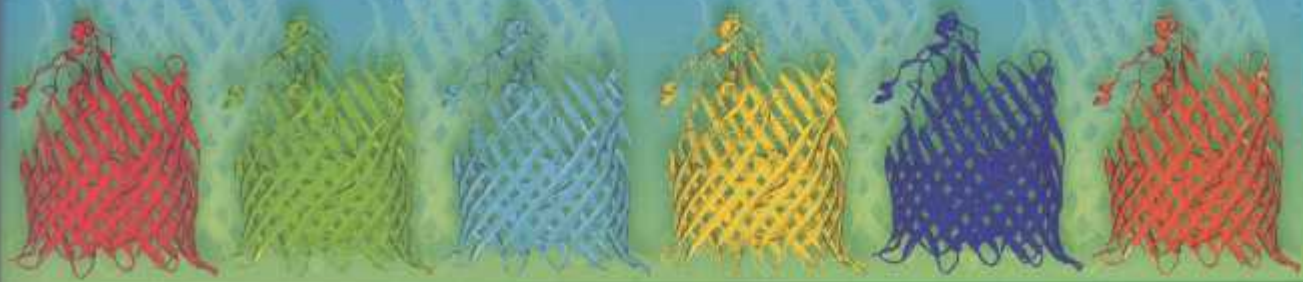


SCIENCES SUP



*Cours*

2<sup>e</sup> cycle / Master • PCEM

# BIOCHIMIE ET BIOPHYSIQUE DES MEMBRANES

Aspects structuraux et fonctionnels

2<sup>e</sup> édition

*Emanuel Shechter*

*avec la collaboration de Bernard Rossignol*

DUNOD



2<sup>e</sup> édition

Emanuel Shechter  
avec la collaboration de Bernard Rossignol

# BIOCHIMIE ET BIOPHYSIQUE DES MEMBRANES

## Aspects structuraux et fonctionnels

L'ouvrage traite des membranes biologiques, structures omniprésentes dans toute cellule vivante et dont le rôle est fondamental pour leur survie.

La présente édition rassemble en un ensemble cohérent les connaissances actuelles du domaine. Elle décrit et analyse tous les phénomènes associés aux membranes et donne une vision dynamique du sujet en mettant l'accent sur les relations structure/fonction.

Chacun des différents aspects abordés est illustré de nombreuses expériences tirées de la littérature scientifique récente. Plus de 400 figures enrichissent l'ouvrage et facilitent la compréhension du sujet.

Testé sur de nombreuses promotions d'étudiants, ce manuel concerne avant tout les 2<sup>es</sup> cycles/Masters biologiques. Il intéressera aussi les étudiants des 1<sup>ers</sup> cycles pharmaceutique et médical.

EMANUEL SHECHTER et BERNARD ROSSIGNOL sont tous deux professeurs à l'université Paris-Sud et y dirigent des laboratoires de recherche. Les travaux d'Emanuel Shechter portent sur les membranes biologiques, notamment les problèmes de structure et de transport ; ceux de Bernard Rossignol sont tournés vers l'étude de la signalisation cellulaire.



