Biochimie – Lipides complexes.

Phospholipides et sphingolipides.

1) Membrane cellulaire :

composition : • 25à 50% lipides.

• 50 à 75% protéines.

• < 10 glucides (glycolipides et glycoprotéines).

Epaisseur : 6 à 10 nm.

Phospholipides et glycolipides : ce sont des molécules amphipathiques.

Tête : elle est constituée d’alcool phosphorylé, de phosphorylcholine ou de résidu osidique. La tête est polaire.

Chaîne hydrocarbonée : elle est apolaire.

Les phospholipides et les glycolipides sont capable de s’auto-assembler en feuillets bimoléculaires en milieu aqueux (interactions hydrophobes, liaisons hydrogènes et électrostatiques entre les têtes, forces de Van der Waals entre les chaînes hydrocarbonées).

Les membranes sont : \* imperméable aux ions et aux molécules polaires.

\* Sont douées d’une tendance naturelle à l’extension.

\* Capables de former des compartiments.

\* Capables de se restaurer spontanément.

On retrouve 5.106 molécules de lipides dans une bicouche de 1µm sur 1µm.

Liaisons électrostatiques = liaisons ioniques = pont salin : ce sont des interactions entre 2 atomes porteurs de charges opposées.

Liaison hydrogène : elle met en jeu un atome d’hydrogène partagé entre 2 autres atomes, l’un accepteur (charge partielle négative) d’hydrogène (O ou N) et l’autre donneur d’hydrogène (O ou N)

C=O-----H–N.

Pour ces 2 types de liaisons, l’énergie de liaison se situe entre celle des liaisons covalentes et de Van der Waals.

Liaison de Van der Waals : elle est due au fait que la distribution de la charge électronique autour d’un atome varie dans le temps, ce qui génère une asymétrie de la distribution des charges.

⇒ Attraction entre 2 atomes, jusqu’à une certaine distance (= distance de contact) où les nuages électroniques se recouvrent, ce qui induit alors, plutôt des forces de répulsion.

Répartition asymétrique des phospholipides des membranes cytoplasmique (GR) :

Total.

Sphingomyéline.

Phosphatidylcholine.

Phosphatidyléthanolamine.

Phosphatidylsérine.

Phosphatidylinositol et autres.

Intérieur.

Extérieur.

0

50%

50%

• La diffusion latérale est extrêmement rapide. Les échanges lipides/lipides se produisent jusqu’à 107 fois par seconde.

• La diffusion transversale (= flip-flop) des phospholipides est un phénomène lent, car la tête polaire des PL, traverse difficilement la bicouche des chaînes carbonées.

• Flippase : transport vers le feuillet interne, processus ATP-dépendant.

Par exemple : passage de PS de la face externe du RE où ils sont synthétisés, à la face interne.

• Floppase : transport vers le feuillet externe, processus ATP-dépendant.

• Scramblase : équilibre les concentrations des PL. c’est un phénomène passif (sans énergie).

Modification de l’asymétrie des PL membranaires :

Plaquettes :

Signal calcique.

↓

Activation de l’activité de la scramblase.

↓

Externalisation des phosphatidylsérine.

↓

Etat procoagulant.

Lors de l’apoptose :

Signal calcique.

↓

Activation de l’activité de la scramblase.

↓

Externalisation des phosphatidylsérine.

↓

Reconnaissance par les macrophages.

(Elimination des corps apoptotiques).

Protéines membranaires et membrane lipidique :

• La membrane lipidique est un solvant pour les protéines membranaires Il existe des interactions de nature hydrophobe entre le domaine transmembranaire de la protéine et les chaînes carbonées des lipides.

• L’ancrage de certaines protéines de la membrane cytoplasmique peut se faire par l’intermédiaire :

→ D’un AG.

→ D’un groupement prényl.

→ De glycosylphosphatidylinositol.

Fluidité membranaire :

• La fluidité membranaire conditionne les fonctions membranaires, les changements de conformation des protéines membranaires.

• Etat solide → gel → cristal liquide → liquide.

Dans la majorité des PL, on retrouve un AG saturé et un AG insaturé. La membrane se trouve dans un état gel ou cristal liquide entre 20 et 40°C.

Facteurs modulant la fluidité membranaire :

• Composition en AG :

\* Plus la chaîne hydrocarbonée est longue, plus elle va favoriser la rigidité.

\* Plus le degré d’insaturation est important, moins on favorise la rigidité. :

→ AG saturé : les chaînes hydrocarbonées saturées, rectilignes, entrent facilement en interaction.

→ AG insaturé (cis) : angulation qui interfère avec l’empilement ordonné des AG.

Cholestérol : stabilisation des membranes biologiques dans un état fluide :

• fluidifie les structures trop rigides, perturbe l’arrangement des chaînes carbonées des AG.

• rigidifié les structures trop fluides par sa relative rigidité en présence de chaînes d’AG fluides.

Cavéoles et raft :

• domaine membranaire riche en cholestérol et sphingolipides, ainsi qu’en protéines de structures, les cavéolines, pour les cavéoles.

