



PCEM1

THÈME II

LA CELLULE : STRUCTURE ET FONCTIONS

BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOCHIMIE STRUCTURALE

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2021-2022

PLAN

Cours	Page
BIOLOGIE CELLULAIRE	
Introduction	4
La Cellule eucaryote	5
Les Biomembranes et Membrane Plasmique	6
Différenciations membranaires, systèmes jonctionnels, adhérences non jonctionnelles.	
Cytoplasme – cytosquelette	16
Compartiments cellulaires et systèmes Endomembranaires	24
Mitochondries	31
Cycle cellulaire	34
Le Noyau Interphasique	36
Le Chromosome en Métaphase et sa Biogenèse: RÉPLICATION DE L'ADN	46
Multiplication cellulaire- La cellule en division	51
BIOCHIME STRUCTURALE	
Glucides	60
Lipides	69
Acides aminés	80
Peptides	90
Protéines	94
Acides nucléiques	106
Enzymes	118
Coenzymes	128

BIOLOGIE CELLULAIRE

INTRODUCTION

La biologie cellulaire est une science relativement jeune, car elle date d'environ 150 ans ; elle s'est affirmée comme discipline à part entière seulement après l'annonce de la théorie cellulaire, en 1838.

La biologie cellulaire (étude de la vie de la cellule) fournit une vision plus complète des structures et des fonctions vitales: croissance, métabolisme, reproduction. Son objectif était de décrire avec un maximum de précision toutes les structures caractéristiques des cellules animales, végétales ou des êtres unicellulaires.

Elle peut donc concerner une seule cellule (êtres unicellulaires) qui effectue alors ces trois fonctions vitales.

Elle peut concerner également des cellules plus ou moins spécialisées, et n'effectuant à un moment donné de leur vie que certaines fonctions. L'ensemble de ces cellules forme un tissu.

L'étude de ces ensembles de cellules est l'histologie.

Les divers types cellulaires d'un même individu comportent tous le même génotype. Leurs différenciations, au cours des développements embryonnaire et fœtal, les ont transformées en cellules accomplissant des fonctions différentes autrement dit en cellules ayant différentes expressions phénotypiques. Cette transformation temporelle est due au blocage et à l'expression différentielle de gènes existant dans toutes les cellules.

La biologie est une science intégrative et pluridisciplinaire, qui fait intervenir la biochimie, la biophysique, puisque la connaissance des constituants des organites, des structures et de leurs caractéristiques physico-chimiques, sont indispensables à la compréhension des mécanismes régissant la vie.

Au fil des années cette science, désormais expérimentale, est devenue indispensable à la médecine moderne. Elle a fait des progrès considérables grâce à l'évolution et à la multiplicité des techniques, en faisant évoluer la biologie cellulaire vers la biologie moléculaire. Ses principaux sujets d'étude sont actuellement le transport membranaire au sein de la cellule, le cytosquelette, la biogenèse des organites, les fonctions des matrices extracellulaires et la signalisation membranaire.

Tout au long de ce cours, l'accent sera porté sur l'utilité des connaissances récemment acquises en Biologie, pour la compréhension de certaines maladies.

LA CELLULE EUCARYOTE

C'est une unité biologique séparée du milieu extérieur par une membrane plasmique.

Elle possède, à la différence des Procaryotes, un vrai noyau. (Eu : vrai ; caryon : noyau), entouré d'une enveloppe nucléaire. Cette enveloppe sépare deux compartiments :

- le compartiment nucléaire (nucléoplasme + chromatine), où se trouve la plus grande partie de l'ADN et où sont stockées les informations héréditaires ;
- le compartiment cytoplasmique (cytoplasme = hyaloplasme + organites).

La cellule Procaryote ne possède pas de vrai noyau ; son ADN nu baigne dans le cytoplasme (exemple : bactéries et algues bleues). Elle est dépourvue de cytosquelette et d'organites membranaires.

Dans la cellule eucaryote, les organites dérivent le plus souvent les uns des autres par différenciation. Cependant, les mitochondries et les peroxysomes ne dérivent que d'eux-mêmes.

Le schéma ultrastructural (Fig. 1) montre cette filiation des organites.

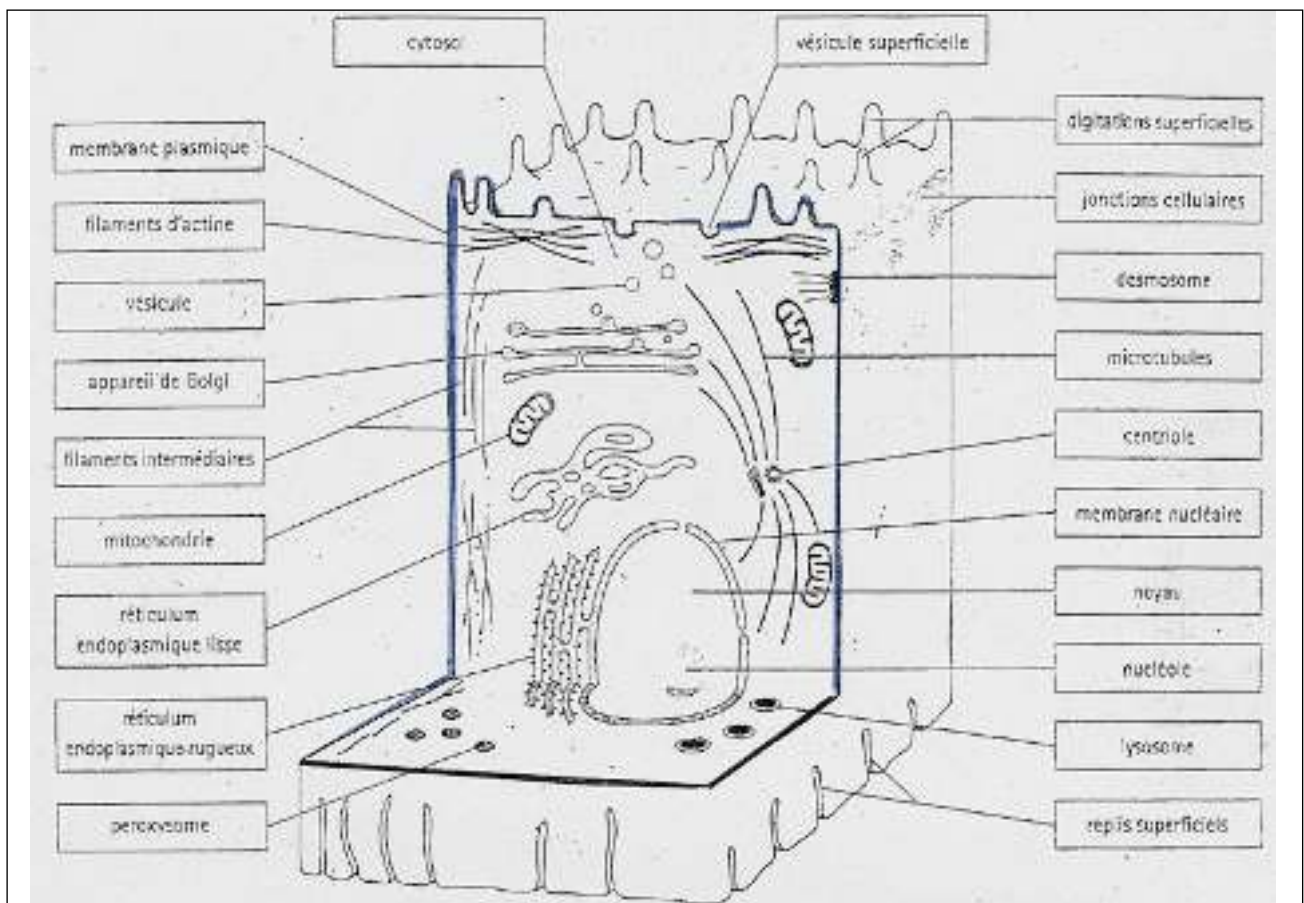


Figure 1 : Schéma ultra structural de la cellule Eucaryote

LES BIOMEMBRANES

LA MEMBRANE PLASMIQUE

Les objectifs éducationnels

1. Citer les propriétés communes à toutes les biomembranes
2. Reconnaître une biomembrane quel que soit l'instrument et la technique utilisée
3. Énoncer les principes des techniques permettant d'expliquer la structure des biomembranes
4. Expliquer l'architecture moléculaire de la membrane plasmique
5. Décrire les différentes étapes: de la pinocytose et de la phagocytose en tant que mécanismes membranaires de nutrition et de défense
6. Décrire un exemple d'endocytose par récepteur
7. Décrire l'exocytose en tant que mécanisme membranaire d'excrétion et de sécrétion
8. Établir, à l'aide d'un exemple, la relation entre les concentrations de certaines substances et leur transfert à travers la membrane plasmique
9. Établir la relation entre les propriétés chimiques de certaines substances et leur passage à travers la membrane plasmique
10. Établir la relation entre les constituants de la membrane et les transferts membranaires nécessitant de l'énergie
11. Décrire les mécanismes membranaires de la transmission nerveuse au niveau des synapses
12. Décrire les mécanismes membranaires de la transmission humorale

GÉNÉRALITÉS SUR LES BIOMEMBRANES

Toutes les cellules sont au moins limitées par une membrane dite membrane cytoplasmique ou cellulaire. Différentes structures endomembranaires ou organites, tels que mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, lysosomes, peroxysomes, sont également entourés par des membranes. Ces dernières forment avec la membrane plasmique, les biomembranes.

Quels que soient leur localisation et leur rôle, les membranes ont en commun plusieurs caractères :

- 1) elles séparent deux milieux différents et assurent une compartimentation métabolique et chimique.
- 2) leur épaisseur est de 6 à 7,5 nm : elles ne sont pas visibles au microscope optique, mais le sont au microscope électronique.
- 3) elles sont formées d'une bicouche de lipides. Il s'agit principalement de phospholipides, molécules comportant un pôle hydrophile (extrémité polaire) et un pôle hydrophobe (extrémité apolaire) ; ceci leur confère un caractère amphiphile. On trouve également des glycolipides et du cholestérol. Ces lipides sont répartis dans les biomembranes de façon asymétrique.
- 4) elles comportent des protéines constitutives :
 - intrinsèques : ce sont les protéines intégrales, (transmembranaires) et les protéines intégrées dans une seule monocouche lipidique.
 - extrinsèques ou périphériques plus ou moins associées aux lipides de l'une ou l'autre couche.

La répartition des protéines dans les membranes est asymétrique sur les deux faces.

- 5) l'association lipides-protéines est indispensable à l'activité biologique de la cellule. Le rapport lipides/protéines varie selon la cellule et l'organite. La disposition asymétrique des constituants membranaires donne des fonctions différentes aux deux faces.
- 6) les constituants moléculaires des biomembranes sont animés de mouvements latéraux permanents de translation ou de rotation ; il y a cependant peu de sauts d'une couche à l'autre (ou mouvement de flip-flop). On parle de la « fluidité » des biomembranes.
- 7) les constituants moléculaires des biomembranes peuvent s'associer à des molécules extra-membranaires (des glucides).

COMPOSITION CHIMIQUE DES BIOMEMBRANES

Les premières membranes qui ont été étudiées ont été obtenues par lyse hypotonique des hématies. Leur analyse a montré qu'elles comportent des lipides, des protéines et des glucides.

1. LES LIPIDES :

1.1. Organisation :

Quand on les place en contact avec l'eau, les molécules lipidiques, ayant deux pôles (un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe) se disposent spontanément en une couche : leurs pôles hydrophiles sont orientés vers l'eau (formation de micelles lipidiques). Si la quantité de lipides se trouve en excès, ces derniers vont former une deuxième couche lipidique en plaçant les pôles hydrophobes de la 1^{ère} couche face aux pôles hydrophobes de la 2^{ème} couche (Fig. 2).

1.2. Propriétés :

- **La fluidité :**

La fluidité d'une couche lipidique dépend de sa composition (en acides gras saturés ou non) et de la nature des molécules des lipides (voir Biochimie).

- **L'asymétrie :**

La membrane plasmique est formée d'une double couche de phospholipides, et elle est asymétrique. Par exemple, dans la membrane de l'hématie humaine, les molécules lipidiques qui se terminent par une choline se trouvent pour la plupart dans la moitié externe de la double couche lipidique ; les phospholipides contenant un groupement aminé sont pour la plupart dans la moitié interne de la membrane.

- **Les charges électriques :**

La présence de groupements polaires de phospholipides est nécessaire au fonctionnement de certaines protéines membranaires.

L'association à d'autres molécules :

Aux phospholipides peuvent être accrochés des glucides simples; cette association forme des glycolipides situés exclusivement du côté extracellulaire. D'autres lipides plus complexes (les gangliosides) fixent un ou plusieurs résidus d'acide sialique ; ceci leur confère une charge négative.

Les gangliosides sont particulièrement abondants dans la membrane plasmique du neurone. D'autres sont responsables en partie (avec les protéines membranaires) des groupes sanguins A, B, O (ou H), Lewis, exprimés au niveau de certaines cellules.

À la surface des entérocytes (cellules qui bordent la lumière intestinale), les gangliosides jouent le rôle de récepteurs. Ils captent par exemple la toxine de la bactérie responsable du choléra, ce qui modifiera la perméabilité des cellules intestinales à l'eau et aux sels

minéraux et provoquera des diarrhées.

1.3. Application thérapeutique :

La propriété qu'ont les phospholipides de se disposer en doubles couches et de former des vésicules closes par auto-fermeture a été utilisée pour fabriquer des liposomes (Fig.2).

Un liposome est une microvésicule formée (non exclusivement) d'une paroi à bicouche lipidique, avec du cholestérol. A l'intérieur de cette vésicule, on place un médicament (exemple : des anticoagulants), qui pourra être véhiculé grâce à ce système.

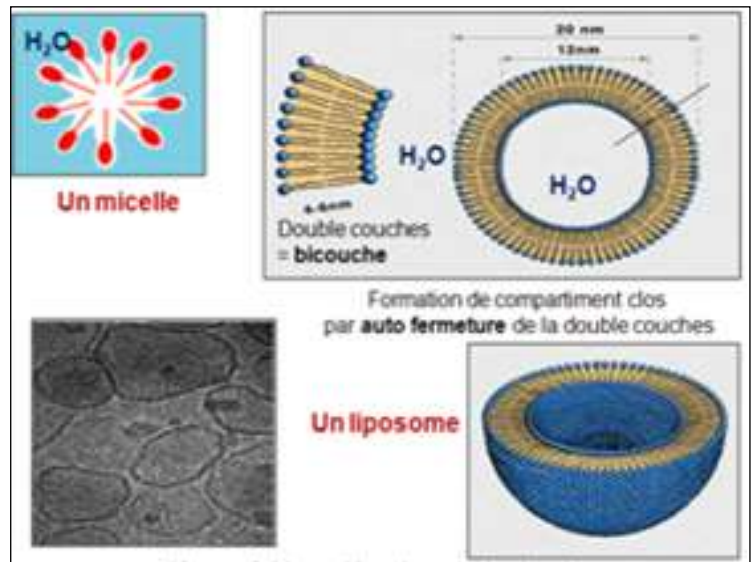


Figure 2: Disposition des molécules de phospholipides dans un environnement aqueux.

2. LES PROTÉINES :

Les protéines peuvent être en position transmembranaire, ou situées dans un des deux feuillets lipidiques ou périphériques (extra- ou intracellulaire). Elles présentent les propriétés suivantes :

- * Elles sont amphiphiles : Leurs régions hydrophobes interagissent avec les extrémités hydrophobes des molécules lipidiques, ce qui les maintient dans la bicouche phospholipidique (voir Biochimie).
- * Elles sont disposées asymétriquement sur chacune des faces exo-et endoplasmique et peuvent occuper toute l'épaisseur de la membrane. Leurs extrémités COOH et NH₂ peuvent être sur une des 2 faces ou chacune sur une face.

Les protéines transmembranaires peuvent avoir 1 ou plusieurs segments intégrés (en hélices α le plus souvent) dans la bicouche phospholipidique. Voici deux exemples de protéines membranaires de l'hématie (Fig.3) :

- La glycophorine traverse la bicouche lipidique sous la forme d'une hélice α unique (un seul passage ou traversée). La plus grande partie de cette molécule est située sur la face externe et son extrémité NH₂ est extracellulaire (Fig.3A).

- La protéine bande III, protéine transmembranaire, intervient dans les échanges d'O₂ et de CO₂ entre les poumons et les différents tissus. Son extrémité NH₂ est intracellulaire. Elle présente plusieurs passages, en hélices α , à travers la membrane (Fig.3B).

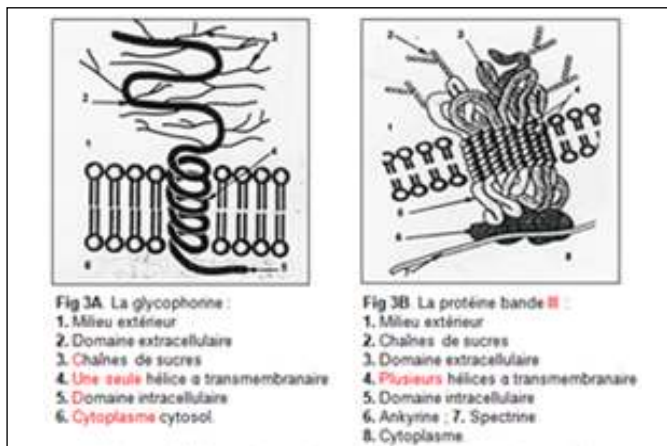


Figure 3: Exemples de protéines transmembranaires de l'hématie.

* Les protéines se déplacent dans la bicouche lipidique en suivant les mouvements des phospholipides. On a pu mettre en évidence la diffusion des protéines grâce à la technique de l'immunofluorescence (Fig.4) :

Le principe de la technique est le suivant : on utilise des anticorps marqués dirigés contre des glycoprotéines (qui ont des propriétés antigéniques) sur cet hétérocaryon, obtenu par fusion de deux cellules appartenant à des espèces différentes, souris-homme par exemple, grâce au virus Sendai.

Sur cet hétérocaryon, on fait agir deux types d'anticorps (ACs) : AC1 (marqués à la fluorescéine en vert) dirigés contre les glycoprotéines de la membrane cellulaire de la souris et AC2 (marqués à la rhodamine, en rouge) dirigés contre les glycoprotéines de la membrane cellulaire humaine. Immédiatement après la fusion, ces anticorps se placent respectivement sur les territoires membranaires de chacune des anciennes cellules : il y a donc une moitié verte et une moitié rouge. Au bout de quelques temps, les fluorescences se dispersent sur toute la surface de la cellule. Ceci montre que les antigènes membranaires se déplacent.

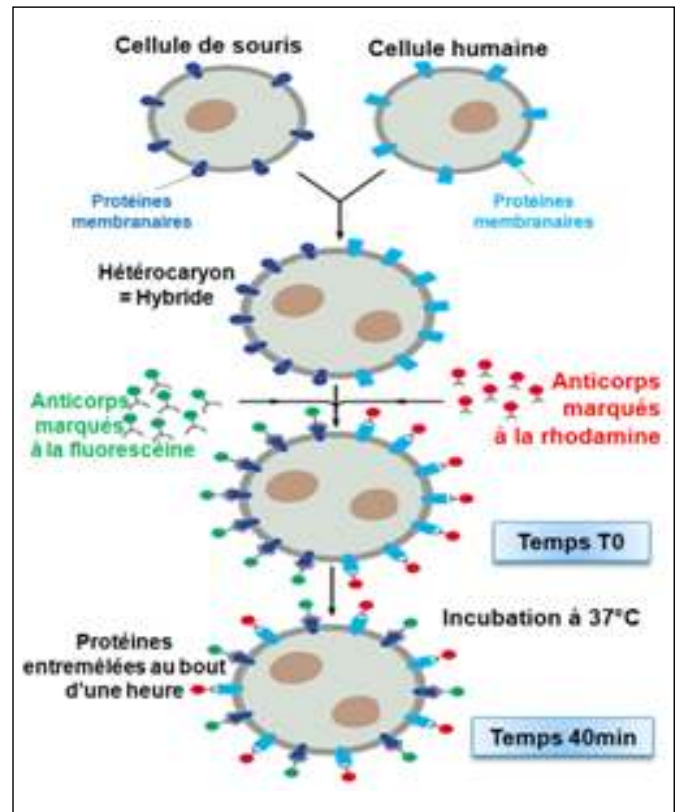


Figure 4: Expérience démontrant le mélange des protéines de la membrane plasmique sur des cellules hybrides (homme-souris).

3. LES GLUCIDES

Ils ne se trouvent que sur la face externe (ou extracellulaire) de la membrane (Fig.5).

Ce sont des chaînes polysaccharidiques liées, de façon covalente, à la plupart des protéines exposées à la surface de la cellule, mais aussi à des molécules lipidiques du feuillet extracellulaire.

Ces glucides constituent pour la cellule un système de signalisation. Par exemple, l'hématie porte des chaînes polysaccharidiques se terminant par un acide sialique (ceci lui donne une charge négative), lequel est précédé par un galactose. Si le galactose se retrouve en position terminale, il est alors reconnu par la membrane d'une cellule du foie, la cellule de Küpffer, qui porte l'acide sialique en position terminale de ses chaînes polysaccharidiques. Ce système permet aux cellules de Küpffer de capturer et détruire les hématies vieillissantes.

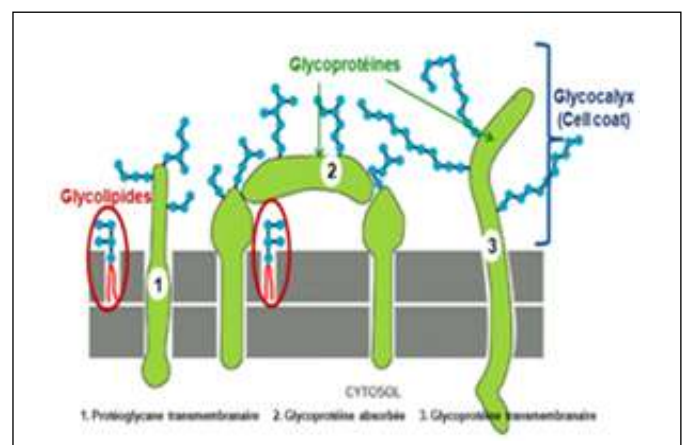


Figure 5. Organisation du cell-coat

LA MEMBRANE PLASMIQUE

La membrane plasmique est une enveloppe continue qui sépare le cytoplasme du milieu extracellulaire.

Chez certains êtres vivants, cette enveloppe est doublée à l'extérieur :

- d'une membrane pecto-cellulosique (chez les végétaux)
- d'une paroi rigide (chez les bactéries).

Son épaisseur de 7,5 nm ne permet pas son identification au microscope optique mais seulement au microscope électronique. Sa structure et ses fonctions sont explorées par la biochimie et l'immunologie.

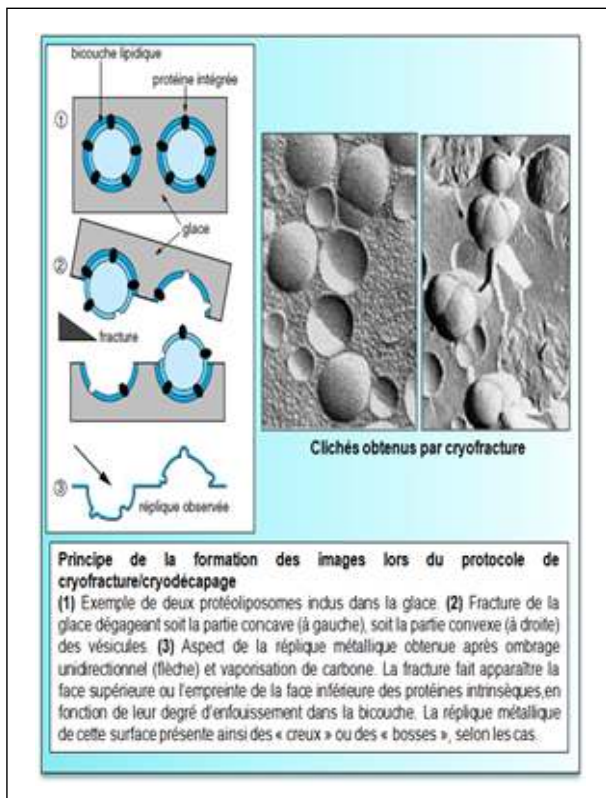
1. ULTRASTRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE :

Différentes techniques d'analyse chimique et d'observation ultrastructurale (après cryodécapage) ont permis de donner de la membrane une interprétation schématique compatible avec les fonctions membranaires.

Observation de coupes minces

L'observation de coupes minces de cellules fixées au tétrahydroxyde d'osmium montre les membranes sous forme d'un trait noir. A très fort grossissement, ce trait noir apparaît formé de trois feuillets : deux feuillets denses de 2 nm d'épaisseur séparés par un feuillet clair de 3,5 nm. Cette image correspond à un dépôt localisé de tétrahydroxyde d'osmium en excès.

L'asymétrie de la membrane plasmique se traduit par la présence du côté extracellulaire, d'un revêtement fibreux, le cell-coat, ou glycocalyx. Son épaisseur, en général de 5 à 10 nm, varie beaucoup selon le type cellulaire (exemple au pôle apical de l'entérocyte il est de 50 à 200 nm).



Cet aspect ultrastructural ne permet pas une analyse complète de la structure membranaire ni une compréhension des fonctions de la membrane.

Observation de répliques :

C'est l'observation de répliques obtenues par cryodécapage qui a permis de comprendre la structure de la membrane plasmique.

Par cette technique, la membrane se clive en deux hémi-membranes (une externe ou exoplasmique, l'autre interne ou endoplasmique), renfermant chacune des particules membranaires.

Architecture de la membrane plasmique

Les différentes techniques ont permis de concevoir un schéma (proposé par Singer et Nicolson 1967) de l'architecture moléculaire de la membrane plasmique, qui permet d'expliquer les fonctions membranaires. Ce schéma montre des protéines enchâssées différemment dans la bicouche lipidique : le cell-coat y figure, ainsi que les protéines de la face endoplasmique reliées aux protéines intégrées et au cytosquelette (Fig. 6).

NB : La présence de cell-coat ne concerne que la membrane plasmique, et pas les autres biomembranes.

Une membrane plasmique fonctionnelle comporte à la fois la bicouche phospholipidique, des protéines intégrées et des molécules associées externes et internes.

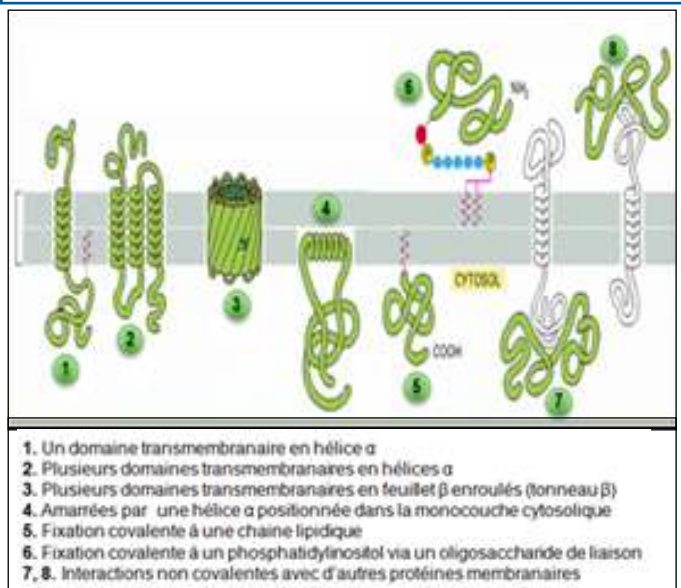


Figure 6. Différentes protéines sont associées de différentes façons à la membrane plasmique.

2. LES FONCTIONS DE LA MEMBRANE PLASMIQUE :

Toutes les fonctions membranaires s'accomplissent grâce à la présence de protéines membranaires en étroite interaction avec les lipides. Nous présentons ici sommairement les différentes fonctions de la membrane, introduisant ainsi la plupart des chapitres suivants.

- Barrière physique
- Echange de matières
- Support d'activités enzymatiques

- Transduction des signaux et transfert d'information à longue distance
- Reconnaissance et adhérence cellulaire

2.1. Les cytozes

Ce sont les mécanismes qui permettent à des substances non liposolubles et plus ou moins volumineuses, de pénétrer dans la cellule et/ou d'en sortir (Fig.7). Ces mécanismes s'effectuent grâce à des vésicules limitées par une membrane dont la composition chimique est à peu près similaire à celle de la membrane. Ces vésicules peuvent se souder à la membrane plasmique ou s'en détacher grâce à des protéines de fusion.

1. L'exocytose : Le contenu des vésicules intracellulaires est libéré à l'extérieur de la cellule ; pour cela, la membrane des vésicules fusionne avec la membrane plasmique grâce à des protéines de fusion en consommant de l'ATP et des ions Ca^{++} .

Ces processus permettent à la cellule, soit d'émettre des produits de sécrétion (hormones, enzymes,...) dans le milieu extérieur, soit de rejeter ses déchets.

2. L'endocytose : Le phénomène est inversé. Certaines régions de la membrane plasmique s'invaginent et se referment pour former de petites (on parle alors de pinocytose) ou de moyennes ou de grandes vésicules (on parle de phagocytose). Ce processus permet à la cellule d'ingérer des produits dont elle utilisera certains constituants pour ses propres métabolismes.

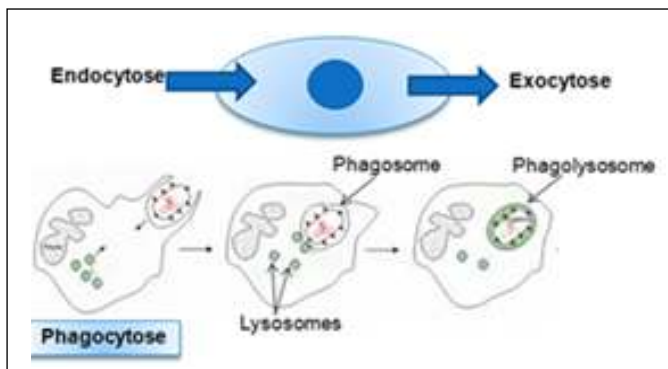


Figure 7. Transport des particules et grosses molécules.

Conséquences de l'endocytose :

a) Toutes les cellules ingèrent sans cesse des fragments de leur propre membrane plasmique sous forme de petites vésicules endocytotiques. Ce processus, dit constitutif, est particulièrement marqué chez le macrophage qui ingère 25 % de sa membrane chaque heure ; ce phénomène permet aux cellules de recycler les constituants de sa membrane et de conserver la même quantité de membrane plasmique.

Pendant la phagocytose, la membrane fonctionne comme une « fermeture éclair ». Dans l'exemple de la phagocytose d'un lymphocyte par un macrophage, le macrophage reconnaît, grâce à des récepteurs, les anticorps fixés sur les antigènes de surface de la cellule cible. La reconnaissance se fait progressivement jusqu'à interiorisation complète du lymphocyte dans le macrophage (Fig.8).

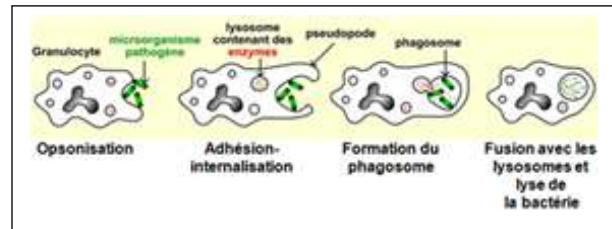


Figure 8. Endocytose de grandes particules : la phagocytose. Exemple de la phagocytose des bactéries par les lymphocytes.

b) Endocytose de substances externes par récepteur : Les macromolécules se fixent à des récepteurs spécifiques situés dans la membrane plasmique. Ces récepteurs peuvent se rassembler au niveau des puits recouverts, sortes d'invaginations tapissées de fins filaments de clathrine sur la face endoplasmique. Exemple de l'endocytose par récepteur de particules de LDL (lipides de faible densité ou Low Density Lipoproteins) (Fig.9).

Des protéines (récepteurs spécifiques) de la membrane plasmique, captent les LDL. Ces récepteurs possèdent un site de fixation aux puits recouverts. Elles se regroupent grâce à des filaments de clathrine qui provoquent l'invagination de la membrane plasmique. Les LDL se trouvent directement dans l'invagination.

Ces filaments sont responsables de l'endocytose.

Lorsque la vésicule d'endocytose se détache de la membrane, les filaments de clathrine se dispersent dans le cytoplasme. Les récepteurs sont restitués à la membrane plasmique par exocytose.

L'hypercholestérolémie familiale est une maladie causée par une mutation sur le gène du récepteur LDL (Fig.10)

(LE MECANISME SERA DETAILLE PENDANT LA SEANCE DU COURS)

C) Déplacement :

L'exocytose et l'endocytose permettent aussi à des cellules libres de se déplacer sans modification de leur volume.

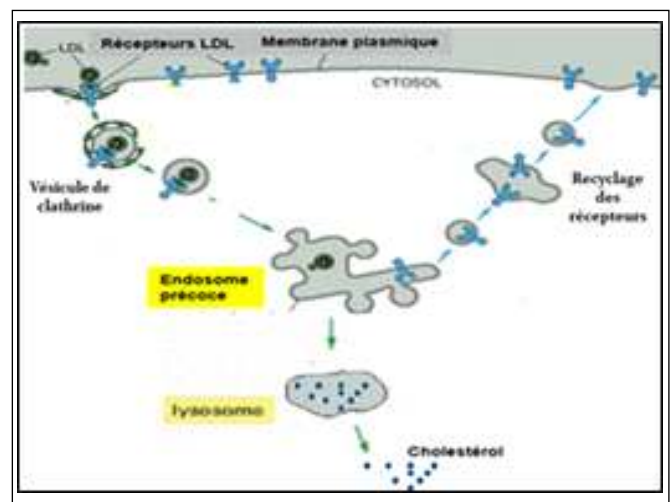


Figure 9. Endocytose par récepteur cas du LDL.

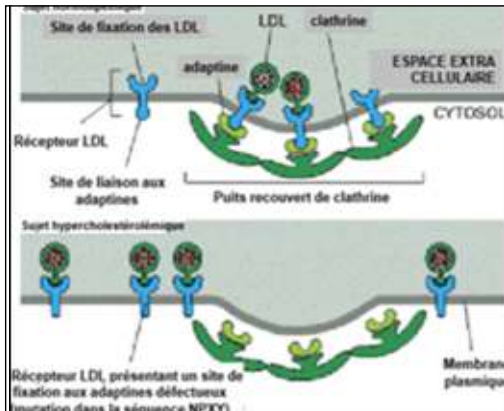


Figure 10. L'hypercholestérolémie familiale est une pathologie due à des mutations du récepteur des LDL.

2.2 Les transports membranaires :

Ces transports concernent les petites molécules (PM de 100 à 1000 Da) et englobent plusieurs mécanismes d'échange à travers la membrane plasmique :

- Echanges par transport passif : diffusion simple et diffusion facilitée.
- Echanges par transport actif

Une même molécule peut être transportée de façon différente dans la même cellule, ou dans des types cellulaires différents.

Transport passif :

a) Diffusion simple :

La diffusion simple à travers les membranes cellulaires concerne les petites molécules hydrophobes non polaires (O_2 , N_2) et les petites molécules polaires non chargées (eau, CO_2 , etc....).

Ce type d'échange correspondant à un transport passif ne consomme pas d'énergie et est régi uniquement par des mécanismes physiques : osmose et diffusion.

Toute différence de concentration d'un soluté de part et d'autre de la membrane entraîne un flux osmotique d'eau du milieu le moins concentré (hypotonique) vers le milieu le plus concentré (hypertonique) et un déplacement du soluté du milieu le plus concentré vers le moins concentré.

La vitesse de déplacement du soluté dans son solvant à travers la membrane est proportionnelle à la concentration relative du soluté de part et d'autre de la membrane.

En conséquence, le sens et la vitesse de diffusion d'un soluté sont liés au gradient de concentration entre les milieux intra et extracellulaires.

Perméabilité à l'eau :

En général, plus une molécule est petite et liposoluble, plus elle diffusera rapidement à travers les membranes cellulaires. Mais on remarque que les molécules d'eau, bien qu'insolubles dans les lipides, diffusent très rapidement à travers les membranes et même à travers les doubles couches lipidiques artificielles. Ceci est probablement dû au fait que les molécules d'eau ont un très petit volume et ne sont pas chargées.

On a pu mettre en évidence dans la vessie urinaire des

amphibiens des relations entre la variation de perméabilité membranaire à l'eau, induite par l'hormone antidiurétique et l'existence d'agrégats de particules intra membranaires (regroupement de protéines intégrées appelées aquaporines).

La pénétration des substances liposolubles se ferait par dissolution dans la phase lipidique de la membrane.

b) Diffusion facilitée

Les molécules polaires, hydrosolubles (ions, oses...) ne traversent pas les doubles couches lipidiques artificielles mais diffusent rapidement à travers les membranes cellulaires et sans consommer d'énergie.

Le sens de ce transport cellulaire s'effectue selon le gradient de concentration. On observe cependant un phénomène de saturation pour des concentrations élevées. Ce transport dépend donc de protéines membranaires spécifiques appelées les protéines porteuses ou perméases.

Chaque protéine porteuse possède un site de fixation spécifique pour son soluté. Il existe 2 types de protéines porteuses (Fig. 10 bis) :

- protéines porteuses uniport : un soluté unique est véhiculé d'un côté à l'autre de la membrane.
- Système cotransport : transport simultané ou alternatif de solutés :

- symport (même direction)

- antiport (directions opposées)

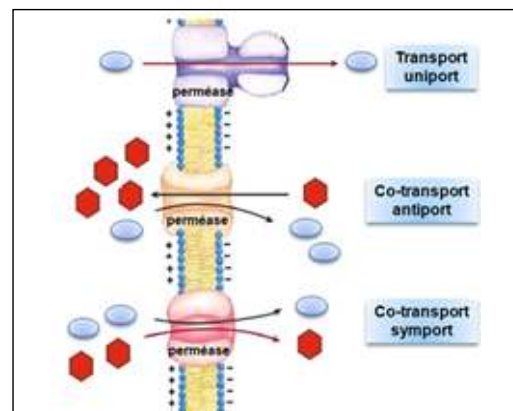


Figure 10bis. Les différents types de transports assurés par les perméases.

Il est probable que les perméases subissent un changement de conformation réversible pour faire passer le soluté d'un côté à l'autre de la membrane (Fig. 11). Ces 2 états conformationnels exposeraient alternativement le site de liaison du soluté sur une face de la membrane puis sur l'autre face (système « pingpong »).

- Etat « pong » : site de liaison exposé vers le milieu extracellulaire
- Etat « ping » : site de liaison exposé vers le milieu intracellulaire.

Exemples de transport passif par protéines porteuses : Transport du glucose.

Les cellules prélèvent du glucose dans le fluide extracellulaire où la concentration glucidique est forte. Ce transport passif est assuré par des perméases uniports du glucose.

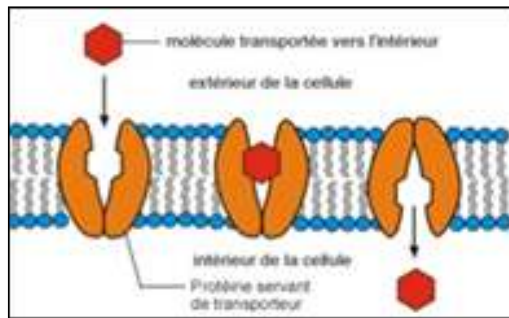


Figure 11 Diffusion facilitée : Modèle de transport par une perméase (protéine de transport).

Les perméases chargées du transport du glucose sont nommés GLUT (Glucose Transporter).

Cas particulier : dans les entérocytes, la concentration en glucose est plus élevée dans le milieu intracellulaire. Le glucose quitte le milieu intracellulaire par transport passif, dans le sens de son gradient de concentration, du côté opposé à la lumière de l'intestin.

c) Transport passif par canaux protéiques ou canaux ioniques

Les canaux protéiques membranaires sont de petits pores très sélectifs remplis d'eau, responsables du transport spécifique des ions (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- ,...), d'où leur nom de canaux ioniques.

Les canaux protéiques permettent un transport passif. Le soluté étant chargé, le transport dépendra à la fois :

- du gradient de concentration
- du gradient électrique (potentiel de membrane).

Ces deux gradients constituent ensemble le gradient électrochimique et les ions diffuseront dans le sens de leur gradient électrochimique.

Ils présentent une sélectivité aux ions (filtre ionique sélectif) permettant à certains ions de passer mais pas à d'autres. Seuls les ions de taille et de charge appropriées peuvent y passer.

De part et d'autre de toutes les membranes plasmiques il existe une différence de potentiel (d.d.p) électrique (=gradient de tension), l'intérieur étant chargé négativement par rapport au milieu extracellulaire. Ce potentiel de membrane facilite l'entrée dans les cellules des ions chargés positivement mais s'oppose à celle des ions chargés négativement.

Les canaux ioniques ne sont pas continuellement ouverts. Ils s'ouvrent en réponse à une perturbation spécifique de la membrane, différente selon le canal. Il existe ainsi des canaux à ouverture réglée par :

- la tension : canaux voltage-dépendants (comme les canaux Ca^{++})
- un neurotransmetteur : canaux chimio-dépendants
- des ions

Les canaux ioniques sont ainsi responsables de l'excitabilité des cellules nerveuses et musculaires.

Certains ions, comme les ions K^+ , semblent ne pas avoir besoin d'une perturbation membranaire spécifique pour s'ouvrir et sont appelés « canaux de fuite K^+ ».

Ionophores

Ce sont des substances (des antibiotiques par exemple) qui

sont capables d'augmenter considérablement le transport des ions à travers les membranes biologiques dans le sens du gradient électrochimique. On donne l'exemple de la valinomycine qui augmente la perméabilité membranaire pour K^+ et de la gramicidine A qui augmente la perméabilité membranaire pour H^+ , K^+ et Na^+ .

Transport actif :

Il permet le transport de substances contre leur(s) gradient(s) de concentration(s). Ce type de transport nécessite un apport d'énergie fourni par le métabolisme cellulaire. Ce transport implique :

- un système transporteur : toujours assuré par des protéines porteuses (uniport ou cotransport).
- un système énergétique : l'énergie provient, le plus souvent, soit de l'hydrolyse de l'ATP (plus rarement du GTP), soit d'un gradient ionique (énergie stockée dans un gradient ionique).

Transport actif primaire → la source d'énergie est l'ATP ou le GTP (exemple des pompes ioniques)

* Pompe Na^+/K^+

Il existe une relation entre les mouvements sodiques (Na^+) et potassiques (K^+) à travers la membrane. Le milieu extracellulaire est plus concentré en ions Na^+ que le milieu intracellulaire et vice-versa pour les ions K^+ . Ces différences de concentrations sont maintenues par un transport actif : la pompe Na^+/K^+ (Fig.12). Le Na^+ est rejeté ou expulsé en permanence à l'extérieur de la cellule. Ces mouvements se font contre les gradients de concentrations et nécessitent :

- une protéine porteuse : c'est une protéine membranaire antiport ATPase Na^+/K^+ .
- l'hydrolyse de l'ATP par une activité enzymatique (ATPasique) de la pompe. Chaque molécule d'ATP hydrolysée entraîne la sortie de 3 Na^+ et l'entrée de 2 K^+ .

La pompe Na^+/K^+ à activité ATPasique se trouve dans toutes les membranes plasmiques. C'est elle qui maintient le potentiel de membrane (lequel résulte de la différence de concentration de part et d'autre de la membrane) et contribue au maintien du volume cellulaire.

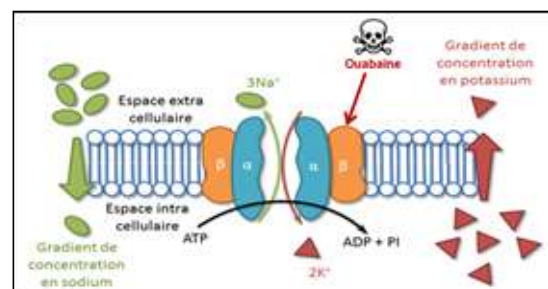


Figure 12. La pompe Na^+/K^+

De même, les ions Cl^- ont tendance à pénétrer dans la cellule avec les ions Na^+ par diffusion passive, ce qui provoque un appel d'eau vers la cellule et son gonflement. En pompant les ions Na^+ vers l'extérieur, la cellule contrôle son osmolarité intracellulaire.

* Pompe Ca^{++}

La concentration en ions Ca^{++} est plus élevée dans le milieu extracellulaire que dans le milieu intracellulaire. Le gradient Ca^{++} est en partie maintenu par la pompe Ca^{++} qui est une protéine membranaire à activité ATPasique.

L'ATPase est très abondante (90% des protéines membranaires) dans les membranes du réticulum endoplasmique (sarcoplasmique) du muscle strié.

* Pompe H⁺

Le pH à l'intérieur des lysosomes est acide (riche en H⁺). La membrane lysosomale contient des protéines de transport qui font entrer les ions H⁺ dans les lysosomes en utilisant l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP ; ceci permet de maintenir un pH acide (égal à 5) à l'intérieur des lysosomes. Dans la mitochondrie, le gradient de H⁺ fait fonctionner une ATPase située dans la membrane interne (voir Chapitre La mitochondrie).

Transport actif secondaire → la source d'énergie est un gradient ionique

- La membrane du pôle apical des cellules intestinales et celle des cellules des tubules rénaux doivent prélever du glucose dans la lumière soit de l'intestin soit du tubule rénal. Or la concentration du glucose y est faible. Dans ce transport, l'énergie nécessaire est fournie par le gradient électrochimique du Na⁺ (maintenu grâce à la pompe Na⁺/K⁺ à activité ATPasique). Le transport du Na⁺ est couplé à celui du glucose. Le glucose et le Na⁺ se lient à des sites différents sur une même molécule porteuse : c'est un cotransport symport (glucose/Na⁺) : la perméase est un SGLT1 (Sodium Glucose Transporter) (Fig.13).
- Le calcium est transporté activement par une protéine antiport avec le Na⁺. Cette perméase Ca⁺⁺/Na⁺ est activée par le gradient électrochimique du Na⁺ ; on la trouve dans toutes les cellules.
- Le transport des acides aminés à travers les membranes cellulaires suit le même modèle que le transport actif du glucose ; autrement dit, il est dépendant du gradient ionique du Na⁺.

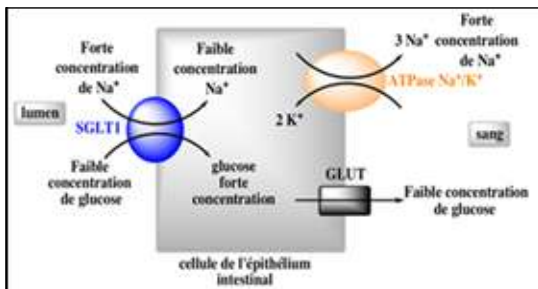


Figure 13. Transport du glucose dans les cellules intestinales.
La concentration intracellulaire du K⁺ sera maintenue grâce au canal de fuite du K⁺

2.3. Échanges d'informations entre les cellules et leur environnement :

Les récepteurs membranaires:

La membrane plasmique possède des récepteurs qui reconnaissent des molécules extérieures ou « ligands » comme des molécules informatives, des microorganismes, d'autres cellules. La liaison du récepteur induit une réponse de la cellule : réaction métabolique, mouvement, entrée en division, apoptose.

Depuis les travaux de Sutherland, on sait que dans de nombreuses stimulations hormonales, lorsque le ligand (ou premier messenger), auquel la cellule est sensible, se fixe à son récepteur, il déclenche la production d'un deuxième

messenger. Ce dernier va induire une réponse de la cellule par l'activation d'enzymes.

Les récepteurs membranaires appartiennent à plusieurs catégories (Fig. 14) :

- les récepteurs couplés aux protéines G.
- les récepteurs possédant une activité enzymatique du type tyrosine kinase
- les récepteurs sans activité enzymatique
- les récepteurs des canaux ioniques

► Récepteurs couplés aux protéines G

Le fonctionnement de ces récepteurs fait intervenir les trois molécules suivantes :

1. une molécule du récepteur proprement dit,
2. une molécule intermédiaire c'est à dire la protéine G qui peut être soit stimulatrice (GS) soit inhibitrice (Gi),
3. une enzyme (un effecteur) dont l'activité fait apparaître un deuxième messenger.

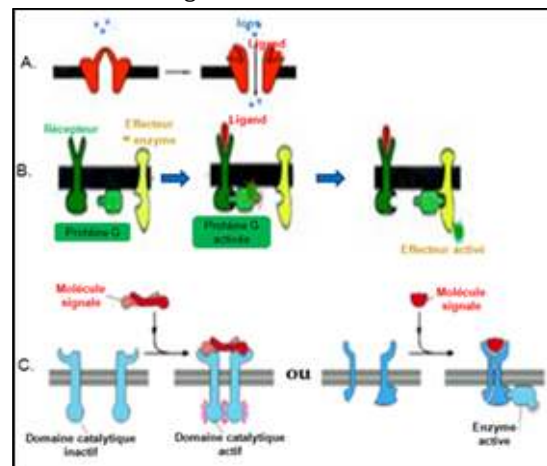


Figure 14. Les récepteurs membranaires.
(A) Récepteurs canaux ioniques ligand-dépendants
(B) Récepteurs couplés aux protéines G hétéromériques
(C) Récepteurs « enzymes ».

Cette organisation est ubiquitaire, elle est observée aussi bien au niveau des récepteurs membranaires de certaines hormones (hormones peptidiques) qu'au niveau des récepteurs des cellules sensorielles.

La séquence des événements du mode d'action d'une hormone peptidique fixée à son récepteur couplé à la protéine G est schématisée sur la figure 15.

(LES MECANISMES SERONT DÉTAILLÉS PENDANT LA SEANCE DU COURS)

Selon la nature du deuxième messenger, on distingue:

- des récepteurs où l'effecteur est une adényl cyclase (AC) qui hydrolyse l'ATP en AMPc (AMP cyclique). L'AMPc est le deuxième messenger qui sera à son tour hydrolysé et donc rendu inactif par une phosphodiesterase (Fig. 15).
- des récepteurs semblables aux précédents mais où l'ATP est remplacé par du GTP et donc l'AMPc par du GMPc.

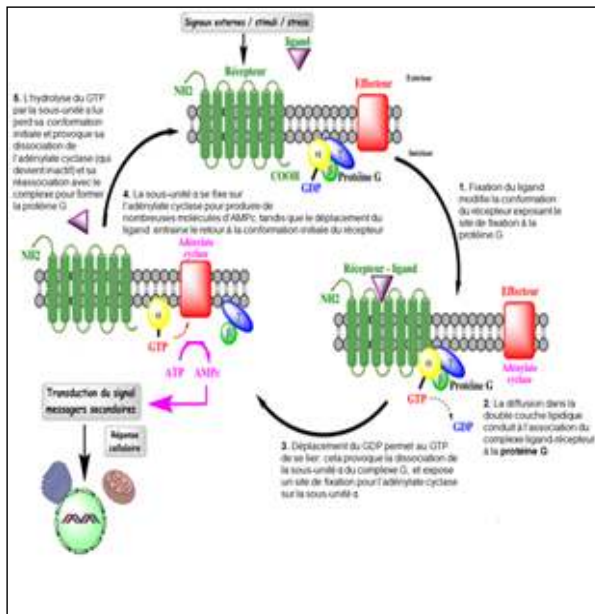


Figure 15. Mécanisme d'action des récepteurs couplés aux protéines G. Voies de signalisation de l'Adénylcyclase.

- des récepteurs où une molécule de phosphatidylinositolcholine (PIP2) est hydrolysée grâce à une phospholipase C (PLC) en deux molécules : Inositol-triphosphate (IP3) et diacylglycérol (DAG). Le DAG (comme l'AMPc) va stimuler les protéines kinases alors que l'IP3 (=second messager) va libérer les réserves d'ions Ca^{++} (généralement du reticulum endoplasmique). Ces derniers se comportent également comme deuxième messager (Fig.16).

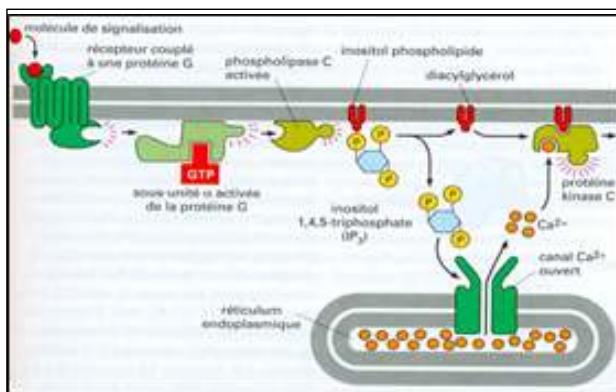


Figure16. Voies de signalisation de la phospholipase C.

► Récepteurs ayant une activité enzymatique propre (du type tyrosine kinase)

Ce sont des récepteurs constitués d'une seule molécule. Cette organisation caractérise certains récepteurs de facteurs de croissance qui possèdent au niveau de leur extrémité cytosolique une activité enzymatique. L'activation de ce récepteur est déclenchée par la fixation du ligand et entraîne l'activation des différentes protéines kinases.

(LES MECANISMES SONT DÉTAILLÉS PENDANT LA SEANCE DU COURS)

► Récepteurs sans activité enzymatique propre

Ces récepteurs appartiennent à la superfamille des récepteurs aux cytokines. Ils existent, au repos, sous forme mo-

nomérique ; leur liaison avec un ligand provoque la formation de dimères qui activent une protéine kinase proche.

► Récepteurs couplés à un canal ionique

La fixation du ligand sur la partie « récepteur » du canal ionique, induit son ouverture ou sa fermeture. Exemple : le récepteur canal à l'acétylcholine. Ce neurotransmetteur a une action directe. En effet, lorsque l'influx nerveux parvient à l'extrémité de l'axone du neurone, la dépolarisation de la membrane entraîne l'entrée d'ions Ca^{++} par des canaux Ca^{++} voltage dépendants. Ceci provoque l'exocytose des vésicules synaptiques et la libération de l'acétylcholine qu'elles contiennent. L'acétylcholine ainsi relarguée à proximité de la membrane d'une cellule effectrice, reconnaît des protéines réceptrices spécifiques couplées à un canal Na^{+} .

Quelques Na^{+} pénètrent dans la cellule effectrice. La somme des entrées de Na^{+} par plusieurs petits canaux Na^{+} , provoque l'ouverture brutale d'une autre protéine canal Na^{+} . Les Na^{+} entrent alors massivement dans la cellule effectrice, ce qui provoque la dépolarisation de sa membrane. Dès lors, une enzyme spécifique, l'acétylcholine estérase, hydrolyse l'acétylcholine fixée en choline et acétate et libère ainsi les récepteurs.

Les récepteurs cytosoliques et/ou nucléaires :

Les récepteurs cytosoliques sont situés non pas dans la membrane plasmique, mais dans le cytosol, où ils se lient avec leur(s) ligand(s), avant de rejoindre le noyau (devenant ainsi des récepteurs nucléaires). Une fois dans le noyau, ces récepteurs se fixent sur une séquence d'ADN et modulent son expression. Exemple de récepteurs cytosoliques/nucléaires : les hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes (de nature hydrophobe). Dans le sang, ces hormones hydrophobes sont en grande partie liées à des protéines porteuses qui les transportent aux cellules cibles. Ces hormones doivent traverser la membrane plasmique pour se lier à leur(s) récepteur(s) spécifique(s) à l'intérieur de la cellule et agissent au niveau nucléaire. Autres exemples d'hormones ou de molécules messagères : l'acide rétinoïque et la vitamine D qui agissent également par l'intermédiaire de récepteurs nucléaires.

Dans l'ensemble, les hormones dont le récepteur est nucléaire, ont des mécanismes d'action similaires ; c'est pourquoi nous allons traiter uniquement le cas des hormones stéroïdiennes.

L'action des hormones stéroïdiennes sur leurs cellules cibles est transmise par l'intermédiaire de récepteurs protéiques qui sont aussi des facteurs de régulation transcriptionnelle. La séquence des événements est schématisée sur la Fig.17. Les récepteurs nucléaires et / ou cytosoliques sont des protéines qui présentent une homologie de séquence plus ou moins importante au niveau de portions de leur molécule appelées domaines, présentant des propriétés fonctionnelles homologues (Fig.18).

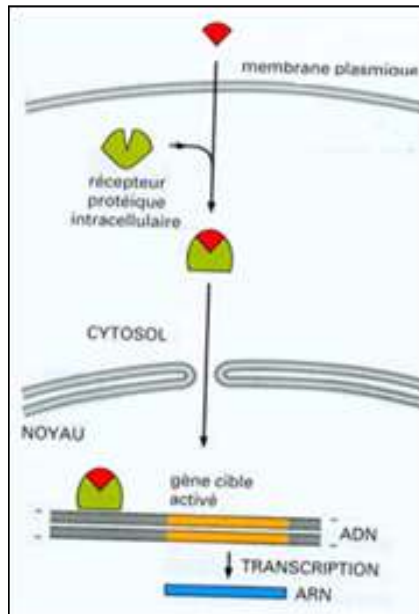


Figure 17. Les récepteurs nucléaires.

Dans la séquence du récepteur, de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale, on a pu identifier cinq régions fonctionnelles.

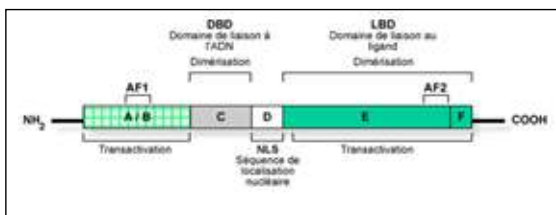


Figure 18. Organisation générale du gène des récepteurs nucléaires.

- A/B est une région d'activation ou de modulation vis à vis de l'unité de transcription reconnue
- C est une région de liaison à l'ADN
- D est une région qui joue un rôle important dans la localisation nucléaire des récepteurs
- E est une région qui assure trois rôles (de liaison au ligand, de régulation transcriptionnelle et de dimérisation du récepteur)
- F est une région qui n'est pas toujours présente et dont le rôle n'est pas encore bien défini.

En l'absence de ligand, la région E du récepteur est masquée par un polypeptide (protéine de choc thermique = HSP), qui se détache en présence du ligand et permet au récepteur de rejoindre le noyau de la cellule et surtout l'unité de transcription qui constitue sa cible.

REMARQUE :

L'insuline (hormone peptidique) peut pénétrer dans les cellules par endocytose après avoir été reconnue par des récepteurs spécifiques de la cellule cible.

