

Compartiments

Membranaires

Pr Gilson 🇫🇷 - ECUE 1

By Maxencéphale ✨

Coucou mes bebousssss d'amour !!!!! On se retrouve pour un tout nouveau cours, j'appelle : compartiments membranaires (waow ça claque). Alors ce cours on dirait vraiment un cours de bioch mais en mieux puisqu'on est en biocell vous allez voir ! Ce cours c'est un peu la première partie de transport vésiculaire puisque le prof fait les deux en même temps mais vous allez voir que ça se ressemble pas de fou c'est pourquoi je vous avez fait transport vésiculaire à la TTR sans ce cours. Bref, trève de plaisanterie, on oublie pas pourquoi on est là et on se met au travail parce que pas de travail = pas de P2

PLAN DU COURS

I - Structure et biosynthèse

- A. Généralités
- B. Le flux membranaire vectoriel permanent

II - Composition moléculaire : lipides

- A. Structure et propriétés des lipides membranaires
- B. Les phosphoglycérides
- C. Les sphingolipides
- D. Le cholestérol
- E. Les glycosyl-phosphatidyl-inositols (GPI)
- F. Mobilités des lipides membranaires

III - Composition moléculaire : protéines

- A. Les protéines transmembranaires
- B. Les protéines ancrées à un lipide membranaire
- C. Mobilité des protéines
- D. Les radeaux lipidiques

IV - Biosynthèse de protéines au niveau du réticulum endoplasmique

- A. Généralités
- B. Expériences

I - Structure et biosynthèse

A. Généralités

Le **système endomembranaire (SEM)** est un système que l'on retrouve dans le cytoplasme des cellules eucaryotes. Les éléments qui constituent ce système sont :

- Le réticulum endoplasmique (granuleux et lisse)
- L'appareil de Golgi (avec le Cis-Golgi et le Trans-Golgi)
- Les lysosomes
- Les endosomes

Ce système est lié à l'enveloppe nucléaire (enveloppe entourant le noyau) + la membrane plasmique de la cellule fait partie du SEM

ATTENTION : Les mitochondries et les peroxysomes **ne font pas partis du système endomembranaire**

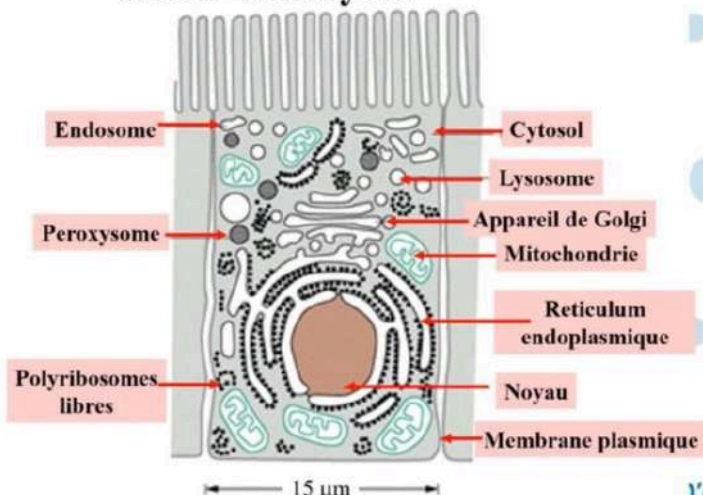
La lumière (l'intérieur) du SEM est l'**équivalent de milieu extracellulaire**. Pourquoi ??? Parce qu'il va y avoir des composants du milieu extracellulaire qui vont être absorbés par endocytose dans la cellule. Ainsi, on va retrouver les mêmes éléments (mais ce n'est pas exactement le même attention, c'est l'équivalent).

Explica'TUT :

Le système endomembranaire correspond à **tous les éléments de la cellule entourés par une membrane EXCEPTÉ les mitochondries et peroxysomes** + se trouve à l'intérieur de la cellule.

Il ne faut pas le voir comme un espace clos/fermé c'est juste un **système composé de plusieurs organites**

Les compartiments membranaires de la cellule eucaryote



B. Le flux membranaire vectoriel permanent

Mais finalement, à quoi sert ce système endomembranaire ?

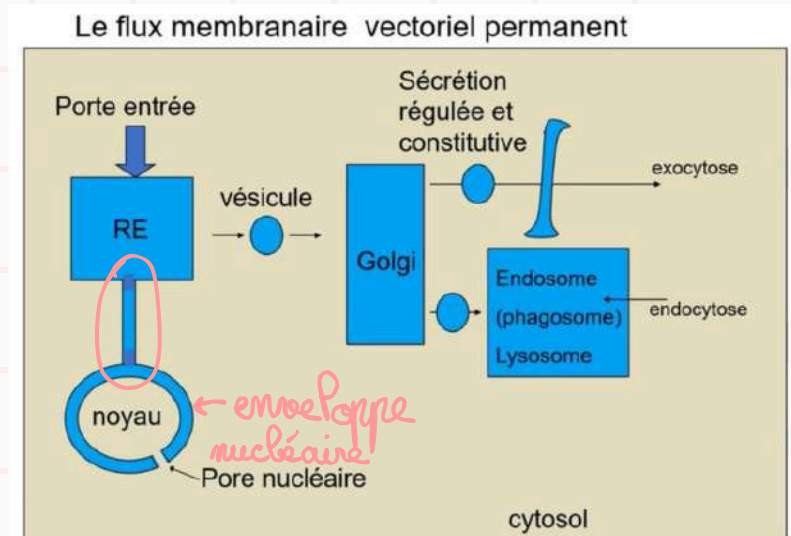
→ Le rôle du système endomembranaire est le **flux vectoriel permanent**, c'est-à-dire aux relations fonctionnelles entre les compartiments du système qui vont donner une **direction/orientation** à la cellule.

