm.

Les ribosomes existent dans les cellules :

- Soit libre dans le cytosol :
 - Sous forme de deux sous unités séparées lorsque inactifs.
 - Regroupés sous forme de 5 à 20 ribosomes associés à une molécule d'ARNm formant les polysomes ou polyribosomes lorsque actifs.
- Soit accolés aux membranes du réticulum endoplasmique formant ainsi le réticulum endoplasmique granuleux.
- On les rencontre aussi dans les mitochondries et les chloroplastes.

Ainsi :

- Les protéines secrétées, des lysosomes et de la membrane plasmique sont synthétisées dans le RER par des ribosomes liés (en suivant le cheminement RER, appareil de golgi, vésicules sécrétoires et enfin la cible).
- Les protéines du noyau, de la mitochondrie, des peroxysomes et des chloroplastes chez les végétaux sont synthétisées dans le cytosol par des ribosomes libres.

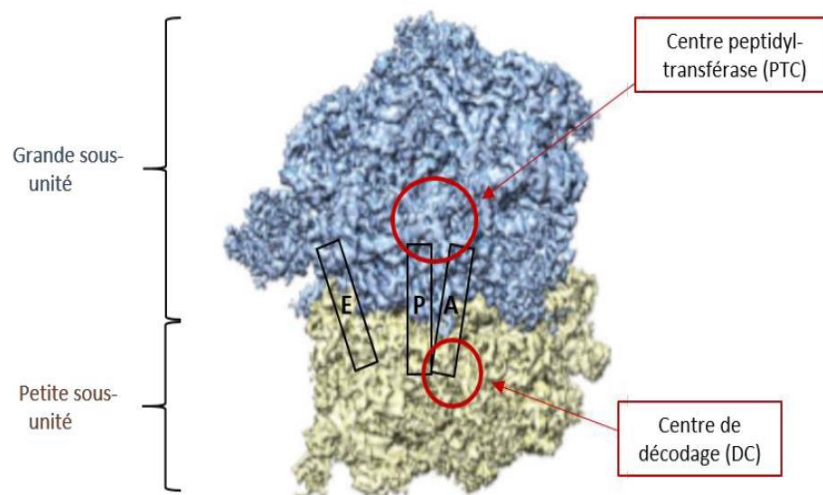


Figure 52 : Le ribosome 80S et ses deux sous-unités

b. Analyse chimique :

Les ribosomes sont des structures très hydratés, ils contiennent jusqu'à 70% d'eau, le reste (poids sec) est composé d'ARNr et de protéines.

c. Rôle des ribosomes :

Les ribosomes sont le siège de la synthèse des protéines. C'est à leur niveau que les acides aminés sont assemblés, selon une séquence déterminée par celle des codons (succession de 03 bases au niveau d'ARNm) il s'agit de l'étape de la lecture du code génétique sur les ARNm. Les ribosomes réalisent donc la traduction de l'information portée par l'ARNm en une protéine.

5.2. Etapes de la synthèse protéique :

Le processus de la synthèse des protéines est divisé en deux étapes principales :

1 ère étape « Transcription » : Transcription d'une séquence nucléotidique de l'ADN en une séquence complémentaire de nucléotides d'ARNm.

2 ème étape « Traduction » : Traduction de cette séquence d'ARNm en une séquence polypeptidique.

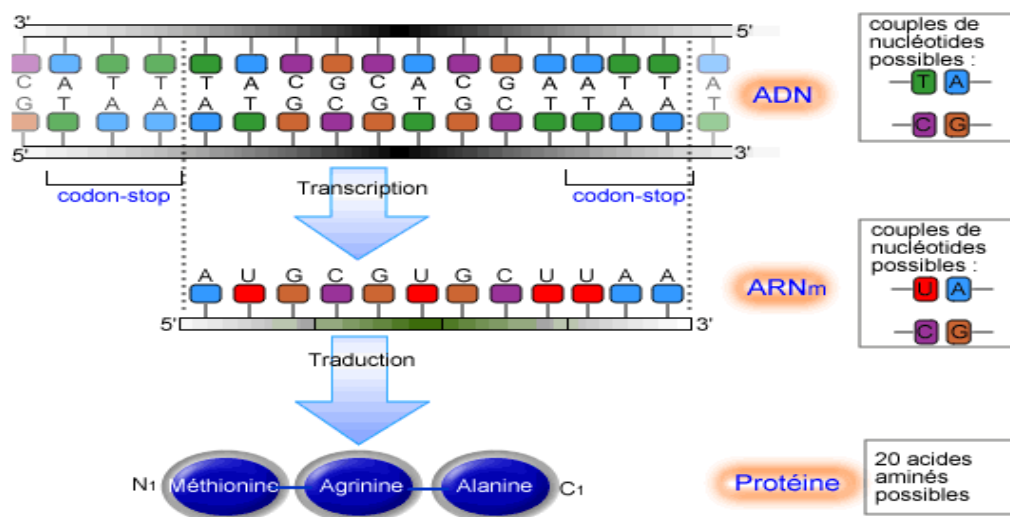


Figure 53 : Processus de la synthèse protéique

5.2.1. La transcription :

L'ADN est maintenu en permanence dans le noyau de la cellule et la synthèse des protéines a lieu dans le cytosol au niveau des ribosomes, il y a donc nécessité d'un intermédiaire qui est l'ARNm.

Il est synthétisé dans le noyau avec l'ADN comme matrice par le jeu de complémentarité de bases. Seule une des chaînes d'ADN est transcrite. Le brin d'ADN transcrit est le « brin matriciel » et le brin complémentaire est le « brin non-sens. »

L'acide nucléique qui servira de copie n'est pas un ADN mais un ARN (Acide RiboNucléique). Les principales différences entre ces deux acides nucléiques sont que l'ARN est simple brin, possède de l'uracile à la place de la thymine et qu'il a un ribose au lieu d'un désoxyribose. Cet ARN qui servira d'intermédiaire pour la synthèse des protéines n'est qu'un messenger, d'où son nom d'ARN messenger ou ARNm.

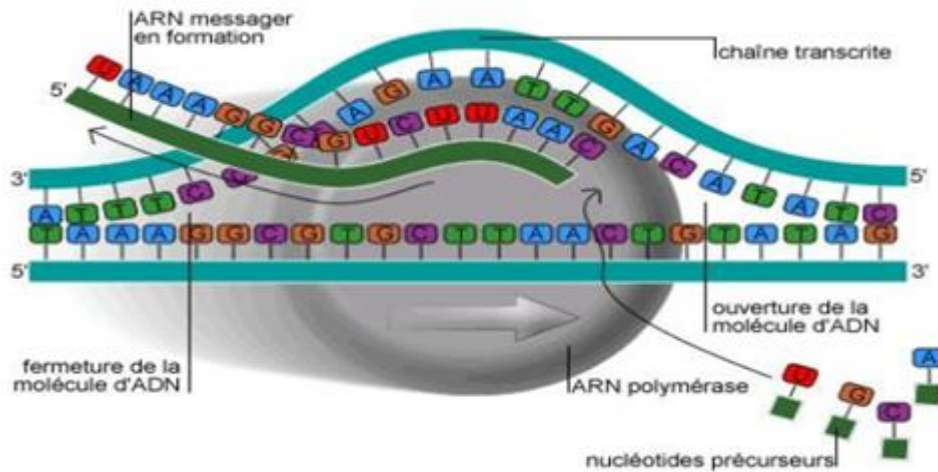


Figure 54 : Transcription de l'ADN en ARNm

Quatre étapes se succèdent :

1) Initiation :

Pour que les enzymes intervenant dans cette transcription reconnaissent le début et la fin d'un gène au milieu de la longue séquence des nucléotides de l'ADN, chaque gène possède des bornes. Celle qui permet le départ de la transcription est appelée « promoteur ».

Quel que soit le gène, cette zone contient une séquence de nucléotides, succession de Thymine et Adénine, appelée « TATA box » (ou boîte TATA). C'est cette séquence qui est reconnue par l'ARN polymérase, enzyme responsable de la transcription, à condition qu'un facteur de transcription se soit fixé auparavant au promoteur. Une fois en place, le complexe d'initiation (promoteur + facteur de transcription + ARN polymérase) déroule la double hélice et il y aura cassure des liaisons hydrogène.

2) Elongation :

L'enzyme sépare alors les deux brins d'ADN sur une dizaine de nucléotides et permet l'appariement des nucléotides du future ARNm. Seul un des deux brins d'ADN servira de matrice (celui de sens 3' → 5').

Au fur et à mesure qu'elle avance sur le brin matrice, l'ARN polymérase continue de dérouler les deux brins d'ADN. Elle ajoute alors à l'extrémité 3' du brin synthétisé les nucléotides d'ARN complémentaires présents dans le milieu. Ceux-ci sont présents sous forme de nucléosides triphosphates, c'est-à-dire comportant trois groupements phosphate au lieu d'un seul : ils perdent donc deux phosphates en se liant à la chaîne de nucléotide.

3) Terminaison :

Quand l'ARN polymérase arrive sur la borne de fin du gène, le « site de terminaison », elle cesse son activité.

La séquence qui constitue le site de terminaison est généralement AATAAA. La molécule d'ARN formée (de sens 5' → 3') est détachée du brin codant d'ADN qui se réassocie au brin non codon et l'ARNm est libéré.

4) Maturation :

L'ARNm formé n'est pas encore mature pour la synthèse des protéines. Avant sa sortie du noyau il doit subir des modifications. On parle « d'ARN pré-messager ».

- Dans un premier temps, à chaque extrémité de l'ARNm va être rajouté un groupement de molécule :
 - Au niveau de l'extrémité 5', c'est une guanine triphosphate qui est rattachée. Elle constitue « la coiffe ».
 - Pour l'extrémité 3, c'est une succession d'adénine qui est rajoutée. Cela forme « la queue poly-A ».
- Ces rajouts permettraient de protéger l'ARN contre d'éventuelles dégradations par les enzymes cytoplasmiques. La coiffe servira aussi lors de la synthèse des protéines.

- La deuxième étape (épissage) correspond à la suppression de certaines parties de l'ARN « les introns » et à joindre les extrémités « des exons » adjacents pour produire une molécule d'ARNm fonctionnelle.

Maintenant que l'ARNm est prêt, il emprunte les pores nucléaires pour passer du noyau au cytosol et l'étape suivante, sa traduction en protéines va pouvoir débuter.

5.2.2. La traduction :

Après transcription de l'ARNm, ce dernier est traduit en une chaîne polypeptidique au niveau des ribosomes qui vont attacher bout à bout par des liaisons peptidiques (CO-NH) des acides aminés activés par leur ARNt, l'ensemble forme un Amino-Acyl-ARNt.

Le mécanisme de la traduction se réalise en 4 étapes :

1) Activation des acides aminés par les ARNt :

Cette étape est essentielle pour la lecture correcte de l'ARNm, en effet c'est l'ARNt qui par le triplet de nucléotide (anticodon) qu'il porte, détermine l'acide aminé qui s'associera à la chaîne polypeptidique en élongation. Pour cela, l'ARNt fixe un acide aminé grâce à une enzyme appelé Amino-Acyl-ARNt – Synthétase qui est spécifique à l'acide aminé.

2) L'initiation :

Au début de la synthèse il est indispensable que le ribosome se fixe à un endroit précis sur l'ARNm, le codon d'initiation, par où s'amorce la lecture de l'ARNm. C'est d'abord la petite sous unité ribosomique qui va s'associer à la première séquence AUG (codon d'initiation).

Chez les Eucaryotes, la petite sous unité reconnaît d'abord l'extrémité 5' de l'ARNm qui porte la coiffe de Méthyle guanine, puis elle balaie l'ARNm jusqu'à ce qu'elle rencontre une séquence de nucléotides qui renferme le codon d'initiation AUG.

Comme le codon d'initiation AUG code pour la méthionine, donc, la synthèse de toute chaîne polypeptidique débute toujours par la méthionine qui est ainsi le premier acide aminé incorporé.

L'ARNt portant la méthionine se rattache au codon d'initiation AUG qui se trouve au site P de fixation.

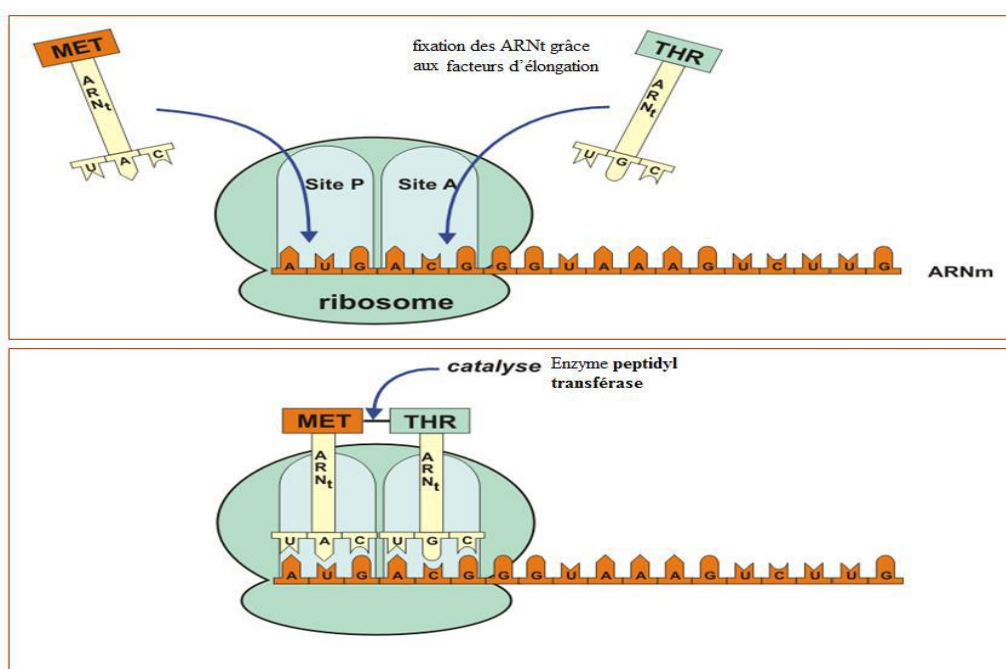
La grosse sous unité peut alors se fixer elle aussi et rendre le ribosome actif.

3) Elongation :

Un nouvel ARNt, correspondant au codon suivant de l'ARNm se fixe dans le site A du ribosome grâce à un facteur d'élongation et la consommation d'une molécule de GTP. Une enzyme, peptidyl transférase, permet ensuite la formation d'une liaison peptidique entre les acides aminés des deux sites.

Le peptide est alors rattaché à l'ARNt du site A. L'ARNt du site P, qui ne possède plus d'acide aminé, se détache et libère la place.

Une phase de translocation fait passer l'ARNt restant du site A au site P. Ce déplacement entraîne aussi l'ARNm. On observe donc un déplacement d'un codon au niveau du ribosome. Une molécule de GTP est encore nécessaire pour permettre la translocation. Un nouvel ARNt peut alors s'accrocher, le cycle se poursuit jusqu'à l'apparition d'un codon STOP.



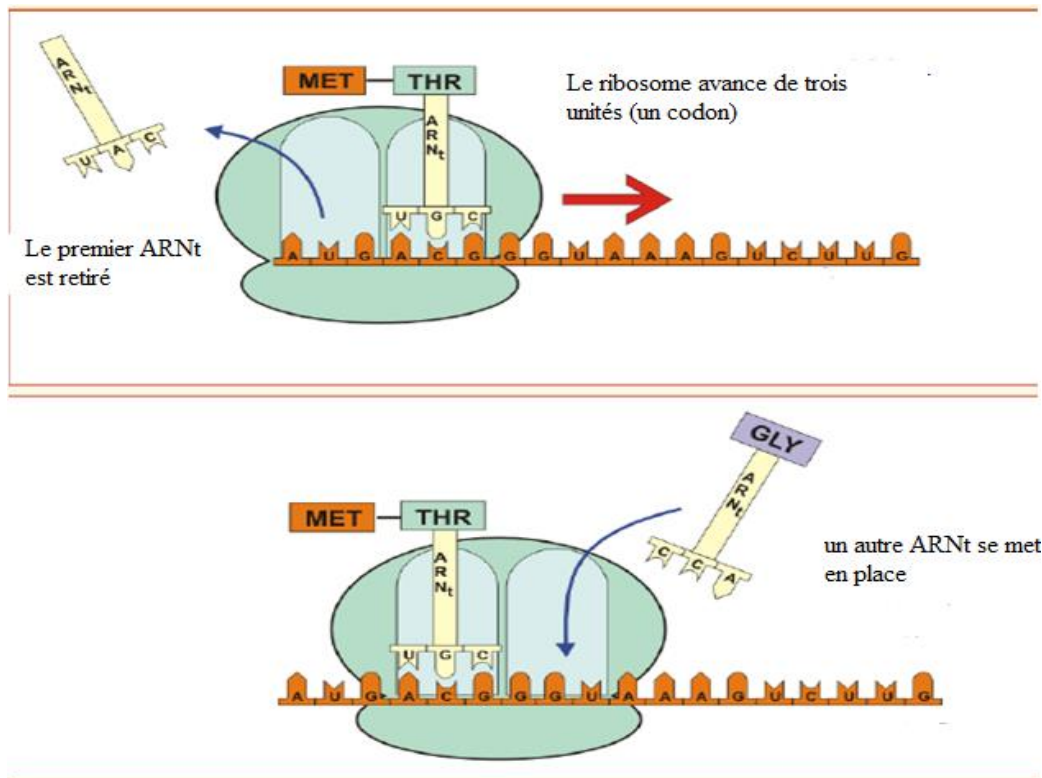


Figure 55 : Elongation

4) Terminaison :

Elle se déclenche par l'arrivée au site A du ribosome de l'un des 03 codons stop (UAA, UAG, UGA) qui met un terme à l'assemblage des acides aminés au niveau de la chaîne polypeptidique.

Lorsque le ribosome atteint un de ces codons stop, l'élongation s'arrête et la chaîne polypeptidique est libérée.

La terminaison s'effectue grâce à des facteurs de libération qui sont des protéines qui réagissent directement avec les codons stop. L'action du facteur de libération se traduit par la coupure de la liaison polypeptide-ARNt et la libération de la chaîne polypeptidique de l'ARNt, ainsi que la séparation des 02 sous unités ribosomiques.

5.3. Adressage des protéines synthétisées :

Les ribosomes libres ou attachés au réticulum ont la même structure ; cependant le type de protéines qu'ils synthétisent est différent.

- Généralement, les protéines synthétisées dans les polysomes libres du cytosol sont destinées à des fonctions intercellulaires, comme la formation de filaments cytoplasmiques.

- Tandis que les protéines synthétisées dans les polysomes du réticulum endoplasmique pénètrent dans les citernes, traversent l'appareil de Golgi et sont destinées aux sécrétions, aux lysosomes ou aux membranes plasmiques (celles du réticulum endoplasmique ou celles de l'appareil de Golgi).

Ces dernières portent un signal d'adressage nommé « peptide signal » leur permettant d'être synthétisées par les polysomes du RER. Un second signal leur servira à déterminer, de plus en plus précisément, la place de la protéine en cours d'acheminement vers son site définitif nommé « peptide de destination » comme par exemple : les signaux d'adressage aux lysosomes consistent en l'ajout du motif mannose-6-phosphate dans l'appareil de golgi ; le signal d'adressage et de rétention des protéines du RE consiste en la présence du motif KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) à l'extrémité C-terminale. Ces protéines sortent du RE et sont transportées vers l'AG pour y parfaire leur maturation. Dans l'appareil de golgi, des récepteurs membranaires qui se fixent aux protéines du RE une fois mures les ramènent à ce compartiment.

6. Le système Ubiquitine/protéasome : structure et fonction :

La dégradation intracellulaire des protéines est un processus fondamental qui a lieu dans tous les organismes, depuis les bactéries jusqu'aux êtres humains. Cette dégradation est nécessaire pour réguler les concentrations intracellulaires d'enzymes qui contrôlent toutes les réactions métaboliques, ainsi que le contenu général de toutes les autres protéines, en réponse aux modifications physiologiques. De manière générale, toutes les protéines intracellulaires sont dégradées et leurs demi-vies sont variables (de quelques minutes à plus de 60 h) selon les protéines considérées dans la cellule.

L'homéostasie tissulaire résulte d'un équilibre entre les processus cataboliques et anaboliques. Chez les eucaryotes, deux systèmes majeurs prennent en charge la dégradation et le recyclage des protéines et des organites :

- **Le système ubiquitine-protéasome** : qui dégrade dans le cytosol les protéines à courte demi-vie.
- **L'autophagie** : (se manger soi-même) qui est un processus de dégradation dans les **lysosomes** des protéines à longue demi-vie et des organites lésés.

6.1. Structure du système Ubiquitine/Protéasome :

Le système Ubiquitine-Protéasome (UbPr) est au cœur de la plupart des processus biologiques, comme le cycle cellulaire, l'apoptose, la différenciation musculaire ou encore la réponse immune, notamment du fait de son rôle central dans la dégradation contrôlée des protéines (cytosoliques et nucléaires) régulatrices de ces processus.

Dans des cellules en croissance, ce système joue un rôle essentiel dans la protéolyse intracellulaire, et occupe de ce fait une place majeure dans la production des peptides antigéniques présentés à la surface des cellules par le Complexe Majeur d'histocompatibilité de classe I.

Le système ubiquitine protéasome qui est un système protéolytique sélectif dans lequel la conjugaison de molécules d'ubiquitines sur le substrat permet de diriger la protéine ubiquitinée vers le protéasome pour dégradation. Le système ubiquitine protéasome représente environ 75 % de la protéolyse cellulaire.

6.1.1. L'Ubiquitine :

L'ubiquitine est une protéine de 76 acides aminés servant, elle-même, de marqueur de protéines à éliminer. Elle est ainsi appelée parce qu'elle est localisée dans tous les compartiments subcellulaires de toutes les cellules des organismes, elle est dite ubiquitaire.

L'ubiquitination désigne la fixation (covalente, ATP dépendante grâce à une cascade d'enzymes E1, E2, E3) spécifique et régulée de plusieurs ubiquitines sur une protéine cible (il faut quatre ubiquitines pour qu'une protéine soit dégradée).

Cette modification post-traductionnelle a pour principale fonction la reconnaissance puis la destruction de la protéine ainsi marquée, par le complexe protéolytique du protéasome.

6.1.2. Le protéasome 26S :

Les protéasomes sont des complexes protéiques que l'on trouve chez tous les eucaryotes et chez certaines bactéries. Chez les eucaryotes, Le protéasome 26S est une machinerie enzymatique de très haut poids moléculaire (2500 kDa) composée d'une soixantaine de protéines. Il s'agit d'une large structure cylindrique localisée à la fois dans le cytoplasme et dans le noyau et qui comporte plusieurs activités protéolytiques. Il comporte trois parties principales : le proteasome 20S qui forme le coeur et la sous unité catalytique du protéasome, et deux coiffes, le protéasome 19S, qui est considéré comme la sous unité régulatrice ; leur assemblage met en jeu de l'énergie via l'hydrolyse de l'ATP.

