

BIOLOGIE

Chapitre 2: DES MOLECULES AUX EDIFICES SUPRAMOLECULAIRES

La Matière Vivante comporte un certain nombre de molécules chimiques, mais l'association de plusieurs de ces molécules chimiques peuvent former des entités d'ordre supérieur appelées EDIFICES ou COMPLEXES SUPRAMOLECULAIRES.

C'est le principe de structuration de toute la matière vivante: cellules, tissus, organes, organismes...

Les complexes supramoléculaires possèdent des propriétés bien supérieures à leurs molécules constitutives: Il ne s'agit pas seulement d'une juxtaposition de molécules mais de la formation d'un nouvel élément avec de nouvelles propriétés.

A. LES RIBOSOMES

1- Définition, Morphologie

Les RIBOSOMES sont présents partout: dans toutes les cellules qu'elles proviennent d'une bactérie, d'un organisme animal ou végétal.

Cependant les Ribosomes présents dans les cellules bactériennes sont plus simples que chez les Animaux et les Végétaux.

Les Bactéries possèdent des cellules Procaryotes alors que les Végétaux et Animaux possèdent des cellules Eucaryotes (c'est-à-dire des cellules dont l'information génétique est enfermée dans un espace délimité appelé noyau).

Ribosome des Procaryotes

180A

70S

P.M.:

Ribosome des Eucaryotes

200-220A

73-80S

P.M.:

$4.2 \times 10^6 \text{D}$

Les Grosses Sous-unités présentent deux sites qui se prolongent un peu sur la petite sous-unité:

- Site Aminoacyl (A=entrée) par lequel entrent les acides aminés

- Site Peptidyl (P=sortie) par lequel sortent les chaînes peptidiques en formation.

Informations complémentaires:

- S est une unité de sédimentation (Svedberg) qui permet de mesurer et comparer les masses de différents éléments.

- TOUS LES RIBOSOMES DES CELLULES PROCARYOTES ONT LES DIMENSIONS ET LES PROPRIETES ENONCEES CI-DESSUS.

- Chez les animaux et les vegetaux, les ribosomes varient en fonction du type de cellule a laquelle ils appartiennent:

* Les Cytosolribosomes presents dans le cytoplasme des cellules animales et vegetales

* Les Mitochondribosomes presents dans les mitochondries (cellules vegetales et animales qui produisent de l'energie)

* Les Plastidribosomes presents dans les Plastides (ex: chloroplastes) des cellules Vegetales.

2- Architecture Moleculaire

a- Les Ribosomes 70S des procaryotes

Ils comportent deux types de Molecules Biologiques: des Acides Ribo-Nucleiques et des Proteines. On l'appelle le complexe Ribo-Nucleique Proteique (RNP)

La petite sous-unite possede une seule molecule d'ARN alors que la grosse en possede 2 (une plus petite que la precedente et une plus grosse que les deux autres).

Cette structure NE CHANGE pas d'une bacterie a l'autre. TOUTES LES Cellules PROCARYOTES ont cette constitution.

Les ARN se caracterise par leur forme: il s'agit de molecules Monocatenaires c'est-a-dire un seul enchainement de ribo-nucleotides. Par contre elle peut se replier sur elle meme dans l'espace et former des segments bicatenaires grace a la regle de complementarite des bases. On peut donc observer une TORSION de la molecule dans l'espace.

Dans les deux sous-unites, des proteines sont presentes: environ 21 dans la petite, indexees de S1 a S21 (S pour Small), et 34-35 dans la grosse, indexees de L1 a L34 (L pour Large). Pour chacune de ces proteines dans les deux sous-unites il y a souvent un seul isomere qui possede des proprietes antigeniques.

On peut donc localiser avec precision ces proteines en faisant intervenir l'anticorps activant leur fonction antigenique.

Ces proteines se sont associees aux molecules d'ARN pour former le complexe Supramoleculaire et chaque element de ce complexe a une place precise dans l'edifice.

b- Les Ribosomes des eucaryotes

La petite sous-unite est identique a celle des organismes procaryotes, mais la grosse possede une particularite: en effet, elle contient 3 molecules d'ARN au lieu de 2.

Sur le plan proteique, la petite contient au moins une trentaine de proteines differentes alors que la grosse n'en contient pas moins d'une cinquantaine differente.

Par contre, les proprietes antigeniques et les proprietes de localisation sont identiques a celles du ribosome chez les procaryotes.

