

Les compartiments membranaires

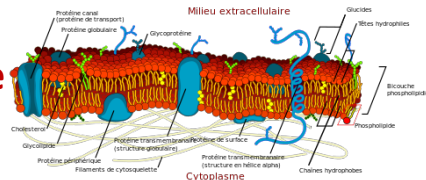
Nb : - la cellule eucaryote a un noyau « vrai » c'est-à-dire séparé du reste du contenu cellulaire par une double membrane nucléaire

C'est différent pour les procaryotes : leur ADN baigne dans le cytoplasme.

- Composition cellulaire :
 - les lipides sont majoritaires en terme de nombre
 - les protéines sont majoritaires en terme de poids (PP)



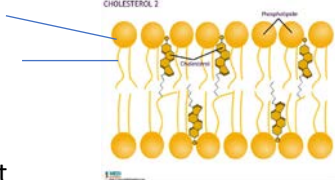
I) La membrane plasmique



La membrane plasmique constitue une frontière **délimitant** la cellule et séparant son contenu du milieu extérieur. C'est un constituant **actif** pouvant transmettre, recevoir et émettre différents **signaux**.

Il s'agit d'une **bicouche lipidique**, ceci est du aux propriétés des phospholipides qui la composent :

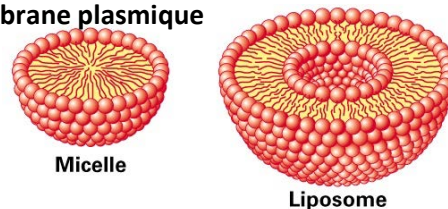
- une tête hydrophile (qui aime l'eau)
- une queue hydrophobe (qui fuit l'eau)



a- Lipides membranaires

Les lipides s'associent **spontanément** et donnent

- **des micelles** : une seule couche de lipides, la proportion de la tête hydrophile est assez importante. À l'intérieur des micelles, les chaînes hydrocarbonées sont dans un état proche de celui des hydrocarbures liquides. Cela explique la capacité des solutions micellaires (savon, détergent...) à solubiliser diverses substances normalement insolubles dans l'eau (corps gras, hydrocarbures, colorants, etc.)
- **des liposomes** : double couche de lipides > sphère creuse comme pour la **membrane plasmique**



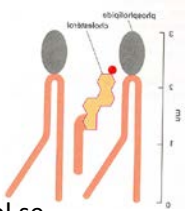
Les types de lipides

- **Phosphoglycérides** : Glycérol + 2AG (acide gras) + phosphate + un alcool aminé ou polyalcool

Ex : phosphatidylserine(-), phosphatidylethanolamine(neutre), phosphatidylinositol (-)

- **Sphingolipides** : céramide (sphingosine + AG) + X

Ex : sphingomyéline = céramide + phosphocholine



- **Cholestérol** : constituant lipidique s'insérant entre les phospholipides et protéines membranaires. Rend la couche lipidique plus condensée et **rigide** car le noyau du cholestérol se lie aux chaînes carbonées des AG. La tête polaire (OH) est située en phase aqueuse. Le cholestérol diminue la fluidité membranaire.

- **Ancres GPI** (détaillés plus loin)

Rôles

Les lipides membranaires interviennent au niveau de la **structure** de la cellule, de sa **déformabilité**, du **tri et transport des protéines**, de la **transduction** des messages.

La fluidité membranaire augmente lorsque

- la **température** augmente
- la quantité de **cholestérol** diminue
- les **chaînes carbonées** sont courtes
- les acides gras sont **insaturés (présence doubles liaisons)**

Si la fluidité membranaire diminue, la déformabilité diminue, les activités enzymatiques vont être limitées, des pathologies peuvent apparaître (problèmes cardiovasculaires...)

Mobilité

La composition en lipides de la membrane est **asymétrique** : cela va déterminer ses propriétés biologiques.

