

LES COMPARTIMENTS MEMBRANAIRES DE LA CELLULE EUCARYOTE

I- Structure et biosynthèse

A- Rappels

La cellule eucaryote :

- Est délimitée par sa membrane plasmique.
- Possède différents compartiments (endosomes, lysosomes, peroxysomes, appareil de Golgi..).
- Possède des mitochondries et un noyau, tout deux délimités par une double membrane.
- Possède un réticulum endoplasmique granuleux ou lisse en continuité avec l'espace entre les deux membranes du noyau.

Le cytoplasme = le cytosol (dans lequel tout baigne) + le système endomembranaire + les mitochondries + les peroxysomes

Le cytosol est un milieu avec des propriétés plutôt réductrices alors que le système endomembranaire on a un milieu oxydant, comme dans le milieu extra-cellulaire.

B- Structure et propriétés des lipides membranaires

Les membranes sont composées de :

Lipides	Protéines	Glucides
98 % des molécules	2% des molécules	Glycoprotéines et glycolipides
30 à 50% du poids sec	50 à 70% du poids sec	5 à 10% du poids sec

Les lipides sont des molécules amphiphiles, ils possèdent une tête hydrophile et une longue queue apolaire hydrophobe. Grâce à cette structure particulière, lors d'un contact avec l'eau, les lipides s'organisent spontanément en :

Micelle

- Sphère pleine avec un centre apolaire et une surface polaire en contact avec l'eau.
- Concerne les lipides à grosses têtes polaires comparés aux queues
= forme de triangle.
- On ne retrouve pas cette structure au niveau de la cellule ++

Liposome

- Sphère creuse avec une structure en bicouche formant une barrière dont l'intérieur est hydrophobe et l'extérieur hydrophile.
- Concerne les lipides avec une largeur équivalente entre la tête et la queue
= forme de rectangle.
- Utile en thérapeutique sous forme de facteur de délivrance.

1) Les phosphoglycérides = glycérophospholipides

Ils sont composés :

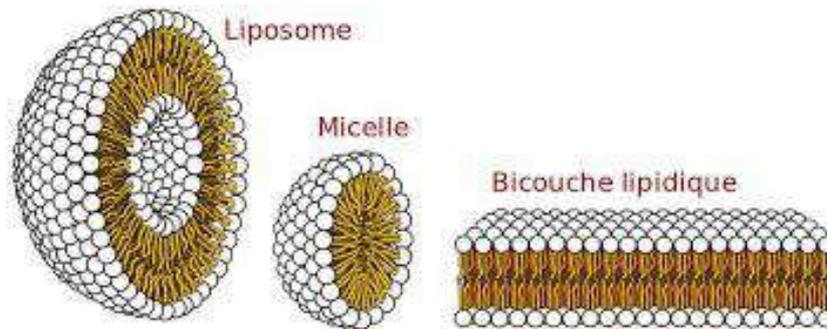
- Glycérol
- 2 Acide gras
- Phosphate
- Polyalcool ou Alcool aminé

Accroché au phosphate au niveau de la tête polaire on peut avoir :

- Une sérine : AA chargé + et - le phosphate chargé -, donc la phosphatidylsérine est chargé négativement.
- Une éthanolamine : AA chargé + donc la phosphatidyléthanolamine est neutre.
- Une choline : AA chargé + donc la phosphatidylcholine est neutre.
- Un inositol : c'est un sucre (neutre), donc le phosphatidylinositol est chargé négativement.

Le phosphatidylinositol est présent en faible quantité dans la membrane mais a un rôle important ++ dans la signalisation cellulaire.

Au niveau des chaînes d'AG, si on a une insaturation (= double liaison) on crée un coude qui aboutira à la formation d'une structure en bicouche ++



2) Les sphingolipides

Ils ont le même type de structure que les phosphoglycérides, mais le glycérol est remplacé par une sphingosine.

La sphingosine est un alcool aminé composé d'une longue chaîne carbonée avec un amine en 2, un alcool en 3 et une double liaison en 4. C'est au niveau de l'amine que peut se faire une amidation avec un AG.

Sphingolipide = 1 céramide (sphingosine + AG) + 1 molécule X

Exemple : La sphingomyéline (céramide + phosphate + choline) qui a un rôle important dans le tissu nerveux.

3) Le cholestérol

- Le cholestérol est un stéroïde important et abondant dans la membrane plasmique des animaux et chez l'Homme (3 à 25% des lipides membranaires).
- La tête polaire est constituée seulement par le groupement OH qui se trouve au bout d'un noyau polycyclique.
- Le cholestérol est utilisé comme marqueur des membranes plasmiques puisque les membranes à l'intérieur du compartiment cellulaire en contiennent très peu
 - le cholestérol est caractéristique des éléments issus de la membrane plasmique.

Le cholestérol intervient au niveau de la stabilité et de la fluidité de la membrane plasmique en s'incorporant dans les bicouches.

Attention ! On ne peut pas former néanmoins de bicouches avec uniquement du cholestérol !



4) Les dérivés inositol

Les phospholipides membranaires peuvent subir des modifications.

Exemple : Glycosylphosphatidylinositol (GPI) = ancre GPI, elles permettent l'ancrage de protéines à la membrane sans qu'elle ait besoin d'un domaine transmembranaire. Elles sont très importantes sur le plan fonctionnel mais peu importantes sur le plan quantitatif.

L'ancrage GPI a lieu sur le feuillet EXTERNE de la membrane plasmique ++

C- Propriétés des lipides membranaires

1) La fluidité

Éléments qui rigidifient la membrane	Éléments qui fluidifient la membrane
<ul style="list-style-type: none"> • Cholestérol • Longues chaînes carbonées • Le froid • L'association du cholestérol aux AG insaturés 	<ul style="list-style-type: none"> • La présence d'AG insaturés • La chaleur

La cellule peut jouer avec la fluidité membranaire afin de gérer certaines de ses capacités.

2) Mobilité des lipides membranaires

La mobilité des lipides peut être de 2 types :

1. La diffusion latérale : diffusion du lipide sur le même feuillet très **rapidement** et très **fréquemment**, ne nécessite **pas d'ATP** ++
2. Le Flipflop : passage du lipide d'un feuillet à l'autre, extrêmement **rare** et nécessite de l'**ATP**.



Certaines enzymes permettent ce phénomène

- La flippase : du feuillet externe au feuillet interne
- La floppase : du feuillet interne au feuillet externe
- La scramblase

Coin mnémo :

Flippase = In = Vers l'Intérieur

Floppase = Out = Vers l'Extérieur

On retrouve principalement :

Du côté extracellulaire :

- La phosphatidylcholine
- La sphingomyéline
- Les GPI

Du côté intracellulaire :

- La phosphatidyléthanolamine
- La phosphatidylsérine
- Le phosphatidylinositol

- La forte concentration de phosphatidylsérine sur le feuillet interne de charge négative, augmente le potentiel de membrane.
 - Une externalisation de la phosphatidylsérine dans les plaquettes par la scramblase = coagulation ++
 - Sa présence en trop grande quantité en externe est signe d'apoptose ++
-
- Le phosphatidylinositol est important en intracellulaire dans la signalisation cellulaire (IP3...) et il peut passer en externe lors de la formation d'ancres GPI.

3) Principaux rôles des lipides membranaires

- Structure de base des membranes entourant la cellule et les compartiments.
- Déformabilité des cellules.
- Transport membranaire et tri des protéines, par des vésicules faites de membranes.
- Transduction des signaux extracellulaires transmettant des messages par l'intermédiaire de récepteurs et de ligands.

D- Structure et propriétés des protéines membranaires

Les biomembranes contiennent 3 classes de protéines : périphériques (associées de façon indirecte à la membrane), transmembranaires ou intégrales.

