

1. Compartimentation fonctionnelle de la cellule

La membrane cellulaire délimite le volume de la cellule ; c'est une la barrière de perméabilité très sélective entre la cellule et le milieu extérieur. Ceci permet la régulation de la composition ionique et moléculaire du contenu cellulaire. Elle joue un rôle fondamental dans l'interaction des cellules avec les autres cellules, la matrice extracellulaire et le milieu environnant.

Le concept de la *membrane cellulaire* est né en 1855, et fut établi par Carl Nägeli. Nägeli proposait l'existence d'une enveloppe isolant l'intérieur de la cellule du milieu extérieur. Gorter et Grendel, en 1925, montrèrent que la membrane était constituée d'une bicouche lipidique. En 1930, Danielli ajouta au modèle précédent la présence de protéines membranaires. Singer et Nicholson proposèrent leur interprétation à des images de membranes prises au microscope électronique apparurent en 1972.

Ce modèle, reconnu universellement, est toujours utilisé aujourd'hui. Il décrit la membrane comme une bicouche lipidique à laquelle sont associées des protéines transmembranaires et des protéines périphériques. De plus, les lipides et les protéines transmembranaires sont en perpétuel mouvement : la membrane est une *structure fluide*.

2. Biomembranes

a. Composition des membranes : isolement, composition.

La détermination de la composition chimique des membranes cellulaires nécessite un certain nombre d'étapes : séparation des tissus, homogénéisation, centrifugation, extraction et analyse. Les membranes sont constituées d'un assemblage de lipides et de protéines dont la proportion des constituants varie suivant le type de membrane. Il y a aussi des glucides qui sont liés : soit aux protéines (glycoprotéines) soit aux lipides (glycolipides)

*Lipides

Ils sont tous amphiphiles constitués des acides gras saturés et insaturés et organisés en bicouche lipidique ; la partie hydrophile (polaire) de la molécule est la *tête*, la partie hydrophobe (apolaire) est la *queue*. Les groupements hydrophiles interagissent avec le milieu aqueux et les groupements hydrophobes, entre eux. Cette organisation structurale permet à la membrane d'avoir un rôle de **barrière hydrophobe** entre les deux compartiments hydratés : le milieu extracellulaire et le cytosol. La bicouche se constitue spontanément.

Les membranes cellulaires contiennent trois types de lipides membranaires: **55% les phospholipides** **25% de cholestérol** et **20% de glycolipides (Fig.1)**

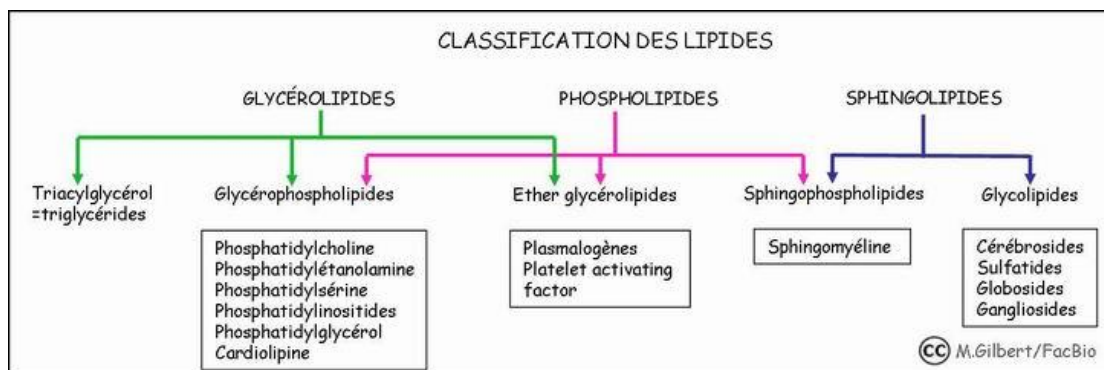


Fig.1 . Classification des lipides membranaires

- Phospholipides (= glycérophosphatides = phosphoglycérides) : Ce sont la classe la plus abondante qui représente 55% des lipides membranaires. Ce sont des dérivés du glycérol-3-phosphate. Selon les conditions (proportions relatives eau/lipides), les phospholipides peuvent former différentes structures dont les plus représentatives sont les **micelles** et les **bicouches**. Les phospholipides se subdivisent en :

***Glycérophospholipides (constituants majoritaires):** Ils sont synthétisés à partir de l'**acide phosphatidique**, lui même résultant de l'estérification des trois fonctions alcool du glycérol par deux acides gras (en position C1 et C2) et par l'acide phosphorique (en C3) (**Fig.2.**). On cite le phosphatidyl-choline, le phosphatidyl-éthanolamine, le phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-inositol bisphosphate (PIP2) et l'acide phosphatidique.

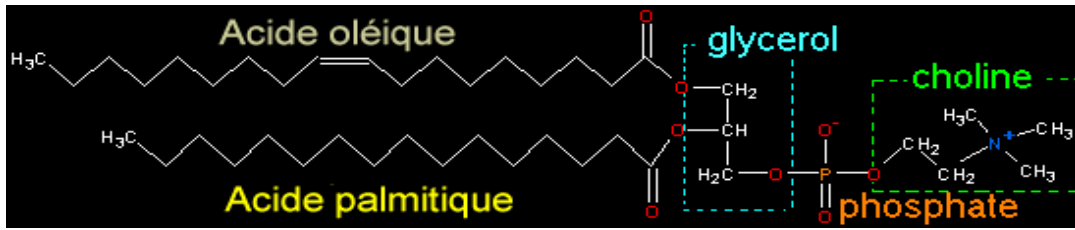


Fig.2. Structure des glycérophospholipides

***Spingophospholipides :** La sphingomyéline : elle résulte de l'association de la phospho-choline avec un acide et la sphingosine (**Fig.3.**).

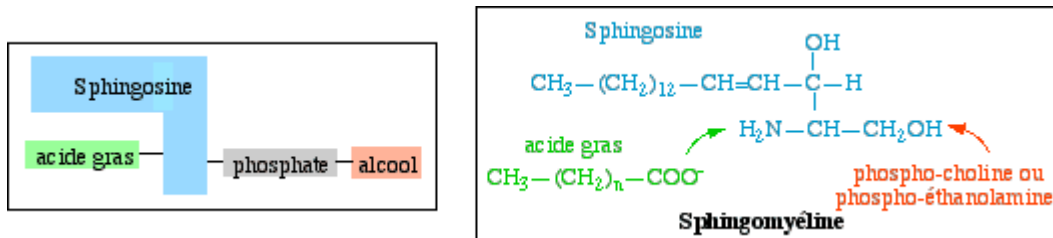


Fig.3. Structure des spingophospholipides

- **Cholestérol :** Il est constitué de plusieurs cycles et d'une chaîne latérale. Il contient également une fonction alcool (OH). C'est un dérivé d'un alcool cyclique appelé stérol. L'ensemble de la structure est apolaire (groupe **stéroïde**) à l'exception du OH alcoolique qui est polaire (**Fig.4.**). Il participe à la fluidité membranaire. Le cholestérol représente environ 25-35% des lipides de la membrane plasmique alors qu'il ne représente que 5-7% des lipides des membranes mitochondriales. Ces proportions peuvent être modifiées, ce qui a pour conséquence de changer la **fluidité** de la membrane ; plus les molécules de cholestérol sont nombreuses, moins la membrane est fluide.

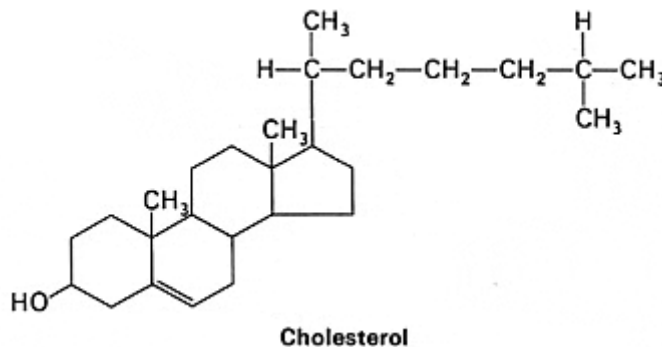


Fig.4. Structure du cholestérol

- **Glycolipides :** Ce sont des lipides complexes dérivés de la sphingosine. Ils résultent de l'association de la **sphingosine** avec un **sucre** (en général le galactose) et d'un **acide gras** de poids moléculaire élevé (**Fig.5.**). Ils sont localisés sur la face externe de la membrane plasmique. Les plus connus sont : les **cérébrosides** (abondants dans les cellules du système nerveux central) et **gangliosides** (abondants dans les cellules de la substance grise de l'encéphale) et les **sphingomyélines** (présente en grande quantité dans les gaines de myéline et les hématies).

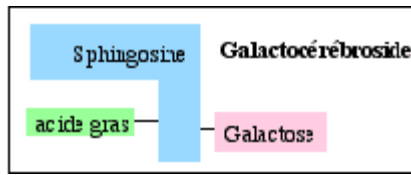
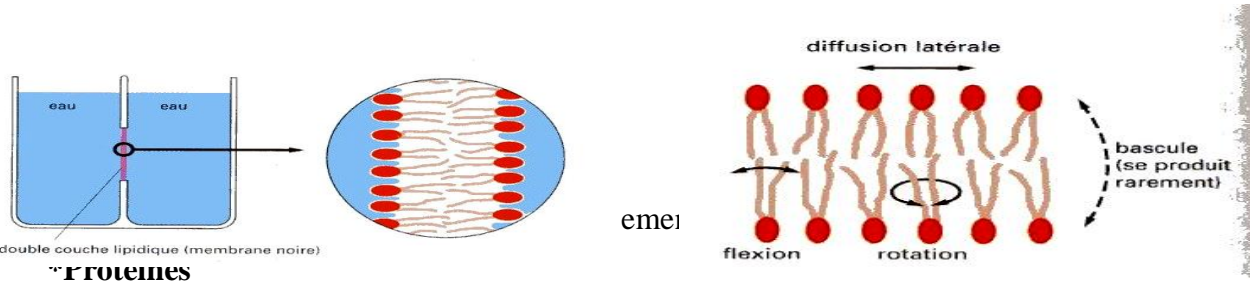


Fig.5. Structure des sphingolipides exemple d'un glycolipide



Les composants majoritaires de la membrane plasmique et de l'ensemble des membranes biologiques (25% à 70% en masse). Les Protéines assurent les fonctions principales des membranes comme : protéines structurales, enzymes, protéines de transport, récepteurs... (Fig .7.)

On en distingue deux types, celles dites intrinsèques (intégrales), et celles dites extrinsèques (périphériques). Les premières sont solidement associées à la bicouche, qu'elles peuvent traverser la bicouche lipidique par une ou plusieurs chaînes **hélicoïdales** d'acides aminés **hydrophobes** (elles possèdent alors un ou plusieurs domaines hydrophobes), et exposent à chacune des deux faces de la membrane (faces extracellulaire et intracellulaire) des acides aminés possédant des groupements **polaires**. Elles possèdent très souvent un groupement **glycosylé** greffé sur l'extrémité du domaine **extracellulaire**. Les secondes sont hydrophiles et liées aux premières par des liaisons faibles de surface. Tout comme les lipides, les protéines peuvent se déplacer par diffusion latérale, au sein des membranes, mais sont incapables de basculer d'un feuillet dans l'autre.

Ces protéines peuvent être étudiées par différentes techniques : détergents (formation de micelles), cryofracture, techniques d'immunochimie. Toutes ces techniques ont permis la mise en évidence des mouvements de rotation et de translation des protéines transmembranaires : théorie de la mosaïque fluide de Singer et Nicholson.

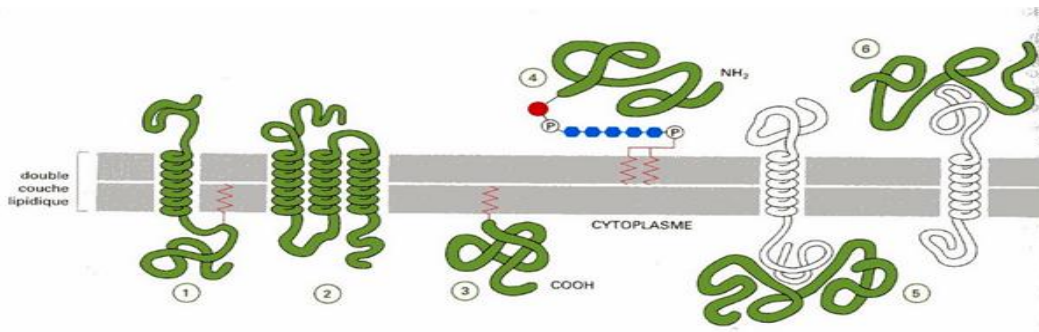


Fig .7. Différents types de protéines membranaires

***Glucides**

Les glucides membranaires sont généralement de petits glucides ramifiés comportant moins de 15 monomères et ils sont situés dans le **domaine extracellulaire**. Les glucides varient entre les espèces, entre les individus d'une même espèce, voire entre les types de cellules d'un même organisme. Dans la membrane plasmique les glycoprotéines sont majoritaires et elles sont localisées dans le feuillet externe. Chez les animaux, les glucides forment un feutrage souple appelé **glycocalyx** (Fig .8.).

Ils sont associés, par covalence, aux protéines sous forme de glycoprotéines (lors des modifications post-traductionnelles de celles-ci) ou aux lipides sous forme de glycolipides. Le poids des glucides dans

la membrane varie de 2 à 10 % de son poids total. Les principaux glucides membranaires sont : le galactose, le mannose, la galactosamine, la glucosamine, le glucose et l'acide sialique.

Les glucides solubilisent et stabilisent la conformation tridimensionnelle des parties extracytoplasmiques des protéines. Ils facilitent l'hydratation des protéines par la rétention d'eau liée au contact de la cellule. Les glucides jouent un rôle important dans les interactions cellules-cellules. Les glucides participent dans la formation des récepteurs ce qui permet leur interaction avec le messager circulant. L'acide sialique assume la négativité du potentiel électrique externe de la membrane.

