

STRUCTURE DES MEMBRANES BIOLOGIQUES

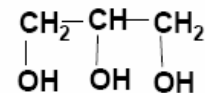
I. LES LIPIDES MEMBRANAIRES

Les lipides membranaires sont amphiphiles : ils présentent une extrémité hydrophile (ou polaire) et une extrémité hydrophobe non polaire (ou lipophile).

Rappel : polaire signifie que les électrons ne sont pas répartis de façon égale entre les atomes de la molécule. Les molécules polaires interagissent donc facilement ensemble car une partie chargée négativement, l'autre positivement (ex : la molécule d'eau)

1) Les glycérolipides

Ils ont pour structure de base le glycérol qui présente 3 fonctions alcool.



Ces fonctions OH peuvent être estérifiées par des acides saturés (pas de double liaison) ou des acides insaturés (quelques doubles liaisons).

Lorsque 2 des 3 fonctions alcool sont estérifiées, on obtient le diacylglycérol = DAG (rôle dans la signalisation cellulaire). En ajoutant un phosphate on obtient un acide phosphatidique.

Sur le groupement phosphate peuvent se greffer des petites molécules hydrophiles appelées têtes polaires :

- la *sérine* (chargée -) => phosphatidylsérine (PS) chargée « - »
 - l'*éthanol amine* (petit et chargée +) => phosphatidyl éthanol amine (PE) neutre
 - la *choline* (plus grosse que l'éthanol amine et chargée+) => phosphatidylcholine (PC) neutre
- Ces 3 glycérolipides sont des composants majeurs des membranes biologiques

La tête polaire peut être un sucre qu'on ajoute à l'acide phosphatidique :

L'inositol est une molécule polaire mais neutre.

Le phosphatidylinositol (PI) obtenu est donc chargé négativement.

C'est un composant mineur de la membrane en quantité mais qui joue un rôle majeur dans la signalisation cellulaire.

Les acides gras estérifiés sur le glycérol que l'on trouve dans les lipides des cellules ont 16 à 20 atomes de carbone qui forment la partie hydrophobe de la molécule.

Les glycérolipides sont donc des molécules amphiphiles.

2) Les sphingolipides

Ils ont pour squelette une base sphingoïde à longue chaîne.

La base la plus courante est la sphingosine : fonction alcool en position 1 et 3, double liaison responsable du coude en position 4, fonction amine (NH₂) en position 2.

La fonction amine réagit avec un acide gras (liaison amide) formant un céramide. →

La fonction alcool terminale réagit avec la phosphatidylcholine on obtient ainsi une sphingomyéline qui est un sphingophospholipide.

Donc céramide + PC => un phosphosphingolipide, la sphingomyéline.



Mais la fonction alcool peut aussi réagir avec un sucre sur lequel viennent se greffer d'autres sucres :

On appelle cérébroside, une céramide associée à un sucre (gluco cérébroside si glucose, galactocérébroside si galactose). On en retrouve beaucoup dans le cerveau. Il existe une dizaine de glycosphingolipides basés sur le galactocérébroside et une centaine de glycosphingolipides qui ont pour base le glucocérébroside.

