

# Programme

## **Matière 2: Biochimie cellulaire et fonctionnelle**

**Crédits : 6**

**Coefficient : 3**

Page facebook ; Domaine SNV :

Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie

### ***Objectifs de l'enseignement***

*Cette matière a pour objectif de donner les bases de la dynamique membranaire, la compartimentation intracellulaire et son intégration dans la fonction cellulaire ainsi que la transmission des signaux intracellulaires à partir de ligands hydrophiles. Notions de modules et d'interconnexions de réseaux de signaling. Initiation à la génomique biochimique*

### **Contenu de la matière :**

#### **•Compartimentation fonctionnelle de la cellule (vue d'ensemble)**

#### **•Biomembranes**

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

### 3. Relation structure-fonction de la cellule

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

### 4. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique :

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

## **5. Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire**

**5.1. Récepteurs et ligands** :- Exemples : Adrénaline, insuline, PAF, facteurs de croissance, mitogènes.

**5.2. Transducteurs et Facteurs de couplage** : Cycle d'activation des protéines G trimériques G (ex :  $\alpha$ , q, o) et monomériques (RAS oncogéniques) ; Adaptateurs Grb2/Sos (domaines SH2, SH3), protéines scaffolds.

### **5.3. Amplification du signal via les seconds messagers**

5.3.1. Cascade phospholipases C et D/DAG/IP<sub>3</sub>/Ca<sup>2+</sup> (ex cellule cardiaque)

5.3.2. Cascade phospholipase A<sub>2</sub>/ Eicosanoides

5.3.3. Cascade AMPc/PKA/CREB (ex : cellule hépatique, cellule musculaire)

5.3.4. Cascade NO/GMPc (ex neurone, cellule endothéliale)

### **5.4. Amplification du signal via les cascades de MAPkinases :**

- Protéines kinases (A, B/Akt, C, CAM, MAP)

- Protéines phosphatases (2A, calcineurin), tyrosine phosphatases, PTEN (ex : cancer).

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

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

5.4.3. MAPKinases / Facteurs de transcription (ex : cancer)

## **6. Anomalies de signalisation et pathologies**

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

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

**Mode d'évaluation : Contrôle continu, Exposés, Posters, Compte rendu de TP**

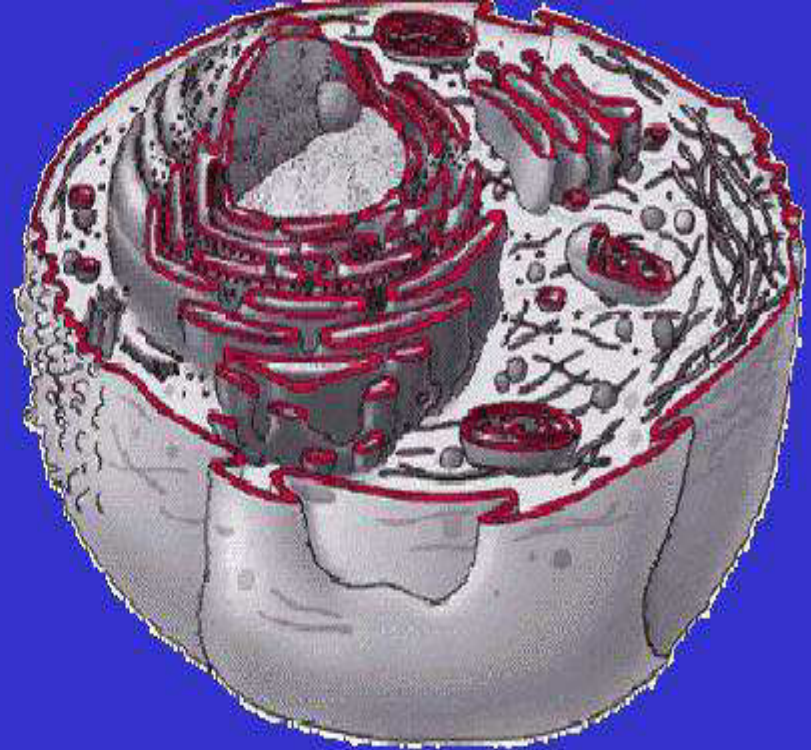
**Références (Livres et photocopiés, sites internet, etc) :** Thèses, livres et articles scientifiques

# **Structure et fonction de la membrane**

# **Structure de la membrane**

La membrane est constituée de trois des principaux éléments de base du vivant, des lipides, des protéines et des glucides. Ces trois éléments coopèrent pour former un film fluide mais néanmoins étanche qui isole la cellule du milieu extérieur et lui permet d'interagir.

- Frontière entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule
- Contrôle des entrées et des sorties de la cellule (échanges cellulaires)
- Compartiments intérieurs de la cellule (organites membranaires)



La surface de membrane à l'intérieur de la cellule est souvent plus grande que la

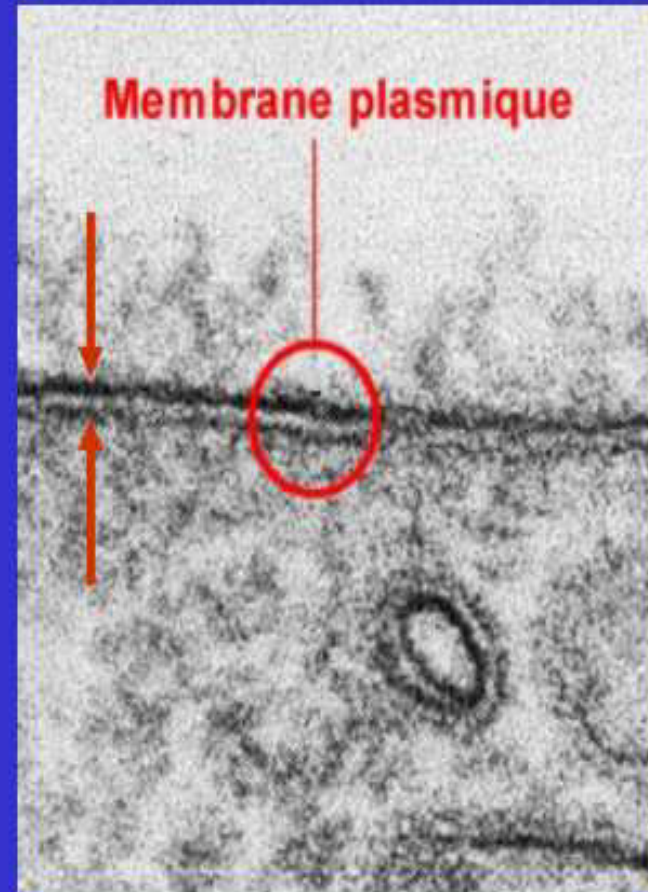


# Structure de la membrane

- Épaisseur : 7 à 8 nm
- Deux feuillets visibles au microscope électronique

Il faudrait superposer 10 000 épaisseurs de membrane pour obtenir l'épaisseur d'une feuille de papier.

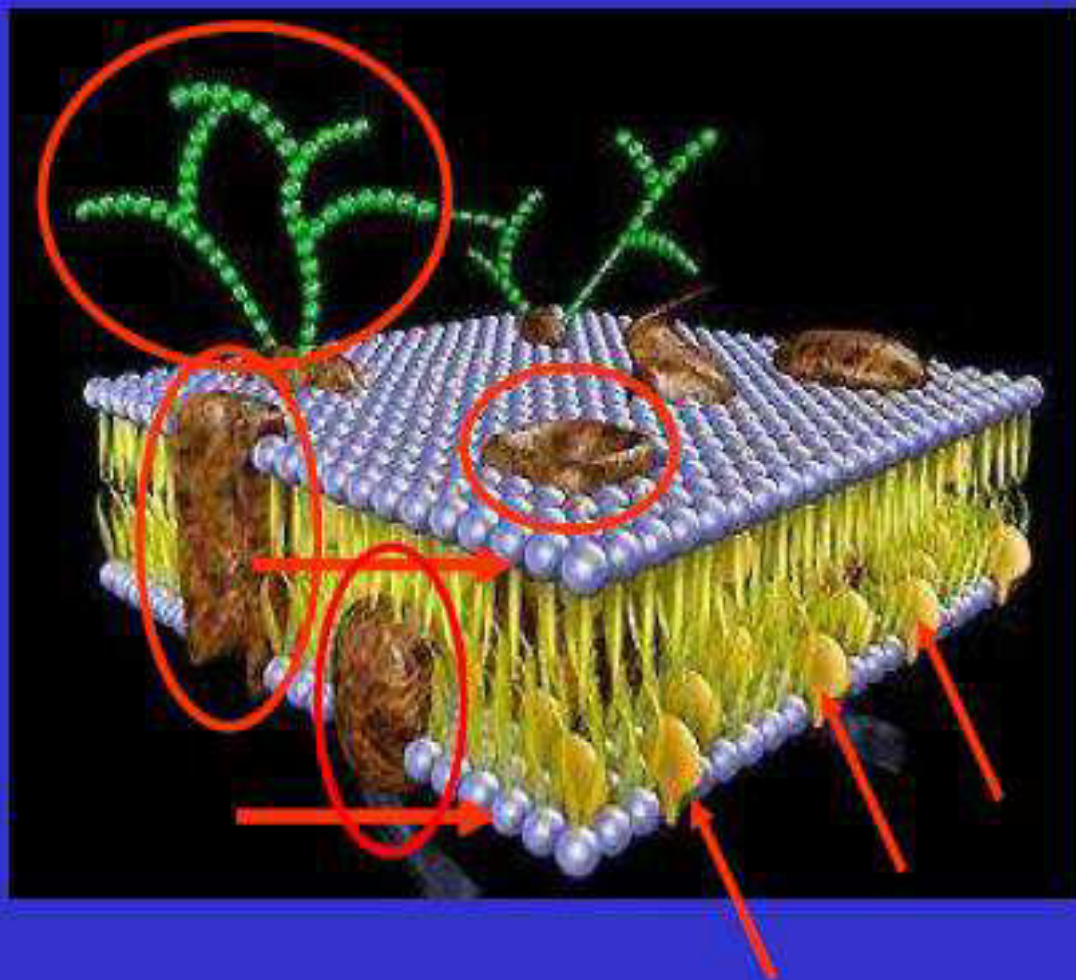
1 nm (nanomètre) = 1/1000 de  $\mu\text{m}$



**Photographie au microscope électronique d'une membrane**

# Modèle de la mosaïque fluide

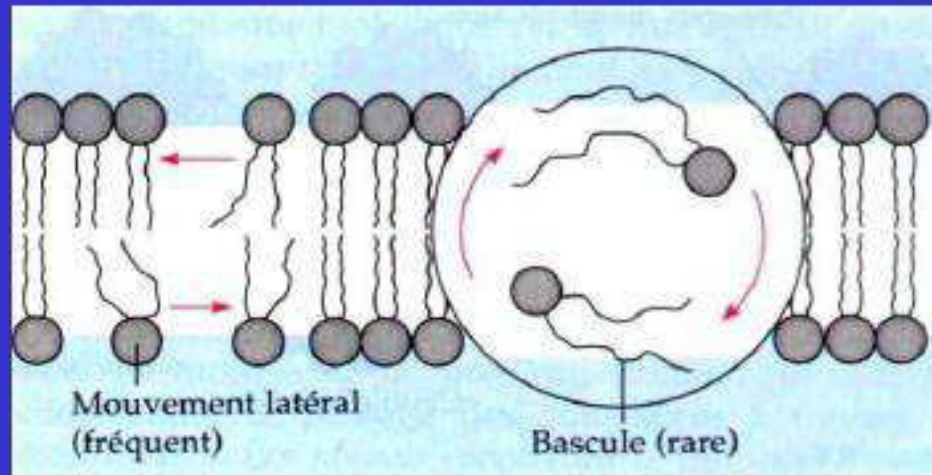
- Deux couches de phospholipides
- Protéines à la surface et à travers
- Polysaccharides attachés aux lipides ou aux protéines
- Cholestérol entre les phospholipides





**Mosaïque fluide :** Les molécules sont ordonnées, mais se déplacent sans arrêt les unes par rapport aux autres.

= cristal liquide



$$\vec{v} \sim 2 \mu\text{m} / \text{s}$$

Si une molécule de phospholipide avait la taille d'une balle de ping-pong (environ 10 millions de fois plus gros), la vitesse serait de 20 m/s soit environ 70Km/h