9 782100 487721

ISBN : 2 10 048772 8



www.dunod.com



BL302/5

28910

# BIOCHIMIE ET BIOPHYSIQUE DES MEMBRANES

## Aspects structuraux et fonctionnels

Cours



**Emanuel Shechter**

Professeur à l'université Paris-Sud

*avec la collaboration de Bernard Rossignol*

Professeur à l'université Paris-Sud

2<sup>e</sup> édition

DUNOD

# TABLE DES MATIÈRES

Avant propos.....	XI
<b>1 Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
1.1 Rôle et composition des membranes.....	1
1.2 Visualisation des membranes.....	3
1.2.1 Coupes minces.....	3
1.2.2 Cryofracture.....	3
1.2.3 Cryomicroscopie électronique.....	4
1.3 Plan de l'ouvrage.....	6
<i>Première partie</i>	
<i>Structure et dynamique structurale</i>	
<b>2 Lipides membranaires.....</b>	<b>9</b>
2.1 Différentes classes de lipides.....	9
2.1.1 Diacylphosphoglycérides (phospholipides).....	9
2.1.2 Diacylglycoglycérides (glycolipides).....	11
2.1.3 Sphingolipides.....	12
2.1.4 Stérols.....	14
2.1.5 Lipides des archaebactéries.....	14
2.1.6 Acides gras.....	15
2.2 Extraction et purification des lipides.....	16
2.2.1 Extraction.....	16
2.2.2 Purification.....	16
2.2.3 Caractérisation des chaînes hydrocarbonées.....	17
2.2.4 Composition lipidique des membranes.....	18
2.3 Systèmes modèles lipidiques.....	19
2.3.1 Liposomes.....	19
2.3.2 Monocouches lipidiques.....	22
2.3.3 Bicouches lipidiques planes.....	23
<b>3 Protéines membranaires.....</b>	<b>25</b>
3.1 Nature et propriétés des détergents.....	26
3.2 Solubilisation des membranes.....	29
3.2.1 Solubilisation des liposomes par les détergents.....	29
3.2.2 Solubilisation des membranes par les détergents non dénaturants.....	30
3.2.3 Solubilisation des membranes par le SDS.....	31
3.3 Reconstitution.....	31
3.3.1 Reconstitution à partir des constituants solubilisés.....	32
3.3.2 Reconstitution dans des vésicules préformées.....	33
3.4 Structure des protéines membranaires.....	33
3.4.1 Structures secondaires en hélice $\alpha$ et en chaînes $\beta$ .....	33
3.4.2 Recherche des segments transmembranaires hydrophobes en hélice $\alpha$ : profil d'hydrophobicité des protéines.....	34
3.4.3 Structure tridimensionnelle de quelques protéines membranaires : relation avec le profil d'hydrophobicité.....	36
3.4.4 Recherche des segments transmembranaires en hélice $\alpha$ dans le cas de protéines de structure inconnue : topologie des protéines.....	40
3.4.5 Organisation des hélices $\alpha$ transmembranaires.....	42
3.4.6 Une famille de protéines particulières : les porines.....	47
3.4.7 Confirmation de la topologie d'une protéine.....	48
3.5 Protéines amphitropiques.....	52
3.5.1 Myristoylation.....	52
3.5.2 Palmitoylation.....	54
3.5.3 Isoprénylation.....	55
3.5.4 Protéines associées à la membrane par un glycosylphosphatidylinositol.....	56