2.4. Reconnaissance cellulaire et histocompatibilité

Dans l'espèce humaine, un ensemble de glycoprotéines appelées antigènes d'histocompatibilité, a été identifié initialement à la surface des globules blancs : on les appelle antigènes de leucocytes humains, ou HLA (Human Leukocyte Antigen). Ces antigènes, ou plus exactement ce complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), dépend d'un groupe de gènes localisés sur le chromosome 6. Ces glycoprotéines transmembranaires traduisent l'appartenance au « soi », vis à vis du non soi.

Ces antigènes sont spécifiques de l'individu et de l'espèce ; de plus ils caractérisent un état cellulaire donné, normal ou pathologique. Par exemple, une transformation néoplasique (cancéreuse) change la nature des antigènes, donc des glycoprotéines de la surface membranaire (cell-coat), en particulier si la transformation est d'origine virale.

2.5. Adhérences cellulaires

Les adhésions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire sont essentielles au développement des tissus et des organes, à l'organisation tissulaire, et au fonctionnement des organismes multicellulaires.

Les interactions entre cellules sont dues à des protéines particulières appartenant à différentes familles : par exemple les cadhérines, certaines immunoglobulines, les intégrines et les sélectines (voir Chapitre Les adhérences non jonctionnelles).

DIFFÉRENCIATIONS MEMBRANAIRES SYSTÈMES JONCTIONNELS, ADHÉRENCES NON JONCTIONNELLES CYTOPLASME – CYTOSQUELETTE

Les objectifs éducationnels

1. Représenter à l'aide de schémas les différents types de jonction cellulaire en précisant leur rôle.
2. Reconnaître sur des micrographies électroniques les différents types de différenciations membranaires.
3. Citer les différents constituants et les propriétés fondamentales du hyaloplasme.
4. Citer les différents constituants du cytosquelette en donnant pour chacun d'eux leurs localisations préférentielles.
5. Expliquer la dynamique moléculaire des microtubules labiles et des microfilaments en établissant la relation entre cette dynamique et les mouvements cellulaires.
6. Citer des exemples de mouvements cellulaires faisant intervenir le cytosquelette en expliquant les mécanismes impliqués.
7. Décrire la structure du diplosome.
8. Représenter à l'aide d'un schéma la coupe transversale de la partie mobile du cil, en localisant les constituants responsables du mouvement et le plan de battement.

DIFFÉRENCIATIONS MEMBRANAIRES SYSTÈMES JONCTIONNELS, ADHÉRENCES NON JONCTIONNELLES

Ce sont les systèmes d'augmentation de la surface membranaire et les systèmes de jonction.

1. SYSTÈME D'AUGMENTATION DE LA SURFACE MEMBRANAIRE

La quantité des échanges entre la cellule et le milieu extracellulaire est proportionnelle à la surface de la membrane plasmique.

Les cellules qui effectuent des échanges importants avec le milieu extracellulaire présentent des modifications morphologiques permettant d'augmenter la surface de contact telles que les microvillosités (entérocytes), les invaginations du pôle basal de certaines cellules (cellules des tubes rénaux) ou bien les interdigitations (Fig. 19).

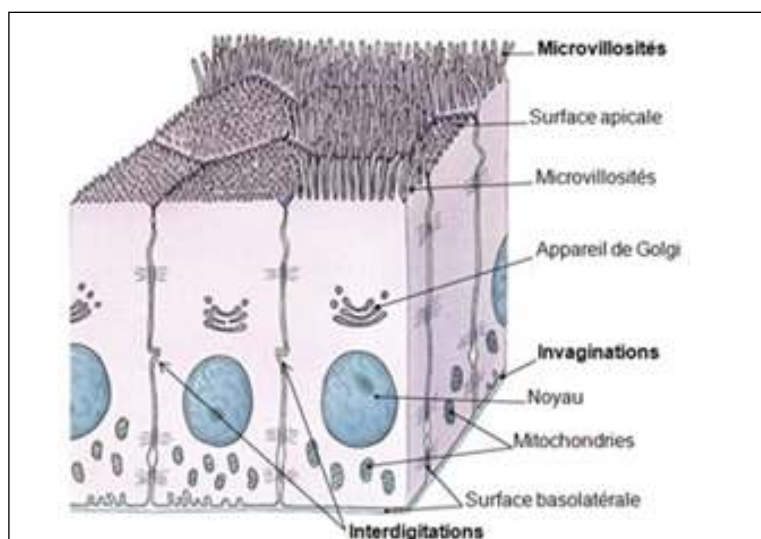


Figure 19 : Quelques modifications morphologiques d'une cellule.

2. LES SYSTÈMES JONCTIONNELS

Ils sont classés selon trois critères : Selon leur disposition spatiale ou leur étendue dans l'espace en :

- * Zonula, lorsque la jonction se présente sous forme d'une plaque étendue.
- * Macula, lorsque la jonction est ponctuelle (desmosomes et héli-desmosomes).

Selon l'espace intercellulaire à leur niveau (l'espace intercellulaire est normalement de 15 nm) et selon leur architecture moléculaire, leurs fonctions seront différentes (Fig. 20).

On distingue :

- **Les jonctions étanches ou système occludens (tight junctions)** : il n'y a pratiquement pas d'espace entre les membranes plasmiques de deux cellules adjacentes. Des protéines communes aux deux membranes empêchent tout passage des macromolécules par l'espace intercellulaire très réduit. Certaines petites molécules peuvent s'introduire entre les membranes. La séparation des membranes peut s'effectuer occasionnellement.
- **Les jonctions communicantes ou système gap** : l'espace intercellulaire est réduit à 2 nm. Des protéines intégrées (appelées connexines) forment des canaux dans chaque membrane. Les canaux des deux membranes adjacentes se placent rigoureusement face à face lorsque cela est nécessaire (en fonction de la tension, du pH...). Ces jonctions communicantes permettent le passage direct d'ions et de petites molécules hydrosolubles d'une cellule à sa voisine (Fig. 21). Ce système est bien développé dans les cellules musculaires striées cardiaques et les cellules musculaires lisses.

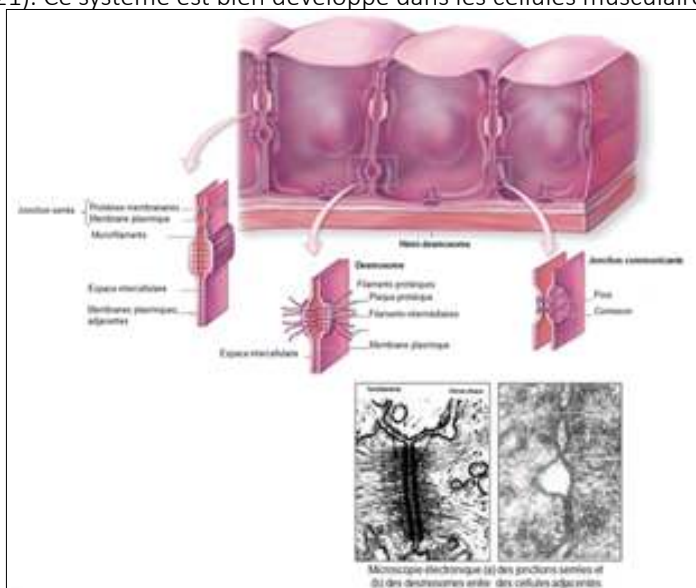


Figure 20. Différents types de jonctions cellulaires.

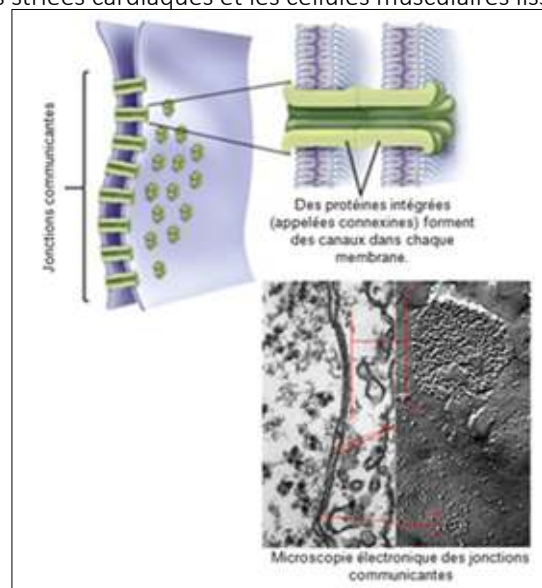


Figure 21. Les jonctions communicantes.

(CETTE PARTIE SERA DÉTAILLÉE PENDANT LA SEANCE DU COURS)

- **Système adhérents** : l'espace intercellulaire est large (25 nm). Il est rempli d'un matériel fibrillaire riche en glycoprotéines. Des filaments s'accrochent à la face intracellulaire de chaque membrane sur une plaque protéique.

Au niveau d'une zonula adhérents (cellules intestinales, par exemple) un faisceau de filaments d'actine intracellulaire s'accroche sur une ceinture protéique. Dans l'espace intercellulaire des protéines d'adhésion assurent l'accrochage des cellules entre elles.

Au niveau d'une macula adhérents (ou desmosome), des tonofilaments de kératine s'accrochent sur une plaque protéique intracellulaire comportant entre autres une protéine caractéristique, la desmoplakine.

Les héli-desmosomes, présents au pôle basal de certaines cellules, permettent la fixation des cellules à la lame basale grâce à des protéines d'adhésion, les intégrines.

Tous ces systèmes de jonction contribuent à l'adhésion intercellulaire et à l'étanchéité de l'espace intercellulaire. C'est le cas notamment de la barre terminale, située au pôle apical de certaines cellules épithéliales (intestinales, tubes rénaux,...), qui comprend une zonula occludens, une zonula adhérents et une macula adhérents ou une jonction gap, proches l'une de l'autre.

La barre terminale joue un autre rôle : elle empêche la diffusion des protéines membranaires en dehors de leurs territoires et confère à la cellule sa polarité.

3. LES ADHÉRENCES NON-JONCTIONNELLES

Les protéines d'adhésion jouent un rôle important dans les systèmes de jonction et dans la cohésion d'un tissu et dans ses fonctions. La figure 22 résume différents systèmes et protéines intervenant dans l'adhérence jonctionnelle et non jonctionnelle.

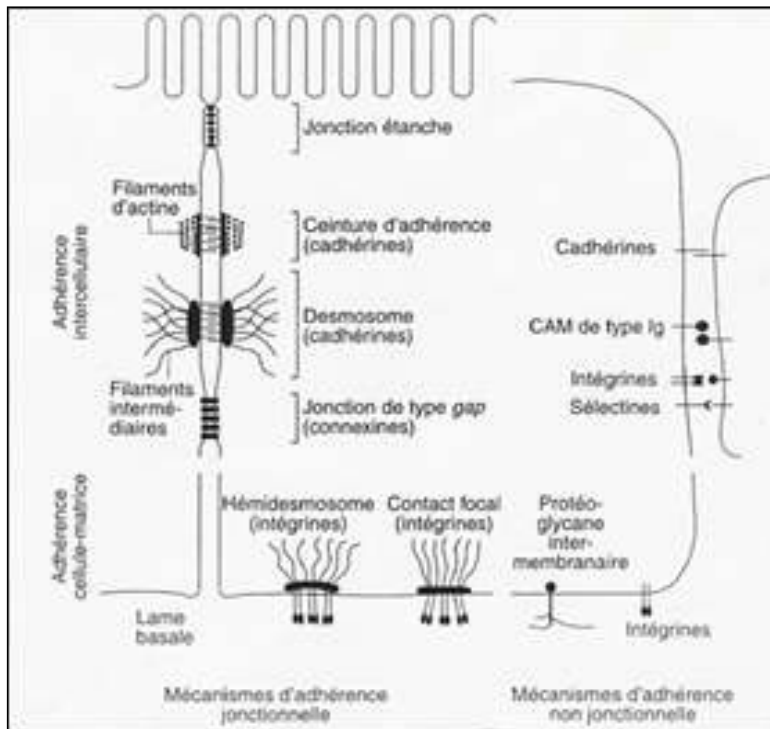


Figure 22. Système et protéines de l'adhérence jonctionnelle et non jonctionnelle

Indépendamment des zones de jonctions différenciées, les cellules sont liées les unes aux autres par des molécules d'adhérence (ou d'adhésion). Selon la structure ou la nature des molécules d'adhérence on distingue 4 familles :

3.1. Les cadhérines : ce sont des protéines transmembranaires calcium dépendantes, engagées généralement dans des liaisons intercellulaires homophiliques et/ou homotypiques c'est à dire qu'elles permettent l'adhésion entre deux molécules identiques portées par deux cellules de même type. Le domaine cytoplasmique de ces molécules joue un rôle important dans le maintien de la forme des cellules et l'intégrité des tissus (nerveux, muscle, épithélium et endothélium). Différentes cadhérines sont exprimées, et semblent caractériser un type cellulaire donné, par exemple les kératinocytes expriment la E-cadhérine, la P-cadhérine et au niveau des desmosomes, les desmoscolines et la desmoglérine.

Au cours du développement embryonnaire, les cadhérines contribuent à la communication intercellulaire.

3.2. La superfamille des immunoglobulines : elle comprend plus d'une trentaine de molécules adhésives ayant un ou plusieurs domaines de type immunoglobuline. Leur expression est soit transitoire, soit permanente. Leur fonctionnement est indépendant du calcium. Un ensemble de molécules, appartenant à cette famille, joue un rôle très important dans la reconnaissance intercellulaire au cours de la réponse immunitaire (CMH1, CMH2, CD2, CD4, CD8, CD28, ICAM1, ICAM2,...).

L'apparition d'ICAM1 à la surface des kératinocytes au cours de différentes dermatoses est le signe d'une réaction inflammatoire.

3.3. Les sélectines : elles interviennent dans l'adhésion entre les leucocytes et les cellules endothéliales lors de

la circulation lymphatique et vasculaire. Ce sont des molécules qui assurent des liaisons, elles sont calcium-dépendantes. Trois molécules appartiennent à cette famille : la L-sélectine (exprimée par les leucocytes), la E-sélectine (exprimée par les cellules endothéliales activées par des cytokines) et la P-sélectine (exprimée par les cellules endothéliales et les plaquettes).

3.4. Les intégrines : ce sont des hétérodymères, composés d'une chaîne alpha et d'une chaîne bêta. Ces deux chaînes sont associées de façon non covalente. La structure et les propriétés des intégrines suggèrent la présence de domaines contrôlant au moins trois fonctions : l'association des sous-unités et la liaison avec le ligand (contrôlée au niveau extracellulaire) et l'interaction avec le cytosquelette (contrôlée au niveau cytoplasmique).

Les cations bivalents (Ca^{++} , Mg^{++} , Mn^{++}) sont essentiels au fonctionnement de ces récepteurs. Les intégrines sont reliées aux filaments d'actine par la portion cytoplasmique de la chaîne bêta qui apparaît comme un site important de régulation du récepteur par le biais de phosphorylation. Une même intégrine peut reconnaître plusieurs ligands, tout comme un même ligand peut être reconnu par différentes intégrines. Une vingtaine d'hétérodymères (α/β) correspondant à des récepteurs de spécificité différente sont connus. Ils interviennent dans l'adhésion cellule-cellule (récepteurs de la famille $\beta 2$ principalement) et dans l'adhésion cellule-substrat (avec les protéines de la matrice extracellulaire comme la laminine, la fibronectine, le collagène). Leur engagement dans l'adhésion permet de transmettre des signaux intracellulaires qui peuvent modifier le comportement de la cellule (état stationnaire, état migratoire, prolifération, sécrétion,...). A l'exception des globules rouges, toutes les cellules expriment au moins une intégrine, une cellule pouvant exprimer plusieurs intégrines.

(CETTE PARTIE SERA DÉTAILLÉE PENDANT LA SEANCE DU COURS)

LE CYTOSOL ET LE CYTOSQUELETTE

Chez les eucaryotes, le cytoplasme est situé entre la membrane plasmique et l'enveloppe nucléaire. Il comporte le hyaloplasme, la partie liquide, dans lequel baignent des organites cytoplasmiques membranaires (voir chapitre concerné), différentes structures macromoléculaires telles que des inclusions (glycogène, lipides,...), le cytosquelette, les microtubules stables et des ribosomes (voir chapitre noyau).

1. LE CYTOSOL OU HYALOPLASME :

Il comporte 20 à 30 % de protéines plus ou moins liées à des molécules d'eau. Cette solution colloïdale peut modifier sa viscosité selon la transformation réversible suivante :



Ces deux états coexistent dans une même cellule. Le passage du cytosol de l'état de gel à celui de sol est contrôlé par la concentration en calcium. Si cette concentration augmente, le gel devient sol, et inversement si la concentration en Ca^{++} diminue. Deux protéines antagonistes interviennent :

- la filamine (sensible à la diminution de concentration en calcium), responsable de la formation des réseaux d'actine ce qui permet la formation du gel.
- La gelsoline qui fragmente l'actine ce qui permet la fluidification du gel en sol.

Ces transformations sont une des causes de la circulation intracytoplasmique (autres causes, voir microtubules).

Dans le hyaloplasme s'effectuent les principales réactions biochimiques du métabolisme cellulaire.

Le hyaloplasme est une réserve d'ions, de substances énergétiques de réserve (glycogène, lipides) et de précurseurs de grosses molécules (acides aminés, nucléotides, ...) nécessaires à l'édification de la cellule et à ses métabolismes.

2. LES INCLUSIONS CYTOPLASMIQUES:

Elles ne sont pas délimitées par une membrane comme les vacuoles.

Dans certaines cellules normales de mammifères, les inclusions, qui servent de réserve énergétique, sont particulièrement abondantes. Exemples d'inclusions cytoplasmiques :

- le glycogène est abondant dans les cellules du foie (hépatocytes), dans les cellules musculaires. Le glycogène donne aux cellules qui en possèdent une réaction PAS+.
- les inclusions lipidiques sont très abondantes dans les adipocytes (cellules de la graisse blanche et de la graisse brune). Dans la graisse brune, les lipides sont stockés en plusieurs amas indépendants : les cellules sont plus riches en cytoplasme et en organites.

Outre les adipocytes, d'autres cellules comme les cellules de la cortico-surrénale contiennent aussi des inclusions lipidiques (hormones stéroïdes).

3. LE CYTOSQUELETTE :

Dans le hyaloplasme, la plupart des protéines structurales du cytosquelette sont sous forme globulaire (=monomérique). Les monomères se polymérisent, ensuite, en protéines fibreuses constitutives du cytosquelette. Les protéines du cytosquelette sont responsables de la forme, du déplacement et même de la division de la cellule.

Le cytosquelette, rencontré uniquement dans les cellules Eucaryotes, comporte les microfilaments d'actine, les filaments intermédiaires et les microtubules labiles. Ces différents constituants sont disposés en un réseau organisé et sont reliés entre eux par différentes protéines nécessaires à leur stabilité et à leurs fonctions.

3.1. Les microfilaments d'actine ou filaments fins

Ce sont les filaments les plus fins de la cellule; ils ont un diamètre moyen de 7 nm (5 à 8 nm). Ils sont formés par la polymérisation de plusieurs protéines globuleuses polarisées d'actine G.

En présence d'ATP, les actines G se polymérisent en doubles chaînes linéaires spiralées, l'actine F (actine fibreuse ou microfilament) également polarisée qui présente donc un pôle (+) et un pôle (-).

De nombreuses protéines filamentaires ou globulaires sont associées à l'actine. Elles permettent :

- la consolidation des filaments d'actine (tropomyosine)
- la formation de faisceaux (fimbrine, α -actinine)
- la régulation de l'état gel/sol du cytosol (filamine /gelsoline)
- le glissement des filaments d'actine (têtes de myosine)
- l'accrochage à la membrane plasmique (spectrine)
- la rétention des monomères d'actine (profiline).

Ce système d'association actine-protéine permet à la cellule de contrôler l'état de viscosité de son cytoplasme et d'avoir une réserve d'actine G.

NB : Tous les filaments sont polarisés. Leur polymérisation s'effectue au pôle (+) et leur dépolymérisation au pôle (-). Ces deux processus s'effectuent, en même temps, aux deux extrémités mais à des vitesses différentes.

Les microfilaments croissent et décroissent au cours de certains mouvements cellulaires (pseudopodes...)

Localisation des microfilaments

Les microfilaments forment un feutrage (cortex) sous la membrane plasmique et un réseau dans tout le cytoplasme de la cellule. Ils sont attachés à la membrane plasmique et à la membrane de certains organites par des protéines et au niveau des microvillosités des entérocytes. Des molécules de minimyosine accrochent les filaments d'actine à la paroi membranaire des microvillosités intestinales (entérocytes) (Fig. 23).

Rôles des microfilaments

Ils sont responsables en partie du maintien de la forme cellulaire. Ils sont mobiles grâce à la présence de molécules de minimyosine non musculaire, le long desquelles ils glissent en consommant de l'ATP et en utilisant des ions Ca^{++} . Ceci permet les déformations cellulaires.

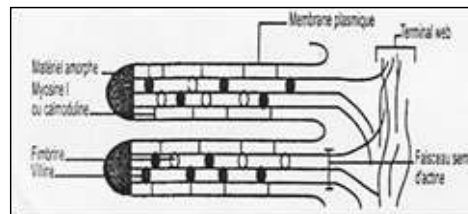


Figure 23. Faisceaux serrés d'actine au niveau des microvillosités.

3.2. Les filaments intermédiaires

Ils ont un diamètre moyen de 10 nm (7 à 11 nm). Ils constituent une classe hétérogène de filaments, différents selon le type cellulaire et présents dans la plupart des cellules eucaryotes. Certaines cellules comportent deux types différents des filaments intermédiaires.

Ils sont formés de polypeptides (de grande taille) qui ne subissent pas de polymérisation-dépolymérisation; le contrôle de leur stabilité est encore mal connu.

Ils sont soit isolés soit regroupés en faisceaux et semblent particulièrement liés aux microtubules.

Les principaux filaments intermédiaires sont :

- a** : Les kératines (neutres ou basiques) : on les trouve dans les cellules épithéliales et les dérivés épidermiques tels que poils, ongles,...
- b** : La vimentine : on la trouve dans beaucoup de cellules mésenchymateuses,
- c** : la desmine (dans les cellules musculaires),
- d** : la GFAP (protéine acide glio-filamentaire) existe dans certaines cellules non nerveuses du système nerveux central (cellules gliales).
- e** : Les neurofilaments : on les trouve dans les cellules nerveuses. Ils regroupent trois composants différents associés en une molécule complexe.
- f** : Les lamines nucléaires : ubiquitaires, on les trouve dans toutes les cellules. Actuellement on reconnaît trois types de lamine nucléaire (A, B et C). Leur assemblage peut être contrôlé par leur phosphorylation. Par exemple, au début de la mitose, les lamines nucléaires sont phosphorylées, les sous-unités A et C se détachent alors de la sous-unité B, ce qui provoque la fragmentation de l'enveloppe nucléaire.

Localisation des filaments intermédiaires

Ils s'étendent de l'enveloppe nucléaire vers la périphérie cellulaire sauf les lamines qui sont localisées, exclusivement, dans le noyau de la cellule.

Rôle des filaments intermédiaires

Il n'est pas encore bien élucidé sauf pour les lamines. En fait, des expériences ont montré que si on détruit les filaments intermédiaires, la mobilité cellulaire n'est pas affectée ni ses métabolismes.

Intérêt et utilité de la connaissance des filaments intermédiaires

La spécificité des filaments intermédiaires à chaque tissu, est utilisée dans le diagnostic de certains cancers surtout si ces derniers peuvent développer des métastases à distance du cancer d'origine. En utilisant des anticorps dirigés contre différents filaments intermédiaires, on peut déterminer la provenance ou l'origine initiale des cellules tumorales.

3.3. Les microtubules

3.3.1. Les microtubules labiles

Ils sont présents dans toutes les cellules Eucaryotes mais absents chez les Procaryotes.

Chaque microtubule est un tube creux non ramifié d'environ 25 nm de diamètre et 5 nm d'épaisseur. Sa paroi est formée par l'association de 13 protofilaments, reliés entre eux par des protéines. Chaque protofilament est formé à partir d'une protéine élémentaire globuleuse, la tubuline (Fig. 24).

NB : Chez une même espèce animale, il existe différentes isoformes de la tubuline.

La tubuline alpha et la tubuline bêta s'associent en un dimère polarisé. Ces dimères se polymérisent en protofilament, en consommant de l'énergie (sous forme de GTP et d'ions Mg^{++}).

Les microtubules labiles sont responsables de la disposition des microfilaments et des filaments intermédiaires. Ils sont essentiels au maintien de la forme cellulaire. Ils ne sont observables que dans certaines conditions physico-chimiques de température et de pression: la dépolymérisation est induite par l'augmentation de la pression, la diminution de la température ou la présence de substances anti-mitotiques telles que la colchicine (alcaloïde végétal). La colchicine se fixe aux dimères α/β de la tubuline et empêche leur polymérisation.

Les microtubules sont associés à des protéines telles que:

- Les MAPS (Microtubules Associated Proteins) qui maintiennent leur stabilité et les lient à d'autres constituants cellulaires (vésicules de sécrétion ...)
- Aux protéines indispensables à la polymérisation des microtubules.

Globalement, au niveau des centres organisateurs des microtubules (ou centres de nucléation), les microtubules se polymérisent au pôle (+) et se dépolymérisent au pôle (-). La polymérisation est plus lente que la dépolymérisation. Celle-ci est empêchée ou ralentie par des protéines stabilisatrices, probablement des MAPS, localisées au pôle (-) des microtubules (dans des centres de nucléation).

Il existe dans la cellule des centres organisateurs des microtubules (= MTOC) ou centres de nucléation où sont plantés les pôles (-).

Les centres organisateurs des microtubules se trouvent dans :

- la région péri-centriolaire, bien visible dans la cellule en interphase, ou au niveau des extrémités du fuseau mitotique formé au cours de la division cellulaire (voir Chapitre La division cellulaire).
- des centres sans centrioles, très discrets, répartis un peu partout dans le cytoplasme. Ces centres comportent
 - *de la tubuline gamma qui serait nécessaire à l'assemblage et à la polymérisation des microtubules.
 - *des protéines stabilisatrices qui empêchent ou ralentissent la dépolymérisation des microtubules.

Certains microtubules labiles sont indispensables aux divisions cellulaires : les microtubules (polaires) du fuseau de division interfèrent avec les microtubules kinétochoriens et permettent l'ascension polaire des chromosomes fils le long du fuseau de division.

NB : Les plaques kinétochoriennes sont formées par des protéines situées au niveau du centromère des chromosomes métaphasiques (voir Chapitre Chromosome).

Organisation du cytosquelette

Les microtubules, les filaments intermédiaires et les microfilaments s'entrecroisent en un réseau qui forme des mailles. Ce réseau s'accroche à la membrane plasmique par l'intermédiaire d'autres protéines dont certaines forment un feutrage sous la membrane plasmique. Les organites, les macromolécules, les vésicules d'exo- et d'endocytose, sont accrochés à ce réseau: leur déplacement n'est pas aléatoire mais rigoureusement organisé.

La calmoduline, protéine qui fixe les ions Ca^{++} , jouerait un rôle important en intervenant sur les enzymes responsables de modifications de la structure du cytosquelette.

Tous les éléments constitutifs du cytosquelette sont également reliés aux jonctions cellulaires.

3.3.2. Les microtubules stables

Ils sont constitués également de protofilaments de tubuline. Cependant, leur existence ne dépend ni des conditions physico-chimiques, ni de l'âge de la cellule.

Ces microtubules restent stables (pas de polymérisation/dépolymérisation) grâce à la présence de protéines stabilisatrices. Ils sont également insensibles à la colchicine.

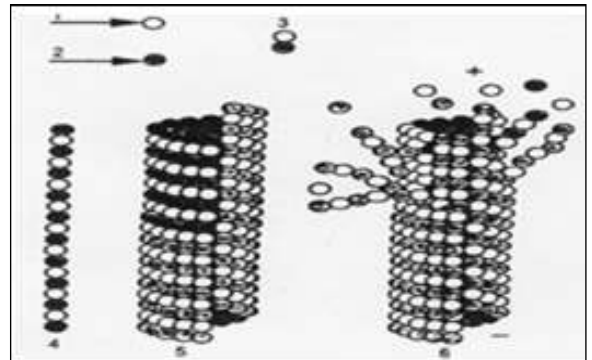


Figure 24. Les microtubules. 1. Tubuline α + GTP. 2. Tubuline β + GTP. 3. Hétérodimère de tubuline. 4. Protofilament. 5. Microtubule. 6. Dépolymérisation.

Il existe deux types de microtubules stables distincts formant des édifices complexes

- les centrioles formant le centrosome
- l'axonème du cil et du flagelle

a) Le centriole:

En général, une cellule contient deux centrioles (soit le diplosome) disposés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre. Ils sont situés près du noyau. Chaque centriole se présente sous forme d'un cylindre creux. Les deux centrioles constituent le centrosome, qui est le centre organisateur des microtubules qui vont former le fuseau mitotique lors de la division cellulaire.

Le centrosome est l'ensemble formé par le diplosome entouré d'une région peu contrastée renfermant du matériel amorphe.

Structure du centriole

Il est formé de 9 triplets (un triplet comporte 3 microtubules, A, B et C dont le A est le plus interne) de microtubules disposés obliquement par rapport à l'axe du cylindre. Une protéine, la nexine relie entre eux les microtubules A et C de deux triplets adjacents et assure la cohésion du centriole (Fig. 25). Sa taille (diamètre moyen 0,20 μm ; longueur 0,5 μm) le rend visible au microscope optique.

Rôle du centriole

Il est responsable de la formation des microtubules du fuseau de division. Dans Certaines cellules, le centriole permet l'édification de l'axonème des cils et des flagelles.

b) L'axonème des cils et flagelles

Les cils et les flagelles sont des digitations de la surface des cellules animées de mouvements ondulants ou pendulaires. Les cils (5 à 10 μm) ne diffèrent des flagelles (50 μm) que par leur longueur.

Définition de l'axonème

C'est un faisceau de microtubules dont la partie mobile est logée dans l'évagination plus ou moins longue de la membrane plasmique de certaines cellules. La partie la plus profonde du faisceau de microtubules comporte un corpuscule basal (ou cinétosome), organisé comme un centriole. Il en diffère cependant par la présence de protéines centrales à sa partie basale (Fig. 26).

Le corpuscule basal permet la croissance de l'axonème. L'axonème comporte :

- 9 doublets de microtubules (A et B) périphériques; chaque microtubule A porte deux bras de dynéine, siège d'une ATPase.
- 1 doublet central

Tout cet édifice est relié par des protéines, dont la nexine. Le spermatozoïde est le seul exemple de cellule à flagelle dans l'espèce humaine.

Battements des cils et des flagelles

Les battements des cils sont perpendiculaires au plan formé par le doublet central. Ils sont dus au déplacement vers le haut ou vers le bas du microtubule B voisin, des bras de dynéine portés tout le long de chaque microtubule A (tous les 24 nm). Les bras de dynéine se terminent par des têtes globulaires ayant une activité ATPasique (comme les myosines). L'hydrolyse de l'ATP (en présence de Mg^{++}) déplace les têtes de dynéine dans une seule direction. Au cours de ces mouvements, les microtubules glissent les uns le long des autres, leur longueur reste cependant inchangée. Les battements des cils des cellules voisines sont coordonnés en vagues successives.

L'absence de bras de dynéine sur les microtubules A rend les axonèmes immobiles. Cette anomalie a été rapportée dans une maladie génétique qui se traduit par une stérilité masculine et féminine associée à des problèmes respiratoires. Chez les individus malades, les spermatozoïdes dépourvus de dynéine sont immobiles. Alors que chez la femme atteinte, l'absence de dynéine au niveau des cils empêche la captation de l'ovocyte II dans la trompe utérine.

Par ailleurs, l'absence de la dynéine abolit les mouvements pendulaires des cils de certaines cellules de l'épithélium des voies respiratoires ; par conséquent, les mucus et les poussières ne peuvent plus être acheminés vers le carrefour aéro-digestif. Les battements des flagelles sont ondulants.

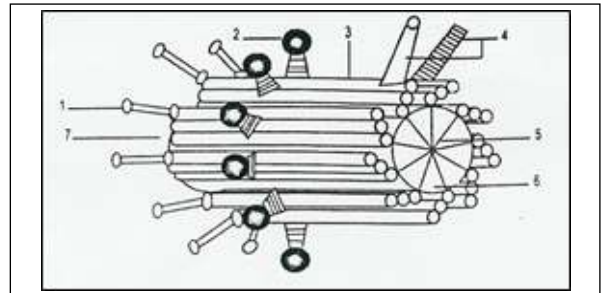


Figure 25. Le Centriole : 1. Appendice distal. 2. Satellite. 3. Triplet de microtubules. 4. Fibre de protéine. 5. Roue de charrette. 6. Extrémité proximale. 7. Extrémité distale.

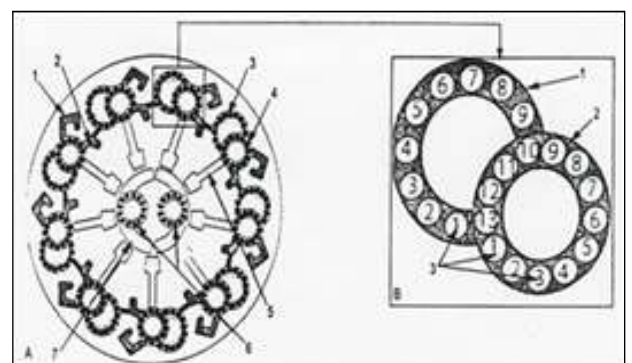


Figure 26. Structure de l'axonème. A. 1. Bras de dynéine externe. 2. Bras de dynéine interne. 3. Microtubule B. 4. Microtubule A. 5. Rayon. 6. Doublet de microtubules centraux. 7. Gaine centrale. B. 1. Microtubule B. 2. Microtubule A. 3. protofilaments.

Biogenèse des centrioles, cils et des flagelles

La duplication des centrioles ne se présente jamais comme une division mais plutôt comme l'assemblage d'un nouveau centriole fils au contact du centriole père. Le centriole fils forme un angle droit (forme un L) avec le centriole père. Le diamètre du centriole fils est d'emblée normal mais sa longueur est plus courte (Fig.27).

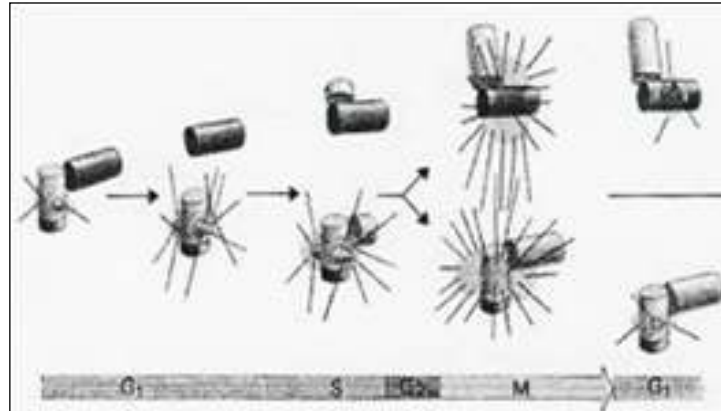


Figure 27. Réplication des centrioles au cours du cycle cellulaire.

On a décrit deux mécanismes différents de biogenèse des centrioles selon que ces derniers forment le fuseau mitotique de la cellule en division ou les cils des cellules ciliées.

- les centrioles destinés à la formation du fuseau mitotique proviennent directement des centrioles déjà existants (par un assemblage d'un nouveau centriole fils).
- la formation des cinétosomes (corpuscules basaux) des cils d'une cellule d'un épithélium cilié serait due à l'intervention de la paire de centrioles. Celle-ci grimpe vers le pôle apical de la cellule et engendre la formation de «satellites», matériel protéique dense aux électrons. Ce sont ces satellites qui sont à l'origine des corpuscules basaux qui se forment selon le processus précédemment décrit. Ces corpuscules basaux sont à l'origine de la croissance des cils, dont la longueur est contrôlée.

Dans une même cellule ciliée, les corpuscules basaux sont disposés en rangées et reliés les uns aux autres. Tous les cils ont leurs doublets centraux orientés dans la même direction. Cette organisation permet d'effectuer des mouvements dans la même direction. Elle permet aussi de coordonner les mouvements ciliaires dans une même cellule ainsi que dans l'ensemble des cellules d'un même épithélium.

NB : des cellules embryonnaires ont des cils qui battent de façon circulaire dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.

COMPARTIMENTS CELLULAIRES ET SYSTÈMES ENDOMEMBRANAIRES

Les objectifs éducationnels

1. Connaître les différents organites endomembranaires
2. Représenter à l'aide d'un schéma, la filiation des organites endomembranaires
3. Reconnaître sur photos ou clichés de microscopie électronique, les organites endomembranaires
4. Citer les points communs et les différences entre les constituants membranaires des différents organites
5. Interpréter des résultats expérimentaux permettant de démontrer la collaboration du REG du REL et de l'appareil de Golgi dans la synthèse de certains métabolites
6. Expliquer la technique autoradiographique appliquée à l'étude des différentes étapes de la synthèse d'un métabolite en montrant l'importance du facteur TEMPS
7. Expliquer le rôle du REG dans la synthèse des protéines en montrant le devenir des protéines synthétisées
8. Citer les principaux rôles du REL
9. Expliquer à l'aide d'un exemple, la collaboration du REG, de l'appareil de Golgi et des lysosomes dans la synthèse de certaines substances
10. Citer des exemples de métabolismes intracellulaires dans lesquels interviennent les lysosomes
11. Décrire les différentes étapes de transformation des lysosomes intervenant dans la défense de la cellule et de l'organisme
12. Décrire le mode d'intervention des lysosomes dans la régulation des sécrétions cellulaires et du pool des organites
13. Décrire un exemple de dysfonctionnement des lysosomes
14. Représenter l'aspect ultrastructural des différentes parties formant une mitochondrie
15. Comparer structuralement et fonctionnellement les membranes externes et internes de la mitochondrie
17. Citer les principaux constituants biochimiques de la matrice mitochondriale
18. Citer les deux principales fonctions de la mitochondrie en précisant pour chacune d'elles les constituants membranaires responsables
19. Reconnaître les mitochondries sur lames après coloration spéciale ou sur micrographies électroniques.

COMPARTIMENTS CELLULAIRES ET SYSTEMES ENDOMEMBRANAIRES

De nombreux processus vitaux ont lieu à l'intérieur des cellules ou au niveau de leur membrane (à la surface).

Dans le compartiment cytoplasmique, s'effectuent de nombreuses réactions biochimiques nécessaires au métabolisme cellulaire (dégradation et synthèse de produits nécessaires à la construction de macromolécules). Toutes ces réactions se font dans différents systèmes membranaires organisés en compartiments de structures différentes qui assurent des fonctions distinctes. Ces systèmes membranaires appelés organites cellulaires sont le réticulum endoplasmique lisse et rugueux, l'appareil de Golgi, les lysosomes, les endosomes, les peroxysomes et les mitochondries. Leurs membranes dérivent les unes des autres, leurs cavités peuvent communiquer entre elles, sauf pour les mitochondries et les peroxysomes qui sont indépendants.

1. STRUCTURE ET COMPOSITION CHIMIQUE :

1.1. RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE :

C'est un système de membranes de 5 à 6 nm d'épaisseur qui délimitent des cavités ayant l'aspect de saccules aplatis, ou citernes, et de canalicules. Il existe sous 2 formes :

- le réticulum endoplasmique lisse (REL) ou réticulum agranulaire, dépourvu de ribosomes.
- le réticulum endoplasmique granulaire (REG), réticulum tapissé de ribosomes sur sa face cytoplasmique.

La membrane du REG est en continuité avec la membrane externe de l'enveloppe nucléaire et avec celle du REL. Les cavités du REG communiquent avec l'espace périnucléaire et les cavités du REL.

REG et REL existent dans toutes les cellules Eucaryotes mais dans des proportions très différentes selon le type cellulaire. Par exemple, le REG est très développé dans les cellules synthétisant des protéines, telles que les cellules pancréatiques (qui synthétisent les hydrolases pancréatiques), les cellules nerveuses (neurotransmetteurs), les plasmocytes (immunoglobulines), les fibroblastes (protocollagène).

Le REL est très développé dans les cellules impliquées dans le métabolisme des lipides, le stockage de certains ions. Le REL est ainsi abondant dans les cellules de la cortico-surrénale (synthèse des hormones stéroïdes), dans les cellules interstitielles du testicule (synthèse de testostérone), dans les cellules musculaires striées (accumulation d'ions Ca^{++}), dans les hépatocytes (détoxification).

Ces organites (RE) sont séparés sous forme de microsomes rugueux ou lisses selon la nature de l'organite d'origine. Les microsomes sont des microvésicules qu'on sépare par centrifugation en gradient de densité au cours d'un fractionnement cellulaire.

Les membranes du RE ont la même composition biochimique de base que la membrane plasmique. Cependant elles sont plus riches en protéines. Elles comportent des enzymes responsables des fonctions spécifiques du réticulum.

1.2. L'APPAREIL DE GOLGI :

C'est l'ensemble des dycytosomes de la cellule. La cellule nerveuse en est très riche. La disposition des dycytosomes est particulière pour chaque type cellulaire. Dans une cellule sécrétoire, par exemple, il est souvent situé en position supra-nucléaire.

Chaque dycytosome est formé de saccules empilés et communicants. Au niveau de chaque dycytosome on peut distinguer 3 régions :

- La face Cis, formée de vésicules de transition avec le REG et de tubules anastomosés entre eux.
- Les saccules médians ou citernes ; chaque citerne comporte des régions membranaires déterminées en rapport avec leur fonction.
- La face Trans, où se trouvent des saccules tubulaires et des vésicules de sécrétion.

Les citernes de chaque dycytosome possèdent des territoires membranaires spécifiques destinés à trier les protéines synthétisées dans le RE (les enzymes lysosomales, les protéines de sécrétion, les protéines membranaires, ...). De plus, le Golgi est le lieu où s'achève la synthèse de molécules, débutée dans le réticulum.

1.3. LES LYSOSOMES :

Ce sont des vésicules (0,3 à 1,5 μm) délimitées par une membrane et contenant des enzymes de type hydrolase (environ une quarantaine a été répertoriée). On distingue les lysosomes primaires et les lysosomes secondaires.

- Les lysosomes primaires, visibles uniquement au microscope électronique, présentent un aspect homogène. Ce sont des vésicules de stockage d'enzymes qui ne sont pas encore intervenues dans les phénomènes de digestion intracellulaire. Ces enzymes proviennent des citernes golgiennes. La membrane des lysosomes est imperméable à la sortie de leurs propres enzymes et elle est protégée de l'acidité interne grâce à la présence de glycoprotéines dans son feuillet interne. Cette membrane lysosomale comporte des pompes à protons (ATP dépendantes) qui maintiennent le pH interne égal à 5. Sur la face externe de la membrane des lysosomes, on trouve des protéines qui reconnaissent des substrats tels que des vésicules d'endocytose, des macromolécules et d'autres organites.
- Les lysosomes secondaires apparaissent au microscope électronique comme des sacs membraneux de morphologie variée et très hétérogène. Ils contiennent des enzymes hydrolytiques, des substrats en cours de digestion et leurs produits de dégradation. Ils proviennent de la fusion des lysosomes primaires avec différents substrats.

1.4. LES PEROXYSOMES :

Ce sont des vésicules de 0,5 μm de diamètre, présentes dans toutes les cellules. Au microscope électronique, les peroxysomes apparaissent très contrastés car denses aux électrons. Ils sont délimités par une membrane imperméable et contiennent des enzymes oxydatives (les catalases et les oxydases).

Le foie et les reins ont des cellules riches en peroxysomes.

1.5. LES ENDOSOMES:

Ce sont des vésicules délimitées par une membrane et de taille variable. Les endosomes transitent entre les différents compartiments membranaires. Ils dirigent leur contenu soit vers les lysosomes, soit vers d'autres organites, soit vers la membrane plasmique.

2. LES FONCTIONS :

Les différents compartiments membranaires assurent la synthèse et la maturation des molécules néosynthétisées, mais également la transformation des substances et particules ingérées par la cellule.

Au fur et à mesure que se déroulent les différentes étapes de la synthèse, un tri oriente les molécules vers différentes cavités. Différentes méthodes de marquage ont permis de suivre le devenir des molécules et des membranes qui les entourent.

2.1.1. Rôles du réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique assure la synthèse des lipides et des protéines membranaires (membrane plasmique et membrane des autres organites). De plus, le REG synthétise les protéines destinées à l'exportation.

- **Rôles du réticulum endoplasmique granuleux**

Les ribosomes liés à la membrane du RE confèrent l'aspect rugueux au réticulum endoplasmique dit alors RE rugueux (RER) ou granuleux (REG).

Le REG, à travers les ribosomes, assure la synthèse des protéines. C'est également au niveau du REG que les protéines synthétisées commencent leurs maturations par glycosylation.

De nombreux ribosomes peuvent se fixer à une seule molécule d'ARNm formant un polysome et assurent la synthèse de plusieurs protéines simultanément.

Toutes les protéines débutent leur synthèse dans le cytosol. Au cours de leur synthèse certaines protéines sélectionnées du cytosol sont dirigées vers la membrane du REG où elles sont transloquées et y achèvent leur synthèse. La présence d'une séquence spécifique appelée **peptide signal** sur ces protéines permet leur importation du cytosol dans le REG.

Parmi celles-ci, certaines protéines (membranaires) sont partiellement transloquées à la membrane du REG et y deviennent enchâssées alors que d'autres (protéines hydrosolubles) sont complètement transloquées et sont libérées dans la lumière du REG.

Les protéines membranaires auront trois destinations possibles ; soit elles resteront dans la membrane du REG, soit elles seront destinées à résider dans la membrane plasmique ou dans la membrane d'un autre organite. Quant aux protéines hydrosolubles, trois destinations leur sont possibles ; soit elles resteront dans le REG, soit elles seront destinées à la lumière d'un autre organite (lysosomes), soit elles seront destinées à la sécrétion.

NB : Les protéines synthétisées par les polysomes libres dans le cytosol (non liés au REG) correspondent soit aux protéines cytoplasmiques soit aux protéines destinées aux autres organites membranaires (mitochondries et peroxysomes) grâce à des séquences spécifiques d'adressage faisant parties intégrantes de la protéine synthétisée.

Il y a par conséquent dans le cytosol deux populations de polysomes, les polysomes attachés à la membrane du REG (du côté cytosolique) et engagés dans la synthèse de protéines qui sont transloquées dans le REG et les polysomes libres qui synthétisent toutes les autres protéines codées par le génome.

Peptide signal et translocation des protéines dans le REG

Le peptide signal est une courte séquence d'acides aminés généralement à l'extrémité amino-terminale, qui dirige la protéine vers la membrane du REG.

Deux composants guident le peptide signal vers la membrane du REG :

1. une particule de reconnaissance du signal (**SRP**) qui se fixe au peptide signal
2. **un récepteur du SRP**, une protéine intégrale située dans la membrane du REG.

Le SRP se lie au peptide signal synthétisé et provoque un arrêt momentané de la synthèse protéique. L'ensemble formé par le ribosome+peptide signal+SRP se lie à la membrane du REG au niveau du récepteur du SRP (Fig. 28).

Le SRP est alors libéré et un dispositif de translocation composé de protéines membranaires (= un pore aqueux appelé translocon) permet l'insertion ou le passage de la chaîne polypeptidique à travers la double couche lipidique de la membrane.

Le rôle du peptide signal est double :

- sert à orienter la protéine vers la membrane du REG

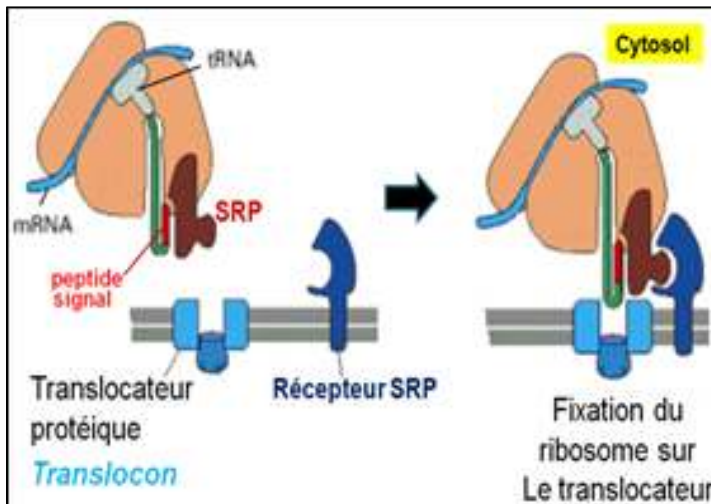


Figure 28. La particule SRP s'associe à certaines chaînes peptidiques naissantes pour les adresser au réticulum endoplasmique. Cette particule RNP contient un ARN de 7S associé à plusieurs protéines.

- sert de signal d'initiation de transfert qui reste lié au dispositif de translocation alors que le reste de la protéine est enfilé de façon continue dans la membrane.

Cas de protéines sécrétées

Quand la chaîne polypeptidique a traversé la membrane du REG, le peptide signal est clivé puis rapidement dégradé par une signal peptidase de la membrane du REG. La protéine est libérée dans la lumière du REG.

Cas de protéines membranaires

*Protéines transmembranaires à une seule traversée : le peptide signal (amino-terminal) initie la translocation, mais il existe en plus un autre segment hydrophobe dans la chaîne polypeptidique qui arrête le processus de transfert et ceci avant que la chaîne polypeptidique ne soit entièrement transloquée. Ce segment hydrophobe ancre la protéine dans la membrane et forme ainsi un segment transmembranaire en hélice alpha. Le peptide signal qui a initié la translocation de la protéine membranaire synthétisée sera excisé par une peptidase (Fig. 29).

* Protéines transmembranaires à plusieurs traversées ; le peptide signal est interne et sert de signal d'initiation de transfert et initie la translocation. La translocation se poursuit jusqu'à ce qu'un peptide de terminaison de transfert soit atteint.

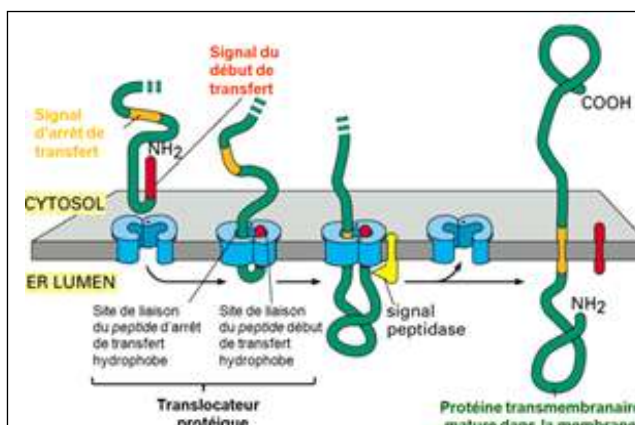


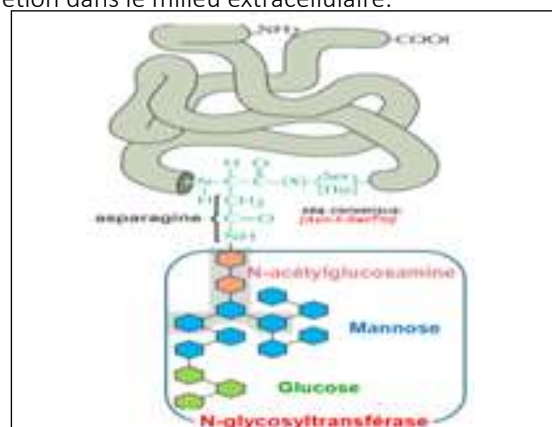
Figure 29. Les protéines transmembranaires à traversée unique. La signal peptidase est associée à la face interne de la membrane du REG et clive la séquence signal.

Glycosylation des protéines dans le REG

La plupart des protéines synthétisées dans le REG sont N glycosylées. La N glycosylation correspond à l'addition d'un oligosaccharide N-lié (composé de 14 résidus glucidiques).

Dès que la chaîne polypeptidique pénètre dans la lumière du REG, elle est glycosylée sur ses résidus asparagine accessibles (selon le motif : Asn-x-Thr/Ser) (Fig. 30). L'oligosaccharide est transféré à l'asparagine en un seul bloc au cours d'une réaction catalysée par une oligosaccharyl transférase à partir d'un lipide membranaire, appelé dolichol.

Les polypeptides accrochés à la membrane permettent le renouvellement du cell-coat, et les protéines intégrées glycosylées ou non de la membrane plasmique. Ceci s'effectue par exocytose des vésicules golgiennes qui permet également la libération de produits de sécrétion dans le milieu extracellulaire.



**Figure 30. Modification des protéines dans le RE :
La N glycosylation**

Rôles du réticulum endoplasmique lisse

Il assure la détoxification c'est à dire la transformation de produits toxiques pour l'organisme en produits simples peu ou pas toxiques. Ce compartiment est très développé dans les cellules hépatiques.

Il assure la synthèse des lipides membranaires ou non membranaires et la transformation des lipides exogènes. Par exemple, les tri-glycérides sont transformés dans le REL des cellules intestinales ou «entérocytes» au cours de la digestion.

Les triglycérides émulsionnés par les sels biliaires dans la lumière du duodénum (première partie de l'intestin grêle) sont dissociés en acides gras et monoglycérides grâce à la lipase pancréatique. Les molécules d'acides gras, de monoglycérides et éventuellement de triglycérides, pénètrent dans les cavités du REL, grâce à des enzymes membranaires. Les triglycérides se reconstituent par réassociation des acides gras et monoglycérides. Ils passent par la suite dans l'appareil de Golgi où ils sont glycosylés et forment des chylomicrons qui sont exportés hors de la cellule par exocytose, au niveau des faces latérales. Ils vont ensuite rejoindre les chylifères puis le système lymphatique.

2.1.2. Rôles de l'appareil de Golgi

Le Golgi joue le rôle de centre de tri (Fig. 31). En effet, les protéines provenant du REG, qui ont été partiellement glycosylées, pénètrent dans le Golgi par la face Cis. Au cours de leur transit vers la face Trans, les protéines achèvent leur glycosylation. Elles quittent l'appareil de Golgi sous forme de protéines glycosylées, qui vont être orientées selon trois voies différentes :

- la sécrétion contrôlée (grains de sécrétion)
- la sélection des enzymes lysosomales
- la sécrétion constitutive (renouvellement de la membrane plasmique)

Le tri au niveau du Golgi s'effectue grâce à des systèmes de reconnaissance entre les protéines membranaires de la membrane golgienne et les portions constitutives des protéines synthétisées. Par exemple, les enzymes lysosomales qui portent du Mannose-6-Phosphate (M6P) sont regroupés dans certains territoires golgiens par des récepteurs qui reconnaissent le mannose uniquement lorsqu'il est phosphorylé (Fig. 32). Les récepteurs sont recyclés par de petites vésicules qui fusionnent avec les cisternes Trans du Golgi.

Les protéines destinées à la sécrétion contrôlée ou constitutive (renouvellement de la membrane plasmique) perdent en général la plupart de leur résidu de mannose qui sont remplacés par de l'acide sialique, du galactose et de la N-acétyl glucosamine.

Formation de vésicules membranaires à manteau trieur

Les vésicules en formation (à partir du Golgi) sont des vésicules recouvertes d'un manteau de protéines. Ce manteau est souvent visible en microscopie électronique à transmission sous forme d'un épaississement feutré de la face cytoplasmique de la membrane de la vésicule.

On distingue 3 grandes familles de protéines de manteau bien connues dans les cellules eucaryotes (Fig.33):

- les manteaux de clathrine-adaptatines
- les manteaux de coatomères « COP I » (CoatProtein 1)
- les manteaux de coatomères « COP II » (CoatProtein 2)

Il y a une autre famille de manteau à cavéoline dont le rôle dans la genèse de déformation de matériaux membranaires est discuté.

La clathrine intervient dans différents transports vésiculaire dans la cellule grâce à une spécificité de reconnaissance assurée par des molécules d'adaptatine (AP). L'ensemble clathrine-adaptatine permet la déformation spontanée de la membrane (bourgeonnement) et la formation d'une vésicule à partir d'une zone de la membrane contenant des molécules transmembranaires porteuses d'un signal. Le manteau de clathrine-adaptatine permet le transit des vésicules de l'appareil de Golgi (sacculles Trans) vers les compartiments prélysosomiaux (clathrine-AP1) et dans l'endocytose spécifique par la membrane plasmique vers l'endosome comme dans le cas des LDL (clathrine-AP2).

Les deux types de manteau COP I et COP II ont une composition distincte du manteau de clathrine-adaptatine. La famille COP I est particulièrement caractérisée dans le transport rétrograde de vésicules de l'appareil de Golgi vers le REG et aussi le transport des vésicules entre les différents sacculles de l'appareil de Golgi. La famille COP II participe essentiellement au transport antérograde de vésicules depuis le REG vers l'appareil de Golgi.

Une fois formées, les vésicules doivent être transportées spécifiquement jusqu'aux compartiments accepteurs où différentes étapes de reconnaissance et de fusion membranaire peuvent se dérouler. Diverses approches ont permis l'identification des acteurs moléculaires intervenant dans ces mécanismes (GTPases de la famille Rab, V- et t-SNARE, etc...).