3- Processus d'AUTOASSEMBLAGE

La formation du complexe supramoléculaire se fait à partir de protéines et d'ARN_r grâce au processus d'autoassemblage.

Si on dissocie complètement l'une des sous unités, on peut observer le mécanisme qui permet aux molécules dispersées de se rassembler de manière identique à la fois précédente avant leur dispersion.

Les protéines sont en fait des Protéines Allosteriques c'est-à-dire qui peut changer de forme. Une protéine a une structure primaire (—), secondaire (—), tertiaire (configuration tridimensionnelle dans l'espace) et même quaternaire (—).

Les protéines allosteriques présentent deux types de sites:

- un site fonctionnel: qui peut accueillir "quelque chose" (exemple une "cle" d'une autre protéine)
- un site allostérique: qui change de forme une fois le site fonctionnel active.

Ainsi l'association de 2 protéines précises permet de déclencher tout le processus d'assemblage du reste du Complexe: c'est un système en cascade.

4- Genèse des Ribosomes des cellules Eucaryotes

Voir chapitre sur les Ribosomes.

Conclusion:

Les Complexes Supramoléculaires sont des assemblages de protéines qui ont des propriétés et des fonctions bien supérieures à leurs éléments constitutifs seuls. Le ribosome par exemple est un organelle qui est capable de diriger la synthèse de protéines.

B- LES MEMBRANES BIOLOGIQUES

Les membranes biologiques sont les membranes cellulaires (les enveloppes qui limitent la cellule), et les systèmes membranaires internes à l'intérieur de la cellule eucaryote.

1- Composition chimique

Toutes les membranes biologiques sont constituées de lipides et de protéines. On appelle cet ensemble des complexes lipo-protéiques.

La membrane cellulaire, ou membrane plasmique est formée du complexe lipo-protéique et de glucides.

Il existe un rapport important entre le nombre de protéines et de lipides qui peut être variable en fonction de la membrane biologique et qui est compris entre .25 et 4.

$$R = \frac{\text{Nb Protéines}}{\text{Nb Lipides}}$$

C'est-à-dire qu'il peut y avoir 4 fois plus de lipides que de protéines et inversement suivant la membrane biologique dont il s'agit.

Globalement le rapport cellulaire R est de 1.

Les endomembranes à l'intérieur des cellules eucaryotes ont un rapport supérieur à 1.

a- Les Lipides dans le complexe lipoproteique

La quasi-totalité des lipides contenues dans les membranes biologiques sont des phospholipides c'est à dire des lipides complexes. En outre, ce sont les glycerophospholipides aminés comme la Lecithine, les Cephalines, et les Sphingolipides (sphingolipines, gangliosides, cerebrosides) qui y sont présentes en plus grande quantité.

Toutes sont bien des lipides Amphiphiles, donc Polarisées.

À pH neutre, le groupe polaire (OH) peut s'associer à des molécules neutres, chargées négativement (phosphatidyl serine, phosphatidyl ethanol amine), ou chargées positivement (sphingolipides).

Les lipides membranaires peuvent aussi s'associer à des Sterols comme le cholestérol, associé à d'autres molécules, ou des stéroïdes associés à des acides gras.

Tous ces différents types de lipides sont très diversifiés et présents en quantité inégale dans les membranes biologiques.

Chez les Procaryotes, il n'existe pas de Cholestérol ou de molécule apparentée et les acides gras sont bien souvent des molécules monoinsaturées.

Chez les Eucaryotes, les acides gras sont le plus souvent polyinsaturés.

Dans un même organisme ou dans une même cellule, la composition lipidique des membranes biologiques peut être très différente de l'une à l'autre.

Les membranes cellulaires, aussi appelées membranes plasmiques, sont relativement pauvres en phosphatidyl choline alors que les autres membranes biologiques peuvent en présenter plus fréquemment.

Dans les mitochondries, la membrane interne est riche en cardiolipines. En effet, cette molécule est spécifique de cet organelle. En revanche, elle est pauvre en cholestérol.

Dans une même membrane, les 2 couches lipidiques ne présentent pas exactement la même composition. On appelle ce phénomène ASYMETRIE, ce qui sera très important en biologie cellulaire.

La matière vivante étant très riche en eau, les lipides s'associent en bicouches, c'est à dire que l'organisation moléculaire dans une membrane biologique se fait sous forme de Structures Feuilletées.