Grâce à ce système, les molécules vont avoir une **trajectoire définie au cours de leur synthèse** pour être correctement formées, et adressées aux différents compartiments de la cellule. C'est donc un **ensemble dynamique** où on retrouve différents flux !

Ce flux est **permanent** (a lieu tout le temps), on l'appelle aussi "voie de sécrétion" et est la référence du flux des molécules.

La porte d'entrée de système endomembranaire/flux est le **réticulum endoplasmique**. On y retrouve ainsi :

- **réticulum endoplasmique granuleux** = synthèse des protéines
- **réticulum endoplasmique lisse** = lieu où se passe des réactions chimiques
- **appareil de Golgi** = lieu de maturation des protéines + carrefour des vésicules
- **endosomes et lysosomes** = digestion/dégradation des molécules
- **enveloppe nucléaire** en connexion avec le réticulum endoplasmique (voir schéma)



La communication entre tous ces compartiments membranaires se font grâce à des **vésicules** !!!! (dédi à mon cours Transport Vésiculaire)

Ces vésicules peuvent aller dans différentes directions selon le sens du flux :

- **antérograde** : du RE vers les endosomes/lysosomes
- **rétrograde** : des endosomes/lysosomes vers le RE

II - Composition moléculaires : lipides

Pourquoi on parle des lipides ????????

→ Les **membranes** de nos compartiments membranaires (y compris la cellule) sont **constituées de lipides** ! Mais pas que, on retrouve aussi des **protéines et des sucres**, ces 3 composants sont vraiment essentiels et jouent un rôle très important dans le cellule

	Lipides	Protéines	Sucres
représente (au niveau du poids de la cellule)	30 à 50% du poids sec	50 à 70% du poids sec	5 à 10% du poids sec
représente (au niveau de la quantité des molécules de la cellule)	98% des molécules	2% des molécules	très faibles car sous forme de glycoprotéines/glycolipides (donc associés aux deux autres)
caractéristiques	<ul style="list-style-type: none"> • nombreux (constituants majeurs) • pas lourds 	<ul style="list-style-type: none"> • pas nombreuses • très lourdes • grandes 	

A. Structure et propriétés des lipides membranaires

Les lipides sont des molécules possédant des propriétés particulières puisqu'elles sont dites **amphiphiles** ou **amphipatiques** (c'est comme vous voulez). En gros, elles vont être à la fois polaire et apolaire = forte affinité ou pas avec l'eau

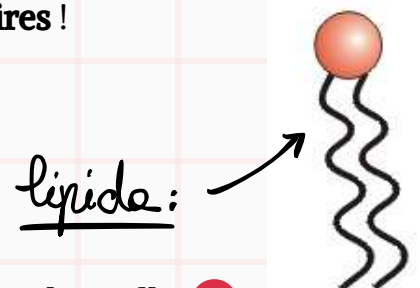
Un lipide est composé :

tête globulaire	longue queue
→ polaire → hydrophile → groupement carboxylique -COOH → chargée négativement → forte affinité avec l'eau = miscible	→ apolaire → hydrophobe → aucune affinité avec l'eau = non miscible

Comme ils sont à la fois polaire et apolaire, on dit qu'ils sont **bipolaires** !

On retrouve 3 grands types de lipides membranaires amphiphiles :

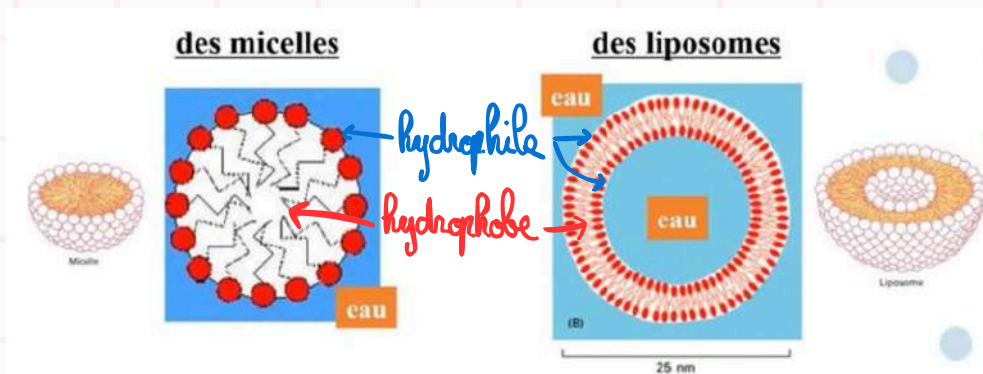
- les phospholipides
- le cholestérol
- les glycolipides



Grâce à leur propriété amphiphatique, les lipides ont des propriétés d'**auto-organisation** en milieu aqueux. En gros, quand ils sont dans l'eau, les **têtes** (hydrophile) se mettent au contact de l'eau alors que les **queues** (hydrophobe) vont l'éviter en se concentrant au centre.