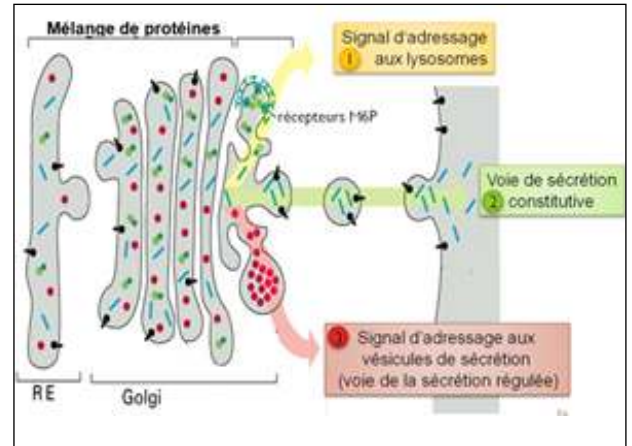


Figure 31. Le Golgi est un centre de tri : Cas des protéines solubles et membranaires

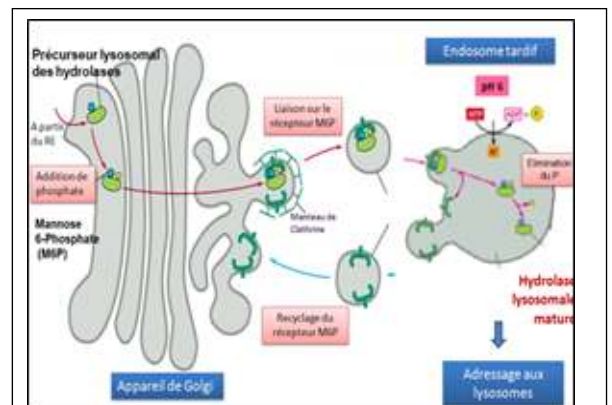


Figure 32. Adressage sélectif des enzymes lytiques (hydrolases) vers les lysosomes

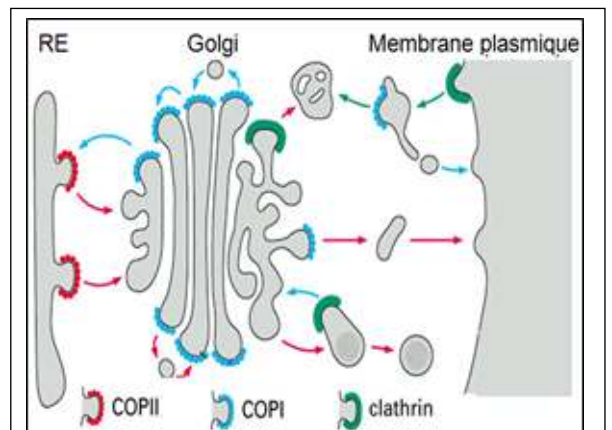
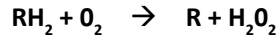


Figure 33. Différents manteaux dans le transport vésiculaire

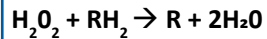
2.1.3. Rôles des peroxysomes

Bien développés dans les cellules du rein et du foie, les peroxysomes transforment différentes substances afin de les rendre non toxiques.

La membrane des peroxysomes comporte sur sa face externe des récepteurs aux pré-enzymes peroxysomales qui sont synthétisées dans le cytosol par des polysomes libres puis transportées, par des transporteurs membranaires, dans le peroxysome où elles deviennent des enzymes oxydatives. Les enzymes peroxysomales jouent un rôle important. Les oxydases interviennent les premières, elles enlèvent H_2 à un substrat pour former le H_2O_2 (le peroxyde d'oxygène) en utilisant l' O_2 selon la réaction suivante :



Le H_2O_2 produit par la première réaction est utilisé par la catalase pour oxyder d'autres substrats qui ont traversé la membrane plasmique de la cellule et la membrane peroxysomale, selon la réaction suivante :



C'est ainsi que l'alcool, les phénols, l'acide formique, le formaldéhyde sont dégradés.

En cas d'excès de H_2O_2 , la catalase le transforme selon la réaction suivante :



2.1.4. Rôles des lysosomes :

- **Régulation des sécrétions cellulaires et du pool des organites (autophagie)**

Les lysosomes éliminent les organites devenus inutiles ou vieillis, permettent l'involution de certains organes avec l'âge (le thymus) ou avec l'arrêt de leur fonctionnement (les glandes mammaires à l'arrêt de la lactation), éliminent les surproductions de sécrétions glandulaires avec recyclage des matériaux de base, à l'intérieur même des cellules productrices, donc avant leur excrétion. Dans ces cas, le REL enveloppe les territoires à dégrader et forme une vésicule d'autophagie à deux membranes. Puis les lysosomes fusionnent avec cette vésicule et déversent leurs enzymes (Fig.34).

- **Digestion extra-cellulaire**

Dans les tissus osseux des cellules appelées les ostéoclastes, sont riches en lysosomes ; ces ostéoclastes déversent leurs enzymes lysosomales à l'extérieur pour dissoudre la matrice osseuse.

- **Digestion intra-cellulaire**

Les lysosomes primaires peuvent digérer des substances d'origine extra cellulaire après leur phagocytose (hétérophagie).

- **Transformation des molécules pénétrant par endocytose**

Certaines cellules du foie et du rein reconnaissent des protéines plasmatiques spécifiques grâce à des récepteurs de leur membrane plasmique. Cette reconnaissance conduit à la formation d'une vésicule d'endocytose qui va fusionner avec les lysosomes primaires. Les hydrolases lysosomales assurent alors la transformation du contenu de ces vésicules. Ainsi, les lysosomes primaires transforment les LDL (lipides de faible densité) en cholestérol. De même la métabolisation des particules étrangères à la cellule (Fig. 34) peut être prise en charge par endocytose. Les lysosomes primaires de la cellule fusionnent avec la ou les vésicules d'endocytose. Les hydrolases lysosomales décomposent le corps étranger. Certains produits de dégradation sont réutilisés par la cellule. Les déchets sont rejetés hors de la cellule par exocytose. Ainsi, les lysosomes protègent la cellule et l'organisme contre certaines agressions. Cette caractéristique est l'apanage de certains types cellulaires notamment: les macrophages, les polynucléaires, les neutrophiles,...

Le dysfonctionnement des lysosomes conduit à l'apparition de maladies. L'anomalie peut concerner l'équipement enzymatique des lysosomes en quantité insuffisante. La dégradation des substrats ne sera pas complète, ce qui entraînera leur accumulation dans les lysosomes secondaires.

Exemple : accumulation du pigment de lipofuschine dans les cellules nerveuses des personnes âgées.

Si le substrat est sous forme de cristaux, ces derniers s'accumulent dans les lysosomes et vont finir par fragiliser la membrane lysosomale. Les hydrolases des lysosomes seront libérées dans le cytoplasme et la cellule sera lysée. On donne deux exemples qui illustrent ce type de dysfonctionnement des lysosomes.

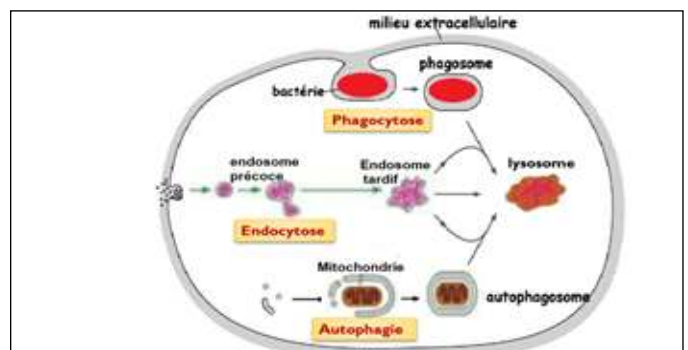


Figure 34. Du matériel à dégrader peut être apporté aux lysosomes par deux voies qui ont un départ au niveau de la membrane plasmique : phagocytose et endocytose ; une troisième voie démarre dans le cytoplasme et conduit à l'autophagie d'un territoire. Cette voie dite de « macro-autophagie » est stimulée par le jeûne alimentaire.

Exemple 1 : LA GOUTTE (maladie articulaire)

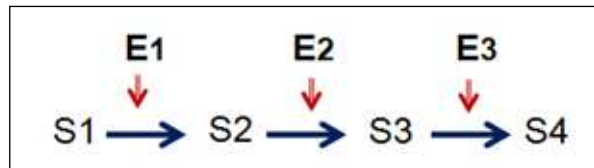
L'acide urique plasmatique précipite en cristaux d'urate de sodium dans le liquide synovial des articulations. Des granulocytes les captent par endocytose ; ces cristaux passent dans leurs lysosomes dont la membrane se rompt et libère les enzymes et provoque une réaction inflammatoire de l'articulation.

La colchicine est utilisée pour traiter la goutte, car elle arrête la polymérisation des microtubules ce qui arrête les mouvements cytoplasmiques des granulocytes. L'arrêt de ces mouvements empêche la capture de nouveaux cristaux.

Exemple 2 : LA SILICOSE (maladie pulmonaire)

La silice est phagocytée par les macrophages pulmonaires, logés dans les alvéoles pulmonaires. Cependant les hydrolases lysosomales de ces macrophages ne peuvent pas dégrader les cristaux de silice. Les membranes des lysosomes sont lésées et les enzymes sont libérées dans le cytoplasme, puis dans le tissu pulmonaire, et stimuleront la synthèse du collagène. L'accumulation du collagène (ou fibrose pulmonaire) s'effectue au détriment des surfaces responsables des échanges respiratoires.

Certaines maladies lysosomales peuvent être dues à une qualité insuffisante de l'équipement enzymatique des lysosomes.



C'est le cas de certaines maladies métaboliques héréditaires, létales.

Exemple 1 : LES GLYCOGENOSES

C'est une maladie due à l'absence de maltase acide, ou de 1 – 4 glucosidase. Par conséquent il y a accumulation de glycogène dans les cellules du foie et les cellules musculaires.

Exemple 2 : LA MUCOLIPIDOSE TYPE II

La maladie est due à l'absence de la N-acétylglucosamine phosphotransférase, enzyme responsable de la phosphorylation des hydrolases lysosomales. Les enzymes n'étant plus phosphorylées, elles ne peuvent pas être reconnues par le récepteur M6P et ne seront pas triées par le Golgi.

Certaines de ces maladies peuvent être détectées par amniocentèse chez la femme enceinte dans les familles à risque.

LES MITOCHONDRIES

Ce sont des organites semi-autonomes présents dans toutes les cellules animales et végétales Eucaryotes aérobies, sauf les hématies. Elles n'existent pas chez les Procaryotes chez lesquels les fonctions mitochondriales sont effectuées par des régions membranaires spécialisées.

Elles ont été découvertes depuis plus d'un siècle, mais c'est grâce aux techniques ultrastructurales et biochimiques que l'histophysiologie et les fonctions de la mitochondrie ont commencé à être comprises.

On appelle chondriome l'ensemble des mitochondries de la cellule.

1. MORPHOLOGIE :

1.1. STRUCTURE :

Les mitochondries peuvent être mises en évidence in vivo par des colorations vitales ou sur des tissus fixés après coloration spéciale. Ces techniques ont permis de constater que les mitochondries sont nombreuses dans les cellules qui consomment beaucoup d'énergie (cellules musculaires, spermatozoïdes, certaines cellules du rein,...). Les mitochondries ont des formes et des tailles variables et sont dotées de mouvement.

1.2. ULTRASTRUCTURE ET COMPOSITION BIOCHIMIQUE :

Une mitochondrie observée au microscope électronique à transmission en coupe longitudinale a une forme ovoïde de 1 à 2 µm de longueur et 0,5 à 1 µm de diamètre. La mitochondrie comporte (Fig. 35) :

- une membrane externe continue
- un espace intermembranaire ou chambre externe
- une membrane interne émettant vers l'intérieur des replis membranaires appelés crêtes mitochondriales
- une matrice finement granuleuse

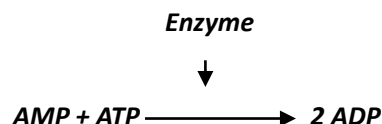
Les techniques d'ultracentrifugation ont permis d'isoler ces différents composants, d'étudier leurs constituants et leurs propriétés indépendamment les uns des autres.

1.2.1. La membrane externe :

La composition de la membrane externe est proche de celle du réticulum endoplasmique (60 % de protéines, peu de cholestérol). Elle est perméable à de nombreux métabolites de faible poids moléculaire. Elle comporte quelques enzymes du métabolisme des lipides.

1.2.2. L'espace intermembranaire :

Il comporte quelques enzymes, notamment l'adénylkinase qui catalyse la réaction suivante :



Ces ADP traversent la membrane interne pour être phosphorylés en ATP par des ATP synthétases de la membrane interne (voir ci-dessous).

1.2.3. La membrane interne :

Elle ne comporte pas de cholestérol, comme la membrane plasmique des bactéries, mais elle est plus riche en protéines (80 %). La membrane interne est très sélective : les transports transmembranaires s'effectuent par des protéines canaux spécifiques. Plusieurs complexes enzymatiques ont été identifiés au niveau de la membrane interne de la mitochondrie notamment :

*Un complexe d'ATP synthétase observable sur la face matricielle, responsable de la synthèse de l'ATP. L'ATP synthétase est une enzyme fixée par un pédicule à une base hydrophobe incluse dans la membrane (Fig.36). Elle est traversée au centre par un canal à protons où se fait la synthèse de l'ATP.

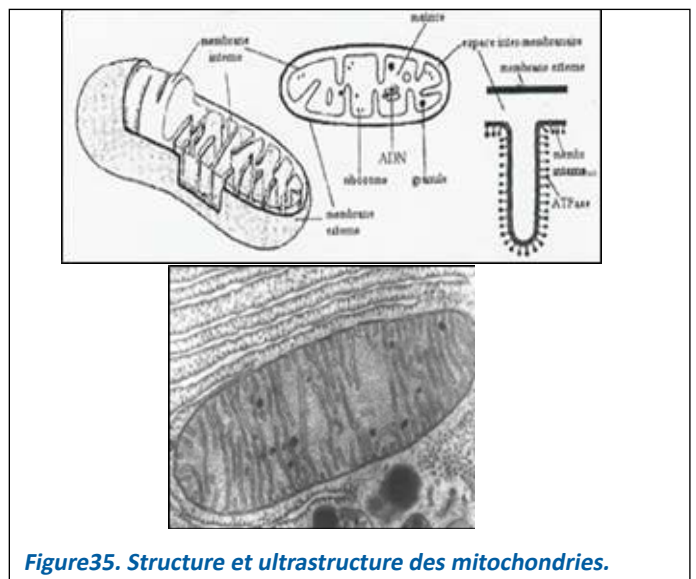


Figure 35. Structure et ultrastructure des mitochondries.

*Un complexe de protéines membranaires assurant la chaîne respiratoire, c'est à dire le transport d'électrons sur un accepteur final qui est l'oxygène. Ce transport est assuré par plusieurs protéines membranaires (cytochromes-oxydases) comportant du fer ou du soufre, qui ont été localisées avec précision (voir cours biochimie).

1.2.4. La matrice :

Elle comporte :

- Des granules denses (25 à 50 nm) formés surtout par des ions Ca^{++} et Mg^{++} . Les mitochondries d'une cellule glandulaire, par exemple, comportent 20 % du calcium de la cellule et interviennent dans la régulation des échanges de calcium de la cellule.
- Des acides nucléiques (ADN et ARN). Le génome mitochondrial (ADNmt) a une forme d'une petite molécule d'ADN double brins, circulaire, d'environ 17 kilobases. Cet ADN n'est pas associé à des protéines histones. Il existe en général plusieurs copies d'ADN par mitochondrie (5 à 10 copies). L'ADNmt présente un nombre restreint de gènes sans introns. La transcription de ces gènes permet d'avoir dans la matrice les différents ARN (ARNm, ARNr et ARNr) mitochondriaux.
- Des ribosomes mitochondriaux. Deux ARNr peuvent s'assembler pour former des mito-ribosomes. Ces derniers sont plus petits que les ribosomes cytoplasmiques.

La matrice mitochondriale contient donc tous les éléments nécessaires à une synthèse protéique. La transcription de l'ADN mitochondrial donne un ARNm qui sera traduit au fur et à mesure de la transcription (comme chez les bactéries).

Pour la traduction, la mitochondrie a un code génétique légèrement différent de celui utilisé par les ribosomes du cytosol. Le génome mitochondrial assure la synthèse de 13 protéines mitochondriales (15% des polypeptides de la chaîne respiratoire). Les autres protéines mitochondriales sont importées du cytoplasme et sont donc formées à partir de l'ADN du noyau de la cellule (Fig. 37).

Certaines maladies sont dues à des défauts de fonctionnement des mitochondries (protéines déficientes de la chaîne respiratoire par exemple).

(CETTE PARTIE SERA DÉTAILLÉE PENDANT LA SEANCE DU COURS)

- Des enzymes oxydatives du cycle de KREBS, des enzymes de la transcription, de la traduction, de la réplication de l'ADN mitochondrial, des enzymes du catabolisme des acides gras,...

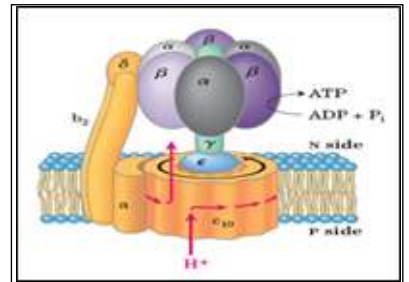


Figure 36. L'ATP synthétase : complexe multi enzymatique de 470 kDa qui utilise le flux de protons pour convertir ADP en ATP

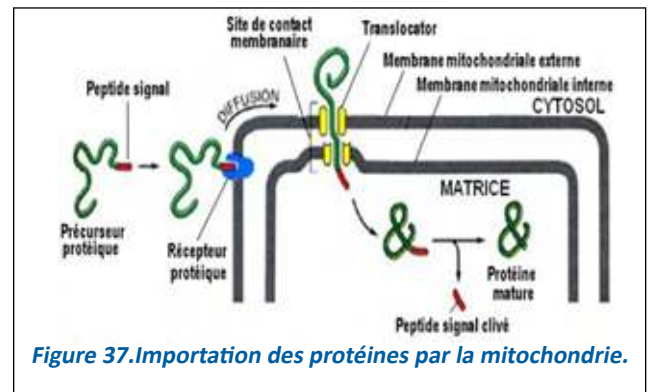


Figure 37. Importation des protéines par la mitochondrie.

2. FONCTIONS

La mitochondrie est le siège de la respiration cellulaire et de la synthèse d'ATP, primordiales à la survie cellulaire. Ces métabolismes se déroulent essentiellement au niveau de la membrane interne et la matrice (Fig. 38).

2.1. OXYDATIONS RESPIRATOIRES :

Différentes étapes sont nécessaires pour oxyder totalement certains métabolites en CO_2 et H_2O . L'énergie dégagée par ces oxydations est récupérée et sera utilisée pour d'autres biosynthèses.

La première étape de la respiration cellulaire est une glycolyse au cours de laquelle la dégradation cytoplasmique du glucose libère l'acide pyruvique (ou pyruvate en C3) qui sera récupéré par la mitochondrie.

NB : l'acide pyruvique provient également de la dégradation cytoplasmique des acides gras et de certains acides aminés.

L'acide pyruvique pénètre dans la mitochondrie à travers des canaux, des protéines spécifiques aménagées au niveau de la membrane externe. Dans l'espace inter membranaire l'acide pyruvique est transformé en acétyl coenzyme A (Ac-CoA).

Cet Ac-CoA entre dans le cycle de KREBS (deuxième étape de la respiration cellulaire) en s'associant à l'acide oxalo-acétique. La décomposition progressive de ces produits libère le CO_2 , des protons, des électrons et de l'énergie.

Les électrons enlevés à l'hydrogène pour en faire des protons sont transmis le long de la chaîne respiratoire (formée par cinq complexes protéiques enzymatiques). C'est la phosphorylation oxydative qui constitue la troisième étape de la respiration cellulaire. Les électrons vont ensuite réduire l'oxygène moléculaire en O^{--} . Les protons franchissent la membrane en s'associant à O^{--} pour former H_2O .

2.2. LA SYNTHÈSE D'ATP :

Au cours de leur transport le long de la chaîne respiratoire, les électrons perdent de l'énergie qui est utilisée par l'ATP synthétase pour fabriquer de l'ATP selon la formule :



L'entrée d'un ADP dans la mitochondrie est conditionnée par la sortie d'un ATP.

La formation de l'ATP nécessite le passage de protons H^+ par le canal de l'ATP synthétase de l'espace inter membranaire vers la matrice.

(CETTE PARTIE SERA DÉTAILLÉE PENDANT LA SEANCE DU COURS)

Outre la respiration cellulaire, les mitochondries de certains organes assurent des métabolismes spécifiques et vitaux : exemple le cycle de l'urée dans les cellules hépatiques, une partie de la synthèse de l'hème, de la synthèse des phospholipides des membranes et des phosphoprotéines exportées, de la synthèse des stéroïdes à partir du cholestérol.

Les mitochondries sont aussi impliquées dans la mort cellulaire par apoptose, ou « suicide » de la cellule, qui peut être programmée (dans certaines cellules embryonnaires) ou déclenchée par des facteurs endogènes ou exogènes.

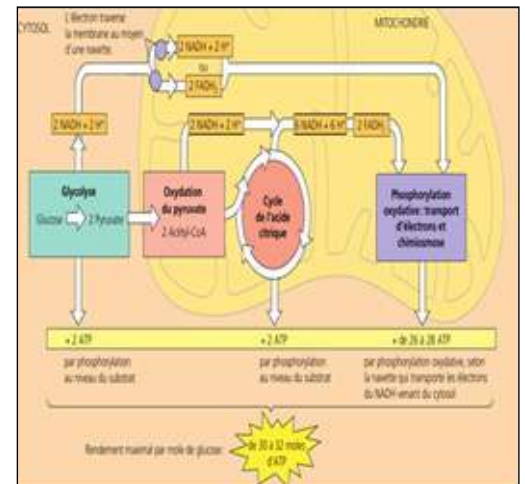


Figure 38. Les étapes de la respiration cellulaire.

3. BIOGENÈSE DES MITOCHONDRIES :

On a pu montrer par marquage autohistoradiographique que les mitochondries s'auto régénèrent par :

- partition (un étranglement apparaît)
- segmentation (une crête transversale forme diaphragme)

4. ORIGINES DES MITOCHONDRIES :

Les mitochondries seraient des bactéries symbiotiques, car mitochondries et bactéries ont le même mode de reproduction, la même machine de protéosynthèse, la même chaîne respiratoire et les mêmes ATPases.

LE CYCLE CELLULAIRE

Les objectifs éducationnels

1. Etablir la différence entre un cycle cellulaire et la vie de la cellule
2. Citer dans l'ordre les différentes phases d'un cycle cellulaire
3. Enoncer les synthèses métaboliques propres à chaque phase
4. Etablir les relations entre les variations du rapport nucléo cytoplasmique et l'état physiologique de la cellule.
5. Reconnaître l'aspect, la localisation et le nombre de noyaux d'une cellule observée au microscope optique

Au cours de sa vie, une cellule réalise un nombre plus ou moins important de cycles cellulaires.

Chaque cycle comporte une phase de croissance ou interphase et une division cellulaire ou mitose (M).

L'interphase est subdivisée en phases G₁, S et G₂. Donc un cycle complet comporte : M, G₁, S et G₂ qui se suivent dans cet ordre (Fig. 39).

- **G₁** est une phase de croissance et de fonctionnement cellulaire au cours de laquelle il y a une synthèse importante d'ARN et de protéines.

NB : Le neurone ne se divisant plus, il reste bloqué en phase G₀.

- **S** est la phase de synthèse de l'ADN (ou réplication, ou duplication de l'ADN) et d'histones.
- **G₂** est une phase de vérification et de préparation à la mitose au cours de laquelle les protéines nécessaires à la mitose sont synthétisées (par exemple les protéines non histones).

NB : La durée du cycle dépend du type cellulaire, des conditions physico-chimiques et de l'âge de la cellule.

Au cours du déroulement des phases du cycle, la quantité d'ADN contenue dans le noyau varie.

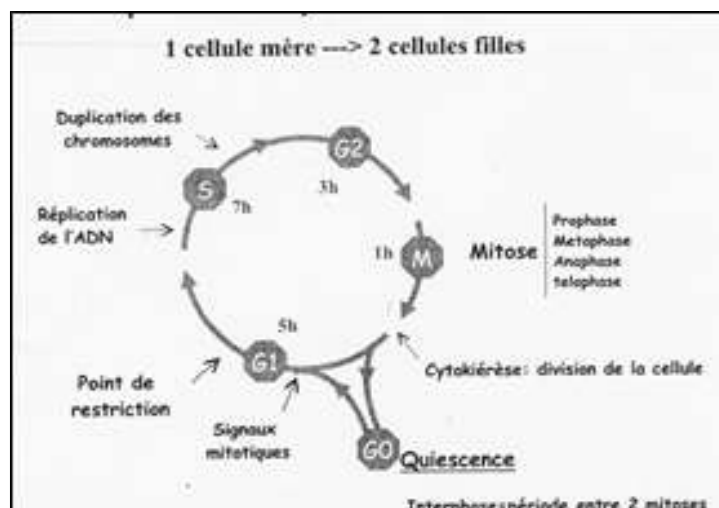


Figure 39. Les phases du cycle cellulaire.

Evolution de la quantité d'ADN au cours du cycle cellulaire

Dans une cellule haploïde, il y a un jeu de n chromosomes, tous différents les uns des autres, et qui correspondent globalement à une quantité d'ADN (C ADN).

Une cellule diploïde comporte deux jeux de chromosomes, ($2n$ chromosomes ou n paires de chromosomes) identiques ou homologues 2 par 2 ; la quantité d'ADN est doublée ($2C$ ADN).

Au cours du cycle cellulaire, les volumes du noyau et du cytoplasme changent.

On définit le rapport nucléo-cytoplasmique (N/C) = volume du noyau (N) / volume du cytoplasme (C). Dans une cellule jeune, le rapport N/C est grand, par contre dans une cellule âgée, le rapport N/C est petit.

TEST D'AUTO-EVALUATION

EXERCICE :

A partir d'une culture de cellules en division synchrone, on effectue le dosage de la quantité d'ADN contenue dans une seule cellule en fonction du temps. On obtient les résultats suivants :

Temps en heure	0	1	2	6	10	11	13	16	18	21	22	24
ADN en UA	6,6	6,6	3,2	3,3	4	5,1	6,5	6,6	6,6	3,2	3,3	3,2

UA: Unité Arbitraire

1. Tracer la courbe de variation de la quantité d'ADN en fonction du temps.
2. Dégager la durée du cycle cellulaire. Décomposer ce cycle en phases que vous placerez sur la courbe. Enumérer pour chacune des phases les activités métaboliques principales.
3. Représenter à l'aide de schémas une petite portion d'un chromosome observé au microscope électronique à fort grossissement :
 - a) à la 7^{ème} heure
 - b) à la 13^{ème} heure.

LE NOYAU INTERPHASIQUE

Les objectifs éducationnels

1. Décrire ou schématiser l'enveloppe nucléaire observée au microscope électronique
2. Citer les principales fonctions de l'enveloppe nucléaire
3. Définir la nature et le rôle de la lamina
4. Décrire ou schématiser le nucléole observé au microscope électronique
5. Citer les principales molécules organiques existant dans le nucléoplasme
6. Expliquer la relation existant entre l'aspect ultrastructural du noyau interphasique et son état fonctionnel
7. Expliquer les modifications structurales du noyau interphasique selon l'état de maturation de la cellule
8. Comparer à l'aide de schéma l'état de condensation de la fibre nucléosomique, du nucléofilament et de la fibre chromatinienne de 30 nm de diamètre
9. Définir la transcription
10. Définir un gène et l'unité de transcription
11. Citer les différentes molécules intervenant dans la transcription
12. Décrire les différentes étapes de la transcription
13. Expliquer le métabolisme post-transcriptionnel des ARNm
14. Expliquer le métabolisme post-transcriptionnel des ARNr
15. Etablir la relation entre la présence du nucléole et la synthèse des ARNr
16. Citer les différentes étapes de la biogenèse des ribosomes
17. Montrer à l'aide d'un exemple, que le métabolisme post-transcriptionnel est différent selon le type de cellules qui l'effectue
18. Définir la traduction
19. Définir le codon et l'anticodon
20. Citer les caractéristiques du code génétique
21. Citer les molécules indispensables à la traduction
22. Décrire les différentes étapes de la biosynthèse des protéines
23. Citer les différentes parties d'un gène de procaryote et eucaryote indispensables à la synthèse d'une protéine

LE NOYAU

On rappelle que le noyau n'existe que chez les Eucaryotes (Fig. 1). Il est indispensable à la croissance, à la reproduction et au fonctionnement de la cellule. Le noyau se présente différemment et accomplit différents rôles selon qu'il est en interphase ou en division (phase M).

LE NOYAU INTERPHASIQUE

1. STRUCTURE DU NOYAU INTERPHASIQUE :

Les noyaux peuvent être arrondis, ovoïdes, polylobés ; leur taille varie selon le type cellulaire et la phase du cycle cellulaire.

Le plus souvent, une cellule ne comporte qu'un noyau. Il existe cependant des cellules plurinucléées (cellules musculaires striées squelettiques, ostéoclastes). Le globule rouge (hématie) est dépourvu de noyau.

Le noyau est entouré d'une enveloppe nucléaire qui délimite un nucléoplasme dans lequel baignent le matériel génétique sous forme de chromatine et un ou plusieurs nucléoles (Fig. 40).

1.1. Enveloppe nucléaire :

1.1.1. L'enveloppe nucléaire sépare le cytoplasme du nucléoplasme mais communique avec les cavités du REG (réticulum endoplasmique granulaire).

Elle est formée de deux membranes: la membrane externe et la membrane interne, de même épaisseur (6 nm), séparées par l'espace périnucléaire (20 nm). Elles n'ont cependant pas la même constitution chimique ; la membrane externe porte des ribosomes et la membrane interne est consolidée par la lamina ; ces deux membranes assurent donc des fonctions différentes.

Par endroit, ces deux membranes sont perforées par des pores nucléaires. L'espace périnucléaire contient des substances qu'on retrouve dans les cavités du REG (Fig. 40).

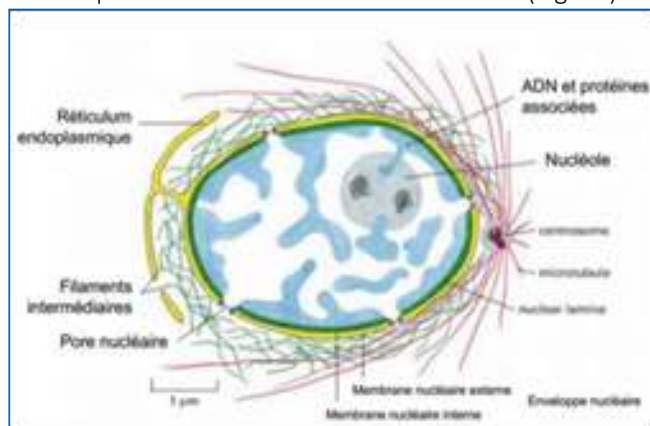


Figure 40. Le noyau en microscopie électronique. Représentation schématique du noyau, de ses rapports avec le RE et le cytosquelette.

1.1.2. La lamina et le pore nucléaire :

La lamina et les pores nucléaires

La lamina est un revêtement protéique tapissant la face nucléoplasmique de la membrane interne et dont l'épaisseur varie selon les cellules.

Les protéines de la lamina qui sont des filaments intermédiaires sont de trois types, les lamines A, B et C. Pendant l'interphase, la lamina est accrochée par la sous-unité B à des protéines intégrées de la membrane nucléaire interne et au complexe protéique du pore.

Ces protéines ont des sites servant à accrocher les chromosomes interphasiques. Elles jouent aussi un rôle pendant la mitose selon qu'elles sont respectivement phosphorylées ou déphosphorylées.

Les protéines de la lamina sont en relation avec le cytosquelette cytoplasmique à travers le pore nucléaire.

Le pore nucléaire est un orifice simple de diamètre entre 70 à 80 nm, constitué de nombreuses protéines.

Chaque pore est en fait intégré dans l'enveloppe nucléaire au sein d'un ensemble de structures constituant le complexe du pore, formé par 100 à 200 protéines (les protéines du pore ou nucléoporines, n'ont pas toutes été caractérisées).

Les pores présentent une symétrie d'ordre 8. Ils sont délimités par deux anneaux ancrés sur les faces cytoplasmiques et nucléoplasmiques, formés par huit sous-unités annulaires. Chaque anneau est relié au transporteur central par huit bras radiaires. Un troisième anneau de diamètre inférieur est situé dans le nucléoplasme ; il est relié à l'anneau nucléoplasmique par des filaments. Cet anneau est en relation avec le réseau sous-membranaire de lamine et la matrice nucléaire (Fig. 41).

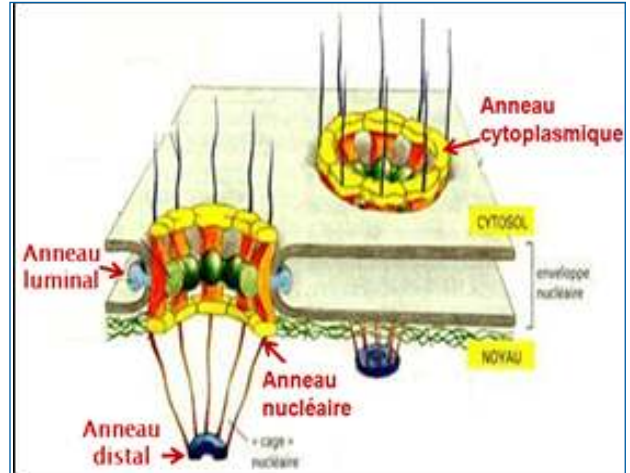


Figure 41. Structure du complexe du pore nucléaire.

C'est à travers cette étroite ouverture que s'effectuent les échanges entre nucléoplasme et hyaloplasme. Ceci a été mis en évidence en suivant le déplacement de molécules marquées qui traversent le pore.

Certaines molécules, tels les précurseurs des ribosomes (notamment la grosse sous-unité) ne pourraient franchir le pore que grâce à un transport actif et en se déformant. Le nombre de pores varie en fonction de l'activité cellulaire.

1.2. La chromatine :

1.2.1. Structure de la chromatine au microscope optique

Dans le noyau l'ADN se présente sous forme de chromatine. La chromatine peut avoir deux aspects différents (Fig. 42):

- La chromatine dense (ou hétérochromatine), très basophile, condensée, compacte, disposée en amas; elle est souvent plaquée contre la lamina et le nucléole. Cette chromatine est métaboliquement inactive.
- La chromatine dispersée (ou euchromatine), claire, répartie dans le nucléoplasme. Cette chromatine est métaboliquement active.

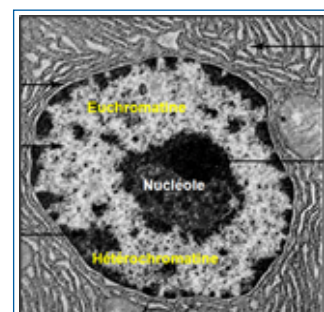


Figure 42. Les différents aspects de la chromatine dans le noyau cellulaire.

1.2.2. . Ultrastructure de la chromatine au microscope électronique

Chaque chromosome interphasique en phase G1 comporte une seule molécule d'ADN. Cet ADN est associé à des protéines histones (riches en acides aminés basiques lysine et arginine). Ces histones sont : H1, H2A, H2B, H3 et H4. Quatre types d'histone (H2A, H2B, H3 et H4) en double exemplaires forment un octamère autour duquel l'ADN s'enroule (en formant deux tours); l'ensemble forme un **Nucléosome**. Cette association histones-ADN donne la fibre nucléosomique en « collier de perles » observable uniquement au microscope électronique à très forte résolution. La structure en fibre nucléosomique de l'ADN n'est pas figée. En effet, l'ADN peut se dérouler au cours de la duplication ou la transcription puis s'enrouler à nouveau dès que ces processus sont terminés.

L'histone H1 ne fait pas partie du nucléosome, mais interagit avec l'ADN de deux nucléosomes contigus. Elle intervient dans le rapprochement des nucléosomes au début de la condensation des chromosomes.

Entre deux noyaux nucléosomiques, l'ADN n'est plus protégé et il est plus sensible à l'action d'enzymes appelées endonucléases qui peuvent lyser l'ADN.

Entre l'ADN de la fibre nucléosomique et l'ADN du chromosome métaphasique, il y a plusieurs niveaux de condensation. Cette condensation est assurée par différents types de protéines (histones, non histones,...).

1.2.3. Corrélations structures-fonctions

La chromatine condensée ne peut pas être transcrite. La chromatine qui porte les gènes doit se décondenser à leur niveau grâce à une enzyme (la déroulase) pour qu'elle soit transcrite en ARNm, lui-même traduit en protéines.

L'état condensé de la chromatine peut-être :

- soit temporaire, lorsque le gène est au repos (hétérochromatine facultative).
- soit définitif, c'est le cas de l'hétérochromatine constitutive.

L'hétérochromatine facultative peut être représentée par exemple par le chromosome X inactivé très précocement au cours du développement embryonnaire. Elle peut être observée au microscope optique au niveau des cellules du frottis buccal (corpuscule de Barr) et des polynucléaires neutrophiles (drumstick). Cette hétérochromatine facultative peut aussi se rencontrer au niveau des séquences d'ADN correspondant aux gènes spécifiques des cellules différenciées (à expliquer pendant la séance d'enseignement).

L'hétérochromatine constitutive correspond à la chromatine condensée durant tout le cycle cellulaire (en interphase et en mitose) et qui est métaboliquement inactive (absence de gènes ou gènes réprimés). Cette hétérochromatine est localisée par exemple dans les centromères.

1.3. Nucléole :

Le nucléole est absent chez les procaryotes. Chez les eucaryotes, il est observé pendant l'interphase ; il disparaît en fin de prophase et réapparaît en fin de télophase. Il est visible au microscope optique (1 à 7 nm) et il est très basophile. Chaque noyau comporte en général un nucléole. Seules les cellules ayant une grande activité métabolique peuvent en comporter plusieurs (jusqu'à 10, ex : certaines cellules souches des cellules sanguines).

Le nucléole est formé :

- de portions d'ADN responsables synthèse des ARNr qui entrent dans la composition des ribosomes. Dans l'espèce humaine, les constriction secondaires des chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22 participent à la formation des nucléoles
- de protéines (ARN polymérase, facteurs de régulation de la transcription, ribonucléoprotéines,...).

Au microscope électronique, le nucléole apparaît formé d'une partie (ou centre) fibrillaire et d'une partie granulaire étroitement imbriquées l'une dans l'autre (Fig. 43).

La partie fibrillaire du nucléole, comporte une partie peu dense aux électrons où se trouve de l'ADN non transcrit, et une partie dense aux électrons qui contient les portions des chromosomes dits « nucléolaires » ; ce sont les organisateurs nucléolaires portant les gènes ribosomiaux 18S ; 5,8S et 28S qui sont transcrits en série dans cet ordre en se complexant avec des protéines au fur et à mesure de la transcription. Un petit ARNr 5S, formé dans le nucléoplasme sera ajouté aux 3 autres ARNr dans le nucléole. Les transcriptions forment des fibrilles d'ARN 45S (= pré-ARN 45S).

La partie granulaire du nucléole comporte des molécules plus compactes et plus volumineuses qui se libèrent à la fin de la transcription après la maturation des pré-ARN45S. Elle contient les particules pré-curseurs de ribosomes en maturation : les petites sous-unités ribosomales (petits granules) et les grosses sous-unités ribosomales (les gros granules).

Le nucléole n'est pas un organite, mais une structure momentanément fonctionnelle en interphase.

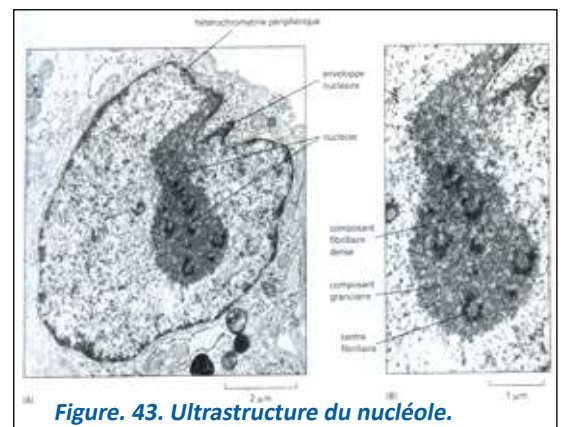


Figure. 43. Ultrastructure du nucléole.

2.FONCTIONS DU NOYAU INTERPHASIQUE :

Les principales fonctions du noyau sont la réplication de l'ADN et la transcription des gènes. Dans le noyau interphasique s'effectue l'expression des caractères héréditaires portés par l'ADN. Cette expression est assurée grâce à des processus transcriptionnels et post-transcriptionnels. Les ARNm qui en résultent passent dans le cytoplasme pour être traduits en protéines spécifiques et donc exprimer les caractères héréditaires. D'autres ARN sont synthétisés dans le noyau (ARNr, ARNt, ARNsn des ribonucléoprotéines qui assurent la maturation post-transcriptionnelle des ARNm, ARN amorce pour la duplication de l'ADN,...)

2.1. La transcription de l'ADN :

L'information génétique, portée par l'ADN, ne peut être exprimée par la cellule que si elle est transcrite en pré ARN.

Quatre types de molécules d'ARN doivent être transcrits:

- *les pré ARN messagers (pré ARNm)
- *les pré ARN de transfert (pré ARNt)
- *les pré ARN ribosomiaux (pré ARNr)
- *les petits ARN.

La transcription de ces ARN s'effectue selon un mécanisme identique pour tous les types avec cependant des particularités pour chacun d'entre eux.

2.1.1. Structure du gène codant un ARNm

Un gène de structure est une séquence nucléotidique située sur l'ADN, c'est l'élément unitaire d'information génétique. Le gène ne se réduit pas à sa seule séquence codante ; il correspond à un segment d'ADN comprenant les régions transcrites en ARN et les régions régulatrices adjacentes.

La région transcrite du gène spécifie un ARN particulier (ARNr et ARNt) ou une protéine dont la séquence d'acides aminés est déterminée par l'ARN messager (ARNm).

Chez les Eucaryotes, la partie transcrite du gène qui code pour un ARN messager comprend deux sortes de régions intercalées : *les **exons** sont les segments dont les transcrits persistent dans l'ARNm mature

*les **introns** sont ceux qui sont transcrits dans le transcrit primaire d'ARNm (le pré ARNm) mais qui seront par la suite éliminés (Fig.44).

Des deux brins de l'ADN du gène, un seul sera lu et transcrit depuis son extrémité 3'.

La partie transcrite du gène est flanquée en amont par d'autres séquences non transcrites (comme le **promoteur**, et certaines séquences appelées séquences régulatrices).

La partie **promotrice** détermine quel gène sera transcrit et à quelle vitesse. Elle correspond à la séquence de l'ADN où se fixent les facteurs de transcription et l'enzyme responsable de la transcription du gène (ARN polymérase). Le promoteur comprend une partie très conservée appelée boîte TATA riche en A et T, située à environ 30 bases en amont du site d'initiation de la transcription (Fig.44).

En plus des régions promotrices, il existe des séquences régulatrices stimulatrices (enhancers) qui augmentent notablement le taux de transcription et des séquences inhibitrices (= silenciers). Le mécanisme de la régulation pour les enhancers et les silenciers consiste en leur interaction avec des protéines appelées des facteurs de régulation de transcription (Fig.44).

Le brin codant du gène comprend :

- une séquence située entre le site d'initiation de la transcription et le codon ATG qui est nécessaire pour l'amorce de la traduction (codon AUG ou initiateur de traduction). Cette séquence transcrite et non traduite appelée la séquence de tête ou de coiffe, représente l'extrémité 5' du pré-ARNm qui va recevoir une coiffe (addition d'une guanine méthylée sur le 1er nucléotide du pré-ARNm) peu après le début de la transcription.
- une région du côté 3' située en aval du triplet TAA ou TGA ou TAG transcrite mais non traduite en protéine. Elle comprend la séquence AATAAA nécessaire à la terminaison de la transcription et ensuite à l'addition d'une queue poly A (de quelques 200 à 300 résidus d'adénylate) par une polymérase poly A. La queue poly A est insérée à environ une vingtaine de bases en aval de la séquence AAUAAA de l'ARNm transcrit. Elle confère une stabilité à l'ARNm.

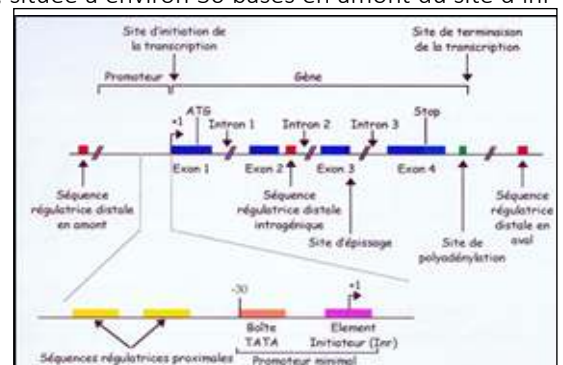


Figure 44. Représentation schématique des différentes séquences d'ADN impliquées dans la régulation de la transcription (promoteur, séquences régulatrices proximales et distales) ou la maturation (sites d'épissage et de polyadénylation) des ARNm. Les trinuécléotides "ATG" et "Stop" codent pour l'initiation et l'arrêt de la traduction de la protéine codée par un gène, respectivement.

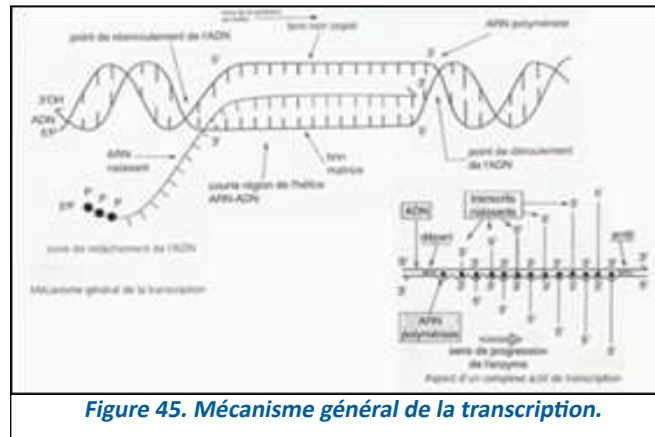
2.1.2. Définition de l'unité de transcription :

L'unité de transcription est le segment d'un brin d'ADN qui sert à la synthèse d'une molécule de pré-ARNm. Ce segment est transcrit un grand nombre de fois selon les besoins de la cellule. L'unité de transcription est située entre un site d'initiation noté (+1) et un site de terminaison de la transcription.

La molécule de pré-ARNm obtenue est une chaîne monocaténaire (un seul brin), anti-parallèle par rapport au brin d'ADN qui sert de matrice, et dont la séquence est complémentaire de celle de l'ADN ($G \rightarrow C$; $C \rightarrow G$; $A \rightarrow U$; $T \rightarrow A$)

2.1.3. Mécanisme général de la transcription :

La transcription d'un gène de structure comporte les étapes suivantes (Fig. 45) :



NB: la transcription d'un gène de structure donne un ARN messager.

- Reconnaissance et initiation de la transcription

Une enzyme, l'ARN polymérase II (**ARN pol II**) se lie à l'ADN au niveau de la TATA box (-30) du promoteur.

La structure particulière du promoteur permet donc :

- * la fixation des facteurs de transcription sur la TATA box.
- * Le positionnement de l'ARN polymérase II sur le brin d'ADN à transcrire au niveau de la TATA box.
- * La séparation momentanée des deux brins d'ADN.

De nombreux facteurs protéiques d'initiation (facteurs généraux de la transcription : **TFII**) se fixent sur l'ARN pol II qui se sépare alors de la TATA box et la transcription du gène commence au niveau du site d'initiation (+1) de l'unité de transcription.

NB : Une unité de transcription peut être transcrite par plusieurs ARN polymérases II qui travaillent les unes à la suite des autres.

- Elongation de la transcription

L'ARN polymérase II sépare les deux brins d'ADN. Elle se déplace sur le brin d'ADN matriciel dans le sens $3' \rightarrow 5'$.

Au fur et à mesure de son déplacement, l'ARN polymérase II associe un par un les ribonucléotides triphosphates (ATP, UTP, CTP, GTP) selon un ordre précis pour former une chaîne monocaténaire d'ARNm (de sens $5' \rightarrow 3'$) et dont la séquence est complémentaire au brin d'ADN matriciel (de sens $3' \rightarrow 5'$).

Les deux molécules (pré-ARNm et le brin ADN matriciel) forment momentanément une molécule hybride.

- Terminaison de la transcription :

Au-delà de l'un des triplets ACT, ATC ou ATT du brin d'ADN matriciel (transcrits respectivement en UGA UAG et UAA), l'ARN polymérase assemble encore 10 à 15 nucléotides et se détache de l'ADN.

Au niveau de l'extrémité 3'OH du pré-ARNm transcrit, une queue poly A est synthétisée par une poly A polymérase. Cette queue poly A aidera au transport de l'ARNm à travers les pores nucléaires, à la stabilisation momentanée de cet ARNm et à son accrochage (éventuel) à une membrane du REG. Quant à la coiffe accrochée au niveau de l'extrémité 5'P, elle permet à la petite sous-unité ribosomale de reconnaître l'ARNm.

NB : Seuls les ARNm ont des coiffes (en 5'P) et des queues poly A (en 3'OH).

Le pré-ARNm détient l'information génétique → Il reproduit le message porté par le segment du brin d'ADN transcrit.

Transcription des gènes ADNr et ADNt

Les ARNr et ARNt sont synthétisés par des polymérases différentes: l'ARN polymérase III synthétise les pré-ARNt et le pré-ARNr 5S, alors que l'ARN polymérase I assure la synthèse des pré-ARNr.

Dans le cas particulier des pré-ARNr, ces derniers s'associent, au cours de leur élongation, à de nombreuses protéines, formant ainsi un complexe de ribonucléoprotéines (RNP). On pense que ces RNP joueraient un rôle dans la maturation et le transport des ARNr vers le cytoplasme.

NB: Les transcrits d'ARNr et d'ARNt n'ont ni coiffe ni queue poly A.

Modifications post-transcriptionnelles :

Dans le noyau, les molécules d'ARN messager primaire (pré-ARNm) subissent les modifications suivantes :

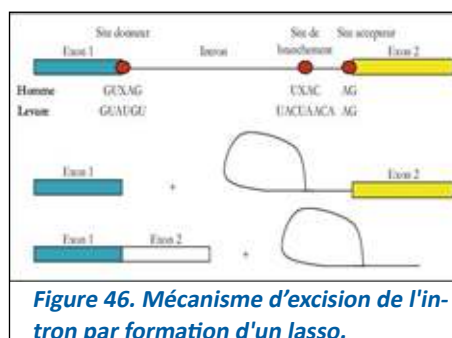
- Addition d'une coiffe ou chapeau (une Guanine atypique = G-P-P méthylée) à l'extrémité 5'P du pré-ARNm. Elle est réalisée juste après le début de la transcription (réaction co-transcriptionnelle).
- Addition d'une queue poly-A à l'extrémité 3'OH du pré-ARNm. Elle est effectuée après le détachement de l'ARN polymérase II (réaction post-transcriptionnelle).

Excision des introns et épissage des exons:

Cette réaction ne concerne que les gènes eucaryotes. Elle se fait par des ribonucléoprotéines ou RNP appelées également SnRNP (snurps ou smallnuclearribonucleoprotein). Les SnRNP catalysent les réactions de coupure des introns et l'épissage des exons.

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

L'élimination des introns et l'épissage des exons ont pu être démontrés en hybridant la molécule d'ADN transcrite et l'ARN mature correspondant. Les boucles d'ADN formées au moment de l'hybridation n'ayant pas leur complément sur l'ARN mature, correspondent aux introns éliminés. L'excision des introns est indispensable au transport des ARN à travers les pores de l'enveloppe nucléaire (Fig.46).



NB : Après modifications, seul 5% des pré-ARNm synthétisés vont rejoindre le cytoplasme. Le reste est dégradé dans le nucléoplasme et leurs constituants sont recyclés.

Les ARNt et les ARNr subissent aussi des modifications post-transcriptionnelles, différentes de celles des pré-ARNm (un seul intron pour les ARNt).

Chez les procaryotes, les modifications post-transcriptionnelles n'existent généralement pas. Leurs gènes sans introns, sont utilisables dans leur totalité (ou presque), la traduction des protéines commence avant la fin de la transcription.

Epissage alternatif :

Chez les Eucaryotes la maturation post-transcriptionnelle peut être différente pour un même pré-ARNm, selon la cellule qui effectue la maturation. Les raisons de ces différences et de leur contrôle sont encore inconnues.

Par exemple, les pré-ARNm subissent une maturation post-transcriptionnelle différente selon qu'ils sont dans des cellules de la glande thyroïde ou dans certaines cellules de l'hypophyse.

- dans les cellules thyroïdiennes, le transcrit primaire est maturé en ARNm dont la traduction donne l'hormone calcitonine.
- dans les cellules hypophysaires, le transcrit primaire est maturé en ARNm dont la traduction produit l'hormone CGRP.

Formation des ribosomes chez les Eucaryotes

C'est dans la partie fibrillaire du nucléole que se fait la synthèse des ARNr. Alors que la formation et la maturation des ribosomes se font dans la partie granulaire. On rappelle que le nucléole contient des portions d'ADN, au niveau des bras courts des chromosomes humains (chrs 13, 14, 15, 21, 22) et des protéines. Ces portions d'ADN constituent les organisateurs nucléolaires. Chacun comporte plusieurs gènes disposés en série (gènes répétitifs en tandem). Ces gènes sont séparés par

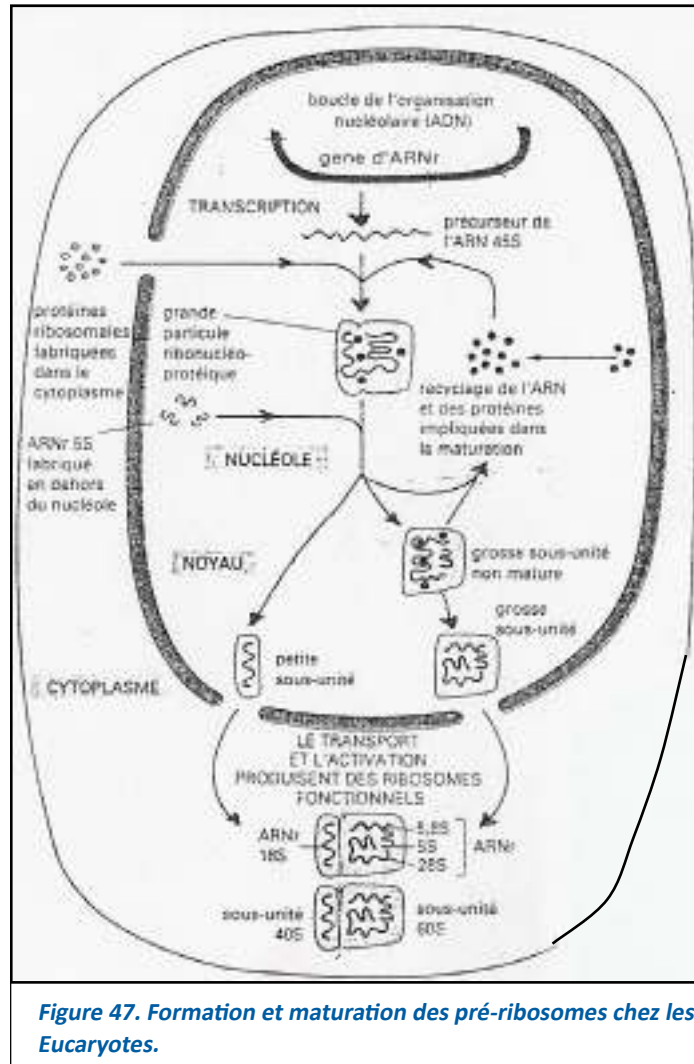
des séquences inter-géniques (Fig.47). Chaque gène permet la formation d'un pré-ARNr 45S, constitué par une succession ordonnée d'ARNr 18s, ARNr 5,8s et ARNr 28s, séparés par des séquences d'ARN intra-géniques

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

Chaque molécule de pré-ARNr 45S s'associe à des protéines provenant du hyaloplasme et forme un pré ribosome 80S.

L'unité 80S se clive rapidement en deux sous-unités ; la sous-unité 40S qui comporte l'ARNr 18s et 33 protéines différentes ; et la sous-unité 60S formée des ARNr 5s ; 5,8s et 28s et 49 protéines différentes.

Les deux sous-unités non associées peuvent alors quitter le noyau par les pores nucléaires.



Dans le hyaloplasme, la sous-unité 40S s'accroche à un ARNm du côté 5'P. Par la suite la sous-unité 60S s'associe à la sous-unité 40S : le ribosome ne se constitue que dans le cytoplasme pour synthétiser les protéines (voir ci-dessous).

NB : chez les Procaryotes, la petite SU (30S) et la grosse sous-unité (50S). Chez les Eucaryotes ; la petite SU (40S) et la grosse sous-unité (60S).

Le ribosome est constitué des sites suivants :

- le site **A** (ou amino-acyl), fixe un ARNt porteur d'un acide aminé.
- le site **P** (ou peptidyl), porte la chaîne peptidique en cours d'élongation.
- le site **S** (ou site E) porte l'ARNt libéré de son acide aminé.

La traduction ou synthèse des protéines

La séquence nucléotidique de l'ARNm mature sert d'intermédiaire entre la séquence nucléotidique de l'ADN (porteur du message génétique) et la séquence d'acides aminés des protéines. Cet ARNm mature porte donc le message génétique sous forme de codons.

Les codons

Un codon est un ensemble de trois nucléotides successifs d'un ARNm et qui correspond à un acide aminé d'une protéine.

*entre deux codons successifs il n'y a pas de nucléotides intercalés.

*il n'y a pas non plus de chevauchement de deux codons successifs (pas de nucléotide en commun).

Le code est universel, continu, non chevauchant.

En partant du principe qu'un acide aminé est codé par trois nucléotides successifs, les combinaisons possibles des quatre bases azotées des ARN, c'est à dire de $4^3 = 64$. Or, dans la nature, il n'existe que 20 acides aminés seulement. On a montré qu'un acide aminé peut être codé par plusieurs codons différents (Tableau1) : le code est dit dégénéré.

Le déchiffrement du codage des acides aminés a permis de mettre en évidence des codons particuliers :

*le codon AUG ou codon d'initiation de la traduction

*les codons UAG, UGA, et UAA ou codons d'arrêt de la traduction (codons non sens, codons stop).

le code génétique							
UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

Tableau 1 : le code génétique (noyau cellulaire).

Les anticodons

L'anticodon est un triplet de nucléotides porté par une des boucles de l'ARNt (boucle II : voir Biochimie). Il s'apparie par complémentarité au codon porté par l'ARNm.

On s'est donc demandé s'il existe autant d'ARNt avec des anticodons différents que de codons, soit $64 - 3 = 61$ anticodons (le chiffre 3 correspond aux 3 codons stop).

En fait, il existe moins d'ARNt, car certains ARNt peuvent reconnaître des codons qui ne diffèrent les uns des autres que par une base et qui codent pour le même acide aminé.