3 activités enzymatiques participent ainsi à la régulation de cette composition en déplaçant les lipides, de 3 manières différentes

- Diffusion latérale = le plus fréquent 10 000 000 x par seconde
- Flippase = de l'extérieur vers l'intérieur
ou Floppase = de l'intérieur vers l'extérieur
= environ 1x par mois
Nécessite ATP + Ca⁺⁺
- Scramblase (flip flop en même temps) nécessite seulement du Ca⁺⁺ (phénomène passif)

b- Protéines membranaires

Les protéines membranaires sont plus difficiles à étudier puisqu'ils sont en interaction avec les molécules hydrophobes de la membrane. Pour les étudier on peut les solubiliser avec des détergents (même principe que de faire la vaisselle), qui se placeront autour de la partie hydrophobe de la molécule.

Types

Les protéines peuvent être

- **Ancrées à la membrane** : ancrés GPI, ancrés I.M.P
- **Transmembranaires** : canaux, transporteurs ou pompes...

	Où ?	description	rôle
GPI (Glycosyl phosphatidyl inositol)	Feuillet externe	Quantité - - Phospholipide ancrée à la membrane par ses chaînes alkyles (hydrophobe) A l'extérieur de la membrane : tête = inositol + oligosaccharide, à laquelle s'accroche une protéine	Associer des protéines à la membrane SANS domaine transmembranaire pour que la fluidité membranaire et la facilité de déplacement soient conservés. Ex : certaines ancrés GPI portent les Ag des groupes sanguins au niveau des globules rouges.

Isoprénylés	Feuillet interne	Modification post traductionnelle fixe un dérivé isoprène (précurseur du cholesterol) sur la protéine : au niveau Cystéine 4 résidus avant Cterm	Idem gpi
Myristoylés	Feuillet interne	Modification post trad ou co trad fixe un AG sur la protéine au niveau d'une Glycine en N term (liaison aminé)	Idem gpi
Palmitoylés	Feuillet interne	Modification post trad fixe l'acide palmitique (AG à 16 carbones bioch') sur la protéine au niveau d'une Cystéine en N term (liaison thioester)	Idem gpi

Topologie des protéines membranaires

Récepteur : domaine soluble (hydrophile) externe

Cytochrome : domaine soluble interne

Transporteurs => vitesse et sélectivité du transport augmente (ex: GLUT 1)

Canaux

Récepteur à 7 domaines transmembranaires

Mobilité

PAS de flip flop !!!

Essentiellement des mouvements **latéraux**

Les **contraintes** s'opposant à ces mouvements:

Interaction avec :

- le cytosquelette,
- la matrice extra cellulaire (MEC)
- les autres cellules
- les jonctions sérés des épithéliums
- les radeaux lipidiques

Les radeaux lipidiques

La **composition** membranaire au niveau des radeaux lipidiques est sélective :

- cholestérol
- glycosphingolipides
- ancrés GPI (sur le feuillet externe)
- ancrés I.M.P (sur le feuillet interne)

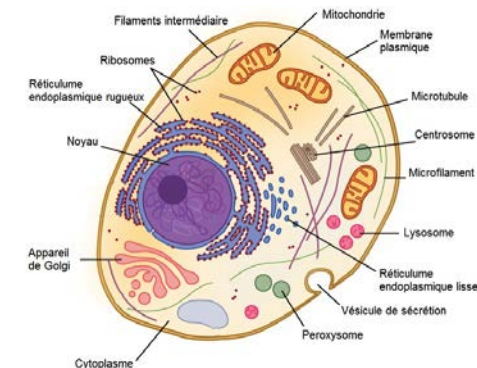
Ils vont participer à la **fonction** et à la **structure** de la membrane qui est également un constituant actif (pas seulement une frontière avec le milieu extérieur). Les radeaux lipidiques seront surtout des lieux de **transmission de signaux**, et occupent environ 30% de la surface cellulaire avec un diamètre (50nm) et une structures conservées. Ils vont être assemblés au niveau du Golgi puis transférés vers la membrane via les endosomes. Il n'y a pas de radeaux lipidiques au niveau des compartiments cellulaires (noyau, RE, mitochondries...)