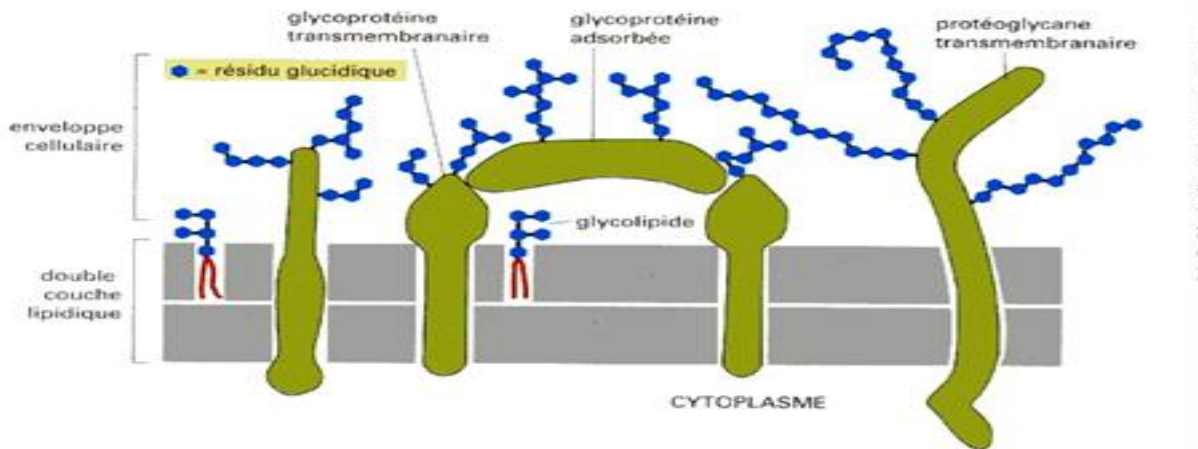


Fig .8. Le glycocalix

b. Architecture biomoléculaire des membranes.

Singer et Nicholson ont proposé le modèle dit de la mosaïque fluide pour expliquer les propriétés (les fonctions) des membranes biologiques. Ce modèle est basé sur les hypothèses suivantes :

- les membranes biologiques sont asymétriques
- les lipides peuvent migrer latéralement dans une monocouche
- les protéines migrent facilement dans un monocouche
- les glycolipides et glycoprotéines sont situés sur la face externe de la membrane
- Au microscope optique : on ne voit que l'enveloppe cellulaire.
- Au microscope électronique (X 100 000) : la membrane a un aspect bilaminaire.
- L'épaisseur de la bicouche est de 6 à 10 nm.

***Face externe**

- Le glycocalyx : c'est un revêtement fibreux, constitué de l'ensemble des sucres et qui porte les antigènes de surface.
- On peut le mettre en évidence en microscopies optique et électronique par différentes techniques (ruthénium, lectines).
- Les sucres que l'on trouve du côté externe de la membrane sont :
 - des sucres à courtes chaînes fixés sur les glycoprotéines,
 - des glycosaminoglycannes associés aux protéines pour former les protéoglycannes
 - les sucres fixés directement sur les lipides pour former les glycolipides.
- Certaines techniques permettent de localiser les protéines sur la membrane après avoir produit des fantômes cellulaires ou vésicules par lyse. Les vésicules peuvent se former à l'endroit (feuillet externe à l'extérieur) ou à l'envers (feuillet interne à l'extérieur).

*Face interne

La membrane interagit avec le cortex cellulaire qui est un élément situé sous la membrane. Par exemple, au niveau du globule rouge, la spectrine, associée à l'actine, forme un réseau plaqué contre la face interne de la membrane grâce à une protéine de liaison, l'ankyrine.

Les protéines présentent des mouvements de rotation sur place et de diffusion ; par exemple le mécanisme de capping des lymphocytes. Mais, les protéines sont limitées dans leurs mouvements car elles sont liées à des éléments du cytosquelette. Elles sont aussi fixées à la matrice extracellulaire par l'intermédiaire d'autres molécules.

La matrice extracellulaire est constituée de :

- protéines fibreuses, comme le collagène
- glycoprotéines responsables des phénomènes d'adhérence
- de glycoaminoglycannes et de protéoglycannes

Les protéines sont limitées également par les liaisons entre les cellules. Il existe aussi des barrières de diffusion dans les épithéliums, dans les tissus contractiles, dans les tissus de soutien, dans le tissu nerveux.

Les barrières de diffusion sont constituées de complexes de jonction qui empêchent la migration libre des protéines.

c. Les échanges membranaires :

La membrane cytoplasmique, interface entre la cellule et son environnement, C'est une barrière dynamique sélective entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire. Elle possède la propriété de réguler les échanges bidirectionnels de molécules et d'ions (composés minéraux et organiques qui alimentent le métabolisme cellulaire ou qui sont évacués en tant que déchets) entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire. Cette propriété recouvre l'ensemble des transports membranaires, assurés par **deux grandes classes de protéines: les protéines canal et les transporteurs.**

L'ensemble de ces protéines se distingue selon deux critères : le nombre et le sens des molécules transportées. Elles se subdivisent en trois catégories (**Fig.9.**) :

- les protéines de type **uniport** (ou uniporteurs) transportent **une molécule** ou un ion dans **une direction**,
- les protéines de type **symport** (ou symporteurs) transportent **deux substances de nature différente** dans la **même direction**,
- les protéines de type **antiport** (ou antiporteurs) transportent **deux substances de nature différente** dans des **directions opposées**.

LES TYPES DE PROTÉINES TRANSPORTEUSES

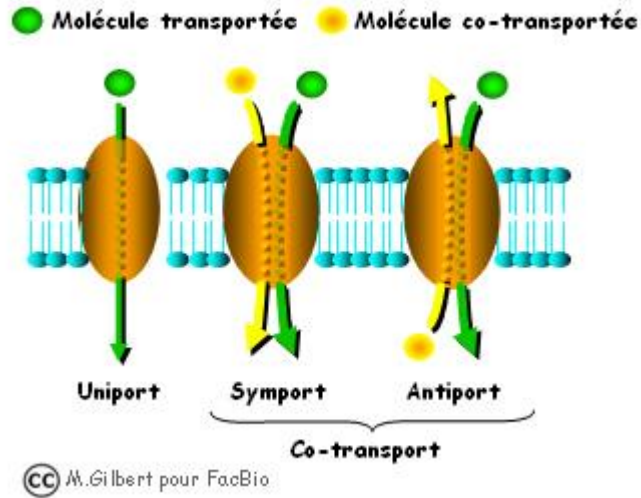


Fig.9. Les types de protéines transporteuses

Seules les molécules hydrophobes, les gaz dissous, de faible masse moléculaire, franchissent les bicouches phospholipidiques sans transporteur, par diffusion selon leur gradient de concentration, sous l'action de la seule diffusion.

Tous les composés polaires de masse élevée, les molécules organiques chargées et les ions minéraux sont totalement arrêtés par ces mêmes. Pour pénétrer dans les cellules, ces derniers doivent donc emprunter des dispositifs appropriés, constitués par des canaux, des pores ou des protéines porteuses : il s'agit de protéines transmembranaires de grande taille, souvent constituées de plusieurs sous-unités, qui fonctionnent de deux façons très différentes.

***Transports passifs** (perméabilité passive = diffusion) Il est régi uniquement par des lois physico-chimiques et ne nécessite pas l'intervention active de la cellule. On distingue deux types de transport passif: **la diffusion simple et la diffusion facilitée.** (Fig.10.)

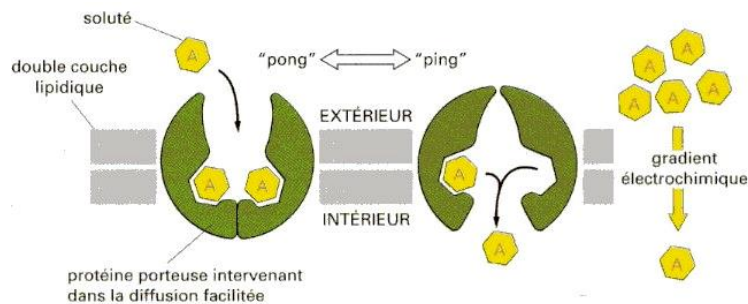


Fig.10. Transport passif

Dans le cas de **la diffusion simple**, les molécules sont spontanément transportées à travers la membrane dans le sens du **gradient de concentration**, c'est à dire du compartiment où la concentration est la plus élevée vers le compartiment où la concentration est la plus faible ; dont la vitesse de déplacement dépend de la taille et est proportionnelle à la concentration. La molécule à transporter se dissout dans la **bicouche lipidique** et y diffuse pour ensuite se dissoudre dans le milieu aqueux face opposée. Ce mécanisme de diffusion n'implique donc aucune protéine membranaire n'est impliquée dans ce processus (Fig.11.).

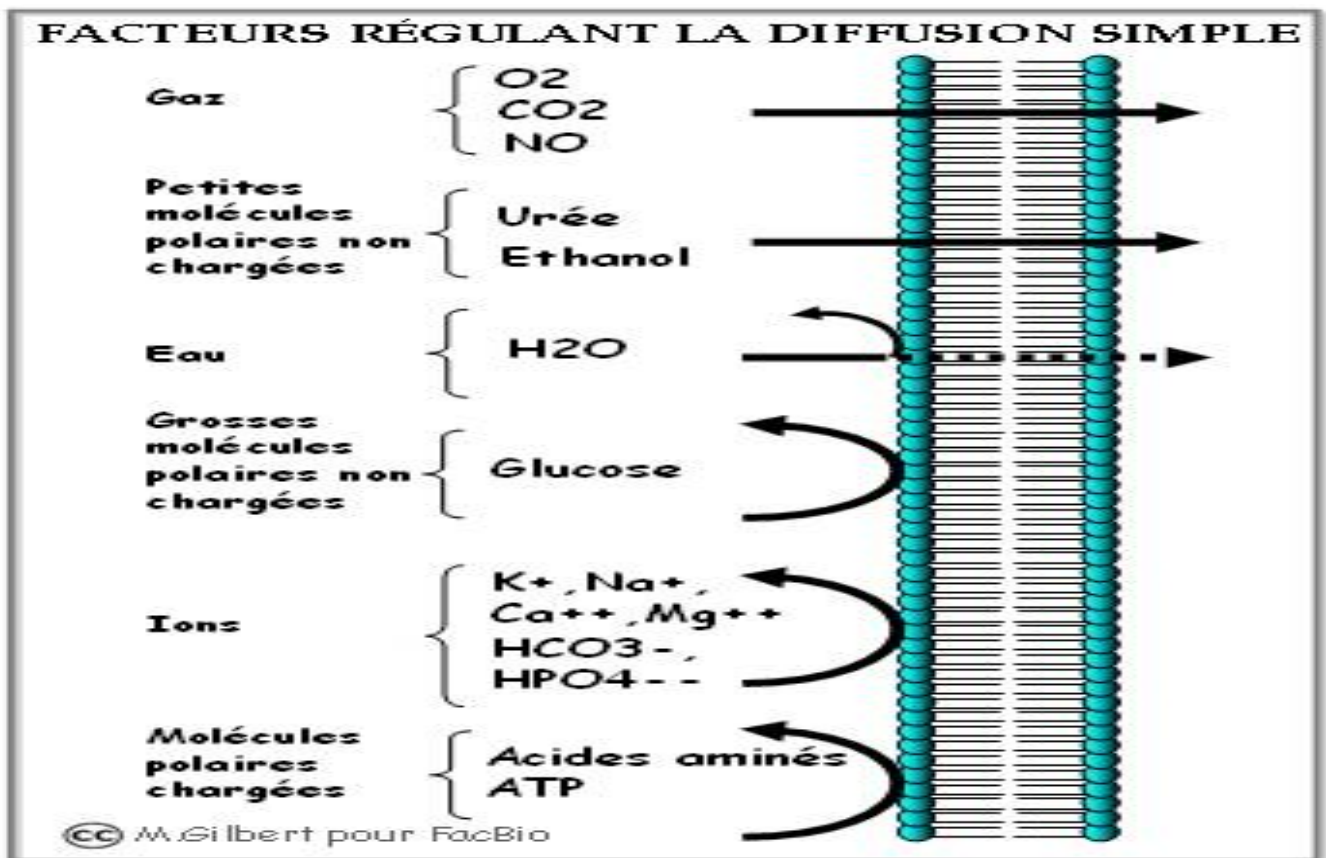


Fig.11. Les molécules transportées à travers une membrane biologique par la diffusion simple

La diffusion simple est un processus **non sélectif** puisque toute molécule qui se dissout dans toute membrane biologique est capable de la traverser et de s'équilibrer entre le milieu extracellulaire et intracellulaire.

Facteurs régulant la diffusion simple :

- ◆ la **liposolubilité**: c'est le facteur déterminant,
- ◆ le **poids moléculaire**: la membrane plasmique est pratiquement imperméable aux molécules ayant un PM supérieur à 1000,
- ◆ l'**ionisation** : la bicouche lipidique de la membrane plasmique est imperméable aux molécules chargées,
- ◆ la **surface d'échange**: certaines cellules telles que celles de l'épithélium intestinal et du tube contourné distal du rein sont spécialisées dans les échanges, elles présentent alors des adaptations morphologiques (microvillosités, invaginations) qui leur permettent d'augmenter leur surface d'échange,

La diffusion facilitée ou perméation s'applique au transport membranaire de diverses **molécules polaires** (oses, nucléosides) et **certains ions** appelée le **ligand**. Dans ce cas le ligand est pris en charge par une protéine transporteuse (= transporteurs) ce qui évite le contact avec la bicouche lipidique lors de son transfert vers l'autre face de la membrane). Ces transporteurs accélèrent les transports par diffusion en constituant de simples orifices sélectifs à travers la bicouche (canaux ioniques et pores, tels que les aquaporines), ou en fonctionnant à la manière des enzymes, c'est à- dire en reconnaissant la molécule à internaliser au niveau d'un site spécifique, et en subissant un changement de conformation qui amène la molécule de l'autre côté de la membrane (**protéines porteuses** ou **perméases**).