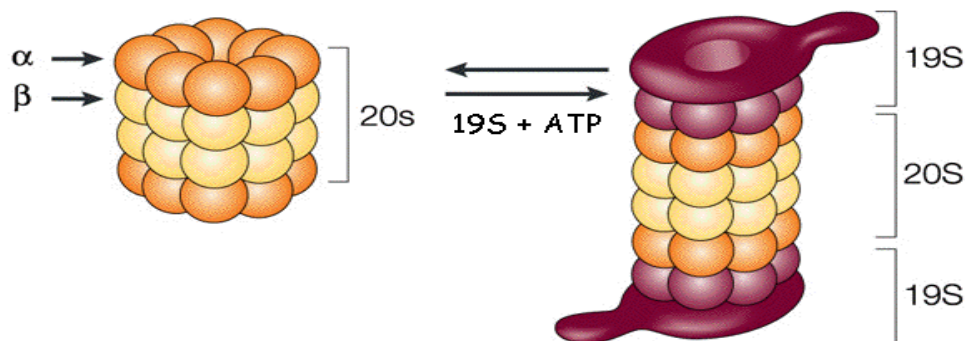


Figure 56 : Le protéasome 26S et ses composants.

a. Le protéasome 20S :

Le protéasome 20S est le cœur protéolytique du protéasome 26S.

Le protéasome 20S est composé de 28 sous-unités assemblées en 4 anneaux heptamériques et l'ensemble adopte une structure cylindrique formant une cavité de 5 nm de diamètre.

Les deux anneaux centraux sont constitués chacun de 7 sous-unités β différentes d'environ 35 kDa (de $\beta 1$ à $\beta 7$) qui renferment l'activité protéolytique. Deux anneaux α constitués de 7 sous-unités α différentes d'environ 25 kDa (de $\alpha 1$ à $\alpha 7$) sont situés de part et d'autre des anneaux β afin de contrôler l'accès à la cavité catalytique. En effet, l'accès à la chambre catalytique est conditionné par la formation d'un pore au sein des anneaux α dont l'ouverture est contrôlée par le protéasome 19S.

La chambre catalytique, formée par les deux anneaux β , comporte trois activités protéolytiques distinctes portées par des sous-unités β particulières :

- Une activité de type caspase (clivage après des résidus acides) via la sous-unité $\beta 1$,
- Une activité de type trypsine (clivage après des résidus basiques) via la sous-unité $\beta 2$,
- Une activité de type chymotrypsine (clivage après des résidus hydrophobes) via la sous-unité $\beta 5$.

Tout comme les sous-unités α , les quatre autres sous-unités β ne possèdent pas d'activité catalytique.

Chez les eucaryotes, les extrémités N-terminales des sous-unités α forment un réseau d'interactions entre elles et constituent ainsi une barrière physique qui obstrue l'entrée du canal et limite l'accès des protéines cytosoliques à l'intérieur de la chambre protéolytique, en imposant une conformation fermée au protéasome. Ainsi, les protéines de la cellule qui ne doivent pas être dégradées sont protégées d'une dégradation inopportune. L'accès des protéines à dégrader au site actif de ce complexe est donc sous le contrôle des sous-unités α qui ne permettent l'accès qu'aux polypeptides qui ont été préalablement dépliés.

b. Le protéasome 19S :

Le protéasome 19S, aussi appelé coiffe, est un complexe de 900 kDa composé d'au moins 19 sous-unités différentes. Il est constitué d'une base de 10 sous-unités, dont 6 sous-unités ont une activité ATPasique reliée directement à l'anneau α du protéasome 20S et d'un couvercle composé de 9 sous-unités non ATPasiques.

Le protéasome 19S peut être situé sur l'une ou sur les deux extrémités du protéasome 20S. Il est la partie régulatrice du protéasome et assure quatre fonctions principales dont certaines nécessitent de l'énergie.

- ✓ La reconnaissance et la fixation de la protéine poly-ubiquitinée qui doit être dégradée.
- ✓ L'élimination des molécules d'ubiquitine (qui sont ainsi recyclées).
- ✓ Le dépliement de la chaîne polypeptidique de la protéine qui doit être dégradée car le diamètre (1 nm) du "conduit d'entrée" au protéasome 20S et le diamètre de la cavité interne (5 nm) ne permettent pas au protéasome 20S d'encapsuler des protéines repliées : les 6 sous-unités ATPases du protéasome 19S catalysent le dépliement grâce à l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP.
- ✓ L'activation du protéasome : ces ATPases sont également responsables de l'ouverture de la "barrière" qui ferme l'entrée du protéasome 20S (ouverture du pore de l'anneau α) et de la translocation des protéines dépliées dans la cavité protéolytique.

6.2. Fonctionnement du système Ubiquitine/Protéasome :

Le système Ubiquitine/Protéasome fonctionne généralement en deux grandes étapes successives dans la dégradation des protéines et qui nécessitent toutes deux l'hydrolyse de l'ATP :

- Dans un premier temps, le substrat est marqué par addition covalente d'une chaîne de poly-ubiquitine, grâce à l'action d'une cascade enzymatique impliquant 3 types d'enzymes appelés E1, E2 et E3 (l'ubiquitination).
- Une fois ubiquitiné, le substrat va être dirigé et dégradé par le protéasome 26S.

6.2.1. L'ubiquitylation des protéines :

L'ubiquitination est une modification post-traductionnelle qui consiste à lier de façon covalente l'ubiquitine à son substrat. Cette modification débute par la formation d'une liaison iso-peptidique entre l'extrémité C-Terminale de l'ubiquitine et (généralement) un résidu lysine du substrat à ubiquitiner. L'ubiquitine possède sept résidus lysines (K6, K11, K27, K29, K33, K48 et K63) pouvant eux-mêmes être ubiquitinés, formant ainsi un enchaînement de chaînes d'ubiquitines liées entre elles par des liaisons isopeptidiques.

- L'enzyme d'activation de l'ubiquitine (E1), qui effectue l'activation ATP-dépendante de l'ubiquitine en formant une liaison thiol-ester à haute énergie entre la glycine C-terminale de l'ubiquitine (via le COOH porté par son carbone α) et le groupement thiol (SH) d'une cystéine de l'E1 ;
- L'enzyme de conjugaison de l'ubiquitine (E2), sur lequel l'ubiquitine activée est transférée au niveau du groupement thiol de sa cystéine active ;
- Enfin, l'ubiquitine-ligase (E3). Il favorise le transfert de l'ubiquitine de l'E2 vers le substrat par formation d'une liaison amide entre le groupement COOH de la glycine C-terminale de l'ubiquitine et le groupement ϵ -amine d'une lysine du substrat, formant ainsi une liaison isopeptidique.

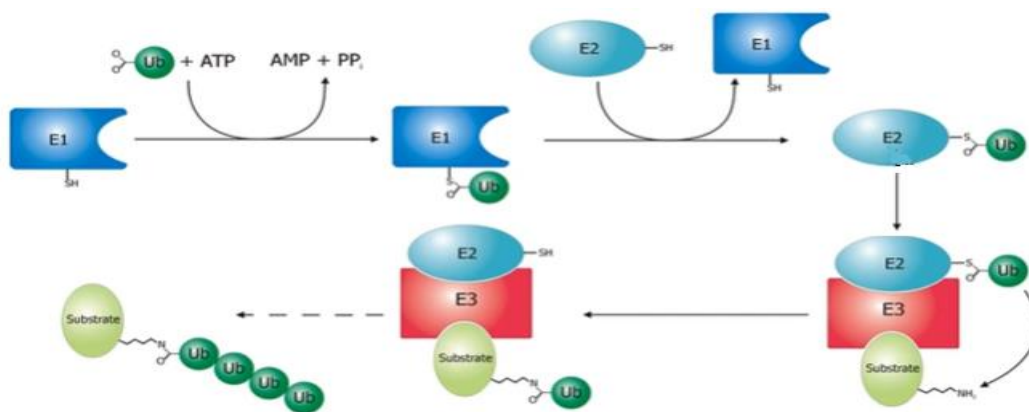


Figure 57 : Ubiquitination des protéines

6.2.2. Protéasome et dégradation des protéines :

La dégradation par le protéasome 26S des protéines ubiquitinylées peut intervenir dans le cytoplasme et le noyau et elle est dépendante de l'ATP.

Le protéasome libre, grâce au protéasome 20S sa sous-unité catalytique, des oligopeptides constitués de 6 à 8 acides aminés, rapidement dégradés en acides aminés libres par des protéases cytosoliques qui seront réutilisés, soit pour la synthèse de nouvelles protéines, soit pour la production d'énergie pour l'organisme. Certains peptides générés par le protéasome sont pris en charge par les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe I, dans le cadre de la présentation des antigènes.

Cette phase implique la désubiquitination de la protéine qui libère des molécules d'ubiquitine qui, du fait de leur stabilité, peuvent être réutilisées.

Il est maintenant clair que la protéolyse intracellulaire est une fonction clé pour les cellules. De nombreux dysfonctionnements de la machinerie de dégradation (système Ubiquitine-Protéasome) sont impliqués dans de nombreuses pathologies, comme le cancer, les maladies neurodégénératives, les maladies auto-immunes et certaines infections virales.

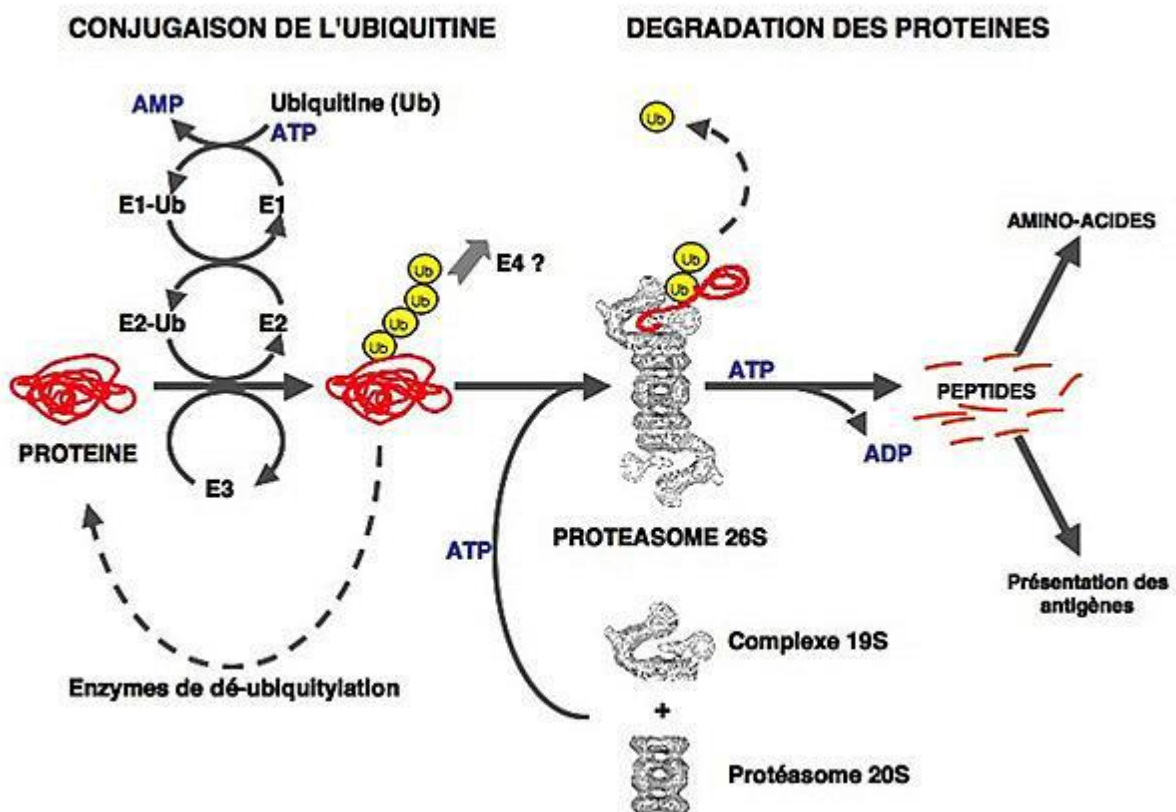


Figure 58 : Mécanisme de dégradation des protéines par le système Ubiquitine/protéasome

7. Le système lysosomal : structure et fonction :

Dans une cellule dont les constituants sont en constant renouvellement, le lysosome joue un rôle clé dans le recyclage des autres organites et des protéines cellulaires à vie longue.

Le lysosome, avec sa machinerie protéolytique, est essentiel au maintien de l'homéostasie cellulaire.

7.1. Caractéristiques structurales des lysosomes :

Le lysosome est un organite intracytoplasmique limité par une membrane plasmique possédant à l'intérieur un ensemble d'enzymes hydrolytiques.

Le diamètre des lysosomes varie entre 0,2 et 0,5 μm et ils sont présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies.

Il assure la dégradation et le recyclage de composants intra- ou extracellulaires :

- ✓ Dégradation de molécules exogènes (hormones, facteurs de croissance, lipoprotéines, virus, bactéries, etc.) = endocytose/ phagocytose.
- ✓ Dégradation de molécules endogènes (fragments de membranes, mitochondries, grains de sécrétion) = autophagie.

Dans leur forme la plus simple, les lysosomes apparaissent comme des vacuoles sphériques denses, mais leur forme et leur taille varient considérablement selon les matériaux qui ont été capturés puis détruits ; les lysosomes sont donc des organites de morphologie très variable. Ils renferment essentiellement de 50 à 60 hydrolases actives à pH acide (5,2 à 5,5).

Après dégradation, les métabolites élémentaires (issus des molécules) sortent dans le cytosol via des perméases. Ils vont être réutilisés par le métabolisme cellulaire (recyclage).

Les lysosomes vont donc permettre :

- ✓ La nutrition cellulaire.
- ✓ Le renouvellement cellulaire.
- ✓ La défense cellulaire.

7.1.1. La membrane lysosomale :

Les lysosomes sont isolés du reste de la cellule par une membrane simple de composition spécifique composée essentiellement de phospholipides.

Les protéines, quant à elles, présentent pour la majorité une glycosylation dirigée vers le lumen, les protégeant des hydrolases. Les glycoprotéines enzymatiques membranaires caractérisent les lysosomes.

Parmi elles on compte :

- Des pompes à protons (ATP dépendante) qui assurent le maintien du PH acide du lysosome.
- Des glycoprotéines structurales dont certaines sont utilisées comme marqueurs : LAMP (*Lysosomes associated membrane protein*) présentent sous deux isoformes (LAMP1 et LAMP2) au niveau des lysosomes matures, mais absentes des lysosomes primaires.
- Des perméases : permettant l'entrée dans la lumière lysosomale de molécules destinées à la dégradation (perméases d'importation) et perméases d'exportation : assurant la sortie des produits du catabolisme.
- Des phosphatases acides, uniquement présentent au niveau des lysosomes primaires. Attention, les lysosomes ne présentent pas de récepteurs au mannose-6-phosphate, présents uniquement au niveau des endosomes et des endolysosomes.

7.1.2. Enzymes du lysosome : les hydrolases :

Les lysosomes contiennent des enzymes digestives : hydrolases acides, pour digérer les macromolécules. Pour fonctionner correctement, les hydrolases acides requièrent l'environnement acide du lysosome (5,2 à 5,5). Pour cette raison, si des hydrolases acides devaient fuir vers le cytosol, leur danger potentiel pour la cellule serait réduit, car elles ne seraient pas à leur pH optimum. Toutes ces enzymes sont produites par le réticulum endoplasmique, et transportées et traitées par l'appareil de Golgi. Chaque hydrolase acide est ensuite ciblée vers un lysosome. Le lysosome lui-même est protégé de la digestion par ses structures tridimensionnelles internes uniques qui préviennent une action enzymatique.

Les hydrolases acides sont des enzymes capables d'hydrolyser l'ensemble des familles de molécules biologiques. On distingue ainsi : des nucléases (dégradent ADN, ARN) ; des protéases (dégradent protéines) ; des glycosidases (dégradent les glucides), des phosphatases (coupent les phosphates), des lipases (dégradent les lipides), des sulfatases (coupent les groupements sulfates), etc.

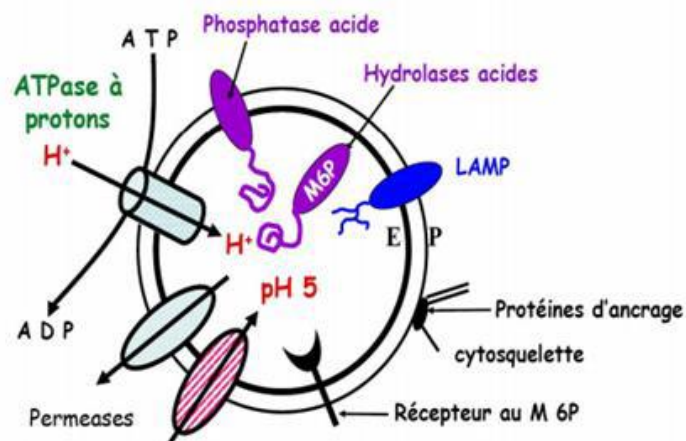


Figure 59 : Structure du lysosome

7.2. Formation des lysosomes :

On distingue deux voies dans la formation des lysosomes :

- La voie endosomale :** Elle correspond à la fusion du lysosome primaire, provenant du réseau trans golgien, avec un endosome tardif, permettant la formation de l'endolysosome qui formera le lysosome.
- La voie lysosomale :** Elle correspond à la fusion du lysosome primaire avec un lysosome déjà existant.

☒ **La voie permettant l'adressage des enzymes (hydrolases) au lysosome :** Les lysosomes proviennent de l'appareil de golgi par la formation des vésicules :

Étape 1 :

Les hydrolases (protéines synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique) sont transportées à travers l'appareil de Golgi où elles subissent toute une série de modifications post traductionnelles, conduisant à l'acquisition d'un marqueur mannose-6-phosphate (M6P).

Étape 2 :

Ce marqueur va permettre leur liaison aux récepteurs reconnaissant le M6P concentrés dans des régions du trans-Golgi qui vont bourgeonner pour donner une vésicule de transport tapissée de clathrine (lysosome primaire).

Étape 3 :

Les récepteurs de mannose 6 phosphate ont un double rôle : ils interagissent spécifiquement avec les enzymes lysosomiques du côté de la vésicule orienté vers la lumière et avec les adaptines (protéines permettant la formation de la fosse de clathrines) sur la face cytoplasmique de la vésicule.

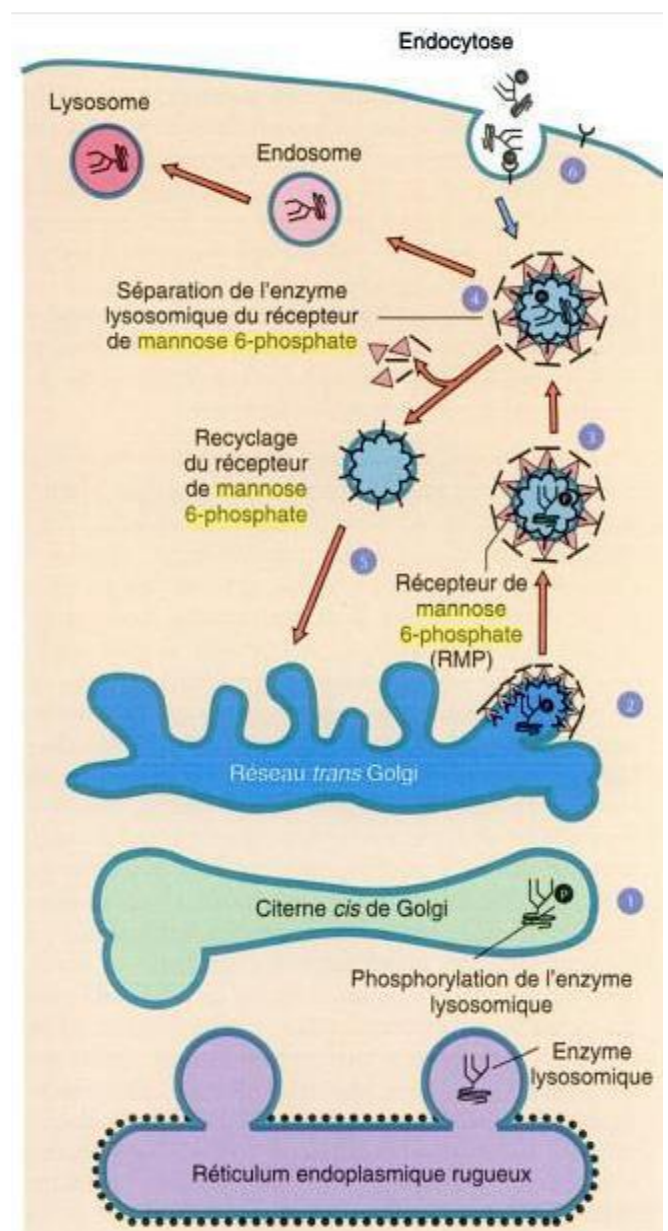


Figure 60 : Schéma montrant le chemin suivi par une enzyme lysosomale.

Étapes 4

Les hydrolases acides sont dissociées de leurs récepteurs (recyclés vers le trans-Golgi) (grâce au pH acide) avant la formation des lysosomes. Elles sont aussi partiellement adressées à la membrane plasmique.

Étape 5

Le recyclage des récepteurs de mannose 6 phosphate qui retournent au complexe de Golgi.

Étape 6

Les récepteurs de mannose 6 phosphate se trouvent aussi dans la membrane plasmique, où ils peuvent capturer les enzymes lysosomales qui sont secrétées dans l'espace extracellulaire et renvoyer les enzymes par un chemin qui les dirige vers un lysosome.

- Cette vésicule (lysosome primaire) va ensuite fusionner avec un endosome tardif pour donner un endolysosome ou avec un lysosome déjà existant.

On considère : les lysosomes primaires ceux n'ayant pas encore rencontré de matériel à digérer.

7.3. Fonction des lysosomes :

Pour faire pénétrer les composés à dégrader dans la lumière lysosomale, deux voies sont possibles, hétérophagiques et autophagiques.