1) Fonctions des protéines membranaires

- ➔ Transport canaux des molécules à travers la membrane.
- ➔ Récepteur transférant un message après la fixation d'un ligand.
- ➔ Adhérence, en général avec la MEC ou les autres cellules.
- ➔ Activités enzymatiques : réactions chimiques à la surface de la membrane.
- ➔ Structure de la membrane.
- ➔ Gérer localement la composition de la membrane lors des échanges lipidiques.

2) Étudier les protéines membranaires

Il va falloir les sortir de la membrane à l'aide de détergents.

3) Topologie de quelques protéines transmembranaires

Les protéines transmembranaires peuvent avoir leur domaine principal en position :

- Intracellulaire : Cytochromes...
- Extracellulaire : Récepteurs...

Elles peuvent également traverser une ou plusieurs fois la membrane :

- Certains s'organisent en canaux (ex: GLUT)
- Certains de la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires

L'ensemble de ces différents types de protéines existent dans toutes les membranes cellulaires, avec des proportions différentes ++

4) Ancrage des protéines à la membrane

Les protéines sont des molécules :

- Hydrophiles.
- Non amphipathiques (pas de domaine hydrophobe).
- Liées directement à un lipide appartenant à une monocouche de membrane.

Il existe plusieurs moyens pour les protéines de s'accrocher à la membrane :

- ➔ Ancre GPI : ancrage **extracellulaire** (sur le feuillet EXTERNE on se rappelle), mobilité rapide. Au moins 200 protéines humaines utilisent les ancres GPI.
- ➔ Acide gras à longue chaîne carbonée : ancrage **intracellulaire**.

Type d'ancrage	Acide gras accroché	Type d'accroche	Moyen d'accroche
Isoprénylation	Ajout d'un dérivé isoprène Ex : résidu farnésyl ou géranyl-géranyl	Ajout sur une Cystéine 4 résidus avant C-ter	Modification post -traductionnelle de la protéine
Myristoylation	Ajout d'un AA Myristique	Ajout sur une Glycine en N-ter par une liaison amide	Modification post ou co -traductionnelle de la protéine
Palmitoylation	Ajout d'un AA Palmitique	Ajout sur une Cystéine en N-ter par une liaison thioester	Modification post -traductionnelle



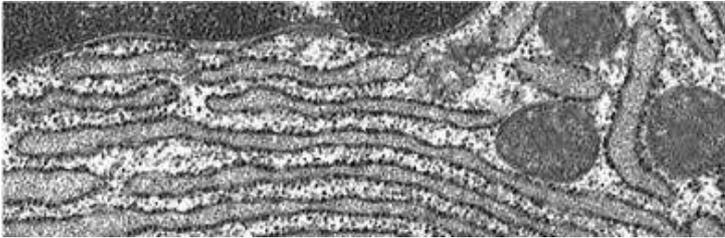
Application médicale : La protéine Ras

C'est une protéine G monomérique, isoprénylée, mutée dans certains cancers. Elle est activée par certains facteurs de croissance par l'intermédiaire d'une voie qui contrôle le cycle cellulaire et le cytosquelette.

E- Biosynthèse des protéines au niveau du RE

Le réticulum endoplasmique est un compartiment qui capture les protéines à partir du cytosol et s'occupe de la mise en place :

- Protéines transmembranaires : mises en place seulement par le RE.
- Protéines solubles : destinées à la lumière du système endomembranaire ou à la sécrétion.



RE granuleux au microscope électronique

Les petits grains noirs sont des ribosomes, ils sont présents à la face cytosolique de la membrane du RE.

On retrouve 2 populations de ribosomes :

Ribosomes liés au RE :

S'occupe de la synthèse de toutes les protéines transloquées dans le RE, qu'elles soient intégrées à la membrane ou sécrétées.

Ribosomes libres :

Présents dans le cytoplasme, ils synthétisent toutes les autres protéines (= protéines du cytosol).

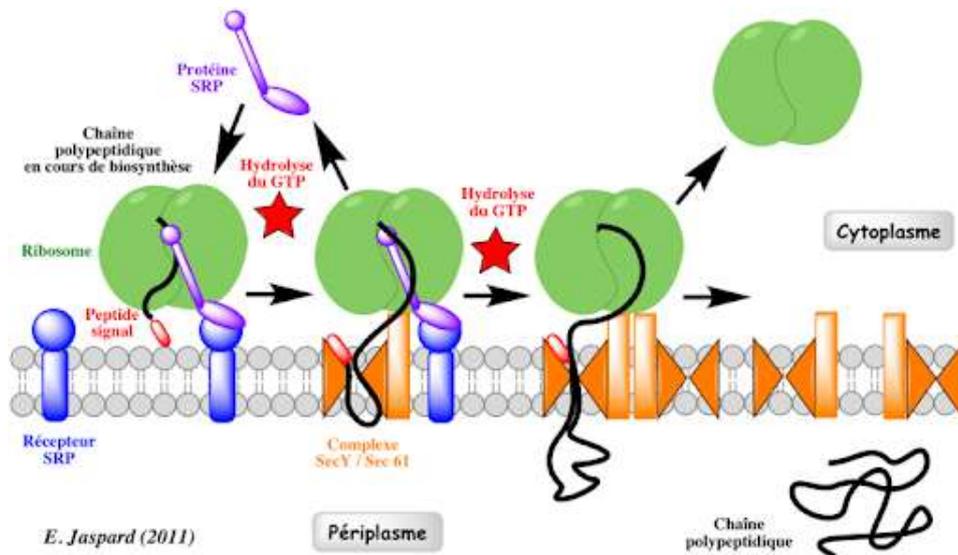
➔ Ces ribosomes ont la même structure et le même fonctionnement, la seule différence réside dans la protéine en train d'être synthétisée. Au début tout commence avec un **ribosome libre** :

Grâce aux expériences, on a appris que :

- ➔ L'insertion des protéines transmembranaires dans les membranes du RE est **co-translationnelle**.
- ➔ Cette insertion est possible grâce à un **peptide signal**, clivé par l'enzyme signal peptidase lors du phénomène d'insertion.
- ➔ On a également besoin d'une **séquence stop transfert**.

Étapes de la synthèse des protéines transmembranaires

- 🌀 Lorsque la protéine est en train d'être traduite, apparaît la séquence-signal qui adresse la protéine au RE.
- 🌀 Cette séquence signal reconnaît SRP (Signal Recognition Particle) sur le ribosome.
- 🌀 La SRP attache le ribosome sur la membrane du RE (on se souvient que tout commence avec un ribosome libre ++) au niveau du récepteur SRP.
- 🌀 La protéine entre dans le translocon.
- 🌀 A l'intérieur du RE, la signal peptidase clive le peptide signal.
- 🌀 Au bout d'un moment, la séquence stop-transfert apparaît et le translocon s'en va.
- 🌀 La protéine ne peut plus traverser, elle est fixée avec l'extrémité N-term dans le RE et l'extrémité C-term dans le cytoplasme.