***Transports actifs**

Ils permettent de faire passer des molécules ou des ions dans le sens contraire de leur gradient électrochimique (contre les forces de diffusion), en utilisant donc une source d'énergie. On en distingue deux types :

➤ **Transports actifs primaires,**

Lorsqu'une substance est transportée à l'encontre de la tendance naturelle de diffusion -, le transport nécessite évidemment de l'énergie. Ce **transport actif** est réalisé par une protéine transmembranaire appelée **pompe membranaire**, et la source d'énergie utilisée est généralement l'**ATP** comme source d'énergie.

La pompe Na^+/K^+ ATPase (pompe Na^+/K^+ ATP dépendante) est un exemple de ce type de transport, il permet le maintien des concentrations de Na^+ et de K^+ à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule (**Fig.12.**). Pour une hématie, les concentrations intracellulaires en sodium et potassium sont respectivement de 12 et 140 mM alors que les concentrations extracellulaires sont respectivement de 145 et 5 mM. Le mécanisme responsable du maintien de la différence de concentration de part et d'autre de la membrane est dû à un transport actif de chacun de ces ions.

Il permet le transport contre un gradient de concentration. Il nécessite de l'énergie. L'énergie peut être obtenue à partir de l'hydrolyse de l'ATP :

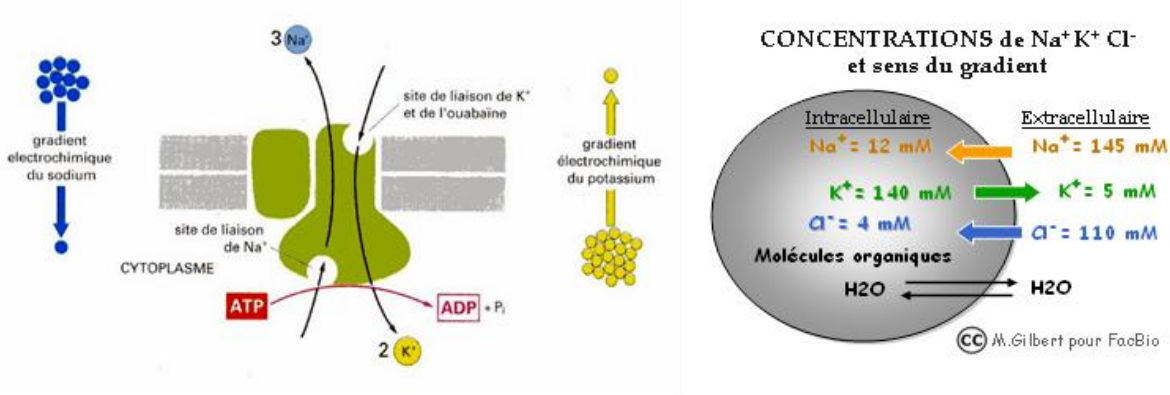


Fig.12. Transport actif primaire

Le transport actif est vital pour concentrer dans la cellule les nutriments et autres molécules environnantes peu concentrées, mais aussi pour évacuer de son cytoplasme les déchets qui s'accumulent dans la cellule et qui ne peuvent diffuser pour diverses raisons.

➤ **Transports actifs secondaires,**

Ils permettent le transport couplé (cotransport) entre un ion dit « moteur », qui suit son gradient électrochimique (par diffusion) et entraîne en même temps (par symport ou antiport) le mouvement d'une molécule organique ou d'un autre ion dans le sens inverse de leur propre gradient (transport actif) **Fig.13.** Le maintien du gradient de l'ion moteur nécessite évidemment l'intervention d'une pompe ATP dépendante. (L'énergie libérée par le passage d'une molécule selon son gradient permet le passage de l'autre molécule contre son gradient).

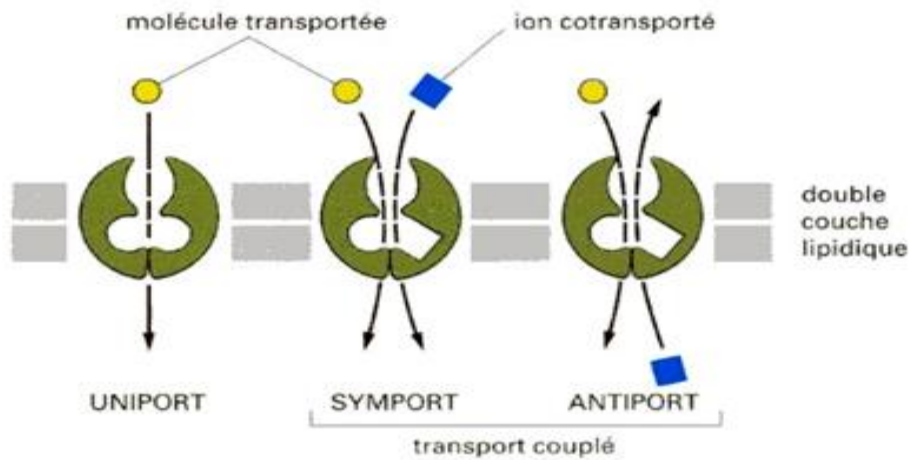


Fig.13. Transport actif secondaire

LES 4 TYPES DE TRANSPORTS MEMBRANAIRES

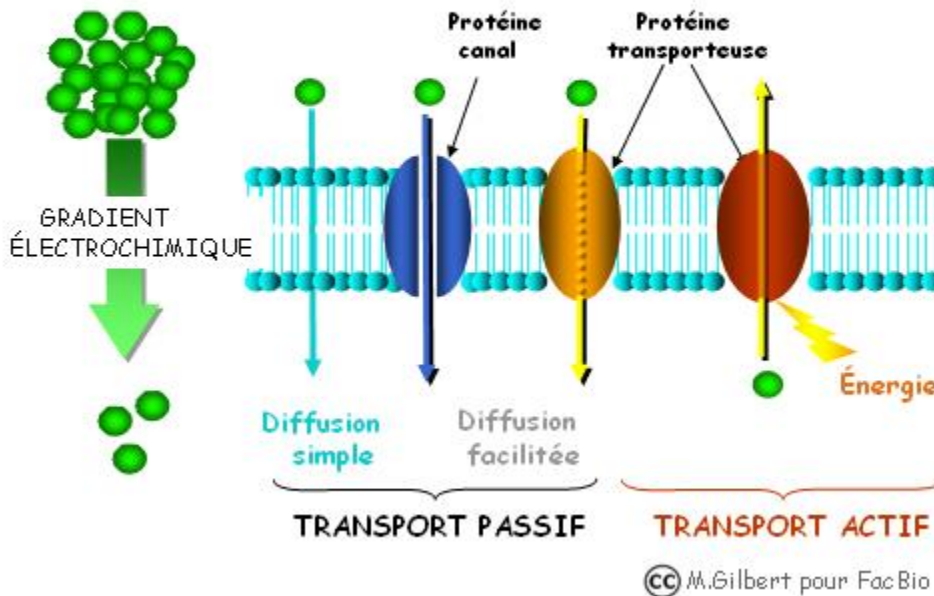


Fig.14. Les différents types de transports membranaires

*Transport utilisant les mouvements membranaires (Le transport particulaire)

Parfois, de très grosses molécules, ou même des particules encore plus grosses, doivent entrer dans une cellule ou en sortir. Ces éléments ne peuvent franchir les membranes en pénétrant la bicouche lipidique (perméation) ni en empruntant des perméases ou des pompes protéiques. Le transport de particules aussi grosses est cependant possible grâce à la fluidité de la membrane et à son dynamisme qui lui permettent de changer de forme, de fusionner avec de petits sacs membraneux ou de s'invaginer pour former de tels sacs. Quand des fusions de ce type se produisent, la tendance spontanée des bicouches lipidiques à former des surfaces continues entre en jeu et la membrane se ressoude automatiquement.

➤ Endocytose

Les cellules peuvent incorporer du matériel de leur environnement. Le sac membranaire formé par invagination de la membrane plasmique et contenant la particule endocytée porte le nom de **vacuole d'endocytose** ou d'**endosome**. La face extracellulaire de la membrane se retrouve du côté interne dans la vacuole (Fig.15). L'endocytose est un phénomène n'apparaissant pas chez les cellules végétales, leur

épaisse paroi l'empêchant. L'endocytose fonctionne selon trois modes différents : la pinocytose, l'endocytose médiée par récepteur et la phagocytose.

- **La pinocytose** où la cellule ingère une petite portion de liquide extracellulaire : la membrane plasmique s'invagine, formant, dans le cytoplasme, un long canal étroit à l'extrémité duquel des vésicules se détachent.
- **L'endocytose médiée par récepteur** nécessite des récepteurs spécifiques à la molécule internalisée et d'autres molécules permettant les mouvements membranaires. Il existe deux mécanismes d'internalisation par récepteurs: avec clathrine et avec cavéoline.
- **La phagocytose**, par ce mécanisme, une cellule ingère de grosses particules alimentaires comme des bactéries ou des fragments cellulaires. La phagocytose est le principal mode d'alimentation de nombreux protistes animaux et de beaucoup d'animaux pluricellulaires simples. Chez les animaux supérieurs, la phagocytose débarrasse l'organisme de débris tels que les cellules mortes et joue un rôle dans la défense contre les maladies microbiennes. Les **phagosomes** contenant les particules alimentaires phagocytées fusionnent, dans le cytoplasme, avec les **lysosomes primaires**, contenant les enzymes digestives, et forment ainsi les **lysosomes secondaires** où s'effectuent la digestion. Les produits de la digestion, utiles pour le métabolisme cellulaire, passent dans le cytosol, tandis que les déchets peuvent soit être rejetés à l'extérieur de la cellule par une exocytose baptisée **défécation cellulaire**, soit s'accumuler dans la cellule, comme c'est le plus souvent le cas chez les organismes pluricellulaires.

➤ Exocytose

Une cellule peut aussi exporter du matériel par **exocytose**. Au cours de ce mécanisme, la membrane d'une vacuole interne ou d'une vésicule fusionne avec la membrane plasmique, et le contenu de la vacuole d'exocytose est déchargé dans le milieu extracellulaire (**Fig.15**). Les substances ainsi libérées peuvent être des déchets de l'alimentation cellulaire ou des sécrétions comme des hormones. On parle, dans ce dernier cas, d'une sécrétion **mérocine** ou **eccrine**.

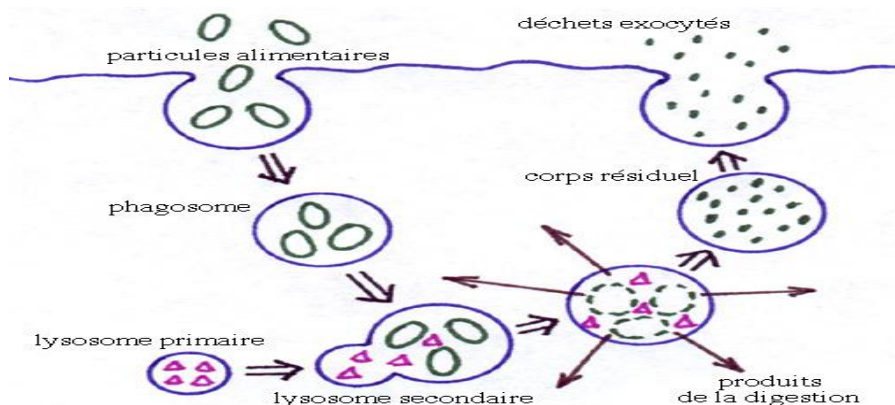


Fig.15. Schéma original illustrant les phénomènes de phagocytose, de digestion cellulaire et d'exocytose

- Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire (protéines récepteurs, translocons...)

L'adhérence est réalisée grâce à des interactions homophiliques, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux mêmes protéines, ou hétérophiliques, c'est-à-dire qu'il y a interaction entre deux protéines différentes. Les molécules d'adhérence cellulaire (Cell Adhesion Molecules, CAM) sont des glycoprotéines transmembranaires. Elles comprennent quatre superfamilles : les intégrines, les cadhérines, les sélectines et les protéines de type immunoglobuline. Ces molécules d'adhérence assurent :

- la reconnaissance spécifique entre deux cellules ou entre cellules et Milieu Extra Cellulaire (MEC)

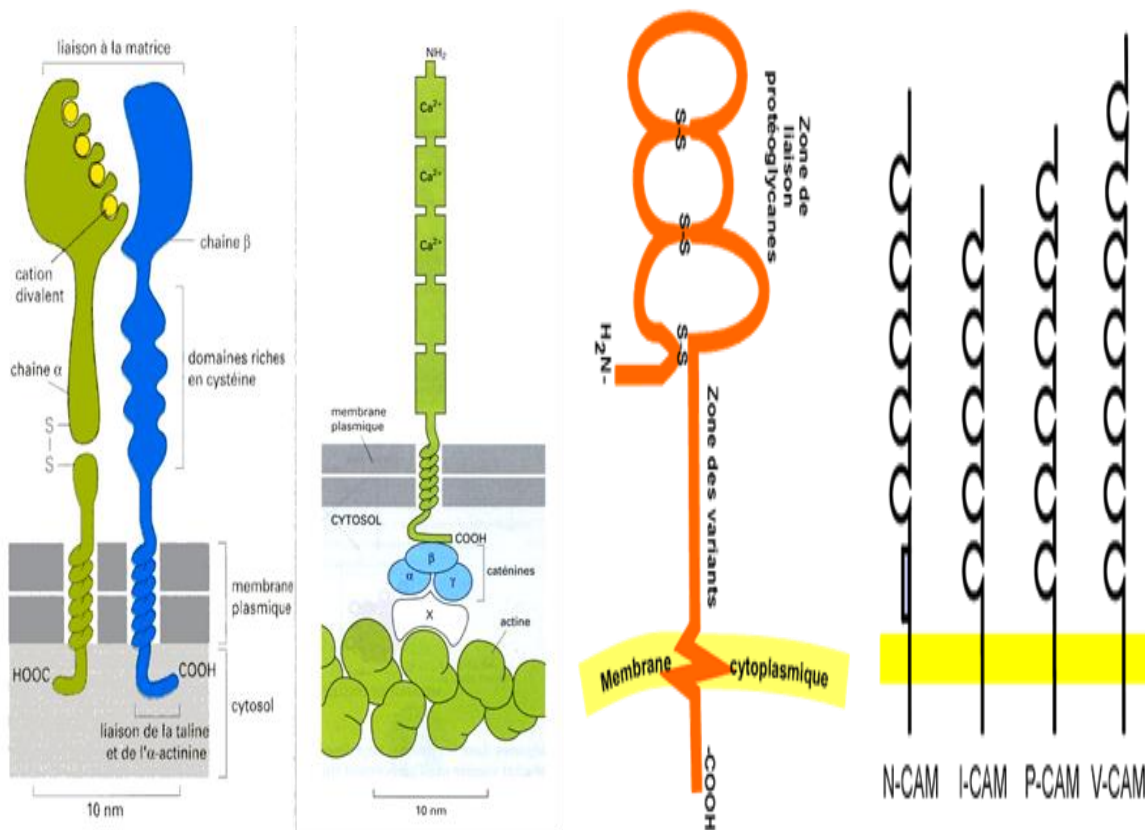
- la formation de contacts stables entre deux cellules ou entre une cellule et la MEC
- la transmission de signaux capables de modifier le comportement de la cellule avec son environnement.

