

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abbès Laghrou – Khenchela



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Domaine : SNV
Filière : Biologie

Polycopié de cours

Biochimie Cellulaire et Fonctionnelle (BCF)

Destiné aux étudiants de 3^{ème} année licence (L3)

Spécialité / Biochimie

Par

Dr. Faouzia Derouiche

Maître de conférences (B)

Année universitaire

2018/2019

Avant- propos

Cette matière de biochimie cellulaire et fonctionnelle (BCF) a pour objectif essentiel 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. Elle s'intéresse en particulier aux structures, aux fonctions et aux interactions des macromolécules biologiques qui constituent les structures cellulaires et réalisent de nombreuses fonctions biologiques. Autrement dit cette matière sensibilise l'étudiant aux notions de modules et d'interconnexions de réseaux de signalisation et à l'initiation à la génomique biochimique pour comprendre et en intégrant les données obtenues au niveau moléculaire, comment les biomolécules et leurs interactions génèrent les structures et les processus biologiques observés dans les cellule et en ouvrant ainsi la voie à la compréhension des organismes dans leur ensemble.

La matière est destinée aux étudiants de troisième année licence en spécialité de biochimie dans l'unité d'enseignement fondamentale¹ (UEF 3.1.1) avec crédit 06 et coefficient 03 pour un volume horaire hebdomadaire de 03 heures de cours et 01heure et demi de travaux dirigés dans le domaine des sciences de la nature et de la vie (SNV) et la filière de biologie. Elle est conforme aux nouveaux programmes établis par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (MESR) dont l'application est rentrée en vigueur durant l'année universitaire 2015-2016.

L'étudiant doit prendre connaissance des principes actuels de biochimie, d'immunologie, de microbiologie et de génétique, nécessaires à la compréhension des relations structure/fonction des biomolécules et leur régulation via des modifications structurales. Il est à noter que la matière est composée de six chapitres dont certains titres sont également d'un intérêt pour les étudiants de troisième année licence en spécialité de génétique et en spécialité de biologie et physiologie animale.

Table des matières

Chapitre 1. Compartimentation fonctionnelle de la cellule.	01
Chapitre 2. Biomembranes.	08
2.1. Composition des membranes.	08
2.2. Architecture biomoléculaire des membranes.	12
2.3. Échanges membranaires.	13
2.4. Protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire.	23
2.5. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires.	34
2.6. Récepteurs, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire.	36
Chapitre 3. Relation structure-fonction de la cellule.	38
3.1. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion.	38
3.2. Cytosquelette.	43
3.3. Fibre et contraction musculaire.	45
3.4. Mitochondrie et chaîne de phosphorylation oxydative.	49
3.5. Ribosome : synthèse protéique, maturation et adressage des protéines.	53
3.6. Système ubiquitine -protéasome.	56
3.7. Système lysosomal.	63
3.8. Noyau et échanges avec le cytosquelette.	65
Chapitre 4. Glycosylation des macromolécules et rôle biologique.	66
4.1. Glycosylation des protéines.	66
4.2. Glycolipides.	71
Chapitre 5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire	72
5.1. Récepteurs et ligands.	72
5.2. Transducteurs et Facteurs de couplage.	76
5.3. Amplification du signal via les seconds messagers.	78
5.3.1. Cascade phospholipases C et D/DAG/IP3/Ca ²⁺ .	78
5.3.2. Cascade phospholipase A2/ Eicosanoides.	80
5.3.3. Cascade AMPc/PKA/CREB).	81
5.3.4. Cascade NO/GMPc.	84
Chapitre 6. Anomalies de signalisation et pathologies	86
6.1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie.	86
6.2. Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires (mitochondries, lysosomes, noyau).	89
Références bibliographiques.	93

Chapitre 1

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

1.1. Cellule procaryote cellule eucaryote

La cellule est l'unité fondamentale, structurale et fonctionnelle des organismes vivants. Elle peut remplir toutes les fonctions de l'organisme, à savoir le métabolisme, le mouvement, la croissance, la reproduction ou encore la transmission de gènes. C'est une entité vivante qui fonctionne de manière autonome, tout en restant coordonnée avec les autres. Tout organisme vivant est soit une cellule isolée, soit une association de plusieurs cellules. Il existe deux grands types d'organismes :

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

Les eucaryotes (du grec eu, propre) sont généralement de plus grande taille, avec un noyau bordé d'une membrane. Le plus souvent, elles contiennent aussi des membranes internes qui cloisonnent la cellule en y délimitant des organites qui ont des fonctions biologiques spécialisées.

1.2. Cellules procaryotes

Les cellules procaryotes sont divisées en deux types cellulaires :

- Les **archéobactéries** qui prennent en compte les cellules méthanogènes, les cellules halophiles et les cellules thermoacidophiles. Les archéobactéries sont les premières à coloniser les roches nues car elles survivent avec le minimum de ressources.
- Les **eubactéries** (ou « vraie-bactérie ») sont les plus proches des bactéries actuelles. Elles prennent en compte les bactéries contemporaines, les mycoplasmes et les cyanobactéries.

Les bactéries se distinguent par leurs parois cellulaires mise en évidence par la coloration de Gram. On trouve des bactéries « gram + » et des bactéries « gram – ». Les cellules procaryotes contiennent un compartiment unique, le cytoplasme, contenant un chromosome ou une molécule d'ADN unique qui est le plus souvent circulaire et que l'on appelle le nucléoïde (**Figure 01**). Les bactéries se répliquent rapidement par division cellulaire ou scissiparité. Elles peuvent être pathogènes ou non pathogènes.

1.3. Cellules eucaryotes

Les eucaryotes correspondent aux organismes multicellulaires (animaux, plantes, champignons) ainsi qu'à quelques eucaryotes unicellulaires. Les eucaryotes monocellulaires correspondent aux **protistes** qui sont de deux types : animal les **protozoaires** et végétal les **protophytes**. Le modèle protistes est la levure ou *Saccharomyces Cerevisae* qui est un champignon à paroi cellulaire rigide qui absorbe des sucres pour sécréter de l'alcool et du CO₂ (**Figure 01**). Les cellules végétales sont capables de synthétiser toutes substances organiques à partir de matière inorganique et de lumière. Elles contiennent des chloroplastes présentant des vacuoles volumineuses limitées par une double membrane qui correspondent à des saccules empilées les unes sur les autres où se réalisent la photosynthèse et donc qui contiennent de la chlorophylle. Les chloroplastes, comme les mitochondries, peuvent se reproduire et possèdent leurs propres ADN.

1.4. Différences entre procaryotes et eucaryotes (Tableau 01)

Les cellules procaryotes ne possèdent pas de noyaux et possèdent un ADN circulaire ou linéaire, situé dans le cytoplasme et haploïde à l'état végétatif. De cette manière la réplication, la transcription et la traduction de l'ADN se fait directement dans le cytoplasme.

Les procaryotes n'ont pas de cloisonnement cytoplasmique et leurs membranes ne possèdent pas de stéroïdes mais elles sont doublées d'une couche de peptidoglycane formant la paroi cellulaire. La substance fondamentale du cytoplasme est appelé le cytosol qui est rigide chez les procaryotes, avec une absence de flux (ni exocytose, ni endocytose). Les procaryotes ne possèdent ni organites ni cytosquelette.

Les cellules eucaryotes possèdent un noyau qui est l'organite le plus volumineux et qui est délimité par une double membrane appelée enveloppe nucléaire. Dans le noyau se réalise la réplication et la transcription de l'ADN ; la traduction se fait dans le cytoplasme de la cellule. Les eucaryotes ont des cloisonnements cytoplasmiques permettant la formation des organites (noyau réticulum endoplasmique, appareil de golgi, lysosomes, peroxyosomes et vésicules), ces organites nagent dans le cytosol qui chez les eucaryotes est fluide avec présence de flux grâce au cytosquelette. Les membranes plasmiques ne sont pas doublées d'une paroi pour les animaux, mais doublées pour les végétaux (paroi pecto-cellulosique) et pour les champignons (paroi polysaccharidique) ; dans tous les cas il y a absence de peptidoglycane mais présence de stéroïdes.

1.5. Organisation des cellules eucaryotes

Les cellules eucaryotes sont délimitées par une membrane (animaux) ou paroi (végétaux) et possèdent un noyau qui est l'organite contenant le génome de l'individu.

Dans la cellule eucaryote il existe également des organites qui font soit parti du système endo-membranaire, soit parti des organites clos (peroxysomes, mitochondries et chloroplastes).

- Le **système endo-membranaire** correspond à l'ensemble des saccules limité par des membranes simples en communication permanente les unes avec les autres, et avec la membrane plasmique grâce à des vésicules (réticulum-endoplasmiques, enveloppe nucléaire, appareils de Golgi, lysosomes et endosomes).
- Les **organites clos** sont les principaux transformateurs énergétiques de la cellule, ils permettent la formation d'énergie.

D'autre part le **cytosquelette** permet le maintien de la morphologie cellulaire, la position des organites dans la cellule et le transport de différents composants cytoplasmiques.

1.5.1. Organisation morphologique des compartiments

La cellule eucaryote est dite compartimentée : il existe un réseau de membranes internes qui délimitent des compartiments isolés, que sont les organites. De plus, les organites sont des unités spécialisées dans des tâches particulières.

1.5.1.1. Membrane plasmique : délimite la cellule, elle est constituée de lipides disposés en bicouche et de protéines, et a une épaisseur d'environ 7,5 nm. Du côté basal, elle est donc ancrée dans la lame basale, grâce à un complexe moléculaire : les hémidesmosomes. Les molécules échangées avec le sang, comme les acides aminés, traversent la membrane plasmique basale. Elle possède aussi les récepteurs aux hormones qui contrôlent l'activité de la cellule. Du côté apical, on peut observer de nombreux replis : c'est la zone où se vident les vésicules emplies de protéines (c'est l'exocytose). Sur les côtés de la cellule, c'est la zone de contact avec les cellules voisines : la membrane assure la cohésion entre cellule grâce à des jonctions intercellulaires.

1.5.1.2. Cytoplasme : est le compartiment délimité par la membrane plasmique, on distingue :

- le cytosol (ou hyaloplasme) : eau, ions et autres molécules dissoutes enzymes, oses... ou encore des structures de plus grande taille comme les ribosomes.
- Les organites sont des entités délimitées par une ou deux membranes.

1.5.1.3. Noyau : est délimité par une enveloppe nucléaire : 2 couches de membrane percée de pores nucléaires. Le compartiment entre les 2 mb est l'espace périnucléaire, qui est en continuité avec le réticulum endoplasmique ou RE. Le compartiment nucléaire contient l'ADN. Un rapport N/C élevé est signe d'une intense activité de synthèse protéique. L'ADN est sous forme de chromatine (par opposition aux chromosomes condensés lors de la mitose). La chromatine correspond à des molécules d'ADN plus ou moins condensées. Chromatine dense (**hétérochromatine**) : ADN condensé, chromatine peu dense (**euchromatine**) : ADN moins condensé, séquences exprimées. Le nucléole est un mélange de chromatine et d'ARN, c'est la zone de fabrication des ribosomes. La face interne de l'enveloppe est couverte par la lamina : un réseau de filaments protéiques (lamines A, B et C). Les lamines donne forme et rigidité au noyau.

1.5.1.4. Réticulum endoplasmique granuleux : Il est constitué de cavités aplaties délimitées par une simple membrane. Il forme un réseau de cavités dont les lumières communiquent entre elles et avec le noyau. Il est qualifié de rugueux car de nombreux ribosomes sont fixés sur la membrane. Il est le siège de la traduction, la synthèse de certaines protéines. Les protéines transmembranaires et sécrétées sont traduites au niveau du réticulum. De telles protéines portent une séquence signal qui permet la fixation du ribosome à la membrane du REG. Les protéines en synthèse sont transférées dans la lumière du REG. Le réticulum endoplasmique lisse ou REL sans ribosome est impliqué dans la synthèse des dérivés lipidiques (peu présent dans ces cellules).

1.5.1.5. Appareil de Golgi: Il est situé plutôt dans la partie apicale de la cellule, par rapport au REG. Il est constitué de plusieurs dictyosomes eux-mêmes constitués de saccules, délimités par une seule membrane. Les saccules peuvent bourgeonner et former des vésicules. Un dictyosome est polarisé : Face CIS reçoit les vésicules issues du REG. Face TRANS extraction de vésicules vers le pôle apical. Les vésicules sont de petits organites sphériques, limités par une membrane simple. Elles sont éventuellement entourées par une cage protéique. L'AG est le lieu de transformation finale des protéines. La glycosylation (ajout de chaînes glucidiques complexes) se réalise à ce niveau.

1.5.1.6. Lysosomes : sont de petits organites sphériques (0.2 à 0.5 μ m de diamètre), délimités par une simple membrane. Ils sont spécifiques des cellules animales. Ils contiennent de nombreuses enzymes hydrolytiques (environ 40 différentes : lipase, nucléase, protéases. Le pH est acide, environ 5 alors que le cytosol est à 7.2. Ce pH acide est optimal pour l'activité des enzymes. Il est entretenu par une pompe à protons. Les lysosomes sont responsables de digestion intracellulaire : les hydrolases acides dégradent des molécules, par exemple les protéines mal repliées peuvent être détruites...

1.5.1.7. Mitochondries: Les mitochondries sont le lieu de la synthèse d'ATP (Adénosine Triphosphate) qui est la forme d'énergie chimique utilisée par les cellules. La synthèse d'ATP repose sur la respiration cellulaire : c'est la dégradation d'une molécule organique carbonée, qui permet la conversion de l'énergie en ATP, ces réactions nécessitent de l'O₂ et rejettent du CO₂. Comme la cellule est dépendante d'une source extérieure de carbone, on dit qu'elle est hétérotrophe. Les mitochondries ont une forme cylindrique de 0.5 à 1 μ m, (taille d'une bactérie). Elles sont délimitées par une double membrane, la membrane externe et la membrane interne, ce qui donne 2 compartiments : matrice et espace inter membranaire. Elles possèdent des complexes protéiques, impliqués dans la chaîne respiratoire. Elles possèdent une molécule d'ADN mitochondrial circulaire proche en structure des chromosomes bactériens. Les mitochondries sont capables de se diviser, elles sont transmises aléatoirement lors d'une division cellulaire.

1.5.1.8. Cytosquelette : est un ensemble de protéines, situées dans le cytoplasme. Elles sont communes à toutes les cellules eucaryotes. C'est le squelette de la cellule :

- il donne la forme à la cellule (et éventuellement lui permet des changements de forme)
- il donne une certaine rigidité à la cellule
- Il permet le mouvement des cellules elles-mêmes ou des organites à l'intérieur de la cellule. Ou encore par exemple, le mouvement des chromosomes lors de la mitose.

On trouve aussi dans le cytoplasme des **endosomes**, des vésicules provenant de l'endocytose d'une région d'une membrane, la membrane plasmique et donc chargées de molécules introduites ainsi dans le cytoplasme et les **peroxysomes**, structures sphériques délimitées par une membrane lipidique qui sont chargés de la détoxification de la cellule (par dégradation du peroxyde d'hydrogène).

Tableau 01. Comparaison entre cellule procaryote et cellule eucaryote [Site web1].

Caractéristiques	Cellule Procaryote	Cellule Eucaryote
Taille typique	1-10 µm	10-100 µm
Type de <u>noyau</u>	nucléoïde (pas de véritable noyau)	vrai noyau avec double membrane
Division de la cellule	division simple	mitose (réplication de la cellule) méiose (menant à la formation de gamètes)
Organismes	Eubactéries Archéobactéries	Champignons Plantes Animaux
Organisation génétique		
Membrane nucléaire	non	oui
Nombre de chromosomes	généralement 1	> 1
Chromosome circulaire	oui	non
Histones	non	oui
<u>Nucléole</u>	non	oui
Echange génétique	transfert unidirectionnel	fusion de gamètes
<u>ARN et synthèse des protéines</u>	couplé au cytoplasme	synthèse d'ARN dans le noyau synthèse de protéines dans le cytoplasme
Premier <u>acide aminé</u> initiant la synthèse d'une chaîne polypeptidique	méthionine ou N-formylméthionine	méthionine
Structures cellulaires et organites		
<u>Réticulum endoplasmique</u>	non	oui
Appareil de Golgi	non	oui
<u>Lysosomes</u>	non	oui
<u>Mitochondries</u>	non	oui
<u>Chloroplastes</u>	non	oui chez les plantes
Microtubules	non	oui
Paroi cellulaire avec peptidoglycane	oui	non
Présence de stérols dans les membranes	non	oui
Endospores	oui, parfois	non
Taille des <u>ribosomes</u>	70 S	80 S, sauf mitochondries et chloroplastes
Localisation des ribosomes	dispersés dans le cytoplasme	dispersés dans le cytoplasme ou liés au réticulum endoplasmique
Constantes de sédimentation des <u>ARN ribosomaux</u>	16S, 23S, 5S	18S, 28S, 5,8S, 5S
Attributs fonctionnels		
Phagocytose	non	oui, parfois
Pinocytose	non	oui, parfois
Flux cytoplasmique	non	oui
Mouvement de la cellule	flagelles faites de flagelline	flagelle et cils faits de tubuline
Site du <u>transport des électrons</u>	membrane cellulaire	membrane des organites

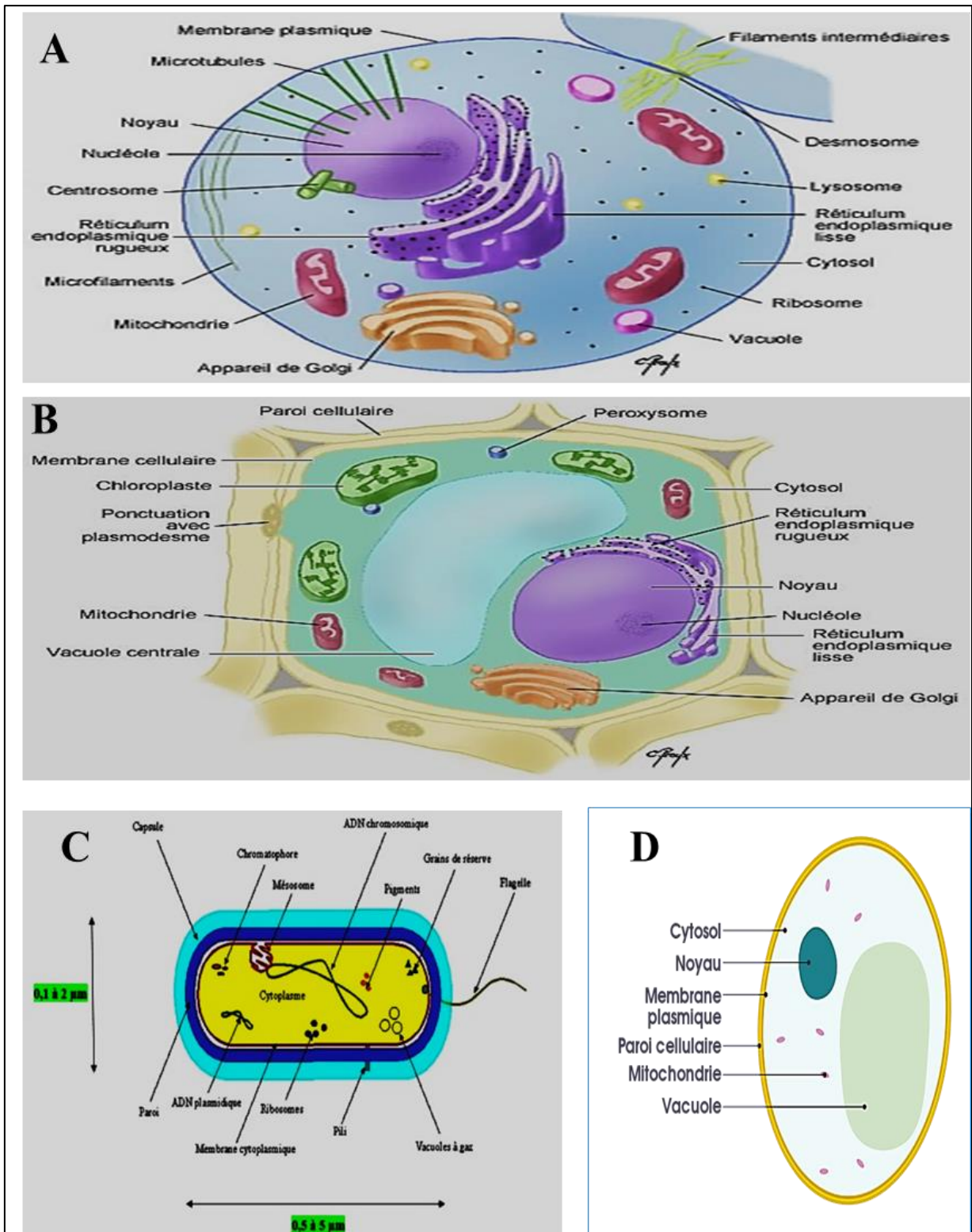


Figure 01. Structure des cellules. (A : cellule animale, B : cellule végétale, C : bactérie, D : levure)[Site web 2].

Chapitre 2

2. Biomembranes

Les biomembranes, membranes biologiques ou membranes cellulaires sont des doubles couches phospholipidiques dans lesquelles s'insèrent de manière asymétrique et inhomogène d'autres structures. Elles régulent les échanges de matière entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule ou entre deux compartiments cellulaires. La membrane délimitant la cellule est appelée membrane plasmique et les membranes des organites sont appelées par le nom de l'organite concerné (membrane nucléaire, membrane mitochondriale, etc.).

2.1. Composition des biomembranes

En microscopie électronique on observe une structure tri-laminaire de la membrane : un feuillet clair de 3 nm (environ 2 fois la longueur d'une chaîne d'acide gras) entouré par 2 feuillets sombres de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ 8 nm. Ceci a permis de mettre en évidence la structure en bicouche phospholipidique de la membrane plasmique. Les membranes cellulaires sont composés essentiellement de : phospholipides et des protéines.

L'analyse de la composition de membranes biologiques pose le problème de leur isolement des autres constituants cellulaires. Pour les différents types cellulaires, la destruction de la cellule permet d'obtenir des membranes d'origines différentes membrane plasmique plus membranes des organites intracytoplasmiques. Pour les érythrocytes (globules rouges), l'isolement de la membrane plasmique est très facile, car elles sont sans noyau, ni organites intracytoplasmiques, et ne contiennent qu'une solution riche en hémoglobine.

2.1.1. Isolement des membranes plasmiques des érythrocytes

La membrane cellulaire sera fragmentée par un choc osmotique, permettant la libération du milieu intracellulaire, puis un culot de membranes sera isolé après centrifugation. La technique est aisée, après avoir lavé les hématies dans une solution saline isotonique (Na Cl 9%), on rend le milieu hypotonique par dilution (on ramène la concentration à 5%). Les hématies gonflent, éclatent et se vident de leur hyaloplasme, phénomène d'hémolyse. Par centrifugation, on obtient un culot de membranes appelées ghosts ou fantômes d'hématies. La Séparation de la membrane plasmique des autres membranes, c'est par l'utilisation de principe de l'ultracentrifugation, en se basant sur les différences des densités entre membranes d'origines différentes (**Figure 02, 03**).

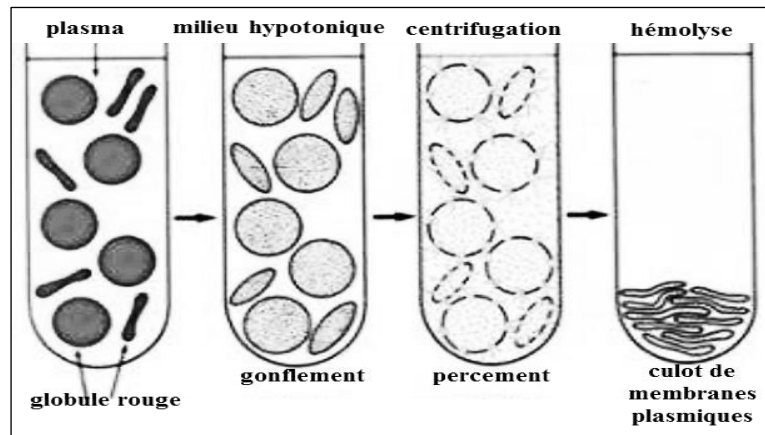


Figure 02. Isolement et observation de membranes plasmiques de globules rouges) [Site web 3].

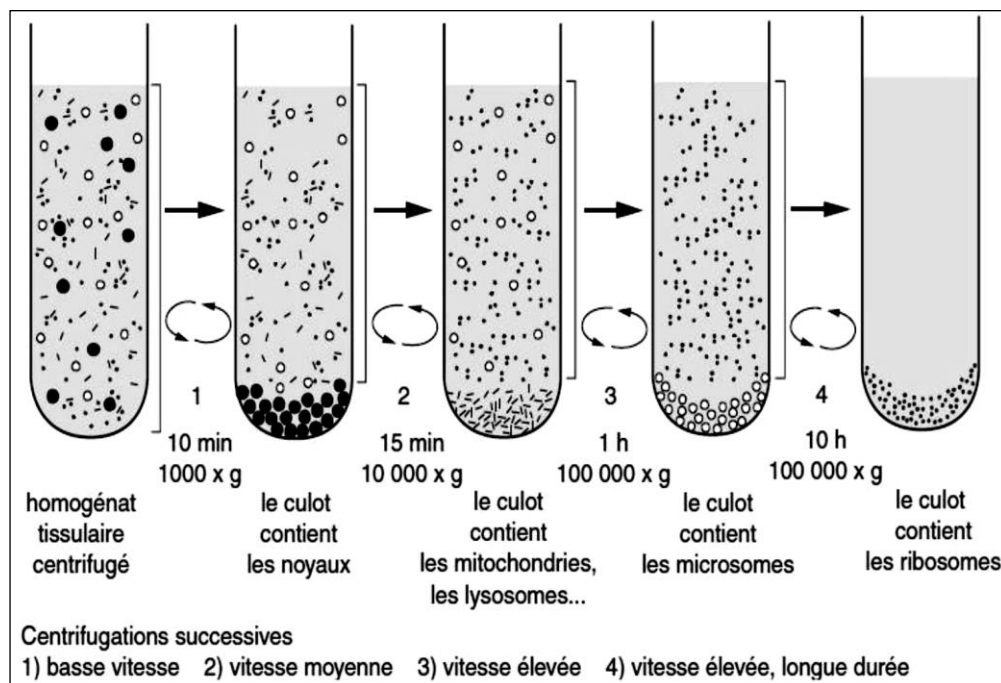


Figure 03. Isolement de membranes d'origines différentes) [Site web 4].

2.1.2. Lipides membranaires : Les lipides membranaires sont : les phospholipides, le cholestérol, les sphingophospholipides, les glycolipides (~ 49%). Il est à noter que les solvants organiques extraient 50% des lipides membranaires et 50% restent liés aux protéines.

- **Les phospholipides :** résultent de l'estérification du glycérol par 02 acides gras et par l'acide phosphorique. La tête polaire regroupe, une molécule de choline, une molécule de phosphate, une molécule de glycérol. Les queues sont des chaînes aliphatiques saturées (-CH₂-CH₂-CH₂-) ou insaturée (- CH₂-CH=CH-CH₂).

- **Le cholestérol** : possède un groupement polaire et un groupement stéroïde rigide s'insérant entre les parties hydrophobes proches des parties hydrophiles des lipides membranaires. Il représente $\frac{1}{4}$ des lipides. Il stabilise la bicouche et ses modifications agissent sur la fluidité.
- **Les sphingophospholipides** : correspondent à l'association de sphingosine, d'acide gras, d'acide phosphorique et d'alcool ou d'acides aminés ; on obtient ainsi la sphingomyéline (par association de la choline).
- **Les glycolipides** : Chez les mammifères, les glycolipides assurent une partie de l'antigénicité de surface. Les récepteurs membranaires sont généralement de nature protéique ou glycoprotéique. Cependant certains lipides jouent le rôle de récepteurs membranaires, comme par exemple, le récepteur de la toxine choérique, le GM1 = ganglioside monosialyté.

2.1.2.1. Mode de déplacement des lipides (Figure 04)

- Mouvement latéral : sur le même plan, rapide $1\mu\text{m}/\text{s}$, dépend la longueur de la chaîne aliphatique et sa saturation et le sens.
- Mouvement de bascule ou flip flop, d'une couche à l'autre, rare et très lent, dépend de l'enzyme, la flipase et d'énergie.
- Mouvement de rotation par rapport à leur axe longitudinal.

2.1.3. Protéines membranaires : Les Protéines membranaires sont des récepteurs, des transporteurs ou des enzymes) (~ 43%), attachées plus au moins aux phospholipides, on a : les protéines intrinsèques, les protéines extrinsèques et les protéines périphériques.

2.1.3.1. Protéines intrinsèques : Sont des protéines transmembranaires traversant la membrane une seule fois ou à traversée unique (protéines bitopiques) (exemple la glycophorine des hématies). Ou la traversant plusieurs fois ou à traversées multiples (protéines polytopiques) (exemple : canal ionique de la protéine bande 3 au niveau des poumons). Et protéines monotopiques dont une seule face émerge de la bicouche lipidique ou exemple : cytochrome b 5).

2.1.3.2. Protéines extrinsèques : Elles sont localisées soit sur la face intracellulaire, soit sur la face extracellulaire.

2.1.3.3. Protéines périphériques : sont situées sur le versant intracellulaire ou sur le versant extracellulaire.

2.1.3.4.. Mode d'ancrage des protéines

- **Protéines intrinsèques** : liaisons non covalentes de fortes énergie, les lient aux lipides par l'intermédiaire des aminoacides hydrophobes, comme la leucine, la valine, la tryptophane, phénylalanine,
- **Protéines extrinsèques** : sont liées par des liaisons plus faibles, liaisons électrostatiques, soit aux groupements polaires des lipides, soit aux régions hydrophiles des protéines intrinsèques.
- **Protéines périphériques** : la face externe est liée par le GPI (glycophosphatidylinositol), et la face cytosolique par des longues chaînes hydrocarbonées.

2.1.3.5. Mode de déplacement des protéines (Figure 04)

- Mouvement de rotation.
- Mouvement dans le même compartiment et de compartiment à compartiment.
- La vitesse de diffusion est déterminée par la taille de compartiment et la fréquence des sauts entre les compartiments.

2.1.4. Glucides : (glycolipides et glycoprotéines) (~8%), ils forment les chaînes glucidiques du cell coat, situé sur la face externe, lié aux protéines et aux lipides.

- **Fonctions**
 - Protection mécanique, chimique, (enzymes et grosses molécules)
 - Charge de surface négative, (due à l'acide sialique).
 - Piégeage des cations
 - Activités enzymatiques : maltase (cellules intestinales).
 - Adhérence cellulaire.

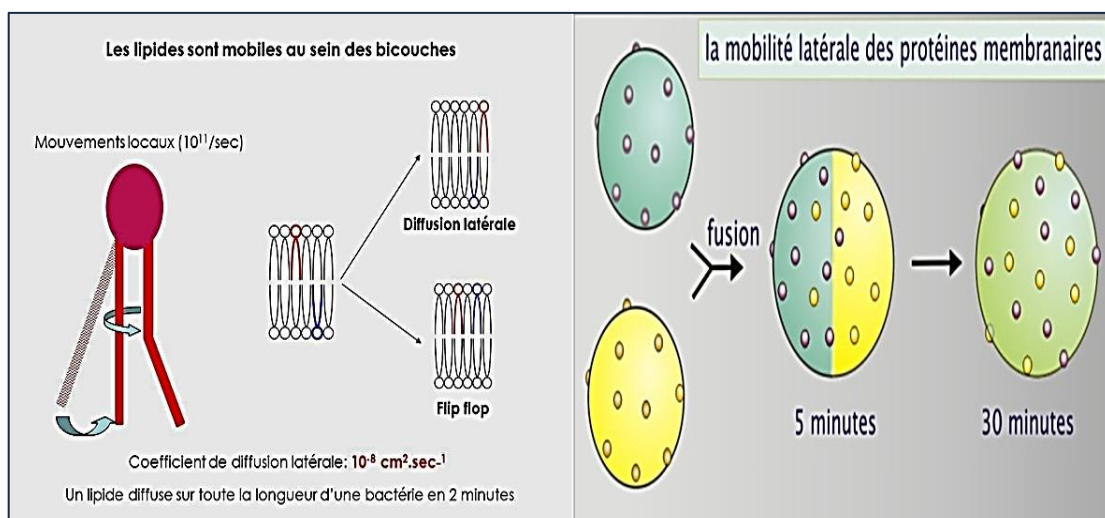


Figure 04. Mode de déplacement des lipides et des protéines [Site web 4].

2.2. Architecture biomoléculaire des membranes.

L'architecture de la membrane plasmique (épaisseur de la membrane cellulaire : 7-8 nm) est actuellement comparée à une mosaïque fluide (modèle de Singer et Nicolson 1972). Les lipides sont organisés en une double couche ou bicouche lipidique du fait des propriétés amphiphiles de : molécules qui les constituent (deux couches de phospholipides), les queues hydrophobes (insolubles dans l'eau) se font face à l'intérieur, alors que la tête hydrophile est exposée au milieu aqueux. Elle n'est pas une structure figée, les lipides sont mobiles au sein de la bicouche ce qui lui confère la fluidité d'un liquide, cette fluidité autorise le déplacement des protéines. Les protéines à la surface et à travers. Les polysaccharides attachés aux lipides ou aux protéines. Le cholestérol entre les phospholipides (**Figure 05**). La fluidité membranaire intervient dans différentes fonctions cellulaires : absorption, sécrétion, protection, adhérence, communication, interaction avec la matrice etc. La fluidité est influencée par différents facteurs, des facteurs externes comme la température et des facteurs internes comme la composition en acides-gras : Plus les chaînes carbonées des acides-gras sont courtes et insaturées plus la membrane est fluide. La proportion de cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane. Le nombre de protéines diminue la fluidité membranaire.

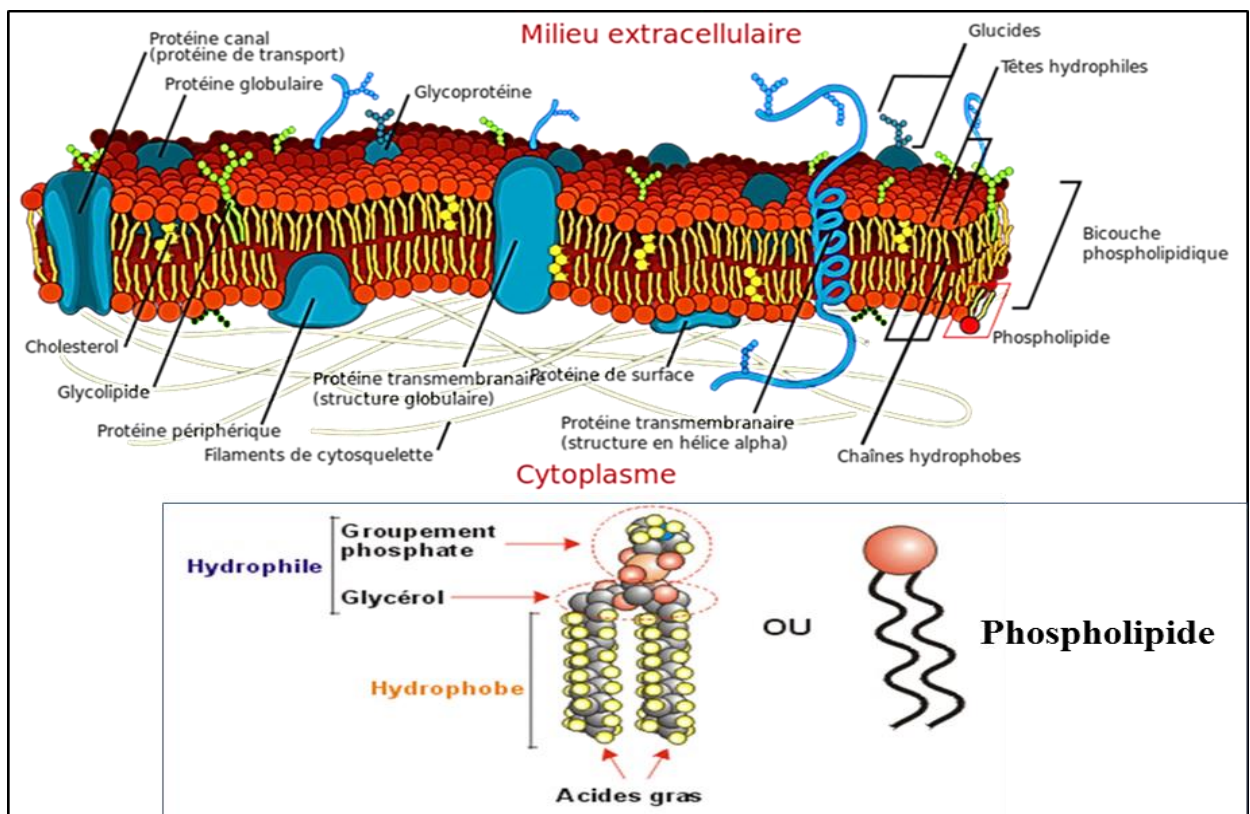


Figure 05. Structure mosaïque de membrane biologique et phospholipide [Site web 5].

