

2.1.2. LES PROTEINES MEMBRANAIRES

2.1.2.1. - REPARTITION DES PROTEINES MEMBRANAIRES

Alors que la bicouche lipidique détermine la structure de base des membranes biologiques, les protéines sont responsables de la plupart des fonctions membranaires. Elles servent entre autre, de récepteurs spécifiques, d'enzymes ou de transporteurs. Elles sont très variées par leur structure et par leur fonction. Par exemple, il y en a moins de 25% dans la membrane de la myéline (cellule servant d'isolant pour les axones) alors que les membranes impliquées dans les processus énergétiques telles que la membrane mitochondriale interne en ont plus de 75%. L'inventaire des protéines d'hématies par électrophorèse sur gel polyacrylamide montre que leur PM varie entre 20 000 et 240 000 daltons (d). Les protéines qui sont parfois de très longs polymères, possèdent une chaîne polypeptidique avec une extrémité amino-terminale (NH₂) et une extrémité carboxy-terminale (COOH). Elles changent de forme suivant les conditions de l'environnement.

2.1.2.2. LES DIFFERENTS TYPES DE PROTEINES MEMBRANAIRES

On en distingue 2 principaux:

A - Les protéines transmembranaires (= protéines membranaires intrinsèques ou intégrales)

Ce sont les protéines localisées dans la membrane plasmique. La chaîne polypeptidique de ces protéines membranaires traverse la bicouche lipidique une fois (Exemple: glycophorine des globules rouges) (1) ou plusieurs fois (2) (Exemple: Bande 3, protéine membranaire de l'hématie, assurant le transport de l'oxygène et du CO₂).

B - Les protéines membranaires périphériques :

Ce sont des protéines constitutives de la membrane cellulaire qui se localisent soit du côté du cytoplasme (protéine périphérique interne), soit à la surface de la cellule ((protéine périphérique extrinsèques).

- Elles sont liées de plusieurs manières à la bicouche lipidique
- De façon covalente à la monocouche (ou hémimembrane) interne à travers une chaîne d'acide gras.
- A travers un pont oligosaccharide lié à un phospholipide, le phosphatidylinositol ancré dans l'hémimembrane externe.
- A travers des liaisons non covalentes avec d'autres protéines membranaires.

Les enzymes de la glycolyse

Enzymes = Protéines agissant en quantités infimes comme biocatalyseur dans toutes les réactions de dégradation ou de synthèse au niveau des cellules. Le principal est le glycéraldéhyde 3 phosphates déshydrogénase (G-3-PD).

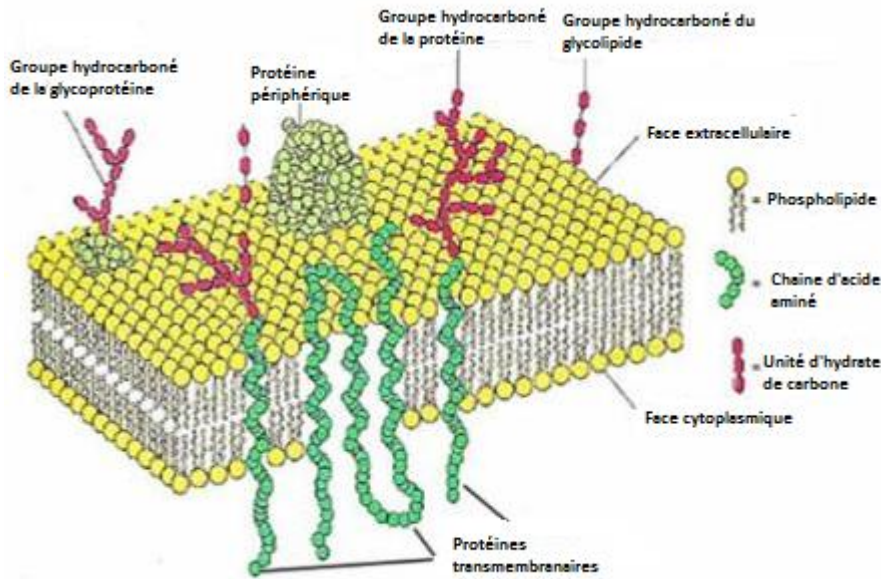


FIGURE 12 : PROTEINES MEMBRANAIRES

2.1.2.3. - PROPRIETES DES PROTEINES MEMBRANAIRES

A - Asymétrie

Les protéines transmembranaires ont une orientation particulière à travers la bicouche lipidique. Elles sont pour la plupart glycosylées et constituent 2 classes de par leur composition chimique:

- Les glycoprotéines
- Les protéoglycanes

Protéoglycanes = mucopolysaccharides = polysaccharides composés d'unités disaccharidiques aminées répétitives organisées en longues chaînes non ramifiées.