***Les intégrines** sont des hétérodimères glycoprotéiques alpha et bêta ($\alpha\beta$) présentant une extrémité extracellulaire N-terminale, elles sont **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante** (**Fig.16.a**). Elles sont toujours présentes, mais non actives. Elles constituent une superfamille de récepteurs de diverses molécules de la MEC : fibrinogène, fibronectine, vitronectine, collagènes.... Elles interagissent également par des interactions hétérogènes avec des immunoglobulines et des cadhérines, et dans le milieu intracellulaire avec le cytosquelette. Les intégrines sont liées au cytosquelette et sont une des voies majeures de la transduction des signaux entre la MEC et les cellules épithéliales. Elles interviennent dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires.

***Les cadhérines** : sont des glycoprotéines transmembranaires sous la forme de monomère. Elles sont **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante**, toujours présentes et actives (**Fig. 16.b**). On les trouve sur l'ensemble de la membrane. Les cadhérines varient d'un type cellulaire à l'autre. De cette manière leurs extrémités intracellulaires C-terminale interagissent avec les plaques denses ou directement avec les protéines du cytosquelette, et leurs extrémités extracellulaires N-terminale réaliseront des interactions homophiles et hétérophiles avec des autres cadhérines, des intégrines et des protéines de la matrice extracellulaire (**Fig..c**). Dans les tissus, les cellules inhibent leurs propres croissances en interagissant les unes avec les autres et ceci grâce à la présence des cadhérines qui sont responsables de ce phénomène appelé **inhibition par contact**.

1. ***Les sélectines** sont des glycoprotéines sous forme de monomère possédant une extrémité N-terminale extracellulaire. Les sélectines sont des lectines **calcium** (Ca^{2+}) **dépendante** qui ont la spécificité de reconnaître des motifs glucidiques portés par les glycoprotéines ou les glycolipides de la membrane (**Fig. 16.c**). Elles permettent la formation de liaison brève et de très haute spécificité. Elles ne sont pas exprimées en surface que dans les cellules activées. Elles interviennent dans des interactions hétérophiles lors de la **diapédèse** (migration des leucocytes à travers la paroi des capillaires, lors d'un processus inflammatoire)

***Les immunoglobulines** sont des monomères, possédant une chaîne lourde et une chaîne légère, avec des boucles fermées par des liaisons disulfure (**Fig. 16.d**). Ce sont des glycoprotéines riches en acide sialique et possèdent une trentaine. Les immunoglobulines sont **calcium** (Ca^{2+}) **indépendante**, contrairement aux autres molécules d'adhérence, et sont exprimés de manière constitutive au niveau de la membrane plasmique, autrement dit en permanence. La présence de l'acide sialique permet l'adhérence cellule – cellule. Ces interactions peuvent se défaire, comme dans les phénomènes d'adhérence que l'on rencontre dans les migrations lors du développement embryonnaire.



a) Les intégrines b) Les cadhérines c) Les sélectines d) Les protéines Ig
Fig.16. Les différents types de protéines d'adhérence

Les translocos ou encore **complexe de translocation**, sont des complexes de protéines responsables de la translocation de polypeptides au travers les biomembranes. En général sont des complexes qui transportent les polypeptides naissants porteurs d'une séquence signal depuis le cytosol vers l'intérieur du réticulum endoplasmique (RE) (la lumière). Ce transport permet à une protéine de traverser la bicouche lipidique hydrophobe. Le même complexe permet d'inclure des protéines membranaires naissantes dans la membrane elle-même. Le translocon **protéines Sec** est un complexe formé de plusieurs grands complexes protéiques. L'élément central est le canal de translocation, l'hétérotrimère Sec61.

Les protéines avant d'être transloquées dans le réticulum endoplasmique comportent la séquence SRP (*signal-recognition particle*), c'est un complexe de protéines et d'ARN soluble qui sert à fixer des ribosomes sur le réticulum endoplasmique par reconnaissance d'une séquence peptidique signal hydrophobe spécifique, ce qui entraîne l'arrêt de la traduction par blocage du ribosome. Le complexe ribosome-ARNm-peptide en cours de traduction s'accroche au récepteur du SRP à la surface du réticulum endoplasmique situé proche d'un translocateur inactif sur la membrane du réticulum endoplasmique granuleux. Ce qui entraîne la libération du ribosome et la traduction de l'ARNm se poursuit au travers du canal du translocon. La chaîne polypeptidique ainsi formée se trouve dans le réticulum endoplasmique ou dans la membrane du réticulum. Une fois cela terminé, un enzyme appelé signal peptidase clive la séquence signal, laissant la protéine libre à l'intérieur du réticulum endoplasmique.

e. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence

On appelle antigène toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer. Il s'agit le plus souvent de protéines ou de peptides (fragments de protéines), des polysaccharides et leurs dérivés lipidiques qui sont reconnus de manière spécifique par des anticorps et également par certains globules blancs, les lymphocytes T8. Les anticorps sont produits par les lymphocytes B et leur production est stimulée par les lymphocytes T4 qui jouent un rôle de chef d'orchestre du système immunitaire.

La virulence est l'aptitude d'un germe pathogène, d'un agent pathogène, à se multiplier dans un organisme vivant et à y entraîner des manifestations morbides. Degré de pathogénicité causé par un organisme infectieux, indiqué par la sévérité de la maladie produite et la facilité avec laquelle il envahit les tissus de l'hôte; aptitude de tout agent infectieux à produire des effets

f. Récepteurs

La cellule répond sélectivement par des récepteurs spécifiques. Dans la plupart des cas, ces récepteurs sont des protéines transmembranaires situées à la surface de la cellule. Lorsqu'ils fixent la molécule de signalisation extracellulaire (ou le ligand), ils s'activent et engendrent une cascade de signaux intracellulaires qui modifient le comportement de la cellule. Dans d'autres cas, les récepteurs sont intracellulaires et les molécules de signalisation doivent entrer dans la cellule pour les activer : ces molécules sont dans ce cas suffisamment petites et hydrophobes (ou gazeuses) pour diffuser au travers de la membrane plasmique. C'est le cas par exemple des récepteurs pour les hormones stéroïdiennes, des récepteurs de la vitamine D ou encore des récepteurs aux oestrogènes.

Il y a trois familles principales de récepteurs cellulaires de surface, qui effectuent chacun différemment la transduction des signaux extracellulaires.

A. Les récepteurs couplés aux canaux ioniques : sont impliqués essentiellement dans la signalisation synaptique rapide entre les cellules électriquement excitables. Ce type de signalisation s'effectue par l'intermédiaire de neurotransmetteurs, tels que l'ATP, glutamate, glycine, acétylcholine ou sérotonine qui ouvrent et ferment transitoirement les canaux ioniques sur lesquels ils se fixent. Comme exemple le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (**Fig.17.A**).

B. Les récepteurs couplés aux protéines G régulent directement l'activité d'une autre protéine liée à la membrane plasmique, qui peut être soit une enzyme soit un canal ionique. Ils forment la plus grande famille de récepteurs membranaires de la surface cellulaire (environ 1500 récepteurs différents). Ils sont tous étroitement apparentés à la rhodopsine (pigment visuel des bâtonnets), et ont en commun : sept segments transmembranaires (c'est pour cela qu'on les qualifie aussi de récepteurs serpentine ou 7 TM), l'élaboration de signaux intracellulaires par l'intermédiaire d'une GTPase hétérotrimérique (**Fig.17.B**).

C. Les récepteurs couplés aux enzymes, lorsqu'ils sont activés, fonctionnent directement comme une enzyme ou sont directement associés aux enzymes qu'ils activent. Ils sont formés de protéines à un seul domaine transmembranaire qui ont leur site de liaison au ligand situé à l'extérieur de la cellule et leur site catalytique ou de liaison enzymatique situé à l'intérieur. Les ligands qui s'y fixent provoquent la phosphorylation de groupes spécifiques de protéines dans la cellule cible (**Fig.17.C**).

- Les récepteurs couplés à une enzyme "intrinsèque" : Leur segment cytoplasmique contient un domaine kinasique qui appartient soit à la classe des sérine/thréonine kinases (récepteur sérine/thréonine kinase) soit à la classe des tyrosine kinases (récepteur tyrosine kinase (RTK)). Ils forment des dimères après fixation du ligand (à l'exception du récepteur de l'insuline qui est déjà dimérisé) et subissent, sauf pour le récepteur d'EGF, une transphosphorylation qui révèle leur activité kinasique (qui rend le domaine catalytique « compétent »). Cette activation est à l'origine de nombreuses autres phosphorylations du segment intracellulaire du récepteur, ce qui entraîne la liaison de plusieurs molécules effectrices. Leurs ligands appartiennent pour la plupart à la famille des facteurs de croissance, tels que EGF, FGF, Insuline, ou encore M-CSF.

- Les récepteurs couplés à l'enzyme "extrinsèque" Il s'agit de récepteurs qui possèdent un seul segment transmembranaire sans domaine kinasique. Ils s'associent à des protéines tyrosine kinases situées dans le cytoplasme. Ils sont souvent appelés récepteurs de « cytokines ». Dans cette classe on range également des molécules d'adhérence de la famille des intégrines.

Il existe aussi des récepteurs qui échappent à cette classification dont l'intérêt n'est que didactique. Par exemple ; le récepteur du monoxyde d'azote, responsable de la relaxation des muscles lisses vasculaires, et également les récepteurs cytoplasmiques des hormones stéroïdes, les récepteurs des

acides gras (PPARs), les récepteurs des rétinoïdes (RXR, RAR), les récepteurs des deux hormones thyroïdiennes et les récepteurs de la famille Notch.

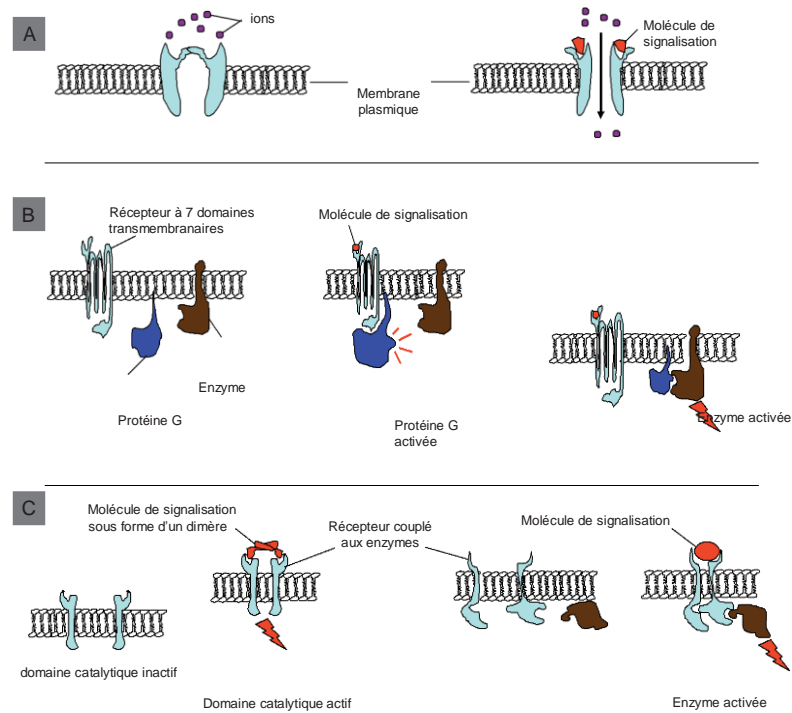


Fig.17. Trois classes de récepteurs cellulaires de surface : (A) Les récepteurs couplés aux canaux ioniques. (B) Les récepteurs couplés aux protéines G. (C) Les récepteurs couplés aux enzymes. Après la fixation de la molécule de signalisation extracellulaire, les récepteurs couplés aux enzymes peuvent avoir une activité enzymatique intrinsèque ou recruter et activer une enzyme associée.

Les récepteurs nucléaires, contrairement aux précédents, ceux-ci sont localisés dans le cytoplasme mais subissent une translocation vers le noyau cellulaire lorsqu'ils interagissent avec leur ligand. En se fixant sur les séquences promotrices des gènes, ils accélèrent ou inhibent leur expression. Cette famille regroupe principalement les récepteurs des hormones gonadiques (oestrogènes, progestérone, testostérone) et surrénaliennes (cortisol, corticostérone).

