

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par : BELAADA Leyla

DJEDDAOUI Wiam

HOUICHE Meriem

Intitulé

**Les voies métaboliques des protéines dans
l'organisme**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. BOUHADDA Amina	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Promoteur
Dr. BOUAZIZ Samia	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Présidente
Dr. BENCHIKHE Dalila	Université Mohamed Boudiaf M'sila	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

DEDICACE

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, je peux réaliser ce travail que je dédie : A la lumière de mes yeux et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité. A mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect. Vous êtes pour moi un sujet de fierté. A mes très chères frères : Kais, Madjed, Taj Eldine. A mes très chères sœurs : khouloud.

Laila

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à mes très chers parents qui m'ont toujours soutenus, et qui ont tout sacrifié pour mes études, tout le mérite leurs revient. Qu'ils trouvent ici ma sincère reconnaissance et mon amour.
A Toute ma famille : mes chères frères et sœurs A mes enfants de mes sœurs A mes chers amis et à tous ceux qui me sont chers.

Meriem

DÉDICACE

À ceux qui ont pris ma main et m'ont fourni un chemin vers l'apprentissage et j'ai eu un visage affectueux et affectueux.

Mama et papa.

À ceux qui ont appris par leurs mains et à ceux qui m'ont vu avec leurs conseils.

Mes enseignants.

Pour celui qui était une de mes meufs chaque fois qu'ils ont vu un coup ou une torsion de moi dans mes recherches.

Mes frères.

À chaque individu mon paiement d'obtention du diplôme sans exception.

Au Mme BOUHADDA Amina.

A tous ces gens, voyez le fruit de mon humble effort.

Wiam

REMERCIEMENTS

Tous d'abord et avant tout nous remercions Dieu « *ALLAH* » le tout puissant de nous avoir donné la force, la patience et la volonté de mener à bien ce modeste travail. Nous exprimons nos sincères remerciements et notre gratitude à notre promoteur, *Mme BOUHADDA Amina*, pour son aide, sa patience. Nous profitons l'occasion pour remercier les membres de jury d'avoir examiné et évalué notre travail. En fin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

Dédicace

Remerciement	I
Sommaire	II
Résumé.....	VIII
Liste des abréviations	IIX
Liste des figures	XI
Listes des tableaux	XII
Introduction.....	1

CHAPITRE I

Généralités sur les protéines

I. Généralités sur les protéines

I.1. Définition des protéines	3
I.2. Taille des molécules protéiques	3
I.3. Acides aminés et liaisons peptidiques	4
3.1. Acides aminés	4
3.2. Liaisons peptidiques	5
I.4. Formes des protéines	5
4.1. Protéines fibreuses.....	5
4.2. Protéines globulaires	5
I.5. Rôle physiologique des protéines	6
5.1. Protéines des structures.....	6
5.2. Protéines des transportes	6
5.3. Protéines protectrices	6
5.4. Protéines des signalisation	6
I.6. Sources des protéines.....	6
6.1. Protéines d'origine végétale	7
6.2. Protéines d'origine animale	7

I.7. Biosynthèse des protéines (Anabolisme).....	7
7.1. Différentes étapes de la synthèse protéique	7
7.1.1 Initiation	7
7.1.2 Elongation	8
7.1.3 Terminaison.....	8
I.8. Régulation des métabolismes des protéines.....	8
8.1. Régulation Hormonale	8
8.1.1. Insuline.....	8
8.1.2. Hormone de croissance.....	9
8.1.3. Catécholamine.....	9
8.1.4. Glucocorticoïdes.....	9
8.1.5. Hormone thyroïdienne et le glucagon.....	10
8.1.6. Cytokines (TNF)	10
8.2. Régulation nutritionnelle	10
I.9. Classification des protéines	11
9.1. Classification des protéines selon la fonction biologique.....	11
9.2. Classification des protéines selon la composition.....	12
9.2.1. Protéines simples.....	12
9.2.2. Protéines complexes.....	12
9.3. Protéines synthétiques	12
I.10. Différents niveaux de structure des protéines.....	12
10.1. Structure primaire.....	12
10.2. Structure secondaire	13
10.2.1. Alpha-hélice	13
10.2.2. Feuille- β	13
10.3. Structure tertiaire	14
10.4. Structure quaternaire	15
I.11. Maladies de carence et de excès de protéine	17
11.1. Carence de protéine	17
11.1.1. Kwashiorkor	17
11.1.2. Marasmus	17
11.2. Excès de protéine	18

Chapitre II

Voies de catabolisme des protéines

II. Voies de catabolisme des protéines

II.1. Définition de catabolisme(Protéolyse).....	20
II.2. Enzymes de catabolisme des protéines.....	20
2.1. Protéases	20
2.1.1. Classification des protéase	21
II.3. Signaux de protéolyse.....	21
II.4. Voies de catabolisme des protéines	22
II.4.1. Système ubiquitine / protéasome ATP dépendant.....	22
4.1.1. Ubiquitine.....	23
4.1.2. Réaction d'ubiquitination (une cascade multi enzymatique).....	23
4.1.2.1. Enzymes d'activation de l'ubiquitine (E1).....	25
4.1.2.2. Enzymes de conjugaison (E2)	25
4.1.2.3. Enzymes de reconnaissance (E3).....	26
4.1.2.4. Facteur d'élargation (E4).....	28
4.1.3. Déubiquitinase (DUP)	29
4.1.4. Protéasome	29
4.1.4.1. Structure et composition de protéasome 26S.....	29
a) Sous complexe catalytique 20S CP.....	30
b) Sous complexe régulateur 19S RP.....	30
c) Complex régulateur 11S.....	30
II.4.2. Système lysosomal (cathepsine).....	31
4.2.1. Définition de lysosome.....	31
4.2.2. Fonction de lysosome.....	32
4.2.2.1. Fonction de dégradation	32
a) Fusion vésiculaire.....	32
b) Dégradation des composés extracellulaires.....	32
c) Dégradation des composés intracellulaires.....	32
4.2.3. Entrée des protéines dans les lysosomes	33
4.2.3.1. Ciblage sélectif des protéines	33
4.2.3.2. Autophagie	33
4.2.3.3. Hétérophagie	33
4.2.4. Voies d'adressage des protéines au lysosome	34
4.2.4.1. Voie du Mannose-6-Phosphate (M6P).....	34
4.2.4.2. Voie de la sortiline	35

II.4.3. Système calpaïne/calpastatine (calcium dépendant).....	35
4.3.1. Généralité sur calpaïne	35
4.3.1.1. Définition de calpaïne	35
4.3.1.2. Nomenclature	35
4.3.1.3. Structure de calpaïne	36
4.3.2. Généralité sur calpastatine	39
4.3.2.1. Définition	39
4.3.2.2. Gène de calpastatine.....	40
4.3.2.3. Structure de calpastatine.....	40
4.3.2.4. Propriétés de calpastatine	41
4.3.3. Régulation et fonction du système calpaïne /calpastatine	42
4.3.3.1. Autolyse	42
4.3.3.2. Rôle du calcium.....	43
4.3.3.3. Inhibition de calpaïne par calpastatine	43
4.3.3.4. Spécificité de protéolyse	46
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	51

ملخص

البروتينات هي جزيئات بيولوجية كبيرة ذات مصدرين أحدهما نباتي و الآخر حيواني حيث تلعب دورا مهما في فيزيولوجيا الانسان: تستخدم في التحفيز، تنظيم الإستقلاب و النقل.....إلخ. هناك عمليتان مهمتان تحددان نسبة البروتين هما البناء و هدم البروتينات بحيث تنظمان بواسطة عدة عوامل فيزيولوجية، وراثية و بيئية. درسنا في إطار هذه المذكرة مسالك الإستقلاب البروتيني في الكائن الحي، كما وجهنا إهتمامنا بشكل خاص لأهم ثلاثة مسالك لهدم البروتين، الأول هو نظام البروتيازوم (26S) وهو عبارة عن معقد متعدد الإنزيمات مكون من عدة تحت وحدات، الثاني المسلك الليزوزومي الذي بدوره يقوم بتحليل البروتينات على مستوى الكلى والكبد. لكن يساهم هذا النظام بأقل من (15%) من الهدم البروتيني في الكائن الحي والنظام الأخير (calpain/calpastatin) المعتمد على الكالسيوم الذي يقوم بالهدم البروتيني على مستوى السيتوبلازم (العصارة الخلوية) وبالخصوص في تحليل بروتينات الهيكل الخلوي. تهدف هذه الأنظمة إلى تفكيك البروتينات التي لا يحتاجها الجسم إلى ببتيدات ثم إلى أحماض أمينية سواءاً لإعادة إستخدامها لاحقا أو إقصائها.

الكلمات المفتاحية : نظام البروتيازوم 26S، نظام الليزوزوم ، نظام (calpain/calpastatin) المعتمد على الكالسيوم، التحلل البروتيني.

Abstract

Proteins are considered to be very important biological macromolecules for the human body. Protein has a variety of physiological roles that are used in catalysis, metabolism regulation, transport.....etc. Protein can be derived from two origins that are plants and animals.

The two ways building and breaking down determine the quantity of protein. This last way is regulated by physiological, genetic and environmental factors. As part of this study, we studied the Protein catabolism in the body. Protein catabolism had our interest in this research and we also paid particular Attention to the three most important protease systems, the first is the proteasome system, Proteasome 26S is a multienzymatic complex composed of subunits. The second one is the lysosomal system performs proteolysis at the level of the kidney and liver. But this system can only make less than 15% of proteolysis in the body. The third one is the dependent calcium system (calpain/calpastatin) that performs protein catabolism at the cytosol level and it is used for degeneration of cytoskeleton protein. All these systems of breaking down invalid proteins in peptides and amino acids can be either used later or just be removed.

Keyword : Proteasome system 26S, lysosomal system, calcium dependent system (calpain/calpastatin), proteolysis.

Résumé

Les protéines sont des macromolécules biologiques très importants pour nous corps il a un divers rôle physiologiques utilisée dans la catalyse, régulation de métabolisme et transport,....etc. D'origine végétale et animale, il ya deux voies déterminant la quantité protéique :la synthèse et la dégradation des protéines, ces voies sont régulées par plusieurs facteurs tels que physiologiques, génétiques et environnementaux. Dans le cadre de cette mémoire, nous avons étudié les voies de catabolisme des protéines dans l'organisme. Nous sommes intéressés par trois systèmes protéolytiques les plus importants, le premier c'est le système protéasome, le protéasome 26S est un complexe multienzymatique composé deux sous unités, le deuxième c'est le système lysosomal procède à la protéolyse au niveau du rein et du foie. Mais ce système ne permet de faire que moins de 15% de la protéolyse dans l'organisme, et le dernier c'est le système calcium dépendant (calpaïne /calpastatine) effectue le catabolisme protéique au niveau de cytosol et il est utilisé pour la dégradation des protéines du cytosquelette. Tous ces systèmes pour but décomposer les protéines mal replié en peptides puis en acides aminés soit pour une utilisation ultérieure soit éliminé.

Mots clé : Le système protéasome 26S, le système lysosomale, le système calcium dépendant (calpaïne/calpastatine), la protéolyse.

Liste des abréviations

- 19 Rp** : Regulatory particle 19S.
- AA** : Acide aminé.
- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ADNc** : Acide désoxyribo nucléique complémentaire.
- AMP** : Adenosine monophosphate.
- APF-1** : ATP dependent proteolysis factor 1.
- Arg** : Arginine.
- ARNm** : Acide ribonucléique messages.
- ARNt** : Acide ribonucléique transport.
- ATP** : Adénosine Tri Phosphate.
- BLAST** : Basic Local Alignment Search Tool.
- BR** : Cat benign – catalytic.
- CAST** : Gène de calpastatine.
- CHIP** : C terminus of Hsc70-Intercating Protein.
- CP** : Core particle 20S.
- CRL** : Cullin RING Ligase.
- CRL** : Cullin-RING ligases.
- Cul** : Culline.
- Cys** : Cystéine.
- DUB** : Enzyme d'ubiquitylation.
- E1** : Enzyme d'activation de l'ubiquitine.
- E2** : Enzyme de conjugaison.
- E3** : Enzyme Ubiquitine ligase.
- E4** : Enzyme d'èlongation.
- EF** : Hélices (E et F).
- FASEB** : Fédération de Société Américaine for Biologie Expérimentale.
- Gln** : Glutamine.
- Glu** : Acide glutamique.
- HECT** : Homologues de l'extrémité carboxylique de l'E6-AP.
- IGF-1** : Insuline-like growth factor-1.
- KDA** : Kilo Dalton.
- Lys** : Lysine.
- M1** : Le premiere méthionine.

Nedd8 : Cellule précurseur de neurones exprimée, régulée à la baisse dans le développement.

OUT : Ovarian tumour domain M6P Mannose- 6- Phosphate.

PEF : Penta EF hand.

PEST : Sequences are regions of 10 to 60 amino acids that are rich in P (proline), E (glutamate), S (serine), and T (threonine).

PKC : Protéine kinase C.

PKA : Protéine kinase A.

RBR : RING-between RING -RING.

REG : Reticulum endoplasmique granules .

RING : Really Interesting New Gene.

Rpn : Régulateur particle de non- ATPase.

SDS-PAGE : Sodium dodécyle sulfate –PAGE.

SUMO : Small ubiquitin related Modifier.

Ub : Ubiquitine.

UBA : Ubiquitine Association.

UBC : Ubiquitine Conjugaison Catalytique.

UBL : Ubiquitine like.

U-box : UFD2-homology domain.

UCH : Ubiquitine C-terminale Hydrolase.

UFD : Ubiquitine de fusion et de dégradation.

UPS : Ubiquitine Proteasome Système.

USP : Ubiquitine spécifique processeur.

UVE : Ubiquitin conjugating enzyme variant.

Liste des figures

Figure 1 : Différentes types des protéines	3
Figure 2 : Liste des acides aminées	4
Figure 3 : Liaison peptidique.....	5
Figure 4 : Hélice α et feuilles β	14
Figure 5 : Structure primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires d'une protéine	16
Figure 6 : Structure modélisée de la protéase.....	20
Figure 7 : Classification des protéases	21
Figure 8 : Ubiquitine et ces résidus lysine	23
Figure 9 : Réaction d'ubiquitination	24
Figure 10 : Différentes formes d'ubiquitination	25
Figure 11 : Séquence et organisation d'un domaine RING	27
Figure 12 : Mécanisme de fonctionnement des HECT E3 Ubiquitine ligases.....	28
Figure 13 : Composition des protéasomes.....	30
Figure 14 : Différentes mécanismes de la dégradation lysosomale	34
Figure 15 : Structure 3D de la m-calpaïne humaine.....	38
Figure 16 : Diagramme schématique montrant la structure de domaine de μ et m calpaïne.....	42
Figure 17 : Diagramme schématique montrant la structure de domaine de trois différents isoformes de calpastatine.....	47

Listes des tableaux

Tableau 1 : Nomenclature internationale des calpienes	36
--	----

Introduction

Introduction

Parmi les nombreux composants chimiques du corps humain existent principalement sous forme d'eau, vitamines, graisses, sels minéraux et les glucides dans les proportions connues, tout corps humain est construit à partir d'aliments contenant ces cinq éléments, ainsi que des protéines. Les protéines sont des macromolécules biologiques composées par une ou plusieurs chaîne (s) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. La séquence détermine la structure primaire de la protéine, la configuration de la chaîne peptidique dans l'espace détermine les structures secondaires et tertiaires, l'association de plusieurs chaînes peptidiques détermine la structure quaternaire. Elles sont variées selon leur fonction, les protéines de structure, protéines contractiles, transport, immunitaires, enzymatiques, hormones et récepteurs....etc. Malgré ces structures et fonctions très variables, toutes Les protéines sont renouvelées en permanence. Le catabolisme et l'anabolisme sont les deux phénomènes composantes du métabolisme, lorsque l'anabolisme (synthèse protéique) est l'ensemble des réactions chimiques de synthèse moléculaire des protéines, le catabolisme (protéolyse) constitue la principale source d'acides aminés pour l'organisme 75%. Ces mécanismes ont été beaucoup moins étudiés que ceux de la synthèse protéique. En règle générale, les protéines sont dégradées par des enzymes protéolytiques, les protéases (ou hydrolases) réparties en trois systèmes principaux, le système lysosomal, système calcium dépendant (calpaïne-calpastatine) système du protéasome. (**Sutton et al., 2018**).

Alors, Notre étude théorique dans ce mémoire. Consiste un thème sur les principaux voies de catabolisme des protéines dans l'organisme, le travail est divisé en deux parties la première partie : on parle sur les généralités sur les protéines, et la deuxième partie : elle traite les voies de catabolisme des protéines. Le mémoire est basé sur la problématique qui se pose : Quelle sont les principales voies de catabolisme des protéines dans l'organisme ?

Chapitre I

Généralités sur les protéines

I. Généralités sur les protéines

I.1. Définition des protéines

Les protéines sont reconnues comme l'un des principaux éléments composants cellulaires. De plus, le terme "protéine" a été inventé en 1838 du mot grec "proteios" de Mulder, signifiant : premier en position ou la première importante. Les protéines sont des composants très importants des cellules voire la **figure 1**. Les organismes, qui ont la plus grande diversité et complexité structurelle, bon d'un point de vue quantitatif (ils représentent généralement plus de la moitié poids des cellules sèches), plutôt que d'un point de vue qualitatif, puisque nous avons trouvé les protéines qui ont un rôle biologique majeur avec les protéines dites structurales, en particulier les enzymes, nécessaires aux biocatalyseurs résultats des réponses cellulaires des organismes (Weil, 2005).

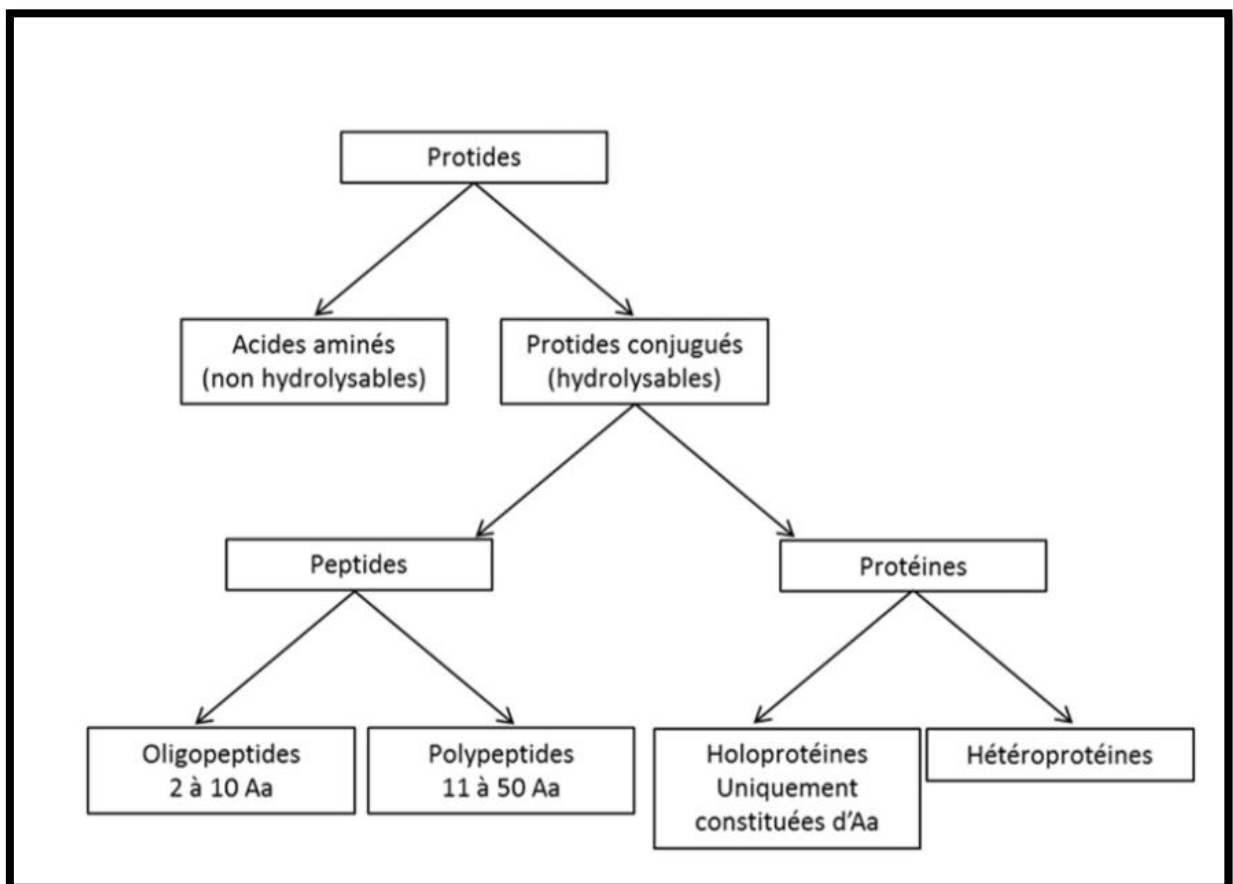


Figure 1 : Différentes types des protéines (pouget, 2020).

