

COMPARTIMENTATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE EUCARYOTE ANIMALE

Contrairement aux bactéries, les cellules eucaryotes sont organisées en compartiments fonctionnellement distincts et limités par une membrane simple ou doublée. Les principaux compartiments des cellules eucaryotes sont les suivants (Figure 1) :

- le noyau, qui contient le génome et où se déroule la synthèse de l'ADN et de l'ARN.
- le cytoplasme, qui l'entoure, est composé du cytosol et des organites cytoplasmiques qui y sont en suspension ;
- le cytosol représente environ la moitié du volume total de la cellule ; il est le site de la synthèse des protéines et du métabolisme cellulaire intermédiaire. Le cytosol est très riche en eau (85 %) et Il contient un grand nombre de molécules (sucres, acides aminés, acides gras, protéines...) de provenance diverse et de nombreux filaments protéiques organisés en réseaux qui forment le cytosquelette. Le cytosquelette donne à la cellule sa forme et facilite le déplacement des différents organites et particules cytoplasmiques.
- le réticulum endoplasmique constitue un espace labyrinthique limité par une membrane interconnectées et connectées à la membrane nucléaire, dont la surface représente environ 50 % de la surface membranaire totale de la cellule. Il occupe souvent plus de 10 % du volume cellulaire:

- REG est le site de synthèse et de N-glycosylation des protéines

RQ : Des ribosomes peuvent être liés à la surface cytosolique du réticulum endoplasmique rugueux intervenant dans la synthèse des protéines membranaires et solubles (présentes dans la lumière des différents organites ou destinées à être sécrétées). L'attachement d'un ribosome au RE dépend de la nature de la protéine synthétisée, et notamment de l'existence d'un peptide signal d'importation dans le RE.

- REL assure la synthèse des lipides et le stockage des ions calciques.
- l'appareil de Golgi est composé d'un empilement d'organites en forme de disques appelés saccules. Il intervient dans la maturation des protéines et des lipides provenant du réticulum endoplasmique ;
 - les mitochondries sont responsables de la production d'énergie et la synthèse locale de certaines protéines (10%) comme ils jouent un rôle essentiel dans l'apoptose.
 - les lysosomes sont des organites riches en enzymes hydrolytiques qui dégradent les organites intracellulaires arrivés au terme de leur vie ainsi que les molécules prélevées dans le milieu extracellulaire par endocytose ;

3^{ème} année Biochimie appliquée
Biochimie cellulaire et fonctionnelle
Chargé du module : Mme. SAIDI A.

- les peroxysomes sont de petits organites vésiculaires utilisés pour un certain nombre de réactions oxydatives ;

- La cellule contient également de nombreuses vésicules qui servent de transporteurs entre les organites ou qui communiquent avec la membrane plasmique lors du processus d'endocytose ou d'exocytose.

- La membrane cytoplasmique délimite le contour de toutes les cellules; elle contribue ainsi à définir la morphologie spécifique de chacune d'entre elles. Elle est une frontière physique entre les milieux intra- et extracellulaire et assure, dans certains cas, des transferts de substances ou d'informations de cellule à cellule, en contrôlant donc les échanges entre l'hyaloplasme et le liquide interstitiel et dont la perméabilité est sélective.

Avantage de la compartimentation

L'existence de compartiments différents optimise les réactions chimiques cellulaires. Ils permettent en effet :

- une augmentation de la concentration des métabolites et des enzymes participant à une même réaction (ou à un même groupe de réactions), ce qui a un effet sur les vitesses des réactions chimiques,
- un isolement des réactions les unes par rapport aux autres. Cette spécialisation des compartiments rend possible le déroulement simultané de réactions concurrentes ou incompatibles.
- Par ailleurs, les cellules eucaryotes sont de plus grande taille que les procaryotes (le rapport est en général de 1 pour 10). Le rapport surface de la membrane plasmique / volume cellulaire est donc beaucoup plus faible pour une cellule eucaryote. Dans une cellule procaryote, les fonctions membranaires (par exemple les activités enzymatiques membranaires) sont accomplies par la seule membrane qu'elle possède : la membrane plasmique. Chez les eucaryotes, la surface de la cellule est insuffisante et le développement de membranes internes liées à la compartimentation permet l'augmentation de la surface totale des membranes cellulaires.

BIOMEMBRANES

L'apparition de la notion de membrane cellulaire remonte aux premiers travaux de cytologie du XVII^e siècle et accompagne la mise en œuvre d'un des premiers microscopes. Hooke publie les observations réalisées à l'aide de ce microscope en 1665. En 1839, Schwann propose la première théorie cellulaire : la cellule y est décrite comme une petite chambre limitée par une paroi. La membrane est alors considérée comme un simple sac contenant les différents constituants de la cellule. Les différents organites cellulaires sont peu à peu découverts au cours des XVIII^e et XIX^e siècles. Entre 1940 et 1950 apparaissent deux nouvelles techniques qui permettent des progrès rapides dans la connaissance de la structure cellulaire et de la membrane plasmique: l'ultracentrifugation différentielle et la microscopie électronique.

1. Modèles membranaires

Cherchant des substances capables d'être absorbées par les cellules des plantes, Overton (1899) découvre que les substances non polaires (lipidiques) passent rapidement à travers la membrane en se "dissolvant" à l'intérieur de la membrane, constituée elle-même de lipides.

En 1925, Gorter et Grendel solubilisent les lipides d'un globule rouge à l'aide d'acétone. En utilisant une cuve de Langmuir, ils mesurent la superficie de la monocouche de lipides extraits. Parallèlement, ils évaluent la surface d'un globule rouge en supposant qu'il a une forme sphérique. La surface calculée d'un globule rouge est alors égale à la moitié de la superficie mesurée de la monocouche de lipides provenant de ce globule rouge par acétone; ils concluent que la membrane est une double couche de lipides (Figure 2).