2. Relation structure-fonction de la cellule

a. Biosynthèse des protéines membranaires et des protéines de sécrétion

Parfois, la cellule va relâcher des protéines dans le milieu extérieur afin de communiquer avec le reste de l'organisme : des hormones, des neurotransmetteurs, des enzymes ... Toutes ces protéines indispensables à notre survie sont produites par un processus appelé **sécrétion protéique (Fig.18.)**.

La protéine en cours de sécrétion va passer à différents postes qui chacun vont participer à sa maturation, où la protéine terminée va pouvoir quitter la cellule. Un phénomène de fusion avec la membrane va alors ouvrir la poche de transport, libérant la protéine hors de la cellule.

L'ARNm correspond à cette protéine sortira du noyau pour rejoindre le **cytosol**. L'ARNm va alors être reconnu par les ribosomes qui le **traduit** en protéines, l'ARNm contient un signal qui indique au ribosome qu'il s'agira d'une protéine destinée à être sécrétée, celui-ci se place alors à proximité du **réticulum endoplasmique**. Dans ce compartiment, la protéine, qui est encore sous la forme d'une simple chaîne d'acides aminés, va alors acquérir une conformation tridimensionnelle bien précise et stable. C'est une étape dite de **repliement protéique**, au cours de laquelle interviennent de **protéines chaperonnes**. Ces petites "ouvrières" vont aider la protéine à atteindre **sa bonne conformation**.

Cependant, si notre protéine n'arrive pas à être repliée correctement et n'atteint pas de structure stable, elle sera vite repérée par un **système de contrôle qualité** du réticulum endoplasmique (appelée **ERAD** pour *Endoplasmique Reticulum Associated Degradation*), qui assure alors la dégradation de la protéine mal repliée.

Une fois cette structure acquise, la protéine est envoyée au compartiment suivant : **l'appareil de golgi**, dans lequel elle poursuit sa maturation. Dans ce compartiment, de petites molécules, appelés **résidus**, vont lui être ajoutés. Par exemple, un **groupement phosphate** par une phosphorylation.

Une fois ces modifications faites sur la protéine, celle-ci va être emmenée dans des **vésicules de sécrétion**. Ces sortes de sacs de transports vont amener la protéine au niveau de la **membrane**. Quelques ultimes modifications peuvent encore être apportées à la protéine dans ces vésicules. Si la protéine destinée à être sécrétée dans le milieu extérieur cette protéine est obligatoirement soluble. Et donc la vésicule contenant cette protéine va fusionner avec la membrane et permettre de libérer dans le milieu extérieur. On appelle ce processus **exocytose**. Cependant, si cette protéine est insoluble elle sera attachée aux membranes de la cellule.

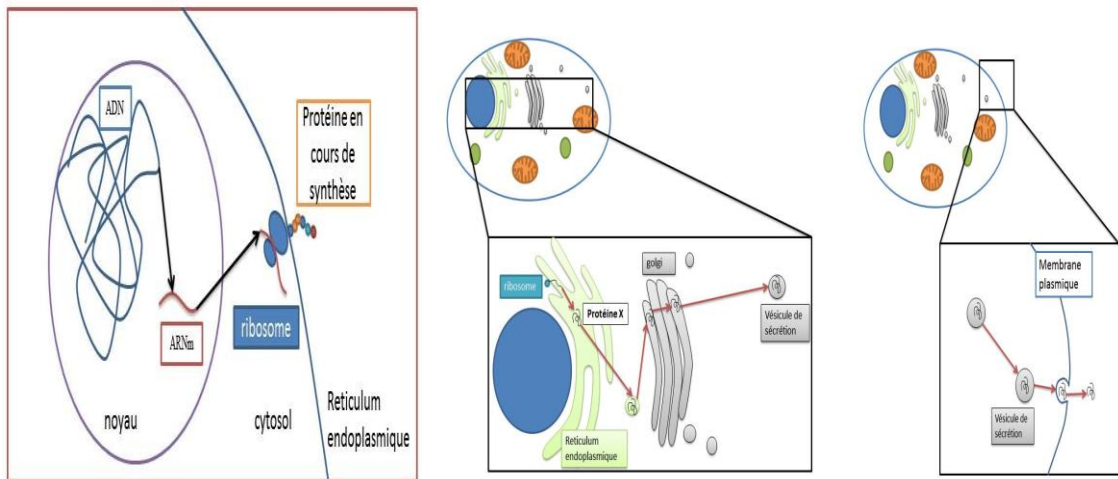


Fig.18. La synthèse protéique

b. Le cytosquelette : Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimiques et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale (Les fibres de stress).

Le cytosquelette est un ensemble de protéines assemblées en un réseau complexe de microtubules, de microfilaments et de filaments intermédiaires. En raison de sa dénomination, ce réseau interne constitue à la fois un «squelette» et une «musculature» à l'échelle cellulaire. Le premier modèle, proposé par Ingber en 1993 sous le nom de *tensegrity*, a été suivi par d'autres modèles, chacun ayant ses propres équations constitutives, permettant de prévoir suivant le cas la réponse du réseau à une contrainte de torsion, de cisaillement, d'extension ou de compression

La résistance de la cellule aux contraintes mécaniques est essentiellement assurée par les filaments intermédiaires grâce à leur grande déformabilité. Les microtubules et les microfilaments sont le plus souvent associés aux fonctions dynamiques du cytosquelette, mais ils entrent aussi dans la constitution de nombreux édifices stables.

Ces structures ne pourraient assurer aucune fonction dans les cellules si elles n'étaient pas associées à de nombreuses protéines «accessoires» qui les relient aux organites ou à la membrane plasmique. En revanche, les filaments intermédiaires forment toujours des structures fibreuses stables qui ont un rôle essentiellement architectural ; ils n'ont été identifiés, jusqu'à présent, que dans les cellules animales. Les deux autres réseaux sont communs à tous les Eucaryotes.

Dans le cas de grandes déformations intervenant lors d'événements majeurs de la vie de la cellule comme la croissance ou la division cellulaire, les propriétés mécaniques des cellules ne sont pas seulement dues à la bicouche lipidique externe mais aussi au cytosquelette qui supporte cette bicouche. Toutes les cellules eucaryotes ont un cytosquelette qui donne à la cellule sa forme, sa capacité à se déplacer, et qui gère l'organisation interne de la cellule

(Voire diapos)

Le cytosquelette a de nombreuses fonctions :

Les mouvements cellulaires

À côté de son rôle architectural, le cytosquelette possède un grand nombre de fonctions dynamiques concernant aussi bien les mouvements internes à la cellule que ses déformations

ou son déplacement. Les microtubules et les microfilaments d'actine, présents chez tous les Eucaryotes, sont responsables de ces fonctions.

Le positionnement et les déplacements des organites : la plupart d'entre eux (le réticulum endoplasmique, les saccules golgiens, les mitochondries) sont arrimés sur des microtubules grâce à des **moteurs moléculaires**, qui assurent en outre leurs déplacements contrôlés en fonction des étapes du cycle cellulaire ou des besoins physiologiques locaux. Les mouvements des multiples vésicules qui font communiquer les compartiments membranaires entre eux, ou qui permettent l'endocytose et l'exocytose sont aussi assurés par le cytosquelette. La cyclose chez les végétaux relève aussi de ces mécanismes.

Lors de la division cellulaire, la mise en place de l'**appareil mitotique** mobilise toute la tubuline interphasique jusque-là organisée en microtubules rayonnant autour du centrosome. Cette structure très complexe participe à la bonne séparation des chromatides soeurs (ou des chromosomes homologues lors de la méiose I) lors de la mitose. La cytodierèse des cellules animales met en oeuvre un **dispositif annulaire contractile**, formé d'actine et de myosine, dont le rôle est de séparer en deux le cytoplasme de la cellule en fin de division.

Les déformations cellulaires : elles impliquent le **couple actine/myosine** et sont mises en oeuvre lors de la contraction des cellules musculaires ou lors du repliement des épithéliums, phénomène fréquent lors de l'embryogenèse. Lors des déplacements des cellules isolées (cellules embryonnaires mobiles, cellules tumorales, cellules animales en culture, amibes...), diverses structures à base d'actine sont utilisées, telles que les lamellipodes ou les pseudopodes ; les points de contact focaux leur permettent de s'accrocher transitoirement au support et servent de point d'appui.

Les structures locomotrices spécialisées : les cils et les flagelles, qui sont rencontrés chez les Protistes ou chez de nombreuses cellules animales (épithéliums bronchique et de l'oviducte, ou spermatozoïdes, par exemple), sont constitués de microtubules organisés en **axonèmes**.

Les contacts focaux (ou adhérences focales ou plaques d'adhérence) sont des jonctions adhérentes ponctuelles entre la membrane plasmique de la cellule et la MEC sous-jacente. Ils réalisent le chaînon intermédiaire entre les molécules de la MEC et les microfilaments d'actine du cytosquelette. Les récepteurs membranaires assurant les interactions cellule-MEC au niveau des contacts focaux appartiennent à la famille des **intégrines** ; la principale intégrine intéressée dans les contacts focaux est l'intégrine $\alpha_5\beta_1$. De nombreuses protéines intracytoplasmiques assurent le lien entre le domaine cytoplasmique des intégrines et les microfilaments d'actine.

L'avènement de techniques de microfabrication ou de micropatterning a permis et permettra des mesures beaucoup plus fines et exhaustives des champs de forces externes appliquées par les cellules sur leur environnement. Les cellules souches mésenchymateuses peuvent par exemple se différencier en neurones, myoblastes ou ostéoblastes selon la rigidité de leur substrat de culture. La mesure des déformations locales de substrats élastiques a permis d'évaluer à plusieurs dizaines de nN (nanonewtons) les forces exercées sur la matrice extracellulaire par des cellules lors de leur migration. L'existence de points focaux d'adhésion se renforçant au cours du temps ainsi que celle de fibres de stress constituées de filaments d'actine dictant la forme de la cellule a pu être mise en évidence.

L'exerce de contraintes externes doivent être contre balancées par un champ de contraintes internes supportées, comme le cas de l'adhésion focale, par le complexe d'adhésion (les intégrines) et les fibres de stress associées. Grâce à la présence de protéines transmembranaires, de la famille des intégrines qui vont se lier à la matrice extra-cellulaire, elles vont s'agréger en complexes focaux puis adhésions focales. Ce complexe d'adhésion exerce une contrainte croissante sur la matrice externe ce qui a pour cause et/ou effet d'y favoriser le recrutement de plusieurs dizaines de protéines cytoplasmiques (taline, vinculine, actine, etc.). Ce mécanisme pourrait ainsi servir de transduction de la contrainte en une réponse chimique. L'adhésion à la matrice extracellulaire, en fonction de la protéine transmembranaire, est spécifique d'une protéine à une autre. Par exemple, l'intégrine $\alpha_5\beta_3$ se lie à la vitronectine et va mener à des adhésions focales riches en paxilline et vinculine, tandis que $\alpha_5\beta_1$ est spécifique de la bronectine et permet la formation d'adhésions brillaires riches en tensine.

c. La fibre et la contraction musculaire : structure et fonction des micro filaments d'actine et de myosine

Les microfilaments du cytosquelette sont très développés dans les cellules musculaires et forment les myofibrilles. Les myofibrilles occupent 80% du sarcoplasme et forment des éléments cylindriques de 1 à 2 micromètres de diamètre. Elles sont disposées parallèlement au grand axe de la fibre musculaire et elles présentent une striation faite de l'alternance de bandes sombres et claires (**Fig.19 et 20**).