La chaîne polypeptidique présente un domaine extracellulaire pourvu d'oligosaccharides et de liaisons dissulfures (S-S) et un domaine intracellulaire pourvu de groupements sulfhydryles (SH), le cytosol étant un environnement réducteur.

B - Solubilisation par les détergents

Les protéines transmembranaires et toutes les autres protéines fermement liées à la membrane peuvent être solubilisées par des **détergents**, capables de rompre les associations hydrophobes et de détruire la bicouche pour donner des complexes protéine-lipide-détergent. Ces agents sont de petites molécules amphiphiles qui tendent à former des micelles dans l'eau.

Les plus courants sont le sodium dodecyl sulfate (SDS) et le triton X-100

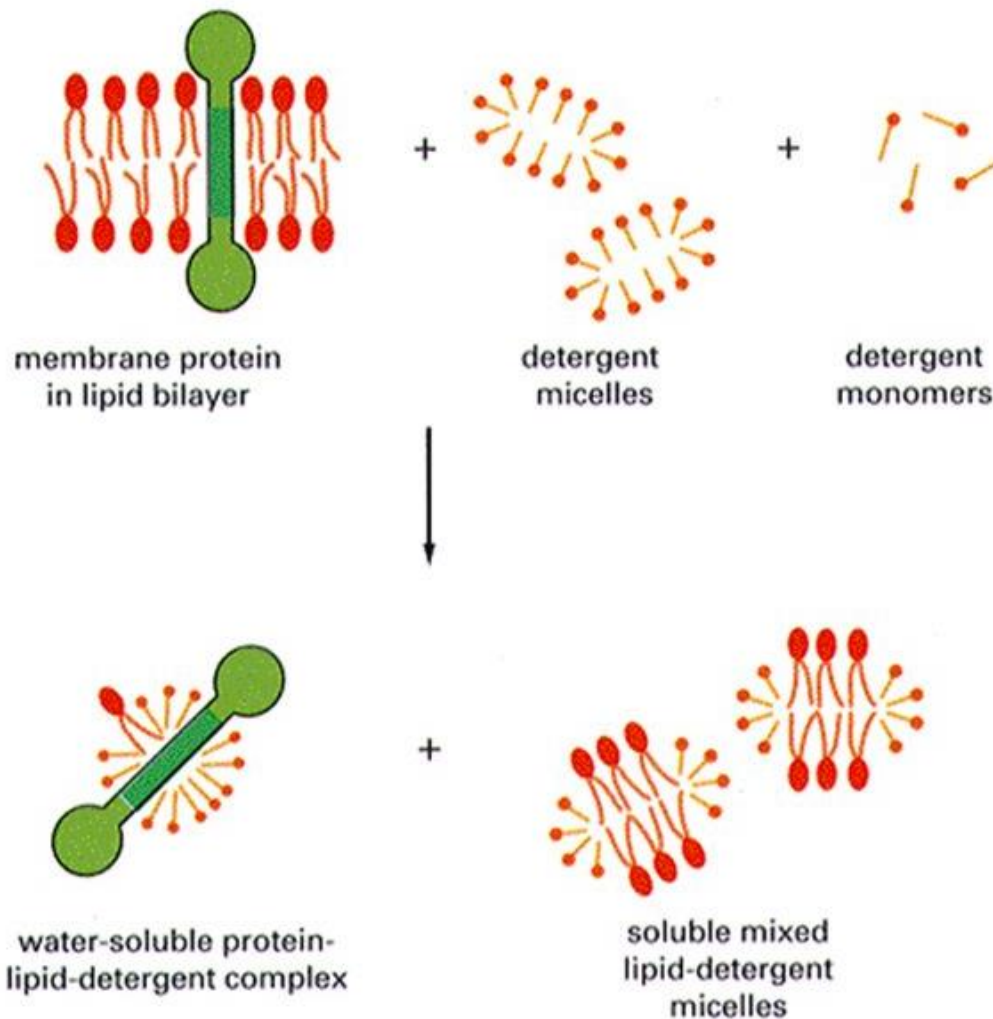


FIGURE 13 : DESTRUCTION DE LA BICOUCHE PAR LES MICELLES DE DETERGENT

* Exemple de l'étude des protéines membranaires des globules rouges

Les hématies sont les cellules dont la membrane a été la plus étudiée grâce au fait qu'elles sont anucléées, disponibles en grandes quantités et capable de se retrouver en suspensions pures. Les membranes ou "fantômes" de groupes rouges sont facilement obtenues par **choc osmotique** en plaçant les cellules dans une solution saline hypotonique. La solution étant moins concentrée en sel que le milieu intracellulaire, l'eau pénètre les groupes rouges qui gonflent et s'éclatent par la suite. L'hémoglobine qui est la principale protéine non membranaire s'échappe permettant l'obtention des suspensions de membrane pures. On obtient après traitement par détergent les 3 principales protéines suivantes:

1°) - La spectrine

C'est la protéine membranaire la plus abondante des globules rouges. C'est une protéine membranaire périphérique liée de façon non covalente à la face cytoplasmique.

Cette protéine formée de 2 grosses chaînes polypeptidiques l' α spectrine 240 000 Daltons et la β spectrine 220 000 daltons (hétérodimère, chaque monomère est constitué d'environ 18 domaines de 106 acides aminés chacun). Les filaments de spectrine constituant le cytosquelette constituent

une sorte de filet fixé sur la face interne de la membrane de l'hématie. Cette structure est responsable de la forme concave des globules rouges.

