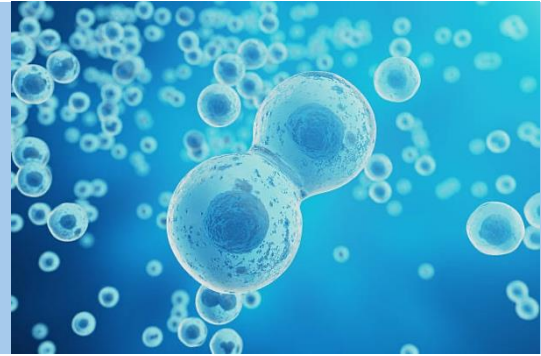


COMPARTIMENTS MEMBRANAIRES

et

TRANSPORT VÉSICULAIRE



Bonjour, bienvenue dans cette fiche sur les compartiments membranaires ! Cette fiche est longue, mais cette fiche est **CAPITALE** pour l'examen, et oui beaucoup de qcms tombent sur ce cours. C'est aussi votre dernier cours de biocell de l'année (snif 😞). Alors un peu de courage et vous allez y arriver. Comment aborder ce cours sans s'apoptoser les neurones ??? FAITES DES PAUSES, et ne vous attardez pas sur les détails !!!!

COMPARTIMENTS MEMBRANAIRES

1. Structure et biosynthèse

1) Généralités :

Vocabulaire :

- ❖ **Rc** = récepteur
- ❖ **SEM** = système endomembranaire
- ❖ **RE** = réticulum endoplasmique
- ❖ **MEC** = Matrice extracellulaire

La membrane nucléaire se prolonge par le RE

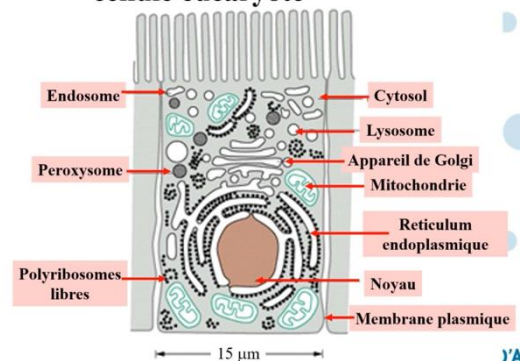
Dans une cellule eucaryote typique, on a dans le cytoplasme (=cytosol + compartiments membranaires (organites)), un **système endomembranaire**, système global qui inclut : +++++++

- Le **réticulum endoplasmique =RE** (lisse et granuleux)
- L'**appareil de Golgi**
- Les **lysosomes**
- Les **endosomes**
- La **membrane plasmique** (d'une certaine manière)
(À savoir par cœur pour les qcms)

À côté du SEM (= ne font pas partie du SEM+++), on a d'autres structures entourées de membranes :

- Les **mitochondries**
- Les **péroxyosomes**,

Les compartiments membranaires de la cellule eucaryote



⚠️ LE SEM NE CONTIENT PAS TOUS LES ORGANITES AVEC UNE MEMBRANE

On considère que la **lumière du système endomembranaire** est l'équivalent dans sa composition du **milieu extracellulaire**. **MAIS** on ne considère pas que la lumière du SEM soit la même chose que le milieu extracellulaire. Il existe juste des échanges entre ces deux milieux qui entraîne une composition similaire.

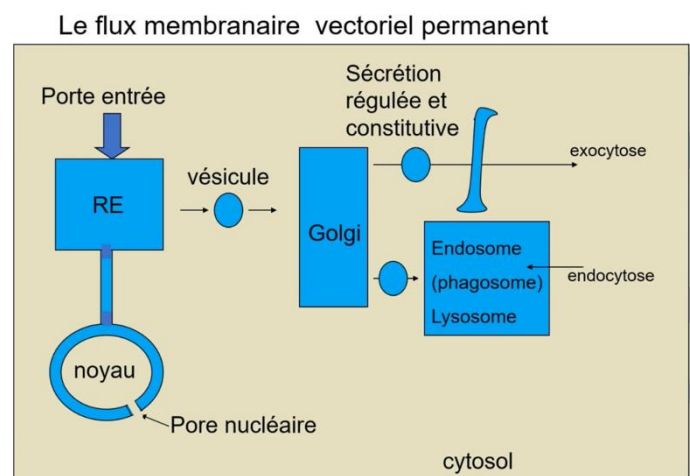
Une partie des composés, venant de l'extérieur de la cellule (par endocytose et phagocytose notamment) ou déversés dans le milieu extérieur grâce au phénomène d'exocytose, correspondent à cette interaction entre la **lumière** de ce système et le **milieu extra-cellulaire**.

2) Le flux membranaire / vectoriel permanent

Pourquoi dit-on que tous ces systèmes membranaires forment **un seul et même système** (le SEM) ? Et bien parce qu'ils constituent une **sorte d'orientation dans le flux des constituants** de la cellule à l'intérieur de celle-ci. On appelle ça : **le flux membranaire vectoriel permanent** +++

Le flux membranaire permanent / flux vectoriel permanent = la **trajectoire** qu'effectuent un certain nombre de molécules au cours de leur synthèse (notamment les protéines) afin d'être exprimées de manière correcte et adressées aux **bons endroits** de la cellule
C'est essentiel pour la cellule !!

SEM = ensemble **dynamique** au niveau duquel sont observés différents types de flux.
Le flux membranaire est **permanent**, appelé aussi « voie de sécrétion » ou « voie de sécrétion vésiculaire », et constitue une **référence** à laquelle tous les autres flux intracellulaires sont comparés.



- Au niveau du RE, et plus précisément au niveau du **réticulum endoplasmique GRANULEUX (=REG)** la **synthèse des protéines**
- **L'appareil de Golgi** (il y a pas plus de précision mais pour mieux comprendre : c'est un lieu de maturation, de tri, de stockage... on reverra ça)
- Les **vésicules de sécrétion** (=voyage des molécules en cours de la synthèse) qui aboutissent dans l'endosome
- **L'endosome** est alimenté par endocytose (*logique*) (donc des molécules qui viennent de l'extérieur)
- **Les lysosomes** et **les phagosomes** = **digérer/dégrader** les molécules qui sont déversées.
- **L'enveloppe nucléaire** = effectue des connexions avec le RE

Ces structures communiquent entre elles, mais pas avec les mitochondries ni les peroxysomes (ça commence à rentrer j'espère)

Le flux peut aller dans les deux sens :

- Le **flux antérograde** = du **RE vers les endosomes** puis exocytose (revu après)
- Le **flux rétrograde** = dans le sens inverse

II. Composition moléculaire des membranes

Alors là je suis désolée mais c'est de la biochimie ☹️ mais le point positif c'est que vous êtes déjà des biochimistes en herbe donc ça va vous paraître super simple

1) Lipides

La composition moléculaire des **membranes** est faite de lipides, protéines et de sucres.

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

La très grande **majorité** des molécules sont des **lipides** (98%) mais seulement ne représentent 30-50% du poids sec car ce sont des petites molécules. Au contraire, les protéines, même si elles représentent que 2% des molécules, elles représentent **plus de la moitié du poids sec des membranes**.

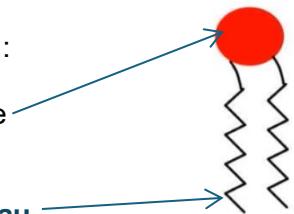
En bref, beaucoup de lipides mais légers // peu de protéines mais lourdes

Ce sont tous les deux des **composants essentiels** des membranes, auxquels on peut rajouter des sucres (glycoprotéines, glycolipides) qui jouent évidemment un rôle important.

A) Structure et propriétés des lipides membranaires

Les lipides membranaires sont des molécules **amphiphiles** (= amphipatiques) :

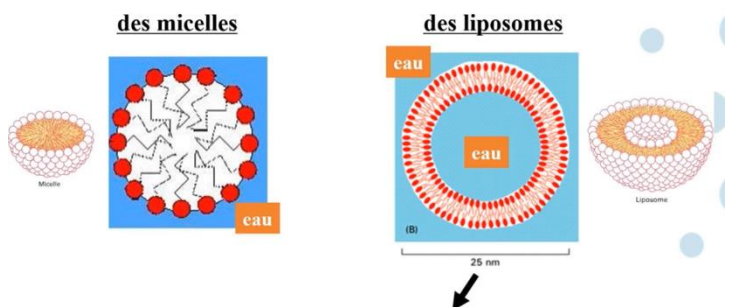
- ⇒ Une **tête globulaire hydrophile** (groupement carboxyle COOH) chargée négativement avec **forte affinité pour l'eau**
- ⇒ Une longue **queue apolaire hydrophobe** qui est **non miscible avec l'eau**.



À partir de cette structure générale amphiphile, il existe **3 grands types** de lipides membranaires :

- Les **phospholipides**
- Le **cholestérol**
- Les **glycolipides**

Du fait de leur nature amphipatique/amphiphile, cela leur confère des propriétés **d'auto-organisation** en milieu aqueux. Dans l'eau, la **partie hydrophile** va être au **contact de l'eau** et la **partie hydrophobe** va **l'éviter**.



La structure de base des biomembranes est la bicouche UNIVERSITÉ CÔTE D'AZ

Les phospholipides s'associent **spontanément** et peuvent former :

- S'il y a **peu de molécules**, on aura
- Formation de **micelles** : petites sphères au cœur hydrophobe et surface hydrophile.
- Par contre les lipides en forme de cylindre vont former une **bicouche++**, chaque monocouche a un côté **hydrophobe** au **cœur de la bicouche** qui fait face à **l'autre monocouche**. Chaque monocouche a une **surface hydrophile** en contact avec l'eau (structure base des membranes biologiques). → Ça s'appelle le **liposome**

P.S. : Les micelles se retrouvent surtout chez les détergents, parce que les têtes polaires »s sont tellement grosses qu'elles ne peuvent pas s'organiser autrement

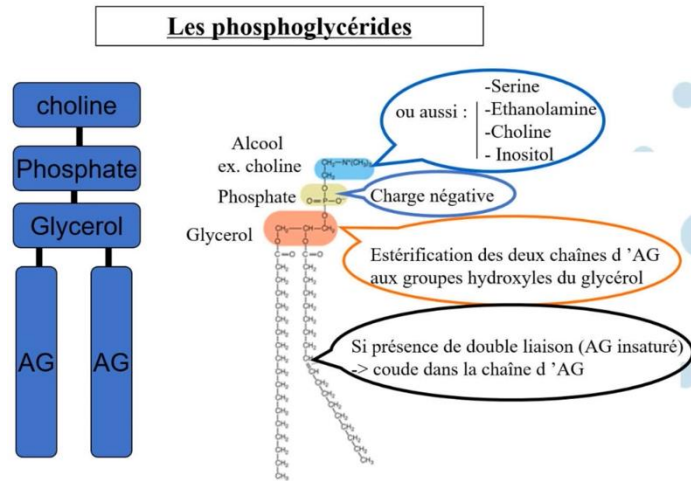
La structure de base est donc la bicouche +++

B) Les phosphoglycérides

Ils ont une **tête polaire** qui contient :

- Une **molécule de glycérol**,
- Un **tri-alcool** où deux groupements alcools peuvent être estérifiés par un **AG**,
- Et le troisième groupement est estérifié par un **phosphate** rattaché par une liaison ester à un groupement **hydrophile** (**sérine**, éthanolamine, **choline** ou **inositol**)

- La **sérine** est un AA chargé **positivement** et **négativement** → la phosphatidylsérine (phosphate + sérine) est donc chargée **négativement**.
- L'**éthanolamine** est un amino-alcool chargé **positivement** → la charge globale de la phosphatidyléthanolamine est donc **neutre**.
- La **choline** est un amino-alcool chargé **positivement** → la charge globale de la phosphatidylcholine est donc **neutre**.
- L'**inositol** est un sucre, il est donc **neutre**, la charge globale du phosphatidylinositol est donc **négative** (*constituant mineur des membranes biologiques mais très présent dans la signalisation cellulaire*)



Explications : Phosphatidylsérine = charge **négative** de la protéine + charge **négative** de la sérine + charge **positive** de la sérine = 2 charges **négatives** contre 1 charge **positive** => la charge globale est de 1 charge **NEGATIVE** (2-1 = 1 t'as capté)
 Phosphatidyléthanolamine = 1 charge **négative** de la protéine + 1 charge **positive** de l'éthanolamine = 1-1=0 => charge globale **NEUTRE**

Etc. Si vous avez pas compris -> forum

Les **AG** constituants ces molécules peuvent être **saturés ou insaturés**.

Les **AG insaturés** possèdent une **double liaison** qui crée une courbure dans la chaîne de l'AG. Ils ont des conséquences sur les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des membranes.

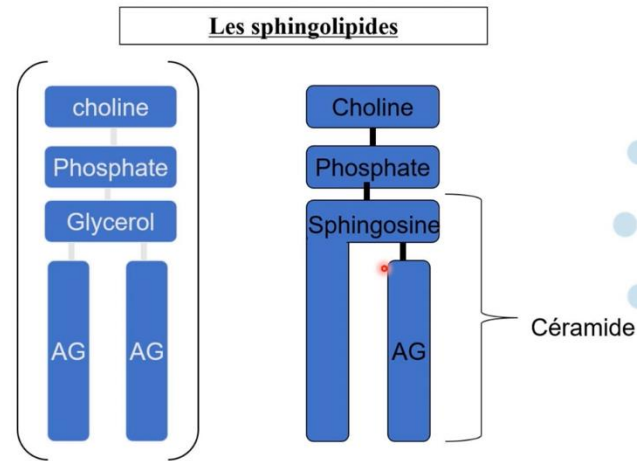
C) Les sphingolipides

Ils possèdent un squelette formé par la **sphingosine**. C'est un dérivé alcool aminé avec une fonction alcool en position 3 et une double liaison en position 4 qui permet à la sphingosine de **se couder** dans la membrane.

Comme juste à côté il y a une fonction alcool, cette dernière aura tendance à rester en contact avec l'eau.

Par ailleurs, la sphingosine comporte une autre fonction alcool en position 1 et une fonction amine en position 2 → cette dernière réagit avec un **AG**.

La molécule que l'on obtient est nommé un **céramide**. Le céramide va pouvoir réagir avec d'autres molécules, notamment avec la **phosphorylcholine** (choline sur le phosphate) → l'ensemble forme la **sphingomyéline**.



Les sphingolipides représentent **20%** du poids des lipides de la membrane plasmique des hépatocytes.

C'est beaucoup plus facile de comprendre sur le schéma mais en gros :

Sphingosine + AG = céramide + Phosphorylcholine = choline + un phosphate → sphingomyéline

D) Le cholestérol

Le cholestérol est constitué d'un **noyau polycyclique rigide** et d'une **queue hydrocarbonée rigide**, tout cet ensemble est donc fortement **hydrophobe**.

Par contre, le **groupement alcool présent** suffit pour lui donner un caractère **amphiphile**.

Le cholestérol est un **composant important et abondant** dans les membranes **PLASMIQUES**, il représente 17% du poids sec de membranes plasmiques des hépatocytes et 25% dans les globules rouges.

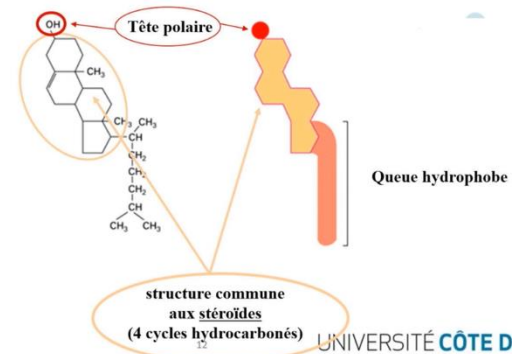
Il peut être utilisé comme un **marqueur des membranes plasmiques** lors des fractionnement cellulaires car il est très peu présent dans les membranes des organelles.

Il intervient dans **la fluidité et la stabilité mécanique des membranes**.+++

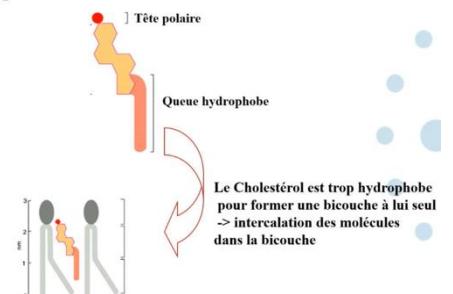
Le cholestérol est trop hydrophobe pour former une bicouche à lui seul, il va donc **s'intercaler** dans les molécules de la bicouche.

On a besoin de cholestérol car c'est un **constituant de la membrane** mais dans des concentrations **physiologiques**

Le cholestérol
Un stéroïde important
abondant dans les membranes plasmiques des animaux
(3-25 % des lipides membranaires chez l'homme)



Incorporation du cholestérol dans la bicouche



E) Les glycosyl-phosphatidylinositols (ou GPI)

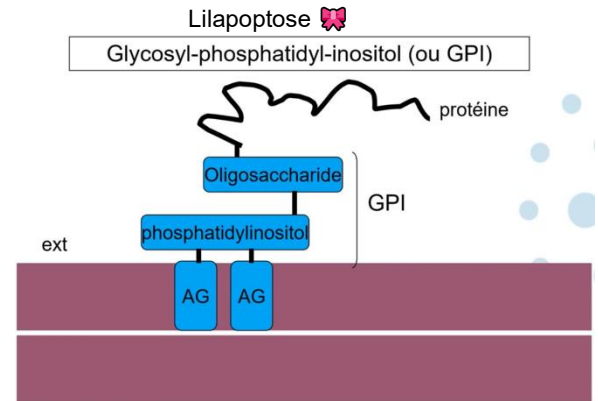
C'est un autre phospholipide, minoritaire en nombre mais important fonctionnellement.

Ils contiennent un résidu de sucre (GPI) qui permet **d'ancrer** des glycoprotéines sur le **feuillet externe** de la membrane plasmique.

Ils sont formés de **2 AG**, d'un **phosphatidylinositol** couplé à un **oligosaccharide** (= sucre) lui-même associé à une **protéine**.

