

EMANUEL SHECHTER

avec la collaboration de
BERNARD ROSSIGNOL

Biochimie et biophysique des membranes

Aspects structuraux
et fonctionnels

2^e édition

MASSON 

SV

Enseignement
des
Sciences de la Vie

EMANUEL SHECHTER

avec la collaboration de

BERNARD ROSSIGNOL

Biochimie et biophysique des membranes

Aspects structuraux et fonctionnels

L'ouvrage

- L'ouvrage traite des membranes biologiques, structures omniprésentes dans toutes cellules vivantes et dont le rôle est fondamental pour leur survie.
- Entièrement refondue, 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.

Le public

- Testé sur de nombreuses promotions d'étudiants, ce manuel concerne avant tout les licences et maîtrises biologiques. Il intéressera aussi les étudiants des premiers cycles biologique, pharmaceutique et médical.

Les auteurs

Emanuel Shechter et **Bernard Rossignol**, tous deux professeurs à l'université de Paris-Sud, 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.

SV

Enseignement
des
Sciences de la Vie

ISBN 2-225-83009-6



9 782225 830099

TABLE DES MATIÈRES

Avant propos.....	XI
-------------------	----

1 Introduction générale.....	1
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

Première partie

Structure et dynamique structurale

2 Lipides membranaires.....	9
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

3 Protéines membranaires.....	25
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 α et en chaînes β	33
3.4.2 Recherche des segments transmembranaires hydrophobes en hélice α : 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 α dans le cas de protéines de structure inconnue : topologie des protéines.....	40
3.4.5 Organisation des hélices α 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 Isoprénnylation.....	55
3.5.4 Protéines associées à la membrane par un glycosylphosphatidylinositol.....	56

4 Fusion membranaire	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
5 Asymétrie et diffusion transversales des lipides	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
6 Fluidité membranaire	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
7 Diffusion latérale des lipides et des protéines	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>	
8 Introduction	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
9	Transports spontanés : diffusion passive, diffusion facilitée.....	141
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
10	Diffusion d'ions. Potentiel de membrane.....	163
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 ΔpH	177
10.5.1	Détermination de V.....	177
10.5.2	Détermination du ΔpH	178
11	Canaux ioniques.....	181
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'IP3.....	208
12	Chaînes membranaires de transfert d'électrons.....	211
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 ₁	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
13 ATPsynthase	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 ₁	245
13.4.2 Diffusion de protons par l'intermédiaire de F ₀	246
13.4.3 Couplage	247
13.5 Phosphorylation oxydative	248
13.6 Na ⁺ ATPsynthase	249
14 ATPases membranaires	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 mdr	263
14.2.3 Mucoviciidose	268
15 Transports actifs secondaires	273
15.1 Symports nutriments/H ⁺ et nutriments/Na ⁺	274
15.1.1 Symport lactose/H ⁺ chez <i>Escherichia coli</i>	275
15.1.2 Autres perméases bactériennes	277
15.1.3 Symport D-glucose/Na ⁺ (cellules animales)	278
15.1.4 Autres symports impliqués dans le transport de nutriments	279
15.2 Antiport Na ⁺ /H ⁺	279
15.2.1 Antiport Na ⁺ /H ⁺ eucaryote : régulation du pH intracellulaire	279
15.2.2 Antiport Na ⁺ /H ⁺ procaryote	282
15.3 Transporteurs neuronaux	282
15.3.1 Transporteurs de la membrane plasmique couplés au Na ⁺ et au Cl ⁻	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>	
16 Cellules eucaryotes : protéines de la voie de sécrétion. Adressage, translocation, insertion	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
17 Cellules bactériennes. Exportation, sécrétion, insertion des protéines	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