F- Mouvement des protéines transmembranaires

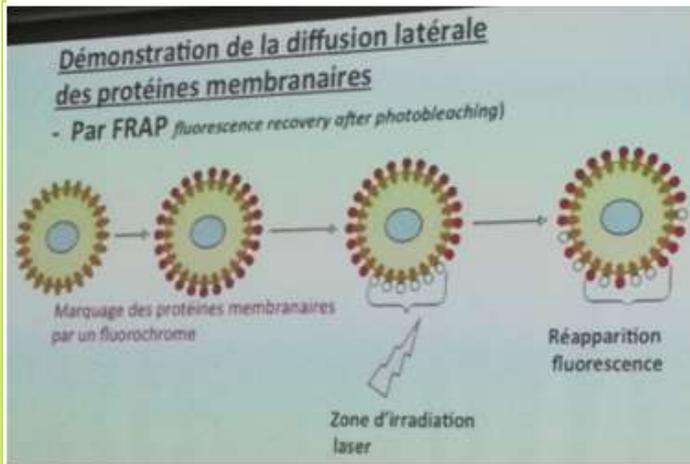
Le mouvement le plus important des protéines de la membrane est la diffusion latérale ++

A la différence des lipides, il n'y a pas de mouvement de flip/flop au niveau des protéines ++

1) Démonstration expérimentale

Le FRAP :

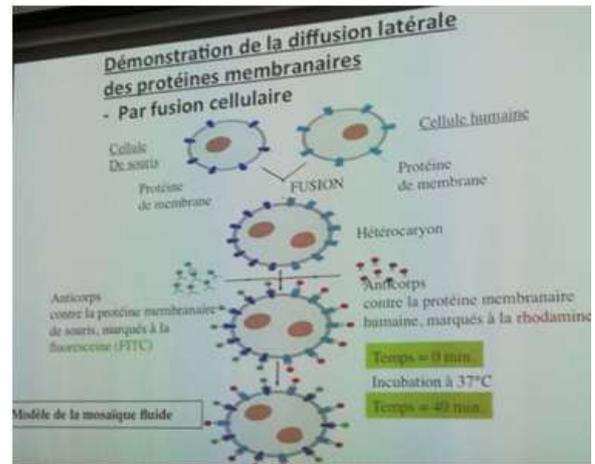
- Expression d'une protéine hybride contenant la GFP au niveau de la membrane plasmique.
- Irradiation d'une zone de la membrane : la fluorescence est blanchie à cet endroit.
- Répartition progressive de la fluorescence dans la zone irradiée.
 - > Les protéines non blanchies ont diffusé latéralement.



La fusion cellulaire

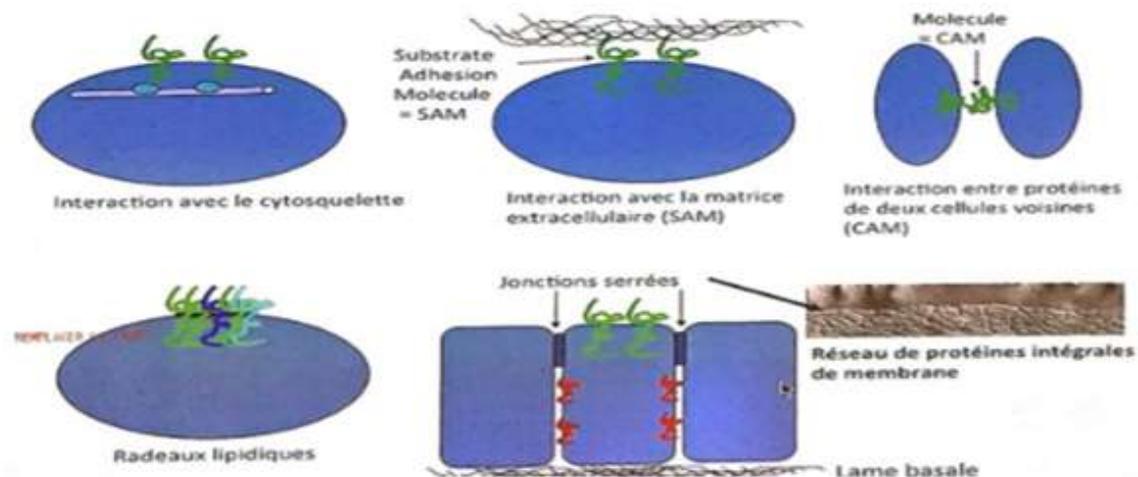
(ou modèle de la mosaïque fluide) :

- En laboratoire, on induit une fusion entre 2 cellules très différentes (des déterminants antigéniques différents pour les différencier).
- A t=0 min, on a une répartition de fluorescence bipolaire de vert et de rouge.
- A t=40 min, on a un mélange homogène de fluorescence jaune (= rouge + vert).
 - > On a donc eu une diffusion latérale des protéines.



2) Restriction de mobilité des protéines

Naturellement, il existe des contraintes/des modulations des mouvements latéraux dus à l'organisation tissulaire.



Interaction avec le <u>cytosquelette</u>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Face cytosolique ✓ Ancrage des protéines avec les fibres du cytosquelette
Interaction entre les <u>protéines transmembranaires</u> et la MEC	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Face extracellulaire ✓ Lien entre la cellule et la MEC grâce aux molécules d'adhérence de type SAM (souvent des intégrines++) <p><i>Ex : interaction des épithéliums avec la lame basale.</i></p>
Interaction entre les protéines des cellules voisines (<u>cellule-cellule</u>)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Protéines transmembranaires impliquées sont les CAM (Molécules d'adhérence intercellulaire/ Cell Adhesion Molécule) ✓ Limitent le mouvement des cellules adjacentes
Interactions latérales (=radeaux lipidiques)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Interaction entre les protéines qui peuvent former des amas/ des agrégats = radeaux lipidiques ✓ La répartition au niveau de la membrane plasmique n'est <u>pas uniforme</u> autour de la cellule <ul style="list-style-type: none"> ✓ il y a des regroupements de protéines en <u>sous structure +++</u> <p><i>Instant poétique de Gigi : « On imagine que notre membrane plasmique est un océan et dans lequel on a des radeaux qui flottent »</i></p>
<u>Jonctions serrées</u>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Limitent la diffusion des membranes. ✓ Véritable frontière permettant : <ol style="list-style-type: none"> ① De définir la polarisation de la cellule avec un compartiment apical et un basal ; ② Contrôler le passage de l'eau et procurer une imperméabilité à la cellule ; ③ Empêcher la diffusion des protéines d'un pôle à un autre <p><i>(en agissant comme une frontière, contenant les protéines et donc interdisant leur diffusion latérale).</i></p>

3) Les radeaux lipidiques

Rappel : Les radeaux lipidiques sont des sous-structures des membranes plasmiques.

Composition :

On a une composition lipidique particulière :

- Sur le feuillet INTERNE (cytosolique) : Enrichi en cholestérol et glycosphingolipides.
- Sur le feuillet EXTERNE : Protéines à ancre GPI.

Biosynthèse :

- Ils sont formés dans l'appareil de Golgi
- Ils sont ensuite transférés via les endosomes au niveau des membranes plasmiques.

Fonctions :

Ces radeaux lipidiques ont un rôle essentiel :

- Pour la polarisation des cellules.
- Pour la signalisation cellulaire, en regroupant une concentration importante de protéines impliquées dans la signalisation.

DONC cette concentration locale de protéines facilite les processus biologiques ++

Ces radeaux lipidiques sont retrouvés seulement au niveau des membranes plasmiques. On ne les retrouve pas au niveau des membranes nucléaires, des mitochondries, des RE... ect ++

II- Sécrétion et exocytose

A- Le flux membranaire vectoriel permanent

1) Généralités

- ⇒ Existe entre les différents compartiments du système endomembranaire (= voie de sécrétion).
- ⇒ Permet le transfert de molécules d'un compartiment à l'autre.
- ⇒ Le système endomembranaire est un système dynamique qui détermine :
 - ⇒ La polarité de la cellule.
 - ⇒ La direction du flux des vésicules.

2) Sens des flux

Le passage entre les différents compartiments se fait par l'intermédiaire d'un autre petit compartiment : les vésicules.

Voie Antérograde		Voie Rétrograde
⇒ Correspond au sens de vectorisation normal ⇒ Porte d'entrée : Réticulum endoplasmique. ⇒ Porte de sortie : La membrane plasmique ou d'autres structures internes de la cellule. ⇒ Les vésicules vont d'abord passer du RE au Golgi, puis elles se retrouvent confrontées à un carrefour :		⇒ Le système rétrograde permet d'ingérer des molécules désirables grâce à une endocytose .
♥ Voie de sécrétion : ✓ Correspond à la sécrétion constitutive / régulée . ✓ Le contenu des vésicules sera libéré dans l'espace extracellulaire par exocytose ++	♥ Vers les compartiments internes : ✓ On les garde au sein de la cellule afin de les digérer en fusionnant avec les endosomes, les lysosomes ou les phagosomes.	<i>J'ai repris le tableau de la ronéo de l'an dernier car c'est exactement le schéma du parcours que vous devez avoir en tête</i> +++

Exception de l'enveloppe nucléaire : L'enveloppe nucléaire est en continuité directe avec le RE et appartient au système endomembranaire (contrairement aux mitochondries et peroxysomes).