Les GPI sont considérées comme des « ancrs à protéines » ou encore « **ancre GPI +++** ». Elles sont localisées sur la **membrane plasmique** sur le feuillet **externe**, elles permettent d'**ancrer les protéines** à la surface des cellules +

- ⇒ Permet à certaines cellules d'exposer certaines protéines à la surface = vraiment important



F) Mobilité des lipides membranaires

La **fluidité des membranes** est essentielle pour une bonne partie de leurs fonctions et est déterminée par :

- La **température** : les chaînes carbonées sans double liaison sont très fluides. Si on abaisse la température, les chaînes carbonées vont se ranger les unes contre les autres → membrane plus solide = état de gèle

Les chaînes grasses sont quasiment **crystallisées**, très bien **ordonnées** et on peut repasser de l'état **solide** à l'état **liquide** en augmentant la température à cette température s'appelle la **température de fusion**, valeur très proche de notre T° physiologique (quand les AG sont saturés).

- La **quantité de cholestérol** va diminuer la fluidité, du fait de son noyau polycyclique. (Mais ça vous le savez déjà parce que vous avez tout compris sur la partie du cholestérol)
- La **nature des AG et des phospholipides** insaturés qui facilitent la fluidité
- La **longueur des chaînes aliphatiques**, plus elles sont longues moins la membrane est fluide.
- La **composition en lipides**

Cette composition est importante car si la **viscosité augmente**, l'**activité enzymatique** associée à la membrane **diminue** = problèmes biologiques !

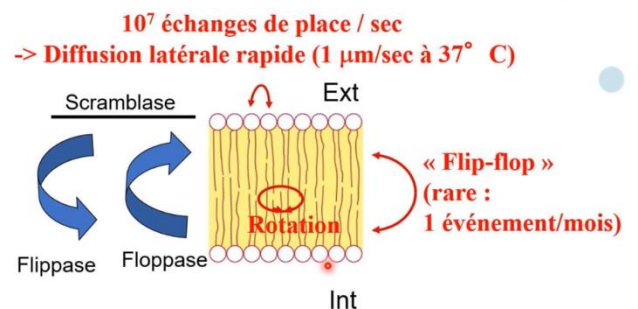
Ex : si les membranes sont trop rigides, on peut avoir des pbs cardiovasculaires comme l'agrégation de globules rouges dans les capillaires car ils ne se déforment pas assez.

Ces lipides peuvent **bouger** dans la membrane mais pas n'importe comment, c'est-à-dire qu'ils peuvent changer de place et qu'ils ne sont pas statiques +++.

- Ils peuvent bouger **latéralement** de manière très **rapide** ++ (on le voit dans le schéma, on a peu près 10^7 échanges de place/sec).

- À l'inverse, les **échanges de lipides entre les 2 feuilletts de la bicouche** (donc feuillet interne/feuillet externe) sont **très rares**. (Cc, le cours sur la mort cellulaire)

Mobilité des lipides membranaires




C'est ce qu'on appelle un processus de **flip-flop**. (le retour du nom le plus cute de toute la biocell)

De manière spontanée, c'est juste un événement/mois. Il peut cependant y avoir des enzymes, comme tout processus biologique qui est spontanément rare ou difficile, qui peuvent (dans certains cas) aider en catalysant ce mouvement.

Dans le cas de « l'augmentation » de ce mécanisme de flip-flop, vous avez une paire d'enzymes qui s'appellent des **scramblases**.

Il existe donc 2 sortes de **scramblases** : vous avez la **floppase** (pensez au floppeur originel = Matisticule) et la **flippase** (comme Clémendocyte la flipette). J'adore me moquer de mes co-tuts...

- ❖ La **floppase** permet un **flip-flop lent**, du feuillet **cytosolique** vers le feuillet **externe**. Ça va nécessiter du calcium et ça dépend du moment de la fonction.
- ❖ La **flippase**, elle, assure les **transports inverses** et nécessite également du calcium et de l'ATP. Par exemple, elle permet le **passage des phosphatidylsérines au feuillet externe** (t'as la réf ?) du réticulum. On verra qu'il peut y avoir des conséquences cellulaires très importantes.

Les 2 feuillets ont une asymétrie de constitution  **+++**, c'est-à-dire que ce ne sont pas forcément les mêmes **phospholipides** qui sont présents sur le feuillet externe que sur le feuillet interne. (mais nang ??)

ASYMETRIE DE COMPOSITION

Pour la **membrane plasmique**, on a beaucoup plus de sphingomyéline et de phosphatidylcholine sur le feuillet externe

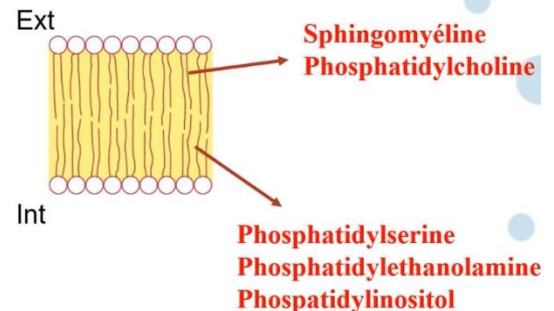
Inversement, le feuillet interne est enrichi en phosphatidylsérine, en phosphatidyléthanolamine et en phosphatidylinositol.

(Oulalah, c'est quoi ces noms à rallonge... heureusement que vous aviez tout compris sur les parties décrivant chaque lipide) Mais pas de panique, parce que le Saint Gigi dans sa bonté divine, ne vous demande pas de retenir lesquels appartiennent à quel feuillet, mais il faut retenir absolument qu'il y a **UNE**

ASYMETRIE DE CONSTITUTION

RETENEZ QUE LES PHOSPHATIDYLSÉRINE SONT SUR LE FEUILLET INTERNE (vous en avez besoin pour le cours de mort cellulaire + celui-là) Voilà, on reprend

asymétrie de composition



CONCLUSION : Les **principaux rôles** (qui ont été définis pour la partie biochimie) des lipides membranaires sont :

- **Structure de base** des membranes
- **Déformabilité** des cellules
- **Transport membranaire** et **tri** des protéines
- **Transduction** des signaux extracellulaires

Cela signifie que les lipides ne sont pas seulement une barrière, ils ont aussi un **rôle fonctionnel** important.

Ça implique aussi que les membranes ne sont pas seulement structurées par des phospholipides (même s'ils sont majoritaires).

On a déjà vu avec les **ancres GPI** qu'il peut y avoir des protéines, mais il y a également **beaucoup de protéines** dans les compositions des membranes.

2) Protéines

A) Étude des protéines

Les protéines peuvent être **liées à la membrane** ou bien faire **partie intégrante** de celle-ci.

♥ On a les protéines **ancrées à un lipide**, c'est-à-dire liées par des liaisons **covalentes** (qui sont des liaisons très fortes) et on a déjà vu que ce sont les protéines ancrées par une **ancrage GPI**. Ce type de protéines ne rentrent pas dans la membrane.

♥ Il existe des protéines qui vont **traverser la bicouche**. Il faut que la partie de la protéine qui traverse la bicouche soit **hydrophobe**. Dans nos acides aminés qui composent nos protéines, vous avez des acides aminés **hydrophiles** et d'autres **hydrophobes**. Ainsi, la séquence de la protéine est déterminante pour créer des **domaines transmembranaires** (qui peuvent traverser la membrane) et expose les acides aminés. La protéine peut traverser la membrane de différentes façons. (*Encore de la bioch*)

♥ Il existe d'autres protéines plus **périphériques** qui ne traversent pas la membrane mais qui sont **associées** à des protéines qui elles, vont traverser la membrane.

En bref :

Protéines périphériques	Protéines intégrales de membrane	Protéines ancrées à la bicouche
Associées à des protéines	Grâce à des domaines transmembranaires	Grâce à des ancres GPI

Ces protéines conservent les **propriétés intrinsèques** de la membrane dont on a parlé (fluidité, ect...) mais elles apportent tout de même des fonctions à cette membrane :

- Activité enzymatique
- Transport des molécules, des ions
- Reconnaissance et adhérence avec la MEC
- Récepteurs de molécules extracellulaires

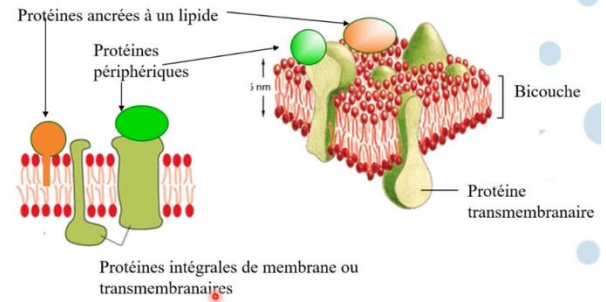
C'est donc très important de les **étudier**. (*Vous les voyez venir les fameuses expériences de Gigi ? Je sais que vous adorez*)

- *Mais comment les étudier ?*
- *C'est compliqué car elles sont associées à la membrane.*

Il y a une astuce qui est d'utiliser **un lipide qui est non naturel : un détergent**

- *Mais qu'est-ce qu'un détergent ?*
- *Un détergent est un peu comme un lipide biologique, ce sont aussi des molécules amphipatiques qui peuvent former des micelles ++*

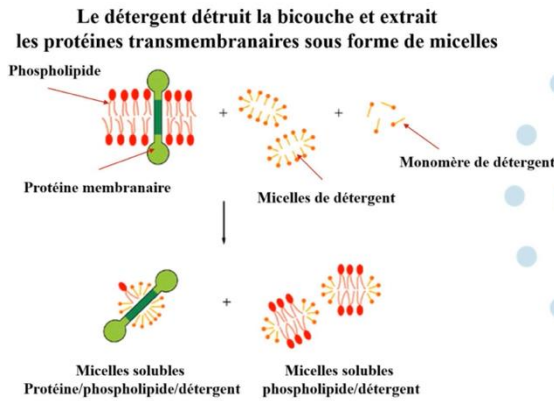
Les biomembranes contiennent trois classes de protéines : périphériques et transmembranaires (ou intégrales)



- Pourquoi est-ce du détergent qui est utilisé au quotidien ?
- Parce qu'en fait, il a la capacité de capturer les lipides, de capturer les graisses du fait de leur caractère amphipatique.

Etude des protéines transmembranaires -> solubilisation par des détergents

Comme les phospholipides, les détergents sont amphipatiques et peuvent former des micelles dans l'eau.



Cela veut dire que si vous mettez une **membrane biologique** en présence de détergent/de micelles de détergent qui sont de petites molécules avec ce caractère amphipathique, le détergent va capturer tous les lipides parce qu'ils ont une structure un peu équivalente ce qui forme des **micelles solubles** entre les **phospholipides biologiques et le détergent**.

(Je sais pas si on voit encore ça au lycée, mais c'est le principe du savon/de la lessive. C'est pas au programme mais je vous mets une petite vidéo (1 min) pour que ce soit plus clair https://youtu.be/AD9XD9eEL5A?si=BYB_CUo2WjUklOM)

Dans cette expérience, vous avez une **protéine transmembranaire** dans sa membrane naturelle que vous mettez en contact avec des **micelles de détergent**, libérant ainsi d'une certaine façon la protéine de la membrane (détergent capture les phospholipides). La protéine sera toujours associée à quelques phospholipides qui restent ainsi qu'à des monomères de détergent. La protéine est solubilisée +++

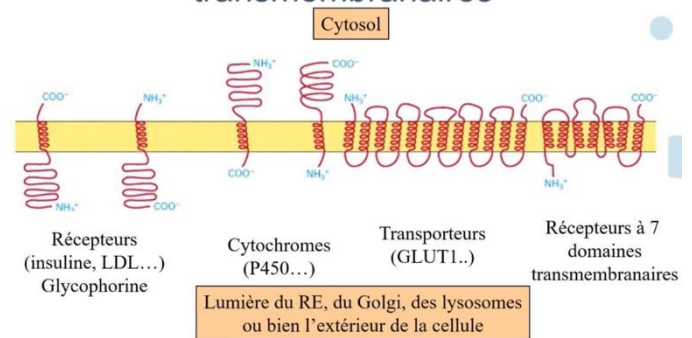
Une fois qu'on a une protéine soluble, on va étudier sa fonction, sa structure... Les expériences sont importantes à **COMPRENDRE**

B) Les protéines transmembranaires

Les protéines transmembranaires sont souvent **glycosylées** au niveau de leur domaine extra-cellulaire. On distingue :

- Les protéines à traversée **unique** (single path) : deux pôles hydrophiles et une hélice alpha hydrophobe qui leur permet de s'ancrer dans la bicouche. Ce sont généralement des récepteurs de la membrane plasmique qui vont servir d'intermédiaire entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule.
 - o Par exemple : s'il y a de l'insuline qui se promène, le domaine de la protéine qui est en contact avec l'extérieur va reconnaître l'insuline (on verra qu'elles en sont les conséquences).
 - o Il y a d'autres protéines qui vont avoir un domaine exposé à l'intérieur de la cellule.

Topologie de quelques protéines transmembranaires



Vous voyez donc que dans le cas des récepteurs, il peut y avoir les 2 cas de figure : **soit le N-terminal, soit le C-terminal qui vont « accrocher » les molécules.**

- Protéines traversant **plusieurs fois** la membrane (multi path)

- Il y a des transporteurs, comme par exemple le transporteur du glucose (GLUT-1) qui va passer de multiples fois dans la membrane. On appelle ça les **protéines multi-passes**.
- Vous avez une **catégorie de récepteurs** qui traversent exactement **7 fois** la membrane plasmique. Ce sont des protéines à 7 domaines transmembranaires ++. (Cc la signa)

⇒ Ce sont des **protéines intégrales** des membranes

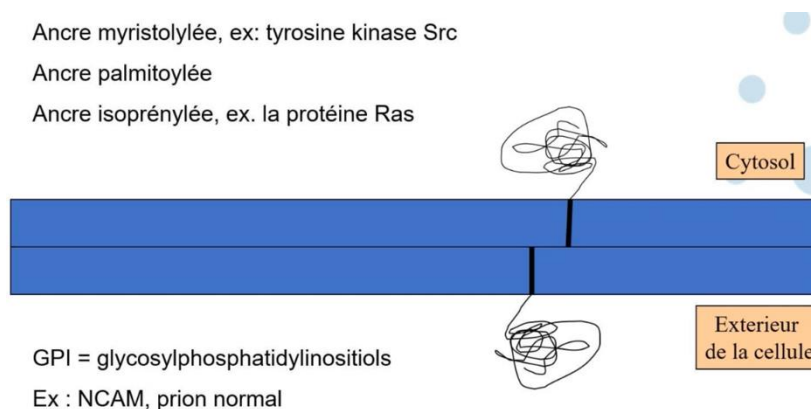
Les fonctions des protéines membranaires sont :

1. Structurer les membranes
2. Renforcer la stabilité mécanique
3. Enzymes = catalyser des réactions chimiques dans / à la surface des membranes
4. Rôle de récepteurs

C) Les protéines ancrées à un lipide membranaire

Ces protéines sont ancrées à la membrane par un lipide. Vous avez :

- Les protéines à ancrage GPI dont on a parlé. Elles sont associées de façon covalente à un lipide (résidu isoprényle ou acide gras) sur le feuillet externe+++. Le GPI confère une **mobilité rapide** de ces protéines à la surface par diffusion collatérale. On a à peu près 200 protéines humaines qui utilisent le GPI.
→ Ce sont par exemple la protéine prion normal, la protéine NCAM, des protéines de communication intercellulaire.



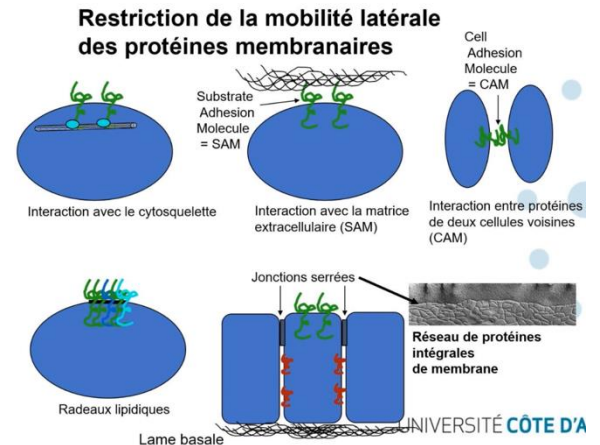
Type d'ancrage	Acide gras accroché	Type d'accroche	Moyen d'accroche
Isoprénylation	Ajout d'un dérivé isoprène Ex : résidu farnésyle ou géranyl-géranyl	Ajout sur une Cystéine 4 résidus avant C-ter	Modification post -traductionnelle de la protéine
Myristoylation	Ajout d'un AA Myristique	Ajout sur une Glycine 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

Ces protéines à la surface des membranes peuvent bouger selon certaines modalités. Il y a donc une restriction dans leur **mobilité latérale** en fonction de leurs interactions :

- Ancrage avec le cytosquelette par intermédiaire de **protéines périphériques** -> donc la protéine se déplacera en fonction de moteurs conférés par le cytosquelette.

Ex : les hématies ou le transporteur d'anions transmembranaires est associé aux microfilaments d'actine par la protéine périphérique spectrine.

Moment patho : la myopathie de Duchêne est causée par l'absence de dystrophine, une protéine de la cellule musculaire squelettique qui s'associe au cytosquelette et qui permet l'association avec les rcp pour les molécules de la MEC.



- Interaction possible avec la MEC (comme la lame basale des épithélia), c'est le cas des molécules d'adhérence de type **intégrines**.

- Interactions entre protéines de deux cellules (molécules d'adhésion ou CAM)

- Interaction avec d'autres protéines comme dans les **radeaux lipidiques** qui flottent sur la membrane plasmique

- Systèmes de jonction inter-cellulaire

→ **Jonction serrée** : Caractéristique des cellules épithéliales polarisées. Elle constitue une bande ceinturant la partie haute de la face latérale à proximité du pôle apical. Elle constitue une frontière interdisant la diffusion latérale des protéines et assure l'imperméabilité relative de la couche épithéliale.

- Une autre catégorie de protéines qui sont ancrées sur le feuillet interne de la membrane plasmique, donc du côté **cytosolique** par une série d'enzymes qui vont les lier covalamment (de façon covalente) à des phospholipides. Ce sont des protéines très importantes dont on reparlera.
 - Il y a notamment la protéine RAS, une petite protéine qu'on retrouve sur la face interne de la membrane plasmique et qui est importante pour la **transmission du signal**.

Elle est fixée covalamment par une réaction **d'isoprénylation** : ce sont des enzymes particulières qui vont effectuer cette réaction. Cette réaction d'isoprénylation est faite de façon post-traductionnelle (c'est-à-dire après la traduction de la protéine dans le cytosol).