I.2. Taille des molécules protéiques

La masse moléculaire est exprimée en Dalton. L'atome ^{12}C a une masse de 12 daltons. Le dalton a une masse de $1 \text{ g} / \text{N} = 1 \text{ g} / 6,02 \cdot 10^{23}$ soit de $1,661 \cdot 10^{-24} \text{ g}$. Le poids moléculaire est

défini comme le rapport masse de la molécule douzième de la masse d'un atome de carbone :nombre sans dimension. La masse molaire M est exprimée en g.mole^{-1} et est numériquement identique à une masse molaire exprimée en Dalton pour $6,02.10^{23}$ molécules vraies (Cuq, 2006).

I.3. Acides aminés et liaisons peptidiques

3.1. Acides aminés

Un acide aminé est une petite molécule qui possède d'une fonction acide et une fonction amine primaire. En effet, les acides aminés sont des composés organiques bifonctionnels qui contiennent un groupe amine basique ($-\text{NH}_2$) et un acide carboxylique ($-\text{COOH}$), dont l'enchaînement compose les protéines (polymère d'acides aminés). Dans la nature, il existe 20 acides aminés différents comme la **figure 2**, qui possèdent des fonctions et propriétés diverses en fonction de la nature de la chaîne latérale-R. Par exemple, dans l'alanine, la chaîne latérale-R est (CH_3), alors que, dans la cystéine elle est ($-\text{CH}_2\text{-SH}$).....etc (Morag, 2006).

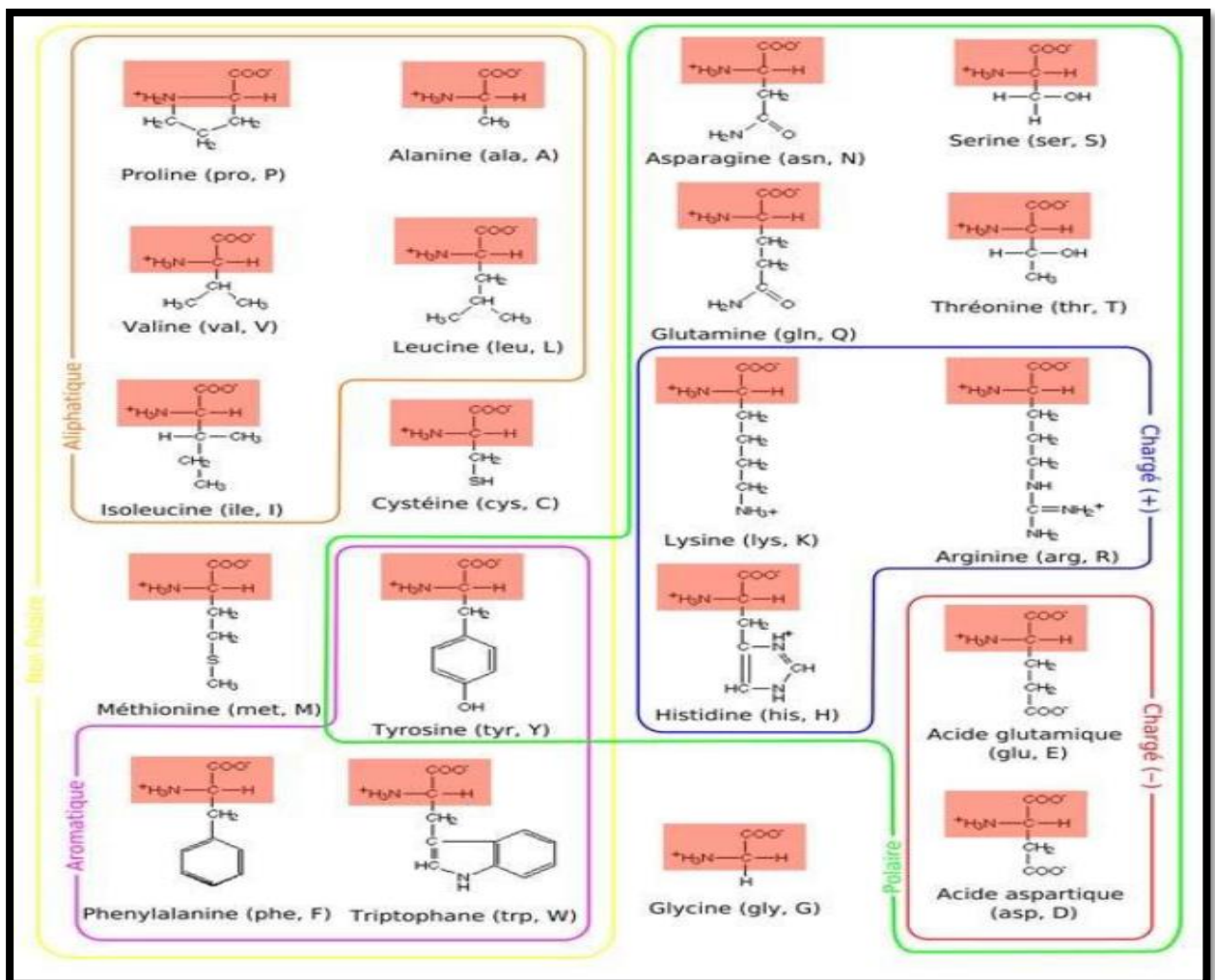


Figure2 : Liste des acides aminés (phavent *et al.*, 2009).

3.2. Liaisons peptidiques

Un peptide est un enchaînement d'acides aminés. Lorsqu'un grand nombre (plus d'une dizaine) des acides aminés sont reliés entre eux, la macromolécule est appelée protéine. Les acides aminés sont reliés entre eux par une liaison peptidique voire la **figure 3**. Il s'agit d'une fonction amide obtenue par réaction d'une fonction amine et qui libère une molécule d'eau. Les quatre atomes (C, N, O et H) sont dans un même plan, c'est-à-dire que les liaisons sont coplanaires (**Maraud *et al.*, 2003**).

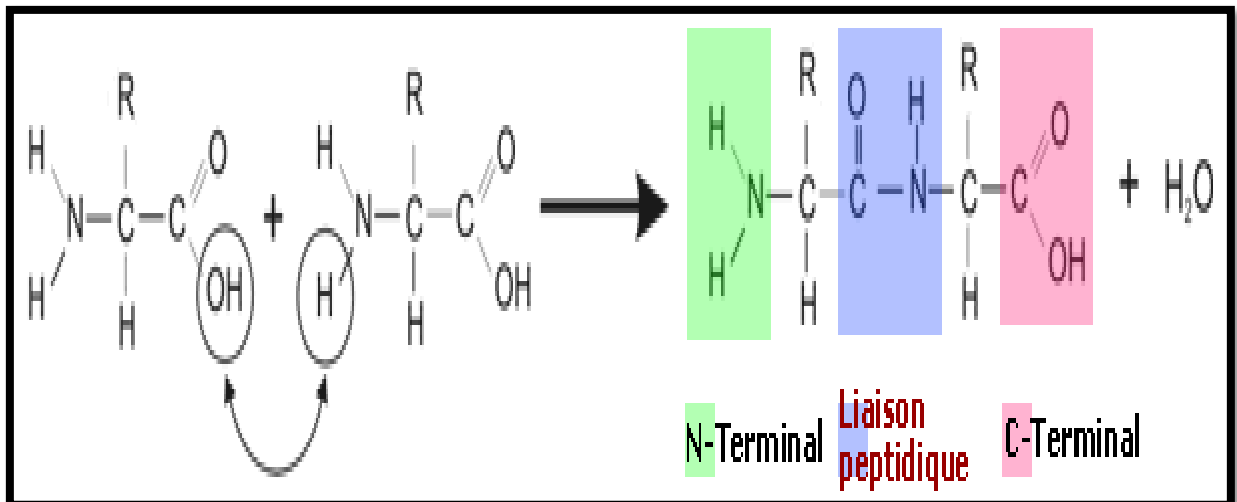


Figure 3 : Liaison peptidique (**chaventetal, 2009**).

I.4. Forme des protéines

La structure tridimensionnelle de la protéine lui confère ses propriétés distinctes et dicte sa fonction biologique. Habituellement, on classe les protéines en deux catégories suivant leur fonction générale on distingue : protéines fibreuses et protéines globulaires.

4.1. Protéines fibreuses

Les protéines fibreuses sont appelées protéines structurales car elles constituent le principal matériau de construction chez les vertébrés. Elles sont linéaires, insolubles dans l'eau, déterminent la forme, la protection et la résistance des cellules de vertébrés et d'une grande stabilité. Les principales protéines fibreuses sont le collagène, la kératine, le fibrinogène et les protéines musculaires (**David *et al.*, 2002**).

4.2. Protéines globulaires

Contrairement aux protéines fibreuses, les protéines globulaires sont sphériques et hautement solubles. Elles jouent un rôle important dans le métabolisme. Les albumines, les globulines, la caséine et les hormones protéiques sont des protéines globulaires. Ces dernières peuvent agir en

tant que : enzymes, des réactions catalysant avec une grande spécificité, transporteurs d'autres molécules et protéine chélateur ou escorte des facteurs de transcription histones (**David *et al.*, 2002**).

I.5. Rôle physiologique des protéines

5.1. Protéine des structures

Ces protéines comme la kératine, le collagène, l'élastine ...etc. Sont présentes dans tous les tissus tels que muscle, os, peau, organes internes, membranes cellulaires et organites intracellulaires. Leur fonction dépend de leur structure (**Cuq, 2006**).

5.2. Protéines des transports

Elles s'assurent le transfert des différentes molécules dans et en dehors des cellules, par exemple l'hémoglobine et la transferrine ...etc. L'hémoglobine transporte de l'oxygène, du dioxyde de carbone et le monoxyde de carbone, tandis que le glutathion assure le transport de l'hydrogène. Il se convertit facilement et de manière réversible de sa forme oxydée sa forme réduite. Il joue également un autre rôle plus important dans le métabolisme du paracétamol par le foie. Sa carences traduit par des métabolites hématologiques toxiques (**Claverie *et al.*, 2008**).

5.3. Protéines de protection

Ceci est un exemple d'anticorps ou d'immunoglobuline, fibrinogène et thrombine. Les anticorps sont des protéines complexes utilisées par le système immunitaire détecter et neutraliser les agents pathogènes d'une manière spécifique. Ils sont fabriqués par cellules dérivées des lymphocytes B, appelées plasmocytes. Ils constituent immunoglobulines majeures dans le sang (**Claverie *et al.*, 2008**).

5.4. Protéine de signalisation

Qui captent les signaux extérieurs, et assurent leur transmission dans la cellule ou l'organisme, ça domine processus de base des cellules et coordonnent leurs activités et y répondre correctement est leur fondement développement et décide celui d'organismes multicellulaires, cicatrisation de système immunitaire et l'homéostasie tissulaire normale (**Bu *et al.*, 2011**).

I.6. Sources des protéines

Les sources des protéines sont étiquetées en fonction de la quantité des acides aminés essentiels qu'elles fournissent :

- Une source de protéine complète est une source qui fournit tous les acides aminés essentiels. Ces sources sont également appelées protéines de haute qualité.

- Une source de protéine incomplètes est celle qui est pauvre en un ou plusieurs des acides aminés essentiels (Sutton *et al.*, 2018).

6.1. Protéines d'origine végétales

Les protéines végétales sont présentes dans de nombreux aliments dans certaines proportions différentes. Ils sont principalement dérivés de légumineuses, y compris on peut nommer les pois (casses, chiches, petits), les haricots (secs), le soja, les lentilles. On les trouve également dans les graines oléagineuses (arachide, sésame, colza, amandes, noix, noisettes...etc.) et les céréales (blé, riz, avoine, maïs...) et de fausses céréales (quinoa, sarrasin...). La protéine végétale est trouvé dans les tubercules (pommes de terre, patates douces), les fruits, légumes (négligeable), champignons, microalgues (ex : spiruline) et les épices et les aromates (Guégué *et al.*, 2016).

6.2. Protéines d'origine animales

Les principales sources des protéines animales sont la viande, le poisson, le lait et les œufs. Ces aliments sont caractérisés par un titre élevé en protéines de bonne qualité (composition en acides aminés en proportion, Voisine des apports recommandés de l'homme) et par l'absence des toxines. La viande, qui correspond aux muscles striés squelettiques des animaux, est l'aliment le plus riche en protéines (Ertl *et al.*, 2016).

I.7. Biosynthèse des protéines

Cette réaction se fait sur les ribosomes «établie» de la synthèse protéique. En générale, il existe plusieurs ribosomes sur un même brin d'ARNm, qui est donc traduit simultanément l'interaction entre les groupes de trois bases de l'ARNm (codons) et les anticodons de l'ARNt correspondent à la lecture du code génétique. Les trois étapes successives de la synthèse d'un peptide sont l'initiation, l'élongation et la terminaison qui nécessite en taques différents niveaux des facteurs spécifiques (IF, EF, RF), des enzymes (peptides transférases) et sur tout de l'énergie sous forme de GTP et d'ATP.(Weil, 2005).

7.1. Différentes étapes de la synthèse protéique

7.1.1. Initiation

Trois événements doivent se produire pour que la traduction commence avec succès.

- le ribosome doit se trouver sur l'ARNm.
- Une ninitiateur d'ARNt chargé en N-formyle-Met doit être inséré dans le site P du ribosome.

- Le ribosome doit être précisément positionné sur le codon start. Cette étape commençons par la liaison des codons de l'ARNt initiateur à l'ARNm.
- L'ARNt est lié à la méthionine car le premier codon est toujours AUG (Adénine, Uracile, Guanine). A ce stade. Les ribosomes essaient de se lier à l'ARNm (Weil, 2005).

7.1.2. Élongation

L'élongation nécessite la translocation du ribosome qui se décale exactement d'un triple et des nucléotides. Il en résulte que : le site P contient maintenant le second ARNt chargé par un dipeptide et le site A est maintenant libre de recevoir un troisième ARNt chargé d'un troisième acide aminé (spécifié par le codon «en cours » face au site A) ce qui entraîne une deuxième liaison peptidique, les ARNt amont (côté site P) sont libérés. Ici encore, des facteurs protéiques, spécifiques de l'élongation (EF) forment des complexes avec les ARNt chargés pour assurer l'installation dans le site A. Les translocations du ribosome se poursuivent avec adjonction séquentielle des acides aminés à la chaîne peptidique en cours jusqu'à la terminaison (J.Lemonnier et N.Lemonnier, 2022).

7.1.3 Terminaison

Une fois un codon-stop atteint (UAA, UGA ou UAG), la synthèse de la protéine est terminée: le ribosome se détache de la protéine et du brin d'ARN messager, et la protéine est libérée dans la cellule. Le ribosome en deux sous-unités et peut conduire une autre synthèse sur un autre ARNm. S'entame alors le transport des protéines, qui peut les mener hors de la cellule et dans les systèmes sanguin, ou encore à l'intérieur même de la cellule les ayant synthétisées. Le même brin d'ARNm peut servir à la biosynthèse simultanée de plusieurs molécules des protéines, lorsque plusieurs ribosomes en chargent. Avant d'être détruite, cette molécule participe à la synthèse d'environ 10 à 20 protéines (Weil, 2005).

I.8. Régulation des métabolismes des protéines

Cette régulation est d'une part hormonale, d'autre part nutritionnelle (c'est-à-dire par les substrats eux-mêmes).

8.1. Régulation Hormonale

Les hormones peuvent être anabolisantes (favorisant le gain protéique) ou catabolisantes (favorisant la perte protéique).

8.1.1. Insuline

Est une hormone anabolique essentielle à gain et croissance des protéines. Son mécanisme d'action cependant, en termes de synthèse et de protéolyse continue fait l'objet d'une

controverse intense. Un gain des protéines peut en effet être obtenu en augmentant la synthèse protéique, par réduction de la protéolyse ou par les deux phénomènes combinés. Au niveau cellulaire et moléculaire, l'insuline augmente la synthèse des protéines en stimulant la transcription et la traduction. Au niveau des tissus, l'insuline stimule la synthèse des protéines musculaires en particulier chez les jeunes animales croissances ou lorsqu'il est utilisé à la dose pharmacologique ou lorsque l'insuline est ajoutée à partir d'une situation. Cette dernière situation est courante *in vitro* où sont facilement comparés avec et sans insuline ne reflétant pas la réalité physiologique où l'insuline n'est jamais complètement absent. Chez les adultes, et surtout chez l'homme, l'insuline est anabolique essentiellement par une réduction de protéolyse, que ce soit au niveau de tout le corps ou le muscle. Dans cette situation, l'insuline n'apparaît pas n'ont aucun effet sur la synthèse des protéines. En dehors de des problèmes méthodologiques, cette dissociation apparente des effets de l'insuline semble être principalement liée à l'âge, les études animales se déroulent presque exclusivement sur les animaux en croissance, alors qu'en revanche, aucune étude de ce type n'est disponible à enfants. De plus, l'effet stimulant de l'insuline sur un tissu peut être contrebalancé par un effet inhibiteur sur la synthèse des protéines d'autres tissus tels que le suggèrent les études récentes des cathétérismes tissulaires multiples (**Boirie *et al.*, 2004**).

8.1.2. Hormone de croissance

Elle est anabolisante essentiellement par un effet stimulant de la synthèse protéique agissant directement et par l'intermédiaire des facteurs de croissance insuline-like growth factor-1 (IGF1). Cette propriété pourrait être exploitée chez l'homme pour prévenir la fonte musculaire du sujet âgé (et de façon illégale dans les milieux sportifs pour augmenter la masse musculaire). L'hormone de croissance bovine dont le mécanisme d'action est similaire est largement utilisée pour augmenter la production de lait chez la vache (**Zhenqi *et al.*, 2002**).

8.1.3. Catécholamine

Contrairement à la croyance populaire, c'est bien démontré maintenant que les catécholamines ne sont pas hormones cataboliques en relation avec le métabolisme protéique. Selon les auteurs, ils réduisent la protéolyse ou augmentent la synthèse des protéines, le plus classique de ces propriétés anaboliques étant l'utilisation de bêta-agonistes du type de clenbutérol pour la production viande de boucherie. En tout cas, ce n'est pas donc les catécholamines «hormones de stress» qui sont responsables de la perte de muscle des patients de réanimation (**Boirie *et al.*, 2004**).

8.1.4. Glucocorticoïdes

Ils sont cataboliques par l'augmentation de la protéolyse et l'inhibition de la traduction des protéines comme en témoignent les pertes de protéines constatées pendant les hypercortisismes (maladie de Cushing) ou traitement à long terme des glucocorticoïdes (**Boirie et al., 2004**) .

8.1.5. Hormone thyroïdienne et glucagon

En ce qui concerne les hormones thyroïdiennes, l'hyperthyroïdie induit une perte musculaire suggérant une augmentation de la protéolyse et également une réduction de synthèses des protéines dans différents tissus. Cependant, ces phénomènes se trouvent également dans des situations d'hypothyroïdie et il est également connu que les hormones thyroïdiennes sont essentielles à la croissance. Il est donc difficile de classer les hormones thyroïdiennes comme anaboliques ou cataboliques et peut dire qu'un niveau optimal moyen d'hormone thyroïdienne est nécessaire pour un bon équilibre entre la synthèse et dégradation.

Pour le glucagon, sa véritable importance dans la régulation du métabolisme des protéines est contestée et semble être principalement au niveau du métabolisme des acides aminés. Malgré les données contradictoires, un effet catabolique semble prédominer (**Boirie et al., 2004**).

8.1.6. Cytokines (TNF)

Ils sont cataboliques dans le muscle (**Boirie et al., 2004**). Leurs effets varient selon les cytokines et les tissus. Les cytokines comme TNF agissent en synergie avec le cortisol et la combinaison de leurs effets provoque une protéolyse rapide et massive à l'origine d'une fonte protéique musculaire. (**Zoico et al., 2002**).

