

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERHCE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHTHAR ELOUED



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Polycopié du cours

BIOCHIMIE CELLULAIRE ET FONCTIONNELLE

Destinés aux étudiants 3^{ème} Année Licence Biochimie

Présenté par : Dr. YOUMBAI Asma

**Maitre de Conférences « B » au département de Biologie cellulaire et
Moléculaire**

Année Scolaire : 2025/2026

Sommaire

Introduction

Objectif

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

| | |
|---------------------------------------|----|
| 1.1. Historique de concept cellulaire | 5 |
| 1.2. Les variétés cellulaires | 5 |
| 1.3. Définition d'un compartiment | 7 |
| 1.4. Avantage de la compartimentation | 13 |

2. Biomembranes

| | |
|--|----|
| 2.1. Isolement de membranes | 15 |
| 2.2. Composition et structure des membranes | 17 |
| 2.3. Architecture biomoléculaire des membranes | 22 |
| 2.4. Les échanges membranaires | 27 |
| 2.5. Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire | 35 |
| 2.6. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires | 38 |
| 2.7. Récepteurs, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire | 43 |

3. Relation structure-fonction de la cellule

| | |
|---|----|
| 3.1. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et de sécrétion | 46 |
| 3.2. Cytosquelette | 51 |
| 3.3. Fibre et la contraction musculaire | 54 |
| 3.4. La mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative | 58 |
| 3.5. Ribosome : synthèse protéique, maturation et adressage des protéines | 61 |
| 3.6. Le Système ubiquitine /protéasome : structure et fonction | 62 |
| 3.7. Le Système lysosomal : structure et fonction | 64 |
| 3.8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette | 66 |

4. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique

| | |
|-------------------------|----|
| 4.1. Les glycoprotéines | 68 |
| 4.2. Les glycolipides | 70 |

5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire

| | |
|---|----|
| 5.1. Récepteurs et ligands | 73 |
| 5.2. Transducteurs et Facteurs de couplage | 79 |
| 5.3. Amplification du signal via les seconds messagers | 79 |
| 5.3.1. Cascade phospholipases A2, C et D | 79 |
| 5.3.2. Cascade AMPc/PKA | 81 |
| 5.4. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases | 82 |
| 5.4.1. Récepteurs Tyrosine kinase | 84 |
| 5.4.2. PI3kinase, AKt/PKB | 84 |
| 5.4.3. MAPKinases / Facteurs de transcription | 84 |

6. Anomalies de signalisation et pathologies

| | |
|--|----|
| 6.1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie | 87 |
| 6.2. Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires | 90 |

Semestre : 5

Unité d'enseignement fondamentale 1 (UEF 3.1.1) : Biochimie cellulaire et Enzymologie

Matière 2: Biochimie cellulaire et fonctionnelle

Crédits : 6

Coefficient : 3

Parcours: L3 Biochimie

Introduction

La biochimie cellulaire et fonctionnelle se penche sur les processus chimiques au sein des cellules ainsi que sur les mécanismes permettant leur fonctionnement, en prenant en compte leurs composants tels que les biomembranes et les organites. Elle s'intéresse particulièrement à la structure des molécules biologiques, leurs transformations, ainsi qu'à leur organisation et leurs interactions. Tout cela vise à comprendre comment ces éléments collaborent pour assurer les fonctions essentielles à la vie, à la croissance et à la communication entre cellules.

Objectifs de l'enseignement

Cette matière a pour but de fournir les bases de la dynamique membranaire, la compartimentation intracellulaire et son incorporation dans la fonction cellulaire ainsi que la transmission des signaux intracellulaires des ligands hydrophiles. Compréhension des voies par lesquelles les cellules reçoivent et diffusent des signaux, permettant la coordination de leurs activités. Examen des dysfonctionnements des mécanismes biochimiques et de leur relation avec certaines maladies.

Ce polycopié est destiné aux étudiants de troisième année Licence Biochimie qui suivent leur enseignement au sein de Département de Biologie cellulaire et Moléculaire à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de El-Oued

Chapitre 1
COMPARTIMENTATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE
(Vue d'ensemble)

1.1.-Historique de concept cellulaire

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

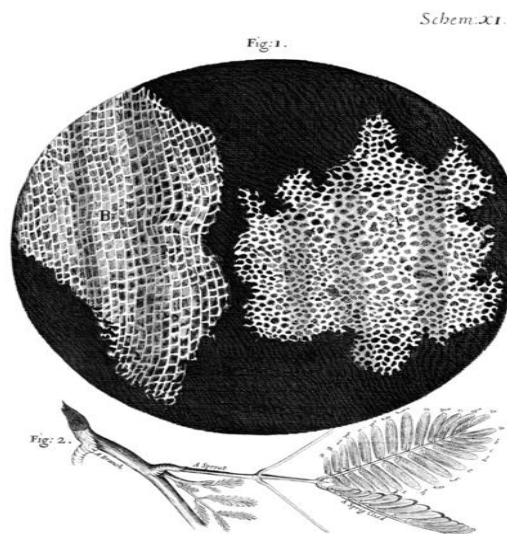


Figure1 : Dessin de cellules observées dans des coupes d'écorce d'arbre par Robert Hooke en 1665

Théorie cellulaire

1. La cellule est l'unité constitutive et fonctionnelle des organismes vivants.
2. L'organisme dépend de l'activité des cellules isolées ou groupées en tissus pour assurer ses différentes fonctions.
3. Les activités biochimiques des cellules sont coordonnées et déterminées par certaines structures présentes à l'intérieur de celles-ci.
4. La multiplication des cellules permet le maintien des organismes et leur multiplication.
5. Cette théorie est formulée en 1838 par Schleiden et Schwann : la cellule est l'unité de vie.

1.2.- Les variétés cellulaires

1.2.1.-Les cellules eucaryotes : Les cellules eucaryotes (ou vrai noyau en latin) se caractérisent par une enveloppe nucléaire qui divise la cellule en deux compartiments principaux : le noyau et le cytoplasme. À son tour, le cytoplasme est délimité par la membrane plasmique. Dans la cellule végétale (fig 2). La membrane plasmique est

recouverte et protégée extérieurement par une paroi cellulaire plus épaisse percée de canalicules, les plasmodesmes, sites de communications avec les cellules voisines grâce à de fins prolongements cytoplasmiques. Dans les cellules animales (fig 2). certaines régions de la membrane plasmique sont recouvertes par une mince couche de matériel que l'on désigne habituellement sous le nom d'enveloppe externe.

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

Les principales différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes sont illustrées dans le tableau ci-dessous :

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

1.3.-Définition d'un compartiment : Un compartiment cellulaire est l'ensemble des espaces d'une cellule partageant une fonction physiologique commune.

Chaque compartiment est délimité par une membrane (le noyau par l'enveloppe nucléaire, une mitochondrie par une membrane mitochondriale, un chloroplaste par une enveloppe chloroplastique, etc.)

Toutes les mitochondries dans une cellule représente le compartiment mitochondrial de la cellule, la cellule est un compartiment qui isole un ensemble de macromolécules du reste de l'univers, un compartiment cellulaire est un compartiment séparé par une limite matérialisée par une membrane (membrane plasmique) la cellule eucaryote se subdivise en plusieurs compartiments assurant la survie de la cellule comme la mitochondrie, l'appareil de golgi, lysosomes,, etc, la vacuole assure tous les rôles dans la cellule végétale et fongique.

Contrairement aux bactéries, les cellules eucaryotes sont organisées en compartiments limités par une membrane et fonctionnellement distincts. Les protéines jouent un rôle essentiel dans la compartimentation d'une cellule eucaryote. Elles catalysent les réactions qui se produisent dans chaque compartiment (organite). Elles servent aussi de marqueurs spécifiques de l'organite. La synthèse des protéines commence dans le cytosol, puis chaque molécule néo synthétisée est ensuite transmise spécifiquement au compartiment cellulaire qui en a besoin..

Les principaux compartiments des cellules eucaryotes sont les suivants (Figure 2) :

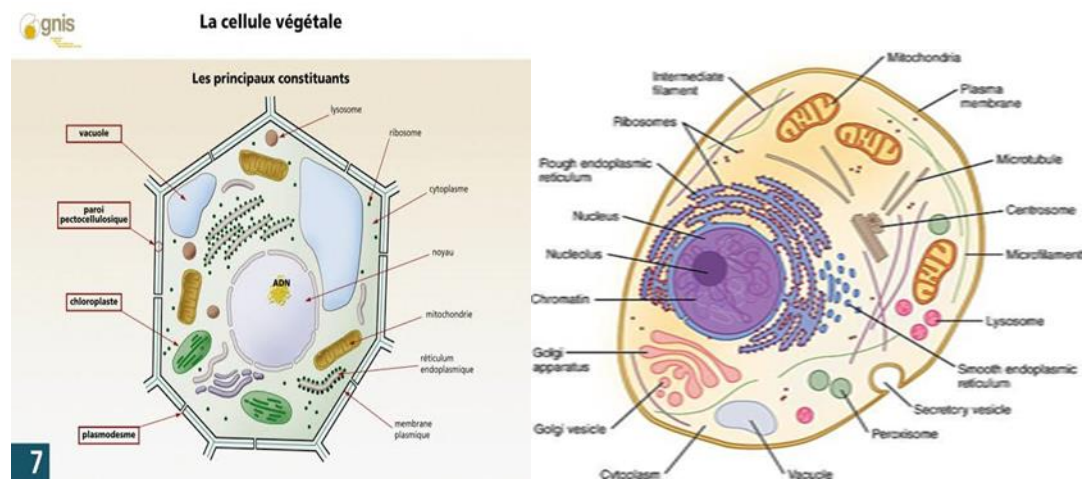


Figure 2 : Compartiment fonctionnels des cellules eucaryotes (animale, végétale)

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

cytosol. Il contient des ribosomes, des mitochondries, un cytosquelette et un ensemble de vacuoles plus ou moins ramifiées, ces vacuoles constituent le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les vésicules de sécrétion, les endosomes, les lysosomes, les phagosomes. En outre, le cytoplasme des plantes comporte un organite appelé plaste impliqué dans la photosynthèse.

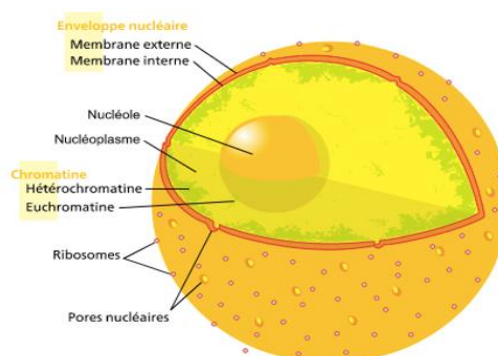
- le cytosol représente environ la moitié du volume total de la cellule ; il est le site de la synthèse des protéines et du métabolisme cellulaire intermédiaire. Le cytosol est très riche en eau (85 %) et Il contient un grand nombre de molécules (sucres, acides aminés, acides gras, protéines...) de provenance diverse et de nombreux filaments protéiques organisés en réseaux qui forment le cytosquelette. Le cytosquelette donne à la cellule sa forme et facilite le déplacement des différents organites et particules cytoplasmiques. Représente la phase liquide (plus exactement semi-liquide), translucide où baignent les organites. En effet, la définition exacte en terme biophysique du cytosol est celle d'un gel colloïdale 4 fois plus visqueux que l'eau, son pH est neutre autour du 7 (pH physiologique du milieu extracellulaire aux environ de 7.4).

Les inclusions

Ne sont pas des éléments fonctionnels mais des substances chimiques qui peuvent être présentes ou non, selon le type de cellule considéré. On pourrait citer par exemple les nutriments emmagasinés, comme les granules glycogène qui se trouvent en abondance dans les cellules du foie et des muscles, les gouttelettes de lipides communes dans les cellules adipeuses, les granules de pigments (mélanine) présentes dans certaines cellules de la peau et dans les poils, ainsi que divers types de cristaux.

Le noyau, qui contient le génome et où se déroule la synthèse de l'ADN et de l'ARN.

Le noyau est l'organite qui a donné son nom aux eucaryotes (eu= vrai, caryos= noyau), bien que quelques-uns puissent en être dépourvus à certains stades de leur existence (comme les globules rouges de mammifères). Structure, en général sphérique ou ovoïde, renfermant l'essentiel de l'information génétique de la cellule.



Génome

Information génétique qui contient l'information permettant de coder les autres composants.

Nucléole

Petit corps sphérique du noyau cellulaire des cellules eucaryote contenant les acides nucléiques (ARN) et des protéines et qui est le lieu de la synthèse de l'ARN ribosomale. Le nucléole entoure une région du noyau où se situent un ou plusieurs chromosomes dans lesquels se trouvent des copies répétées de l'ADN codant l'ARN ribosomal.

Membrane plasmique

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

Paroi cellulosique

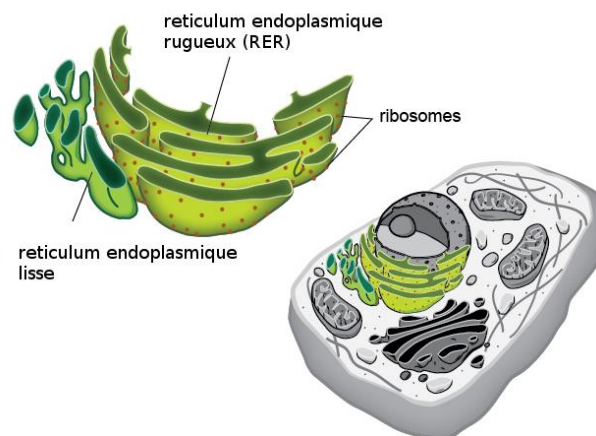
Elle entoure toute cellule végétale elle est essentiellement composée de polysaccharides ; cellulose et pectine d'où l'appellation « paroi pecto-cellulosique ». La paroi est composée de trois parties: Paroi primaire : de nature pecto-cellulosique. Paroi secondaire : elle est constituée de cellulose et d'hémicellulose et est enrichie en composés phénoliques (lignine, subérine). Lamelle moyenne : c'est la partie la plus externe de la paroi elle est constituée de matières pectiques seulement.

Cytosquelette

Il permet le maintien de la morphologie cellulaire, la position des organites dans la cellule et le transport de différents composants cytoplasmiques. Il est également important lors de la division cellulaire. Parmi eux on trouve les microfilaments d'actine, les microtubules et les filaments intermédiaires.

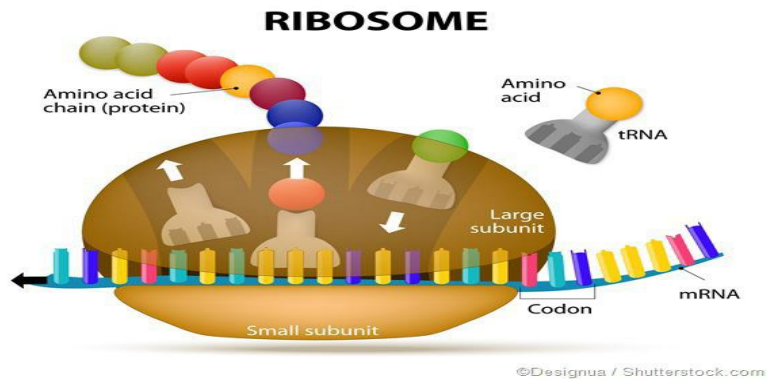
Le réticulum endoplasmique constitue un espace labyrinthise limité par une membrane interconnectées et connectées à la membrane nucléaire, dont la surface représente environ 50 % de la surface membranaire totale de la cellule. Il occupe souvent plus de 10 % du volume cellulaire:

a.- REG est le site de synthèse et de N-glycosylation des protéines

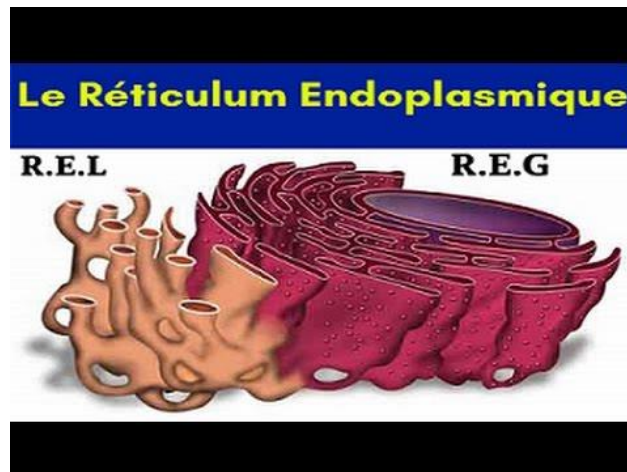


RQ : Des ribosomes peuvent être liés à la surface cytosolique du réticulum endoplasmique rugueux intervenant dans la synthèse des protéines membranaires et solubles (présentes dans la lumière des différents organites ou destinées à être sécrétées). L'attachement d'un ribosome au RE dépend de la nature de la protéine synthétisée, et notamment de l'existence d'un peptide signal d'importation dans le RE.

Les ribosomes : sont des complexes ribo-nucléo-protéiques (c'est-à-dire composés de protéines et d'ARN) extrêmement conservés au cours de l'évolution présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Leur fonction est de synthétiser les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messager.



-REL assure la synthèse des lipides et le stockage des ions calciques.



- Ribosomes

Les ribosomes constituent une partie principale de la machinerie biosynthétique de la cellule. Ces organites permettent la traduction de l'ARN en protéines.

Appareil de Golgi

Est un empilement de vésicules membranaires où s'opère la glycosylation (ajout de chaînes glucidiques complexes) et l'encapsulation des protéines sécrétées. L'appareil de Golgi est composé d'un empilement d'organites en forme de disques appelés saccules. Il intervient dans la maturation des protéines et des lipides provenant du réticulum endoplasmique ;

Est une extension de la membrane du noyau. Nous distinguons le RE lisse (REL) et le RE granuleux (rugueux) (RER), en fonction de son apparence au microscope. Il est formé de feuilles ou de tubules. Il contient des récepteurs permettant de lier les ribosomes impliqués dans la traduction de l'ARN messager pour la sécrétion des protéines et notamment de la majorité des protéines

transmembranaires. Il est aussi le site de la synthèse lipidique. Du RE, les protéines sont transportées vers l'appareil de Golgi grâce à des vésicules

Chloroplastes

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

Vacuoles

Enclaves inertes, parfois limitées par une membrane, présentes à l'état physiologique ou pathologique dans le cytoplasme d'une cellule ou d'un organisme unicellulaire (bactérie) et pouvant contenir des substances diverses.

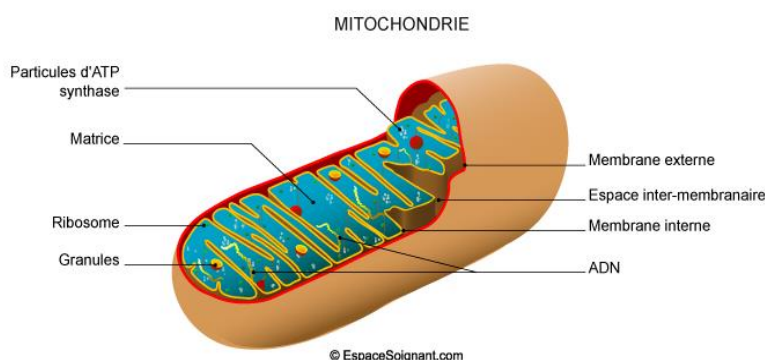
Centrioles

De nombreuses cellules animales comportent à un de leurs pôles une paire de centrioles. Ce sont des corpuscules cylindriques formés de tubules groupés par trois. Généralement situés près du noyau, ils jouent un rôle essentiel lors de la division cellulaire. Ainsi ils forment les pôles qui permettent la division cellulaire ; en général absents chez les plantes.

Les mitochondries : sont des organites qui existent dans le cytoplasme des cellules de tous les eucaryotes aérobies, elles ont généralement la forme de bâtonnets aux extrémités arrondies. Le nombre de mitochondrie dépend de la taille de la cellule quelques une dans une levure, et un millier dans un hépatocyte de rat.

- la structure : deux membranes externe, et interne, un espace inter membranaire et une matrice. Les rôles de la mitochondrie sont plusieurs dont: Oxydations respiratoires, les productions de précurseurs pour diverses biosynthèses, synthèse de protéines, Echanges entre la mitochondrie et le hyaloplasme.

Les mitochondries sont responsables de la production d'énergie et la synthèse locale de certaines protéines (10%) comme ils jouent un rôle essentiel dans l'apoptose.



Elles jouent un rôle important dans le métabolisme de la cellule. Elles contiennent leur propre petite partie d'ADN (l'ADN mitochondrial). C'est là que se déroulent la respiration cellulaire et la fabrication de l'énergie, l'ATP. Cette énergie est indispensable aux réactions métaboliques.

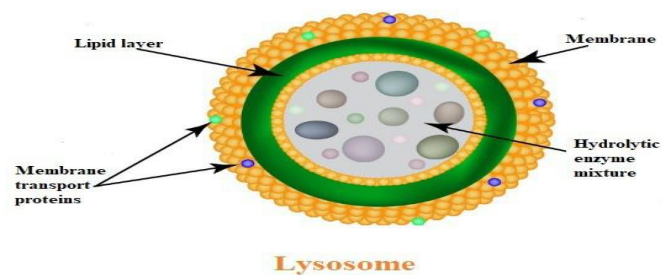
Lysosomes et peroxysomes

Organites intracellulaires qui renferment des enzymes hydrolytiques, ils sont responsables de la lyse cellulaire c'est à dire la dissolution d'éléments organiques

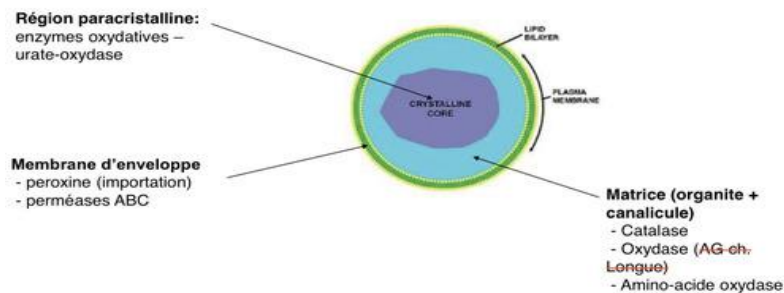
(tissus, cellules, microorganismes) sous l'action d'agents physiques, chimiques ou enzymatiques.

Les lysosomes : sont des organites riches en enzymes hydrolytiques qui dégradent les organites intracellulaires arrivés au terme de leur vie ainsi que les molécules prélevées dans le milieu extracellulaire par endocytose ;

Ou bien ils sont des compartiments cytoplasmiques qui renferment un mélange d'hydrolases acides, la membrane qui limite chacun d'eux empêche que la cellule ne soit digérée par ces enzymes lytiques. Leur découverte par le biochimiste belge de Duve en 1951, les rôles majeurs des lysosomes sont: la digestion intracellulaire, la digestion extracellulaire, stockage temporaire de réserves.



Les peroxysomes sont de petits organites vésiculaires utilisés pour un certain nombre de réactions oxydatives ;



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

- La membrane cytoplasmique délimite le contour de toutes les cellules; elle contribue ainsi à définir la morphologie spécifique de chacune d'entre elles. Elle est une frontière physique entre les milieux intra- et extracellulaire et assure, dans certains cas, des transferts de substances ou d'informations de cellule à cellule, en contrôlant donc les échanges entre l'hyaloplasme et le liquide interstitiel et dont la perméabilité est sélective.

1.4.- Avantage de la compartimentation

L'existence de compartiments différents optimise les réactions chimiques cellulaires. Ils permettent en effet :

- une augmentation de la concentration des métabolites et des enzymes participant à une même réaction (ou à un même groupe de réactions), ce qui a un effet sur les vitesses des réactions chimiques,
- un isolement des réactions les unes par rapport aux autres. Cette spécialisation des compartiments rend possible le déroulement simultané de réactions concurrentes ou incompatibles.
- Par ailleurs, les cellules eucaryotes sont de plus grande taille que les procaryotes (le rapport est en général de 1 pour 10). Le rapport surface de la membrane plasmique / volume cellulaire est donc beaucoup plus faible pour une cellule eucaryote. Dans une cellule procaryote, les fonctions membranaires (par exemple les activités enzymatiques membranaires) sont accomplies par la seule membrane qu'elle possède : la membrane plasmique. Chez les eucaryotes, la surface de la cellule est insuffisante et le développement de membranes internes liées à la compartimentation permet l'augmentation de la surface totale des membranes cellulaires.

Remarque

- Chaque type de cellule (eucaryote, procaryote, cellule végétale, cellule animale, virus..) possède une spécificité dans sa physiologie et possède des compartiments spécifiques.

Chapitre 2
Biomembranes

2.1.Composition de la membrane

2.1.1.Isolement des fractions de « membrane plasmique »

La mise au point de méthodes d'isolement des membranes plasmiques a permis d'étudier la composition chimique de cet organite, et de concevoir quelle peut être son architecture moléculaire. Il est relativement difficile d'obtenir une fraction de membranes plasmique dépourvue d'autres contaminants membranaires. Le problème a été résolu en choisissant un type cellulaire favorable. Ainsi, l'isolement de membranes plasmiques pures se fait très facilement en utilisant les hématies (globules rouges ou érythrocytes).

Des techniques d'isolement et de purification seront utilisés pour obtenir une fraction de la membrane plasmique dépourvue d'autres contaminants membranaires l'exemple type est l'isolement de la membrane des hématies (GR)

La technique d'isolement de membranes plasmiques d'hématies

A partir d'une grande quantité de globules rouges il est donc possible de récupérer une fraction de membrane plasmique pratiquement pure. Ces hématies n'étant pratiquement constituées que d'hémoglobine entourée d'une membrane plasmique (dépourvues de noyau et d'organites cytoplasmiques), il suffit de provoquer une hémolyse par choc osmotique pour obtenir après centrifugation un culot uniquement constitué de membranes plasmiques ou "fantômes d'hématies" (Fig. 1).

En résumé, pour obtenir une fraction pure de la membrane plasmique il faut suivre les étapes suivantes

- Centrifugation
- Récupération dans un milieu isotonique (NaCl 0,9%)
- Choc osmotique (hypotonique) = gonflement de la cellule
- Centrifugation = récupération des fractions riches membranes (culot de membranes plasmiques = Fantômes)

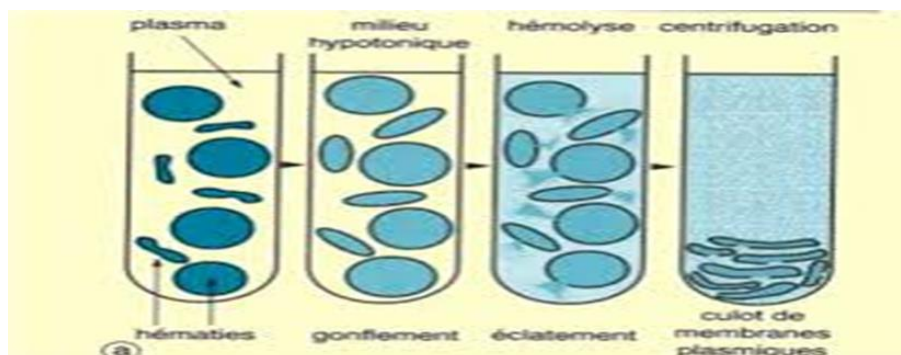
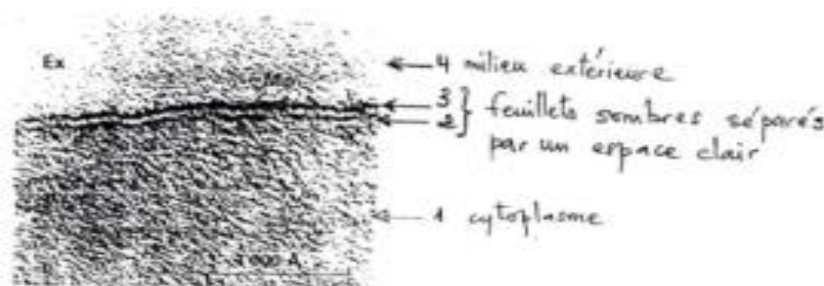


Figure 1. Isolement de la membrane plasmique à partir des hématies

2.1.2.Observations des coupes minces

L'observation des coupes minces au MET montre que la membrane plasmique est tri stratifiée c'est-à-dire formée de deux feuillets denses et un feuillet clair. Les deux feuillets denses (l'un interne et l'autre externe, sont épais de 20 à 25 Å), le feuillet clair est compris entre les deux feuillets denses, il est épais de 30 à 40 Å. • Le feuillet dense externe est garni de fibrilles de nature glycoprotéique : c'est le revêtement fibreux ou le glycocalyx.

- Le feuillet dense interne porte du côté hyaloplasmique un feutrage microfilamentaire.



Electronographie de la membrane plasmique

2.1.3.Définition: La membrane plasmique est appelée **membrane biologique** ou **cytomembrane**.

Les membranes cellulaires sont des **bicouches** (doubles couches) phospholipidiques dans lesquelles s'insèrent de manière **asymétrique** et inhomogène d'autres structures les caractérisant. Il existe la membrane de la cellule (membrane plasmique) et les membranes des organites, la membrane qui constitue autour de la cellule une enveloppe mince et continue, séparant le milieu intracellulaire du milieu extracellulaire.

En microscopie électronique on observe une tri-lamination de la membrane : **un feuillet clair de 3 nm** 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 des cellules eucaryotes ont des fonctions multiples en assurant la compartimentation physique à l'échelle cellulaire et subcellulaire, la régulation des échanges par le transport de métabolites et de macromolécules, la communication cellulaire (récepteurs hormonaux, antigènes de surfaces, transduction de signaux...) et certaines réactions métaboliques spécifiques. Au sein d'une même cellule, il n'est donc pas surprenant de rencontrer différents types de membranes avec une composition lipidique et protéique spécifique qui va déterminer leurs fonctions respectives.