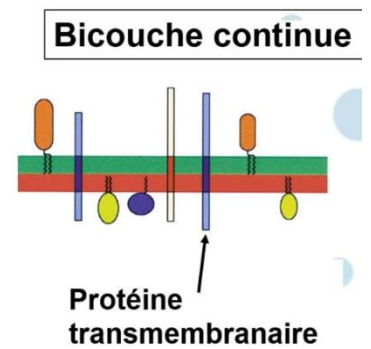
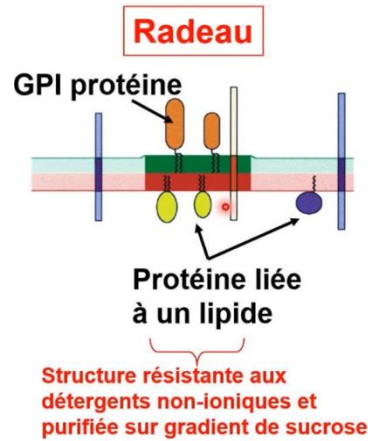
Si l'enzyme est présente, la protéine **RAS** (issue des ribosomes) va être fixée à la membrane pour assumer sa fonction.

D) Les radeaux lipidiques

Les radeaux lipidiques sont des « **plaques de la bicouche** » associées à des **ancres GPI**, très riches en **cholestérol** et en **glycosphingolipides** sur le **feuillet externe**.

Ce sont des structures qui sont bien définies qui ont un diamètre moyen de 50 nm et qui peuvent couvrir globalement 35% de la surface cellulaire. Même si ces protéines peuvent bouger d'une certaine façon, elles vont diffuser dans des endroits où **elles sont concentrées**.

Les radeaux lipidiques sont formés dans **l'appareil de Golgi** puis transférés à la **membrane plasmique** via les **endosomes** (il y pas de radeaux dans les **membranes nucléaires, mitochondries, RE**). ++



Ils ont un rôle dans la **compartmentation**, la **polarisation** et surtout dans la **signalisation** cellulaire +++ en concentrant et oligomérisant les protéines de signalisation, permettant leur fonction de rcp.

III. Biosynthèse des protéines au niveau du réticulum endoplasmique (RE)

1) Généralités

Le SEM permet la **biosynthèse** d'un certain nombre de protéines (**⚠ PAS TOUTES**) au niveau du RE qui est le début du flux vectoriel permanent.

Le RE capture les protéines à partir du **cytosol** :

- Protéines **transmembranaires** destinées au RE
- Protéines **solubles** : destinées à la lumière d'un organite ou à la sécrétion

On retrouve un **même signal de tri** au départ dans le RE.

Sur l'image en microscopie électronique, on voit les différents feuillets membranaires les uns à côté des autres avec la lumière du RE (zone sans ronds noirs).

Au niveau du cytosol, les points sombres qui tapissent ces feuillets sont des **ribosomes** (font la synthèse de certaines protéines). Ils sont à l'origine de l'appellation de **réticulum endoplasmique granuleux**. Ces ribosomes ont pour fonction de traduire **un ARNm en protéine**. (C'est de la biomol)



Il existe 2 populations de ribosomes :

- ❖ **Ribosomes liés au RE** : pour les protéines **transloquées** dans le RE (et seulement ce type-là de protéines)
- ❖ **Ribosomes libres : dans le cytosol**, pour la synthèse de toutes les autres protéines. Les ribosomes ont la même structure et le même fonctionnement. La différence entre les 2 catégories de ribosomes va résider dans la protéine qui est en train d'être synthétisée qui va déterminer la localisation de ces ribosomes (transloquée dans le RE ou les autres).

(ça veut dire que les ribosomes sont les mêmes, ce qui fait la différence c'est la localisation des protéines synthétisées)

Il y a donc un adressage cellulaire différent pour l'une ou l'autre des catégories.

2) Expériences

Hélas faut les connaître, ça peut tomber

🔬 Nous allons aborder la démarche expérimentale qui a permis de mieux comprendre comment une protéine est synthétisée au niveau du RE. C'est l'occasion de montrer le raisonnement, la démarche et le type d'expérience qu'on peut réaliser en laboratoire pour comprendre un phénomène biologique en général.

Il faut partir du principe que vous ne connaissez rien sur le RE, on va essayer de reconstituer ce processus en laboratoire

On aura :

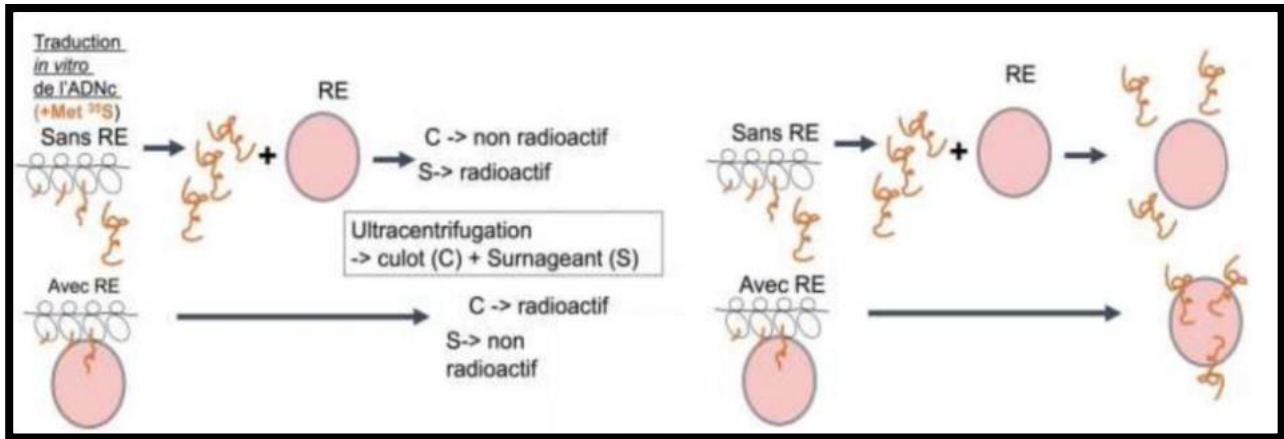
- Des extraits de RE
- Un système qui permet de traduire in vitro de l'ADN mais sans le RE avec un précurseur des protéines radioactif : la **méthionine 35S** (pour pouvoir détecter ces protéines en cours de synthèse par des techniques d'autoradiographie).

Méthionine 35S = permet de suivre expérimentalement la traduction, en allant s'incorporer et donnant naissance à des protéines radioactives qu'on peut visualiser facilement en laboratoire.

La question qu'on se pose :

L'association du RE aux ribosomes est-elle nécessaire à la synthèse des protéines ?

Pour comprendre, pas à apprendre : En microscope électronique, on voit le RE granuleux qui est associé aux ribosomes. On peut alors supposer que la synthèse de ces protéines nécessite la présence du réticulum. Donc, la démarche expérimentale consiste à reconstituer un réticulum avec des ribosomes. Pour ce faire, on va purifier des extraits de RE de la cellule après fractionnement, et on obtient un système complexe que l'on peut reproduire *in vitro* avec une traduction à partir d'un ARNm avec tous les éléments nécessaires : les ribosomes, les AA ainsi que les enzymes de la machinerie de traduction.



Si on synthétise la protéine **avant** de la **mettre en contact avec le RE**, la protéine est **incapable** une fois synthétisée de **s'associer au RE** (déterminé expérimentalement par une ultracentrifugation).

Maintenant on va refaire la même expérience en faisant la traduction des protéines **en présence du RE**, le culot devient **radioactif** → l'association au RE doit être **co-traductionnelle**, elle ne peut pas se situer après la traduction d'où la nécessité du ribosome de s'associer au RE.

Conclusion : L'insertion des **protéines transmembranaires** dans le RE est **co-traductionnelle** elle doit se faire en même temps que la traduction. *Super important ça*

Comment ça marche ???

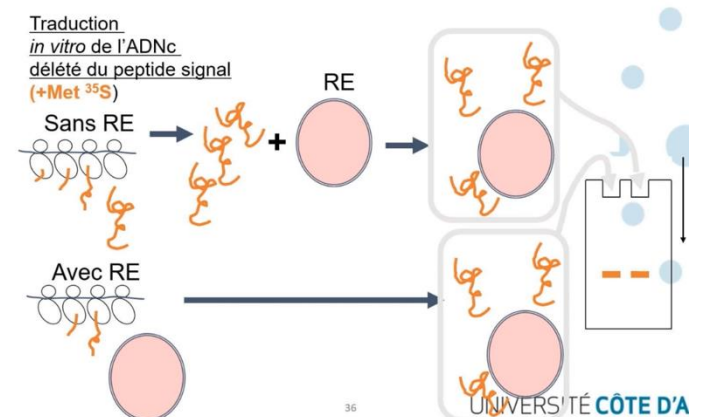
Question posée par les chercheurs : L'insertion dans les membranes peut être fait par un **mécanisme** qui va impliquer une **modification** de la protéine puisqu'elle a quelque chose de particulier.

Pour répondre à ces interrogations, les chercheurs ont repris le même type d'expérience :

Ils synthétisent la protéine **avec et sans RE** mais en plus, ils caractérisent la protéine synthétisée par un gel de **Polyacrylamide SDS** (en conditions dénaturantes) = permet de mesurer la taille des protéines radioactives qui sont produites.

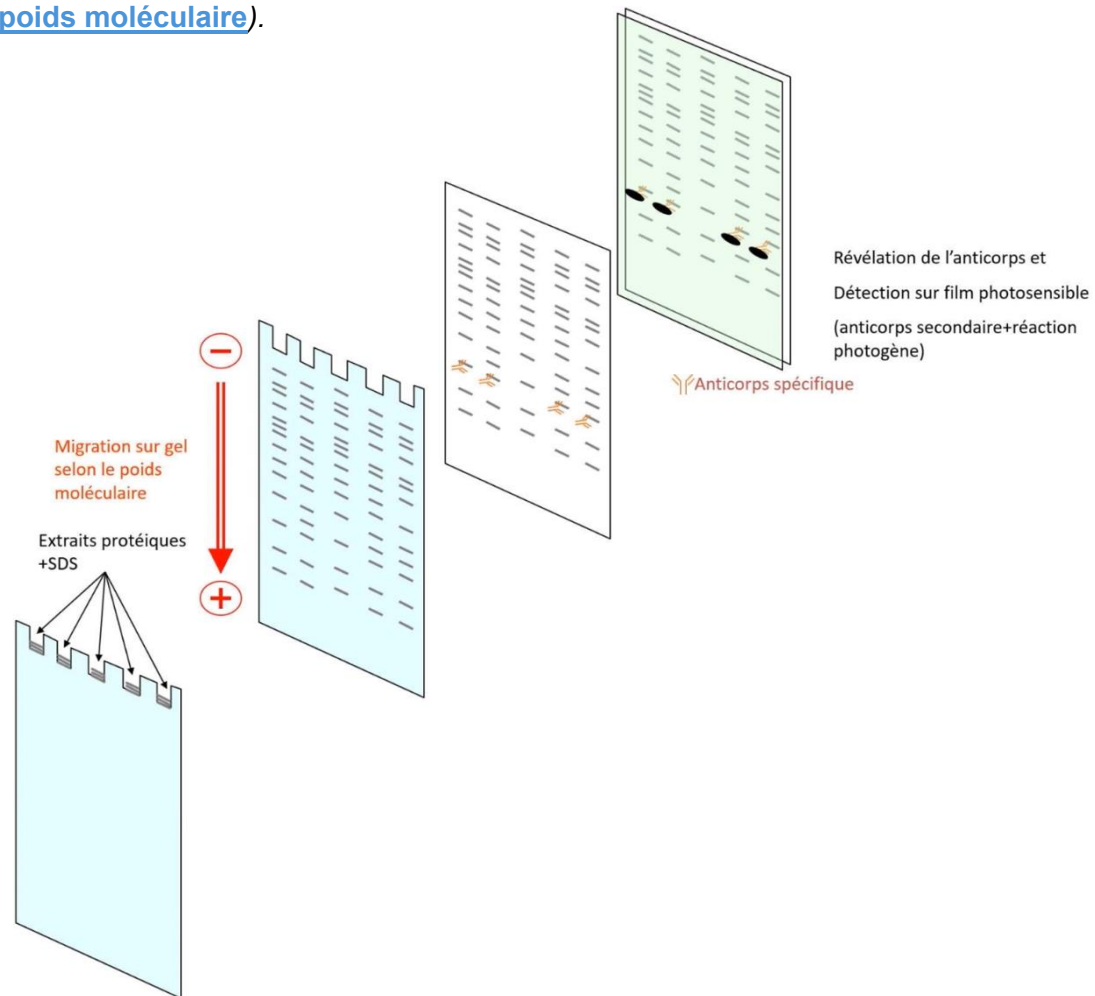
(Non-dit mais important pour comprendre) C'est une **méthode d'électrophorèse** : les protéines vont migrer dans le champ électrique en **fonction de leur taille**. On peut donc facilement les repérer par autoradiographie puisque les protéines d'intérêts sont radioactives.

Le peptide signal est nécessaire à l'insertion co-traductionnelle



⌋ Rappel méthodologique sur les gels de polyacrylamide et leur utilisation dans la caractérisation des protéines ⌋

- ❖ On part d'un gel de **polyacrylamide** qui est un gel fin vertical d'une 10aine cm, avec des puits où on peut poser des protéines en condition dénaturante (avec SDS, pour qu'elles puissent **migrer** en fonction de leur taille/poids moléculaire).

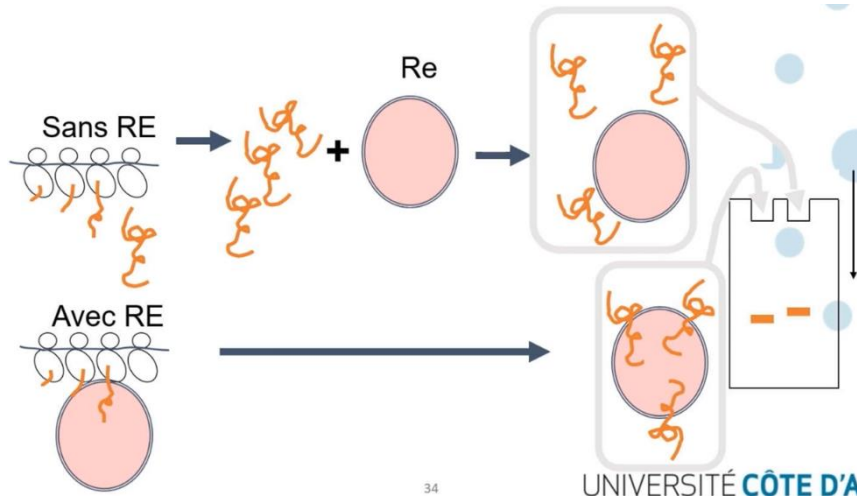


- ❖ On peut relever les protéines parce qu'elles sont **radioactives** ou liées à un **anticorps spécifique** (dans ce cas, il faut les transférer sur une membrane - en inversant le champ électrique – et on visualise. On peut donc les faire réagir avec des **anticorps spécifiques** et qu'on peut visualiser de manière **spécifique** l'empreinte de ces protéines sur une membrane).
- ❖ À la fin, on ne voit **que** ces protéines là et pas toutes les autres qui auraient brouillé l'interprétation.

ON REVIENT À NOTRE EXPÉRIENCE

On observe que les protéines synthétisées **avec et sans la présence** du RE ne sont pas exactement la **même taille** : en effet elles migrent différemment.

La protéine synthétisée **en contact** du RE est de **taille légèrement inférieure** à la protéine synthétisée sans le RE.



Il s'est donc passé quelque chose qui a l'air d'être couplé avec cette **synthèse co-traductionnelle** avec le **réticulum**.

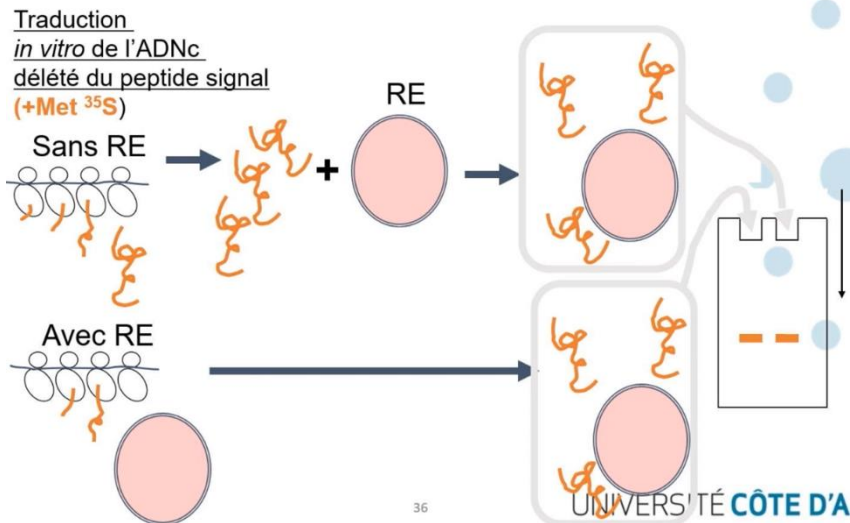
Cela a été le point de départ d'un certain nombre d'expériences qui ont identifiées sur la **surface interne** du RE (=lumière RE) une **peptidase** qui a la capacité de couper spécifiquement : la **signal peptidase**.

Elle va cliver la **partie N-terminale = peptide signal** = séquence **signale** de la protéine lorsqu'elle **commence à entrer** dans le RE.

Pour tester cette hypothèse, on va traduire un ADN qui ne possède **pas de peptide signal**. Avec ou sans RE, cette protéine tronquée de sa partie **N-terminale** (partie reconnue par la signal peptidase) va être synthétisée à l'extérieur du RE.

⇒ On observe qu'il n'y a pas eu de clivage

Conclusion : L'hypothèse sur l'importance du **peptide signal au niveau de la co-traduction** a été démontrée.