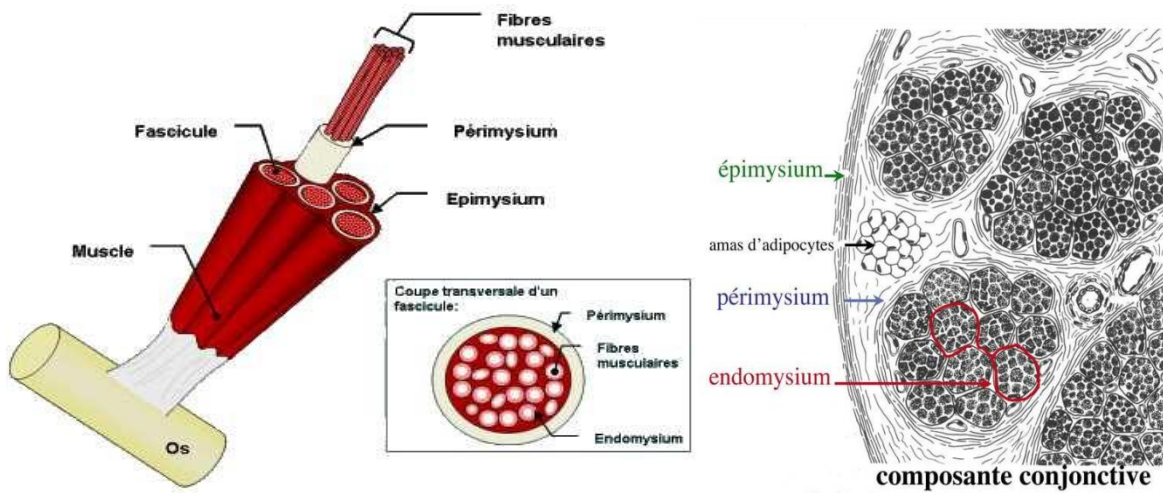


Fig.19. Les fibres musculaires

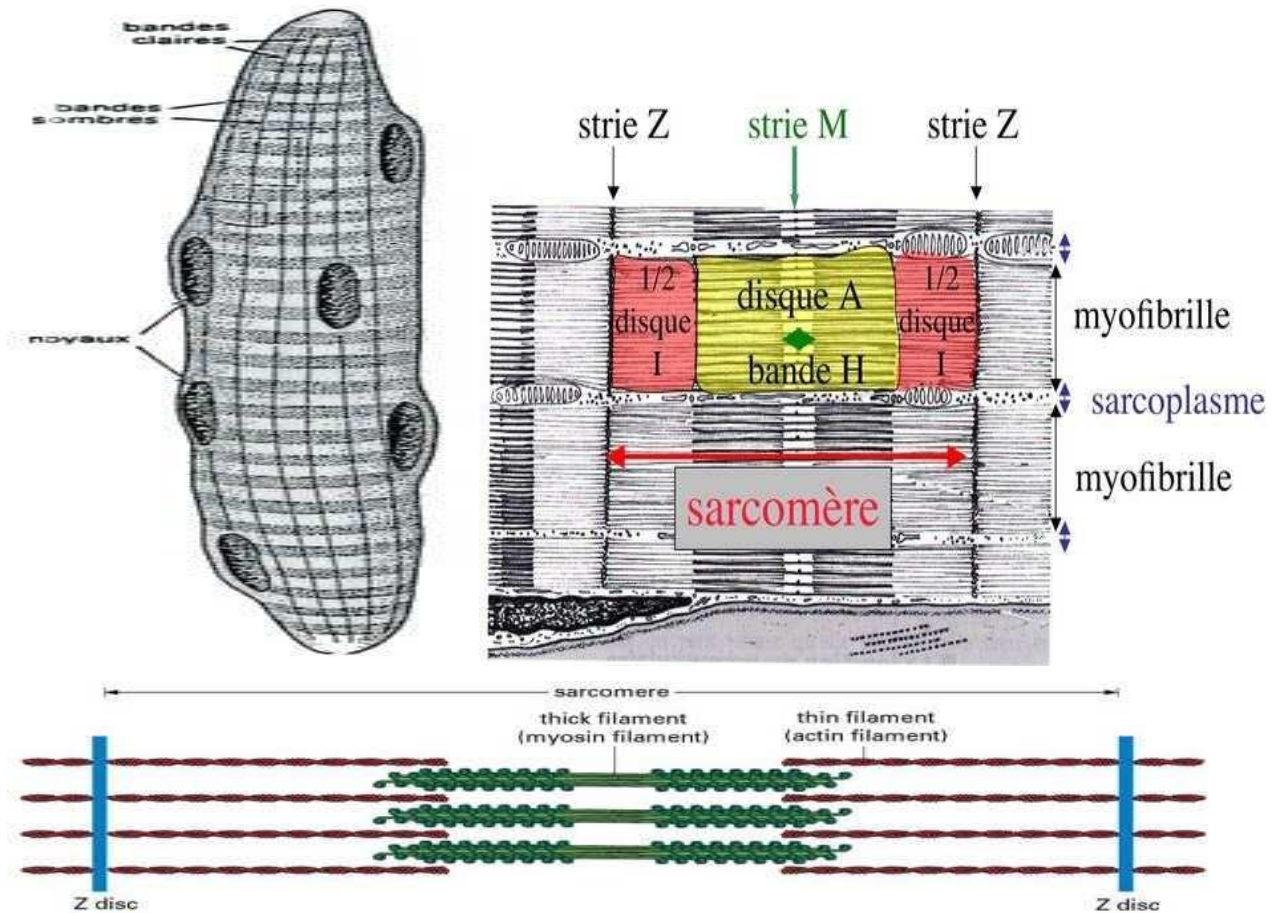


Fig.20. Les myofilaments dans la myofibrille

La striation générale des myofibrilles est l'alternance de bandes claires ou I (isotropes) et de bandes sombres ou A (anisotropes). De plus dans les bandes claires il existe la strie Z et entre deux stries Z s'étend le sarcomère, unité contractile musculaire.

La striation des cellules musculaires s'explique par un arrangement particulier de molécules filamenteuses de myosine et d'actine.

*Les myofilaments de myosine, appelés également filaments épais, constituent la bande sombre du sarcomère. Elles sont jusqu'à 1000 par sarcomère et ont un diamètre de 10 à 15 nm pour une longueur de 1.6 μm . Les protéines de myosines ont une allure de double raquette articulée, elles présentent une articulation dans les manches et une autre entre la 'manche et la tête. Les protéines de myosines ont plusieurs propriétés : elles peuvent s'associer entre elles pour former des myofilaments de myosine. Elles peuvent se lier à l'actine. Elles peuvent fixer et hydrolyser l'ATP (**Fig.21.**).

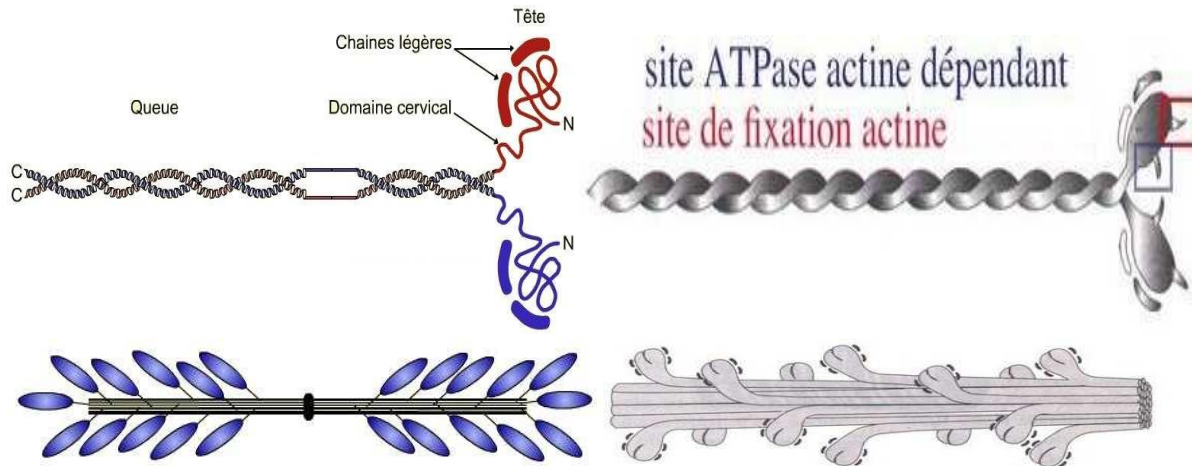


Fig.21. Les myofilaments de myosine

*Les myofilaments d'actine, appelés également filaments fins, constituent la bande claire du sarcomère. Elles sont jusqu'à 2000 par sarcomère et ont un diamètre de 6 à 8 nm pour une longueur de 1 μm . Les myofilaments d'actine sont composés de filaments d'actine, de protéines régulatrices et elles possèdent des sites de fixation à la myosine.

Les filaments d'actine comprennent deux brins d'actine filamenteuse associés en hélice. Chaque brin d'actine est un polymère d'actines globuleuses. Les filaments d'actine s'associent avec les troponines, les tropomyosines (**Fig.22.**).

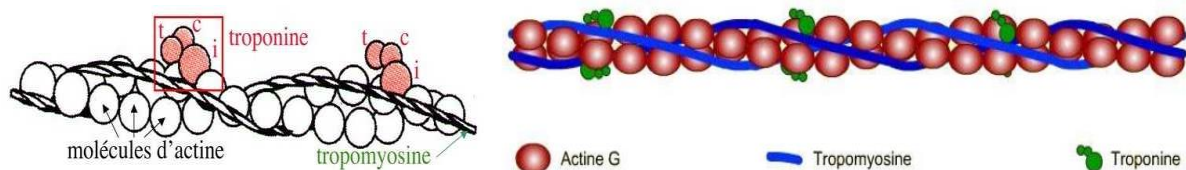


Fig.22. Les myofilaments d'actine

Sur le plan moléculaire, lors de la contraction musculaire la longueur des sarcomères diminue et la longueur des myofilaments reste constante (**Fig.23.**). La contraction musculaire est un raccourcissement musculaire qui dû au raccourcissement des sarcomères qui s'explique par un glissement des myofilaments par la réalisation de ponts actine-myosine.

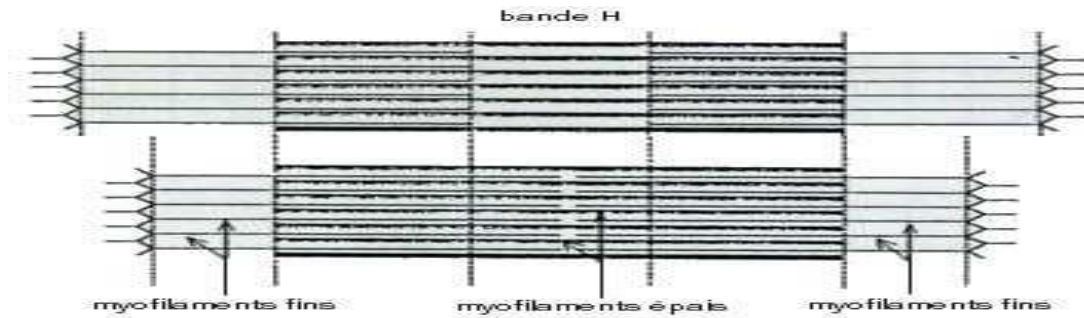


Fig.23. Mécanisme de raccourcissement des sarcomères

Le mécanisme de raccourcissement des sarcomères se résume dans les étapes suivantes (**Fig.24.**):

- * un neurotransmetteur se propage sur le sarcolemme
- * ce neurotransmetteur stimule les citernes du réticulum sarcoplasmique
- * les ion Ca^{++} sont libérés par les citernes du réticulum dans le sarcoplasme
- * le Ca^{++} se fixe sur les troponines qui changent de conformation
- * ce changement de conformation des troponines entraîne le changement de conformation des tropomyosines qui démasquent des sites de fixation à la myosine situés sur l'actine
- * des liaisons ou ponts s'établissent entre actines et myosines
- * des molécules d'ADP+P qui étaient fixées sur les têtes des myosines sont libérées ce qui entraîne le pivotement des têtes des myosines
- * le pivotement des têtes des myosines est à l'origine d'un glissement des molécules d'actine et de myosine,

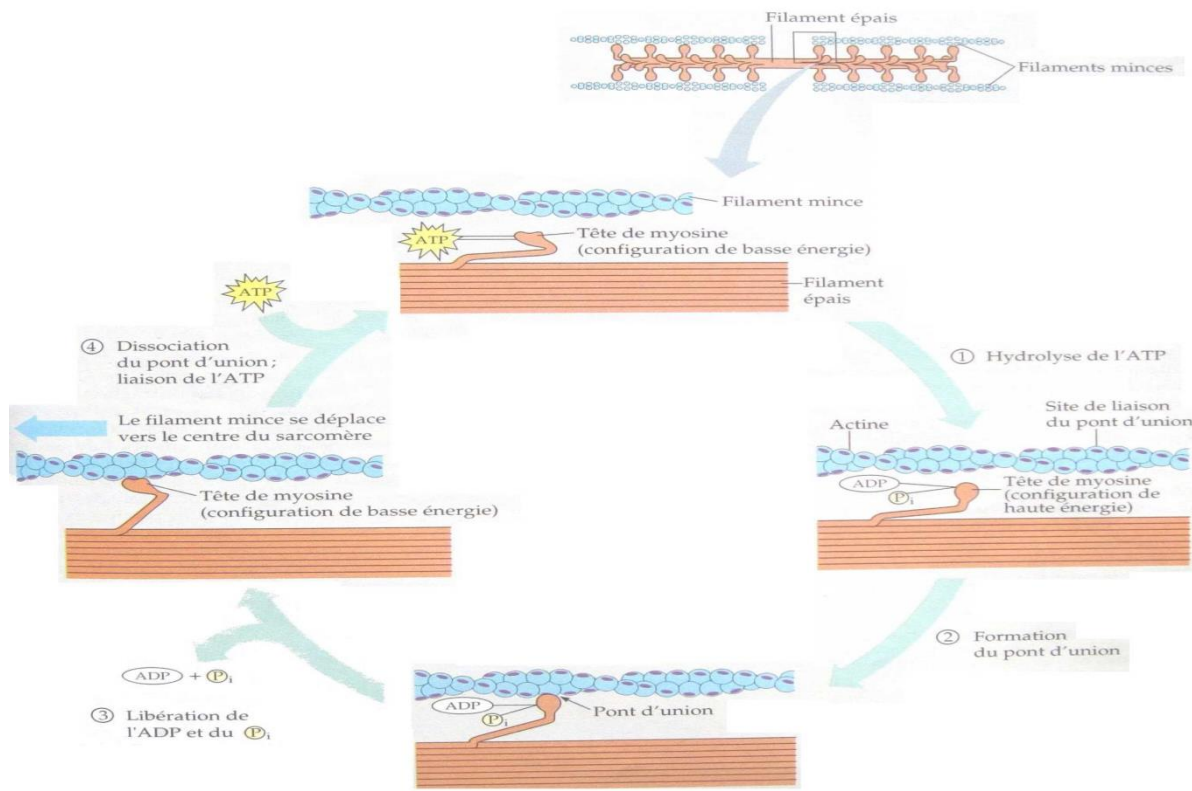


Fig.24. Aspect moléculaire de la contraction musculaire

- * les liaisons actines/myosines sont rompues lorsque les têtes des myosines hydrolysent de l'ATP,
- * il y a alors retour aux conditions initiales,
- * le calcium est repompé par le réticulum sarcoplasmique.

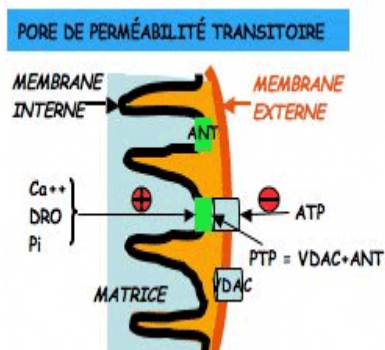
d. La mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative :

La mitochondrie est limitée par deux membranes aux propriétés très différentes : La membrane externe est pauvre en protéines et contient une protéine transmembranaire, la porine, qui permet le passage des ions et des métabolites hydrosolubles de masse molaire < 10.000 Da.