2.2.1. Rôles des protéines membranaires

- Les transports transmembranaires.
- La réception d'informations.
- Les mécanismes de reconnaissance cellulaire.
- L'inhibition de Contact.
- L'adhérence entre cellules.
- Des activités enzymatiques très variées.
- Des liaisons structurales avec des éléments de la matrice extracellulaire.
- La fixation de substances médicamenteuses, de virus, de toxines ou de cellules.

2.3. Échanges membranaires : Les échanges ou transports membranaires se divisent en transports cytotiques et transports perméatifs.

2.3.1. Transports cytotiques: s'appliquent aux solutés et substances de haut poids moléculaire et dépensent de l'énergie et font intervenir le cytosquelette. On a 02 modes : l'endocytose et l'exocytose (**Figure 06**).

2.3.1.1. L'endocytose : se répartit en **pinocytose** (boire pour les macromolécules et solutés) et **phagocytose** (manger : particules solides et germes) (**Figure 07**). On a :

- **Pinocytose à vésicules lisses :** endocytose non spécifique, la substance liquide pénètre dans la vésicule qui se forme par étranglement.
- **Pinocytose à vésicules recouvertes :** hautement spécifique, correspond à la formation de vésicules à manteau de clathrine (protéine), contenant des récepteurs adaptine –dépendants. La dynamine (GTPase) sert à la fermeture des vésicules. Leur déplacement dépend de CLIP70 (Cytoplasmic Linker Protein).Elles perdent leur revêtement grâce aux Hsp (Heat choc proteins) et se fusionnent en un endosome précoce.
- **Potocytose :** formation des cavéoles qui contiennent une protéine, la cavéoline , dont la totalité de la membrane est constitué par les DIGs (Detergent Insoluble Glicolipid Enriched Domaine)
- **Macropinocytose :** formation des macropinosomes, vésicules non revêtues qui ne fusionnent pas avec lesendosomes.
- **Trancytose :** les molécules sont transportées dans des vésicules lisses à travers la cellule d'un milieu à un autre, elle est déclenchée par des signaux.

2.3.1.2. Exocytose : excrétion des molécules endogènes et exogènes. Elle peut être :

- **Constitutive (sécrétion continue)** : vésicules sont recouvertes d'un manteau de COPs (Coat Proteins).
- **Contrôlée (sécrétion discontinue)** : induite par un stimulus, les vésicules sont recouvertes de Catherine Dans les 2 cas, les vésicules sont déshabillées avant leur fusion avec la membrane plasmique.

2.3.1.3. Mécanisme moléculaire de l'exocytose

- Accès à la membrane plasmique par la dépolymérisation des filaments d'actine grâce à la gelsoline activée par les Ca^{++}
- Transport des vésicules par les microtubules et la kinésine.
- Fusion des membranes plasmiques et vésiculaires en présence des fusogènes, de protéines d'ancrage qui ancrent les vésicules au site membranaire d'exocytose.

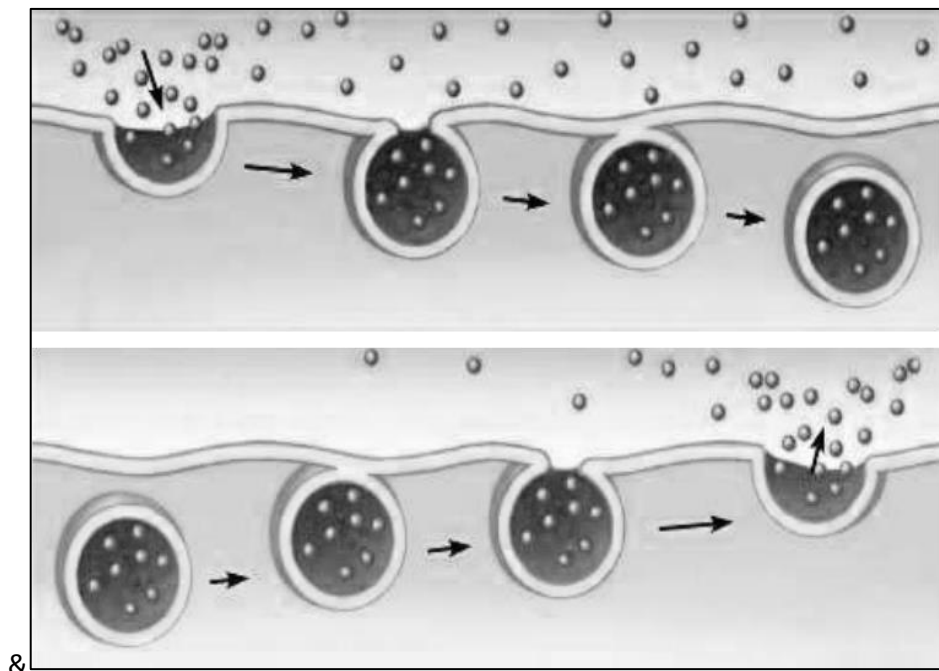


Figure 06. Endocytose et exocytose [Site web 6].

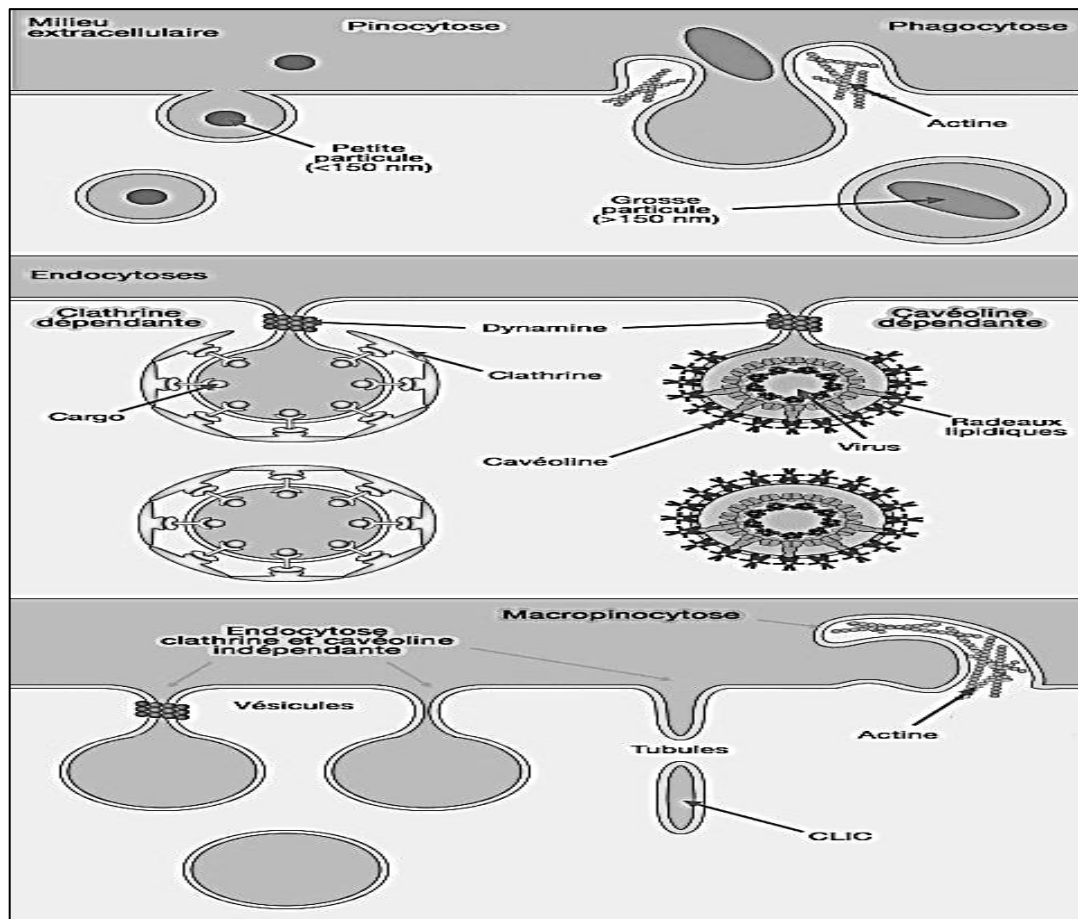


Figure 07. Différentes formes de pinocytose [Site web 7].

2.3.2. Transports perméatifs : transports transmembranaires sans modification morphologiques de la membrane plasmique. Sans intervention du cytosquelette. Concernent les molécules non polaires de faible poids moléculaire. Ils se divisent en : **transports passifs** qui ne consomment pas de l'énergie et **transports actifs** qui consomment de l'énergie (Figure 08).

2.3.2.1. Transport passifs

2.3.2.1.1. Diffusion simple

- Ne se fait pas par transporteur.
- S'effectue en descendant un gradient électrochimique (de forte concentration vers faible concentration).
- Ne requiert pas d'énergie.
- Elle peut être mesurée par l'équation suivante :

$$J = PA (C_1 - C_2)$$

J= flux ou débit en m mole/s

P= perméabilité en cm/s

A = surface en cm^2

C_1 = concentration 1 en m mol/l

C_2 = concentration 2 en m mol/l

- ✓ **Remarque** : le flux net est proportionnel au gradient de concentration, à la surface de la Mb et à la constante de perméabilité. Les molécules non polaires diffusent plus rapidement que les molécules polaires car elles peuvent se dissoudre dans les lipides non polaires.
- ✓ **Perméabilité** : la facilité avec laquelle un soluté diffuse à travers la Mb. Elle dépend des caractéristiques du soluté et de la membrane donc:
 - L'augmentation du coefficient de partition huile/ eau augmente la solubilité dans les lipides de la Mb
 - La diminution du rayon (taille) du soluté augmente la Vitesse de diffusion
 - La diminution de l'épaisseur de la membrane diminue la distance de diffusion

2.3.2.1.2. Diffusion facilitée

- Se produit en descendant un gradient électrochimique
- Ne requiert pas de l'énergie et donc passive
- Elle se fait à l'aide des porteurs et par conséquent elle est sujette à la :
 - Stéréospécificité : D-glucose est transporté mais pas le L- glucose
 - Saturation : débit augmente avec la concentration jusqu' à la saturation des transporteurs.
 - Compétition : dispute des molécules semblables dans le site de passage (ex : glucose et galactose).

✓ Remarque

Le flux dépend du nombre de transporteurs protéiques présents dans la Mb, leur degré de saturation, l'affinité et la vitesse de changement de conformation du transporteur.

✓ Exemples de diffusion facilitée

- Transporteurs de glucose ou GLUTs
- Aquaporines ou AQP : perméases assurant le transport de l'eau d'une manière spécifique. La vasopressine est l'hormone qui augmente le nombre d'AQPs et les stimule.

2.3.2.1.3. Osmose

- **Définition:** l'osmose est l'écoulement de l'eau (H₂O) à travers une membrane d'une manière passive (**Figure 09**).

* La solution de soluté de forte [] produit une pression osmotique à travers une membrane émi-perméable sur l'autre solution qui contient le soluté de faible []

- **Osmolarité :** concentration des particules osmotiquement actives dans une solution

$$\text{Osmolarité} = g \times c \text{ (Osmol/L)}$$

c : concentration (mol/L)

g : nombre des particules (osmol/ mol)

- Solutions isosmotiques : deux solutions de même osmolarité
- Solution hyperosmotique : solution à osmolarité plus forte.
- Solution hyposmotique : solution à osmolarité plus faible

* La pression osmotique augmente quand la concentration en soluté s'accroît.

- plus la pression osmotique est grande, plus l'écoulement d'H₂O vers elle est important
- pression osmotique de 1M CaCl₂ □ Que 1M KCl « particules ».

- **Coefficient de réflexion:** décrit la facilité avec laquelle un soluté pénètre une membrane, est un nombre compris entre 0 et 1.

2.3.2.1.4. Canaux ioniques: sont sélectifs (**Figure 10**) ; la sélectivité est liée à la

- Taille du canal
- Distribution des charges qui les tapissent
- canaux ouverts= les ions passent
- Canaux fermés= les ions ne passent pas
- l'ouverture et la fermeture est commandée par des portes.
- Conductance d'un canal « perméabilité » dépend de la probabilité que le canal soit ouvert.
- **Types**
 - a) Canaux voltage –dépendants.
 - b) Canaux ligands « chimiquement » dépendants

2.3.2.2. Transports actifs

- contre le gradient électrochimique
- à l'aide d'un transporteur

- exige un apport d'énergie
- s'effectue soit par modification de l'affinité du site, soit par la modification de la vitesse de changement de conformation.

2.3.2.2.1. Transport actif primaire

- En montant : contre un gradient électrochimique.
- Requièrent un apport d'énergie sous forme d'ATP.
- Se fait à l'aide des porteurs.
- ✓ **Exemple / Pompe à sodium ou pompe Na^+ - K^+ ou Na^+ / K^+ ATPase (Figure 11).**
 - Une ATPase de 270 Kd, protéine $\alpha_2\beta_2$ tetramère
 - Transporte 3 Na^+ du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire et 2 K^+ du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire.
 - Maintient une $[\text{Na}^+]$ basse et $[\text{K}^+]$ élevée
 - Na^+ et K^+ sont tous deux transportés contre le gradient de [].
 - **Rôle**
 - Crée un potentiel électrique entre la surface interne et la surface externe de la Mb.
 - Permet le fonctionnement des canaux voltage dépendant
 - Participent au fonctionnement des symports Na^+ - glucose
- ✓ **Autres exemples**
 - **Exemple / Pompe K^+ / H^+ ATPase, pompe Ca^{++} ATPase.**

2.3.2.2.2. Transport actif secondaire (Figure 12)

- Couplage du transport de O_2 ou plusieurs solutés
- L'un est transporté en descendant et fournit l'énergie pour l'autre en montant
- L'énergie métabolique n'est pas fournie directement mais indirectement à partir du gradient de Na^+ qui est maintenu à travers les membranes cellulaires par la pompe à sodium.

Type / Co-transports : déplacement des solutés dans la même direction = Symport.

- Transport du Na^+ //glucose dans l'intestin, le glucose en montant et le Na^+ en descendant.

Type / Contre-transports : déplacement des solutés dans des directions opposées = Antiport.

- Echangeur $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$, le Ca^{++} en montant et le Na^+ en descendant.

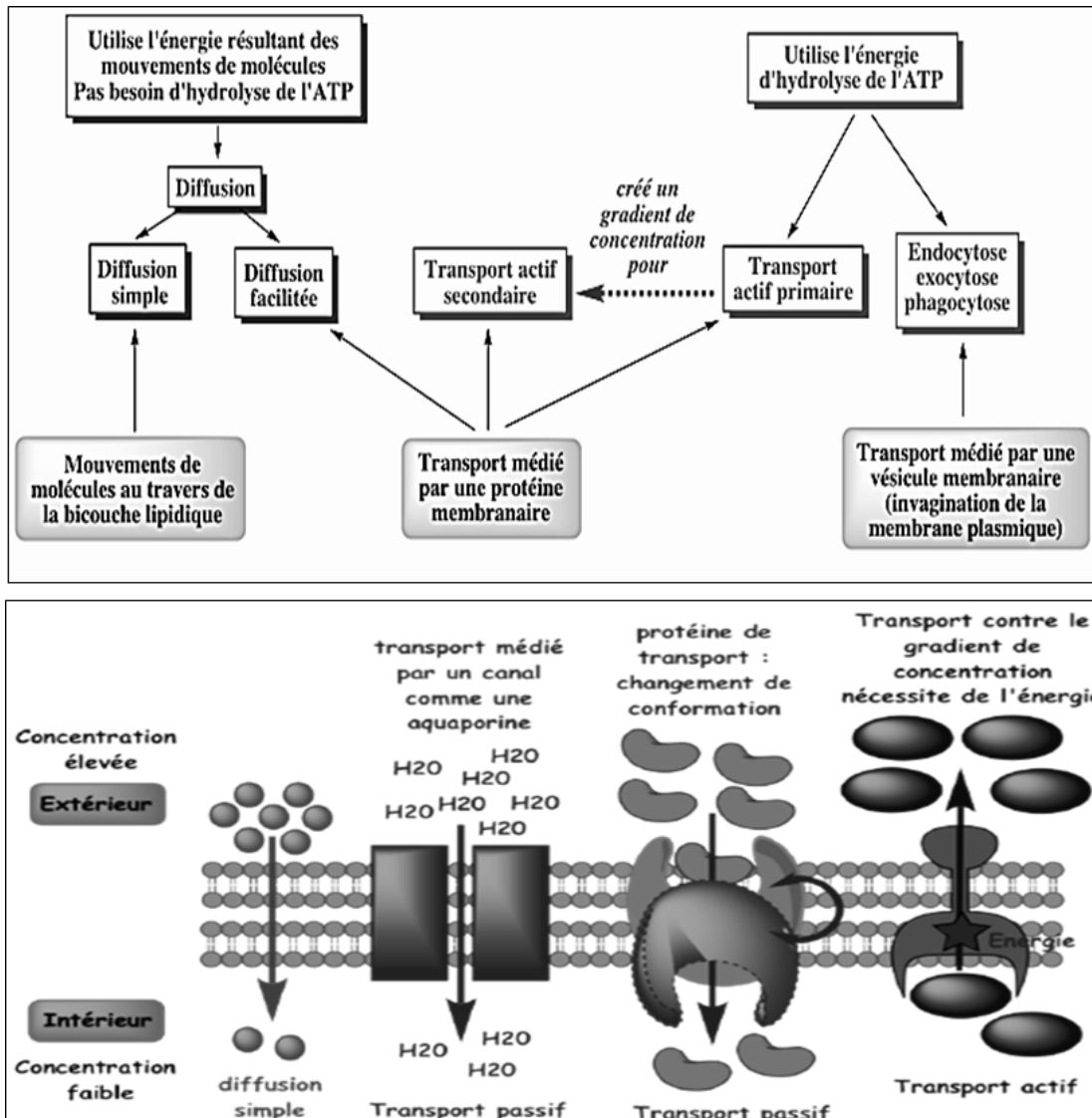


Figure 08. Transports perméatifs [Site web 8].

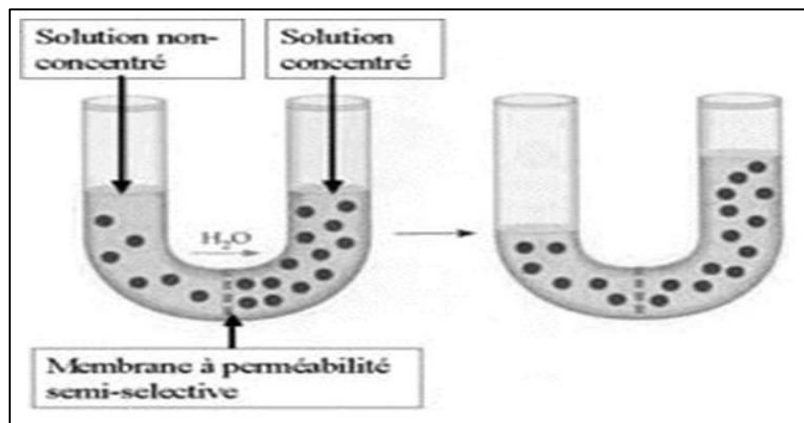


Figure 09. Osmose [Site web 9].

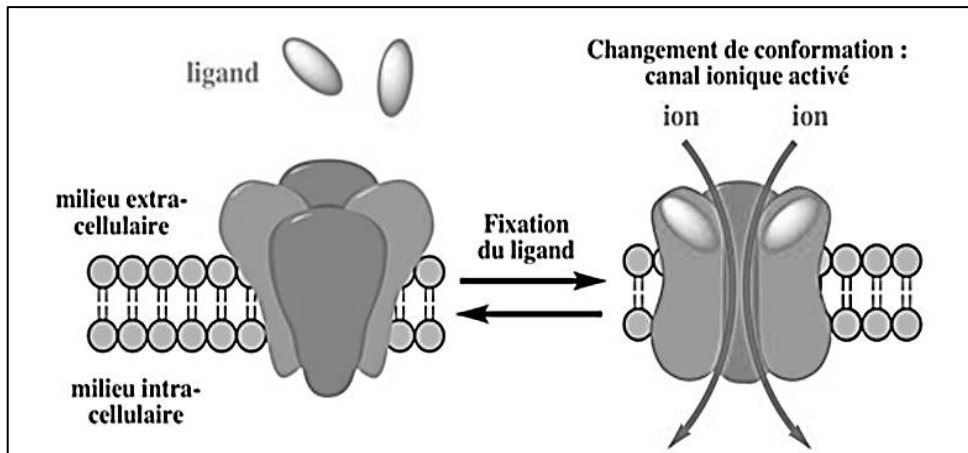


Figure 10. Canal ionique [Site web 9].

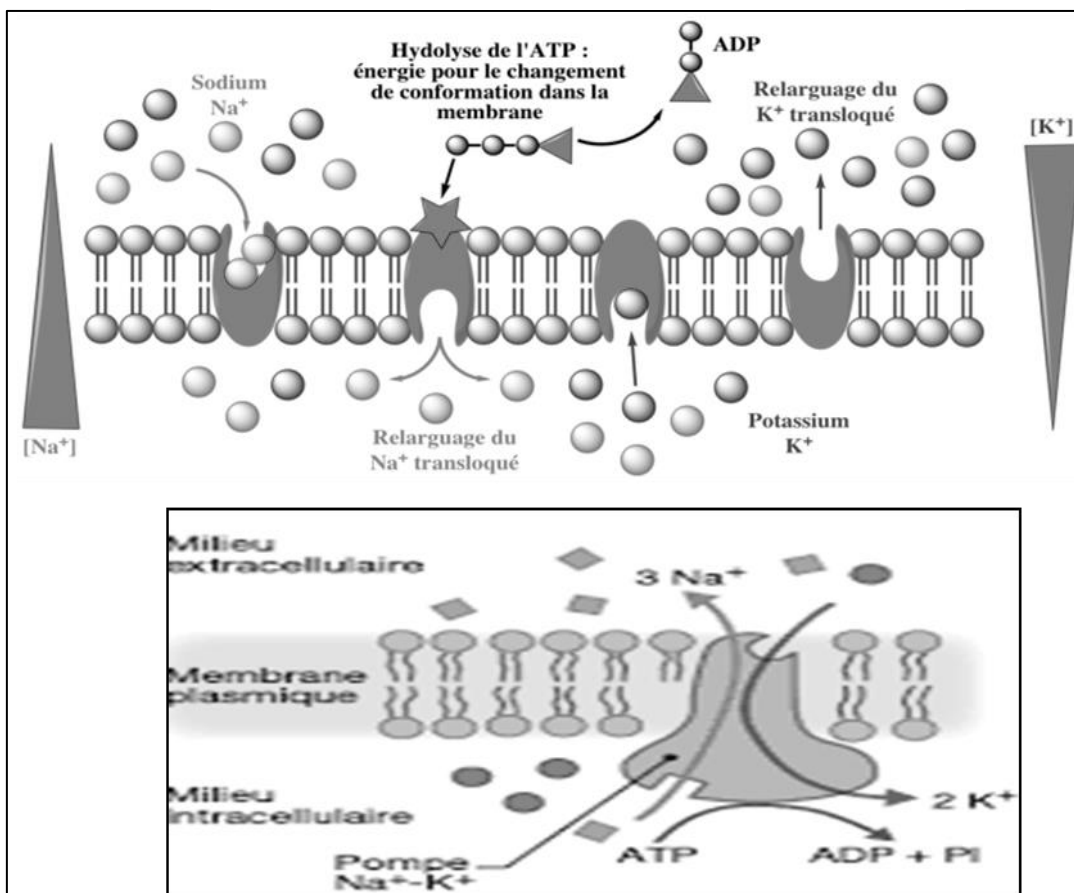


Figure 11. Fonctionnement de la pompe à sodium [Site web 8].

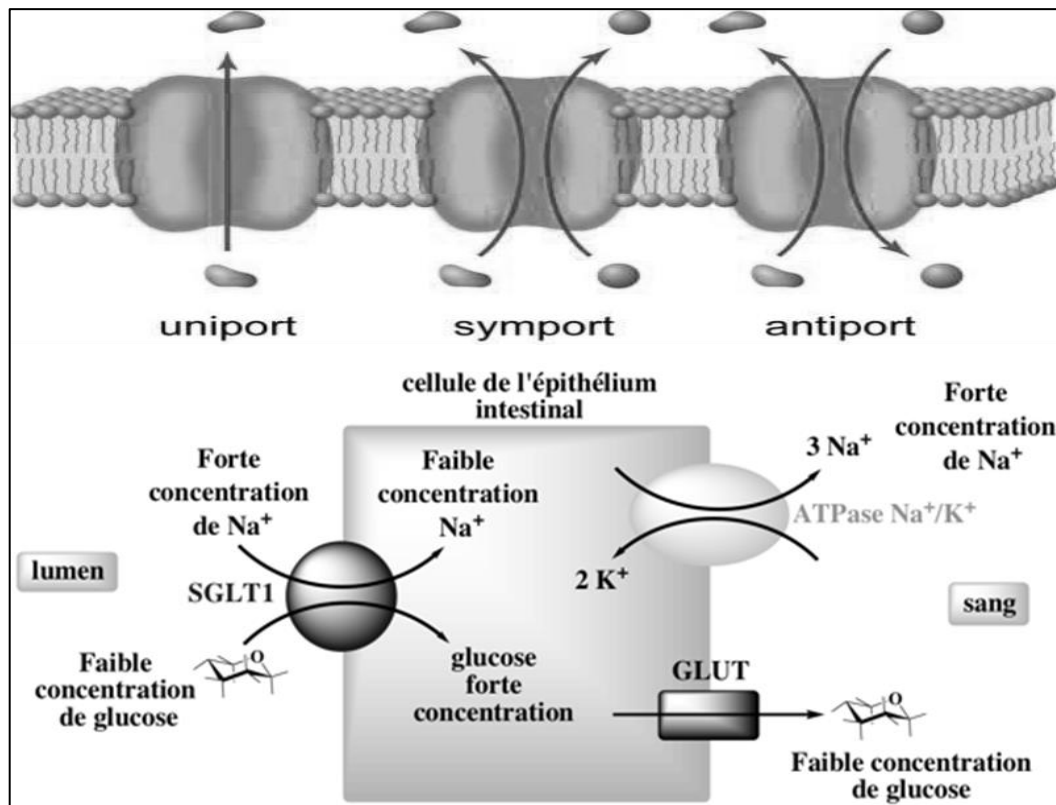


Figure 12. Transports actifs secondaires [Site web 8].

2.3.3. Electrophysiologie de la membrane plasmique

2.3.3.1. Potentiel de membrane: dans la membrane des cellules vivantes, une différence de répartition des ions de part et d'autre de la Mb est maintenu grâce à des protéines spécialisées « canaux ioniques » qui constituent des pores permettant les mouvements passifs d'ions dans le sens des différences de concentration.

- **Potentiel de repos:** en dehors de toute stimulation.
- **potentiel d'action:** Variations transitoires, liées à une modification brutale de la conductance membranaire aux ions. .
- **Potentiel diffusion:** différence de potentiel de part et d'autre de la membrane créée par la différence en concentration.
- **Potentiel d'équilibre:** potentiel de diffusion qui équilibre la tendance à la diffusion provoquée par la différence de concentration.

Calcule des potentiels d'équilibre: par l'équation de Nerst:

$$E = \frac{2.3 RT}{Zf} \log_{10} \frac{[Ci] \text{ m M}}{[ce] \text{ m M}}$$

E: potentiel d'équilibre (mV) [Ci]: concentration intracellulaire
 $\frac{2.3 RT}{Zf}$: constante (60mv) [Ce]: concentration extracellulaire

Valeurs théoriques: dans le nerf et le muscle

$$E_{Na^+} = + 65 \text{ mV} \quad E_{K^+} = 85 \text{ mV}$$

$$E_{Ca^{2+}} = -120 \text{ mV} \quad E_{Cl^-} = -90 \text{ mV}$$

- **Définitions**

- ✓ Dépolarisation : rend le potentiel de membrane moins négatif
- ✓ Hyperpolarisation: rend le potentiel de membrane plus négatif
- ✓ Courant entrant: débit des charges positives qui entrent dans la cellule.
- ✓ Courant sortant : débit des charges positives qui sortent de la cellule.
- ✓ Potentiel de repos: potentiel intracellulaire par rapport au potentiel extracellulaire en mV
- ✓ Potentiel d'action: propriété des cellules excitables qui consiste en une dépolarisation rapide suivie par une repolarisation de la membrane
- ✓ Seuil: est la valeur du potentiel de membrane à laquelle la survenue d'un potentiel d'action est inévitable. Le courant entrant dépolarise la membrane vers le seuil.
- ✓ Le courant entrant dépolarise la membrane vers le seuil.

2.3.4. Bases ioniques du potentiel d'action du nerf (Figure13)

a) **potentiel membranaire de repos** approximativement de -70 mV ; la cellule est négative.

- Les canaux Na^+ sont fermés et la conductance pour Na^+ est basse

b) **Montée du potentiel** ; le courant entrant réduit le potentiel de membrane jusqu'à au seuil.

- Dépolarisation provoquant une ouverture rapide des portes du canal Na^+ et la conductance au Na^+ augmente vite, est devenue supérieure à la conductance de K^+ et de ce fait, le potentiel de membrane tend vers le potentiel d'équilibre de Na^+ soit + 65mV (ne l'atteint pas tout à fait).

c) **Repolarisation du potentiel d'action** ; ouvre lentement les Canaux K^+ et augmente la conductance au K^+ à des valeurs supérieures : les canaux Na^+ se ferment et ainsi la conductance pour Na^+ revient vers 0. Ainsi le potentiel de membrane est rétabli.

d) **Dépassement vers le bas < post: potentiel hyperpolarisant** :

La conductance au K^+ reste élevée pendant un certain moment après la fermeture des canaux Na^+ , en ce moment le potentiel de membrane est tiré très près du potentiel d'équilibre du K^+ .

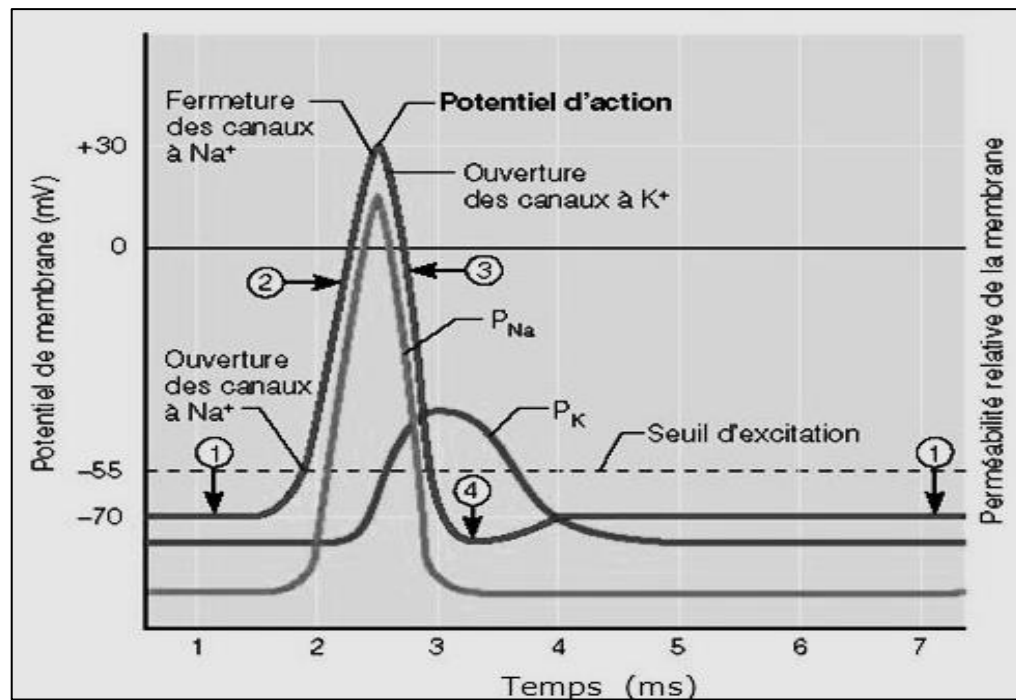


Figure13. Phases de potentiel d'action
(1 : État de repos, 2 : Phase de dépolarisation, 3 : Phase de repolarisation,
4 : Hyperpolarisation) [Site web 10].

2.4. Protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire

L'adhérence de Cellule-cellule représente le mécanisme derrière la façon dont les cellules agissent l'une sur l'autre et les unes avec les autres, basé sur des réactions de molécule sur la surface des deux cellules. C'est une partie essentielle de maintenance structurelle multicellulaire et, en conséquence, d'une fondation pour des organismes multicellulaires.

L'adhérence de cellule-cellule est réglée par les molécules d'adhérence cellulaire qui identifient différents ligands aux jonctions de cellules.

Les jonctions de cellules fournissent la cohésion structurelle nécessaire pour la formation de tissu. Il y a trois types d'ancrer la jonction : les desmosomes sont un type d'ancrer la jonction qui branche des cellules entre eux par l'intermédiaire des cadhérines, des hemidesmosomes branchent des cellules à la matrice extracellulaire par l'intermédiaire des intégrines, alors que les jonctions d'adhérence forment des liens de cellule-cellule et de cellule-modification par des cadhérines et des intégrines

2.4.1. Communication cellulaire par contact direct:

- Quand les cellules sont suffisamment proches l'une de l'autre. On distingue 02 types à travers les jonctions communicantes par l'intermédiaire des molécules d'adhérence (**Figure 14**).
- Molécules d'adhérence: 5 grandes familles des glycoprotéines transmembranaires:
 - ✓ Les intégrines (protéines réceptrices de transmembrane non dépendantes du calcium)
 - ✓ Les cadhérines (glycoprotéines dépendantes de calcium)
 - ✓ Les selectines (glycoproteins membranaires), calcium-dépendantes).
 - ✓ Les immunoglobulines molécules impliquées dans l'adhérence cellulaire avec un domaine d'immunoglobine qui ne dépendent pas du calcium) .
 - ✓ les molécules riches en leucine
- Selon la nature et le type cellulaire, on distingue: 4 types d'interactions cellulaires :
 - ✓ Interaction homophile= molécules d'adhérence de même nature.
 - ✓ Interaction homotypique= molécules d'adhérence de nature différente.
 - ✓ Interaction homotypique= cellules de même type.
 - ✓ Interaction hétérotypique= cellules distinctes.

2.4.1.1. Rôles de Molécules d'adhérence

CAMs = molécules d'adhésivité cellulaire ou cell adhesion molecules ;

- Au cours du développement embryonnaire
- Réparation tissulaire (adulte normal)
- Lutte contre l'invasion tumorale.

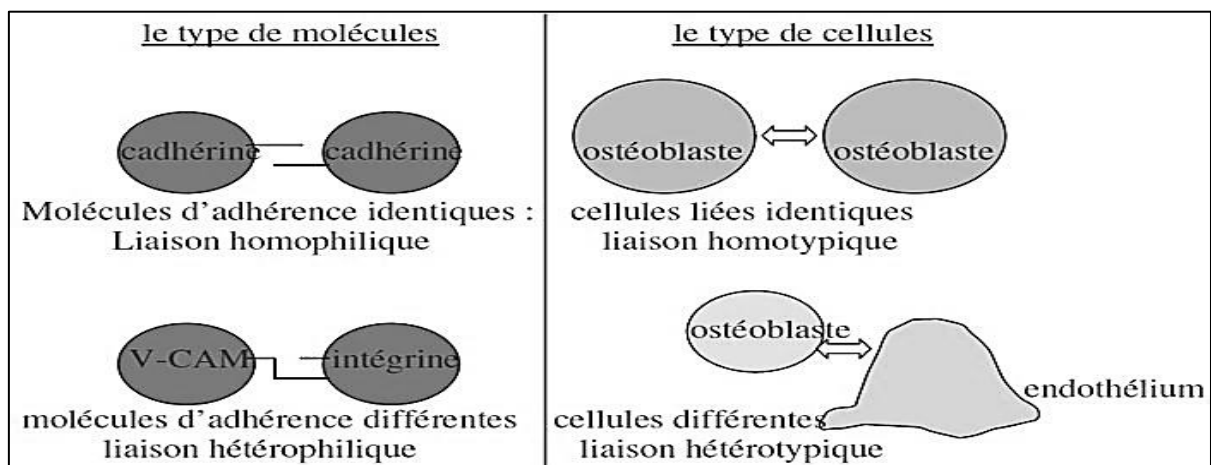


Figure 14. Modes de liaisons intracellulaires des protéines d'adhérence [Site web 11].

