



Institut des Sciences et de la Technologie

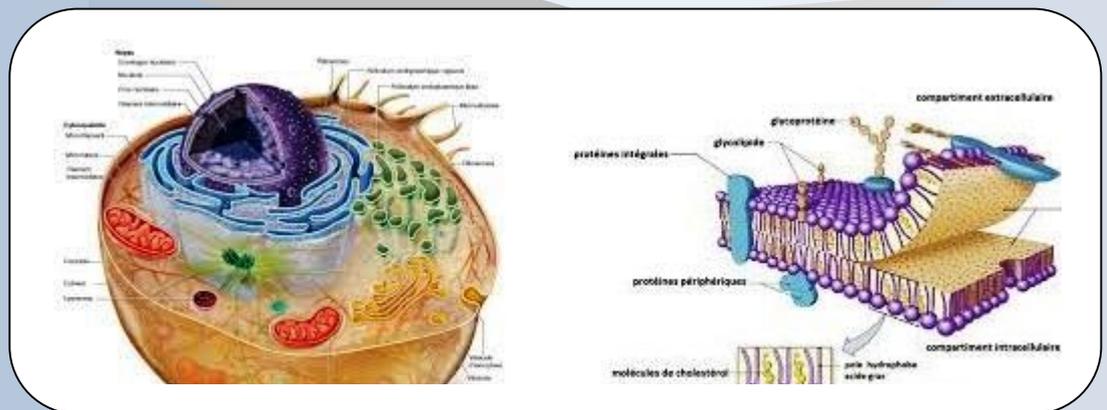
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

3^{ème} année LMD, Option Biochimie, Semestre 5

Cour de Biochimie Cellulaire et Fonctionnelle

Module assuré par : Dr. BOUCHERIT Hanane

E-mail : h.boucherit@centre-univ-mila.dz



SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES

LISTE DES ABREVIATIONS

PRIFACE

INTRODUCTION..... 1

CHAPITRE I. COMPARTIMENTATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE 3

I. Historique du concept cellulaire..... 3

II. Théorie cellulaire..... 3

III. Compartimentation cellulaire..... 4

IV. Evolution biologique des Procaryotes aux Eucaryotes..... 4

V. Les variétés cellulaires..... 5

VI. Description et fonction des constituants de la cellule..... 8

CHAPITRE II. BIOMEMBRANES 11

A. Composition des membranes : isolement, composition..... 11

I. Isolement des fractions de « membrane plasmique » 11

II. Composition chimique de la membrane plasmique 11

B. Architecture biomoléculaire des membranes..... 16

I. La bicouche lipidique..... 16

II. Le modèle membranaire « en mosaïque fluide »..... 17

III. Les caractéristiques du modèle en mosaïque..... 18

IV. Auto-assemblage des lipides..... 19

V. Mouvements des lipides..... 20

VI. Mouvements des protéines intrinsèques..... 21

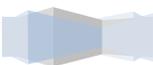
C. Les échanges membranaires : transport passif, transport actif, transport vésiculaire..... 22

I. Le transport passif et actif..... 22

I.1. Le transport membranaire..... 22



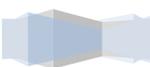
| | |
|--|----|
| I.2. Définition de la perméabilité..... | 22 |
| I.2.1. La Perméabilité passive..... | 22 |
| I.2.2. Cas particulier de l'eau : phénomène d'osmose..... | 25 |
| I.2.3. Perméabilité active ou transport actif..... | 26 |
| II. Le transport de macromolécules (transport vésiculaire)..... | 27 |
| II.1. Endocytose..... | 27 |
| II.2. Exocytose..... | 28 |
| D. Les protéines d'adhésion cellulaire..... | 29 |
| I. Introduction..... | 29 |
| II. Classification des molécules d'adhésion..... | 30 |
| E. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires..... | 32 |
| I. Expression d'antigènes..... | 32 |
| II. Marqueurs de virulence..... | 34 |
| III. Récepteurs cellulaires..... | 35 |
| F. Récepteur, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire..... | 37 |
| <u>CHAPITRE III. RELATION STRUCTURE-FONCTION DE LA CELLULE</u> | 38 |
| A. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion.... | 38 |
| I. Le réticulum endoplasmique..... | 38 |
| II. Biosynthèse des lipides membranaires..... | 40 |
| II. Biosynthèse des protéines membranaires et des protéines de sécrétion..... | 44 |
| B. Le cytosquelette..... | 49 |
| I. Les microtubules..... | 49 |
| II. Les filaments intermédiaires..... | 51 |
| III. Les filaments d'actine | 53 |
| IV. Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimique et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale..... | 54 |
| C. La contraction musculaire : structure et fonction des filaments d'actine et de myosine..... | 55 |
| I. Généralités sur l'organisation d'un muscle strié..... | 55 |



| | |
|--|----|
| II. Structure fine des filaments fin et épais..... | 56 |
| III. Le raccourcissement des sarcomères..... | 58 |
| D. La mitochondrie et la chaine de phosphorylation oxydative..... | 59 |
| I. Théorie de l'origine procaryotique des mitochondries..... | 59 |
| II. Aspect morphologique des mitochondries en microscopie optique..... | 60 |
| III. Structure et constitution..... | 60 |
| IV. Glycolyse, β -oxydation et cycle de l'acide citrique..... | 62 |
| V. Fonctions de la mitochondrie..... | 63 |
| E. Ribosome : synthèse protéique et maturation des protéines..... | 66 |
| I. Introduction..... | 66 |
| II. L'acteur principal de la traduction : le ribosome..... | 67 |
| III. L'ARN messenger (ARNm)..... | 69 |
| IV. L'ARN de transfert (ARNt)..... | 69 |
| V. La synthèse protéique..... | 70 |
| VI. Adressage des protéines synthétisées..... | 74 |
| VII. Modifications co- et post-traductionnelles..... | 74 |
| F. Le système ubiquitine /protéasome : structure et fonction..... | 76 |
| I. Introduction..... | 76 |
| II. L'ubiquitine et la cascade enzymatique d'ubiquitylation..... | 76 |
| III. Structure de protéasome..... | 78 |
| IV. Fonctionnement du système Ubiquitine/Protéasome..... | 80 |
| G. Le système lysosomal : structure et fonction..... | 82 |
| I. Caractéristiques structurales des lysosomes..... | 82 |
| II. Formation..... | 84 |
| III. Fonctions des lysosomes | 85 |
| H. Le noyau et échanges avec le cytosquelette..... | 86 |
| I. Le noyau..... | 86 |



| | | |
|--|--|-----|
| II. | Liens entre le cytosquelette et le noyau | 90 |
| | | 94 |
| <u>CHAPITRE IV. LA GLYCOSYLATION DES MACROMOLECULES ET ROLE BIOLOGIQUE</u> | | |
| A. | Les glycoprotéines : type de liaison et intérêt de la glycosylation..... | 94 |
| I. | La N-glycosylation..... | 95 |
| II. | La O-glycosylation..... | 96 |
| III. | Intérêts de la glycosylation..... | 97 |
| IV. | Étude moléculaire de quelques glycoprotéines..... | 98 |
| B. | Les glycolipides : les glycérolipides, les glycosphingolipides..... | 100 |
| I. | Définition des glycolipides..... | 100 |
| II. | Classification..... | 101 |
| <u>CHAPITRE V. TRANSDUCTION DU SIGNAL ET REGULATION DE LA FONCTION CELLULAIRE</u> | | 103 |
| I. | Récepteurs et ligands..... | 104 |
| II. | Transducteurs et Facteurs de couplage..... | 110 |
| III. | Amplification du signal via les seconds messagers..... | 114 |
| IV. | Amplification du signal via les cascades de MAPkinases..... | 121 |
| <u>CHAPITRE VI. ANOMALIES DE SIGNALISATION ET PATHOLOGIES</u> | | 125 |
| I. | Anomalie dans l'expression protéique et pathologie (ex : EGF-R, p21ras et oncogénèse)..... | 125 |
| II. | Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires (mitochondries, lysosomes, noyau)..... | 128 |
| <u>REFERENCE</u> | | 133 |

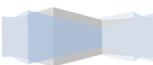


LISTE DES FIGURES

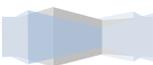
| N° de la figure | Titre de la figure | Page |
|------------------------|--|-------------|
| I.1. | La première cellule découverte par Hooke en 1665. | 3 |
| I.2. | Origine des Eucaryotes selon la théorie d'une symbiose entre Procaryotes aérobies et anaérobies. | 5 |
| I.3. | Comparaison entre une cellule animale, une cellule végétale et une cellule bactérienne. | 7 |
| II.1. | Isolement de « fantôme », culot de membranes plasmiques, à partir d'hématies de mammifère. | 11 |
| II.2. | Représentation schématique d'un phospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique. | 12 |
| II.3. | Glycolipide membranaire. | 13 |
| II.4. | Cholestérol. | 13 |
| II.5. | Différents modes d'association des protéines avec la bicouche lipidique. | 15 |
| II.6. | La structure en bicouche des biomembranes. | 17 |
| II.7. | Modèle de membrane plasmique en mosaïque fluide. | 18 |
| II.8. | Assemblage membranaire. | 20 |
| II.9. | Types de mouvement des lipides membranaires. | 21 |
| II.10. | Diffusion simple à travers la membrane plasmique | 23 |
| II.11. | Diffusion à travers les perméases | 24 |
| II.12. | Diffusion facilité par canaux protéiques à ouverture contrôlée | 24 |
| II.13. | Les types de transporteurs | 25 |
| II.14. | Transport de l'eau | 25 |



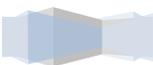
| | | |
|---------------|--|----|
| II.15 | La pompe Na ⁺ /K ⁺ ATPase | 27 |
| II.16 | Les différentes voies de l'endocytose | 28 |
| II.17 | Principales voies du trafic intracellulaire | 29 |
| II.18 | Les molécules d'adhésion cellulaire. | 31 |
| II.19 | Structure des molécules CMH de classe I et de classe II. | 33 |
| II.20 | Formation des complexes CMH-peptides. | 34 |
| II.21 | Schéma général de la signalisation intracellulaire. | 35 |
| II.22 | Trois classes de récepteurs cellulaires de surface. | 36 |
| III.1 | Le réticulum endoplasmique. | 39 |
| III.2 | Illustration des étapes de la synthèse des phospholipides membranaires (phosphatidyl choline). | 42 |
| III.3 | Différentes voies de la circulation protéique. | 46 |
| III.4 | Types de signaux de tri. | 47 |
| III.5 | Adressage des ribosomes à la membrane du RE. | 48 |
| III.6 | Structure du cytosquelette. | 49 |
| III.7 | La structure d'un microtubule et de sa sous-unité. | 50 |
| III.8 | Déplacement d'une kinésine et dynéine le long d'un microtubule. | 51 |
| III.9 | Un modèle de construction d'un filament intermédiaire. | 52 |
| III.10 | Les structures d'un monomère d'actine et d'un filament d'actine. | 54 |



| | | |
|---------------|---|----|
| III.11 | Ultrastructure du sarcomère. | 55 |
| III.12 | Structure d'un filament fin d'actine. | 56 |
| III.13 | Structure de la molécule de myosine. | 57 |
| III.14 | Structure d'un filament épais de myosine. | 57 |
| III.15 | Etapas de contraction musculaire. | 59 |
| III.16 | Ultrastructure de la mitochondrie. | 61 |
| III.17 | Localisation des processus métaboliques. | 62 |
| III.18 | Fonctionnement des complexes de la phosphorylation oxydative. | 64 |
| III.19 | Structure schématique de l'ATP synthase. | 65 |
| III.20 | Structure générale du ribosome eucaryote 80S. | 68 |
| III.21 | Structure et éléments caractéristiques d'un ARN messenger. | 69 |
| III.22 | Structures secondaire et tertiaire des ARNs de transfert. | 70 |
| III.23 | Transcription de l'ADN en ARNm. | 71 |
| III.24 | L'ADN est transcrit en ARN qui, chez les eucaryotes, est épissé en ARN messenger. | 72 |
| III.25 | Processus de traduction de l'ARNm en protéine. | 73 |
| III.26 | Types de traductions. | 74 |
| III.27 | Représentation 3D des résidus ubiquitables de l'ubiquitine. | 77 |
| III.28 | La cascade d'ubiquitylation. | 78 |



| | | |
|---------------|---|-----|
| III.29 | Structure du protéasome 26S et de l'anneau β . | 79 |
| III.30 | Mécanisme de fonctionnement du système ubiquitine protéasome. | 81 |
| III.31 | Structure de lysosome. | 82 |
| III.32 | Formation de lysosome. | 85 |
| III.33 | Voies de dégradation. | 86 |
| III.34 | Structure de noyau. | 87 |
| III.35 | Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire. | 89 |
| III.36 | Le complexe du pore nucléaire. | 90 |
| III.37 | Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire et des constituants du complexe LINC. | 91 |
| IV.1 | Liaison N-glycosidique. | 95 |
| IV.2 | La N-glycosylation des protéines. | 96 |
| IV.3 | Liaison O-glycosidique. | 97 |
| IV.4 | Antigènes du groupe sanguine A et B. | 99 |
| IV.5 | Les principales classes de lectines, basée sur la structure des protéines. | 100 |
| VI.1 | Structure des récepteurs FGFR. | 107 |
| VI.2 | Structure, voies de signalisation, et dérégulations des récepteurs FGFR dans le cancer. | 108 |
| V.1 | Les différents modes de signalisation cellulaire. | 104 |
| V.2 | Représentation schématique d'un récepteur nucléaire. | 106 |

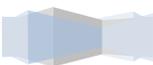


| | | |
|-------------|---|-----|
| V.3 | Principe de fonctionnement d'un récepteur canal ionique (Exemple : récepteur nicotinique à l'acétylcholine). | 107 |
| V.4 | Structure schématique générale des récepteurs couplés aux protéines G. | 107 |
| V.5 | Cycle d'activation/désactivation de récepteurs membranaires couplés aux protéines G. | 109 |
| V.6 | Activation de récepteur enzyme. | 110 |
| V.7 | Arbre de la superfamille des petites protéines G. | 111 |
| V.8 | Cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G. | 112 |
| V.9 | L'organisation de réseaux de signalisation repose sur deux types de protéines aux propriétés différentes : les protéines adaptatrices, les protéines d'échafaudage. | 114 |
| V.10 | Voie de signalisation par la phospholipase C. | 116 |
| V.11 | Représentation simplifiée de voie de biosynthèse des éicosanoïdes. | 117 |
| V.12 | Voie de signalisation de l'AMPC. | 119 |
| V.13 | Schéma de la production du deuxième Production du GMPc. | 120 |
| V.14 | Les 20 familles des récepteurs à activité tyrosine kinase, représentées suivant leurs caractéristiques structurales. | 124 |
| VI.1 | Structure des récepteurs FGFR. | 126 |
| VI.2 | Structure, voies de signalisation, et dérégulations des récepteurs FGFR dans le cancer. | 127 |



LISTE DES TABLEAUX

| N° du tableau | Titre du tableau | Page |
|----------------------|---|-------------|
| I.1 | Comparaison entre la cellule Eucaryote et Procaryote. | 6 |
| II.1 | Les composants de la membrane plasmique. | 16 |
| III.1 | Protéines synthétisées par les différentes catégories de ribosomes. | 45 |
| III.2 | Résumé des complexes LINC possibles et leurs composants. | 91 |
| VI.1 | Signes cliniques observés dans les maladies mitochondriales. | 128 |



LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

AG : Appareil de Golgi

AMPc : Adénosine MonoPhosphate cyclique

ARN : Acide Ribo Nucléique

ATP : Adénosine Tri Phosphate

CPN : Complexe du Pore Nucléaire

FI : Filaments Intermédiaires

GMPc : Guanosine MonoPhosphate cyclique

GR : Globules Rouges

MEC : Matrice Extra Cellulaire

MLS : Maladies Lysosomales de Surcharge

MP : Membrane Plasmique

MT : Microtubules

GPI : Glycosyl Phosphatidyl Inositol

PKA : Protéine Kinase A

RCPG : Récepteurs Couplés aux Protéines G

RE : Réticulum Endoplasmique

REL : Réticulum Endoplasmique Lisse

RER : Réticulum Endoplasmique Rugueux

UPS : Système Ubiquitine Protéasome



PREFACE

Le cours de biochimie cellulaire et fonctionnelle s'adresse tout particulièrement aux étudiants de troisième année Biochimie (licence académique). L'ensemble du cours ayant pour point commun l'étude de l'unité de base du vivant (la cellule). L'étude de son organisation interne et compartimentation fonctionnelle en passant par les modalités permettant à celle-ci de vivre, de se reproduire, d'interagir et de s'adapter avec son environnement.

L'enseignement de la biochimie cellulaire et fonctionnelle au sein de département des Sciences de la Nature et de la Vie au Centre Universitaire Abdelhafid Boussoufse fait sous forme de cours et d'enseignements dirigés. Les cours portent sur les notions essentielles qui sont réparti sur six chapitres et détaillées dans le polycopié :

1. Compartimentation fonctionnelle de la cellule (vue d'ensemble) ;
2. Biomembranes ;
3. Relation structure-fonction de la cellule ;
4. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique ;
5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire ;
6. Anomalies de signalisation et pathologies ;

Au fil de l'acquisition des connaissances, l'étudiant devra être capable d'établir des relations entre ces différents chapitres, mais aussi avec d'autres disciplines comme la biochimie et la physiologie, ce qui témoignera d'un progrès certain dans la compréhension du vivant.



INTRODUCTION

La vie est fondée sur des structures morphologiques simples constituant les organismes vivants : ce sont les cellules. Tous les êtres vivants sont constitués d'au moins une cellule et toute cellule est issue d'une autre cellule. Un organisme humain est constitué d'environ cent mille milliards de cellules.

Une 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 milieu de vie ; elle peut se reproduire, et enfin, elle meurt.

La compréhension de son fonctionnement et de son rôle nécessite une approche multidisciplinaire : étude de la biochimie, de la biologie cellulaire et de la biologie moléculaire. Puisque la fonctionnalité cellulaire se retrouve altérée dans la majorité des pathologies humaines, l'étude de la cellule est essentielle pour connaître la source du dysfonctionnement (par exemple : une mutation de l'ADN et son impact dans l'homéostasie cellulaire, le métabolisme, une voie de signalisation cellulaire, etc.), ou pour déterminer une cible pharmacologique (exemple : un récepteur membranaire).

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, cytosquelette.

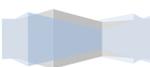
Ce polycopié est destiné aux étudiants de troisième année Biochimie qui suivent l'enseignement au sein de Département des Sciences de la Nature et de la Vie de Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.

Cette matière a pour objectif de donner les bases de la dynamique membranaire, la compartimentation intracellulaire et son intégration dans la fonction cellulaire ainsi que la transmission des signaux intracellulaires à partir de ligands hydrophiles. Initiation à la génomique biochimique. À la fin de ce cours, l'étudiant devra avoir les bases en biochimie, immunologie, microbiologie et génétique.



Les objectifs généraux de ce cours sont les suivants :

- Connaître la compartimentation cellulaire ;
- Organisation générale de la cellule, structures subcellulaires, spécialisations (la membrane plasmique, noyau, jonctions, etc.) ;
- Connaître les types de transport membranaire ;
- Connaître les composantes du cytosquelette et leurs rôles ;
- Connaître les interactions cellules-cellules et leurs rôles ;
- Connaître les principales étapes de la synthèse et adressage des de protéines ;
- Connaître le rôle et la composition de chaque organelle (ex : noyau, réticulum, golgi, lysosome, mitochondrie, etc.) ;
- Décrire et comprendre les voies de signalisation cellulaire ;
- Connaître quelques anomalies de signalisation et pathologies.



CHAPITRE I. COMPARTIMENTATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE

I. Historique du concept cellulaire

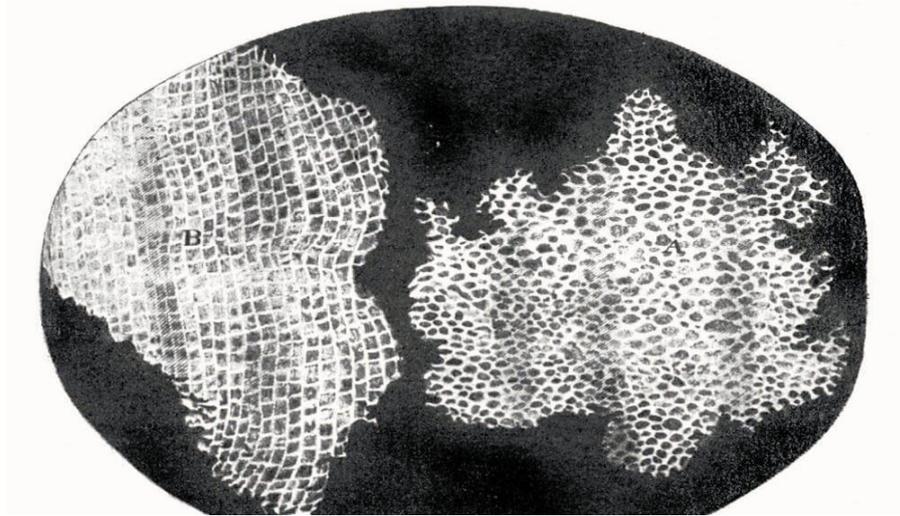
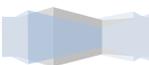


Figure I.1. La première cellule découverte par Hooke en 1665 [1].

- **1665** : Robert Hooke découvre des cellules mortes dans du liège et grâce au premier microscope, il les observe dans des plantes vivantes.
- **1839** : Theodor Schwann découvre que les plantes et les animaux sont tous constitués de cellules, concluant ainsi que la cellule est l'unité commune de structure et de développement, ce qui fonda la théorie cellulaire (Il donna son nom aux *cellules de Schwann*).
- La croyance selon laquelle des formes de vie peuvent apparaître spontanément (génération spontanée) est réfutée par Louis Pasteur (**1822-1895**).
- **1855** : Rudolf Virchow affirma que les cellules naissent du résultat de la division cellulaire.

II. Théorie cellulaire

- La cellule est l'unité constitutive et fonctionnelle des organismes vivants ;
- L'organisme dépend de l'activité des cellules isolées ou groupées en tissus pour assurer ses différentes fonctions ;



- Les activités biochimiques des cellules sont coordonnées et déterminées par certaines structures présentes à l'intérieur de celles-ci ;
- La multiplication des cellules permet le maintien des organismes et leur multiplication.

Cette théorie est formulée en 1838 par Schleiden et Schwann : la cellule est l'unité de vie. Cette théorie évoque également la présence d'organites à l'intérieur même de celles-ci.

Définition de la cellule

La cellule (en *Latin cellula* signifie petite chambre) est un compartiment cloisonné par une membrane renfermant un liquide visqueux appelé cytoplasme, composé de l'eau, de molécules dissoutes et de plusieurs organites (chez les eucaryotes). La cellule est la plus petite unité capable de manifester les propriétés d'un être vivant : se nourrir, croître et se développer. Elle est capable de fonctionner de manière autonome.

III. Compartimentation cellulaire

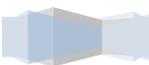
La compartimentation cellulaire est une séparation dans les cellules dues à la perméabilité sélective des membranes qui cloisonnent chacun des organites distincts, par exemple, mitochondries, lysosomes...etc.

La présence d'une membrane biologique entourant un espace, que ce soit le cytoplasme ou la lumière d'un organite, va permettre, en contrôlant les échanges des macromolécules, des ions, l'établissement de conditions favorisant certaines réactions par rapport à d'autres en variant les différents facteurs physico-chimiques (pH, concentration en ions...), la nature des enzymes et des produits...etc.

Cette compartimentation se trouve particulièrement poussée dans le cas des eucaryotes chez lesquels elle permet la spécialisation fonctionnelle des différents organites.

IV. Evolution biologique des procaryotes aux eucaryotes : l'endosymbiose

La théorie endosymbiotique (théorie démontrée en ce qui concerne les mitochondries et les chloroplastes) énonce que la cellule eucaryote dérive de l'association symbiotique de bactéries qui sont devenues totalement interdépendantes au point de former une seule et même unité structurale et fonctionnelle.



Cette théorie s'appuie entre autre sur les éléments suivants :

- La taille des mitochondries et des chloroplastes est semblable à celle des bactéries ;
- Chacun de ces organites possède un matériel génétique (ADN) qui lui est propre ;
- Chacun de ces organites possède le matériel nécessaire pour la synthèse protéique (ARNt, ribosomes, polymérase) ;
- Chacun de ces organites peut se diviser par étranglement médian (après avoir dupliqué le matériel génétique).

La théorie endosymbiotique (Max Taylor, 1979) de l'origine des eucaryotes postule que :

- La mitochondrie dérive d'une bactérie respirante.
- Le chloroplaste dérive des cyanobactéries.

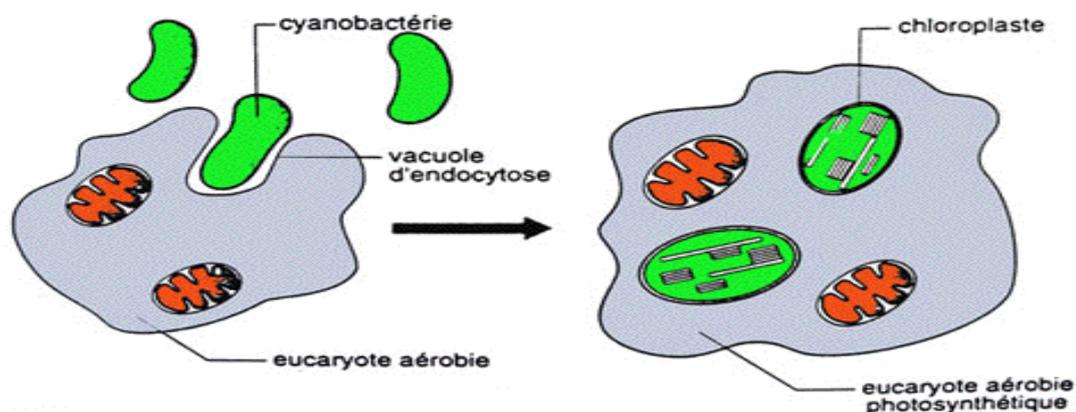


Figure I.2. Origine des Eucaryotes selon la théorie d'une symbiose entre Procaryotes aérobie et anaérobies [2].

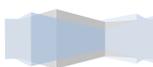
V. Les variétés cellulaires

V.1. Les cellules eucaryotes : (du grec *eu*, propre) sont généralement de plus grande taille, avec un noyau et bordés d'une membrane.

- Unicellulaires (les protistes) et Pluricellulaires (les algues, les champignons, les végétaux et les animaux).

V.2. Les cellules procaryotes : (du grec *pro*, avant et *karyon*, noyau) sont des êtres unicellulaires, dépourvus de noyau et bordés d'une membrane.

- Eubactérie : bactéries « vraies » ;

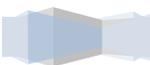


- *Archéobactérie* : vivent dans des milieux extrêmes (température élevée, milieu acide, milieu salé, température très basse...).

Les principales différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes sont illustrées dans le tableau I.1 et la figure I.3 ci-dessous.

Tableau I. 1. Comparaison entre la cellule eucaryote et procaryote [1].

| | Procaryotes | Eucaryotes |
|-----------------------------------|---|---|
| Représentants | bactéries, archées | protistes, champignons, plantes, animaux |
| Taille typique | ~ 1-10 μm | ~ 10-100 μm |
| Type de noyau | nucléotide; pas de véritable noyau | vrai noyau avec une enveloppe |
| ADN | circulaire (chromosome), avec des protéines HU pour eubactéries | molécules linéaires (chromosomes) avec des protéines histone |
| ARN/synthèse des protéines | couplé au cytoplasme | synthèse d'ARN dans le noyau synthèse de protéines dans le cytoplasme |
| Ribosomes | 23S+16S+5S | 28S+18S+5,8S+5S |
| Structure cytoplasmique | très peu de structures | très structuré par des membranes intracellulaires et un cytosquelette |
| Mouvement de la cellule | flagelle fait de flagelline | flagelle et cils fait de tubuline |
| Métabolisme | anaérobie ou aérobie | habituellement aérobie |
| Mitochondries | aucune | de une à plusieurs milliers |
| Chloroplastes | aucun | dans les algues et les plantes chlorophylliennes |
| Organisation | habituellement des cellules isolées | cellules isolées, colonies, organismes complexes avec des cellules spécialisées |
| Division de la cellule | division simple | Mitose (multiplication conforme de la cellule) Méiose (formation de gamètes) |



cellule animale

cellule végétale

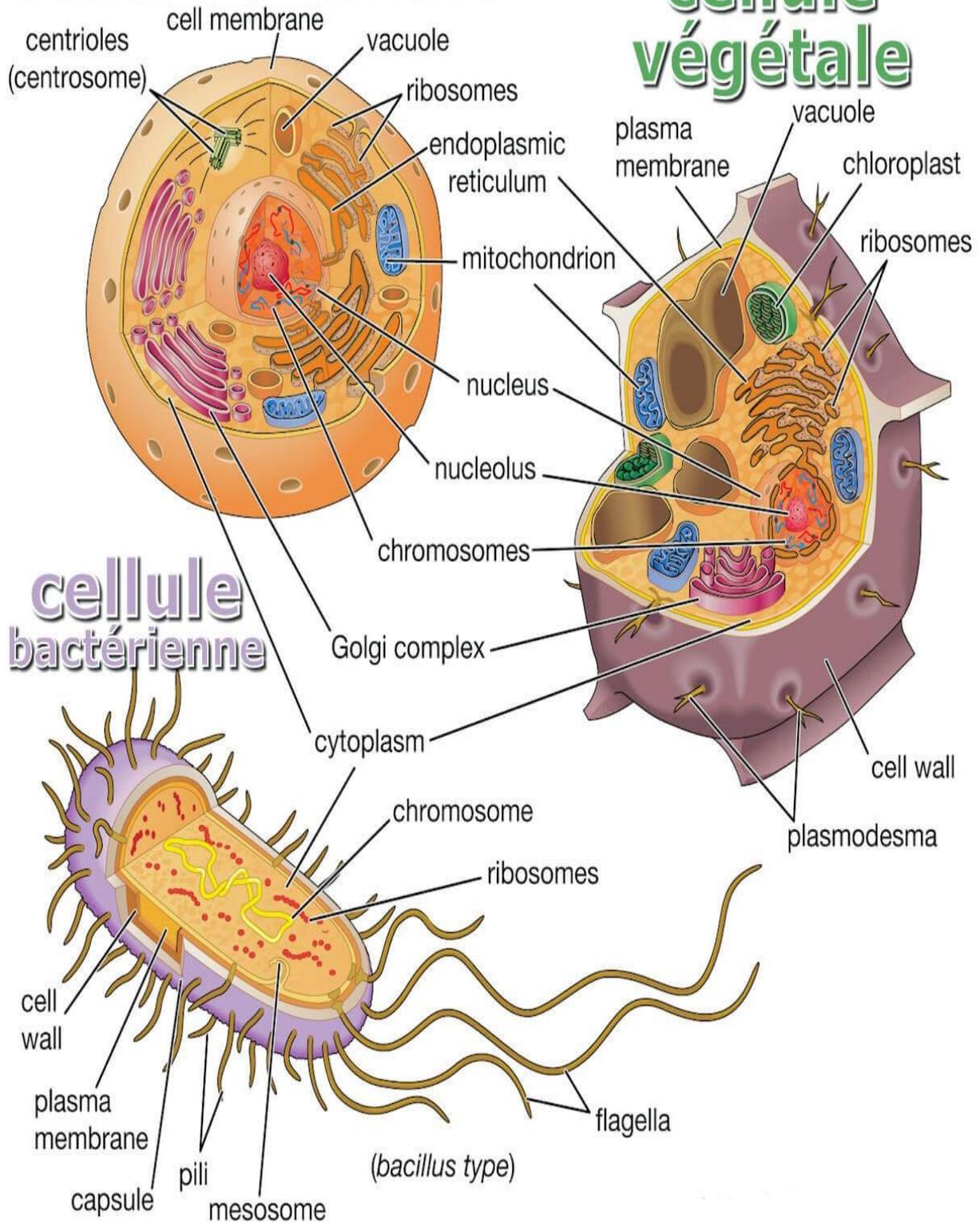


Figure I.3. Comparaison entre une cellule animale, une cellule végétale et une cellule bactérienne [1].

VI. Description et fonction des constituants de la cellule

L'observation microscopique des cellules a mis en évidence de nombreuses molécules internes appelées organites intracellulaires (figure I.3). Chacun de ces organites apporte sa propre contribution à la vie cellulaire. Nous pouvons ainsi citer :

- **La membrane plasmique (MP)**

Forme un réseau qui permet de délimiter différents compartiments dans la cellule. La MP malgré leur diversité possède une structure identique :

- Une bicouche phospholipidique composée de lipides amphiphiles, qui constitue un filtre de base permettant le passage des petites substances hydrophobes, freinant celui des hydrophiles.
- Des protéines transmembranaires et périphériques aux rôles divers (transferts, transport, transduction de signaux...).

- **Le cytoplasme**

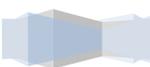
Le cytoplasme est défini comme le matériel biologique contenu entre la membrane plasmique et l'enveloppe nucléaire. Il s'agit d'une phase liquide plus exactement d'une émulsion colloïdale qui comporte de nombreux organites et structures en suspension dans une phase liquide appelée cytosol.

- **Le noyau**

Le noyau apparaît souvent de forme sphérique et de taille variable, il est visible quand la cellule ne se divise pas (interphase). Le noyau est limité par l'enveloppe nucléaire constituée de deux membranes externe et interne. Il est le centre vital de la cellule et il contrôle grâce à l'ADN toutes les activités de la cellule.

- **Nucléole**

C'est une structure plus ou moins sphérique située dans le noyau, non délimitée par une membrane contenant les acides nucléiques (ARN) et des protéines et qui est le lieu de la synthèse de l'ARN ribosomale.



- **Cytosquelette**

Le cytosquelette est une structure filamenteuse de soutien de la cellule qui traverse tout le cytoplasme formant un véritable squelette intracellulaire. Il assure les fonctions suivantes :

- Responsable de la forme des cellules, des expansions de leur membrane plasmique (cils, flagelles, microvillosités) ;
- Responsable de la position du noyau et des organites dans la cellule ;
- Responsable des mouvements de la cellule (endocytose) et des organites (vésicules).

- **Réticulum endoplasmique (RE)**

Le RE est un ensemble de membranes délimitant des cavités sous forme de citernes ou de tubules. Il peut être dépourvu de ribosomes, c'est le cas du réticulum endoplasmique lisse (REL) ou porteur de ribosomes, c'est le réticulum endoplasmique granulaire (REG) qui est en relation avec l'enveloppe nucléaire.

- **Ribosomes**

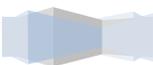
Les ribosomes sont de petites particules compactes présentes dans toutes les cellules, en très grand nombre. Ce sont des complexes ribonucléoprotéiques majeurs de la cellule aussi bien procaryote qu'eucaryote. Ils catalysent l'assemblage des acides aminés au cours de la synthèse protéique.

- **Appareil de Golgi**

L'appareil de Golgi est constitué d'un empilement de saccules. Cet empilement est appelé dictyosome, unique dans les cellules animales, mais multiples dans les cellules végétales. La fonction principale de l'appareil de Golgi est de servir de lieu de transit et de réservoir pour les protéines et lipides fabriqués dans le réticulum endoplasmique.

- **Mitochondries**

La mitochondrie est un organite cellulaire à enveloppe formée de deux membranes. La membrane interne forme des plis (crêtes). L'intérieur de la mitochondrie est constitué d'une substance (matrice) contenant du DNA, du RNA, des protéines. La mitochondrie est le site des



réactions d'oxydation de la respiration. Il en résulte une production d'énergie stockée sous forme d'ATP dans les cellules.

- **Lysosomes**

Organites intracellulaires qui renferment des enzymes hydrolytiques, ils sont responsables de la dégradation de l'ensemble des molécules biologiques (ADN, protéines, oses, lipides...etc.).

- **Les peroxyosomes**

Les peroxyosomes sont de petits organites limités par une membrane qui se trouvent à l'intérieur de chaque cellule. On les appelle ainsi, car ils neutralisent le peroxyde cellulaire, très toxique, pour produire de l'eau.

- **Centrioles**

Le centriole est une structure cylindrique creuse, composée de neuf triplets de microtubules, entourés de nombreuses autres protéines. Il forme les pôles qui permettent la division cellulaire ; en général absents chez les plantes.

- **Vacuoles**

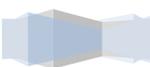
Cavités contenant des substances de réserve (glycogène, lipides) ou des déchets à éliminer.

- **Chloroplastes**

Les chloroplastes sont des organites présents dans le cytoplasme des cellules eucaryotes photosynthétique (plantes, algues). Les chloroplastes sont caractérisés par leurs pigments (chlorophylles) qui assurent l'absorption de l'énergie solaire qu'ils transforment en énergie chimique au cours de la photosynthèse.

- **Paroi cellulosique**

La paroi pecto-cellulosique est une matrice extracellulaire qui protège chaque cellule végétale. Elle est essentiellement composée de polysaccharides ; cellulose et pectine d'où l'appellation « paroi pecto-cellulosique ».



CHAPITRE II. BIOMEMBRANES

A. Composition des membranes : isolement, composition

I. Isolement des fractions de « membrane plasmique »

Une cellule modèle : l'hématie. Ce type cellulaire permet une isolation facile de la membrane plasmique car il n'y a pas d'organe ni de noyau.

Méthode d'isolement

- Élimination par centrifugation du plasma pour ne récupérer que les globules rouges (GR) ;
- Ajout d'un milieu hypotonique, c'est-à-dire un tampon ayant une concentration en sel plus faible que celle de la cellule, donc l'eau se déplace selon la loi de l'osmose (du moins concentré vers le plus concentré) ;
- L'eau entrant dans le GR provoque une rupture de la membrane plasmique du GR qui se vide alors de son contenu intracellulaire (l'hémolyse des hématies) ;
- On fait une centrifugation pour éliminer le milieu et récupérer des « fantômes d'hématies » que sont les membranes des GR isolés. Une fois les membranes plasmiques isolées on étudie leur constitution chimique.

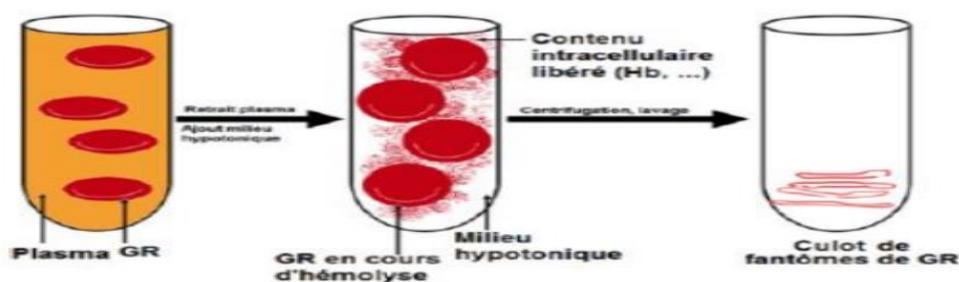


Figure II.1. Isolement de fantôme, culot de membranes plasmiques, à partir d'hématies [3].

II. Composition chimique de la membrane plasmique

II.1. Définition

La membrane plasmique est une fine barrière essentielle qui entoure le cytoplasme d'une cellule séparant ainsi les milieux extracellulaires et intracellulaires. Elle est constituée d'une double couche lipidique dans lesquelles s'insèrent de manière asymétrique et hétérogène des protéines.

En microscopie électronique on observe une trilamination de la membrane : un feuillet clair de 3nm entouré par 2 feuillets sombres de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ 8nm.

II.2. Composition des membranes

Les membranes sont constituées (en poids sec) de 40% de lipides, 52% de protéines et 8% de glucides. En prenant en compte la différence de poids existant entre ces classes de molécules, soit 50 molécules de lipides par molécule de protéine.

II.3. Diversités des lipides membranaires

Les lipides sont les composants majoritaires de la membrane plasmique et de l'ensemble des membranes biologiques. Pour chaque membrane d'organites, la proportion des différents types de lipides est variable, ce qui leur confère des propriétés fonctionnelles spécifiques. Au sein de la membrane les lipides sont présents sous différentes formes :

- **Les phospholipides** : sont les lipides prépondérants dans les membranes biologiques. Ils comportent une tête phosphorylée hydrophile et une queue formée de deux chaînes aliphatiques d'acides gras saturés ou non (molécules amphipathiques).

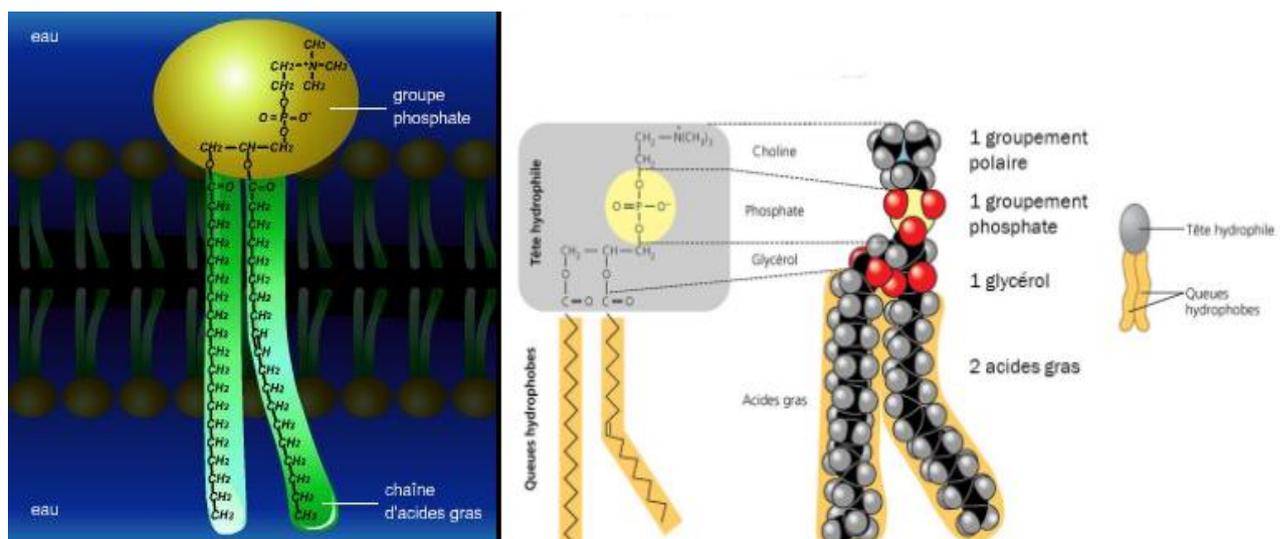


Figure II. 2. Représentation schématique d'un phospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique [4].



- Glycolipides** : lipides dont l'antenne oligosaccharidique est orientée vers le milieu extracellulaire. Les glycolipides jouent un rôle dans la reconnaissance moléculaire au niveau des membranes cellulaires. Quelques groupes de glycolipides : Galactolipide, Glycosphingolipide et Glycosylphosphatidylinositol.

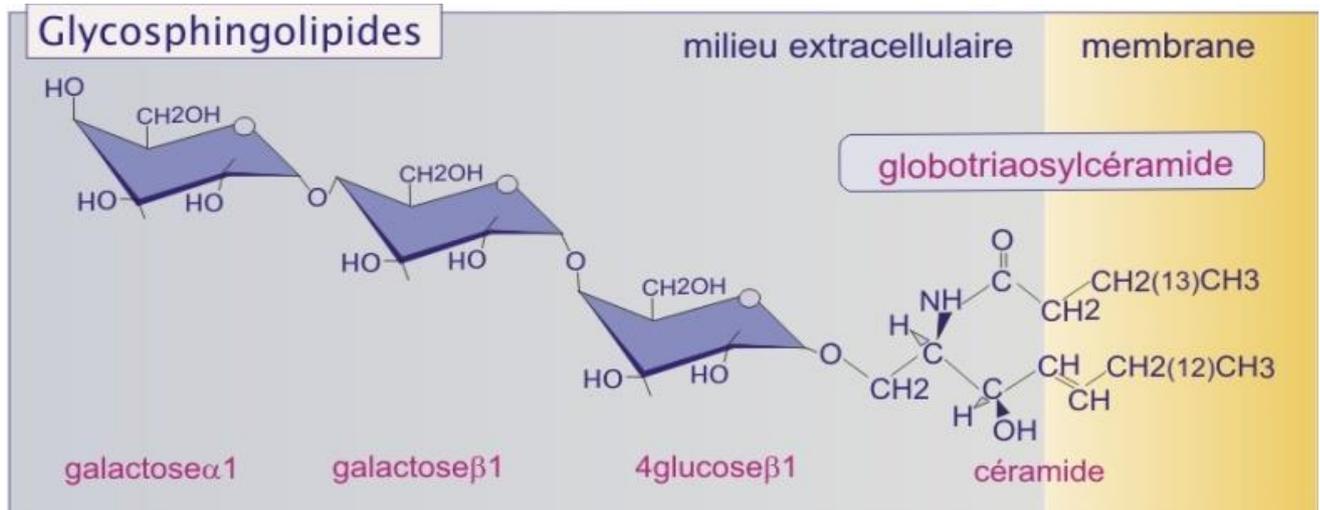


Figure II. 3. Glycolipide membranaire [5].

- Cholestérol** : Un lipide de type stéroïde. Le cholestérol est uniquement présent dans les membranes des cellules animales. En effet, il est absent dans les cellules végétales et les bactéries. Il est composé d'un noyau stéroïde polycyclique hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile, donc amphiphile. Il représente environ un quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire.

