

## Structures et organisation des protéines membranaires

En 1925, Gorter et Grendel, en étudiant la quantité de lipides extraits d'hématies (présentant la particularité d'être des cellules Eucaryotes dépourvues d'organites), proposent pour la première fois l'existence d'une bicouche lipidique, ouvrant la voie à la compréhension moderne des membranes biologiques.

Une membrane biologique est aujourd'hui définie comme un assemblage dynamique de lipides, de protéines et de glucides, organisé en bicouche et constituant une interface sélective entre le cytosol et le milieu extracellulaire. Une protéine, quant à elle, est un polymère d'acides aminés dont la séquence et la structure tridimensionnelle lui confère des propriétés physico-chimiques et des fonctions spécifiques.

Dans la mesure où les protéines existant dans les membranes peuvent participer à leur fonction nous nous demanderons : quelles sont les structures des protéines des membranes et comment sont-elles organisées au sein des membranes ?

Nous étudierons, tout d'abord, la place de ces protéines au sein des membranes avant de nous pencher sur les structures particulières de ces protéines qui leur permettent de prendre leurs places.

### I. Les protéines sont disposées asymétriquement au sein des membranes

#### 1. Mise en évidence de la présence de protéines au sein de membranes

La présence de protéines au sein des membranes a été révélée au cours du XX<sup>e</sup> siècle. Le modèle de Singer et Nicolson (1972) s'appuie notamment sur l'observation que les membranes ne sont pas de simples bicouches lipidiques, mais incluent de des protéines en leur sein.

Un argument décisif provient de la technique de cryofracture, développée dans les années 1960–1970. Après congélation rapide d'une cellule, celle-ci est fracturée mécaniquement. La cassure se produit préférentiellement au niveau du plan d'interface entre les deux feuillets de la bicouche, là où les forces de cohésion sont les plus faibles (voir [2] sur le schéma). On obtient ainsi deux faces et après dépôt d'un métal lourd (voir [3] sur le schéma) et observation au microscope électronique, ces faces révèlent la présence de nombreux reliefs. Ces structures correspondent à des protéines transmembranaires sectionnées longitudinalement lors de la fracture.

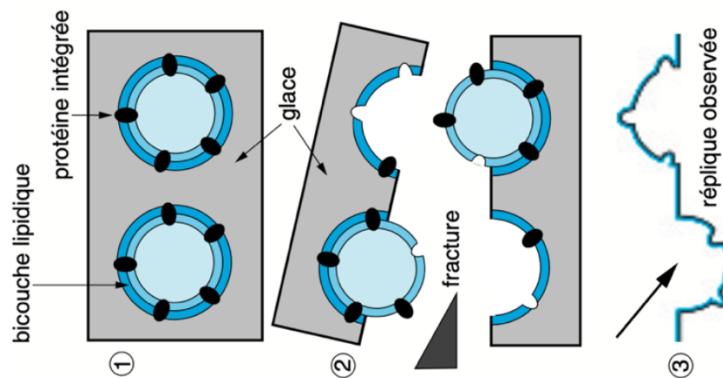


Schéma du procédé de cryofracture

Ainsi, les données de cryofracture, amènent Singer et Nicolson à établir clairement que les membranes biologiques sont des assemblages lipido-protéiques complexes et non de simples barrières lipidiques. Mais nous allons voir que ces protéines ne sont pas disposées de manière aléatoire au sein de ses membranes.

## 2. Une disposition asymétriques verticales entre les feuillets des protéines membranaires

Les protéines membranaires ne se répartissent pas uniformément entre les deux feuillets de la bicouche : elles présentent une asymétrie verticale. On distingue les protéines intrinsèques ([2], [3] et [4] sur le schéma), qui possèdent un ou plusieurs domaines insérés dans la bicouche, et les protéines extrinsèques ([1] sur le schéma), accrochés à l'extérieur de la bicouche. Certaines sont plus présentes sur le feuillet cytosolique ([4] et [1] sur le schéma) alors que pour d'autre, c'est sur le feuillet extracellulaire ([2] sur le schéma).

