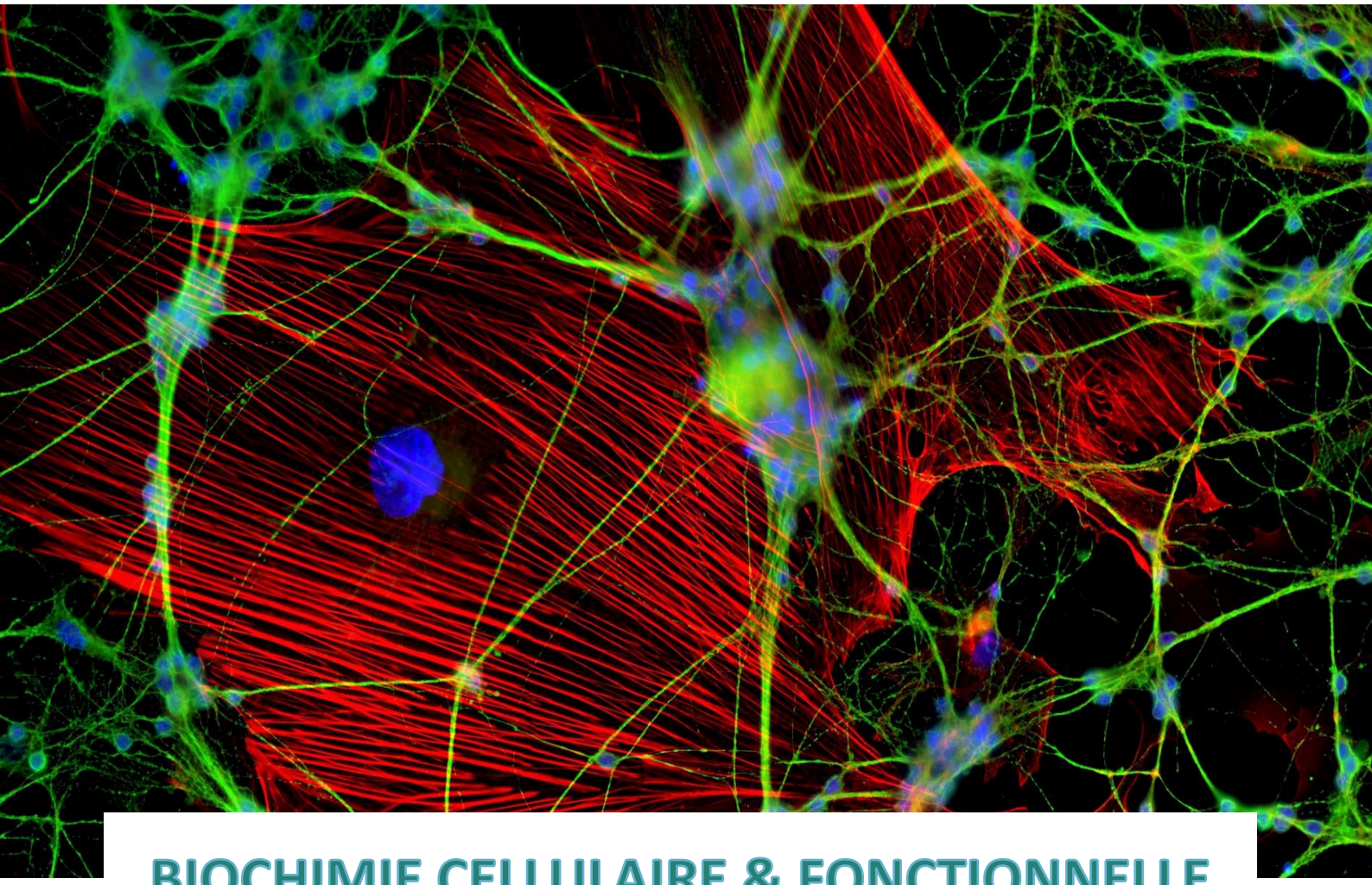
République Algérienne Démocratique & Populaire
Ministère d'Enseignement Supérieur & de la Recherche Scientifique
Université Chahid Cheikh Larbi Tebessi -Tebessa-
Faculté des Sciences Exacts Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée



BIOCHIMIE CELLULAIRE & FONCTIONNELLE

3e Licence Biochimie

Dr. Messaadia Amira

A propos du module

Biochimie cellulaire et fonctionnelle

Unité d'enseignement fondamentale (UEF 3.1.2)

Crédit : 06

Coefficient : 03

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 signalisation. Initiation à la génomique biochimique

Connaissances préalables recommandées : L'étudiant devra avoir les bases en biochimie, Immunologie, microbiologie et génétique.

Mode d'évaluation : Contrôle continu, Exposés, Posters : 40%, Examen : 60%

Contenue de la matière

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

1.1. Subdivision du monde vivant 01
1.1.1. Les procaryotes 01
1.1.2. Les eucaryotes 05
1.1.3. Les archéobactéries 09
1.2. Les virus 10

2. Biomembranes

2.1. Méthodes d'étude de la cellule 13
2.1.1. La microscopie 13
2.1.2. Techniques de l'histologie classique et électronique 16
2.1.3. Techniques d'observation des formes et des surfaces 21
2.1.4. Méthodes d'analyse des constituants cellulaires 24
2.1.5. Méthodes de fractionnement subcellulaire 25
2.1.6. Technique de détection et localisation des composés cellulaires 28
2.2. La membrane plasmique : isolement, composition 30
2.2.1. Aspect ultra-structural 30
2.2.2. Composition chimique 30
2.3. Architecture biomoléculaire des membranes 41
2.3.1. Différenciation morphologiques 43
2.3.2. Les jonctions 44
2.4. Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire 46
2.4.1. La matrice extracellulaire 46
2.4.2. Classification des molécules d'adhérence 49
2.5. Les échanges membranaires 54
2.5.1. Echanges sans déformation de la membrane plasmique 54
2.5.2. Echange avec déformations de la membrane plasmique 60
2.6. Expression d'antigènes, marqueurs de virulence et de récepteurs cellulaires 64
2.6.1. Les classes de Pattern Recognition Receptors PRRs 64
2.6.2. PRRs et mécanisme de reconnaissance des ligands 65
2.6.3. Les immunorécepteurs BcR, FcR et TcR 69
2.6.4. Structure des immunorécepteurs 70
2.6.5. Signalisation et transport intracellulaire des immunorécepteurs 70

3. Relation structure-fonction de la cellule

3.1. Biosynthèse des lipides, des protéines membranaires et des protéines de sécrétion 73
3.1.1. Biosynthèse des lipides membranaires et élaboration des membranes cellulaires 73
3.1.2. Les protéines membranaires et de sécrétions : biosynthèse et trafic de transport 79
3.2. Le cytosquelette : Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimiques et mécaniques 84
3.2.1. Les microtubules 94
3.2.2. Les microfilaments 98
3.2.3. Les filaments intermédiaires 101
3.3. La fibre et la contraction musculaire 104
3.3.1. La myosine 104
3.3.2. La contraction musculaire 105
3.4. La mitochondrie et la chaine de phosphorylation oxydative 111

3.4.1. Ultrastructure de la mitochondrie ... 111
3.4.2. Distribution et mouvements mitochondriales ... 112
3.4.3. Composition biochimique et organisation moléculaire ... 112
3.4.4. Fonction de la mitochondrie ... 115
3.4.5. Biogenèse ... 120
3.5. Ribosome : Synthèse protéique, maturation et adressage des protéines ... 121
3.5.1 Ultrastructure du ribosome ... 121
3.5.2. Localisation ... 122
3.5.3. Composition chimique ... 122
3.5.4. Biogenèse ... 123
3.5.5. Rôles biologiques : la protéogenèse ... 124
3.5.6. Destinées des protéines ... 129
3.6. Le Système ubiquitine /protéasome : structure et fonction ... 130
3.6.1. Processus de protéolyse ... 130
3.6.2. L'ubiquitinylation des protéines ... 131
3.6.3. Le protéasome ... 132
3.7. Le Système lysosomal : structure et fonction ... 135
3.7.1. Structure du lysosomes ... 135
3.7.2. Synthèse des enzymes lysosomales ... 136
3.7.3. Fonctionnement des lysosomes ... 138
3.8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette ... 140
3.8.1. Organisation du noyau interphasique ... 140
3.8.2. Les échanges nucléo-cytoplasmiques ... 145
4. La glycosylation des macromolécules et rôle biologique
4.1. Glycosylation des protéines ... 148
4.1.1. N-glycosylation ... 148
4.1.2. O-glycosylation ... 149
4.2. Repliement des protéines ... 151
5. Transduction du signale et régulation de la fonction cellulaire
5.1. Modes de signalisation ... 153
5.2. Récepteurs et ligands ... 153
5.2.1. Ligands : définition et caractéristique ... 156
5.2.2. Récepteurs : définition et classification ... 159
5.2.2.1 Récepteurs nucléaires ... 159
5.2.2.2 Récepteurs membranaires ... 163
5.3. Transduction et facteurs de couplage ... 183
5.3.1. Domaines d'interaction protéine-protéine ... 176
5.3.2. Protéine Ras : Structure, synthèse et modification post-traductionnelles ... 180
5.3.3. Cycle fonctionnel des protéines G monomérique ... 181
5.3.4. Protéines régulatrices associées aux petites protéines G ... 182
5.3.5. Voies des MAP kinases ... 183
5.4. Amplification du signal via les seconds messagers ... 185
5.4.1. Cascade phospholipase A (PLA1 et PLA2) ... 186
5.4.2. Cascade phospholipase C (PLC/DAG/IP3/Ca2+) ... 187
5.4.3. Cascade phospholipase D (PLD/ PA/PC) ... 187
5.4.4. Cascade adénosine monophosphate cyclique (AMPc/PKA/CREB) ... 188
5.4.5. Cascade guanosine monophosphate cyclique (NO/GMPc) ... 189
6. Anomalies de signalisation et pathologies
6.1. Les protéines RAS ... 199

6.2. Les oncogènes..... 191
6.3. L'EGFR..... 192

Liste des figures

N	TITRE	PAGE
1	Schéma d'une bactérie bacille flagellé	01
2	Paroi d'une bactérie Gram + et d'une bactérie Gram -	03
3	Coloration de Gram	03
4	La diversité des bactéries	03
5	Différence entre cellule animale et végétale	08
6	Organismes unicellulaires eucaryotes	08
7	Structure d'une paramécie	08
8	Arbre phylogénétique des bactéries, archées et eucaryotes	09
9	Schéma d'un virus	10
10	Structure du coronavirus et du bactériophage	12
11	Structure du virus VMT	12
12	Structure du virus VIH	12
13	Observations des spécimens biologiques avec différent microscopes optiques et électroniques	15
14	Préparation des coupes à la paraffine	18
15	Préparation des échantillons pour microscopie électronique	20
16	Principe de la coloration négative et de l'ombrage métallique	23
17	Principe du protocole de cryofracture/cryodécapage	23
18	Chromatographie de partage bi-dimensionnelle	25
19	Analyse d'électrophorèse monodimensionnelle des acides nucléique sur gel de polyacrylamide	25
20	Protocole de fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle	27
21	Principe de l'ultracentrifugation à gradient de densité	27
22	Résultat de l'injection intra-veineuse de proline tritiée	28
23	Mise en évidence de la fluidité membranaire avec formation d'un hétérocaryon	29
24	Observation de la membrane plasmique par M.E.T.	30
25	Structure des différents types de glycérophospholipides	33
26	Structure des différents types des sphingolipides	33
27	Structure du cholestérol et mode d'insertion dans la membrane plasmique	33
28	Auto-fermeture des phospholipides	34
29	Distribution des lipides dans la membrane plasmique	34
30	Les mouvements de phospholipides	35
31	Organisation des zones dite radeaux lipidiques	36
32	Représentation schématique des différentes classes de protéines membranaires	37
33	Structure de la protéine d'ancrage à la membrane	38
34	Modèle de la membrane plasmique proposé par Singer et Nicholson	41
35	Epithélium unistratifié prismatique cylindrique : Intestin grêle, plateau strié	42
36	Invagination de la membrane plasmique	42
37	Interdigitation cellulaire joignant la surface latérale de quatre cellule épithéliales	42
38	Complexes jonctionnels des cellules épithéliales intestinales	43
39	Les différents types de jonctions cellulaires	45
40	La matrice extracellulaire	48
41	Les différents membres de la superfamille des cadhérines	53
42	Structure et différents types de selectines	53
43	Structure des CAM de la superfamille des immunoglobuline	53
44	Structure de l'intégrine	53
45	Phénomène de diapédèse	53

46	Passage de diverses catégories de molécules et ions à travers les bicouches lipidiques artificielles	55
47	Diffusion facilitée des molécules	55
48	Les mouvements de l'eau à travers la membrane plasmique	56
49	Model schématique illustrant le fonctionnement de la pompe Na+/K+ ATP dépendante	57
50	Transport actif secondaire symport et antiport	57
51	Mécanisme de co-transport antiport	57
52	Réabsorption du glucose dans le tubule proximal	58
53	Transporteur de l'eau	59
54	Les différents types de canaux ioniques	60
55	Endocytose par récepteurs interposés : cas des LDL	61
56	Micrographies illustrant le phénomène d'endocytose	63
57	La clathrine	63
58	Microscopie de macropinocytose et phénomène de phagocytose	63
59	Vésicule à cavéoline	63
60	Modalité de transport vésiculaire par exocytose régulée et constitutive	63
61	Neuromédiateurs secrétés dans l'espace synaptique	63
62	Les voies de transduction du signal TLR-ligand	65
63	Structure cristalline des TLR	66
64	Mécanisme de reconnaissance NLRs-ligands	67
65	Caractérisation structurelles et mécanisme de reconnaissance RLRS-ligands	67
66	Voies de signalisation lors de la stimulation du récepteur de type PRR	69
67	Homologie structurales et fonctionnelles des immuno--récepteurs	70
68	Evénements précoces induits par l'activation du BcR, FcR ou du TcR	71
69	Diagramme schématique des événements de transport intracellulaire des BcR, FcR et TcR	72
70	Rôle des protéines translocases dans l'asymétrie des lipides membranaire	75
71	Mouvement intracellulaire de la phosphatidylsérine et phosphatidyléthanolamine	75
72	Distribution des lipides dans les membranes	75
73	Les étapes de la synthèse de la phosphatidylcholine	75
74	Mécanisme d'échange des phospholipides par les protéines de transfert	74
75	Métabolisme des sphingolipides	76
76	La formation de la sphingomyéline	78
77	Biosynthèse des sphingolipides et glycosphingolipides	78
78	Mode d'action de la céramide transfert protéine CERT	78
79	Vitesse de transfert des lipides au sein de la bicouche membranaire	78
80	Insertion co-traductionnelle des protéines dans le réticulum	80
81	Les différents modes d'insertion des protéines	81
82	Voies de transport intracellulaire	82
83	Microtubules observés en microscopie électronique	84
84	Organisation des microtubules dans les cellules	85
85	Structure d'un microtubule et de ses sous-unités	86
86	Organisation et propriétés dynamiques	87
87	Micrographies électroniques de coupes transversales de faisceaux de microtubules	88
88	Schéma représentant le complexe dynéine/dynactine et une kinésine	89
89	Structure des drogues perturbants les microtubules	90
90	Structure de centriole	90
91	Schéma d'un cil vibratile	91
92	Microfilaments observés en microscopie électronique	94
93	Structure d'un filament d'actine et ses sous-unités	95
94	Etapes de polymérisation de l'actine	95

95	Mode de liaison de quelques protéines associées au microfilaments	96
96	Coupe longitudinale d'une microvillosité intestinale	97
97	Protrusions membranaires	98
98	Plaque d'adhésion focale	98
99	Schéma de la télophase et formation de l'anneau contractile	99
100	Filaments intermédiaires observés en microscopie électronique	101
101	Etapes de formation d'un filaments intermédiaire	102
102	Structure de la myosine I	104
103	Structure de la myosine II	104
104	Structure moléculaire des filaments épais et fins	105
105	Les différents types de cellules musculaires	106
106	Structure du sarcomère	107
107	Mitochondrie au microscope électronique	111
108	Protéines de la membrane mitochondriale	114
109	ADN mitochondrial	114
110	Processus métaboliques de production d'ATP	119
111	Chaîne de transport d'électron	119
112	Complexe F0-F1 (ATP synthase)	119
113	Translocation de protéine dans la matrice mitochondriale	117
114	Synthèse de molécules dérivés du cholestérol	118
115	Rôle de la mitochondrie dans la mort cellulaire programmée	118
116	Biogenèse de mitochondrie par segmentation	120
117	Structure des ribosomes et de leurs sous-unités	121
118	Chromatine nucléolaire	123
119	Mécanismes de formation du ribosome	124
120	Reconnaissance de l'ARNm chez les eucaryotes	125
121	Le système ubiquitine-protéasome	133
122	La cascade d'ubiquitylation	133
123	Structure de l'ubiquitine et différents types d'ubiquitylation	133
124	Les protéines de la membrane lysosomale	135
125	La voie de biosynthèse des enzymes lysosomales	136
126	La biosynthèse et le transport des enzymes lysosomiales	137
127	Fonctionnement du lysosome voie auto et hétérophagique	139
128	Noyau interphasique sous microscopie électronique à transmission	142
129	Aspect de l'enveloppe nucléaire en microscopie électronique	143
130	Compaction de l'ADN	144
131	Organisation de la chromatine nucléaire	144
132	Ultrastructure du nucléole	145
133	Vue de profil d'un pore nucléaire et échange nucléoplasmique	147
134	Etapes de la N-glycosylation	150
135	Chaines N et O-liées	150
136	Installation des chaines saccharadique N et O-liées	150
137	Devenir des protéines mal repliées et issues du RE	152
138	Modes de signalisation	155
139	Relation structure/fonction des récepteurs nucléaires	162
140	Mécanisme général d'action des hormones stéroïdes et régulation de la transcription	162
141	Modes de liaison des récepteurs nucléaires à ADN	162
142	Structure du récepteur nicotinique de l'acétylcholine	164
143	Présentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones	165

144	Cycle d'activation de la protéine G hétérotrimérique	170
145	Un aperçu de la signalisation des récepteurs couplés à la protéine G RCPG	170
146	Désensibilisions et recyclage du récepteur RCPG	170
147	Les voies de signalisation activées par le récepteur à insuline	174
148	Model de sécrétion d'insuline par les cellules β de pancréas	174
149	Différentes voies de signalisation et transduction de signal cellulaire	175
150	Nature modulaire des protéines de signalisation	179
151	Propriétés des protéines d'adaptation, d'amarrage et d'échaffaudage	179
152	Les domaines protéines d'interaction	179
153	Différence entre protéine adaptatrices et d'échafaudage-La kinase anchoring protein	179
154	Maturation post-traductionnelle des protéines Ras	181
155	Cycle de la petite protéine G	182
156	La cascade MAP kinase	184
157	Hydrolyse des phospholipides par les phospholipases	185
158	Réactions d'hydrolyse ou de transphosphatidylation	187
159	Amplification du signal via les 2ed messagers (DAG/IP3 ; Ca2+ ; AMPc ; GMPc et autres)	190

Liste des tableaux

N	TITRE	PAGE
1	Les différents compartiments d'une cellule eucaryote	05
2	Les organites d'une cellule eucaryote	06
3	Luminosité relative des fluorochromes	14
4	Procédés ultracentrifugation différentielle UCD	26
5	Composition chimique de certaines membranes purifiées	30
6	Principaux glycérophospholipides présents dans la membrane	32
7	Protéines permettant le mouvement de flip-flop ATP/Ca2+ dépendantes	35
8	Distribution tissulaire et fonctions de quelques isoformes GLUT	59
9	Devenir des protéines selon leur lieu de synthèse	79
10	Coefficients de sédimentation selon le type de ribosome	122
11	Composition chimique des ribosomes	123
12	Composition chimique des ribosomes en fonction des sous-unités	123
13	Caractéristiques morphologiques du noyau cellulaire	141
14	Les principaux types de ligands : molécules informatives hydrosolubles et liposolubles	157
15	Domaines fonctionnels dans le récepteur nucléaire	160
16	Classification des récepteurs couplés à la protéine G	167
17	Répartition des petites protéines G dans les sous familles de la super famille Ras	180

Liste des abréviations

ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholinestérase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AKAP	A Kinase anchoring protein
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AQP	Aquaporins
ARN	Acide ribonucléique
ARN_m	ARN messager
ARN_r	ARN ribosomale
ARN_t	ARN de transfert
ARP2/3	Actin-related protein 2/3 complex
ATP	Adénosine triphosphate
BCR	B-cell receptor
CAMs	Cell adhesion molecules
CARD	Caspase activation and recruitment domain
CBP	Cap binding protein
CCM	Chromatographie sur couche mince
Cdk	Cyclin-dependent kinase
CERT	Céramide transfert protéine
CLIP-170	Cytoplasmic linker protein 170
CLR_S	C-type lectin receptors
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CO	Monoxyde de carbone
COMT	Centre d'organisation des microtubules
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
CRD	Carbohydrate-recognition domain /Cross-reacting determinant
CRE	C-AMP response element
CRM1	Chromosome region maintenance protein-1
CTD	Carboxy terminal domain
CTLD	C-type lectin domain
CYP40	Cyclophiline 40
DAG	Diacylglycérol
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
DBD	DNA-binding domain
DHPR	Dihydropyridine receptors
DIG	Detergent insoluble glycolipid enriched microdomain
DUB	DeUBiquitinating enzymes
EE	Early endosome
eEF	Elongation factor
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Epidermal growth factor receptor
FAD	Flavine adénine dinucléotide
F_CR	Fragment c receptors
FI	Filaments intermédiaires
FSH	Follicle-stimulating hormone

GABA	Gamma-aminobutyric acid
GAG	Glycosaminoglycans
GAP	GTPase activating proteins
GEP	GTP/GDP exchange protein
GDI	GTPase-dissociation inhibiting protein
GF	Growth factor
GlaNAc	N-acétyl galactosamine
GlcNAc	N-acétyl glucosamine
GLUT	Glucose transporteurs
GM3	Ganglioside monosialylé en 3
GPI	Glycosylphosphatidylinositol
Grb2	Growth factor receptor bound protein 2
GRK	G protein-coupled receptor kinase
GSL	Glycosphingolipids
GSR	Regulator of G protein signaling
GSU	Grande sous-unité ribosomale
HAT	Histone acétyltransférases
HDAC	Histone désacétylase
HMGB1	High mobility group boxl
HSP	Heat shock protein
Ig	Immunoglobulins
eIF	Initiation factor
IP_3	Inositol 1,4,5 phosphates
IRS	Insulin receptor sustrate
ITAM	Immunoreceptor tyrosine-based activating motif
JAM	Junctional adhesion molecule
LAMP	Lysosome-associated membrane protein
LBD	Ligand-binding domain
LE	Late endosome
LH	Luteinizing hormone
LIMP	Lysosome-integral membrane protein
LPS	Lipopolysaccharide
LRR	Leucine-rich repeat region
mAChRs	Muscarinic acetylcholine receptor
MAP_K	Mitogen-activated protein kinases
MAP_S	Microtubule-associated proteins
MEB	Microscope électronique à balayage
MEC	Matrice extracellulaire
MET	Microscope électronique à transmission
Met	Méthionine
MMP_S	Métalloprotéases matricielles
MP	Microscope photonique
nAChRs	Nicotinic acetylcholine receptors
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NBD	Nucleotide-binding domain
NcoR	Nuclear receptor co-repressor
NES	Nuclear export signal
NK	Natural killer cells
NLR_S/NOD	Nucleotide oligomerization domain

NLS	Nuclear localisation signal
NO	Monoxyde d'azote
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PC	Phosphatidylcholine
PDI	Protein disulfure isomérase
PE	Phosphatidyl éthanolamine
PG	Protéoglycanes
PI	Phosphatidyl inositol
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PH	Pleckstrin homology domain
PKD	Protéine kinase D
PL	Phospholipide
PLC	Phospholipase C
PPSE	Potentiel post-synaptique excitateur
PRRs	Pattern recognition receptors
PS	Phosphatidyl sérine
PSU	Petite sous-unité ribosomale
PTB	Phosphotyrosine binding
PTH	Parathyroid hormone
RCPG	Récepteur couplé à la protéine G
RD	Represseur domain
RIG-1	Retinoic acid inducible gene-1
REL	Réticulum endoplasmique lisse
RER	Réticulum endoplasmique rugueux
RPL	Ribosomal protein of large subunit
RPS	Ribosomal protein of small subunit
RTKs	Receptor tyrosine kinases
RyRs	Ryanodine receptors
SAMs	Substrate adhesion molecules
SH	Src homology domain
SHC	SH2 homology domain containing protein
SM	Sphingomyéline
SMRT	Silencing mediator for retinoic and thyroid hormone receptor
SRC-1	Steroid receptor coactivator-1
SRP	Signal recognition particle
STAT	Signal transducer and activator of transcription
T3	Triiodothyronine
T4	Tertra-iodothyronine /thyroxine
TAF	TBP-associated factor
TBP	TATA-binding protein
TCR	T-cell receptor
TIM	Translocation inner membrane
TIPs	Plus-end tracking protein
TIR	Toll-interleukin-1 receptor
TLRs	Toll-like receptors
TOM	Translocation outer membrane
TSH	Thyroid-stimulating hormone

UbPr	Systéme Ubiquitine/protéasome
UCD	Ultracentrifugation différentielle
UCP	Uncoupling protein
UGD	Ultracentrifugation par gradient de densité
UV	Ultra-violet
VDAC	Voltage dependant anion channel
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VMT	Virus de la mosaïque du tabac
ZAP-70	Zeta-associated protein 70

Avant-Propos

Ce document propose une présentation du module de biochimie cellulaire et fonctionnelle spécialement conçu pour les étudiants en troisième année de licence en biochimie. Il est richement illustré avec de nombreux schémas expliquant les divers concepts de la biologie cellulaire. Organisé en cinq chapitres, il met l'accent sur la composition et l'étude des membranes, le fonctionnement cellulaire et la transduction du signal. Les étudiants seront amenés à établir des liens entre ces chapitres et d'autres disciplines telles que la biochimie et la physiologie, démontrant ainsi une progression significative dans la compréhension du vivant.

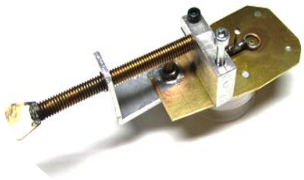
AMIRA MESSAADIA

La theorie cellulaire

Contexte historique

La compréhension de l'organisation cellulaire chez tous les êtres vivants est intimement liée aux progrès des instruments d'optique. À la fin du XVIe siècle, l'invention du microscope composé, équipé de deux lentilles, a marqué un tournant. Avec un grossissement initial atteignant 150 à 200 fois, ce dispositif a permis à **Hooke**, en 1665, de décrire pour la première fois la structure alvéolaire de fines écorces de liège, introduisant le terme "cellule" (du latin *cellula*: petite chambre) pour décrire les minuscules cavités géométriques qu'il a observées. Ces structures ont ensuite été observées dans de nombreux autres tissus végétaux par des scientifiques tels que **Malpighi et Grew** entre 1670 et 1680, marquant les débuts de l'anatomie végétale. À partir de 1674, **Leeuwenhoek**, utilisant une simple loupe mais bénéficiant d'une qualité optique remarquablement supérieure à celle des microscopes composés de ses contemporains (offrant un grossissement de près de 300 fois), a décrit une multitude de micro-organismes vivants.







Au début du XIXe siècle, l'idée d'une organisation tissulaire des organismes végétaux commence à émerger. En 1820, **Dutrochet** réintroduit le terme "cellule", qui avait disparu depuis 150 ans. Un progrès technologique majeur intervient en 1827, lorsque **Amici** apporte des améliorations à la construction des microscopes composés et élimine les aberrations chromatiques. Cela entraîne une multitude de nouvelles observations, et en 1833, **Brown** décrit le noyau des cellules vivantes (dans des cellules d'orchidées) et le considère comme une structure cellulaire constante. Ces observations conduisent à la formulation de la théorie cellulaire entre 1838 et 1839.

Les axiomes de la théorie cellulaire

- En 1838, **Matthias Jakob Schleiden** et **Theodor Schwann** vont introduire pour la première fois le concept de **cellules vivantes**.
- En 1855, **Virchow** avance l'idée que chaque cellule provient d'une cellule préexistante, "***omnis cellula e cellula*".** exprimant ainsi le principe de la division cellulaire. Ce concept constitue le deuxième axiome de la théorie cellulaire.
- **La cellule représente l'unité fondamentale et vivante du monde biologique**, étant une entité autonome capable d'exécuter les fonctions nécessaires à sa survie.
- **La membrane plasmique** confère une **individualité cellulaire** en régulant les échanges entre la cellule et son milieu environnant.
- La cellule contient l'information essentielle à son fonctionnement et à sa reproduction sous forme d'**ADN**. Cette molécule peut se trouver sous forme libre chez les procaryotes ou être stockée dans une structure distincte appelée **chromosomes**, dans le noyau des eucaryotes.

Ces cinq points peuvent être résumés comme suit: **la cellule représente l'unité structurale et fonctionnelle commune à l'organisation de tous les êtres vivants qui puisse vivre isolée et se reproduire. Elle synthétise l'ensemble de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire et se développer et se reproduire en transmettant l'information génétique.** Il existe qu'une cellule peut représenter à elle seule la totalité de l'organisme: c'est le cas des unicellulaires où la cellule unique, peut présenter des différenciations morphologiques et physiologiques multiples. D'autres organismes, au contraire, sont constitués de plusieurs cellules eucaryotes associées et groupées en tissu: il s'agit des pluricellulaires.

Comme le dit François Jacob, "*avec la cellule, la biologie a trouvé son atome*".

Au cours des années suivantes, grâce aux progrès des techniques histologiques et aux améliorations significatives apportées au microscope composé par **Abbe et Zeiss** entre 1870 et 1885, les principales structures cellulaires ont été décrites. À la fin du XIXe siècle, toutes les organelles cellulaires, à l'exception des lysosomes et des peroxysomes, étaient identifiées. Cependant, étant donné que le microscope optique avait atteint sa limite théorique de résolution, une description précise de l'organisation de ces structures n'a été possible qu'après le développement du microscope électronique en 1931.

Chapitre 1

Compartimentation Fonctionnelle de la cellule

1.1. Subdivision du monde vivant

Les organismes vivants étaient classés en deux groupes distincts en fonction de leur structure : les procaryotes et les eucaryotes. Cependant, de nos jours, la diversité du vivant est généralement répartie en trois grands domaines : les eucaryotes, les bactéries (eubactéries) et les Archaea (archéobactéries) **(Cau et Seite, 1999)**.

1.1.1. Les procaryotes

Sont des organismes unicellulaires dépourvus de noyau (pro signifie primitif ; caryon=noyau), qui possèdent une organisation interne très simplifiée, le matériel génétique est libre dans la cellule, exemple : les Bactéries **(figure 1).**

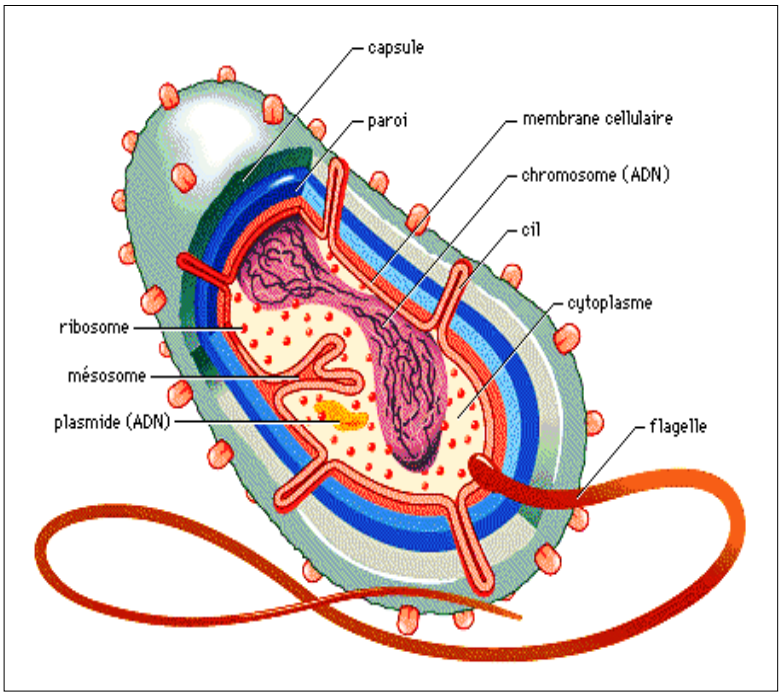


Figure 1. Schéma d'une Bactérie bacille flagellé
(Maillet, 2002)

a. Structures constantes

- Les bactéries se distinguent par l'absence de système endomembranaire. Les ribosomes, visibles au microscope électronique à transmission (MET), sont généralement regroupés en amas ou **polyribosomes**. Ils se différencient de ceux des eucaryotes par leur morphologie, leur coefficient de sédimentation et leur composition chimique. Leur biosynthèse ne requiert pas la présence de nucléole **(Maillet, 2002)**.
- Leur matériel génétique est présenté sous forme d'un unique chromosome appelé **nucléoïde**. Il s'agit d'une molécule d'ADN bicaténaire et circulaire, d'une longueur d'environ 1 mm, attachée à des invaginations de la membrane plasmique, appelées **mésosomes**. Les plasmides sont des fragments d'ADN extra-chromosomiques à double brin, également circulaires, localisés dans le cytoplasme. Ils contiennent généralement des gènes qui confèrent un avantage sélectif et qui ne sont pas présents sur le chromosome bactérien, comme la capacité à métaboliser certains substrats, la résistance aux antibiotiques ou la production de toxines. Les plasmides peuvent être transmis à d'autres bactéries **(Maillet, 2002)**.
- **La membrane plasmique** des bactéries, tout comme celle des eucaryotes, est constituée de lipides et de protéines, bien que leurs proportions puissent varier. Elle se distingue par l'absence de cholestérol et par une faible teneur en glucides. **La paroi** bactérienne, d'une épaisseur variant de 20 à 80 nm, constitue la limite extérieure de la bactérie et lui confère sa forme. Elle régule les échanges avec le milieu extérieur et assure également une fonction protectrice essentielle. Elle est séparée de la membrane plasmique par un espace appelé espace périplasmique **(figure 2)**.
- Les bactéries se divisent par **scissiparité**. Ces divisions peuvent être très rapides (20 min dans le cas d'*E. coli* en conditions favorables) **(Maillet, 2002)**.

En bactériologie médicale, on distingue essentiellement les bactéries Gram + et les bactéries Gram – grâce à la **coloration de Gram*** **(figure3).**

• **Les bactéries Gram -** : Elles ont une membrane lipidique externe et une paroi fine.

• **Les bactéries Gram +** : Elles n'ont pas de membrane externe et ont une paroi épaisse.

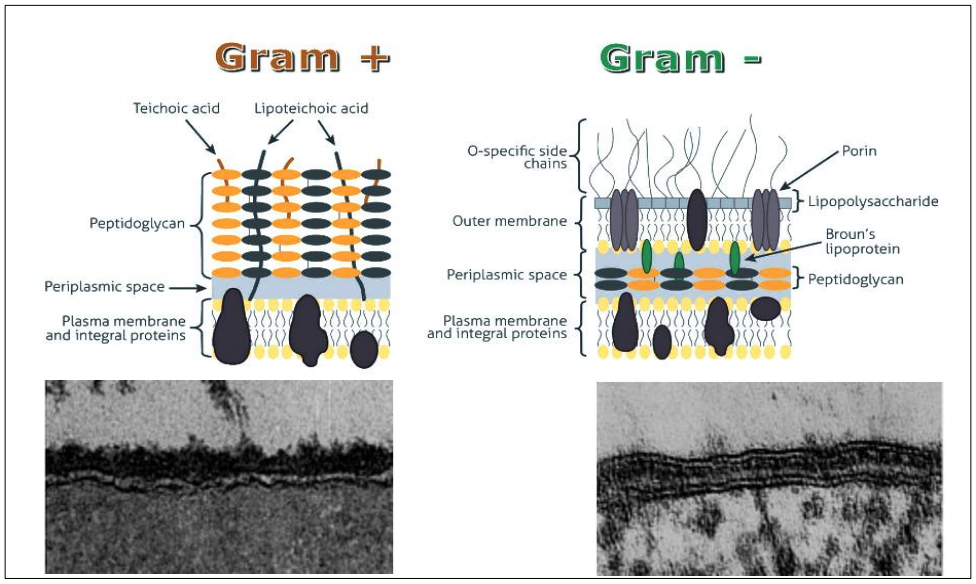


Figure 2. Paroi d'une bactérie Gram + et d'une bactérie Gram – (web 1)

* **La coloration de GRAM :** après fixation des bactéries sur une lame microscopique, on traite la préparation par un premier colorant (**le violet de gentiane**) puis, on mordance par une solution de Lugol. A ce stade, toutes les bactéries apparaissent de couleur violet. On lave la préparation avec de l'alcool qui décolore seules les bactéries à paroi fine qui ne sont donc plus visibles. On traite les lames par de la **fuchsine** qui recolore les bactéries décolorées. Les bactéries à paroi épaisse sont colorées en violet. Elles sont dites (Gram positif +), les bactéries à paroi fine sont colorées en rose : ce sont dites Gram négatif -.

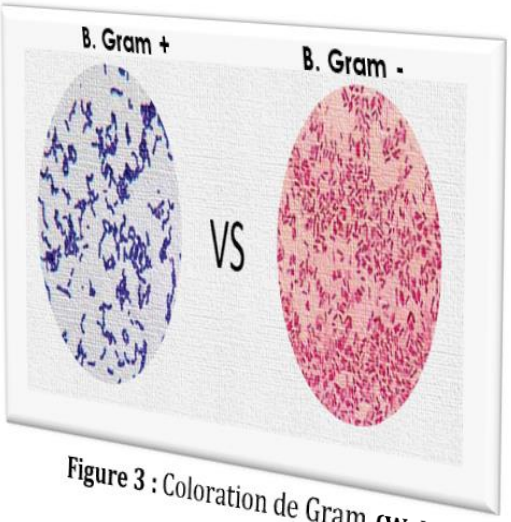


Figure 3 : Coloration de Gram (Web 1)

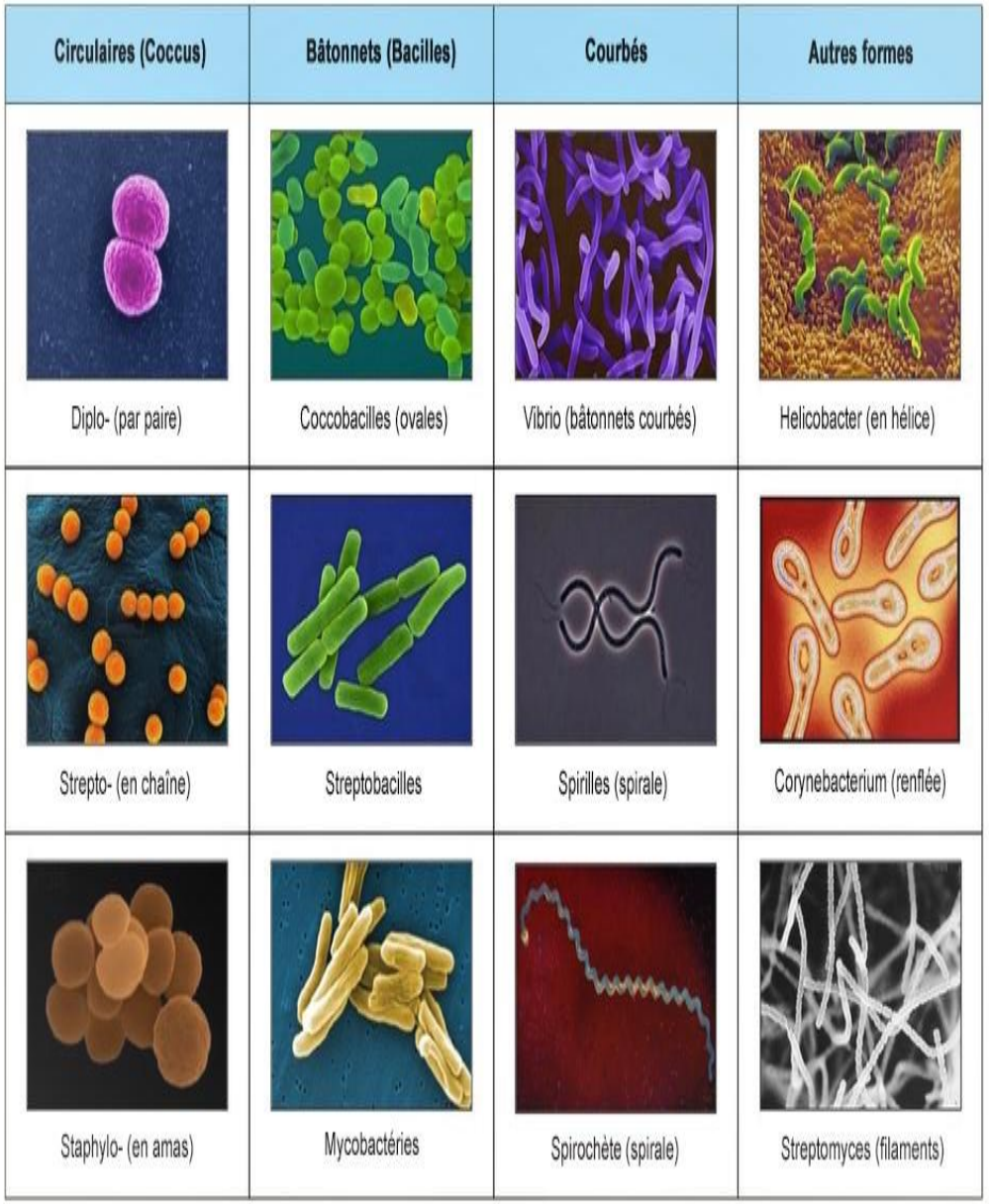


Figure 4. La diversité des bactéries (web 2)

b. Les structures facultatives

• **La capsule**, dont l'épaisseur peut varier de 0,2 à plusieurs micromètres, est visualisée en microscopie photonique grâce à une coloration à l'encre de Chine. Lorsqu'elle est présente, elle enveloppe la paroi bactérienne. Composée souvent de polysaccharides, parfois de polypeptides, la capsule est un signe de virulence car elle protège la bactérie de la phagocytose et présente également des propriétés antigéniques **(Maillet, 2002)**.

• **Les mésosomes** sont présents exclusivement chez les bactéries aérobies. Ce sont des invaginations membranaires qui pénètrent parfois profondément dans le cytoplasme bactérien, mettant en contact le matériel nucléaire et les enzymes de réplication. Ils se divisent en même temps que la bactérie. Les mésosomes renferment aussi les enzymes de la chaîne respiratoire assurant ainsi, la fonction des mitochondries absentes dans les cellules bactériennes **(Maillet, 2002)**.

• **Le flagelle** est une structure membranaire mobile dont le nombre varie de 1 à 8 et les positions varient selon les espèces bactériennes. Ces flagelles sont observables en microscopie photonique. Ils sont composés principalement d'une protéine contractile appelée flagelline **(Maillet, 2002)**.

• **Les pili** sont des expansions membranaires plus courtes que les flagelles, visibles uniquement au microscope électronique. Certains pili sont abondants et communs, constitués d'une protéine appelée **piline** et jouent un rôle crucial dans l'adhésion aux muqueuses. D'autres sont moins fréquents et de nature sexuelle, ils participent aux échanges de matériel génétique **(Maillet, 2002)**.

• **Les inclusions** cytoplasmiques se présentent soit sous forme de réserves énergétiques riches en glycogène et en lipides, soit sous forme de vacuoles à gaz permettant le déplacement vertical des bactéries qui les contiennent **(Maillet, 2002)**.

1.1.2. Les eucaryotes

Le noyau des cellules eucaryotes (*eu* qui signifie vrai, *caryon* : noyau) est délimité par une enveloppe nucléaire, présent chez les champignons, les animaux et les végétaux. Ces cellules ont un métabolisme **aérobie**, et peuvent être **unicellulaires** (ex. les levures) ou **pluricellulaires** (ex. les mammifères) **(figure 5) (Favro et Nicolle, 2011)**.

Les **protistes** sont des **unicellulaires** qui peuvent se subdiviser parfois en **protophytes**, appartenant au règne végétal (ex : algues unicellulaires), et **protozoaires**, du règne animal (ex : amibes) **(figure 6).**
Les **pluricellulaires** peuvent être classés en **métaphytes**, appartenant au règne végétal, et **métazoaires**, du règne animal.

Tableau1. Les différents compartiments d'une cellule eucaryote (Favro et Nicolle, 2011)

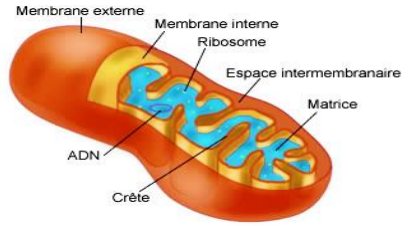
M. Plasmique	-constituée d'une double couche lipidique, des protéines et des glucides ; -constitue une barrière fluide, étanche et sélective qui va protéger et isoler la cellule du milieu extérieur ; -permet de réguler la concentration en eau et ions.
Cytoplasme	**Hyaloplasme** qui est une solution riche en eau (environ 80%), et inclusions contenant des pigments ou des substances de réserve (protéines, sucres, ions). Il apparait homogène et transparent. **Organites** des éléments cellulaires responsables d'une fonction et délimités par une membrane : mitochondrie, réticulum plasmique, appareil de golgi, lysosomes, peroxysomes, inclusions…etc. **(tableau 2)** **Cytosquelette** système qui maintien la forme de la cellule en exerçant une tension sur les parois.
Noyau	L'élément le plus visible sous microscopie optique, plus ou moins arrondis contenant pratiquement tout l'ADN de la cellule.

Le tableau ci-dessous résume les principaux organites existant dans une cellule eucaryote

Tableau 2. Les organites d'une cellule eucaryote (Favro et Nicolle, 2011)

La Mitochondrie

Organite en forme de bâtonnets mesurant entre 0.5 à 1 µm, délimité par deux membranes : une externe lisse et une interne formant des crêtes. La matrice renferme de l'ADN mitochondriale. Leur rôle est la production de l'ATP

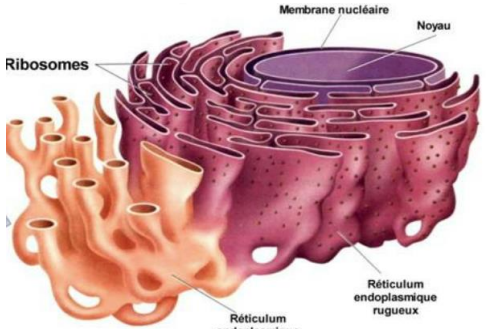


Le Réticulum endoplasmique

Composé de cavités aplaties communiquant entre elles et pouvant porter des ribosomes accolés à la face externe de la membrane (RER) ou être dépourvu (REL).

-RER : dans certaines cellules, il est très développé et est appelé **ergoplasme**, son rôle principal est la synthèse des protéines

-REL : il se présente comme un réseau de tubules ramifiés interconnectés. Son rôle comprend la synthèse des lipides, la détoxification des drogues, et stockage du calcium.

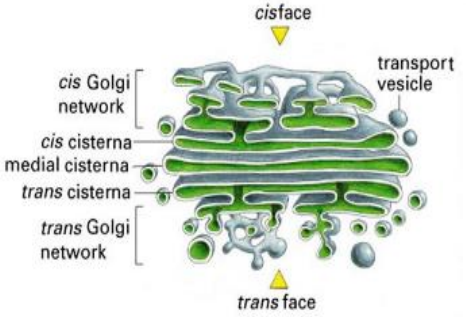


L'Appareil de golgi

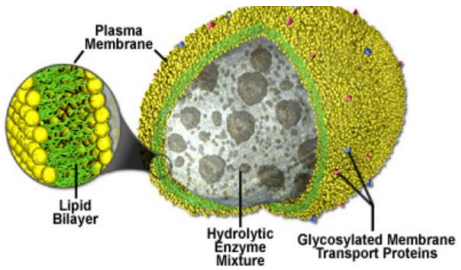
Cet organite est formé par un empilement de saccules aplatis dit **dictyosome**, avec des renflements aux extrémités pouvant se détacher pour former des vésicules de sécrétion **COPI et COPII**. Les dictyosomes sont caractérisés par une face concave et une autre convexe.

Son rôle principal est d'assurer la maturation et le transport des protéines en dehors de la cellule.

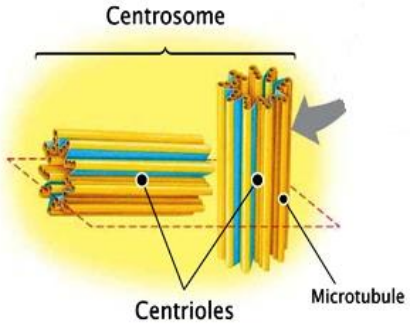
Il participe modestement dans l'élimination des déchets.



Les lysosomes : organites limités par une membrane, contiennent des enzymes nécessaires à la digestion cellulaire.



Le centrosome : Situé à proximité du noyau, le centrosome est constitué de deux centrioles perpendiculaires l'un par rapport à l'autre. À partir de ce centrosome, émanent tous les microtubules. Lors de la division cellulaire, le centrosome se divise en deux. Chaque centrosome migrera ensuite vers un pôle opposé de la cellule.

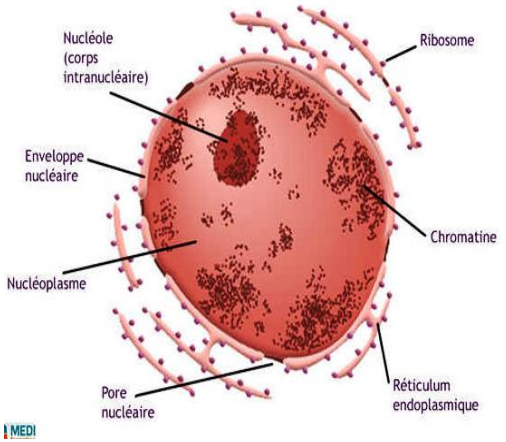


Le Noyau : Le noyau se compose de plusieurs éléments

•**L'enveloppe nucléaire :** elle est formée de deux membranes, séparées par l'espace **périnucléaire**. Elle est traversée par des orifices appelés **pores nucléaires**, permettant les échanges entre le noyau et le cytoplasme.

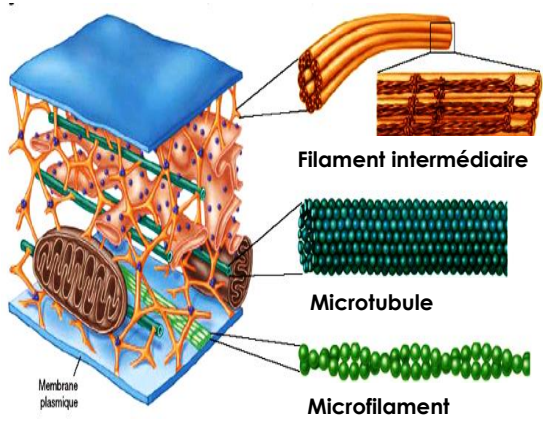
•**La chromatine :** cette substance, fortement colorable par les colorants basiques, est composée d'ADN et de protéines. Elle est présente uniquement pendant l'interphase et se condense pour former les chromosomes au début de la division cellulaire.

•**Le nucléole :** c'est un réseau dense à mailles anastomosées contenant de l'ARN ribosomal, qui participe à la formation des ribosomes.



Le cytosquelette : est un réseau de fibres protéiques : les microtubules, les filaments intermédiaires et les microfilaments d'actine. Il joue plusieurs rôles au sein de la cellule, notamment :

•Maintenir la forme cellulaire ;
•Gérer la division cellulaire
•Faciliter le déplacement de la cellule et des organites



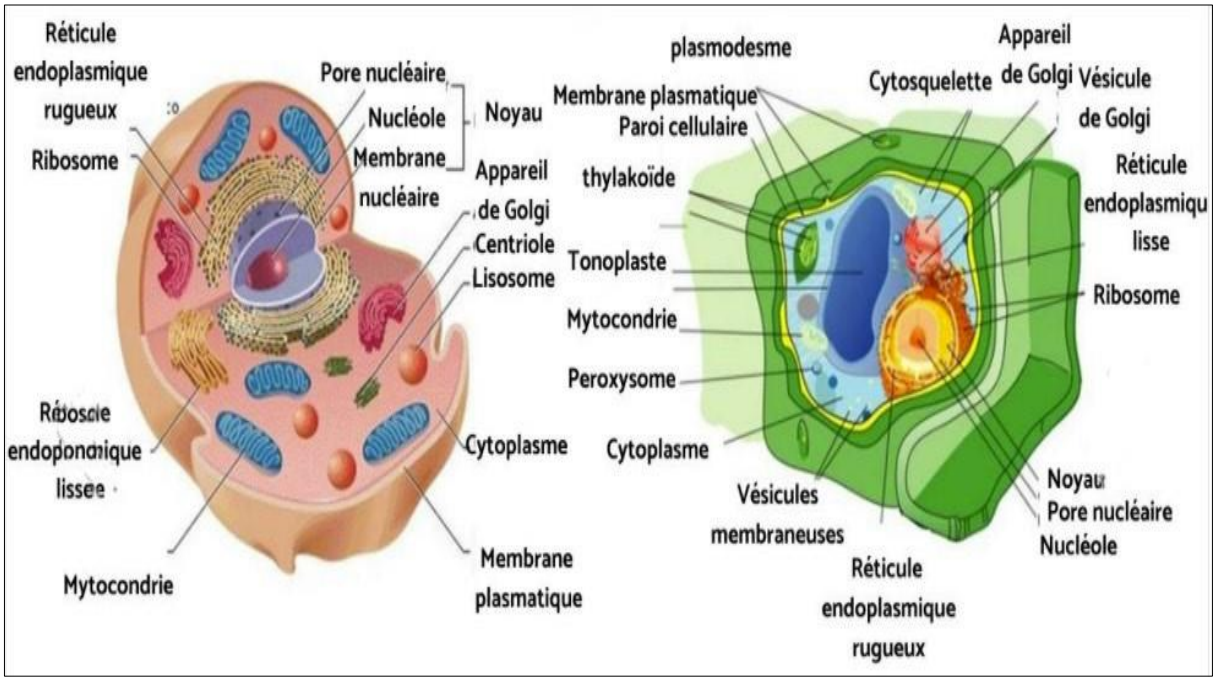


Figure 5. Différence entre cellule animale et végétale (web 3)

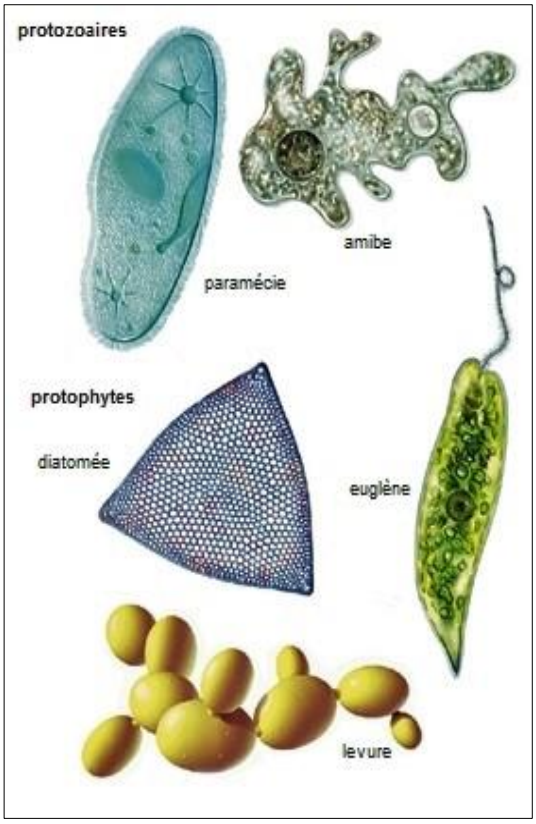


Figure 6. Organismes unicellulaires eucaryotes (web 4)

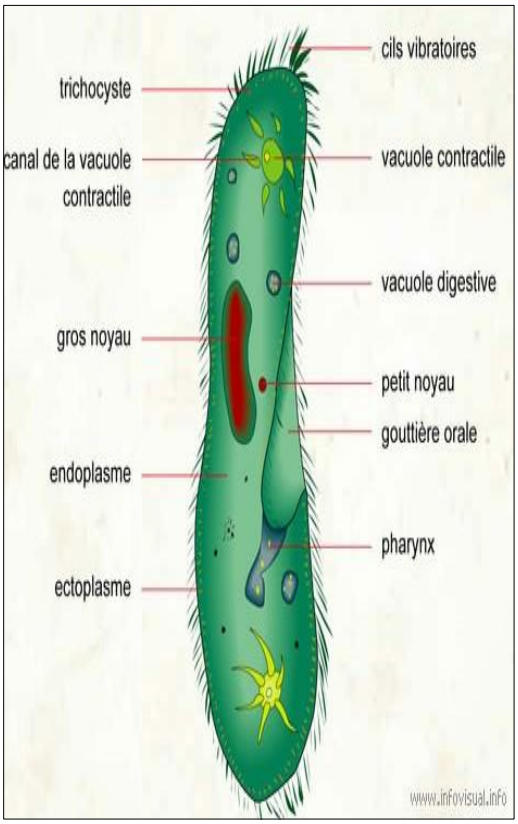


Figure 7. Structure d'une Paramécie (web 5)

1.1.3. Les Archéobactérie

Les archéobactéries, également appelées « archées », constituent un groupe de microorganismes unicellulaires et représentent un groupe majeur de procaryotes. Tout comme les bactéries, elles ne possèdent ni noyau ni organites intracellulaires, et leurs métabolismes énergétiques sont similaires. Toutefois, leur processus de réplication de l'ADN est plus similaire à celui des eucaryotes. On désigne ces organismes comme extrêmophiles parce qu'ils peuvent survivre et se développer dans des conditions d'environnement extrêmes, comme de hautes concentrations en acidité, en salinité, en température ou en pression, qui ne conviennent pas aux autres espèces vivantes. Leur capacité à survivre dans de telles conditions présente un intérêt majeur dans les domaines de l'industrie et de la biotechnologie **(Woese *et al.*, 1990).**

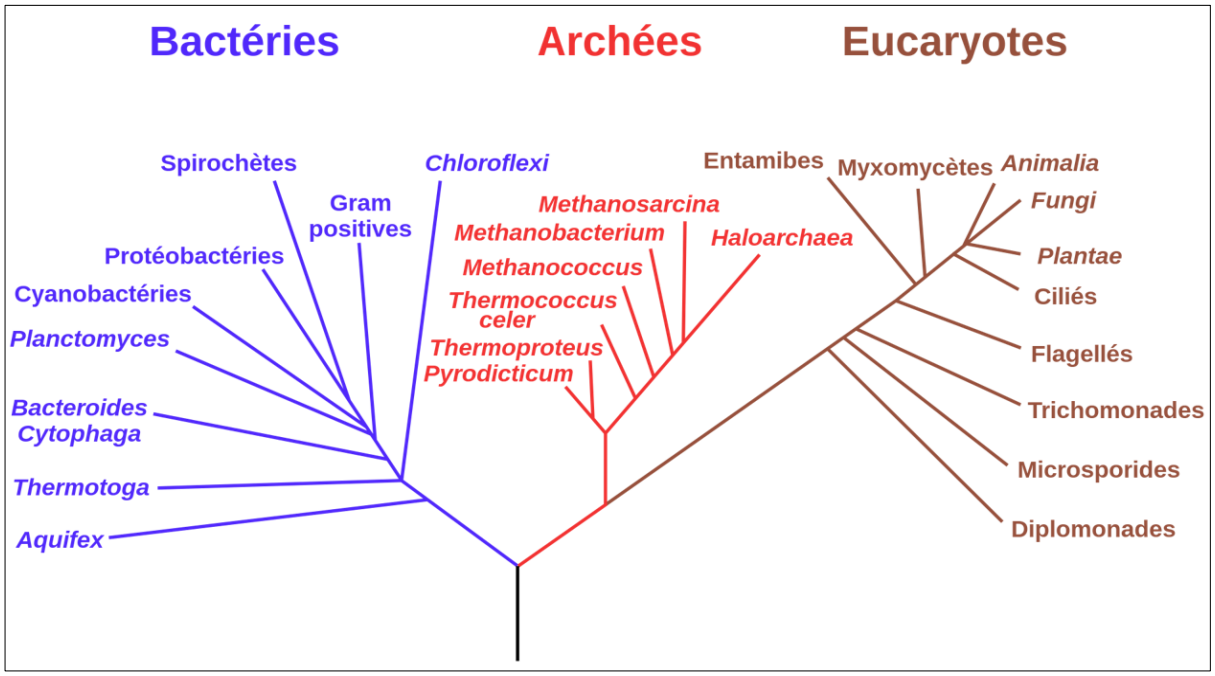


Figure 8. Arbre phylogénétique basé sur l'analyse comparative des gènes ARNr montrant la séparation des bactéries, des archées et des eucaryotes. Adapté de Woese et al. (1990)

1.2. Les Virus (acaryotes)

Un virus est une entité biologique ne pouvant pas survivre de manière autonome **(figure 9)**, pour subsister il nécessite de parasiter une cellule hôte (procaryote ou eucaryote), dont il utilise les constituants pour se multiplier **(Favro et Nicolle, 2011).**

Ils ne possèdent pas de membrane plasmique ni de cytoplasme. On distingue :

•Les virus des vertébrés, qui comprennent des agents pathogènes ;

•Les virus de bactéries, également appelés **bactériophages (figure 10)** ;

•Les virus affectant les algues, les invertébrés et les plantes

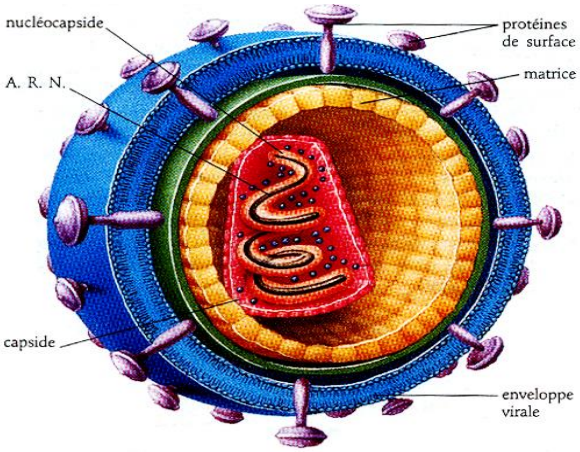


Figure 9. Schéma d'un virus (Maillet, 2002)

1.2.1. Les constituants de virus

La taille est généralement comprise entre 10 et 100 nm, ces dimensions les rend invisibles au microscope optique. Les virus sont essentiellement composés de trois éléments : un **génome** ; une **capside protéique** et une **enveloppe lipidique (Favro et Nicolle, 2011).**

a) L'acide nucléique

Sa nature et sa structure sont extrêmement variables. On distingue :

• Des **virus à ARN** double brin (bicaténaire) ou simple brin (monocaténaire).

• Des **virus à ADN** double brin ou simple brin, linéaire ou circulaire.

b) La capside

La capside est une enveloppe protéique rigide qui renferme et protège l'acide nucléique. L'ensemble formé par acide nucléique et la capside est appelé **nucléocapside.** On distingue deux principaux types de virus : **les virus « nus »**, où la nucléocapside constitue l'intégralité du virus, et **les virus enveloppés**, pour lesquels la capside est entourée d'une enveloppe lipidique.

La structure de la capside définit la forme du virus : on distingue **les virus à symétrie cubique** (exemple du poliovirus) et les virus à **symétrie hélicoïdale** (exemple du virus de la mosaïque du tabac ou VMT **(figure 11)**). Certains virus, appelés **virus complexes**, présentent une symétrie qui n'est pas entièrement hélicoïdale ou cubique.

c) L'enveloppe lipidique

Les virus qui possèdent une enveloppe lipidique sont désignés sous le terme de **virus enveloppés**. Cette enveloppe est composée d'une bicouche lipidique et entoure la nucléocapside. À l'intérieur de cette enveloppe, sont insérées des protéines ou des glycoprotéines. On peut citer comme exemples : le virus de l'influenza et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) **(figure 12)**.

1.2.2. Classification des virus

Hormis la classification des virus en fonction de la nature de l'hôte, les virus sont surtout classés selon la nature de l'acide nucléique, le type de symétrie, et l'existence ou non d'une enveloppe (déjà développé en-dessus)

N.B : on trouve aussi une classification non officielle mais utilisée par les cliniciens qui tient compte du mode de transmission, de la voie d'entrée du virus et de ses effets pathologiques (ex : virus entériques, respiratoires, oncogènes…etc.) **(Favro et Nicolle, 2011)**.

Point cours

- Savoir distinguer et légender une cellule eucaryote et procaryote
- Connaître l'existence des archaebactéries
- Connaitre les éléments structuraux des virus et leurs caractéristiques
- Rappeler les principaux organites et savoir décrire brièvement leurs rôles

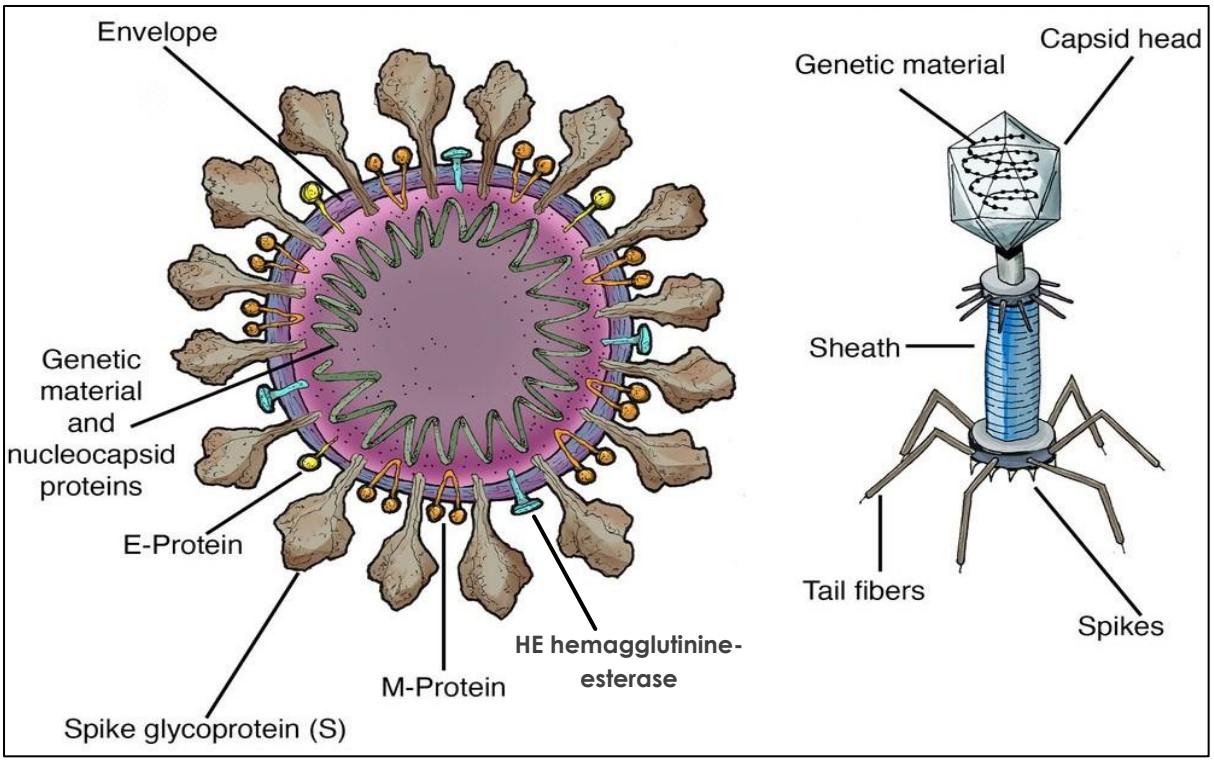


Figure 10. Structure du coronavirus à gauche et d'un bactériophage à droite (web 6)

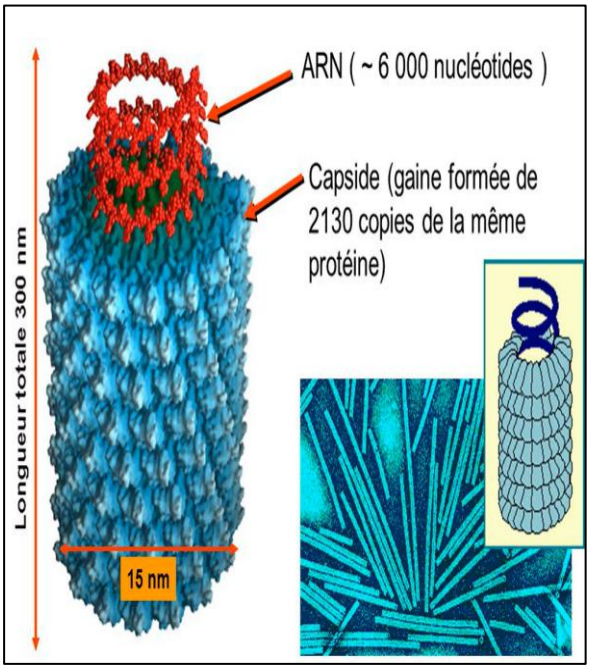


Figure 11. Structure du virus VMT (web 8)

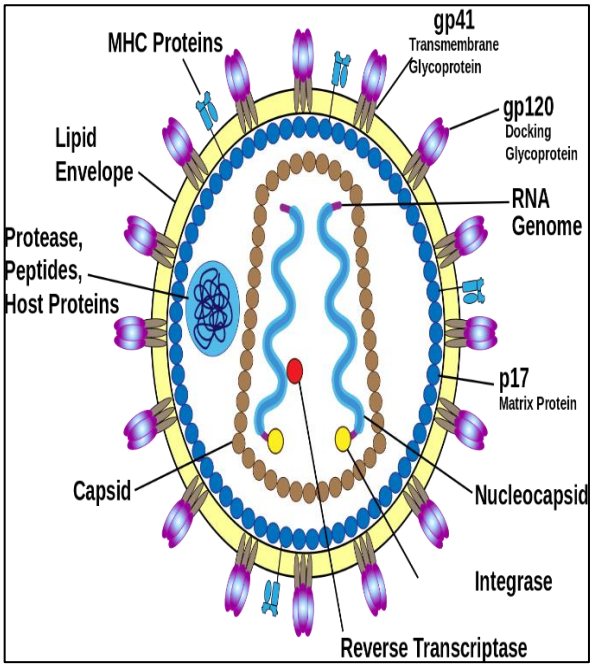


Figure 12. Structure du virus VIH (web 7)

Chapitre 2

Biomembrane

2.1. Méthodes d'étude de la cellule

2.1.1. La microscopie

En raison de la taille des objets étudiés, le matériel biologique est préalablement traité pour obtenir une image agrandie et de bonne qualité. Les constituants cellulaires ont des contrastes naturellement faibles ; pour les améliorer, il est nécessaire d'utiliser diverses techniques telles que des montages optiques, des colorants sélectifs ou même des sels de métaux lourds. Les techniques histologiques, décrites plus loin produisent des échantillons de très faible épaisseur, généralement de 2 à 10 µm en microscopie photonique et de 300 à 500 Å en microscopie électronique **(Lüllmann-rauch et Asan, 2019).**

Microscope photonique en lumière transmise : une lentille **condenseur** concentre la source lumineuse, qui traverse le spécimen per en dessous. A savoir, que l'échantillon est placé sur une lame de verre ; disposée sur une platine porte-objet équipée de pinces pour la maintenir en place. La lentille **objectif** produit des images agrandie de l'objet alors que la mise au point sur le plan focal est assurée à travers une lentille **oculaire (figure 13-a) (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).**

Microscope photonique à épifluorescence : C'est un microscope optique qui porte deux filtres interposés entre l'échantillon coloré préalablement par des molécules fluorescentes, **les fluorochromes**. Le premier filtre ne laisse passer que la lumière qui excite le fluorochrome, alors que le deuxième filtre ne laisse passer que la lumière émise par le fluorochrome **(Tableau 3)**. Dans ce type de microscope les structure apparaissent très colorées sur un fond noir **(figure 13-b) (Lüllmann-rauch et Asan, 2019)**.

Tableau 3 : Luminosité relative des fluorochromes (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).

Fluorochromes	Rhodamine	Fluorescéine	DAPI
L. d'excitation	Vert	Bleu	UV
L. d'émission	Rouge	Jaune-vert	Bleu

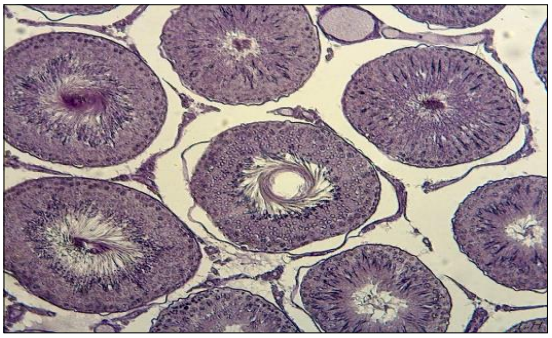
Le microscope à contraste de phase : permet l'observation de structures vivantes, non fixées et non colorées. Bien que peu visible, l'échantillon aura un aspect de relief suite au décalage de l'onde lumineuse traversant le tissue par rapport à celle arrivant directement à l'observateur **(figure 13-c) (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).**

Le microscope confocal : Rend possible l'observation d'objets épais (< 500µm, ce qui n'est pas possible avec les microscopes présentés précédemment). Un mince faisceau laser est focalisé sur un plan défini de l'échantillon dont on obtient une image bidimensionnelle. Le balayage de plusieurs plans successifs permet une reconstitution tridimensionnelle de l'objet après traitement numérique **(figure 13-d) (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).**

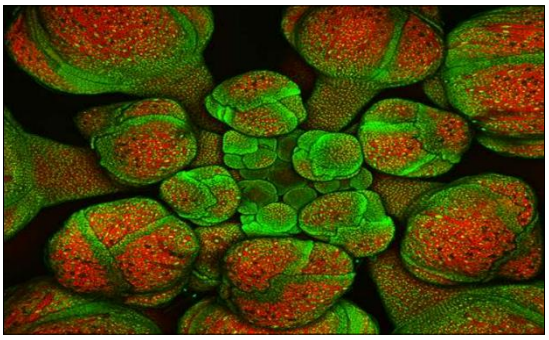
Le microscope électronique à transmission (M.E.T.) : un ensemble de bobines électromagnétiques, fonctionnent comme des lentilles, servent à dévier et à contrôler la trajectoire des électrons. D'abord, une **bobine condenseur** qui concentre le faisceau d'électron sur l'objet à examiner, puis une **bobine déflectrice** agit en tant qu'objectif pour produire une image agrandie de cet objet. Enfin, une dernière **bobine magnétique**, comparable à un oculaire, amplifie encore l'image obtenue. Cette dernière, se forme soit sur un écran fluorescent, soit sur une plaque photographique **(figure 13-e).** Le M.E.T. présente un pouvoir séparateur 40 000 fois supérieur à celui d'un microscope optique et deux millions de fois plus élevé que celui de l'œil humain **(Lüllmann-rauch et Asan, 2019)**.

Le microscope électronique à balayage : Ce microscope est conçu pour observer les surfaces et permet d'obtenir une image en relief de l'échantillon. Pour ce faire, la surface cellulaire est préalablement recouverte d'une fine couche métallique d'or, de platine ou de palladium d'une épaisseur de 5 à 10 nm afin d'empêcher la traversée des électrons. Un faisceau d'électrons balaye ensuite la surface, provoquant une émission d'électrons qui sont captés par un écran. Étant donné que l'angle d'impact du faisceau d'électrons varie

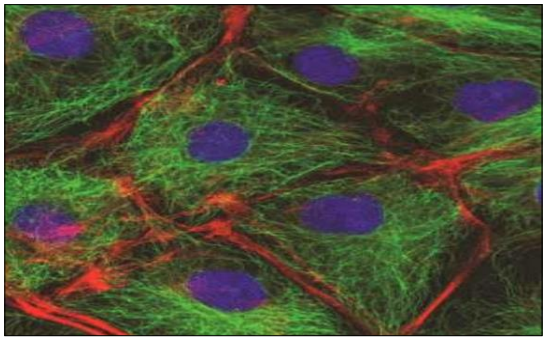
avec la surface cellulaire, l'image reconstituée est tridimensionnelle, offrant une représentation détaillée de la topographie de la surface observée **(figure 13-f) (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).**



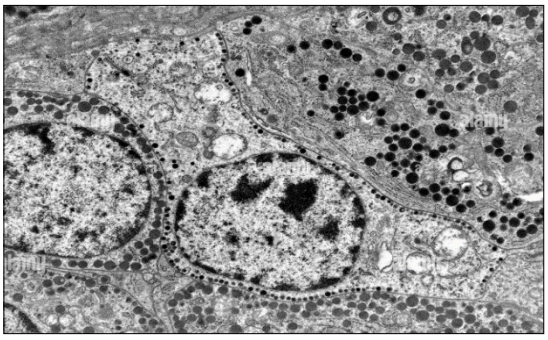
a. Observation de testicule de rat au M. optique x10 (web9)



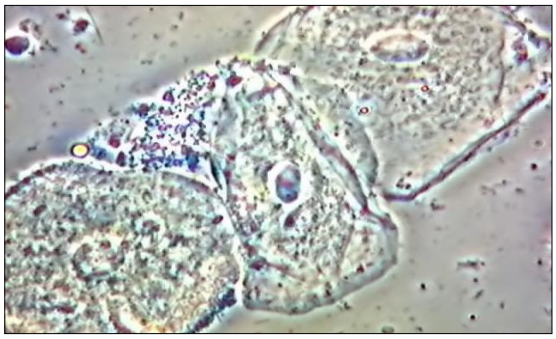
d. Observation d'une fleur en formation par un M. confocal (web12)



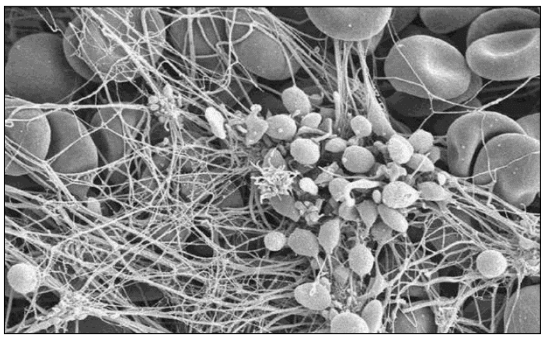
b. Observation du cytosquelette par M. à fluorescence (web10)
Vert : microtubules, **rouge :** filament d'actine, **bleu :** noyau



e. Observation de cellules endocrines de l'hypophyse antérieure par M.E.T. (web14)



c. Observation de cellules jugales et bactéries dans la salive par M. à contraste de phase x20 (web11)



f. Observation d'un caillot sanguin au M.E.B. (web13)

Figure.13 Observations de spécimens biologiques avec différent microscopes optiques et électroniques

2.1.2. Techniques de l'histologie classique et électronique

Histologie classique

Lorsque le matériel biologique est massif, il faut préalablement le débiter en tranches fines et régulières, qui seront ensuite colorées **(figure 14)**. Les étapes de ce protocole sont les suivantes **(Callen, 2005)** :

• **La fixation** est réalisée dans le but de neutraliser les cellules. Pour ce faire, on utilise des substances connues pour coaguler essentiellement les protéines tels que des : acides, alcools, **aldéhydes** et certains sels. Ces agents de fixation doivent être sélectionnés en fonction du spécimen biologique et de la technique de coloration utilisée.

• **La déshydratation** vise à éliminer l'eau présente dans l'échantillon et à la remplacer par un solvant compatible avec le milieu d'inclusion. Ce processus implique une série d'immersions dans des solutions alcooliques de concentrations croissantes. Enfin, un bain final est effectué dans un mélange d'alcool/solvant organique correspondant, afin de parvenir à une immersion complète de l'échantillon dans ce solvant pur, tel que **le xylène** ou le toluène.

• **L'inclusion** a pour objectif d'imprégner intégralement les cellules avec **la paraffine**, qui est liquide à 60°C et dure à la température ambiante. Étant soluble dans les solvants, la paraffine pénètre très aisément dans les tissus. Après plusieurs bains à 60 °C et durcissement, on obtient un « bloc » pouvant être finement découpé.

• **la coupe** a pour objectif de produire des sections minces et translucides de l'échantillon, d'une épaisseur de 2 à 10µm. Pour ce faire, on utilise un **microtome** équipé d'une lame métallique tranchante et d'un système mécanique de porte-objet. On fixe ensuite les coupes sur des lames de verre grâce à une solution de gélatine, avant d'être séchées et déparaffinées par le biais du xylène ou de toluène. Une fois ce processus terminé, seule la substance organique de la coupe reste sur la lame en verre.

• **La coloration** permet de teinter de façon différentielle l'échantillon biologique. Comme tous les colorants sont hydrosolubles, ils ne peuvent être efficaces que si les coupes ont été réhydratées. Pour ce faire, une série d'alcools de concentrations décroissantes est utilisée. La plupart de ces colorations sont de type "topographique", telles que

l'hématoxyline, l'éosine, le carmin et le bleu de toluidine. D'autres semblent plus spécifiques, comme le vert de méthyle qui colore la chromatine ou la pyronine qui met en évidence l'ARN. Certains sels, comme le nitrate d'argent ammoniacal, permettent également de visualiser des structures en réduisant les ions argent Ag+ en argent métallique par différents composés cellulaires ; c'est ce qu'on appelle une coloration (ou imprégnation) argentique.

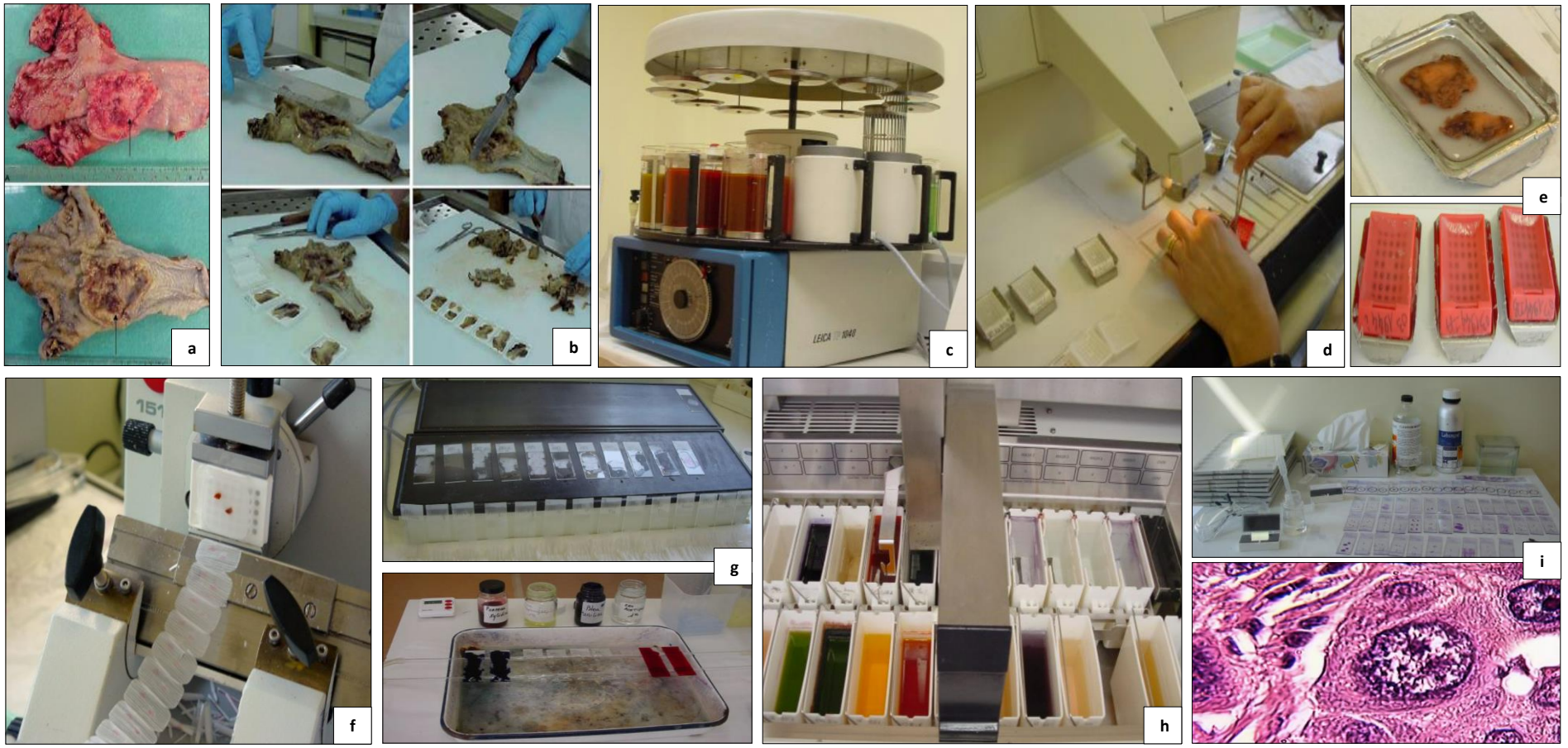
• **Le montage** après une déshydratation rapide de la préparation colorée, celle-ci est recouverte d'une goutte de résine, par-dessus laquelle on dépose une lamelle de verre.

Histologie électronique

La réalisation de coupes ultrafines adaptées à la microscopie électronique a nécessité l'apport de plusieurs modifications au protocole précédent **(figure 15) (Callen, 2005)** :

• **la fixation :** Les fixateurs conventionnels ne sont pas suffisants car ils ont tendance à coaguler les protéines et à altérer les structures fines. Pour cette raison, des agents chimiques sont nécessaires, ils établissent des liaisons entre les molécules voisines plutôt que de les altérer.
– Le permanganate de potassium, assure une excellente préservation des membranes lipoprotéiques, mais il fixe mal les structures cellulaires contenant des acides nucléiques.
– Le tétroxyde d'osmium, a un comportement similaire au précédent, mais il pénètre difficilement dans les cellules
– Le glutaraldéhyde, pénètre facilement dans les cellules et fixe efficacement plusieurs structures, sauf les membranes.

Afin de profiter des bénéfices de ces divers fixateurs, une double fixation est souvent réalisée : d'abord un traitement au glutaraldéhyde suivi d'un traitement au tétroxyde d'osmium.



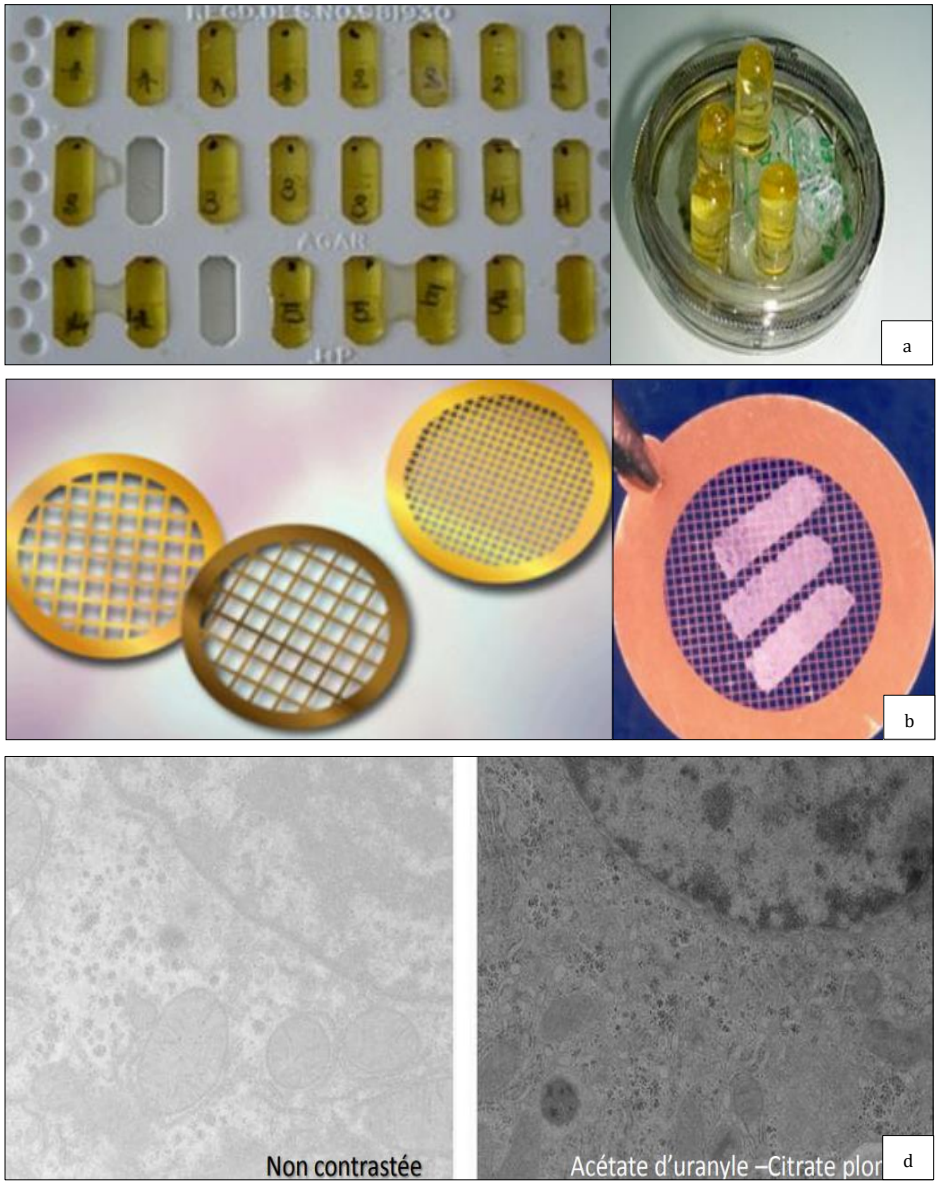
Figue 14. Préparation des coupes à la paraffine (web15)

a. Pièce opératoire fraîche et après fixation dans une solution de formol ; **b.** Dissection et prélèvement des échantillons destinés à l'étude histologique ; **c.** Automate d'inclusion ; **d.** Distributeur de paraffine ; **e.** inclusion des pièces et collage des cassettes sur les moules de leuckart ; **f.** Ruban de coupes sur le microtome ; **g.** Séchage et coloration des coupes ; **h.** Automate de coloration ; **i.** Montage et observation des lames sous microscope.