7.3.1. L'hétérophagie :

L'hétérophagie correspond à la digestion de substances exogènes qui rentrent dans la cellule soit par endocytose soit par phagocytose :

- Les vésicules d'endocytose (endosomes) fusionnent avec les lysosomes primaires pour former les lysosomes matures (endolysosomes).
- Dans la phagocytose, des cellules spécialisées, par exemple les macrophages, engloutissent et détruisent de grosses particules, notamment des bactéries, des débris cellulaires et des cellules arrivées à la fin de leur vie, dont l'organisme doit se débarrasser. Ces grands débris sont engloutis dans des vacuoles de phagocytose (phagosomes), qui fusionnent ensuite avec un lysosome primaire, qui digèrera leur contenu. Les lysosomes ainsi formés (phagolysosomes) sont parfois de très grande taille, et hétérogènes, car leur aspect est fixé par la forme et la taille de la charge qu'ils sont en train de digérer.

7.3.2. L'autophagie :

- Les organites cellulaires non fonctionnels s'entourent d'une membrane provenant du réticulum endoplasmique. Ceci forme un autophagosome, qui, par fusion avec un lysosome primaire aboutirait à la formation d'un autophagolysosome. Les autophagolysosomes assurent le mécanisme d'autophagie cellulaire.
- Un autre type d'autophagie cellulaire permet la formation de cytophagosomes, membranes du réticulum endoplasmique encerclant toute une partie du cytoplasme formant ainsi des cytophagosomes, qui, par fusion avec un lysosome primaire aboutirait à la formation de cytophagolysosomes. Ce phénomène est très fréquent chez les espèces à métamorphose complète. Exemple de la transformation du têtard en grenouille, en effet l'activité lysosomale est très importante chez le têtard dont la queue disparaît à l'état adulte.
- On distingue également une autre forme particulière d'autophagie qui se traduit par la lyse des granules de sécrétion dans des crinolysosomes. La crinophagie s'observe dans les cellules sécrétrices, endocrines ou exocrines. Lorsque le besoin de l'organisme sont couverts, les grains de sécrétions ne sont plus excrétés, mais s'accumulent dans la cellule. Ils sont détruits par les lysosomes. Par exemple, à la fin de la période d'allaitement, les grains de sécrétions des cellules à prolactine (hormone responsable de la sécrétion lactée) sont détruits par crinophagie.

8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette :

8.1. Le noyau :

Le noyau, représentant environ 10% du volume cellulaire, est l'organite le plus important et peut être aisément observé au microscope optique. Le noyau, qui ne se trouve que dans les cellules eucaryotes, est présent dans toutes ces cellules, sauf les hématies, les kératinocytes des couches superficielles de l'épiderme et les thrombocytes. Le noyau est délimité par une double membrane, l'enveloppe nucléaire. Il renferme l'ADN sous forme de chromosomes ainsi qu'un nucléole, un nucléoplasme et une matrice nucléaire. C'est le siège de la réplication de l'ADN, la transcription de l'ADN en ARN et la maturation de l'ARNm. Durant la division cellulaire, le noyau disparaît provisoirement pour se reformer au sein des cellules filles.

8.1.1. Structure du noyau :

8.1.1.1. Le nucléoplasme : de composition analogue au hyaloplasme, c'est une phase liquide avec des protéines solubles et sels minéraux. Il contient également les nucléotides dissouts ainsi qu'une quantité non négligeable de Mg^{2+} et Ca^{2+} (essentiel à la stabilité de l'ADN).

8.1.1.2. Le nucléole : siège de la biosynthèse des ribosomes

8.1.1.3. La chromatine : qui contient la majorité du patrimoine génétique sous forme d'ADN lié à des protéines histone formant « l'euchromatine » relâchée active permettant la réplication la transcription de l'ADN en ARN ou des protéines non histone formant « l'hétérochromatine » condensée inactive.

8.1.1.4. ARN : on le trouve sous forme d'ARN ribosomal ; en quantité importante au niveau du nucléole ; associés à des protéines. Aussi sous forme ARN pré-messenger.

8.1.1.5. L'enveloppe nucléaire : Il s'agit d'une double couche phospholipidique contenant des protéines membranaires. La face interne est structurée par une protéine qui est la « Lamina ».

L'enveloppe Nucléaire proprement dite est composée par deux membranes, séparées par un espace intermembranaire d'importance variable, dont la composition et l'organisation ne diffèrent pas sensiblement de celles des autres membranes plasmiques. Ces deux membranes sont en continuité au niveau des « pores » :

- **Pore Nucléaire :** Le complexe des pores nucléaires est constitué de deux grands anneaux de 120nm de diamètre chacun, l'anneau cytosolique et l'anneau nucléoplasmique qui délimitent un orifice central ou transporteur central de 30nm de diamètre. C'est donc une structure qui bordent les ouvertures circulaires de l'enveloppe du noyau mettant en communication le cytoplasme et le nucléoplasme et permettant des échanges bidirectionnels :

- Cytoplasme → Noyau : importation des facteurs de transcription, des protéines structurales (ex : les lamines, les histones).
- Noyau → Cytoplasme : exportation des différents ARN (ARNm, ARNt, ARNr).

➤ **Lamina** : C'est un réseau fibrillaire généralement très mince, appliquée contre la face interne de l'enveloppe nucléaire interconnectant les complexes associés aux pores.

Cette lamina joue un rôle structural important dans la détermination de la forme et le maintien de la cohésion nucléaire. Cette structure particulière est formée par l'association d'au moins deux types de polypeptides fibreux « les lamines » très comparables à ceux constituant les filaments intermédiaires du cytoplasme. La lamina est constituée par l'association de 3 lamines A, B et C.

La phosphorylation de lamine B au cours de la division cellulaire déclenche la destruction de l'enveloppe nucléaire.

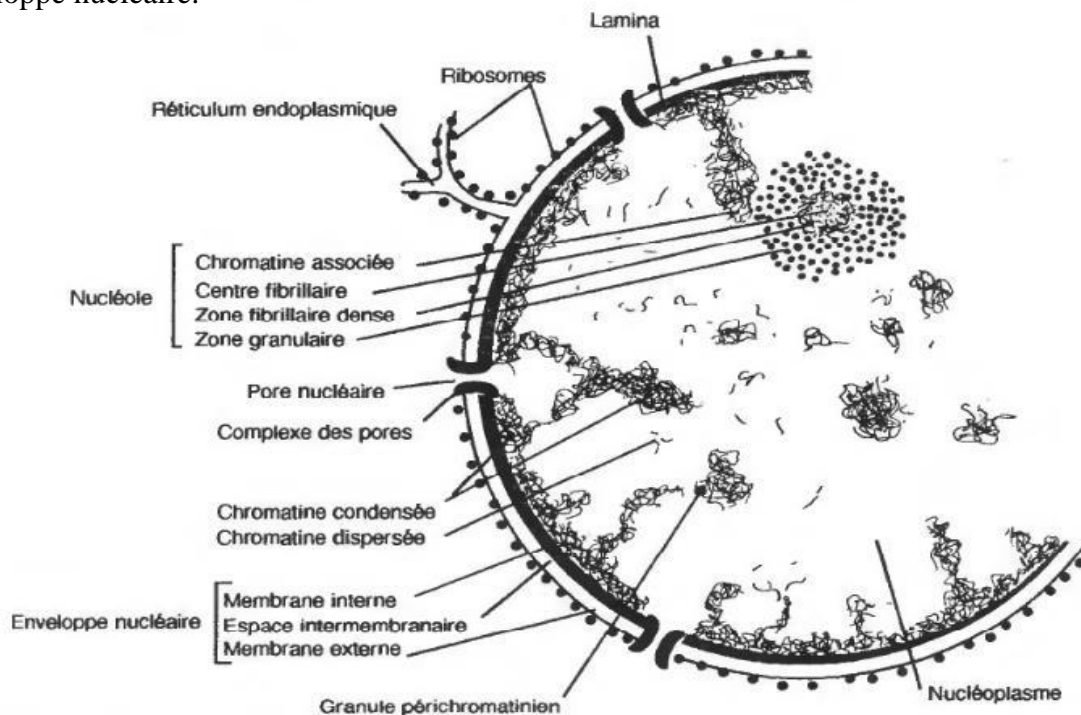


Figure 61 : Représentation schématique du noyau d'une cellule eucaryote

8.2. Le cytosquelette :

Le cytosquelette est un réseau complexe de filaments protéiques s'étendant dans l'ensemble du cytoplasme et responsable de fonctions diverses. Il relie physiquement et biochimiquement la cellule à son environnement. Outre son rôle de soutien, le cytosquelette joue un rôle essentiel dans tous les mouvements cellulaires et en particulier lors de la division cellulaire, pendant laquelle il mobilise et transporte les chromosomes. C'est un système dynamique et adaptable constitué de 3 types de filaments auxquels on attribue des fonctions distinctes :

- Les filaments intermédiaires procurent la force mécanique ;
- Les microtubules localisent les organelles et sont responsables du transport intracellulaire ;
- Les microfilaments d'actine (ou microfilaments) déterminent la forme cellulaire et permettent la locomotion.

8.3. Les liens entre le cytosquelette et le noyau :

Dans les cellules eucaryotes, une connexion stable entre le noyau et le cytosquelette est requise ; une caractéristique fondamentale pour la transmission des forces mécaniques requises pour une grande variété de processus physiologiques, tels que la migration cellulaire ou le positionnement du noyau.

Les protéines **Sun** et **Nesprine**, deux composants moléculaires majeurs, découverts récemment, sont impliqués dans le couplage noyau-cytosquelette, en formant un pont transmembranaire à travers la membrane nucléaire.

SUN1 et SUN2 sont enchâssées dans la membrane nucléaire interne et interagissent avec les lamines, les protéines du pore nucléaire, et l'intérieur du noyau, alors que leur domaine conservé C-terminal s'étend dans l'espace péri-nucléaire. Ici, ils interagissent avec le domaine conservé C-terminal KASH des nesprines, localisées au niveau de l'enveloppe nucléaire.

Pour l'instant le processus de translocation nucléaire demeure peu décrit mais dépend d'une structure périnucléaire spécifique, le « complexe LINC » (Linker of Nucleoskeleton and Cytoskeleton), liant le cytosquelette au noyau.

Le complexe « LINC » :

Au niveau de l'enveloppe nucléaire, le complexe LINC traverse les deux membranes nucléaires et crée un pont entre la lamine nucléaire et les trois éléments cytosquelettiques.

Le cytosquelette interagit avec les Nesprines ancrées dans la membrane nucléaire externe, celles-ci se lient grâce à leur domaine KASH aux protéines SUN qui traversent la membrane nucléaire interne pour rejoindre l'espace périnucléaire et faire le lien avec les lamines nucléaires.

Ce complexe permet d'attacher le noyau aux cytosquelettes, de réguler les filaments du cytosquelette au cours des phénomènes de migration, adhésion et de polarisation et pourrait potentiellement faciliter la mécanotransduction de signaux périphériques jusqu'au noyau.

8.3.1. Les Lamines :

Les lamines sont des protéines de la famille des filaments intermédiaires organisées en réseaux et localisées du côté nucléoplasmique. Elles sont les constituants majeurs de la lamina nucléaire qui organise le complexes LINC.

Les lamines déterminent la forme et la taille du noyau, le positionnement des pores nucléaires et agissent comme « absorbeurs de chocs » pour la protection du noyau lors de déformations.

8.3.2. Les Nesprines :

Les Nesprines (« nuclear envelope spectrin repeat proteins ») sont caractérisées par une région centrale de taille variable composée de domaines spectrine dont le nombre peut grandement varier et un ou plusieurs domaines KASH (Klarsicht/ANC-1/Syne homology) en C-terminal pour l'ancrage à l'enveloppe nucléaire. Au niveau N-terminal des Nesprines, existent des motifs d'interaction avec les différents cytosquelettes :

La Nesprine 1 et 2 relie le cytosquelette d'actine.

La Nesprine 3 se lie aux filaments intermédiaires via la plectine.

La Nesprine 4 interagit avec les microtubules via la kinésine

8.3.3. Les protéines SUN de la membrane interne :

Les protéines SUN sont situées dans l'espace périnucléaire et traversent la membrane interne pour interagir avec la lamina. Les protéines à domaine KASH (dont les Nesprines) se lient aux protéines SUN1 ou SUN2, ce qui permet leur ancrage à l'enveloppe nucléaire.

Il existe d'autres composants du complexe LINC qui peuvent se substituer aux protéines SUN. La Torsin1A, notamment, peut endosser le rôle des protéines SUN dans des conditions où elles sont absentes grâce à sa capacité de liaison aux protéines à domaine KASH.

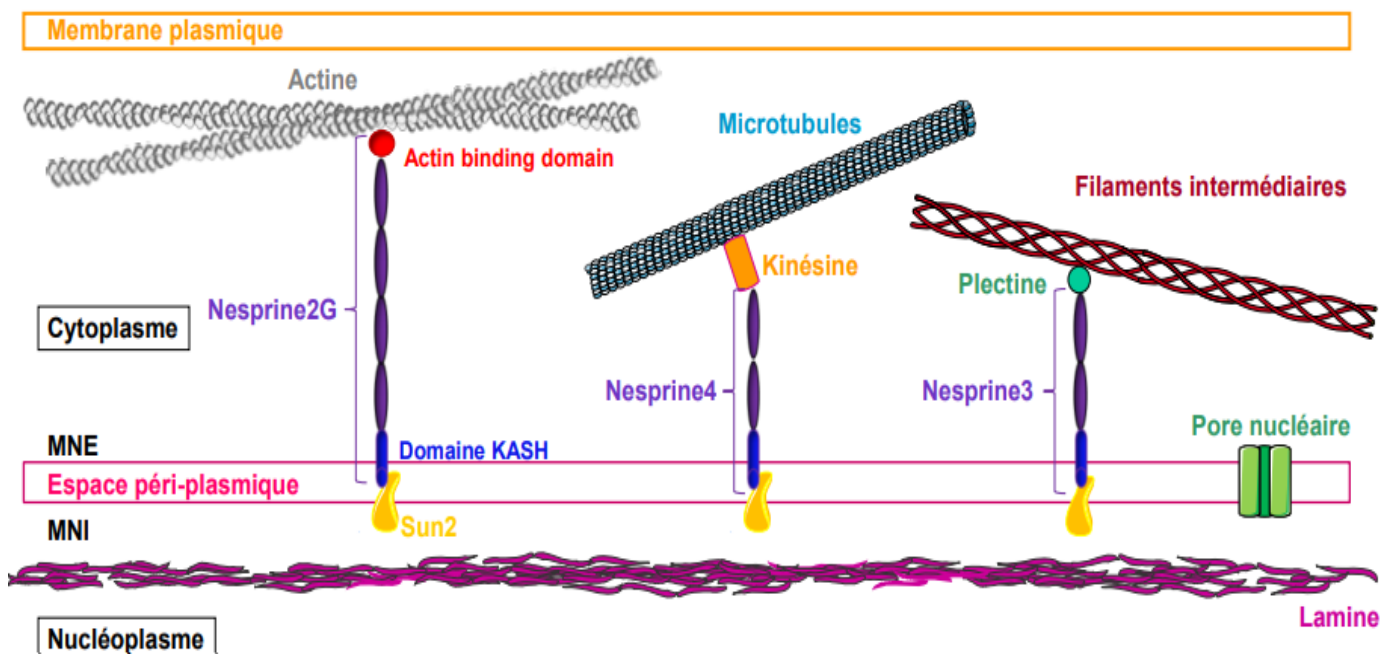


Figure 62 : Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire et des constituants du complexe LINC.

Chapitre 4. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique

Les oligosaccharides sont de petits polymères formés de quelques résidus de sucres (2 à 30 unités). Les oligosaccharides complexes sont rarement à l'état libre. Le plus souvent ils sont associés de façon covalente à des lipides ou à des protéines, constituant ainsi « des glycolipides » et « des glycoprotéines ». Un glycolipide ne présente qu'une seule chaîne oligosaccharidique, par contre une glycoprotéine présente plusieurs chaînes oligosaccharidiques variables.

La glycosylation est le phénomène qui consiste à greffer des groupements glucidiques (glycanes) sur les protéines et les lipides. C'est l'une des modifications les plus importantes dans la synthèse de protéines membranaires et sécrétées. La diversité des monosaccharides constituant les glycanes permet d'envisager une multitude d'assemblages possibles et se rendre compte de la complexité des structures glycaniques et de leur étude.

Dans la nature, on trouve plus de 100 molécules différentes de glucides, mais leur présence au niveau des glycolipides et glycoprotéines se limite à peu près à 12 sucres dont les plus importants sont : D-glucose, D-galactose, D-mannose, L-fucose, L-arabinose, D-xylose, N-acétyl-D-glucosamine, N-acétyl-D-galactosamine et acide N-acétyl-neuraminique (NANA ou acide sialique) souvent terminal qui donne leur caractère acide aux glycoprotéines.

A. Les glycoprotéines :

La synthèse de la séquence protéique uniquement ne suffit pas pour donner à celle-ci ses capacités fonctionnelles. De nombreuses modifications co- et post-traductionnelles sont nécessaires :

- Repliement et liaison à des cofacteurs.
- Modifications covalentes par glycosylation, phosphorylation...
- Liaison à d'autres sous-unités protéiques.

De nombreuses protéines, surtout chez les eucaryotes, sont modifiées par addition de glucides ce qui leur confère des propriétés particulières, ce processus est appelé glycosylation qui est une réaction chimique réalisée par l'intermédiaire d'enzymes, appelées « glycosyl-transférases », spécifiques au sucre qui est ajouté (glucose, mannose, fucose...). Elle concerne essentiellement les protéines membranaires ainsi que les protéines sécrétées.

Le processus de glycosylation (succession de réactions enzymatiques) débute dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et s'achève dans l'appareil de Golgi.

A.1. Types de liaison de glycosylation :

La glycosylation d'une protéine peut être de deux types : « **N-glycosylation** » et « **O-glycosylation** » en fonction de la nature de la liaison entre ses chaînes polypeptidiques et ses chaînes oligosaccharidiques

Il est néanmoins important de préciser que seule la N-glycosylation débute dans le réticulum endoplasmique (uniquement le RER en ce qui concerne les protéines) pour s'achever dans l'appareil de Golgi, car la O-glycosylation, est exclusivement réalisée par l'appareil de Golgi.

A.1.1. N-glycosylation :

Ces glycoprotéines renferment une liaison covalente entre un hydroxyl (-OH) d'une N-acétylglucosamine située à une extrémité de la chaîne glucidique, et l'amide (-CO-NH₂) de la chaîne latérale d'un résidu asparagine (asn) à la protéine. La liaison ainsi formée est une liaison dite N-glycosidique, d'où le nom de N-glycosylation.

- Le sucre qui contacte l'asparagine est le N-acétylglucosamine (GlcNAc) initialement fixé à un lipide membranaire (présent à la face interne) le dolichol phosphate.
- La N-glycosylation est essentiellement co-translationnelle : c'est, en effet, l'addition de glucides aux chaînes peptidiques en cours de leur biosynthèse dès leur entrée dans la lumière du réticulum endoplasmique. Il y'a transfert en bloc « d'un précurseur oligosaccharidique préformé ».
- Cette réaction est catalysée par une enzyme membranaire de type glycosyl-transférase.
- La N-glycosylation, sert à indiquer le repliement protéique de telle sorte que les protéines ne quittent le RE que lorsqu'elles sont correctement repliées.
- Les chaînes liées en N contiennent toutes une structure de base composés de 14 oses au total : 2 N-acétyl-glucosamine (GlcNAc), 9 mannose et 3 glucose.
- À ce stade de la glycosylation, toutes les glycoprotéines N-glycosylées ont la même structure du glycane précurseur. Ce dernier sera plus ou moins modifié lors de maturation des protéines dans le réticulum et le golgi.

L'addition de chaînes glucidiques ne s'effectue pas sur tous les résidus asparagine des protéines N-glycosylées. En effet, seules les asparagines appartenant aux deux séquences Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr (où X est un acide aminé quelconque excepté la proline) peuvent être glycosylées.

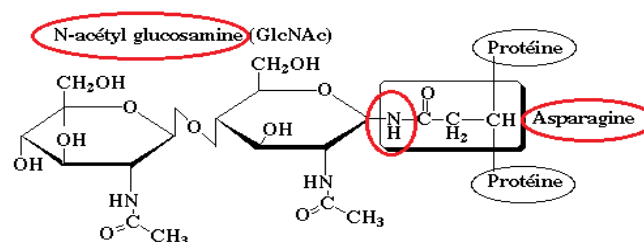


Figure 63 : Liaison N-glycosidique

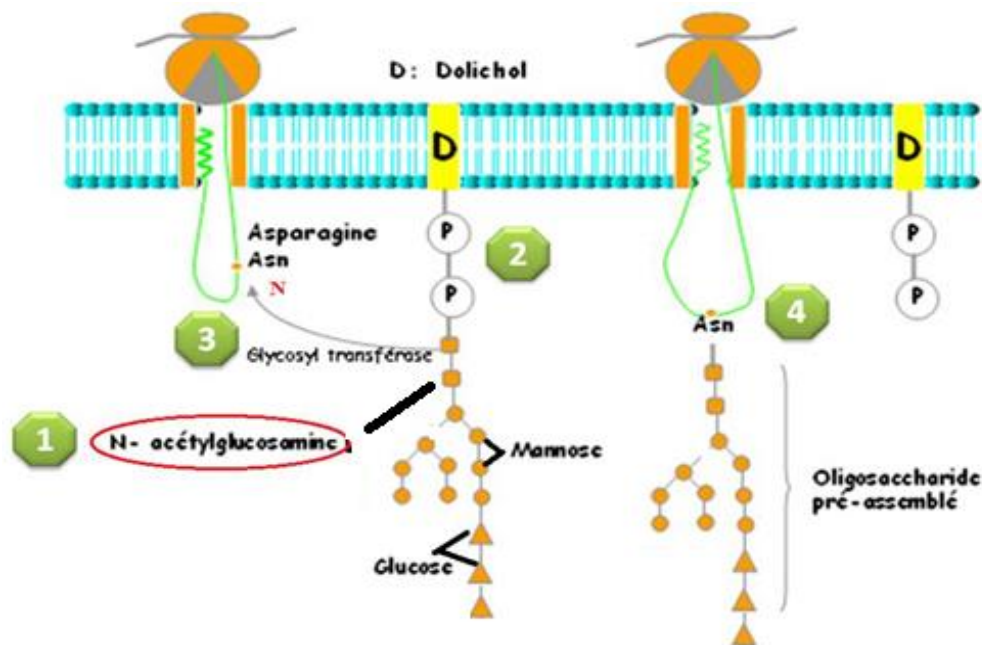


Figure 64 : N-Glycosylation des protéines.