- Danielli et Davson ont proposé un nouveau modèle en 1935, dans lequel les protéines sont parties intégrantes de la membrane. Chaque côté de la bicouche lipidique est recouvert d'un manteau de protéines globulaires, les protéines étant attachées par des liaisons ioniques aux têtes polaires des lipides (Figure 2). Ce modèle semble confirmé par les premières images de microscopie électronique obtenues par Robertson (1964) qui montrent également que la membrane biologique est un feuillet clair de 3 nm (environ 2 fois la longueur d'une chaîne d'acide gras) entouré par 2 feuillets sombres de 2,5 nm chacun ; l'épaisseur totale est donc d'environ 8 nm (entre 6-10nm) et cette organisation en bicouche est asymétrique.

Dans le modèle original de Singer et Nicolson 1972, lipides et protéines sont distribués plus ou moins aléatoirement. Les protéines sont insérées plus ou moins profondément dans la bicouche lipidique sous forme compacte : les protéines peuvent être intégrales (protéines transmembranaires) ou adsorbées à la surface de la bicouche. Les chaînes polypeptidiques, le plus souvent organisées sous forme d'hélices α et contenant de nombreux résidus d'acides aminés hydrophobes, prennent la place des lipides et assurent

3^{ème} année Biochimie appliquée
Biochimie cellulaire et fonctionnelle
Chargé du module : Mme. SAIDI A.

ainsi la continuité de la partie hydrophobe de la membrane (Figure 3). On visualise également une asymétrie des protéines et des motifs glucidiques présente dans la double couche phospholipidique. Pour les organites intracellulaires les sucres sont dirigés vers la lumière de l'organite.

2. Composition chimique des biomembranes

La détermination de la composition chimique des membranes cellulaires nécessite un certain nombre d'étapes : séparation des tissus, homogénéisation, centrifugation, extraction et analyse (par chromatographie, diffraction X...etc.). Les membranes sont constituées essentiellement par un assemblage des lipides et des protéines (on compte 50 molécules de lipides par molécule de protéine). Les composés osidiques ne sont pas indépendants et on les trouve en association aux lipides et aux protéines sous forme des glycolipides et glycoprotéines.

2.1. Les lipides

Les lipides membranaires (Figure 4) sont classés en fonction de la nature de leur molécule de liaison et de celle de leurs chaînes carbonées : on distingue donc les glycérophospholipides, les glycéroglycolipides, les sphingophospholipides, les sphingoglycolipides et les stérols (cholestérol). Toutes ces molécules sont amphiphiles où la PC, avec son groupement ammonium quaternaire, est la plus polaire de toutes.

a) Phospholipides

Les phospholipides présentent tous une tête hydrophile (phosphate et groupement spécialisé) et une queue hydrophobe (glycérol et acides gras). On distingue deux types de phospholipides :

Les glycérophospholipides correspondent à l'association de glycérol, de deux acides gras, d'un acide phosphorique et d'alcools ou d'acides aminés (cf. cours de biochimie). Les alcools ou les acides aminés donnent l'identité et la caractéristique du glycérophospholipides. Parmi les acides aminés on trouve la sérine et parmi les alcools on trouve l'inositol, l'éthanolamine et la choline ; on obtient ainsi la phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-inositol, la phosphatidyl-éthanolamine et la phosphatidyl-choline.

Les sphingophospholipides correspondent à l'association de sphingosine, d'acide gras, d'acide phosphorique et d'alcool ou d'acides aminés ; on obtient ainsi la sphingomyéline (par association de la choline).

La base de la biologie des membranes repose sur l'existence d'une bicouche phospholipidique dont l'intérieur est formé par les chaînes longues et non polaires (et non mouillables) des acides gras des molécules de phospholipides qui sont en vis-à-vis, alors que leurs pôles hydrophiles étant en contact aux milieux aqueux qui borde la membrane plasmique dans les deux cotés (Figure 5).

b) Glycolipides

Les glycolipides sont de deux types, on trouve les glycéroglycolipides et les sphingoglycolipides. Il est intéressant de préciser que les glycolipides des membranes des érythrocytes (globules-rouges), définissent le groupe sanguin de l'individu.

c) Cholestérol

Le cholestérol est uniquement présent dans les membranes des cellules animales, en effet, il est présent de quantité négligeable dans les cellules végétales et absent carrément chez les bactéries. Le cholestérol est composé d'un noyau stéroïde hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile. La molécule est donc amphiphile, représente environ un quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire.

Les molécules de stérol ne peuvent former une bicouche à elles seuls, mais peuvent s'insérer dans la membrane avec la même orientation que les phospholipides. Le cholestérol interagit préférentiellement avec les sphingolipides plutôt qu'avec les phospholipides insaturés (Figure 5).

2.1.1. Les caractéristiques des lipides membranaires

- Des grandes variations dans la composition des membranes de différentes cellules ou des membranes de différentes organelles d'une même cellule sont observées.
- L'asymétrie des lipides : toutes les membranes biologiques sont constituées de feuillet dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente dans les deux feuillets. Le feuillet interne est caractérisé par les PS et PE (charge négative) alors que le feuillet externe est caractérisé par la SM et la PC (Fig. 6). La perte d'asymétrie et notamment la présence de lipides PS sur le feuillet externe est un signal de mort cellulaire.
- **Les micelles** sont des formations sous la forme de gouttelettes rondes, où dans un milieu aqueux les têtes hydrophiles sont dirigées vers l'extérieur de la sphère et les queues hydrophobes sont dirigées vers l'intérieur (dans un milieu lipidique la conformation est inverse) (Fig. 7).
- Les **bicouches phospholipidiques** permettent la formation de vésicules sphériques appelées **liposomes**. Les bicouches phospholipides rentrent dans la formation des bicouches membranaires. Pour information, les liposomes sont actuellement utilisés en thérapeutique pour encapsuler des substances médicamenteuses (Fig. 7).