•**L'inclusion en résine :** Les milieux d'inclusion couramment utilisés sont souvent des **résines** de la famille des **araldites**, qui polymérisent à chaud en présence d'un catalyseur. Ce processus aboutit à la formation de petits blocs solides et très durs, intégrant et imprégnant l'échantillon à analyser. La robustesse de ce matériau permet d'obtenir des coupes extrêmement fines et uniformes.

•**La coupe, ultramicrotomie :** Les coupes ultrafines sont réalisées à l'aide de couteaux en verre ou en diamant extrêmement affûtés. Ces coupes fines et de taille très réduite sont invisibles à l'œil nu, et difficiles à manipuler sans l'aide d'une loupe. Le couteau dispose d'une petite cuvette renfermant de l'eau, sur laquelle les coupes se déplacent. On les récupère par la suite sur des grilles équipées de mailles extrêmement fines qui constituent en réalité le support pour les échantillons. Elles seront par la suite placées dans la colonne du microscope.

•**La coloration :** cette étape consiste en un simple renforcement des contrastes : on parle de « **coloration positive** ». Certains atomes de métaux lourds se fixent sélectivement sur diverses structures cellulaires, fixation qui arrête efficacement les électrons à leur niveau. Pour ce faire, on applique, quelques gouttes de solution d'acétate d'uranyle ou de citrate de plomb sur les grilles disposants les échantillons.



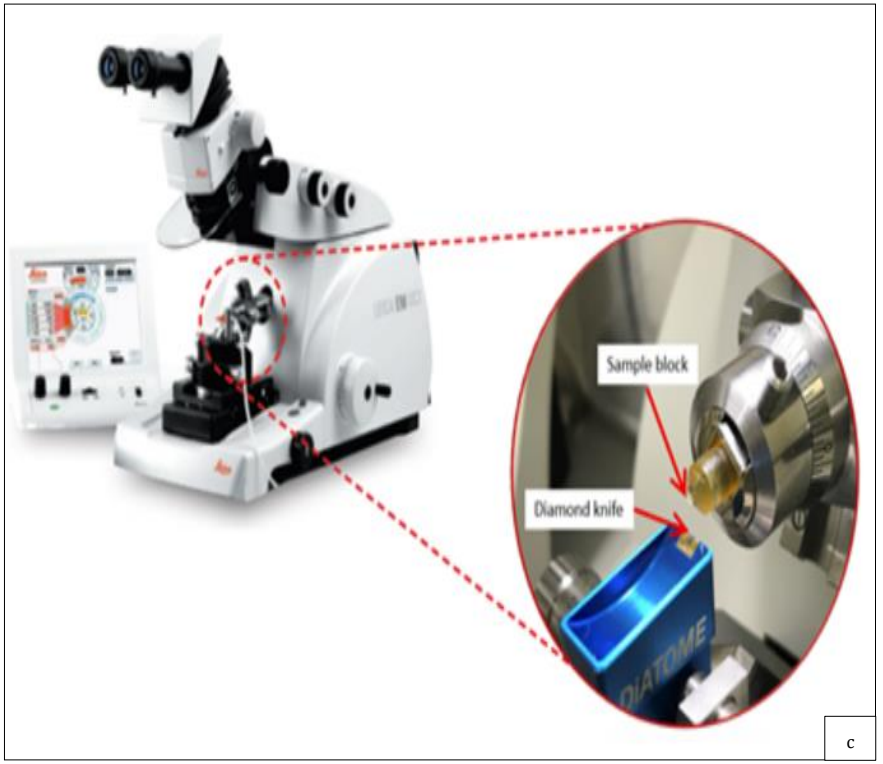


Figure 15. Préparation des échantillons pour microscopie électronique (web16).

a. Enrobage du matériel dans la résine ; **b.** Préparation de la grille ; **c.** Ultramicrotome et réalisation de coupes ultra-fines ; **d.** Contraste à l'acétate d'uranyle.

2.1.3. Techniques d'observation des formes et des surfaces

Coloration négative et ombrage métallique

La coloration négative est utilisée pour des objets de très petite taille, généralement de forme relativement simple, tels que des virus ou des éléments cellulaires isolés comme des organites ou des fragments d'organites. Elle offre la possibilité de visualiser, en M.E.T, des détails extrêmement fins qui ne sont pas toujours visibles dans les coupes, notamment en ce qui concerne les structures fibreuses telles que les protofilaments protéiques, les flagelles ou les queues de certains virus.

Le principe de la méthode est simple **(figure 16.1)**. Les particules à observer sont mises en suspension dans un colorant en solution aqueuse (ex. l'acide phosphotungstique). Les particules suspendues dans cette solution sont déposées sur des grilles de cuivre préalablement revêtues d'un fin film de carbone, puis mises à sécher. Le colorant s'accumule autour des particules, créant une couche opaque aux électrons ; cela crée une coloration de fond sur laquelle les objets à observer se détachent nettement. De très forts grandissements sont autorisés, de sorte que l'on voit même la forme des molécules de protéines **(Callen, 2005)**.

L'ombrage métallique s'applique aux mêmes objets, mais le principe est un peu différent **(figure 16.2)**. Il permet, en particulier, de visualiser de façon simple les molécules d'acides nucléiques. Il constitue également une étape dans le protocole de cryofracture **(Callen, 2005)**.

La cryofracture "technique de répliques"

Cette technique offre deux avantages considérables :

1) elle permet de manipuler un matériel congelé dont la structure reste aussi proche que possible de sa structure d'origine ;

2) elle permet d'observer l'organisation superficielle des membranes cellulaires, ce qui n'est généralement pas possible avec les coupes, sauf dans les rares cas de coupes tangentielles. Elle est couramment applicable au MEB et s'effectue en plusieurs étapes :

• **la congélation** ou vitrification est un processus de fixation très rapide pratiqué dans l'azote liquide (-170°C) ou dans le propane (-200°C) qui assure une bonne conservation des plus petite structure cellulaire **(Callen, 2005)**.

• **la cryofracture** se pratique dans une enceinte à vide à l'aide d'une lame métallique appliquée sur la surface de l'échantillon ; une fois surgelé, celui-ci devient très cassant et fragile. La ligne de cassure tend à suivre les zones de moindre résistance qui sont précisément les surfaces internes des membranes correspondantes aux zones hydrophobes de la bicouche lipidique **(Callen, 2005)**.

• **le décapage** par sublimation assure une évaporation de l'eau de la surface de fracture ce qui a pour intérêt d'accentuer les irrégularités superficielles **(figure 17) (Callen, 2005)**.

• **le contraste ou l'ombrage métallique** correspond à une projection latérale (sous un angle de 45°) de vapeurs métalliques de platine, créant ainsi une ombre ou réplique de surface. Cette dernière est consolidée par une deuxième vaporisation perpendiculaire (90°) de carbone. On obtient ainsi une empreinte (moulage) de la surface de fracture (ou de l'échantillon entier) assurant une résistance mécanique de la réplique **(Callen, 2005)**.

• **la réplique** obtenue est retirée de l'enceinte sous vide par dissolution du support organique à l'aide d'un acide (acide sulfurique ou chlorhydrique). Le moulage ainsi nettoyé est ensuite déposé sur une grille **(Callen, 2005)**.

• **observation** de la réplique obtenue au MEB, l'image observé révèle des reliefs et des dépressions **(Callen, 2005)**.

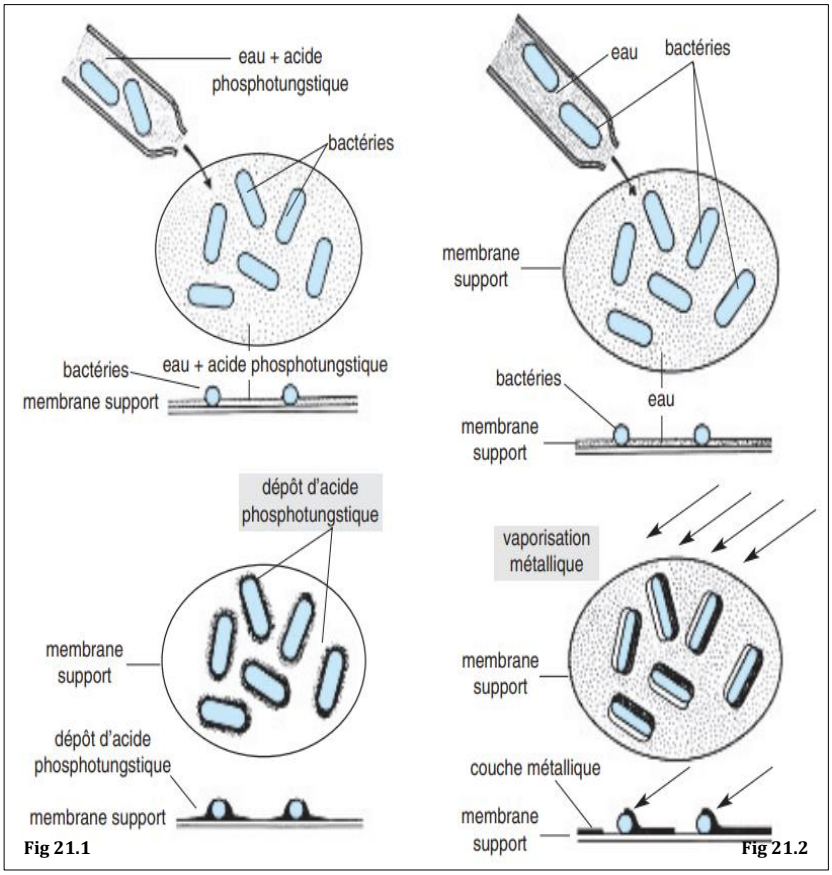


Figure 16.1. Principe de la coloration négative (Callen, 2005)

Après évaporation du solvant qui contient le colorant et accumulation de celui-ci autour des particules ou des cellules déposées sur une membrane support, un effet de **halo** se forme, permettant de visualiser ces particules en négatif sous M.E.

Figure 16.2. Principe de l'ombrage métallique (Callen, 2005)

Après évaporation du solvant, les cellules en suspension sont déposées sur une membrane-support. La vaporisation métallique latérale sous vide ; conduit à une accumulation localisée de métal qui créera un effet **d'ombre portée** lors de l'examen en M.E

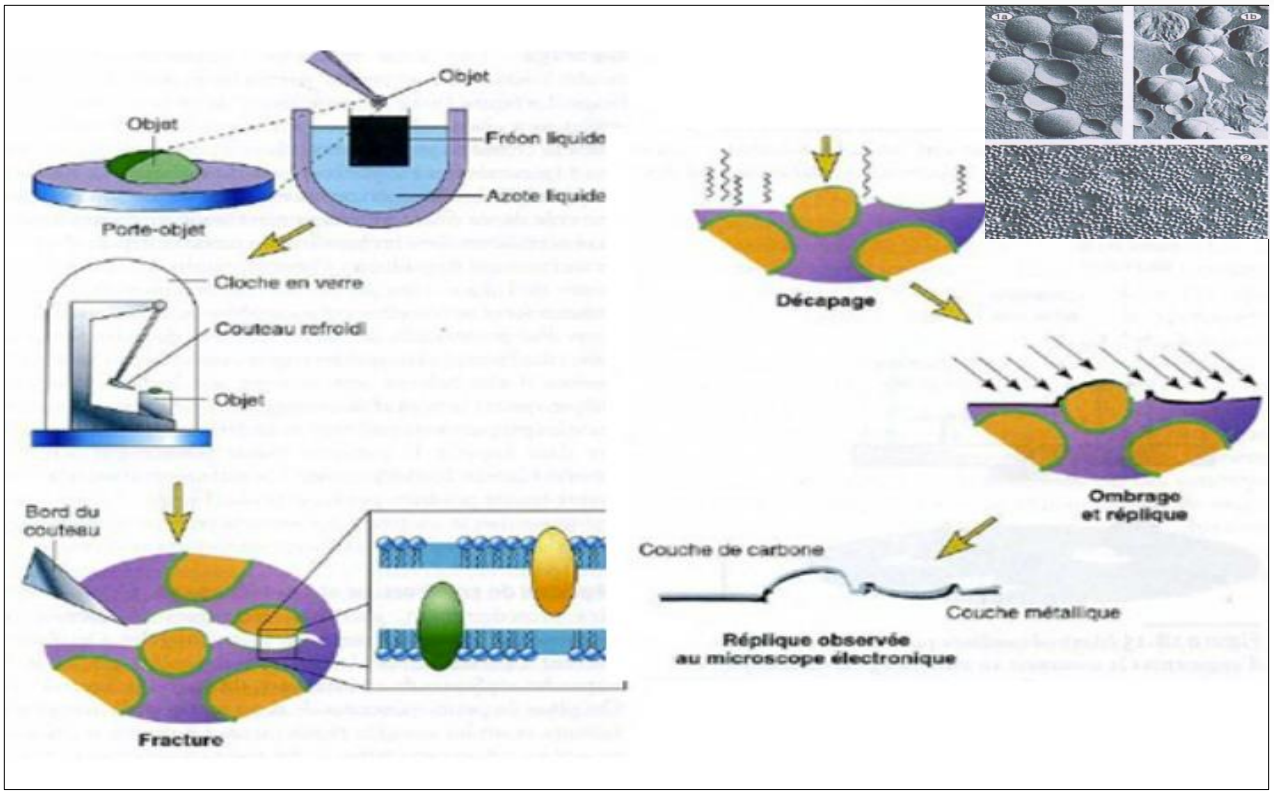


Figure 17. Principe du protocole de cryofracture / cryodécapage (web17) ; en haut à droite un cliché montrant les liposomes contenant des protéines intégrées à la bicouche (protéoliposomes)

2.1.4. Méthodes d'analyse des constituants cellulaires

Fractionnement chimique

C'est un ensemble de techniques qui consistent à séparer les petites molécules (organiques ou minérales) des macromolécules. Lorsqu'un homogénat est traité par un acide fort à froid, les macromolécules (en particulier, les protéines) sont dénaturées et forment des précipités faciles à sédimenter par centrifugation. Le surnageant contient tous les précurseurs organiques solubles dans l'acide : acides aminés, glucides, nucléotides, produits de dégradation..., ainsi que les ions minéraux.

La méthode de tamisage moléculaire permet de séparer aisément les macromolécules natives en solution des composés de faible masse moléculaire (sels minéraux ou précurseurs organiques), par « filtration sur gel ». Cette technique repose sur une chromatographie en colonne utilisant un gel poreux constitué de microbilles polysaccharidiques ; il s'agit d'une filtration par exclusion, les molécules de grande taille étant éluées en premier et ainsi séparées des autres **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002).**

Méthodes de séparation : chromatographie et électrophorèse

- **La chromatographie** est une méthode séparative permettant l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange. Le principe repose sur les différences de solubilité des composés dans divers solvants ou mélanges de solvants. Chaque composé chimique migre à une vitesse qui lui est propre, en fonction de ses caractéristiques et de celles des phases mobile et/ou stationnaire. Ainsi, la chromatographie permet de séparer les constituants d'un mélange homogène **(figure 18)**. Différents types de chromatographie existent selon la méthode de séparation employée : adsorption, partage, échange d'ions, exclusion, etc. **(Callen, 2005)**.

La chromatographie sur couche mince (CCM), par exemple, est une technique physique de séparation d'espèces chimiques. Pour cela on utilise un éluant : solvant qui monte par capillarité le long du support entraînant ainsi les différentes espèces chimiques.

Dans certains cas, le partage se fait plus facilement par : **Chromatographie de partage bidimensionnelle** une première chromatographie dans un premier système de solvants est suivie par une deuxième migration dans un système de solvants différent effectuée sur la plaque préalablement séchée et tournée de 90°. constituants du mélange sont répartis sur toute la surface de la plaque et donc mieux séparés qu'après une migration monodimensionnelle **(Callen, 2005)**.

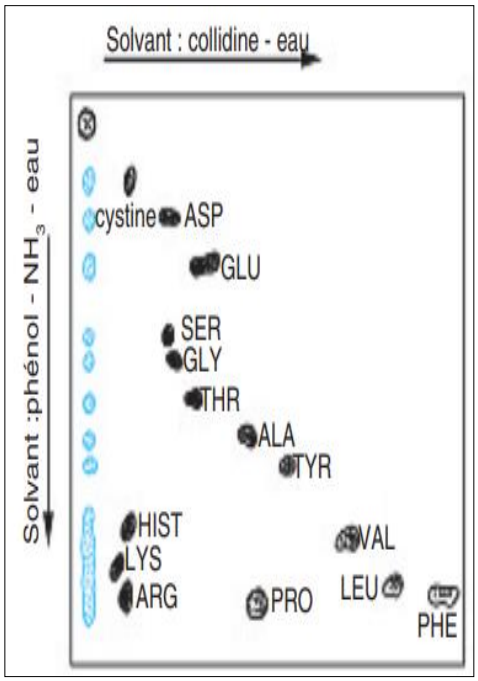


Figure 18. Chromatographie de partage bidimensionnelle (Callen, 2005) ▶

- **L'électrophorèse** repose sur les variations de charge électrique, ce qui permet de séparer facilement les sucres simples, les acides aminés, les acides organiques, les acides gras, ainsi que les nucléotides **(figure 19).** Cette méthode est également précieuse pour séparer, sous l'influence d'un champ électrique, les centaines voire les milliers d'espèces moléculaires de protéines et d'acides nucléiques présentes dans les mélanges naturels des cellules **(Callen, 2005)**.

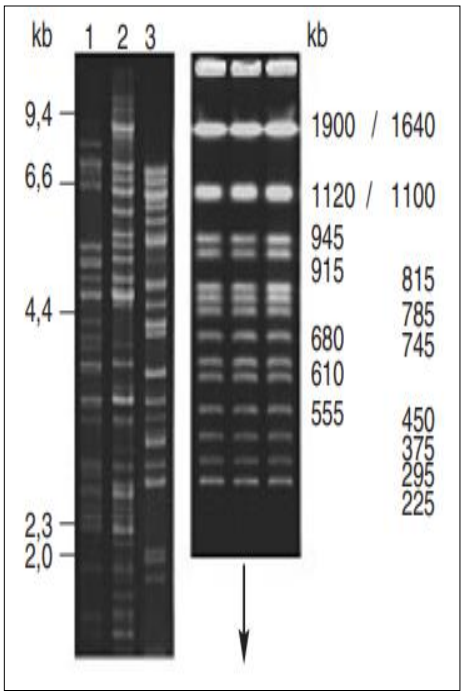


Figure 19. Analyse d'électrophorèse monodimensionnelle d'AN sur gels de polyacrylamide (Callen, 2005) ▶

2.1.5. Méthodes de fractionnement subcellulaire

C'est une technique qui permet d'isoler les organites cellulaires tout en maintenant intactes leur structure et leurs propriétés physiologiques. Les organites cellulaires obtenus par cette méthode sont vivants et fonctionnels. Cela permet de réaliser une analyse chimique pour étudier leur composition ainsi que d'examiner leur fonction in

vitro dans un milieu synthétique. Cette technique inclut plusieurs étapes, qui permettent de garantir la viabilité et le bon fonctionnement des organites isolés **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)** :

Broyage et homogénéisation

Cette opération est réalisée à partir d'une population de cellules identiques (colonie bactérienne, cellules en culture, fragment d'organe…). Ces cellules sont d'abord placées dans un tube à essais contenant une solution isotonique (solution saline à 9‰ pour les globules rouges ou une solution de saccharose pour les cellules de foie) afin d'éviter des réactions biochimiques : c'est **la suspension**. Cette dernière est fractionnée suite à un traitement physique (ultrasons), chimique (addition d'un détergent acide ou basique) ou mécanique (écrasement par un piston vertical ou tournant). Il en résulte des déchirements membranaires suivis d'une dilution des constituants cellulaires dans la solution isotonique : c'est l'**homogénat** contenant tous les organites cellulaires limités par une membrane, les ribosomes ainsi que l'ensemble des métabolites (acides nucléiques, molécules cytosoliques telles que les protéines et les enzymes….) ayant chacun une densité différente. L'opération s'effectue à froid pour inhiber l'activité enzymatique **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

La centrifugation différentielle « UCD »

Cette méthode permet de diviser l'homogénat en plusieurs fractions distinctes, isolant ainsi les différents organites en fonction de leur coefficient de sédimentation dans un milieu donné. Pour ce faire, on utilise un appareil appelé **ultracentrifugeuse**, qui fait tourner l'homogénat à des vitesses pouvant dépassée 100 000 tours par minute.

Tableau 4 : Procédés UCD (Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002).

Accélération	Observation/ Structure sédimentées
600g /10min	Noyau et du cytosquelette
15 000 g /5min	Mitochondries, lysosomes et peroxysomes
100 000 g/60min	Membrane plasmique, microsomes et grands polysomes.
300 000 g/2h	Ribosomes et petits polysomes Ce qui reste à la fin c'est la fraction hydrosoluble du cytosol.

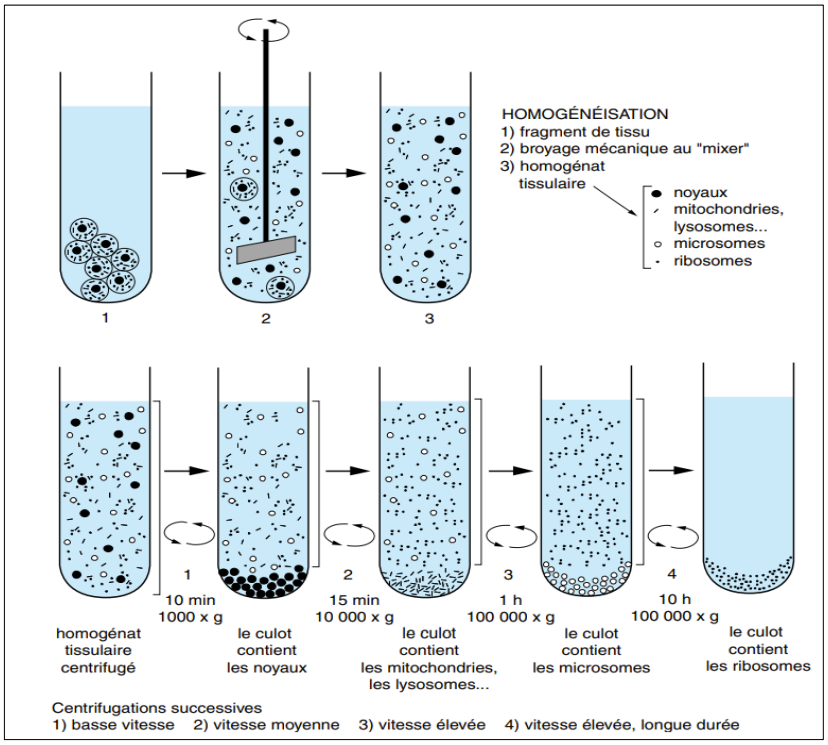


Figure 20. Fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle (Callen, 2005)

L'homogénat initial, préparé à partir d'un fragment de tissu (1 à 3), est fractionné par 4 centrifugations successives de plus en plus intenses. Cela permet d'obtenir une série de 4 sédiments contenant des organites de masses de plus en plus réduites, ainsi qu'un surnageant final à partie duquel plus aucune particule ne peut être sédimentée

La centrifugation par gradient préformé « UGD »

Pour séparer les composants cellulaires en fonction de leur densité de flottaison qui est indépendante de leur taille et de leur forme, l'échantillon est déposé en fine couche sur un gradient préformé contenant de fortes concentrations de saccharose (pour isoler les organites) **(figure 21)** ou de chlorure de césium (pour isoler les acides nucléiques). Chaque composant cellulaire contenu dans le tube finit par flotter à sa position d'équilibre qui correspond à une zone du tube ou la densité de la solution est égale à celle du composant concerné **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

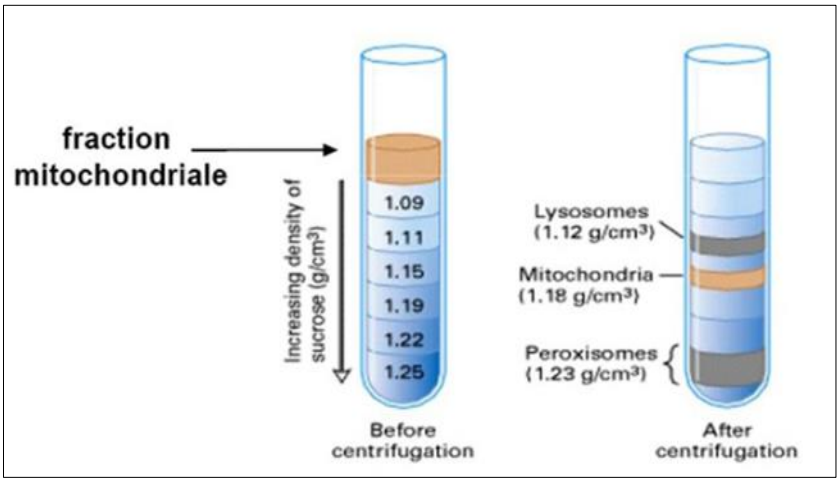


Figure 21. Principe de l'UGD. Cas de la séparation des sous fractions du 2e culot (Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)

2.1.6. Technique de détection et localisation des composés cellulaires

Elles permettent la détection, la localisation et la quantification des composés cellulaires en se basant sur leurs propriétés physiques (absorption et émission des radiations).

L'autoradiographie : cette technique permet de repérer un composé et de suivre sa localisation dans la cellule en utilisant un traceur, un métabolite contenant un atome radioactif tels que le C^{14} ou H^{3}. Ces isotopes émettent un rayonnement détectable par un procédé spécifique :

- l'isotope radioactif spécifique de la molécule à étudier est injecté à un animal vivant ; quelques jours plus tard, l'animal est sacrifié et l'organe concerné est prélevé puis préparé selon les techniques histologiques ou cytologiques **(figure 22)**.
- les coupes sont revêtues d'une émulsion photographique préparée à partir de sels d'argent (MP) ou d'or colloïdal (ME), et sont conservées dans une chambre noire afin de permettre l'impression de l'émulsion par les émissions radioactives de l'isotope.
- la molécule recherchée apparaît sous forme de taches noires localisées dans les structures cellulaires ayant incorporé les atomes radioactifs **(Cooper, 2019).**

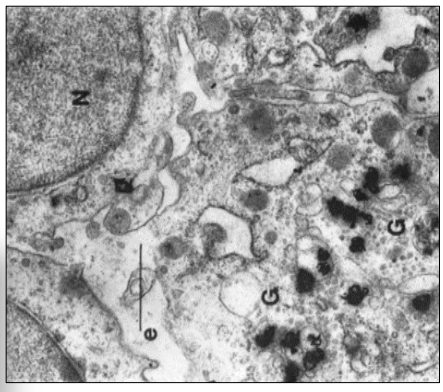


Figure 22. Résultat de l'injection intra-veineuse de proline tritiée (Frank, 1970) Après 05 minutes, la radioactivité est élevée au niveau de l'appareil de golgi (G), noyau (N) et espace inter-améloblastique.

La fluorescence est une technique permettant de repérer un composé fluorescent et de suivre son trajet à travers la cellule en microscopie. Elle repose sur l'utilisation de substances capables d'absorber la lumière et de la réémettre à une longueur d'onde plus grande, créant ainsi une lumière de fluorescence détectable par le microscope à fluorescence **(Cooper, 2019)**.

Ce principe a été illustré pour la première fois par Frye et Edidin en 1970 pour démontrer la fluidité des protéines membranaires **(figure 23)**. L'expérience nécessite deux cultures cellulaires provenant de deux individus d'espèces différentes, afin de provoquer la production d'anticorps dans le sérum des donneurs par une injection croisée.

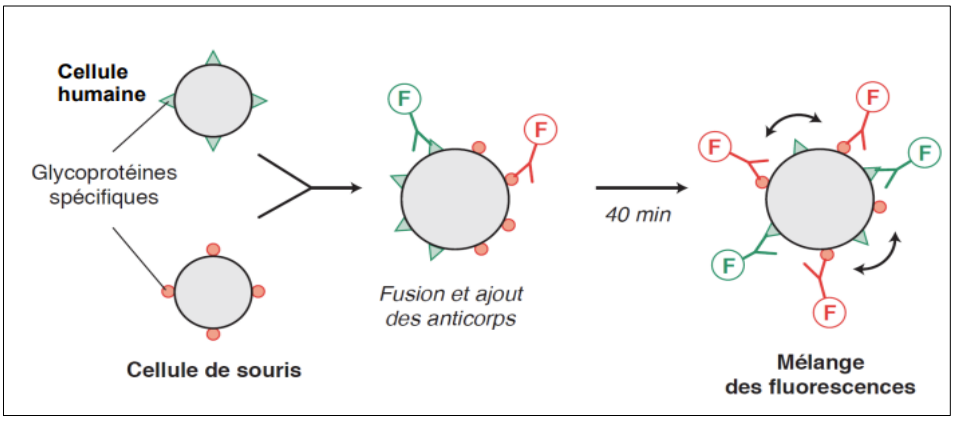


Figure 23. Mise en évidence de la fluidité membranaire avec la formation d'un hétérocaryon (web 18)

On travaille sur des cellules humaines et des cellules de souris. Les anticorps marqués à la fluorescéine (émettant dans le vert) et à la rhodamine (émettant dans le rouge) reconnaissent respectivement et spécifiquement les protéines de surface de la cellule humaine et de souris

Ces anticorps sont alors isolés et marqués chacun à un type de fluorochrome puis mis en présence d'un hétérocaryon résultant de la fusion des deux types cellulaires pour suivre l'évolution des deux fluorescences **(Cooper, 2019)**.

Point cours

- Connaître les différentes techniques d'observation et d'étude de la cellule
- Définir les méthodes de fractionnement et d'analyse des constituants cellulaires

2.2. La membrane plasmique : Isolement et Composition

2.2.1. Aspect ultra-structural

L'observation des coupes minces au MET révèle que la membrane plasmique est tristratifiée, composée de deux feuillets denses (osmiophiles) ont chacun une épaisseur de 20 à 25 Å et un feuillet clair (osmiophobe) compris entre les feuillets denses, avec une épaisseur de 30 à 40 Å. **(figure 24)**.

Ainsi, la membrane a une épaisseur moyenne de 75Å, mais peut varier selon les types cellulaires. L'aspect tri-stratifié est retrouvé dans tous les systèmes membranaires au sein d'une même cellule, d'où son appellation de **membrane unitaire**, **membrane biologique** ou **cytomembrane**.

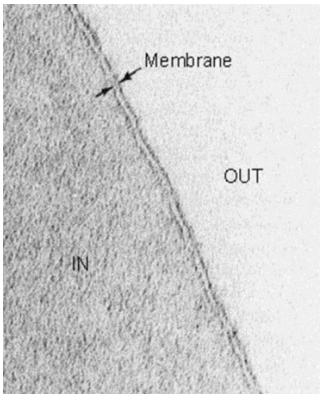


Figure 24. Membrane par M.E.T. (Roland et Callen, 2007)

Le feuillet externe de la membrane plasmique est recouvert d'un mince film de matériel glycoprotéique qui forme le revêtement fibreux, aussi connu sous le nom de **cell coat** ou **glycocalyx.**

Du côté hyaloplasmique, le feuillet dense interne présente un feutrage micro-filamentaire qui renforce la membrane plasmique et le cytosquelette. Le réseau microfilamentaire et le glycocalyx jouent un rôle essentiel dans l'asymétrie structurelle de la membrane. **(Alberts *et al.*, 2008).**

2.2.2. Composition chimique

L'évaluation de la composition chimique des membranes cellulaires nécessite plusieurs étapes : séparation des tissus, homogénéisation, centrifugation, extraction et analyse par chromatographie. Les membranes sont constituées d'un ensemble de lipides, de protéines et de composés glucidiques.

Tableau 5 : Composition chimique de certaines membranes (Alberts *et al.*, 2008)

Membrane	Protéines	Lipides	Glucides
Erythrocyte humain	49	43	8
Hépatocyte de souris	44	52	4
Amibe	54	42	4
Mitochondrie	76	24	0
Chloroplaste	70	30	0

Les lipides membranaires

Tous les lipides présents dans la membrane cellulaire sont des molécules amphiphiles, avec des groupements aliphatiques ou aromatiques (cholestérol) et des groupements polaires divers. La géométrie de chaque chaîne aliphatique dépend de la présence ou non d'insaturations. La configuration *cis* bien plus fréquente que celle en *trans*, entraîne une courbure de 30° dans la chaîne carbonée. La tête polaire est reliée aux deux chaînes carbonées par une molécule qui sert de squelette pour l'ensemble de la molécule, est généralement constitué d'un alcool (le glycérol, ou la sphingosine) **(Alberts *et al.*, 2008)**.

a. Classe de lipide membranaire : En fonction de la nature de leur molécule de liaison et de celle de leurs chaînes carbonées, les lipides sont classés en glycérophospholipides, sphingophospholipides, stérols, glycéroglycolipides et sphingoglycolipides **(Alberts *et al.*, 2008)**.

- **Les glycérolipides**

Les glycérolipides se construisent sur la base du glycérol. Deux de ses trois groupes hydroxyle, dont le groupe secondaire, sont estérifiés par des acides gras à longues chaînes (principalement 16 et 18 carbones). L'une des deux chaînes d'acides gras est généralement insaturée **(Alberts *et al.*, 2008)**.

-Si le troisième groupe hydroxyle est substitué par un éther de mono- ou di- galactoside, le lipide devient un **glycéroglycolipide.**

-Si le troisième groupe hydroxyle est estérifié par un acide phosphorique, le lipide est un **acide phosphatidique**. Dans la structure des glycérophospholipides, l'acide phosphorique peut lui-même être estérifié par différents groupements, tels que la choline, la sérine ou l'éthanolamine **(figure 25)**.

Tableau 6 : Principaux glycérophospholipides dans la membrane **(Callen, 2005)**

Groupe	Nom du lipide	Abréviation	Charge
- H	Acide phosphatidique	PA	Négative
$-CH_2CH_2N^+(CH_3)_3$	Phosphatidylcholine	PC	Zwitterion
$-CH_2CH_2NH_3^+$	Phosphatidyléthanolamine	PE	Zwitterion
$-CH_2CHNH_3^+COO^-$	Phosphatidylsérine	PS	Négative
$-CH_2CHOHCH_2OH$	Phosphatidylglycérol	PG	Négative
$-HC_6H_5(OH)_5$	Phosphatidylinositol	PI	Négative
$-CH_2CHOHCH_2^-$	Cardiolipine	CL	Négative

- **Les sphingolipides**

Les sphingolipides sont des composés dérivés du céramide, qui incluent à la fois des donneurs et des accepteurs de liaisons hydrogène. Contrairement aux glycérophospholipides, l'acide gras qu'ils contiennent est souvent saturé. Lorsque le groupement polaire est une phosphorylcholine, le lipide formé est appelé sphingomyéline. Parmi les sphingolipides, on trouve également les gangliosides, des sphingoglycolipides acides dont les chaînes oligosaccharidiques se terminent par des résidus d'acides sialiques **(figure 26) (Alberts *et al.*, 2008)**.

- **Les stérols**

Les stérols sont des molécules constituées de 4 cycles contenant 27 atomes de carbone formant une structure plane et rigide, à laquelle divers groupements peuvent se lier **(figure 27)**. Les molécules de stérol ne peuvent former une bicouche à elles seules, mais elles peuvent s'insérer dans la membrane en s'orientant de la même manière que les phospholipides **(Alberts *et al.*, 2008)**. Le cholestérol interagit préférentiellement avec les sphingolipides plutôt qu'avec les phospholipides insaturés. Il est abondant dans la cellule animale, et moins présent dans les cellules végétales où il est remplacé par d'autres types de stérols tels que le sitostérol et le stigmastérol **(Callen, 2005)**.

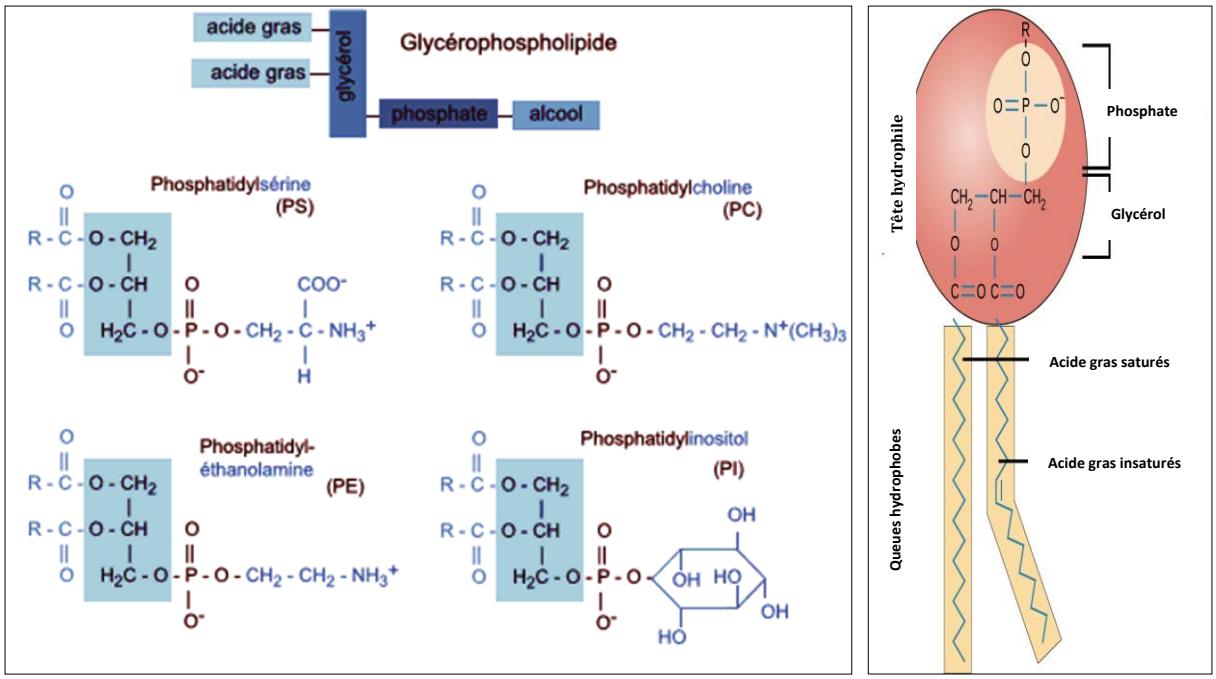


Figure 25. Structure des différents types de glycérophospholipides (Callen, 2005)

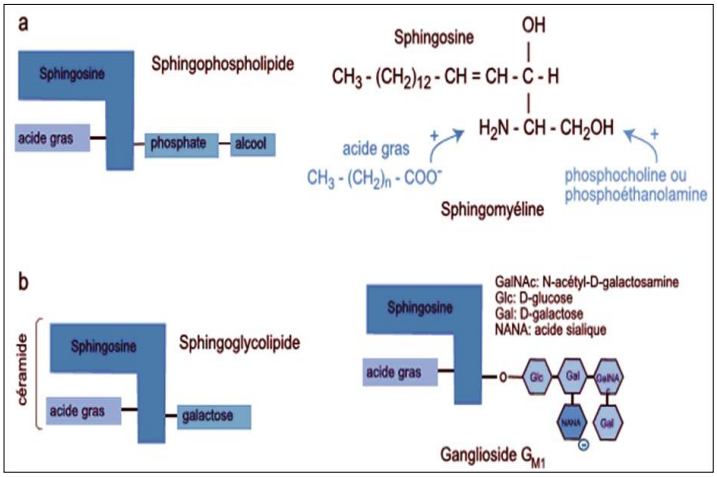


Figure 26. Structure des différents types des sphingolipides (Callen, 2005)

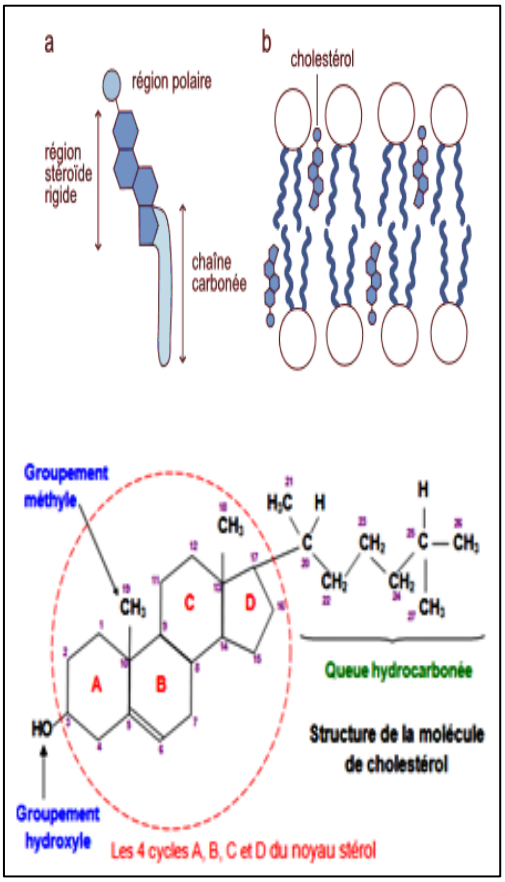


Figure 27. Structure du cholestérol et mode d'insertion dans la membrane plasmique (Callen, 2005)

b. Les propriétés des lipides membranaires

- **Stabilité mécanique**

La stabilité de la membrane est renforcée par sa teneur élevée en cholestérol **(Callen, 2005)**.

- **Auto-assemblage**

En milieu aqueux, les lipides amphiphiles se regroupent spontanément en formant des micelles ou des liposomes, en fonction de la taille de leur partie hydrophobe, créant ainsi des compartiments clos par auto-fermeture. Les parties hydrophobes se rassemblent tandis que les têtes hydrophiles restent exposées au milieu aqueux. Cette configuration permet naturellement au système d'atteindre une entropie plus élevée **(Callen, 2005)**.

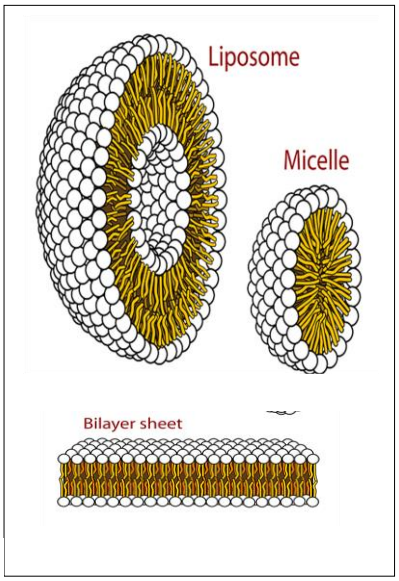


Figure 28. Auto-fermeture des phospholipides (web 19)

- **Asymétrie et variété de la répartition des lipides membranaires**

On note des variations importantes dans la composition des membranes cellulaires, ainsi que dans celle des membranes des différentes organelles d'une cellule, avec également une hétérogénéité de composition entre les deux feuillets **(Callen, 2005)**.

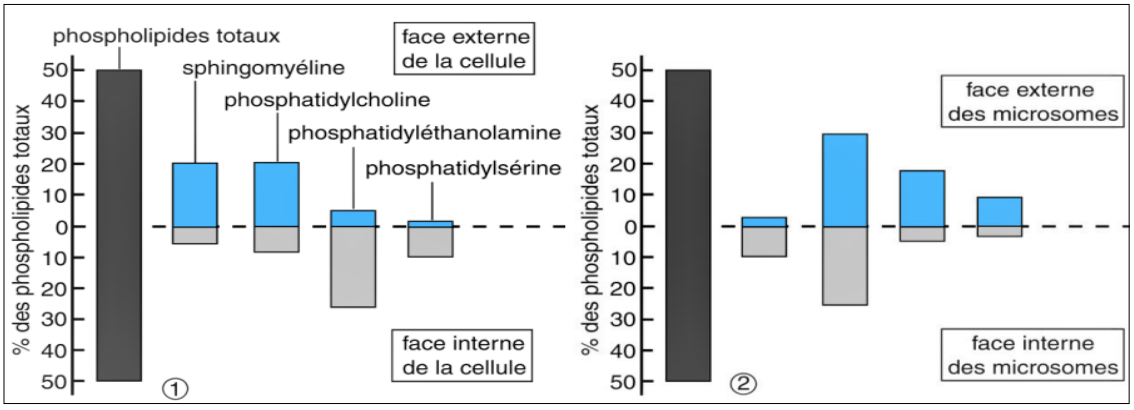


Figure 29. Distribution des lipides dans la membrane (Callen, 2005)

1. Mb du globule rouge humain **; 2.** Mb de microsomes de foie de rat. La répartition des phospholipides varie selon le type cellulaire, le type de membrane considéré, ainsi qu'entre les deux feuillets.

Les feuillets externes contiennent principalement des glycolipides et des dérivés du cholestérol, tandis que les feuillets internes sont beaucoup moins riches en sphingolipides et en phophatidylcholines. De plus, les feuillets externes de la bicouche contiennent

davantage de phosphatidyléthanolamines et de phosphatidylsérines que les feuillets internes **(figure 29)**. La répartition asymétrique revêt une importance fonctionnelle telle que la conversion des informations en signaux intracellulaires **(Callen, 2005)**.

- **Fluidité et mouvement des lipides dans la bicouche**

La membrane plasmique est fluide en raison des flux de lipides qui peuvent être répartis en différentes catégories **(Callen, 2005)**.

- Mouvements fréquents et rapides « **diffusion latérale** », « **rotation** » et « **flexion** »
- Mouvements rares et très lent dit bascule ou « **flip-flop** » : les lipides peuvent passer d'une monocouche à l'autre un tel mouvement est thermodynamiquement défavorisé.

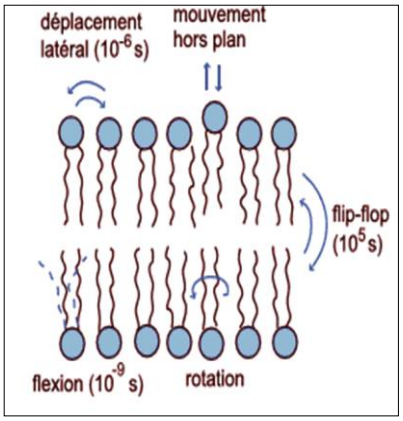


Figure 30. Les mouvements de phospholipides (Callen, 2005)

Tableau 7. Protéines permettant le mouvement de flip-flop ATP/ Ca^{2+} dépendantes (Callen, 2005).

La floppase	Transfert lent de la PS et la PE du F. cytosolique vers le F. externe
La flippase	Assure le transport en sens inverse.
La scramblase	Transfert des phospholipides de manière bidirectionnelle et non spécifique entre les deux feuillets de la membrane

La maintenance de la fluidité est indispensable au bon fonctionnement de la membrane, elle est influencée par :

- **Le cholestérol :** renforce la solidité de la membrane en entravant la diffusion latérale des éléments. Il agit comme un tampon, fluidifiant les membranes trop rigides ou rigidifiant les membranes trop fluides. Le noyau stérol rigide stabilise les bicouches fluides entre le carbone 1 et le carbone 10 des chaînes aliphatiques des AG. En revanche, à partir du carbone10, il favorise le mouvement de la région profondes des chaînes aliphatiques dans chaque couche. En s'insérant entre les acides gras, le cholestérol empêche leur cristallisation en les maintenant à distance **(Callen, 2005)**.

- **L'insaturation des phospholipides :** l'insaturation augmente la fluidité de la double couche lipidique, (les AG saturés assurent la rigidité de la membrane) **(Callen, 2005)**.

- **La longueur des chaînes aliphatiques :** la fluidité de la membrane est augmentée par le raccourcissement des chaînes aliphatiques **(Callen, 2005)**.

- **La température :** une baisse de la température ralentit l'agitation moléculaire ; alors qu'une hausse de température fait augmenter cette agitation **(Callen, 2005)**.

- **Organisation des lipides dans le plan latéral**

Concept de lipid raft, également appelés radeaux lipidiques ou « DIG » : cette structure découle d'un assemblage dynamique de lipides (cholestérol et sphingolipides) sur des surfaces mobiles. Ces microdomaines lipidiques sont riches en protéines, telles que les protéines ancrées par GPI, alors que ça face cytosolique est revêtue par une protéine en forme dépingle à cheveux : **la cavéoline (Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

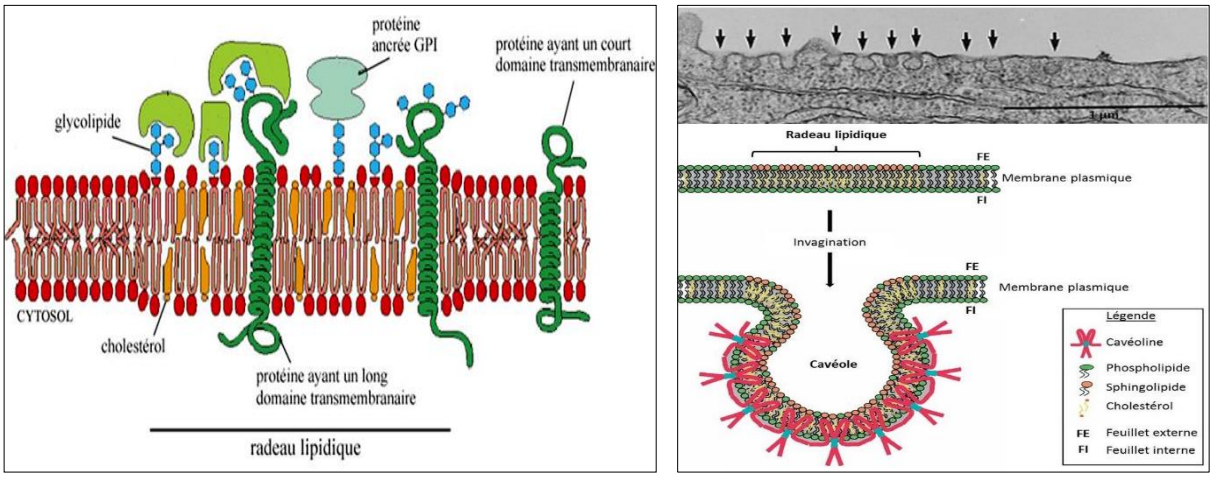


Figure 31. Organisation des zones dite radeaux lipidiques, lipid rafts ou DIG (Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002 ; Razani *et al.*, 2002)

c. Fonctions des lipides membranaires

Les lipides constituent une barrière imperméable aux molécules hydrosolubles, leurs organisations en bicouche constituent la structure de base de toutes les membranes biologiques

Les protéines membranaires

a. modes de fixation des protéines à la membrane plasmique

Les protéines membranaires sont associées à la membrane de différentes façons selon leurs fonctions **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)** :

- Protéines transmembranaires traversant de part en part la bicouche lipidique (exemples 1, 2 et 3 de la **figure32**). Ces protéines sont amphiphiles : leur partie hydrophobe interagit avec les chaînes carbonées des lipides membranaires tandis que leurs parties hydrophiles sont exposées à l'eau, de chaque côté de la bicouche.
- Protéines intégralement dans le cytosol et sont alors associées au feuillet interne de la membrane, soit par une hélice α amphiphile (exemple 4), soit par une ou plusieurs chaînes lipidiques qui peuvent être des chaînes d'acides gras ou des groupements prenyl (exemple 5).

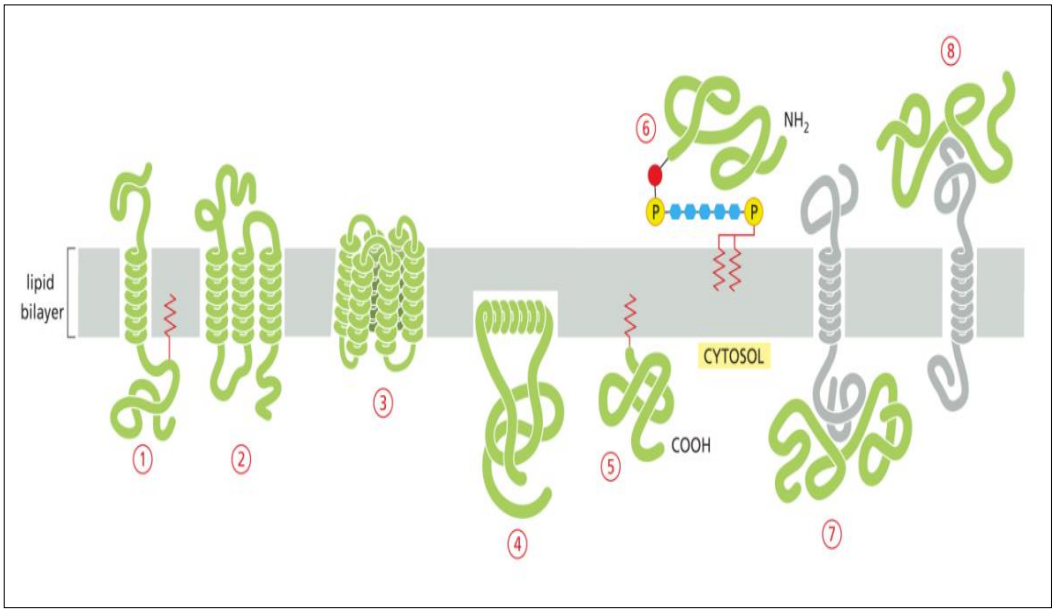


Figure 32. Représentation schématique des différentes classes de protéines membranaires selon leur mode d'interaction avec la membrane (Lüllmann-rauch et Asan, 2019).
1-3 : protéines intrinsèques ou intégrales **; 4-8 :** protéines extrinsèques ou périphériques.

- Protéines entièrement exposées à la surface externe des cellules et attachées à la membrane par une liaison covalente avec un oligosaccharide spécifique (exemple 6) : ce sont les protéines ancrées GPI **(figure 33)**.

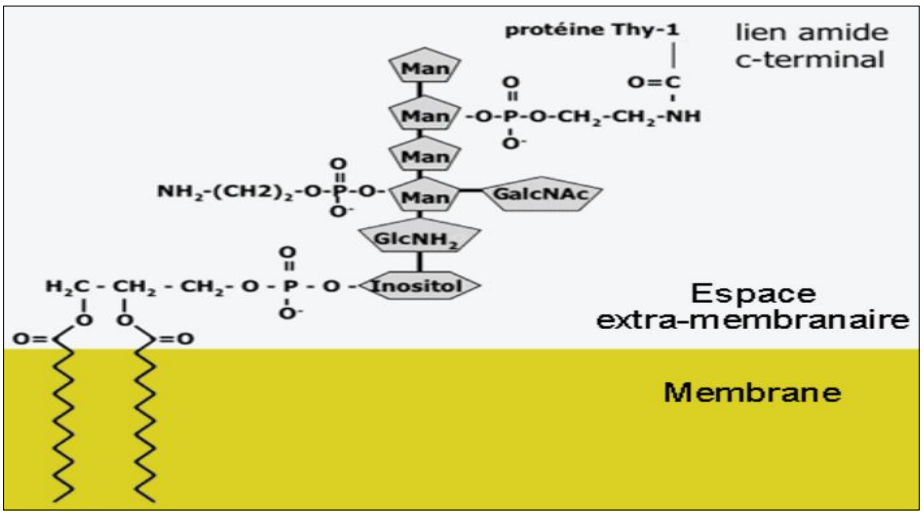


Figure 33. Structure de la protéine d'ancrage à la membrane (web20)

- Protéines intégralement situées dans le cytoplasme ou à l'extérieur de la cellule. Elles sont attachées par des liaisons électrostatiques ou des liaisons hydrogène à d'autres protéines membranaires (exemples 7 et 8 de la figure 32).

b. Propriétés des protéines membranaires

- **Fluidité :** les mouvements des protéines sont moins fréquents et dépendent à la fois de la viscosité de la bicouche lipidique et de la masse des protéines. Ces mouvements, majoritairement définis par la diffusion latérale au sein de la bicouche lipidique, sont lents. Un exemple classique est fourni par l'expérience de Frye et Edidin **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.
- **Asymétrie :** Les protéines de la membrane plasmique se répartissent différemment sur ses deux faces, ce qui déterminent leurs rôles en relation avec la matrice extracellulaire (MEC) d'une part et avec le cytosquelette d'autre part **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

c. Fonctions

- *Structural :* les protéines jouent un rôle de soutien, servant de points d'ancrage pour les molécules de la matrice extracellulaire d'une part et pour celles du cytosquelette d'autre part.
- *Transport transmembranaire :* permettent le passage des substances nécessaires à la croissance et au remplacement des structures cellulaires.

- *Communication intercellulaire :* les protéines membranaires jouent le rôle de récepteurs, et réagissent à des molécules informatives comme les hormones ou à des stimuli physicochimiques ; Ces récepteurs convertissent ces signaux afin que la cellule puisse les interpréter.

- *Reconnaissance cellulaire :* certaines de ces protéines possèdent une activité antigénique

- *Activités enzymatiques* diverses **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

Les glucides membranaires

a. organisation

Ils sont représentés par des chaînes glucidiques linéaires ou ramifiées attachées aux lipides et aux protéines membranaires, et se trouvent exclusivement du côté extracellulaire. Ils forment un revêtement fibreux dont l'épaisseur varie, étant minime dans les globules rouges, mais pouvant atteindre jusqu'à 200 nm dans les cellules absorbantes (entérocytes) **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002).**

b. Propriétés des glucides membranaires

Les chaînes glucidiques formant les glycolipides, les glycoprotéines ou les prtéoglycanes participent à la charge négative de la membrane grâce à l'acide sialique **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

c. Fonctions

- Protection des muqueuses contre l'acidité et l'action des enzymes digestives.
- Adhésivité intercellulaire permanente ou transitoire.
- Marqueur de certaines cellules (ex. antigènes des groupes sanguins) antigène de surface pour la reconnaissance du soi et du non soi (ex. système HLA),
- Inhibition de contact : contrôle la division cellulaire.
- L'acide sialique contribue par sa charge négative à la fixation de co-facteurs comme le Ca^{2+} et le Mg^{2+} permettant ainsi l'activation des enzymes membranaires indispensables à la simplification des molécules nutritives complexes, facilitant ainsi leur internalisation **(Madoui-Dekar et Benzine-Challam, 2002)**.

Point cours

- Connaître les composants de la membrane plasmique et leurs dérivés
- Connaître la répartition de ces composants dans la membrane plasmique
- Connaître les caractéristiques de la membrane plasmique

2.3. Architecture biomoléculaire de la membrane plasmique

La membrane plasmique est décrite comme une mosaïque fluide asymétrique, conformément au modèle proposé par Singer et Nicholson en 1972. Cette notion de mosaïque fluide est fréquemment utilisée pour illustrer à la fois la composition et le comportement dynamique des membranes biologiques **(Boujard *et al.*, 2015)**.

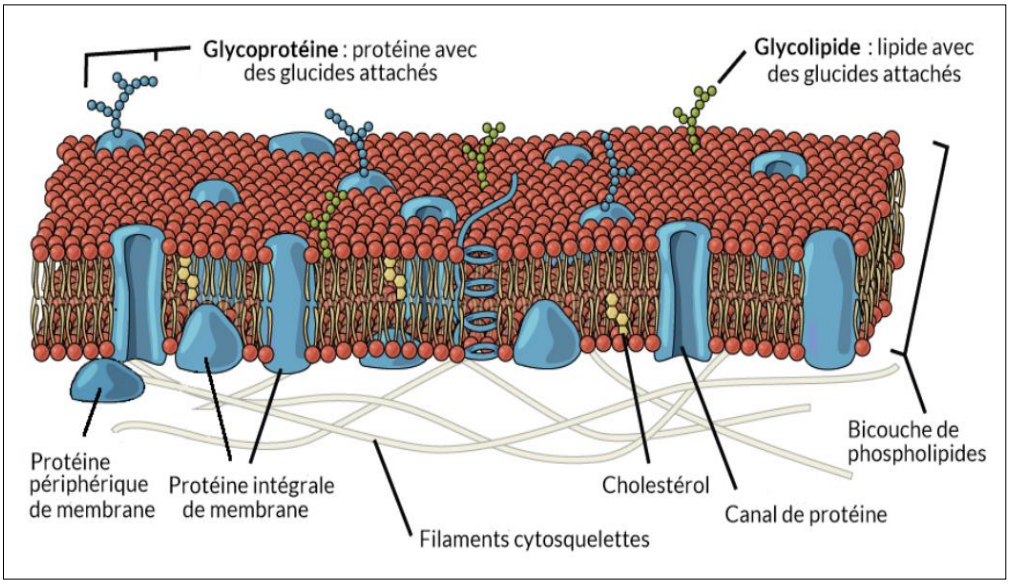


Figure 34. Modèle de membrane plasmique proposé par Singer et Nicholson (1972) (web21)

• **mosaïque :** La membrane présente une composition très hétérogène, avec la présence de protéines intégrales, de divers lipides (montrant une différence de composition entre les feuillets interne et externe), et de sucres complexes, qui coexistent presque indépendamment les uns des autres **(Bassaglia, 2013)**.

• **Fluide :** Les phospholipides et les protéines membranaires peuvent se déplacer dans le plan de la membrane. En outre, la membrane est un corps parfaitement déformable dans les trois directions de l'espace. Par exemple, la membrane peut onduler et les phospholipides peuvent effectuer trois types de mouvements : diffusion latérale, rotation, et flip-flop. Les protéines, quant à elles, peuvent bouger dans cette membrane par rotation, diffusion latérale. La formation d'une petite coiffe, ou capping, nécessite et consomme de l'ATP **(Bassaglia, 2013)**.

2.3.1. Différenciations morphologiques

- **Différenciations apicales : les microvillosités**

Pour augmenter la surface d'échange, la membrane se replie en formant des expansions appelées microvillosités. Selon le type de cellule, on peut identifier un plateau strié, une bordure en brosse ou des stéréocils.

La microscopie révèle que chaque microvillosité apparaît comme une évagination recouverte d'une membrane, ornée d'un glycocalyx particulièrement développé à son sommet, et dont l'axe est occupé par de fins microfilaments d'actine. **(Callen, 2005).**

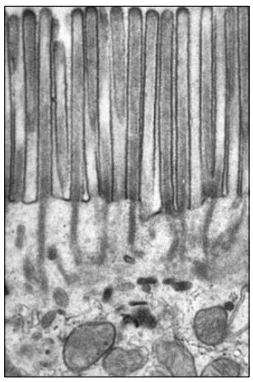


Figure 35. Epithélium unistratifié prismatique cylindrique (Waharte, 2002)
Intestin grêle, plateau strié constitué de microvillosités parallèles les unes aux autres

- **Différenciations basales : les invaginations**

Des invaginations profondes sont présentes du côté basal des cellules épithéliales, participant ainsi, dans les échanges actifs **(Callen, 2005)**.

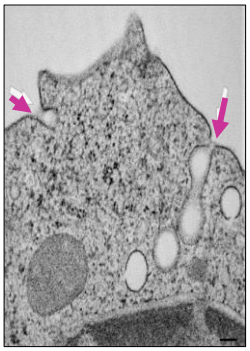


Figure 36. Invagination de la membrane plasmique (Callen, 2005)

- **Différenciation latéro-basales : les interdigitations et les jonctions**

Les interdigitations latérales : dans les épithéliums, les cellules entretiennent des relations bien précises grâce aux interdigitations latérales. Il s'agit d'emboîtements des membranes plasmiques des cellules voisines. Ces structures assurent la cohésion et l'adhésion entre les cellules, mais elles disparaissent lorsque la taille ou la forme de ces cellules change **(Callen, 2005)**.

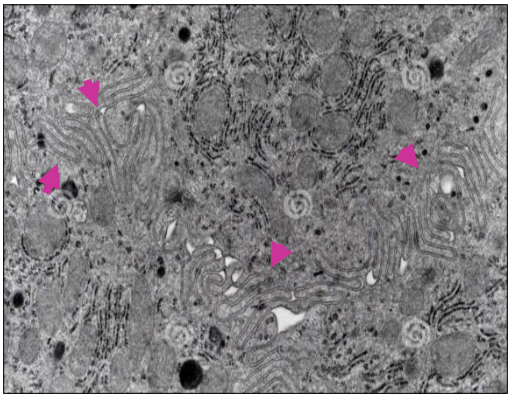


Figure 37. Interdigitation cellulaire joignant la surface latérale de quatre cellules épithéliales web22

2.3.2. Les jonctions : ces régions différenciées de la membrane plasmique sont responsables de l'adhérence intercellulaire Elles sont classées en fonction de :

La configuration *en zonula* (forme d'une ceinture), *fascia* (forme de plaque) et *macula* (forme d'un point) ;

L'espace intercellulaire, on distingue : l'*occludens*, l'*adherens* et la *gap* **(Bassaglia, 2013 ; Boujard *et al.*, 2015)**.

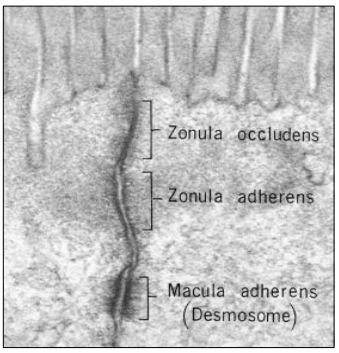


Figure 38. Jonctionnels des cellules épithéliales intestinales Web 23

a. Les jonctions serrées ou *zonula-occludens* : sont des connexions imperméables entourant la cellule au niveau du pôle apical, notamment dans les épithéliums monocouches. Elles créent des barrières qui bloquent totalement la diffusion latérale des protéines, fermant ainsi complètement l'espace intercellulaire **(figure 39)**.

Elles sont composées d'**occludines** et de la **claudine**, des molécules indépendantes du calcium, ainsi que d'**immunoglobulines**, dont les **JAM (Junctional Adhesion Molecule)**. Sur le plan cytoplasmique, on trouve des protéines spécifiques appelées **ZO**, qui interagissent avec les molécules de la jonction tout en ancrant les microfilaments d'actine, grâce à la **cinguline** qui sert d'adaptateur entre les protéines ZO et le cytosquelette **(Boujard *et al.*, 2015)**.

b. Les jonctions intermédiaires ou *zonula-adherens* : sont des liens qui entourent la cellule au niveau du pôle apical, juste en dessous des zonula occludens, et laissent un espace intercellulaire plus large que les jonctions serrées **(figure 39)**.

Composées de **cadhérines** et des **nectines**, des immunoglobulines spécifiques ancrées sur une plaque dense cytoplasmique. L'interaction entre les microfilaments d'actine et les cadhérines est facilitées par les **caténines**. La **ponsines** et l'**afadine** contribuent pareillement avec les nectines **(Boujard *et al.*, 2015)**.

c. Les desmosomes ou *macula-adherens* : principalement présentes dans les épithéliums, là où les filaments intermédiaires forme des plaques d'ancrage, d'où le terme « *macula* ». En plus de favoriser l'adhérence intercellulaire, ces zones contribuent à maintenir la forme des cellules et à renforcer la résistance cytoplasmique. Les desmosomes sont composés de **desmocolline** et de **desmogléine**, des cadhérines

spécifiques dépendantes du calcium qui forment des interactions homophiles et hétérophiles entre elles, ainsi que des molécules de Ig_s **(figure 39)**. La plaque dense, de forme arrondie, est constituée de desmoplakine, sur laquelle s'ancrent les filaments intermédiaires de cytokératines. Il est important de noter que, la **plakoglobine** et la **plakophiline**, jouent un rôle d'intermédiaire entre les molécules transmembranaire et les molécules de la plaque dense **(Bassaglia, 2013).**

d. Les hémidesmosomes : situés au niveau du pôle basal, ils forment des jonction grâce à l'interaction entre les intégrines des hémidesmosomes et les laminines de la lame basale **(figure 39)**. Comme les desmosomes, les hémidesmosomes possèdent une plaque dense qui sert à ancrer les filaments intermédiaires de cytokératine, assurant à la fois une solidité mécanique et le maintien de la cohésion cellulaire **(Bassaglia, 2013).**

e. Les jonctions communicantes de type nexus ou jonction gap : se situent au niveau des faces latérales des cellules telles que les cellules épithéliales, fibroblastes, cellules musculaires, osseuses, neurones, etc. elles sont composées de plusieurs centaines de canaux bidirectionnels, associés entre les cellules adjacentes. Chaque canal, appelé connexon, est formé de six sous-unités, chacune étant une connexine composée de quatre segments transmembranaires. Les nexus permettent une coopération métabolique intercellulaire en fonction du gradient de concentration d'ions et de petites molécules, facilitant ainsi le transfert d'informations (comme les 2^{nd} messagers tels que l'AMPc, le Ca^{2+} et certaines enzymes). Ces jonctions ne sont pas permanentes et ont une demi-vie d'environ 24 heures **(figure 39) (Bassaglia, 2013)**.

Point cours

Faire le lien entre la structure de la membrane et les éléments de la jonction cellulaire

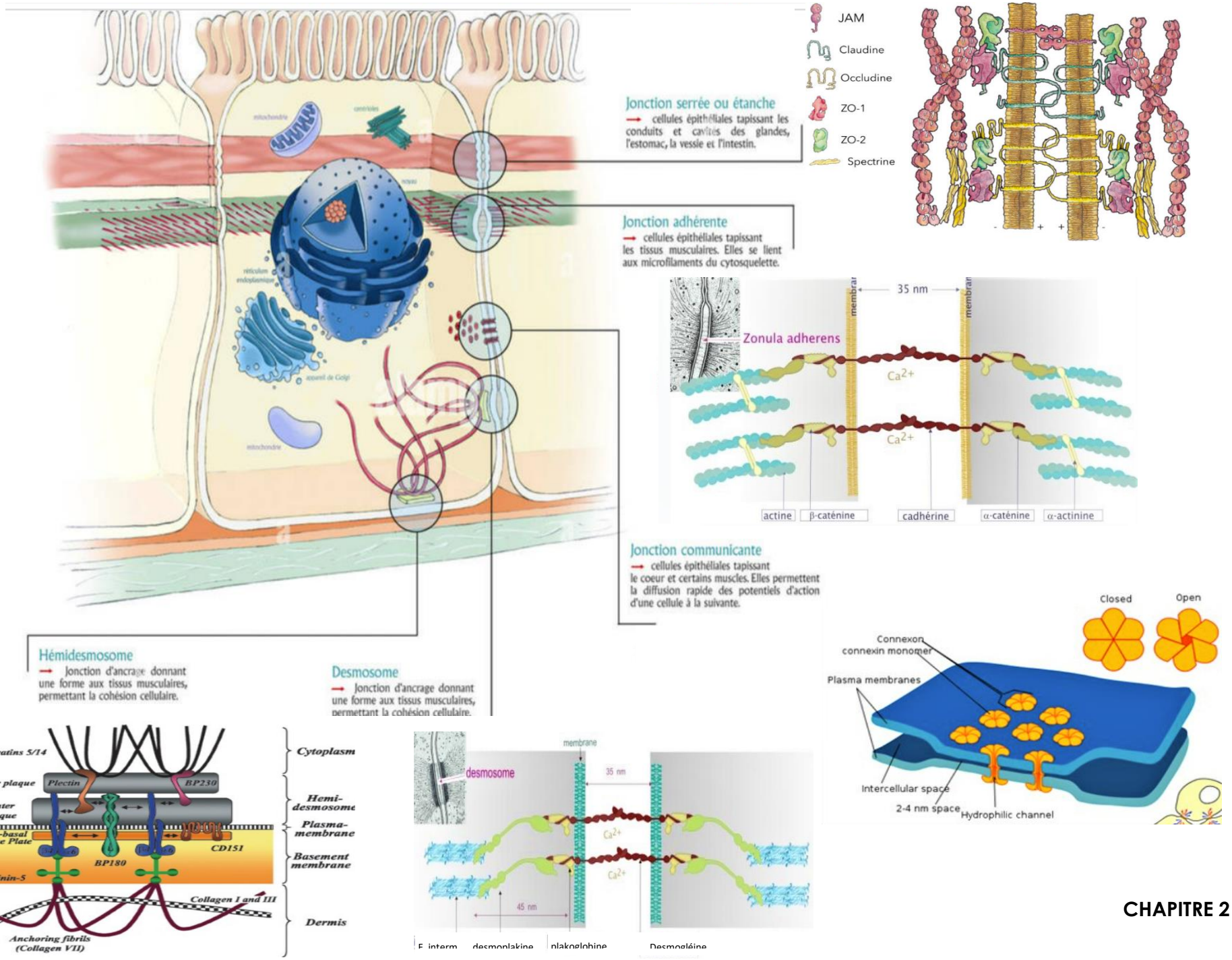


Figure 39. Les différents types de jonctions cellulaires web 24

2.4. Les protéines d'adhésion et de reconnaissance cellulaire

L'adhérence cellulaire est une fonction essentielle que les organismes supérieurs ont développée pour permettre la formation de tissus et d'organes, indispensable à la survie de l'individu. Ce processus commence dès la fécondation et continue pendant les premiers stades du développement embryonnaire, en faisant intervenir des molécules d'adhérence. Ces molécules facilitent deux types d'adhésion : l'adhérence intercellulaire via les CAMs, et l'adhérence des cellules à la matrice extracellulaire ou à un ligand matriciel soluble grâce aux SAMs.

2.4.1. La matrice extracellulaire

a. Généralités

La matrice extracellulaire (MEC) est secrétée localement par les cellules d'un tissu et assemblés selon un maillage organisé. Elle est composée par l'association de trois grandes classes de macromolécules **(Marieb et Hoehn, 2013)** :

- *Des protéines fibreuses :* principalement les fibres de collagène (I, II, III dans le tissu conjonctif et IV dans la lame basale) et les fibres élastiques **(Kadler *et al.*, 2007).**
- *Des glycoprotéines :* elles jouent un rôle crucial dans l'adhésion des différentes molécules de la matrice extracellulaire (MEC) entre elles, ainsi que dans la liaison entre les molécules de la MEC et les cellules. Un exemple de ces glycoprotéines inclut la fibronectine et la laminine.

La fibronectine est constituée de deux chaînes, chacune composée de 2446 acides aminés, reliées à leurs extrémités C-terminales par des ponts disulfures **(figure 40)**. Elle permet l'adhérence des cellules à la matrice en se liant aux intégrines, au collagène et aux protéoglycanes via des sites de fixation spécifiques RGD [Arginine-Glycine-Aspargine] **(Larsen, 2006 ; Astrof et Hynes, 2009).**

La laminine est une glycoprotéine trimérique typique des lames basales. Elle se compose de trois longues chaînes polypeptidiques (α, β et γ) liées par des ponts disulfures, qui s'enroulent pour former une structure en croix **(figure 40)**. Elle possède principalement des sites de liaison pour le collagène de type IV, les cellules et les protéoglycanes. Le collagène IV et la laminine constituent l'ossature de la lame basale **(Durbeej, 2010).**

Le nidogène ou entactine est une glycoprotéine, formant un complexe stable avec la laminine. Elle se compose d'une unique chaîne polypeptidique, repliée en trois domaines globulaires : G1 et G2 à l'extrémité N-terminale, et G3 à l'extrémité C-terminale **(figure 40)** ; les deux premiers sont séparés du troisième par un bâtonnet formé par la succession de cinq motifs EGF-like **(Aumailley et Verrando, 1993).**

- *Des glycosaminoglycanes (GAG) :* ce sont des chaînes de polysaccharides généralement liées de manière covalente à des protéines pour former des protéoglycanes (PG), tels que l'agrécane et le perlecan **(Iozzo and Schaefer, 2015).**

La variation des proportions de ces molécules entraîne des morphologies tissulaires distinctes : dans les tissus conjonctifs (comme les tissues conjonctifs lâches, osseux ou cartilagineux), la MEC forme une structure lâche, permettant aux cellules, dispersées dans la MEC, de se déplacer. En revanche, dans les tissus épithéliaux, les cellules sont organisées en couches et reposent sur une MEC mince et compacte : la lame basale.

b. Fonctions

Fonctions de la matrice extracellulaire

- La matrice extracellulaire joue un rôle essentiel dans la formation, le maintien et le remodelage des structures tissulaires ; les fibres de collagène offrent une résistance face aux forces de traction. Chez les animaux, les tissus conjonctifs lâches renferment un réseau complexe de collagène et de protéines fibreuses, immergé dans un gel hautement hydraté composé principalement d'acide hyaluronique et de protéoglycanes. Ce gel facilite également la diffusion de l'eau, des ions, des nutriments et des autres agents de signalisation intercellulaire.
- Les glycosaminoglycanes confèrent une endurance aux forces de compression
- La MEC est impliquée dans la régulation de la croissance, de la prolifération et de la survie cellulaire **(Marieb et Hoehn, 2013)**.

Fonctions de la lame basale

- La lame basale assure un support mécanique aux épithéliums, servant d'interface et de point d'ancrage entre ceux-ci et les tissus conjonctifs. Elle joue également un rôle crucial dans la régénération tissulaire **(McKee *et al.,* 2009 ; Gilbert *et al.,* 2010 ; Gershlak *et al.,* 2013).**

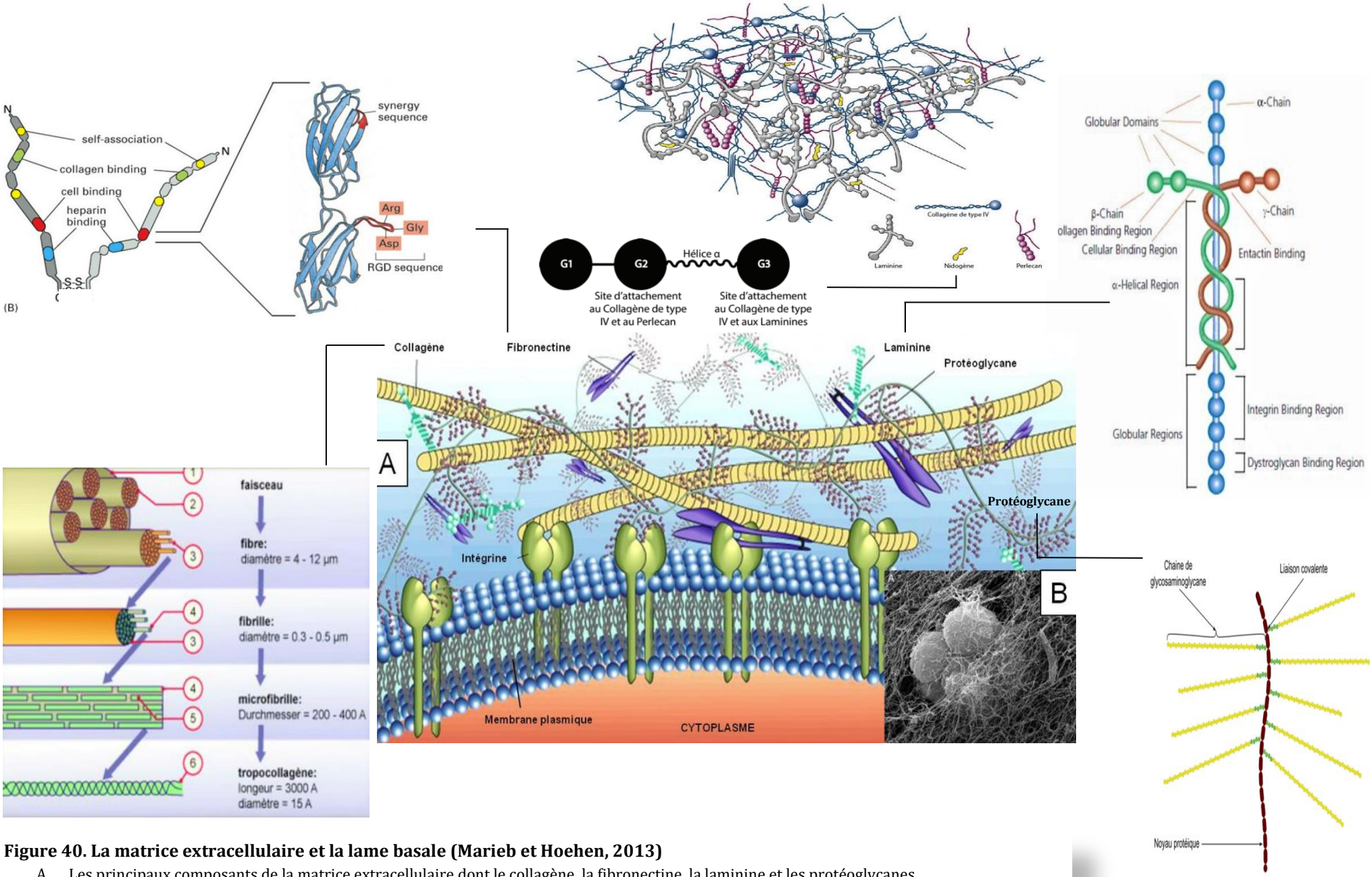


Figure 40. La matrice extracellulaire et la lame basale (Marieb et Hoehen, 2013)

A. Les principaux composants de la matrice extracellulaire dont le collagène, la fibronectine, la laminine et les protéoglycanes
B. Macrophage fixé sur une matrice extracellulaire observé par microscopie électronique.

2.4.2. Classification des molécules d'adhérence

L'adhérence fait intervenir différents types de molécules :

- **Les CAMs** (*cell Adhesion Molecules*) : ce sont des molécules membranaires impliquées dans les interactions cellule-cellule, comme les immunoglobulines (Ig), les sélectines, les cadhérines et les intégrines.
- **Les SAMs** (*Substrate Adhesion Molecules*) : elles interviennent dans les interactions cellule-MEC ou cellule-ligand soluble, comme les intégrines associées aux protéoglycanes.

Une même cellule est souvent porteuse simultanément de plusieurs CAMs et SAMs. Les interactions moléculaires peuvent être de type **homotypique** ou **hétérotypique**, **homophiliques** ou **hétérophiliques.**

a. les CAMs

On distingue deux types de CAMs selon que l'adhérence intercellulaire est Ca^{2+} dépendante exemple : les Cadhérines, les sélectines et les intégrines ; ou Ca^{2+} indépendante comme la superfamille des immunoglobulines (Ig-CAMs).

- **Les Cadhérines**

Structure : ce sont des glycoprotéines transmembranaires de 720 à 740 AA. La partie extracellulaire varie d'un tissu à un autre et présente des domaines de liaison au Ca^{2+}. La partie intracellulaire correspond à une succession d'acide aminés dont la fonction principale est la liaison avec le cytosquelette par l'intermédiaire des Caténines α, β, γ **(figure 41)**. La partie centrale hydrophobe permet le rattachement à la membrane cellulaire **(Alberts *et al.,* 2008)**.

Localisation : les Cadhérines sont localisées dans les zones de jonction d'adhérence : les *zonula adherens* et les desmosomes. Elles sont impliquées dans des liaisons homophiles homotypiques, et hétérophiles à des intégrines et des protéines de la MEC. Il existe une Cadhérine spécifique pour chaque type de tissu. Ex. E. Cadhérine dans les tissus épithéliaux, N. Cadhérine à la surface des neurones et des cellules cardiaques, L. Cadhérine à la surface des hépatocytes et les P. Cadhérines dans le placenta **(Alberts *et al.,* 2008)**.

Rôles : Les Cadhérines permettent la construction des tissus. Elles jouent un rôle important dans la cohésion intercellulaire ; dans les épithéliums elles constituent des liens transmembranaires connectant les cytosquelettes d'actine afin de maintenir la polarité cellulaire et le transport des nutriments à travers les couches cellulaires. Ces

molécules d'adhérence sont également impliquées dans des processus physiologiques tels que le phénomène d'inhibition de contact **(Alberts *et al.,* 2008)**.

Le phénomène d'**inhibition de contact** fait référence au mécanisme par lequel des cellules saines en culture arrêtent de proliférer lorsqu'elles couvrent toute la surface du milieu de culture. On dit que la culture a atteint le stade de **confluence** ; c'est donc le contact entre les cellules qui inhibe les divisions grâce à l'expression de cadhérines. En revanche, les cellules cancéreuses ne sont pas sensibles à ce phénomène et continuent à se multiplier.

- **Les Sélectines**

Structure biochimique : ce sont des glycoprotéines sous forme de monomère transmembranaire. Ces lectine Ca^{2+} dépendantes ont la spécificité de reconnaitre les motifs glucidiques (sialyl-lewis) des glycoprotéines des glycolipides des autres membranes cellulaires. Elles sont ainsi impliquées dans des liaisons hétérophiles et hétérotypiques **(figure 42) (Cavaille, 2012)**.

Localisation : les Sélectines sont exprimées à la surface de nombreux types cellulaires ; on trouve les Sélectines P et E dans les cellules endothéliales ; la Sélectine L dans les leucocytes et les plaquettes sanguines. Contrairement à toutes les autres molécules d'adhérence, les Sélectines n'existent pas en permanence à la surface des cellules ; elles interviennent dans des liaisons brèves de très haute spécificité puis très rapidement lysées **(Cavaille, 2012)**.

Rôles : les Sélectines sont impliquées dans l'inhibition de contact régulant la croissance cellulaire et dans la migration des leucocytes lors des phénomènes inflammatoires interactions hétérophiles lors de la diapédèse) **(Cavaille, 2012)**.

- **Les immunoglobulines CAMs**

Structure biochimique : les Igs sont des glycoprotéines transmembranaires calcium indépendante riche en acide sialique, présentant un domaine extracellulaire composé de 1000 AA organisés en boucles spécifiques fermées par des ponts disulfures, d'un domaine transmembranaire et d'un domaine intracellulaire de composition variable **(figure 43) (Alberts *et al.,* 2008)**.

Localisations : Actuellement, plus d'une trentaine d'Ig sont identifiées ; ces molécules sont exprimées à la surface de nombreux types cellulaires Ex : N-CAMs assurant la liaison neurone-neurone ou neurone cellule musculaire ; Ng.CAMs qui lient les cellules gliales aux neurones ; les cellules endothéliales expriment des I.CAMs **(Alberts *et al.,* 2008)**.

Rôles : ces molécules, exprimées de façon constitutive à la surface de la membrane plasmique, établissent des liaisons homophiles ou hétérophiles avec les protéoglycanes de la MEC et les intégrines **(Alberts *et al.,* 2008)**.

La migration trans-endothéliale des leucocytes comprend les étapes suivantes **(figure 45)** :

- Phase de circulation : au cours de l'infection, les chémokines libérés activent l'endothélium et les leucocytes circulants ;
- Phase d'adhésion des leucocytes : les cellules endothéliales expriment initialement des E-sélectines, attirant ainsi les leucocytes circulants vers l'endothélium, où ils adhèrent via leurs motifs glucidiques ;
- Phase de roulement : Expression alternée des E puis des P-sélectines par les cellules endothéliales ainsi que des L-sélectines par les leucocytes. Ces interactions induisent le roulement des leucocytes sur l'endothélium ;
- Phase d'aplatissement : le roulement des leucocytes active leurs intégrines, qui se lient alors aux ICAMs endothéliales entraînant un aplatissement des cellules leucocytaires ;
- Phase de diapédèse (passage trans-endothélial) : un relâchement temporaire des jonctions d'adhérence permet le passage des leucocytes vers le tissu conjonctif environnant ;
- Mouvement amiboïde : les leucocytes se déplacent par mouvements amiboïdes impliquant des interactions intégrine-molécules de la matrice conjonctive, pour atteindre les germes et les neutralises par phagocytose.

b. Les SAMs

Les SAMs sont classées en deux groupes : les intégrines et les non intégrines.

- **Les intégrines**

Structure chimique : glycoprotéines transmembranaires composées de deux chaines différentes α et β **(figure 45)**. La chaine α possède une extrémité extracellulaire N-terminale calcium dépendante, tandis que la chaine β est connectée, dans la partie intracellulaire, aux protéines du cytosquelette, notamment l'actine, via la taline, la vinculine et l'α-actinine dans les contacts focaux, ou à des filaments intermédiaires dans les hémidesmosomes **(Yamada *et al.,* 1995).**

Localisations : elles sont exprimées à la surface de nombreuses cellules et interagissent avec des composants de la matrice extracellulaire et de la lame basale, tels que les fibronectines, les laminines et le collagène. Elles établissent également des interactions hétérogènes avec des immunoglobulines et des cadhérines, ainsi qu'avec le cytosquelette **(Yamada *et al.,* 1995)**.

Rôles : elles interviennent non seulement dans l'adhérence des cellules mais aussi dans leur migration au cours de la morphogénèse embryonnaire ainsi que dans les phénomènes d'agrégation plaquettaire **(Humphries, 1996 ; Howe *et al.,* 1998)**.

- **Les non intégrines**

Les non intégrines sont des molécules hétérogènes regroupant des protéoglycanes et des glycoprotéines comparables à ceux de la matrice extracellulaire mais qui restent insérés à la membrane plasmique.