Mécanisme de la traduction

La traduction est réalisable in vitro. Chez les Eucaryotes, la traduction s'effectue dans le cytoplasme, grâce à la présence des molécules suivantes :

- L'**ARNm mature** qui est une copie du message génétique porté par le gène.
- Les **ARNr** contenus dans les deux sous unités du ribosome. Ce dernier assure la lecture de l'ARNm et la synthèse de la protéine correspondante.
- Les **ARNt**
- Les **acides aminés**

La traduction nécessite aussi de l'énergie (GTP), des enzymes (peptidyl transférase) et des facteurs protéiques d'initiation, d'élongation et de terminaison.

NB : L'enzyme aminoacylARNt synthétase fixe l'acide aminé sur l'ARNt correspondant.

Chez les Procaryotes, le mécanisme de la traduction a été bien décrit. Il comporte trois phases et utilise des ribosomes 70S (30S et 50S) :

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

- Initiation de la traduction

Elle débute à l'extrémité 5' de l'ARNm, en amont de l'AUG, par l'accrochage de facteurs protéiques d'initiation qui permettent le positionnement de la petite sous-unité ribosomale 30S pourvue d'un ARNt portant un premier acide aminé (ici la formyl-méthionine ou f Met). La petite sous-unité ribosomale se déplace le long de l'ARNm jusqu'au codon AUG. Cet accrochage consomme de l'énergie, fournie par le GTP. Les facteurs d'initiation quittent alors le complexe. La grosse sous-unité ribosomale s'accroche ensuite à la petite sous-unité du ribosome : le ribosome est formé et prêt à fonctionner.

Le site P (Peptidyl) de la grande sous-unité est placé au niveau du codon AUG. Le site P contient le premier ARNt portant le premier acide aminé (la formyl-méthionine ; c'est le seul ARNt qui peut occuper le site P).

- Élongation de la chaîne peptidique

Le site A de la grosse sous-unité du ribosome fixe un ARNt portant l'acide aminé n°1 (aa1) ; l'anticodon de cet ARNt correspond au premier codon de l'ARNm après AUG dans le sens 5'--- 3'.

Le ribosome translate de trois nucléotides vers 3' en même temps que la liaison peptidique se fait entre f-Met et aa1, dans le site P, grâce à la peptidyl transférase qui est une des protéines de la grande sous-unité. Ce glissement nécessite du GTP et un facteur protéique d'élongation. Lorsque la liaison est établie entre f-Met et aa1, l'ARNt qui portait f-Met, se détache de son acide aminé, et pourra être réutilisé. Le glissement du ribosome a amené un nouveau codon libre au site A. Un ARNt porteur de l'acide aminé n° 2 (aa2) correspondant à ce codon, se place au site A du ribosome. Puis l'aa2 s'accroche à l'aa1, grâce à la peptidyl transférase du site P. L'ARNt qui portait l'aa2 se détache de l'aa2. Le ribosome glisse vers 3' de l'ARNm, ce qui amène un nouveau codon au site A, et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il rencontre un codon stop.

- Terminaison de la traduction

Lorsque le ribosome arrive sur le codon stop, un facteur de libération protéique se fixe sur ce codon (UAG, UGA, UAA), ce qui va interrompre la synthèse protéique. Les deux sous-unités du ribosome se dissocient. Elles pourront à nouveau se lier pour effectuer d'autres traductions.

NB: Chez les bactéries, la vitesse de synthèse est très importante: 20 acides aminés par seconde.

Chez les Eucaryotes, le premier acide aminé est la méthionine, qui sera éliminée au début de l'élongation de la protéine. Les facteurs protéiques d'initiation, d'élongation et de terminaison sont différents de ceux des Procaryotes.

Les protéines peuvent être synthétisées par des polysomes libres ou par des polysomes accrochés à la membrane du REG (voir Chapitre Système endomembranaire).

Un polysome est l'ensemble des ribosomes fixés sur une molécule d'ARNm effectuant la traduction. Chaque ARNm peut être traduit simultanément en plusieurs protéines. En cas de besoin, la cellule peut amplifier la production de protéines.

Régulation de la synthèse des protéines

Chez les Eucaryotes, la synthèse protéique est régulée à différents niveaux :

- Régulation transcriptionnelle : au niveau de l'ADN, la transcription est sous contrôle de protéines régulatrices intervenant sur le promoteur, et les séquences régulatrices «enhancers » qui peuvent amplifier la transcription.
- Régulation post-transcriptionnelle et l'épissage alternatif
- Régulation post- traductionnelle ; les protéines une fois synthétisées peuvent encore faire l'objet de modifications biochimiques : phosphorylation, méthylation, clivage de chaîne peptidique, ponts disulfures, hydroxylation, addition de lipides, de sucres (voir cours de Biochimie).

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

TEST D'AUTO-EVALUATION

EXERCICE 1 :

Par des techniques appropriées, on a isolé les deux séquences nucléotidiques suivantes :

SEQUENCE 1 :

ATG TGC AAT CCA CAG GAC GAT AAA CGT GCA ATG GCT CGC TTC AGC TAA

SEQUENCE 2 :

AUG UGC AAU CCA GCU CGC UUC AGC UAA

1) Quelle est la nature biochimique des deux séquences ?

2. La séquence 2 porte la même information que la molécule 1 « in vivo ». Par quel processus métabolique pouvez-vous l'expliquer ?

3. Comment expliquez-vous les différences de longueur de ces 2 brins ?

4. Décrire par un schéma précis les événements qui se sont déroulés entre l'étape 1 et l'étape 2.

EXERCICE 2 :

On effectue l'hybridation moléculaire d'un ARNm de cellule Eucaryote avec la portion du brin d'ADN qui a permis sa transcription. On obtient une figure dans laquelle l'ADN présente des boucles.

1. Quel est le mécanisme de cette hybridation ?

2. À quoi correspondent ces boucles ?

LE CHROMOSOME EN METAPHASE ET SA BIOGENÈSE « RÉPLICATION DE L'ADN »

Les objectifs éducationnels

1. Définir le chromosome métaphasique
2. Décrire les étapes successives de la formation d'un chromosome
3. Décrire les différentes parties d'un chromosome métaphasique
4. Indiquer les principales fonctions des différentes parties des chromosomes
5. Schématiser les différents types de chromosomes
6. Définir un caryotype
7. Expliquer l'aspect de la chromatine et du chromosome par l'état de condensation de la fibre nucléosomique à chaque étape du cycle cellulaire
8. Citer les principales fonctions du chromosome
9. Définir la réplication
10. Situer la réplication dans le cycle cellulaire
11. Citer les molécules nécessaires à la réplication
12. Citer les différentes étapes de la réplication
13. Citer les différentes régulations du cycle cellulaire

LE CHROMOSOME EN METAPHASE « REPLICATION DE L'ADN » :

Le noyau, pendant l'interphase contient un réseau fibrillaire et des mottes ayant une forte affinité pour les colorants basiques : c'est la chromatine.

Lors de la division cellulaire, la chromatine se transforme et apparaît comme un ensemble de filaments indépendants qui se condensent en même temps que l'enveloppe nucléaire disparaît. A la fin de la division, les chromosomes se décondensent et semblent perdre leur individualité pour donner à nouveau la chromatine.

Chromosome et chromatine sont deux états morphologiques différents de l'ADN.

Le chromosome caractérise la division cellulaire, la chromatine caractérise l'interphase.

Les cellules Eucaryotes sont diploïdes c'est à dire que leur noyau contient deux jeux semblables de chromosomes. Chaque jeu, formé de chromosomes tous différents, constitue un lot haploïde. Au début de la mitose, chaque chromosome, subit une duplication (pendant l'interphase), et va avoir une structure double : il est constitué de deux sous-unités IDENTIQUES (comportant les mêmes séquences nucléotidiques) associées par leur centromère. Ce sont les chromatides sœurs.

Les chromosomes sont responsables du **stockage**, et de la **transmission** des informations du patrimoine héréditaire.

1. ARCHITECTURE DU CHROMOSOME METAPHASIQUE

Au microscope optique, chaque chromosome métaphasique est bien individualisé : il a la forme d'un bâtonnet allongé constitué par (Fig. 48):

- deux parties identiques : les chromatides sœurs
- un centromère ou constriction primaire
- des constriction secondaires
- des télomères périphériques

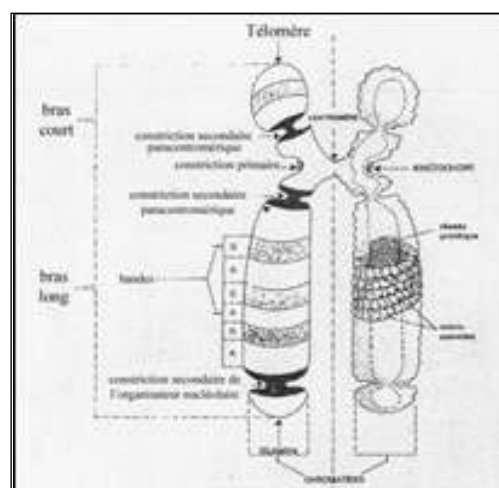


Figure 48. Organisation générale d'un chromosome métaphasique.

1.1. Les chromatides :

Chaque chromosome métaphasique est constitué de deux parties identiques : les chromatides sœurs. Ses deux chromatides résultent de la duplication de l'ADN du chromosome initial (voir Biogenèse). Elles sont reliées l'une à l'autre au niveau du centromère, grâce à des protéines particulières (notamment la cohésine). Chaque chromatide correspond à une fibre nucléosomique ayant atteint sa condensation maximale.

1.2. Le centromère ou constriction primaire :

Chaque chromosome possède un centromère qui se présente au microscope optique sous forme d'un étranglement. Sa structure est comparable à celle de la chromatide, mais plus relâchée, formée d'ADN hautement répétitif dit ADN satellite, riche en bases A et T. La position du centromère sur chaque chromosome définit des bras courts (p) et des bras longs (q).

L'indice centromérique, déterminé par le rapport : $\frac{p}{p + q}$ est constant pour chaque chromosome.

La valeur de cet indice permet de distinguer différents types de chromosomes: par exemple :

- les chromosomes métacentriques (indice = 0,5)
- les chromosomes arcocentriques (indice compris entre 0 et 0,5)
- les chromosomes télocentriques (indice proche de 0)

Le centromère est indispensable à la division cellulaire surtout en pré-métaphase et métaphase. Chaque chromatide porte, au niveau de son centromère, un kinétochore qui sert à la fixation des microtubules kinétochoriens (Fig. 48).

Chez les mammifères, le kinétochore correspond à une bande de 0,3 nm de diamètre (formé de 3 plaques de protéines), avec une face accolée à la chromatide et l'autre face en regard de l'un des deux pôles du fuseau de division. Ce kinétochore intervient dans la polymérisation des microtubules kinétochoriens qui permettent au chromosome de s'accrocher au fuseau de division.

1.3. Les constriction secondaires

Ce sont des zones peu colorables et peu condensées. On peut les trouver :

- près du centromère, ce sont des constriction paracentriques (cas des chromosomes humains 1, 9 et 16). Elles sont formées d'ADN hautement répétitif.
- au niveau des bras courts des chromosomes acrocentriques humains (chrs : 13, 14, 15, 21 et 22). Elles correspondent aux organisateurs nucléolaires. Elles sont formées d'ADN moyennement répétitif.

1.4. Les télomères :

Les télomères sont les deux extrémités de chaque chromatide. Les télomères ne contiennent pas de gènes mais ils sont constitués de courtes séquences nucléotidiques répétées en tandem. Le brin d'ADN allongé en 3' par une ARN télomérase est riche en G et semble se replier pour protéger l'extrémité du chromosome.

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

Les télomères assurent plusieurs fonctions : ils stabilisent et protègent le chromosome. Ils confèrent aux chromosomes une polarité, empêchant ainsi leur fusion ou accolement au cours de la division cellulaire. Pendant la mitose (stade zygotène), les télomères permettent la fixation des chromosomes à la membrane interne. De même, les chromosomes homologues se reconnaissent par leurs extrémités télomériques.

2. RELATION ENTRE L'EUCHROMATINE, L'HÉTÉROCHROMATINE ET LE CHROMOSOME :

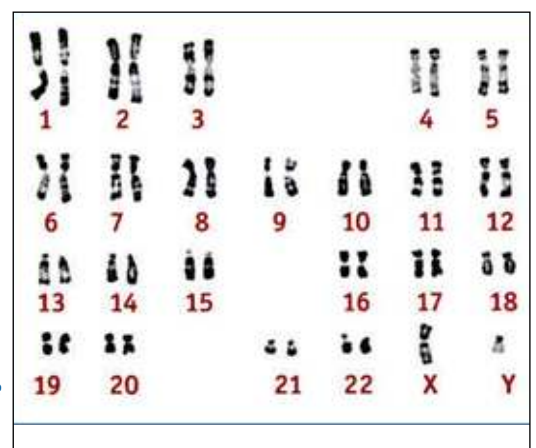
2.1. Le caryotype

C'est l'ensemble des chromosomes portés par une cellule somatique d'un individu.

Les organismes haploïdes comportent un ensemble de n types de chromosomes tous différents les uns des autres (n constitue le jeu de base du caryotype ou « jeu haploïde »).

Si l'individu comporte 2 n chromosomes, il est diploïde. C'est le cas de la majorité des espèces animales et de l'espèce humaine. Dans ce cas, chaque type de chromosome est représenté par deux exemplaires de chromosomes homologues. Il existe un caryotype caractéristique pour chaque espèce. Chez l'homme, 2 n = 46 (22 x 2 autosomes et 2 chromosomes sexuels (XX ou XY) (Fig. 49).

Figure 49. Le caryotype d'une cellule somatique humaine.



2.2. Coloration des chromosomes en bandes :

La chromatine interphasique (observée en interphase) est formée d'euchromatine et d'hétérochromatine (voir chapitre Noyau interphasique). La coloration est la même pour la plupart des régions de la chromatine qui sont dites euchromatiques. Les autres régions du chromosome qui se colorent différemment sont dites hétérochromatiques. Cette différence de coloration entre hétéro et euchromatine, est due à une différence de condensation du nucléofilament.

D'autres méthodes de coloration font apparaître le long des chromatides une striation en segments ou bandes (banding) (Fig. 49).

NB : Les bandes n'étant pas visibles dans l'ADN isolé, on pense qu'elles seraient dues à la présence simultanée d'ADN condensé et de protéines.

- les bandes **Q** et **G** sont mises en évidence par deux colorants différents (la **Quinacrine** et le **Giemsa**). Elles ont la même répartition sur le chromosome. Elles correspondent à des régions du chromosome riches en bases A et T. Elles sont à réplication tardive au cours de la phase S.
- Les bandes **R** (**R**verse) sont riches en dinucléotides GC et en gènes actifs. Elles sont à réplication précoce au cours de la phase S.
- les bandes **C** (Giemsa acide puis alcalin) localisées au voisinage du centromère correspondent à des segments d'hétérochromatine qui restent visibles pendant l'interphase. Il s'agit de l'hétérochromatine constitutive. Cette striation n'a pas de correspondance directe avec l'hétérochromatine interphasique, sauf pour les bandes C.

L'intérêt de ces techniques de banding est d'identifier chaque chromosome et chacune de ses régions. En effet, chaque chromosome a un schéma propre avec des bandes numérotées selon un code international. Le schéma de chaque chromosome, spécifique de chaque espèce, sert de référence pour localiser les sites de gènes correspondant à la synthèse de protéines et/ou les locus morbides.

3. BIOGÈNE DU CHROMOSOME

La composition biochimique du chromosome est semblable à celle de la chromatine interphasique. Le chromosome contient de l'ADN, de l'ARN, des protéines (histones, non histones) et des enzymes.

En début de Mitose (Prophase, Métaphase), chaque chromosome comporte deux molécules d'ADN (du fait de la duplication préalable de l'ADN en phase S).

La biogenèse d'un nouveau chromosome nécessite : une réplication de l'ADN, un assemblage immédiat de l'ADN répliqué avec des protéines (histones) et une condensation.

RÉPLICATION DE L'ADN

La réplication (ou duplication) est le processus par lequel les cellules copient leur ADN.

C'est pendant la phase S de l'interphase que l'ADN se réplique. A partir d'une molécule d'ADN à double brin deux copies d'ADN identiques sont produites.

Caractéristiques de la réplication

La réplication débute de manière asynchrone en plusieurs sites d'initiation (ou origines de réplication) sur chaque chromosome, sur les deux brins de chaque molécule d'ADN initial (ou parental).

Au niveau de chaque site d'initiation, les deux brins de l'ADN parental se séparent. Chaque site d'initiation forme un œil de réplication formé de deux fourches de réplication. Les yeux s'agrandissent dans les deux sens jusqu'à se rejoindre (Fig. 50).

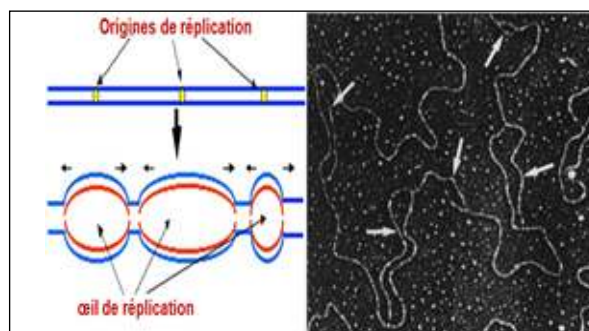


Figure 50. La réplication de l'ADN. Chaque flèche montre un œil de réplication

La synthèse de la molécule d'ADN est assurée par des enzymes appelées ADN polymérases. Les ADN polymérases (en lisant le brin d'ADN matrice dans le sens 3'→5') synthétisent un nouveau brin d'ADN dans le sens 5' → 3'.

La réplication est bi-directionnelle.

Des primases synthétisent les amorces (courtes séquences d'ARN de dix nucléotides) sont nécessaires à la synthèse de l'ADN par l'ADN polymérase.

La réplication est semi conservative, puisque chacune des deux molécules filles obtenues conserve une chaîne de la molécule initiale parentale.

Mécanisme de la réplication

La réplication de l'ADN nécessite : un brin d'ADN matrice (brin parental), des amorces d'ARN, des nucléotides, des enzymes (primase, hélicase, ADN polymérases, ADN ligase,...) et des protéines.

On décrit brièvement le mécanisme de la réplication (Fig. 51).

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

Au niveau de chaque site d'initiation (contient des séquences nucléotidiques riches en A et T), une enzyme de coupure hélicase rompt les liaisons hydrogènes existant entre les deux brins de la molécule d'ADN.

Par la suite des protéines stabilisantes appelées SSBP (=Single Strand Binding Protein) permettent le déroulement de chaque brin d'ADN en formant une molécule linéaire facile à recopier.

La molécule d'ADN, déroulée au niveau des sites d'initiation forme plusieurs yeux, est prête pour la réplication. Chaque œil de réplication forme deux fourches. Une fourche comporte une portion d'un brin d'ADN 3'→5' et une portion complémentaire 5'→3'.

La synthèse d'un nouveau brin d'ADN ne peut démarrer qu'après la synthèse d'un court segment d'ARN amorce (±10 nucléotides) ayant une extrémité 3'OH libre. La synthèse de l'amorce est assurée par une enzyme appelée primase.

Si on considère ce qui se passe au niveau d'une fourche :

- Sur la portion du brin matrice (3' →5'), après synthèse de l'amorce, l'ADN polymérase allonge les amorces d'ARN en ajoutant des désoxyribo-nucléotides complémentaires de la chaîne matrice. La synthèse du nouveau brin se fait dans le sens 5'→ 3', c'est à dire dans le sens d'ouverture de la fourche de réplication. Sur cette partie de la fourche, la synthèse se fait d'une façon continue et précoce.
- Sur la portion de l'autre brin parental (5' →3'), la synthèse du nouveau brin est discontinue et tardive. L'ADN polymérase ne peut se positionner que si la fourche est suffisamment ouverte. Chaque ADN polymérase, peut alors commencer la synthèse de l'ADN complémentaire du brin matrice en le lisant dans le sens 3'→5'. La synthèse du nouvel ADN se fait par de courts fragments (±200 nucléotides) appelés fragments d'Okasaki, synthétisés dans le sens 5' → 3'. On peut mettre en évidence les fragments d'Okasaki par autoradiographie. Dès que l'ADN polymérase rejoint l'amorce ARN du fragment d'Okasaki précédent, elle enlève l'amorce en remplaçant les nucléotides de l'ARN par des nucléotides de l'ADN, puis elle se détache. Des ligases relient les fragments d'Okasaki adjacents de telle sorte que le brin d'ADN nouvellement formé soit continu et complémentaire du brin d'ADN matrice.

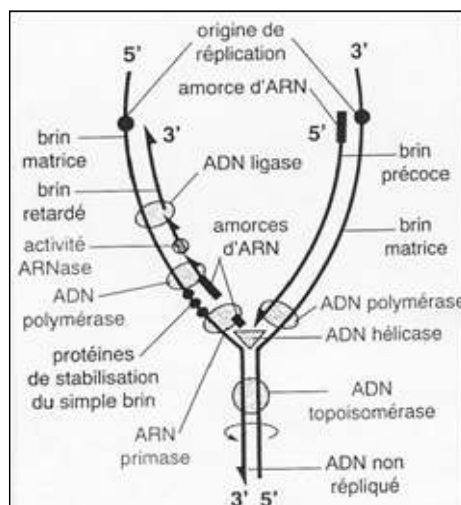


Figure 51. Principales activités enzymatiques impliquées dans le fonctionnement d'une fourche de réplication.

La réplication de l'ADN s'achève par la confluence des yeux de réplication : on obtient alors deux molécules d'ADN comportant chacune un brin parental et un brin néoformé.

Action des télomérases

Les télomérases assurent la réplication complète de la partie terminale du brin d'ADN orienté 5'→3' ; en fin de synthèse de l'ADN, la partie ARN est éliminée et remplacée par de l'ADN. La chaîne du brin retardé d'une fourche de réplication ne s'achève pas complètement sous forme d'ADN bicaténaire jusqu'à l'extrémité d'un chromosome linéaire.

Il en résulte que l'amorce ARN la plus externe ne pourra pas être remplacée par de l'ADN avec pour conséquence, un raccourcissement d'une dizaine de nucléotides à chaque cycle de réplication. C'est pour éviter ce phénomène qu'un système enzymatique intervient, dans lequel une enzyme, la télomérase, protéine combinée à une matrice ARN, permet, par déplacement successif vers l'extrémité, un rallongement artificiel des chromosomes. La télomérase est une ribonucléoprotéine qui utilise une matrice interne d'ARN pour synthétiser de l'ADN grâce à son activité de rétrotranscriptase, et qui en se positionnant à l'extrémité 3' ajoute des séquences télomériques en 3' du brin d'ADN dans le sens 5'→3'.

Une amorce est mise en place par complémentarité du côté 3' du télomère puis l'ADN polymérase allonge cette amorce (comblant ainsi l'espace situé entre cette amorce et l'extrémité 5' de l'ADN non télomérique. Une ligase soude. Une copie antiparallèle, complémentaire du brin télomère riche C est hydrolysée, si bien que le brin riche en G sera légèrement plus long que le brin riche en C.

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

Mécanisme de correction: excision-resynthèse

La réplication de l'ADN doit être fidèle. Si une erreur n'est pas détectée, il en résulte une modification de l'information génétique contenue dans les molécules d'ADN nouvellement synthétisées. C'est le principe des mutations.

Un système de réparation assure l'exactitude de la réplication. Il est composé de:

- l'ADN polymérase (ADN pol I)
- des enzymes d'excision-assemblage (endonucléase/ ADN ligase)

(A EXPLIQUER AU COURS DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT)

Au fur et à mesure que les deux molécules d'ADN filles sont synthétisées, elles sont contrôlées et éventuellement corrigées. Chacune s'associe immédiatement à 8 protéines histones (octamère) et s'enroule.

NB : pendant la réplication de l'ADN, il y a synthèse de nouvelles protéines histones qui s'organisent en octamères et vont s'associer aux molécules d'ADN filles.

Chaque molécule d'ADN fille forme alors sa fibre nucléosomique.

Condensation du nucléofilament pour former le chromosome métaphasique

La fibre nucléosomique se condense d'abord par rapprochement des noyaux nucléosomiques en un filament de 10 nm de diamètre : c'est le **nucléofilament**.

Le nucléofilament se condense à son tour en une fibre épaisse de 30 nm de diamètre appelée fibre de chromatine (Fig.53).

Cette condensation se fait soit sous forme hélicoïdale, soit sous forme de superboules, l'hypothèse la plus admise étant la première.

Cette fibre épaisse se condense sous forme de structures massives : les microconvulés, disposées en hélice autour d'un squelette protéique constitué par des protéines non histones qui forment le squelette du chromosome métaphasique.

Le squelette du chromosome a été mis en évidence par digestion des protéines histones associées à l'ADN. Ce squelette, constitué des protéines non histones, a la même forme que celle du chromosome que l'on observe au microscope optique.

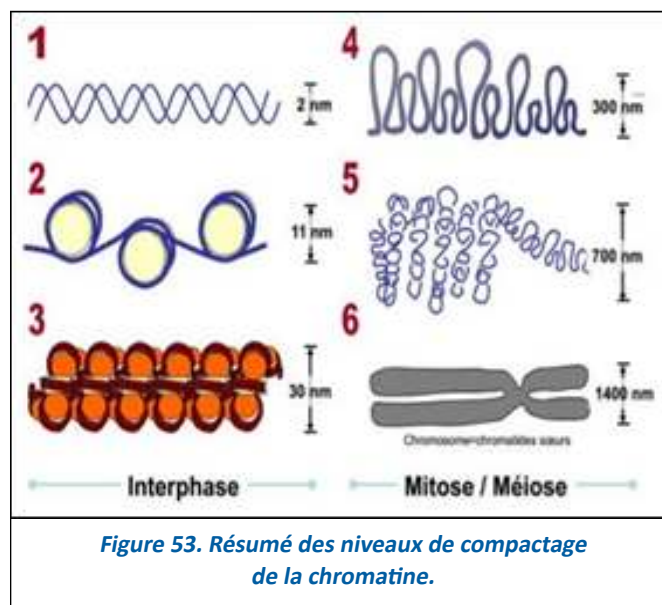


Figure 53. Résumé des niveaux de compaction de la chromatine.

LA MULTIPLICATION CELLULAIRE « LA CELLULE EN DIVISION »

Les objectifs éducationnels

1. Définir la mitose la situant dans le cycle cellulaire
2. Indiquer quel phénomène métabolique essentiel à préparer la mitose dans les étapes du cycle cellulaire
3. Indiquer les structures nucléaires et cytoplasmiques qui participent à la mitose
4. Décrire les modifications intervenant dans le noyau et dans le cytoplasme au cours de la mitose
5. Différencier chromatide et chromosome
6. Citer les modifications morphologiques caractérisant chaque stade de la mitose
7. Représenter à l'aide de schémas les différents stades de la mitose
8. Indiquer le rôle des microtubules dans la mitose
9. Citer les facteurs externes et internes de régulation de la mitose
10. Sur coupes, au microscope optique, les quatre stades de la mitose
11. Définir la méiose en indiquant le type de cellule impliqué dans ce processus de division
12. Enumérer les deux divisions de la méiose
13. Décrire dans l'ordre les cinq stades de la première prophase
14. Décrire le crossing-over en le situant dans la prophase méiotique
15. Indiquer l'état de ploïdie et la quantité d'ADN propre à chaque phase des deux divisions de la méiose
16. Comparer à l'aide de deux schémas, les deux métaphases et les deux anaphases de la méiose, quel que soit le nombre de chromosomes proposés
17. Comparer pour une espèce donnée, à l'aide de schémas, les chromosomes d'une cellule germinale (en métaphase 2 et anaphase 2 méiotique) et d'une cellule somatique (en métaphase et anaphase de mitose)
18. Indiquer les conséquences génétiques de la méiose
19. Reconnaître sur lame, au microscope optique, les cinq stades de la première prophase méiotique.

LA MULTIPLICATION CELLULAIRE OU LA CELLULE EN DIVISION

La multiplication cellulaire

La multiplication cellulaire concerne toutes les cellules de l'organisme mais se déroule différemment dans les cellules somatiques et germinales.

Les cellules somatiques (diploïdes) se divisent par **mitoses** successives.

Chaque cellule mère donne deux cellules filles ayant le même nombre de chromosomes. Ceci permet le maintien des structures et fonctions cellulaires d'un organisme.

Les cellules de la lignée germinale (initialement diploïdes) subissent des divisions particulières ou **méiose** donnant naissance à des cellules haploïdes.

Mitose et méiose sont deux processus précédés par une duplication de l'ADN en phase S. Ces processus assurent la transmission du patrimoine génétique, en permettant la croissance des tissus, le remplacement des cellules vieillies,...

1. LA MITOSE :

La mitose est la division cellulaire qui, à partir d'une cellule mère (2 n chromosomes, 2 C ADN) donne deux cellules filles

identiques entre elles et à la cellule mère.

La mitose est une des phases du cycle cellulaire (voir Chapitre sur Le cycle cellulaire).

Au cours de la mitose, de nombreuses modifications morphologiques affectent le noyau et le cytoplasme.

- la division du noyau, ou caryocinèse assure le partage égal des chromosomes entre les 2 cellules filles. C'est donc une division équationnelle.
- La division du cytoplasme ou cytotéière partage approximativement le cytoplasme entre les cellules filles.

La mitose est un phénomène continu, arbitrairement partagé en quatre phases successives de durée inégale.

Ces quatre phases sont : Prophase, Anaphase, Métaphase et Télophase.

Par exemple, dans les fibroblastes humains en culture, la Prophase dure 43 min, la métaphase dure 5 min, l'anaphase 2 min et la télophase 10 min.

1.1. Prophase et pré-métaphase

Au niveau du noyau :

La chromatine, déjà dupliquée en phase S, s'individualise progressivement en chromosomes.

Le noyau, d'aspect poussiéreux pendant l'interphase, va présenter des filaments longs et sinueux qui se condensent progressivement en bâtonnets très colorables ou chromosomes (condensation progressive de leurs deux nucléofilaments identiques, accrochés entre eux par leur région centromérique).

Le(s) nucléole(s), se désorganise(nt) et disparaissent.

Au cours de la pré-métaphase (fin de la Prophase), l'enveloppe nucléaire se fragmente en microvésicules et la lamina se dissocie par phosphorylation des protéines qui la constituent. En même temps, les chromosomes cherchent à se placer sur la plaque métaphasique.

Le noyau augmente légèrement de volume (Fig. 54).

CETTE PARTIE SERA DETAILLEE PENDANT LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT.

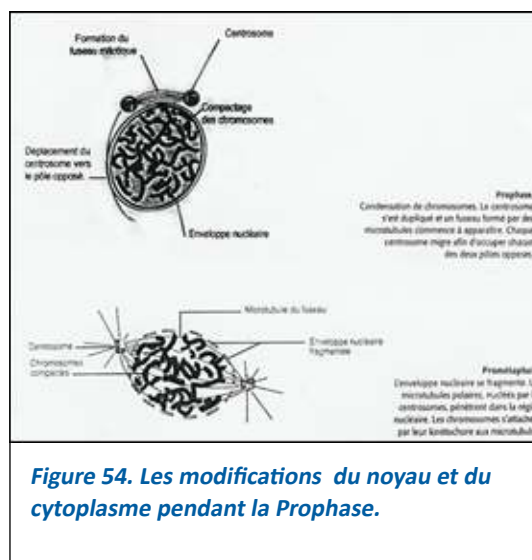
Au niveau du cytoplasme :

*deux diplosomes se forment par duplication des centrioles en fin d'interphase. Chaque diplosome est formé d'un ancien et d'un nouveau centriole. L'un des deux migre vers le pôle opposé au pôle d'origine.

*le fuseau de division : La migration des diplosomes est accompagnée par une polymérisation progressive du fuseau de division qui comporte plusieurs types de microtubules :

- a. des microtubules polaires qui s'étendent de chaque pôle vers l'équateur du fuseau
- b. des microtubules astériens qui irradient des pôles vers la périphérie de la cellule
- c. des microtubules kinétochoriens. Les plaques kinétochoriennes capturent par leurs extrémités positives des fragments de microtubules qu'elles allongeraient ensuite par polymérisation du côté positif.

Le centrosome et les microtubules qui irradient d'un pôle forment un demi-fuseau. A l'équateur, il existe une zone d'intercalation des fibres où se trouvent des protéines associées aux microtubules (Fig. 54).



Les chromosomes sont instables tant que les microtubules kinétochoriens et du fuseau ne sont pas parallèles les uns aux autres.

*L'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique se fragmentent en microvésicules.

1.2. La métaphase

C'est le stade au cours duquel les chromosomes se regroupent à l'équateur du fuseau de division, formant une plaque métaphasique. Les chromosomes sont au maximum de leur condensation. Chaque chromosome est formé de deux chromatides qui restent unies au niveau de leur centromère situé dans le plan équatorial. Chacun des deux kinétochores d'un même chromosome est tourné vers un pôle du fuseau de division. La disposition des chromosomes dans le plan équatorial résulte d'un état d'équilibre dynamique entre les 2 pôles (Fig. 55).

1.3. L'anaphase:

Les centromères se clivent, ce qui permet la séparation des 2 chromatides et leur ascension polaire. Chaque chromatide migre vers le pôle auquel son kinétochore fait face. Cette séparation des chromatides permet une répartition égale du matériel génétique. L'ascension des chromatides (ou chromosomes fils) dépend de :

* la dépolymérisation des fibres kinétochoriennes à partir des deux pôles et au niveau des kinétochores (Anaphase A) (Fig. 56) .

* l'élongation des microtubules polaires par leur pôle (+) (extrémités libres) et glissement des microtubules des 2 demi fuseaux qui tend à éloigner les deux pôles l'un de l'autre (Anaphase B).

Les microtubules kinétochoriens glissent le long des microtubules polaires en direction des pôles grâce à l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP par la dynéine.

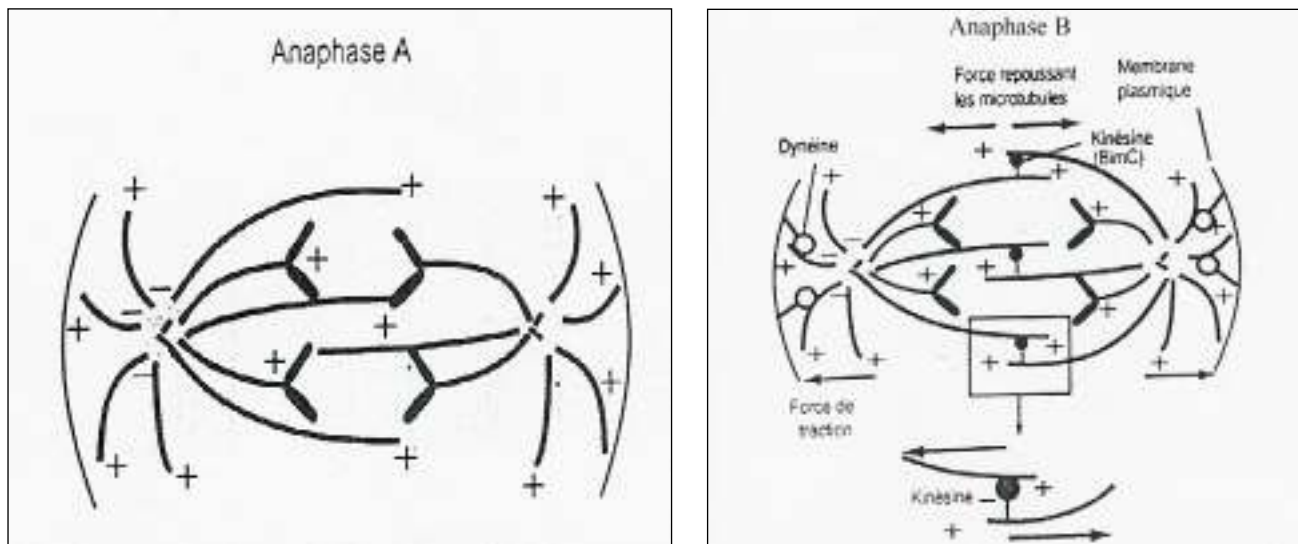


Figure 56. Mécanisme de l'ascension polaire des chromosomes fils.

1.4. La télophase

Au cours de cette phase

- Les chromosomes se décondensent et retrouvent progressivement leur aspect et leurs activités métaboliques interphasiques.
- le nucléole se réassocie et réapparaît.
- L'enveloppe nucléaire (qui commence à s'édifier dès la fin de l'anaphase), s'organise pour former le nouveau noyau : la déphosphorylation permet le regroupement des protéines de la lamina et le rassemblement des microvésicules de l'enveloppe nucléaire qui fusionnent entre elles pour reformer cette enveloppe. Deux noyaux se forment, chacun à un pôle du fuseau à proximité d'un diplosome.
- Le fuseau mitotique se dépolymérise. Les microtubules ne persistent que dans la zone qui s'étend entre les deux lots de chromosomes (région équatoriale).

La cytotélorèse se fait par étranglement du cytoplasme au niveau du plan équatorial du fuseau qui résulte de la contraction d'un anneau de microfilaments d'actine attachés à la face interne de la membrane plasmique. Les organites se répartissent à peu près équitablement (sauf exception) au hasard entre les deux cellules filles (Fig.57).

En fin de télophase, les cellules filles sont unies par un pont cytoplasmique où se trouve un faisceau de microtubules; à ce stade, l'anneau contractile disparaît. Le pont cytoplasmique finit par se rompre et les deux cellules filles se séparent.

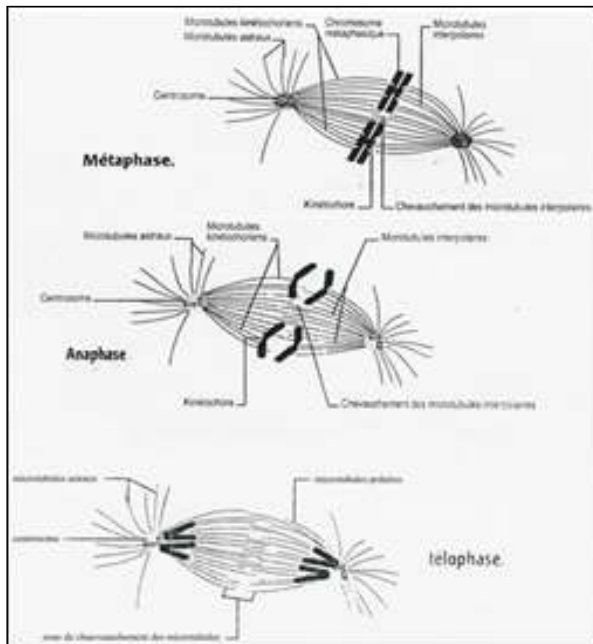


Figure 55. Les modifications cellulaires pendant l'anaphase, la métaphase et la télophase.

2. LA MÉIOSE

Très tôt au cours du développement de l'embryon, une lignée cellulaire particulière s'individualise : la lignée germinale. Les cellules de cette lignée vont subir un mode particulier de division cellulaire, ou méiose conduisant à la formation de 4 cellules haploïdes (n chromosomes): les gamètes.

La méiose comprend deux divisions cellulaires successives :

- la 1ère division dite réductionnelle qui aboutit à deux cellules filles dont le nombre de chromosomes est réduit de moitié (n chromosomes).
- La 2ème division dite équationnelle, qui aboutit à quatre cellules haploïdes : il s'agit donc d'une mitose normale.

Seule la première division est précédée d'une duplication de l'ADN.

Aspects morphologiques de la méiose

Chacune de ces deux divisions de la méiose peut être partagée en quatre phases : Prophase, Métaphase, Anaphase et Télophase.

2.1. La division réductionnelle

2.1.1. La Prophase I :

Elle est longue (10 à 16 jours dans le sexe masculin de l'espèce humaine) et complexe. Elle est précédée d'une duplication de l'ADN.

Le nucléole disparaît progressivement au fur et à mesure de la condensation des chromosomes. Le volume du noyau augmente. Le diplosome se duplique et le fuseau de division se forme comme décrit dans la mitose.

On la subdivise en cinq stades successifs : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse (Fig. 58).

* **stade leptotène :** Le noyau (relativement de petite taille) a un aspect foncé au microscope optique ; il comporte un réseau de fins filaments répartis dans tout le noyau et correspondant aux chromosomes qui s'individualisent.

* **stade zygotène :** Le noyau augmente modérément de taille. Les télomères des chromosomes s'accrochent à une région particulière de l'enveloppe nucléaire et forment un bouquet à un pôle du noyau au niveau des télomères.

L'appariement des chromosomes homologues, dû à des protéines spécifiques, se complète en direction des centromères, sur toute la longueur des chromosomes, constituant ainsi des bivalents.

Les gènes homologues se trouvent ainsi mis exactement face à face. Dans le cas du sexe masculin, les chromosomes X et Y ne s'apparient pas comme les chromosomes homologues, mais se disposent bout à bout.

* **Stade Pachytène :** A ce stade, le noyau comporte des chromosomes homologues totalement appariés et nettement plus condensés. Un bivalent formé de chromosomes homologues comportant chacun 2 chromatides, peut être appelé une tétrade. Les chromatides homologues se chevauchent au niveau des chiasmas qui comportent des nodules de recombinaison. C'est à leur niveau et à ce stade que se font les échanges de segments entre les chromosomes homologues : c'est le **crossing-over** qui aboutit à la formation de chromosomes homologues recombinés. C'est le remaniement intra chromosomique.

* **Stade Diplotène :** Le noyau atteint sa taille maximale, les chromosomes se condensent davantage, le nucléole disparaît. A ce stade, l'appariement des chromosomes homologues se défait sauf au niveau des chiasmas. Les chromatides homologues prennent des formes en 8 et en X. Les ovocytes restent à ce stade pendant des mois ou des années. Leurs chromosomes peuvent se décondenser partiellement pour fabriquer des ARN responsables de la synthèse de substances de réserves.

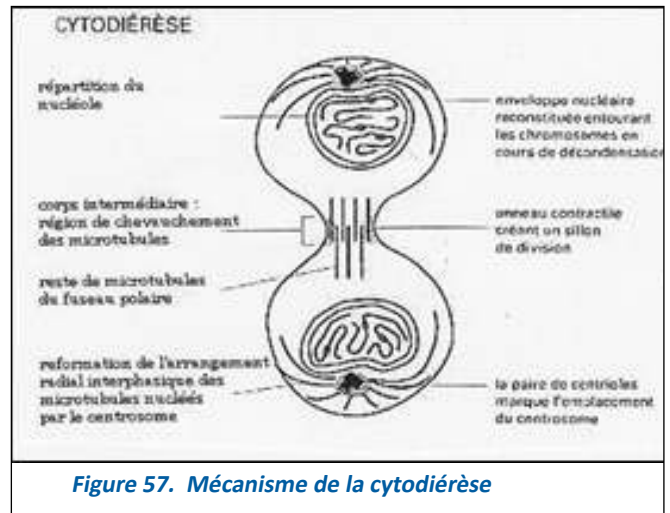


Figure 57. Mécanisme de la cytotdiérèse

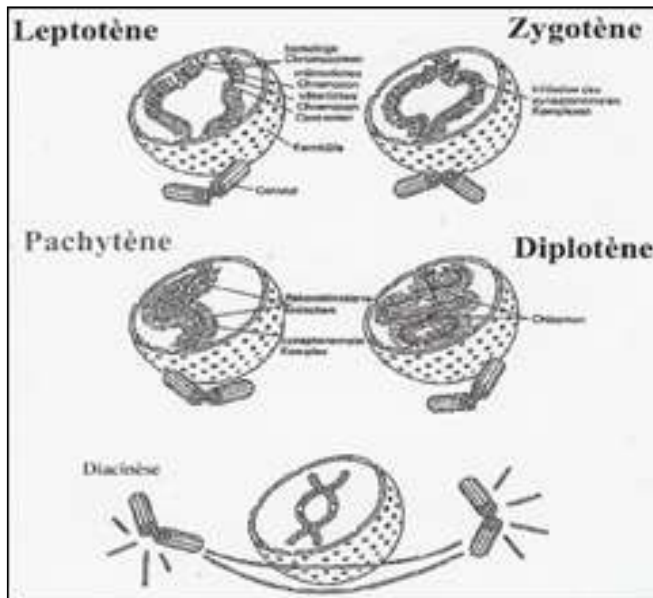


Figure 58. Vue d'ensemble de la prophase I.

* Stade diakinèse : Les chromosomes sont au maximum de leur condensation. A la fin de la diakinèse, l'enveloppe nucléaire se fragmente.

2.1.2. La métaphase I

Les deux centromères de chaque bivalent se placent de part et d'autre du plan équatorial du fuseau. L'orientation des centromères des chromosomes d'origine paternelle et maternelle par rapport aux pôles du fuseau, s'effectue au hasard : elle est à l'origine du remaniement inter chromosomique. Les kinétochores des chromatides d'un même chromosome sont orientés vers le même pôle.

2.1.3. L'anaphase I

Les centromères de chaque bivalent migrent vers les pôles opposés du fuseau; les deux chromosomes homologues recombinaés de chaque bivalent s'éloignent l'un de l'autre (Fig. 59).

2.1.4. La télophase I

A la fin de l'ascension polaire, le fuseau se dépolymérise, une enveloppe nucléaire se reconstitue autour de chacun des lots de n chromosomes recombinaés.

Les chromosomes de chaque cellule ont subi les ségrégations intra et inter chromosomiques.

2.2. La division équationnelle

2.2.1. La prophase II :

Elle est très brève. Le fuseau mitotique se forme dans chaque cellule. Chaque chromosome condensé est formé de deux chromatides unies au niveau du centromère.

2.2.2. La métaphase II :

Les centromères des chromosomes se disposent sur la plaque équatoriale. Les deux kinétochores de chaque chromosome dupliqué (formé de deux chromatides recombinaés), sont orientés vers les pôles opposés.

2.2.3. L'anaphase II :

Les chromatides recombinaés se séparent au niveau des centromères ; elles peuvent alors se diriger vers les pôles opposés du fuseau (Fig. 59).

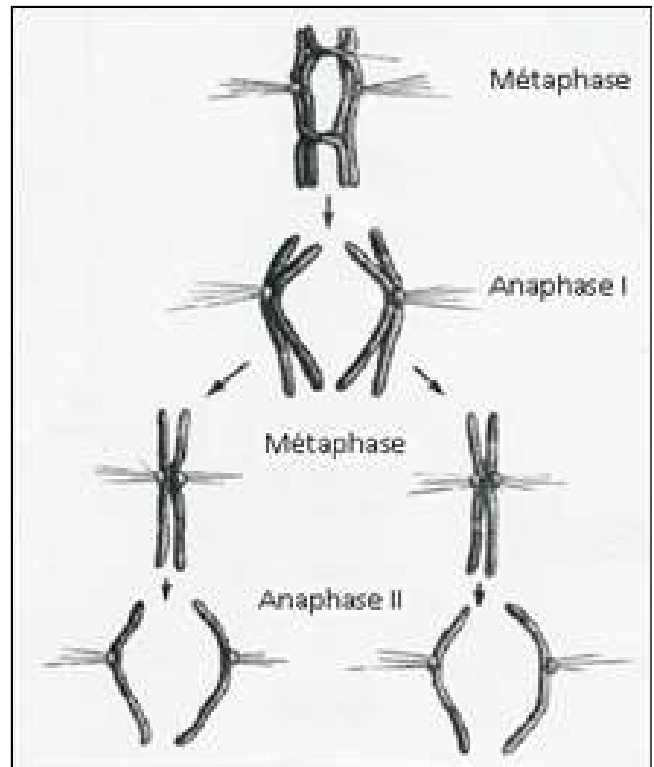


Figure 59. Comparaison des mécanismes d'alignement et de séparation des chromosomes lors des divisions I et II de la Méiose.

2.2.4. La télophase II

L'enveloppe nucléaire se reforme autour des chromosomes qui se décondensent, les nucléoles réapparaissent. Chaque cellule haploïde résultant de la première division de la méiose se divise donc en deux cellules également haploïdes.

La méiose conduit donc à la production, de quatre cellules haploïdes (n chromosomes) à partir d'une cellule diploïde ($2n$ chromosomes).

Elle permet la mise en place d'un génome spécifique à chaque gamète, ce qui contribue à la diversification des individus grâce à la ségrégation intra et inter chromosomique.

3. LA RÉGULATION DU CYCLE CELLULAIRE

On rappelle que le cycle cellulaire est subdivisé, par convention, en quatre phases (Fig. 60):

- Phase **G1** au cours de laquelle la cellule se prépare à répliquer son ADN.
- Phase **S**, pour la synthèse de l'ADN.
- Phase **G2**, période de préparation à la division d'une cellule mère en deux cellules filles.

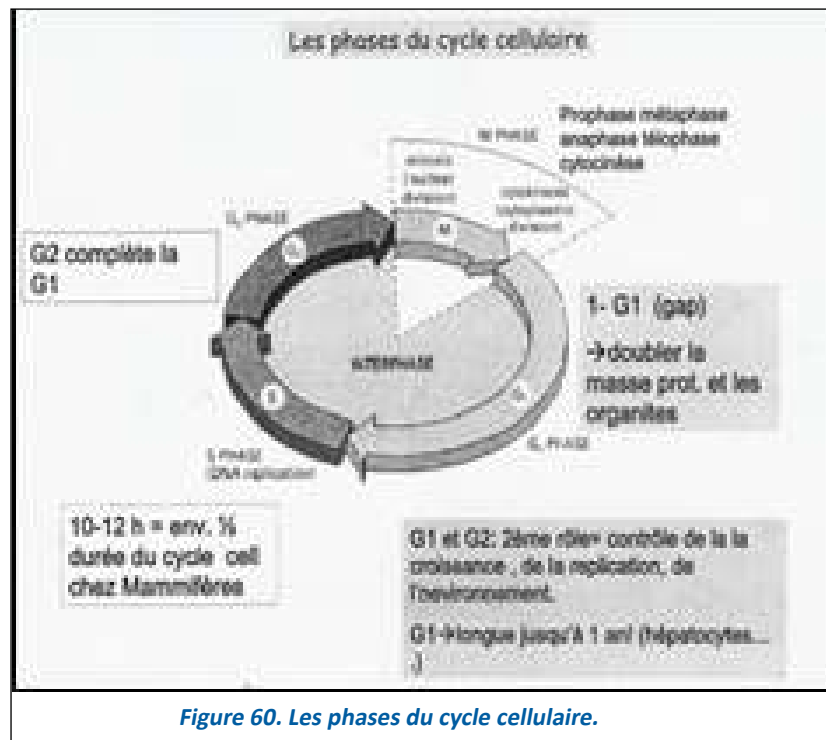


Figure 60. Les phases du cycle cellulaire.

Les cellules non proliférantes peuvent être soit en état de différenciation terminale soit dans une phase de repos, dite G0 (zéro), dont elles peuvent sortir pour entrer dans le cycle, en fonction des informations qu'elles reçoivent de leur environnement (facteurs de croissance, cytokines, contact avec d'autres cellules) (Fig. 61).

Il existe deux points majeurs de contrôle du cycle cellulaire : « le START point » dans la phase G1 et le point de transition G2/M. Le deuxième point est le mieux connu : cette transition est en effet caractérisée par l'activation d'une kinase appelée MPF (Maturation Promoting Factor ou Mitosis Promoting Factor).

Le déroulement du cycle cellulaire est régulé positivement par des complexes protéiques, formés d'une sous-unité enzymatique à activité protéine-kinase, désignée par le sigle CDK (pour Cyclin-Dépendant Kinase) et d'une sous-unité régulatrice appelée cycline. L'activation d'une cdk dépend, d'une part, de son association à une cycline, dont la quantité varie au cours du cycle et, d'autre part, de réactions de phosphorylation.

La clé de la régulation du cycle cellulaire et des éléments qui le contrôlent est la phosphorylation et déphosphorylation de toute une série de protéines régulatrices, incluant les kinases elles-mêmes. Ces phosphorylations sont effectuées par des kinases regroupées sous le terme de CDK. En effet, ces kinases sont inactives en elles-mêmes et doivent être associées à une sous-unité régulatrice, la cycline, pour être activées.

À l'heure actuelle, plusieurs cyclines (au moins huit cyclines, A à H) ont été identifiées dans les cellules des mammifères, de même qu'un nombre aussi important de kinases CDK (1 à 7). Les associations CDK et cycline peuvent engendrer un grand nombre de combinaisons cycline/CDK avec, pour chaque complexe, un rôle bien défini dans la régulation temporelle du cycle cellulaire.

L'originalité de ce mode de régulation vient de l'observation que chaque cycline n'est synthétisée qu'à une période bien précise du cycle cellulaire et ne s'associe qu'à une série définie de kinase CDK (Fig. 61). Donc, l'activation à un moment déterminé des couples cycline-CDK permet les transitions entre les phases du cycle et la progression au cours d'une phase.

a) L'entrée dans le cycle d'une cellule de G0 en G1 sous l'influence de facteurs de croissance est déterminée par l'activation des dimères CDK4/6-cycline D qui lèvent l'inhibition de l'entrée en cycle jusqu'au point START de G1 (exercée par la protéine pRb (rétinoblastome non phosphorylée). La protéine pRb est le produit du gène de prédisposition au rétinoblastome, prototype des gènes suppresseurs de tumeurs.

b) La transition G1/S suppose la participation de CDK2-cycline E en favorisant la transcription de gènes dont l'expression est indispensable à la réplication de l'ADN. Ces gènes sont activés par des facteurs de transcription appelés E2F qui étaient inhibés par la pRb non phosphorylée. La phosphorylation de pRb par CDK4/6-cycline D et CDK2-cycline E libère les facteurs de transcription qui activent les gènes codant les protéines qui interviennent dans la réplication de l'ADN.

c) La progression en phase S implique le couple CDK2- cycline A.

d) Le passage de G2 en M est régulé par l'activation des complexes CDK1-cycline A et CDK1-cycline B. L'induction de la mitose (phase M du cycle cellulaire) et celle de la méiose dans les cellules Eucaryotes sont dues à l'activation du facteur MPF qui possède une activité protéine kinase.

Le MPF est formé

- D'une sous-unité catalytique **p34** (protéine de PM=34 kDa chez les Eucaryotes supérieurs. L'équivalent de p34 chez la

- D'une sous-unité régulatrice, la cycline (A ou B), nécessaire pour l'activation de la kinase p34 et la sélection spécifique des substrats.

Le cycle cellulaire est un cycle coordonné de synthèses, d'activations transitoires et de destruction protéolytiques

The diagram illustrates the cell cycle as a circular process with four main phases: G1, S, G2, and M. Key regulatory components include:

- G1 Phase:** Initiated by **Signaux de croissance** (growth signals). Key regulators are **CDK4-6 Cycline D** and **E2F pRb**. The transition to S phase is controlled by **CDK2 Cycline E** and **E2F pRb**.
- S Phase:** DNA synthesis occurs, involving **Protéines de la réplication** (replication proteins). Key regulators are **CDK2 Cycline A** and **E2F pRb**.
- G2 Phase:** Key regulators are **CDK1 Cycline A** and **CDK1 Cycline B**.
- M Phase:** Mitosis occurs, regulated by **CDK1 Cycline B**.

The cycle is a continuous loop where the products of one phase serve as regulators for the next phase.

L'activité kinase de la p34 est donc régulée, d'une part, par des interactions avec d'autres protéines (comme les cyclines) et, d'autre part, par des réactions de phosphorylation et déphosphorylation.

L'activation du complexe p34 cdc2/cycline B (ou cdk1- cycline B) favorise la condensation de la chromatine par phosphorylation des histones H1, (phosphorylée, par p34 cdc2) et le réarrangement des microtubules,...

La thréonine 14 et la tyrosine 15 sont localisées au sein d'une séquence impliquée dans la liaison de l'ATP, il est donc vraisemblable que la phosphorylation de ces résidus interfère avec l'activité kinase de l'enzyme. En revanche, la thréonine 161 reste phosphorylée pendant la phase M; il est probable que cette phosphorylation est nécessaire pour que la p34 cdc2 reste active.

CONCLUSION

ANNÉE UNIVERSITAIRE 2021-2022 / THEME II - LA CELLULE : STRUCTURE ET FONCTIONS - PCEM1

Remarques

1. Certaines protéines sériques sont directement et spécifiquement impliquées dans la stimulation de la division cellulaire; c'est par exemple le cas du facteur de croissance PDGF (PlateletDerivedGrowing Factor) qui agit en phosphorylant des récepteurs membranaires de la cellule cible, les protéines src. Ces protéines-kinases (src : tyrosine-kinase associée à la membrane et au cytosquelette) phosphorylent à leur tour les protéines d'adhérence cellulaire transmembranaires voisines, y compris les récepteurs de la fibronectine. L'action est donc intra et extra cellulaire. Ceci entraîne par phosphorylation de la sérine de la vinculine, le décrochage des filaments d'actine dans la cellule et la libération de la cellule de sa matrice extra-cellulaire. La cellule mère devenue libre pourra se déformer en s'arrondissant et donner deux cellules filles qui, une fois la mitose terminée, reformeront, grâce à la déphosphorylation de fin de mitose, les adhésions momentanément rompues.

2. Divers autres facteurs interviennent dans les divisions cellulaires. Par exemple, les cellules somatiques n'entrent en mitose que lorsque leur masse a doublé. En fin de mitose, les cellules filles ont la même taille que les cellules mères au début de leur cycle.

Les cellules se divisent tant qu'elles ont de la place pour le faire, que ce soit en surface (dans une boîte de culture) ou en volume. Dès que la place disponible est occupée, les divisions cessent (sauf pour les cellules cancéreuses qui prolifèrent continuellement).

In vivo, certains facteurs externes (température, lumière), influent sur la durée du cycle cellulaire, par l'intermédiaire du système nerveux, des hormones. Une augmentation de température de quelques degrés active les mitoses dans des limites physiologiques strictes. L'absence d'éclairement est susceptible dans certains tissus de ralentir le rythme des mitoses. Les rayonnements de courte longueur d'onde, les rayons X en particulier, bloquent la synthèse de l'ADN.

Certaines substances chimiques peuvent inhiber les mitoses (antimitotiques) :

- Inhibition de la réplication de l'ADN (agents alkylants, certains antibiotiques).
- Inhibition de la transcription ou de la traduction (certains antibiotiques).
- Inhibition de la formation de l'appareil mitotique (en particulier la colchicine qui dépolymérise les microtubules).