Il existe deux grands types de maturation de l'oligosaccharide initial greffé sur les protéines :

- ❖ La première voie conduit à « un oligosaccharide riche en mannose » : tout en étant encore dans le RE, trois glucoses et un mannose sont rapidement éliminés de l'oligosaccharide de la plupart des glycoprotéines. Dans l'appareil de golgi, des sucres additionnels ne sont pas rajoutés. Ce type de maturation se déroule pour les protéines qui vont rejoindre les lysosomes.
- ❖ L'autre voie conduit à un oligosaccharide dit « complexe ». Ce type de maturation se déroule dans l'appareil de Golgi. Il y a maturation jusqu'au niveau du cœur penta-saccharidique (3Man-2GlcNAc), des chaînes complexes sont synthétisées par l'addition séquentielle de sucres individuels et le dernier ose greffé est un acide sialique. Ça concerne les protéines membranaires ou sécrétées.

A.1.2. O- glycosylation :

Ces glycoprotéines renferment une liaison O-glycosidique entre le résidu hydroxyle (OH) de la sérine, de la thréonine ou l'hydroxylysine (dans le collagène) et un sucre, d'où le nom de O-glycosylation.

- Le sucre accroché à la sérine ou la thréonine est N-acétylgalactosamine (GalNAc).
- Le sucre accroché à l'hydroxylysine est le galactose.
- Cette addition se déroule dans la lumière de l'appareil de Golgi, donc post-traductionnelle, durant la phase de maturation de ces glycoprotéines et utilise comme substrat donneur des glycosyl-nucléotides (d'origine cytosolique et transportés dans la lumière de l'appareil de Golgi par des protéines porteuses de la membrane).
- Cette réaction est également catalysée par une enzyme de type glycosyl-transférase.

- Ici, les résidus sont ajoutés un par un (s'il y en a plus d'un). Les sucres ajoutés sont sous forme "activée", c'est à dire liés à un nucléotide, et les glycosyl-transférases les ajoutent directement sur les acides aminés cibles.

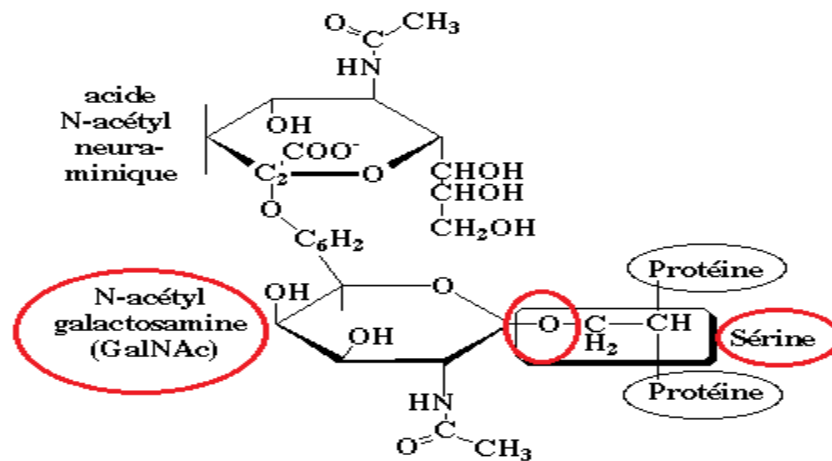


Figure 65 : O-Glycosylation des protéines.

A.2. Intérêts de la glycosylation :

- ✓ Un rôle de protection peut tout d'abord être évoqué ; les oligosaccharides courts de type N ou O ne sont pas flexibles (ces molécules possèdent souvent une charge électrostatique élevée, ainsi qu'une surface importante) et comme ils font saillie à la surface des protéines, ils permettent sans doute de diminuer l'accessibilité à d'autres macromolécules qui pourraient leur être « nuisibles », telles que des protéases (rôle de stabilisation structurale et de protection des glycoprotéines contre la protéolyse)
- ✓ La N-glycosylation, comme dans le cas de la O-glycosylation, peut affecter les propriétés physiques et chimiques des protéines, modifiant non seulement la masse moléculaire mais aussi la solubilité et la charge électrique. Elles peuvent ainsi, comme c'est le cas pour les protéines des matrices extracellulaires, former des gels hydratés plus ou moins lâches assurant une grande diversité de fonctions
- ✓ La partie glycosylée de la glycoprotéine joue également un rôle dans le contrôle de qualité du repliement des protéines (en réalisant des interactions parfois nécessaires au repliement de la protéine dans sa conformation active).
- ✓ Les glycoconjugués font aussi partie de la couche de haute densité moléculaire, le glycocalix, qui recouvre la surface des cellules épithéliales chez les eucaryotes. Cette zone à la protection de la cellule contre les chocs physiques et contre l'attaque de microorganismes.
- ✓ A la surface de la cellule, les glycoprotéines et glycolipides membranaires constituent des signaux de reconnaissance permettant la reconnaissance entre cellules et l'adhérence intercellulaire au sein des tissus : molécules de type cadhérines, CAM...

- ✓ Tous les mécanismes de reconnaissance du soi, de marquage des cellules chez les organismes supérieurs (groupes sanguins, phénomènes d'histocompatibilité...), mettent aussi en jeu des glycoprotéines et des glycolipides de surface.
- ✓ Activité biologique « interactions ligand-récepteur » et modulation de la fonction des protéines telles que les hormones, enzymes, facteurs de croissance, etc.
- ✓ Les motifs oligosaccharidiques des glycoprotéines sont d'importants sites d'adressage des protéines au compartiment cellulaire adéquat (exemple des protéines lysosomales).

A.3. Étude moléculaire de quelques glycoprotéines :

A.3.1. Les glycoprotéines sériques :

Les anticorps (Ac) ou immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines sériques spécialisées dans les réponses immunitaires de type humoral. Leur production résulte de la reconnaissance des antigènes (Ag) qui sont des macromolécules naturelles ou synthétiques étrangères à un organisme supérieur. Seule une partie de l'antigène appelée déterminant antigénique ou épitope est reconnue par l'anticorps.

On distingue cinq classes d'immunoglobulines chez les vertébrés : IgA, IgD, IgE, IgG et IgM.

Les IgG représentent 80% des anticorps sériques.

➤ Composition et structure des IgG :

Chaque molécule d'IgG est symétrique. Elle se présente sous la forme d'un Y formé de quatre chaînes polypeptidiques : 2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères reliées entre elles par des liaisons disulfures entre chaînes.

La structure primaire de l'IgG permet de distinguer la partie N-terminale qui correspond au site de fixation de l'antigène. À l'extrémité N-terminale, une séquence de 110 acides aminés constitue une région variable sur les quatre chaînes ; le reste des chaînes constitue les régions constantes. Les séquences glucidiques sont liées aux chaînes lourdes dans leur partie constante : les immunoglobulines G sont donc des glycoprotéines.

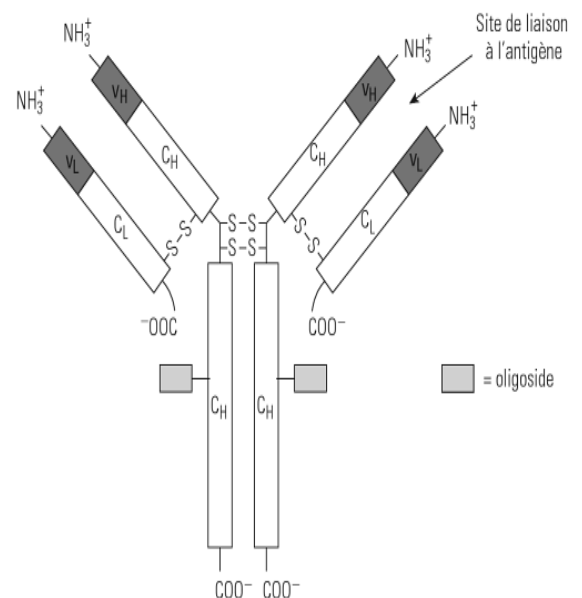


Figure 66 : Structure d'une immunoglobuline G (IgG)

A.3.2. Les glycoprotéines des groupes sanguins :

On trouve à la surface des globules rouges (ou érythrocytes) des molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immunitaire. Ce sont les antigènes membranaires érythrocytaires. Le système des groupes sanguins ABO est un système de reconnaissance des globules rouges étrangères à l'organisme grâce à la présence de structures antigéniques à la surface de ces cellules. D'ailleurs la découverte du système ABO en 1901 par Landsteiner a permis d'expliquer pourquoi certaines transfusions sanguines étaient couronnées de succès alors que d'autres se terminaient en tragiques accidents (hémolyse des érythrocytes transfusés).

Les antigènes ABO sont constitués de glycanes liés à des protéines (donc glycoprotéines) ou à des lipides membranaires (glycolipides). Dans les glycoprotéines la liaison est de type O-glycosidique.

Trois conformations possibles d'un oligosaccharide greffé sur une protéine membranaire des globules rouges donnent naissance à trois antigènes : l'antigène O (ou H), l'antigène A et l'antigène B.

En effet, la spécificité des antigènes membranaires des globules rouges, ou hématies, dépend de la nature des oligosaccharides constitutifs :

- N-acétylgalactosamine spécifique des antigènes du groupe A.
- Galactose spécifiques des antigènes du groupe B.

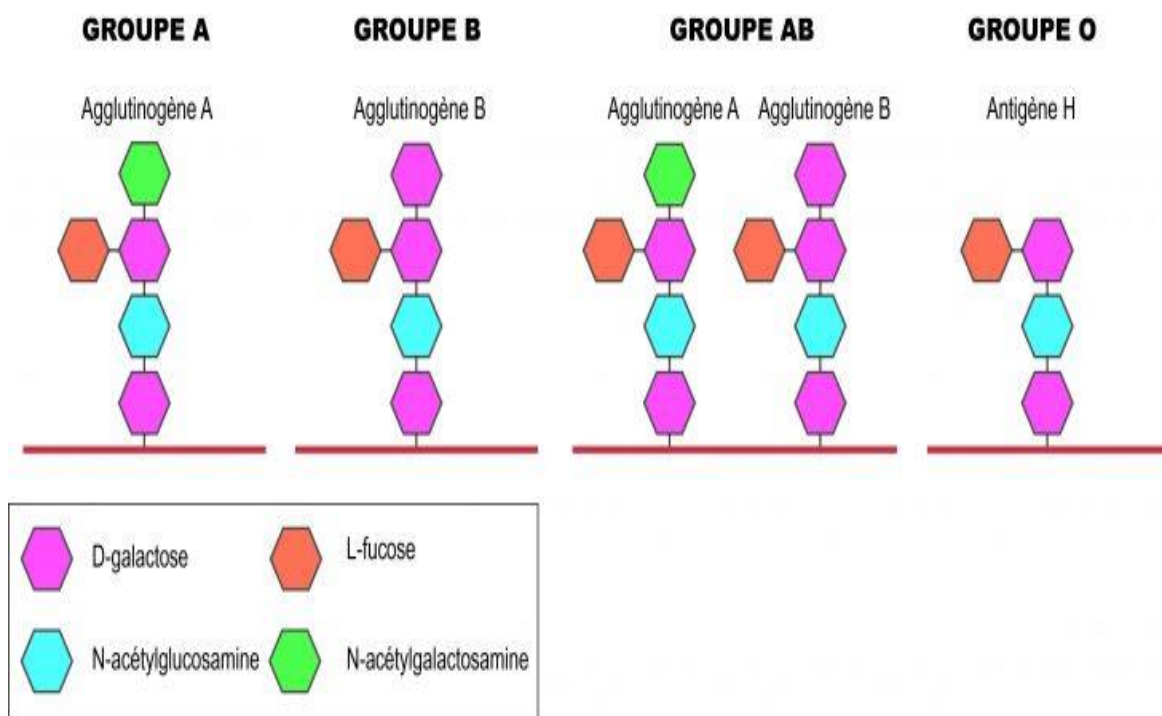


Figure 67 : Les antigènes des groupes sanguins humains ABO

A.3.3. Les glycoprotéines humaines diverses (les lectines) :

Les lectines sont des protéines capables de reconnaître et de fixer spécifiquement, de manière réversible, des molécules oligosaccharidiques. Les lectines sont généralement classées en fonction de leur origine animale ou végétale et en fonction des structures saccharidiques qu'elles reconnaissent.

Les lectines des mammifères sont regroupées en quatre groupes : les galectines, les lectines de type C, de type P et de type I. Les groupes sont définis par homologie de séquence et par homologie structurale des sites de reconnaissance.

- a- Les Galectines se définissent comme les lectines ayant la capacité de fixer les résidus β -Galactose et les structures lactosaminiques. Elles sont généralement solubles et possèdent un site de reconnaissance (Carbohydrate Recognition Domain ou CRD) globulaire.
- b- Les lectines de type C regroupent des molécules solubles et transmembranaires reconnaissant divers motifs sucrés. L'interaction de ces lectines avec leur ligand sucré nécessite la plupart du temps du calcium, d'où leur dénomination. Cette famille comprend par exemple les sélectines.
- c- Les lectines de type P sont des récepteurs membranaires reconnaissant les motifs Mannose-6-phosphate (Man-6-P). Elles sont impliquées dans le trafic des enzymes lysosomiales.
- d- Les lectines de type I appartiennent à la super-famille des immunoglobulines. Leur ligand présente presque toujours un résidu d'acide sialique aux extrémités, que ce soit sur des glycoconjugués sécrétés ou membranaires.

Les selectines : Parmi les molécules d'adhérence transmembranaires on trouve les sélectines, des glycoprotéines sous forme de monomère possédant une extrémité N-terminale extracellulaire. Les sélectines apparaissent à la surface des cellules impliquées dans l'inflammation.

Les selectines reconnaissent et se lient, de façon calcium-dépendante, à des motifs particuliers de sucres portés par les chaînes oligosaccharides des glycoprotéines et des glycolipides présents à la surface des cellules adjacentes. Il en existe trois types :

- **L-sélectine**, exprimée de manière constitutive par les leucocytes et de la plupart des lymphocytes. Elles interviennent dans la migration et l'adhérence des lymphocytes aux ganglions lymphatiques, mécanisme qui intervient dans la reconnaissance du soi et du non-soi.
- **P-sélectine**, exprimée par les plaquettes sanguines et les cellules endothéliales localement activées. Interviennent dans la formation du thrombus plaquettaire grâce à sa capacité à former un pont entre la matrice extracellulaire sous endothéliale et les récepteurs plaquettaires (thrombus plaquettaire) (cicatrisation).
- **E-sélectine**, exprimée par les cellules endothéliales activées. Les sélectines E jouent un rôle dans l'inflammation en créant des interactions faibles et transitoires entre les cellules endothéliales et des oligosaccharides spécifiques de la surface des leucocytes, il en résulte une liaison

leucocyte/cellule endothéliale relativement lâche ne faisant que ralentir les leucocytes le long de l'endothélium qui sera suivie par la migration des leucocytes entre deux cellules endothéliales : c'est la diapédèse.

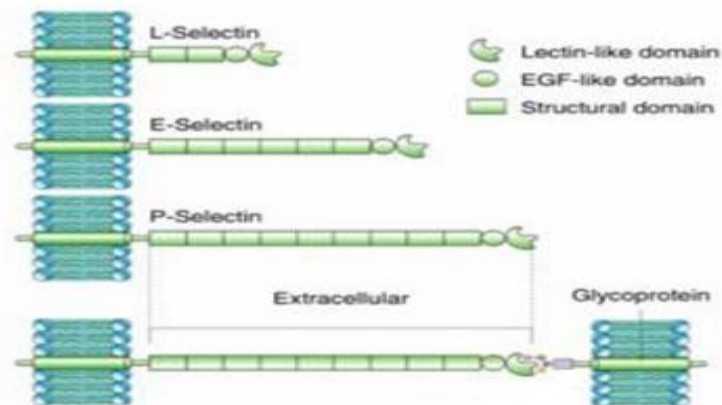


Figure 68 : Structure des trois classes de sélectines (L, E, P)

B. Les glycolipides :

La face extracellulaire d'une membrane plasmique est en général glycosylée par les portions carbohydratées des glycolipides et par des glycoprotéines transmembranaires. Ainsi, la surface de la cellule est recouverte par un manteau d'hydrates de carbone appelé « glycocalyx ».

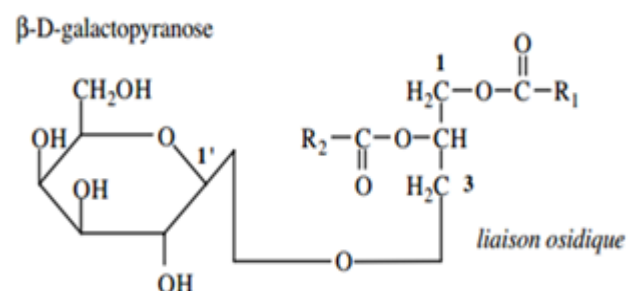
Les glycolipides résultent de la liaison d'un simple hexose ou d'un oligosaccharide à une fonction hydroxyle appartenant soit au glycérol d'un diglycéride « glycéroglycolipide » soit à la sphingosine d'une céramide « les glycosphingolipides ».

B.1. Les Glycéroglycolipides :

Les alcools des carbones C1 et C2 du glycérol sont estérifiés par des acides gras et l'alcool du carbone C3 à la différence des glycérophospholipides n'est pas estérifié, mais il est lié à un ose par une liaison glycosidique (avec le carbone anomérique de l'ose).

Très rares dans le monde animal, ils constituent par contre la moitié des lipides des thylacoïdes, sacs fermés aplatis, formés à partir de la membrane interne des chloroplastes de végétaux verts, ce sont les 1, 2-diacyl-3-galactosyl-sn-glycérol. Avec les

dérivés digalactosyl et un dérivé 6-désoxyglucose sulfoné, **Figure 69 : Structure glycéroglycolipide** ils forment presque la totalité des lipides de ces membranes, au point qu'on les trouve souvent sous la dénomination des lipides du chloroplaste. Certaines bactéries contiennent divers 1, 2-diacyl-diosyl-glycérols.



B.2. Les glycosphingolipides :

Les sphingolipides peuvent être glycosylés en C1 de la sphingosine pour donner différents types de glycosphingolipides. La partie hydrophobe du glycosphingolipide, la céramide, est enchâssée dans la membrane externe et la partie hydrophile, le glycane est exposé à l'extérieur de la membrane.

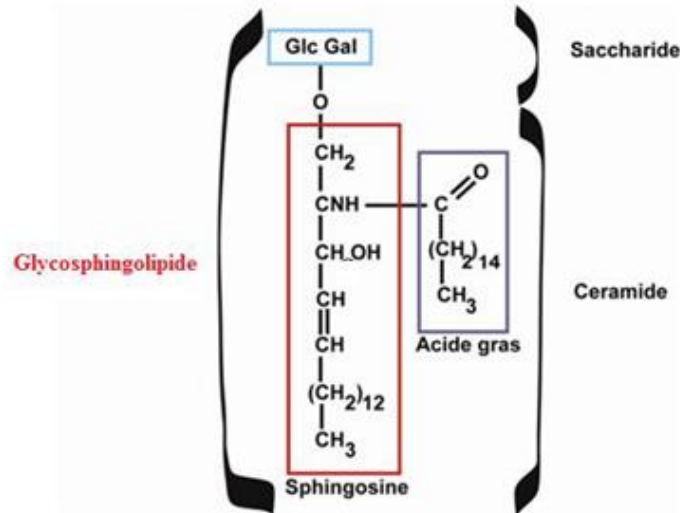


Figure 70 : Motif minimal décrivant un glycosphingolipide

Les glycosphingolipides représentent l'un des trois types principaux de lipides associés à la membrane cellulaire, les deux autres étant les phospholipides (phosphosphingolipides et glycérophospholipides) et le cholestérol. Ils sont présents dans les tissus musculaires et les membranes des cellules nerveuses des animaux.

- ❖ Si la molécule ne contient qu'un unique ose, glucose ou galactose, lié par une liaison β -osidique à l'hydroxyle libre du céramide, c'est un « **cérébroside** ». Ces glycosphingolipides sont appelés aussi glycolipides neutres, ils ne sont donc pas chargés. Ils sont fréquents dans la rate, les globules rouges, les tissus nerveux, le foie et le rein).

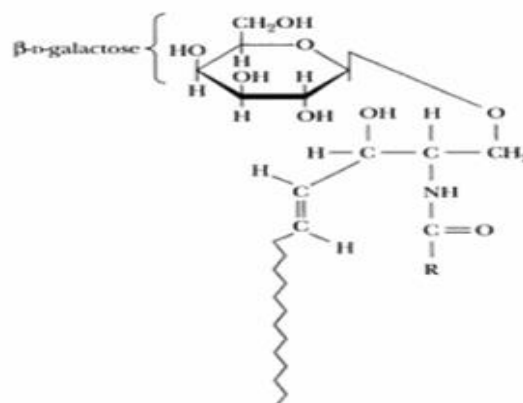


Figure 71 : Formule développée d'un cérébroside.

- ❖ Les « **gangliosides** » sont des glycosphingolipides plus complexes qui contiennent deux ou plus de résidus osidiques, dont l'un au moins est estérifié par de l'acide sialique (acide N-acetyl neuraminique). À pH neutre ces glycosphingolipides ont une charge nette négative. Ce sont des glycosphingolipides acides. Les gangliosides sont surtout abondants dans la matière grise du cerveau où ils représentent 6% des lipides totaux. Particulièrement abondants dans les terminaisons nerveuses, les gangliosides ont été impliqués dans la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses. Ils semblent également présents dans les sites récepteurs de l'acétylcholine et d'autres neurotransmetteurs.

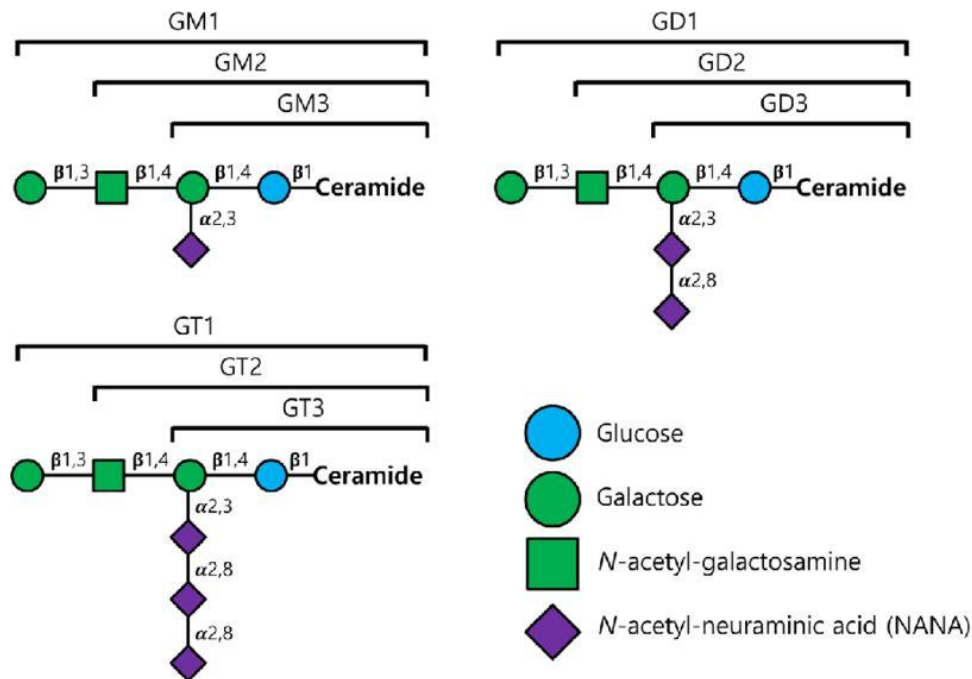


Figure 72 : Structure de quelques gangliosides importants

Chapitre 5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire

Les cellules communiquent entre elles et avec le milieu environnant, ce mécanisme est appelé signalisation cellulaire ou communication cellulaire, afin de contrôler leur métabolisme et leurs besoins. En effet, la cellule est en permanence soumise à de très nombreuses informations, stimuli. Ces informations sont transmises sous forme de signaux qui sont la plupart du temps des molécules chimiques. Ces signaux témoignent d'une modification de l'environnement et vont permettre à la cellule de s'adapter en modifiant elle-même son propre comportement en s'engageant par exemple vers la prolifération, la différenciation, la mort cellulaire...