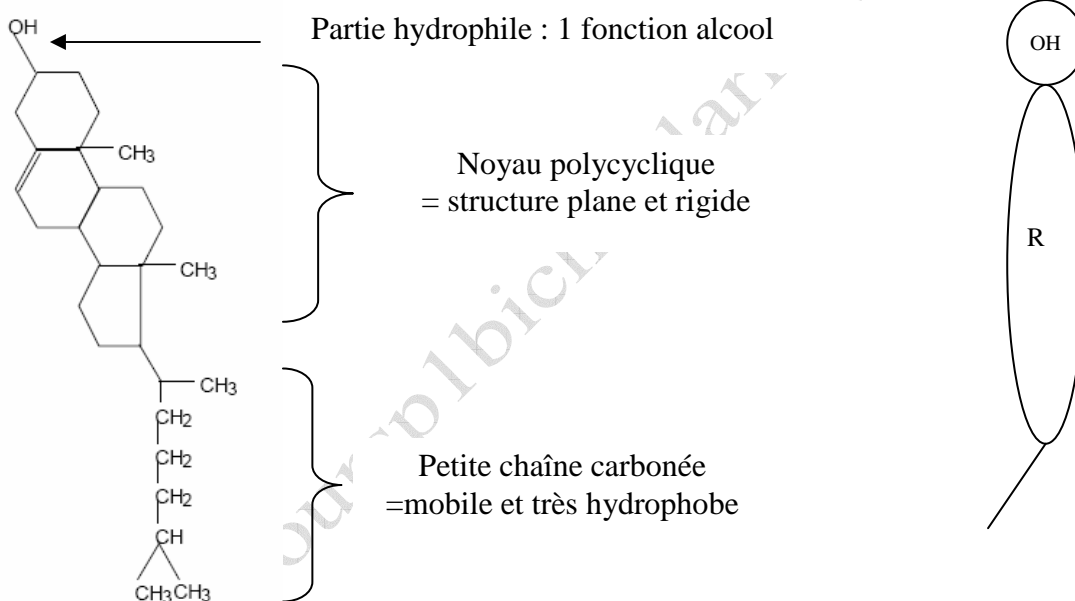
Les oligosaccharides sont des molécules complexes constituées de 20 à 100 sucres. On appelle glycosphingolipide, une céramide associée à plusieurs sucres. Si parmi ces sucres on trouve un acide sialique, on parlera de ganglioside, molécule qui porte une charge -.

L'ensemble des sucres portés forme la tête polaire. On pense que ces sucres jouent un rôle dans la reconnaissance entre cellules et sont aussi utilisés par les agents pathogènes.

Les acides gras (partie hydrophobe) sont plus complexes dans les sphingolipides que dans les glycérolipides.

Les sphingolipides sont également amphiphiles.

3) Le cholestérol (famille des stérols)



Le cholestérol est donc une molécule amphiphile

II. ORGANISATION DES LIPIDES

1) Bicouche lipidique et micelle

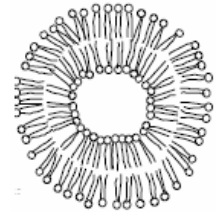
Pour un petit nombre de lipides, pour les molécules en cône ou peu amphiphile (si grosse tête polaire), la partie hydrophile est au contact de l'eau, la partie hydrophobe se protège. On a des micelles



Si la molécule est cylindrique, on a une bicouche formée de 2 monocouches (ou feuillet).

ME : Le tétraoxyde d'oxium OsO_4 est un atome lourd qui colore les têtes polaires mais n'interagit pas avec les chaînes d'acide gras. On observe 2 feuillets sombres (les extrémités hydrophiles) et 1 feuillet clair (hydrophobe).

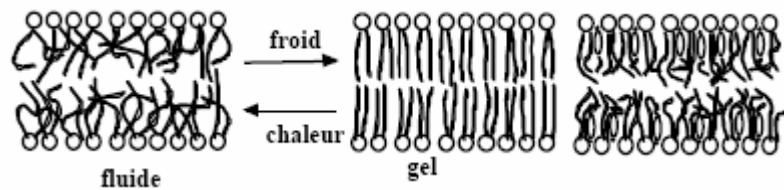
En réalité, pour que la partie hydrophobe ne soit pas au contact de l'eau, les extrémités se referment pour former un liposome.



2) La fluidité membranaire

L'acide gras type des lipides membranaires a entre 16 et 20 chaînes carbonées.

Si ces chaînes sont saturées alors elles sont flexibles, désordonnées et interagissent entre-elles.



La température de fusion est la température à laquelle s'opère le changement. Elle est proche de 41°C lorsqu'on a 2 chaînes grasses de 16 C saturées (PC).

Si toutes nos membranes présentaient des chaînes de 16C saturées : il y aurait un état de gel permanent donc pas de fonctionnement.