<b>4 Fusion membranaire</b> .....	59
4.1 Organisation lipidique et fusion.....	60
4.1.1 Organisations lamellaire et hexagonales des lipides.....	60
4.1.2 Concept de forme des lipides.....	62
4.1.3 Mécanisme de fusion lipidique.....	64
4.1.4 Détection expérimentale de la fusion.....	65
4.1.5 Relation entre fusion et transition lamellaire → hexagonale.....	67
4.2 Fusion virale : exemple de la protéine HA du virus de la grippe.....	70
4.2.1 Le virus de la grippe.....	70
4.2.2 Protéine HA.....	71
4.2.3 Mécanisme de fusion.....	74
4.3 Trafic cellulaire.....	76
<b>5 Asymétrie et diffusion transversales des lipides</b> .....	79
5.1 Diffusion transversale des lipides.....	80
5.1.1 Liposomes.....	80
5.1.2 Membranes non biogéniques.....	83
5.1.3 Membranes biogéniques, sièges de synthèse lipidique.....	84
5.2 Asymétrie lipidique : exemple de la membrane du globule rouge.....	86
5.3 Diffusion transversale active.....	89
5.3.1 Transport actif des aminophospholipides.....	90
5.3.2 Caractérisation de l'aminophospholipide translocase.....	92
5.3.3 Rôle de l'asymétrie membranaire.....	93
<b>6 Fluidité membranaire</b> .....	95
6.1 Détermination expérimentale de la fluidité.....	95
6.1.1 Dépolarisation de fluorescence.....	96
6.1.2 Résonance paramagnétique électronique (RPE).....	98
6.1.3 Fluidité membranaire.....	100
6.2 Fluidité et conformation des chaînes hydrocarbonées.....	100
6.2.1 Conformations ordonnées et désordonnées des lipides.....	101
6.2.2 Détection expérimentale des transitions ordre → désordre.....	101
6.2.3 Transitions conformationnelles des lipides.....	102
6.2.4 Conformation des chaînes et fluidité.....	103
6.3 Adaptation homéovisqueuse.....	104
6.3.1 Adaptation bactérienne.....	104
6.3.2 Adaptation chez les eucaryotes.....	106
6.4 Adaptation à l'alcool.....	107
6.5 Anesthésie générale : théorie lipidique ou protéique ?.....	108
<b>7 Diffusion latérale des lipides et des protéines</b> .....	111
7.1 Diffusion latérale théorique.....	111
7.2 Détermination expérimentale du coefficient de diffusion latérale - FRAP.....	112
7.3 Diffusion latérale des lipides et des protéines dans des systèmes modèles.....	113
7.3.1 Coefficient de diffusion latérale des lipides.....	113
7.3.2 Coefficient de diffusion latérale des protéines.....	114
7.4 Diffusion latérale des lipides et des protéines dans des membranes.....	115
7.4.1 Diffusion latérale des lipides.....	115
7.4.2 Diffusion latérale des protéines intrinsèques.....	116
7.5 Limitations à la diffusion membranaire.....	118
7.5.1 Formation d'agrégats protéiques.....	118
7.5.2 Interactions avec le cytosquelette membranaire.....	118
7.5.3 Interactions avec la matrice extracellulaire.....	121
7.5.4 Domaines de diffusion.....	123
<i>Deuxième partie</i>	
<i>Transports et couplages énergétiques</i>	
<b>8 Introduction</b> .....	127
8.1 Les transports membranaires.....	127
8.2 Rappels de bioénergétique.....	129
8.2.1 État stationnaire d'un système.....	129
8.2.2 Échange d'énergie.....	130
8.2.3 Travail et spontanéité.....	131
8.2.4 Enthalpie libre.....	132
8.2.5 Potentiel chimique.....	133
8.3 Couplages énergétiques.....	133
8.3.1 Réaction chimique et travail chimique.....	133