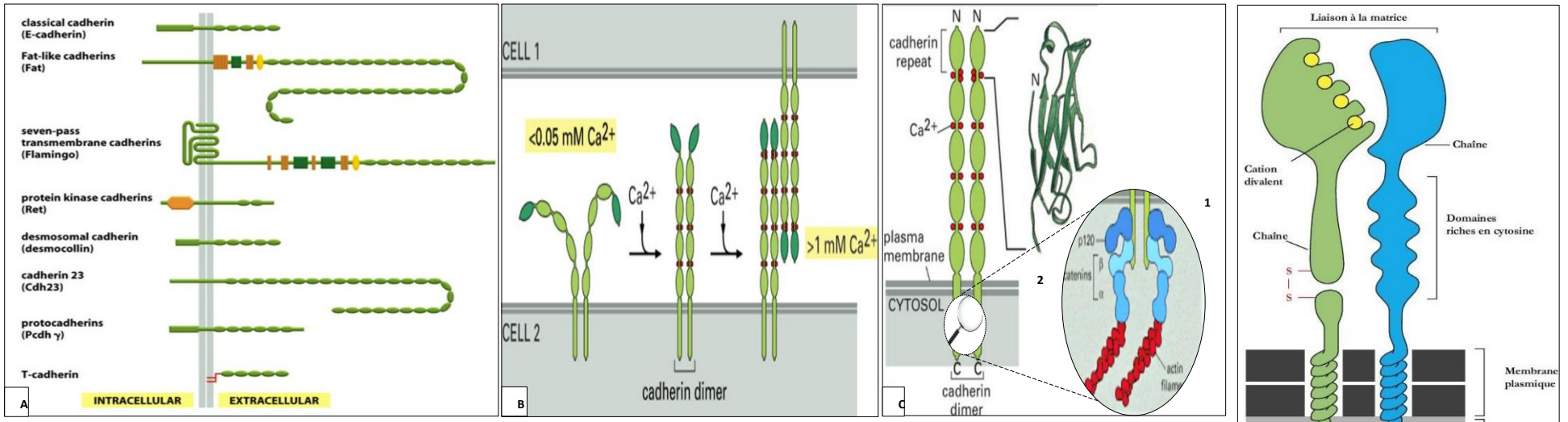


Figure 41. Les différents membres de la superfamille des cadhérines (Alberts *et al.*, 2008)

A) Les différents membres de la superfamille des cadhérines. **B**) Effet du Ca^{2+} extracellulaire sur la structure des cadhérines (forme monomérique et dimérique). **C)** Protéines impliquées dans la liaison avec les éléments du cytosquelette (**1.** Molécule de cadhérine : homodimère ; **2.** Motif répété de molécule de cadhérine qui ressemble à un domaine d'Ig

Figure 44. Structure de l'intégrine (Web 25)

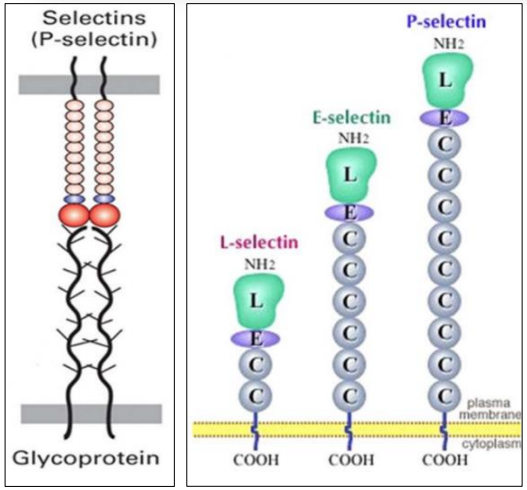


Figure 42. Structure et différents types de selectines (Cavaille, 2012)

L : site lectine Ca^{2+} dépendant ; **E** : domaine EGF-like ; **C :** séquences consensus répétées

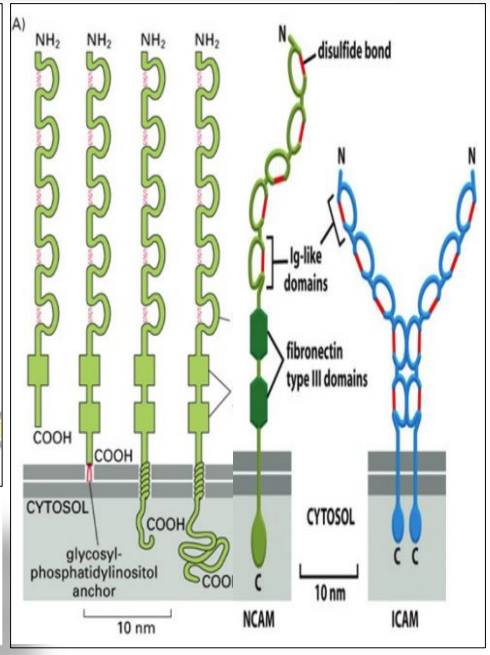


Figure 43. Structure des CAM de la super famille des immunoglobuline Igs (Alberts *et al.*, 2008)

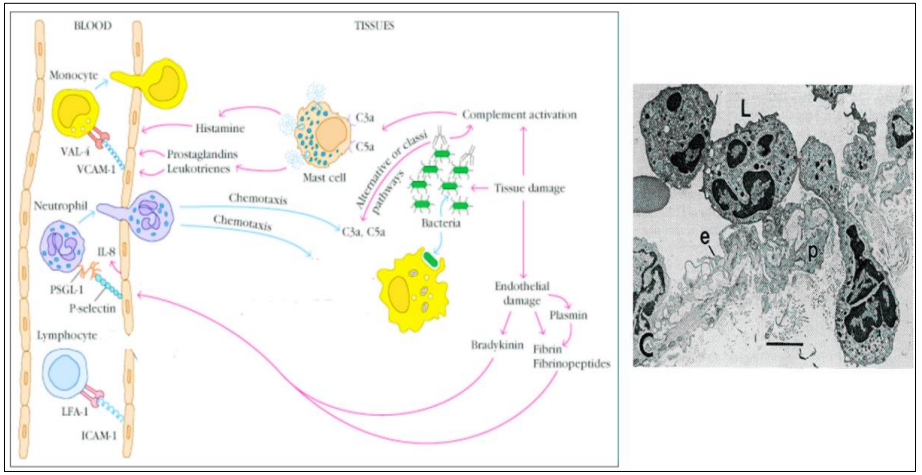


Figure 45. Phénomène de diapédèse (Cavaille, 2012)

2.5. Les échanges membranaires : transport passif, actif et vésiculaire

La membrane plasmique constitue une frontière entre le cytoplasme et le milieu extracellulaire. Elle permet un transport spécifique et sélectif de diverses molécules, de différentes tailles, entre ces deux milieux. Cette perméabilité s'effectue par deux mécanismes **(Byrne et Schultz, 1997)** :

- Un mécanisme perméatif des substances de poids moléculaire faible et des ions, se déroulant à l'échelle moléculaire et ne déformant pas la membrane plasmique. Ce processus regroupe les transports passifs et les transports actifs.
- Un mécanisme cytosolique se déroulant à l'échelle cellulaire et entraînant des déformations membranaires. Il regroupe le phénomène d'endocytose et d'exocytose. Ce processus concerne les molécules de poids élevé ainsi que les bactéries dans le cas des macrophages.

2.5.1. Echanges sans déformation de la membrane plasmique

Il s'agit de transports de petites molécules, sans intervention du cytosquelette.

a. Transport passif : ce type de transport permet le déplacement des molécules en suivant leur gradient de concentration, allant de la zone de concentration la plus forte vers celle où elle est plus faible, sans utilisation d'énergie cellulaire (ATP). Il se divise en quatre catégorie **(Favro et Nicolle, 2011)** :

a1. *Diffusion simple* (sans perméases) : à travers la bicouche lipidique, elle concerne les gaz (CO_2, O_2, NO), éthanol, stérol, urée et les molécules anesthésiques, médicaments liposolubles, ce mouvement est conditionné par **(Favro et Nicolle, 2011)** :

- La taille des molécules : la vitesse à laquelle une molécule pénètre est inversement proportionnelle à son volume ;
- Le coefficient de partition : au-delà d'une certaine taille, la pénétration dépend du coefficient de partition (CP) ; plus ce rapport est élevé, plus le passage des substances est facilité.

$$CP = \frac{\textit{solubilité dans les lipides}}{\textit{solubilité dans l eau}}$$

- L'absence de charge : une molécule hydrophile chargée, même de petite taille, ne peut pas traverser la bicouche lipidique **(Favro et Nicolle, 2011)**.

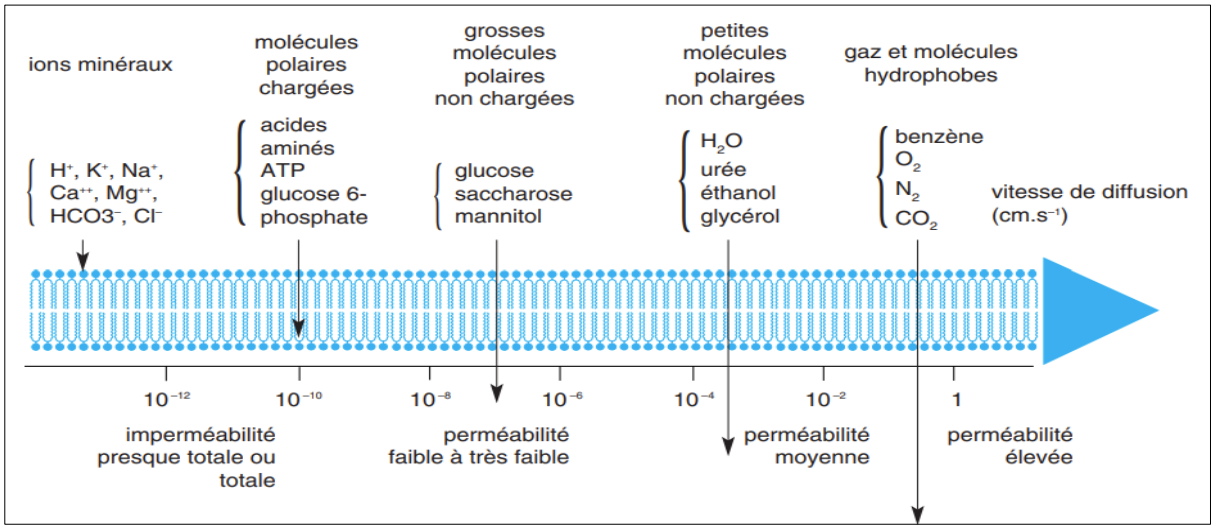


Figure 46. Passage de diverses catégories de molécules et d'ions à travers les bicouches lipidiques artificielles (Callen, 2005), les valeurs des coefficients de perméabilité sont ($cm.s^{-1}$)

a2. Diffusion facilitée : le transport des ions (Na^+, K^+, Cl^-) est assuré par des canaux protéiques, comme les canaux ioniques, tandis que les perméases facilitent le passage du glucose, des acides aminés et de divers métabolites cellulaires. Ces perméases créent un chemin protéique continu à travers la membrane, sans interaction directe avec le cœur hydrophobe de la bicouche lipidique **(figure 47)**. Ce processus dépend de la stéréospécificité, de la compétition et de la saturation des perméases **(Favro et Nicolle, 2011)**.

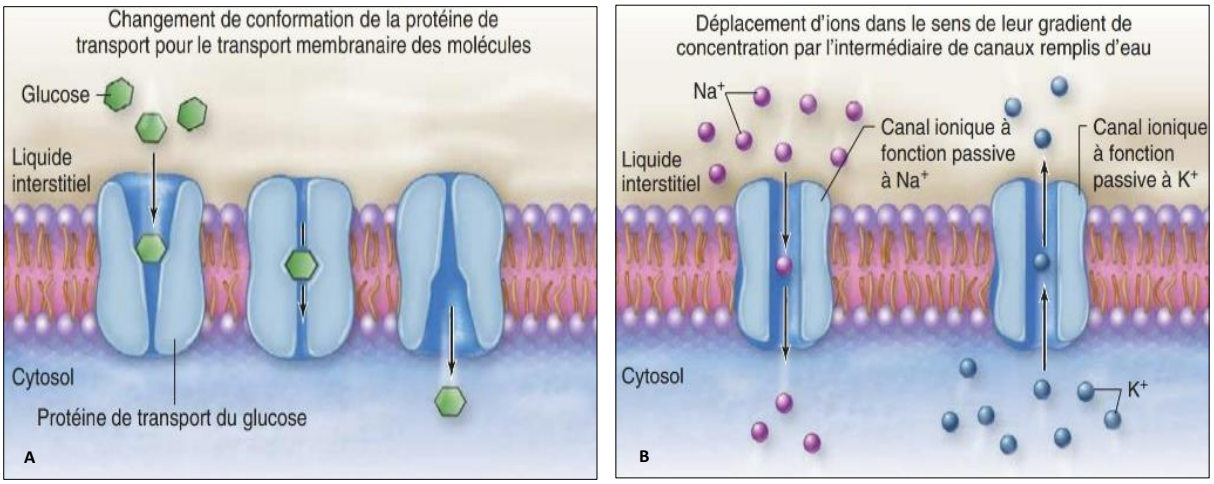


Figure 47. Diffusion facilitée des molécules.
A) diffusion facilitée par les transporteurs ; **B)** diffusion facilitée par des canaux **(Bassaglia, 2013)**

a3. Osmose : C'est le mouvement de l'eau à travers une membrane sélectivement perméable ; allant d'une solution de faible concentration vers une solution de forte concentration **(figure 48).** Ce mouvement génère une pression connue sous le nom de pression osmotique **(Favro et Nicolle, 2011)**.

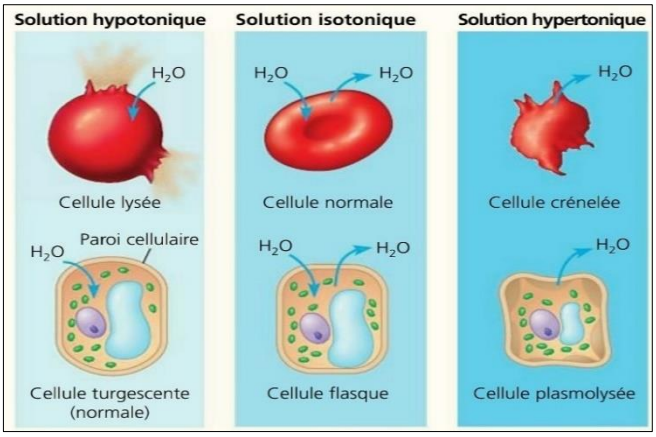


Figure 48. Les mouvements de l'eau à travers la membrane plasmique (web 26)

a4. Filtration : C'est un processus par lequel l'eau et les solutés traversent une membrane ou la paroie d'un vaisseau sous l'effet de la pression hydrostatique, se déplaçant d'une zone de haute pression vers une zone de pression plus faible. Par exemple, les urines constituent un produit de filtration sécrétés par les reins **(Favro et Nicolle, 2011)**.

b. Transport actif : les cellules nécessitent des protéines porteuses qui fonctionnent comme des pompes, transportant activement avec consommation d'énergie cellulaire certains solutés à travers la membrane contre leurs gradients de concentration **(Kotzki, 2011)**.

b1. Transport actif primaire cas de la pompe Na/K ATP ase dépendante

Une glycoprotéine transmembranaire composée de quatre sous-unités, dont deux grandes et deux petites, fonctionne en continu dans toutes les cellules. Elle extrait 3 ions Na+ et fait entrer 2 ions K+ dans la cellule conte leurs gradients électrochimiques. Ce double mouvement nécessite l'hydrolyse d'une molécule d'ATP en ADP. Le mécanisme de cette pompe peut être décrit ainsi :

- Phosphorylation de l'enzyme par hydrolyse de l'ATP en présence de Mg2+ ;
- fixation de 3Na+ sur un site récepteur situé sur la face intracellulaire de la pompe ;
- l'enzyme phosphorylée change de configuration et transporte les 3Na+ vers la face externe ;

-la déphosphorylation de l'enzyme entraîne la libération des 3Na+ à l'extérieur de la cellule et la fixation de 2K+ ;

- La molécule Na+/k+ ATPase reprend sa forme initiale en libérant les ions K+ à l'intérieur de la cellule **(Kotzki, 2011).**

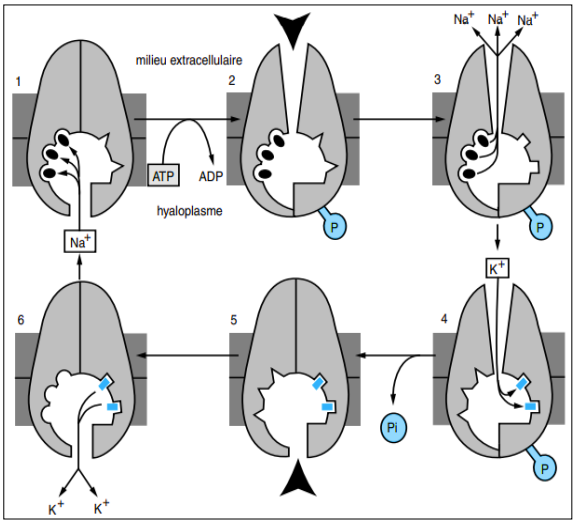


Figure 49. Model schématique illustrant le fonctionnement de la pompe Na+/K+ ATP dépendante des cellules animales (Callen,2005) ▶

b2. Transport actif secondaire ou co-transport : se déroule grâce à une perméase membranaire utilisant l'énergie non pas fournie par l'hydrolyse des molécules d ATP mais par le gradient électrochimique de l'ion co-transporté dans le sens de son gradient. Cette énergie dite secondaire permet le déplacement d'une molécule ou d'un ion contre son gradient de concentration. Lors d'un co-transport, des molécules peuvent se déplacer dans le même sens, c'est le symport ou dans des sens opposés, c'est l'antiport **(Kotzki, 2011)**.

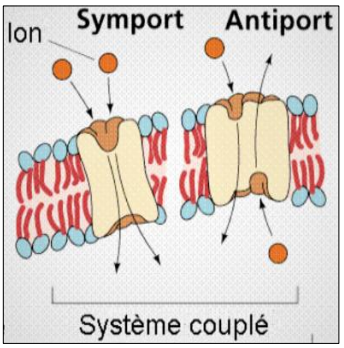


Figure 50. Transport actif II symport et antiport (Bassaglia, 2013) ▶

- ***Exemple de T.A.S. Antiport :*** Dans les membranes des cellules cardiaques, l'entrée passive du Na+ est couplée à la sortie active de Ca^{2+} **(Kotzki, 2011)**.

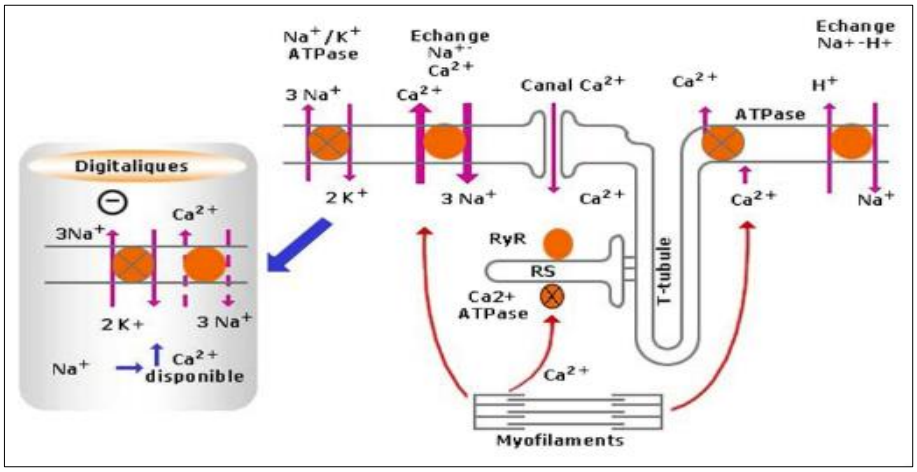


Figure 51. Mécanisme de co-transport antiport (Kotzki, 2011)

- ***Exemple de T.A.S. Symport***

La lumière intestinale est bordée par des entérocytes chargés de transporter le glucose de la lumière vers le sang. La membrane apicale de ces entérocytes contient des perméases symport (SGlut) qui possèdent un site spécifique pour le glucose et deux sites pour le Na^+. Ainsi, l'entrée du glucose est couplée à celle de l'ion Na^+. Lors de ce transport, deux ions sodium se fixent passivement à la SGlut, ce qui réduit le gradient de cet ion dans le milieu extracellulaire et l'augmente dans le milieu intracellulaire, formant un gradient sodique permettant la translocation active du glucose de la lumière intestinale vers le milieu intracellulaire. Les molécules de glucose vont ensuite diffusées vers le milieu extracellulaire à travers les perméases basale Glut2. Le pôle basal contient également des ATPases qui pompent le Na+ dans le milieu extracellulaire, rétablissant ainsi le gradient électrochimique **(Wright *et al.*, 2007).**

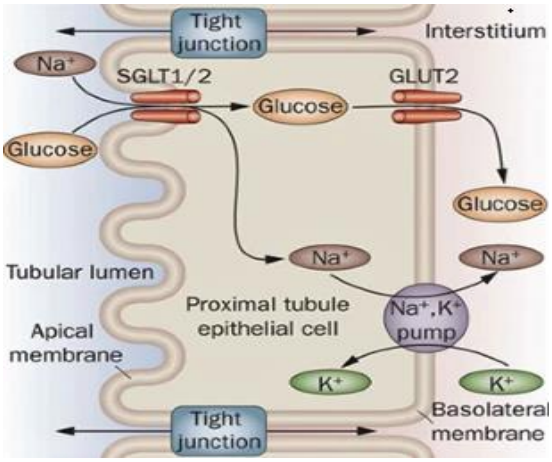


Figure 52. Réabsorption du glucose dans le tubule proximal (Mather et Pollock, 2011)

c. les différents types de transporteurs

Les protéines porteuses, les perméases ou les translocases, sont des protéines transmembranaires qui assurent la diffusion facilitée des molécules à travers la membrane sans dépense d'énergie cellulaire. Ces transporteurs sont à la fois spécifiques et saturables **(Byrne et Schultz, 1997)**.

- **les GLUT (Glucose transporteurs)** sont des perméases qui transportent le glucose. Il existe de nombreuses isoformes des perméases GLUT qui constituent, chez l'homme, une famille de 14 transporteurs d'hexoses (GLUT1 à GLUT14) **(Byrne et Schultz, 1997).**

Tableau 8: Distribution tissulaire et fonctions de quelques isoformes GLUT

Isoforme	FONCTION
GLUT1	Transport de glucose au niveau du globule rouge et à travers la barrière hémato-encéphalique
GLUT 2	- Absorption et transport bidirectionnel du glucose et du fructose dans les hépatocytes -Relâchement du glucose par les entérocytes et les cellules du rein -Senseur de glucose dans les cellules bêta du pancréas.
GLUT 3	Transport de glucose au niveau du cerveau, foie, rein muscle et placenta.
GLUT4	Exprimer par le tissu adipeux, muscle squelettique et cardiaque.

- **les aquaporines (AQP)** sont des perméases d'environ 300 acides aminés, organisées en 04 monomères délimitant un pore perméable pour absorber, conserver ou excréter les molécules d'eau à travers la membrane plasmique. Leur expression est contrôlée par les hormones notamment la vasopressine et inhibée par certaines molécules telles que le mercure. On distingue :

  - les aquaporines classiques qui ne transportent que de l'eau ;
  - les aqua-glycéro-porines qui permettent le passage de l'eau, glycérol et d'autres solutés de petite taille **(Byrne et Schultz, 1997 ; Edelblum, 2015)**

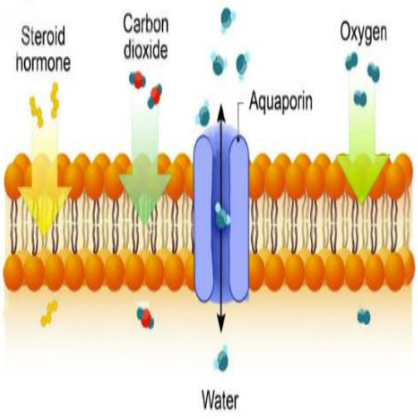


Figure 53. Transporteur de l'eau (web 27)

Il existe des systèmes de co-transports (uniports, symports et antiports) formés par l'association d'un transport actif couplé à un transport passif.

d. les canaux ioniques

Ces pores sont formés par des glycoprotéines transmembranaires à passages multiples, permettant aux ions de taille et de charge appropriées de traverser librement la bicouche lipidique. Très sélectifs, ils s'ouvrent ou se ferment en réponse à divers stimuli. On distingue différents types de pores selon leur nature **(Byrne et Schultz, 1997 ; Edelblum, 2015)** :

- **Les canaux de fuite de potassium** sont des pores qui restent constamment ouverts. Ils compensent le déséquilibre osmotique causé par la pompe à sodium et maintiennent le potentiel électrique de la membrane plasmique.

- **Les canaux ioniques voltage-dépendants** sont des canaux dont l'ouverture dépend du potentiel de membrane, exemple : canaux Na^+, K^+, Ca^{2+} et Cl^-.

- **Les canaux ligand-dépendants ou chimio-dépendants** sont des récepteurs canaux dont l'ouverture dépend de la fixation d'un ligand sur un site récepteur spécifique. Ces canaux ioniques existent dans toutes les cellules mais particulièrement dans les cellules excitables comme les neurones.

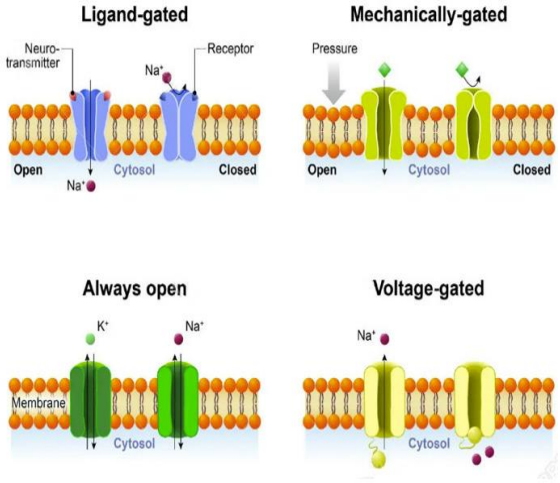


Figure 54. Les différents types de canaux ioniques (web 28)

2.5.2. Echange avec déformation de la membrane plasmique

Il s'agit du transport de grosses particules avec l'intervention du cytosquelette, comme dans le cas de l'endocytose et de l'exocytose.

a. Endocytose : ce phénomène inclut la *pinocytose* et la *phagocytose*, deux mécanismes permettant l'entrée de substances ou de microorganismes provenant de l'extérieur de la cellule. Par invagination, la membrane plasmique forme des vacuoles ou des vésicules qui contiennent le matériel à internaliser **(Lavoinne et Bekri, 2008)**.

- ***La pinocytose*** ou « action de boire », correspond à la capture de solutés par la cellule via de petites vésicules formées par le bourgeonnement de la membrane plasmique vers le cytoplasme. Quatre types distincts de vésicules existent **(Lavoinne et Bekri, 2008)** :

-les vésicules lisses non recouvertes : capture **non spécifique** de gouttelettes de liquide extracellulaire. Ces vésicules fusionnent avec la cellule pour former un **endosome précoce**, où leur contenu est libéré.

-les vésicules à clathrine : ce mécanisme est **hautement spécifique** et **sélectif**, impliquant des récepteurs dépendants de l'**adaptine**, localisés dans des zones spécialisées de la

membrane plasmique appelées **« puits recouverts »**, tapissés intérieurement de molécules de **clathrine**. La durée de vie des puits recouverts est courte : dans la minute qui suit la formation du complexe **ligand-récepteur**, ils s'invaginent dans la cellule et se détachent par pincement pour former des vésicules recouvertes de clathrine (coated vesicules), hérissées **(figure 55-57)**. Une fois qu'une vésicule à manteau est formée, la clathrine et les autres protéines d'enveloppe se dissocient de la membrane vésiculaire et retournent à la membrane plasmique pour former un nouveau puit recouvert.

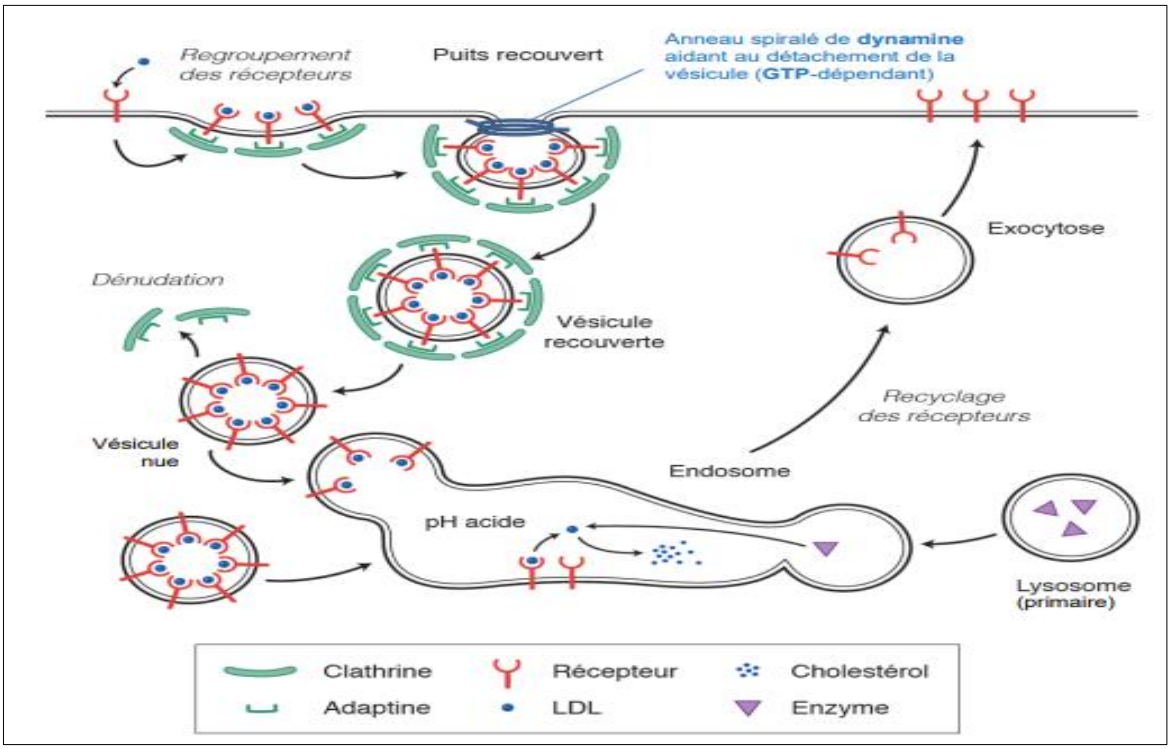


Figure 55. Endocytose par récepteurs interposés : cas des LDL. D'après Segarra et al. (2014)

-les vésicules de macropinocytose : il s'agit d'une endocytose **de solutés** dans des macropinosomes qui aboutit à la formation de vacuoles **non revêtues** et qui **ne fusionnent pas avec les endosomes (figure 58-A).**

-les cavéoles : endocytose qui a lieu au niveau des microdomaines membranaires **(rafts/ radeaux lipidiques)** recouvert intérieurement par **la cavéoline (figure 59)**. Après pincement, cette dernière donne naissance à des vésicules mesurant 50 à 100 nm de diamètre. Ce processus constitue chez l'homme une voie d'infection cellulaire par certaines toxines bactériennes (toxines du choléra) ou par certains virus et serait également une voie de signalisation cellulaire.

- ***La Phagocytose*** ou « action de manger », implique l'ingestion de particules solide voir même des germes **(figure 58 B-C)**. Ce processus consomme de l'énergie ; il est effectué par des cellules phagocytaires représentés par les macrophages et certains leucocytes. La phagocytose de déroule en 04 étapes **(Lavoinne et Bekri, 2008)** :

- adhésion de la particule à la membrane plasmique grâce à des récepteurs spécifiques ;
-formation de voiles hyaloplasmiques par déformation du cytosquelette ;
-séquestration de la particule et formation du phagosome ;
-fusion avec les lysosomes et hydrolyse du contenu

b. Exocytose : c'est le processus inverse de l'endocytose, au cours duquel le contenu des vésicules de transport ou de sécrétion est libéré dans le milieu extracellulaire. Il existe deux voies d'exocytose : l'une constitutive et l'autre contrôlée **(Lavoinne et Bekri, 2008) (figure 60 et 61)**.

- **la voie contrôlée (provoquée ou déclenchée) :** dans ce cas, les molécules sont concentrées dans des vésicules de sécrétion qui ne fusionnent avec la membrane plasmique et ne libèrent leur contenu qu'après réception d'un signal extracellulaire.

- **la voie constitutive :** de nombreuses protéines solubles ou lipides sont continuellement sécrétés hors de la cellule par un processus constant de transport vésiculaire. Ce transport se fait depuis le réseau trans de Golgi jusqu'à la membrane plasmique via des vésicules de transport.

Point cours

- Connaître les propriétés sélectives de la membrane plasmique
- Connaître les différents types de transports membranaires et leur principe de fonctionnement.
- Savoir distinguer le transport passif et actif (I et II)
- Connaître le principe de fonctionnement de la pompe Na+/K+ATPase.
- Connaître les principes d'endocytose et exocytose.

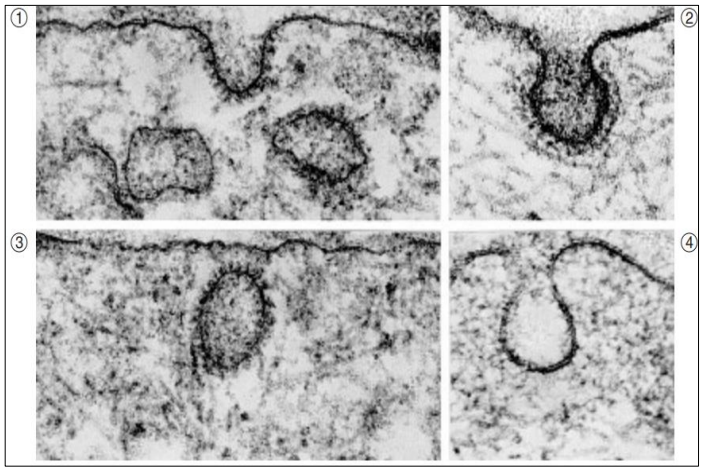


Figure 56. Micrographies illustrant le phénomène d'endocytose (x 100 000) (Callen, 2005).
(1) et (2) Vésicules d'endocytose en cours de pincement, recouvertes d'une enveloppe de clathrine. **(3)** Vésicule recouverte refermée, sous la surface de la membrane plasmique, avant qu'elle ait perdu son feutrage protéique. **(4)** Vésicule non recouverte.

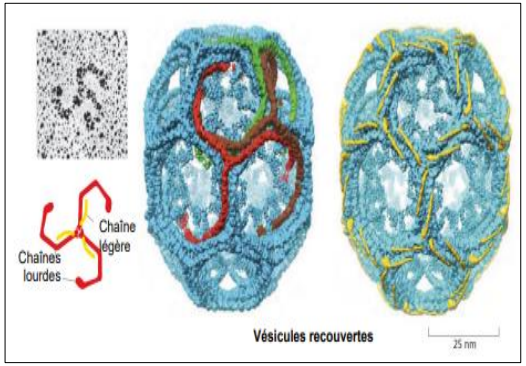


Figure 57. La clathrine d'après **Alberts et al. (2015)**

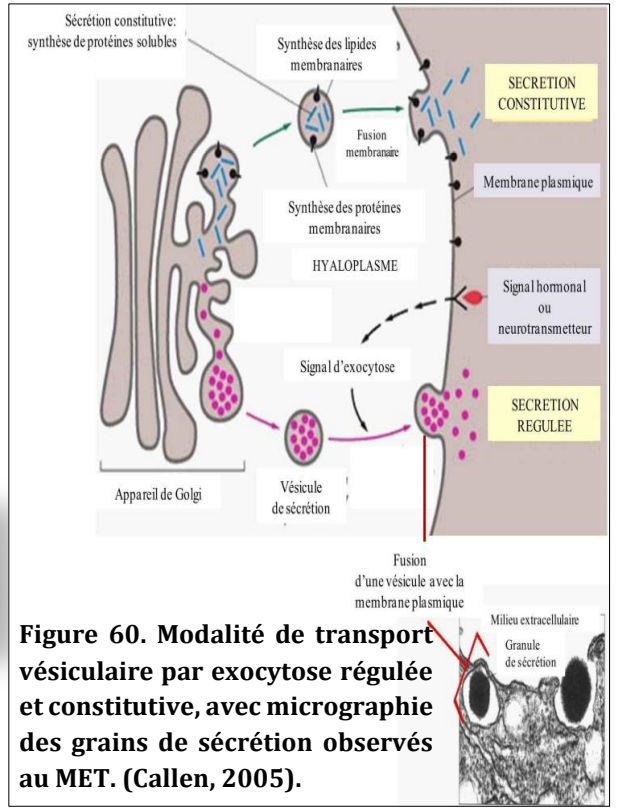


Figure 60. Modalité de transport vésiculaire par exocytose régulée et constitutive, avec micrographie des grains de sécrétion observés au MET. (Callen, 2005).

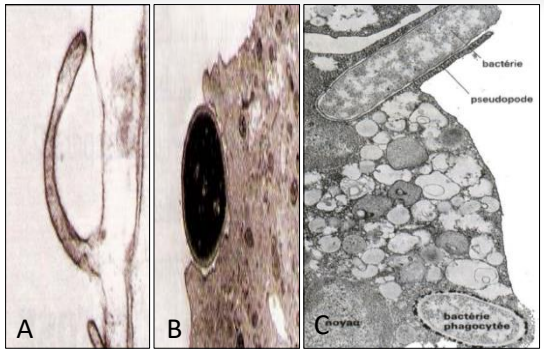


Figure 58. Microscopie de macropinocytose (A) et phénomène de phagocytose (B-C) (web 29)

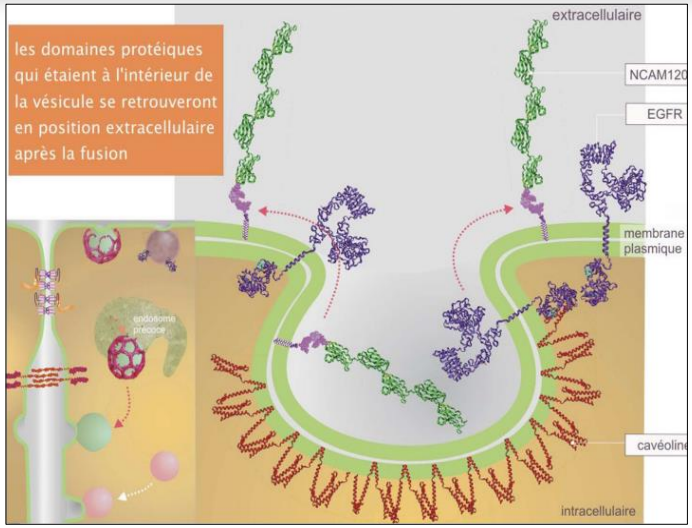


Figure 59. Vésicule à cavéoline (web 29)

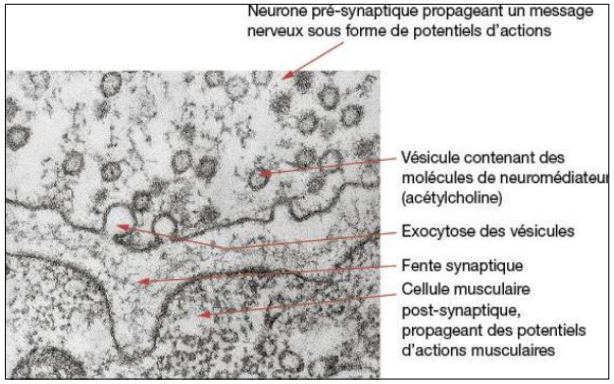


Figure 61. Neurotransmetteurs secrétés dans l'espace synaptique au moment de l'arrivée d'un potentiel d'action (web 30)

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

Pour acquérir une immunité, il est essentiel de développer une coopération entre les différentes cellules du système immunitaire. Généralement, ces cellules possèdent à la surface des structures moléculaires leurs permettant de détecter rapidement les antigènes **(Shekarian *et al.,* 2017).**

Les structures de reconnaissance de motifs moléculaires propres aux pathogènes sont appelées **PRRs** pour **Pattern Recognition Receptors.** Ces récepteurs de l'immunité innée se fixent à des domaines moléculaires présents sur les agents pathogènes eux-mêmes appelés **PAMPs** pour **Pathogen Associated Molecular Patterns** tels que lipopolysaccharide (LPS), flagelline, lipoprotéine, ARN, ADN de bactéries, de virus, de champignons et parasites **(Takeuchi et Akira, 2010).**

Ils peuvent également reconnaître les dommages endogènes **DAMPs** pour **Damage Associated Molecular Patterns** qui sont libérés lors d'un stress cellulaire, l'apoptose ou la nécrose telles que la protéine associée à la chromatine high mobility group box1 (HMGB1), les protéines du choc thermique (HSP) et l'hyaluronane (protéine de la MEC générées suite aux lésions tissulaires) **(Termmer *et al.,* 2002).**

La reconnaissance des DAMPs/PAMPs par Les PRRs conduisent à l'expression transitoire de gènes pro-inflammatoire ainsi que les cellules immunitaires. Cependant, une activation inappropriée des PRRs ont été liés au processus de l'inflammation chronique et aux maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux disséminé ou le psoriasis **(Wagner *et al.,* 2010 ; Llanos *et al.,* 2013).**

2.6.1. Les différentes classes de PRRs

Les PRRs peuvent être divisés en cinq types basés sur l'homologie du domaine protéique : les mieux connus sont les récepteurs **TLR (Toll Like Receptors)**. On peut citer également les **CLRs (C-type Lectin Receptors)**, les **NLRs (Nucleotide oligomerization domaine : NOD-Like Receptors), (RIG-l)-like receptors (RLRs) (Retinoic acid inducible gene-l** et **(AIM2)-like receptors (ALRs) (Absent in melanoma-2)**. Ces récepteurs sont notamment présents sur les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques et les polynucléaires **(Li et Wu, 2021).**

2.6.2. PRRs et mécanisme de reconnaissance des ligands

TLRs : Toll-like receptors

Les TLR sont des récepteurs de signal liés à la membrane et sont les plus importants PRR dans le système immunitaire inné des vertébrés **(Takeda et Akira, 2005; Fitzgerald et Kagan, 2020).** Les molécules réceptrices ont généralement deux fonctions, l'une est de se lier spécifiquement au ligand, et l'autre est de transmettre des signaux. En effet, la transduction de signal amplifiera l'effet de l'infection de sorte que les cellules immunitaires activées dans la réponse inflammatoire peuvent être activée par la transcription de gènes, et produisent et sécrètent une variété de facteurs pro-inflammatoires et antiviraux **(Kumar *et al.,* 2009 ; De Nardo, 2015 ; Lacagnina *et al.,* 2018)**.

Jusqu'à présent, chez l'homme, 10 TLR fonctionnels (TLR1-10) ont été trouvés, leur localisation cellulaire détermine les types de ligands et le mécanisme de reconnaissance. Certains TLR (TLR1, 2, 4, 5, 6, 10) sont exprimés à la surface des cellules immunitaires sous forme d'hétérodimères ou d'homodimères, reconnaissant principalement les composants membranaires des micro-organismes pathogènes, d'autres (TLR3, 7, 8, 9) sont exprimée sous forme d'homodimères, reconnaissent principalement les acides nucléiques de micro-organismes **(Figure 62) (Chuenchor *et al.,* 2014)**.

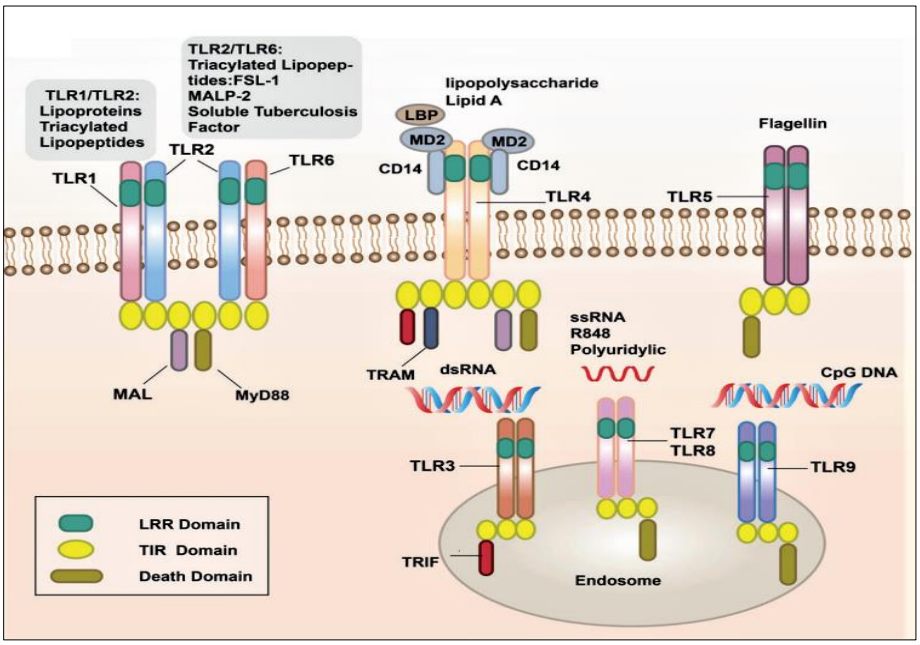


Figure 62. Les voies de transduction du signal TLR-ligand (Li et Wu, 2021)

Ils peuvent reconnaître un ou plusieurs PAMPs via le domaine LRR. Ils se dimérisent et recrutent des molécules adaptatrices avec le même domaine TIR pour transmettre des signaux

Les TLRs sont des glycoprotéines transmembranaires composés d'une région extracellulaire, d'une région transmembranaire et d'une région intracellulaire **(Kawai et Akira, 2010)**. La région extracellulaire contient des répétitions riches en leucine (LRR), qui sont responsables de la reconnaissance des ligands. Le domaine intracellulaire Toll/IL-1R (TIR) joue un rôle dans la transduction du signal **(Figure 63) (Brennan et Gilmore, 2018).** Le domaine LRR a la forme d'un fer à cheval, et chaque module est constitué d'un motif leucine conservé et d'une région variable. Le motif «LxxLxLxxN» (L leuc, x tout AA, N asn) est composé de 20 à 30 acides aminés (**Gay et Gangloff, 2007 ; Gao et Li, 2017).** Les extrémités N et C-terminale contiennent des ponts disulfures formés par des clusters de cystéine pour protéger le noyau hydrophobe **(Enkhbayar *et al.,* 2004 ; Matsushima et al., 2007).** Une fois que les TLR ont reconnu et lié les PAMPs et les ligands endogènes correspondants, les domaines TIR conduisent des signaux en se liant à différentes protéines adaptatrices de récepteurs dans la région cytoplasmique **(Xu *et al.,* 2000 ; Netea *et al.,* 2002).**

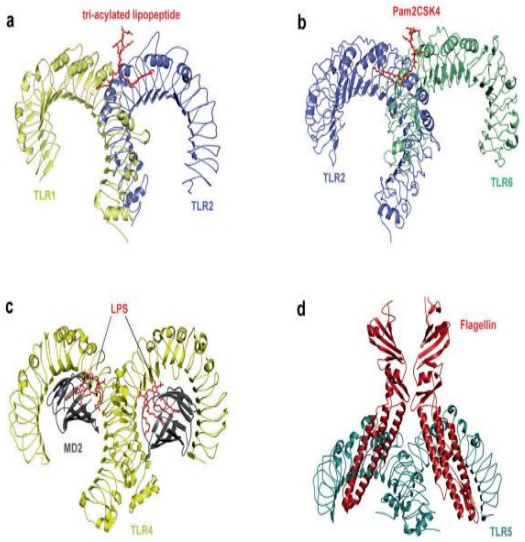


Figure 63. Structure cristalline des TLR avec des ligands (Li et Wu, 2021) Formation des complexes en forme M (a,b,et c) et queue à queue (d)

NLRs: NOD-like receptors

Les NLR sont des PRR intracellulaires, composés de trois domaines **(Inohara et Nuñez, 2003 ; Fritz et al., 2006)** : l'un est le domaine central de liaison des nucléotides (NBD), également connu sous le nom de domaine NACHT, est très important pour la liaison des acides nucléiques et l'oligomérisation des NLR **(Figure 64)** ; les LRR à l'extrémité C-terminale, qui sont utilisés pour identifier les ligands ; et le domaine effecteur N-terminal, qui est le domaine d'interaction protéique comme l'activation des caspases, le recrutement des domaines CARD et pyrin (PYD) **(Barbé *et al.,* 2014 ; Kim *et al.,* 2016 ; Meunier et Braz, 2017).** En général, la molécule se plie pour former une configuration en forme de U avec le domaine NACHT, qui inhibe sa multimérisation et rend le NLR inactifs **(Hu *et al.,* 2013)**. Une fois que les PAMPs se lient directement ou indirectement

aux LRR, la molécule NLR s'active en changeant sa conformation, le domaine NACHT, déclenche l'oligomérisation **(Le et Harton, 2013)**. Au même temps, le domaine effecteur N terminal est exposé, des molécules adaptatrices en aval et des protéines de signalisation sont recrutées pour initier la transduction de signal correspondante **(Wang *et al.,* 2019)**.

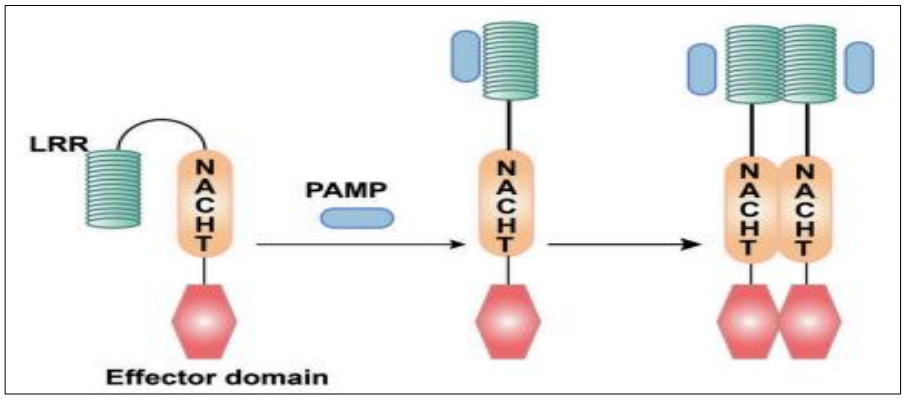


Figure 64. Mécanisme de reconnaissance NLRs-ligands (Li et Wu, 2021)

RLRs : RIG-I-like receptors

Les RLRs sont également des PRRs intracellulaires, composés de trois **parties (Saito et al., 2007 ; Lässig et Hopfner, 2016 ; Vajjhala *et al.,* 2017)**. La partie médiane commune est le domaine hélicase DexD/H avec des activités ATPase **(Cui *et al.,* 2008 ; Leung et Amarasinghe, 2012).** L'extrémité N-terminale est composée de deux domaines caspases **(Gee *et al.,* 2008)** responsables de la transmission des signaux en aval **(Jiang *et al.,* 2011)**. L'extrémité C-terminale est composée du domaine répresseur (RD) et du domaine CTD. Le premier peut inhiber l'activation du récepteur, et le second responsable de la reconnaissance de l'ARN viral **(Luo *et al.,* 2011 ; Xu *et al.,* 2018)**. Au repos CARD, CTD et le domaine hélicase sont pliés, donc le RIG-I est dans un état d'auto-inhibition **(figure 65)**.

Lors d'une infection virale, le CTD de RIG-I reconnaît l'ARN viral est subit un changement conformationnel **(Fan et Jin, 2019)**. RIG I utilise l'activité ATP hydrolase pour exposer et activer le CARD **(Patel *et al.,* 2013 ; Lässig et Hopfner, 2017 ; Chow *et al.,* 2018).**

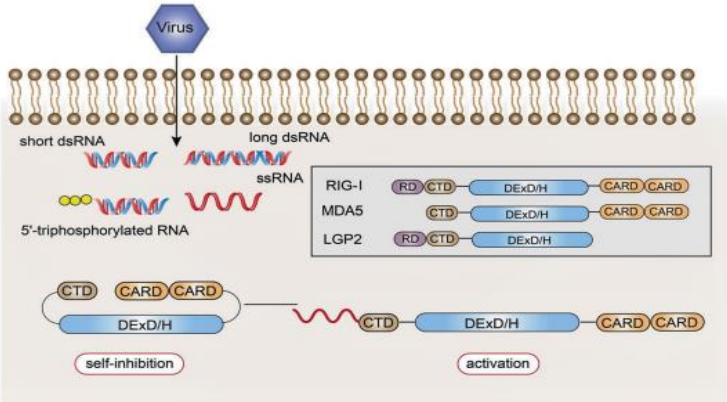


Figure 65. Caractérisation structurelles et mécanisme de reconnaissance RLRS-ligands (Li et Wu, 2021)

C-type lectin receptors: CLRs

Les CLRs sont une classe de récepteurs qui reconnaissent les glucides à la surface de micro-organismes pathogènes avec la participation de Ca^{+} **(Ebner *et al.,* 2003)**. La capacité des CLR à reconnaître les glucides existants sur les structures du soi et du non-soi est médiée par le domaine de reconnaissance (CRD) **(Dam et Brewer, 2010)**. Ce dernier est une structure sphérique appelée lectine de type C (CTLD)**(Lepenies et Lee, 2013 ; Lan *et al.,* 2020)**. En fonction de l'emplacement de la protéine sur la membrane cellulaire, les CLRs sont divisés en récepteurs transmembranaires et récepteurs sécrétoires **(Zelensky et Gready, 2003 ; Dam et Brewer, 2010 ; Sancho *et al.,* 2012).**

Les lectines de type C, Dectine-1 et Dectine-2 sont des représentants typiques de la famille CLRs impliqués dans la présentation des antigènes comme des récepteurs actifs associés à la membrane des cellules présentatrices d'antigène (CPA) **(Ebner *et al.,* 2003)**. Les CLRs sont des structures circulaires reliées par deux liaisons disulfures (Robinson).

Dectin-1 est une protéine transmembranaire exprimée dans les cellules dendritiques, les macrophages, les neutrophiles et les monocytes **(Robinson *et al.,* 2006)**. La région extracellulaire est un CTLD. La queue intracellulaire est connectée à un motif d'activation à base de tyrosine (ITAM) **(Liu *et al.,* 2015)** indiquant que le récepteur a une fonction de transduction de signal.

Dectin-1 peut identifier une variété de champignons y compris les levures **(Taylor *et al.,* 2007)**, *Candida albicans* **(Gow *et al.,* 2007 ; Cao *et al.,* 2019)** *Pneumocystis carinii* **(Saijo *et al.,* 2007 ; Steele *et al.,* 2003)** Cryptococcus **(Walsh et al., 2017 ; Ambati *et al.,* 2019)** et Aspergillus **(Yuan *et al.,* 2017 ; Fan *et al.,* 2020)**. Le ligand de Dectin-1 est le β-1,3-glucane, qui peut s'activer en aval par des voies dépendantes et indépendantes de la tyrosine kinase après reconnaissance et liaison du ligand **(Zhou *et al.,* 2018 ; Ning *et al.,* 2019)**. La glycosylation est une modification post-traductionnelle importante qui peut modifier considérablement la structure et la fonction des protéines 180.

AIM2-like receptors : ALRs

Les ALRs sont un nouveau type de PRR capables de reconnaître les ADN **(Zhang *et al.,* 2017 ; Feng *et al.,* 2019)**. L'extrémité C-terminale est le domaine de liaison à l'ADN HIN-200, et l'extrémité N-terminale est le PYD **(Man *et al.,* 2016 ; Liu et Hu, 2018).**

Ils peuvent non seulement participer à la réponse immunitaire innée mais aussi réguler l'apoptose, qui est liée à l'apparition et le développement de tumeurs **(Chen *et al.*, 2019)**.

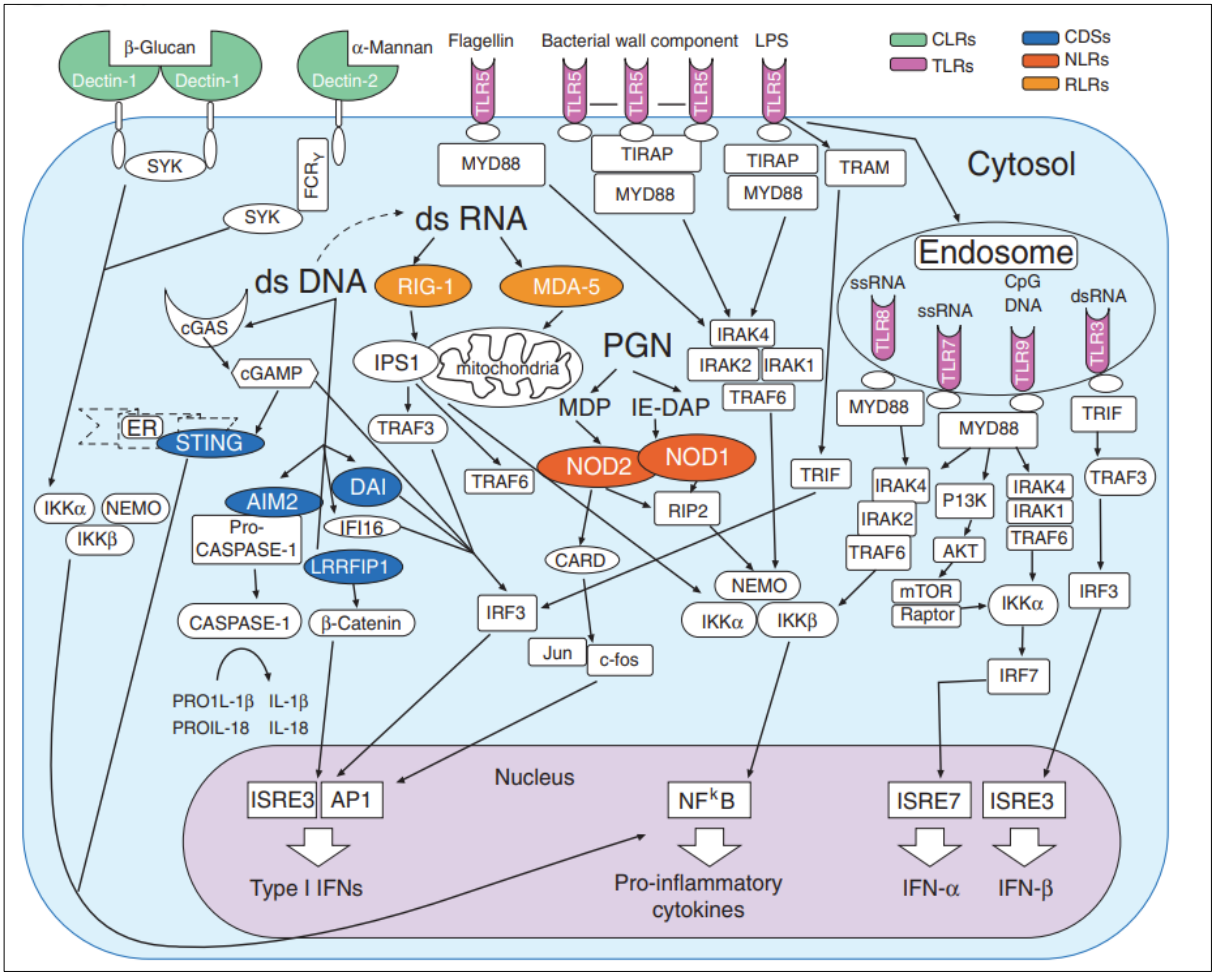


Figure 66. Voies de signalisation lors de la stimulation du récepteur de type PRR.
La stimulation des PRR par des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes PAMPs ou des molécules associées aux dommages endogènes DAMPs entraîne l'expression d'IFN de type 1 dans les cellules cibles et la libération de cytokines proinflammatoires **(Shekarian *et al.*, 2017).**

2.6.3. Les immunorécepteurs BcR, FcR et TcR

Les immunorécepteurs sont très spécifiques d'un épitope donné. Une fois activés, les lymphocytes β émettent le **BCR** (B-Cell Receptor). Le **TCR** (T-Cell Receptor), qui est plus petit sur les lymphocytes T, ne reconnaît que les épitopes peptidiques présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Dans un organisme qui a déjà été exposé à des antigènes, une collaboration entre l'immunité naturelle et adaptative se crée. Des récepteurs reconnaissant la partie constante (Fc) d'un anticorps complexé à un antigène sont donc présents dans les cellules de l'immunité innée, appelés **FcR (Bonnerot et Hivroz, 1999)**.

2.6.4. Structure des immunorécepteurs BcR, FcR et TcR

Bien que les ligands de ces récepteurs soient fondamentalement distincts, ils présentent une grande similarité structurale et fonctionnelle **(Bonnerot *et al.,* 1992 ; Wegener *et al.,* 1992)**. Les récepteurs BcR, FcR et TcR sont constitués d'un module composé d'une à deux chaînes capables de reconnaître leur ligand, ainsi que d'un module de deux à six chaînes possédants, dans leur région intracytoplasmique, un motif peptidique spécifique appelé ITAM (Immunoreceptors Tyrosine-based Activating Motif) **(Reth, 1989 ; Cambier, 1995)**. Ce motif permet à ces récepteurs de se lier à divers effecteurs cytoplasmiques, initiant ainsi la transduction des signaux et l'internalisation du complexe récepteur-ligand, un processus essentiel pour la régulation de la réponse immunitaire **(Bonnerot et Hivroz, 1999)**.

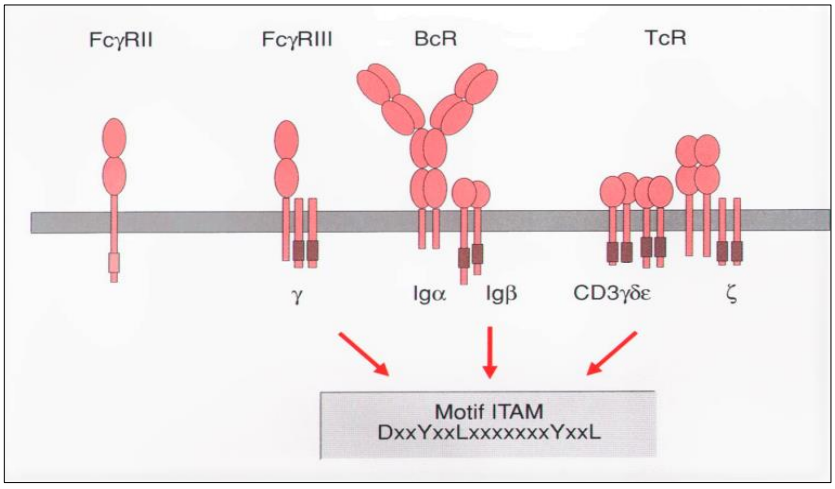


Figure 67. Homologie structurales et fonctionnelles des immuno--récepteurs (Bonnerot et Hivroz, 1999)

2.6.5. Signalisation et transport intracellulaire des immunorécepteurs

En l'absence de ligands, les différentes sous-unités transductrices sont maintenues sous forme non phosphorylées. L'activation de récepteurs perturbe cet équilibre, entraînant la phosphorylation des résidus tyrosine des ITAM et le recrutement de diverses tyrosine-kinases de la famille Scr. Une fois phosphorylés, les ITAM sont reconnus par les deux domaines SH2 (Scr Homology Domain de type II) des tyrosine-kinases Sky ou ZAP7-, selon les types cellulaires concernés **(Agarwal *et al.,* 1993 ; Kiener *et al.,* 1993 ; Kurosaki *et al.,* 1994)**.

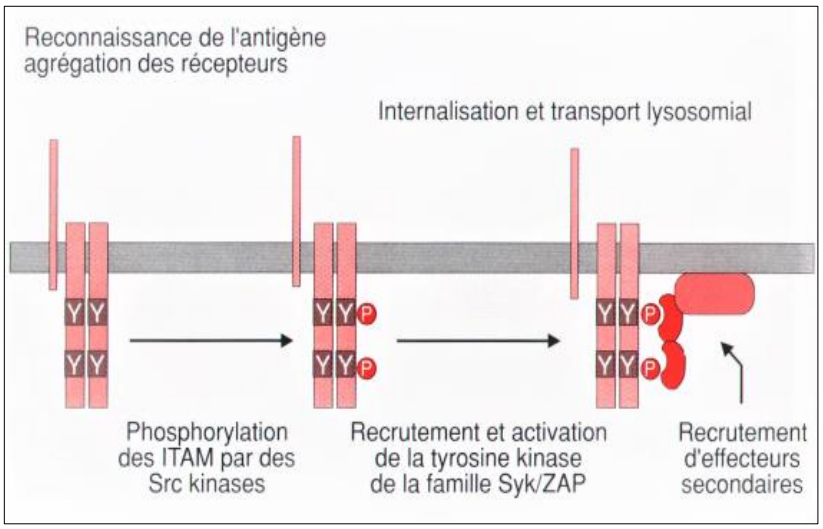


Figure 68. Evénements précoces induits par l'activation du BcR, FcR ou du TcR. La liaison du BcR, du FcγRIII ou du TcR à leurs ligands respectifs induit uune agrégation de ces récepteurs suivie de leur internalisation **(Bonnerot et Hivroz, 1999)**

Tout d'abord l'activation de la phospholipase C qui hydrolyse les phospholipides membranaires en diacylglycérol (activateur de la protéine-kinase C) et en inositol 1,4,5 phosphates (IP3) permettant l'élévation de la concentration calcique intracellulaire et donc l'activation de protéines dépendantes du calcium **(Choquet *et al.,* 1993)**. Parallèlement, les tyrosine kinases de la famille Syk activent la voie ras qui aboutit à l'activation des MAP kinases et à la translocation vers le noyau de protéines induisant la transcription de nombreux gènes. Enfin, les immunorécepteurs sont capables d'interagir et d'activer la phosphatidyl inositol 3 kinase (PI3K) qui règle la voie d'activation dépendante de ras **(Kanakaraj *et al.,* 1994)**.

Les sous-unités des immunorécepteurs interagissent, par leurs régions cytoplasmiques, avec les complexes adaptateurs AP2, permettant le recrutement des tri-squelettes de clathrine puis l'invagination de la membrane plasmique qui aboutit à la formation d'une vésicule recouverte de clathrine. Après dépolymérisation du réseau de clathrine, les vésicules portant les récepteurs fusionnent avec les endosomes où ils sont triés soit vers la surface cellulaire, où ils pourront subir un nouveau cycle d'internalisation, soit vers les lysosomes où ils pourront être dégradés ainsi que leurs ligands respectifs **(Bonnerot et Hivroz, 1999)**.

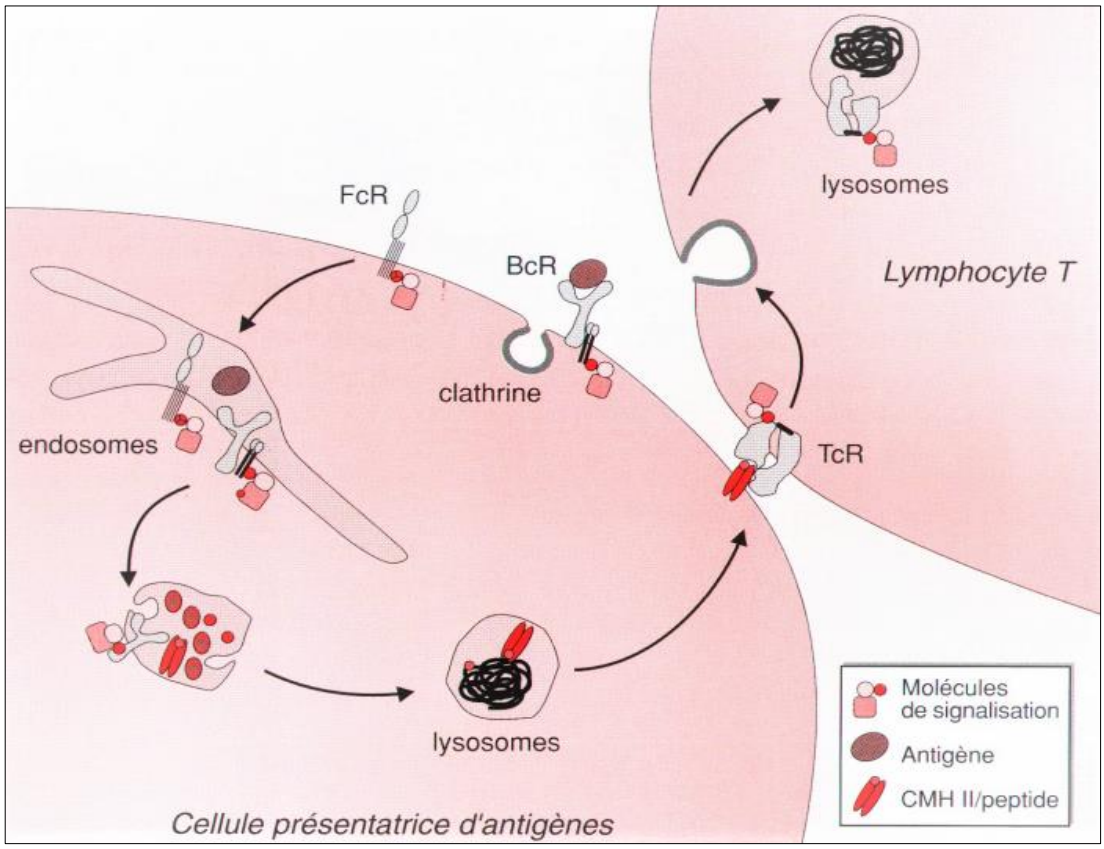


Figure 69. Diagramme schématique des événements de transport intracellulaire des BcR, FcR et TcR (Bonnerot et Hivroz, 1999).

L'internalisation des immunorécepteurs se produit dans deux contextes distincts qu'il est important de bien distinguer **(Bonnerot et Hivroz, 1999)** :

- L'internalisation constitutive des récepteurs, c'est-à dire en l'absence de toute liaison du ligand.

- L'internalisation des récepteurs lorsqu'ils sont agrégés par interaction avec leurs ligands spécifiques.

Point cours

- Connaître les différents récepteurs impliqués dans les processus de l'immunité innée et adaptative
- Faire le lien entre l'activation de immuno-récepteurs et les phénomènes de transduction de signal cellulaire.

Chapitre 3

Relation structure fonction de la cellule

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

3.1.1. Biosynthèse des lipides membranaires et élaboration des membranes cellulaires

Le REL est responsable de la synthèse des lipides membranaires, contribuant ainsi au renouvellement des membranes de l'ensemble des organites.

a. Les phospholipides (PL) : se construisent progressivement, à partir de molécules précurseurs présentes dans le hyaloplasme : les acides gras préalablement activés par le coenzyme A sous forme d'acyl-CoA, le glycérol sous forme de glycérol-phosphate et un nucléotide, le CDP : cytosine diphosphate associé à l'alcool (sérine, choline, éthanolamine.). Dans les cellules de mammifères, la pluspart des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phospholipides sont associées au feuillet externe du réticulum emdoplasmique (RE)**.** Les phospholipides nouvellement synthétisés sont d'abord incorporés dans ce feuillet externe, puis répartis de façon équilibrée entre les deux feuillets de la membrane du RE. Ainsi, les PC, PE, PI et PS sont principalement synthétisés dans le RE, tandis que la cardiolipine et son précurseur, le phosphatidylglycérol, ainsi que de faible quantités de PE, sont synthétisés dans la mitochondrie **(Kinney, 1993)**.
Ces phospholipides ont 02 devenirs **(Tasseva *et al.,* 2004)** :

- Ils peuvent rester dans la membrane du RE et basculer du feuillet cytosolique au feuillet luminal grâce aux flippases. Ce geste est à l'origine de l'asymétrie de répartition des PL membranaires **(figure 70)**. Cette dernière est conservée dans les vésicules de bourgeonnement et dans la membrane des organites cibles avec lesquels fusionnent ces vésicules. Ainsi la monocouche externe du REL se retrouvera à la face interne de la membrane plasmique ;
- Ils peuvent se lier à des transporteurs hyaloplasmiques qui les arrachent individuellement du feuillet cytosolique de la membrane du RE. Ils seront adressés

aux membranes des mitochondries, des peroxysomes et stockés sous forme de gouttelettes lipidiques **(figure 71)**.

Etapes de la synthèse de la phosphatidylcholine décrite ci-dessous dans la **figure 73**

1. Formation d'un acide phosphatidique suite à la fixation successive de deux acyl-CoA sur une molécule de glycérol-phosphate (acylation) grâce à l'acyl-transférase;
2. Formation de diacylglycérol (DAG) suite à une déphosphorylation de l'acide phosphatitidique par une phosphatase;
3. Obtention de la phosphatidylcholine par ajout de la phosphocholine au DAG, l'enzyme reponsable de cette réaction est la choline-phosphotransférase,

NB. L'interconversion entre PS et PE est possible dans le REL, cependant la décarboxylation de la PS dans la mitochondrie aboutit à la formation de la PE. L'appareil de golgi, les endosomes, les lysosomes et la membrane plasmique reçoivent de nouveau phospholipides membranaires grâce au transport vésiculaire.

Dans le cytosol, il existe des protéines porteuses solubles et spécifiques pour chaque type de PL appelées aussi « protéines d'échange des phospholipides », elles assurent le transfet des PL aux compartiments n'appartenant pas qu système endomembranaire **(Inatsugi *et al.*, 2002)**.

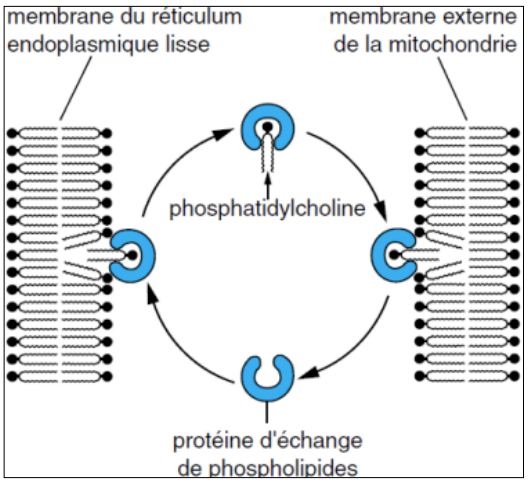


Figure 74. Mécanisme d'échange des PL par le biais de protéines de transfert (Favro et Nicolle, 2011) ▸

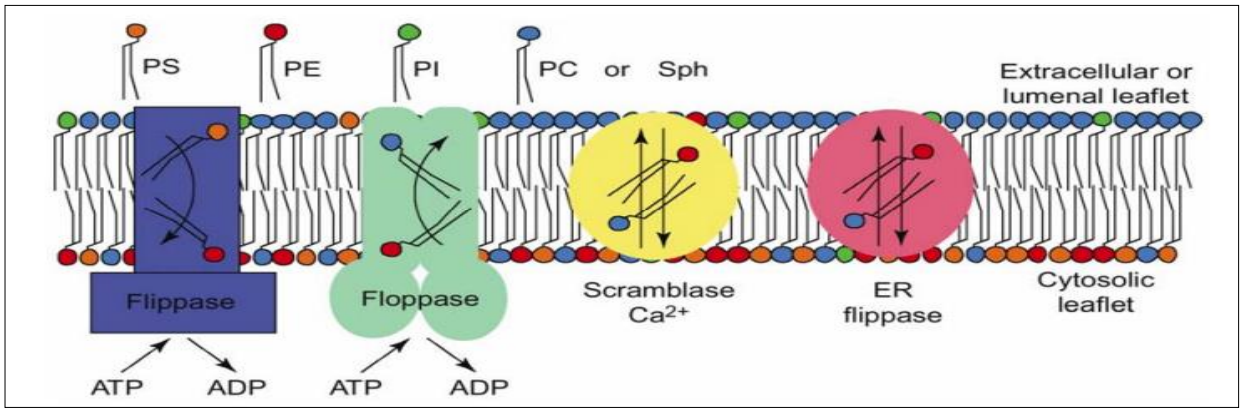


Figure 70. Rôle des protéines translocases dans l'asymétrie des lipides de la membrane d'après (Graham, 2004)

Les **flippases** déplacent les lipides du feuillet externe vers le feuillet interne, tandis que les **floppases** effectuent la translocation inverse, du feuillet interne vers le feuillet externe. Les **scramblases**, quant à elles, permettent les deux types de translocation

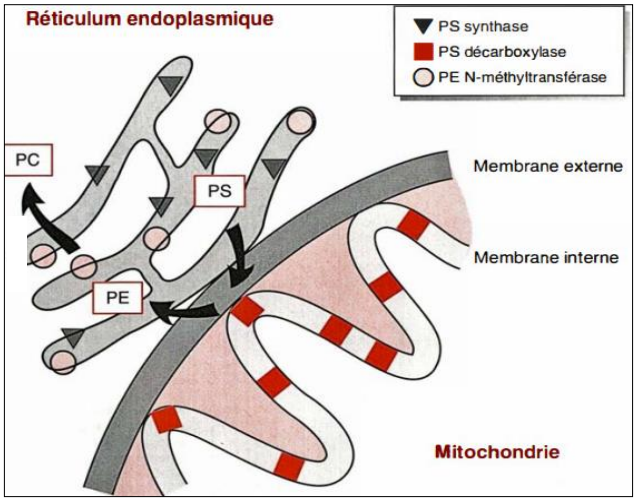


Figure 71. Mouvement intracellulaire de PS et de PE (Ardail *et al.*, 1992)

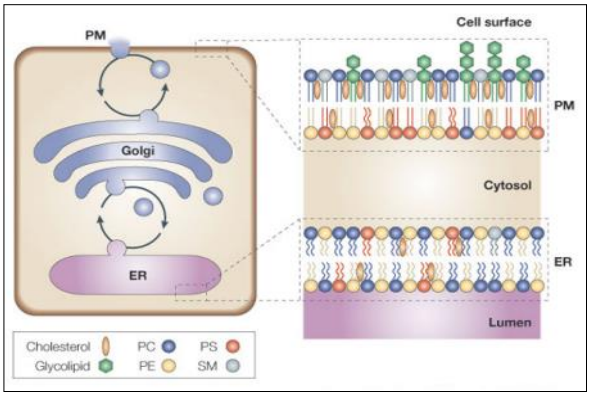


Figure 72. Distribution des lipides dans les mb (Holthuis et levine, 2005)

La mb présente une organisation asymétrique des aminophospholipides, qui se trouvent majoritairement sur le f. cytosolique, tandis que les sphingolipides se concentrent sur le f. externe.

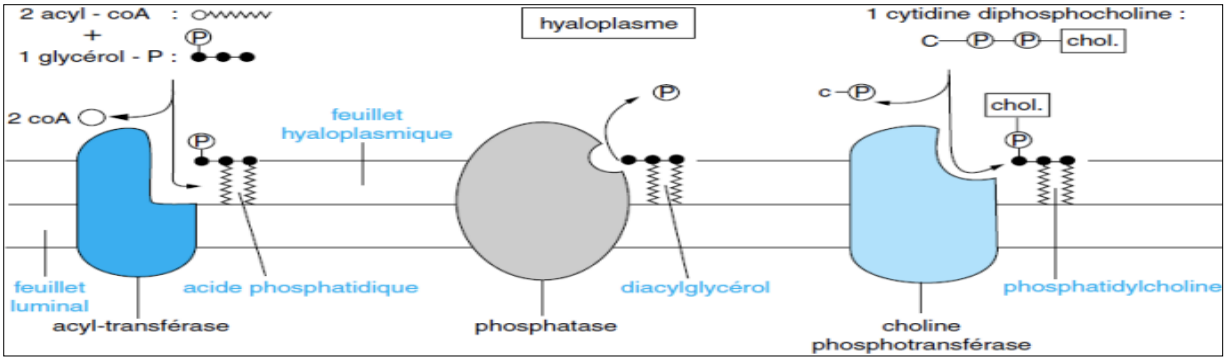


Figure 73. Les étapes de la synthèse de la phosphatidylcholine web31

b. Les sphingolipides : contrairement aux autres lipides, ces molécules ne sont pas construites à partir d'un squelette de glycérol, mais d'une diolamine à longue chaîne carbonée de type sphingoide. La fixation d'un acide gras sur le groupe amine produit une céramide, qui sert de précurseur aux lipides de cette famille.

Les premières étapes de la synthèse des sphingolipides se déroulent dans le réticulum endoplasmique (RE), tandis que les étapes finales sont effectuées dans l'appareil de Golgi **(figure 75)**. Parmi les onze enzymes impliquées dans la biosynthèse des sphingolipides et des glycosphimgolipides (GSL), huit résident dans le RE et tois dans l'appareil de golgi. La figure ci-dessous illustre la localisation des différentes étapes de la biosynthèse des sphingolipides **(figure 76 et 77).**

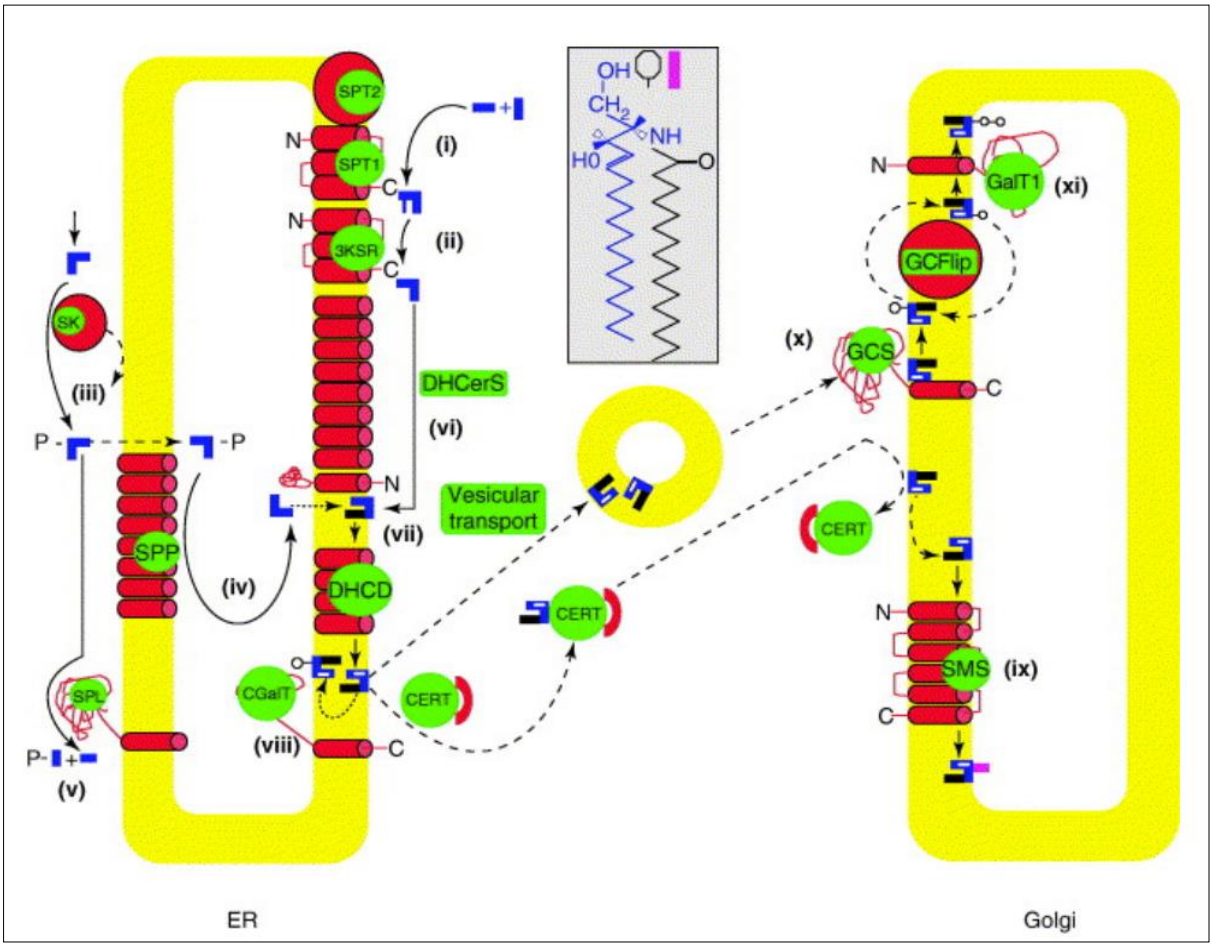


Figure 75 . Métabolisme des sphingolipides (Futerman et Riezman, 2005).

SPT : sérine palmitoyl transférase ; **3KSR :** 3-kétosphinganine réductase ; **SK :** sphingosine kinase ; **SPP :** sphingosine 1-phosphate phosphatase ; **SPL :** sphingosine 1-phosphate lyase ; **DHCerS :** dihydrocéramide synthase ; **DHCD :** dihydrocéramide désaturase;CGalT ; **UDP-galactose:** céramide galactosyltransférase ; **CERT :** céramide transfert protéine; **SMS :** SM synthase ; **GCS :** GlcCer synthase; **GCflip :** GlcCer flippase; **GalT1 :** LacCer synthase. **Les flèches pleines désignent les réactions enzymatiques. Les flèches hachurées désignent les étapes de transport**

Un moment clé dans la biosytnhèse des sphingolipides est le stransfert de la céramide entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Ce transfert s'effectue à la fois par un mécanisme vésiculaire en non vésiculaire, ce dernier impliquant la protéine CERT (Ceramide Transfert Protein)**(Perry et Ridgway, 2005)**. Le CERT est inactivé par phosphorylation multisite de serine-repeat motif (SRM), prenant vraisemblablement une forme fermée comme représenté sur le côté gauche de la figure 78.

Le CERT est déphosphorylé par une protéine phosphatase ancrée à la membrane PPM1L pour prendre une forme ouverte comme illustré au milieu de la figure 78.

La protéine CERT se compose de trois domaines :

- Un domaine START, pour la fixation des lipides ;
- Un domaine FFAT ; reconnu par la protéine VAMP du RE ;
- Un domaine PH (Plekstrin homology), qui interagit avec le phosphoinositol-4-phosphate (PI4P) du golgi.

Les domaine FFAT et PH permettent à CERT de se fixer aux membranes du RE et du Golgi, tandis que le domaine START assure le transport de la céramide **(Perry et Ridgway, 2005).**

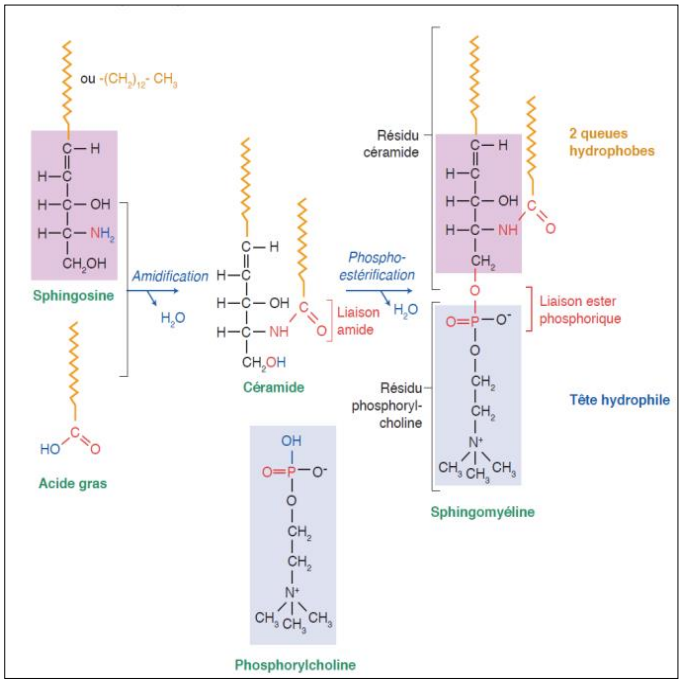


Figure 76. La formation de la sphingomyéline, d'après Segarra et al. (2014)

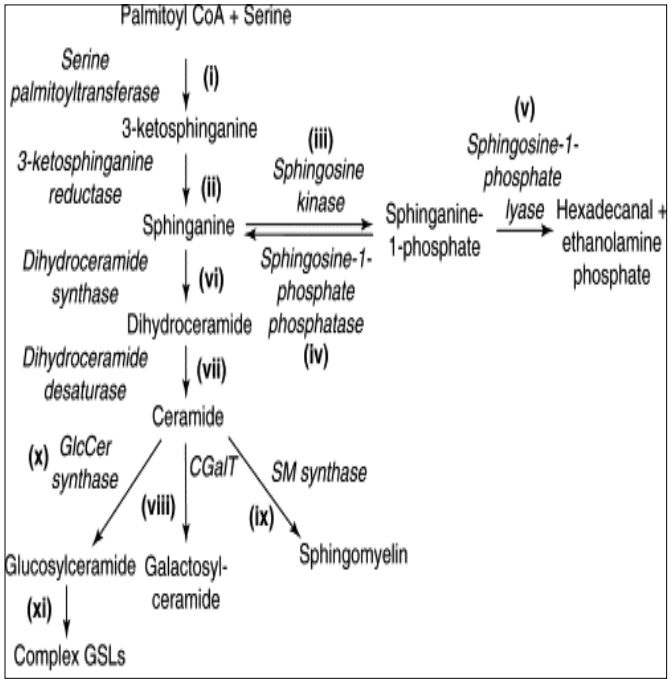
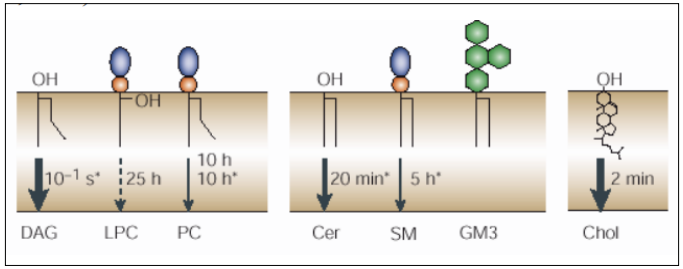


Figure 77 . Biosynthèse des sphingolipides et glyco-sphingolipides (Delaunay, 2007)



Les flèches épaisses indiquent un tranfert rapide, alors que les flèches hachurées représentent un transfert plus lent.
Cer : céramide, **Chol :** cholestérol, **DAG :** diacylglycérol, **LPC** : lysophosphatidylcholine, **PC :** phosphatidylcholine, **SM :** sphingomyéline **GM3 :** ganglioside monosialylé en 3.

