

CHAPITRE IV. LA GLYCOSYLATION DES MACROMOLECULES ET ROLE BIOLOGIQUE

La glycosylation est le phénomène qui consiste à greffer des groupements glucidiques, ou encore glycanes sur les protéines et les lipides. C'est l'une des modifications les plus importantes dans la synthèse de protéines membranaires et sécrétées. La diversité des monosaccharides constituant les glycanes permet d'envisager une multitude d'assemblages possibles et rend compte de la complexité des structures glycaniques et de leur étude.

Toutes les cellules en possèdent des sucres à la surface qu'on trouve sur les lipides et sur les protéines, dont l'appellation est : glycolipides ou glycoprotéines. Un glycolipide ne présente qu'une seule chaîne oligosaccharidique, par contre une glycoprotéine présente plusieurs chaînes oligosaccharidiques variables. Dans la nature, on trouve plus de 100 molécules différentes de glucides, mais leur présence au niveau membranaire se limite à peu près à 12 sucres dont les plus importants sont : D-glucose, D-galactose, D-mannose, L-fucose, L-arabinose, D-xylose, N-acétyl-D-glucosamine, N-acétyl-D-galactosamine et N-acétyl- neuraminique acid (sialic acid).

A. Les glycoprotéines : type de liaison et intérêt de la glycosylation

Les glycoprotéines sont des chaînes sucrées liées aux protéines, ils forment la plus grande partie de la masse des glucides membranaires. La glycosylation des protéines correspond à un ajout d'oligosaccharides (polymères constitués d'un petit nombre de glucides simples ou oses) au cours de la biosynthèse de certaines protéines membranaires ou sécrétées, qui, de fait, deviennent des glycoprotéines. Cet ajout se fait par voie enzymatique et en plusieurs étapes dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi des cellules Eucaryotes. Elle participe à la maturation de ces protéines et peut avoir un rôle décisif dans leur fonction. La glycosylation concerne plus de 50 % des protéines animales. Les glycoprotéines sont réparties dans les différents compartiments cellulaires (cytoplasme, noyau, lysosomes, RE, Golgi ou encore mitochondries), la plupart étant sécrétée ou associée à la membrane plasmique. Parmi les glycoprotéines, on distingue plusieurs grands groupes selon le type d'ancrage ou encore la proportion de glucides. Sur la base de la liaison entre la protéine et le glycanne on distingue deux grands types de glycosylation :

- La N-glycosylation : c'est l'addition d'un oligoside « N-acétyl-glucosamine » à une acide aminée asparagine (Asn) disponible.

- La O-glycosylation : c'est l'addition de glucides au niveau des résidus -OH des acides aminés sérine et thréonine des chaînes peptidiques selon l'acide aminé utilisé.

I. La N-glycosylation

La N-glycosylation s'effectue en deux étapes. Dans un premier temps, une chaîne ramifiée de quelques oses est ajoutée cotraductionnellement sur la protéine à modifier, via l'établissement d'une liaison covalente entre un hydroxyl (-OH) d'une N-acétylglucosamine située à une extrémité de la chaîne glucidique, et l'amide (-CO-NH₂) de la chaîne latérale d'un résidu asparagine (asn) à la protéine. La liaison ainsi formée est une liaison dite N-glycosidique, d'où le nom de N-glycosylation.

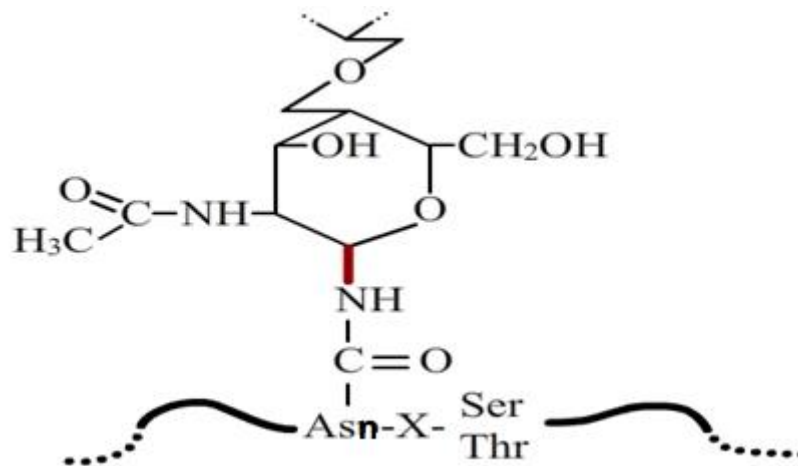


Figure IV.1. Liaison N-glycosidique [43].