À cette échelle, une cellule aurait un diamètre d'environ 200 m

**Un phospholipide donné change de position avec un autre plus d'un million de fois par seconde.**

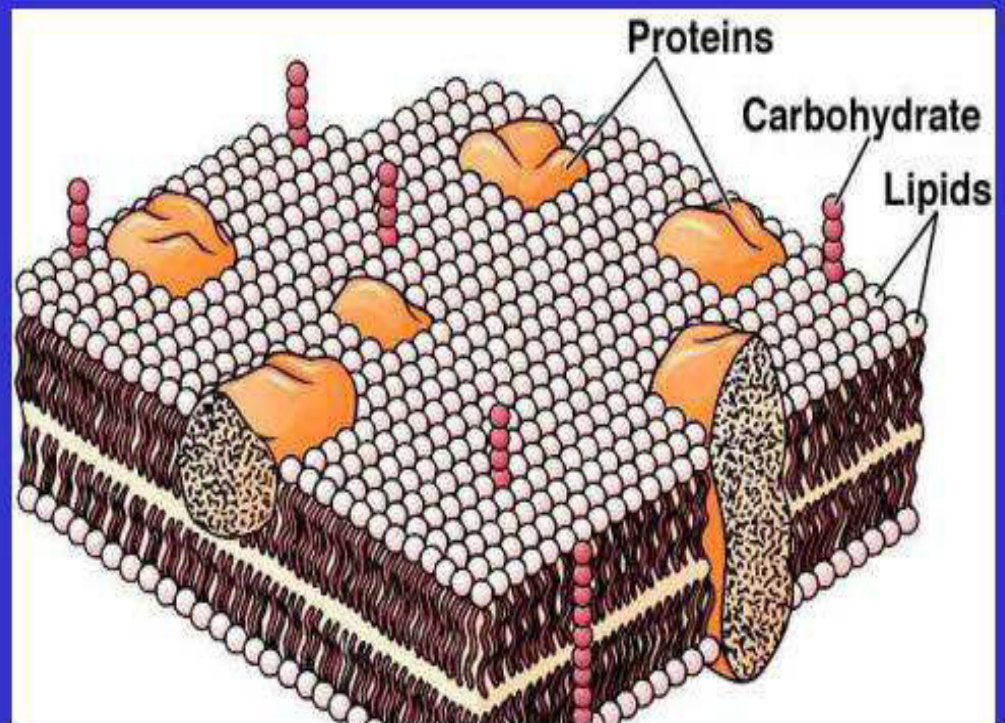
# Composition chimique

- **Lipides**

- **Phospholipides**
- **Cholestérol (15% à 50% des lipides)**

- **Protéines**

- **Glucides**

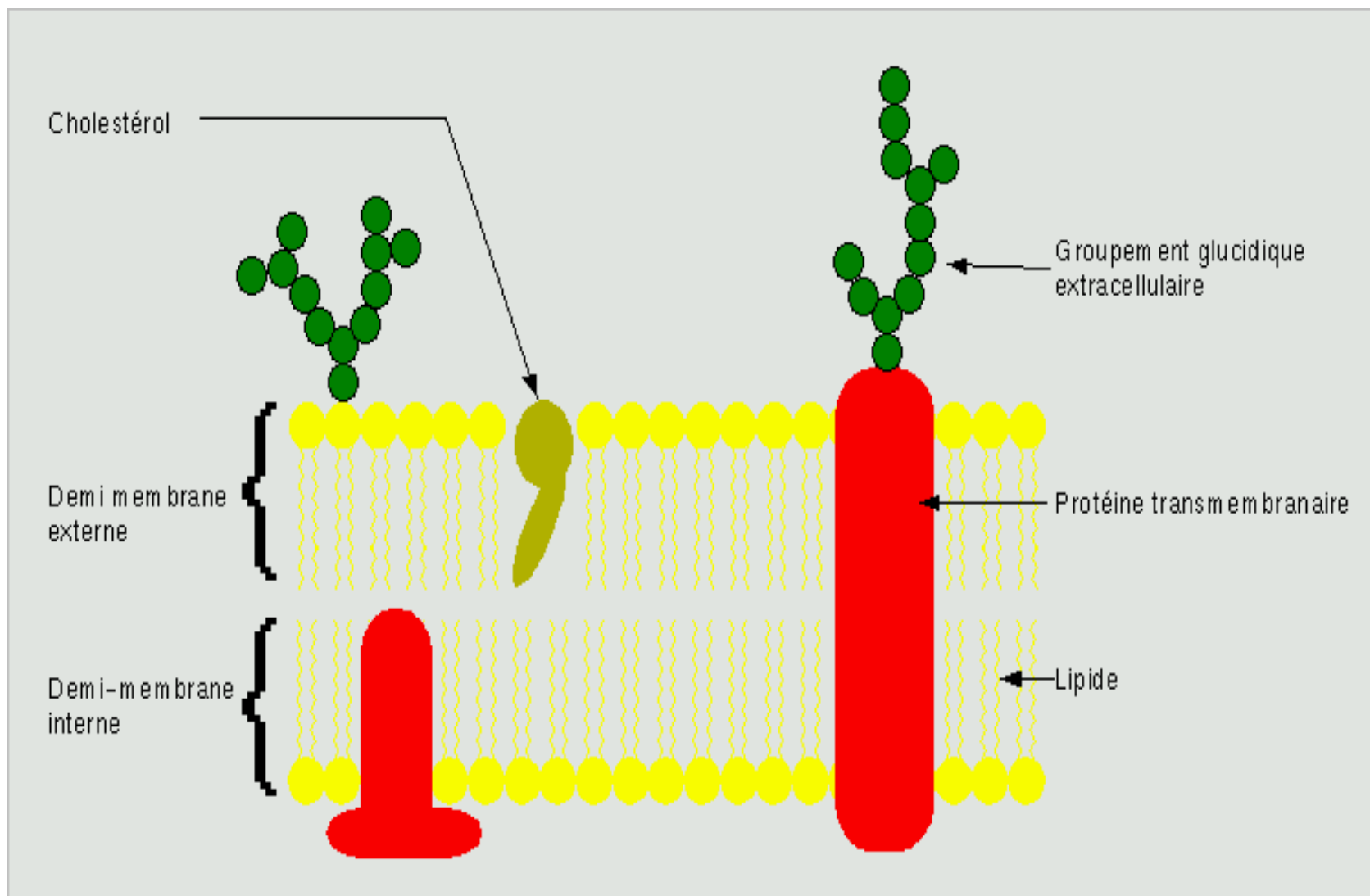


# Les lipides membranaires

Ce sont des molécules **amphiphiles**. Ils constituent le coeur de la membrane et sont responsable de son étanchéité à l'eau et par conséquent des molécules solubles dans l'eau, ce qui constitue la majorité des molécules biologiques. Les lipides impliqués sont des **phospholipides** et, chez les eucaryotes, du **cholestérol**.

En solution dans l'eau, les phospholipides se disposent en un film bimoléculaire de quelques nanomètres d'épaisseur, le côté apolaire est enfoui au coeur de la membrane alors que le côté polaire est en contact avec l'eau. Cette structure est appelée bicouche lipidique, chaque couche de lipide constituant une demi membrane. La membrane n'est donc pas, comme on pourrait le penser une structure solide mais un liquide emprisonnée entre deux autres milieux liquides dans lesquels il est insoluble. Elle est donc fluide, les molécules hydrophobes peuvent s'y dissoudre et s'y mouvoir librement, elles ne peuvent toutefois pas passer d'une demi membrane à une autre.







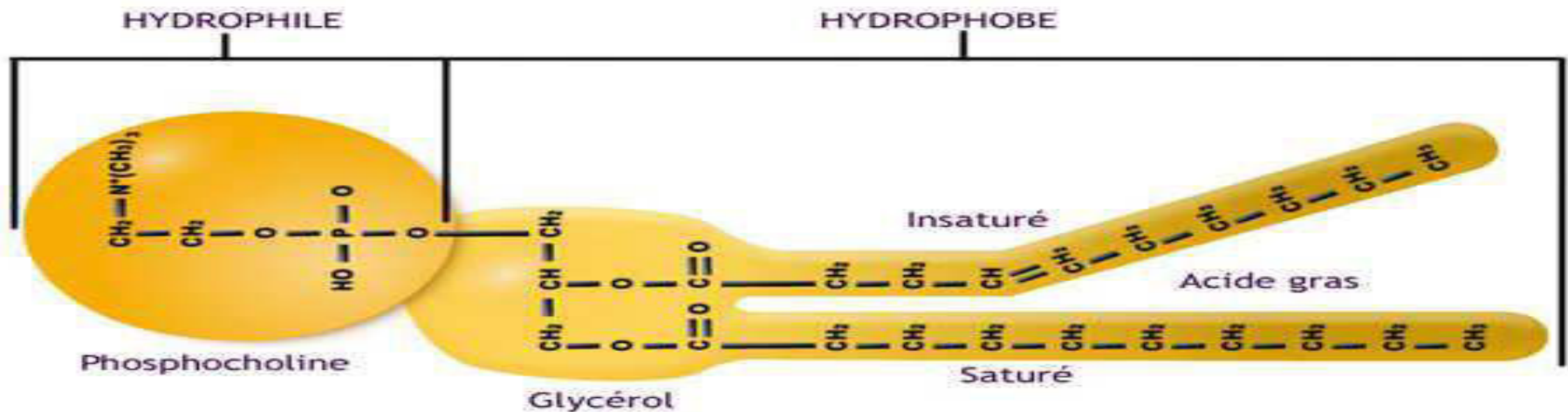
# Les phospholipides

Un **phospholipide** est un lipide contenant un groupe acide phosphorique en tant que mono ou di-ester. Cette famille inclut notamment les acides phosphatidiques et les phosphoglycérides<sup>1</sup>. Ce sont des lipides amphiphiles, c'est-à-dire constitués d'une « tête » polaire (hydrophile) et de deux « queues » aliphatiques (hydrophobes). La plupart des phospholipides sont les phosphoglycérides, dont la tête s'organise autour d'un résidu glycérol-3-phosphate estérifié par une molécule polaire, et les deux queues sont les chaînes aliphatiques de deux acide gras. Les autres phospholipides sont les sphingomyélines, qui dérivent structurellement de la sphingosine et non du glycérol, la sphingosine constituant l'une des deux queues aliphatiques.

Les premiers phospholipides isolés de tissus vivants ont été caractérisés comme tels en 1847 par le chimiste français Théodore Nicolas Gobley à partir de lécithine de jaune d'œuf — il s'agissait plus précisément

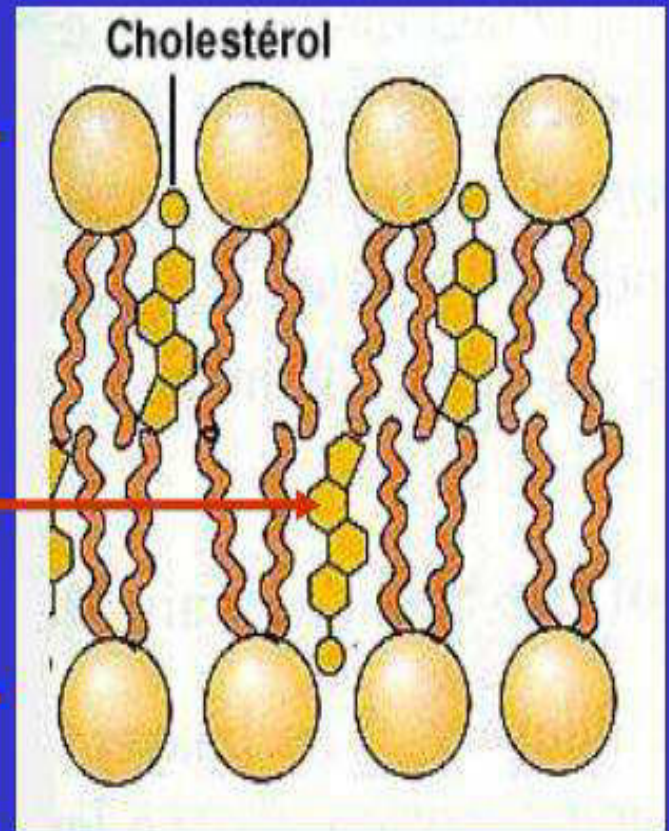
Les phospholipides sont les constituants essentiels des membranes cellulaires où, avec des molécules de cholestérol, ils s'organisent en bicouche lipidique dans laquelle les queues hydrophobes sont orientées vers l'intérieur de la structure tandis que les têtes polaires forment les deux surfaces de la bicouche.

## PHOSPHOLIPIDES 1



# LIPIDES

- Phospholipides (deux couches)
- Cholestérol (15% à 50 % du total des lipides)



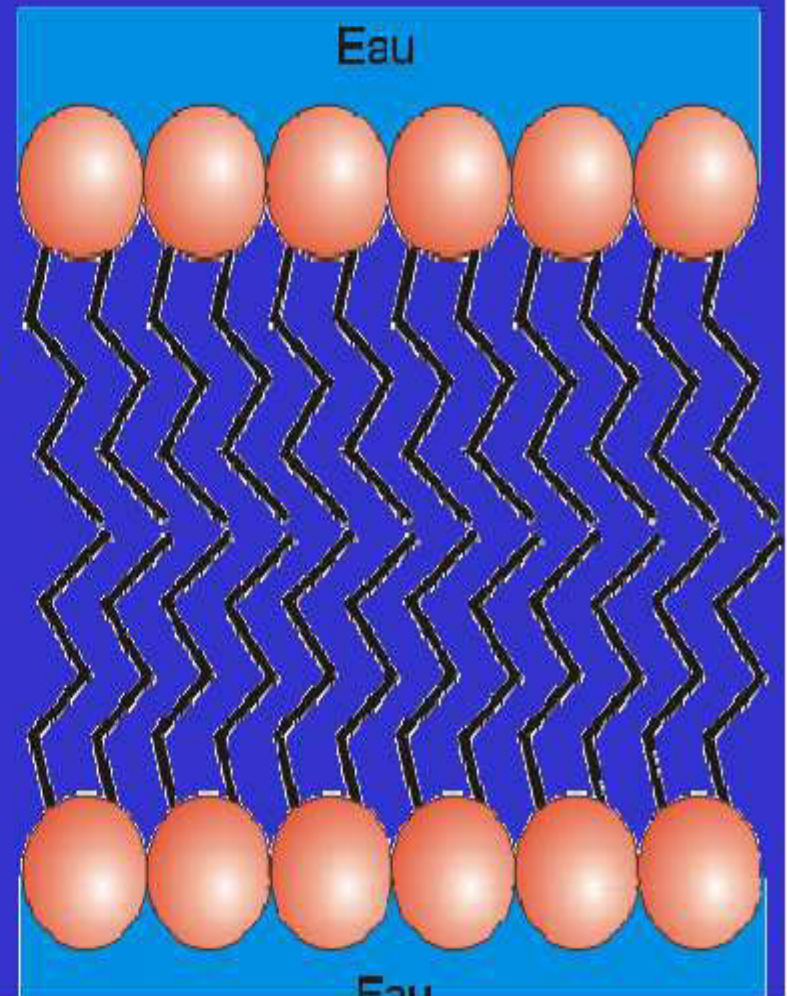
Cholestérol : rôle dans le maintien de la fluidité de la membrane