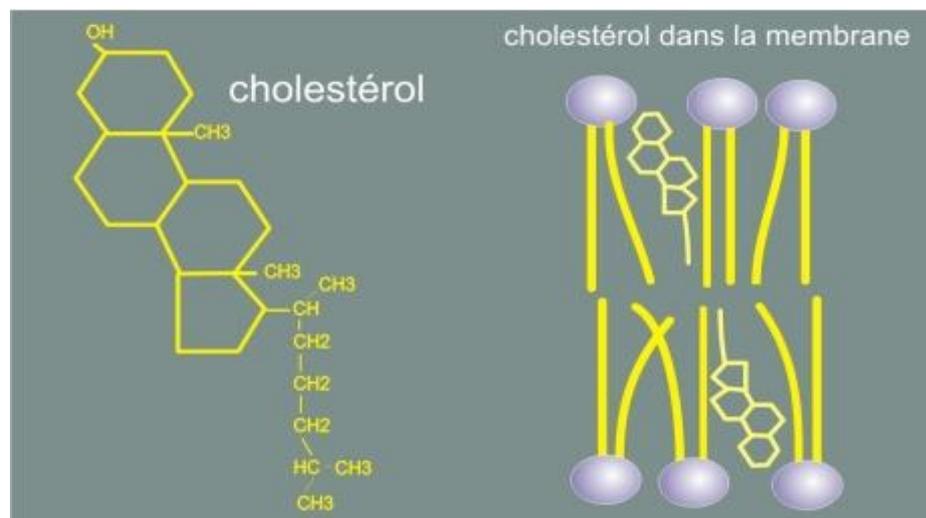


Figure II. 4. Cholestérol [5].

II.4. Diversités des protéines membranaires

De nombreuses protéines sont insérées dans les bicouches membranaires. Elles y jouent un rôle physiologique majeur, et sont responsables pour l'essentiel des activités caractéristiques des membranes : transport, reconnaissance, communication, adhérence. Les protéines sont associées à la membrane de différentes manières. Les protéines peuvent être soit intégrées à la membrane (intrinsèques ou trans-membranaires) ou encore accolées à la membrane (extrinsèques ou périphériques) par des interactions électrostatiques ou des ancrages (lipidiques et glyco-lipidiques) et se déplacent constamment dans la membrane. On peut grouper les protéines membranaires en deux classes différentes :

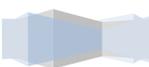
II.4.1. Les protéines intrinsèques

Les protéines intrinsèques sont liées de manière très étroite à la bicouche lipidique et ne peuvent être détachées que sous l'action de détergents ou de solvants organiques qui détruisent l'organisation en bicouche lipidique. Elles peuvent se subdiviser en trois catégories :

- **Protéines transmembranaires** avec un ou plusieurs segments transmembranaires. Elles interagissent par des liaisons non covalentes, mais de forte énergie, avec les lipides par l'intermédiaire d'un domaine riche en acides aminés hydrophobes (phénylalanine, leucine, valine, tryptophane...) souvent organisés en hélice mais glycosylés au niveau de leur domaine extracellulaire.
- **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 à une molécule de lipide située au sein de la bicouche.

II.4.2. Les protéines extrinsèques

Les protéines périphériques sont entièrement situées à l'extérieur de la bicouche lipidique, soit à la face cytoplasmique, soit à la face extracellulaire, mais qui sont associées à la membrane par des liaisons non covalentes.



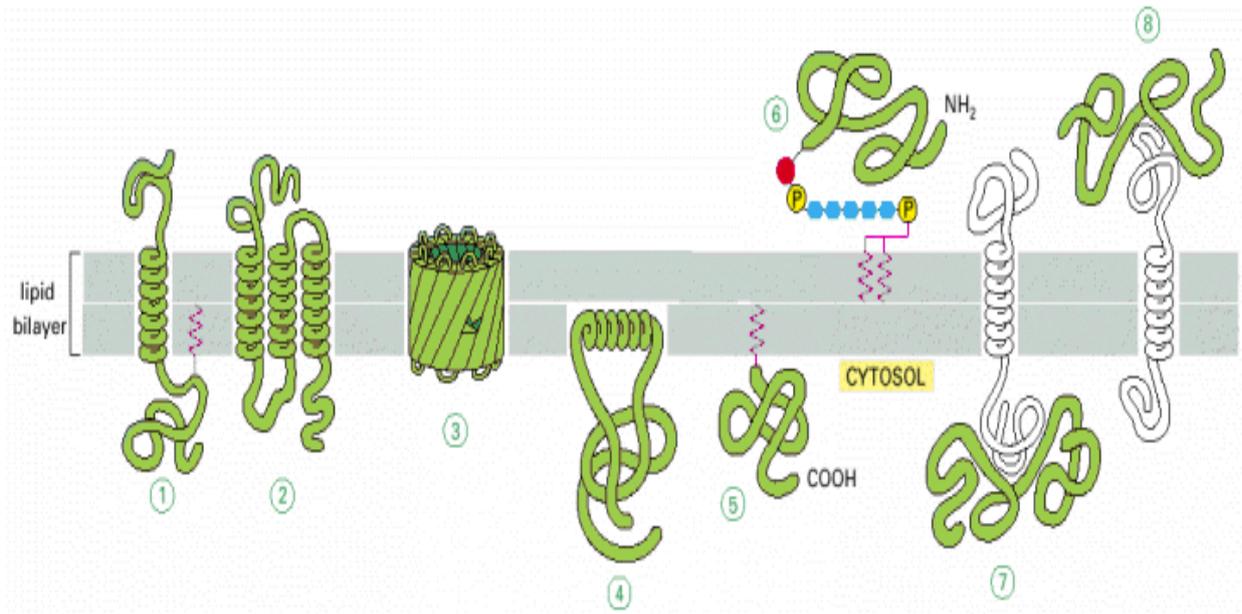
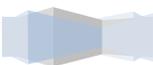


Figure II. 5. Différents modes d'association des protéines avec la bicouche lipidique [6].
 Protéines transmembranaires. (1) traverse la double couche sous la forme d'hélice alpha. (2) traverse la double couche sous la forme d'hélice alpha multiple. (3) traverse la double couche sous la forme tonneau de feuillets beta. Protéines associées à un seul côté de la membrane. (4) ancrée par une hélice amphiphile. (5) liaison covalente avec un acide gras (cytoplasmique). (6) liaison covalente avec le glycosyl-phosphatidyl-inositol ou GPI. (7et 8) interaction non covalente avec d'autres protéines membranaires.

II.5. Diversités des glucides membranaires

Les glucides sont le troisième composant principal des membranes plasmiques. En général, ils se trouvent toujours à la surface extérieure des cellules et sont liés soit à des protéines (formant des glycoprotéines) soit à des lipides (formant des glycolipides). Ces chaînes de glucides peuvent être composées de 2 à 60 unités monosaccharides et peuvent être droites ou ramifiées. Ils ont des rôles physiologiques très importants et variés :

- Certaines familles de glycoprotéines interviennent dans les phénomènes d'adhésion des cellules entre elles et avec la matrice extracellulaire.
- Les antigènes des groupes sanguins A, B présents à la surface des globules rouges, sont des glycolipides dérivés de la sphingomyeline.



- Le galactocérebroside est le principal glycolipide de la myéline, présente autour de certains axones.

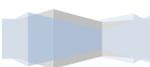
Tableau II.1. Les composants de la membrane plasmique [7].

| Composant | Emplacement |
|-------------------------|---|
| Phospholipides | Élément principal de la membrane |
| Cholestérol | Niché entre les queues hydrophobes des membranes de phospholipides |
| Protéines intégrales | Incorporées dans la bicouche lipidique ; peuvent ou non s'étendre à travers les deux couches |
| Protéines périphériques | Sur la surface intérieure ou extérieure de la bicouche lipidique, mais pas intégrées à son cœur hydrophobe |
| Glucides | Attachés à des protéines ou des lipides du côté extracellulaire de la membrane (formation de glycoprotéines et glycolipides). |

B. Architecture biomoléculaire des membranes

I. La bicouche lipidique

L'étude par microscopie électronique de coupes membranaires fines marquées à l'aide de tétroxyde d'osmium, qui se fixe fortement aux groupements polaires de tête des phospholipides, révèle la structure en bicouche. 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).



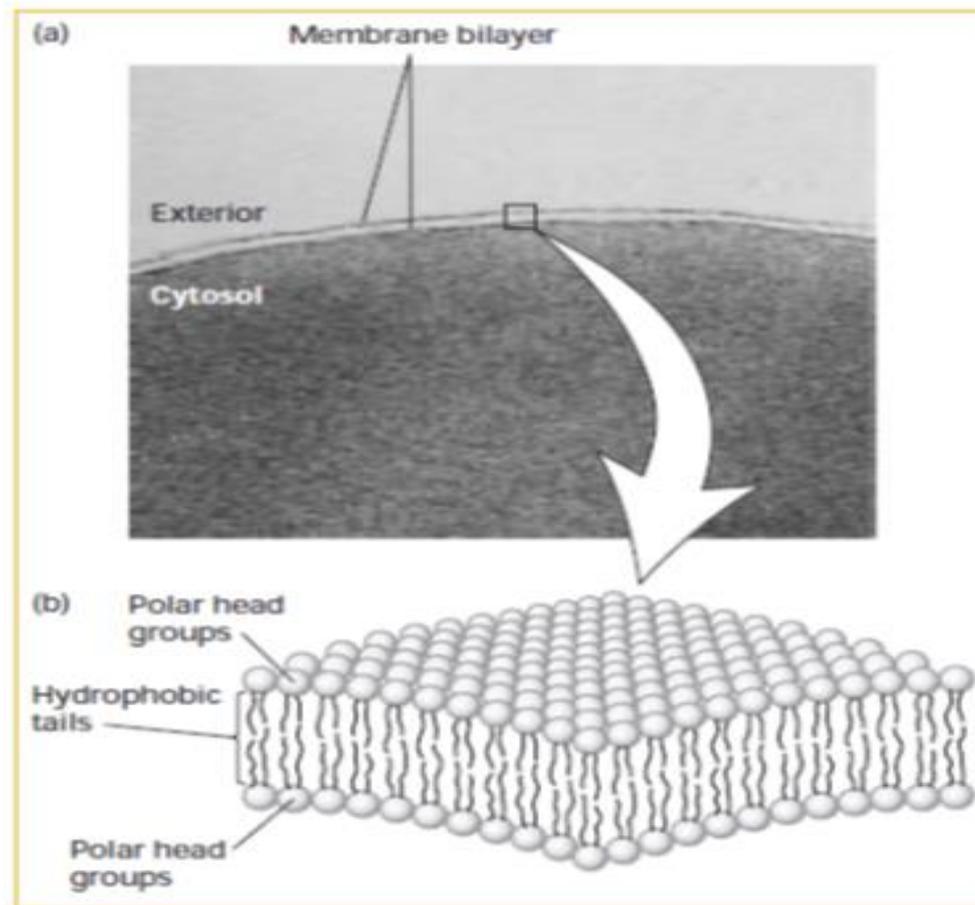


Figure II. 6. La structure en bicouche des biomembranes [8].

(a) correspond à une micrographie électronique d'une coupe fine d'une membrane. L'aspect caractéristique en « voie ferrée » de la membrane indique la présence de deux couches polaires, qui correspondent à la structure en bicouche des membranes phospholipidiques. (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.

II. Le modèle membranaire « en mosaïque fluide »

Après avoir décrit les éléments constitutifs, on peut se demander comment ils sont organisés au sein de cette structure membranaire. En s'appuyant sur les données expérimentales accumulées sur la morphologie, la biochimie et la physiologie des membranes cellulaires. Dans les années 1970, Singer et Nicolson, élaborent le modèle de la « mosaïque fluide » qui suggère que la membrane plasmique est composée d'une bicouche lipidique fluide hébergeant différentes protéines membranaires. Les lipides sont organisés en une bicouche faite de

phospholipides et de cholestérol, dans laquelle il existe plusieurs protéines (intrinsèques et périphériques).

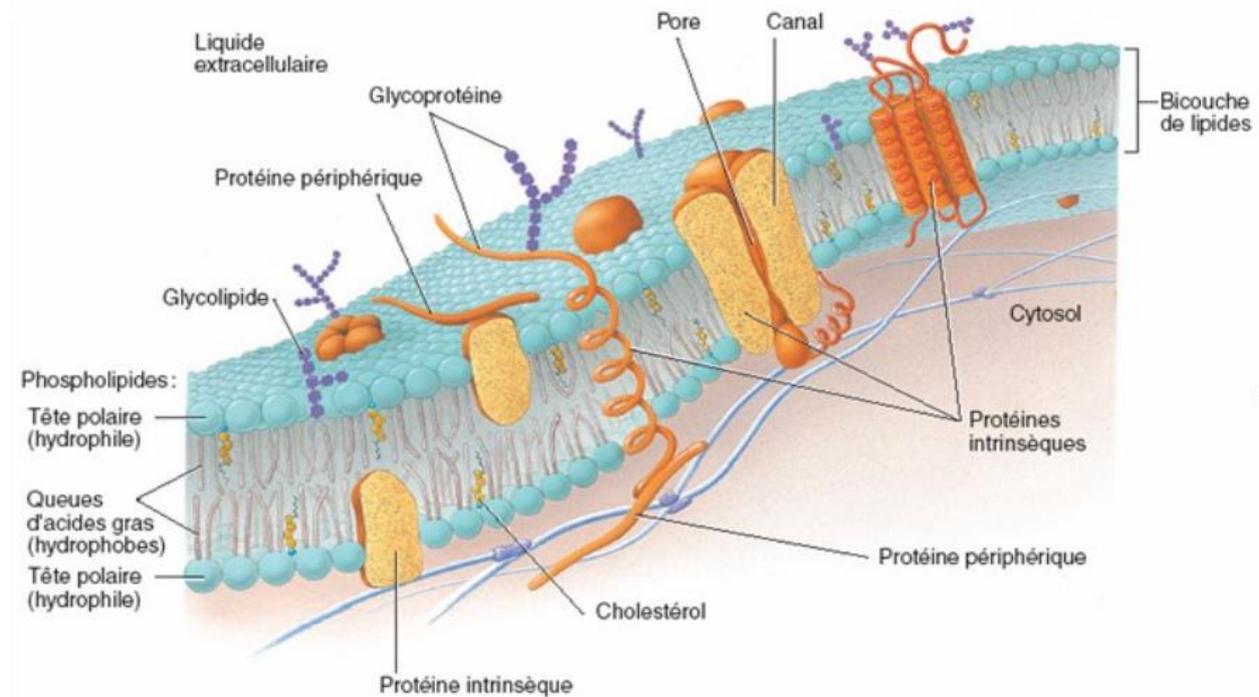


Figure II. 7. Modèle de membrane plasmique en mosaïque fluide [9].

III. Les caractéristiques du modèle en mosaïque

1. **La membrane est mosaïque** : car elle est constituée de la juxtaposition d'éléments différents : deux couches de lipides dans lesquelles s'insèrent des protéines globulaires.
2. **La membrane est fluide** : ce sont des structures quasi fluides dans lesquelles les lipides et les protéines intégrées sont capables de mouvements de translation à l'intérieur de la couche bilamellaire entière.

Facteurs conditionnant la fluidité de la MP :

- **La température** : dont l'augmentation entraîne une accélération des mouvements.
- **La quantité de cholestérol** : le cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane.
- **La composition en acides-gras** : plus les chaînes carbonées des acides-gras sont courtes et insaturées plus la membrane est fluide.
- **Le nombre de protéines** : les protéines diminuent la fluidité membranaire.

3. La membrane est asymétrique : toutes les membranes biologiques sont constituées de feuillettes dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente dans l'un ou l'autre des feuillettes, pouvant basculer facilement de l'un à l'autre.

- Le feuillet interne est caractérisé par les phosphatidyl-sérine (amphotère) et phosphatidyl-éthanolamine (charge négative).
- Le feuillet externe est caractérisé par la sphingomyéline (charge négative) et la phosphatidyl-choline (charge négative) et les glycolipides.

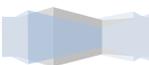
L'asymétrie des lipides entraîne ainsi une asymétrie de la charge globale de chaque feuillet. On visualise également une asymétrie des protéines présente dans la double couche phospholipidique ; ces protéines participent à caractériser les propriétés de la membrane, que cela soit du côté intracellulaire ou extracellulaire.

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique forme ce que l'on appelle le **glycocalix**.

IV. Auto-assemblage des lipides

Lorsque les lipides membranaires sont en phase aqueuse, ils peuvent s'organiser de plusieurs manières différentes :

- **Les monocouches :** sont des couches mono-moléculaires dont les têtes hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux et les queues hydrophobes vers le milieu lipidiques.
- **Les micelles :** sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles ; sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse). On les obtient suite à des traitements de la membrane plasmique par des détergents.
- **Les bicouches lipidiques :** les têtes polaires sont dirigées vers l'extérieur, en contact avec le milieu aqueux. Les queues apolaires sont dirigées vers le centre, elles font des interactions hydrophobes entre elles et sont protégées du milieu aqueux grâce aux têtes polaires.



- **Les liposomes** : ont la forme de petites vésicules sphériques délimitées par une double couche lipidique et remplies de milieu aqueux. Les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses.

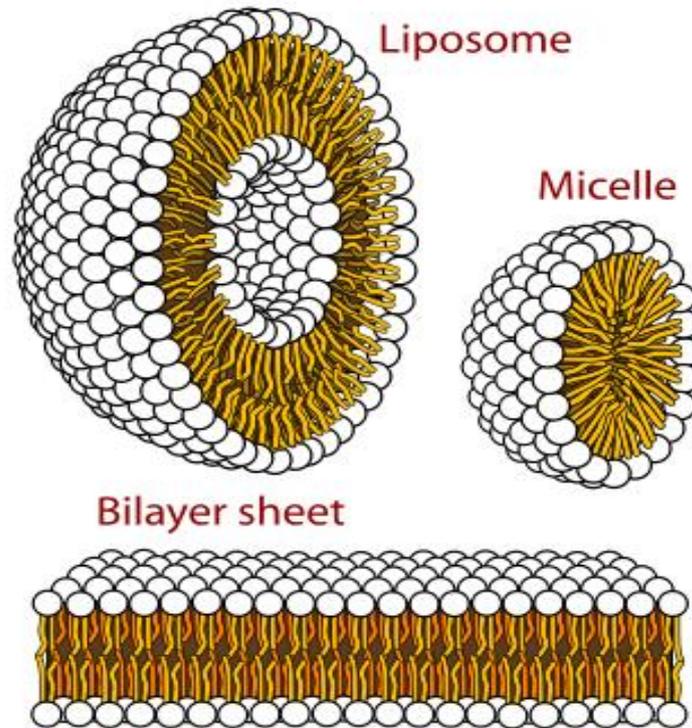
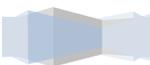


Figure II. 8. Assemblage membranaire [10].

V. Mouvements des lipides

Les lipides membranaires présentent trois types de mouvements :

- La diffusion latérale dans le plan du feuillet lipidique avec une vitesse élevée (un lipide peut changer de place avec son voisin 7×10^000000 /seconde).
- La rotation sur place des lipides est aussi fréquente.
- Le passage d'un feuillet à un autre est plus rare soit moins d'une fois par semaine (phénomène de Flip-flop des lipides grâce à une protéine spécialisée ou flippase et consomme de l'énergie) le cholestérol passe facilement d'un feuillet à l'autre.



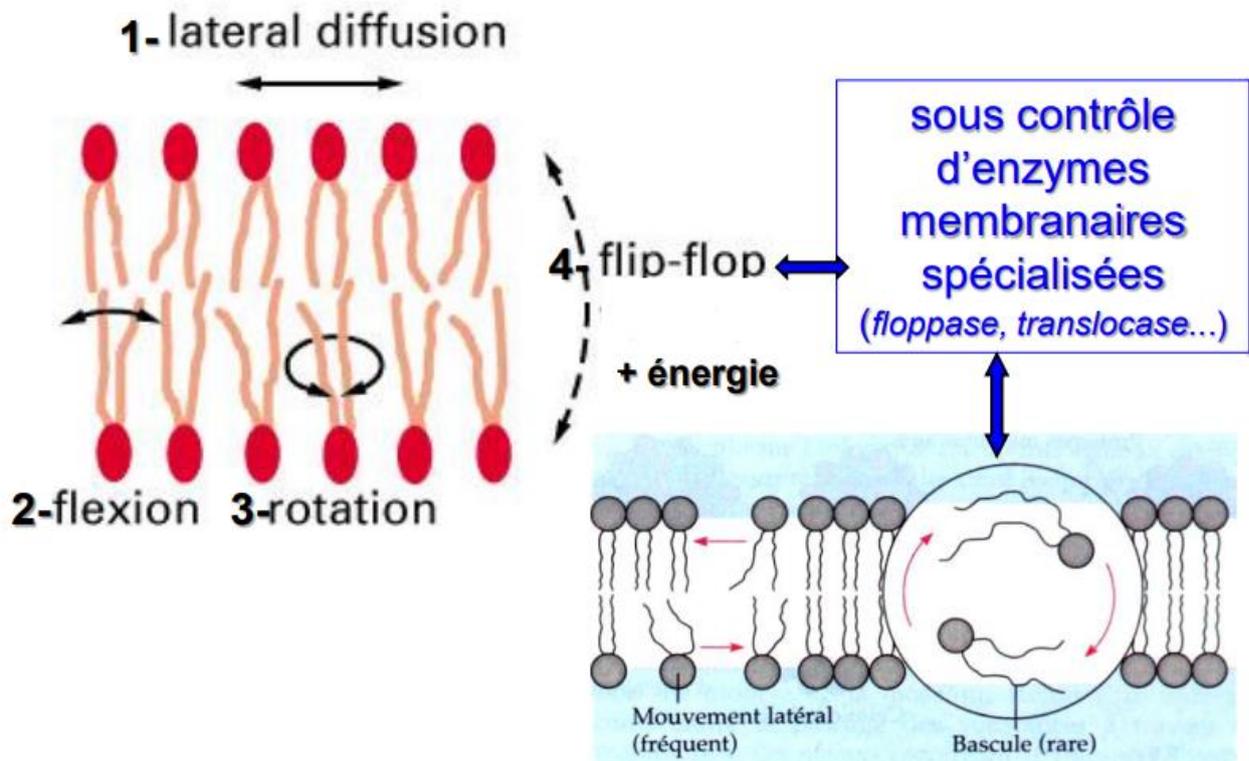
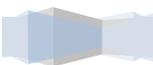


Figure II. 9. Types de mouvement des lipides membranaires [11].

VI. Mouvements des protéines intrinsèques

- La rotation sur place des protéines est comparable à celle des lipides.
- Le phénomène de flip-flop des protéines membranaires n'existe pas.
- Le phénomène le plus important pour la physiologie cellulaire est celui de la diffusion latérale de certaines protéines.
- Les mouvements de certaines protéines transmembranaires peuvent être limités ou interdits par des mécanismes qui peuvent par ailleurs être associés comme par exemple leur ancrage au cytosquelette par les protéines extrinsèques de la face cytosolique, leur interaction avec les constituants de la matrice extracellulaire, ou l'interaction avec d'autres protéines de même type dans la membrane ou encore avec des molécules portées par deux cellules en contact ou jointives.



C. Les échanges membranaires : transport passif, transport actif et transport vésiculaire

I. Le transport passif et actif

I.1. Le transport membranaire

Le transport membranaire est le passage d'une molécule, d'un ion ou d'une particule à travers la bicouche lipidique de la membrane plasmique ou des organites. De ce fait, la membrane cellulaire joue le rôle de barrière hautement sélective. Cette sélectivité permet :

- Le passage des molécules indispensables (aa, glucose...) vers l'intérieur de la cellule.
- Aux métabolites intermédiaires de ne pas s'échapper de la cellule.
- Aux déchets métaboliques de quitter la cellule.

Ces échanges permettent à la cellule de maintenir des concentrations de solutés dans le cytoplasme différentes de celles du milieu extracellulaire.

I.2. Définition de la perméabilité

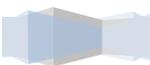
La perméabilité est la propriété que possède la surface cellulaire d'absorber directement des substances du milieu extracellulaire et d'éliminer d'autres. Elle peut prendre deux formes.

- **La perméabilité passive ou transport passif** : Elle dépend uniquement des lois physicochimiques et ne nécessitent pas l'intervention active de la cellule. On distingue deux types les diffusions simple et facilitée.
- **La perméabilité active ou transport actif** : elle implique la participation de la cellule par un apport d'énergie métabolique, mécanisme permettant le transport contre le gradient de concentration.

I.2.1. La Perméabilité passive

I.2.1.1. Diffusion simple

Se fait à travers la partie lipidique de la membrane plasmique ; pas d'intervention des protéines membranaires. C'est un phénomène purement physicochimique. Cette diffusion se fait dans le



sens du gradient. Elle intéresse les molécules liposolubles. Plus la molécule est de petite taille plus elle passe (AG, les stéroïdes, O₂, CO).

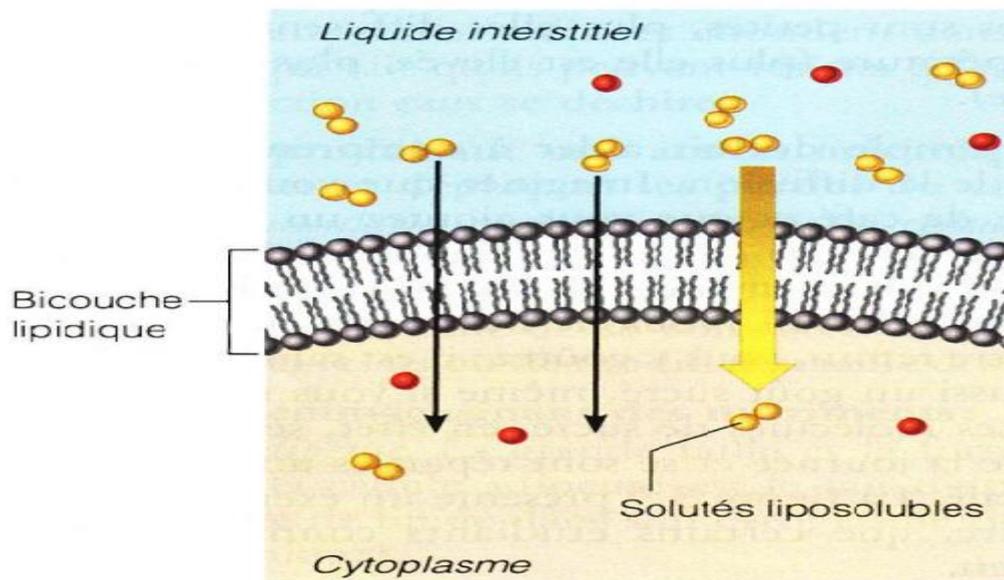


Figure II.10. Diffusion simple à travers la membrane plasmique [12].

I.2.1.2. Diffusion facilitée

Elle concerne la perméabilité de diverses molécules polaires (oses, ion, acides aminés) qui passent à travers la membrane plasmique sous l'effet du gradient de concentration. Ne nécessite pas d'énergie, car elle respecte le gradient de concentration. La diffusion facilitée est plus rapide et plus efficace que la diffusion simple. Elle utilise obligatoirement des protéines transmembranaires (transporteurs) donc :

- Spécificité protéines de transport / substrat ;
- Possibilité d'inhibition compétitive ;
- Possibilité d'inactivation chimique ;
- Phénomène saturable.

➤ Diffusion facilité par perméases ou transporteurs

Ce sont des protéines transmembranaires qui vont lier d'une manière spécifique la molécule à transporter « perméase » qui va changer de conformation et qui va libérer la molécule à transporter de l'autre côté de la membrane.



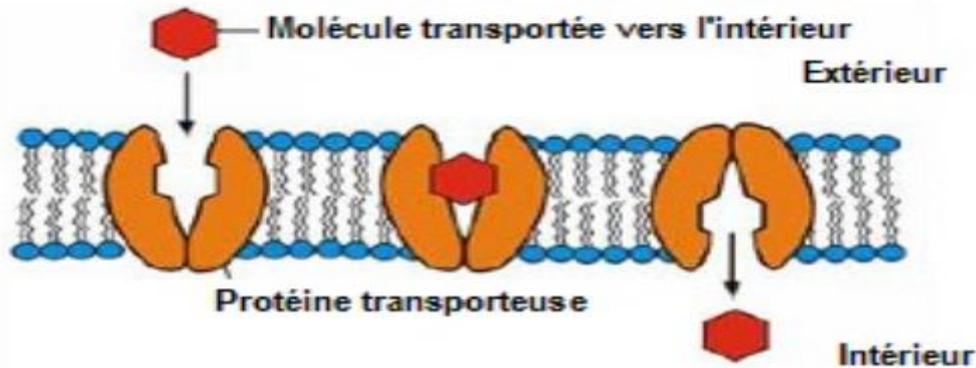


Figure II.11. Diffusion à travers les perméases [13].

➤ Diffusion facilitée par canaux protéiques à ouverture contrôlée

Ils existent des canaux protéiques qui normalement sont fermés. Ils ne s'ouvrent que de manière provisoire dans des conditions particulières. En s'ouvrant, ils laissent passer un ion ou un groupe d'ions particuliers (spécificité). On distingue deux types :

- Canaux ioniques à ouverture contrôlée par le ligand ne permettant le passage des ions dans le sens du gradient de concentration qu'après la fixation du ligand.
- Canaux ioniques à ouverture contrôlée par la tension ne permettant le passage des ions dans le sens du gradient de concentration qu'après une petite variation de la ddp membranaire.

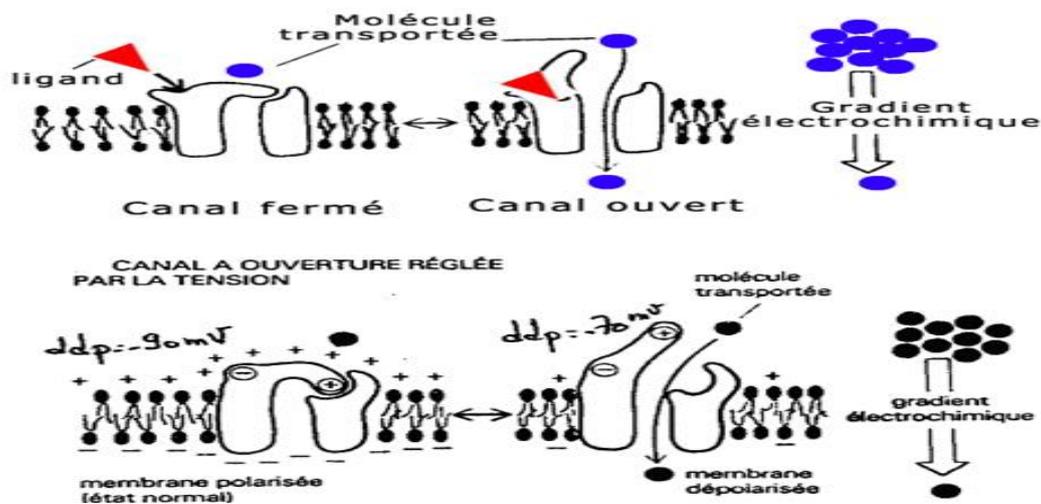


Figure II. 12. Diffusion facilitée par canaux protéiques à ouverture contrôlée [14].

De plus, le transporteur ou le canal transmembranaire peuvent assurer le passage :

Uniport : ne transporte qu'une molécule dans un sens donné.

Symport : transporte 2 molécules simultanément dans le même sens.

Antiport : transporte 2 molécules simultanément en sens opposés.

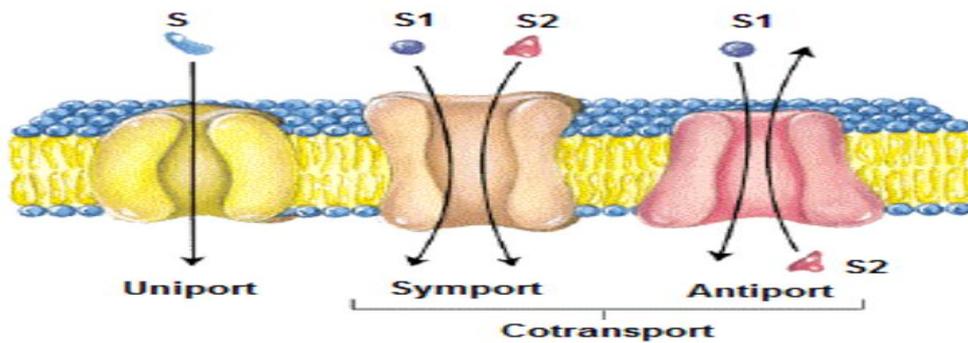


Figure II. 13. Les types de transporteurs [13].

I.2.2. Cas particulier de l'eau : phénomène d'osmose

Durant l'osmose, l'eau traverse sélectivement une membrane semi-perméable (ex mb plasmique) pour aller du milieu hypotonique (le moins concentré ou le plus dilué) vers le milieu hypertonique (le plus concentré donc le moins dilué). En effet, l'eau cherche à diluer le milieu hypertonique jusqu'à atteindre un équilibre de part et d'autre de la membrane. L'osmose ne nécessite aucune énergie et ne concerne que les déplacements d'eau. Deux types de diffusion : à travers la bicouche lipidique ou par les canaux hydriques (protéines aquaporines).

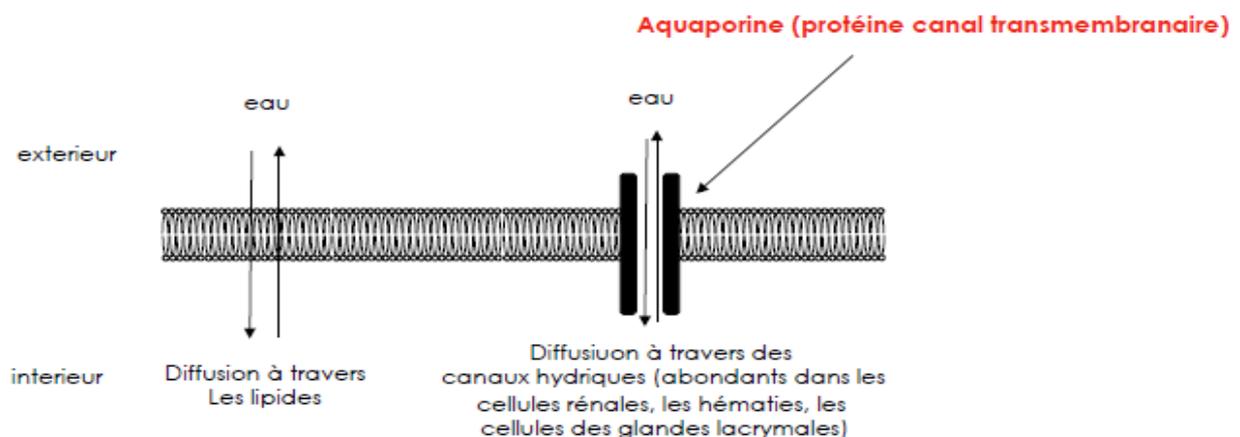
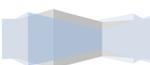


Figure II. 14. Transport de l'eau [15].



I.2.3. Perméabilité active ou transport actif

Ce type de transport permet de faire des déplacements à l'encontre du gradient de concentration. Il fait appel à des transporteurs dont le changement de configuration permettant le passage de la substance, nécessite de l'énergie, fournit principalement par la dégradation de l'ATP. La présence de protéine fait que ce phénomène est saturable.

Chez les Eucaryotes, il existe de nombreux exemple : la pompe Na^+/K^+ intervenant entre autres dans la génération de l'influx nerveux, la pompe Ca^{++} permettant la contraction musculaire et la pompe H^+ qui a une importance dans la récupération de l'énergie de la respiration.

- **La pompe antiport Na^+/K^+ ATPase**

Elle est constituée de deux sous unités :

- une sous-unité α non glycosylée de 110 kDa qui a l'activité enzymatique ATPasique.
- une sous-unité β glycosylée de 55 kDa.

Cette pompe fait entrer dans la cellule deux ions K^+ et fait sortir trois ions Na^+ .

Donc, l'enzyme possède deux conformations différentes :

E1 : haute affinité pour Na^+ oriente vers l'intérieur de la cellule.

E2 : possède un site de liaison à haute affinité pour K^+ de la cote extracellulaire.

Les différentes étapes de ce type de transport :

- E1 fixe 3 Na^+ et un ATP pour former un complexe ternaire ;
- le complexe réagit, et obtention d'un intermédiaire aspartyl~P riche en énergie ;
- l'intermédiaire prend une conformation E2-P faible en énergie et libère hors de la cellule les Na^+ ;
- E2-P va fixer 2 K^+ ;
- le groupement phosphate est hydrolyse ;
- E2 redevient E1 après sa libération dans la cellule des K^+ .



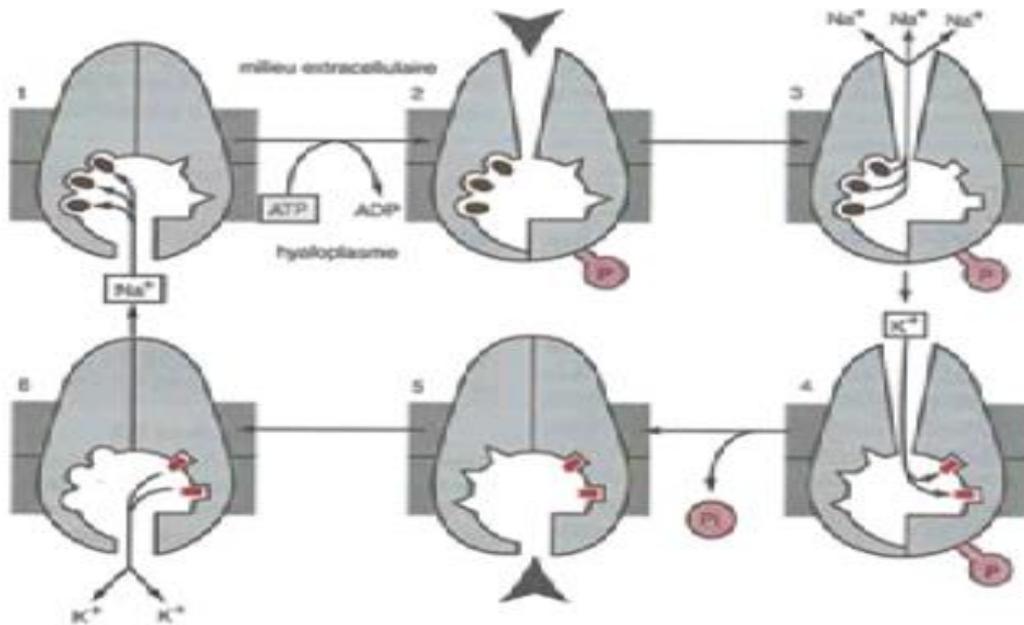


Figure II. 15. La pompe Na⁺/K⁺ ATPase [14].

- **Effet de l'ouabaine :** l'ouabaine est un alcaloïde qui possède les propriétés suivantes :
 - L'ouabaine inhibe la pompe Na⁺ - K⁺ lorsqu'elle est appliquée à l'extérieur de la cellule.
 - L'ouabaine entre en compétition avec le K.
 - L'ouabaine inhibe une enzyme responsable de la dégradation de l'ATP (ATPase).

II. Le transport de macromolécules (transport vésiculaire)

Les cellules ont également mis au point des méthodes pour transporter du matériel tel que des protéines ou des phospholipides qui sont trop volumineux pour traverser la membrane par des canaux ou des pompes. Ces transports peuvent se faire, soit entre le milieu extérieur et la cellule, soit entre différents organites d'une même cellule.

II.1. Endocytose

Elle permet de faire entrer des composés de grandes tailles dans la cellule. On observe pour cela une invagination de la membrane et un pincement entraînant la formation d'une vésicule d'endocytose. On distingue différentes endocytoses selon la taille de la vésicule formée.

- **Pinocytose :** les vésicules formées sont petites (entre 50 et 120 nm de diamètre). C'est un phénomène non spécifique. la cellule englobe une partie du liquide extra cellulaire.

- **Endocytose à récepteurs** : c'est un endocytose spécifique, les particules à ingérer sont reconnues par des récepteurs membranaires. Exp : les LDL (une des formes du cholestérol sanguin). Les récepteurs de la membrane plasmique reconnaissent la protéine Apo-B sur le LDL. Apo-B va se fixer sur le récepteur au niveau d'un puits recouvert de clathrine et la vésicule va pouvoir se former. Le diamètre de ces vésicules fait entre 100 et 150 nm. Une fois la vésicule formée, la clathrine se détache et va être recyclée vers la membrane. La vésicule lisse va fusionner avec un lysosome.
- **Phagocytose** : elle concerne les particules de grandes tailles (supérieure à $1\mu\text{m}$). C'est un mécanisme de défense immunitaire. Les macrophages phagocytent les débris cellulaires et les microorganismes pathogènes.

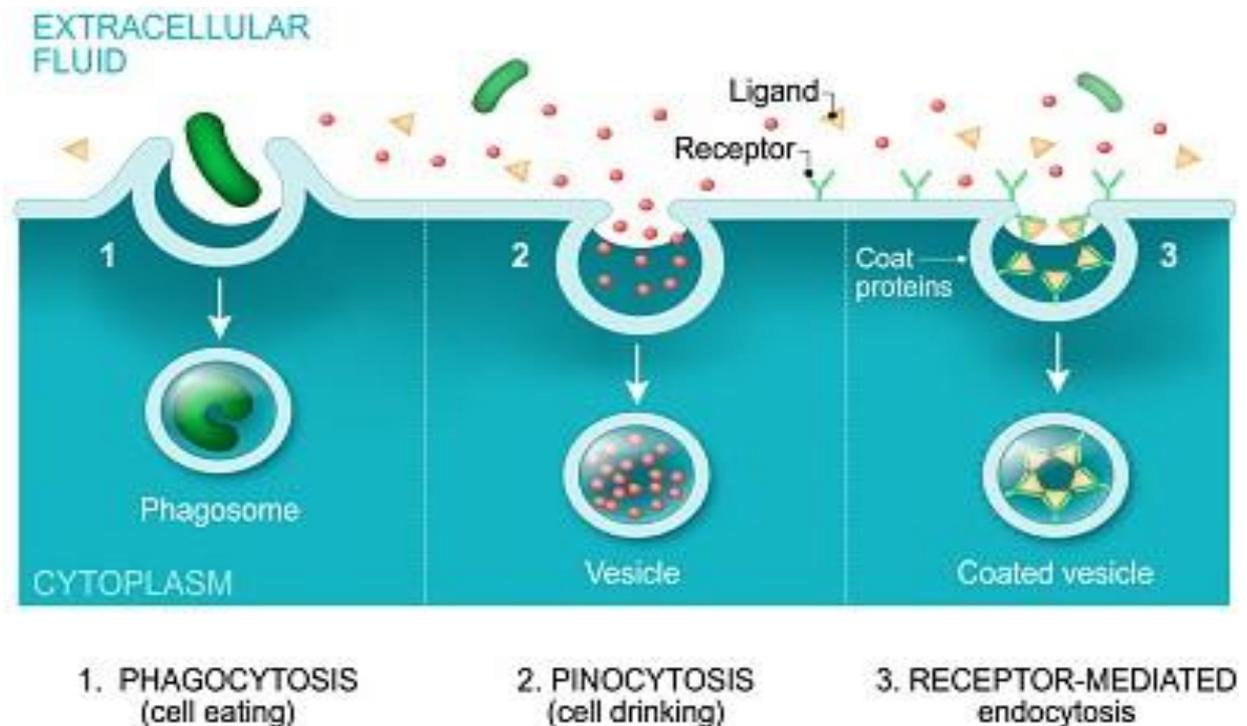


Figure II. 16. Les différentes voies de l'endocytose [16].

II.2. Exocytose

L'exocytose est un mécanisme qui permet le passage de certaines substances de l'intérieur de la cellule vers le milieu extracellulaire. Avant d'être expulsées, ces substances sont enfermées dans un sac constitué d'une membrane qu'on appelle vésicule. L'étape suivante est la migration de cette vésicule en direction de la MP puis sa fusion avec celle-ci. Pour terminer, le contenu de la vésicule se déversera lors dans le milieu extracellulaire.



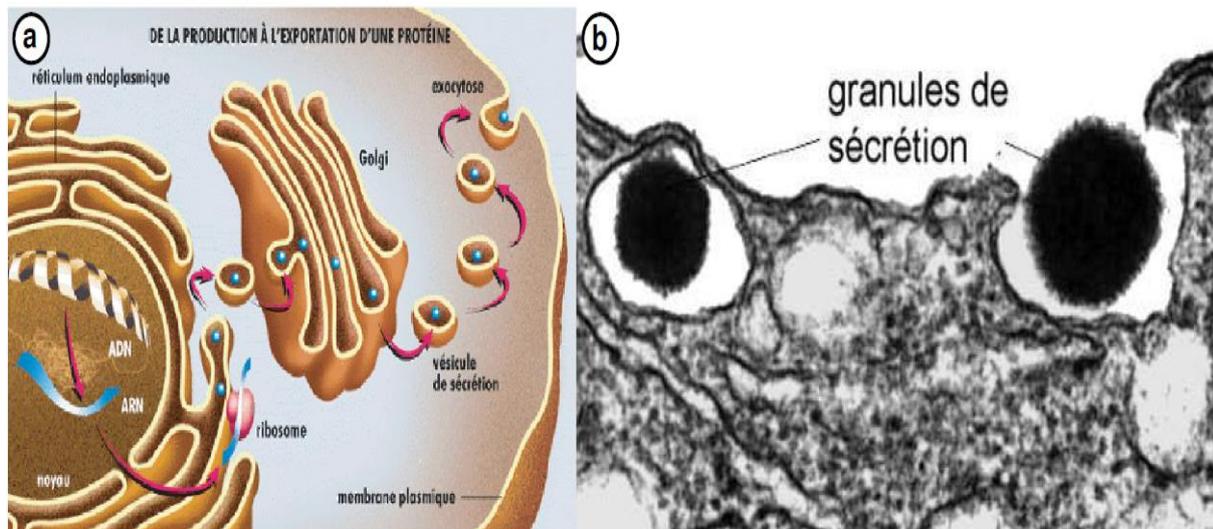


Figure II. 17. Principales voies du trafic intracellulaire [17].