8.2. Régulation nutritionnelle

Elle sera envisagée sous deux aspects :

D'abord ajusté par le substrat lui-même, Soit des acides aminés ou d'autres substrats vitalité, puis l'évolution du métabolisme des protéines différents environnements nutritionnels sont repas et jeûne (**Boirie et al., 2004**).

Régulation par les substrats

a) Acides aminés : à la fois in vitro et in vivo, les acides aminés stimulent la synthèse des protéines à l'échelle mondiale (**Boirie et al., 2004**). Ces effets sur le renouvellement des protéines ont été clairement démontrés in vitro et in vivo. Par ailleurs, des études menées au cours de la dernière 10 ans indiquent que les acides aminés agissent comme régulateurs des voies métaboliques (par exemple, le concept de « signal d'éléments nutritifs »), avec un effet ciblé sur la traduction des ARNm. La méthionine et la cystéine occupent des places très importantes parmi les acides aminés en jouant de nombreux rôles dans les protéines

métabolisme. Comme les autres acides aminés, ils sont les composants de protéines tissulaires et, par conséquent, servent de substrats pour synthèse des protéines. Ils sont également précurseurs de molécules. La cystéine est nécessaire pour la synthèse de glutathion et de taurine, qui sont essentiels composés pour la défense de l'hôte contre le stress oxydatif (**Métayer *et al.*, 2008**).

b) Autres substrats à haute énergie : En général, un apport énergétique adéquat est essentiel maintenir un bilan azoté neutre ou positif. La source d'apport énergétique n'est pas indifférent, et classiquement les glucides auraient des effets épargner d'azote supérieur aux lipides, du moins lorsque les apports énergétiques sont limités. Ce concept a été beaucoup débattu et même faux pour certains, de toute façon, non plus vrai lorsque l'apport énergétique est trop élevé.

Les acides aminés et le glucose sont en compétition au niveau de l'oxydation mitochondriale par un mécanisme similaire à celui du cycle de Randle entre glucose et lipides. Un déficit d'apports en ces substrats énergétiques se traduira donc par une oxydation plus importante des acides aminés qui ne seront plus disponibles pour la synthèse protéique.

– certains substrats (acides gras à chaîne moyenne par exemple) peuvent avoir un effet spécifique d'activation des enzymes de dégradation des acides aminés.

– les substrats énergétiques agissent enfin par l'intermédiaire des hormones et en particulier, par l'insuline (**Boirie *et al.*, 2004**).

I.9. Classification des protéines

9.1. Classification des protéines selon la fonction biologique

Les protéines peuvent être classées selon leurs liaisons stéréospécifiques et leurs fonctions.

- Catalytique (enzymes) – plus de 3000 protéines sont des enzymes.
- Nutritif (réserve) – caséine, ovalbumine.....etc.
- Transport – protéines sériques du sang, capables de transporter différents composés et substances des organes cibles correspondants (hémoglobine, albumines plasmatiques, lipoprotéines..... etc.).
- Protection – protéines des anticorps protectrices spécifiques en réponse à l'invasion de l'organisme par des bactéries, des toxines ou des virus. La coagulation du sang par la protéine de plasma fibrinogène empêche l'organisme de la perte du sang.
- Contractile – un grand nombre de substances protéiniques sont visées par la loi de contraction musculaire et de relaxation (actine et myosine).

- Structure – collagène dans les tissus conjonctifs, kératine dans les cheveux, la peau et les ongles élastine dans la paroi vasculaire..... etc.
- Hormonale – un certain nombre des hormones sont des protéines ou des polypeptides (les hormones hypophysaires et pancréatiques)
- Récepteur – rhodopsine, chimiorécepteurs..... etc.
- Réglementaire – histones, qui stabilisent la structure de l'ADN, protéines de choc thermique..... etc.
- D'autres fonctions d'une importance vitale « exécutées par des protéines peuvent être citées par exemple, le maintien de la pression oncotique » (**Leverve, 2001**).

9.2. Classification des protéines selon la composition

9.2.1. Protéines simples

Les protéines simples ou holoprotéines se composent de résidus des acides aminés seulement (Protamines, Histones et Prolamines, Glutelines, Albumines et Globulins).

9.2.2. Protéines complexes

Les protéines conjuguées ou complexes sont constituées des chaînes polypeptidiques et des parties non protéiques – groupe prosthétique.

Les protéines conjuguées sont classées sur la base de la nature chimique de leurs groupes prosthétiques : nucléoprotéines, phosphoprotéines, lipoprotéines, glycoprotéines, métalloprotéines (**Leverve, 2001**).

9.3. Protéines synthétiques

Certaines substances naturelles, la soie des araignées par exemple, manifestent une extraordinaire résistance à la traction. En combinant les motifs protéiques qui les composent avec des séquences provenant des autres molécules, la biotechnologie permet désormais de créer des biomatériaux inédits par exemple : caséine, protéine de œuf, protéine de lactosérum et protéine de riz brunetc (**Tirrell et Michon, 2000**).

I.10. Différents niveaux de structure des protéines

10.1. Structure primaire

Est la séquence des acides aminés dans une protéine. Très simplement, la structure primaire d'une protéine se compose de la séquence des acides aminés qui composent la chaîne. Chacun du très grand nombre des peptides et des molécules des protéines dans les organismes

biologiques a une séquence différente des acides aminés et cette séquence permet à la protéine des effectuer sa fonction, quelle que soit (**Bettelheim et al., 2012**).

10.2. Structure secondaire

Est une structure conformation répétitive de la protéine colonne vertébrale. Les protéines peuvent se plier ou s'aligner de telle manière que certains modèles. Ces structures répétitives sont appelées structures secondaires. Les deux structures secondaires les plus courantes dans les protéines sont l' α -hélice et la feuille β -plissée qui ont été proposés par **Linus Pauling** et **Robert Corey** dans les années 1940. En revanche, ces conformations des protéines qui ne présentent pas un modèle répété sont appelés antennes aléatoires (**Bettelheim et al., 2012**).

10.2.1. Alpha –hélice

Une structure secondaire où la protéine se replie dans une bobine maintenue ensemble par des liaisons des hydrogènes parallèles à l'axe de l'antenne. Sous la forme α -hélice, une seule chaîne de protéines se tord de telle manière que sa forme ressemble à un ressort enroulé droitier, c'est-à-dire une hélice. La forme de l'hélice est maintenu par de nombreuses liaisons hydrogène intramoléculaires qui existent entre les groupes C = O et H-N. Comme indiqué dans **Figure 4** : Il y a une liaison hydrogène entre l'atome d'oxygène de C = O de chaque liaison peptidique et de l'atome d'hydrogène N-H d'un autre peptide lier quatre résidus des acides aminés le long de la chaîne. Ces liaisons sont juste dans la bonne position pour causer la molécule (ou une partie de celle-ci) pour maintenir une forme hélicoïdale. Chaque N-H pointe vers le haut et chaque C = O vers le bas, à peu près parallèle à l'axe de l'hélice. Tous les acides aminés, les chaînes latérales pointent vers l'extérieur de l'hélice. Lier quatre résidus des acides aminés le long de la chaîne. Ces liaisons sont juste dans la bonne position pour causer la molécule (ou une partie de celle-ci) pour maintenir une forme hélicoïdale. (**Bettelheim et al., 2012**).

10.2.2. Feuille bêta

Une structure secondaire protéique dans laquelle là l'épine dorsale de deux chaînes des protéines dans les mêmes molécules ou des molécules différentes est maintenue ensemble par des liaisons hydrogènes. L'autre structure ordonnée importante dans les protéines est feuille β -plissée. Dans ce cas, l'alignement ordonné les chaînes des protéines est maintenu par liaisons hydrogène intermoléculaires ou intramoléculaires. La structure de feuille β peut se produire entre les molécules lorsque les chaînes de polypeptide exécuter parallèle (toutes les extrémités N-terminal d'un côté) ou antiparallèle (voisin N-terminal extrémités sur les côtés opposés), **figure 4**. β -Feuilles plissées peuvent également se produire intramoléculaire, lorsque la chaîne

polypeptide fait un demi-tour, formant une structure en épingle à cheveux, et la feuille plissée est antiparallèle.

Dans toutes les structures secondaires, la liaison à l'hydrogène se fait entre la colonne vertébrale C=O groupes et H-N, une caractéristique qui distingue entre les structures secondaires et tertiaires. Dans ces dernières, comme nous le verrons, la liaison hydro-électrique peut avoir lieu entre les groupes R sur les chaînes latérales.

Peu des protéines ont des structures principalement α -hélice ou β -feuille. La plupart des protéines, en particulier les globulaires, ont seulement certaines parties de leurs molécules dans ces conformations. Le reste de la molécule se compose d'aléatoire bobine (Bettelheim *et al.*, 2012).

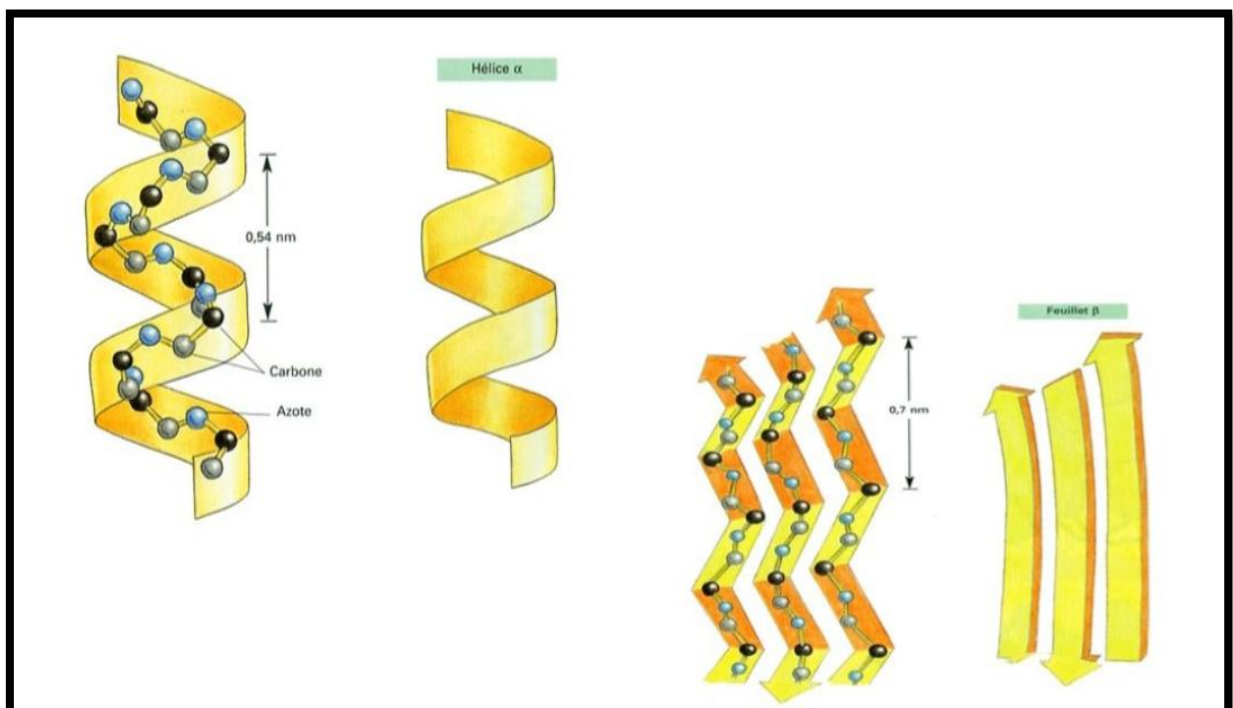


Figure 4 : Hélice α et feuilles β (Bettelheim *et al.*, 2013).

10.3. Structure tertiaire

La structure tertiaire d'une protéine est l'arrangement tridimensionnel de chaque atome de la molécule. La complète disposition tridimensionnelle des atomes d'une protéine. Contrairement à la structure secondaire, il comprend les interactions des chaînes latérales, et pas seulement la colonne vertébrale peptidique (Bettelheim *et al.*, 2012). En général, les structures tertiaires sont stabilisées de cinq façons :

- **Liaisons covalentes**, la liaison covalente la plus souvent impliquée dans la stabilisation de la structure tertiaire des protéines est la liaison disulfure.

- **Liaison hydrogène**, nous avons vu que les structures secondaires sont stabilisées par liaison hydrogène entre le backbone C = O et les groupes N-H. Les structures tertiaires sont stabilisées par l'hydrogène liaison entre les groupes polaires sur les chaînes latérales ou entre les chaînes latérales et la colonne vertébrale peptidique.
- **Ponts de sel**, aussi appelés attractions électrostatiques, se produisent entre deux acides aminés à chaînes latérales ionisées, c'est-à-dire entre acide aminé acide (COO⁻) et un acide aminé de base (NH₃⁺) ou avec (NH₂⁻) chaîne latérale. Les deux sont maintenus ensemble par une simple attraction ionique.
- **Les interactions hydrophobes**, ce type d'interaction est plus faible que les ponts d'hydrogène ou de sel, il agit généralement sur de grandes surfaces, de sorte que les interactions sont collectivement suffisamment fortes pour stabiliser une boucle ou une autre formation de structure tertiaire.
- **Les coordinations des ions métalliques**, deux chaînes latérales avec la même charge se repoussent normalement, mais ils peuvent aussi être reliés par un ion métallique par exemple, deux chaînes latérales d'acide glutamique (COO₂⁻) seraient toutes les deux à un ion de magnésium (Mg⁺²), formant un pont le corps humain a besoin de certains oligoéléments ils sont nécessaires composants des protéines.(**Bettelheim et al., 2012**).

10.4. Structure quaternaire

L'espace des relations et des interactions entre des sous-unités d'une protéine qui a plus d'une chaîne polypeptidique. Le plus haut niveau d'organisation des protéines est la structure quaternaire, qui s'applique aux protéines ayant plus d'une chaîne polypeptidique. La structure quaternaire, comme la **figure 5** détermine comment les différentes sous-unités de la protéine ensemble organisé. Les sous-unités sont emballées et maintenues ensemble par des liaisons hydrogène, des ponts salins et des interactions hydrophobes forces qui opèrent dans des structures tertiaires (**Bettelheim et al., 2012**)

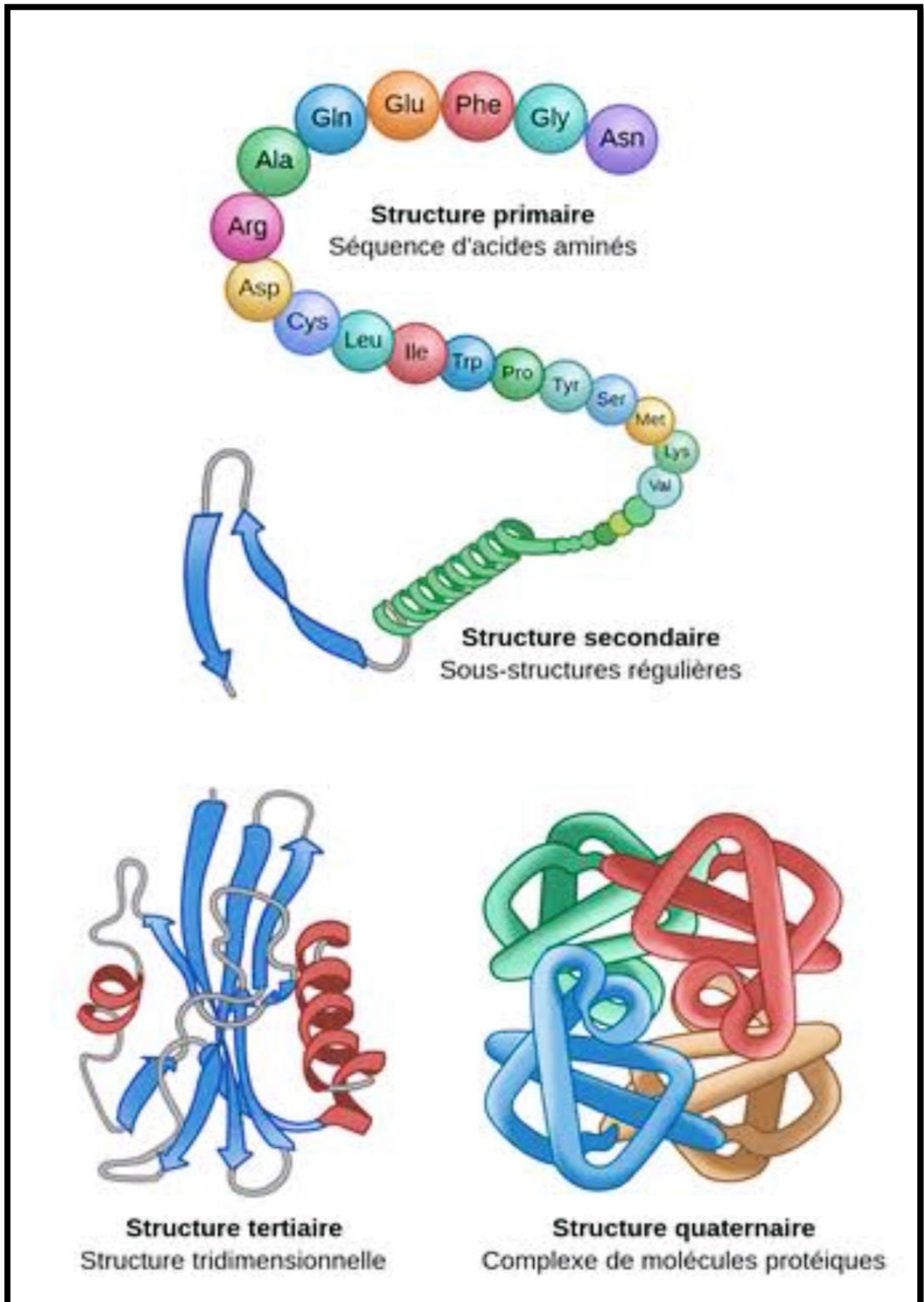


Figure 5 : Structure primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires d'une protéine

(Bettelheim *et al.*, 2012).

I.11. Maladie de carence et d'excès de protéine

11.1. Carence de protéine

11.1.1. kwashiorkor

La kwashiorkor est une maladie caractérisée par une malnutrition protéique sévère et un gonflement bilatéral des extrémités. Les nourrissons et les enfants, le plus souvent vers l'âge du sevrage jusqu'à l'âge de 5 ans. La maladie est observée dans des cas très graves de famine et de pauvreté dans les régions du monde. L'étiologie de la kwashiorkor est assez inconnue, mais les régimes alimentaires basés principalement sur le maïs ou le riz sont souvent associée à la maladie. On croyait auparavant qu'elle était due à une carence en protéines et faibles niveaux des antioxydants et des aflatoxines. Kwashiorkor est rare aux (États-Unis). Dans le monde entier, les régions les plus touchées comprennent l'Asie du Sud-est, l'Amérique centrale, le Congo, Porto Rico, la Jamaïque, le Sud Afrique, et l'Ouganda. Kwashiorkor est caractérisée par un œdème périphérique chez une personne souffrant de famine. L'œdème résulte d'une perte de l'équilibre des fluides entre les pressions hydrostatiques et oncotiques sur les parois des vaisseaux sanguins capillaires. La concentration d'albumine contribue à la pression oncotique, permettant au corps de garder les fluides dans le système vasculaire. Les enfants avec kwashiorkor ont été trouvés pour ont des niveaux d'albumine très bas et par conséquent, se sont épuisés intra vasculairement.

Kwashiorkor est également marquée par des faibles niveaux de glutathion (antioxydant). On pense que cela reflète élevé niveaux de stress oxydant chez l'enfant mal nourri. Des niveaux famine et sont même vus dans les cas d'inflammation chronique. Une mesure à l'inversion serait amélioration de l'état nutritionnel et des antioxydants contenant du soufre. Il existe également une théorie expérimentale proposer que les altérations du microbiome/virone contribuent à la malnutrition œdémateuse, toute fois, d'autres études sont nécessaires pour comprendre le mécanisme (Benjamin et Lappin, 2022).