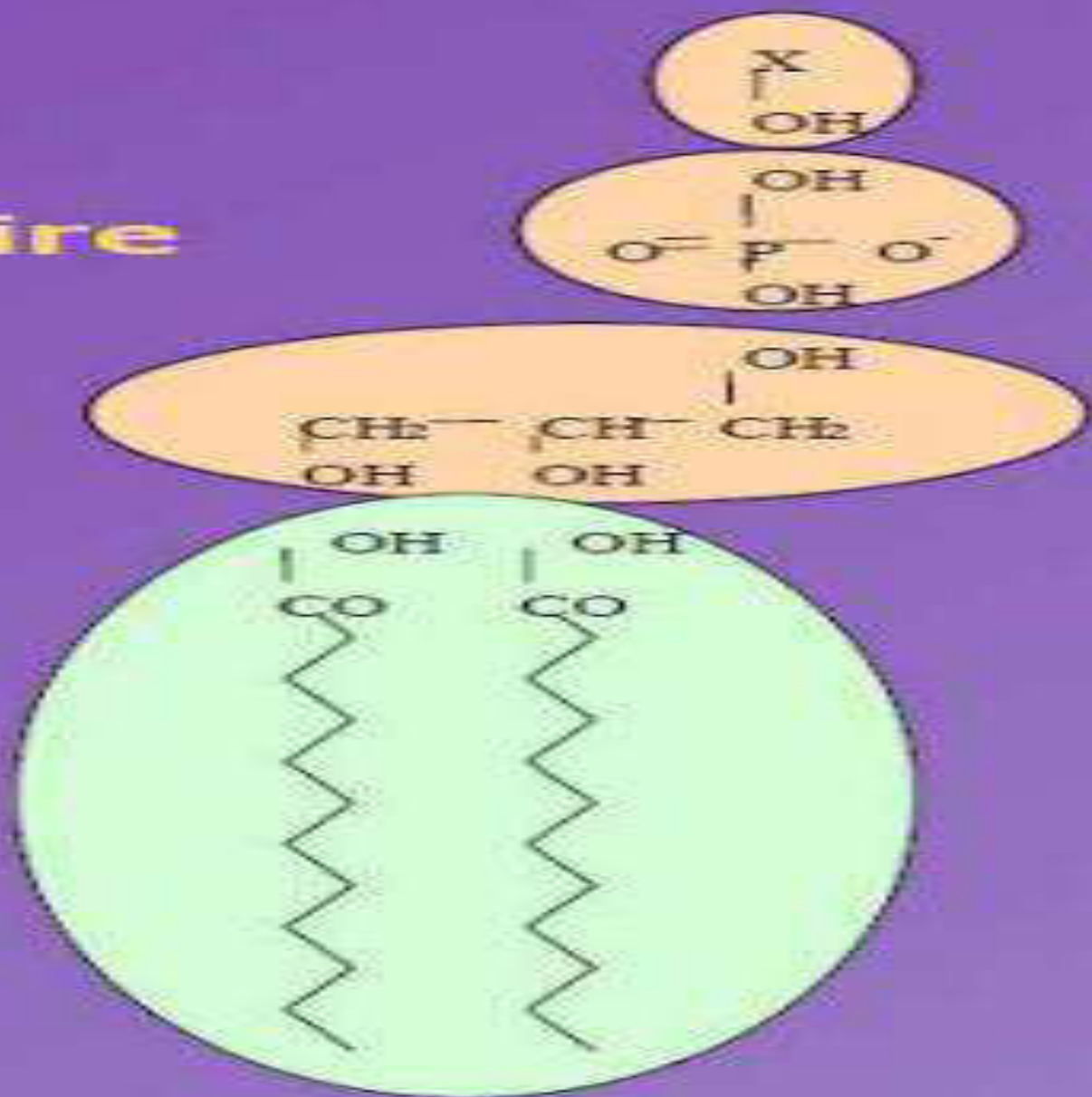
Groupe-  
ment  
phosphate polaire  
hydrophile

Acides gras non  
polaires  
hydrophobes





**polaire**



**apolaire**

# Fluidité membranaire

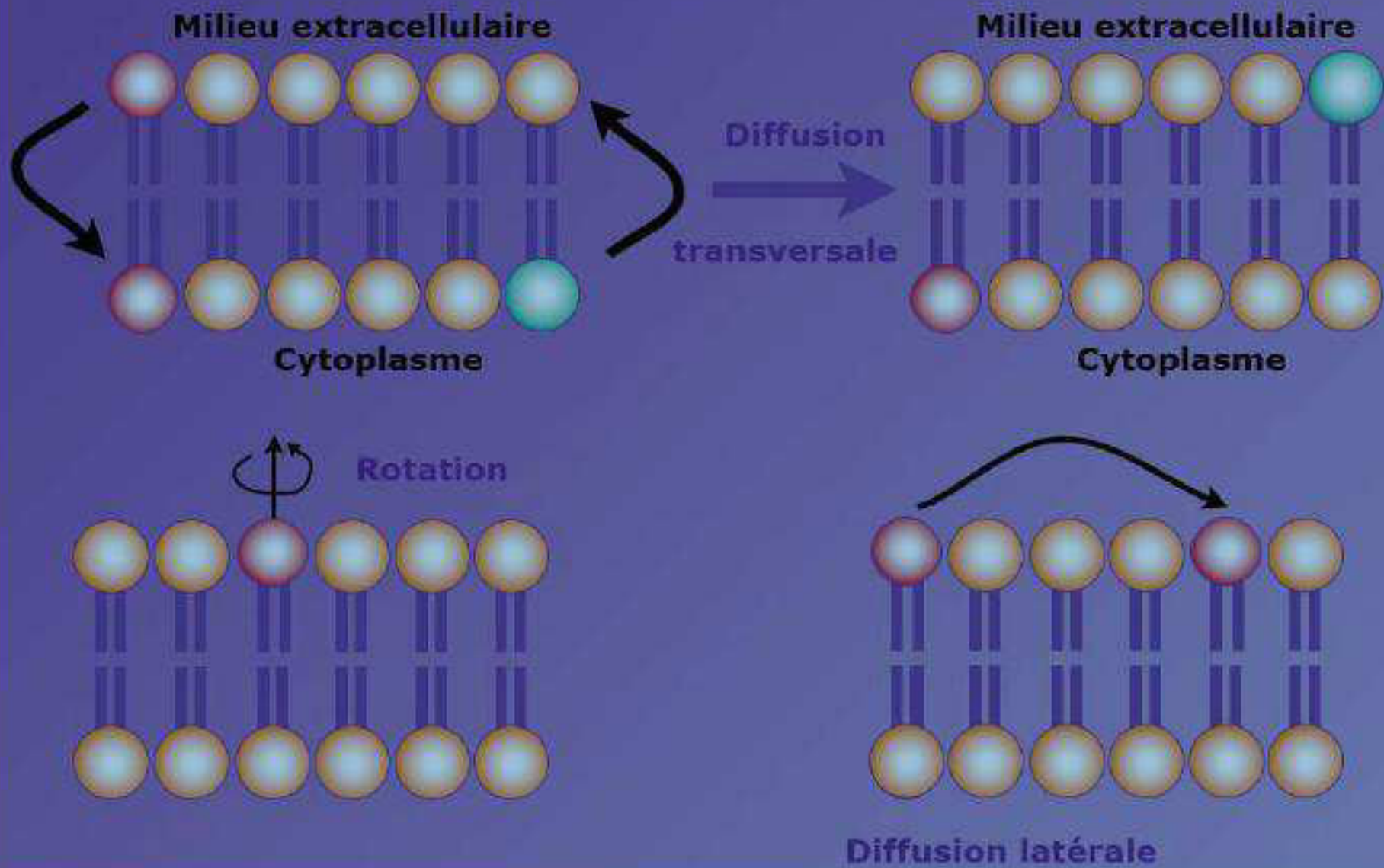
A l'inverse, la bicouche bloque totalement les molécules polaires.

La **fluidité de la membrane** est un paramètre important pour son fonctionnement correct. Comme pour tous les liquides, elle dépend fortement de la température, augmentant et diminuant dans le même sens que celle-ci. La cellule doit donc ajuster incessamment cette fluidité de façon à compenser les variations de températures. Elle y arrive modulant la composition en lipide de la membrane:

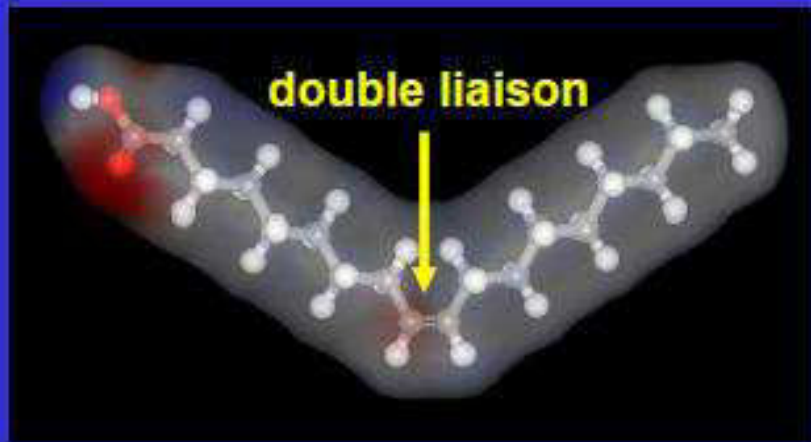
Les lipides à longue chaîne diminuent la fluidité de la membrane.

L'insaturation des chaînes lipidiques augmente la fluidité de la membrane. Pour compenser une augmentation de température la cellule augmentera la longueur des chaînes en diminuant leur insaturation. Pour compenser une diminution de température la cellule diminuera la longueur des chaînes en augmentant leur insaturation. La resynthèse des lipides membranaires est longue et cette adaptation ne joue que si les variations de température sont lentes.

# Mouvement des lipides

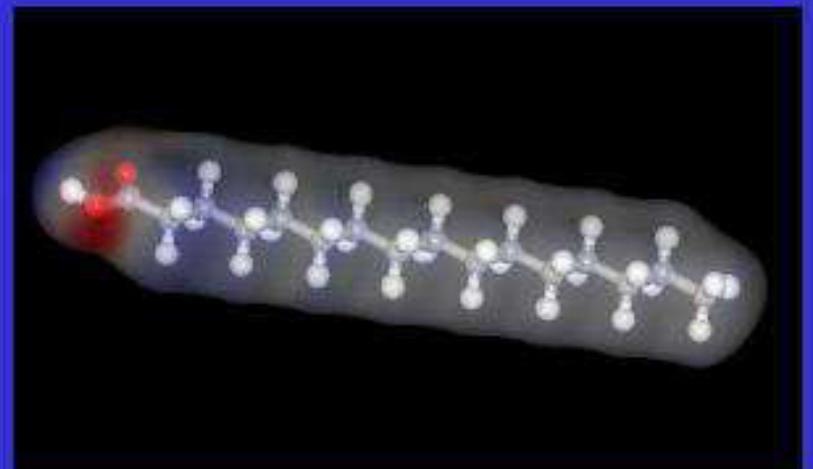
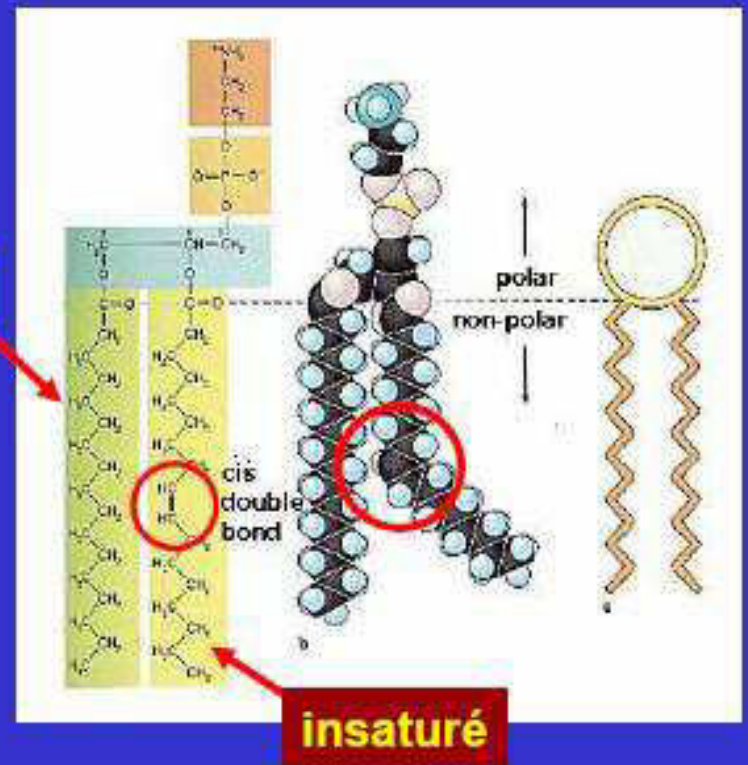


Les acides gras insaturés sont courbés (les saturés sont rectilignes).



Acide oléique (insaturé)

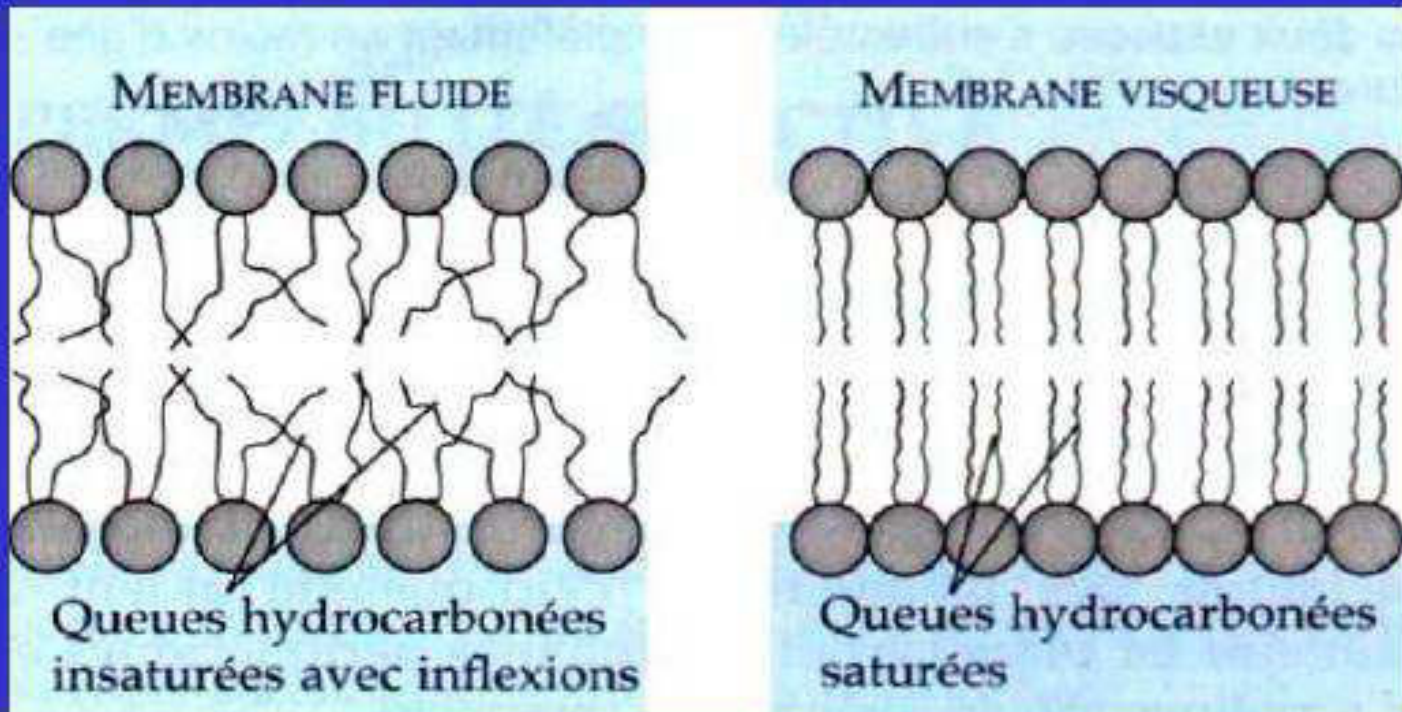
saturé



Acide palmitique (saturé)



## Les acides gras insaturés augmentent la fluidité de la membrane.



Plus les molécules peuvent se rapprocher, plus les forces de Van Der Waals sont importantes.