5.1. Récepteurs et ligands :

La signalisation requiert une molécule de signalisation, appelée ligand, et une molécule sur laquelle le ligand se fixe, appelée protéine réceptrice. Lorsqu'un ligand entre en contact avec un récepteur protéique de forme complémentaire, les deux se lient en un complexe. La liaison entraîne un changement de conformation de la protéine réceptrice qui, à son tour, induit une réponse dans la cellule via une voie de transduction de signal. Il existe en effet des systèmes de transduction des signaux qui modifient leur nature de sorte que leur sens biologique soit "compris" à l'intérieur de la cellule.

Un grand nombre d'hormones (notamment les hormones peptidiques) et la plupart des neurotransmetteurs ne traversent pas la membrane cellulaire. Le message porté par ces molécules de signalisation doit être reçu et interprété par des structures protéiques particulières « les récepteurs membranaires ».

5.1.1. La molécule de signalisation :

5.1.1.1. Nature des molécules de signalisation :

La molécule informative est qualifiée de premier messenger lorsqu'elle est reconnue par un récepteur situé à la surface ou à l'intérieur de la cellule et que cette interaction induit un « signal intracellulaire » de la part de la cellule porteuse du récepteur. Les cellules des organismes pluricellulaires utilisent diverses molécules comme signaux, qui sont de différentes natures chimiques et dont l'appellation diffère en conséquence :

- **Agonistes** : ils sont de nature « lipidique » (dérivés stéroïdiens, acides gras et leurs dérivés, etc....) et les composés de structure très simple (oxygène, oxyde nitrique) et sont capables de diffuser à travers les membranes et d'atteindre directement leurs cibles, dans le cytoplasme (récepteurs cytoplasmiques) ou dans le noyau (récepteurs nucléaires). Exemple : hormones stéroïdiennes, vitamine D, acide rétinoïque, thyroxine..

- **Ligands** : de nature « hydrophile » (acides aminés et leurs dérivés, peptides, protéines) ne pouvant pas entrer dans les cellules, faute de pouvoir traverser les membranes ; il existe donc nécessairement un récepteur membranaire apte à recevoir le message, à le comprendre, et à transmettre l'information au-delà. Exemple : hormones et neurotransmetteurs.

5.1.1.2. La production des premiers messagers :

Toutes les cellules sont engagées dans la production de messagers appelés « molécules de signalisation » qui sont des substances chimiques d'origine cellulaire, capables de jouer le rôle de messagers en mettant en communication deux cellules plus ou moins distantes l'une de l'autre :

- *Communication endocrine* : qui permet de relier par des signaux chimiques, les cellules situées à distance les unes des autres. Les cellules émettrices (très spécialisées et regroupées en glandes) émettent des signaux chimiques par les molécules de signalisation (hormones) ; ces dernières atteignent par la circulation sanguine les cellules cibles.
- *Communication paracrine* : Le plus souvent, la cellule sécrète ses messagers qui agissent dans l'environnement proche, ce qui rend inutile l'utilisation de la circulation sanguine pour amener ces messagers à distance de leur lieu d'origine (ex : la sécrétion de l'histamine par les globules blancs qui agissent sur les cellules endothéliales avoisinantes ; aussi la sécrétion du monoxyde d'azote NO par les cellules endothéliales qui agit directement sur les cellules du muscle lisse vasculaire engendrant la relaxation musculaire)
- *Communication synaptique (ou neurocrine)* : Semblable à la communication paracrine mais ne s'établit qu'entre deux cellules nerveuses (synapse neuro-neuronale) ou entre une cellule nerveuse et une cellule musculaire (synapse neuromusculaire). Elle fait intervenir des neurotransmetteurs.
- *Communication juxtacrine* : Ici, les messagers sont liés à la membrane ou sont des composants de la matrice extracellulaire.
- *Communication autocrine* : la cellule répond au signal qu'elle a elle-même sécrété. Exemple de médiateurs : les facteurs de croissance et les cytokines.

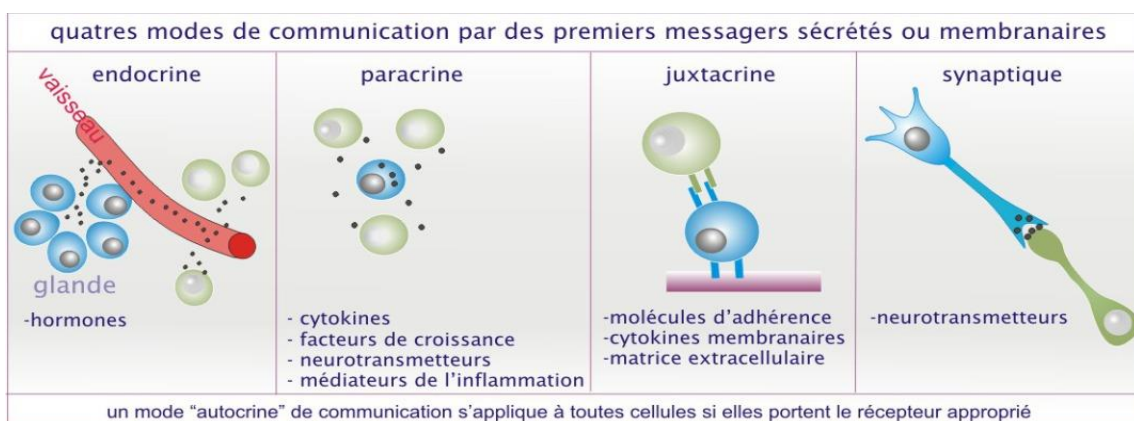


Figure 73 : Modes de communications des seconds messagers

5.1.2. Le récepteur :

Les récepteurs sont des protéines transmembranaires ayant la double capacité :

- De reconnaître spécifiquement une molécule de signalisation.
- D'induire des modifications (à la surface ou à l'intérieur) de la cellule suite à l'occupation du récepteur par le ligand ou l'agoniste.

Il peut être à l'intérieur de la cellule (récepteur intracellulaire) ou à sa surface (récepteur membranaire).

Il y a donc deux types fondamentaux : transduction par récepteurs intracellulaires et transduction par récepteurs membranaires.

5.1.2.1. Transduction par récepteurs intracellulaires :

Dans ce premier système de transduction, la molécule signal, appelée agoniste, fait partie de la famille des petites hormones lipophiles parmi lesquelles on trouve les hormones stéroïdes, la thyroxine, l'acide rétinoïque, et la vitamine D. Elle doit pénétrer la membrane cellulaire pour accéder à son récepteur spécifique, situé dans le cytosol ou dans le noyau. Le complexe « récepteur-agoniste » se fixe sur une région spécifique de l'ADN (région d'action) et stimule l'expression de gènes spécifiques (jouant le rôle de facteur de transcription).

Les effets des agonistes, agissant par récepteurs intracellulaires, ne sont pas immédiats. Lorsque le complexe récepteur-agoniste se fixe sur la région promotrice pour stimuler l'expression d'un gène, il faut du temps pour la transcription du gène et pour la traduction de l'ARNm formé. Souvent plusieurs heures ou jours sont requis pour obtenir les effets intracellulaires ou thérapeutiques d'une drogue. En outre les effets peuvent persister pendant des jours après l'interruption du médicament.

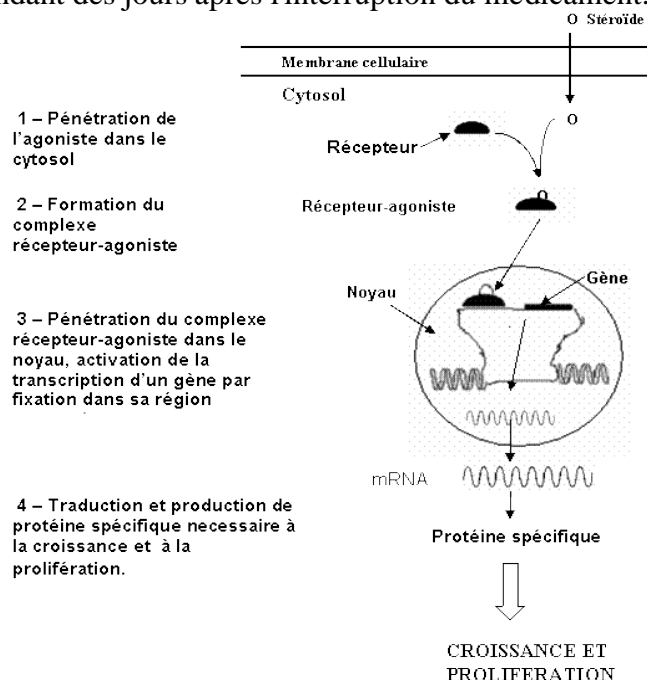


Figure 74 : Transduction par récepteur intracellulaire

5.1.2.2. Transduction par récepteurs membranaires :

Dans ce mécanisme, le signal, appelé ligand, est représenté par des hormones et des neurotransmetteurs. Il se fixe sur le récepteur spécifique situé dans la membrane en formant un complexe « récepteur-ligand ». A l'opposé du complexe récepteur-agoniste intracellulaire, il ne régule pas directement l'expression d'un gène. Le récepteur de surface répond à son ligand spécifique par un changement de conformation qui déclenche un signal transmembranaire. On distingue trois classes générales de récepteurs de surface, différant par leur mécanisme de transduction du signal : récepteurs de neurotransmetteurs, récepteurs catalytiques et récepteurs impliquant des molécules seconds messagers.

a. Récepteurs couplés aux canaux ioniques (récepteurs ionotropes) :

Quelques récepteurs membranaires de nerf et de muscle sont directement reliés aux canaux ioniques membranaires, formant ainsi un seul complexe multi-moléculaire (récepteurs -canaux ioniques).

La fixation d'un neurotransmetteur provoque une ouverture rapide et sélective des canaux ioniques. Ces derniers deviennent perméables aux cations ou anions spécifiques. Les ions peuvent entrer ou sortir en fonction du gradient existant à travers la membrane cellulaire. La neurotransmission peut ainsi être activée ou inhibée par modification du potentiel post synaptique de membrane des cellules.

Les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (canaux Na^+) du muscle et du nerf, le glutamate (canaux Na^+ et canaux Ca^{2+}), acide γ -aminobutyrique (récepteur GABA_A) (canaux Cl^-) et le récepteur-glycine (canaux Ca^{2+}) abondants dans le système nerveux central fonctionnent suivant ce mécanisme.

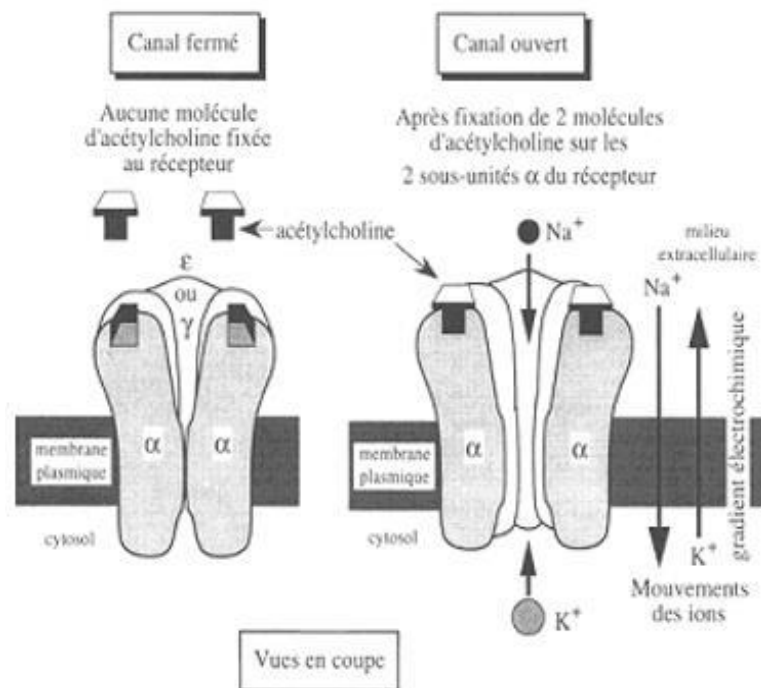


Figure 75 : Principe de fonctionnement d'un récepteur canal ionique (Ex : récepteur nicotinique à l'acétylcholine)

b. Récepteurs catalytiques :

Les récepteurs catalytiques transmembranaires ont une activité enzymatique comme partie intégrante de leur structure. Il existe 3 grands types de récepteurs couplés à une enzyme intrinsèque :

- Les récepteurs à activité guanylyl cyclase (synthèse de GMP cyclique).
- Les récepteurs à activité tyrosine kinase.
- Les récepteurs à activité tyrosine phosphatase c.

Ces récepteurs contiennent trois domaines :

- Un seul domaine transmembranaire.
- Un domaine extracellulaire N-terminal glycosylé qui fixe le ligand.
- Une extrémité cytoplasmique C-terminale qui porte l'activité enzymatique intrinsèque ou est directement associée à une enzyme.

C'est le cas des facteurs de croissance et de l'insuline.

➤ ***Le cas du facteur de croissance :***

Les facteurs de croissance sont des polypeptides transmettant des messages mitogènes, c'est-à-dire susceptibles de provoquer le déclenchement d'une mitose. Ils sont sécrétés par de nombreux types cellulaires non organisés en glandes et agissent le plus souvent à faible distance de leur origine.

Les fibroblastes, par exemple, possèdent, sur leur membrane plasmique, de nombreux récepteurs d'un des premiers facteurs de croissance identifiés, le « facteur de croissance dérivé des plaquettes » (PDGF, pour platelet-derived growth factor). Le récepteur de PDGF est une protéine kinase réceptrice « RTK » (récepteurs à activité tyrosine kinase) qui, lié au facteur de croissance, aboutit l'activation d'une protéine G monomérique Ras et déclenchera ainsi la cascade de MAP kinase (mitogen-activated protein kinase) stimulant la division cellulaire.

Quand un tissu est blessé, un caillot se forme et la libération de PDGF déclenche la division des cellules voisines, participant à la guérison de la blessure. Une quantité minimale de PDGF suffit pour stimuler la division cellulaire.

➤ ***Le cas d'insuline :***

L'insuline est une enzyme faisant partie du système de contrôle du taux de glucose dans le sang. Son rôle consiste à abaisser ce taux.

La fixation de l'insuline à son récepteur active l'activité tyrosine kinase intrinsèque, qui phosphoryle des tyrosines spécifiques au niveau des sous-unités β du récepteur (autophosphorylation) avant de phosphoryler les résidus tyrosine une protéine cible « la protéine de réponse à l'insuline » (IRS : insulin receptor substrate). Elle transmet le signal en se fixant sur d'autres protéines qui induisent l'activation de

la glycogène synthase, responsable de la conversion du glucose en glycogène et donc de la diminution du taux de glucose sanguin.

D'autres protéines activées par le récepteur de l'insuline inhibent la synthèse d'enzymes impliquées dans la synthèse du glucose et accroissent le nombre de protéines de transport du glucose dans la membrane plasmique.

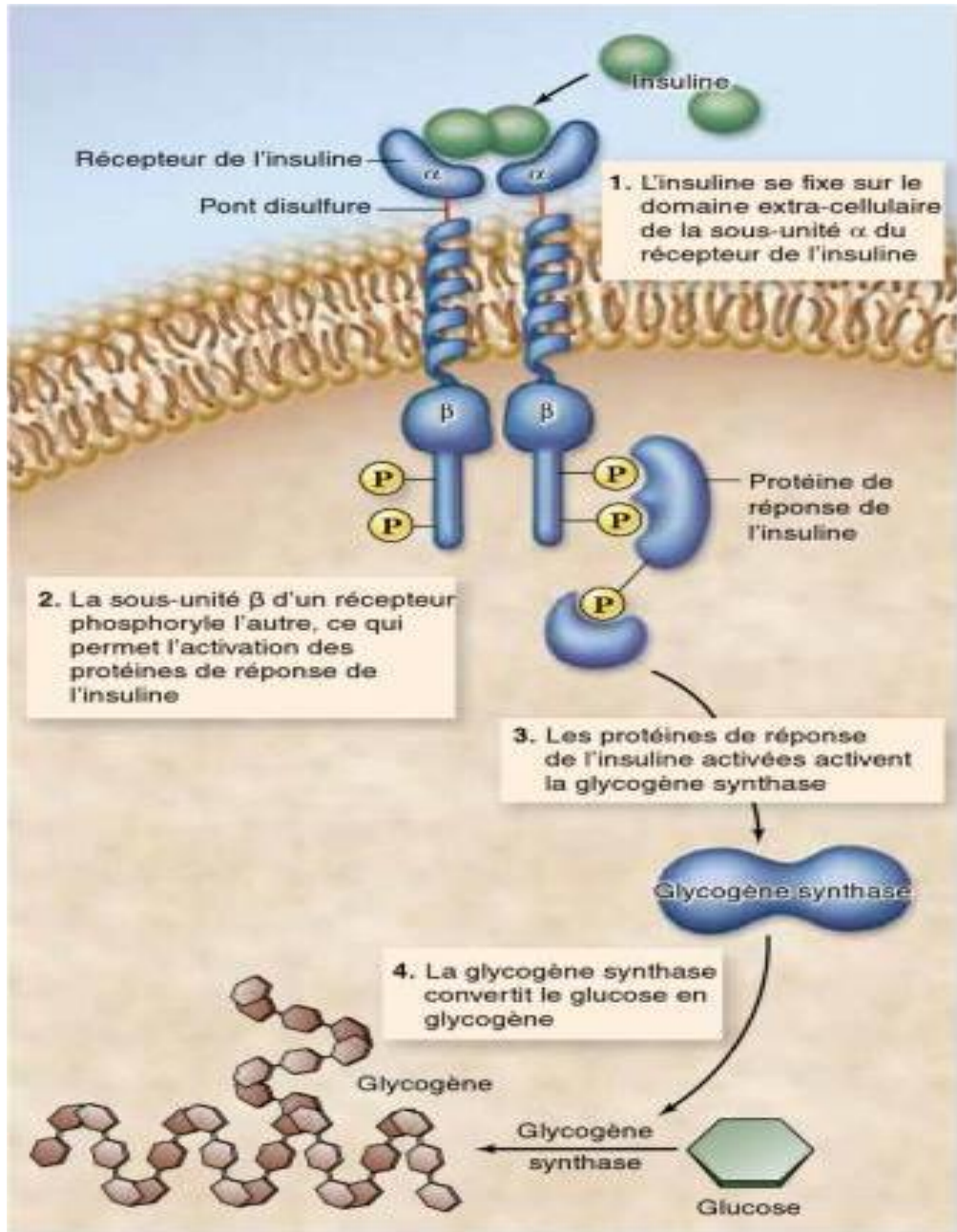


Figure 76 : La voie de signalisation de l'insuline

c. Récepteurs impliquant des molécules seconds messagers :

Beaucoup de récepteurs signalent la fixation d'une molécule (hormone ou neurotransmetteur) en initiant une série de réactions qui conduisent à des réponses intracellulaires spécifiques.

Les récepteurs à 7 domaines transmembranaires (7TM) sont des récepteurs couplés à une protéine G (RCPG), ils représentent la plus grande famille de protéines membranaires. Localisés à la surface des cellules dans la membrane plasmique, les RCPG se lient à une grande diversité de ligands tels que :

- La lumière avec des photons excitant la rhodopsine des bâtonnets sur la rétine.
- Des ions comme le Ca^{2+} .
- Les stimuli sensoriels via des molécules olfactives, gustatives ou des phéromones.
- Des petites molécules endogènes comme les acides aminés (acide γ -aminobutyrique= GABA_B), des amines (adrénaline, noradrénaline, dopamine, histamine, mélatonine, sérotonine), des nucléotides (ADP, ATP, UTP), des lipides (leucotriènes, prostaglandines, thromboxane A2).
- Des protéines comme les hormones (glucagon, TSH, LH, FSH) ou des protéases (thrombine).

Les RCPG ont une structure commune constituée de 7 domaines protéiques transmembranaires hydrophobes enchâssés dans la membrane avec une partie N terminale extracellulaire pour la fixation du ligand et une partie C terminale pour la fixation d'une protéine G trimérique.

La transduction met alors en jeu des systèmes intracellulaires, qui produisent des molécules dont certaines sont appelées « seconds messagers ». Ils sont ainsi nommés parce que leur formation fait partie de la cascade d'événements, se déroulant entre la fixation de l'hormone ou du neurotransmetteur et la réponse intracellulaire spécifique. Ces seconds messagers jouent le rôle d'amplificateur. Les systèmes les mieux connus sont ceux de « l'adénylate cyclase » et de « la phospholipase C ».

➤ *Le cas d'Adrénaline :*

Les hormones **glucagon** et **adrénaline** stimulent toutes deux la mobilisation du glucose dans les cellules du foie. La raison en est que les deux hormones agissent par la même voie de transduction de signal pour stimuler la dégradation et inhiber la synthèse du glycogène.

La fixation de l'une ou de l'autre de ces hormones à son récepteur (à 7DTM) active une protéine G stimulant l'adénylate cyclase. La production d'AMPc entraîne l'activation de PKA (protéine kinase A), qui à son tour active une autre protéine kinase, appelée phosphorylase kinase. Activée, cette dernière active la glycogène phosphorylase, qui détache le glucose 6-phosphate du glycogène.

Ici encore l'action de kinases multiples provoque une amplification permettant à un petit nombre de molécules de signalisation de libérer de grandes quantités de glucose.