Cette asymétrie est primordiale pour de nombreuses fonctions cellulaires (par exemple, la stabilité mécanique de la membrane, la modulation de l'activité de protéines membranaires, la génération de vésicules de sécrétion et l'apoptose.

- Un acide gras insaturé possède au moins une double liaison. La configuration *cis*, largement plus probable que la configuration *trans*, conduit à un coude dans sa chaîne carbonée de l'ordre de 30°.

La membrane plasmique et les membranes en général sont souples et résistantes, elles peuvent se déformer sans se déchirer. La mobilité des lipides est nécessaire pour l'activité cellulaire. Tous les lipides ont une température caractéristique à laquelle ils subissent une transition : phase gel ordonné à basse température <====> phase liquide désordonné à haute température. Cela permet aux lipides, en phase liquide, d'échanger sa position avec ses voisins des millions de fois par seconde et de se mouvoir de différentes manières au sein de la membrane : rotation, diffusion latérale et flip flop (passage d'un feuillet à l'autre) (Fig. 8).

- Mouvement des lipides dans un même feuillet (Fig. 9): Ces mouvements dépendent : de la nature des acides gras présents de la température et de la concentration en molécules de cholestérol. Ces mouvements latéraux sont continus et importants : déplacement sans déformations.
- Mouvement des lipides d'un feuillet à l'autre (Fig. 9): Il s'agit souvent d'une molécule amphiphile de lipide qui va se positionner d'un feuillet à l'autre tout en associant les zones hydrophobes et hydrophiles de la même façon. Ces mouvements transversaux sont stériquement et énergétiquement plus difficiles à réaliser (mécanisme de Flip Flop). Ce mouvement aura lieu lors du renouvellement des molécules lipidiques dans les feuillettes et ce dernier mouvement doit être catalysé par des enzymes, les flipases. De plus, les queues hydrophobes des phospholipides peuvent produire des mouvements de flexion (ou battement)

2.1.2. Les principaux facteurs influant la fluidité membranaire.

Les composants influant sur la fluidité d'une membrane sont principalement les phospholipides insaturés et le cholestérol :

- Les phospholipides avec une chaîne courte et insaturée d'acide gras fluidifient la membrane en diminuant les interactions de Van der Waals.
- En grande quantité, le cholestérol rigidifie la membrane en gênant la diffusion latérale des éléments mais, en quantité adaptée, il la fluidifie et diminue la température de gel de la membrane en gênant les interactions de van der Waals.
- Le nombre de protéines : Les protéines diminuent la fluidité membranaire.
- Nature de têtes polaires influence plus ou moins sur la fluidité membranaire.

2.2. Protéines membranaires

Les protéines sont responsables de la plupart des fonctions membranaires. Elles servent entre autre, de récepteurs spécifiques, d'enzymes ou de transporteurs. Les protéines qui sont parfois de très longs polymères, possèdent une chaîne polypeptidique avec une extrémité amino-terminale (NH₂) et une extrémité carboxy-terminale (COOH). Ces polymères amphiphiles changent de forme suivant les conditions de l'environnement. La quantité et la qualité des protéines sont très variables d'une cellule à

l'autre. Selon leur solubilité, des protéines occupent des positions différentes dans le double feuillet phospholipidique :

a) protéines périphériques ou extrinsèques (Fig. 10) sont situées sur les bords de la bicouche (du côté cytoplasmique ou du côté extracellulaire). Elles sont liées faiblement par des interactions hydrophiles aux têtes polaires des lipides amphiphiles, donc elles ne traversent jamais la bicouche lipidique. Ces protéines sont soit « **collées** » à la membrane, soit **ancrées** dans la membrane.

- **Les protéines collées** interagissent avec les régions polaires des protéines transmembranaires par interactions ioniques ou par des interactions hydrophobes avec les queues de lipides de l'un des feuillets.

- **Les protéines ancrées** (Fig. 11 et 12) dans la membrane renferment dans leur structure une chaîne lipidique liée de façon covalente à un acide aminé. Ainsi les protéines ancrées du côté cytoplasmique par l'intermédiaire d'un acide myristique lié à un résidu glycine ou par l'intermédiaire d'un acide palmitique lié à un résidu cystéine. D'autres sont ancrées du côté extra- cellulaire par l'intermédiaire d'un lipide glycosylé ou par l'intermédiaire d'un peptide hydrophobe.

b) protéines intégrées ou intrinsèques (Fig. 10), de caractère hydrophobe, traversent totalement les couches lipidiques. En effet, elles comportent des régions plus hydrophobes (à forte proportion d'acides aminés apolaires) et des régions hydrophiles (constituées d'acides aminés apolaires). Elles ont avec les lipides des interactions hydrophobes. Leurs parties hydrophobes sont enfoncée dans les lipides et s'organisent généralement sous la forme des α -hélices transmembranaires, alors que leur parties hydrophiles faisant saillaient dans le milieu extracellulaire ou hyaloplasmique (par exemples les protéines-canaux et les récepteurs liés aux protéines G). Ces protéines intégrées représentent 50 à 70% des protéines membranaires et en général leurs propriétés biologiques ne s'expriment que quand elles sont associées aux lipides. Les protéines intégrées sont soit dispersées soit groupées en agrégats dans la phase lipidique. Dans ce dernier cas, des agrégats de protéines traversant la bicouche lipidique de part en part pourraient réaliser des pores hydrophiles permettant le passage des ions (ou de l'eau) à travers la membrane.