C'est pourquoi, par exemple, les gras saturés sont solides à la température de la pièce.

# Propriétés d'une membrane de phospholipides :

## Peut se réparer d'elle-même

Si la membrane est percée ou déchirée, les molécules de phospholipides qui s'étaient écartées les unes des autres peuvent à nouveau se rapprocher et fermer l'ouverture.

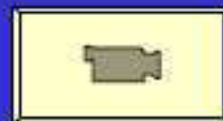
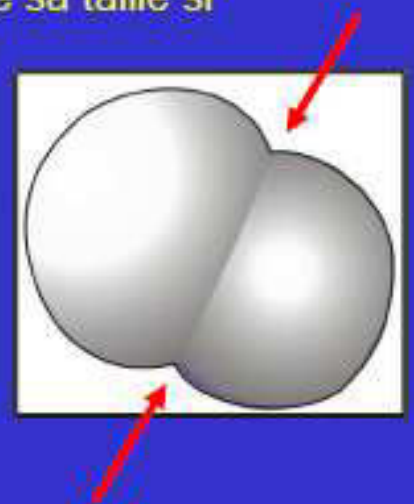
## Peut varier facilement sa taille

Si on ajoute des molécules de phospholipides, celles-ci se joignent aux autres et la membrane s'agrandit. Inversement, elle peut réduire sa taille si on enlève des molécules.

## Permet à une sphère de se diviser

Il suffit de resserrer l'équateur d'une sphère pour obtenir deux sphères.

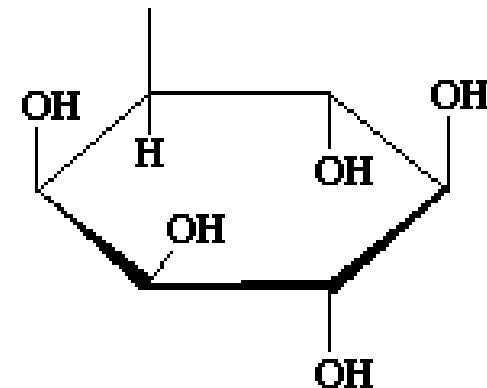
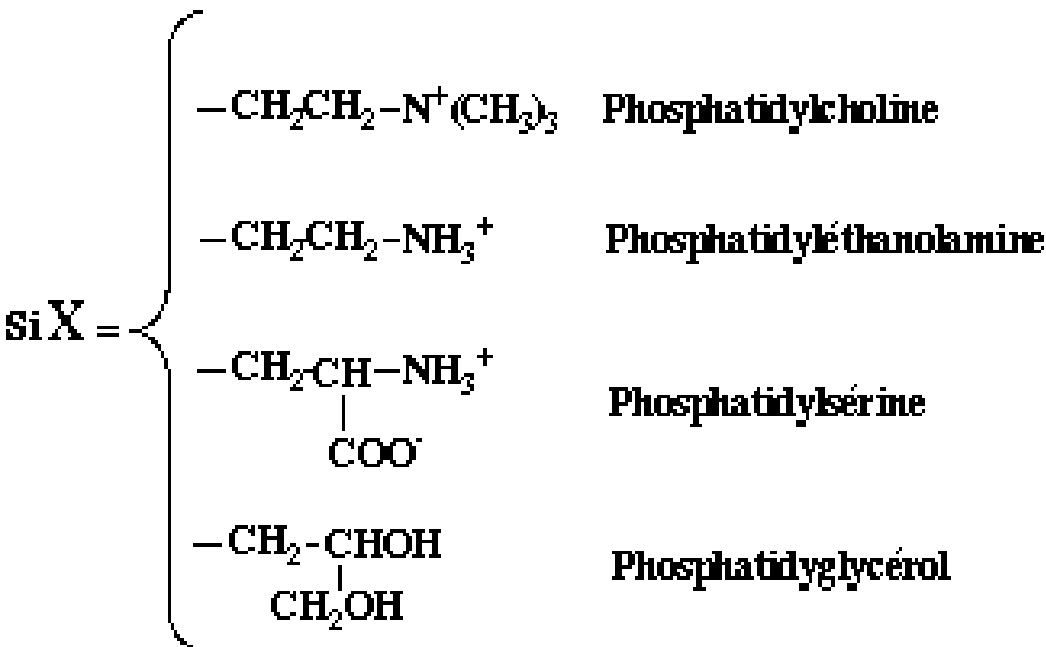
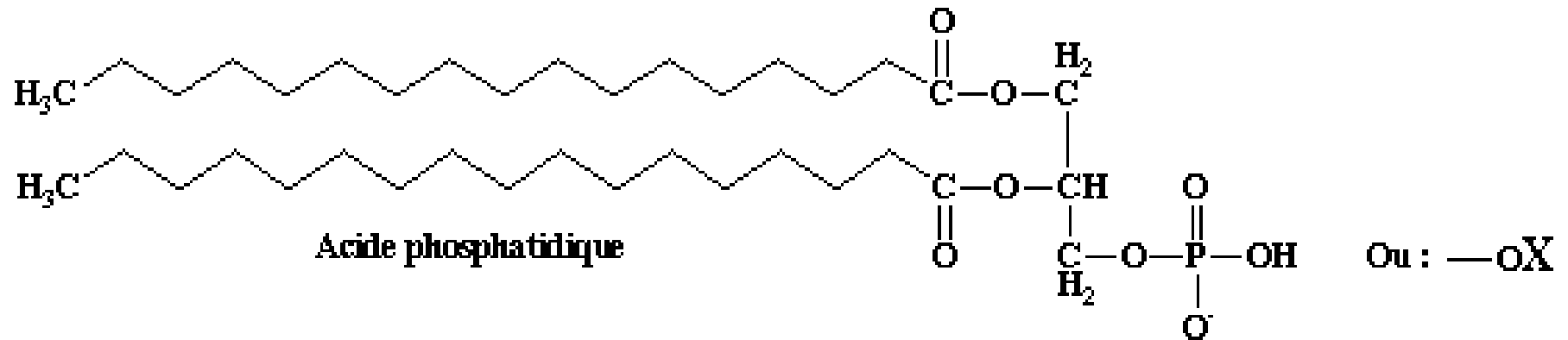
Deux sphères peuvent fusionner pour en former une plus grande



# Rôle de la membrane

- Les membranes sont des structures fluides, interface entre le milieu extracellulaire et intracellulaire que la cellule peut ajuster de façon très spécifique pour répondre à ses besoins. Elle joue à la fois un rôle de communication avec l'extérieur et un rôle de tri des molécules d'intérêt pour la cellule. Ces propriétés font de la membrane l'un des organites les plus importants de la cellule, le seul dont aucune cellule ne peut se passer, même temporairement. C'est aussi le seul que l'on soit arrivé à reproduire partiellement en laboratoire.

# Structure des lipides membranaires



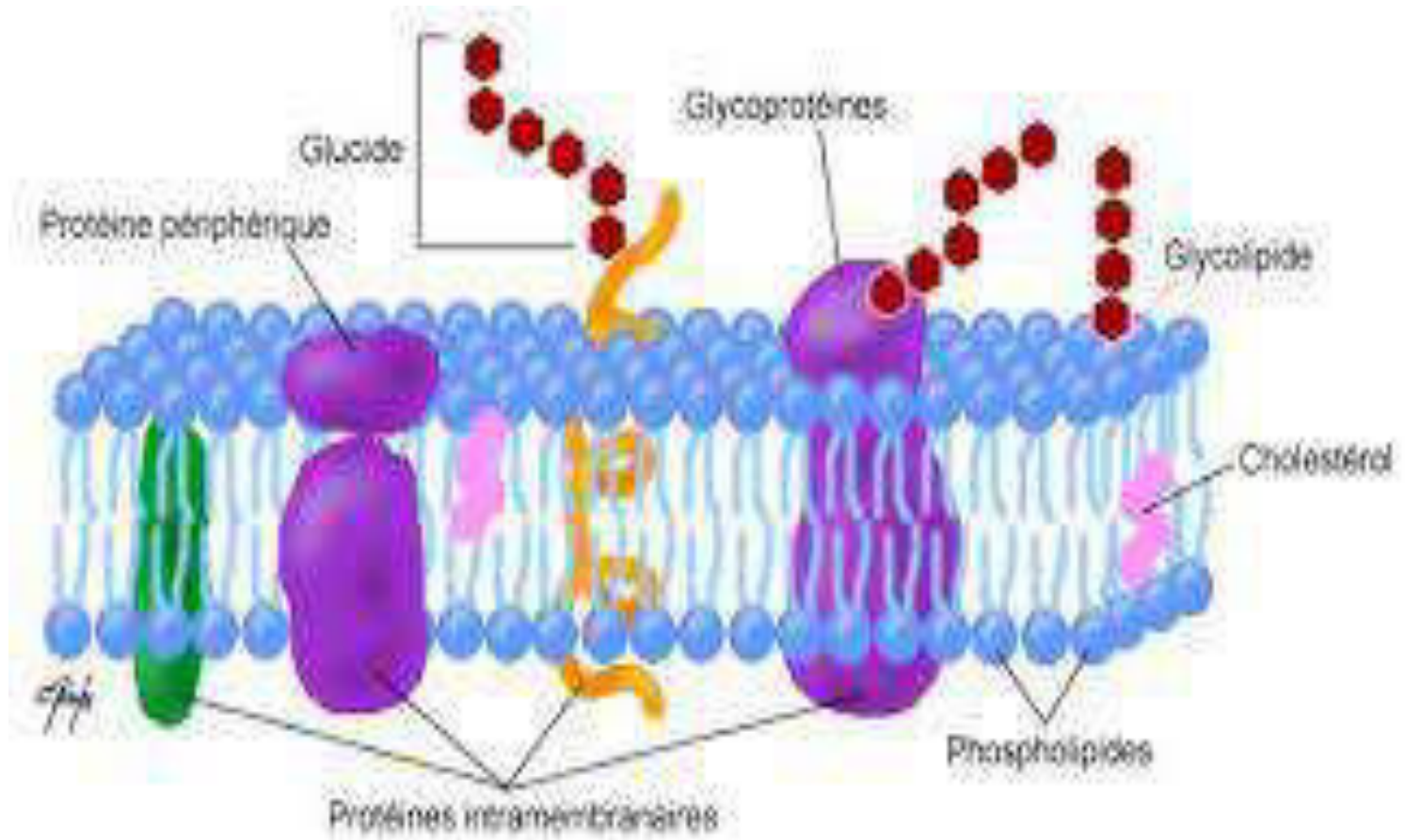
## Phosphatidylinositol



L'**acide phosphatidique** est un lipide formé par estérification de deux acides gras et d'un acide phosphorique avec un glycérol.

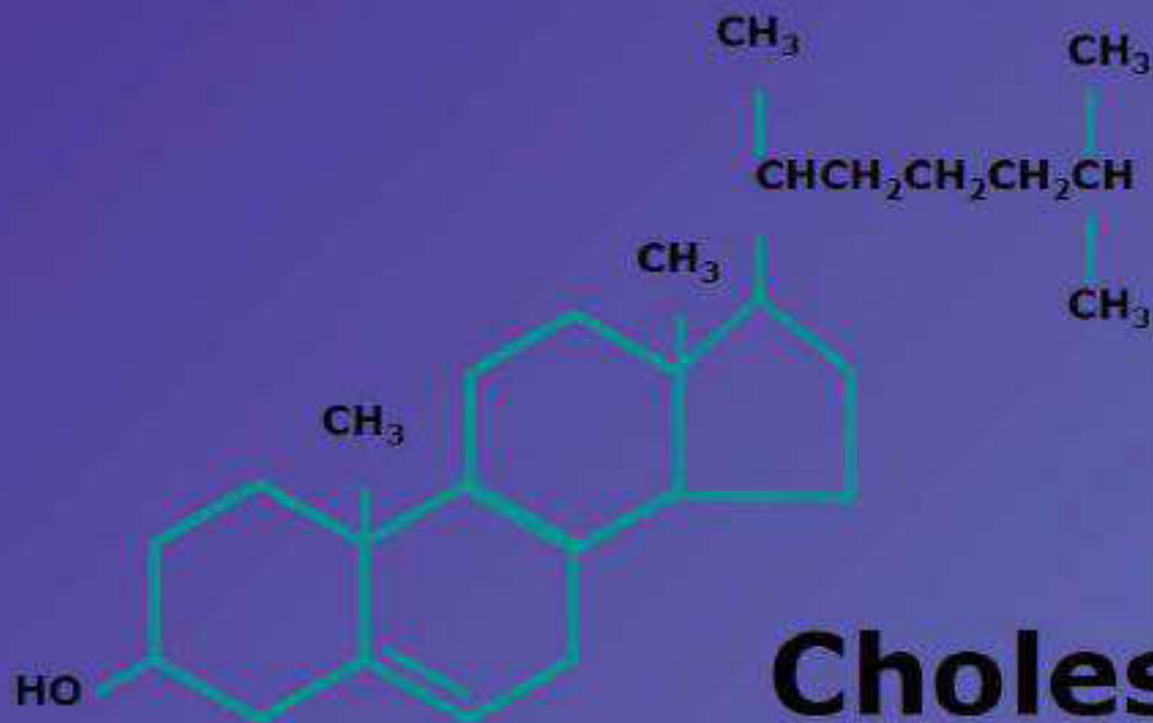
Dessinez un acide phosphatidique

# Membranes lipidiques



# Le cholestérol

Les eucaryotes disposent d'un autre moyen de réguler la fluidité : le cholestérol. Ce lipide a en effet la propriété de réguler la fluidité de la membrane, de la maintenir stable dans une plage étendue de température. Il joue en quelque sorte le rôle d'un tampon de fluidité. Sa présence permet une adaptation aux variations relativement rapides de température. Le cholestérol se trouve principalement dans la demi-membrane extracellulaire. Les procaryotes, à quelques rares exceptions près, n'ont pas de cholestérol.