Les cellules nucléées présentent un cytosquelette analogue mais plus compliqué en dessous de la membrane plasmique appelé **cortex**. Le cortex du cytoplasmique est riche en filament d'actine.

2°) - La glycophorine

C'est une petite glycoprotéine transmembranaire à passage unique des globules rouges (environ 131 résidus d'acides aminés). Cette molécule qui porte la majorité des sucres de l'hématie est en majeure partie extracellulaire.

3°) - La bande 3

Cette protéine est ainsi nommée par rapport à la position des autres protéines membranaires après électrophorèse sur gel SDES - polyacrylamide. C'est une protéine transmembranaire à passages multiples. Elle joue un rôle important dans la fonction des globules rouges qui sont le transport de l'O₂ des poumons aux tissus et du CO₂ des tissus aux poumons. Les globules rouges éjectent le HCO₃⁻ en échange du Cl⁻. Ces échanges se font à travers la bande 3 qui est une protéine transporteuse d'anions.

C - Fluidité

A l'exemple des lipides membranaires, les protéines membranaires subissent des mouvements de diffusion latérale dans le plan de la membrane. Quelques minutes après la fusion d'une cellule non marquée avec une cellule marquée à l'aide d'une molécule fluorescente, la fluorescence se répartit sur toute la surface de l'hétérocaryon (cellule binucléée résultant de la fusion expérimentale de 2 cellules).

Les cellules peuvent également confiner leurs protéines et lipides à des domaines spécifiques de la membrane entraînant une restriction de la fluidité.

Exemple: membrane des spermatozoïdes dont les protéines se répartissent différemment sur 3 domaines: la partie antérieure de la tête, la partie post de la tête et la queue.

2.1.3. LES GLUCIDES MEMBRANAIRES

(Glucides = hydrates de carbone)

2.1.3.1. LES DIFFERENTS TYPES DE GLUCIDES MEMBRANAIRES

A- Des **glycoprotéines** : Chaînes d'oligosaccharides ou de polysaccharides rattachées de façon covalente aux protéines membranaires (= aux chaînes polypeptidiques)

Les sucres sont: glucose, fructose, mannose, glucosamine etc.

B- Des **glycolipides** : Chaînes d'oligosaccharides rattachées de façon covalente aux lipides membranaires. Exemple: Cérébrosides = Type de glycolipides contenus surtout dans le tissu nerveux, dans la myéline constitués d'esters de galactose (= cerebrose) et sphingosine

Le pourcentage total de glucides varie de 2 à 10% du poids total de la membrane.