2.2.-Composition et structure des membranes

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

2.2.1.-Diversités des lipides membranaires

Au sein de la membrane les lipides sont présents sous différentes formes (les phospholipides, les glycolipides et le cholestérol). Les lipides sont principalement des phospholipides (Bicouche), du cholestérol, des glycolipides, les protéines sont nombreuses et très diversifiées. et ont des fonctions extrêmement variées (transporteurs, enzymes, perméases, récepteurs, Antigènes,....., Le cholestérol représente 15 à 50 % de lipides (situé entre les molécules de la bicouche et assure la stabilité de la membrane, augmente la résistance à la membrane, diminuer la fluidité)

2.2.1.1. Les phospholipides : Les phospholipides (fig 2) présentent tous une tête phosphorylée hydrophile (phosphate et groupement spécialisé) et une queue hydrophobe formée de deux chaînes aliphatiques d'acides gras saturés ou non et de glycérol (molécules amphipathiques). (glycérol et acides gras). Ils sont prépondérants dans les membranes biologiques.

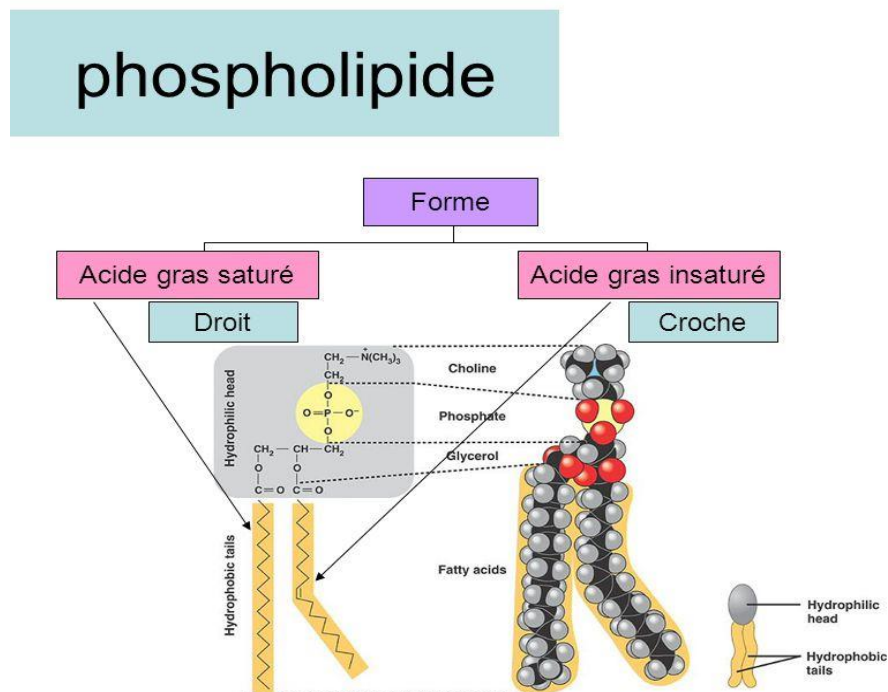


Figure2 : Représentation schématique d'un phospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique.

On distingue deux types de phospholipides :

2.2.1.1.1 Les **glycérophospholipides** correspondent à l'association de glycérol, de deux acides gras, d'un acide phosphorique et d'alcools ou d'acides aminés. Les alcools ou les acides aminés donnent l'identité et la caractéristique du glycérophospholipides. Parmi les acides aminés on trouve la sérine et parmi les alcools on trouve l'inositol, l'éthanolamine et la choline ; on obtient ainsi la phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-inositol, la phosphatidyl-éthanolamine et la phosphatidyl-choline.



Glycérophospholipides et sphingolipides

Les glycérophospholipides : des lipides amphiphiles

Les glycérophospholipides : Constituants de base des membranes biologiques

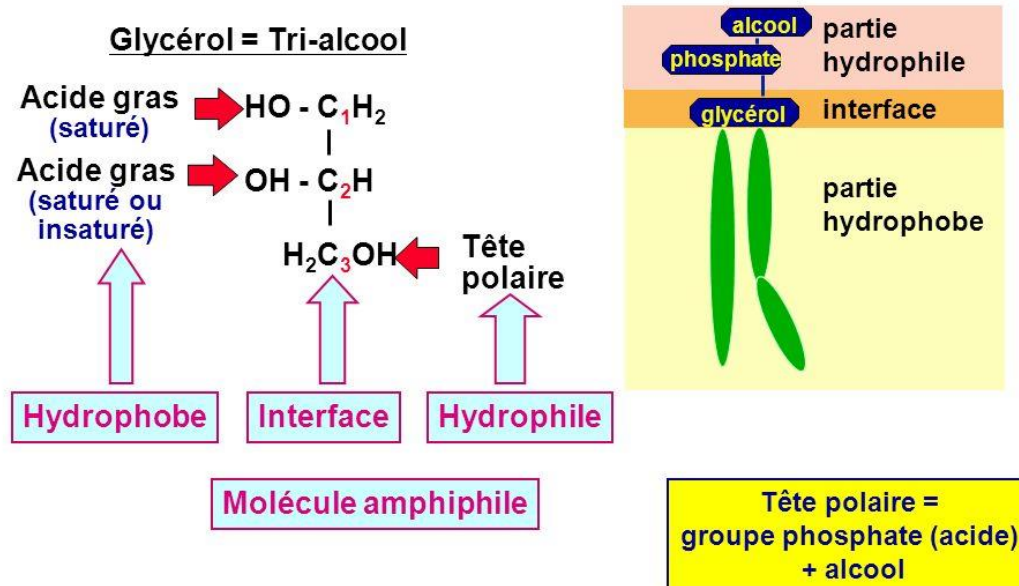
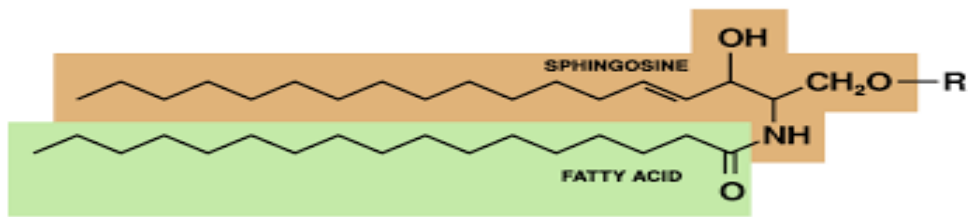


Figure3 : Représentation schématique d'un glycérophospholipide à l'intérieur d'une bicouche lipidique.

2.2.1.1.2.-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).



Sphingophospholipide

2.2.1.2.-Glycolipides: Les glycolipides sont de deux types, on trouve les **glycéroglycolipides** et les **sphingoglycolipides**. Il est intéressant de préciser que les glycolipides des membranes des érythrocytes (globules-rouges), définissent le groupe sanguin de l'individu.

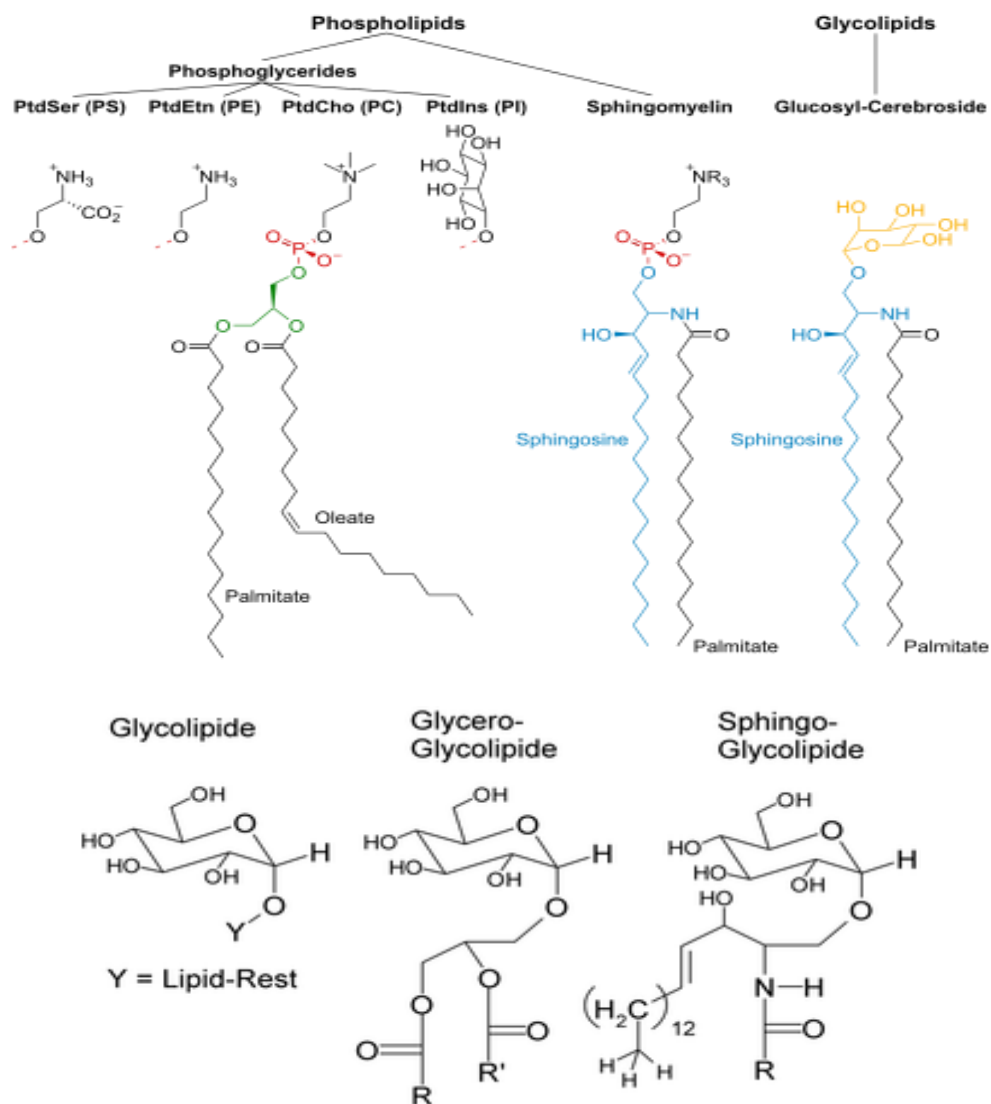
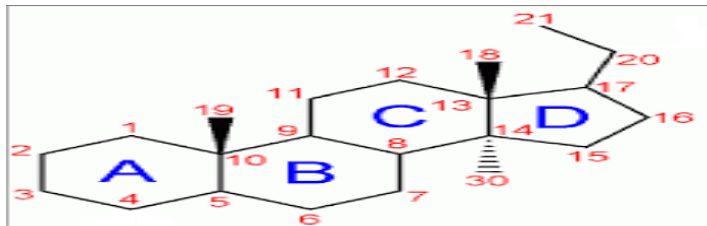


Figure4: Représentation schématique des phospholipides et de glycolipides

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



Cholestérol

2.2.2.-Diversités des protéines membranaires

Les protéines membranaires ont des rôles bien spécifiques au sein de la double couche phospholipidique : récepteurs, transporteurs, adhérence cellulaire, catalyse enzymatique, messagers intracellulaires, etc. Chaque protéine possède une extrémité N-terminale et une extrémité C-terminale. Les protéines sont ancrées de différentes manières dans la membrane.

2.2.2.1.-Les protéines extrinsèques

Les protéines extrinsèques sont localisées en dehors de la bicouche phospholipidique et sont ainsi soit entièrement intracellulaire, soit entièrement extracellulaire. Elles interagissent avec la membrane, par des liaisons électrostatiques de types liaisons hydrogènes et liaisons de Van der Waals, au niveau de domaines caractéristiques de protéines transmembranaires ou de lipides. Ces interactions étant faibles, elles sont rompues facilement par des variations de forces ioniques et de pH.

2.2.2.2.- Les protéines ancrées dans des acides gras

Les protéines périphériques ancrées dans les lipides sont de deux types :

Ancrées sur les **glyco-phosphatidyl-inositol (GPI)** qui correspondent à l'association d'une phospho-éthanol-amine sur des sucres, eux-mêmes ancrés sur un phosphatidyl-inositol. Ces protéines sont présentes sur la face extracellulaire de la membrane.

Ancrées à la membrane par l'intermédiaire d'acide gras (acide palmitique et acide myristique). Ces protéines sont présentes sur la face intracellulaire de la membrane.

2.2.2.3.-Les protéines transmembranaires (intrinsèques)

Les protéines transmembranaires traversent les deux feuillettes de la membrane. Ces protéines sont liées de manière stable à la membrane avec l'environnement

hydrophobe de la face interne de la membrane, par les acides aminés apolaires de leurs hélices α . Elles ne peuvent ainsi être séparées de la double couche phospholipidique (et donc étudiées) que par l'action de détergents.

Les protéines membranaires sont soit intégrées dans la bicouche lipidique (protéines membranaires intégrales ou transmembranaires), soit associées à l'une des faces de la bicouche lipidique (protéines dites périphériques).

Fonction: Passage sélectif des substances par transport membranaires, les membranes biologiques assure les échanges et contrôle entrée et sortie des substances dans les cellules et ses compartiments, aussi entre les cellules dans le même tissu.

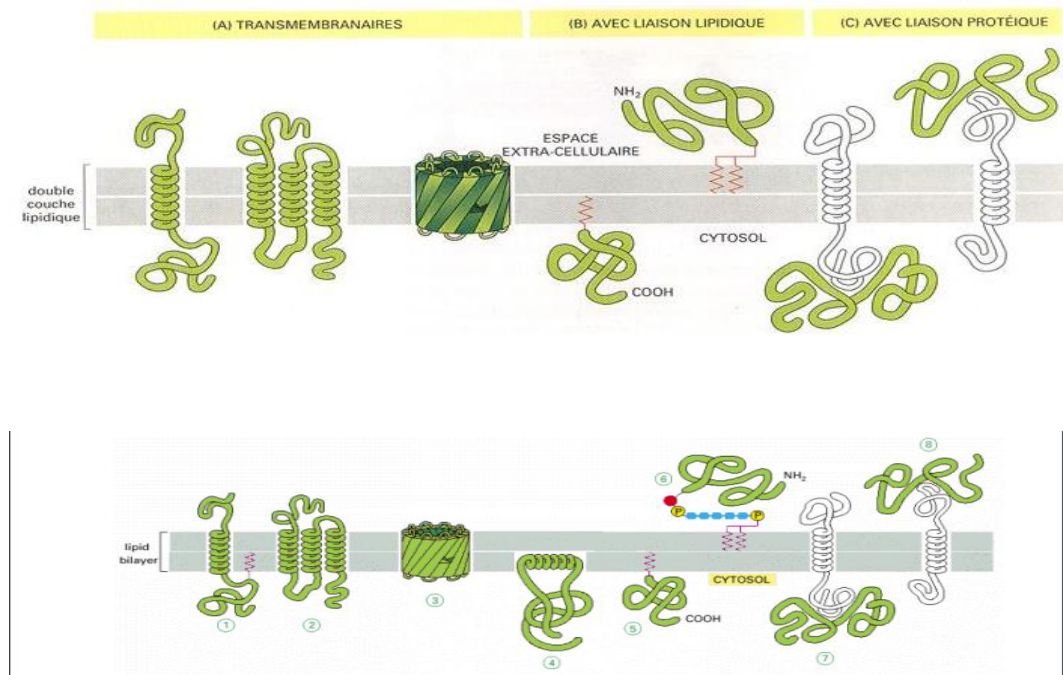


Figure 5: Représentation schématique des protéines membranaires

Légendes de différentes protéines transmembranaires (ancrées ou non par un acide gras à la membrane)

- 1- traverse la double couche sous la forme d'une hélice alpha.
- 2- traverse la double couche sous la forme d'hélice alpha multiple.
- 3- traverse la double couche sous la forme tonneau de feuillets beta.
- Protéines associées à un seul côté de la membrane
- 4- ancrée par une hélice amphiphile.
- 5- liaison covalente avec un acide gras (cytoplasmique).
- 6- liaison covalente avec le glycosyl-phosphatidyl-inositol, GPI
- 7, 8- interaction non covalente avec d'autres protéines membranaires.

2.2.3.-Diversités des glucides membranaires

La grande majorité des glucides membranaires sont sous forme de glycoprotéines et une petite partie sous forme de glycolipides. Au niveau de la membrane les glucides n'existent pas à l'état libre, ils sont liés à des protéines, par des

liaisons N-glycosidiques (le plus souvent) et des liaisons O-glycosidiques, sous forme de petites glycoprotéines ou de protéoglycanes.

Les glycoprotéines contiennent des polysaccharides courts, souvent ramifiés et n'excédant pas 50% du poids moléculaire de la glycoprotéine. 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 à l'infini, 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**.

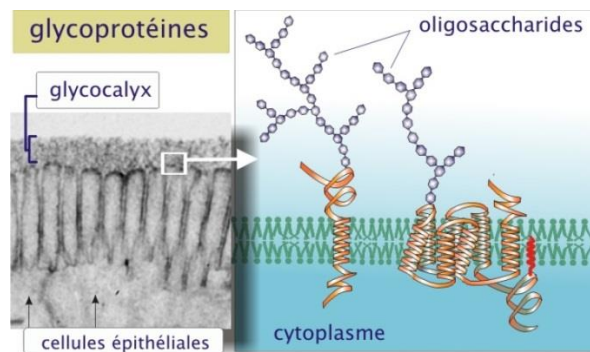


Figure : Représentation schématique glucides membranaires

2.3. Architecture biomoléculaire des membranes

Singer et **Nicholson** ont proposé en **1971-1972** un modèle d'architecture moléculaire définissant la membrane comme une **mosaïque fluide** et asymétrique.

Les composants sont organisés selon le modèle de « la bicouche lipidique fluide » Des protéines intrinsèques (intégrales) (++) des domaines hydrophobes ancrage par les lipides, Des protéines extrinsèques (périphériques) (++) des domaines hydrophiles). Les protéines peuvent se déplacer (diffusion latérale) mais pas d'un feuillet à l'autre,

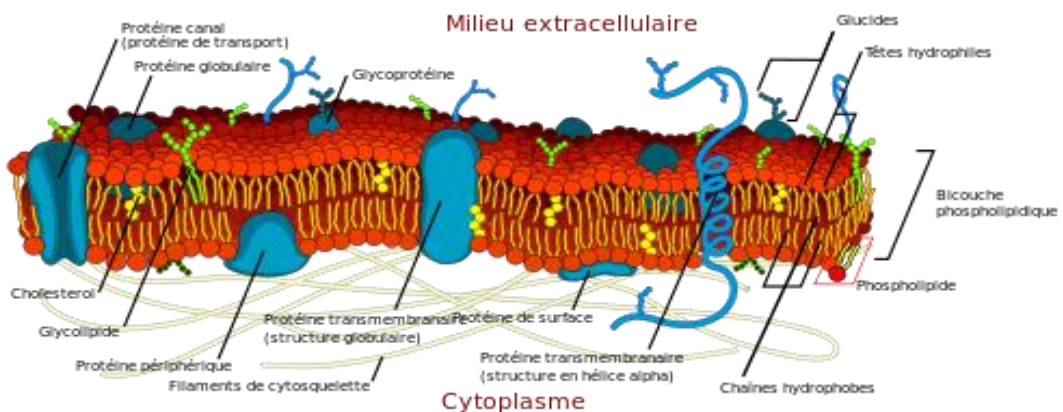


Figure7 : Architecture et composition d'une membrane plasmique

2.3.1.-Les caractéristiques du modèle en mosaïque

1. La membrane est mosaïque : C'est une mosaïque car elle est constituée de la juxtaposition d'éléments différents : deux couches de lipides dans lesquelles s'insèrent des protéines globulaires.

2. La membrane est fluide : Ce sont des structures quasi fluides dans lesquelles les lipides et les protéines intégrées sont capables de mouvements de translation à l'intérieur de la couche bilamellaire entière.

- Facteurs conditionnant la fluidité de la MP :

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

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

Le feuillet interne est caractérisé par les **phosphatidyl-sérine (amphotère) et phosphatidyléthanolamine (charge négative)**.

Le feuillet externe est caractérisé par la **sphingomyéline (charge négative) et la phosphatidylcholine (charge négative)**.

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

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique.

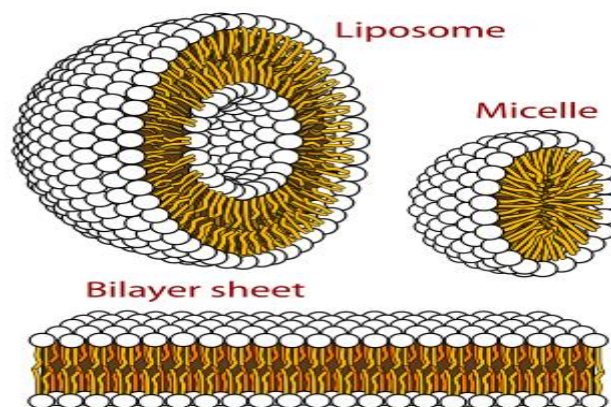
2.3.2.-Propriétés des membranes

a- Auto-assemblage des lipides

Les phospholipides, dus à leurs propriétés physico-chimiques, s'assemblent de manière automatique en différentes sortes de structures suivant l'environnement :

Les monocouches sont des couches mono-moléculaires dont les têtes hydrophiles sont dirigées vers le milieu aqueux et les queues hydrophobes vers le milieu lipidiques.

Propriétés d'autofermeture : Les doubles couches ont tendance à se refermer sur elles-mêmes pour former des micelles ou des liposomes. Les micelles sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse). Les bicouches phospholipidiques permettent la formation de vésicules sphériques appelées liposomes. Les bicouches phospholipides rentrent dans la formation des bicouches membranaires. Pour information, les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses.



b- Asymétrie membranaire

Toutes les membranes biologiques sont constituées de feuillet dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente dans l'un ou l'autre des feuillets, pouvant basculer facilement de l'un à l'autre.

Le feuillet interne est caractérisé par les phosphatidyl-sérine (amphotère) et phosphatidyl-éthanol-amine (charge négative).

Le feuillet externe est caractérisé par la sphingomyéline (charge négative) et la phosphatidyl-choline (charge négative).

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

La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides, en effet tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique. Pour les organites intracellulaires les sucres sont dirigés vers la lumière de l'organite. « L'arbre glucidique » présent au niveau du feuillet externe de la membrane plasmique forme ce que l'on appelle le **glycocalyx**.

Un des rôles du **glycocalyx** : Renforcement de la membrane : • Chez les animaux, les glucides forment un feutrage souple appelé **glycocalyx**. Chez la plupart des autres cellules vivantes, les glucides forment une paroi résistante et indéformable autour de la cellule : la cellulose chez les végétaux, muréine chez les bactéries, qui assure la solidité de la membrane

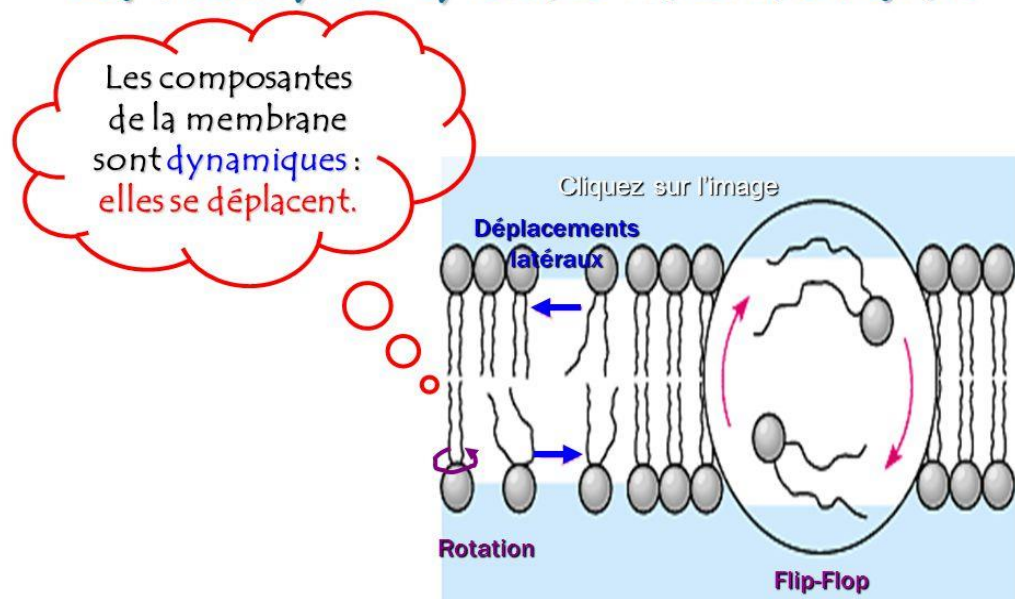
c- Fluidité membranaire

La technique de résonance magnétique nucléaire (RMN) a montré que les lipides membranaires sont animés de mouvements permanents et rapides.

La mobilité des lipides est nécessaire pour l'activité cellulaire. Ils peuvent se mouvoir de différentes manières au sein de la membrane : rotation, diffusion latérale et flip flop (passage d'un feuillet à l'autre).

- Diffusion latérale : Les molécules de phospholipides changent facilement de place avec leurs voisins à l'intérieur d'une monocouche (La diffusion latérale dans le plan du feuillet lipidique avec une vitesse élevée (un lipide peut changer de place avec son voisin 7×100000000 /seconde)
- Rotation : le phospholipide tourne autour de son axe (fréquent)
- Bascule ou flip-flop : C'est un mouvement rare au moins une fois par mois (moins d'une fois par semaine) il permet au phospholipide de passer d'une monocouche à une autre, (phénomène de Flip-flop des lipides grâce à une protéine spécialisée ou flippase et consomme de l'énergie) le cholestérol passe facilement d'un feuillet à l'autre.

La fluidité d'une membrane

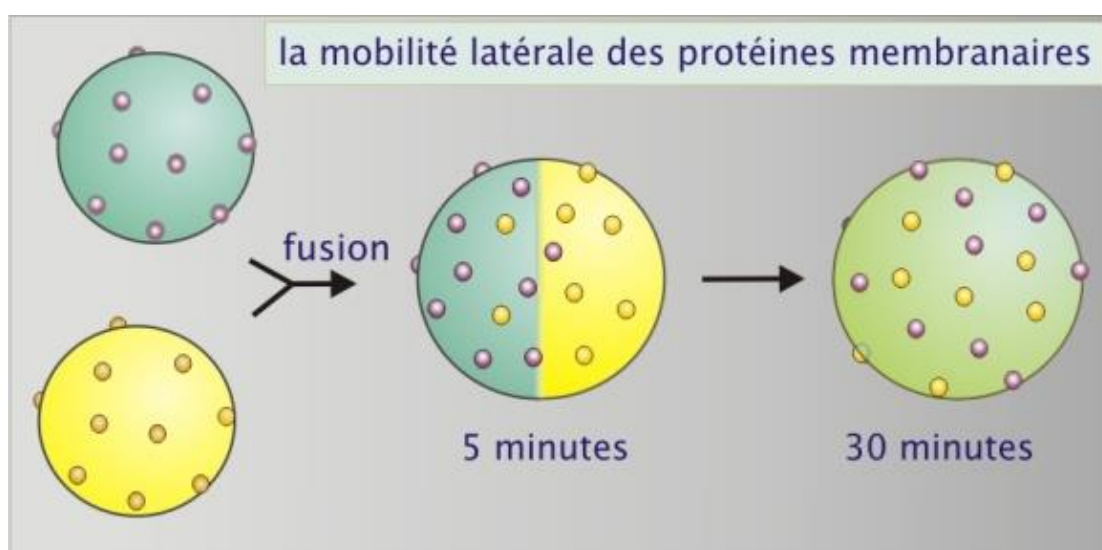


Module 1 – Biologie cellulaire et Transport membranaire

C : Fig. 8.4

Mouvements des protéines intrinsèques :

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



Certaines protéines vont être bloquées par des structures intracellulaires ou extracellulaires par des interactions protéines-protéines ou interactions avec le cytosquelette. 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 (une augmentation de la température entraîne la fluidification de la membrane) et des facteurs internes :

- 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 : Le cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane.
- Le nombre de protéines : Les protéines diminuent la fluidité membranaire.

2.3.3.-Fonctions des membranes (rôle de la membrane plasmique)

- La membrane cytoplasmique sépare l'intérieur de la cellule du milieu extracellulaire tout en maintenant des communications et des échanges avec celui-ci.

- Grâce aux lipides insolubles, la membrane permet l'intégrité du compartiment cellulaire. La cellule ne se défait pas dans son milieu liquide.
- -Elle assure la reconnaissance de signaux et molécules provenant du milieu extracellulaire, grâce aux récepteurs moléculaires spécifiques qu'elle contient. Grâce aux sucres de surface (antigènes spécifiques à chaque individu), la membrane permet aux cellules de se reconnaître entre elles et de s'agréger en tissus et aussi de rejeter les cellules étrangères (immunité).
- -Elle permet ou non le passage des ions et des molécules et elle contrôle les flux entrants et/ou sortants. Ces passages à travers la membrane cytoplasmique se font, en fonction des produits, par diffusions ou par des transports actifs nécessitant de l'énergie. (Grâce aux protéines, la membrane contrôle les échanges cellulaires (perméabilité sélective). Elle choisit les substances qui traversent dans un sens ou l'autre).

2.4. Les échanges membranaires

La membrane est hydrophobe et constitue donc une barrière aux substances hydrosolubles. Néanmoins, certaines molécules peuvent pénétrer dans la cellule. On peut distinguer plusieurs types de transports membranaires.

Parmi les protéines membranaires, seule une protéine transmembranaire peut transporter des molécules à travers la membrane. Les protéines membranaires peuvent constituer alors au travers de la bicouche autant de voies de passage aux solutés électrolytiques. Certaines de ces protéines seront dotées de propriétés de perméabilité sélectives. On distingue celles qui assurent directement le transport passif des ions/ glucose (les protéines-canaux), celles qui modulent ce transport (les récepteurs liés aux protéines G) et celles qui assurent le transport actif des ions à contre-courant de leurs flux de diffusion ou flux passifs.