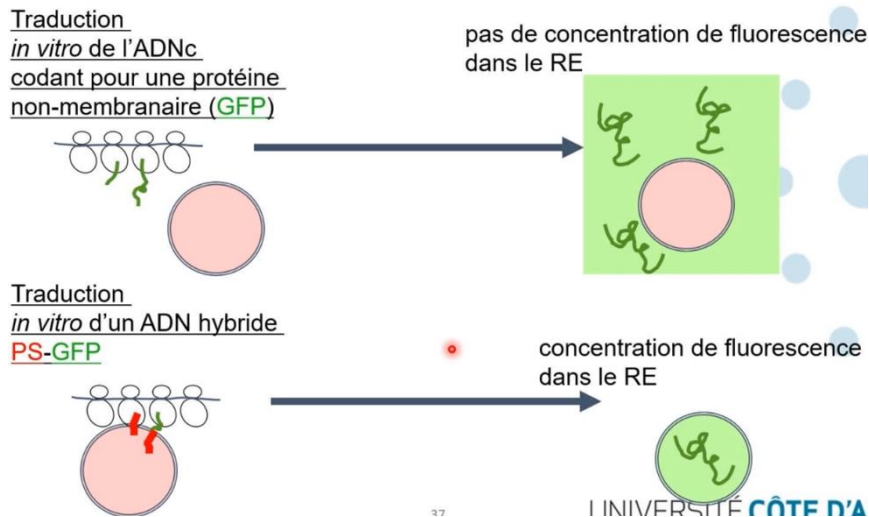


EXPLICATIONS : vous êtes tous et toutes perdu.e.s ! Mais vous inquiétez pas c'est plus simple que ça en a l'air. **SANS RE et AVEC RE**, normalement on observe une différence = **taille inférieure** du fragment. Mais si on enlève le peptide signal = bout de la protéine qui permet à la protéine d'être traduite par le RE en restant transmembranaire à celui-ci (en gros, c'est une séquence de la protéine qui dit « à partir de moi le reste de la protéine sera à l'intérieur du RE ») et donc la protéine reste accrochée comme on a vu sur le schéma. Donc si on l'enlève, la protéine même en contact du RE va être synthétisée à l'extérieur.

La séquence signale est **NÉCESSAIRE** mais est-ce qu'elle est **suffisante** ?

Pour savoir, on va faire l'expérience inverse =

On prend une protéine qui n'est **pas membranaire** (ex : la GFP) qu'on **fusionne** à un **peptide signal** (=PS) issu d'une protéine (ex : rcp à l'insuline).



La réponse a été très claire :
La GFP est associée au RE.

Ainsi, le peptide signal est NÉCESSAIRE et SUFFISANT.

Alors, on peut complexifier l'expérience : (c'était déjà assez compliqué pourtant...)

On peut s'adresser par exemple au rcp de l'insuline et visualiser par cette technique de traduction in vitro associée à des gels de Polyacrylamide ce qu'il se passe

Donc on a une protéine synthétisée **sans** et **avec** RE. (Toujours)

Les questions à se poser :

- La protéine associée au RE, comment est-elle associée ?
- Elle rentre complètement dans la lumière (donc échapperait à la protéase) ?
- Juste sur la face externe du RE (donc sensible à la protéase) ?
- Ou entre les deux ?

On fait la même expérience mais ici, on a rajouté une **protéase**.

Explications avant d'analyser :

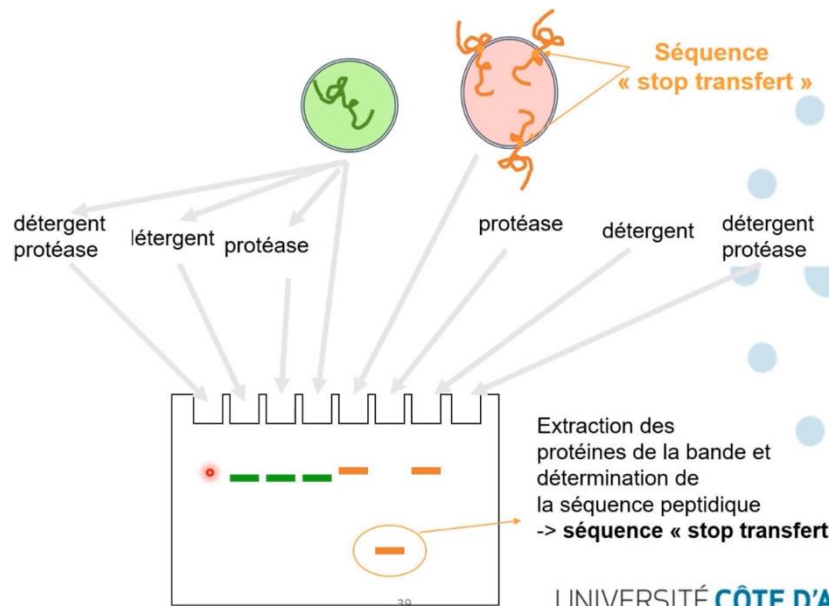
- On va faire agir des protéases pour voir si la protéine est complètement entrée dans le RE ou pas :
 - Si elle est **partiellement rentrée**, il y a une petite "queue" à l'extérieur du RE qui sera **dégradée** par la protéase
 - Si elle est **complètement rentrée**, elle sera **entièrement protégée**

- On a :
- Une situation contrôle **sans protéase**
 - Une situation en **présence de protéase**
 - Une situation en **présence de détergent**
 - Avec **détergent + protéase** (=contrôle du fonctionnement de la protéase)

Rappel : détergent = lyse les membranes donc les protéines à l'intérieur du RE ne seront plus protégées

Ce à quoi on devrait s'attendre :

- Le contrôle **sans rien**, vous avez la protéine qui nous **intéresse** (le récepteur de l'insuline)
- Vous rajoutez la **protéase**, comme la protéine n'est pas rentrée dans le RE, elle est **complètement dégradée** (vous ne voyez rien)
- Le **détergent** tout seul **n'a pas d'effet** sur la protéine
- Le **détergent + la protéase** **détruit tout**



Expérience de gauche

- ✓ On a la **traduction** de la protéine (en vert = GFP+PS), on fait agir une **protéase** → on voit que la taille de la protéine **ne change pas**
- ⇒ Donc la protéine **n'est pas accessible** à la protéase.
- ✓ Si on met **un détergent sans protéase**, ça ne change rien (car pas de protéase donc la protéine reste la même).
 - ✓ On a le contrôle qui est très important car il permet d'éliminer l'hypothèse que la protéase n'était pas capable d'agir.
 - ✓ Si on **ajoute un détergent** qui va libérer la protéine du RE
- ⇒ **Dégradation protéine** = la protéase était bien active.

Conclusion : on peut donc interpréter ce résultat comme étant le fait que la GFP est **complètement** dans le RE et est **protégée** de l'action de la protéase.

Expérience de droite

✓ Les expériences ont été refaites avec une autre protéine (toujours avec les mêmes contrôles) mais là, le résultat est un peu différent :

⇒ On voit qu'après **l'action de la protéase**, la protéine est **très courte** -> une partie de la protéine a été exposée à la dégradation (en extra-réticulum)

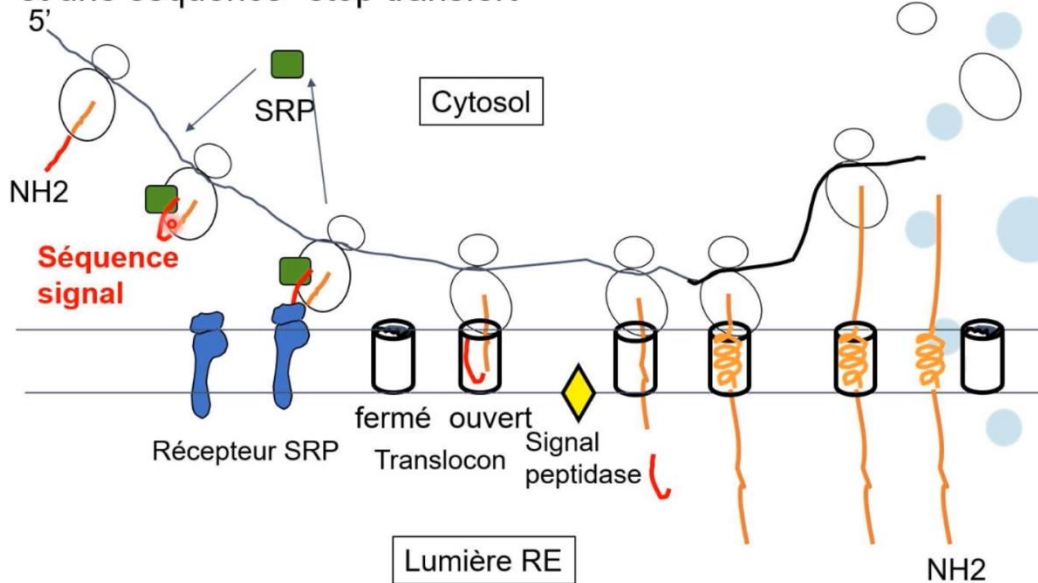
Conclusion : Dans cette séquence particulière de la protéine (beaucoup de protéines sont comme ça), il y a une séquence en plus de la séquence signal qui s'appelle **une séquence « stop transfert »**. +++ Cette dernière va arrêter la synthèse et la protéine va se retrouver « **coincer** » dans la membrane et donc devenir une protéine transmembranaire.

La protéase a coupé ce qu'il dépassait du RE = il ne reste plus que la partie de la protéine qui était dans le RE = petite protéine sur le gel

Détergent protéase	Détergent	Protéase			Protéase	Détergent	Détergent protéase
Dégradation protéine – ça prouve que ça marche	Ça ne change rien non plus avec un détergent sans protéase	Taille de la protéine ne change pas donc la protéine n'est accessible	Traduction protéine avec peptide signal	Traduction protéine avec séquence "stop transfert"	Elle coupe la partie exposée aux radiations - celle en dehors du réticulum	Pareil – ça ne change pas sans protéase	Même contrôle – pour prouver l'efficacité

Pour résumer :

Un grand nombre de protéines transmembranaires ont un peptide signal et une séquence "stop transfert"



- 1) Un **ARN messager** qui est associé à un **ribosome** (pour l'instant, rien de particulier)
- 2) Le ribosome va jouer son rôle et va commencer la **traduction** de l'ARNm. Donc l'ARNm commence à être traduit et SI (c'est pour ça que c'est important la composition de la protéine) les premiers acides aminés correspondent à une **séquence signale**, ça va enclencher un signal, quelque chose que ribosome va reconnaître et qui va complètement changer la destinée de ce ribosome.
- 3) Une fois que la **séquence signale** commence à être traduite (donc qui sort de la grande sous-unité de ribosome), la propriété de la séquence fait qu'elle va interagir avec une protéine qui s'appelle **SRP** (en vert) (attention, ce ne sont pas les autres protéines mais que les protéines avec une séquence signale)
- 4) SRP va interagir avec un **récepteur** qui est présent dans la membrane du réticulum = le **récepteur SRP** qui va donc attacher le ribosome sur la face cytosolique du RE
- 5) Le ribosome continue son travail, il continue à synthétiser la protéine, et comme il est attaché à la membrane, il va être en contact avec une autre structure de la membrane du RE (sorte de petit canal) qui s'appelle un **translocon**. Il peut être soit **fermé** (canal ne laisse rien passé), soit **ouvert** en présence de **ribosome**. Le translocon est intéressant parce qu'il va créer un **canal hydrophile** pour pouvoir faire passer toute la protéine, mêmes les parties **hydrophiles** (c'est pour ça qu'on a des protéines hydrophiles à l'extérieur car elles profitent de ce canal pour passer).
- 6) La séquence signale va donc d'abord traverser le translocon, arriver **vers la lumière** du réticulum où là, sur le **feuillet interne** de la membrane du RE, il y a la **signal peptidase**.
- 7) Dès que la séquence signale rentre dans la lumière, la peptidase agit (ce qui explique la différence de migration des protéines) mais la synthèse de la protéine continue, jusqu'à ce que la séquence **stop signal**, qui elle est **hydrophobe**, soit traduite.
- 8) Cela va **libérer** la protéine du translocon



- 9) Le ribosome va continuer sa synthèse du côté **C-terminal de la protéine** (reste du côté cytosolique) et le translocon va pouvoir agir pour faire une autre protéine.

Conseil : suivez sur le schéma, à l'écrit comme ça c'est compliqué à comprendre

Conclusion : On a ainsi le récepteur tel qu'il est ancré **en une seule fois** dans la membrane avec le **N-terminal** du côté de la lumière du réticulum

PRENEZ UNE PAUSE POUR VOTRE SANTÉ MENATLE !!!!!

Cette partie est dure, longue et c'est pas la plus intéressante... mais vous inquiétez pas le meilleur est à venir

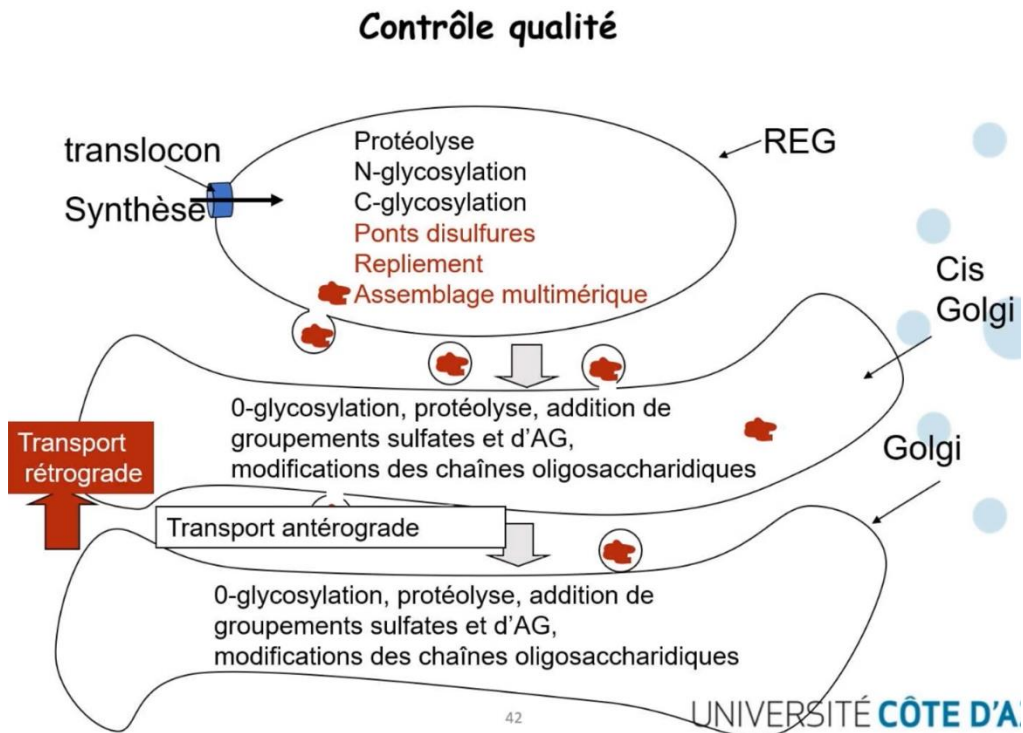
*Aussi, j'ai essayé de fusionner la ronéo vidéo et la ronéo présenteielle en enlevant les répétitions
J'ai essayé d'être la plus claire et concise sans oublier de détails*

Vous êtes fatigués, je suis fatiguée, mais il faut continuer...

TRANSPORT VÉSICULAIRE

1. Le flux vectoriel permanent - l'exocytose

1) Généralités



Série d'étapes pour la synthèse des protéines :

La protéine se trouvant dans le RE n'est pas encore fonctionnelle : elle doit subir des étapes de maturation, au cours de son voyage dans le SEM :

REG → **Golgi** → **endosomes** → **vésicules d'exocytose**.

Ces événements ne concernent pas toutes les protéines, mais selon les particularités de séquence de chacune.

Tout part du **translocon** dans le RE et déjà se met en place une série de changements de la chaîne polypeptidique.

Il peut y avoir :

- des **protéolyse**s : pour la cliver (pas pour détruire la prot)
- **additions de sucre** en C-ter ou N-ter
- formation de **ponts di-sulfures**
- **contrôle qualité** de son repliement en structure tertiaire voire quaternaire
- assemblages **multimériques**

Seulement si la protéine est **correctement** modifiée dans le RE, elle est entourée par des vésicules de membrane qui vont se détacher du RE et s'associer au début de l'appareil de Golgi – le **Cis-Golgi** où elle subit d'autres modifications spécifiques de ces compartiments.

C'est bien le transport **antérograde** - où s'opèrent des modifications biochimiques :

- ❖ Des O-glycosylations
- ❖ Des protéolyses
- ❖ Des additions de groupements sulfate et d'AG
- ❖ Des modifications de la chaîne oligosaccharidique

Contrairement au RE, dans l'appareil de Golgi les protéines **mal-maturée** ça peut retourner **en arrière** pour recommencer l'étape via **transport rétrograde**

2) Les vésicules d'exocytose

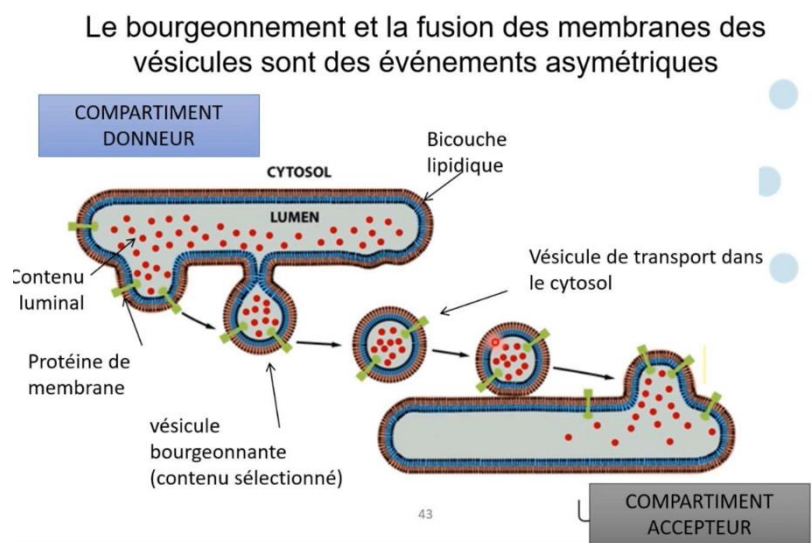
Au cœur de ce processus, il y a le **transport vésiculaire** :

→ Bourgeonnement de la membrane d'un compartiment **donneur** vers un compartiment **accepteur**.