La plupart des protéines membranaires superficielles portent des résidus de sucres.

Alors que chaque glycolipide ne possède qu'une seule chaîne oligosaccharidique, une glycoprotéine telle que la glycophorine peut posséder plusieurs chaînes oligosaccharidiques.

Les oligosaccharides sont rattachés aux glycoprotéines membranaires de 2 façons:

- Liés par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène d'un résidu sérine ou thréonine (O-glycosylation)
- Liés par l'intermédiaire d'un atome d'azote d'un résidu asparagine (N-glycosylation)

2.1.3.2. - REPARTITION DES GLUCIDES MEMBRANAIRES

A - Le cell-coat ou glycocalyx

C'est le revêtement d'aspect fibreux plus ou moins épais au delà de la bicouche lipidique constitué par les glucides membranaires à la surface des cellules eucaryotes.

En plus des glycoprotéines et des glycolipides, le cell-coat est constitué de **lectines** ou **phytohémagglutinine** (PHA). Ce sont des protéines importantes dans la reconnaissance intercellulaire et dans l'adhésivité. Précédemment isolées chez les végétaux, les lectines ont récemment été découvertes dans plusieurs espèces animales.

Certaines lectines, à l'exemple de la concanavoline A (Con A) sont des récepteurs de surface des cellules végétales sur lesquels se fixent sélectivement les bactéries. Au contact des cellules animales en culture, les lectines produisent un effet mitogène (stimulant la mitose)

Les **protéoglycanes** (ou mucopolysaccharides) consistent en une longue chaîne polysaccharidique rattachée à une charpente protéique. Elles sont généralement présentes du côté extracellulaire dans un assemblage complexe de macromolécules **adsorbées** (fixées par pénétration superficielle) par la membrane plasmique et formant ainsi la **matrice extracellulaire**.

B - Fonctions du cell-coat

- Il joue un rôle dans la protection mécanique
- Il permet l'interaction entre les cellules
- Contient des molécules réceptrices pour les hormones, les anticorps etc...

Les groupes sanguins du Système ABO sont composés de facteurs agglutinogènes présents sur les protéoglycanes du cell-coat des globules rouges.

Chaque groupe est caractérisé par un ose particulier

- Hexaglycosylcéramide pour le Groupe B
- Acétylgalactosamine pour le groupe A
- ni l'un ni l'autre pour le groupe O

Pour déterminer votre groupe sanguin, on utilise un anticorps contre l'hexaglycosylcéramide, un Anticorps contre l'acétylgalactosamine et un mélange des deux.

Dans un test

Si vous êtes du groupe A, vos Globules Rouges s'agglutinent avec l'anti-A

Si vous êtes du groupe B, vos Globules Rouges s'agglutinent avec l'anti-B

Si vous êtes du groupe AB vos Globules Rouges s'agglutinent avec les deux

Si vous êtes du groupe O, il n'y a pas d'agglutination.

Groupe sanguin	Type d'Antigène sur le Cell-coat	Type d'Anticorps dans le plasma
A	A	b (anti-B)
B	B	a (anti-A)
AB	A et B	Aucun
O	Aucun	a et b

2.1.3.3. - PROPRIETES DES GLUCIDES MEMBRANAIRES

Les glucides membranaires sont généralement rattachés aux protéines ou aux lipides dont elles épousent les principales propriétés (voir plus haut).

2.2. FONCTIONS DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

2.2.1. COMPARTIMENTATION DE LA CELLULE

La membrane plasmique délimite la cellule. Elle permet le contact avec le milieu extérieur, le maintien de l'intégrité de la cellule et empêche aussi les réactions entre les différents compartiments (organites) cellulaires. Exemple : Le contenu des lysosomes est entouré d'une membrane qui l'empêche de réagir avec d'autres substances cytoplasmiques.

***L'ACCROISSEMENT DE LA SURFACE D'ÉCHANGE DE LA CELLULE: LES MICROVILLOSITES**

Elles constituent également une spécialisation de la membrane plasmique. Ce sont des expansions du cytoplasme en forme de doigt de gant soutenues par des microfilaments d'actine et limitées par la membrane plasmique. Cette structure que l'on rencontre au niveau de l'épithélium intestinal et l'épithélium des tubes contournés du néphron, accroît considérablement la surface d'échange de la cellule.