2.4.1.-Transport passif : (dans le sens de gradient de concentration)

1. par diffusion physique (simple) (liposolubles, partie d'eau)
2. Par diffusion accélérée (petites molécules polaires, canaux ionique par les protéines mb)
3. Par diffusion par facilitée (passage de glucose par les perméases). Les perméases peuvent transporter deux substances différentes Co transport (- unidirectionnel symport – bidirectionnel antiport)

a) La Diffusion Simple: Elle ne concerne que les molécules liposolubles (hydrophobe) et les petites molécules polaires non chargées (eau, gaz respiratoires, NH, stéroïdes, vit ADEK, urée, glycérol...) qui peuvent traverser directement la double couche phospholipidique.

b) La Diffusion Facilitée: La diffusion facilitée intéresse les ions et les molécules polaires non chargées, et donc incapable de traverser la membrane phospholipidique (comme la molécule de glucose...). Ce transport ne nécessite pas d'énergie, car il respecte le gradient de concentration. La diffusion facilitée est plus rapide et plus

efficaces que la diffusion simple. Elle utilise obligatoirement des protéines structurales telles :

1- Les protéines-canaux présentent une structure tridimensionnelle qui délimite un pore aqueux au travers duquel passent sélectivement certains ions. Elles sont aussi appelées **canaux ioniques (Fig. 1)**.

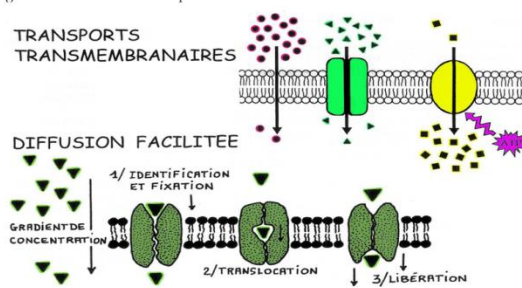


Figure 1: transport passif et par facilitée

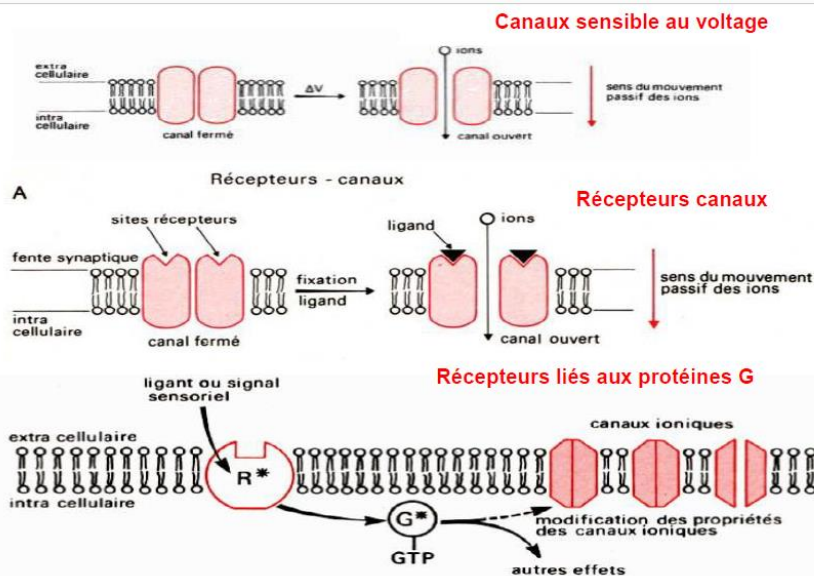


Figure 2.- Régulation des canaux ioniques. L'ouverture et la fermeture de protéines canaux sont sous l'influence d'une variation du potentiel, de fixation d'un ligand ou sont modulées par un 2nd messager.

Ces protéines existent sous différents états : des états où **le port aqueux est fermé** et des états où **le port aqueux est ouvert**. Leur ouverture (passage d'un état fermé à un état ouvert) est étroitement régulée (Fig. 2) :

- soit par un changement de potentiel membranaire : **canaux sensibles au voltage**.
- soit par la fixation d'un ligand extracellulaire : **récepteurs-canaux**.
- soit par un stimulus mécanique : **canaux mécano-sensibles**.
- soit par l'augmentation de la concentration d'un ligand intracellulaire : **canaux sensibles à un ligand intracellulaire**.

2- Les canaux ioniques régulés par des protéines réceptrices liées aux protéines G (ligand intracellulaire) sont des protéines dont la structure tridimensionnelle ne délimite pas de pore aqueux. Elles ont pour rôle de moduler l'ouverture de canaux ionique (Fig.2).

Ce type de transport peut être décrit par une séquence cinétique en 4 étapes: liaison, transport, dissociation, retour à l'état initial. Les étapes 1 et 3 sont similaires à la reconnaissance d'un substrat et à la libération du produit par une enzyme. On donne différent nom au transporteur (Fig. 3):

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

Symport: transporte 2 molécules simultanément dans le même sens (co-transport).

Antiport: transporte 2 molécules simultanément en sens opposés (co-transport).

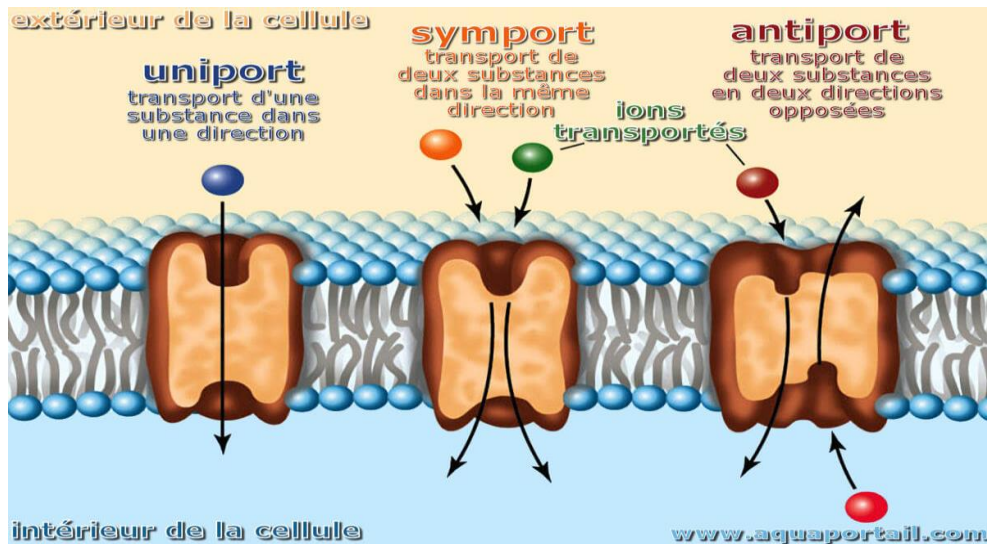


Figure 3: Différents types du transports selon le nombre du soluté transporté.

3- Les perméases sont des transporteurs spécifiques pour les molécules polaires non chargées comme les sucres et les acides et les ac. aminés. Ces transporteurs assurent alors un passage passif dans le sens de gradient de soluté à transporter. La protéine perméase se lie à la molécule à transporter du côté plus concentré et subit ensuite un changement de conformation, ce qui conduit à la libération de ce soluté dans le côté le moins concentré (cas perméase de Glu Fig. 4).

Transport passif ... en bref

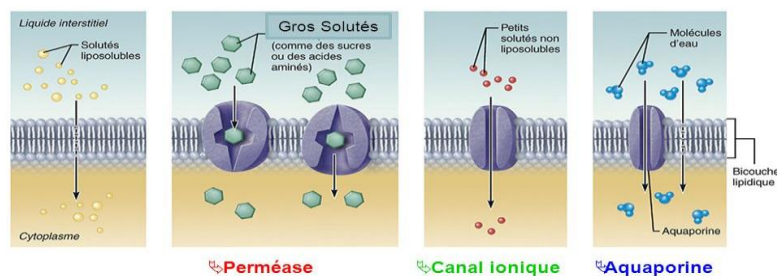


Figure 4: Structure générale des canaux et des perméases. Les protéines porteuses changent leur conformation d'un état fermé à un état ouvert en fonction du gradient de concentration du soluté à transporter

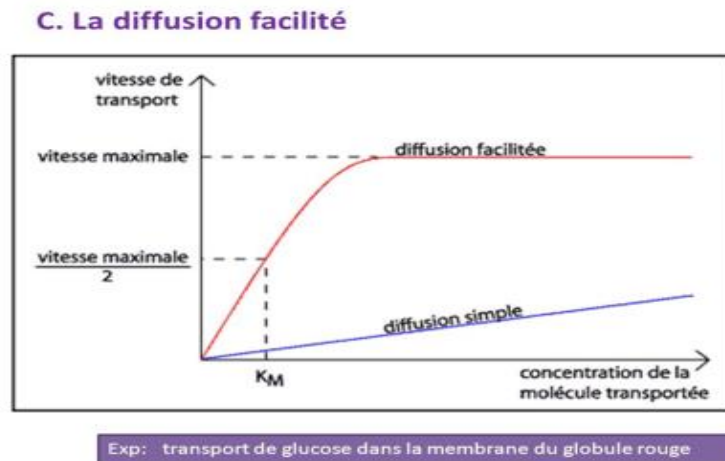


Figure 5: Différence de vitesse entre les différents types de transports de glucose

2.4.2-. Transport actif

Le transport actif consomme l'énergie afin de s'opposer au gradient électrochimique des ions transportés. Les pompes qui assurent ces transports actifs à contre-courant des gradients électrochimiques trouvent leur énergie dans l'hydrolyse de l'ATP (Transport actif primaire). Elles possèdent en effet une activité ATP hydrolase (ATPase). Seuls les ions tels que le Na⁺, le Ca⁺⁺, K⁺, H⁺ sont transportés avec consommation d'ATP contre leur gradient de concentration. Comme (Fig 6):

La pompe Na⁺-K⁺ ATPase : C'est une protéine transmembranaire enzymatique comportant 3 sites : un site de liaison pour le sodium, un 2^{ème} site de liaison pour le potassium et un 3^{ème} site de phosphorylation (ATP). Le sodium se fixe, ce qui déclenche la phosphorylation de la protéine grâce à son activité ATPasique. Cela induit un changement de conformation ce qui permet la sortie de Na⁺. Puis le potassium vient se fixer ce qui déclenche la déphosphorylation de la protéine ce qui provoque le retour de la protéine à sa conformation initiale et permet le passage du potassium à l'intérieur de la cellule. Au final, il y a échangé activement 3ions Na⁺ vers extérieur contre 2 ions K⁺ vers intérieur de la cellule. Ces deux ions migrent tous les deux contre leur gradient de concentration.

H⁺, K⁺-ATPase : Est appelée pompe à protons. Elle est présente dans les cellules pariétales de l'estomac et fonctionne comme un antiport, où elle expulse l'ion de H⁺ à l'extérieur de la cellule envers la cavité gastrique et fait passer un ion K⁺ à l'intérieur de cette cellule. Ce qui favorise la formation de l'acide hydro-chlorure HCl en présence des ions de Cl⁻ qui s'expulse passivement dans la cavité, provenant du sang à travers des échangeurs Cl⁻/ HCO₃⁻ exprimés sur la membrane basale.

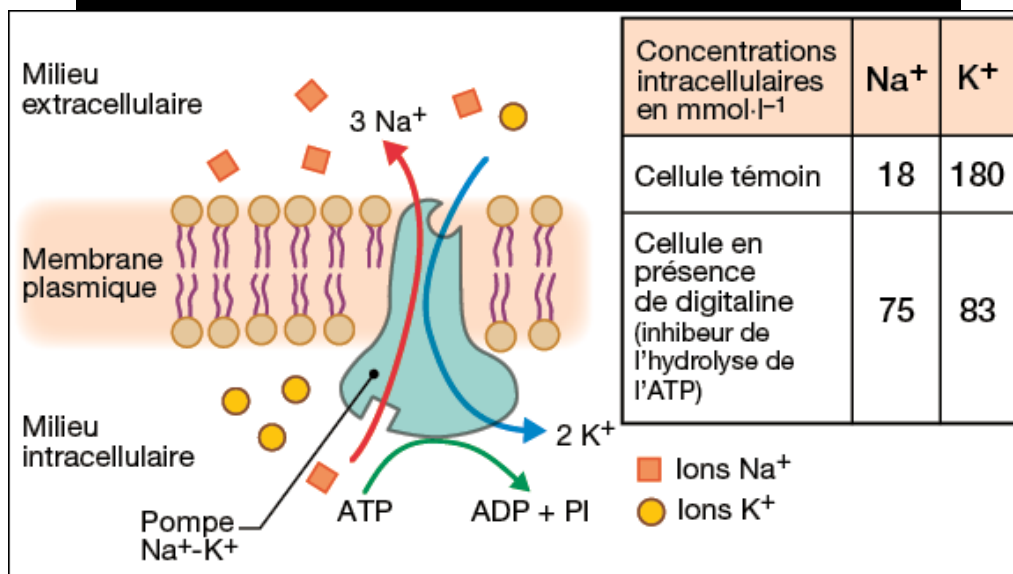
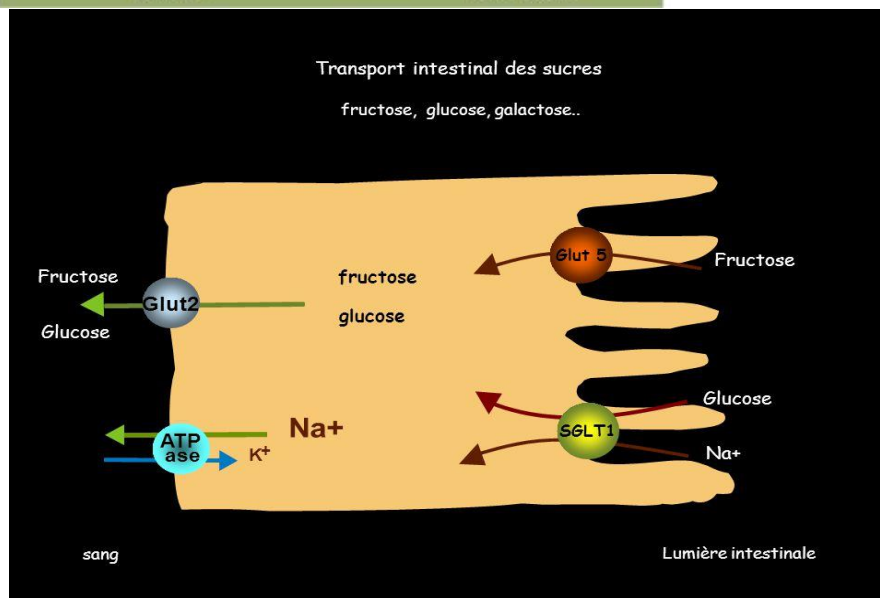
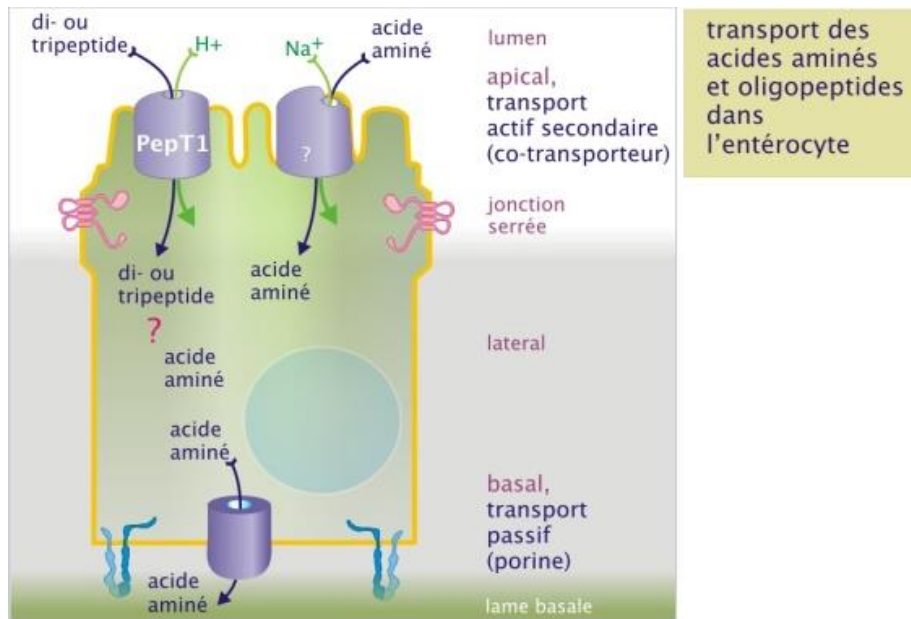
Ca²⁺-ATPases : Présente dans toutes les cellules car elle maintient le taux de calcium intracellulaire très bas par rapport au taux extracellulaire. La concentration intracellulaire en ions Ca²⁺ est en effet maintenue 10 000 fois plus faible à l'intérieur qu'à l'extérieur simultanément avec l'entrée des ions calcium par les canaux voltage-sensibles et les récepteurs-canaux. Elle est présente à la fois dans la membrane plasmique pour contrôler donc la sortie de calcium et dans la membrane du REL de cellules musculaires squelettiques pour contrôler la rentrée de Ca⁺⁺ dans les citernes de REL. Elle fonctionne comme un transporteur uniport.

H⁺-ATPase : Présente sur les membranes des lysosomes et des endosomes (elles servent à acidifier le contenu de ces organites) et même dans les ostéoclastes.

Au cours le transport actif secondaire, deux substances ou plus interagissent simultanément avec le même transporteur et sont transférées dans le même sens (Co-transport-symport) le cas de l'échangeur Na⁺/ glucose ou en sens inverse (contre-transport -antiport) à travers la membrane comme l'échangeur Na⁺-Ca⁺⁺.

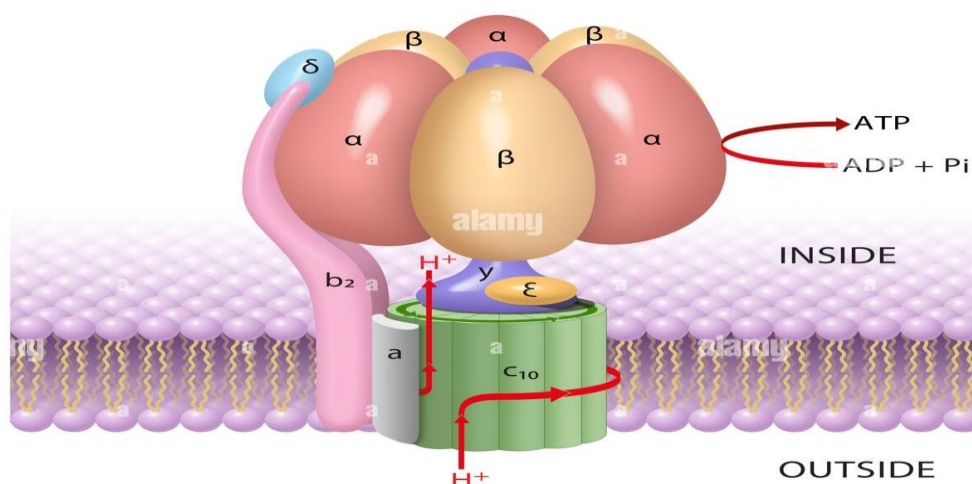
co-transporteur Na⁺/ glucose (Fig. 16): Dans la cellule intestinale, Une substance "diffuse" dans le sens de son gradient (le plus souvent le sodium) et fournit ainsi l'énergie par la dissipation de ce gradient et une autre substance est transférée "contre" son gradient (glucose, acides aminés). En effet, deux ions sodium entrent dans la cellule dans le sens du gradient et une molécule de glucose passe de la lumière intestinale dans le cytosol contre son gradient. La protéine échangeuse Na⁺/ glucose joue le rôle d'un symport. Bien entendu il faut considérer le fait que le gradient ionique qui permet ce transport est entretenu en continu par la pompe Na⁺/K⁺ ATPase.

L'échangeur Na⁺-Ca⁺⁺ : Cette protéine transporte activement le calcium excédentaire du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire en échange d'une entrée de sodium dans la cellule. Ce transport actif secondaire antiport est couplé des ions sodium et calcium tire son énergie, non plus de l'hydrolyse de l'ATP mais des gradients de concentrations chimiques de part et d'autre de la membrane plasmique pour chacune de ces 2 espèces ioniques.



Figures 6 : différents types des pompes

Structure of ATP synthase



alamy

Image ID: 2GPRRT
www.alamy.com

Fig 7 : Pomp ATP synthase

2.4.3.- Transport vésiculaire (en vrac)

Les cellules eucaryotes possèdent un réseau complexe de membranes intracellulaires qui communiquent entre eux grâce à des vésicules qui bourgeonnent d'un compartiment donneur et fusionnent avec un compartiment accepteur. Au cours de ces transports vectoriels ou le trafic membranaire, les grosses particules et les macromolécules traversent la membrane et ce mécanisme de transport est activé par l'ATP. Les deux principaux modes de transport vésiculaire sont l'exocytose et l'endocytose

La fusion membranaire entraîne la réunion de deux structures membranaires en une seule et le mélange du contenu des compartiments que délimitaient les deux structures membranaires. Au cours de l'exocytose, la membrane de la vésicule de sécrétion fusionne avec la membrane plasmique et libère son contenu dans le milieu extracellulaire.

L'exocytose («vers l'extérieur de la cellule») est un mécanisme qui assure le passage de produits cellulaires de l'intérieur de la cellule dans un sac membranaire ou **vésicule** à l'espace extracellulaire. Elle permet donc la sécrétion d'hormones, des médiateurs pro-inflammatoires, des cytokines et interleukines, la libération de neurotransmetteurs et des anticorps, la sécrétion de mucus et l'élimination des déchets. Ce mécanisme fait intervenir un processus d'«amarrage»; en effet, les protéines membranaires des vésicules reconnaissent certaines protéines présentes sur la membrane plasmique et se lient avec elles, ce qui stabilise la vésicule et rapproche assez les deux membranes pour leur permettre de se fusionner. L'exocytose permet de retourner les parties de membrane perdues lors de l'endocytose.

L'endocytose (« vers l'intérieur de la cellule ») permet à de grosses particules ou à des macromolécules d'entrer et de pénétrer dans la cellule par une invagination de la membrane plasmique (Figure 8). Lorsque la vésicule est formée, elle se détache de la membrane plasmique et entre dans le cytoplasme, où son contenu est ensuite digéré.

On connaît trois formes d'endocytose : la phagocytose (solides), la pinocytose (liquides), et l'endocytose par récepteurs interposés déclenchée par des molécules se fixant spécifiquement sur des récepteurs. Les vésicules fusionnent souvent avec d'autres vésicules contenant des enzymes digestives.

Lors de la phagocytose («action de manger d'une cellule, (phagein = manger)»), des portions de la membrane plasmique et du cytoplasme s'étendent pour entourer un objet relativement gros ou solide, tel un amas de bactéries ou de débris cellulaires, des polluants ou encore des allergènes, et l'englobent. Il est nécessaire qu'il y ait interaction entre la surface du matériel qui va être englobé et la surface de la cellule grâce aux molécules de reconnaissance exprimées sur les deux. La vésicule ainsi formée est appelée phagosome («corps mangé»). Dans la plupart des cas, le phagosome fusionne avec un lysosome, soit une structure cellulaire spécialisée contenant des enzymes digestives et la partie digestible de son contenu est hydrolysée (Figure 8).

Tout comme on peut dire que les cellules mangent, on peut également affirmer qu'elles boivent, et ce par le mécanisme appelé pinocytose (« action de boire de la cellule, (pinein = boire)»). Lors de la pinocytose, un petit repli de membrane plasmique englobe une gouttelette de liquide extracellulaire contenant des molécules dissoutes (Figure 8). La gouttelette entre dans la cellule à l'intérieur d'une minuscule vésicule pinocytaire. Contrairement à la phagocytose, la pinocytose est très commune chez la plupart des cellules. Elle revêt une importance toute particulière pour les cellules qui assurent l'absorption des nutriments, comme celles qui tapissent les intestins.

Contrairement à la phagocytose et à la pinocytose, qui sont des mécanismes d'ingestion non spécifiques, **l'endocytose par récepteurs interposés** est extrêmement sélective. Les récepteurs sont des protéines de la membrane plasmique qui ne se lient qu'à certaines substances. Les récepteurs et les substances qui y sont fixées entrent ensemble dans la cellule à l'intérieur d'une petite vésicule appelée vésicule tapissée, de clathrine, une couche protéique formant des poils raides sur la face cytoplasmique de la vésicule (Fig.8).

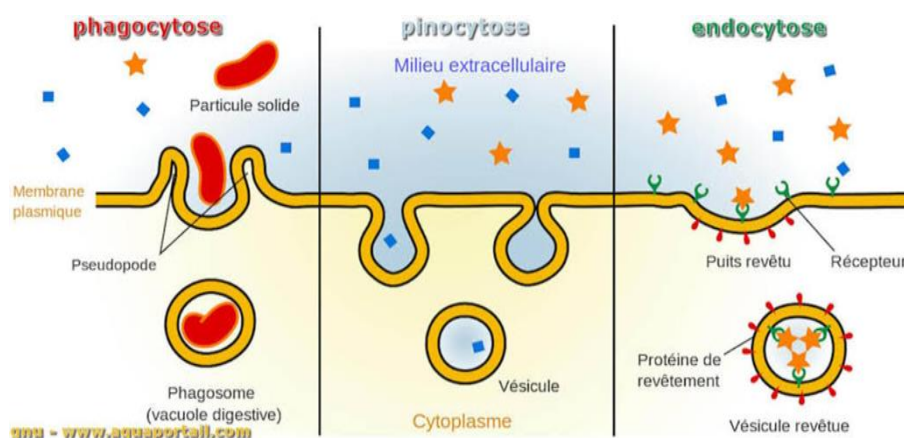


Figure8 : types d'endocytoses

2.5.-Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire

Dans leur majorité les cellules des animaux pluricellulaires sont organisées en ensembles coopératifs appelés tissus, qui s'associent à leur tour selon diverses combinaisons en unités fonctionnelles de plus grandes dimensions : les organes. Les cellules des tissus sont habituellement en contact avec un réseau complexe de macromolécules extracellulaires sécrétées : la matrice extracellulaire (MEC). Cette matrice aide à assurer la cohésion cellulaire et tissulaire et constitue une trame structurée à l'intérieur de laquelle les cellules peuvent migrer et interagir les unes avec les autres. Les cellules d'un tissu sont également maintenues en place par l'adhérence directe des cellules entre elles. Toutes ces interactions sont dues à des protéines membranaires spécialisées : les molécules d'adhérence. Elles jouent un rôle très important à la fois dans le développement et l'intégrité anatomique des tissus.

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

Au cours du développement, l'architecture de chaque tissu et de chaque organe résulte d'un programme d'interactions intercellulaires et entre la cellule et la matrice. Les protéines membranaires de cellules adjacentes peuvent être reliées entre elles et former ainsi divers types de jonctions intercellulaires. Ces dernières sont des domaines membranaires spéciaux pour assurer l'adhérence entre cellules ou l'adhérence entre la cellule et la matrice extracellulaire. Sur le versant cytoplasmique, la plupart de ces jonctions sont ancrées aux filaments du cytosquelette à l'intermédiaire d'un amas protéique s'appelle le bouton ou la plaque protéique. D'une part, les molécules d'adhérence assurent ainsi soit une cohésion mécanique fermée, c'est le cas des jonctions serrées, intermédiaires, des desmosomes et héli desmosomes. D'autre part, certaines protéines d'adhésion forment des sites de liaison transitoires qui guident la reconnaissance et la migration des cellules.

2.5.1.-Définition : Les protéines d'adhésion cellulaire (ou **CAM**, acronyme de l'anglais cell adhesion molecule, signifiant « molécule d'adhésion cellulaire ») sont des protéines intervenant dans les mécanismes de liaison cellulaire. Elles font partie de la superfamille des immunoglobulines.

Elles possèdent un domaine cytosolique (intracellulaire), un domaine transmembranaire et un domaine extracellulaire constitué de domaine C2 (constant) répétitifs reliés entre eux par des ponts disulfures. L'extrémité N-terminale située en extracellulaire, lie les protéoglycanes et les intégrines.

Presque toutes les cellules de notre organisme comportent des milliers de molécules d'adhérence cellulaire (CAM). Ces molécules jouent un rôle essentiel au cours du développement embryonnaire et de la cicatrisation (lorsque la mobilité cellulaire revêt une grande importance) ainsi que dans l'immunité. Ces glycoprotéines collantes (cadhérines, intégrines et autres) permettent aux cellules de se fixer à des molécules

présentes dans le liquide interstitiel et les unes aux autres, facilitent la migration cellulaire et dirigent les globules blancs vers une région infectée ou blessée (le fait de selectines).

2.5.2.-Fonction : Adhésion cellule- cellule (leucocytes-Cellules endothéliales), Adhésion Cellule-tissu (leucocytes- tissu conjonctifs), Adhésion, Neurones-fibres musculaires

2.5.3.-Classification

Les molécules d'adhésion ont été regroupées, en fonction de leur structure, en quatre grandes familles :

2.5.3.1. La superfamille des immunoglobulines

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

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

2.5.3.2. Les sélectines

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

L- sélectine: tous les Leucocytes circulants ;

P- sélectine: Plaquettes et cellules endothéliales ;

E- sélectine: cellules Endothéliales activées ;

2.5.3.3. Les intégrines

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

2.5.3.4. Les cadhérines

Ces molécules d'adhésion qui interviennent de manière prépondérante dans les jonctions cellulaires, sont de type calcium dépendantes. En effet, la présence de

calcium est indispensable au maintien de l'intégrité structurale et fonctionnelle de ces molécules.