Figure 79. Vitesse de transfert des lipides au sein de la bicouche membranaire (Holthuis et Levine, 2005)

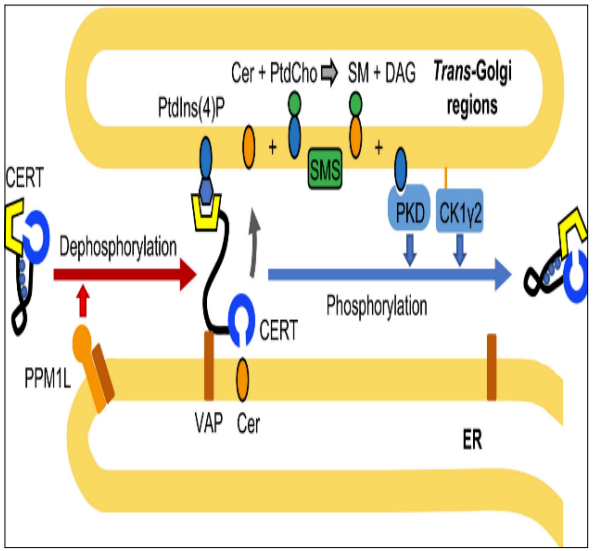


Figure 78. Mode d'action de la CERT (Kumagai et Hanada, 2019)

Le CERT activé est recruté pour transporter la céramide du réticulum endoplasmique (RE) vers les régions trans-Golgi. La sphingomyéline synthase (SMS) produit la sphingomyéline (SM) et le diacylglycérol (DAG) à partir de la céramide et de la phosphatidylcholine (PtdCho). La protéine kinase D (PKD) est ensuite recrutée dans les régions trans-Golgi par le DAG et activée. Elle phosphoryle le CERT, qui revient à une forme inactivée, ce déclenche la phosphorylation multisite des régions à motif de répétition de sérine (SRM) par la caséine kinase (CK1γ2). L'équilibre entre phoaphorylation et déphosphorylation régule l'activité du CERT

3.1.2. Les protéines membranaires et de sécrétions : biosynthèse et trafic de transport

La synthèse de toutes les protéines débute systématiquement dans le cytosol, sur des ribosomes regroupés en polysomes par un ARNm. Une fois la synthèse a commencée, la protéine peut être dirigée vers deux destinations **(tableau 9)** :

1) soit la protéine reste dans le cytosol, où les ribosomes libres assurent la poursuite et la finalisation de sa synthèse ;

2) soit elle est dirigée vers la membrane du réticulum endoplasmique, qu'elle traverse au fur et à mesure que la biosynthèse progresse. Ce processus est appelé translocation à travers la membrane du RE. Ces protéines sont synthétisées par les ribosomes du RE et nécessitent l'intervention d'un peptide signal **(Johnson et van Waes 1999 ; Ghaemmaghami *et al.,* 2003).**

Tableau 9. Devenir des protéines selon leur lieu de synthèse (Mulot, 2010)

Protéines synthétisées par les ribosomes cytosoliques	**Protéines synthétisées par les ribosomes du REG**
- cytosoliques -mitochondriales -péroxysomales -nucléaires -membranaires périphériques du feuillet cytosolique (membrane plasmique et membranes des organites)	-sécrétées dans le milieu extracellulaire -luminales (solubles dans la lumière des organites du système endomembranaire : RE, AG, endosomes, lysosomes) -transmembranaires (mb. plasmique et mb. des organites du système endomembranaire) - membranaires périphériques du feuillet extracellulaire (mb. plasmique) et luminal (mb. des organites du système endomembranaire) -Ancrées par un GPI dans la membrane plasmique

a. Mécanisme de synthèse des protéines dans le RER

1- au tout début de la synthèse protéique, une particule nommée **SRP** (Signal Recognition Particule) détecte un peptide signal **(figure 80).** La traduction est temporairement interrompu par la liaison de la SRP à la grande sous-unité du ribosome **(McKnight *et al.,* 1991 ; Martoglio et Dobberstein, 1998).**

SRP : ribonucléoprotéine constituée de plusieurs peptides et d'un petit ARN (l'ARN 7S). Elle possède une activité GTPase ; elle fixe le GTP et hydrolyse le GTP en GDP + Pi.

2- le complexe SRP-peptide signal se fixe à la membrane du réticulum endoplasmique (RE) par le biais d'un récepteur de la SRP. Ensuite, la SRP se fixe sur une molécule de GTP **(Batey *et al.,* 2000 ; Wild *et al.,* 2001) (Kuglstatter *et al.,* 2002).**

3- la grande sous-unité du ribosome se fixe sur le translocon, un pore aqueux reliant le cytosol à la lumiére du RE. Ce pore est obstrué sur sa face cytosolique par la grande sous-unité du ribosome et, sur sa face luminale, par **la protéine chaperonne BiP (Gorlich *et al.,* 1992 ; Gorlich et Rapoport 1993).**

4- le translocon s'ouvre, permettant la reprise de la traduction. La protéine en cours d'élongation pénètre dans le pore aqueux, traverse la membrane du réticulum endoplasmique (RE) et se dirige vers sa lumière. Ce déplacement est favorisé à la fois par l'allongement de la chaîne polypeptidique et l'action de protéines chaperonnes, comme BiP, qui l'attirent vers la lumière. La séquence signal reste fixée dans le translocon, maintenant ainsi l'extrémité N-terminale dans le cytosol. La SRP se détache de son récepteur après l'hydrolyse du GTP **(Hamman *et al.,* 1998)**.

5- Une fois la biosynthèse est terminée, seul le peptide signal reste enchâssé dans la Mb du RE. Le ribosome se détache de la membrane et est recyclé dans le cytosol. Une **signal peptidase** coupe alors le peptide signal du reste de la protéine **(Hamman *et al.,* 1998)**.

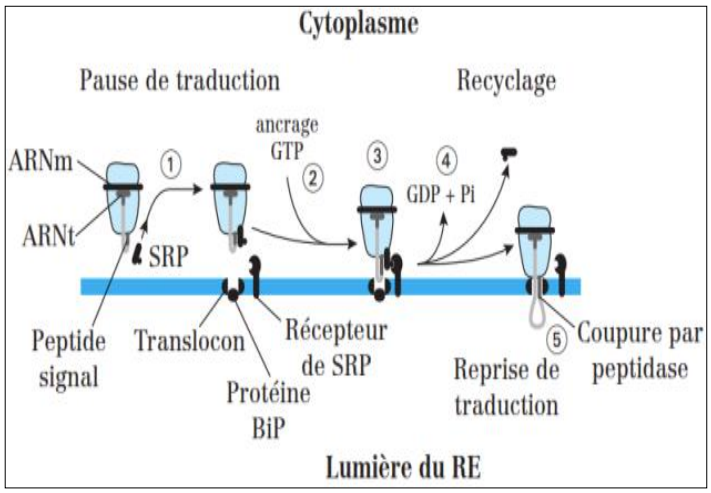


Figure 80. Insertion co-traductionnelle des protéines dans le réticulum (Favro et Nicolle, 2011) ▸

- **Cas des protéines à un seul domaine transmembranaire :** le processus de translocation débute par une séquence signal N-terminale, qui sert de signal de début de transfert. Outre cette séquence, la protéine comporte une séquence d'arrêt de transfert. Lorsque cette séquence atteint le translocon, celui-ci change de conformation et libère la protéine latéralement dans la bicouche lipidique. L'extrémité N-terminale de la protéine se retrouve ainsi orientée vers la lumière du réticulum endoplasmique (RE), tandis que l'extrémité C-terminale reste du côté cytosolique **(figure 81).** Toutefois, si un nombre plus élevé d'acides aminés chargés positivement précède le cœur hydrophobe de la séquence de début de transfert, l'extrémité C-terminale se retrouve du côté luminal **(Mulot, 2010).**

- Cas des protéines à plusieurs domaines transmembranaires : pour les protéines possédant deux domaine transmembranaires, une séquence signal interne agit comme signal de début de transfert, initiant la translocation. Celle-ci se poursuit jusqu'à ce qu'une séquence de fin de transfert soit atteinte **(figure 81).** Dans les protéines comportant plusieurs domaines, chaque nouvelle séquence de début de transfert relance la translocation, qui continue jusqu'à la séquence de fin de transfert suivante, et ainsi de suite **(Mulot, 2010).**

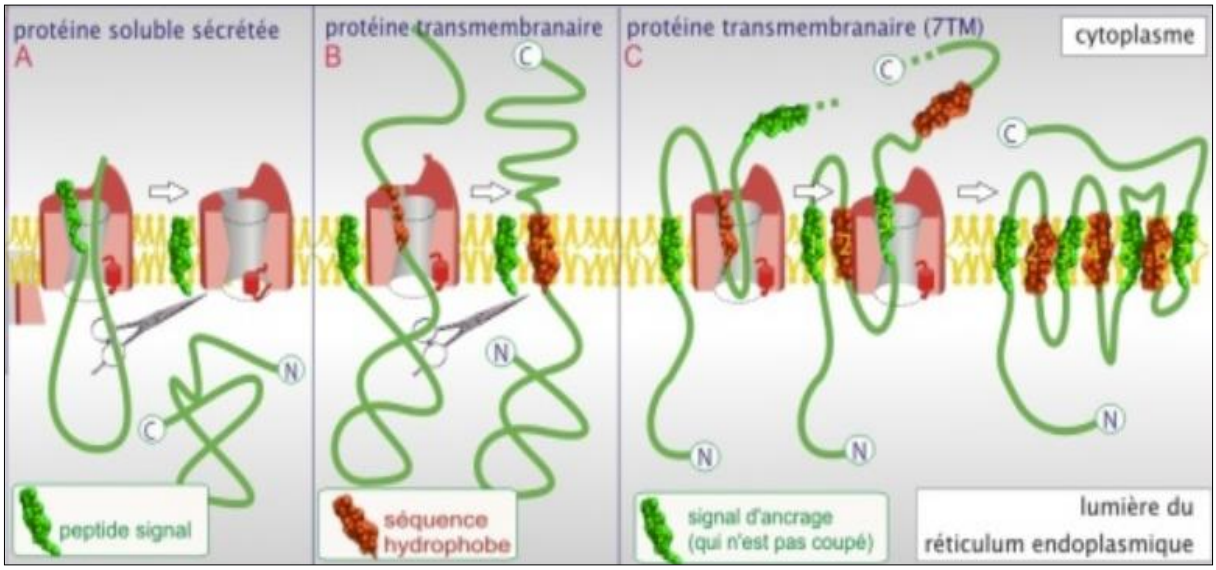


Figure 81. Les différents modes d'insertion des protéines (web32)

b. Le trafic des protéines vers la membrane plasmique

l'équipe de George Palade a démontré que les protéines sécrétées parcourent une série d'organites, passant par le réticulum endoplasmique (RE) puis par le complexe de Golgi. Apartir de celui-ci, des granules de sécrétion se forment, fusionnent avec la membrane plasmique et libèrent leur contenu dans le milieu extracellulaire **(figure 82) (Palade, 1975).** Trois principaux types de complexes protéiques de manteaux facilitent ces transports spécialisées **(Delaunay, 2007).**

- Lemanteau de clathrine intervient dans la formation des vésicules de transport entre l'appareil de Golgi, la membrane plasmique et les endosomes.
- Le complexe COPII assure le transport du RE vers le compartiment intermédiaire ERGIC (ER-Golgi Intermediate Compartment).
- Le complexe COPI permet le transport rétrograde, du complexe Golgi et de l'ERGIC vers le RE.

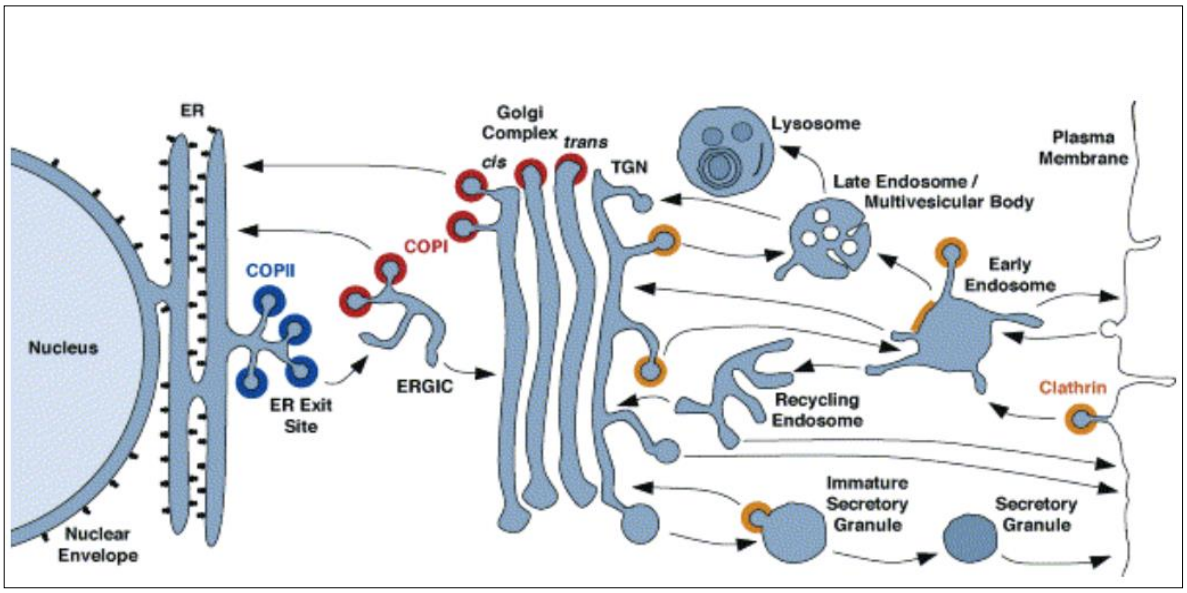


Figure 82. Voies de transport intracellulaire, D'après **(Bonifacino et Glick, 2004).**
Le schéma illustre les compartiments des voies de sécrétion et des voies endosomales/lysosomales. Ces compartiments comminuquent entre eux via la formation de vésicules de transport, recouvertes de manteaux spécifiques

Après leur synthèse, les protéines subissent une maturation via le système endomembranaire, ce qui implique : la coupure de la séquence signal et l'aquisition des structures secondaires et tertiaires ; des modifications covalentes telles que la

glycosylation, la phosphorylation, la sulfatation, entre autres ; ainsi qu'un repliement et une liaison avec des cofacteurs.

N.B. le réticulum endoplasmique empêche l'exportation des protéines mal configurées ou mal glycosylées. Ces protéines s'accumulent dans le RE et peuvent retourner dans le cytosol via le translocon pour être dégradées par le protéasome après ubiquitinylation et déglycosylation par une N-glycanase

Point cours

- Connaître les différents mécanismes de synthèse des lipides et des protéines membranaires

3.2. Le cytosquelette : Réponse du cytosquelette aux stimuli biochimiques et mécaniques et son rôle dans l'adhésion focale (Les fibres de stress). Exemples de l'implication du cytosquelette dans diverses voies de signalisation cellulaire.

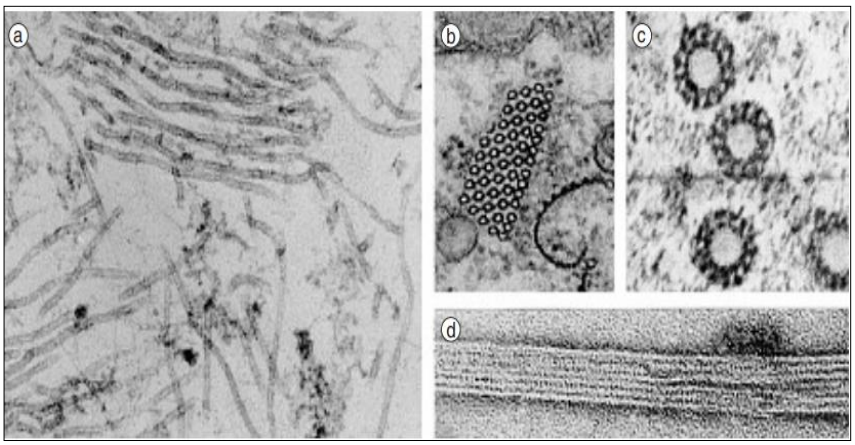
Généralité

Le cytosquelette est un réseau de filaments protéiques situé dans l'hyaloplasme et le nucléoplasme de toutes les cellules eucaryotes. Ces filaments peuvent être dispersés ou organisés en faisceaux et en structures complexes, comme les centrioles, les cils et les flagelles. Le cytosquelette permet aux cellules eucaryotes de s'adapter à divers changements de forme et de réaliser des mouvements coordonnés. Il est composé de microtubules, de fins microfilaments d'actine, de microfilaments épais de myosine, et de filaments intermédiaires.

Le cytosquelette permet aux cellules eucaryotes de s'adapter à divers changements de forme et de réaliser des mouvements coordonnés. Il est constitué de microtubules, de fins microfilaments d'actine, de microfilaments épais de myosine et de filaments intermédiaires.

3.2.1. Les microtubules

Des structures tubulaires creuses et généralement rectilignes, ayant un diamètre d'environ 25nm, présentes dans toutes les cellules eucaryotes. En coupe longitudinale, il se manifestent souvent sous forme de « rails » et apparaissent sous forme circulaire en coupe transversale **(Callen, 2005).**



(a) coupe longitudinale d'une cellule de protiste du genre Euplotes (x 80 000) **(b)** coupe transversale d'un faisceau de microtubules d'une cellule de protiste du genre Anisonema (x 60 000) (c) coupe transversale à fort grossissement, révélant les 13 protofilaments constitutifs ; (d) protofilaments observés avec une coloration négative (x 220 000)

Figure 83. Microtubules observés en microscopie électronique (Callen, 2005)

La technique de coloration négative appliquée aux microtubules isolés révèle qu'ils sont composés de filaments élémentaires appelés **protofilaments**, constitués de sous-unités de protéines globulaires, les **tubulines α** et **β** d'environ 450 acides aminés. Ces deux polypeptides sont souvent présents sous la forme d'hétérodimères αβ, liés par des liaisons faibles en structure quaternaire **(Luduena, 1998 ; Callen, 2005).**

Dans les cellules animales en interphase, les microtubules traversent le hyaloplasme dans toutes les directions **(figure 84 : a-c)** ou forment des faisceaux lâches, comme dans les prolongements axonaux des neurones **(figure 84 : e).** Dans les cellules en division, ils constituent les éléments fondamentaux des asters et du fuseau achromatique, prenant la forme de faisceaux sérrés et parallèles **(figure 84 : b-d).** Enfin, des sturctures complexes telles que les centrioles des centrosomes, les corpuscules basaux des cils ou des flagelles, contiennent des microtubules organisés en doublets ou en triplets paralléles. Bien que tous ces microtubules soient morphologiquement similaires, ils se répartissent en deux catégories : les microtubules labiles et stables **(Callen, 2005)**.

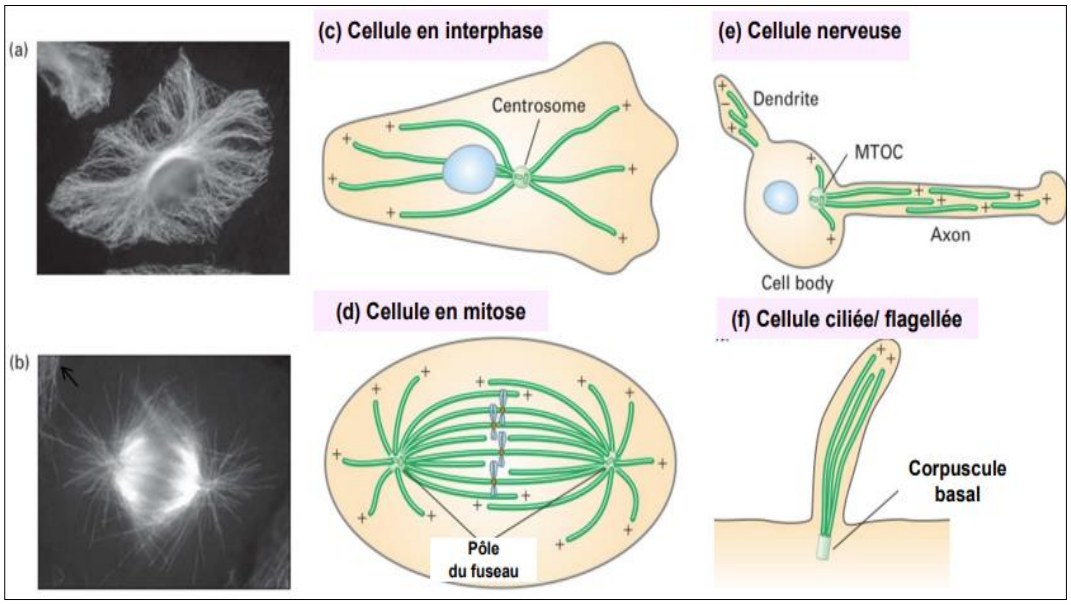


Figure 84. Organisation des microtubules dans les cellules (Lodish *et al.,* 2010)

a. biogenèse

les micrographies obtenues par microscopie électronique révèlent que les microtubules émergent à proximité du centrosome, précisément dans le matériel péricentriolaire, également connu sous le nom de **Centre Organisateur des Microtubules (COMT ou MTOC) (Abdelali *et al.,* 2011).**

b. Structure et dynamique des microtubules labiles

 La propriété majeure de la tubuline est sa possibilité de s'associer (autoassemblage) en protofilament. Plusieurs courts protofilaments de ce type peuvent se placer côte à côte et constituer un microtubule incomplet et à paroi aplatie ; lorsque **treize** protofilaments se sont ainsi associés, le tube se ferme et on obtient un fragment de microtubule avec deux extrémité (+) et (-), la première présentant une vitesse de polymérisation supérieure à la seconde **(figure 85)**. On observe aussi le phénomène de dépolymérisation, il s'agit d'un équilibre établi entre dimères et édifices d'ordre supérieur **(Chretien *et al.*, 1992)**.

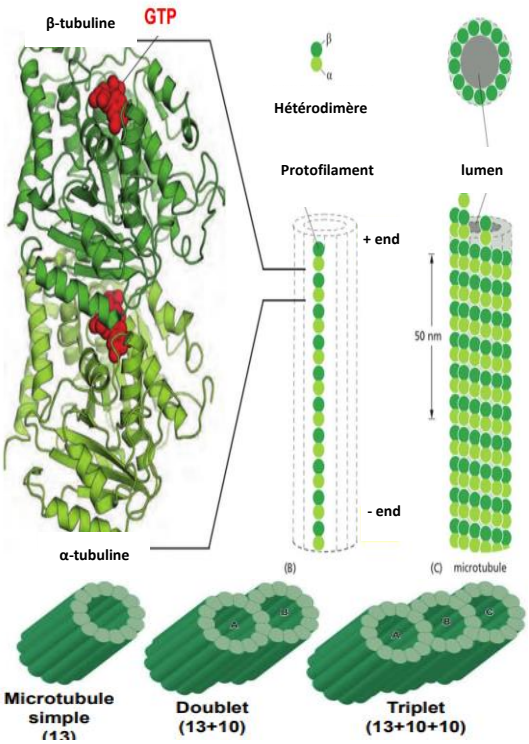


Figure 85. Structure d'un microtubule et de ses sous-unités (Lodish *et al.*, 2010)

Dans les cellules, les microtubules peuvent être simples ou s'organiser de façon particulière en doublets formant l'axonème ou en triplet formant les centrioles.

Les microtubules ont deux comportements dynamiques, le « treadmilling » (tapis roulant) et l'instabilité dynamique.

 Le « **treadmilling** » désigne le processus de renouvellement par lequel les dimères de tubuline s'ajoutent à une extrémité des microtubules tout en se détachant de l'autre. Ce mécanisme assure une stabilité continue des microtubules **(Margolis et Wilson, 1978 ; Panda *et al.*, 1999).**

 L'instabilité dynamique décrit la capacité des microtubules à alterner entre des phases d'assemblage et de désassemblage, permettant ainsi le remodelage du réseau de microtubules **(Mitchison et Kirschner, 1984 ; Walker *et al.*, 1988 ; Desai et Mitchison, 1997).** Le terme « catastrophe » désigne la dépolymérisation soudaine d'un microtubule, tandis que le terme « sauvetage » fait référence à l'inverse **(figure 86) (Walker *et al.*, 1988).** Entre ces deux états, les microtubules peuvent ègalement entrer en phase de pause.

 In vitro, la vitesse de polymérisation des microtubules est accélérée en présence de GTP. En effet, seule la sous-unité β peut hydrolyser le GTP en GDP et forme un complexe qui se fixe de manière préférentielle à l'une des deux extrémités du microtubule, en raison de sa polarité structurale. Bien que la polymérisation de la tubuline se produise simultanément aux deux extrémités et soit réversible, l'une des extrémits s'allonge plus rapidemanent que l'autre **(Mandelkow *et al.*, 1988**).

 Divers facteurs influencent les processus de polymérisation et de dépolymérisation, tels que les basses températures, les hautes pressions, ainsi que certqins composés chimiques connus pour leur capacité à induire la dépolymérisation, tant *In vivo* qu'*In vito***(Callen, 2005)**.

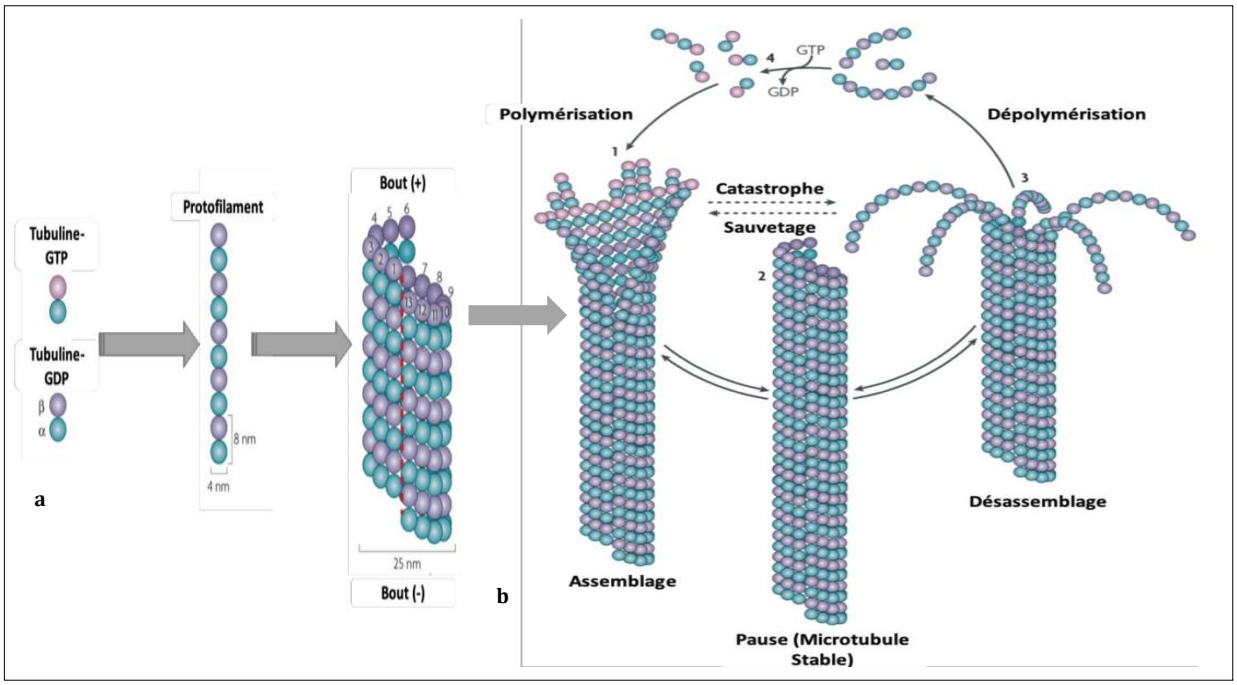


Figure 86. Organisation et propriétés dynamiques (Akhmanova et Steinmetz, 2008).
a. Formation des microtubules par association des tubilines **; b.** cycle de polymérisation/dépolymérisation des microtubules illustrant l'instabilité dynamique

c. Les protéines associées aux microtubules MAPs

on distingue les MAPs structurales/stabilisatrices, les MAPs déstabilisatrices, les protéines associées aux extrémités (+), ainsi que les moteurs moléculaires.

 les protéines des bouts (+) : Ces protéines appelées +TIPs (plus-end tracking proteins) se lient aux extrémités (+) des microtubules en cours d'assemblasge. Plus d'une vingtaine de protéine +TIPs ont été identifiées, telles que CLIP-170, EB (end-binding) ou p150Glued. Les principales fonctions sont les suivantes : réguler la dynamique des

microtubules et stimuler leur polymérisation en favorisant l'ajout de tubiline aux extrémités (+), assurer la liaison entre l'extrémité (+) des microtubules et d'autres structures cellulaires comme la membrane plasmique et le cytosquelette d'actine **(Lewkowicz *et al.,* 2008 ; Lomakin *et al.,* 2009 ; Akhmanova and Steinmetz, 2010).**

 les MAPs structurales : se fixent à la surface des microtubules grâce à leur domaine C-terminal, tandis que leur domaine N-terminal dépasse des microtubules, leur permettant ainsi de se lier à d'autres protéines ou au cytosquelette d'actine **(Drewes *et al.,* 1998 ; Halpain et Dehmelt, 2006).** Parmi ces MAPs, on distingue les MAP1, 2, 6 et Tau qui sont reconnues pour stabiliser le réseau de microtubules en favorisant la polymérisation de la tubuline et en empêchant le désassemblage des microtubules **(Drechsel *et al.,* 1992 ; Trinczek *et al.,* 1995)**. L'interaction de ces MAPs avec les microtubules est généralement régulée par l'action des Kinases et des phosphatases **(Cassimeris et Spittle, 2001).**

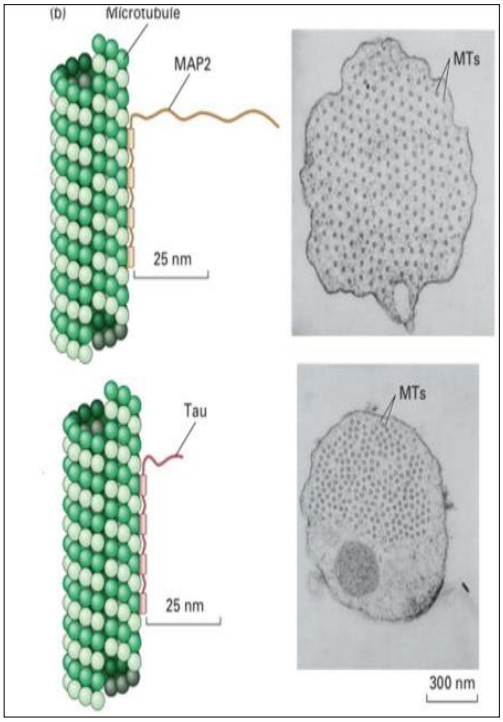


Figure 87. Micrographies électroniques de coupes transversales de faisceaux de microtubules dans des cellules surexprimant MAP2 et Tau (Lodish *et al.,* 2010) (**MAP-2** se fixe sur les MT par une de ses extrémités ; **Tau** possède un bras plus court de la protéine MAP-2) ▸

 les MAPs déstabilisatrices : Dans la cellule, certains effecteurs augmentent la fréquence des catastrophes, réduisent les sauvetages et ralentissent l'élongation des microtubules. Diverses molécules capables de contrer les effets des MAPs stabilisatrices ont été identifiées. Par exemple, la stathmine accroît les événements de catastrophe en se liant aux sous-unités de tubuline non polymérisées **(Belmont *et al.,* 1996)**. Les protéines de coupure comme la katanine et la spastine **(Errico *et al.,* 2002)** fragmentent les microtubules en hydrolysant l'ATP **(Lacroix *et al.,* 2010 ; McNally et Vale, 1993).** D'autres MAPs, comme Tau, pourraient neutraliser l'activité de coupure de la katanine en se liant aux microtubules **(Qiang *et al.,* 2006).**

 les moteurs moléculaires : sont des enzymes qui utilisent l'ATP pour se déplacer le long du réseau de microtubules, facilitant ainsi le transport intracellulaire de divers cargos, tels que des protéines, organites et vésicules **(Goldstein et Philp, 1999).** On distingue deux principales familles : les dynéines et les kinésines qui transportent les charges dans des directions opposées **(Wang *et al.,* 1995 ; Goldstein and Philp, 1999).**

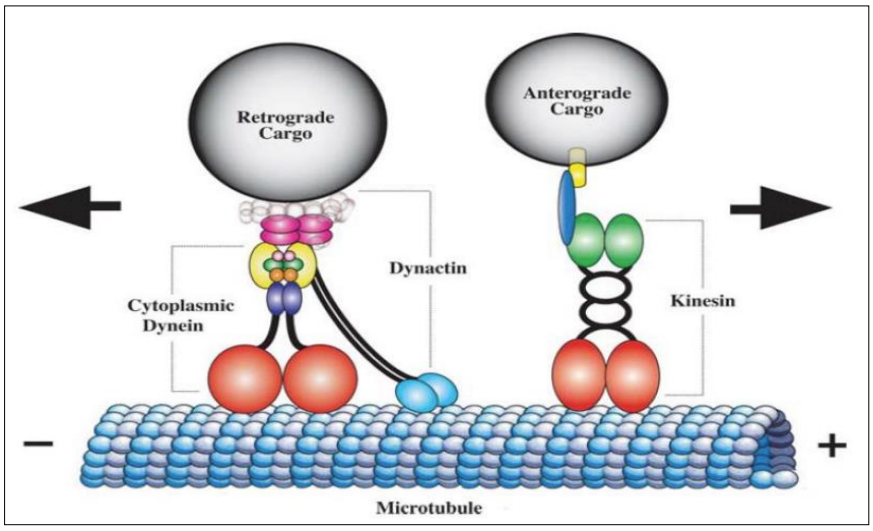
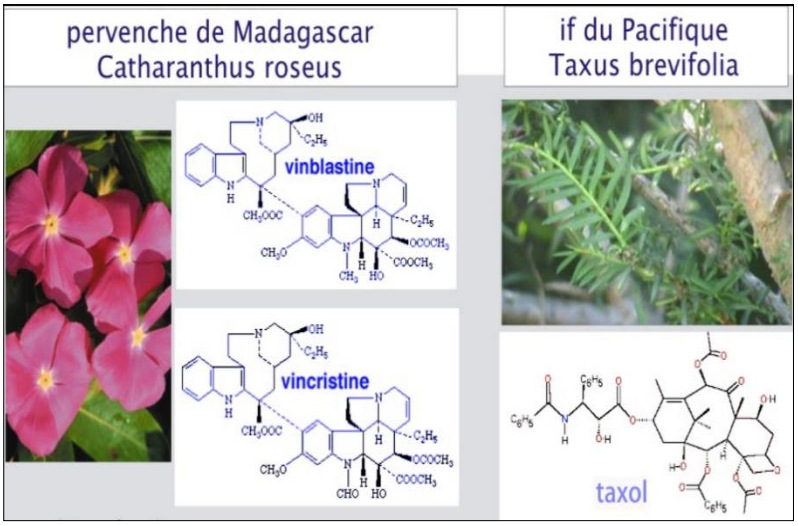


Figure 88. Schéma représentant le complexe dynéine /dynactine (gauche) et une kinésine (droite) d'après (Duncan et Goldstein, 2006)

- **La kinésine :** est un dimère qui renferme deux têtes contenantes chacune un domaine à activité ATPase, constituent le lien entre le complexe (protéine motrice-charge) et le microtubule. La queue de cette protéine fixe l'élément à transporter. Les éléments sont déplacés le long du tubule de l'extrémité – vers l'extrémité +. L'interaction avec l'élément à transporter 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 **(Teyssier, 2019).**
- **Les dynéines :** sont structuralement différentes des kinésines. Elles se composent de deux chaînes lourdes qui renferment le domaine de liaison aux microtubules et l'activité ATPase, deux chaînes intermédiaires et plusieurs chaînes légères **(Duncan et Goldstein, 2006).** Elles se déplacent également en utilisant l'ATP, vers les extrémités (-) des microtubules, on parle de mouvement rétrograde **(Kardon et Vale, 2009 ; Wang *et al.,* 1995).** Afin d'assurer un bon fonctionnement de la dynéine, la **dynactine** est une protéine qui assure la liaison de la dynéine au cargo **(Gill *et al.,* 1991 ; Karki et Holzbaur, 1999 ; Boylan *et al.,* 2000; Duncan and Goldstein, 2006).**

d. Drogues perturbant le cytosquelette microtubulaire

Toute substance perturbant la formation du fuseau mitotique durant la division pourra être employée pour freiner la prolifiration des cellules tumorales comme exemple, la colchicine, la vinblastine et le taxol **(Callen, 2005) (figure 89).**



Taxol : empêche la dépolymérisation des microtubules.

Vinblastine : alcaloïde provoquant l'immobilisation de tubuline sous forme de cristaux insoluble.

Colchicine : bloque la polymérisation des dimères de tubuline.

Figure 89. Drogues perturbants les microtubules (web33)

e. Les microtubules stables

 les centrioles sont des strucutres cylindriques mesurant environ 0,5µm de longueur et 0,2µm de diamètre. Chacun est composé de neuf triplets de microtubules courts, disposés parallèlement, chaque triplet étant constitué de trois microtubules accolés **(figure 90)**.

Les centrioles se trouvent toujours en paires et sont souvent situés à proximité l'un de l'autre formant ainsi un **diplosome**, généralement près du noyau. Positionnés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre, ils sont reliés à leur base par du matériel fibrillaire. Ces centrioles forment le noyau d'une structure appelée centrosome, ou centre cellulaire **(Callen, 2005)**.

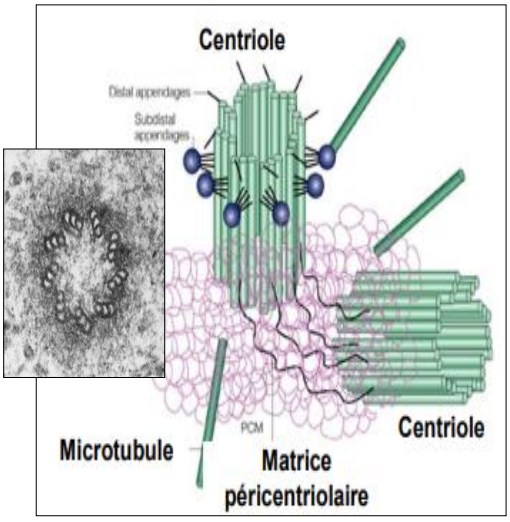


Figure 90. Structure de centriole (Gonczy, 2012)

 Les cils et les flagelles sont de fines structures en forme de doigts, mesurant 0,25µm de diamètre. Flexibles et mobiles, elles se trouvent à la surface des cellules. Les cils mesurant entre 5 et 10 µm de longueur, tandis que les flagelles peuvent atteindre

plusieurs dizaines de micromètres, jusqu'à 200µm. Bien que leur organisation moléculaire soit identique, leur mode de fonctionnement et leur type de mouvement diffèrent **(Callen, 2005)**.

La tige ciliaire ou axonème est recouverte par la membrane apicale. Elle présente une organisation en 9 doublets périphériques de MT A et B, et un doublet de MT centraux assurant la solidité de la structure **(figure 91)**. Plusieurs MAP relient entre eux les MT : un manchon central de MAP entourant les deux microtubules centraux ; des MAP constituant les fibres ou lames rayonnantes à disposition radiaire entre le MT A et le manchon central ; la nexine reliant le microtubule B au microtubule A voisin ; la dynéine (MAP motrice ATPasique spécifique du cil) fixé sur chaque microtubule A et constituée de 2 bras (externe et interne) **(Callen, 2005)**.

Une zone de transition reliant la tige au corpuscule basal. Celui-ci se caractérise par l'absence de doublet central MT et par la présence d'une plaque basale qui joue le rôle de centre organisateur de ces microtubules centraux **(Callen, 2005)**.

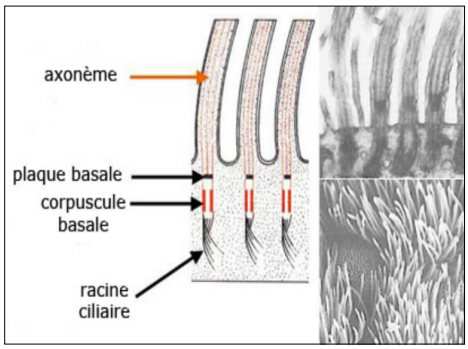


Figure 91. Schéma d'un cil vibratile (web 34)

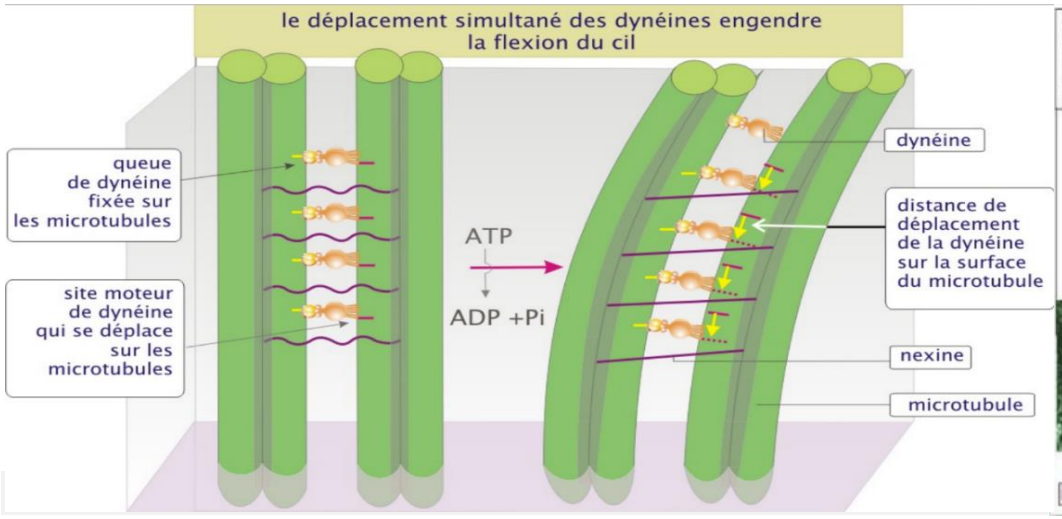
Un corpuscule basal *ou* ***cinétosome*** d'une structure comparable au centriole à disposition rectiligne dessinant une zone dense sous membranaire. Ils permettent la régénération des cils **(Callen, 2005)**.

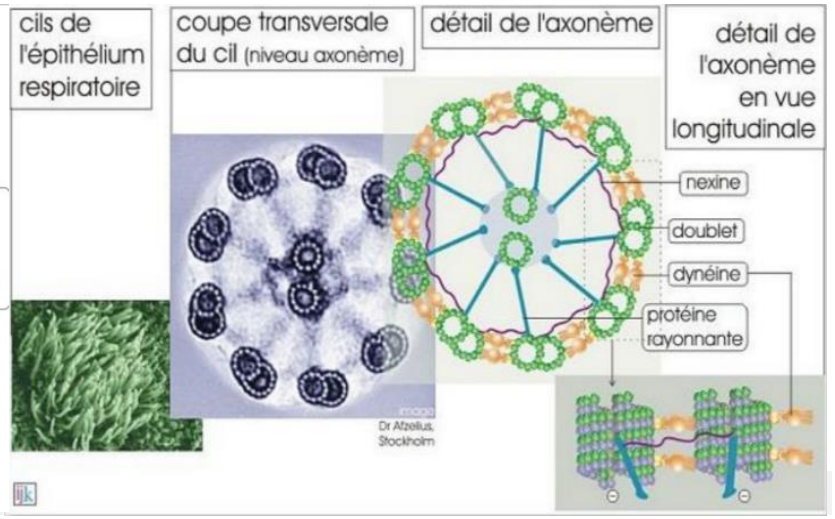
Une racine ciliaire inconstante, présente dans les cellules ciliées. A localisation cytoplasmique, elle est formée de filaments intermédiaires parallèles responsables de son aspect strié **(Callen, 2005)**.

f. Fonctions des microtubules

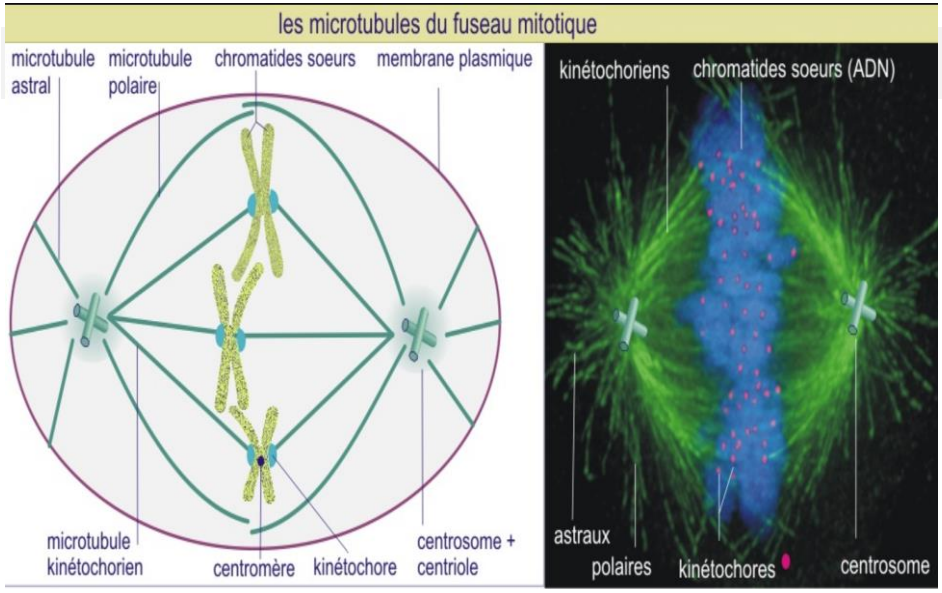
- **Mouvement des organites le long de microtubules :** les dimètres de dynéine et de kinésine peuvent se lier, par leur extrémité queue, à diverses structures intracellulaires telles que les neurofilaments, les filaments intermédiaires, le RE, l'appareil de Golgi, la membrane cytoplasmique, les chromosomes (kinétochores) et les visécules de sécrétion. En interagissant avec les microtubules via leur extrémité tête, ils facilitent ainsi le mouvement de ces structures au sein de la cellule **(Callen, 2005)**.

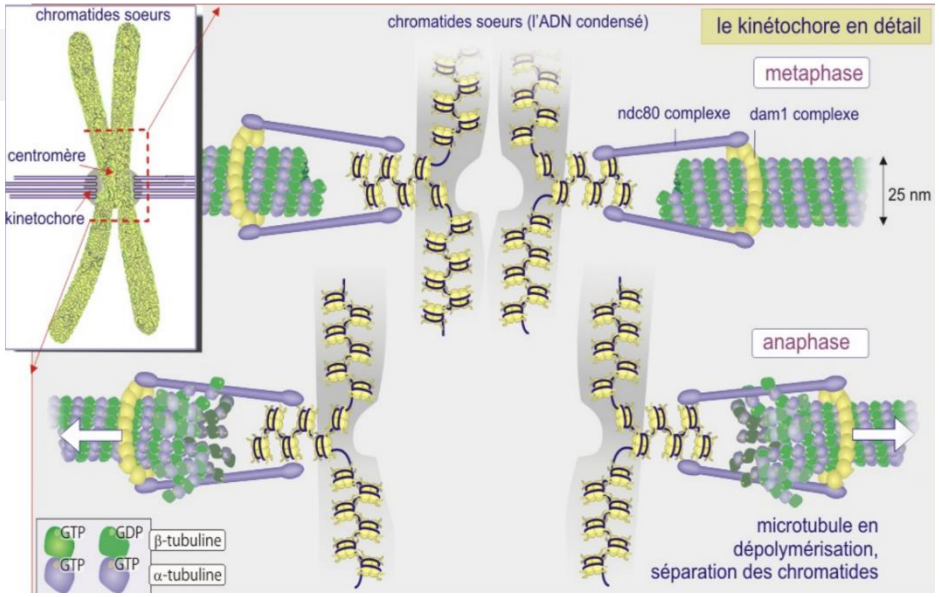
- **Battements des cils :** les cils et flagelles se déplacent grâce à la flexion de leur faisceau de microtubules. Dans les bronches et la trachée, sur la surface de l'épithélium respiratoire, les cils battent de manière coordonnée permettant ainsi le déplacement unidirectionnel du mucus bronchique vers l'extérieur. Ce battement est un processus actif, suivi d'une phase de récupération passive où le cil revient à sa position initiale **(Callen, 2005)**.
- **Séparation des chromosomes pendant la mitose :** après leur duplication, chaque centrosome se positionne de part et d'autre du noyau, générant trois types de microtubules. Les microtubules **astraux** se connectent à la membrane, les microtubules **polaires** interagissent avec ceux du centrosome opposé, et les microtubules **kinétochoriens** se fixent aux chromatides sœurs. Le point de fixation des microtubules aux chromatides est appelé kinétochore (du grec *kineto*, mouvement, et *choros*, lieu). Lorsque les chromosomes sont correctement alignés, une structure appelée fuseau mitotique se forme (visible lors de la métaphase). Durant l'anaphase, un complexe annulaire nommé Dam 1 glisse le long des microtubules kinétochoriens vers les pôles opposés de la cellule, séparant ainsi les chromatides. Les microtubules se dépolymérisent ensuite pour ne pas entraver ce mouvement **(Callen, 2005)**.





Microtubules





3.2.2. les microfilaments

Ce sont de fines fibres d'une épaisseur de 7 à 8 nm, présentes dans le hyaloplasme de toutes les cellules eucaryotes. Elles apparaissent généralement sous la forme de faisceaux hélicoidaux serrés. Chaque microfilament mesure habituellement entre 2 et 3 µm de long, tandis que les faisceaux peuvent atteindre 10 à 20 µm **(Lodish *et al.,* 2016)**.

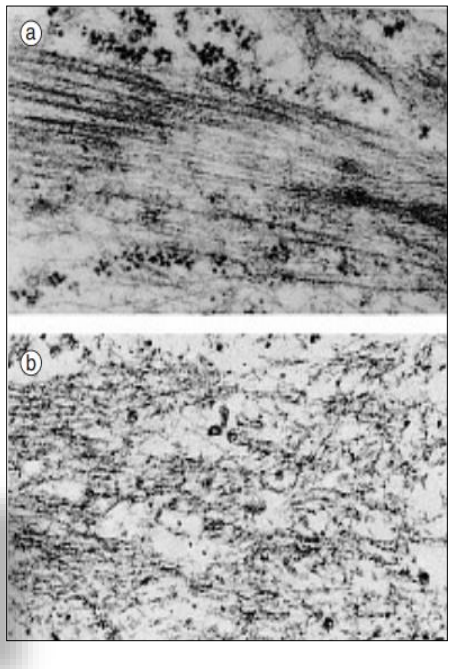


Figure 92. Microfilaments observés en microscopie électronique -Clichés J. Auber et Labo. BG, Orsay (Callen, 2005) (a) coupe longitudinale d'un faisceau serré de microfilaments observé dans une cellule de larve d'Amphibien ; **(b)** microfilaments organisés en un réseau lâche présent à la marge d'une cellule en culture.

Certaines cellules spécialisées sont riches en microfilaments, notamment les fibres musculaires. Chez les animaux, on trouve ces microfilaments en abondance dans les microvillosités des cellules absorbantes, les stéréocils des cellules sensorielles auditives, le filament acrosomial des spermatozoides, les ceintures d'adhérence, l'anneau contractile, ainsi que dans divers prolongements cellulaires, tels que les lamellipodes, etc **(Lodish *et al.,* 2016).**

a. Organisation et propriétés dynamiques

Le constituant élémentaire des microfilaments est une protéine globulaire nommée actine G, est un polypeptide de 42 kDa (375 AA) **(Figure 93-A)**. De même que la tubuline, l'actine est spontanément capable de s'associer pour former de longs filaments de plusieurs centaines de monomères orientés uniformément : l'actine F ou fibreuse **(Figure 93-B)**. Les microfilaments sont structuralement polarisés et possèdent une extrémité où la polymérisation est rapide dite (+ ou barbed end) appelée ainsi en raison de la présence de tête de myosine à sa surface et une extrémité dite (- ou pointed end) où la polymérisation est cinq fois plus lente **(Lodish *et al.,* 2016)**.

L'actine-G incorporée dans le polymère, est associée avec une molécule d'ATP en présence du Mg^{+2}. Cependant, après la phase de polymérisation, l'ATP est progressivement hydrolysé en ADP (voir **figure 94**).

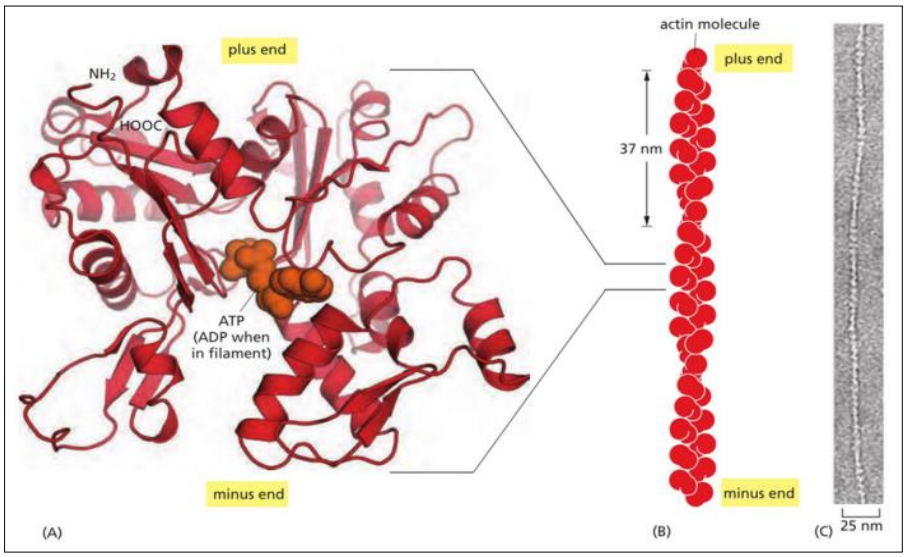


Figure 93. Structure d'un filament d'actine et de ses sous-unités (Albert *et al.*, 2017)

Il se crée ainsi, le long du filament d'actine, un gradient décroissant d'ATP-actine, qui sert de marqueur de l'âge du filament. Cette hydrolyse de l'ATP est irréversible et joue un rôle crucial dans le désassemblage des filaments d'actine. La croissance de l'actine-F est partiellement caractérisée par un mécanisme de tapis roulant (treadmilling), ou les monomères ajoutés à l'extrémité + proviennent de la dépolymérisation de l'extrémité - **(Lodish *et al.*, 2016)**.

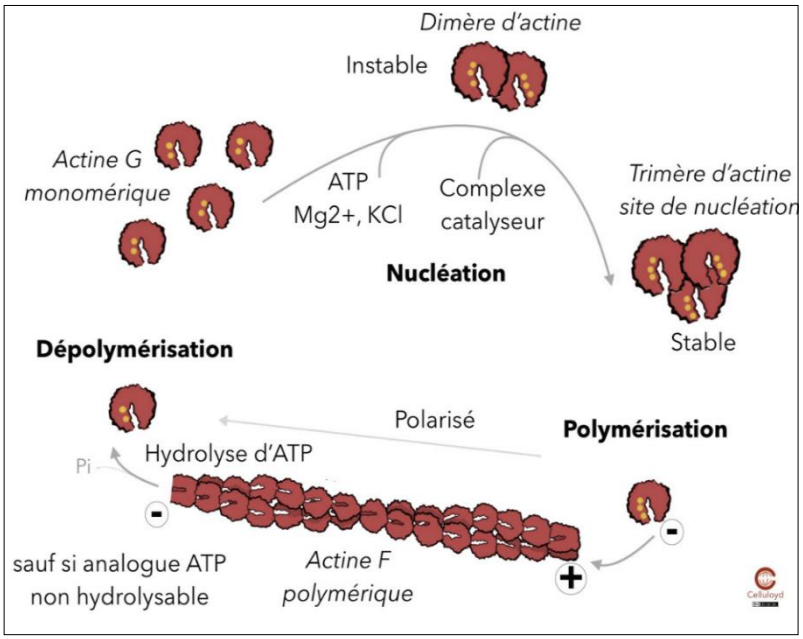


Figure 94. Etapes de polymérisation de l'actine (web 35)

La première étape est la création d'un site de **nucléation**, c'est-à-dire un trimère qui servira d'amorce, cependant cela se fait selon plusieurs conditions : [ ] actines G; ADP/ATP ; ions (Mg2+) et (Kcl) qui se fixent sur le pôle (-) de l'actine G.

b. Les protéines associées aux microfilaments

- **Les protéines de réticulation ou de rassemblement :** ces molécules relient les microfilaments entre eux pour former des gels tridimensionnels (comme la filamine) ou pour créer des faisceux ou câbles de densité variable, selon leur taille (telles que l'α-actinine, la fimbrine et la villine) **(Lodish *et al.*, 2016).**
- **Les protéines de stabilisation ou de fragmentation :** les premières renforcent et protègent les microfilaments en formant un manchon protecteur autour d'eux (tropomyosine) ; les secondes, au contraire, les fragmentent en courts segments en s'attachant à leurs flancs (gelsoline) **(Lodish *et al.*, 2016)**.
- **Les protéines de coiffage :** elles se fixent aux extrémités des microfilaments, les empêchant ainsi de se polymériser ou de se dépolymériser, par exemple à l'extrémité + (CapZ) ou à l'extrémité – (tropomoduline)**(Lodish *et al.*, 2016)**.
- **Les protéines de type myosine :** présentes dans les cellules musculaires striées, les fibres lisses ou dans les cellules ordinaires, ces protéines se lient à l'actine pour former des systèmes contractiles ou les deux types de filaments glissent les uns par rapport aux autres (comme dans les sacromères). La minimyosine est un type particulier de myosine qui s'associe aux membranes cellulaires et facilite leur déplacement le long des rails d'actine **(Lodish *et al.*, 2016)**.
- **les protéines d'accrochage aux membranes :** comme la taline.

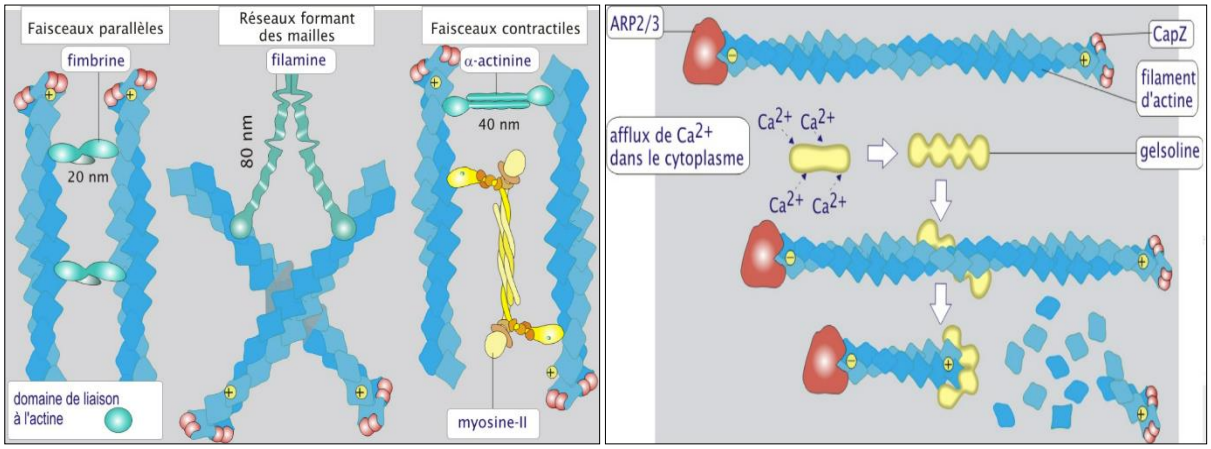


Figure 95. Mode de liaison de protéines associées au MF fimbrine, filamine, α-actinine et gelsoline (web36)

Toutes ces protéines qui contrôlent l'association, l'allongement, le glissement…, des microfilaments sont elles-mêmes sous la dépendance d'autres facteurs tels que le pH ou les ions Ca^{2+} **(Lodish *et al.*, 2016).**

c. Drogues perturbant les microfilaments d'actine

- **la cytochalasine :** poison provenant de champignons microscopiques, inhibe la polymérisation des microfilaments, par sa liaison au extrémité (+), il empêche la fixation de molécules d'actine G, **(Abdelali *et al.,* 2011)**.
- **la phalloidine :** poison provenant des amanites, inhibe la dépolymérisation en se fixant sur les côtés des filaments d'actine F **(Abdelali *et al.,* 2011)**.

d. Structures stables à base d'actine

On connaît différents types de cellules épithéliales qui présentent sur la face apicale des structures appelées **bordures en brosse** ou **plateaux striés**. En microscopie électronique, ces structures sont en réalité composées de petites digitations de 1 à 2 µm de haut, étroitement liées les unes aux autres, et connues sous le nom de microvillosités. Leur cœur est équipé d'un faisceau de 25 à 30 fibres parallèles. Ces fibres sont composées d'actine liées à la fimbrine, stabilisées par des protéines de coiffage et fixées au sommet de la microvillosité grâce à une masse amorphe **(Abdelali *et al.,* 2011)**.

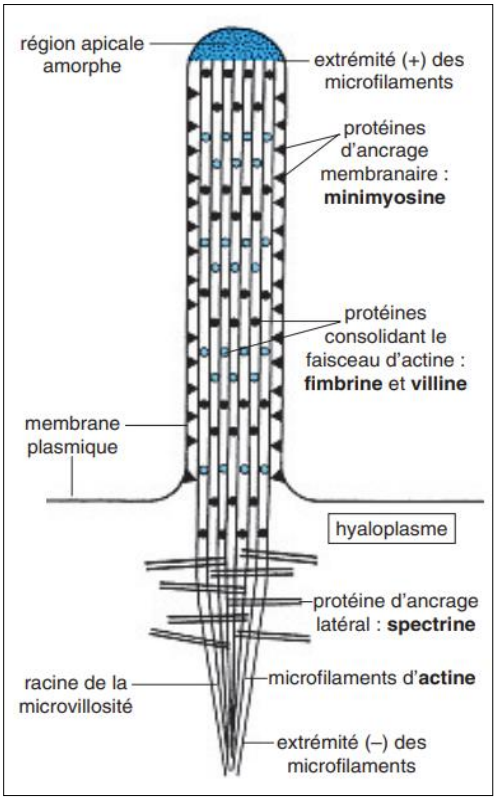


Figure 96. Coupe longitudinale d'une microvillosité intestinale (Callen, 2005)

e. Les fonctions des microfilaments d'actine

- **Migration cellulaire :** au niveau des sites d'infection, les leucocytes quittent la circulation sanguine pour pénétrer dans les tissus, attirés par les peptides N-formylés (chémokine) émis par les bactéries. Le réseau d'actine sous-membranaire soutient la polymérisation de nouveaux filaments qui poussent la membrane, générant ainsi des protrusions. Les **lamellipodes** sont des extensions dynamiques des leucocytes qui facilitent leur déplacement sur une surface **(figure 97-98)**. Ils se forment et se rétractent en quelques secondes **(Abdelali *et al.,* 2011)**.

 Les podosomes : ces structures jouent un rôle crucial dans le remodelage tissulaire en combinant la migration cellulaire et la digestion de la matrice extracellulaire. les podosomes sont des formations cylindriques qui se développent perpendiculairement à la membrane ventrale de la cellule. Ces microdomaines d'actine attirent des métalloprotéinases (MMPs), qui peuvent être transmembranaires, liées à la membrane, ou sécrétées dans le milieu environnant. Ces enzymes sont responsables de la dégradation du collagène, de l'èlastine, des protéoglycanes, ainsi que de la laminine, de la fibronectine et des collagènes de types IV et IX **(Riviere, 2006).**

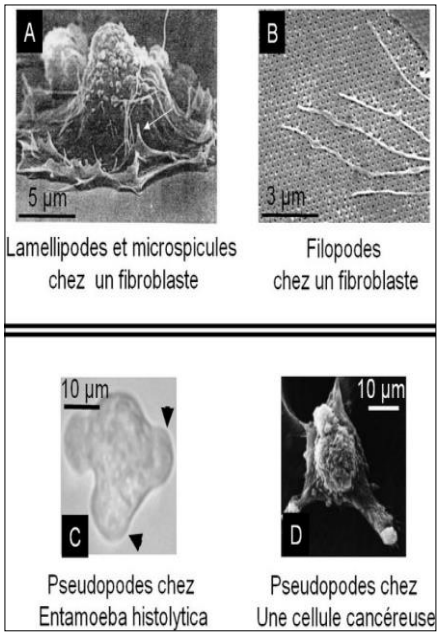


Figure 97. Protrusions membranaires ▼

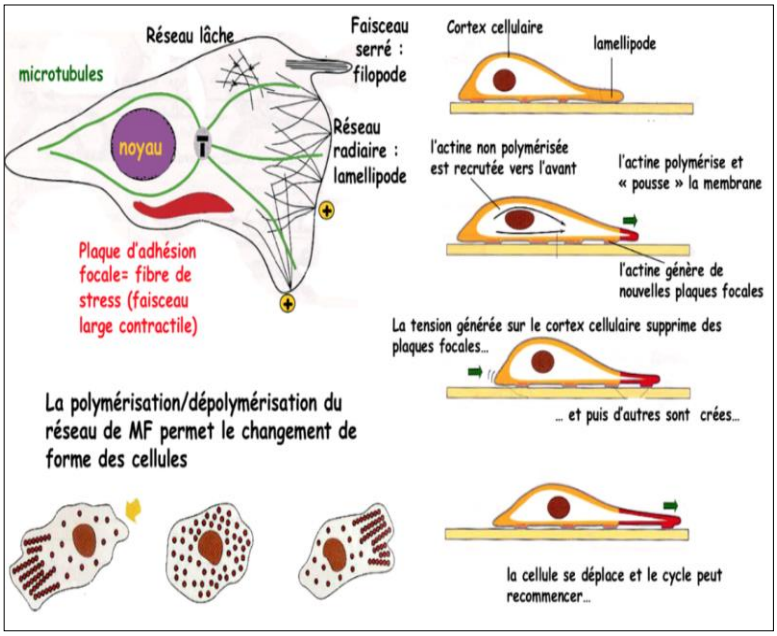


Figure 98. Plaque d'adhésion focale (web37)

A. lamellipodes (parties plates) et les microspicules (flèche) **B. les filopodes** protrusions fines et longues qui tâtent à distance le support sur lequel les cellules adhèrent ; **C et D. les pseudopodes** plus larges **(Riviere, 2006).**

 Traction sur la matrice extracellulaire : dans les fibroblastes du tissu conjonctif, les faisceaux contractiles d'actine se forment en fibres de tension, permettant aux cellules de se contracter et d'exercer une traction sur la matrice extracellulaire environnante. Ce mécanisme est crucial pour le processus de cicatrisation, durant lequel les bords d'une blessure doivent se rapprocher progressivement. Les filaments d'actine sont connectés à la matrice extracellulaire (composée de fibronectine, laminine et collagène) via des complexes moléculaires d'adhérence localisés aux points appelés **contacts focaux**. L'intégrine est la molécule principale impliquée, liée au cytosquelette

d'actine par l'intermédiaire d'un complexe de molécules de liaison et d'ancrage, telles que la taline, la vinculine et l'α-actinine **(Riviere, 2006)**.

 Cytodiérèse : A la fin de la mitose, après la séparation des chromosomes grâce aux microtubules durant la télophase, les filaments d'actine d'organisent à la périphérie de la cellule, perpendiculairement à l'axe du fuseau mitotique, pour former un **anneau contractile**. Lorsque cet anneau se contracte, à la manière d'un cordon resserrant une bourse, il divise la cellule mère en deux cellules filles **(Albert *et al.*, 2017)**.

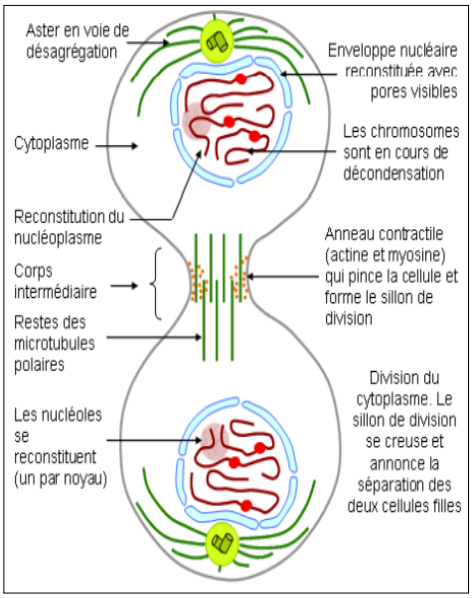
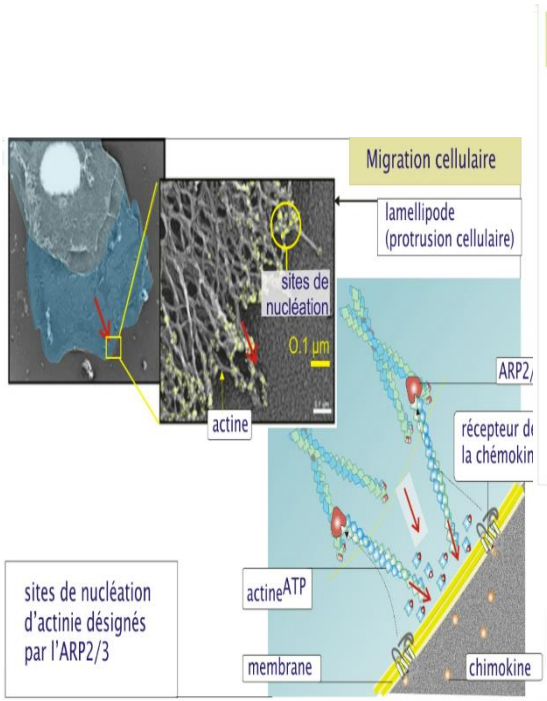
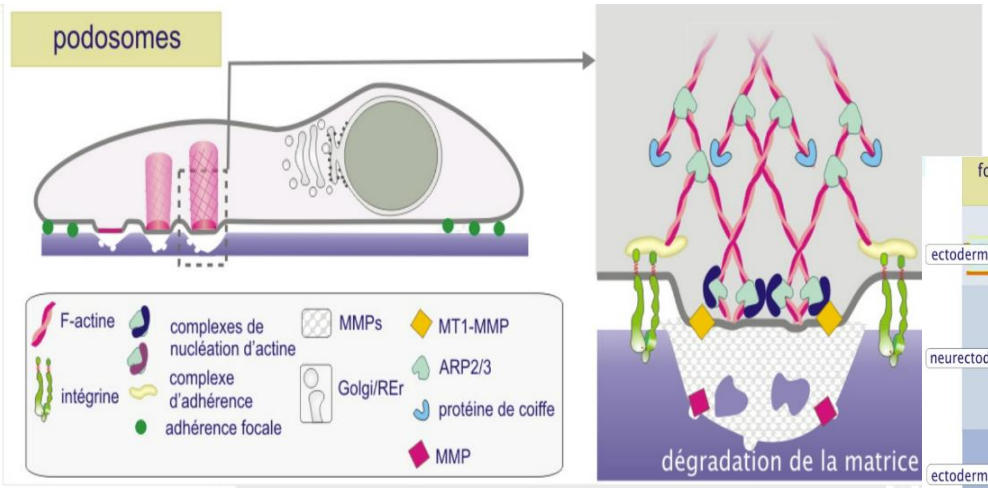


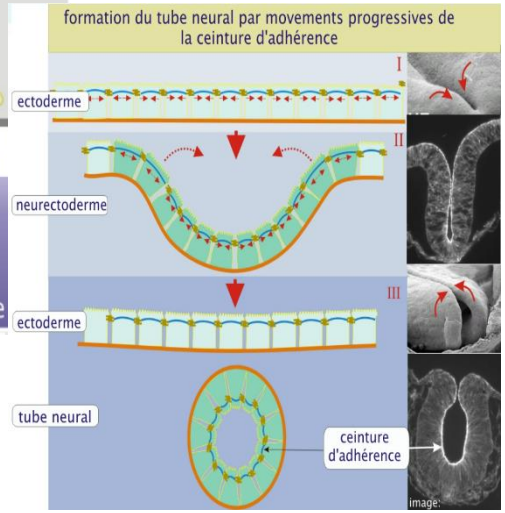
Figure 99. Télophase et formation de l'anneau contractile (web 38) ▸

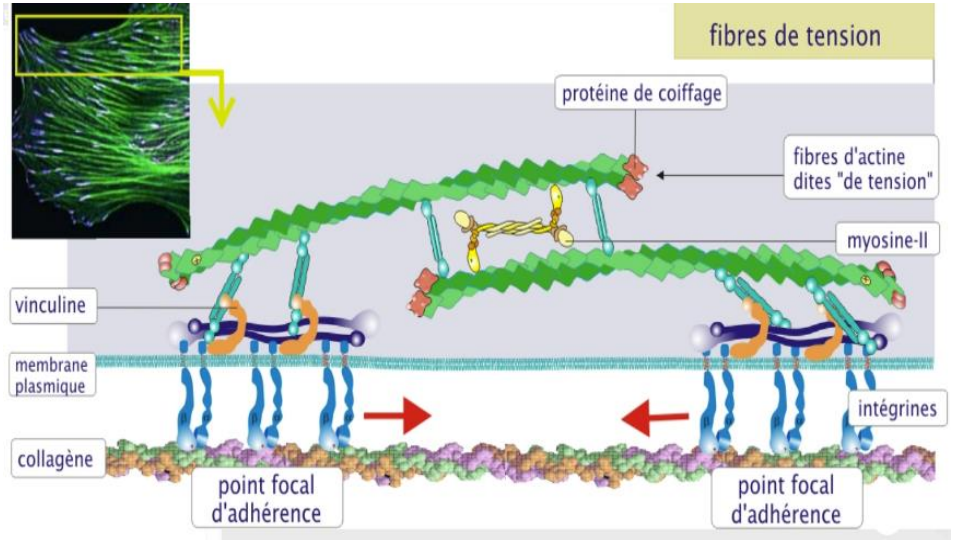
 Maintien de l'intégrité tissulaire et participation aux mouvements des feuillets embryonnaires : les filaments d'actine se structurent en faisceaux contractiles qui, en connectant les composants du cytosquelette d'une cellule aux autres, créent une ceinture augmentant la résistance de l'épithélium face aux agressions mécaniques. Ces faisceaux contractiles jouent également un rôle crucial dans les mouvements tissulaires pendant l'embryogenèse. Un exemple typique est la formation du tube neural : la contraction des ceintures entraîne l'affaissement du feuillet neuroectodermique, ce qui conduit à la formation de la gouttière neurale, puis du tube neural (voir figure ci-dessous) **(Albert *et al.*, 2017)**.

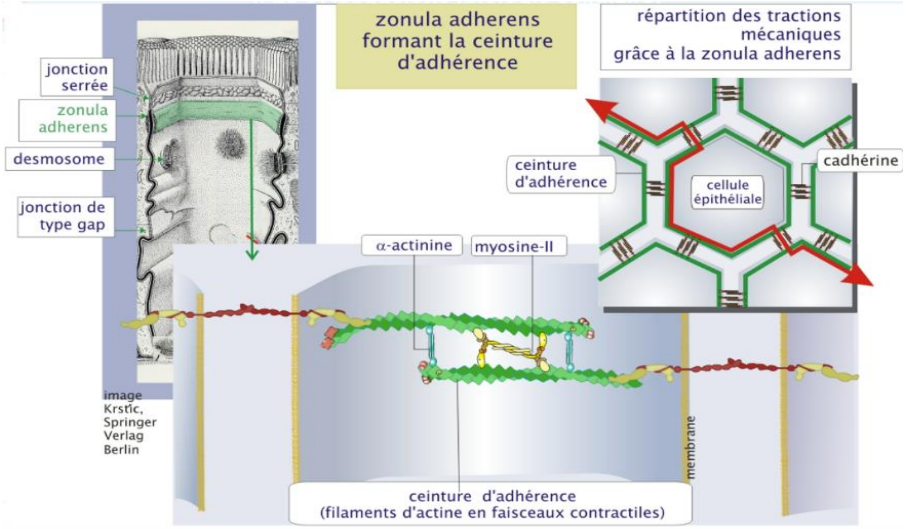
Filaments d'actine











3.2.3. Les filaments intermédiaires (FI)

Ils se présentent sous forme de fibres dont l'èpaisseur varie entre 8 et 12 nm. Les filaments intermédiaires ont été observés dans tous les types de cellules animales, notamment dans les cellules épidermiques et leurs dérivés (cheveux, ongles, écailles, etc.), ainsi que dans les cellules nerveuses, qu'il s'agisse de neurones ou de cellules gliales. On les désigne sous le nom de tonofilaments de kératine et neurofilaments. Ces derniers se structurent en faisceaux épais (neurofibrilles), facilement perceptibles à travers le corps cellulaire et les prolongements nerveux **(Albert *et al.*, 2008).**

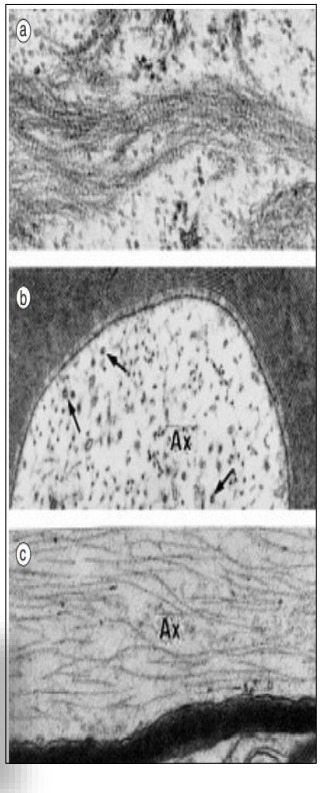


Figure 100. Filaments intermédiaires observés en M.E. (Callen, 2005) ▸
(a) cellule épithéliale en culture : coupe longitudinale d'un faisceau de tonofilaments de kératine ; **(b)** et **(c)** coupes d'axones **(Ax)** myélinisés montrant de nombreux neurofilaments et quelques microtubules (flèches).

a. Protéines constitutives des filaments intermédiaires

On distingue six groupes de monomères présentant une spécificité tissulaire **(Alberts *et al.*, 2008) :**

- Les **kératines** spécifiques des cellules épithéliales ;
- La **vimentine** est spécifique aux cellules mésenchymateuses telles que les fibroblastes, les adipocytes et les cellules endothéliales ;
- La **desmine** est propre aux cellules musculaires lisses et cardiaques, ainsi qu'aux neurones ;
- La protéines **fibrillaire gliale acide** est spécifique à certaines cellules gliales du système nerveux ;
- Les **lamines** nucléaires, au nombre de trois, sont présentes dans la lamina du noyau de toutes les cellules animales.

b. autoassemblage des filaments intermédiaires

les monomères s'assemblent d'abord en dimères hélicoidaux parallèles (avec les extrémités N et C du même côté)**(figure 101b),** puis ces dimères se regroupent en tétramères antiparallèles, légèrement décalés les uns par rapport aux autres **(figure 101c).** Ensuite, ces tétramères s'associent bout à bout pour former un protofilament **(figure 101d).** Enfin, huit protofilaments disposés parallèlement les uns aux autres forment un filament intermédiaire, dont le diamètre varie en fonction du type de monomère fibreux de base **(figure 101e).** La disposition antiparallèle des tétramères empêche la polarisation du protofilament **(Alberts *et al.,* 2008).**

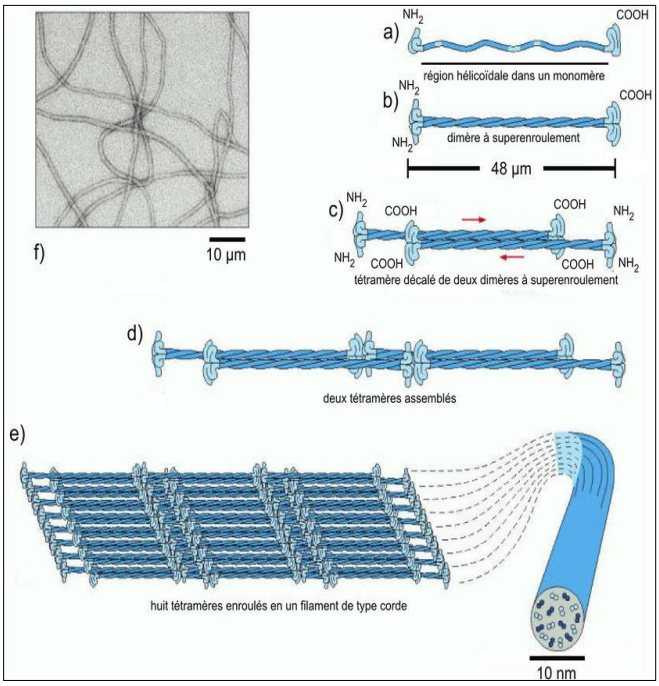


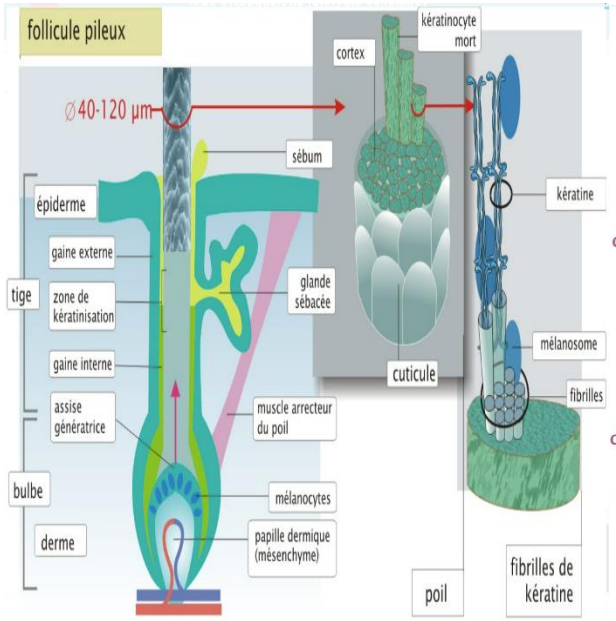
Figure 101. Etapes de formation d'un FI (Alberts *et al.,* 2008)

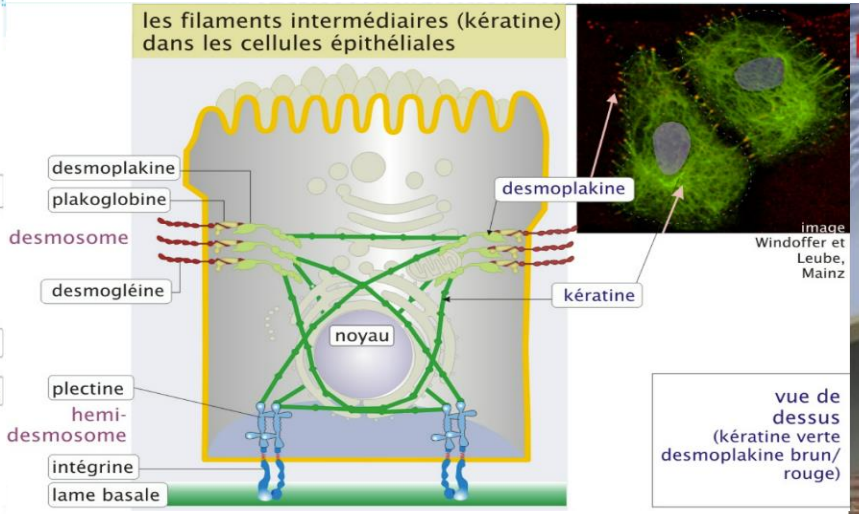
c. Fonction des filaments intermédiaires

- **Maintien de l'intégrité cellulaire et tissulaire de l'épithélum :** grâce aux jonctions d'ancrage des desmosomes et hémi-desmosomes.

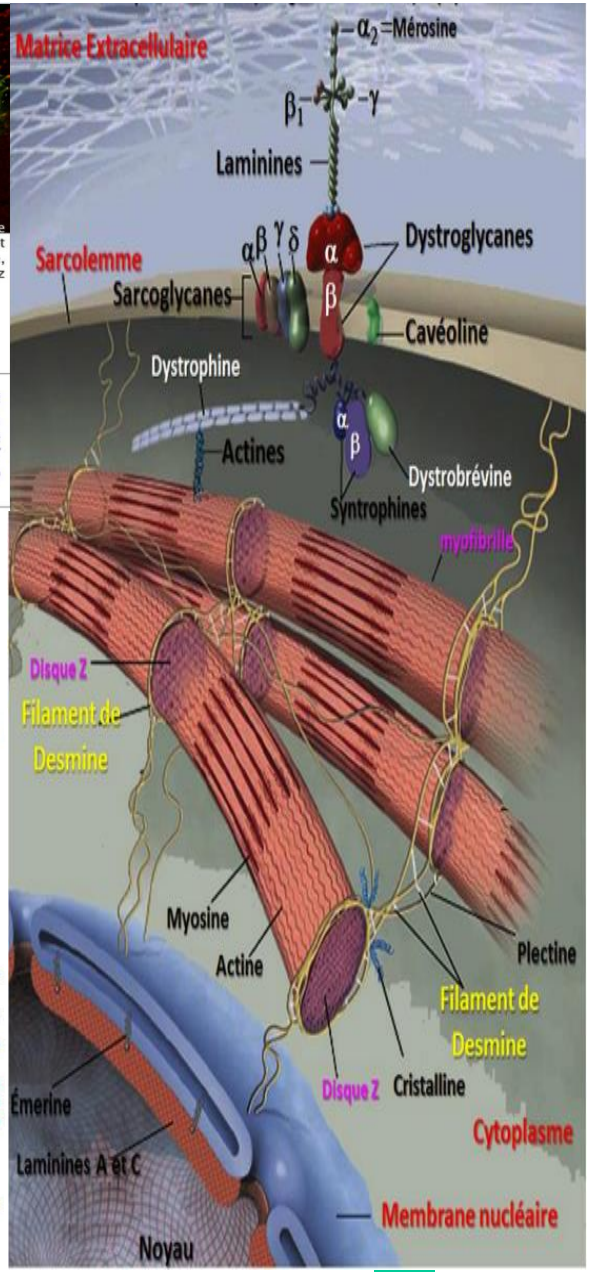
- **Soutien de l'enveloppe nucléaire :** la lamine, tapisse la face interne de l'enveloppe nucléaire donnant a celle-ci sa forme globulaire.

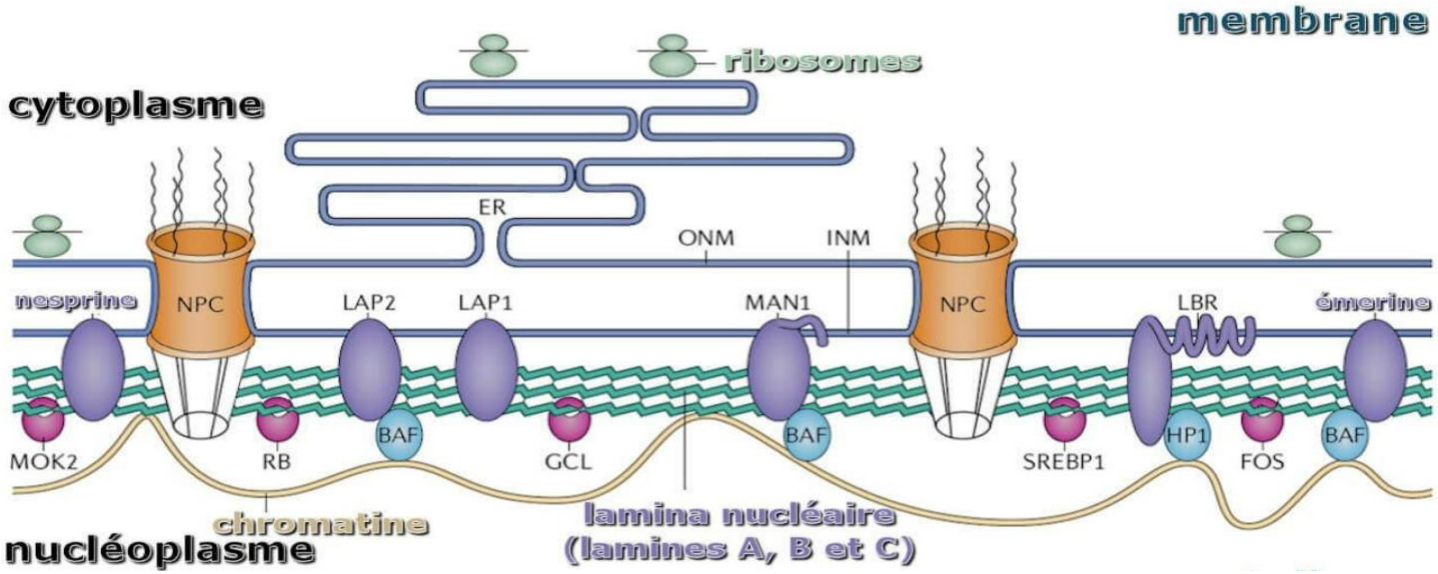
- **Formation des ongles, cheveux et couche cornée de la peau :** les kératinocytes et les cellules de l'assise génératrice dans le follicule pileux produisent un excès de filaments de kératine. Cette surproduction provoque la mort des cellules, qui restent assemblées et forment progressivement la couche cornée, un ongle ou un poil **(Alberts *et al.,* 2008)**.





Filaments intermédiaires





3.3. La fibre et la contraction musculaire : structure et fonction des micro filaments d'actine et de myosine

La fibre d'actine a été largement étudiée dans le précédent chapitre, nous aborderons ici la fibre de myosine et la contraction musculaire.