2.2.2. COMMUNICATION

2.2.2.1. REGULATION DE L'ACTIVITE CELLULAIRE PAR LES SIGNAUX EXTRACELLULAIRES:

La communication des cellules entre-elles et la communication avec leur milieu se fait grâce aux glycoprotéines et glycolipides du cell-coat qui sont alors des **récepteurs** de signaux. Dès le contact entre une molécule étrangère (**ligand**, par exemple hormone, neurotransmetteur, facteur de croissance) avec la cellule, un récepteur spécifique de la membrane transmet le signal approprié dans le cytoplasme où la réaction appropriée au signal se déclenche. L'information est véhiculée à l'intérieur de la cellule par un mécanisme appelé **transduction des signaux** (= transformation des informations extracellulaires en signaux intracellulaires).

Exemple 1: Au niveau de la jonction neuromusculaire (Synapse), l'acétylcholine libérée par la cellule nerveuse est captée par les récepteurs d'acétylcholine qui sont des protéines membranaires de la cellule musculaire. Cette dernière se contracte à la suite de la série de signaux intramusculaires qui s'en suit (Acétylcholine, signal chimique ; contraction musculaire, signal mécanique). Les cellules sensorielles ou les neurones transforment des signaux lumineux, chimiques en signaux électriques) *La liaison au récepteur entraîne des changements conformationnels*

Conséquences:

1 - Transduction des signaux

2 - Endocytose: stimulus physique dirigé pendant l'absorption des molécules par la cellule.

Les 3 types de récepteurs impliqués dans la Transduction des signaux:

Type I - Phosphorylation des protéines par la tyrosine kinase (Exemple: récepteur de l'insuline)

Type II - Canal d'ions dirigé par le ligand (Exemple pour le Na^+ , le K^+ , le Cl^- , les neurotransmetteurs)

Type III - Processus libérant un second messenger (Exemple: protéine G et cAMP, DAG, cGMP, IP_3)

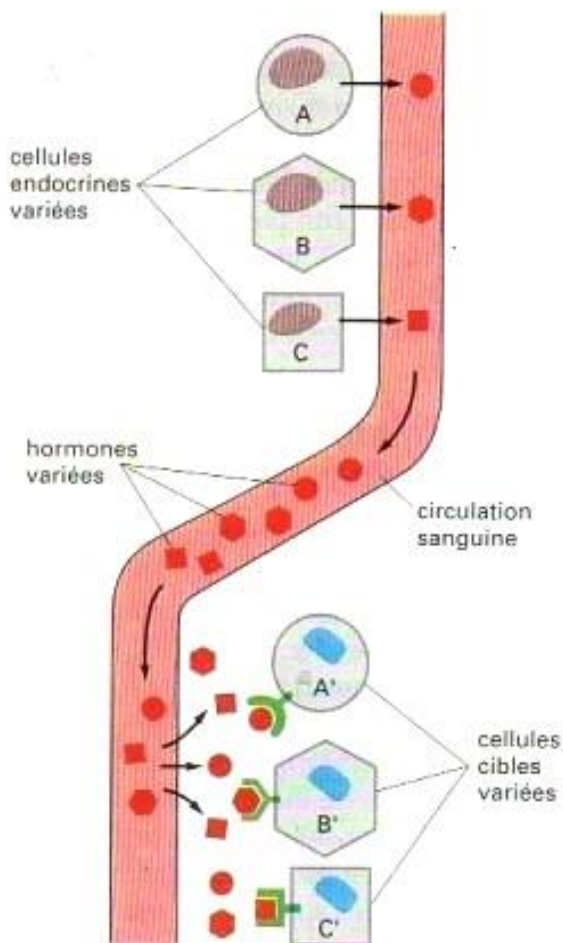


Figure 14 A. Transmission endocrine.

Les cellules endocriniennes sécrètent plusieurs hormones dans le sang. Ces hormones se lient aux cellules cibles ayant des récepteurs spécifiques pour elles.