BIOCHIMIE STRUCTURALE

LES GLUCIDES

Les objectifs éducationnels

1. Définir et classer les glucides
2. Distinguer les principaux oses
3. Connaître les divers types d'isomérisation des oses
4. Citer les propriétés chimiques des oses
5. Connaître les principaux dérivés des oses
6. Indiquer les différentes propriétés biologiques des oses
7. Connaître les principaux di et polyholosides
8. Distinguer les différents groupes d'hétérosides

PLAN

I. DEFINITION & CLASSIFICATION

- A. Définition
- B. Classification

II. LES OSES

- A. Définition
- B. Classification
- C. Formules chimiques
 - 1) Formule linéaire
 - 2) Formule cyclique
- D. Isomérisation
 - 1) Isomérisation de fonction
 - 2) Isomérisation stérique
- E. Propriétés chimiques
 - 1) Oxydation
 - 2) Réduction
 - 3) Estérification
 - 4) Amination
 - 5) Glycation
- F. Principaux dérivés
 - 1) Les désoxyoses ou désoses
 - 2) Les polyols acycliques
 - 3) L'acide L ascorbique ou vitamine C
 - 4) Les acides sialiques
- G. Propriétés biologiques

III. LES OSIDES

- A. Les holosides
 - 1) Les diholosides
 - 2) Les polyholosides
- B. Les hétérosides
 - 1) Les O-hétérosides
 - 2) Les S-hétérosides
 - 3) Les N-hétérosides

Les glucides forment un groupe de composés très importants largement répandus chez les animaux et chez les végétaux où ils remplissent à la fois des rôles structuraux et métaboliques. L'homme peut synthétiser certains glucides à partir des graisses et des protéines, mais la majeure partie des glucides provient des végétaux. Sur le plan métabolique, le glucose est le glucide le plus important. C'est sous forme de glucose que la majeure partie des glucides alimentaires sont absorbés dans le courant sanguin. Le glucose est le principal combustible des tissus humains et en particulier du cerveau. Il est transformé en d'autres glucides ayant des fonctions hautement spécifiques (structurales, de réserve, signaux de reconnaissance...).

I. DEFINITION & CLASSIFICATION

A. DÉFINITION

Les glucides sont des polyalcools renfermant une fonction carbonyle réductrice soit aldéhydrique (CHO) soit cétonique (CO) à l'état monomérique ou polymérique ou des composés qui en dérivent.

B. CLASSIFICATION

On distingue 2 grandes classes de glucides : les oses (monosaccharides) et les osides (polysaccharides).

II. LES OSES

A. DÉFINITION

Les oses ou sucres simples sont des substances non hydrolysables, normalement non ramifiées, répondant à la formule générale $C_nH_{2n}O_n$ avec $3 \leq n < 8$.

B. CLASSIFICATION

Elle tient compte à la fois

- du nombre d'atomes de carbone (trioses, tétroses, pentoses, hexoses, heptoses...)
- de la nature de la fonction réductrice (aldoses et cétones), sachant que pour les aldoses le carbone porteur de la fonction CHO est le carbone n° 1 et pour les cétones le carbone porteur de la fonction CO est le carbone n° 2.

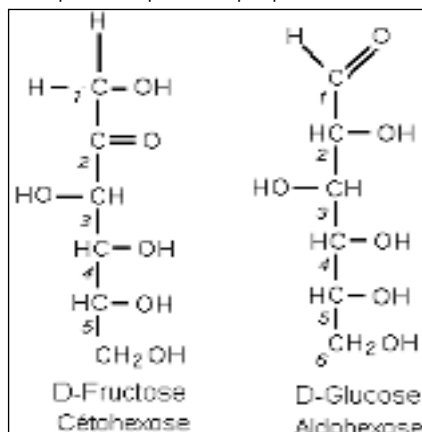
Les oses les plus simples ont 3 atomes de C et l'on distingue un aldotriose le glycéraldéhyde et un céto triose la dihydroxyacétone

C. FORMULES CHIMIQUES

1. FORMULE LINÉAIRE

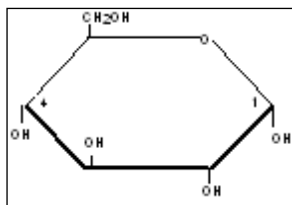
Elle permet de rendre compte de l'orientation spatiale des radicaux H et OH reliés à chaque atome de carbone asymétrique (carbone portant 4 substituants différents). Un ose appartient à la configuration D si son OH préterminal est à droite et à la configuration L si son OH préterminal est à gauche. Les aldoses ou cétones naturels sont pratiquement tous de la série D (exception le L. arabinose) et dérivent du D glycéraldéhyde.

L'insuffisance de cette formule c'est qu'elle ne permet pas d'expliquer certaines propriétés physico-chimiques des oses.

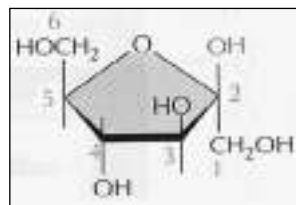


2- FORMULE CYCLIQUE

Les formules cycliques stables des oses sont apparentées aux formules cycliques du pyranne (hexagonal) ou du furane (pentagonal).



α D glucopyranose



β D fructofuranose

L'orientation spatiale des radicaux H et OH se fera non plus par rapport à l'axe du squelette carboné de la formule linéaire, mais par rapport au plan de la molécule de cyclique. Par convention les hydroxyles situés à droite dans la formule linéaire seront orientés en bas du cycle dans la formule cyclique et vice-versa. Dans la formule cyclique, on définit la forme D des oses en numérotant les carbones du cycle dans le sens des aiguilles d'une montre tout en ayant le dernier carbone porteur de la fonction alcool laire en haut du cycle.

D. ISOMÉRIE DES OSES

Sont appelés isomères les oses qui possèdent la même formule brute, mais pas la même formule développée, et qui par suite, ont des propriétés physico-chimiques différentes. Deux types d'isoméries peuvent être distinguées :

1. ISOMÉRIE DE FONCTION

Les isomères de fonction ont la même formule brute, mais diffèrent par la nature de leur fonction réductrice.

Aldotriose	Cétotriose
D-Glycéraldéhyde	Dihydroxyacétone
H-C=O	CH ₂ OH
H-C-OH	C=O
CH ₂ OH	CH ₂ OH

La formule semi-développée permet de les distinguer.

2. ISOMÉRIE STÉRIQUE OU STEREOISOMERIE

Les stéréo-isomères sont des oses qui possèdent des formules brutes et semi-développées identiques, mais qui diffèrent entre eux par la position dans l'espace de leurs groupements OH respectifs portés par les carbones asymétriques. La formule linéaire (représentation de Fisher) permet de les distinguer. Le nombre N de stéréo-isomères est fonction du nombre n de carbone asymétrique ($N=2^n$ stéréo-isomères).

On appelle isomères optiques ou énantiomères 2 stéréo-isomères qui sont images l'un de l'autre dans un miroir. Ces 2 énantiomères dévient le faisceau de la lumière polarisée d'un même angle, mais de sens opposé. L'énantiomère déviant le faisceau à droite est dit dextrogyre (d ou +) et celui qui le dévie à gauche est dit lévogyre (l ou -).

H-C=O	H-C=O
H-C-OH	HO-C-H
CH ₂ OH	CH ₂ OH
D-Glycéraldéhyde	L-Glycéraldéhyde
(OH préterminal à D)	(OH préterminal à G)
Enantiomère (+)	Enantiomère (-)

Certains stéréo-isomères ne diffèrent que par l'orientation des groupes OH et H au niveau d'un seul C. On les appelle épi-mères. Ainsi le D galactose et le D glucose forment une paire d'épimères au niveau de C4. Le D glucose et le D mannose forment une paire d'épimères au niveau de C2.

HCO	HCO	HCO
C-	C-	-C
-C	-C	-C
-C	C-	C-
C-	C-	C-
CH ₂ OH	CH ₂ OH	CH ₂ OH
D-galactose	D-glucose	D-mannose

Dans la formule cyclique (représentation de Haworth), il y a création d'un nouveau carbone asymétrique qui est le carbone porteur de la fonction réductrice. Il est appelé carbone anomérique (C1 pour les aldoses et C2 pour les céto-ses) ce qui explique l'existence de 2 stéréo-isomères supplémentaires que la formule linéaire ne pouvait prévoir : l'anomère α et l'anomère β .

Si l'hydroxyle de ce carbone est de part et d'autre du plan de la molécule avec la fonction alcool laire, l'ose est appelé anomère α . Il est dit anomère β dans le cas contraire. Ces deux anomères dévient le faisceau de lumière polarisée dans le même sens, mais d'un angle différent.

En règle générale, dans la série naturelle (D), les anomères α sont ceux dont le pouvoir rotatoire est le plus élevé.

E. PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DES OSES

1. OXYDATION

La fonction aldéhydrique ou cétonique des oses ainsi que leur fonction alcool primaire sont susceptibles d'être oxydées. La fonction aldéhydrique est la plus facilement oxydable.

a. Oxydation de la fonction réductrice

Dans la cellule, une oxydase oxyde la fonction aldéhydrique du glucose en acide 6P gluconique qui est un intermédiaire métabolique.

Application au dosage du glucose dans les milieux biologiques (glucose oxydase et peroxydase).

b. Oxydation de la fonction alcool primaire

Dans la cellule, l'oxydation enzymatique de la fonction alcool primaire des aldohexoses aboutit aux acides uroniques. Ces derniers ont une grande importance biologique tant du point de vue structural que fonctionnel. L'acide glucuronique dérivant du glucose se trouve dans des hauts polymères glucidiques, les glycosamino-glycanes (GAG). Il participe aussi aux processus de détoxification de l'organisme. En effet, il peut par son groupement réducteur se combiner avec de nombreuses substances hydroxylées, favorisant ainsi leur solubilité et leur élimination urinaire. Ce processus est appelé glucurono-conjugaison. Il est à la base de l'élimination de substances naturelles (hormones thyroïdiennes, stéroïdiennes, pigments biliaires) et de substances toxiques (dérivés phénoliques, certains médicaments).

2. RÉDUCTION

Les oses peuvent être réduits sous l'action de réductases. C'est ainsi que le glucose est réduit en sorbitol dont l'excès est toxique pour le cristallin, le ribose est réduit en ribitol, précurseur des coenzymes flaviniques (FMN et FAD) et la glycéraldéhyde est réduite en glycérol, intermédiaire métabolique important.

3. ESTÉRIFICATION

L'acide phosphorique peut estérifier la fonction anomérique et/ou la fonction alcool primaire, aboutissant à la formation d'esters phosphoriques des oses dont les plus importants sont : Glucose 6phosphate (G6P), Glucose 1phosphate (G1P), Fructose 6phosphate (F6P) Fructose 1-6diphosphate (F1-6diP)...

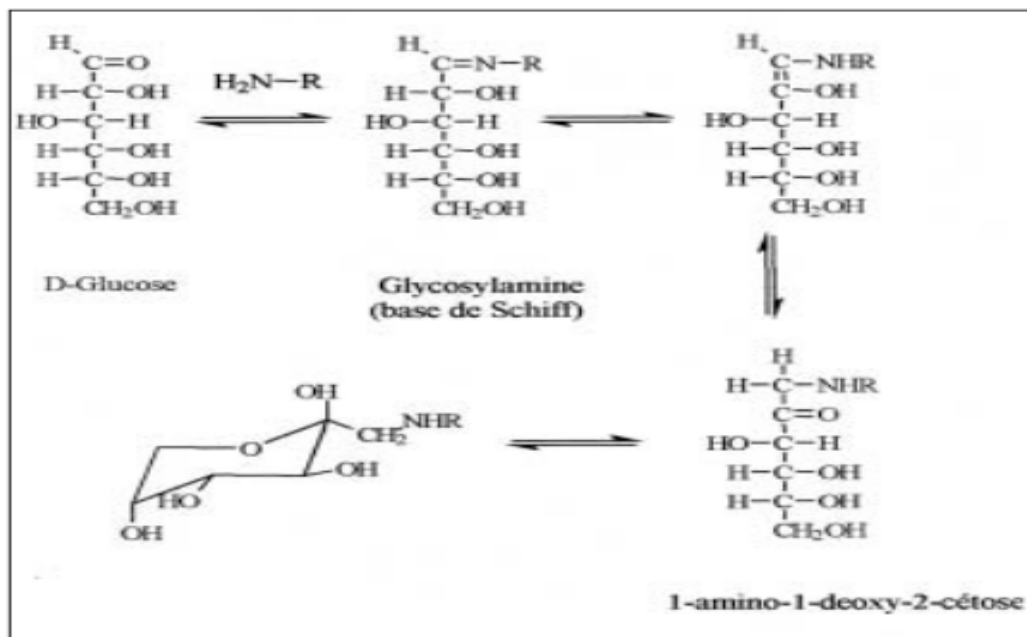
4. AMINATION

Les osamines dérivent des oses par substitution d'un hydroxyle, généralement celui du C2 par un groupement amine qui est fréquemment acétylé. Ces osamines entrent dans la structure des grosses molécules glucidiques (glycosaminoglycanes et glycoprotéines)

5. GLYCATION

La glycation est une fixation non enzymatique irréversible d'un ose sur une protéine donnant lieu à une protéine glyquée. Cette fixation se fait selon le réarrangement d'Amadori. Ex Hb glyquée.

En cas de diabète, la glycation des protéines est majorée et est responsable de toutes les complications du diabète. L'Hb glyquée est un paramètre de suivi et de diagnostic du diabète sucré.



F- PRINCIPAUX DÉRIVÉS DES OSES

1- Les désoxyoses

Ils correspondent à l'enlèvement d'un atome d'oxygène à un hydroxyle, généralement en 2 ou en 6.

Exemples :

- le L-fucose (6-désoxy-L-galactose) entre dans la composition de certaines glycoprotéines plasmatiques et au niveau des membranes des érythrocytes
- le D-désoxyribose (2-désoxy-D-ribose) présent dans toutes les cellules comme constituant de l'ADN.

2- Les polyols acycliques

Ils dérivent de la réduction des aldoses et des cétooses

Exemples : - le glycérol dérive du glycéraldéhyde.

- le sorbitol du glucose.
- le ribitol du ribose.

3- L'acide L ascorbique ou vitamine C

L'acide L ascorbique ou vitamine C dérive du glucose. Il joue un rôle d'anti oxydant important grâce à sa fonction ène diol qui peut être oxydée. La vitamine C doit être apportée par l'alimentation chez l'homme.

4- Les acides sialiques

Les acides sialiques, composés caractéristiques de nombreuses glycoprotéines et glycolipides, sont des dérivés de l'acide neuraminique. Celui-ci est formé par la condensation de D mannosamine avec l'acide pyruvique. L'acide sialique est le dérivé N acétylé de l'acide neuraminique.

Les acides sialiques sont responsables de la fixation et de la pénétration des virus dans la cellule grâce à la neuraminidase virale. De plus, le vieillissement des tissus et la cancérisation sont dus en partie à une perte en acide sialique.

G- PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES OSES

Les oses ont plusieurs fonctions

- fonction énergétique : le glucose constitue l'élément énergétique principal des cellules.
- fonction de réserve : le glycogène hépatique et musculaire constitue la principale réserve glucidique de l'organisme
- fonction structurale : le ribose entre dans la constitution de l'ARN...

Enfin certains oses sont transformés en dérivés aux fonctions biologiques multiples.

III. LES OSIDES

Ce sont des combinaisons résultant de l'association de plusieurs oses entre eux : holosides ou éventuellement avec des substances non glucidiques appelées aglycones : hétérosides. Cette condensation est réalisée grâce à une liaison covalente appelée liaison glycosidique.

A. LES HOLOSIDES

Ils sont caractérisés par la nature et le nombre des oses qui entrent dans leur composition.

1) Les diholosides

Les diholosides importants du point de vue physiologique sont : le lactose, le maltose et le saccharose.

a) diholosides réducteurs ou osidoses

L'union se fait entre la fonction réductrice du premier ose et un des hydroxyles alcooliques du second ose

a1- Le lactose : C'est le sucre du lait dont la formule est : β D galactopyranosyl 1-4 D glucopyranose. Il est hydrolysé par une lactase intestinale (β galactosidase).

a2- Le maltose dont la formule est : α D glucopyranosyl 1-4 D glucopyranose. Il se rencontre dans quelques végétaux, mais il est surtout connu comme produit d'hydrolyse de certains polyholosides de réserve tels que glycogène et amidon. Il est hydrolysé par les α amylases (salivaire et pancréatique).

b) diholosides non réducteurs ou osidosides

Le plus répandu de tous est le saccharose dont la formule est : α D glucopyranosyl 1-2 β D fructofuranoside. Il est abondant dans la racine de betterave et la tige de la canne à sucre. Le saccharose n'a pas de groupement réducteur libre dans sa molécule. Il est hydrolysé par la saccharase intestinale. Le mélange équimoléculaire obtenu par l'hydrolyse : glucose et fructose sont le constituant du miel.

2) Les polyholosides (glycanes)

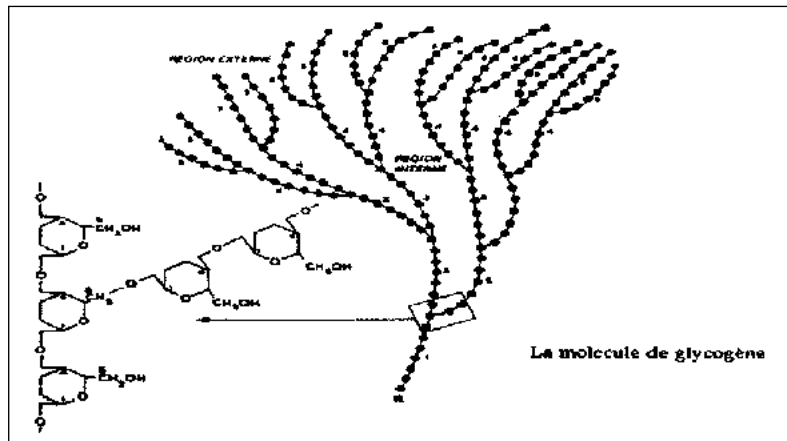
Ce sont des composés glucidiques à haut PM (> 10 unités saccharidiques). Très répandues dans la nature, ces glycanes jouent un rôle de soutien ou de réserve pour les cellules animales, végétales et bactériennes. Les polyholosides diffèrent les uns des autres par la nature de leur motif monomérique, la longueur de leur chaîne et leur degré de ramification.

On les classe en :

- Homoglycannes dont le constituant élémentaire est le même ose
- Hétéroglycannes caractérisés par l'alternance régulière de 2 ou 3 oses différents ou dérivés d'oses.

a) Les homoglycannes

Le plus important des homoglycannes est le glycogène. Il représente la forme de réserve glucidique chez l'homme. Il se trouve dans les cellules hépatiques où il constitue une réserve générale pour l'organisme et dans les cellules musculaires où il constitue une réserve locale pour cet organe. Le glycogène a une structure très ramifiée. Il est formé de chaînes linéaires composées de résidus d' α D glucopyranosyl liés entre eux par des liaisons α 1-4 avec des ramifications au moyen de liaisons glycosidiques α 1-6. Son hydrolyse par les amylases, salivaire et pancréatique, libère du maltose (2 glucoses liés entre eux par une liaison α 1-4) et/ou de l'isomaltose (2 glucoses liés entre eux par une liaison α 1-6).



Structure du glycogène

Un autre exemple de polyholoside est l'amidon. Il constitue la source alimentaire la plus importante des glucides. Les 2 principaux constituants de l'amidon sont :

- L'amylose (15 à 20 %) dont la structure hélicoïdale est linéaire. Elle est formée de résidus glucosyl liés entre eux par des liaisons α 1-4.
- L'amylopectine (80-85%) dont la structure est similaire à celle du glycogène avec un moindre degré de ramification.

La cellulose est la principale substance de soutien des parois cellulaires des plantes. C'est un polymère formé de résidus β D glucopyranosyl liés entre eux par des liaisons β 1-4. À cause de ces liaisons β , elle n'est pas sensible à l'attaque des enzymes digestifs humains. Elle est donc une source importante « d'aliments de lest » dans la ration alimentaire.

b) Les hétéroglycannes

Ils sont composés de chaînes glucidiques constituées de divers oses et dérivés d'oses. Les plus importants sont les glycosaminoglycannes (GAG), qui entrent dans la composition de la substance fondamentale du tissu conjonctif. Les GAG sont de longues chaînes polysaccharidiques non ramifiées composées d'unités disaccharidiques répétées dans lesquelles la glucosamine ou la galactosamine est toujours présente. Chaque unité disaccharidique (à l'exception du kératane sulfate) renferme un acide uronique, l'acide glucuronique (GlcUA) ou son épimère en position 5, l'acide iduronique (IdUA). À l'exception de l'acide hyaluronique, tous les GAG contiennent des groupements sulfate. On distingue 6 types de GAG variables par leurs résidus glucidiques, le type de liaisons entre ces résidus et le nombre et la position du sulfate. Il s'agit de : l'acide hyaluronique, les chondroïtines sulfate, le kératane sulfate, le dermatane sulfate et l'héparane sulfate.

Du fait des groupements sulfate ou carboxyle situés sur la majorité de leurs résidus glucidiques, les GAG possèdent une forte charge négative. Celle-ci attire un nuage de cations tels que le Na^+ , provoquant l'absorption de grandes quantités d'eau dans la matrice. Cela crée une pression de gonflement ou turgescence, qui permet à la matrice de résister aux forces de contrainte.

Les chaînes polysaccharidiques sont trop rigides pour se replier et constituer les structures globulaires compactes que les chaînes polypeptidiques forment normalement. De plus, elles sont très hydrophiles. De ce fait, les GAG ont tendance à adopter des conformations très étirées, repliées au hasard occupant un volume considérable par rapport à leur masse. Ils fournissent ainsi un support mécanique aux tissus, tout en permettant la diffusion des molécules hydrosolubles et la migration des cellules.

NB : Les oligosides ou oligosaccharides renferment 3 à 10 oses. Ils sont souvent liés à des protéines ou des lipides particulièrement au niveau des membranes cellulaires au niveau desquelles ils jouent un rôle dans la reconnaissance cellulaire. La composition des oligosides de la surface des globules rouges détermine le groupe sanguin.

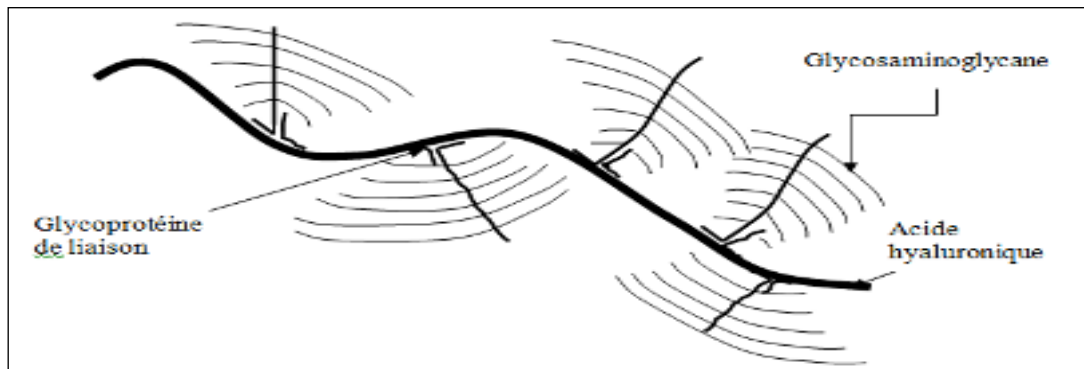
B. LES HÉTÉROSIDES

Ce sont des composés associant une chaîne glucidique à un composé non glucidique appelé aglycone. Selon le type de liaison glycosidique, on distingue 3 groupes d'hétérosides :

1-Les O-hétérosaccharides dont l'aglycone est lié à la partie glucidique par un hydroxyle. Ce type de liaison est responsable de la formation des :

a-Protéoglycannes

Ceux-ci sont des composants majeurs de la substance fondamentale du tissu conjonctif. À l'exception de l'acide hyaluronique, tous les GAG sont liés de façon covalente à une protéine pour former des protéoglycannes. Sur chaque squelette peptidique se greffent 30 à 100 chaînes de GAG qui peuvent être de types différents. Ces protéoglycannes s'organisent en agrégats, dans le sens que l'extrémité du polypeptide se fixe par des liaisons non covalentes à une molécule d'acide hyaluronique. Plusieurs centaines de molécules de protéoglycannes se fixent ainsi à la même molécule d'acide hyaluronique. Ainsi sont constitués de vastes ensembles macromoléculaires de masse moléculaire de plusieurs centaines de millions de daltons (voir Figure).



Ensemble macromoléculaire réalisé par les protéoglycannes

Les protéoglycannes se lient par ailleurs aux protéines fibreuses du tissu conjonctif. Elles réalisent donc une architecture cohérente de ce tissu, lui offrant une excellente résistance mécanique aux chocs grâce à leurs propriétés viscoélastiques.

Les protéoglycannes peuvent varier considérablement par leur composition protéique, leur taille moléculaire, le nombre et le type de chaînes de GAG par molécule. De plus, le profil de base répétitif disaccharidique de chaque GAG peut être modifié par un profil complexe de groupements sulfate. Étant donné l'hétérogénéité structurale des molécules de protéoglycannes, leur fonction ne se limite pas à la création d'un espace hydraté autour et entre les cellules, mais semble également intervenir dans d'autres processus, tels que la réalisation d'une barrière sélective contrôlant la circulation de molécules et de cellules en fonction de leur taille ou de leur charge, la signalisation chimique intercellulaire ou le contrôle de l'activité d'autres types de protéines sécrétées.

b-Glycolipides (membranes cellulaires)

L'aglycone, partie lipidique, est liée à la partie glucidique par la fonction alcool de la sphingosine (alcool aminé) elle-même liée à l'acide gras (sphingosine et acide gras formant la céramide).

Exemple : cérébrosides : Céramide + Galactose
 gangliosides : Céramide + Oligosaccharide

c-Glycoprotéines (membranes cellulaires et plasma)

L'aglycone, partie protéique, est liée à la partie glucidique par une fonction alcool appartenant à un acide aminé (Ser ou Thr).

2-Les S-hétérosides dont l'aglycone est lié à la partie glucidique par un groupement thiol (SH). Ce type d'hétérosides se rencontre chez divers végétaux. Certains S-hétérosides ont des propriétés pharmacodynamiques. Exemple : Le sinigraside (extrait de certains crucifères) utilisé en cataplasme.

3-Les N-hétérosides dont l'aglycone est lié à la partie glucidique par un groupement azoté. Exemple des nucléosides (l'azote appartenant à une base purique ou pyrimidique) et certaines glycoprotéines (l'azote appartenant à l'asparagine).

TEST D'AUTO-EVALUATION

1. Écrire la formule brute, semi-développée et développée du glucose, en soulignant leurs intérêts dans la distinction des différents oses.

2. Écrire la formule cyclique de l' α D Glucopyranose

3. Citer des exemples d'isomères du glucose :

- isomère de constitution : _____
- épimère : _____
- énantiomère lévogyre : _____
- l'anomère qui possède le pouvoir rotatoire le plus élevé : _____

4. a) Citer le nom de 2 esters phosphoriques du glucose : _____

b) Indiquer leur rôle biologique : _____

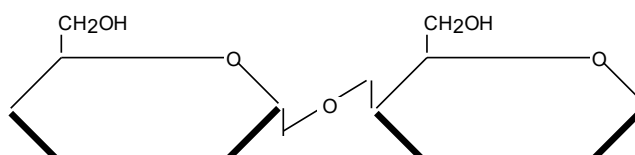
5. Citer l'origine des composés suivants :

- Glycérol : _____
- Ribitol : _____
- Sorbitol : _____
- A. L ascorbique : _____
- A.sialique : _____

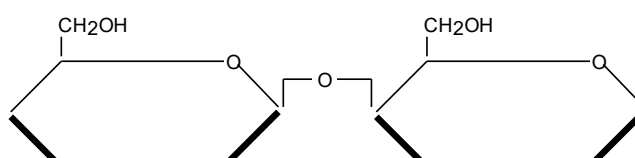
6. Indiquer pour chacune des formules suivantes :

1) La nature de la liaison osidique

2) Le nom de l'enzyme qui l'hydrolyse dans chaque cas



Liaison :



Liaison :

7. Préciser le nom biochimique des diholosides suivants :

Maltose : _____

Lactose : _____

Saccharose : _____

Indiquer parmi eux celui ou ceux qui est ou sont réducteurs : _____

8. Définir les termes suivants en citant un exemple dans chaque cas :

1- Holoside : _____

2- Hétéroside : _____

3- Homoglycane: _____

4- Hétéroglycane: _____

LES LIPIDES

Les objectifs éducationnels

- 1- Connaître les caractéristiques structurales des différentes classes de lipides
- 2- Décrire les propriétés physico-chimiques et biologiques des différentes classes de lipides
- 3- Connaître les dérivés essentiels des lipides.

PLAN

I- LES ACIDES GRAS

- A- Structure et nomenclature
 - 1-Structure
 - 2-Nomenclature
- B- Principaux types
 - 1-Acides gras saturés
 - 2-Acides gras insaturés
 - 3-Acides gras hydroxylés
- C- Propriétés physiques
- D- Propriétés chimiques
 - 1- Propriétés dues au groupement carboxylique
 - 2- Propriétés dues aux doubles liaisons
- E- Propriétés biologiques
- F- Dérivés importants

II. LES GLYCÉRIDES

- A- Structure et nomenclature
- B- Hydrolyse enzymatique
- C- Propriétés physiques
- D- Propriétés biologiques

III. LES GLYCÉROPHOSPHOLIPIDES

- A- Les différents groupes
 - 1- les glycérophospholipides non azotés
 - 2- les glycérophospholipides azotés
 - 3- Autres glycérophospholipides
- B- Hydrolyse enzymatique
- C- Propriétés physicochimiques
- D- Propriétés biologiques

IV- LES CÉRIDES

V- LES SPHINGOLIPIDES

- A- Les sphingophospholipides
- B- Les sphingoglycolipides

VI- LES ISOPRÉNOIDES

- A- Stérols et stérides
- B- Caroténoïdes (Vitamine A)
- C- Quinones à chaîne isoprénique (ubiquinone et vitamine K)
- D- Hétérocycles à chaîne isoprénique (vitamine E)

On désigne sous le nom de lipides un groupe très hétérogène de composés qui sont apparentés grâce à des propriétés communes :

- physiques : Ils sont peu ou pas solubles dans l'eau, solubles par contre dans les solvants organiques : éther, benzène, chloroforme...
- métaboliques : ils sont constitués à partir d'unités dicarboxées activées (acétylCoA)
- structurales :
 - leur molécule comporte une chaîne aliphatique formée d'au moins 4 C
 - Ils sont pour la plupart constitués d'esters ou d'amides acides gras et d'alcool

On classe les lipides en : acides gras, glycérides, glycérophospholipides, cérides, sphingolipides et isoprénoides

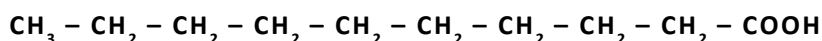
I- LES ACIDES GRAS

Les acides gras (AG) sont des acides monocarboxyliques :

- À chaîne carbonée (4 => 36 C)
- Saturés ou insaturés
- Généralement à nombre pair d'atomes de carbone

A- STRUCTURE ET NOMENCLATURE

1- Structure



n n-1... 5 (δ) 4 (γ) 3 (β) 2 (α) 1

ω 2 3 4 5... n

On schématise la structure d'un AG par une ligne en zigzag, tenant compte des angles valenciels entre les différents CH₂.

Il existe deux numérotations :

- La première conforme aux règles de la chimie organique consiste à donner le numéro 1 au carboxyle et le numéro le plus élevé au méthyl terminal.
- La seconde utilise les lettres grecques. Dans ce cas, le carboxyle ne porte pas de numéro et le carbone suivant (C2) est appelé carbone α. Les lettres grecques β, γ et δ sont attribuées aux atomes de carbone suivants. La dernière lettre de l'alphabet grec ω désigne le carbone méthyl final.

2- Nomenclature

Nomenclature Δ

C n = x Δ

n : nombre d'atomes de carbone

x : nombre de doubles liaisons

Δ : numéros de carbone portant les doubles liaisons comptées à partir de l'extrémité carboxylique (carbone 1).

Nomenclature ω

C n = x (ω-m)

n : nombre d'atomes de carbone

x : nombre de doubles liaisons

m : numéro du premier carbone portant la double liaison comptée à partir de l'extrémité méthylque. Les autres liaisons se déduisent de la première, car il y a toujours trois atomes de carbone entre deux doubles liaisons (=CH-CH₂-CH=).

B- LES PRINCIPAUX TYPES D'ACIDES GRAS

1-Acides gras saturés

- Les deux acides gras les plus abondants sont :
 - L'acide palmitique (C 16) ou acide hexadécanoïque
 - L'acide stéarique (C 18) ou acide octadécanoïque
- Les acides myristique (C14) ou acide tétradécanoïque, arachidique (C20) ou acides eicosanoïque et lignocérique (C24) ou acide tétracosanoïque sont moins répandus.
- Les acides à plus de 24 atomes de carbone sont exceptionnels.
- Il existe dans l'organisme des AG à nombre impair d'atomes de carbone, mais ils sont rares. Exemple : l'acide undécylénique à 11 C, mono-insaturé. Il apparaît dans les graisses sécrétées par les glandes sébacées du cuir chevelu, au moment de la puberté. Il possède une propriété antifongique.
- L'acide phytanique est un AGS en C20 ramifié tétraméthylé en 3, 7, 11, 15. Il est apporté par l'alimentation végétale (chlorophylle).

2- Les acides gras insaturés

a- AG mono-insaturés

- L'acide palmitoléique ou acide hexadécénoïque C 16 : 1 Δ 9
C 16 : 1 (ω -7)
- L'acide oléique ou acide octadécénoïque C 18 : 1 Δ 9
C 18 : 1 (ω -9)

Presque tous les isomères naturels d'AG insaturés ont leur double liaison en configuration cis.

- L'acide nervonique C 24 : 1 Δ 15 (présent dans les lipides du cerveau)

b- AG polyinsaturés

- L'acide linoléique ou acide octadécadiénoïque C 18 : 2 Δ (9, 12)
C 18 : 2 (ω - 6)
- L'acide α linolénique ou acide octadécatriénoïque C 18 : 3 Δ (9, 12, 15)
C 18 : 3 (ω - 3)
- L'acide γ linolénique ou acide octadécatriénoïque C 18 : 3 Δ (6, 9, 12)
C 18 : 3 (ω - 6)
- L'acide arachidonique ou acide eicosapenténoïque C 20 : 4 Δ (5, 8, 11, 14)
C 20 : 4 (ω - 6)

2 AG sont indispensables pour l'homme. Ce sont l'acide linoléique et l'acide α linolénique. Les principales familles d'AG insaturées sont les familles : ω -6, ω -3 et ω -9. Métaboliquement, il n'y a pas d'inter conversion possible entre ces différentes familles d'AG. Exemple : L'acide linoléique qui appartient à la famille ω -6, peut se transformer en un autre AG insaturé : l'acide arachidonique, qui est lui aussi de la famille ω -6.

3- Acides gras hydroxylés

Certains lipides renferment de fortes quantités d'AG α hydroxylés (OH sur C2). Ainsi l'acide α hydroxylignocérique (acide cérébronique) est trouvé dans les lipides cérébraux.

C- PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DES ACIDES GRAS

1. État physique

Il dépend du point de fusion :

- Celui-ci augmente avec le nombre d'atomes de C de l'AG. C'est ainsi que les AG saturés ayant moins de 10 C sont liquides, ceux qui renferment 10 C et plus, sont solides.
- Il diminue avec le nombre doubles liaisons. Ainsi les AG insaturés ont un point de fusion plus faible que les AG saturés correspondants.

2. Solubilité

La chaîne aliphatique apolaire des AG leur confère une insolubilité dans l'eau et une solubilité dans les solvants organiques. Seuls les AG moins de 8 C peuvent être solubles dans l'eau. Les AG libres dans l'organisme sont rares. Ils sont véhiculés dans le sang en étant liés à l'albumine.

D- PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DES ACIDES GRAS

La chaîne carbonée des AG saturés est peu réactive. Les propriétés chimiques sont donc essentiellement dues au groupement carboxylique et aux doubles liaisons.

a. Propriétés dues au groupement carboxylique

Le groupement carboxylique des AG peut établir :

- une liaison ester avec la ou les fonctions alcools du glycérol pour former les glycérides.
- une liaison amide avec la fonction amine de la sphingosine pour former les sphingolipides.

b. Propriétés dues aux doubles liaisons

La présence de doubles liaisons rend les AG insaturés très réactifs et très instables.

• Oxydation de la double liaison

Les doubles liaisons des AG sont facilement oxydables. L'oxydation des AG insaturés par l'oxygène forme des époxydes et des peroxydes. Aux dernières étapes de la peroxydation se forment des aldéhydes et des acides volatils à odeur désagréable. C'est le phénomène de rancissement. Cette auto-oxydation des AG insaturés ne se produit pas normalement dans les cellules, car elle est contrôlée par l'action de vitamines (E et C) et d'enzymes anti oxydantes. Cependant elle peut s'y produire sous l'action d'irradiations ou d'augmentation de formes actives de l'oxygène (stress oxydant).

• Isomérisation cis-trans

La double liaison cis peut s'isomériser en trans de manière lente à la température ordinaire ou rapidement si on chauffe. Ainsi l'acide oléique (cis) s'isomériser en acide élaïdique (trans). Ceci confère un mauvais goût aux lipides. C'est l'un des facteurs de rancissement des matières grasses.

• Réduction des doubles liaisons

Les AG insaturés peuvent fixer des atomes d'hydrogène sur leurs doubles liaisons et se transformer en AG saturés correspondants

exemple : Acide oléique \longrightarrow Acide stéarique

Cette réaction sert à stabiliser les graisses et à former les margarines à partir des huiles végétales.

E-PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES ACIDES GRAS

a- Rôle énergétique

Les AG incorporés dans les lipides servent de réserve énergétique que toute cellule peut stocker, mais les adipocytes sont très spécialisés dans cette fonction. L'oxydation des AG fournit une grande quantité d'énergie (9 kcal/g) (thème IIb).

b- Rôle structural

La chaîne carbonée des AG des phospholipides joue un rôle de premier plan dans l'édification des membranes cellulaires.

c- Rôle d'isolant thermique

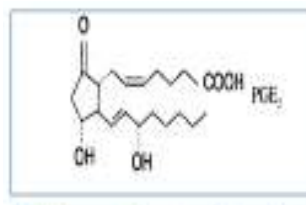
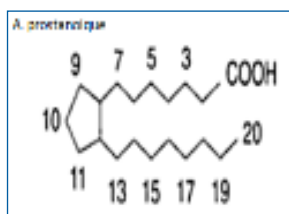
La chaîne carbonée des AG disposée en couches régulières sert d'isolant thermique. Elle empêche la sortie de chaleur de l'organisme.

F-DÉRIVÉS IMPORTANTS DES AG : LES EICOSANOÏDES (MÉDIATEURS)

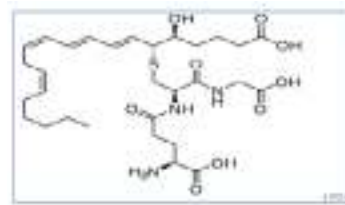
Ils dérivent de l'acide arachidonique et comprennent 3 groupes de substances : les prostaglandines, les thromboxanes et les leucotriènes.

L'acide arachidonique est apporté par l'alimentation ou produit par l'organisme à partir de l'AG essentiel l'acide linoléique. Il est incorporé dans les phospholipides membranaires en position 2 du glycérol. Pour la biosynthèse des prostaglandines, il est libéré par la phospholipase A2. Après sa libération, il peut suivre la voie catalysée par la cyclooxygénase (COX) et donner les prostaglandines (PG) et les thromboxanes (TX) ou suivre la voie catalysée par la lipooxygénase (LOX) et donner les leucotriènes. Les PG et les TX ont l'indice 2 qui correspond aux DL en dehors du cycle tandis que les LT ont l'indice 4.

D'un point de vue structural, les prostanoides : PG et TX dérivent de l'acide prostanoïque (AG cyclique). Ils possèdent tous 2 DL. Ils agissent sur toute une série de cellules de façon différente. Ils diffèrent par la position des groupements cétones et hydroxyle. Les LT possèdent tous 4 DL dont 3 conjuguées.



PGE₂ : favorise inflammation, douleur et fièvre



LTC₄ : peptide LT bronchoconstricteur

II-LES GLYCÉRIDES

A- STRUCTURE ET NOMENCLATURE

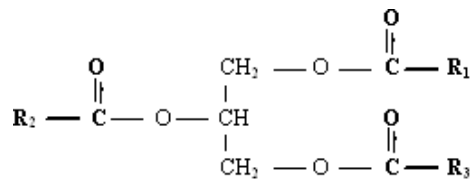
Les glycérides ou acylglycérols constituent l'essentiel, sur le plan quantitatif, des lipides naturels. Ce sont des esters du glycérol et d'AG.

Le glycérol est un trialcool de structure :

1	α	CH_2OH
2	β	CHOH
3	α	CH_2OH

Le glycérol peut être estérifié :

- Par un AG pour donner un monoacylglycérol (en 1 ou α) ou monoglycéride. (MAG)
- Par deux AG pour donner un diacylglycérol ou diglycéride. (DAG)
- Par trois AG pour donner un triacylglycérol ou triglycéride. (TAG)



Selon la nature des AG on distingue :

- glycérides homogènes ou simples (ne contiennent qu'un seul type d'AG).
- glycérides hétérogènes ou mixtes (contiennent 2 ou 3 AG différents)

B- HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES GLYCÉRIDES

3 lipases différentes agissent sur les triglycérides :

- La lipase pancréatique hydrolyse les TG alimentaires dans la lumière intestinale. Cet enzyme exerce son action grâce aux sels biliaires et aux phospholipides de la bile (molécules à double polarité) qui émulsionnent les TG et les dispersent sous forme de micelles.
- La lipoprotéine lipase plasmatique hydrolyse les TG circulants d'origine intestinale, transportée par les lipoprotéines, en AG et glycérol.
- La TG lipase cellulaire (hormono sensible : activée par le glucagon et les catécholamines et inhibée par l'insuline) hydrolyse :
 - les TG qui sont apportés au foie par les lipoprotéines résiduelles (ou remnants) du catabolisme adipeux et musculaire.
 - les TG qui sont stockés dans le tissu adipeux, les muscles et le myocarde.

C- PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DES GLYCÉRIDES

Point de fusion : Le point de fusion des glycérides dépend de la nature des AG qui le constituent.

Solubilité : Les glycérides sont insolubles dans l'eau et l'alcool à froid et solubles dans les solvants organiques et l'alcool à chaud. Dans le sang les TG sont transportés sous forme de lipoprotéines (thème 6).

D- PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES GLYCÉRIDES

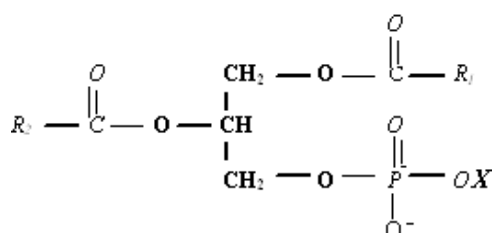
4 propriétés principales sont attribuées aux glycérides :

- Rôle de stockage : Les triglycérides (TG), particulièrement abondants dans les cellules adipeuses (+ de 90 % des lipides) constituent une réserve énergétique. Chez les obèses plusieurs kg de TG sont déposés dans les cellules adipeuses en quantité suffisante pour assurer les besoins énergétiques de base pendant plusieurs mois. À l'inverse le corps ne peut stocker de l'énergie sous forme de glycogène que pour ses besoins pendant moins d'un jour. Ainsi les TG sont bien mieux adaptés que le glycogène à servir de stockage d'énergie.
- Rôle de soutien : Les glycérides riches en AG saturés sont solides. Ils participent à la structure des organes. Exemple : graisses de soutien de l'utérus
- Rôle de lubrification : Les glycérides riches en AG insaturés sont liquides. Ils permettent de faire glisser les organes les uns par rapport aux autres. Exemples : les graisses périrénales.
- Rôle d'isolant thermique : Les graisses sous-cutanées (panicule adipeux) servent d'isolant thermique contre la déperdition de chaleur.

III-LES GLYCEROPHOSPHOLIPIDES

Les glycérophospholipides (GPL) sont des dérivés de l'acide phosphatidique :

[glycérol + 2 AG : R1(α) = AG saturé, R2(β) : AG insaturé + phosphate (α »)]



Glycérophospholipide

À- LES DIFFÉRENTS GROUPES DE GLYCEROPHOSPHOLIPIDES

1- Les glycérophospholipides non azotés

a- l'acide phosphatidique (X=H)

L'acide phosphatidique n'existe sous forme libre qu'en petite quantité. C'est un intermédiaire dans la biosynthèse des TG et phosphoglycérides (Thème 2 b)

b- Le diphosphatidyl glycérol (X= phosphatidyl glycérol)

On l'appelle également cardiolipide ou cardiolipine

Ce phospholipide est localisé spécifiquement dans la membrane interne des mitochondries du muscle cardiaque d'où son nom.

c- Phosphatidylinositol (X = inositol)

Les phosphatidylinositols sont localisés dans les membranes plasmiques, mitochondriales et dans les synapses. C'est le précurseur de seconds messagers (DAG et IP3)

2-Les glycérophospholipides azotés

a- Les phosphatidylsérines (X= Sérine)

Les phosphatidylsérines représentent 50 % des glycérophospholipides du cerveau. Généralement, les AG en 1 et 2 sont respectivement l'acide stéarique et l'acide oléique.

b- Les phosphatidyléthanolamines (X= éthanolamine)

Les phosphatidyléthanolamines se retrouvent dans le cerveau.

Phosphatidylsérines et phosphatidyléthanolamines étaient appelés autrefois les céphalines.

c-Les phosphatidylcholines (X= choline=alcool azoté)

Les phosphatidylcholines appelées également lécithines sont largement répandues dans l'organisme.

3-Autres glycérophospholipides

a-Les plasmalogènes

Ce sont des GPL à éthanolamine où la liaison ester en C1 du glycérol est remplacée par une liaison éther-oxyde éthylénique avec un aldéhyde gras.

Ils se trouvent surtout dans le cerveau et les muscles (jusqu'à 10 % des GPL).

b- le Platelet activating factor ou PAF acéther

C'est un GPL à choline où R1 est un radical appartenant à un alcool gras (en C16), lié au glycérol par une liaison éther-oxyde et R2 est un radical acétyl (CH3CO) lié au glycérol par une liaison ester

On le trouve dans les plaquettes sanguines. Son rôle est d'activer la formation des caillots plaquettaires.

B- PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

Contrairement aux TG qui sont considérés comme des lipides neutres, les GPL sont des composés bipolaires ou amphiphiles. La partie apolaire ou hydrophobe est représentée par les 2 chaînes carbonées situées en α et β du glycérol tandis que la partie polaire ou hydrophile est représentée par le pôle chargé (phosphate et alcools aminés).

C- HYDROLYSE ENZYMATIQUE

Les GPL sont hydrolysés par des phospholipases. On distingue :

- La phospholipase A1 qui hydrolyse la liaison ester en position 1 du glycérol libérant l'AG1 et le reste de la molécule.
- La phospholipase A2 qui hydrolyse la liaison ester en position 2 du glycérol en libérant l'AG2 qui est le plus souvent l'acide arachidonique (précurseur des eicosanoïdes) et un lysophospholipide. Les lysolécithines libérées ont des propriétés hémostatiques.
- La phospholipase C hydrolyse la liaison ester en position 3 du glycérol libérant un phosphoalcool et un diacylglycérol.
- La phospholipase D hydrolyse la liaison entre le phosphate et l'alcool libérant un alcool et un acide phosphatidique

D- PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Les GPL ont un triple rôle :

-structural

- Ils entrent dans la structure des membranes cellulaires en formant une bicouche lipidique (conf bio cell) au niveau de

laquelle les extrémités apolaires se font face et les extrémités polaires sont orientées vers la partie aqueuse endo et exoplasmique. La distribution des GPL entre les couches externe et interne de la membrane est asymétrique :

- phosphatidylcholines prédominent dans la couche externe
- phosphatidyléthanolamines, phosphatidylsérines et phosphatidylinositols prédominent dans la couche interne.
- Ils constituent aussi, à côté des apoprotéines, la surface des lipoprotéines plasmiques

-métabolique

Certains GPL sont les précurseurs de molécules ayant un intérêt biologique :

- Un dérivé phosphorylé du phosphatidylinositol membranaire, le phosphatidylinositol- 4, 5- bis phosphate (PIP2) peut être hydrolysé par la phospholipase C en diacylglycérol (DAG) et en inositol tri P (IP3) qui sont des seconds messagers cellulaires (confer thème XII).
- Des GPL membranaires peuvent libérer après hydrolyse enzymatique des AG polyinsaturés (acide arachidonique) précurseurs des eicosanoïdes, prostaglandines qui sont des messagers intracellulaires.
- Les lécithines des lipoprotéines sont donneuses de leur AG en position 2 lors de l'estérification du cholestérol plasmique grâce à la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT); (Thème VI)

-fonctionnel :

- Les GPL biliaires sont, comme les acides biliaires, de véritables détergents biologiques qui émulsionnent les lipides alimentaires les dispersant sous forme de micelles pouvant être digérés par les enzymes lipolytiques.
- Le dipalmitoyllécithine est un constituant majeur du surfactant pulmonaire qui empêche les surfaces internes des poumons d'adhérer entre elles par suite du jeu de la tension superficielle.

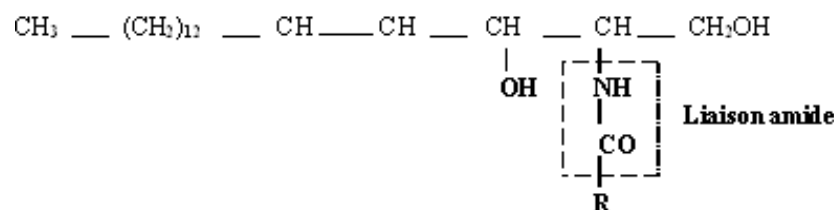
IV-LES CERIDES

Ce sont des esters d'AG à longue chaîne et d'alcool gras (à longue chaîne). Ils sont sécrétés par les glandes sébacées comme revêtement de protection pour maintenir une peau souple, lubrifiée et imperméable. On en trouve également dans le cérumen (sécrétion du conduit auditif). Les cheveux sont aussi recouverts de sécrétions séreuses.

V-LES SPHINGOLIPIDES

Ils renferment dans leur structure de la sphingosine. C'est un aminodiol à 18 C possédant une double liaison.

La sphingosine avec sa fonction amine établit une liaison amide avec le carboxyle de l'AG formant ainsi une céramide



Les sphingolipides sont subdivisés en deux groupes suivant qu'ils contiennent du phosphate ou non :

- sphingophospholipides : sphingomyélines
- sphingoglycolipides : cérebrosides et gangliosides

A- LES SPHINGOPHOSPHOLIPIDES

L'acide gras qui s'attache à la sphingosine est généralement l'acide lignocérique (C24 : 0) ou l'acide cérébronique (acide αOH lignocérique) ou l'acide nervonique. La fonction alcool primaire de la sphingosine est estérifiée par une molécule d'acide phosphorique, qui est elle-même estérifiée une molécule de choline.

Sphingomyéline → Céramide + Phosphorylcholine

Les sphingomyélines existent en quantités importantes dans la gaine de myéline des fibres nerveuses. Elles sont présentes aussi dans la couche externe des membranes plasmiques. Les sphingophospholipides sont amphiphiles comme les GPL azotés : ils possèdent comme eux une tête polaire et 2 chaînes aliphatiques non polaires.

B- LES SPHINGOGLYCOLIPIDES

1-Les cérebrosides

Ils renferment du glucose ou du galactose qui est lié à la céramide au niveau de sa fonction alcool primaire : Sphingosine + AG (C24) + Glu ou Gal.

L'OH en 6 du Gal peut être estérifié par l'acide sulfurique. On obtient ainsi les sulfatides. Sulfatides et cérebrosides sont trouvés au niveau du cerveau.

2-Les gangliosides

Ce sont des sphingoglycolipides complexes. Ils renferment des oses simples, des dérivés d'oses et un ou plusieurs acides sialiques (NANA). Ils sont particulièrement répandus au niveau du cerveau. On les trouve aussi à la surface externe de la membrane plasmique de plusieurs types cellulaires où ils jouent le rôle de récepteurs.

Exemple 1 : Ils constituent des sites de fixation de virus : récepteur du virus de la grippe GM_3

GM_3 : Gal β 1-4 Glc- céramide
NANA

VI- LES LIPIDES POLYISOPRENIQUES

Ils proviennent de la polymérisation de dérivés de l'isoprène, lui-même issu de la condensation de molécules d'acétylCoA

On distingue dans les lipides polyisopréniques :

- stérols et stérides
- caroténoïdes (vitamine A)
- quinones à chaîne isoprénique (ubiquinone et vit K)
- hétérocycles à chaîne isoprénique (Vit E)

A- STÉROLS ET STÉRIDES

Les stérols sont des composés caractérisés par la présence d'un noyau stérane porteur d'une fonction alcool. Le cholestérol est le plus abondant stérol des tissus animaux. Les stérides en dérivent par estérification avec un AG.

1- Le cholestérol

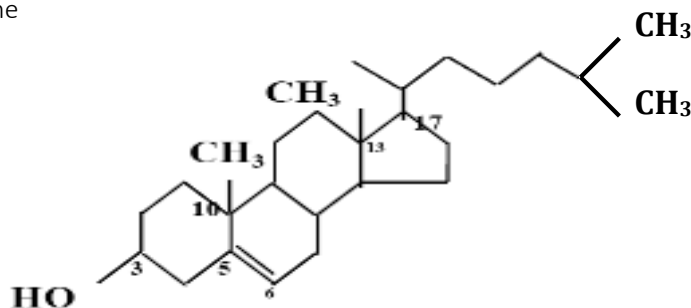
a- structure

Il dérive du noyau stérane : noyau tétracyclique en C17.

Il est caractérisé en plus par la présence :

- d'une double liaison entre C5 et C6
- d'un groupement OH en C3
- de 2 groupes CH_3 au niveau des C10 et 13
- d'une chaîne hydrocarbonée à 8 C fixée au niveau du C17

Le cholestérol appartient à la série Cis (OH et les 2 CH_3 sont situés du même côté par rapport au plan de la molécule). C'est le 3 β ol 5 cholestène



b- Origine

Les besoins de l'organisme en cholestérol sont de 1,20 g/24h. Ils sont couverts en partie par l'alimentation (0,20 g/24h), mais surtout par la synthèse endogène (1g/24h) qui a lieu essentiellement dans le foie (4/5) et dans l'intestin(1/5).

c- Rôles

Le cholestérol a une double fonction :

- structurale : Le cholestérol est, à côté des PL et des protéines, l'un des constituants lipidiques des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques.
- métabolique : Il est le précurseur :
 - de la vitamine D (peau)
 - des acides biliaires (foie)
 - des hormones stéroïdiennes (corticosurrénale, gonades, placenta)

2- Les stérides

La fonction OH en C3 du cholestérol peut être estérifiée par un AG. On obtient les cholestérides. C'est une réaction enzymatique qui a lieu grâce à l'acylCoA cholestérolacyltransférase (ACAT) dans la cellule hépatique et grâce à la LCAT au niveau des lipoprotéines plasmatiques.

Les cholestérides n'existent qu'à l'état de traces dans les membranes biologiques alors le cholestérol libre prédomine. Leur accumulation dans les parois des vaisseaux est pathologique (athérome). Au niveau sanguin, ils constituent la fraction la plus abondante (70 %) comparativement au cholestérol libre (30 %).

B- LES CAROTÉNOÏDES

Ils comportent un grand nombre de doubles liaisons conjuguées ce qui leur confère une coloration pouvant aller du jaune au rouge. Ils s'altèrent facilement sous l'influence de la lumière ou de l'oxydation. Il y a 3 types de carotènes α , β et γ . L'organisme humain scinde le β carotène pour donner le rétinal (aldéhyde de la vit A) qui peut ensuite être réduit en alcool le rétinol ou vit A1.

Le rétinol joue plusieurs rôles :

- Il est responsable de la vision nocturne en constituant le pourpre rétinien (rhodopsine= opsine + rétinol).
- il favorise la croissance des cellules
- il protège les tissus épithéliaux

C- LES QUINONES À CHAÎNE ISOPRÉNIQUE

Ils comportent dans leur structure :

Une quinone (noyau benzène dioxygéné) avec une chaîne latérale polyisoprénique

La quinone est susceptible de subir une oxydoréduction en donnant une hydroquinone (noyau benzène dihydroxylé)

Deux groupes de substances peuvent être distingués : les ubiquinones et les vitamines K.

1- Les ubiquinones

Le plus important est le coenzyme Q10. Sa chaîne latérale est formée de 10 unités isoprènes. Toutes nos cellules peuvent le synthétiser à partir de la tyrosine. C'est un coenzyme liposoluble. Il transporte les électrons au niveau de la chaîne respiratoire.

2- Les vitamines K

Elles sont formées d'un noyau naphthoquinone (1 noyau benzène accolé à un noyau quinone) et d'une chaîne latérale polyisoprénique. Les vitamines K servent de coenzymes au cours de réactions de carboxylation de certaines protéines. Parmi ces dernières figurent des protéines de la coagulation comme la prothrombine, la proconvertine, les facteurs IX et X ainsi qu'une protéine de l'ossification l'ostéocalcine.

D- LES HÉTÉROCYCLES OXYGÉNÉS À CHAÎNE ISOPRÉNIQUE (VITAMINE E)

Les vit E ou tocophérols contiennent un noyau chromane (hétérocycle à oxygène) porteur de radicaux méthyles et une chaîne latérale isoprénique. Les différents tocophérols (α , β ...) diffèrent entre eux par la position des groupements méthyles du noyau chromane.

Ils sont susceptibles d'être hydrolysés en hydroquinones qui neutralisent les peroxydes et s'oxyder en quinones ce qui leur confère leurs propriétés antioxydantes. La forme hydroquinone est régénérée par la Vitamine C.

TEST D'AUTO-EVALUATION

QCR1. Inscrire dans l'espace réponse prévu la ou les lettre (s) correspondante(s) à la ou aux proposition (s) exacte (s).

L'acide stéarique :

- A- renferme 20 Atomes de C
 - B- est un AG saturé
 - C- est un AG répandu dans l'organisme
 - D- se trouve sous forme libre dans le sang
-

QCR 2. À- L'acide palmitoléique possède une double liaison $\Delta 9$

- B- L'acide arachidique est une AG polyinsaturé
 - C- L'acide α linoléique appartient à la famille ω -6
 - D- L'acide oléique appartient à la famille ω -9
 - E- L'acide linoléique est un AG indispensable pour l'homme
-

QCR 3. L'acide α linoléique

- A- possède 3 doubles liaisons $\Delta 9,12,15$
 - B- appartient à la famille ω -3
 - C- est le précurseur des eicosanoides
 - D- est un acide gras indispensable pour l'homme
-

QCR 4. Une molécule de glycérol est estérifiée soit

- 1- par 3 molécules de C18 : 0
- 2- par 3 molécules de C18 : 1

Donner le nom du triglycéride donné dans chaque cas

Indiquer parmi eux, celui qui est liquide.