2.4.2. Communication cellulaire par l'intermédiaire des molécules de signalisation

Les molécules de signalisation sont de la substance chimique d'origine cellulaire capable de jouer le rôle de messagers en mettant en communication 02 cellules plus ou moins distantes l'une de l'autre, les SAMs sont les molécules d'adhésivité au substrat. (Substrat adhesion molecule) elles regroupent les intégrines et les SAMs non intégrines. Il y a diverses familles :

- ✓ Neurotransmetteurs
- ✓ Hormones et neurohormones
- ✓ Cytokines
- ✓ Eicosanoides (dérivés de l'acide arachidonique)
- ✓ Gaz comme, NO et CO
- ✓ Immunoglobulines

2.4.2.2. Types de communications

On distingue divers types de communication cellulaire ; selon la nature des cellules qui émettent et/ ou reçoivent le signal moléculaire et la disposition de ces cellules les unes par rapport aux autres :

- **Communication endocrine** : les cellules émettrices (glandes endocrines), elle utilise la circulation sanguine et les hormones comme molécules de signalisation pour atteindre différentes cellules cibles.
- **Communication paracrine** : n'utilise pas la circulation sanguine, vu la proximité des cellules comme exemple Cellules endothéliales, le muscle lisse vasculaire et les plaquettes sanguines en utilisant le monoxyde d'azote NO comme signal.
- **Communication neurocrine** : semblable à la communication paracrine mais s'effectue entre 02 cellules neuronales par synapse neuoneuronale ou entre une cellule nerveuse et une cellule musculaire <synapse neuromusculaire).
- **communication autocrine** : la cellule se confond dans ce cas avec la cellule émettrice, le signal agit sur la cellule qui lui a donné naissance (il faut que la cellule exprime Le récepteur spécifique du signal) Cette communication permet une rétroaction positive ou négative <la cellule régule son propre activité).
- **Communication inatracrine** : forme particulière de la communication autocrine= le signal ne sort pas de la cellule qui le synthétise et agit sur elle en se liant à un récepteur intracellulaire.

- **Communication justacrine** : contact étroit entre différentes molécules d'adhérences à la surface membranaire ce qui permet l'accolement des cellules voisines et la transmission des signaux entre elles par Ca^{2+} AMPc (faible poids).

2.4.2.3. Nature des molécules de signalisation :

- soit hydrosolubles : gros poids comme les hormones, les catécholamines et les neurotransmetteurs. Les signaux doivent être captés à la surface de la cellule par des récepteurs membranaires
- soit **liposolubles** : Peptides Petite poids moléculaire comme les hormones stéroïdiennes et les hormones thyroïdiennes, NO, CO. Les signaux sont liés à l'intérieur de la cellule à des récepteurs intracellulaires soit sont cytosoliques ou nucléaires à l'exception des récepteurs des hormones thyroïdiennes qui ne sortent pas du noyau.

2.4.3. Protéines récepteurs

Un récepteur peut être défini comme une structure moléculaire de nature polypeptidique qui interagit spécifiquement avec un messenger, hormone, médiateur, cytokine, ou à un contact intercellulaire spécifique.

Les récepteurs sont situés soit au niveau de la membrane cytoplasmique, soit à l'intérieur de la cellule, dans le noyau notamment. La même cellule comporte en général plusieurs types de récepteurs différents :

2.4.3.1. Récepteurs membranaires

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

Pour activer un récepteur membranaire, la molécule informative n'a pas à pénétrer dans la cellule. L'activation des récepteurs membranaires par les messagers déclenche des modifications qui peuvent rester localisées à la membrane, s'étendre à l'ensemble du cytoplasme ou atteindre le noyau.

L'ensemble des réactions qui se déroulent entre l'activation du récepteur membranaire et l'effet cytoplasmique ou nucléaire est généralement appelé **transduction du signal**.

Les chemins suivis par le signal sont appelés **voies de signalisation**; ces voies sont nombreuses et diverses.

La densité ou le nombre de récepteurs au niveau des cellules, est régulée. Elle tend à diminuer lorsque la concentration du médiateur augmente, et on parle de "down-

regulation" Elle tend à augmenter lorsque la concentration du médiateur s'abaisse, et on parle de "up-regulation".

De plus certains récepteurs sont **inductibles**, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas présents spontanément dans une cellule mais peuvent apparaître après avoir été induits par un stimulus, par exemple une cytokine.

On peut distinguer schématiquement trois types de récepteurs membranaires : les récepteurs canaux, les récepteurs enzymes et les récepteurs liés aux protéines G (Figure15).

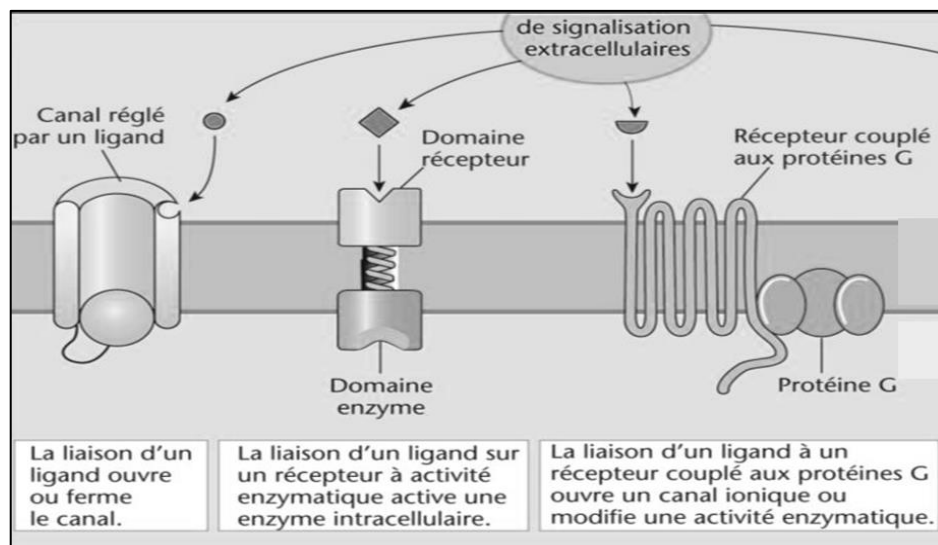


Figure 15. Types de récepteurs membranaires [Site web 12]. .

- **Récepteurs-canaux**

Ces récepteurs comportent un canal qui fait communiquer le cytoplasme avec le milieu extracellulaire. La molécule informative module l'ouverture du canal et régule, en général, l'entrée dans la cellule soit des cations Na^+ ou Ca^{2+} , soit d'anions Cl^- .

Ces récepteurs-canaux sont à différencier, d'une part des canaux voltage-dépendants dont l'ouverture est régulée par le potentiel membranaire, une dépolarisation cellulaire favorisant leur ouverture, et d'autre part des canaux dont l'ouverture est régulée par l'intermédiaire d'une variation de la concentration intracellulaire du Ca^{2+} , de l'AMPc ou du GMPc. On distingue :

- ✓ **Les récepteurs-canaux cationiques** : L'ouverture des canaux cationiques, en favorisant l'entrée de Na^+ et ou du Ca^{2+} dans la cellule, entraîne une dépolarisation et une augmentation de l'excitabilité.
- ✓ **Les récepteurs-canaux anioniques** comme le canal chlorure Cl^- :

La pénétration des ions Cl⁻ dans la cellule augmente sa polarisation et diminue son excitabilité.

- **Récepteurs-enzymes**

Le récepteur possède lui-même une activité enzymatique. qui, après avoir fixé leur(s) ligand(s), propagent le signal grâce à l'activité enzymatique de leur domaine intracellulaire.

Il existe 3 grands types de récepteurs couplés à une enzyme intrinsèque :

- ✓ les récepteurs à activité guanylate cyclase (synthèse de GMP cyclique). Exemples : récepteurs des peptides natriurétiques, récepteurs cytosoliques au monoxyde d'azote (NO)
- ✓ les récepteurs à activité tyrosine kinase, par exemple, le récepteur de l'insuline
- ✓ les récepteurs à activité tyrosine phosphatase c.

- **Récepteurs liés aux protéines G**

Les récepteurs liés aux protéines G sont ainsi appelés parce que leur activité nécessite la présence de guanosine diphosphate (GDP) qui est phosphorylée pour donner la guanosine triphosphate (GTP) (Figure 13).

Les récepteurs liés aux protéines G sont de nature polypeptidique et comportent une partie extracellulaire (extrémité N-terminale) portant le site de liaison avec le messenger, une partie transmembranaire à sept hélices (parce que la chaîne polypeptidique traverse la membrane sept fois) (TM1 à TM7) reliés par 3 boucles intracellulaires (I1, I2, I3) et 3 boucles extracellulaires (E1, E2, E3) avec un pont disulfure entre les boucles E1 et E2. Une partie intracellulaire (extrémité C-terminale) en contact avec les protéines G qui assurent le transfert et l'amplification du signal reçu par le récepteur et qui peut être phosphorylée (PP) sur différents résidus par la protéine kinase A, la protéine kinase C ou les GRK ("G-protein-coupled receptor kinases) (**Figure16**).

- ✓ Chaque protéine G est hétérotrimérique, c'est-à-dire constituée de trois sous-unités différentes α , β et γ , ces deux dernières formant un complexe hétérodimérique.
- ✓ La sous-unité α , à l'état non actif, comporte une guanosine diphosphate (α -GDP) et est liée aux sous-unités β et γ . Lors de l'activation du récepteur, il y a phosphorylation du GDP fixé à la sous-unité α -GDP qui devient α -GTP, et, ainsi phosphorylée, se sépare des sous-unités β et γ .
- ✓ La sous-unité α -GTP module l'activité d'enzymes différentes selon les cellules et entraîne les effets correspondants.
- ✓ L'hétérodimère $\beta \gamma$ module également certaines activités enzymatiques.

- ✓ Une GTPase déphosphoryle la sous-unité α qui de α -GTP devient α -GDP, laquelle s'associe aux sous-unités β γ pour donner un ensemble inactif.

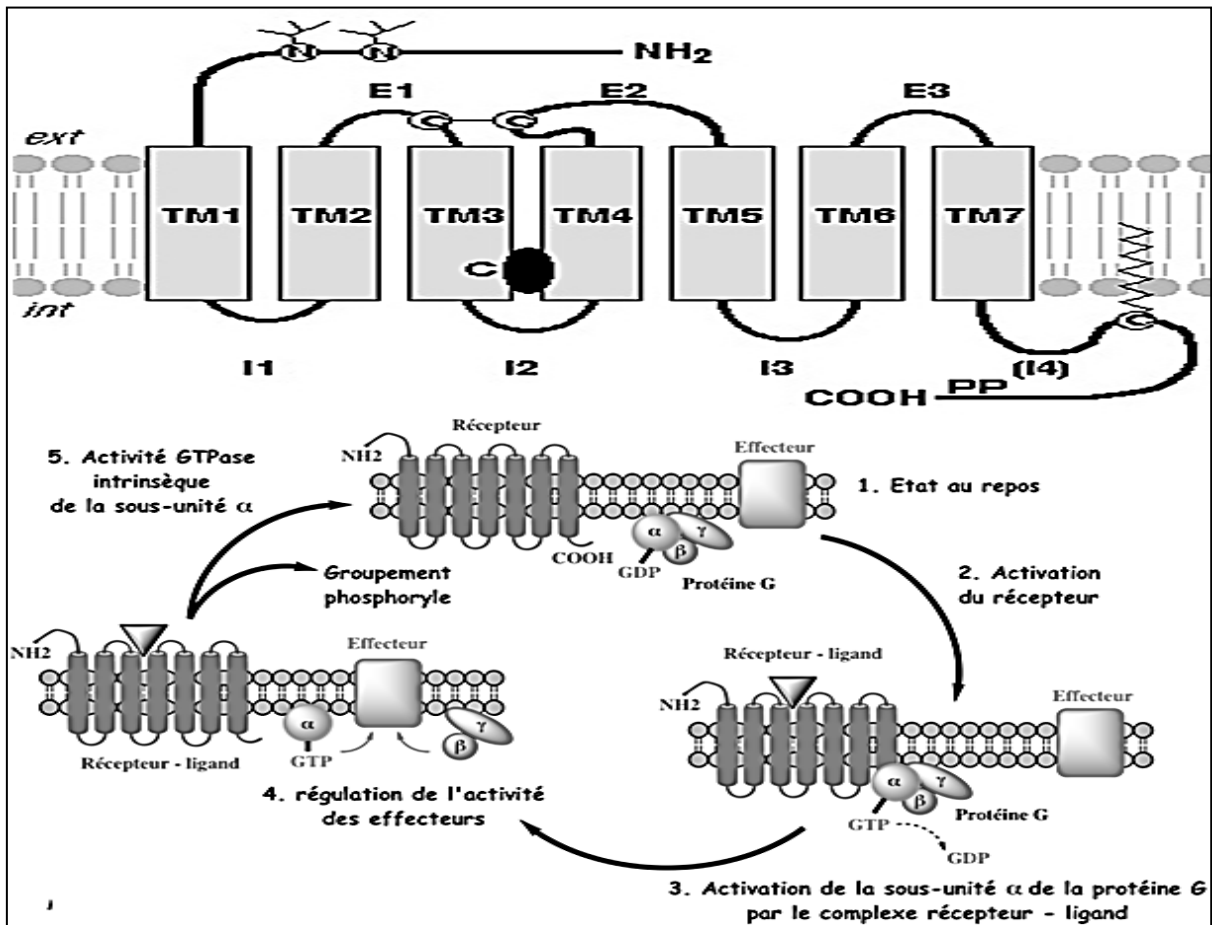


Figure 16. Modèle de fonctionnement des récepteurs couplés aux protéines [Site web 13].

2.4.3.2. Récepteurs intracellulaires ou nucléaires

Le messager, en raison de son caractère lipophile, traverse la membrane plasmique et interagit soit avec le récepteur présent dans le cytoplasme et c'est le complexe messenger-récepteur qui pénètre dans le noyau et se lie au DNA, soit avec le récepteur présent dans le noyau et c'est le complexe formé qui interagit avec le DNA.

La partie du récepteur qui, après activation par l'hormone, se lie au DNA, a une structure dite en doigts de zinc car les atomes de zinc par leurs liaisons avec des résidus histidine et cystéine lui donnent une forme de doigts.

La partie du DNA où le complexe hormone-récepteur se fixe est désignée par HRE (hormone response element).

La conséquence de l'interaction entre le complexe récepteur-messager et la partie régulatrice du gène est soit une activation soit une inhibition de la transcription du DNA en

mRNA qui commande la biosynthèse des protéines correspondantes mais aussi en RNA de transfert ou tRNA et en RNA ribosomique ou rRNA.

2.4.3.2.1. Structure des récepteurs nucléaires

Ils sont constitués de 2 domaines (**Figure17**) :

- ✓ un domaine de liaison à l'ADN ("DNA Binding Domain"- DBD) sur des séquences d'ADN particulières qui se trouvent à proximité des gènes qu'elles régulent. Ces séquences sont appelées éléments de réponse à l'hormone ("Hormone Responsive Element" - HRE).
- ✓ un domaine de liaison au ligand ("Ligand Binding Domain" - LBD).
- ✓ La région N-terminale (domaine A / B) est la plus variable en ce qui concerne la taille et la séquence en acides aminés.
- ✓ Il existe une forte homologie de séquence au sein des domaines DBD et LBD, respectivement.
- ✓ Les domaines AF1 et AF2 sont impliqués dans l'activation de la transcription.
- ✓ Une fois activés, ces récepteurs se fixent sur l'ADN sous forme d'holo- ou d'hétérodimères.

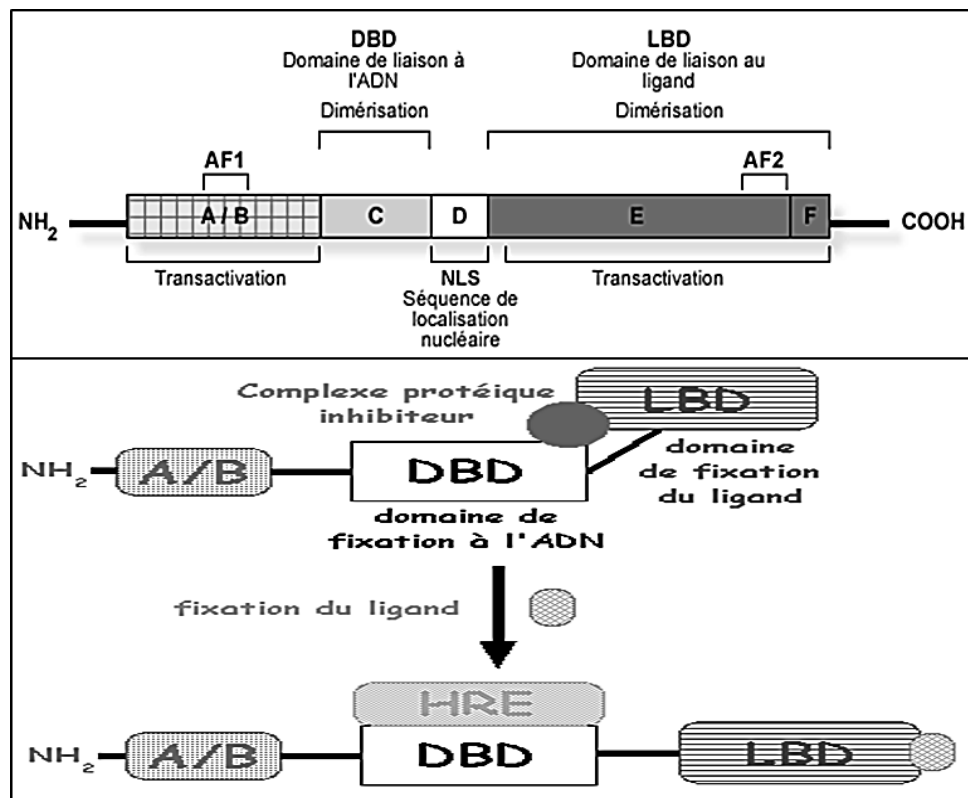


Figure17. Activation des récepteurs nucléaires [Site web 14].

2.4.4. Translocons

Les translocons aussi appelé complexe de translocation, est un complexe de protéines responsable de la translocation de polypeptides aux travers des membranes biologiques.

Chez les eucaryotes, le terme translocon désigne en général le complexe qui transporte les polypeptides naissants porteurs d'une séquence signal depuis le cytosol vers l'intérieur (cisternal ou lumière) du réticulum endoplasmique (RE). Ce transport requiert que la protéine traverse une bicouche lipidique hydrophobe. Le même complexe permet d'inclure des protéines membranaires naissantes dans la membrane elle-même.

Chez les procaryotes, il existe un complexe protéique similaire accomplissant les mêmes fonctions. Il existe des bactéries pathogènes capables d'assembler des translocons dans les membranes de leurs hôtes, afin d'y introduire des facteurs de virulence.

Le translocon, ou canal de translocation, joue un véritable rôle d'aiguillage ancré au coeur d'une biomembrane dans l'acheminement des protéines.

Les protéines formant le translocon (ou complexe de translocation) sont appelées protéines Sec. C'est une protéine hétérotrimérique connue sous le nom du complexe Sec61 composé de Sec61 α , Sec61 β et Sec61 γ chez les eucaryotes. Le canal central est formé de Sec61 α sous forme d'hélices α transmembranaires traversant la mb 10 fois. Sec61 α est entouré de Sec61 β et Sec61 γ en traversant la mb 1 seule fois chacun. SecYEG dans les bactéries et SecYE β dans les archées (**Figure18**).

Dans les translocons, il peut s'agir d'une protéine membranaire, elle est alors insérée dans la membrane ou d'une protéine soluble dans l'eau, elle est relâchée dans le cytosol pour accomplir sa fonction.

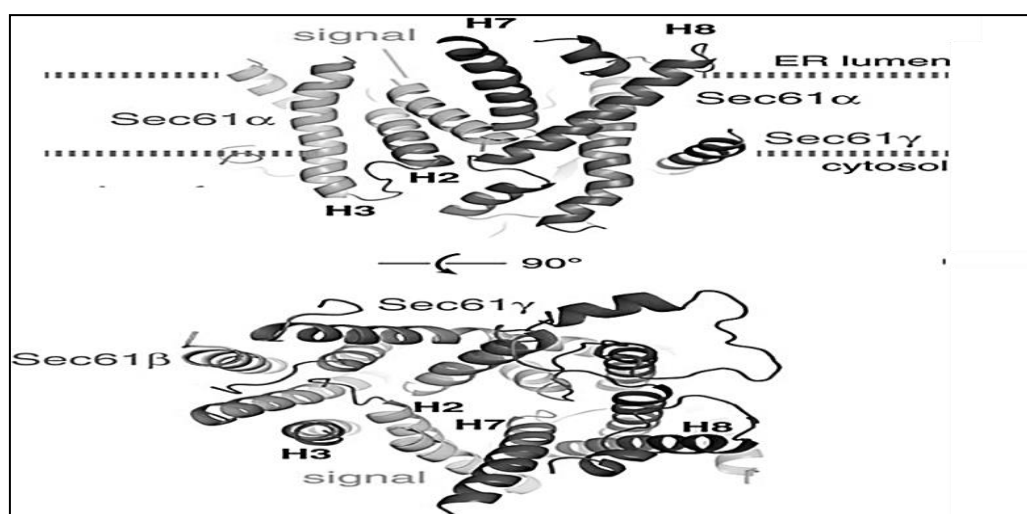


Figure18. Structure de translocon [4].

2.4.4.1. Synthèse et translocation des protéines luminales

Au moment du passage de la protéine dans le canal, le translocon reconnaît le signal d'initiation de transfert (SIT) ensuite lit la composition en acides aminés et identifie la protéine comme membranaire ou hydrosoluble. Ce système de lecture n'existe pas en dehors du translocon. Après l'élongation de la protéine, une protéine signal peptidase coupe la SIT (**Figure 19**).

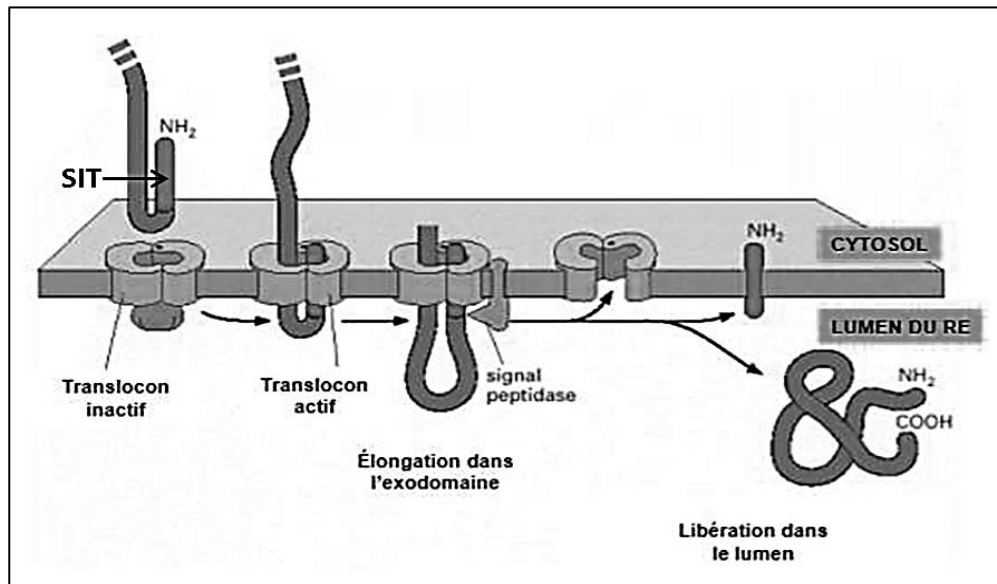


Figure 19. Translocation des protéines luminales [Site web 15].

2.4.4.2. Synthèse et translocation des protéines transmembranaires

Il existe 03 Modes d'insertion au réticulum endoplasmique (RE) :

- Domaine transmembranaire avec peptide-signal clivé
- Domaine transmembranaire avec séquence signal interne
- Double domaine transmembranaire avec séquence signal interne

Il existe 02 types de translocations :

- après la fin de la synthèse: translocation post-traductionnelle.
- durant la synthèse: translocation co-traductionnelle.

2.4.4.2.1. Translocation cotraductionnelle

- Transfert se fait au fur et à mesure de la synthèse
- Transfert dans le RER suivi du transport vers le compartiment de destination (via RER, Golgi, vésicules, etc.).

- **Etapes**

- ✓ Les premiers acides aminés sont polymérisés à partir de leur acide aminé N-terminal. Ces 15-20 premiers acides aminés constituent une séquence-signal.
- ✓ Dès que cette séquence-signal est accessible (environ 70 ac. aminés), elle se lie sur le SRP (particule de reconnaissance du signal). Cette liaison bloque momentanément l'élongation.
- ✓ Le SRP lié à une séquence signal se lie à son tour sur le récepteur du SRP, une protéine transmembranaire du RER.
- ✓ Le SRP se détache de la séquence-signal et de son récepteur. L'élongation de la protéine reprend.
- ✓ La séquence-signal se lie sur le récepteur de séquence signal et le reste de la séquence s'associe au translocon (canal de translocation) . La liaison de la séquence-signal sur son récepteur se fait de façon à ce que l'acide aminé N-terminal soit localisé dans le cytoplasme
- ✓ Au fur et à mesure que l'élongation progresse, la protéine naissante est refoulée dans la lumière du RER à travers le canal de translocation.
- ✓ A un moment donné la séquence signal est coupée du reste de la protéine naissante par une signalase (une enzyme spécifique située sur le coté luminal de la membrane du RER) puis rapidement dégradée. Cela génère un nouveau bout N-terminal de la protéine finale.
- ✓ Durant le processus de translocation les modifications subies par la protéine naissante (voir section 3.4) s'effectuent: ponts disulfures, glycosylation, etc. Pour simplifier, ici seule une glycosylation est illustrée.
- ✓ Lors de la fin de la synthèse, la protéine est finalement libérée dans la lumière du RER.

2.4.4.2.2. Translocation post-traductionnelle

Protéine est synthétisée en entier dans le cytoplasme puis transférée directement dans le compartiment de destination (sans passage dans le RER, golgi, etc).

Les protéines ayant assumé une conformation dans le cytoplasme doit être dépliée pour passer à travers la membrane du compartiment.

Les segments hydrophobes doivent être exposées temporairement dans le milieu aqueux lors du dépliement Ce dépliement est catalysée par des enzymes (dépliasés, chaperonines, HSP70?...) nécessitant de l'énergie (ATP ou GTP). La reconnaissance des

protéines à être dépliées et transférées doivent être reconnues: présence d'une "séquence-signal" qui agit comme "étiquette" identifiant spécifiquement le compartiment de destination.

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

2.5.1. Les lymphocytes B synthétisent les immunoglobulines(ou anticorps)

Les lymphocytes B (différenciés dans la moelle osseuse, sont identifiés par les anticorps anti-CD19 ou CD20. Dans les lymphocytes B matures (ceux du sang et des organes lymphoïdes), les immunoglobulines sont insérées dans la membrane plasmique. Ces immunoglobulines de surface (ou membranaires) sont le récepteur pour l'antigène et constituent le marqueur phénotypique essentiel des lymphocytes B. La grande majorité des lymphocytes B du sang humain portent des Ig M, très peu des Ig G ou des Ig A. Les plasmocytes sécrètent de grandes quantités d'anticorps spécifiques. Dans les plasmocytes, l'expression des immunoglobulines de surface disparaît, remplacée par des immunoglobulines intracytoplasmiques présentes dans les citernes du réticulum endoplasmique granulaire (majoritairement IgG et IgA).

2.5.2. Les lymphocytes T

Expriment sur leur membrane un récepteur pour les antigènes (TCR pour T-Cell Receptor) : Les lymphocytes T (de « Thymus ») qui acquièrent leur immunocompétence dans le thymus, sont identifiés par les anticorps anti-CD2 et CD3.

Au terme de la maturation intrathymique, les lymphocytes T expriment sur leur membrane un récepteur pour les antigènes, appelé récepteur T (ou TCR) composée de deux chaînes glycoprotéiques (α/β ou γ/δ). Les différents TCR reconnaissent des peptides antigéniques présentés à la surface d'une cellule associés à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Les molécules HLA de classe I sont portées par presque toutes les cellules nucléées alors que les molécules HLA de classe II sont exprimées sur les cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Les CPA sont principalement les macrophages activés, les lymphocytes B, les cellules dendritiques folliculaires des centres germinatifs ganglionnaires (interagissant avec les lymphocytes B), les cellules dendritiques interdigitées (comme les cellules de Langerhans de la peau) présentant les antigènes aux lymphocytes T, les cellules endothéliales. Le TCR est associé à la surface du lymphocyte T avec le complexe CD3 qui assure la transduction intracellulaire du signal après reconnaissance de l'antigène par le TCR (**Figure 20**).

- L'expression des corécepteurs CD4 ou CD8 permet d'identifier les sous-populations lymphocytaires T (auxiliaires et cytotoxiques) : Après maturation

thymique, les lymphocytes expriment soit le CD4, lymphocytes T auxiliaires (T4 ou Th pour « helpers ») qui reconnaissent un antigène associé au CMH de classe II, soit le CD8, lymphocytes T cytotoxiques (ou T8) qui reconnaissent un antigène associé au CMH de classe I. Le CD4 est aussi le du virus du sida, ce qui permet à ce virus d'infecter les lymphocytes T auxiliaires. Les protéines transmembranaires CD4 et CD8 sont des récepteurs accessoires (ou costimulateurs) qui se lient à la partie non variable du CMH et stabilise l'interaction TCR/complexes peptide-CMH.

2.5.3. Les lymphocytes NK ne sont ni T ni B

Les lymphocytes NK (« Natural Killers ») sont des lymphocytes qui possèdent une activité cytotoxique spontanée sur des cibles tumorales ou infectées par des virus. Leur mécanisme d'action est différent de celui des lymphocytes cytotoxiques T8. Les lymphocytes NK reconnaissent à la surface des autres cellules un double signal : activateur (glyco-conjugué membranaire) et inhibiteur (peptide du « soi ») de la cytotoxicité. Dans les cellules normales, la reconnaissance d'un peptide caractéristique du « soi-normal » inhibe la cytotoxicité. Si une cellule exprime à sa surface un peptide étranger (« non-soi » sur une cellule infectée par un virus ou « soi anormal » sur une cellule tumorale), seul le signal activateur est émis et la cellule cible est lysée par exocytose de composés cytolytique.

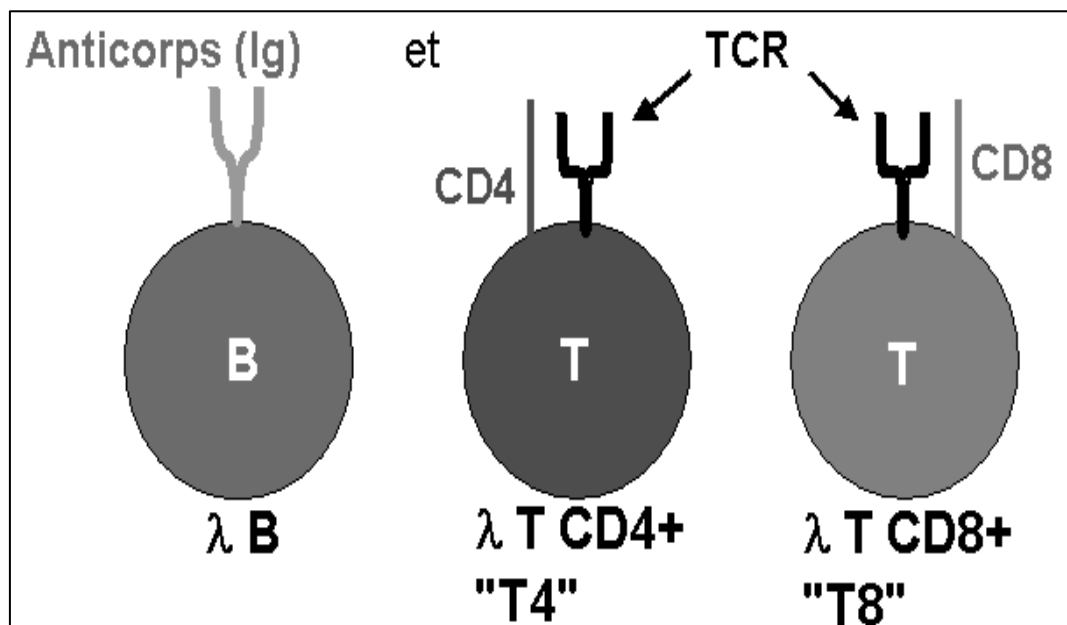


Figure 20. Récepteurs des lymphocytes [Site web 16].

2.6. Récepteurs, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire

2.6.1. Régulation cellulaire des récepteurs

La régulation de la fonction des récepteurs est un des aspects majeurs de leur physiologie. De cette régulation dépend l'adaptation de la cellule et de l'organisme aux conditions de l'environnement. La principale de ces régulations est la désensibilisation qui entraîne le découplage du récepteur de ses voies de transduction habituelles.

2.6.2. Désensibilisation des récepteurs

La désensibilisation est un processus de régulation crucial pour la cellule. Il consiste à contrôler empêchant une stimulation excessive. La désensibilisation est un phénomène qui est aussi très connu dans le domaine thérapeutique puisque l'administration prolongée ou répétée de médicaments se traduit par une diminution importante de leur efficacité thérapeutique.

2.6.2.1. Désensibilisation des RCPG

Le mécanisme de désensibilisation dépend principalement de la régulation de l'activité des récepteurs. Dans la cellule, l'activation prolongée par un agoniste se traduit par une diminution de l'affinité du récepteur pour son ligand, une baisse de son couplage aux protéines G et une diminution du nombre de récepteurs à la surface cellulaire (**Figure 21**).

On distingue deux types de désensibilisation, la désensibilisation homologue et hétérologue.

La désensibilisation **homologue** est la perte de réponse d'un RCPG à la suite de sa stimulation par un agoniste.

La désensibilisation **hétérologue** est la perte de réponse d'un RCPG, à la suite de la stimulation d'autres récepteurs, notamment par l'intermédiaire des kinases activées par les seconds messagers.

La désensibilisation homologue se cantonnerait à des changements adaptatifs à l'échelle du RCPG concerné, alors que la désensibilisation hétérologue peut aussi impliquer des changements de la part de composants de voies de transduction associés au RCPG.

Le rôle de la désensibilisation a longtemps été discuté, du fait qu'il apparaît comme un phénomène très intriqué avec le phénomène d'endocytose. Le processus d'endocytose a été considéré comme participant à la désensibilisation du fait de la diminution du nombre de récepteurs émettant un signal à la surface de la membrane. Mais la faible contribution de l'internalisation des RCPG à la diminution du signal ne peut expliquer à elle seule, la

désensibilisation. Il a donc été proposé que l'endocytose soit un élément qui limiterait la désensibilisation, puisque une partie des récepteurs internalisés sont recyclés à la membrane. En réalité, la désensibilisation comprend plusieurs composantes : le découplage de la protéine G du récepteur, l'endocytose des récepteurs, la régulation négative (down-regulation) du nombre total de récepteurs dans la cellule du fait de la baisse de la synthèse d'ARNm et la dégradation des récepteurs internalisés dans les lysosomes. Cependant, l'endocytose et la « down-regulation » contribuent peu, d'une manière générale, au processus de désensibilisation rapide.

Quand le ligand se lie sur le récepteur, il active les protéines G hétérotrimériques. La protéine kinase A (PKA) et les protéines kinases des récepteurs couplés protéines G (GRK) phosphorylent le récepteur. A ce moment, le récepteur est fonctionnellement découplé des protéines G et son affinité augmente pour les protéines arrestines.

La fixation de l'arrestine sur le récepteur empêche toute nouvelle activation d'autres protéines G. En outre l'arrestine est capable de se lier avec la clathrine pour permettre l'endocytose du récepteur. Dans les endosomes, les phosphatases garantissent le recyclage du récepteur pour autoriser son retour à la membrane, mais il peut aussi être dirigé vers les lysosomes.