Simultanément, la PKA phosphoryle la glycogène synthase, mais dans ce cas elle l'inhibe, empêchant donc la synthèse de glycogène.

La PKA phosphoryle par ailleurs d'autres protéines qui stimulent l'expression de gènes codant les enzymes nécessaires à la synthèse de glucose.

Cette convergence de voies de transduction de signaux provenant de divers récepteurs conduit au même résultat, la mobilisation de glucose.

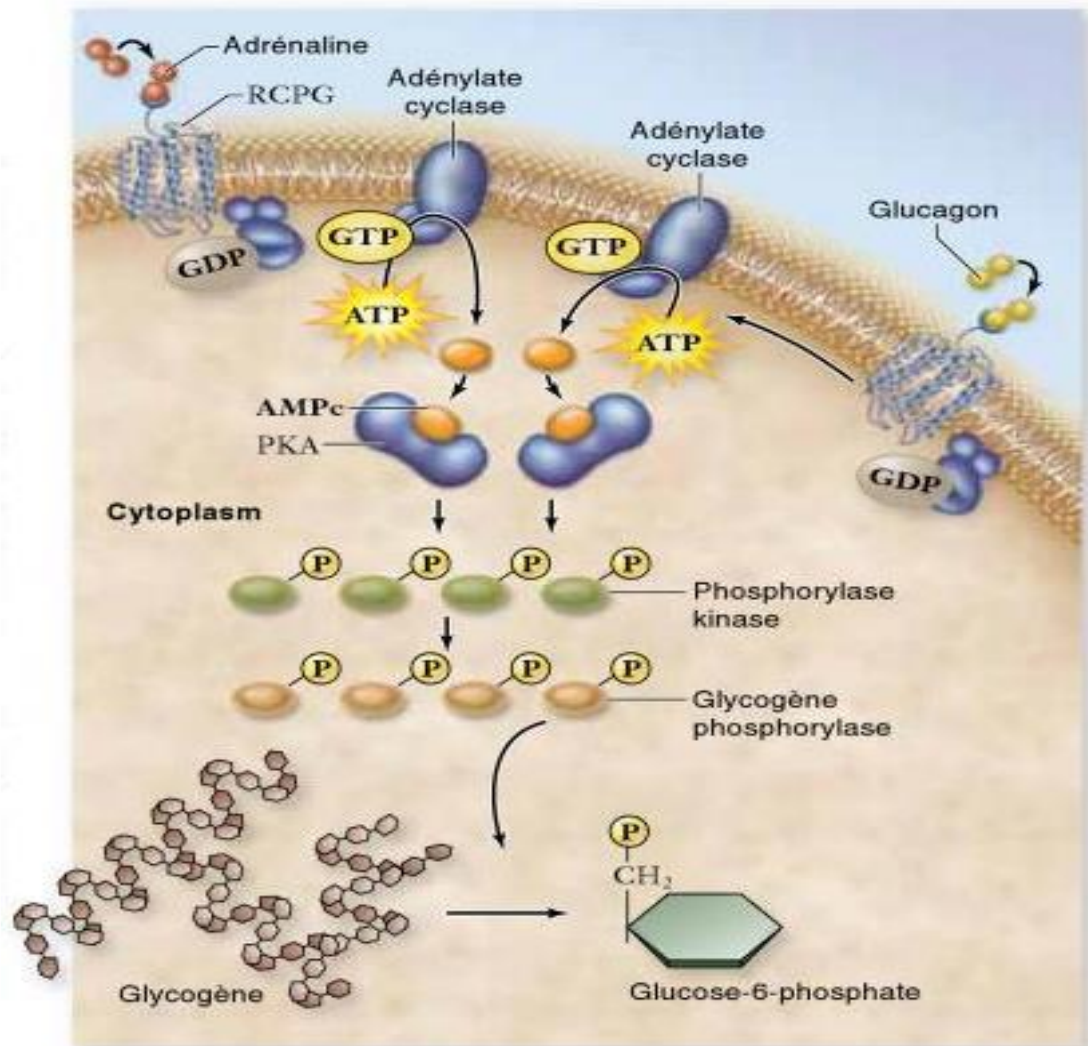


Figure 77 : La voie de signalisation de l'Adrénaline

5.2. Transducteurs et facteurs de couplage :

Les protéines G sont des protéines impliquées dans des processus cellulaires fondamentaux et divers, comme la différenciation et la prolifération cellulaire, l'organisation et la dynamique du cytosquelette, et les transports intracellulaires.

Ces protéines fixent alternativement les nucléotides GDP et GTP et adoptent ainsi deux conformations : une forme de repos, associée au GDP, et une forme active, associée au GTP. Cette dernière peut interagir avec des protéines cibles appelées « effecteurs » et ainsi moduler leur activité.

Trois groupes de protéines participent au cycle d'activation des petites protéines G :

- ✓ Les GTPase *dissociation inhibitors* (GDI) qui maintiennent la protéine liée au GDP dans une conformation inactive. Deux GDI sont connues : Rab GDI et Rho GDI ;
- ✓ Les GTPase *activating proteins* (GAP) qui catalysent l'activité GTPasique intrinsèque de la protéine G et donc participent à l'inactivation de la protéine G.
- ✓ Les guanine nucléotides *exchange factor proteins* (GEF) qui catalysent l'échange du GDP par un GTP et donc entraînent l'activation de la protéine G.

Il existe différentes protéines G :

- Des protéines G monomériques, comme les protéines Ras, Rho, qui sont impliquées dans la prolifération cellulaire. Les mutations de Ras sont associées à des cancers. Les protéines Ras et Rho sont de petites GTPases,
- Des protéines G hétérotrimériques, associées aux membranes, qui possèdent trois sous-unités appelées $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$. La sous-unité $G\alpha$ fixe le GTP grâce à une poche de liaison. Les sous-unités $G\beta$ et $G\gamma$ interagissent avec des molécules effectrices. Les protéines G trimériques sont couplées à des récepteurs possédant sept domaines transmembranaires : les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).

5.2.1. Cycle d'activation des protéines G trimériques :

La famille de récepteurs la plus importante dans les cellules animales est celle des « récepteurs couplés à une protéine G » (RCPG). Les protéines G trimériques sont des protéines qui, comme la protéine Ras, fixent des nucléotides à guanosine (GDP, GTP).

Les protéines G sont des protéines membranaires qui participent aux voies de transduction des signaux, en recevant ceux-ci d'un récepteur membranaire et en les transmettant à « un effecteur » (protéine qui traduit le signal reçu par le récepteur membranaire en un second messager intracellulaire).

Les protéines G sont formées de trois sous-unités : α , β et γ , chacune de ces trois sous-unités ayant de nombreuses isoformes formant ensemble une grande variété de protéines G.

La sous-unité α porte :

- Le site de liaison avec le récepteur ;
- Le site catalytique d'hydrolyse du GTP ;
- Le site de liaison avec l'adénylate cyclase.

Les sous-unités β et γ portent aussi des sites de liaisons avec d'autres effecteurs.

La fonction de la protéine G dans la signalisation par les RCPG est d'assurer un lien entre un récepteur de signal et une protéine effectrice responsable de la réponse de la cellule. En position de marche, la protéine G active la protéine effectrice pour provoquer une réponse de la part de la cellule.

- ✓ Lorsqu'elles sont liées au « GDP », les protéines G sont inactives et la transmission du signal est liée à la fixation d'un « GTP ».
- ✓ Lorsqu'un ligand se lie à un RCPG ce dernier modifie sa conformation tridimensionnelle et active la protéine G qui lui est associée : la protéine G remplace GDP par GTP par une GEF et se dissocie en deux parties, une sous-unité $G\alpha$ liée à la GTP et la sous-unité $G\beta\gamma$.
- ✓ La sous-unité α , activée par le GTP lié, transmet le signal à l'effecteur (adénylate cyclase, phospholipase, etc....) en l'activant ou en l'inhibant.
- ✓ La sous-unité α , liée à l'effecteur, hydrolyse le GTP en GDP + phosphate (extinction du signal) par une GAP, ce qui la détache de l'effecteur et permet la réassociation des trois sous-unités de la protéine G qui reprend sa structure initiale au contact du récepteur.

Les effecteurs moléculaires peuvent être soit « des enzymes membranaires » permettant de produire un second messager pour initier une voie de transduction de signal, soit « des canaux ioniques » permettant l'altération de la perméabilité ionique de la membrane cellulaire.

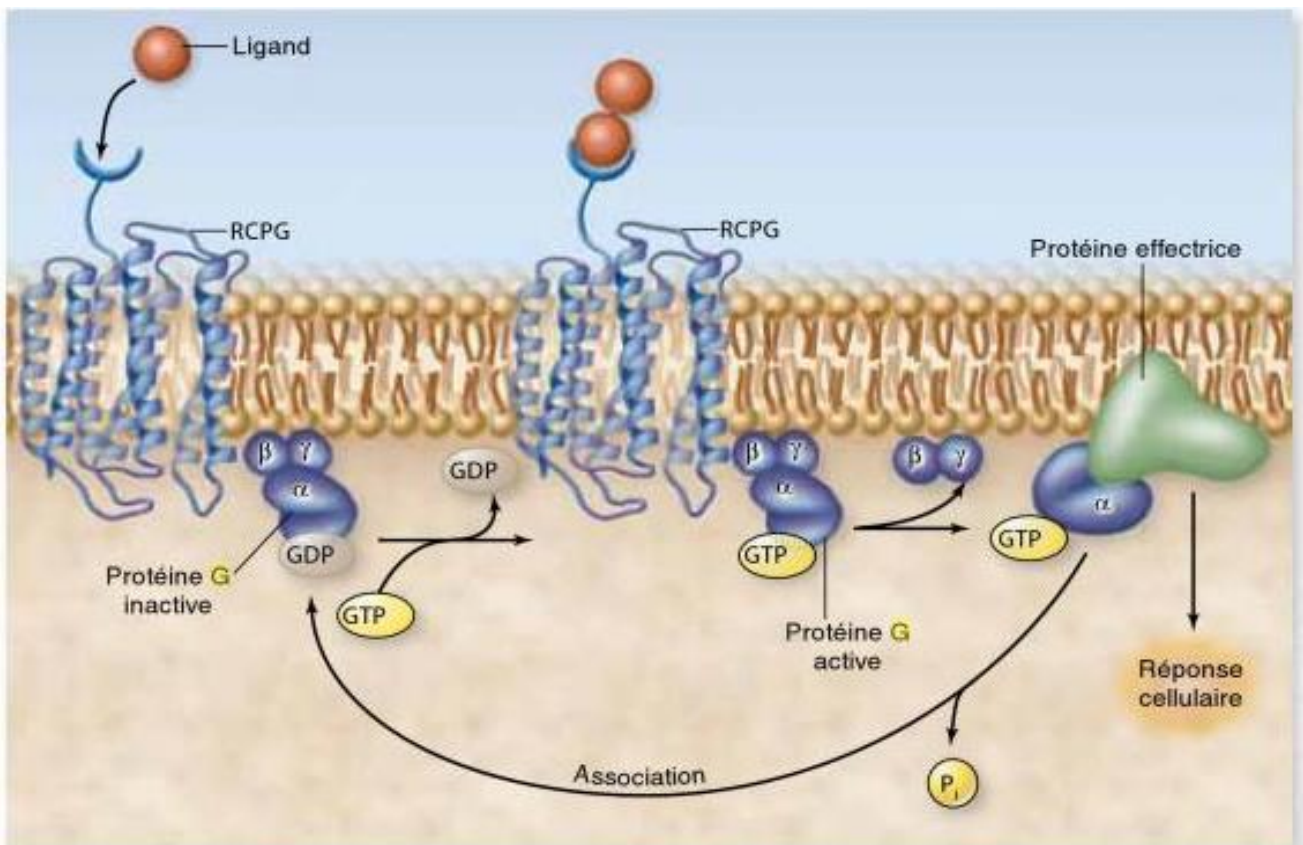


Figure 78 : Activation des protéines G trimériques

5.2.2. Cycle d'activation des protéines G monomériques (RAS) et adaptateurs Grb2/Sos :

La principale différence entre les « protéines G dans les RCPG » et la « protéine Ras » est que les premières sont composées de trois sous-unités, α , β et γ ; elles sont d'ailleurs souvent désignées protéines G hétérotrimériques. Ras est une petite protéine G monomérique sous membranaire, liée à la membrane plasmique par farnésylation.

Les récepteurs de facteurs de croissance (RTK : Récepteur à activité Tyrosine Kinase) sont souvent liés à la cascade de MAP kinase par une petite protéine G dénommée Ras.

La protéine Ras est active lorsqu'elle est liée à une GTP, inactive lorsqu'elle est liée à une GDP.

Lorsqu'un RTK est actif, il se lie à une protéine adaptatrice de domaines d'interaction de type SH2 et SH3 séparés ou non par des régions interdomaines, ayant pour fonction principale d'assurer la formation de complexes signalétiques en promouvant les interactions protéine-protéine. Ces protéines se distinguent des protéines d'échafaudage ou d'arrimage principalement par l'absence d'activité catalytique. Leur fonction principale consiste à lier et rassembler des effecteurs cytoplasmiques proximaux fondamentalement requis dans la mise en place de la réponse cellulaire au niveau du récepteur activé. Cette fonction est assurée par leur domaine SH2 spécialisé dans la reconnaissance des tyrosines phosphorylées présentes sur un récepteur activé et grâce à leurs domaines SH3 capables de lier des motifs poly-proline ou proline-arginine présents dans un grand nombre de protéines cytoplasmiques.

➤ *Cas de la voie des MAP Kinases (Mitogen activated Protein Kinase):*

La voie des MAP Kinases est une voie de signalisation cellulaire essentielle qui régule la croissance, la division, la différenciation et la survie des cellules. La cascade Ras-Raf-MEK-ERK est l'une des plus connue de cette famille.

- ✓ Une fois le ligand (facteur de croissance PDGF) fixé sur le RTK membranaire, les acides aminés tyrosines, sérines ou thréonines situés sur la chaîne intracytosolique du récepteur deviennent ainsi phosphorylés (autophosphorylation).
- ✓ Après activation du récepteur par son ligand, la présence d'un groupement phosphate sur l'acide aminé permettra la fixation d'une protéine « Grb2 » ("growth-factor-receptor-bound protein 2", une protéine à domaine SH2 interagissant avec des phosphotyrosines) il s'agit d'un adaptateur moléculaire sur cette zone intracytosolique du récepteur.
- ✓ Grb2 permettra d'activer une autre protéine, « Sos » (Son of Sevenless), qui est une guanine-nucléotide échangeur (GEF). Le facteur d'échange Sos se fixe sur le domaine SH3 de Grb2.

- ✓ Lorsqu'un facteur d'échange comme Sos s'y lie, la protéine G monomérique (Ras) libère son GDP et capte un GTP ce qui permet son activation.
- ✓ Ras sera inactivée par hydrolyse de son GTP grâce à l'intervention d'une protéine GAP qui stimule la fonction GTPasique de Ras, tout en laissant GDP fixé à la protéine Ras qui, par ce fait, est inactivée.
- ✓ Ainsi, Ras activé rapproche la première kinase de la cascade « Raf » de la membrane plasmique afin que celle-ci soit phosphorylée (une kinase appartenant à la famille des MAPKKK kinases de type MAP kinase kinase kinase). Raf activera la protéine MEK (*MAP-Extracellular signal Regulated Kinase*) (une MAPKK, MAP kinase kinase), qui elle-même active ERK (*Extracellular signal Regulated Kinase*) (une MAPK, MAP kinase). ERK est le dernier maillon connu de cette cascade. ERK activé se déplace du cytoplasme vers le noyau. Une fois dans le noyau, il phosphoryle divers facteurs de transcription et protéines régulatrices et va donc réguler l'expression de gènes impliqués dans la croissance, la survie, la différenciation et la prolifération cellulaire.

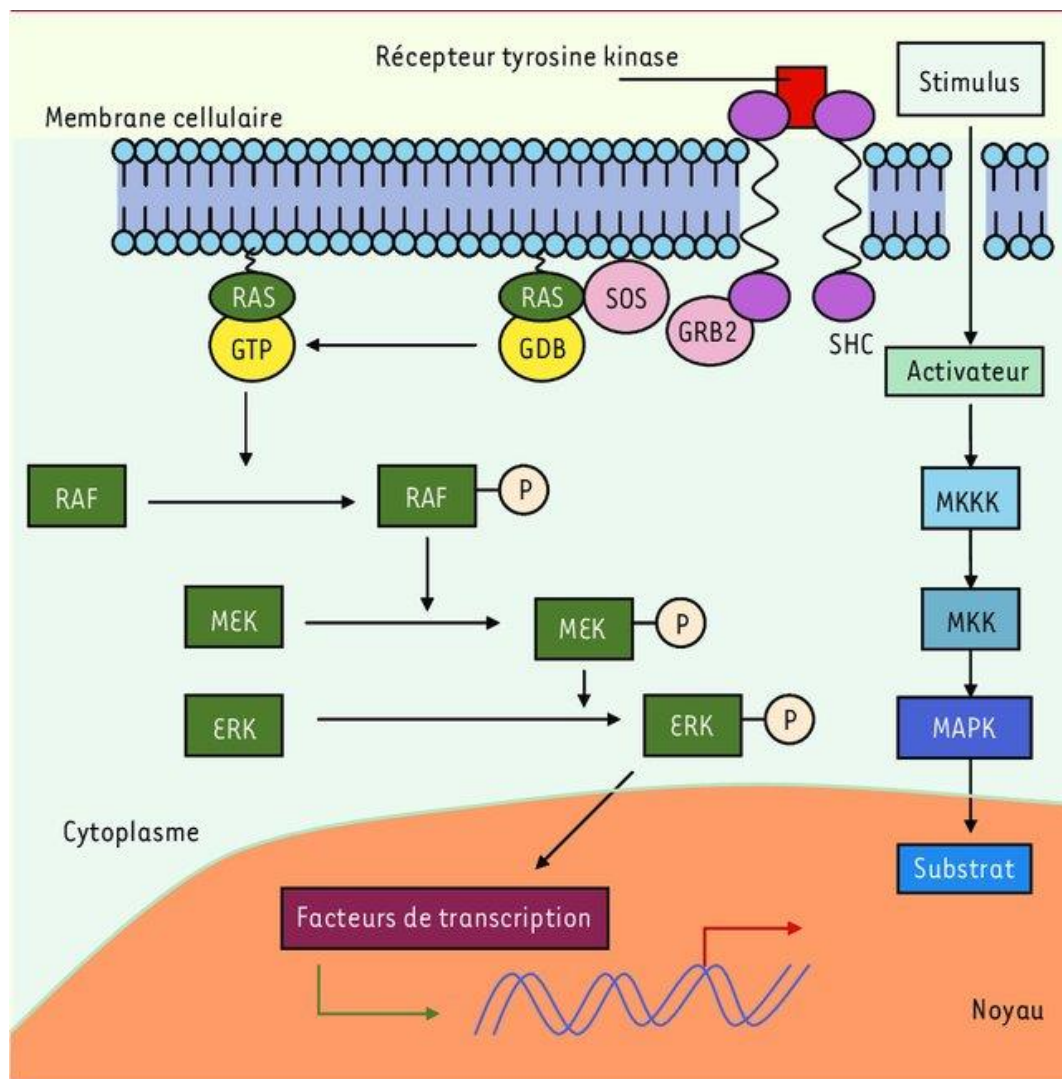
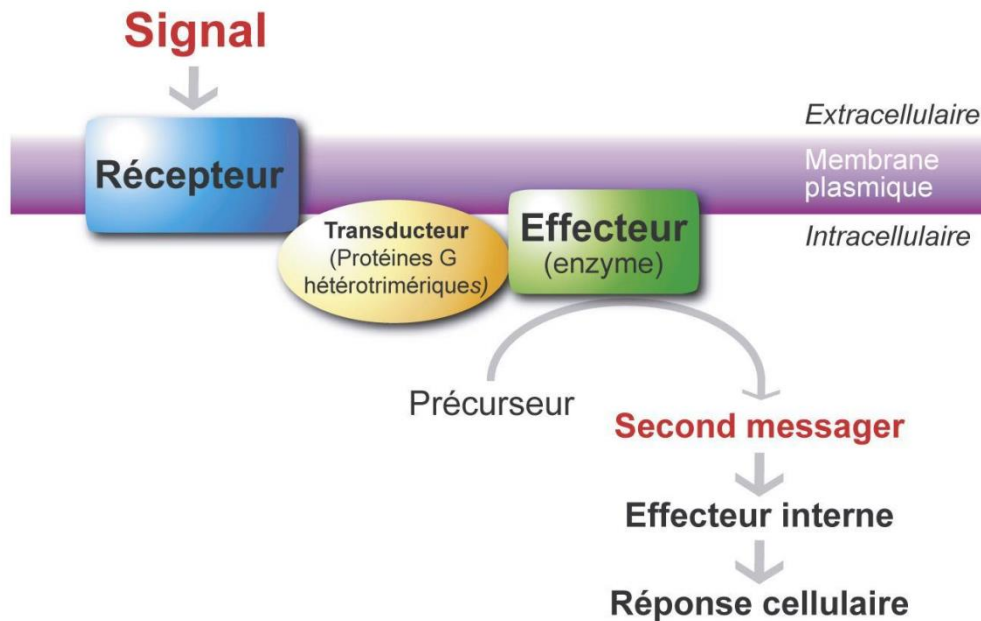


Figure 79 : Voie de signalisation des MAP kinase.

5.3. Amplification du signal via les seconds messagers :



5.3.1. L'effecteur :

L'amplification du signal est la modulation par la protéine G de l'activité d'un effecteur qui peut être :

- **Un effecteur enzymatique** modulant en général la concentration cellulaire d'un second messager :
 - ✓ L'adénylate cyclase (AC), qui produit l'AMPc ;
 - ✓ La phospholipase C β (PLC β), qui produit le DAG (DiAcylGlyérol) et l'IP3 (InositoltriPhosphate) ;
 - ✓ La phospholipase A2 (PLA2), qui hydrolyse l'acide arachidonique des glycérophospholipides, substrat de la synthèse des eicosanoïdes (prostaglandines) ;
 - ✓ La GMPc phosphodiesterase (PDE), qui hydrolyse le GTP en GMPc ;
- **Un canal ionique** permettant le transfert d'un ion entre les compartiments inter et intracellulaires (Ca²⁺, K⁺).

5.3.2. Le second messager :

Alors que le ligand est le premier messager, le second messager en est le relai et permet la transmission de l'information du ligand dans la cellule par variation de sa concentration.