→ par exemple les phospholipides s'assemblent spontanément pour former :

- des **micelles**
- des **liposomes**



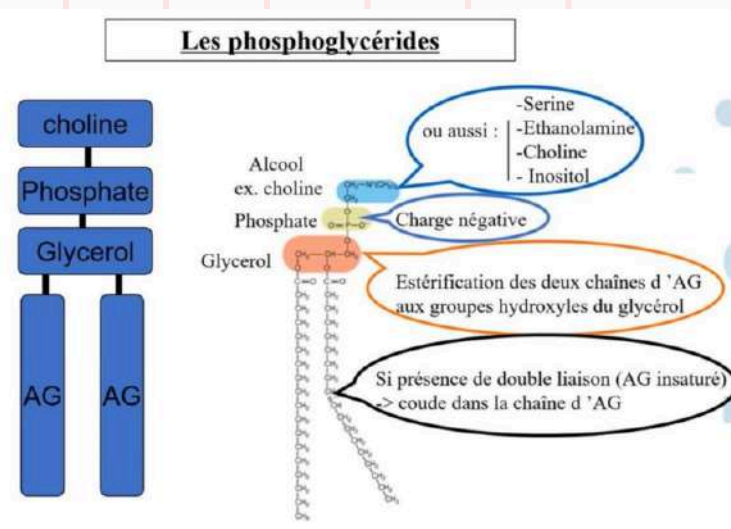
MICELLES	LIPOSOMES
<ul style="list-style-type: none"> → peu de molécules → petite sphère → cœur hydrophobe → surface hydrophile 	<p>→ bicouche (2 monocouches) : une couche possède un côté hydrophobe et un côté hydrophile. Les deux monocouches s'assemblent au niveau de la couche hydrophobe (au centre) laissant la <u>couche hydrophile au contact de l'eau</u></p> <p>→ forme cylindrique</p>

→ La structure à la base des membranes biologique est donc la **BICOUCHE** +++

B. Les phosphoglycérines

Les phosphoglycérines sont composés d'une **tête polaire** (= hydrophile) contenant :

- une molécule de **glycérol** : c'est un **tri-alcool** (3x groupe -OH), où chacun peut être estérifié
- **deux acides gras** (estérifiant deux groupements alcools)
- un **phosphate** (de charge négative) estérifiant le 3e groupement alcool. Il est lui-même lié par une liaison ester à un groupement hydrophile pouvant être :
 - **sérine** : acide aminé positif ET négatif
 - **éthanolamine** : amino-alcool chargé positivement
 - **choline** : amino-alcool chargé positivement
 - **inositol** : sucre (=donc neutre, pas de charge)



→ ainsi, tous associés avec le phosphate on retrouve : phosphatidylsérine (négatif = phosphate négatif + sérine négative), phosphatidyléthanolamine (neutre = phosphate négatif + éthanolamine positif), phosphatidylcholine (neutre) et phosphatidylinositol (neutre).

info : les phosphatidylinositol est un constituant mineur des membranes mais est très important dans la signalisation cellulaire (coucouuuuu mon prochain et dernier cours !!)

Ces phosphoglycérides sont essentielles dans le **fonctionnement des cellules et membranes**.

Apparté sur les acides gras : ils peuvent être **saturés ou insaturés**. S'ils sont **insaturés**, alors ils ont une **double liaison** provoquant une **courbure** dans la chaîne de l'acide gras (voir acide gras à droite sur schéma du dessus). Cette insaturation provoque des conséquences sur leur propriétés physico-chimique et fonctionnelles des membranes

C. Les sphingolipides

Les sphingolipides possèdent un squelette composé :

- **sphingosine** : **dérivé d'alcool aminé** avec différentes fonctions et positions :
 - position 1 : alcool
 - position 2 : amine réagissant avec un acide gras
 - position 3 : alcool (= alcool ter)
 - position 4 : double liaison → permet de s'imbriquer dans la membrane (coude à gauche).
- **phosphate**
- **choline**

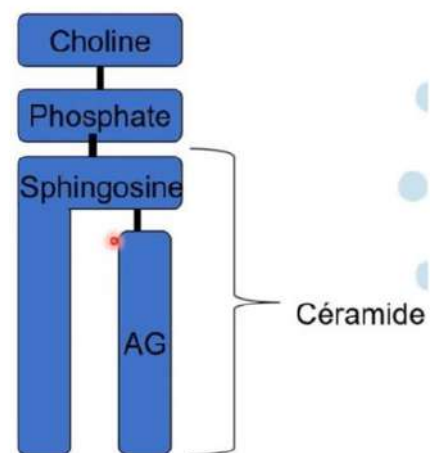
→ Le fait d'avoir une fonction alcool permet d'associer un acide gras et de rester en contact avec l'eau.

→ Acide gras + sphingosine = **céramide**

→ l'alcool ter va pouvoir réagir avec d'autres molécules comme la phosphorylcholine (phosphate + choline). Le tout forme une **sphingomyélines** (= type de lipide membranaire)

Info : les sphingolipides représentent 20% du poids des lipides de la membrane plasmique (ex : hépatocytes)

Les sphingolipides



D. Le cholestérol

Le cholestérol est un **lipide (stéroïde)** constitué d'un **noyau polycyclique rigide** et d'une **queue hydrocarbonée rigide**. L'ensemble est donc très **hydrophobe**. Cependant il y a une **fonction alcool** qui permet de rendre le cholestérol **amphiphile** (polaire & apolaire).

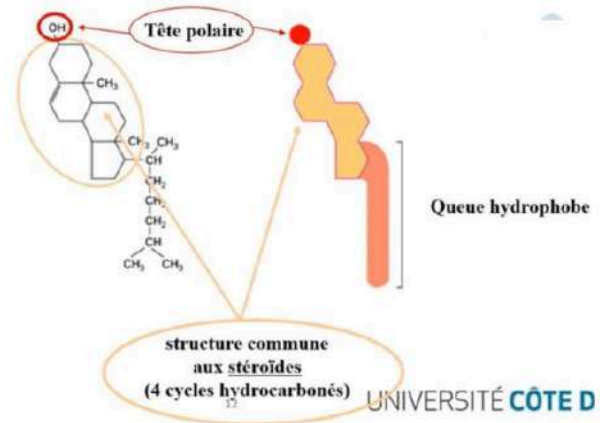
→ Le cholestérol est très important et très abondant dans les membranes plasmiques : **17% du poids sec** de la membrane des hépatocytes et **25%** des globules rouges.