⇒ Passage dans le cytosol – où la vésicule reconnaît son compartiment cible

C'est la façon que la cellule a trouvé de faire voyager ses protéines en cours de maturation.

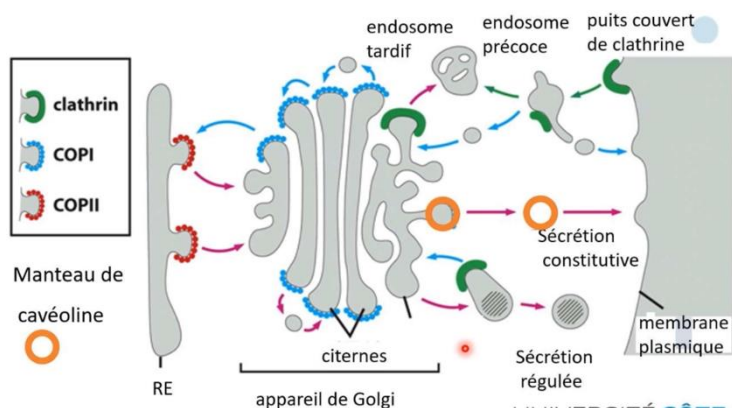
Processus extrêmement complexe – et régulée par des déterminants moléculaires spécifiques qui leur confèrent une directionnalité dans ce flux



La complexité explique le fait qu'il faut une série de **molécules protéiques** qui recouvrent ces vésicules

Ce sont des **protéines membranaires** qui vont conférer cette spécificité directionnelle.

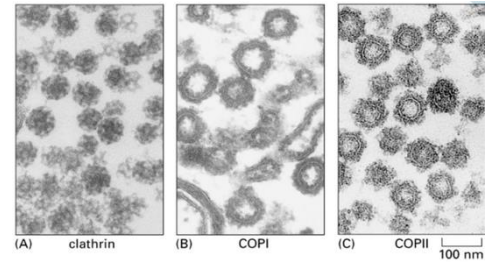
Les **manteaux protéiques** vont déterminer la directionnalité de la vésicule dans le sens **antérograde** ou **rétrograde**.



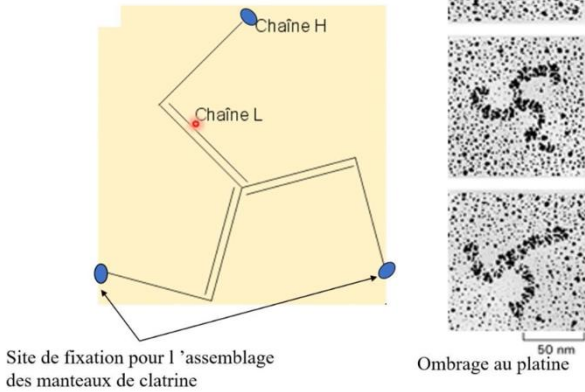
Dans le **flux antérograde** qui part du RE, les vésicules formées vont être entourées d'un manteau nommé **COPII** qui va donc permettre aux vésicules de **fusionner** avec les premières citernes de l'appareil de Golgi, lui-même recouvert de molécules de **COPI**.

Ces vésicules vont donc passer entre les différentes citernes du Golgi pour arriver dans le **TRANS-Golgi**

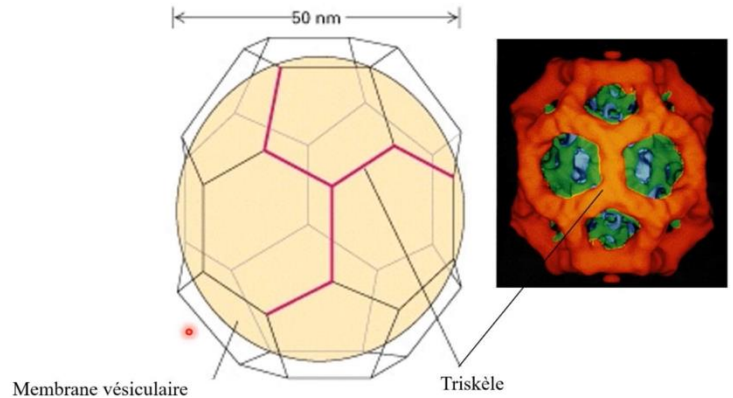
Les vésicules une fois arrivées au niveau des **endosomes** peuvent être recouvertes de **clathrine+++** : signal pour les amener vers la membrane plasmique. Il peut encore y avoir d'autres protéines manteau... ex. la **cavéoline**.



Exemple de manteau : la clathrine avec une Unité de base trimérique = triskèle (symbole celte du mouvement perpétuel)



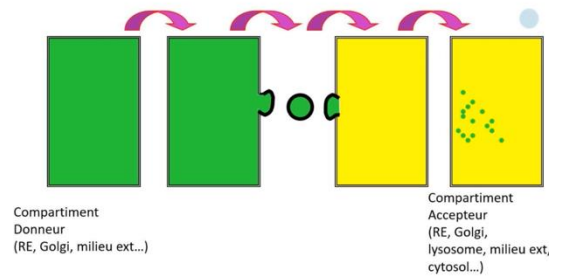
Structure d'une vésicule mantelée
manteau = assemblage de 36 triskèles en 12 pentagones



La fusion : au cœur du trafic membranaire

Toutes les informations ne sont pas dans les manteaux protéiques, il y a besoin de **beaucoup** d'autres signaux pour adresser la vésicule. Il y a des **systèmes de reconnaissance** de ces vésicules, essentielles pour leur **fusion** sur le compartiment donneur.

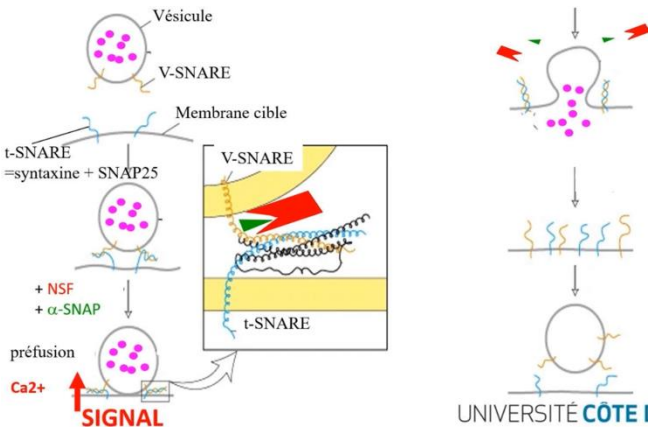
Ex : protéines **V-SNARES et T-SNARES (target)** qui doivent s'associer pour arrimer les vésicules sur les compartiments cibles.



Les étapes de la fusion 4- recyclage

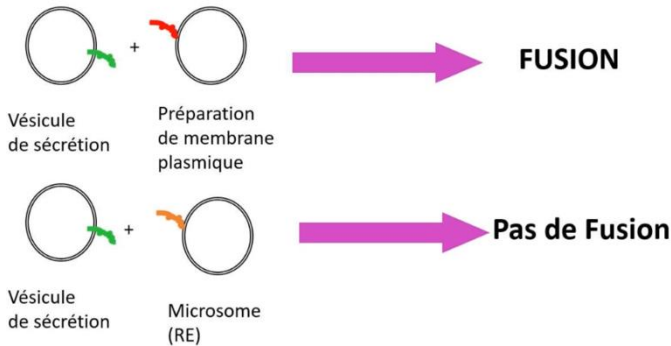
Étapes de la fusion :

1. Reconnaissance de ce **couple V-SNARE / T-SNARE** basés sur la reconnaissance protéine-protéine
2. **Arrimage** de la vésicule : la fusion n'a pas encore eu lieu
D'autres **cofacteurs** sont indispensables (NFS + alpha-SNAP) et forment le complexe d'arrimage sur la membrane du compartiment cible = **la préfusion**
3. Au stade 1, la vésicule peut rester un certain temps = **fusion régulée**



Exemple : c'est le cas pour décharger les neurotransmetteurs au niveau de la synapse. Si un signal cellulaire est donné (flux de calcium, GTP, AMPc... toutes ces petites molécules de signalisation qui donnent le signal), il va y avoir une fusion complète avec la libération du contenu des vésicules dans le compartiment accepteur. Les protéines sont ensuite recyclées pour recommencer. Les neurones sont un bon exemple du couplage transport antérograde/transport rétrograde.

Des couples t-SNARE /v-SNARE sont spécifiques d'un type de fusion



La spécificité du couple V-SNARE / T-SNARE peut être étudiée en laboratoire :

- On peut très bien avoir des vésicules de sécrétion avec différents types de couples V-SNARE / T-SNARE et vérifier s'il y a une fusion ou pas.

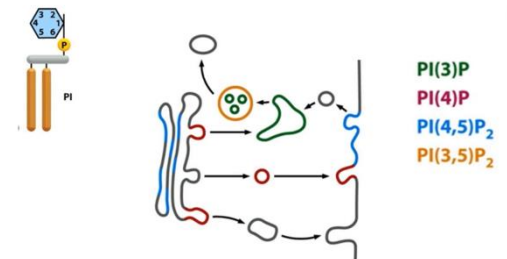
Ce sont des systèmes tellement importants que d'autres niveaux de reconnaissance moléculaire sont essentiels

⇒ Les lipides jouent un rôle essentiel, notamment dans la distribution intracellulaire des phosphoinositides

(Les noms des différents phosphoinositides ne sont pas à apprendre <3)

Ce schéma permet juste de voir selon la couleur, leur localisation dans le transport endomembranaire qui fait partie des signaux qui confèrent cette directionnalité et cette fonctionnalité à ce transport

Le transport vésiculaire est aussi régulé par la distribution intracellulaire des phosphoinositides (PI) dans les membranes



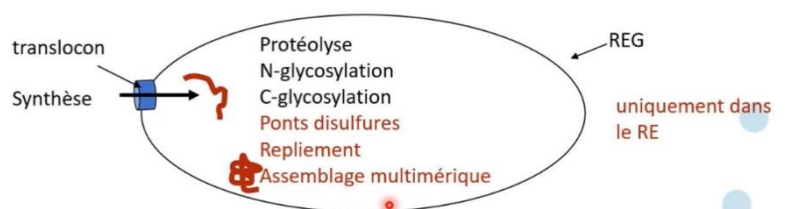
3) Contrôle des protéines

Retour au début du voyage de la protéine...

On est dans le RE.

Les 3 dernières modifications dans le schéma (en rouge) sont effectuées uniquement dans le RE.

Principales modifications post-traductionnelles dans REG



a) Le contrôle de qualité

Certaines protéines sont mal maturées, le passage dans le RE est donc un point de contrôle **ESSENTIEL** +++ pour que la cellule fonctionne et qu'on ne soit pas malade. Ce contrôle est un système extrêmement complexe

Exemple pour le repliement des protéines : la séquence de la protéine détermine sa structure tridimensionnelle et celle-ci peut se former spontanément après sa synthèse lorsqu'elle est dans la lumière du RE. Cependant, elle peut parfois mal se replier et si les protéines mal repliées (une minorité) perdurent, cela crée des problèmes délétères pour la fonction de la cellule.

Il est donc vraiment important de s'en débarrasser mais faut-il encore les reconnaître.

Pour cela, il existe le système de réponse aux protéines mal foldées ou UPR.+++++

Dès que la cellule détecte des protéines mal foldées :

- o Elle **diminue** la **synthèse protéique globale** (=appuie sur la pédale de frein)
- o Elle **augmente** la **synthèse des protéines chaperonnes** qui les aident à se structurer
- o Elle **dégrade** celles qui sont **résistantes au bon repliement**

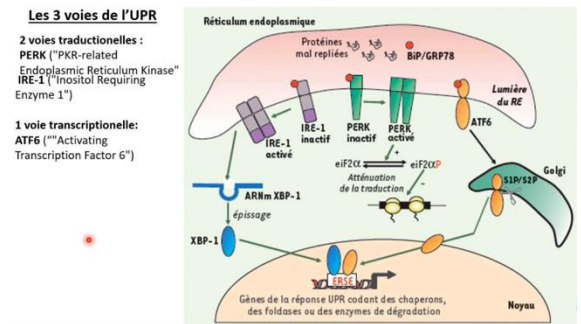
La cellule est donc capable de reconnaître ces protéines mal repliées grâce à des protéines spécifiques comme BiP/GRP78 dans le RE (Les noms ne sont pas à retenir)

On distingue **3 voies** de l'UPR :

- **2 voies traductionnelles PERK** : modifications de la synthèse protéique globale de la cellule et activation des chaperonnes par un système complexe faisant intervenir des **ARNm** ainsi que le système **IRE1** qui agit en parallèle
 → Permet l'activation de la synthèse de chaperonnes, de foldases ou d'enzymes de dégradation (qui agissent ensuite sur ces mauvaises protéines).
- **1 voie transcriptionnelle** régulée par le facteur de transcription **ATF6**

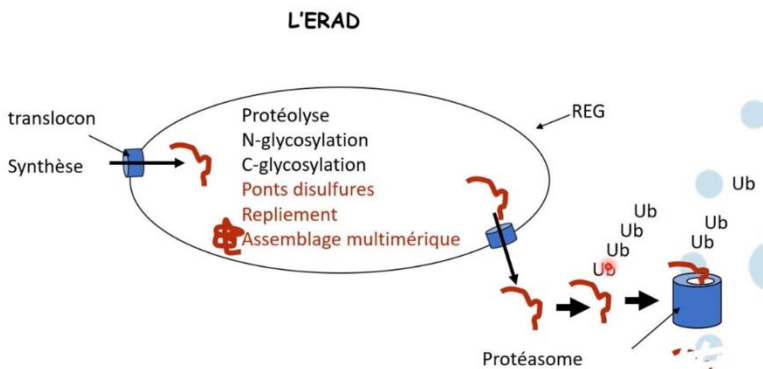
Quand le repliement des protéines dans le REG est inhibé ou se fait mal, la cellule déclenche l'UPR ("Unfolded Protein Response") :

- Diminution de la synthèse protéique
- augmentation de la synthèse des protéines "chaperonnes"
- dégradation des protéines mal repliées (ERAD : ER-association protein degradation)



Si malgré ce système UPR la protéine est retissante (les chaperonnes n'ont pas été suffisamment efficaces pour rattraper le mauvais repliement de la protéine), la cellule va « décider » de l'éliminer :

- ✓ La protéine va alors être **expulsée du RE** en empruntant le **translocon**, se retrouver dans le **cytosol** et être prise en charge par le **système du protéasome**.



- ✓ Pour cela, la protéine nécessite d'être marquée par l'ajout de petits peptides = **l'ubiquitine**, et cette protéine poly-ubiquitinylée est le signal qui dit à certaines structures du cytosol de la **dégrader**. La protéine va ainsi être dirigée vers le **protéasome** (petite usine cylindrique de dégradation) et se retrouve dégradée en acides aminés

Anecdote : Ce système de dégradation des protéines est une grande découverte en biologie et a valu un Prix Nobel de chimie à ses découvreurs en 2004.

b) Généralités sur la dégradation des protéines

Le système qu'on vient de voir n'est pas le seul, il existe plus largement un ensemble de systèmes dans la cellule qui procèdent à la dégradation des protéines.

On distingue **4 types** de dégradation :

- **Protéasome** = dégradation spécifique (à cause du signal)
- **Protéases digestives** = non spécifiques (dans les intestins)
- **Lysosomes** = activité enzymatique active en pH acide
- **Apoptose** = protéases dont les caspases (spécifiques pour la mort programmée)

c) Focus sur le protéasome

Étape 1 : processus d'ubiquitination

Il se fait par une série d'activités enzymatiques E1, E2, E3

- E1 **active** l'ubiquitine (petit peptide)
- E2 la **conjugue** à la protéine cible avec l'**ubiquitine ligase** (E3).

Ce phénomène peut se répéter plusieurs fois donc la protéine cible à dégrader est **poly-ubiquitinylée** et c'est ce qui sert de signal pour **rentrer dans le protéasome**.

Étape 2 : dégradation par le protéasome

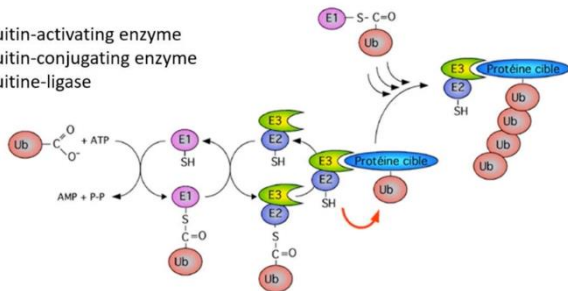
Le protéasome est un système cylindrique avec **unités catalytiques** (protéines) qui **digèrent** la protéine poly- ubiquitinylée en petits peptides d'environ 8 AA.

Généralités sur la dégradation des protéines

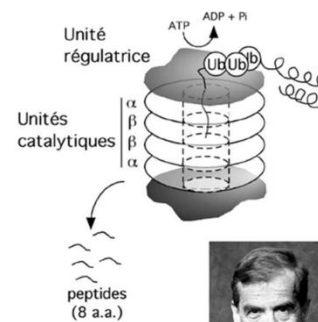
- Protéase digestive (chymotrypsine, pepsine, trypsine etc...) non spécifique
- **protéasome, spécifique**
- lysosome, non spécifique
- apoptose (caspase), spécifique

- étape 1 : Processus d'ubiquitination

E1, ubiquitin-activating enzyme
E2, ubiquitin-conjugating enzyme
E3, ubiquitine-ligase



-Etape 2 : dégradation par le protéasome



d) Maturation dans le Golgi

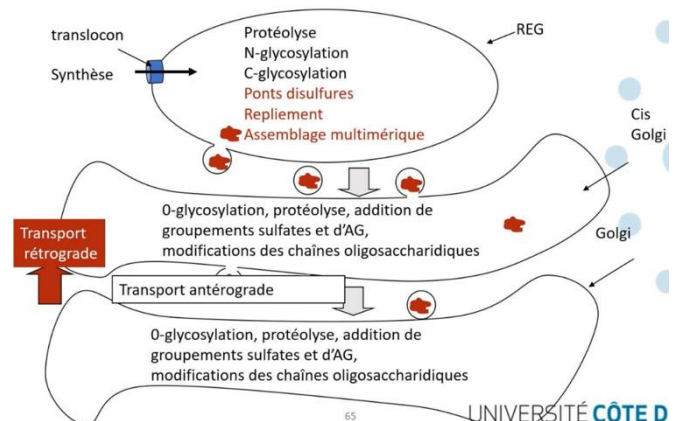
Tout ça si la protéine est mal modifiée/repliée... mais si tout se passe bien, on continue le parcours... (on suit le voyage de la protéine)

La protéine va dans le **Cis-Golgi** où elle continue ses **modifications post-traductionnelles**.