II) Le cytoplasme

Cytoplasme = milieu rencontré à l'intérieur de la cellule = ORGANITES + CYTOSOL

Cytosol = seulement fraction liquide

Organite = éléments différenciés contenu dans la cellule, à fonction précise



a- Le système endomembranaire (SEM)

Le système endomembranaire est un flux membranaire vectoriel permanent, des vésicules vont migrer entre les différents compartiments dans un sens antérograde (du RE vers la membrane plasmique) ou rétrograde (l'inverse). Il s'agit donc d'un système de transport vésiculaire et de sécrétion.

Il est donc composé d'un **ensemble dynamiques de compartiments** :

- Noyau ++ (donc SEM est nucléaire) : double membrane.
- L'enveloppe nucléaire fait partie du SEM puisque l'espace entre les deux membranes nucléaires est en continuité avec le Réticulum endoplasmique.
- REG (Réticulum endoplasmique granuleux)
- REL (Réticulum endoplasmique lisse)
- Golgi
- Endosomes
- Lysosomes
- vésicules de sécrétion

Le **SEM** correspond avec le **Milieu EXTERIEUR**.

Les différentes vésicules partent d'un compartiments cellulaire pour aller fusionner au niveau d'un autre compartiment ou au niveau de la membrane plasmique. Tout cela va se faire de manière très **régulée**.

b- Le réticulum endoplasmique

Il existe 2 types de réticulum endoplasmiques :

REG (granuleux) , REL(lisse), ils vont être en continuité

	Difference visible	Difference fonctionnelle
REG	Présence de ribosomes du coté cytosol (granuleux)	Fait bourgeonner des vésicules vers le Golgi (antérograde)
REL	Absence de ribosomes (lisse)	<ul style="list-style-type: none"> - Continuité du REG, peut donc contribuer au bourgeonnement. D'un point de vue ultrastructure il fait partie du SEM, mais il ne contribue PAS au flux (pas de sécrétion de protéines) - Synthétise des hormones stéroïdiennes ⇒ Important pour le métabolisme lipidique (présent ++ au niv des hépatocytes) - Détoxification de la cellule : les habitués à l'alcool ont un REL développé++ - Fixe le calcium : Rôle au niveau des réactions chimiques

c- L'appareil de Golgi

Organite cellulaire composé d'un ensemble de vésicules et de citernes linéaires, présentant une ultrastructure particulière en piles d'assiettes = les dictyosomes. Il y a plusieurs dictyosomes dans une cellule. Il est localisé entre le RE et la membrane plasmique à proximité du noyau. Il est composé de 2 parties :

- Le **CIS Golgi** = l'entrée
- Le **Trans Golgi** = la sortie. C'est le carrefour du transport vésiculaire, beaucoup de régulations se font à ce niveau. On va y retrouver un tri moléculaire afin de transporter les bonnes protéines, dans la bonne direction, au bon moment. Les manteaux protéiques vont ainsi permettre l'orientation et le bourgeonnement des vésicules. Les protéines à l'intérieur des vésicules vont aller vers l'extérieur de la cellule ou alimenter un compartiment cellulaire (au niveau duquel on peut retrouver des protéines venant du milieu extérieur apporté là via le transport vésiculaire rétrograde)

⇒ Il s'agit bien d'un **carrefour**.

d- Les manteaux protéiques

Rappel : La communication entre les différents compartiments est assurée entre autres par des vésicules, qui permettent de transporter des molécules au sein du cytoplasme.

COP I	COP II	Clathrine	Cavéoline
Flux Rétrograde	Flux Antérograde	Type d'endocytose + flux vers lysosomes et endosomes	Type d'endocytose + Sécrétion constitutive

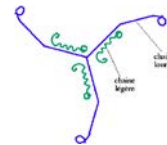
Le squelette de ces vésicules est formé par une enveloppe de protéines, telles que la clathrine, pour former des **vésicules mantelées**. Ces manteaux protéiques vont permettre le bourgeonnement et réguler l'orientation des vésicules.

Manteau de Clathrine précisions :

⇒ 6 chaînes polypeptidiques, 3 légères et 3 lourdes.

Les 6 chaînes forment une structure en étoile à 3 branches appelée **triskèle**.

⇒ unité de base = triskèle => 36 triskèles s'assemblent en 12 pentagones => manteau de la vésicule.