Cette asymétrie est démontrée par des expériences de protéolyse sélective, notamment via l'utilisation de trypsine. La digestion contrôlée de protéines par la trypsine appliquée soit du côté extracellulaire, soit du côté cytosolique, puis l'analyse des fragments obtenus par SDS-PAGE, permet d'identifier les domaines accessibles et donc de déterminer la topologie des protéines.

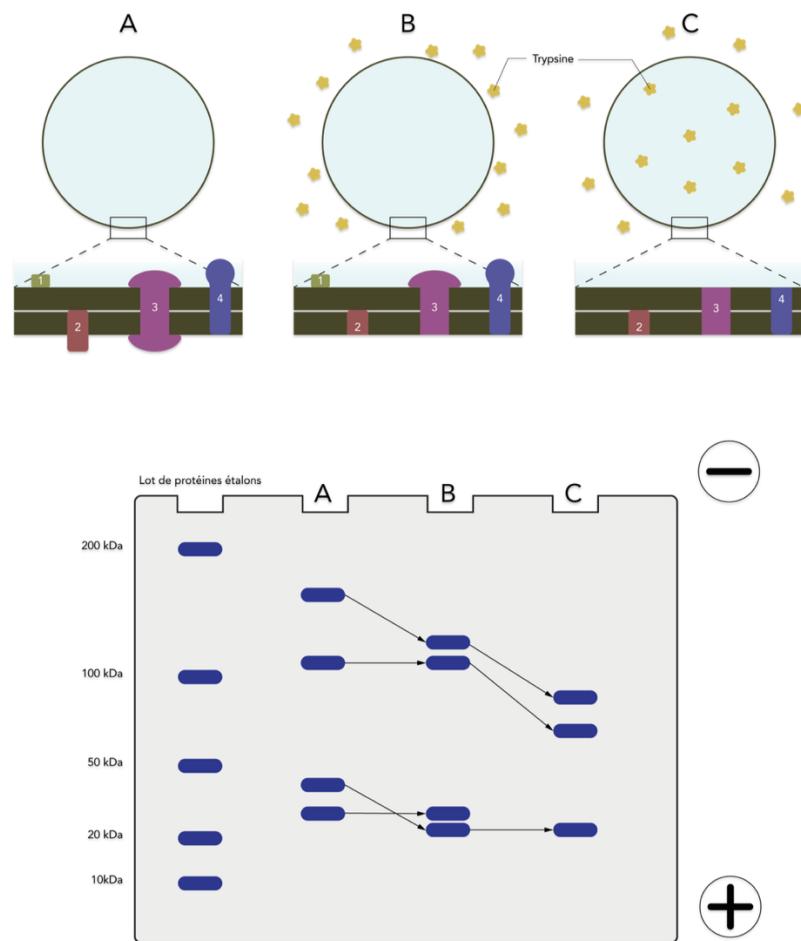


Schéma de résultats théoriques obtenus après expérience de protéolyse sélective

Ainsi, les protéines occupent toutes une diversité de positions dans ou sur les feuillets membranaires, mais même au sein d'un même feuillet on peut trouver des zones plus concentrées en protéines.

## 3. Une disposition asymétriques horizontale des protéines membranaires avec les radeaux lipidiques

Outre l'asymétrie verticale, les membranes présentent une hétérogénéité latérale : les protéines ne sont pas réparties de manière aléatoire dans le plan de la membrane, mais peuvent se regrouper dans des microdomaines particuliers appelés radeaux lipidiques.

Ces radeaux — enrichis en sphingolipides, cholestérol et protéines spécifiques — constituent des plateformes fonctionnelles permettant de concentrer des acteurs d'un même processus.