Encore une fois, il y a des **contrôles qualité** et si ces modifications ne se font pas, la protéine revient à l'**étape précédente** (=RE) en empruntant le **transport rétrograde** pour être correctement modifiée (sinon elle est **détruite**).

On arrive à la **sortie** du Golgi qu'on appelle le **réseau trans-golgien** ou **Trans-Golgi**. C'est une citerne **différente** par rapport aux autres du Golgi

→ On a une **acidification** du contenu de la lumière du Trans-Golgi qui le rapproche du **pH des endosomes** et des **lysosomes**. Cette baisse du pH progressive se fait grâce à des **ATPases à protons** de la membrane, des **phosphatases acides** (comme dans les lysosomes).



Le **Trans-Golgi** est comme un **carrefour**. Pour sortir, il y a **deux voies** de sécrétion :

Cette partie

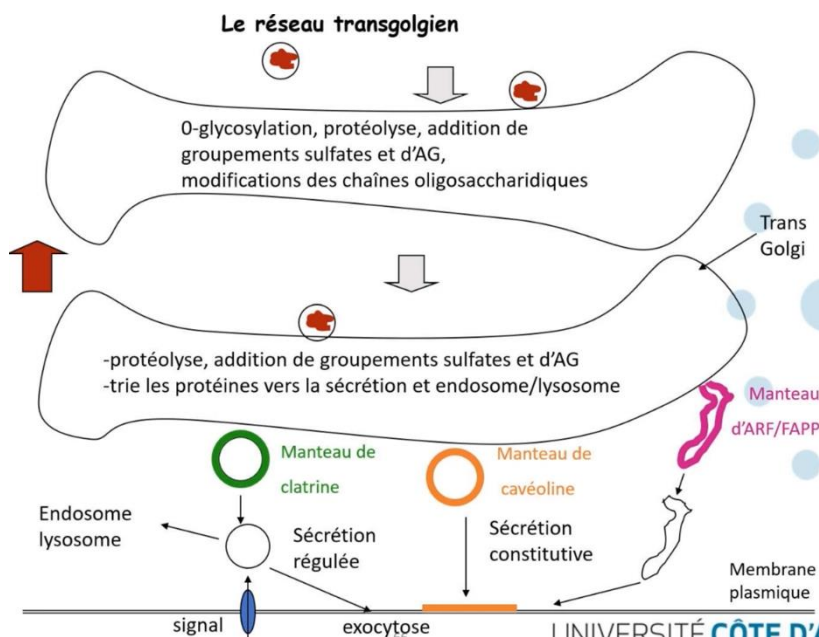
♥ Soit **constitutive +++** elle a lieu **tout le temps** et les vésicules de sécrétion sont entourées du manteau de **cavéoline+++**

♥ Soit en **sécrétion régulée +++** : ce sont des **vésicules particulières** dont la **fusion** à la membrane plasmique est régulée par **un signal** (ex : flux calcique) ou des **médiateurs de la transduction** du signal (AMPC) et les vésicules sont entourées de **clathrine++++**.

→ La voie de la **sécrétion constitutive** est **commune à toutes les cellules** de l'organisme. Elle est caractérisée par un **flux constant** des vésicules de transport du **Trans-Golgi** vers la **membrane plasmique (MP)**, avec laquelle elles fusionnent par **exocytose**. La membrane de la vésicule **s'incorpore** à la MP dont elle assure le **renouvellement**. On lui apporte de **nouveaux constituants** synthétisés au cours de ce flux vectoriel (protéiques et lipidiques) tandis que le contenu vésiculaire se déverse dans le **milieu extracellulaire**.

→ La **voie de sécrétion régulée** est propre aux **cellules sécrétrices**. Ce sont des cellules spécialisées dans l'activité sécrétoire d'hormones, de neurotransmetteurs... Elles appartiennent à différentes familles tissulaires (ex : tissu conjonctif, tissu neuronal), des populations **cellulaires libres** (ex : cellules myoendocrines, cellules myoépithélioïdes, cellules épithéliales). On appelle **cellules glandulaires** les cellules sécrétrices **d'origine épithéliale** (peuvent être isolées dans un épithélium de revêtement ou en amas) (*ça c'est de l'histo, vous verrez au S2*)

Le matériel destiné aux **endosomes et lysosomes** sont dans des vésicules entourées d'un manteau de **clathrine + protéines d'adaptations** (les adaptines).



11. Le flux vectoriel permanent - l'endocytose

1) Généralités

C'est la **réaction reverse**.

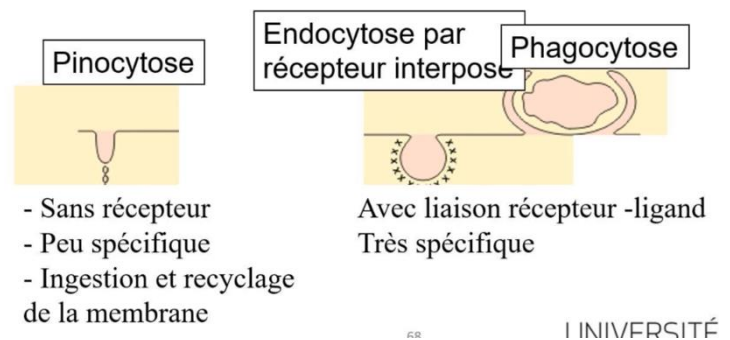
Endocytose : **invagination** de la membrane plasmique pour capturer des **constituants extracellulaires** (liquides, macromolécules, particules) qui vont rejoindre le SEM.

On distingue différents types d'endocytoses en fonction du type de **molécules capturées** par la cellule et de la **spécificité**.

Il en existe 3 types :

- La **pinocytose** : phénomène **d'endocytose** qui est **peu spécifique, sans récepteur** -> ce sont de **toutes petites invaginations** de la **membrane plasmique** qui va permettre un **recyclage** de la membrane en continu.

Ex : un macrophage va recycler toute sa membrane toutes les 30 minutes par pinocytose car ces vésicules qui vont se retrouver dans le cytosol vont être dégradées donc d'autres vésicules venant par exocytose vont venir les remplacer, ça fait un **cycle de renouvellement** qui est essentiel pour le recyclage de la membrane mais aussi pour ingérer un certain nombre de constituants présents dans le milieu extracellulaire. C'est **continu, permanent, peu spécifique** et **sans récepteurs**.



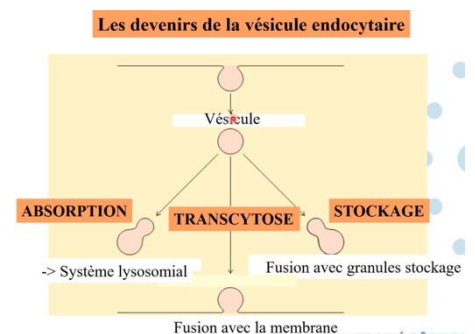
↳ **L'endocytose par récepteur interposé** : processus **très spécifique** -> la cellule ne va ingérer que des molécules **reconnues par des récepteurs spécifiques** de la membrane plasmique en fonction des besoins de la cellule.

↳ La **phagocytose** : **très spécifique** -> il s'agit de grosses molécules liées à des **récepteurs**, avec des destinées intracellulaires différentes.

Point commun à ces **3 modes d'endocytose** : **le devenir** → on se retrouve au carrefour **Trans-golgi**.

- **Absorption** : ces vésicules vont être dirigées vers le **système lysosomal à pH acide** et permettre l'**absorption de nutriments** nécessaires à la vie de la cellule.

- **Relai** : la cellule sert **d'intermédiaire** et la **vésicule** va traverser la cellule via le **cytosquelette** et **fusionner avec la membrane** de l'autre côté de la cellule, c'est ce que l'on appelle la **transcytose** (entre par endocytose et sort par exocytose).



- **Stockage** : la cellule va décider de **garder le contenu** de la vésicule pour le stocker en fonction de ses besoins, sous forme de **granules de stockage**.

2) L'absorption

Le système d'absorption qui peut emmener vers le système lysosomal

L'endocytose par rcp interposé est un **mécanisme de concentration** qui va permettre de concentrer **sélectivement** certains composés retrouvés à l'extérieur de la cellule avec une **augmentation** d'efficacité d'incorporation de **plus de 1000 fois** par rapport à un transport passif.

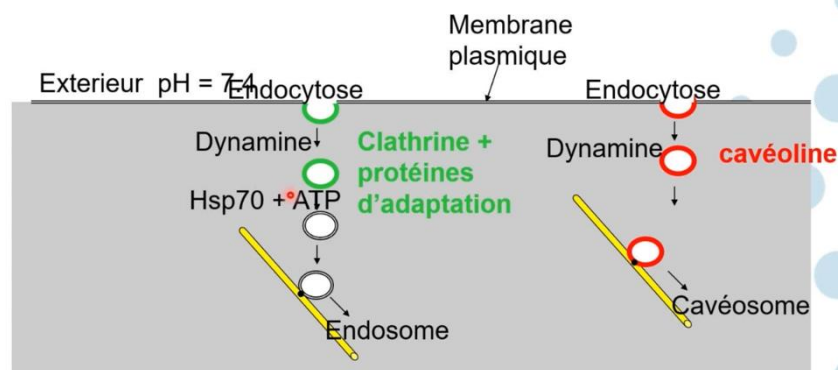
On distingue **l'endocytose** via les vésicules recouvertes de **clathrine** et via des vésicules recouvertes de **cavéoline** :

- La **clathrine** : de par sa propriété d'auto-assemblage, elle force la **déformation de la membrane** (si elle est activée par un rcp) et donne la **forme à la vésicule**. C'est un **phénomène actif** qui a besoin de protéines (**clathrine + adaptines**) qui forment la vésicule grâce aussi à une autre protéine, la **dynamine**. Donc **clathrine + adaptines + dynamine**

Dans une 2e réaction : la vésicule va être ensuite débarrassée de son **manteau de clathrine** grâce à l'intervention de petites protéines chaperonne **HSP70**, en **présence d'ATP**.

La vésicule, libérée de son manteau, va être prise en charge par le **réseau du cytosquelette** (tube jaune sur image) avec de moteurs qui va l'emmenner vers les **endosomes**.

Endocytose par récepteur



- L'endocytose avec un manteau de **cavéoline** est différente : elle commence de la même manière qu'avec la clathrine SAUF **qu'elle n'a pas besoin d'être ensuite enlevée** et c'est la vésicule avec cavéoline qui est amené vers le **cavéosome**.

Et après ???

On part d'un milieu extracellulaire avec un pH=7,4 et plus en avance dans le système endosomal, plus le **pH va diminuer grâce à des ATPases** à protons jusqu'à arriver au pH le plus bas au niveau de la lumière des **lysosomes** (pH=5)

Pour la clathrine :

Une partie du matériel est transporté **vers les lysosomes** en fonction du contenu de la vésicule :

♥ Elle arrive dans les **endosomes précoces** (manteau et vésicule recyclés)

♥ Elle est transportée vers les **endosomes tardifs**

♥ Elle finit dans les **lysosomes** où elle est **dégradée**

On a une **diminution du pH intraluminal progressive** avec un pH=7,4 pour les endosomes précoces, puis pH=6,5 pour les endosomes tardifs et enfin, pH=5 dans le lysosome

Pour la cavéoline :

La vésicule est apportée aux **cavéosomes** (forme particulière d'endosome) qui permettent de l'emmener directement au **RE** (transport rétrograde rapide) à partir duquel ses constituants vont être déversés le **cytosol** via le **translocon**.

Plusieurs chemins sont possibles : chemin vers le **lysosome**, chemin de la vésicule **sans manteau de clathrine** vers le **Trans-golgi** (en fonction des signaux propres à chaque vésicule)

Nous sommes à un carrefour puisqu'on a un mélange entre des **endosomes précoces, tardifs et le Trans-golgi**, entre les systèmes **antérogrades et rétrogrades**.

IMPORTANT : Les **endosomes** sont un carrefour entre la **membrane plasmique** et le **Trans-Golgi**. +++

Les vésicules du Trans-Golgi apportent entre autres les **enzymes solubles et membranaires** ainsi que les pompes à proton qui acidifient le milieu des systèmes **endosomaux tardifs et les lysosomes**.

Exemple n°1 pour illustrer tout cela (youpiiii) : Le transport du cholestérol

Le cholestérol est transporté dans le sang à travers des particules (vecteurs plasmatiques) qui s'appellent des **LDL** (low density protein).

Ce sont des petits agrégats qui associent des phospholipides, du cholestérol (environ 2000 molécules) et l'apoprotéine B (apo-B).

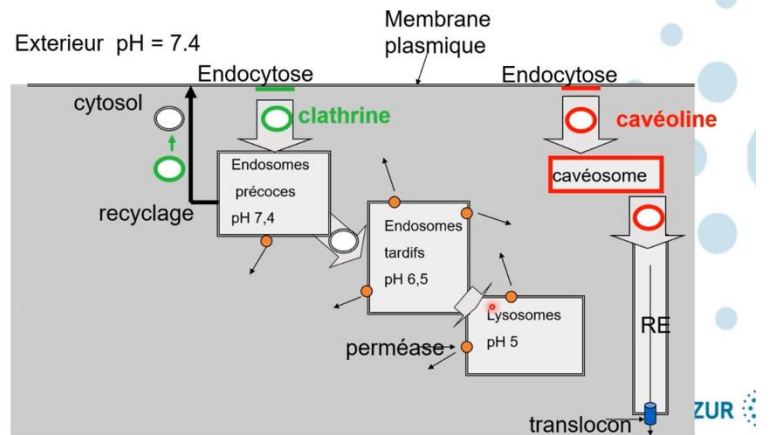
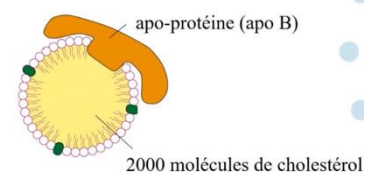
C'est dans le **foie** que ces molécules de LDL sont assemblées et transportées par voie sanguine vers les cellules qui en ont besoin.

C'est ce qui circule dans le sang.

Et si la cellule a **besoin de cholestérol** → les **LDL** sont **reconnues par des rcp** de la **membrane plasmique**.

Le récepteur LDL fixe et internalise les particules LDL contenant du cholestérol

- Particules LDL (*Low-Density Lipoprotein*)



Comment la cellule va récupérer le cholestérol dont elle a besoin ?

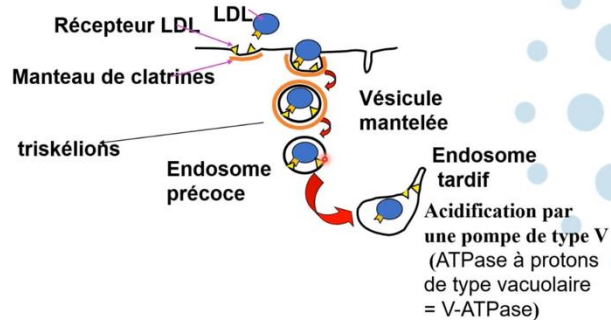
Il y a donc un **récepteur LDL** présent sur les cellules, c'est une **endocytose par récepteur interposé** avec manteau de **clathrine**.

Le pH acide des endosomes tardifs dissocie le ligand du récepteur

migrer de

1) Lorsqu'un rcp LDL reconnaît un LDL, il va dans les régions de la cellule recouverte clathrine.

La membrane se **déforme** à cause de l'**auto-assemblage de clathrine** et le **détachement de vésicule** mantelée implique la **dynamine**.



la

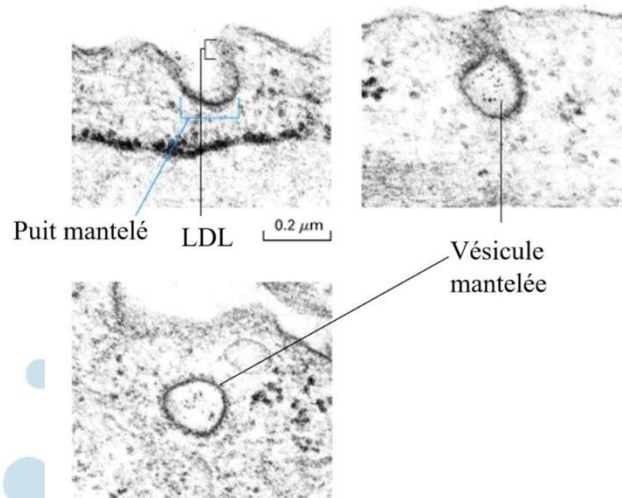
2) Ce manteau de clathrine va disparaître grâce à HSP70 et la vésicule va donc fusionner avec l'**endosome précoce**.

3) Cette particule va passer dans l'**endosome tardif** et, du fait de l'**acidification** du compartiment grâce à une **ATPase à proton de type vacuolaire** que l'on appelle une **V-ATPase**, le LDL va **se détacher** de son récepteur.

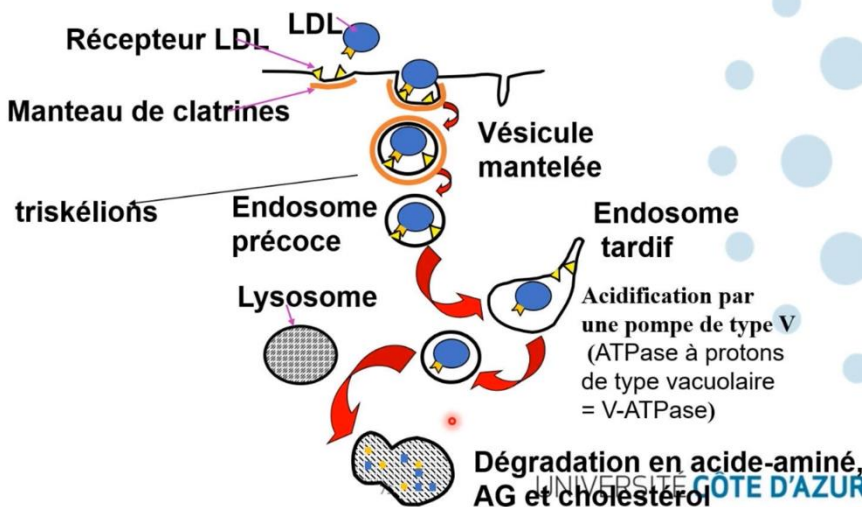
4) La vésicule sortant de l'endosome tardif va aller **vers le lysosome** et on aura une **dégradation** du cholestérol en **AA**, en **AG** et en **cholestérol**

La cellule va donc **digérer** et **assimiler** les constituants dont elle a besoin.