III) Maturation et dégradation des protéines

La protéine qui sort du ribosome (traduction) n'est pas encore mature. Elle va passer par différents compartiments et subir des **modifications post traductionnelles**, maturations, différentes pour chaque protéine. Elle va également subir différents contrôles qualité au niveau des « check points ».

a- REG :

La protéine peut être synthétisée directement dans la lumière du REG, soit en transmembranaire (en présence d'une séquence signal + signal stop transfert) l'environnement est **plus oxydant** que le cytosol.

Modifications au niveau du REG :

Formation de ponts disulfure, repliements, assemblage multimérique (+ protéolyse + glycosylation= non spécifique du REG) **REG=RAP**

Check point du REG : UPR

Des protéines chaperonnes contrôlent les repliements des protéines

- 1) Si repliement mal effectué ou inhibé
- 2) Déclenche UPR :
 - diminution de la synthèse protéique sur l'ensemble de la cellule.
 - augmentation synthèse spécifique des protéines chaperonnes
 - dégradation des protéines mal repliées
- 3) Si il y a un excès de défauts, la seule solution est la dégradation via le système ERAD

Dégradation précisions : Plusieurs façon : proteases digestives, lysosomes, apoptose, - protéasome (très spécifique) : Ne dégrade pas seulement les protéines. Comment ? Par poly- ubiquitination => Grâce à un complexe enzymatique associant E1 E2 E3. E1 est l'activateur, E2 fixe le peptide (enzyme de conjugaison), E3 ligation (liaison covalente entre ubiquitine et la protéine). Mono ubiquitination = signal d'assemblage protéique polyubiquitination (au moins 4) = signal de dégradation la protéine «malade» elle est digérée par le protéasome (cylindrique) qui libère des petits peptides de 8AA.

UPR Déficient :

si le système contrôle se fait mal => **vieillessement**

Des protéines non fonctionnelles s'accumulent, c'est ce qu'on observe avec le vieillissement des neurones et les maladies neurodégénératives.

b- CIS Golgi :

Modifications au niveau du CIS golgi :

ajout de sulfates, ajout d'AG, modifications de chaînes sucres (+ protéolyse + glycosylation = non spécifique)

En général on peut dire que pour chaque sacculé traversé, la protéine subit une étape spécifique de la maturation. **CIS GOLGI = SAMs sucre**

Check point CIS Golgi :

- 1) Détection d'un problème
- 2) Transport rétrograde via une vésicule mantelée pour donner une seconde chance à la protéine en corrigeant les erreurs.

c- TRANS Golgi

Caractéristiques du milieu différentes à son niveau : le **PH s'acidifie**. C'est à cet endroit que va se faire le tri entre les protéines pour les envoyer vers leur destination finale : soit vers la **sécrétion**, soit vers le système **endosome lysosome**. Au niveau de la membrane on a deux voies d'exocytose principales :

- **sécrétion constitutive : flux constant** vers la membrane plasmique permet le renouvellement de la composition membranaire. Elle n'est pas soumise à la régulation par le milieu extérieur. Cette sécrétion concerne **toutes les cellules**. Les vésicules contiennent du cholestérol, sphingolipides, GPI... Manteau utilisé = CAVEOLINE ou le manteau ARF/FAPP (au niveau des radeaux lipidiques)

- **Sécrétion régulée : flux NON constant** => seulement si **besoin**. Ce type de sécrétion concerne des cellules spécifiques spécialisées dans l'activité sécrétoire (endocrines, glandulaires...) après un signal. Après la biogénèse d'une vésicule contenant les différents éléments à sécréter, sa maturation et sa migration, elle va fusionner avec la membrane plasmique et

extérioriser son contenu.

La fusion va se faire en 4 étapes très régulées.

IV) Fusion et régulation

Fusion = 4 étapes, CONTROLÉ +++

La fusion se fait grâce à une famille de molécules très conservée
SNARE

1) **Amarrage/assemblage** du couple V/T SNARE

V SNARE (vésicule) : synaptobrevine

T SNARE (target) : snap 25 ou Syntaxine

NB : **snap 25** est indispensable au transport des neuromédiateurs, sans lui il n'y a pas d'activité neuronale. Les neurotoxines du botulisme ou du tétanos visent les couples v/t snare

2) **Ancrage** : contraction du couple V/T SNARE sous l'action de facteurs solubles alpha SNAP + NFS. La fusion n'a pas eu lieu et cela peut rester longtemps comme ça jusqu'à l'ordre de libération du contenu.