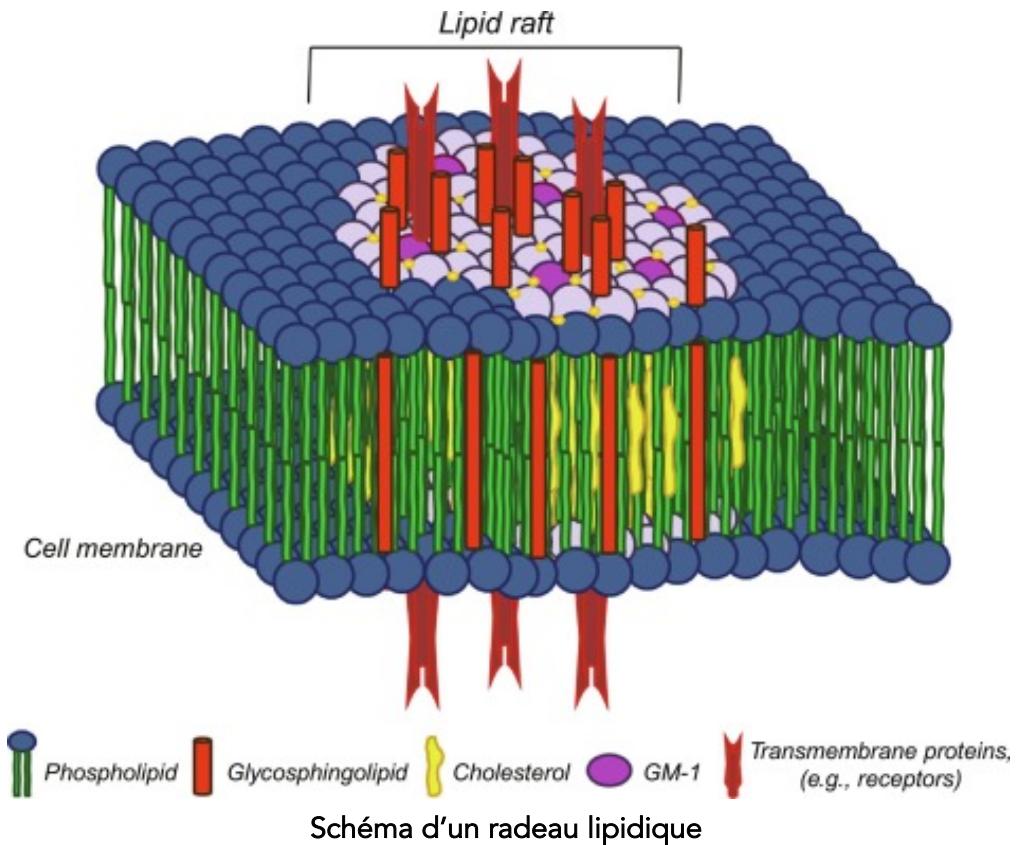


Schéma d'un radeau lipidique

Un exemple significatif est celui de l'endocytose dépendante des cavéolines, dans laquelle les cavéolines et diverses protéines de signalisation s'assemblent au sein de domaines spécialisés de la membrane plasmique. La présence coordonnée de plusieurs protéines au sein du même radeau facilite leur interaction et permet la formation de cavéoles, impliquées notamment dans l'internalisation de macromolécules ou dans la régulation de signaux intracellulaires.

L'étude de la composition et de l'organisation des membranes montre que les protéines y occupent une place essentielle. Leur présence, mise en évidence par des approches biochimiques et ultrastructurales comme la cryofracture, s'accompagne d'une **organisation asymétrique**, à la fois entre les deux feuillets et au sein même du plan membranaire. Cette répartition, loin d'être aléatoire, conditionne la localisation, l'orientation et la coopération fonctionnelle des protéines membranaires. Il nous reste maintenant à étudier ce qui permet, dans les structures des protéines, d'occuper ces différentes positions au sein des membranes.