Illustration en ME : épaissement de la membrane plasmique avec la clathrine qui correspond à la vésicule mantelée + détachement de la vésicule mantelée grâce à la dynamine + démantelage grâce à HSP70.



Le pH acide des endosomes tardifs dissocie le ligand du récepteur



Exemple n°2 : Le transfert du fer

Le fer dans le plasma est reconnu par une **glycoprotéine** du plasma qui le transporte : la **transferrine**. **L'apotransferrine** est la forme **dépourvue de fer**, elle peut fixer 2 Fe³⁺ pour former la **ferritransferrine**. C'est la **transferrine** qui va transporter le fer, lorsqu'elle est associée au fer on la nomme ferritransferrine.

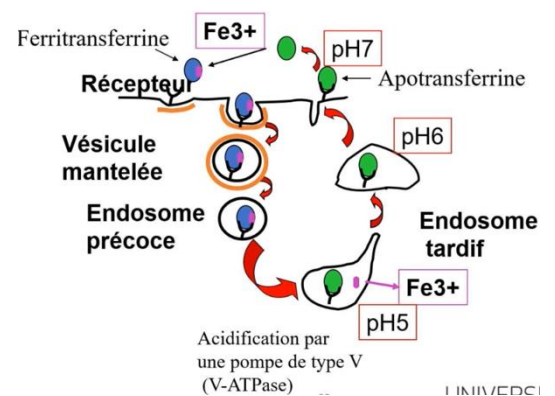


Toutes les cellules en croissance portent un rcp de transferrine (donc c'est la transferrine qui est reconnue) qui agrippe cette transferrine une fois le fer libéré dans les vésicules.

Elle va être reconnue par un récepteur spécifique, on a exactement le même processus que tout à l'heure

- 1) **Formation** d'une **vésicule mantelée**
- 2) Passage dans l'**endosome précoce**, ici, l'acidification liée au passage dans l'endosome tardif va libérer à la fois le récepteur et la transferrine
- 3) **Libération** du fer dans la lumière de l'endosome tardif qui va donc pouvoir être assimilé par la cellule
- 4) **Recyclage** à la fois du récepteur et de l'**apotransferrine** qui va pouvoir recommencer un cycle.

Le cycle transferrine



Tous ces **processus d'association-dissociation** sont **pH-dépendants** car lorsqu'on arrive à un pH 7 dans la cellule, on libère l'apotransferrine qui va être capable de transporter un nouvel atome de fer.

Focus sur la pompe à protons :

Chez les eucaryotes, les membranes des systèmes sécrétoires (Golgi, endosomes, vacuoles...) sont dotés d'une **V-ATPase – pompe à proton** – qui est apparentée à la **F-ATPase des mitochondries**. Mais ici réaction inverse : on concentre des **protons H+** au détriment d'une **hydrolyse d'ATP**.

- ❖ **V-ATPase** : on concentre des **protons H+** et ça demande de l'énergie.
- ❖ **F-ATPase** : on **crée de l'énergie** à partir de ce gradient de protons H+

En présence **d'hydrolyse de l'ATP**, on a une partie de la sous-unité qui se déforme ce qui va faire tourner une tige dans cette ATPase qui anime un **rotor** dans la sous-unité V₀ (formée de 3 sous-unités de 250kDa).

Cela est nécessaire au transport des **protons H+** vers la lumière du compartiment et est responsable de son **acidification**.

Conclusion : L'acidification progressive est donc due aux pompes à protons, les **V-ATPases** (si vous ne l'aviez pas encore compris)

Les V-ATPases comportent de nombreuses **homologies** avec les F-ATPases des mitochondries qui fonctionnent strictement de manière inverse. La formation d'un gradient de protons va faire tourner la F-ATPase en sens inverse et donc produire de l'ATP.

La grande partie de l'énergie de la cellule provient de l'action de ces **F-ATPase** qui fonctionnent dans la mitochondrie au niveau de la chaine respiratoire.

<p>V1 : 8 sous-unité 500 kDa</p> <p>V0 : 3 sous-unités 250 kDa</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dans la membrane des compartiments du SEM - Concentre les protons H⁺ à travers la membrane des compartiments à acidifier <p>→ Transport contre le gradient de concentration → Transport ACTIF ++</p>
<p>-> rotation en sens inverse</p> <p>F1 :</p> <p>F0 :</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dans les mitochondries - Produisent de l'énergie grâce au gradient de proton mitochondrial (créé par la phosphorylation oxydative)

3) La phagocytose

La **phagocytose** permet **l'ingestion de particules de grande taille** : débris cellulaires, bactéries, cellules âgées, infectées ou étrangères.

Système spécifique

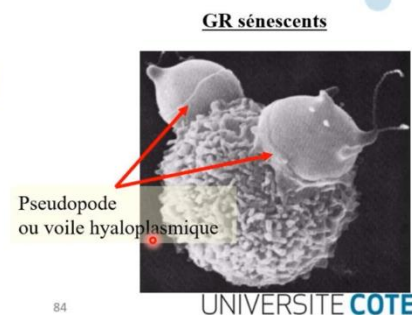
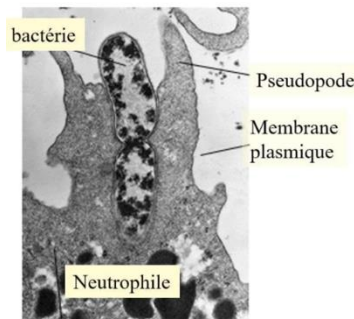
La phagocytose apparait comme un mécanisme de **nettoyage ou de défense** de l'organisme. Chez différents protozoaires ainsi que les cœlentérés, elle constitue par ailleurs une voie d'alimentation.

Les cellules spécialisées pour la phagocytose chez les vertébrés : les **macrophages +++** présents dans tous les **tissus conjonctifs** et les **cavités séreuses** (dérivent des monocytes circulants), les **polynucléaires neutrophiles** et **éosinophiles** mais **toutes les cellules** sont capables de faire la phagocytose△

Les particules à phagocyter se fixent à la membrane réceptive par des **rcp spécifiques**.

La constitution du **voile hyaloplasmique=pseudopodes** nécessite de **l'énergie** et le cytosquelette (toute la cellule s'investit). C'est un processus **extrêmement actif** (1011 globules rouges phagocytés chaque jour).

4) La transcytose



Elle intéresse les molécules qui rentrent par **endocytose**, ont un **transport orienté** avec participation du **cytosquelette** et qui sortent par **exocytose** vers un **autre côté** de la cellule. Elle permet de **transporter** du matériel du **milieu extérieur** vers **intérieur** et en **sens inverse**.

Exemple : le transport des **anticorps du lait maternel** chez le nouveau-né.

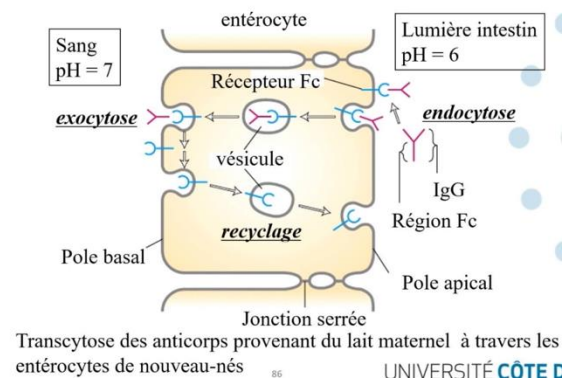
Au début, le bébé naît **incapable** de fabriquer ses **propres anticorps** donc ce sont les anticorps de la mère provenant du lait qui vont le protéger contre des agents infectieux jusqu'à ce qu'il fabrique son propre système immunitaire.

Les anticorps de la mère qui se trouvent dans la circulation sanguine vont passer dans le lait.

On suit toujours cette logique de modifications du pH dans différents compartiments :

- 1) Des anticorps de la mère se retrouvent (après allaitement) dans la **lumière intestinale** qui à **pH=6**
- 2) Ces anticorps vont être reconnus (partie Fc de l'Ig) par des **récepteurs** au niveau des entérocytes du nouveau-né
- 3) Ils vont donc être **endocytés** par des vésicules endocytaires et transportés par le cytosquelette vers **pôle basal** de l'entérocyte (la directionnalité est aussi conférée par l'organisation asymétrique de l'entérocyte avec un pôle basal et un pôle apical)
- 4) Le couple ac/rcp va être sécrété par **exocytose** et se retrouver au niveau du système sanguin **pH=7**, ce qui va libérer l'anticorps de son récepteur qui peut ainsi circuler dans le sang du bébé.

La transcytose



III. Les lysosomes

Les **lysosomes** fonctionnent à **pH acide** (vous l'aurez compris) et ils sont nécessaires à **l'activité des hydrolases** qui permettent la dégradation des molécules. En fonction des molécules qu'elles dégradent, elles ont différents noms.

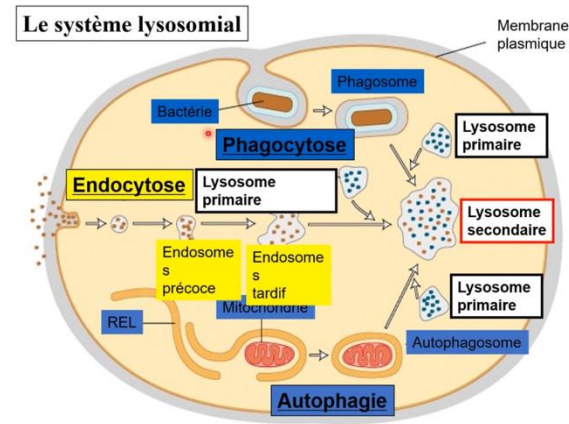
Ex : les **nucléases** dégradent les acides nucléiques, les **protéases** dégradent les protéines, **glycosidases** dégradent des glucides, les **lipases** dégradent les lipides, etc...)

Les lysosomes forment un compartiment de morphologie **assez hétérogène** : on distingue plusieurs sources de **formation** dans le système lysosomal.

On a une vue générale du système lysosomal avec les **3 portes d'entrée** pour les molécules à dégrader qui sont : **l'endocytose**, le **phagocytose** et **l'autophagie**.

Dans le système lysosomal on distingue **2 niveaux** :

- Le **lysosome primaire** : il n'a pas encore digéré le matériel (1ère étape pour le phagosome)
- Le **lysosome secondaire** : il est le **point de convergence** des 3 voies. Tous les lysosomes primaires vont **fusionner** ensemble pour former le lysosome secondaire où vont se produire toutes les réactions d'hydrolyse.



L'activité des lysosomes est **essentielle à la vie** de la cellule car elle permet à la fois de dégrader des constituants venant de **l'extérieur** (endocytose ou phagocytose), mais aussi de recycler tous les organites intracellulaires – ça c'est le rôle de **l'autophagie**.

A parte : **L'autophagie** (signifie littéralement « se manger soi-même ») cool.

Elle permet à la cellule de **renouveler** de manière **continue** ses **organites** régulièrement pour sa bonne santé.

C'est un système très bien conservé au cours de l'évolution et est essentiel pour **garder la qualité** des constituants.

L'autophagie peut être utilisée dans certains cas comme source **d'énergie alternative** comme en cas de privation de nutriments où elle peut en partie **s'autodigérer** pour renouveler ses constituants moléculaires.

Cette autophagie est essentielle. Elle peut produire des **maladies** et contribuer au **vieillessement** : les neurones sont des cellules qui n'ont **pas** (ou presque pas) la possibilité de se renouveler par des cellules souches ou progénitrices. Ainsi, la qualité de leurs constituants (RE, mitochondries, vésicules...) dépend d'autant plus de **l'autophagie**. Dans le **vieillessement cérébral**, on a une **diminution** de la capacité autophagique des neurones ce qui fait que les neurones vieillissent en parti parce qu'ils sont moins capables de faire une autophagie efficace.

IV. Les mitochondries

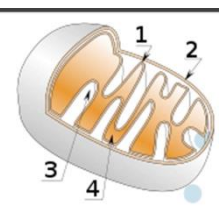
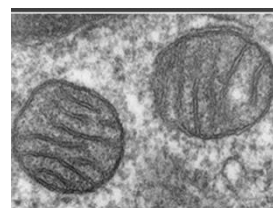
1) Généralités

On est en dehors du SEM – autre système de **membrane intracellulaire**. +++

Au repos, pour vous donner une idée, en tant qu'êtres vivants nous consommons à peu près comme, environ de **420kJ par heure**, ce qui correspond à une ampoule de **116W** qui serait constamment allumée. Cette **énergie provient des mitochondries**. C'est une énergie est contenue dans les liaisons moléculaires des métabolites de nos aliments, que la mitochondrie convertit en énergie sous forme d'**ATP** d'où son surnom de « **centrale énergétique de la cellule** ».

La mitochondrie, d'un point de vue plus structural, est composé d'une **double membrane**. La membrane externe et la membrane interne sont **très différentes** dans leur **composition** et dans leur **fonction**.

La membrane interne délimite l'espace matriciel.



- 1 : membrane interne.
- 2 : membrane externe.
- 3 : crete.
- 4 : espace matricielle ou matrice

- ⇒ La **membrane externe** est **perméable** à toutes les molécules de petites tailles (10 000 Da ou moins) grâce à la présence de protéines **transmembranaires** spécialisées dans le transport de molécules que l'on appelle les **porines**. Elles transportent des anions, cations, AG, pyruvate, nucléotides etc... Elle contient également des **translocases** qui sont des transporteurs protéiques plus spécifiques et spécialisés dans l'importation des protéines.
- ⇒ La **membrane interne** est beaucoup **moins** perméable que la membrane externe. Elle se replie pour former de **nombreuses crêtes** qui ont pour conséquence **d'augmenter sa surface totale**. C'est sur cette surface totale que s'effectue ces réactions de **phosphorylations oxydatives** et de **production d'énergie**. La composition lipidique de la membrane interne contient une majorité de phosphatidylcholine et de cardiolipides.

Dans cette membrane, on trouve la **chaîne respiratoire** de **transporteurs d'électron** responsable de la **phosphorylation oxydative**, l'**ATP synthase** et de nombreux transporteurs qui assurent le passage de nombreux éléments comme le **pyruvate**, les **AG**, l'**ATP**, l'**ADP** et les composés nécessaires à la production d'énergie.

La **membrane interne** contient aussi des **translocases** impliquées dans l'**import** des protéines dans la mitochondrie, extrêmement spécifiques.

Dans l'**espace matriciel** (à l'intérieur de la mitochondrie), on trouve un mélange très concentré de **nombreuses enzymes** dont celles nécessaires à l'oxydation du pyruvate et des AG et au cycle de l'acide citrique (= cycle de Krebs).

Les mitochondries renferment également de **nombreuses copies identiques d'ADN** (l'ADN n'est pas l'apanage du noyau, il est donc extranucléaire) : le **génom mitochondrial** ainsi que les protéines nécessaires à sa transcription en ARNm et à sa traduction en protéines.

La mitochondrie peut **synthétiser** une partie de ses **protéines** et elle a la capacité de **synthétiser** une partie de ses **constituants**.

Une mitochondrie ne peut provenir que de la croissance et de la division d'une mitochondrie déjà existante (comme une cellule dans une cellule).

Avant la division cellulaire la mitochondrie **double sa masse** puis **se scinde** en deux. Elles peuvent aussi **fusionner** entre elles.

Les divisions peuvent avoir lieu pendant toute l'interphase, la réplication de l'ADN mitochondrial n'est pas limitée à la phase S et se produit un peu tout le temps.

- ⇒ Il y a donc un **découplage entre la réplication de l'ADN nucléaire et mitochondrial**. ++++

C'est un compartiment **extrêmement dynamique** et le **nombre de mitochondries par cellules** est régulé par l'**activité cellulaire**.

Exemple : une cellule musculaire au repos contient 5 à 10 fois moins de mitochondries qu'une cellule musculaire activée en permanence.

Le fait que la mitochondrie possède son **ADN propre** indique une origine **exogène** à la cellule eucaryote. Il est maintenant admis que les mitochondries proviennent l'**endosymbiose** d'une alphaprotéobactérie il y a environ 2 milliards d'années.

Il semble qu'au cours de l'évolution, l'ADN originel de la bactérie ait subi **diverses modifications**, a **perdu** un grand nombre de gènes et a parfois transféré **certaines gènes dans l'ADN de la cellule hôte**. En effet, il y a des **traces de gènes mitochondriaux** dans les gènes du **noyau**.

Parallèlement, il y a eu un développement de translocases, enzymes permettant le transfert de ces protéines vers la matrice mitochondriale. Cela veut dire que toutes les protéines de la mitochondrie ne sont **pas** synthétisées par l'ADN mitochondrial. (= un peu des deux)

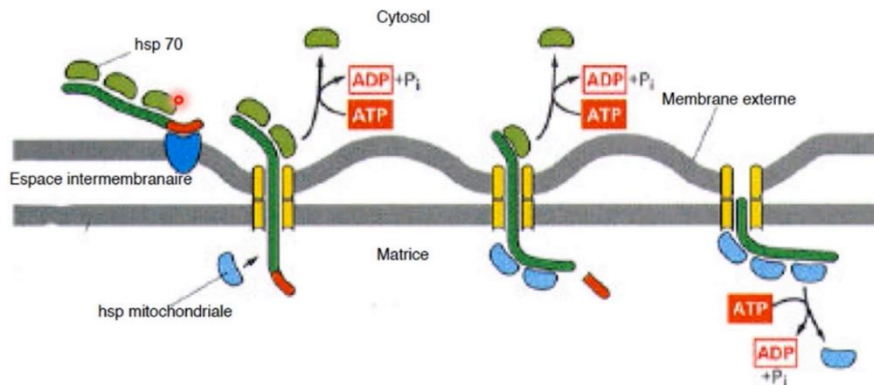
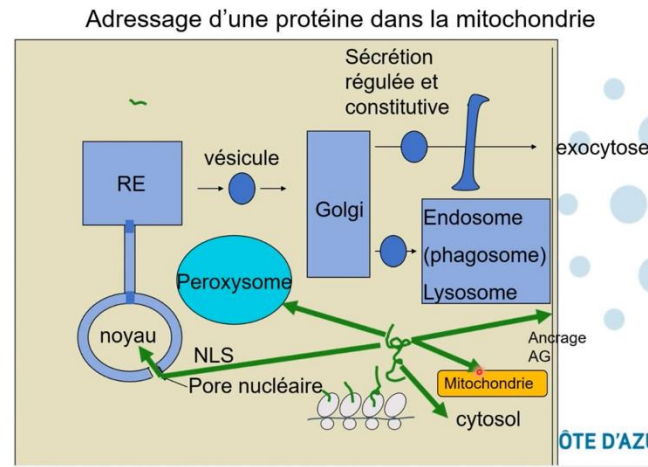
2) Adressage d'une protéine dans la mitochondrie

Dans le cas de l'adressage dans les mitochondries, on n'a pas d'une **séquence signal** qui amène au RE. La protéine est **synthétisée dans le cytosol** et elle va être **adressée à la mitochondrie**.