11.1.2. Marasmus

Marasmus signifie émaciation, est une maladie où il est une perte de poids progressive due à la nourriture donnée à l'enfant n'étant pas correctement assimilé. Pour cette raison elle est rarement observée chez les nourrissons allaités, mais surtout chez enfants négligés ou ceux à qui des aliments inappropriés sont être donné. Il est souvent vu dans des conditions de famine, où la nourriture appropriée n'est pas disponible, ou après la diarrhée d'été lorsque l'intestin a été rendu incapable d'absorption normale. Une mauvaise alimentation en soi peut causer cette

condition. Pauvreté, manque d'hygiène...etc. Tous aider pour provoquer le marasme. En apparence, l'enfant a l'air rassasié, rétréci et ridé ; il y a une grande émaciation et la faiblesse. La langue est souvent rouge et il y a des plaques de muguet dans la bouche et l'excoriation des fesses. L'abdomen peut être distendu. Le caractère des mouvements varie selon la nature de l'aliment donné. Le nourrisson peut montrer un bon appétit, et souvent suce ses doigts jusqu'à ce qu'ils soient crus. Malgré cela, il perd poids progressivement. Nourrissons souffrant de marasme facilement tomber victime d'autres maladies, en particulier celles des poumons et les fièvres infectieuses. Le traitement est presque entièrement diététique. Le nourrisson devrait être pris à un médecin qui sera en mesure de diagnostiquer les erreurs précédentes dans l'alimentation, et de conseiller sur la bonne alimentation de l'enfant. La pesée hebdomadaire régulière est très importante en cas de marasme, pour le gain en poids indique que l'aliment est en bon état absorbé (Young, 2016).

11.2. Excès de protéine

Grâce à des études et des recherches menées par des chercheurs sur les maladies liées à un excès des protéines dans le sang, ils ont conclu qu'il ne s'agissait pas d'une maladie spécifique ou d'un état de maladies. Il apparaît généralement sur les résultats des tests de laboratoire afin qu'il soit révélé lors d'une évaluation médicale d'une condition ou d'un symptôme particulier. Les excès des protéines ils sont moins fréquents et ont des conséquences moins dramatiques que les déficits, peuvent faire plusieurs conséquences dont :

- cancer du côlon
- surcharger des reins, Lorsque la voie de synthèse des protéines est saturée, les acides aminés en excès sont désaminés produisant ainsi de l'ammoniac. Cette molécule étant toxique pour l'organisme, elle est convertie en urée, ce qui se traduit donc par une augmentation de l'uréogénèse et de l'urémie.
- Une perte de calcium, avec pour conséquence une fatigue physique, une déminéralisation des os, et un risque fracturaient accru.
- Une perte de potassium avec un impact possible sur la survenue de troubles du rythme cardiaque.

Chapitre II

Les voies de catabolisme des protéines

II. Voies de catabolisme des protéines

III.1. Définition de catabolisme (Protéolyse)

Le catabolisme est l'ensemble des réactions de dégradations moléculaires dans l'organisme considéré. Il est le contraire de l'anabolisme. Au cours de laquelle des molécules relativement grosses et complexes sont dégradées en molécules plus petites et plus simples. Ce processus de dégradation génère de l'énergie sous forme de chaleur et d'ATP (**Heller, 1998**).

II.2. Enzymes de catabolisme des protéines

2.1. Protéases

Les protéases (Ou peptidase) sont des hydrolases leur structure à été comme la **figure 6**, qui hydrolysent les liaisons peptidiques des protéines ou fragments des protéines, qui seront par la suite les AA (**Barrett, 1994**). Elles constituent la plus grande famille d'enzymes sont classées en six classes : aspartate, cystéine, glutamate, métallo, sérine et thréonine chaque membre d'un groupe grâce à leur diversité structurelles et fonctionnelles.

Les fonctions biologiques des protéases sont variées : elles interviennent dans la maturation des protéines, la digestion des aliments, la coagulation sanguine, remodelage des tissus au cours du développement de l'organisme et dans la cicatrisation. Les protéases allant du recyclage des protéines intracellulaires à la digestion des nutriments. Certaines protéases sont produites sous forme de précurseurs inactifs, appelés zymogènes. Ils sont général activés par une coupure protéolytique qui libère l'enzyme fonctionnelle (**Li et al., 2013**).

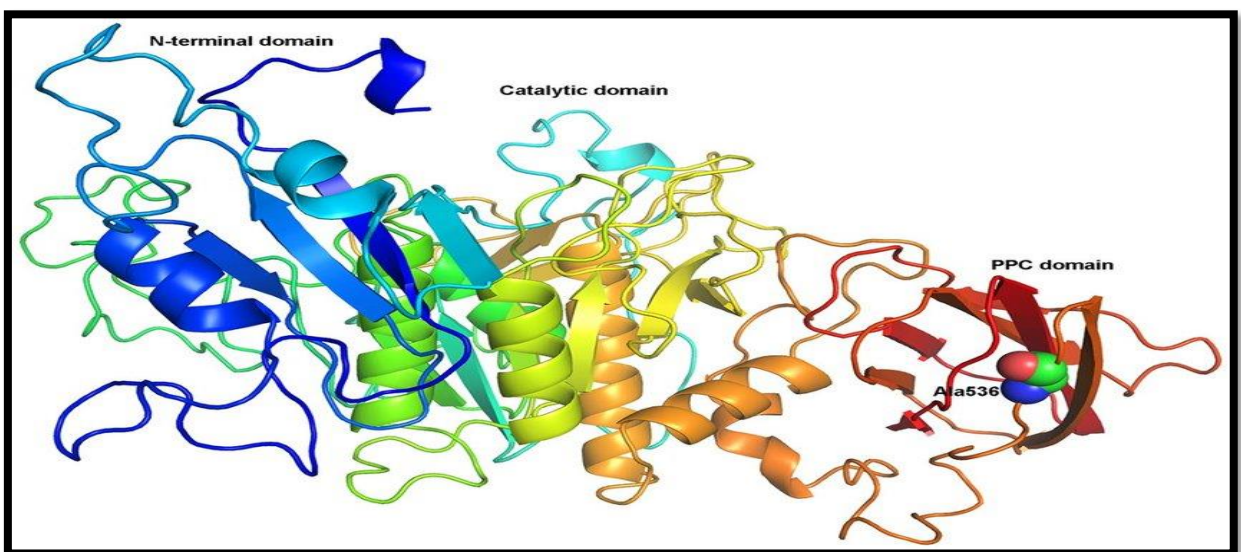


Figure 6 : structure modélisée de protéase (**Cheng et al., 2018**).

moléculaire, degré de glycolysation et point isoélectrique, mais ces systèmes plus spécifiques commencent à être identifiés :

– Identité de l'acide aminé N-terminal de la protéine : certains acides aminés N terminaux sont « stabilisants » et portés par des protéines à demi-vie longue, d'autres sont « déstabilisants » lysine, aspartate, tryptophane, et donc portés par des protéines à demi-vie courte. Les acides aminés N-terminal, au cours de la vie de la protéine peut être modifié par exemple (asparagine transformée en aspartate), ou peut recevoir un acide aminé déstabilisant supplémentaire, ou peut au contraire être protégé par une acétylation (la désacétylation exposant alors un acide aminé déstabilisant). Évidence des courtes séquences des acides aminées. Cependant, à l'heure actuelle, ces deux mécanismes ne concernent que quelques protéines et les signaux conduisant à la dégradation de la majorité des protéines restent mystérieux. Au total, les points essentiels à retenir sur la protéolyse sont:

- la notion que la protéolyse consomme de l'énergie.
- la protéolyse est tout autant que la synthèse protéique un phénomène très bien régulé par les conditions nutritionnelles et hormonales, même si cette régulation est actuellement mal connue (**Boirie et al., 2005**).

II.4. Voies de catabolisme des protéines

4.1. Système ubiquitine / protéasome ATP dépendant

L'ubiquitine a été découverte au début des années 1970 et ensuite reconnu comme étant la molécule qui marque les protéines intracellulaire pour être dégradées par un complexe multienzymatique (**Herrmann et al., 2007**).

Etlinger et **Goldberg** (1977) ont motionné en un système protéolytique non lysosomal dépendant de l'ATP et en travaillant sur des lysats de réticulocytes qui ne contiennent pas de lysosome et par la suit, **Ciechanover** en 1980 dit que la voie de protéolyse ubiquitine-protéasome ATP dépendante (Ub/ protéasome 26S) chez les eucaryotes elles sont responsable de la dégradation sélective de la plupart des protéines intracellulaires (cytoplasmique et nucléaire). Tout d'abord, le substrat à dégrader est étiqueté par l'addition covalente d'une chaîne constituée de plusieurs molécule d'ubiquitine (Ub). Par la suite, cette polymère qui agit comme un signal de dégradation par l'action d'une cascade enzymatique. Le substrat polyubiquitiné est finalement reconnu et dégradé par le protéasome 26S alors que, les groupements ubiquitines sont alors recyclés (**Vierstra, 2003**). En 2004, **Aaron Ciechanover, Avram Hershko et Irwin Rose** reçurent le Prix Nobel de chimie pour leurs travaux sur la dégradation des protéines contrôlée par l'ubiquitine.

4.1.1. Ubiquitine

L'Ub est une petite protéine de 76 acides aminés de masse moléculaire environ 8,5 KD présentant une structure globulaire et exprimée de façon ubiquitaire chez tous les eucaryotes voire **figure 8**. C'est le prototype d'une famille des protéines qui présentent des structures remarquablement similaires, une petite protéine thermostable désignée initialement comme APF-1 (facteur 1 de protéolyse dépendant de l'ATP) identifiée comme de l'ubiquitine.

L'ubiquitine reconnu comme étant que la molécule qui marque les protéines intracellulaires pour être dégradées par un complexe multienzymatique est activée dans son extrémité C-terminale glycine qui permettant de former une liaison thiol ester avec la libération d'AMP, c'est réaction catalysée par l'enzyme E1 (Gary *et al.*, 2013).

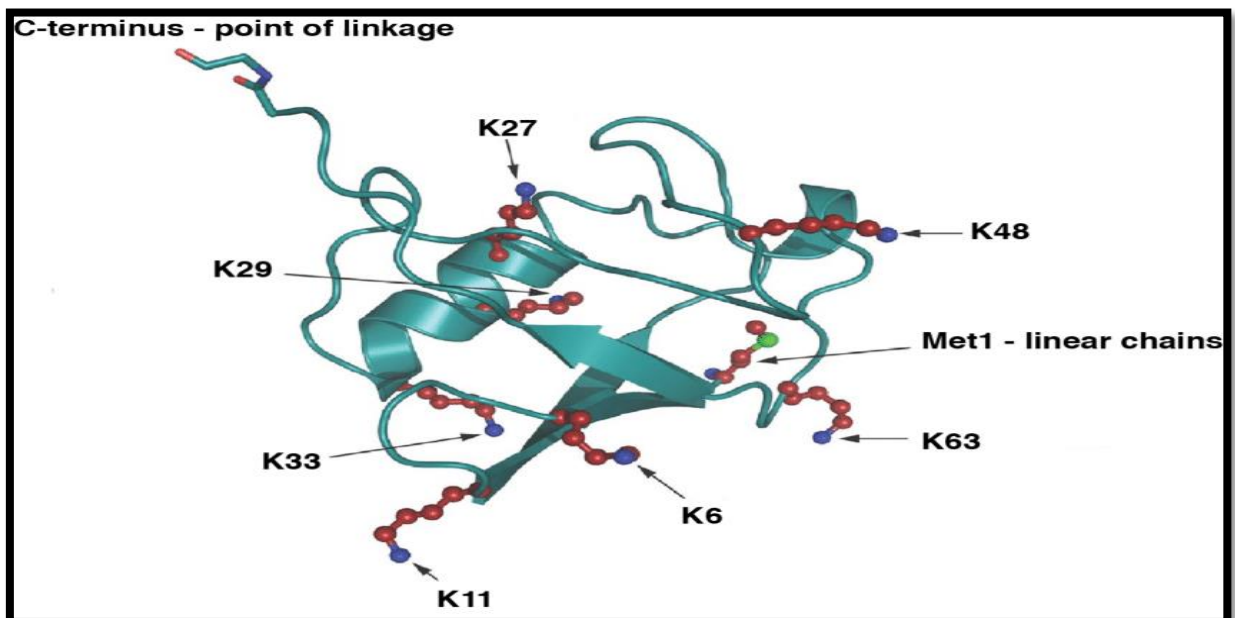


Figure 8 : Ubiquitine et ces résidus lysine (Komander, 2009).

4.1.2. Réaction d'ubiquitination (une cascade multi enzymatique)

En générale, l'ubiquitine est conjuguée à la protéine cible. l'ubiquitination est une modification post traductionnelle biochimique nécessitant plusieurs étapes pour l'addition covalente des molécules d'ubiquitine aux résidus lysine des protéines cibles (accepteriez de la protéine substrat) voire la **figure 9** dans la processus d'ubiquitination du substrat qui est méditée par l'ubiquitine aux protéasomes 26S grâce à une cascade enzymatique suivant : (E1) enzyme d'activation de l'ubiquitine, une enzyme de conjugaison de l'ubiquitine (E2) et une enzyme ubiquitine ligase (E3). Alors que les enzymes E3 de type HECT vont d'abord lier l'ubiquitine avant de le transférer sur la protéine cible, celle de type RING vont permettre un rapprochement de l'enzyme E2 avec la protéine permettant ainsi le transfert de la molécule d'ubiquitine. La

protéine ubiquitinylée va ensuite être dirigée vers le protéasome pour y être dégradée. L'ubiquitination est réversible via une déubiquitination (Nandi *et al.*, 2006).

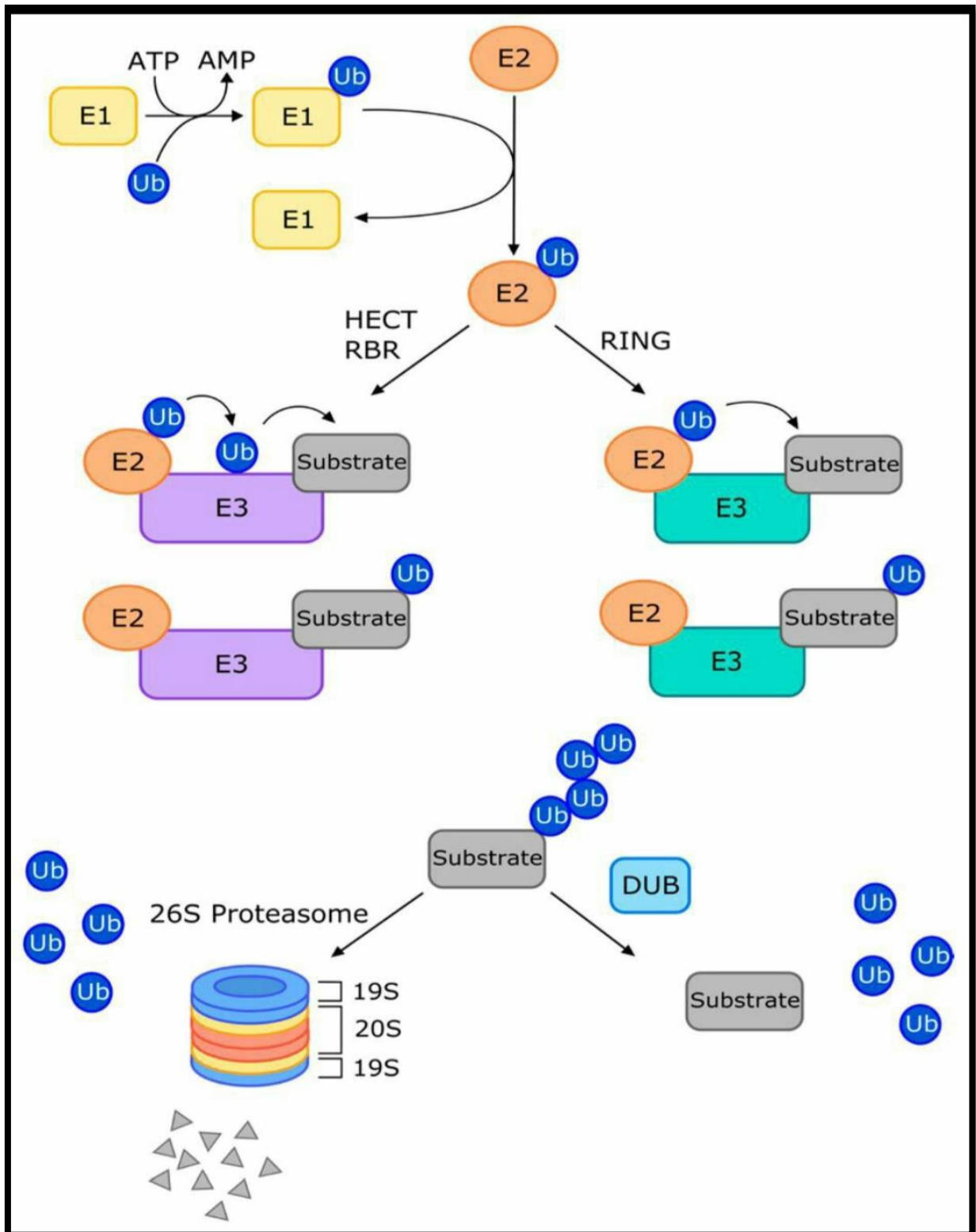


Figure 9 : Réaction d'ubiquitination (Song et al., 2021).

Sun et al., 2020. ont montré que l'ubiquitination est divisée en deux catégories selon la **figure 10** : la monoubiquitination (une seule ubiquitine) et la polyubiquitination (une chaîne d'ubiquitines). Dans la chaîne de polyubiquitination, l'ubiquitine peut être attachée par l'intermédiaire de sept types des résidus lysine (K6, K11, K27, K29, K33, K48, et K63) ou la première méthionine (M1). La polyubiquitination liée à K48 est le type le plus étudié qui marque principalement les protéines pour la reconnaissance et leur dégradation par le protéasome 26S.

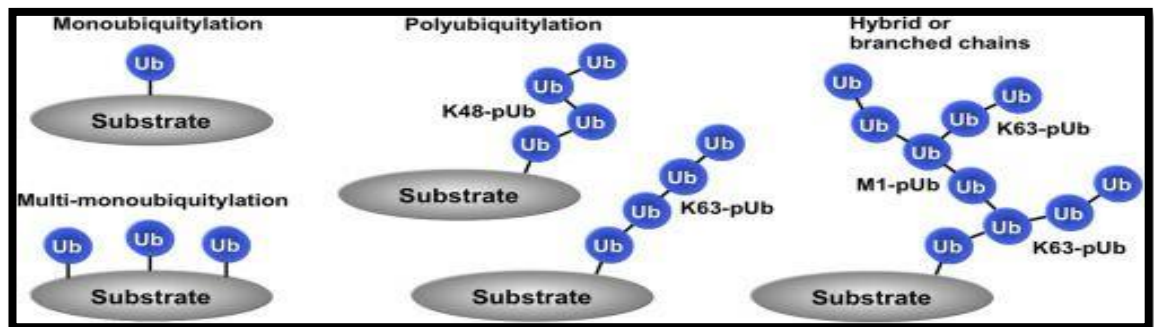


Figure 10 : Différentes formes d'ubiquitination (Emmerich et Cohen, 2015).

4.1.2.1. Enzyme d'activation de ubiquitine (E1)

E1 c'est le première tâche dans la réaction d'ubiquitination, pour Ub est une protéine monomère de 110-120 KDa, E1 chez eucaryote contiennent une double répétition d'un domaine dérivé des protéines bactériennes MoeB et ThiF (*Lee et al., 2008*).

Il ya deux types d'enzymes E1 activatrices d'ubiquitine sont connues : la principale est l'UBA1, tandis que la nouvellement découverte, UBA6 a actuellement des fonctions peu claire (*Song et al., 2021*). L'Ub-E1 se compose de quatre éléments constitutifs : Premièrement, les domaines d'adénylation composés de deux motifs d'homologie MoeB/ThiF, deuxièmement, les demi-domaines de cystéine catalytique, qui contiennent la cystéine du site actif de E1 insérée dans chaque domaine d'adénylation. Troisièmement, un faisceau de quatre hélices et dernièrement, le C-terminal (UFD), qui recrute des E2 spécifiques (*Lee et al., 2008*).