(a) Les voies de sécrétion et d'exocytose mettent en jeu le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. (b) Exocytose de vacuoles sécrétrices observée en microscopie électronique.

D. Les protéines d'adhésion cellulaire

I. Introduction

Dans leur majorité les cellules des animaux pluricellulaires sont organisées 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.

L'adhérence cellulaire intervient dans plusieurs domaines : la cohésion tissulaire ; la migration cellulaire ; la prolifération cellulaire ; la différenciation cellulaire ; l'apoptose ; le développement embryonnaire ; les remaniements tissulaires physiologiques ou physiopathologiques et la réponse inflammatoire.

II. Classification

II.1. La superfamille des immunoglobulines

La superfamille des immunoglobulines est une famille de protéines, c'est-à-dire, un large groupe de glycoprotéines à majorité membranaires mais aussi solubles, impliquées dans les phénomènes de reconnaissance, de liaison et d'adhésion des cellules. Ces protéines, ont en commun plusieurs domaines « immunoglobuline » caractéristiques dans leur structure tertiaire. Notons qu'un pont disulfure vient fermer la boucle caractéristique des Immunoglobulines.

Cette famille contient des protéines telles que les molécules de liaison aux antigènes (anticorps et molécules du complexe majeur d'histocompatibilité), des molécules de Co-stimulation, des Co-récepteurs, des molécules de liaison, certains récepteurs de cytokines. Ces molécules ont un rôle crucial dans les interactions entre les cellules impliquées dans le système immunitaire. En effet, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité de type I et de type II et les anticorps sont des membres de cette superfamille.

II.2. Les sélectines

Ce sont des glycoprotéines transmembranaires. Leurs ligands sont de type osidique : glycoprotéines, glycolipides. Ce sont des molécules Ca^{2+} dépendant. Ils 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 :

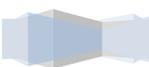
L- sélectine: tous les Leucocytes circulants ;

P- sélectine: Plaquettes et cellules endothéliales ;

E- sélectine: cellules Endothéliales activées ;

II.3. Les intégrines

Les intégrines sont des hétérodimères composés de deux sous-unités alpha et bêta. Elles constituent une superfamille de récepteurs de diverses molécules de la MEC, en particulier au niveau de la MP. Leurs principaux ligands extracellulaires sont les collagènes I et IV, la laminine, la fibronectine, le fibrinogène. Les intégrines sont liées au cytosquelette et sont une des voies majeures de la transduction des signaux venus de la MEC à destination des cellules épithéliales (régulation de l'expression de leurs gènes). Les intégrines jouent un rôle essentiel



dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires : forme, polarité, prolifération, migration, survie, différenciation, etc...

II.4. Les cadhérines

Ces molécules d'adhésion qui interviennent de manière prépondérante dans les jonctions cellulaires, sont de type calcium dépendantes. En effet, la présence de calcium est indispensable au maintien de l'intégrité structurale et fonctionnelle de ces molécules.

Les cadhérines ont été 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.

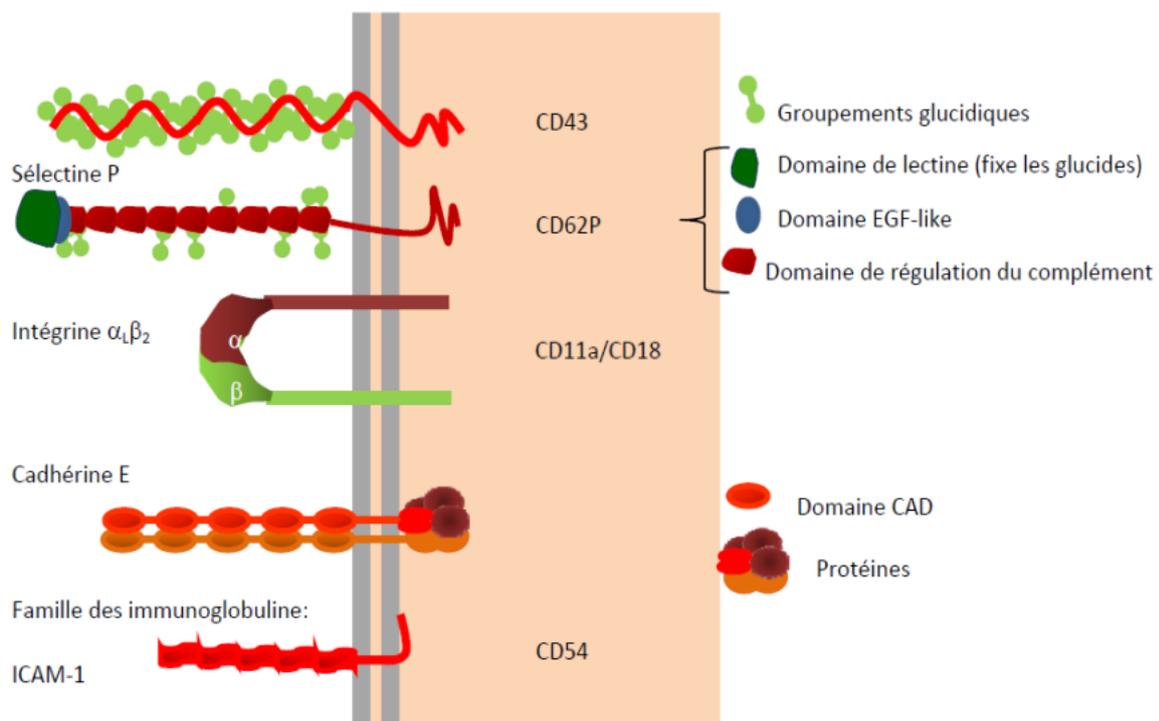
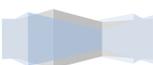


Figure II. 18. Les molécules d'adhésion cellulaire [18].



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

I. Expression d'antigènes

Notre environnement contient une multitude d'être vivant (virus, protozoaires, champignon...) et de substances capables d'envahir notre organisme et de menacer son intégrité. Généralement quand un élément étranger pénètre ou apparaît dans l'organisme, celui-ci répond par un ensemble de réactions appelées : réactions immunitaires qui lui permettent de neutraliser ou d'éliminer l'agent étranger et ainsi de maintenir son intégrité. La réaction immunitaire repose sur l'aptitude de l'organisme à discriminer ses propre constituants (le « soi ») des éléments étrangers (le « non soi ») puis à éliminer sélectivement ces derniers.

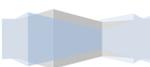
L'espèce humaine possède plusieurs systèmes de marqueurs antigéniques :

- Le système ABO (groupes sanguins) ;
- Le système CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) ou HLA (Human Leucocytes Antigens : car il a d'abord été découvert à la surface des leucocytes).

I.1. Les complexes majeurs d'histocompatibilités

Le complexe majeur d'histocompatibilité humain est appelé le système HLA qui est présent au niveau du bras court du chromosome 6. Ces gènes sont extrêmement polymorphique au sein de l'espèce humaine. Les gènes du CMH sont répartis en trois classes :

- Les gènes de classe 1 codent pour les molécules de classes 1 du CMH. Les plus importants sont les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes I du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD8.
- Les gènes de classe 2 codent pour les molécules de classes 2 du CMH. Les plus importantes sont les gènes HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes II du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD4.
- Les gènes de classe 3 codent pour des molécules n'intervenant pas dans la présentation de l'antigène.



On distingue deux grands types selon leurs propriétés biochimiques, leur expression phénotypique et leur fonction :

- CMH de classe I, exprimées par la quasi-totalité des cellules nucléées des espèces vertébrées ;
- CMH de classe II, exprimées uniquement par quelques cellules spécialisées dans la présentation antigénique (lymphocytes, macrophages).

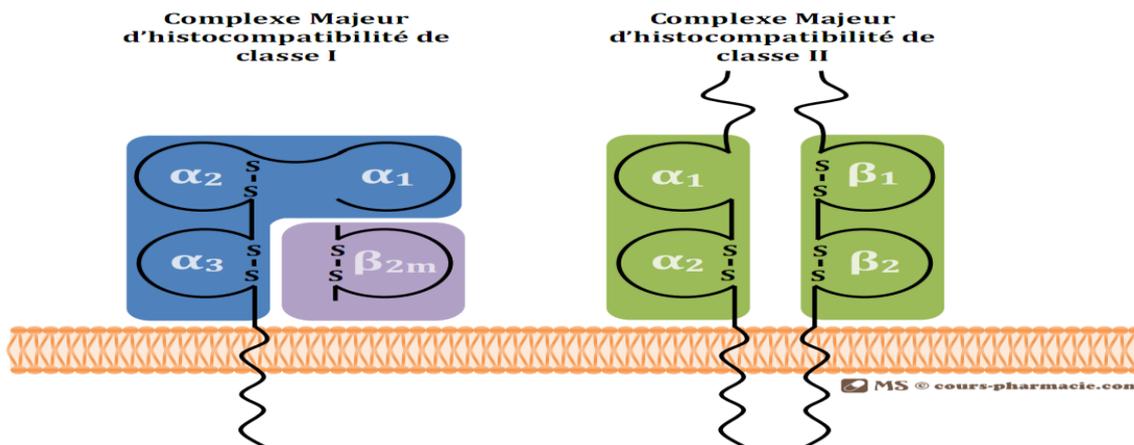


Figure II.19. Structure des molécules CMH de classe I et de classe II [19].

I.2. Apprêtement des antigènes protéiques

L'expression à la surface des molécules de classe I et II est subordonnée à l'enchaînement d'un peptide : il n'y a pas de molécules CMH « vide » à la surface des cellules.

La partie gauche de la figure (en vert) montre l'apprêtement des peptides présentés par les molécules de classe I. (1) Les protéines endogènes ubiquitinylées sont dégradées dans le protéasome. (2) les peptides ainsi produits sont transportés par les molécules TAP (Transporter Associated with antigen Processing) vers le réticulum endoplasmique (RE) où ils se lient (3) au sillon de présentation d'une molécule de classe I du CMH. (4) Le complexe CMH de classe I-peptide est rapidement exporté à la membrane cellulaire. La partie droite de la figure (en bleu) montre l'apprêtement des peptides présentés par les molécules de classe II. (1) La molécule, protégée par la chaîne invariante (Ii), qui bloque le sillon de présentation, est synthétisée dans le réticulum endoplasmique (RE). (1') Parallèlement, des protéines exogènes sont endocytées par la cellule dans un endosome (2) Le complexe CMH de classe II/Ii est transporté également vers l'endosome. La fusion de l'endosome avec des lysosomes apporte des enzymes protéolytiques qui dégradent à la fois l'antigène et la chaîne Ii. Ceci permet aux peptides produits à partir de l'antigène de se fixer au sillon de présentation des molécules de classe II devenu accessible. (3) Le complexe CMH de classe II-peptide est alors exporté à la membrane cellulaire.

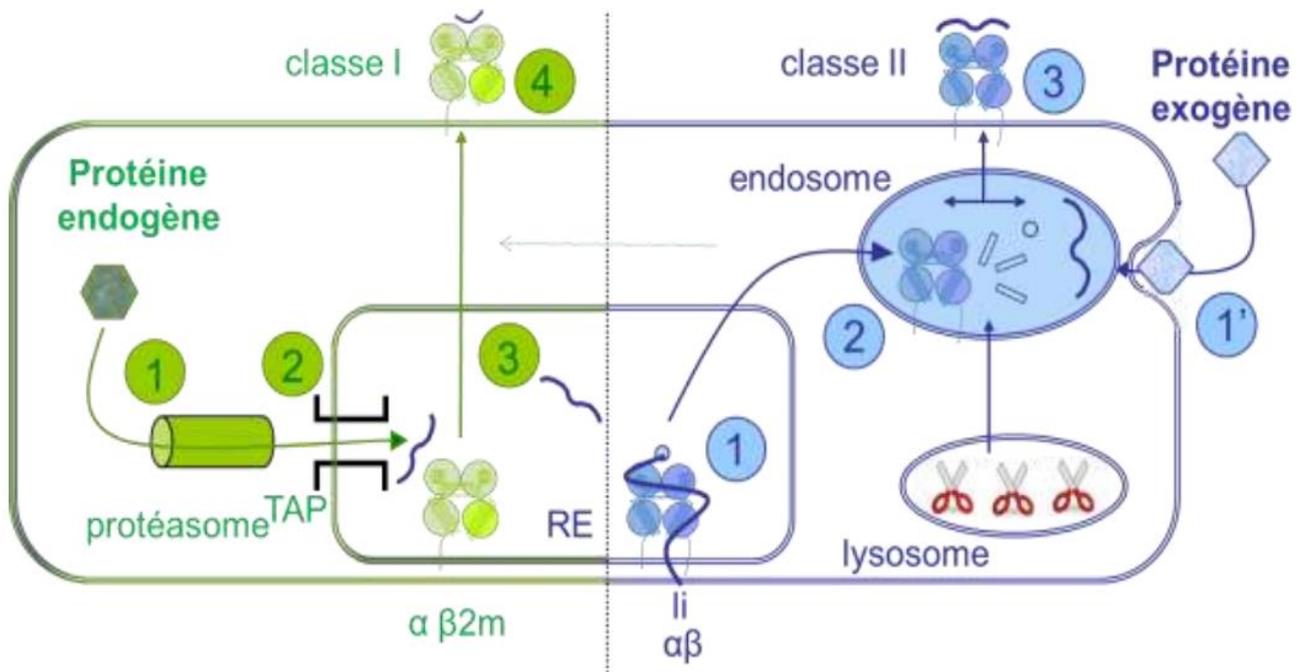


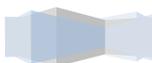
Figure II.20. Formation des complexes CMH-peptides [20].

II. 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 (immunoévasion) ;
- 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.

Parmi eux les adhésines, qui sont des protéines membranaires ou des pili qui permettent aux bactéries d'adhérer aux cellules cibles, étape indispensable à l'infection. Elles réagissent avec des récepteurs des cellules hôtes.



III. Récepteurs cellulaires

Un récepteur membranaire est capable de reconnaître et de fixer une substance spécifique extérieure à la cellule et porteuse d'une information ou d'un signal : 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. Dans la plupart des cas, ces récepteurs sont des protéines transmembranaires situées à la surface de la cellule cible. 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.

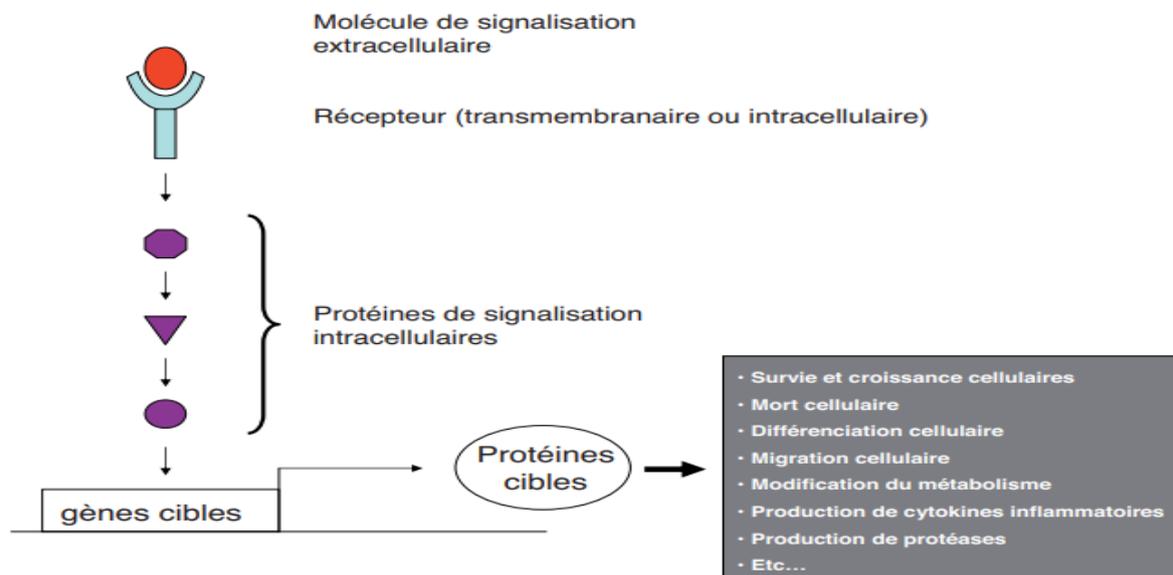


Figure II.21. Schéma général de la signalisation intracellulaire [21].

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

- **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 qui ouvrent et ferment transitoirement le canal ionique formé par des protéines à plusieurs domaines transmembranaires.
- **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. L'interaction entre le récepteur et la protéine se fait par l'intermédiaire de la protéine trimérique de liaison au GTP (ou

protéine G). Tous les récepteurs couplés à la protéine G appartiennent à une grande famille de protéines homologues à 7 domaines transmembranaires.

- **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. 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.

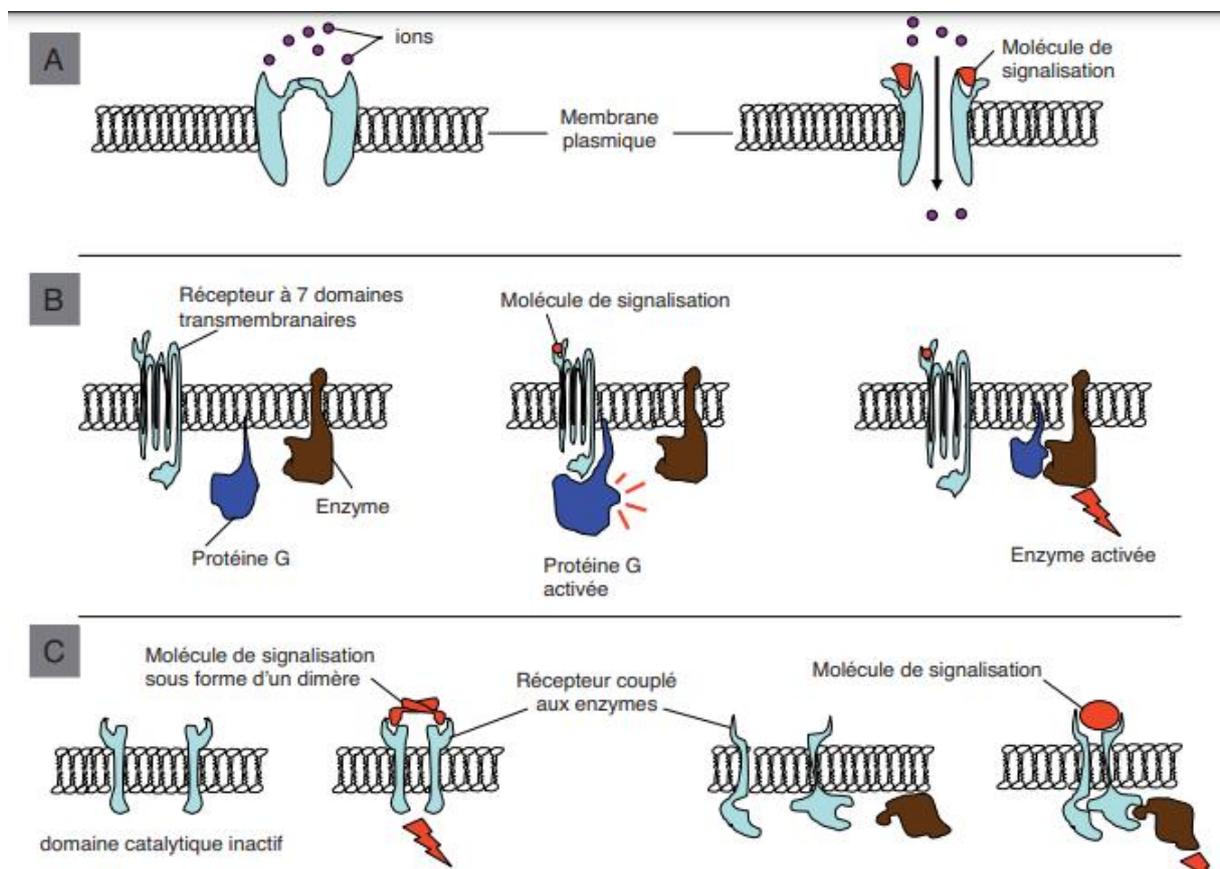


Figure II. 22. Trois classes de récepteurs cellulaires de surface [21].

- (A) Les récepteurs couplés aux canaux ioniques. (B) Les récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G. (C) Les récepteurs couplés aux enzymes



F. Récepteur, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire

I. Désensibilisation de la communication cellulaire

La désensibilisation de la réponse à ligand d'un récepteur peut être liée à une perturbation des voies de signalisation cellulaire, ou à la diminution de l'expression membranaire de ce récepteur par déséquilibre entre son endocytose, sa dégradation intracellulaire et son recyclage vers la membrane ou sa néosynthèse. La désensibilisation d'un récepteur est homologue lorsqu'elle est induite par un ligand de ce récepteur. Elle est hétérologue lorsqu'elle est induite par stimulation d'un autre récepteur, mettant en jeu une voie de signalisation.

I.1. Niveau ligand

La première étape de la désensibilisation concerne le ligand. Plusieurs processus contribuent à la suppression de l'agoniste du milieu extracellulaire. L'élimination du ligand de l'environnement extracellulaire est l'évènement le plus précoce et le plus efficace lorsque celui-ci est un neurotransmetteur. Deux mécanismes permettent son élimination :

- Recapture du ligand par des transporteurs.
- Dégradation extracellulaire du ligand.

I.2. Niveau récepteur

Le phénomène est souvent appelé désensibilisation du récepteur. Il survient quelques secondes ou quelques minutes après l'activation de ce dernier. Il implique :

- Une phosphorylation du récepteur.
- Une diminution temporaire du nombre de récepteurs présents au niveau de la membrane plasmique.



CHAPITRE III. RELATION STRUCTURE-FONCTION DE LA CELLULE

A. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion

I. Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique (RE) est un ensemble complexe de membranes délimitant des cavités closes (cisternes). Elles comportent deux faces :

- Une face hyaloplasmique 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 ;
- **Le réticulum endoplasmique lisse (REL)** : ses membranes ne portent pas de ribosomes. Il peut être en continuité avec le RER.

La répartition et l'abondance du RE varie en fonction du type cellulaire et de l'état physiologique de la cellule.

- **REL** : développé dans les cellules qui synthétisent les lipides (ex. adipocytes).
- **REG** : développé dans les cellules synthétisant les protéines (ex. cellules du pancréas exocrine / endocrine).

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

- 70 % de protéines.
- 30 % de lipides.
- Et une quantité négligeable de sucres.

Les protéines sont essentiellement :

- Des enzymes nécessaires à la synthèse de protéines, au métabolisme des lipides, aux phénomènes de détoxification.

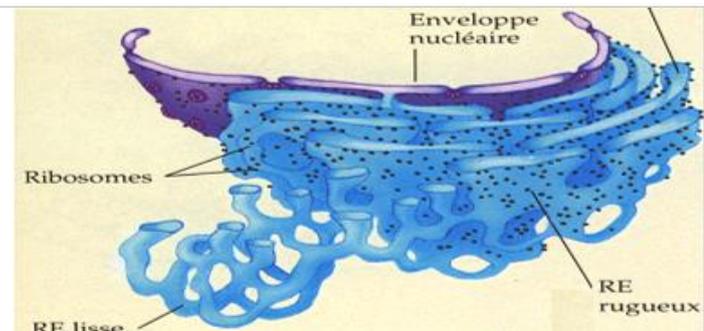
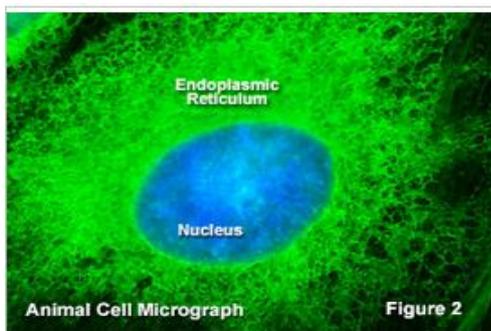


- Des enzymes intervenant dans le transfert de sucres sur les protéines, les glycosyl transférases.
- Des enzymes intervenant dans la synthèse de stéroïdes et la biosynthèse de phospholipides.

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.



Structure

- Le RE est une sous-compartimentation de la cellule.
- Il est composé d'une membrane et d'une lumière
- en continuité avec l'enveloppe nucléaire
- en relation avec les autres compartiments: les vésicules de l'appareil de Golgi.

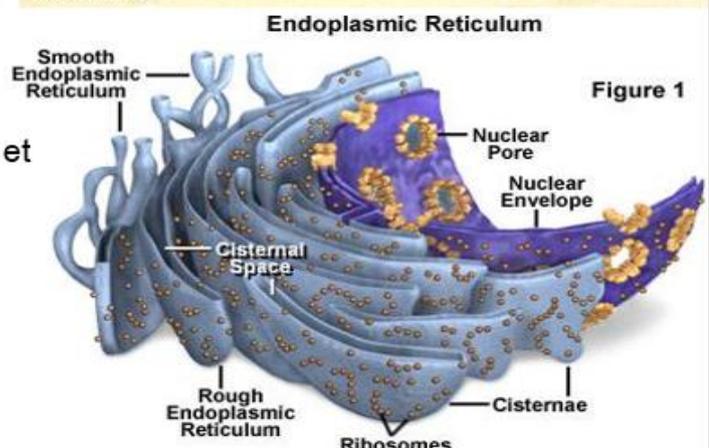


Figure III. 1. Le réticulum endoplasmique [22].

II. Biosynthèse des lipides membranaires

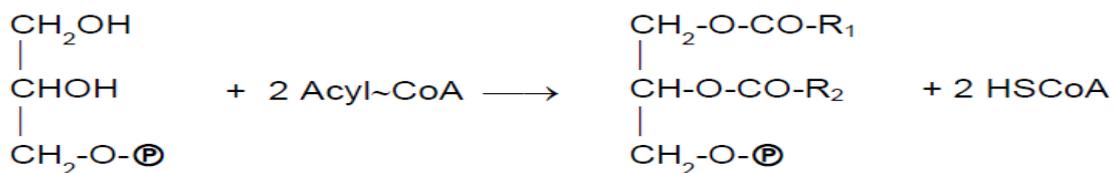
Les métabolites de base qui sont nécessaires dans la synthèse des phospholipides membranaires sont produits et stockés dans le cytosol. Cependant, les enzymes, catalysant les réactions de la biosynthèse lipidique, sont insérées dans la membrane du réticulum lisse dont leurs sites actifs faisant face au cytosol.

II.1. Biosynthèse des triglycérides

Elle a lieu dans le réticulum endoplasmique. Chez les végétaux supérieurs et les animaux, les lipides ont deux précurseurs ; le L-glycérol et l'acyl-CoA.

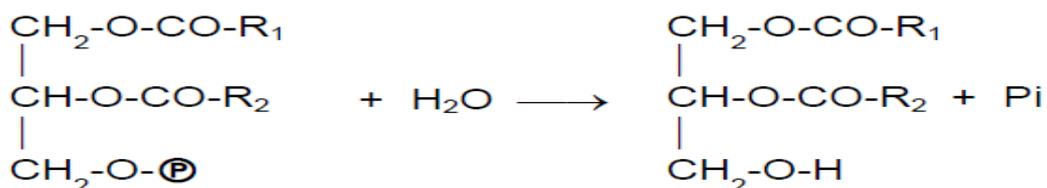
- **Formation de l'acide phosphatidique**

Deux acyl-CoA réagissent sur le glycérol 3-P pour donner l'acide phosphatidique. Les fonctions alcool primaire et secondaire du glycérol-P sont estérifiées grâce à l'action de l'acyl transférase.



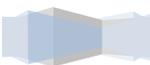
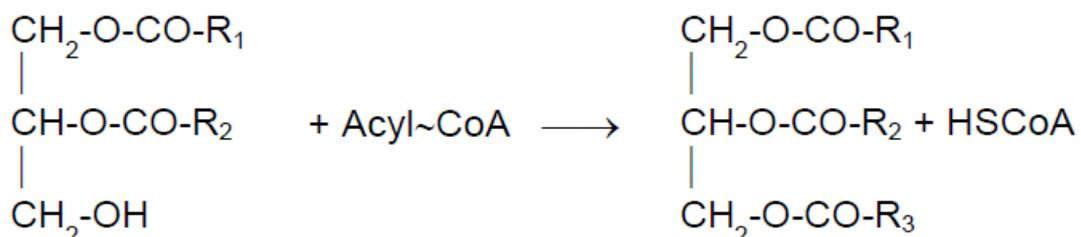
- **Formation du diacylglycérol ou diglycéride**

C'est le résultat du départ du groupement phosphate de l'acide phosphatidique. La réaction est catalysée par une hydrolase appelée phosphatidate phosphatase.



- **Formation du triacylglycérol ou triglycéride**

Le diacylglycérol réagit avec un acyl-CoA pour donner le triglycéride. Tous les acides gras peuvent être différents. Une acyl-CoA transférase intervient.



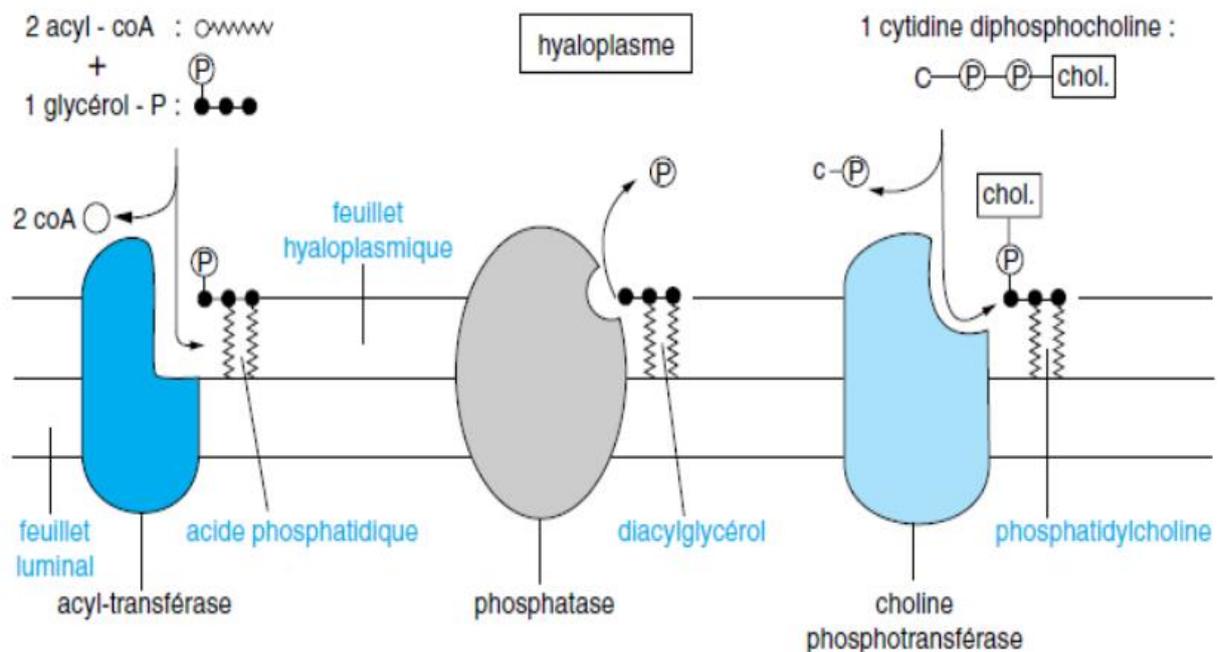
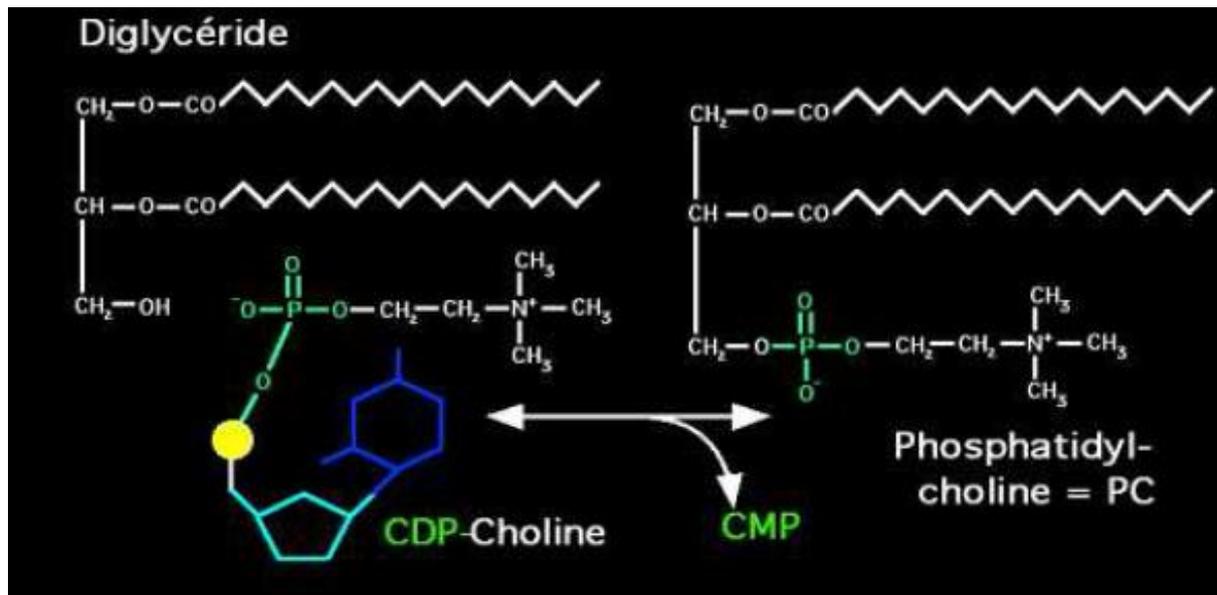
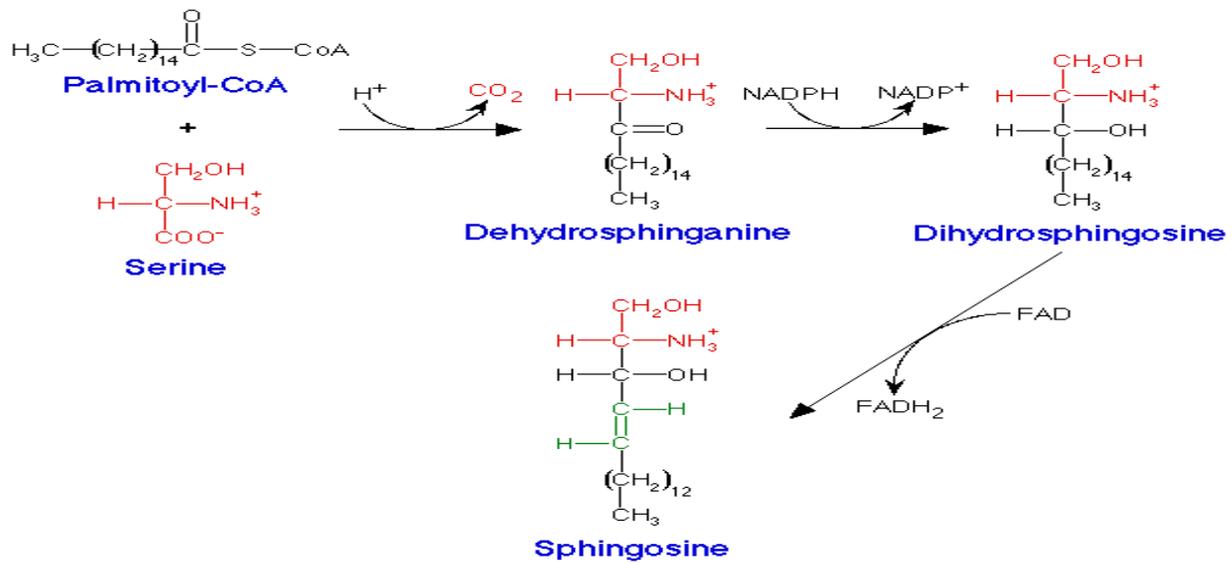


Figure III.2. Illustration des étapes de la synthèse des phospholipides membranaires (phosphatidyl choline) [22].

II.3. Synthèse des sphingolipides

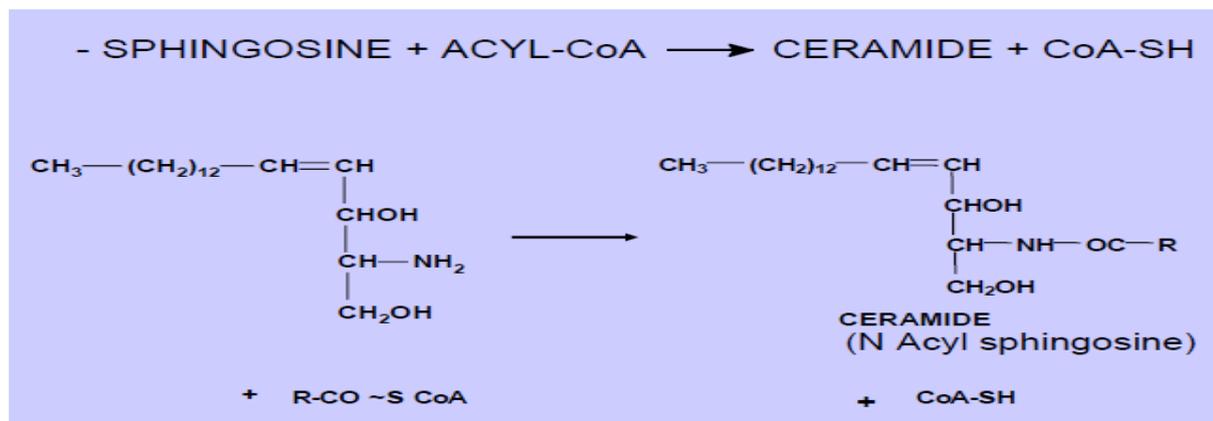
- **La sphingosine**

La sphinganine résulte de la condensation de l'acide aminé sérine (3C) sur l'acide palmitique (16C). La sphingosine et la dehydroshingosine sont formées à partir du Palmityl-CoA :

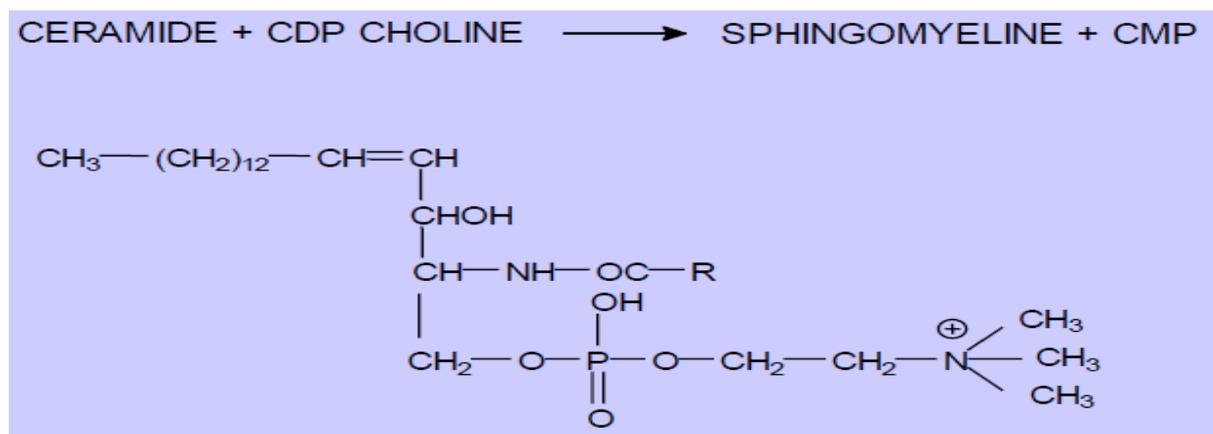


- Les céramides

La céramide constitue l'intermédiaire clé dans la synthèse de la plupart des sphingolipides.

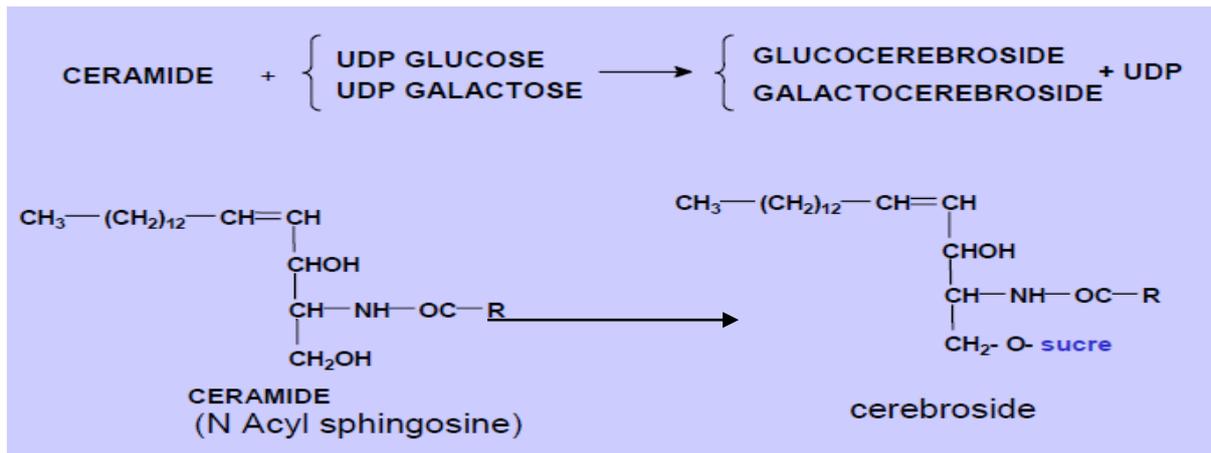


- biosynthèse des sphingomyélines



- **biosynthèse des glycolipides**

La fonction alcool primaire de la céramide fixe une partie glucidique par liaison osidique avec le carbone anomérique d'un ose. La partie osidique ne dépasse pas en général une dizaine d'unités. Ils sont classés selon les substituants portés par la partie glucidique.



II.4. Distribution des lipides

Après leur synthèse les lipides sont transférés du RE lisse à d'autres membranes dans diverses façons :

- Par une communication directe avec le RER, permettant la diffusion latérale ;
- Par des vésicules qui détachent, se déplacent le long du cytosquelette, et fusionnent les organites thermo-membraneux ;
- Par des protéines de transfert de phospholipides.

II. Biosynthèse des protéines membranaires et des protéines de sécrétion

II.1. Sites de la synthèse des protéines

La présence des ribosomes sur la surface du RER indique que son rôle est majeur dans la synthèse des protéines (membranaires et exportées) par opposition aux ribosomes libres dans le cytosol qui assurent la synthèse des protéines cytosoliques. La synthèse de ces protéines se fait au niveau des polysomes (polyribosomes). On peut distinguer :

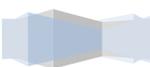


Tableau III.1. Protéines synthétisées par les différentes catégories de ribosomes

| Localisation des ribosomes | Types de protéines synthétisées |
|--|--|
| Mitochondrie | -Toutes les protéines codées par ADN mitochondrial : certaines protéines intrinsèques de la membrane interne |
| Ribosomes cytosoliques libres | -Protéines du cytosquelette et celles fixées sur la face cytosolique aux protéines intrinsèques (spectrine et ankyrine). -Protéines ancrées par un lipide à la MP (GPI...). -Protéines mitochondriales codées par ADN nucléaire. -Protéines des chloroplastes codées par ADN nucléaire. -Protéines des peroxysomes et nucléaires (histones, lamines,...) |
| Ribosomes cytosoliques fixés aux membranes | -Protéines et glycoprotéines intrinsèques (MP, nucléaire, golgienne, RE, lysosomes et endosomes). -Protéines sécrétées et celles de la matrice extracellulaire : fibronectine et collagène qui sont fréquemment attachés aux protéines intrinsèques de la MP, enzymes des lysosomes, RE, complexe golgien. |

II.2. Les différentes voies de la circulation protéique

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



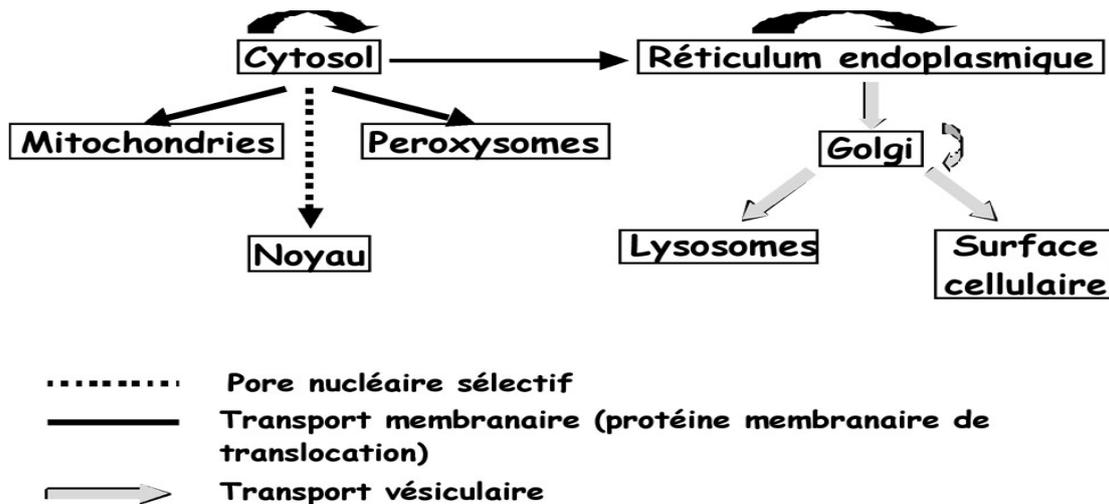


Figure III.3. Différentes voies de la circulation protéique [23].