Une bicouche lipidique a en général une épaisseur d'environ 50Å : les têtes hydrophiles font une dizaine d'Å et l'association du complexe hydrophobe fait environ 30Å.

b- Les Proteines dans le complexe lipoproteique

Les lipides sont le support structural des membranes biologiques.

À l'intérieur de cette architecture lipidique s'intègrent des protéines, dont certaines peuvent être des molécules de structure.

Les Protéines forment la famille moléculaire qui donne la fonction à la membrane, c'est à dire le rôle physiologique (spécificités fonctionnelles de la cellule) en fonction de leur quantité et leur place au sein de la membrane.

Il existe deux grands types de protéines qui sont classés en fonction de leurs caractéristiques d'extraction de la membrane biologique :

* Les **PROTEINES INTRINSEQUES** (aussi dite integrees ou integrales) qui sont veritablement des plus interessantes. Elles sont insolubles dans un solvant aqueux car elles sont tres solidement associees aux lipides. On peut les isoler de la bicouche lipidique en detruisant l'organisation de la membrane. Pour cela, l'utilisation de **DETERGEANTS** est necessaire.

* Les **PROTEINES EXTRINSEQUES** (aussi dites peripheriques ou adventices). Elles sont assez faiblement associees a la bicouche, notamment car elles ne sont en contact qu'avec l'une des deux couches de la membrane (a la peripherie de la membrane). On peut donc les isoler avec une solution aqueuse avec un simple pH different de la neutralite, qu'il soit acide ou basique. On n'utilise donc pas de detergeants mais seulement une **SOLUTION IONISEE**.

Les Proteines Intrinseques sont appelees Proteines Vraies; elles sont enfouies plus ou moins profondement dans la bicouche lipidique. Elles peuvent etre integrees dans une seule ou carrement traverser les deux couches lipidiques de la membrane.

Ainsi il leur faut des caracteristiques chimiques particulieres pour entrer dans la membrane: elles presentent des **SEGMENTS HYDROPHOBES** (c'est-a-dire lipophiles). Ces segments particuliers sont induits par la presence de certains acides amines qui ont des proprietes hydrophiles ou au contraire hydrophobes. Les plus lipophiles d'entre eux sont dans l'ordre: l'Isoleucine, la Valine, la Leucine et la Phenylalanine. Les segments hydrophobes sont donc tres riches en ces acides amines (Ile, Val, Leu, Ph.), et les proteines vraies en generale sont aussi tres concentrees en ces acides amines, ce qui leur permet une meilleure integration a la membrane.

De plus, ces proteines specifiques presentent une organisation spatiale particuliere: les segments lipophiles s'organisent en forme d'helice: on appelle cette organisation en **HELICE ALPHA**.

Ces Proteines Intrinseques sont tres interessantes d'un point de vue physiologique car elles ont la faculte de traverser la bicouche lipidique pour avoir un contact avec les deux cotes de la membrane. Elles font le lien entre l'interieur et l'exterieur de la cellule.

En revanche, elle ne peuvent etre extraites de la bicouche que par destruction de la membrane avec des detergeants car elles sont liees a la membrane par des liaisons fortes (covalence).

Les Proteines Extrinseques sont liees aux lipides ou a d'autres proteines intrinseques avec des liaisons faibles de type ioniques.

Ces deux types de proteines presentent de tres nombreuses varietes dans une meme membrane: le nombre de ces proteines est quasiment toujours le meme quelle que soit le type de membrane, mais les differences se font par rapport au nombre d'especes differentes presentes: Plus la membrane est specifiques, moins les especes de proteines vont etre nombreuses, et inversement. En revanche, le nombre de ces proteines etant tres peu variable, elles vont se retrouver en moins grande diversite, mais en plus grande quantite pour chaque espece.

Exemple: Dans une membrane biologique a l'interieur de la Cellule, le Systeme S (Sarcoplasmique) des cellules musculaires (apparence stree) qui forme le **RETICULUM LISSE**, il existe une proteine majeure qui represente 90% de toutes les proteines presentes. Elle sert au controle du flux de Calcium: c'est une proteine tres specialisee.

La composition proteique est asymetrique dans la membrane d'une cellule et on trouve en plus grande quantite des proteines internes que externes.