3) **Déclenchement de la fusion** par petites molécules : signal
AMPC, GTP, Ca++, ...

⇒ fusion et libération du contenu

4) **Recyclage de V et T SNARE**

Il vont partir en rétrograde, pour pouvoir former un nouveau couple sur les nouvelles vésicules.

Le phénomène est très spécifique : chaque couple est spécifique d'un type de fusion

Intervention du cytosquelette :

1) Transport des vésicules => le cytosquelette formera des routes pour le transport vésiculaire

2) Blocage : Réseau d'actine très dense sous la membrane plasmique > doit être déstabilisé : Un flux calcique est nécessaire pour liquéfier les microfilaments d'actine et permettre le passage de la vésicule vers l'extérieur de la cellule.

Régulation et contrôle de la fusion est assuré par :

- le couple V/T SNARE spécifique
- les facteurs solubles
- le signal
- le réseau d'actine

V) Endocytose

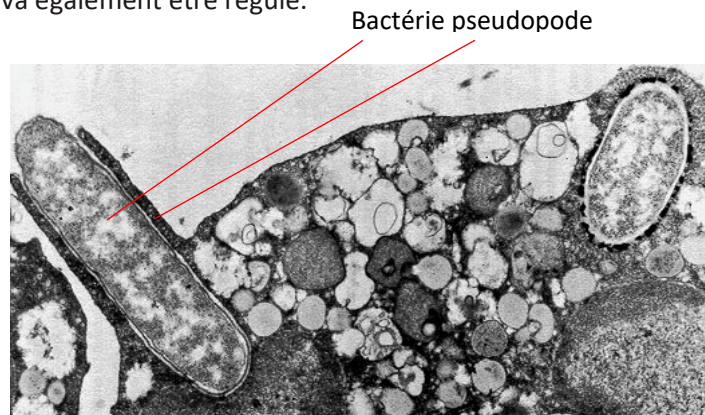
C'est le processus **inverse de l'exocytose**, le but étant de faire rentrer des molécules dans la cellule par invagination de la membrane plasmique dans différentes circonstances.

But de l'endocytose = capter des constituants extracellulaires

1) Il existe 3 types d'endocytose :

- **La pinocytose** : processus **peu spécifique**, spontané, continu et dynamique (utilisé ++), sans récepteur, peu régulé. Son rôle essentiel est de renouveler les constituants de la membrane plasmique, pour assurer la bonne santé de la cellule.
- **Endocytose par récepteur interposé** : C'est un processus **spécifique** qui se fait suite à l'interaction récepteur-ligand. C'est très **régulé**.
- **Phagocytose** : processus **régulé** qui permet l'ingestion de grosses molécules, des bactéries étrangères, des cellules étrangères ou des cellules âgées qui ne sont plus fonctionnelles... La phagocytose permet donc d'éliminer les corps étrangers mais également le recyclage des cellules (GR 10 ""11/ Jour). Les invaginations de la membrane vont former des pseudopodes et entourer la particule à ingérer => cela nécessite de l'énergie et une interaction avec le cytosquelette. L'ordre de cette déformation aura été ordonné par un Récepteur spécifique.

La cellule spécialisée dans la phagocytose est le **macrophage**, pendant la phagocytose il y a formation de pseudopodes. C'est un processus spécifique qui va également être régulé.