4.1.2.2. Enzyme de conjugaison (E2)

L'Ub est transféré au site actif cystéine du site actif d'une enzyme conjuguée à Ub (E2) dans une réaction de transestérification. Les E2 sont globalement regroupées en quatre classes : les E2 de classe I consistent en un domaine central catalytique de 150 AA, les enzymes de classe II possèdent l'UBC plus une extension C-terminale, mais les E2 de classe III sont constituées d'une extension N-terminale et le quatrième classe possèdent à la fois une extension terminale N-terminal et C-terminal ajoutée au domaine UBC. Un troisième composant enzymatique, une

protéine ligase (E3) coopère avec l'E2 pour transférer Ub aux substrats. Les protéines E2 jouent une fonction importante dans la détermination du type chaîne de polyubiquitine connectée à l'heure actuelle, la nomenclature des enzymes E2 varie selon les espèces, les enzymes E2 chez les humains étant nommées UBE2 suivie d'une lettre (**Plafker et al., 2004**). Cependant les E2 actives possèdent un domaine central de conjugaison de l'ubiquitine, qui contient le résidu Cys catalytique et interagit avec les E1, les protéines de la variante E2 de l'ubiquitine (UEV) possèdent également un domaine UBC mais ne possèdent pas de résidu Cys du site actif. Les domaines UBC des différentes E2 présentent un degré élevé d'homologie de séquence et adoptent des structures similaires composées de quatre α -hélices, d'un feuillet β antiparallèle formé de quatre brins et une courte hélice. La Cys hautement conservée du site actif est située dans une rainure peu profonde formée par une courte boucle reliant l' α -hélice 2 à l' α -hélice 3 et une longue boucle à proximité du site actif (**Pickart et Eddins, 2004**).

4.1.2.3. Enzyme de reconnaissance (E3)

L'ubiquitination se produit lorsqu'une enzyme E3 ligase se lie à la fois au substrat et à un E2 thioestérifié avec de l'ubiquitine (E2~Ub), les rapprochant ainsi de façon à ce que l'ubiquitine soit éliminée. Proximité afin que l'ubiquitine soit transférée de l'E2 au substrat directement ou dans un petit sous-ensemble de E3 par l'intermédiaire thioester. Le site d'appariement des E2 et des substrats par les E3 détermine la spécificité de l'ubiquitination. Il existe deux principaux types de E3 chez les eucaryotes, définis par la présence d'un domaine HECT (homologues de l'extrémité carboxylique de l'E6-AP) ou d'un domaine RING (**Raymond et al., 2009**).

a) RING-E3 ubiquitine ligase

Environ 95% (600 membres) des E3 ubiquitines ligases appartiennent à la famille RING. Les E3 RING sont le type le plus abondant des ubiquitines ligases voire la **figure 11**. Elles sont caractérisées par la présence d'un domaine de liaison au zinc appelé RING (Really Interesting New Gene) ou d'un domaine U-box, qui adopte le même pli RING mais ne contient pas de zinc. Les domaines RING et U-box sont responsables de la liaison de l'E2 chargé en ubiquitine et de la stimulation du transfert d'ubiquitine (**Morreale et al., 2016**).

Les E3 RING assurent un transfert direct d'ubiquitine vers le substrat, en fonctionnant comme un échafaudage pour orienter l'E2 chargé en ubiquitine par rapport à la protéine substrat qui peuvent fonctionner en tant que monomères, homodimères ou hétérodimères de même, les domaines U-box peuvent fonctionner en tant que monomères ou homodimères. Certains E3 RING sont composés de plusieurs sous-unités, comme les Cullen-RING ligases (**Morreale et al., 2016**).

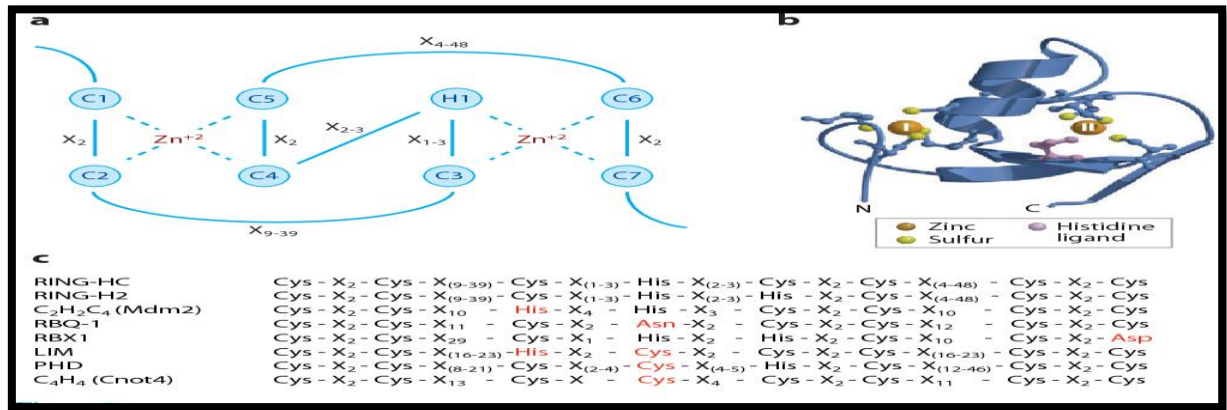


Figure 11 : Séquence et organisation d'un domaine RING (Joazeiro et Deshaies, 2009).

b) HECT-E3 ubiquitine ligase

Les HECT- E3 se compose d'un domaine HECT constitué d'une chaîne polypeptidique de 350 acides aminés à son extrémité C-terminale est très répandu chez les eucaryote (Lan *et al.*, 2018). Ce domaine HECT (homologue de l'extrémité carboxyle de l'E6AP) implique des protéines de liaison à l'ubiquitine qui acceptent ce dernier et catalysent son transfert vers la protéine cible voire la **figure 12**, l'heure actuelle, il ya deux étape d'ubiquitination par les ligases E3 HECT Contrairement aux ligases E3 RING, qui catalysent l'attaque directe de la lysine du substrat sur le thioester E2~Ub et les ligases E3 à domaine HECT catalysent deux réactions distincte: une réaction de transthioestérification dans laquelle l'ubiquitine est transférée de la cystéine du site actif de E2 à une cystéine du domaine HECT, et une attaque subséquente sur le thioester HECT~Ub par une lysine substrate.

Le domaine HECT conservé est situé à l'extrémité C des protéines et se caractérise par une architecture bilobée : le lobe N-terminal interagit avec la protéine E2 chargée d'ubiquitine. Tandis que le lobe C-terminal contient la cystéine catalytique; les deux lobes sont attachés par une charnière flexible qui permet des changements dans les orientations relatives des lobes pendant le transfert de l'ubiquitine, Alors que le domaine HECT C-terminal est impliqué dans la catalyse mais la spécificité du substrat est déterminée par la partie N-terminale de la ligase. (Morreale *et al.*, 2016).

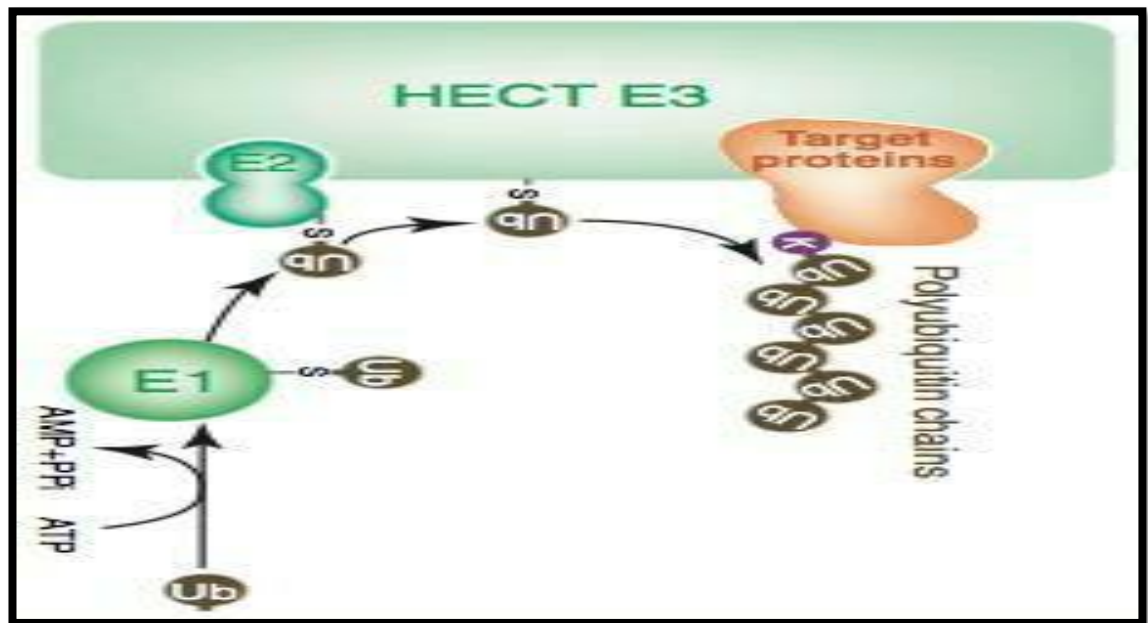


Figure 12 : Mécanisme de fonctionnement des HECT E3 Ubiquitine ligases (Iwai, 2012).

c) RBR E3 ubiquitine ligase

La famille RBR n'a fait que récemment irruption sur la scène en tant que classe d'E3 mécaniquement distincte qui partage les caractéristiques des E3 RING, HECT E3 RING et HECT, mais catalysent l'ubiquitination et autorégulent leur activité de manière distincte. Les E3 RBR (RING-between RING-RING) catalysent le transfert d'ubiquitine par une réaction en deux étapes où l'ubiquitine est d'abord transférée à une cystéine catalytique sur le E3 puis au substrat. Le nom RBR provient de la présence de deux domaines RING prédits (RING1 et RING2) séparés par un domaine between-RING (IBR). RING1 recrute la charge d'ubiquitine et le domaine RING2 possède une cystéine catalytique ; cependant, il ne se conforme pas à la structure canonique RING E3, et il a également été appelé domaine Rcat (required-for-catalysis). Le domaine IBR adopte le même repliement que le domaine RING2 (ou Rcat), mais ne possède pas le résidu de cystéine catalytique. Appelée domaine BRcat (benign-catalytic). Les ligases E3 RBR contiennent des domaines supplémentaires qui sont spécifiques à chaque membre (Spratt *et al.*, 2014).

4.1.2.4. Facteur d'élongation (E4)

L'ubiquitination implique généralement trois classes des enzymes, une enzyme activatrice d'ubiquitine (E1), une enzyme conjuguant l'ubiquitine (E2) et une ubiquitine ligase (E3). Cependant, dans certains cas, la multiubiquitination nécessite l'activité supplémentaire de certaines facteurs d'élongation de la chaîne d'ubiquitine. L'UFD2 (ubiquitine fusion dégradation). La première famille de E4 caractérisée présente en position C-terminale un

domaine U-box. C'est le cas de CHIP et E4B, qui fonctionnent également comme des E4 vis-à-vis d'autres substrat. L'E4 comme une ligase E3 spécialisée pour l'ubiquitine, qui allonge les chaînes des ubiquitines des protéines mono ou oligoubiquitylées. Cependant l'incapacité des enzymes E4 à se substituer à une enzyme E3 in vivo, en plus de l'absence de preuves que la plupart des E4 interagissent avec les enzymes E2 (**Hoppe, 2005**).

4.1.3. Déubiquitination (DUP)

Déubiquitination est une réaction réversible et inverse de la déubiquitination. L'ubiquitination est une modification post-traductionnelle très dynamique et complexe. En fait, que ce soit pour ses rôles liés à la protéolyse, la localisation ou la fonction de certaines protéines, l'ubiquitination doit être extrêmement contrôlée pour éviter des effets délétères, chez l'humain ont été identifiées 100 DUB. Ce dernier catalysent une réaction protéolytique entre un groupe ϵ -amino de Lys et un groupe carboxyle correspondant à la l'extrémité C de l'ubiquitine. Les DUB de type Cys protéase reposent sur deux ou trois résidus d'acides aminés cruciaux les dèubiquitination peut être utilisée pour annuler les signaux d'ubiquitination pour réguler l'ubiquitination et pour éliminer les chaînes d'ubiquitine des protéines sous-jacentes avant leur dégradation protéasomique (**Mevissen et al., 2017**).

4.1.4. Protéasome

Dans le système ubiquitine-protéasome ou UPS (Ubiquitin Proteasome System) avec les lysosomes, les protéines sont ciblées pour être dégradées par le protéasome 26S grâce à la fixation covalente d'une chaîne des molécules d'ubiquitine, le système protéolytique joue un rôle majeure chez les eucaryotes. Il intervient non seulement dans la dégradation des protéines endommagées, anormales et mal structurées, mais aussi dans la demi-vie des protéines clés telles que les cyclines impliquées dans le cycle cellulaire (**Glickman et al., 2002**).

4.1.4.1. Structure et composition de protéasome 26S

Le protéasome 26S a un poids moléculaire d'environ 2,5 KDa et il est constitué de la particule centrale 20S (CP), et d'une ou deux particules régulatrices 19S (RP) voire la **figure 13** attachées à l'une ou aux deux extrémités de la CP et RP 19S (également connue sous le nom de AP 700) se lie à la CP 20S et facilite l'ouverture de la porte de la CP pour la dégradation protéolytique des protéines polyubiquitinées. Le 19S RP est également responsable de la reconnaissance, du dépliage et de la translocation des protéines polyubiquitinées dans la PC 20S. La formation du protéasome 26S est un processus complexe nécessitant l'assemblage de plus de soixante protéines ainsi que le contrôle de l'activité des sous-unités catalytiques (**George et al., 2021**).

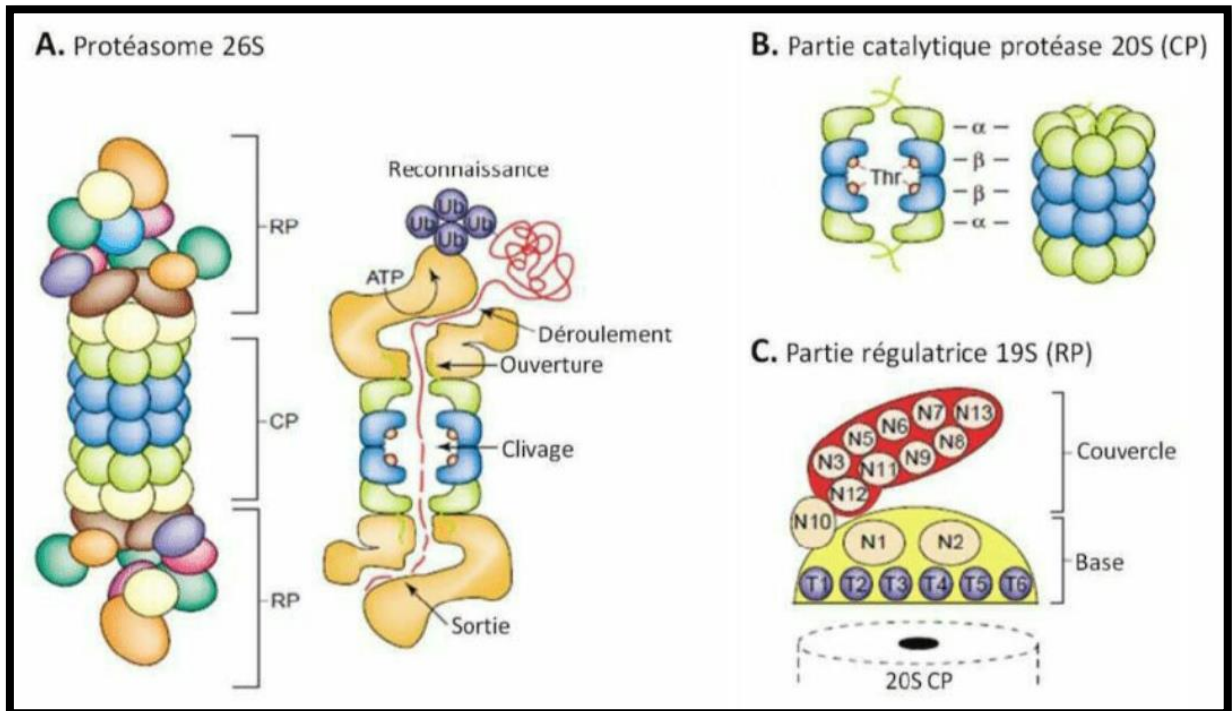


Figure 13 : Composition des protéasome (Murata et Tanaka, 2009).

a) sous-complexe catalytique 20S CP

Le centrale particule 20S est un complexe de 670 KDa composé de 28 sous-unités et constitue le centre protéolytique du protéasome cette structure cylindrique creuse est composée de deux anneaux heptamériques de sous-unités α et de deux anneaux heptamériques de sous-unités β avec une structure α 1-7, β 1-7, β 1-7, α 1-7. Les sous-unités α - dans les anneaux extérieurs du noyau 20S servent à reconnaître et à diriger les substrats poly-ubiquitinés vers le centre protéolytique, l'extrémité N-terminale des sous-unités α 2, α 3 et α 4 forme une porte qui protège l'ouverture du centre protéolytique bien que le noyau protéolytique 20S comporte deux anneaux β avec sept sous-unités β dans chaque anneau (β 1-7, β 1-7), seulement trois sous-unités β : β 1, β 2 et β 5, qui résident dans chacun des deux anneaux β : sont protéolytiquement actives les activités protéolytiques des trois β sous-unités sont dues à la présence d'un résidu de thréonine dans leur extrémité N-terminale qui agit comme un nucléophile dans l'hydrolyse des protéines sous-jacentes, leur activités protéolytiques distinctes la β 1 a une activité peptidyl-glutamyl-peptide-hydrolyse, β 2 a une activité de type trypsine et β 5 a une activité de type chymotrypsine-like (Jung *et al.*, 2009).

b) sous complexe régulateur 19S RP

La régulatrice particule 19S est un grand complexe de 700 KDa, également connu sous le nom d'activateur de protéasome 700 "ou "AP 700" (Jung *et al.*, 2009), est constitué d'une base en

forme d'anneau et d'une structure de couvercle, qui régule l'entrée des sous-produits dans le protéasome 20S attaché. La RP 19S comprend environ 20 sous-unités différentes qui peuvent être sous-classes en deux groupes : la particule régulatrice des sous-unités triple-ATP ase (Rpt) et particule régulatrice de non-ATP ase (Rpn), qui contiennent toutes deux de multiples protéines avec des masses moléculaires allant de 10 à 110 KDa. La structure de base contient au moins 10 sous-unités différentes (Rpt1, Rpt6, Rpn1, Rpn2, Rpn10 et Rpn13). Les sous-unités Rpt présentent une activité ATP ase, mais pas les sous-unités Rpn. Le régulateur 19S permet d'améliorer l'accès du substrat à la partie protéolytique interne en modifiant la structure des anneaux de base de la porte, se fixe à chacune des extrémités du protéasome 20S formant une grande particule, le protéasome 26S, dont la masse totale est supérieure à 2 KDa (**Tanaka, 2009**).

c) Complexe régulateur 11S

Il existe un complexe 11S heptamérique dit « activateur » qui peut s'associer au 20S. Il stimule l'activité peptidase du protéasome mais est incapable de reconnaître l'ubiquitine et ne possède pas d'activité ATPase. Il pourrait jouer un rôle dans la dégradation des peptides viraux, mais pas de protéines plus larges. Cette structure 11S peut parfois être rencontrée sous le terme de PA28 ou REG. Le mécanisme utilisé pour se lier à 20S par le biais de son C-terminus et ouvrir l'accès au cœur du protéasome en favorisant une modification de la conformation des anneaux α semble très proche, sinon similaire, à celui utilisé par le complexe 19S les complexes 11S et 19S se lient de manière similaire au complexe 20S (**Peters et al., 1994**).

II.4.2. Système lysosomal (cathepsine)

Les enzymes impliquées sont des protéases actives dans milieu acide, les cathepsines, du nom l'acide aminé de son site actif (cystine protéinase il excite des cathepsines B, C, H, L, S, ainsi que aspartate protéinases: cathepsines D et E et sérine protéinase: cathepsine G). Ces enzymes se trouvent principalement à l'intérieur des vésicules lysosomales incorporées par endocytose les protéines à dégrader. Ils agissent principalement sur protéines intracellulaires à longue demi-vie sur les membranes cellulaires et sur des protéines extracellulaires, les cathepsines vont dégrader le protéine substrat en peptide et en acide aminé qui seront libérés dans le cytosol. Le type de cathepsine et de façon générale l'importance de la protéolyse lysosomale varie selon l'organe considéré : ce mode de dégradation est particulièrement important dans les organes à renouvellement protéique rapide (foie). Il nécessite de l'énergie sous forme d'ATP pour maintenir le PH acide à l'intérieur des lysosomes (**Boirie et al., 2005**).