Leurs fonctions sont diverses :

- transporteurs de substances qui traversent la bicouche lipidique,
- recepteurs de signaux biologiques, hormones, metabolites, virus,
- canaux ioniques: elles favorisent le passage des ions,
- elles favorisent et regulent les phenomenes d'oxydo-reduction (notamment dans les mitochondries),
- enzymes pour la synthese ou la degradation de substances.

2- Architecture moleculaire

Plusieurs idees ont ete confrontees en fonction des moyens techniques dont disposaient les chercheurs.

Les deux moyens revolutionnaires ont d'abord ete le microscope photonique, qui laissait apparaitre la membrane biologique comme un trait peripherique de la cellule, puis le microscope electronique a transmission qui montre l'agencement en double couche des lipides, ce qui confirmait bien le postulat quand a l'organisation en bicouches lipidiques d'apres les experiences in vitro des lipides en milieu aqueux.

Experience realisee pour prouver l'organisation en bicouche lipidique de la membrane: des hematies, cellules sans noyau (donc pas d'endomembrane) ont ete isolees et visualisees par microscope electronique a transmission de maniere a estimer la surface exterieure des hematies, donc la surface totale de membrane lipidique d'une population d'hematies (S). Cette meme population est alors solubilisee par un solvant organique et etalee sur un film d'eau. En condition de non agitation, les lipides membranaires ainsi extraits s'etalent en monocouche a la surface de l'eau. Cette surface mesuree est alors de 2S.

Cette experience montre bien que les lipides s'organisent en bicouches pour former des membranes biologiques dans la matiere vivante.

De la, les chercheurs ont fait des observations a l'aide du microscope.

Ces observations visuelles ont donc inspire les schemas modelisant l'architecture moleculaire des complexes lipoproteiques des membranes biologiques.

Tout d'abord, ce fut le MODELE LAMELLAIRE observe au microscope photonique dans lequel on ne pouvait voir qu'une representation tripartite avec deux zones sombres encadrant une zone plus claire. Les zones sombres, depourvues de details etaient considerees comme etant une couche proteique a la peripherie de la bicouche lipidique. Ce modele toutefois devenait invraisemblable car il n'expliquait pas le passage de molecules hydrosolubles a travers la membrane lipidique. La membrane etait donc representee d'apres ce modele comme une enveloppe impermeable limitant le passage aux molecules liposolubles.

Aucune reponse ne pouvait encore eclairer ce schema tres approximatif.

La visualisation de ce modele est pourtant celui qu'on obtient en voulant observer une membrane au microscope photonique pour la seule raison que pour preparer l'observation, l'element doit etre fixe a l'aide de produits chimiques (alcools, acetones, et autres solvants organiques entre autres) qui peuvent engendrer une redistribution des proteines qui sortent de la membrane et se regroupent a la peripherie de la bicouche pour donner cet aspect tripartite.

En 1972, une nouvelle technique donna des nouvelles idees aux biologistes: la methode de CRYOFIXATION fut une aide precieuse car a des temperatures voisines de -170/-180 Degres Celcius, grace a l'azote liquide, on peut fixer instantanement des cellules.

Ensuite, la coupe de ces cellules s'est avérée très intéressante car la CRYOFRACTURE se fait entre les deux couches lipidiques de la membrane cellulaire. On peut donc observer séparément les deux HEMIMEMBRANES, et notamment leur face intérieure (du côté des pôles hydrophobes). Les observations étaient frappantes et nettes, des deux plans de la membrane disjointe se distinguaient des creux et des bosses complémentaires d'une couche membranaire à l'autre (à un creux de la première hémimembrane correspond une bosse de la seconde, etc..)

Cette observation a mené à la conclusion suivante: les bosses observées sont des protéines, et les creux sont les emplacements correspondant à une protéine (bosse) de l'autre hémimembrane. Ce fut une véritable révolution qui montrait que les protéines n'étaient pas seulement présentes à la périphérie de la membrane biologique, mais aussi à l'intérieur de la bicouche lipidique. Ces dernières sont les protéines Intégrées.

Le nouveau modèle est alors appelé MOSAÏQUE FLUIDE. Mosaïque=protéines et lipides mélangés. Fluide fait allusion plutôt aux mouvements possibles au sein de cette membrane.

À l'intérieur de la membrane biologique, les liaisons peuvent être de types différents: liaisons de type hydrophobe-hydrophobe, liaisons ioniques, ponts à hydrogènes et parfois covalence.