2..2. Les caractéristiques des protéines membranaires

- Les membranes plasmiques ne sont pas des édifices symétriques où les protéines périphériques sont différentes sur chacune des faces et les protéines encrées sont également enchâssées dans une des couches lipidiques et non dans l'autre. Les protéines intégrées qui traversent les deux couches lipidiques sont asymétriques sur chacune des deux faces de la membrane.

3^{ème} année Biochimie appliquée
 Biochimie cellulaire et fonctionnelle
 Chargé du module : Mme. SAIDI A.

- Les protéines comme les lipides ont de grandes libertés de mouvement. En effet, la phase lipidique de la membrane est fluide. Cela signifie que les phospholipides sont mobiles et peuvent se déplacer latéralement (diffusion latérale) ou être animés de rotation (mouvement local). Cette fluidité qui dépend de la température et de la teneur en cholestérol de la bicouche, a pour conséquence directe de permettre aux protéines de se déplacer latéralement dans la membrane (diffusion latérale). Cependant, les mouvements des lipides gênent parfois les protéines et les impriment les déplacements latéraux des protéines intégrées et périphériques grâce des interactions, de ce dernier, avec les queues hydrophobes et les têtes hydrophiles des lipides, respectivement.

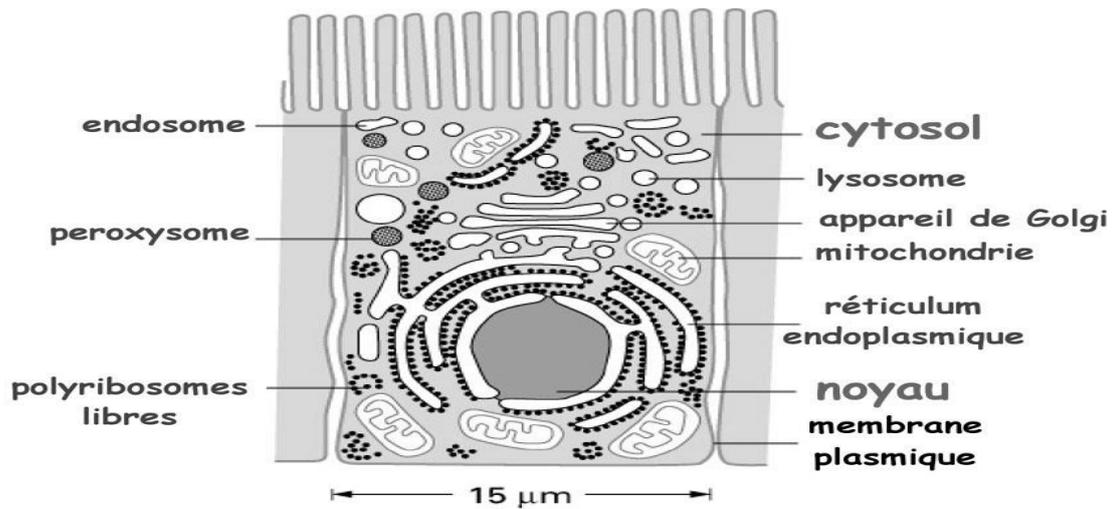


Figure1. Modèle d'une cellule hépatique. Différents compartiments sont présents au sein du cytoplasme cellulaire.

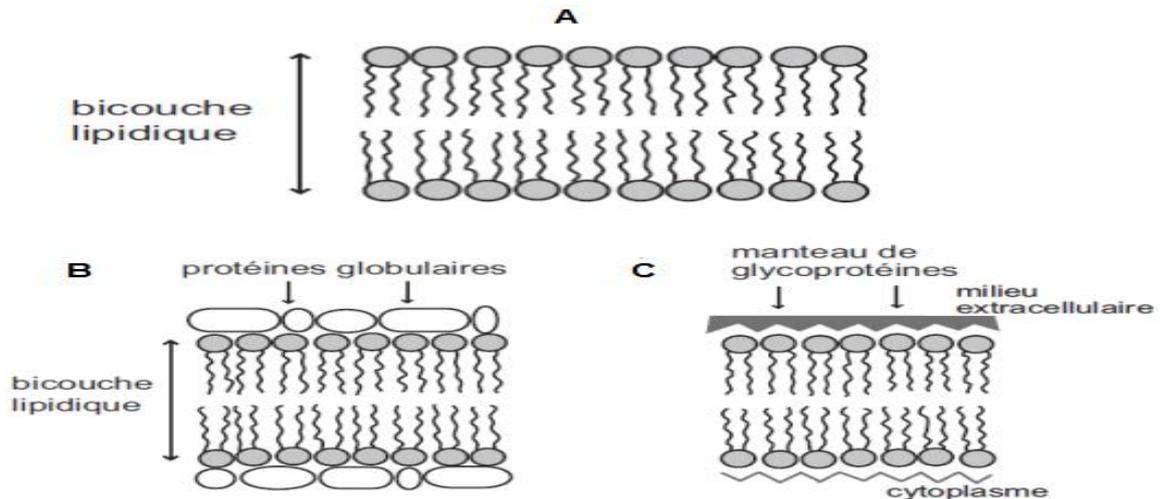


Figure 2. Modèles de membrane cellulaire. A) Bicouche lipidique (Modèle de Gorter et Grendel, 1925). B) Modèle de Danielli et Davson, 1935. C) Modèle de Robertson, 1964.