Dans le premier embranchement, les 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.

Dans le deuxième embranchement, les protéines sont initialement transférées dans le réticulum endoplasmique. Le transfert de ces protéines dans le réticulum endoplasmique se fait après fixation, sur le réticulum, des ribosomes qui synthétisent ces protéines. La translocation nécessite une protéine de transport. Les protéines transloquées peuvent rester dans le réticulum endoplasmique, ou bien être dirigées vers l'appareil de Golgi. Dans l'appareil de Golgi, les protéines peuvent là encore rester dans ce compartiment, ou être dirigées soit vers les lysosomes, soit vers la membrane plasmique. Le transfert des protéines à partir du réticulum vers les autres organites (Golgi, lysosomes) et la membrane plasmique se fait par l'intermédiaire de vésicules de transport.

II.3. Adressage des protéines

L'adressage est un ensemble de mécanismes biochimiques qui permettent de faire un tri de protéines du lieu de leur production vers leur lieu de fonctionnement (leur destination intra ou extracellulaire). 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 réceptrices spécifiques. On distingue deux types de signaux de tri :

II.3.1. Les peptides signal

Ils sont constitués d'une séquence continue d'acides aminés (15 à 60 résidus). Lorsque le processus de tri est terminé, ces peptides signal sont le plus souvent clivés de la protéine mature par un signal peptidase. 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.

II.3.2. Les régions signal

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.

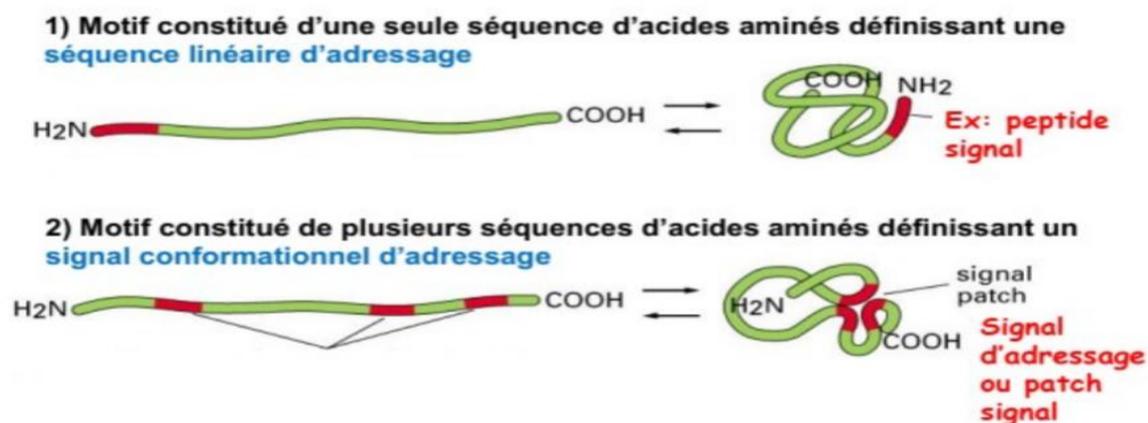


Figure III. 4. Types de signaux de tri [23].

II.4. Mécanismes d'insertion cotraductionnelle (translocation) des protéines dans le RER

C'est l'entrée des protéines dans le RE se fait de façon concomitante à la traduction. Le complexe SRP (signal-recognition particle) est une structure qui va reconnaître la séquence signal de la protéine pour l'amener au RE, mais aussi un signal qui permet à l'ARN d'être traduit. Ce complexe est formé de six protéines et d'un ARN messager. Quand le domaine SRP va reconnaître un domaine particulier de la protéine, il va entourer le ribosome grâce à sa structure ce qui va l'empêcher de continuer la traduction. Ce complexe SRP va être reconnu par des récepteurs dans la membrane du RE, quand ils vont se lier on va avoir une reprise de la traduction et la protéine va entrer au fur et à mesure dans le réticulum grâce à un pore. On

appelle ce phénomène un mécanisme de translocation co traductionnelle. Ce complexe est aussi GTPase dépendant, il va faire sa propre hydrolyse pour se détacher du récepteur. Une fois que la séquence est retrouvée au niveau du RE, si la protéine est soluble on a une protéine signal peptidase qui va couper la séquence signal de l'adressage au RE quand elle a fini sa traduction, on va donc avoir la protéine qui va être libre dans le cytosol. Une fois qu'elle est libre dans le cytosol elle va adopter une conformation tertiaire et quaternaire grâce à des protéines chaperonnes. La protéine peut aussi être retrouvée sous forme non soluble, ce sont donc des protéines transmembranaires.

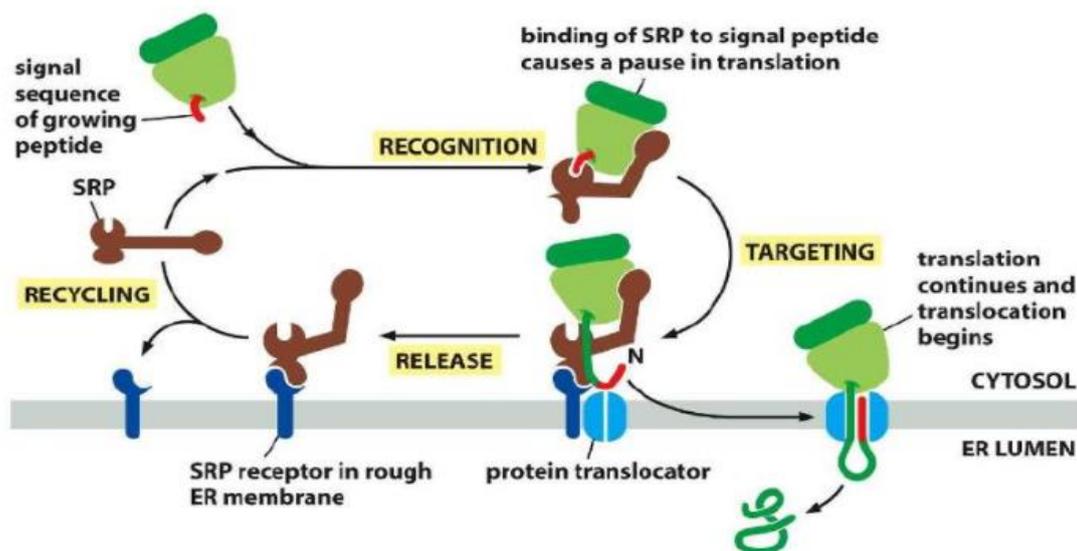


Figure III.5. Adressage des ribosomes à la membrane du RER [23].

II.5. Devenir des protéines synthétisées dans le RE

La plupart des protéines fabriquées dans le RE gagne le Golgi par l'intermédiaire de vésicules de transport qui bourgeonnent à partir de RER.

- **Protéines solubles**
 - Sécrétées vers l'extérieur par exocytose ;
 - Dirigées vers la lumière des lysosomes ;
- **Protéines transmembranaires**
 - Membrane plasmique ;
 - Membrane des lysosomes ;
- **D'autres protéines sont résidentes du RE**



B. Le cytosquelette

Le cytosquelette assure de façon générale la forme et l'architecture interne de la cellule. Composant caractéristique de la cellule eucaryote, 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 une structure très dynamique qui se réorganise continuellement au cours des différents événements cellulaires (migration, division, etc....). Tous les éléments de cytosquelette sont des structures protéiques allongées résultant de la polymérisation d'éléments monomériques. Il regroupe trois réseaux distincts de protéines : les microtubules, les filaments intermédiaires et le réseau d'actine.

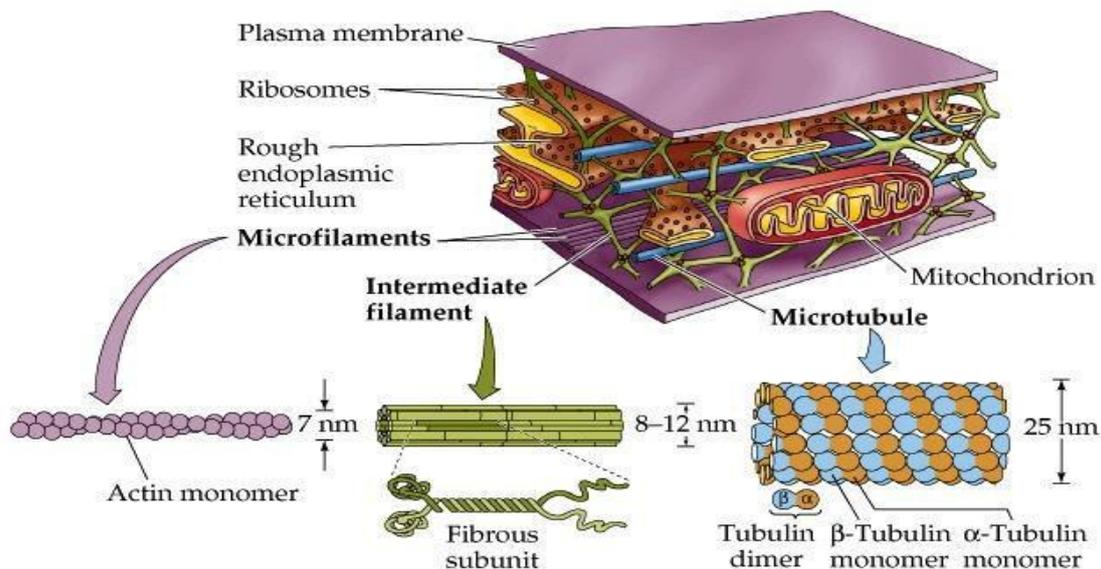


Figure III. 6. Structure du cytosquelette [24].

I. Les microtubules

I.1. Définition

La tubuline est un composant majeur du cytosquelette eucaryote et forme des microtubules (MT). Les MT eucaryotes déterminent la position des organites et dirigent les transports intracellulaires. Ils ont un rôle central dans la ségrégation des chromosomes par la formation du fuseau mitotique permettant le positionnement des chromosomes et la séparation des deux chromatides durant la division cellulaire. Des dimères d' α - et de β tubuline s'attachent les uns aux autres, par des liaisons non covalentes, pour former un hétérodimère appelé protofilament.

C'est l'assemblage latéral de treize protofilaments, sous la forme d'un cylindre creux, qui constituent un MT de 24 nm de diamètre. Les MT sont des éléments instables car très dynamiques. Ils polymérisent et dépolymérisent en permanence grâce à l'activité GTPase de la tubuline. Les deux extrémités d'un protofilament polymérisent à une vitesse différente. Une des extrémités dites « plus » polymérise rapidement et forme la base du MT. A l'opposé, les extrémités dites « moins », dépolymérisent plus rapidement.

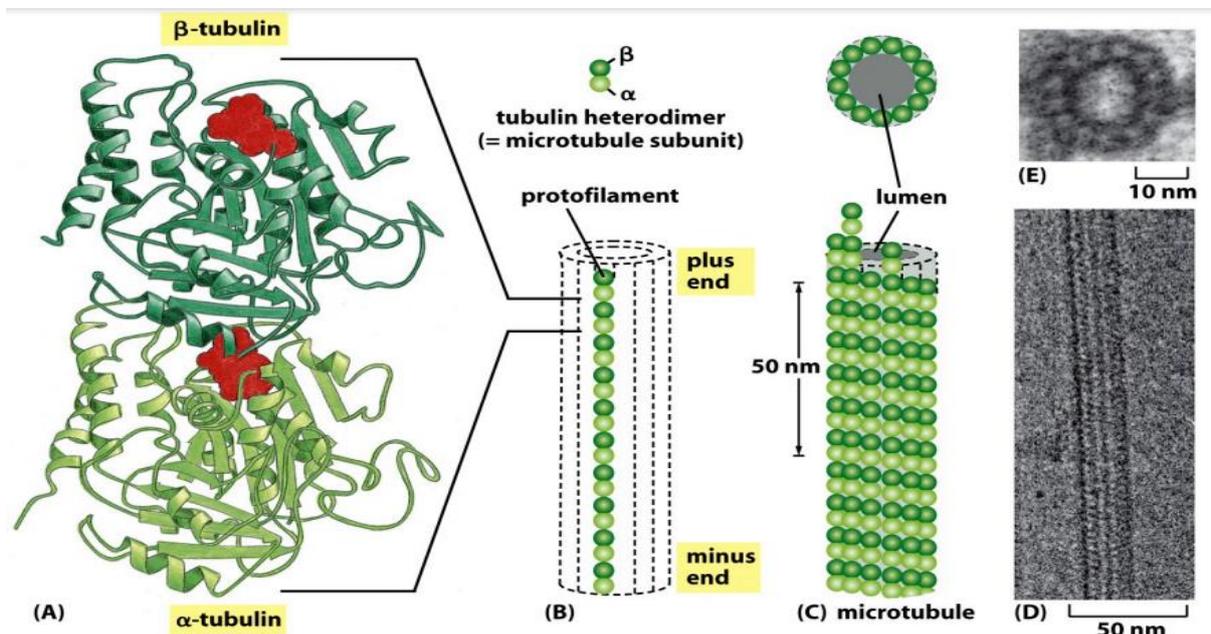


Figure III. 7. La structure d'un microtubule et de sa sous-unité [25].

(A) La sous-unité de chaque protofilament est un hétérodimère de tubuline formé à partir d'un doublé de monomère d' α - et de β -tubuline. Les deux nucléotides GTP sont représentés en rouge. (B) Une sous-unité de tubuline (α - β hétérodimère) et un protofilament. (C) Le microtubule est un tube creux formé d'un alignement parallèle de 13 protofilaments. (D) Observation au microscope électronique d'un court segment de microtubule. (E) Observation d'une section transversale d'un microtubule montrant l'anneau formé de 13 protofilaments distincts.

I.2. Protéines associées aux microtubules

Les MT sont associés à des protéines MAP (Microtubule Associated Protein), 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. Ces protéines associées sont des ATPases : les kinésines permettent le transport du pôle négatif au pôle positif du microtubule (transport antérograde, c'est-à-dire du centre de la cellule vers la périphérie), tandis que la dynéine permet

un transport du pôle positif vers le pôle négatif (transport rétrograde, c'est-à-dire de la périphérie vers le centre cellulaire).

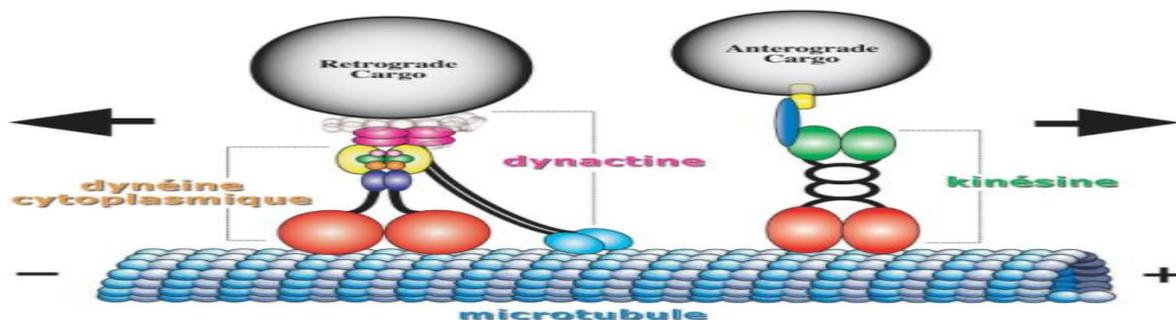


Figure III. 8. Déplacement d'une kinésine et dynéine le long d'un microtubule [26].

I.3.Rôles des microtubules

Les microtubules participent au maintien de la forme cellulaire. Ils interviennent également dans des phénomènes moteurs :

- Déplacement des cellules pourvues de flagelles ;
- Transport des vésicules d'endocytose, phagocytose, pinocytose ;
- Déplacement des organites intracellulaires ;
- Migration des chromosomes au cours de la mitose.

II. Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires (FI) ont été baptisés ainsi en raison de leur taille (8 à 12 nm) intermédiaire à celle des filaments d'actine (5-9 nm) et des MT (~25 nm). Chez les eucaryotes, les FI constituent une famille de protéines considérablement diversifiée au niveau de leur séquence et de leurs fonctions. Les FI sont constitués de trois parties : la tête à l'extrémité amino-terminale, une région centrale « coiled-coil » et la queue carboxy-terminale. Les deux extrémités pouvant varier en taille et en séquence. Les FI sont des structures flexibles mais très résistantes. Ils sont constitués par l'assemblage de monomères de protéines filamenteuses ; 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. 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. Il a également été proposé qu'ils jouent un rôle dans la migration cellulaire et l'induction de signaux.

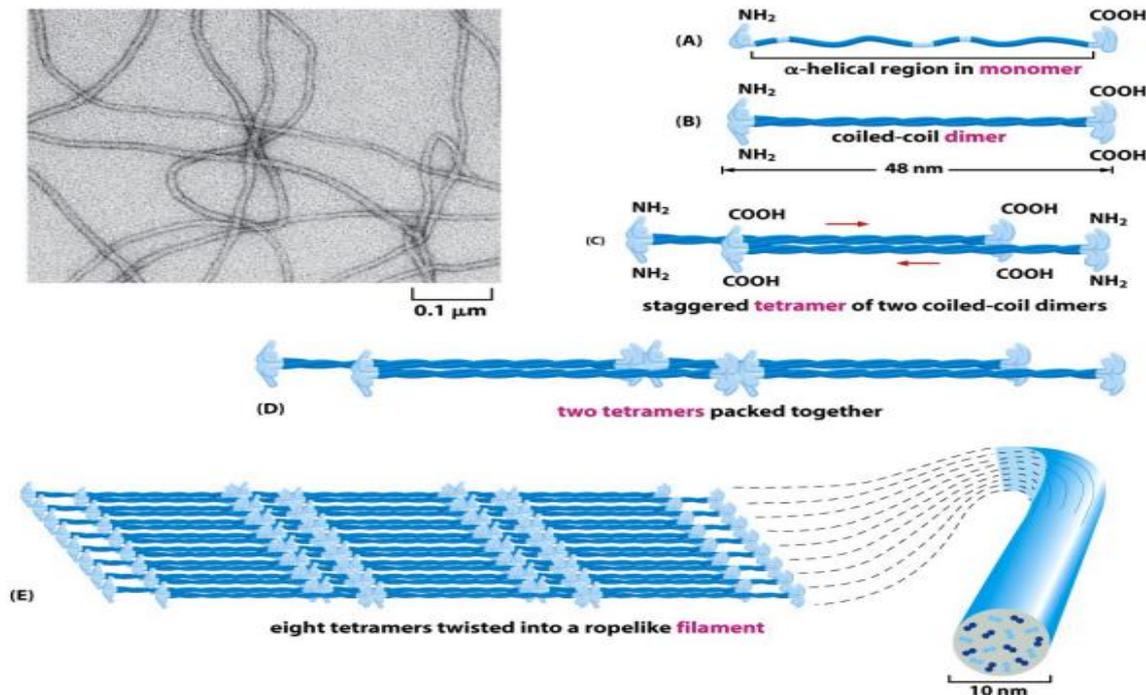


Figure III. 9. Un modèle de construction d'un filament intermédiaire [25].

(A) Représentation schématique d'un monomère qui s'assemble en paires avec un autre monomère identique pour former un dimère (B) avec un domaine central identique et aligné en parallèle en une structure coiled-coil.

(C) Deux dimères s'alignent côte à côte et forment un tétramère antiparallèle constitué de quatre chaînes de polypeptides. (D) Au sein de chaque tétramère, les deux dimères sont décalés les uns par rapport aux autres afin d'établir des associations avec d'autres tétramères. (E) Les tétramères sont impactés ensemble en une hélice contenant 16 dimères (32 coiled-coils). Au total, on obtient 10 nm de filaments en forme de corde. La moitié de ces dimères est orienté dans une direction tandis que l'autre moitié pointe dans la direction opposée.

Les protéines entrant dans la constitution des FI appartiennent à quatre familles principales :

- **Les lamines** : formant le réseau périphérique du noyau cellulaire.
- **La vimentine et les protéines apparentées** : la vimentine est caractéristique des cellules d'origine mésoblastique épithéliales et non épithéliales (mésothélium et fibroblaste). Les protéines qui lui sont apparentées sont :

-La desmine : caractéristique des cellules musculaires. Elle relie les myofilaments entre eux et à la membrane plasmique.



-Les protéines fibrillaires acides des cellules gliales (GFAP) : caractéristiques des astrocytes et des cellules de Schwann.

- **Les cytokératines** : présentes dans toutes les cellules épithéliales.
- **Les neurofilaments** : spécifiques des neurones. Ils forment le squelette des axones et des dendrites.

III. Les filaments d'actine

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). Le microfilament d'actine F, d'un diamètre de 7 à 9 nm, est une structure polaire, avec une extrémité à croissance rapide "+" et une extrémité à croissance lente "-". La polymérisation de l'actine G en micro filaments 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.

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. 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: fimbrine), la fragmentation des filaments (ex: gelsoline), le mouvement des vésicules sur les filaments (ex: myosine II) 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.

- **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.

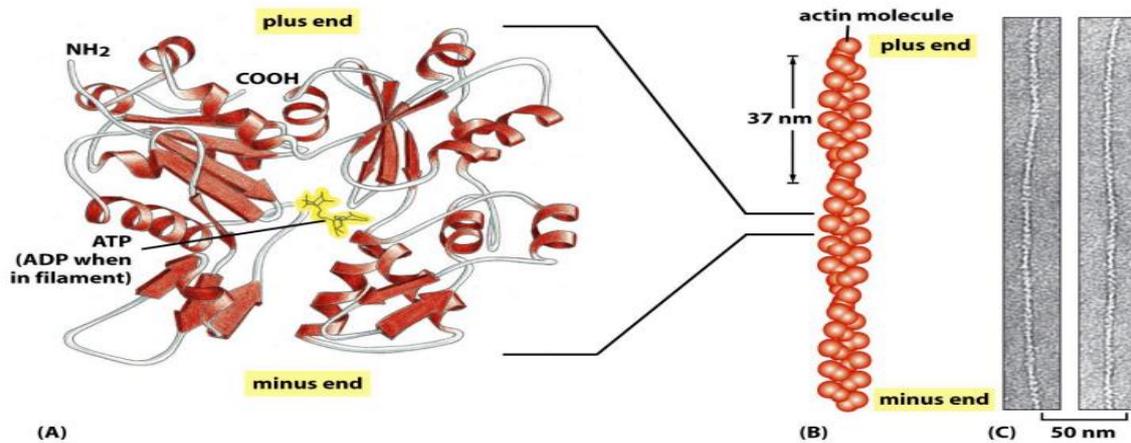


Figure III. 10. Les structures d'un monomère d'actine et d'un filament d'actine [25].

(A) Le monomère d'actine a un nucléotide lié dans une profonde poche située au centre de la molécule. (B) Représentation schématique de l'arrangement des monomères dans le filament. Deux protofilaments maintenus ensemble par des contacts latéraux et qui s'enroulent le uns autour des autres comme deux brins parallèles d'une hélice. (C) Image de microscopie électronique de filaments d'actines.

IV. Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimique et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale

Les molécules d'adhérence assurent le contact mécanique entre la cellule et son environnement. 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 : les intégrines.

Le mécanisme de réponse aux stimuli biochimiques et mécaniques fait intervenir trois éléments essentiels :

- La matrice extracellulaire (via la fibronectine)
- Le cytosquelette (via les microfilaments d'actine)
- Les molécules d'adhérence (via les intégrines)

Aux points focaux d'adhérence, les intégrines font la liaison entre la matrice extracellulaire et le cytosquelette.



C. La contraction musculaire : structure et fonction des filaments d'actine et de myosine

I. Généralités sur l'organisation d'un muscle strié

- **Myocyte ou fibre musculaire** : Un myocyte ou fibre musculaire est une cellule musculaire de forme très allongée dont les extrémités sont constituées de filaments de collagène. Chaque fibre musculaire est en contact avec une fibre nerveuse qui commande son activité. La fibre musculaire a deux propriétés fondamentales, l'excitabilité sous l'action stimulatrice de la fibre nerveuse, et la contractilité, résultat ultime de la stimulation. Lorsqu'une fibre musculaire se contracte, sa longueur diminue, ce qui génère un mouvement de rapprochement de ses extrémités.
- **Myofibrille** : Les myofibrilles sont les fibres contractiles, actine et myosine, localisées à l'intérieur de la cellule musculaire. Une myofibrille est composée de zones plus sombres et de zones plus claires. Les zones plus sombres sont en fait des filaments de protéines appelés myosine et les zones plus claires sont des filaments de protéines appelés actine. En coupant la myofibrille entre deux zones claires, on obtient un sarcomère.
- **Le sarcomère** : est l'unité comprise entre 2 bandes Z composée de :
 - Bande I : zone claire composée de filaments d'actine.
 - Bande A : zone sombre composée de filaments d'actine et de myosine.
 - Bande H (milieu de la bande A) composée de filaments de myosine.
 - Les filaments fins sont des filaments d'actine et les filaments épais des filaments de myosine.

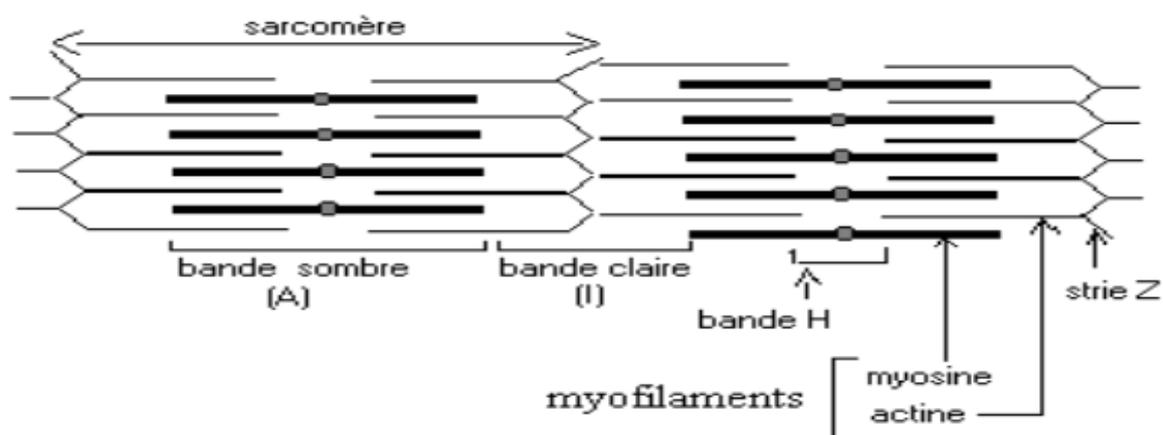


Figure III. 11. Ultrastructure du sarcomère [27].

II. Structure fine des filaments fin et épais

II.1. Les filaments fins

Les filaments fins ont un diamètre d'environ 7 nm et sont constitués de plusieurs types de molécules, l'actine, la tropomyosine et la troponine.

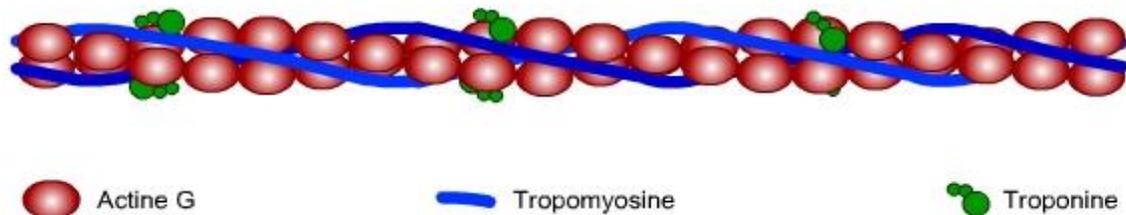


Figure III. 12. Structure d'un filament fin d'actine [28].

-L'actine monomérique : (ou actine G pour Globulaire) est une molécule globulaire de 42 kDa pouvant polymériser pour former des filaments (actine F pour Filamenteuse). Les filaments d'actine sont composés de deux chaînes linéaires qui s'enroulent l'une autour de l'autre pour former une double hélice.

-La tropomyosine : est une protéine allongée homodimérique ou hétérodimérique, chaque monomère étant constitué de 284 acides aminés adoptant une structure en hélice alpha s'enroulant l'une autour de l'autre pour former une superhélice. Elle va se lier à l'actine en se logeant au creux des sillons de la double hélice formée par l'actine. A l'état de repos, les molécules de myosine sont également en contact avec la tropomyosine. A chaque extrémité d'une molécule de tropomyosine, soit un interval correspondant à 7 molécules d'actine, une molécule de troponine vient se lier avec la tropomyosine.

-La troponine : est une molécule composée de 3 chaînes respectivement dénommées troponine-T, troponine-I et troponine-C. Chaque chaîne possède une fonction différente :

- la troponine-T est responsable de la liaison troponine-tropomyosine ;
- la troponine-I possède une activité inhibitrice de l'activité ATPasique de la myosine ;
- la troponine-C possède 4 sites de fixation pour le calcium qui, lorsqu'ils sont occupés, lèvent l'action de la troponine I.

II.2. Les filaments épais

Les filaments épais ont un diamètre d'environ 15 nm et sont essentiellement constitués d'une espèce moléculaire, la myosine.

La myosine est une molécule allongée composée de deux chaînes lourdes (environ 200 kDa chacune) et de quatre chaînes légères (environ 20 kDa chacune). Chaque chaîne lourde est

constituée d'une queue C-terminale allongée et fibrillaire en hélice alpha, d'une tête globulaire N-terminale enzymatique à activité ATPasique associée à deux chaînes légères, et d'un domaine cervical déformable reliant les deux extrémités. Tête globulaire et partie cervicale forment la méromyosine lourde, la partie fibrillaire caudale formant la méromyosine légère. Les queues allongées de deux chaînes lourdes de myosine s'enroulent l'une autour de l'autre en une superhélice, les deux têtes globulaires se trouvant côte à côte.

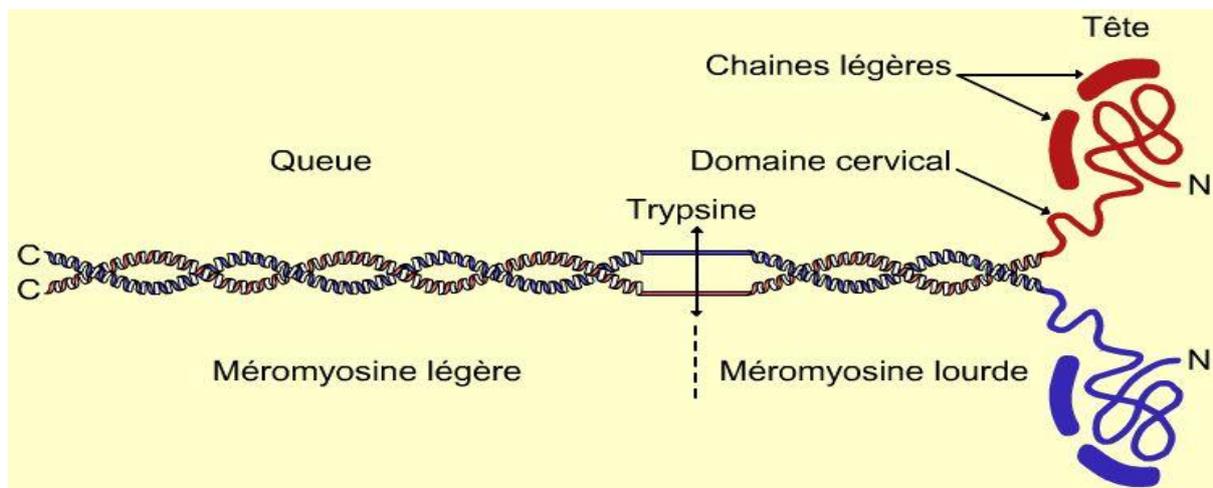


Figure III. 13. Structure de la molécule de myosine [28].

Plusieurs centaines de molécules de myosines s'assemblent pour former un filament épais. Les parties caudales de ces molécules sont rassemblées parallèlement. Les têtes globulaires dépassent en périphérie de ce filament et sont donc disponibles pour pouvoir se fixer aux filaments d'actine. Les molécules de myosine étant disposées en deux groupes tête-bêche, la partie centrale du filament (correspondant à la strie M) est dénudée, c'est à dire dépourvue de tête globulaire.

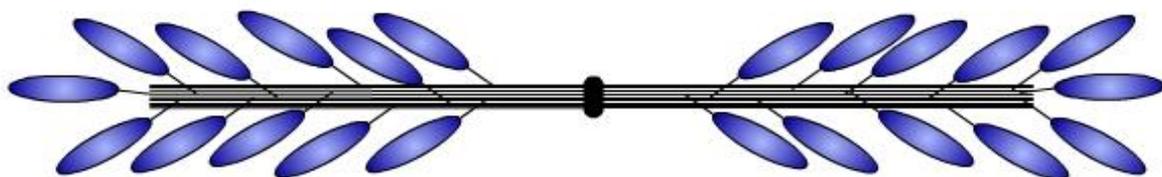
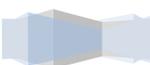


Figure III. 14. Structure d'un filament épais de myosine [28].

III. Le raccourcissement des sarcomères



L'interaction actine/myosine, en présence d'ATP, permet alors le glissement mécanique des filaments fins sur les filaments épais. Ce glissement provoque un raccourcissement sarcomérique et explique la contraction musculaire. Lors d'une contraction, seule la longueur des bandes A (+ strie M) reste inchangée. Inversement les bandes I et H diminuent d'épaisseur dans les mêmes proportions.

Tout se passe à la zone d'interaction entre les têtes de myosine et les filaments d'actine. 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 Ca^{++} . La fixation de Ca^{++} 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. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP en ADP 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).

Cette activité est cyclique. A chaque cycle de contraction, seules quelques têtes de myosine sont impliquées. Le phénomène est rapidement réversible. La fixation d'une nouvelle molécule d'ATP sur la myosine rompt la liaison. Le phénomène peut se répéter si du Ca^{++} 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.



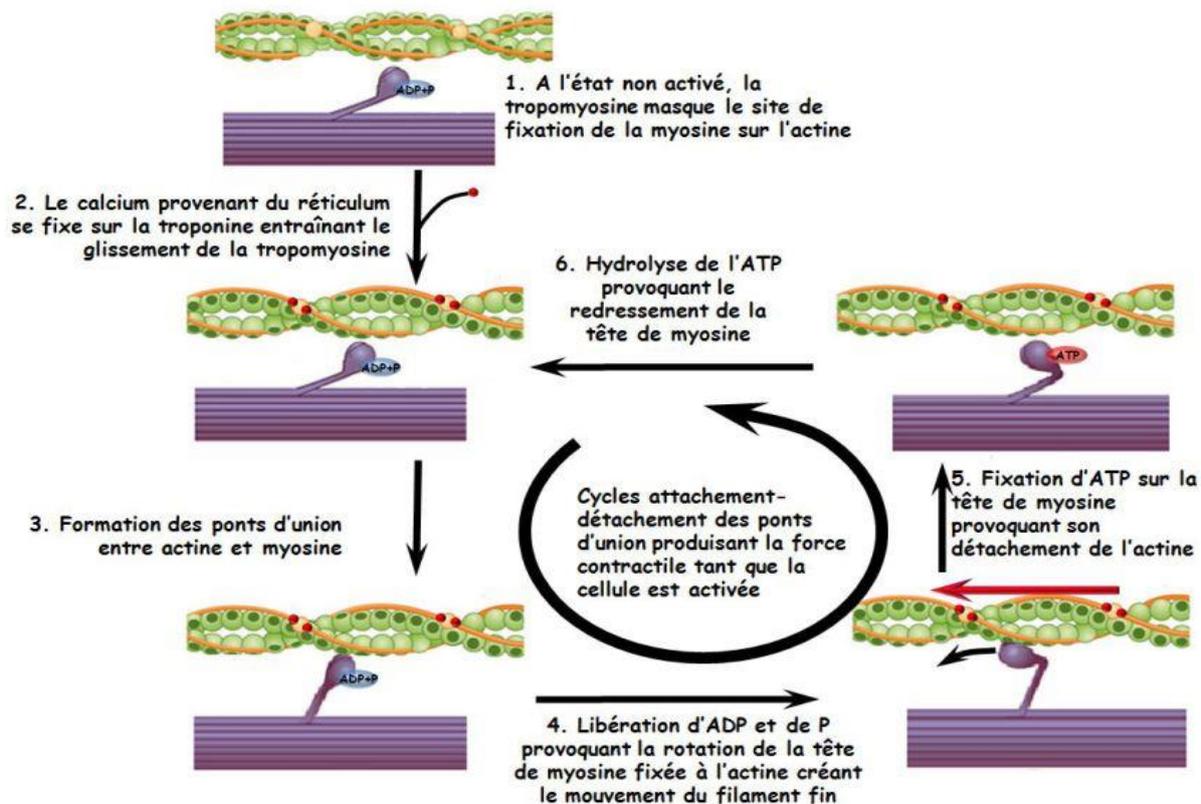


Figure III. 15. Etapes de contraction musculaire [27].

D. La mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative

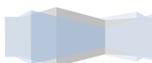
Une des différences fondamentales entre une cellule eucaryote et une cellule procaryote est la présence dans les cellules eucaryotes d'organites divisant l'espace cellulaire en compartiments spécialisés. La mitochondrie est un de ces organites et elle joue un rôle primordial dans le fonctionnement de la cellule. Elle est notamment le siège de la production de l'ATP, molécule à haut potentiel énergétique qui intervient dans la plupart des voies métaboliques cellulaires. Les mitochondries fournissent 90% de l'énergie utilisée par nos cellules et sont considérées comme « les centrales énergétiques » de la cellule.

I. Théorie de l'origine procaryotique des mitochondries

Les mitochondries ont probablement évoluées à partir de bactéries procaryotes aérobies qui ont été internalisées par des cellules eucaryotes primitives.

Arguments en faveur de la théorie endosymbiotique :

- Pas de noyau mais 2 à 10 molécules d'ADN circulaire
- Homologie de séquence avec l'ADN de certaines bactéries



- Parenté entre mitoribosome et ribosome bactérien : sensibilité à certains antibiotiques (chloramphénicol)
- Composition biochimique de la membrane interne : absence de cholestérol et présence de cardiolipine

II. Aspect morphologique des mitochondries en microscopie optique

Ce sont les organites les plus anciennement connus. Ils ont une grande taille (de 1-2 à 10 μm de long et de 0,5 à 1 μm de large), il est donc possible de les voir en microscopie optique. Sur cellules fixées, on distingue 3 aspects différents (ce polymorphisme structural ne modifie pas leur fonction) :

- sous forme de granules = ce sont les mitochondries
- sous forme de filaments ou bacilles = chondriocontes
- en chapelets de granules = chondriomites.

On appelle chondriome l'ensemble des mitochondries d'une cellule. Les mitochondries sont toujours en très grand nombre, proportionnel à la consommation énergétique de la cellule. Elles sont situées dans la zone la plus active de la cellule. On en trouve en quantité élevée dans les cellules à forte demande énergétique comme les cellules musculaires ou le flagelle d'un spermatozoïde. A l'inverse, on en trouve en nombre restreint dans les cellules végétales.

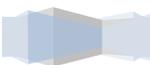
III. Structure et constitution

III.1. Répartition globale

- H₂O à 65%
- Protéines à 20%
- Lipides à 10%
- Nucléotides à 1%
- Cations
- Vitamines A et C

III.2. Organisation de la mitochondrie

Elle est délimitée par deux membranes : externe (relativement plane et lisse) et interne (fortement plissée). Elles sont formées d'une bicouche lipidique et de protéines. Entre les deux, l'espace intermembranaire (ou chambre externe) de 6 à 8 nm d'épaisseur. L'espace circonscrit par la membrane interne constitue l'espace matriciel (ou chambre interne) renfermant la matrice.



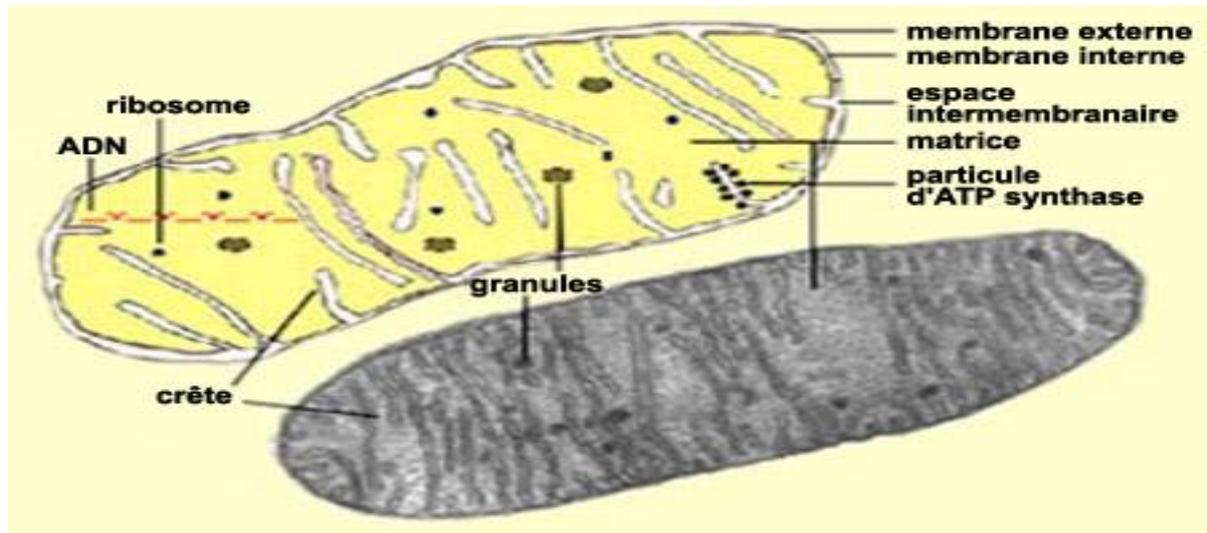


Figure III. 16. Ultrastructure de la mitochondrie [29].

- **La membrane externe** : est perméable à toutes les molécules de 5 kDa ou moins grâce à la présence de porines. Elle contient aussi des translocases, transporteurs protéiques, impliquées dans l'import des protéines
- **La membrane interne** : se replie pour former de nombreuses crêtes (cristae), ce qui a pour conséquence d'augmenter sa surface totale. Les crêtes se présentent selon différentes formes : tubulaire, sacculaire, laminaire et triangulaire, qui peuvent co-exister dans la même mitochondrie et évoluer avec le temps. La composition lipidique de la membrane interne est particulière : elle contient une majorité de phosphatidylcholine et de cardiolipine. Dans cette membrane on trouve la chaîne respiratoire de transporteurs d'électrons, l'ATP synthase et de nombreux transporteurs qui assurent le passage d'éléments tels que pyruvate, acide gras, ATP, ADP et $H_2PO_4^-$, composés nécessaires à la production d'ATP. La membrane interne contient aussi des translocases, impliquées dans l'import des protéines.
- **La chambre interne** (espace matriciel) : fluide dense contenant des polynucléotides (ADN et ARN) et des nucléotides phosphates (ADP, ATP). On trouve également de petits ribosomes qu'on appelle mitoribosomes. Enfin, on trouve des réserves sous formes de granules (les phosphates calciques). On y met aussi en évidence de très nombreuses protéines (la concentration en protéines est de 500 mg/ml dans la matrice) dont une centaine d'enzymes et coenzymes :
 - Des enzymes d'oxydation ;



- Des enzymes intervenant dans les phénomènes de réplication, de transcription, et de traduction du matériel génétique ;
- Le coenzyme A, une petite molécule (dérivée d'une vitamine du groupe B) qui intervient dans le transfert enzymatique des groupements acyle. Enfin, des ions Mg^{++} et Ca^{++} (20 à 50% du calcium cellulaire est stocké dans les mitochondries).
- **La chambre externe** (espace intermembranaire) : on y met en évidence des enzymes de type kinases, qui catalysent la phosphorylation de diverses molécules. On note en particulier la présence d'adényl-kinases qui catalysent la phosphorylation de l'AMP en ADP suivant la réaction : $AMP + ATP \Rightarrow 2 ADP$

IV. Glycolyse, β -oxydation et cycle de l'acide citrique

Dans le cytosol, le glucose entre dans la voie métabolique que l'on appelle glycolyse qui consiste en une série de réactions qui convertissent une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate avec production associée de 2 ATP et 2 NADH, H^+ . Le pyruvate est transporté à l'intérieur de la mitochondrie où il est ensuite transformé en acétyl-CoA par le pyruvate déshydrogénase. Les acides gras sont importés dans la mitochondrie et y sont aussi convertis en acétyl-CoA. L'acétyl-CoA entre ensuite dans une troisième voie métabolique, le cycle de l'acide citrique dans lequel il est déshydrogéné en fournissant du $FADH_2$ et NADH, H^+ et du CO_2 .

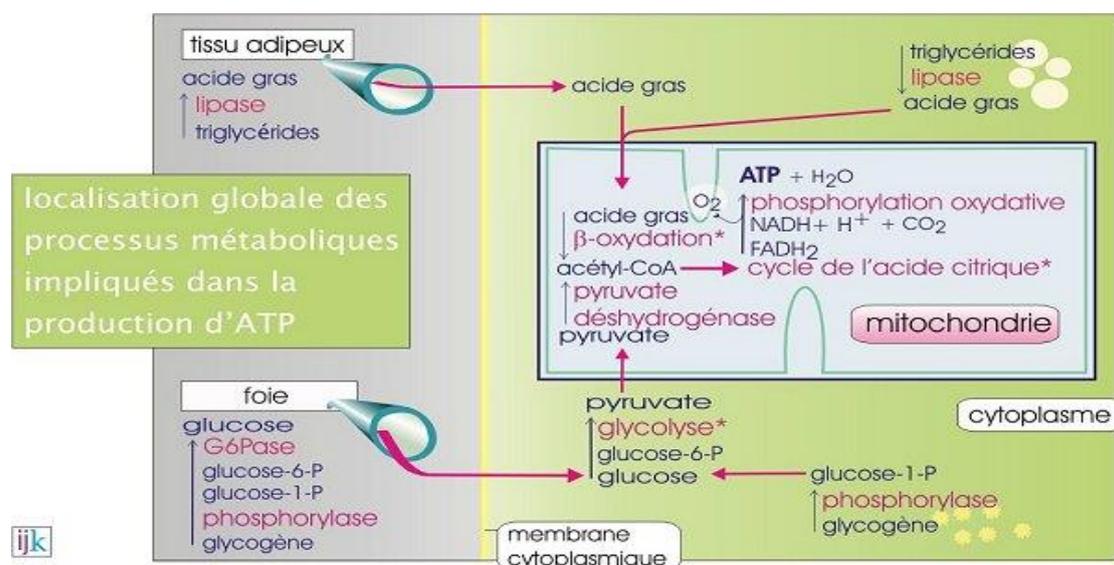


Figure III. 17. Localisation des processus métaboliques [30].