3.3.1. La myosine

Les filaments épais ont un diamètre d'environ 15 nm. Ces grandes protéines se composent généralement de trois parties : une tête ou domaine moteur, un cou ou bras de levier allongé dont la longueur varie et qui est formé de motifs IQ capables de recruter des chaines légères de type calmoduline, et une queue qui permet l'interaction spécifique avec divers partenaires cellulaires. Les variations de séquence au niveau du domaine moteur des myoaines ont consuit à l'identification de différentes classes distinctes **(Ménétrey *et al.*, 2006).**

- **Les myosines non conventionnelle (ex. myosine de classe I) :** sont composées d'une seule tête dotée d'une activité ATPasique et d'une queue relativement courte. Contrairement aux myosines classiques, elles ne forment pas de filaments et participent pas à la contraction musculaire, mais jouent un rôle dans le transport des vésicules **(McIntosh et Ostap, 2016).**

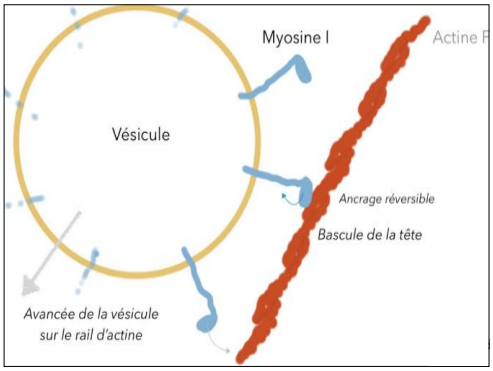


Figure 102 : Structure de la myosine I (web 39)

- **Les myosines conventionnelles (ex. myosine de classe II) :** il s'agit de molécules allongées constituées de deux chaînes lourdes et de quatre chaînes légères pesant chacune 200kDa et 20kDa respectivement. Chaque chaîne lourde comporte une queue Ct allongée et fibrilllaire en hélice α, ainsi qu'une tête globulaire Nt à activité ATPasique, liée au chaînes légères, et un domaine cervicale flexible qui relie les deux extrémités. La tête globulaire et le domaine cervical forment la **méromyosine lourde,** tandis que la partie fibrillaire de la queue constitue **la méromyosine légère (Ronen et ravid, 2009).**

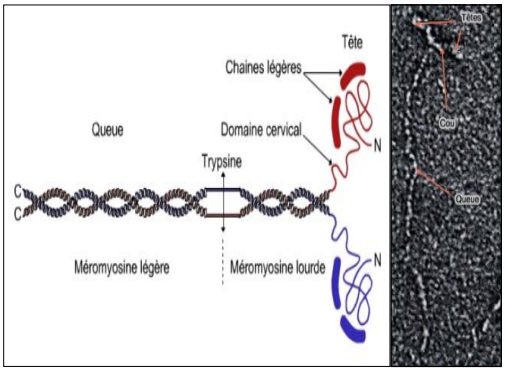
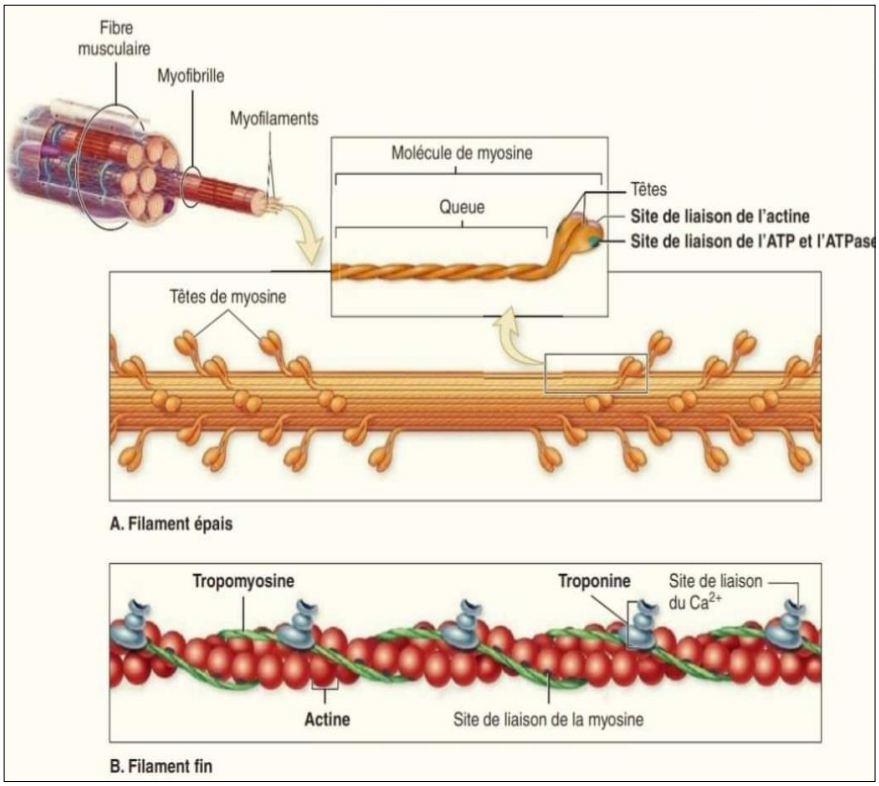


Figure 103. Structure de la myosine II web40

Des centaines de molécules de myosine II s'assemblent pour former un filament épais. Les parties caudales de ces molécules sont alignées parallèlement, tandis que les têtes globulaires dépassent à la périphérie du filament, prêtes à se fixer aux filaments d'actine. Cette interaction avec l'actine, associée au déplacement des têtes de myosine, est à l'origine de la contraction musculaire **(Ronen et Ravid, 2009)**.



Protéines régulatrices

La troponine : protéine trimérique formé de 03 sous-unités (**C** : fixation Ca^{2+} ; **I :** inhibe l'activité, ATPasique de la tête de myosine; et **T** : relier la troponine à la tropomyosine

La tropomyosine : protéine dimérique, constitué de deux chaînes hélicoïdales formant une hélice. Elle se positionne dans les sillons du filament fin occupant une longueur correspondant à 7 molécules d'actine G.

Figure 104. Structure moléculaire des filaments épais (A) et fins (B) (web 41)

3.3.2. Contraction musculaire

Chez les vertébrés, les fibres musculaires se répartissent en pluieurs catégories selon le type de muscle auquel elles appartiennent : muscles squelettiques, muscle cardiaque ou muscle lisses. Ces muscles sont respectivement impliquées dans la locomotion, le pompage du sang, et le péristaltisme intestinal ou la contraction des vaisseaux sanguins **(Callen, 2005).**

- **Organisation générale des fibres musculaires striées**

Les muscles striés squelettiques et cardiaques doivent leur nom à l'apparence striée des cellules qui les composent lorsqu'elles sont observées au microscope. Les cellules musculaires squelettiques sont de grande taille, mesurant plusieurs centimètres de long, et sont plurinucléées. Leur cytoplasme est rempli de nombreuses **myofibrilles**, formées d'unités répétées appelées **sarcomères.** A l'inverse, les cellules du muscle cardiaque sont courtes, uninucléées, et solidement liées entre elles par des jonctions intercellulaires multiples. Les myofibrilles des cellules adjacentes sont alignées les unes avec les autres grâce aux disques intercalaires qui les relient. Ces deux types de cellules se distinguent par la présence d'un vaste réticulum endoplasmique lisse, appelé **réticulum sarcoplasmique**, dont la fonction est de réguler la concentration du hyaloplasme en Ca^{2+} **(Callen, 2005).** Le réticulum sarcoplasmique forme des protubérances appelées **citernes terminales**. A proximité, des invaginations transverses de la membrane cytoplasmique, connues sous le nom de **tubules T**, se trouvent en association étroite avec deux citernes terminale, formant une structure appelée **triade**. Cette organisation est cruciale pour le couplage excitation-contraction. L'abondance de mitochondries dans ces cellules reflète leurs besoind énergitiques élevés **(Teyssier, 2019).**

Contrairement aux cellules du muscle strié squelettique, les cellules musculaires lisses sont petites, ne dépassant pas 10µm de diamètre et 500µm de longueur **(figure 105).** Elles peuvent cependant s'allonger de manière significative et se raccourcir de façon remarquable. Ces cellules possèdent un seul noyau, et leur réticulum sarcoplasmique est généralement beaucoup moins développé que celui des cellules musculaires striées squelettiques. De plus, le canal calcique dans ces cellules dépend d'un second messager, IP3 (Inositol Tri Phosphate), produit par une protéine G (web 42)▼.

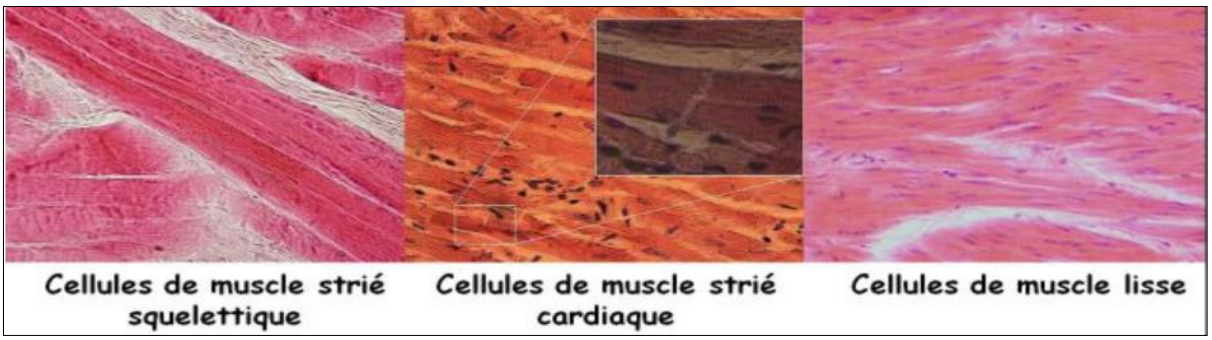


Figure 105. Les différents types de cellules musculaires (web42)

 Organisation moléculaire et structurale des sarcomères : deux ensembles parallèles de microfilaments d'actine s'entrelacent avec un ensemble de filaments épais constitués de myosine II. Les microfilaments d'actine sont renforcés longitudinalement par des molécules de liaison telles que la **tropomyosine** et sont partiellement recouverts de molécules de **troponines**. Des molécules comme la **vinculine** fixent les microfilaments par leur extrémité (+) dans les **stries Z** et sont maintenus à une distance identique entre eux grâce aux molécules d'**α-actinine**. Le réseaux de **desmine** permet l'alignament et la liaison entre les diverses stries Z **(Callen, 2005)**.

Environ 66% des protéines totales du **sarcomère** sont composées de l'actine et de la myosine. Cette structure comprend également de nombreuses autres molécules, notamment la **titine**, une protéine de 3000 kDa qui oriente et stabilise les faisceaux de myosine. De son côté, la **nébuline** collabore avec l'actine pour contrôler la longueur des microfilaments **(Callen, 2005)**.

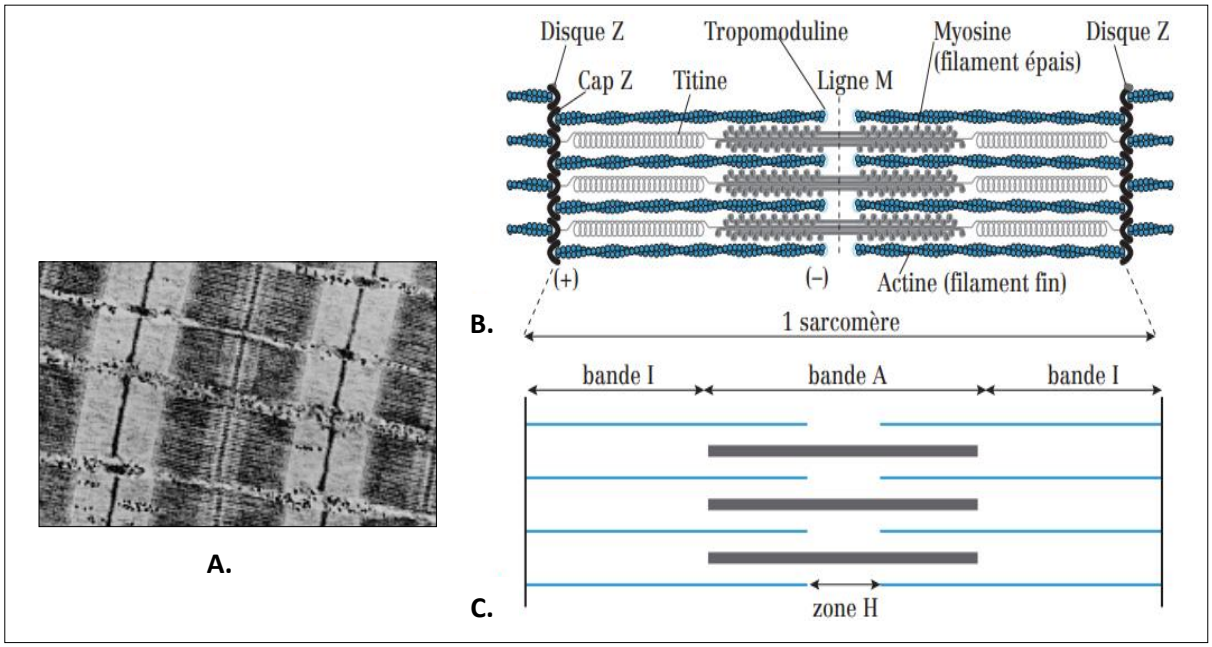


Figure 106. Structure du sarcomère (Favro et Nicolle, 2011)

A. Coupe longitudinale d'une myofibrille, cas d'une fibre musculaire striée ; **B-C.** Organisation protéique d'un sarcomère.

Chaque sarcomère est composé de plusieurs sections distinctes : au centre, on trouve une bande **sombre** appelée **bande A**, qui devient plus **claire** au milieu, formant **la bande H** ; de chaque côté de cette bande sombre se trouvent deux demi-bandes claires, appelées **bandes I**. une strie en zigzag, nommée **strie Z,** délimite les sarcomères adjacents.

Les sarcomères sont composés de deux types de myofilaments protéiques :

- Des myofilaments épais de myosine, situés au niveau de la bande sombre centrale (bande A)
- Des myofilaments fins d'actine, présents dans tout le sarcomère, à l'exception de son centre, au niveau de la bande H. Ainsi, les bandes claires latérales (bandes I) ne contiennent que des filaments fins d'actine, qui se superposent. La bande sombre centrale (bande A) est constituée à la fois de myofilaments d'actine et de myosine, ce qui lui confère son aspect foncé. Dans la bande claire centrale (bande H), les myofilaments d'actine sont absents

 Le couplage excitation-contraction : l'élément déclencheur de la contraction musculaire est l'augmentation de la concentration de calcium à l'intérieur de la cellule. Au repos, cette concentration est d'environ 0,1µmol.L^{-1}. Lorsqu'il y a stimulation, elle peut atteindre jusqu'à 0,1mmol.L-1, soit une augmentation d'un facteur 1000. Le couplage excitation-contraction désigne les mécanismes responsables de cette élévation significative. Dans les muscles squeletiques, cette augmentation résulte principalement de la libération massive d'ion calcium stockés dans le réticulum sarcoplasmique.

Dans les terminaison nerveuse d'un neurone moteur, l'arrivée d'un **potentiel d'action**, déclenche la libération de **l'acétylcholine** dans la fente synaptique. La liaison de ce neurotransmetteur à son **récepteur nicotinique (AcRc)** provoque une **dépolarisation** locale de la membrane musculaire post-synaptique. Une vague de dépolarisation se répand le long du **sarcolème** suite à l'ouverture des canaux de sodium et de calcium dépendants du voltage.

Des canaux calciques, appelés récepteurs aux dihydropyridines (DHPR), situés au niveau des tubules T, sont également impliqués en augmentant la concentration intracellulaire de calcium. L'ouverture des DHPR entraîne celle du récepteur à la ryanodine, un récepteur ionotropique calcique RyR, favorisé par le calcium et l'ATP. Ce récepteur RyR est localisé sur la membrane des citernes terminales du réticulum sarcoplamique. L'ouverture des récepteurs à la ryanodine permet une libération massive du calcium stocké, provoquant une augmentation considérable de sa concentration cytoplasmique, particulièrement près des myofibrilles.

Quand la **troponine** ne se lie pas au calcium, la **tropomyosine** entrave le point d'interaction entre la myosine et l'actine. L'attachement du calcium à la troponine provoque une transformation de sa structure, qui déplace légèrement la tropomyosine liée et révèle les points de contact entre l'actine et la myosine.

Après l'exposition des sites de liaison de la myosine sur l'actine en présence de calcium, les têtes de myosine, liées à l'ADP et du phosphate inorganique (Pi), s'attachent à l'actine. Le départ du phosphate inorganique, suivi de celui de l'ADP, renforce la liaison entre l'actine et la myosine, tout en réduisant l'angle entre la tête de myosine et sa queue allongée, passant de 90°à 45°. Ce changement de conformation, stimulé par la libération de l'ADP et di Pi, induit un mouvement relatif entre les filaments fins et épais, rapprochant

les disques Z, ce qui correspond au reccourcissement du sarcomère, donc à une contraction musculaire. La dissolution du lien actine-myosine de produit lorsque l'ATP s'attache à la tête de la myosine. Finalement l'hydrolyse de cet ATP en ADP+Pi entraîne un renouvellement de la conformation de la myosine.

Pour conclure, la tête de myosine s'est dirigée vers le bout (+) du filament d'actine qui se trouve du côté de la strie Z.

Une **augmentation** de la concentration en **calcium** au sein de la cellule déclenche la **contraction musculaire**, tandis que le **relâchement** du muscle se produit lorsque la **concentration initiale du calcium est récupérée (Saidi, 2020)**. Ce retour au repos est rapidement atteint grâce à la combinaison de trois processus :

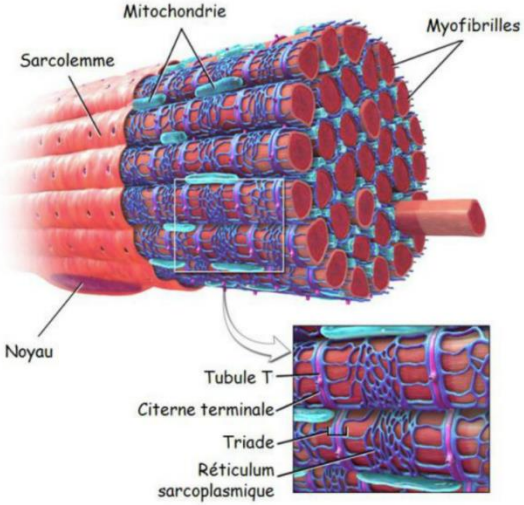
- La fermeture rapide des canaux calciques,
- La liaison du calcium à différentes protéines, notamment la troponine,
- Le pompage actif du calcium vers la lumière du réticulum arcoplasmique par des pompes ATPases calcium-dépendantes

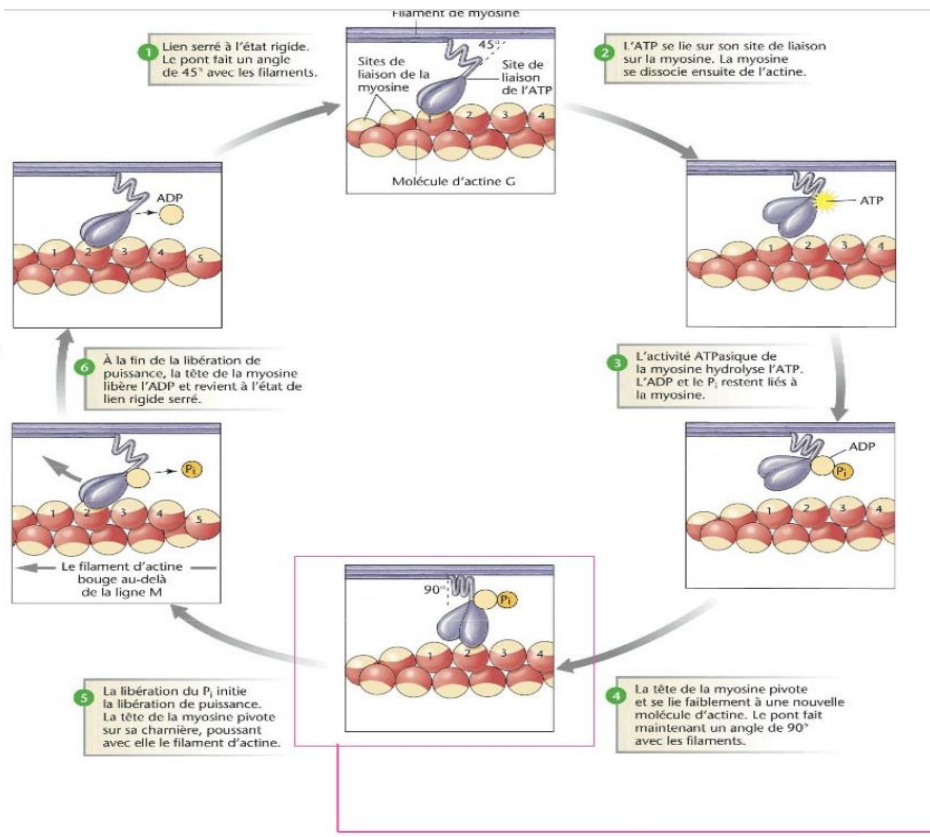
Il est estimé qu'environ 30 ms sont nécessaires pour ramener la concentration intracellulaire de calcium à son niveau de repos. Cette baisse de calcium provoque la dissociation du calcium de la troponine, rétablissant ainsi l'inhibition de la liaison actine-myosine par la troponine. Par concéquent, le muscle se relâche **(Saidi, 2020)**.

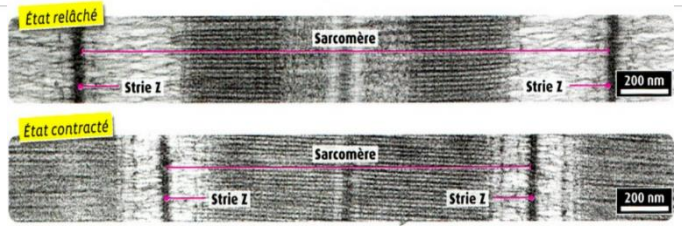
Point cours

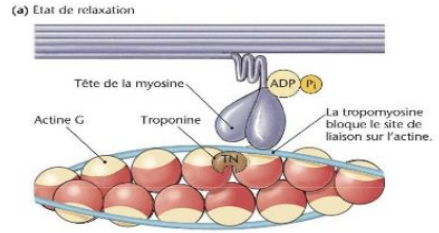
- Connaître la composition et les rôles du cytosquelette dans une cellule
- Connaitre les carcatéristique des myosines
- Connaître la composition et le fonctionnement d'un sarcomère
- Connaître le rôle du Ca2+ vis-à-vis de la troponine dans la contraction musculaire
- Savoir décrire le cycle/mécanisme d'interaction actine/myosineII au cours de la contraction musculaire

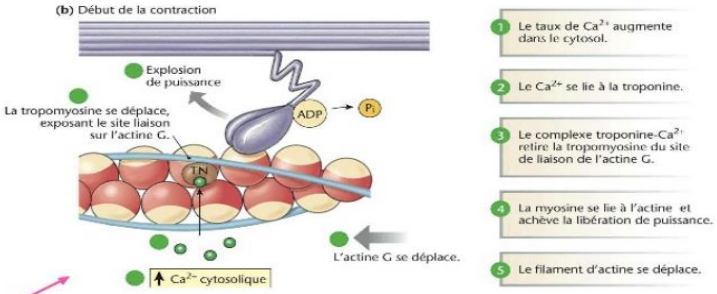
Contraction musculaire

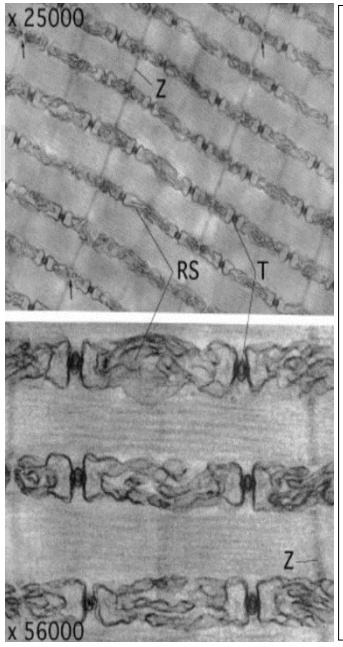




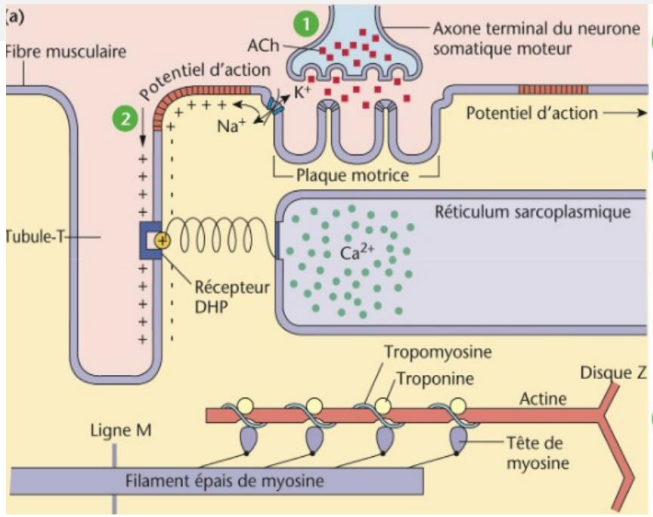




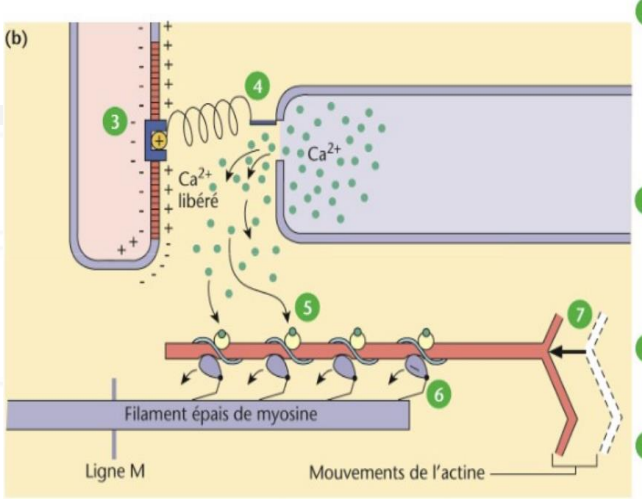




Z : Strie Z ; **RS :** Réticulum sarcoplasmique ; **T :** Tubule T



1. Le motoneurone libère de l'ACh au niveau de la plaque motrice.
2. L'entrée de Na^+ à travers le canal-récepteur ACh déclenche un potentiel d'action musculaire.
3. Le potentiel d'action dans les tubules-T modifie la conformation du récepteur DHP.



4. Le récepteur DHP ouvre des canaux calciques dans le réticulum sarcoplasmique et le Ca^{2+} est libéré dans le cytoplasme.
5. Le Ca^{2+} se lie à la troponine, permettant une liaison forte entre actine et myosine.
6. Les têtes de myosine déclenchent le « coup de rame ».
7. Le filament d'actine glisse vers le centre du sarcomère.

3.4. La mitochondrie et la chaine de phosphorylation oxydative : structure, fonction, les sites de couplage, fonctionnement du système oxydo-phosphorylant

Généralités

Les cellules eucaryotes aérobies possèdent des générateurs d'énergie extrêmement efficaces : les **mitochondries**. Ce terme provient du grec ancien " μίτος" (mitos) qui veut dire "fil" et " χονδρίον " (chondros) qui veut dire "granule". Les mitochondries sont des organites d'environ 2 à 7 microns de longueur et de 0,5 à 1 micron de diamètre. Elles sont mobiles, déformables et peuvent adopter une structure allongée et filamenteuse, ou un aspect granuleux et fragmenté **(Petit *et al.,* 2008)**.

3.4.1. Données ultra-structurales

l'ultrastructure des mitochondries, bien connue depuis 1953, se caractérise par une **membrane externe** uniforme et continue, d'une épaisseur d'environ 7nm. Cette membrane est séparée de la **membrane interne** par un espace intermembranaire large de 10 à 20 nm. La membrane interne, légèrement plus fine avec une épaisseur de 5 à 6 nm, présente une composition chimique distincte. Elle forme des replis serrés vers l'intérieur de l'organite, appelés **crêtes**, dont l'intérieur est en continuité avec l'espace intermembranaire, ce qui fait que sa surface est bien plus grande que celle de la membrane externe (jusqu'à cinq fois plus, notamment dans un hépatocyte)**(figure 107).** Le nombre et la forme de ces crêtes varient considérablement selon les types de tissus. L'intérieur de la mitochondrie, appelé **matrice mitochondriale**, est très concentré et présente un aspect finement granuleux, avec des structures figurées de taille notable pouvant y être distinguées **Callen, 2005).**

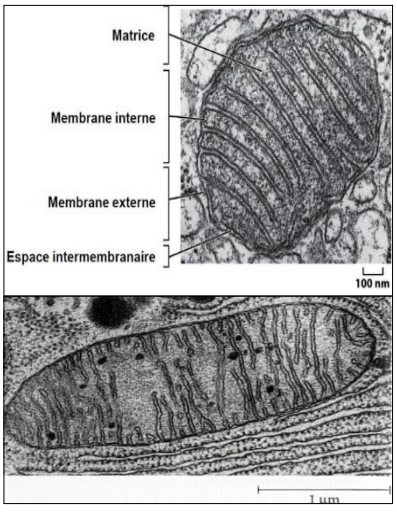


Figure 107. Mitochondrie au microscope électronique (Campbell, 1995) ▸

Il existe une véritable spécialisation des mitochondries en fonction des tissus où elles se trouvent. Cette diversité se manifete non seulement par leur nombre et leur forme, mais également par la taille, l'orientation et la disposition des crêtes internes.

3.4.2. Distribution et mouvements mitochondriales

 La répartition des mitochondries varie selon le type de cellule. Dans les hépatocytes, elles sont distribuées de manière uniforme, tandis que dans les entérocytes, elles se localisent aux deux extrémités de la cellule avec une forme filamenteuse au pôle apicle et une forme granulaire au pôle basal. Dans les cellules musculaires striées, elles sont placées en regard du disque A des myofibrilles, alors que chez les spermatozoides, elles se trouvent de chaque côté de la pièce intermédiaire **(Petit *et al.,* 2008)**.

 Les mitochondries se déplacent en suivant les flux cytoplasmiques, mais elles peuvent également bouger de manière autonome et modifier leur taille et leur forme. Elles se courbent, se redressent, s'enroulent, se tordent, se fragmentent en bâtonnets plus courts ou fusionnement en structures plus longues **(Petit *et al.,* 2008)**.

 Les mouvement des mitochondries dépendent des microtubules et des protéines motrices telles que la kinésine et la dynéine, ainsi que des microfilaments d'actine **(Petit *et al.,* 2008)**.

3.4.3. Composition biochimique et organisation moléculaire

Les 2 membranes mitochondriales différent non seulement par leur constitution biochimique mais aussi par leur organisation moléculaire.

 La membrane externe

C'est une bicouche lipidique refermant plusieurs types de protéines et de complexes protéiques, on trouve :

-une perméase non glycosylée appelée **porine** (**VDAC** voltage dependant anion channel) qui forme des canaux transmembranaires perméables d'une taille maximale de 10.000 Da afin de faciliter le passage de métabolite dans l'un ou l'autre sens **(Tyler, 1992)**.

-plusieurs autres protéines au niveau des zones d'accolement transitoire entre les membranes mitochondriales externe et interne constituant :

- Les complexes d'importation de protéines mitochondriales synthétisées dans le cytosol sous contrôle du génome nucléaire (**TOM** pour Translocation Outer Membrane ou complexe de translocation de la membrane externe et **TIM** pour

Translocation Inner Membrane ou complexe de translocation de la membrane interne) **(figure 108)(Tyler, 1992)**.

- Un complexe protéique responsable de l'entrée. Dans les mitochondries, du cholestérol pour la synthèse des hormones stéroïdiennes **(Tyler, 1992)**.

- **L'espace intermembranaire**

Cet espace sert de zone de transit pour les molécules de taille relativement petite (ions, certaines protéines, etc.) qui passent passivement à travers la membrane externe grâce aux porines.

- Il contient des protons : ceux-ci sont transportés depuis la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire, ou inversement depuis l'espace intermembranaire vers la matrice via l'ATP-synthase.
- Il contient aussi le cytochrome C, une protéine qui circule entre les deux membranes **(Tyler, 1992)**.

- **La membrane interne**

Elle présente de nombreux replis ou crêtes mitochondriales. La forme de ces crêtes varie selon l'activité et le type cellulaire. Il existe une corrélation entre le nombre et la surface des crêtes et les besoins en ATP de la cellule **(Tyler, 1992)**. On distingue :

- Des crêtes de forme lamellaire (en saccules) allongées, comme dans les acini pancréatiques ;
- Des crêtes de forme tubulaire (en doigt de gant) présentes dans les cellules synthétisant des hormones stéroïdes, telles que les cellules de la corticosurrénale et les cellules de Leydig ;
- Des crêtes allongées de section triangulaire ou prismatique, comme celles observées dans les astrocytes du tissu nerveux.

La membrane interne des mitochondries contient 20% de lipides et 80% de protéines, et est dépourvue de cholestérol, ce qui explique sa faible fluidité. Les lipides sont principalement des **cardiolipides** (diphosphatidyl-glycérol), qui permettent aux lipides cytosoliques de pénétrer dans la matrice, où ils subissent la β-oxydation. Les protéines présentes dans cette membrane remplissent trois fonctions principales :

- Des protéines impliquées dans les réactions d'oxydation de **la chaîne respiratoire (complexe I à IV)** ;
- Des protéines de transport spécifiques qui régulent le passage de substances à travers la matrice, certaines fonctionnant comme symports et autres comme antiports (comme le **cytochrome P450** ou la **protéine de découlpage UCP**) **(figure 108)**.
- Un complexe enzymatique **« F0-F1 »**, responsable de la synthèse d'ATP. Ce complexe comprend une base ancrée dans la membrane interne, un pédoncule reliant le complexe à des protéines intrinsèques de la membane, et une tête qui correspond à l'ATP synthase

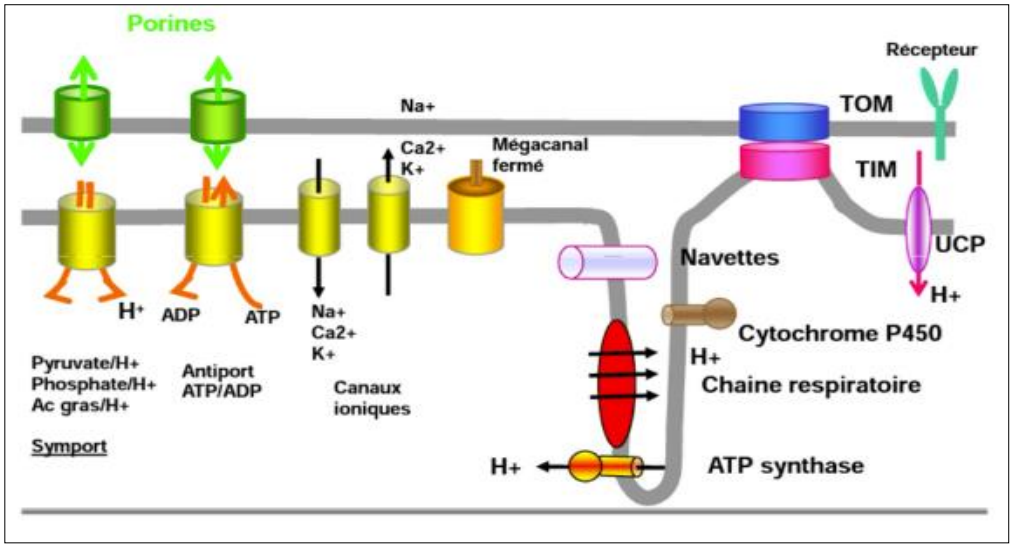


Figure 108. Protéines de la membrane mitochondriale (web43)

La matrice

La chambre interne ou matrice mitochondriale, finement granuleuse au (MET), renferme des : granules denses contenant des cations (Ca^{2+} et Mg^{2+}), mitoribosomes, ARN, ADN mitochondriale circulaire organisé en double hélice et de nombreux systèmes enzymatiques intervenant dans diverses voies métaboliques (la β-oxydation des acide gras, l'oxydation de l'acide pyruvique, le cycle tricarboxylique (cycle de l'acide citrique ou cycle de krebs)) **(Tyler, 1992)**.

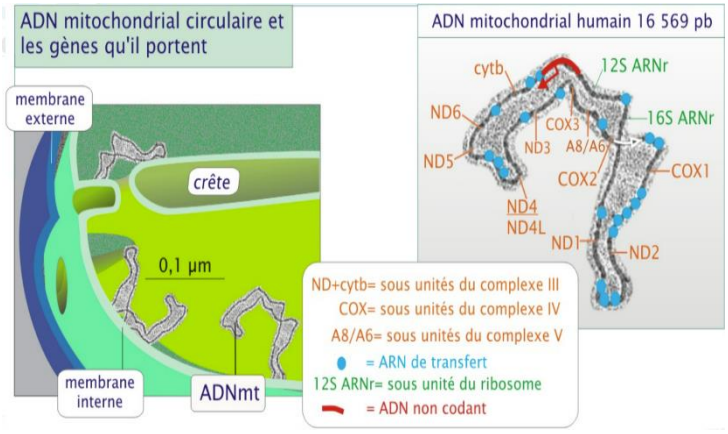


Figure 109. ADN mitochondrial (web44)

3.4.4. Fonction de la mitochondrie

Les mitochondries sont des organites essentiels à la vie et à la mort des cellules eucaryotes. En plus de leur rôle principal dans la production d'énergie sous forme d'ATP, elles participent à divers processus tels que que le métabolisme des acides aminés et des lipides, l'homéostasie du calcium, la synthèse des hormones stéroides, ainsi que l'assemblage des noyaux fer/soufre, des cofacteurs indispensables pour de nombreuses enzymes. Elles occupent ègalement une position clé dans le processus d'apoptose **(Petit *et al.,* 2008)**.

a. Rôle de la mitochondrie dans la respiration cellulaire

- **Oxydation complète de l'acide pyruvique issu de la glycolyse:** commence dans le cytosol où le glucose est transformé en deux molécules de pyruvate à travers une série de réactions métaboliques. Ce processus, appelé **glycolyse**, produit également 2 ATP et 2 NADH+H+. Le pyruvate est ensuite transporté dans la mitochondrie, où il est converti en **acétyl-CoA** par l'enzyme pyruvate déshydrogénase. Les acides gras, eux aussi, sont importés dans la mitochondrie et convertis en acétyl-CoA **(Spinazzi *et al.,* 2012)**.

L'acétyl-CoA pénètre alors dans une autre voie métabolique : le cycle de l'acide citrique (ou cycle de Krebs). Il se combine à l'oxaloacétate pour former l'acide citrique (ou citrate). Après une série de réactions enzymatiques, deux atomes de carbone sont libérés sous forme de CO_2, et l'oxaloacétate est régénéré, permettant ainsi le début d'un nouveau cycle **(figure 110) (Spinazzi *et al.,* 2012).**

Phosphorylation oxydative liée à la chaîne de transport des électrons, est l'étape où la plus grande partie de l'énergie métabolique est libérée **(Spinazzi *et al.,* 2012).** Dans ce processus, les molécules de NADH (nicotinamide adénine dinucléotide réduit) et de FADH2 (flavine adénine dinucléotide) transfèrent les électrons qu'elles ont acquis lors de l'oxydation des nutriments à l'oxygène (O_2). Ce transfert se fait à travers une série de complexes formant la chaîne respiratoire, située dans la membrane interne des mitochondries **(figure 111) (Birch-Machin et Turnbull, 2001)** :

- **Complexe I : La NADH-déshydrogénase** (ou **NADH coenzyme Q réductase**) oxyde le NADH en NAD, récupère les électrons et permet le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire ;
- **Complexe II :** La **succinate déshydrogénases** (ou **succinate coenzyme Q réductase**) récupère les électrons du $FADH_2$;

- **Complexe III :** Le **cytochrome bc1 (**ou **coenzyme Q cytochrome c réductase)** permet également le transport de 4 protons de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire ;
- **Complexe VI :** La **cytochrome C oxydase** tranasporte 2 protons de la matrice à l'espace intermembranaire, tout en transfèrant les électrons reçus des complexes précédents à l'oxygène (O_2), qui est réduit en H_2O grâce aux catalases **(Birch-Machin et Turnbull, 2001)**.

Le transfert des électrons entre ces comlpexes enzymatiques utilise des molécules transitoires telles que :

- **Le coenzyme Q (ubiquinone) :** il assure le passge des électrons du complexe I ou II au complexe III et peut aussi accepter des électrons provenant du cytosol ;
- **Le cytochrome C :** il transfère les électrons du complexe III au complexe IV.

Le transfert des électrons d'un transprteur à un autre libère de l'énergie à chaque ètape. Une partie de cette énergie est utilisée pour pomper des protons hors de la matrice mitochondriale, créant ainsi un gradient électrochimique de protons à travers la membrane interne. Ce gradient permet ensuite le reflux des protons via un complexe enzymatique spécifique, le complexe F0-F1 (ou complexe V), qui active l'ATP synthase. Cette enzyme ajoute un groupement phosphate à l'ADP, formant ainsi de l'ATP dans la matrice mitochondriale **(figure 112) (Birch-Machin et Turnbull, 2001).** Finalement, l'ATP nouvellement produit est trnasféré hors de la mitochondrie vers le reste de la cellule, où il alimente diverses réactions métaboliques.

b. Synthèse de protéines

les protéines mitochondriales proviennent de sources mixtes : une minorité est codée par le génome mitochondrial, tandis que la majorité est codée par le génome nucléaire **(Favro et Nicolle, 2011)**.

 Protéines codées par le génome mitochondrial : Dans les mitochondries humaines, il code pour 13 ARNm traduits en 13 polypeptides, dont la majorité constitue des sous-unités des complexes de la chaîne respiratoire (NADH déshydrogénase, cytochrome oxydase, cytochrome b) ou de l'ATP synthase. Ces protéines ne représentent que 10 à 15% du total des protéines mitochondriales.

 Protéines codées par le génome nucléaire : environ 500 autres protéines mitochondriales sont synthétisées sous forme de précurseurs par les ribosomes libres

dans le cytosol, puis transportées vers la mitochondrie par un mécanisme post-traductionnel. Parmi ces protéines, on compte notamment :

- ARN polymérase mitochondriale ;
- ADN polymérase mitochondriale ;
- Les facteurs de régulation de la transcription.

Ainsi, la réplication, la réparation et la transcription mitochondriales dépendent du génome nucléaire.

 Translocation des protéines codées par le genome nucléaire : ces protéines possèdent une séquence d'adressage située à leur extrémité N-terminale, essentielle pour leur importation dans la mitochondrie. Ces séquences partagent des caractéristiques communes : elles se replient en hélice α, avec des acides aminés chargés positivement d'un côté de l'hélice et des acides aminés hydrophobes de l'autre.

1. Après sa synthèse dans le cytosol, la protéine précurseur reste non pliée car elle est maintenue par des protéines chaperoones cytosoliques de la famille Hsp70 et des co-chaperonnes pendant son transport vers la mitochondrie.
2. La séquence d'adressage est ensuite reconnue par un récepteur protéique de la membrane externe, initiant la translocation de la protéine à travers le complexe protéique TOM de la membrane externe.
3. La translocation se poursuit via un second complexe situé dans la membrane interne : TIM, constitué des sous-unités TIM22 et TIM23.

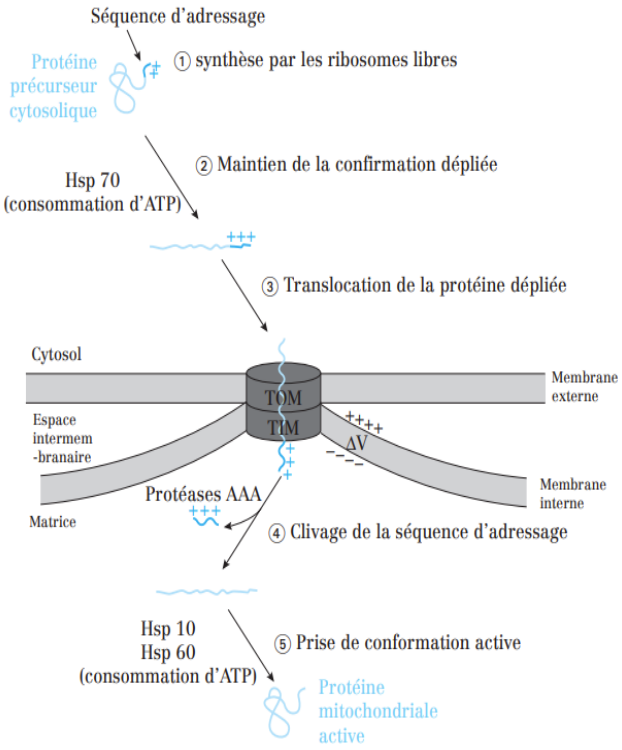


Figure 113. Translocation de protéine dans la matrice mitochondriale (Favro et Nicolle, 2011)

4. Une fois arrivée dans la matrice, la protéine subit une maturation en deux étapes : d'abord, une peptidase clive la séquence d'adressage et prise de conformation finale grâce aux Hsp60 et Hsp10 mitochondriales **(Favro et Nicolle, 2011).**

c. synthèse des hormones stéroïdes

La famille des cytochromes P450 regroupe des hémoprotéines contenant du fer situées dans la membrane mitochondriale interne, qui utilisent l'oxygène pour hydroxylier le cholestérol en prégnénolone. Ce dernier quitte ensuite la matrice mitochondriale pour rejoindre le cytosol, où il est converti en divers métabolites intermédiaires par la 2e famille de cytochrome P450 du REL. Ces métabolites peuvent donner naissance à des stéroides sexuels ou retourner à la matrice mitochondriale pour être transformés, sous l'action de la 3e faille de cytochrome, en cortisol ou en aldostérone **(Gaignard, 2015)**.

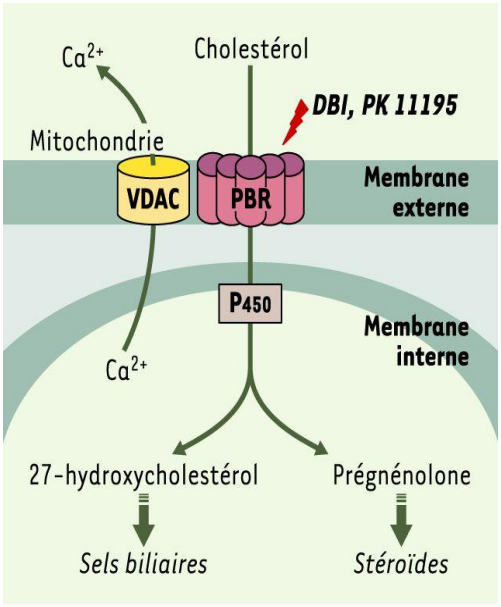


Figure 114. Synthèse de molécules dérivés du cholestérol (web48)

d. rôle dans l'apoptose

En réponse à un signal de mort, plusieurs protéines Bax s'assemblent pour former un pore de perméabilité dans la membrane mitochondriale externe. Le pore de perméabilité ainsi créé permet au cytochrome c de s'échapper dans le cytoplasme. Une fois libérés, les cytochromes c participent à l'assemblage d'un complexe protéique appelé **apoptosome**, qui recrute des protéases, conduisant à la destruction de la cellule **(Castanier et Arnoult, 2010).**

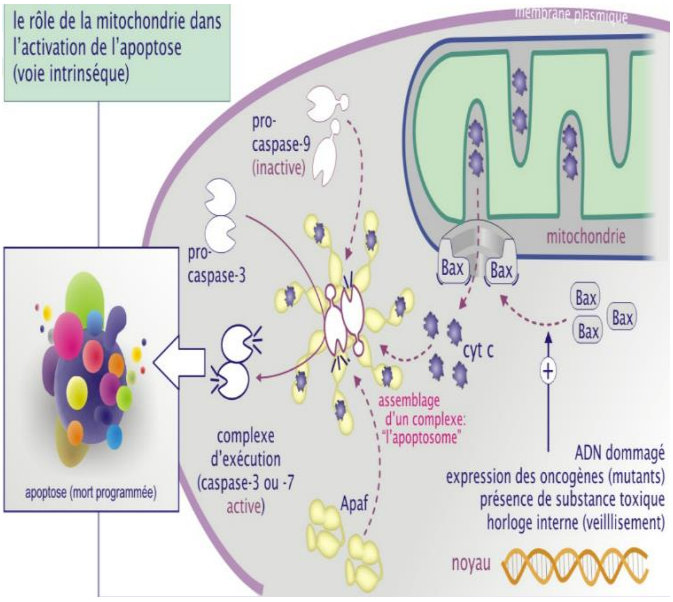
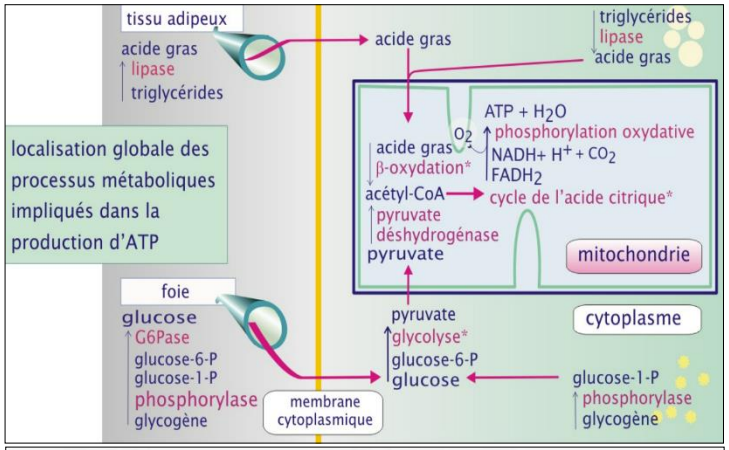


Figure 115. Rôle de la mitochondrie dans la mort cellulaire programmée (apoptose) (Web44)



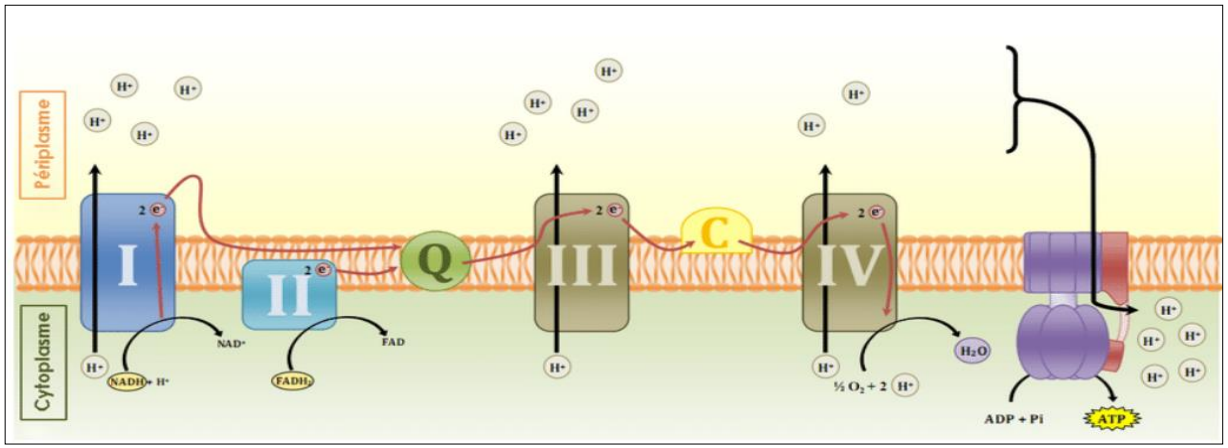
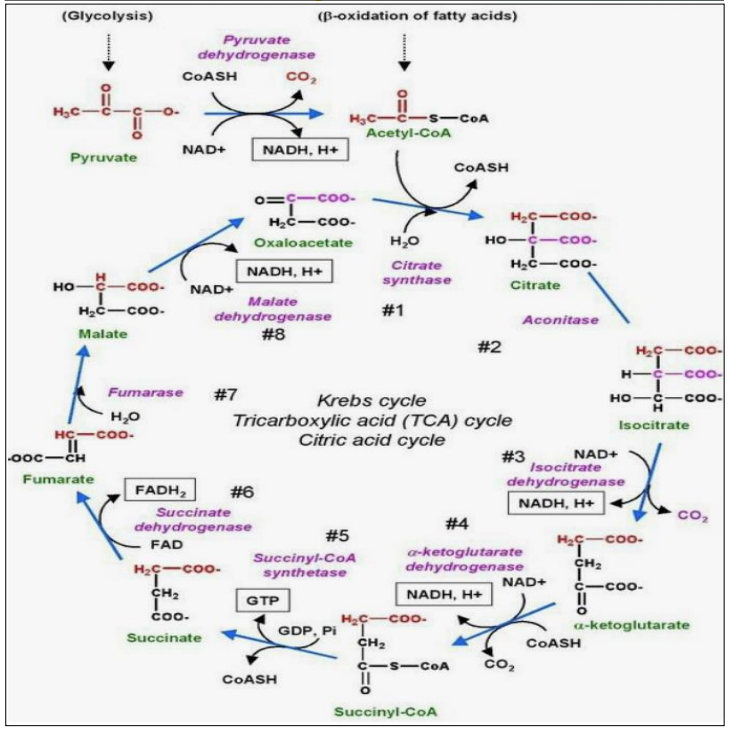


Figure 111. Chaîne de transport d'électron (chaine respiratoire) (web45)

La production d'ATP est possible grâce à la formation d'un gradient de protons autour de la membrane généré par l'énergie des électrons fournis par la NADH et la FADH2 à cette chaîne. Ces électrons sont transportés via différents complexes : I, II, III et IV qui contiennent un ou plusieurs atomes de fer. Les protons circulent en sens inverse (du périplasme au cytoplasme) au travers de la membrane via une pompe à proton : l'ATP synthase qui est à l'origine de la formation d'ATP.



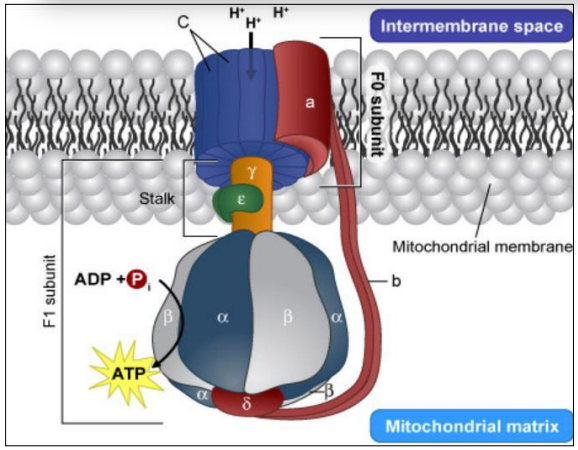


Figure 112. Complexe F0-F1 (web47)

Le complexe F0-F1 est composé d'une base enchâssée dans la membrane interne, d'une tige ou pédoncule (contenant des facteurs de couplage) qui relie le complexe à des protéines intrinsèques de cette membrane et d'une tête (Adénosine triphosphate synthètase).

Figure110. Processus métaboliques de production D'ATP(web46) Dans le CK, chaque radical Acétyl est transformé en Coenzyme réduit ($FADH_2$, NADH + H^+), GTP et du CO_2

3.4.5. Biogenèse

Les mitochondries dérivent de la division d'autres mitochondries préexistantes (transmises par l'ovule) et se divisent de manière autonome, sous la régulation du noyau. Avant la division, l'ADN mitochondriale se réplique. Les mitochondries se divisent selon deux modes **(Rowley *et al.,* 1994).**

- La partition : qui débute par la formation d'une crête divisant la matrice en deux ;
- La segmentation : qui s'opère par un étranglement de l'organite.

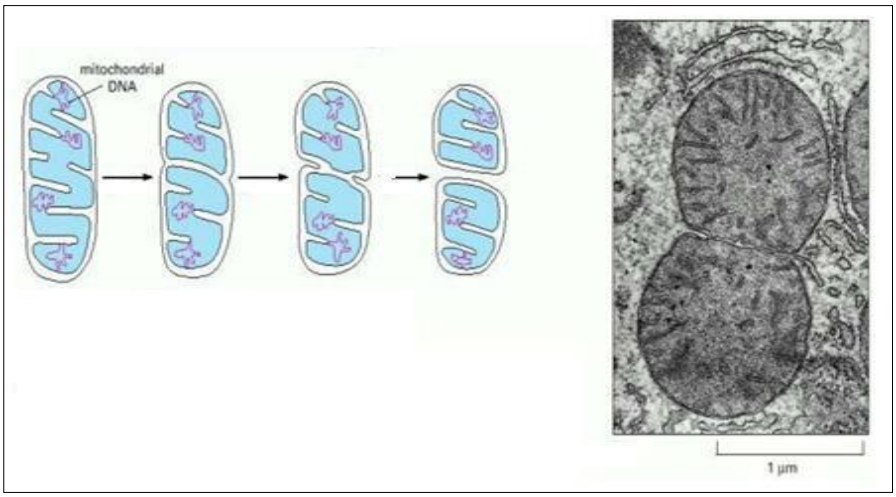


Figure 116. Biogenèse de mitochondrie par segmentation (web49)

Point cours

- Identifier les composants membranaires et leurs fonctions
- Connaitre les complexes et transporteurs de la chaîne respiratoire
- Savoir définir et connaitre les fonctions des mitochondries

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

Généralités

Les ribosomes, également appelés grains de PALADE, sont les sites de synthèse des protéines chez les procaryotes et les eucaryotes. Leur nombre varie selon le type de cellule. Par exemple, une cellule hépatique peut contenir jusqu'à 10^9 ribosomes, tandis que E. coli en possède environ 20^3. Le ribosome comporte plusieurs sites fonctionnels **(Ehrenberg, 2009)** :

P Liaison du peptidyl-ARNt

A Liaison aminoacyl-ARNt

E Sortie de l'ARNt

IF Liaison des facteurs d'initiation

GTP Site GTPasique

S Sortie de la protéine néosynthétisée

3.5.1. Ultrastructure

- **Coloration positive :** sur des coupes minces observées au MET, les ribosomes apparaissent comme des particules denses, légèrement elliptique, mesurant entre 150 à 200 Å de diamètre **(Wilson and Daudna Cate, 2012)**.
- **Coloration négative :** chaque ribosome se présente sous forme de deux sous unités de taille inégales et de forme différentes, l'une grande et l'autre petite **(Wilson and Daudna Cate, 2012)**.

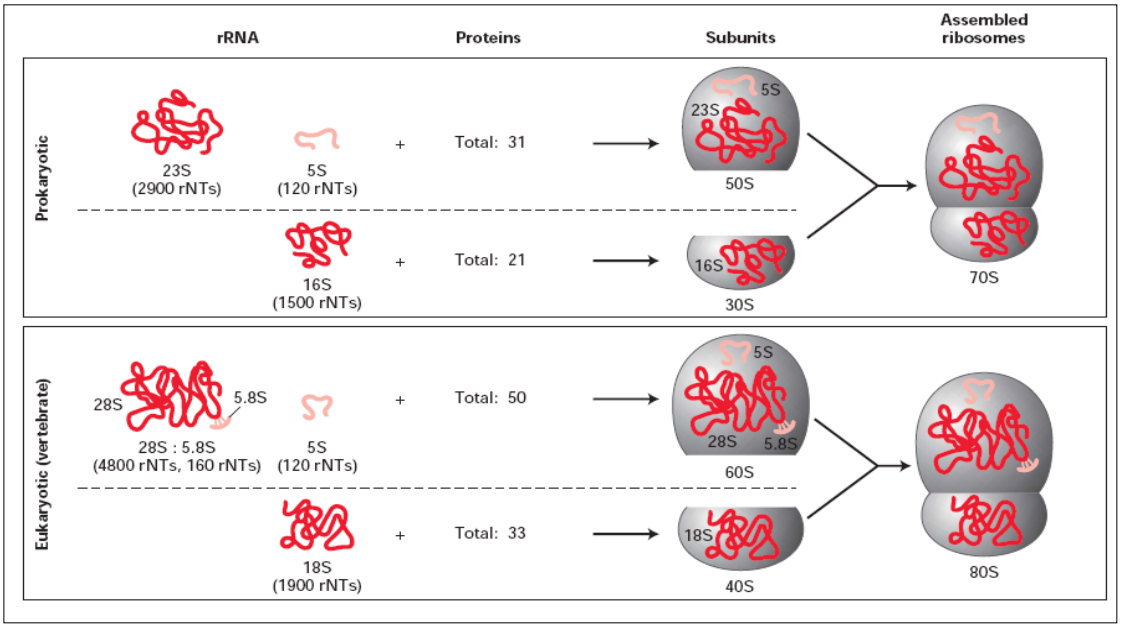


Figure 117. Structure des ribosomes et de leurs sous-unités (web50)

3.5.2. Localisation

Dans la cellule, les ribosomes peuvent être libres ou liés :

- Libre dans le hyaloplasme, logés entre les fibrilles du cytosquelette, sous forme isolée et inactive en tant que sous-unités séparées. Ils peuvent également se regrouper en **polyribosomes** actifs, où 5 à 20 ribosomes sont connectés par un ARNm. On les trouve aussi dans la matrice mitochondriale (mitoribosomes) ou dans les chloroplastes des cellules végétales (plastoribosomes)**(Ehrenberg, 2009)**.
- Liés par leurs grandes sous-unités à la face cytosolique des membranes du REG ou de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire **(Ehrenberg, 2009)**.

3.5.3. Composition chimique

a. Technique d'isolement

la méthode de préparation des fractions ribosomale varie selon que les ribosomes sont libres ou liés aux membranes. Lorsqu'ils sont placés dans un milieu pauvre en Mg++, les ribosomes récupérés peuvent se dissocier en sous-unités, lesquelles sédimentent à des vitesses différentes lors de la centrifugation (UCD). Cette technique permet de définir des **coefficients de sédimentation**, exprimés en unités S (en hommage à l'inventeur SVEDBERG), qui **(Ehrenberg, 2009)**.

Tableau 10 : Coefficients de sédimentation selon le type de ribosome

Origine	Petite sous-unité	Grandes sous-unité	Ribosome entier
Eucaryotes	40S	60S	(80S)
Mitoribosomes	25S	35S	(70S)
Procaryotes	30S	50S	(70S)

b. Analyse chimique

les ribosomes sont principalement composés d'eau, d'ARNr et de protéines, ces dernieres facilitant le repliement correct de l'ARNr. Les proportions de ces composants varient entre les eucaryotes et les procaryotes **(Ehrenberg, 2009)**.

Tableau 11 : Composition chimique des ribosomes

Composants	Procaryotes	Eucaryotes
Eau	70%	70%
ARNr	60%	50%
Protéines (small-Large)	40%	50%

Tableau 12 : Composition chimique des ribosomes en fonction des sous-unités

Sous unité	Petite sous unité		Grande sous unité	
Composants	**Protéines**	**ARNr**	**Protéines**	**ARNr**
Procaryotes	21S	16S	34L	23S et 5S
Eucaryotes	30S	18S	45L	28S, 5,8S, 5S

3.5.4. Biogenèse

La biogenèse et la maturation des ribosomes ont lieu dans le nucléole, elle se fait en trois grandes étapes **(Mangiarotti et Chiaberge, 1997)** :

- La transcription des ADNr en ARN préribosomiques (ARN 45s) est réalisée par l'ARN polymérase I. Les transcrits en cours d'élongation s'éloignent perpendiculairement de l'ADN, donnant à chaque unité une apparence de plume ou d'arbre de Noel sous microscopie électronique.

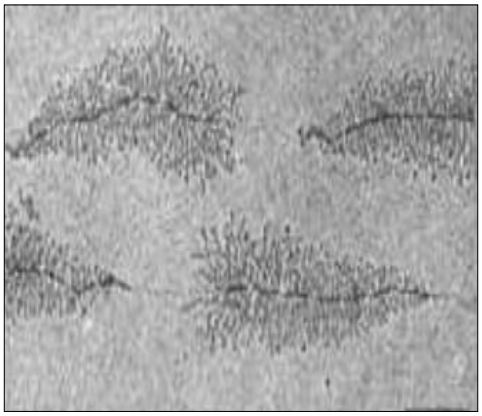


Figure 118. Chromatine nucléolaire (Raška et al., 2006 ; Boulon *et al.*, 2010) ▸

- la maturation des ARN 45S se fait en trois fragments : ARN 18S, ARN 5,8S et ARN 28S, par une série de clivages des séquences 5' et 3' ETS (External Transcribed Sequence), suivie du clivage des séquences ITS1 et 2 (Internal Tanscibed Sequence) (voir image 129). Cette maturation nécessite l'action coordonnée des protéines ribosomiques, dont la transcription à lieu dans le nucléoplasme via l'ARN polymérase II. Ces protéines sont ensuite traduites dans le cytoplasme et transportées dans le nucléole pour s'associer aux

ARNr de la petite sous-unité (RPS) et de la grande sous-unité (RPL) du ribosome. Par ailleurs, un ADNr extranucléolaire est transcrit par l'ARN polymérase III en ARN 5S, qui est ensuite importé dans le nucléole.

 Assemblage : les ARN 28S, 5S et 5,8S s'unissent avec 45 protéines ribosomiques L pour former la grande sous-unité de 60S, tandis que l'ARN 18S s'associe à environ 30 protéines S pour constituer la petite sous-unité de 40S **(Mangiarotti et Chiaberge, 1997)**.

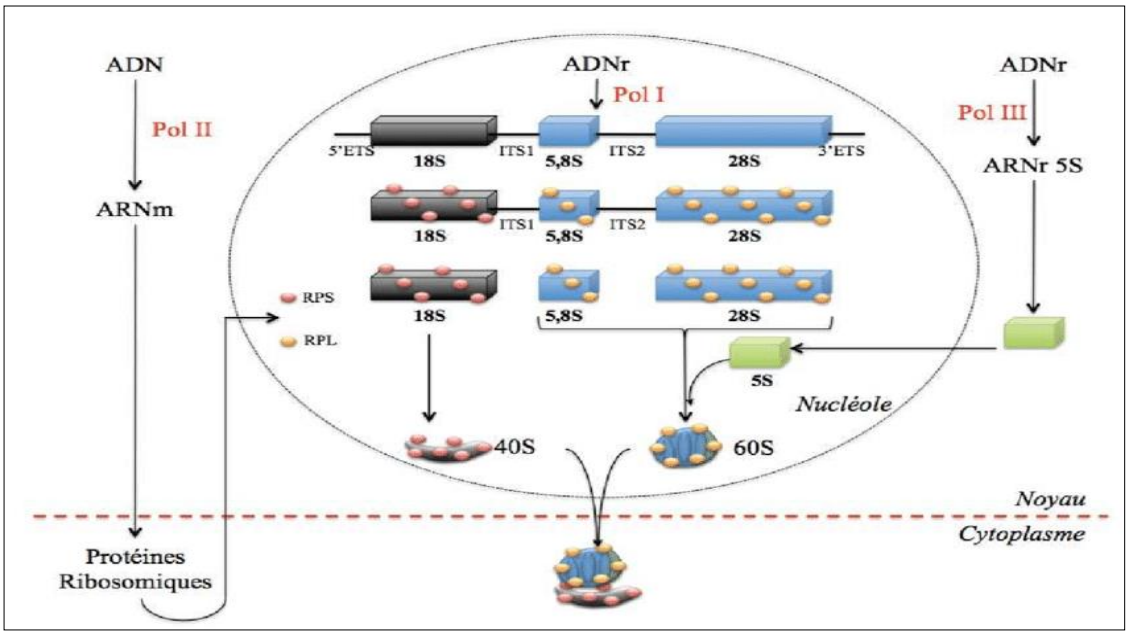


Figure 119. Mécanismes de formation du ribosome (Perrin, 2018)

3.5.5. Rôles

Les ribosomes jouent un rôle clé dans la synthèse des protéines. Toutefois, la destinée des protéines varie en fonction de leur origine, qu'elles soient synthétisées par des polysomes libres ou liés **(Perrin, 2018)**. En effet,

- Les polysomes libres dans le hyaloplasme produisent : des protéines structurales et fonctionnelles sédentaires, telles que celles du cytosquelette, les enzymes des voies métaboliques, ainsi que les protéines des faces cytosoliques de la membrane plasmique et des membranes internes (système endomembranaire) ; des protéines destinées à d'autres organites, grâce à des signaux d'adressage spécifiques, comme certaines protéines mitochondriales, les protéines des peroxysomes et les protéines structurales du noyau (pore nucléaire, chromatine, nucléole).

- Les polysomes liés, ils synthétisent principalement des protéines destinées à l'exportation.

La protéogenèse

Les informations présentes dans l'ADN sont transcrites sous forme d'une molécules d'ARNm, qui transporte les instructions indispensables à l'assemblage correct des acides aminés dans la chaîne polypeptidique. Le ribosome a pour fonction de décoder le message contenu dans l'ARNm, en traduisant la séquence de codons (triplet de nucléotides) en une structure polypeptidique propre à chaque protéine **(Macé *et al.*, 2015)**.

La traduction s'effectue grâce à un mécanisme capable de lire la molécule d'ARNm et d'assembler les acides aminés entre eux. Ce processus nécessite l'intervention des molécules d'ARNt, qui transportent les acides aminés sous forme d'aminoacyl-ARNt vers l'ARNm. Les ARNt se lient aux codons de l'ARNm grâce à leur anticodon. Cette interaction entre acides aminés, ARNt et ARNm se déroule au sein du ribosome **(Macé *et al.*, 2015)**.

La synthèse protéique par le ribosome s'effectue en tois étapes : initiation, élongation et terminaison. Ce processus requiert l'intervention de facteurs protéiques et une source d'énergie, fournie par l'hydrolyse des molécules de GTP. Les protéines sont synthétisées de l'extrémité Nt ver l'extrémité Ct **(Macé *et al.*, 2015)**.

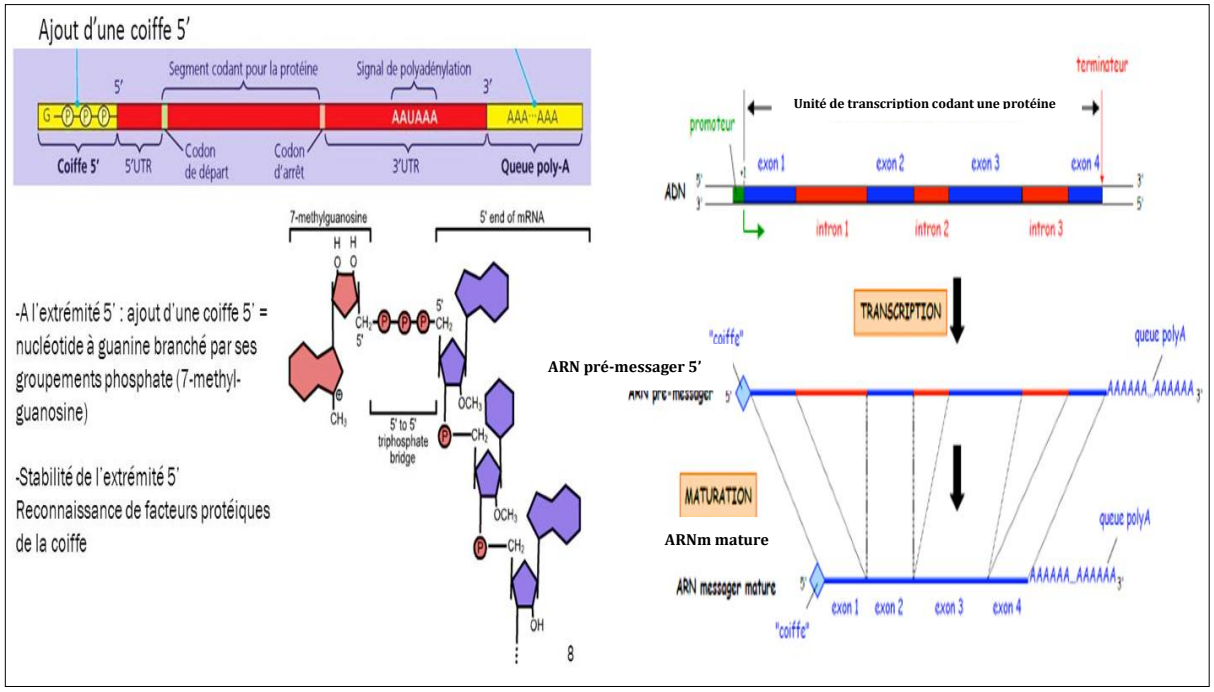


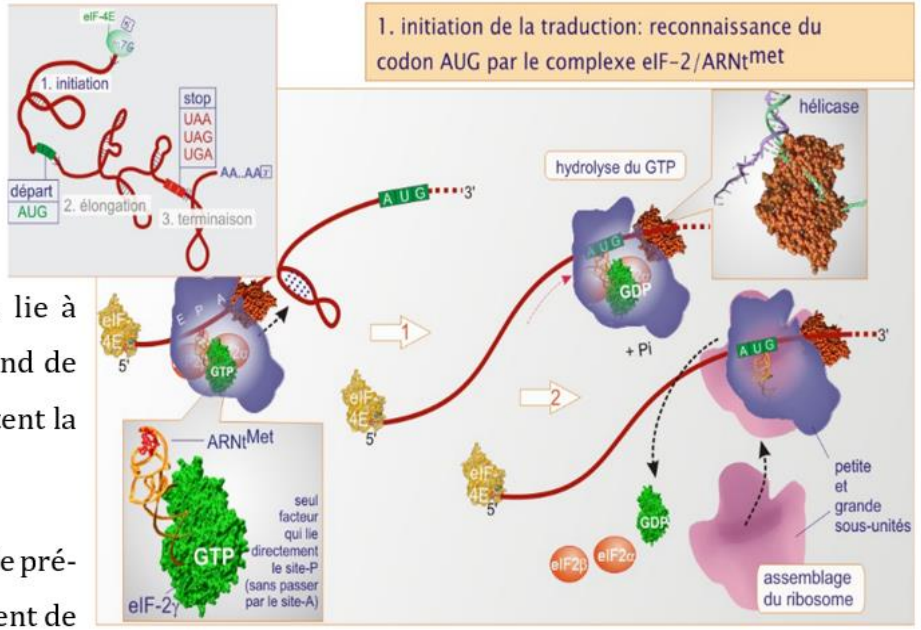
Figure 120. Reconnaissance de l'ARNm chez les eucaryotes (web51)

1. Initiation

Reconnaissance de l'ARNm : Chez les eucaryotes, l'extrémité 5' est porteuse d'une coiffe CBP (Cap Binding Protein) de molécules de méthylguanosine **(figure 120)**. La petite sous unité reconnait la coiffe, puis se déplace le long de la molécule d'ARNm jusquu'à la séquence 5'-CCACCAUGC-3' qui contient AUG. La traduction du message transporté par l'ARNm débute au niveau du codon d'initiation AUG.

Formation du complexe d'initiation : L'initiation de la synthèse des protéines nécessite la présence de : la petite sous unité (PSU) 40S ; l'ARNt initiateur qui apporte l'acide aminé terminal sous la forme lié (met ARNt) ; l'ARNm ; la présence de facteurs d'initiation.

- *1er stade de l'initiation :* eIF2 se lie au GTP. L'ARNt initiateur, porteur de Met-ARNmet, est reconnu par eIF2.
- *2e stade de l'initiation :* la PSU 40S associée à eIF3 entre en jeu. Ce facteur anti-association empêche physiquement la fixation de la petite sous-unité sur la grande.



Un complexe formé de eIF2-Met-ARNtMet-GTP est créé, puis il se lie à l'ARNm pour former un complexe de pré-initiation. Cette étape dépend de la présence de CBP, ainsi que des facteurs eIF4a et eIF4b, qui permettent la fixation de l'ARNm sur la PSU **(Bommer *et al.*, 1991)**.

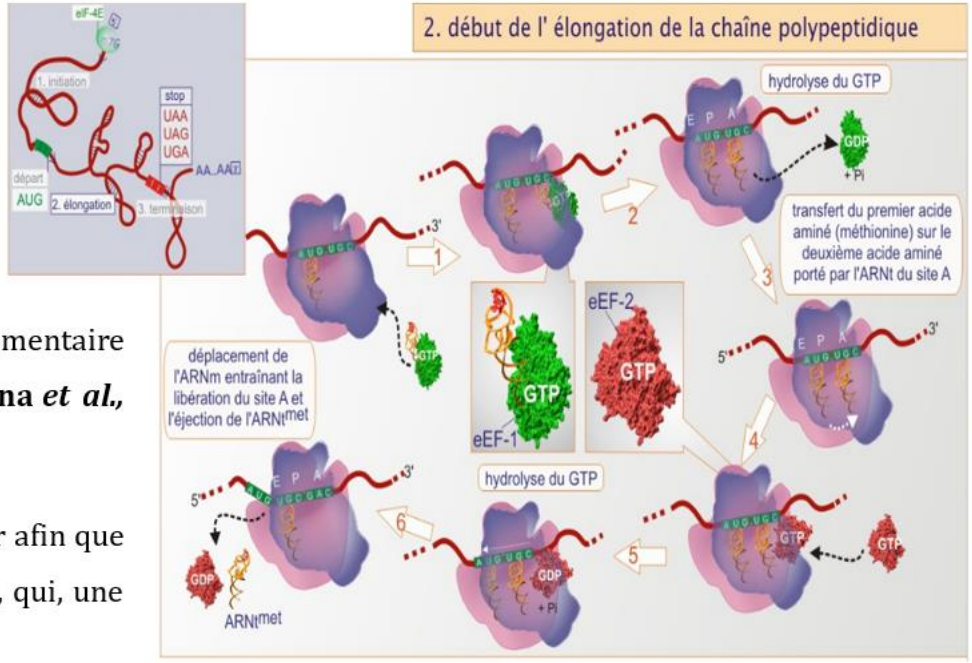
Fixation de la grande sous-unité : l'eIF5, interagit avec le complexe de pré-initiation, provoquant l'hydrolyse de GTP, eIF2-GDP et eIF3 se détachent de la PSU. Le complexe de pré-initiation s'associe alors à la grande sous-unité, formant le ribosome complet qui contient à la fois l'ARNm et l'ARNt initiateur correctement positionnés. Le complexe d'initiation est ainsi prêt à entrer en action.

2. Elongation

La phase d'élongation se distingue par l'extension de la molécule de protéine en cours de synthèse, avec la participation de facteurs d'élongation (EF= Elongation Factors) **(Rodnina *et al.*, 2007; Noble et Song, 2008)**.

Fixation du complexe aminoacyl-ARNt-EF1-GTP : Un second complexe aminoacyl-ARNt-EF1-GTP entre dans le site A, quel que soit l'acide aminé transporté. Cependant, pour se lier à l'ARNm, cet aminoacyl soit être associé à un facteur d'élongation EF1 lié au GTP, et l'anticodon de l'ARNt de ce complexe doit être complémentaire au codon de l'ARNm présent dans le site A **(Rodnina *et al.*, 2007)**.

Fornation d'une liaison peptidique : Une peptidyl transférase hydrolyse la liaison reliant autrefois le complexe Met-ARNt, entraînant le transfert de la méthionine sur l'acide aminée AA1 de l'aminoacyl-ARNt situé sur le site A. Cela aboutit à la formation d'une liaison peptidique entre la méthionine et AA1.



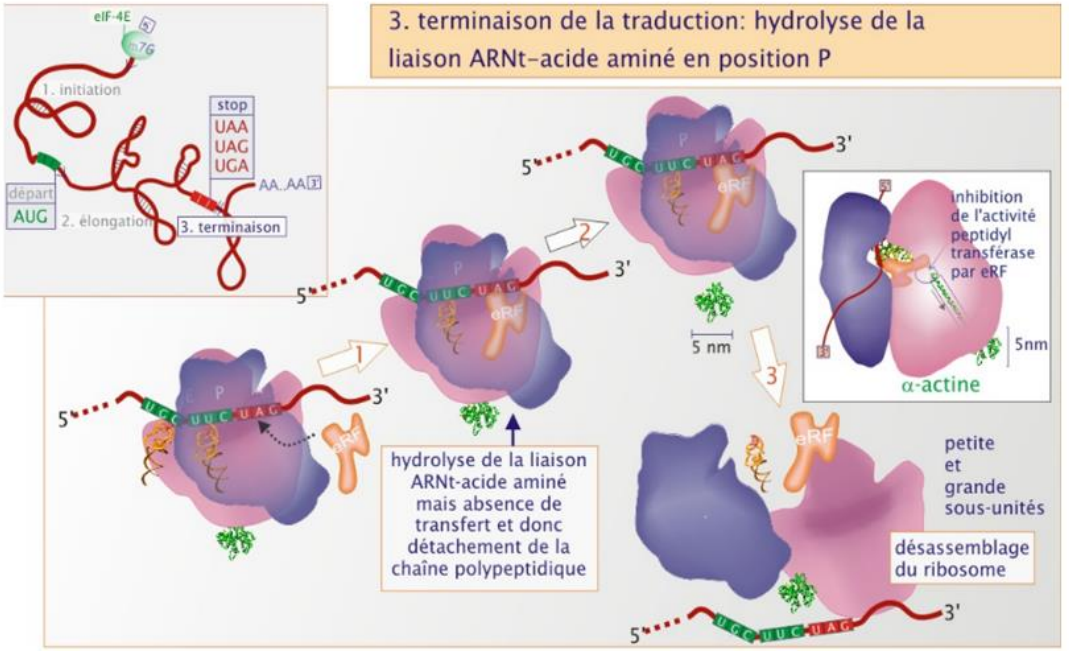
L'ARNt situé au site A reste attaché, d'une part, à son codon complémentaire de l'ARNm et, d'autre part, au pipetide méthionine-AA1 **(Rodnina *et al.*, 2007)**.

Translocation : l'ARNm et le dipeptidyl-ARNt doivent se déplacer afin que le codon suivant de l'ARNm puisse être positionné dans le site A, qui, une fois libéré, pourra acceillir un autre aminoacyl-ARNt.

Le ribosome se déplace alors de trois nucléotides vers l'extrémité 3' de l'ARNm. Cette étape nécessite l'hydrolyse du GTP, catalysée par le facteur d'élongation EF-2. Le peptidyl-ARNt nouvellement formé se déplace ainsi du site A vers le site P. l'arrivée d'un nouvel aminoacyl-ARNt dans le site A entraîne l'expulsion de l'ARNt, initiant ainsi un nouveau cycle. La répétition de ces cycles aboutira à la synthèse de la protéine **(Rodnina *et al.*, 2007 ; Noble et Song, 2008)**.

3. Terminaison

La transcription prend fin lorsqu'un codon stop (UAA, UAG, UGA) apparaît dans le site de reconnaissance A, car aucun ARNt ne possède un anticodon complémentaire à ces trois codons. Un facteur de libération, appelé RF (Releasing Factor), se lie alors au ribosome sous forme d'un complexe RF-GTP. La liaison ester entre le peptide et l'ARNt est clivée par la peptidyl transférase, qui agit comme une hydrolase. Le peptide est ainsi libéré de l'ARNt. Ensuite, les deux sous-unités du ribosome se dissocient, et l'ARNt ainsi que le RF-GDP sont libérés dans le cytosol **(Zaher et Green, 2009).**



Déplacement de l'ARNt au cours de la synthèse protéique

L'ARNt se déplace de manière séquentielle à travers les trois sites partagés par les deux sous-unités : le site A, le site P et le site E. La chaîne polypeptidique émerge à travers un tunnel situé au cœur de la grande sous-unité ribosomale (GSU).

3.5.6. Destinées des protéines

Les protéines synthétisées par les polysomes libres dans le cytosol sont destinées à un usage interne dans la cellule et ses organites. Ces polysomes produisent notamment des protéines pour le cytosol, comme celles impliquées dans la glycolyse ou celles du cytosquelette, ainsi que des protéines périphériques pour la face cytosolique de la membrane plasmique, et les protéines des mitocondries et des peroxysomes. En revanche, les polysomes attachés à la membrane du réticulum endoplasmique produisent des protéines destinées à être exportées hors de la cellule et des protéines membranaires intrinsèques **(Armache, 2010).**

Point cours

- Connaître la nature des ribosomes, leur localisation, ainsi que leur biogenèse
- Définir le rôle des ribosomes dans le processus de synthèse protéique

3.6. Le système ubiquitine/protéasome : Structure et fonction

Le système ubiquitine/protéasome joue un rôle central dans la dégradation des protéines à l'intérieur des cellules. De nombreux éléments de ce système sont des complexes protéiques dont la structure multimérique et modulaire permet de combiner plusieurs activités enzymatiques au sein d'une même entité (comme le protéasome), ou de faire en sorte que plusieurs protéines partagent un même module fonctionnel (comme dans les enzymes d'ubiquitinylation) **(figure 121)**.

En plus de dégrader les protéines anormales, de favoriser la maturation des précurseurs et de fournir des peptides antigéniques aux molécules du CMH, ce système joue également un rôle clé dans la destruction de nombreuses protéines impliquées dans la régulation de processus biologiques essentiels, tels que la prolifération, la différenciation, l'opoptose et la réponse aux stimuli extracellulaires. Compte tenu de la diversité des substrats et des processus concernés, il n'est pas surprenant que des dysfonctionnements de ce système soient associès à diverses maladies, notamment les cancers, les maladies neurodégénératives et auto-immunes **(Ciechanover et Schwartz, 1998)**.

3.6.1. Processus de protéolyse

La dégradation d'une protéine par le système ubiquitine/protéasome (UbPr) suit généralement deux principales étapes successives, qui nécessitent chacune l'hydrolyse de l'ATP **(figure 122).**

La première phase connue sous le nom d'ubiquitylation, implique la fixation covalente d'une ou plusieurs molécules d'ubiquitine (Ub) sur un ou plusieurs résidus lysines de la protéine visée. Cette phase est réalisée par une cascade enzymatique. Dans la seconde phase, on dirige la protéine ubiquitylée vers le protéasome 26S pour qu'elle soit dégradée. Le complexe protéolytique 26S, qui s'étend sur environ 2500kDa, est formé de la combinaison du protéasom 20S qui constitue le cœur le l'enzyme et du complexe régulateur 19S **(Coux *et al.,* 1996).**

Lors de cette deuxième étape, le substrat subit une déubiquitylation, permettant ainsi le recyclage des molécules d'ubiquitine. Le substrat est ensuite dégradé en peptides, qui

seront à leur tour fragmentés par des peptidases cytosoliques pour produire des acides aminés. Ces acides aminés seront réemployés dans la synthèse de nouvelles protéines.

Certains peptides produits par le protéasome sont captés par les molécules de CMH I, dans le cadre de la présentation des antigènes. De plus, certaines protéines ne sont que partiellement dégradées par le protéasome, qui joue ainsi un rôle dans la maturation protéolytique de précurseurs protéiques **(Ciechanover et Schwartz, 1998 ; Hershko et Ciechanover, 1998).**

3.6.2. L'ubiquitinylation des protéines

- **L'ubiquitine et la cascade enzymatique d'ubiquitylation**

L'ubiquitine est une protéine de 76 AA, se retrouve dans toutes les cellules eucaryotes **(Ciechanover et Schwartz, 1998).** Elle est exprimée sous forme de précurseurs protéiques, soit fusionnée à l'extrémité Nt des protéines ribosomales, soit sous forme d'une chaîne de plusieurs molécules d'ubiquitine liées entre elles. Pour devenir fonctionnelle, ces précurseurs doivent être clivés, un processus pris en charge par des enzymes de déubiquitination (DUB, pour DeUbiquitinating enzymes).

La conjugaison de l'ubiquitine aux substarts s'effectue par une cascade enzymatique impliquant au moins trois types de facteurs **(figure 122) (Coux et Piechaczyk, 2000) :**

- **Enzyme d'activation de l'ubiquitine (E1) :** cette enzyme stimule l'ubiquitine de manière ATP-dépendante, en formant une liaison thiol-ester à haute énergie entre la glycine C-terminale de l'ubiquitine via le groupement COOHα et le groupement SH d'une cyctéine E1
- **Enzyme de conjugaison de l'ubiquitine (E2) :** l'ubiquitine activée est transférée vers le groupement thiol de la cyctéine active de l'enzyme E2.
- **Ubiquitine-ligase (E3) :** elle favorise le transfert de l'ubiquitine de l'enzyme E2 vers le substart en établissant une liaison amide entre le groupe COOH de la glycine en position C-terminale de l'ubiquitine et le groupement ε-amine d'une lysine du substrat, créant ainsi une liaison isopeptidique. L'E3 joue un rôle essentiel dans la réaction d'ubiquitylation, car elle garantit la recconnaissance spécifque du substrat, ce qui confère à la réaction sa spécificité **(Ardley et Robinson, 2005)**. Defois la polyubiquitylation du substrat nécessite l'intervention d'un quatrième facteur, appelé E4 **(Hoppe, 2005).**

- **Les différents types d'ubiquitylation**

Les protéines peuvent être modifiées soit par une seule molécule d'ubiquitine (mono-ubiquitylation), soit par poly-ubiquitylation sur un ou plusieurs résidus lysine du substrat. Dans ce dernier cas, on parle de multi-mono-ubiquitylation ou de multi-poly-ubiquitylation, respectivement **(figure 123).**

Il est important de souligner que la polyubiquitylation peut intervenir dans des processus autres que la protéolyse cellulaire, tels que l'endocytose ou la réponse inflammatoire **(Mukhopadhyay et Riezman, 2007).** De plus, la monoubiquitylation joue un rôle crucial dans diverses fonctions, notamment l'internalisation des récepteurs membranaires, le trafic des protéines, ainsi que le remodelage de la chromatine par la modification des histones **(Pickart et Fushman, 2004 ; Hoppe, 2005).**

- **La déubiquitylation**

Le processus d'ubiquitylation est dynamique et réversible, du fait de la présence de multiples enzymes impliquées dans l'ubiquitylation (DUB). Ces enzymes, en plus de garantir la maturation de l'ubiquitine par rapport à ses précurseurs, séparent également l'ubiquitine de ses substrats et fragmentent les chaînes poly-ubiquitiniques

L'ubiquitine est une protéine extrêmement stable, tandis que ses associés ont des durées de vie nettement plus courtes. Cela implique que les enzymes de déubiquitylation (DUB) la détachent habituellement de ses conjugaisons avant ou pendant la dégradation du substrat **(Nijman *et al.,* 2005).**

Compte tenu de leur aptitude à cliver l'ubiquitine, les DUB se qualifient de protéases. Plusieurs familles de ces enzymes ont un impact détermiant sur le fonctionnement du processus d'ubiquitylation. Elles permettent notamment de recycler l'ubiquitine, garantissant ainsi un pool d'ubiquitine libre au sein de la cellule **(Amerik et Hochstrasser, 2004).**

3.6.3. Le protéasome

La dégradation des protéines ubiquitinylées par le protéasome 26S peut se dérouler aussi bien dans le cytoplasme que dans le noyau, et elle est ATP-dépendante **(Coux *et al.,* 1996 ; Voges *et al.,* 1999)**. Le protéasome 26S est constitué de deux sous-complexes : un cœur protéolytique, le protéasome 20S, et un complexe régulateur, le complexe 19S.