Il constitue un marqueur pour le fractionnement des cellules (car très abondant dans leur membrane plasmique) mais il est **très peu présent dans les membranes des compartiments intracellulaire** (organites).

→ Le cholestérol est **trop hydrophobe** pour former une membrane à lui seul, ainsi, il **s'intercale** dans les autres constituants de la membrane modifiant leurs propriétés physico-chimiques. En effet, il **modifie la fluidité et stabilité** des membranes.

→ trop de cholestérol = diminution de la fluidité de la membrane.

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



E. Les glycosyl-phosphatidyl-inositols (GPI)

→ Ce sont les **3e type de lipides**.

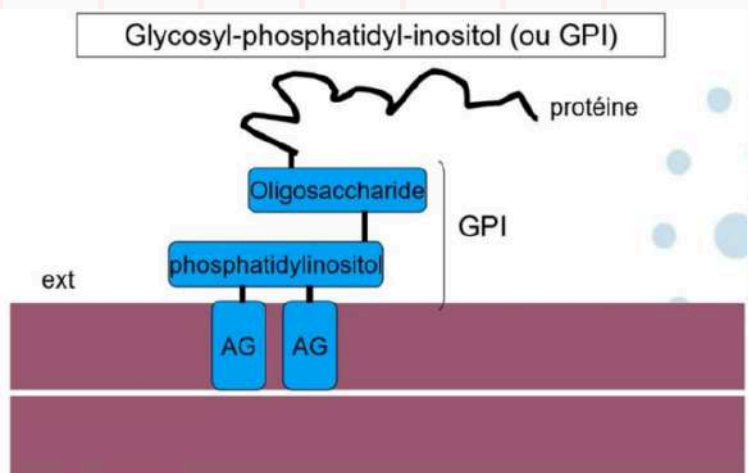
Les GPI ont une structure très complexe : sur le plan **quantitatif** (= au niveau de sa quantité) il est très minoritaire mais sur le plan **fonctionnel**, il est très important

Ils sont constitués :

→ un **résidu de sucre** (= oligosaccharide) permettant d'ancrer une protéine

→ un **phosphatidylinositol relié à deux acides gras** permettant l'ancrage à la membrane (surface/couche externe)

On parle "d'ancres GPI" car vraiment **ancré dans la membrane plasmique**.



F. Mobilité des lipides membranaires

Qui dit mobilité, dit mouvement → donc les lipides **peuvent bouger dans la membrane**, mais pas n'importe comment : ils peuvent **changer de place et ne sont pas statiques**.

La fluidité des membranes est importantes pour que les lipides puissent s'y déplacer. Celle-ci dépend de :

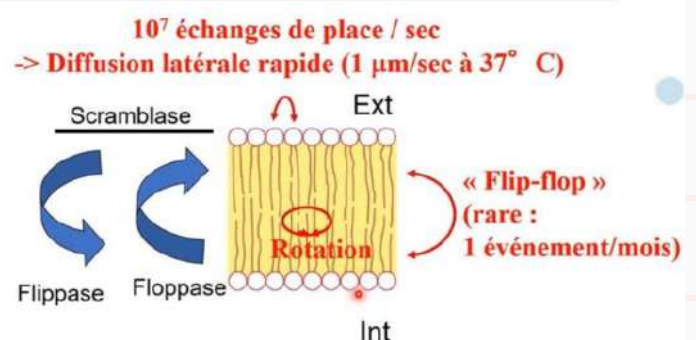
- La **température** : les chaînes carbonées **sans double liaisons sont très fluides** (logique puisqu'on a vu que quand il y a une double liaison, elle sont tordues donc encombrées).
 - si température baisse (froid) → chaînes carbonées se rangent les unes contre les autres → membrane plus solide = **état de gel** (pensez à des militaires rangés au garde à vous 😊)
 - chaînes grasses presque cristallisées = très ordonnées
 - augmentation de la température → passage de l'état **solide à fluide** = température de fusion (température proche de celle de notre corps $\approx 37^\circ\text{C}$ quand il y a des acides gras saturés)
- la **composition des lipides** :
 - quantité de cholestérol : moins il y en a, plus c'est fluide (rappel avec le noyau polycyclique rigide)
 - nature des acides gras et phospholipides : l'insaturation facilite la fluidité
 - longueur des chaînes aliphatiques : + elles sont longues, moins la membrane est fluide

→ La fluidité membranaire est essentielle car **si la viscosité augmente**, l'activité des enzymes associées à la membrane diminue et provoquera donc des problèmes biologiques.

exemple :

- *si membrane trop rigide → maladies cardiovasculaires + agglomération de globules rouges dans les capillaires*
- *les lipides peuvent bouger latéralement (sur le côté) de façon très rapide → 10^7 échanges de places par seconde*
- *le processus de flip-flop (coucou ma co-tuuuuuuut) : ce phénomène correspond à un échange de phospholipides entre le feuillet interne et externe de la membrane. C'est un phénomène plutôt rare se réalisant une fois par mois, réalisé par deux enzymes qui vont aider à catalyser (= réaliser) le phénomène, on appelle ces enzymes des scramblases :*