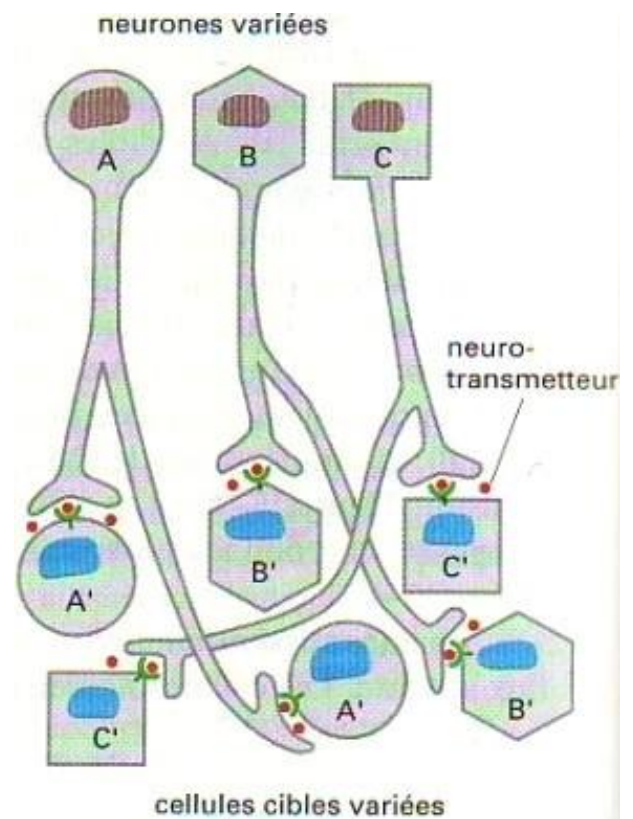


Figure 14 B. Transmission synaptique.

La spécificité est due au contact entre les cellules nerveuses et les cellules cibles spécifiques.

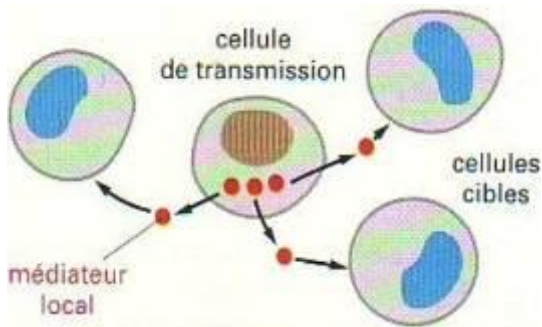


Figure 14 C.
Signalisation paracrine

2.2.2.2. - L'ADHÉRENCE CELLULAIRE

Elle se fait grâce aux molécules d'adhérence cellulaire (**Cell Adhesion Molecules; CAM**). Ce sont des glycoprotéines présentes à la surface d'une variété de cellules sanguines (Globules Rouges, Globules Blancs, Thrombocytes) et sur la paroi des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Elles sont constituées de :

- Un domaine cytoplasmique rattaché au cytosquelette
- Un domaine transmembranaire hydrophobe et
- Un domaine extracellulaire qui réagit avec une molécule étrangère à la cellule.

On les trouve sur les globules rouges, globules blancs, et même à la surface des globules rouges infectés par les protozoaires tels que Plasmodium falciparum l'agent du paludisme. Il a été récemment démontré que lors d'une infection, l'activation du système immunitaire entraîne l'expression des CAM.

Elles jouent un rôle important dans la circulation, le contact, l'adhésion et la diapédèse (passage des leucocytes à travers l'endothélium d'un capillaire) des cellules immunitaires (globules blancs).

On distingue 4 principales classes de CAMs

A- Les membres de la superfamille des immunoglobulines qui interviennent dans les adhésions cellulaires homophiles (entre cellules du même type) Exemple ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)

B - Les Intégrines qui établissent les contacts entre la cellule et la matrice extracellulaire Exemple: LFA-1 (**Lymphocyte Function Associated antigen-1**)

C - Les Cadhérines qui sont Ca^{2+} -dépendantes dont le rôle était déjà connu dans l'embryogenèse (formation et développement d'un organisme du stade embryonnaire à la naissance) où elles initient l'assemblage des cellules pour former un tissu.

D - Les Lectines

Les lectines appelées sélectines sont impliquées dans la reconnaissance entre leucocytes et cellules endothéliales.