2) Les 3 destins suite à l'endocytose

- **Transcytose**

Une molécule qui va traverser la cellule à travers les « routes »(ou rails) du cytosquelette vers le compartiment de l'autre côté de la cellule. Elle permet le transport de matériel du milieu ext vers le milieu intérieur en passant par la barrière cellulaire
Ex : L'allaitement. Le système immunitaire du bébé n'est pas totalement constitué

⇒ La mère va donner des Ac à travers le lait

- 1) La partie constante de l'Ac est reconnue par un Rc spécifique au niveau des entérocytes du nourrisson dans un milieu $\text{pH}=5$
- 2) Endocytose => transcytose (vésicule contenant Ac traverse la cellule)
- 3) Exocytose
- 4) Rc – Ac exposé à un $\text{pH}=7$ au niveau du sang du bébé

⇒ L'interaction Rc- Ac est déstabilisée

⇒ Libération de l'Ac dans le sang

⇒ Recyclage du Rc

- **L'absorption** : on va passer de l'endosome précoce/endosome tardif/ lysosome => cela constitue le système digestif de la cellule (avec **acidification progressive** grâce à l'ATP synthase V) => après digestion les nutriments peuvent retourner dans le cytosol (recyclage)

- **Stockage** : les vésicules peuvent être stockées dans le cytoplasme, formation de granules de stockage => stock de nutriments.

Précisions sur l'endocytose récepteurs interposés.

C'est un mécanisme actif de transport vésiculaire, concentration sélective. On a 1000 x plus d'efficacité d'incorporation via des vésicules mantelées de clathrine ou cavéoline.

Manteau de Clathrine

- 1) fixation d'un ligand sur un récepteur spécifique
- 2) des protéines d'adaptation forment un réseau coté cytosol au niveau de la membrane plasmique : cela va permettre la déformation de la membrane
- 3) formation de la membrane vésiculaire grâce à la force mécanique du manteau de Clathrine
- 4) La vésicule se détache grâce à une petite protéine G monomérique : la dynamine qui a une activité (GTPasique)
- 5) Déshabillage de la vésicule sous l'effet de la protéine chaperonne HSP70 à activité ATPasique.
- 6) La vésicule déshabillée utilise les « routes » formées par le cytosquelette pour se rendre vers les endosomes
- 7) Le manteau de clathrine est recyclé

Endosomes :

Milieu assez hétérogène les pH varient entre les endosomes précoces (7,4) à tardifs (6,5) pour finir au niveau du lysosome (5) qui est l'endosome terminal. C'est un carrefour entre l'antégrade (venant du trans Golgi) et le rétrograde (venant du milieu extérieur). Ces compartiments ne sont pas fermés et perforés par des pores : cela permet une interaction avec le cytosol par perméases => libération des métabolites digérés qui pourront être réutilisés.

Manteau de caveoline

Ce type de vésicules mantelées est seulement retrouvé au niveau des radeaux lipidiques => ils seront riches en cholestérol et sphingolipides . Même principe que pour le manteau de Clathrine avec quelques différences

- 1) déformation de la membrane
- 2) détachement grâce à la dynamine (avec hydrolyse de GTP)
⇒ finit la formation de la vésicule
- 3) ces vésicules GARDENT leur manteau de cavéoline
- 4) se dirigent par les « routes » du cytosquelette vers le cavéosome.

Cavéosome :

C'est une sous classe d'endosomes. Leur destin est le RE et non pas le lysosome.

- ⇒ Ils ont pour rôle de faire passer directement le matériel extracellulaire dans le RE. (flux rétrograde)

Résumé

Milieu extracellulaire => Clathrine => endosome => lysosome

Milieu extracellulaire => Cavéoline => Cavéosome => RE

Exemple d'endocytose par Rc interposé

- Internalisation LDL

- 1) Récepteur spécifique au LDL (low density lipoprotein)
- 2) Internalisation des particules LDL (cholesterol ++ cf bioch le métabolisme des lipides) dans une vésicule mantelée avec un manteau de Clathrine
- 3) Disparition du manteau
- 4) Fusion avec un endosome précoce
- 5) Transport vers un endosome tardif (PH plus bas) puis fusion
- 6) La diminution du PH libère les particules du Récepteur LDL => le récepteur est recyclé pour retourner vers la membrane
- 7) ADN libre + particules dans l'endosome => fusion avec lysosome => digestion => dégrade tout en Acides aminés, cholestérol et AG
- 8) Grâce aux perméases toutes ces unités de base pourront retourner dans le cytosol et être utilisés selon les besoins de la cellule.

Tout ceci est un processus **rapide, très régulé**. Le nombre de Rc LDL exprimés sur la membrane dépend par exemple des besoins en cholestérol de la cellule.