Mobilité des lipides membranaires

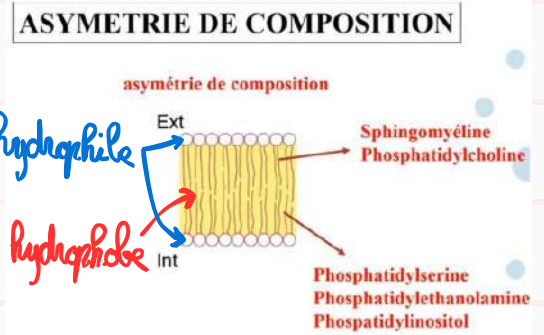


Floppase (#floppasstp)	Flippase
<ul style="list-style-type: none"> → permet un flip-flop lent → du feuillet cytosolique vers feuillet externe (milieu extracellulaire) <ul style="list-style-type: none"> → nécessite du calcium → dépend du moment de la fonction 	<ul style="list-style-type: none"> → du feuillet externe vers feuillet cytosolique → nécessite calcium + ATP → permet passage des phosphatidylsérines au feuillet externe du réticulum → très sélective pour les phosphatidylsérines

→ on comprend que les scramblases (floppase/flippase) permet le **transport des phospholipides** d'un côté de la membrane à l'autre = on parle de l'**équilibre des feuillets**

ATTENTION IMPORTANT : la composition des membranes est **asymétrique** = pas forcément les mêmes phospholipides présents sur feuillet externe que sur l'interne :

Feuillet externe	Feuillet interne
<p>riche en :</p> <ul style="list-style-type: none"> → Phosphatidylcholine → sphingomyéline 	<p>riche en :</p> <ul style="list-style-type: none"> → phosphatidyléthanolamine → phosphatidylsérine → phosphatidylinositol



*Bon Gigi ne vous demande pas de savoir quel phospholipide appartient à quel feuillet, mais il veut vraiment que vous sachiez qu'il y a une **ASYMÉTRIE DE COMPOSITION** +++
Tant mieux pour vous, mais dommage pour moi (rip les pièges que j'aurai pu vous faire)*

Les lipides ont **différents rôles** dans la cellules :

- servent à la structure de base des membranes
- régulent la déformation des cellules
- permettent le transport et le tri des protéines
- transduisent des signaux extracellulaires

→ Ainsi, on comprend que les lipides ne sont là juste pour faire barrière en formant les membranes, elles vont en plus avoir un rôle fonctionnel important.

Quelques photos de Taylor pour vous détendre un petit peu avant d'attaquer les protéines 🤪😊



III - Composition moléculaires : protéines

On a vu tout à l'heure que les protéines sont **moins nombreuses que les lipides** MAIS occupent une **place plus importantes en terme de poids** . En plus de cela, elles sont très importantes !!!!

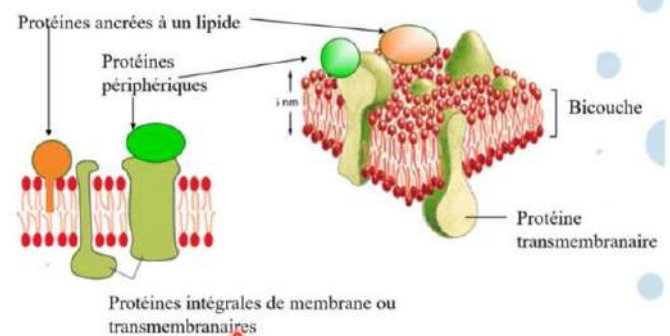
→ on distingue plusieurs types de protéines associées à notre bicouche lipidique (= membrane) :

Protéines transmembranaires	Protéines ancrées à un lipide	Protéines périphériques
→ <u>complètement intégrées</u> à la membrane → capacité de traverser la partie hydrophobe de la bicouche	→ ancre à GPI (voir E.) → liées par des <u>liaisons covalentes</u> (très fortes) → ne rentrent pas dans la membrane	→ associées à des protéines transmembranaires (on a des <u>liaisons protéines-protéines</u> (non-covalentes) → ne traversent pas

Ces protéines possèdent toute une **série de fonctions**, nécessaires aux cellules :

- activité enzymatique
- transport des molécules/ions
- reconnaissance et adhérence à la matrice extracellulaire
- récepteurs de molécules signalétiques extracellulaires

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

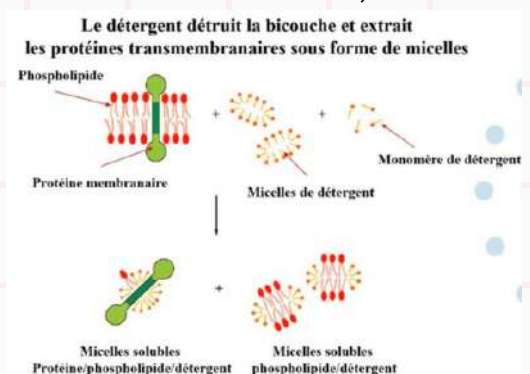


Pour comprendre ces différentes fonctions et leur problème (s'il y en a), on peut les étudier en laboratoire :

Les **détergents** (agents chimiques capables de détruire/solubiliser les membranes) sont **amphiphatiques** et peuvent former des micelles dans l'eau.

→ les détergents prennent la place des lipides et vont extraire les protéines ainsi entourées de détergent.