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

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

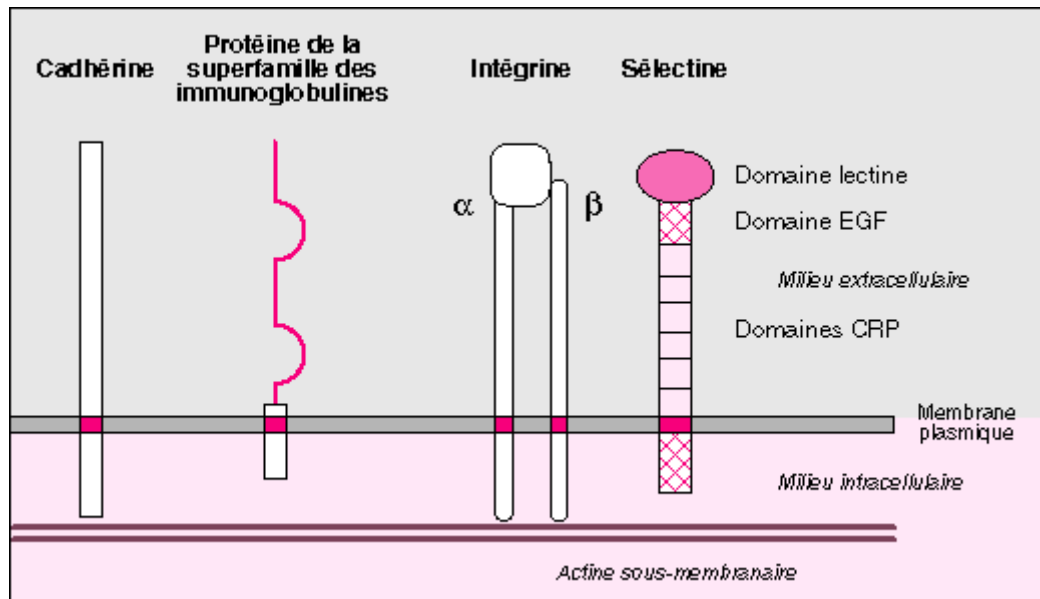


Figure 9: Les molécules d'adhésion

Il existe trois types de **jonctions cellulaires** selon leur rôle, leur localisation et leur aspect ultrastructural révélé par la microscopie électronique :

Les jonctions communicantes

Les jonctions communicantes (gap junctions) permettent le passage d'ions et de petites molécules d'une cellule à l'autre. En effet dans ces zones de contact de quelques centaines de nm de diamètre, les membranes plasmiques des cellules adjacentes sont séparées par un espace de 2 à 3nm traversé par des doublets de connexons (=hexamère de connexines, protéines transmembranaires) formant de minuscules pores.

Les jonctions d'ancrage

Les jonctions d'ancrage (adherent junctions) sont habituelles et elles assurent la cohésion mécanique en présentant des points d'ancrage pour le cytosquelette de chaque cellule.

Les jonctions serrées

Les jonctions serrées ou jonctions étanches (*tight junctions* ou *zonula occludens*) : les membranes plasmiques des cellules d'un épithélium cylindrique sont localement étroitement accolées, formant une bande périphérique à la limite de la face apicale et de leurs faces latérales grâce à un réseau serré de petites protéines transmembranaires.

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

2.6.1.- Expression d'antigènes

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

L'espèce humaine possède plusieurs systèmes de marqueurs antigéniques :

- Le système ABO (groupes sanguins) ;

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

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

- Les gènes de classe 1 codent pour les molécules de classes 1 du CMH. Les plus importants sont les gènes HLA-A, HLA-B et HLA-C qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes I du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD8.

- Les gènes de classe 2 codent pour les molécules de classes 2 du CMH. Les plus importantes sont les gènes HLA-DP, HLA-DQ et HLA-DR qui codent pour les molécules du même nom. Les molécules de classes II du CMH permettent la présentation du peptide antigénique aux lymphocytes T CD4.

- Les gènes de classe 3 codent pour des molécules n'intervenant pas dans la présentation de l'antigène.

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

- CMH de classe I, exprimées par la quasi-totalité des cellules nucléées des espèces vertébrées ;

- CMH de classe II, exprimées uniquement par quelques cellules spécialisées dans la présentation antigénique (lymphocytes, macrophages).

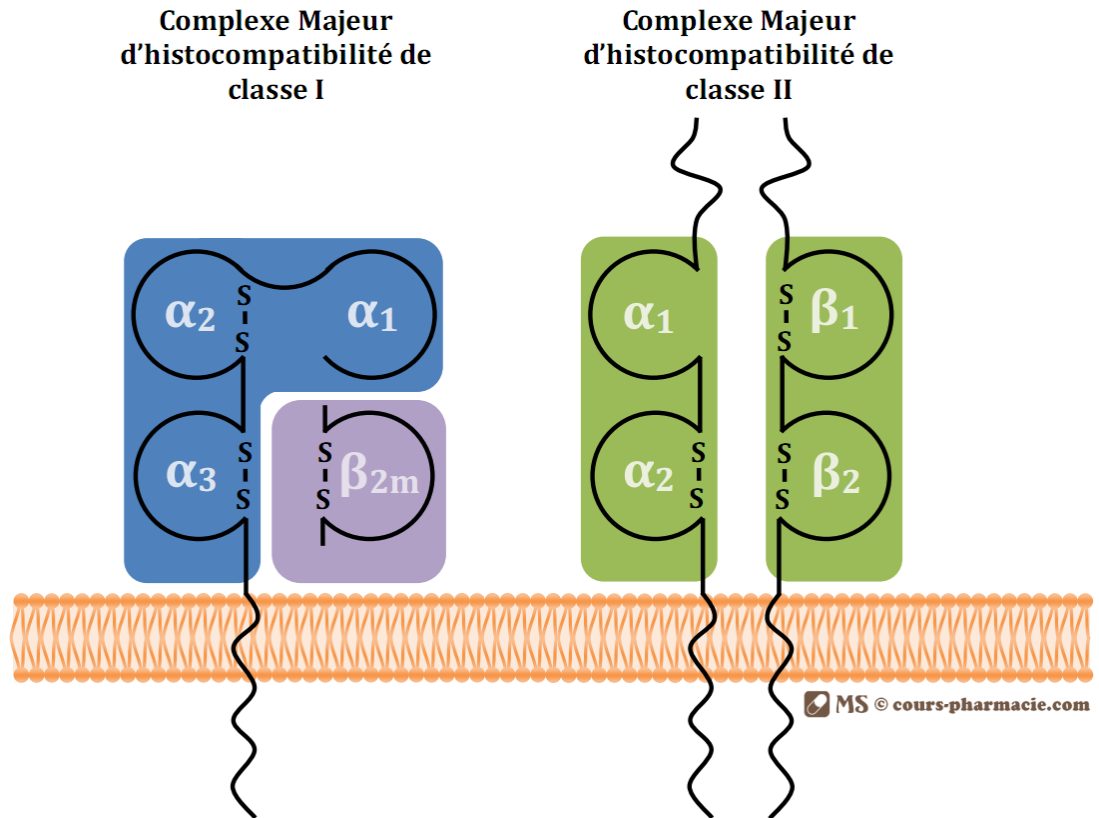


Figure 10: Structure des molécules CMH de classe I et de classe II

2.6.2.-Apprêtement des antigènes protéiques

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

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

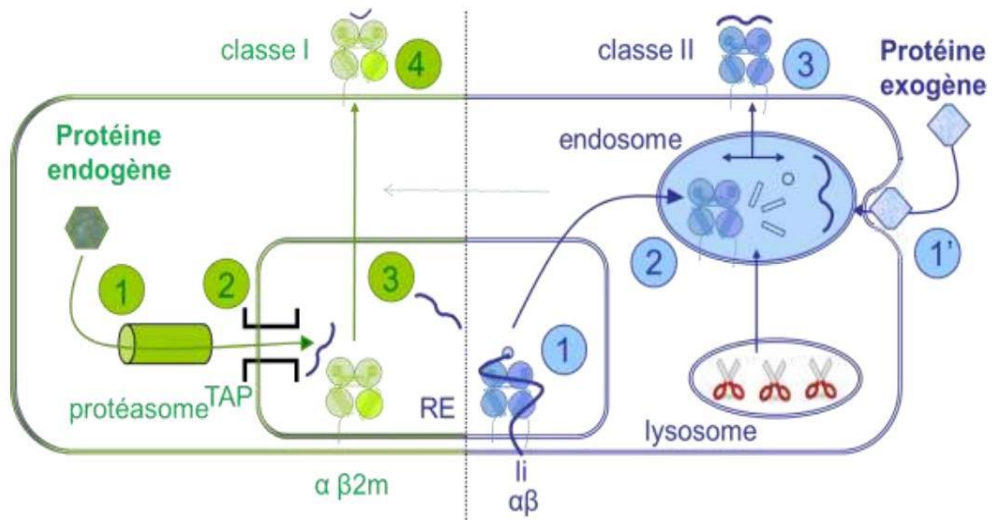


Figure 11. Formation des complexes CMH-peptides

2.6.3.-Marqueurs de virulence

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

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

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

2.6.4.-Récepteurs cellulaires

Un récepteur membranaire est capable de reconnaître et de fixer une substance spécifique extérieure à la cellule et porteuse d'une information ou d'un signal : hormone, neurotransmetteur, facteur de croissance, etc.

Ce faisant, il provoque des modifications chimiques à l'intérieur de la cellule, qui se traduit par une réponse spécifique. Dans la plupart des cas, ces récepteurs sont des protéines transmembranaires situées à la surface de la cellule cible. Lorsqu'ils fixent la molécule de signalisation extracellulaire (ou le ligand), ils s'activent et engendrent une cascade de signaux intracellulaires qui modifient le comportement de la cellule.



Figure 12: Schéma général de la signalisation intracellulaire

2.6.4.-Récepteurs membranaires

Les cellules d'un organisme, dans de nombreux cas elles réagissent à des substances chimiques extracellulaires telles que les hormones et les neurotransmetteurs qui sont transportés par les liquides de l'organisme. Les récepteurs membranaires constituent un groupe diversifié et extrêmement nombreux de glycoprotéines et de protéines intégrées jouant le rôle de sites de liaison. Certains de ces récepteurs transmettent des signaux de contact, d'autres des signaux chimiques et d'autres encore des signaux électriques. Ce signal extérieur peut provoquer un changement de conformation de la protéine et amorcer ainsi une suite de réactions chimiques à l'intérieur de la cellule.

2.6.4.1.-Définition d'un récepteur membranaire : est une protéine membranaire permettant la détection spécifique de molécules notamment des molécules de signalisation (hormones, facteurs de croissance, interleukines, etc.) et déclenchant une cascade de réaction biochimique de transduction de signaux faisant souvent appel à des protéines kinase ce qui aboutit à une modification des fonctions de la cellule en réponse au signal reçu.

Les récepteurs membranaires peuvent également servir à la fixation de molécules ou de complexes moléculaires en circulation dans le milieu extracellulaire en vue de leur absorption par la cellule, comme c'est le cas des lipoprotéines, structures chargées de transporter les graisses (hydrophobes) dans le sang, milieu aqueux.

2.6.4.2. Classes principales de récepteurs membranaires

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

- Les récepteurs couplés aux canaux ioniques
- Les récepteurs couplés aux protéines G
- Les récepteurs couplés aux enzymes

I. Récepteurs canaux (récepteurs ionotropiques); couplés à une activité d'un canal ionique.

II. Récepteurs à activité enzymatique (récepteurs métabotropiques) ; possédant une activité enzymatique intrinsèque (kinase, phosphatase ou cyclase) ou bien lorsqu'ils lient un ligand, ils développent en conséquence une activité enzymatique d'une protéine effectrice intracellulaire.

III. Récepteurs (à 7STM) couplés aux protéines-G qui sont monomériques et peuvent activer une protéine-G hétéro-trimérique (protéine liant GTP) pour réguler une série de protéines intracellulaires.

Enzymes membranaires

Quelques-unes des protéines enchâssées dans la membrane sont des enzymes dont le site actif est en contact avec les substances présentes dans la solution adjacente. Dans certains cas, plusieurs enzymes d'une même membrane travaillent de concert et catalysent les étapes successives d'une même voie métabolique. Exemple :

a) adénylate cyclase est une protéine enzymatique hydrophobe dont la structure révèle de nombreux passages transmembranaires. Elle synthétise l'AMP cyclique (second messenger) à partir de l'ATP, en présence de Mg^{++} et libère du pyrophosphate. Elle est activée par la fixation de la sous-unité α de la protéine G liée au GTP du côté cytoplasmique de la membrane (Fig. 26).

b) Les récepteurs à activité enzymatiques

b.1. récepteurs à activité guanylate cyclase sont majoritairement transmembranaires: intégrés dans la membrane plasmique. La fixation du médiateur externe (l'Atrial Natriuretic Peptide ; ANP) à l'extrémité extracellulaire va entraîner directement l'activation du domaine catalytique du récepteur-guanylate cyclase porté par l'extrémité intracellulaire, qui catalyse la transformation du guanosine triphosphate GTP en message actif: GMP cyclique.

b. 2. récepteurs à activité tyrosine kinases sont des molécules transmembranaires comportant un site récepteur sur la face extracellulaire et un site tyrosine kinase sur la face interne. Les deux parties sont reliées par un seul segment transmembranaire. Les récepteurs tyrosine kinase comportent aussi un site de phosphorylation. Leur site kinase est normalement inactif, pour être activé, leur résidu tyrosine doit d'abord être autophosphorylé. Le mécanisme d'activation de ces récepteurs est particulier, les ligands vont se fixer deux récepteurs qui vont être ainsi rapprochés et pouvoir se phosphoryler mutuellement. L'activité tyrosine kinase va alors pouvoir s'exercer sur leurs différentes molécules cibles. Par ailleurs, il s'agit d'autres récepteurs à activité serine thréonine kinases

c) enzymes à translocation membranaire : sont le plus souvent des enzymes cytosoliques, qui lorsqu'ont été activés, se déplacent le long du cytoplasme vers la membrane et s'associent avec les composés de sa couche intracellulaire telles les Phospholipases ($PLC\beta$ et $PLA2$); PI3 kinase, certains membres de la famille GTPase ...etc.

Le translocon, aussi appelé complexe de translocation, est un complexe de protéines (protéines Sec) responsable de la translocation de polypeptides au 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 (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 (complexe protéique trimérique appelé SecYEG) 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.

La protéine de translocation est un canal aqueux dans lequel la protéine hydrophile va passer. Elle est constituée d'un complexe multi protéique dont la protéine la plus important est Sec61P à 10 domaines transmembranaires qui délimite un port de 20 Å° (Angstrom) de diamètre.

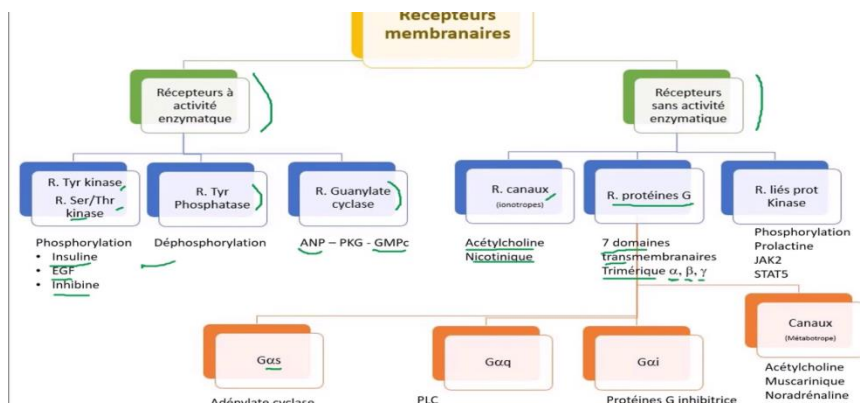


Figure13 : types de récepteurs membranaires

2.7. Récepteur, désensibilisation et régulation de la réponse cellulaire

2.7.1. Désensibilisation de la communication cellulaire

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

2.7.2.- Niveau ligand

La première étape de la désensibilisation concerne le ligand. Plusieurs processus contribuent à la suppression de l'agoniste du milieu extracellulaire. L'élimination du ligand de l'environnement extracellulaire est l'évènement le plus précoce et le plus

efficace lorsque celui-ci est un neurotransmetteur. Deux mécanismes permettent son élimination :

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

2.7.3.-Niveau récepteur

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

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

Chapitre 3 :
Relation structure-fonction de la cellule

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

La biosynthèse de ces macromolécules assure le renouvellement des membranes, et assure le bon fonctionnement des différents compartiments cellulaires, et des différents processus physiologiques des cellules vivantes.

3.1.1.- Biosynthèse des lipides

Les glycérolipides (esters d'AG et de glycérol) sont prédominants dans les membranes et résultent de l'estérification de deux AG au glycérol-3-phosphate (G-3-P), donnant un acide phosphatidique (PA) qui sert de précurseur à la synthèse de tous les glycérolipides. Des expériences de radiomarquage et l'étude de nombreux mutants altérés dans la composition en AG ont contribué à améliorer les connaissances sur la synthèse des lipides membranaires. Cette synthèse est principalement effectuée par deux voies métaboliques qualifiées de procaryotique et d'eucaryotique.

La biosynthèse des lipides se fait après la synthèse des AG. La biosynthèse des AG est réalisée en plusieurs étapes et commence par la formation de malonyl-CoA à partir d'acétyl-CoA par action de l'acétyl-CoA carboxylase. Le malonyl-CoA est estérifié (par la malonyl-CoA : ACP transacylase ; EC 2.3.1.39) à une acyl carrier protein (ACP) qui sera en charge du transfert des chaînes en élongation vers les différentes enzymes intervenant tout au long de la biosynthèse. Le composé initial en C4:0 est pris en charge par le système fatty acid synthase (FAS) qui permet de rallonger l'acyl-ACP de 2 carbones au cours de chaque cycle. Figure (1)

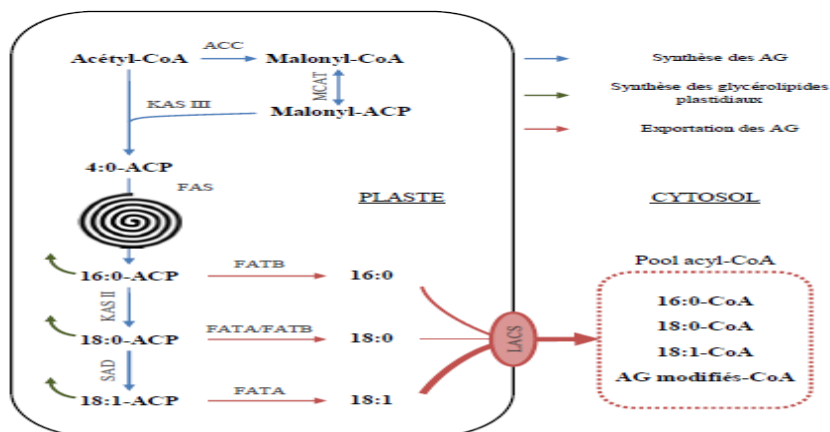
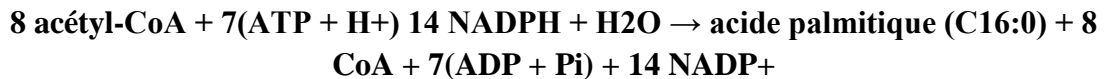


Figure 2 Représentation schématique de la synthèse et de l'exportation des AG activés du plaste vers le cytosol. Abréviations : ACC, acétyl-CoA carboxylase ; ACP, acyl carrier protein ; AG, acide gras ; CoA, coenzyme A ; FAS, fatty acid synthase ; FATA/B, fatty acyl-ACP thioesterase ; KAS, ketoacyl-ACP synthase ; LACS, long-chain acyl-CoA synthetase ; MCAT, malonyl-CoA : ACP transacylase ; SAD, stearoyl-ACP désaturase.

La C16:0-ACP formée après 7 cycles peut subir 3 réactions, soit (1) participer à la

Figure (1) : Synthèse des acides gras

Voie eucaryotique

Le RE est le site principal de synthèse des phospho (glycéro) lipides et des triglycérides de réserve. REL porte une famille d'enzyme transmembranaires possèdent des domaines cytosoliques (cytochromes P450).

Synthèse des phospholipides à partir de précurseurs hydrosolubles. Sert à l'expansion des membranes de la cellule : inclut les réactions qui incorporent les lipides dans la membrane. La synthèse de novo de phospholipides à partir de précurseurs solubles à lieu primitivement sur le feuillet cytoplasmique du RE selon un processus appelé « voie Kennedy ». Après leur synthèse dans le REL, les lipides doivent être transportés aux autres membranes de la cellule.

Voie Kennedy : La synthèse des glycérolipides par estérification de l' α -glycérophosphate par différents acyls coenzymes A conduit aux phosphatidates.

Dans les membranes du reticulum endoplasmique, les phosphatidates sont hydrolysés par la phosphatidate phosphatase qui fixe les diglycérides dans la membrane. Ces diglycérides sont ensuite estérifiés à nouveau pour faire des triglycérides dans la lumière d'une vésicule lipidique (foie, tissu adipeux) ou pour faire des glycérophospholipides (phosphatidylcholines et phosphatidyléthanolamines).

Dans le cytoplasme les phosphatidates peuvent être réestérifiés par le CTP ce qui produit les CDP-diglycérides, forme activée des phosphatidates. Les CDP-diglycérides sont enfin estérifiés à nouveau par la sérine (phosphatidyl-sérines), par le glycérol (phosphatidyl-glycérols, cardiolipides) ou par le myo-inositol (phosphatidyl-inositol, phosphatidyl-inositol diphosphate = PIP₂).

La synthèse des lipides peut se faire à partir d'alcools non encore estérifiée par des acides gras : glycérophosphate et ses esters, cholestérol, sphingosine, alcools gras... Les voies qui permettent la synthèse complète des glycérolipides à partir des acides gras et du glycérophosphate sont les voies de KENNEDY.

Des interconversions entre lipides peuvent aussi être rattachées à ces voies de synthèse :

- synthèse de phosphatidyl-choline à partir d'une phosphatidyl-éthanolamine (voie de BREMER et GREENBERG),
- hydrolyse des fonctions esters phosphoriques (phospholipases),
- synthèse des triglycérides à partir des monoglycérides (intestin au cours de la digestion, voie de CLARK et HUBSCHER).

La synthèse du cholestérol : commence dans le cytoplasme et termine au niveau le RE, au niveau de laquelle des molécules régulatrices participent au contrôle (stimulation/inhibition) de la synthèse de cholestérol. SCAP sensible au cholestérol intracellulaire. Des protéases clivent SREBP, libèrent son domaine N-Terminal dans le cytoplasme, migre au noyau, la transcription des gènes codant pour les protéines qui permettent d'augmenter la concentration du cholestérol dans la cellule, figure (2).

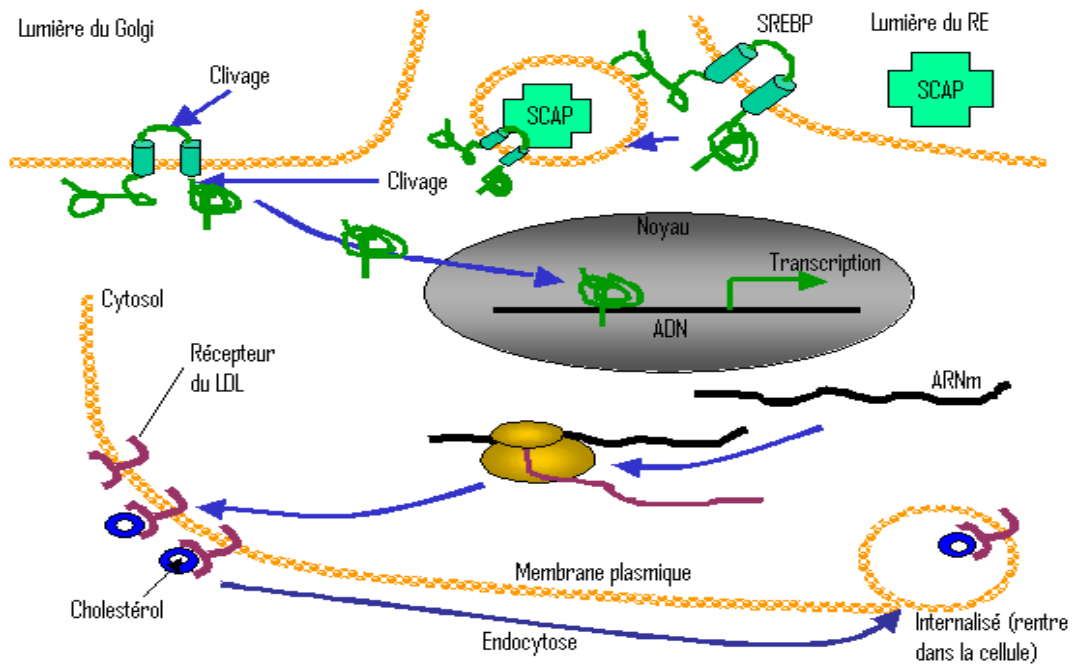


Figure (2) : Synthèse de Cholestérol

3.1.2.- Biosynthèse, adressage des protéines membranaires

Synthèse des protéines au niveau des ribosomes libres ou des polysomes

Les protéines sont des macromolécules constituées d'acides aminés protéinogènes. Elles peuvent être classées en holoprotéines (chaînes d'acides aminés) et hétéroprotéines contenant une composante non protéique (glycoprotéines, lipoprotéines, nucléoprotéines, ...).

Chaque protéine néo-synthétisée, destinée à un organe, trouve son chemin du ribosome où elle a été fabriquée vers l'organe où elle doit fonctionner, en suivant une voie spécifique. Quel que soit le devenir des protéines, leur synthèse démarre toujours dans le cytoplasme sous l'action des ribosomes libres et polysomes. En effet, la présence sur la protéine d'un peptide signal d'adressage détermine l'adresse finale de cette **protéine (Figure3)**.

1) Protéines cyto-squelettiques

Leur synthèse s'effectue complètement dans cytoplasme (**sans séquence signal d'adressage au REG**) telles les α - et β -actine. Ces deux servent d'un support qui favorise le transport des constituants cytoplasmique comme elles maintiennent la forme générale de la cellule.

2) Protéines destinées aux peroxysomes

- L'entrée des protéines spécifiques dans la matrice des peroxysomes est due à la présence de **séquences signal** présentes au niveau des extrémités N et C terminales. Exp : La catalase présente une séquence signal **SKL (sérine – lysine – leucine)** qui reconnaît une protéine du transport cytoplasmique interagissant avec un récepteur spécifique du peroxysome. La séquence signal est excisée lorsque la protéine se trouve dans le peroxysome.

3) Protéines destinées aux mitochondries

La plupart des protéines mitochondriales sont synthétisées dans sa matrice. Cependant, certaines protéines sont aussi synthétisées au niveau des ribosomes libres et comportent plusieurs séquences signal principalement **une hélice hydrophobe** limité par une séquence des ac. aminés positifs dans l'extrémité N terminale leur permettant la reconnaissance de la membrane et le transport à travers les deux membranes mitochondriales à l'aide de protéine chaperonne (Hsp70).

4) Protéines destinées au noyau

La séquence signal d'adressage nucléaire se compose de **5 ac. aminés chargés positivement** au centre de la protéine. Une fois la protéine présente cette séquence, elle peut va être reconnue par la protéine de transport cytoplasmique **Importine** qui fait délivrer la protéine à sa destination nucléaire.

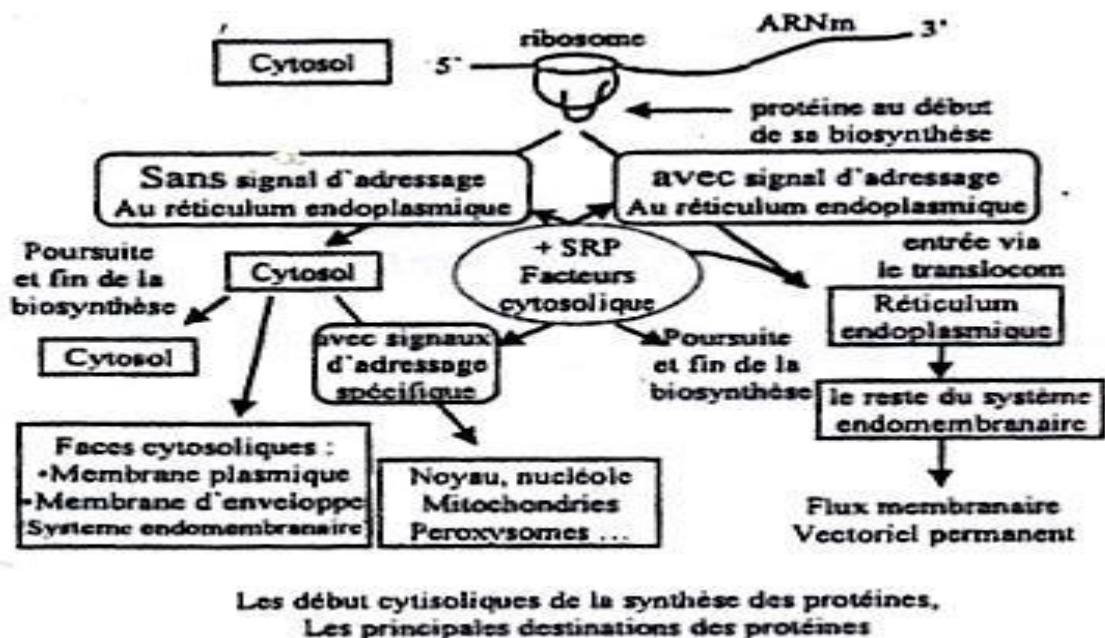


Figure (3) : Synthèse des protéines et leur adressage.

Après transcription de l'ADN en ARNm, ce dernier sort du noyau et est traduit en protéines dans le cytoplasme (traduction ARNm en protéines). Il existe deux types de traductions:

- Traduction sur des ribosomes libres
- Traduction sur des ribosomes fixés au réticulum endoplasmique (RE)

1/ Traduction sur des ribosomes libres. Elle se fait dans le cytosol (protéines dirigées vers le noyau, mitochondries, plastes et peroxyosomes). Les protéines seront ensuite introduites dans les différents organites par translocation post-traductionnelle.

En même temps que l'élongation, des chaperons se fixent sur la chaîne naissante pour éviter un repliement prématuré. Les protéines à repliement altéré (protéines mal conformées) sont détruites, de suite.