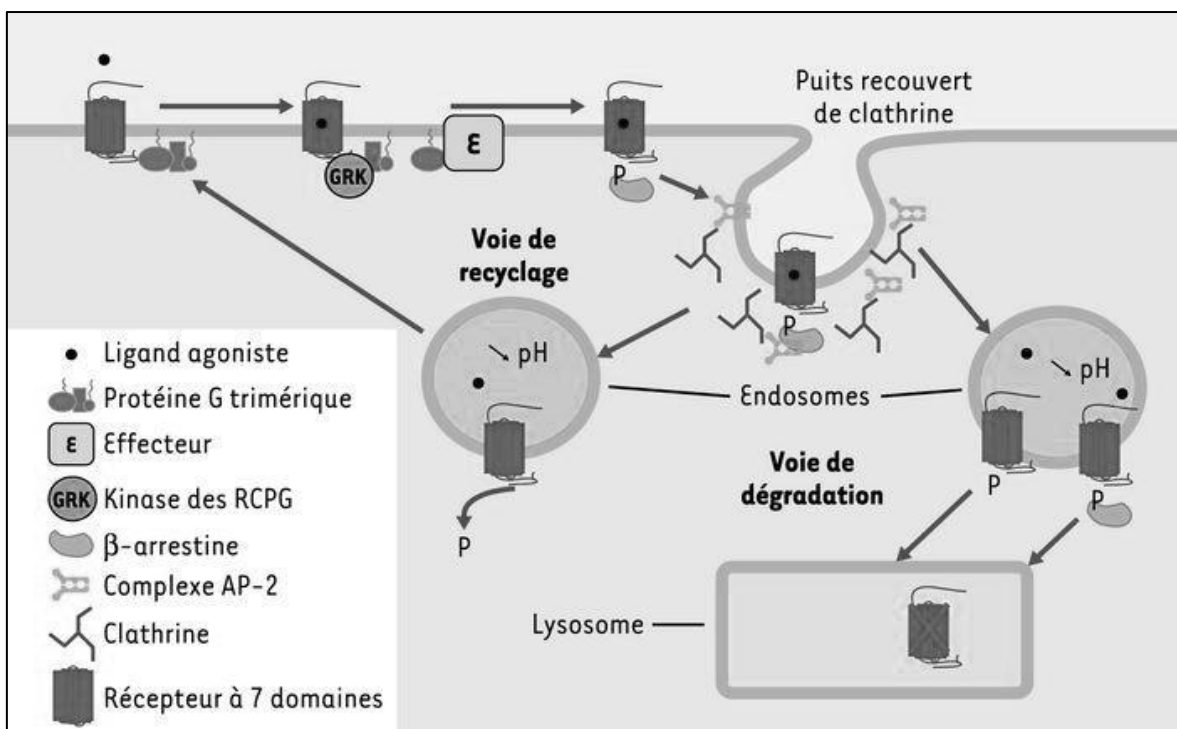


Figure 21. Désensibilisation des récepteurs couplés aux protéines G [5].

Chapitre 3

3. Relation structure-fonction de la cellule

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

Les protéines sont des macromolécules constituées principalement d'atome de carbones, d'hydrogène et d'azote et résultant de la polymérisation des acides aminés (20 a a), les acides aminés sont liés les uns aux autres par des liaisons peptidiques entre le radical carboxyle d'un acide aminé et le radical aminé du suivant .La structure primaire d'une chaîne peptidique dépend du nombre d'acides aminés dans la séquence et du type d'acide aminé occupant chaque position. Certaines protéines sont constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques.

3.1.1. Conformation des protéines :

La structure d'un polypeptide est comparable à celle d'un collier de perle dont chaque perle représente un seul acide. De plus, comme les acides aminés peuvent pivoter autour de leurs liaisons peptidiques un polypeptide est flexible et peut être replié en un grand nombre de formes, tout comme un collier de perles peut être enroulé de plusieurs façons. La conformation d'une molécule et sa forme tridimensionnelle. La conformation des protéines et des peptides joue un grand rôle dans le fonctionnement de ces molécules.04 facteurs déterminant la conformation d'un polypeptide :

- les liaisons hydrogènes entre les diverses portions de la chaîne ou avec les molécules d'eau voisines.
- les liaisons ioniques entre les régions polaires et ionisées le long de la chaîne polypeptidique.
- les forces de Van der waals : qui sont des forces d'attraction très faibles entre les régions non polaires (hydrophobes) très proches les unes des autres.
- les liaisons covalentes unissant les chaînes latérales de deux acides aminés.

La synthèse des protéines nécessite la transcription de l'information génétique de l'ADN à l'ARNm dans le noyau, puis la traduction de l'information de l'ARN m en protéine sur la surface des ribosomes dans le cytoplasme (**Figure 22**).

3.1.2. Transcription

La transcription des gènes de l'ADN en ARN pré-messager a lieu dans le noyau. Pour chaque gène, un seul brin de l'ADN est transcrit mais ce brin varie selon les gènes. La synthèse de l'ARN est catalysée par l'ARN polymérase, une enzyme oligomérique. Il en existe 3 types chez les eucaryotes. La transcription s'effectue de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' des gènes. La maturation de l'ARN pré-messager a lieu dans le noyau. Une

coiffe de 7-méthylguanosine triphosphate est ajoutée à l'extrémité 5' de l'ARN prémessager. Une queue poly-A (50 à 250 nucléotides d'adénine) est ajoutée à l'extrémité 3' de l'ARN prémessager. Ces modifications protègent l'ARN messager d'une dégradation trop rapide dans le cytoplasme.

- L'ARN polymérase se lie à la région du promoteur d'un gène et sépare les deux chaînes de la double hélice de l'ADN dans la région du gène à transcrire.
- Les bases des ribonucléotides triphosphates s'apparient aux bases des désoxyribonucléotides de l'ADN.
- L'ARN polymérase lie les ribonucléotides appariés à une chaîne de l'ADN afin de former un ARNm contenant une séquence des bases complémentaires de la séquence de l'ADN.
- l'épissage de l'ARNm supprime les introns, c'est-à-dire les séquences non codantes et colle ensemble les exons qui codent pour des acides aminés spécifiques.

3.1.3. Traduction

La traduction de l'ARNm en protéine a lieu dans le cytoplasme au niveau des ribosomes et nécessite la présence d'ARN de transfert (ARNt) chargés avec les acides aminés correspondants et de l'énergie sous forme de GTP. Les ARNt sont synthétisés dans le noyau. La synthèse s'effectue de l'extrémité N-terminale de la protéine vers l'extrémité C-terminale.

- L'ARNm épissé passe du noyau au cytoplasme où une de ses extrémités se lie à un ribosome.
- L'aminoacyl-ARN synthétase lie les acides libres à leur ARNt correspondant.
- Les trois bases d'un anticodon dans un complexe ARNt-acide aminé s'apparient avec le codon correspondant dans la région de l'ARNm lié au ribosome.
- Une liaison peptidique s'établit entre la portion du peptide déjà synthétisée (et toujours attachée à l'ARNt lié au ribosome) et l'acide aminé sur l'ARNt ,ajoutant ainsi un acide aminé de plus à la chaîne peptidique.
- Le ribosome relâche l'ARNt libéré par la chaîne peptidique.
- Le ribosome se déplace d'un codon sur l'ARNm.
- Les étapes se répètent jusqu'à ce que la fin du message de l'ARNm soit atteinte.
- Le ribosome libère la chaîne protéique complète quand il atteint le codon de terminaison de l'ARNm.

- Des protéines chaperons guident le repliement de certaines protéines dans leur conformation propre.
- Dans certains cas la protéine subit des modifications après la traduction .Ainsi divers groupements chimiques peuvent s'ajouter à des chaînes latérales spécifiques ou la protéine se scinde en plusieurs chaînes peptidiques plus petites.

La synthèse des protéines se déroule chez tous les êtres vivants au niveau des ribosomes qui permettent la traduction des messages codés dans la succession des nucléotides des ARNm. Dans les cellules eucaryotes, il existe apparemment 02 types de ribosomes, les ribosomes libres répartis dans le cytosol et les ribosomes liés aux membranes du RER. Au niveau des ribosomes libres sont synthétisées des protéines variées, protéines ribosomales, nucléaires, protéines du cytosquelette, enzymes cytosoliques du métabolisme, protéines intrinsèques des membranes biologiques (celles situées sur leur face hyaloplasmique). Au Niveau des ribosomes liés aux membranes du RER sont synthétisées :

Les protéines sécrétoires et les protéines lysosomales qui sont transférées dans leur intégralité, au cours même de leur synthèse, dans la lumière des citernes, le transfert débutant par leur extrémité N-terminale.

Les protéines intégrales des membranes biologiques qui restent ancrées dans la couche lipidique des membranes du RE par une région hydrophobe de leur séquence en acides aminés.

En fait, tous les ribosomes sont dans les cellules eucaryotes structurellement et fonctionnellement équivalents .Seule la nature des ARNm détermine le site de la traduction, soit dans le cytosol ou au niveau du RER En effet, les ARNm qui correspondent à des protéines de sécrétion ,des enzymes, lysosomales ou des protéines membranaires intégrales ,possèdent une séquence de nucléotides jouant le rôle de code postal ,située entre le codon initiateur de la traduction (AUG) et le message qui sera traduit en protéine. Cette portion initiale de certaines chaînes protéiques porte le nom de séquence signal (**Figure 23, 24**).

Ce mécanisme permet aux ribosomes de se fixer au RE. Une fois que l'ARNm, avec le ribosome auquel il est attaché et la chaîne polypeptidique en cours de synthèse, se fixe au RE, la chaîne polypeptidique est insérée dans la membrane du RE au fur et à mesure que des acides aminés supplémentaires s'ajoutent au polypeptide. A la fin de la synthèse, le polypeptide qui comporte une séquence signal est libéré dans la lumière du RE ou il reste inséré dans la membrane du réticulum comme protéine membranaire.

Dans la lumière du RE, des enzymes éliminent la séquence signal de la plupart des protéines, de telle sorte que cette portion, nécessaire pour la protéine vers le réticulum, n'apparaît pas dans la protéine finale. De plus, des groupements glucidiques sont ajoutés à ces protéines par des enzymes dans le RE. Presque toutes les protéines sécrétées sont des glycoprotéines. -A la suite de ces modifications, des portions de la membrane du RE bourgeonnent pour former des vésicules contenant les protéines nouvellement synthétisées.

Ces vésicules migrent vers l'AG et fusionnent avec les membranes de l'AG. Au sein de l'AG les protéines subissent d'autres modifications : certains groupements glucidiques ajoutés dans le RER sont enlevés, et de nouveaux groupements sont ajoutés et agissent comme des étiquettes qui reconnaîtront les divers sites de liaison que rencontrera la protéine au cours de la dernière partie de son trajet dans la cellule. Les diverses protéines qui ont été groupées dans l'AG y sont triées selon leur destination finale. La lumière dont ce tri s'opère est encore mal connue. A la suite de ces modifications et ce tri, les protéines sont enveloppées dans des vésicules qui bourgeonnent à la surface de la membrane du Golgi.

Certaines de ces vésicules vont à la membrane plasmique avec laquelle elles fusionnent afin de libérer leur contenu dans le liquide extracellulaire (exocytose). D'autres vésicules fusionnent leur membrane avec celles des lysosomes afin de délivrer des enzymes digestives à l'intérieur de cet organe.

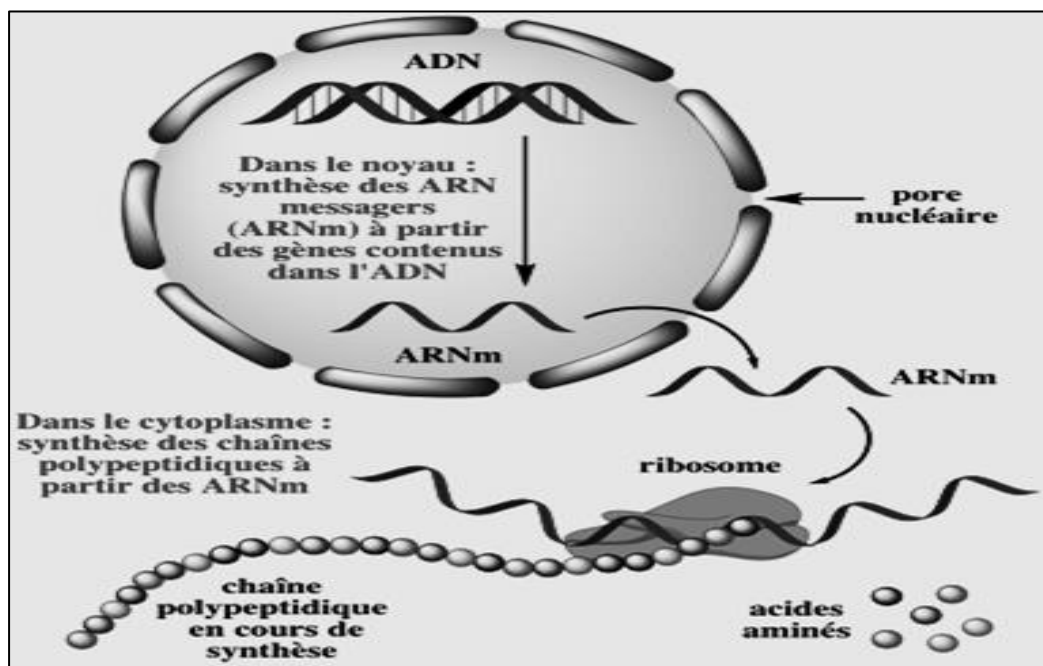


Figure 22. Synthèses des ARN messagers et protéines [Site web 17].

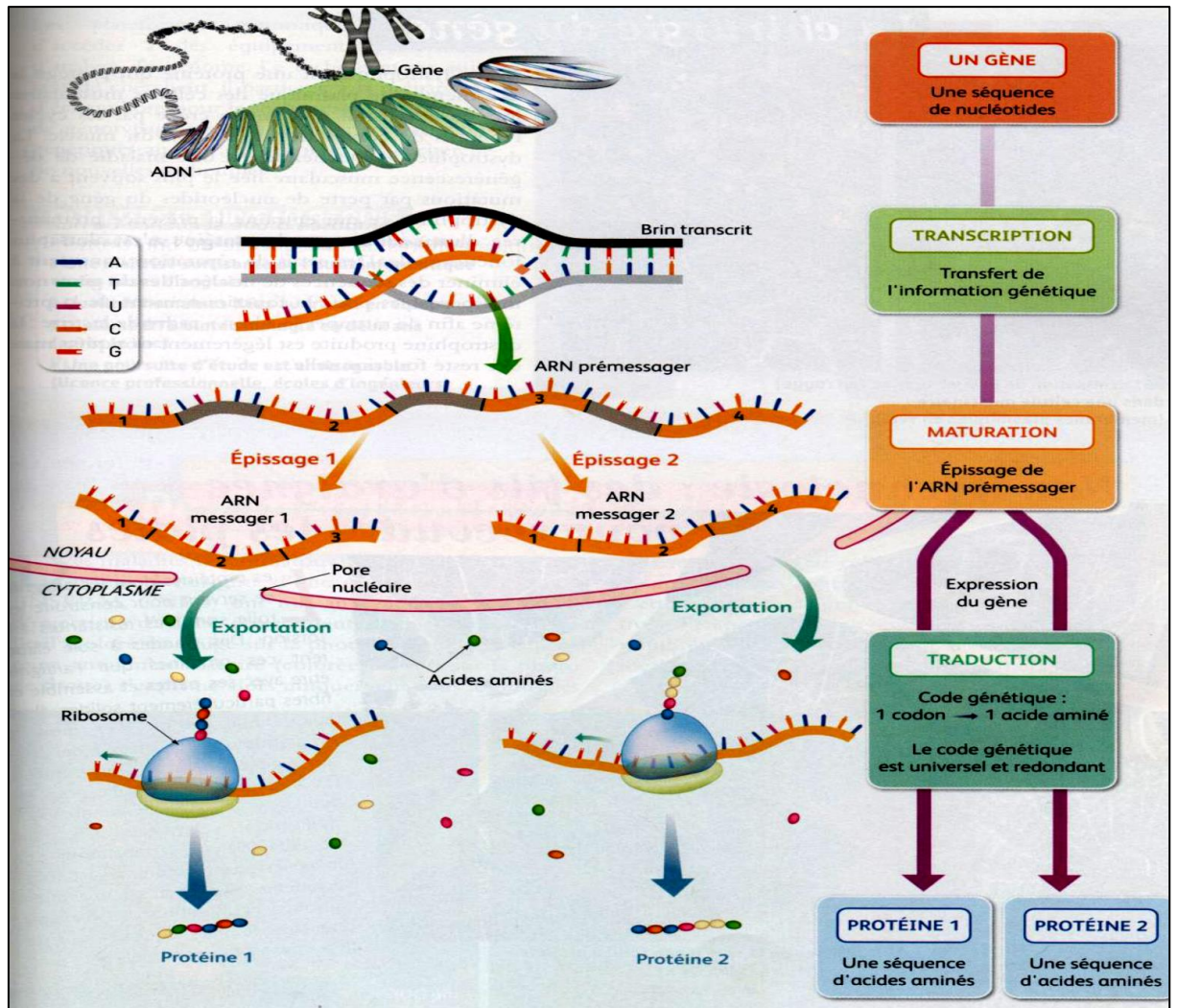


Figure 23. Étapes de la synthèse des protéines [Site web 17].

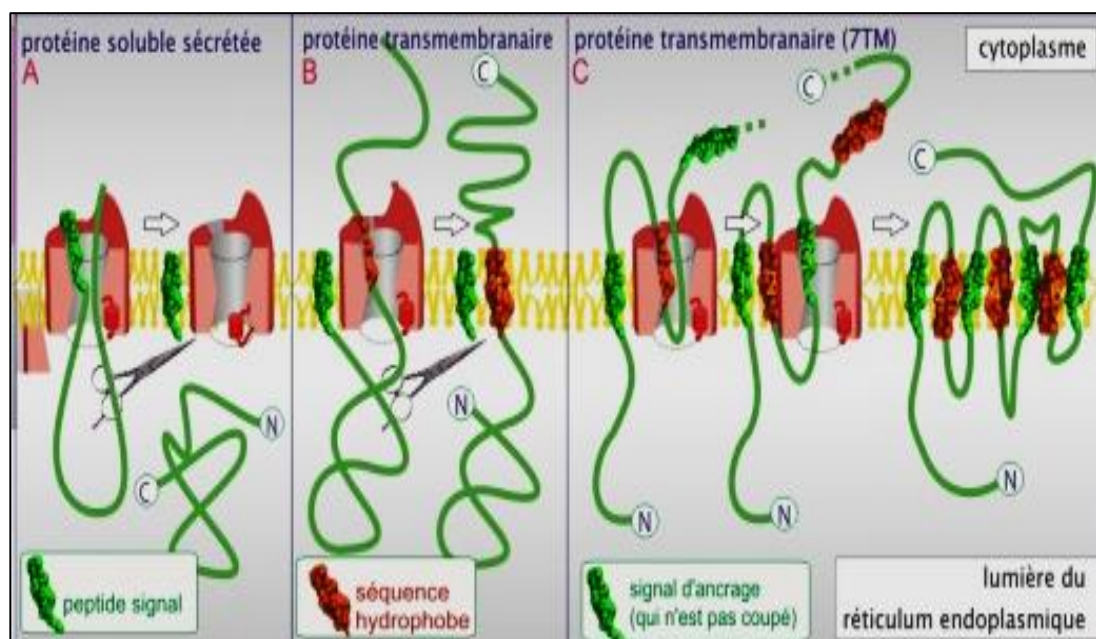


Figure 24. Différentes formes d'insertion des protéines [Site web 17].

3.2. Cytosquelette.

Le cytosquelette est constitué de polymères biologiques de protéines. On les classe en trois catégories (**Figure 25**) :

- Les filaments d'actine, formés de 7 à 8 nm, et leur longueur d'environ 17 μm . Les filaments d'actine forment un réseau dynamique. La dynamique des filaments d'actine est permise par un phénomène de tapis roulant (dépolymérisation à l'extrémité (-) et polymérisation à l'extrémité (+) et par le clivage des filaments par certaines protéines (raccourcissant de ce fait les filaments). Les filaments d'actines sont composés du polymère d'actine F (filament) et du monomère d'actine G (globulaire). Il existe un équilibre dynamique entre l'actine F et l'actine G. Le réseau d'actine est situé sous la membrane plasmique, le degré de polymérisation définit la forme globale de la cellule et la plasticité de la cellule qui est nécessaire pour les processus de migration, d'endocytose, de division...
- Les filaments intermédiaires. Ce sont les éléments les moins dynamiques du cytosquelette. Ils sont très importants pour la structure du noyau puisqu'ils sont les plus résistants. Ils permettent l'ancrage des organites. Ils ont un diamètre pouvant se situer entre 8 et 10 nm, leur donnant ainsi une taille intermédiaire entre les microfilaments d'actine et les microtubules. On les trouve dans toutes les cellules eucaryotes mais pour certaines, on ne les trouve que chez les vertébrés. On distingue :
 - ✓ Les filaments à kératine qui sont caractérisés par de nombreux ponts disulfures ; on les trouve dans les cellules épidermiques des vertébrés, les cheveux, les poils, les ongles...
 - ✓ Les filaments à desmine qu'on retrouve dans les cellules musculaires des muscles lisses, striés et dans le muscle cardiaque
 - ✓ La lamina nucléaire présente dans le noyau appliquée contre la membrane interne du noyau ; c'est une couche protéique fibrillaire dont les protéines sont des lamines.
- Les microtubules sont les constituants les plus rigides du cytosquelette. Ces sont des structures cylindriques creuses dont la paroi est constituée de polymères de tubuline (dimères de tubuline α et β). Leur longueur de persistance est en effet de plusieurs millimètres, ce qui dépasse largement l'échelle de la cellule, pour un diamètre variant de 15 à 25nm suivant les types de microtubules.

➤ **Contacts focaux**

Les contacts focaux (ou adhérences focales ou plaques d'adhérence) réalisent le chaînon intermédiaire entre les molécules de la MEC et les microfilaments d'actine du cytosquelette. Les récepteurs membranaires assurant les interactions cellule-MEC au niveau des contacts focaux appartiennent à la famille des **intégrines** ; la principale intégrine intéressée dans les contacts focaux est l'intégrine α_5 - β_1 . De nombreuses protéines intra-cytoplasmiques assurent le lien entre le domaine cytoplasmique des intégrines et les microfilaments d'actine. Des jonctions de ce type s'établissent de façon transitoire pour permettre la migration de cellules sur la MEC, notamment au cours des processus de réparation (**Figure 26**).

➤ **Fibres du stress**

Les fibres de stress sont des faisceaux parallèles de filaments d'actine, reliés entre eux par de l'actinine permettant leur interaction avec la myosine II, à l'origine de leur mouvement et donc du déplacement du fibroblaste. D'où le mot stress.

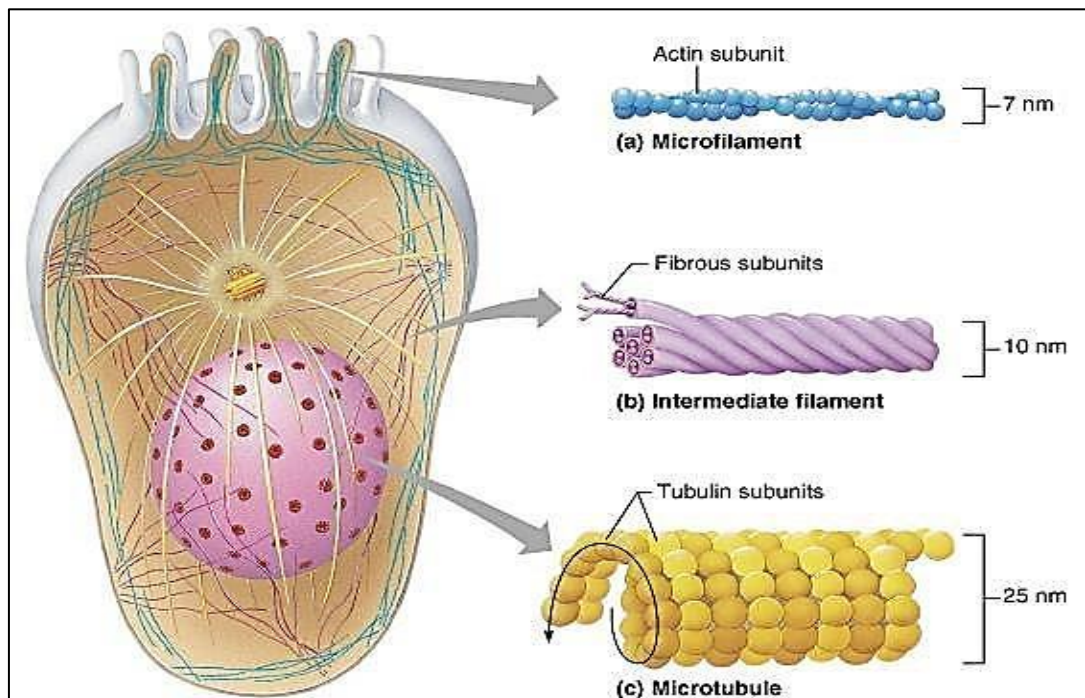


Figure 25. Composants du cytosquelette [Site web 18].

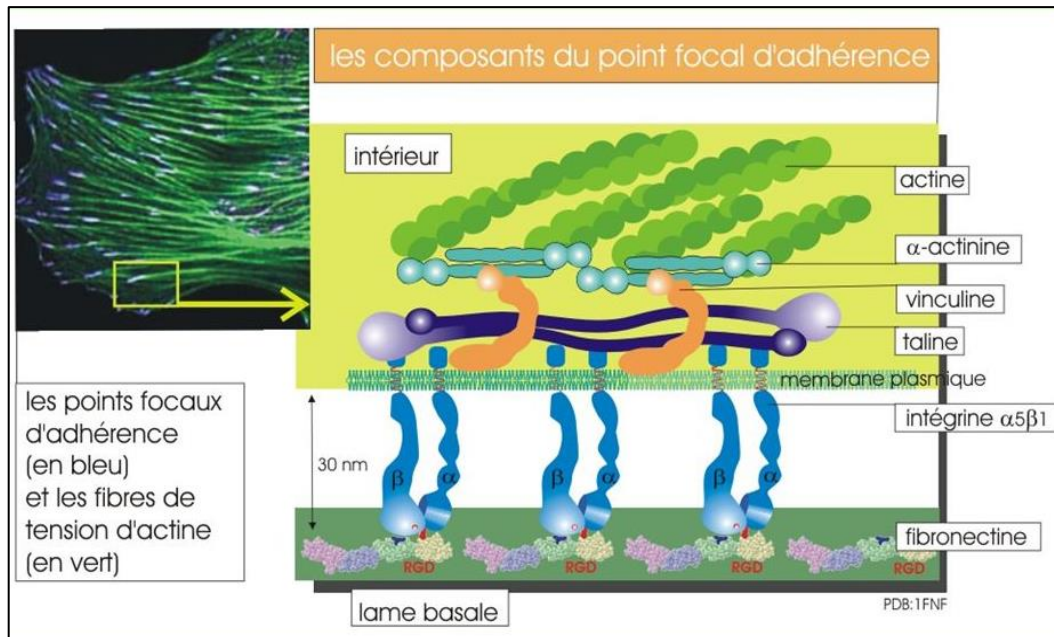


Figure 26. Composants du point focal d'adhérence [Site web 19].

3.2. 1. Principales fonctions

Le cytosquelette contribue à de nombreuses fonctions au sein de la cellule :

- ✓ La régulation de la forme de la cellule.
- ✓ L'ancrage aux membranes des cellules voisines.)
- ✓ Le maintien de la structure interne, et en particulier des compartiments cellulaires.
- ✓ Le transport de protéines ou d'ARNm.
- ✓ La séparation des chromosomes lors de la mitose
- ✓ La formation et la contraction de l'anneau mitotique permettant la séparation physique de deux cellules filles (cytodiérèse).
- ✓ La contraction des cellules musculaires.

3.3. Fibre et contraction musculaire

L'unité de contraction des muscles striés est le sarcomère. Il est constitué d'un assemblage de filaments d'actine et de filaments de myosine-II (protéine motrice ayant une activité ATPase). Lors de l'hydrolyse de l'ATP le changement de la position de la tête de myosine provoque un glissement des filaments d'actine sur les filaments de myosine. Le sarcomère se raccourcit, il est alors dans un état contracté (**Figure 27**). Les filaments d'actine participent aussi à la résistance au stress mécanique lors de la contraction. Ils sont liés à la dystrophine qui elle-même est liée à un complexe glycoprotéique de la membrane

plasmique (sarcolemme). L'absence de dystrophine (due à des mutations) chez l'homme est responsable de la maladie de Duchenne (myopathie progressive).

La cellule musculaire est multinucléée et entourée d'une membrane appelée sarcolemme qui est entièrement occupé par plusieurs centaines de myofibrilles disposées parallèlement et longitudinalement selon l'axe de la cellule. Chaque myofibrille est constituée de myofilaments appelés filaments fins et de filaments épais. Ces filaments fins et épais sont disposés de manière répétitive le long de la myofibrille, chaque unité s'appelant le sarcomère et représentant l'unité fonctionnelle du muscle strié squelettique. Au microscope, le sarcomère apparaît strié avec une succession de bandes sombres A (anisotropes) et de bandes claires I (isotropes) (**Figure 28**).

- Les bandes A s'étendent sur toute la longueur des filaments épais et ses parties externes se chevauchent avec les filaments fins.
- Les bandes I sont les zones dans lesquels ne sont présents que les filaments fins.
- Au centre des bandes I, la strie Z, site où s'arriment les filaments fins, sépare les sarcomères les uns des autres.
- La zone H, au centre de chaque bande A, est la zone où ne sont présents que des filaments épais.
- Enfin, la ligne M, au centre du sarcomère, représente les points d'ancrage des filaments épais.

L'interaction actine/myosine est hautement régulée pour prévenir les contractions musculaires indésirables (par exemple, imaginez les conséquences désastreuses sur la respiration d'une contraction des muscles intercostaux maintenue pendant quelques minutes). La contraction du muscle squelettique est déclenchée par des motoneurones qui forment des synapses spécialisées, les jonctions neuro-musculaires (ou plaques motrices) (L'ensemble constitué par un motoneurone et une ou quelques cellules musculaires est appelé « unité motrice ». Le système nerveux influence la force de contraction d'un muscle.

Mécanismes cellulaires de la contraction musculaire

Pendant la contraction ou la relaxation musculaire, la longueur des filaments d'actine et de myosine reste constante. En revanche, la longueur des sarcomères varie du fait du glissement des filaments fins d'actine dans le réseau des filaments épais de myosine (**Figure 29**):

- Le potentiel d'action (dépolariation membranaire), en se propageant le long des tubules transverses du sarcolemme, parvient à proximité des citernes terminales des tubules longitudinaux du réticulum endoplasmique (triade). Cette dépolariation (par une cascade d'événements) permet l'ouverture des canaux Ca^{2+} contenus dans la membrane des tubules longitudinaux du réticulum endoplasmique. L'ouverture de ces canaux permet le relargage du Ca^{2+} contenu dans le réticulum endoplasmique dans le sarcoplasme de la fibre musculaire.
- Le Ca^{2+} intracellulaire se fixe sur le site spécifique de la troponine C (TN-C). Cette fixation modifie la conformation de la molécule de tropomyosine, qui glisse alors dans la profondeur de la gouttière de la chaîne hélicoïdale d'actine, libérant ainsi les sites de fixation spécifiques de la myosine présents sur la molécule d'actine. Les têtes globulaires de myosine se fixent alors sur les sites spécifiques de l'actine. Dans le même temps, la fixation du Ca^{2+} sur la TN-C permet la levée de l'inhibition exercée par la troponine I (TN-I) sur l'activité ATPasique de la tête de myosine. Cette activité ATPasique permet la scission (hydrolyse) Mg^{2+} dépendante de l'ATP en ADP et Pi (phosphate inorganique), scission productrice d'énergie. Tout ceci aboutit à la formation d'un complexe Actine-Myosine-ADP-Pi (A-M-ADP-Pi).
- Le Pi, dans un premier temps, puis l'ADP, dans un second temps, se détachent de ce complexe, ce qui permet une modification de l'angle formé par les têtes de myosine fixées à l'actine, et donc un glissement des filaments d'actine sur les filaments de myosine. La traction au niveau des deux extrémités d'un filament épais de myosine s'effectue en sens opposé.
- Le complexe actine-myosine (A-M) reste stable ("complexe de rigidité") et seule la présence d'une nouvelle molécule d'ATP permet la rupture de la liaison entre l'actine et la myosine, le redressement des têtes de myosine et la formation d'un nouveau complexe myosine-ATP. Au cours d'une même contraction, le cycle se reproduit plusieurs fois, en fonction de la fréquence des potentiels d'action émis par le motoneurone. Plus le nombre de cycles est grand, plus le raccourcissement est important.
- Le mécanisme prend fin quand la $[\text{Ca}^{2+}]$ est inférieure à $1 \mu\text{mol/l}$ (concentration de repos) et que les sites calciques de la TN-C sont libres. Les canaux calciques du réticulum endoplasmique se ferment (absence de potentiel d'action musculaire) et le calcium cytoplasmique est transporté activement vers les citernes réticulaires.

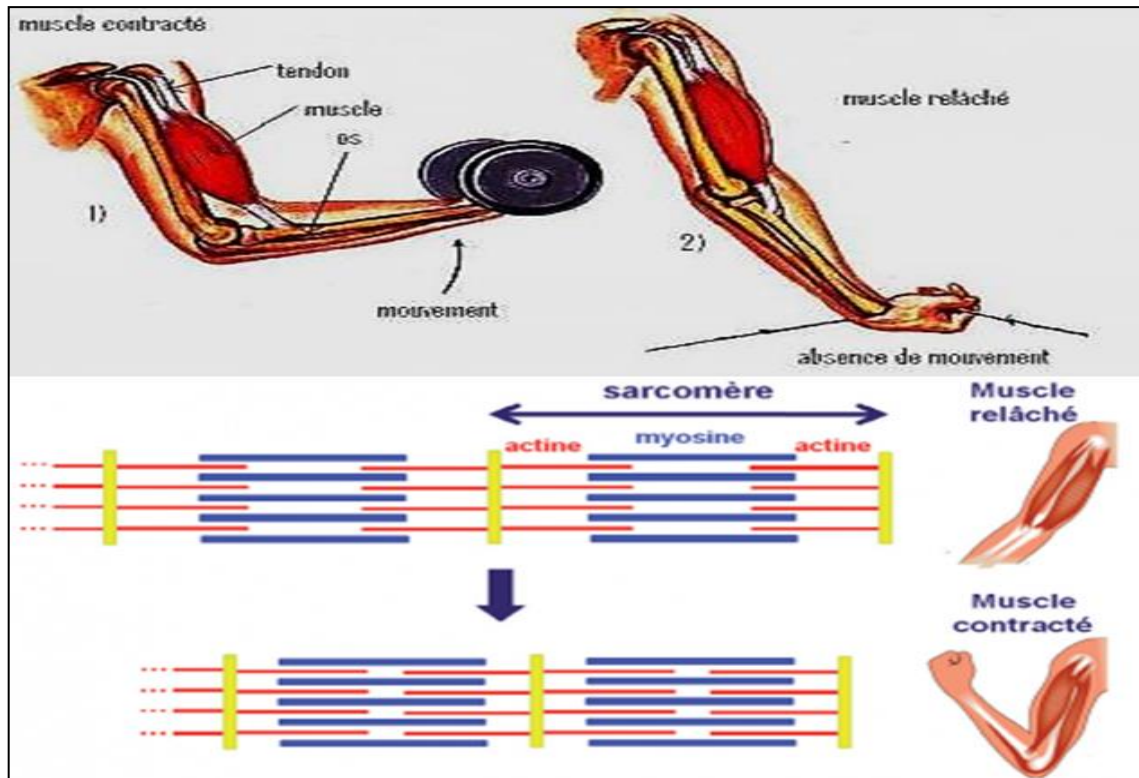


Figure 27. Contraction musculaire [Site web20].

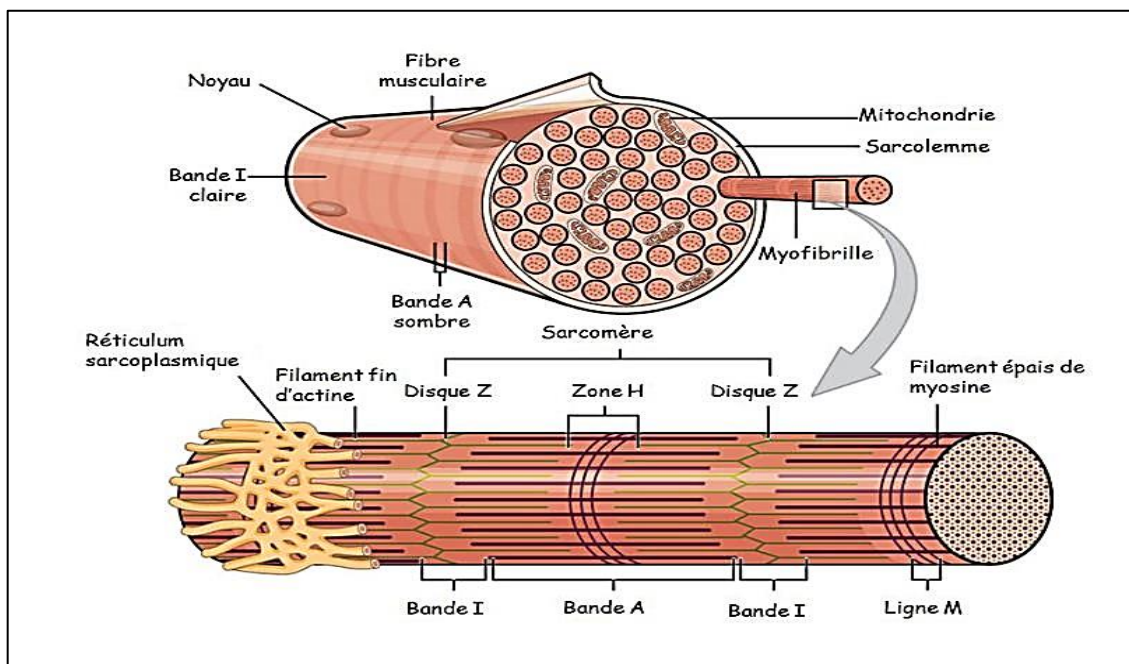


Figure 28. Organisation ultra-structurale du muscle strié squelettique [Site web 21].