→ Si beaucoup ++ de détergent = **formation de micelles de lipides + détergent** = formation de micelles ayant détruit la membrane



A. Les protéines transmembranaires

→ souvent **glycosylées sur leur domaine extracellulaire**. On distingue :

Protéines à traversée unique – “single path”	Protéines à traversée multiples – “multi path”
<p>→ 2 pôles hydrophiles</p> <p>→ hélice alpha hydrophobe : permet de s'ancrer dans la membrane</p> <p>→ généralement des <u>récepteurs de la membrane plasmique</u> → intermédiaire entre intérieur et extérieur de la cellule</p>	<p>→ transporteurs : GLUT-1</p> <p>→ récepteur à 7 domaines transmembranaires (qu'on verra dans mon prochain cours : signalisation cellulaire)</p>

1^{ère} fonction des protéines transmembranaire = structurer la membrane

→ les protéines de structure peuvent être associées :

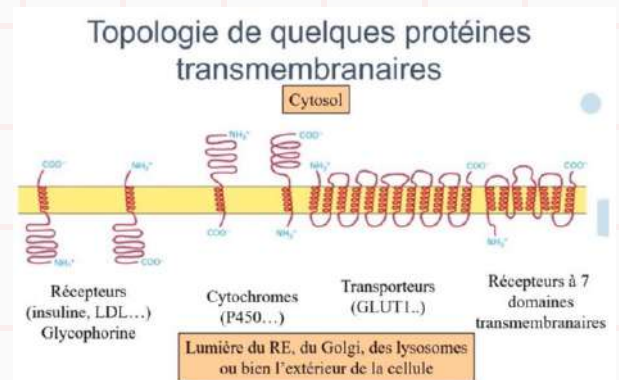
- à la membrane
- à des protéines transmembranaires
- à d'autres constituants de la membrane

2^{ème} fonction : renforcer la stabilité mécanique

3^{ème} fonction : sont aussi des enzymes qui catalysent des réactions chimiques dans ou à la surface des membranes. Elles ont la possibilité d'avoir des ribosomes sur la surface de la membrane comme au niveau du réticulum endoplasmique granuleux (qu'on verra dans le IV.)

4^{ème} fonction : récepteurs, c'est vraiment centrale au niveau de la cellule (mon prochain couuuurs), ce rôle est réalisé par les protéines transmembranaire. Exemples :

- récepteur à l'insuline, au cholestérol, aux glycophorines
- transporteurs de glucose
- récepteur à 7 domaines transmembranaires (N-ter → milieu extracellulaire, et C-ter → milieu intracellulaire, sont des opposants de la bicouche)



TUT'Récap :

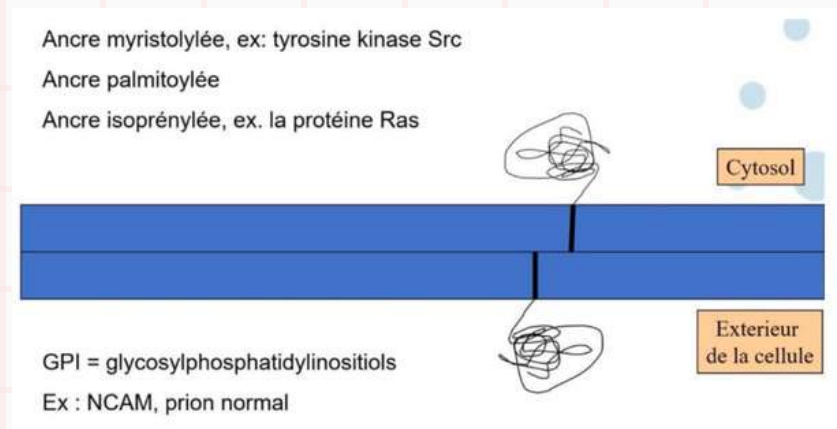
Les différents rôles des protéines transmembranaires :

- **structuration de la membrane**
- **renforcement de la stabilité mécanique**
- **enzymes catalysant des réactions chimiques**
- **récepteurs intervenant dans la signalisation cellulaire**

B. Les protéines ancrées à un lipide membranaire

1 - Généralités

Les protéines présentes sur la face cytosolique sont associées de manière **covalente** à un **résidu isoprényl** (farnésyl ou géranyl-géranyl) ou un **acide gras** (myristique ou palmitique)



ATTENTION TABLEAU HORRIBLE :

Type d'ancrage	Acide gras accroché	Type d'accroche	Moyen d'accroche
<u>isoprénylation</u>	ajout d'un dérivé isoprène → résidu farnésyl ou géranyl-géranyl	ajout sur Cystéine 4 résidus avant C-ter	modification post-traductionnelle de la protéine
<u>myristoylation</u>	ajout de l'acide myristique	ajout sur Glycine en N-ter par liaison amide	modification post ou co-traductionnelle
<u>palmitoylation</u>	ajout de l'acide palmitique	ajout sur Cystéine en N-ter par liaison thioester	modification post-traductionnelle

Info sur le tableau :

→ exemple de protéines farnésylée : protéine RAS appartenant à la famille des petites protéines G monomérique (vu dans signalisation cellulaire)

→ l'isoprène est un précurseur du cholestérol (coucouuuu la biochhhh)

Bon maintenant je vais vous dire comment lire ce tableau mdrrrrr

- Lorsque l'on a une isoprénylation (type d'ancrage), il y a une fixation post-traductionnelle d'un dérivé d'isoprène (pouvant être la farnésyl ou géranyl-géranyl), cet ajout se fait sur une cystéine située 4 résidus avant la C-terminale d'une liaison thioester d'un groupement farnésyl.
- Lorsque l'on a une myristoylation, il y a une fixation après ou en même temps (post

ou co) traductionnelle d'une chaîne d'acide gras. L'acide myristique à une liaison amide de la glycine N-terminale de la protéine.

- Lorsque l'on a une palmitoylation, il y a une fixation post-traductionnelle de l'acide palmitique à une liaison thioester sur une Cystéine C-terminale.