Les seconds messagers recouvrent diverses catégories de corps chimiques : des nucléotides modifiés (AMP cyclique par ex), des lipides membranaires (diacylglycérol), des dérivés de phospholipides (IP3), des ions...etc

5.3.3. Les effecteurs internes :

5.3.3.1. Protéines Kinase (A, B, C, CAM, MAP) :

La phosphorylation est une réaction réversible catalysée par des « protéines kinases » qui correspond à l'ajout d'un phosphate sur un groupement hydroxyle OH par consommation d'un ATP alors que la déphosphorylation est catalysée par une « protéine phosphatase » et clive le phosphate.

Seuls 3 acides aminés possèdent un groupement OH : la sérine, la thréonine et la tyrosine. Quand on voit un de ces acides aminés, il faut toujours penser que c'est un potentiel site de phosphorylation, et la protéine Kinase est ainsi nommée selon le résidu phosphorylé : une sérine-kinase, une thréonine-kinase ou une tyrosine-kinase.

Nous avons donc vu qu'une fois la protéine G activée, et via sa sous-unité α va activer ou inhiber un effecteur cible. Cet effecteur va engendrer la variation de la concentration d'un second messager qui va activer une protéine kinase responsable de la phosphorylation de protéines par l'ajout d'un groupement phosphate.

Cette phosphorylation/déphosphorylation va réguler 30 % des protéines par action directe ou indirecte :

- Dans le cas direct, le groupement phosphate ajouté étant très ionisé va modifier la conformation spatiale de la protéine par liaisons ioniques et donc modifier sa fonction. Ce qui aboutit à une activation ou inactivation de la protéine (augmentation ou inhibition de son activité enzymatique).
- Dans le cas indirect, le phosphate devient un site de reconnaissance par d'autres protéines ce qui peut induire un changement de la localisation cellulaire (facteurs de transcription par exemple) ou une modification de sa capacité à interagir avec les autres protéines et donc une activation ou inactivation de celles-ci.

a. Protéine Kinase A :

La protéine kinase A (PKA) réfère à la famille d'enzymes dont l'activité est dépendante du niveau d'AMP cyclique (AMPc) dans la cellule.

PKA est constituée de 2 sous-unités régulatrices et de 2 sous-unités catalytiques.

Les sous-unités régulatrices bloquent l'activité du site catalytique par « un peptide pseudo-substrat » agissant comme un bouchon sur le site actif. Ce pseudo-substrat possède une séquence proche des substrats à l'exception du dernier acide aminé : l'alanine qui est lui non phosphorylable.

Ainsi, lorsque la concentration en AMPc augmente, les molécules d'AMPc provoquent un changement de conformation de la PKA par fixation sur la sous-unité régulatrice. Le pseudo-substrat se détache alors et la sous-unité catalytique est libérée. La PKA est donc activée.

L'action dans la cellule est très rapide car la PKA est déjà synthétisée et il suffit du départ du pseudo-substrat pour l'activer. Les PKA modulent l'activité des protéines cytoplasmiques et nucléaires par phosphorylation :

- Dans le cytoplasme, la PKA a une action sur la fonction des protéines (modification de la conformation).
- Dans le noyau, la PKA a une action sur la transcription des gènes. Elle phosphoryle CREB : un facteur de transcription qui peut se lier uniquement lorsqu'il est phosphorylé à une séquence régulatrice de l'ADN en amont des gènes : CRE, une séquence particulière de réponse à l'AMPc.

b. Protéine Kinase B :

Akt, ou protéine kinase B (PKB), est une protéine essentielle dans la signalisation des cellules des mammifères.

- Akt1 est impliqué dans la voie de signalisation de la survie cellulaire, en inhibant l'apoptose.

Akt1 est également capable d'induire la biosynthèse des protéines, et est de ce fait un élément clé dans les phénomènes cellulaires conduisant à l'hypertrophie des muscles squelettiques et la croissance des tissus en général. À partir du moment où Akt peut bloquer l'apoptose et par là favoriser la survie cellulaire,

- Akt2 est un facteur impliqué dans la signalisation cellulaire de l'insuline, nécessaire au transport du glucose.

c. Protéine kinase C :

Les protéines kinases C (PKC) sont des enzymes cytoplasmiques à activité sérine thréonine kinase.

La PKC est constituée de plusieurs domaines :

- Un domaine kinase qui porte l'activité enzymatique (l'ATP se fixe sur la région C3 et le substrat sur la région C4),
- Un domaine C2 de liaison des ions Calcium,
- Deux domaines C1A et C1B de liaison DAG et pseudo-substrat.

L'activation de la PKC nécessite la translocation de l'enzyme vers la membrane plasmique pour se lier aux phospholipides (diacylglycérol), cette translocation est calcium dépendante (Ca^{2+} se lie au domaine C2) et est indispensable pour que l'enzyme acquière sa compétence catalytique.

Une fois sur la membrane plasmique, la fixation de C1A et C1B au DAG va permettre le dépliement de la PKC et donc la libération du pseudo-substrat du site catalytique et l'activation de l'enzyme.

La PKC est impliquée dans différentes fonctions physiologiques de la cellule comme les phénomènes d'apoptose, l'activation des plaquettes, la conformation de l'actine dans le cytosquelette, la modulation de l'activité des canaux ioniques, la sécrétion et la prolifération cellulaire.

d. Protéine kinase CAM :

Les protéines kinases Ca^{2+} /calmoduline-dépendantes ou CaM kinases sont des kinases Sérine-Thréonine-dépendantes régulées par le complexe Ca^{2+} /calmoduline. Les CaM kinases possèdent un domaine catalytique, un domaine régulateur, et un domaine d'association. En l'absence de Ca^{2+} /calmoduline, le domaine catalytique est auto-inhibé par le domaine régulateur, qui contient une séquence de type pseudo-substrat. Deux types de CaM kinase existent :

- Les CaM kinases spécialisées. Par exemple, la kinase des chaînes légères de la myosine (MLCK) qui phosphoryle la myosine, entraînant la contraction des muscles lisses.
- Les CaM kinases multifonctionnelles. Elles sont également appelées « CaM kinases II », qui jouent un rôle dans de nombreux processus, comme la sécrétion de neurotransmetteurs (l'activation de la CaM kinase II semble liée aux processus de la mémoire et de l'apprentissage), elle est aussi nécessaire pour l'homéostasie calcique et la recapture du calcium dans les cardiomyocytes, le transport d'ions chlore dans les épithéliums, la sélection positive des cellules T et l'activation des cellules T CD8.

d. Protéine MAP kinase :

Les *Mitogen-activated protein kinases* (MAPK) sont un ensemble de protéines kinases nécessaires à l'induction de la mitose dans les cellules eucaryotes. Les MAPK sont impliquées dans un certain nombre d'évènements de la vie de la cellule, comme la mitose, mais aussi très liées aux phénomènes apoptotiques, la différenciation ou encore la survie cellulaire. Ceci se fait en réponse à divers signaux externes : des facteurs mitogènes (le PDGF, par exemple), le stress osmotique cellulaire, le choc thermique ou encore un certain nombre de cytokines.

Les MAP-K sont retrouvées dans des cellules animales, végétales, humaines et dans les champignons.

5.3.3.2. Protéines Phosphatase (A2, calcineurine), Tyrosine phosphatases :

La phosphorylation est le plus souvent transitoire. Le ou les groupement(s) ajoutés sont ensuite clivés, c'est la déphosphorylation et elle est catalysée par les protéines phosphatases.

La plupart des protéines kinases ont une phosphatase qui leur est associée.

Les phosphatases ont été séparées en plusieurs groupes selon leur spécificité de substrats :

a. Les phospho-ptotéine phosphatases (PPP) :

Ce sont des enzymes qui déphosphorylent les sérines ou les thréonines des protéines substrats des protéine-kinases, contribuant à l'extinction des signaux dans la cellule. On cite :

- ✓ **Les PP1 (protéine phosphatase de type 1) :** Ce sont des enzymes composées d'une sous-unité catalytique et d'une ou plusieurs sous-unités régulatrices et sont spécifiques aux protéines substrats de la protéine kinase A.

- ✓ **Protéine phosphatase A2** : elle représente la classe majeure de sérine/thréonine protéines phosphatases (80%). Elles sont exprimées de manière ubiquitaire et assurent une partie importante de l'activité phosphatase dans les cellules eucaryotes. L'activité phosphatase est caractérisée par une large spécificité de substrats et une grande diversité de fonctions cellulaires.
- ✓ **Protéine phosphatase B2 ou calcineurines** : qui sont des enzymes dépendants du Ca^{2+} , composés d'une sous-unité catalytique (ou calcineurine A) se liant à la calmoduline et d'une sous-unité régulatrice (ou calcineurine B) qui lie le cation Ca^{2+} .
Elles sont spécifiques des protéines substrats de la CAM kinase (Ca^{2+} -calmoduline dépendante).
La calcineurine est une protéine localisée dans de nombreux organes notamment au niveau du cerveau où elle est 10 à 20 % plus exprimée, les ostéoclastes, les cellules de la glande surrénale, le foie, les poumons, le pancréas, le cœur, les cellules musculaires, les testicules, les plaquettes, les lymphocytes B et T, la thyroïde, les reins, ou encore la rétine.

b. Les phospho-tyrosine phosphatases (PTP) :

Il s'agit d'un groupe d'enzymes qui clivent les groupes phosphate des résidus de tyrosine phosphorylés sur les protéines. La phosphorylation des résidus de tyrosine est une modification post-traductionnelle courante susceptible de générer des motifs de reconnaissance moléculaire pour les interactions entre protéines et la localisation cellulaire, d'affecter la stabilité de la protéine, et de réguler l'activité enzymatique. Ces enzymes sont par conséquent des éléments clés des voies métaboliques, de transduction de signal et du contrôle du cycle cellulaire et jouent probablement un rôle important dans le contrôle du développement, de la prolifération et de la différenciation des cellules, ainsi que de leur transformation maligne.

5.3.4. Exemples de cascades de signalisation impliquant les seconds messagers :

5.3.4.1. Cascade phospholipase C /DAG/IP3/Ca²⁺ :

La phospholipase C (PLC) est une enzyme cytosolique à translocation membranaire lorsqu'elle est activée (les RCPG activent la PLCβ). Elle catalyse la réaction d'hydrolyse du PIP2 (phosphatidyl-inositol diphosphate), phospholipide localisé dans la membrane cellulaire, en « IP3 » (inositol trisphosphate) soluble dans le cytoplasme et « DAG » (diacylglycerol) qui reste à la membrane (lipophile).

Chacun de ces 2 seconds messagers initie une voie de signalisation propre :

- L'IP3, via le récepteur-canal calcique spécifique IP3R (situé sur la membrane du RE), active l'ouverture des canaux calciques et mobilise (libère) le Ca²⁺ du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme. Les ions Ca²⁺ se fixent et activent la calmoduline, une protéine cytosolique comprenant quatre sites de fixation du Ca²⁺. Le complexe Ca²⁺-calmoduline, ainsi formé, active par interaction protéine-protéine des protéines kinases calcium-calmoduline dépendantes (CaMK) qui phosphorylent de nombreux substrats protéiques et ainsi modulent leur activité.
- Le DAG active, en présence de la phosphatidylsérine membranaire et du Ca²⁺ libéré sous l'action de l'IP3, des protéines kinases C (PKC) qui phosphorylent de nombreux substrats protéiques et ainsi modulent leur activité (la prolifération et la différenciation cellulaire, la régulation de l'expression génique, etc...)

PHOSPHOLIPASE C

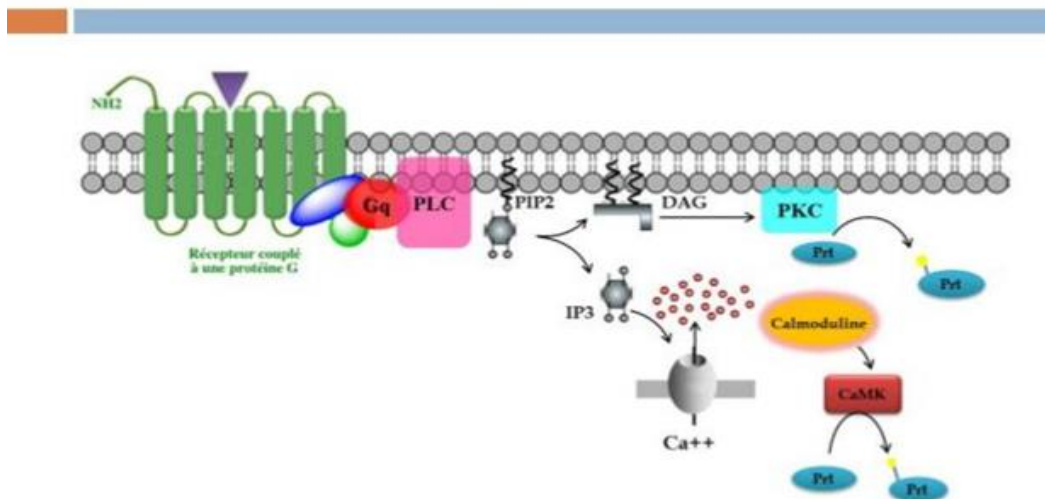


Figure 80 : Cascade phospholipase C

Protéine G	Effecteur primaire	Second messenger	Effecteur secondaire	Effet biologique	Effet physiologiques cellulaires
Gα	Activation de la phospholipase C (PLCβ)	IP3	Ouverture canaux Ca ⁺	Activation des CaMK Phosphorylation	- Prolifération cellulaire - Contraction musculaire
		DAG	Activation PKC	Phosphorylation	

5.3.4.2. Cascade phospholipase A2/ Eicosanoïdes :

La phospholipase A2 (PLA2) dépendante des RCPG est une enzyme membranaire ou cytosolique à translocation membranaire en présence de Ca²⁺. Elle libère l'acide arachidonique des phosphatidylcholines membranaires. Celui-ci est précurseur de la synthèse des eicosanoïdes : **leucotriènes par la lipo-oxygénase et prostaglandines et thromboxanes par la cyclo-oxygénase.**

Les eicosanoïdes possèdent de nombreuses propriétés :

Les prostaglandines :

- Thromboxane A2 : Vasoconstriction (augmentation de la pression artérielle), augmentation de l'agrégation plaquettaire et déclenche la coagulation (la formation du thrombus ou caillot sanguin, d'où elles tirent leur appellation). Antagoniste des prostacyclines.
- Prostacycline (PGI2) : Vasodilatation (diminution de la pression artérielle), inhibition de l'agrégation plaquettaire. Antagoniste des thromboxanes.

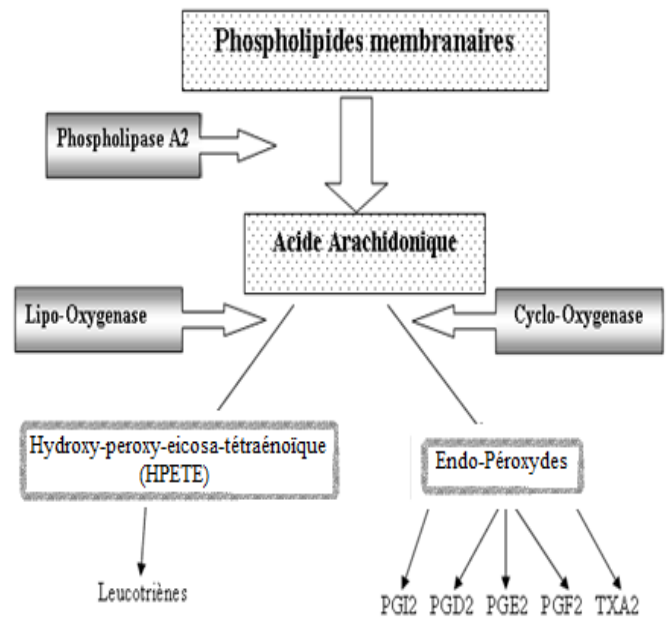


Figure 81 : Cascade phospholipase A2/eicosanoïdes

- Prostaglandine E2 (PGE2) : Produite au niveau du rein, de la rate et du cœur. Vasodilatation, inhibition de l'agrégation plaquettaire, migration et prolifération lymphocytaire. Favorise la contraction de l'utérus, inhibe la 5-lipo-oxygénase et diminue la synthèse de leucotriènes. À l'origine de la fièvre.
- Prostaglandine F2 (PGF2) : Produite au niveau du rein, de la rate et du cœur. Vasoconstricteur, bronchoconstricteur et induit la contraction des muscles lisses (notamment l'utérus).

Les leucotriènes :

- Le leucotriène B4 est le plus important des leucotriènes. Il est l'agent chimiotactique des polynucléaires (macrophages, neutrophiles...) le plus puissant sur les sites de l'inflammation.
- Les leucotriènes C4, D4 et E4 ont un rôle dans la broncho-constriction en réponse entre autres à des allergènes (asthme) : ils provoquent la contraction du muscle lisse essentiellement au niveau bronchique.

Protéine G	Effecteur primaire	Second message	Effecteur secondaire	Effet biologique
Gα	Activation de la phospholipase A2 (PLA2)	Acide arachidonique	Cyclo-oxygénase	Prostaglandines Thromboxanes
			Lipo-oxygénase	Leucotriènes

5.3.4.3. Cascade AMPc/PKA/CREB :

L'adénylate cyclase (AC) est une enzyme membranaire intrinsèque qui catalyse la réaction de cyclisation de l'ATP en AMPc en présence de Mg^{2+} et libère du pyrophosphate (PPi). Beaucoup d'hormones activent un système de transduction à AMPc.

Récepteur ayant lié son messenger, celui-ci active une protéine G qui peut activer une adénylate cyclase qui produit ainsi de l'AMPc.

L'AMPc, deuxième messenger, déclenche une cascade de réactions enzymatiques :

- La première réaction est une réaction d'activation de protéines kinases dépendantes de l'AMP cyclique : les PKA ; l'AMPc se lie à la sous-unité régulatrice de ces enzymes et en libère la sous-unité catalytique active.
- Les réactions suivantes sont des réactions de modification covalente de nombreuses protéines cibles par phosphorylation par les sous-unités catalytiques des PKA, on peut alors observer deux devenir :
 - Un effet membranaire ou cytosolique : phosphorylation de canaux ioniques, récepteurs membranaires ou protéines cytoplasmiques (catalysant plusieurs voies métaboliques : glycolyse, lipolyse, glycogénolyse, etc....)
 - Un effet nucléaire : les sous-unités catalytiques pénètrent dans le noyau et agissent sur des facteurs de transcription (CREB). Les sous-unités vont transformer CREB en CREB-phosphate, cette phosphorylation permet l'activation ou la répression d'un gène.

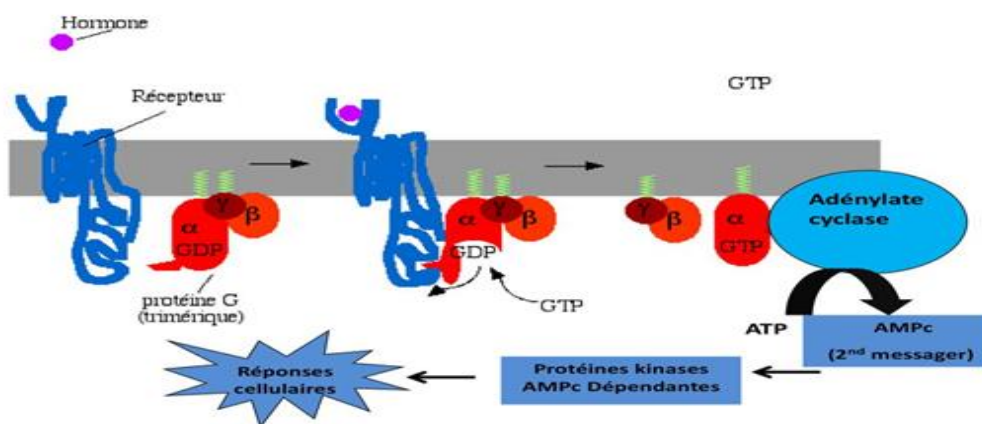


Figure 82 : Cascade AMPc/PKA

Protéine G	Effecteur primaire	Second message	Effecteur secondaire	Effet biologique
Gα	Activation de l'adénylate cyclase (AC)	AMPc	PKA (Protéines Kinases AMPc dépendantes)	Phosphorylation

5.3.4.4. Cascade NO/GMPc :

Le système « Guanylate cyclase » permet, comme les systèmes Adénylate cyclase et Phospholipase C, une amplification d'un message hormonal aboutissant à une réponse cellulaire. Il en existe deux formes :

- Une forme membranaire : activée par la fixation d'une hormone sur RCPG,
 - Une forme cytosolique, dite soluble : sensible au NO.
- ✓ Le « NO » est une molécule gazeuse et extrêmement réactive, il est produit par l'enzyme oxyde nitrique synthétase (NOS). Il en existe des isoformes chez l'homme (endothéliale, neuronale, ...etc.). Dans une cellule endothéliale par exemple, lorsque la concentration en calcium s'élève, celui-ci va se lier à la calmoduline et favoriser l'activation de la NOS endothéliale (eNOS) par la formation du complexe CaM/eNOS.
- ✓ Le NO synthétisé diffuse très rapidement au travers les membranes cellulaires des cellules du muscle lisse voisines pour venir se lier à son récepteur cytosolique : Guanylate Cyclase et activer la production du second messager guanosine monophosphate cyclique (GMPc) à partir du guanosine triphosphate (GTP).
- ✓ Le GMPc a pour fonction d'activer les protéines kinases G (PKG) dites GMPc dépendantes. Ces PKG sont formées de 2 sous-unités à la fois catalytiques (C) et régulatrices (R). Dans cet état elles sont inactives. Le GMPc en se liant aux sous-unités, active la PKG (les sous-unités catalytiques libérées par la PKG restent toujours cytosoliques, elles ne rentrent jamais dans le noyau contrairement au PKA).
- ✓ La PKG a pour fonction de phosphoryler les protéines en un site de séquence homologue de celui reconnu par les PKA, l'ATP étant le donneur de phosphate et d'énergie. La phosphorylation des enzymes, des pompes ou des canaux par ce mécanisme permet d'activer les réactions ou les transports catalysés.

Ces mécanismes participent à la baisse de Ca^{2+} intracellulaire et à la relaxation, notamment :

- L'activation des pompes Ca^{2+} -ATPase ou des canaux $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrane plasmique par la PKG provoque une hyperpolarisation, issue de l'augmentation de l'efflux de Ca^{2+} intracellulaire hors de la cellule.
- Aussi l'hyperpolarisation provoquée par l'activation des canaux K^+ par la PKG inhibe l'entrée des ions Ca^{2+} via les canaux calciques voltage dépendants.
- La phosphorylation du récepteur-IP3 par la PKG diminue la libération de Ca^{2+} du réticulum.

Donc le GMPc par l'intermédiaire des PKG est responsable de la diminution du taux de calcium intracellulaire et donc du relâchement des cellules musculaires lisses : vasodilatation, hypotension, ...