Patho : cellule n'a pas besoin de plus de cholestérol il en a déjà assez, mais on continue à manger de la nourriture athérogène riche en cholestérol => accumulation LDL dans le sang = mauvais cholestérol => plaques d'athéromes => maladies athéromateuses.

Mutation Rc LDL => le cholestérol est également bloqué à l'extérieur => maladies athéromateuses.

- Le transport du fer :

Le fer est transporté grâce à une protéine la ferritransferrine
Apotransferrine => si le fer n'est pas fixé

Ferritransferrine => lorsque le fer est fixé

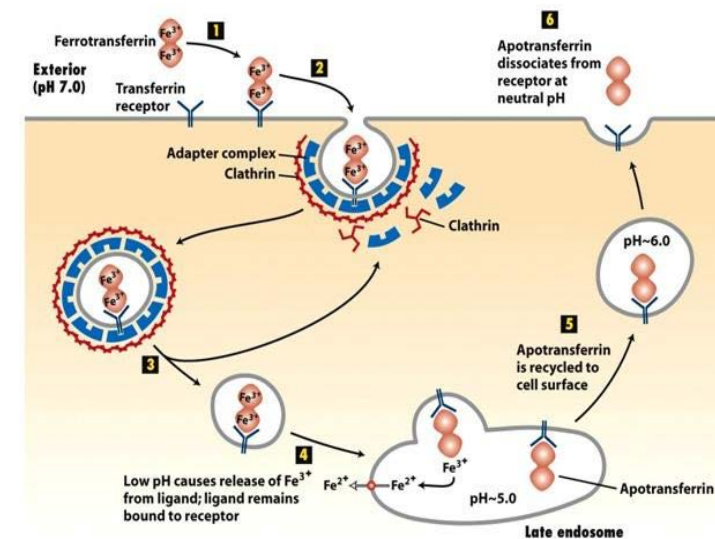


Figure 14-31
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Pour que l'environnement à l'intérieur des compartiments membranaires s'acidifie :

Utilisation des V ATPase = pompe à protons qui va augmenter la concentration de protons H^+ à l'intérieur d'un compartiment (endosome, lysosome) => utilise de l'ATP pour acidifier le milieu

⇒ **Le pH va ainsi diminuer**

Utilisation des F ATPase = même mécanisme mais dans le sens inverse => expulse les protons selon leur gradient de concentration => la force des protons fait tourner une petite machine sur la membrane interne des mitochondries par exemple

⇒ ce qui permet la **création d'ATP** (le gradient de proton de l'espace intermembranaire est converti en ATP)

VI) Les Lysosomes

Ce sont les estomacs de la cellule = principal site de digestion.

pH = 5 avec plus de 40 hydrolases pour fragmenter tous les types de molécules : nucléases, protéases, glycolases, phosphatases.

Ils sont présents dans le cytoplasme de toutes les cellules sauf dans les GR (qui n'a pas de mitochondries plus)

Ce compartiment n'est PAS fermé, mais entouré d'une bicouche lipidique comportant des V ATPases (pour acidifier) perméases, canaux ioniques (pour libérer les produits de la digestion dans le cytosol)...

La fusion des vésicules provenant de l'endosome, des phagosomes, ou les autophagosomes avec le lysosome primaire entraîne la formation du lysosome secondaire

⇒ lieu de la digestion cellulaire.

L'autophagie :

Effectuée par le **RE lisse** : formation d'un **autophagosome** qui fusionnera avec le lysosome primaire et permet la dégradation des organites de la cellule suivie d'une néosynthèse. Ceci est essentiel pour **l'autorenouveau de la cellule**, qui est indispensable pour beaucoup de cellules qui doivent rester en forme tout au long de la vie d'un individu, ou pendant une très longue durée (ex : neurones, car pas beaucoup de progéniteurs au niveau cérébral)

Pathologies lysosomiales :

Autophagie moins efficace = voie majeure du vieillissement.

⇒ **accumulation d'organites défectueux**

⇒ ex : mitochondrie défectueuse (centrale énergétique de la cellule)
=> dysfonctionnement du système énergétique => pathologies.