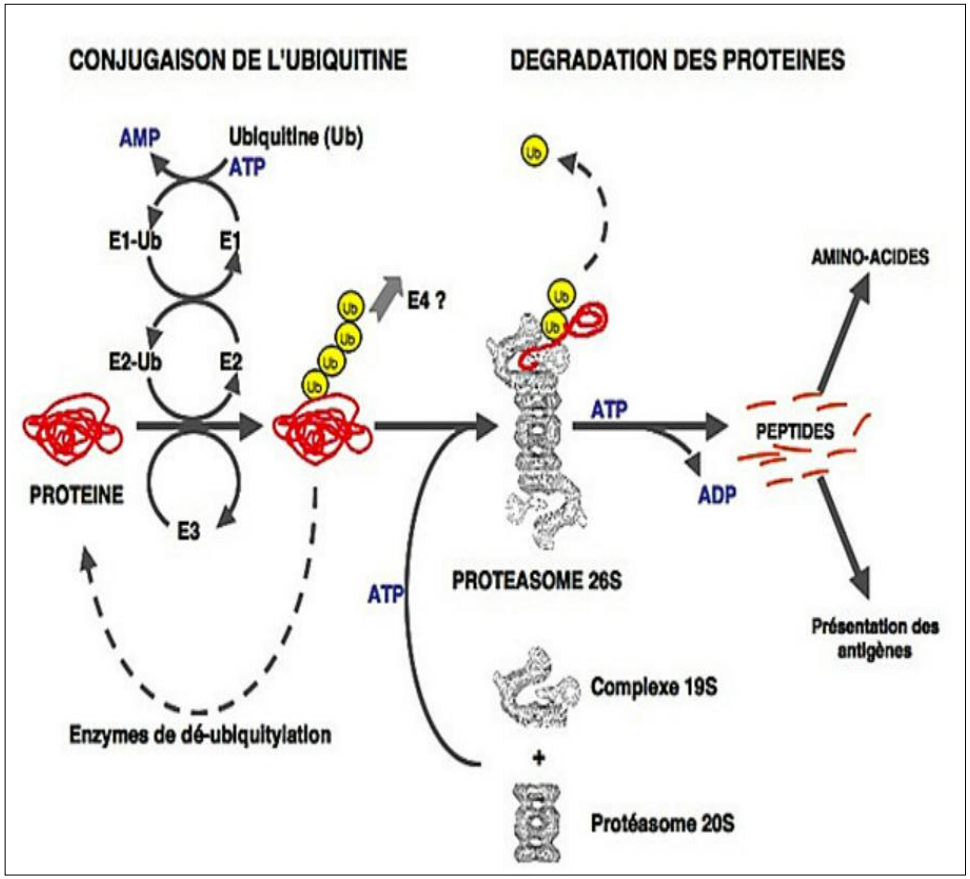


Figure 121. Le système ubiquitine-protéasome (Coux *et al.*, 1996)

Voie protéolytique dépendante de l'ubiquitine. Le substrat protéique est d'abord polyubiquitylé dans une réaction impliquant trois types d'enzymes : les enzymes activatrices d'ubiquitinela El, une protéine porteuse d'ubiquitine E2 et une ubiquitine-protéine ligase E3. Après son ubiquitinylation le substrat est alors rapidement dégradé en petits peptides par le protéasome 26s, une enzyme dépendante de l'ATP formée par l'association du protéasome 20s (le noyau protéolytique) et du complexe régulateur 19s (voir texte).

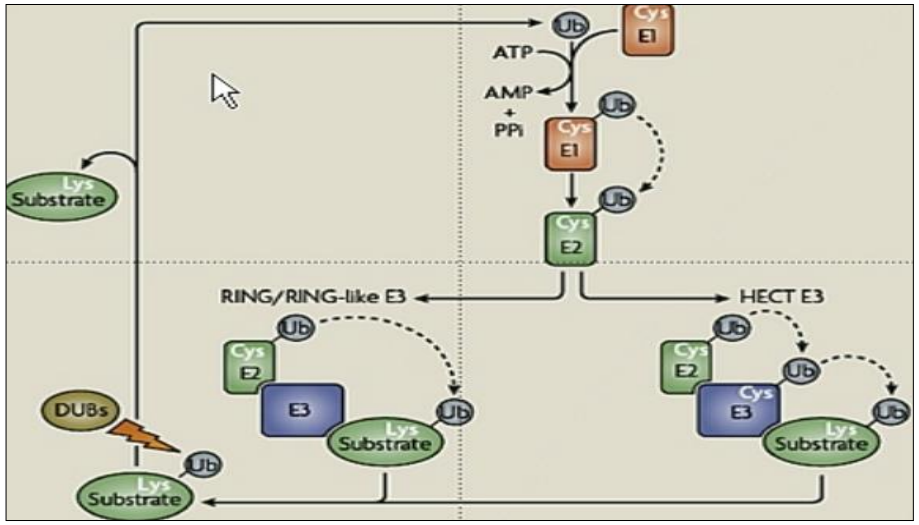


Figure 122. La cascade d'ubiquitylation (Ravid et Hochstrasser, 2008)

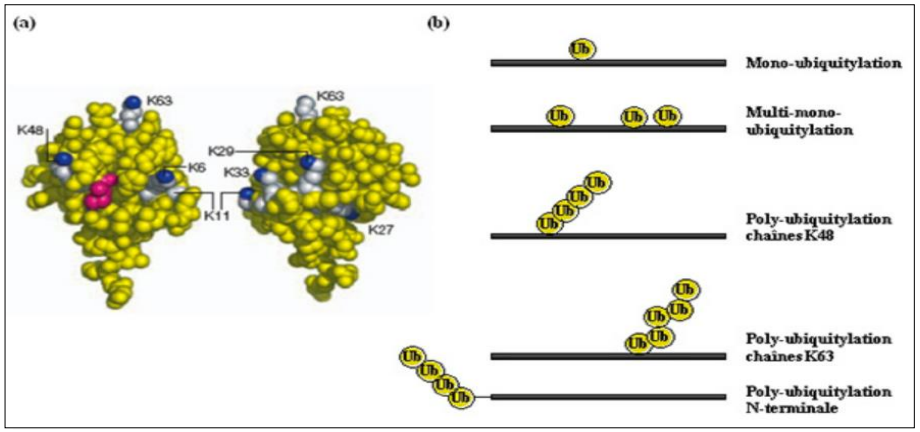


Figure 123. Structure de l'ubiquitine et différents types d'ubiquitylation (Hicke *et al.*, 2005).

(a) Deux faces opposées de l'ubiquitine sont présentées ; les 7 lysines en blanc, avec l'atome d'azote du groupement ε-amine en bleu ; l'isoleucine 44 est représentée en rouge : ce résidu est impliqué dans les surfaces d'interaction entre l'ubiquitine et les UBD

(b) Représentation schématique de différents types de modification d'ubiquitylation.

- **Le protéasome 20S**

Le protéasome 20S est une particule stable et abondante, de forme cylindrique et creuse, composée de 28 sous-unités similaires réparties en 4 anneaux heptamériques. Les deux anneaux centraux, identiques, sont constitués chacun de sept sous-unités distinctes (dites de type β), et forment une cavité interne abritant les sites catalytiques **(figure 121)**.
Les deux anneaux extérieurs, également constitués de sept sous-unités distinctes (dites de type α), permettent l'association du protéasome 20S à des complexes régulateurs et régulent l'entrée des substrats dans la chambre de catalyse. Le protéasome génère des peptides de trois à vingt acides aminés, dont la plupart sont ensuite hydrolysés en acides aminés par des peptidases cellulaires **(Coux *et al.,* 1996)**.

- **Le complexe régulateur 19S**

Ce complexe est essentiel pour la décomposition des protéines ubiquitinylées. Il s'attache aux deux bouts du protéasome 20S, activeant sans doute les anneaux α. De plus, il introduit des sous-unités qui facilitent la détection des chaînes d'ubiquitine, la dénaturation du substrat et le recyclage de l'ubiquitine. Cette structure régulatrice comprend approximativement 18 sous-unités distinctes, réparties en deux ensembles :

- Un couvercle, indipensable pour la dégradation des protéines ubiquitinylées ;
- Une base, qui permet de se lier au protéasome 20S et contient six ATPases disposées en forme d'anneau **(figure 121) (Voges *et al.,* 1999)**.

Ces ATPases transforment l'ATP en énergie nécessaire pour éliminer les substrats **(Braun *et al.,* 1999)**, activer le protéasome 20S et sans doute injecter les substrats dans la chambre catalytique du protéasome 20S. Ce complexe assure aussi le recyclage de l'ubiquitine lors de la dégradation des substrats ubiquitinylés et supervise la récupération des protéines qui ne sont pas ubiquitinylées ou mal dégradées par le protéasome **(Kam *et al.,* 1997).**

Point cours
- Définir les composant du système Ubiquintine/protéasome
- Connaître l'importance de l'ubiquitylation dans les différents processus biologiques comme la protéolyse

3.7. Le système lysosomal : Structure & Fonction

3.7.1. Structure du lysosome : définition et historique

Dans toutes les cellules nuclées, le lysosome est un organite intracytoplasmique qui permet la dégradation et le recyclage de composant intra-ou extra-cellulaire. Il se distingue par sa grande hétérogénéité en termes de taille et d'apparence, renfermant entre 50 et 60 hydrolases (phosphatases, glycosidases, lipases, nucléases, sulfatases et protéases) qui sont actives dans un environnement acide, avec un pH compris entre 5,2 et 5,5 **(Maire, 2012)**. Les hydrolases sont séparées du reste de la cellule par une membrane simple **(Winchester, 2012)**, dont la composition spécifique inclut des glycoprotéines fortement glycosylées qui protègent la membrane des enzymes, telles que les protéines associées à la membrane lysosomale **(LAMP)** et les protéines intégrales **(LIMP)**. Cette membrane comporte une pompe à protons, dépendante de l'ATP, aisni que des canaux ioniques chlorures, assurant le maintien du pH acide au sein de cet organite. Elle contient également des perméases, qui facilitent l'importation et l'exportation des produits de dégradation **(figure 124).** Les lipides qui composent cette membrane sont principalement des phospholipides, avec une teneur plus élevée en cholestérol et en sphingomyéline par rapport à celle du réticulum endoplasmique rugueux (REG) ou des saccules golgiens. La membrane lysosomale se distingue également par la présence d'**acide lysobisphosphatidique**, un lipide situé sur la couche interne de la membrane, résistant aux phospholipases et jouant un rôle dans la stabilisation des membranes lysosomales **(Uphoff *et al.*, 2007).**

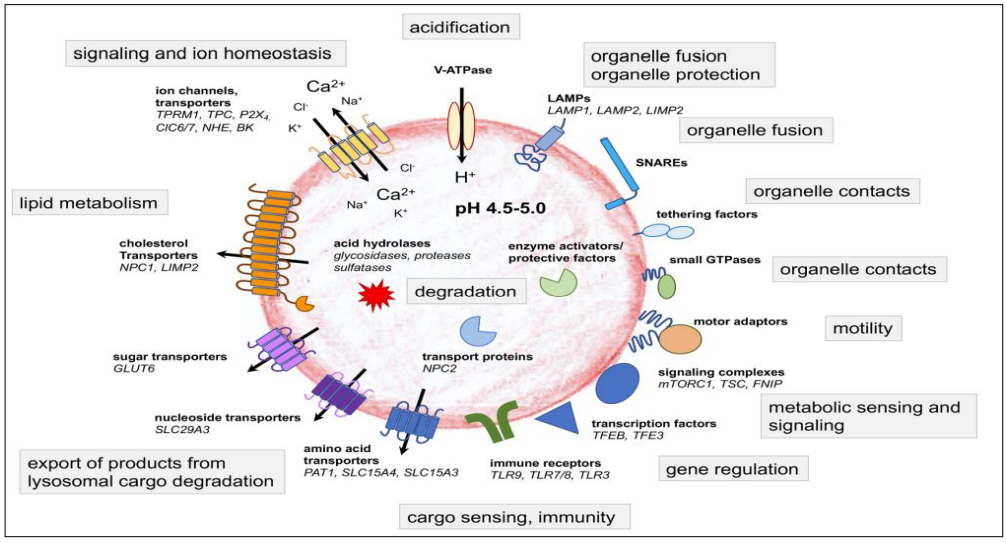


Figure 124. Les protéines de la membrane lysosomale (Meyer-Schwesinger, 2021)

La découverte et l'identification morphologique des lysosomes remontent à 1953, grâce aux travaux du biochimiste belge Christian De Duve. Il a attribué à cette structure deux fonctions physiologique majeures : la digestion des molécules extracellulaires capturées par endocytose et la dégradation des molécules endogènes isolées via l'autophagie **(De Duve *et al.,* 1954).** Ainsi, il a placé le lysosome au centre de ce qu'il a appelé, pour la première fois, le système endosome/lysosome **(Fawcett, 1981).** Plus récemment, Walkley a qualifié ce système de « grand lysosome » **(Walkley, 2007).**

3.7.2. Synthèse des enzymes lysosomales

Plusieurs voies permettent de diriger les protéines vers le lysosome **(Dittmer *et al.,* 1999 ; Ghosh *et al.,* 2003 ; Saftig et Klumpermann,2009 ; Winchester, 2012)**:

 La voie du Mannose-6-Phosphate (M6P) : les hydrolases lysosomales se présentent sous la forme de précurseurs inactifs : les **prohydrolases,** produites au niveau du réticulum endoplasmique (RE). Dans la partie N-terminale, la séquence de signalisation va donner à ces prohydrolases la possibilité de se déplacer vers la lumière du RE. Des changements seront apportés à ces précurseurs, tels qu'une **N-glycosylation** avec la fixation de chaînes oligosaccharidiques sur des résidus d'**arginine**.

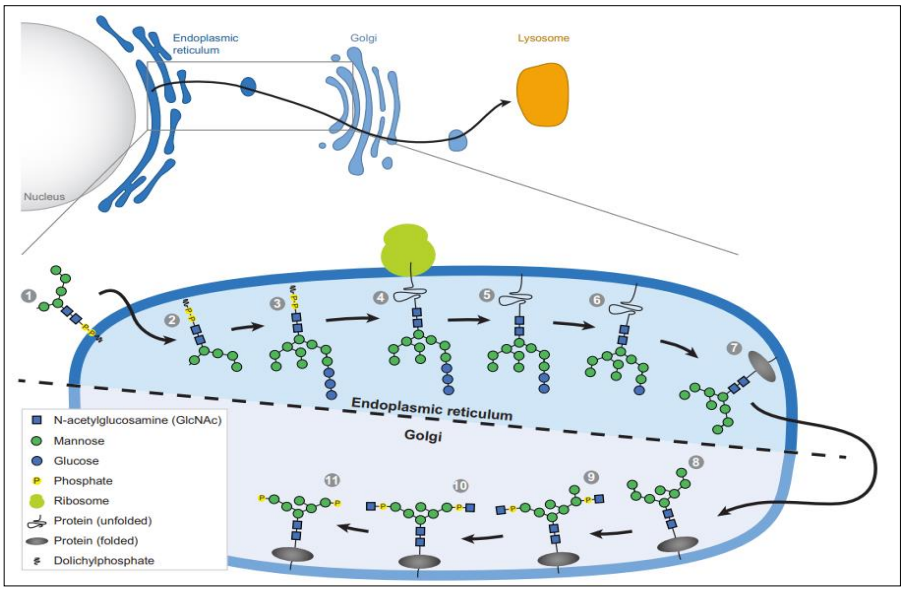


Figure 125. La voie de biosynthèse des enzymes lysosomiales "marquage M6P" (Caval *et al.,* 2019)

Après leur transfert dans l'appareil de Golgi, la majorité des prohydrolases sont soumises à l'action successive de deux enzymes.

- La première enzyme est une **phosphotransférase**, appelée *uridine diphosphate (UDP)-N-acétylglucosamine (GlcNAc)-1-phophotransférase*, qui modifie les chaînes

glucidiques des prohydrolases en ajoutent un groupement GlcNAc-phosphate sur la position 6 d'une ou plusieurs molécules terminales de mannose.

- La deuxième enzyme, une **diestérase** (*GlcNAc-1-phospho-diester "-N-acétylglucosaminidase*) hydrolyse la liasion GlcNAc-phosphate, libérant ainsi des résidus de **mannose-6-phosphate (M6P)** en position terminale **(Braulke et Bonifacino, 2009) (figure 125).** Le M6P est reconnu comme un « ligand de tri » car sa présence distingue les glycoprotéines destinées au lysosome de celles qui seront sécrétées **(Garnotel, 2006)**. Ce marqueur permet aux glycoprotéines de se lier à des récepteurs spécifiques du M6P, concentrés dans des régions du trans-Golgi, qui bourgeonnent pour former une vésicule de transport. Cette vésicule fusionne ensuite avec un **endosome tardif (LE),** formant un **endolysosome** où les hydrolases acides sont libérées de leurs récepteurs, qui sont recyclés vers le trans-Golgi ou dirigés partiellement vers la membrane plasmique **(figure 126)**. Après avoir été libérés de leurs récepteurs, les zymogènes subissent une maturation finale (protéolyse, déphosphorylation, modification conformationnelles et agrégation) afin de se transformer en enzymes matures et pleinement actives **(Braulke et Bonifacino, 2009).**

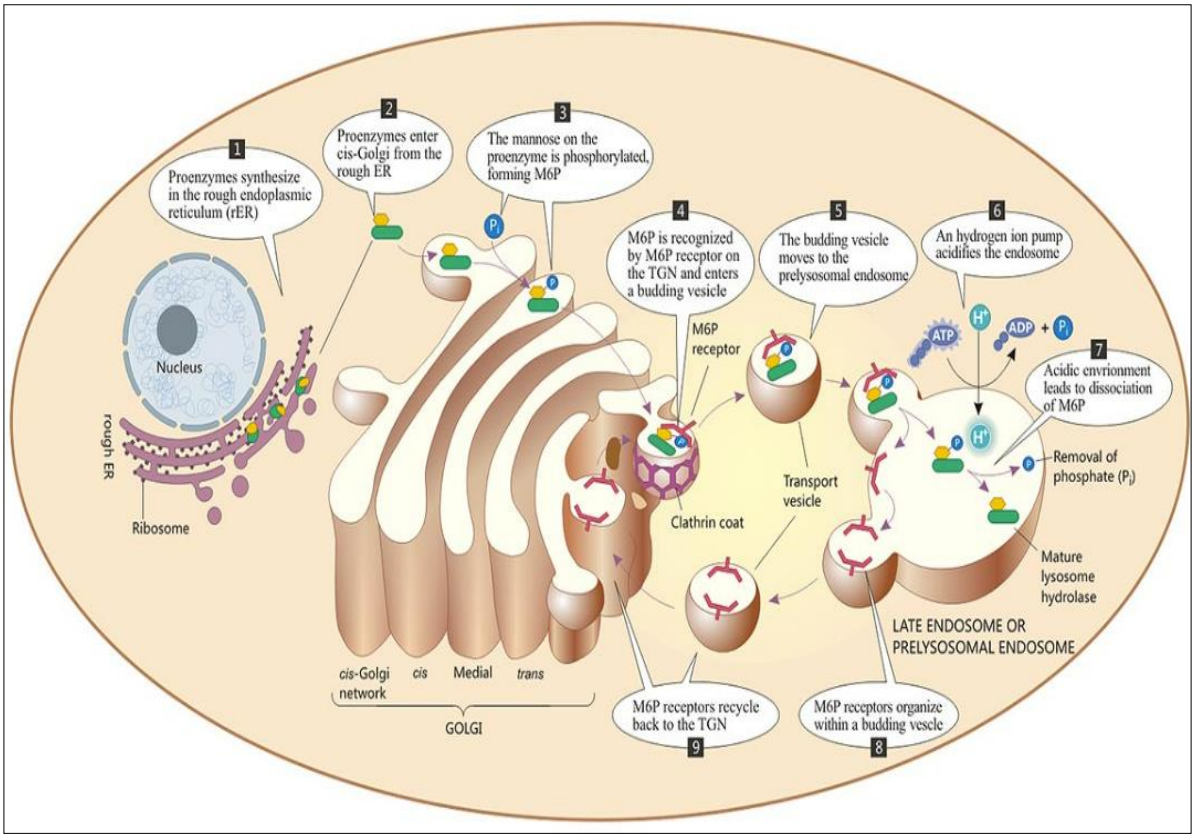


Figure 126. La biosynthèse et le transport des enzymes lysosomiales (web52)

 La voie de la sortiline collabore avec les récepteurs M6P pour diriger la sphingomyélinase acide et permet également l'adressage des cofacteurs indispensables à l'hydrolyse enzymatique des sphingolipides, tels que les saposines et la protéine activatrice du GM2 **(Lefrancois *et al.*, 2003 ; Ni et Morales, 2006).**

 Les protéines de la membrane lysosomiale possèdent, dans leur queue cytosolique, un motif (di-leucine et/ou tyrosine) qui peut se lier à des molécules adaptatrices facilitant leur acheminement vers les lysosomes, directement ou via la membrane plasmique. La phosphatase acide et la glucocérébrosidase utilisent ces mécanismes **(Reczek *et al.*, 2007).**

Si la membrane lysosomale est perméabilisée, les protéases peuvent s'échapper dans le cytoplasme : une rupture complète entraînera la mort cellulaire ou la nécrose, tandis qu'une perméabilisation plus limitée peut induire l'apoptose **(Coletti *et al.*, 2012)**.

3.7.3. Fonctionnement des lysosomes

Les voies hétéro-phagiques : acheminent vers le lysosome des composés extracellulaires ainsi que des éléments de la membrane plasmique via différentes voies d'endocytose :

- l'endocytose spécifique dépendante de la clathrine (où les molécules à dégrader sont reconnues par des récepteurs situés dans des puits recouverts de clathrine) ;
- la pinocytose non spécifique en phase fluide à partir de zones spécifiques de la membrane plasmique ;
- la macropinocytose.

Les molécules à recycler sont classées dans les vésicules de l'**endocome précoce (EE)** : quelques unes sont adrésseées vers la membrane plasmique, tandis que d'autres de déplacent vers les **endosomes tardifs (LE)** qui fusionnent par la suite avec les **endolysosomes** et les lysosomes **(figure 127).** Cette fusion peut se faire directement ou à travers un compartiment intérmédiare, **les corps multivésiculaires**, ajoutant ainsi une étape additonnelle de tri sétectif. Dans certaines cellules spécialisées comme les monocytes et les macrophages, la cellule est capable d'ingérer de vastes particules ou microorganismes par le biais de **vésicules phagocytaires**. Ces dernières se combinent ensuite avec les endolysosomes pour créer des **phagolysosomes (Maire, 2012).**

Les voies autophagiques : se différencient par leur mécanismes d'activation, leur régulation et le type de substrats à dégrader. Dans le processus de **macro-autophagie**, les composants cellulaires à recycler (tels que le glycogène, les protéines, les ribosomes, les débris cellulaires, les mitochondries, etc.) sont englobés, avec une portion importante de cytoplasme, dans des vésicules issues des membranes du RE, appelées **autophagosomes**. Ces derniers fusionnent ensuite avec un endolysosome ou un lysosome pour former un **autophagolysosome (figure 127).** La macro-autophagie est un processus finement régulé, nécessitant des réactions de conjugaison ainsi que l'intervention de kinases **(Maire, 2012).**

La crinophagie, en revanche, ajuste la vitesse de sécrétion des protéines en dirigeant les vésicules sécrétoires vers le système endolysosomal au lieu de les fusionner avec la membrane plasmique **(Maire, 2012).**.

Enfin, la micro-autophagie est une voie non séléctive permettant le transfert de matériel cytosolique par invagination de la membrane lysosomiale**(Maire, 2012).**

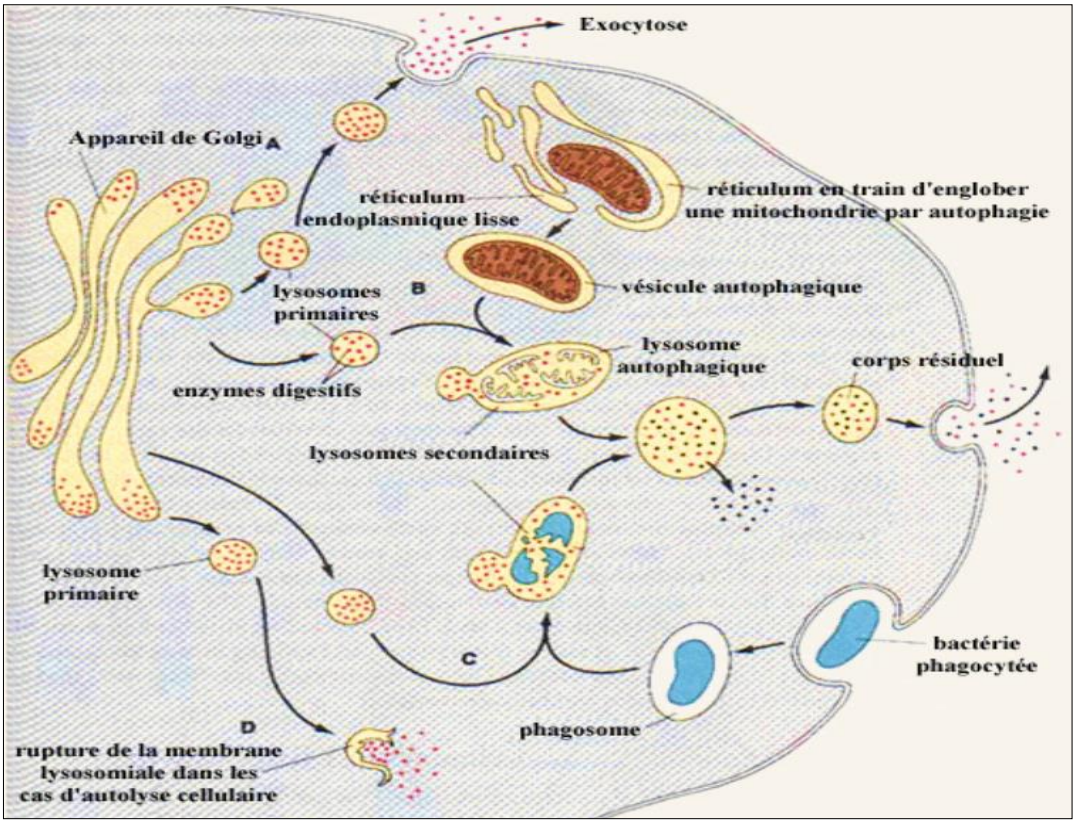


Figure 127. Fonctionnement du lysosome voie auto- et hétérophagique (web53)

Point cours

- Connaître la voie de synthèse et de transport des hydrolases lysosomiales vers les lysosomes
- Distinguer la voie autophagique de la voie hétérophagique

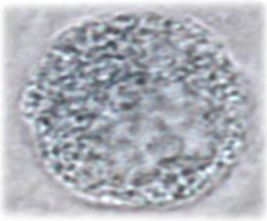
3.8. Le noyau et échanges avec le cytosquelette

L'ADN des cellules eucaryotes est localisée dans le noyau, une catégorie de protéines spécifique à ce groupe d'origanismes, les histones, joue un rôle central dans la formation de la chromatine, qui constitue un élément structural majeur du noyau **(Callen, 2005).**

3.8.1. Organisation du noyau interphasique

L'intervalle de temps qui sépare deux divisions cellulaires successives est appelé **interphase**. Durant cette période, le noyau est dit **interphasique**, qualifier autrefois, par l'expression **noyau au repos (figure 139).** Or ceci n'est pas totalement vrai, car c'est au cours de l'interphase que l'activité du noyau est la plus élevée, en contrôlant différents processus cellulaires. L'interphase est longue chez les organismes adultes, où les divisions sont rares. Par contre, chez l'embryon, l'interphase est courte, puisque les divisions se succèdent à un rythme rapide **(Callen, 2005)**.

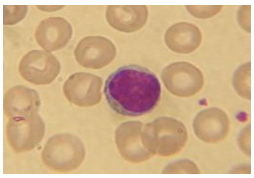
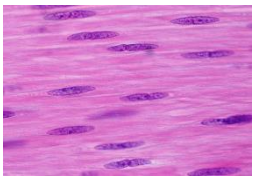
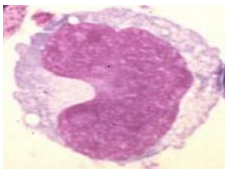
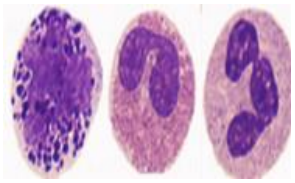
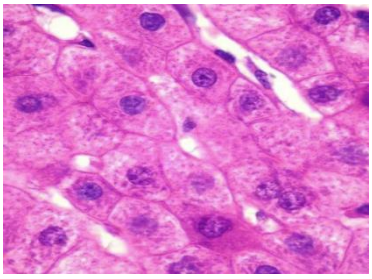
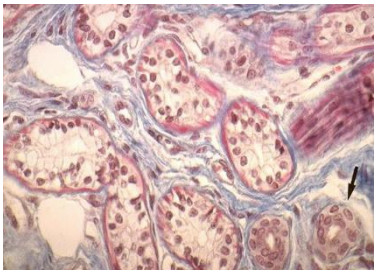
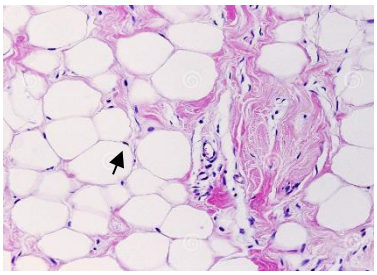
a. Aspect générale



De taille mesurant entre 5 et 20µm de diamètre, le noyau, est d'ailleurs le premier organite cellulaire à avoir été identifié. En microscopie optique, le noyau apparaît comme une structure globulaire très réfringente. **(Favro et Nicolle, 2011).**

La majorité des cellules possèdent un seul noyau central, d'autres peuvent être binucléées ou multinucléés, le plus souvent de forme **sphérique ou lenticulaire**, il peut parfois présenter un aspect **plurilobé**, comme dans certains globules blancs appelés polynucléaires. Dans les cellules spécialisées, telles que les spermatozoides ou les cellules musculaires lisses, le noyau peut adopter une forme très allongée. Son volume est généralement proportionnel à celui de la cellule, représentant environ 10% du total. Cependant, chez un organisme donné, le rapport nucléocytoplasmique constitue un indicateur de l'activité physiologique de la cellule ; par exemple, les cellules embryonnaire ou méristématiques possèdent un noyau volumianeux et se distinguent par un rapport élevé **(Favro et Nicolle, 2011).**

Tableau 13: Caractéristiques morphologiques du noyau cellulaire (web54)

FORME			
Sphérique	**Allongée**	**Réniforme**	**Polylobée**
			
Lymphocyte	Cellule musculaire	Monocyte	basophile éosinophile neutrophile
POSITION			
Centrale	**À la base**	**À la périphérie**	
			
Tissu hépatique	Glande sudoripare	Tissu adipeux	

b. Ultrastructure nucléaire

Après une coloration à l'hématoxyline, le noyau révèle une structure complexe. Il est délimité par un systéme membranaire , la « membrane nucléaire ». Son contenu présente un réseau intensément coloré, de structure réticulée ou granuleuse, appelé chromatine, qui baigne dans un liquide incolore : le suc nucléaire ou nucléoplasme. De plus, on peut observer un ou plusieurs globules de 1 à 3 µm de diamètre, appelés nucléoles.

• En microscopie électronique, la frontière nucléaire se révèle être composée de deux membranes classiques d'environ 6 nm d'épaisseur chacune. L'espace intermembranaires, large de 20 à 50nm, constitue l'enveloppe nucléaire. Cette dernière est perforée de pores qui permettent la communication entre le nucléoplasme et le hyaloplasme.

 L'enveloppe nucléaire : La membrane externe est en continuité avec le réticulum endoplasmique rugueux et peut parfois porter des ribosomes sur sa face externe. Elle est composée à 70 % de protéines et 30 % de lipides, et est très riche en enzymes, telles que la glucose 6-phosphatase et la N-glycosyl transférase. La membrane interne est doublée,

du côté du nucléoplasme, par une structure plus ou moins épaisse (15 à 50 nm) appelée lamina. Cette structure, étroitement liée à la membrane, est constituée de protéines nommées lamines, appartenant à la famille des filaments intermédiaires. Organisées en un réseau fibreux à maille carrée, elles confèrent rigidité et résistance à l'enveloppe nucléaire. La membrane interne contient également des protéines transmembranaires qui servent de sites de fixation pour les lamines et les histones, ainsi que des canaux calciques dépendant de l'IP3, permettant la libération d'ions calcium **(Callen, 2005)**.

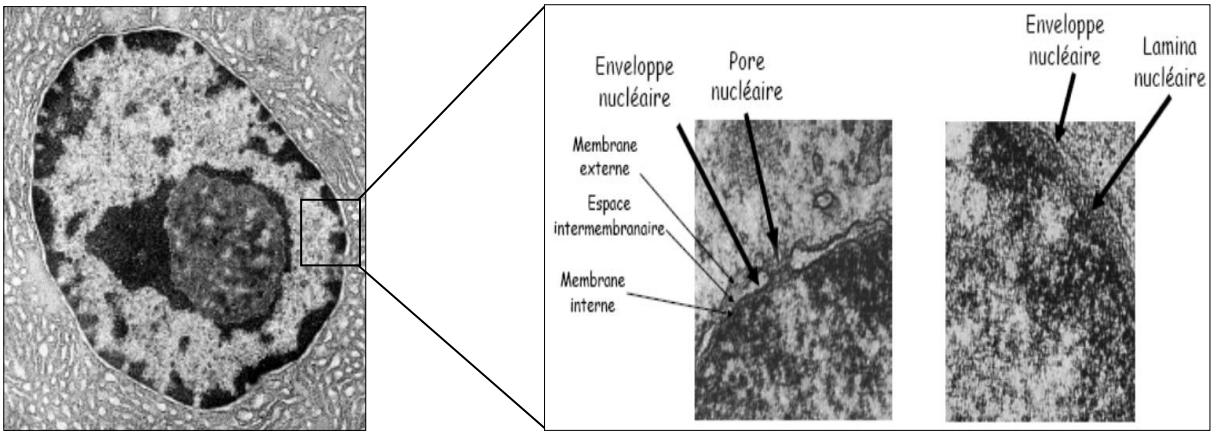
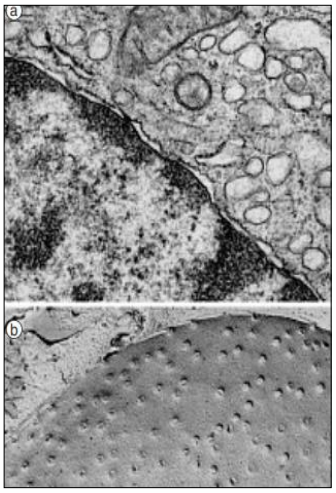


Figure 128. Noyau interphasique observé microphotographies, MET (Callen, 2005)

 Le nucléoplasme : Il contient l'information génétique compactée sous forme de chromatine, chaque chromosome y occupant une position définie. La matrice nucléaire, ou nucléosquelette, inclut la lamina nucléaire ainsi qu'un ou plusieurs nucléoles **(Berkaloff *et al.*, 1989)**.

 Structure et fonctions des pores nucléaires : les pores nucléaires sont des structures complexes en forme de « **panier de basket** ». elles sont dynamiques, pouvant disparaître lorsque la cellule entre en phase de repos et réapparaître lors d'une augmentation des échanges entre le noyau et le cytoplasme. Environ 4000 pores sont présents par noyau, représentant 5 à 15% de la surface de l'enveloppe nucléaire. Chaque pore est entouré d'une structure cylindrique, l'**annulus**, qui présente une symétrie octogonale avec 8 sous-unités annulaires formant **deux anneaux** de même taille, mesurant environ 120nm de diamètre, l'un situé du côté **cytoplasmique** et l'autre du côté **nucléoplasmique**. Ces anneaux sont reliés au transporteur central par 8 **bras radiaux** formant une structure semblable à une **roue de charrette**. Des filaments perpendiculaires émanent de chaque anneau et se rejoignent à leur extrémité

nucléoplasmique par un **troisième anneau** plus petit, organisé **en forme de cage**. La **lamine** nucléaire est interrompue à l'emplacement des pores, et leur composition chimique reste encore en grande partie inconnue **(Berkaloff *et al.,* 1989)**.



On sait néanmoins que 50% des protéines des pores sont des nucléoporines, qui sont des glycoprotéines. Elles jouent un rôle dans le transport à travers les pores en intragissant avec les complexes protéiques responsables de l'importation et de l'exportation, grâce à leurs séquences FG (F pour phénylalanine et G pour glycine) **(Favro et Nicolle, 2011)**

Figure 129. Aspect de l'enveloppe nucléaire en ME (Callen, 2005).
a. Coupe ultrafine : on distingue nettement les deux membranes, ainsi que l'espace intermembranaire et les emplacements des complexes des pores ; **b.** aspect en cryofracture, la distribution des pores est bien visible

 La chromatine : présente dans le noyau sous une forme plus ou moins compactée, est constituée d'ADN et de protéines. Le génome est divisé en plusieurs molécules appelées chromosomes. Chez l'homme, les cellules somatiques sont diploides (2n), avec 46 chromosomes, tandis que les gamètes (avocytes ou spermatozoïdes) sont haploïdes (n), ne contenant que 23 chromosomes. La chromatine se présente sous des formes plus ou moins spiralées et compactées selon l'état fonctionnel de l'ADN. Elle peut être :

-Décondensée et dispersée (**euchromatine**), un état observé pendant l'interphase, sous forme de fibres nucléoplasmiques de 11 nm. Dans cet état, elle est accessible aux ARN polymérases et est donc active sur le plan transcriptionnel.

-Condensée (**hétérochromatine**), constituée de fibres de chromatine (30nm). Une partie de cette hétérochromatine est concentrée à la périphérie du noyau et autour des nucléoles, empêchant toute transcription.

-hautement condensée (**chromosome métaphasique**). Lors des divisions cellulaires, la chromatine devient hautement condensée, un état qui ne permet pas la transcription

Nucléosome et compaction de l'ADN : les nucléosomes sont des structures cylindriques de 11nm de diamètre, composées de petites protéines basiques appelées histones nucléosomiques. Ces histones, chargées positivement en raison de leur richesse en arginine et lysine, se fixent facilement à l'ADN, qui est lui-même chargé négativement à

cause de ses groupements phophates **(voir figure 130).** Chaque nucléosome est un octamère constitué de 2 hitones H2A, 2 histones H2B, 2 histones H3 et 2 histones H4 **(Favro et Nicolle, 2011).**

Remarque : L'ADN effectue deux tours (soit 146 paires de bases) autour de chaque octamère d'histones, formant ainsi le cœur nucléosomique ou le **nucléosome** proprement dit. Entre chaque nucléosome, un segment court d'ADN, de longueur variable (60 à 80 pb) sépare ces structures, appelé **segment de laision**. Cette structure donne à la chaîne d'ADN l'apparence d'un collier de perles **(figure 142)(Favro et Nicolle, 2011).**

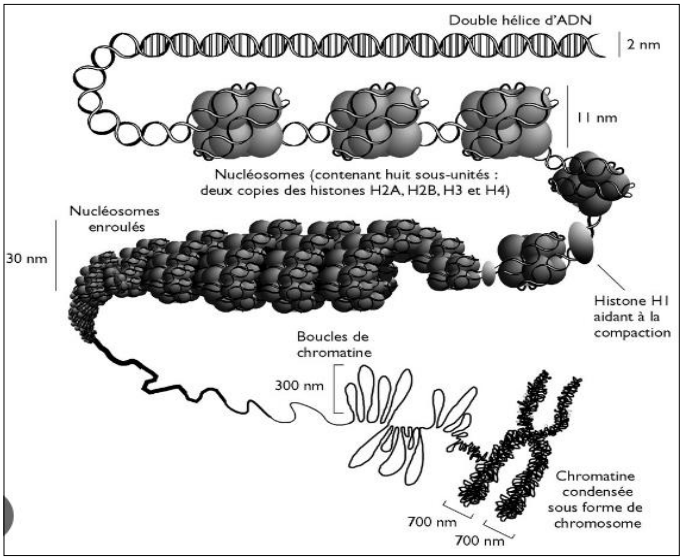


Figure 130. Compaction de l'ADN (Favro et Nicolle, 2011)

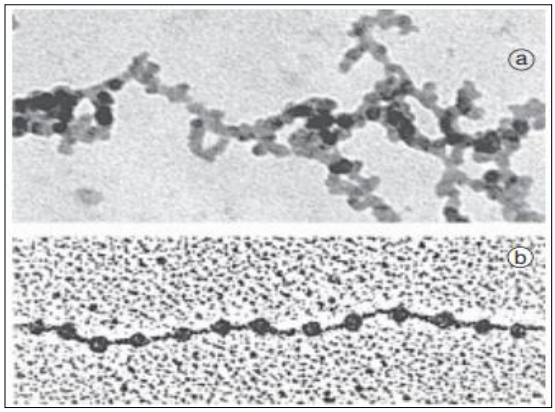


Figure 131. Organisation de la chromatine nucléaire (Callen, 2005). a. Chromatine partiellement désorganisée, obtenue après lyse ménagée des noyaux. **b.** Structure caractéristique en collier de perles

Les nucléosomes s'associent par groupes de six sous l'action d'une autre histone, l'**histone H1** ou histone de liaison, pour former des « **solénoïdes** ». L'histone H1 se fixe à l'ADN à la sortie du nucléosome. L'association du nucléosome et de l'histone H1 forme le chromatosome. Les molécules d'histone H1 sont liées entre elles par des liaison peptidiques **(Favro et Nicolle, 2011).** Elles sont responsables de la formation des fibres de chromatine d'un diamètre de 30nm, appelées fibres de type B.

Remarques : Des protéines non histones (PNH) sont également liées à l'ADN. Dans certaines régions, notament les zones de régulation, l'ADN ne peut pas être lié aux histones. Les interactions entres les histones H1 provoquent la condensation des chromatosomes, reliés entre eux par ces histones, formant des fibres chromatiniennes de type A, d'un diamètre de 11nm.

 Le nucléole : dépourvue de membrane, est le site de la biosynthèse des ribosomes, avec une production pouvant atteindre 2000 à 3000 ribosomes par minute. La transcription des ARNr (à l'exception du 5S) ainsi que leur maturation aboutissant à la formation des sous-unités ribosomques.

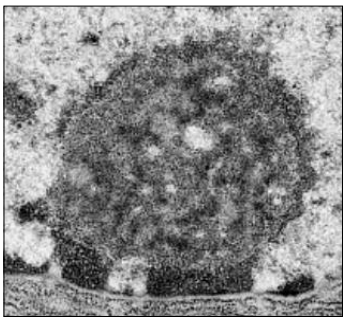


Figure 132. Ultrastructure du nucléole (Callen, 2005)

Un noyau peut contenir plusieurs nucléoles. En microscopie électronique, le nucléole présente deux zones distinctes. La zone granulaire périphérique contient de l'ARN, tandis que la zone fibrillaire centrale est composée d'ADN ribosomal, où se déroule l'allongement des ARN pré-ribosomiques. Les deux zones renferment également des protéines.

3.8.2. Les échanges nucléocytoplasmiques sont contrôlés par les pores nucléaires, qui assurent un transit sélectif dans les deux sens **(voir figure 133) :**

- Les petites molécules (nucléotides, protéines, etc.) de poids moléculaire inférieur à 40 kDa, ainsi que les ions, traversent le pore par diffusion passive en utilisant les canaux latéraux du pore.
- Le transport des grosses molécules, nécessitant de l'énergie, s'effectue via le transporteur central et implique l'association avec des protéines spécialisées dans le transport.

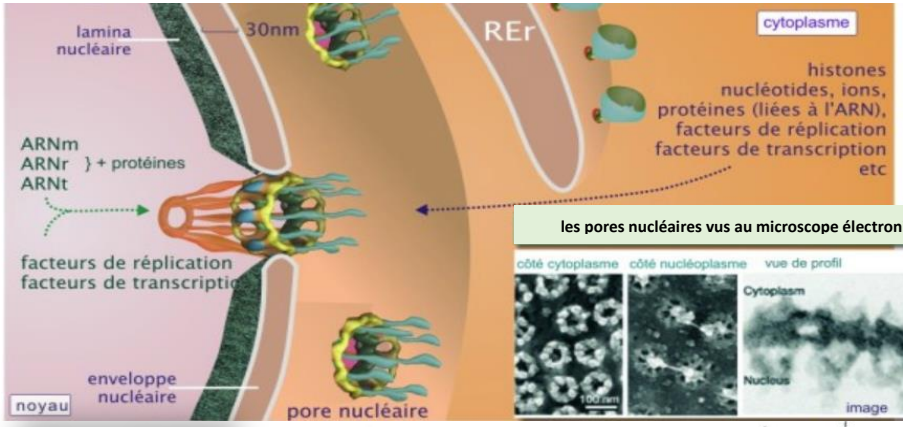
L'import : Les protéines qui entrent dans le noyau portent une séquence de localisation nucléaire **(NLS pour Nuclear Localisation signal)**, constituée d'acides aminés basiques tels que la lysine et l'arginine. Cette séquence peut être continue, par exemple –phe–lys–lys–lys–arg–lys–val–, ou interrompue, comme –lys–arg–phe–ala–ala–thr–lys–lys–ala–gly–gln–ala–lys–lys–lys–lys–. Ces séquences sont reconnues par une protéine adaptatrice, l'**importine-α** (60 kDa), qui se lie ensuite à son récepteur, l'**importine-β** (97 kDa). Le complexe ainsi formé se fixe aux filaments cytoplasmiques entourant le pore, en reconnaissant une séquence riche en phénylalanine et glycine (–phe–ser–phe–gly–) sur la protéine **Nup358.** Cela amorce un processus de transport dans lequel le complexe, composé de la protéine entrante, de l'adaptateur et du récepteur, traverse le pore, probablement guidé par une autre séquence riche en phénylalanine et glycine (FxFG) présente sur la protéine **Nup153**. Cette dernière est une protéine flexible, capable de se

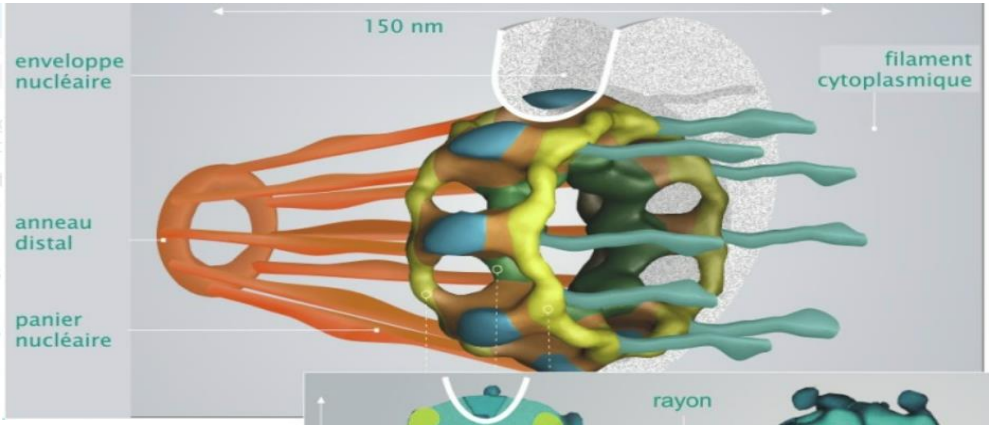
rétracter ou de s'étendre. Une fois dans le nucléoplasme, le complexe est libéré grâce à **RanGTP**, une protéine liant le GTP (24 kDa). Des protéines spécifiques renvoient ensuite les importines-α et -β vers le cytoplasme pour les réactiver. Il est à noter que certaines protéines se lient directement à l'importine-β sans passer par l'adaptateur, et sans nécessiter l'intervention de RanGTP, indiquant un mécanisme alternatif de transport. **(Favro et Nicolle, 2011)**.

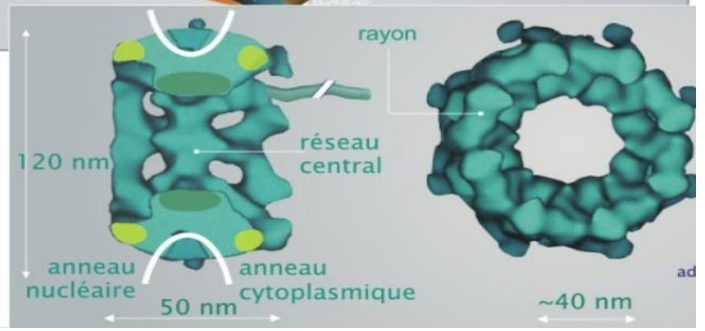
***Export* :** les protéines destinées à être exportées hors du noyau possèdent une séquence spécifique appelée **« Nuclear Export Signal » NES**, caractérisée par une richesse en résidus de leucine (non polaires) répartis le long de la chaîne (-leu-x1-3-leu-x2-3-leu-x-leu/ile). L'exportation suit des mécanismes très similaires à ceux de l'importation, impliquant des récepteurs spécialisés comme l'**exportine-1** également connue sous le nom de **CRM1**, pour **chromosome region maintenance protein-1**, une protéine de 123kDa). Contrairement à l'importine-β, l'exportine-1 reconnaît la cargaison en se liant au RanGTP. Le complexe formé se déplace à travers le pore nucléaire grâce à des interactions avec des protéines contenant une séquence phe-x-phe-gly (telles que Nup153 et **Nup214**). Dans le cytoplasme, le complexe se fixe à un filament cytoplasmique (Nup358) et à RanGAP, une protéine activant le GTPase qui déclenche l'hydrolyse du GTP en GDP et Pi. Ce processus entraîne la dissociation du complexe, libérant ainsi la cargaison dans le cytoplasme **(Favro et Nicolle, 2011)**.

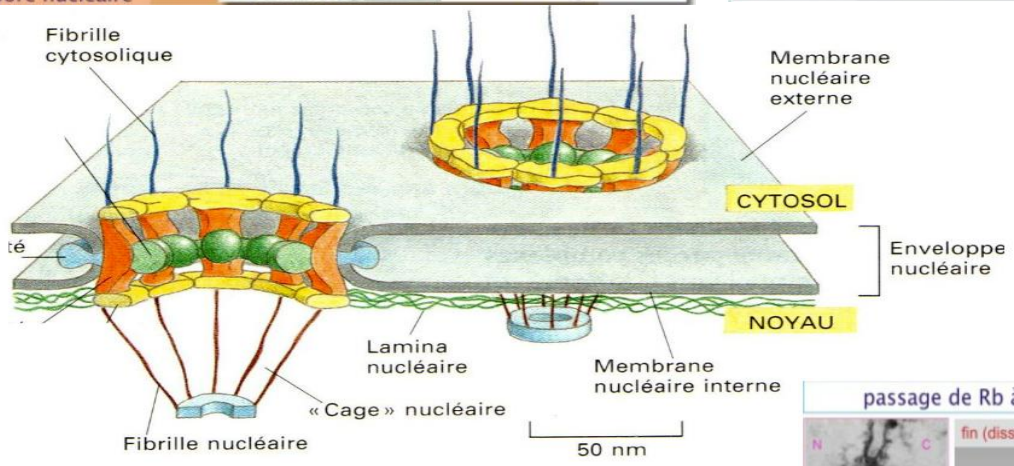
Point cours

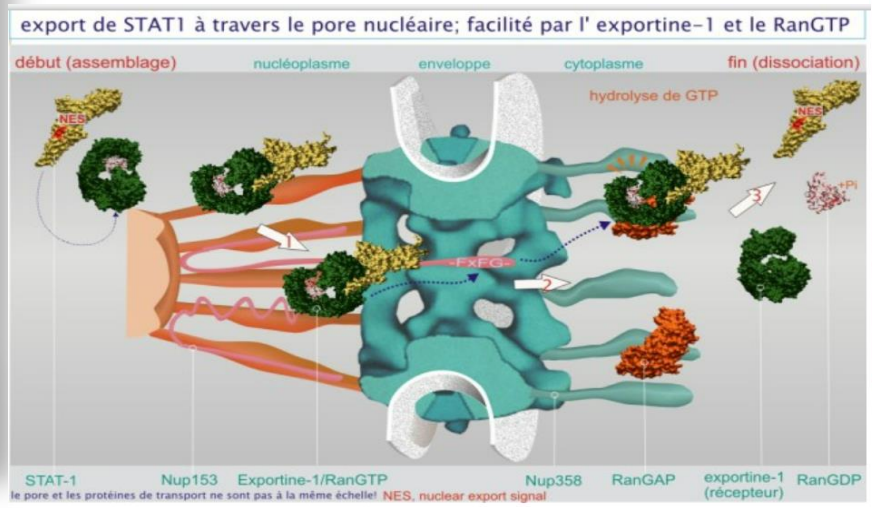
- Savoir les éléments composants le noyau
- Connaître la composition du nucléoplasme
- Connaître la structure et la composition des pores nucléaires
- Connaître le sens des échanges nucléo-cytoplasmiques et les molécules pouvant être échangées
- Savoir les différents types de chromatine et leurs niveaux de compaction











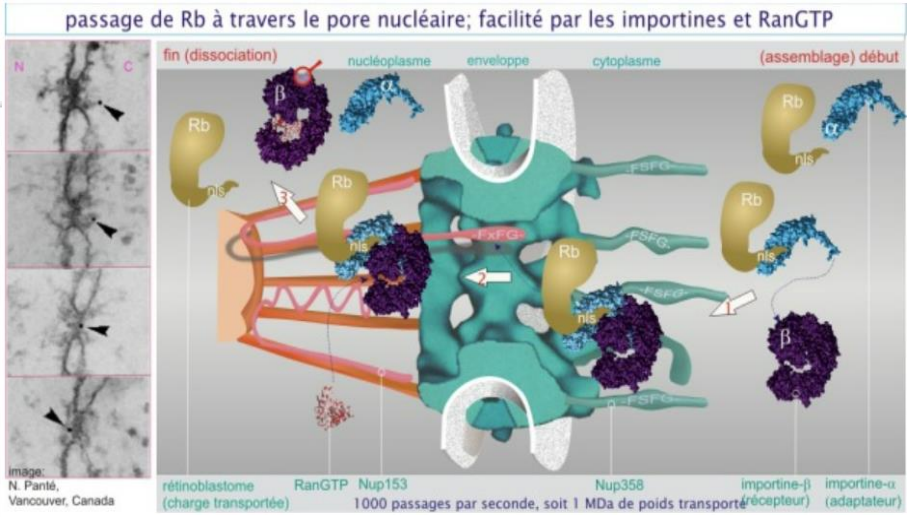


Figure 133. Vue de profil d'un pore nucléaire « schéma globale avec coupe transversale » et échange nucléoplasmique (web55)

Le pore comporte un orifice central (diamètre : 10-13nm) : **le transporteur central** et huit **canaux latéraux** délimités par les deux anneaux et les 2x8 bras radiaires.

Chapitre 4

La glycosylation des macromolécules et rôle biologique

4.1. Glycosylation des protéines

La synthèse de la séquence protéique ne permet pas à celle-ci d'acquérir ses fonctionnalités. De nombreuses modification co- et post-traductionnelles sont indispensables **(Taniguchi *et al.*, 2014) :**

1. Repliement et association avec des cofacteurs.
2. Modifications covalentes telles que la glycosylation, la phosphorylation, etc.
3. Association avec d'autres sous-unités protéiques.

La majorité de ces modifications sont effectuées par le système endomembranaire.

4.1.1. N-glycosylation

Les **glycosyl-transférases** du réticulum endoplasmique rugueux ajoutent, en une seule étape, un motif oligosaccharidique unique composé de 14 résidus sucrés (ou leurs dérivés). Ce motif est orienté vers l'intérieur du réticulum et est porté par une molécule lipidique appelée **dolichol**, ancrée dans la bicouche lipidique **(voir figure 134).** L'ajout de cet oligosaccharidique à la protéine se fait sur l'atome d'azote de l'asparagine (Asn), et ce processus est **co-traductionnel**. L'Asn impliquée fait partie de deux séquences consensus pour la N-glycosylation : Asn-x-Ser ou Asn-x-Thr (x représentant n'importe quel acide aminé, à l'exception de la proline). Cela contraste avec l'O-glycosylation, qui se déroule dans l'appareil de Golgi et implique d'autres acides aminés **(Aebi, 2013).**

Les glucides ajoutés au cours de ce processus sont apportés sous forme de nucléotides couplés aux glucides, tels que l'UDP-GlcNAc, le GDP-mannose, l'UDP-glucose, etc. Ces molécules sont qualifiées de glucides activés **(figure 134).** Il est important de noter que les motifs glucidiques ainsi fixés subissent déjà des modifications avant que les protéines ne quittent le réticulum pour rejoindre le compartiment suivant. En effet, des enzymes appelées glycosidases élaguent ces motifs en retirant certains sucres, notamment le glucose et le mannose, des extrémités des trois branches qu'ils contiennent. Ce premier processus de dé-glycosylation se poursuit ensuite dans l'appareil de Golgi. Deux situations sont possibles **(Ruddock et Molinari, 2006)** :

 Le tronc élagué ne subit plus de modifications (au moins en ce qui concerne les sucres), aboutissant à un motif simple « riche en mannose », caractéristique des protéines du lysosomes **(figure 135) (Callen, 2005)**.

 La dé-glycosylation se poursuit dans les saccules *Cis* jusqu'à l'obtention d'un motif réduit à sept sucres. Ce motif fait ensuite l'objet d'une nouvelle glycosylation, consistant en l'allongement des chaînes restantes dans les saccules *médium* et *trans*, cette fois-ci avec des composants différents : galactose, fucose, acide sialique, etc. **(Callen, 2005)**.

Les nombreuses enzymes impliquées, telles que les mannosidases et les transférases, sont membranaires et interviennent de manière séquentielle tout au long des différents saccules du Golgi.

4.1.2. O-glycosylation

Chez les animaux, les glucides se lient aux acides aminés dotés d'une fonction alcool, principalement la sérine et la thréonine. La synthèse des longues chaînes de sucres, l'ajout de groupes sulfates par les sulfo-transférases, ainsi que leur attachement aux chaînes polypeptidiques, se déroulant dans les saccules les plus externes de l'appareil de Golgi. Ces réactions post-traductionnelles sont catalysées par un ensemble complexe d'enzymes spécifiques, qu'elles soient membranaires ou solubles **(Reynders *et al.,* 2011)**.

Les sucres utilisés comme substrats sont en réalité des molécules activées, appelées nucléotides-sucres (comme l'UDP-glucose, le GDP-mannose, l'UDP-galactose ou encore l'UDP N-acétylglucosamine). Ces composés sont synthétisés dans l'hyaloplasme et doivent être transportés dans les saccules de l'appareil de Golgi pour permettre la glycosylation. La membrane des saccules contient de nombreux transporteurs spécifiques qui fonctionnent comme des antiports : ils échangent un nucléotide-sucre venant de l'extrémité contre le nucléotide correspondant seul, libéré après la glycosylation, permettant ainsi son réexportation et son recyclage. Toutes les glycosyl-transférases, responsables de l'ajout successif des sucres pour allonger les chaînes, sont des protéines membranaires intrinsèques dont le site actif est orienté vers la lumière du saccule. L'ajout de l'acide sialique, qui marque souvent la fin des chaînes saccharidiques, se déroule dans le réseau transgolgien **(figure 136) (Reynders *et al.,* 2011).**

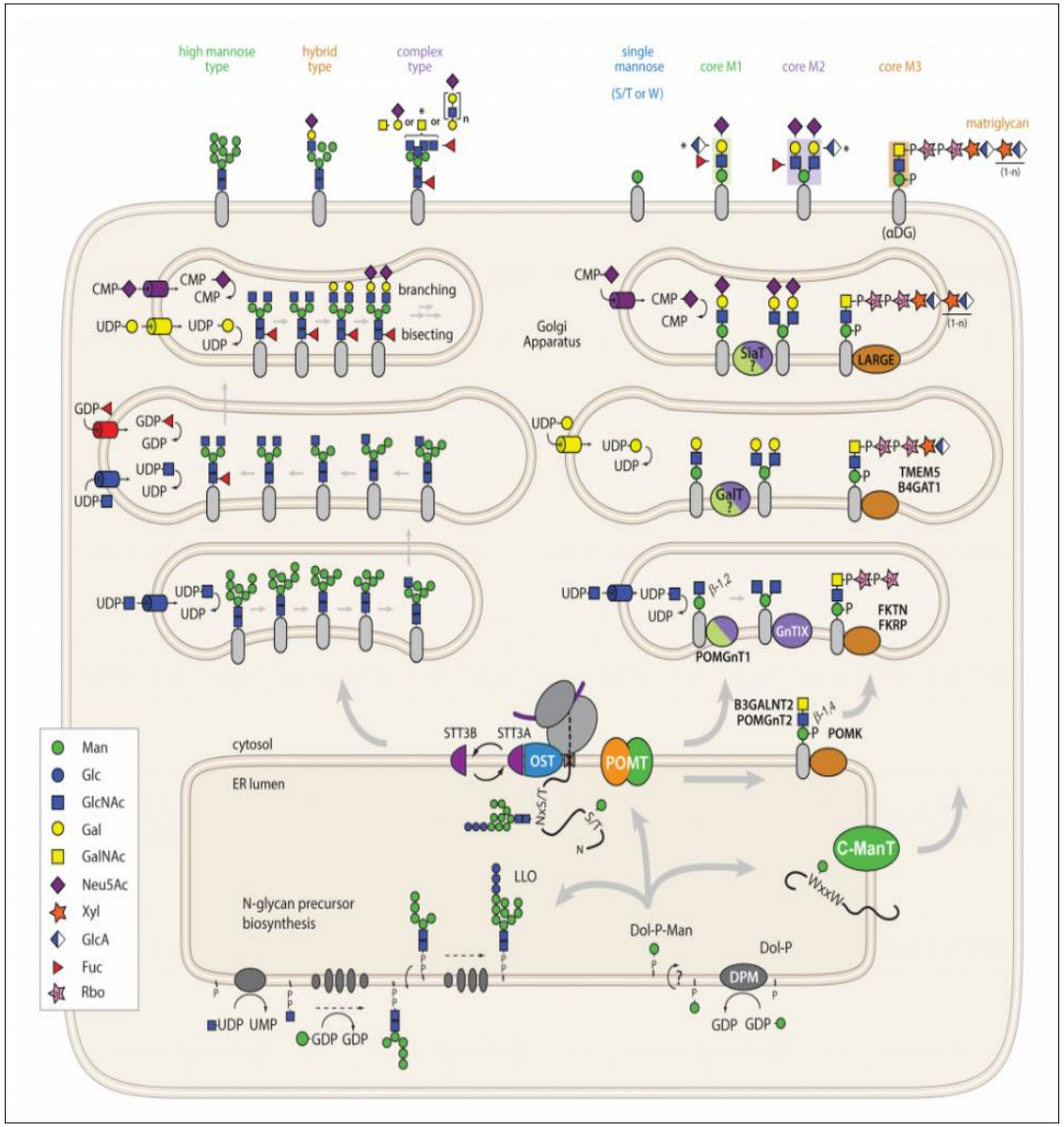


Figure 134. Etape de la N-glycosylation (Web56)

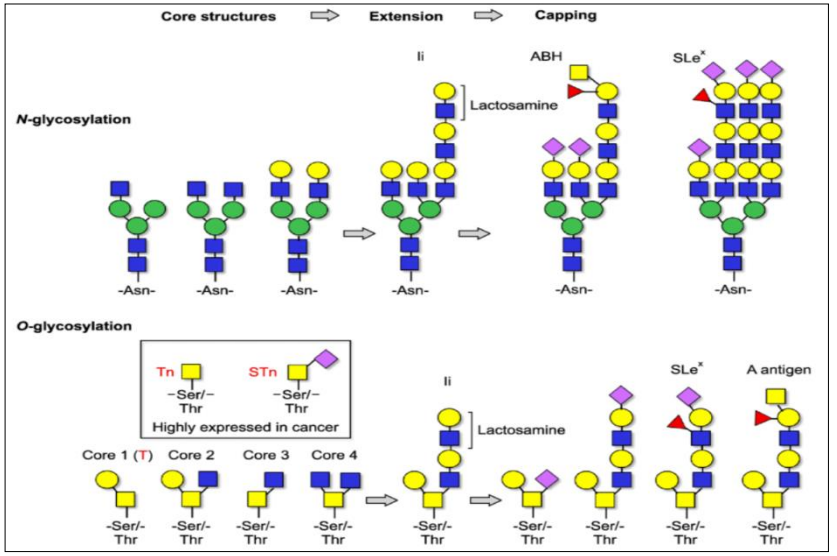


Figure 135. Chaines N et O liées (Kwon *et al.*, 2015)

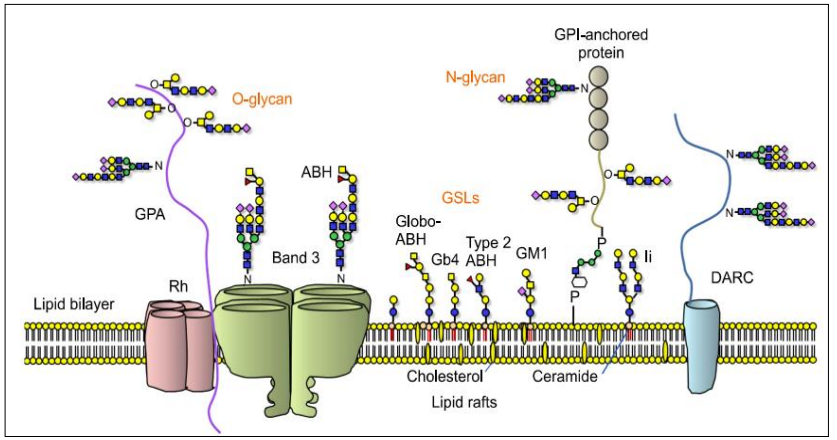


Figure 136. Installation des chaines saccharidiques N et O-liées sur une membrane de globule rouge (Kwon *et al.*, 2015)

L'ordre précis des monomères est dicté par la succession des réactions d'accrochage, elle-même régie par la spécificité des diverses transférases impliquées. En effet, ces enzymes ne reconnaissent comme substrats que des motifs spécifiques destinés à être polymérisés, ainsi que certains sucres activés. L'élongation se déroule de manière ordonnée, car le produit d'une réaction devient le substrat exclusif de la réaction suivante, et ainsi de suite **(Reynders *et al.,* 2011).**

Les motifs formés peuvent être simples, composés de 1 à 4 résidus sucrés (ou dérivés de sucres), comme dans le cas de la glycophorine, une protéine transmembranaire glycosylée très présente dans les globules rouges. Alternativement, ils peuvent être de grande taille et chimiquement complexes, comme les chaînes de glycosaminoglycanes pouvant dépasser 80 résidus. Dans le premier cas, on obtient des glycoprotéines, où la portion glucidique ne dépasse jamais 50 à 60% de la masse totale de la molécule. Dans le second cas, on peut obtenir des molécules de masse très élevée, dont la majorité est constituée de sucres ou de dérivés (jusqu'à 95%), tandis que la partie protéique devient très minoritaire ; ces molécules sont appelées protéoglycanes. Les dérivés sucrés de ces dernies portent divers groupements substitués- acides, amines, acétyles, sulfates, etc. qui confèrent à ces macromolécules des propriétés remarquables en termes de charge électrique et d'hydrophilie. Les protéoglycanes sont des composés sécrétés que l'on retrouve dans les espaces extracellulaires, formant des matrices extracellulaires plus ou moins minéralisées, comme dans le tissu conjonctif et le cartilage **(Callen, 2005)**.

4.2. Repliement des protéines

Dans le réticulum endoplasmique, divers mécanismes actifs participent à l'acquisition de la conformation finale des protéines nouvellement synthétisées. Ces processus nécessitent de l'ATP, du Ca2+ et impliquent plusieurs protéines **(Favro et Nicolle, 2011)**:

- **La PDI (Protéine Disulfure Isomérase),** qui facilite la formation de ponts disulfures au sein des protéines dans la lumière de réticulum endoplasmique (RE) ;
- **Les protéines chaperonnes du RE,** telles que la BiP (Binding Protein), la calréticuline et la calnexine (lectine), qui assistent les protéines dans l'acquisition de leur structure finale **(Moremen *et al.,* 2012).**

Remarque : le réticulum endoplasmique empêche l'exportation de protéines mal configurées ou mal glycosylées. Ces protéines s'accumulent dans le RE, peuvent être renvoyées dans le cytosol via le translocon, où sont dégradées par le protéasome après ubiquitinylation et dégradation (par une N-glycanase)

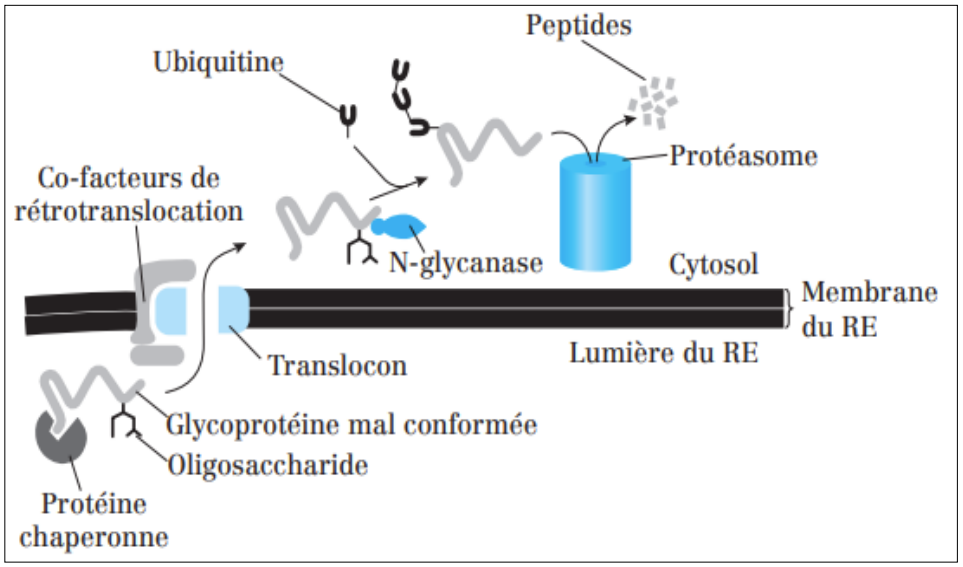


Figure 137. Devenir des protéines mal repliées et issues du RE (Favro et Nicolle, 2011)

Point cours

- Connaître les principales modifications Co et post-traductionnelles des protéines.
- Savoir distinguer N et O-glycosylation
- Connaître la composition du motif oligosaccharidique précurseur ainsi que les étapes de sa synthèse via le dolichol.
- Connaître les principales protéines du RE à l'origine du repliement des protéines néosynthétisées
- Savoir décrire les conséquences d'un mauvais repliement de la protéine

Chapitre 5

Transduction du signal et régulation de la fonction cellulaire

5.1. Modes de signalisation

Un organisme pluricellulaire doit communiquer pour assurer sa survie. Chaque cellule reçoit une grande variété de signaux extracellulaires provenant d'autres cellules et de l'environnement. Cette communication cellulaire permet à une cellule d'influer sur le comportement d'une autre. Elle est réalisée grâce à des centaines de molécules, parmi lesquelles on trouve des protéines, des peptides, des acides aminés, des nucléotides, des dérivés d'acides gras, des cytokines inflammatoires, des structures microparticulaires, ainsi que des gaz dissous comme le monoxyde d'azote (NO) et le monoxyde de carbone extracellulaire ou à la surface d'une cellule voisine, et elles peuvent interagir selon des millions de combinaisons possibles.

L'intégration des informations par la cellule dépend non seulement de ses récepteurs, mais aussi de protéines de signalisation intracellulaire qui relaient et distribuent le signal à l'intérieur de la cellule. La traduction du signal regroupe l'ensemble des événements intracellulaires déclenchés par la liaison d'un signal à son récepteur, menant à une réponse cellulaire. Parmi les protéines de signalisation intracellulaire, on trouve des kinases, des phosphatases, des protéines liant le GTP (guanosine triphosphate). Ce signal intracellulaire influence divers processus comme la modulation, l'activation cellulaire, la réponse immunitaire, ou encore d'autres fonctions via la régulation de gènes codant pour des facteurs de croissance, des cytokines, des chimiokines, des protéases, etc.

Les types de signalisation cellulaire peuvent être catégorisés selon la distance qui sépare la cellule émettrice du signal de la cellule cible réceptrice. De la plus grande à la plus petite distance, on distingue :

 La communication endocrine : dans ce mode de communication, les molécules signal appelées hormones sont produites par des glandes endocrines en réponse à un stimulus. Une fois sécrétées dans la circulation sanguine, ces hormones sont largement distribuées dans tout le corps et agissent sur les cellules cibles qui possèdent des récepteurs spécifiques. Plusieurs types de cellules peuvent être activés par la même hormone (comme l'insuline, par exemple). Le délai pour que le signal atteigne sa cible est relativement long, allant de quelques secondes à plusieurs minutes. La communication endocrine diffuse le signal à faible concentration dans l'organisme (< 10^{-8}mol/L) **(figure 138-a) (Favro et Nicolle, 2011)**.

 La communication paracrine : le signal est libéré dans la matrice extracellulaire et agit uniquement sur les cellules avoisinantes. Elle concerne les médiateurs locaux. Exemple : les médiateurs de l'inflammation tels que la prostaglandine **(figure 138-b) (Favro et Nicolle, 2011)**.

 La communication autocrine : la cellule dispose de récepteurs membranaires qui lui permettent de réagir au signal qu'elle émet elle-même. Les cytokines et les facteurs de croissance libérés au cours du développement embryonnaire, où chaque cellule en phase de différenciation en se liant à ses propres récepteurs **(figure 138-c) (Favro et Nicolle, 2011)**.

 La communication synaptique chimique : Lors de cette communication, le premier messager (neurotransmetteur) est libéré par l'élément pré-synaptique et agit seulement sur l'élément post-synaptique d'une jonction spécialisée voisine (synapses interneurales, neuro-musculaire…), sans dispersion du signal, ce qui la distingue de la communication par voie endoctrine. Quand un potentiel d'action atteint une terminaison nerveuse, cela provoque l'ouverture des canaux calcique, ce qui engendre la libération du neurotransmetteur ; ce dernier diffuse rapidement à travers la fente synaptique, et il se lie sur ses récepteurs spécifiques concentrés sur la membrane post synaptique de la cellule cible. La fixation du neurotransmetteur sur ces récepteurs spécifiques induit l'ouverture des canaux Na+ ligand-dépendant. On dit dans ce cas que le signal électrique est converti en signal chimique au niveau d'une terminaison nerveuse. Plusieurs types de neurotransmetteurs peuvent accomplir une telle transmission du signal. Ex. acétylcholine, noradrénaline, etc. **(figure 138-e) (Favro et Nicolle, 2011)**.

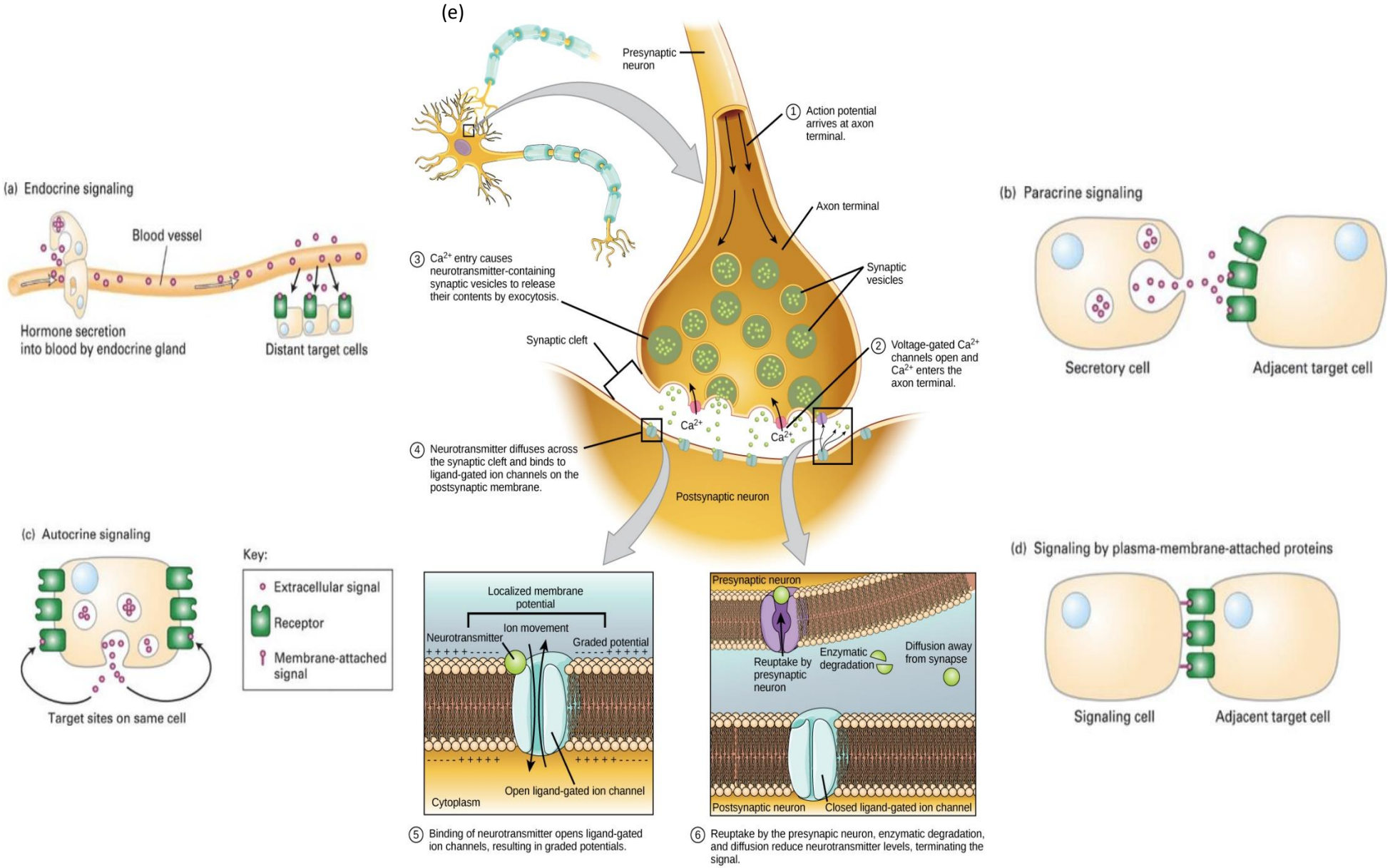


Figure 138. Modes de signalisation(web57). (**a-d) :** communications endocrine, paracrine, autocrine et communication dépendante des contact **(Tan, 2106)** ; **(e) :** synaptique

5.2. Récepteurs et ligands

5.2.1. Ligands : Définition et caractéristique

Un ligand du latin *ligandum*, signifiant « liant » est une molécule qui se fixe sur une macromolécule cible, jouant généralement un rôle fonctionnel tel que la catalyse, la modulation d'une activité enzymatique ou la transmission d'un signal. La liaison entre le ligand et son récepteur est le plus souvent non covalente et réversible. Pour les petits ligands, comme les hormones ou les neurotransmetteurs, l'interaction repose sur des liaisons électrostatiques très localisées (à longue ou courte distance, attractives ou répulsives) ainsi que sur les forces de Van der Waals (courte distance, attractives). Dans le cas des grands ligands, une attraction hydrophobe intervient également, affectant de vastes surfaces **(Alexander *et al.,* 2005).**

Lorsqu'on étudie la liaison entre un ligand et son récepteur sur une période donnée (quelques secondes), la durée de l'association permet d'évaluer l'affinité du ligand. Une courte durée indique une faible affinité pour le récepteur, tandis qu'une longue durée reflète une forte affinité. Ainsi, pour maximiser l'occupation des récepteurs sur une période donnée, un ligand à faible affinité doit être présent à une concentration élevée (de l'ordre du nanomolaire (nM)). À l'inverse, une concentration faible (de l'ordre du picomolaire (pM) suffit pour un ligand à forte affinité **(Alexander *et al.,* 2005).**

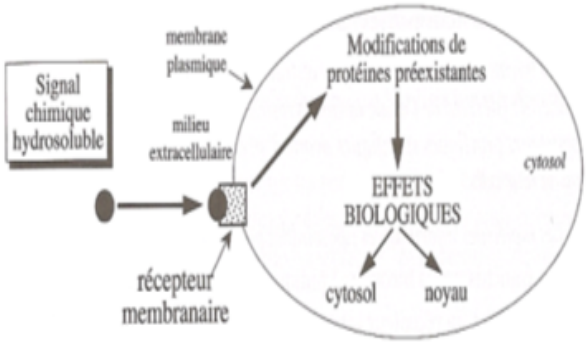
Remarque

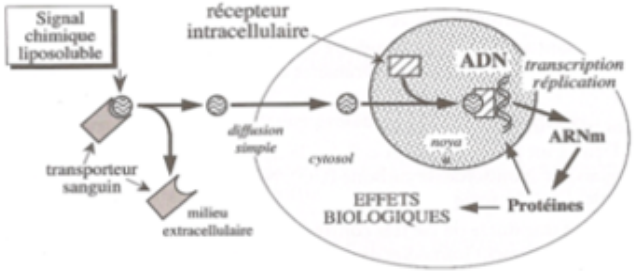
• Un même ligand peut avoir différents effets selon les cellules cibles : pléiotropie.

• Un agoniste se lie au récepteur et provoque une réponse similaire à celle du ligand naturel. Exemple : la nicotine est un agoniste de l'acétylcholine pour son récepteur nicotinique.

• Un antagoniste se fixe également au récepteur, mais sans déclencher de réponse. Exemple : le curare est un antagoniste de l'acétylcholine pour son récepteur nicotinique. Les antagonistes peuvent être utilisés comme médicaments. Exemple : les antihistaminiques sont des antagonistes de l'histamine et soulagent les symptômes allergiques.

Tableau 14 : les principaux types de ligands : Molécules informatives hydrosolubles et liposolubles (Alexander *et al.,* 2005).

Caractéristiques	Types
-ne traversent pas la membrane plasmique ; -agissent via des récepteurs spécifiques situés sur la membrane plasmique de la cellule cible ; -ont une durée de vie très courte, allant de quelques millisecondes ou secondes pour les neurotransmetteurs à quelques minutes pour les hormones ; Provoquent des réponses rapides et de courte durée, correspondant à une régulation ou à l'activation de protéines déjà présentes dans la cellule cible (enzymes, canaux ioniques, facteurs de régulation de la transcription).  	**Les facteurs de croissance :** ce sont des protéines ou des polypeptides qui jouent un rôle dans la prolifération et la survie des cellules. Désignés le plus souvent par **GF** : Growth Factor. **Les neurotransmetteurs :** ce sont le plus souvent des dérivés d'acides aminés (noradrénaline, sérotonine, GABA…etc.) ou des polypeptides qui jouent un rôle dans l'excitation ou l'inhibition des neurones au niveau des synapses. **Les hormones :** ce sont des molécules : •Peptidiques (2-100 AA). Ex : vasopressine, ocytocine, insuline…etc. • Protéiques (> 100 AA). Ex : hormone de croissance (GH) ; • Glycoprotéiques. Ex : LH, FSH. Les cytokines : Ce sont des protéines ou des polypeptides qui jouent un rôle dans la réponse immunitaire et l'inflammation. Ex : interleukines (IL)

-traversent la membrane plasmique par diffusion simple ; -activent un récepteur intracellulaire qui se fixe sur des régions spécifiques de l'ADN pour réguler la transcription des gènes. -induisent des réponses plus tardives et de plus longue durée, sans agir sur des protéines préexistantes. Ces molécules, telles que les hormones liposolubles, sont transportées dans le sang par des transporteurs protéiques spécifiques avant d'être libérées au niveau de la membrane plasmique des cellules cibles.	***Les hormones thyroïdiennes (Triiodothyronine « T3 » et thyroxine « T4 »),*** *dérivées d'un acide aminé : la tyrosine ;* **Les hormones stéroïdes,** dérivées du cholestérol. Ex : cortisol, œstradiol, testostérone, progestérone…etc. ; Les prostaglandines, dérivées de l'acide arachidonique (acide gras à 20 C). 
-ils traversent librement la membrane plasmique par diffusion. -ils agissent directement sur des enzymes cytosoliques sans passer par un récepteur membranaire ou intracellulaire. Exemple : le NO agit sur un guanylate cyclase cytosolique. -ils deviennent toxiques à haute concentration Exemple : le monoxyde de carbone (CO) et le monoxyde d'azote (NO).	

5.2.2. Récepteurs : Définition et classification

La cellule réagit de manière sélective grâce à des récepteurs spécifiques. Généralement, ces récepteurs sont des protéines transmembranaires localisées à la surface de la cellule cible. En se liant à la molécule de signalisation extracellulaire, appelée ligand, ils s'activent et engendrent une cascade de signaux intracellulaires qui modifient le comportement de la cellule. Dans d'autres cas, les récepteurs sont **intracellulaires** et les molécules de signalisation doivent entrer dans la cellule pour les activer : ces molécules sont dans ce cas suffisamment petites et hydrophobes (ou gazeuses) pour diffuser au travers de la membrane plasmique. C'est le cas par exemple des récepteurs pour les hormones stéroïdiennes, des récepteurs de la vitamine D, des acides rétinoïques ou encore des récepteurs aux œstrogènes **(Giguère, 1997)**.

Les récepteurs partagent les caractéristiques suivantes **(Glass, 1994)** :

- **Spécificité :** il fixe un type de ligand donné.
- **Saturabilité :** le nombre de molécules de ligand pouvant se fixer est limité.
- **Réversibilité :** le complexe ligand –récepteur se dissocie lorsque la concentration du ligand diminue.
- **Couplage :** la fixation du ligand au récepteur transmet un signal à la cellule, c'est la caractéristique la plus importante.

5.2.2.1. Récepteurs nucléaires

a. Généralités : Les récepteurs nucléaires forment une superfamille de facteurs de transcription qui est la plus grande famille connue chez les eucaryotes. Dans la nouvelle nomenclature, les récepteurs stéroïdiens (SR) appartiennent au sous-groupe NR3. On trouve, par exemple, le récepteur des estrogènes (ER), de la progestérone (PR) et des glucocorticoïdes (GR). Les membres de cette superfamille partagent une génomique très similaire et une organisation fonctionnelle proche. Ils régulent une vaste gamme de fonctions biologiques, telles que la croissance, le développement, la reproduction et le métabolisme, dans une grande variété d'organisme vivants. Ces protéines influencent directement l'expression des gènes cibles en réponse à divers signaux. De ce fait, elles jouent un rôle crucial dans la régulation de mécanismes cellulaires tels que la prolifération, l'apoptose, la différenciation et l'homéostasie **(Evans, 2005).**

b. Structure : Les récepteurs nucléaires possèdent une structure typique constituée de différents domaines fonctionnels **(figure 139)**.