La membrane interne est formée de replis, souvent nommés **crêtes**, dirigés vers l'intérieur de la mitochondrie et disposés, le plus souvent, perpendiculairement à son plus grand axe.

Le nombre de crêtes varie selon l'activité mitochondriale (respiration cellulaire, oxydation des acides gras...). Les crêtes se présentent sous des formes très variées (laminaire, sacculaire, tubulaire, et triangulaire), qui peuvent co-exister dans la même mitochondrie et elles semblent fusionner entre elles et se diviser. La signification fonctionnelle de ces structures reste inconnue à ce jour.

La base d'une crête est souvent constituée par une structure tubulaire étroite appelée tube de jonction de crête qui établit une communication entre l'espace intérieur de la crête et l'espace intermembranaire. La surface de la membrane interne représente entre 5 à 10 fois celle de la membrane externe.



Les membranes interne et externe peuvent occasionnellement être en contact pour former un pore de perméabilité transitoire (PTP= Permeability Transition Pore). C'est le cas de la jonction entre la translocase (**ANT** = Adénine Nucleotide Translocase) située dans la membrane interne et la porine ou VDAC (Voltage-Dependent Anion Channel) située dans la membrane externe. Dans les conditions normales cette translocase, qui est un système antiport, permet l'échange d'un ATP (provenant de la matrice) pour un ADP (de l'espace intermembranaire). Lors d'un excès de Ca^{++} ou d'espèces réactives de l'oxygène dans la matrice l'ouverture de ce pore est stimulée.

La membrane interne de la mitochondrie est nettement plus riche en protéines que la membrane externe (80 %), elle est plus pauvre en lipides. Elle contient **5 complexes** protéiques intégrés à cette membrane : NADH déshydrogénase (Complexe I ou CoI), succinate déshydrogénase (Complexe II ou CoII), cytochrome c réductase (Complexe III ou CoIII), aussi connue comme « *cytochrome b-c1 complex* », cytochrome c oxydase (Complexe IV ou CoIV)

et ATP synthase (Complexe V ou CoV). Certains de ses lipides sont spécifiques de cette membrane comme les cardiolipides et l'ubiquinone (coenzyme Q).

A l'inverse de la membrane externe, la membrane interne est quasiment imperméable à toutes les molécules polaires (ATP, ADP, Pi), aux anions (pyruvate) et aux cations (Ca^{++} , H^+ , K^+). Le passage de l'ensemble des molécules requiert des transporteurs, bien que certaines molécules non chargées (de faible poids moléculaire) peuvent la traverser. Des protéines de transport, type antiport et symport (système navette), assurent le passage des molécules à travers la membrane interne

Exemples :

-le pyruvate est transporté à l'intérieur de la mitochondrie par le transporteur de type symport : H^+ /pyruvate translocase.

- l'ADP entrant et l'ATP sortant sont transportés par l'ANT (adenine nucleotide translocase) de type antiport.

- le Phosphate inorganique (H_2PO_4) nécessaire à la phosphorylation de l'ADP est apporté par le transporteur de type symport $\text{H}^+/\text{H}_2\text{PO}_4^-$

- les acides gras sont transportés par la carnitine-acylcarnitine translocase (CACT)

Tous les métabolites du cycle de Krebs utilisent des protéines de transport spécifiques. Le calcium utilise un transporteur de type uniport car il n'y a pas d'autre ion impliqué dans le transport.

La membrane interne est constituée de 20 % de lipides. Ils proviennent en majorité du réticulum endoplasmique. Cependant deux phospholipides sont synthétisés in situ :

- la phosphatidyléthanolamine qui provient de la décarboxylation de la phosphatidylsérine (présence de la phosphatidylsérine décarboxylase)
- la cardiolipine qui est caractéristique de cette membrane et qui représente environ 20% des lipides totaux. Elle est indispensable au fonctionnement de la cytochrome *c* oxydase.
- La membrane interne contient très peu de cholestérol contrairement à la membrane externe.
 - a. Ribosome : synthèse protéique, maturation et adressage des protéines.

Toutes les protéines prennent naissance sur les ribosomes du cytosol et, de là, sont dirigées vers 2 embranchements principaux :

1. Protéines destinées au cytosol et aux organites intracellulaires. Ces protéines sont initialement libérées dans le cytosol après leur synthèse. La majorité de ces protéines va rester dans le cytosol, tandis que d'autres sont exportées vers les mitochondries, le noyau ou les peroxysomes. Le passage des protéines au travers de la membrane des mitochondries ou des peroxysomes se fait grâce à une protéine membranaire de translocation. Le passage des protéines dans le noyau se fait, quant à lui, au travers de pores nucléaires qui ont une perméabilité sélective.
2. Protéines destinées aux membranes et lumières du RER, du Golgi, du lysosome et des vésicules de sécrétion. Elles suivent toutes une voie identique : Ribosome \Rightarrow Réticulum endoplasmique \Rightarrow Golgi \Rightarrow Vésicule sécrétoire \Rightarrow Milieu extracellulaire. Ces protéines sont initialement transférées dans le réticulum endoplasmique par une protéine de transport. Ces protéines peuvent rester dans le réticulum endoplasmique, ou bien être dirigées vers les

autres organites (Golgi, lysosomes) et la membrane plasmique par l'intermédiaire de vésicules membranaires. Ce qui implique un processus de fission suivi de fusion multiples (exocytose et endocytose) sont à la base d'un intense trafic entre le pôle trans-golgien, les lysosomes et la membrane plasmique. Du même en ce qui concerne le transport des protéines d'un saccule golgien à un autre. Dans ce type de transport, les vésicules se forment par bourgeonnement du compartiment donneur. Les vésicules ainsi formées s'emparent du matériel présent dans le compartiment donneur et le libèrent dans le compartiment cible, après fusion de la membrane vésiculaire avec celle du compartiment cible.

Dans le transport vésiculaire : les protéines sécrétées dans le milieu extracellulaire et celles présentes dans la lumière des saccules golgiens ou des lysosomes proviennent à l'origine de protéines libérées dans la lumière du réticulum endoplasmique ; les protéines intégrées dans la membrane de ces organites (Golgi, lysosomes), ou dans la membrane plasmique, proviennent de protéines ancrées dans la membrane du réticulum endoplasmique.

Le mécanisme de tri est complexe et dépend en partie de signaux de tri (ou d'adressage) présents dans les protéines, qui sont reconnus par des protéines membranaires réceptrices spécifiques. Une protéine à destination nucléaire possède un signal de tri qui est reconnu par une protéine réceptrice associée au complexe du pore nucléaire. Une protéine qui doit être transférée au travers d'une membrane possède un signal d'adressage qui est reconnu par une protéine membranaire de translocation.

Les signaux de tri

On distingue 2 types de signaux de tri, les peptides signal et les régions signal.

➤ **Les peptides signal**

Ils sont constitués d'une séquence continue de 15 à 60 d'aa. Les peptides signal sont utilisés pour le transport des protéines du cytosol vers le réticulum endoplasmique, les mitochondries, les peroxysomes et le noyau, et sont aussi impliqués dans la rétention des protéines dans le réticulum endoplasmique. Lorsque le processus de tri est terminé, ces peptides signal sont le plus souvent clivés de la protéine mature par un signal peptidase.

- Importation dans le réticulum endoplasmique : peptide situé à l'extrémité N- terminale de la protéine, comportant une séquence centrale de 5 à 10 acides aminés hydrophobes.

-Maintien dans le réticulum endoplasmique : séquence de 4 acides aminés spécifiques à l'extrémité C-terminale de la protéine.

- Importation dans la matrice mitochondriale : peptides signal situés à l'extrémité N-terminale de la protéine, possédant des acides aminés chargés positivement (Lys, Arg) et alternant avec des acides aminés hydrophobes.

- Importation dans le noyau : séquence d'acides aminés chargés positivement au sein de la protéine.

➤ **Les régions signal**

Elles correspondent à un arrangement tridimensionnel particulier de la molécule. Les acides aminés qui forment une région signal peuvent être très distants les uns des autres sur la molécule déployée. De telles régions signal sont impliquées dans le transport des protéines du Golgi vers les lysosomes.

Un premier étiquetage est 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 2. Les protéines qui ne portent pas cette séquence appartiennent toutes à la

catégorie 1. Cette étiquette N-terminale, responsable d'un tri qualifié de co-traductionnel, est nommée « peptide signal » (signal peptide ou SignalP). Un second étiquetage sont des 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).

b. Le Système ubiquitine /protéasome (UbPr):

L'ubiquitination des protéines est un processus cellulaire de protéolyse qui permet cette régulation en contrôlant ainsi des réactions-clés telles que l'internalisation de récepteurs, la transmission des signaux de surface, la présentation d'antigène ou la progression du cycle de division cellulaire.

Le rôle de la protéolyse intracellulaire ne se cantonne pas à éliminer les protéines anormales ou endommagées, mais intervient dans la régulation fine des taux de protéines clés pour la cellule. Au vu de la multitude de substrats et des processus impliqués, il n'est pas surprenant que des dysfonctionnements de ce système soient impliqués dans de nombreuses pathologies, comme les cancers, les maladies neurodégénératives et les maladies auto-immunes.

L'ubiquitine est une protéine très stable de 76 acides aminés qui, comme son nom le suggère, est exprimée dans tous les tissus eucaryotes. Elle est toujours exprimée sous forme de précurseurs protéiques.

La conjugaison de l'ubiquitine aux substrats se fait par une cascade enzymatique comprenant trois étapes, l'ubiquitine est activée, conjuguée, puis finalement liée par son extrémité C-terminale à la protéine cible.

La dégradation d'une protéine via le système UbPr implique généralement deux grandes étapes successives, qui nécessitent toutes deux l'hydrolyse de l'ATP (**Fig.25.**). Dans un premier temps, l'ubiquitylation consiste en la conjugaison covalente de plusieurs molécules d'ubiquitine (Ub), sur des résidus lysine de la protéine, via une cascade enzymatique impliquant 3 enzymes :

- la première est l'enzyme d'activation de l'ubiquitine ou 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;
- la seconde est une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine ou E2, sur laquelle l'ubiquitine activée est transférée au niveau du groupement thiol de sa cystéine active;
- enfin la troisième, l'E3, est habituellement appelé ubiquitine-ligase. 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 portée sur la chaîne latérale d'une lysine du substrat, formant ainsi une liaison isopeptidique (**Fig.25.**).

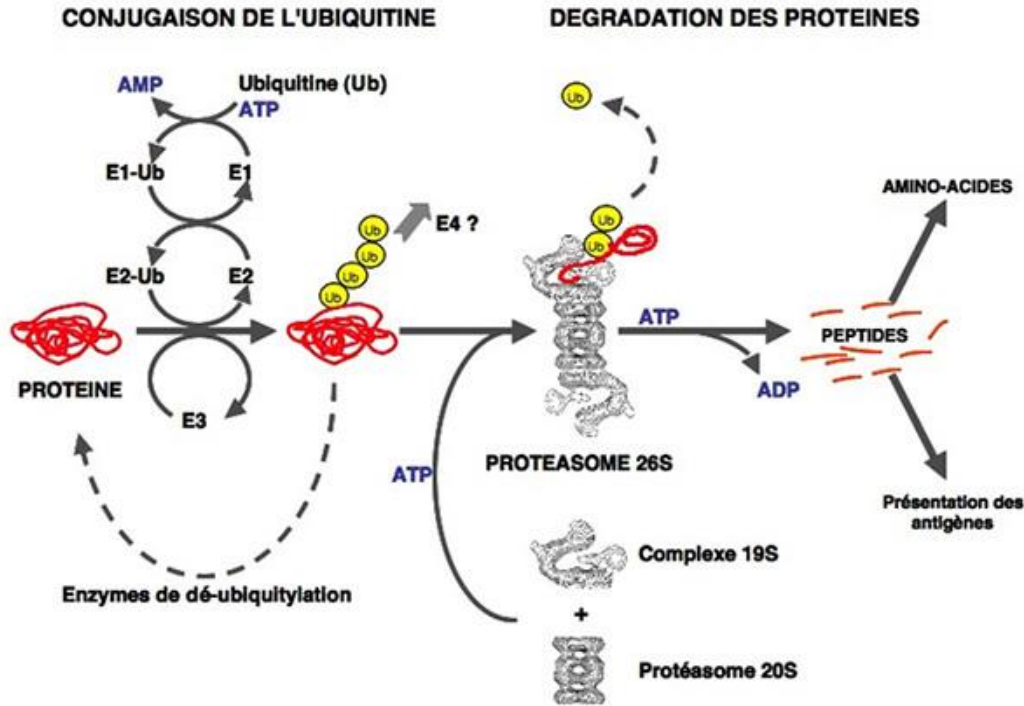


Fig.25. Le système ubiquitine/protéasome.

Les enzymes E1, E2, E3 impliquées dans ce processus sont cruciales, mais c'est surtout l'ubiquitine ligase E3 qui permet une spécificité dans le choix de la cible protéique. Ceci explique qu'il existe une très grande quantité d'E3s différentes, alors que l'on ne compte qu'une trentaine d'E2s et que deux E1s. La conjugaison se répète plusieurs fois, aboutissant à une chaîne d'ubiquitines liées entre elles par un pont en position Lysine 48. La protéine cible ainsi marquée par une chaîne polyubiquitinée d'au moins quatre unités est reconnue par le protéasome 26S, formé par l'association du protéasome 20S (le cœur protéolytique de l'enzyme) au complexe régulateur 19S (**Fig.25.**).

Dans un deuxième temps, le substrat ubiquitylé est ensuite adressé au protéasome 26S où il est dégradé. Au cours de la deuxième étape, le substrat est déubiquitylé, ce qui permet le recyclage de l'ubiquitine, et la dégradation de la protéine en peptides qui seront par la suite digérés par des peptidases cytosoliques pour donner des acides-aminés qui seront réutilisés, soit pour la synthèse de nouvelles protéines, soit pour la production d'énergie pour l'organisme.