8.3.2	Transport et travail osmotique.....	135
8.3.3	Couplage de deux transformations.....	137
<b>9</b>	<b>Transports spontanés : diffusion passive, diffusion facilitée.....</b>	<b>141</b>
9.1	Diffusion passive.....	141
9.1.1	Loi de Fick.....	141
9.1.2	Équation de vitesse.....	143
9.1.3	Perméabilité passive.....	143
9.2	Diffusion facilitée par transporteur.....	146
9.2.1	Mécanisme de diffusion facilitée par transporteur.....	146
9.2.2	Équation de vitesse.....	148
9.2.3	Exemples de transport facilité par transporteur.....	151
9.3	Canaux aqueux.....	155
9.4	Les porines.....	157
	Annexe : équation de vitesse de la diffusion facilitée par transporteur.....	158
<b>10</b>	<b>Diffusion d'ions. Potentiel de membrane.....</b>	<b>163</b>
10.1	Électroneutralité macroscopique.....	163
10.2	Pompes ioniques.....	164
10.2.1	Pompes électrogènes.....	164
10.2.2	Pompes électroneutres.....	168
10.3	Flux ioniques.....	169
10.4	Potentiel de diffusion.....	170
10.4.1	Flux d'électrodiffusion : équation de Nernst-Planck.....	170
10.4.2	Équation de Goldman-Hodgkin-Katz.....	173
10.4.3	Formation artificielle d'un potentiel dans des liposomes.....	176
10.5	Détermination expérimentale de $V$ et $\Delta pH$ .....	177
10.5.1	Détermination de $V$ .....	177
10.5.2	Détermination du $\Delta pH$ .....	178
<b>11</b>	<b>Canaux ioniques.....</b>	<b>181</b>
11.1	Le patch clamp.....	182
11.1.1	Les différentes configurations.....	182
11.1.2	Courants ioniques.....	184
11.2	Canaux dépendants de la fixation d'un ligand extracellulaire.....	186
11.2.1	Récepteur nicotinique de l'acétylcholine.....	187
11.2.2	Récepteurs du GABA et de la glycine.....	193
11.2.3	Récepteurs du glutamate (non NMDA et NMDA).....	194
11.3	Canaux dépendants du potentiel.....	196
11.3.1	Canal $Na^+$ potentiel-dépendant.....	196
11.3.2	Canal $K^+$ potentiel-dépendant : canal Shaker.....	199
11.3.3	Potentiel d'action.....	202
11.3.4	Canal $Ca^{++}$ potentiel-dépendant : le récepteur de DHP.....	204
11.4	Canaux $Ca^{++}$ intracellulaires.....	206
11.4.1	Récepteur de la ryanodine.....	207
11.4.2	Récepteur de l'IP <sub>3</sub> .....	208
<b>12</b>	<b>Chaînes membranaires de transfert d'électrons.....</b>	<b>211</b>
12.1	Chaîne mitochondriale.....	211
12.1.1	Composition de la chaîne mitochondriale.....	212
12.1.2	Transfert d'électrons.....	214
12.1.3	Transport de protons.....	216
12.1.4	Énergétique du couplage.....	219
12.1.5	Régulation du transfert d'électrons.....	220
12.1.6	Myopathies mitochondriales.....	221
12.2	Chaînes bactériennes non photosynthétiques.....	222
12.3	Cytochrome c oxydase.....	223
12.4	Ubiquinol/cytochrome c réductase : bc <sub>1</sub> .....	226
12.4.1	Disposition des sous-unités dans le complexe.....	226
12.4.2	Mécanisme de couplage.....	227
12.5	Membranes photosynthétiques.....	228
12.5.1	Antenne collectrice d'énergie.....	228
12.5.2	Centre réactionnel.....	229
12.5.3	Chaînes membranaires de bactéries pourpres (parcours cyclique des électrons).....	231
12.5.4	Chaînes membranaires des thylacoïdes (parcours non cyclique des électrons).....	231
12.5.5	Bactériorhodopsine : un système photosynthétique particulier.....	232