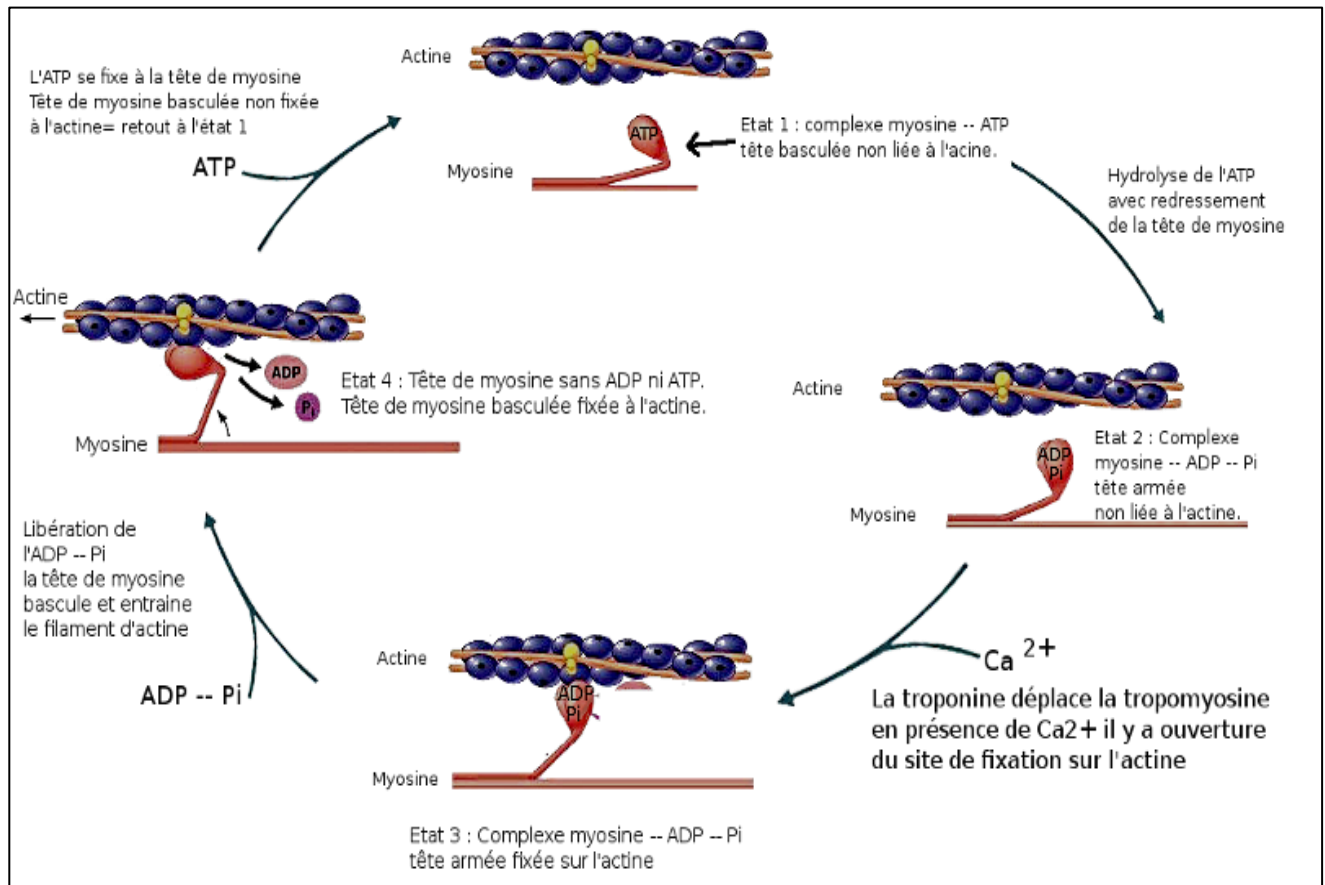


Figure 29. Cycles des interactions entre actine et myosine au cours d'une contraction musculaire [Site web 22].

3.4. Mitochondrie et chaîne de phosphorylation oxydative

Le métabolisme bioénergétique a pour fonction de produire de l'énergie chimique sous forme d'ATP. Les organites mis en jeu sont les mitochondries, présentes dans toutes les cellules eucaryotes, animales et végétales. Elles produisent de l'ATP en aérobie à partir du catabolisme oxydatif des glucides, des lipides ou des acides aminés (métabolisme respiratoire).

3.4. 1. Structure et fonctions des mitochondries

On observe 3 types de mitochondries qui peuvent coexister dans une même cellule. Filamenteux (0,4 – 0,5 à 7 μm), Ovalaires, les plus fréquentes (2 à 4 μm), (granulaires) (0,5 à 1 μm).

- La forme dépend des propriétés physico-chimiques (pH, pression) du cytosol.
- Le pH acide permet un meilleur rendement des mitochondries les plus petites et ovalaires.

- L'augmentation de la pression osmotique entraîne la baisse du volume des mitochondries par sortie d'eau des mitochondries vers le cytosol.
- Coloration vitale cytochimique au vert Janus.
- Immunofluorescence (anticorps spécifiques des protéines de l'enveloppe mitochondriales).
- Microscopie à contraste de phase : mobilité observée.

3.4.2. Propriétés ultrastructurales de mitochondrie en microscopie électronique

On observe deux membranes (l'une externe, l'autre interne) qui constituent l'enveloppe mitochondriale. Elles sont séparées par un espace intermembranaire, dit chambre externe, à un pH acide. Elles présentent des zones d'accolement transitoire au niveau desquelles se fait le transfert de protéines. La membrane interne présente des replis, dits crêtes mitochondriales, qui peuvent être courtes, allongées longitudinalement ou transversales, de section tubulaire, triangulaire ou prismatique (**Figure 30**). Les crêtes multiplient par 3 la surface d'échange membranaire par rapport à la membrane externe. Le nombre et la surface de ces crêtes sont corrélés avec le besoin en ATP de la cellule. Exemple : les crêtes sont 3 fois plus nombreuses dans les mitochondries des cellules cardiaques que dans celles des hépatocytes dont le besoin énergétique est moindre.

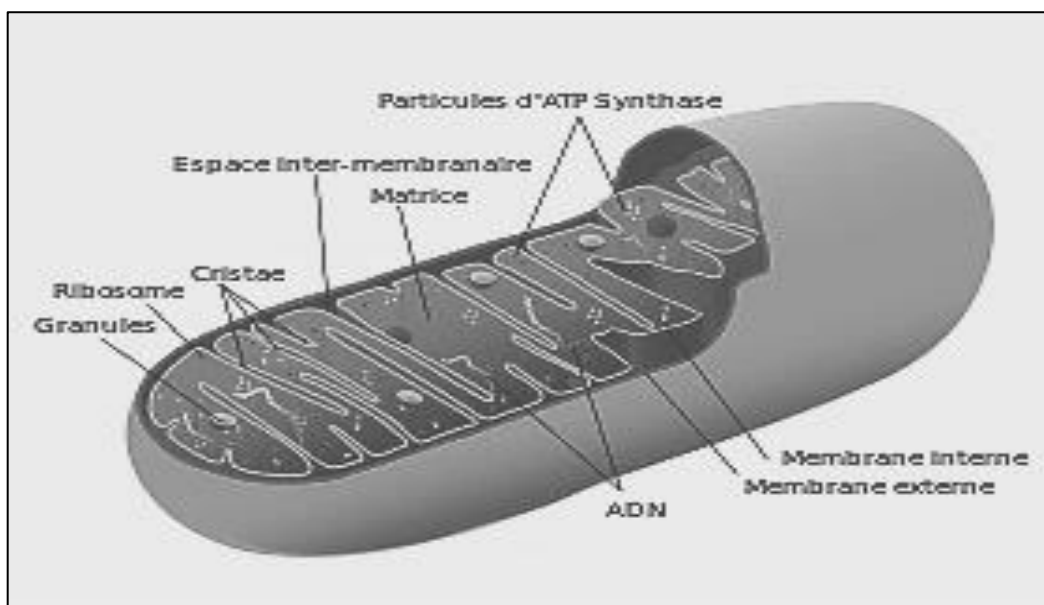


Figure 30. Structure de mitochondrie [Site web 23]. .

3.4.3. Origine, multiplication et mort des mitochondries.

Les mitochondries sont des organismes procaryotes en symbiose dans les cellules eucaryotes. » : Les mitochondries dérivent à l'origine d'une bactérie aérobie pourpre intégrée par endocytose. (théorie endosymbiotique)

- **Arguments**

- ✓ Les mitochondries sont délimitées par une double membrane.
- ✓ L'ADN mitochondrial a une structure identique à celui d'une bactérie (circulaire, double brin, absence de structure nucléosomique)
- ✓ Autonomie des mitochondries :
- ✓ Expression des gènes mitochondriaux indépendante de celle du noyau (ARN_m, ARN_t, ribosomes propres)
- ✓ Multiplication par division des mitochondries existantes
- ✓ Mort par autophagie lysosomale.

3.4.4. Le métabolisme intramitochondrial (dans la matrice)

Les mitochondries sont la principale source d'énergie des cellules eucaryotes animales. Elles sont le site d'un catabolisme aérobie : l'oxydation des molécules (glucides, acides aminés, et lipides) en présence d'oxygène et conduisent à la production de CO₂, d'H₂O et d'énergie (ATP)



- **Métabolisme respiratoire**

- ✓ Production d'acétylcoenzyme A
- ✓ Cycle de Krebs
- ✓ Transfert des électrons sur la chaîne des transporteurs
- ✓ Production d'ATP.

- **Chaîne des transporteurs d'électrons** : par 4 complexes métalloprotéiques (Figure 14).

- ✓ I : NADH déshydrogénase (= face matricielle de la membrane)
- ✓ II : Succinate déshydrogénase (= face matricielle de la membrane)
- ✓ III : cytochromes b – c.
- ✓ IV : oxydase terminale = cytochrome C oxydase

Les complexes I et II catalysent l'oxydation dans la membrane du NADH et du succinate respectivement. Les électrons ainsi libérés sont transmis à la chaîne de transport d'électrons.

La membrane interne contient également :

- ✓ des Ubiquinones, molécules lipophiles de petite taille et très mobiles. Elles jouent un rôle primordial au sein de la chaîne de transporteurs d'électrons.
- ✓ de l'ATP synthase, responsables de la production d'ATP dans la matrice par phosphorylation oxydative. Ils se concentrent dans les crêtes. Leur fonctionnement est couplé au fonctionnement de la chaîne de transporteurs d'électrons.

3.4.5. Mécanismes de la chaîne respiratoire

La chaîne respiratoire correspond à une chaîne des complexes protéiques présents au sein de la membrane interne de la mitochondrie et responsable de la production d'ATP à partir du NADH et du FADH₂ produits lors des différentes voies cataboliques de l'organisme. La production est permise grâce à la formation d'un gradient électrochimique de protons dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Les électrons riches en énergie récupérés sont transportés successivement via les différents complexes (**Figure 31**) :

- Le complexe I a une action NADH coenzyme Q réductase récupérant les électrons du NADH et permet le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire.
- Le complexe II a une action succinate coenzyme Q réductase récupérant les électrons du FADH₂ et permet le transport d'aucun proton.
- Le complexe III a une action coenzyme Q cytochrome C réductase réductase récupérant et permet le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire.
- Le complexe IV a une action cytochrome C oxydase permet le transport de 2 protons de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire.
- Le coenzyme Q (ou ubiquinone) permet la transition entre le complexe I ou II et le complexe III.
- Le cytochrome C permet la transition entre le complexe III et le complexe IV.

- Le dernier accepteur d'électrons est l'oxygène qui sera ainsi à l'origine de la formation de la molécule d'eau.
- Le NADH permettra donc le transport de 10 protons de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire, mais le FADH₂ de seulement 6. Ceux-ci repasseront vers la matrice mitochondriale via une pompe à protons que l'on appelle également l'ATP synthétase à l'origine de la formation d'ATP.

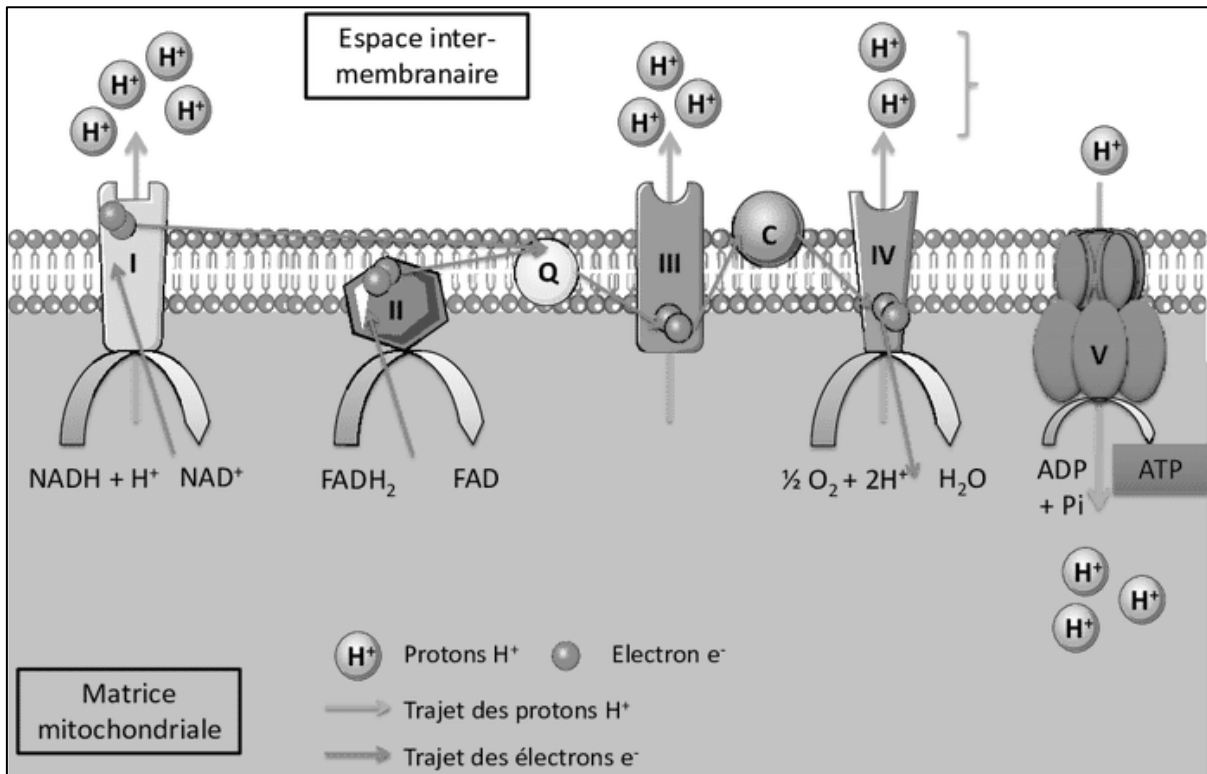


Figure 31. Mitochondrie et chaîne des transporteurs d'électrons [Site web 24].

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

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

- 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. Il en est de même en ce qui concerne le transport des protéines d'un saccule golgien à un autre. Dans ce type de transport, les vésicules se forment par bourgeonnement du compartiment donneur. Au cours de ce processus, les vésicules ainsi formées s'emparent du matériel présent dans le compartiment donneur et le libèrent dans le compartiment cible, après fusion de la membrane vésiculaire avec celle du compartiment cible.

Le tri des protéines vers les différents embranchements doit être parfaitement sélectif. 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. Une protéine à destinée nucléaire possède un signal de tri qui est reconnu par une protéine réceptrice associée au complexe du pore nucléaire. Une protéine qui doit être transférée au travers d'une membrane possède un signal d'adressage qui est reconnu par une protéine de translocation située dans la membrane. Enfin, les protéines qui doivent être retenues dans certains organites ou encore être transportées dans des vésicules de transport possèdent également des signaux de tri spécifiques reconnus par des protéines membranaires (**Figure 32**).

3.5.1. Les signaux de tri.

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

- **Les peptides signal** : Ils sont constitués d'une séquence continue 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 une 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.

- **Séquences typiques de peptides signal :**
 - ✓ Importation dans le réticulum endoplasmique : peptide situé à l'extrémité amino terminale de la protéine, comportant une séquence centrale de 5 à 10 acides aminés hydrophobes.
 - ✓ Maintien dans le réticulum endoplasmique : séquence de 4 acides aminés spécifiques à l'extrémité carboxy-terminale de la protéine.
 - ✓ Importation dans la matrice mitochondriale : peptides signal situés à l'extrémité amino-terminale de la protéine, possédant des acides aminés chargés positivement (Lys, Arg) et alternant avec des acides aminés hydrophobes.
 - ✓ Importation dans le noyau : séquence d'acides aminés chargés positivement au sein de la protéine.
- **Les régions signal :** Elles correspondent à un arrangement tridimensionnel particulier de la molécule. Les acides aminés qui forment une région signal peuvent être très distants les uns des autres sur la molécule déployée. De telles régions signal sont impliquées dans le transport des protéines du Golgi vers les lysosomes.

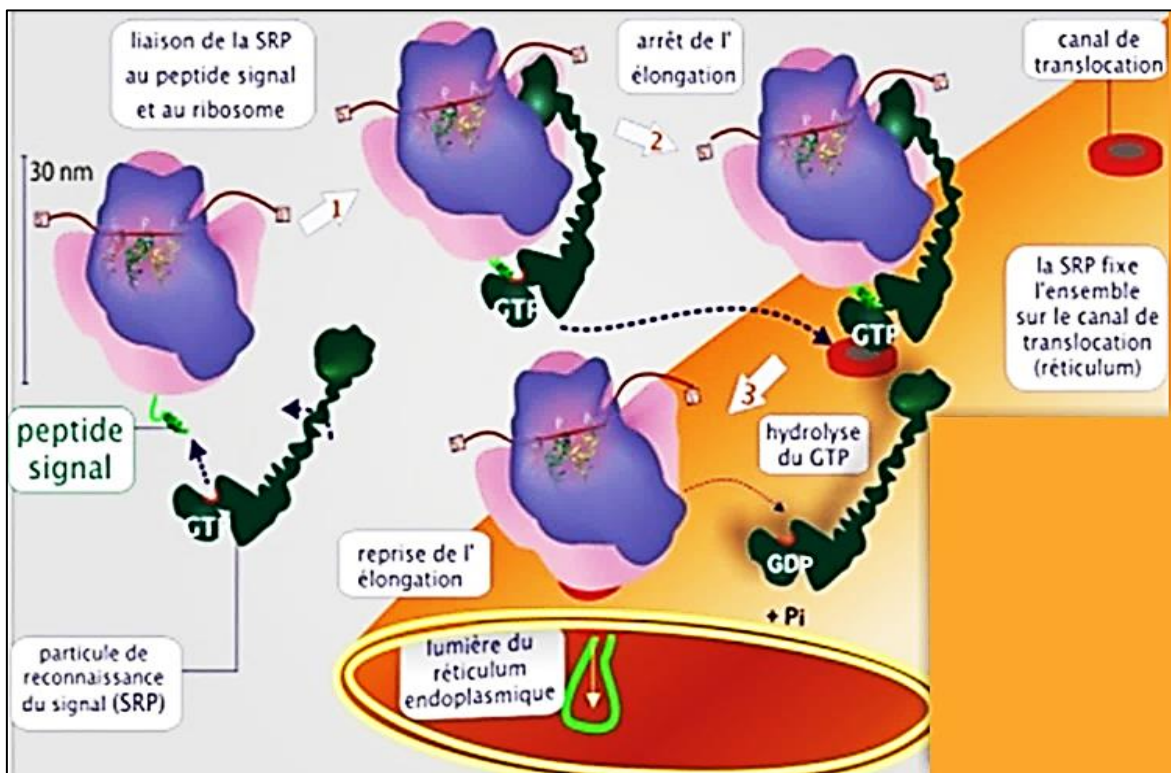


Figure 32. Triprotéique par le peptide signal [Site web 24].

3.5.1. Biosynthèse et maturation des protéines post-traductionnelles

- **Protéines sécrétées / protéines lysosomales**
 - ✓ Fixation de l'ARNm sur le codon AUG
 - ✓ Synthèse d'un peptide (16 à 30 acides aminés) = peptide signal
 - ✓ La séquence signal est recouverte par une Particule de Reconnaissance du Signal (SRP)
 - ✓ Détachement du SRP, ancrage du peptide signal dans la membrane
 - ✓ La protéine pénètre à travers la membrane
 - ✓ Lorsque l'ARNm est traduit, une enzyme de la membrane du RER coupe le peptide signal, la signalase
 - ✓ La protéine est libre dans la cavité et se replie
- **Protéine membranaire**
 - ✓ Début de la synthèse identique
 - ✓ Présence d'une séquence d'arrêt : signal stop
 - ✓ La protéine reste ancrée dans la membrane
- **Transport et maturation des protéines**
 - ✓ Mise en évidence de la migration des protéines après leur synthèse
 - ✓ Maturation des protéines = acquisition de l'état définitif de la protéine
 - Glycosylation des protéines
 - Localisation : RER à Golgi (cis, trans)
 - Repliement des chaînes
 - Assemblage des chaînes : formation de ponts disulfure
 - Maturation des protéines par clivage
- Le tri et l'adressage des protéines
 - Cela consiste à envoyer une protéine au bon endroit.

3.6. Le Système ubiquitine /protéasome

Le système ubiquitine protéasome (UPS) est une machinerie très sophistiquée, présente dans toutes les cellules eucaryotes, les archées et certaines bactéries et joue un rôle majeur dans la protéolyse intracellulaire, du fait de son implication dans la plupart des processus cellulaires par la dégradation régulée des protéines. La dégradation d'une protéine via ce système nécessite un apport d'énergie, de l'ATP (Adénosine triphosphate)) et implique généralement deux grandes étapes successives: l'ubiquitylation de la protéine et sa dégradation par le protéasome 26S (**Figure 33**). L'importance de cette voie de

dégradation a d'ailleurs justifié l'attribution du Prix Nobel de Chimie 2004 à Aaron Ciechanover, Avram Hershko et Irwin Rose pour leur contribution significative à sa découverte et sa caractérisation.

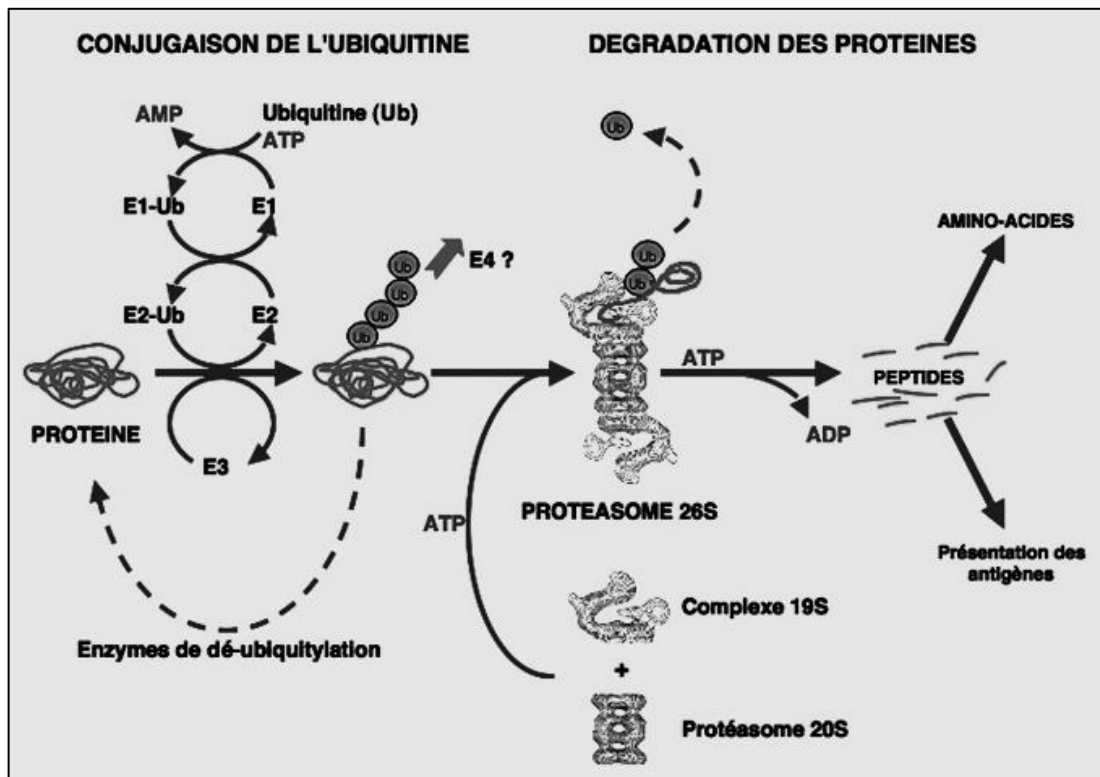


Figure 33. Fonction du système ubiquitine- protéasome. [10].

3.6 1. Les complexes de protéasome

3.6 1.1. Le protéasome 26S

Le protéasome 26S est la machinerie multiprotéique centrale du système de protéolyse ubiquitine-dépendante. En microscopie électronique, le protéasome 26S se présente comme une structure symétrique formée de deux complexes 19S ajustés à chacune des extrémités de la particule 20S (Figure 34). IL est très conservé chez les eucaryotes, d'un poids moléculaire de 2000 kDa, composé de plus de 40 sous-unités, et représente de 1 à 2% des protéines totale. La dégradation par le protéasome 26S des protéines polyubiquitylées peut intervenir dans le noya comme dans le cytoplasme, ou encore à la surface du réticulum endoplasmique

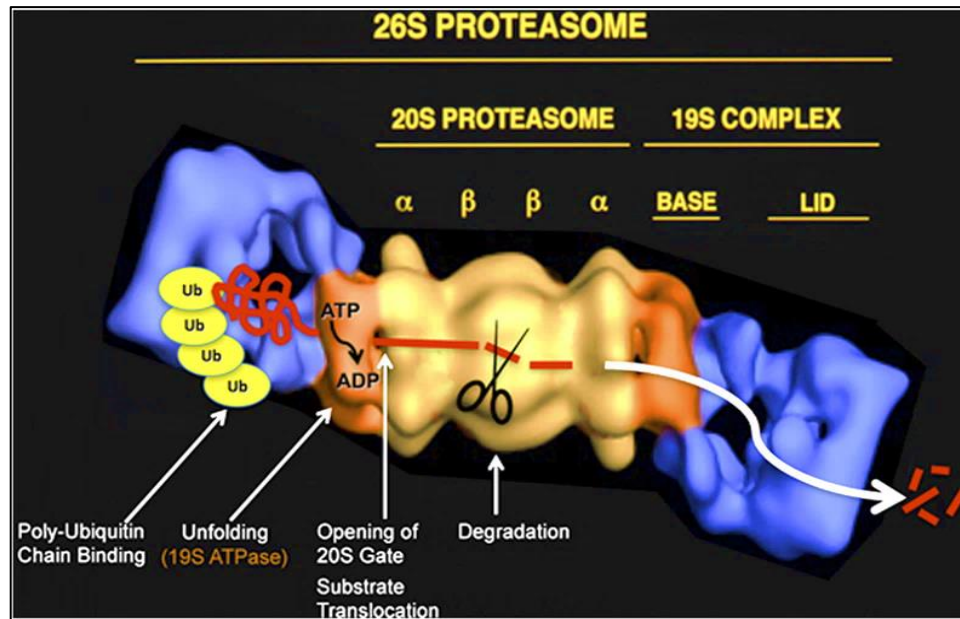


Figure 34. Protéasome 26S [14].

3.6 1.1.1. Ubiquitine

L'ubiquitine (Ub) est une petite protéine de 76 acides aminés, de masse moléculaire d'environ 8,5 kDa, présente dans toutes les cellules eucaryotes, est très conservée au cours de l'évolution. Elle est synthétisée sous forme de précurseurs protéiques, soit en fusion N-terminale avec une autre protéine (souvent des protéines ribosomales), soit sous forme de plusieurs molécules d'ubiquitine fusionnées les unes aux autres. L'ubiquitine possède une structure globulaire compacte avec un résidu méthionine N-terminale (Met) et 7 résidus lysine (Lys ou K), peuvent accueillir des molécules d'ubiquitine. 8 types de chaînes de poly ubiquitine peuvent être formées via des liaisons isopeptidiques entre les 8 sites receveurs : K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63 et les résidus Gly76 (**Figure 35**). La conjugaison de l'ubiquitine aux substrats se fait via une liaison isopeptidique entre le groupement carboxylique de la glycine C-terminale et le groupement d'un résidu lysine du substrat, aussi l'allongement de la chaîne d'ubiquitine suit le même mécanisme. Le rôle principal de cette molécule est de marquer les protéines qui doivent être détruites par le protéasome.

3.6 1.1.2. Cascade d'ubiquitylation

La conjugaison de l'ubiquitine ou (plusieurs molécules d'Ub) à son substrat (protéine) se fait par une cascade enzymatique impliquant au moins trois types d'enzymes (**Figure 36**), E1, E2 et E3 (Figure). La molécule d'ubiquitine est tout d'abord activée par l'enzyme d'activation de l'ubiquitine (ubiquitin-activating enzyme) appelée E1 ou Uba 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 et le groupement thiol (SH) d'une cystéine de l'E1. L'ubiquitine activée est ensuite transférée, en formant une autre liaison thioester, à un E2 ou Ubc (Ubiquitin-carrier ou Ubiquitin-conjugating enzyme), enzyme de conjugaison au niveau du groupement thiol de sa cystéine active. En fin la dernière étape est catalysée par une ubiquitine-ligase (E3), qui favorise le transfert de l'ubiquitine liée à E2 directement sur le substrat sans former de liaison thioester avec l'ubiquitine mais par la formation d'une liaison isopeptidique entre le groupe carboxyl de la glycine terminale de l'ubiquitine et le groupe amine d'un résidu lysine du substrat. Dans certains cas, la poly-ubiquitylation du substrat nécessite l'intervention d'une quatrième enzyme appelé E4, enzyme d'élongation qui reconnaît spécifiquement la mono- ou l'oligo-ubiquitylation et permet, en coopération avec l'E3, d'allonger et de modifier le type de chaînes (de K29 à K48) présent sur le substrat, permettant ainsi sa dégradation efficace par le protéasome.

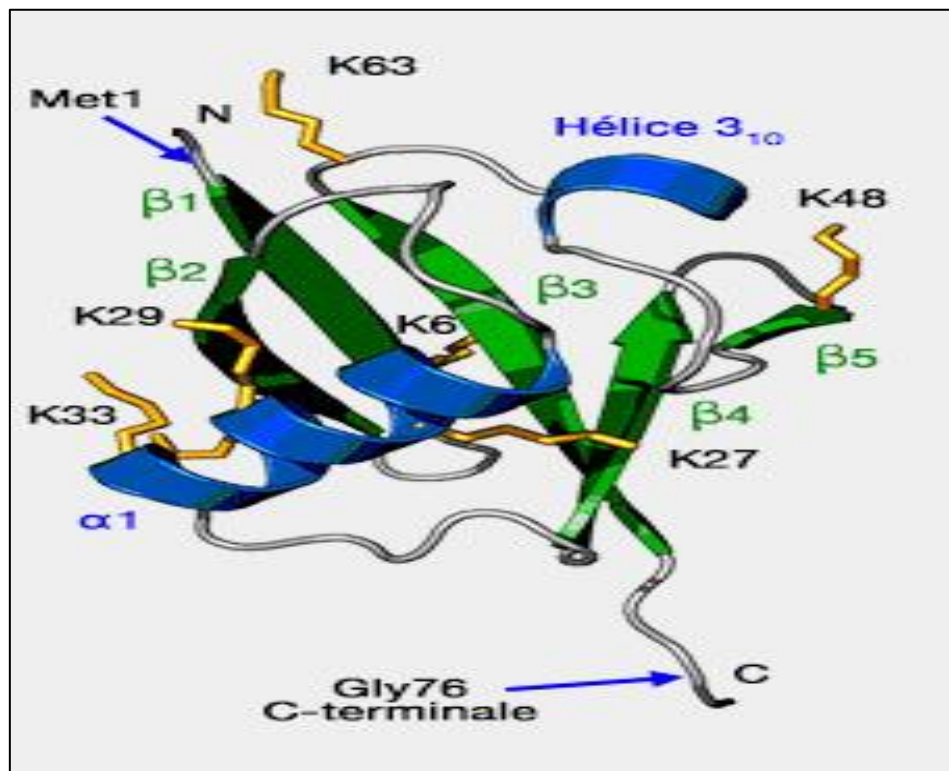


Figure 35. Structure d'ubiquitine [15].

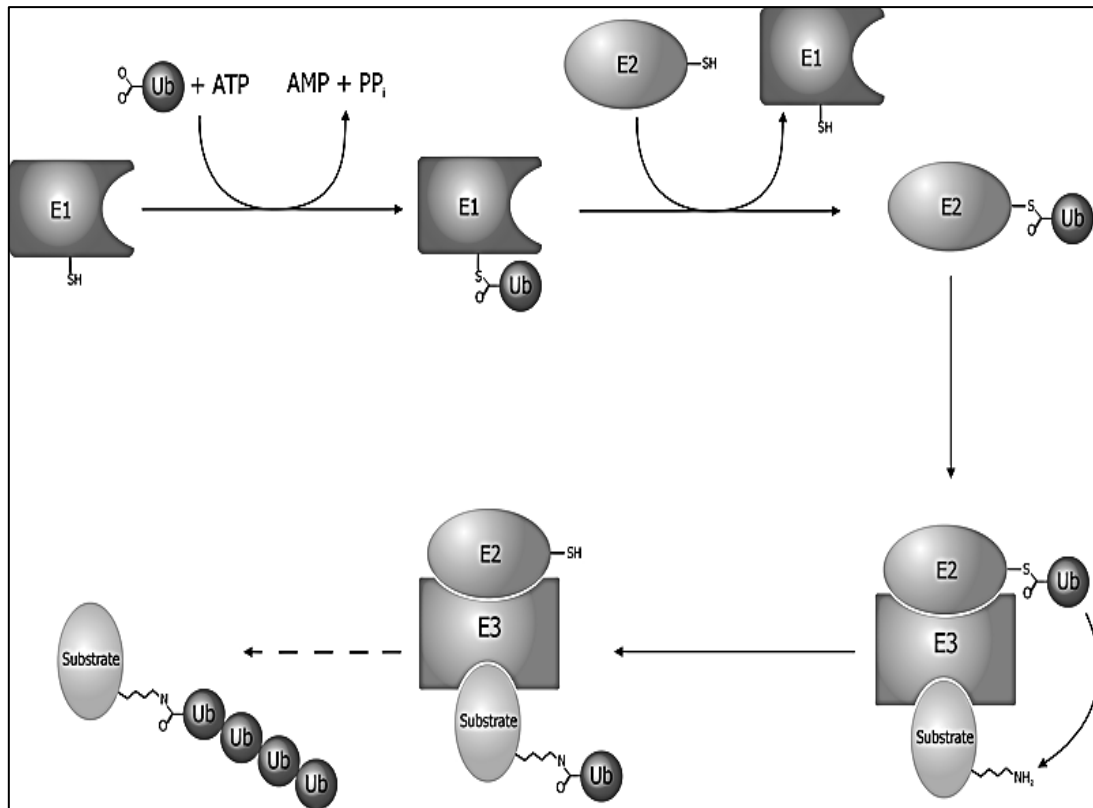


Figure 36. Cascade d'ubiquitylation [Site web 26].

3.6 1.2. Le protéasome 20S

Le protéasome 20S est un complexe multicatalytique d'environ 700 kDa, Sa structure a été déterminée par microscopie électronique puis par cristallographie, ce qui a révélé un cylindre creux, 160Å de long pour 120Å de diamètre, cette taille s'est relativement bien conservée pendant l'évolution, composé de 28 sous-unités assemblées en 4 anneaux superposés identiques 2 à 2, empilés dans une symétrie cyclique C2. Les 2 anneaux centraux sont constitués de 7 sous-unités β et les 2 anneaux extérieurs sont formés de 7 sous-unités α donnant une configuration $\alpha 7\beta 7\beta 7\alpha 7$ au CP le long d'un axe vertical. Les 2 anneaux β délimitent la cavité interne, qui renferme les sites catalytiques, tandis que les cavités externes (appelées "antichambres") sont délimitées par un anneau α et un anneau β (Figure 36).