S'il y a une double liaison, la cristallisation est plus difficile. La température de fusion sera inférieure lorsque la chaîne est insaturée, la température de fusion sera de -60°C (trop fluide).

Dans le corps, la membrane sera fluide : on a donc des chaînes grasses saturées et des non saturées.

Les glycosphingolipides possèdent un acide gras à longue chaîne. Il déborde de leur couche et interagissent avec la monocouche qui leur fait face. On a un renforcement de la structure. De plus au niveau du céramide, l'alcool en position 3 et la liaison amide entre l'amine et l'AG permettent de réaliser des liaisons hydrogènes amine/alcool.

Il existe donc des domaines de la membrane enrichis en sphingophospholipide : on parle de radeaux de glycosphingolipides où certaines protéines y seront retrouvées préférentiellement car il y aura interaction.

Au niveau de ces radeaux, il y aura une modification locale : la diffusion latérale des protéines sera ralentie.

Le cholestérol est enchâssé dans la bicouche lipidique, le groupement OH est au niveau des têtes polaires. Les chaînes hydrocarbonées des lipides interagissent avec le noyau polycyclique : la membrane est compactée. S'il y avait uniquement des phospholipides la surface de la membrane serait plus grande que s'il y avait des phospholipides et du cholestérol. La compaction créée par le cholestérol renforce la résistance mécanique et l'imperméabilité et il y a un ralentissement de la diffusion latérale des protéines et des lipides.

A température élevée : la bicouche sera moins fluide en présence de cholestérol qui rigidifie la membrane par contre au cœur de la bicouche, la petite chaîne mobile désorganise la structure => extrémité des chaînes grasses plus mobiles qu'en temps normal.

Encombrement du noyau => passage en phase GEL plus difficile

A température basse : la bicouche restera plus fluide en présence de mobilité qui augmente la mobilité au cœur de la bicouche.

Le cholestérol ralentit la diffusion latérale des protéines et des lipides dans la membrane, et rend la bicouche plus compacte. En ce sens il rigidifie la membrane. Il augmente la mobilité

au coeur de la bicouche lipidique et empêche le passage à un gel. En ce sens il fluidifie les membranes.

Le cholestérol a donc un rôle de tampon de la fluidité membranaire.

Chaque feuillet lipidique représente en fait un liquide à 2D dans lequel on a des mouvements de rotation et de diffusion latérale à des vitesses de 10^{-8} cm²/s.

Chez la bactérie, le lipide va d'une extrémité à l'autre en 1 à 2 secondes

Pour la cellule eucaryote, le lipide prend 20s.

III. LES PROTEINES MEMBRANAIRES

En poids, il y a autant de lipides que de protéines. En réalité il y a 100 fois plus de lipides que de protéines. De plus la 1/2 vie des protéines est plus longue (5 jours) que celle des lipides (2 jours).

Les protéines membranaires peuvent s'associer de façon extrinsèque ou intrinsèque à la membrane.

1) Protéines extrinsèques :

Les protéines extrinsèques sont associées à la membrane par des liaisons non covalentes surtout ionique donc des traitements de modifications de la force ionique (quantité d'ions) permettent d'extraire ces protéines

2) Protéines intrinsèques :

Les protéines sont physiquement ancrées dans la bicouche lipidique

a) Protéines ancrées par un lipide ou un acide gras

Les protéines intrinsèques sont ancrées par l'intermédiaire :

-d'un lipide (l'ancre est un glycosyl phosphate): ce sont les protéines glypiées.

On les retrouve sur le feuillet qui fait face à l'extérieur = feuillet exoplasmique.

-d'un acide gras (ou longue chaîne grasse) : ce sont des protéines acylées que l'on retrouve sur le feuillet qui font face au cytosol = feuillet cytosolique.

b) Protéines transmembranaires

La chaîne peptidique de ces protéines traverse la bicouche lipidique une ou plusieurs fois.

La chaîne traverse une fois la bicouche : elle a un segment transmembranaire,.