V. Fonctions de la mitochondrie

V.1. Phosphorylation oxydative

V.1.1. La chaîne respiratoire

La chaîne respiratoire est localisée dans la membrane interne mitochondriale. Cette chaîne de transport d'électrons est constituée de quatre complexes protéiques :

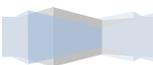
- Complexe I : NADH-coenzyme Q oxydoréductase ;
- Complexe II : succinate-coenzyme Q oxydoréductase ;
- Complexe III : coenzyme Q-cytochrome c oxydoréductase ;
- Complexe IV : cytochrome c oxydase ;
- Le coenzyme Q (ubiquinone) et le cytochrome c sont des transporteurs mobiles de la chaîne respiratoire.

Une grande partie de l'énergie produite dans les voies cataboliques se retrouve contenue dans le NADH et le FADH₂ ; elle sera convertie en ATP dans la mitochondrie : les coenzymes réduits mitochondriaux cèdent leurs deux électrons à un système de transporteurs qui, par une cascade de réactions d'oxydo-réduction, amène ces électrons jusqu'à l'accepteur final, l'oxygène moléculaire. La membrane interne est imperméable aux ions H⁺, cependant, au cours de ce transfert électronique, il y a formation d'un gradient de protons de part et d'autre de cette membrane, ce qui permet la synthèse d'ATP lors d'une réaction catalysée par l'ATP synthase mitochondriale. La respiration et la phosphorylation de l'ADP sont donc couplées via ce gradient de protons.

Le NADH, formé dans la matrice, cède ses équivalents réducteurs à la NADH déshydrogénase (complexe I), accessible par la face interne de la membrane interne. Ces électrons vont cheminer du complexe I jusqu'à l'oxygène moléculaire, via les coenzymeQ - complexeIII – cytochrome c - complexeIV. L'oxygène moléculaire, accepteur final des électrons, sera réduit en H₂O.

Le FADH₂ produit dans la matrice mitochondriale cède, quant à lui, ses équivalents réducteurs au complexe II. Le cheminement des électrons est ensuite identique à celui suivi par les électrons fournis par le NADH (coenzyme Q - complexe III - cytochrome c - complexe IV).

Au cours de ce transfert, des protons sont expulsés de la matrice vers l'espace intermembranaire (au niveau des complexes I, III et IV) ce qui crée, de part et d'autre de la



membrane interne, un gradient électrochimique d'ions H^+ qui contient l'énergie d'oxydation. Il est constitué d'un gradient de pH (la matrice devient plus basique) et d'un gradient de charges (la face matricielle de la membrane interne est chargée négativement).

Le retour des protons dans la matrice ne peut se produire qu'au niveau de passages spécifiques constitués par l'ATP synthase. Le gradient électrochimique de protons fournit ainsi l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP, on dit qu'il est déchargé.

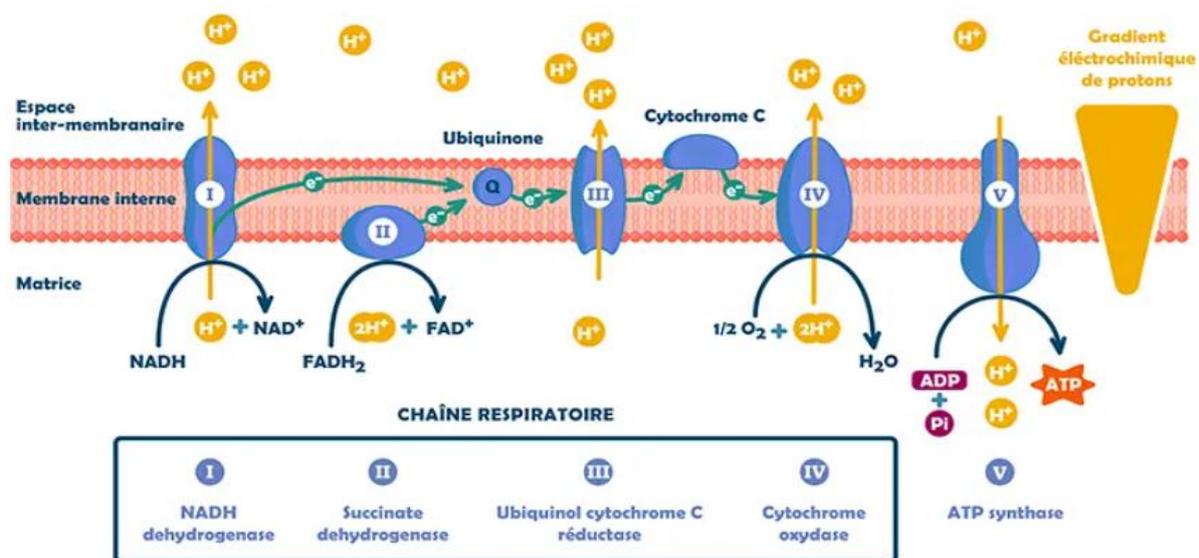


Figure III. 18. Fonctionnement des complexes de la phosphorylation oxydative [31].

V.1.2. L'ATP synthase

C'est la respiration cellulaire qui fournit l'énergie nécessaire pour la fabrication de l'ATP. En effet la respiration cellulaire permet de créer un gradient de protons (H^+) qui sont ainsi accumulés d'un côté de la membrane. En présence de ce gradient de protons (force proton-motrice), les protons passent de l'autre côté de la membrane, à travers le complexe protéique ATP synthase et libèrent l'énergie qui est réutilisée pour la synthèse de l'ATP (fixation du groupement phosphate sur l'ADP pour former l'ATP). Elle est constituée d'une sous-unité F_0 intra-membranaire qui joue de rôle de canal protonique, d'une sous-unité F_1 baignant dans la matrice mitochondriale et qui possède une activité ATP-synthétase, et d'une partie statique stabilisant la structure.

De cette manière le gradient de proton formé de part et d'autre la membrane interne de la mitochondrie permet la synthèse d'ATP qui sera libéré dans la matrice mitochondriale. Les 10

protons du NADH permettront une synthèse théorique de 3 ATP et les 6 protons du FADH₂ de 2 ATP.

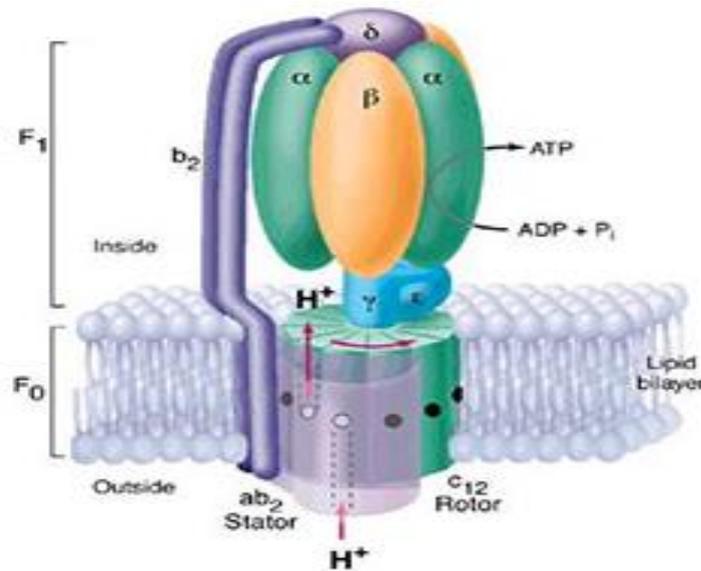


Figure III. 19. Structure schématique de l'ATP synthase [32].

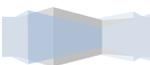
V.2. Rôle de la mitochondrie dans la synthèse des hormones stéroïdes

Les mitochondries sont impliquées dans la biosynthèse des hormones stéroïdes dont le cholestérol est le précurseur. Ce sont les cytochromes P450_{scc} et P450_{aldo}, dans la matrice mitochondriale, qui font entrer le cholestérol dans la chaîne de biosynthèse des stéroïdes. En fonction de la glande endocrine dans laquelle elle se produit, cette biosynthèse peut aboutir à la formation de :

- de testostérone, dans le testicule,
- de progestérone et d'œstradiol, dans l'ovaire,
- de glucocorticoïdes comme le cortisol
- minéralocorticoïdes comme l'aldostérone (rôle dans l'équilibre ionique), dans la glande surrénale.

V.3. Rôle des mitochondries dans l'homéostasie du Ca²⁺

La mitochondrie participe (avec le réticulum endoplasmique) également à la régulation de la concentration intracellulaire de calcium. Cependant, la pompe membranaire qui assure le passage de Ca²⁺ vers la matrice n'a pas encore été identifiée.



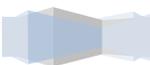
V.4. Rôle de la mitochondrie dans la mort cellulaire programmée (apoptose)

Dans ce processus, la fuite de cytochrome c par un pore nouvellement créé dans la membrane mitochondriale externe, PTPC (permeability-transition pore complex) qui comprend parmi d'autres protéines le canal anionique VDAC (évoqué plus haut), joue un rôle capital. Le cytochrome c ainsi rélargie 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 cytoplasme, 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.

E. Ribosome : synthèse protéique et maturation des protéines

I. Introduction

La traduction est un processus cellulaire commun à l'ensemble des règnes du vivant, qui correspond au processus de fabrication des protéines à partir du code génétique. 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 messager (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 messager 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 messager (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. Le ribosome lit l'ARN messager codon par codon, un codon, groupe de trois bases nucléiques, correspondant



à un acide aminé de la chaîne protéique. Il assemble au fur et à mesure la chaîne protéique et la relâche lorsqu'elle est complète. Le ribosome est capable de traduire l'ensemble des ARN messagers présents dans la cellule et constitue donc l'usine de fabrication de l'ensemble des protéines nécessaires au bon fonctionnement cellulaire. Nous détaillerons dans cette partie les acteurs et les principales étapes de la traduction eucaryote.

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

- Le ribosome qui valide le décodage et synthétise la protéine ;
- L'ARNm qui porte la séquence codant la protéine ;
- Les ARN de transfert (ARNt) qui permettent de décoder chaque codon ;
- Les facteurs protéiques qui vont permettre la réalisation des différentes étapes de la traduction.

II. L'acteur principal de la traduction : le ribosome

Le ribosome est une particule cellulaire ribonucléoprotéique constituée de l'association de molécules d'ARN appelées ARNr (ARN ribosomiques) avec des protéines ribosomales. Son rôle est d'assurer la synthèse protéique. Chez les eucaryotes le ribosome 80S mature est organisé en deux sous-unités : la grande sous-unité ribosomale 60S et la petite sous-unité ribosomale 40S (S pour unité de Svedberg, qui correspond à la vitesse de sédimentation des particules).

- La sous-unité ribosomale 40S se compose de 33 protéines et de l'ARNr 18S. Elle est impliquée dans la fidélité de 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 (site aminoacyl), 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. Le cœur du ribosome est très conservé entre les espèces des trois règnes du vivant. Cependant, le ribosome eucaryote est plus complexe que le ribosome procaryote et présente des extensions des ARNr (environ 2650 nucléotides supplémentaires), des protéines ribosomiques supplémentaires ainsi que des extensions à certaines protéines (environ 2450 acides aminés supplémentaires).

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.

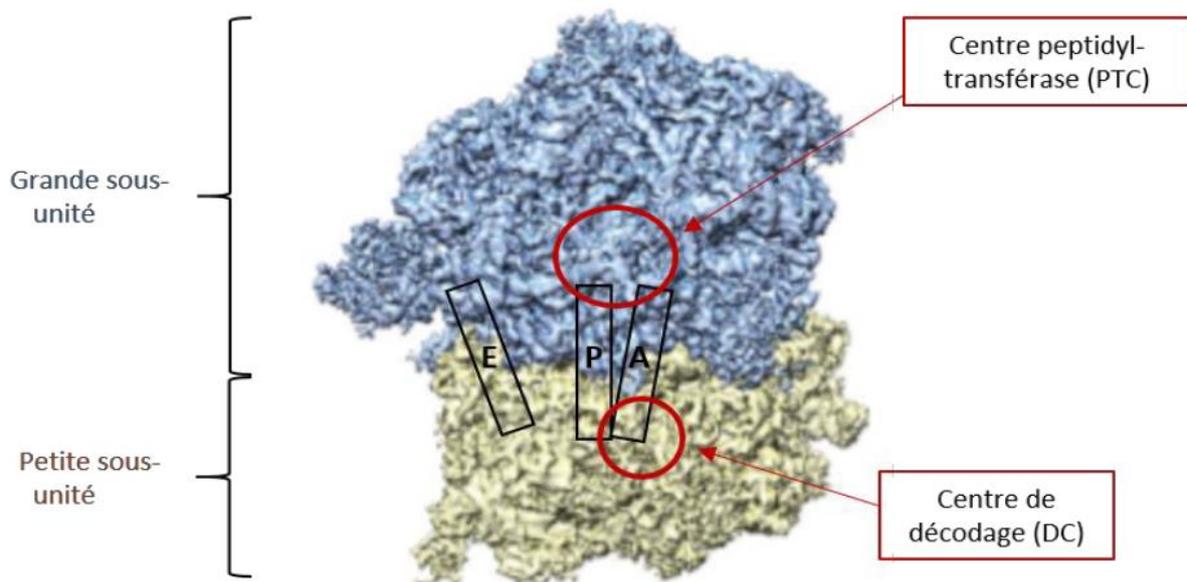


Figure III. 20. Structure générale du ribosome eucaryote 80S [33].

Le ribosome complet 80S est composé d'une petite sous-unité 40S (en beige) et d'une grande sous-unité 60S (en bleu). Il 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 : 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.



III. L'ARN messenger (ARNm)

L'ARN messenger mature qui sera traduit par le ribosome possède plusieurs éléments caractéristiques. C'est une molécule orientée qui se lit de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'. A son extrémité 5' on trouve un élément nommé la coiffe. La coiffe joue un rôle de protection de l'ARNm contre des exo nucléases mais également un rôle essentiel de recrutement du ribosome lors de la première phase de la traduction : l'initiation. On trouve à la suite de la coiffe une région non codante (5'UTR pour untranslated region) qui ne sera donc pas traduite par le ribosome. Elle joue un rôle dans l'initiation de la traduction. Cette séquence se termine par un codon initiateur, presque exclusivement AUG chez les eucaryotes, qui indique l'endroit où la traduction doit s'initier. A la suite de ces éléments on trouve une région codante de taille variable qui se termine par un codon particulier appelé codon stop. Il existe trois codons stop (UAA, UAG et UGA), mais ils donnent tous l'indication au ribosome d'interrompre le processus de traduction, de relâcher la protéine achevée et de se détacher de l'ARN messenger. Enfin en aval du codon stop on trouve une seconde région non codante appelée 3'UTR puis un élément appelé queue polyA ou queue polyadénylée composée uniquement de bases adénines (environ 250 chez les mammifères, qui joue un rôle lors de l'export de l'ARNm dans le cytoplasme ainsi qu'un rôle pour assurer sa stabilité dans le temps.

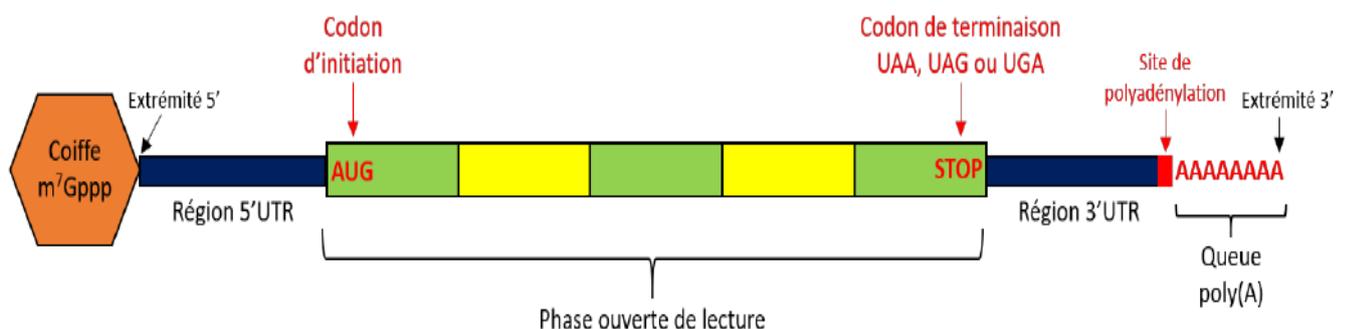


Figure III. 21. Structure et éléments caractéristiques d'un ARN messenger [33].

IV. L'ARN de transfert (ARNt)

Les ARNt sont de petites molécules d'ARN de 75 à 100 nucléotides. Ils servent d'adaptateurs entre l'ARNm et les acides aminés puisque ces molécules portent chacune un acide aminé. L'ARN de transfert est très structuré, sa structure secondaire forme une structure en L. La tige-



boucle de l'anticodon va former la liaison codon-anticodon avec l'ARN messager lors de son passage dans les sites A, P et E du ribosome. Un anti-codon est un triplé de trois nucléotides complémentaires des nucléotides qui forment le codon de l'ARNm. A l'autre extrémité de l'ARNt, la tige-boucle acceptrice est liée à un acide aminé qui sera assemblé au reste de la chaîne protéique pendant la traduction.

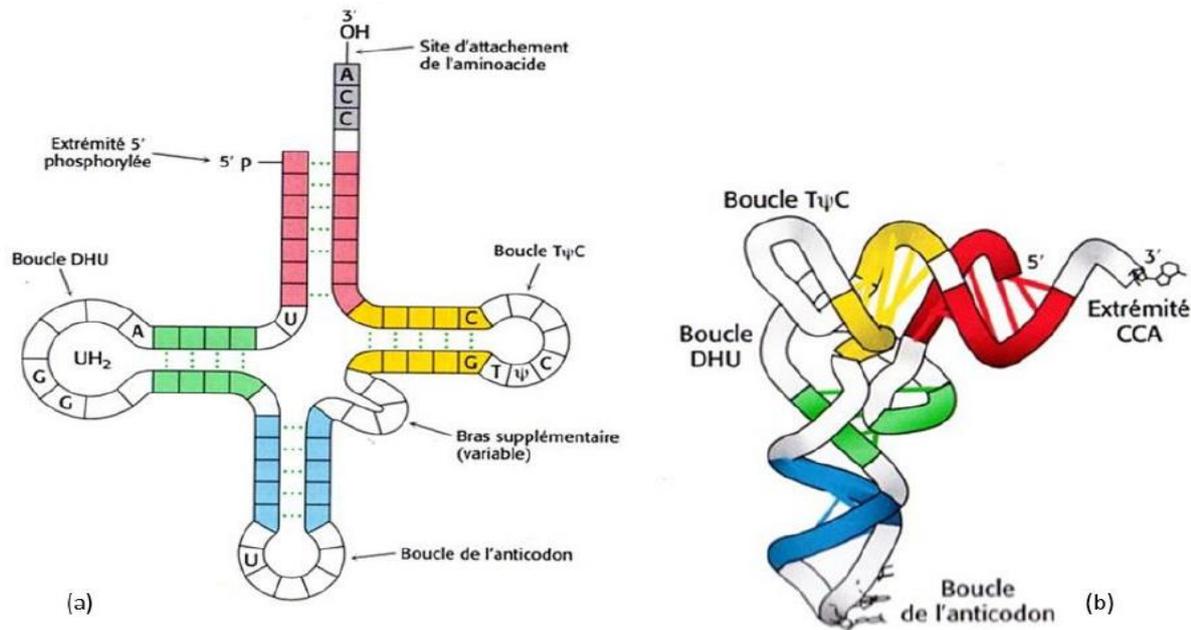


Figure III. 22. Structures secondaire et tertiaire des ARNs de transfert [33].

(a) Structure secondaire d'un ARNt, en forme de trèfle à quatre feuilles : la tige acceptrice, en rose, sur laquelle l'acide aminé est attaché par estérification, la boucle de l'anticodon, la boucle DHU, la boucle T ψ C et le bras supplémentaire variable. (b) La structure tertiaire en forme de L est obtenue par repliement de la tige DHU (en vert) sur la tige T ψ C (en jaune).

V. La synthèse protéique

À partir de l'information génétique stockée dans l'ADN (Acide Désoxyribo Nucléique), les protéines sont synthétisées par l'intermédiaire principalement de deux mécanismes biologiques nommés respectivement transcription et traduction.

V.1. Transcription

La première étape de la synthèse des protéines est la transcription d'un gène de l'ADN en une molécule d'acide ribonucléique messager (ARNm). L'étape se déroule à l'intérieur du noyau

d'une cellule eucaryote et dans le cytoplasme des procaryotes. Cette différence a des conséquences importantes sur le traitement de l'ARN synthétisé.

La construction de l'ARNm est catalysée par un complexe enzymatique : l'ARN polymérase :

- Ouverture de la molécule d'ADN au niveau d'un gène par rupture des liaisons hydrogènes ;
- Le brin transcrit servant de matrice, mise en place des nucléotides d'ARN face à des nucléotides d'ADN par complémentarité des bases ;
- Liaison entre les nucléotides pour former le brin d'ARN ;
- Détachement de l'ARNm du brin d'ADN transcrit. L'autre brin de l'ADN est dit le brin non transcrit.

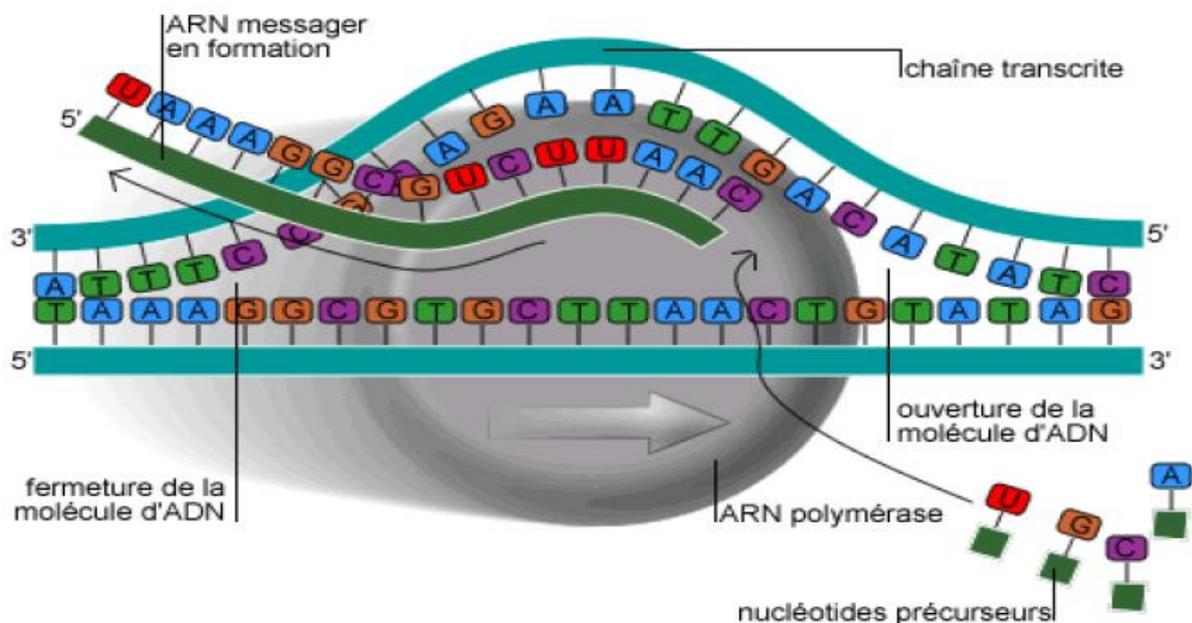


Figure III. 23. Transcription de l'ADN en ARNm [34].

V.2. Modification post-transcriptionnelle de l'ARN pré-messager

Les principales modifications post-transcriptionnelles de l'ARN pré-messager sont l'ajout d'une coiffe de 7-méthylguanosine triphosphate à l'extrémité 5' et d'une queue poly(A) (50 à 250 nucléotides d'adénine) à l'extrémité 3', puis l'épissage, consistant en l'élimination des introns (segments du gène qui ne codent pas un polypeptide) séparant les exons (qui, eux, sont codants).



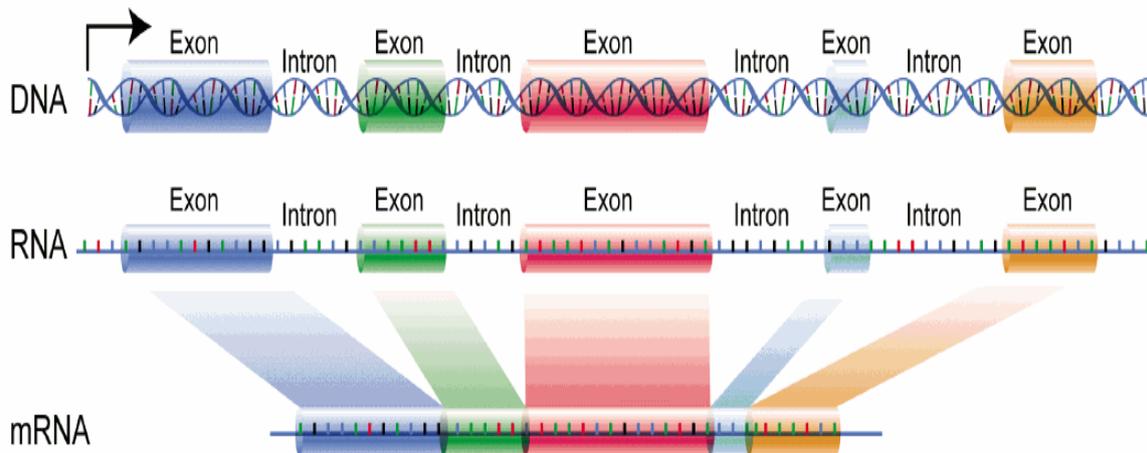


Figure III. 24. L'ADN est transcrit en ARN qui, chez les eucaryotes, est épissé en ARN messager [35].

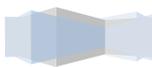
V.3. Traduction

La traduction est un processus d'amplification où une molécule d'ARNm est à l'origine de la synthèse de plusieurs protéines. Il est important de noter que l'ARNm est traduit simultanément par plusieurs ribosomes à la suite les uns des autres, on parle alors de polysomes. Chaque ribosome accomplit un cycle de traduction qui se décompose en 4 étapes :

- L'initiation durant laquelle les sous-unités ribosomiques s'assemblent sur l'ARNm et se positionnent sur le codon d'initiation.
- L'élongation qui correspond à la lecture de l'ARNm et à la synthèse de la protéine.
- La terminaison, étape à laquelle la protéine est relâchée.
- La dissociation et le recyclage des sous-unités ribosomiques.

V.3.1. Initiation

La biosynthèse de la chaîne polypeptidique commence généralement au niveau d'un codon AUG, encodant la méthionine. Chez les procaryotes, c'est un résidu de N-formylméthionine qui est incorporé en position initiale, tandis que, chez les eucaryotes, c'est un résidu de méthionine, qui peut être clivé par la suite. 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 première acide aminé incorporé. L'ARNt portant la méthionine se rattache au codon d'initiation AUG qui se trouve à la suite de ce site de fixation. La grosse sous unité peut alors de fixer elle aussi et rendre le ribosome actif.



V.3.2. 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 (Fig.6). 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 toujours apparié à l'ARNt. 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.

V.3.3. Terminaison

La phase d'élongation prend fin quand le ribosome rencontre un des trois codons stop (UAA, UAG ou UGA) au niveau du site A. La présence de ce codon déclenche le recrutement des facteurs de terminaison eRF1 et eRF3. Le facteur eRF1 reconnaît le codon stop et simule par sa structure la présence d'un ARNt au site A. Ce facteur stimule l'activité de eRF3 et catalyse la terminaison de la traduction. La chaîne peptidique de la protéine est relâchée et les deux sous-unités du ribosome se dissocient de l'ARNm pour être réutilisées lors d'un nouveau cycle de traduction.

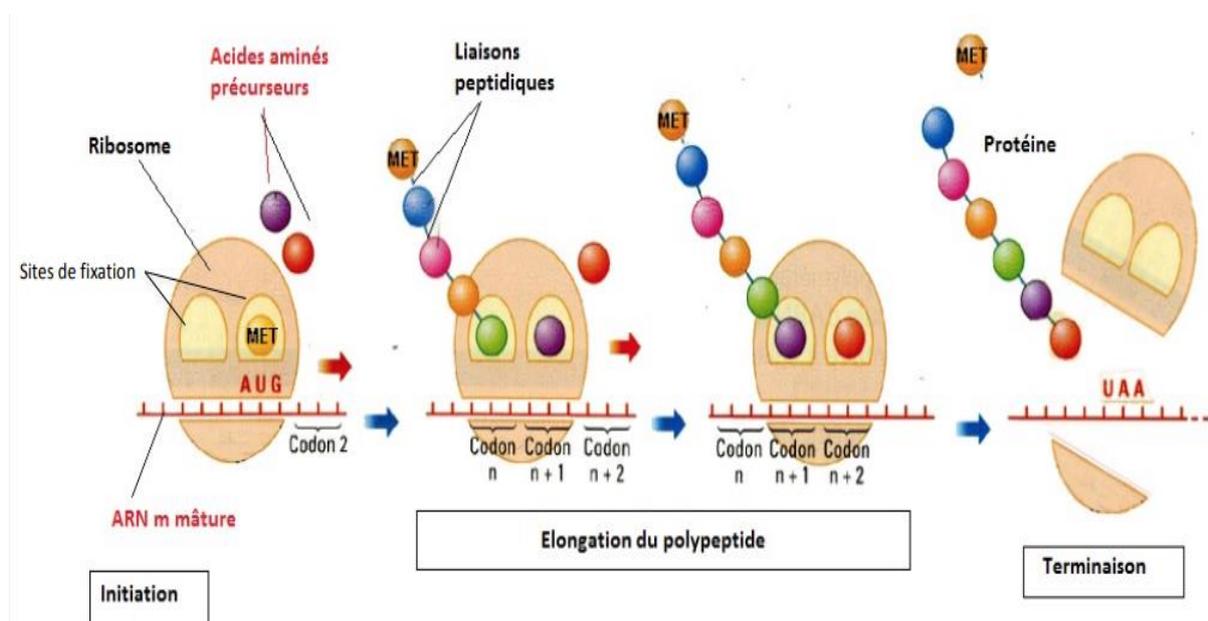


Figure III. 25. Processus de traduction de l'ARNm en protéine [35].

- **Clivage de la séquence signal** : C'est un évènement catalysé par un complexe de 5 protéines différentes.

- **La N- glycosylation**

Elle commence dans la lumière du RER. Les chaînes polypeptidiques en croissance contenant un résidu asparagine dans la configuration Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr (X étant un acide aminé quelconque) subissent une première étape de glycosylation. Un groupe composé de 14 résidus glucidiques pré assemblés à partir d'un précurseur lipidique membranaire, le dolichol phosphate, est transféré à l'asparagine. La réaction est catalysée par la glycosyl transférase.

- **L'addition de chaînes d'acides gras**

- **Myristoylation** : addition de myristate (acide gras saturé en C14) sur une glycine de l'extrémité N terminale par une liaison amide. Phénomène co-translationnel.

- **Glypiation** : addition d'un groupement glycosyl-phosphatidyl-inositol (GPI) pré assemblé dans la membrane, sur un acide aminé en C terminal. Permet l'ancrage de la protéine à la face externe de la membrane plasmique. Phénomène co-translationnel.

- **Palmitoylation** : addition d'acide palmitique (acide gras saturé en C16) sur une cystéine de l'extrémité C terminale par une liaison thioester. Phénomène post-translationnel.

- **Isoprénylation** : addition de chaînes farnésyl (C15) ou géranylgeranyl (C20) sur une cystéine au voisinage de l'extrémité C terminale. Phénomène post-translationnel.

- **Le repliement des protéines**

Il intervient dès l'entrée des chaînes polypeptidiques dans la lumière du RER. Etape importante qui permet l'acquisition de la structure tertiaire des protéines. Le repliement est en grande partie dû à la formation de ponts disulfures (Cys-**S-S**-Cys) pour les protéines qui contiennent des résidus cystéines. Le repliement des protéines est contrôlé par des protéines chaperons telles que BiP ainsi que par la calnexine et la calréticuline qui sont insérées dans la membrane du RER. Ces deux dernières se lient aux chaînes oligosaccharidiques des protéines glycosylées. Si les protéines sont incorrectement ou non repliées elles sont exportées vers le cytosol où elles seront dégradées par les protéasomes. Le RER assure un contrôle de la qualité des protéines avant qu'elles quittent ce compartiment.



F. Le Système ubiquitine /protéasome : structure et fonction

I. Introduction

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.

A ce jour, trois systèmes protéolytiques majeurs ont été décrits :

- La dégradation des protéines extracellulaires au sein d'un système vacuolaire riche en protéases (endosome/lysosome). Dans ce cas précis, les protéines ciblées pour la dégradation pénètrent dans la cellule par endocytose et sont dégradées dans cette vacuole après fusion avec un lysosome, qui est un compartiment acide contenant de nombreuses hydrolases acides (protéases de type cathépsines, lipases, ...).
- L'autophagie qui permet de dégrader les constituants cytoplasmiques via les lysosomes.
- Le système ubiquitine protéasome (UPS) 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.

II. L'ubiquitine et la cascade enzymatique d'ubiquitylation

L'ubiquitination est une modification post-traductionnelle qui consiste à lier de façon covalente l'ubiquitine (une protéine de 76 acides aminés) 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. Un huitième type de chaîne peut être généré lorsque l'ubiquitine est attachée à l'extrémité N-Terminale d'une autre ubiquitine créant ainsi des chaînes Met1.



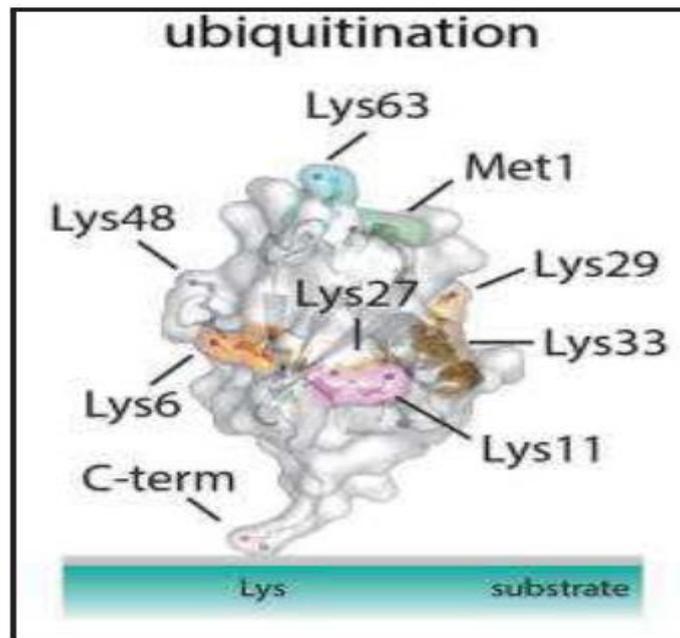


Figure III. 27. Représentation 3D des résidus ubiquitinables de l'ubiquitine [37].

La fixation d'une molécule d'ubiquitine sur un substrat requiert l'action consécutive de trois enzymes. :

- le premier 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 ;
- le second est une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine, ou E2, sur lequel l'ubiquitine activée est transférée au niveau du groupement thiol de sa cystéine active ;
- enfin le troisième, l'E3 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 d'une lysine du substrat, formant ainsi une liaison isopeptidique.



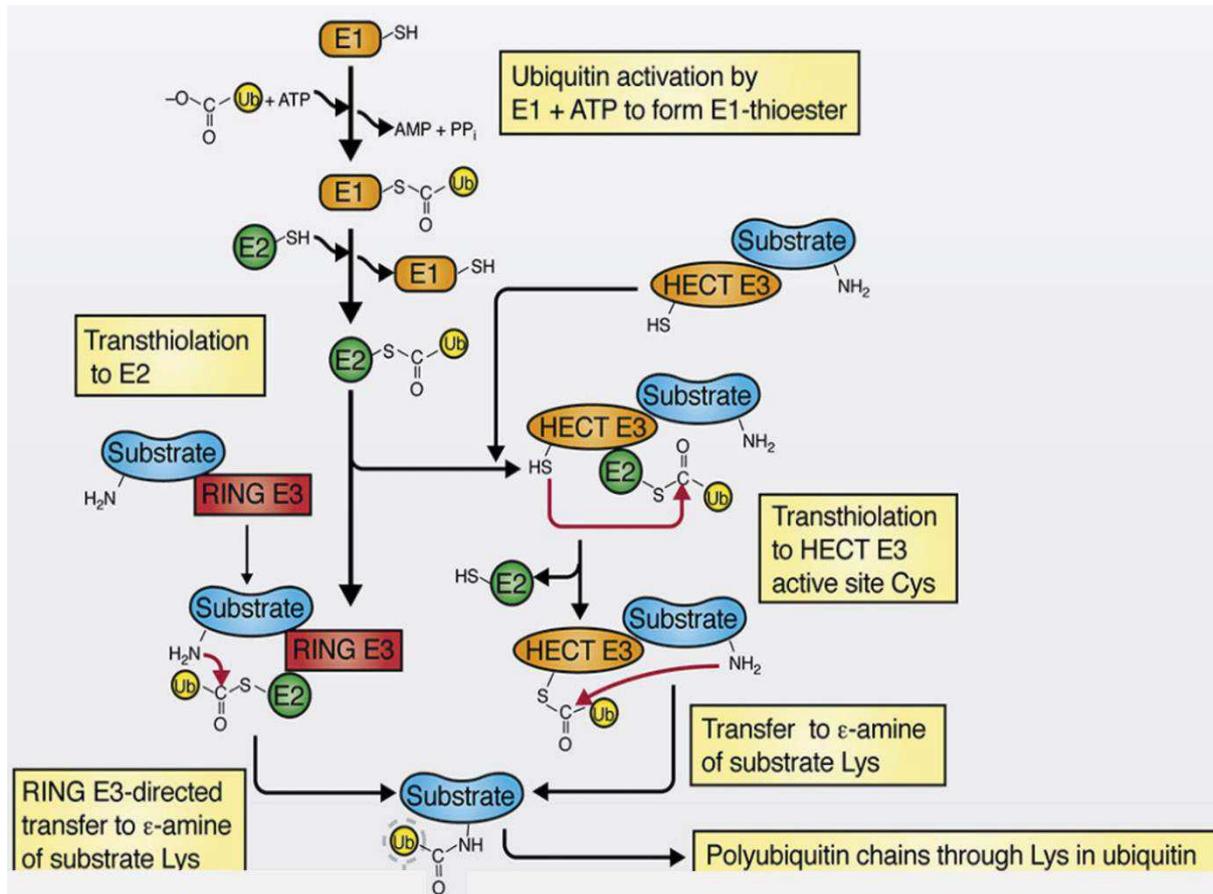


Figure III.28. La cascade d'ubiquitylation [37].

III. Structure de protéasome

Le protéasome 26S est la composante protéolytique de l'UPS impliquée dans la dégradation des protéines cibles qui sont le plus souvent poly-ubiquitinées. 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 protéasome 20S qui forme le cœur et la sous unité catalytique du protéasome, et deux coiffes, le protéasome 19S, qui est considéré comme la sous unité régulatrice.



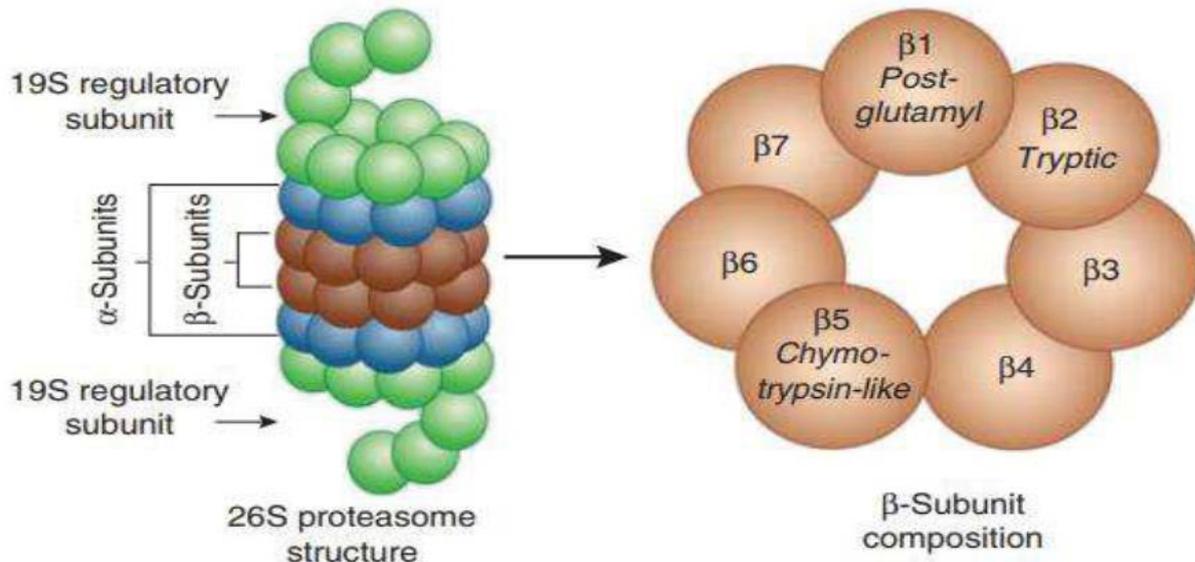


Figure III.29. Structure du protéasome 26S et de l'anneau β [37].

III.1. Structure et fonction du protéasome 20S

La structure protéasome 20S est conservée des bactéries aux mammifères et seule sa composition en sous unités varie. Il est composé de quatre anneaux constitués chacun de 7 sous-unités protéiques 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 à 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.



III.2. Structure et fonction du protéasome 19S

Le protéasome 19S, aussi appelé coiffe, est un complexe de 900 kDa composé d'une vingtaine de protéines. 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.

- L'activation du protéasome 20S (ouverture du pore de l'anneau α),
- La reconnaissance des substrats poly-ubiquitinés,
- La déubiquitination des substrats (assure le recyclage de l'ubiquitine),
- Le dépliement et la translocation du substrat vers le protéasome 20S.

IV. Fonctionnement du système Ubiquitine/Protéasome

De façon générale, le système ubiquitine protéasome permet de dégrader des substrats (protéines) cibles via deux grandes étapes :

- L'ubiquitination du substrat : grâce à l'action concertée de trois enzymes (E1, E2 et E3) aboutissant à la greffe d'une chaîne de poly-ubiquitine liée de façon covalente à un ou plusieurs résidus Lysine du substrat.
- Une fois ubiquitiné, le substrat va être dirigé et dégradé par le protéasome 26S. La dégradation par le protéasome 26S des protéines ubiquitinylées peut intervenir dans le cytoplasme et le noyau et est dépendante de l'ATP.



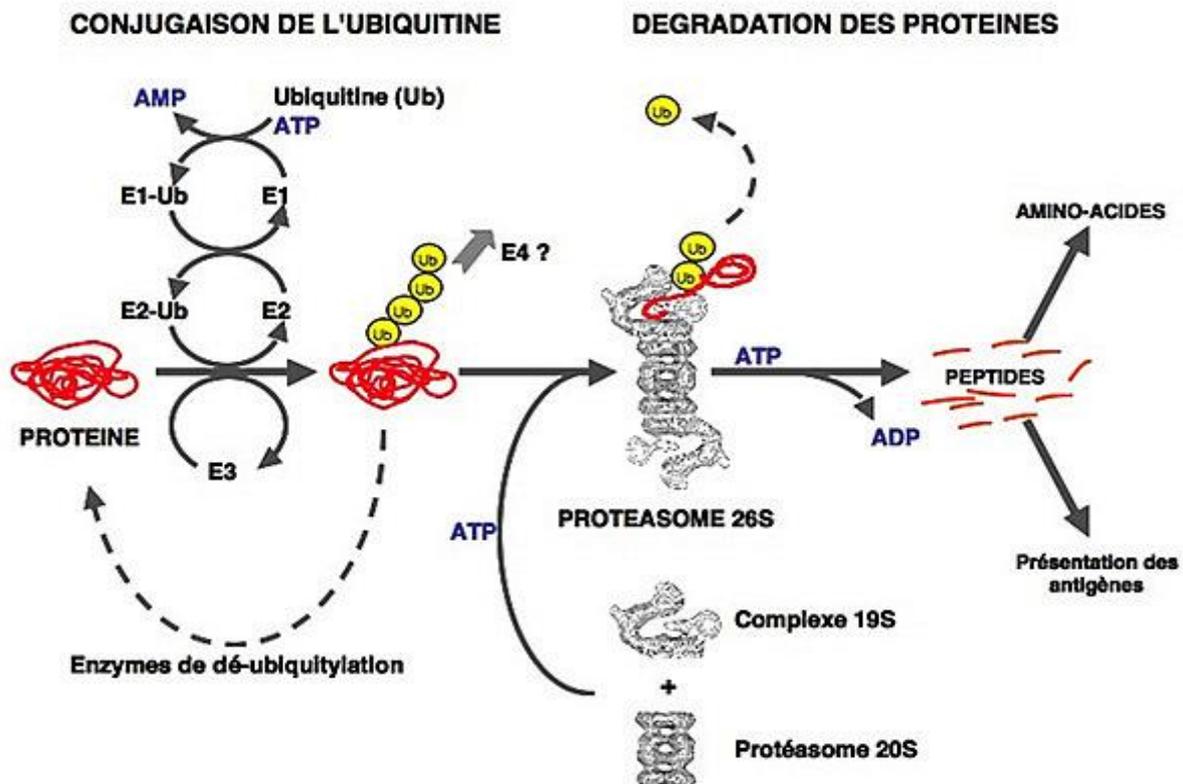


Figure III.30. Mécanisme général de fonctionnement du système ubiquitine protéasome [38].