3) Rappel sur les différents compartiments

Le réticulum endoplasmique

Réticulum endoplasmique Granuleux = REG

On le qualifie de rugueux car on voit les ribosomes à sa surface en microscopie.

Réticulum endoplasmique Lisse = REL

- On le qualifie ainsi, car au microscope on voit qu'il est lisse, il n'y a pas de ribosomes +++
- Présent dans toutes les cellules.
- Lieu de bourgeonnement des vésicules.
- En continuité avec le REG.

Rôles du REL :

Le métabolisme :

- Très important dans le métabolisme lipidique.

Ex : Il produit les hormones stéroïdes dans les cellules de Leydig ainsi que les lipoprotéines dans les hépatocytes.

La détoxification :

- Concentre des protéines spécifiques de la détoxification (cytochromes P450) qui solubilisent les éléments toxiques.

Ex : L'alcool ou la drogue augmentent la surface de REL.

➔ La cellule peut ajuster la quantité de REL en fonction de son stress ou de la quantité de produits toxiques qu'elle reçoit.

La régulation du calcium dans le cytosol :

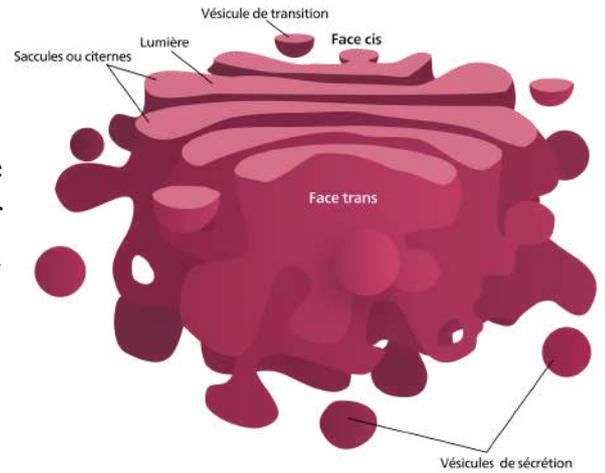
- Séquestre le calcium grâce à des protéines fixant le calcium.
- Stocke le calcium afin de modifier la perméabilité de la membrane plasmique en le libérant.

NB: Le calcium joue un rôle important dans la signalisation cellulaire à l'aide de pompes à calcium.

L'appareil de Golgi

Info en + : La fonction principale de l'appareil de Golgi est de servir de lieu de transit et de réservoir pour les protéines et lipides fabriqués dans le réticulum endoplasmique.

Dictyosome : Empilement des saccules/citernes du Golgi (trans/médian/cis). L'appareil de Golgi peut-être formé d'un ou plusieurs dictyosomes.

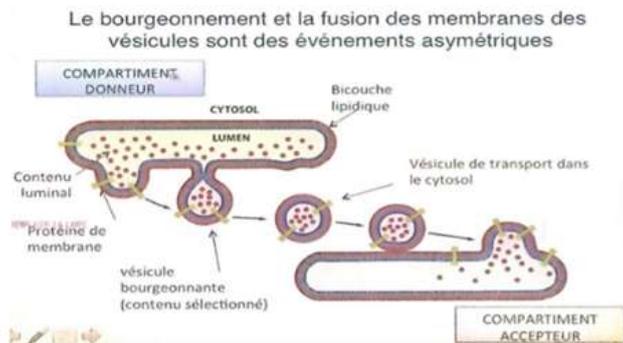


++ Il n'y a qu'un seul appareil de Golgi par cellule ++

L'orientation de la cellule est extrêmement importante ! C'est pourquoi, l'appareil de Golgi a une localisation précise :

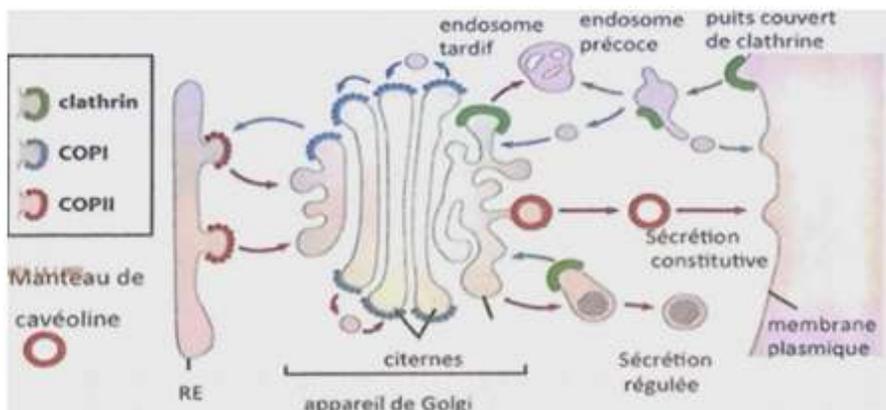
- Entre le RE et la membrane plasmique.
- Proche du centrosome (cf. Cytosquelette).
- Proche de la membrane nucléaire.

Trajet des vésicules dans le Golgi



- Le transport vésiculaire extrêmement régulé, il y a un sens !
- Il y a une série de signaux moléculaire qui vont contribuer à cette vectorisation.
- Parmi ces signaux moléculaires il y a une catégorie de protéines qu'on appelle les manteaux protéiques (un peu comme des codes postaux qui vont contribuer à la bonne destination de la vésicule).
- Chacun de ces manteaux a une spécificité directionnelle.

Les manteaux protéiques



Manteaux protéiques	Flux	Spécificité directionnelle
COP 2	Antérograde	✓ Du RE vers la face CIS de l'appareil de golgi.
COP 1	Rétrograde	✓ <u>Au sein du golgi</u> : de la face TRANS vers la face CIS. ✓ Du Golgi vers le RE.
Clathrine	Antérograde/ Rétrograde	✓ Intervient dans la fusion avec les endosomes et l' endocytose .
Cavéoline	Sécrétion constitutive	

Pour illustrer un peu tout ça :

Exemple de transport antérograde : Une vésicule entourée de COP 2 qui va voyager du RE au Golgi (face CIS ++). Ensuite la vésicule peut-être prise en charge par :

- Un manteau de clathrine pour fusionner avec un endosome précoce.
- Un manteau de cavéoline pour une sécrétion non régulée, constitutive.

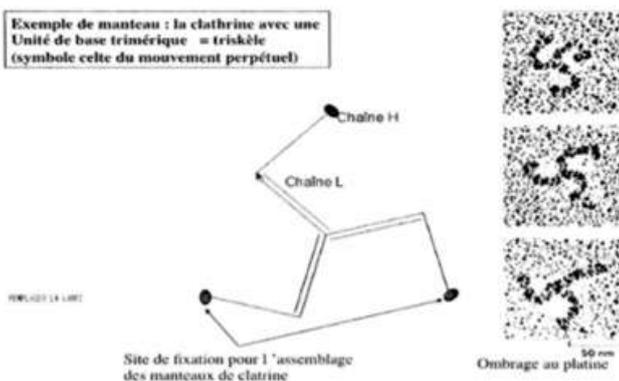
Exemple de transport rétrograde : Phénomène d'endocytose avec la prise en charge de la vésicule par un manteau de clathrine.

Les protéines qui composent les manteaux ont en commun d'avoir une architecture tridimensionnelle qui va favoriser la formation de vésicule.