235	17.1.5	Machinerie de translocation.....	331
237	17.1.6	Comparaison entre exportation bactérienne et importation dans le réticulum endoplasmique.....	340
241	17.2	Insertion des protéines membranaires dans la membrane cytoplasmique.....	341
241	17.3	Sécrétion des protéines à travers les deux membranes cytoplasmique et externe.....	343
243	17.3.1	Sécrétion par les transporteurs ABC.....	343
244	17.3.2	Sécrétion par la voie spécifique dépendante des protéines Sec.....	345
245			
245	18	Importation mitochondriale.....	347
246	18.1	Protéines matricielles.....	347
247	18.1.1	Translocation <i>in vitro</i> ; besoins énergétiques.....	348
248	18.1.2	Préséquences.....	349
249	18.1.3	Structuration des précurseurs : participation de protéines chaperons.....	352
	18.1.4	Mécanisme de translocation.....	357
251	18.2	Protéines de l'espace intermembranaire.....	360
251	18.3	Importation du cytochrome c dans l'espace intermembranaire.....	364
252			
258	19	Importation dans les chloroplastes, peroxysomes, noyaux.....	367
259	19.1	Importation chloroplastique.....	367
259	19.1.1	Importation stromale.....	367
263	19.1.2	Importation thylacoïdale.....	369
268	19.2	Importation peroxysomiale.....	370
	19.2.1	Signaux d'adressage des protéines matricielles.....	370
273	19.2.2	Récepteurs des protéines matricielles.....	372
274	19.2.3	Protéines membranaires.....	374
275	19.3	Importation nucléaire.....	375
277	19.3.1	Séquence de Localisation Nucléaire (NLS).....	375
278	19.3.2	Récepteurs de NLS et translocation.....	375
279			
279		<i>Quatrième partie</i>	
282		<i>Récepteurs et voies de signalisation</i>	
282	20	Introduction.....	379
283		Annexe : notions de pharmacologie en relation avec la signalisation.....	381
285	21	Récepteurs membranaires.....	385
	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
289	21.2	Récepteurs à activité enzymatique intrinsèque.....	398
290	21.2.1	Récepteurs à activité tyrosine kinase.....	398
291	21.2.2	Récepteurs à activité enzymatique autre que tyrosine kinase.....	402
291	21.2.3	Récepteurs liant des protéines à activité tyrosine kinase : exemple des récepteurs des cytokines.....	403
292	21.2.4	Pathologies associées aux récepteurs à activité enzymatique intrinsèque.....	404
293	21.3	Récepteurs impliqués dans l'endocytose.....	404
296	21.3.1	Voie générale de l'endocytose.....	404
302	21.3.2	Exemples d'endocytose.....	406
304	21.4	Récepteurs du système immunitaire.....	409
	21.4.1	Formes membranaires des immunoglobulines.....	409
305	21.4.2	Récepteur des lymphocytes T.....	410
	21.4.3	Récepteurs codés par le Complexe Majeur d'Histocompatibilité.....	410
306	21.4.4	Récepteurs CD4 et CD8.....	412
309			
310	22	Couplages récepteur - effecteur.....	413
310	22.1	Couplage par l'intermédiaire de protéines G hétérotrimériques.....	413
313	22.1.1	Cycle des protéines G hétérotrimériques.....	413
314	22.1.2	Classification des protéines G.....	415
	22.1.3	Structure des protéines G.....	415
315	22.1.4	Acylation et isoprénnylation des protéines G.....	417
316	22.1.5	Effet des toxines sur les protéines G.....	418
317	22.1.6	Rôle de α et du complexe $\beta\gamma$ en tant que régulateur d'effecteurs.....	419
318	22.1.7	Pathologies associées aux protéines G.....	423
320	22.2	Domaines SH2 et SH3.....	424
327			

23 Effecteurs et production de messagers intracellulaires ; cible des messagers	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
24 Exemples de voies de signalisation intégrées	445
24.1 Voies de signalisation à partir des RCPG	445
X 24.1.1 Récepteurs muscariniques	446
X 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
X 24.2.2 Insuline	453
Bibliographie	457
Index	459