• on retrouve de nombreuses protéines de signalisations concentrées dans ces domaines membranaires (récepteur de l’EGF et du PDGF, de l’insuline, de la PKA, PKC, Ras, SOS, MAPK, phospholipases, sphingomyélinases…). Ces protéines sont associées aux cavéoles par une séquence consensus.

→ Concentration de différentes protéines appartenant à 1 même cascade de transduction, augmentant l’efficacité du signal.

Céramides :

Ce sont les lipides les moins polaires de la membrane. On les retrouve en quantité relativement importante au niveau de la couche cornée de l’épithélium → limite d’évaporation cutanée.

2) Surfactant :

• Composé de :

\* nombreux PL dont le dipalmitoylphosphatidylcholine qui est majoritaire.

\* cholestérol.

\* protéine SP (protéine de surfactant).

• Il est synthétisé par les pneumocytes de type 2.

• il diminue la tension de surface et empêche la collapsus des alvéoles pulmonaires et des bronchioles.

• Son déficit occasionne le syndrome de détresse respiratoire chez le prématuré. (maladie des membranes hyalines). Le surfactant est ″opérationnel″ a compté de la 32ème semaine aménorrhée.

• le traitement consiste en l’utilisation d’un surfactant de synthèse : le DPPC.

3) Signalisation intracellulaire :

• Hydrolyse des PL par la phospholipase :

O

⎪⎪

H2C–O––C–R1

⎪

R2–C––O–CH O

⎪⎪⎪⎪⎪

O H2C–O––P––O–X

⎪

O–

**Phospholipase A1.**

**Phospholipase A2.**

**Phospholipase C.**

**Phospholipase D.**

• synthèse du phosphatidylinositol-4, 5, bi-P :

ATP

ADP

**PI-4 kinase.**

Phoapshatidylinositol.

PI 4-P (PIP)

ATP

ADP

**PIP-5 kinase.**

PI 4, 5-biP (PIP2)

la phospholipase C sépare ensuite le DAG qui reste dans la membrane et l’inositol-3-P (IP3), une molécule fortement chargée qui se solubilise très bien dans le cytoplasme.

3.13.13.1) Récepteurs couplés aux protéines Gq :

GDP

Récepteur.

Phospholipase Cβ.

Adrénaline, Noradrénaline (+++) : R α1-adrénergique.

Acétylcholine :R muscarinique..

GTP

αq

GTP

GDP

GTP

ATP

AMPc + PPi.

**Protéine Gq.**

PIP2.

DAG.

IP3.

Protéine.

Phosphoprotéine.

Kinase (Ser/Thr).

**Changement de conformation de la calmoduline.**

**Changement de conformation de la kinase.**

**Calciprotéine**

**-calmoduline.**

**-kinase Ca2+ dépendante.**

**-phosphatase.**

**-troponine.**

RE (sarcoplasme).

4 Ca2+.

Calséquestrine.

R canal de Ca2+.

R canal.

Ca2+ dépendant.

Contrôle du signal :

Protéine.

Phosphoprotéine.

Protéine kinase C.

IP3.

Phospholipase Cδ.

DAG

PS.

- rôle rétro-inhibiteur des sous-unités βγ sur le récepteur.

- GTP associé à la sous-unité α de la protéine G, hydrolysé en GDP (activité GTPasique intrinsèque) ⇒ réassociation αβγ.

- IP3 est dégradé en inositol par l’action séquentielles de phosphatases.

- DAG hydrolysé ou phosphorylé en phosphatidate.

Contrôle de la glycogènolyse et de la glycogénogenèse :

**Kinases dépendantes**

**de la calmoduline.**

**Et de l’AMPc.**

**Phosphorylase kinase inactive.**

**Phosphorylase kinase–P active.**

**Phosphorylase inactive.**

**Phosphorylase–P active.**

**Glycogène synthase active.**

**Glycogène.**

**UDP-glucose.**

**Glucose 1–P .**

**Glycogène synthase–P inactive.**

**Protéine phosphatase 1 (PP1)**

**PP1**

**PP1**

**(nor)adrénaline. Rα1.**

**Glucagon.**

**(nor)adrénaline. Rβ.**

**Inhibiteur 1.**

**Inhibiteur 1–P.**

**PKA.**

Les récepteurs couplés aux protéines G :

• ils comportent 7 domaines transmembranaires.

• la fixation du ligand à son récepteur (site variable selon le ligand en question).

→ déplacement des domaines transmembranaires et des boucles intracellulaires.

→ activation des protéines G.

il existe environ 200 types de récepteurs couplés aux protéines G (+ les récepteurs olfactifs).

Extérieur.

Intérieur.