La liaison entre la protéine et l'arbre glucidique se fait entre la chaîne latérale d'un résidu asparagine et une N-acétylglucosamine (en rouge).

La réaction établissant cette liaison covalente est contrôlée par une enzyme, une glycosyltransférase, qui est localisée dans la lumière du RE. En effet, l'arbre glucidique est initialement porté par un dolichol, un lipide spécifiquement présent à la face interne de la membrane du RE. Il est alors transféré par la glycosyltransférase sur la chaîne polypeptidique en cours de synthèse. La chaîne glucidique initialement greffée est composée de 14 oses au total. Cet arbre glucidique initial est ensuite remanié lors du passage de la protéine par l'appareil de Golgi. Les modifications se font séquentiellement dans les compartiments successifs de l'appareil de Golgi (cis, médian, trans, et enfin réseau trans-golgien).

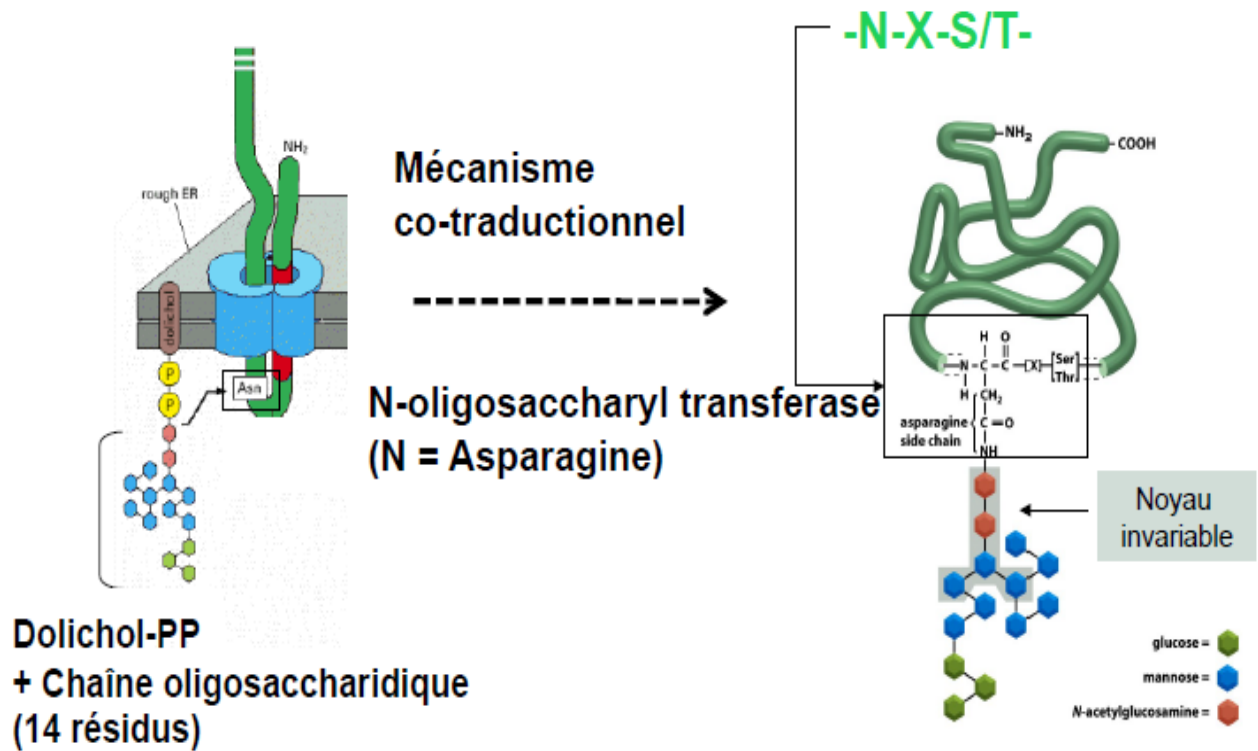


Figure IV.2. La N-glycosylation des protéines [44].

L'addition de chaînes glucidiques ne s'effectue pas sur tous les résidus asparagine des protéines N-glycosylées. En effet, seules les asparagines appartenant aux deux séquences Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr (où X est un acide aminé quelconque excepté la proline) peuvent être glycosylées. Ces signaux, s'ils sont nécessaires, ne sont cependant pas suffisants et ne déterminent que des sites potentiels de N-glycosylation. D'autres facteurs entrent en jeu pour la glycosylation effective de ces sites, comme la structure de la protéine elle-même ou le type cellulaire dans lequel elle est synthétisée.