Annexe I : rappels d'oxydo-réduction .....	235
Annexe II : couples redox des chaînes .....	237
<b>13 ATPsynthase</b> .....	241
13.1 Composition et structure de l'ATPsynthase .....	241
13.2 Reconstitution .....	243
13.3 Stœchiométrie du couplage .....	244
13.4 Fonctionnement de l'ATPsynthase .....	245
13.4.1 Catalyse sur F <sub>1</sub> .....	245
13.4.2 Diffusion de protons par l'intermédiaire de F <sub>0</sub> .....	246
13.4.3 Couplage .....	247
13.5 Phosphorylation oxydative .....	248
13.6 Na <sup>+</sup> ATPsynthase .....	249
<b>14 ATPases membranaires</b> .....	251
14.1 ATPases ioniques .....	251
14.1.1 P-ATPases .....	252
14.1.2 V-ATPases .....	258
14.2 Transporteurs ABC .....	259
14.2.1 ATPases à protéines affines bactériennes .....	259
14.2.2 Les gènes <i>mdr</i> .....	263
14.2.3 Mucovicirose .....	268
<b>15 Transports actifs secondaires</b> .....	273
15.1 Symports nutriments/H <sup>+</sup> et nutriments/Na <sup>+</sup> .....	274
15.1.1 Symport lactose/H <sup>+</sup> chez <i>Escherichia coli</i> .....	275
15.1.2 Autres perméases bactériennes .....	277
15.1.3 Symport D-glucose/Na <sup>+</sup> (cellules animales) .....	278
15.1.4 Autres symports impliqués dans le transport de nutriments .....	279
15.2 Antiport Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> .....	279
15.2.1 Antiport Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> eucaryote : régulation du pH intracellulaire .....	279
15.2.2 Antiport Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> procaryote .....	282
15.3 Transporteurs neuronaux .....	282
15.3.1 Transporteurs de la membrane plasmique couplés au Na <sup>+</sup> et au Cl <sup>-</sup> .....	283
15.3.2 Transporteurs du glutamate de la membrane plasmique .....	285
15.3.3 Transporteurs des vésicules synaptiques .....	285
<i>Troisième partie</i>	
<i>Translocation et insertion des protéines</i>	
<b>16 Cellules eucaryotes : protéines de la voie de sécrétion. Adressage, translocation, insertion</b> .....	289
16.1 Importation co-traductionnelle dans le réticulum endoplasmique .....	290
16.1.1 Système de translocation <i>in vitro</i> .....	291
16.1.2 Mécanisme général de la translocation co-traductionnelle .....	291
16.1.3 Séquence signal .....	292
16.1.4 SRP et son récepteur membranaire .....	293
16.1.5 La machinerie de translocation .....	296
16.2 Importation post-traductionnelle dans le réticulum endoplasmique .....	302
16.3 Insertion des protéines membranaires dans la membrane du réticulum endoplasmique .....	304
16.3.1 Protéines à un segment transmembranaire possédant une séquence signal clivable et l'extrémité N-terminale extracytoplasmique (type I) .....	305
16.3.2 Protéines à un segment transmembranaire possédant une séquence signal non clivable (séquence d'ancrage) .....	306
16.3.3 Protéines à plusieurs segments transmembranaires .....	309
16.4 Au-delà de l'importation dans le réticulum endoplasmique .....	310
16.4.1 Rétention dans le réticulum endoplasmique .....	310
16.4.2 Rétention dans le Golgi .....	313
16.4.3 Adressage vers le lysosome .....	314
<b>17 Cellules bactériennes. Exportation, sécrétion, insertion des protéines</b> .....	315
17.1 Exportation des protéines dépendante des protéines Sec .....	316
17.1.1 Translocation post-traductionnelle et besoins énergétiques <i>in vivo</i> .....	317
17.1.2 Système de translocation <i>in vitro</i> .....	318
17.1.3 Séquence signal .....	320
17.1.4 Structure compétente des protéines exportées : rôle de la séquence signal et participation de la protéine chaperon SecB .....	327