Le processus de dégradation d'un substrat poly-ubiquitiné peut être simplifié en quelques étapes clés :

- Activation du protéasome 20S (ouverture de l'anneau α),
- Reconnaissance du substrat ou protéine ubiquitinée grâce aux récepteurs de l'ubiquitine (sous-unités de coiffe : Rpn10 et Rpn13),
- Engagement partiel du substrat ATP dépendant,
- Déubiquitination de substrat,
- Dépliement et translocation du substrat vers la chambre catalytique,
- Protéolyse via les sous unités β catalytiques,
- Libération des fragments de clivage (3 à 25 résidus) qui seront hydrolysés par des peptidases intracellulaires,
- Recyclage des acides aminés pour la biosynthèse de nouvelles protéines.



G. Le système lysosomal : structure et fonction

Le lysosome est une organelle intra cellulaire ayant un rôle de dégradation, de recyclage et de renouvellement des composants de la cellule. Le lysosome est une usine de traitement des déchets. Les lysosomes ne sont pas visibles en microscopie optique, ont nécessitent l'utilisation d'un microscope électronique pour pouvoir les observer.

I. Caractéristiques structurales des lysosomes

I.1. Forme

Les lysosomes sont des organelles intra cytoplasmiques sphériques ou ovalaires, de diamètre généralement compris entre 0,1 et 0,2 μm , limitées par une membrane plasmique, donc une bicouche de phospholipides, possèdent à l'intérieur un ensemble d'enzymes hydrolytiques. Ils sont présents dans toutes les cellules eucaryotes sauf dans les globules rouges. Il existe les lysosomes primaires (ceux qui viennent juste d'être synthétisés) et les lysosomes secondaires (possèdent des structures en décomposition).

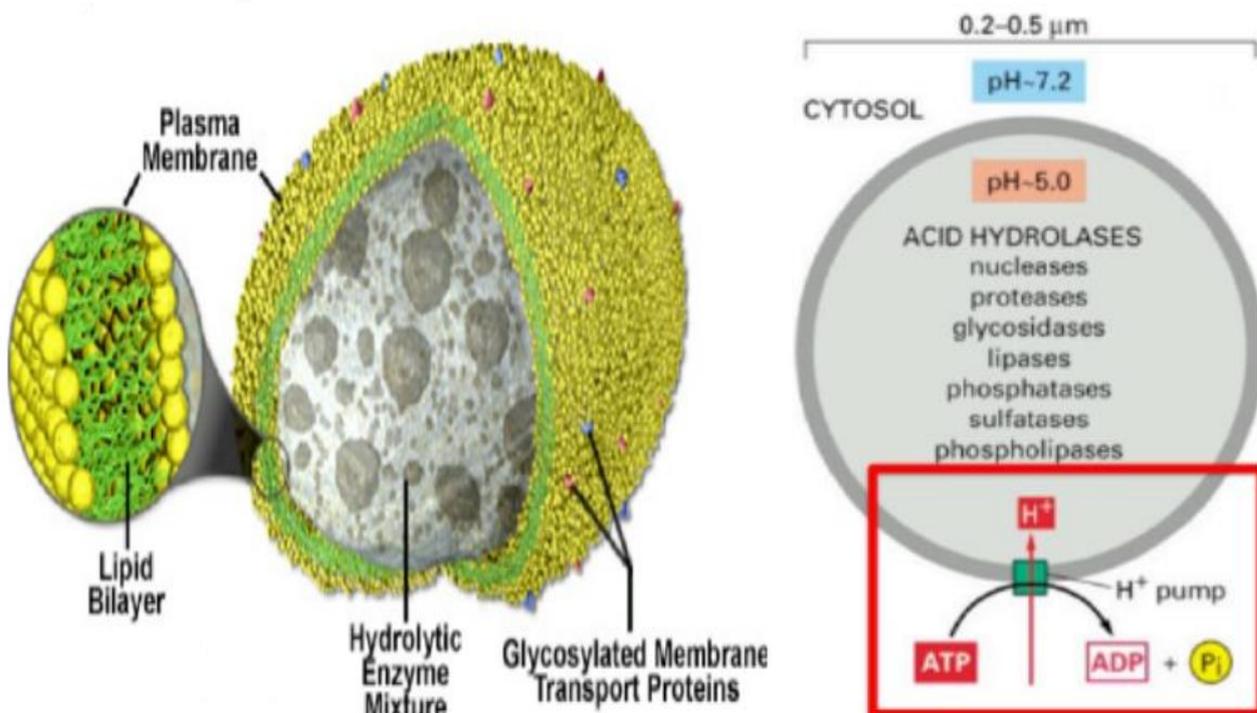


Figure III. 31. Structure de lysosome [39].

I.2. Composition chimique

La membrane lysosomale est composée de lipides et d'une trentaine de protéines différentes (PM entre 20 et 200Kd), surtout des glycoprotéines. On distingue :

- Glycoprotéines structurales dont certaines sont utilisées comme marqueurs : Lamp1, Lamp2, Lamp3 (lysosome-associated membrane protein).
- Glycoprotéines enzymatiques, dont le nombre varie d'un type cellulaire à un autre.
- ATPase/H⁺ dépendantes (pompe à protons) qui assurent le maintien d'un PH acide à l'intérieur du lysosome.
- 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.

La matrice lysosomale contient plus 60 hydrolases différentes. Il s'agit de glycoprotéines enzymatiques solubles. Agissant en milieu acide à un PH=4-5, inactives à un PH=7.

- **Enzymes du lysosome : les hydrolases acides**

Les lysosomes contiennent des enzymes digestives (hydrolases acides) pour digérer les macromolécules. Pour fonctionner correctement, les enzymes digestives requièrent l'environnement acide du lysosome. 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 apparemment protégé de la digestion par ses structures tridimensionnelles internes uniques qui préviennent une action enzymatique. Quelques enzymes importantes dans les lysosomes :

- Lipases, qui dégradent les lipides en acides gras ;
- Glycosides hydrolases, qui dégradent les sucres ;
- Protéases, qui dégradent les protéines en peptides, dégradés ensuite par peptidase en tripeptides, dipeptides, puis acides aminés ;
- Nucléases, qui dégradent les acides nucléiques en nucléosides.



Il y a par conséquent dans le lysosome tous les matériels indispensables à la dégradation d'une cellule.

- **Comment peut-on expliquer le pH très acide du lysosome ?**

Cela s'explique par la présence de pompes à protons. On a plus de protons à l'intérieur du lysosome que l'on en a dans le cytosol, et nous on veut quand même continuer à faire rentrer des protons, des ions H^+ (donc contre le gradient de concentration) par le biais d'énergie (hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi) ce qui va permettre de renforcer le gradient de concentration et d'avoir un Ph à 5. Ce qui entre à l'intérieur du lysosome, c'est des protéines de membrane du lysosome, et des enzymes lysosomiales. Ce qui sort du lysosome, c'est les produits de digestion, vers le cytosol et peuvent donc être réutilisés par la cellule.

II. Formation

Les lysosomes proviennent de l'appareil de golgi (AG) par la formation des vésicules. Les vésicules vont bourgeonner à partir de l'AG, et ensuite c'est cela qui va permettre de former les lysosomes qui sera plus mature. À l'intérieur, il y a une accumulation d'enzymes lytiques qui sont toutes marquées par le Man6P (mannose-6-phosphate).

Au niveau de l'appareil de golgi, on aura l'addition de Man6P sur les protéines qui doivent être adressés dans le lysosome. Ce Man6P est capturé par un récepteur membranaire qui seront tous rassemblés à un même endroit et qui permettront d'avoir le bourgeonnement d'une vésicule qui sera recouverte par de la clathrine, puis on aperte du manteau de clathrine, la vésicule est dite nue, qui va aller au niveau du lysosome. Le lysosome possède un pH acide ce qui va permettre de dissocier le ligand du récepteur grâce au pH acide, les récepteurs vont être recyclés vers l'AG.

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.



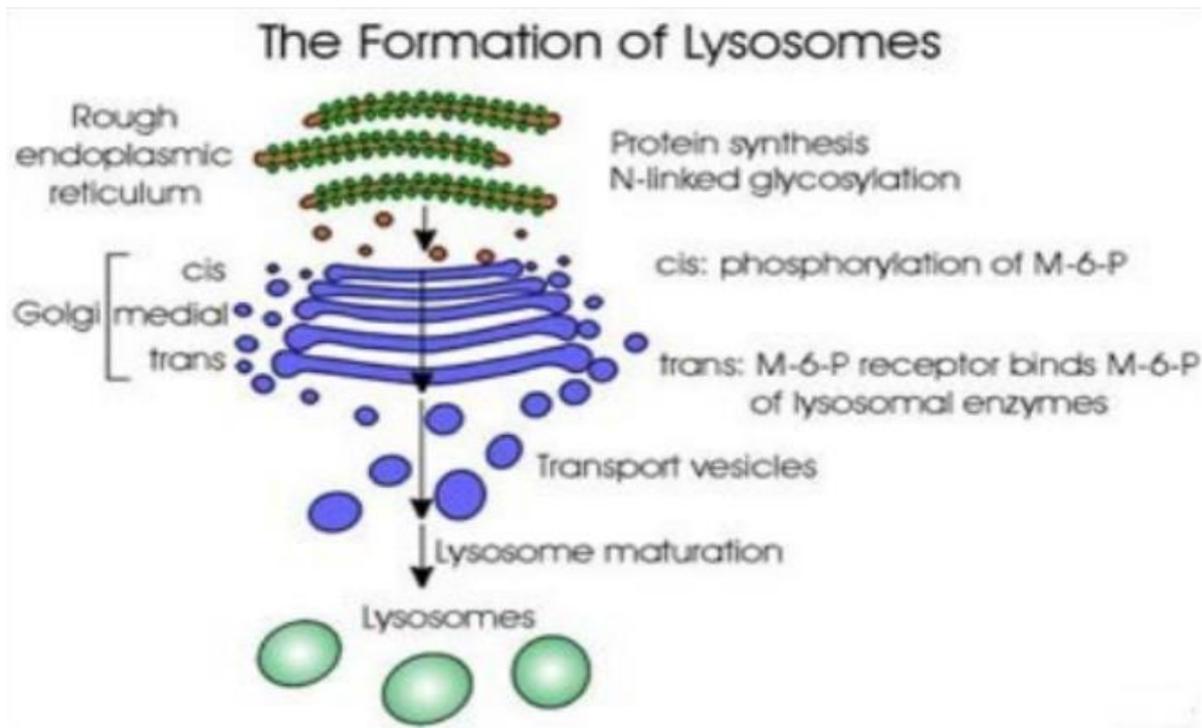


Figure III. 32. Formation de lysosome [39].

III. Fonctions des lysosomes

Le lysosome peut intervenir pour :

- **Éliminer les pathogènes** : La cellule est capable de capture des bactéries selon un mécanisme de phagocytose. La bactérie vont être enveloppé par une membrane, on parle alors de phagosome. Ce phagosome va fusionner avec un lysosome, et grâce aux enzymes lytiques présents dans ce dernier, la bactérie va pouvoir être dégradée, éliminée. C'est la première ligne de défense dans notre organisme permettant d'éliminer un certains nombres de bactéries.
- **Éliminer les organites «usés»** : L'autophagie est une autre voie de dégradation. Les mitochondries trop usés, qui fonctionnent mal, sont reconnus comme tels, et vont être capturés par des membranes qui vont fusionnés autour de ces mitochondries pour donner des autophagosomes qui vont fusionner avec les lysosomes permettant ainsi leurs dégradations.
- **Éliminer les déchets de la cellule** : Une fois que les mitochondries et les bactéries sont dégradées, il va falloir éliminer les déchets, et cela se fait par exocytose. Mais à partir



du lysosome, on a une excrétion dans le milieu extérieur pour pouvoir éliminer les déchets de la cellule.

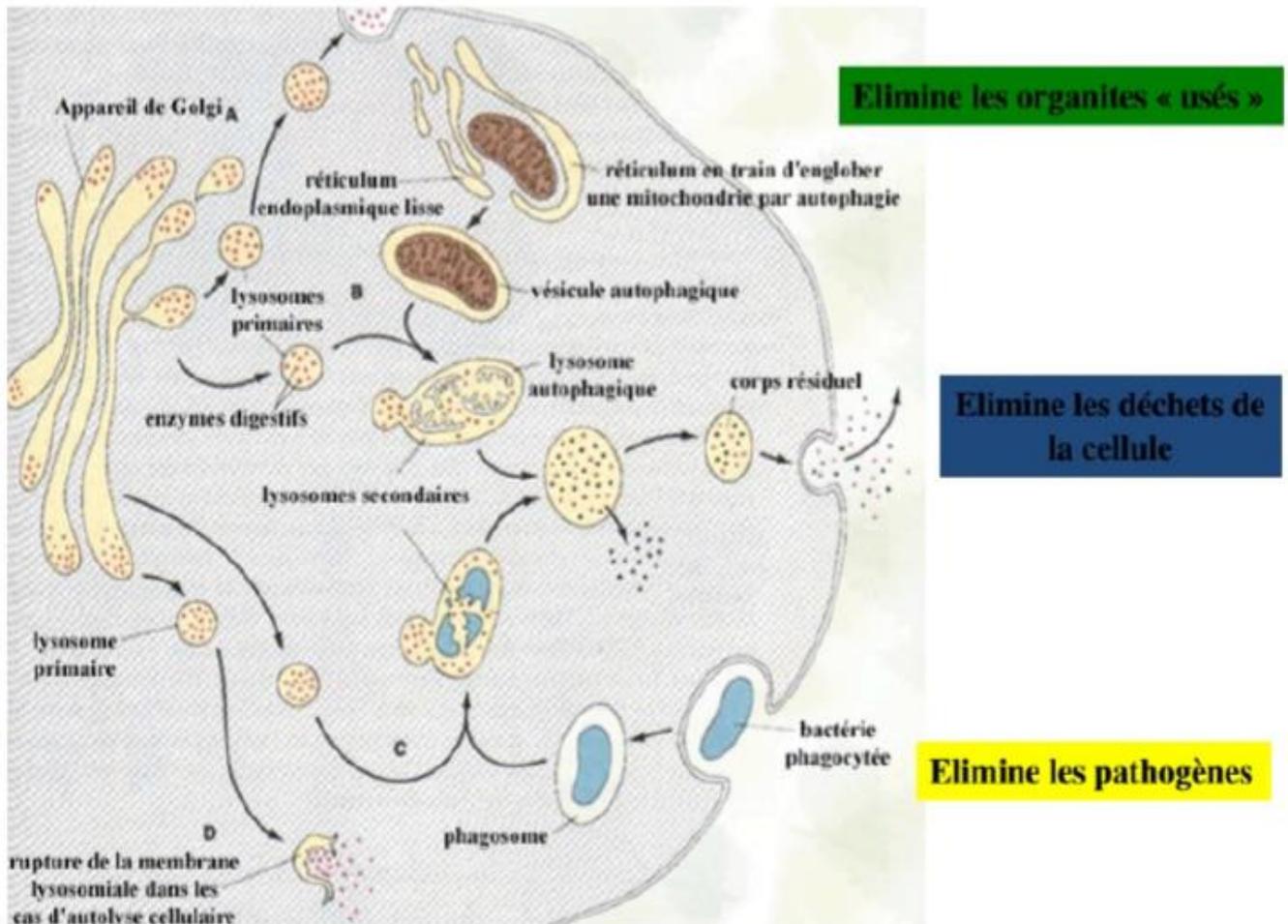


Figure III. 33. Voies de dégradation [39].

H. Le noyau et échanges avec le cytosquelette

I. Le noyau

I.1. Définition

Le noyau est l'organe le plus volumineux de la cellule (environ 10%), il est facilement observable au microscope optique. Le noyau est un compartiment cellulaire n'existant que chez les eucaryotes, présent dans toutes les cellules, à l'exception des hématies, des kératinocytes des couches superficielle de l'épiderme et des thrombocytes : il contient l'ADN sous la forme

des chromosomes, un nucléole, un nucléoplasme et une matrice nucléaire. Il est le siège de la réplication de l'ADN, de la transcription de l'ADN en ARN et de la maturation de l'ARNm. Le noyau disparaît temporairement pendant le processus de division cellulaire pour se reconstituer dans les cellules filles.

I.2. Fonction

Le noyau contient non seulement l'essentiel de l'ADN cellulaire, mais il est aussi le siège de transformations continues particulièrement pour les ARN synthétisés. C'est un organe cellulaire qui a pour fonction :

- Stocker le génome nucléaire et de protéger l'information génétique ;
- Stocker la machinerie nécessaire à la replication des chromosomes et à l'expression de l'information contenue dans les gènes.

I.3. Structure du noyau

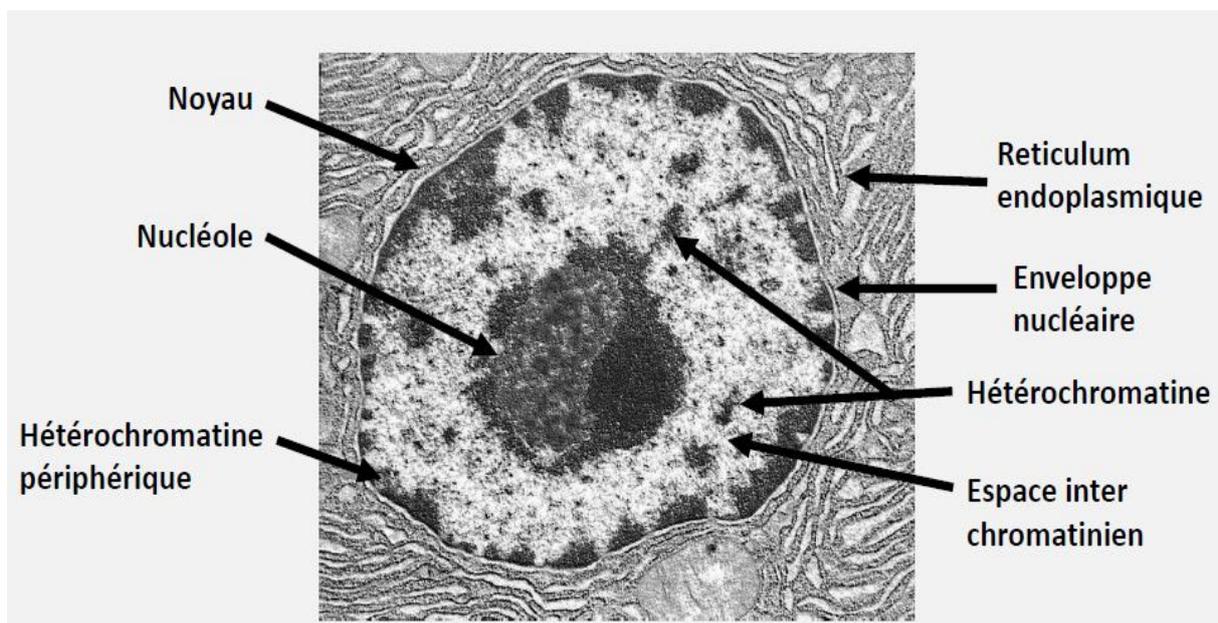
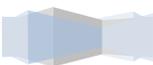


Figure III. 34. Structure de noyau [40].

I.3.1. Nucleoplasme

C'est une phase liquide contenant des protéines solubles et des sels minéraux. Le nucléoplasme contient également des **nucléotides** dissouts et une quantité non négligeable de Mg^{2+} et Ca^{2+} .



I.3.2. ADN

L'ADN est associé à des protéines basiques ; Histones qui jouent un rôle important de structure, permet la compaction de l'ADN et Non-Histones.

I.3.3. ARN

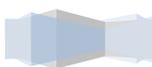
On le trouve sous forme d'ARN ribosomal ; en quantité importante au niveau du nucléole ; associés à des protéines. Aussi sous forme ARN pré-messager.

I.3.4. Le nucléole

Zone de transcription des gènes des ARN ribosomaux (ARNr). C'est une structure plus ou moins sphérique située dans le noyau, non délimitée par une membrane. En nombre défini pour chaque type cellulaire, généralement 1 ou 2 nucléole(s) par noyau ou plusieurs (ex, ovocytes en croissance) ; il peut être absent (ex. spermatozoïde). Il disparaît à la prophase et se reforme à la télophase, pour persister durant toute l'interphase.

I.3.5. L'enveloppe nucléaire

C'est une barrière entre les compartiments nucléaire et cytoplasmique douée d'une perméabilité sélective. L'enveloppe nucléaire est une portion spécialisée du réticulum endoplasmique. Elle est formée de deux membranes de 6nm d'épaisseur chacune à structure trilamellaire, asymétrique et en mosaïque fluide. Elles sont séparées par une cavité ou espace périnucléaire, de 10 à 30nm d'épaisseur qui est en continuité avec la cavité du réticulum endoplasmique. La membrane nucléaire externe porte des ribosomes sur sa face cytosolique et la membrane nucléaire interne est associée sur sa face nucléoplasmique à une fine couche dense aux électrons dite lamina densa, cette dernière correspond à un réseau de filaments intermédiaires constitués de lamines. Elle permet un support structural rigide à l'enveloppe nucléaire et sert à la fixation de la chromatine à la périphérie du noyau.



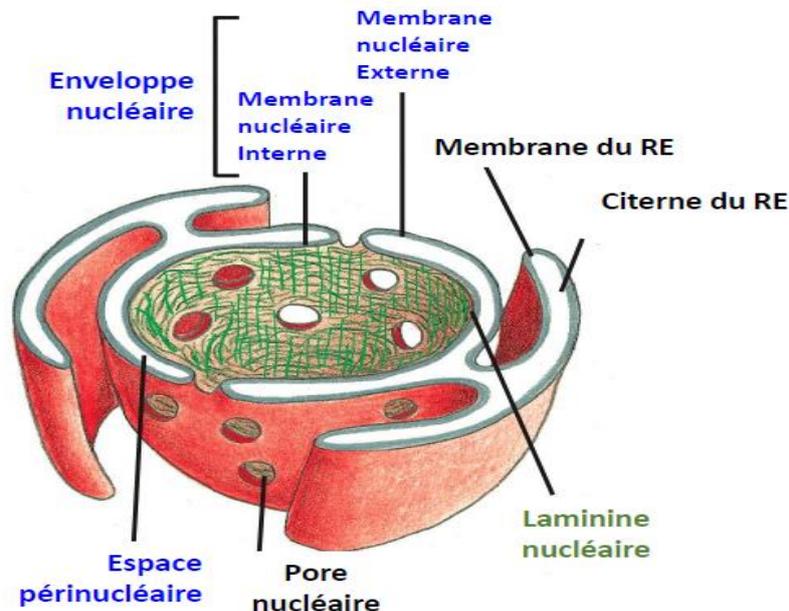


Figure III. 35. Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire [40].

- **Pore Nucléaire**

L'enveloppe nucléaire est une barrière sélective au niveau de laquelle se trouvent des zones d'interruption, les pores nucléaires. Leur nombre est variable selon le type mais surtout selon l'activité physiologique des cellules. Ils constituent une structure complexe, dite complexe du pore nucléaire (CPN).

Le CPN 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. Chacun des deux anneaux est formé d'un assemblage de huit bras radiaux qui font saillie dans l'orifice central, délimitant ainsi huit canaux latéraux. Un troisième petit anneau est situé dans le nucléoplasme. Il semble qu'il existe une interconnexion très stable entre les CPN et la lamina densa, qui leur sert d'ancrage.

Le transport passif de molécules solubles s'effectue au niveau des canaux latéraux et le transport actif de molécules plus grosses se fait par le canal ou transporteur central. L'enveloppe nucléaire permet aussi l'importation et l'exportation de molécules diverses à travers les CPN et les doubles membranes. Elle assure ainsi le contrôle et la régulation des échanges entre le cytosol et le nucléoplasme.



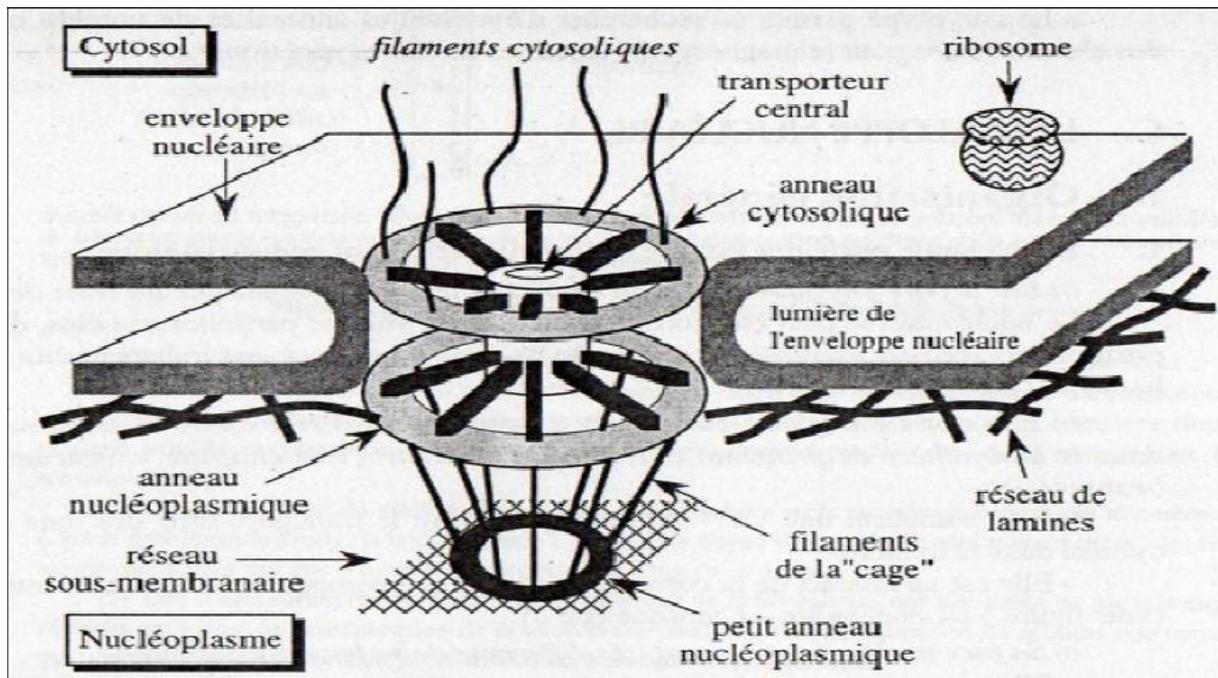


Figure III. 36. Le complexe du pore nucléaire [41].

II. Liens entre le cytosquelette et le noyau

Les principaux rôles physiologiques du cytosquelette : maintien de l'intégrité cellulaire, migration, transport moléculaire - expliquent bien ses fortes inter-actions avec la membrane cellulaire. Il semble en revanche surprenant dans ce contexte que le cytosquelette soit également intimement relié au noyau cellulaire. Le noyau est physiquement connecté au cytosquelette, une caractéristique fondamentale pour la transmission des forces mécaniques requises pour de multiples fonctions nucléaires et chromosomiques. Une connexion stable entre le noyau et le cytosquelette est requise pour une grande variété de processus physiologiques, tels que la migration cellulaire ou le positionnement du noyau.

Dans le nucléoplasme se trouve le réseau de Lamine, filament intermédiaire, sous-jacent à la membrane nucléaire. Ancrés à la membrane, on retrouve les pores nucléaires et les protéines du complexe LINC : protéines SUN et Nesprines. Dans le cytoplasme, les Nesprines relient, directement ou indirectement, les filaments des 3 cytosquelettes. La Nesprine1/2 « géante » relie le cytosquelette d'actine, la Nesprine4 possède un domaine de liaison à la kinésine ce qui permet la liaison avec les microtubules et la Nesprine3 se lie aux filaments intermédiaires via la plectine.

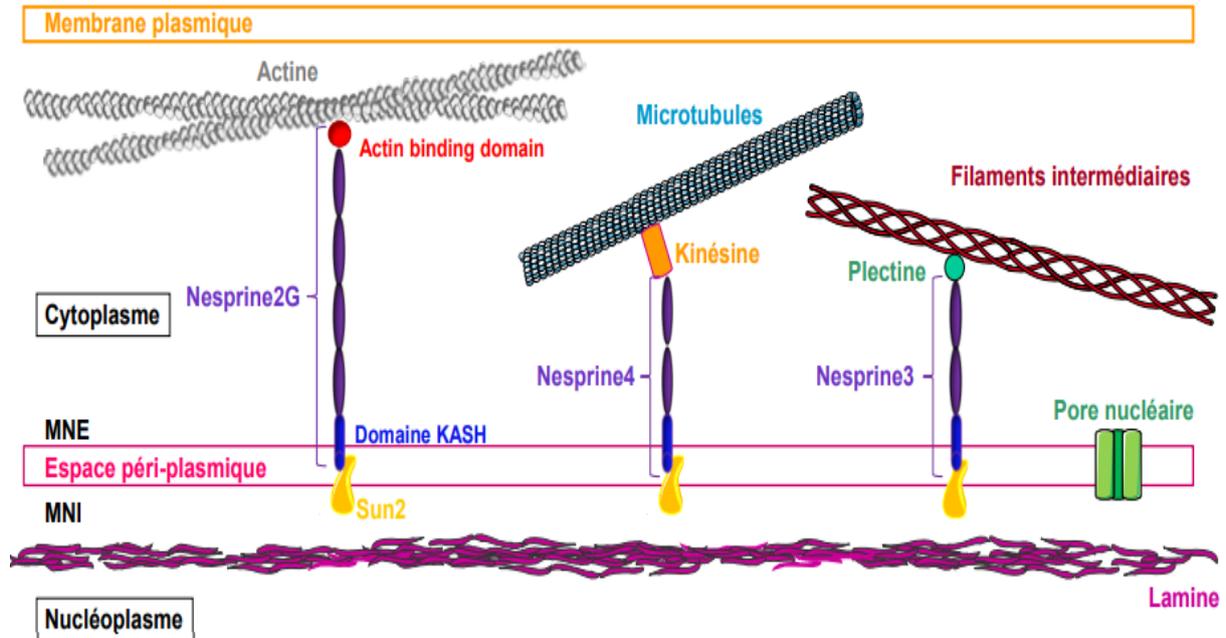


Figure III.37. Représentation schématique de l'enveloppe nucléaire et des constituants du complexe LINC [42].

II.1. Composition et variétés des complexes LINC et leur liaison aux cytosquelettes

Les complexes LINC sont composés d'une multitude de protéines dont la fonction peut être redondante et ces complexes sont liés aux trois protéines de cytosquelette, eux-mêmes interconnectés. Le tableau III.2 suivant présente uniquement les trois composants majeurs : les Lamines, les Nesprines et les protéines SUN.

Tableau III.2. Résumé des complexes LINC possibles et leurs composants [42].

Le noyau est relié au cytosquelette par le complexe LINC. De façon simplifiée, les protéines Lamine, SUN et Nesprine relient le noyau aux cytosquelettes. La liaison à l'actine est directe mais nécessite des protéines supplémentaires pour l'interaction avec les microtubules ou filaments intermédiaires.



| Nucléoplasme | Espace Périnucléaire | | Cytoplasme | | Fonction |
|--------------|----------------------|--------------------|--|---------------|--|
| | SUN | Nesprine | intermédiaire | cytosquelette | |
| Lamin A/C-B1 | SUN1/2 | Nesprine1/2 | pas nécessaire | Actine | - ancrage du noyau - mécanotransduction |
| Lamin A/C-B1 | SUN1/2 | Nesprine3 α | pectine | kératines | couplage noyaux- filaments intermédiaires (lors de dépolymérisation de l'actine) |
| Lamin A/C-B1 | SUN1/2 | Nesprine4 | Kinésine1 | microtubules | polarité épithéliale |
| Lamin A/C-B1 | SUN1/2 | Nesprine1/2 | dynéine/ dynactine ou kinésine1 | microtubules | migration neuronale |

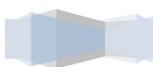
II.2. Les Lamines

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 lame 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.

Chez les mammifères, deux types de Lamines sont exprimés : les Lamines de type A codées par le gène LMNA, produisant principalement les protéines Lamine A et C, et celles de type B codées par les gènes LMNB1 et LMNB2 et produisant les Lamines B1 et B2, respectivement.

II.3. 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 (Klarish/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. Les plus décrits sont les Nesprines 1 et 2 qui possèdent un domaine de liaison à l'actine, la Nesprine3 se liant aux filaments intermédiaires via la plectine et la Nesprine 4 qui interagit avec les microtubules via la kinésine.



II.4. Les protéines SUN

Les protéines SUN sont situées dans l'espace périnucléaire et traversent la membrane interne pour interagir avec la Lamine. 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.



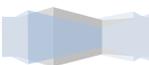
CHAPITRE IV. LA GLYCOSYLATION DES MACROMOLECULES ET ROLE BIOLOGIQUE

La glycosylation est le phénomène qui consiste à greffer des groupements glucidiques, ou encore 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 rend compte de la complexité des structures glycaniques et de leur étude.

Toutes les cellules en possèdent des sucres à la surface qu'on trouve sur les lipides et sur les protéines, dont l'appellation est : glycolipides ou glycoprotéines. Un glycolipide ne présente qu'une seule chaîne oligosaccharidique, par contre une glycoprotéine présente plusieurs chaînes oligosaccharidiques variables. Dans la nature, on trouve plus de 100 molécules différentes de glucides, mais leur présence au niveau membranaire 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 N-acétyl- neuraminique acid (sialic acid).

A. Les glycoprotéines : type de liaison et intérêt de la glycosylation

Les glycoprotéines sont des chaînes sucrées liées aux protéines, ils forment la plus grande partie de la masse des glucides membranaires. La glycosylation des protéines correspond à un ajout d'oligosaccharides (polymères constitués d'un petit nombre de glucides simples ou oses) au cours de la biosynthèse de certaines protéines membranaires ou sécrétées, qui, de fait, deviennent des glycoprotéines. Cet ajout se fait par voie enzymatique et en plusieurs étapes dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi des cellules Eucaryotes. Elle participe à la maturation de ces protéines et peut avoir un rôle décisif dans leur fonction. La glycosylation concerne plus de 50 % des protéines animales. Les glycoprotéines sont réparties dans les différents compartiments cellulaires (cytoplasme, noyau, lysosomes, RE, Golgi ou encore mitochondries), la plupart étant sécrétée ou associée à la membrane plasmique. Parmi les glycoprotéines, on distingue plusieurs grands groupes selon le type d'ancrage ou encore la proportion de glucides. Sur la base de la liaison entre la protéine et le glycanne on distingue deux grands types de glycosylation :



- La N-glycosylation : c'est l'addition d'un oligoside « N-acétyl-glucosamine » à une acide aminée asparagine (Asn) disponible.
- La O-glycosylation : c'est l'addition de glucides au niveau des résidus -OH des acides aminés sérine et thréonine des chaînes peptidiques selon l'acide aminé utilisé.

I. La N-glycosylation

La N-glycosylation s'effectue en deux étapes. Dans un premier temps, une chaîne ramifiée de quelques oses est ajoutée cotraductionnellement sur la protéine à modifier, via l'établissement d'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.

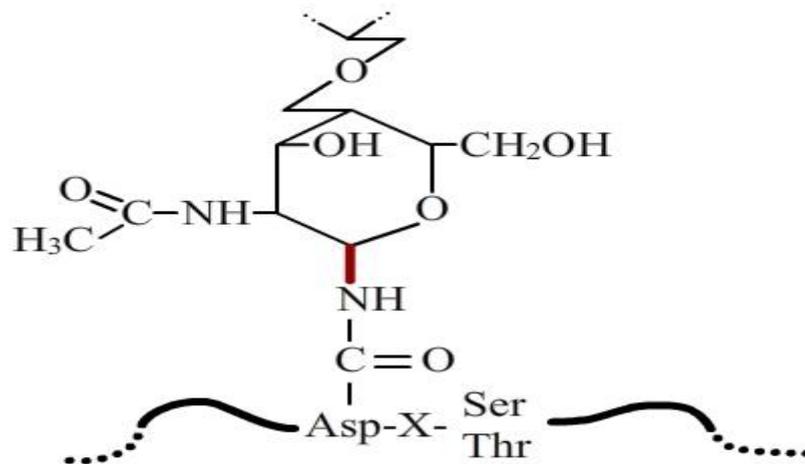


Figure IV.1. Liaison N-glycosidique [43].

La liaison entre la protéine et l'arbre glucidique se fait entre la chaîne latérale d'un résidu asparagine et une N-acétylglucosamine (en rouge).

La réaction établissant cette liaison covalente est contrôlée par une enzyme, une glycosyltransférase, qui est localisée dans la lumière du RE. En effet, l'arbre glucidique est initialement porté par un dolichol, un lipide spécifiquement présent à la face interne de la membrane du RE. Il est alors transféré par la glycosyltransférase sur la chaîne polypeptidique en cours de synthèse. La chaîne glucidique initialement greffée est composée de 14 oses au total. Cet arbre glucidique initial est ensuite remanié lors du passage de la protéine par l'appareil de Golgi. Les modifications se font séquentiellement dans les compartiments successifs de l'appareil de Golgi (cis, médian, trans, et enfin réseau trans-golgien).

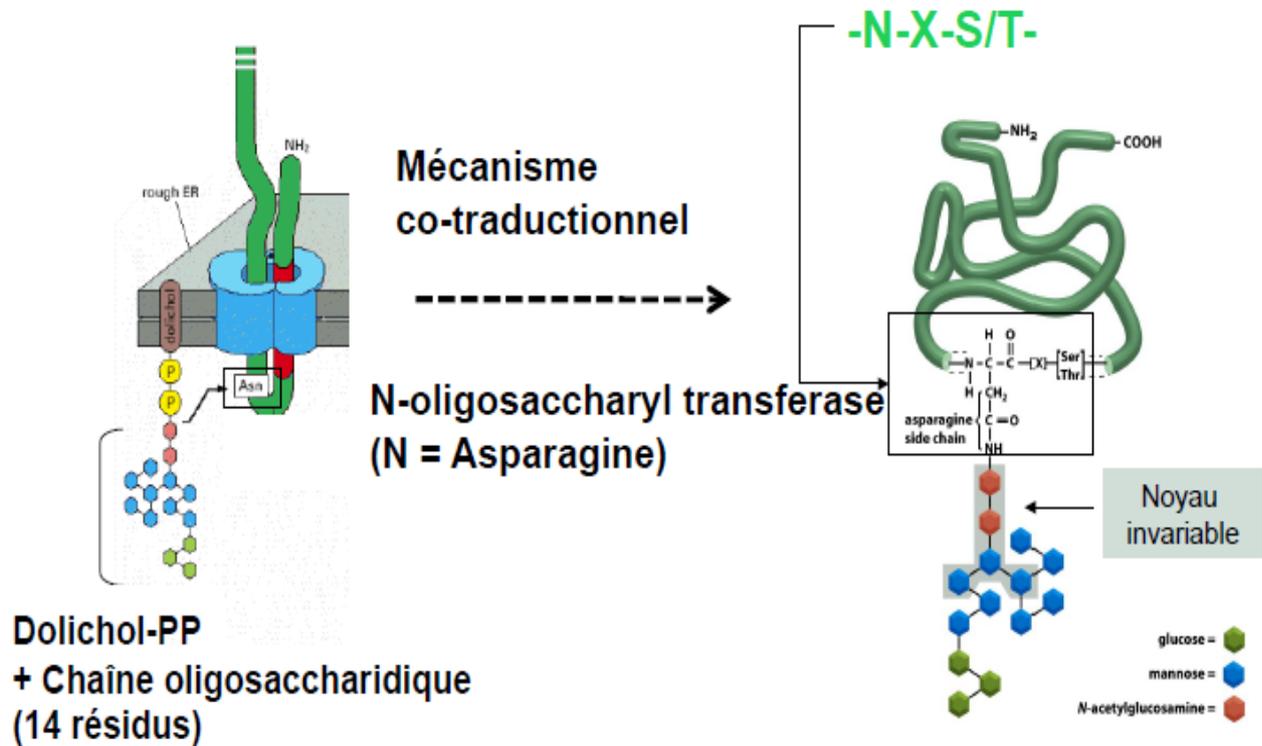


Figure IV.2. La N-glycosylation des protéines [44].

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. Ces signaux, s'ils sont nécessaires, ne sont cependant pas suffisants et ne déterminent que des sites potentiels de N-glycosylation. D'autres facteurs entrent en jeu pour la glycosylation effective de ces sites, comme la structure de la protéine elle-même ou le type cellulaire dans lequel elle est synthétisée.

II. La O-glycosylation

La O-glycosylation correspond également à l'ajout d'un oligosaccharide sur une protéine, mais via l'établissement d'une liaison entre une N-acétylgalactosamine et le groupement hydroxyl (-OH) de la chaîne latérale d'une acide aminée sérine ou thréonine. Il existe cependant un cas particulier, celui du collagène, où le sucre impliqué dans la liaison est un galactose et l'acide aminé une hydroxylysine.



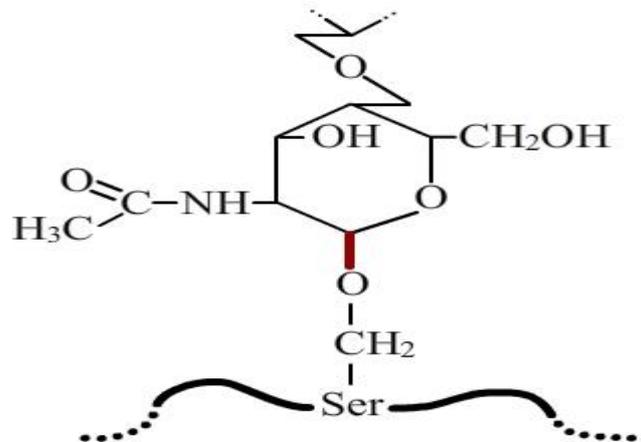


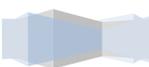
Figure IV.3. Liaison O-glycosidique [43].

La liaison entre la protéine et l'arbre glucidique se fait entre la chaîne latérale d'un résidu serine ou thréonine et une N-acétylgalactosamine (en rouge).

Cette addition se déroule dans l'appareil de Golgi, donc post-traductionnellement, durant la phase de maturation de ces glycoprotéines. Une fois encore, le mécanisme est contrôlé par voie enzymatique. En revanche, l'addition des résidus se fait séquentiellement un à un (s'il y en a plusieurs évidemment), à partir d'oses activés par leur liaison avec un nucléotide, et non à partir d'un précurseur oligosaccharidique. Au final, les chaînes glucidiques de la O-glycosylation sont beaucoup plus courtes que dans le cas de la N-glycosylation, avec le plus souvent 1, 2 voire 3 résidus osidiques seulement. Pour autant les chaînes obtenues sont beaucoup plus variées que dans le cas de la N-glycosylation.

III. Intérêts de la glycosylation

- 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.
- Les glycoprotéines membranaires et les glycolipides constituent des signaux de reconnaissance permettant des interactions intercellulaires.
- Activité biologique « interactions ligand-récepteur » modulation de la fonction de la protéine telles que les hormones, enzymes, immunoglobulines et facteurs de croissance, ...etc.
- La partie glycosylée de la glycoprotéine joue un rôle dans le contrôle de qualité du repliement des protéines.



- Les substituants glycosidiques des glycoprotéines sont d'importants sites d'adressage des protéines au compartiment cellulaire adéquat.
- 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 participe à la cohésion cellulaire et à la protection de la cellule contre les chocs physiques et contre l'attaque de microorganismes.
- Les principaux glycolipides, chez les animaux supérieurs, sont les cérébrosides et les gangliosides qui semblent jouer un rôle dans les processus de neurotransmission, dans l'immunité tissulaire et dans les mécanismes de reconnaissance moléculaire entre cellules.

IV. Étude moléculaire de quelques glycoprotéines

IV.1. les glycoprotéines des groupes sanguins

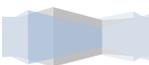
On trouve à la surface des globules rouges (ou érythrocytes) des molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immunitaire. Ce sont les antigènes membranaires érythrocytaires. Leur nature chimique est variable protéine et glycoprotéine ou glycolipide.

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 groupes sanguins ABO résultent d'une glycosylation effectuée avec les mêmes enzymes que pour l'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. En effet, la spécificité des antigènes membranaires des globules rouges, ou hématies, dépend de la nature des oligosaccharides constitutifs.

- Fucose et galactosamine spécifique des antigènes du groupe A.
- Fucose et galactose spécifiques des antigènes du groupe B.

Ces antigènes sont des chaînes oligosaccharidiques liés covalamment à des glycolipides ou des glycoprotéines dans la membrane plasmique. Les sucres terminaux des oligosaccharides



distinguent les trois antigènes. La présence ou l'absence des glycosyltransférases qui ajoutent du galactose (Gal) ou de la N-acétylgalactosamine (GalNAc) à l'antigène O déterminent le groupe sanguin d'une personne.



Figure IV. 4. Antigènes du groupe sanguine A et B [45].

IV.2. 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 de 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.