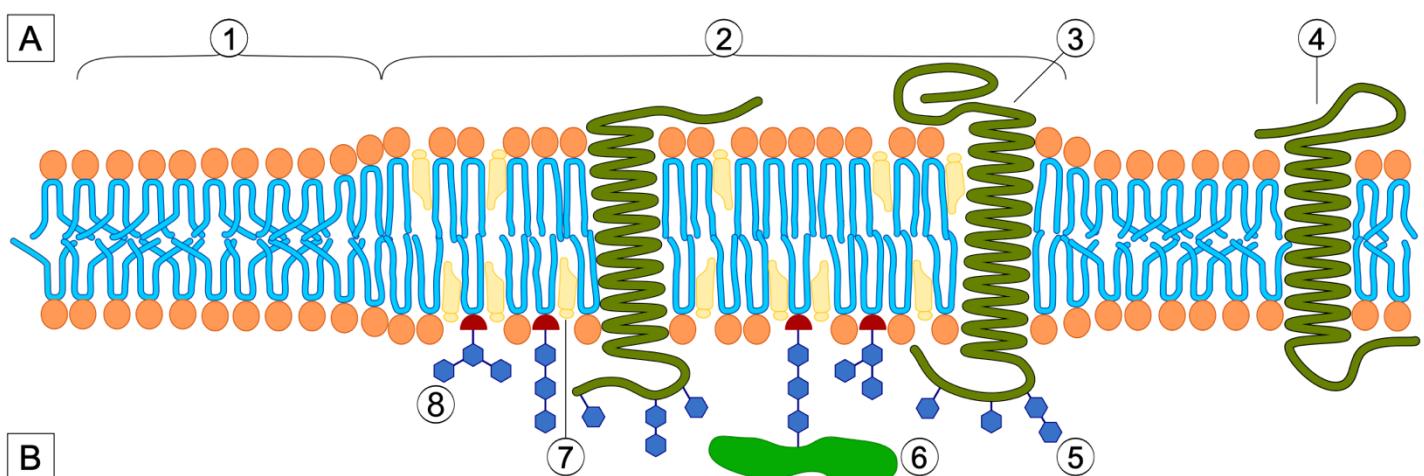
## II. L'acquisition de la structure des protéines permet l'interaction avec la membrane

### 1. Les acides aminés sont la clé de certaines liaisons faibles ou fortes avec la membrane

L'interaction d'une protéine avec une membrane dépend en premier lieu de sa structure primaire, c'est-à-dire de la nature et de la succession des acides aminés qui la composent. Ces résidus déterminent la capacité de la protéine à établir des interactions plus ou moins stables avec les lipides membranaires, expliquant la diversité des modes d'association des protéines à la bicouche.

D'une part, certains acides aminés chargés ou polaires permettent la formation de liaisons faibles (interactions ioniques, ponts hydrogène) avec les têtes polaires des phospholipides. Ces interactions caractérisent les protéines extrinsèques, localisées à la surface d'un feuillet sans y être insérées. Par exemple, le cytochrome c de la chaîne respiratoire mitochondriale est associé à la face externe de la membrane interne grâce à des interactions entre ses résidus basiques et les têtes polaires des phospholipides, en particulier la **cardiolipine** (?).

D'autre part, certains acides aminés permettent la formation de liaisons covalentes avec des lipides de la membrane. Ces modifications post-traductionnelles ancrent solidement la protéine dans un feuillet sans qu'elle traverse la bicouche. On parle alors de protéines à ancre lipidique, dont l'attachement dépend d'acides aminés spécifiques. Un exemple important est celui des lamines B, protéines du nucléosquelette dont l'ancrage à la membrane interne de l'enveloppe nucléaire repose sur une liaison covalente aux lipides de la membrane et participe à la structuration mécanique du noyau.



Dessin 4 : Membrane plasmique avec radeau lipidique (A = intracell ; ©wikipedia)

- |  |   |
|--|---|
| 1. Non-raft membrane                           | 5. Glycosylation modifications (on glycoproteins and glycolipids) |
| 2. Lipid raft                                  | 6. GPI-anchored protein   |
| 3. Lipid raft associated transmembrane protein | 7. Cholesterol  |
| 4. Non-raft membrane protein                   | 8. Glycolipid   |

### Schéma des diversités d'interaction protéine membrane

Ainsi, la nature des acides aminés détermine la capacité d'une protéine extrinsèque à interagir faiblement ou fortement avec la membrane, jouant un rôle essentiel dans son mode d'association et, par conséquent, dans sa fonction. En ce qui concerne les protéines intrinsèques, l'organisation tridimensionnelle de ces acides aminés est déterminante.

## 2. Le repliement tridimensionnel offre des domaines de liaison à la membrane

Le repliement des protéines en structures secondaires, contraint par la géométrie des liaisons peptidiques, et tertiaires leur permet de s'insérer dans les membranes. Les hélices **a**, avec leurs chaînes latérales hydrophobes, forment des segments compatibles avec l'environnement apolaire de la bicouche lipidique. Une succession d'au moins vingt acides aminés hydrophobes rend un segment compatible avec la membrane. Ces hélices **a** hydrophobes sont courantes dans les domaines transmembranaires des protéines intégrales. Le repliement tertiaire organise ces segments en domaines transmembranaires fonctionnels, parfois multiples, assurant des fonctions essentielles comme le transport.