Les deux faces observées au microscope après la cryofracture portent un nom général qui s'applique à toutes les membranes biologiques. L'hémimembrane la plus intérieure (dans le cas d'une membrane cellulaire, c'est celle tournée vers le cytoplasme) est appelée Face P, alors que la plus extérieure (tournée du côté du milieu extracellulaire) est appelée Face E.

On dit que la face E est tournée vers la lumière de l'organisme (cellule par exemple).

3- Aspect dynamique des structures membranaires: fluidité membranaire

Une membrane biologique n'est pas une structure figée, statique, mais au contraire une structure fluide qui est en mouvement. Ceci est vrai pour les lipides et les protéines présentes dans la membrane.

Toutefois, seuls les lipides bougent réellement, et le mouvement des protéines est causé par le déplacement des lipides au sein de l'une ou l'autre des couches.

Les lipides peuvent se déplacer de 4 manières différentes, alors que les protéines, ne font que suivre le mouvement, tout déplacement par elles-mêmes leur est strictement impossible.

a- Fluidité des lipides

Les lipides constituants majeurs des membranes biologiques peuvent se déplacer de 4 manières différentes:

- Flexion
- Rotation
- Diffusion latérale
- Diffusion transversale

Les FLEXIONS agissent comme des oscillations des lipides et les ROTATIONS des lipides se font indépendamment les unes des autres. Ces mouvements sont de faible amplitude car ils sont le résultat de l'agitation thermique dans la matière vivante, c'est-à-dire le THERMODYNAMISME.

Par contre, les diffusions latérales et transversales peuvent être de plus forte amplitude: Les DIFFUSIONS LATÉRALES constituent un déplacement au sein de la même couche lipidique dans toutes les dimensions du même plan.

Ce mouvement est très rapide, la vitesse de diffusion latérale est de l'ordre de 1-2 microns/s. Les DIFFUSIONS TRANSVERSALES correspondent à un changement d'hémimembrane. Ce mouvement est le plus compliqué de tous: il s'agit d'un phénomène de bascule des molécules contrôlé par des enzymes: on appelle ce mécanisme "phénomène de FLIP-FLOP" réalisé par les enzymes Flipases.

2- Mobilité des protéines (hybridomes)

Ces mouvements des protéines sont causés par le mouvement des lipides. Les phénomènes de flexion et de rotation sont donc quasiment nuls.

Seuls les phénomènes de diffusion latérale sont les plus représentatifs des déplacements protéiques au sein d'une même monocouche membranaire. Cette diffusion ne peut d'ailleurs être que LATÉRALE et pas transversale car elle ne se fait que dans une même hémimembrane, dans toutes les directions du même plan.

Du fait de l'absence de diffusion transversale, l'asymétrie dans la répartition des molécules au sein d'une même membrane biologique reste constante.

On peut visualiser ce mouvement de diffusion latérale des protéines dans une membrane biologique, mais le mouvement des lipides ne peut être mis en évidence, les lipides étant en grande partie identiques donc souvent indifférenciables.

En revanche, une expérience permet de mettre en évidence la diffusion latérale des protéines et donc le déplacement des lipides.

Les protéines possèdent des potentialités antigéniques, c'est-à-dire qu'on peut les faire réagir (et donc y accrocher) des anticorps.

Si on considère deux cellules de lignée différentes: une cellule de lignée humaine et une autre cellule de lignée "souris".

On crée des anticorps de couleur fluorescente (détectables au microscope) différents pour chaque lignée.

En présence des cellules, les anticorps sont reconnus par les antigènes de la lignée correspondante: les cellules sont donc décorées par les anticorps fluorescents de couleur différente. On peut observer au microscope les cellules colorées par les anticorps fluorescents des deux lignées.

On crée alors un HYBRIDOME, c'est-à-dire une cellule hybride, en faisant fusionner les deux cellules de lignée différente.

On peut alors observer de chaque côté de l'hybridome les couleurs correspondantes aux anticorps colorés utilisés précédemment.

Après 40 minutes de culture de cette cellule, on observe que la membrane de la cellule hybride est pigmentée des deux couleurs alternativement, autrement dit les protéines associées aux anticorps fluorescents se sont déplacées et se sont mélangées entre celles de la lignée "homme" et celles de la lignée "souris".

Conclusion: Les protéines se sont donc bien déplacées en un temps assez court au sein de la membrane cellulaire, et ce mouvement est la conséquence de la diffusion latérale des lipides.