QCR 5. 1-L'acide phosphatidique est un composé amphiphile

- 2- L'acide phosphatidique est un glycéro PL azoté
 - 3- La phosphatidylsérine est chargée négativement au pH physiologique
 - 4- L'acide diphosphatidyl glycérol renferme 4 AG
 - 5- Les phosphatidylcholines sont des lipides neutres au pH physiologique
-

QCR 6. À- La sphingosine est un aminodiol ayant 2 doubles liaisons

- B- La sphingosine peut être estérifiée par un AG
 - C- Les cérebrosides sont des sphingolipides répandus dans tout l'organisme
 - D- Les gangliosides sont des glycérophospholipides
 - E- Les gangliosides sont exclusivement cérébraux
-

QCR 7. Donner un exemple de ganglioside qui joue un rôle de récepteur de virus.

QCR 8. Donner un exemple de sphingolipidose. Expliquer la cause de cette maladie.

QCR 9. Le cholestérol

- 1- est typiquement d'origine animale
 - 2- est constitué de 4 cycles à 6 carbones
 - 3- est présent dans le sang à l'état libre à raison de 70 %
 - 4- renferme dans sa structure 2 doubles liaisons
 - 5- est le 3 α ol 5 cholestène
 - 6- son accumulation dans les membranes biologiques est responsable de l'athérome
-

QCR 10. Indiquer les principaux dérivés du cholestérol

QCR 11. Donner les caractéristiques structurales et les principaux rôles de

- la vit A :

- la vit K :

- la vit E :

LES ACIDES AMINES

Les objectifs éducationnels

- 1- Définir un acide aminé et décrire la nature des acides aminés entrant dans la constitution des protéines en précisant ceux qui sont indispensables.
- 2- Préciser les principaux rôles exercés par chacun de ces acides aminés.
- 3- Décrire les principales propriétés physicochimiques des acides aminés en définissant les 2 séries D et L ainsi que le pouvoir rotatoire, les propriétés spectrales et la solubilité.
- 4- Concernant les propriétés ioniques des acides aminés, expliquer la dissociation des différents groupements fonctionnels en fonction du pH du milieu. Définir leur pK et le pHi caractéristique de chaque acide aminé.
- 5- Citer les principales réactions chimiques des acides aminés en rapport avec leurs différents groupements fonctionnels.
- 6- Décrire brièvement le principe des méthodes d'étude des acides aminés.

PLAN

I- STRUCTURE ET CLASSIFICATION DES ACIDES AMINES

- A- Acides aminés à chaîne latérale apolaire
 - 1- acides aminés à chaîne aliphatique
 - 2- acides aminés aromatiques
 - 3- acides aminés hétérocycliques
- B- Acides aminés à chaîne latérale polaire non chargée
 - 1- acides aminés hydroxylés
 - 2- acides aminés à fonction amide
 - 3- acide aminé à fonction thiol
 - 4- acide aminé AA à fonction sélényl
- C- Acides aminés à chaîne latérale polaire chargée
 - 1- acides aminés acides
 - 2- acides aminés basiques

II- AA INDISPENSABLES ET SEMI-INDISPENSABLES

III- PROPRIETES DES ACIDES AMINES

- A- Propriétés physico-chimiques
 - 1- Isomérisation L/D
 - 2- Absorption dans l'ultra
 - 3- Solubilité
 - 4- Propriétés ioniques
- B- Principales réactions des acides aminés
 - 1- Formation de liaison amide
 - 2- Formation d'amines
 - 3- Désamination et transamination

IV- PRINCIPALES METHODES D'ETUDE DES ACIDES AMINES

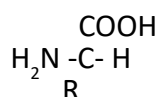
Les acides aminés (AA) ont une fonction essentielle structurale. Ils constituent les unités monomériques à partir desquelles les chaînes polypeptidiques sont construites. Ils peuvent y être incorporés sous forme modifiée, après la synthèse protéique. Exemples : la 4 OH-proline et la 5 OH-lysine qui entrent dans la constitution du collagène, le γ -carboxyglutamate qui est trouvé dans de nombreuses protéines liant le calcium comme la prothrombine et l'ostéocalcine.

Les AA participent également sous forme libre, ou de dérivés, à plusieurs fonctions intracellulaires comme la transmission nerveuse (Gly, GABA), la régulation de la croissance cellulaire (spermine et spermidine), la biosynthèse des porphyrines (Gly), des bases nucléiques (Gln, Asp, Ser), de l'urée (Gln, Glu, Asp). Ils joueront également, sous forme combinée le rôle d'hormones (insuline, ACTH) ou d'enzymes (trypsine)...

Il existe aussi dans nos cellules plusieurs AA non protéinogènes soit à l'état libre, jouant un rôle important dans divers processus métaboliques comme l'ornithine et la citrulline (intermédiaires métaboliques de l'uréogénèse), soit combinés sous forme de peptides simples comme la β alanine que l'on retrouve dans la carnosine (dipeptide du tissu musculaire).

I- STRUCTURE ET CLASSIFICATION

Le motif de base d'un AA comprend un groupement --COOH , un groupement --NH_2 , un atome d'hydrogène et une chaîne latérale R variable selon l'AA. Tous ces substituants se groupent autour d'un atome de carbone central désigné $\text{C}\alpha$. Le carbone suivant à l'intérieur de la chaîne latérale s'appellera $\text{C}\beta$, etc. La chaîne latérale R détermine les propriétés physiques et chimiques de chaque AA. Les AA répondent donc tous à la représentation suivante, exceptée la proline et l'OH proline qui sont des acides α aminés N substitués :



Nous classerons les AA selon la polarité de leur chaîne latérale en 3 groupes :

Groupe 1 : AA à chaîne latérale apolaire

Groupe 2 : AA à chaîne latérale polaire non chargée

Groupe 3 : AA à chaîne latérale polaire chargée

Au pH physiologique, les chaînes latérales des AA des groupes 1 et 2 sont neutres et celles du groupe 3 sont chargées.

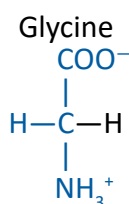
Chaque AA est symbolisé soit par les trois premières lettres de son nom en écrivant la première en majuscule, soit par une seule lettre.

A- AA À CHAÎNE LATÉRALE APOLAIRE

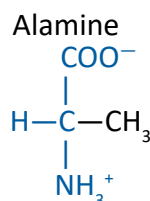
À ce groupe appartiennent les AA aliphatiques, aromatiques et hétérocycliques

1- AA aliphatiques

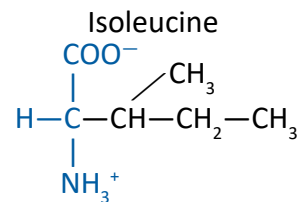
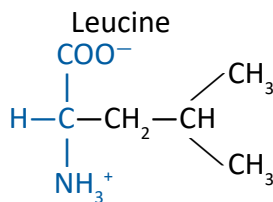
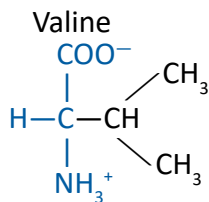
- La glycine (Gly, G) : C'est l'AA le plus simple et le plus petit de tous les AA, car son radical R est un atome d'hydrogène. La Gly est présente particulièrement dans l'hémoglobine, les protéines fibreuses : collagènes et élastine. Elle se conjugue aux acides biliaires pour donner l'acide glycocholique et à l'acide benzoïque pour donner l'acide hippurique. Ces produits glycoconjugués peuvent être éliminés par voie rénale.



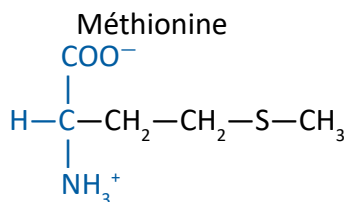
- L'alanine (Ala, A) : Son radical R est un méthyl. Elle peut être considérée comme la substance mère de tous les autres AA qui en dérivent par la substitution d'un ou de deux atomes d'hydrogène du groupement méthyl. Il existe un isomère de l'alanine, la β alanine qu'on trouve dans certains peptides comme la carnosine (peptide du tissu musculaire) et dans l'acide pantothénique (constituant du coenzyme A).



- La valine (Val, V), la leucine (Leu, L) et l'isoleucine (Ile, I) sont les 3 AA à chaîne latérale aliphatique ramifiée. Seule l'Ile renferme 2 C asymétriques. Ces AA ainsi que l'alloisoleucine, stéréo-isomère de l'Ile, sont trouvés dans le sérum ou l'urine des sujets atteints de leucine (maladie héréditaire caractérisée par un blocage au niveau de leur dégradation).

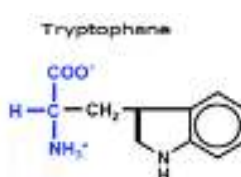
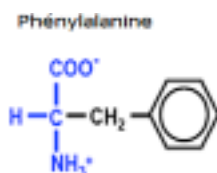


- La méthionine (Met, M), renferme dans sa chaîne latérale un groupement thiol substitué. C'est un donneur de groupement méthyl, au cours des réactions de transméthylation et un donneur de soufre, au cours de la synthèse d'un autre AA : la Cystéine.



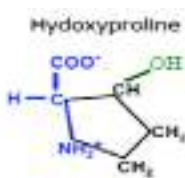
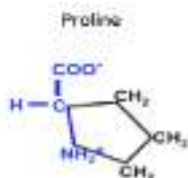
2- AA aromatiques

- La phénylalanine (Phe, F). Elle possède un noyau benzène dans son radical R.
- Le tryptophane (Trp, W). Il possède un noyau indole dans son radical R. C'est l'AA qui possède le plus d'atomes de carbone. Il est le précurseur de la sérotonine (neurotransmetteur) et de la tryptamine (amine biogène à action vasoconstrictrice).



3- AA hétérocycliques

- La proline (Pro, P) et l'OH Proline (Hyp) sont les 2 acides α aminés N-substitués, car ils possèdent une fonction amine secondaire faisant partie de leur cycle pyrrolidine. Ces 2 AA sont spécialement abondants dans le collagène.



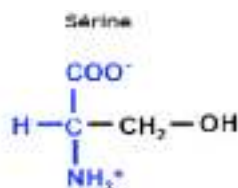
B- AA À CHAÎNE LATÉRALE POLAIRE NON CHARGÉE

Les AA de ce groupe ont tous une chaîne latérale qui n'est pas ionisée dans les conditions physiologiques (pH=7,4).

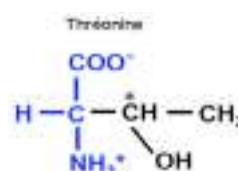
1- AA hydroxylés

Ils possèdent un groupement -OH susceptible d'être phosphorylé. Il s'agit de :

- La sérine (Ser, S) : Elle renferme dans sa chaîne latérale une fonction alcool primaire. Elle est abondante dans la fibroïne de la soie. Elle fait partie du site actif de certains enzymes comme l'acétylcholinestérase, la trypsine... Elle joue également, grâce à son groupement OH, un rôle régulateur de l'activité de certains enzymes, par phosphorylation/déphosphorylation de ce dernier, comme dans la glycogène synthétase et la glycogène phosphorylase.



- La thréonine (Thr, T) : Elle possède une fonction alcool secondaire dans son radical R. Elle renferme 2 C asymétriques.

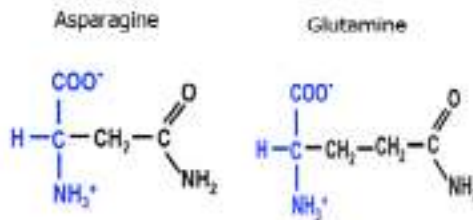


- La tyrosine (Tyr, Y) : C'est un AA possédant un groupement phénolique dans son radical R. Son produit d'oxydation est la 3,4 di OH Phe (DOPA) qui constitue à la fois le précurseur des hormones thyroïdiennes, des catécholamines (adrénaline et noradrénaline), d'un neurotransmetteur (la dopamine) et d'un pigment (les mélanines).
Seule la Tyr peut s'ioniser négativement en milieu alcalin grâce à son groupement phénol, par perte d'un H⁺.



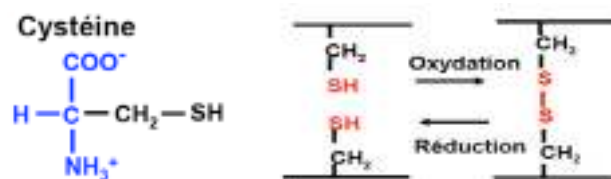
2- AA amidés

Ils possèdent une fonction amide dans leur radical R. Ce sont l'asparagine (Asn, N) et la glutamine (Gln, Q). La Gln constitue la forme de transport de l'ammoniac dans le sang. Elle est également un donneur de groupement amine au cours de la synthèse des bases nucléiques. L'Asn participe aux réactions de N-glycosylation au cours de la synthèse des glycoprotéines.



3- AA à fonction thiol

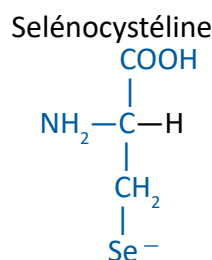
- La cystéine (Cys, C) : Elle possède un groupement thiol dans son radical R. Elle entre dans le site actif de certains enzymes. La réaction d'oxydation entre 2 cystéines produit la cystine par formation d'un pont disulfure. Ce pont disulfure stabilise la structure spatiale de certaines protéines. L'accumulation de cystine au niveau rénal est responsable de la lithiase rénale cystique.



4- AA à fonction sélényl

-la sélénocystéine (SeC) : Sa structure est celle d'une cystéine dont l'atome de soufre est remplacé par un atome de sélénium. C'est un AA qui est incorporé dans certaines protéines suite à une modification prétraductionnelle. Il fait partie, en particulier, du site actif de la glutathion peroxydase.

La Cys et la SeC peuvent s'ioniser négativement à pH alcalin, par perte d'un H⁺ respectivement du groupement thiol (SH) et sélényl (SeH).



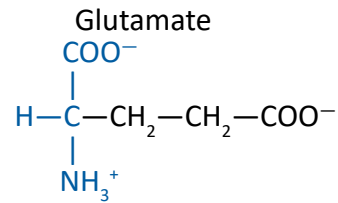
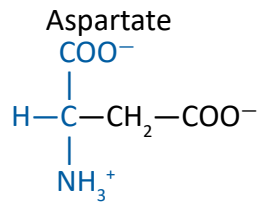
C- AA à CHAÎNE LATÉRALE POLAIRE CHARGÉE

1- AA acides

Ils possèdent au niveau de leur chaîne latérale un groupement carboxylique. Celui-ci s'ionise négativement au pH physiologique. Dans nos cellules ils sont donc toujours dissociés (suffixe « ate »). Il s'agit de l'aspartate (Asp, D) et du glutamate (Glu, E).

L'Asp possède un groupement β COOH. C'est le plus acide de tous les AA. C'est un donneur de groupement amine (-NH2) lors de la synthèse de l'urée dans le foie et la synthèse des bases nucléiques dans tous les tissus.

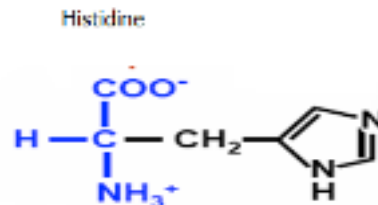
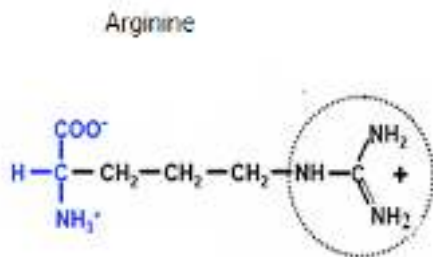
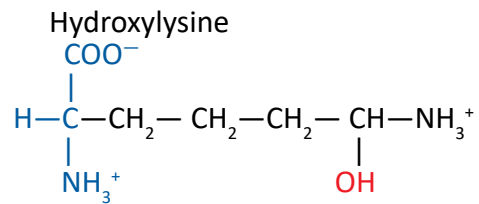
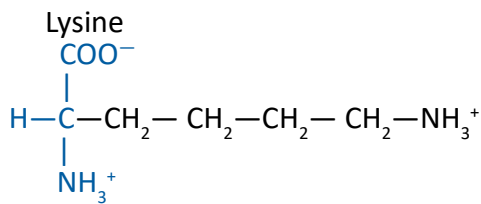
Le Glu possède un groupement γ COOH. Il a un rôle important au niveau du cerveau en tant que neurotransmetteur. Il produit également le GABA qui est un autre neurotransmetteur cérébral. Il joue un rôle dans la coagulation du sang par formation du γ carboxy Glu ou Gla au niveau de 2 facteurs de coagulation : la prothrombine et la proconvertine. Il participe aux réactions de transamination essentiellement catalysées par l'aspartate aminotransférase ou ASAT et à l'alanine aminotransférase ou ALAT



2- AA basiques

Leur chaîne latérale s'ionise en fixant un H⁺ sur le groupement aminé au pH physiologique. Dans nos cellules ils sont donc chargés positivement. Il s'agit de la lysine (Lys, K), l'OH-Lysine (Hyl), l'arginine (Arg, R) et l'histidine (His, H). L'Arg possède un groupement guanidyl au niveau de son radical R. C'est l'AA le plus basique.

La Lys renferme dans sa chaîne latérale un groupement ε NH₂ et l'His un noyau imidazole. Lys et Arg sont particulièrement abondants dans les histones. Quant à l'His, elle est abondante dans l'hémoglobine. L'OH Lys se trouve en forte proportion dans les collagènes, mais elle est absente dans l'élastine.



II-AA INDISPENSABLES ET SEMI-INDISPENSABLES

L'homme est absolument dépendant des AA protéinogènes, codés génétiquement. Si 1 seul AA manque, la plupart des protéines ne peuvent être produites. Notre organisme peut toutefois produire certains AA à partir d'intermédiaires métaboliques ou d'AA indispensables (voir thème IIb). Mais il a absolument besoin de 8 AA dits indispensables, car il est incapable d'en effectuer la synthèse. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Il s'agit de :

- 3 AA à chaîne latérale aliphatique ramifiée (Val, Leu, Ile),
- 1 AA basique (Lys),
- 1 AA hydroxylé (Thr),
- 1 AA à groupement thiol substitué (Met)
- 2 AA aromatiques (Phe et Trp)

Dans certaines conditions physiologiques, comme la grossesse et la croissance, l'homme a besoin en plus de l'His et de l'Arg.

La Tyr et la Cys sont considérées comme AA semi-indispensables à condition que leurs précurseurs respectifs Phé et Met soient présents.

III- PROPRIETES DES ACIDES AMINES

À- PROPRIÉTÉS PHYSICO- CHIMIQUES

1- Isomérisie D et L

Par convention, l'isomère L d'un AA est celui qui a le NH₂ à gauche quand le COOH est écrit en haut et le radical R en bas de la formule.

Tous les acides aminés naturels sont de la série L. Des AA de la forme D sont retrouvés dans certains peptides doués d'activité antibiotique comme la pénicilline (D-Val). Ils entrent aussi dans un constituant de la paroi bactérienne, la muréine (peptidoglycane renfermant la D-Ala).

2- Absorption dans l'ultra violet

Tous les acides aminés absorbent la lumière UV à environ 220 nm mais les AA aromatiques absorbent en plus entre 250 et 300 nm. La Tyr et le Trp présentent particulièrement un maximum d'absorption à 280 nm. Cette propriété est utilisée pour doser spectrophotométriquement les protéines.

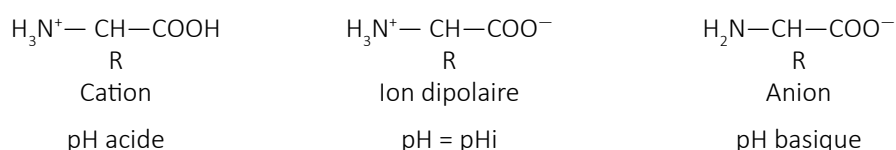
3- Solubilité

Les AA sont généralement solubles dans l'eau. Cette solubilité décroît avec le nombre d'atomes de carbone. Inversement, la présence au niveau du radical R de groupements hydrophiles acides (-COOH) ou basiques (-NH₂), ou hydrophiles neutres (-OH, -SH, -SeH et -CONH₂) augmente cette solubilité. La solubilité des AA est minimale quand la charge nette de l'AA est la plus faible (voir pHi).

4- Ionisation

Les AA possèdent à la fois une fonction acide faible (α-COOH) et une fonction basique faible (α-NH₂). Ce sont donc des composés ampholytes ou amphotères. La dissociation de ces 2 fonctions dépend du pH. En milieu acide, la fonction amine s'ionise en captant un H⁺ alors qu'en milieu alcalin la fonction carboxyle s'ionise en libérant un H⁺.

Lorsqu'on fait passer une solution d'un AA neutre d'un pH acide à un pH basique, on a les formes ioniques suivantes :



On définit :

- K : constante de dissociation du groupement fonctionnel considéré.
- pK = - log K. Il correspond au pH de 1/2 dissociation du groupement fonctionnel.

Par convention :

- pK₁ = pH qui correspond à la 1/2 dissociation du groupement α COOH,
- pK₂ = pH qui correspond à la 1/2 dissociation du groupement αNH₂,
- pK_r = pH qui correspond au pH de demi-dissociation du groupement ionisable de la chaîne latérale.

Le pHi ou pH isoélectrique est le pH qui correspond à la forme électriquement neutre. Il peut être calculé en faisant la demi-somme des pK des formes situées de part et d'autre de la forme neutre de l'AA.

B- PRINCIPALES RÉACTIONS DES ACIDES AMINES

1- Formation de liaison amide

Le groupement α carboxylique d'un AA peut réagir avec un groupement amine formant une liaison amide (voir peptides)

2- Formation d'amines

Elle a lieu par décarboxylation, sous l'action de décarboxylases cellulaires utilisant le phosphate de pyridoxal (PPL) (voir Coenzymes). Cette réaction se déroule également grâce aux décarboxylases bactériennes intestinales. Elle aboutit à la formation d'amines dont certaines sont biogènes comme l'histamine qui est libérée lors des réactions inflammatoires ou allergiques.

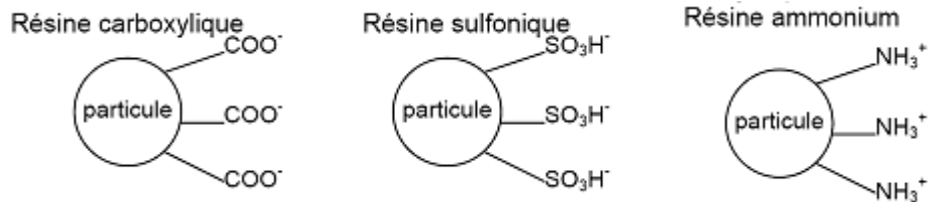
3- Désamination et transamination

Ce sont 2 réactions enzymatiques très importantes dans le métabolisme des AA. La désamination est l'élimination du groupement NH₂ de l'AA par oxydation en donnant un acide α cétonique (R-CO-COOH) et la transamination est un transfert du groupement NH₂ sur un acide α cétonique pour donner un nouvel AA (cf Thème 2 b)

IV- PRINCIPALES MÉTHODES D'ÉTUDE DES AA

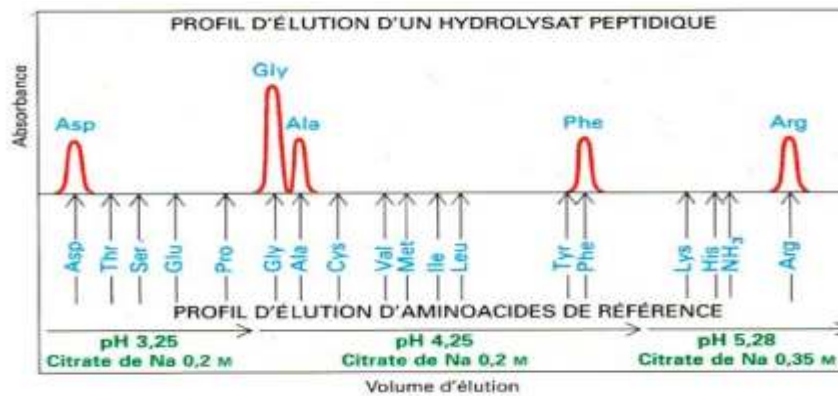
A- CHROMATOGRAPHIE PAR ÉCHANGE D'IONS

Cette technique permet de séparer les AA selon leur charge. Elle consiste à remplir une colonne de verre avec une résine qui contient un support sur lequel sont greffés soit des groupements sulfonés (HSO₃⁻, Na⁺) ou polycarboxyliques (RCOO⁻, Na⁺) constituant des résines échangeuses de cations, soit des groupements polyaminés (R-NH₄⁺, Cl⁻) constituant des résines échangeuses d'anions. On utilise généralement les résines échangeuses de cations. À pH acide, les AA se comportent comme des cations (forme basique) et se fixent à la place des ions Na⁺. On réalise ensuite un gradient d'élution croissant de pH et de force ionique. Au pH correspondant au pHi de l'AA, celui-ci n'est plus retenu et sera alors élué. Les AA sont ensuite collectés et analysés par la réaction colorimétrique à la ninhydrine. Une courbe d'élution représentant le chromatogramme permet d'identifier les AA par la position de leur pic d'élution et de les doser par spectrophotométrie en UV.



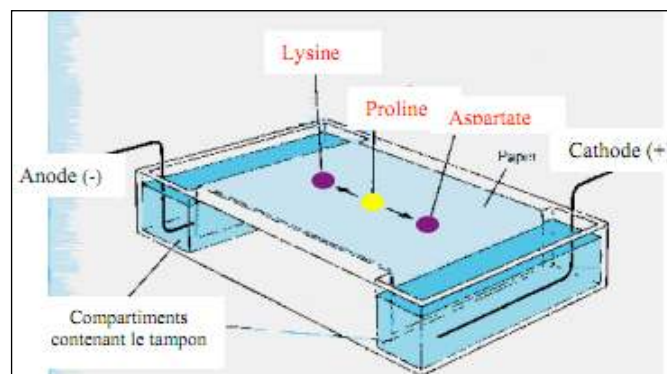
B- CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE (HPLC)

C'est la méthode la plus récente. Les AA sont d'abord transformés en dérivés aromatiques par un réactif chimique (réactif d'Edman). Ils sont ensuite adsorbés sur une colonne de silice microgranulaire dont les groupements OH sont substitués par de longues chaînes hydrocarbonées (18 C). Cette silice ainsi greffée constitue la phase stationnaire. Les AA sont retenus selon le degré d'hydrophobicité du radical R. L'élution est faite, sous une pression élevée, par la phase mobile, qui est un solvant (mélange d'eau et d'acétonitrile) de polarité décroissante. Un système de détection/intégration permet la mise en évidence des AA et leur dosage au fur et à mesure de leur sortie sous forme de pics.



C- ÉLECTROPHORÈSE

Il s'agit d'une méthode de séparation des AA basée sur leur charge. Si l'on dépose un mélange d'AA sur un support (feuille de papier) préalablement imbibé du tampon de migration, et que l'on établit un champ électrique, les AA dont le pHi est > au pH d'électrophorèse s'ioniseront positivement et migreront vers la cathode (pôle-). Les AA dont le pHi est = au pH du tampon de migration ne seront pas chargés et resteront au niveau du dépôt. Enfin les AA dont le pHi est < au pH du tampon de migration seront chargés négativement et migreront vers l'anode (pôle +). À la fin de la migration, le support est séché, les AA sont ensuite mis en évidence sous forme de spots colorés grâce à la réaction à la ninhydrine. Des échantillons connus d'AA sont traités dans les mêmes conditions afin d'identifier la nature des différents AA.



TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. Écrire la formule générale d'un acide aminé naturel.

Q 2. Donner le nom et le symbole de :

- un AA ayant une fonction alcool secondaire : _____
- un AA ayant une fonction thiol : _____
- un AA acide ayant une fonction γ carboxylique : _____
- un AA à 4 C ayant une fonction amide : _____
- un AA ayant un noyau indole : _____
- un AA ayant une fonction amine secondaire : _____
- un AA ayant un noyau imidazole : _____
- un AA basique ayant un ϵ -NH₂ : _____

Q 3. Citer une propriété commune caractérisant chacun des groupes d'AA suivants :

- Val, Leu, Ile : _____
- Thr, Met, Phe : _____
- Gln, Asn : _____
- Ser, SeC, Tyr : _____

Q 4. Quel est parmi les AA protéinogènes celui :

- a. qui n'a pas d'activité optique : _____
- b. qui possède une fonction thiol substituée : _____
- c. qui a un groupement phénolique absorbant à 280 nm : _____
- d. qui, de par sa structure, est le moins soluble : _____
- e. qui est le plus acide : _____
- f. qui est le plus basique : _____

Q 5. Citer le nom de 3 réactions des AA tenant au groupement NH₂

Q 6. Citer le nom de 2 réactions des AA tenant au groupement COOH

Q 7. a) écrire les formes ioniques de l'His en fonction du pH (ne représenter que les groupements ionisables)

b) Calculer son pKr sachant que le $pK_1=1,82$, le $pK_2= 9,17$ et le $pH_i= 7,58$

Q 8. Compléter le tableau suivant :

AA	pK1	pK2	pKr	Formule du pH_i	pH_i
Tyr	2,20	9, 11	10,13		
Cys	1,71	10,78	8,33		
Glu	2,19	9,67	4,25		
Lys	2,18	8,95	10,53		

Q 9. On soumet à une électrophorèse à $pH=6$, un mélange de Glu, Leu et Arg dont les pH_i sont respectivement : 3,22; 5,98 et 10,76. Vers quels pôles migrent ces AA ?

Q 10. On veut séparer les AA Asp, Ala et Lys par chromatographie sur colonne de résine échangeuse de cations (HSO_3^- , Na^+). Pour cela, on dépose le mélange de ces AA à $\text{pH}=2$ au sommet de la colonne, puis on amène progressivement le pH à 7. Quels AA sont élués et dans quel ordre.

On donne : $\text{pH}_i(\text{Asp})= 2,87$; $\text{pH}_i(\text{Ala})= 6,00$; $\text{pH}_i(\text{Lys})= 9,74$

Q 11. Citer une méthode de séparation des AA selon leur différence de solubilité dans les solvants organiques.

LES PEPTIDES

Les objectifs éducationnels

- 1- Définir la liaison peptidique et indiquer ses propriétés.
- 2- Déterminer la séquence d'un peptide à partir des résultats obtenus par des méthodes chimiques et enzymatiques.
- 3- Citer le nom de peptides doués d'une activité biologique importante en précisant leurs caractéristiques structurales.

PLAN

I- STRUCTURE

- A- LIAISON PEPTIDIQUE
- B- NOMENCLATURE ET MODE D'ÉCRITURE DES PEPTIDES
- C- DÉTERMINATION DES SÉQUENCES PEPTIDIQUES

II- ÉTUDE DE QUELQUES PEPTIDES AYANT UNE IMPORTANCE BIOLOGIQUE

- A- LE GLUTATHION
- B- LA CARNOSINE
- C- HORMONES PEPTIDIQUES
 - 1- Hormones hypothalamiques
 - 2- Hormones hypophysaires
 - 3- Hormones pancréatiques
- D- PEPTIDES ANTIBIOTIQUES
- E- TOXINES PEPTIDIQUES

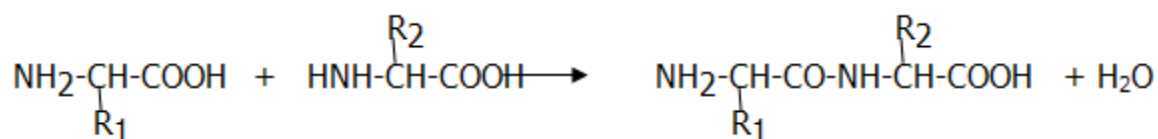
On appelle peptide un enchaînement d'AA liés entre eux par des liaisons peptidiques. On distingue en général :

- les oligopeptides : dipeptide (2 AA), tripeptide (3 AA)... Généralement, le nombre d'AA liés ne dépasse pas une dizaine.
- les polypeptides : à partir de décapeptide (10 AA) et ne dépassant pas généralement la centaine d'AA.

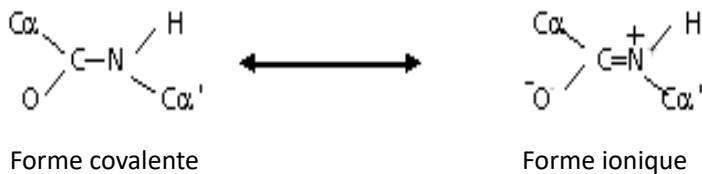
I- STRUCTURE

A- LA LIAISON PEPTIDIQUE

La liaison peptidique résulte de l'élimination d'une molécule d'eau entre le groupement α carboxylique d'un AA et le groupement α aminé de l'AA suivant.



La liaison peptidique (-CO-NH-) est une liaison amide substituée (amide secondaire). Elle peut exister sous 2 formes limites (formes mésomères en équilibre).



Elle possède donc un caractère de double liaison partielle, ce qui implique que :

- Les 6 atomes (Cα, C, O, N, H et Cα») sont coplanaires.
- La libre rotation autour de cette liaison est perdue. Toutefois, une rotation est possible autour des simples liaisons (Cα- C et Cα «-N) indiquées par les flèches sur la figure ci-dessous.
- L'existence d'une possibilité d'isomérisation cis et trans pour les 2 carbones Cα et Cα» par rapport à cette liaison.



La forme trans est favorisée sur le plan énergétique (les forces de répulsion entre les Cα sont réduites au minimum). Cette forme prédomine en effet dans les peptides et les protéines naturels. Pour la Proline et l'OH-Proline dont la structure particulière (cycle pentagonal rigide) crée des contraintes à l'intérieur des protéines, la position cis devient la forme prépondérante et impose une courbure de la chaîne au niveau de ces résidus.

Les solutions de peptides renfermant au moins 3 liaisons peptidiques ou de protéines donnent en présence de CuSO₄, en milieu alcalin, une coloration violette. C'est la réaction du Biuret. Cette réaction sert au dosage photocolométrique des peptides et des protéines à 540 nm.

B- NOMENCLATURE ET MODE D'ÉCRITURE DES PEPTIDES

Un peptide, quelle que soit sa longueur, a toujours à une extrémité, un groupement NH₂ libre et à l'autre, un groupement COOH libre. Ce sont les extrémités dites N- et C- terminales. Le nom du peptide commence par l'AA N- terminale affectée du suffixe «yl» puis le suivant avec le même suffixe jusqu'au dernier AA C-terminale qui garde un nom complet. Exemple de peptide : Glutamyl-Histidyl-Proline (Glu-His-Pro). Cependant, les groupements NH₂ et COOH terminaux peuvent être amidés comme dans l'acide pyroglutamique ou dans la prolinamide (voir peptides hormonaux).

C- DÉTERMINATION DES SÉQUENCES PEPTIDIQUES

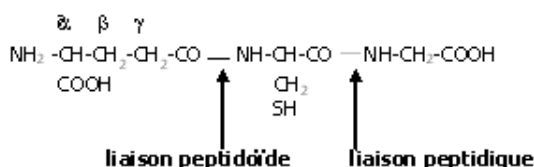
L'ordre séquentiel des AA d'un peptide est dicté par le génome. Pour son étude, on utilise la méthodologie suivante :

- Rupture des ponts disulfures éventuels intra chaîne et/ou inter chaînes
- Détermination des AA N- et C- terminaux
- Hydrolyse totale
- Hydrolyse partielle en oligopeptides
- Séparation des oligopeptides par chromatographie ou électrophorèse ou électrochromatographie (méthode des empreintes digitales ou fingerprints)
- Utilisation de la méthode de dégradation récurrente d'Edman sur l'oligopeptide obtenu.

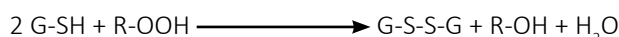
II- ÉTUDE DE QUELQUES PEPTIDES AYANT UNE IMPORTANCE BIOLOGIQUE

A- LE GLUTATHION

C'est le γ glutamyl-cystéinyl-glycine.



Le glutathion est présent dans presque toutes les cellules en particulier, dans les globules rouges. Le groupement chimique réactif de ce peptide est le groupement thiol d'où sa représentation : G-SH. Le glutathion joue plusieurs rôles : il intervient au cours des réactions d'oxydoréduction en passant de sa forme réduite G-SH à sa forme oxydée G-S-S-G. C'est le coenzyme de la glutathion peroxydase (GPX), enzyme qui protège la membrane des globules rouges contre l'oxydation par les peroxydes (ROOH).



Il joue un rôle important dans le système de transport membranaire des AA (cycle γ GT : γ - glutamyl-transpeptidase).
Il participe à la formation des leucotriènes.

B- LA CARNOSINE

C'est un dipeptide du tissu musculaire. C'est la β alanyl- histidine. On peut la retrouver dans l'urine humaine où elle constitue un marqueur d'un catabolisme accru des protéines musculaires ou le reflet d'une alimentation riche en protéines.

C- HORMONES PEPTIDIQUES

1- Hormones hypothalamiques

Exemple la TRH ou thyroolibérine : C'est un tripeptide dont la structure est la suivante :

Acide pyroglutamique-His-Prolinamide

Il stimule la libération de la thyrotropine (TSH) hypophysaire (et également de la prolactine).

2- Hormones hypophysaires

Exemples : L'ocytocine et la vasopressine : Ce sont en fait deux hormones hypothalamiques, mais qui sont stockées dans la post-hypophyse. Elles possèdent une très grande analogie structurale. En effet, ce sont deux nonapeptides ayant tous deux de la glycnamide comme résidu C-terminal et une partie cyclique N-terminale créée par l'existence d'un pont disulfure intrachaine. Elles ne diffèrent que par deux acides aminés. Chez l'homme, l'isoleucine (position 3) et la leucine (position 8) dans l'ocytocine sont remplacées respectivement dans la vasopressine par la phénylalanine et l'arginine ou la lysine.

Il est intéressant de noter que ces différences structurales, aussi minimes, se traduisent par des différences importantes dans l'activité biologique. En effet, l'ocytocine provoque la contraction de l'utérus gravide et joue un rôle primordial lors de l'accouchement. Elle exerce également une action stimulante sur les glandes mammaires en provoquant la lactation. La vasopressine possède à la fois une action vasopressine et antidiurétique. Sa sécrétion est en particulier stimulée par la restriction hydrique et les hémorragies.

3- Hormones pancréatiques

Exemple : L'insuline. C'est la seule hormone hypoglycémisante. Elle est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans. Elle est formée de 2 chaînes peptidiques A et B réunies entre elles par 2 ponts disulfures :

La chaîne A comporte 21 AA avec la Gly en position N-terminale. Elle est caractérisée par un pont disulfure intra chaîne.
La chaîne B comporte 30 résidus d'AA avec la Phe en position N-terminale.
Les ponts disulfures sont indispensables à l'activité de l'hormone.

D- PEPTIDES ANTIBIOTIQUES

Exemple : La pénicilline. C'est un dipeptide cyclique formé de L-Cys et de D-Val, extrait d'une moisissure, *penicillium notatum*. La pénicilline est en fait un analogue structural du dipeptide D-Ala-DAla utilisé pour l'édification de la muréine, constituant important de la membrane des bactéries Gram+. Au cours de la synthèse de la muréine, la pénicilline entre en compétition avec ce dipeptide vis-à-vis de l'enzyme.

E- TOXINES PEPTIDIQUES

Exemple : L' α -amanitine, octapeptide cyclique contenant plusieurs AA inhabituels. Elle est extraite du champignon vénéneux l'amanite phalloïde. Elle se lie très fortement à la RNA polymérase eucaryotique de type II qu'elle inhibe.

TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. La liaison peptidique

À : est une liaison non covalente

B : peut s'établir entre le carboxyle α d'un AA et tout groupement NH_2 porté par l'AA voisin

C : est une liaison amide substituée

D : possède le caractère d'une double liaison partielle

E : peut être représentée par 2 formes mésomères

Q 2. Écrire la formule du glutathion en utilisant les abréviations à 3 lettres pour les AA constitutifs. Indiquez la nature des liaisons unissant les AA ainsi que son groupement réactif.

Q 3. Donner un exemple d'hormone peptidique hypothalamique. Donner sa composition en AA.

Q 4. Citer deux exemples d'hormones hypophysaires peptidiques en précisant leurs différences structurales.

Q 5. Citer un exemple d'hormone peptidique pancréatique en précisant ses caractéristiques structurales

Q 6. Citer le nom d'un peptide antibiotique. Indiquez ses caractéristiques structurales et son mode d'action.

Q 7. Indiquer les caractéristiques structurales et le mode d'action de l' α -amanitine.

LES PROTÉINES

Les objectifs éducationnels

- 1/ Connaître les différentes classes de protéines
- 2/ Indiquer les différents niveaux de structure des protéines
- 3/ Définir les différents types de structures secondaires
- 4/ Connaître l'importance des liaisons stabilisatrices dans l'établissement de la structure spatiale
- 5/ Décrire la structure tertiaire dans les protéines globulaires et fibreuses
- 6/ Décrire la structure quaternaire des protéines en se basant sur des exemples précis

PLAN

I. INTRODUCTION

II. CLASSIFICATION

III. LES DIFFÉRENTS NIVEAUX DE STRUCTURES

- III-1 Structure primaire
- III- 2 Structure secondaire
 - III-2-1- hélice α
 - III-2-2- feuillet β
 - III-2-3- coude β
 - III-2-4- pelote statistique
- III- 3 Structure tertiaire
 - III-3-1- liaisons stabilisatrices
 - III-3-2- protéines fibreuses (scléroprotéines)
 - III-3-3- protéines globulaires (sphéroprotéines)
- III- 4 Structure quaternaire
 - III- 4-1- protéines globulaires
 - III- 4-2- protéines fibreuses
- III- 5 Enroulement et déroulement
 - III-5-1- protéines chaperon
 - III-5-2- dénaturation et renaturation des protéines
- III- 6 Suprastructure

IV. RELATION ENTRE LA STRUCTURE DES PROTÉINES ET LEUR FONCTION

- IV- 1 importance de la structure primaire
- IV-2 importance de la structure spatiale
- IV- 3 importance de la structure quaternaire et supramoléculaire

V. PROPRIÉTÉS ET MÉTHODES D'ÉTUDES

I.INTRODUCTION

Les protéines sont des macromolécules formées d'une succession d'acides aminés (≥ 100 AA) unis entre eux par des liaisons peptidiques. Leur conformation est assurée par des liaisons covalentes et non covalentes. Elles présentent différents niveaux de structure.

II. CLASSIFICATION DES PROTÉINES

Les protéines peuvent être classées en fonction de :

II-1/ LEUR COMPOSITION

- les protéines simples ou holoprotéines sont composées exclusivement d'acides aminés (les hydrolases).
- les protéines complexes ou conjuguées ou hétéroprotéines qui se composent de 2 parties : la partie protéique ou apo-protéine et la partie non protéique ou groupement prosthétique (acide phosphorique, groupement glucidique, lipidique, métallique....)

II-2/ LEUR RÔLE BIOLOGIQUE

Les protéines ont des rôles variés : enzymes (ADN polymérase), protéines de défenses (immunoglobuline), protéine de structure (collagène), protéine de transport (sérum-albumine), protéine de régulation (insuline), protéines contractiles (actine et myosine) et les protéines de stockage (ferritine).

II-3/ LEUR STRUCTURE SPATIALE

Les protéines peuvent également être classées en fonction de leur structure et leur forme tridimensionnelle en

- protéines globulaires ou sphéroprotéines possédant des chaînes polypeptidiques enroulées ou pliées de façon compacte (myoglobine, chymotrypsine...).
- protéines fibreuses ou scléroprotéines possédant une forme allongée (α kératine des cheveux, fibroïne de la soie)

II-4/ LEUR SOLUBILITÉ

- protéines globulaires (albumine et globulines) sont solubles en milieu aqueux.
- protéines fibreuses (kératines, collagènes) sont insolubles en milieu aqueux.

III. LES DIFFÉRENTS NIVEAUX DE STRUCTURE

III-1 STRUCTURE PRIMAIRE

La structure primaire de la chaîne polypeptidique d'une protéine correspond à l'ordre dans lequel les acides aminés sont unis les uns aux autres, par des liaisons peptidiques ainsi qu'à l'emplacement de toutes les liaisons disulfures.

La séquence de l'enchaînement des acides aminés est définie par le nombre, la nature et la position des résidus d'AA unis dans la chaîne polypeptidique. Elle est unique à chaque protéine et déterminée par le gène codant pour cette protéine.

III-2 STRUCTURE SECONDAIRE

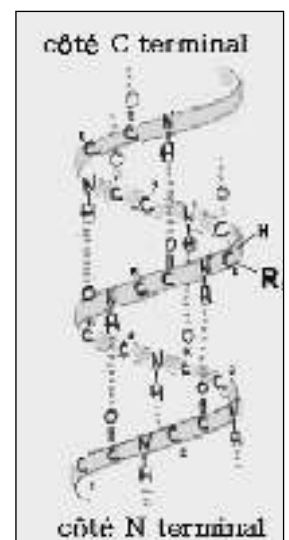
La structure secondaire correspond au premier degré de repliement de la chaîne polypeptidique. Elle est due aux relations dans l'espace des résidus proches les uns des autres. Elle est stabilisée par des liaisons hydrogène entre les liaisons peptidiques.

La structure secondaire d'un polypeptide présente un aspect régulier et ordonné d'unités répétées de façon régulière :

- Lorsque les plans des liaisons peptidiques tournent de manière régulière dans le même sens l'un par rapport à l'autre, on aura alors une structure en hélice α .
- Lorsque les plans des liaisons peptidiques s'organisent de manière régulière et répétitive deux à deux, on aura alors une structure en feuillet β .
- Lorsque les plans tournent de manière aléatoire les uns par rapport aux autres on aura une structure désordonnée dite en « pelote statistique ». L'existence d'une telle structure ne signifie pas qu'elle n'est pas importante sur le plan biologique.

III-2-1/ Structure en Hélice α

L'hélice α est une structure secondaire qui s'observe au niveau de certaines parties d'une protéine. Les atomes d'azote et d'oxygène du squelette protéique sont reliés entre eux par des liaisons hydrogène. L'acide aminé n est relié ainsi à l'acide aminé $n+3$. L'intérieur de l'hélice α est hydrophobe, ce qui n'est pas forcément le cas des chaînes latérales qui se trouvent exposées à la surface. Les hélices α sont rigides, par opposition aux autres parties de la protéine qui ont des conformations en pelote statistique.

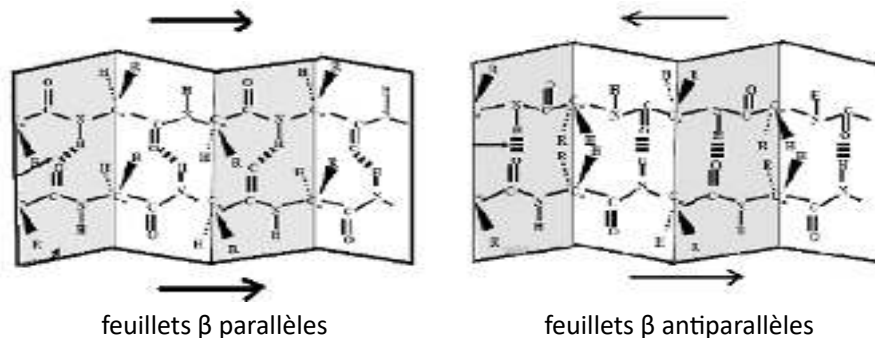


Structure en hélice α

La présence de certains acides aminés dans une séquence protéique déstabilise l'hélice α comme Pro, Gly, Tyr et Asp. Par contre, les séquences renfermant Glu, Ala et Leu favorisent sa formation.

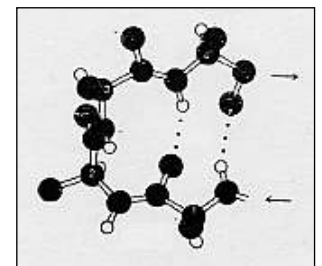
III-2-2/ Structure en Feuillet β plissé

C'est une structure régulière dans laquelle la chaîne polypeptidique est plissée, presque complètement étirée. Des liaisons hydrogène inter ou intrachaines s'établissent entre les structures β parallèles ou β antiparallèles des feuillets β plissés. De plus les acides aminés à chaîne ramifiée et aromatique ainsi que la glycine et la proline favorisent la formation de cette structure.



III-2-3/ Structure en coude β

Il s'agit d'une séquence de 4 acides aminés adoptant une conformation permettant un repli de la chaîne à la manière d'une épingle à cheveux. Cette structure met en jeu principalement la cystéine, la proline, l'acide aspartique ou l'asparagine, la glycine ou la sérine. La boucle est stabilisée par une liaison hydrogène entre le CO et le NH appartenant respectivement au premier et au troisième acide aminé de la séquence tétra peptidique du coude. Les coudes sont répartis, grâce à leur caractère hydrophile, à la périphérie de la molécule et sont en partie responsables de la forme générale globulaire de la protéine.



Structure en coude β

III-2-4/Pelote statistique

Dans presque toutes les protéines globulaires, il existe des séquences polypeptidiques qui ne sont pas disposées en hélice α , ni en feuillet β plissés ni en coude β , mais en zones plus libres, capables de certains mouvements. Grâce à leur flexibilité, ces structures en pelote statistique permettent aux molécules de changer de conformation.

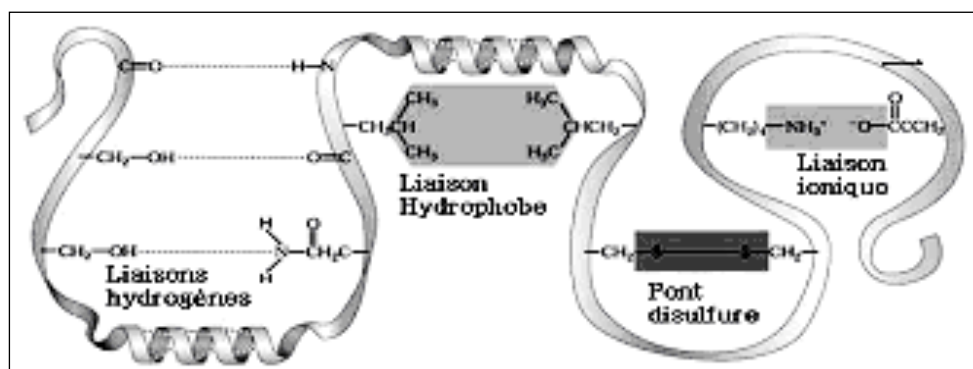
III- 3 STRUCTURE TERTIAIRE

Elle correspond à l'organisation de la protéine dans l'espace grâce à un 2ème degré de repliement de la chaîne sur elle même. Ce niveau structural est dû aux relations des résidus d'acides aminés éloignés dans l'espace. Cette organisation spatiale (conformation) donne à la protéine sa forme native (forme active de la protéine). Chaque protéine prend spontanément une structure tertiaire unique. Cet agencement unique est dicté par la séquence des acides aminés. Cette structure est maintenue par des liaisons covalentes et des liaisons de faible énergie.

III-3-1/ Les liaisons stabilisatrices

Ces liaisons sont de 2 types :

- liaisons covalentes : les ponts disulfures responsables de la formation de boucles
- liaisons non covalentes (faible énergie) : Les liaisons hydrogène, les liaisons ioniques, les liaisons hydrophobes et les liaisons de Van der Waals



Différents types de liaisons rencontrées dans la stabilisation de la structure tertiaire des protéines.

L'ensemble des forces de liaisons qui viennent d'être rapportées permet à la protéine de conserver une structure tridimensionnelle unique (structure native) spécialement adaptée à la spécificité de cette protéine.

III-3-2/ Les protéines fibreuses

Les protéines fibreuses ont une forme allongée et s'assemblent en fibres.

La structure tertiaire de ce type de protéine est formée soit :

- d'hélices α : les kératines α qui forment les tissus protecteurs du corps, tels l'épiderme, les poils, les ongles.
- de feuillets β : la fibroïne de la soie formée de feuillets β anti parallèles

III-3-3/ Les protéines globulaires

Contrairement aux protéines fibreuses, les protéines globulaires sont sphériques et solubles. C'est le cas de l'albumine, des globulines, de la caséine et des hormones protéiques et d'un grand nombre d'enzymes du métabolisme cellulaire...

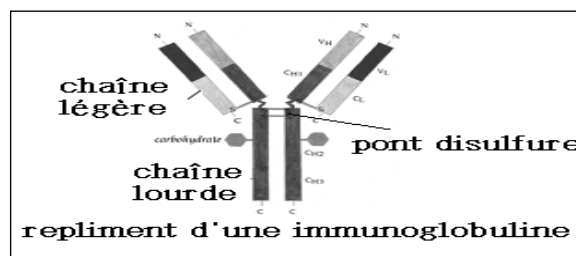
La structure spatiale d'une protéine globulaire correspond aux repliements de la chaîne polypeptidique sur elle même. Ces repliements sont liés à l'existence de plusieurs motifs secondaires comme : l'hélice α , le feuillet β le coude β et les zones en pelote statistique. Cette structure appelée conformation de la protéine est stabilisée par des liaisons covalentes et des liaisons de faible énergie. Les résidus d'acides aminés apolaires se situent préférentiellement à l'intérieur de la structure où ils peuvent s'associer par des liaisons hydrophobes, tandis que les résidus polaires ou ioniques se situent à la périphérie où ils peuvent s'associer entre eux par des liaisons hydrogène ou ioniques.

III-4 STRUCTURE QUATERNAIRE DES PROTÉINES

Diverses protéines sont constituées par des associations de chaînes polypeptidiques ou de sous unités. On donne le nom de protomères à ces sous-unités ainsi assemblées, tandis que le terme de monomère est réservé à une sous unité isolée. L'association des sous-unités donne des protéines oligomériques. Cette structure est stabilisée par des liaisons de faible énergie, mais dans certains cas, il peut y avoir un nombre limité de ponts disulfures entre les chaînes. Les protomères peuvent être identiques : structure quaternaire homogène (phosphorylase a) ou différents : structure quaternaire hétérogène (l'hémoglobine, constituée de 4 protomères identiques deux à deux).

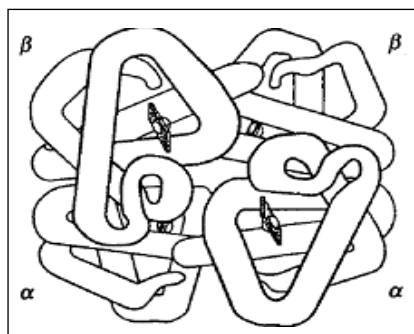
III-4-1/ les protéines globulaires

- Ex : l'immunoglobuline



Les deux chaînes lourdes de l'immunoglobuline sont reliées par 2 ponts disulfures. Il existe aussi un pont disulfure entre chacune des chaînes lourdes et des chaînes légères.

- Ex : l'hémoglobine



Structure tétramérique ($\alpha_2\beta_2$) de l'hémoglobine

Les 4 sous unités sont reliées par des liaisons de faible énergie. Les enzymes allostériques et les isoenzymes ont une structure oligomérique.

III-4-2/ Les protéines fibreuses

Certaines protéines fibreuses comme la kératine, le collagène sont formées par des structures super hélicoïdales :

- la super hélice gauche des kératines. Dans les kératines, la majeure partie des chaînes peptidiques est enroulée en hélice α droite. Deux hélices α s'enroulent entre elles pour former la super hélice gauche.
- le tropocollagène est constitué de trois chaînes polypeptidiques, chacune étant sous la forme d'une hélice très étirée.

III- 5 ENROULEMENT ET DÉROULEMENT DES PROTÉINES

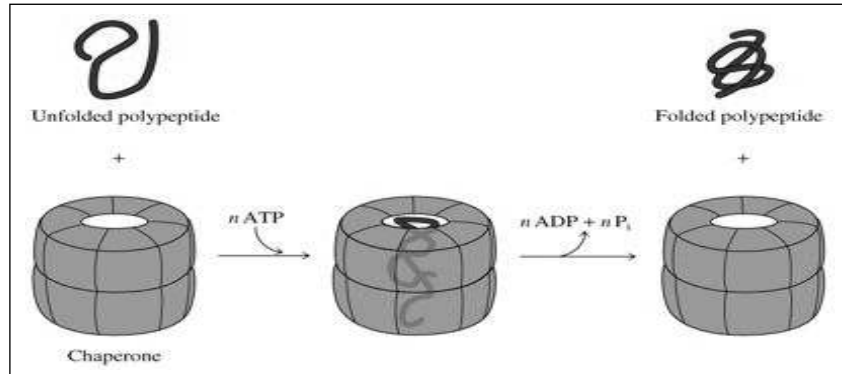
III-5-1 Les protéines chaperons ou chaperonines

Toutes les cellules possèdent une classe spéciale de protéines qui assistent certaines protéines dans leur enroulement final.

Elles permettent d'augmenter la proportion des protéines repliées correctement :

- en évitant l'agrégation entre les protéines
- en supprimant ou renversant les enroulements incorrects
- en accélérant les étapes finales de l'enroulement.

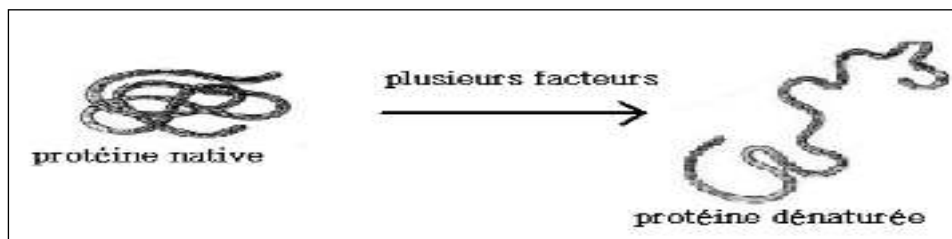
Ainsi, les protéines chaperonnes (ou chaperonines) facilitent : 1/ l'enroulement natif des protéines 2/ l'association entre les sous-unités



III-5-2 Dénaturation et renaturation

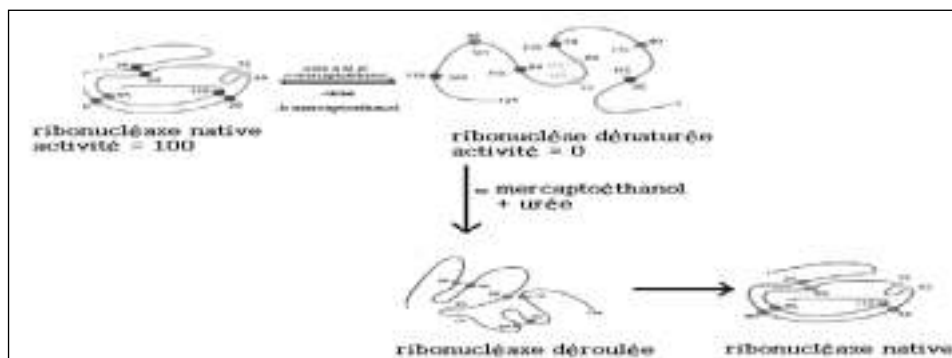
La dénaturation d'une protéine correspond à la rupture des liaisons de faible énergie qui maintiennent en place les niveaux de structure secondaire, tertiaire, et s'il y a lieu quaternaire sans modification de la structure primaire.