Les vésicules mantelées font toutes environ la même taille, à cause de leurs conformations particulière.

Pour illustrer ça, on prend l'exemple de la clathrine :

Structure moléculaire de la clathrine



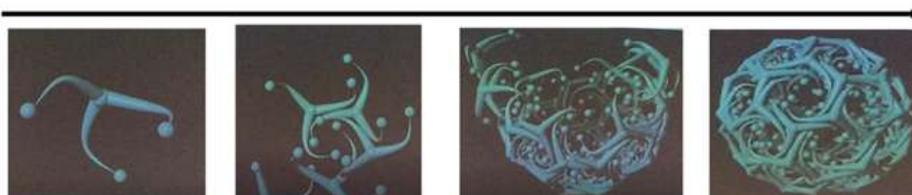
L'unité protéique qui forme ce manteau de clathrine est une structure trimérique nommée : triskèle

Formée de :

- 3 chaînes légères (chaîne light L)
- 3 chaînes lourdes (chaîne heavy H)

Elles contiennent à leur extrémité des sites de fixation globulaire qui permettent l'assemblage des unités les unes aux autres forme une structure géométrique qui va définir la forme et la taille de la vésicule.

L'auto-assemblage autour d'une vésicule mantelée conduit à la formation de 36 triskèles ++



B- Le transport vésiculaire

1) La fusion des membranes

La fusion d'une vésicule (mantelée ou non) avec son compartiment accepteur constitue un processus central dans le transport vésiculaire.

Ce processus est extrêmement contrôlé et basé sur des interactions entre les protéines d'ancrage à la membrane et des facteurs moléculaires précis.

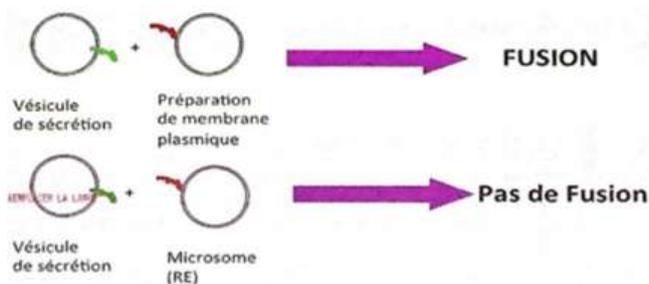
Les protéines SNARE

↔ Une fusion n'est possible que si il y a le bon couple de protéines qui vont réguler cette fusion ↔

Ces couples sont :

- Du côté vésiculaire : **V-SNARE** (la synaptobrevine est un isoforme de V-SNARE)
- Du côté accepteur au niveau de la membrane cible : **T-SNARE** (T pour Target = Cible)(ensemble syntaxine/SNAP-25)

Il existe de nombreux couples V et T-SNARE dans notre génome pour les différents assemblages.



- La fusion entre la vésicule et la membrane du compartiment accepteur est initiée par l'interaction entre un V et un T-SNARE.
- UN couple V-SNARE/T-SNARE est spécifique d'UN type de fusion. (Si 2 éléments sont incompatibles, il n'y aura pas de fusion)



Application médicale :

Ce processus est la cible d'un certain nombre de neurotoxines comme la toxine botulique et la toxine tétanique (=tétanos). Ces neurotoxines bloquent l'interaction entre V et T-SNARE.

C'est un processus qui intervient particulièrement dans le système nerveux. Si on empêche l'assemblage de ces couples, on bloque le système nerveux ce qui entraîne la mort.

Étapes de la fusion entre V-SNARE et T-SNARE

- 1 Assemblage des complexes SNARE : Quand elles se rencontrent, on observe l'enlacement de la vésicule et de sa membrane ciblée (c'est un couple très amoureux aussi, trop d'love en Biocell) : c'est l'amarrage.
- 2 La pré-fusion : formation d'un complexe de pré-fusion d'autres facteurs solubles (NSF et a-snap).
 +++ ATTENTION : il n'y a pas encore de fusion, cette structure transitoire peut rester comme ça pendant un long moment en attendant un signal +++
- 3 Fusion : Le signal entraîne, souvent, une modification du flux de calcium ou d'autres petites molécules (GTP ou AMPc), ce qui va déclencher la fusion de la membrane de la vésicule avec la membrane cible et le relargage des molécules (et ils eurent beaucoup d'enfants).
- 4 Recyclage : Et pour finir on a un recyclage des constituants des produits de la vésicule.

Ces transports vésiculaires ont lieu dans toutes les cellules mais dans certains plus que d'autres. (ex : dans les neurones où ça conditionne les influx nerveux).

2) La composition membranaire

- Un autre niveau de vectorisation des vésicules : la composition en phospholipides des membranes, (notamment des phosphoinositides).
- Les phosphoinositides (PI) contribuent à la régulation du transport vésiculaire par leurs localisations spécifiques intracellulaire.
- Il existe également différents types de PI (PI(3)P ; PI(4)P...ect), chacun spécifique d'un compartiment membranaire.

3) La maturation des protéines

Modifications post-traductionnelles dans le REG

Le transport à travers les différents compartiments cellulaire n'est pas un transport passif !

Pendant le transport il y a la maturation des protéines qui en ont besoin pour être fonctionnelles et être adressées au bon endroit.

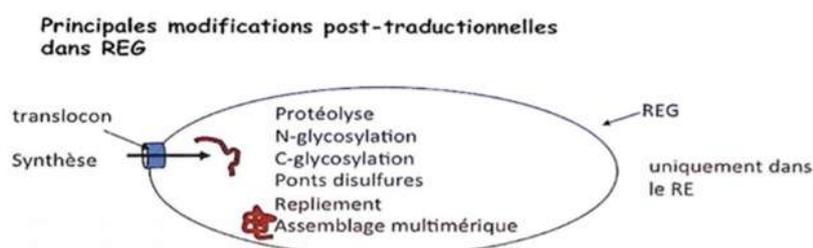
Les modifications peuvent être...

Spécifiques du REG :

- Formation de ponts disulfures (la lumière du RE est très oxydante).
- Repliement des protéines (très contrôlé grâce à des protéines chaperonnes) +++
- L'assemblage multimérique.

Non spécifiques :

- Accrochage de sucres (en N ou en C term)
 = N et C-glycosylation
- Protéolyse de la protéine



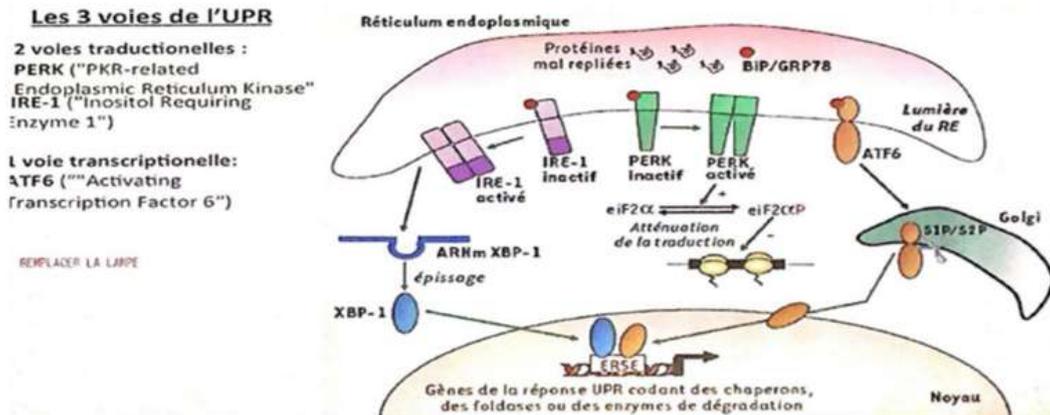
Quand le repliement des protéines dans le RE est inhibé ou se fait mal, la cellule déclenche l'UPR :
« Unfolded Protein Response »

Le système UPR (ou le contrôle qualité du repliement des protéines)

Rappel : La structure tridimensionnelle d'une protéine dépend de sa séquence et forme une structure thermodynamiquement stable.