3^{ème} année Biochimie appliquée
Biochimie cellulaire et fonctionnelle
Chargé du module : Mme. SAIDI A.

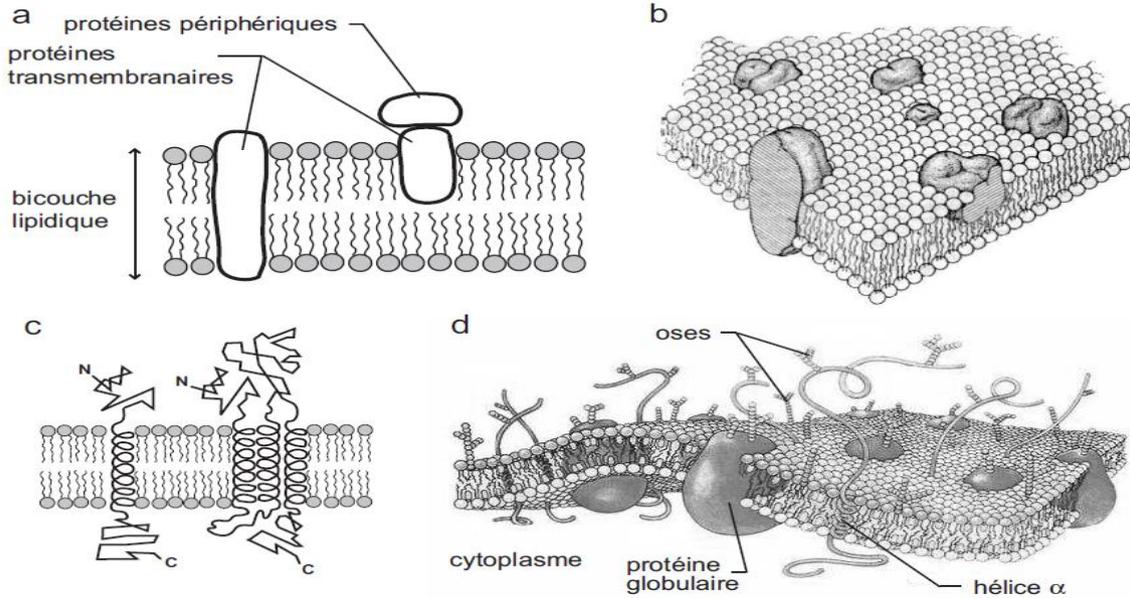


Figure 3. Modèle de Singer et Nicolson 1972. Schéma (a) 2D et (b) 3D. (c) hélices α . (d) modèle mosaïque fluide.

Tableau 1. Principaux glycérophospholipides présents dans la membrane.

Groupe ayant estérifié l'acide phosphorique	Nom du lipide	Abr.
-H	acide phosphatidique	PA -
-CH ₂ CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃	phosphatidylcholine	PC 0
-CH ₂ CH ₂ NH ₃	+ phosphatidyléthanolamine	PE 0
-CH ₂ CHNH ₃ ⁺ COO ⁻	phosphatidylsérine	PS -
-CH ₂ CHOHCH ₂ OH	phosphatidylglycérol	PG -
-HC ₆ H ₅ (OH) ₅	phosphatidylinositol	PI -
-CH ₂ CHOHCH ₂ -	cardiolipine	CL -

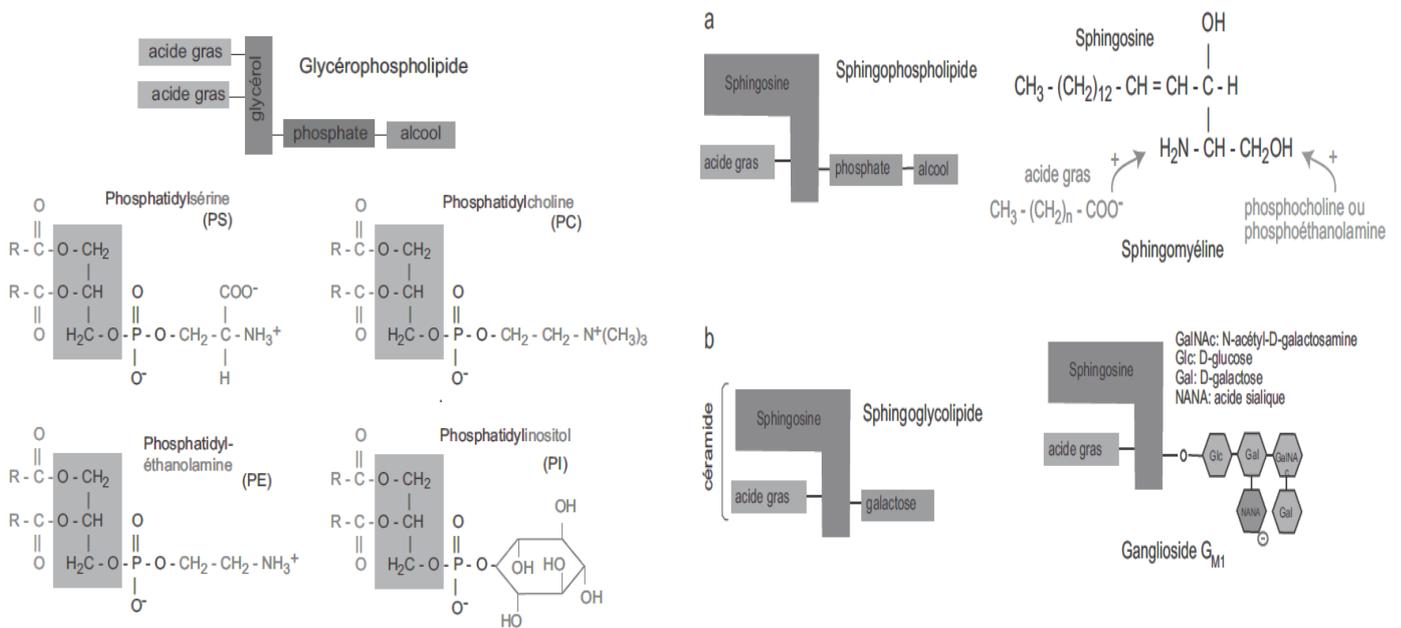


Figure 4. Exemples de glycérophospholipides et sphingolipides.