La rupture de ces liaisons entraîne la disparition de toute organisation spatiale. La protéine n'est donc plus sous sa forme native et perd partiellement ou totalement son activité biologique.



Le processus peut être réversible ou irréversible :

- la dénaturation réversible peut être provoquée par de faibles variations de pH, la présence dans le milieu de sels d'urée ou de guanidine. La protéine peut retrouver sa forme native après élimination de l'agent dénaturant.



- la dénaturation peut être irréversible. Dans ce cas, il y a une modification profonde de la conformation spatiale de la molécule qui ne peut plus retrouver son état natif après élimination de l'agent dénaturant. Les agents responsables de la dénaturation irréversible peuvent être la chaleur, les solvants organiques, les variations de pH extrêmes, les sels de métaux lourds, les détergents (SDS), les rayons UV...

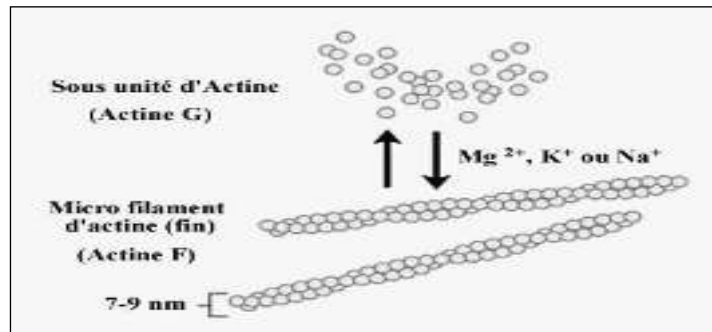
III-6 STRUCTURE SUPRAMOLÉCULAIRE

Elle peut être réalisée

-à partir de protéines globulaires :

- Exemple 1 : Actine F

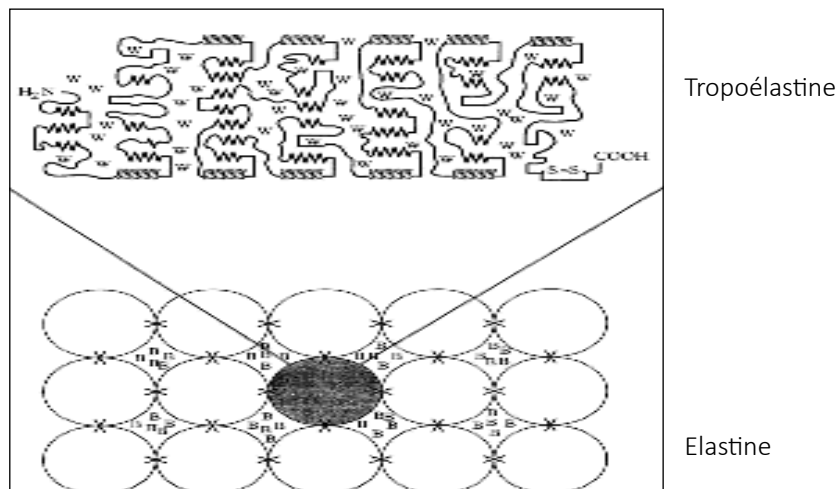
L'actine F (protéine fibreuse) est un polymère (>10 sous unités) d'actine G (protéine globulaire).



Filament d'actine

- Exemple 2 : Elastine

L'élastine est le constituant majeur des fibres élastiques. Elle confère aux tissus conjonctifs de certains tissus (poumons, grosses artères, quelques ligaments élastiques et peau...) des propriétés d'extensibilité et de rétraction élastique. Son pré-curseur est la tropoélastine. Il s'agit d'une protéine globulaire formée par 830 acides aminés. Elle est riche en acides aminés apolaires. Environ 1/3 des acides aminés est représenté par la glycine et le ¼ par l'alanine. Les tropoélastines sont reliées entre elles par des liaisons covalentes entre les résidus Lys pour former l'élastine. Elle est très difficilement dégradable et fait partie des protéines les plus résistantes et des plus insolubles de l'organisme.



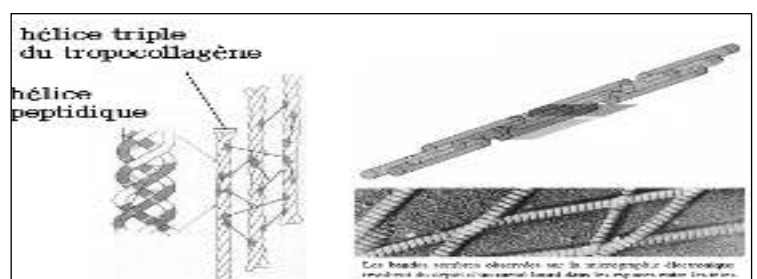
- À partir de protéines fibreuses : fibre de collagène

Le collagène est une famille de protéines le plus souvent fibrillaires présentes dans la matrice extracellulaire des organismes. Ces protéines confèrent aux tissus une résistance mécanique à l'étirement. Plus d'une vingtaine de types de collagène ont été définis. Ils diffèrent par leur formule moléculaire, leurs particularités structurales (fibrille, réseau...) et leur distribution tissulaire.

Le tropocollagène est l'unité fondamentale du collagène. Il s'agit d'une glycoprotéine formée par l'enroulement de 3 hélices gauches α , porteuses de glucides, super enroulées en hélice droite. Interactions ioniques et liaisons hydrogène maintiennent la triple hélice.

La structure primaire de ces chaînes peptidiques est caractérisée par sa richesse en glycine, proline, hydroxyproline et hydroxylysine. La lysine est également relativement fréquente. Cette structure primaire peut être considérée comme un polymère d'unités tripeptidiques où le premier acide aminé du triplet est toujours du glycolle et peut être représentée par la formule : $(\text{Gly-X-Y})_n$. La proline est fréquemment constatée en position X et l'hydroxyproline en position Y. Les glucides sont fixés sur l'hydroxylysine par une R° d'O-glycosylation. Il s'agit d'unités disaccharidiques de glucosyl α -1-2 β galactosyl liées au OH de l'hydroxylysine.

La polymérisation des molécules de tropocollagène conduit à des fibrilles. Cette disposition en fibrilles se stabilise par des liaisons covalentes croisées entre les différentes triples hélices entre des résidus Lys. Les fibrilles de collagène stabilisées par ces liaisons croisées vont se regrouper en fibres de collagène plus épaisses.



IV- RELATIONS ENTRE LA STRUCTURE DES PROTÉINES ET LEUR FONCTION

L'activité biologique d'une protéine est étroitement liée à sa structure.

IV-1 IMPORTANCE DE LA STRUCTURE PRIMAIRE

Parmi de nombreux exemples, trois peuvent être cités en faveur de l'importance de la structure primaire dans l'activité biologique de la protéine :

- Les protéines histones sont riches en lysine et arginine. Ceci leur confère la basicité nécessaire à leur association aux acides nucléiques.
- Les hémoglobinopathies sont des exemples de mutations ponctuelles. Le remplacement d'un seul AA de la chaîne β , entraîne des modifications physico-chimiques au niveau de la molécule, aboutissant à des retentissements graves sur sa fonction respiratoire (Anémie hémolytique).
- La structure primaire d'une protéine détermine la nature de sa conformation spatiale et de là sa fonction biologique. Plusieurs protéines enzymatiques ou hormonales sont synthétisées sous forme inactive. Leur activation est le résultat d'une amputation partielle de leur chaîne peptidique. Le réarrangement conformationnel qui s'en suit fait apparaître les sites d'activité de la protéine.

Exemples : Proinsuline \longrightarrow Insuline.

Trypsinogène \longrightarrow Trypsine.

IV- 2 IMPORTANCE DE LA STRUCTURE SPATIALE

Il peut résulter plusieurs conséquences du repliement spatial définitif d'une protéine.

• Constitution de site actif des enzymes :

- la constitution de régions, de topographie et de formes particulières (boucles, creux et fissures) réalise grâce aux repliements de la protéine des « sites spécifiques ». Ces sites déterminent la complémentarité stéréospécifique entre les protéines et leur ligand (substrat pour l'enzyme, antigène pour la protéine anticorps). Le site actif assure également un environnement spécial souvent hydrophobe facilitant l'action physiologique de la protéine.
- l'enroulement de la chaîne peptidique permet également le rapprochement dans l'espace de certains groupements fonctionnels d'AA initialement éloignés dans la structure primaire aboutissant à la formation du site catalytique.

IV- 3 IMPORTANCE DE LA STRUCTURE QUATERNAIRE ET SUPRAMOLÉCULAIRE

La structure supramoléculaire confère aux protéines diverses propriétés

• Propriétés régulatrices :

- la régulation de l'activité de certaines enzymes dites enzymes allostériques grâce au phénomène de transconformation qui peut être favorable à l'interaction enzyme-substrat (activation) ou défavorable (inhibition de l'activité).
- les complexes polyenzymatiques permettent le regroupement des enzymes impliquées dans une même suite de réactions afin d'augmenter l'efficacité de la chaîne métabolique (ex : acide gras synthétase, pyruvate déshydrogénase...)

• Propriétés de solubilisation

Certaines protéines oligomériques ou polymériques renferment des composés apolaires enfouis à l'intérieur de la protéine, au contact des groupements hydrophobes. Au contraire, les groupements hydrophiles de ces sous unités, dirigés vers l'extérieur assurent la solubilité de l'ensemble. Cette propriété permet à certaines protéines d'assurer la mise en réserve de composés apolaires. C'est le cas par exemple de la ferritine, une des principales molécules de réserve du fer de l'organisme. Elle est composée d'une coque protéique l'apoferritine comprenant 24 sous unités, susceptibles de contenir jusqu'à 5000 atomes de fer sous forme d'hydroxyphosphate ferrique.

• Propriétés structurales.

La structure spatiale des scléroprotéines (protéines fibreuses) leur assure une très grande résistance mécanique et une grande élasticité. La constitution de polymère de sphéroprotéines (actine G, tubuline α et β) aboutit à la formation de filaments d'actine F et de microtubules qui sont à la fois solubles et rigides formant le cytosquelette.

V- PROPRIÉTÉS ET MÉTHODES D'ÉTUDES DES PROTÉINES

• Propriétés

Les propriétés des protéines généralement exploitées pour leur purification et leur séparation sont :

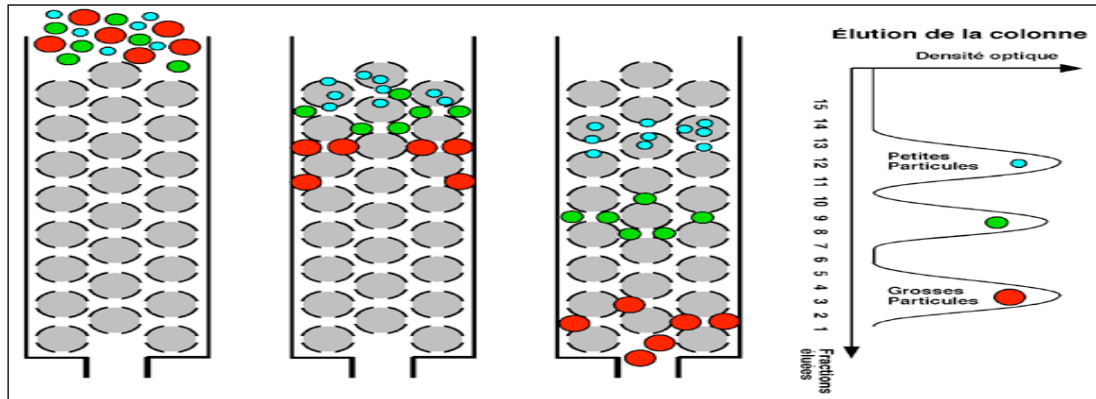
- Leur solubilité en fonction de la force ionique caractère mis à profit dans la précipitation fractionnée des protéines à l'aide d'un sel neutre à concentration croissante (relargage)
- Leur charge qui est nulle au pHi cette propriété est utilisée pour séparer les protéines par électrophorèse et chromatographie échangeuse d'ions

–Leurs masse et taille sur lesquelles sont basées la chromatographie par tamisage moléculaire et l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS

• Méthodes d'étude

Chromatographie par gel- filtration : tamisage moléculaire

Il s'agit d'une séparation des protéines selon leur taille utilisant un tamis moléculaire. La colonne de chromatographie est remplie d'une résine contenant des billes creuses et poreuses. La différence en taille des pores entraîne un tamisage des molécules selon leur taille c'est-à-dire que plus les molécules seront petites, plus elles pénétreront dans les pores et par conséquent seront retardées. Inversement plus les molécules seront grosses, moins elles pénétreront dans les pores et sortiront donc en premier.

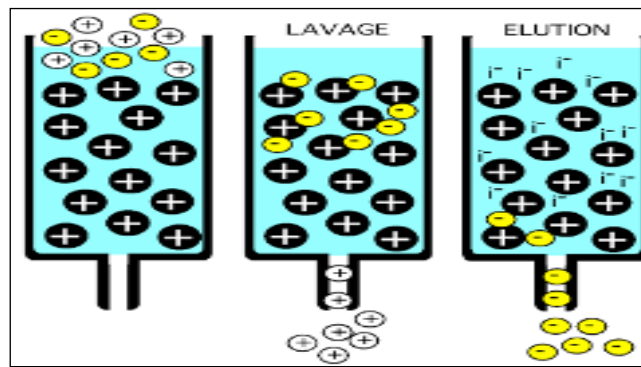


Chromatographie par échange d'ions

Dans une colonne à échange d'ions, les protéines interagissent par affinité électrostatique avec les groupements chargés de la résine. Une résine portant des groupements positifs est dite «échangeuse d'anions» du fait de l'interaction avec des ions négatifs ou groupements acides d'une protéine. Une résine avec des groupements négatifs est dite «échangeuse de cations» du fait de l'interaction avec des cations ou groupements basiques d'une protéine.

Ce type de chromatographie est tout à fait adapté à la séparation de protéines dont chacune possède des charges caractéristiques à un pH donné. Elles peuvent être séparées sur la base de leur différence de charge globale.

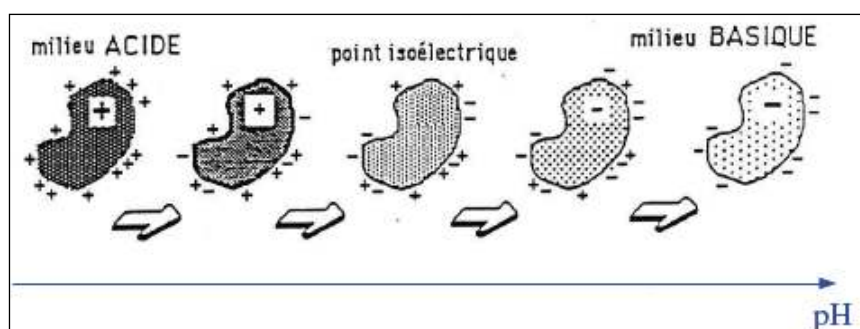
Les molécules accrochées à une résine échangeuses d'ions peuvent être décrochées en augmentant progressivement la force ionique de la solution de lavage ou par variation de pH → élution par gradient



Séparation par Électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

La plupart des chaînes latérales des protéines contiennent des groupements ionisables qui confèrent aux protéines leur caractère amphotère.

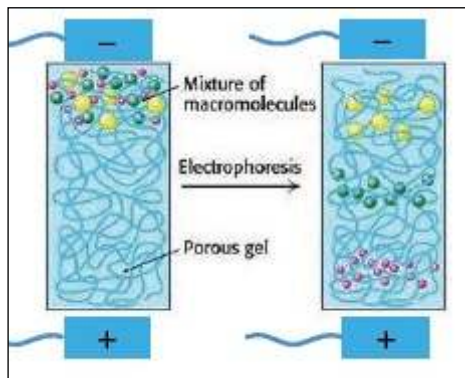
Chaque protéine pourra, en fonction du pH du milieu dans lequel elle se trouve, se comporter comme un cation (+), comme une molécule neutre ou zwitterion(- +) ou comme un anion(-). Lorsque le nombre de groupements chargés positivement est égal au nombre de ceux chargés négativement on est au pHi.



Les protéines migrent lorsqu'on les place dans un champ électrique. La vitesse de migration des protéines vers l'anode ou vers la cathode dépendra de la quantité nette (négative ou positive), de la forme, de la taille et de la viscosité du milieu.

On peut fractionner les protéines par électrophorèse sur divers supports gélifiés (amidon, polyacrylamide...) Les gels utilisés permettent la séparation des protéines selon leur charge nette, mais aussi selon leur taille. Les molécules les plus volumineuses seront ralenties alors que les plus petites migreront plus rapidement dans le gel.

Après migration, l'emplacement des différentes bandes représentant les différentes protéines est repéré par une coloration spécifique des protéines.



TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. PROPOSITIONS

- 1-Est(sont) stabilisée(s) par liaison hydrogène _____
- 2-Représente(nt) le 1^{er} niveau de repliement de la chaîne peptidique sur elle-même _____
- 3-Est(sont) stabilisée(s) par liaison électrostatique _____
- 4-Est(sont) stabilisée(s) par interaction hydrophobe _____
- 5-Est (sont) stabilisée(s) par pont disulfure _____

COMPLÉMENTS

A- Structure secondaire ☐

B- Structure tertiaire ☐

C- Les deux à la fois ☐

Q 2. PROPOSITIONS

- 1-Est (sont) déstabilisé(s) par une Proline _____
- 2-Est (sont) stabilisé(s) par une Cystéine _____
- 3-Est (sont) stabilisé(s) par une liaison Hydrogène _____
- 4-Renferme(nt) souvent une Proline _____
- 5-Est(sont) stabilisé(s) par un acide glutamique _____

COMPLÉMENTS

A- Hélice α ☐

B- Coude β ☐

C- Les deux à la fois ☐

Q 3. La conformation moléculaire des protéines

A-représente la structure unidimensionnelle de la chaîne peptidique

B-représente le repliement de la chaîne peptidique sur elle même.

C- est indépendante de la nature et de l'ordre séquentiel des AA de la chaîne peptidique

D- est dictée par le génome de la cellule

E- est dictée par des contraintes thermodynamiques

Q 4. Quelle est la conséquence possible de l'existence des acides aminés suivants sur la conformation d'une protéine :

- Proline : _____

- Cystéine : _____

Q 5. Quelles sont les deux conditions nécessaires pour que les liaisons de faible énergie interviennent efficacement ?

Q 6. PROPOSITIONS

- 1-Peut s'établir entre les-CO et les-NH des liaisons peptidiques _____
- 2-Peut s'établir entre-COOH d'un Asp et-NH₂ d'une Lys _____
- 3-Peut s'établir entre les radicaux de Val et d'Ile _____
- 4-Peut s'établir entre deux groupements-SH _____
- 5-Peut s'établir entre deux résidus d'His _____

COMPLÉMENTS

A- Liaison hydrogène ☐

B- Liaison hydrophobe ☐

C- Aucune des deux ☐

Q 7. Quelle est la particularité structurale de la conformation tertiaire des protéines globulaires qui explique leur grande solubilité dans l'eau, et qui contribue à la stabilité de leur structure ?

Q 8. Quels sont les niveaux de conformation secondaire pouvant être rencontrés dans des proportions diverses dans une protéine globulaire ?

Q 9. PROPOSITIONS

1-Représente le deuxième repliement de la chaîne _____

2-Peut se présenter entièrement sous forme de feuillets β plissés _____

3-Associate plusieurs chaînes dans un ordre spécifique _____

4-Fait intervenir des liaisons disulfures _____

5-Ne fait intervenir que des liaisons de faible énergie entre les chaînes protéiques _____

COMPLÉMENTS

A- Structure secondaire ☐

B- Structure tertiaire ☐

C- Structure quaternaire ☐

Q 10. PROPOSITIONS

1-Sont solubles dans l'eau _____

2-Possèdent des groupements hydrophiles à la surface _____

3-Reprennent leur activité après dénaturation réversible _____

4-Sont le plus souvent polymériques _____

5-Peuvent devenir solubles après dénaturation _____

COMPLÉMENTS

A- Protéines globulaires ☐

B- Protéines fibreuses ☐

C- Les 2 à la fois ☐

Q 11. Donner deux exemples expliquant l'importance de la structure primaire d'une protéine dans la détermination de sa conformation spatiale et son activité biologique.

Q 12. La dénaturation des protéines entraîne :

A- la rupture des liaisons covalentes

B- la rupture des liaisons de faible énergie

C- la rupture des liaisons non covalentes avec modification de la structure primaire

D- la désorganisation de la conformation spatiale

E- la perte irréversible de leurs propriétés biologiques en présence de l'urée

Q 13. Pour une protéine enzymatique, quelles sont les deux conséquences structurales de l'enroulement de la chaîne peptidique indispensables à son activité catalytique ?

Q 14. Une protéine globulaire dépourvue de ponts S-S et douée d'une activité enzymatique est soumise à l'action d'une solution sulfurique (4N)

a- quelle en est la conséquence sur les structures secondaire et tertiaire de la molécule?

b- quelle en est la conséquence fonctionnelle? Justifier votre réponse

c- que peut-on attendre de l'élimination de l'agent dénaturant?

Q 15. Soit un mélange contenant 4 protéines : A, B, C, et D).

À l'électrophorèse à pH7, les résultats suivants ont été obtenus :

(-) ————— (+)
D A B C

La détermination du pHi de ces 4 protéines a donné les chiffres suivants :

pHi = 5,1 ; pHi = 6,2; pHi = 8; pHi = 8,5

a) Rapporter chaque valeur de pHi à la protéine correspondante A, B, C ou D

b) Le mélange de ces 4 protéines est déposé sur une colonne contenant une résine échangeuse d'anions dans un tampon à pH7. Quelle est la protéine qui sera le plus fortement fixée sur la résine.

c) Comment doit-on faire varier le pH du milieu pour décrocher les protéines? Justifier votre réponse.

d) Dans quel ordre sortiront les protéines? Justifier.

LES ACIDES NUCLÉIQUES

Les objectifs éducationnels

- 1) Écrire la formule d'un désoxyribonucléoside 5' monophosphate.
- 2) Connaître la structure générale d'un ribonucléoside 5' monophosphate.
- 3) Connaître la structure primaire et spatiale de l'ADN d'une cellule eucaryote.
- 4) Décrire les structures primaires et spatiales des ARN d'une cellule eucaryote.
- 5) Exposer les différentes classes d'ARN en précisant :
 - Leur importance relative.
 - Leur dimension.
 - Leur structure.
 - Leur situation intracellulaire.
 - Leur fonction.
- 6) Dédire à partir des propriétés physiques les particularités structurales d'un acide nucléique.
- 7) Savoir déterminer la séquence d'un fragment d'ADN à partir d'une méthode enzymatique.

PLAN

I) STRUCTURE DES ACIDES NUCLÉIQUES

A) DES DIFFÉRENTS CONSTITUANTS DES ACIDES NUCLÉIQUES

1) LES CONSTITUANTS DES NUCLÉOTIDES

- a) Les bases azotées
- b) Les pentoses
- c) L'acide phosphorique

2) NOTION DE NUCLÉOSIDES ET NUCLÉOTIDES

- a) Nucléosides
- b) Nucléotides

B) DIFFÉRENTES STRUCTURES DES ACIDES NUCLÉIQUES

1) STRUCTURE PRIMAIRE

2) STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE

- a) Structure de l'ADN biologique
- b) Autres types d'ADN
- c) Les ARN

II) PROPRIÉTÉS ET MÉTHODES D'ÉTUDE

A) PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES

- 1) Solubilité
- 2) Propriétés spectrales et température de fusion
- 3) Action des agents dénaturants
- 4) Action des agents mutagènes
 - a) Mutagènes physiques
 - b) mutagènes chimiques

B) DÉTERMINATION DE LA SÉQUENCE DES ACIDES NUCLÉIQUES HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES

- 1) Les exonucléases
- 2) Les endonucléases

I- STRUCTURE DES ACIDES NUCLÉIQUES

Dans la cellule eucaryote, il existe deux types d'acides nucléiques :

- L'acide désoxyribonucléique (ADN ou DNA) essentiellement localisé dans le noyau. Il se trouve également dans les mitochondries et les chloroplastes. Chez les procaryotes qui ne possèdent pas de structure nucléaire individualisée, l'ADN est dissous dans le cytoplasme. Dans tous les organismes, l'ADN est le support de l'information génétique nécessaire à la synthèse des protéines, ainsi qu'à sa régulation.
- L'acide ribonucléique (ARN ou RNA) essentiellement cytoplasmique, mais on peut en trouver également dans le noyau. L'ARN joue un rôle fondamental dans l'expression de l'information génétique contenue dans l'ADN. Chez tous les êtres vivants, l'ARN dérive de l'ADN par le processus de la transcription.

A) DIFFÉRENTS CONSTITUANTS DES ACIDES NUCLÉIQUES

Les acides nucléiques (AN) sont de très grandes molécules formées par la répétition de sous unités (monomères) appelées nucléotides. Chaque nucléotide est constitué lui-même de trois éléments :

- une base hétérocyclique azotée (base nucléique),
- un pentose (ribose ou désoxyribose)
- un acide phosphorique.

1) LES CONSTITUANTS DES NUCLÉOTIDES

a) Les bases azotées ou bases nucléiques

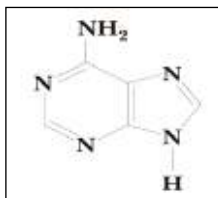
Deux types de bases nucléiques rentrent dans la composition des nucléotides : les bases puriques et les bases pyrimidiques.

a-1) Les bases puriques

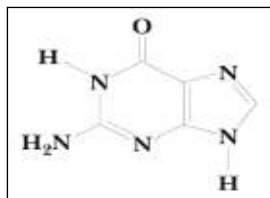
Elles dérivent du noyau purine par substitution des atomes d'hydrogène du noyau par des radicaux hydroxylés et/ou aminés, parfois même méthylés.

Les deux principales bases puriques rencontrées dans les acides nucléiques sont :

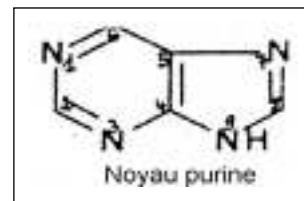
- l'adénine (A) ou 6 aminopurine,
- la guanine (G) ou 2 amino 6 oxypurine



Adénine



Guanine



Noyau purine

À et G rentrent dans la composition de l'ADN et de l'ARN.

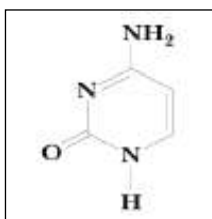
Il existe cependant, deux autres bases puriques mineures, l'hypoxanthine (HX) ou 6-oxypurine et la xanthine (X) ou 2,6 dioxypurine, qui apparaissent comme des intermédiaires dans le métabolisme de l'adénine et de la guanine et que l'on rencontre en faible quantité dans certains types d'ARN.

a-2) Les bases pyrimidiques

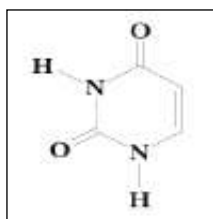
Elles dérivent du noyau pyrimidine par substitution des atomes d'hydrogène du noyau par des radicaux aminés, hydroxylés et parfois méthylés.

Les 3 principales bases trouvées dans les acides nucléiques sont :

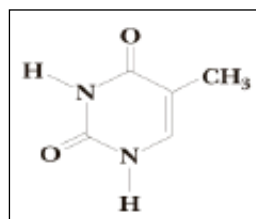
- la cytosine (C) ou 2-oxy-4-aminopyrimidine
- l'uracile (U) ou 2-4 dioxypyrimidine
- la thymine (T) ou 5-méthyl-uracile



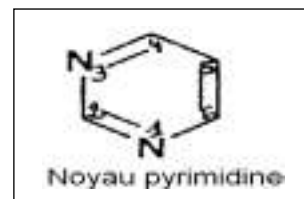
Cytosine



Uracile



Thymine



Noyau pyrimidine

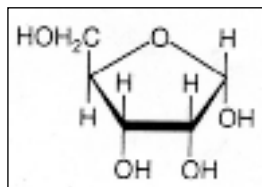
La cytosine se trouve à la fois dans l'ADN et l'ARN alors que la thymine se trouve uniquement dans l'ADN et l'uracile uniquement dans l'ARN. Par exemple : Si on a ACGT dans l'ADN on aura ACGU dans l'ARN.

Comme pour les bases puriques, il existe également dans la nature des bases pyrimidiques rares ou mineures comme la 5-méthyl-cytosine et la 5-6 dihydro-uracile.

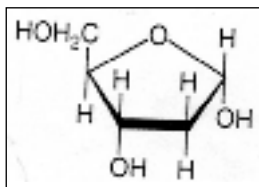
b) les pentoses

On distingue 2 types de pentoses dans les acides nucléiques :

- le ribose dans les ARN
- le 2'-désoxyribose dans l'ADN.



βD ribose



β D 2'désoxyribose

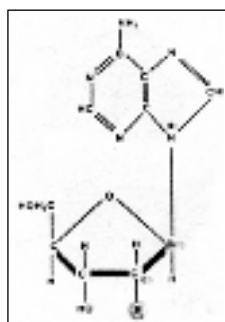
c) L'acide phosphorique : H_3PO_4

C'est un triacide, dont deux de ses trois fonctions acides sont estérifiées dans l'ADN et les ARN.

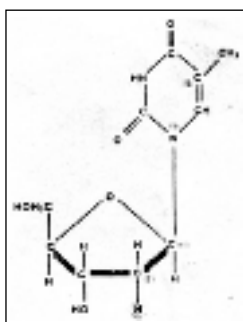
2) NOTION DE NUCLÉOSIDES ET NUCLÉOTIDES

a) Nucléosides

Un nucléoside est formé d'une base purique ou pyrimidique et d'un pentose (ribose ou 2'-désoxyribose). La liaison entre la base et le pentose se fait par une liaison N-glycosidique établie entre le carbone 1' du pentose et l'azote 9 dans le cas des bases puriques ou le carbone 1' du pentose et l'azote 1 dans le cas des bases pyrimidiques.



Nucléoside purique



Nucléoside pyrimidique

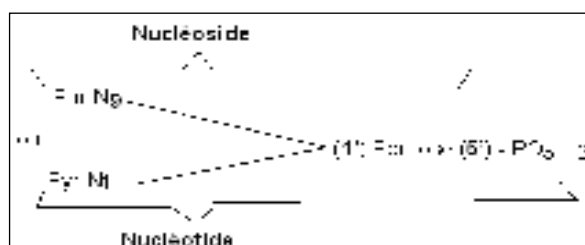
Par convention, les noms des nucléosides à bases puriques se terminent par le suffixe « osine » et celui à bases pyrimidiques par le suffixe « idine ». Le tableau (1) ci-dessous donne les noms des principaux nucléosides.

Tableau : 1 Nomenclature des nucléosides

Bases	Sucres	Nucléosides
Adénine	Ribose	Adénosine
	Désoxyribose	Désoxyadénosine
Guanine	Ribose	Guanosine
	Désoxyribose	Désoxyguanosine
Cytosine	Ribose	Cytidine
	Désoxyribose	Désoxycytidine
Thymine	Désoxyribose	Désoxythymidine
Uracile	Ribose	uridine

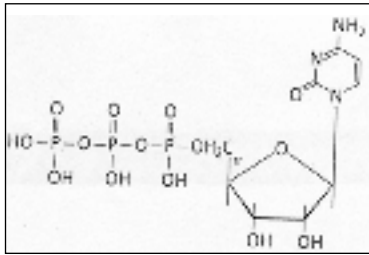
b) Nucléotides

Les nucléotides sont les esters phosphoriques des nucléosides.

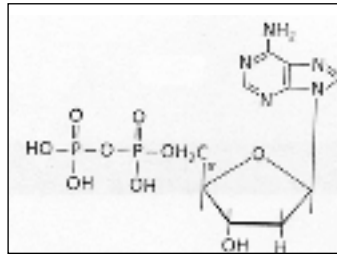


Les nucléotides entrant dans la composition des acides nucléiques sont des nucléosides-5'-monophosphates (AMP, GMP, IMP, TMP, CMP et UMP).

Des nucléosides-5'-diphosphate (ADP CDP GDP ...) et 5'-triphosphates (ATP GTP CTP...) existent également au niveau de la cellule à l'état libre où ils jouent un rôle fondamental dans le métabolisme intermédiaire.



Cytidine 5'triphosphate



Désoxyadénosine 5' diphosphate

Du point de vue nomenclature, le nom des nucléotides puriques se termine par le suffixe **“-ylique”** et celui des nucléotides pyrimidiques par le suffixe **“-idylique”**.

Exemple : l'adénosine-5'-monophosphate (AMP) est l'acide adénylique
la cytosine-5'-monophosphate (CMP) est l'acide cytidylique.

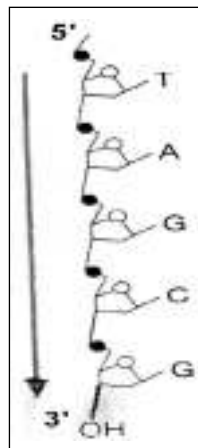
B) DIFFERENTES STRUCTURES DES ACIDES NUCLEIQUES

1) structure primaire :

Dans les ADN comme dans les ARN, les nucléotides sont reliés par des liaisons 3'-5' phosphodiester ; autrement dit chaque groupement phosphate (à l'exception de ceux situés à l'extrémité des chaînes) est estérifié par l'hydroxyle en 3' d'un pentose d'un nucléotide et par l'hydroxyle en 5' du pentose du nucléotide suivant. De cette manière, l'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans les liaisons » phosphodiester. La 3ème fonction acide de H₃PO₄ reste libre et confère aux « acides » nucléiques leurs propriétés acides (ceci est dû à l'ionisation de cette fonction à pH neutre).

Par convention un acide nucléique est orienté dans le sens 5' vers 3'. Ainsi la séquence sera lue depuis l'extrémité 5' P contenant un groupement phosphate avec deux fonctions acides libres du premier nucléotide vers l'extrémité 3'OH qui contient le groupement hydroxyle libre du pentose du dernier nucléotide.

La structure primaire de l'ADN est alors définie par l'enchaînement séquentiel des désoxyribonucléotides (dAMP, dGMP, dTMP et dCMP) selon la polarité 5'----->3'. Celle des ARN est représentée de la même manière avec toutefois deux différences essentielles : l'ose est le ribose et l'uracile remplace la thymine.



**Structure primaire d'un fragment de chaîne de l'ADN
ou simplement 5'P-TAGCG-3'OH**

2) Structure tridimensionnelle ou conformation moléculaire

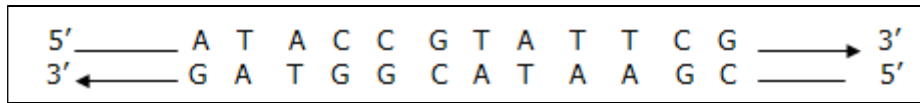
a) Structure de l'ADN biologique

La structure spatiale de l'ADN B (ADN biologique) a été connue grâce à l'observation faite par Chargaff qui a montré que, dans les molécules d'ADN, la concentration en nucléotides à adénine (A) est égale à celle des nucléotides à thymine (T) et que la concentration en nucléotides à guanine (G) est égale à celle des nucléotides à cytosine (C). Autrement dit, le rapport entre purines (A+G) et pyrimidines (T+C) est toujours proche de l'unité.

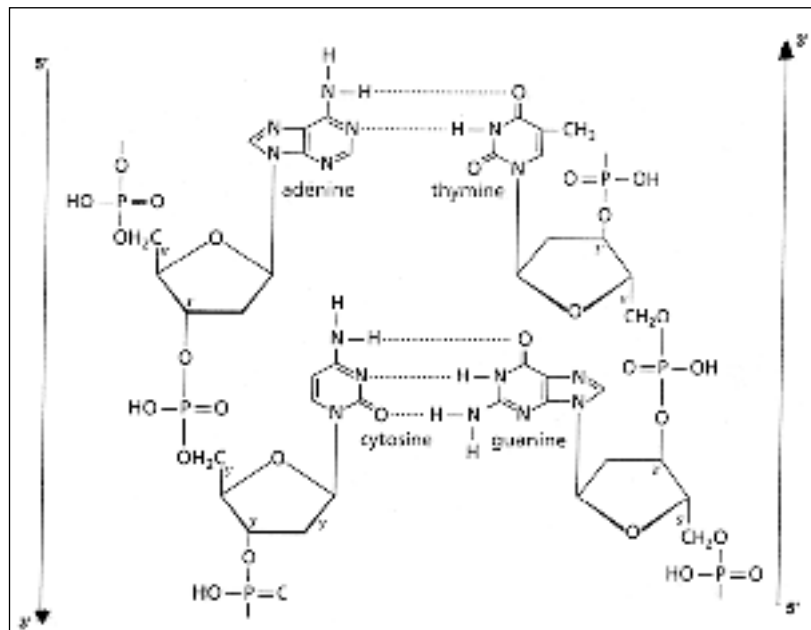
Ainsi, Watson et Crick en utilisant ces données ont proposé au tout début des années 50, le modèle célèbre de la molécule d'ADN à double hélice. Cette double hélice est caractérisée par deux chaînes dont la séquence en bases (nucléotides) est

complémentaire l'une de l'autre. Ces 2 chaînes sont associées grâce à des liaisons hydrogène qui s'établissent entre les bases complémentaires. C'est ainsi que A est appariée à T par 2 liaisons hydrogène et G à C par 3 liaisons hydrogène.

Cette complémentarité des bases permet d'expliquer que tous les ADN ont autant de A que de T et autant de G que de C. Par conséquent, le rapport A+G/T+C sera toujours égal à 1 quelle que soit l'espèce. Par contre, la valeur du rapport A+T/G+C varie d'une espèce à l'autre. De plus, les deux chaînes hélicoïdales complémentaires sont de polarité opposée. On dit qu'elles sont antiparallèles, c'est-à-dire qu'elles sont orientées en sens inverse, mais toujours dans le sens 5' à 3'.



Orientation des chaînes de l'ADN



Appariement des nucléobases dans la molécule d'ADN

D'autre part, le squelette hydrophile de la double hélice est formé par l'alternance des désoxyriboses et des groupements phosphates chargés négativement et se trouve de ce fait face au milieu aqueux qui l'environne. La partie hydrophobe est constituée par les bases puriques et pyrimidiques qui sont empilées les unes au-dessus des autres et placées à l'intérieur de la double hélice, de telle sorte que les molécules des bases soient très proches les unes des autres. Cette structure confère à la double hélice décrite par Watson et Crick des paramètres bien précis :

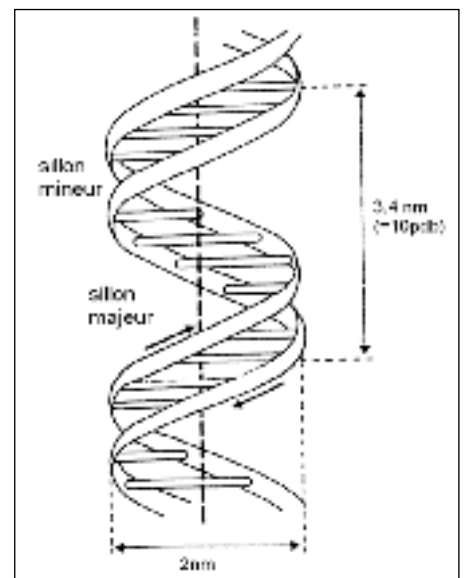
- Les plans des bases sont perpendiculaires à l'axe hypothétique central autour duquel s'enroulent les deux chaînes.
- Les plans des bases sont distants l'un de l'autre de 3,4 Å.
- Le pas de l'hélice est de 34 Å.
- Il y a 10 paires de bases par tour de spire.
- La double hélice est droite et a un diamètre de 20 Å.
- La surface de l'hélice montre alternativement un grand sillon profond appelé sillon majeur et un petit sillon superficiel nommé sillon mineur.

On sait maintenant que le sillon majeur facilite les interactions avec les protéines qui reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques sur l'ADN et se fixent sur elles, grâce surtout à des liaisons hydrogène.

b) Autres types d'ADN : l'ADN Z

• l'ADN Z

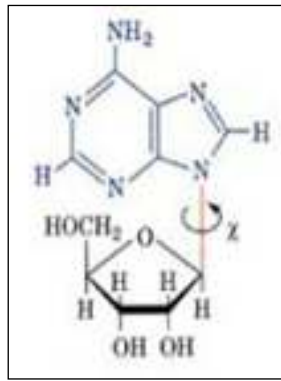
L'ADN Z, mis en évidence dans des chromosomes humains, est une forme tout à fait différente des ADN B. Elle a été observée dans de l'ADN riche en alternance de purines et de pyrimidines (comme par exemple (CGCGCGCGCGCGCG) n. Les C et les G se succèdent en alternance sur chaque brin avec des conformations tantôt « syn », tantôt « anti ». La conformation qui en découle est une hélice lévogyre plus mince (18 Å de diamètre) et moins torsadée (le pas de l'hélice est de 44,6 Å avec 12 paires de bases par tour de spire). À l'intérieur de la double



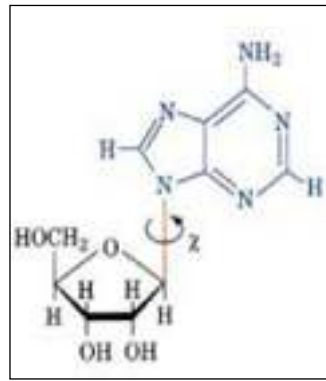
Paramètres de la double hélice de l'ADN biologique

La conformation moléculaire de l'ADN telle que décrite par Watson et Crick est une double hélice dextrogyre dite hélice B d'où le nom de ADN B. Elle représente la principale forme biologique in vivo.

hélice, les bases deviennent davantage exposées dans l'ADN Z à cause de l'alternance des deux conformations « syn » et « anti ». La quantité d'ADN Z dans une cellule demeure inconnue, mais elle est toujours extrêmement faible.



syn Adénosine



anti Adénosine

c) les ARN

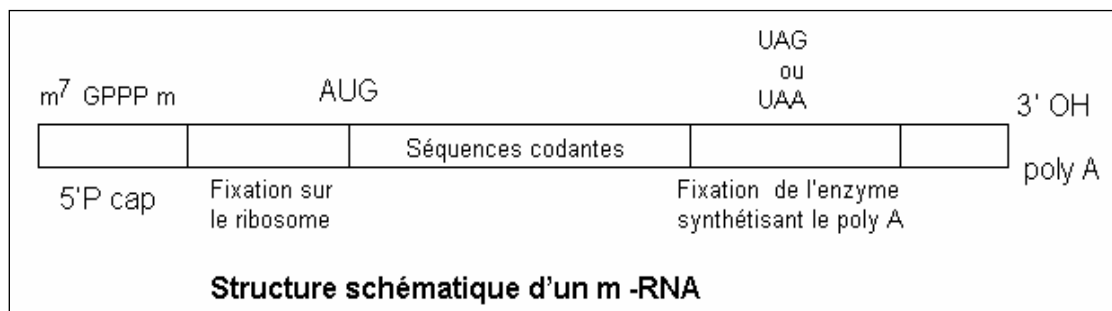
En dehors des ARN des rétrovirus, toutes les molécules d'ARN constituent les différents produits de la transcription d'ADN. Une molécule d'ARN est une chaîne polyribonucléotidique hélicoïdale qui est beaucoup plus courte que celle de l'ADN. Dans la cellule, on distingue essentiellement trois types d'ARN selon leur structure, leur dimension, leur localisation et leur fonction :

- les ARN messagers (ARNm)
- les ARN ribosomiques (ARNr)
- les ARN de transfert (ARNt)

c-1) L'ARN messager (ARNm)

Il constitue une espèce très hétérogène d'ARN qui représente environ 5 % de l'ARN cellulaire. La plupart des ARNm matures des cellules eucaryotes sont caractérisés par la présence :

- du côté 3'OH d'une séquence non codante de 30 à 200 nucléotides à adénine (poly A). Cette séquence est ajoutée lors de la maturation grâce à une poly A polymérase, (la queue poly A est absente dans les ARN codant pour les histones).
- d'une séquence non codante précédant la queue poly A, et qui constitue le site de reconnaissance de la poly A polymérase.
- d'une structure particulière au niveau l'extrémité 5' appelée coiffe ou cap (chapeau). Elle est constituée d'un nucléotide dont la base est une guanine méthylée sur son azote 7. La liaison de ce nucléotide à l'ARN est de type 5'→5' triphosphate (7-méthyl guanosine-triphosphate). Les deux premiers nucléotides de l'ARN sont méthylés sur les hydroxyles en 2' du ribose. La présence du chapeau est indispensable à la traduction ultérieure de l'ARNm.
- La durée de vie des ARNm est brève, car ils sont simplement destinés à être traduits.



c-2) Les ARN ribosomiques (ARNr)

Ils représentent environ 80 % de l'ARN cellulaire. On en connaît plusieurs types qui se distinguent les uns des autres par leurs coefficients de sédimentation en ultracentrifugation. Suivant le type cellulaire, on trouve

chez les eucaryotes :

ARNr	28 s
ARNr	18 s
ARNr	5,8 s
ARNr	5 s

Les ARNr se combinent avec des protéines spécifiques pour former les ribosomes.

c-3) L'ARN de transfert (ARNt)

Il représente environ 15 % de l'ARN cellulaire. La masse des molécules des ARNt est de l'ordre de 20.000 à 30.000 Da. Ils assurent la fixation des acides aminés et leur transfert à l'état activé jusqu'au niveau des ribosomes où s'effectue la synthèse

protéique. Pour chaque acide aminé il existe un ou plusieurs ARNt spécifiques appelés alors ARNt isoaccepteurs. Dans leur structure, les ARNt comprennent des nucléosides rares ou atypiques comme la pseudo-uridine (ψ), l'inosine, la thymine, la 5,6 dihydro-uracile (DHU) et des bases méthylées voire acétylées. Les ARNt ont une structure secondaire en feuille de trèfle comportant cinq grandes régions :

Un bras accepteur : il contient à la fois la séquence 3' terminale et la séquence 5' terminale qui porte le plus souvent un nucléotide terminal à guanine. Ce bras consiste à une tige formée de paires de bases. Cette tige se termine au niveau de l'extrémité 3' par une séquence CCA, et c'est à ce niveau que se fixe l'acide aminé. Il s'établit une liaison ester entre le groupement 3' hydroxyle de la partie adénosyle et le groupement carboxyle de l'acide aminé.

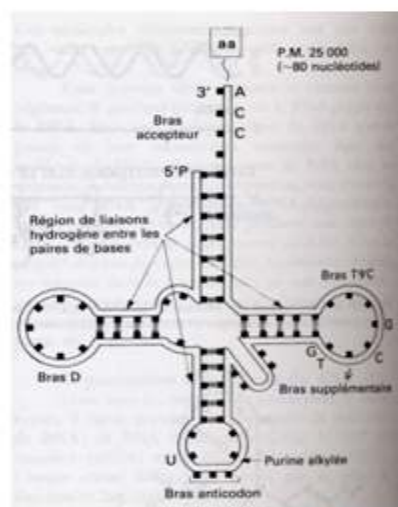
À l'extrémité opposée de la molécule se trouve le bras de l'anticodon prolongé par une boucle. L'anticodon est formé au niveau de la boucle par 3 bases complémentaires de celles du codon porté par l'ARN-m.

Une autre boucle porte 2 résidus de DHU. Elle contient aussi des bases méthylées ou méthoxylées. Cette boucle est le site de reconnaissance de l'enzyme fixatrice et activatrice de l'acide aminé, l'aminoacyl ARNt synthétase.

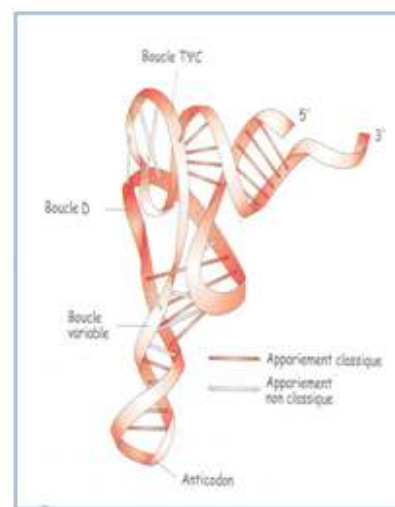
Une boucle contient un nucléotide rare, la pseudo-uridine.

Enfin, il existe chez les eucaryotes un court bras supplémentaire dit bras variable.

Dans l'espace, la molécule de l'ARNt se replie encore grâce à des liaisons hydrogène pour donner une structure plus dense en forme d'un L majuscule inversée.



Structure secondaire du l'ARNt en feuille de trèfle



Structure tertiaire de l'ARNt en L inversée

II- PROPRIÉTÉS ET MÉTHODES D'ÉTUDE

A) PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

1) solubilité

Les ADN et les ARN sont solubles dans des solutions salines diluées. Les solutions salines d'ADN présentent une viscosité très élevée du fait de la rigidité de la molécule et de sa grande longueur par rapport à son diamètre. La dénaturation de l'ADN par la chaleur (passage de la forme native, en double hélice, en une forme déroulée simple brin) diminue la viscosité de la solution d'ADN.

2) Propriétés spectrales et température de fusion

Les ADN et les ARN absorbent dans l'ultraviolet avec un maximum d'absorption à 260 nm. Cela est dû à la présence des structures cycliques des bases puriques et pyrimidiques. Si on chauffe une solution d'ADN natif, on constate qu'au-delà d'une certaine température, il y a augmentation brusque de l'absorption. Ce phénomène est appelé effet hyperchrome. Il est dû au déroulement de la double hélice. Les bases nucléiques deviennent alors plus exposées, d'où une augmentation de l'absorption. L'effet hyperchrome est d'autant plus important que l'ADN contient plus de paires A-T dont l'association est moins forte que celle établie entre les paires G-C.

La température de fusion (t_m) de l'ADN est la température pour laquelle 50 % de la séquence d'ADN est dénaturée.

3) Action des agents dénaturants

En dehors du traitement par la chaleur, il existe d'autres agents responsables de la dénaturation des acides nucléiques. Citons : les pH extrêmes, les radiations ionisantes (rayons cosmiques et radioactifs), l'urée, le chlorure de guanidinium, la formamide, les solvants organiques tels que les alcools et les cétones, les détergents et la force ionique du milieu.

La dénaturation a lieu par rupture des liaisons hydrogène assurant les appariements entre les paires de bases et des liaisons hydrophobes existant entre les plans adjacents des bases superposées. Durant la dénaturation, aucune liaison covalente de la structure primaire n'est rompue.

4) Action des agents mutagènes

Les mutations sont des modifications structurales au niveau des bases, qui se produisent au cours de la réplication de l'ADN. La modification peut être une base modifiée, une base oubliée ou une base supplémentaire insérée. Si la mutation se produit au niveau d'un gène, l'ARNm transcrit à partir de ce gène sera également modifié. La protéine synthétisée sera différente de celle codée par le gène non muté (sauf en cas de mutation silencieuse).

a) Mutagènes physiques :

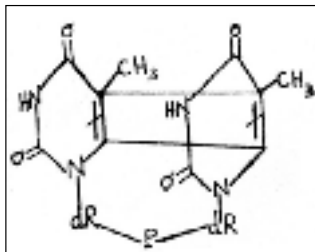
Ce sont par exemple, des radiations ionisantes (rayons X et gamma) ou les rayons ultraviolets.

Les radiations ionisantes entraînent :

- des altérations ou pertes de bases
- des ruptures dans l'un ou les deux brins qui peuvent conduire à des réarrangements, délétions.
- l'enchevêtrement de l'ADN avec lui-même ou avec des protéines.

Il y a une relation entre la dose de rayonnement et le taux de mutations, car l'effet des radiations est cumulatif.

L'énergie des radiations ultraviolettes est absorbée principalement au niveau des pyrimidines de l'ADN (T, C). Il en résulte des phénomènes d'excitation des électrons aboutissant à une modification du type de liaison. Cela peut occasionner la formation de dimères intrachâînes. Le cas le mieux connu est celui des dimères de thymine.



Dimère de thymine



Distorsion locale de l'ADN provoquée par le dimère de thymine

Ainsi, lorsque sur un brin d'ADN, existent deux pyrimidines contiguës (TT ou CT), ces deux bases vont se lier entre elles par des liaisons covalentes sous l'influence des rayons ultraviolets (phénomène de photodimérisation). Au lieu que les 2 thymines adjacentes soient appariées par des liaisons hydrogène aux bases complémentaires (À A) situées sur le brin complémentaire, elles formeront un dimère incapable de s'apparier. Il en résulte une distorsion structurale locale sur le brin de l'ADN qui bloquera la réplication à ce niveau.

Chez l'homme, il existe des « enzymes de réparation » qui sont des enzymes d'excision-resynthèse, capables d'enlever la zone défectueuse comme les dimères de thymine. Ce système repose sur l'action de quatre enzymes :

- Une UV endonucléase coupe le brin lésé à l'extrémité 5' du dimère de thymine.
- L'ADN polymérase I ajoute les désoxyribonucléotides corrects à l'extrémité 3' libre du brin endommagé pour former un court segment d'ADN complémentaire du brin matrice
- Une exonucléase excise le fragment défectueux
- Une ADN ligase relie le fragment d'ADN nouvellement réparé avec le brin matrice.

Cependant, chez des sujets atteints de xérodermie pigmentée (maladie héréditaire rare et très grave de la peau), l'UV endonucléase est défectueuse.

b) Mutagènes chimiques

On en connaît essentiellement trois groupes

- Les produits altérant la structure et l'appariement de bases : Ce sont des agents capables soit
 - de désaminer les bases : l'acide nitreux désamine les bases (exemple C → U et méthylC → T, A → HX)
 - d'alkyler les bases : la nitrosoguanidine, l'éthyl méthylsulfonate, réagissent avec les bases en ajoutant des groupements éthyl ou méthyl. Ceci engendre une modification des bases et elles ne peuvent plus s'apparier avec leurs bases complémentaires.
- Les analogues des bases : Leur structure chimique rappelle les purines et pyrimidines. Ils peuvent être incorporés à l'ADN lors de la réplication. Le bromo-uracile (BU), semblable à T (Br remplace CH₃), s'apparie à A. Il a une forte tendance à se tautomériser en « éno ». Il s'apparie alors à G.
- Les agents intercalant : Acridine, bromure d'éthidium (BET) sont des molécules qui s'intercalent entre 2 paires de bases adjacentes d'ADN, créant ainsi une sorte de mutation par insertion. Il s'ensuit une mutation par décalage du cadre de lecture à l'origine de maladies graves dont certaines formes de cancer. En effet, il existe une relation étroite entre la mutagenèse et la cancérogenèse.

B- MÉTHODES D'ÉTUDE DES ACIDES NUCLÉIQUES : HYDROLYSE ENZYMATIQUE

Les enzymes permettant l'hydrolyse des acides nucléiques sont appelées NUCLÉASES. Elles agissent en rompant les liaisons phosphodiester entre deux nucléotides successifs. On en distingue deux types :

1) Les exonucléases

Elles enlèvent un seul nucléotide de l'une des extrémités de la molécule. Certaines sont spécifiques de l'extrémité 3' d'autres de l'extrémité 5'.

2) Les endonucléases

Elles sont capables de rompre les liaisons phosphodiester à l'intérieur de la molécule, libérant ainsi des fragments d'ADN de différentes tailles.

Les endonucléases de restriction

Ce sont des endonucléases d'origine bactérienne coupant d'une manière spécifique et reproductible l'ADN double brin, quelle que soit son origine. La coupure se fait au niveau d'un endroit particulier reconnu par l'enzyme et appelé site de restriction. Un site de restriction est une séquence de quatre à huit nucléotides (en général 6 nucléotides) répartis en palindrome.

Un palindrome est formé par une séquence identique sur les deux brins de l'ADN quand elle est lue dans le sens 5' → 3'. La coupure s'effectue donc sur les deux brins au même site.

Exemple :

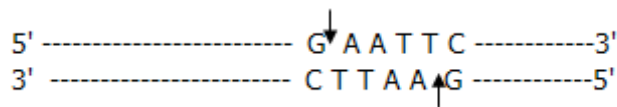
Site Eco R1



Selon le mode d'action, les endonucléases coupent les deux brins d'ADN soit au même niveau, soit de manière décalée.

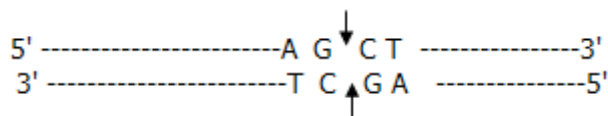
- L'endonucléase qui coupe de manière décalée produit des fragments avec des extrémités adhésives ou bouts cohésifs ou collants.

exemple de l'endonucléase Eco R1



- l'endonucléase qui coupe au même niveau produit des fragments avec des extrémités franches ou bouts francs ou ras.

Exemple de l'endonucléase Alu1



TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la ou les lettre(s) identifiant le ou les complément(s) correspondant(s)

PROPOSITIONS

1-contient 4 atomes d'azote _____

2-contient 1 atome d'azote _____

3-est le précurseur de l'adénine _____

4-est le précurseur de la thymine _____

5-est le précurseur de la cytosine _____

COMPLÉMENTS

A- Noyau purine ☐

B- Noyau pyrimidine ☐

C- Aucun des deux ☐

Q 2. Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu, la ou les lettre(s) correspondant à la ou aux proposition(s) exacte(s)

A- L'adénine est une 2-aminopurine.