La voie UPR conduit à :

- La diminution de la synthèse protéique globale.
- L'augmentation spécifique de la synthèse des protéines chaperones.
- La dégradation des protéines mal repliées (ERAD : ER-Association protein Degradation).



① **Voie IRE-1 : Voie traductionnelle**

Fait intervenir des ARN messagers qui vont être reconnus à la surface du RE :

- ➔ **Modification d'un ARN cytosolique par un phénomène d'épissage**
- ➔ **Production de la protéine XBP-1**

La protéine XBP-1 va aller dans le noyau pour synthétiser des protéines à partir de gène impliqué dans le repliement des protéines, soit pour :

1. Activer la **production de protéines chaperonnes** qui aident au repliement.
2. Activer la **dégradation des protéines mal repliées**.

② **Voie PERK : Voie traductionnelle**

➔ Va diminuer la traduction (*car plus la quantité de protéines traduites est importante, plus la chance d'obtenir des protéines mal repliées est importante*).

③ **Voie ATF6 : Voie transcriptionnelle**

➔ Contribue à cette réponse transcriptionnelle par le clivage au niveau de l'appareil de Golgi.



Application médicale :

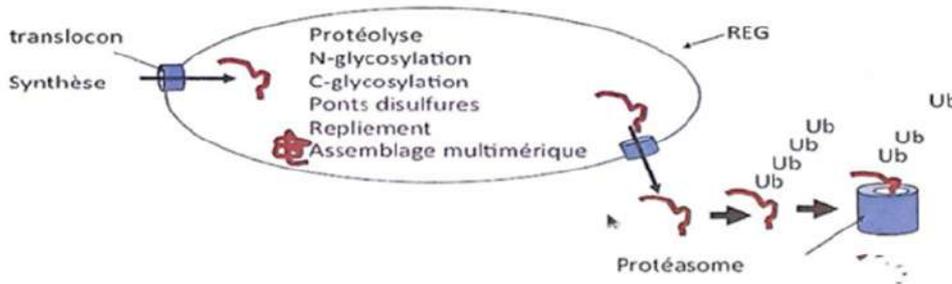
De nombreuses maladies neurodégénératives sont associées à des défauts des voies de l'UPR et à l'accumulation de protéines mal repliées qui en résulte.

L'ERAD

La dégradation de la protéine est la conséquence de l'activation du système UPR :

- 1 Elle est éjectée via les translocons, du compartiment où elle a été synthétisée, vers le cytosol.
- 2 Elle se retrouve dans le cytosol où elle subit des modifications post-traductionnelles et une qui est essentielle : la poly ubiquitination (Ub sur le schéma).
 - L'ubiquitine (ressemble à ubiquitaire, elle est présente partout) est un tripeptide de 76 AA (qui s'accroche sur les lysines de la protéine).
- 3 Cette poly ubiquitination est un signal pour que la protéine soit envoyée vers un protéasome (forme de cylindre protéique). Elle est alors coupée en plusieurs petits fragments (en plusieurs acides aminés) qui vont ensuite être réutilisés par la cellule.

Rq : L'ubiquitination se déroule dans le cytosol ++

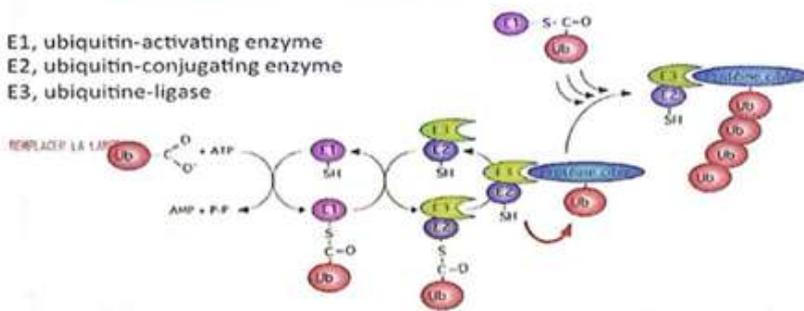


Ce système n'est pas le seul système de dégradation protéique :

- Des protéases : très spécifique.
- Des acides aminés dans la digestion (trypsine, pepsine) : moins spécifique.
- Le système du protéasome (ubiquitination puis protéasome avec pH très acide) : spécifique.
- Protéines spécialisées (qu'on reverra dans l'apoptose) : spécifique.

- Protéase digestive (chymotrypsine, pepsine, trypsine etc...) non spécifique
- protéasome, spécifique
- lysosome, non spécifique
- apoptose (caspase), spécifique

- étape 1 : Processus d'ubiquitination



Cette poly ubiquitination fait intervenir une séquence d'enzyme E1, E2, E3 :

- E1 active la protéine ubiquitine avec utilisation d'une liaison ATP.
- Transfert de E1 vers l'enzyme de conjugaison E2.
- E2 déjà associée à E3, va transférer l'ubiquitine activée sur la protéine par liaison covalente.

+++ Il faut distinguer +++

Mono-ubiquitination : N'entraîne pas la dégradation de la protéine +++

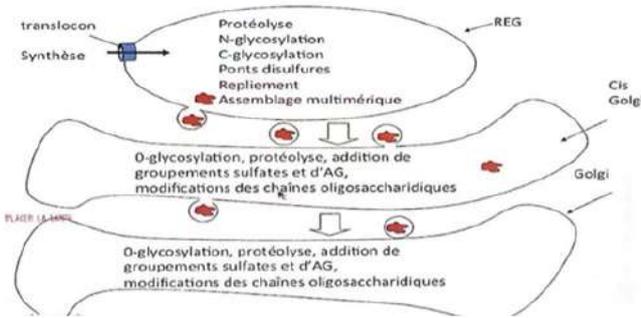
Exemple : Réponse à un stress cellulaire, on transfère une seule molécule d'ubiquitine : la protéine cible est alors mono-ubiquitinisée. L'effet sera de rassembler un complexe protéique permettant l'activation de la voie de réponse au stress.

Poly-ubiquitination : Induit le message de transfert de la protéine vers le protéasome = dégradation de la protéine.

+++ 4 > ou = : Message variable et > 4 : Protéine toujours dégradée +++

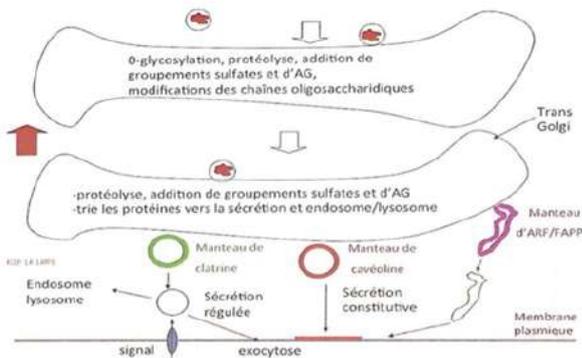
♥ Gigi insiste : Donc l'ubiquitination n'est pas seulement la dégradation de protéines mais elle peut permettre aussi d'aider à la formation de complexes multiprotéiques en réponse à une situation biologique donnée.

Poursuite de la maturation dans le CIS Golgi



Souvent, il n'y a pas de problèmes, donc la protéine se retrouve au niveau du Cis Golgi grâce aux différents signaux qu'elle exprime, elle va continuer sa maturation.

Point intéressant : Dans le RE, on a en permanence un contrôle qualité des différentes modifications. A ce stade-là, si la protéine présente un défaut, elle peut être ramenée à l'étape précédente : on lui donne une deuxième chance d'être maturée de manière correcte grâce à un transport rétrograde inverse (Tant d'indulgence dans une si petite cellule, c'est fou).