3^{ème} année Biochimie appliquée
Biochimie cellulaire et fonctionnelle
Chargé du module : Mme. SAIDI A.

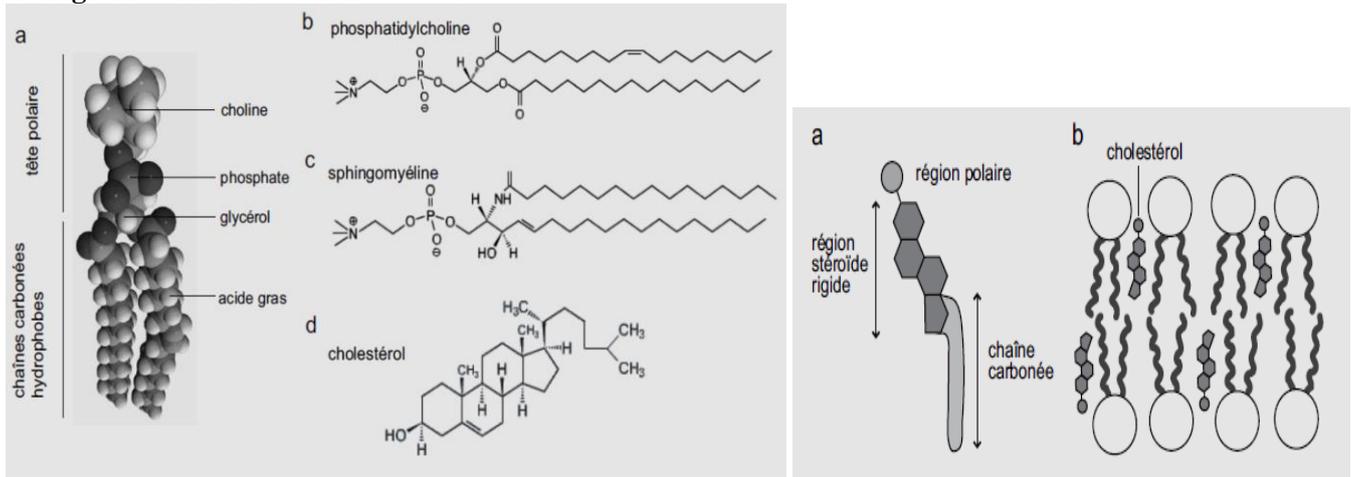


Figure 5. Structure des phospholipides et de cholestérol

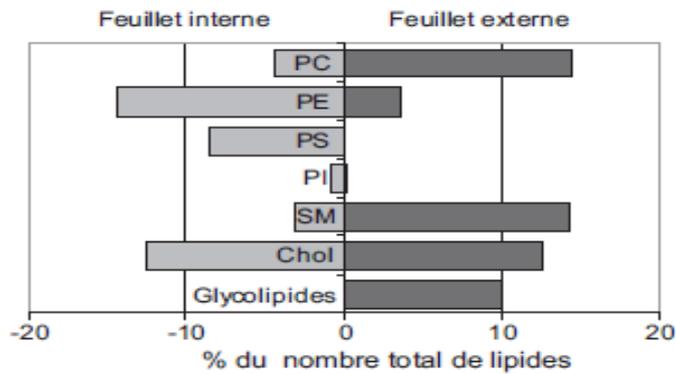


Figure 6. Composition lipidique de la membrane plasmique du globule rouge humain.