# Cholestérol



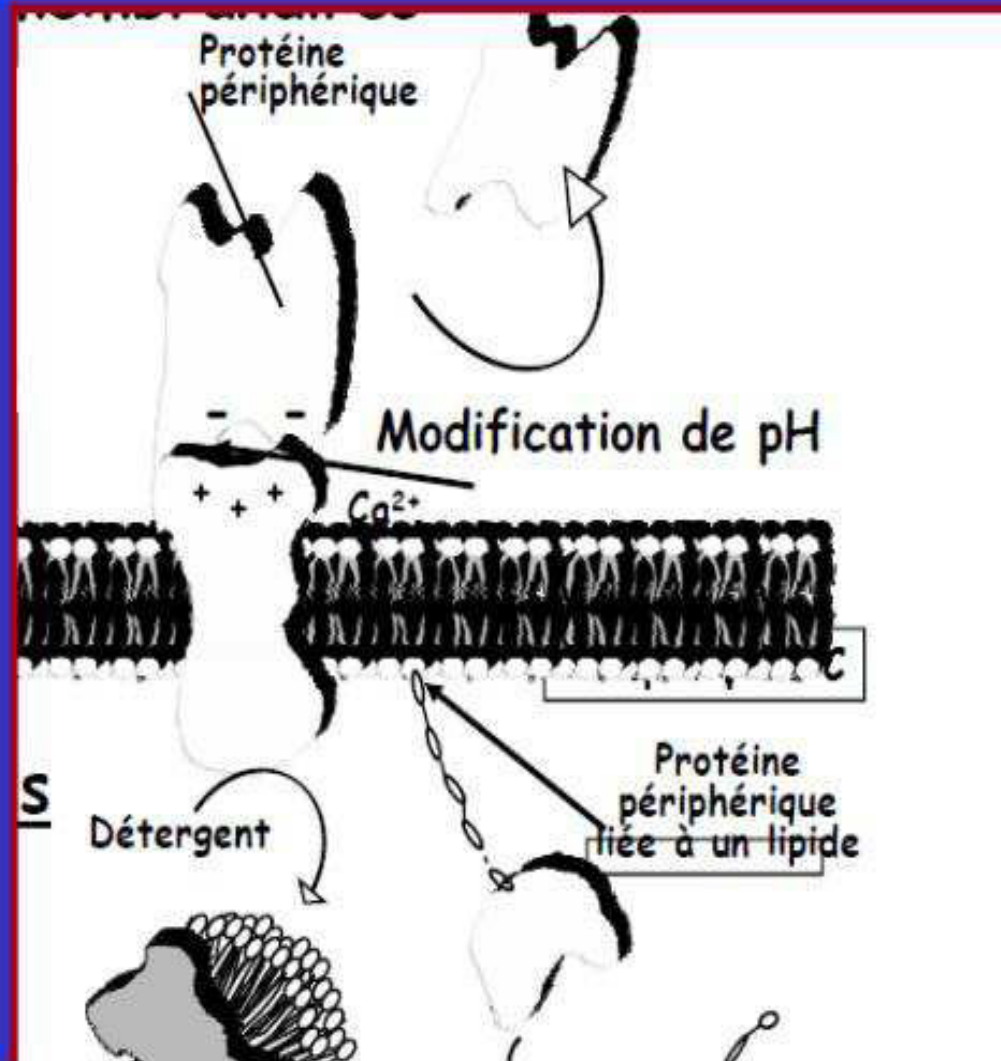


# Les protéines membranaires

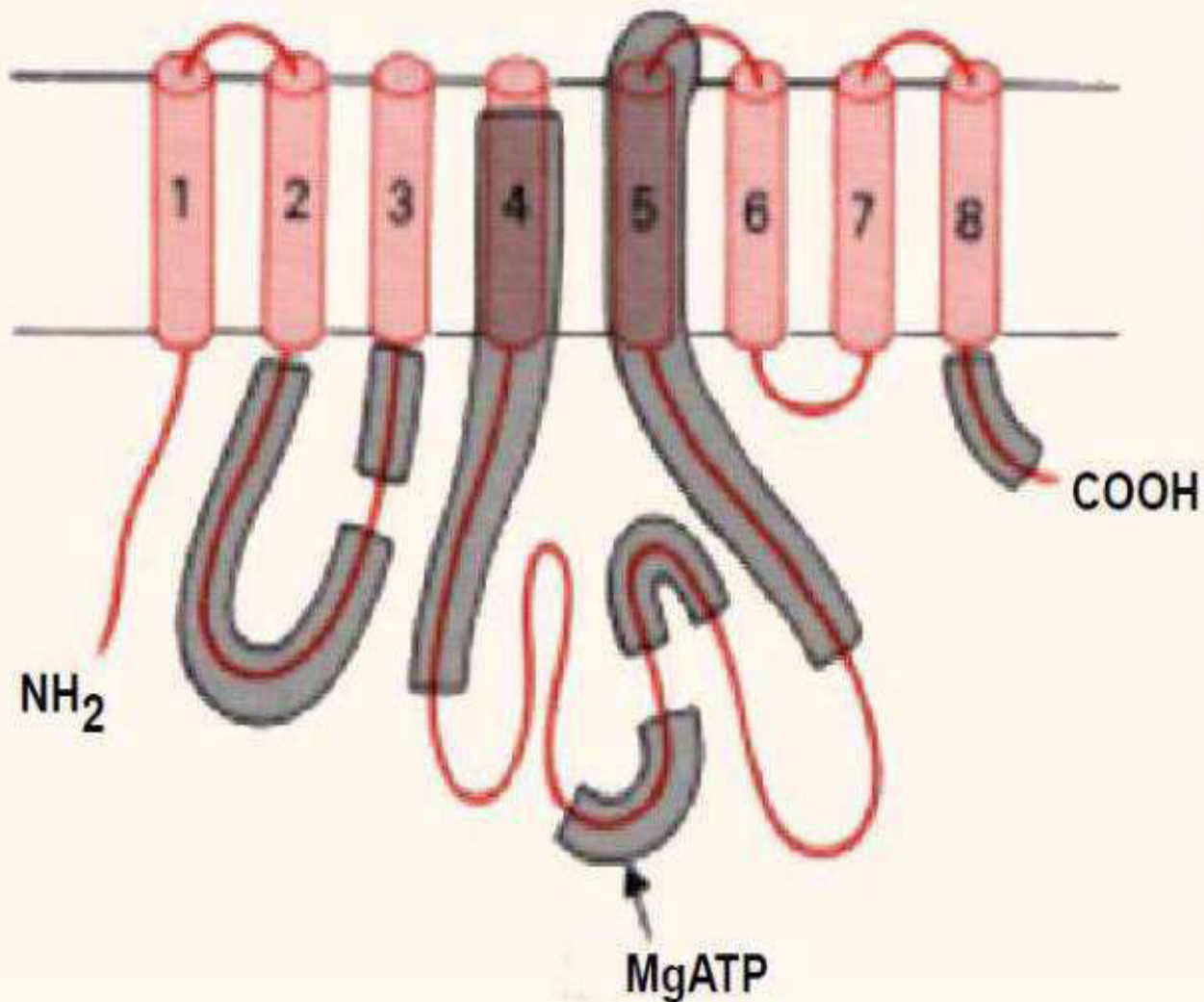
- Une membrane uniquement lipidique n'a aucun usage. D'une part, une telle structure est instable : les membranes peuvent fusionner, se séparer, former des embranchements. D'autre part rien ne peut la traverser (à l'exception des gaz), ni les molécules polaires qui ne sont pas solubles dans les lipides, ni les molécules apolaires qui ne peuvent pas l'atteindre car elles ne peuvent pas traverser seules le milieu aqueux qui les entoure. Or si ces propriétés sont exploitées dans la cellule, celle-ci a malgré tout besoin d'une membrane stable ainsi que d'échanger des molécules avec le milieu extérieur. Ce sont les protéines qui assurent cette fonction.

Les protéines peuvent être disposées de diverses façons par rapport à la membrane : au contact de celle-ci, enchassées dans une demi membrane ou traversant la membrane de part en part (**transmembranaire**). Part ailleurs, une protéine peut être constituée de plusieurs sous-unités qui sont agencées différemment avec la membrane. Les protéines participent à la polarisation membranaire, une protéine située sur la face externe de la cellule le restera toujours, de même qu'une protéine intracellulaire. Pour les protéines qui traversent la membrane (**les protéines intramembranaires**), les parties extracellulaires et intracellulaires seront toujours les mêmes d'un exemplaire à l'autre de la molécule. Il y a bien sûr des exceptions, certaines fonctions biologiques nécessitent des mouvements de protéines au sein de la membrane, mais il s'agit alors d'une particularité spécifique de la protéine, pas d'un aspect fondamental de la membrane.