La déubiquitylation est un processus aussi important dans la régulation du système ubiquitine que les régulations de la réaction d'ubiquitylation elle-même. L'ubiquitylation des protéines est en permanence contrecarrée par leur déubiquitylation. Par ailleurs, l'ubiquitine est une protéine très stable alors que les protéines auxquelles elle est conjuguée ont des durées de vie beaucoup plus courtes, ce qui implique qu'elle est normalement clivée de ses conjugués par les enzymes de déubiquitylation (DUB) avant ou pendant la dégradation du substrat. Puisqu'elles sont capables de cliver l'ubiquitine, les DUB sont des protéases. Il en existe plusieurs familles qui jouent un rôle déterminant dans l'efficacité de la machinerie d'ubiquitylation, d'autant qu'elles permettent de recycler l'ubiquitine afin de maintenir un pool d'ubiquitine libre intracellulaire nécessaire au maintien de la protéolyse. Elles sont donc essentielles dans le contrôle et le devenir des substrats ubiquitylés.

Les **protéasomes** sont des complexes enzymatiques multiprotéiques. Dans les cellules eucaryotes, il se trouve dans le cytosol et est associé au réticulum endoplasmique. Leur fonction principale est de dégrader les protéines mal repliées, dénaturées ou obsolètes de manière ciblée. Le protéasome a une forme de baril et possède une cavité en son centre cernée par quatre anneaux, fournissant ainsi un espace clos pour la digestion des protéines. Chaque anneau est composé de sept protéines: les deux anneaux intérieurs sont constitués de sous-unités β qui contiennent le site actif de la protéase, tandis que les deux anneaux extérieurs contiennent les sous-unités α dont le rôle consiste à maintenir l'ouverture par laquelle les protéines à dégrader pénètrent dans le baril: ces sous-unités α sont capables de reconnaître les marqueurs de polyubiquitine qui régulent le processus de dégradation.

Le protéasome 26S, formé par l'association du corps catalytique 20S avec deux complexes régulateurs 19S, est impliqué dans la dégradation des substrats, ubiquitylés dépendante de l'ATP. Le protéasome 20S (un complexe multi-protéique d'environ 700 kDa) est le cœur protéolytique des différentes formes de protéasome. Cependant, bien que le protéasome 20S seul peut hydrolyser de petits peptides et certaines protéines dépliées, il ne peut pas dégrader de véritables substrats poly-ubiquitylés, pour lesquels il a besoin d'être associé à son régulateur 19S (un complexe macromoléculaire de 900 kDa).

Le complexe régulateur 19S prend en charge plusieurs rôles dans la régulation de l'activité du protéasome :

1. la reconnaissance des substrats (ubiquitylés ou non);
2. la déubiquitylation des substrats ubiquitylés pour recycler l'ubiquitine;
3. la dénaturation des substrats;
4. l'ouverture du canal;
5. la translocation des substrats dans le 20S.

Le protéasome 20S est un complexe multi-protéique d'environ 700 kDa. Sa structure a été déterminée par microscopie électronique puis par cristallographie, ce qui a révélé un cylindre creux qui porte les activités catalytiques.

La majorité des substrats du protéasome sont étiquetés par une chaîne de poly-ubiquitine, qui joue probablement un rôle important dans la reconnaissance des substrats par le protéasome. La sous-unité de la base du 19S est capable d'interagir avec les chaînes d'ubiquitine impliquant les lysines de l'ubiquitine, avec la même affinité. L'affinité est augmentée lorsque la taille de la chaîne d'ubiquitine augmente, avec un minimum de 4 molécules d'ubiquitine, ce qui peut s'expliquer par l'organisation des chaînes de poly-ubiquitine en modules de tétra-ubiquitine qui pourraient servir d'unités de reconnaissance par le protéasome.

Les substrats doivent être dénaturés pour être transférés à l'intérieur du 20S, car, même une fois ouvert, le canal du 20S est encore trop étroit pour laisser entrer des protéines sous leur forme native. Outre le besoin d'ATP pour l'association du 19S et du 20S, la protéolyse des protéines par le protéasome nécessite l'hydrolyse d'ATP. Par homologie avec les protéines chaperones, on peut penser que cette énergie permet des cycles de haute et de basse affinité du 19S pour les substrats, permettant ainsi de les maintenir dans une conformation dénaturée pour qu'ils puissent être transférés à l'intérieur du 20S. Ces fonctions (dépliement et translocation des substrats) sont probablement assurées par la base, du fait de sa localisation et de la présence des 6 ATPases à son niveau. Cette hypothèse est soutenue par le fait que le 20S associé à la base est aussi efficace que le 26S pour la dégradation des substrats non-ubiquitylés et par homologie avec le complexe PAN qui est capable de dénaturer des substrats ubiquitylés et de les

transloquer dans le 20S de manière ATP-dépendante. Il faut noter que pour des substrats non ubiquitylés et non structurés, il a été montré que leur dégradation ne nécessitait pas l'hydrolyse de l'ATP, suggérant que le transit de ces protéines aux sites catalytiques se fait par un processus passif et que la translocation par elle-même ne nécessite pas d'être couplée à l'hydrolyse de l'ATP.

c. Le Système lysosomal : structure et fonction

Les lysosomes sont des organites cytoplasmiques contenant des hydrolases acides (estomac cellulaire) à activité maximale à pH5 maintenu grâce à la présence dans leur membrane d'une pompe H^+ . Ils existent dans toutes les cellules eucaryotes. Ils ont un diamètre de 0,2 à 0,4. ils sont abondants dans les hépatocytes, les macrophages et les granulocytes. On distingue deux types de lysosomes :

* Les lysosomes primaires : ce sont des vésicules ou grains de sécrétion qui viennent d'être formés à aspect homogène et contenant des hydrolases.

* Les lysosomes secondaires : ce sont des vacuoles à aspect hétérogènes contenant en plus des hydrolases le substrat en cours de digestion.

Le rôle essentiel des lysosomes est la digestion des substrats d'origine exogène : hétérophagie (endocytose ou phagocytose) ou endogène : autophagie (la dégradation des structures cellulaires (REL, mitochondries) ou bien la destruction de toute la cellule (histolyse). Après digestion les lysosomes secondaires se transforment en corps résiduels rejetés par exocytose.).

Les lysosomes se forment de deux façons :

* A partir de l'AG : Les hydrolases sont synthétisées dans le RE puis transitent l'AG qui donnent des vésicules qui constituent par la suite les lysosomes primaires.

* A partir du RE : Les hydrolases sont synthétisées dans le RE puis passe dans le REL à partir du quel bourgeonnent des vésicules pour donner les lysosomes primaires sans transiter par l'AG. Les lysosomes secondaires se forment par fusion des lysosomes primaires avec des vésicules contenant le substrat.

3. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique :

La glycosylation des protéines et des lipides a lieu essentiellement dans la lumière du RE rugueux (modification co-traductionnelle) et de l'appareil de Golgi (modification post traductionnelle) où elle nécessite de multiples étapes enzymatiques. Les enzymes qui catalysent le transfert d'unités monosaccharidiques appartiennent à la famille des.

- a. Les glycoprotéines : type de liaison de glycosylation (O- glycosylation et N-glycosylation) intérêt de la glycosylation (stabilité des protéines, reconnaissance...), étude moléculaire de quelques glycoprotéines (les glycoprotéines sériques, les glycoprotéines des groupes sanguins), les glycoprotéines humaines diverses (les lectines, glycoprotéines des membranes cellulaires, les glycosaminoglycaneGAG...)

La glycosylation des protéines est l'addition cotraductionnelle d'un oligosaccharide aux protéines membranaires et sécrétoires. Cette glycolysation est dite **en N ou en O** selon le type d'acide aminé.

-Glycosylation en N: les sucres sont liés à l'azote du groupement amide de l'**asparagine**. Le sucre lié à l'**asparagine** est le **N-acetylglucosamine** (GlcNAc). Dans ce type de glycosylation, un oligoside « N-acétylglucosamine » initialement fixé à un lipide membranaire, le dolichol, se lie à un acide aminé asparagine (Asn) disponible dans un consensus Asn-X-Serine/Thréonine, où X n'est pas une proline. Lorsque le polypeptide portant ce signal (Asn-X-Serine/Thréonine) entre dans la lumière du réticulum endoplasmique, une oligosaccharide protéine transférase membranaire, glycosyltransférase, décroche la chaîne glucidique du dolichol et la greffe sur l'asparagine-cible. Les chaînes liées en N contiennent toutes une structure de base consistant en deux GlcNAc et trois mannoses ; sur cette structure viennent se greffer d'autres glucides. La chaîne glucidique n'est pas au bout de ses peines, cependant : elle continue d'être modifiée dans le réticulum et dans le Golgi.

-Glycosylation en O: Les sucres sont liés à l'oxygène du groupement hydroxyl (OH) **de la sérine** ou la **thréonine** et même **l'hydroxylysine (dans le collagène)** des chaînes peptidiques présentes dans la lumière de l'appareil de Golgi. Cette réaction est également catalysée par une enzyme de type glycosyltransférase, et débute en général par une N-acétyl-galactosamine. Le sucre lié à la sérine ou la thréonine est souvent l'acide N-acétylneuraminique (GalNAc) et le sucre accroché à l'hydroxylysine est le galactose. 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 glycoprotéines transférases les ajoutent directement sur les acides aminés cibles. La O-glycosylation est souvent effectuée sur les protéoglycanes (la matrice extracellulaire des cellules animales) et conduit à des chaînes de sucres longues et non ramifiées, qui possèdent de grandes capacités de rétention d'eau.

Les **chaînes glucidiques** liées en N ou en O sont très différentes. Les chaînes liées en O sont plus courtes et plus variables que celles en N, et ne contiennent en général qu'un, deux ou trois résidus glucidiques. Les chaînes en N peuvent former de véritables arborisations.

La plupart des protéines membranaires sont des glycoprotéines, qui toutes sont N-glycosylées avec des chaînes de sucres courtes et ramifiées, mais parfois aussi O-glycosylées. La glycosylation en N commence en même temps que la traduction, dans la lumière du réticulum endoplasmique, et se continue dans le Golgi.

Ces fractions glucidiques permettent la reconnaissance spécifique par d'autres protéines comme les lectines. Elles interviennent dans l'interaction cellule-cellule : contact, transfert d'information, ...Elles influencent le repliement des protéines. Elles protègent les protéines contre les protéases. Cette glycosylation aide dans le transport et l'adressage des protéines.

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). Ce système se définit par la présence ou non d'antigènes A, B ou O à la surface des globules rouges des individus et la présence ou non des anticorps associés dans le sérum.

Les groupes sanguins ABO est un système de reconnaissance des globules rouges étrangers à l'organisme grâce à la présence de structures antigéniques à la surface de ces cellules.

Ils résultent d'une glycosylation effectuée avec les mêmes enzymes que pour la O-glycosylation, même s'ils ne sont pas toujours associés à des protéines. Ils viennent de ce que trois conformations possibles d'un oligosaccharide greffé sur une protéine membranaire des globules rouges donnent naissance à trois antigènes : l'antigène H (ou O), l'antigène A et l'antigène B.

- Sur le dissaccharide central : galactosyl β 1-3 N-acétyl-galactosamine sont liés des N-acétyl-glucosamines et des galactoses plus quelques fucoses.
- L'une des antennes est terminée par une N-acétyl-glucosamine chez les sujets du groupe A et par un galactose chez les sujets du groupe B. Il n'y a pas d'ose à cette place chez les sujets du groupe O.

Les chaînes de glycosaminoglycanes (GAG) sont un autre type de glycoprotéines.

Elles sont de longues chaînes composées d'unités disaccharidiques répétitives. Un des deux résidus glucidiques est toujours un glucide aminé (N-acétylglucosamine ou N-acétylgalactosamine) et le second est habituellement un acide uronique (glucuronique ou iduronique). Les GAG se répartissent en quatre types principaux : l'acide hyaluronique, (d'hyaloïde (humeur vitrée) et acide uronique), la chondroïtine sulfate, l'héparane sulfate et le kératane sulfate. Les GAG ont un rôle essentiel dans la migration cellulaire au cours de la morphogenèse et de la cicatrisation des tissus. En cas de blessure, après la coagulation du sang, le premier produit qui entre dans la lésion est l'acide hyaluronique. Il forme un échafaudage qui va servir de support aux cellules leucocytaires et aux fibroblastes pour reconstruire le nouveau tissu.

- b. Les glycolipides : les glycérolipides, les glycosphingolipides (structure et fonction)

Les motifs oligosaccharidiques présents sur les protéines peuvent également être retrouvés sur les lipides pour former les glycolipides. Ces derniers se divisent en deux familles distinctes selon la nature de la base lipidique : **sphingolipide** ou **glycérolipide**. Les **sphingolipides** (céramides) résultent de l'association d'une sphingosine et d'un acide gras. Ils peuvent être glycosylés en C3 de la sphingosine pour donner différents types de glycosphingolipides : les ganglio, isoganglio, globo, isoglobo, lacto, néolactocéramides. Les chaînes oligosaccharidiques des glycosphingolipides complexes peuvent être linéaires ou branchées et contenir divers monosaccharides tels que Gal, Glc, GalNAc, GlcNAc, Fuc, NeuAc et GlcA. Par exemple, si le résidu X correspond au D-glucose ou D-galactose, il s'agit d'un cérébroside. Les glycosphingolipides sialylés sont appelés gangliosides. Les **glycéroglycolipides** ou glycérides qui représentent la deuxième grande classe de glycolipides réalisent quant à eux une liaison O-osidique entre le C3 du glycérol et le C1 du glucide, les groupements R1 et R2 représentant les chaînes carbonées d'acides gras. Ces composés, très rares dans le monde animal, sont surtout représentés chez les végétaux verts.