Cette citerne du Trans Golgi est différente : on commence à abaisser le PH qui devient comme les endosomes +++

Il y a une sorte de similarité entre les Golgi et les endosomes, il y a des phosphatases acides communes +++

E- L'exocytose

A la sortie de l'appareil de Golgi, les vésicules dont le contenu est destiné à être sécrété par exocytose peuvent emprunter trois voies de sécrétion :



La voie de sécrétion constitutive = non régulée La voie de sécrétion régulée La voie impliquant un manteau ARF/FAPP

Une vésicule sortant du Trans Golgi peut également aller fusionner avec un endosome précoce, voire un lysosome : elles sont alors recouvertes de clathrine ++

1) La sécrétion constitutive

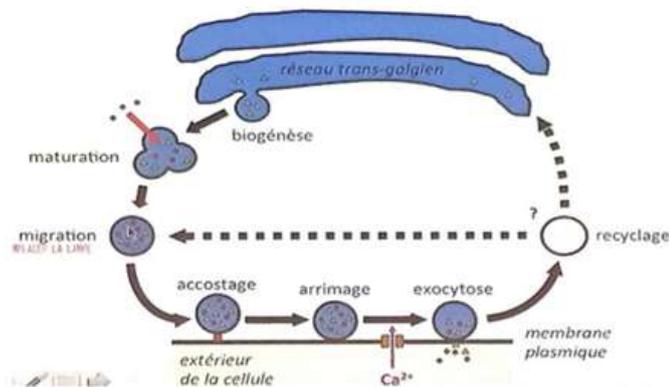
- Permet le phénomène d'exocytose ++
- Flux constant de vésicules du Trans Golgi à la membrane plasmique : c'est une exocytose permanente.
- Les vésicules sont recouvertes d'un manteau de cavéoline ++
- Concerne toutes les cellules ++

2) La sécrétion régulée

- Permet le phénomène d'exocytose ++
- Les vésicules sont stockées et accumulées jusqu'à ce qu'un signal déclenche la sécrétion.
- Les vésicules sont recouvertes d'un manteau de clathrine +++
- Concerne les cellules sécrétrices +++

++ Sécrétion constitutive : TOUTES les cellules // Sécrétion régulée : cellules SÉCRÉTRICES ++

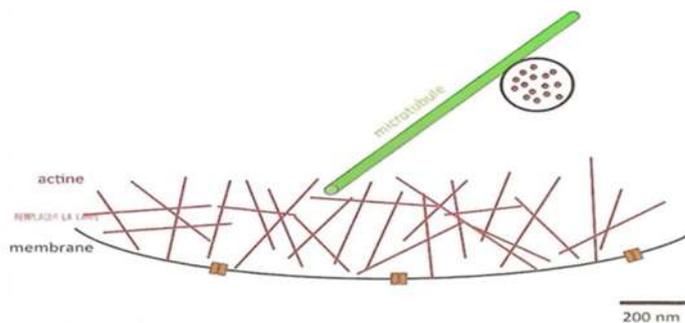
Cycle de la sécrétion régulée :



On part du Trans Golgi :

- Formation de la vésicule par bourgeonnement = biogénèse
- Maturation de la vésicule
- Migration
- Phénomène V et T-SNARE avec l'accostage, l'arrimage, on attend le signal et en présence de calcium on libère notre molécule à l'extérieur.
- Phénomène de recyclage.

3) Le transport vers la membrane



Récap' des niveaux d'exocytose :

- Manteaux protéiques
- Couples V et T-SNARE
- PI
- Complexe sous-cortical sous-membranaire d'actine

- Quand les vésicules s'arriment au niveau de la membrane, elles vont rencontrer un complexe sous cortical sous membranaire de réseau d'actine.
- Les microtubules du cytosquelette vont servir de rails pour transporter ces vésicules.
- On observe sur le schéma la vésicule accrochée à son microtubule avec un réseau de filament d'actine qui forme un complexe sous cortical.
- Pour que la vésicule puisse passer cette dernière barrière, il faut solubiliser le réseau de filaments d'actine.
- ➡ On est donc dans un processus régulé ++
- Si la cellule décide qu'il faut libérer son contenu à l'extérieur, il va y avoir destruction des filaments d'actine.
- La vésicule pourra atteindre la membrane plasmique pour y déverser son contenu.

Suite et fin dans un prochain épisode de "La divine Biocell"...

F - Le lysosome

Caractéristiques structurales et fonctionnelles

- Les lysosomes sont des organites cellulaires présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes **SAUF les hématies/GR +++**
- Ce sont les principaux sites de digestion intracellulaire +++
- Ils sont formés d'une bicouche lipidique, ont une morphologie hétérogène (0,05 à 0,5 microns) et un pH inférieur à 5 (très acide) ++
- Ils contiennent une 40e d'hydrolases qui fonctionnent toutes à pH acide (phosphatases..).
- Les lysosomes digèrent tout grâce à l'acidification permise par les nombreuses V-ATPases (pompe à proton).

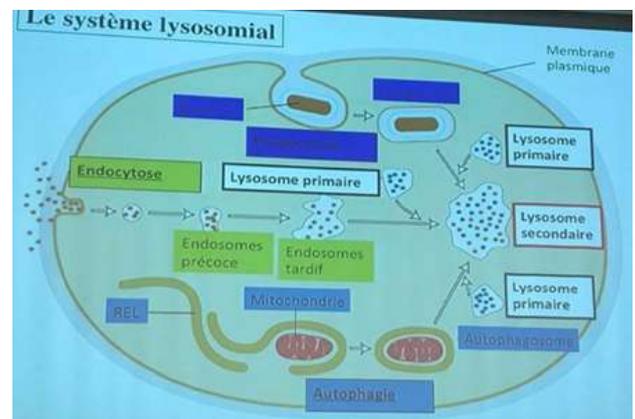
+++ Un des gros intérêts de la compartimentation est de créer des milieux différents où cohabitent différents systèmes souvent à côtés. Les systèmes cellulaires eucaryotes ont ainsi une grande organisation, la cellule gère plusieurs compartiments.+++

NB : Les hydrolases acides peuvent être visualisées en MO ou ME par la détection cyto- enzymologique de la phosphatase acide, test classique pour déterminer la présence des lysosomes.

Le système lysosomal

Rappel : Les vésicules d'endocytose sont déjà passées par l'endosome précoce, puis l'endosome tardif et arrivent enfin au lysosome.

- ➔ La fusion d'un endosome tardif avec un lysosome primaire conduit à la formation d'un lysosome secondaire.
- ➔ Le phagosome (vésicule de phagocytose) fusionne avec un lysosome primaire pour former un lysosome secondaire.



A noter : Au sein des cellules sénescents, on a ce que l'on appelle des corps résiduels (vacuoles provenant de phagolysosomes et d'autophagolysosome). La lipofuscine est une molécule qui s'accumulera dans les cellules sénescents, et les rendra fluorescentes.

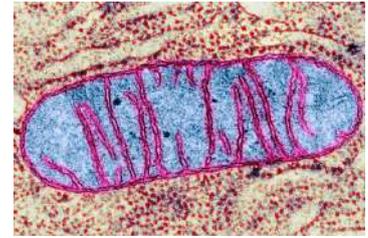
Ainsi, les cellules sénescents ont un changement de leur activité lysosomiale, avec notamment aussi une grosse activité de la Bêta Galactosidase.



Application médicale :

Il y a aujourd'hui plus de 50 enzymes responsables de maladies lysosomiales (contre 20 dans les années 1990). Ce sont des maladies rares qui provoquent une accumulation de substrat dans la cellule (Maladie de Gaucher, Fabri, Sanfilippo, etc.).