17.1.5	Machinerie de translocation.....	331
17.1.6	Comparaison entre exportation bactérienne et importation dans le réticulum endoplasmique.....	340
17.2	Insertion des protéines membranaires dans la membrane cytoplasmique.....	341
17.3	Sécrétion des protéines à travers les deux membranes cytoplasmique et externe.....	343
17.3.1	Sécrétion par les transporteurs ABC.....	343
17.3.2	Sécrétion par la voie spécifique dépendante des protéines Sec.....	345
<b>18</b>	<b>Importation mitochondriale.....</b>	<b>347</b>
18.1	Protéines matricielles.....	347
18.1.1	Translocation <i>in vitro</i> ; besoins énergétiques.....	348
18.1.2	Préséquences.....	349
18.1.3	Structuration des précurseurs : participation de protéines chaperons.....	352
18.1.4	Mécanisme de translocation.....	357
18.2	Protéines de l'espace intermembranaire.....	360
18.3	Importation du cytochrome c dans l'espace intermembranaire.....	364
<b>19</b>	<b>Importation dans les chloroplastes, peroxysomes, noyaux.....</b>	<b>367</b>
19.1	Importation chloroplastique.....	367
19.1.1	Importation stromale.....	367
19.1.2	Importation thylacoïdale.....	369
19.2	Importation peroxysomiale.....	370
19.2.1	Signaux d'adressage des protéines matricielles.....	370
19.2.2	Récepteurs des protéines matricielles.....	372
19.2.3	Protéines membranaires.....	374
19.3	Importation nucléaire.....	375
19.3.1	Séquence de Localisation Nucléaire (NLS).....	375
19.3.2	Récepteurs de NLS et translocation.....	375
<i>Quatrième partie</i>		
<i>Récepteurs et voies de signalisation</i>		
<b>20</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>379</b>
	Annexe : notions de pharmacologie en relation avec la signalisation.....	381
<b>21</b>	<b>Récepteurs membranaires.....</b>	<b>385</b>
21.1	Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).....	385
21.1.1	Structure.....	385
21.1.2	Propriétés.....	388
21.1.3	Pathologies liées aux récepteurs RCPG.....	398
21.2	Récepteurs à activité enzymatique intrinsèque.....	398
21.2.1	Récepteurs à activité tyrosine kinase.....	398
21.2.2	Récepteurs à activité enzymatique autre que tyrosine kinase.....	402
21.2.3	Récepteurs liant des protéines à activité tyrosine kinase : exemple des récepteurs des cytokines.....	403
21.2.4	Pathologies associées aux récepteurs à activité enzymatique intrinsèque.....	404
21.3	Récepteurs impliqués dans l'endocytose.....	404
21.3.1	Voie générale de l'endocytose.....	404
21.3.2	Exemples d'endocytose.....	406
21.4	Récepteurs du système immunitaire.....	409
21.4.1	Formes membranaires des immunoglobulines.....	409
21.4.2	Récepteur des lymphocytes T.....	410
21.4.3	Récepteurs codés par le Complexe Majeur d'Histocompatibilité.....	410
21.4.4	Récepteurs CD4 et CD8.....	412
<b>22</b>	<b>Couplages récepteur - effecteur.....</b>	<b>413</b>
22.1	Couplage par l'intermédiaire de protéines G hétérotrimériques.....	413
22.1.1	Cycle des protéines G hétérotrimériques.....	413
22.1.2	Classification des protéines G.....	415
22.1.3	Structure des protéines G.....	415
22.1.4	Acylation et isoprénylation des protéines G.....	417
22.1.5	Effet des toxines sur les protéines G.....	418
22.1.6	Rôle de $\alpha$ et du complexe $\beta\gamma$ en tant que régulateur d'effecteurs.....	419
22.1.7	Pathologies associées aux protéines G.....	423
22.2	Domaines SH2 et SH3.....	424

<b>23</b>	<b>Effecteurs et production de messagers intracellulaires ; cible des messagers</b> .....	427
23.1	Production de messagers intracellulaires.....	427
23.1.1	Adénylyl cyclases et AMPc.....	427
23.1.2	Guanylyl cyclases et GMPc.....	429
23.1.3	Phosphodiesterases.....	430
23.1.4	Lipides et production de messagers intracellulaires.....	431
23.2	Cibles des messagers intracellulaires : protéines kinases.....	438
23.2.1	Protéine kinase A.....	439
23.2.2	Protéines kinases sensibles au complexe $Ca^{++}$ -calmoduline.....	440
23.2.3	Protéines kinases C.....	441
<b>24</b>	<b>Exemples de voies de signalisation intégrées</b> .....	445
24.1	Voies de signalisation à partir des RCPG.....	445
24.1.1	Récepteurs muscariniques.....	446
24.1.2	Récepteur $\alpha 2$ adrénergique.....	447
24.2	Voies de signalisation à partir des récepteurs à activité tyrosine kinase.....	448
24.2.1	EGF (Epidermal Growth Factor).....	448
24.2.2	Insuline.....	453
	<b>Bibliographie</b> .....	457
	<b>Index</b> .....	459