2.2.2.3. LES JONCTIONS MEMBRANAIRES

Les cellules recouvrant la surface d'une structure ou les cellules assemblées dans un tissu peuvent posséder des complexes jonctionnels assurant l'adhésion et la communication cellulaires.

A- Les jonctions d'ancrage

1°) Les tight junctions (jonction serrée)

La *tight junction* est une jonction imperméable de cellules adjacentes encore appelée **jonction serrée** constituée par des portions de membrane plasmique accolées et soudées où la diffusion des protéines et lipides dans le plan de la membrane est inhibée. *Certaines protéines sont limitées à la membrane apicale alors que d'autres ne diffusent qu'au niveau des parties basales et latérales.* Ce type de jonction se retrouve entre 2 cellules épithéliales au niveau de la base ou de l'apex.

2°) Les desmosomes

-Les desmosomes sont des points de contact intercellulaires qui permettent aux cellules d'un même tissu d'adhérer entre-elles.

-Le desmosome permet à un groupe de cellules de se comporter comme une unité rigide, en connectant les éléments du cytosquelette de deux cellules adjacentes à ceux d'une autre cellule.

-Le desmosome est formé par 2 disques ellipsoïdes (plaques cytoplasmiques) opposés, situés sur les faces intracellulaires. Ces plaques interagissent au niveau de l'espace intercellulaire par des glycoprotéines de liaison transmembranaire appelées **desmoglénines**.

Vers le cytoplasme, les filaments de kératine (microfilaments intermédiaires ou tonofilaments) qui sont ancrés à la plaque cytoplasmique jouent un rôle de charpente en rattachant les plaques d'une même cellule.

3°) Les hémidesmosomes

Ils sont quant à eux formés d'une seule plaque cytoplasmique dont les molécules de desmoglénine se fixent à la matrice extracellulaire de la lame basale.

4°) Les ceintures d'adhésion (adhesion belts)

B - Jonction communicante

*** La gap junction (jonction ouverte ou jonction lacunaire)**

C'est une jonction de communication intercellulaire dans la région où 2 cellules sont étroitement accolées (espace de 20 à 30 Angström (Å) = 10^{-10} m. Les cytoplasmes des 2 cellules adjacentes communiquent par des perforations membranaires formées de 2 éléments protéiques appelés **connexons**. Elle permet le passage de molécules de PM < 1000-1500 daltons (ions, acides gras, oses). Les cellules sont ainsi couplées électriquement, se transmettant des ions ou des messagers secondaires comme l'AMPc.

Les connexons sont des oligomères d'une protéine transmembranaire qui est un orifice constitué par 6 unités protéiques (30 000 daltons, 280 résidus d'acides aminés) à passages multiples. Chaque connexon possède un vis-à-vis dans la membrane de la cellule adjacente, formant une espèce de tunnel.

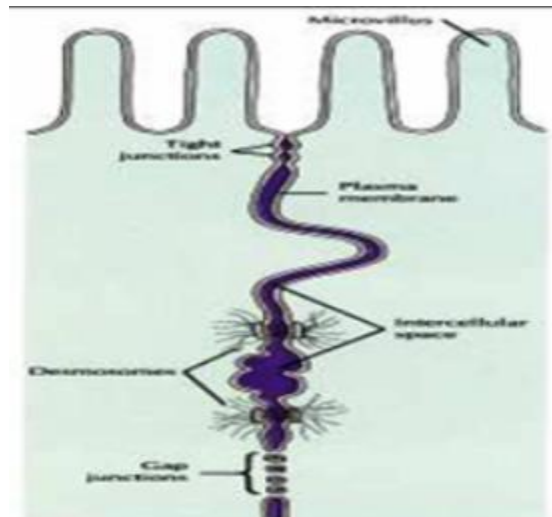


FIGURE 4-14 Two apposing plasma membranes forming the boundary between two epithelial cells. Various kinds of junctional complexes are found. The tight junction is a firm, adhesive band completely encircling the cell. Desmosomes are isolated "spot-welds" between cells. Gap junctions serve as sites of intercellular communication. Intercellular space may be greatly expanded in cells of some tissues.

FIGURE 15 : STRUCTURE D'UNE JONCTION COMMUNICANTE