Tableau 15. Domaines fonctionnels dans le récepteur nucléaire (Maltais, 2006)

DOMAINE	FONCTION
A/B	Domaine variable (50 à 600 AA) situé à l'extrémité N-terminale fonctionne comme un facteur de régulation de la transcription indépendant du ligand (fonction d'activation [AF1]). Il constitue également un site d'interaction pour divers cofacteurs. La phosphorylation de certains résidus dans cette région N-terminale contribue également à la régulation de l'activité des récepteurs.
C	Domaine de fixation de l'ADN, ou DBD (DNA-binding domain), présente une structure composée de deux doigts de zinc. Chaque doigt renferme quatre cystéines conservées qui interagissent avec une molécule de zinc ionique. Ce domaine comporte deux motifs spécifiques : une boîte P dans le premier doigt de zinc et une boîte D dans le second. À l'extrémité C-terminale se trouve le domaine canonique responsable de la liaison au ligand multifonctionnel, appelé LBD (ligand-binding domain), qui est constitué de 11 à 13 hélices α. Ce domaine, composé de 66 à 70 acides aminés disposés en trois hélices α, permet au récepteur de se lier à la région ERH (Element de Réponse à l'Hormone, ou HRE en anglais) des gènes cibles.
D	Région charnière
E/F	Domaine canonique de l'extrémité C-terminal responsable de la liaison au ligand multifonctionnel **LBD** (*lignd-binding domain*), constituée de 11-13 hélices-α.
Outre les séquences essentielles à l'interaction avec le ligand, il existe également le domaine d'activation de la transcription lié au ligand (fonction d'activation-2 AF-2), les séquences facilitant l'interaction avec les protéines thermiques hsp90 et hsp70, le domaine de dimérisation, et aussi les séquences de localisation nucléaire (NLS). Ces derniers donnent à la protéine de la flexibilité, mais peuvent se dissimuler par les protéines liées aux récepteurs (PAR).	

c. Classification : les récepteurs nucléaires se lient aux éléments de réponse sous forme de monomères, d'homodimères ou d'hétérodimères. L'agencement des séquences

d'interaction d'un dimère peut se présenter sous forme de palindrome, de palindrome inversé ou de répétition directe **(Maltais, 2006)**.

d. Mécanisme d'action : Ex. des hormones stéroïdes

- L'hormone pénètre dans la cellule cible par diffusion passive ou facilitée et se fixe à un récepteur spécifique intracellulaire, exprimé dans les cellules cibles **(figure 140)**.
- Dans leur forme inactive, ces SR forment des complexes multiprotéiques dits « hétéro-oligomériques », associant des protéines chaperonnes PAR comme les protéines de choc thermique hsp90 et 70 et des immunophilines, protéines capables de lier des immunosuppresseurs comme la FKBP59 ou la cyclophiline CYP40 **(Pratt *et al.*, 2004).**
- L'association de ces protéines aux SR est indispensable au bon fonctionnement de la signalisation hormonale, facilitant la capacité des SR à lier correctement l'hormone, intervenant dans leur localisation subcellulaire et modulant leur activité transcriptionnelle.
- La localisation intracellulaire des SR dépend du type de récepteur, de son niveau d'expression, de la cellule cible et de la nature du ligand. Schématiquement, même en l'absence d'hormone, ER et PR sont préférentiellement localisés dans le noyau. À l'inverse, GR, MR et AR sont plutôt situés dans le compartiment cytoplasmique et transférés par un processus actif dans le noyau après liaison hormonale. De façon générale, il existe une navette nucléocytoplasmique **(Guiochon-Mantel et Milgrom, 1993)**, au cours de laquelle les récepteurs entrent activement dans le noyau **(DeFranco, 2002).**
- La liaison de l'hormone sur le récepteur entraîne un processus d'activation avec une cascade d'événements comportant la libération des protéines associées, une modification de conformation du LBD et des changements de l'état de phosphorylation, ce qui favorise la dimérisation du récepteur et son interaction avec des séquences spécifiques de l'ADN, les HRE **(figure 141)**.
- Le SR ainsi activé recrute des co-activateurs (SRC1) et des co-intégrateurs (p/CAF, CBP/p300) qui possèdent des activités enzymatiques d'acétylation sur les résidus lysines des protéines histones (histone acétyltransférases HAT) qui forment le nucléosome, permet un relâchement de la structure chromatinienne, facilitant ainsi la transcription de gènes cibles en modulant positivement ou négativement la synthèse d'ARNm spécifiques codant des protéines responsables des effets physiologiques précis **(Lombès, 2010).**

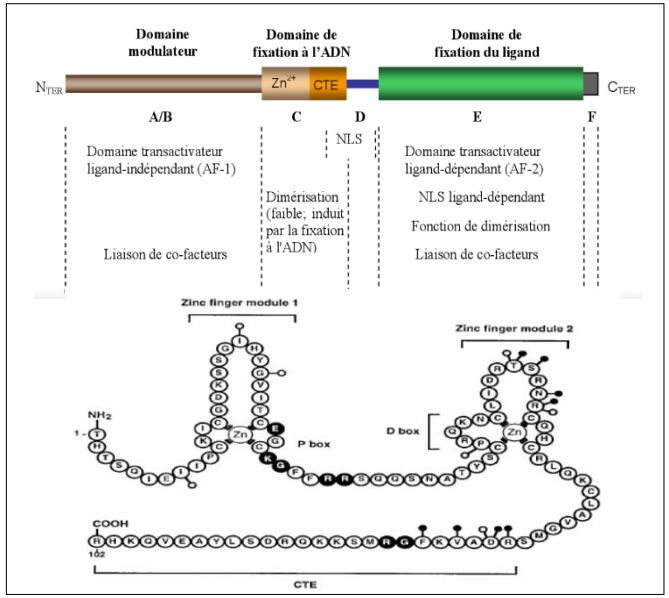


Figure139. Relation structure/fonction des récepteurs nucléaires. D'après Gronemeyer et Laudet, 1995 ; Robinson-Rechavi *et al.*, 2003.

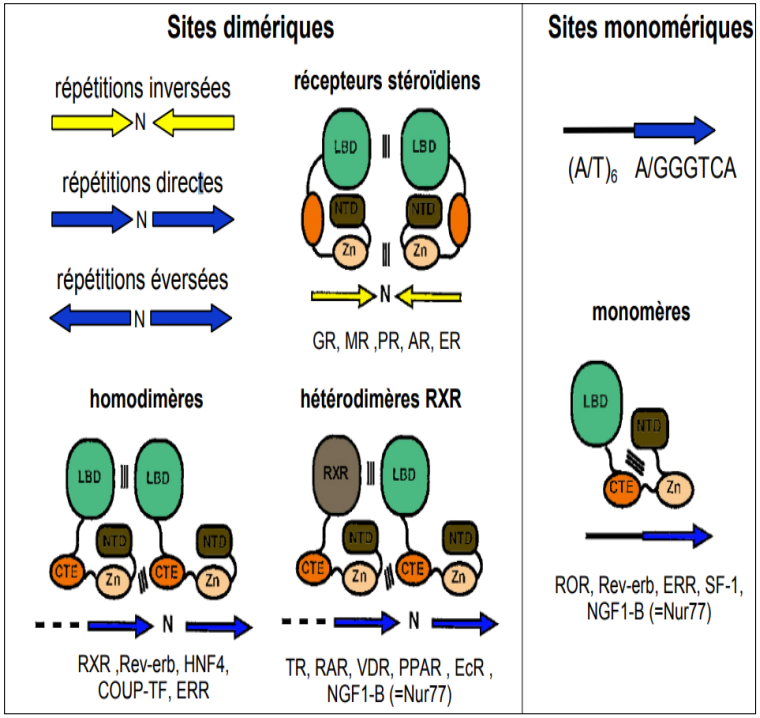


Figure 141. Modes de liaison des récepteurs nucléaires à l'ADN. Les récepteurs nucléaires peuvent se lier à l'ADN sous forme d'homodimères, d'hétérodimères avec RXR ou de monomères. Les sites de liaison des récepteurs nucléaires (ou HREs, Hormone Response Elements) non stéroïdiens sont composés d'un motif (généralement A/GGGTCA) précédé en 5' par une séquence riche en A/T pour les récepteurs monomériques, ou de deux motifs A/GGGTCA pour les récepteurs dimériques (flèches bleues). Les motifs des sites dimériques peuvent être arrangés selon une topologie inversée, directe ou éversée. Les HREs des récepteurs nucléaires stéroïdiens sont des répétitions inversées du motif AGAACA (flèches jaunes). Le nombre (N) de nucléotides qui sépare les deux motifs (de type A/GGGTCA ou de type AGAACA) est variable. Des exemples de récepteurs nucléaires sont donnés pour chacune des 4 catégories (récepteurs stéroïdiens, hétérodimères RXR, homodimères, monomères). **D'après Mangelsdorf et Evans, 1995 ; Giguere, 1999.**

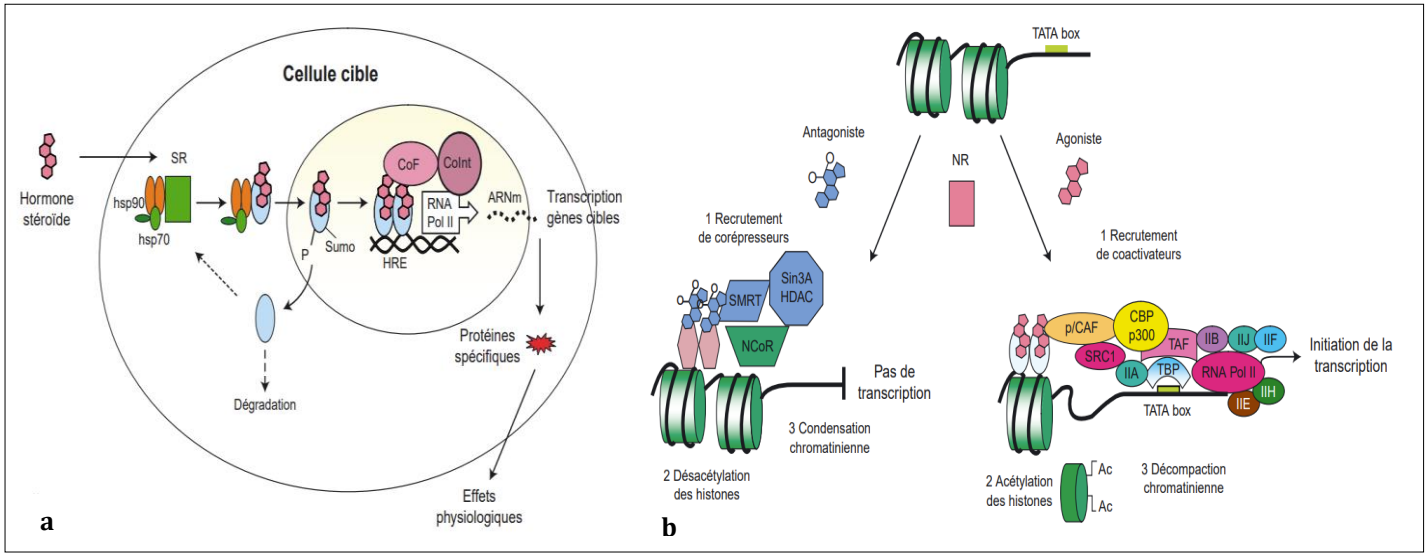


Figure 140. Mécanisme général d'action des hormones stéroïdes et régulation de la transcription (Lombès, 2010)

b. En présence d'un agoniste, Le déplacement des nucléosomes facilite l'accessibilité des séquences régulatrices à d'autres facteurs transcriptionnels et permet aussi l'interaction des coactivateurs avec les différents éléments de la machinerie transcriptionnelle basale. TBP : TATA-binding protein, TAF : TBP-associated factor ; IIA : facteur de transcription TFIIA.

En l'absence de ligand ou en présence d'antagonistes, les SR restent associés aux corépresseurs (nuclear receptor corepressor [NcoR] et silencing mediator for retinoic and thyroid hormone receptor [SMRT]) responsables du recrutement de l'histone désacétylase (HDAC), d'une condensation chromatinienne et de la répression de la transcription des gènes cibles.

5.2.2.2. Récepteurs membranaires

a. Récepteurs canaux ioniques : Structure et mode d'action

Il s'agit d'une superfamille de récepteurs multimériques ionotropes, où chaque monomère comporte quatre domaines transmembranaires. L'ouverture de ces canaux est déclenchée par la fixation d'un ligand spécifique.

Exemple : **le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChRs)**

- Le récepteur nicotinique est une glycoprotéine membranaire de masse molaire d'environ 290 kDa, dont 20 kDa proviennent des résidus d'oligosaccharides. Les nAChRs sont composés de cinq sous-unités protéiques identiques ou hétérologues (α, β, γ, δ, ε) transmembranaires situées à des points équidistants autour d'un axe central formant un pore d'un diamètre d'environ 65 Å **(Devillers-Thiéry *et al.,* 1993, Miyazawa *et al.,* 1999)**.
- Il existe deux types de récepteurs nicotiniques. D'une part, les récepteurs de type musculaire, présents au niveau des jonctions neuromusculaires des muscles somatiques. Ceux-ci sont constitués de deux sous-unité α, d'une sous-unité β, d'une sous-unité γ ou ε, et d'une sous-unité δ. D'autre part, les récepteurs de type neuronal, que l'on retrouve dans le système nerveux central et périphérique, ainsi que dans des cellules non neuronales, comme les cellules épithéliales respiratoires (bronchiques, alvéolaires, glandulaires, etc.) **(Racké et Matthiesen, 2004)**.
- Chaque sous-unité nicotinique se compose d'un grand domaine extracellulaire (extrémité N-terminale), de 4 segments transmembranaires (M1-M4) connectés entre eux par des petites boucles hydrophiles, et d'une courte séquence extracellulaire C-terminale **(figure 142) (Tsetlin *et al.,* 2011)**.

Le grand domaine extracellulaire hydrophile possède des sites capables de lier les agonistes, les antagonistes compétitifs et non compétitifs, des modulateurs allostériques positifs, et possède également un ou plusieurs site(s) de glycosylation **(Luo *et al.,* 2009 ; Tsetlin *et al.,* 2011)**. Il contient aussi une boucle cystéine, formée par deux résidus cystéines (Cys128, Cys142) séparés par 13 acides aminés. Cette boucle est considérée comme une signature d'appartenance à la famille des canaux ioniques ligand dépendants et elle est impliquée dans la transduction du signal d'ouverture du canal. Le principal site de liaison à l'agoniste se situe dans le domaine N-terminal des sous-unités de type α (musculaires ou neuronales).

La boucle intracellulaire hydrophile entre les segments M3 et M4 en particulier, est très importante pour l'assemblage des nAChRs et la régulation de l'expression de certaines sous-unités telle α7. Des mutations au niveau de cette boucle induit une diminution voire une perte complète de l'expression du nAChR α7 fonctionnel **(Tsetlin *et al.,* 2011)**. Cette boucle hydrophile contient également plusieurs sites de phosphorylation important pour la régulation des fonctions des nAChRs **(Devillers-Thiéry *et al.,* 1993 ; Galzi et Changeux, 1995).**

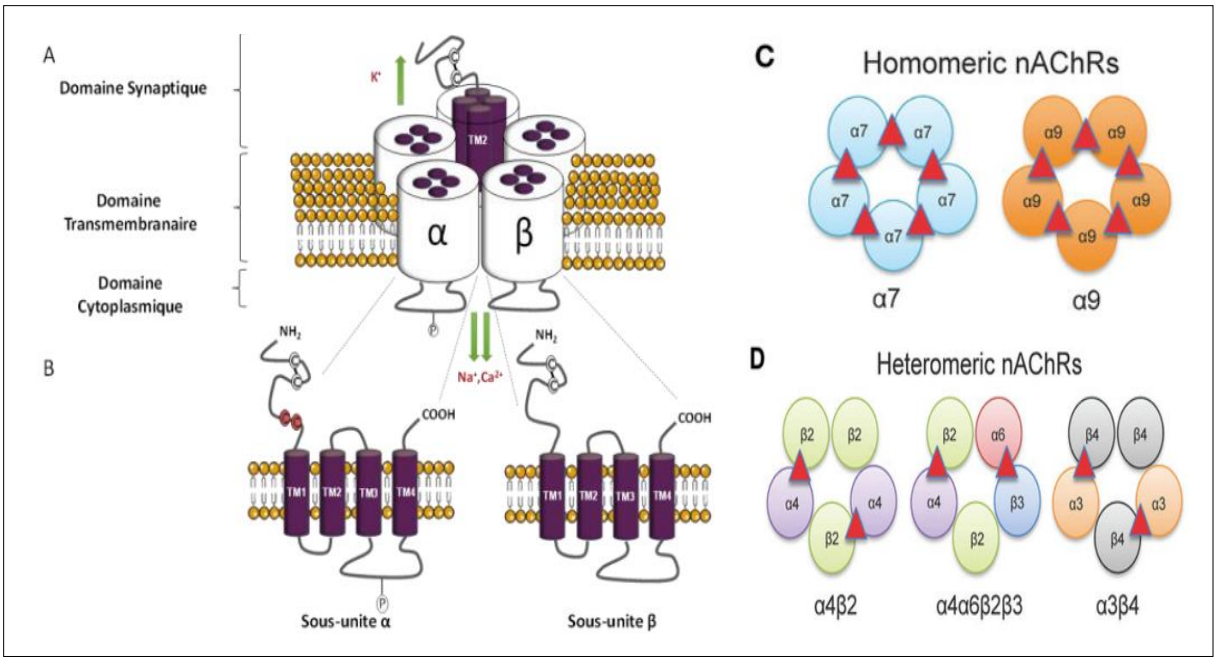


Figure 142. Structure du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (A) récepteur pentamérique formant un pore sélectif aux ions Na+, Ca2+, K+ à travers la membrane plasmique. **(B)** chaque sous-unité est composée de 4 domaines transmembranaires (TM1-TM4). La boucle intracellulaire entre le domaine TM3 et TM4 présente un site potentiel de phosphorylation (modifié d'après **Thany *et al.,* 2007**). **(C)** Les récepteurs homomériques se composent uniquement de sous-unités α et ont généralement une faible affinité pour l'agoniste. À ce jour, seules les sous-unités α7, α9 et α10 (non représentées) des mammifères peuvent former des homomères fonctionnels. **(D)** La majorité des nAChR de haute affinité sont hétéromères et consistent en une combinaison de sous-unités α et β. Il est important de noter que plusieurs sous-unités α peuvent co-assembler avec plusieurs sous-unités β dans le complexe nAChR pentamérique (illustré ici par α4α6β3β2). Les sites de liaison ACh sont représentés par des triangles rouges **(Hendrickson *et al.,* 2013).**

 Lorsque ces récepteurs sont activés par l'acétylcholine, ou par la nicotine et ses nitrosamines dérivées [NNK=4-(methylnitroamino)-1-(3-pyridyl)-1-butane et NNN=N'-nitrosonornicotine], ils se comportent comme des canaux ioniques laissant entrer différents cations tels le Na+ , K+ ou le Ca2+ etc., une perméabilité dépendante des sous-

unités qui composent les nAChRs **(Zia *et al.*, 2000).** La stimulation des nAChRs induit un influx calcique, soit directement via les nAChRs, soit à travers un changement de potentiel membranaire qui mène à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants **(figure 143)**. Cette stimulation assure une transmission rapide du signal notamment au niveau des synapses et l'activation de nombreuses voies de signalisation **(Schuller 2009 ; Improgo *et al.*, 2011)**. Cependant, une exposition prolongée des nAChRs à l'agoniste peut conduire à l'inactivation du récepteur, dont le degré d'inactivation dépend encore une fois de la composition en sous-unités des nAChRs **(Galzi et Changeux 1995).**

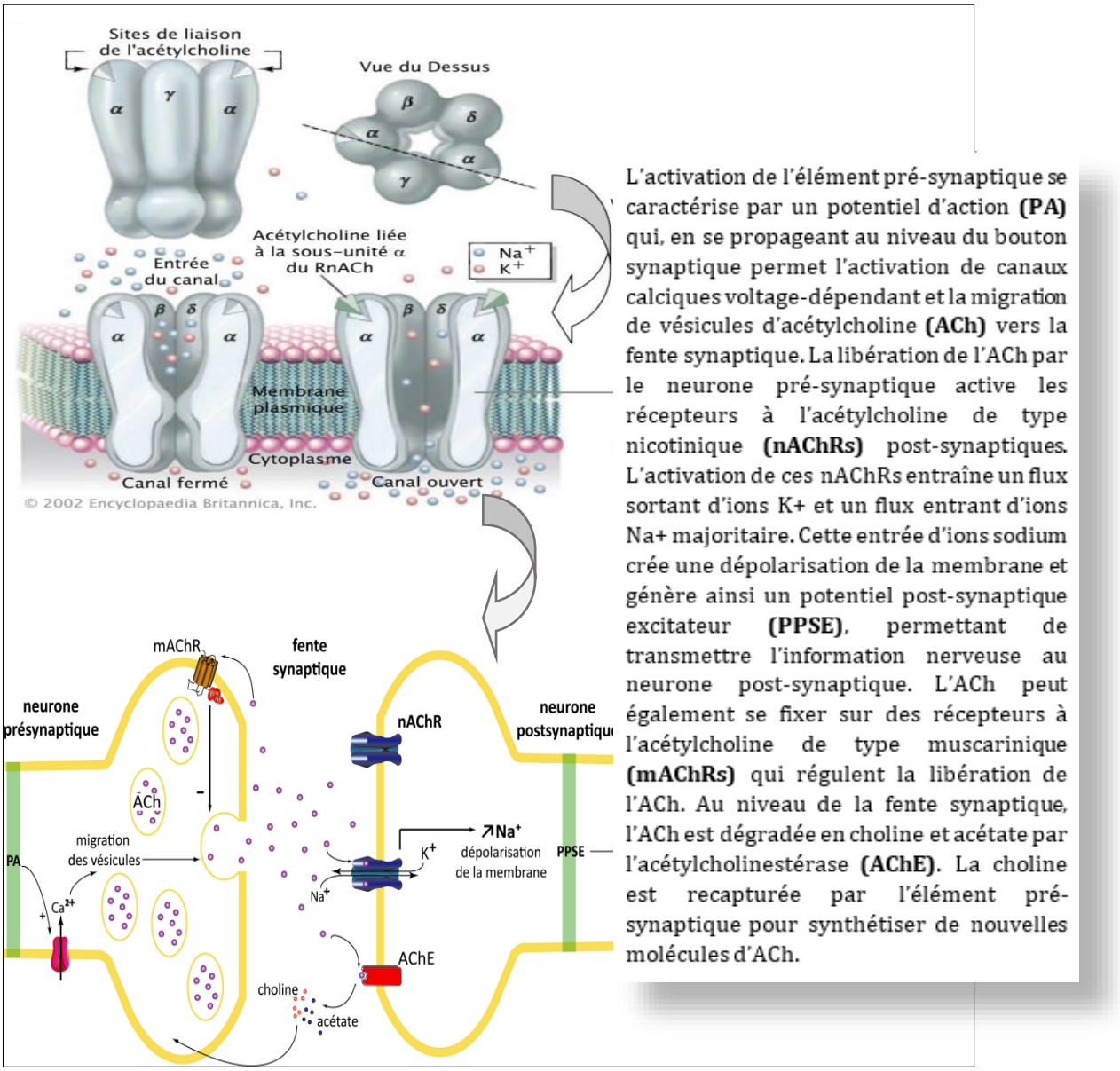


Figure 143. Présentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones (Bodereau, 2011)

b. récepteurs couplés aux protéines G : structure, classification et mode d'action

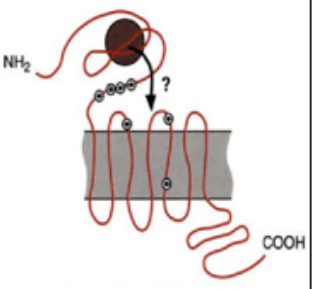
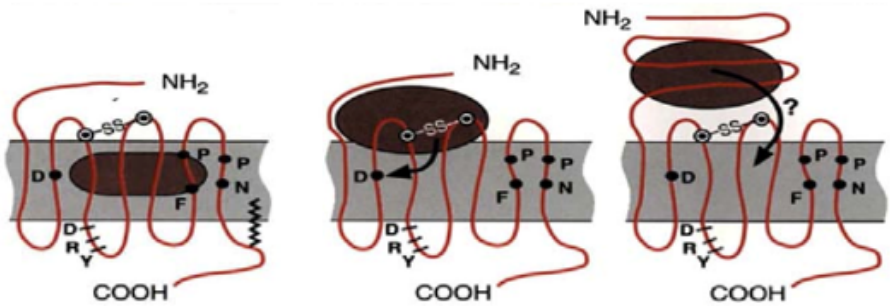
Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) sont une famille de protéines constituée de sept hélices transmembranaires, associées à une protéine G. Ils représentent la plus grande famille de récepteurs membranaires chez l'être humain. Ces récepteurs sont omniprésents dans l'organisme et régulent des fonctions essentielles telles que l'odorat, le goût, la vision, ainsi que la réponse cellulaire aux hormones et neurotransmetteurs (**Kobilka, 2007).** Environ 1000 gènes codent pour ces récepteurs, soit environ 2% du génome humain **(Fredriksson et Schiöth, 2005)**. Les RCPG sont activés par une grande diversité de ligands, tels que la lumière, les monoamines (adrénaline, sérotonine), les acides aminés (acide glutamique), les glycoprotéines, les lipides, ainsi que les nucléosides ou nucléotides (adénosine, ATP, etc). La majorité des signaux cellulaires transitant par la membrane plasmique passent par ces récepteurs **(Deup et Kobilka, 2010)**. Toutes altération de leur fonctionnement peut entraîner des pathologies, notamment des maladies inflammatoires, des cancers, des troubles neurodégénératifs et cardiovasculaires **(Hill, 2006).**

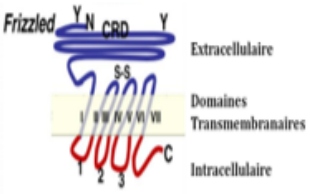
Structure : tous les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) partagent une structure générale similaire, bien que leur homologie de séquence soit faible **(Probst *et al.,* 1992).** Ils se composent d'une région N-terminale extracellulaire, susceptible de subir des modifications post-traductionnelles telles que la N-glycosylation, de sept domaine transmembranaires (hélices alpha TM1 à TM7) reliés par trois boucles extracellulaires (E1, E2, E3) et trois boucles intracellulaires (I1, I2, I3), ainsi que d'une région C-terminale intracellulaire. Cette dernière peut être phosphorylée sur certains résidus par des kinase telles que la kinase A, la protéine kinase C ou les GRK (G-protein receptor kinase). Spatialement, les segments TM6 et TM7 sont proches des segments TM1 et TM2, donnant aux RCPG une forme de « panier » avec une poche hydrophobe au niveau de la membrane plasmique, impliquée dans l'activation du récepteur par son ligand.

Classification : la méthode la plus fréquemment employée classe les RCPG en divers groupes (A, B, C, D, E et F) basés sur la présence de séquences spécifiques **(Horn *et al.,* 1998 ; Vassilatis *et al.,* 2003).** Toutefois, quelques-unes de ces catégories ne se trouvent pas dans le monde animal. Une étude phylogénétique récente, se concentrant exclusivement sur les RCPG humains, classe ces récepteurs en cinq classes majeures telles que la famille glutamate (G), rhodopsine (R), adhésion (A), frizzled (F) et sécrétine (S). Ce

système de classification est appelé GRAFS **(Fredriksson *et al.,* 2003 ; Schioth and Fredriksson, 2005).**

Tableau 16 : Classification des récepteurs couplés à la protéine G (Héroux, 2009).

Description des récepteurs GRAFS	
Glutamate : les récepteurs de cette famille possèdent un domaine N-terminal très long, composé de deux lobes séparés par une cavité, appelée « venus fly trap », qui se referme sur le ligand après sa liaison. Cette famille inclut notamment les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR), les récepteurs de l'acide γ -aminobutyrique (GABABR1 et GABABR2), le récepteur sensible au calcium (CaSR) ainsi que certains récepteurs du goût (T1R). Ce groupe correspond principalement à la famille **C** dans la classification **A-F**.	
Rhodopsine : c'est la plus grande famille de RCPG, comprenant entre 200 et 700 récepteurs, selon que l'on inclut ou non les récepteurs olfactifs. Principalement constituée de membranes de la classe A dans la nomenclature AF, elle regroupe des récepteurs tels que la rhodopsine, les récepteurs adrénergiques (comme le β2AR), les récepteurs des chimiokines et des opioïdes. La majorité des récepteurs de cette famille possèdent un N-terminal relativement court, et leurs ligands se lient au niveau d'une cavité formée entre les domaines transmembranaires. Toutefois, pour les récepteurs aux hormones glycoprotéiques (LH, TSH, FSH, CG) et certains récepteurs peptidiques, le site de liaison inclut également le domaine N-terminal 	

Adhésion : Les membres de cette nouvelle famille possèdent un très long domaine N-ter (200 à 2800 acides aminés) contenant des motifs impliqués dans l'adhésion cellulaire de type facteur de croissance épidermique (EGF). Cette famille comprend entre autres les récepteurs qui appartenaient auparavant à la classe **B** de la classification **A-F**	
Sécrétine : cette famille regroupe des récepteurs pour des peptides de grande taille, agissant principalement de manière paracrine (entre cellules voisines). Dans la plupart des cas, le site de liaison du peptide se trouve sur le long domaine N-terminal de ces récepteurs (composé de 60 à 80 AA) qui contient des résidus cystéines. Outre le récepteur de la sécrétine, cette famille comprend notamment le récepteur du glucagon, le récepteur du polypeptide intestinal vasoactif/polypeptide activateur de l'adénylate cyclase pituitaire (VPACR) et le récepteur de l'hormone parathyroïde (PTHR). Cette famille correspond essentiellement à la classe **B** dans la classification **A-F.**	
Frizzled : cette famille regroupe les récepteurs frizzled (FZ), smoothened (Smo) ainsi que certains récepteurs du goût (T2R). Les récepteurs Fz et Smo appartiennent à la famille F de la classification A-F. Ils possèdent un long domaine N-terminal d'environ 200 AA, comprenant plusieurs résidus cystéines impliqués dans la liaison du ligand, via le domaine riche en cystéines (CRD).	

Mode d'action : après la fixation d'un ligand, les récepteurs couplés aux protéines G interagissent avec des protéines G hétérotrimériques et déclenchent des cascades de signalisation. La liaison du ligand induit des changement conformationnels du récepteur au niveau de la poche formée par les segments transmembranaires, ce qui permet l'interaction avec les protéines G. ces dernières transmettent le signal en activant un effecteur, aboutissant ainsi à la réponse cellulaire appropriée. Ce processus s'accompagne d'une amplification : l'activation de l'effecteur provoque la production de nombreuses molécules de seconds messagers, qui activent ensuite des protéines cibles **(figure 145). (Robishaw et Berlot, 2004).** Toutes les protéines G sont composées d'une sous-unité α, qui possède un site d'interaction avec le GDP/GTP, associée à un complexe β/γ.

Le transfert d'information entre le RCPG activé par son agoniste et l'effecteur repose sur des cycles d'activation et d'inactivation de ce complexe α/β/γ. Lorsque le complexe est lié au GDP, les sous-unités α, β et γ sont associées, et la protéines G est inactive. L'activation du GPCR par son agoniste favorise l'échange du GDP contre le GTP sur le site actif de la sous-unité α, ce qui induit la dissociation du trimère. Cela libère d'un côté la sous-unité α et de l'autre le complexe β/γ, qui peuvent alors interagir avec différents effecteurs **(figure 144).** L'activité GTPase de la sous-unité α permet ensuite l'hydrolyse du GTP en GDP, rétablissant ainsi le complexe trimérique inactif α/β/γ **(Oldham et Hamm, 2008).**

- ***Sous-unités α des protéines G :*** les protéines G se différencient entre elles grâce à leurs sous-unités α. Elles sont cruciales pour le couplage entre le récepteur et l'effecteur, chaque type de sous-unité interagissant de manière spécifique avec un ensemble de récepteurs et activant un effecteur précis. Habituellement, on classe les protéines G en quatre groupes principaux, basés sur leurs similitudes de séquence.

-**La famille Gs,** elle stimule l'adénylate cyclase, catalysant la conversion de l'ATP cytoplasmique en AMPc.

-**La famille Gi**, composée des sous-unités α_i, αo, α_t, elle inhibe l'adénylate cyclase, ce qui entraîne une baisse de l'AMPc intracellulaire.

-**La famille Gq**, stimule la phospholipase C, menant à l'hydrolyse du PIP2 en inositol-1,4,5-triphosphate (IP3) et diacylglycérol (DAG). L'IP3 déclenche la libération du calcium des réserves intracellulaires.

- **Les familles G_{12} et G_{13}**, elles activent les facteurs d'échange de GTP associés à Rho.

- ***Sous-unités βγ des protéines G :*** elles forment une unité fonctionnelle capable de réguler divers effecteurs tels que l'adénylate cyclase **(Federman *et al.,* 1992)**, la phospholipase C **(Katz *et al.,* 1992)**, phospholipase A2 **(Kim *et al.,* 1989)**, ainsi que les canaux potassiques ou calciques **(Ikeda, 1996 ; Medina *et al.,* 2000)**, et les protéines de la famille Src **(Luttrell *et al.,* 1997)**. La sous-unité β interagit avec la sous-unité α, tandis que la sous-unité γ détermine la spécificité de l'effecteur et participe à l'interaction avec le récepteur **(Hou *et al.,* 2000).**

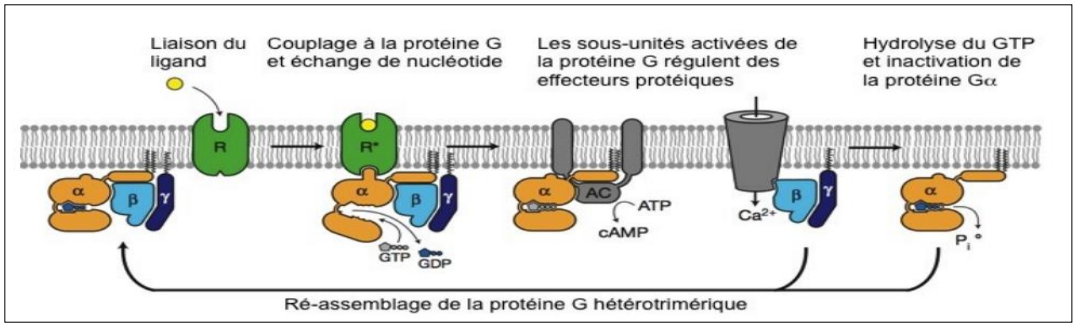


Figure 144. Cycle d'activation de la protéine G hétérotrimérique par un récepteur (Drieu la rochelle, 2018)

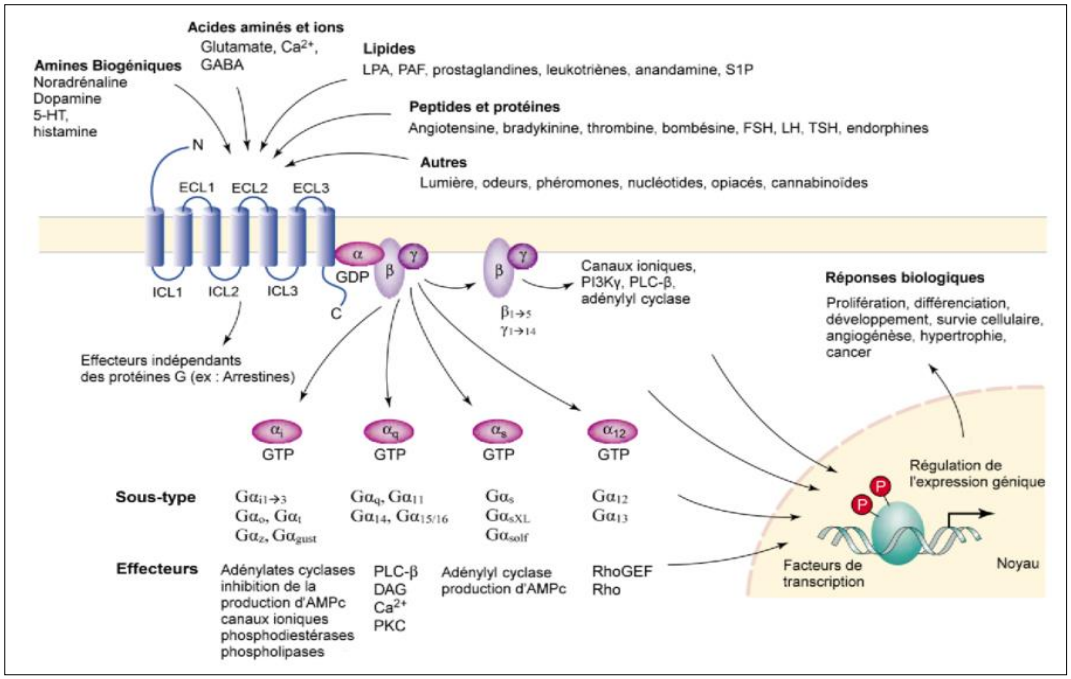


Figure 145. Un aperçu de la signalisation des RCPG Représentation des différents types de ligands capables d'activer les RCPG, et des différentes voies de signalisation pouvant résulter de l'activation des RCPG. Figure adaptée de **(Dorsam et Gutkind, 2007 ; Marinissen et Gutkind, 2001)**

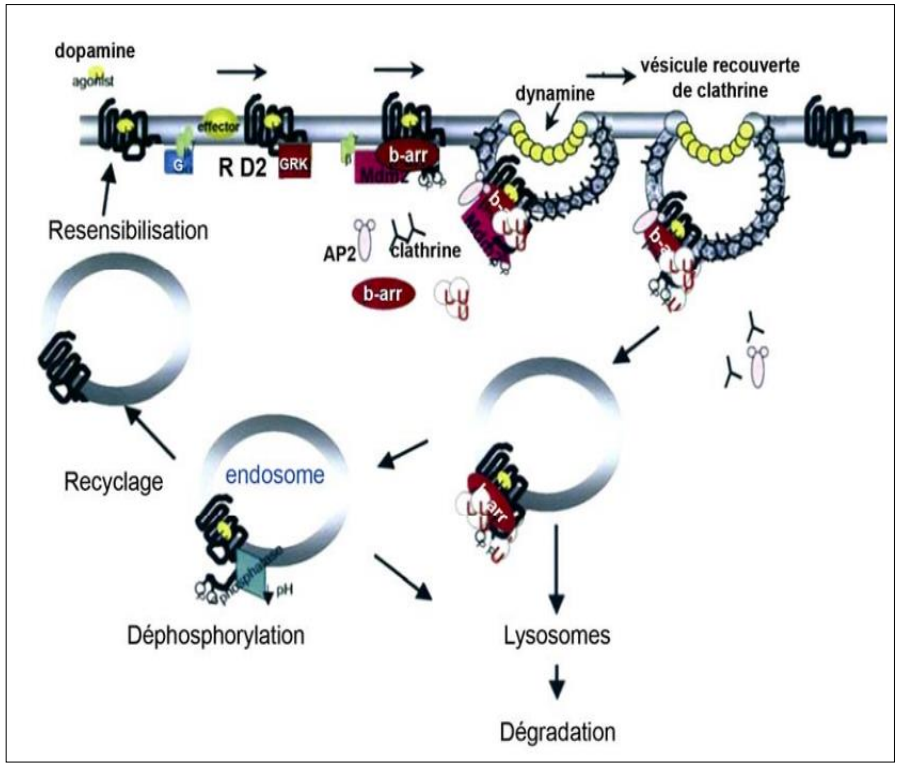


Figure 146. Désensibilisation et recyclage du récepteur RCPG

Quand la dopamine se lie au récepteur D2, ce dernier active la protéine G qui lui est associée. La PKC et les GRK phosphorylent le récepteur, qui devient alors fonctionnellement découplé de la protéine G. L'affinité du récepteur phosphorylé pour la β-arrestine augmente et empêche toute nouvelle activation d'autres protéines G. De plus, la β-arrestine recrute la clathrine à la membrane, ainsi que les composants permettant la formation d'une vésicule d'endocytose recouverte de clathrine. Le récepteur est alors internalisé, puis il est soit recyclé, soit dégradé par les lysosomes. Schéma modifié d'après **(Shenoy and Lefkowitz, 2003).**

Régulation de l'activité des RCPG : le fonctionnement des récepteurs couplés aux protéines G repose sur un équilibre délicat entre divers mécanismes qui contrôlent à la fois l'activation du signal et l'interruption de la réponse. Cette régulation est complexe et implique plusieurs acteurs et processus distincts.

 Protéines RGS : l'intensité du signal intracellulaire peut être régulée par des protéines externes qui modulent l'activité GTPase de la sous-unité α, facilitant ainsi le retour à l'état inactif. C'est notamment le rôle des protéines RGS (Regulator of G protein Signaling), qui interviennent dans l'hydrolyse du GTP en GDP par Gα, limitant ainsi le signal induit par la liaison de l'agoniste au RCPG. Les RGS agissent comme des GAP (GTPase Activating Proteins) : elles n'ont pas d'activité GTPasique propre, mais réduisent le signal transmis par Gα liée au GTP (ainsi que par Gβγ) en accélérant l'hydrolyse du GTP d'un facteur 100 à 1000. La protéine G revient alors à son état inactif, sous la forme hétérotrimérique Gαβγ liée au GDP. La famille des RGS comprend plus de 30 membres, dont la taille varie de 17 à 160kDa, et peut être soit membranaire, soit cytoplasmique (**McCudden *et al.*, 2005).**

 Désensibilisation : la signalisation des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) peut être régulée par des processus de désensibilisation, induit soit par des phosphorylation réalisées par des kinases spécifiques (désensibilisation homologue), soit par des kinases activées par les seconds messagers (désensibilisation hétérologue). Selon l'intensité de la désensibilisation, les effets peuvent aller d'une réduction de l'efficacité de l'agoniste à une extinction totale du signal **(Perez et Karnik, 2005).**

-Désensibilisation homologue est un phénomène très rapide, se déroulant en quelques millisecondes à quelques secondes. Durant ce processus, un RCPG activé adopte une conformation qui expose des séquences consensus favorisant le recrutement et la liaison de kinases. Ces kinases phosphorylent le récepteur sur des résidus sérine et thréonine situés dans les boucles intracellulaires i2 et i3 ou à l'extrémité C-terminale. Cette phosphorylation implique des kinases spécifiques des sérines/thréonines, appelées GRK (G-protein Receptor Kinases), permettant ainsi à la β-arrestine de se lier au récepteur, masquant les séquences d'interaction avec les sous-unités α des protéines G **(figure 146).** Cela entraîne les conséquences suivantes **(Ferguson, 2001)** :

Empêchement de l'interaction entre le récepteur et le protéine G provoquant un découplage ;

- Internalisation des RCPG vis des puits tapissés de clathrine, en créant un lien entre les récepteurs et les protéines AP-2 ;
- Recyclage rapide des récepteurs vers la membrane.

- La désensibilisation hétérologue des RCPG ne dépend pas de la présence d'un ligand spécifique lié au récepteur, mais est déclenchée par l'activation d'un autre récepteur sur la même cellule. Cette activation entraîne la mobilisation de seconds messagers, qui recrutent à leur tour des kinases responsables de la phosphorylation non seulement des récepteurs activés par les agonistes, mais aussi de ceux qui n'ont pas été stimulés par un ligand. Les kinases impliquées dans ce processus sont les sérines/thréonines kinases PKA et PKC, activées respectivement par l'AMPc et le DAG **(Ferguson, 2001).**

c. Récepteur enzymatique : structure et mode d'action

Ce type de récepteur possède un seul domaine transmembranaire, un domaine extracellulaire N-terminal glycosylé qui se lie au ligand, et une extrémité cytoplasmique C-terminale qui présente une activité enzymatique intrinsèque ou est directement associée à une enzyme. A l'état de monomère, ils sont inactifs et fonctionnent généralement sous forme de dimère. Il existe plusieurs classes de récepteurs enzymatiques, et leur activation par un messager module une activité enzymatique, qui peut être de type kinase, phosphatase ou guanylate cyclase **(Favro et Nicolle, 2011)**.

-*Tyrosine kinase :* généralement désignés par RTK, dont l'un des plus connus est le récepteur de l'insuline **(figure 147)**, bien qu'il existe aussi des récepteurs à activité sérine/thréonine kinase. Lorsque l'insuline stimule le récepteur, il se produit une autophosphorylation de la partie intracellulaire du récepteur un groupe-OH sur un résidu tyrosyl devient -O-P) ainsi qu'une phosphorylation de l'IRS (Isulin Receptor Substrate) lié au récepteur (R-OH → R-O-P). Ces protéines phosphorylées sur un groupe OH déclenchent des réactions enzymatiques à l'origine des effets biologiques observés **(Assié *et al.*, 2004).**

Les récepteurs des protéines kinases, tels que ceux de l'hormone de croissance et des facteurs de croissance, activent un réseau complexe de voies de signalisation. La stimulation du récepteur par l'hormone GH dans le premier cas ou GF dans le second, provoque la dimérisation du récepteur, sa phosphorylation et l'activation respectivement de :

- la phospholipase C (PLC), des voies STAT (signal transducer and activator of transcription), MAPK (mitogen activated protein kinase) qui interviennent dans la transcription de plusieurs gènes et la voie IRS (insulin receptor substrate) **(Assié *et al.*, 2004)**.
- La protéine G monomérique Ras est activée de manière indirecte, avec la participation de plusieurs intermédiaires : une protéine intermédiaire, Grb2, se lie au récepteur, puis une autre protéine, Sos (GEF), se fixe à Grb2 et favorise l'échange du GDP en GTP au niveau de Ras. Une fois activée, Ras déclenche une cascade de phosphorylations, où diverses protéines kinases interagissent de façon séquentielle (Mitogene Activated Protein Kinase). Cette cascade conduit à des modifications de l'activité des protéines cytosoliques et à l'activation de facteurs de transcription, régulant ainsi la prolifération, la différentiation et la survie cellulaire. Par ailleurs, il existe des récepteurs-enzymes dotés d'une activité tyrosine phosphatase, qui provoquent au contraire la déphosphorylation des résidus tyrosyl **(Assié *et al.*, 2004).**

Guanylate cyclase : son activation provoque la formation, à partir de la guanosine triphosphate (GTP), de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) qui active des protéines kinases.

$$GTP \xrightarrow[\textit{guanylate cyclase}]{Mg^{2+}} GMPc + PP$$

On peut distinguer deux sortes de guanylate cyclase, l'une membranaire qui est activée par des messagers comme le facteur natriurétique atrial ou ANF, l'autre soluble, présente dans le cytoplasme et qui est activée par le monoxyde d'azote qui diffuse à travers les membranes.

Le GMPc a de nombreux effets encore mal précisés et différents selon les cellules : il agit directement en activant les phosphodiestérases et certains canaux de la membrane plasmique et surtout indirectement par l'intermédiaire de la protéine kinase PKG qui par phosphorylation de plusieurs protéines entraîne divers effets : inactivation de la phospholipase C, ouverture de canaux potassiques, activation de l'ADP-ribosylcyclase qui catalyse la transformation du NAD^+ en ADP-ribose-cyclique appelé cADPR, susceptible d'activer le récepteur à la ryanodine du réticulum endoplasmique **(Landry *et al.*, 2019)**.

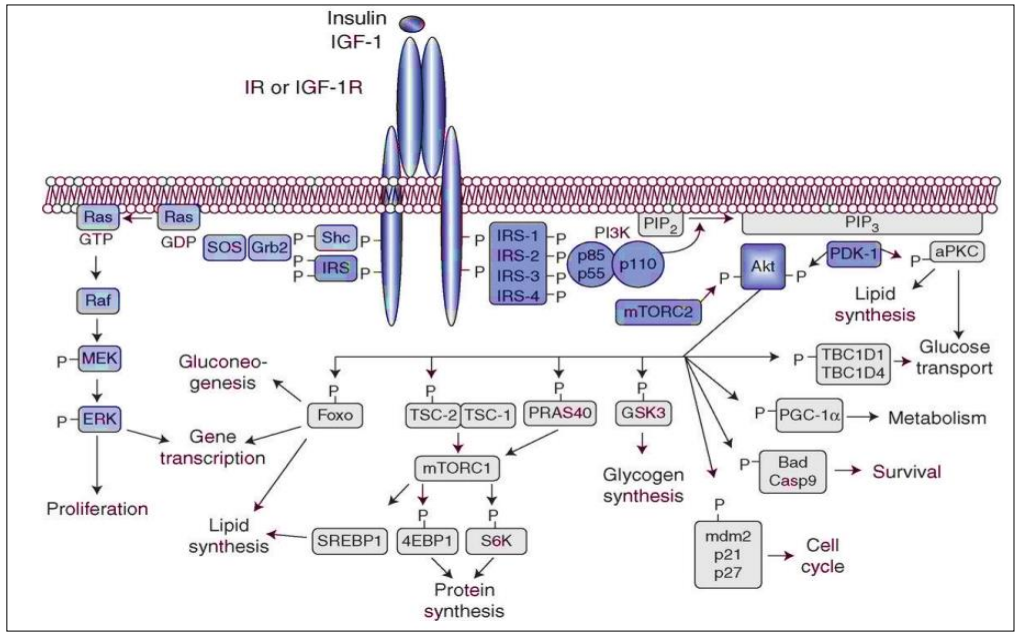


Figure 147. Les voies de signalisation activées par le récepteur à l'insuline (Daziano, 2021)

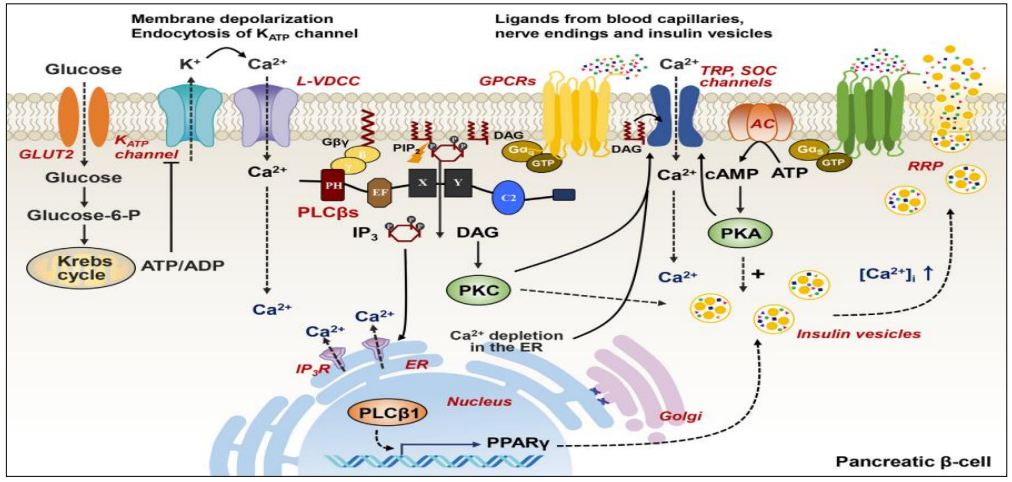


Figure 148. Model de sécrétion d'insuline par les cellules β de pancréas (hwang *et al.*, 2019)

Dans des contions physiologiques normales, la liaison de l'insuline sur son récepteur à activité tyrosine kinase entraîne l'autophosphorylation de ce dernier et permet le recrutement des IRS (Insulin Receptor Substrate), ancrés à la membrane plasmique par leur domaine PH (Pleckstrin Homology), sont phosphorylés par le récepteur à l'insuline et recrutent à leur tour des protéines possédant un domaine SH2 (domaine de liaison aux tyrosines phosphorylées) telles que la protéine Grb2 (Growth factor receptor binding protein 2) et la sous-unité régulatrice p85 de la PI3K (Phosphatidylinositol 3-Kinase) **(De Meyts, 2016; Petersen and Shulman, 2018).** Ces protéines (Grb2 et PI3K) constituent le point départ de deux voies de signalisation canoniques de la réponse à l'insuline

1. Une fois activée, la PI3K catalyse la conversion du Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) de la membrane plasmique en Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PIP3), il s'engage dans l'activation de l'enzyme 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK 1), qui permet la phosphorylation de l'enzyme PKB (également appelée Akt) au niveau de la thréonine 308, mais cela reste insuffisant pour que l'activation de cette dernière soit complète. Ce n'est qu'à ce point qu'interviennent les *mechanistics targets of rapamycin complexes 2* (mTORCs2) en induisant sa seconde phosphorylation au niveau de la serine 473. Ainsi, l'Atk demeure totalement fonctionnelle **(Farese *et al.*, 2005 ; Kubota *et al.*, 2016 ; Santoleri *et al.*, 2019).** À partir de ce stade, plusieurs sentiers sont désormais disponibles à emprunter, tous menant vers un seul et unique objectif commun, qui est le contrôle de l'homéostasie de glucose et des lipides en facilitant l'entrée du glucose dans les adipocytes et les cellules musculaires par translocation du transporteur au glucose GLUT-4 à la membrane plasmique **(Tokarz *et al.*, 2018).**
L'Atk induit aussi la phosphorylation de :
- la *fork Head box protein 01* (FOX01), étant responsable de la mise en marche de la voie de néoglucogenèse, se trouve donc inhibée **(Gross *et al.*, 2009).**
-la glycogen synthase kinase 3b (GSK3b), favorisant la glycogénèse.
-la peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α (PGC1α)
Encore plus, L'Atk active également les mTORC1, qui à leur tour favorisent la voie de lipogenèse impliquant l'activation des *Sterol regulatory element binding proteins 1c* (SREBP1c). Ils constituent un acteur fondamental en ce qui concerne l'expression cellulaire des gènes requis pour le contrôle du métabolisme des lipides et du cholestérol. Les SREBP1c permettent également la phosphorylation des G6P, qui activent la glycolyse et la synthèse du glycogène, ce qui permet d'abaisser la glycémie **(Horton *et al.*, 2002).**

2. La deuxième voie de la signalisation à l'insuline est la voie Grb2/MEK/ERK. En effet, la phosphorylation de la protéine adaptatrice Grb2 par le récepteur à l'insuline active le facteur d'échange nucléotidique guanylique SOS (Son Of Sevenless), qui active à son tour la petite protéine G Ras. Ras active ensuite les MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) de type ERK1 et 2, via la voie de signalisation Ras/Raf/MEK. La voie Grb2/MEK/ERK est notamment impliquée dans l'expression et l'activation de protéines jouant un rôle dans la prolifération et la différenciation cellulaire **(Boucher *et al.*, 2014 ; De Meyts, 2016 ; Petersen and Shulman, 2018).**

5.3. Transducteurs et facteurs de couplage : cycle d'activation des protéines G monomériques (RAS oncogéniques), Adaptateurs Grb2/Sos (domaines SH2, SH3), protéines scaffolds.

On appelle transduction d'un signal, l'ensemble des processus qui contribue à la fois au passage d'une information d'origine extracellulaire à travers la membrane via ces récepteurs, et à la réalisation de la réponse physiologique. Ce processus mobilise de nombreux acteurs, incluant des protéines adaptatrices, des seconds messagers, des effecteurs, de petites protéines G, ainsi que des réactions de phosphorylation et de déphosphorylation effectuées par des kinases et des phosphatases, qui modifient la structure tridimensionnelle des protéines, influençant ainsi leur réactivité.

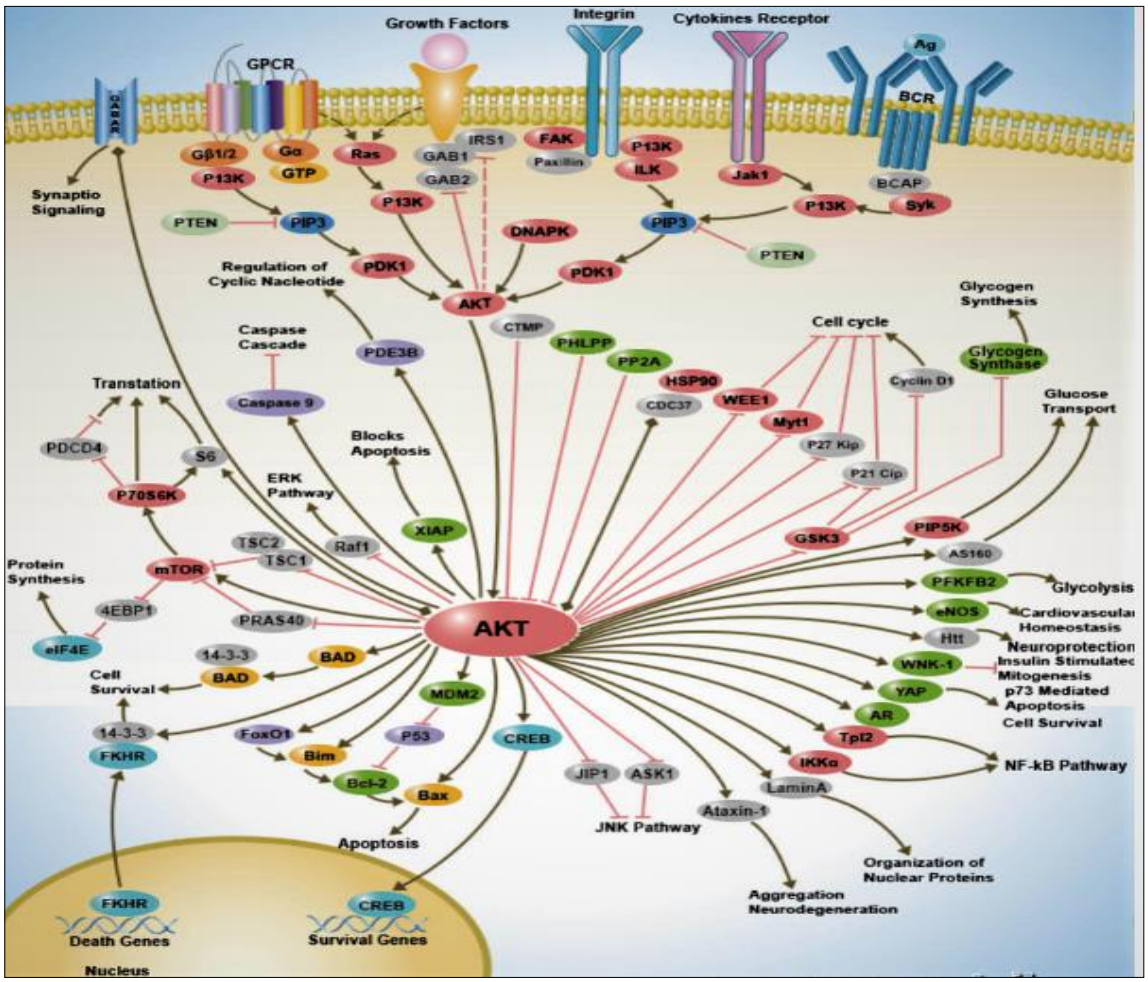


Figure 149. Différentes voies de signalisation et transduction de signal cellulaire (web58)

5.3.1. Domaines d'interaction protéine-protéine

a. les domaines SH (*Src homology domain*) : les domaines d'interaction protéine-protéines jouent un rôle crucial dans la transmission des signaux issus des récepteurs à activité tyrosine kinase. L'activation de ces récepteurs entraîne d'abord une autophosphorylation sur certains résidus tyrosine situés dans le domaine cytoplasmique de la protéine. Cela permet également de créer des sites de reconnaissance pour d'autres protéines, qui seront à leur tour phosphorylées et activées, déclenchant ainsi une cascade de transduction du signal. Par exemple, les récepteurs β du PDGF (Platelet-Derived Growth Factor). Les récepteurs comportant des tyrosines phosphorylées de lient spécifiquement à des protéines portant des domaines SH2 (Src Homology region 2, où Src, prononcé « sarc », provient du mot sarcome **(figure 150) (Nash, 2013).**

- **Les domaines SH2 :** les domaines SH2 (Src homology) sont des régions protéiques d'environ 100 AA que l'on retrouve dans de nombreuses protéines cytoplasmiques impliquées dans la transmission du signal via des protéines à activité tyrosine kinase. La fixation d'un domaine SH2 à une séquence peptidique dépend de la présence d'une tyrosine phosphorylée, et la spécificité de cette interaction est déterminée par la nature des acides aminés situés en position carboxy-terminale par rapport à cette tyrosine. Par exemple, le domaines SH2 de la sous-unité P85 de la PI3 kinase (phosphatidyl Inositol 3 Kinase) reconnaît et se lie à un motif Y(p)XXM (où X représente un acide aminé quelconque et M une méthionine). Les domaines SH2 jouent un rôle essentiel dans le réseau d'interactions protéiques activé par les récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase. Ils facilitent la localisation membranaire des activités enzymatiques cytosoliques, favorisent les contacts entre enzymes et substrats, et permettent également la modulation des activités enzymatiques **(Moore *et al.*, 1993 ; Hardcastle, 2017).**

- **Les domaines SH3 :** certaines protéines possèdent des domaines spécifiques, appelés SH3 (Src Homology region 3), caractérisés par une forte affinité pour des séquences riches en proline, adoptant souvent une structure en poly-proline. Certaines protéines, telles que la PI3 kinase, combinent à la fois des domaines SH2 et SH3. Une fois activées par leur fixation, ces enzymes peuvent, grâce à leurs domaines SH3, se lier à d'autres protéines contenant des séquences riches en proline, activant ainsi ces dernières à leur tour **(Moore *et al.*, 1993 ; Hardcastle, 2017)**.

 Les domaines PTB (*Phosphotyrosine binding*) : plus grands que les domaines SH2 (environ 200 AA), les domaines PTB peuvent également se lier à des peptides phosphorylés sur des résidus tyrosine. Le premier domaine PTB identifié fut celui de la protéines SHC, qui existe sous trois isoformes : p66, p52 et p46, toutes codées par un gène unique. La partie amino-terminale de SHC peut fixer une protéine phosphorylée sur un résidu tyrosine, même en l'absence d'un domaine SH2. Depuis, cette interaction a été observée avec d'autres récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase, tels que TRKA (récepteur du nerve growth factor), FLT4/ VEGFR3 (récepteur du vascular endothelial growth factor-C), IGFI-R (récepteur de l'insuline growth factor-I) ainsi que des récepteurs des cytokines, comme ceux du GM-CSF et de l'IL-2. De manière similaire au domaine PTB de SHC, la région amino-terminale d'IRS-1 (Insulin Receptor Substrate-1), une autre protéine adaptatrice impliquée dans la transmission du signal, se lie au récepteur de l'insuline. Le terme PTB est généralement préféré pour désigner ce domaine **(Borg *et al.*, 1997)**.

 Les domaines PH (*Pleckstrin homology domain*) : le domaine PH, composé d'environ 120 acides aminés, a été identifié pour la première fois dans la pleckstrine, principal substrat de la protéine kinase C dans les plaquettes sanguines. Ce domaine est non seulement présent dans des protéines impliquées dans la transmission du signal, telles que les kinases (protéines kinases, sérine/thréonine-kinases), les facteurs d'échange de nucléotides, les GTPases, les phospholipases C et D, ainsi que dans les protéines adaptatrices, mais aussi dans des protéines du cytosquelette, comme la spectrine et la syntrophine. Certains phospholipides, notamment les phosphatidylinositols bis et triphosphates PI (4,5)P2 et PI(1,4,5)P3, ainsi que les sous-unités Gβγ des protéines G, interagissent avec ces domaines. Ces domaines d'interaction protéine-protéine ne sont pas exclusifs aux protéines adaptatrices, ils se retrouvent également dans d'autres protéines, enzymes et facteurs de transcription **(Lemmon, 2007)**.

b. protéines adaptatrices à domaine SH2

 Protéine Grb2 (*growth factor receptor bound protein 2*) : la protéines Grb2 chez les mammifères se compose d'un domaine SH2 et de deux domaines SH3. Le domaine SH2 de Grb2 se lie à une séquence peptidique d'un récepteur à activité tyrosine kinase

activé, tandis que les deux domaines SH3 se fixent à des séquences riches en proline de la protéine Sos (Son of Sevenless) **(figure 151-a) (Vidal *et al.,* 1998 ; Lin *et al.,* 2021).**

- **Protéine SHC (*SH2 and collagen homology domain containing protein*) :** la protéine SHC, de 62kDa, joue un rôle similaire à celui de l'IRS (Insulin receptor substrate) en tant que protéine adaptatrice reliant le récepteur de l'insuline à certains effecteurs cellulaires, notamment ceux impliqués dans la voie de signalisation Ras (petites GTPases faisant partie de la famille des protéines G monomériques). SHC contient un domaine SH2 capable d'interagir avec des tyrosines phosphorylées des récepteurs activés, ainsi qu'un domaine homologue à la chaîne α1 du collagène. La phosphorylation de SHC permet son association avec la protéine Grb2 **(figure 151-a) (Ahmed et Prigent, 2017).**

c. Les protéines échafaudage (*Scaffolds proteins*) : les récepteurs à fonction tyrosine kinase peuvent moduler la signalisation de plusieurs manières, soit par la liaison directe des protéines essentielles à cette signalisation, soit via l'interaction avec des protéines d'échafaudage. Ces dernières, dépourvues d'activité enzymatique, régulent l'interaction entre différentes molécules de signalisation. Elles créent une plateforme signalétique en recrutant diverses enzymes et protéines, amplifiant ainsi la transmission du signal. Elles permettent également une régulation spatiale et temporelle de la signalisation intracellulaire grâce à la formation de complexes protéiques spécifiques. En plus de participer à la constitution de ces complexes, les protéines d'échafaudage peuvent influer sur la spécificité de la signalisation en facilitant la transduction au niveau des protéines auxquelles elles s'associent **(figure 151-c, d, e).** De plus, la phosphorylation de ces protéines peut altérer leur affinité pour les protéines associées, modulant ainsi la spécificité, la durée ou l'intensité du signal **(figure 153 a) (Bouvier *et al.,* 2000).**

d. les protéines d'ancrage (*anchoring proteins*) : les protéines d'ancrage favorisent la formation de complexes protéiques et facilitent les interactions entre des protéines aux rôles complémentaires, souvent en fonction de leur localisation subcellulaire. Elles peuvent également jouer un rôle dans la signalisation cellulaire des protéines auxquelles elles sont associées. Certaines protéines, comme l'AKAP (A kinase anchoring protein) et les RACK, jouent un rôle clé dans la signalisation cellulaire, car elles peuvent s'associer aux kinases et aux phosphatases, établissant ainsi des connexions entre différents sites d'interaction **(figure 153 b).**

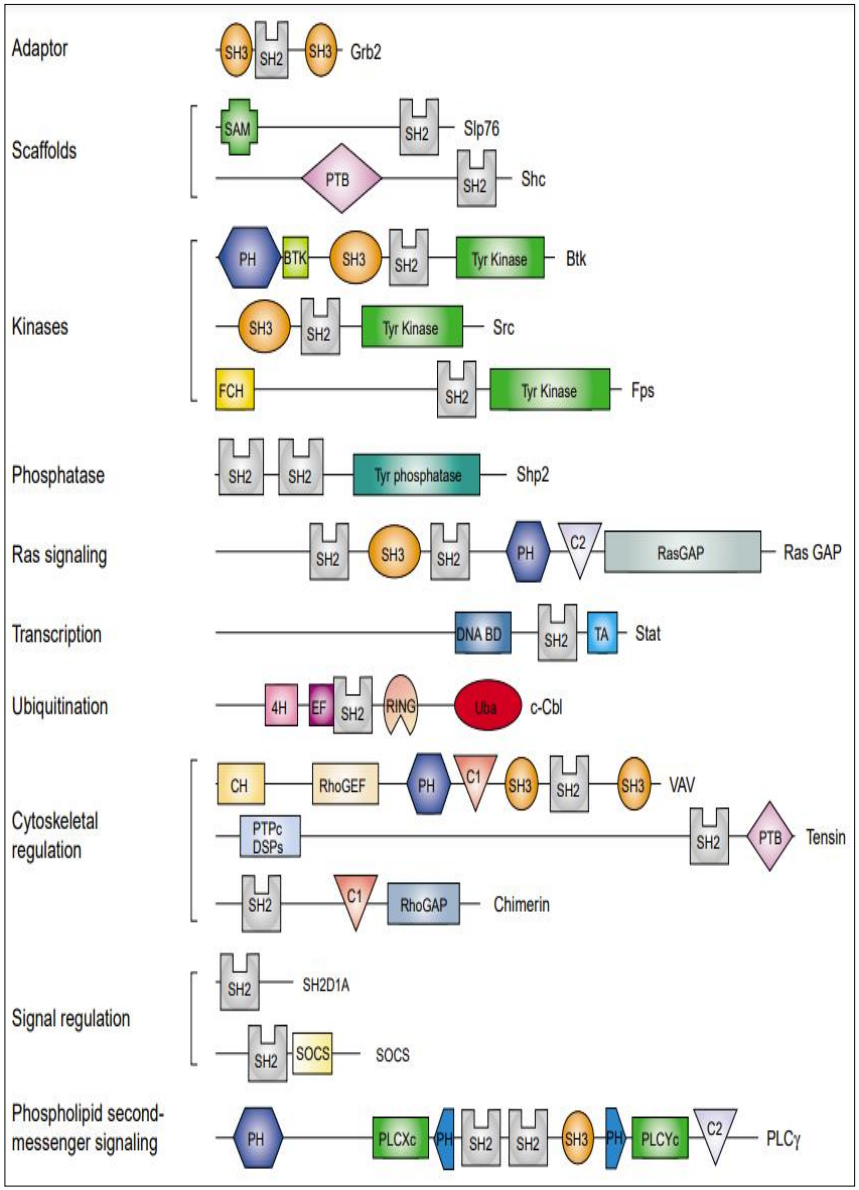


Figure 150. Nature modulaire des protéines de signalisation (Pawson *et al.*, 2001)

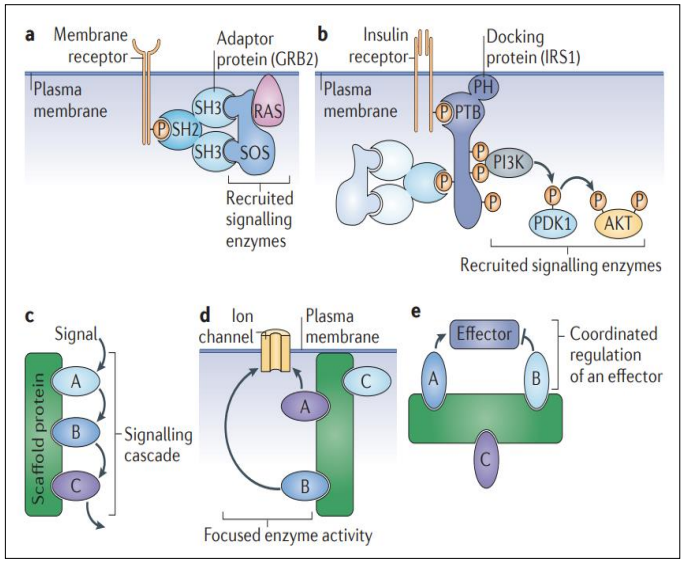


Figure 151. Propriétés des protéines d'adaptation d'amarrage et d'échafaudage (Scott et Langeberg, 2015)

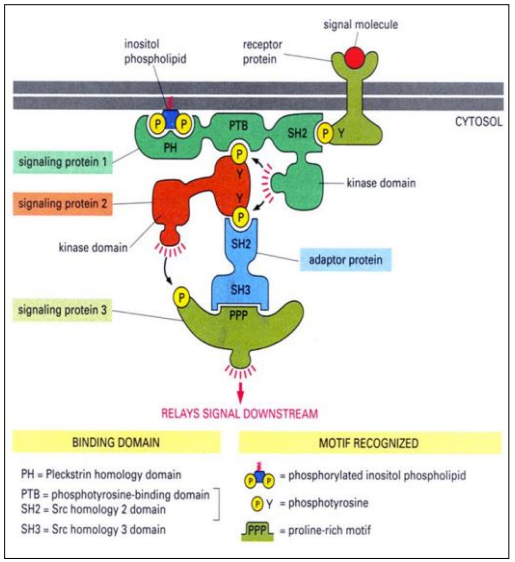
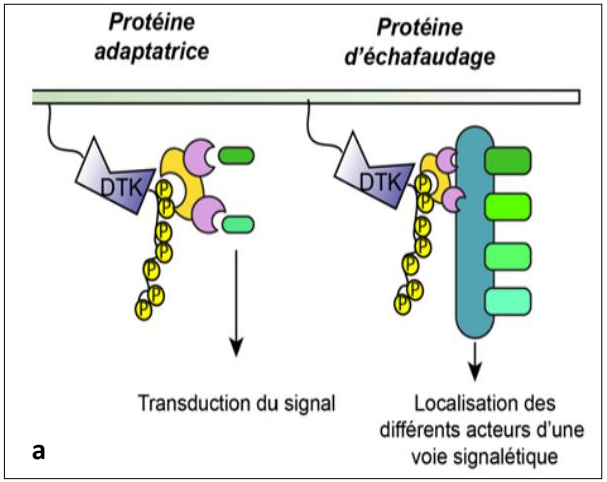


Figure 152. Les domaines protéines d'interaction (Web 59)



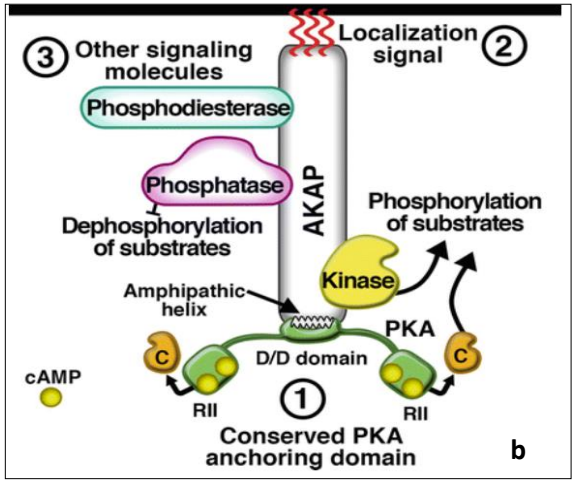


Figure 153. a. Différence entre protéines adaptatrices et d'échafaudage **b.** La A kinase anchoring protein **(Pawson *et al.*, 2001)**

Certaines protéines, comme certaines petites protéines G, nécessitent un ancrage à la membrane pour être activées. Elles doivent ainsi être transloquées vers l'appareil de Golgi ou la membrane plasmique pour exercer leur fonction **(Carnegie *et al.,* 2009)**.

5.3.2. Protéine Ras : Structure, synthèse et modifications post-traductionnelles

Les protéines Ras sont constituées de 3 protéines de 21KDa, K-Ras, H-Ras et N-Ras, codées par 3 gènes correspondants : KRas, HRas et NRas. Subdivisée en branches principales : Ras, Rho, Rab et Ran. Elles appartiennent à la famille des protéines G qui sont des GTPases jouant un rôle majeur dans le transfert d'informations du milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule, et notamment vers le noyau (transduction du signal) **(Lièvre, 2015).**

Tableau 17. Répartition des petites protéines G dans les sous familles de la super famille Ras (Lièvre, 2015).

Sous-groupe	Membres	Fonctions cellulaires
Ras	36	Expression génique
Rho	20	Expression génique ; organisation du cytosquelette
Arf	27	Transport vésiculaire
Rab	61	Transport vésiculaire
Ran	1	Transport nucléaire et régulation du cycle cellulaire
Autres	9	/

Constituées d'un domaine globulaire de 160 AA forment le site de fixation du nucléotide (GDP ou GTP) et d'une région C-terminal variable, longue d'une vingtaine d'AA qui se termine par la boîte "CAAX" : C = cystéine, A = acide aminé aliphatique, X = n'importe quel acide aminé) exemple, la protéine H-Ras se termine par la séquence : Cys-Val-Leu-Ser. Immédiatement après leur synthèse sur le ribosome, une farnésyl-transférase vient ajouter un groupement farnésyl sur la cystéine puis une protéase spécifique vient cliver les trois derniers résidus : AAX, le groupement carboxyle de la cystéine, devenue terminale, est alors méthylé par une carboxy-méthyl transférase **(Chardin, 1994)**.

La protéine possède une extrémité C-terminale fortement hydrophobe et une grande avidité pour les membranes.

L'interaction avec la membrane est encore stabilisée soit par la présence de plusieurs résidus chargés positivement qui interagissent vraisemblablement avec les charges négatives des phospholipides (c'est le cas de la forme majoritaire de la protéine K-Ras), soit par la palmitoylation de cystéines situées quelques résidus avant la cystéine du CAAX **(Chardin, 1994).**

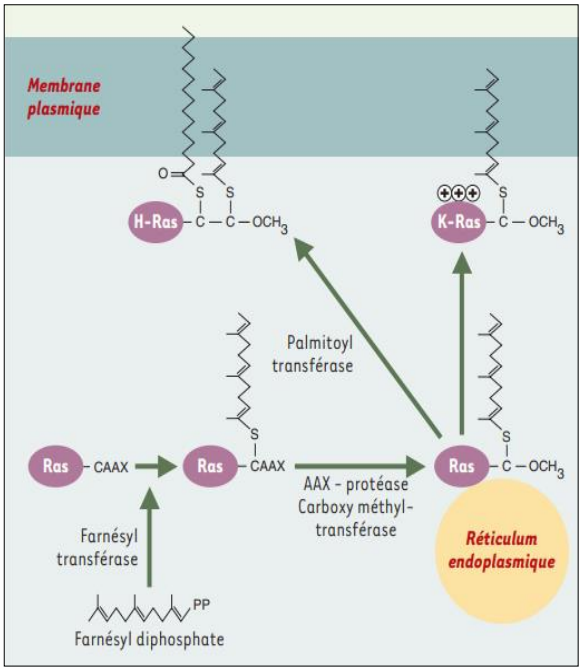


Figure 154. Maturation post-traductionnelle des protéines Ras (Mazières *et al.*, 2003)

5.3.3. Cycle fonctionnel des protéines G monomérique

Bien qu'elles contrôlent des aspects différents de la vie cellulaire : transmission des signaux mitogènes pour Ras, réarrangement du cytosquelette pour Rho **(Fort et Vincent, 1993)** et trafic intracellulaire pour Rab **(Goud, 1992)**, ces protéines fonctionnent selon le même cycle de base, analogue à celui des autres protéines G.

Sous forme GDP, la petite protéine G est complexée à une cible spécifique (**GDI** (*GDP-dissociation inhibiting protein*) dans le cas de Rho et Rab), et un facteur d'échange provoque l'ouverture du site et le départ du GDP. Lorsque le GTP entre dans le site, la protéine spécifique de la forme GDP se dissocie, et la petite protéine G sous forme GTP peut interagir avec une cible spécifique de la forme GTP, ou « effecteur ».

Après interaction avec cet effecteur, intervient une protéine de type GAP. La rencontre de GAP provoque une hydrolyse rapide du GTP et le retour à la forme de repos liée au GDP.

- **Facteur d'échange :** On appelle "facteur d'échange" toute protéine capable de stimuler de façon catalytique l'échange GDP → GTP sur une petite protéine G. chez l'homme on identifie hSos1 et hSos2 comme facteur d'échange spécifique de Ras, avec un poids moléculaire d'environ 160 KDa **(Chardin, 1993).**

La structure primaire de ces protéines montre au moins trois domaines distincts : (1) l'extrémité N-terminale d'environ 600 résidus où l'on trouve une région "dbl" qui pourrait être impliquée dans l'interaction avec des petites protéines G et une région d'homologie à la pleckstrine (substrat majeur de la PKC dans les plaquettes)**(Galland et Birnbaum, 1992)** ; (2) le domaine central qui porte la région "facteur d'échange" ; (3) l'extrémité C-terminale qui porte plusieurs régions riches en prolines. Dans le cerveau, il existe une autre protéine : RasGRF considéré comme le principal facteur d'échange de Ras dans les cellules nerveuses.

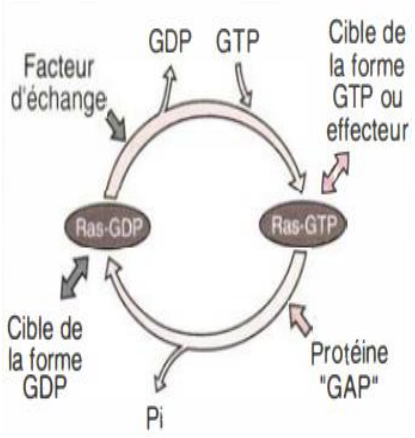


Figure 155. Cycle de la petite protéine G (Chardin, 1994)

- **Effecteurs :** on appelle "effecteur" la cible spécifique d'une petite protéine G sous forme GTP, partenaire essentielle pour son activité. Plusieurs études récentes montrent que Ras-GTP est capable d'interagir directement avec l'extrémité N-terminale (domaine régulateur) de la sérine/thréonine kinase Raf **(Chardin, 1994).**

5.3.4. Protéines régulatrices associées aux petites protéines G

a. Protéines GDI (*GTPase dissociation inhibitors*) : se fixent aux petites protéines G, les détachant ainsi de leur ancrage à la membrane. Ce processus réduit l'activation des petites protéines G, car leur probabilité d'activation est plus faible dans le cytosol. En outre, les GDI masquent le site de liaison des effecteurs, bloquent l'échange de nucléotides et inhibent l'hydrolyse du GTP par les petites protéines G **(Tamanoi et Tetlow, 2013).**

b. Protéines GAP (*GTPase Activating Protein*) : interagissent avec le domaine GTPase des protéines, favorisant l'hydrolyse du GTP. Elles facilitent l'alignement des molécules d'eau avec le site catalytique des protéines, accélérant ainsi la réaction de catalyse du GTP. En outre, elles stabilisent la protéine et facilitent son interaction avec le GTP **(Tamanoi et Tetlow, 2013)**.

c. Protéines d'échange GEP (*GTP/GDP Exchange Protein*)/GEF (*guanine nucleotide exchange factor*). Interviennent dans la dissociation du GDP des petites protéines G. Elles facilitent l'échange du GDP par un GTP en stabilisant les protéines G non liées au GTP, ou en catalysant la dissociation du GDP de son site de fixation tout en favorisant l'interaction

avec le GTP. La stabilisation de la forme non liée des protéines G expose davantage le site de fixation du GTP et facilite également la dissociation de la GEF. Ces dernières possèdent plusieurs sites d'interaction avec des protéines et des lipides, leur permettant ainsi d'être recrutées à la membrane en réponse à un signal extracellulaire **(Tamanoi et Tetlow, 2013)**.

5.3.5. Voies des MAP kinases : exemple de l'EGF et la prolifération cellulaire

Outre les protéines classiques impliquées dans les voies de signalisation (facteurs de croissance, récepteurs membranaires et protéines transductrices du signal), le contrôle de la prolifération des cellules de mammifères repose sur deux catégories de protéines intervenant de manière séquentielle : 1) les facteurs de transcription nucléaires, qui régulent l'expression de certains gènes ; 2) les protéines activent directement le cycle cellulaire et la division cellulaire **(Callen, 2005).**

La voie des MAP kinases (mitogenic activated protein), impliquée dans l'initiation de la mitose, est présente chez tous les eucaryotes. Les « substances mitogènes », strictement définies, sont des facteurs qui stimulent la division cellulaire, avec plus de 50 déjà identifiés. La question clé est de comprendre le fonctionnement de la voie de transduction du signal, depuis l'activation du récepteur jusqu'à la réponse finale. Ce processus implique trois niveaux de phosphorylation successives, illustrés notamment par l'exemple de l'intervention du facteur de croissance épidermique (EGF) **(Callen, 2005).**

L'EGF est un polypeptide de 53 acides aminés, produit par le clivage d'un gros précurseur transmembranaire contenant plusieurs modules identiques. Il agit à l'état de monomère, car il reconnaît deux récepteurs à la fois. Son récepteur dimérisé devient actif (après autophosphorylation) **(Bertics et Gill, 1985)** et recrute la protéine Grb2, via un domaine reconnaissant des tyrosines phosphorylées. Grb2 recrute la protéine Sos **(Batzer *et al.,* 1994 ; Margolis et Skolnik, 1994)**, qui facilite l'échange de GTP au niveau de Ras, une petite protéine G monomérique membranaire **(Blaževitš *et al.,* 2016)**. Ancrée dans la bicouche lipidique par deux ancres lipidiques, Ras joue un rôle central en tant que commutateur moléculaire dans la transduction du signal. Une fois activée par le GTP, Ras s'associe à la protéines Raf et l'active. Raf, une protéines kinase, phosphoryle et active à son tour la protéines Mek (MAP K) **(Lavoie et Therrien, 2015)**. Mek activée phosphoryle ensuite une MAP kinases, Erk, qui agit en phosphorylant des protéines cytosoliques ou

nucléaires **(Robert et Der, 2007).** Dans le noyau, Erk phosphoryle plusieurs facteurs de transcription préexistants, tels qu'Elk **(figure 156) (Chang *et al.,* 2003).**

Ainsi, les mitogènes stimulent en phase G0 la transcription de deux familles successives de gènes : d'abord les gènes précoces (codant pour des facteurs de transcription tels que Jun et Fos), puis les gènes tardifs, activés par les premiers. Parmi les prptéines produites lors de cette réponse tardive figurent les cyclines de la phase G1 (D et E) et certaines Cdk (4,6,2), qui déclenchent directement la mitose. On comprend bien, avec cette cascade complexe, l'origine de certains cancers ; le récepteur à l'EGF peut en effet être muté et devenir constitutif (actif en l'absence du ligand). C'est le cas de l'oncogène ErbB, impliqué dans le développement de nombreuses tumeurs du sein et de l'ovaire, qui cause la perte du domaine extracellulaire de fixation du ligand. De même, les mutations de Ras qui empêchent l'hydrolyse du GTP la rendent constitutive, stimulent constamment la prolifération et sont la cause de cancers.

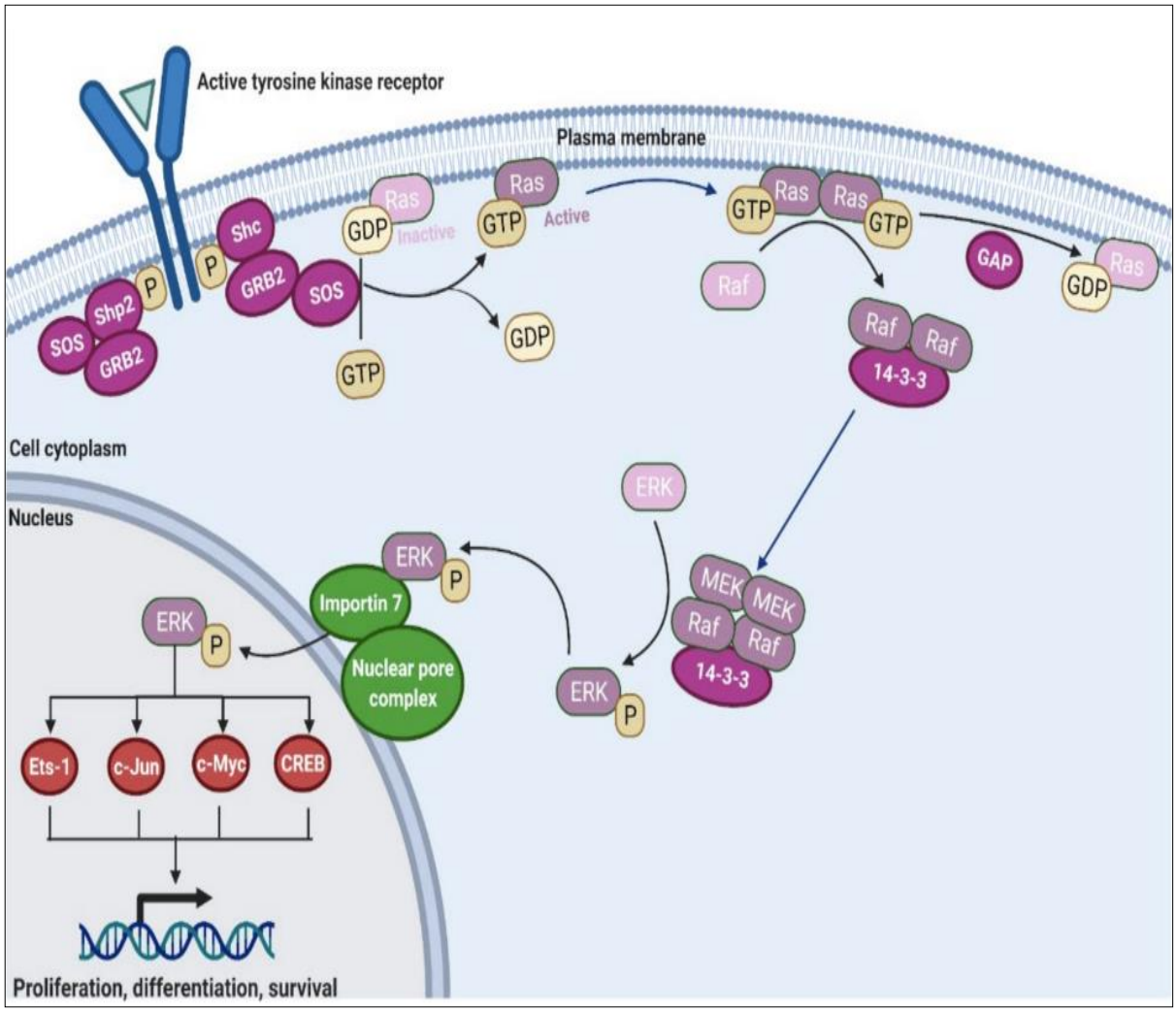


Figure 156. La cascade MAP kinase (Dillon *et al.,* 2021)

5.4. Amplification du signal via les seconds messagers

Les messagers secondaires sont de petites molécules cytosoliques diffusibles dont la concentration varie rapidement en réponse à la réception d'un signal, déclenchant ainsi des cascades, comme l'AMP cyclique (AMPc), l'inositol triphosphate (IP3) ou encore le diacylglycérol (DAG). Ces molécules permettent une amplification significative du signal initial, puisqu'un seul récepteur activé peut transformer des centaines de protéines G inactives en formes actives, elles-mêmes responsables de la production de milliers de molécules d'AMPc, et ainsi de suite. Certains de ces messagers sont communs à plusieurs voies, facilitant ainsi l'intégration des réponses cellulaires **(Callen, 2005).**

Les membranes cellulaires, par la production de médiateurs lipidiques, jouent un rôle central dans l'échange et la transduction des signaux cellulaires, dont la dynamique est principalement régulée par l'action des phospholipases. Ces enzymes lipolytiques peuvent s'adsorber aux membranes et hydrolyser leurs substrats pour générer des métabolites bioactifs. Il existe quatre types de phospholipase A1 **(**EC 3.1.1.32-PLA1), la phospholipase A2 (EC 3.1.1.4-PLA2), phospholipase C (EC 3.1.4.3-PLC) et la phospholipase D (EC 3.1.4.4) **(Callen, 2005)**.

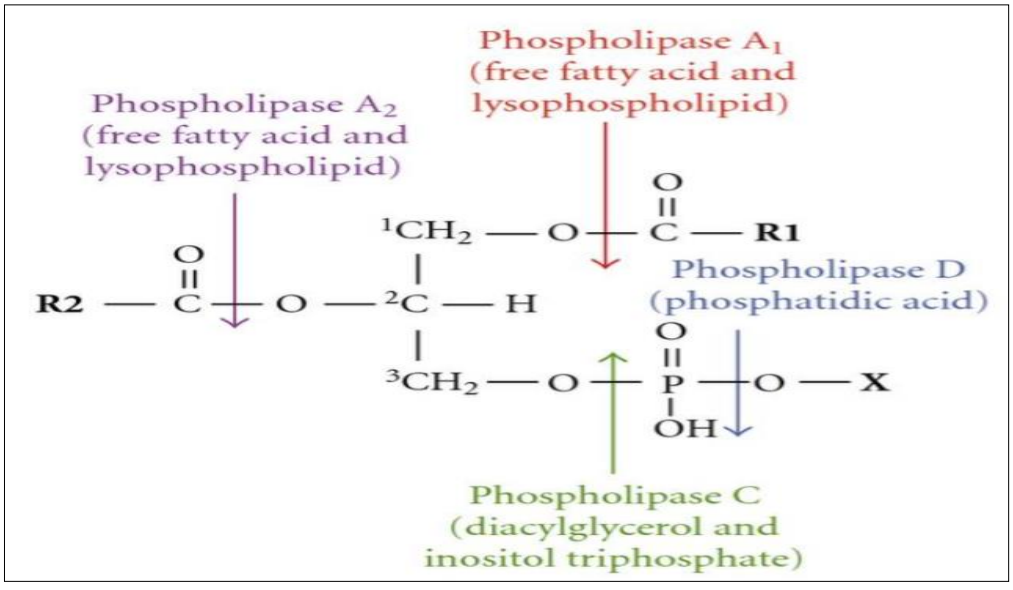


Figure 157. Hydrolyse des phopholipides par les phospholipases (Dennis, 1983). Les flèches indiquent les sites d'attaque pour le clivage hydrolytique des phospholipases de type A1, A2, C, D. Les principaux produits générés par leur action sont également R1/R2 : acides gras libres en positions ns-1 ou sn-2 ; X : choline, éthanolamine, sérine, inositol, etc.