4.2.1. Définition de lysosome

Les lysosomes sont des organites cellulaires vésiculaires ubiquitaires de quelques centaines de nanomètres de diamètre qui peuvent dégrader les protéines, acides nucléiques, polysaccharides, autres biomatériaux, substances extracellulaires et des protéines de la membrane cytoplasmique (comme les récepteurs ou les canaux), peuvent pénétrer dans la cellule par l'endocytose et sont enveloppés par les autophagosomes dans les autophages. Ensuite, les autophagosomes fusionnent avec les lysosomes pour former des autolysosomes et dégradées dans le lysosome qui libèrent les produits courts qui en résultent dans le cytosol pour être réutilisés (**Pei et al., 2021**).

4.2.2. Fonction de lysosome

Les lysosomes ont deux grands types des fonctions : des fonctions de dégradation et aussi des fonctions de signalisation à été identifiées plus récemment.

4.2.2.1. Fonction de dégradation

a) Fusion vésiculaire

Les lysosomes sont des organites dynamiques qui reçoivent et dégradent les macromolécules, provenant des voies membranaires sécrétoires, endocytique, autophagique et phagocytaire. L'imagerie des cellules vivantes a montré que la fusion avec les lysosomes se produit à la fois par des événements de fusion transitoire et complète, la fonction des lysosomes ne se limite pas à la dégradation des protéines: ils fusionnent également avec la vésicule à dégrader. La fusion des vésicules comme les endosomes ou les lysosomes avec d'autres vésicules ou même la membrane plasmique (en réponse à une augmentation de la concentration de Ca^{+2} cytosolique qui déclenche la fusion des lysosomes), qui est contrôlée par les SNARE (Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment protein REceptor) (**Luzio et al., 2007**).

b) Dégradation des composés extracellulaires

Les lysosomes sont impliqués dans la dégradation des molécules d'origine extracellulaire, Intériorisé par endocytose, soit pour la dégradation des pathogènes (phagocytose) qui est un processus essentielle par lequel les cellules spécialisées engloutissent les agents pathogènes envahissants, les cellules apoptotiques et d'autres particules étrangères dont le diamètre est supérieur à 0,5 μm . Ou pour absorption des molécules critiques pour la survie des cellule, l'endocytose est intériorisé dans des vésicules formées par invagination de la membrane plasmique, composés extracellulaires ou composés de la membrane plasmique (**Luzio et al., 2007**).

c) Dégradation des composés intracellulaires

Les lysosomes sont aussi impliqués dans la dégradation et le recyclage des composants internes de la cellule: les organites indésirables ou endommagés, ou dans des conditions de stress nutritif, un pathogène introduit dans la cellule et des protéines mal repliées...etc. Sont ainsi collectés et transportés vers les lysosomes pour être dégradés. Les cellules ont recours au processus de l'autophagie pour recycler une partie de leurs organites (**Rabinowitz et White, 2010**).

4.2.3. Entrée des protéines dans les lysosomes

4.2.3.1. Ciblage sélectif des protéines

Le ciblage lysosomal correspond à l'entrée sélective de protéines dans les lysosomes à partir du cytoplasme. Cette activité est stimulée par la carence nutritionnelle prolongée. Les protéines concernées voient leur demi-vie réduite par un facteur 2 à 5 et sont caractérisées par un motif spécifique biochimiquement relié à la séquence KFERQ (= Lys-Phe-Glu-Arg-Gln). Sa concentration augmente en réponse aux carences nutritionnelles ainsi que son association aux protéines dont le catabolisme est accéléré (**Craillo et al., 1995**).

4.2.3.2. Autophagie

L'autophagie est un processus de recyclage en plusieurs étapes, lié aux lysosomes, dans lequel les composants cytosoliques sont reconnus et isolés, puis livrés aux lysosomes pour être dégradés. Ce processus produit à un niveau basal, mais il est accéléré par un stress cellulaire telle que la famine. L'autophagie est classée comme suit :

a) Microautophagie, est un processus qui se produit chez les levures et les plantes, où les composants cytosoliques à dégrader sont séquestrés par des invaginations de la membrane de la vacuole.

b) Autophagie médiée par les chaperons, dans laquelle les molécules solubles cytosoliques sont acheminées vers les lysosomes pour être dégradées par le biais d'un complexe protéine-translocation au lieu d'invaginations membranaires.

c) Macroautophagie, est le processus d'autophagie le mieux caractérisé, dans lequel de grandes quantités de cytosol et même des organites entiers, sont séquestrés pour être ensuite dégradés et recyclés en formant l'autophagosome fermé. Enfin, l'autophagosome fusionne avec le lysosome pour former l'autolysosome, où la dégradation du matériel séquestré. En suite, les molécules sont recyclées pour une réutilisation métabolique (**Galluzzi et al., 2017**).

4.2.3.3. Hétérophagie

L'hétérophagie correspond à la dégradation des protéines qui ont pénétré dans les cellules par pinocytose, phagocytose ou endocytose relayée par des récepteurs membranaires. Il s'agit de l'action lysosomiale la plus connue : les structures membranaires endosomiques (hétérophagosomes) fusionnent avec les lysosomes. Ce processus est important dans de nombreuses situations biologiques. Celles-ci incluent la simple nutrition cellulaire mais aussi l'action de certains facteurs de croissance et des fonctions spécialisées comme la réponse inflammatoire (neutrophiles polymorphes) et la réponse immunitaire la **figure 14** à été résumé ces étape (**Craillo et al., 1995**).

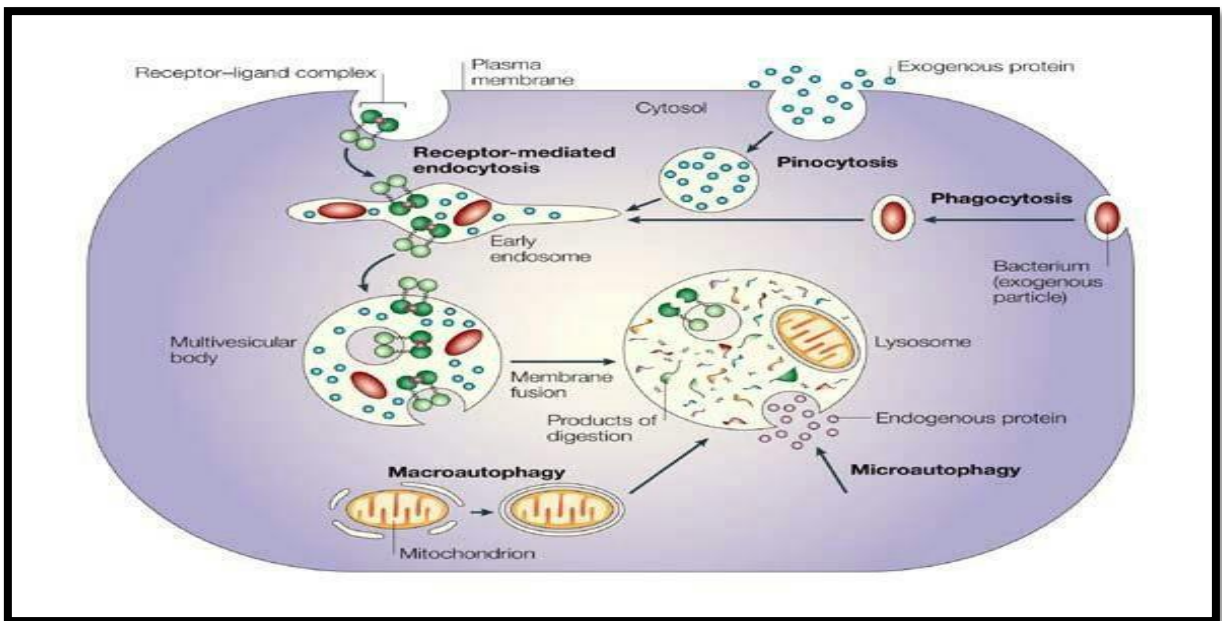


Figure 14 : Différents mécanismes de dégradation lysosomiale (**Ciechanover, 2005**).

4.2.4. Voies d'adressage des protéines au lysosome

4.2.4.1. Voie du Mannose-6-Phosphate (M6P)

Cette voie sont synthétisées les enzymes soluble dans le réticulum endoplasmique (RE) et transportées à travers l'appareil de Golgi où elles subissent toute une série de modifications post traductionnelles, conduisant à l'acquisition d'un marqueur mannose 6-phosphate (M6P). Ce marqueur va permettre leur liaison à deux récepteurs reconnaissant le M6P, M6PR46 de masse moléculaire 46 KDa et M6PR300 de masse moléculaire 300 KDa concentrés dans des régions du transgolgi qui vont bourgeonner pour donner une vésicule de transport. Cette vésicule va ensuite fusionner avec un endosome tardif pour donner un endolysosome où les hydrolases acides sont dissociées de leurs récepteurs (recyclés vers le transgolgi) ou partiellement adressées à la membrane plasmique (**Braulke et al., 2009**).

4.2.4.2. Voie de sortiline

La voie de la sortiline participe avec les récepteurs M6P à l'adressage de l'acide sphingomyélinase et permet aussi l'adressage des cofacteurs indispensables à l'hydrolyse enzymatique in vivo des sphingolipides, saposines A, B, C, D et protéine activatrice du GM2 (Maire, 2012).

II.4.3. Système calpaïne/calpastatine (calcium dépendant)

4.3.1. Généralité sur calpaïne

4.3.1.1. Définition de calpaïne

Calpaïne est une protéase intracellulaire calcium dépendant, est active au niveau des membranes cellulaires et fend les protéines cytosquelettiques et sous brangieuses. Calpaïne est inféré comme dépendant du calcium régulateur pour la réorganisation cytosquelettique.

En 1964, Guroff ont décrit pour la première fois une protéine unique dans une fraction cérébrale soluble, qui a finalement été réduite à l'homogénéité en tant qu'enzyme en 1978 par **Ishiura et al.** Cette protéase après de nombreux rebondissements, est maintenant appelé "calpaïne" (Sorimachi et Suzuki, 2001). La calpaïne (CE 3.4.22.17), la cystéine protéinase cytosolique la plus typique a été étudiée largement de puis son expression omniprésente au moins dans cellules animales, suggère son indispensable physiologique fonctionnent comme l'une des récepteurs cellulaires des ions calcium (Sorimachi, 1994).

4.3.1.2. Nomenclature

La nomenclature actuellement utilisée a été adoptée lors de la réunion 2001 international FASEB (Federation of American Societies For ExpErimental Biology). Il peut mieux identifier divers membres de la famille des calpaïnes voire le **tableau 1** (calpaïne 1 à 15 à l'exception de la 4).

Tableau1: Nomenclature internationale des calpaïnes (Nishihara, 2001).

Calpaïne	Gène	Autres noms	EF-hand	Tissus	Espèces	Chromosome
Calpaïne 1	<i>capn1</i>	μ -calpaïne, CAPN1	+	ubiquitaire	Homme Souris Rat	11q13 19 <i>non identifié</i>
Calpaïne 2	<i>capn2</i>	m-calpaïne, CAPN2	+	ubiquitaire	Homme Souris Rat	1q41 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 3	<i>capn3</i>	nCL-1, p94, (Lp82, Lp85, Rt88)	+	muscle squelettique, lentille, rétine	Homme Souris Rat	15q15.1 2 <i>non identifié</i>
Calpaïne 5	<i>capn5</i>	htra3, nCL-3	-	ubiquitaire	Homme Souris Rat	11q14 7 <i>non identifié</i>
Calpaïne 6	<i>capn6</i>	CAPNX, calpamodulin	-	placenta ?	Homme Souris Rat	Xq28 X <i>non identifié</i>
Calpaïne 7	<i>capn7</i>	palBH	-	ubiquitaire	Homme Souris Rat	3p24-p25 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 8	<i>capn8</i>	nCL-2	+	muqueuse stomacale	Homme Souris Rat	1q41 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 9	<i>capn9</i>	nCL-4	+	appareil digestif	Homme Souris Rat	1q42 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 10	<i>capn10</i>	CAPN10, CAPN8	-	ubiquitaire	Homme Souris Rat	2q37.3 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 11	<i>capn11</i>	CAPN11	+	testicules	Homme Souris Rat	6p12 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpaïne 12	<i>capn12</i>	CAPN12	+	ubiquitaire	Homme Souris Rat	<i>non identifié</i> 19q13 <i>non identifié</i>
Calpaïne 13	<i>capn13</i>	CAPN13	+	testicules, poumons	Homme	2p22.2-p22.3
Calpaïne 14	<i>capn14</i>	CAPN14	-	ubiquitaire	Homme	2p22.2-p22.3
Calpaïne 15	<i>capn15</i>	Sol H	-	ubiquitaire	Homme Souris Rat	16p13.3 17A3.3 <i>non identifié</i>
Calpain Small Subunit 1	<i>capn-s1</i> ou <i>cpns1</i>	CAPN4	+	ubiquitaire	Homme Souris Rat	19q13.1 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>
Calpain Small Subunit 2	<i>capn-s2</i> ou <i>cpns2</i>		+	<i>non identifié</i>	Homme Souris Rat	16 <i>non identifié</i> <i>non identifié</i>

4.3.1.3. Structure de calpaïne

Les membres les mieux caractérisés de la superfamille calpaïne, jusqu'à présent, sont μ -calpaïne et m-calpaïne, qui sont maintenant appelé "conventionnel" et "classique" calpaïnes, le mot "calpaïne" lui-même devrait signifier une cysteine protéase de type papaïne qui nécessite Ca^{+2} pour son activité. Exemplifier le mot "calpaïne", la structure primaire du poulet calpaïne, qui est maintenant assigné comme le μ /m-calpaïn large sous unité, c-à-d, un type intermédiaire entre les douleurs et m-calpaïne, a été révélé pour avoir à la fois un domaine de protéase de cysteine de type papaïne et un Ca^{+2} grippant de type calmodulin domaine dans la même chaîne de polypeptide.

Les calpaïnes μ et m se composent de deux sous unités distinctes, une plus grande sous unité catalytique 80KDa et une plus petite sous unité régulatrice 30KDa, formant une structure hétérodimère. La plus petite sous unité (appelée "30K" après sa masse moléculaire) est commun aux deux μ et m -calpaïnes, mais les plus grandes sous unités sont différentes (appelées " μ -cl" et " m -cl" signifiant μ et m -calpaïne de grandes sous unités, respectivement). Les deux structures supérieures, les petites et grandes sous unités peut être divisé en deux (V et VI) et quatre (I à IV) domaines, respectivement, selon la structure (Sorimachi et Suzuki, 2001).

Domaine I, domaine N-terminal n'a pas d'homologie de séquence avec un polypeptide séquencé ainsi loin; l'homologie séquentielle du domaine I parmi les différentes espèces [humain, poulet, rat, porcine et lapin] est 72 à 86 % (Goll *et al.*, 2003).

Domaine II, domaine avec un résidu de cys en position 115 (μ -calpaïne) ou 105 (m -calpaïne) qui est le site actif cys et avec un résidu à la position 272 (μ -calpaïne) ou 262 (m -calpaïne) et un résidu Asn à la position 296 (μ - calpaïne) ou 286 (m -calpaïne) ; ces résidus forment une triade catalytique caractéristique des protéases de cystéine telles que papaïne ou cathepsine B, L, ou S. Cependant, domaine II partage peu d'homologie séquentielle avec ces autres cystéines protéases et il est probable qu'il a évolué à partir d'un gène ancestral. Notez que le site actif Cys est dans le domaine II a sont considérant que les His et Asn qui constituent le reste de la triade catalytique sont dans le domaine II b dans la structure cristallographique de m -calpaïne. Les résultats cristallographiques récents des radiographies montrent que les domaines II a et II b lier avec un atome de Ca^{+2} dans une boucle de peptide composée de 8 (domaine II a) ou 9 (domaine II b) constitué 289 acides aminés. L'homologie séquentielle du domaine II entre différentes espèces est élevée, allant de 85 à 93 % (Goll *et al.*, 2003).

Domaine III, ne montre aucune séquence significative des acides aminés similitudes avec toute autre séquence dans la base des données. Ainsi, son structure et les fonctions ont longtemps été inconnues. La structure 3D de m -calpaïne a maintenant été révélée, que ce domaine ressemble au domaine C2 trouvé dans plusieurs protéines Ca^{+2} régulées telles que la protéine kinase C et synaptotagmines, voire la **Figure 15** (Sorimachi et Suzuki, 2001).

Domaine IV, est très similaire au domaine VI dans 30KDa et à 5 motifs de main d'EF dans un domaine. La 5^{ème} main d'EF motif (EF-5) des domaines IV et VI interagissent avec un autre pour former un hétérodimère. Chaque motif EF-hand montre légère similitude avec celle de la calmoduline. EF-hand contenant protéines peuvent être divisées en 45 classes selon Kawasaki *et al*, les protéines contenant 5 EF à la main, la FEF ou famille PEF (penta-EF-hand) représentée par calpaïne, sont unique non seulement en ce qu'ils contiennent un nombre impair de motifs

de mains EF, mais aussi en ce que les séquences primaires sont significativement distincts de ceux de calmoduline. De plus de fourrure, les protéines de FEF sont connues pour former homo et/ou hétérodimères et la liaison Ca^{+2} ne provoque que de légers changements à la structure (Sorimachi et Suzuki, 2001).

Domaine V, de 30KDa contient des grappes des résidus de Gly qui participer à la nature hydrophobe. Ce domaine n'est pas visible dans la cristallographie des rayons X, suggérant fortement que le domaine a une structure très flexible qui n'est pas ancrée à d'autres parties de la molécule de calpaïne (Sorimachi et Suzuki, 2001).

Domaines IV et VI, principalement par leurs extrémités C-terminales, forment un structure hétérodimère qui est très similaire à la structure 3D du domaine homodimère VI rapporté précédemment. Il est à noter que le domaine I, le N-terminus de calpaïne, est en contact avec EF-2 du domaine VI à 30KDa et que l'interaction est interrompue soit par Ca^{+2} liaison à EF-2 ou par autolyse du N terminus lors de l'activation (Sorimachi et Suzuki, 2001).

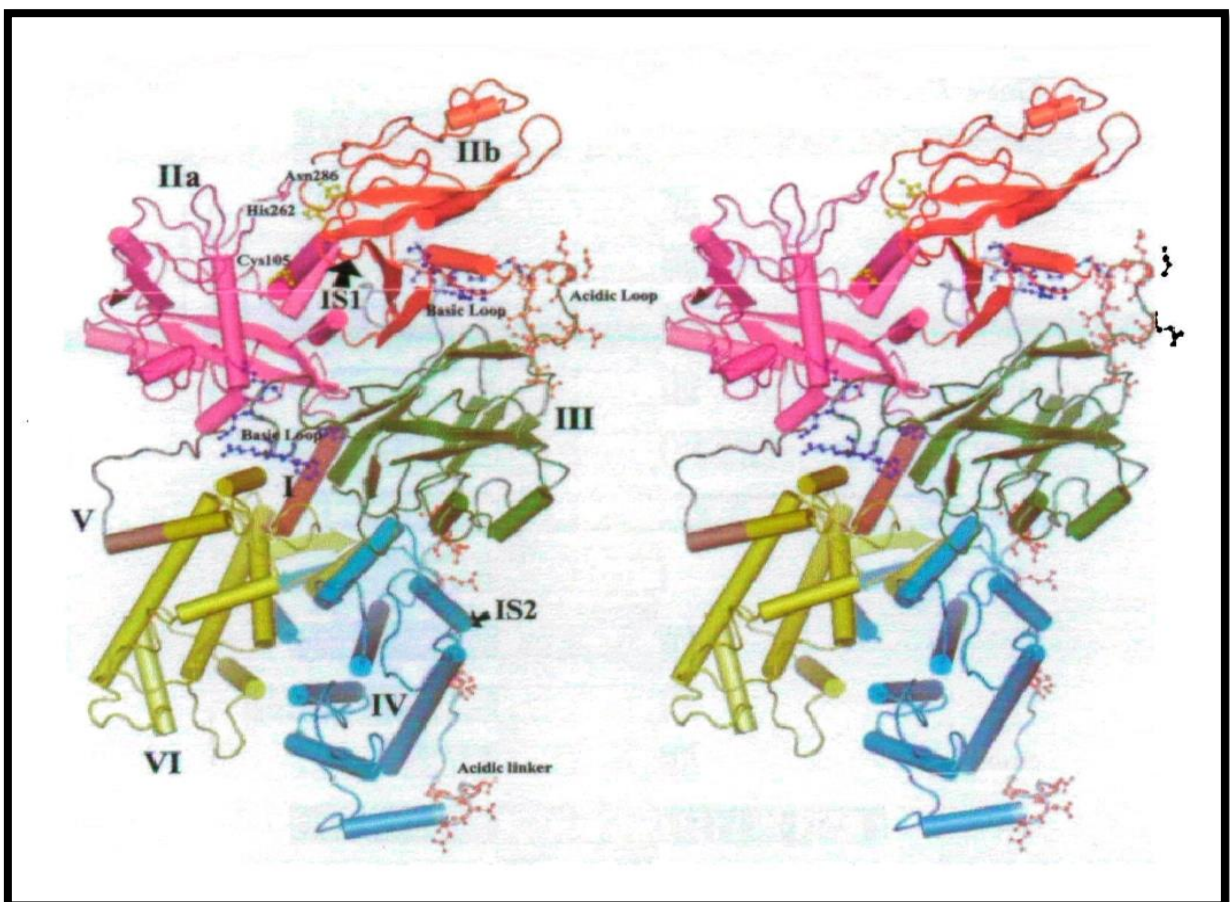


Figure 15 : Structure 3D de la m-calpaïne humaine (Sorimachi et Suzuki, 2001).