- **Chambre catalytique du protéasome 20S**

Chez les eucaryotes, seules 3 des sous-unités β ($\beta 1$, $\beta 2$ et $\beta 5$) possèdent une activité protéolytique clairement définie. La cavité centrale contient donc 6 sites actifs. De plus, ces activités ont des spécificités distinctes qui ont pu être caractérisées grâce à l'utilisation de substrats peptidiques modèles : l'activité dite PGPH (peptidylglutamyl-peptide hydrolase) ou caspase-like (qui coupe après les résidus acides : aspartate ou glutamate...) est portée par $\beta 1$, l'activité trypsin-like (qui coupe après les résidus basiques : arginine ou lysine) est portée par $\beta 2$

et l'activité chymotrypsin-like (qui coupe après des résidus hydrophobes : tyrosine ou phénylalanine) par $\beta 5$.

- **Accès à la chambre catalytique du protéasome 20S**

L'accès des protéines à l'intérieur de la chambre catalytique est limitée par un moyen d'auto-compartmentation utilisé par le protéasome au sein duquel les extrémités N-terminales des sous-unités α forment un réseau d'interactions entre elles et constituent ainsi un complexe en forme de baril, dont la cavité interne qui renferme les sites actifs n'est accessible qu'au travers d'un pore étroit. Par cette organisation, les protéines doivent être "dépliées" pour accéder à la chambre catalytique et être dégradées. Les extrémités N-terminales des sous-unités α correspondent également aux sites de liaisons avec les complexes régulateurs, notamment les régulateurs PA28/11S et le complexe 19S qui modulent l'activité protéolytique du protéasome en rendant accessible l'intérieur du complexe et en levant ainsi l'inhibition due à ces extrémités N-terminales.

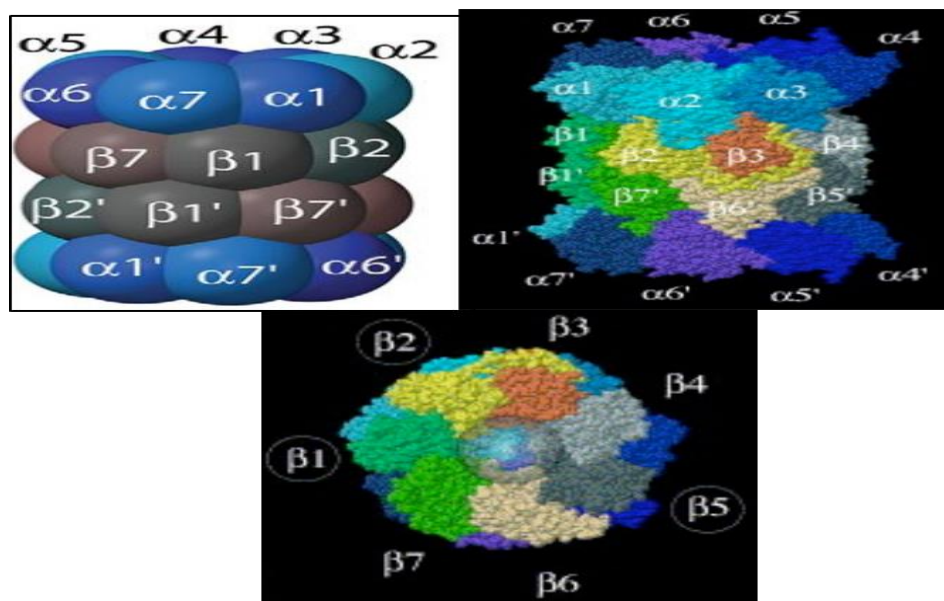


Figure 37. Protéasome 20S [16].

3.6 1.3. Régulateurs du protéasome 20S

Le protéasome 20S est activé par trois activateurs. Il s'agit de 19S (ou PA700), 11S (ou PA28), et PA200 (où PA signifie Proteasome Activator) qui s'associent au 20S par des interactions avec l'anneau des sous-unités α (**Figure 37**).

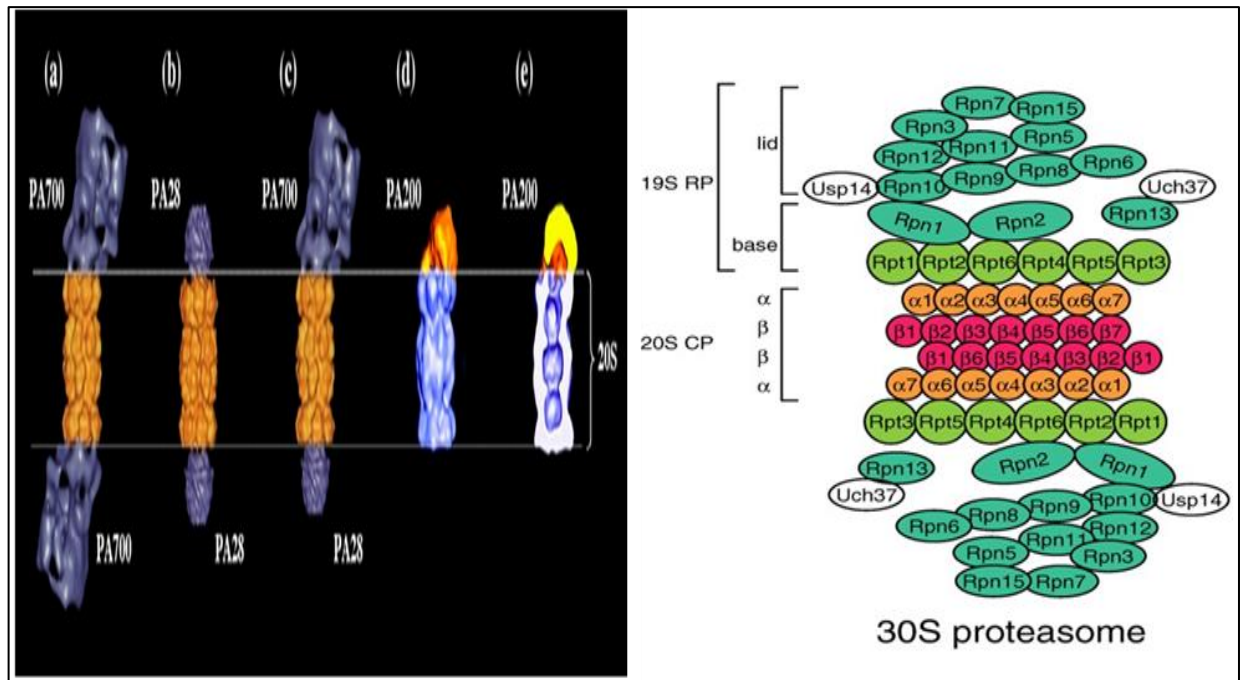


Figure 38. Régulateurs du protéasome 20S [17].

- **Protéasome 19S ou PA 700**

Le complexe régulateur 19S, est une macromolécule de 900 kDa qui s'associe aux deux extrémités du protéasome 20S pour former le protéasome 26S, comme il peut se lier à une seule extrémité. On parle parfois de protéasome 30S pour distinguer les protéasomes 20S associés à 2 particules régulatrices. Ce complexe assure la reconnaissance des substrats polyubiquitylés ou non, leur dépliement, l'ouverture du canal puis leur translocation dans le 20S. Il prend aussi en charge la déubiquitylation des substrats ubiquitylés pour recycler l'ubiquitine. Le 19S est composé de deux sous-complexes, la base et le couvercle (lid). La base est constituée de 6 ATPases (Rpt 1 à Rpt 6), faisant partie de la famille AAA (*ATPasiques Associated with different cellular Activity*), et de trois sous-unités non ATPasiques (Rpn 1, Rpn 2 et Rpn 10), où "Rp" signifie Regulatory Particle chez *S. cerevisiae*, chez les mammifères, la nomenclature "S" est utilisée, où "S" signifie Subunit. On désigne les "Rpt" pour les ATPases et les "Rpn" pour les sous-unités non ATPases. Le couvercle contient 9 sous-unités non ATPasiques (Rpn 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 et Rpn15). Une autre sous-unité, découverte plus récemment, Rpn13, est considérée comme une sous-unité intrinsèque du 19S. Les 6 ATPases, assurent le lien avec l'anneau α du protéasome 20S permettant ainsi l'ouverture du pore. Les sous-unités ATPasiques portent également une activité de liaison aux protéines mal repliées et ont pour fonction de

déplier et transloquer ces protéines vers la cavité protéolytique par des processus ATP dépendant. Le couvercle est nécessaire pour la dégradation des substrats ubiquitylés, en assurant la reconnaissance des substrats et/ou leur déubiquitylation, par clivage des chaînes d'ubiquitine via une activité isopeptidase de la sous-unité Rpn11.

3.7. Système lysosomal

Le lysosome est une petite vésicule délimitée par une membrane lipidique située dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. La membrane contient des canaux ioniques (des pompes à protons) qui permet l'entrée active de ions H^+ , afin de maintenir un pH acide (entre 3,5 et 5) au sein de la vésicule lysosomale (**Figure 39**).

3.7.1. Rôle du lysosome

Les molécules non fonctionnelles sont éliminées par digestion. Le lysosome contient des hydrolases, des enzymes destinées à la dégradation de molécules intracellulaires. Elles ne sont actives qu'à pH acide (**Figure 39**). Les lysosomes ont un rôle important dans :

- ✓ le turn over des organites (= renouvellement) ;
- ✓ la différenciation cellulaire
- ✓ la nutrition cellulaire lors d'un jeûne.

3.7.2. Fonction : les hydrolases acides lysosomales

- Ils servent à la fois à la dégradation de matériels extracellulaires absorbés et à la digestion de composés et structures propres à la cellule devenus inutiles.
- Ils contiennent environ 50 enzymes hydrolytiques différentes et sont capables d'hydrolyser les protéines, de l'ADN, des ARN, des glucides, des lipides, etc.
- Le dysfonctionnement ou la déficience d'une enzyme lysosomale revêt un caractère pathologique ; les maladies lysosomales ont une origine congénitale (mutation accidentelle d'un gène codant pour une glycoprotéine lysosomale) qui conduit à une maladie de surcharge (lysosome surchargé de déchets non éliminés).

3.7.3. Origine des lysosomes

- ✓ Ils dérivent de la fusion de vésicules à hydrolases issues de l'AG.
- ✓ soit des endosomes tardifs (ou pré-lysosomes).
- ✓ soit des vacuoles de phagocytose, dites hétérophagiques.
- ✓ soit des vacuoles autophagiques.

3.7.4. Devenir des lysosomes

- ❖ La plus part des molécules simples produites au cours de la dégradation hydrolytique (acides aminés, oses, etc.) sortent dans le cytosol et servent à la nutrition de la cellule.
- ❖ Les lysosomes âgés accumulent les restes de matériels non hydrolysables et constituent les corps résiduels. L'activité des hydrolases y est devenue très faible, voire nulle. Ils sont détruits avec la cellule.
- ❖ Dans le cas des neurones (cellules non renouvelables), les corps résiduels augmentent en taille et en nombre avec l'âge de ces cellules.
- ❖ Certaines cellules spécialisées sont capables d'exocytose le contenu actif de leur lysosome : cette exocytose permet aux phagocytes (macrophages et polynucléaires) de détruire dans le milieu extracellulaire du matériel trop volumineux à phagocyter.

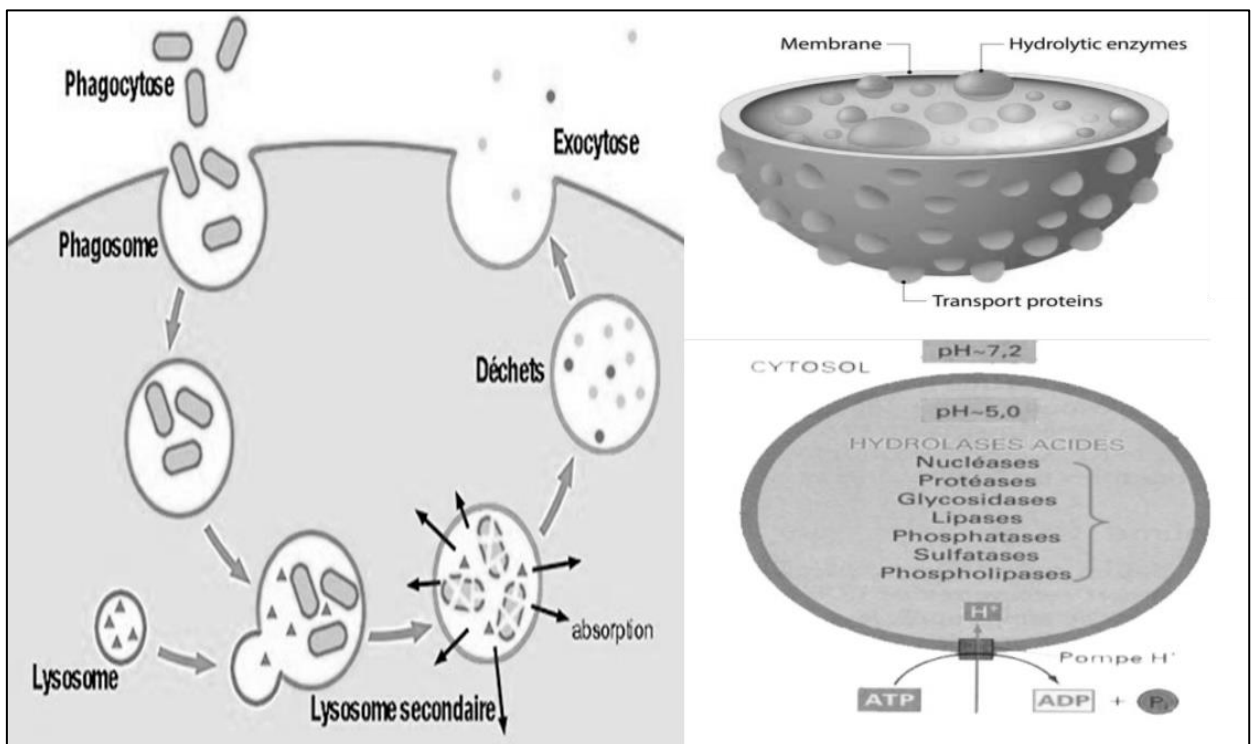


Figure 39. Structure et fonctions des lysosomes [Site web 27]. .

3.8. Noyau et échanges avec le cytosquelette.

Des filaments intermédiaires, polymères de lamine, qui double la face interne de l'enveloppe nucléaire, forme la lamina nucléaire. Elle soutient l'enveloppe et donne au noyau sa forme généralement globulaire) (**Figure 40**). Pendant la mitose, la lamina nucléaire se désagrège grâce à la phosphorylation des lamines (par un complexe kinasique fait de cyclineB /Cdk1). Sa désintégration permet l'entrée d'un autre type d'élément du cytosquelette, les microtubules, qui participent à la séparation des chromosomes par cytotidérèse. En fin de mitose, après que les chromosomes se soient séparés grâce aux microtubules (télophase), les filaments d'actine forment en périphérie de la cellule et perpendiculairement à l'axe du fuseau mitotique (microtubules), un faisceau contractile appelé anneau contractile. Quand l'anneau se contracte (comme le cordon d'une bourse) il sépare la cellule mère en deux cellules filles (cytotidérèse).

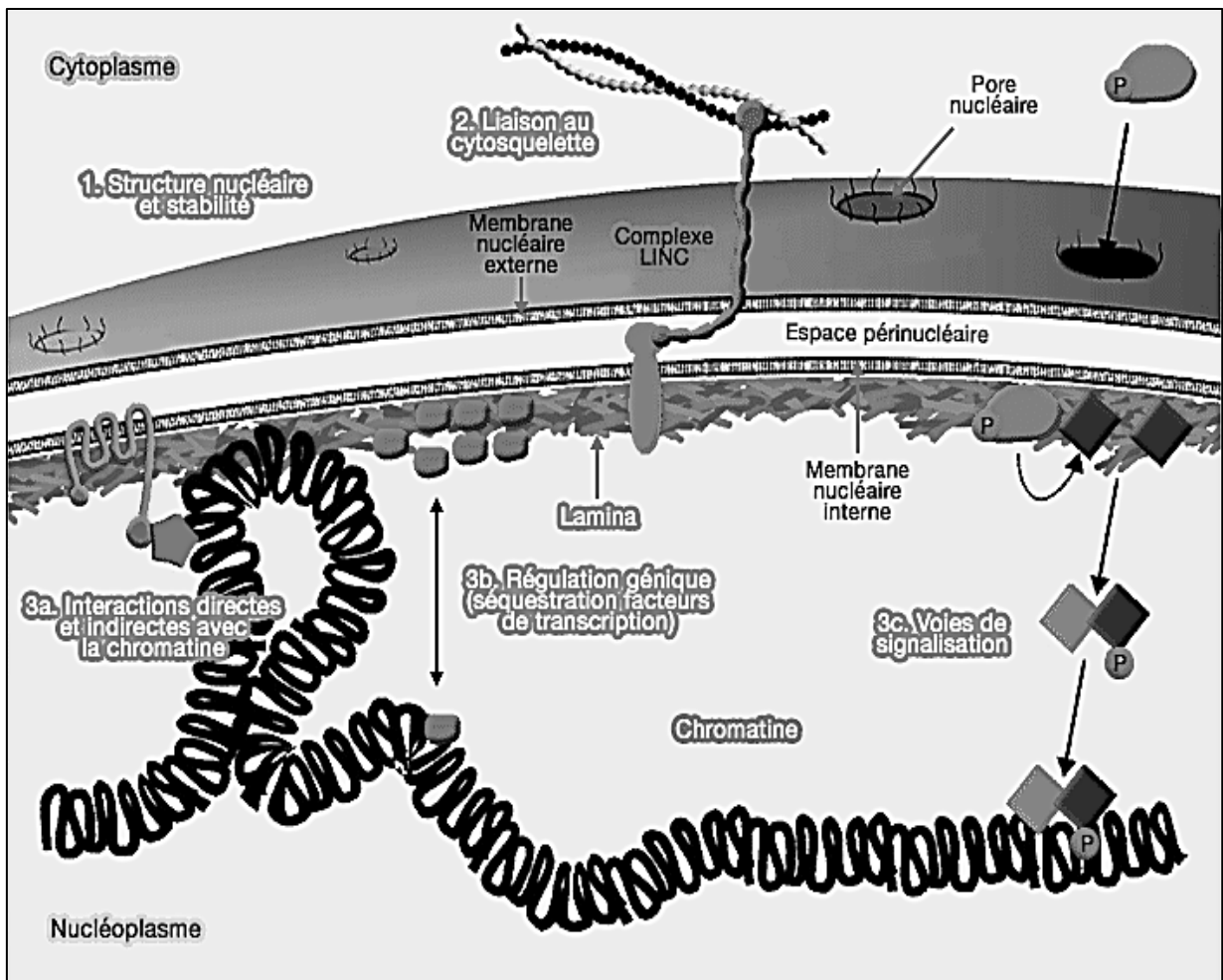


Figure 40. Echanges noyau et cytosquelette [Site web 28]. .

Chapitre 4

4. Glycosylation des macromolécules et rôle biologique

Les glycoprotéines sont des hétéroprotéines résultant de la condensation d'une ou plusieurs chaînes glucidiques, généralement de faible taille liées avec la chaîne polypeptidique.

- La masse des glucides contenus dans une glycoprotéine peut aller de 5 à 40% de la masse moléculaire de l'ensemble. Le sucre terminal est souvent de l'acide sialique chargé négativement.
- Les **protéoglycanes** sont également des glycoprotéines, mais qui contiennent des polysaccharides à chaîne longue composée d'unités disaccharidiques répétées représentant jusqu'à 90% du poids moléculaire globale. Souvent un des deux sucres de l'unité est aminé, on parle alors de **glyco-amino-glycane** (ou **GAG**) dont le plus simple est l'**acide hyaluronique**.

Les glycoprotéines se trouvent surtout dans les liquides biologiques parce qu'elles confèrent à ces protéines un caractère hydrophile qui facilite leur expression dans le plasma.

D'autres glycoprotéines tapissent la face extracellulaire des membranes plasmiques formant une barrière de diffusion appelée glycocalyx.

- La glycosylation des protéines est une modification cotraductionnelle et/ou post-traductionnelle
- Les liaisons croisées non-enzymatiques résultent d'interactions entre sucres et protéines conduisant à la formation de macromolécules. Ces réactions de glycosylation se produisent lorsqu'un sucre (fructose, glucose, ...) réagit avec un groupe amino primaire sur une molécule protéique.

4.1. Glycosylation des protéines

La glycosylation des protéines est présente dans toutes les cellules eucaryotes. Elle se retrouve aussi chez les bactéries. La majeure partie des glycoprotéines se trouve sur la face externe de la membrane plasmique, il existe cependant aussi des glycoprotéines intracellulaires.

Chez les eucaryotes, il existe deux types principaux de glycosylation : la glycosylation de type *N* et de type *O* selon le type d'ancrage (**Figure 41**).

La fraction glucidique peut représenter 5 à 40% de la molécule : **1.** D glucose (Glu), **2.** D mannose (Man), **3.** D galactose (Gal), **4.** L fucose (Fuc), **5.** Glucosamine et galactosamine souvent acétylées (GlcNAc, GalNAc), **6.** Acide N-acétylneuraminique (NeuAc ou NANA), **7.** Xylose (Xyl) (**Figure 42**).

La *N*-glycosylation consiste à attacher des sucres sur l'azote de la chaîne latérale d'un résidu asparagine de la séquence consensus Asn-XSer/Thr (X étant n'importe quel acide aminé, sauf proline) de la chaîne polypeptidique. **N-glycosylation** : liaison amide entre une asparagine et un ose.

Les chaînes liées en N contiennent toutes une structure de base consistant en deux GlcNAc et trois mannoses; sur cette structure viennent se greffer d'autres glucides.

Selon la nature de ces autres glucides. On divise les arborisations glucidiques liées en N en trois familles:

- Type riche en mannose, qui ne contient que des résidus mannose en plus de la structure de base.
- Type hybride, qui contient différents sucres et sucres aminés;
- Type complexe, qui ressemble au type hybride mais contient aussi du NANA.

L'O-glycosylation, les résidus saccharidiques sont fixés sur l'oxygène d'un aminoacide comportant un groupement hydroxyle (Ser, Thr, Tyr). **O-glycosylation** : liaison osidique entre une sérine ou une thréonine et un ose.

- ❖ Les structures liées en N ou en O sont très différentes. Les chaînes liées en O sont plus courtes et plus variables que celles en N, et ne contiennent la plupart du temps qu'un, deux ou trois résidus glucidiques. Les chaînes en N peuvent former de véritables arborisations.

La glycosylation en N commence en même temps que la traduction, dans le lumen du réticulum endoplasmique, et se continue jusque dans le Golgi. L'attachement de sucres en O se fait dans le Golgi, grâce à l'action de glycoprotéines glycosyltransférases (**Figure 43**).

Liaison en N: ce type de glycosylation requiert un intermédiaire, le dolichol phosphate. Ce polymère hydrophobe est inséré dans la membrane et est relié par un groupe diphosphate au précurseur glucidique de l'arborisation liée en N. (Même si la structure et la composition finale de cette chaîne glucidique change d'une protéine à l'autre, le précurseur est toujours le même) (**Figure 43**).

- ❖ Lorsque le polypeptide portant un signal N-X-S(T) entre dans la lumière du réticulum endoplasmique, une oligosaccharide protéine transférase décroche la chaîne glucidique du dolichol et la greffe sur l'asparagine-cible.

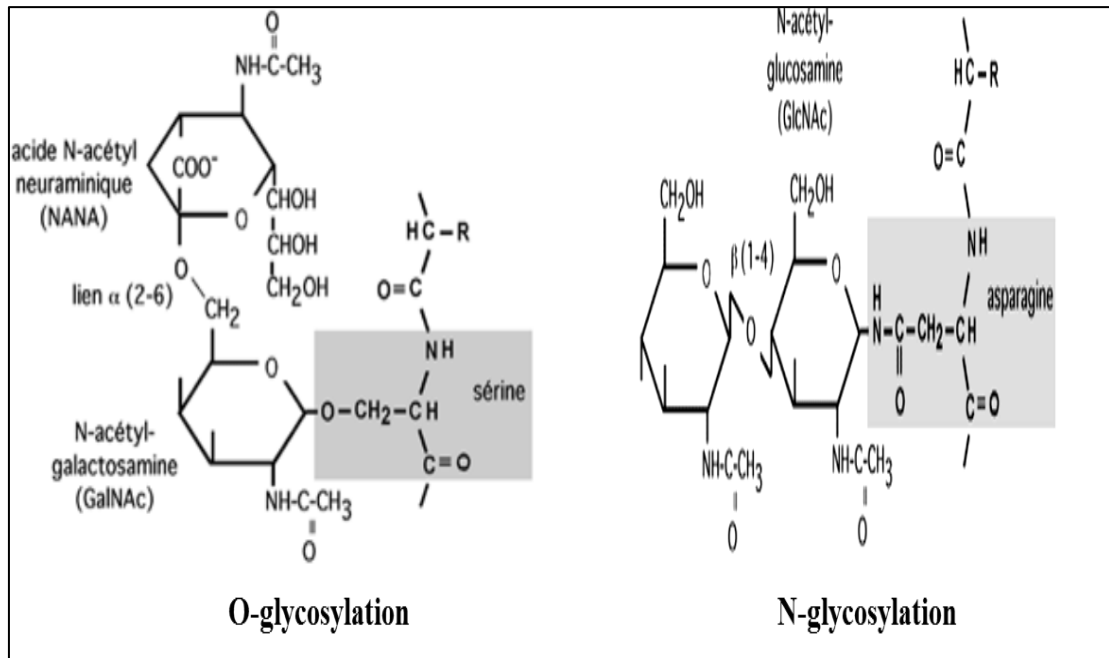


Figure 41. Glycosylation des protéines [Site web 29].

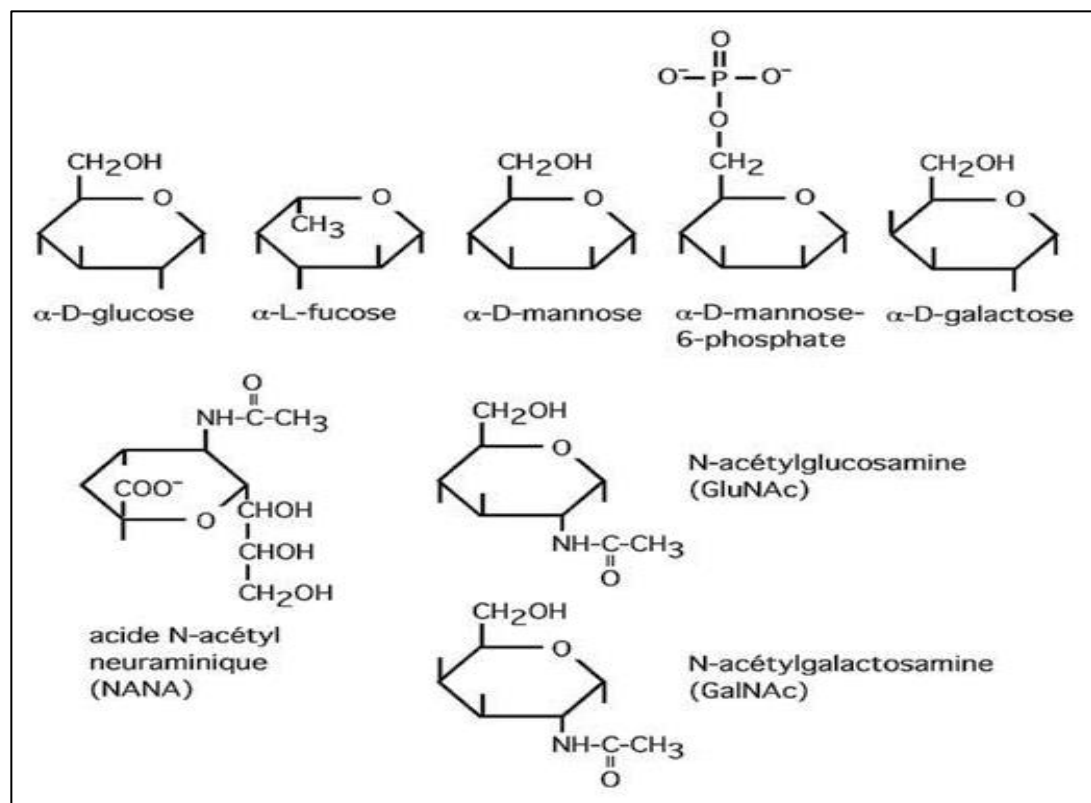


Figure 42. Structure des glucides [Site web 29].

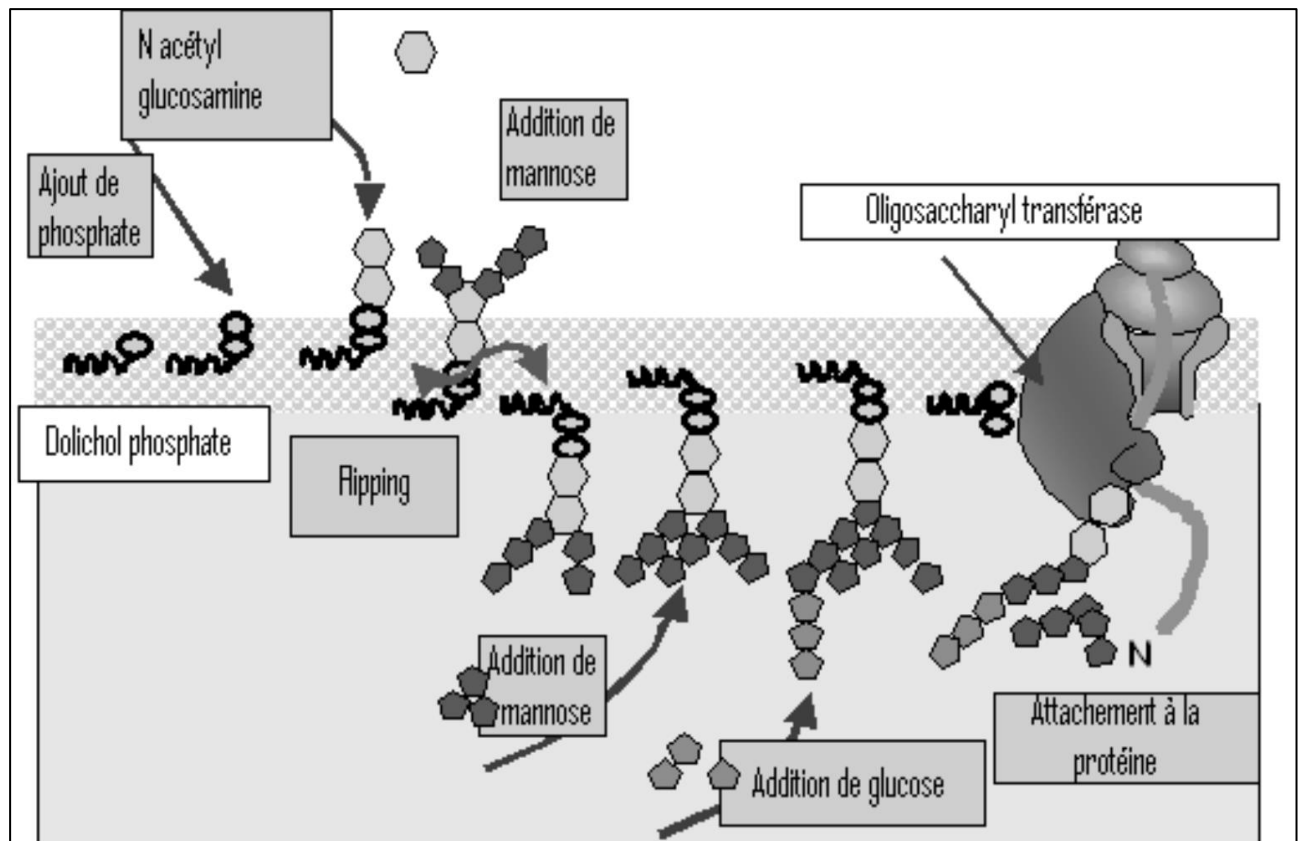


Figure 43. Mécanismes de glycosylation des protéines [Site web 29]. .

4 .2. Rôle de la glycosylation:

- Reconnaissance et adhésion cellulaire
- Contrôle du repliement des protéines
- Modulation métabolique d'enzymes
- Transport et adressage de protéines

4 .3.Principales glycoprotéines

- Les hormones hypophysaires : LH et FSH.
- Les glycoprotéines du plasma
- Les glycoprotéines du blanc d'oeuf : ovalbumine.
- Les glycoprotéines végétales ou lectines, sont des réactifs utilisés pour leurs propriétés d'agglutination des globules rouges, leurs propriétés mitogènes, etc .

4 .3.1. Glycoprotéines des groupes sanguins

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

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

Sur le dissaccharide central : galactosyl β 1-3 N-acétyl-galactosamine sont liés des N-acétyl-glucosamines et des galactoses plus quelques fucoses (désoxyhexose du galactose : $C_6H_{12}O_5$) (**Figure 44**).

L'une des antennes est terminée par une N-acétyl-glucosamine chez les sujets du groupe A et par un galactose chez les sujets du groupe B. Il n'y a pas d'ose à cette place chez les sujets du groupe O.

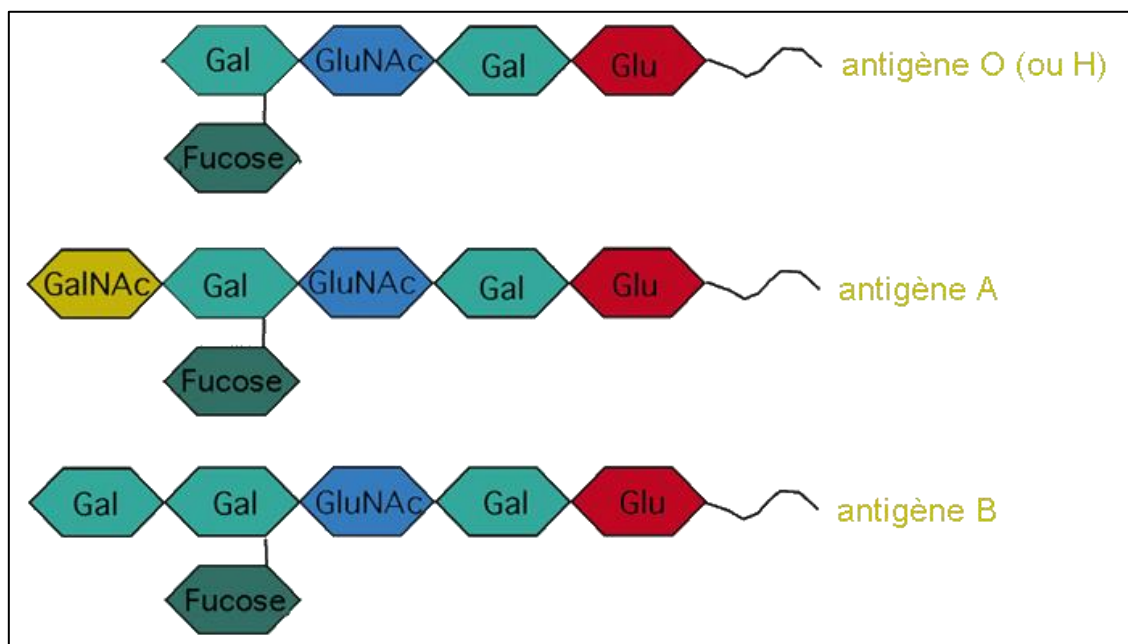


Figure 44. Glycosylation des groupes sanguins [Site web 29].

4.3.2. Lectines

Les lectines sont des protéines végétales qui reconnaissent et fixent spécifiquement les oses ou dérivés d'oses, constituants habituels des oligosaccharides des glycoprotéines.

- A ce titre elles servent à préparer des colonnes de chromatographie d'affinité pour la séparation des glycoprotéines.
- La nomenclature des lectines vient de l'espèce végétale qui les produit :
 - ✓ SBA = Soybean (*Glycine max*)
 - ✓ PNA = Peanut (*Arachis hypogea*)
 - ✓ WGA = Wheat germ (*Triticum vulgare*)
 - ✓ ConA = Concanavaline A (*Canavalia ensiformis*)

4.3.3. Immunoglobulines et fonction anticorps

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines douées d'une fonction anticorps.

Elles sont présentes :

- sous forme soluble dans le plasma et dans de nombreuses sécrétions
- sous forme membranaire comme élément du récepteur de l'Ag à la surface des cellules B (BCR). 4 chaînes polypeptidiques : 2 ch. lourdes (H) identiques associées à 2 ch. légères (L) identiques = H₂L₂
- Chaînes oligosaccharidiques (1 à 7) : Rôle important dans la fixation sur les cellules ou le transport.

4.3.4. Transferrine

Glycoprotéine plasmatique (β -globuline d'une masse moléculaire de 80kDa) qui transporte du fer depuis les cellules intestinales jusqu'à toutes les cellules de l'organisme qui ont besoin de fer.