5.3.4.5. Les canaux calciques et potassiques :

❖ L'entrée de calcium dans la cellule est médiée par des récepteurs à 7 domaines transmembranaires (les RCPG) qui activent directement des pompes/canaux ioniques (effecteurs) sans passer par un second messenger. Le calcium possède la capacité de fixation aux protéines via les charges négatives (Glu, Asp) ou les oxygènes des carbonyles (Asn, Gln) entraînant un repliement des protéines et donc une modification de conformation et donc de fonction.

Ce signal calcique entraîne l'activation de diverses protéines calcium dépendantes, comme la calmoduline, elles-mêmes capables d'activer des protéines kinase qui induisent divers effets cellulaires par des cascades de phosphorylations. Le calcium permet également le transport ou la translocation d'une protéine kinase C du cytoplasme où elle est inactive, vers la membrane plasmique où elle est rendue active par les diglycérides issus de l'hydrolyse du PIP₂.

❖ Aussi existent les récepteurs couplés à la protéine G appelés récepteur muscarinique / acétylcholine, impliqués dans l'ouverture des canaux à courant potassique GIRK ("*G protein-regulated inward rectifier potassium channel*").

La liaison de l'acétylcholine au récepteur muscarinique cardiaque active le canal GIRK par la protéine G en présence du phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) provoque l'ouverture de ce canal. Du K⁺ peut donc sortir du compartiment post-synaptique, créant ainsi le courant ionique nécessaire à la propagation du signal. Les canaux GIRK sont impliqués dans la voie de transmission rapide : l'effet est obtenu 30 à 100 ms après fixation du récepteur. Ils permettent aux neurotransmetteurs de contrôler l'excitabilité électrique cellulaire. Les canaux GIRK sont également activés par des niveaux intracellulaires élevés d'ions Na⁺.

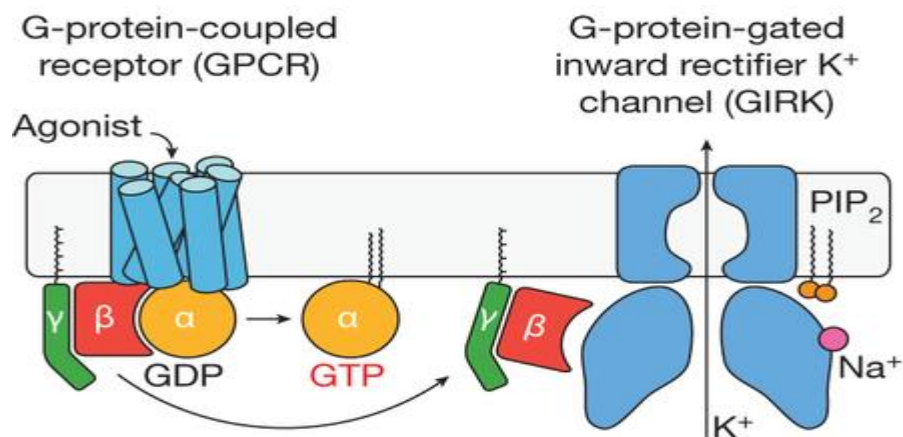


Figure 83 : récepteur muscarinique de l'acétylcholine

5.4. L'extinction du signal des récepteurs :

Les réponses cellulaires à de nombreuses hormones ou neurotransmetteurs sont en général de courte durée (secondes à quelques minutes). Une extinction du signal est alors nécessaire.

L'extinction peut avoir lieu au niveau :

a. Du ligand :

- Dissociation récepteur/ligand.
- Dégradation extracellulaire du ligand (acétylcholinesterase).
- Recapture du ligand (terminaisons pré-synaptiques /neurotransmetteurs).

La cocaïne inhibe la recapture de la dopamine, noradrénaline.

Les antidépresseurs inhibent la recapture de la sérotonine.

b. Du récepteur :

- Désensibilisation des récepteurs soit par :
 - ✓ Découplage fonctionnel par phosphorylation (inactivation) par une kinase associée : GRK (G-protein-coupled-receptor kinase) qui phosphoryle la partie intra-cytoplasmique du récepteur et donc cause un découplage entre celui-ci et les sous-unités de la protéine G.
 - ✓ Internalisation ligand/récepteur (recyclage ou dégradation) par endocytose dépendante de la clathrine. Le récepteur dans l'endosome est soit recyclé à la membrane soit dégradé dans le lysosome.
- Diminution de synthèse (transcription) uniquement pour les signaux prolongés (plus d'une heure).

c. Du post-récepteur (après la production de seconds messagers) :

- Activité GTPase des protéines G.
- Catabolisme des seconds messagers.
- Les enzymes des cascades de kinase sont toutes contrôlées par déphosphorylation par des phosphatases.

Chapitre 6. Anomalies de signalisation et pathologie

La relation entre les anomalies de signalisation cellulaire et les pathologies est complexe, mais essentielle pour comprendre comment des perturbations dans les mécanismes de communication cellulaire peuvent mener à des maladies graves. Les anomalies de signalisation peuvent être causées par plusieurs mécanismes, incluant des mutations génétiques, des altérations dans les récepteurs, des dérèglements dans la transduction du signal, ou des défauts dans les protéines régulatrices.

6.1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie (Exemple : EGF-R, p21-Ras et oncogénèse) :

6.1.1. L'EGF-R et le cancer :

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est une protéine monomérique transmembranaire à activité tyrosine kinase (RTK) quand elle est activée. La liaison au récepteur entraîne une dimérisation des molécules du récepteur, et une phosphorylation des protéines cellulaires, avec activation en cascade pour la transmission du signal intracellulaire.

Une fois activés, les récepteurs sont internalisés et leur fonction protéine kinase inhibée, ce qui assure un rétrocontrôle (down-regulation) et permet une régulation précise de la réponse au stimulus.

Il a été démontré que l'EGF-R jouait un rôle important dans la genèse de nombreux cancers épithéliaux dont les cancers colorectaux où ce récepteur est surexprimé dans 30 à 85 % des cas.

L'activation oncogénique de l'EGF-R dans les cancers peut se faire par plusieurs mécanismes :

- Augmentation de l'expression d'EGF-R par divers mécanismes :
 - augmentation de la transcription,
 - stabilisation au niveau membranaire par inhibition de son internalisation ou de sa dégradation, ou encore amplification du gène,
 - mutations d'EGF-R ayant pour conséquence l'expression d'une forme du récepteur constitutionnellement active.
- Augmentation de l'expression des ligands l'EGF-R, en particulier le TGF α , responsable d'une boucle autocrine d'activation continue de l'EGF-R.

6.1.2. Les protéines Ras et le cancer :

Elles sont une famille de protéines, avec un rôle de proto-oncogène. Une tumeur sur quatre chez l'homme est causé par une mutation de ce gène. Les protéines issues de ce gène ont un poids moléculaire de 21000 dalton d'où leurs noms p21-Ras. Les protéines Ras sont des protéines G monomériques

activées par les récepteurs membranaires des facteurs de croissance et agissent sur plusieurs voies métaboliques par activation de kinases.

Les oncogènes Ras portent des mutations au niveau des aminoacides 12, 13 et 51, correspondant à la région liant le phosphore du site de liaison avec le nucléotide. L'activité GTPase est donc perdue, et il existe une accumulation de la protéine p21-Ras sous forme active liée au GTP.

Du fait de son rôle pivot entre la membrane cellulaire et le noyau, la protéine p21-Ras induit une modification des gènes de transcription, une augmentation de la synthèse de l'ADN, et des anomalies chromosomiques.

6.1.3. Pathologie lié à l'activation anormale de la voie Ras/MAPK :

K-Ras est le membre de la famille p21-Ras le plus fréquemment impliqué dans les cancers puisqu'environ 30 % des tumeurs humaines ont une mutation activatrice de ce gène.

Les cancers ayant une prévalence élevée de mutations de K-Ras sont les cancers du pancréas, colorectaux, des voies biliaires et les cancers broncho-pulmonaires.

L'activation de la protéine se fait par la présence d'une mutation faux-sens de K-Ras conduisant à la substitution d'un aminoacide aux positions 12,13 et 61 ce qui leur confèrent un pouvoir oncogénique. La présence de telles mutations au niveau tumoral est responsable d'une activation acquise de la voie Ras/MAPK en aval de l'EGF-R, et totalement indépendante de la fixation du ligand à ce dernier (c'est-à-dire qu'elle fonctionnera en permanence sans être assujettie à l'activation de son récepteur de facteur de croissance auquel elle est censée être rattachée), ce qui confère aux cellules tumorales une résistance aux anticorps anti-EGF-R dans les cancers colorectaux.

6.2. Anomalie de tri protéiques et pathologies héréditaires :

6.2.1. Pathologies mitochondriales :

Les maladies mitochondriales ou mitochondriopathies, définies comme les affections dues à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire et se traduisent donc par un déficit énergétique, sont les plus fréquentes des maladies héréditaires du métabolisme. Les patients sont des enfants ou des adultes et une maladie mitochondriale peut se manifester à tout âge, de la période néonatale jusqu'à une période avancée de la vie. Les mitochondries étant présentes dans toutes les cellules, une pathologie mitochondriale peut toucher n'importe quel tissu ou organe. L'expression clinique de ces affections est donc très hétérogène (encéphalomyopathie, retard mental, épilepsie, diabète, cardiomyopathie, surdité, cécité, insuffisance hépatique...). Les maladies mitochondriales sont hétérogènes sur le plan génétique, liées soit à des mutations de l'ADN mitochondrial, soit à des mutations dans des gènes nucléaires qui restent à identifier chez la majorité des patients.

Les mitochondries ne sont normalement issues que de la mère, le gamète mâle n'apportant en principe que de l'ADN nucléaire, ses propres mitochondries étant détruites au moment de la fécondation. La transmission des mitochondries ne se fait donc normalement que de mère à enfants, et les anomalies de l'ADN mitochondrial ne sont transmises que par la mère, alors que les anomalies de l'ADN nucléaire codant des protéines mitochondriales peuvent être transmises par les deux sexes.

6.2.2. Maladies Lysosomales :

Les maladies lysosomales sont dues au déficit d'un enzyme lysosomal particulier. Il existe une cinquantaine d'enzymes lysosomaux différents, assurant chacun une fonction particulière de dégradation enzymatique. Une cinquantaine de maladies lysosomales de surcharge (MLS) différentes sont également connues. Leur point commun, les lysosomes, dont le nombre et la taille augmentent anormalement dans les cellules des personnes touchées.

L'accumulation des lysosomes dans la cellule va entraîner l'apparition de lésions au niveau de différents organes : os, cœur, poumons, foie, rate, cerveau... provoquant des troubles particulièrement graves et irréversibles. C'est ce mécanisme qui est responsable de l'apparition des symptômes des MLS.

Six types d'anomalies biochimiques sont reconnus de pouvoir déclencher une MLS :

- ✓ **Le défaut de synthèse d'une enzyme lysosomale ;** C'est le cas le plus fréquent (environ 75% des MLS), généralement une ou plusieurs mutations sont à l'origine d'un déficit de l'activité catalytique d'une hydrolase lysosomale.
- ✓ **Le déficit d'une protéine activatrice ou d'un cofacteur d'une enzyme lysosomale :** Comme par exemple la β -glucocérébrosidase, l'enzyme déficitaire dans la maladie de Gaucher.
- ✓ **Le déficit d'une protéine qui stabilise un complexe enzymatique lysosomal :** La galactosialidose est une MLS caractérisée par un déficit combiné en α -D-neuraminidase et β -galactosidase lié à un déficit en « Protectrice Protein Cathepsine A (ou PPCA) ».
- ✓ **Le défaut de maturation extralysosomale de l'enzyme lysosomale :** Il s'agit essentiellement d'un défaut de modifications post-traductionnelles, par incorporation des résidus Mannose 6 Phosphate (M6P) ou de la formylglycine dans la partie C terminale des proenzymes lysosomales.
- ✓ **Le déficit d'un transporteur de la membrane lysosomale :** Parmi les protéines membranaires lysosomales, la sialine est un transporteur anionique qui assure la sortie de l'acide sialique (ou acide N-acétylneuraminique) du lysosome. Le déficit de ce transporteur est à l'origine de la maladie de surcharge en acide sialique libre (maladie de Salla).
- ✓ **Le défaut d'une molécule indispensable à la dynamique du système endosome/lysosome :** Dans la maladie de Danon, plusieurs mutations sont identifiées dans le gène LAMP2. LAMP2 est

une protéine impliquée dans la fusion des lysosomes avec l'autophagosome, de ce fait, cette pathologie est caractérisée par une accumulation de vacuoles autophagiques dans de nombreux tissus.

6.2.3. Maladies du noyau :

Le noyau est délimité par une double membrane, ponctuée de pores, qui contrôle les échanges moléculaires entre le noyau et le cytoplasme. Outre son rôle de barrière, l'enveloppe nucléaire participe à la dynamique des chromosomes et à leur condensation, autorisant ou non l'expression de certains gènes. Récemment, de nombreuses études ont mis au jour un lien étroit entre des défauts de l'enveloppe nucléaire et de nombreuses pathologies humaines. Ces maladies touchent la quasi-totalité des tissus, musculaire, cardiaque, adipeux ou nerveux, et, parfois, plusieurs d'entre eux simultanément.

Toutefois, malgré leur diversité, ces maladies sont rassemblées au sein d'une même famille, les laminopathies, car elles résultent toutes de mutations dans les gènes codant les lamines ; ces protéines, au nombre de trois, constituent une couche, la lamina, qui tapisse la face intérieure du noyau, et lui confère sa forme. Le plus souvent, les mutations sont concentrées sur un seul gène, le gène LMNA, codant deux des trois lamines A et C.

- ✓ La plus connue (mais aussi la plus rare) de ces maladies est « la progeria », une forme grave de vieillissement précoce et accéléré. Elle résulte d'une mutation du gène LMNA. Les enfants atteints par cette maladie, aussi nommée syndrome de Hutchinson-Gilford, souffrent d'un vieillissement accéléré, jusqu'à dix fois plus rapide que celui d'un individu normal, et ont une espérance de vie qui ne dépasse pas 13 ans. Les symptômes sont un vieillissement cutané, une calvitie, une réduction de la taille de la mâchoire et des problèmes liés à la vieillesse, par exemple, une raideur des articulations et des troubles cardio-vasculaires. Ces derniers, tels l'infarctus du myocarde ou l'athérosclérose, sont souvent la cause de la mort.
- ✓ Une forme autosomique dominante de la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss résulte de mutations sur le gène LMNA. Cette maladie, se traduit par des contractions musculaires intempestives et des rétractions des tendons des genoux, des talons et du cou, ainsi que, souvent, par des troubles du rythme cardiaque. La plupart des mutations qui causent cette maladie sont des mutations faux-sens, c'est-à-dire des substitutions d'un acide aminé par un autre.
- ✓ Deux autres myopathies résultent de mutations du gène LMNA : la myopathie des ceintures de type 1B et la cardiomyopathie dilatée. La première est une forme de myopathie qui détériore principalement les muscles des épaules et des hanches. La cardiomyopathie dilatée est une

myopathie du muscle cardiaque qui se traduit souvent par des anomalies électriques des cellules cardiaques ou par des troubles du rythme. Elle se manifeste essentiellement par une dilatation des ventricules.

- ✓ La lipodystrophie partielle familiale est une pathologie du tissu adipeux. Une des formes les plus fréquentes de cette pathologie résulte de mutations des lamines A et C. Chez les malades, la graisse sous-cutanée est présente au niveau de la tête et du cou, mais quasiment absente dans les autres régions du corps. Cette répartition anormale des graisses entraîne souvent un aspect athlétique des malades, dont les muscles, saillants sous la peau, évoquent parfois une pseudo-hypertrophie.
- ✓ Des lamines A et C déficientes sont aussi responsables d'une pathologie du système nerveux central, une forme de neuropathie périphérique héréditaire. L'ensemble de ces neuropathies héréditaires, où les nerfs sensitifs et moteurs sont détériorés, est regroupé sous le nom de maladie de Charcot-Marie et Tooth. Dans certaines de ces maladies, la myéline qui entoure les axones et accélère l'influx nerveux disparaît, entraînant une diminution de la vitesse de conduction nerveuse.

Références bibliographiques

Albert B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. et Walter P., 2011. Biologie moléculaire de la cellule. Ed. Lavoisier, Paris, 1601p.

Blank U., Vitte J., 2014. Les médiateurs du mastocyte. Revue Française d'Allergologie.

Blume-Jensen P., Hunter T., 2001. Oncogenic kinase signalling. *Nature*. 411 : 355-365.

Camus G., 2006. La contraction musculaire. Planet-vie, 1-14.

Cornillon J., Campos L., Guyotat D., 2003. Focal adhesion kinase (FAK), une protéine aux fonctions multiples. *Medecine Sciences (Paris)*, 19 (6-7) 743-752.

Dalle S., Denavit T.M., Thomas L., 2006. Hypervariabilité génotypique des mélanomas : Un défi thérapeutique. *Medecine Sciences (Paris)*, 22 (2), 178-182.

De Kathleen M., Botham A.W., Victor W.R., Peter J. K., David A.B., 2017. Biochimie de Harper (6ème édition traduit par Lionel Domenjoud). Italie : De Boek Supérieur

Gay O., 2011. Caractérisation d'une nouvelle famille de protéines régulatrices des réseaux périnucléaires d'actine, les Refilines. Interaction avec la Filamine A et implication dans le remodelage du noyau cellulaire. Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire. Université de Grenoble. France. 149p.

Gillot-Chafia S., 2018. Impact de la composition du ribosome sur la fidélité de la traduction. Thèse de doctorat. Université Paris Saclay. France. 279p.

Girard P., 2004. Membranes hors d'équilibre : échanges et transport actif. Thèse de doctorat. Université Paris-Diderot - Paris VII, France.

<https://www.afc.asso.fr/accueil-aicr2014/1075-boyer-walker-skou>.

Jacquet K., 2019. Étude de la spécificité fonctionnelle des protéines adaptatrices NCK1 et NCK2. Thèse de doctorat. Université Laval. Canada. 202p.

Lindenthal S., 2009. L'organisation de la cellule animale. Faculté de médecine. Nice, France.

Lionnard L., 2018. Régulation de la stabilité de la protéine anti-apoptotique BCL2A1. Thèse de doctorat en Biologie Santé. Université de Montpellier. France, 247p.

Mahé M., 2015. Caractérisation des voies de signalisation des oncogènes FGFR3 muté et FGFR3-TACC3 dans les carcinomes de vessie. Thèse de doctorat en Science de la vie et de la santé. Université Paris Sud - Paris XI. France. P192.

Maillet M., 2006. Biologie cellulaire. Ed. Elsevier Masson, Paris, 618p.

Martin C., 2008. Sélection immersive et guidée par des motifs géométriques spécifiques de sites d'intérêt pour l'amarrage protéine-protéine. Thèse de doctorat en informatique. Université d'Orsay Paris Sud XI. France. 205p.

Mellouk S., Zarrouq B., 2005. Importance des protéines dans la vie de la cellule animale. Mémoire. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Maroc. 170p.

Menetrey J., 2000. Etude structurale des petites protéines G : Rap2A dans un complexe non catalytique avec le GTP et Arf6 en complexe avec du GDP. Thèse de doctorat. Université de Paris 6. France. 205p.

Rueff A. S., 2011. Rôle de Protéines Associées au Cytosquelette Bactérien. Thèse de doctorat en microbiologie. Université Paris-Sud 11. France. 104p.

Singer, S.J., and Nicolson, G.L., 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175, 720–731.

Susini S., 2010. Reconstitution d'un système cellulaire de glycosylation. Thèse doctorat en Oncologie. Université de la méditerranée. France. P148.

Zhang H., Kong Q., Wang J., Jiang Y., Hua H., 2020. Complex roles of cAMP–PKA–CREB signaling in cancer. *Experimental Hematology & Oncology* .9 (32) : 1-13.

Références web :

<http://biochimej.univangers.fr/Page2/TexteTD/5TDBioCell1/3EndosymbioseRepTD/1Endosymbiose.html>.

<http://campus.cerimes.fr/media/disquemiroir/2015-06-09/UNF3Smiroir/campus-numeriques/maieutique/UE-immunologie/page82-4.-complexe-majeur-d0027histocompatibilite.pdf>.

http://medecine-pharmacie.univ-fcomte.fr/download/ufr-smp/document/courspace/ue2_membranes_biologiques_sept12_in2.pdf.

http://www.cri-net.com/ckfinder/userfiles/files/formation/fichesImmuno/Chap_7.pdf .

http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/cyto1an-reticulum_endoplasmique_golgi.pdf.

<https://biochimej.univ-angers.fr/Page2/COURS/index.html>

<https://docplayer.fr/60217849-D-communication-intercellulaire.html>.

<https://docplayer.fr/67703749-Le-cytosquelette-mme-benzine-challam-h.html> . Consulté le

<https://fr.khanacademy.org/science/high-school-biology/hs-cells/hs-the-cell-membrane/a/structure-of-the-plasma-membrane> .

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/molecules/glycosylation-et-glycation-quelles-differences> .

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/physiologie-cellulaire/la-voie-de-degradation-ubiquitine>

https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap1/co/module_Chap1_7.html .

https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap3/co/module_Chap3_11.html

<https://slideplayer.fr/slide/11786961/> .

<https://slideplayer.fr/slide/16589321/>

<https://www.aquaportail.com/definition-70-cellule.html>.

<https://www.aquaportail.com/definition-9906-gmpc.html>.

<https://www.biotech-ecolo.net/proteines-transport-adressage.html>

<https://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html>.

<https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/de-limmunité-innée-a-limmunité-adaptative-et-complexe-majeur-d%E2%80%99histocompatibilité.html#>.

<https://www.creative-proteomics.com/resource/gangliosides-structure-functions-analytical-methods.htm>

<https://www.magazinescience.com/biologie/role-de-membrane-erythrocytaire/> .

https://www.pdfprof.com/PDF_Image.php?id=12125&t=25 .

<https://www.studocu.com/fr/document/universite-de-montpellier/biologie-cellulaire-et-moleculaire-1-bcm1/adressage-cours-licence-2-bmc-donne-par-pr-francois-f/10881412> .

<https://www.studocu.com/fr/document/universite-de-tours/biologie-cellulaire/lysosome-voici-un-cours-de-licence-11-sciences-de-la-vie-de-luniversite-de-tours-sur/8154335>

<https://www.studocu.com/fr/document/universite-toulouse-iii-paul-sabatier/biologie-cellulaire-2/la-membrane-plasmique-11-sdv-s2/8887649> .

<https://www.studocu.com/row/document/universite-de-tours/paces-ue-2/signalisation-et-communications-cellulaires/12697277>.

<https://www.takween.com/qcm-membrane-permeabilite.html> .