Pour votre plus grand plaisir ce n'est pas à apprendre (à reconfirmer s'il le fait en présentiel parce qu'il l'avait dit l'année dernière en présentiel) JUSTE, il faut savoir quel type d'accroche correspond à quel type de modification (post ou co-traductionnelle)

2 - L'ancre GPI

Le GPI permet l'**ancrage des protéines sur le feuillet externe** des membrane (exemple : glycoprotéines d'adhérence neuronale NCAM, protéines prion normal).

Le GPI permet une **mobilité rapide des protéines** à la surface par diffusion collatérale (= les protéines se déplacent sur le côtés).

→ Il y a environ 200 protéines humaines qui utilisent l'ancrage à GPI.

C. Mobilité des protéines

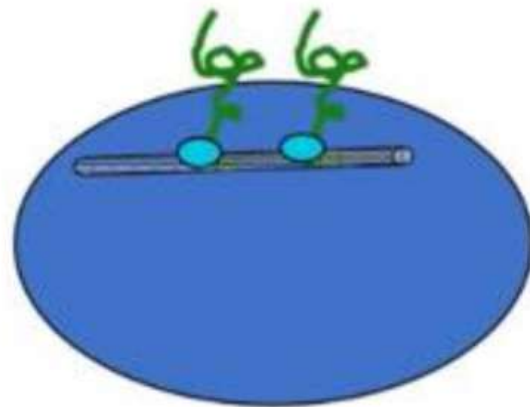
Les protéines présentes à la surface des membranes peuvent **se déplacer de différentes manières**. Il y a une restriction dans leur mobilité latérale en fonction de leur interaction.

Ancrage avec le cytosquelette :

par l'intermédiaire des protéines périphériques → la protéine se déplace en fonction du cytosquelette

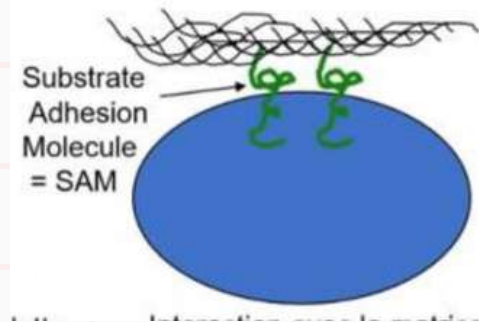
Exemple : les hématies ou transporteur d'anions transmembranaires est sont associés aux microfilaments d'actine par la spectrine (protéine périphérique

Point pathologie : la myopathie de Duchène est causée par l'absence de dystrophine qui s'associe au cytosquelette et permet l'association avec le récepteur pour les molécules de la matrice extracellulaire

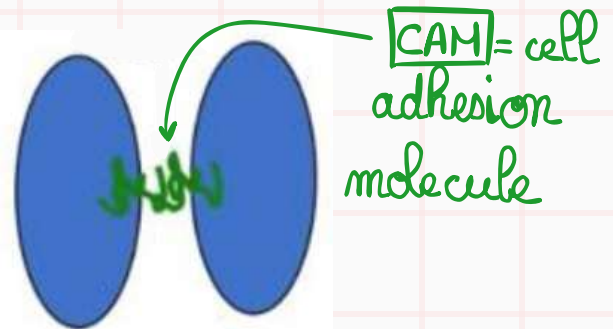


Interaction avec le cytosquelette

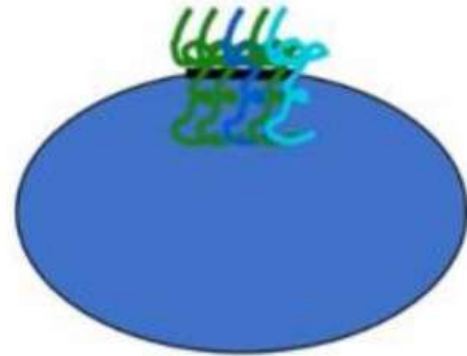
Interaction avec la matrice extracellulaire :
→ c'est le cas pour les molécules d'adhérence comme les **intégrines**



Interaction entre protéines de deux cellules :
→ molécules d'adhésion ou **CAM**



Interaction avec d'autres protéines :
→ **radeaux lipidiques** flottant sur la membrane plasmique (on y revient juste après)

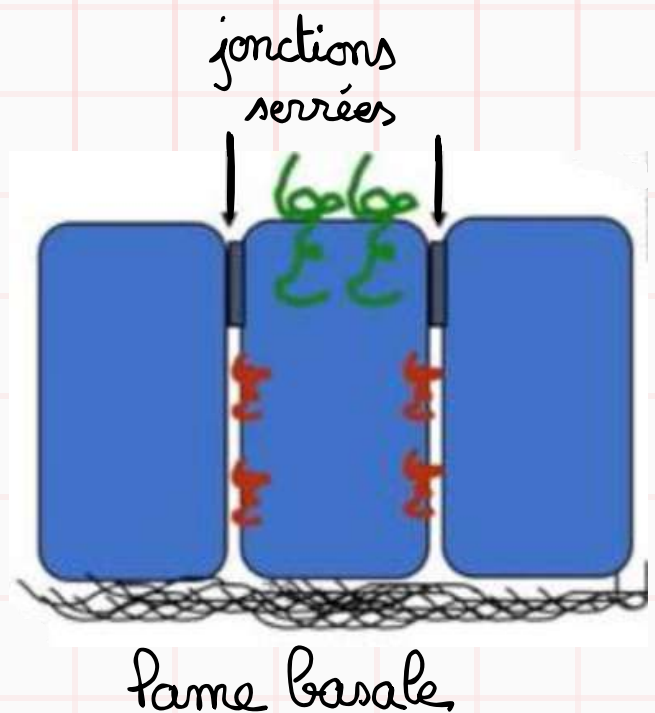


Systèmes de jonctions inter-cellulaires :

- **jonctions serrées** → caractéristique des cellules épithéliales polarisées (coucouuuuu l'histooooo love à Marion, Janna et Asia ❤️).