# Isolement des protéines membranaires

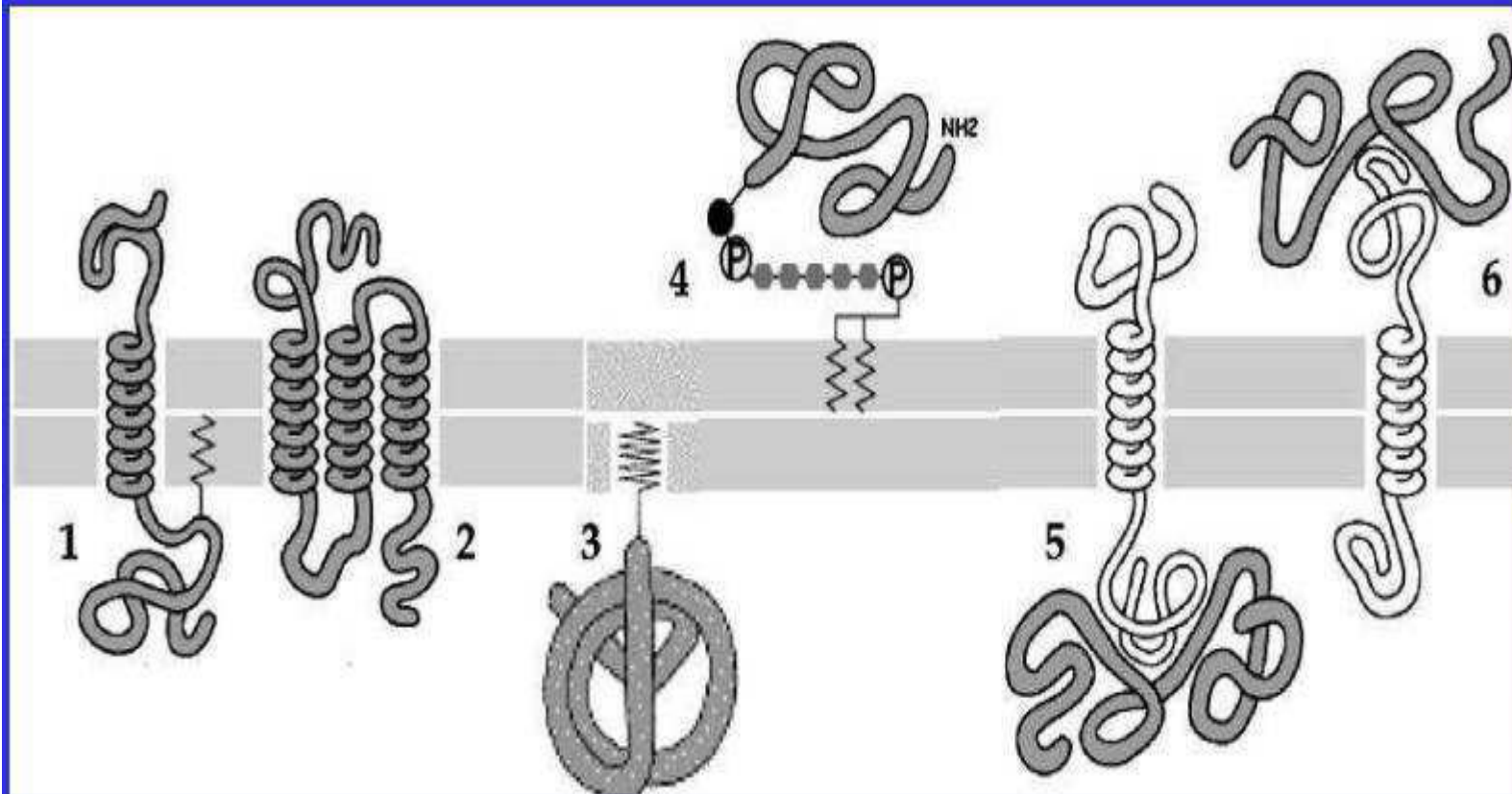


# Protéines transmembranaires

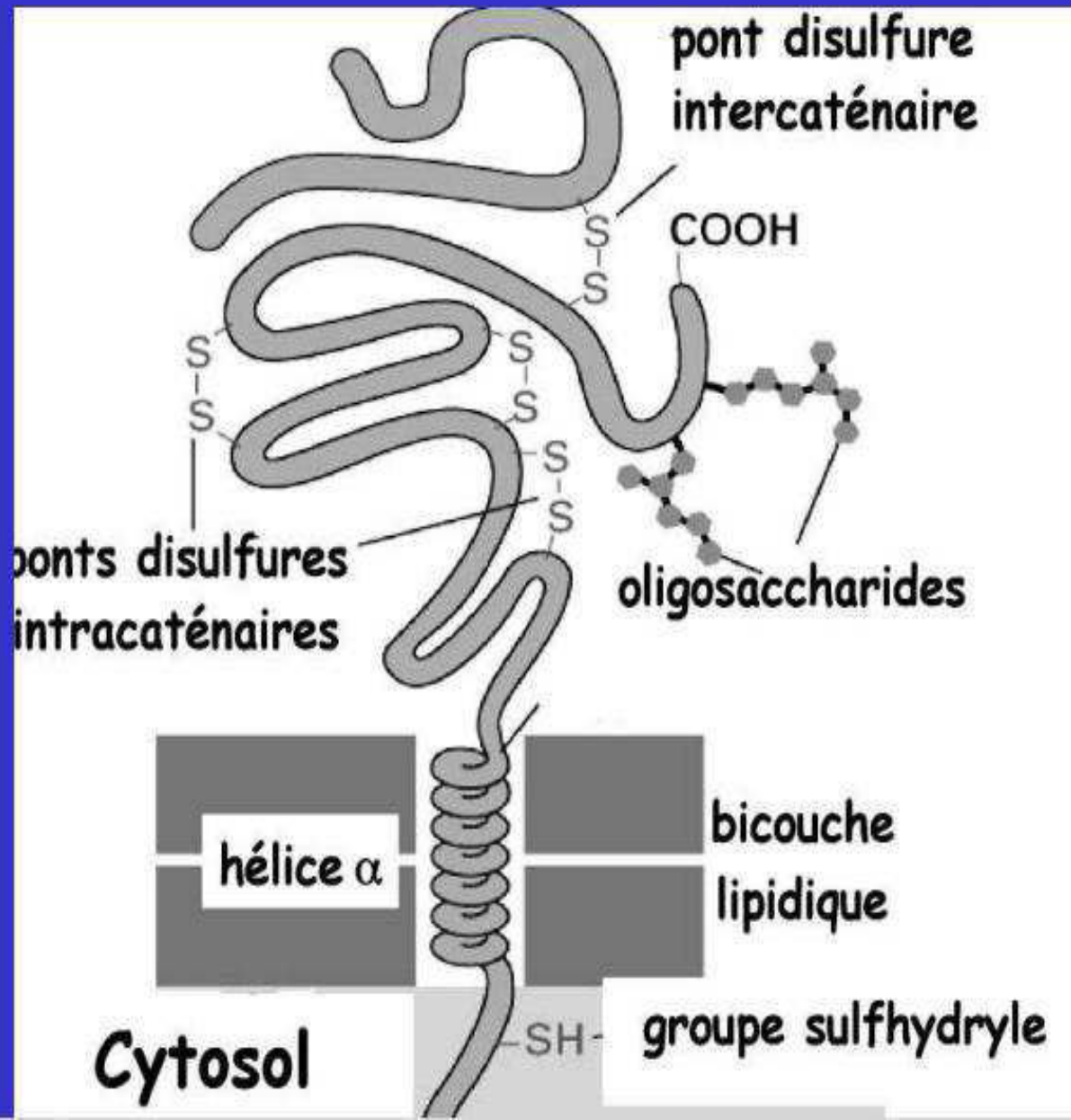




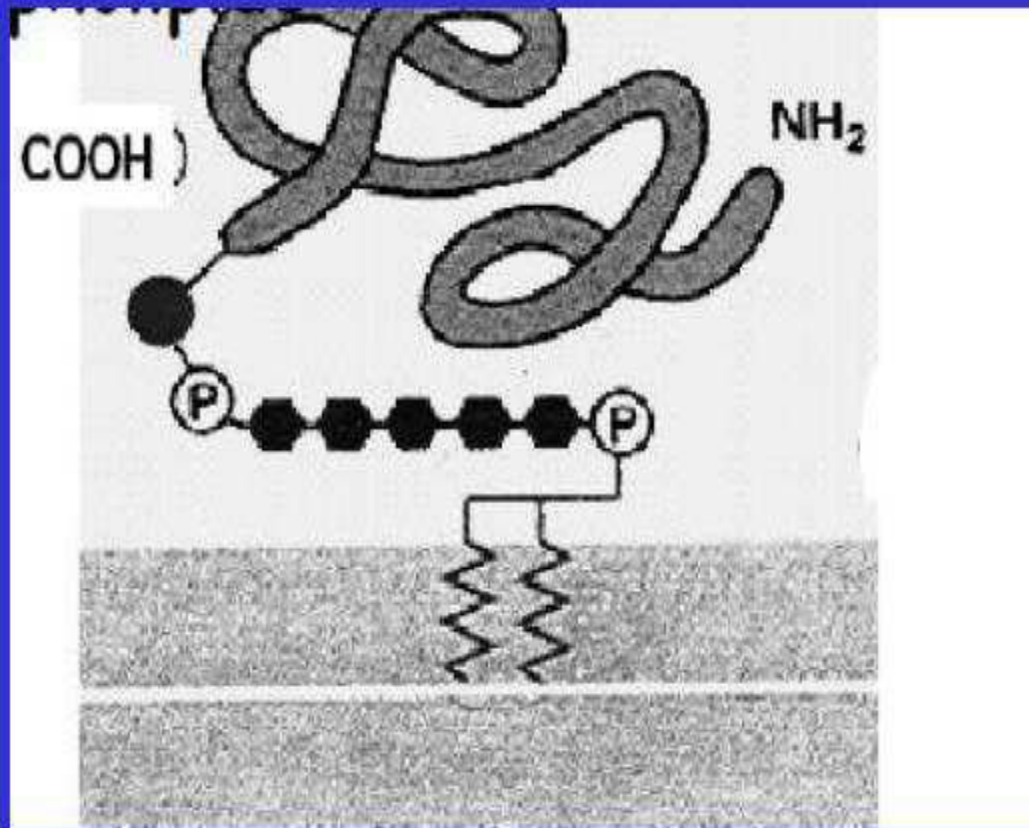
# Protéines intrinsèques



# Protéines intrinsèques transmembranaires



# Protéines associées à des lipides par des liaisons covalentes

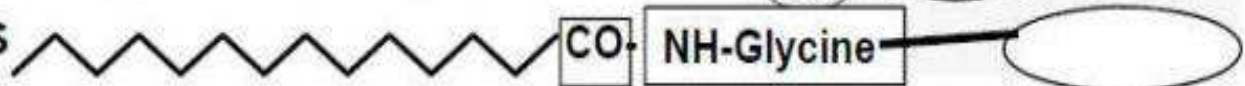


# Protéines associées à des lipides par des liaisons covalentes

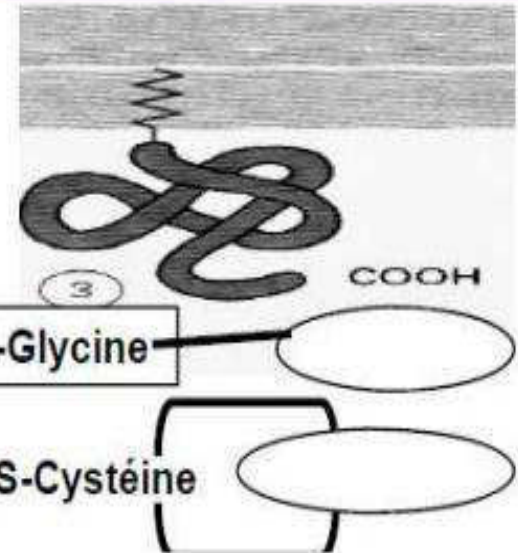
- Protéines associées à une chaîne hydrocarbonée

- Acide gras R- COOH (protéines acylées)

myristoylées  
(N terminal)

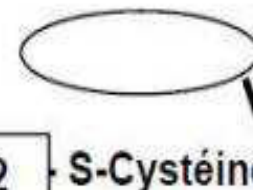
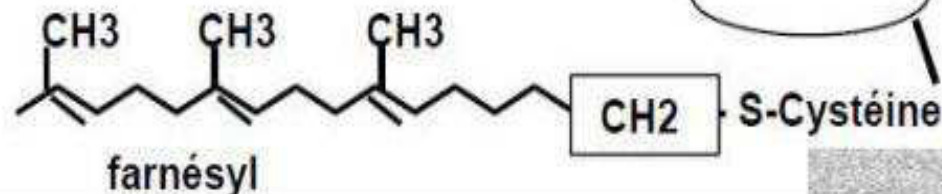


palmitoylées



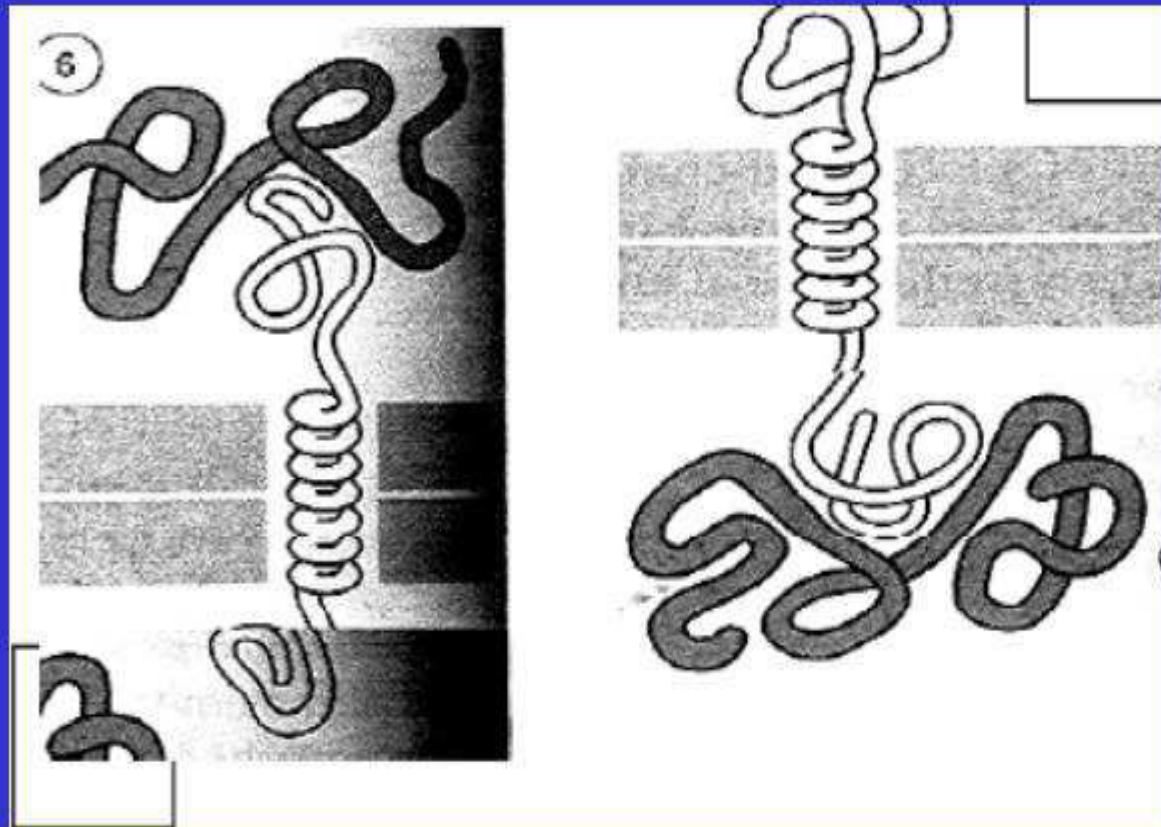
- Alcool gras R-OH (protéines prenylées)

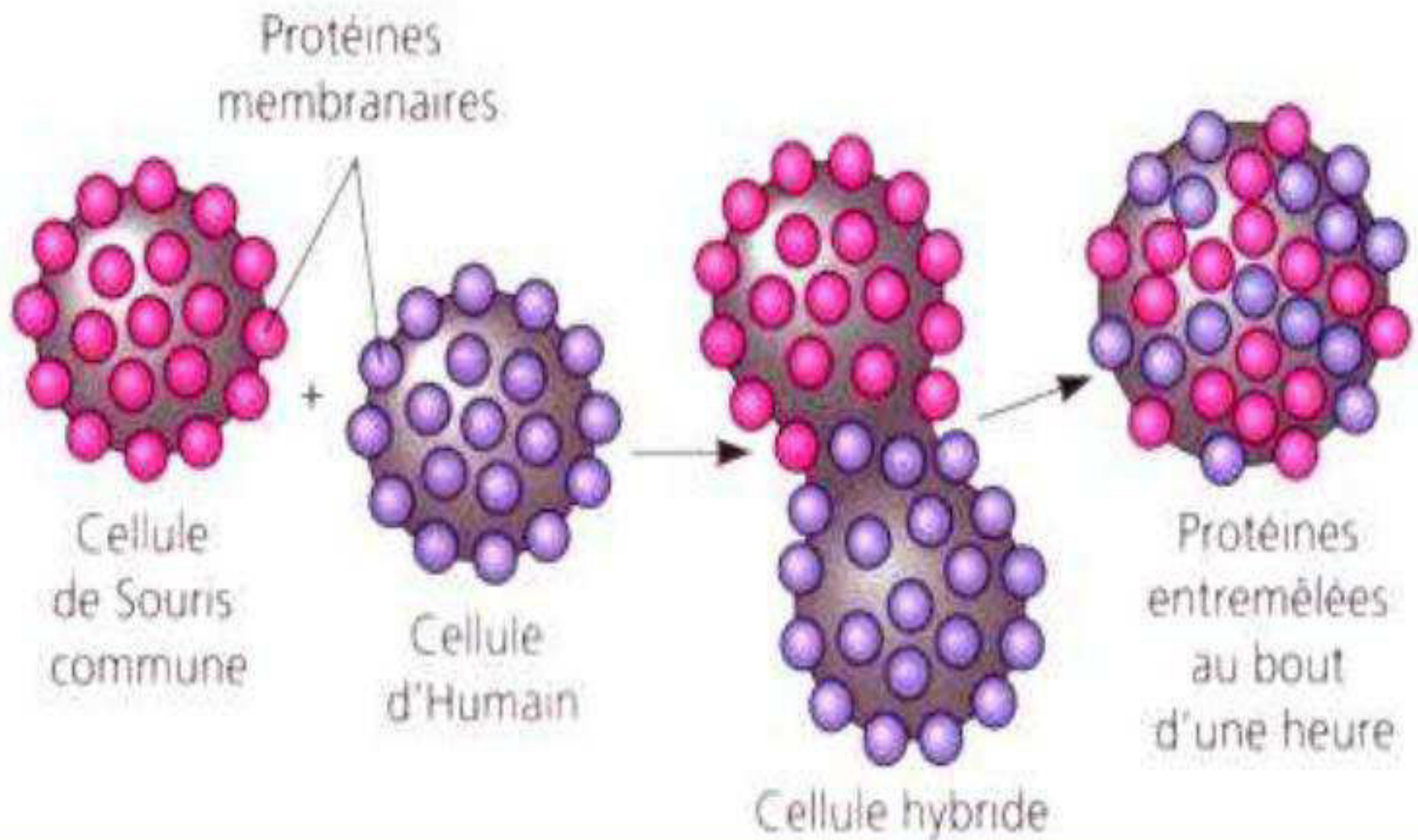
farnésylées  
(C terminal)