La chaîne traverse plusieurs fois la bicouche (à plusieurs segments transmembranaires) , on parle de protéine serpentine.

Si on fragmente la membrane (cryofracture par ex) entre les 2 feuillets, les protéines transmembranaires restent liées à un des 2 feuillets formant des bosses sur le feuillet où elles restent et des trous sur celui où elles ne sont plus.

c) Mobilité des protéines

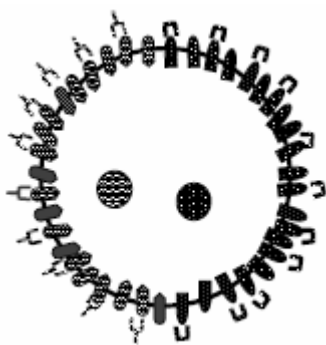
Les protéines glypiées se déplacent sur un feuillet de la membrane donc leur vitesse de diffusion est à peu près égale à la vitesse de diffusion des lipides.

Les protéines transmembranaires sont 10 à 100 fois plus lente que les lipides car elles se déplacent sur deux feuillets.

La diffusion libre (sans aucun obstacle) n'est pas le cas général ; La diffusion des protéines est influée par des facteurs locaux (ex : les radeaux lipidiques ralentissent la diffusion latérale). Il existe des zones d'obstacles regroupés (sortes de plots comme au flipper) dans lesquelles des protéines restent piégées un certain temps puis rebondissent. Les protéines liées au CSQ ne bougent que si le CSQ bouge : les protéines restent donc confinées dans leurs zones.

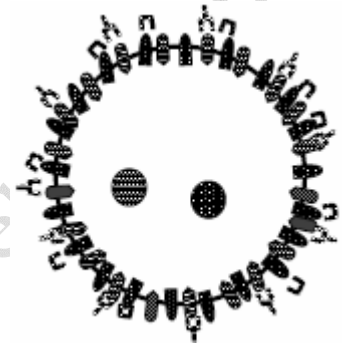
Il existe des moteurs protéiques sur le CSQ associés à des protéines qui se déplacent sur un élément du CSQ. Cette protéine aura une direction et un mouvement rapide.

Expérience sur le déplacement des protéines : on incube des AC couplés à des fluorochromes.



A 0°C, les protéines restent chacune de leur côté.

A 37°C et au bout de 40min, il y a homogénéisation des différentes protéines.



Expérience sur la vitesse de déplacement des protéines : On incube des AC avec la cellule.

On détruit une région fluorescente au laser qui est alors blanchie (technique de photoblanchiment). La vitesse à laquelle revient la couleur caractérise la vitesse du déplacement global de l'ensemble des protéines (il y a homogénéisation entre molécules fluo et molécules non fluorescentes).

Pour la vitesse d'une protéine individuelle on utilise des AC couplés à des billes d'or colloïdal en ME.

3) Fonctions des protéines membranaires

- Fonction de structure : modifient l'organisation, la forme et la stabilité membranaire.
- Fonction d'enzyme : catalysent des réactions biochimiques
- Fonction de récepteurs : en général transmembranaire, elles sont capables de se lier à des substances et de transmettre un signal dans la cellule.
- Fonction de passage de molécules : Ce sont des transporteurs, canaux ou des pores

Les protéines de la membrane plasmique ont un rôle dans les échanges entre la cellule et son environnement.

4) Origine des protéines membranaires

Les protéines sont synthétisées par les ribosomes dont on distingue deux types :

- les ribosomes libres retrouvés dans le cytosol
- les ribosomes liés associés à la membrane du RE pour la synthèse et la translocation de protéines dans la lumière du RE

Les ribosomes liés sont à l'origine de protéines solubles dans la lumière du RE et de protéines membranaires. Une fois synthétisée, certaines sont envoyées vers différents compartiments membranaires en relation avec le RE grâce au trafic membranaire.