2/ Traduction sur des ribosomes fixés à la membrane du RE<> Ainsi, ces ribosomes peuvent être organisés en microsomes, vésicules à plusieurs ribosomes (protéines dirigées vers les membranes plasmiques, lysosomes et vésicules sécrétoires). Dans ce cas, on parle de translocation co-traductionnelle. Ce dernier type d'import ne présente pas de risque de repliement de la protéine avant son insertion, n'a pas besoin de chaperones et exige la fixation des ribosomes sur le RE.

Une particule de reconnaissance du signal (**SRP**, signal recognition particle) va et vient entre le cytosol et la membrane du RE, se fixe sur le ribosome au niveau du peptide signal et arrête la traduction.

- Interaction du SRP avec son récepteur, SR (protéine d'ancrage) situé sur la membrane du RE et constitué de 2 sous unités (alpha et bêta) chez les eucaryotes. Le ribosome est ainsi lié au translocon. L'hydrolyse du GTP engendre la libération du ribosome.

- Insertion de la chaîne polypeptidique dans le pore du translocon.

- Relargage du BiP (protéine chaperon) ouvrant le pore du translocon et empêchant l'aggrégation du polypeptide. Il y'a entrée du polypeptide dans la lumière du RE. Le peptide signal est coupé par une signal peptidase.

Il existe 3 types de transport des protéines: 1/ Transport à **ouverture contrôlée** se déroulant entre le cytosol et le noyau, 2/ Transport transmembranaire met en jeu une protéine de **translocation** liée à la membrane. C'est le cas des mouvements des protéines vers le réticulum endoplasmique, mitochondries, plastes et peroxyosomes, 3/ Transport **vésiculaire** où les protéines sont transférées d'un compartiment à l'autre dans des vésicules de transport. L'exemple de ce type de transport concerne le transfert des protéines solubles de RE vers l'appareil de Golgi.

L'adressage des protéines aux différents organites de la cellule est assuré par 3 mécanismes:

1/ Présence de signaux d'adressage (séquences d'acides aminés particulières) dans les protéines elles-mêmes. Cet adressage est intrinsèque aux protéines. Il est nécessaire soit pour sa rétention soit pour son expulsion. La 'voie par défaut' ne nécessite aucun signal. Ce peptide signal est souvent retiré de la protéine arrivée à destination par une signal peptidase. Des peptides signal sont utilisés pour diriger les protéines du cytosol vers le noyau, RE, mitochondries, chloroplastes et peroxyosomes.

2/ Modifications post-traductionnelles comme 1/ la phosphorylation des résidus tyrosyl, séryl ou thréonyl par des protéines-kinases et 2/ la fixation de molécules de lipides sur les extrémités C ou N-terminales (ancres lipidiques) qui mènent les protéines à s'insérer dans la bicouche des phospholipides membranaires.

3/ Fixation de la protéine à une protéine de l'armature capable de fixer simultanément plusieurs protéines.

3.2. Cytosquelette

3.2.1.Généralités

Le cytosquelette c'est un ensemble de structures filamenteuses présentes dans le cytoplasme, il va avoir des rôles important dans la physiologie cellulaire. Le cytosquelette intervient dans le **maintien** de la forme de la cellule mais aussi dans les **déplacements** cellulaires, dans la **signalisation**, dans le **transport** de certaines molécules, dans le transport des **vésicules** et de certains organites. Il en existe **trois** sortes :

- les microfilaments d'actine de 6 à 7 nm de diamètre
- les microtubules de 25 nm de diamètre
- les filaments intermédiaires du 8 à 10nm de diamètre.

3.2.2.-Types des Filaments

3.2.2.1.- Les microtubules

C'est une structure tubulaire de 24 à 25 nm de diamètre, constituée de tubulines **sous deux formes, α et β** . Ces deux sous unités s'assemblent pour former un **hétérodimère** de tubuline de 8 nm, capable de lier le GTP. Seule la sous unité β est capable d'hydrolyser le GTP en GDP. Les hétérodimères s'associent à leur tour pour former des protofilaments. Enfin, 13 protofilaments s'associent entre eux pour former le microtubule.

La structure en tube creux est bien visible sur une coupe transversale. Le microtubule est dynamique : son instabilité varie en fonction de l'état physiologique de la cellule.

A. Molécules interférant avec les microtubules

a.1. Protéines stabilisant les microtubules

Les microtubules s'associent avec des protéines de stabilisation, les MAPs (Microtubule Associated Proteins). Les MAPs ont donc un rôle dynamique où elles permettent la constitution de faisceaux plus ou moins serrés de microtubules dans les cellules. Elles existent dans toutes les cellules, mais les mieux étudiées sont celles rencontrées dans le neurone, on peut citer ici :

- la MAP2 qui joue un rôle structural et elle est responsable de la construction de faisceaux lâches et la protéine Tau qui permet de la formation de faisceaux denses.

a.2. Protéines déstabilisant les microtubules

- **Moteurs moléculaires** qui servent de rails pour le déplacement des éléments à l'intérieur de la cellule qui sont les kinésines et les dynéines ATPasiques

a) Les kinésines classiques

Les kinésines sont présentes dans tous types cellulaires, à tous stades de développement et dans tous les organismes cellulaires testés. La kinésine est un dimère qui renferme deux têtes, contenant chacune un domaine d'hydrolyse de l'ATP (à activité ATPase), constitue le lien entre le complexe (protéine motrice-charge) et le microtubule. La queue de cette protéine sert d'un domaine de liaison de l'élément à transporter.

- Elles déplacent les éléments le long du tubule de l'extrémité - vers l'extrémité +, en effectuant un « pas » de 8 nanomètres au cours d'un intervalle du temps de l'ordre de la microseconde. L'interaction avec l'élément à transporter – une vésicule, par exemple – n'est pas directe mais nécessite la présence d'un complexe protéique adaptateur et d'un récepteur à ce complexe sur l'élément lui-même.

b) Les dynéines

Le mécanisme d'action des dynéines est le même que celui des kinésines classique mais la dynéine déplace de l'extrémité + vers l'extrémité -.

Les déplacements les plus longs comme les déplacements des vésicules sécrétoires vers la périphérie utilisent les microtubules comme des rails, alors que les déplacements courts, proches de la membrane cytoplasmique, se font par l'action des microfilaments d'actine.

3.2.2.2. Les filaments intermédiaires

Ce sont des filaments protéiques, de forte résistance mécanique, ayant un diamètre intermédiaire entre les microfilaments d'actine et les microtubules (8 à 10 nm). On les trouve dans le cytoplasme des cellules, au niveau des noyaux. Par marquage, ces structures sont visibles sous forme de filaments reliant la membrane nucléaire à la membrane cytoplasmique. Ils ont un rôle de soutien, de résistance mécanique à l'intérieur de la cellule comme ils peuvent s'associer à des jonctions cellule-MEC dans ce que on appelle les hémidésmosomes et celle Cellule-cellule ou les désmosomes, en présence des plaques protéiques intermédiaires.

2.1. Molécules constituant les filaments intermédiaires

a) Les cytokératines

- Il s'agit 21 espèces qui constituent les filaments intermédiaires cytoplasmiques sous forme des homodimères. Elles sont très abondantes dans les cellules épithéliales.

b) Classe de la vimentine

- On la trouve dans les cellules d'origine endodermique, comme les fibroblastes. Ces molécules vont former des filaments d'homopolymères ou d'hétéropolymères. Ces filaments intermédiaires ne s'associent jamais avec les filaments de cytokératine.

c) Les neurofilaments

-Ce sont les filaments intermédiaires que l'on trouve dans les neurones ; ils sont constitués de trois molécules de faible, moyen et haut poids moléculaire.

d) Les lamines

Elles se trouvent exclusivement au niveau nucléaire près de l'enveloppe nucléaire afin de maintenir fortement la bonne structuration de cette enveloppe.

2.2. Structure

Les filaments intermédiaires se forment des protéines fibreuses possédant des extrémités C et N ter différentes. La partie centrale est formée d'une séquence répétitive de 7 aa. Chaque molécule s'associe avec une autre de même type pour former un dimère. Puis, les dimères s'associent de façon antiparallèle et avec un décalage pour former un tétramère. L'assemblage des tétramères constitue le protofilament, non polarisé. Enfin, 8 protofilaments s'associent pour constituer le filament intermédiaire.

3.2.2.3. Les microfilaments ou filaments d'actine

Polymérisation / dépolymérisation d'actine

Les microfilaments ont un diamètre de 6 à 7 nm. Il existe trois formes d'actine : l'actine α dans les cellules musculaires mais il existe aussi d'autres isoformes qui sont les actines β et γ dans les autres cellules. L'actine se présente sous forme d'une protéine globulaire inactive, l'actine G se polarise en actine filamenteuse avec un site de fixation de l'ATP. L'ATP se fixe à l'actine G et permet sa polymérisation au filament d'actine F en présence du Mg^{+2} . Les molécules d'actine G s'associent pour former deux brins qui s'enroulent l'un autour de l'autre, constituant l'actine F, l'actine G étant polarisée. Dans la cellule, l'actine est associée aux nombreuses protéines, cette association régule alors la quantité intracellulaire du filament.

La molécule d'actine F présente une extrémité +, où la polymérisation est rapide et une extrémité - où la polymérisation est 5 à 10 fois plus lente. Progressivement l'ATP va être hydrolysée en ADP et l'actine va se dissocier du filament.

actine G + ATP \rightleftharpoons actine G - ATP \rightleftharpoons actine G - ADP + Pi

3.3.- Fibre et la contraction musculaire

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

-Myocyte ou fibre musculaire : Un myocyte ou fibre musculaire est une cellule musculaire de forme très allongée dont les extrémités sont constituées de filaments de collagène. Chaque fibre musculaire est en contact avec une fibre nerveuse qui commande son activité. La fibre musculaire a deux propriétés fondamentales, l'excitabilité sous l'action stimulatrice de la fibre nerveuse, et la contractilité, résultat ultime de la stimulation. Lorsqu'une fibre musculaire se contracte, sa longueur diminue, ce qui génère un mouvement de rapprochement de ses extrémités.

-Myofibrille : Les myofibrilles sont les fibres contractiles, actine et myosine, localisées à l'intérieur de la cellule musculaire. Une myofibrille est composée de zones plus sombres et de zones plus claires. Les zones plus sombres sont en fait des filaments de protéines appelés myosine et les zones plus claires sont des filaments de protéines appelés actine. En coupant la myofibrille entre deux zones claires, on obtient un sarcomère.

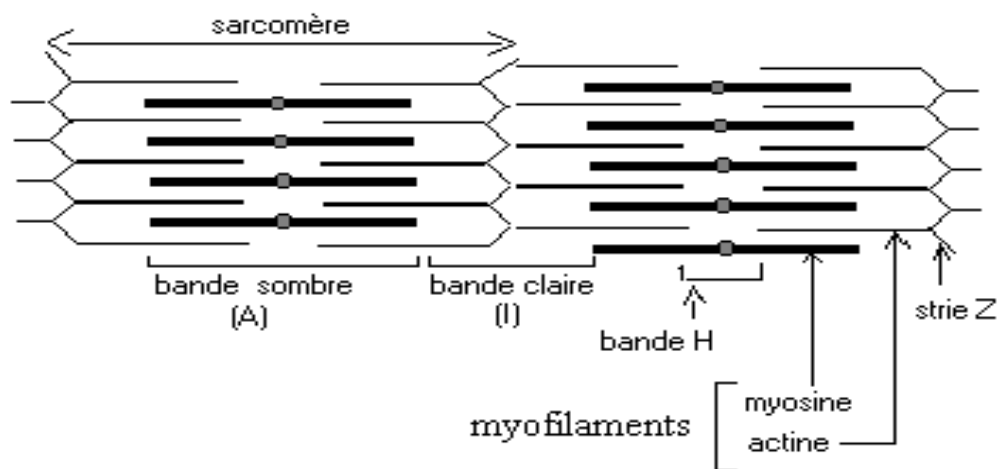
-Le sarcomère : est l'unité comprise entre 2 bandes Z composée de : figure (4)

Bande I : zone claire composée de filaments d'actine.

Bande A : zone sombre composée de filaments d'actine et de myosine.

Bande H (milieu de la bande A) composée de filaments de myosine.

Les filaments fins sont des filaments d'actine et les filaments épais des filaments de myosine.



Ultrastructure du sarcomère

Figure (4) : Ultrastructure du sarcomère

3.3.2. Structure fine des filaments fin et épais

A- Les filaments fins

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

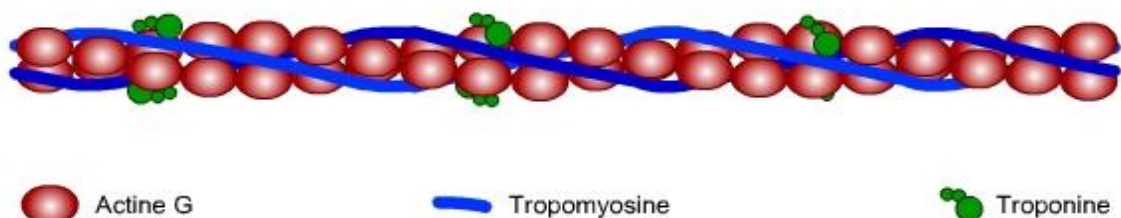


Figure (5) : Structure d'un filament fin d'actine

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

-La tropomyosine : est une protéine allongée homodimérique ou hétérodimérique, chaque monomère étant constitué de 284 acides aminés adoptant une structure en hélice alpha s'enroulant l'une autour de l'autre pour former une superhélice. Elle va se lier à l'actine en se logeant au creux des sillons de la double hélice formée par l'actine.

A l'état de repos, les molécules de myosine sont également en contact avec la tropomyosine. A chaque extrémité d'une molécule de tropomyosine, soit un interval correspondant à 7 molécules d'actine, une molécule de troponine vient se lier avec la tropomyosine.

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

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

B- Les filaments épais

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

La myosine est une molécule allongée composée de deux chaînes lourdes (environ 200 kDa chacune) et de quatre chaînes légères (environ 20 kDa chacune). Chaque chaîne lourde est constituée d'une queue C-terminale allongée et fibrillaire en hélice alpha, d'une tête globulaire N-terminale enzymatique à activité ATPasique associée à deux chaînes légères, et d'un domaine cervical déformable reliant les deux extrémités. Tête globulaire et partie cervicale forment la méromyosine lourde, la partie fibrillaire caudale formant la méromyosine légère. Les queues allongées de deux chaînes lourdes de myosine s'enroulent l'une autour de l'autre en une superhélice, les deux têtes globulaires se trouvant côte à côte.

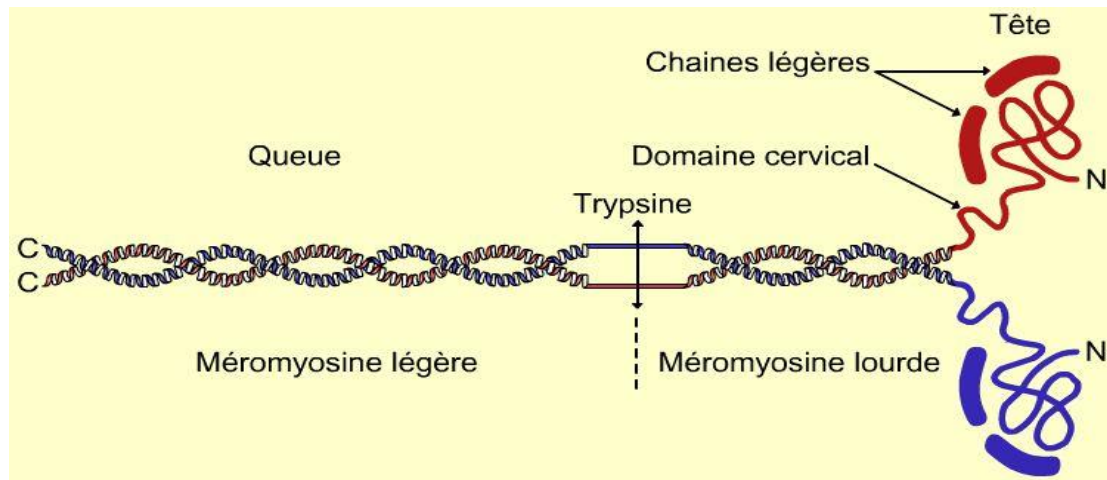


Figure (6) : Structure de la molécule de myosine

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

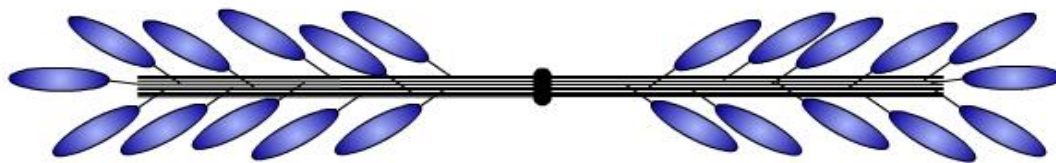


Figure (7) : Structure d'un filament épais de myosine

3.3.3.- Le raccourcissement des sarcomères

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

Tout se passe à la zone d'interaction entre les têtes de myosine et les filaments d'actine. Au repos, la sous-unité TnI de la troponine est liée à l'actine et le filament de tropomyosine s'interpose entre la tête de myosine et l'actine.

La contraction est déclenchée par les ions Ca^{++} . La fixation de Ca^{++} sur la sous-unité TnC de la troponine provoque la rupture de la liaison entre l'unité TnI et l'actine et modifie la conformation de la molécule. La tropomyosine se déplace légèrement, permettant le contact actine-myosine et la levée de l'inhibition de l'activité ATPase de

la tête de myosine. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP en ADP fournit l'énergie nécessaire à la mobilisation de la tête de myosine qui interagit avec l'actine, réalisant une traction sur le filament d'actine (de 7 à 10 nm environ).

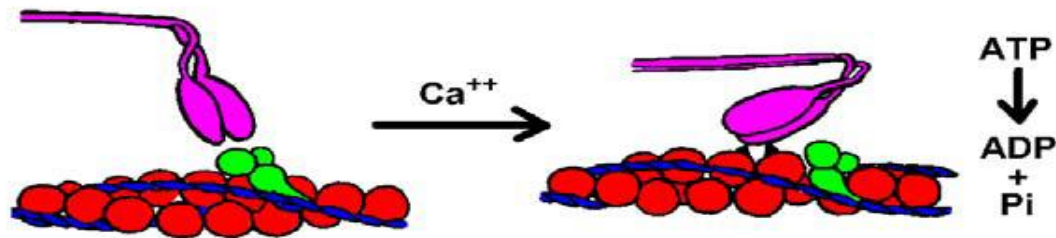


Figure (8) : Rôle de Calcium dans la contraction musculaire

Cette activité est cyclique. A chaque cycle de contraction, seules quelques têtes de myosine sont impliquées. Le phénomène est rapidement réversible. La fixation d'une nouvelle molécule d'ATP sur la myosine rompt la liaison. Le phénomène peut se répéter si du Ca^{++} est encore présent. Lorsqu'il n'y a pas d'ATP disponible, la liaison actine-myosine est stable. C'est ce qui explique la rigidité cadavérique après la mort.

3.4. Mitochondrie et la chaîne de phosphorylation oxydative

Structure : Les mitochondries sont des organites qui existent dans le cytoplasme des cellules des eucaryotes aérobies. De forme batonnets avec des extrémités arrondies, ou bien sphériques, avec un diamètre de $0.7\mu\text{m}$, et un longueur de 1- $4\mu\text{m}$. Le nombre varie selon le type cellulaire : 800 à 1000 (hépatocyte), quelques-unes (levures), 50000 chez l'amibe.

Sous le microscope électronique les mitochondries possèdent une ultrastructure caractéristiques, délimité par deux membranes (externe $60-75\text{\AA}$ d'épaisseur, interne $60-75\text{\AA}$ d'épaisseur plusieurs crêtes vers l'intérieur), un espace inter membranaire 100\AA , et une matrice mitochondriales. Les membranes mitochondriales sont semblables à la membrane plasmique, asymétriques dans les deux espaces, il existe des particules sous forme de cristaux de glycogènes mais aussi d'autres inclusions (mito-ribosomes, réserves lipoprotéiques, des cristaux protéiques, des minéraux Ca^{2+} , Mg^{2+} en cas pathologiques (Figure A)

Fonction : Les mitochondries jouent un rôle essentiel dans la production d'énergie métabolique sous forme d'ATP dérivée de la dégradation des glucides et des acides gras.

Les différents rôles physiologiques :

- Oxydation respiratoire
- Formation d'acétyl CoA
- Oxydation de l'acétyl CoA dans la matrice (Cycle Krebs)
- Phosphorylation de l'ADP en ATP par ATPsynthase dans la membrane interne couplée par transport d'électrons à l'O₂ par la chaîne respiratoire
- Production de précurseurs pour diverses biosynthèses.

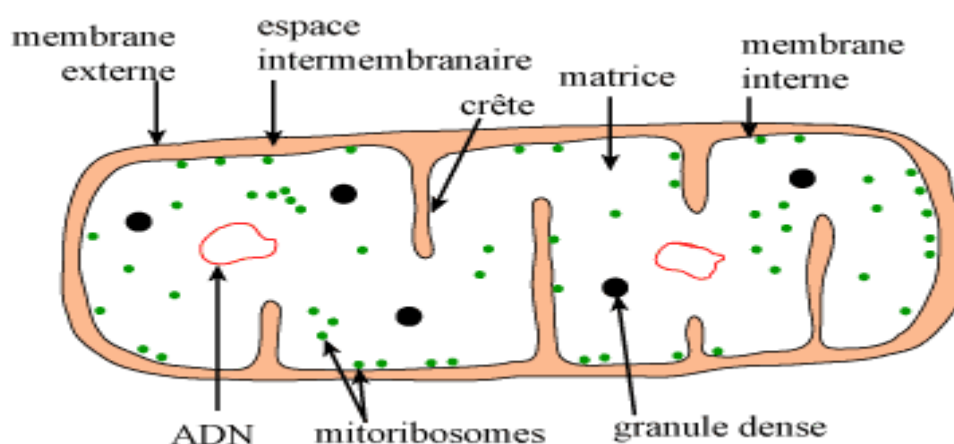


Figure A : Structure de la mitochondrie

Les sites de couplage, fractionnement du système oxydophosphorylant

Phosphorylation oxydative liée à la chaîne de transport des électrons

La chaîne de transport des électrons

Les hydrogènes (électrons plus protons) captés par le NAD⁺ (qui devient le NADH + H⁺), issus de la dégradation des molécules de glucose et d'acide gras sont transférés à l'O₂ grâce à une série d'événements qui aboutit à la formation d'H₂O : la chaîne de transport des électrons. Cette chaîne se déroule dans la membrane interne de la mitochondrie, surtout dans les crêtes, et elle fait intervenir plusieurs complexes enzymatiques, appelés : NADH-quinone oxydoréductase (complexe I), succinate-quinone oxydoréductase (complexe II), Quinol-cytochrome c oxydoréductase (complexe III ou complexe bc1) et Cytochrome c oxydase (complexe IV).

Elle contient également 1) l'ubiquinone, qui se trouve dans l'épaisseur de la membrane interne (molécule lipophile), qui transporte les électrons (et protons) du complexe II

au complexe III, et 2) le cytochrome c, qui se trouve dans l'espace inter membranaire et qui établit une navette d'électrons entre complexes III et IV. Les événements sont présentés schématiquement (figures B, C). Dans cette image, les complexes sont représentés en une seule entité mais en réalité ils sont constitués de plusieurs sous-unités protéiques. Le tableau* donne une idée de la taille et de l'hétérogénéité des complexes de la chaîne respiratoire.

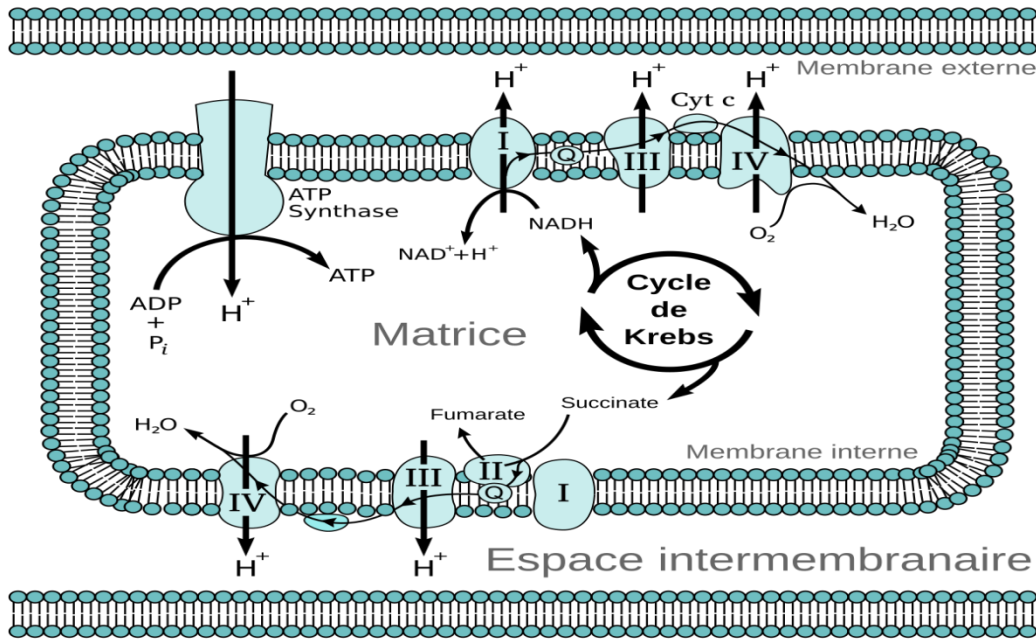


Figure B.- Phosphorylation oxydative

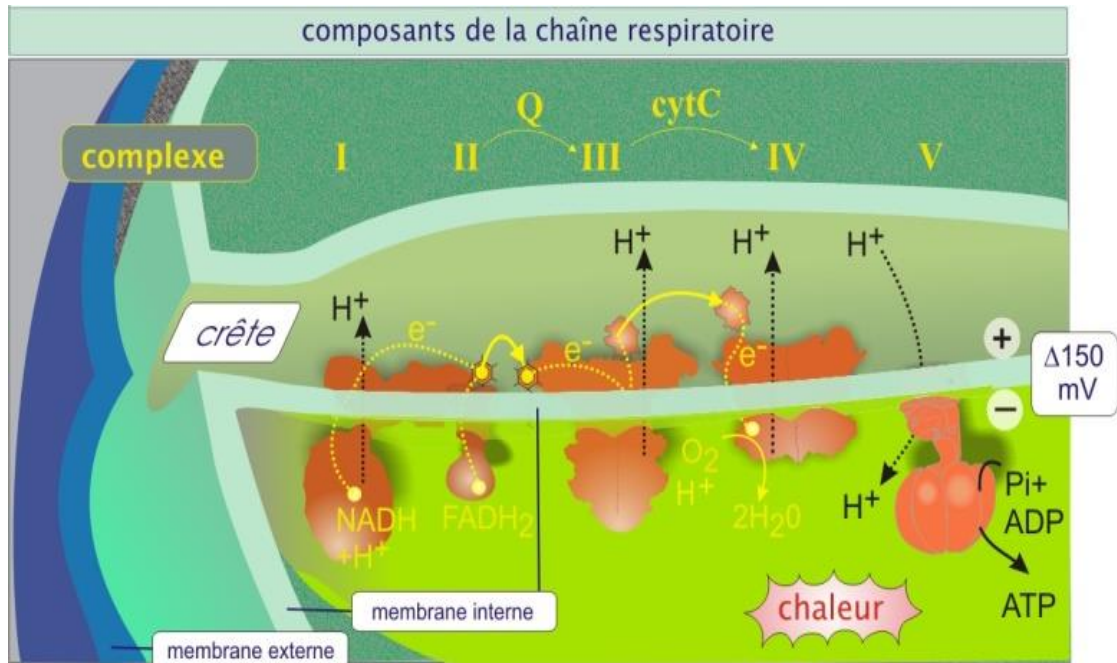


Figure C.- Chaîne respiratoire

Tableau* : la taille et de l'hétérogénéité des complexes de la chaîne respiratoire

| | fonction enzymatique | poids moléculaire | nombre de sous-unités |
|--------------|------------------------------------|-------------------|-----------------------|
| Complexe I | NADH-quinone oxydoréductase | 800 kDa | 25 |
| Complexe II | succinate-quinone oxydoréductase | 140 kDa | 4 |
| Complexe III | quinol-cytochrome c oxydoréductase | 250 kDa | 9-10 |
| Complexe IV | cytochrome c oxydase | 170 kDa | 13 |
| Complexe V | ATP synthase | 380 kDa | 12-14 |

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

C'est la machine (l'unité) responsable de la traduction rapide et précise de l'ARNm, dont la capture d'ARNt complémentaires maintien d'ARNt en position, puis la liaison par covalence les acides aminés pour former une chaînes polypeptidiques. La maturation et l'adressage des protéines voir (**chapitre 3 page 47**).

Structure :

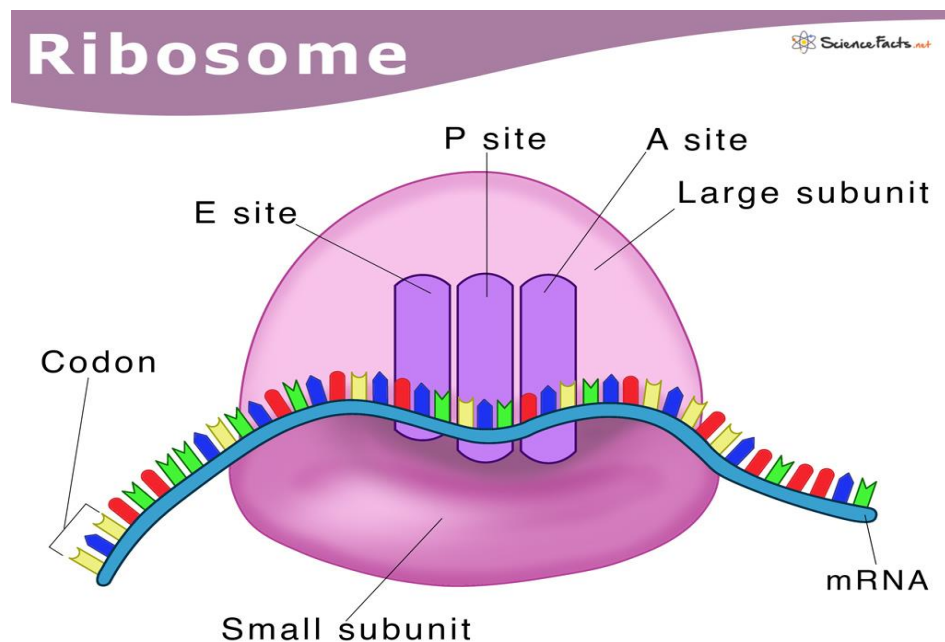


Figure : structure de ribosome

3.6. Le Système ubiquitine /protéasome

3.6.1.- Protéasome et voie ubiquitine

Définition : Le protéasome est la principale machinerie protéolytique de la cellule. Il est impliqué dans toutes les grandes fonctions et décisions cellulaires.