# Protéines associées à la membrane par des liaisons non covalentes



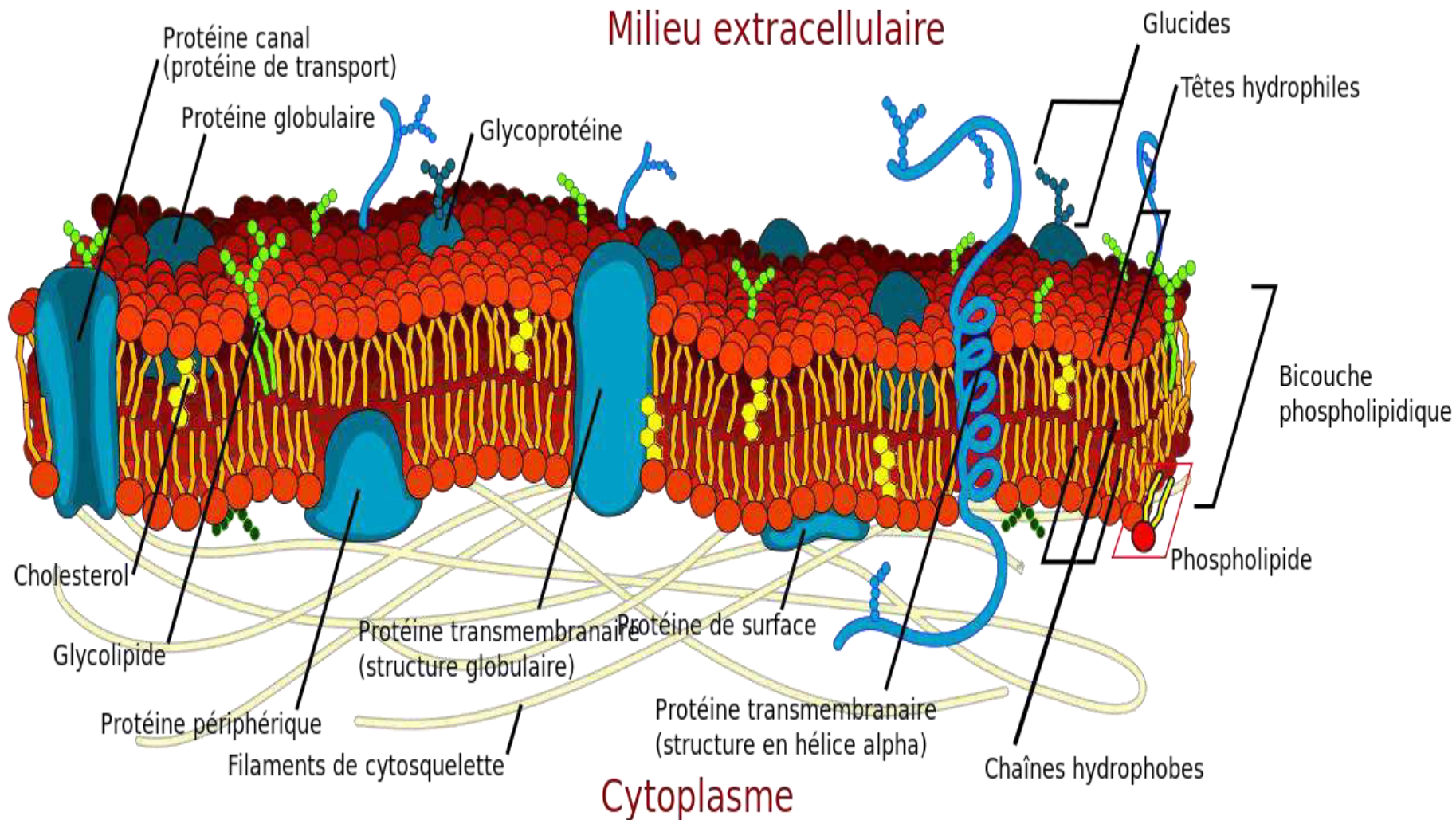


Expérience démontrant la mobilité des protéines de la membrane.

# Rôle des protéines

Les protéines sont responsables de la quasi-totalité des spécificités de la membrane. Les molécules polaires ne peuvent pas traverser la membrane, ce sont les protéines qui vont s'en charger. A l'inverse, si une molécule polaire ne dispose pas d'une protéine capable de lui faire traverser la membrane, elle ne pourra pas la traverser. En choisissant ses protéines, la cellule va pouvoir choisir quelles molécules vont pouvoir entrer ou sortir. Le rôle des protéines est toutefois plus large : elles vont transmettre à l'intérieur de la cellule des informations sur le milieu extérieur, elles vont participer à maintenir la forme et la stabilité de la membrane, elles vont servir de point d'ancrage à des structures extracellulaire ou intracellulaire et elles sont à l'origine de la dynamique membranaire.







# Fonctions des protéines

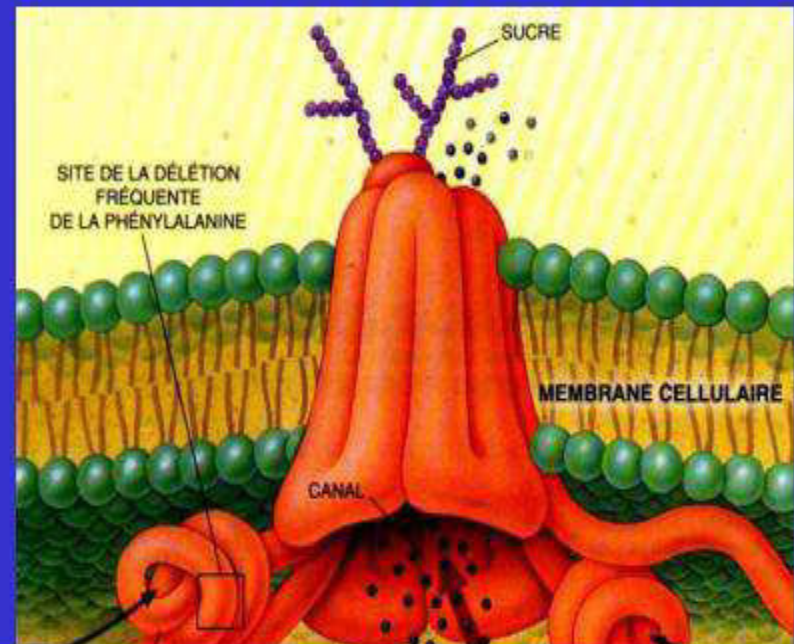
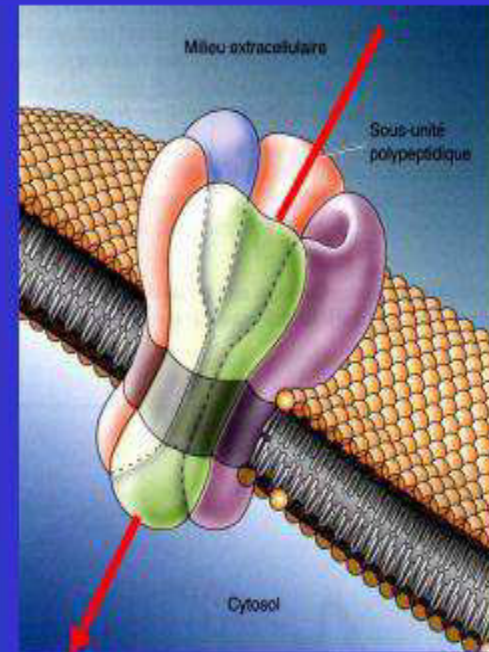
- le transport transmembranaire ;
- la réception d'informations ;
- les mécanismes de reconnaissance cellulaire ;
- l'inhibition de contact ;
- l'adhérence entre cellules ;
- des activités enzymatiques très variées ;
- des liaisons structurales avec des éléments de la matrice extracellulaire;
- la fixation de substances médicamenteuses, de virus, de toxines ou de cellules.

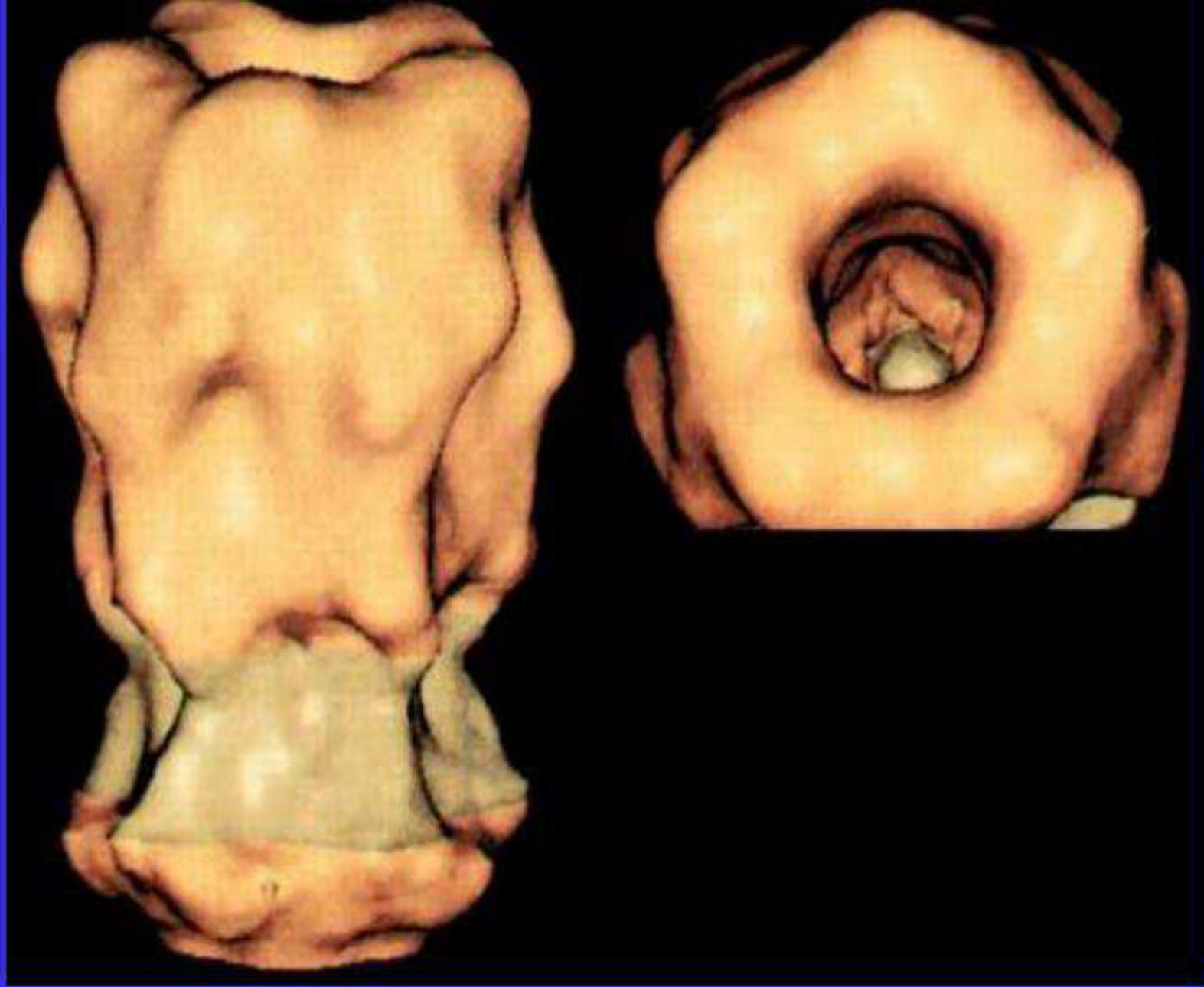
# Transport

Beaucoup de substances pénètrent dans la cellule en passant par des protéines formant des "tunnels" à travers la membrane.

Certains de ces "tunnels" peuvent se fermer ou s'ouvrir.

= valves nanotechnologiques





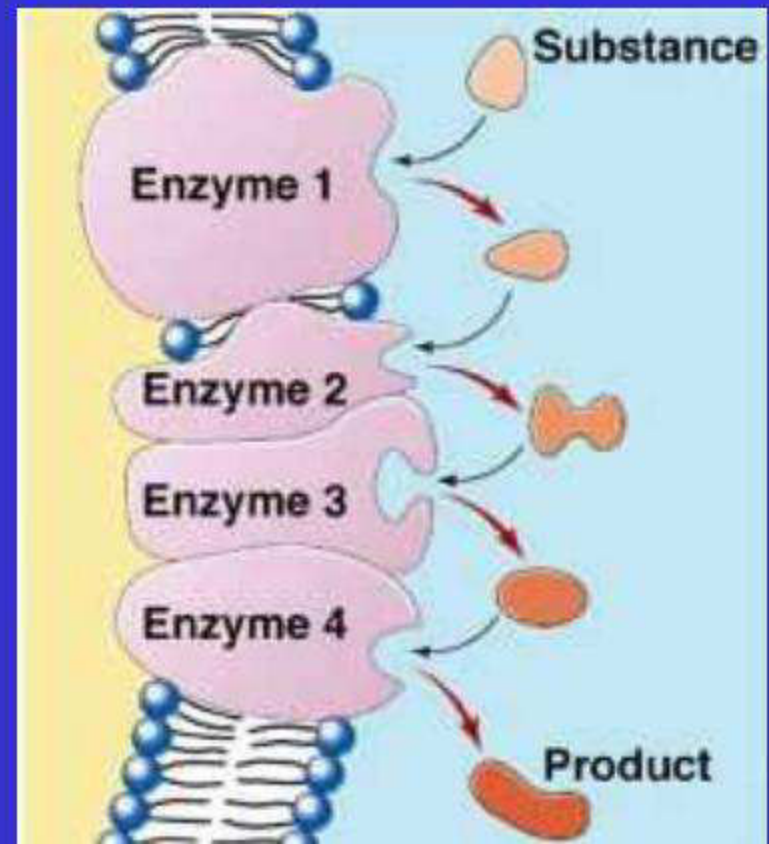
Canal de membrane



# Enzymes

Plusieurs enzymes sont disposées dans la membrane (le plus souvent la membrane formant les structures internes de la cellule).