Une partie de ces protéines est **directement synthétisée par l'ADN mitochondrial**, c'est ce qu'on appelle « la **protéosynthèse mitochondriale** » mais ça ne correspond qu'à un nombre restreint de protéines (1 à 10 %).

La **grande majorité** des protéines mitochondriales (300 protéines différentes) sont codées à partir du **génome nucléaire** et sont importées à partir du **cytosol** par des **translocases**.

Les protéines qui ont été **synthétisées dans le cytosol** sont **transformées** dans la matrice sur des sites de contact entre la membrane externe et la membrane interne.

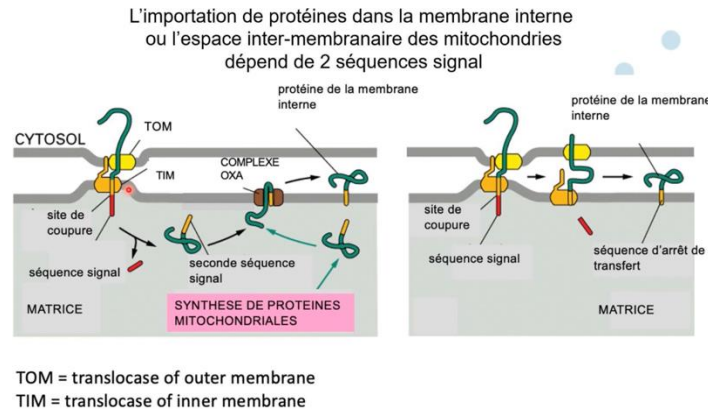


- ✓ Le transfert nécessite la présence d'une **séquence N-terminale** (différente de celle du peptide signal pour le RE) et il va **consommer de l'ATP**. On a aussi l'intervention de la **protéine chaperonne HSP70**.
- ✓ La protéine est **déformée** pour pouvoir passer le pont entre la membrane externe et interne
- ✓ Une fois qu'elle arrive dans la **matrice mitochondriale**, elle est prise en charge par d'autres protéines chaperonnes, les **HSP mitochondriales**, qui clivent la séquence signal.
- ✓ Ainsi, la protéine va pouvoir **se reformer** à l'intérieur de la matrice.

La **translocation des protéines** peut avoir lieu avec des systèmes complexes **d'importation** dans la **membrane interne** ou **l'espace inter-membranaire**.

On a des systèmes d'adressage de la mitochondrie très complexes qui dépendent de deux séquences signales : **TOM** (translocase of outer membrane) et **TIM** (translocase of inner membrane)

- ⇒ **TOM** est la première porte d'entrée qui permet **l'importation** et le **tri** des protéines. Une partie restera dans les espaces intermembranaires.
- ⇒ Et une autre franchira le **2e tri** : **TIM** et ces protéines gagneront leur place dans la matrice
- ⇒ D'autres protéines, avec un **signal secondaire**, seront prises en charge par le **complexe OXA** qui permet la sortie de la matrice pour certaines protéines.

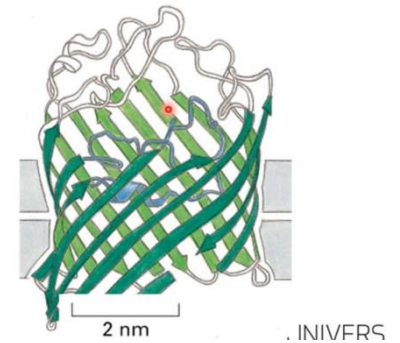


Au niveau de la **membrane externe**, on a des **porines** formées de feuillettes bêta pour la **diffusion passive** (sans énergie) de petits métabolites (AA, ions...).

La membrane externe des mitochondries contient de nombreuses molécules de porines

ATP, ADP, phosphate, acides gras, pyruvate,...

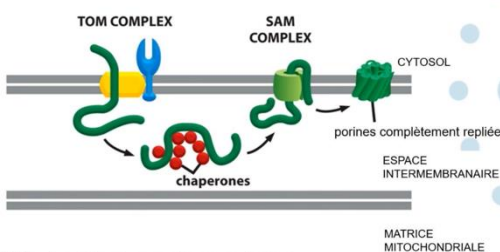
Certaines des porines mitochondriales sont appelées **VDAC (voltage dependant anion chanel)** et leur perméabilité est sensible au potentiel de membrane.



Dans les mitochondries, l'ouverture des porines par le déplacement des BCL2 et la libération du cytochrome est le facteur déclenchant de la mort cellulaire programmée = l'apoptose. (Meilleur cours)

→ **SAM** est un autre complexe d'adressage des protéines mitochondriales, qui **trie** et **assemble** les protéines de la membrane **externe** où elles gagnent ensuite leur place.

Les bactéries et les mitochondries utilisent un même mécanisme pour insérer les porines dans la membrane



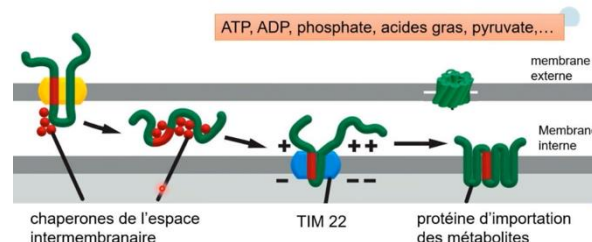
TOM = translocase outer membrane
SAM = Sorting and Assembly Machinery

Protéine arrive → prise en charge par **TOM** → passe dans la **matrice** → prise en charge par **SAM** si elle est destinée de la **membrane externe** (ex : porine) où elle va rester.

→ On a aussi les transporteurs de métabolites comme **TIM 22**

Ce transporteur permet **l'insertion de la protéine** à la membrane interne, notamment les protéines à **plusieurs domaines transmembranaires** qui vont servir de transporteurs pour les métabolites de manière **spécifique**.

Les transporteurs de métabolites doivent s'insérer dans la membrane interne des mitochondries



3) La chaîne respiratoire mitochondriale

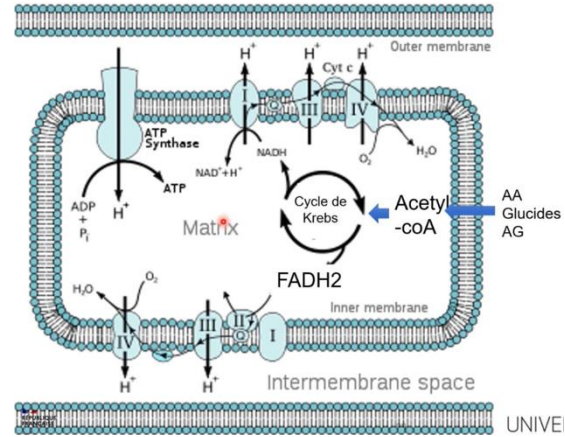
Ça, vous le voyez en bioch en mieux expliqué donc vous attardez pas

La **chaîne respiratoire** ou **chaîne de transport d'électrons** est constituée d'un ensemble complexe de protéines de **membrane interne** qui servent à **réoxyder le co-enzyme** réduit au cours du **cycle de Krebs**.

Cette chaîne est composée de **4 complexes protéiques** :

- ♥ **Complexe I** : NDAH co-enzyme oxydoréductase
- ♥ **Complexe II** : succinate co-enzyme oxydoréductase
- ♥ **Complexe III** : coenzyme Q cytochrome C oxydoréductase
- ♥ **Complexe IV** : cytochrome C oxydase

Le **co-enzyme Q ubiquinone** et le **cytochrome C** sont les **transporteurs mobiles** de la chaîne respiratoire.



4) Le génome des mitochondries

Encore une fois, le génome mitochondrial ne synthétise qu'une petite portion des protéines mais elles sont **essentielles**.

Quantité relative d'ADN mitochondrial dans différents tissus et cellules

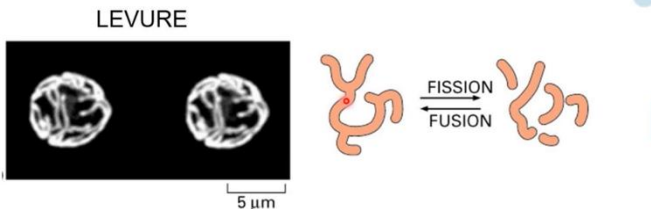
ORGANISME	TISSU OU TYPE CELLULAIRE	MOLECULES D'ADN PAR MITOCHONDRIE	MITOCHONDRIES PAR CELLULE	ADN MITOCHONDRIAL PAR RAPPORT A L'ADN NUCLEAIRE
RAT	foie	5-10	1000	1
LEVURE	végétatif	2-50	1-50	15
GRENOUILLE	œuf	5-10	10 ⁷	99

Le **nombre d'ADN mitochondrial** peut varier selon les cellules et les tissus.

Les mitochondries forment des assemblages variés et dynamiques

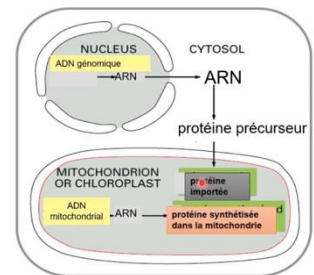
☺ **Exemple** : au niveau des cellules musculaires

La croissance, la fission et la fusion des mitochondries déterminent leur nombre dans les cellules

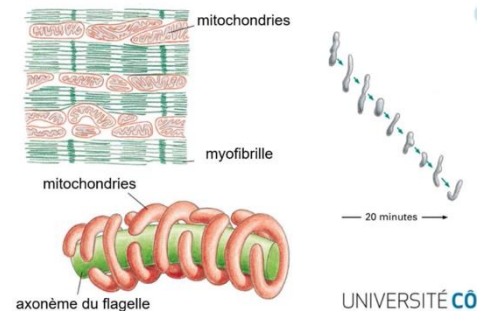


PHOTOGRAPHIES A 3 min D'INTERVALLE

Le génome des mitochondries



Les mitochondries forment des assemblages variés et sont dynamiques



Ce **dynamisme** peut être apprécié ici par **microscopie** : on voit des phénomènes de **fission** (mitochondries se séparent) ou de **fusion**. On n'a pas des mitochondries alignées mais un **véritable réseau très dynamique** !

5) Les autres fonctions des mitochondries

Ces mitochondries ne servent **pas uniquement** de centrales énergétiques de la cellule ! Elles ont bien d'autres fonctions, également liées à l'énergie, mais spécifiques aux mitochondries :

- Interviennent à différents niveaux dans le métabolisme des lipides
- Interviennent dans l'apoptose
- Contribuent au vieillissement des cellules et des organites (du fait de leur détérioration avec l'âge)

Il n'est alors pas étonnant qu'un certain nombre de **maladies**, notamment des maladies **génétiques rares**, touchent les mitochondries et **altèrent les séquences** de gènes qui déterminent la synthèse de protéines essentielles pour la mitochondrie.

On peut avoir des **défauts** dans des tissus qui sont **les plus sensibles** à la présence de mitochondries car ils demandent **beaucoup d'énergie**.

👉 Exemple : les muscles (myopathies), les neurones (maladies neurodégénératives), l'ataxie de Friedrich, la neuropathie optique de Leber....

V. Les peroxysomes

Les peroxysomes sont aussi un compartiment distinct du SEM+++ qui a aussi ses **propres** signaux d'adressages.

Comme les mitochondries, ce sont des organites spécialisés dans les **réactions oxydatives** utilisant l'**O₂**. Ce sont vraiment des organites du métabolisme ! Ils sont **ubiquitaires**, du moins chez les eucaryotes.

Ils sont entourés d'une membrane **unique** du type bicouche lipidique +++ (*attention, pas double membrane*) et ils ne possèdent **pas de gènes ni de machinerie** capable d'assurer la traduction : ils dépendent **uniquement** de protéines synthétisées à partir du cytoplasme +++.

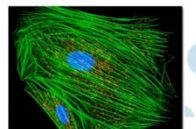
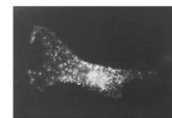
Les peroxysomes participent à la **respiration cellulaire** en consommant l'oxygène par des enzymes dites oxydatives. Leur nom provient de la capacité à produire du **peroxyde d'Hydrogène** ou **eau oxygénée (H₂O₂)**.

Ils se forment par auto-réplication (*et non à partir du Golgi comme les lysosomes*).

Fonctions des peroxysomes :

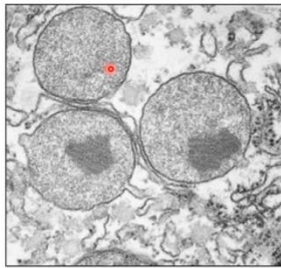
- **Métaboliques**
- **Oxydo-réduction**
- **Régulation** des capacités oxydo-réductives de la cellule

Comme les mitochondries, les peroxysomes sont des organelles spécialisées dans les réactions oxydatives utilisant l'O₂



- Organites entourés d'une seule membrane
- Présents dans toutes les cellules eucaryotes
- Absence de génome propre
- Fonctions
 - Utilisent l'O₂ et H₂O₂ pour réaliser des réactions d'oxydation et de détoxification (peroxydase et catalase)
 - β-oxydation des graisses (production d'acétyl-CoA)
 - Synthèse des plasmalogènes (myéline)
- Importation de protéines non dépliées à partir du cytosol (peroxines) et de lipides
- Organite s'auto-reproduisant par croissance suivie de fission

Para-cristaux d'urate-oxydase dans les peroxysomes d'hépatocyte de rat



Vue en ME à transmission 200 nm

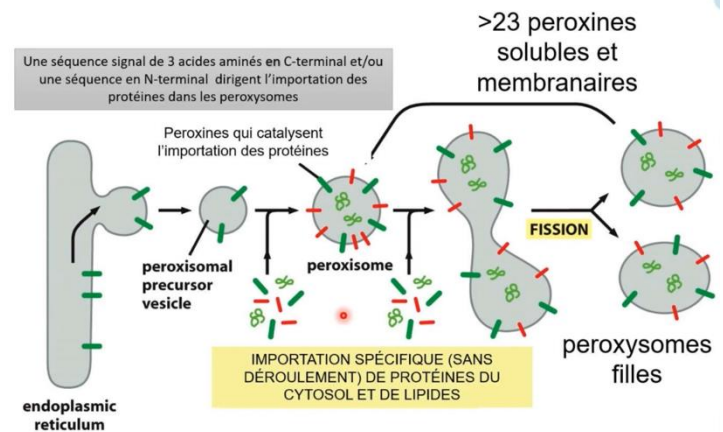
Ils sont sphériques avec un diamètre de 0,1 à 1 micron. Ils peuvent avoir un contenu granulaire parfois paracrystallin et un grand polymorphisme de taille, de nombre, de fonction...

Les nouveaux peroxysomes sont produits par le RE et par la fusion avec les peroxysomes préexistants

Les **nouveaux peroxysomes** peuvent être produits par le **RE** et **par fusion de peroxysomes existants**

L'importation de protéines dans le peroxysome dépend d'une séquence signal de 3 AA en C-ter et/ou une séquence en N-ter dirigeant l'importation.

On retrouve ici une vésicule précurseur – **le péroxyosome** – et l'importation des peroxydes.



Ce cours contient **ÉNORMÉMENT** d'infos, c'est vraiment un cours « fourre-tout ». Ne vous attardez pas sur des détails qui ne sont pas susceptibles de tomber à l'examen. Si vous êtes perdu.e.s à la première lecture c'est **NORMAL**. Faites des qcms à fond +++ et ça rentrera au fur et mesure.

Place aux dédiiis de ma dernière fiche (2) :

Dédis à vous les P1, on est mi-semestre et ça commence à être dur de maintenir le rythme. Surtout ne baissez pas les bras, maintenant que vous avez fait tout ça l'abandon n'est pas une option. Les tuteurs sont fiers de vous. Accrochez-vous, vous pourrez enfin décompresser pendant les vacances

Dédis au las2/3, j'étais à votre place l'année dernière, je sais à quel point c'est dur de refaire son année, vous êtes les plus forts, votre travail va payer

Dédis à mes fillottes, Lorena, Marie Lou et Sibyle et mon fillot officieux Lucas, courage vous allez y arriver

Dédis à mes parents que j'aime très fort, qui sont toujours aussi adorables et que j'ai hâte de revoir

Dédis à Camilia et Ophélie avec qui je ris et je mange à longueur de journée, à nous les distributeurs et la cantine

Dédis à Clémangue qui a aucun rythme et qui sait pas boxer, même si il a été pris en exemple en cours et qu'il a dead ça, t'es mon sdf préféré même si t'es gênant

En parlant de gêne, dédis à Matisticule, qui s'auto-proclame être le daron de la biocell... euuuuh, redescends stp

Dédis à mes vieux, Houcine, JP et Hugo mais aussi ma vieille vieille Chiara qui m'a donné des pin's gratuits (merci)

Dédis à Enzosmole mon garde du corps

Dédis à tous les tuteurs et chefs tuts, on se marre bien au tutorat (et on travaille bien aussi évidemment)

Dédis à Sara, j'ai hâte qu'on se revoie, tu mérites le meilleur dans ta vie (=moi)

Dédis à Lucile, tu m'impressionnes, t'as même plus besoin de mes conseils, t'es la boss for real

Dédis à Suzanne la reine du trafal, hâte de retourner dans ton loft de luxe pour jouer au loup-garou