Notre collègue Sandrine SAGAN, directrice du Laboratoire des biomolécules (ENS-CNRS) à Jussieu nous a présenté ce lundi 1er avril 2019, un exposé intitulé « Développement récent concernant le transport des molécules à travers la membrane » .

Après une courte présentation générale du rôle des membranes dans le maintien de l’homéostase (maintien du pH, du gradient électrochimique, du potentiel redox, de la température et de la pression osmotique), notre collègue décrit les modes de transport transmembranaires actif et passif. Elle aborde le mécanisme d’endocytose (ou internalisation) lorsqu’une partie de la membrane entoure complètement une particule et la fait pénétrer de l’extérieur vers l’intérieur d’une cellule. Elle distingue successivement : la phagocytose qui est l’absorption de grosses particules par des vésicules de diamètre supérieur à 250 nm ; la pinocytose qui est l’ingestion de fluides ou de macromolécules au moyen de petites vésicules de diamètre inférieur ou égal à 150 nm ; et enfin l’internalisation de ligands ou d’anticorps.

Pendant longtemps, les biologistes ont pensé que la membrane cellulaire se résumait à une bicouche lipidique. Aujourd’hui, cette membrane est considérée comme tapissée d’une couche de polysaccharides sulfatés plus ou moins épaisse associés à des protéines appelé glycocalyx. Ce complexe moléculaire est chargé négativement. On sait aujourd’hui que certaines pathologies se traduisent par différents degrés de sulfatation de ces molécules.

La question qui est posée est « comment fait-on rentrer un polypeptide dans la cellule ? ».

Sandrine Sagan rappelle le travail princeps d’Alain Prochiantz et Alain Joliot en 1991 sur les propriétés d’une séquence d’un facteur de transcription d’Antennapedia riche en lysine et en arginine appelée « pénétratine ». La même observation sera faite ultérieurement avec la séquence de la protéine TAT du virus HIV ainsi que d’autres RNA et DNA-binding proteins.

Les capacités de pénétration ne se limitent pas aux séquences cationiques, certaines séquences amphiphiles ou hydrophobes ont également ces propriétés. Par contre, en ce qui concerne la structure de ces protéines (hélice, feuillet, …), il n’y a aucun consensus. Il ne semble pas que ce soit un paramètre important. Enfin, le mécanisme d’entrée de ces peptides fait appel aussi bien à l’endocytose qu’à la translocation directe.

Sandrine Sagan nous présente ensuite trois exemples de partenaires possibles de ces peptides vecteurs, exemples nous permettant d’appréhender les aspects physicochimiques de nouveaux mécanismes de passage des membranes ; tout d’abord les *lipides* externes et internes, ensuite les *protéines membranaires* et enfin le *glycocalyx*. En effet, la nature des interactions avec ces trois partenaires dépendra de la composition chimique de ces peptides.

*Concernant l’interaction des peptides avec les* *lipides membranaires*, il est souhaité que le peptide vecteur n’ait aucune toxicité cellulaire lors de sa traversée de la membrane. Il devra donc interagir avec une membrane asymétrique dont le feuillet externe sera zwitterionique (charge neutre) et le feuillet interne chargé négativement. C’est d’ailleurs cette charge interne qui exercera une force motrice sur le peptide si sa charge est positive.

Ensuite, les séquences peptidiques ayant un bon coefficient de partage eau/octanol seront privilégiées. Pour cela, l’arginine sera préférée à la lysine car la charge de l’arginine est plus facile à neutraliser par un acide gras non protoné (lauréate, oléate, …) que celle de la lysine. L’utilisation de peptides photomarqués a permis, également, de comprendre que la « pénétratine » préférait les phases désordonnées de la membrane, c’est-à-dire des zones riches en acide gras à chaînes insaturées et courtes.

*Concernant l’interaction des peptides avec les protéines membranaires*, l’étude portera sur l’intérêt de l’incorporation de cystéines dans les séquences de nos peptides pour faciliter les interactions avec celles-ci, comme le fait la toxine de crotale. En effet, la présence de cystéines (réduites ou non) permet d’augmenter la pénétration d’un facteur 20 à 100. Ainsi Stéphane Malil à l’Université de Genève utilise cette technologie des polysulfures pour internaliser de nombreuses molécules d’intérêt pharmaceutique.

*Concernant enfin l’interaction des peptides avec le glycocalyx*, Mme Sandrine Sagan conclut son exposé en soulignant son importance. Il faut représenter ce partenaire comme une éponge gorgée d’eau et de cation divalents, un milieu très visqueux dû à la présence d’héparane sulfate et de chondroïtine sulfate. Il est intéressant d’observer que ce n’est pas le nombre de charges positives du peptide vecteur qui est le paramètre clé de l’efficacité de pénétration, ce qui semble contre-intuitif, mais d’autres paramètres à identifier.

Ainsi, lors d’une autre étude concernant l’hydrolyse de la sphingomyeline par la sphingomyelinase, il a été observé une augmentation de la pénétration du peptide vecteur dûe, d’une part, à la présence d’un ou plusieurs acides aminés « tryptophane » dans la séquence du peptide et, d’autre part, à un changement de courbure de la membrane, dû à la présence de céramide, entrainant une déstabilisation de la membrane par exclusion du cholestérol et de certaines protéines membranaires.

Il est ainsi suggéré que les séquences contenant du tryptophane forment plus facilement des agrégats avec certains glycocalyx. Le remplacement d’acides aminés cationiques est donc largement compensé par un nombre équivalent de tryptophane. Une étude par calorimétrie isotherme a permis, d’ailleurs, de constater que l’enthalpie de liaison (réaction exothermique) est directement reliée au nombre de tryptophanes présents dans la séquence.

Il est reste encore beaucoup à découvrir sur les interactions des séquences peptidiques avec les complexes moléculaires membranaires et peut-être découvrirons-nous encore d’autres paramètres qui s’ajouteront à ceux déjà connus (arginine, cystéine, tryptophane) ?

*Le lecteur peut consulter les diapositives de la conférence de Sandrine Sagan. Pour accéder au fichier concerné,* [*cliquer ici*](https://www.dropbox.com/s/s2ltogf0po20jdw/Expos%C3%A9%20Sandrine-Sagan.ppsx?dl=0) *; pour accéder aux séquences audio de chaque diapositive, ouvrir ensuite avec Powerpoint online, puis affichage-mode lecture-lancer le diaporama*

 Résumé rédigé par Benoît Prieur et Michel Gondran, AEIS