Ce système est un système multienzymatique extrêmement complexe, qui fonctionne schématiquement en deux étapes distinctes dans la dégradation régulée des protéines intracellulaires.

Le protéasome 20S fonctionne avec d'autres facteurs qui contrôlent son ouverture comme exemple les complexes sont 19S et 11S.

Noté bien que : Ce n'est pas toutes les protéines nécessitant d'ubiquitinylation pour être dégradées par le protéasome.

Protéasome 20S et ses complexes régulateurs : Le protéasome 20S est le cœur catalytique de la machinerie protéasomique. Il s'agit d'un cylindre creux formé de 4 anneaux: 2 anneaux identiques de 7 sous-unités de type α et 2 autres, également identiques entre eux, de 7 sous-unités de type β . Les anneaux α assurent l'interaction avec les complexes régulateurs du protéasome 20S et permettent l'entrée des substrats dans la chambre catalytique grâce à leur orifice central.

Le complexe activateur 19S participe à la dégradation des protéines ubiquitinylées grâce à sa capacité à reconnaître les chaînes d'ubiquitine. Il possède un anneau d'ATPases chaperons participant à la déstructuration des substrats et, peut-être, à leur injection dans la cavité protéolytique, ainsi qu'une activité de dés ubiquitinylation (activité UCH, ubiquitin C-terminal hydrolase).

Le complexe régulateur 11S est un anneau de 6 à 7 protéines de deux types différents: PA28 α (proteasome activator) et PA28 β . Il modifie les propriétés catalytiques du 20S, mais n'est pas capable de reconnaître des protéines ubiquitinylées. La particule traditionnellement appelée protéasome 26S est composé d'un 20S et de deux 19S.

L'**ubiquitinylation** des protéines fait intervenir **trois types d'enzyme**. E1 (enzyme d'activation de l'ubiquitine) est unique. Elle active l'ubiquitine et la transfère sur des enzymes E2 (enzyme de conjugaison de l'Ub), qui sont au nombre d'une trentaine chez les mammifères. Directement, ou avec l'aide de composants E3 (Ub-ligase), elles transfèrent et polymérisent l'ubiquitine sur les substrats. (Figure 1).

Les différents types de chaînes d'ubiquitine

L'ubiquitine est conjuguée à ses substrats via une liaison isopeptidique (Figure 2) entre son extrémité carboxyterminale et le ϵ -NH₂ de lysines acceptrices. Elle possède, elle-même, 7 lysines.

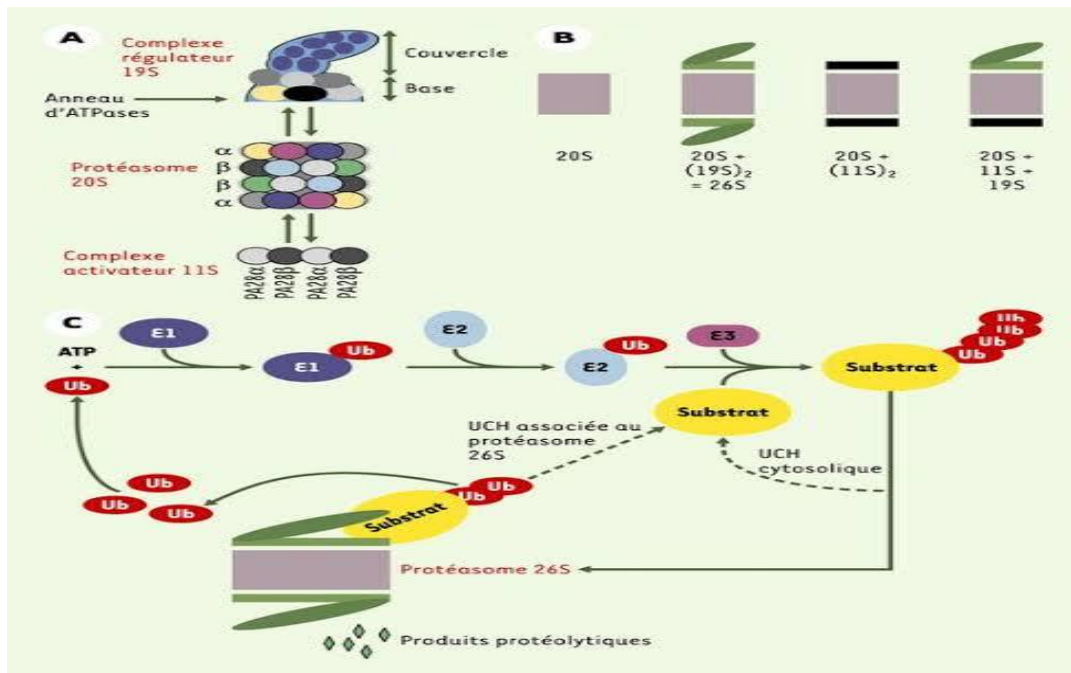


Figure (9) : Protéasomes et voie ubiquitine

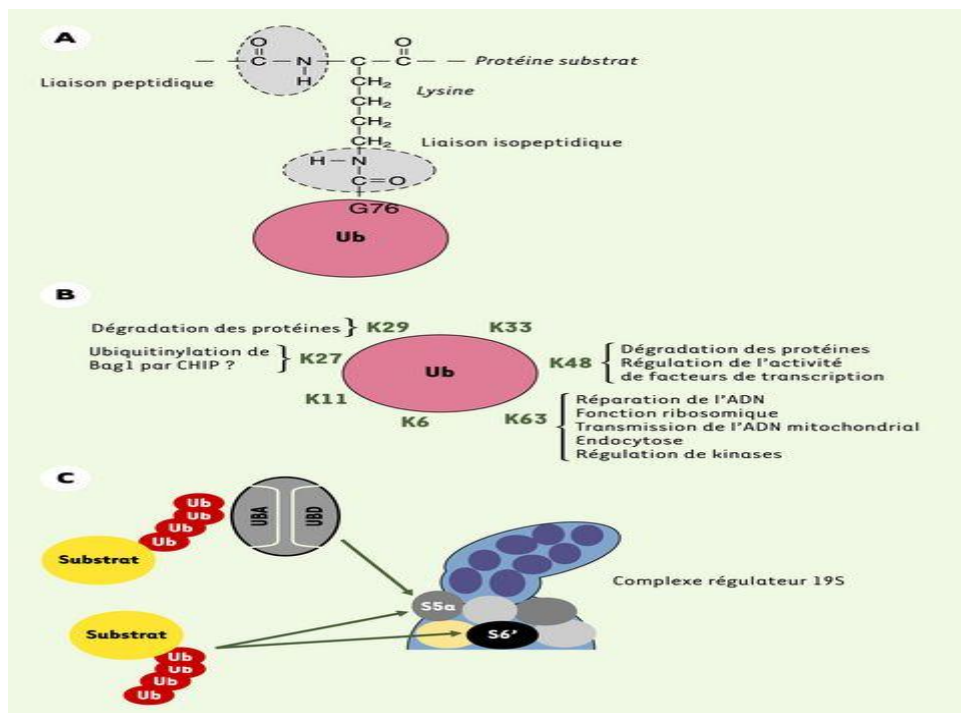


Figure (10) : Protéasomes et voie ubiquitine.

3.7.. Le Système lysosomal : structure et fonction

3.7.1.-Définition : Les lysosomes sont des organites cellulaires associés à la digestion intracellulaire d'éléments absorbés par la cellule ou contenus dans la cellule.

3.7.2.-Structure et Fonction (Figure x) : les lysosomes sont des compartiments cytoplasmiques qui renferment un mélange d'hydrolases acides (pH 3-6). Ces compartiments sont délimités par une membrane qui protège la cellule contre la dégradation par les enzymes lytiques.

Les lipides, les polysaccharides (sucres), les acides nucléiques, certaines protéines sont des macromolécules dégradées par les lysosomes. Les produits de dégradation peuvent être expulsés hors des lysosomes par des protéines porteuses (perméase).

La membrane lysosomale est essentiellement composée de phospholipides. Les protéines, quant à elles, présentent pour la majorité une glycosylation dirigée vers le lumen, les protégeant des hydrolases. Le récepteur au mannose-6-phosphate, présents uniquement au niveau des endosomes et des endolysosomes, il joue un rôle majeur dans l'adressage des molécules. Le récepteur du Mn6P sera alors réadressé ultérieurement pour recyclage au golgi ou à la membrane plasmique ou il peut alors se lier à des enzymes.

Les glycoprotéines enzymatiques membranaires caractérisent les lysosomes. Parmi elles on compte :

- Des **pompes à protons** responsables du pH acide (**entre 4,5 et 5,5**) des lysosomes.
- Des **protéines LAMP** (pour « *Lysosomes associated membrane protein* ») présentent sous deux isoformes (LAMP-1 et LAMP-2) au niveau des lysosomes matures, mais absentes des lysosomes primaires.
- Des **phosphatases acides**, uniquement présentes au niveau des lysosomes primaires.

Les hydrolases fonctionnent à pH acide (proche de 5) et catalysent l'hydrolyse de toutes les molécules que peut contenir la cellule (protéines, acides nucléiques, glucides et lipides). Chaque type d'hydrolases est spécialisé dans l'hydrolyse d'une classe de molécules. Ainsi, les **ribonucléases** lysent les ARN, les **désoxyribonucléases** lysent les ADN, les **protéases** lysent les protéines, les **polysaccharidases** lysent les sucres et les **lipases** lysent les lipides.

3.7.3.Types de digestions :

3.7.3.1.-L'hétérophagie (Figure A) correspond à la digestion de substances exogènes qui rentrent dans la cellule soit par endocytose soit par phagocytose. Les vésicules d'endocytose fusionnent avec les endosomes qui eux-mêmes fusionnent avec les lysosomes primaires pour former les lysosomes matures.

3.7.3.2.- L'autophagosome est une expansion du réseau trans-golgien qui entoure le matériel à digérer. Il fusionne ensuite avec des lysosomes, formant des **auto-phagolysosome**. L'autophagie joue un grand rôle dans le renouvellement des composants cellulaires.

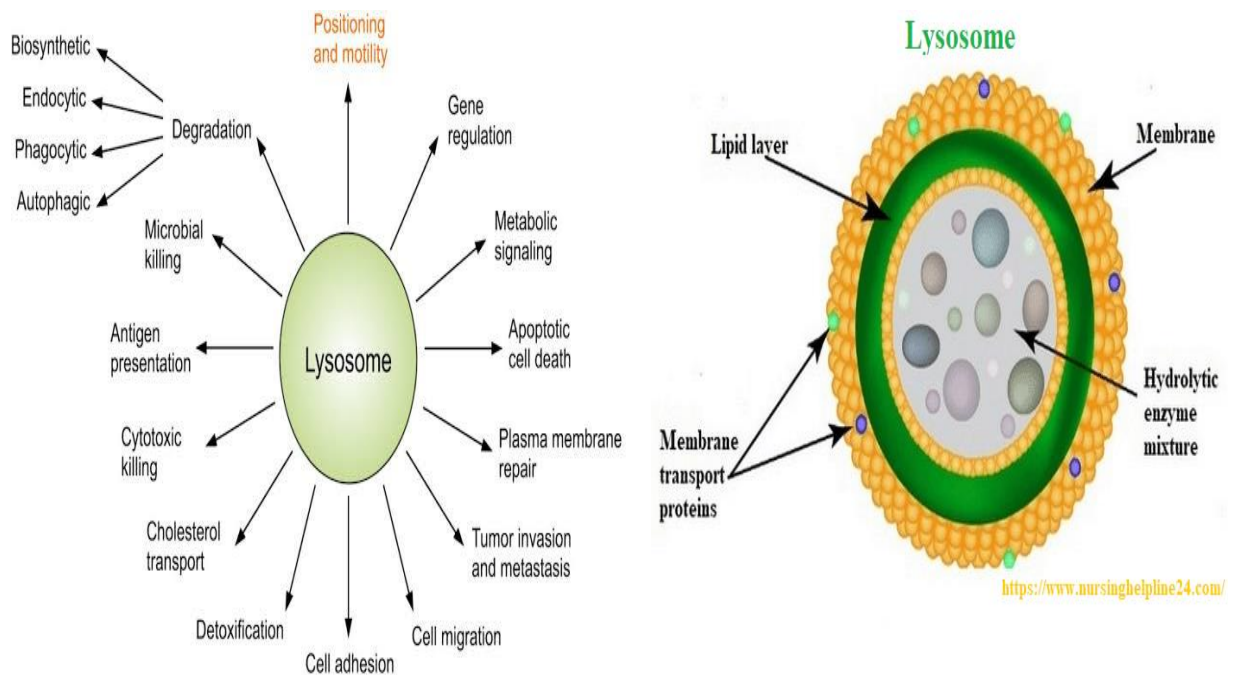


Figure (11) : représente structure et les différentes fonctions des lysosomes

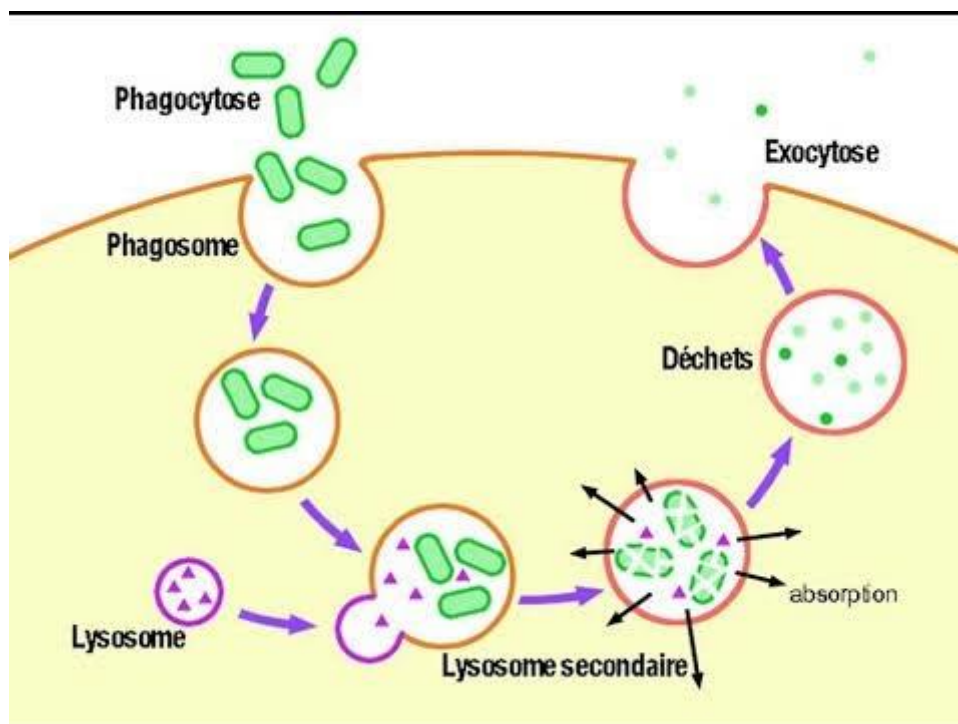


Figure (12) : Représente l'hétérophagie lysosomial

3.8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette

Le noyau : se situe au centre de cellule , (GR pauvre, et les muscles sont riches en noyaux), le noyau est limité par deux membranes, interne à l'intérieur de noyau et externe à coté de cytoplasme, la membrane nucléaire est une continuité de RE, le noyau est constitué à l'intérieur à une cytosquelette nucléaire qui assure la forme de noyau , elle est composé des lamines qui sont des protéines qui formes des mailles ou le patrimoine génétique sous forme de chromatine et des fois concentrés dans des places bien déterminés appelés des nucléoles qui sont les lieux très actifs de la transcription de l'ADN (copie des ARNm).

Le noyau cellulaire est délimité par une enveloppe formée de deux membranes séparées par l'espace périnucléaire. Les échanges entre noyau et cytoplasme s'effectuent par des canaux appelés pores nucléaires. Des mesures électrophysiologiques effectuées par la technique de patch-clamp in situ ou sur des noyaux isolés et sur des vésicules membranaires incorporées dans des bicouches lipidiques planes, ont montré l'existence de canaux ioniques sélectifs au Cl^- , au K^+ et au Ca^{2+} . La répartition de ces canaux entre l'une et l'autre des membranes de l'enveloppe nucléaire suggère l'existence d'une polarité fonctionnelle au niveau de cette interface entre le cytoplasme et le nucléoplasme. Il est probable que ces canaux ioniques contribuent à la régulation des propriétés physiologiques des noyaux en contrôlant les concentrations ioniques dans l'espace périnucléaire, l'activité des ions dans le nucléoplasme et donc le potentiel électrique des deux membranes nucléaires.

pour le phénomène de division cellulaire, ou la synthèse de protéine le noyau a besoin d'exporter l'ARNm, et d'importer des sels, des nucléotides qui portent de l'énergie, donc c'est un échange bidirectionnel entre le cytoplasme et le noyau, ce type d'échange est assuré grâce à l'existence des pores nucléaires, au niveau les pores nucléaire il y'a deux types d'échanges , transport passif pour les petites molécules qui passent de manière libre sans contrôle, et transport actif pour les molécules les plus larges qui passent par le canal central où il y'a des interactions entre les protéines transporteurs, exemple les protéines exploratrices d'ARNm prises en charge de l'ARNm et vont l'exporter vers les pores nucléaires pour l'exporter vers le cytoplasme.

Chapitre 4 : La glycosylation des macromolécules et rôle biologique

Introduction

La glycosylation et la glycation sont deux phénomènes qui, comme le suggèrent leurs noms, ont un rapport avec les glucides. Cette proximité sémantique et chimique peut parfois entraîner une certaine confusion, alors même que ces deux phénomènes sont chimiquement et fonctionnellement très différents.

Au sens large, la glycation correspond à « toutes les réactions fixant un sucre à une protéine ou à un peptide, qu'ils forment ou non une liaison glycosidique. Le produit de la glycation est une glycoprotéine ».

Cependant, on distingue la glycosylation et la glycation enzymatique, phénomène physiologique donnant naissance aux glycoprotéines, et la glycation au sens strict ou glycation non-enzymatique, phénomène pathologique donnant naissance aux protéines glyquées.

La glycosylation : correspond à un ajout d'oligosaccharides (polymères constitués d'un petit nombre de glucides simples ou oses) au cours de la biosynthèse de certaines protéines membranaires ou sécrétées, qui, de fait, deviennent des glycoprotéines. Cet ajout se fait par voie enzymatique et en plusieurs étapes dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi des cellules Eucaryotes. Elle participe à la maturation de ces protéines et peut avoir un rôle décisif dans leur fonction.

La glycosylation des protéines est l'une des modifications post-traductionnelles. On distingue deux grandes catégories de glycosylation : la N-glycosylation et la O-glycosylation, selon les acides aminés qui vont porter ces arbres glucidiques.

4.1.- Glycoprotéines

Une glycoprotéine est une protéine portant un groupement de polysaccharides et une chaîne polypeptidique. C'est un hétéroside formé d'un motif glucidique fixé de façon covalente à une chaîne polypeptidique.

Principales types de glycoprotéines

- a*** Les hormones hypophysaires : LH et FSH (hormones sexuelles),
- b*** Les glycoprotéines du plasma
- c*** La thyroglobuline = produite dans la glande thyroïde
- d*** Les glycoprotéines membranaires comme les lectines
- e*** Les ribonucléases et les désoxyribonucléases, produites par le pancréas
- f*** Certaines molécules de systèmes antigéniques aux niveau des globules rouges.
- g*** CMH, Ig...

Tableau des exemples des glycoprotéines et leurs rôles

| Glycoprotéines | Fonction |
|---------------------------|-----------------|
| Collagène | Structure |
| Hydrolases, protéases, | Enzymes |
| céruleplasmine | Transport |
| glycoprotéines synoviales | Lubrification |

| | |
|-----------------------------|--|
| fibronectine, laminine | Reconnaissance et adhésion cellule-cellule |
| matériaux de groupe sanguin | Antigènes |

Mécanisme

La glycosylation des protéines est présente dans toutes les cellules eucaryotes, et la majorité sont des macromolécules extracellulaires (au niveau des membranes). Elle se retrouve aussi chez les bactéries, une découverte assez récente d'ailleurs.

Les protéines sont glycosylées d'une manière spécifique, déterminée notamment par leur cheminement à travers l'appareil de Golgi, où la phase essentielle des N- et O glycosylations est effectuées. Cette modification est catalysée principalement par les enzymes de la famille des glycosyltransférases.

La N-glycosylation (Figure 1), débute dans le réticulum endoplasmique – elle est donc en cela co-traductionnelle – mais elle se poursuit dans l'appareil de Golgi où la maturation des N-glycanes de la protéine a lieu – elle est donc également post-traductionnelle.

Les résidus glycaniques à la surface des protéines peuvent également être liés par une liaison de type O-glycosidique à la chaîne latérale d'acides aminés tels que la sérine ou la thréonine. Dans le cas du collagène, on peut trouver également des Oglycanes liés à la chaîne latérale de l'hydroxylysine ou de l'hydroxyproline.

(O-lié) : où la forme est liée par une liaison glucoside avec le groupe hydroxyle (OH-) présent dans l'acide aminé sérine ou bien de thréonine (hydroxylysine, ou bien l'hydroxyproline). (N-lié) : La forme est liée au groupe (NH₂) présent dans l'acide aminé asparagine.

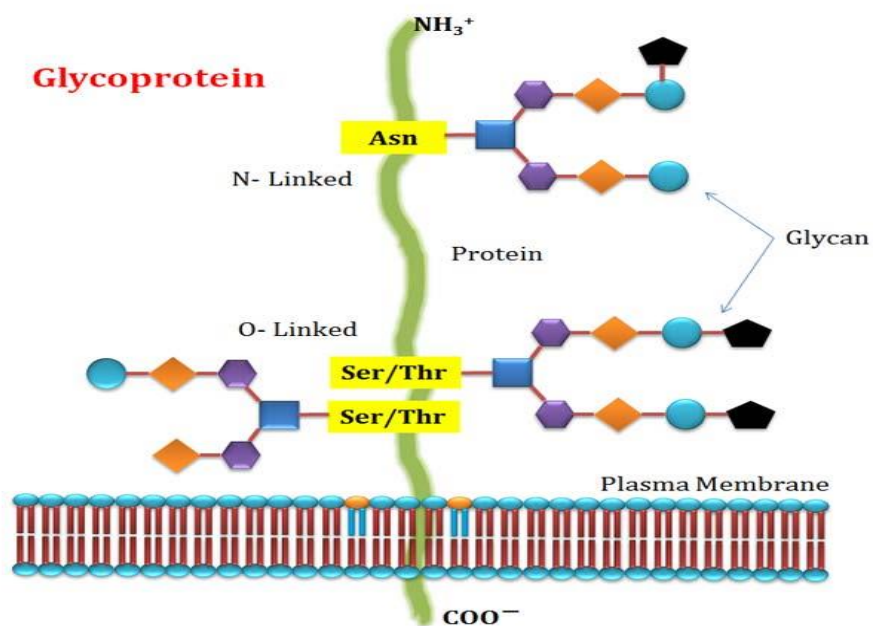


Figure1: N-glycosylation, O-glycosylation

Intérêt de la glycosylation

*Elles permettent la reconnaissance spécifique par d'autres protéines comme les lectines.

*Elles interviennent dans l'interaction cellule-cellule : contact, transfert d'information, ...

*Elles influencent le repliement des protéines.

*Elles protègent les protéines contre les protéases.

4.2.- Glycolipides

Les **glycolipides** résultent essentiellement de l'estérification ou de l'amidification d'acide gras par des oses ou des sucres aminés. Les glycolipides jouent un rôle dans la reconnaissance moléculaire au niveau des membranes cellulaires. Comme récepteurs (glycosphingolipides récepteurs hormonaux), sources d'énergie, aide à la détermination des groupes sanguins, Composant important de la structure de la membrane cellulaire et aide à leur stabilité, rôle dans l'immunité cellulaire

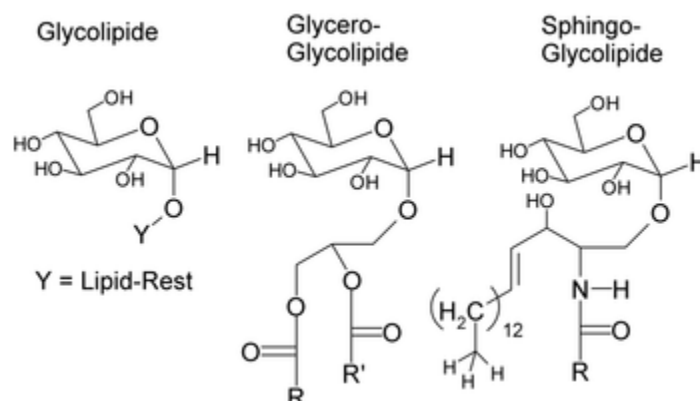


Figure 2.- Types de glycolipides

Types de glycolipides :

- **Glycéroglycolipides** (lécithine ou 3-sn-phosphatidyl-choline, les cardiolipides ou 1,3bis-3-sn-phosphatidyl-glycérol)
- **Sphingolipides** (cérébrosides, sulfatides, gangliosides...)

Les cérébrosides : Les cérébrosides sont des lipides membranaires, notamment présents dans le tissu nerveux et cérébral (le cerveau) et les tissus nerveux périphériques.. Il est le constituant majeur de la gaine de Myéline. Ils sont des glycolipides dont la constitution comporte une sphingosine amidifiée par un acide gras et glycosylée sur la fonction alcool primaire par un hexose, et plus spécifiquement par un galactose (figure3).

Les cérébrosides, joue un rôle de barrière de perméabilité de l'eau dans la peau, une autre fonction est de fournir un revêtement protecteur à chaque nerf agissant comme un isolant avec des concentrations élevées dans la gaine de myéline.

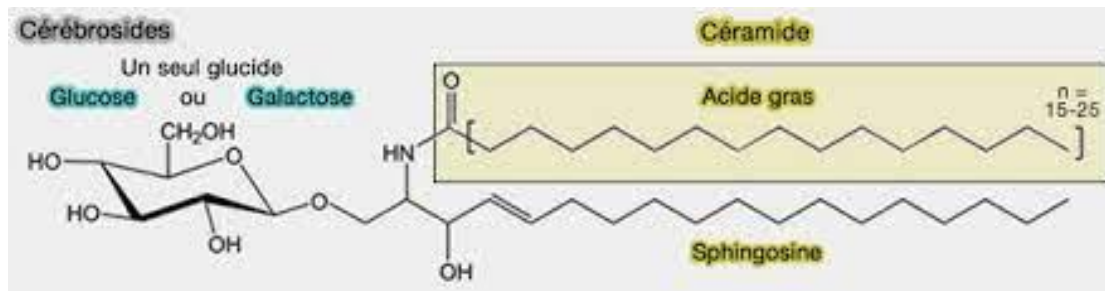


Figure 3.-Structure de cérébroside

L'accumulation des cérébrosides provoque certaines maladies en citant :

La **maladie de Krabbe** est un type de trouble du stockage lysosomal appelé sphingolipidose. Elle entraîne un déficit intellectuel, une paralysie, une cécité, une surdité, et est parfois mortelle, cette maladie est apparue lors un dysfonctionnement de l'enzyme c rebroside b ta-galactosidase, Ces molécules s'accumulent et affectent la croissance des tissus qui enveloppent les nerfs, appelés gaine de myéline

Aussi la **maladie de Gaucher** est un type de trouble du stockage lysosomal appelé sphingolipidose. Elle est caus e par une accumulation de glucoc rebrosides dans les tissus, cette maladie se développe lorsque l'organisme présente un déficit des enzymes nécessaires   la dégradation des c rebrosides.

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

Lorsqu'un ligand s'associe à un récepteur membranaire ou nucléaire (Fig. 5.1), la structure de ce dernier change et transmet le signal envers les protéines de la cellule, qui sont toujours modifiées d'une façon ou d'une autre, comme les protéines des cellules musculaires changent de forme pour exercer une force, les enzymes sont activées ou inactivées, les protéines constituant des canaux ioniques s'ouvrent ou se ferment...etc.

Certains récepteurs membranaires transforment eux-mêmes le message chimique en réponse cellulaire, par exemple les récepteurs-canaux, autrement dit les récepteurs ionotropiques. D'autres récepteurs ne font pas eux-mêmes la transduction du message, s'appellent les récepteurs métabotropiques; ils sont couplés à des enzymes ou à des canaux ioniques ou par une molécule régulatrice intermédiaire appelée protéine G (Fig. 5.2). (Il existe de nombreux types de protéines G associés aux différents types de récepteurs).

5. 1. Récepteurs et Ligands

Les récepteurs sont alors des protéines réceptrices qui lient une molécule signal et initient une cascade de signalisation au sein de la cellule (Fig. 36). Il s'agit de deux types de récepteurs :

a) Récepteurs de surface (protéines membranaires intégrales) qui lient un signal extracellulaire et provoquent une cascade de signalisation pour activer ou moduler l'activité des enzymes intracellulaires surtout:

- des enzymes modifiant des protéines : Kinases (PKA, PKC, PKG)/ phosphatases, acetylases/ deacetylases.
- des enzymes modifiant des Lipides : Phospholipases (PLA2, PLD et PLC β , γ , ϵ et δ), Phosphatidyl inositol kinase (PI3K).
- des enzymes modifiant des Nucleotides : cyclases/ phosphodiesterases.