Par exemple, le canal potassique KCNK10 (un canal à deux pores de la famille K2P) comporte quatre hélices **a** transmembranaires par sous-unité. Leur agencement tridimensionnel définit un pore sélectif pour  $K^+$ , parfaitement adapté à la traversée de la membrane plasmique tout en maintenant la sélectivité ionique.

Ainsi, la construction progressive de la structure tridimensionnelle — de la simple hélice **a** jusqu'au domaine transmembranaire complet — permet à certaines protéines d'acquérir les propriétés nécessaires pour s'insérer dans la bicouche, s'y stabiliser et y remplir des fonctions vitales.

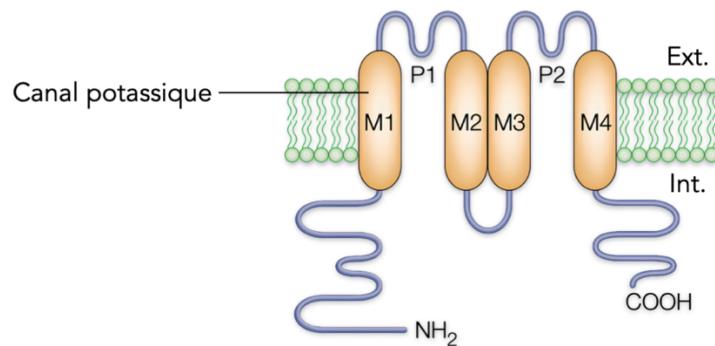


Schéma d'un canal HCNK10

Cependant, au-delà de leur interaction avec la membrane, les protéines doivent y trouver place. C'est ce qui conduit à examiner, dans un dernier temps, comment ces protéines parviennent à la membrane après l'acquisition de leur structure.

## 3. L'adressage des protéines du ribosome à la membrane

La structure primaire synthétisée par le ribosome conditionne l'adressage précoce de nombreuses protéines vers le réticulum endoplasmique granuleux (REG). C'est dans cette membrane que débute leur repliement, assisté par des chaperonnes, ainsi que leur insertion lorsque la séquence contient des segments transmembranaires hydrophobes. Une fois partiellement maturées, ces protéines rejoignent la membrane des saccules de l'appareil de Golgi par transport vésiculaire, où elles subissent leurs dernières modifications avant d'être dirigées vers leur membrane cible. Lors de l'exocytose, elles s'intègrent alors définitivement dans la bicouche.

L'expérience de pulse-chase de George Palade a permis de démontrer ce trajet : le marquage d'abord localisé dans le REG migre ensuite vers le Golgi puis vers la membrane plasmique, attestant du rôle central de ce système dans l'acquisition et la mise en place de la structure membranaire des protéines.

Les protéines membranaires adoptent une organisation asymétrique, à la fois verticale entre les deux feuillets et horizontale au sein du plan de la membrane, où elles peuvent se regrouper en microdomaines spécialisés tels que les radeaux lipidiques. Cette distribution non aléatoire permet la coopération fonctionnelle entre protéines impliquées dans un même processus.

Cette diversité est permise par une grande diversité de structures, déterminées par leur composition en acides aminés et leur repliement tridimensionnel. Les segments hydrophobes formant des hélices **a** permettent la formation de domaines transmembranaires, tandis que d'autres résidus assurent des interactions périphériques ou des ancrages lipidiques. Ces organisations structurales conditionnent leur insertion, leur orientation et leur stabilité au sein de la bicouche.

Ainsi, la structure des protéines membranaires et leur organisation au sein des membranes sont étroitement liées : c'est la complémentarité entre propriétés structurales et disposition spatiale qui permet aux membranes biologiques d'assurer leurs fonctions essentielles à la vie cellulaire.

Nous pouvons nous interroger sur ces fonctions assurées par la membrane et notamment l'intervention des protéines dans la réalisation de transport membranaire sélectif de particules contre leur gradient électrochimiques.