II. La O-glycosylation

La O-glycosylation correspond également à l'ajout d'un oligosaccharide sur une protéine, mais via l'établissement d'une liaison entre une N-acétylgalactosamine et le groupement hydroxyl (-OH) de la chaîne latérale d'une acide aminée sérine ou thréonine. Il existe cependant un cas particulier, celui du collagène, où le sucre impliqué dans la liaison est un galactose et l'acide aminé une hydroxylysine.

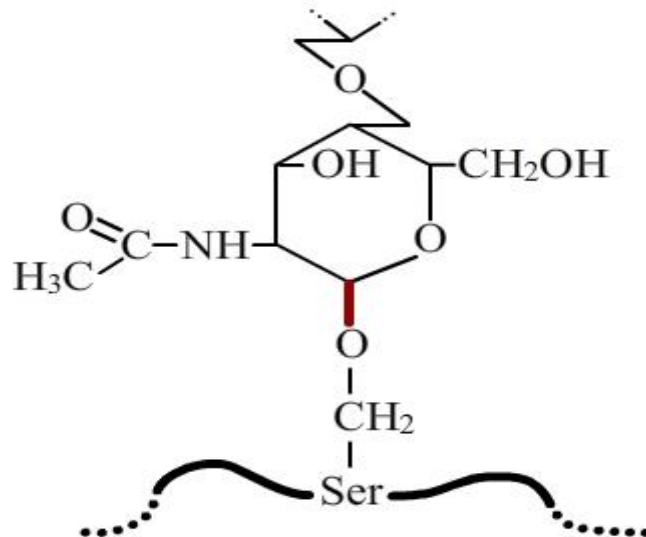


Figure IV.3. Liaison O-glycosidique [43].

La liaison entre la protéine et l'arbre glucidique se fait entre la chaîne latérale d'un résidu serine ou thréonine et une N-acétylgalactosamine (en rouge).

Cette addition se déroule dans l'appareil de Golgi, donc post-traductionnellement, durant la phase de maturation de ces glycoprotéines. Une fois encore, le mécanisme est contrôlé par voie enzymatique. En revanche, l'addition des résidus se fait séquentiellement un à un (s'il y en a plusieurs évidemment), à partir d'oses activés par leur liaison avec un nucléotide, et non à partir d'un précurseur oligosaccharidique. Au final, les chaînes glucidiques de la O-glycosylation sont beaucoup plus courtes que dans le cas de la N-glycosylation, avec le plus souvent 1, 2 voire 3 résidus osidiques seulement. Pour autant les chaînes obtenues sont beaucoup plus variées que dans le cas de la N-glycosylation.

III. Intérêts de la glycosylation

- La N-glycosylation, comme dans le cas de la O-glycosylation, peut affecter les propriétés physiques et chimiques des protéines, modifiant non seulement la masse moléculaire mais aussi la solubilité et la charge électrique.
- Les glycoprotéines membranaires et les glycolipides constituent des signaux de reconnaissance permettant des interactions intercellulaires.
- Activité biologique « interactions ligand-récepteur » modulation de la fonction de la protéine telles que les hormones, enzymes, immunoglobulines et facteurs de croissance, ...etc.
- La partie glycosylée de la glycoprotéine joue un rôle dans le contrôle de qualité du repliement des protéines.

- Les substituants glycosidiques des glycoprotéines sont d'importants sites d'adressage des protéines au compartiment cellulaire adéquat.
- Les glycoconjugués font aussi partie de la couche de haute densité moléculaire, le glycocalix, qui recouvre la surface des cellules épithéliales chez les eucaryotes. Cette zone participe à la cohésion cellulaire et à la protection de la cellule contre les chocs physiques et contre l'attaque de microorganismes.
- Les principaux glycolipides, chez les animaux supérieurs, sont les cérébrosides et les gangliosides qui semblent jouer un rôle dans les processus de neurotransmission, dans l'immunité tissulaire et dans les mécanismes de reconnaissance moléculaire entre cellules.

IV. Étude moléculaire de quelques glycoprotéines

IV.1. les glycoprotéines des groupes sanguins

On trouve à la surface des globules rouges (ou érythrocytes) des molécules capables d'être reconnues par le système immunitaire et de déclencher une réponse immunitaire. Ce sont les antigènes membranaires érythrocytaires. Leur nature chimique est variable protéine et glycoprotéine ou glycolipide.