4.3.1.4. Classification

Les calpaïnes sont une ancienne superfamille des protéases des cystéines dépendantes du calcium. Chez les mammifères il ya 15 membres de la famille de la calpaïne sont reconnus, beaucoup qui sont conservés plus largement. Calpaïnes sont définis comme classiques ou non classiques sur la base des domaines protéiques conservés liés à Cys Pc, la papaïne domaine de la protéase qui définit tous les calpaïnes. Le classique calpaïnes, qui sont spécifiques à la lignée animale, inclure les humains CAPN1, 2, 3, 8, 9, 11, 12, 13 et 14 ; ont des domaines de type c2 (C2L) et penta-EF- main (PEF), localisés terminal C vers Cys Pc. Les calpaïnes sont également classés par étendue d'expression dans les tissus, définir les types « omniprésents » et « spécifiques aux tissus ». Système peut être trouvé dans la plupart des articles de revue calpaïne de la dernière décennie et repose sur des données établies, il y a quelque temps chez les mammifères. La recherche sur calpaïne a également été limitée par le fait que la plupart des études ont porté sur les mammifères (**Macqueen *et al.*, 2014**).

4.3.1.5. Mécanismes d'activation de calpaïne

Ces mécanismes sont responsables dans une première étape de changements de conformation dans les domaines IV et VI de l'hétérodimère qui entraînent sa dissociation et, ainsi, le relâchement des contraintes physiques imposées par sa structure tridimensionnelle. Dans une deuxième étape, la liaison du Ca^{+2} aux domaines I et II provoque l'alignement du sillon du site actif et l'expression de la fonction enzymatique. D'autres mécanismes interviennent dans la régulation de l'activité enzymatique. Le plus important est l'interaction des calpaïnes avec la calpastatine. Cette protéine de distribution ubiquitaire est constituée de cinq domaines dont quatre identiques, se lient aux calpaïnes et les inactivent. La calpastatine et les calpaïnes ne sont pas localisées dans la cellule et la calpastatine n'est généralement pas en excès par rapport aux calpaïnes, de sorte qu'elle n'exerce pas un rôle inhibiteur permanent sur l'activité des calpaïnes, mais intervient plus vraisemblablement pour en atténuer l'activation. En effet, la mobilisation du Ca^{+2} intracellulaire, responsable de l'activation des calpaïnes, provoque aussi la déphosphorylation, puis la délocalisation de la calpastatine, favorisant ainsi l'interaction calpaïnes /calpastatine (**Baud *et al.*, 2003**).

4.3.2. Généralité sur calpastatine

4.3.2.1. Définition

La calpastatine est le seul inhibiteur spécifique endogène connu pour les calpaïnes classiques (**Ono et Sorimachi, 2012**). Le nom calpastatine a été proposé pour cet inhibiteur en 1979 par **Takashi Murachi**. Les premières tentatives de purification de cet inhibiteur ont produit des

résultats incohérents et variables, l'inhibiteur était décrit comme une protéine dont les masses moléculaires varient de 34 à 300 KDa (Goll *et al.*, 2003).

4.3.2.2. Gène de calpastatine

Gène de calpastatine (CAST) est largement exprimé dans les tissus et les organes reproducteurs. Cependant, comment cela génétique est liée à la fertilité reste largement indéterminée. Dans la présente étude, une recherche BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) utilisant une séquence d'ADNc de la gène CAST bovin (NM-174003) a récupéré sept génomiques contigs de l'ensemble de séquence du génome bovin 6X. Alignement des deux l'ADNc et les séquences d'ADN génomique ont révélé 11 SNP_s (single nucléotide polymorphismes) dans la région de codage bovine, y compris trois mutations erronées : deux localisées en putatif exon 3 et un exon 8 (Garcia *et al.*, 2006).

4.3.2.3. Structure de calpastatine

Expression des portions tronquées d'encodage d'ADNc du polypeptide de calpastatine et le dosage de l'exprimé polypeptide a indiqué que chacun des domaines, I, II, III, et IV, peut inhiber l'activité protéolytique de soit μ ou m-calpaïn (**figure 16**) où théoriquement, 4 calpaïnes inhibées par un « grande » calpastatine, trois calpaïnes inhibées par une « petite » calpastatine érythrocytaire. Le seul domaine n'a pas d'activité inhibitrice. La capacité des domaines individuels à inhiber la douleur μ ou m-calpaïne varie selon l'ordre, le domaine I > domaine IV > domaine III > domaine II, de la plupart à moins efficace. Bien que plusieurs études utilisant des extraits d'expression d'E-coli non purifiés aient trouvé que les domaines exprimés individuellement inhibaient la douleur m-calpaïne plus efficacement qu'ils ne l'ont fait μ -calpaïne, la capacité relative à inhiber l'activité μ - ou m-calpaïne n'est pas cohérente entre les différents domaines de calpastatine, les différences signalées sont inférieures à un ordre de magnitude (Goll *et al.*, 2003).

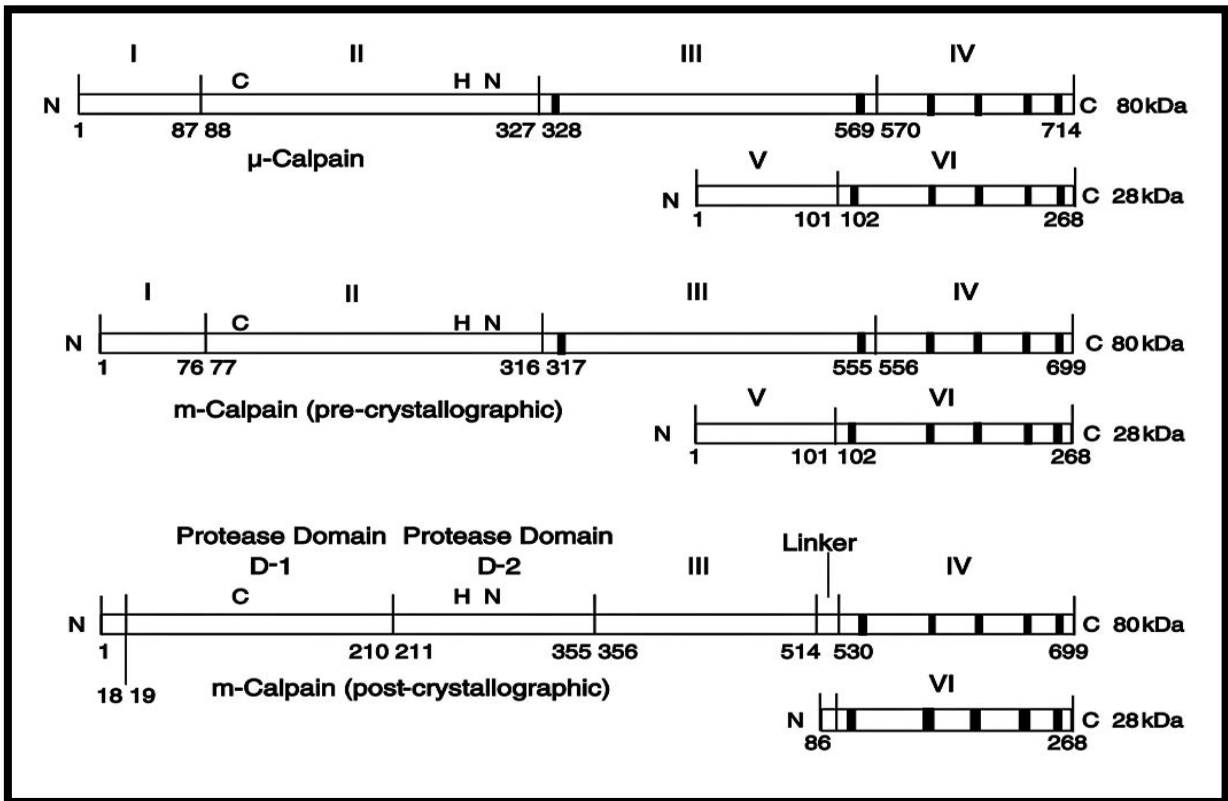


Figure 16 : Diagramme schématique montrant la structure du domaine de la μ -et m-calpaïne (Goll *et al.*, 2003).

domaine de la μ - et m-calpaïne telle que prédite par leur séquence des acides aminés et la structure de domaine de la m-calpaïne humaine telle qu'elle a été déterminée à partir de sa structure cristallographique. Les six séquences EF hand dans la sous unité 80 kDa et les cinq séquences EF hand dans la sous unité 28 kDa sont représentées par des barres verticales. Le site structure cristallographique de la m-calpaïne montre que la sixième main EF prédite à partir de la séquence des acides aminés à la limite des domaines II/III n'a pas de structure EF and dans la molécule de calpaïne et il est peu probable qu'elle lie Ca^{+2} , du moins dans la m-calpaïne. L'analyse cristallographique indique également que l'aiguille EF aux extrémités C-terminales des domaines extrémités C-terminales des domaines IV et VI des sous unités de 28 et 80 kDa, respectivement est impliquée dans l'association des deux sous unités et non dans la liaison Ca^{+2} sous unités et non dans la liaison du Ca^{+2} (Goll *et al.*, 2003).

4.3.2.4. Propriétés de calpastatine

Premièrement, la calpastatine est une dégradation labile à protéolytique, il est probable que les conditions difficiles utilisé dans certaines des premières tentatives de purification de la calpastatine, dont bon nombre impliquaient le chauffage d'extraits bruts susceptibles contient

un certain nombre des enzymes protéolytiques endogènes. Deuxièmement, il est maintenant connu que le polypeptide de calpastatine est presque complètement dans une conformation de bobine aléatoire comme déterminée par dichroïsme circulaire ou nucléaire résonance magnétique. Parce que les estimations du poids moléculaire à l'aide de la chromatographie d'exclusion de taille sont invariablement basées sur des molécules sphériques comme normes, la taille de chromatographie d'exclusion surestimerait considérablement le poids moléculaire d'une molécule ayant une conformation de bobine. Troisièmement, bien qu'il n'existe qu'un seul gène de la calpastatine chez l'homme (chromosome 5), le porc (chromosome 2) et bovin (chromosome 7), études au cours des 8 à 9 dernières années ont montré que, en raison de l'utilisation des différents promoteurs ou d'autres mécanismes d'épissage. Nombre des isoformes de calpastatine différentes variant en masse moléculaire de 17,5 KDa, 46,35 KDa à 84 KDa sont produits à partir de ce gène unique. Quatrièmement, la calpastatine migre anormalement dans SDS-PAGE donc il est difficile de relier une bande migrant à une masse moléculaire particulière dans SDS-PAGE à un isoforme connue de la calpastatine. Par exemple, le 46,35 KDa calpastatine dans les érythrocytes humains qui a été le premier calpastatine à purifier, migre à 70 KDa dans SDS-PAGE. Les fragments exprimés de la calpastatine chaque molécule migre plus lentement dans SDS-PAGE que seraient prévus à partir de leurs tailles respectives (Goll *et al.*, 2003).

4.3.3. Régulation et fonction du système calpaïne /calpastatine

4.3.3.1. Autolyse

On a découvert en 1981 que m-calpaïne s'autolyse rapidement en présence de Ca^{+2} et il est maintenant connu que les deux μ - et m-calpaïne s'autolysent lorsqu'ils sont incubés avec Ca^{+2} , bien qu'il ne soit pas rare pour les enzymes protéolytiques à s'autolysent.

Autolyse des calpaïnes a plusieurs caractéristiques uniques (autoprotéolyse peut être grammaticalement plus précis que l'autolyse, mais ce dernier la plus courte sera utilisée ici avec la compréhension que les événements autolytiques sont protéolytiques). Bref autolyse, jusqu'à 2-3 min à 25°C et en présence de 1 mM ou plus Ca^{+2} , réduit la concentration de Ca^{+2} requis pour une activité protéolytique demi-maximale de l' μ -calpaïne de 3-50 à 0,5-2,0 μ M et celle de m-calpaïne de 400-800 à 50-150 μ M sans affecter l'activité spécifique de l'une ou l'autre des l'autolyse réduit la masse de la sous unité 80 KDa de la douleur en μ -calpaïne à 76 KDa, masse de la sous unité 80 KDa de m-calpaïne à 78 KDa et la masse de la sous unité de 28 KDa commune à μ - et m-calpaïne à 18 KDa (SDS-PAGE ; masse réelle de cette le fragment est de

20,5KDa). Bien que l'autolyse se produise rapidement, elle implique plusieurs étapes séquentielles :

- 1 pour la sous unité 80 KDa de μ -calpaïne, les acides aminés N-terminal 14 sont éliminés en premier produire un produit intermédiaire de 78 KDa suivi de l'élimination de 12 acides aminés supplémentaires pour produire le fragment autolytique de 76 KDa.
- 2 pour la sous unité de 80 KDa de m-calpaïne, les acides aminés N-terminal 9 sont retirés d'abord suivie par l'élimination de 10 acides aminés supplémentaires pour produire le fragment autolytique de 78 KDa.
- 3 pour la sous unité 28 KDa, les acides aminés N-terminal 26 sont enlevé pour produire un fragment de 26 à 27 KDa, un autre 37 acides aminés (à Gly-64) sont ensuite enlevés à produire un fragment de 22 à 23 KDa, et enfin 28 autres acides aminés (à Ala-92) sont éliminés pour produire les 18 fragments autolytique (20,5 KDa).

La sous unité de 28 KDa de m-calpaïne est autolyse plus rapidement que la sous unité de 80-sous unité KDa, alors que l'autolyse de 80 KDa sous unité dans la molécule μ -calpaïne semble procéder comme rapidement ou même plus rapidement que l'autolyse du sous-unité de 28 KDa dans cette molécule (**Goll *et al.*, 2003**).

4.3.3.2. Rôle du calcium

Parmi les questions nouvellement soulevées, mentionnons la façon dont ce dossier inactif est ouvert la structure est activé sur Ca^{+2} liaison et où le site Ca^{+2} plus responsable de l'activation est situé. Depuis longtemps, on suppose que le domaine IV est responsable de l'activation de la calpaïne en fonction de Ca^{+2} , depuis μ et m-calpaïnes, qui ont le domaine VI de 30KDa en domaines communs et différents IV, montrent différents Ca^{+2} d'activité. La structure 3D de m-calpaïne. Cependant, montre que le domaine IV est à l'opposé de site actif. En outre, compte tenu de la similitude avec le domaine VI homodimer, il est très probable que le Ca^{+2} induit le changement de conformation des domaines IV et VI est faible. Fait intéressant, nos résultats préliminaires suggèrent fortement que le domaine II lie également Ca^{+2} . En d'autres termes, m-calpaïne lie Ca^{+2} sur toute la molécule. Par conséquent, pour résoudre la structure 3D de la calpaïne en présence de Ca^{+2} est une urgence et la question essentielle de l'avenir. La structure 3D de p94 (calpaïne 3) qui est actif même en l'absence de Ca^{+2} détient également une clé pour répondant aux questions ci-dessus (**Sorimachi et Suzuki, 2001**).

4.3.3.3. Inhibition de calpaïne par calpastatine

Les calpaïnes 1 et 2 sont des hétérodimères de 100 kDa avec des gros homologues sous-unités comprenant quatre domaines (DI, DII, DIII, DIV) et une petite sous unité avec deux domaines

(DV, DVI). Le deux domaines de la main (PEF) penta-terminal carboxyle, DIV et DVI, forment l'interface majeure de l'hétérodimère qui maintient les deux sous unités par l'appariement de leur cinquième main EF (**Hanna *et al.*, 2008**). Liaison des fragments autolytiques des calpaïnes à calpastatine a d'abord indiqué que calpastatine lié à la fois domaines IV et VI de la molécule de calpaïne. Études ultérieures utilisant des segments exprimés (sous domaines) de la molécule de calpastatine à montré qu'un acide aminé 14 sous domaine conservé parmi les quatre domaines de la molécule de calpastatine lié spécifiquement au domaine IV de calpaïne en Ca^{2+} de manière dépendante avec une valeur KD de 3,1nM. En outre études utilisant des segments exprimés ou des peptides synthétiques représentant le sous domaine C de la calpastatine a montré que cette région de la calpastatine se lie spécifiquement au domaine VI de la calpaïne avec un valeur KD de 3,1 nM. Les 14 acides aminés dans le sous domaine C sont également conservés parmi les quatre domaines de la molécule de calpastatine. Ni sous domaine A ni sous domaine C seul présente des inhibitrices activités après incubation avec les calpaïnes. Peptide de calpastatine ne contenant que le sous domaine B ne bloque pas la liaison des calpaïnes aux membranes cellulaires, bien qu'ils réduisent le taux d'autolyse des calpaïnes les sous domaines A et C et non le sous domaine B, blocage de la liaison des calpaïnes aux membranes cellulaires, mais ne pas affecter le taux d'autolyse. Comme les concentrations de Ca^{+2} nécessaires à l'activité protéolytique des calpaïnes dans essais in vitro, les concentrations de Ca^{+2} requises in vitro pour fixation de la calpastatine aux calpaïns sont également beaucoup plus élevées que les concentrations de Ca^{+2} libres de 50 à 400 nM qui existent normalement dans les cellules vivantes. Par conséquent, il n'est pas clair si la calpastatine est liée aux domaines IV et VI sur les molécules de calpaïne dans les cellules vivantes, et est donc parce que la concentration de Ca^{+2} requise pour la calpastatine qui se lie aux calpaïnes est inférieure à celle requise pour amorcer leur activité protéolytique in vitro, et parce que les résultats de l'immunolocalisation suggèrent que les calpaïnes et la calpastatine sont souvent localisés dans les cellules, les cellules doivent posséder un mécanisme permettre l'activité de la calpaïne en présence de calpastatine. Sinon, une augmentation des concentrations de Ca^{+2} provoquerait la fixation de la calpastatine avant que les calpaïnes ne déclenchent une protéolytique activité. Ce mécanisme peut comprendre la calpaïnes loin de la calpastatine ou réduire le Ca^{+2} concentration requise pour l'activité protéolytique des calpaïnes sans affecter la concentration de Ca^{+2} requise pour la fixation de la calpastatine ou les deux. Les informations disponibles conduisent à plusieurs conclusions sur l'inhibition des calpaïnes par la calpastatine et soulève également plusieurs questions concernant cette inhibition.

1) Inhibition efficace des calpaïns par la calpastatine exige que la calpastatine se lie aux calpaïnes à trois sites sur la molécule de calpaïne : liaison dépendant du Ca^{+2} impliquant sous-domaine A de calpastatine au domaine IV dans calpaïne et sous-domaine C de calpastatine au domaine VI dans calpaïne, ainsi que la fixation de sous-domaine B de calpastatine à une zone proche du site actif (domaines II a ou II b ou les deux) de calpaïne, voire la **figure 17**.

2) La liaison d'un fragment de calpastatine contenant sous domaines A et C à la calpaïne empêche la liaison de la calpaïne aux membranes suggère que la liaison de la les calpaïnes aux membranes concerne les domaines IV et VI, le Domaines de type « calmoduline », dans la molécule de calpaïne, parce que les sous domaines A et C de la calpastatine se lient aux domaines IV et VI dans les calpaïnes respectivement. La présence de Ca^{+2} fait de la calmoduline une molécule plus hydrophobe et Ca^{+2} peut également augmenter l'hydrophobie des domaines « calmoduline » des calpaïnes.