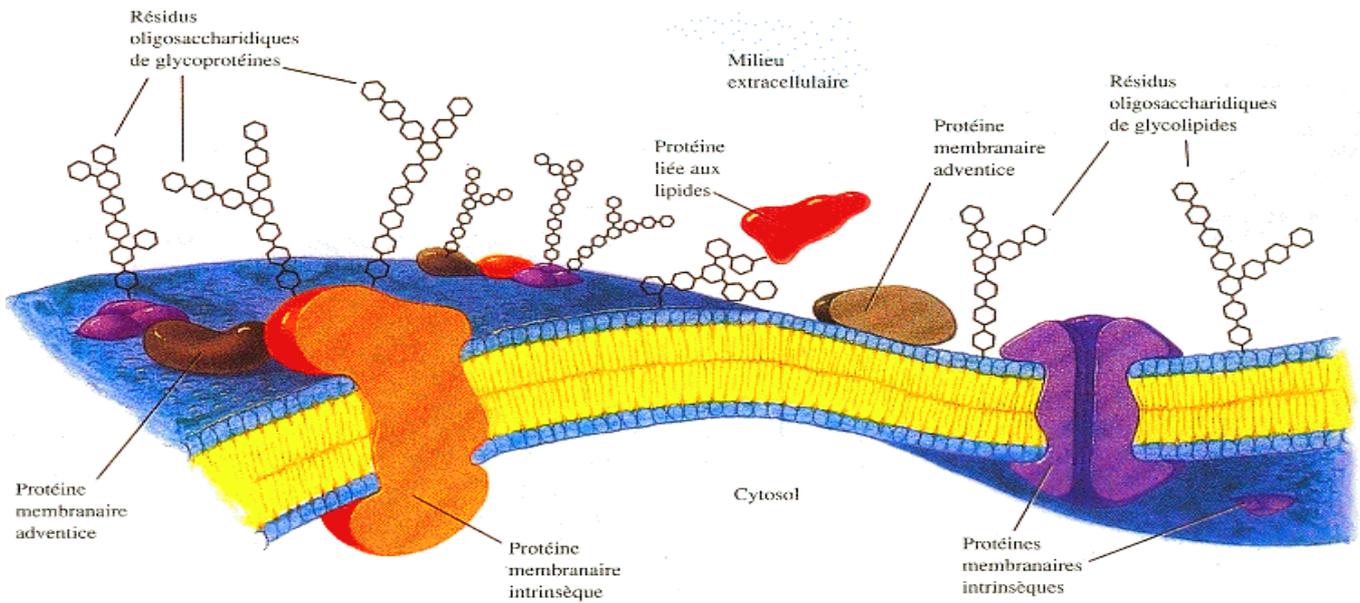


Figure 7. Architecture moléculaire de la membrane plasmique chez les cellules animales (d'après SINGER et NICOLSON, 1972).

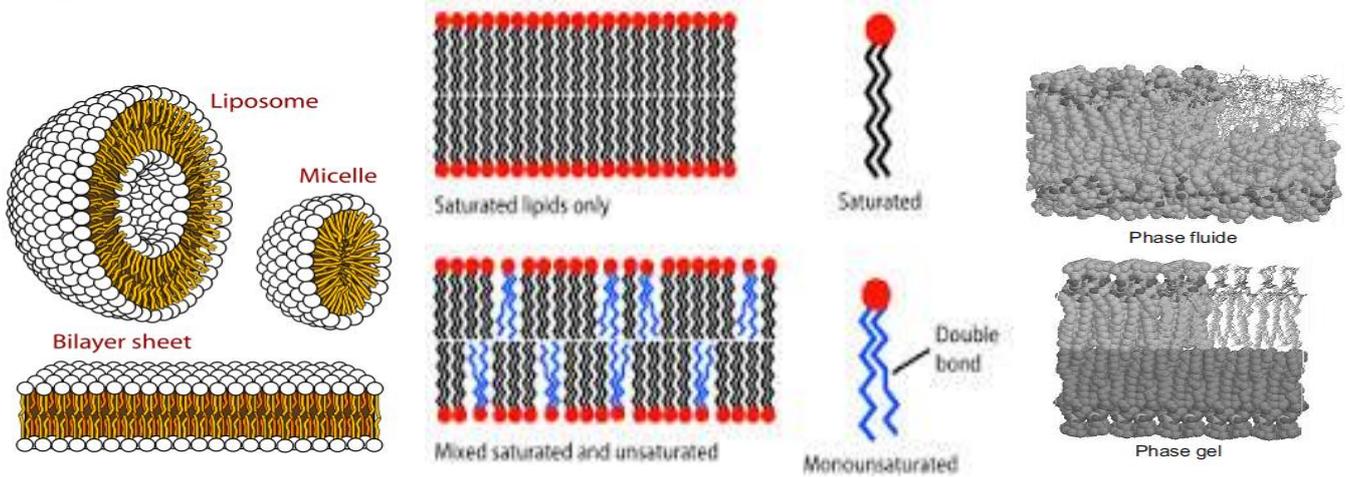
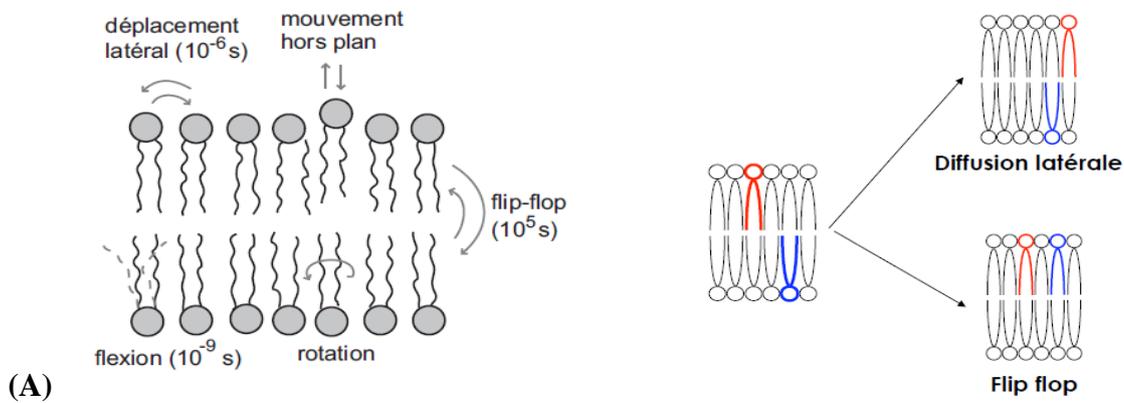
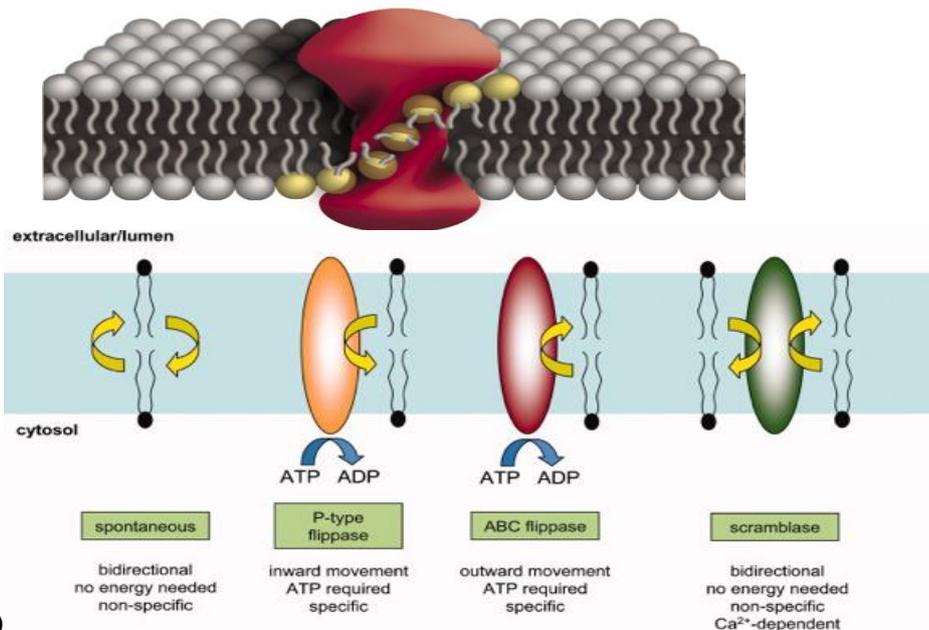