4.3.5. Lactoferrine

Glycoprotéine du lait de masse moléculaire 80kDa, qui a une forte affinité pour les ions ferriques. De structure analogue à la transferrine sérique, elle joue des rôles biologiques différents et est reconnue par un récepteur spécifique présent à la surface des cellules sanguines (lymphocytes, plaquettes). Présente dans le lait, cette protéine l'est aussi dans les sécrétions muqueuses et dans le sang où elle est libérée par les leucocytes neutrophiles lors de l'inflammation.

4.3.6. Glycolipides

Les motifs oligosaccharidiques présents sur les protéines peuvent également être retrouvés sur les lipides pour former les glycolipides. Ces derniers se divisent en deux familles distinctes selon la nature de la base lipidique : sphingolipide ou glycérolipide (**Figure 45**).

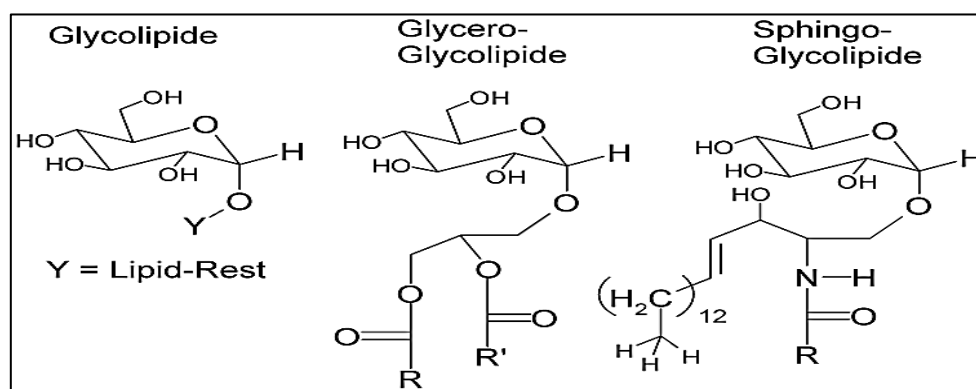


Figure 45. Sphingolipide et glycérolipide [Site web 30]. .

Chapitre 5

5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire

5.1. Récepteurs et ligands (Adrénaline, insuline, facteurs de croissance)

5.1.1. Molécules informationnelles

Les corps chimiques qui transmettent les informations les moins complexes, simples signaux, sont qualifiées de molécules informationnelles (ou molécules-signaux). Ces molécules sont produites par des cellules qui ont une information à transmettre. Elles sont ensuite diffusées dans la cellule elle-même, vers les cellules voisines ou sécrétées dans le milieu intérieur, voire à l'extérieur. Elles sont enfin reconnues par les cellules qui reçoivent ce signal et le traitent pour le traduire en un effet prédéterminé.

Les molécules informationnelles appartiennent à toutes les classes de corps chimiques.

- Les dérivés de décarboxylation des acides aminés (amines biologiques) et plusieurs familles de dérivés des acides aminés aromatiques (Phe, Tyr, Trp) produisent des hormones.
- Un alcool rencontré dans la structure des lipides complexes, la choline, elle-même précurseur de l'acétyl-choline.
- Quelques nucléosides et nucléotides ont des propriétés informationnelles. On peut aussi assimiler les acides nucléiques des virus à des molécules informationnelles.
- Les eicosanoïdes (dérivés de l'acide arachidonique = prostaglandines et prostacycline, leucotriènes et thromboxanes) et les dérivés de la vitamine A (rétinoïdes) sont des molécules-signaux.

5.1.1.1. Dérivés d'acides aminés : l'adrénaline

L'adrénaline est sécrétée par la surrénale, l'adrénaline provient d'une chaîne de transformations débutant avec la tyrosine.

Cet acide aminé est hydroxylé en L-DOPA lui-même décarboxylé en dopamine. Cette dernière sera hydroxylée en noradrénaline. Contenant un noyau catéchol (orthodiphénol) et une fonction amine, elles font parties des catécholamines. L'adrénaline vient donc de la méthylation de la noradrénaline (**Figure 46**). Possédant de nombreux récepteurs, elle agit selon un mécanisme d'action endocrine. Elle est l'hormone du stress, augmentant la pression sanguine et la fréquence cardiaque. Elle les donc les effets suivants :

- ✓ activation de la glycogénolyse (foie, muscles)
- ✓ inhibition de la glycogénogénèse (foie, muscles)

- ✓ activation de la gluconéogénèse (foie, action antagoniste de celle de l'insuline)
- ✓ activation de la lipolyse (tissu adipeux, lipase hormono-sensible)
- ✓ inhibition de la lipogénèse (foie, tissu adipeux).

Il existe plusieurs types de récepteurs adrénérgiques (dont l'adrénaline est le ligand spécifique :

- α 1-récepteurs, agissant par l'intermédiaire de la Ca^{++} -calmoduline (foie, coeur, vaisseaux, utérus)
- α 2 -récepteurs, inhibiteurs de l'adénylate-cyclase (tissu adipeux, rein, pancréas, glandes salivaires, vaisseaux, tube digestif, plaquettes sanguines).
- β 1-récepteurs, activateurs de l'adénylate-cyclase (tissu adipeux, glandes salivaires, coeur)
- β 2 -récepteurs, activateurs de l'adénylate-cyclase (foie, muscles striés, rein, pancréas, vaisseaux, tube digestif, utérus, bronches, globules blancs et plaquettes sanguines).

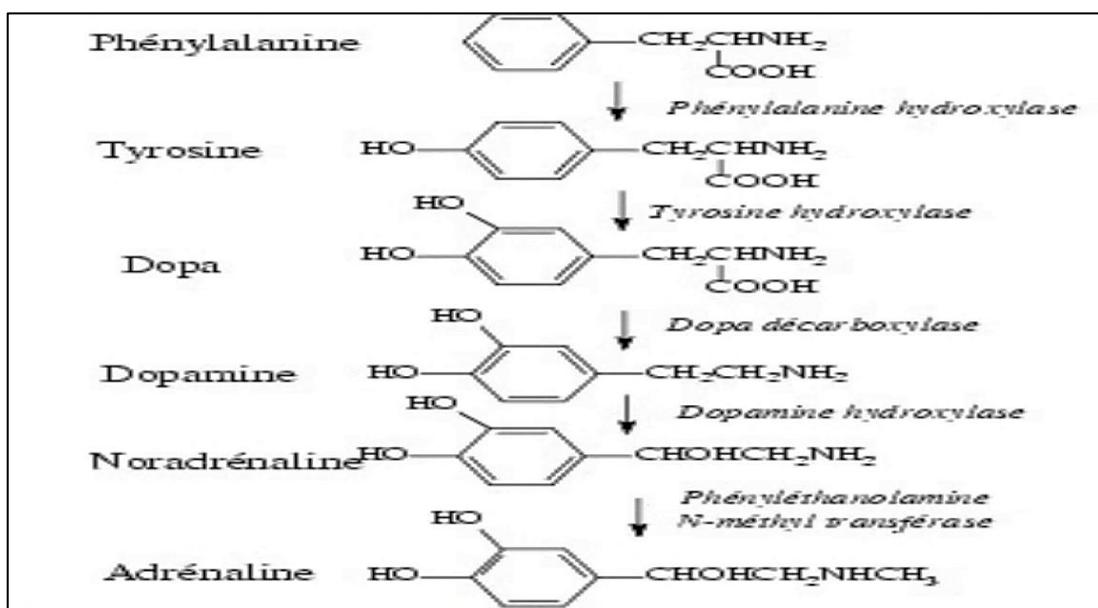


Figure 46. Synthèse d'adrénaline [Site web 31].

5.1.1.2. Peptide possédant un récepteur à activité tyrosine-kinase : l'insuline

L'insuline, petit peptide à 51 acides aminés est d'origine pancréatique, sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans. Ses deux chaînes A et B sont liées par deux ponts disulfures (entre les cys 7-7 et 20-19) et un pont disulfure intrachaîne dans la chaîne A (Figure 47).

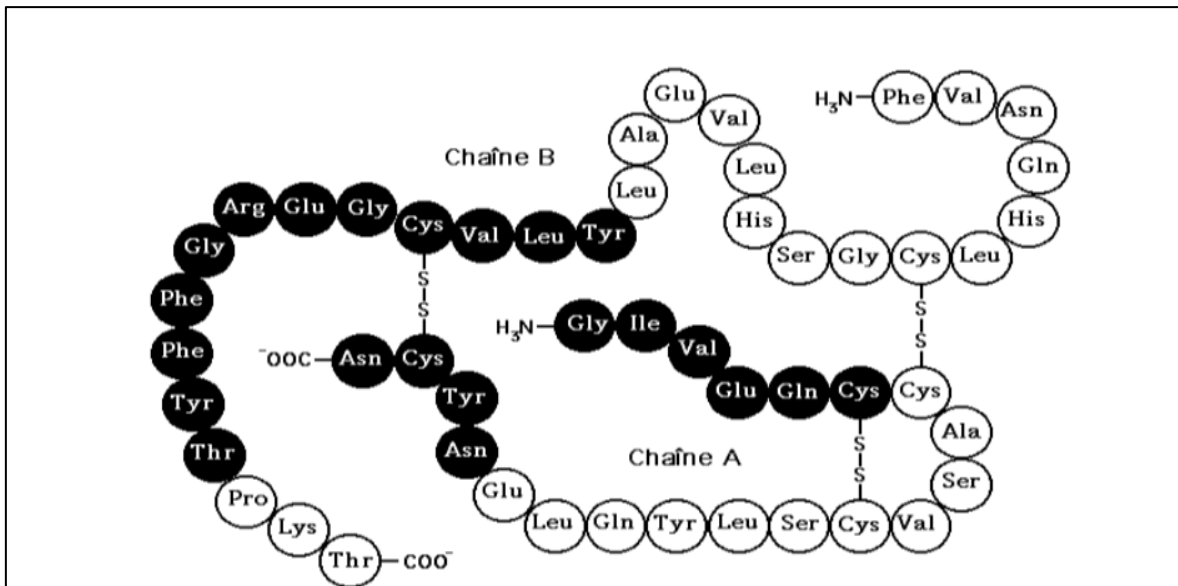


Figure 47. Structure de l'insuline [Site web 32].

Hypoglycémiant, elle favorise la consommation du glucose et son intégration dans le métabolisme énergétique (anabolique). Elle est donc sécrétée en réponse à une augmentation de la glycémie. L'insuline active le mouvement des transporteurs de glucose dans les membranes plasmiques, ce qui favorise le transport actif du glucose vers le cytoplasme.

L'insuline diminue les taux des messagers secondaires dans de nombreux tissus : AMPc et Ca⁺⁺, ce qui entraîne les effets suivants :

- ✓ activation de la glycogénogénèse
- ✓ inhibition de la glycogénolyse
- ✓ inhibition de la gluconéogénèse (action antagoniste de cortisol)
- ✓ activation de la lipogénèse.
- ✓ inhibition de la lipolyse.

5.1.1.2.1. Récepteur de l'Insuline

En présence de son ligand, le récepteur de l'insuline est un dimère présentant plusieurs sites de phosphorylation dans son domaine cytoplasmique. Il y a sur le récepteur de l'insuline une sérine qui, lorsqu'elle est phosphorylée par une protéine-kinase C, inhibe la transmission du signal. Lorsque cette sérine n'est pas phosphorylée, elle déclenche une activité enzymatique du récepteur de type tyrosine-protéine-kinase (Y-kinase), qui phosphoryle une tyrosine du récepteur lui-même (autophosphorylation). Cette activité d'Y-kinase entraîne la phosphorylation d'autres tyrosines sur des protéines cytoplasmiques. Cette cascade de phosphorylations s'achève par la phosphorylation d'une protéine-kinase spécifique de la stimulation par l'insuline (sur une sérine cette fois). La

dernière protéine-kinase stimulée par l'insuline est une sérine-protéine-kinase, qui phosphoryle spécifiquement les phosphoprotéines-phosphatases cytoplasmiques. Celles-ci enfin, hydrolyseront (par exemple) plusieurs sérines phosphorylées du glycogène synthase, qui deviendra indépendante de taux intracellulaire du glucose-6-phosphate, donc beaucoup plus active.

Le signal de l'insuline se traduit d'abord par une activité Y-kinase qui contrôle une série de déphosphorylations par les phosphoprotéines-phosphatases (**Figure 48**).

- L'extinction du signal viendra de la dissociation du couple insuline-récepteur, qui entraîne la dissociation des deux protomères du récepteur, ce qui permettra l'arrêt de l'activité Y-kinase et donc la rephosphorylation des protéines qui avaient été déphosphorylées (exemple : glycogènesynthase) sous l'effet de sérine-protéines-kinases dépendant soit de l'AMPc (PKA), soit des diglycériles (PKC) ou du Ca⁺⁺ (protéine-kinase Calcium-calmoduline dépendante).

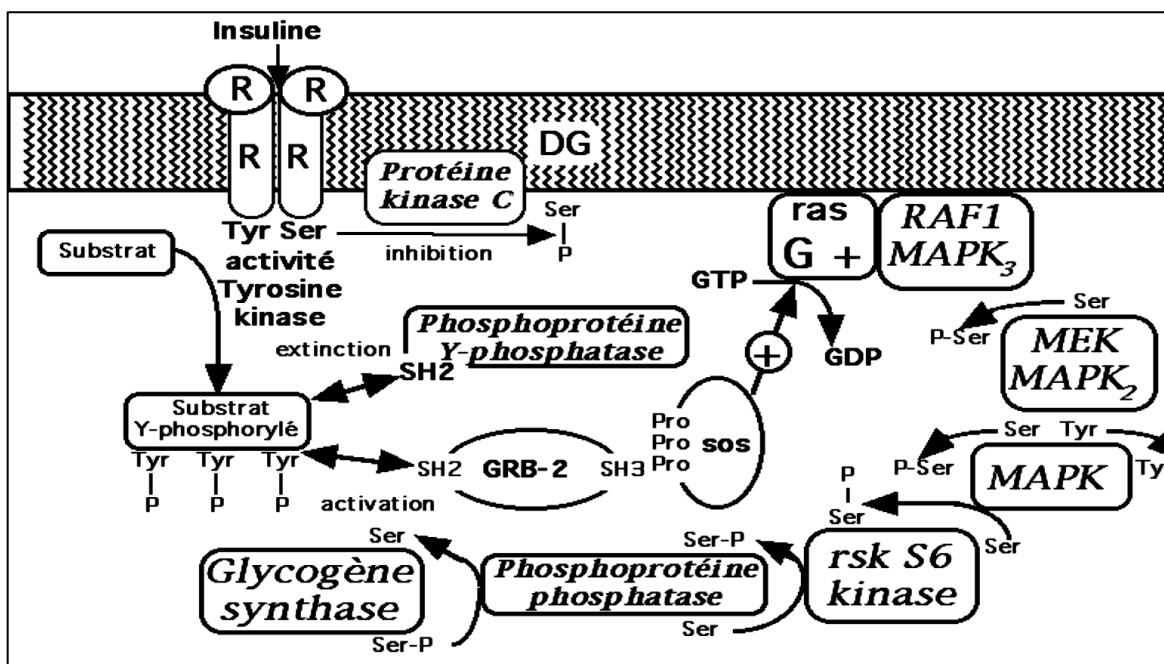


Figure 48. Signal de l'insuline [Site web 33].

5.1.1.2.3. Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des polypeptides ou des protéines de faible poids moléculaire (< 30000 daltons) qui stimulent la multiplication cellulaire des tissus.

Il en existe plusieurs espèces la plupart découvertes fortuitement dans des tumeurs. Ces cofacteurs sont reconnus par des récepteurs membranaires spécifiques qui sont le plus souvent des tyrosines kinases (**Figure 49**).

- Les FGF, par exemple, ont un effet sur la croissance des vaisseaux sanguins et des neurones. Ils participent à la vision (rétine), à la régulation de la sécrétion gastrique et à la production d'hormones comme la prolactine ou la TSH.
- D'autres facteurs de croissance interviennent au cours du développement de l'embryon.
- Lorsque des mutations surviennent dans la structure des facteurs de croissance ou de leurs récepteurs on peut assister à un dérèglement de la multiplication cellulaire (cancer).

• T.G.F. α	<i>Transforming Growth Factor α (50 aa)</i>
• E.G.F.	<i>Epidermal Growth Factor (53aa)</i>
• I.L.G.F.2	<i>Insulin-like Growth Factor II (67 aa)</i>
• I.L.G.F.1	<i>Insulin-like Growth Factor I (70 aa)</i>
• T.G.F. β	<i>Transforming Growth Factor β (112 aa)</i>
• F.G.F.	<i>Fibroblast Growth Factors 1 à 9 (> 120aa)</i>

• P.D.G.F.	<i>Platelet Derived Growth Factor (30kDa)</i> AA,AB,BB
• N.G.F.	<i>Nerve Growth Factor (130kDa)</i> Sous-unités $\alpha_2 \beta_1 \gamma_2$

Figure 49. Facteurs de croissance [Site web 33].

5.2. Transducteurs et facteurs de couplage

Les oncogènes existent sous deux formes : les protooncogènes ou oncogènes cellulaires (concoogènes) qui sont présents dans le génome des eucaryotes et les oncogènes viraux (v-oncogènes) qui sont inclus dans l'acide nucléique d'un virus. Les virus semblent capables de transposer les v-oncogènes dans les cellules eucaryotes où ils peuvent s'implanter et devenir concoogènes transmis dans le patrimoine génétique des espèces infectées par ces virus.

Ces protooncogènes peuvent subir des mutations, soit dans une de nos cellules, soit dans un virus qui nous transmet un oncogène muté, et cette mutation peut être la cause d'une transformation cellulaire (cancer).

5.2.1. Protéine ras.

C'est une petite protéine G (**Figure 50**), à une seule chaîne de 150 acides aminés pour une masse de 21 kDa.

Pour être active ras doit être ancrée à la face interne de la membrane plasmique. Cette fixation se fait par l'adjonction post-traductionnelle d'un radical farnésyl (intermédiaire de la biosynthèse du cholestérol).

La protéine ras hydrolyse le GTP en GDP pour transmettre le signal des récepteurs à tyrosine kinase vers la cascade des MAP kinases.

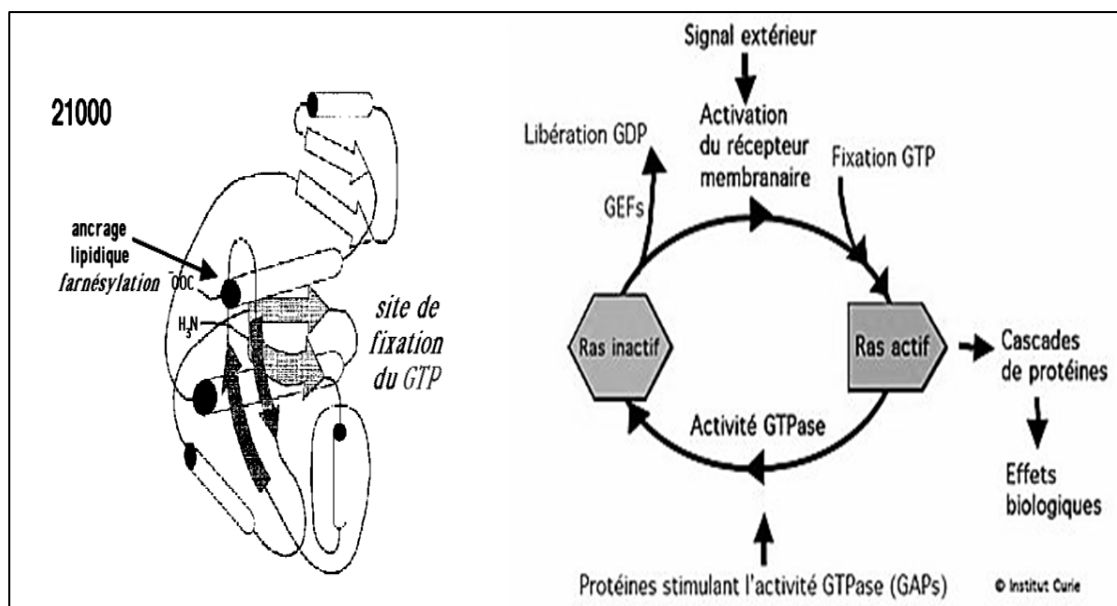


Figure 50. Structure de protéine ras et son activation [Site web 33].

5.2.2. Adaptateurs Grb2 (domaines SH2, SH3)

La cascade d'événements conduisant à la division et/ou à la différenciation d'une cellule met en jeu de nombreuses protéines, dont certaines sont, semble-t-il, comme seul rôle de mettre en contact des protéines fonctionnelles moins mobiles, d'où leur nom d'adaptateurs. Grb2 (*growth factor binding protein 2*) est, à ce jour, le plus étudié de ces adaptateurs. Il est constitué d'un domaine SH2 (*Src homology 2*), encadré par deux domaines SH3. Par l'intermédiaire de son domaine SH2, Grb2 interagit avec des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) au niveau de sites comportant un résidu tyrosine phosphorylé. Par ses domaines SH3, Grb2 se complexe à de courtes régions riches en proline.

La fixation aux RTK de leur ligand, par exemple l'EGF (*epidermal growth factor*) entraîne leur autophosphorylation sur des résidus Tyr de leur extrémité carboxy-terminale,

puis le recrutement de la protéine Grb2, en situation sous-membranaire, proche du point d'ancrage de Ras. La liaison à Ras stabilise la forme liant le GTP (Ras-GTP), qui est alors capable, de stimuler en aval la voie des MAP (*mitogen activating protein*)-kinases, ERK1 et ERK2. Ces dernières, après translocation dans le noyau, vont à leur tour activer certains facteurs de transcription. Grb2 a été impliquée dans plusieurs maladies, en particulier cancéreuses. Ainsi, on la trouve en excès dans des tumeurs du sein induites par l'oncogène erbB-2/HER2, analogue tronqué du récepteur de l'EGF, qui stimule en permanence la voie de transmission du signal.

5.3. Amplification du signal via les seconds messagers

Dans beaucoup de cellules-cibles, la liaison à l'extérieur de la cellule de l'hormone avec un récepteur membranaire active la production d'une autre molécule dans le cytoplasme de la cellule. Cette autre molécule cytoplasmique (second messenger) transmettra à son tour le signal aux organites et aux enzymes intracellulaires régulatrices du métabolisme

5.3.1. Cascade phospholipases C et D/DAG /IP3/Ca²⁺

❖ Phospholipases

Les phospholipases sont des enzymes qui hydrolysent les liaisons esters des phospholipides (**Figure 51**). Il existe quatre liaisons esters dans un phospholipide :

- ✓ entre chacun des acides gras et le glycérol
 - ✓ entre le glycérol et le phosphate
 - ✓ entre le phosphate et l'alcool (choline, éthanol amine, sérine, glycérol, inositol ...)
- Les phospholipases A1 hydrolysent l'acide gras de la fonction alcool primaire en C1, libérant un acide gras et un lysophospholipide.
 - les phospholipases A2 hydrolysent l'acide gras de la fonction alcool secondaire en C2, libérant un acide gras et un lysophospholipide.
 - les phospholipases B (E.C. 3.1.1.5) hydrolysent les deux liaisons ester en C1 et en C2, libérant deux acides gras et un glycérophosphoryl-alcool.
 - les phospholipases C hydrolysent la liaison entre le phosphate et la fonction alcool primaire en C3, libérant un diglycéride et un phospho-alcool.
 - les phospholipases D hydrolysent la liaison entre l'alcool et la fonction acide du phosphate, libérant un acide phosphatidique et un alcool.

Certains récepteurs à protéines G sont liés non pas à l'adényl-cyclase mais à des phospholipases C, dont l'activation, en réponse au signal, déclenche l'hydrolyse des phosphoinositides. Le phosphatidyl-inositol bisphosphate (PIP₂) membranaire est hydrolysé par cette phospholipase en libérant les seconds messagers du système :

❖ **Inositol-1,4,5-triphosphate IP₃/Ca²⁺/DAG**

L'IP₃ est libéré dans le cytoplasme pour être reconnu par un récepteur situé dans les membranes du réticulum endoplasmique. Ces membranes au repos pompent les ions Ca⁺⁺ du cytoplasme vers la lumière du réticulum (cisternes), créant une réserve de Ca⁺⁺ séquestré. Lorsque le récepteur reconnaît l'IP₃, il ouvre brusquement un canal Calcium libérant les ions Ca⁺⁺, dont la concentration cytoplasmique augmente alors fortement (**Figure 52**). L'IP₃ ou l'IP₄ encore plus phosphorylé, activent aussi des canaux situés dans la membrane plasmique, permettant l'entrée des ions Ca⁺⁺ extracellulaires dans le cytoplasme. L'augmentation du taux de Ca⁺⁺ dans le cytoplasme entraîne :

- ✓ la fixation des ions Ca⁺⁺ sur la calmoduline qui active alors des protéine-kinases Ca⁺⁺-calmoduline dépendantes.
- ✓ le transport (translocation) d'une protéine kinase C inactive du cytoplasme vers la membrane plasmique, où elle est rendue active par la présence de diglycérides issus de l'hydrolyse du PIP₂.

Les diglycérides (2G) qui activent la protéine-kinase C sont aussi hydrolysés par une diglycéride lipase qui libère l'acide arachidonique, précurseur des eicosanoïdes (autre classe de molécules informationnelles, dont les leucotriènes, les prostaglandines).

Le DAG ou diacylglycérol provoque :

- l'augmentation intracytoplasmique du pH (fuite de H⁺)
- l'augmentation intracytoplasmique du taux de Na⁺
- la phosphorylation des protéines par l'intermédiaire de l'activation de la protéine kinase C

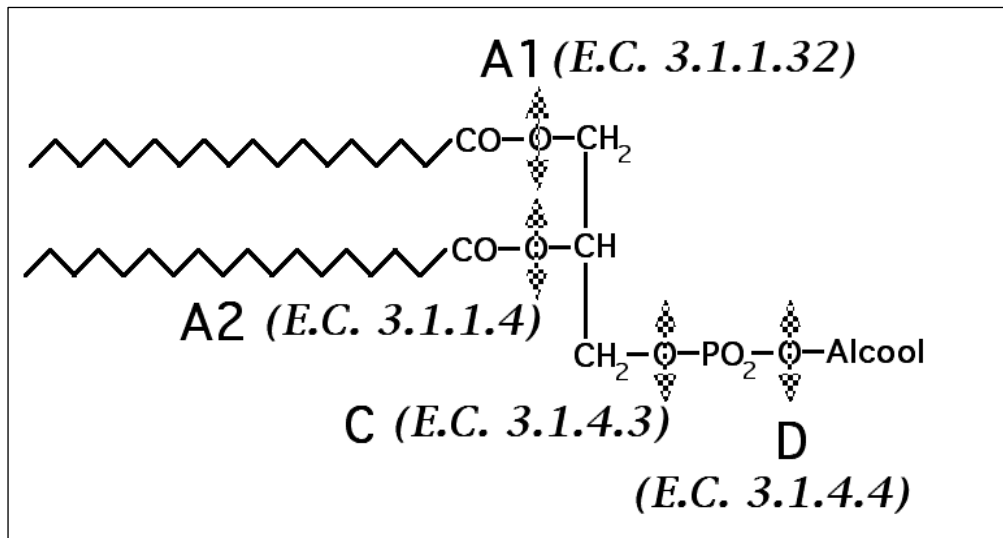


Figure 51. Phospholipases [Site web 34].

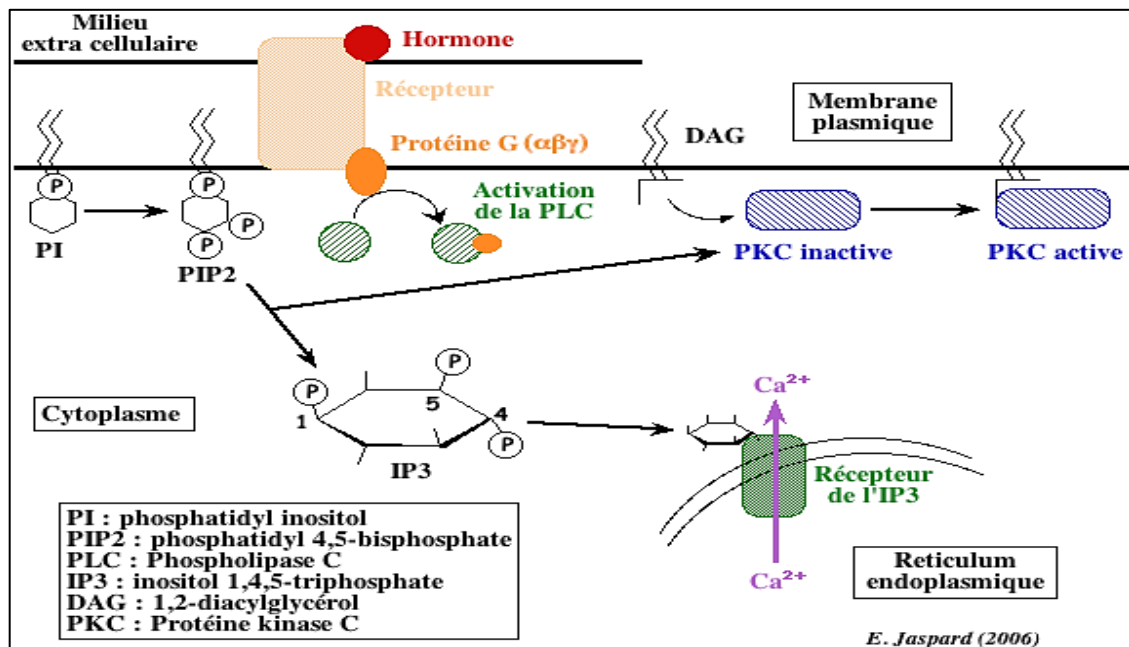


Figure 52. Cascade /Inositol-1,4,5-triphosphate IP3/Ca²⁺/DAG [Site web 35].

5.3.2. Cascade phospholipase A2/ Eicosanoides

Les phospholipases A2 (PLA2) sont essentiellement connues pour leur rôle dans la biosynthèse de médiateurs lipidiques, qui nécessite la libération de précurseurs tels que l'acide arachidonique ces enzymes particulièrement abondantes dans les venins de serpents et le suc pancréatique où elles jouent un rôle digestif évident, doublé d'un rôle toxique dans le premier cas. L'intérêt biologique de ces enzymes repose aussi sur leur implication directe dans la régulation de la biosynthèse

de médiateurs lipidiques, tels que les multiples dérivés de l'acide arachidonique et le facteur activant les plaquettes ou PAF-acéther (**Figure 53**).

L'acide arachidonique est une molécule signal et un précurseur d'autres molécules signal appelés éicosanoïdes (médiateurs des processus inflammatoires) : des cyclooxygénases (EC 1.14.99.1) et des peroxydases modifient l'acide arachidonique en prostaglandines la 5-lipoxygénase (EC 1.13.11.34) modifie l'acide arachidonique en précurseurs des leucotriènes

Certains éicosanoïdes sont synthétisés à partir du DAG, relargué de la bicouche lipidique par la phospholipase C.

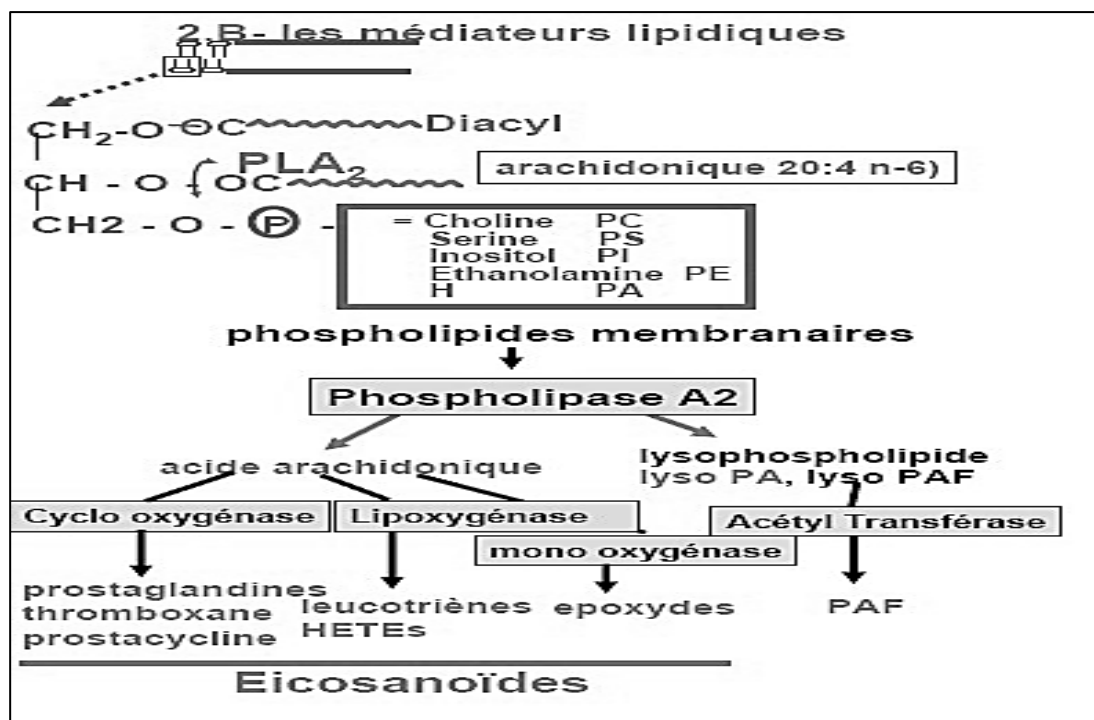


Figure 53. Phospholipase A2/ Eicosanoïdes [Site web 36].

5.3.3. Cascade AMPc /PKA/CREB

❖ AMP cyclique

L'AMP cyclique est le produit de l'adénylate cyclase qui hydrolyse l'ATP en formant une liaison ester interne entre le phosphate restant qui reste lié au Carbone n°5 et la fonction alcool secondaire du Carbone n°3 (**Figure 54**).

L'AMP cyclique est un second messenger, qui en se liant avec la sous-unité régulatrice des protéine-kinases A, libère les sous-unités catalytiques. Ces sous-unités catalysent la phosphorylation des enzymes de plusieurs voies métaboliques : glycolyse, lipolyse, glycogénolyse, gluconéogenèse, etc...

L'adénylate cyclase est une enzyme de la membrane plasmique des cellules qui participe à la transduction des signaux vers le cytoplasme. Elle synthétise l'AMP cyclique (second messenger) à partir de l'ATP, en présence de Mg^{++} et libère du pyrophosphate. Le pyrophosphate est aussitôt hydrolysé par une pyrophosphatase, rendant la réaction irréversible.

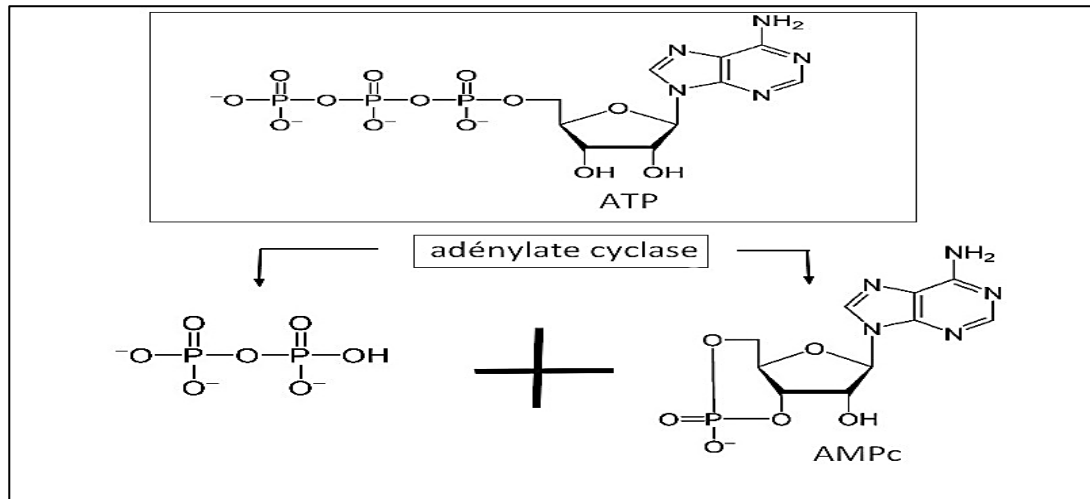


Figure 54. AMP cyclique [Site web 37].

❖ Protéine kinase A ou PKA

La protéine kinase A est une enzyme du cytoplasme. Elle est composée de 4 sous-unités : deux unités catalytiques et deux unités régulatrices (**Figure 55**).