Les récepteurs membranaires transmettent le signal vers les protéines intracellulaires à l'aide d'un couplage soit à une protéine intermédiaire G ou à une activité enzymatique intrinsèque ou à un canal (Fig.5.2)

b) Récepteurs intracellulaires (récepteurs nucléaires) pour des molécules ligands de la même nature chimique des lipides membranaires tels les stéroïdes, dérivés d'Ac. gras ou les gaz.

Caractéristiques du récepteur

-Spécificité -Affinité -Saturabilité -Réversibilité -couplage

Désensibilisation du récepteur

Arrêt de synthèse du 2nd messenger.

- La dégradation du 2nd messenger.
- activation des protéines inhibitrices
- Diminution de taux extracellulaire du ligand.
- Diminution de nombre de récepteurs activés (500 à 500 000/cellule);

1. La désensibilisation du Récepteur; via sa phosphorylation sous l'action de GRK ou PKC et PKA (Fig. 5.8).

2. L'internalisation de récepteur dans des vésicules endocytaires en complexation avec les β -Arrestines (Fig.5.9).

- **Les ligands signaux (1er messagers)**

Le signal externe qui provoque une activité cellulaire peut se trouver sous différentes formes **exogènes** telles que les photons, les forces mécaniques et les phéromones ou les signaux de contact qui représentent le mode de reconnaissance des cellules entre elles. Ils jouent un rôle particulièrement important dans le développement et l'immunité. Certaines bactéries et d'autres agents infectieux se servent également des signaux de contact pour identifier les tissus ou organes qui sont leurs cibles «préférées».

Par ailleurs, les formes **endogènes** du signal sont :

Signaux électriques Certains récepteurs de la membrane plasmique sont des canaux protéiques qui réagissent aux fluctuations du voltage membranaire en ouvrant ou en fermant les «portes ioniques» qui leur sont associées. Ces récepteurs sensibles au voltage sont communs dans les tissus excitables tels que les tissus nerveux et musculaires, et ils sont essentiels à leur fonctionnement.

Signaux chimiques La plupart des récepteurs membranaires assurent la transmission de signaux chimiques qui se lient spécifiquement aux récepteurs membranaires. C'est parmi les ligands qu'on trouve la plupart des neurotransmetteurs (signaux du système nerveux), les hormones (signaux du système endocrinien) et les substances paracrines et autocrines (molécules chimiques telles que les cytokines qui agissent localement sur une cellule voisine et/ou la même et sont rapidement détruites) (Fig. 5.3).

- **Réponse cellulaire**

Les divers types de cellules peuvent répondre de façon différente à un même ligand. Par exemple, l'adrénaline stimule la contraction des muscles squelettiques et accélère le rythme cardiaque mais elle inhibe la synthèse du glycogène et de lipides au niveau hépatique et dans le tissu adipeux. La réponse de la cellule cible (c'est-à-dire la conversion du signal chimique en activité cellulaire) dépend donc du récepteur activé et de la nature du ligand qui s'y attache à lui (Fig. 5.4 et 5.5). Cela se comprend mieux quand on sait que ces récepteurs peuvent avoir deux domaines fonctionnels : l'un qui fixe le ligand et l'autre qui fait le lien entre le message et la réponse.

Un ou plusieurs signaux chimiques intracellulaires, souvent appelés **seconds messagers** (Fig. 5.7), peuvent ainsi apparaître; ils font le lien entre les événements qui se déroulent au niveau de la membrane plasmique et l'appareil métabolique interne de la cellule. L'**AMP cyclique**, l'**GMP cyclique** et l'ion calcium sont des seconds messagers très importants qui, normalement, activent des enzymes appelées protéines-kinases catalysant la phosphorylation d'une protéine cible et comme elles peuvent ainsi activer à leur tour toute une série d'enzymes (y compris d'autres kinases), ce qui déclenche elles-mêmes l'activité cellulaire correspondante, en amplifiant donc le signal externe (Fig. 5.6). Les IP3 et DAG sont également des seconds messagers qui font stimuler l'activité des protéines effectrices intracellulaires comme certains les canaux ioniques et les protéines kinases C et la calmoduline kinase.

Au sein de la cellule, les différentes voies de transduction du signal stimulées par différents ligands peuvent constituer un réseau de signalisation intracellulaire qui présente des points d'intersection entre ces voies au niveau de certains effecteurs,

participant dans la mise en place soit de la même ou de différentes réponses cellulaires (Fig. 5.4). Parfois, l'évènement cellulaire est induit sous la stimulation de nombreux récepteurs lors de la fixation de différents ligands (Fig. 5.5).

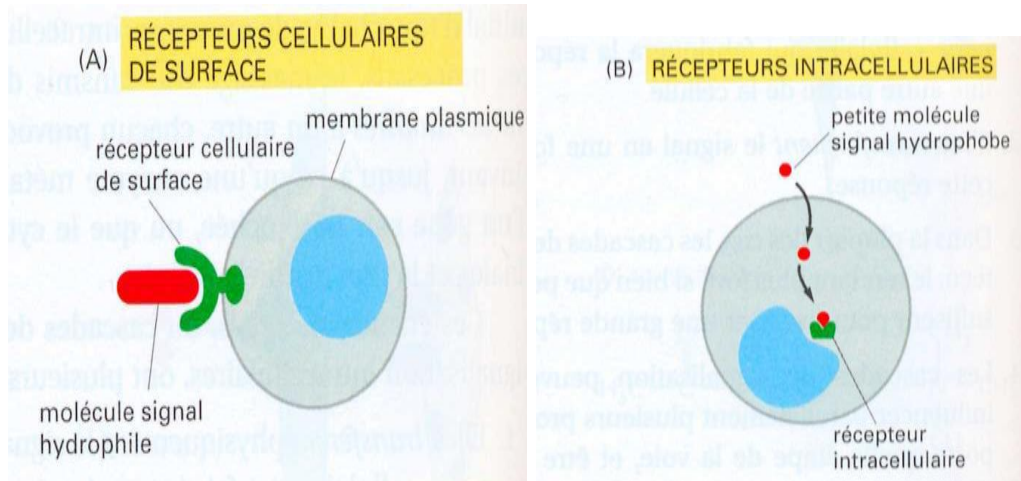


Figure 5.1. Récepteurs membranaires et à translocation nucléaires.

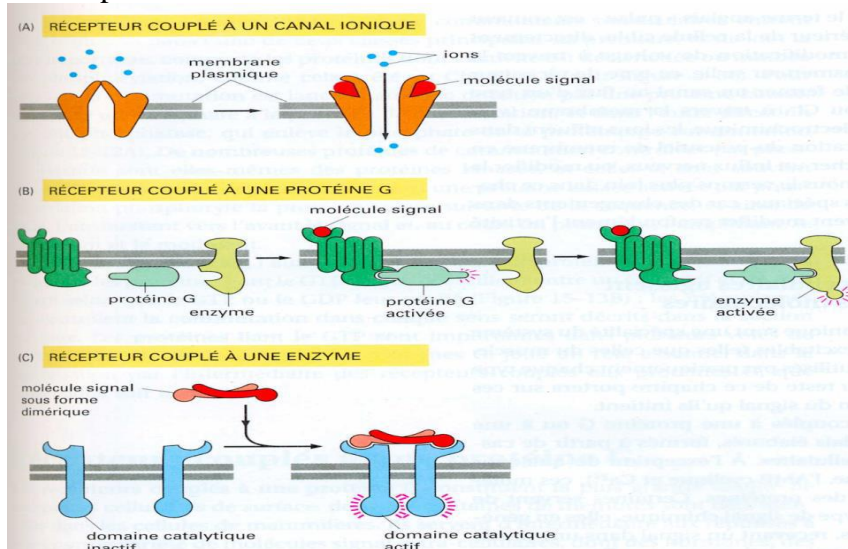
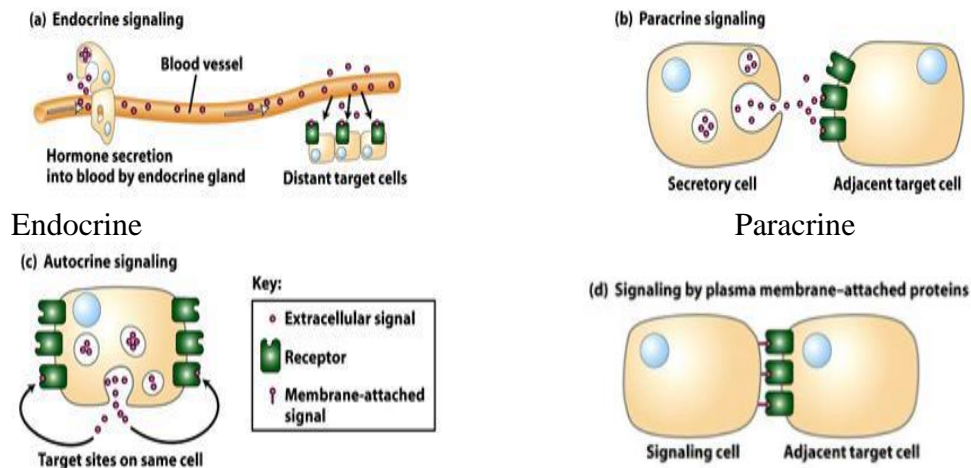


Figure : 5.2. Différents types de couplage d'un récepteur membranaire



Autocrine

Contact direct ou synaptique

Figure 5.3. -Modes d'action de molécules du signal (1ers messagers).

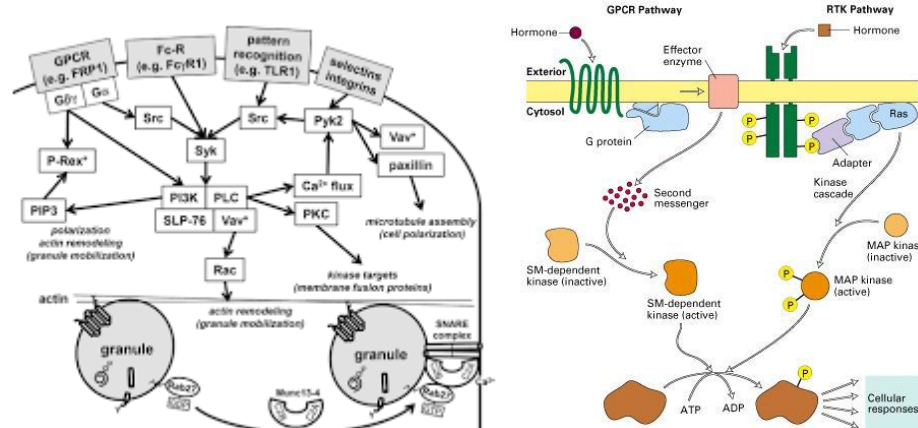


Figure 5.4. - Connexions possibles entre des voies de signalisation différentes au sein de la même cellule.

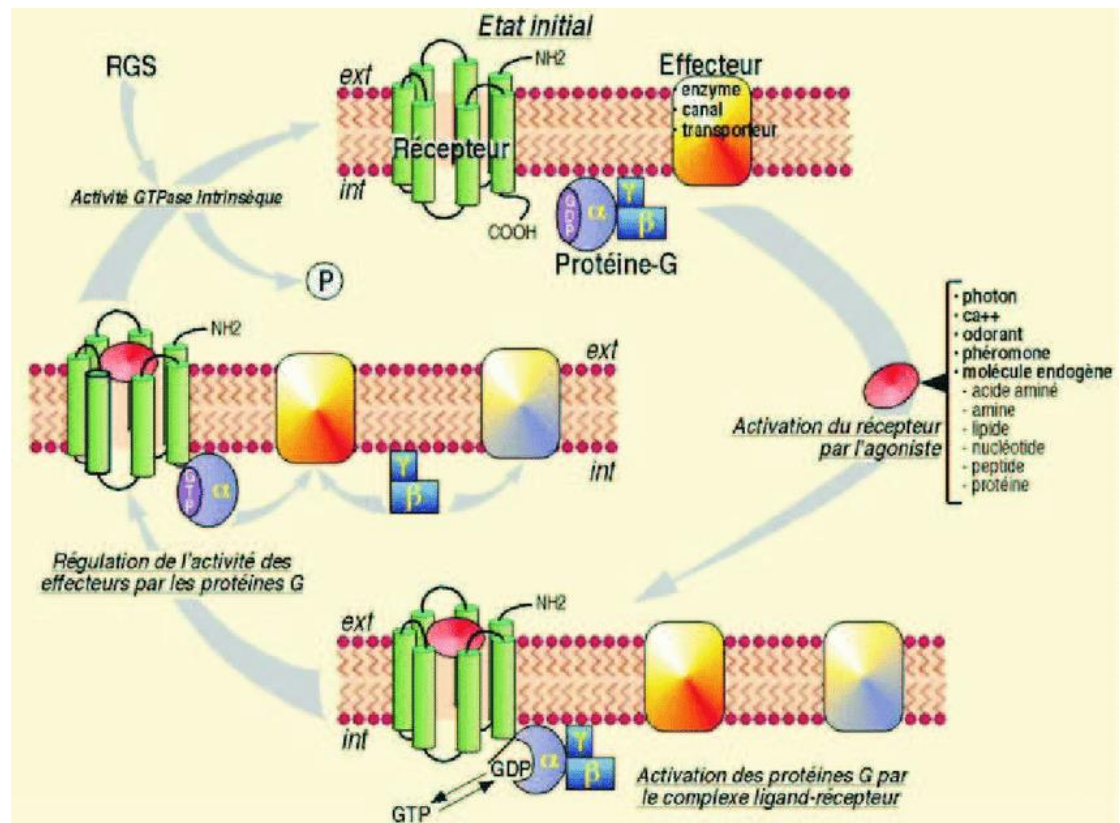


Figure 5.5. - la stimulation de nombreux récepteurs lors de la fixation de différents ligands

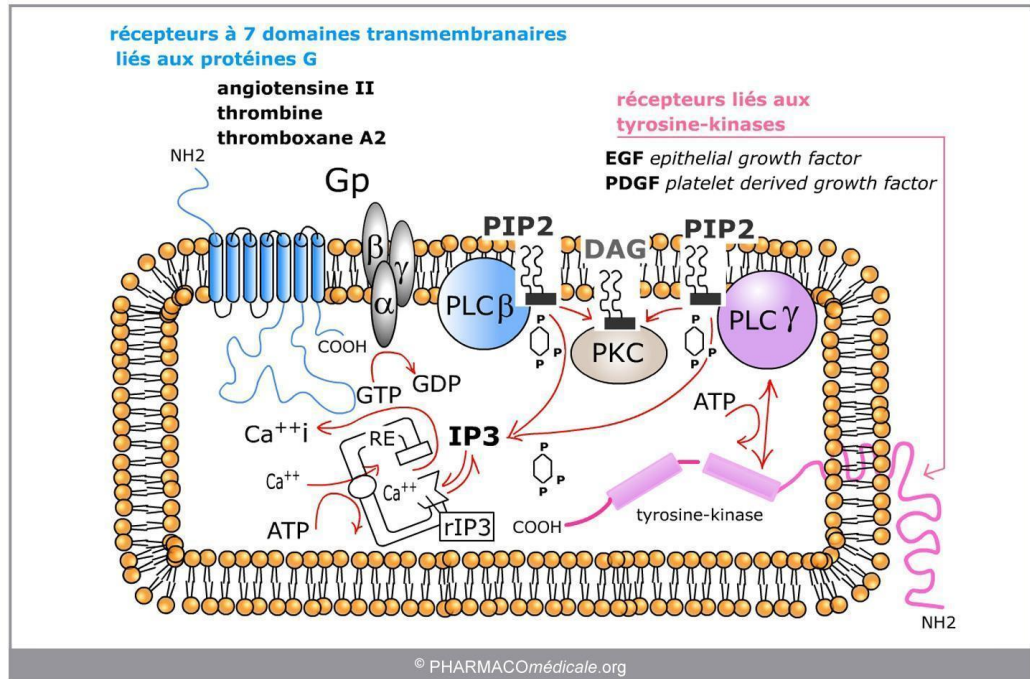


Figure 5.6.- Amplification de signal

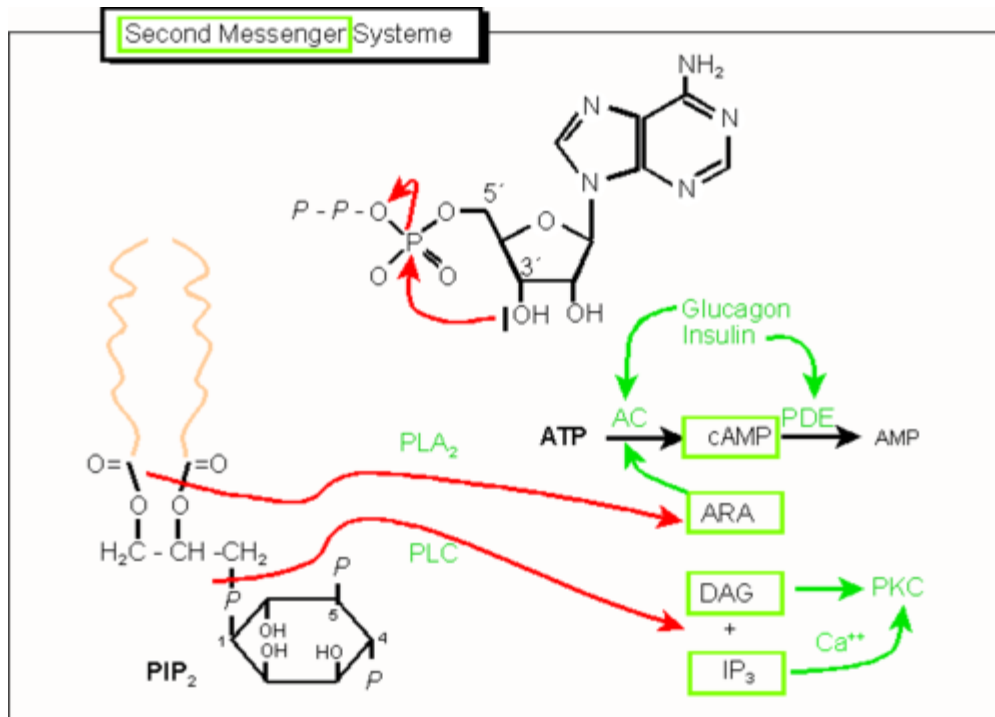


Figure 5.7.- Seconds messagers

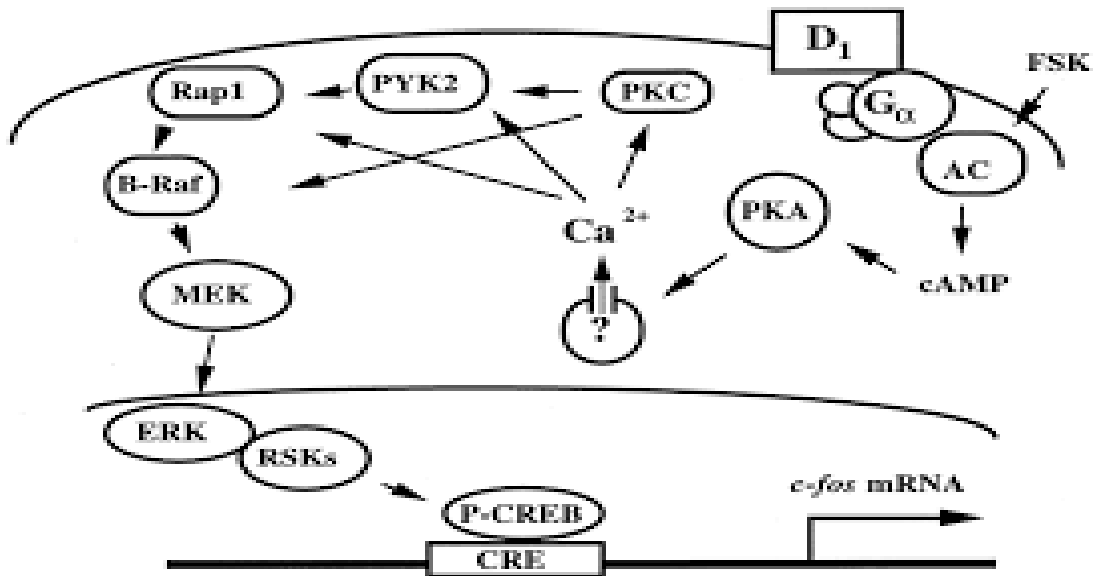


Figure 5.8.- Désensibilisation du Récepteur

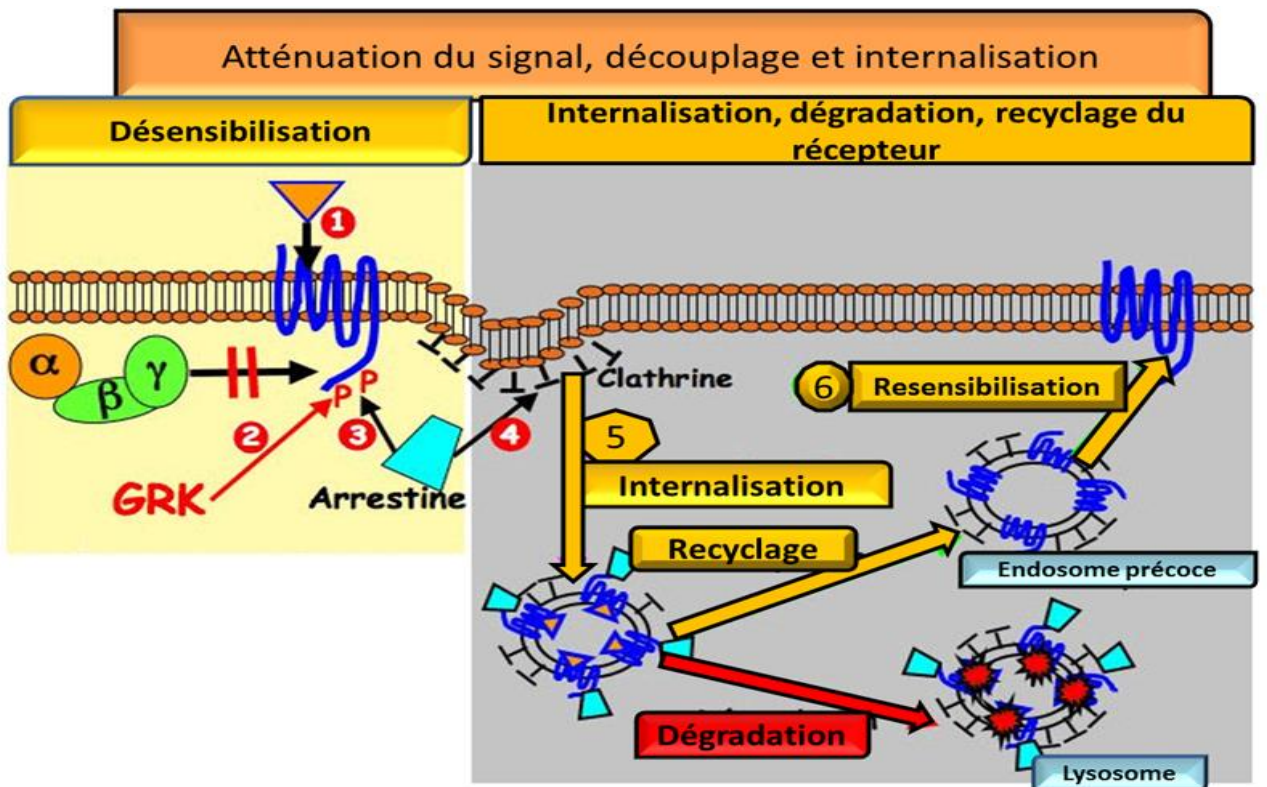


Figure 5.9.- L'internalisation de récepteur dans des vésicules endocytaires en compléxation avec les β -Arrestines

5.2.- Transducteurs et facteurs de couplage

La transduction des signaux perçus par les récepteurs fait intervenir de multiples processus, mais les mécanismes généraux mis en jeu sont en petit nombre, les principaux étant:

- ✓ Le « recrutement » de protéines capables de contracter des interactions avec d'autres: il existe ainsi de très nombreuses protéines « adaptatrices »;
- ✓ Les réactions de phosphorylation et de déphosphorylation par des kinases et des phosphatases, qui modifient la conformation tridimensionnelle des protéines, donc leur réactivité;
- ✓ La mise en jeu de petites protéines G selon un mécanisme quasi constant d'échange et d'hydrolyse de nucléotides guanyliques;
- ✓ La production de « seconds messagers » intracellulaires relayant l'information apportée au niveau de la membrane. Enfin, les effecteurs sont également très divers, mais, là encore, il est possible de les regrouper en quelques entités:
- ✓ Les régulateurs transcriptionnels, couramment appelés « facteurs de transcription », qui commandent la transcription de gènes cibles; ce sont les effecteurs les plus généraux et les plus souvent rencontrés en aval des voies de transduction des signaux;
- ✓ Les régulateurs traductionnels, qui sont directement mis en jeu dans quelques voies de signalisation et qui interviennent sur le niveau de synthèse protéique;
- ✓ Les protéines du cytosquelette ou de la matrice extracellulaire, qui commandent les phénomènes d'adhésion, de motilité et de dispersion cellulaires;
- ✓ Les canaux ioniques enfin, que l'on retrouve ici en tant qu'effecteurs, mis en jeu en particulier, mais pas seulement, dans la transmission synaptique

Le cycle d'activation des protéines G trimériques (comme les sous-unités α , β , γ) commence par la liaison d'un ligand au récepteur, ce qui échange le GDP lié au trimère contre du GTP, menant à sa dissociation et à l'activation de voies de signalisation intracellulaires. Les protéines G monomériques, comme RAS, sont activées par un mécanisme similaire, via un échange de GDP/GTP, mais ne sont pas associées à un récepteur membranaire. Les protéines adaptatrices comme Grb2 et Sos (qui est une protéine échangeuse de nucléotides guanine ou GEF) sont essentielles pour l'activation des protéines RAS, car elles contiennent des domaines. Ces domaines SH2 et SH3 leur permettent de se lier à des phosphotyrosines (SH2) et des régions riches en proline (SH3) pour lier des partenaires. Les protéines scaffold, quant à elles, agissent comme des plateformes moléculaires qui rassemblent et organisent plusieurs protéines de signalisation, améliorant ainsi l'efficacité et la spécificité des voies de signalisation

5.3. Amplification du signal via les seconds messagers

5.3.1. Cascade phospholipases A2, C et D

Définition : Les phospholipases sont des enzymes hydrolysant les liaisons esters des phospholipides. Il existe quatre liaisons ester dans un phospholipide. On distingue donc plusieurs enzymes selon leur site d'action sur la molécule (fig 5.10).

- ▶ 1*Phospholipase A2 (PLA2) : attaque la chaîne d'acides gras qui se trouve en position 2.
- ▶ 2* Phospholipase C : coupe le groupe de tête d'un phospholipide.
- ▶ 3* Phospholipase D : peut couper le groupe de tête polaire d'un phospholipide.

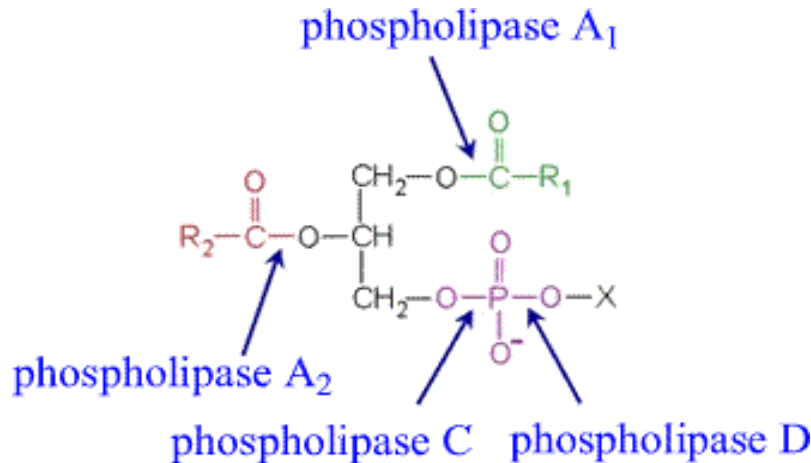


Figure 5.10.- structure des phospholipides et le site d'action des phospholipases.

Cascades Phospholipases A2/ eicosanoïdes

- Les eicosanoïdes sont des dérivés oxygénés des acides gras polyinsaturés (l'acide arachidonique) .
- Présents dans presque toutes les cellules du corps à l'exception des érythrocytes.
- Ce sont des hormones locales en réaction à des stimuli chimiques.
- Ils jouent un rôle de seconds messagers à quelques hormones hydrophiles la TSH et l'ACTH.
- Les Eicosanoïdes sont des molécules lipidiques, ils peuvent donc aussi être des ligands pour des récepteurs intracellulaire : les PPAR (α , β ,).

Voie d'activation

Une fois sécrétés par les cellules, les eicosanoïdes se lient à des récepteurs RCPG qui activent en général l'adénylate cyclase qui aboutit à la synthèse d'AMPC comme second messenger.

L'activation des récepteurs pour des centaines de molécules de signalisation extracellulaires favorise l'activation de PLC par des mécanismes impliquant des protéines G hétérotrimériques et de la superfamille Ras, des tyrosine kinases, Ca²⁺ et/ou d'autres stimuli. Bien que l'importance des isozymes PLC a été établie pour la signalisation cellulaire médiée par Ca²⁺ et PKC, les changements médiés par PLC dans les niveaux de phosphoinositides membranaires modifient les activités de nombreuses protéines membranaires, cytosquelettiques et cytosoliques. Ainsi, l'activité de PLD peut être stimulée par un grand nombre de récepteurs de surface cellulaire et est régulée par des facteurs intracellulaires, y compris les isoformes de la protéine kinase C, les petites GTPases des familles ARF, Rho et Ras et le phosphoinositide, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP₂) .