Les protéines glypiées sont associées à la membrane par un glycolipide. Elles sont synthétisées comme des protéines transmembranaires puis clivées au ras de la membrane et envoyées en bloc vers un glycosylphosphatidyl inositol) = obtention de la protéine glypiée.

Les ribosomes libres synthétisent les protéines du cytosol.

Certaines de ces protéines sont importées dans le noyau ou dans d'autres compartiments (ex : peroxyosome et mitochondrie)

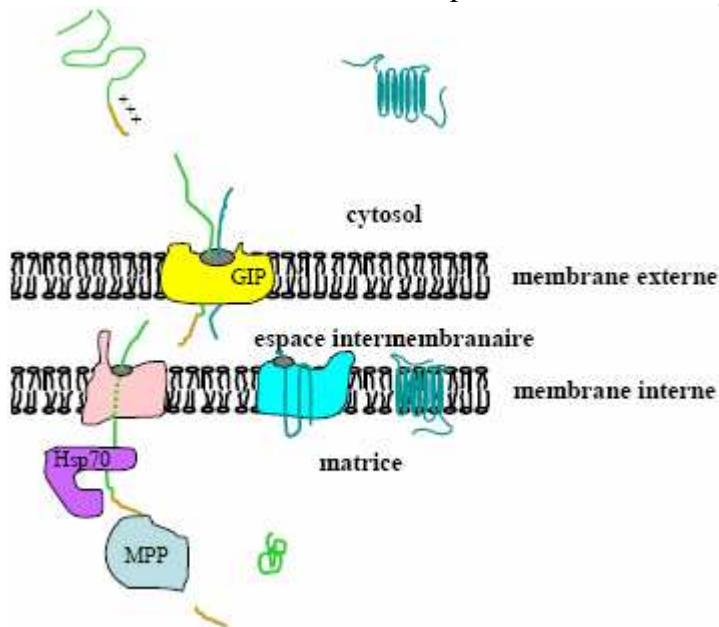
Le peroxyosome est un petit organite responsable de l'oxydation et de la destruction de radicaux libres.

Ces protéines portent vers l'extrémité C terminale un signal d'import qui est une séquence courte de 3 aa leur permettant d'être reconnues par un point de la membrane du peroxyosome et d'être importées. Ce procédé est valable pour les protéines de la matrice (ou lumière). Les protéines de la membrane du peroxyosome sont importées d'une autre façon.

Plus le peroxyosome importe de protéine, plus il grossit. Puis le peroxyosome peut se diviser pour donner deux peroxyosomes fils.

La mitochondrie est un organite semi autonome c'est-à-dire qui a un génome. Elle présente deux membranes, une au contact du cytosol et une au contact de la matrice mitochondriale. La plupart de ces protéines sont codées au niveau du génome nucléaire et synthétisées par les ribosomes libres, d'autres sont codées par l'ADN mitochondrial. La mitochondrie produit 2 ARNr, 22 ARNt et 13 protéines membranaires incorporées dans la membrane interne. Ces protéines sont synthétisées par les ribosomes libres dans la matrice puis importé sur la membrane (les autres protéines étant codées par le génome nucléaire).

Intéressons-nous à une protéine matricielle.



La protéine, synthétisée dans le cytosol, présente une pré séquence. Il s'agit d'un peptide signal de 20-80 aa à l'extrémité N-ter chargé positivement et reconnu par un complexe sur la membrane externe de la mtc : le pore d'import général ou GIP.

Dans le cytosol, on trouve la protéine Hsp70 cytosolique, une protéine chaperonne, qui interagit avec GIP.

La translocation de la protéine nécessite un gradient électrochimique de H^+ de part et d'autre de la membrane interne ainsi que de l'ATP pour permettre la dissociation des Hsp70.

Cette protéine est directement transloquée dans la matrice où elle interagit avec Hsp70 mitochondriale qui a besoin d'ATP pour permettre le repliement de la protéine.

Il y a ensuite action d'une protéase qui clive la pré séquence : on aboutit ainsi à la protéine mitochondriale

Les protéines membranaires utilisent d'autres mécanismes : les protéines de la membrane interne utilise aussi le GIP mais ensuite un système différent et plus complexe est mis en jeu.