5.4.1. Cascade phospholipase A (PLA_1 et PLA_2) : Elles hydrolysent respectivement les liaisons esters en position sn-1 et sn-2 des glycérophospholipides, produisant ainsi un lysophospholipide et libérant l'acide gras correspondant. Les PLA1 remplissent diverses fonctions cellulaires, telles que le renouvellement rapide des phospholipides membranaires, ainsi que des fonctions physiologiques comme l'agrégation plaquettaire et la contraction des muscle lisses **(Inoue *et al.,* 2005)**. Les PLA2 sont divisées en six principaux groupes chez les mammifères. On retrouve les PLA2 cytosoliques (cPLA2-groupeIV), les PLA2 indépendantes du calcium (iPLA2-groupe VI), les acétylhydrolases du facteur d'activation plaquettaire (PAF AHS- groupe VII et groupe VIII), les PLA2 lysosomales (groupe XV), les PLA2 du tissu adipeux (groupe XVI) ainsi que plusieurs groupes de PLA2 sécrétées (sPLA2). Parmi les multiples fonctions des PLA2, la plus étudiées est la libération de l'acide arachidonique, précurseur des eicosanoïdes **(Dennis *et al.,* 2011).**

Les eicosanoïdes jouent un rôle essentiel en tant que médiateurs du système nerveux central, des processus inflammatoires et de la réponse immunitaire, tant chez les vertébrés que chez les invertébrés. Ce sont des molécules composées de 20 atomes de carbone, classées en prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes, et certains hydroxy acides précurseurs des leucotriènes. Présents dans tous les organes et tissus, les eicosanoïdes régulent diverses fonctions et agissent comme médiateurs dans de nombreux processus cellulaires, tels que la contraction des muscles lisses, l'agrégation plaquettaire et la sécrétion gastrique. En raison de leurs fonctions régulatrices, ils sont considérés comme des hormones.

Récepteurs aux eicosanoïdes : il existe huit types de récepteur ; • Récepteur DP : Prostaglandines D • Récepteurs EP1 : Prostaglandines E1 • Récepteurs EP2 : Prostaglandines E2 • Récepteurs EP3 : Prostaglandines E3 • Récepteurs EP4 : Prostaglandines E4 • Récepteurs FP : Prostaglandines F • Récepteurs IP : Prostacyclines - Récepteurs TP : Thromboxanes

Effets des différents récepteurs : • Au niveau des vaisseaux sanguins, la prostacycline (PGI2) agit sur le récepteur IP, entraînant un relâchement des muscles. • Les thromboxanes, via le récepteur TP, provoquent la contraction des artères pulmonaires ainsi que des muscles lisses bronchiques. • Les prostaglandines E3, en se liant aux récepteurs EP3, induisent une vasoconstriction des artères pulmonaires.

5.4.2. Cascade phospholipase C (PLC) : activée par une protéine Gs ; cette enzyme hydrolyse un lipide membranaire (le **PIP2** phosphatidyl inositol 4,5-diphosphate) et donne de l'**IP3** (inositol 1,4,5-triphosphate) et du **DAG** (diacyl glycerol) **(figure 159)**. Ces deux produits agissent en tant que messagers secondaires :

- le premier déclenche une libération rapide de Ca2+ dans le cytosol à partir du RE, entraînant divers effets ;
- le second active la PKC (dépendante de Ca2+), laquelle initie une cascade de phosphorylations qui conduit à la transcription de gènes spécifiques.

Le Ca2+ cytosolique agit par l'intermédiaire de la calmoduline, une petite protéine cytosolique de 148 AA dotée de quatre sites de fixation du Ca2+. Une fois le Ca2+fixé, la calmoduline devient apte à activer d'autres protéines, telles que CaM kinase ou encore certaines phosphatases **(Kadamur et Ross, 2013)**.

5.4.3. Cascade phospholipase D (PLD) : contrairement aux enzymes PLA1, PLA2 et PLC la PLD hydrolyse la liaison phosphodiester distale des phospholipides membranaires. Cette action entraîne la libération de la tête polaire du phospholipides substrat, comme la choline lors de l'hydrolyse de la phosphatidylcholine (PC), tandis que le résidu phosphatidyle reste fixé à la membrane sous forme d'acide phosphatidiques (PA) **(figure 159).**

Ce médiateur lipidique bioactif est impliqué dans la régulation d'un sous-ensemble de réponses cellulaires aussi diverses que la mobilisation du calcium, le réarrangement du cytosquelette d'actine, et la mitogenèse **(Aktories *et al.*, 2019).**

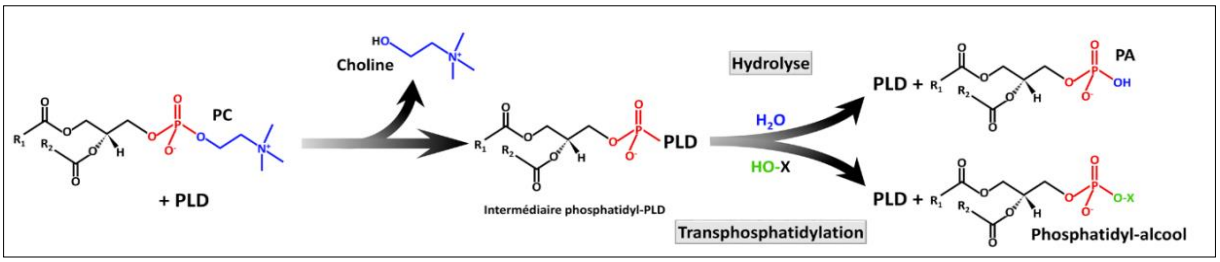


Figure 158. Réactions d'hydrolyse ou de transphosphatidylation (Aktories *et al.*, 2019), catalysées par la PLD sur la PC substrat, formant respectivement du PA ou un phosphatidyl-alcool. **PC :** phosphatidylcholine ; **PA :** Acide phosphatidique

De plus de son activité hydrolytique, la PLD possède également la capacité de catalyser une réaction de trans-phosphatidylation. Ce processus consiste à échanger la tête polaire

du phospholipide substrat avec une autre tête polaire. Cette réaction secondaire implique un alcool primaire, qui agit comme accepteur nucléophile, puis est transféré sur le résidu phosphatidyle, aboutissant ainsi à la formation du phosphatidyl-alccol correspondant **(Aktories *et al.,* 2019).**

5.4.4. Cascade Adénosine Monophosphate Cyclique AMPc : l'adénylate cyclique est une enzyme pouvant être activée par des protéines G de la famille G-s, ou inactivée par des G-i. Elle convertit l'adénosine-tri-phosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMPc), et ce dernier peut servir de second messager, offrant deux possibilités **(Taylor, 2010).**

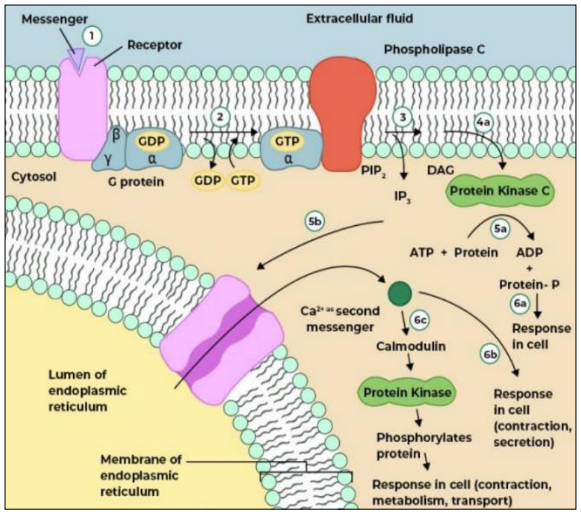
- Dans le premier cas, l'AMPc peut avoir une action directe sur des canaux ioniques sensibles au voltage (K^+, Ca^{2+}) qui dépendent de sa contraction et s'ouvrent en sa présence : la réponse est donc de type électrophysiologique car elle modifie le potentiel membranaire.
- Dans le second cas, l'AMPc peut activer la voie de la PKA. La protéine kinase AMPc-dépendante (PKA) a deux sous-unités : une catalytique qui lui permet de réaliser ses fonctions, et une régulatrice qui, lorsqu'elle est fixée sur la première l'inhibe. La sous unité catalytique de la PKA est une sérine-thréonine kinase capable d'agir sur un nombre varié de cibles. Elle peut activer la voie de la C-AMP response element-binding protein (CREB) pour engendrer une réponse transcriptionnelle **(figure 159).**

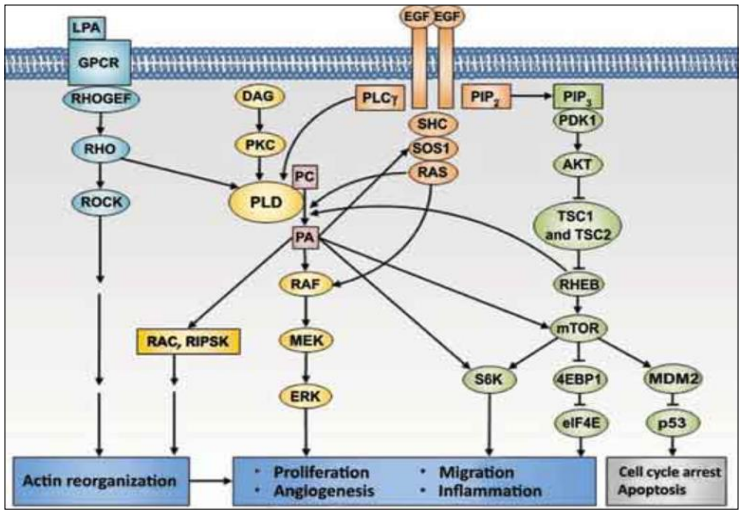
La protéine CREB est normalement inactive, et peut être activée soit par une phosphorylation via la PKA, soit par la voie de la CAM-kinase qui dépend du calcium. CREB activé se comporte un peu comme un récepteur stéroïdien : il va se transloquer dans le noyau, se dimériser, se fixer sur un locus spécifique de l'ADN sur une région palindromique appelée C-AMP response element (CRE), et agir comme un facteur de transcription c'est-à-dire modifier l'expression du génome et donc changer le phénotype de la cellule **(Taylor, 2010)**.

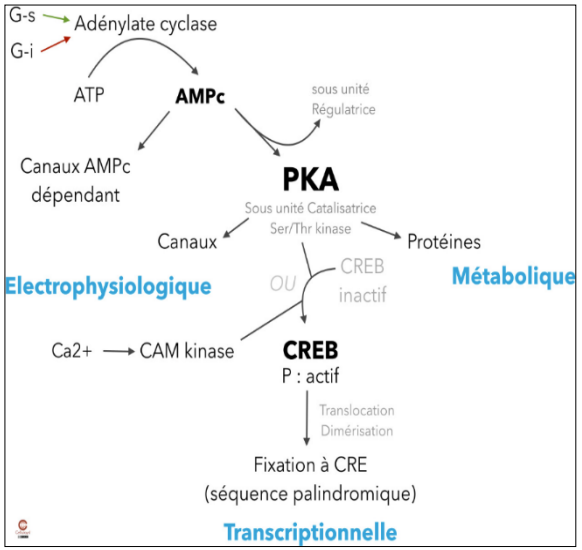
5.4.5. Cascade NO/GMPc : La Guanosine monophosphate cyclique (GMPc) a été identifiée dans différentes cellules avec une concentration fluctuante en réponse à différents signaux. Le système guanylate cyclase permet, comme les systèmes adénylate cyclase et phospholipase C, une amplification d'un message hormonal aboutissant à une réponse cellulaire **(figure 159)**. La Guanylate cyclase dégrade la GTP en GMPc. Il existe deux formes de Guanylate cyclase :

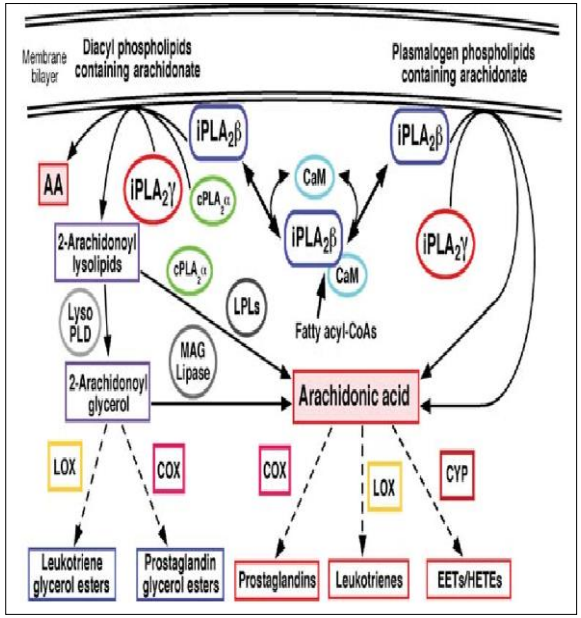
✓ Une forme membranaire ;

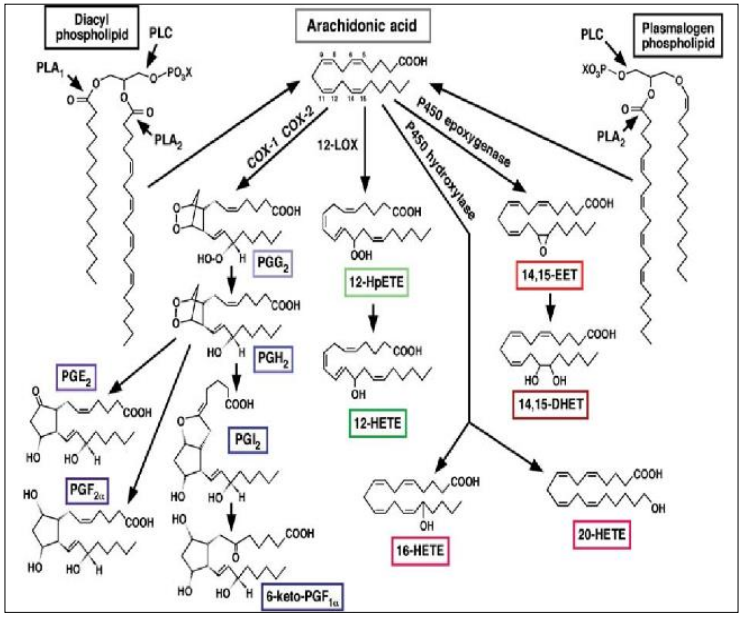
✓ Une forme cytosolique, dite soluble. La Guanylate Cyclase soluble est constituée d'un hétérodimère α β sensible au NO (monoxyde d'azote : le NO est produit par le catabolisme de l'arginine). La fixation de NO sur α et β va permettre l'activation de la Guanylate Cyclase L'inactivation s'effectue par hydrolyse du GMPc en 5'GMP grâce à une phosphodiestérase (PDE) (isoforme de celle impliquée dans le système Adénylate Cyclase/AMPc/PKA) **(Parent *et al.,* 2013).**











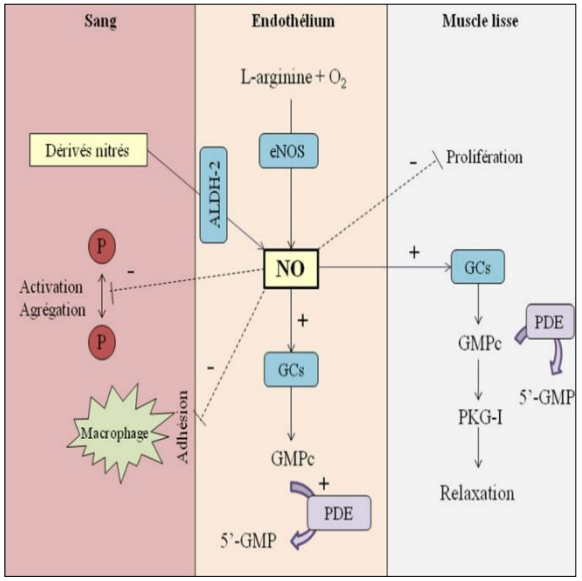


Figure 159. Amplification du signal via les 2nd messagers (DAG/IP3 ; Ca2+ ; AMPc ; GMPc et autres) (59-62web)

6. Anomalie de signalisation et pathologie

La communication cellulaire est essentielle à la survie des organismes pluricellulaires, car elle permet aux cellules d'échanger les informations nécessaires à la coordination de leurs actions. Ces informations se déclinent en six types principaux de consignes à exécuter : se reproduire ou se différencier, rester attaché ou migrer, survivre ou mourir.

Une cellule cancéreuse est génétiquement instable, capable d'exploiter l'ensemble des fonctions du génome et de tirer parti de tout avantage prolifératif ou migratoire, qu'elle sélectionne et transmet à ses descendants. Une tumeur est une nouvelle formation qui nécessite une multiplication cellulaire continue. La malignité des cancers repose sur leur capacité à se disséminer dans l'organisme, et la survie des cellules tumorales est une condition primordiale. Toutes les voies de signalisation impliquées dans la prolifération, la différenciation, l'adhésion, la migration, la survie et la mort peuvent être le siège d'altération oncogéniques. Le cancer est ainsi une maladie de la signalisation cellulaire **(Robert, 2010)**.

6.1. Les protéines RAS : 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. Ces protéines jouent un rôle oncogénique bien connu. En effet, environ 25 % des cancers présentent une mutation d'un des gènes RAS, et il a été démontré in vitro et sur des modèles animaux que l'activation de Ras, secondaire à différents mécanismes moléculaires (mutation d'un récepteur en amont, mutation ou amplification de RAS, etc.), entraîne la transformation cancéreuse des cellules **(Lièvre, 2015).**

6.2. Les oncogènes : un proto-oncogène est un gène cellulaire normal qui peut, suite à une modification qualitative ou quantitative de son expression, se transformer en un gène oncogénique. Ce dernier devient alors capable de conférer à une cellule normale un phénotype cancéreux **(Tubiana, 2008)**.

Ces gènes jouent un rôle physiologique dans la régulation des processus de prolifération, de différenciation et d'apoptose. Leur altération, appelée « activation », peut conduire à une transformation cellulaire maligne. L'altération oncogénique entraîne un gain de

fonction, où la protéine modifiée est plus active que la protéine normale. Ainsi, les oncogènes ont un mode d'action dominant.

On distingue cinq grandes classes d'oncogènes, classées en fonction des oncoprotéines qu'ils codent. Il s'agit généralement de molécules appartenant à la chaîne de transduction du signal prolifératif, jouant un rôle dans la régulation positive du cycle cellulaire :

- Les facteurs de croissance ;
- Les récepteurs aux facteurs de croissance, souvent dotés d'une activité tyrosine kinase (TK) ;
- Les protéines transductrices de signaux intracytoplasmiques, telles que les protéines G, dont l'activité dépend de la phosphorylation du Guanosine diphophate (GDP) en Guanosine triphosphate (GTP) ;
- Les facteurs de transcription ;
- Les gènes impliqués dans la régulation négative de l'apoptose.

6.3. 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 **(Giraud *et al.,* 2016).**

Point cours

- Connaître les différents modes de signalisation.
- Identifier les acteurs intervenant dans la réception, l'amplification et l'interprétation d'un signal cellulaire.
- Caractéristique des cascades de signalisation liées à l'activité des phospholipases et la production de second messager
- Anomalies de signalisation

Références bibliographiques

A

Abdelali M., Benzine-Challam H., Madoui-Dekar A. Fascicule 2 "Cytologie et physiologie cellulaire". Cours illustrés à l'usage des étudiants de 1ère année des sciences médicales, des sciences biologiques et de médecine vétérinaire. 4e édition. Université Benyoucef Benkhadda-Alger-Algérie. Office des publications universitaires 2011, 79p.

Aebi M. N-linked protein glycosylation in the ER. *Biochimica et Biophysica Acta* 2013; 1833: 2430–2437.

Agarwal A., Salem P., Robbins K.C. Involvement of p72syk, a protein-tyrosine kinase, in Fc gamma receptor signaling. *Journal of Biological Chemistry* 1993; 268: 15900-159005.

Ahmed S.B.M., Prigent S.A. Insights into the SHC family of adaptor proteins. *Journal of Molecular Signaling* 2017 ; 12(44) :2-17

Akhmanova A., Steinmetz M.O. Microtubule +TIPs at a glance. *Journal of Cell Science* 2010; 123: 3415–3419.

Aktories K., Gierschik P.D.M., Heringdorf Z., Schmidt M., Schultz G., Wieland T. cAMP guided his way: a life for G protein-mediated signal transduction and molecular pharmacology—tribute to Karl H. Jakobs. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* (2019); 392: 887–911

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular biology of the cell. Fifth edition. Garland Science, New York (Ny), USA & Abingdon, Uk, 2008.

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular biology of the cell. 6e Edition. Lavoisier, Médecine sciences, 2017.

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. Molecular Biology of the Cell. Sixth Edition. Garland Science, New York (NY), USA & Abingdon, UK, 2015.

Alexander S.P.H., Mathie A., Peters J.A. Guide to receptors and channels, 1st Edition. *British Journal of Pharmacology* 2005; 144: 1-128.

Ambati S., Ferarro A.R., Kang S.E., Lin J., Lin X., Momany M., Lewis Z.A., Meagher R.B. Dectin-1-targeted antifungal liposomes exhibit enhanced efficacy. *mSphere* 2019 ; 4(1) : e00025-19.

Amerik A.Y., Hochstrasser M. Mechanism and function of deubiquitinating enzymes. Biochim Biophys Acta 2004 ; 1695(1-3) : 189-207

Ardail D., Gasnier F., Gateau-Roesch O. Interactions fontionnelles et physiques entre les mitochondries et le réticulum endoplasmique. *Médecine/sciences* 1992 ; 8 : 1088-1090.

Ardley H.C., Robinson P.A. E3 ubiquitin ligases. *Essays in Biochemistry* 2005; 41: 15-30

Armache J.P., Jarasch A., Anger A.M., Villa E., Becker T., Bhushan S., Jossinet F., Habeck M., Dindar G., Franckenberg S. Localization of eukaryote-specific ribosomal proteins in a 5.5-A° cryo-EM map of the 80S eukaryotic ribosome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010; 107: 19754– 19759.

Assié G., Rosenberg D., Clauser E., Bertherat J. Biochimie des hormones et leurs mécanismes d'action : récepteurs membranaires. *EMC-Endocrinology* 2004; 1(4): 169-199.

Astrof S., Hynes R.O. Fibronectins in vascular morphogenesis. *Angiogenesis* 2009; 12(2): 165–175.

Aumailley M., Verrando P. Structure et pathologie des membranes basales. *Médecine/sciences* 1993 ; 9 : 926-933.

B

Barbé F., Douglas T., Saleh M. Advances in Nod-like receptors (NLR) biology. *Cytokine Growth Factor Rev*iews 2014; 25: 681-697.

Bassaglia Y. Biologie cellulaire. 3e édition. Maloine, Paris-France, 2013.

Batey R.T., Rambo R. P., Lucast L., Rha B., Doudna J.A. Crystal structure of the ribonucleoprotein core of the signal recognition particle. *Science* 2000; 287(5456): 1232-1239.

Batzer A.G., Rotin D., Ureña J.M., Skolnik E.Y., Schlessinger J. Hierarchy of binding sites for Grb2 and Shc on the epidermal growth factor receptor. *Molecular and Cellular Biology* 1994, 14, 5192–5201.

Belmont L., Mitchison T., Deacon H.W. Catastrophic revelations about Op18/stathmin. Trends in Biochemical Sciences 1996; 21: 197-198.

Bertics P.J., Gill G.N. Self-phosphorylation enhances the protein-tyrosine kinase activity of the epidermal growth factor receptor. *Journal of Biolical Chemistry* 1985; 260: 14642–14647

Berkaloff A., Bourguet J., Favard P. & N., Lacroix J.-C., Biologie et physiologie cellulaires, tome 1 : membrane plasmique, 1993 ; tome 2 : cellules et virus, 1978 ; tome 3 : division cellulaire, 1981, tome 4 : chromosomes, 1989, Hermann, coll. « Méthodes», Paris.

Birch-Machin MA, Turnbull DM. Assaying mitochondrial respiratory complex activity in mitochondria isolated from human cells and tissues. *Methods in cell biology* 2001 ; 65 : 97-117

Blaževitš O., Mideksa Y.G., Šolman M., Ligabue A., Ariotti N., Nakhaeizadeh H., Fansa E.K., Papageorgiou A., Wittinghofer A., Ahmadian M.R. Galectin-1 dimers can scaffold Raf-effectors to increase H-ras nanoclustering. *Scientific Reports* 2016; 6: 24165.

Bodereau B. Récepteurs nicotiniques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Thèse de Doctorat en Neurosciences. Université d'Angers, 2011 : 196p

Bommer U.A., Lutsch G., Stahl J., Bielka H. Eukaryotic initiation factors eIF-2 and eIF-3: Interactions, structure and localization in ribosomal initiation complexes. *Biochimie* 1991; 73: 1007–1019.

Bonifacino J.S., Glick B.S. The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell* 2004; 116: 153-166.

Bonnerot C., Amigorena S., Choquet D., Pavlovich R., Choukroun V., Fridman W.H. Role of associated gamma-chain in tyrosine kinase activation via murine Fc gamma RIII. *EMBO Journal* 1992; 11: 2747-2757.

Bonnerot C., Hivroz C. Signalisation et transport intracellulaire des immun-récepteurs. *Médecine/sciences* 1999; 15: 923-930

Borg J.P., Fournier E., Margolis B., Birnbaum D. PTH, domaine d'interaction protéine-protéine important dans le "jeu de dominos" de la transmission du signal. *Médesine/Sciences synthèse* 1997; 13: 647-656.

Boucher J., Kleinridders A., and Kahn C.R. Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2014; 6: a009191–a009191.

Boujard D., Anselme B., Cullin C., Raguénès-Nicol C. Biologie cellulaire et moléculaire. Tout le cours en fiches. Licence. PACES. CAPES. 2e édition. Dunod, Paris-France, 2015.

Boulon S., Westman B.J., Hutten S., Boisvert F.M. Lamond A.I. The Nucleolus under Stress. *Molecular Cell* 2010; 40: 216–227.

Bouvier M., Laporte S.A., Lagacé M., Caron M.G. Échafaudages protéiques et signalisation modulaire via les récepteurs à sept domaines transmembranaires : au-delà des protéines G. *Médecine/Sciences* 2000 ; 16 : 644-651.

Boylan K., Serr M., Hays T. A molecular genetic analysis of the interaction between the cytoplasmic dynein intermediate chain and the glued (dynactin) complex. *Molecular Biology of the Cell* 2000; 11: 3791-3803.

Braulke T., Bonifacino J.S. Sorting of lysosomal proteins. *Biochimica et biophysica acta* 2009; 1793: 605-614.

Braun B.C., Glickman M., Kraft R., Dahlmann B., Kloetzel P.M., Finley D., Schmidt M. The base of the proteasome regulatory particle exhibits chaperone-like activity. *Nature Cell Biology* 1999; 1: 221-6.

Brennan J.J., Gilmore T.D. Evolutionary origins of Toll-like receptor signaling. *Molecular Biology and Evolution* 2018; 35: 1576–1587.

Buton X., Herve P., Kubelt J., Tannert A., Burger K.N., Fellmann P., Muller P., Herrmann A., Seigneuret M., Devaux PF. Transbilayer movement of monohexosylsphingolipids in the endoplasmic reticulum and Golgi membranes. *Biochemistry* 2002; 41: 13106-13115.

Byrne H.J., Schultz GS. Transport membranaire et bioélectricité. De Boeck Belgique 1997, 196p.

C

Callen J.C. Biologie cellulaire " Des molécules aux organismes". 2e Edition. Dunod, Paris-France 2005, 514 P.

Cambier J.C. Antigen and Fc receptor signalling. The awesome power of the immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM). *Journal of Immunology* 1995; 155: 3281-5.

Campbell N. Biologie "adaptation et révision scientifique de Richard Mathieu". DeBoeck Belgique 1995, 1190p.

Cao M., Wu Z., Lou Q., Lu W., Zhang J., Li Q., Zhang Y., Yao Y., Zhao Q., Li M., Zhang H. Dectin-1-induced RIPK1 and RIPK3 activation protects host against Candida albicans infection. *Cell Death Differentiation* 2019; 26: 2622-2636.

Carnegie G.K., Means C.K., Scott J. A-Kinase anchoring proteins: from protein complexes to physiology and disease. IUBMB life 2009 ; 61(4) :394-406

Cassimeris L., Spittle C. Regulation of microtubule-associated proteins. *International Review Cytology* 2001; 210 : 163-226.

Castanier C., Arnoult D. La dynamique mitochondriale au cours de l'apoptose. *Médecine/Sciences* 2010 ; 26 : 830-835.

Cau P., Seite R. Cours de Biologie Cellulaire : Edition ellipses, Paris-France 1999, p

Cavailles P. L'adhérence cellulaire. Cours de biologie cellulaire "Migration cellulaire, domiciliation et cancer". Université Joseph Fourier, Grenoble 2012.

Caval T., Zhu J., Tian W., Remmelzwaal S., Yang Z., Clausen H., Heck A.J.R. Targeted analysis of lysosomal directed proteins and their sites of mannose-6-phosphate modification. *Molecular and Cellular Proteomics* 2019; 18: 16-27

Chang F., Steelman L.S., Lee J.T., Shelton J.G., Navolanic P.M., Blalock W.L., Franklin R.A., McCubrey J. Signal transduction mediated by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway from cytokine receptors to transcription factors: Potential targeting for therapeutic intervention. *Leukemia* 2003; 17: 1263–1293.

Chardin P., Camonis J.H., Gale N.W., van Aelst L., Schlessinger J., Wigler M.H., Bar Sagi D. Human Sos1: a guanine nucleotide exchange factor for Ras that binds to GRB2. *Science* 1993; 260: 1 338-43.

Chardin P. Protéines Ras et transmission des signaux mitogènes. *Médecine/Sciences* 1994 ; 10 :657-664.

Chen P.A. Shrivastava G., Balcom E.F., McKenzie B.A., Fernandes J., Branton W.G., Wheatley B.M., Petruk K., Van Landeghem F.K.H. Absent in melanoma 2 regulates tumor cell proliferation in glioblastoma multiforme. *Journal of Neuro-oncology* 2019; 144: 265-273.

Choquet D., Partiseti M., Amigorena S., Bonnerot C., Fridman W.H., Korn H. Crosslinking of IgG receptors inhibits membrane immunoglobulin-stimulated calcium influx in B lymphocytes. *Journal of Cell Biology* 1993; 121: 355- 363.

Chow K.T., Gale M. Jr., Loo Y.M. RIG-I and other RNA sensors in antiviral immunity. *Annual Review of Immunology* 2018; 36: 667–694.

Chretien D., Metoz F., Verde F., Karsenti E., Wade R.H. Lattice defects in microtubules: protofilament numbers vary within individual microtubules. *Journal of Cell Biology* 1992;117:1031–1040.

Chuenchor W., Jin T., Ravilious G., Xiao T.S. Structures of pattern recognition receptors reveal molecular mechanisms of autoinhibition, ligand recognition, and oligomerization. *Current Opinion in Immunology* 2014; 26: 14–20.

Ciechanover A., Schwartz AL. The ubiquitin-proteasome pathway: the complexity and myriad functions of proteins death. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 1998; 95: 2727-2730.

Coletti G.A., Miedel M.T., Quinn J., Andharia N., Weisz O.A. Kiselyov K. Loss of lysosomal ion channel transient receptor potential channel mucolipin-1 (TRPML1) leads to cathepsin B-dependent apoptosis. *Journal of Biological Chemistry* 2012, 287, 8082-8091.

Cooper G.M. Cell. A molecular approach. 8th edition, Sinauer / Oxford University Press, Oxford (GB) 2019.

Coud B. Le transport vésiculaire des cellules eucaryotes est contrôlé par des GTP-ases. *Médecine/sciences* 1992; 8: 326-33.

Coux O., Tanaka K., Goldberg A.L. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annual Review of Biochemistry* 1996; 65: 801-847.

Coux O., Piechaczyk M. Le système ubiquitine/protéasome : un ensemble (de) complexe(s) pour dégrader les protéines. *Médecine/sciences* 2000 ; 16 :623-929.

Cui S., Eisenächer K., Kirchhofer A., Brzózka K., Lammens A., Lammens K., Fujita T., Conzelmann K.K., Krug A., Hopfner K.P. The C-terminal regulatory domain is the RNA 5'-triphosphate sensor of RIG-I. *Molecular Cell* 2008; 29: 169-179.

D

Dam T.K., Brewer C.F. Lectins as pattern recognition molecules: the effects of epitope density in innate immunity. *Glycobiology* 2010; 20: 270–279.

Daziano G. Rôle du propeptide de la sortiline et de ses dérivés dans les mécanismes de survie de la cellule bêta pancréatique. Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire. Université Côte d'azur, 2021 : 160p.

De Duve C., Pressman B.C., Gianetto R., Wattiaux R., Appelmans F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochememy journal* 1954; 60: 604-617.

De Franco DB. Navigating steroid hormone receptors through the nuclear compartment. *Molecular Endocrinology* 2002; 16: 1449-1455.

Delaunay J.L. Rôle des microdomaines membranaires dans le ciblage apical de la nucléotide pyrophosphatase NPP3 dans les cellules MDCK. Thèse de doctorat en physiologie et physiopathologie. Université Pierre et Marie Curie Paris VI. 2007.

De Meyts P. The Insulin Receptor and Its Signal Transduction Network. In Endotext, K.R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce, G. Chrousos, W.W. de Herder, K. Dhatariya, K. Dungan, A. Grossman, J.M. Hershman, J. Hofland, et al., eds. (South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.), 2016 ;p.

De Nardo D. Toll-like receptors: activation, signaling and transcriptional modulation. *Cytokine* 2015;74: 181–189.

Dennis E.A. Phospholipases, in *The Enzymes*, P. D. Boyer, Ed., pp. 307–353, Academic Press, New York, NY, USA, 1983.

Dennis E.A., Cao J., Hsu Y.H., Magrioti V., Kokotos G. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chemical Reviews* 2011; 111 (10): 6130-6185.

Desai A., Mitchison T.J. Microtubule polymerization dynamics. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 1997; 13: 83-117.

Devillers-Thiéry A., Galzi J.L., Eiselé J.L., Bertrand S., Bertrand D., Changeux J.P. Functional architecture of the nicotinic acetylcholine receptor: a prototype of ligand-gated ion channels. *The Journal of Membrane Biology* 1993; 136 (2): 97–112

Dillon M., Lopez A., Lin E., Sales D., Perets R., Jain P. Progress on Ras/MAPK signaling research and targeting in blood and solid cancers. Cancers 2021; 13: 5059

Dittmer F., Ulbrich E.J., Hafner A., Schmahl W., Meister T., Pohlmann R., von Figura K. Alternative mechanisms for trafficking of lysosomal enzymes in mannose-6-phosphate receptor-deficient mice are cell type-specific. *Journal of Cell Science* 1999; 112: 1591-1597.

Dorsam R. T., Gutkind J. S. G-protein-coupled receptors and cancer. Nature Reviews Cancer 2007; 7(2): 79-94

Drechsel D.N., Hyman A.A., Cobb M.H., Kirschner M.W. Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau. *Molecular Biology of the Cell* 1992; 3: 1141–1154.

Drewes G., Ebneth A., Mandelkow E.M. MAPs, MARKs and microtubule dynamics. *Trends in Biochemical Sciences* 1998; 23: 307-311.

Drieu la rochelle A. Etude des interactions fonctionnelles entre les récepteurs à peptide RF-amide et caractérisation de ligands bifonctionnels des récepteurs mus opioïde et NPFF. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Strasbourg, France 2018 :197p.

Duncan J.E., Goldstein L.S.B. The genetics of axonal transport and axonal transport disorders. *PLOS Genetics* 2006 ; 2, e124.

Durbeej M. Laminins. *Cell and Tissue Research* 2010; 339: 259–268.

E

Ebner S., Sharon N., Ben-Tal N. Evolutionary analysis reveals collective properties and specificity in the C-type lectin and lectin-like domain superfamily. *Proteins* 2003; 53: 44–55.

Edelblum KL., Turner JR. Epithelial Cells: Structure, Transport, and Barrier Function. Pp. 187-210. In: **Mestecky J., Strober W., Russel MW., Kelsall BL., Cheroutre H., Lambrecht BN.** (dir.). Mucosal Immunology. Fourth edition. Elsevier, Amsterdam 2015, 2247 pp.

Ehrenberg M. Structure and function of the ribosome. *The royal Swedish academy of sciences* 2009: 1-24.

Enkhbayar P., Kamiya M., Osaki M., Matsumoto T., Matsushima N. Structural principles of leucine-rich repeat (LRR) proteins. *Proteins* 2004 ; 54 : 394-403.

Errico A., Ballabio A., Rugarli E.I. Spastin, the protein mutated in autosomal dominant hereditary spastic paraplegia, is involved in microtubule dynamics. *Human Molecular Genetics* 2002; 11: 153–163.

Evans R.M. The nuclear receptor superfamily: a rosetta stone for physiology. *Molecular Endocrinology* 2005; 19: 1429-1438.

F

Fan X., Jin T. Structures of RIG-I-like receptors and insights into viral RNA sensing. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2019; 1172: 157–188.

Fan Y., Li C., Peng X., Jiang N., Hu L., Gu L., Zhu G., Zhao G., Lin J. Perillaldehyde ameliorates Aspergillus fumigatus keratitis by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway and inhibiting Dectin-1-mediated inflammation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2020; 61(6): 51.

Farese R.V, Sajan M.P, Standaert M.L. Insulin-sensitive protein kinases (atypical protein kinase C and protein kinase B/Akt): actions and defects in obesity and type II diabetes. Experimental Biology and Medicine (Maywood) 2005; 230(9): 593-605.

Favro C., Nicolle F. Biologie cellulaire, "La PAES en fiches". Edition Hachette livre. Paris-France 2011, 342p.

Fawcett D.W. Chaper 8 : Lysosomes. In: Fawcett DW, ed. The Cell, 2nd ed. W. B. Saunders Company, 1981: 487-510

Federman A.D., Conklin B.R., Schrader K.A., Reed R.R., Bourne H.R. Hormonal stimulation of adenylyl cyclase through Gi-protein ßγ subunits. *Nature* 1992; 356: 159-161

Feng S., Chen T., Lei G., Hou F., Jiang J., Huang Q., Peng Y., Ye C., Hu D.L., Fang R. Absent in melanoma 2 inflammasome is required for host defence against Streptococcus pneumoniae infection. *Innate Immune system* 2019; 25: 412–419.

Fitzgerald K.A., Kagan J.C. Toll-like receptors and the control of immunity. *Cell* 2020; 180: 1044–1066.

Fort P., Vincent S. Transduction du signal mitogène, cytosquelette et petites protéines G: vers un réseau de protéines GAP ? *médecine/sciences* 1 993; 9: 59-65.

Frank R.M. Autoradiographie quantitative de l'amélogénèse en microscopie électronique à l'aide de la proline tritiee chez le chat. *Archives of oral biology* 1970 ; 15 : 569-581.

Fredriksson R., Lagerstrom M.C., Lundin L.G. and Schioth H.B. The G-Protein-Coupled Receptors in the Human Genome Form Five Main Families. Phylogenetic Analysis, Paralogon Groups, and Fingerprints. *Molecular Pharmacology* 2003; 63: 1256-1272.

Fredriksson R., Schiöth H.B. The repertoire of G-protein-coupled receptors in fully sequenced genomes. *Molecular Pharmacol*ogy 2005; 67(5): 1414–1425.

Ferguson S.S. Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacological Reviews* 2001; 53: 1-24

Fritz J.H. Ferrero R.L., Philpott D.J., Girardin S.E. Nod-like proteins in immunity, inflammation, and disease. *Nature Immunology* 2006; 7: 1250–1257.

Futerman A.H., Riezman H. The ins and outs of sphingolipid synthesis. (2005). *Trends in Cell Biology* 2005; 15: 312-318.

G

Gaignard P. Métabolisme mitochondrial cérébral chez les mâles et les femelles : rôle des stéroides endogènes et effet de la progestérone après ischémie transitoire focale. Doctorant en Biochimie. Université Paris sud, France 2015.

Galland F., Birnbaum D. Le proto-oncogène mcf2/dbl et les facteurs d'échange GDP/GTP. *Médecine/Sciences* 1992; 8: 819-826.

Galzi J.L., Changeux J.P. Neuronal nicotinic receptors: molecular organization and regulations. *Neuropharmacology* 1995; 34 (6): 563–582.

Gao D., Li W. Structures and recognition modes of Toll-like receptors. *Proteins* 2017; 85: 3-9.

Garnotel R. Biochimie du lysosome : Place des cibles thérapeutiques. *Annale de Biologie Clinique* 2006; 64: 590-592.

Gay N.J., Gangloff M. Structure and function of Toll receptors andtheir ligands. *Annual Review of Biochemistry* 2007; 76: 141–165.

Gee P., Chua P.K., Gevorkyan J., Klumpp K., Najera I., Swinney D.C. Deval J. Essential role of the N-terminal domain in the regulation of RIG-I ATPase activity. *Journal of Biological Chemistry* 2008; 283: 9488-9496.

Gershlak J.R., Resnikoff J.I.N., Sullivan K.E., Williams C., Wang R.M., Black L.D. Mesenchymal stem cells ability to generate traction stress in response to substrate stiffness is modulated by the changing extracellular matrix composition of the heart during development. *Biochemical Biophysical Research Communications* 2013; 439: 161–166.

Ghaemmaghami S., Huh W.K., Bower K., Howson R.W. Belle A., Dephoure N., O'Shea E.K. Weissman J.S. Global analysis of protein expression in yeast. *Nature* 2003; 425: 737-741.

Ghosh P., Dahms N.M., Kornfeld S. Mannose-6-phosphate receptors: new twists in the tail. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2003; 4: 202-212.

Giguère V. Les récepteurs nucléaires orphelins : régulateurs essentiels du développement, de l'organogenèse et de l'homéostasie. *Médecine/Sciences* 1997; 13: 459-466.

Giguere V. Orphan nuclear receptors: from gene to function. *Endocrinology Review* 1999; 20: 689-725

Gilbert P.M., Havenstrite K.L., Magnusson K.E.G., Sacco A., Leonardi N.A., Kraft P., Nguyen N.K., Thrun S., Lutolf M.P., Blau H.M. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science* 2010; 329: 1078–1081.

Gill S.R., Schroer T.A., Szilak I., Steuer E.R., Sheetz M.P., Cleveland D.W., Dynactin, a conserved, ubiquitously expressed component of an activator of vesicle motility mediated by cytoplasmic dynein. *Journal of Cell Biology* 1991; 115: 1639–1650

Giraud J., Fatou M., Dellis O. EGFR, régénération et carcinogenèse hépatique : quelle responsabilité ? *Médecine/Sciences* 2016; 32(8): 710-713.

Glass C.K. Differential recognition of target genes by nuclear receptors monomers, dimers, and heterodimers. *Endocrinology Reviews* 1994; 15: 391-407.

Goldstein L.S., Philp A.V. The road less traveled: emerging principles of kinesin motor utilization. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 1999; 15: 141–183.

Gonczy P. Towards a molecular architecture of centriole assembly. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2012; 13: 425-435.

Gorlich D., Prehn S., Hartmann E., Kalies K.U. Rapoport T.A. A mammalian homolog of SEC61p and SECYp is associated with ribosomes and nascent polypeptides during translocation. *Cell* 1992; 71(3): 489-503

Gorlich D., Rapoport T. A. Protein translocation into proteoliposomes reconstituted from purified components of the endoplasmic reticulum membrane. *Cell 1993*; 75(4): 615-630.

Gow N.A. Netea M.G., Munro C.A., Ferwerda G., Bates S., Mora-Montes H.M., Walker L., Jansen T., Jacobs L., Tsoni V., Brown G.D., Odds F.C., Van der Meer J.W.M. Brown A.J.P., Kullberg B.J. Immune recognition of Candida albicans beta-glucan by dectin-1. *J. Infect. Dis.* 2007; 196: 1565–1571.

Graham T.R. Flippases and vesicle-mediated protein transport. *Trends Cell Biology* 2004; 14(12): 670-677.

Gronemeyer H., Laudet V. Transcription factors 3: nuclear receptors. *Protein Profile* 1995; 2: 1173-1308.

Gross D.N., Wan M, Birnbaum M.J. The role of FOXO in the regulation of metabolism. *Current Diabetes Reports* 2009; 9(3): 208-14.

Guiochon-Mantel A., Milgrom E. Cytoplasmic-nuclear trafficking of steroid hormone receptors. Trends in endocrinology and metabolism. *Trends Endocrinology Metabolism* 1993; 4: 322-328.

H

Halpain S., Dehmelt L. The MAP1 family of microtubule-associated proteins. *Genome Biology* 2006; 7: 224.

Hamman B. D., Hendershot L.M., Johnson A.E. BiP maintains the permeability barrier of the ER membrane by sealing the lumenal end of the translocon pore before and early in translocation. *Cell* 1998; 92(6): 747-758.

Hardcastle I.R. Protein-protein interaction inhibitors in cancer. *Comprehensive Medicinal Chemistry* III 2017; 154-201.

Hendrickson L.M., Guildford M.J., Tapper A.R. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: common molecular substrates of nicotine and alcohol dependence. *Frontiers in Psychiatry* 2013; 4: 1-17.

Héroux M. Assemblage oligomérique des récepteurs couplés aux protéines G avec les RAMPs. Thèse de doctorat en Biochimie. Faculté de Médecine. Université de Montréal-Canada, 2009 : 272p.

Hershko A., Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annual Review Biochemistry* 1998; 67: 425- 79.

Hicke L., Schubert H.L., Hill C.P. Ubiquitin-binding domains. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005; 6(8): 610-621

Hill S.J. G-protein-coupled receptors: past, present and future. *British Journal of Pharmacology* 2006; 147 (1): S27–S37.

Holthuis J.C.M., Levine T.P. Lipid traffic: floppy drives and a superhighway. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005; 6(3): 209-220.

Hoppe T. Multiubiquitylation by E4 enzymes: 'One size' doesn't fit all. *Trends in biochemical sciences* 2005; 30(4): 183-18

Horn F., Weare J., Beukers M.W., Horsch S., Bairoch A., Chen W., Edvardsen O., Campagne F., and Vriend G. GPCRDB: an Information System for G Protein-Coupled Receptors. *Nucleic Acids Research* 1998; 26: 275-279.

Horton J.D, Goldstein J.L, Brown M.S. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *Journal of Clinical Investigation* 2002; 109(9): 1125-31.

Hou Y., Azpiazu I., Smrcka A., Gautam N. Selective role of G protein γ subunits in receptor interaction. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275: 38961-38964

Howe A., Aplin A.E., Alahari S.K., Juliano R.L. Integrin signaling and cell growth control. *Current Opinion in Cell Biology* 1998; 10: 220–231.

Hu Z., Yan C., Liu P., Huang Z., Ma R., Zhang C., Wang R., Zhang Y., Martinon F., Miao D., Deng H., Wang J., Chang J., Chai J. Crystal structure of NLRC4 reveals its autoinhibition mechanism. *Science* 2013; 341:172-175.

Humphries M.J. Integrin activation: the link between ligand binding and signal transduction. *Current Opinion in Cell Biology* 1996; 8: 632–640.

Hwang H.J., Jang H.J., Cocco L., Suh P.G., The regulation of insulin secretion via phosphoinositide-specific phospholipase CB signaling. *Advances in Biological Regulation* 2019; 71: 10-18.

I

Ikeda S.R. Voltage-dependent modulation of N-type calcium channels by G-protein ßγ subunits. *Nature* 1996; 380: 255-258

Improgo M.R, Tapper A.R, Gardner P.D. Nicotinic acetylcholine receptor-mediated mechanisms in lung cancer. *Biochemical Pharmacology* 2011; 82 (8): 1015–1021.

Inatsugi R., Nakamura M., Nishida I. Phosphatidylcholine biosynthesis at low temperature: differential expression of CTP: phosphorylcholine cytidylyl transferase isogenes in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiology* 2002; 43: 21342-1350.

Inohara N., Nuñez G. NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nature Reviews Immunology* 2003; 3: 371-382.

Inoue K., Arai H., Aoki J. Phospholipase A1 Structures, Physiological and Pathophysiological Roles in Mammals. 2005; 23-39.

Iozzo R.V., Schaefer L. Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. Matrix Biology 2015; 42: 11–55.

J

Jiang F., Ramanthan A., Miller M.T., Tang G.Q., Gale M., Patel S.S. Marcotrigiano J. Structural basis of RNA recognition and activation by innate immune receptor RIG-I. *Nature* 2011; 479: 423-427.

Johnson A. E., van Waes M. A. The translocon: a dynamic gateway at the ER membrane. *Annual Review of Cell Developmental Biology* 1999; 15: 799-842.

K

Kadamur G., Ross E.M. Mammalian phospholipase C. *Annual Review of Physiology* 2013; 75: 127-154

Kadler K.E., Baldock C., Bella J., Boot-Handford R.P. Collagens at a glance. *Journal of Cell Science* 2007; 120: 1955–1958.

Kam Y.A., Xu W., Demartino G.N., Cohen R.E. Editing of ubiquitin conjugates by an isopeptidase In the 26S proteasome. *Nature* 1997; 385: 737-740

Kanakaraj P., Duckworth B., Azzoni L., Kamoun M., Cantley LC., Perussia B. Phosphatidylinositol-3 kinase activation induced upon Fc gamma RIIIA-ligand interaction. *Journal of Experimental Medicine* 1994; 179: 551-558.

Kardon J.R., Vale R.D. Regulators of the cytoplasmic dynein motor. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2009;10: 854–865.

Karki S., Holzbaur E.L. Cytoplasmic dynein and dynactin in cell division and intracellular transport. *Current Opinion in Cell Biology* 1999; 11: 45–53.

Katz A., Wu D., Simon M.I. Subunits ßγ of heterotrimeric G protein activate ß2 isoform of phospholipase C. *Nature* 1992 ; 360 : 686-9

Kawai T., Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology* 2010; 11: 373–384.

Kiener P.A., Rankin B.M., Burkhardt A.L., Schieven G.L. Gilliland L.K. Rowley R.B. Bolen J.B. Ledbetter J.A. Cross-linking of Fc gamma receptor I (Fc gamma RI) and receptor II (Fc gamma RII) on monocytic cells activates a signal transduction pathway common to both Fc receptors that involves the stimulation of p72 Syk protein tyrosine kinase. *Journal of Biological Chemistry* 1993; 268: 24442-24448.

Kim D., Lewis D.L., Graziadei L., Neer E.J., Bar-Sagi D., Clapham D.E. G-protein ßγ subunits activate the cardiac muscarinic K+-channel via phospholipase A2. *Nature* 1989; 337: 557-60

Kim Y.K., Shin J.S. Nahm M.H. NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases. *Yonsei Medical Journal* 2016; 57: 5-14.

Kinney A.J. Phospholipid head groups. In Lipid metabolism in plants. Ed. T.S. Moore. Boca Raton. CRC Press. 1993, 259-284

Kobilka B.K. G protein-coupled receptor structure and activation. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007;1768(4):794–807.

Kotzki P.O. Mécanique des fluides-Circulation-Transports membranaires. Sauramps médical, Montpellier-France. 2011, 238p.

Kubota N., Kubota T., Kajiwara E., Iwamura T., Kumagai H., Watanabe T., Inoue M., Takamoto I., Sasako T., Kumagai K., Kohjima M., Nakamuta M., Moroi M., Sugi K., Noda T., Terauchi Y., Ueki K., Ka-dowaki T. Differential hepatic distribution of insulin receptor substrates causes selective insulin resistance in diabetes and obesity. *Nature Communications* 2016;7:12977.

Kuglstatter A., Oubridge C., Nagai K. Induced structural changes of 7SL RNA during the assembly of human signal recognition particle. *Nature Structural Biology* 2002; 9(10): 740-744.

Kumagai ak., Hanada K. Structure, function and regulation of CERT, a lipid-transfer protein for the delivery of ceramide at the ER-Golgi membrane contact sites. FEBS Letters 2019; 593:2366-2377.

Kumar H., Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009; 388: 621–625.

Kurosaki T., Takata M., Yamanashi Y., Inazu T., Taniguchi T., Yamamoto T., Yamamura H. Syk activation by the Src-family tyrosine kinase in the B cell receptor signaling. *Journal of Experimental Medicine* 1994; 179: 1725-1929.

Kwon S.W., Ahn A., Chung Y. Biological meaning of the histo-blood group antigens composed of sugar chains. *The Korean Journal of Blood Transfusion* 2015; 26(2): 103-122.

L

Lacagnina M.J., Watkins L.R., Grace P.M. Toll-like receptors and their role in persistent pain. *Pharmacology and Therapeutics* 2018; 184: 145–158.

Lacroix B., van Dijk J., Gold N.D., Guizetti J., Aldrian-Herrada G., Rogowski K., Gerlich D.W., Janke C. Tubulin polyglutamylation stimulates spastin-mediated microtubule severing. *Journal of Cell Biology* 2010; 189: 945–54.

Lan T., Li Z., Peng M., Niu D., Li Y., Li J. A four-CRD C-type lectin from razor clam Sinonovacula constricta mediates agglutination and phagocytosis. *Gene* 2020 ; 728 : 144287.

Landry Y., Gies J.P., Sick E., Niederhoffer N. Pharmacologie "Des cibles à la thérapeutique". 4e édition. Dunod, Collection Science-SUP. 2019: 508p.

Larsen M. Cell and fibronectin dynamics during branching morphogenesis. *Journal of Cell Science* 2006; 119: 3376–3384.

Lässig C., Hopfner K.P. RIG-I-like receptors: one STrEP forward. *Trends in Microbiology* 2016; 24: 517–519.

Lässig C., et Hopfner K.P. Discrimination of cytosolic self and non-self RNA by RIG-I-like receptors. *Journal of Biological Chemistry* 2017; 292: 9000–9009.

Lavoie H., Therrien M. Regulation of RAF protein kinases in ERK signaling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2015; 16: 281–298

Lavoinne A., Bekri S. Aide-mémoire de biochimie et biologie moléculaire. 6e édition. Flammarion médecine-sciences, Paris. 2008, 187p.

Lefrancois S., Zeng J., Hassan A.J., Canuel M., Morales C.R. The lysosomal trafficking of sphingolipid activator proteins (SAPs) is mediated by sortilin. *The EMBO Journal* 2003; 22: 6430-6437.

Le H.T., Harton J.A. Pyrin- and CARD-only proteins as regulators of NLR functions. *Frontiers in Immunology* 2013; 4: 275

Lemmon M.A. Pleckstrin homology (PH) domains and phosphoinositides. *Biochemical Society Symposia* 2007; (74): 81-93.

Lepenies B., Lee J. Sonkaria S. Targeting C-type lectin receptors with multivalent carbohydrate ligands. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2013; 65: 1271–1281.

Leung D.W., Amarasinghe G.K. Structural insights into RNA recognition and activation of RIG-I-like receptors. *Current Opinion in Structural Biology* 2012; 22: 297–303.

Lewkowicz E., Herit F., Le Clainche C., Bourdoncle P., Perez F., Niedergang F. The microtubule-binding protein CLIP-170 coordinates mDia1 and actin reorganization during CR3-mediated phagocytosis. *Journal of Cell Biology* 2008; 183: 1287-1298.

Li D., Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. Signal transduction and targeted therapy 2021; 6: 291-315

Lièvre A. Oncogène RAS. *La lettre du Cancérologue* 2015 ; 24(6) : 308-311.

Lin C.C., Wieteska L., Suen K.M., Kalverda A.P., Zamal A., Ladbury J.E. Grb2 binding induces phosphorylation-independent activation of Shp2. *Nature* 2021; 437 (4): 1-35.

Liu B.Y., Li P., Yang G.L. The Immunomodulatory Role of C-type Lectin Receptors in Parasitic Infection. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases* 2015; 33: 228–232.

Liu Y.S., Hu R. Role of absent in melanoma 2 in development of inflammation, immunity and cancer. *Pharmaceutical Biotechnolgy* 2018; 25: 354-358.

Llanos C., Mackern-Oberti J.P., Vega F., Jacobelli S.H., Kalergis A.M. Tolerogenic dendritic cells as a therapy for treating lupus. *Clinical Immunology* 2013; 148: 237–245.

Lodish H., Berk A., Kaiser C., Krieger M., Bretscher A., Ploegh H., Amon A., Martin K.C. Molecular cell biology. 8e edition. W.H. Freeman, New York USA. 2016, 1280p.

Lomakin A.J., Semenova I., Zaliapin I., Kraikivski P., Nadezhdina E., Slepchenko B.M., Akhmanova A., Rodionov V. CLIP-170-dependent capture of membrane organelles by microtubules initiates minus-end directed transport. *Developmental Cell* 2009; 17: 323-333.

Lombès M. Biochimie des hormones et mécanisme d'action : récepteurs nucléaires. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Endocrinologie-Nutrition, 10-001-D-10, 2010.

Luduena R.F. Multiple forms of tubulin: different gene products and covalent modifications. *International Review of Cytology* 1998; 178: 207–275.

Lüllmann-rauch R., Asan E. Taschenlehrbuch histologie. 6e édition. Thieme Georg Verlag, Stuttgart-German, 2019.

Luo D., Ding S.C., Vela A., Kohlway A., Lindenbach B.D., Pyle A.M. Structural insights into RNA recognition by RIG-I. *Cell* 2011; 147:409-422.

Luo J., Taylor P., Losen M., de Baets M.H., Shelton G.D., Lindstrom J. Main immunogenic region structure promotes binding of conformation-dependent myasthenia gravis autoantibodies, nicotinic acetylcholine receptor conformation maturation, and agonist sensitivity. *Journal of Neuroscience* 2009; 29 (44): 13898–908.

Luttrell L.M., Daaka Y., Della Rocca G.J., Lefkowitz R.J. G protein-coupled receptors mediate two functionally distinct pathways of tyrosine phosphorylation in rat 1a fibroblasts. Shc phosphorylation and receptor endocytosis correlate with activation of Erk kinases. *Journal of Biological Chemistry* 1997; 272: 31648-316456

M

Macé K., Giudice E., Gillet R. La synthèse des protéines par le ribosome Un chemin semé d'embûches. *Médecine/Science* 2015; 31(3): 282-290.

Madoui-Dekar A., Benzine-Challam H. L'essentiel en biologie cellulaire. Office des publications universitaire. Alger-Algérie, 225p

Maillet M. Biologie Cellulaire, abrégés. 9ème édition, Masson. Paris-France, 2002.

Maire I. Le système lysosomial dans la protéolyse : panorama des maladies lysosomiales. *Bulletin de l'académie national de médecine* 2012; 196(8): 1561-1574.

Maltais A. Analyse structurale et fonctionnelle du récepteur nucléaire orphelin noir-1 et inactivation du gène chez la souris. Thèse de doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université Laval, Québec 2006, 221p.

Mandelkow E.M., Lange G., Jagla A., Spann U., Mandelkow E., Dynamics of the microtubule oscillator: role of nucleotides and tubulin-MAP interactions. *European Molecular Biology Organisation Journal* 1988; 7: 357- 365.

Man S.M., Karki R., Kanneganti T.D. AIM2 inflammasome in infection, cancer, and autoimmunity: role in DNA sensing, inflammation, and innate immunity. *European Journal of Immunology* 2016; 46: 269-280.

Mangelsdorf D.J., Evans R.M. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell* 1995; 83: 841-850

Mangiarotti G., Chiaberge S. Reconstitution of functional eukaryotic ribosomes from Dictyostelium discoideum ribosomal proteins and RNA. *Journal of Biological Chemistry* 1997; 272: 19682– 19687.

Margolis B., Skolnik E.Y. Activation of Ras by receptor tyrosine kinases. *Journal of the American Society of Nephrology* 1994; 5: 1288–1299.

Margolis R.L., Wilson L. Opposite end assembly and disassembly of microtubules at steady state in vitro. *Cell* 1978;13: 1-8.

Marieb E.N., Hoehn K. Human anatomy & physiology, 9th ed. Pearson, Boston. 2013

Marinissen M.J., Gutkind J.S. G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends in pharmacological sciences* 2001; 22(7): 368-376.

Martoglio B., Dobberstein B. Signal sequences: more than just greasy peptides. *Trends in Cell Biology* 1998; 8(10): 410-415.

Mather A., Pollock C. Renal glucose transporters: novel targets for hyperglycemia management. *Nature Reviews Nephrology* 2010; 6: 307-311.

Matsushima N., Tanaka T., Enkhbayar P., Mikami T., Taga M., Yamada K., Kuroki Y. Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors. *BMC Genomics* 2007; 8: 124

Mazières J., Pradines A., Favre G. Les inhibiteurs de farnésyl transférase : une cible peut en cacher une autre. Médecine/Sciences 2003 ; 19(2) : 211-216.

McCudden C.R., Hains M.D., Kimple R.J., Siderovski D.P., Willard F.S. G-protein signaling: back to the future. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2005; 62: 551-577.

McIntosh B.B, Ostap EM. Myosin-I molecular motors at a glance. *Journal of Cell Science* 2016; 129: 2689–2695.

McKee K.K., Capizzi S., Yurchenco P.D. Scaffold-forming and Adhesive Contributions of Synthetic Laminin-binding Proteins to Basement Membrane Assembly. *Journal of Biological Chemistry* 2009; 284: 8984–8994.

McKnight C. J., Stradley S. J., Jones J.D., Gierasch L.M. Conformational and membrane-binding properties of a signal sequence are largely unaltered by its adjacent mature region." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1991; 88(13): 5799-803.

McNally F.J., Vale R.D. Identification of katanin, an ATPase that severs and disassembles stable microtubules. *Cell* 1993; 75: 419-429.

Medina I., Krapivinsky G., Arnold S., Kovoor P., Krapivinsky L., Clapham D.E. A switch mechanism for Gßγ activation of I(KACh). *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275: 29709-297016

Ménétrey J., Bahloul A., Houdusse A. Une myosine à contre-sens. *Médecine/Sciences* 2006; 22(2): 120-122

Meunier E., Broz P. Evolutionary convergence and divergence in NLR function and structure. *Trends in Immunology* 2017; 38: 744–757.

Meyer-Schwesinger C. Lysosome function in glomerular health and disease. *Cell and Tissue Research* 2021; 385; 371-392

Mitchison T., Kirschner M. Dynamic instability of microtubule growth. *Nature* 1984; 312: 237-242.

Miyazawa A., Fujiyoshi Y., Stowell M., Unwin N. Nicotinic acetylcholine receptor at 4.6 A resolution: transverse tunnels in the channel wall. *Journal of Molecular Biology* 1999; 288 (4): 765–786.

Moore B., Seroussi G., Jochim B. Explorer de nouveaux domaines SH2/SH3. *Médecine/Sciences Dossier technique* 1993; 9:788-790.

Moremen K.W., Tiemeyer M., Nairn A.V. Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2012; 13: 448–462.

Mukhopadhyay D., Riezman H. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science* 2007; 315(5809): 201-205

Mulot A. Identification et caractérisation de la protéine Anterior Gradient 2 (AGR2) dans le système de surveillance du repliement des protéines dans le réticulum endoplasmique. Thèse de Doctorat en Biologie cellulaire et physiopathologie. Université Bordeaux 2, 2010.

N

Nash P. SH domains. Brenner's Encyclopedia of Genetics, 2nd edition. Elsevier. 2013, 419p.

Netea M.G., Van Deuren M., Kullberg B.J., Cavaillon J.M., Van der Meer J.W. Does the shape of lipid A determine the interaction of LPS with Toll-like receptors? *Trends in Immunology* 2002; 23: 135-139.

Ni X, Morales C.R. The lysosomal trafficking of acid sphingomyelinase is mediated by sortilin and mannose 6-phosphate receptor. *Traffic* 2006; 7: 889-902

Nijman S.M., Luna-Vargas M.P., Velds A., Brummelkamp T.R., Dirac A.M., Sixma T.K., Bernards R. A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes. *Cell* 2005 ; 123(5) : 773-786

Ning Y.Y., Yuan X.Y., Shan L., Song L.X. Research progress on role of C-type lectin receptors in tumor immunotherapy. *Chinese Journal of Immunology* 2019; 35: 1139-1142.

Noble C.G, Song H. Structural studies of elongation and release factors. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2008 ; 65 : 1335–1346.

O

Oldham W.M., Hamm H.E. Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2008; 9: 60-71.

P

Palade G. Intracellular aspects of the process of protein synthesis. *Science* 1975; 189; 347- 358.

Panda D., Miller H.P., Wilson L. Rapid treadmilling of brain microtubules free of microtubule-associated proteins in vitro and its suppression by tau. *Proceeding of the National Academy of Sciences* 1999; 96: 12459–12464.

Parent M., Dupuis F., Maincent P., Vigneron C., Leroy P., Boudier A. Quel avenir en thérapeutique cardiovasculaire pour le monoxyde d'azote et ses dérivés? *Annales pharmaceutiques Françaises* 2013; 71: 84-94.

Patel J.R. Jain A., Chou Y.Y. Baum A., Ha T., Garcia-Sastre A. ATPase-driven oligomerization of RIG-I on RNA allows optimal activation of type-I interferon. *EMBO Reports.* 2013; 14 (9): 780–787.

Pawson T., Gish G.D., Nash P. SH2 domains, interaction modules and cellular wiring. Trends in Cell Biology 2001; 11: 504-511

Perez D.M., Karnik S.S. Multiple signaling states of G-protein-coupled receptors. *Pharmacological Reviews* 2005; 57: 147-161

Perrin A. Caenorhabditis elegans un modèle d'étude des différents compartiments du noyau : de l'étude d'un stress du nucléole par inhibition de la voie de neddylation à la mesure de la compaction de la chromatine in vivo. These de doctorat en Sciences agricoles. Université Montpellier- France, 2018.

Perry R.J., Ridgway N.D. Molecular mechanisms and regulation of ceramide transport. *Biochimica et Biophysica Acta* 2015; 1734: 220-234.

Petersen M.C., Shulman G.I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews* 2018; 98: 2133–2223.

Petit J.M., Arico S., Julien R. Mini manuel de biologie cellulaire : cours, QCM et QROC. Edition Dumond 2008.

Pickart C.M., Fushman D. Polyubiquitin chains: polymeric protein signals. *Current opinion in chemical biology* 2004; 8(6): 610-616

Pratt W.B., Galigniana M.D., Harrell J.M., DeFranco D.B. Role of hsp90 and the hsp90-binding immunophilins in signalling protein movement. *Cell Signal* 2004; 16: 857-872.

Probst W.C., Snyder L.A., Schuster D.I., Brosius J., Sealfon S.C. Sequence alignment of the G-protein coupled receptor superfamily. *DNA and Cell Biology* 1992;11(1): 1–20.

Q

Qiang L., Yu W., Andreadis A., Luo M., Baas P.W. Tau protects microtubules in the axon from severing by katanin. *Journal of Neuroscience* 2006; 26: 3120–3129.

R

Racké K., Matthiesen S. The airway cholinergic system : physiology and pharmacology. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 2004; 17 (4): 181–198.

Raška I., Shaw P.J., Cmarko D. Structure and function of the nucleolus in the spotlight. *Current. Opinion in Cell Biology* 2006; 18: 325-334.

Ravid T., Hochstrasser M. Diversity of degradation signals in the ubiquitin-proteasome system. *Nature Reviews Molecularar Cell Biology* 2008; 9(9): 679-690

Razani B., Woodman S.E., Lisanti M. P. Caveolae : from cell biology to animal physiology. *Pharmacology Reviews* 2002 ; 54(3):431–467

Reczek D., Schwake M., Schröder J., Hughes H., Blanz J., Jin X., Brondyk W., van Patten S. Edmunds T., Safting P. LIMP-2 is a receptor for lysosomal mannose-6-phosphate-independent targeting of beta-glucocerebrosidase. *Cell* 2007; 131: 770–83.

Reth M. Antigen receptor tail clue. *Nature* 1989; 338: 383-384.

Reynders E., Foulquier F., Annaert W., Matthijs G. How Golgi glycosylation meets and needs trafficking: the case of the COG complex. *Glycobiology* 2011; 21: 853–863.

Riviere C. Les colloïdes magnétiques et leur utilisation biophysique dans la détection, le guidage et le suivi cellulaire in vitro et in vivo. Thèse de Doctorat en Biophysique. Université Pierre et Marie curie-Paris, France . 2006, 277p.

Robert J. Signalisation cellulaire et cancer. *Bulletin du Cancer* 2010 ; 97(11) :1215-1222.

Roberts P.J., Der C.J. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007; 26: 3291–3310.

Robinson M.J., Sancho D., Slack E.C. Myeloid C-type lectins in innate immunity. *Nature Immunology* 2006; 7: 1258-1265.

Robinson-Rechavi M., Escriva Garcia H., Laudet V. The nuclear receptor superfamily. *Journal Cell Science* 2003; 116: 585-586.

Robishaw J.D., Berlot C.H. Translating G protein subunit diversity into functional specificity. *Current Opinion in Cell Biology* 2004; 16: 206-209.

Rodnina M.V., Beringer M., Wintermeyer W. How ribosomes make peptide bonds. *Trends in biochemical sciences* 2007; 32: 20-26

Roland J.C., Callen J.C. Atlas de biologie cellulaire. 6e édition. Dunod, Paris-France 2007, 160p

Ronen D., Ravid S. Myosin II Tailpiece Determines its paracrystal structure, filament assembly properties, and cellular localization. *Molecular basis of cell and developmental biology* 2009; 284(37): 24948-24957.

Rowley N., Prip-Buus C., Westermann B., Brown C., Schwarz E., Barrell B., Neupert W. Mdj1p, a novel chaperone of the Dnaj family, is involved in mitochondrial biogenesis and protein folding. *Cell* 1994; 77(2): 249-259.

Ruddock L.W., Molinari M. N-glycan processing in ER quality control. *Journal of Cell Science* 2006; 119: 4373–4380.

S

Saftig P., Klumpermann J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins : trafficking meets function. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 2009; 10: 623-635

Saidi A. Cytosquelette et contraction musculaire. Cours de biochimie cellulaire et fonctionnelle. Université Med-kheider Biskra, Algérie 2020.

Saijo S. Fujikado N., Furuta T., Chung S.H., Kotaki H., Seki K., Sudo K., Akira S., Adachi Y., Ohno N., Kinjo T., Nakamura K., Kawakami K., Iwakura Y. Dectin-1 is required for host defense against Pneumocystis carinii but not against Candida albicans. *Nature Immunology* 2007; 8(1): 39-46.

Saito T., Hirai R., Loo Y.M., Owen D., Johnson C.L., Sinha S.C., Akira S., Fujita T., Gale M. Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2007: 104: 582-587.

Sancho D., Reis e Sousa C. Signaling by myeloid C-type lectin receptors in immunity and homeostasis. *Annual Review of Immunology* 2012; 30: 491–529.

Santoleri D, Titchenell P.M. Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology* 2019; 7(2): 447-456.

Schioth H.B., Fredriksson R. The GRAFS Classification System of G-Protein Coupled Receptors in Comparative Perspective. *General and Comparative Endocrinology* 2005; 142: 94-101.

Schuller H.M. Is cancer triggered by altered signalling of nicotinic acetylcholine receptors ? *Nature Reviews Cancer* 2009; 9(3): 195–205.

Scott J.D., Langeberg L.K. Signalling scaffolds and local organization of cellular behaviour. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2015; 16(4): 232-244

Segarra J., Chauvet É., Colson-Proch C., Huille M., Labrousse M., Louet F., Metz F., Pièrre E. Biologie BCPST 1re année. Ellipses, Paris. 2014

Shekarian T., Valsesia-Wittmann S., Brody J., Michallet M.C., Depil S., Caux C., Marabelle A. Pattern recognition receptors : immune targets to enhance cancer immunotherapy. *Annals of oncology* 2017; 28: 1756-1766.

Shenoy S.K., Lefkowitz R.J. Multifaceted roles of beta-arrestins in the regulation of sevenmembrane-spanning receptor trafficking and signaling. *Biochemical Journal* 2003 ; 375(3): 503-515.

Spinazzi M., Casarin A., Pertegato V., Salviati L., Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nature protpcols* 2012 ; 7(6) : 1235-1346.

Steele C., Marrero L., Swain S., Harmsen A.G., Zheng M., Brown G.D., Gordon S., Shellito J.E., Kolls J.K. Alveolar macrophage-mediated killing of Pneumocystis carinii f. sp. muris involves molecular recognition by the Dectin-1 beta-glucan receptor. *Journal of Experimental Medicine* 2003; 198: 1677-1688.

T

Takeda K., Akira, S. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology* 2005; 17: 1–14.

Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140: 805–820.

Tamanoi F., Tetlow A.L. Chapter one-the Ras superfamily G-proteins. *The Enzymes* 2013; 33: 1-14.

Taniguchi N., Honke K., Fukuda M., Handbook of glycosyltransferases and related genes.Tokyo: Springer, 2014: 1–477.

Tasseva G., Richard, L., Zachowski, A. Regulation of phosphatidylcholine biosynthesis under salt stress involves choline kinase in Arabidopsis thaliana. *FEBS Letters* 2004; 566: 115-120.

Taylor P.R., Tsoni S.V., Willment J.A., Dennehy K.M., Rosas M., Findon H., Haynes K., Steele C., Botto M., Gordon S., Brown G.D. Dectin-1 is required for beta-glucan recognition and control of fungal infection. *Nature Immunology* 2007; 8(1): 31-38.

Taylor S.S. La protéine kinase AMPc-dépendante et la régulation des signaux cellulaires par phosphorylation des protéines, *La lettre du Collège de France* [En ligne], 2010, consulté le 25 novembre 2023. URL : http://journals.openedition.org/lettre-cdf/829 ; DOI : https://doi.org/10.4000/lettre-cdf.829

Termeer C., Benedix F., Sleeman J., Et A. Oligosaccharides of Hyaluronan activate dendritic cells via toll-like receptor 4. *Journal of Experimental Medicine* 2002; 195: 99–111.

Teyssier P. Mécanismes d'adressage et de rétention de la triadine à la triade au sein du muscle squelettique. Thèse de doctorat en Biologie cellulaire. Université Grenoble Alpes-France, 2019.

Thany S.H., Lenaers, G., Raymond-Delpech V., Sattelle D.B., and Lapied B. Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 2007; 28: 14-22

Tokarz V.L, MacDonald P.E, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *Journal of Cell Biology* 2018; 217(7):2273-2289.

Trinczek B., Biernat J., Baumann K., Mandelkow E.M., Mandelkow E. Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. *Molecular Biology of the Cell*1995; 6: 1887–1902.

Tsetlin V., Kuzmin D., Kasheverov I. Assembly of nicotinic and other Cys-loop receptors. *Journal of Neurochemistry* 2011; 116(5): 734–741.

Tubiana M. Généralités sur la cancérogenèse. *Comptes Rendus Biologies* 2008; 331: 114-125

Tyler DD. The mitochondrion in health and disease. (ed) VCH.1992.

U

Uphoff A., Hermansson M., Haimi P., Somerharju P. Analysis of complex lipidomes. In Vékey K., Telekes A., Vertes A (Eds), *Medical Applications of Mass Spectrometry* 2007; 223-249

V

Vajjhala P.R., Ve T., Bentham A., Stacey K.J., Kobe B. The molecular mechanisms of signaling by cooperative assembly formation in innate immunity pathways. *Molecular Immunology* 2017; 86: 23-37.

Van Helvoort A., Smith A.J., Sprong H., Fritzsche I., Schinkel A.H., Borst P., van Meer G. MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell*1996; 87: 507-517.

Vassilatis D.K., Hohmann J.G., Zeng H., Li F., Ranchalis J.E., Mortrud M.T., Brown A., Rodriguez S.S., Weller J.R., Wright A.C., Bergmann J.E. and Gaitanaris G.A. The G Protein-Coupled Receptor Repertoires of Human and Mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 2003; 100: 4903-4908.

Vidal M., Montiel J.L., Cussac D., Tocqué B., Roques B.P., Garbay C. Differential interactions of the growth factor receptor bound protein 2 N-SH3 domaine with son sevenless and dynamin "Potential role in the Ras-dependent signaling pathway". *Cell Biology and Metabolism* 1998; 273(9):5343-5348.

Voges D., Zwickl P., Baumeister W. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annual Review of Biochemistry* 1999; 68: 1015-68.

W

Wagner E.F., Schonthaler H.B., Guinea-Viniegra J., Tschachler E. Psoriasis: what we have learned from mouse models. *Nature Reviews Rheumatology* 2010; 6: 704–714

Waharte F. Dynamique du cytosquelette de la bordure en brosse des entérocytes : étude par FRAP à deux photons. Thèse de Doctorat en Physique des liquides. Université Paris XI-Orsay, 2002, 165p.

Walker R.A., O'Brien E.T., Pryer N.K., Soboeiro M.F., Voter W.A., Erickson H.P., Salmon E.D., Dynamic instability of individual microtubules analyzed by video light microscopy: rate constants and transition frequencies. *Journal of Cell Biology* 1988; 107: 1437-1448.

Walkley S.U. Pathogenic mechanisms in lysosomal disease: a reappraisal of the role of the lysosome. *Acta paediatrica* 2007; 96: 26-32.

Walsh N.M., Wuthrich M., Wang H., Klein B., Hull C.M. Characterization of C type lectins reveals an unexpectedly limited interaction between *Cryptococcus neoformans* spores and Dectin-1. *PLoS ONE* 2017; 12: e0173866.

Wang L., Zhang L., Li S., Zheng Y., Yan X., Chen M., Wang H., Putney J.W., Luo D. Retrograde regulation of STIM1-Orail interaction and store-operated Ca2+ entry by calsequestrin. *Scientific Reports* 1995; 5: 11349.

Wang J., Hu M., Wang J., Qi J., Han Z., Wang G., Qi Y., Wang H.W., Zhou J.M., Chai J. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* 2019; 364 (6435): 5870.

Warnock D.E., Lutz M.S., Blackburn W.A., Young W.W., Baenziger J.U. Transport of newly synthesized glucosylceramide to the plasma membrane by a non-Golgi pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994; 91: 2708-2712.

Wegener A.M., Letourneur F., Hoeveler A., Brocker T., Luton F., Malissen B. The T cell receptor/CD3 complex is composed of at least two autonomous transduction modules. *Cell* 1992; 68: 83-95.

Wild K., Sinning I., Cusack S. Crystal structure of an early protein-RNA assembly complex of the signal recognition particle. *Science* 2001; 294(5542): 598-601.

Wilson D.N., Daudna Cate J.H. The structure and function of the eukaryotic ribosome. *Cold Spring Harb Perspect Biology* 2012; 4: a011536

Winchester B.G. Lysosomal membrane proteins. *European Journal of Paediatric Neurology* 2001; 5A; 11-19.

Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L. Towards a Natural System of organisms: Proposal for the Domains Archaea, Bacteria, and Eucarya, *PNAS*; 1990; 87(12): 4576–4579.

Wright E.M., Hirayama B.A., Loo D.F. Active sugar transport in health and disease. *Journal of Internal Medicine* 2007; 261: 32–43.

X

Xu X.X., Wan H., Nie L., Shao T., Xiang L.X., Shao J.Z. RIG-I: a multifunctional protein beyond a pattern recognition receptor. *Protein Cell* 2018; 9(3): 246-253.

Xu Y., Tao X., Shen B., Horg T., Medzhitov R., Manley J.L., Tong L. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains. *Nature* 2000;408: 111–115.

Y

Yamada S., Brown KE., Yamada K.M. Differential mRNA regulation of integrin subunits alpha V, beta 1, beta 3, and beta 5 during mouse embryonic organogenesis. *Cell Adhesion and Communication* 1995; 3: 311–325.

Yuan K. Zhao G., Che C., Li C., Lin J., Zhu G., He K. Dectin-1 is essential for IL-1β production through JNK activation and apoptosis in Aspergillus fumigatus keratitis. *International Immunopharmacology* 2017; 52: 168–175.

Z

Zaher H.S., Green R. Quality control by the ribosome following peptide bond formation. *Nature* 2009; 457: 161–166.

Zelensky A.N., Gready J.E. Comparative analysis of structural properties of the C-type-lectin-like domain (CTLD). *Proteins* 2003; 52: 466–477.

Zhang Z., Dong X.Q., He S.B. Research advances of absent in melanoma 2 in the development of cancer. *Journal of Postgraduate Medicine* 2017; 30: 542-545.

Zhou M.N., Delaveris C.S., Kramer J.R., Kenkel J.A., Engleman E.G., Bertozzi C.R. N-Carboxyanhydride Polymerization Of Glycopolypeptides That Activate Antigen-presenting Cells Through Dectin-1 and Dectin-2. *Angewandte Chemie International Edition in English* 2018; 57(12): 3137-3142.

Zia S., Ndoye A., Lee T.X., Webber R.J., Grando S.A. Receptor-mediated inhibition of keratinocyte migration by nicotine involves modulations of calcium influx and intracellular concentration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2000; 293 (3): 973–981.

Références webographiques

N°	URL	DATE
WEB 1	https://www.belajaryok.com/2020/09/30-perbedaan-bakteri-gram-positif-dan.html	02.01.2022
WEB 2	http://www.astrosurf.com/luxorion/bacteries-virus.htm	02.01.2022
WEB 3	https://www.projetecolo.com/difference-entre-cellule-animale-et-vegetale-15.html	04.01.2022
WEB 4	https://www.larousse.fr/encyclopedie/images/Protistes/1003084	04.01.2022
WEB 5	https://www.cvmactivity.com/cvma/la-biologie-animale-70.php	04.01.2022
WEB 6	https://scienceexchange.caltech.edu/topics/covid-19-coronavirus-sars-cov-2/what-is-a-virus	04.02.2022
WEB 7	https://www.nicepng.com/maxp/u2e6r5y3u2e6w7q8/	04.01.2022
WEB 8	https://slideplayer.fr/slide/3043163/	04.01.2022
WEB 9	https://phototheque.enseigne.ac-lyon.fr/photossql/photos.php?RollID=images &F rame ID = Coupe_testicule_rat_objx10 consultation	19.06.2022
WEB 10	https://www.researchgate.net/figure/Elements-du-cytosquelette-a-Observation-par-microscopie-de-fluorescence-du_fig3_278827205	19.06.2022
WEB 11	https://www.microscopies.com/DOSSIERS/MIcroscopies/PHOTONIQUE/Le%20Microscope/MODULATEURS/ContrastePhase.htm	19.06.2022
WEB 12	https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-microscope-confocal-7777/	20.06.2022
WEB 13	https://cell.sio2.be/moyens/8.php	24.06.2022
WEB 14	https://www.alamyimages.fr/micrographie-electronique-a-transmission-tem-montrant-plusieurs-cellules-endocrines-de-l-hypophyse-anterieure-la-cellule-transparente-dans-le-centre-est-un-thyrotroph-tsh-c-image335256927.html?imageid=F0660097-7068-433C-9FEC-688107A34322&p=1788705&pn=1& searchId= 8996 cbedbf343112ea0fb5dedd7eb072&searchtype=0	24.06.2022
WEB 15	https://www.microscopies.com/DOSSIERS/PRATIQUES/TPM-3/COUPARAF%20.htm consultation	24.06.2022
WEB 16	https://www.jeol.co.jp/en/words/emterms/search_result.html?keyword=ultramicrotomy	25.06.2022
WEB 17	http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/cytolan_poly-methodes_etude_cellule2017.pdf	25.06.2022
WEB 18	https://www.svt-tanguy-jean.com/uploads/1/2/0/4/120408978/bcpst1-7-membranes.pdf	25.06.2022
WEB 19	https://www.cours-pharmacie.com/biologie-cellulaire/les-membranes-cellulaires.html	25.06.2022
WEB 20	https://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/3b.html	27.06.2022
WEB 21	https://fr.khanacademy.org/science/biologie-a-l-ecole/x5047ff3843d876a6:bio-4e-annee-sciences-generales/ x5047ff3843d876a6:bio-4-2h-cycle-cellulaire-la-membrane-cellulaire/a/structure-of-the-plasma-membrane	27.06.2022
WEB 22	https://fr.dreamstime.com/interdigitations-cellules-image117239907	27.06.2022
WEB 23	http://education.med.nyu.edu/Histology/courseware/modules/epithelium/epithelium04.html	27.06.2022
WEB 24	https://www.alamyimages.fr/photos-images/desmosome.html?imgt=0	28.06.2022
WEB 25	http://www.loex.qc.ca/index.php/loex/chercheurs-menu2/sylvain-guerin	29.06.2022
WEB 26	https://www.chegg.com/flashcards/chapitre-3-volution-du-vivant-766905af-f63b-4ba8-8917-40ad83fb5333/deck	29.06.2022
WEB 27	https://fr.123rf.com/photo_63923720_repr%C3%A9sentation-sch%C3%A9matique-du-mouvement-des-mol%C3% A9cules-d-eau-par-le-biais-du-canal-de-aquaporines-.html	01.07.2022
WEB 28	https://fr.123rf.com/photo_63923652_les-types-de-canaux-ioniques-classification-par-gating-mécanisme-d-action-voltage-gated-ligand-gate.html consultation	01.07.2022
WEB 29	http://unf3s.cerimes.fr/media/paces/Grenoble_1112/seve_michel/seve_michel_p06/seve_michel_p06.pdf	02.07.2022
WEB 30	https://www.univ-usto.dz/faculte/fac-snv/images/coursenligne/Cours%20mod%20bioch%20cell%20et%20fonct.pdf	04.07.2022
WEB 31	http://fsnv.univ-bouira.dz/wp-content/uploads/2021/01/VII-biosynth%C3%A8se-des-lipides-membranaires.pdf	04.07.2022
WEB 32	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap8/co/module_Chap8_11.html	18.07.2022
WEB 33	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap4/co/module_Chap4_23.html	18.07.2022
WEB 34	http://histoblog.viabloga.com/texts/le-tissu-epithelial--cours-n-2-	18.07.2022
WEB 35	https://celluloyd.tumblr.com/post/157209076585/polym%C3%A9risation-de-lactine-	01.08.2022
WEB 36	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap4/co/Chap4_webUnisciel.html	03.08.2022

WEB 37	https://www.chegg.com/flashcards/cytosquelette-3-microfilaments-ue2-biologie-cellulaire-19830976-81b6-4a4f-bcf1-2e36b76308aa/deck	05.08.2022
WEB 38	https://fmedecine.univ-setif.Dz/ProgrammeCours/Bases%20physiques%20de%201%27h%C3%A9r%C3%A9dit%C3%A9.pdf	05.08.2022
WEB 39	https://celluloyd.tumblr.com/post/157290555369/actine-et-myosine-de-type-i-transport	08.08.2022
WEB 40	https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-locomoteur/la-contraction-musculaire	08.08.2022
WEB 41	https://scontent.faae2-1.fna.fbcdn.net	08.08.2022
WEB 42	https://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/1_1.html	10.08.2020
WEB 43	https://nanopdf.com/download/la-mitochondrie-5_pdf	13.08.2022
WEB 44	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap5/co/Chap5_webUnisciel.html	15.08.2022
WEB 45	https://www.cours-pharmacie.com/biochimie/chaine-respiratoire-et-phosphorylation-oxydative.html	14.08.2022
WEB 46	https://medecine-integree.com/la-cellule/	14.08.2022
WEB 47	https://askfrance.me/q/dans-quel-sens-tourne-l-atp-synthase-34068312284	14.08.2022
WEB 48	https://www.erudit.org/en/journals/ms/2005-v21-n3-ms875/010684ar/	15.08.2022
WEB 49	https://docplayer.fr/55875941-Chapitre-ix-la-mitochondrie.html	15.08.2022
WEB 50	https://biology.stackexchange.com/questions/60450/why-do-60s-40s-ribosomal-subunits-make-an-80s-ribosome -not-100s	19.08.2022
WEB 51	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap6/co/module_Chap6_13.html	28.08.2022
WEB 52	https://doctorlib.info/physiology/medical/6.html	21.10.2022
WEB 53	http://vdsciences.e-monsite.com/pages/sciences-biologiques/biologie-cellulaire/biologie-cellulaire-11-lyzosomes. html	21.10.2022
WEB 54	http://lecannabiculteur.free.fr/	28.10.2022
WEB 55	https://ressources.unisciel.fr/biocell/chap10/co/module_Chap10_18.html	29.10.2022
WEB 56	https://for2509.de/glycobiology	29.10.2022
WEB 57	https://query.libretexts.org/Francais/Livre_%3A_Biologie_g%C3%A9n%C3%A9rale_%28OpenStax%29/7%3A_Structure_et_fonction_des_animaux/35%3A_Le_syst%C3%A8me_nerveux/35.2%3A_Comment_les_neurones_communiquent consultation	26.02.2022
WEB 58	https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/15711/transduction-du-signal	26.02.2022
WEB 59	https://www.skillmd.com/unit/protein-protein/	26.02.2022
WEB 60	https://www.geeksforgeeks.org/ip3-and-dag-signaling-pathway	13.06.2023
WEB 61	https://celluloyd.tumblr.com/image/162877093182	13.06.2023
WEB 62	https://www.eurekaselect.com/article/62624	13.06.2023
WEB 63	https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/derives-nitres-et-apparentes	13.06.2023



Messaadia Amira

messaadia.amira@univ-tebessa.dz

06 63 36 42 46

Grade

Docteur en biochimie appliquée de l'Université de Annaba
Maitre de conférence B à l'Université de Tebessa.

Taches pédagogiques actuelles

J'enseigne les modules de

- **Biochimie structurale et métabolique pour les étudiants en 2e licence**
- **Biochimie cellulaire et fonctionnelle "BCF" ainsi que Structures et fonctions des macromolécules "SFM" pour les étudiants en 3e licence biochimie**
- **Notion de génie génétique pour les étudiants Master 1 en écophysiologie animale**