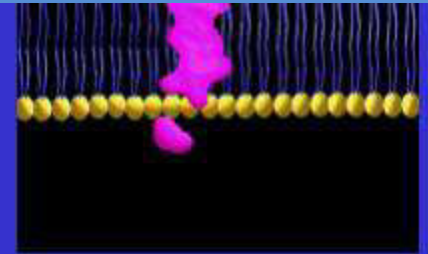
Les enzymes de certaines chaînes métaboliques sont parfois disposées côte à côte dans la membrane.





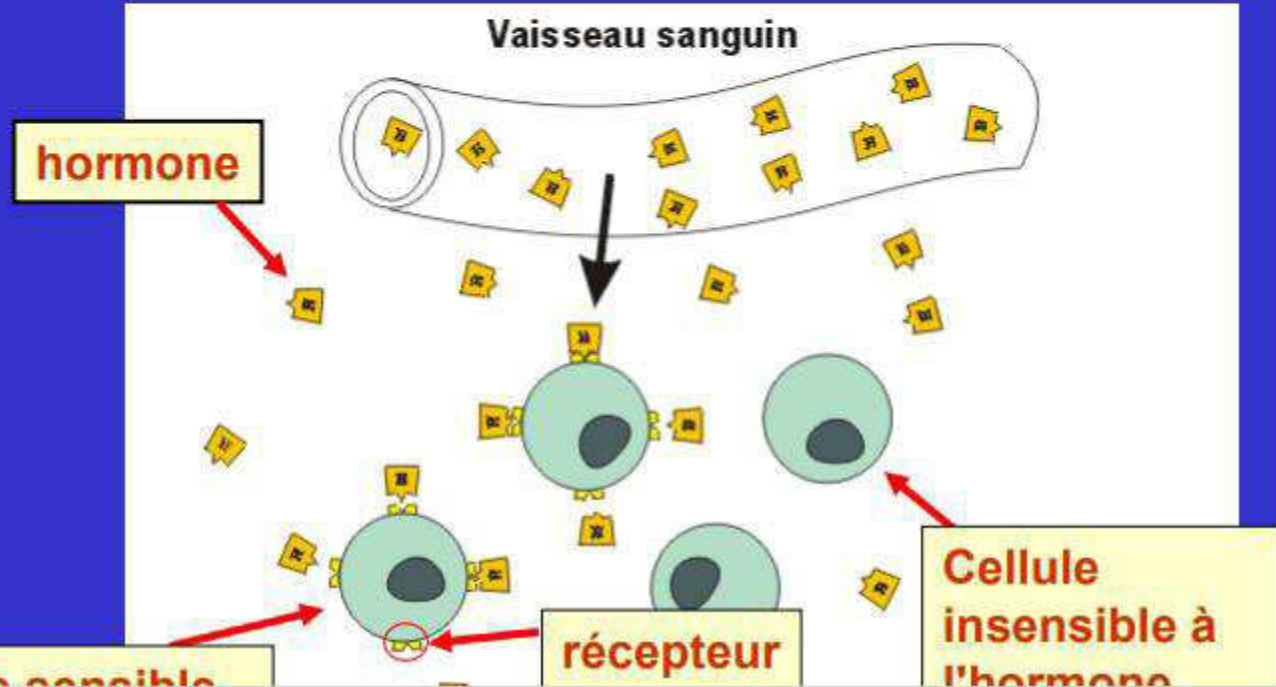
# Récepteurs

Les cellules communiquent entre elles par l'intermédiaire de substances chimiques appelée hormones.



**Hormone** = substance chimique libérée par une cellule et agissant sur une autre cellule

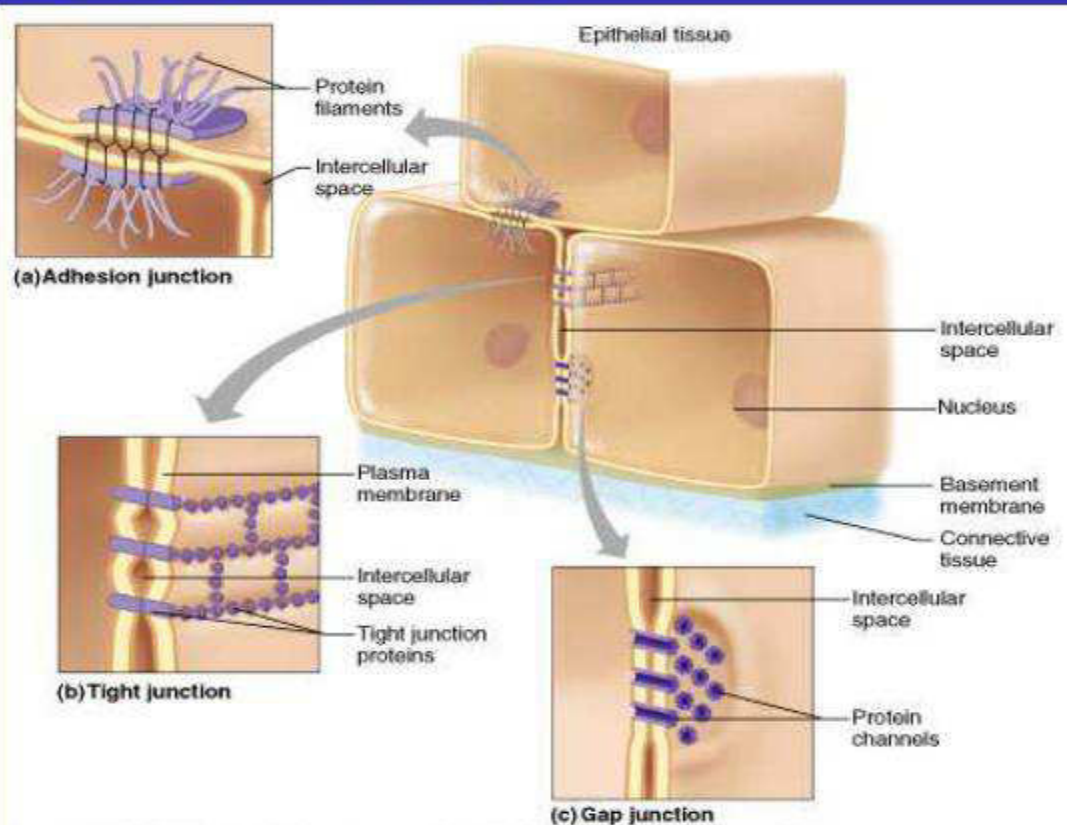
Pour agir, une hormone doit se fixer sur un récepteur. Ce récepteur, c'est souvent une protéine de la membrane.



# Adhérence avec d'autres cellules

Les cellules adhèrent les unes aux autres par l'intermédiaire de protéines de la membrane.

Dans une tumeur cancéreuse, des anomalies à ces protéines permettent aux cellules de se détacher de la tumeur principale et d'aller former des tumeurs secondaires (métastases) ailleurs dans l'organisme.



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



**Tumeur maligne**

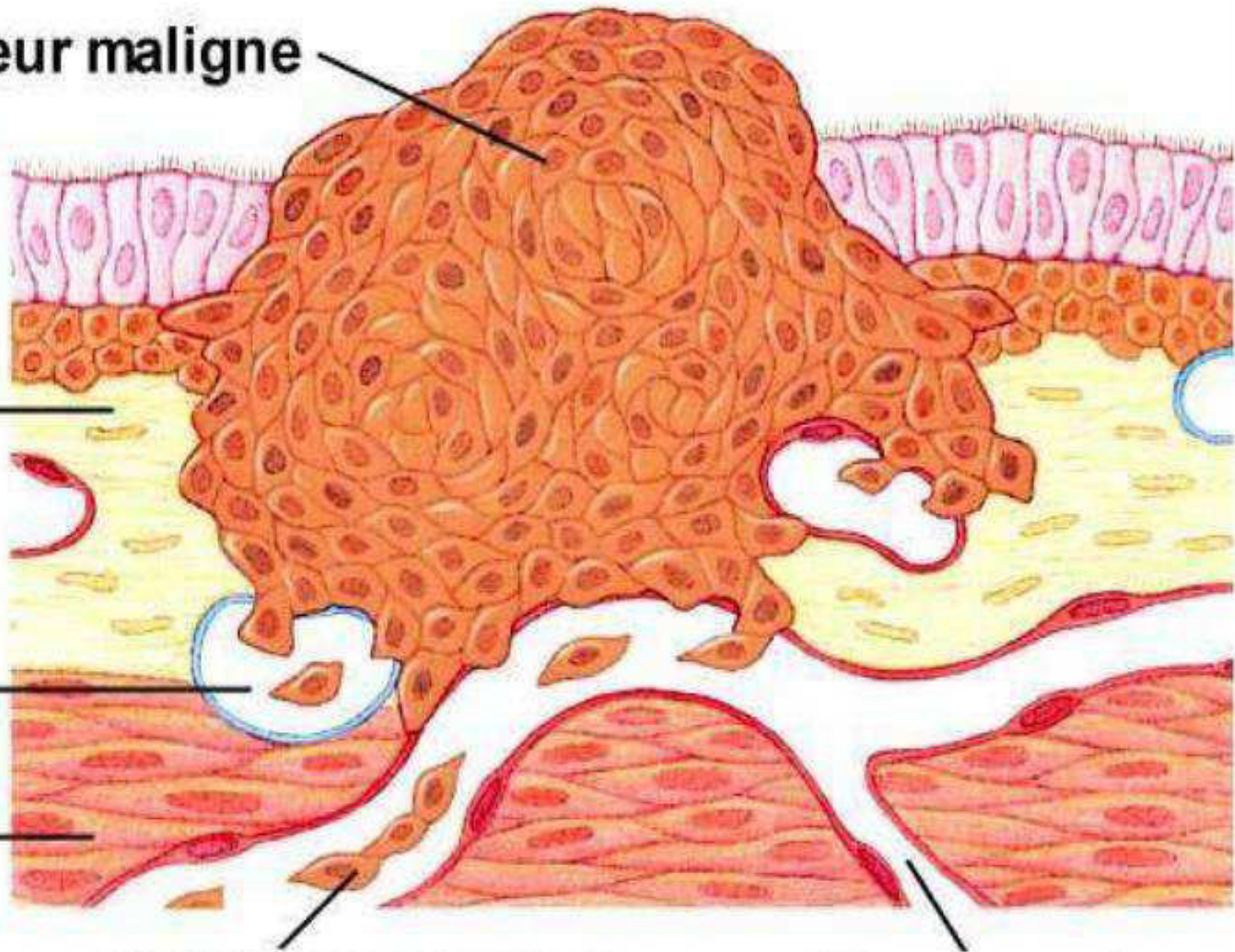
**Tissu  
conjonctif**

**Vaisseau  
lymphatique**

**Muscle  
lisse**

**Cellules cancéreuses**

**Vaisseau sanguin**



# Les glucides

- Les protéines assuraient déjà une polarisation de la membrane, mais ce rôle est principalement dévolu aux glucides. Ils vont en effets former à la surface de la membrane des structures complexes et variées, mais toujours extracellulaires. Les glucides sont accrochés à la membrane par deux moyens : ils sont fixés à la surface des protéines intramembranaires (**les glycoprotéines**) ou aux lipides membranaires (**les glycolipides**).



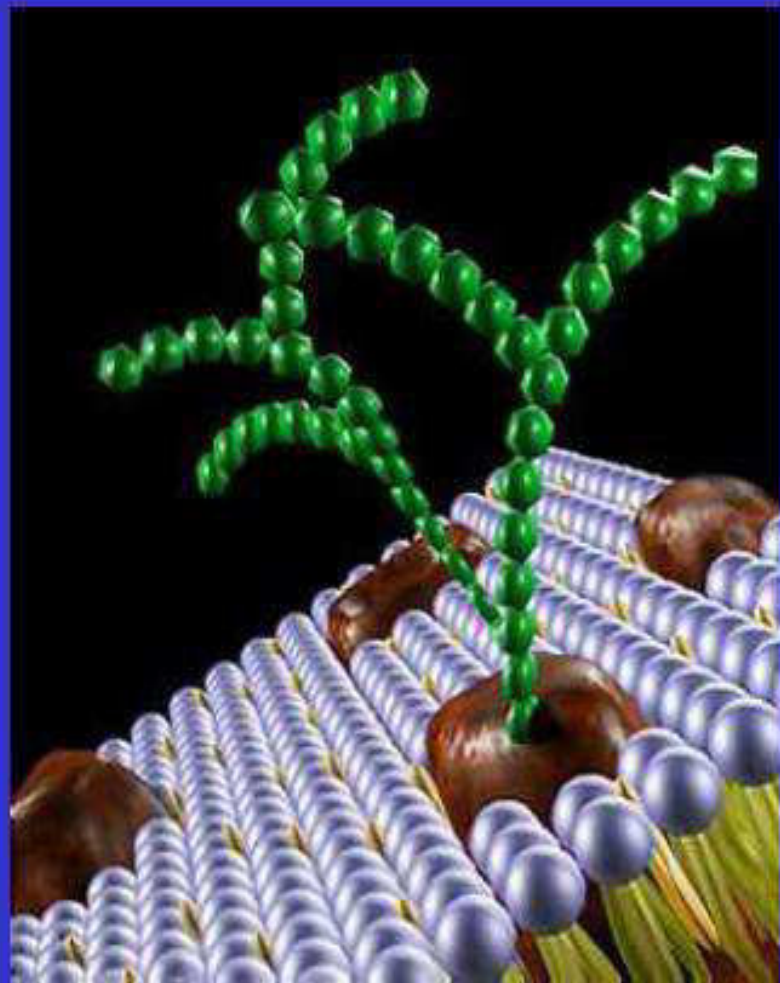
# Rôle des glucides

- Les glucides ont plusieurs rôles :
- Reconnaissance : les motifs glucidiques sont très antigéniques (par exemple les groupes sanguins).
- Participation à l'environnement local, les glucides sont des molécules très polaires.
- Renforcement de la membrane.

## Chaînes de glucides souvent attachées aux lipides (glycolipides) ou aux protéines (glycoprotéines)

Ces chaînes de glucides sont faites de divers monosaccharides. Elles sont très variables d'un individu à l'autre.

Les groupes sanguins (système ABO) sont déterminés par 3 glycoprotéines, glycoprotéines A, B et O, qui diffèrent l'une de l'autre par la composition de leurs chaînes de glucides.



# Comparaison entre les glucides des animaux et autres

- 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 : cellulose chez les végétaux, murine chez les bactéries, qui assure la solidité de la membrane. Cette paroi ne fait pas à proprement parler de la membrane mais elle s'y accroche par les glucides extracellulaires.