Figure 8. Auto-assemblage des molécules lipidiques en monocouches ou bicouche dans l'eau.

Figure 9. Transition de lipides de la phase gel à une phase liquide confère à la membrane cellulaire une certaine fluidité.



(A)



(B)

Figure 10. Mouvements de lipides au sein la membrane cellulaire. A mouvements locaux ; B diffusion latérale et transversale (Flip-Flop).

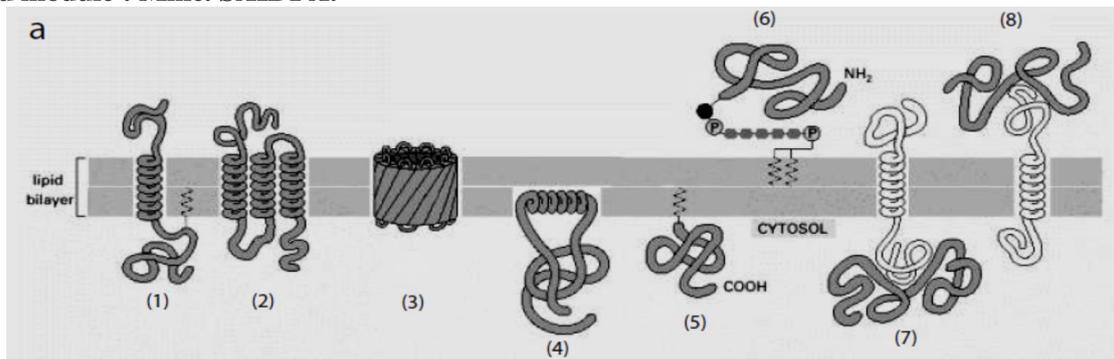


Figure 11. Association de protéines à la membrane cellulaire.

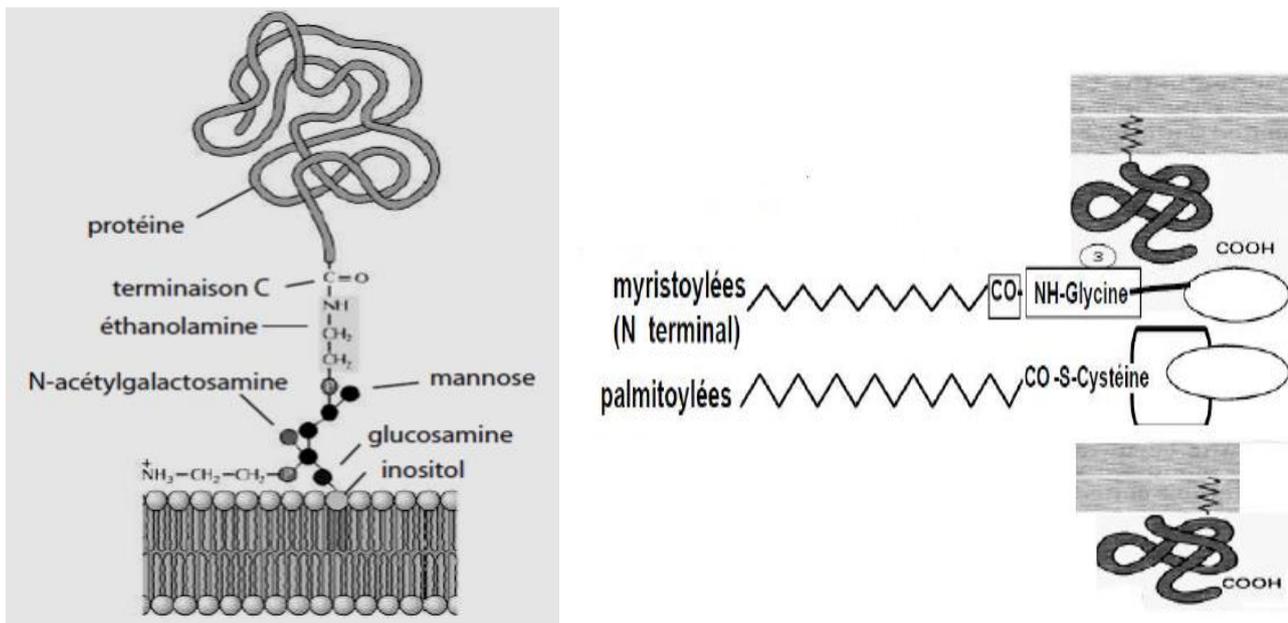


Figure 12. Ancrage de la protéine périphérique aux feuillets de la bicouche lipidique membranaire.