F - La mitochondrie



Généralités :

- Les mitochondries ne font pas parties du système endomembranaire ++
- Ce sont des petits organites de l'ordre du micromètre (= 10^{-6} m).
- Possède son ADN propre car il provient de l'endosymbiose d'une alpha-proteobactérie (bactérie + cellule eucaryote). L'ADN de la bactérie ayant subi beaucoup de mutations, la mitochondrie ne peut pas reprendre son indépendance et a besoin du noyau. Cependant, elle a gardé des gènes correspondant à la CRM et à des protéines de transport (90% des protéines mitochondriales sont codées par le noyau).

⇒ Elle possède son propre génome, hérité de son passé de bactérie !

En ME, on voit des structures à double membranes noires ainsi que des crêtes qui sont transversales et parallèles. Cette double membrane est composée de :

- Une mb interne avec replis qui augmentent la surface interne, beaucoup moins perméable, et contient des gros complexes moléculaires denses aux électrons. Elle contient beaucoup de phosphatidylcholine, de cardiolipides, et il y a aussi la chaîne respiratoire (membranes très noires et denses aux électrons encore une fois).
- Une mb externe : Très perméable (notamment aux molécule de 10kD ou moins), beaucoup de translocases et de porines qui ne laissent pas passer les protons mais les AG, les pyruvates, les nucléotides la traversent. Il y a un import de protéines nucléaires.

⇒ Ces deux membranes délimitent l'espace intermembranaire et la matrice mitochondriale (en dedans de la membrane interne)

Rôle de production d'énergie :

- Elles sont les centrales énergétiques de l'organisme : au repos l'organisme a besoin de 420 KJ/H. L'énergie contenue dans les mitochondries est convertie en ATP +++
- La dégradation des glucides et AG (glycolyse, cycle de krebs... cc la bioch) produit des molécules réductrices (FADH₂, NADH) qui permettent le transport d'électrons via la chaîne de phosphorylation oxydative
- Ce transport a pour effet d'exporter des protons dans le milieu entre les 2 membranes créant un gradient de protons.
- Les protons ont alors tendance à diffuser selon ce gradient vers la matrice mitochondriale.

Ce retour est assuré par les ATP synthases (ce sont des F-ATPases++) et est donc accompagné de la formation d'ATP.

La CRM (phosphorylation oxydative) + la F-ATPase + les transporteurs sont un ensemble très important permettant de fabriquer beaucoup d'énergie dans la mitochondrie se trouvant sur la membrane interne.

Les autres rôles des mitochondries :

- Rôle dans l'apoptose intracellulaire (=mitochondrie dépendante)
- Libération du cytochrome C
- Métabolisme des lipides (Béta oxydation)
- Vieillesse cellulaire

Le génome mitochondrial :

- Les mitochondries ne peuvent provenir que d'une mitochondrie préexistante, elles fusionnent entre elle, formant souvent un réseau (qui pourra faire l'objet d'une fission par la suite).
- Les divisions des mitochondries peuvent arriver n'importe quand pendant l'interphase : elle fait ses divisions quand elle veut et réplique son ADN quand elle veut (donc pas forcément en phase S).

Ex : Une cellule musculaire au repos contient moins de mitochondries qu'en exercice.

- Le génome mitochondrial code pour certains constituants liés à la fonction mitochondriale.
- Cependant, la majorité des protéines mitochondriales (environ 90%) sont synthétisées par le génome nucléaire ++

Adressage d'une protéine dans la mitochondrie :

L'adressage d'une prot dans la mitochondrie (= protéosynthèse mitochondriale) ne concerne qu'un nombre restreint de protéines (1-10%) :

- La grande majorité sont importés à partir par le cytosol, et elles ne passent pas par le système endomembranaire.
- Synthétisées par des polysomes dans le cytosol qui vont être adressées à la mitochondrie, comme pour le peroxyosome et le noyau.
- Les protéines sont d'abord produites dans le cytosol (en l'absence de séquence signal d'adressage au RE)
- Des séquences spécifiques (peptide signal) d'environ 15 à 30 acides aminés en position N-ter leur permettent d'être ensuite adressées à la mitochondrie.

Adressage de la protéine dans la membrane interne ou dans l'espace intermembranaire (EIM) :

Pour se faire, la protéine doit déjà passer à l'intérieur de la matrice. Une fois incorporée dans la matrice, on a besoin d'une seconde séquence signal à la membrane :

- Le premier peptide signal = adressage à la mitochondrie
- Le deuxième peptide signal = adressage à la membrane de la mitochondrie

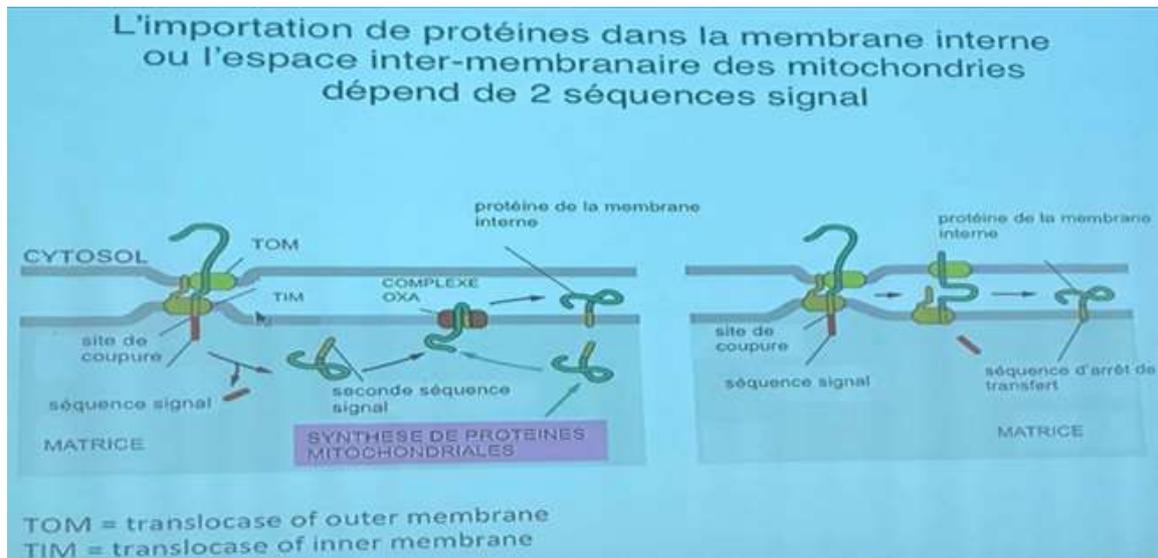


Schéma de gauche :

- Le passage des protéines nécessite des TOM et TIM, ce sont les "translocons" de la mitochondrie, on en a un pour chacune des deux membranes.
- Ces translocases se comportent comme des pores et permettent le transfert des protéines.
- Une fois la protéine incorporée dans la matrice (en passant par TOM et TIM), la deuxième séquence signal intervient : prise en charge de la protéine par le complexe OXA ⇨
- La protéine sort de la matrice et s'insère dans la membrane interne.

Schéma de droite :

- D'autres systèmes de transport peuvent être utilisés en fonction des protéines.
⇨ Par exemple, la protéine peut s'insérer directement dans la membrane interne, sans passer par la matrice.
- Une fois le premier peptide signal clivé, la protéine possède un deuxième peptide signal qui donne ordre d'arrêter le transfert (séquence d'arrêt de transfert).
- La protéine reprend sa forme fonctionnelle tout en restant accrochée à la membrane interne.

Voilà c'est terminé pour cette fiche TTR sur les Compartiments membranaires de la cellule eucaryote !

Apprenez et comprenez surtout les différents mécanismes !

Instant dédié : Dédicace à ma co-marraine Cloé ainsi que à mes (adorables) fillots du love : Bryan, Gabriel,

Élise, Charlotte, Hodaya, Éliette et enfin Tartine biscotte !!

Dédi à la team du MC ! Surtout à Thomas, Colin et Tartinette défoncez touuuut !!

Et dédi à toi qui vient de terminer cette fiche !

Coeur sur vous et n'oubliez pas : la Biocell' vous aime <3