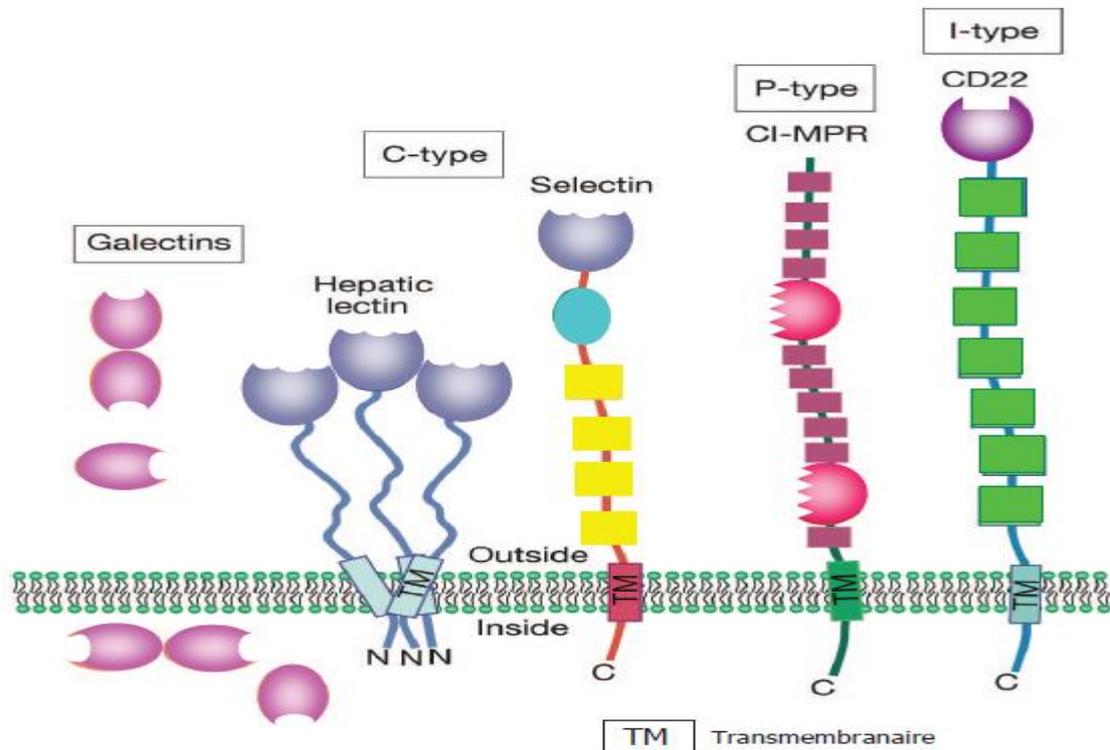


Figure IV.5. Les principales classes de lectines, basée sur la structure des protéines [46].

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.

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.

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.

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.

B. Les glycolipides : les glycérolipides, les glycosphingolipides

I. Définition des glycolipides

Les motifs oligosaccharidiques peuvent également être retrouvés sur les lipides pour former les glycolipides. Les glycolipides résultent de la liaison d'un simple hexose ou d'un oligosaccharide

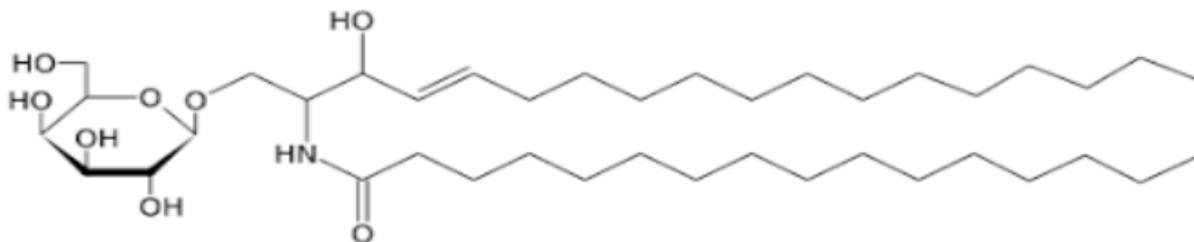
à une fonction hydroxyle appartenant soit au glycérol d'un diglycéride (glycéroglycolipide) soit à la sphingosine d'une céramide (sphingolipide). Les glycéroglycolipides appartiennent au règne végétal. Tandis que les glycosphingolipides sont rencontrés dans les membranes plasmiques des cellules animales

II. Classification

Les glycolipides se divisent en deux familles distinctes selon la nature de la base lipidique :

II.1. Les glycosphingolipides neutres

Ce sont des sphingolipides comprenant à leur extrémité polaire un ou plusieurs résidus osidiques, ils ne sont donc pas chargés. Les plus simples sont les cérébrosides ; leur groupement polaire est un ose lié par une liaison β -osidique à l'hydroxyle libre du céramide.

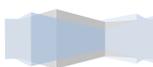


Cérébroside

- **Cérébrogalactosides ou Galactosylcéramides:** Ils sont constitués de Sphingosine + AG + β D Galactose.
- **Les Cérébroglucides ou Glucosylcéramides:** Ils sont constitués de : Sphingosine + AG + β D Glucose

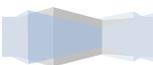
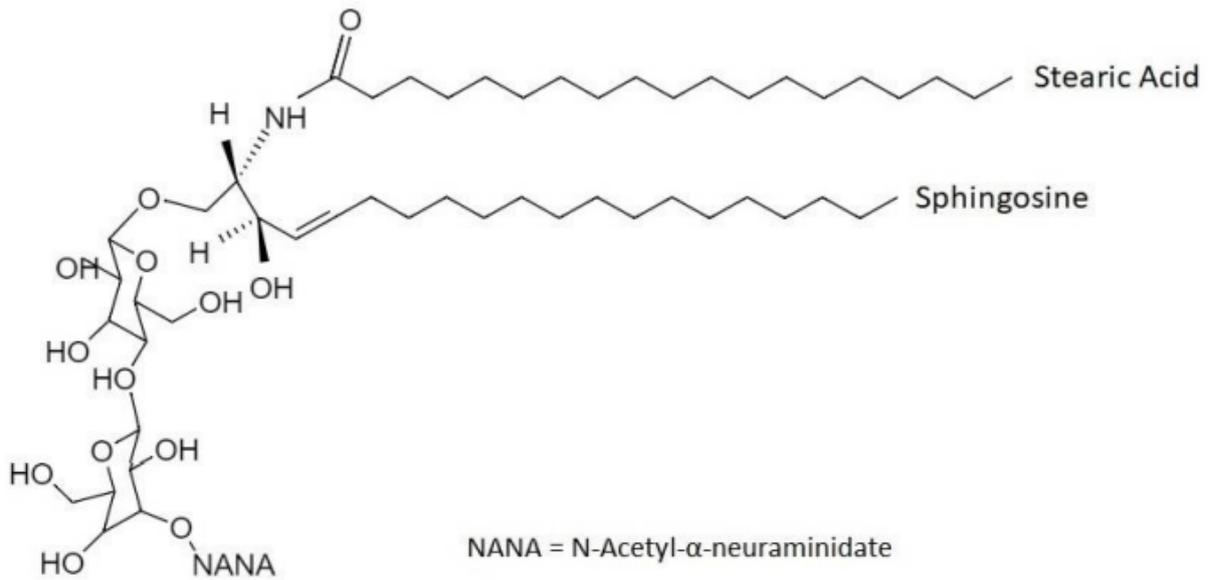
II.2. Les glycosphingolipides acides (gangliosides)

Les Glycosphingolipides le plus complexe ; ce sont les gangliosides. Leur extrémité osidique comprend un acide sialique qui leur donne une charge nette négative à pH 7.0. L'acide N-acétylneuraminique est l'acide sialique habituel des gangliosides humains. 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.

GM3 Ganglioside



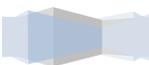
CHAPITRE V. TRANSDUCTION DU SIGNAL ET REGULATION DE LA FONCTION CELLULAIRE

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.

La signalisation cellulaire représente le système de communication des cellules des organismes multicellulaires. Elle repose en partie sur la sécrétion de signaux chimiques (ligand) pouvant être des hormones, des neurotransmetteurs, des facteurs de croissance...etc. Selon le type de signal, les conséquences au niveau cellulaire seront : survie, prolifération et/ou différenciation cellulaire. L'absence de signaux conduit à la mort cellulaire. La communication est donc assurée par de nombreuses molécules informatives.

Les modes de communication cellulaires peuvent être classés en fonction de la distance qui sépare la cellule émettrice du signal de la cellule cible. On trouve quatre types :

- **Signalisation endocrine** : Sécrétion par une cellule endocrine dans le courant sanguin (grande dispersion). Action sur une cellule cible à grande distance possédant un récepteur spécifique. Exemple de médiateurs : Hormones (polypeptidique ou stéroïde).
- **Signalisation paracrine** : Le signal est libéré dans la matrice extracellulaire et agit sur les cellules voisines. Elle concerne les médiateurs locaux tels que les facteurs de croissance et les médiateurs de l'inflammation.
- **Signalisation autocrine** : la cellule répond au signal qu'elle a elle-même sécrété. Exemple de médiateurs : les facteurs de croissance et les cytokines.
- **Synaptique chimique** : pas de dispersion du signal et l'action est très rapide. Le signal est libéré par la cellule présynaptique et agit seulement sur la cellule post-synaptique d'une jonction spécialisée voisine. Elle concerne les neurotransmetteurs (acétylcholine, glutamate, noradrénaline, ...etc).



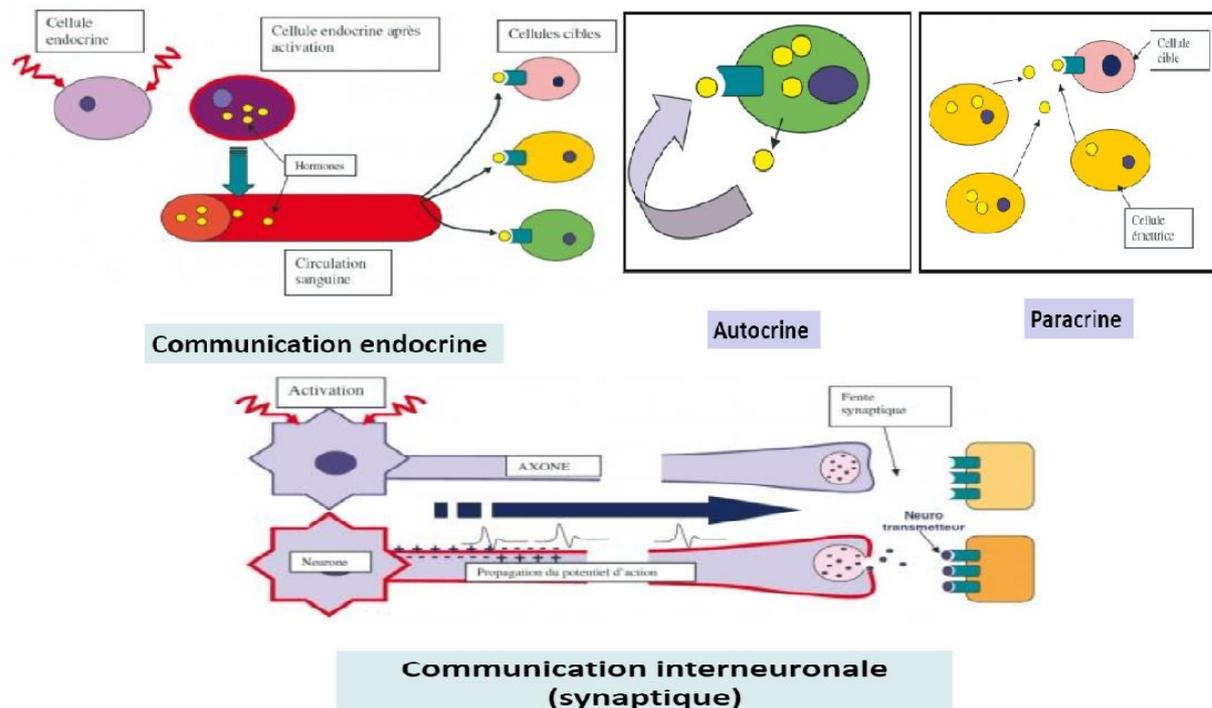


Figure V.1. Les différents modes de signalisation cellulaire [47].

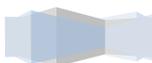
V. Récepteurs et ligands

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.

I.1. Les récepteurs

Ce sont des macromolécules qui existent en nombre limité dans quelques cellules dites cellules cibles, capables de reconnaître spécifiquement une molécule et d'induire à la suite de cette interaction une réponse. Ils possèdent plusieurs caractéristiques :

- Ils sont spécifiques : ils fixent un type de ligand donné. Mais peuvent accepter différents ligands en cas de structure presque identique. La spécificité n'est pas absolue.
- Ils ont une certaine affinité pour leur ligand : ils fixent leur ligand à faible (voire très faible) concentration, c'est la sensibilité.



- Ils sont saturables : le nombre de molécule de récepteur dans une cellule est fini, le nombre de ligand pouvant s'y fixer est donc également limité.
- Ils sont réversibles : la liaison entre le ligand et le récepteur est non covalente donc c'est une faible énergie qui les lie, le complexe peut alors se dissocier lorsque la concentration du ligand diminue. Leur association est donc réversible.
- Il faut qu'il y ait un système de couplage ligand-récepteur pour que ce qui se passe au niveau plasmique soit relayé dans la cellule par des protéines spécifiques.

Il y a deux grandes classes de récepteurs selon leur localisation :

- Les récepteurs nucléaires
- Les récepteurs membranaires :
 - Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) ;
 - Récepteurs canaux ioniques ;
 - Récepteurs enzymes.

I.1.1. Récepteurs nucléaires

Ces récepteurs sont des protéines monocaténares (formées d'une seule chaîne peptidique). Ils comportent 5 domaines fonctionnels :

- A/B : peu conservé (de faible homologie d'un récepteur à l'autre), c'est le domaine d'activation de la transcription. Il est situé en N-Term (5').
- C : bien conservé, c'est le domaine de liaison à l'ADN (= DLA, liaison de faible énergie). Il est également impliqué dans la dimérisation du récepteur (ex : récepteurs stéroïdiens).
- D : c'est un domaine de jonction entre les autres domaines et qui porte une séquence d'adressage au noyau (séquence peptidique spécifique) lorsqu'il s'agit d'un récepteur cytosolique qui transloque dans le noyau.
- E : c'est le domaine de liaison au ligand (= DLL), il est également impliqué dans la dimérisation pour certains types de récepteurs. Il peut également agir avec des co-régulateurs : co-répresseurs ou co-activateurs.
- F : c'est le domaine C-Term (3'). Il est variable.



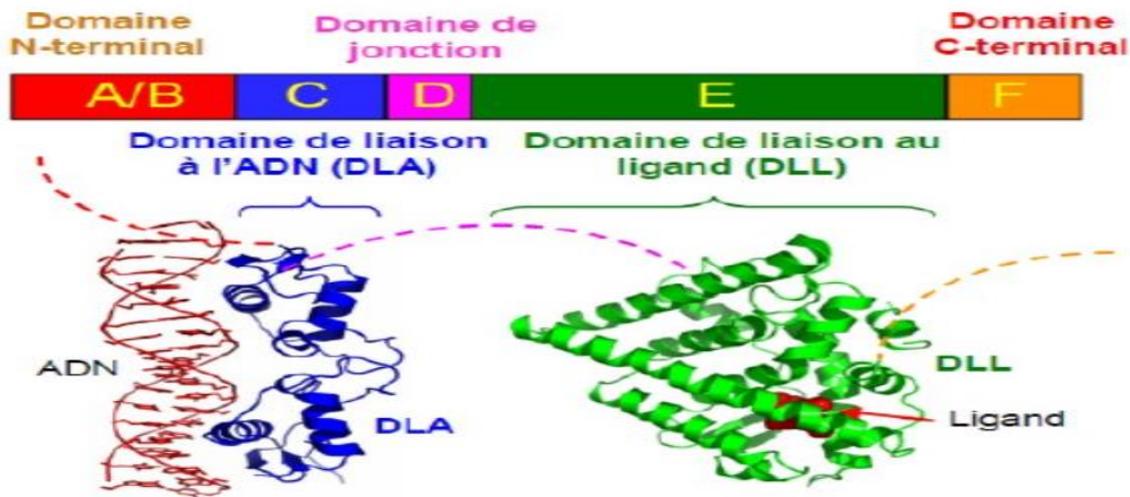


Figure V.2. Représentation schématique d'un récepteur nucléaire [48].

I.1.2. Récepteurs membranaires

Protéines membranaires glycosylées à 3 grands domaines :

- **Extracellulaire** (site de reconnaissance et fixation spécifique du ligand) ;
- **Transmembranaire** ;
- **Intracellulaire** (domaine fonctionnel du récepteur associé à la transduction du signal).

a. Récepteurs canaux ioniques

Les récepteurs canaux sont des perméases qui forment des pores aqueux au travers la bicouche lipidique de la membrane plasmique. Ils réalisent le transport passif des ions selon leur gradient électrochimique, à des vitesses au moins 100 fois supérieure à celle d'un transport actif avec perméase. Les canaux ioniques s'ouvrent rapidement et de façon transitoire suite à des perturbations spécifiques de la membrane plasmique tel que :

- Une variation de potentiel de la membrane ;
- La liaison d'un neurotransmetteur.

Exemple : Récepteurs de l'acétylcholine

Le récepteur muscarinique musculaire de l'acétylcholine est un récepteur canal ligand dépendant c'est-à-dire dont le fonctionnement est régulé par la fixation d'un neurotransmetteur. Ce récepteur est une protéine allostérique pentamérie de 300 kDa formés de deux 2 sous unités α portant le site de fixation du ligand et de trois sous unités β , ϵ et δ ou γ , ces 5 sous unités



délimitent le canal ionique. Chaque sou unité est formé de 4 domaines transmembranaires de M1 à M4 dont M2 porte le canal ionique.

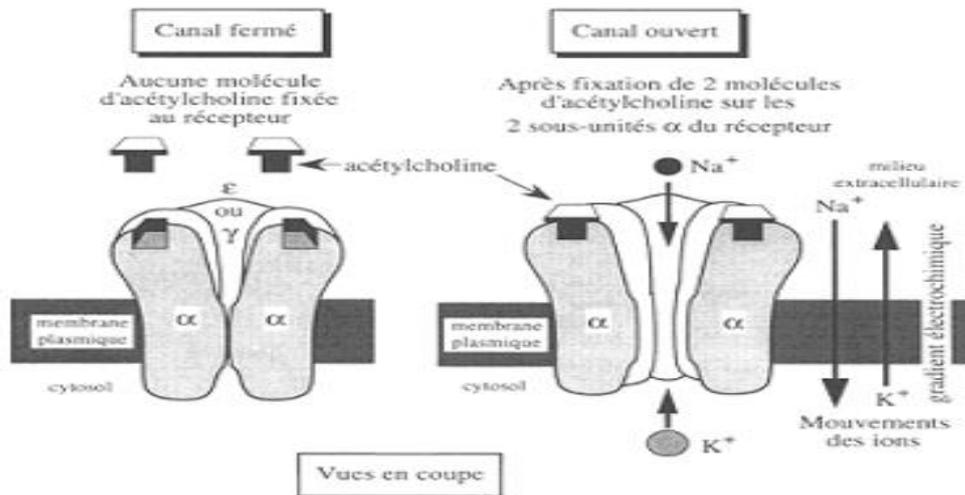


Figure V.3. Principe de fonctionnement d'un récepteur canal ionique (Exemple : récepteur nicotinique à l'acétylcholine) [49].

b. Récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPG)

Ils représentent la plus grande famille de récepteurs membranaires. Ils interviennent dans la reconnaissance des hormones, des neurotransmetteurs et de la perception sensorielle. La taille de ces protéines est très variable (de 200 à 1 500 acides aminés).

Le récepteur est constitué d'une seule chaîne polypeptidique avec un domaine N-Terminal glycosylé en extracellulaire, un domaine médian de 7 hélices α transmembranaires hydrophobes liées entre elles par de courtes boucles et un domaine C- Terminal intracellulaire qui porte des cycles de phosphorylation.

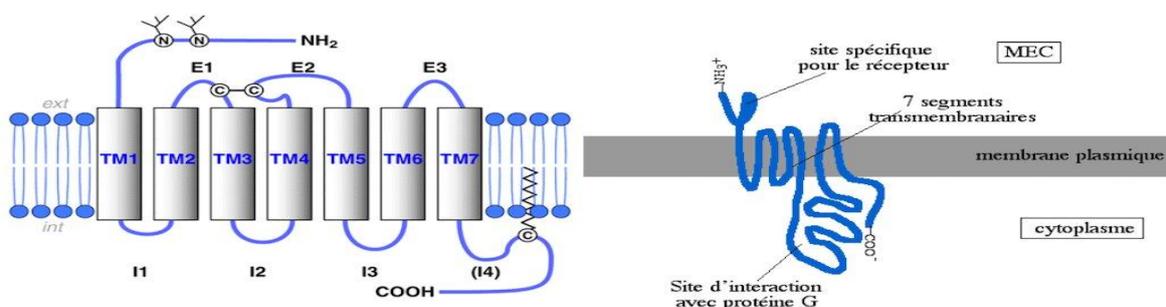


Figure V.4. Structure schématique générale des récepteurs couplés aux protéines G [50].

Ce sont des hétérotrimères $\alpha\beta\gamma$ (β et γ voisines). Elles sont ancrées à la membrane plasmique par différents types de chaînes hydrophobes. Elles se distinguent par la nature de la sous-unité α , il y a donc plusieurs types de protéines G hétérotrimériques. La sous-unité α peut lier le nucléotide guanylique (GTP ou GDP) et possède une activité GTPase car elle peut hydrolyser le GTP en GDP + Pi (Phosphate inorganique). L'ancrage à la MP est assuré par des groupements hydrophobes :

- Groupement myristyl pour la sous-unité α . Il provient d'un AG saturé (acide myristique, 14C) qui est fixé sur le résidu glycine de l'extrémité NH₂ de la protéine par une liaison amide.
- Groupement farnésyl pour la sous-unité γ . Il provient du farnésyle diphosphate (terpène, 15C) qui se fixe sur le S de la cystéine en C-terminal par une liaison thioéther.

La protéine G hétérotrimérique est liée au récepteur au niveau de la zone C-Terminal du récepteur (face cytoplasmique). A l'état non stimulé, la sous-unité α a son GDP lié à la protéine G et l'ensemble est inactif. Lorsqu'elle est stimulée par le récepteur qui est activé la fixation d'un ligand (changement de conformation), elle relargue le GDP et se lie à une molécule de GTP. L'autre complexe qui reste, le complexe $\beta\gamma$, est également activé : il y a dissociation du trimère en un monomère α et un dimère $\beta\gamma$. La sous-unité α peut alors interagir avec des protéines cibles, les effecteurs (enzymes ou canaux ioniques). Ils transmettent ensuite le signal par une autre cascade de signalisation. Une fois que le signal est transmis, l'activité catalytique de la sous-unité α entre en jeu : le GTP est hydrolysé et les trois sous-unités se rassemblent pour former à nouveau un complexe trimérique inactif. Il y a un recyclage de la protéine G.



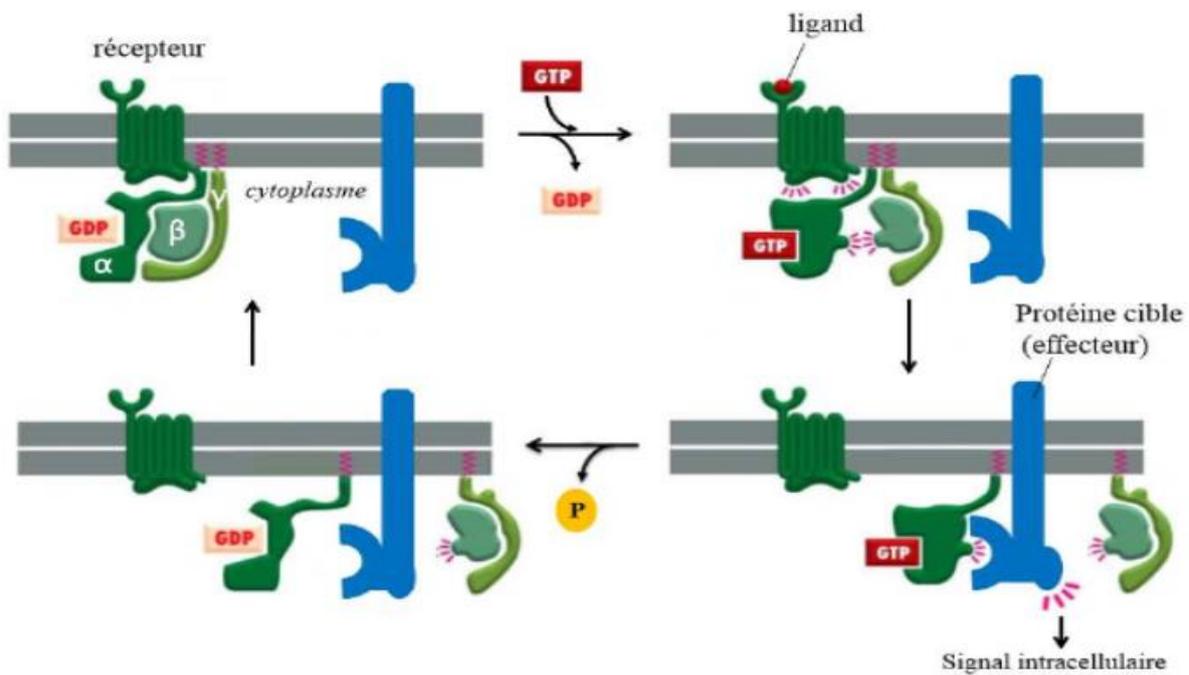


Figure V.5. Cycle d'activation/désactivation de récepteurs membranaires couplés aux protéines G [48].

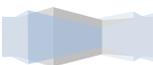
c. Récepteurs enzymes

Ils possèdent :

- 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.

Leurs caractéristiques :

- Ils sont inactifs à l'état de monomère et agissent pour la plupart sous forme de dimère ;
- Il existe plusieurs classes de récepteurs enzymes.
- Les plus répandus sont les récepteurs à activité tyrosine-kinase.
- Ils jouent un rôle déterminant dans l'action des facteurs de croissance (PDGF : Platelet-Derived Growth Factor, EGF : Epidermal Growth Factor...etc) et de l'insuline.



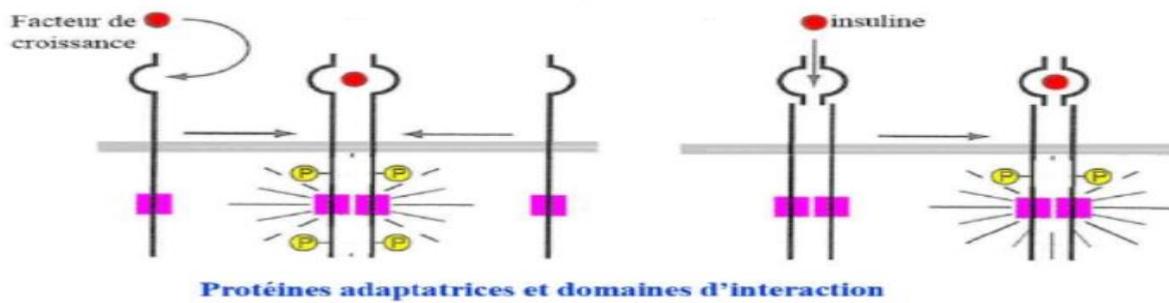


Figure V.6. Activation de récepteur enzyme [48].

VI. Transducteurs et Facteurs de couplage

II.1. Cycle d'activation des protéines G

II.1.1. Les petites protéines G

Les petites protéines G représentent une super-famille de protéines (environ 100 protéines) classées en 5 familles principales : RAS, RAB, RHO, RAN et ARF chacune constituée par des sous-familles. Elles sont 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.

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.

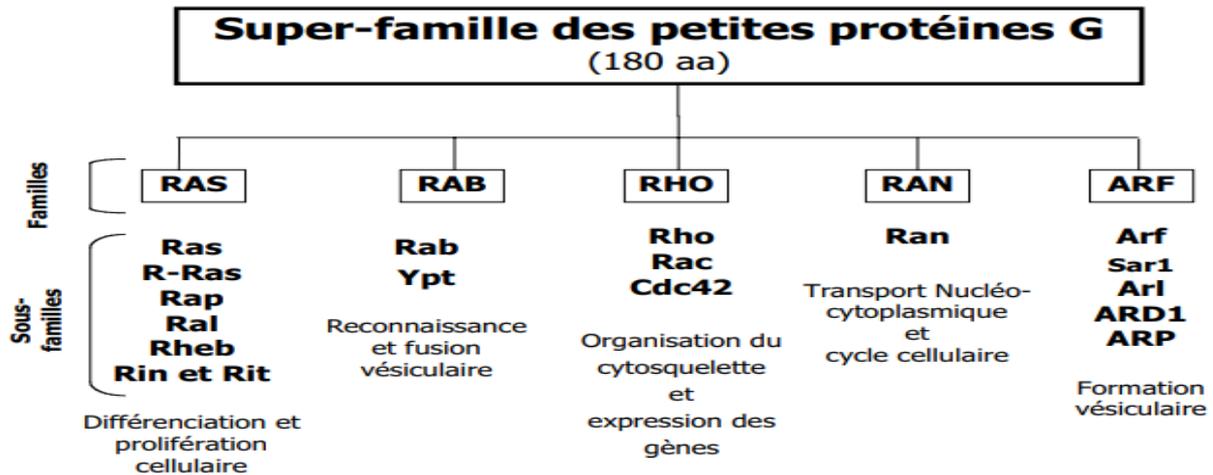


Figure V.7. Arbre de la superfamille des petites protéines G [51].

II.1.2. Activation et inactivation des petites protéines G

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.

L'activité des petites protéines G est contrôlée par le nucléotide qui lui est associé. La forme liant le GDP est inactive et n'induit aucun signal cellulaire. L'échange du GDP contre du GTP active la protéine en induisant des changements de conformation (réarrangements structuraux) qui lui permettent d'interagir avec des effecteurs (partenaires cellulaires de la forme GTP). Les signaux induits par la forme active sont interrompus par l'hydrolyse du GTP en GDP + phosphate inorganique. La petite protéine G est alors désactivée, elle fixe le GDP et relâche le phosphate inorganique. Les petites protéines G possèdent une faible activité d'échange

GDP/GTP intrinsèque et une faible activité GTPasique intrinsèque qui ne leur permettent pas d'être fonctionnelles. C'est pourquoi le cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G est régulé par un facteur d'échange GDP/GTP (GEF, Guanine nucleotide Exchange Factor) qui catalyse l'étape d'activation, et une protéine activatrice de la GTPase (GAP, GTPase Activating Protein) qui catalyse l'étape d'inactivation (figure V.8).

D'autres régulateurs peuvent intervenir au cours du cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G. Les protéines inhibitrices de la dissociation du nucléotide (GDI, Guanine Dissociation Inhibitor) participent à la régulation du cycle GDP/GTP des protéines de la famille RHO et RAB. Elles inhibent la dissociation du GDP et permettent aux protéines RHO et RAB de se dissocier des membranes. De plus, il a été montré que certains effecteurs de petite protéine G pouvaient participer à la régulation du cycle GDP/GTP en augmentant l'activité GTPase de la GAP.

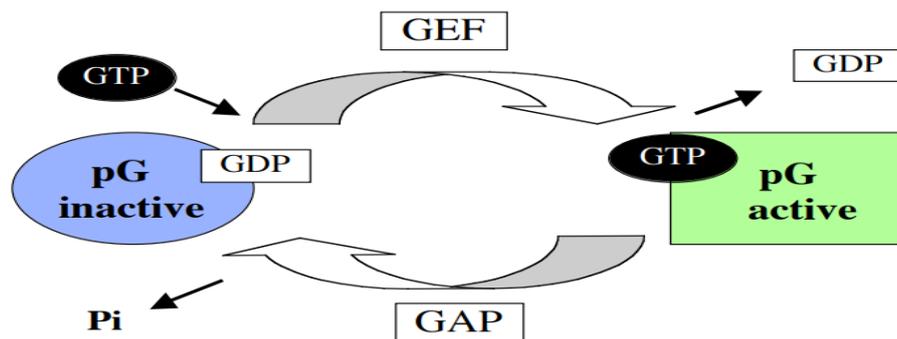
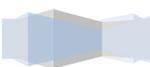


Figure V.8. Cycle moléculaire GDP/GTP des petites protéines G [51].

II.2. Adaptateurs et protéines d'échafaudage (Scaffolds)

II.2.1. Protéine adaptatrice

Une protéine adaptatrice a été initialement définie comme une protéine composée uniquement 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 et l'absence de séquences spécifiques dans des régions désordonnées telles des séquences de ciblage à la membrane. Leur fonction principale consiste à, suite à l'activation d'un récepteur

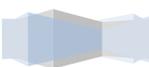


donné, lier et rassembler des effecteurs cytoplasmiques proximaux fondamentalement requis dans la mise en place de la réponse cellulaire au niveau du récepteur activé. La première partie de cette fonction est assurée par leur domaine SH2 spécialisé dans la reconnaissance des tyrosines phosphorylées (pY), par exemple celles présentes sur un récepteur activé. Deuxièmement, grâce à leurs domaines SH3 capables de lier des motifs poly-proline (PxxP) ou proline-arginine (PxxR) présents dans un grand nombre de protéines cytoplasmiques, les protéines adaptatrices permettent le recrutement des effecteurs requis au niveau du récepteur activé. Ainsi, les protéines adaptatrices assurent le couplage entre effecteurs cytoplasmiques et récepteur activé permettant la conversion efficace et régulée d'un signal de phosphorylation issu de l'activation d'un récepteur en signal afférent spécifique.

II.2.2. Les protéines d'échafaudage ou (Scaffolds)

De façon générale, les protéines d'échafaudage servent de plates-formes pour l'assemblage de complexes multiprotéiques en liant simultanément plusieurs protéines, facilitant ainsi la transmission d'un signal. Les protéines d'échafaudage se distinguent des protéines adaptatrices par leur taille plus importante ainsi que par la diversité de domaines pouvant les composer. Celles-ci peuvent présenter ou non une activité catalytique et constituent des plateformes d'assemblage en aval d'un récepteur activé

Les protéines d'échafaudage participent à la formation des complexes mais peuvent également être impliquées dans la spécificité de la signalisation cellulaire en favorisant la transduction du signal au niveau des protéines auxquelles elles peuvent s'associer. De plus, la phosphorylation de ces protéines peut modifier leur affinité pour les protéines associées et ainsi moduler la spécificité, la durée ou l'amplitude du signal.



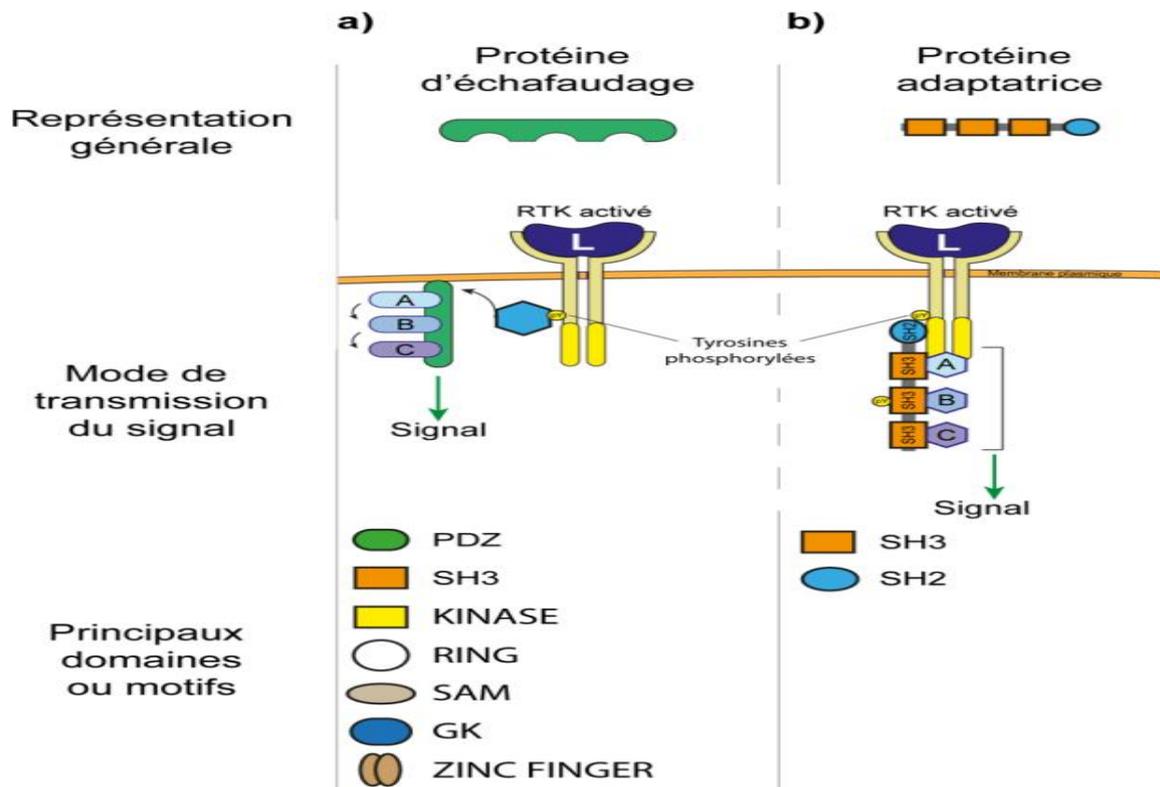


Figure V.9. L'organisation de réseaux de signalisation repose sur deux types de protéines aux propriétés différentes : les protéines adaptatrices, les protéines d'échafaudage [52].

VII. Amplification du signal via les seconds messagers

Les seconds messagers sont des molécules qui relaient les signaux reçus au niveau des récepteurs à la surface des cellules comme l'arrivée d'hormones protéiques, de facteurs de croissance, ...etc. Pour cibler des molécules dans le cytosol et/ou le noyau. Mais en plus de leur fonction de molécules relais, les seconds messagers servent grandement à amplifier la force du signal. La liaison d'un ligand à un récepteur unique à la surface cellulaire peut finir par provoquer des changements massifs dans les activités biochimiques au sein de la cellule. Il existe 3 grandes classes de seconds messagers :

- nucléotides cycliques (par exemple, camp et GMPc) ;
- triphosphate d'inositol (IP₃) et le diacylglycérol (DAG) ;
- ions calcium (Ca²⁺).

Un second messenger a les caractéristiques suivantes :



- C'est une petite molécule diffusible dans la membrane plasmique si elle est hydrophobe et dans le cytosol si elle est hydrophile.
- Il agit comme un ligand intracellulaire, activant le plus souvent des protéines kinases, mais aussi des canaux ioniques ou interagissant avec d'autres protéines.
- Son taux, résultant de sa synthèse et son catabolisme est finement régulé.

III.1. Cascade phospholipases C et D/DAG/IP3/Ca²⁺

Les protéines effectrices activées par une protéine G produisent le plus souvent un second messager. Les protéines effectrices les plus fréquentes sont en nombre de deux, il s'agit en effet de l'adénylate cyclase productrice d'AMPc et la phospholipase C productrice d'IP 3 (inositol triphosphate) et DAG (diacyl glycérol).

Les phospholipases sont des enzymes hydrolysant les liaisons esters des phospholipides. La phospholipase C est l'une d'entre elles. Elle catalyse l'hydrolyse du phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate membranaire (PIP₂), un composant du feuillet interne de la membrane plasmique. L'hydrolyse produit du DAG (DiAcyl Glycérol), qui reste dans la membrane, et d'IP₃ (Inositol Tri Phosphate), petite molécule soluble.

L'IP₃ quitte la membrane pour aller se fixer sur son récepteur, situé sur la membrane du REL. Ce récepteur est un canal Ca²⁺ qui s'ouvre et permet la libération de Ca²⁺ dans le cytoplasme. Les ions Ca²⁺ se fixent et activent la calmoduline, une protéine cytosolique constituée de 148 acides aminés et comprenant quatre sites de fixation du Ca²⁺. Celle-ci devient alors capable d'activer d'autres protéines, donnant lieu à diverses réponses.

Le DAG active une PKC (Protéine Kinase Calcium-dépendante). Elle phosphoryle de nombreux substrats qui relaient le message, en particulier des facteurs de transcription.



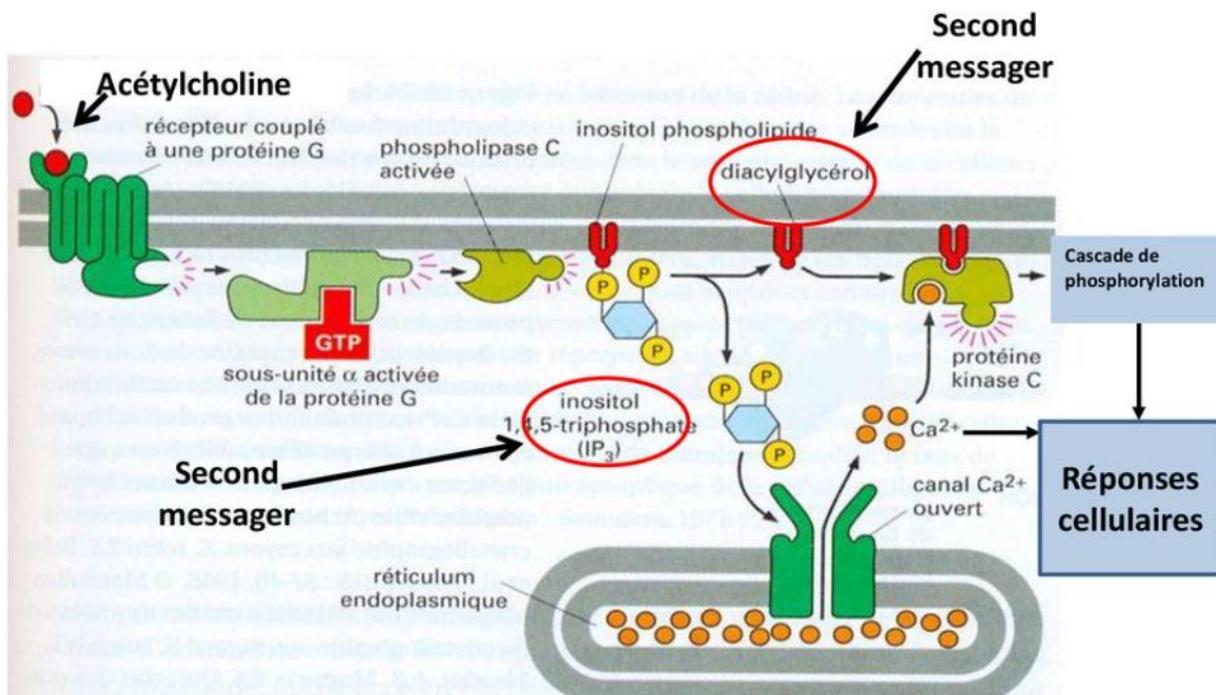


Figure V.10. Voie de signalisation par la phospholipase C [53].

III.2. Cascade phospholipase A2/ Eicosanoïdes

Les phospholipases A₂ (PLA₂) sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de phospholipides en position sn-2 afin de libérer un acide gras et un lysophospholipide. In vivo, les phospholipides ont fréquemment un acide gras polyinsaturé, l'acide arachidonique, en position sn-2 qui une fois libéré pourra être transformé en divers eicosanoïdes. Le lysophospholipide formé peut également avoir des rôles importants dans de nombreux processus biologiques.

Un eicosanoïde est un composé lipidique synthétisé au niveau de la membrane plasmique par toutes les cellules à partir de l'acide arachidonique. Les eicosanoïdes remplissent des fonctions étendues en tant que médiateurs du système nerveux central, des événements inflammatoires et de la réponse immunitaire chez les vertébrés et les invertébrés. Tous les eicosanoïdes sont des molécules de 20 atomes de carbone et sont regroupés en prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes et certains hydroxyacides précurseurs des leucotriènes. On trouve les eicosanoïdes dans tous les organes et dans tous les tissus, où elles exercent une fonction de régulation, un rôle de médiateur dans l'activité des cellules au cours de nombreux processus comme la contraction des muscles lisses, l'agrégation plaquettaire et la sécrétion gastrique. Elles sont donc considérées comme des hormones.

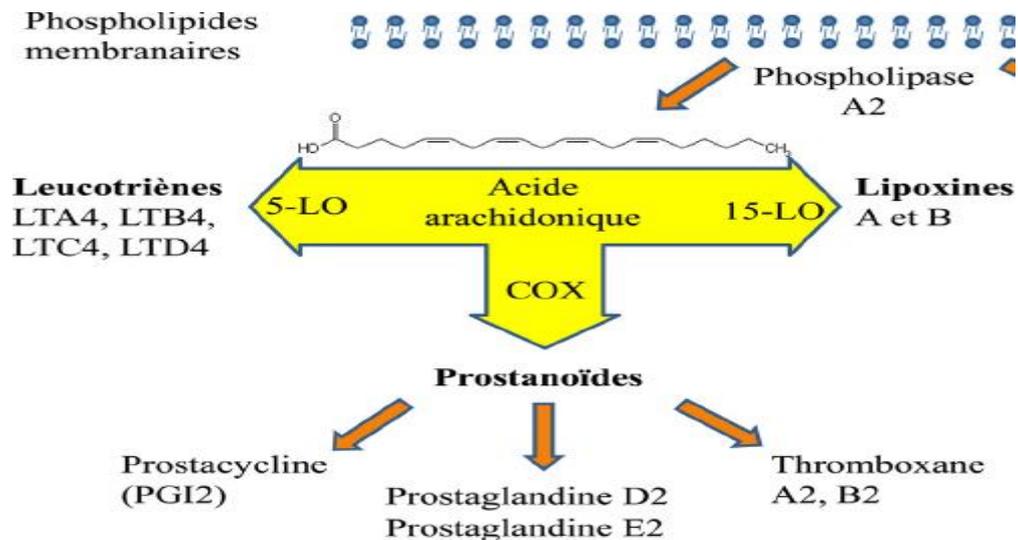


Figure V.11. Représentation simplifiée de voie de biosynthèse des éicosanoïdes [54].