I1

I2

I3

E2

E3

I4

HOOC

NH2

Il existe 4 grandes classes de protéines G dont les chefs de file sont les protéines αs, αq, αi, et α12.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Classe de protéine G. | Stimulus. | Effecteurs. |
| αs | Glucagon, β-adrénergique. | ↑ adénylate cyclase. |
| αi | Acétylcholine (muscarinique), α2-adrénergique. | ↓ adénylate cyclase. |
| αq | Acétylcholine (muscarinique), α1-adrénergique. | ↑ phospholipase C. |
| α12 | Très variés. | ↑ phospholipase A2. |

3.2) Récepteurs tyrosine-kinase :

**β**

**α**

ATP

ADP

IRS

Avec l’arrivé de l’insuline (le petit rectangle bleu), le récepteur se dimèrise. Les sous-unités β possèdent une activité tyrosine-kinase qui permet une phosphorylation réciproque entre ses 2 sous-unités. La phosphorylation s’effectue ensuite sur la protéine IRS (substrat du récepteur de l’insuline). IRS une fois phosphorylée, fixe le domaine SH2 (homologue de l’oncogène src[[1]](#footnote-1)) de ses protéines cibles :

IRS

S

H

2

p85.

Pi-3 kinase.

p110.

Pi-4,5-bi-P

Pi-3,4,5-tri-P

ATP

ADP

-Pi-3 kinase.

-Grb 2 / SOS.

-PLC ξ.

La sous-unité régulatrice p85 de la Pi-3 kinase est le domaine SH2. la sous-unité catalytique phosphoryle le Pi-4,5-bi-P.

Pi-3,4,5-tri-P se fixe à des protéines kinases : PKB, PDK1 (kinase dépendante des phosphoinositides) et PKCξ.

Pi-3,4,5-tri-P

PD-K1

Synthèse protéique.

Glycogène synthase kinase.

↑ Glycogène synthase active.

Protéine   
phosphatase 1

Translocation vers la membrane de GLUT 4.

Rab-P.

PKB n’est active qu’après phosphorylation par PD-K1.

IRS

S

H

2

SOS.

Ras-GDP.

Phosphorylation des facteurs de croissance.

Ras-GTP.

MAPKKK.

MAPKK.

MAPK.

GRB 2.

Grb-2 est une protéine liée au récepteur des facteurs de croissance du domaine SH2.

Ras est un oncogène du sarcome du rat. MAP est une protéine kinase activée par les mitogènes.

Rétrocontrôle du signal :

• la sous-unité p110 de la Pi-3 kinase possède une activité sérine kinase :

→ phosphorylation de la sous-unité p85.

→ inhibition de l’activité kinase.

• PKCξ a une activité sérine / thréonine kinase :

→ phosphorylation du récepteur et d’IRS.

→ inhibition de l’activation.

Récepteurs de facteurs de croissance :

EGF (facteur de croissance épidermique).

PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes).

• les récepteurs de l’EGF et du PDGF ont la même structure générale que le récepteur de l’insuline.

• la fixation du ligand à son récepteur, induit la dimèrisation du récepteur, la phosphorylation réciproque de ses 2 sous-unités et l’acquisition d’une activité tyrosine kinase

⇒ fixation et activation de Pi-3 kinase (SH2).

⇒ Fixation de Grb2 / SOS et activation des MAP kinases (SH2).

⇒ Phosphorylation de PLCξ (SH2).

3.3) Phospholipase A2 et signalisation cellulaire :

• PLA2 cytosolique : cPLA2.

Ca2+ dépendantes ou indépendantes.

• PLA2 sécrétées : sPLA2.

\*pancréatique, autres.

\* Ca2+ dépendantes.

⇒ Libération de divers messagers ou précurseurs de messagers intracellulaires :

• AGL : précurseur de médiateurs prostaglandines, leucotriènes et thromboxanes.

Régulateur de l’expression de certains gènes.

• lysoPL : médiateur.

• lysoPAF : précurseur du PAF acéter.

cPLA2 :

• elle est activée par des signaux extracellulaires (hormones cytokines, oxydation, stimulations physiques,…).

• elle peut être mise en jeu :

\* par des signaux calciques.

\* par phosphorylations (MAPK, PKC).

\* par activation directe par protéine G12 (α12).

• l’activation implique la translocation de l’enzyme vers les membranes du noyau ou du RE (proximité des COX ou lipo-oxygénases).

• elle possède une spécificité pour les PL avec un acide arachidonique en sn-2.

sPLA2 :

• certaines sont fixées aux groupements héparanes sulfates de la surface cellulaire.

• Les interactions (internalisations) se font sous l’action de stimulis divers, puis hydrolyse des PL intracellulaires.

• certaines assurent le remodelage des PL membranaires.

3.4) Céramides et signalisation cellulaire :

la concentration membranaire des céramides est modulée par les enzymes de synthèse et de dégradation (activation des sphingomyélinases par certaines interleukines, AG, stimuli physique,…).

⇒ une augmentation de la concentration membranaire en céramide, favorise l’agrégation de certaines protéines de signalisation membranaires, et ainsi, la transduction du signal.

⇒ activation directe de protéines :

-PKCξ, PKB.

-CAPP : protéine phosphatase activée par les céramides.

-CAPK : protéine kinase activée par les céramides.

|  |  |
| --- | --- |
| Céramides. | Sphingosine-1-P. |
| Pro-apoptotiques. | Prolifération. |
| Rôle antiprolifératif. | Survie. |

1. **Src : cf. p60 v-src dans le cours de Biocell de Chauffert (protéines membranaires).** [↑](#footnote-ref-1)