- ✓ Les sous-unités régulatrices inhibent l'activité de l'enzyme. Elles ont une affinité pour l'AMP cyclique à raison de deux molécules par sous-unité. Cette liaison entraîne la dissociation des sous-unités catalytiques, qui sont alors libérées de l'inhibition par les sous-unités régulatrices.
- ✓ Chacune des sous-unités catalytiques catalyse le transfert du phosphate d'une molécule d'ATP sur une protéine substrat : au niveau de la fonction alcool primaire du radical d'une sérine ou au niveau de la fonction alcool secondaire du radical d'une thréonine.
- ✓ Cette sérine ou cette thréonine sont toujours incluses dans une séquence spécifiquement reconnue par la protéine kinase A : Arg-Arg-Xxx-Ser (RRXS) ou Arg-Arg-Xxx-Thr (RRXT).
- ✓ Si le taux d'AMP cyclique diminue, les sous-unités régulatrices perdent leur ligand et reprenant leur liaison avec les sous-unités catalytiques, les inhibent à nouveau.

La protéine kinase A (PKA) phosphoryle des protéines sur un site dont la structure est formée de deux acides aminés basiques, suivis d'un neutre puis de la sérine ou de la thréonine à phosphoryler et enfin d'un acide aminé hydrophobe.

- Exemple : -Arg-Arg-Gly-Ser-Val- Il y a environ 100 protéines substrats de la PKA.
- Certaines de ces protéines substrats de la PKA sont aux voies métaboliques glycogénolyse, gluconéogénèse, lipolyse, synthèse d'hormones : catécholamines, hormones thyroïdiennes.
- D'autres sont au contraire inhibées par phosphorylation : ce sont des enzymes de la glycogénogénèse ou de la lipogénèse, actives pendant les périodes post-prandiales

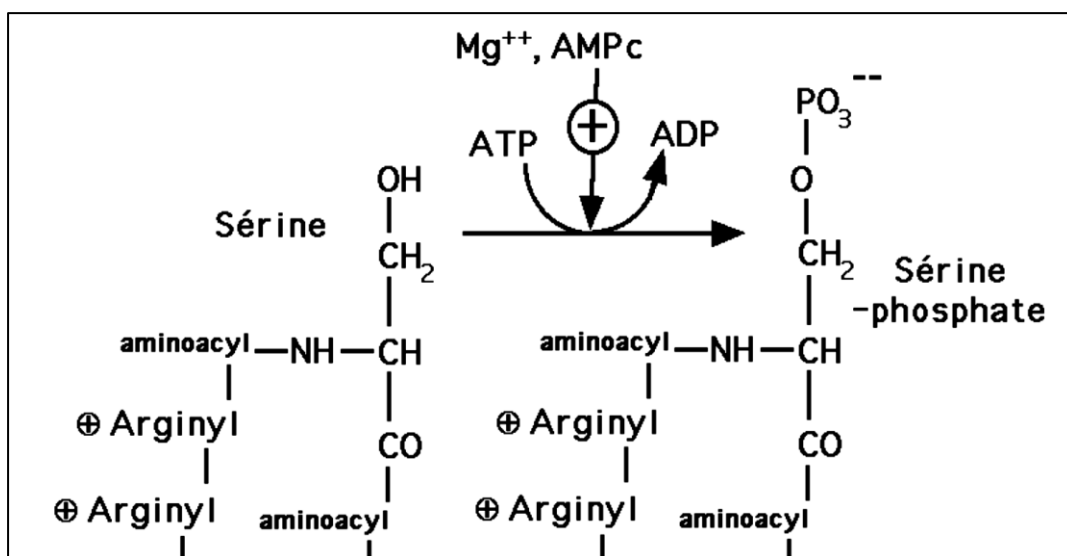


Figure 55. Protéine kinase [Site web 38].

❖ CREB

CREB (C-AMP Response Element-binding protein), est une protéine ubiquitaire agissant comme un facteur de transcription liant les éléments de réponse, dits séquences CRE (cAMP response element), induisant la transcription de certains gènes. Le CRE formé de 8 paires de bases « TGACGTCA », est un élément de réponse crucial dans les cascades moléculaires impliquant l'AMPc. Cette protéine pour être active a besoin d'être phosphorylée par une protéine kinase A (PKA), elle-même activée par de l'AMPc.

Chez l'homme, le gène CREB est situé sur le chromosome 2 à la position 34 et code une protéine composée de 327 acides aminés pour un poids total de 45 Kd. L'épissage alternatif de son ARNm produit deux transcrits différents et conduit à la formation de deux isoformes CREB-A et CREB-B.

La protéine CREB est impliquée dans la régulation partielle de multiples fonctions :

- ✓ Prolifération cellulaire
- ✓ Plasticité synaptique
- ✓ Développement de l'apprentissage
- ✓ Survie neuronale
- ✓ Potentialisation à long terme : mémoire
- ✓ Hématopoïèse
- ✓ Spermatogénèse

5.3.4. Cascade NO/GMPc

❖ GMP cyclique

Le GMP cyclique est le produit de la guanylate cyclase qui hydrolyse le GTP en formant une liaison ester interne entre le phosphate restant qui reste lié au Carbone n°5 (Figure 56), et la fonction alcool secondaire du Carbone n°3'. Le GMP cyclique est un second messager, qui agit en antagoniste de l'AMP cyclique sur l'activité des protéines kinases.

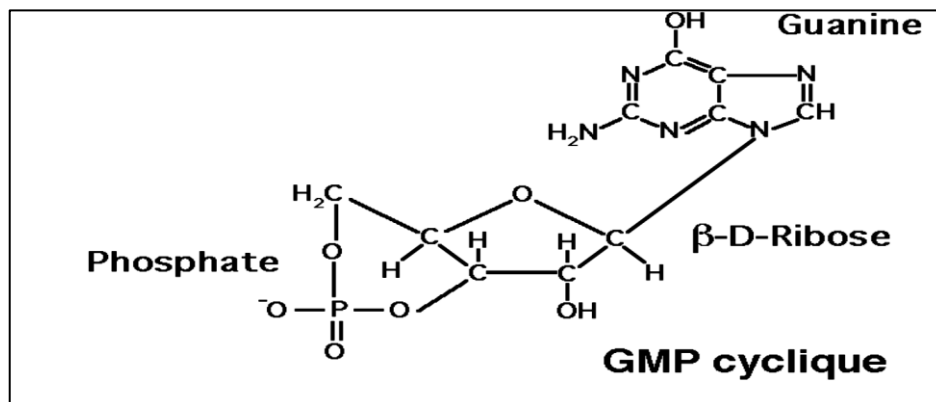


Figure 56. GMP cyclique [Site web 38].

❖ Monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote (.NO) est un radical libre qui provient de l'oxydation enzymatique de l'arginine en présence d'oxygène et de NADPH, par une NO synthase (E.C. 1.14.13.39) cytoplasmique.

Il existe plusieurs isoenzymes de NO synthase. Une forme constitutive (exprimée en permanence) dépendante du Calcium (second messager) et activée par la protéine kinase Ca⁺⁺-calmoduline dépendante, et une forme inductible dont l'expression dépend d'un récepteur de cytokines par l'intermédiaire d'une cascade de phosphorylations.

Le radical .NO produit et excrété est une molécule informationnelle paracrine ou autocrine car sa durée de vie est très brève : quelques secondes. Il active les guanylyl-

cyclases cytoplasmiques et permet l'augmentation du taux de GMPc dans les cellules réceptrices. Ce GMPc par l'intermédiaire des PKG ou Protein Kinase G est responsable du relâchement des cellules musculaires lisse, cellule endothéliale, neurone, vasodilatation, hypotension. Dans le système vasculaire, le NO est une molécule vitale qui agit principalement en tant que vasodilatateur, mais peut également réguler la fonction de certaines protéines par S-nitrosylation. Le NO est produit dans les cellules endothéliales par l'enzyme NO synthétase endothéliale (eNOS, endothelial nitric oxide synthase) à partir de la L-arginine.

Une fois produit, le NO diffuse à travers la membrane plasmique endothéliale pour atteindre les cellules musculaires lisses adjacentes où sa cible principale est l'enzyme guanylate cyclase soluble. Cette cascade d'évènements aboutit à la relaxation du muscle lisse. Le NO joue donc un rôle clé dans les fonctions vasculaires essentielles, telles que la pression artérielle, le flux sanguin et l'apport en oxygène vers les tissus. Étant donné ce rôle central, un défaut de la production ou de la régulation du NO est fréquent dans des pathologies vasculaires comme l'athérosclérose, le diabète ou l'hypertension artérielle.

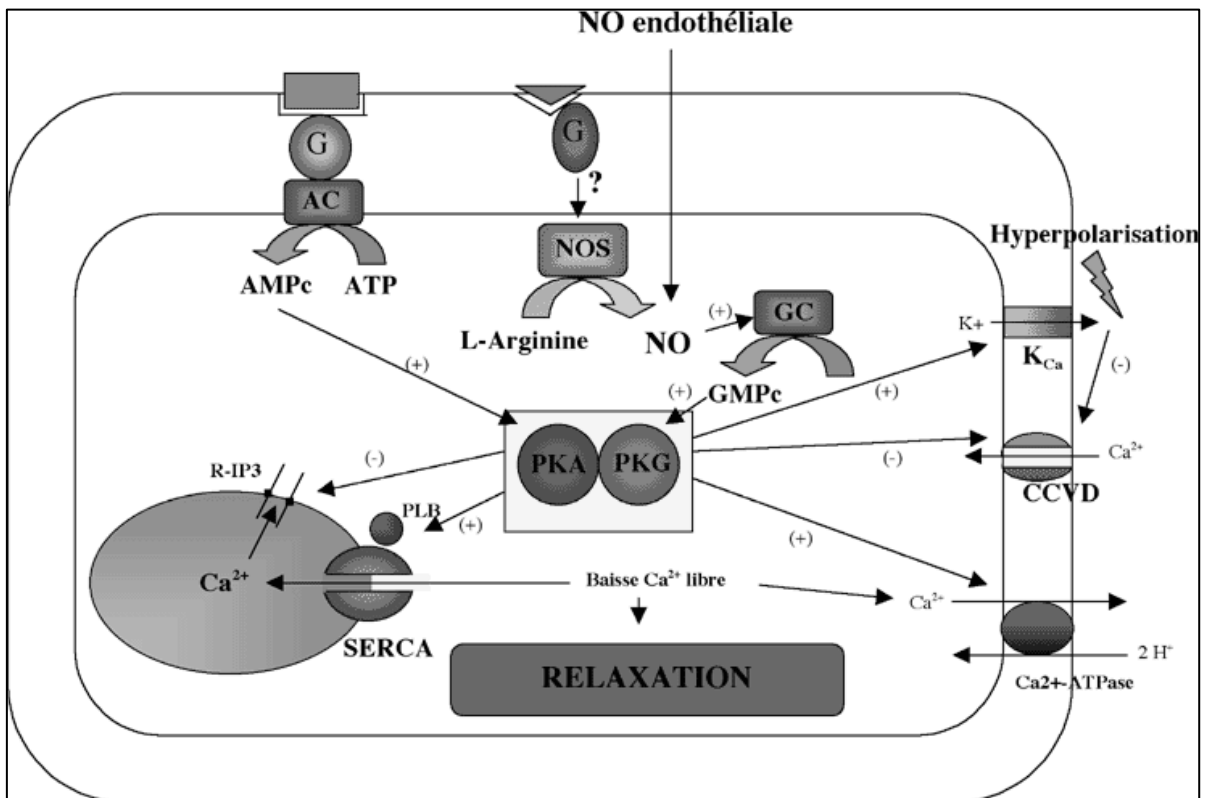


Figure 57. Cascade NO/GMPc [Site web 39].

Chapitre 6

6. Anomalies de signalisation et pathologies**6.1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie**

En pathologie moléculaire, il a été montré l'implication des milliers de protéines dans la genèse des maladies humaines. Les anomalies d'expression des ARNm dues à des anomalies de copies d'ADN entraînent des anomalies d'expression des protéines. Dans le ribosome, l'ARNm est traduit en protéine. À chaque codon est associé un acide aminé dont l'enchaînement forme la séquence peptidique. Les interactions des facteurs de transcription gèrent l'expression des gènes. Les protéines gèrent le trafic des organelles intracellulaires et jouent un rôle clé dans les structures et le fonctionnement cellulaire. Il existe plusieurs anomalies des protéines :

- Anomalies qualitatives des protéines.
- Anomalies quantitatives des protéines.
- Anomalies de la traduction des ARN en protéines.
- Anomalies post-traductionnelles.
- ER stress.
- Anomalies de repliement des protéines.
- Anomalies de dégradation des protéines.
- Expression de protéine virale dans la cellule.

Le développement des tumeurs peut être lié à l'activation d'un oncogène silencieux, dont l'expression donne le signal activant le cycle cellulaire.

Dans le diagnostic illustrant cette situation on observe un oncogène grâce à un polymorphisme situé sur un gène situé au même endroit du chromosome. Ce gène présente un marqueur mis en évidence par le polymorphisme.

Chez certains sujets bien portants l'allèle du gène est lié avec un allèle muté de l'oncogène mais cette mutation récessive ne s'exprime pas.

Les cellules de ce sujet sont normalement hétérozygotes et n'expriment que le phénotype normal sans tumeur.

Par suite d'une mitose anormale, un clone cellulaire reçoit sur les deux chromosomes le même allèle : le polymorphisme dans ces cellules est alors de type homozygote et l'oncogène muté devient homozygote, s'exprime et déclenche l'apparition des tumeurs.

6.1.1. La voie de signalisation RAS/MAPK (EGF-R, p21 ras et oncogène)

La voie RAS/MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) est une voie de signalisation intracellulaire qui joue un rôle important dans la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation et de la migration cellulaire, ainsi que de l'angiogenèse (**Figure 58**). Elle est anormalement activée dans de nombreux cancers dont le cancer colorectal. Les mécanismes d'activation de cette voie sont principalement l'activation de récepteurs membranaires tels que l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), mais aussi la survenue de mutations somatiques, notamment au niveau des gènes codant pour la protéine RAS ou la protéine RAF (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma).

La famille des proto-oncogènes RAS comprend trois gènes bien caractérisés HRAS, NRAS et KRAS. Les protéines issues de ces gènes ont un poids moléculaire de 21 000 daltons, d'où leurs noms p21. Elles sont localisées à la face interne de la membrane cytoplasmique, ancrées dans la couche phospholipidique membranaire par leur extrémité C terminale.

Les protéines RAS font partie de la famille des GTPases, et jouent un rôle important dans la transmission de signaux extracellulaires provenant des récepteurs membranaires vers le noyau, aboutissant à la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation et de la migration cellulaire, ainsi que de l'angiogenèse. Leur activation est déclenchée par l'intermédiaire de récepteurs membranaires dont l'EGFR.

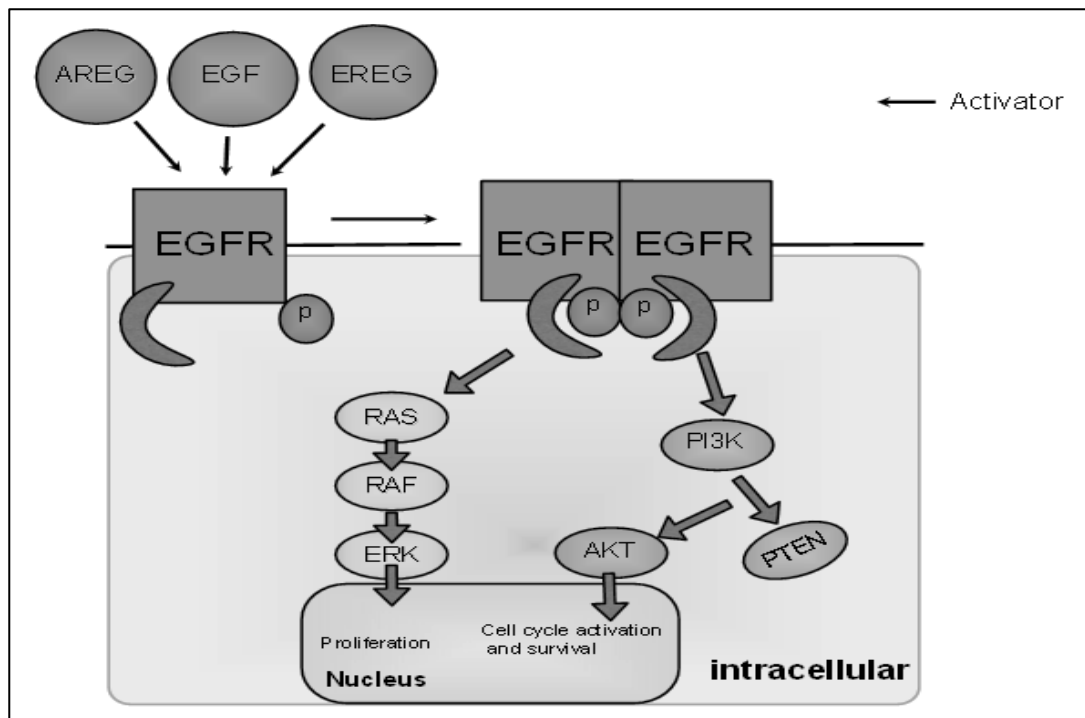


Figure 58. Activation du récepteur de l'EGF et des voies de signalisation intracellulaire [26].

6.1.2. Activation pathologique de la voie PI3K/AKT/Mtor dans les cancers

Cette voie de signalisation cellulaire joue donc un rôle clé dans la régulation de différents effecteurs cellulaires et participe ainsi notamment à l'équilibre entre survie et mort cellulaires. Une des caractéristiques des cellules cancéreuses est la rupture de cet équilibre entraînant une prolifération cellulaire non contrôlée.

Différentes anomalies de la voie PI3K/AKT/mTOR peuvent, sans être un événement suffisant dans l'oncogenèse, constituer un événement favorisant le développement d'une tumeur. On peut par exemple observer une activation de récepteurs à tyrosine-kinase (notamment PDGFR, IGFR, et HER 1-4), qui deviennent autonomes par rapport aux facteurs de croissance, une surexpression de Ras, une perte de fonction de PTEN (phosphatase and tensin homologe deleted on chromosome 10), ou encore une mutation de PI3K (phosphatidyl inositol 3-OH-kinase) ou d'AKT (Protein kinase B (PKB)). Il est à noter qu'aucune mutation de mTOR (mammalian target of rapamycin) n'a été décrite à ce jour, ce qui en fait une cible thérapeutique particulièrement intéressante (**Figure 59**).

La voie mTOR est donc une voie de signalisation jouant un rôle prépondérant dans la régulation de différents mécanismes cellulaires assurant son bon fonctionnement et évitant sa transformation cancéreuse. Les analogues de rapamycine, qui rétablissent la régulation dans les cellules tumorales, sont aujourd'hui utilisés en pratique courante dans le carcinome rénal à cellules claires et sont l'objet de nombreux essais thérapeutiques dans les tumeurs solides et les lymphomes, leurs indications devraient donc s'élargir dans les années à venir.

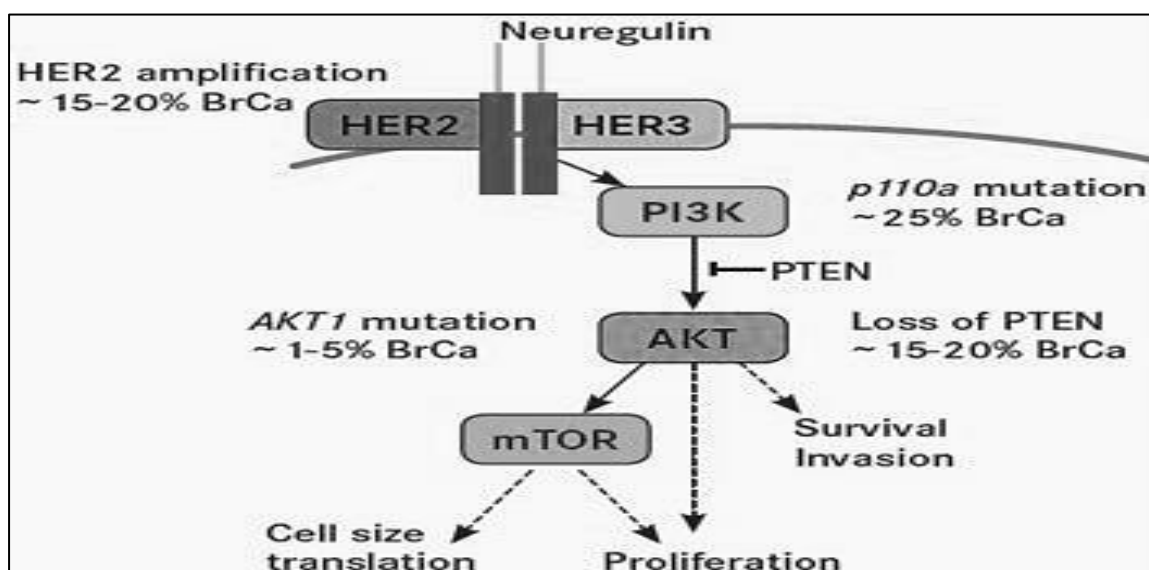


Figure 59. Voie de signalisation PI3K/AKT/Mtor [27].

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

6.2.1. Maladie lysosomale

Une maladie lysosomale est une maladie, généralement génétique, de l'enfant et de l'adulte, en rapport avec le fonctionnement anormal d'une des enzymes contenues dans le lysosome. On dénombre une cinquantaine de maladies lysosomales, dont le point commun est une déficience génétique (mutations des gènes concernés) aboutissant au dysfonctionnement du lysosome, qui est chargé de "recycler" les matières produites par les cellules.

Les métabolites s'accumulent alors, entraînant le dysfonctionnement des organes concernés. La plupart de ces maladies sont évolutives et polyhandicapantes. Elles entraînent des handicaps physiques, et neurologique pour certaines d'entre elles. Il s'agit dans tous les cas de maladies rares.

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

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

6.2.1.1. Conséquences d'une maladie lysosomale

Selon la maladie et le malade, les premiers signes peuvent apparaître très rapidement à la naissance ou au contraire au bout de quelques ou plusieurs années.

Les symptômes et leur évolution sont propres à chaque maladie. Mais peu à peu des lésions apparaissent au niveau des organes (poumons, cœur, foie, rate, cerveau) entraînant des troubles graves et irréversibles.

6.2.1.2. Liste des maladies Lysosomales : Plus de 50 maladies :

- **Les Lipidoses :** Austin, Fabry, Farber, Gaucher (type I, II et III), Gangliosidose à GM1(Landing), Krabbe, Leucodystrophie Métachromatique, Sandhoff, Niemann - Pick (A/B et C), Schindler-Kanzaki, Tay-Sachs, Wolman, Maladie de surcharges en esters de cholestérol
- **La Glycogénose Type 2 -** Maladie de Pompe
- **Les oligosaccharidoses et glycoprotéinoses :** Aspartylglucosaminurie, Fucosidose, Mannosidoses alpha et bêta, Mucopolysaccharidose type II (I Cell), Mucopolysaccharidose type III (Pseudo Hurler), Mucopolysaccharidose type IV, Sialidoses, Galactosialidoses
- **Les anomalies du transfert lysosomal :** Cystinose, Maladie de Danon, Maladie de Salla (Surcharge en acide sialique libre)

- **Les Mucopolysaccharidoses (MPS) :** MPS I (Hurler, Hurler-Scheie, Scheie), MPS II (Hunter), MPS III (Sanfilippo A, B, C et D), MPS IV (Morquio A et B), MPS VI (Maroteaux-Lamy), MPS VII (Sly), MPS IX.
- **Les céroïdes lipofuscinoses neuronales** - CLN type 1 à 10
- **Autres maladies Lysosomales :** Pycnodysostose, Syndrome de Papillon-Lefèvre, Syndrome de Chediak-Higashi.
- **Glycogénose de type 2 - maladie Pompe**

La glycogénose de type II (GSD II) est une maladie de surcharge lysosomale qui se traduit notamment par une atteinte des muscles squelettiques et respiratoires de gravité variable à laquelle s'associe une cardiomyopathie hypertrophique dans la forme infantile. L'incidence est estimée à environ 1/57 000 pour la forme adulte et 1/138 000 pour la forme infantile.

La maladie est due au déficit en alpha-1,4-glucosidase acide qui hydrolyse le glycogène en unités glucose, entraînant une surcharge intra-lysosomale de glycogène. Le déficit est ubiquitaire, mais il n'est exprimé que par certains organes (cœur et/ou muscle squelettique surtout). Le gène (GAA) est localisé sur le chromosome 17q23.

- **Cystinose**

La cystinose est une maladie autosomique récessive qui est due à une accumulation de cystine dans les lysosomes. Cela concerne les cellules de tous les tissus et organes avec une plus grande sensibilité de la part du tissu rénal. C'est en fait l'absence de cystinosine, un transporteur de la cystine situé dans la membrane du lysosome, qui est responsable de cette accumulation, la cystine n'étant plus transportée hors du lysosome.

6.2.1.3. Traitements

Généralement, il est conseillé de recourir à une thérapie d'enzymes substitutifs, qui va permettre de restimuler les cellules. Des régimes alimentaires peuvent aussi être nécessaires, selon le type de maladie concerné : un régime riche en protéines, pauvre en glucide ou encore enrichi en acides aminés.

6.2.2. Maladies mitochondriales

Les maladies mitochondriales sont les pathologies métaboliques héréditaires les plus fréquentes avec une incidence de 1/5000 naissances. Elles sont dues à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles se traduisent selon les cas par une maladie neurologique (notamment par des syndromes complexes ou combinés), neuromusculaire (myopathie mitochondriale létale infantile), une surdité et une épilepsie,

une maladie ophtalmologique responsable d'une baisse brutale de la vision (neuropathie optique héréditaire de Leber), cardiaque (cardiopathie hypertrophique), rénale. Certaines de ces pathologies, touchant souvent plusieurs organes, sont potentiellement mortelles durant l'enfance.

Un déficit enzymatique de la chaîne respiratoire provoque une modification profonde des équilibres d'oxydoréduction cytoplasmiques et mitochondriaux, par accumulation d'équivalents réduits (NADH, FADH). Dans la mitochondrie, cette accumulation de NADH pousse à la transformation de l'acétoacétate en 3-hydroxybutyrate entraînant une élévation du rapport 3-hydroxybutyrate/acétoacétate. De la même façon, dans le cytoplasme, la transformation du pyruvate en lactate est favorisée et le rapport lactate/pyruvate s'élève avec une augmentation secondaire de la concentration en lactate.

Selon le type de cellule, le nombre de copies de l'ADNmt par cellule varie de quelques dizaines à plusieurs centaines de milliers. Une mutation de l'ADNmt peut être présente dans toutes les copies d'ADNmt d'un individu ou coexister avec des copies portant la séquence sauvage (non porteuse de la mutation délétère) dans des proportions variables. Il peut ainsi exister au sein d'une même mitochondrie des molécules d'ADN normales et d'autres porteuses de la mutation responsable d'une maladie. Schématiquement, celle-ci sera plus ou moins grave selon le taux de molécules d'ADNmt muté dans les cellules. Les mutations de gènes nucléaires représentent sûrement la cause la plus importante de maladies mitochondriales, surtout chez l'enfant. Du fait du très grand nombre de gènes nucléaires impliqués dans les fonctions mitochondriales et de la grande hétérogénéité clinique et génétique des maladies mitochondriales ces mutations sont relativement difficiles à identifier.

6.2.2.1. Traitements

Il n'y a actuellement pas de thérapie des maladies mitochondriales. Le traitement est essentiellement symptomatique et ne modifie pas de façon significative l'évolution de la maladie. Il s'agit de compléter par des cofacteurs (ubiquinone pour les déficits en ubiquinone), de recommandation diététique (régime riche en lipides et pauvre en sucres) et d'éviter des médicaments connus pour avoir un effet délétère.

6.2.3. Anomalies du noyau

Le noyau des cellules renferme un feutrage de protéines, les lamines. Quand celles-ci sont anormales, les tissus nerveux, adipeux, osseux et musculaire sont gravement endommagés : la progeria en est un exemple. De nombreuses études ont mis au jour un lien étroit entre des défauts de l'enveloppe nucléaire et de nombreuses pathologies humaines.

Ces maladies touchent la quasi-totalité des tissus, musculaire, cardiaque, adipeux ou nerveux, et, parfois, plusieurs d'entre eux simultanément. La plus connue (mais aussi la plus rare) de ces maladies est la progeria, une forme grave de vieillissement précoce et accéléré. Toutefois, malgré leur diversité, ces maladies sont rassemblées au sein d'une même famille, les laminopathies, car elles résultent toutes de mutations dans les gènes codant les lamines ; ces protéines – au nombre de trois – constituent une couche, la lamina, qui tapisse la face intérieure du noyau, et lui confère sa forme. Le plus souvent, les mutations sont concentrées sur un seul gène, le gène LMNA, codant deux des trois lamines. 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.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques**Livres et articles**

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M. Biologie moléculaire de la cellule. *Médecine Sciences* 5^e édition (2011).
2. Horton H.R , Moran L.A , Ochs R.S , Rawn J. D , . Scrimgeour K.G. Principes de biochimie. Ed. DeBoeck Universités - ISBN: 2-8041-1578-X. 742 pages (1994).
3. Mège RM. Les molécules d'adhérence cellulaire : molécules morphogénétiques? *médecine/sciences* 7 : 544-52 (1991).
4. Voorhees RM, Hegde RS. Structure of the Sec61 channel opened by a signal sequence. *Science* Vol. 351, Issue 6268., 88-91 (2016).
5. Scott MGH, Benmerah A, Marullo S. Endocytose des récepteurs couplés aux protéines G. *medecine/sciences* 20 : 78-83 (2004).
6. Chipuk J. E, Bouchier-Hayes L, Green D.R. Mitochondrial outer membrane permeabilization during apoptosis: the innocent bystander scenario. *Cell Death and Differentiation*, 13, (8), 1396-1402 (2006).
7. Gardner A, Richard Boles R. Is a "Mitochondrial Psychiatry" in the Future? A Review. *Current Psychiatry Reviews*, vol. 1, 3,31: 255–271 (2005).
8. Ciechanover A, Intracellular protein degradation: from a vague idea, through the lysosome and the ubiquitin proteasome system, and onto human diseases and drug targeting (Nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44 (37) 5944–5967 (2005).
9. Baldin V, Coux O. L'étiquette de la mort. *Med Sci*, Paris, 20: 1156- 1157(2004).
10. Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. (Structure and Function of the 20S and 26S Proteasomes. *Annu Rev Biochem.* 65: 861-847 (1996).
11. Ciechanovr A. "The ubiquitin - proteasome pathway: on protein death and cell life. *The EMBO Journal* 17:7151 – 7160 (1998).
12. Amerik A.Y, Hochstrasser M. Mechanism and function of deubiquitinating enzymes. *BBA - Molecular Cell Research* 1695, 189 – 207 (2004).
13. Groll M, Ditzel L, Löwe J, Stock D , Bochtler M , Bartunik HD, Huber R. Structure of 20S proteasome from yeast at 2.4Å resolution. *Nature* 386:463–471 (1997).
14. Bohn S, Beck F, Sakata E, Walzthoeni T, Beck M, Aebersold R F, Baumeister W, Nickell S. Structure of the 26S proteasome from *Schizosaccharomyces pombe* at subnanometer resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*.107: 20992-20997 (2010).
15. Hicke L, Schubert H.L, Hill C.D. Ubiquitin-binding domains. *Nat. Rev. Mol. Biol.* 6: 610-21 (2005).
16. Wolf DH, Hilt W. The proteasome: a proteolytic nanomachine of cell regulation and waste disposal. *Biochim Biophys Acta* .1695 (1-3): 19-31 (2004).
17. Baumeister W, Dahlmann B, Hegerl R, Kopp F. et al. Electron microscopy and image analysis of the multicatalytic proteinase. *FEBS Lett.* 241: 239-45 (1988).
18. Eric K, Schwartz J, Jessel T. Principles of Neural Science. : *McGraw-Hill, New York* 4^{ème} édition (2000).
19. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414: 799–806 (2001).

20. Kido Y, Nakae J, Accili D. Clinical review 125: The insulin receptor and its cellular targets. *J Clin Endocrinol Metab*, 86: 972–9 (2001).
21. Taha C, Liu Z, Jin J, Al-Hasani H, Sonenberg N, Klip A. Opposite Translational control of GLUT1 and GLUT4 glucose transporter mRNAs in response to insulin. Role of mammalian target of rapamycin, protein kinase b, and phosphatidyl inositol-3-kinase in GLUT1 mRNA translation. *J Biol Chem*, 274:33085-91 (1999).
22. Mita MM, Mita AC, Chu QS, Rowinsky EK, Fetterly GJ, Goldston M et al. Phase I trial of the novel mammalian target of rapamycin inhibitor deforolimus (AP23573;MK8669) administered intravenously daily for 5 days very 2 weeks to patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol*; 26(3):361-7 (2008).
23. Chap H. Icosanoïdes et phospholipases. *Médecine/sciences* 4 : 6-7 (1988).
24. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem* 298 (Pt 2):249- 258 (1994).
25. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* , 84 : 9265–9269 (1987).
26. Lièvr eA , Pierre Laurent-Puig P La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancéro dig*. Vol. 2 1: 38-42 (2010).
27. Dreyer C, Raymond E, Faivre S. La voie de signalisation PI3K/AKT/Mtor. *Cancéro dig*. 3: 187-189 (2009).

Sites web

1. http://ressources.unisciel.fr/biocell/menu/co/module_menu.html (2015)
2. http://www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/bc4223/trf/trf3Ctra.html (2015)

Sites web des figures

1. <http://biochimej.univ-angers.fr> (2012)
2. www.cours-pharmacie.com/biologie (2009)
3. www.ured-douala.com (2011)
4. http://ressources.unisciel.fr/biocell/chap1/co/module_Chap1_9.html (2013)
5. <https://www.aquaportail.com/definition-4531-phospholipide.html> (2017)
6. <https://slideplayer.fr/slide/5772825/> (2015)
7. <http://vetopsy.fr/biologie-cellulaire/transport-membranaire/trafic-vesiculaire/endocytose.php> (2015)
8. <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/3CoursdeBiochSTRUCT/7Transports/1Transports.htm> (2015)
9. <https://slideplayer.fr/slide/3891671/12/images/9/Canal+ionique.jpg> (2015)
10. <https://slideplayer.fr/slide/10520662/> (2015)
11. <https://www.ebiologie.fr/cours/s/10/1-adherence-cellulaire> (2015)
12. <https://slideplayer.fr/slide/9566055/> (2015)
13. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc3184188/> (2016)

14. http://www.med.univ-monp1.fr/enseignement/cycle_1/pcm2/mod_integr/mi6_regulation_hormonale_chronobiologie/ressources (2016)
15. <http://science.sciencemag.org/content/351/6268/88.figures-only> (2016)
16. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/viro/oldpoly/POLY.Chp.1.3.html> (2016)
17. [<https://lewebpedagogique.com/arnaud/files/2011/05/synth.gif>] (2011)
18. <https://ladecouvertedescelluleseucaryotes.wordpress.com/2011/12/06/architecture-le-cytosquelette/> (2015)
19. <https://slideplayer.fr/slide/448967/> (2015)
20. [https://planet-vie.ens.fr/article/1887/contraction-musculaire\(contraction_musculaire](https://planet-vie.ens.fr/article/1887/contraction-musculaire(contraction_musculaire) (2017)
21. http://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/2b_1.html (2015)
22. http://pacomeleon.re/wordpress/wpcontent/uploads/2015/06/Myosine_actine (2015)
23. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Mitochondrie> (2015)
24. <http://biochimej.univangers.fr/Page2/COURS/Zsuite/1Respiration/Z999suite/ChaineRespiratoire/1ChainRespiratoire.htm> (2016)
25. http://ressources.unisciel.fr/biocell/chap8/co/module_Chap8_1.html (2014)
26. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ubiquitylation.png> (2015)
27. <https://fr.dreamstime.com/anatomie-du-lysosome-diagramme-vecteur-l-usagem%C3%A9dical-image103816594> (2014)
28. <http://www.vetopsy.fr/biologie-cellulaire/cellule-constituants/cytosquelette/filaments-intermediaires/filaments-intermediaires-V-lamines-roles-1.php> (2015)
29. <http://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/3c.html> (2014)
30. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Glycolipide.png> (2015)
31. <https://bio.m2osw.com/gcartable/systeme%20nerveux/adrenaline.htm> (2013)
32. <http://tpekaja.e-monsite.com/pages/a-gl.html> (2012)
33. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/MIbioch/POLY.Chp.4.2.html> (2015)
34. <https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-healthprofessions/phospholipase> (2015)
35. <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/6ModuleS5BG2/5VoieAcidArachidon/1VoieAcidArachidon.html> (2013)
36. <http://www.guichetdusavoir.fr/viewtopic.php?f=2&t=2105&view=print>(2014)
37. https://fr.wikipedia.org/wiki/Ad%C3%A9nosine_monophosphate_cycli (2012)
38. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/MIbioch/POLY.Chp.1.26.ht> (2013)
39. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/cmlv/cmlv-b3.htm> (2014).