IV. LE GLYCOLALYX : LES SUCRES DE LA MEMBRANE

1) Les glycolipides

On utilise le terme de glycocalyx (manteau sucré) pour désigner l'ensemble des oligosaccharides au contact de la membrane plasmique et sur les membranes dérivant du RE. Il forme une véritable forêt dont le 1^{er} rôle est la protection de la cellule contre des agressions chimiques et microbiennes.

Ces oligosaccharides sont très différents d'un type cellulaire à l'autre : ils permettent donc une reconnaissance entre cellule mais sont aussi utilisés comme récepteurs par les agents pathogènes.

Ils peuvent être portés par glycolipides basés sur le glucocérébroside et synthétisés au niveau du RE. Le 1^{er} sucre, le glucose est ajouté dans le RE. Les autres sucres sont ajoutés au niveau de l'appareil de Golgi par des enzymes qui font face à la lumière de l'appareil de Golgi c'est-à-dire sur la face exoplasmique de la membrane.

2) Les glycoprotéines

Les oligosaccharides peuvent être associés à des protéines pour former une glycoprotéine.

a. Oligosaccharides O-liés

Les oligosaccharides sont ajoutés sur l'atome d'oxygène d'une fonction alcool d'une sérine ou d'une thréonine. Toutes les modifications auront lieu dans l'appareil de Golgi (ajout essentiellement de galactose, ses dérivés et de l'acide sialique).

b. Oligosaccharides N-liés

Les oligosaccharides sont envoyés en bloc sur l'atome d'azote (N) d'une asparagine d'une protéine dans la lumière du RE et modifiés dans l'appareil de Golgi.

Puis en fonction du type de modification on va distinguer 3 types d'oligosaccharides : les oligosaccharides oligomannosidiques (beaucoup de mannoses), les oligosaccharides complexes (beaucoup de modification) et les oligosaccharides hybride ou intermédiaire (modifiés d'un côté).

V. ASYMETRIE DES MEMBRANES

Le feuillet cytosolique a une composition différente du feuillet exoplasmique.

Le cholestérol est présent de manière homogène sur les deux feuillets mais ce n'est pas le cas des autres constituants.

Les glycolipides sont retrouvés sur le feuillet exoplasmique tout comme la phosphatidylcholine. Le feuillet cytoplasmique est enrichi en phosphatidylsérine et en phosphatidyléthanolamine.

Cette asymétrie est maintenue par le fait que les lipides ont tendance à rester sur le même feuillet.

Le passage d'un feuillet à l'autre ou flip-flop des lipides est relativement lent mais ce mouvement peut être accéléré par des enzymes appelées flippases qui ont 2 fonctions :

- permettre à certains lipides de s'équilibrer sur les deux feuillets
- forcer les lipides à aller sur le bon flip

Les lipides membranaires sont principalement synthétisés au niveau du RE puis sont transportés par trafic membranaire vers les compartiments en relation avec le RE. Pour être transportés vers d'autres compartiments, il existe des protéines d'échange de phospholipides capable de reconnaître un phospholipide de façon spécifique. Il s'agit de protéines transporteuses de lipides qui reconnaissent la tête polaire, l'extraient puis l'intègrent dans un

autre membrane (ex : membrane externe de la mtc) ; la protéine se retrouve alors libre du lipide.

Les protéines sont insérées de façon asymétrique quelque soit leur mode d'insertion dans la membrane. De plus les protéines membranaires ne « flip-floppent » pas : elles participent donc à l'asymétrie des membranes biologiques.

Les oligosaccharides ne sont présents que sur la partie exoplasmique et participent aussi à cette asymétrie.

Ce document, ainsi que l'intégralité des cours de P1, sont disponibles gratuitement à l'adresse suivante : <http://coursplbichat-larib.weebly.com/>

<http://coursplbichat-larib.weebly.com/>