B- la guanine est une 6-amino-2-oxypurine

C- la cytosine est une 2-oxy-4-aminopurine

D-l'uracile est la 2-4 dioxypyrimidine

Q 3. Citer les éléments constitutifs d'un nucléoside et la nature de la liaison qui les associe :

-Éléments constitutifs : _____

- Nature de la liaison : _____

Q 4. Citer les éléments constitutifs d'un nucléotide et la nature des liaisons qui les associent :

-Éléments constitutifs : _____

- Nature de la liaison : _____

Q 5. Quelle est la charge nette portée à pH neutre par le tétranucléotide suivant : ApGpUpC

Q 6. Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettres correspondantes à la ou aux propositions EXACTE(S)
Combien y a-t-il de fonctions alcools libres dans une molécule de DNA double brin ?

A- Aucune fonction alcool libre

B- Une seule fonction alcool libre

C- Deux fonctions alcool libre

D- Autant que d'atomes de phosphore

E- Autant que de molécules de pentose.

Q 7. Après hydrolyse totale d'un DNA, on dose les bases puriques. Le rapport molaire (A/G) est de 1,5

A- Quel est le rapport molaire (A/T) ? _____

B- Quel est le rapport molaire (A+T)/(G+C) ? _____

C- Quel est le rapport molaire (A+G)/(T+C) ? _____

D- Lequel ou lesquels de ces rapports est ou sont spécifique(s) de l'espèce : _____

Q 8. Devant chaque proposition identifiée par un chiffre, on notera la ou les lettre(s) identifiant le ou les complément(s) correspondant(s)

PROPOSITIONS

1-Possède une séquence polyA à son extrémité 3' terminale _____

2-Possède un triplet CCA à son extrémité 3' terminale _____

3-Possède une GTP méthylée à son extrémité 5' terminale _____

4-Possède une GMP non méthylée à son extrémité 5' terminale _____

5-Est porteur de codons _____

COMPLÉMENTS

A-ARNm ☐

B-ARNt ☐

Q 9. Indiquer 2 modifications physicochimiques qui accompagnent la dénaturation de l'ADN par la chaleur.

Q 10. Soit 4 ADN ayant les températures moyennes de fusion (T_m) suivantes :

ADN1 : $T_m1 = 50^\circ\text{C}$

ADN2 : $T_m2 = 70^\circ\text{C}$

ADN3 : $T_m3 = 45^\circ\text{C}$

ADN4 : $T_m4 = 58^\circ\text{C}$

A. Définir la T_m .

B. Classer ces quatre molécules d'ADN en fonction de leur contenu croissant en paires de bases G et C

Q 11. Citer deux propriétés physiques importantes du DNA permettant d'avoir des renseignements sur sa composition en bases

1^{ère} propriété _____

2^{ème} propriété _____

Q 12. Quel est le niveau structural du DNA qui est touché par :

un agent dénaturant

un agent mutagène physique

un agent mutagène chimique

Q 13. Quel type de modification obtient-on dans la structure de l'ADN après un traitement par :

La formamide

l'acide nitreux

les rayons UV

Q 14. Il existe chez l'homme une maladie très rare (xérodermie pigmentée) due à une déficience génétique en «enzymes de réparation».

Indiquer le nom et le rôle des enzymes impliqués dans cette réparation

Q 15. Les endonucléases de restriction :

A- peuvent être synthétisées par la cellule eucaryote

B- hydrolysent les liaisons N-glycosidiques de l'ADN

C- peuvent rompre les liaisons phosphodiester aux extrémités de la molécule d'ADN

D- la séquence d'ADN qui constitue leur cible diffère pour chacune d'entre elles

E- peuvent être utilisées pour établir une carte génomique

Q 16. Parmi les séquences hexa-nucléotidiques suivantes, quelle(s) est (sont) (celle(s) qui présente(nt) une symétrie inversée (ou palindrome) :

GTATAC, CAATTG, GTAATC, GAATTC

LES ENZYMES

Les objectifs éducationnels

1. Indiquer le rôle des enzymes dans le déroulement d'une réaction biochimique.
2. Préciser la notion de site actif, proenzyme, hétéroenzyme, isoenzyme et enzyme allostérique.
3. Définir les notions de : vitesse initiale, vitesse maximale, constante de Michaelis, unité d'enzyme, activité spécifique et efficacité catalytique.
4. Déterminer graphiquement la valeur des constantes cinétiques d'un couple enzyme substrat.
5. Indiquer les différents agents susceptibles de modifier la vitesse d'une réaction enzymatique de type Michaelien et allostérique.
- 6- Indiquer l'intérêt clinique du dosage des isoenzymes.
- 7- Indiquer les différents modes d'activation des enzymes Michaeliennes.
- 8- Connaître des exemples d'inhibiteurs irréversibles en précisant leur mode d'action.
- 9- Citer des exemples d'applications thérapeutiques des inhibiteurs compétitifs
- 10- Connaître des exemples d'inhibiteurs non compétitifs en précisant leur mode d'action.
- 11- Définir dans le cas des enzymes allostériques les notions suivantes : activateurs, inhibiteurs et rétro-inhibition.

PLAN

I- DEFINITION-PROPRIETES-CLASSIFICATION

II- MÉCANISME D'ACTION SITE ACTIF

III- PROPRIÉTÉS STRUCTURALES DES ENZYMES

A- Enzymes à structure tertiaire : holo et hétéroenzymes

B-Enzymes à structure quaternaire : enzymes allostériques et isoenzymes

IV- CINÉTIQUE ENZYMATIQUE

A-Cinétique MICHAELIENNE

1- Vitesse initiale

2- Constante de Michaelis

3- Courbe de Michaelis

4- Courbe de Lineweaver et Burk

5- Intérêt des constantes cinétiques

B-Cinétique ALLOSTÉRIQUE

V- LES MODULATEURS DE LA RÉACTION ENZYMATIQUE

A- La température

B- Le pH

C- Les effecteurs des enzymes Michaeliennes

-Activateurs

-Inhibiteurs

D- Les effecteurs allostériques

VI- ENZYMES EN CLINIQUE

I-DEFINITION- PROPRIETES –CLASSIFICATION

Les enzymes sont des catalyseurs généralement de nature protéique, bien qu'on ait découvert quelques ARN à activité catalytique (ribozymes). Elles sont produites par les cellules et agissent aussi bien in vivo qu'in vitro. Les enzymes catalysent dans les conditions biologiques des réactions chimiques nécessaires à la croissance et à la survie des organismes vivants. L'ensemble de ces réactions enzymatiques constitue le métabolisme cellulaire.

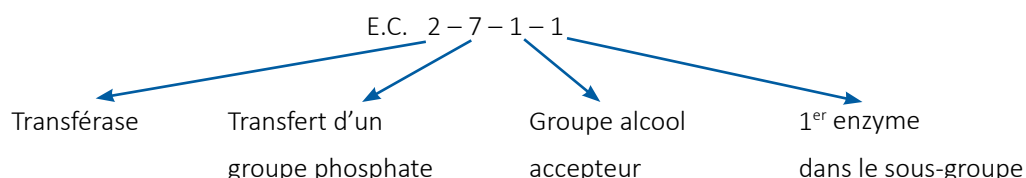
Les enzymes ont pour rôle d'augmenter la vitesse des réactions qu'elles catalysent sans modifier la constante d'équilibre, en diminuant l'énergie d'activation (voir plus loin). Elles agissent à des doses très faibles et se retrouvent intactes à la fin de la réaction. Elles sont plus spécifiques en transformant un substrat bien approprié grâce à une réaction donnée (spécificité d'action). Elles sont également régulables, car elles peuvent modifier leur activité catalytique en réponse à des signaux métaboliques (produit final d'une chaîne métabolique, hormones...). Ceci permet l'ajustement de l'offre métabolique à la demande cellulaire.

Les enzymes ont une double spécificité : une spécificité de substrat et une spécificité de réaction (l'enzyme ne catalyse qu'un seul type de réaction : décarboxylases, transaminases...). Ceci est à la base de leur classification. Un système international permet de distinguer 6 classes d'enzymes :

- 1- Oxydoréductase : Elles interviennent dans le transfert de protons et/ou d'électrons
- 2- Transférases : Elles transfèrent un groupement fonctionnel d'une molécule à une autre (amino transférase, phototransférase) sur un accepteur
- 3- Hydrolases : Elles coupent différentes liaisons grâce à l'apport d'eau (phosphatases, glycosidases, estérases, protéases, peptidases). Elles fixent de l'eau sur une liaison spécifique d'un substrat qui est scindée
- 4- Lyases ou synthases : enlèvement d'un groupement fonctionnel ou scission avec création d'une double liaison sur le substrat
Les synthases (ou lyases) forment (ou coupent) des liaisons (C-C, C-O, C-N, C-S) sans nécessiter d'apport d'énergie.
Addition d'un groupe sur une double liaison (synthases) ou formation de double liaison (lyases)
- 5- Isomérases : transfert d'un groupement au sein d'une molécule (Isomérisation, racémisation, épimérisation, conversion cis trans).
- 6- Ligases ou synthétases : elles catalysent des R° de synthèse en présence d'ATP ou de GTP. Elles interviennent dans la formation de diverses liaisons (C-C, C-O, C-N, C-S)

Chaque enzyme est désignée dans ce système par 4 nombres précédés des 2 lettres E.C (enzymes commission).

Exemple : ATP : D – hexose 6 phospho transférase ou hexokinase



II- MÉCANISME D'ACTION SITE ACTIF

L'organisation tridimensionnelle (structure tertiaire) de la protéine enzymatique est à la base de son activité et de ses propriétés. Le déroulement de la chaîne peptidique, par dénaturation, provoque l'inactivation de l'enzyme par disparition d'une zone interne hydrophobe où se trouve localisé le site actif. Ce dernier comprend un site d'affinité où se fixe(nt) le (ou les) substrat(s) et un site catalytique où a lieu la réaction. Le site d'affinité doit posséder une conformation stérique complémentaire de celle du substrat ce qui permet à celui-ci d'être fixé de manière spécifique.

En général, au sein du site actif, la catalyse est due à :

- Une fixation spécifique du substrat au niveau du site d'affinité (complémentarité stérique)
- Une fixation orientée du substrat au niveau du site d'affinité.
- Une diminution de l'énergie d'activation de la réaction (énergie nécessaire pour que la réaction se déroule) suite à la formation d'un état de transition du complexe ES (site catalytique)



Fixation du substrat au niveau du site actif

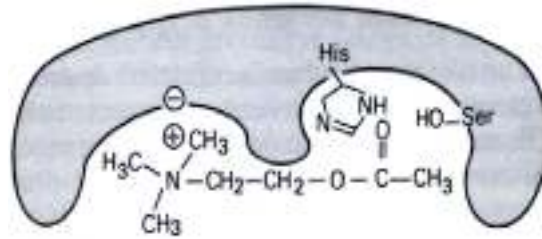
III- PROPRIÉTÉS STRUCTURALES DES ENZYMES

On distingue 2 groupes d'enzymes :

A- ENZYMES À STRUCTURE TERTIAIRE

Elles sont formées d'une seule chaîne repliée et sont représentées par les holoenzymes et les hétéroenzymes.

Les holoenzymes : Dans le cas des holoenzymes, qui sont essentiellement des enzymes lytiques (hydrolases), le site actif est constitué d'acides aminés dits acides aminés de contact au niveau desquels il y a fixation du substrat et déroulement de la réaction.



Site actif Site catalytique d'une holoenzyme : la cholinestérase

Généralement les holoenzymes sont synthétisées et sécrétées sous forme inactive appelée proenzymes. Pour devenir actives, les proenzymes doivent subir, hors du milieu cellulaire, une protéolyse limitée. Celle-ci entraîne un réarrangement de la conformation moléculaire aboutissant à la formation du site actif (initialement masqué ou absent dans la forme native). C'est le cas notamment de certaines protéases intervenant dans la digestion comme l'entérokinase qui active le trypsinogène en trypsine.

Les enzymes digestifs sont des holoenzymes qui sont synthétisés, stockés et sécrétés sous forme de précurseurs inactifs ou zymogènes afin de protéger l'organisme contre l'autodigestion. Ils ne sont activés qu'une fois dans la lumière intestinale suite à une protéolyse limitée. Celle-ci entraîne un réarrangement de la conformation moléculaire aboutissant à la formation du site actif (initialement masqué ou absent dans la forme native). C'est le cas par exemple de la trypsine dont la forme inactive est le trypsinogène, l'activation se faisant par l'entérokinase.

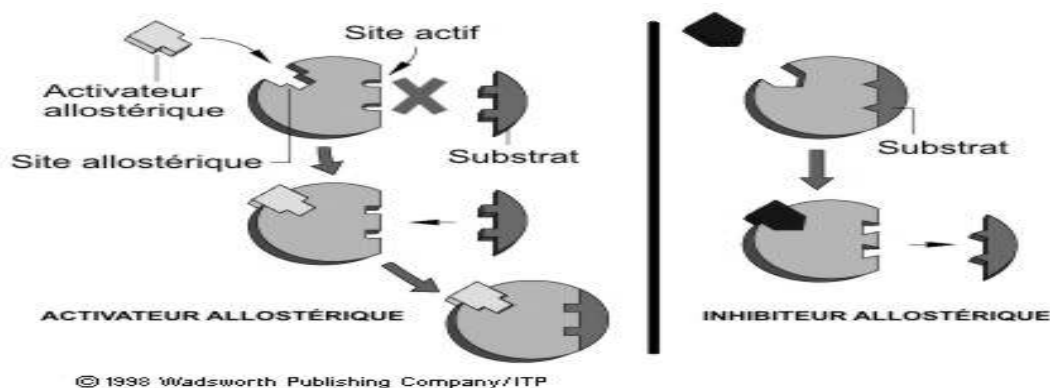
Les hétéroenzymes : Dans le cas des hétéroenzymes, le site d'affinité est localisé au niveau de l'apoenzyme (partie protéique) et le site catalytique est représenté par une partie non protéique appelée coenzyme.

B- ENZYMES À STRUCTURE QUATERNAIRE

Deux catégories d'enzymes possèdent une structure quaternaire : les enzymes allostériques et les isoenzymes

Les enzymes allostériques

Une enzyme allostérique est une enzyme clé d'une chaîne métabolique dont l'activité est régulée par la concentration dans le milieu, d'un effecteur (produit de la réaction ou produit final de la chaîne métabolique). L'enzyme allostérique a 2 sites différents : un site actif fixant le substrat et un site allostérique reconnaissant la molécule de l'effecteur qui peut être soit un activateur soit un inhibiteur. Ces 2 sites peuvent être portés par un même monomère ou 2 monomères différents. Les enzymes allostériques possèdent 2 conformations isomères R et T. La forme R (relax ou relâchée) correspond à la forme active de l'enzyme. Elle a une grande affinité pour le substrat S et pour l'activateur A. La forme T (tendue ou compacte) a une activité limitée et présente peu d'affinité pour S et une grande affinité pour l'inhibiteur. C'est l'augmentation de la concentration de S qui favorise la conformation R alors que la conformation T est favorisée par l'augmentation de la concentration de I.



Les isoenzymes

On appelle ou isoenzymes des enzymes qui ont les mêmes propriétés catalytiques (même site actif), mais qui diffèrent par leurs propriétés physicochimiques et cinétiques (structures primaires différentes). Les isoenzymes peuvent différer d'un tissu à l'autre d'où leur intérêt en enzymologie clinique comme marqueur de lésions tissulaires. Exemple : La créatine kinase est une enzyme dimérique qui présente 3 isoenzymes : CK-MM (muscle), CK-MB : Myocarde, CK-BB (cerveau). Dans l'infarctus du myocarde la créatine Kinase (CK) totale sérique et son isoenzyme CK-MB sont élevées ; Dans les myopathies la CK totale sérique et son isoenzyme CK-MM sont élevées. En cas de lésions cérébrales, la CK totale sérique et son isoenzyme CK BB sont élevées.

A-CINÉTIQUE MICHAELIENNE

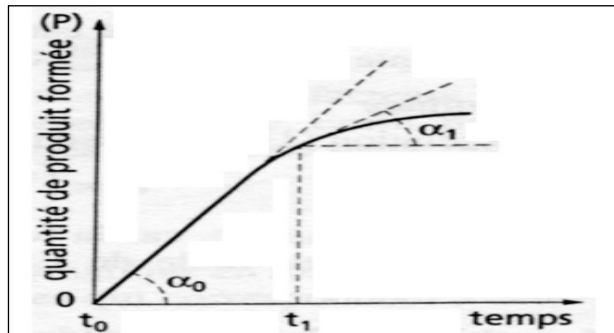
1- Vitesse initiale

Soit la réaction : $S \longrightarrow P$ catalysée par une enzyme (E).

La vitesse de réaction est la quantité de S disparue par unité de temps ou la quantité de P apparue par unité de temps. Elle est proportionnelle à la concentration de S.

$$V = k [S]$$

Si on mesure la quantité de P formée en fonction du temps pour des concentrations de [E] et de [S] données, on obtient la courbe suivante



Détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique et de sa vitesse à l'instant t.

La courbe $P = f(t)$ est :

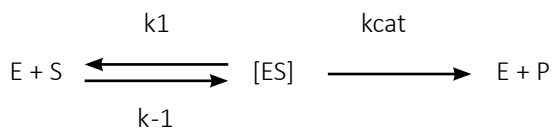
- d'abord linéaire ascendante : l'enzyme est saturée par son substrat, la vitesse est constante ; c'est la période d'état stationnaire
- puis s'infléchit : l'enzyme n'est plus saturée par son substrat, la vitesse décroît.
- et enfin, devient horizontale : l'équilibre de la réaction est atteint et la vitesse est nulle.

À l'instant t, $V = \text{tgte } \alpha$.

À l'instant t_0 : $V_i = \text{tgte } \alpha_0$ (vitesse initiale).

2- Constante de Michaelis

L'ensemble du processus enzymatique peut être expliqué par la formation du complexe ES qui donne le produit P :



k_1 = constante d'association, $k-1$ = constante de dissociation et k_{cat} = constante catalytique.

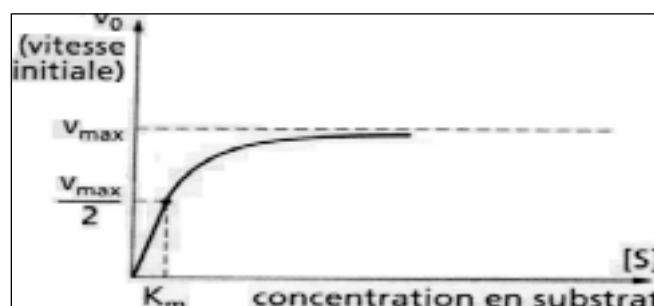
On définit la constante de Michaelis K_m comme la constante de dissociation de ES.

$$K_m = k-1 + k_{cat} / k_1$$

3- Courbe de Michaelis

Si on utilise une concentration donnée en enzyme et des [S] croissantes, on obtient la courbe de Michaelis $V_i = f(S)$ (branche d'hyperbole) qui répond à l'équation :

$$V_i = V_{max} \cdot [S] / K_m + [S]$$



Variation de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat, celle de l'enzyme étant constante.

Ainsi on détermine expérimentalement les 2 constantes cinétiques K_m et V_{max} .

- V_{max} : Lorsque la $[S]$ est très élevée, la V_i sera égale à V_{max} . Ceci est réalisé lorsque tous les sites enzymatiques sont saturés en S.
- K_m est égale à la concentration du substrat lorsque $V_i = V_{max} / 2$. Elle s'exprime comme le substrat en M.

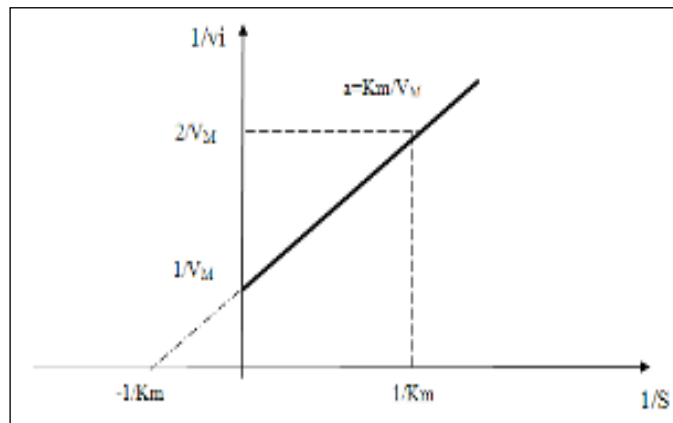
On définit l'*unité enzymatique* UE comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une micromole de S par min dans des conditions déterminées (température, pH, force ionique). Elle s'exprime en unité international (UI).

On appelle *activité spécifique* AS le nombre d'UE par mg de protéine d'une préparation enzymatique. C'est un critère de pureté d'une enzyme. Si l'enzyme est pure, l'activité spécifique n'augmente plus.

4- Courbe de Lineweaver-Burk

Si on représente $1/V_i$ en fonction de $1/S$ on obtient la courbe de Lineweaver et BurK qui est une droite répondant à l'équation ci-dessous :

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_M} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_M}$$



Représentation de Lineweaver et Burk

L'avantage de cette représentation c'est qu'elle permet d'obtenir les 2 constantes V_{max} et K_m à partir des 2 points d'intersection de la droite respectivement avec l'axe des ordonnées et l'axe des abscisses.

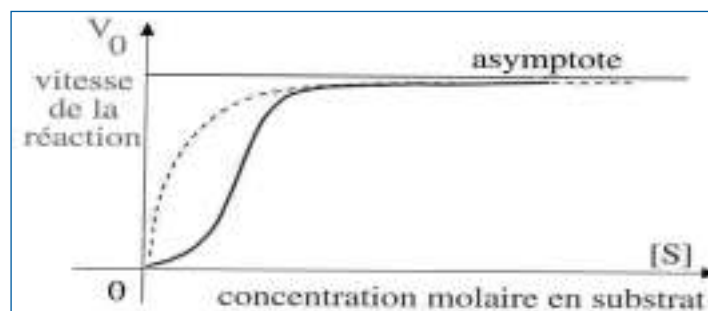
5- Intérêt des constantes cinétiques

Elles fournissent les indices quantitatifs qui nous permettent de caractériser chaque enzyme.

- V_M renseigne sur l'activité de l'enzyme
- K_M est inversement proportionnel à l'affinité pour le substrat.
- K_{cat} / K_m mesure l'efficacité catalytique

B- CINÉTIQUE ALLOSTÉRIQUE

Les enzymes allostériques ne répondent pas aux cinétiques classiques de Michaelis-Menten, mais à une courbe sigmoïde.



Cette courbe s'explique par le fait que la fixation du S sur l'E augmente l'affinité de l'E pour le S. C'est l'effet coopératif (les sous-unités s'influencent les unes les autres). Cet effet coopératif est un phénomène homotrope positif (homotrope : effet d'un ligand sur sa propre fixation).

La courbe en pointillés est obtenue en présence d'une concentration élevée en A.

V- LES MODULATEURS DE LA RÉACTION ENZYMATIQUE

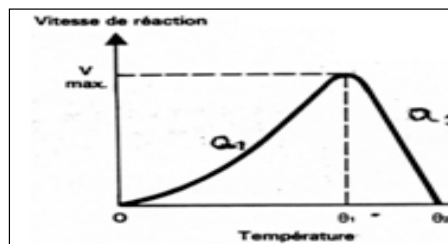
L'activité enzymatique peut être modifiée par des agents physiques (température, pH) et par des agents chimiques (effecteurs) qui peuvent être soit des activateurs soit des inhibiteurs.

A- EFFETS DE LA TEMPÉRATURE

Elle a 2 effets sur la réaction enzymatique :

- elle l'accélère en fournissant l'énergie nécessaire au franchissement du seuil dû à l'énergie d'activation (phase ascendante de la courbe)
- Si la température augmente, l'énergie cinétique des molécules réactives augmente et le nombre de collisions entre les molécules s'élève (phase ascendante de la courbe). L'activité enzymatique croît donc avec la température jusqu'à un certain point au-delà duquel les enzymes étant de nature protéique sont dénaturées. phase descendante de la courbe).
- elle entraîne progressivement la dénaturation de l'enzyme (destruction des structures II et III) donc son inactivation.

La résultante de ces 2 effets se traduit par la courbe ci-dessous qui passe par une valeur max dite température optimale.



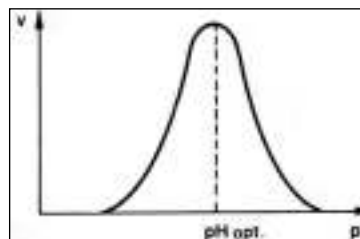
Variation de la vitesse d'une réaction enzymatique en fonction de la température

B- EFFETS DU PH

Il a 3 effets sur la réaction enzymatique :

- il dénature la protéine enzymatique en modifiant l'état d'ionisation des chaînes latérales des acides aminés (en particulier celles du site actif).
- Il modifie le degré d'ionisation du substrat.
- Il modifie l'état d'ionisation des chaînes latérales des acides aminés impliquées dans la liaison Apoenzyme –Coenzyme (cas des hétéroenzymes).

Cet effet se traduit par la courbe ci-dessous qui passe par une valeur maximale pour un pH dit optimal.



Variation de la vitesse d'une réaction enzymatique en fonction du pH

C- LES EFFECTEURS DES ENZYMES TERTIAIRES

1-Les activateurs

a- Les ions métalliques

Ils peuvent :

- favoriser une bonne conformation de l'enzyme en s'associant à l'Apoenzyme.
- favoriser une fixation convenable du substrat sur l'enzyme en se complexant au substrat.
- participer directement à la réaction catalytique.

b- Les enzymes protéolytiques

Elles clivent une ou plusieurs liaisons peptidiques dans une proenzyme. Ceci permet de démasquer le site actif et d'activer l'enzyme.

c- Les kinases et les phosphatases

Certaines enzymes coexistent sous 2 formes interconvertibles : l'une phosphorylée, l'autre non phosphorylée. Pour une enzyme donnée, l'une sera active, l'autre inactive (voir métabolisme du glycogène thème 2 b).

d- Les agents protecteurs du site actif.

Certains composés (glutathion, Vit C) protègent de l'oxydation le groupement thiol des résidus de Cys réactifs au niveau du site actif de certaines enzymes.

2-Les inhibiteurs

Il existe deux principaux types d'inhibiteurs enzymatiques. Les inhibiteurs irréversibles et les inhibiteurs réversibles.

a- Les inhibiteurs irréversibles.

Ils se lient de manière covalente à un groupement fonctionnel indispensable à l'activité catalytique. Exemples :

- Le di-isopropylfluorophosphate (DFP) inhibe certaines protéases comme l'acétylcholinestérase en se fixant sur l'hydroxyle d'un résidu sérine de leur site actif d'où son utilisation comme gaz neurotoxique dans le cas de l'acétylcholinestérase.
- L'acide acétylsalicylique inhibe irréversiblement la cyclooxygénase par acétylation d'un résidu sérine de son site actif. Celle-ci initie la synthèse des prostaglandines, médiateurs chimiques impliqués dans l'inflammation, la douleur et la fièvre.

b- Les inhibiteurs réversibles

Ils se fixent de manière non covalente à l'enzyme. On distingue :

- les inhibiteurs compétitifs
- les inhibiteurs non compétitifs

b1-Les inhibiteurs compétitifs

Ce sont des analogues structuraux du substrat. Ils se fixent au niveau du site actif à la place de celui-ci. Ainsi ils diminuent l'affinité de l'enzyme pour le substrat en augmentant la K_m . Ils ne modifient pas la V_{max} puisque ces inhibiteurs peuvent être déplacés du complexe ES par un excès de substrat.

Exemples :

- les sulfamides (médicaments antibactériens) sont des analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque (PABA). Celui-ci est un constituant de l'acide folique qui est un facteur de croissance pour de nombreuses bactéries.



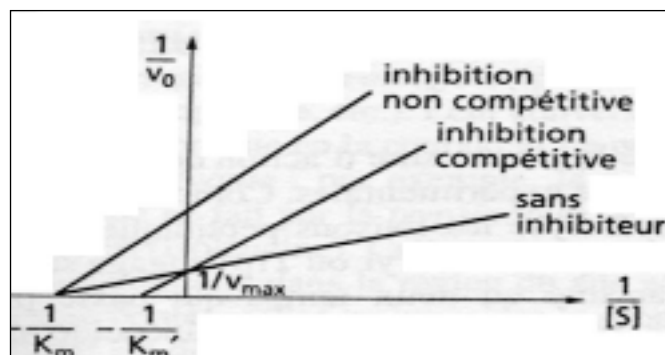
- Le méthotrexate inhibe de manière compétitive la dihydrofolate réductase : enzyme qui réduit le DHF en THF. Le THF sous sa forme méthylée (méthylène THF) participe à la biosynthèse du dTMP à partir du dUMP d'où l'inhibition de la réplication de l'ADN. C'est ainsi que le méthotrexate est utilisé comme anti métabolite en chimiothérapie anticancéreuse.

b2- Les inhibiteurs non compétitifs

Ils ne sont pas analogues structuraux du substrat. Ils se fixent en un site différent du site actif, à la fois sur l'enzyme et sur le complexe ES. C'est ainsi qu'ils ne diminuent pas l'affinité de l'enzyme pour le S mais diminuent la V_{max} . Tout se passe comme si la $[Et]$ était diminuée.

Exemples : -CN, CO, SH₂. Ces agents complexent le fer et le cuivre des systèmes enzymatiques respiratoires (cytochrome-oxydase).

- Le fluorure de sodium. Il se combine aux cations divalents. C'est ainsi qu'il inhibe les enzymes à Mg⁺⁺(kinases), les enzymes à Mn⁺⁺ (énolase). Il est utilisé comme antiglycolytique en vue d'un dosage différé de la glycémie.



Représentation de Lineweaver-Burk.

Différence entre inhibitions compétitive et non compétitive.

D- LES EFFECTEURS ALLOSTÉRIQUES

La plupart des enzymes-clés du métabolisme sont des enzymes allostériques. Leur activité est soumise à l'effet des variations de concentration d'effecteurs permettant un ajustement étroit aux besoins de la cellule. Un activateur allostérique favorise la conformation R. L'affinité de l'enzyme pour le S se trouve ainsi augmentée. L'activation allostérique est un phénomène hétérotrope positif. À des concentrations très élevées en activateur, l'enzyme ne se trouve que sous la forme R et l'effet coopératif est aboli : la cinétique devient Michaelienne. Un inhibiteur allostérique favorise la conformation T. L'affinité de l'enzyme pour le S se trouve ainsi diminuée. L'inhibition allostérique est un phénomène hétérotrope négatif.

Exemple 1 : l'hexokinase musculaire qui catalyse la 1^{ère} réaction lors de l'utilisation du glucose par les cellules musculaires ($G + ATP \Rightarrow G6P + ADP$). Elle est inhibée allostériquement par le G6P.

Cas particuliers : la rétroinhibition. Un métabolite final d'une chaîne métabolique devient à forte concentration un inhibiteur allostérique de la 1^{ère} enzyme de cette chaîne. Ce phénomène est appelé rétro-inhibition. Il permet de répondre juste aux besoins de la cellule sans qu'il y ait un gaspillage.



Exemple 2 : L'aspartate transcarbamylase qui catalyse la formation du carbamyl aspartate à partir de l'Asp et du carbamyl P est rétroinhibée par le CTP, produit final de la chaîne métabolique et activée par l'ATP, substrat de la première réaction de cette chaîne (voir métabolisme des nucléotides, thème 2 b). Il s'agit de la rétroinhibition.

VI- ENZYMOLOGIE CLINIQUE

Le dosage des enzymes dans le sérum est utilisé de manière courante comme une aide au diagnostic. L'activité de certaines enzymes est en effet augmentée dans diverses situations pathologiques suite aux dommages cellulaires (par exemple au cours du cancer de la prostate, on observe une hyperproduction d'une phosphatase agissant en milieu acide qui passe dans le sang et dont la détermination d'activité permet de confirmer le diagnostic).

Les enzymes jouent également un rôle en thérapeutique. On peut utiliser des inhibiteurs d'enzymes comme médicaments (exemple : traitement de la goutte par l'allopurinol qui est un inhibiteur de la xanthine oxydase).

D'un autre côté il existe diverses maladies liées à l'altération ou à l'absence d'un enzyme. La thérapie génique est actuellement en perspective. Elle consiste à introduire dans les cellules de l'organisme du patient, le gène sain qui permettrait la synthèse d'un enzyme normal.

TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondante à la ou aux proposition(s) exacte(s) :
Une enzyme peut être définie comme :

- A- une protéine globulaire
- B- un catalyseur spécifique
- C- un biocatalyseur non obligatoire
- D- un catalyseur sans action en dehors des cellules
- E- une substance consommée au cours de la réaction
- F- une substance agissant à très faible concentration

Q 2. a-Définir les notions :

Proenzyme : _____

Isoenzyme: _____

Enzyme allostérique : _____

b- Donner un exemple dans chaque cas.

Q 3. Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondante à la ou aux propositions exacte(s)
La VM :

- A- représente v_i à demi-saturation des sites enzymatiques
- B- définit l'affinité de l'enzyme pour S
- C- permet de déterminer AMS d'une enzyme
- D- renseigne sur l'activité catalytique des enzymes
- E- est proportionnelle à la [E] en présence d'un excès de S

Q 4. Vous inscrirez dans l'espace réponse prévu la ou les lettre(s) correspondante à la ou aux propositions exacte(s)
La K_m :

- A- est proportionnelle à l'affinité de l'enzyme
- B- représente la [S] permettant la saturation des sites enzymatiques
- C- peut être déterminée à partir des constantes de vitesses de la réaction enzymatique
- D- peut être déterminée graphiquement selon la représentation de lineweaver et Burk
- E- renseigne avec K_{cat} sur l'efficacité catalytique

Q 5. On obtient les résultats suivants pour une cinétique enzymatique de type michaelien :

$$v_i = 2 \text{ mM/mn} \quad \text{pour } [S]=5M$$
$$k_{-1} = 5 \cdot 10^3, \quad k_{-1} = 2,5 \cdot 10^2 \text{ et } k_{cat} = 1,25 \cdot 10^2$$

a-calculer :

K_M : _____

VM: _____

b-calculer AMS en sachant que la quantité d'enzyme utilisée est de 16,24 micromoles/L

AMS: _____

C-Calculer l'AS sachant que la concentration protéique de la préparation enzymatique est de 5 mg/L

Q 6. Soient 2 inhibiteurs I1 et I2 d'une enzyme Michäelienne ayant le mode d'action suivant :

- I1 et S ne se fixent jamais ensemble sur E
- I2 se fixe sur E en présence et en absence de S

a- De quel type d'inhibiteur s'agit-il ?

b- Quel est l'effet de chaque inhibiteur sur les constantes cinétiques de cette enzyme ?

Q 7. Citer 2 applications thérapeutiques basées sur l'inhibition compétitive

Q 8. Citer 2 inhibiteurs irréversibles en précisant leur mode d'action

Q 9. Donner 2 exemples d'inhibiteurs non compétitifs

Q 10. Concernant les enzymes allostériques, définir les termes suivants :

- effet homotrope : _____
- effet hétérotrope positif : _____
- effet hétérotrope négatif : _____
- rétroinhibition : _____

LES COENZYMES

Les objectifs éducationnels

1. Définir le terme de coenzyme en dégagant les particularités structurales et fonctionnelles de ces composés.
2. Citer les différents coenzymes d'oxydoréduction cellulaires.
3. Connaître la partie réactive des coenzymes nicotiniques et flaviniques.
4. Citer les principales réactions d'oxydoréduction impliquant les coenzymes nicotiniques et flaviniques en précisant le mode de régénération du coenzyme.
5. Connaître les principaux coenzymes de transfert de groupements et leurs différents modes d'action.

PLAN

I- DEFINITION ET CLASSIFICATION

II- COENZYMES D'OXYDO-REDUCTION

- A- Coenzymes nicotiniques
- B- Coenzymes flaviniques
- C- Coenzymes héminiques
- D- Coenzymes quinoniques
- E- Glutathion

III- COENZYMES DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS DIVERS

- A- S-Adénosylméthionine
- B- Tétrahydrofolate
- C- Cobamides coenzymes
- D- Phosphoadénosylphosphosulfate
- E- Thiamine pyrophosphate, Acide lipoïque, Coenzyme A
- F- Coenzyme de carboxylation
- G- Dérivés de la vitamine K
- H- Phosphate de pyridoxal
- I- Coenzymes nucléotidiques

I- DEFINITION ET CLASSIFICATION

Les coenzymes sont des substances organiques de nature le plus souvent non protéique indispensable à de nombreuses enzymes. L'ensemble apoenzyme + coenzyme constitue l'enzyme entière. Ils sont le plus souvent d'origine vitaminique. La plupart de coenzymes possèdent un ou plusieurs noyaux cycliques ou hétérocycliques. Le coenzyme est thermostable et de faible poids moléculaire. Il intervient dans l'activité catalytique de l'enzyme. L'apoenzyme de nature protéique est thermolabile. Il est responsable de la spécificité de la réaction enzymatique. On distingue les coenzymes cosubstrats (faiblement unis à l'apoenzyme par des liaisons non covalentes) et les coenzymes groupements prosthétiques (liés à l'apoenzyme de façon covalente). On classe les coenzymes en coenzymes d'oxydoréduction (transfert d'électron e^- , atome d'hydrogène H ou ion hydruide H^-) et coenzymes de transfert de groupement d'atomes (transfert de groupements monocarbonés ou pluricarbonés ou autres).

II- COENZYMES D'OXYDO-REDUCTION

A-COENZYMES NICOTINIQUES

1. Structure

Ils sont hydrosolubles et dérivent de la vitamine B3 ou nicotinamide dont la carence provoque la pellagre (démence,

dermatite, diarrhée). Ils ont une structure « dinucléotidique ». Il s'agit du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP). Les formes oxydées du NAD et du NADP dans la cellule portent une charge positive au niveau de l'azote du noyau nicotinamide \Rightarrow NAD^+ et NADP^+ , leurs formes réduites ne sont pas chargées au niveau de cet azote.

2. Mécanisme d'action

Les coenzymes nicotiniques sont des cosubstrats de réaction d'oxydoréduction : ils fixent réversiblement un ion hydrure ($\text{H}^+ + 2\text{e}^-$). Leur partie active est le noyau nicotinamide.

Le NAD intervient dans la cellule sous sa forme oxydée : NAD^+ . C'est ainsi qu'il est le coenzyme de nombreuses déshydrogénases (DH).



La forme prédominante dans la cellule du NADP est la forme réduite : NADPH , H^+ . Il est le coenzyme des réductases.



3. Exemples d'enzymes à coenzymes nicotiniques

- 3 phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase (3 PGA DH)



- Glutathion réductase



4. Régénération

Le NADH obtenu sera régénéré en NAD^+ de deux façons :

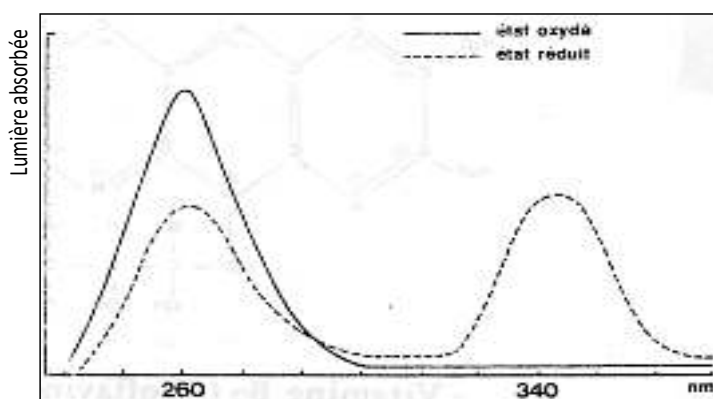
- En aérobiose : grâce aux enzymes de la chaîne respiratoire (voir thème IIb)
- En anaérobiose : grâce à une réaction de fermentation qui utilise comme substrat accepteur l'acide pyruvique.



Le NADPH est régénéré dans la cellule au cours d'une voie particulière de la dégradation du glucose appelée voie des pentoses phosphates (VPP) (voir thème IIb).

5. Propriétés spectrales des coenzymes nicotiniques

Les formes oxydées et réduites de ces coenzymes possèdent un maximum d'absorption à 260 nm. La forme réduite a une propriété importante. À la différence de la forme oxydée, elle absorbe en plus la lumière UV à 340 nm. Cette différence d'absorption est utilisée en pratique courante dans le dosage de l'activité des enzymes impliquant ces coenzymes.



Spectres d'absorption du NAD^+ (trait plein) et du $\text{NADH} + \text{H}^+$ (trait pointillé)

B-COENZYMES FLAVINIQUES

1. Structure

Ce sont des CoE hydrosolubles de type groupement prosthétique. Ils dérivent de la vitamine B2 ou riboflavine dont la carence provoque différents troubles (troubles des muqueuses, atrophie rétinienne, cataracte, troubles nerveux, stéatose hépatique). Il s'agit du flavine mononucléotide (FMN) et de la flavine adénine dinucléotide (FAD). Le FMN est un nucléotide irrégulier où la base est remplacée par la flavine et le pentose par le ribitol. Le FAD est formé de l'adénosine monophosphate (AMP) et du FMN.

2. Mécanisme d'action

Ces 2 coenzymes ayant la même partie active ont le même mécanisme d'action.

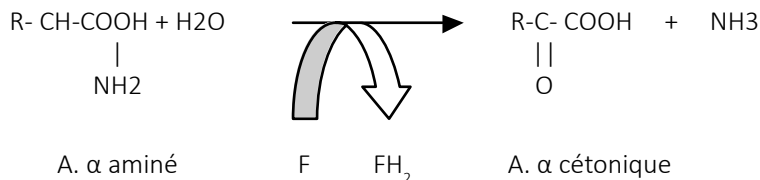
La fixation de deux atomes d'hydrogène s'effectue au niveau des azotes N1 et N10 de la partie vitaminique selon la réaction :



3. Exemples d'enzymes à coenzymes flaviniques

• Aminoacides – oxydases (AAO)

Elles catalysent la désamination oxydative des acides α aminés pour former des acides α cétoniques et de l'ammoniac.



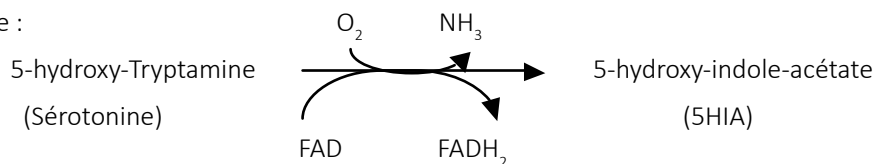
F = FMN pour la (L-AA-oxydase) trouvée dans le rein.

F = FAD pour la (D-AA-oxydase) trouvée dans le rein et le foie.

• Monoamines-oxydases (MAO)

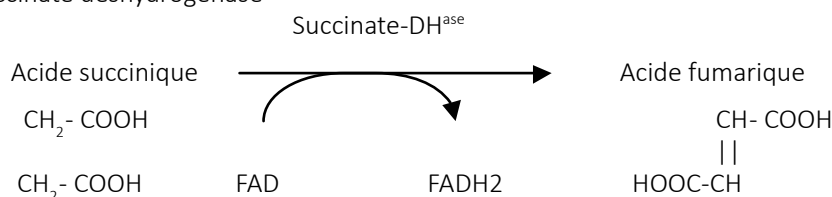
Elles catalysent la désamination oxydative des amines biogènes.

Exemple :



L'inhibiteur de cette MAO (IMAO) est utilisé en thérapeutique neurologique comme antidépresseur (la sérotonine étant diminuée au cours des dépressions).

• Succinate déshydrogénase



4. Régénération

Les coenzymes flaviniques des oxydases sont auto-oxydables. Ils sont régénérés en transférant l'hydrogène directement à l'oxygène moléculaire sans l'intermédiaire de la chaîne respiratoire. Il y a formation d'eau oxygénée (composé toxique) qui sera décomposée par la catalase en oxygène et eau.



La régénération du FAD des déshydrogénases se fait par transfert des protons et des électrons à l'oxygène moléculaire par l'intermédiaire de la chaîne respiratoire.

NB : On ne connaît pas de DH à FMN

C-COENZYMES HEMINIQUES

1. Structure

Ces coenzymes sont constitués d'un noyau porphyrinique substitué dont le centre renferme un atome de fer.

2. Mécanisme d'action

C'est le fer disposé au centre du groupement prosthétique qui fixe l'électron passant de l'état ferrique (Fe³⁺) à l'état ferreux (Fe²⁺).

3. Exemple d'enzymes à coenzyme héminique

Les cytochromes de la chaîne respiratoire :



4. Régénération

Le fer retourne à l'état ferrique en cédant l'électron au cytochrome suivant :



D- COENZYMES QUINONIQUES

1. Structure

Ce sont des coenzymes liposolubles. Le plus important et le plus répandu est le coenzyme Q10 ou ubiquinone (Q). Toutes les cellules peuvent le synthétiser à partir de la tyrosine. Le coenzyme Q10 est formé d'un noyau quinone portant une chaîne latérale polyisoprénique.

2. Mécanisme d'action

Le coenzyme Q fixe réversiblement deux atomes d'hydrogène au niveau du noyau quinone selon la réaction :



Les coenzymes quinoniques participent au transfert de protons et d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire.

E- LE GLUTATHION

1. Structure

C'est un coenzyme hydrosoluble de type cosubstrat. C'est un tripeptide irrégulier : c'est le γ Glutamyl-cystéinyl-glycocolle. Le groupement actif de ce peptide est le thiol SH.

2. Mécanisme d'action

Deux molécules de glutathion réduit (2 G-SH) s'associent par oxydation et forment un pont dissulfure :



3. Exemple d'enzyme à glutathion

Le glutathion réduit protège les globules rouges des dommages causés par des molécules oxydantes grâce à la glutathion peroxydase (GPX) selon la R° :



4. Régénération

Le glutathion réduit est régénéré grâce à la glutathion réductase dont le coenzyme est le NADPH, H⁺ produit par la voie des pentoses phosphate :



Le déficit génétique en G6PDH (enzyme de la VPP) diminue la production de NADPH, H⁺, et diminue en conséquence le pool globulaire de glutathion réduit => anémie hémolytique déclenchée par la prise de certains aliments (fève) ou médicaments (aspirine) provoquant la formation de peroxydes.

III- COENZYMES DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS DIVERS

A- S- ADÉNOSYL MÉTHIONINE

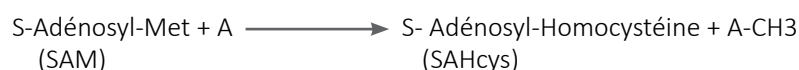
1. Structure

La S-adénosyl-méthionine (SAM) est la forme active de la méthionine. Elle est produite à partir de Met et d'ATP selon la R°



2. Mécanisme d'action

C'est un coenzyme de type cosubstrat. Son site actif est l'ion sulfonium S⁺. Il intervient dans le transfert de groupement méthyle selon la réaction :



À : accepteur

3. Exemple d'enzymes à SAM :



4. Régénération du SAM

La SAHCys est ensuite clivée en adénosine et Hcys. L'Hcys sera ensuite méthylée à nouveau en méthionine en présence de méthionine synthétase à THF, avant d'être réactivée en SAM. Au cours du transfert du groupement CH₃ intervient la vit B12.

B- L'ACIDE TETRAHYDROFOLIQUE

1. Structure

C'est le dérivé tétrahydrogéné de l'acide folique ou vit B9, l'acide folique étant formé d'un noyau ptéridine, d'acide para-amino-benzoïque et d'acide glutamique. La partie active est formée de l'azote 5 du noyau ptéridine et de l'azote 10 de l'acide para-amino-benzoïque.

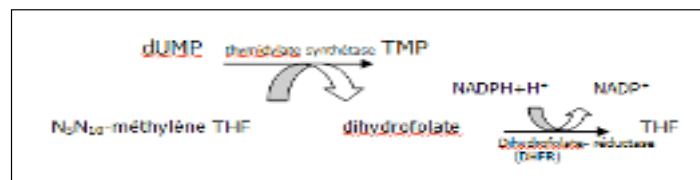
2. Mécanisme d'action

Le THF est le coenzyme de transfert des groupements monocarbonés : méthyle (-CH₃), méthylène (-CH₂), méthényle (-CH=), formyl (-CHO), hydroxyméthyle (-CH₂OH), formimino (-CH = NH) sauf le CO₂.

On connaît des antagonistes de l'acide folique comme les sulfonamides, analogues structuraux de l'acide para-amino-benzoïque. Ces antagonistes ont des pouvoirs bactériostatiques.

La carence en folate provoque une anémie mégaloblastique et des symptômes neurologiques en cas de carence plus importante.

3. Exemple d'enzymes dont le coenzyme est le THF : La thymidilate synthétase (synthèse du TMP)



La DHFR peut être inhibée par le méthotrexate, médicament anti cancéreux.

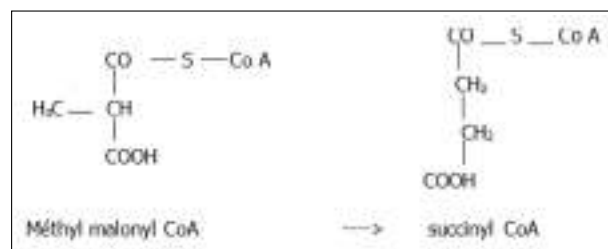
Le THF intervient aussi au cours de la biosynthèse des nucléotides puriques, dans la synthèse de certains aa : méthionine, serine...

C- LES COENZYMES B12

Ces coenzymes de type groupement prothétique dérivent de la vit B12 ou cobalamine. La partie active est l'ion Cobalt. La vit B12 est le précurseur de 2 coenzymes :

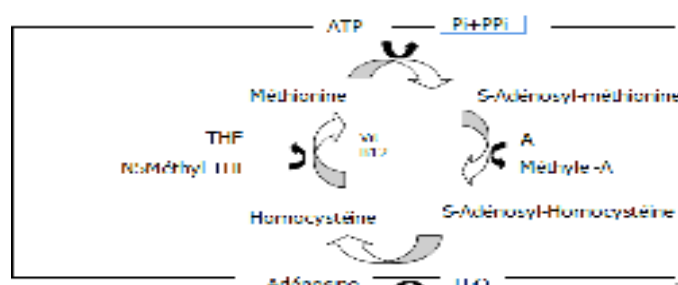
- la 5' désoxy-adenosyl-cobalamine qui intervient au cours de réactions d'isomérisation (migration intra moléculaire d'un groupement carboné).

Exemple d'enzyme à 5' desoxy-adenosyl-cobalamine : Méthylmalonyl-CoA mutase

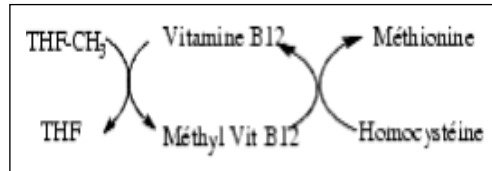


- la méthylcobalamine qui intervient au cours de réactions de transfert de méthyle.

Exemple d'enzyme à méthylcobalamine : méthionine synthétase ou méthylTHF Hcys méthyltransférase



La carence en vit B12 aboutit à l'inhibition de la méthionine synthétase entraînant l'accumulation d'Hcys et le piégeage du folate sous forme CH₃ THF.



La carence en folate elle-même ou la carence en vit B12 (qui entraîne une carence fonctionnelle en folate) affecte les cellules en division rapide (besoins importants en thymidine pour la synthèse d'ADN). Cela entraîne une anémie mégalo-blastique.

D-LE PHOSPHOADENOSYLPHOSPHOSULFATE OU PAPS

1. Structure

Le PAPS ou sulfate actif est un dérivé de l'adénosine monophosphate.

IL se forme à partir d'ATP et d'H₂SO₄ selon la réaction globale :



2. C'est un cosubstrat.

Il assure le transfert du groupement sulfate sur des fonctions phénol ou alcool.

3. Exemple d'enzymes à PAPS : Les sulfotransférases

Elles sont présentes dans le foie. Elles fixent le sulfate aux hormones stéroïdes qui sont ainsi solubilisées puis éliminées.



E- THIAMINE P-P, ACIDE LIPOIQUE, COENZYME A

- la Thiamine P-P (TPP)

C'est un groupement prosthétique. Sa vitamine précurseuse est la vit B1 ou thiamine dont la carence provoque le Béri-Béri (polynévrite des membres inférieurs, diminution de la force musculaire et paralysie). Elle a une structure hétérocyclique soufrée, azotée. Sa partie réactive est le noyau thiazolium au niveau duquel se fixe le groupement aldéhyde à l'état actif (-CH-OH) à transférer.

-L'acide lipoïque (AL)

C'est un coenzyme liposoluble de type groupement prosthétique. Il est considéré en soi comme une vitamine. Il a une structure d'hétérocyclique soufré (2 atomes de S reliés par un pont disulfure) portant une chaîne carboxylique. Sa partie active est le pont disulfure. Il assure le transfert de groupement acyle.

-LE COENZYME A (COA-SH)

C'est un coenzyme de type cosubstrat. Il a une structure complexe dérivant de la vitamine B5 ou acide panthoténique (carence en vit B5 provoque des troubles neurologiques, rare). Son groupement actif est le groupement thiol (SH) sur lequel se fixe le groupement acyl (R-CO) à transférer.

Ces 3 coenzymes interviennent en tant que coenzyme de transfert de groupement au cours des réactions de décarboxylation oxydative des acides α cétoniques catalysées par la pyruvate DH et l'α KG DH. Chacune de ces enzymes est un complexe polyenzymatique fonctionnant avec 3 coenzymes de transfert de groupement (TPP, AL, CoA-SH) et 2 coenzymes d'oxydo réduction (FAD et NAD).

TPP : intervient également au cours de la voie des pentoses phosphates en tant que coenzyme de la transcétolase en transférant le groupement céto (CO- CH₂OH) (voir thème IIb).

F- LA BIOTINE

La biotine ou vitamine B8 a une structure hétérocyclique azotée, soufrée. Sa carence provoque différents troubles (dépression, hallucinations, douleurs musculaires, dermatites).

La biotine constitue le groupement prosthétique des carboxylases. En présence d'ATP, elle fixe réversiblement un groupement carboxyle (CO₂) au niveau de l'azote 1 de la biotine.

Exemple de réaction de carboxylation :



G- DÉRIVES DE LA VITAMINE K

La vitamine K est apportée par les bactéries intestinales. Elle fait partie du groupe de vitamines liposolubles. Elle réagit après sa réduction en dihydrovitamine K. C'est un coenzyme de type cosubstrat et intervient au cours des réactions de carboxylation de certaines protéines après leur synthèse. Cette carboxylation se fait sur des résidus d'acide glutamique formant des résidus d'acide γ carboxyglutamique. Les facteurs de la coagulation : prothrombine, facteur VII, facteur IX et facteur X sont des protéines plasmatiques carboxylées par la vit K. En absence de la vitamine K, des troubles graves de la coagulation se produisent.

NB : L'acénocoumarol (Sintrom®) est un inhibiteur de la régénération de la dihydrovitamine K; c'est une anti-vitamine K à action anticoagulante utilisée dans la prévention de la maladie thrombo-embolique.

H- LE PHOSPHATE DE PYRIDOXAL

Le phosphate de pyridoxal (PPL) est un coenzyme de type « groupement prosthétique ». Il est le dérivé phosphorylé de la vitamine B₆ ou pyridoxine dont la carence est à l'origine de troubles divers (fatigue, oxaluries, lithiases urinaires, troubles neurologiques, anémie).

Il a une structure hétérocyclique azotée. Il intervient lors du métabolisme des acides aminés dans les réactions de transamination catalysées par les aminotransférases, de décarboxylation catalysées par les décarboxylases, de désamination non oxydative catalysées par des déshydratases, de modification du radical R et enfin de racémisation.

I- COENZYMES NUCLEOTIDIQUES

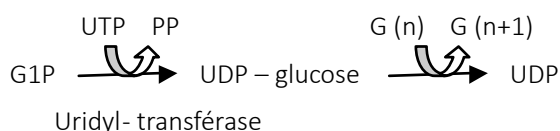
1- L'ATP

Il permet le transfert de 4 types de groupements

- Transfert d'un groupe phosphate
 $\text{Adénine-ribose-PPP} + \text{R-OH} \longrightarrow \text{R-OP} + \text{ADP}$
- Transfert d'un groupe pyrophosphate (P P)
 $\text{Adénine-ribose-PPP} + \text{R-OH} \longrightarrow \text{R-O-P-P} + \text{AMP}$
- Transfert d'un groupe adénosine monophosphate (AMP)
 $\text{Adénine-ribose-PPP} + \text{R} \longrightarrow \text{R-AMP} + \text{PPi}$
- Transfert d'un groupe adénosyl
 $\text{Adénine-ribose-PPP} + \text{R} \longrightarrow \text{Adénosyl-R} + \text{Pi} + \text{PPi}$

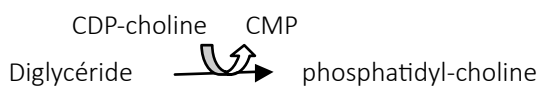
2- Les diphosphonucléosides uridyliques (UDP)

Ces coenzymes interviennent au cours de l'activation des oses et de leurs dérivés. Exemple : activation du glucose au cours de la biosynthèse du glycogène :



3- Les diphosphonucléosides cytidyliques (CDP)

Ces coenzymes interviennent au cours de la biosynthèse des phospholipides.



4- Les diphosphonucléosides guanidiques (GDP)

Ces coenzymes interviennent au cours de l'activation du mannose lors de la synthèse des glycoprotéines.

TEST D'AUTO-EVALUATION

Q 1. Deux CoE nicotiniques interviennent dans les processus d'oxydoréduction des déshydrogénases.

a- Lesquels ? S'agit-il de cosubstrats ou de groupements prosthétiques ?

b- Indiquez pour chacun d'entre eux la forme prédominante dans la cellule

c- Écrire l'équation chimique d'oxydoréduction au cours de laquelle intervient chacun de ces coenzymes

d- Précisez le mode de régénération de chacun d'entre eux

Q 2. Deux coenzymes flaviniques interviennent dans les processus d'oxydo- réduction :

a- Lesquels ? S'agit-il de cosubstrats ou de groupements prosthétiques ?

b- Préciser leur mode de régénération.

Q 3. Donner le nom de la forme active de la méthionine. Expliquer son mode d'action.

Q 4. Compléter le tableau pour les réactions suivantes :

Isomérisation, Acylation, sulfatation, carboxylation, racémisation, Transfert PP, transamination, transfert groupement monocarboné, transfert CHO.

Réactions	Coenzyme	structure	GP ou CS	précurseur
isomérisation				
acylation				
carboxylation				
racémisation				
transfert PP				
transamination				
transfert gpmt monocarboné				
transfert CHO				