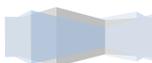
L'acide arachidonique dérivé à partir des phospholipides membranaires sous l'action de la phospholipase A2 peut emprunter une des trois voies majeures, conduisant respectivement aux leucotriènes, aux prostanoides (prostaglandines et thromboxanes) et aux lipoxines. COX : cyclo-oxygénase (COX-1 : enzyme constitutive ; COX-2 : enzyme inductible par le TNF α et autres médiateurs pro-inflammatoires); LO ; lipo-oxygénase

➤ Mode d'action des éicosanoïdes

Les éicosanoïdes sont les principales hormones liposolubles dont les récepteurs siègent à la surface de la cellule. Ces hormones s'attachent à des récepteurs ancrés à la surface cellulaire et enclenchent soit un accroissement, soit un abaissement du taux cytosolique de messager second (AMPc ou Ca⁺⁺), l'activation d'une protéine kinase, ou une modification du potentiel membranaire.

Il existe huit types de récepteurs aux éicosanoïdes :

- Récepteur DP : Prostaglandines D
- Récepteurs EP1 : Prostaglandines E1
- Récepteurs EP2 : Prostaglandines E2
- Récepteurs EP3 : Prostaglandines E3
- Récepteurs EP4 : Prostaglandines E4
- Récepteurs FP : Prostaglandines F
- Récepteurs IP : Prostacyclines
- Récepteurs TP : Thromboxanes



➤ **Effets des différents récepteurs**

- Dans les vaisseaux sanguins, la prostacycline (PGI₂) sur un récepteur IP provoque un relâchement des muscles (agonistes utilisés : Cicaprost, Iloprost).
- Les Thromboxanes sur les récepteurs TP provoquent la contraction des artères pulmonaires humaines, la contraction des muscles lisses bronchiques.
- Les Prostaglandines E₃ sur les récepteurs EP₃ provoquent la vasoconstriction des artères pulmonaires.
- Les Prostaglandines E₂ et les prostacyclines, respectivement sur les récepteurs EP₂ et IP, provoquent la relaxation des bronches humaines isolées.

III.3. Cascade AMPc/PKA/CREB

III.3.1. Adénosine monophosphate cyclique (AMPc)

L'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) est le premier second messenger découvert, qui joue un rôle central dans la signalisation cellulaire et régule de nombreux processus physiologiques et pathologiques. L'AMPc peut réguler la transcription de divers gènes cibles, principalement par l'intermédiaire de la protéine kinase A (PKA) et de ses effecteurs en aval tels que la protéine de liaison à l'élément sensible à l'AMPc (CREB). De plus, la PKA peut phosphoryler de nombreuses kinases telles que Raf, GSK3 et FAK. La signalisation aberrante de l'AMPc-PKA est impliquée dans divers types de tumeurs humaines. En particulier, la signalisation de l'AMPc peut avoir à la fois des rôles suppresseurs de tumeurs et promoteurs de tumeurs en fonction des types de tumeurs et du contexte. La signalisation AMP-PKA peut réguler la croissance, la migration, l'invasion et le métabolisme des cellules cancéreuses.

De plus, l'AMPc formé stimule différentes protéines et, en particulier, la protéine kinase A (PKA). La protéine kinase A phosphoryle un grand nombre de protéines, ce qui a pour conséquences majeures :

1. d'induire l'activation de la phosphorylase b (enzyme impliquée dans le métabolisme énergétique) ;
2. de stimuler le calcium ATPase du réticulum (stimulation du repompage du calcium) ;
3. d'induire l'ouverture de canaux ioniques membranaires sensibles au voltage (K⁺, Ca²⁺) ;



- de moduler la synthèse protéique *via* son action sur la MAPK (mitogen activated protein kinase).

III.3.2. La génération et la dégradation de l'AMPc

L'AMPc existe abondamment dans les cellules. De nombreuses hormones, neurotransmetteurs et autres molécules de signalisation l'utilisent comme second messenger intracellulaire. Par conséquent, l'AMPc peut réguler directement divers processus biologiques ou comportements des cellules, notamment le métabolisme cellulaire, l'activation des canaux ioniques, l'expression des gènes, la croissance cellulaire, la différenciation et l'apoptose. La génération d'AMPc est régulée de manière dépendante de la protéine G ou indépendante de la protéine G. Après que les ligands extracellulaires, tels que les agonistes des récepteurs PGE2, GLP-1 et $\beta 2$, se lient aux récepteurs couplés aux protéines G (GPCR), les sous-unités $G\alpha$ sont séparées des sous-unités $G\beta$ et $G\gamma$, puis activent les adénylyl cyclases (AC), conduisant à la conversion de l'ATP en AMPc (figure V.12). De plus, le bicarbonate (HCO_3^-) et les ions calcium (Ca^{2+}) induisent la synthèse d'AMPc en activant l'adénylyl cyclase soluble (sAC) indépendamment des protéines G. En revanche, les phosphodiésterases (PDE) sont responsables de la dégradation de l'AMPc. Jusqu'à présent, au moins 22 PDE ont été identifiées. La concentration d'AMPc intracellulaire dépend de l'équilibre relatif entre les adénylyl cyclases et les phosphodiésterases.

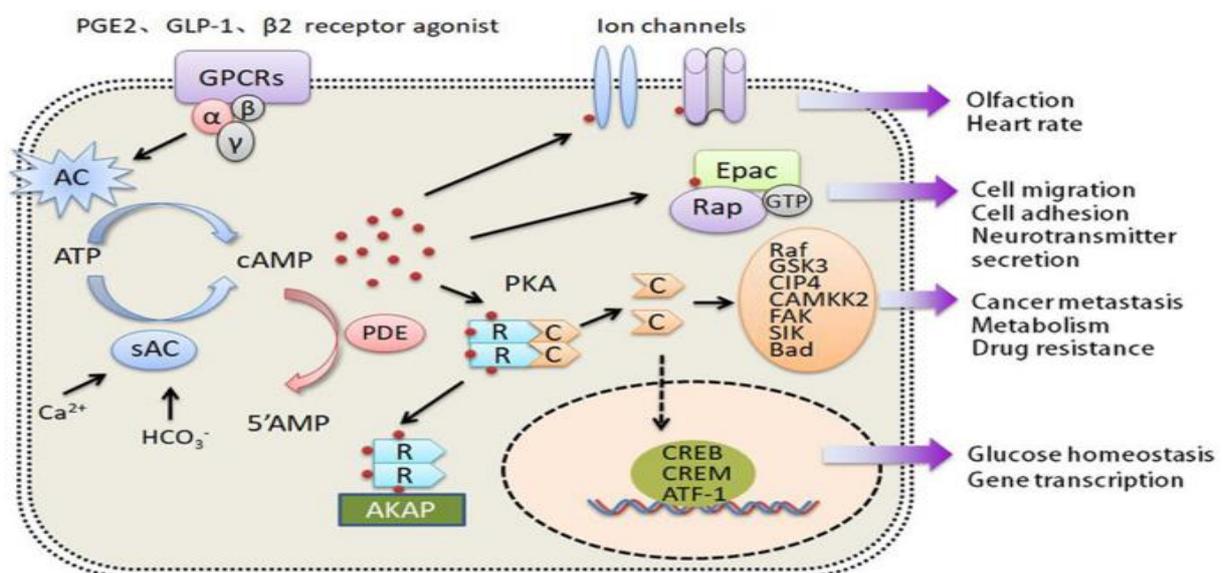


Figure V.12. Voie de signalisation de l'AMPc [55].

III.4. Cascade NO/GMPc

GMPc, abréviation de Guanosine Monophosphate cyclique (un des nucléotides cycliques), second messenger intracellulaire produit par l'enzyme Guanylate cyclase à partir de la Guanosine TriPhosphate (GTP).

Les effets du GMPc sont portés par trois catégories de protéines. Tout d'abord, l'essentiel de son action passe par l'activation des protéines kinases dépendantes du GMPc (PKG). Certaines phosphodiésterases des nucléotides cycliques (PDE) sont également des cibles du nucléotide, tandis que d'autres mettent fin à son action par hydrolyse. Enfin, des canaux cationiques peuvent être régulés directement par les taux de GMPc.

La Guanylate cyclase dégrade la GTP en GMP cyclique ou GMPc. Il existe deux formes de Guanylate cyclase :

- Une forme membranaire ;
- Une forme cytosolique, dite soluble.

L'un des principaux mécanismes par lesquels les effets de l'oxyde nitrique sont médiés par la production du deuxième messenger cyclique GMP (GMPc). L'oxyde nitrique peut stimuler la production de GMPc en interagissant avec le groupe hème de l'enzyme guanylate cyclase (GCsoluble). Cette interaction permet à GC de convertir le GTP en GMPc.

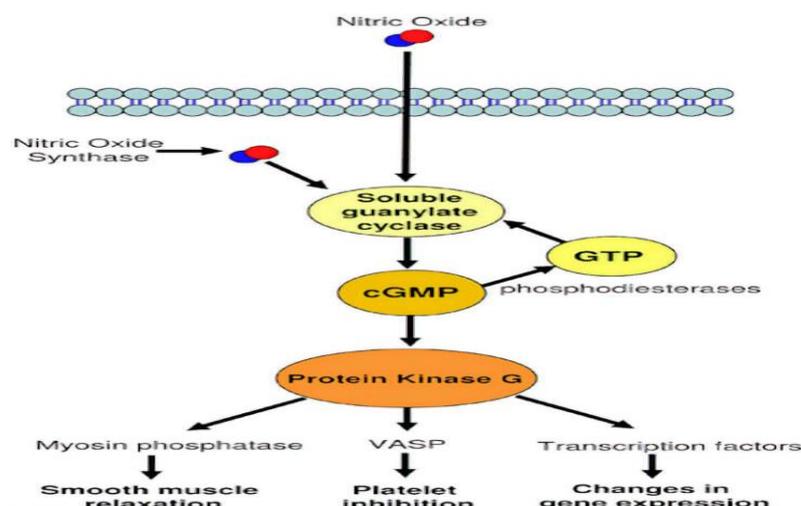
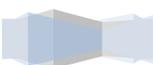


Figure V.13. Schéma de la production du deuxième messenger GMPc [56].



VIII. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases

IV.1. Protéines kinases (A, B/Akt, C, CAM, MAP)

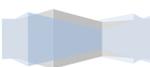
Enzyme catalysant la phosphorylation d'une protéine par l'ATP. De nombreuses protéines kinases transfèrent le radical phosphorique sur la fonction alcool d'une sérine ou d'une thréonine : c'est le cas de protéine-kinases dites AMPc-dépendantes qui ne sont actives qu'en présence d'AMP cyclique, répondant ainsi à des facteurs de régulation du métabolisme cellulaire comme les hormones agissant sur des récepteurs adrénergiques ; elles sont appelées protéine-kinases A ou PKA. D'autres phosphorylent la fonction phénol d'une tyrosine (protéine-tyrosine-kinases ou Y-kinases). D'autres protéine-kinases dépendent du diacylglycérol, répondant à d'autres facteurs agissant sur des récepteurs à phospho-inositides ; elles sont appelées protéine-kinases C ou PKC. D'autres sont activées par leur liaison avec la calmoduline et le calcium. Toutes les phosphoprotéines nécessitent pour leur biosynthèse des protéine-kinases plus ou moins spécifiques ; de nombreux enzymes du métabolisme ont une activité qui dépend de leur état de phosphorylation.

- **Protéine Kinase A**

La protéine kinase A (PKA) réfère à la famille d'enzymes dont l'activité nécessite la présence d'AMP cyclique (AMPc). La protéine kinase A a de nombreuses fonctions dans la cellule, en particulier elle régule les métabolismes du glycogène, du sucre et des lipides.

- **Protéine Kinase B**

L'Akt ou protéine kinase B (PKB) ; C'est une protéine essentielle dans la signalisation des cellules des mammifère. Akt1 est impliqué dans la voie de signalisation de la survie cellulaire, en inhibant l'apoptose. L'Akt1 est également capable d'induire la biosynthèse des protéines, et est de ce fait un élément clef dans les phénomènes cellulaires conduisant à l'hypertrophie des muscles squelettiques et la croissance des tissus en général. À partir du moment où l'Akt peut bloquer l'apoptose et par là favoriser la survie cellulaire, l'Akt2 est un facteur impliqué dans la signalisation cellulaire de l'insuline. Il est nécessaire au transport du glucose.



1.3. Protéine kinase C

Protéine kinase initialement décrite comme activée par le calcium, d'où son nom, et dont l'activité *in vivo* dépend d'une interaction avec un diacyl-glycerol (ou diglycéride) de la membrane cellulaire. Les protéines kinases C (PKC) sont des enzymes cytoplasmiques à activité sérine thréonine kinase dont l'implication dans l'oncogenèse s'avère d'analyse complexe. Des dérégulations d'expression de certaines PKC ont été rapportées dans différentes tumeurs, mais il existe une grande variabilité des rôles de ces enzymes selon l'isoforme considéré ou le type cellulaire étudié (action pro- ou antiproliférative).

1.4. 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. La CaMKII est impliquée dans de nombreuses cascades de signalisation, et est un médiateur putatif important de l'apprentissage et de la mémoire. La CaMKII 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.

1.5. Protéine kinase MAP (MAPK)

L'une des protéines intracellulaires catalysant la phosphorylation des protéines MAP (Mitogen Activated Protein). Cette phosphorylation par l'ATP s'effectue sur une sérine ou une thréonine de la MAP. La MAP-kinase est elle-même activée par phosphorylation sous l'effet d'une cascade de kinases : MAP-kinase-kinase, MAP-kinase-kinase-kinase, cette dernière étant phosphorylée par une kinase membranaire, la raf-kinase, activée par les protéines Ras. Les MAP-kinases sont aussi appelées ERK (Extracellular signal Regulated Kinase). Les MAP-kinases phosphorylent non seulement des MAP intranucléaires, mais encore d'autres kinases cytoplasmiques telles que celle (S6 kinase) qui phosphoryle des protéines ribosomiques contrôlant la synthèse des protéines.

Les MAPK sont impliquées dans un certain nombre d'évènements de la vie de la cellule, comme la mitose, mais aussi très liées à des 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.



IV.2. Les récepteurs tyrosine-kinases (RTK)

Il existe près de 60 gènes codants pour les récepteurs à activité tyrosine kinase. Tous ces récepteurs ont une structure et des mécanismes d'activation assez similaires. C'est une famille de molécules capables de recevoir des signaux de l'extérieur via leur partie extracellulaire pour les transmettre à l'intérieur de la cellule et induire de nombreux messages cellulaires.

Les RTKs sont des glycoprotéines membranaires composées d'un site de fixation du ligand appartenant au domaine extracellulaire relié au domaine cytoplasmique par une simple hélice transmembranaire. L'activité enzymatique est localisée dans le cytoplasme et permet le transfert du phosphate γ de l'ATP vers l'hydroxyle des tyrosines des protéines cibles et/ou du récepteur lui-même. C'est ce qu'on appelle l'autophosphorylation. Les RTKs permettent la transmission d'un signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule et jouent ainsi un rôle important dans le contrôle de nombreux processus biologiques, tels que le cycle cellulaire, la migration cellulaire, le métabolisme, la prolifération et la différenciation cellulaire. Les RTKs sont classés en 20 familles selon la structure de leurs domaines extracellulaire et intracellulaire. Parmi ces différentes familles, on distingue les récepteurs à l'insuline (IR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'épiderme (EGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance des plaquettes (PDGFR), les récepteurs aux facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR) et les récepteurs aux facteurs de croissance des fibroblastes (FGFR). Ces différentes familles de RTK sont représentées dans la figure V.14.



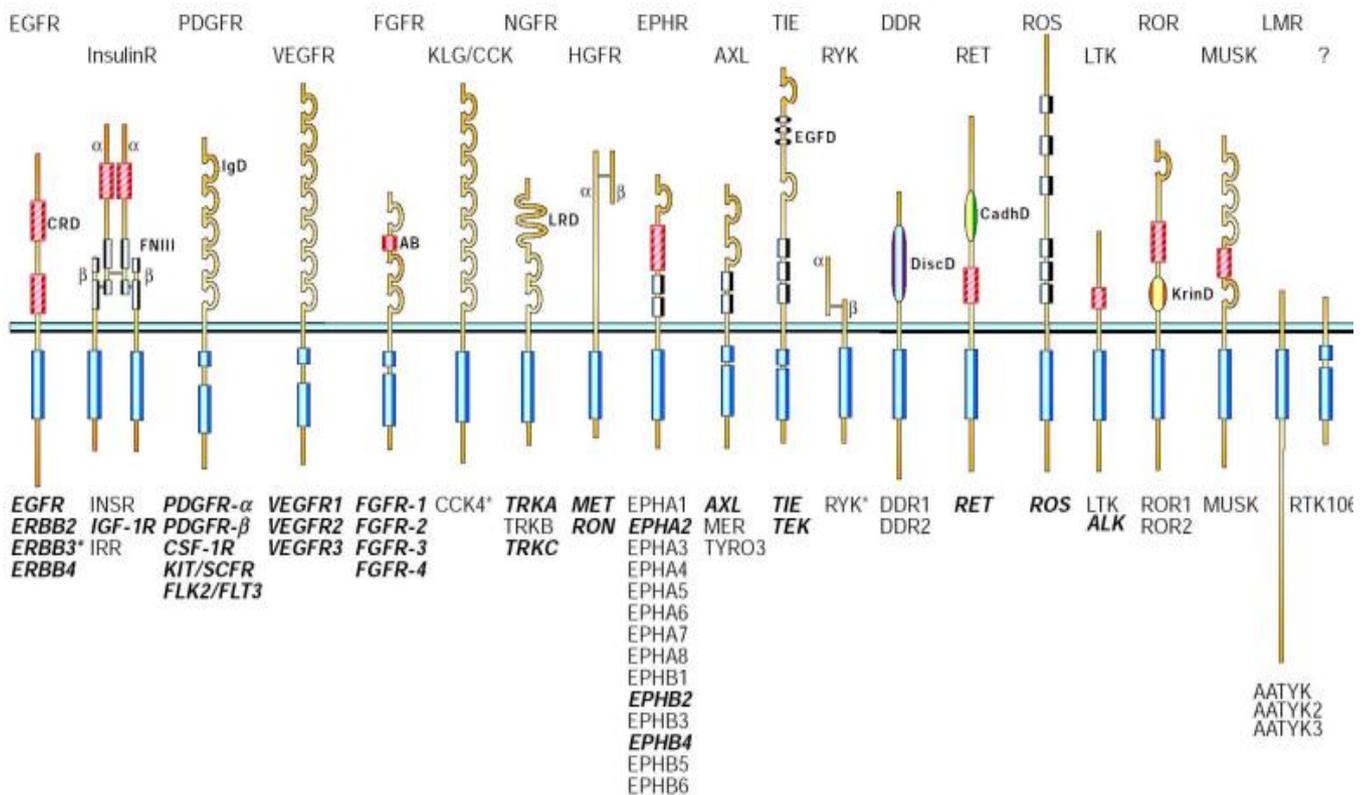


Figure V.14. Les 20 familles des récepteurs à activité tyrosine kinase, représentées suivant leurs caractéristiques structurales [57].

De haut en bas : le nom du représentant caractéristique de chaque famille de RTK, sa représentation schématique, et les membres de chaque famille. AB : boîte acide, CadhD : domaine de type cadhérine, CRD : domaine riche en cystéines, DiscD : domaine de type discoidine, EGFD : domaine de type EGF (facteur de croissance épidermique), FNIII : domaine de type fibronectine type III, IgD : domaine de type immunoglobuline, KrinD : domaine de type kringle, LRD : domaine riche en leucine.



CHAPITRE VI. ANOMALIES DE SIGNALISATION ET PATHOLOGIES

Depuis la découverte des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs, et grâce à la rénovation de la biologie moléculaire, le cancer et certains pathologies apparaissent comme des maladies de la signalisation.

I. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie (ex : EGF-R, p21ras et oncogenèse)

Les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) sont une famille de molécules impliquées dans divers processus biologiques pour lesquels ils jouent un rôle essentiel, tels que le métabolisme, le contrôle du cycle cellulaire, la survie, la prolifération, la croissance ou encore la motilité cellulaire. 58 RTK classés en 20 sous-familles sont présents chez l'homme. De plus, lorsqu'ils sont génétiquement altérés (amplification, mutations et protéines de fusion) ou surexprimés, peuvent être impliqués dans la prolifération et la survie des cellules tumorales et constituent donc dans de nombreux cancers de bonnes cibles thérapeutiques.

I.1. Protéines RAS et cancer

Les protéines RAS (HRAS, NRAS, KRAS) sont des petites GTPases qui font parties de la famille des protéines G monomériques impliquées dans la transduction du signal. Les protéines RAS sont impliquées dans l'activation de nombreuses voies de signalisation, contrôlant la transcription, le cycle cellulaire, la survie, la migration, et la prolifération cellulaire mais aussi l'endocytose. Des mutations somatiques entraînant des gains de fonction de RAS sont fréquemment retrouvées dans les cancers, c'est pourquoi on parle de « l'oncogène RAS ».

Les mutations de RAS sont retrouvées dans environ 30% des cancers humains. Les différents membres de la famille des protéines RAS sont spécifiquement retrouvés mutés dans différents types de cancers. Ainsi, les mutations de KRAS sont prévalentes dans les cancers colorectaux, les cancers de l'endomètre, du poumon et du pancréas. Les mutations de NRAS et KRAS sont retrouvées dans les myélomes. Dans les cancers de vessie, on trouve dans l'ordre de fréquence de mutations HRAS, KRAS et très peu souvent NRAS. Dans la plupart des cas, les mutations du gène RAS sont des mutations somatiques faux-sens conduisant à la substitution d'un acide aminé aux positions 12,13 et 61.



I.2. Les récepteurs FGFR et le cancer

La famille des récepteurs FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor) est constituée de 4 membres : FGFR1 à 4. Les récepteurs FGFR sont impliqués dans divers processus biologiques au cours du développement embryonnaire mais aussi à l'âge adulte, tels que la prolifération cellulaire, la croissance, la survie, la différenciation et la migration.

Un récepteur FGFR est constitué de trois domaines : un domaine extracellulaire, comprenant un peptide signal au niveau N-terminale, 3 domaines immunoglobulines (Ig I, II et III), un acide box, un domaine transmembranaire, et un domaine intracellulaire correspondant au domaine tyrosine kinase.

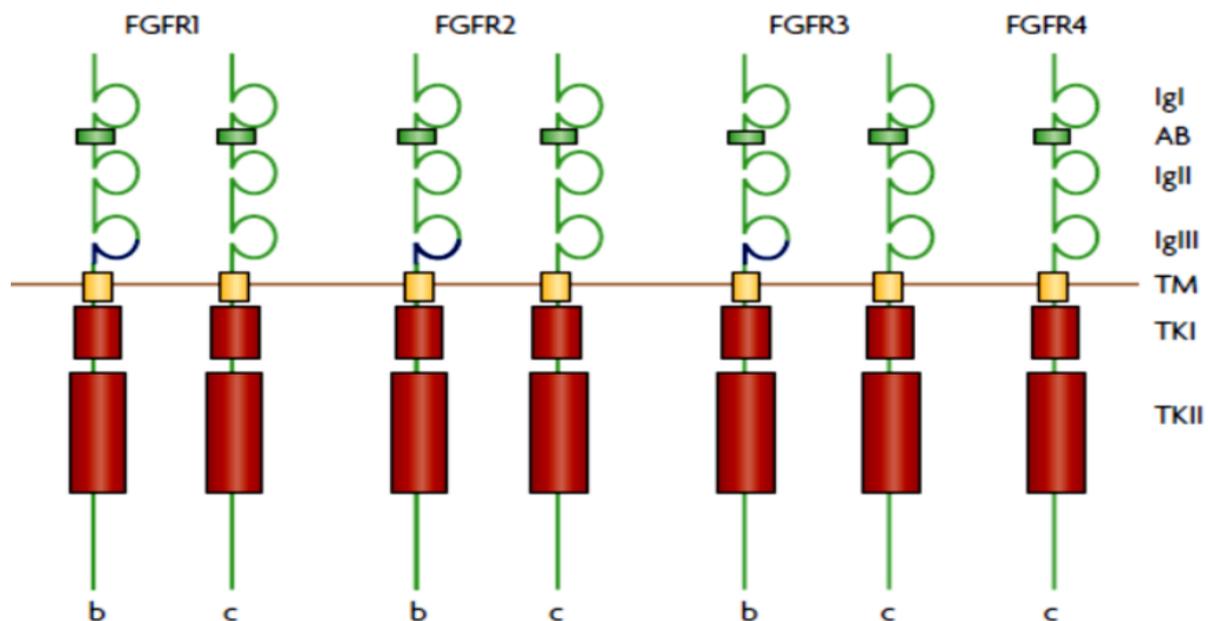


Figure VI. 1. Structure des récepteurs FGFR [47].

Dans le cadre du cancer plusieurs types d'altérations peuvent induire une activation non contrôlée des FGF récepteurs. Ces altérations sont :

- **Implication du ligand FGF** : l'activation des récepteurs FGFR peut être dérégulée via les ligands FGF. La cellule peut se mettre à produire de fortes concentrations de ligand FGF, ce qui peut induire une sur-activation de l'activité kinase du récepteur FGFR et des voies de signalisation sous-jacentes. Une variation de l'épissage de l'ARNm du récepteur FGFR exprimé peut entraîner une modification du type de ligand que le FGFR fixe habituellement pour être activé (figure VI.2. B (1et 2)).

- **Implication des mutations ou apparition de protéines de fusion** : des mutations du récepteur FGFR peuvent entraîner une dimérisation constitutive de celui-ci, ou une activation permanente du domaine tyrosine kinase. Des protéines de fusion ont été observées dans différents types de cancer pour les 4 récepteurs FGFR (FGFR1- 4). Les protéines de fusion (fusion avec une région promotrice ou avec un facteur de transcription, ou avec un gène permettant un dimérisation constitutive, exemple du produit de fusion FGFR3-TACC3), tout comme les mutations peuvent conduire à une surexpression du récepteur (figure VI.2. B (3 et 4)).
- **Amplification du récepteur** : l'amplification du gène codant pour un récepteur FGFR entraîne généralement une surexpression de celui-ci et une activation aberrante des voies de signalisation qu'il active (figure VI.2. B (5)).
- Un autre mécanisme peut être impliqué dans la dérégulation de l'activation des voies de signalisation par les récepteurs FGFR, c'est la régulation négative du fonctionnement des régulateurs négatifs décrits précédemment que sont les protéines SPRY et MPK3.

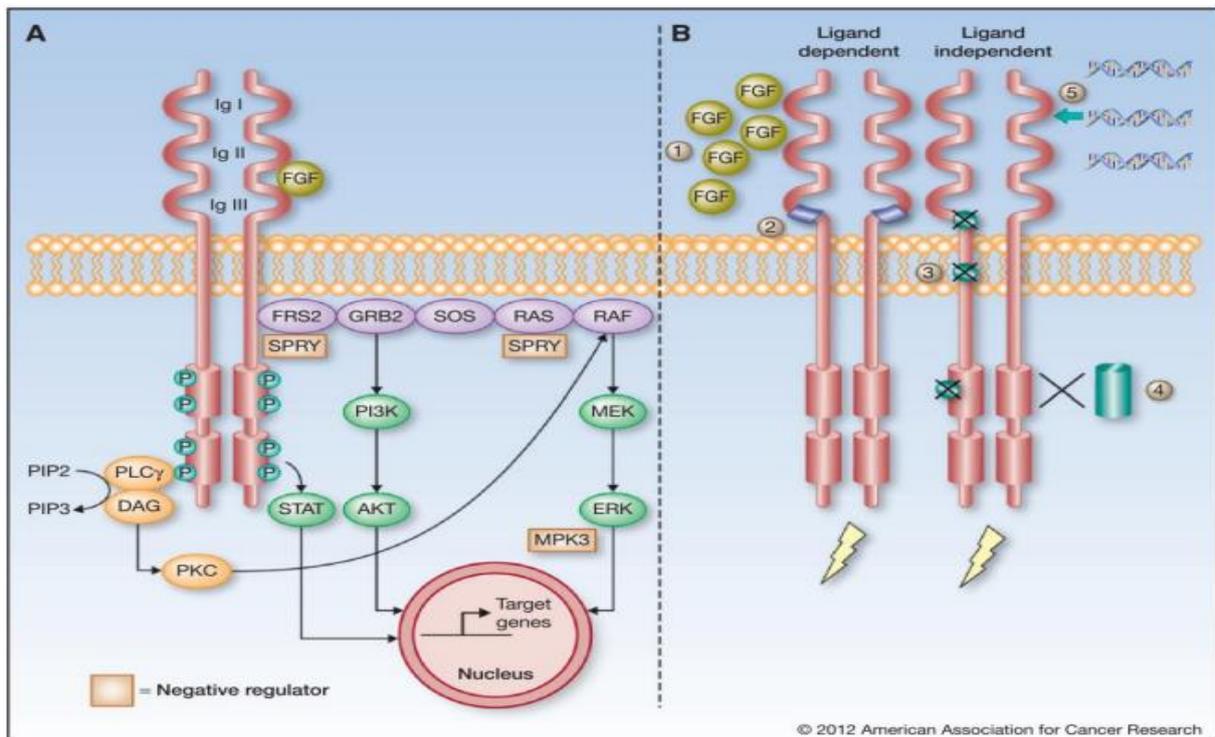


Figure VI. 2. Structure, voies de signalisation, et dérégulations des récepteurs FGFR dans le cancer. (1 ; 2) : Régulation via les FGF ligands, (3 ; 4) : Mutations et protéines de fusion, (5) : Amplification du gène codant pour le récepteur [47].

II. Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires (mitochondries, lysosomes, noyau)

II.1. Pathologies mitochondriales

Les maladies mitochondriales représentent un groupe d'atteintes dont le dénominateur commun est un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire et se traduisent donc par un déficit énergétique. 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, c cicit , 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. L'identification des mutations responsables est importante pour le diagnostic mais également pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal.

Tableau VI.1. Signes cliniques observés dans les maladies mitochondriales [48].

| | |
|------------------------------|---|
| Atteinte neurologique | <p>Hypotonie et grande acidose lactique néonatale (décès généralement avant 1 an)</p> <p>Encéphalomyopathie nécrosante subaiguë (débutant généralement avant 1 an, parfois plus tard)</p> <p>Atteinte cognitive : régression psychomotrice, retard mental, démence juvénile</p> <p>Encéphalopathies épisodes (déficit sensitivomoteur avec troubles de la conscience et/ou de la vigilance) ou fixées</p> <p> pilepsie partielle ou généralisée (souvent sévère et pharmacorésistante), état de mal épileptique, myoclonies</p> <p>Ataxie cérébelleuse</p> <p>Pseudo-accidents vasculaires</p> <p>Syndrome extrapyramidal et mouvements anormaux (dystonie)</p> <p>Atteinte médullaire : syndrome cordonal postérieur, syndrome pyramidal</p> |
|------------------------------|---|



| | |
|--|--|
| | <p>Migraine Myopathie débutant parfois en période néonatale, rhabdomyolyse, myoglobinurie récurrente, faiblesse musculaire, myalgie, fatigabilité à l'effort, ptosis, ophtalmoparésie Neuropathie Dysautonomie</p> |
| Atteinte neurosensorielle | <p>Baisse d'acuité visuelle, hémianopsie latérale homonyme ou cécité Atrophie optique, rétinite pigmentaire Hypoacousie</p> |
| Atteinte cardiaque | <p>Cardiomyopathie hypertrophique (plus rarement dilatée) pouvant débuter dès la période néonatale, parfois associée à une non-compactation du ventricule gauche Bloc de conduction</p> |
| Atteinte hépato-gastrointestinale | <p>Insuffisance hépatique dans les premières heures de vie évoluant vers le décès, dysfonctionnement hépatocellulaire (syndrome d'Alpers) Hépatomégalie, cirrhose Insuffisance pancréatique exocrine Vomissements, diarrhée Pseudo-obstruction intestinale chronique idiopathique (adolescents > nourrissons)</p> |
| Atteinte rénale | <p>Tubulopathie proximale pouvant débuter dès la période néonatale Néphropathie tubulo-interstitielle (plus rare)</p> |
| Atteinte hématologique | <p>Anémie sidéroblastique Thrombopénie Neutropénie</p> |
| Atteinte endocrinologique | <p>Retard de croissance intra-utérin, retard staturopondéral Diabète insulino et non insulino-dépendant Hypoglycémie Déficit en GH, hypoparathyroïdisme, hyperaldostéronisme</p> |



Voici quelques exemples de maladies mitochondriales :

- **Syndrome de Leigh**

La maladie de Leigh est un trouble neurologique grave qui se manifeste généralement au cours de la première année de vie. Elle se caractérise par des problèmes évolutifs de la déglutition, une prise de poids insuffisante, une hypotonie, une faiblesse, une ataxie, une ophtalmoplégie, un nystagmus et une atrophie optique ainsi qu'une acidose lactique. Les patients meurent généralement dans les 2 à 3 ans, généralement par insuffisance respiratoire. L'imagerie montre des lésions dégénératives des ganglions de la base, du cervelet et du tronc cérébral. La maladie de Leigh résulte de mutations de l'un des plus de 75 gènes nucléaires ou du mtDNA impliqués dans la production d'énergie dans les mitochondries.

- **Syndrome MELAS**

Des mutations du gène mitochondrial codant l'*ARNt leucine* entraînent cette maladie neurodégénérative évolutive caractérisée par des épisodes répétés d'accident cérébral (métabolique) chimique, de myopathie et d'acidose lactique.

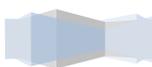
- **Déficit en cytochrome c oxydase**

Des mutations dans au moins trois gènes mitochondriaux peuvent provoquer une carence en cytochrome c oxydase, qui peut affecter plusieurs parties du corps, y compris les muscles utilisés pour le mouvement, le cœur, le cerveau ou le foie. Les gènes mitochondriaux associés au déficit en cytochrome c oxydase fournissent des instructions pour la fabrication de protéines qui font partie d'un grand groupe enzymatique (complexe) appelé cytochrome c oxydase (le complexe IV). Les mutations de l'ADNmt qui provoquent cette condition modifient les protéines qui composent la cytochrome c oxydase. Par conséquent, la cytochrome c oxydase ne peut pas fonctionner. Un manque de cytochrome c oxydase fonctionnelle perturbe la phosphorylation oxydative, provoquant une diminution de la production d'ATP.

II.2.Lysosomes et pathologies

Les troubles les plus fréquents de la fonction lysosomale sont attribués à des causes héréditaires constitutionnelles. L'ensemble de ces affections héréditaires constitue le groupe des maladies lysosomales de surcharge ou MLS.

Les MLS sont un ensemble d'affections génétiques rares, qui regroupe actuellement, plus d'une cinquantaine de maladies héréditaires du métabolisme. Elles sont dues à la perturbation



du catabolisme des macromolécules au niveau du lysosome. L'absence et le défaut de dégradation de ces substrats, sont à l'origine dans un second temps, d'une surcharge cellulaire progressive en composés partiellement ou non dégradés. 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.



II.3. Maladies du noyau

Il existe un lien étroit entre des anomalies de l'enveloppe nucléaire et de nombreuses maladies génétiques. Ces pathologies compromettent l'intégrité de l'organisme :

- tissus musculaires ;
- tissus cardiaques ;
- tissus nerveux.

L'exemple le plus connu de ces affections est celui de la progeria, une maladie grave dont le principal symptôme est un vieillissement accéléré qui réduit considérablement l'espérance de vie du patient. Ces maladies sont rassemblées au sein d'une même famille : les laminopathies. Ces dernières constituent un ensemble très hétérogène de maladies génétiques caractérisées par des mutations du gène LMNA codant des protéines nucléaires appelées lamines. Les lamines forment une couche, la lamina, qui tapisse la face intérieure du noyau, et lui confère sa forme. Associées à d'autres protéines, les lamines constituent le nucléosquelette qui occupe tout le volume nucléaire. Les lamines n'ont pas seulement un rôle dans l'architecture nucléaire, mais elles participent aussi à la transcription, à la duplication et à la réparation de l'ADN.



REFERENCE

[1] Définition de la cellule. 2007. En ligne. <https://www.aquaportail.com/definition-70-cellule.html>. Consulté le : 14/12/2021.

[2] Biomembrane. En ligne. <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/5TDBioCellL1/3EndosymbioseRepTD/1Endosymbiose.htm>. Consulté le : 14/12/2021.

[3] La membrane plasmique. En ligne. <https://www.studocu.com/fr/document/universite-toulouse-iii-paul-sabatier/biologie-cellulaire-2/la-membrane-plasmique-11-sdv-s2/8887649> . Consulté le 20/10/2021.

[4] Les macromolécules II Chapitre 5. En ligne. <https://slideplayer.fr/slide/10695544/> . Consulté le 20/10/2021.

[5] Les lipides en double couche. En ligne. https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap1/co/module_Chap1_7.html . Consulté le 20/10/2021.

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

[7] La structure de la membrane plasmique. En ligne. <https://fr.khanacademy.org/science/high-school-biology/hs-cells/hs-the-cell-membrane/a/structure-of-the-plasma-membrane> . Consulté le 20/10/2021.

[8] Rôle de la membrane erythrocytaire. En ligne. <https://www.magazinescience.com/biologie/role-de-membrane-erythrocytaire/> . Consulté le 21/10/2021.

[9] Membrane plasmique. En ligne. <https://slideplayer.fr/slide/11786961/> . Consulté le 22/12/2021.

[10] Cours Pharmacie. En ligne. <https://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html>. Consulté le 26/12/2021.

[11] Les membranes biologiques. 2012. En ligne. <http://medecine-pharmacie.univ-fcomte.fr/download/ufr->



smp/document/courspace/ue2_membranes_biologiques_sept12_ln2.pdf. Consulté le 20/12/2021.

[12] <http://www.ifsidijon.info/v2/wp-content/uploads/2017/09/Cours-cellules-et-tissus-version-%C3%A9tudiants-partie-2-et-3.pdf>. Consulté le 26/12/2021.

[13] La membrane cellulaire. En ligne. <https://www.takween.com/qcm-membrane-permeabilite.html> . Consulté le 26/12/2021.

[14] Milieu intérieur. En ligne. <https://slideplayer.fr/amp/14214821/>. Consulté le 26/12/2021.

[15] La membrane : structure et fonction. En ligne. <https://slidetodoc.com/structure-et-fonctions-chapitre-3-module-1-biologie/> . Consulté le 26/12/2021.

[16] <https://www.istockphoto.com/vector/the-different-types-of-endocytosis-gm1011259348-272500055> . Consulté le 26/12/2021.

[17] Philippe Girard. Membranes hors d'équilibre : échanges et transport actif. Matière Molle [cond- mat.soft]. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2004. France.

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

[18] Adhérence cellulaire et jonctions intercellulaires. En ligne. <file:///C:/Users/PC/Downloads/Adh%C3%A9rence%20cellulaire%20et%20jonctions%20intercellulaires.pdf> . Consulté le 31/12/2021.

[19] Cours Pharmacie. En ligne. <https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/delimmunit%C3%A9-inn%C3%A9e-a-limmunit%C3%A9-adaptative-et-complexe-majeur-d%E2%80%99histocompatibilit%C3%A9.html#>. Consulté le 23/01/2022.

[20] le complexe majeur d'histocompatibilité .En ligne. <http://campus.cerimes.fr/media/disquemiroir/2015-06-09/UNF3Smiroir/campus-numeriques/maieutique/UE-immunologie/page82-4.-complexe-majeur-d0027histocompatibilit%C3%A9.pdf>. Consulté le 23/01/2022.



[21] Les communications intercellulaires par les voies de signalisation. En ligne. http://www.cri-net.com/ckfinder/userfiles/files/formation/fichesImmuno/Chap_7.pdf .

Consulté le 23/01/2022.

[22] Réticulum endoplasmique & appareil de Golgi. En ligne. http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/cyto1an-reticulum_endoplasmique_golgi.pdf.

Consulté le 24/01/2022.

[23] Adressage des protéines. En ligne. <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> . Consulté le 24/01/2022.

[24] Le cytosquelette. En ligne. <https://docplayer.fr/67703749-Le-cytosquelette-mme-benzine-challam-h.html> . Consulté le 24/01/2022.

[25] RUEFF A S. 2011. Rôle de Protéines Associées au Cytosquelette Bactérien. Thèse de doctorat en microbiologie. UNIVERSITE PARIS-SUD 11. France. 104p.

[26] En ligne. <https://www.aquaportail.com/definition-8717-kinesine.html> . Consulté le 24/01/2022.

[27] La contraction musculaire. En ligne. https://www.pdfprof.com/PDF_Image.php?id=12125&t=25 . Consulté le 28/01/2022.

[28] Camus G. La contraction musculaire. Planet-vie. 2006.1-14. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-locomoteur/la-contraction-musculaire>.

[29] l'origine de nos mitochondries. En ligne. https://lecerveau.mcgill.ca/flash/a/a_05/a_05_cl/a_05_cl_her/a_05_cl_her.html . Consulté le 29/01/2022.

[30] Introduction à la diversité métabolique. En ligne. https://tice.agroparistech.fr/coursenligne/courses/MENTIONBIPBIOLOGIEIN/document/TRONC_COMMUN_MENTION/EN3586_Biodiversite_et_Physiologie/2018-19/01-Introduction_Diversite_Metabolisme-Rajjou/01_Intro_Metabolisme_2018_Rajjou.pdf. Consulté le 29/01/2022.



[31] Métabolisme. En ligne. <https://nutrixeal-sport-info.fr/besoins-des-mitochondries-centrales-energetiques/> . Consulté le 29/01/2022.

[32] En ligne. <https://www.afc.asso.fr/accueil-aicr2014/1075-boyer-walker-skou>. Consulté le 29/01/2022.

[33] Gillot-Chafia S. 2018. Impact de la composition du ribosome sur la fidélité de la traduction. Thèse de doctorat. Université Paris Saclay (COMUE). France. 279p.

[34] 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.

[35] http://beaussier.mayans.free.fr/IMG/pdf/genet_DM4_correction_ROC.pdf. Consulté le 09/02/2022.

[36] L'adressage des protéines : moyens de direction des protéines vers les différents organites de la cellule. En ligne. <https://www.biotech-ecolo.net/proteines-transport-adressage.html> . Consulté le 08/02/2022.

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

[38] La voie de dégradation ubiquitine dépendante. En ligne. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/physiologie-cellulaire/la-voie-de-degradation-ubiquitine> . Consulté le 10/2/2022.

[39] Lysosome. En ligne. <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>. Consulté le 10/02/2022.

[40] Le noyau cellulaire. pharmacie 1ere année. Cours de Biologie Cellulaire. En ligne. https://fmos.usttb.edu.ml/cours/pluginfile.php/19282/mod_resource/content/0/Imprim%C3%A9_A9_%20Lecon%206_LE%20NOYAU%20CELLULAIRE_27Oct%202020.pdf . Consulté le 12/02/2022.



[41] Le noyau. En ligne. https://www.pdfprof.com/PDF_Image.php?id=160435&t=24 . Consulté le 12/02/2022.

[42] Gay O. Caractérisation d'une nouvelle famille de protéines régulatrices des réseaux périmoléculaires 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.

[43] Glycosylation et glycation: quelles différences? En ligne. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/molecules/glycosylation-et-glycation-queelles-differences> . Consulté le 15/02/2022.

[44] La N-glycosylation des protéines. En ligne. https://forum.tutoweb.org/uploads/monthly_2020_11/image.png.4cf056b593af507c07ea593fd2d2ab8e.png. Consulté le 15/02/2022.

[45] Biologie et Physiologie Animale. En ligne. [https://fsnv.univ-setif.dz/images/telecharger/BPA/L3%20BPAnimales%201920%20Physiologie%20Cellulaire%20et%20Mol%20A9culaire\(ok\).pdf](https://fsnv.univ-setif.dz/images/telecharger/BPA/L3%20BPAnimales%201920%20Physiologie%20Cellulaire%20et%20Mol%20A9culaire(ok).pdf) . Consulté le 14/02/2022.

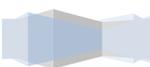
[46] SUSINI S. 2010. Reconstitution d'un système cellulaire de glycosylation. Thèse doctorat en Oncologie. Université de la méditerranée. France. P148.

[47] Communication intercellulaire. En ligne. <https://docplayer.fr/60217849-D-communication-intercellulaire.html>. Consulté le 28/02/2022.

[48] Signalisation et communications cellulaires. En ligne. <https://www.studocu.com/row/document/universite-de-tours/paces-ue-2/signalisation-et-communications-cellulaires/12697277>. Consulté le 28/02/2022.

[49] Sara Mellouk & Btissame ZarrouQ. IMPORTANCE DES PROTEINES DANS LA VIE DE LA CELLULE ANIMALE. Mémoire. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Maroc. 2005. 170p.

[50] Communication intercellulaire par des signaux chimiques. 2018. En ligne. <https://www.medicinus.net/communication-intercellulaire-signaux-chimiques/>. Consulté le 28/02/2022.



[51] Menetrey J. 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. 2000. 205p.

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

[53] La communication intracellulaire par des signaux chimiques. En ligne. <https://slideplayer.fr/slide/16589321/>. Consulté le 28/02/2022.

[54] Blank U., Vitte J. 2014. Les médiateurs du mastocyte. *Revue Française d'Allergologie*. DOI: 10.1016.

[55] 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.

[56] GMPc : définition, explications. En ligne. <https://www.aquaportail.com/definition-9906-gmpc.html>. Consulté le 28/01/2022.

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

[58] 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.

[59] Chaussenot A, Rötig A, Paquis-Flucklinger V. 2011. Progrès dans les pathologies mitochondriales. STDI FrameMaker noir.