La découverte du système ABO en 1901 par Landsteiner a permis d'expliquer pourquoi certaines transfusions sanguines étaient couronnées de succès alors que d'autres se terminaient en tragiques accidents (hémolyse des érythrocytes transfusés).

Les groupes sanguins ABO résultent d'une glycosylation effectuée avec les mêmes enzymes que pour la O-glycosylation, même s'ils ne sont pas toujours associés à des protéines. Ils viennent de ce que trois conformations possibles d'un oligosaccharide greffé sur une protéine membranaire des globules rouges donnent naissance à trois antigènes : l'antigène H (ou O), l'antigène A et l'antigène B. En effet, la spécificité des antigènes membranaires des globules rouges, ou hématies, dépend de la nature des oligosaccharides constitutifs.

- Fucose et galactosamine spécifique des antigènes du groupe A.
- Fucose et galactose spécifiques des antigènes du groupe B.

Ces antigènes sont des chaînes oligosaccharidiques liés covalamment à des glycolipides ou des glycoprotéines dans la membrane plasmique. Les sucres terminaux des oligosaccharides distinguent les trois antigènes. La présence ou l'absence des glycosyltransférases qui ajoutent

du galactose (Gal) ou de la N-acétylgalactosamine (GalNAc) à l'antigène O déterminent le groupe sanguin d'une personne.



Figure IV. 4. Antigènes du groupe sanguine A et B [45].

IV.2. Les glycoprotéines humaines diverses (les lectines)

Les lectines sont des protéines capables de reconnaître et de fixer spécifiquement, de manière réversible, des molécules oligosaccharidiques. Les lectines sont généralement classées en fonction de leur origine animale ou végétale et en fonction des structures saccharidiques qu'elles reconnaissent.

Les lectines de mammifères sont regroupées en quatre groupes, les galectines, les lectines de type C, de type P et de type I. Les groupes sont définis par homologie de séquence et par homologie structurale des sites de reconnaissance.

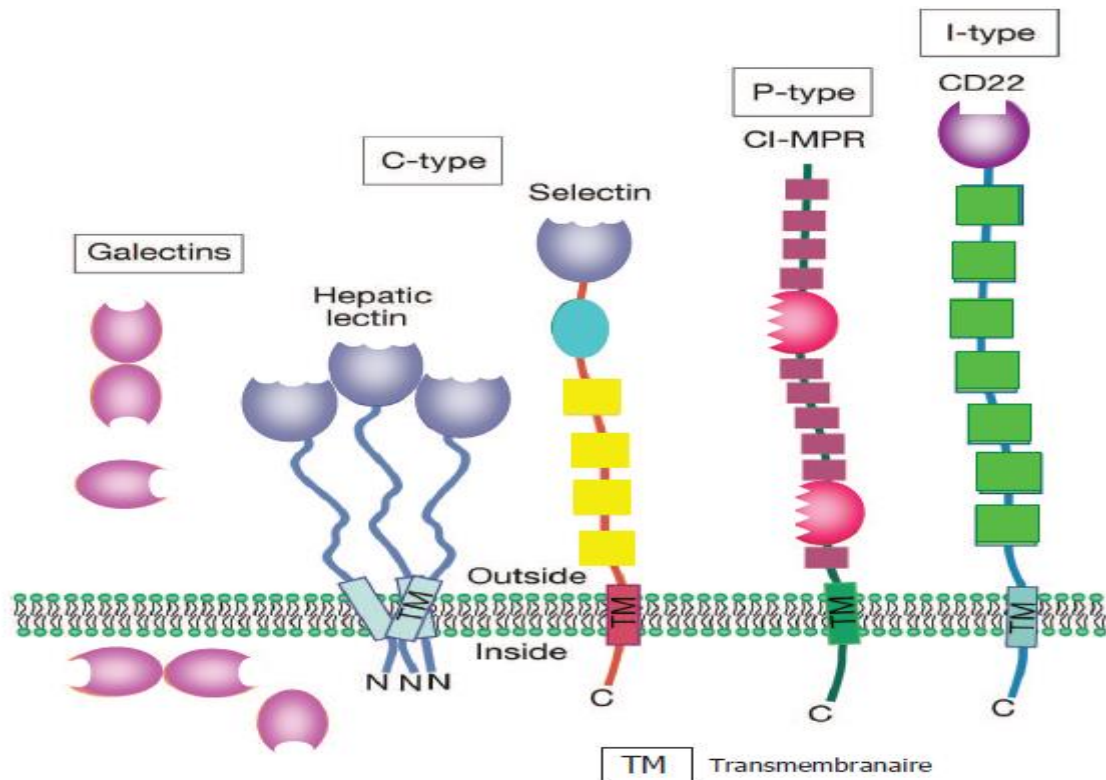


Figure IV.5. Les principales classes de lectines, basée sur la structure des protéines [46].