3) Un peptide de 24 acides aminés synthétisé pour imiter sous domaine de la calpastatine séquence B (contient trois acides aminés ajoutés au terminus NH_2 des 12 acides aminés sous domaine B et 9 acides aminés ajoutés au COOH terminus de ce sous domaine) inhibé à la fois μ - et m-calpaïne avec des valeurs IC_{50} (valeur inhibé 50% de calpaïne) de 0,5–2 μM , quelque peu supérieur aux valeurs nanomolaires IC_{50} observées avec le domaine complet III. Fixation de ce peptide, qui inhibé les calpaïnes de manière compétitive, a été grandement améliorée en présence de Ca^{+2} . La région de liaison a été déterminée par réticulation covalente du peptide lié à un résidu de Cys dans la calpaïne, suivi d'une digestion tryptique. La réticulation n'était pas complètement spécifique, et on a déterminé par inférence que le Cys réticulé se situait entre 300 et 510 résidus dans la m-calpaïne bovine (région terminale du COOH des domaines II b et II a du domaine III), plus susceptibles d'être Cys-497 dans m-calpaïne et μ -Calpaïne ne ont un résidu de Cys à cette position, donc aucun site spécifique de la réticulation pourrait être déterminée pour Le peptide inhibait également l'activité de l' μ -calpaïne.

4) Parce que l'inhibition la plus efficace des calpaïnes par la calpastatine nécessite tous les sous domaines de la calpastatine, A, B, et C, il semble probable que les trois sous domaines doivent lier à la calpaïne simultanément pour une inhibitrice maximum efficacité. Un certain nombre de calpaïne comme des molécules ont été identifiés au cours des 12 dernières années (**Goll et al., 2003**).

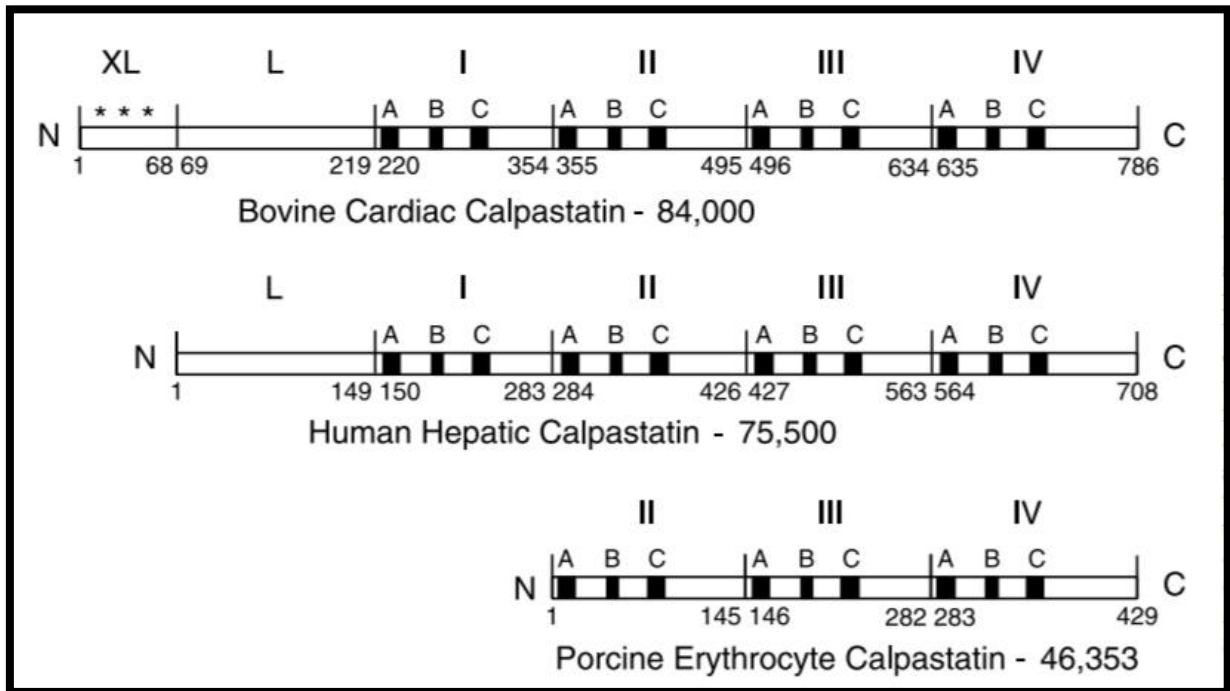


Figure 17 : Diagramme schématisant la structure de domaine de trios différents isoformes de calpastatine (Goll *et al.*, 2003).

La structure de domaine de trois isoformes différentes de calpastatine telles que déterminées par leurs séquences des acides aminés déduites. Les espèces et les tissus nommés sous chaque calpastatine sont les espèces et les tissus à partir desquels la calpastatine a été clonée et séquencée. Desquels la calpastatine a été clonée et séquencée. Les isoformes de calpastatine contenant un domaine L et/ou un domaine XL sont trouvées dans un certain nombre de tissus d'un certain nombre des espèces différentes et ne sont pas propres à l'espèce ou tissus nommés. A, B et C sont trois sous domaines à l'intérieur de chaque domaine : le sous domaine B d'un certain nombre d'espèces contient la séquence conservée indiquée. Trois sites du domaine XL qui est phosphorylés par la protéine kinase A.

4.3.3.4. Spécificité de protéolyse

En règle générale, les calpaïnes clivent les protéines sur un nombre limité de sites, ce qui entraîne la formation de gros polypeptides. Ils modifient les choses plus qu'ils ne détruisent leurs cibles. Dans l'ensemble, plus de 100 protéines ont été identifiées qui sont clivées par la calpaïne. La première étude a montré que la calpaïne présente préférentiellement un clivage au niveau de la séquence des résidus valine ou leucine et des résidus arginine ou lysine aux positions P2 et P1, respectivement. Cependant, ce type de règle ne s'applique pas à tous les sites des clivages décrits. Il a également été démontré que des mutations dans les séquences PEST (Pro, Glu, Asp et Ser/Thr) abolissaient ou n'avaient aucun effet sur le clivage de la calpaïne. Il

a également été suggéré que le clivage de la calpaïne dépend davantage de la conformation de la chaîne peptidique que de sa séquence. Plus récemment, l'étude de 106 substrats de calpaïne a permis de déterminer la séquence consensus. La mutation de certains résidus de cette séquence a eu un effet sur le clivage, suggérant que les séquences peptidiques sont tout aussi importantes. Quoi qu'il en soit, la séquence et la conformation du peptide clivé sont reconnues par la calpaïne. Ces deux éléments vont coopérer pour obtenir un clivage spécifique par la calpaïne. Enfin, la phosphorylation de la protéine cible semble agir sur le clivage. En effet, il a été spécifiquement montré que la phosphorylation de la troponine I par la PKA diminue la sensibilité à la μ -calpaïne d'environ 5 fois, alors que la phosphorylation de la PKC augmente cette sensibilité d'environ deux fois. D'autres études ont également montré une influence spécifique de la phosphorylation sur le clivage des calpaïnes. En résumé, la séquence peptidique, elle-même, ainsi que sa conformation (**Raynaud, 2005**).

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion

Le travail présenté dans ce thème comprend deux chapitres. Dans la première, nous avons étudiés les protéines. Elles jouent un rôle de premier plan dans la structure et la fonction, peuvent avoir différentes structures (primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire), et leur type (fibreuse et globulaire) et leur divers fonction (protéine de transport, protective, signalisation, structure.....etc.) et dans la deuxième partie nous avons étudiés les trois systèmes de catabolisme des protéines, le première système c'est l'ubiquitine protéasome ATP dépendant, Il s'agit d'un volumineux complexe enzymatique composé de nombreuses sous-unités dont deux formes (le protéasome 20 S et le protéasome 26S) est un marquage préalable de la protéine à dégrader par l'ubiquitine dans les muscles, le deuxième c'est le système lysosomal responsable de la dégradation des protéines au niveaux de foie et de rein (15% de protéolyse). Elles agissent essentiellement sur les protéines intracellulaires à demi-vie longue sur les membranes cellulaires et sur les protéines extracellulaires, Il est catalysée par des protéases actives en milieu acide, les cathepsines, dénommées en fonction de l'acide amine de leur site actif et le troisième système c'est le calpaïne/calpastatine. Elles sont plus spécialisées dans la dégradation des protéines du cytosquelette. La calpastatine est un inhibiteur puissant des calpaines, l'activité protéolytique globale dépendant de l'équilibre entre calpaines et calpastatine. En Conclusion, l'objectif de ces voies la dégradation des protéines incorrects, mal repliées ou incomplètes en peptides puis en acides aminés soit pour une utilisation ultérieure soit éliminé et pour évité les problèmes essentiel pour divers événements impliqués dans la régulation de métabolisme cellulaire. À la fin. Comme des aspirations sur ce sujet, nous Avon posons la question de savoir s'il ya des différences de processus de catabolisme des protéines entre les femmes et les hommes, entre les humains et les animaux, les adultes et les enfants, et la personne âgée.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Aguilera, M., Oliveros, M., Martínez-Padrón, M., Barbas, J. A., & Ferrús, A. (2000). Ariadne-1: a vital *Drosophila* gene is required in development and defines a new conserved family of ring-finger proteins. *Genetics*, 155(3), 1231-1244.
2. Barrett, A. J. (1994). *Proteolytic enzymes: Serine and cysteine peptidases (Methods in Enzymology vol 244)*(San Diego, Calif.: Acad. Press).
3. Baud, L., Fouqueray, B., Bellocq, A. & Peltier, J. (2003). Les calpaïnes participent au développement de la réaction inflammatoire. *M/S : médecine sciences*, 19(1), 71–76.
4. Benjamin O, Lappin SL. Kwashiorkor. [Updated 2021 Jul 22]. In : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing ; 2022.
5. Bettelheim, F.A., Brown,W.H., Campbell, M.K., Farrell, S.O.,& Torres, O (2012) *Introduction to general,organic and biochemistry*.Cengage learning.
6. Boirie, Y., Beaufrere, B., & Cynober, L. (1995). Control of amino acid metabolism by lipid, ketone bodies, and glucose substrates. *Amino Acid Metabolism and Therapy in Health and Nutritional Disease* (LA Cynober ed.), 157-165.
7. Boirie Y, Walrand S, Beaufrère B. (2004). Control of amino acid metabolism by lipids,ketone bodies, and glucose substrates. In *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in Clinical Nutrition*, LA Cynober Ed, CRC Press, Boca Raton , 241-252.
8. Braulke, T., & Bonifacino, J. S. (2009). Sorting of lysosomal proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1793(4), 605-614.
9. Bu, Z., & Callaway, D. J. (2011). Proteins move! Protein dynamics and long-range allostery in cell signaling. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 83, 163-221.
10. Carillo, S., Pariat, M., Jariel-Encontre, I., Steff, A. M., Lorca, T., & Piechaczyk, M. (1995). Le catabolisme protéique intracellulaire: une fonction biologique majeure. Partie II: exemples de dégradation conditionnelle et genèse des peptides antigéniques.
11. Claverie I, Panet M., Barbeau S. (2008). *Biochimie*, 2ème Ed ; Porphyre, France.
12. CUQ J.L. (2006). *Biochimie des protéins*, 147.
13. Cynober, L. A. (2003). Control of amino acid metabolism by lipids, ketone bodies, and glucose substrates. In *Metabolic & Therapeutic Aspects of Amino Acids in Clinical Nutrition* (pp. 261-272). CRC Press.
14. David, L., Nelson, Michael M. Cox. (2002). *Les principes Lehninger de biochimie*, 3e éd., Bologne, Zanichelli, ISBN 88-08-09035-3.

Références bibliographiques

15. Deshaies, R. J., & Joazeiro, C. A. (2009). RING domain E3 ubiquitin ligases. *Annual review of biochemistry*, 78.
16. Ertl, P., Klocker, H., Hörtenhuber, S., Knaus, W., & Zollitsch, W. (2015). The net contribution of dairy production to human food supply: the case of Austrian dairy farms. *Agricultural Systems*, 137, 119-125.
17. Galluzzi, L., Baehrecke, E. H., Ballabio, A., Boya, P., Bravo-San Pedro, J. M., Cecconi, F.... & Kroemer, G. (2017). Molecular definitions of autophagy and related processes. *The EMBO journal*, 36(13), 1811-1836.
18. Garcia, M. D., Michal, J. J., Gaskins, C. T., Reeves, J. J., Ott, T. L., Liu, Y., & Jiang, Z. (2006). Significant association of the calpastatin gene with fertility and longevity in dairy cattle. *Animal Genetics*, 37(3), 304–305.
19. George, D. E., & Tepe, J. J. (2021). Advances in Proteasome Enhancement by Small Molecules. *Biomolecules*, 11(12), 1789.
20. Glickman, M. H., & Ciechanover, A. (2002). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiological reviews*.
21. Goll, D. E., V. F. Thompson, H. Li, W. Wei and J. Cong. (2003). The calpain system. *Physiol Rev.* 83: 731-801.
22. Guéguen, J., Walrand, S., & Bourgeois, O. (2016). Les protéines végétales: contexte et potentiels en alimentation humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 51(4), 177- 185.
23. Gurupriya, V. S., & Roy, S. C. (2017). Proteases and Protease Inhibitors in Male Reproduction. *Proteases in Physiology and Pathology*, 195–216.
24. Hanna, R. A., Campbell, R. L., & Davies, P. L. (2008). Calcium-bound structure of calpain and its mechanism of inhibition by calpastatin. *Nature*, 456(7220), 409–412.
25. Heller, R., Esnault, R., & Lance, C. (1998). *Physiologie végétale: Le sol et l'absorption de l'eau*. 2, L'eau dans les plantes. 3, La transpiration et l'économie de l'eau. 4, Les transports d'ions au niveau cellulaire. 5, L'absorption des éléments minéraux et leur rôle. 6, L'alimentation minérale des végétaux supérieurs. 7, La nutrition azotée. 8, L'assimilation de l'azote et du soufre. 9, La photosynthèse. 10, Le chloroplaste et la cellule. 11, La catabolisme. 12, Métabolismes associés. 13, Le rôle des végétaux dans les cycles de matière et d'énergie. Dunod.
26. Herrmann, J., Lerman, L. O., & Lerman, A. (2007). Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in protein regulation. *Circulation research*, 100(9), 1276-1291.

Références bibliographiques

27. Ishiura, S., MUROFUSHI, H., SUZUKI, K., & IMAHORI, K. (1978). Studies of a calcium-activated neutral protease from chicken skeletal muscle: I. Purification and characterization. *The Journal of Biochemistry*, 84(1), 225-230.
28. J. H. Weil. (2005). *Biochimie générale*, Dunod, juin.
29. Jung, T., Catalgol, B., & Grune, T. (2009). The proteasomal system. *Molecular aspects of medicine*, 30(4), 191-296.
30. Lan, W., Ma, W., & Miao, Y. (2018). Role of HECT ubiquitin protein ligases in *Arabidopsis thaliana*.
31. Layeb, A. (2005). Approche quantique évolutionnaire pour l'alignement multiple de séquences en bioinformatique.
32. Lee, I., & Schindelin, H. (2008). Structural insights into E1-catalyzed ubiquitin activation and transfer to conjugating enzymes. *Cell*, 134(2), 268-278.
33. Lemonnier, J., & Lemonnier, N. (2022). 3 L'ARN messager (ARNm): de la transcription à la traduction des protéines. In *le marathon du messenger* (pp.43-48). EDP Sciences.
34. Leverage, X. (2001). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte: Nourrir L'homme Malade*. Not Avail.
35. Li, Q., Yi, L., Marek, P., & Iverson, B. L. (2013). Commercial proteases: present and future. *FEBS letters*, 587(8), 1155-1163.
36. Liu, Z., & Barrett, E. J. (2002). Human protein metabolism: its measurement and regulation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 283(6), E1105-E1112.
37. Luzio, J.P., Pryor, P.R., and Bright, N.A. (2007). Lysosomes: fusion and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 622–632.
38. M. Morage. (2006). *Acide désoxyribonucléique, pour la science*, p.96-97, septembre.
39. Macqueen, D. J., & Wilcox, A. H. (2014). Characterization of the definitive classical calpain family of vertebrates using phylogenetic, evolutionary and expression analyses. *Open Biology*, 4(4), 130219–130219.
40. Maire, I. (2012). Le système lysosomal dans la protéolyse: panorama des maladies lysosomiales. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 196(8), 1561-1574.
41. Marraud, M., & Vanderesse, R. (2003). *Houben-Weyl,—Methods of Organic chemistry*, Vol E22c; M. Goodman, Ed.
42. McDowell, G. S., & Philpott, A. (2013). Non-canonical ubiquitylation: mechanisms and consequences. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(8), 1833-1842.

Références bibliographiques

43. Métayer, S., Seiliez, I., Collin, A., Duchêne, S., Mercier, Y., Geraert, P. A., & Tesseraud, S. (2008). Mechanisms through which sulfur amino acids control protein metabolism and oxidative status. *The Journal of nutritional biochemistry*, 19(4), 207- 215.
44. Mevissen, T. E., & Komander, D. (2017). Mechanisms of deubiquitinase specificity and regulation. *Annual review of biochemistry*, 86, 159-192.
45. Michon, T., & Tirrell, D.A. (2000). Les protéines artificielles. *Biofutur*, (197), 34-38.
46. Morreale, F. E., & Walden, H. (2016). Types of ubiquitin ligases. *Cell*, 165(1), 248-248.
47. Nandi, D., Tahiliani, P., Kumar, A., & Chandu, D. (2006). The ubiquitinproteasome system. *Journal of biosciences*, 31(1), 137-155.
48. Ono, Y., & Sorimachi, H. (2012). Calpains — An elaborate proteolytic system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1824(1), 224–236.
49. Pei, J., Wang, G., Feng, L., Zhang, J., Jiang, T., Sun, Q., & Ouyang, L. (2021). Targeting lysosomal degradation pathways: new strategies and techniques for drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(7), 3493-3507.
50. Peters, J. M., Franke, W. W., & Kleinschmidt, J. A. (1994). Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *Journal of Biological Chemistry*, 269(10), 7709-7718.
51. Pickart, C. M., & Eddins, M. J. (2004). Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1695(1-3), 55-72.
52. Plafker, S. M., Plafker, K. S., Weissman, A. M., & Macara, I. G. (2004). Ubiquitin charging of human class III ubiquitin-conjugating enzymes triggers their nuclear import. *The Journal of cell biology*, 167(4), 649-659.
53. Rabinowitz, J.D., and White, E. (2010). Autophagy and metabolism. *Science* 330, 1344–1348.
54. Song ,Y .Q., Wu, C., Wu , K.J., Han, Q. B., Miao, X. M. ,Ma, D.L., & Leung,C.H. (2021).Ubiquitination Regulators Discovered byVirtual Screening forthe Treatment of Cancer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*,NA-NA.
55. Sorimachi, H., & Suzuki, K. (2001). The structure of calpain. *The Journal of Biochemistry*, 129(5), 653-664.
56. Sorimachi, H., Saido, T. C., & Suzuki, K. (1994). New era of calpain research. *FEBS Letters*, 343(1), 1–5.
57. Spratt, D. E., Walden, H., & Shaw, G. S. (2014).RBR E3 ubiquitin ligases: new structures, new insights, new questions. *Biochemical Journal*, 458(3), 421–437.

Références bibliographiques

58. Sun, T., Liu, Z., & Yang, Q. (2020). The role of ubiquitination and deubiquitination in cancer metabolism. *Molecular Cancer*, 19.
59. Sutton, K., Larsen, N., Moggre, G. J., Huffman, L., Clothier, B., Eason, J., & Bourne, R. (2018). Opportunities in plant-based foods: Protein. Plant & Food Research report prepared for Ministry of Primary Industries and Plant & Food Research. SPTS, (15748).
60. Tanaka, K. (2009). The proteasome: overview of structure and functions. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 85(1), 12-36.
61. Thorsten Hoppe (2005). Multiubiquitylation by E4 enzymes: 'one size' doesn't fit all., 30(4), 183–187.
62. Vierstra, R. D. (2003). The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. *Trends in plant science*, 8(3), 135-142.
63. Young, R. (2016). *Maternity and Infant Welfare: A Handbook for Health Visitors, Parents, & Others in India*. Butterworth-Heinemann.
64. Zoico, E., & Roubenoff, R. (2002). The role of cytokines in regulating protein metabolism and muscle function. *Nutrition reviews*, 60(2), 39-51.