Le PA produit par PLD active les protéines de signalisation et agit comme un nœud dans la membrane vers laquelle les protéines de signalisation se transloquent. Plusieurs protéines de signalisation, dont Raf-1 et mTOR, se lient directement à PA pour assurer la translocation ou l'activation. Les phospholipases A2 catalysent l'hydrolyse des glycérophospholipides pour produire les métabolites de l'acide arachidonique, Comme cela se fait grâce à une série d'événements stimulants tels que le calcium et la protéine kinase PKC, après quoi l'acide arachidonique est libéré, qui a un rôle important dans le l'immunité (Lymphocytes T et B).

Ces enzymes PLC, PLA2 et PLD agissent comme une série des événements à l'intérieur de la cellule appelés transductions de signaux sur l'effet du messenger extracellulaire, car cela se traduit par les voies métabolismes de chaque enzyme, par conséquent de nombreux effets biologiques différents se produisent selon chaque enzyme, et aussi les besoins de la cellule.

5.3.2. Cascade AMPc/PKA

AMP cyclique (AMPc, adénosine monophosphate cyclique) est une molécule formée à partir de l'ATP, dans laquelle le groupement phosphate a une structure cyclique; l'AMPc sert de messenger intracellulaire. L'AMP cyclique est convertie en AMP par l'action de l'enzyme phosphodiesterase. L'AMPc active à son tour des enzymes comme la PKA (Protéine Kinase A) qui phosphoryle des protéines spécifiques. L'AMPc est donc un intermédiaire essentiel dans les cascades de voies de transduction intracellulaires (fig. 5.11)

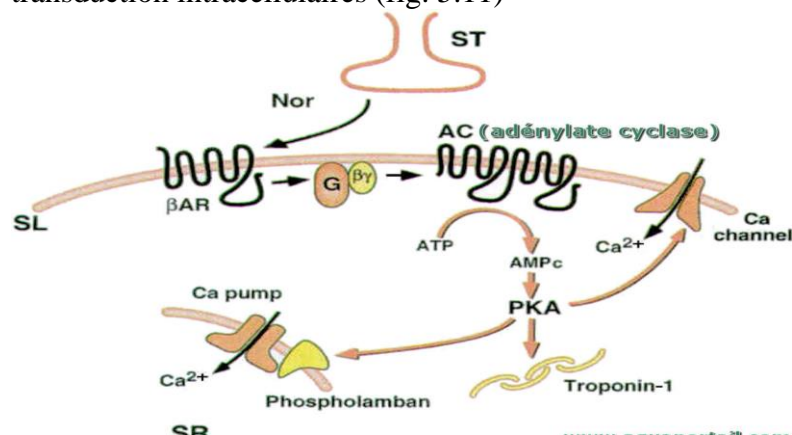


Figure 5.11.- Activation PKA par AMPc

Mécanisme d'activation de PKA par l'AMPc: A l'état inactif, la PKA est sous sa forme d'hétérotétramère où les sous-unités R fixent et inhibent les sous-unités C. Lors d'une élévation d'AMPc, deux molécules de ce nucléotide cyclique se fixent sur chaque sous-unité R entraînant la libération des sous-unités C qui iront alors phosphoryler leurs substrats

- a. **Activation :** Chaque PKA est une holoenzyme qui est constituée de deux sous unités catalytiques et deux sous unités régulatrices. La PKA est activée selon la teneur de l'AMPc. Si la teneur est basse, la PKA devient intacte et catalytiquement inactive. Si la concentration de l'AMPc augmente, la PKA est activée par l'adénylate cyclase, les récepteurs couplés aux protéines G et par

l'inhibition de l'enzyme PDE qui dégrade l'AMPc. Donc l'AMPc se lie aux deux sites de la sous unité régulatrice qui provoque un changement de la conformation et libère la sous unité catalytique

- b. **Catalysation** : Les sous unités catalytiques libérées sont capables de transférer le phosphate terminal de l'ATP vers la sérine ou la thréonine du substrat . Cette phosphorylation résulte d'un changement de l'activité du substrat. Le PKA et la régulation de l'AMPc sont impliquées dans différentes voies.
- c. **Inactivation** : Le PKA est contrôlée par l'AMPc et la sous unité catalytique. Elle est capable d'être régulée elle-même par la phosphorylation. L'un des substrats activés par la kinase est la PDE qui convertit l'AMPc en AMP et réduit la quantité de l'AMPc qui peut activer la PKA.
- d. Ancrage :

Exemple : PKA dans la relaxation du muscle lisse

La relaxation musculaire implique l'AMPc et le GMPc qui induisent la diminution de la concentration du Ca²⁺ intracellulaire et par l'activation de la MLCP. Les kinases agissent par:

- Inhibition du métabolisme du phosphoinositol et de la libération du Ca²⁺ intracellulaire.
- Augmentation du potentiel membranaire qui induit la stimulation des canaux K⁺ et l'inhibition des canaux Ca²⁺.
- Diminution de la sensibilité des protéines contractiles au Ca²⁺

Le PKA est une enzyme dépendante d'un second messager. Il est impliquée dans plusieurs processus cellulaires inclues dans la transcription, le métabolisme, le cycle de progression cellulaire et l'apoptose. Le PKA est une enzyme qui contrôle la croissance, la mémoire et le métabolisme.

5.4. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases

-Protéines kinases

Définition : Les protéines kinases sont des enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe phosphate de l'adénosine triphosphate (ATP) sur l'hydroxyle (groupe -OH) des chaînes latérales des acides aminés ayant une fonction alcool : sérine, thréonine et tyrosine.

Les protéines kinases sont impliquées dans la régulation de l'activité des protéines cibles. Certaines protéines kinases ont besoin de l'activation d'une cycline pour être fonctionnelles (Protéine kinase cycline-dépendante).

Structure/ fonction d'un domaine protéique kinase typique.

Le squelette protéique est représenté sous forme de dessin animé en gris et le substrat peptidique est représenté en orange (fig.5.12).

Les protéines kinases sont impliquées dans la régulation de la transcription, le processus des ARN messagers (ARNm), dans la différenciation des cellules nerveuses, ils régulent notamment l'expression des gènes, ils jouent un rôle dans la mitose, et aussi dans la phénomène d'apoptose.

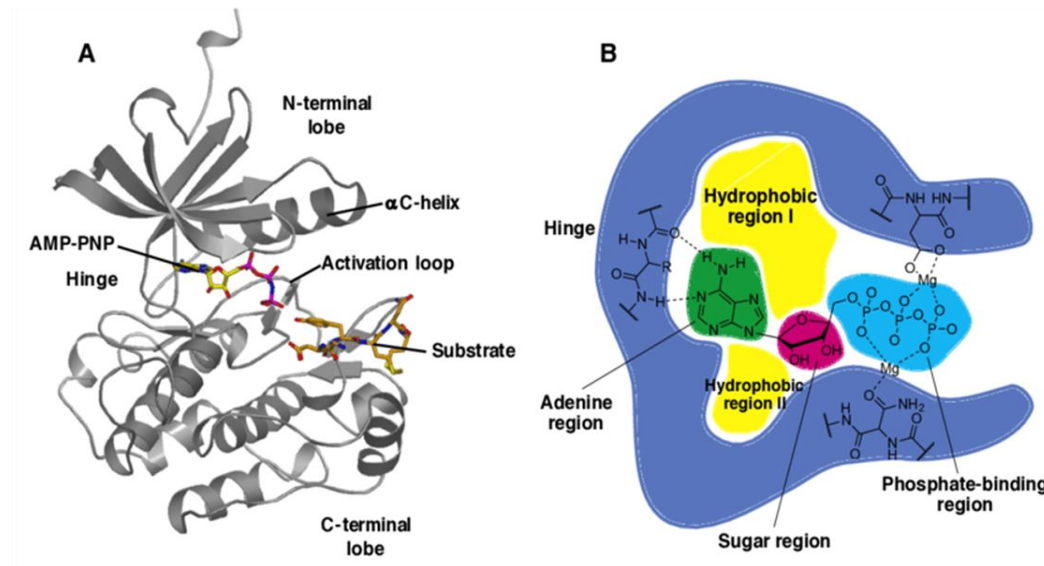


Figure 5.12.- Structure de protéines kinases

- Protéines phosphatases

La protéine phosphatase 2A (PP2A) est une vaste famille d'holoenzymes qui représente 1 % des protéines cellulaires totales et assure la majeure partie de l'activité phosphatase Ser/Thr dans les cellules eucaryotes. Les protéines PP2A sont constituées d'un dimère central, composé d'une sous-unité catalytique (C) et d'une sous-unité structurale (A), associées à une troisième sous-unité régulatrice variable (B). Bien qu'initialement considérée comme une enzyme de régulation constitutive, la PP2A est en réalité fortement régulée par des modifications post-traductionnelles de sa sous-unité catalytique ou par l'identité d'une sous-unité régulatrice de type B, qui détermine la spécificité du substrat, la localisation subcellulaire et l'activité enzymatique d'une holoenzyme donnée.

Protéines phosphatases et leur rôle dans le cancer

- **Régulation cellulaire** : Les protéines phosphatases sont essentielles pour la phosphorylation (l'ajout d'un groupe phosphate) et la déphosphorylation (le retrait du groupe phosphate) des protéines. Cette régulation fine est vitale pour de nombreux processus cellulaires.
- **Cancer**: Lorsque la régulation de la phosphorylation est perturbée par un défaut des phosphatases, cela peut conduire à une croissance cellulaire incontrôlée, à une résistance à l'apoptose (la mort cellulaire programmée) et à une migration accrue des cellules tumorales, des caractéristiques typiques du cancer.

PTEN : Ce gène code une phosphatase qui joue un rôle dans la régulation de la croissance cellulaire. Les anomalies du gène PTEN sont fréquentes dans divers cancers, notamment des cancers du cerveau, de la thyroïde et du sein, et sont associées à une croissance cellulaire incontrôlée.

5.4.1. Récepteurs Tyrosine kinase (ex : signalisation de l'insuline)

Les RTKs sont des glycoprotéines membranaires composées d'un site de fixation du ligand appartenant au domaine extracellulaire relié au domaine cytoplasmique par une simple hélice transmembranaire. Un récepteur à activité tyrosine kinase (RTK) est une protéine de la famille des récepteurs-enzymes. Ce sont tous des récepteurs trans-membranaires monomériques, à l'exception de l'insuline, qui est un hétérodimère associé par un pont disulfure, donc tétramérique.. (fig.5.13)

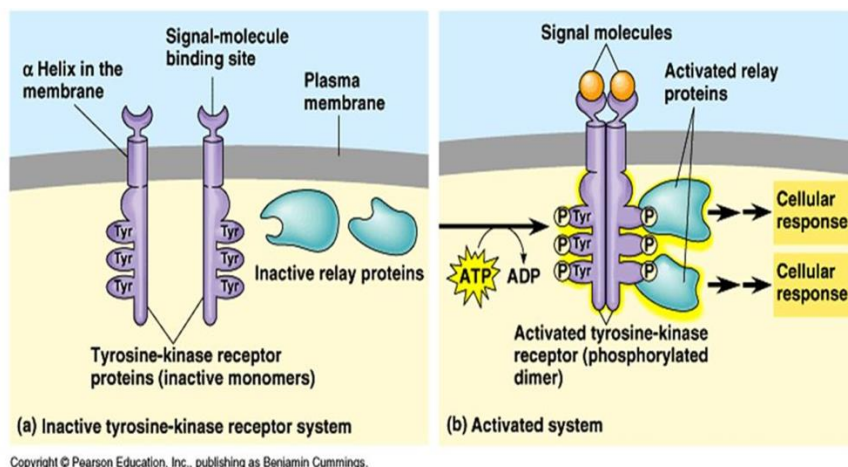


Figure 5.13.- Structure des récepteurs Tyrosine Kinase

5.4.2. PI3kinase, AKt/PKB (domaines PH, PIP3)

Les PI3K constituent une famille d'enzymes à activité lipide kinase qui catalysent la phosphorylation des phosphoinositides membranaires en position 3 du groupement inositol. Trois classes de PI3K (I, II et III) ont été identifiées. Les PI3K impliquées dans les effets métaboliques de l'insuline appartiennent à la classe I. Ces PI3K sont des hétérodimères constitués d'une sous-unité catalytique de 110 kDa, dont il existe trois isoformes (α , β et δ) et d'une sous-unité régulatrice de 85 kDa dont il existe cinq isoformes.

Leur activation par l'insuline est induite par l'association du domaine SH2 de la sous unité régulatrice aux phosphotyrosines des protéines IRS, et s'accompagne de leur redistribution du cytosol à la membrane plasmique. Agissant comme second messenger, le PIP3 généré induit l'association des sérine kinases PDK1 (Phosphoinositide Dependent Kinase 1), Akt/PKB (Protein Kinase B) et a PKC (PKC atypiques) à la membrane plasmique par leur domaine PH, permettant ainsi leur activation.

5.4.3. MAPKinases / Facteurs de transcription

La cascade des kinases activées par les mitogènes (MAPK) est un module hautement conservé qui intervient dans diverses fonctions cellulaires, y compris la prolifération, la différenciation et la migration cellulaire. La voie couvre de nombreuses protéines, y compris les MAPK initialement nommées ERK (kinases

régulées par le signal extracellulaire), qui transmettent le signal en phosphorylant une protéine voisine, agissant comme un interrupteur "on" ou "off".

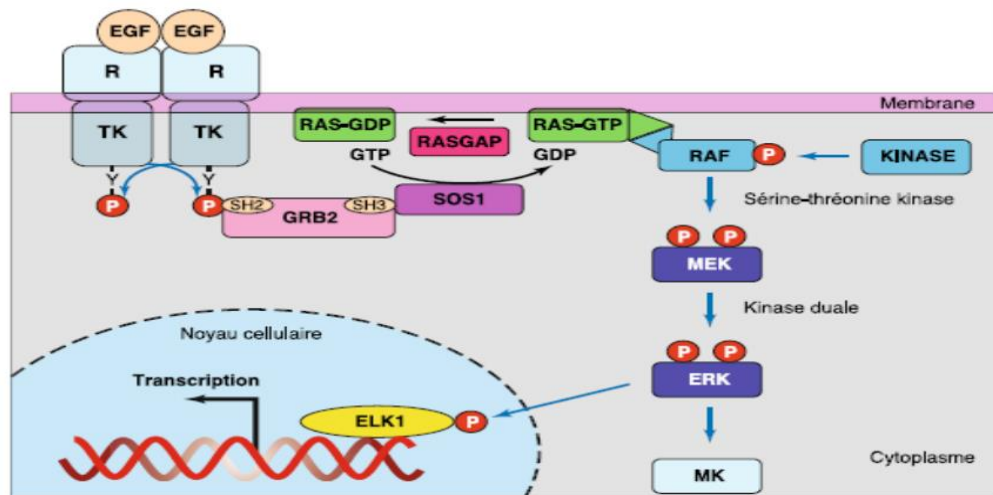


Figure 5.14.- la voie MAPKinase

Selon la voie de signalisation la plus classique, l'activation d'un RTK permet le recrutement d'une protéine à domaine SH2 appelée GRB2 ; le domaine SH3 de GRB2 est reconnu par une protéine SOS1, qui est un facteur d'échange GDP-GTP pour les protéines RAS. RAS-GTP peut recruter à la membrane une protéine RAF, qui reçoit alors une ou plusieurs phosphorylations catalysées par d'autres kinases (PKA, PAK, SRC), ce qui active sa fonction de kinase. RAS-GTP est désactivé par son activité GTPasique propre, stimulée par la protéine RASGAP (RAS GTPase-activating protein). RAF phosphoryle et active une protéine MEK, qui phosphoryle et active une protéine ERK, qui phosphoryle et active un facteur de transcription comme ELK1 ou une kinase de la famille MK (fig.3.14).

Exemple : MAPKinase et cancer

Le cancer est souvent exposé à une variété de conditions de stress telles que la privation d'oxygène et l'inflammation. De nombreuses voies MAPK sont impliquées dans la 6 signalisation du stress. Par conséquent, certaines kinases sont activées par le stress dans le cancer en réponse à l'inflammation, aux dommages à l'ADN et à l'apoptose. Les états hypoxiques sont répandus dans les tumeurs solides. Le signal hypoxique stimule l'activation de MKP-1. MKP-1 active ensuite les SAPK/JNKs, qui activent c-Jun. c-Jun actif favorise la transcription de multiples gènes en aval qui est importante pour la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. Les aberrations dans la signalisation MAPK influencent la plupart des processus de carcinogenèse et sont cruciales pour le développement et la progression du cancer. La plupart des lésions associées au cancer telles que la surexpression des récepteurs tyrosine kinases, les mutations activatrices dans les récepteurs tyrosine kinases, la production autocrine ou paracrine soutenue de ligands activateurs, les mutations Ras et les mutations B-Raf entraînent une activation constitutive de la signalisation ERK. L'activité et la phosphorylation de c-Jun par JNK ont été signalées comme jouant un rôle critique dans la tumorigénèse induite par Ras.

Chapitre 6.- Anomalies de signalisation et pathologies

6.1. Anomalie dans l'expression protéique et pathologie

6.1.1. Les protéines RAS

A/ Définition

Les protéines Ras sont une famille de protéines, avec un rôle de proto-oncogène. Une tumeur sur quatre chez l'Homme possède une mutation de ce gène. Les protéines issus de ce gène ont un poids moléculaire de 21000 dalton d'où leurs noms p21 (Figure 6.1)

B / Activité

Elles agissent sur plusieurs voies métaboliques par activation de kinases

- Elles interviennent dans la régulation de la prolifération, de la différenciation et de la survie cellulaire ainsi que dans l'organisation du cytosquelette. Elles favorisent l'autophagie, ce qui entraîne la transformation cancéreuse des cellules.

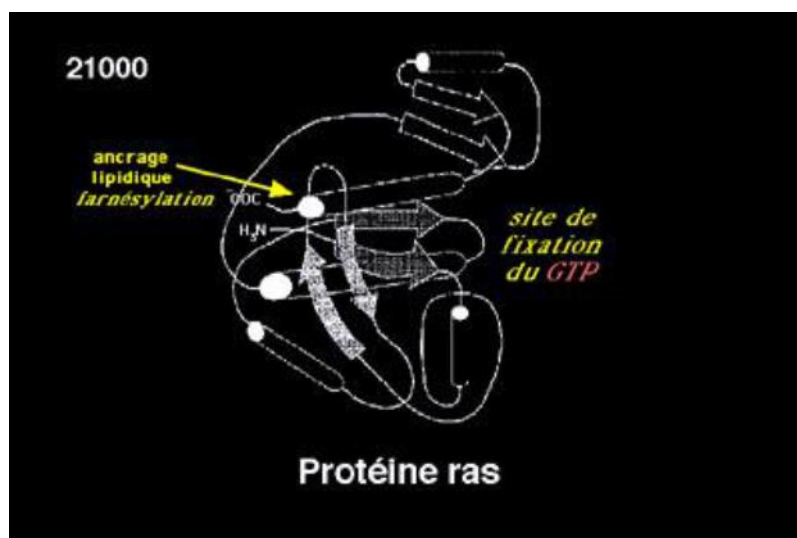


Fig 6.1.: La protéine RAS

6.1.2. L'EGFR

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est une protéine monomérique transmembranaire à activité tyrosine kinase. Il devient un oncogène par acquisition d'une mutation activatrice, située essentiellement dans les exons 19 ou 21 du gène (figure 6.2).

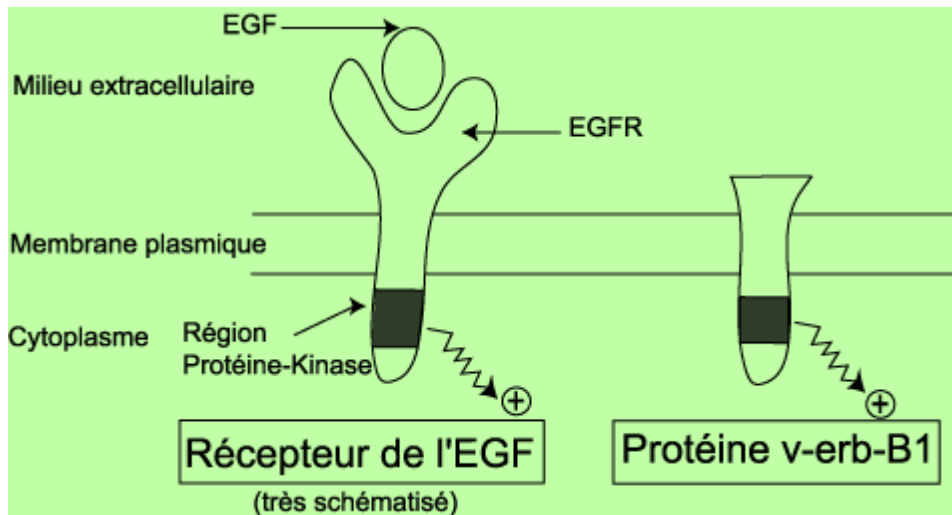


Figure 6.2.-L'EGFR

6.1.3. Les oncoprotéines

Protéine dont la synthèse dans l'organisme est commandée par un oncogène, c'est-à-dire un gène altéré, susceptible d'être impliqué dans l'apparition d'une tumeur.

a. les oncogènes

Tout gène cellulaire, appelé proto-oncogène, susceptible de devenir, par suite d'une modification qualitative ou quantitative, *un gène transformant*, c'est-à-dire un gène capable de conférer expérimentalement le phénotype cancéreux (transformation) à une cellule normale eucaryote.

- L'altération d'un allèle est suffisante pour entraîner une activation anormale.
- Les oncogènes sont répartis en 6 grandes classes en fonction des oncoprotéines pour lesquels ils codent, on citera la plus importante dans notre études qui est l'EGFR. Leur mécanisme d'activation est multiple, on évoquera celui de la délétion qui aboutit le plus souvent à une perte de fonction, pouvant parfois entraîner une activation anormale si elle touche une région régulatrice.

b. Activation anormale de l'EGFR dans les cancers

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

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

- augmentation de son expression liée à une augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule. Ce mécanisme peut résulter d'une augmentation de la transcription ou d'une stabilité accrue de la protéine.

- mutations du gène de l'EGFR au niveau du domaine extracellulaire, responsables de la synthèse d'un récepteur anormal ayant perdu ce domaine et activé de manière constitutive.
- augmentation de la quantité de ligands de l'EGFR, en particulier le TGF α , responsable d'une boucle autocrine d'activation continue de l'EGFR.
- amplification du gène de l'EGFR, fréquemment retrouvée dans les cancers broncho-pulmonaires, ORL et colorectaux.

Les mutations des récepteurs dans les cellules non somatiques sont associées à plusieurs formes de cancer, en particulier celui du sein et du poumon (figure6.3).

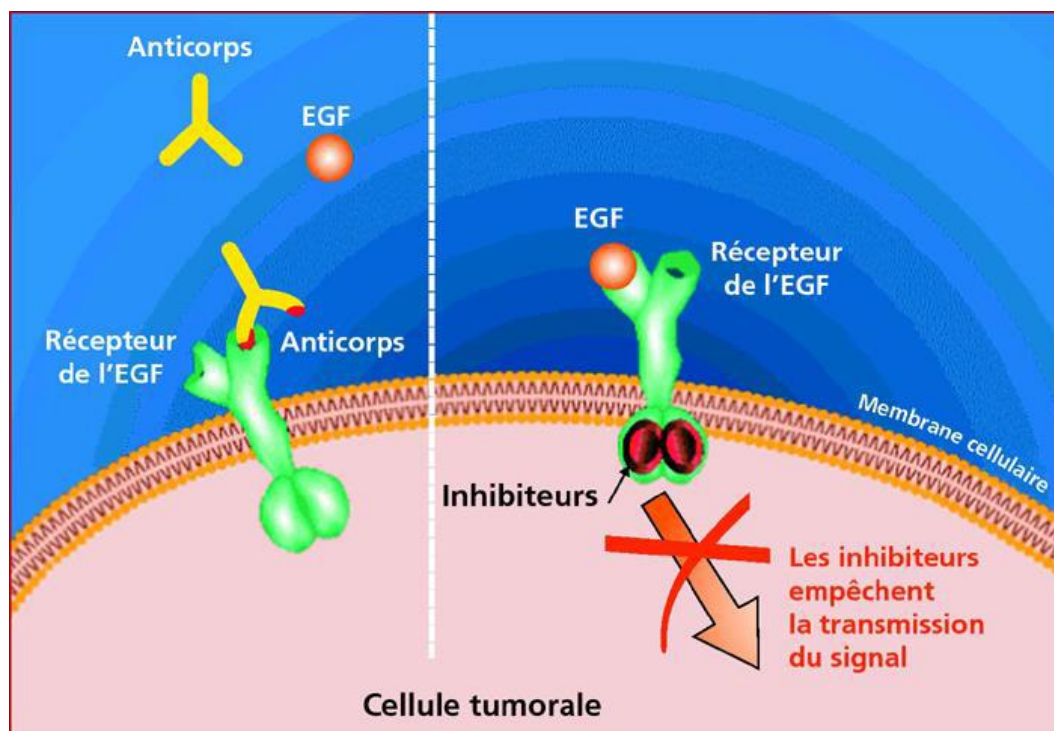


Fig 6.3 : Schéma démontrant l'activation de l'EGFR

c. Pathologie lié à l'activation anormale de la voie RAS/MAPK

Concernant les protéines RAS, *KRAS* est un des oncogènes les plus fréquemment activés dans les cancers puisqu'environ 20 % des tumeurs humaines ont une mutation activatrice de ce gène.

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

L'activation de la protéine RAS se fait par la présence d'une mutation fautive de *KRAS* qui leur confèrent un pouvoir oncogénique. La présence de telles mutations au niveau tumoral est responsable d'une activation acquise de la voie RAS/MAPK en aval de l'EGFR, et totalement indépendante de la fixation du ligand à ce dernier, ce qui confère aux cellules tumorales une résistance aux anticorps anti-EGFR dans les cancers colorectaux.

6.2.-Anomalies de tri protéiques et pathologies héréditaires

Les anomalies de tri protéique affectant les mitochondries, lysosomes et le noyau entraînent des pathologies héréditaires dues à des mutations génétiques. Ces mutations peuvent perturber le transport ou le fonctionnement des protéines nécessaires à l'activité de ces organites, provoquant des maladies comme le syndrome de Mitochondries (ou maladie mitochondriale), le syndrome de Lysosomes (maladie de Tay, maladie de Gaucher) et le syndrome du Noyau (ex: sclérose latérale amyotrophique). Ces maladies sont souvent chroniques, multifactorielles et complexes à diagnostiquer.

Problèmes de tri protéique et mitochondries

Les anomalies mitochondriales sont des maladies génétiques héréditaires qui peuvent résulter de mutations du génome mitochondrial (ADNmt) ou de l'ADN nucléaire. Ces mutations peuvent altérer la fonction des mitochondries, des « centrales énergétiques » de la cellule, entraînant une production défectueuse d'énergie (ATP).

Problèmes de tri protéique et lysosomes

Les anomalies du tri protéique peuvent affecter les lysosomes, des organites cellulaires responsables du recyclage des déchets. Le défaut de tri des protéines peut entraîner une accumulation de substances toxiques dans les lysosomes.

Problèmes de tri protéique et noyau

Le noyau cellulaire contient le matériel génétique (ADN), et les anomalies dans son fonctionnement peuvent affecter le tri des protéines nucléaires. Des protéines mal triées peuvent entraîner des défauts dans la transcription ou la réparation de l'ADN, affectant les fonctions cellulaires.

Références bibliographiques

- 1- Karp, Gerald, Janet Isawa, and Wallace Marshall. *Biologie cellulaire et moléculaire*. De Boeck Supérieur, 2018.
- 2- André Berkaloff ; Jacques Bourguet ; Pierre Favard ; Jean-Claude Lacroix *Biologie et physiologie cellulaires. II : Cellules et virus, etc.* Edition Hermann Paris, 1978. 259 pages.
- 3- RUEL, GUILLAUME. "Biologie cellulaire et moléculaire." (2002).
- 4- Hounsell, Elizabeth F., Michael J. Davies, and David V. Renouf. "O-linked protein glycosylation structure and function." *Glycoconjugate journal* 13.1 (1996): 19-26.
- 5- Blanchard, Sophie. *Ingénierie de glycoside hydrolases pour la glycosylation des protéines recombinantes*. Diss. Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2004.
- 6- Younes, Mohamad. *Etude des relations entre les mutations EGFR/KRAS et les altérations de la voie p53/p14arf et caractérisation d'une nouvelle cible thérapeutique, le complexe neurotensine et son récepteur1, dans les cancers bronchiques non à petites cellules*. Diss. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2012.
- 7- TAJIMI, M., HORI, M., MITSUI, M., OZAKI, H., & KARAKI, H. (1995). Inhibitory Effect of Forskolin on Myosin Phosphorylation Dependent and Independent Contractions in Bovine Tracheal Smooth Muscle. *Journal of Smooth Muscle Research*, 31(4), 129-142.
- 8- Dessillons, M. (2022). *Rôle de la protéine kinase AMPc-dépendante de type I dans le couplage excitation-contraction et l'insuffisance cardiaque* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- 9- Soufian Bouazzi ; 2013. *Implications de la phosphatidylcholine phospholipase C, des transporteurs de dipeptides et de la cobalamine dans le processus inflammatoire. Application à l'étude de la mucoviscidose*. Médecine humaine et pathologie. Université de Lorraine.France.
- 10- Weernink PA, Lopez de Jesus M, Schmidt M. (2007). Phospholipase D signaling: orchestration by PIP2 and small GTPases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 374: pp 399-411.(1-10)p12-13.
- 11- Balali-Mood, K., Harroun, T. A., et Bradshaw, J. P. (2003). Molecular dynamicssimulations of a mixed DOPC/DOPG bilayer. *Eur Phys J E Soft Matter* 12 Suppl 1, 135-140.
- 12- Gondoin, Anaïs, et al. "Contrôle de la signalisation et de l'action de l'insuline par la protéine Grb14." *Biologie Aujourd'hui* 208.2 (2014): 119-136.