Les Galectines se définissent comme les lectines ayant la capacité de fixer les résidus β -Galactose et les structures lactosaminiques. Elles sont généralement solubles et possèdent un site de reconnaissance (Carbohydrate Recognition Domain ou CRD) globulaire.

Les lectines de type C regroupent des molécules solubles et transmembranaires reconnaissant divers motifs sucrés. L'interaction de ces lectines avec leur ligand sucré nécessite la plupart du temps du calcium, d'où leur dénomination.

Les lectines de type P sont des récepteurs membranaires reconnaissant les motifs Mannose-6-phosphate (Man-6-P). Elles sont impliquées dans le trafic des enzymes lysosomiales.

Les lectines de type I appartiennent à la super-famille des immunoglobulines. Leur ligand présente presque toujours un résidu d'acide sialique aux extrémités, que ce soit sur des glycoconjugués sécrétés ou membranaires.

B. Les glycolipides : les glycérolipides, les glycosphingolipides

I. Définition des glycolipides

Les motifs oligosaccharidiques peuvent également être retrouvés sur les lipides pour former les glycolipides. Les glycolipides résultent de la liaison d'un simple hexose ou d'un oligosaccharide à une fonction hydroxyle appartenant soit au glycérol d'un diglycéride (glycéroglycolipide) soit

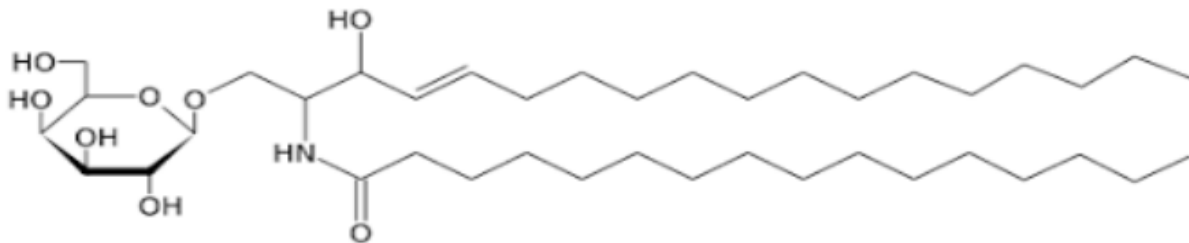
à la sphingosine d'une céramide (sphingolipide). Les glycéroglycolipides appartiennent au règne végétal. Tandis que les glycosphingolipides sont rencontrés dans les membranes plasmiques des cellules animales

II. Classification

Les glycolipides se divisent en deux familles distinctes selon la nature de la base lipidique :

II.1. Les glycosphingolipides neutres

Ce sont des sphingolipides comprenant à leur extrémité polaire un ou plusieurs résidus osidiques, ils ne sont donc pas chargés. Les plus simples sont les cérébrosides ; leur groupement polaire est un ose lié par une liaison β -osidique à l'hydroxyle libre du céramide.



Cérébroside

- **Cérébrogalactosides ou Galactosylcéramides:** Ils sont constitués de Sphingosine + AG + β D Galactose.
- **Les Cérébroglucides ou Glucosylcéramides:** Ils sont constitués de : Sphingosine + AG + β D Glucose

II.2. Les glycosphingolipides acides (gangliosides)

Les Glycosphingolipides le plus complexe ; ce sont les gangliosides. Leur extrémité osidique comprend un acide sialique qui leur donne une charge nette négative à pH 7.0. L'acide N-acétylneuraminique est l'acide sialique habituel des gangliosides humains. Les gangliosides sont surtout abondants dans la matière grise du cerveau où ils représentent 6% des lipides totaux. Particulièrement abondants dans les terminaisons nerveuses, les gangliosides ont été impliqués dans la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses. Ils semblent également présents dans les sites récepteurs de l'acétylcholine et d'autres neurotransmetteurs.

GM3 Ganglioside