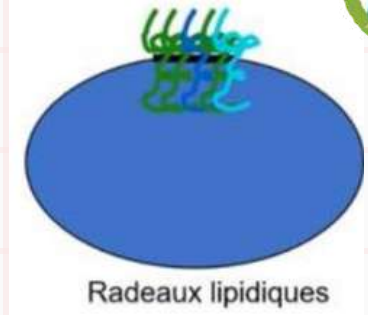
Ces jonctions serrées constituent une ceinture dans la partie haute de la face latérale proche du pôle apical.

Elles constituent une **frontière** empêchant la diffusion latérale des protéines et assurent l'imperméabilité de la couche épithéliale



D. Les radeaux lipidiques

- structure membranaire **extrêmement importante de la bicouche.**
- **riches en cholestérol** et **glycosphingolipides** sur le feuillet externe, en **protéines à ancre GPI** et **récepteurs transmembranaires**
- structure bien définie :
 - diamètre de 50 nm pouvant couvrir 35% de la surface cellulaire



- formés dans l'appareil de Golgi puis transférés au niveau de la membrane plasmique via les endosomes
- il n'y a **pas de radeaux lipidiques sur les membranes des organites et nucléaires !** QUE SUR LA MEMBRANE PLASMIQUE
- différents rôles :
 - compartimentation
 - polarisation
 - signalisation cellulaire → ils concentrent et oligomérisent les protéines de signalisation donnant la fonction aux récepteur

Les radeaux lipidiques sont des protéines pouvant bouger mais vont **diffuser dans des endroits où elles sont concentrées**. En effet, leur concentration locale joue un rôle important dans la transduction du signal.

IV - Biosynthèse des protéines au niveau du réticulum endoplasmique

A. généralités

Le **système endomembranaire permet la synthèse** (ou biosynthèse) **de protéines** mais pas toutes, au niveau du réticulum endoplasmique (RE). Le RE est le début du flux vectoriel permanent donc du système endomembranaire.

- Le RE va **capturer les protéines à partir du cytosol**, on retrouve comme protéines :
- protéines transmembranaires (destinées au RE, membranes plasmiques...)
 - protéines solubles (destinées à la lumière d'un organite ou à la sécrétion)

Pour ces deux types de protéines, on a le **même signal de tri à la base**.

On voit ici en microscopie électronique un RE associé à des points noirs. Ces points noirs correspondent aux ribosomes synthétisant les protéines. (Mais pas toutes) : on l'appelle donc le endoplasmique granuleux

- **RE granuleux = avec ribosome**
- **RE lisse = sans ribosomes**



Il existe **2 types de ribosomes** :

ribosomes liés au RE	ribosomes libres
→ associés à la membrane du RE → servent pour les protéines transférées dans le réticulum endoplasmique	→ présents dans le cytosol → synthétisent toutes les autres protéines (non synthétisées dans le RE)

→ ces 2 types de ribosomes ont la même structure et fonction, ce qui les différencie c'est juste leur **localisation** donc où la protéine va être synthétisée.

B. Expériences

On va maintenant voir comment les protéines sont synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique GRANULEUX. Pour cela, on aura :

- des extraits de réticulum endoplasmique granuleux
- un système de traduction de l'ADN sans RE, avec un précurseur de protéines radioactif méthionine ³⁵S permettant de suivre la synthèse.

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

<u>expérience</u>	
<u>explication</u>	<ul style="list-style-type: none"> • 1^{er} cas : (en haut) → Observation : on synthétise d'abord la protéine puis on l'associe avec le réticulum endoplasmique. → Résultat : la protéine ne peut pas s'associer avec le réticulum endoplasmique • 2^{ème} cas : (en bas) → Observation : on synthétise la protéine avec le réticulum endoplasmique → Résultat : la protéine s'associe avec le réticulum endoplasmique
<u>conclusion</u>	→ L'insertion de la protéine avec le réticulum endoplasmique doit être co-traductionnelle – en même temps que la traduction de la protéine

2. L'insertion de la protéine dans les membranes implique-t-elle un mécanisme entraînant une modification de la protéine ?

<p>expérience 1</p>	
<p>explication</p>	<p>→ <u>Observation</u> : les protéines synthétisées avec et sans le RE ne sont pas exactement de la même taille puisqu'elles migrent différemment (traits oranges pas à la même hauteur) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • protéine synthétisée <u>sans le RE</u> : migre moins loin • protéine synthétisée <u>avec le RE</u> : migre plus loin <p>→ <u>Résultat</u> : la protéine synthétisée avec le RE est plus légère donc de plus petite taille (car migre plus loin sur l'électrophorèse) par rapport à la protéine synthétisée sans le RE.</p> <p>→ <u>Hypothèse</u> : quelque chose doit intervenir sur la protéine lorsque celle-ci est synthétisée avec le RE, c'est-à-dire un mécanisme couplé la synthèse co-translationnelle avec le réticulum endoplasmique</p> <p>→ <u>Résultat</u> : on a identifié sur la surface interne du RE la peptidase ou signal peptidase (= protéine). La peptidase peut <u>couper une séquence</u> présente sur la protéine : "<u>peptide signal</u>". La peptidase va donc cliver (=couper) le début N-terminale de la protéine lorsqu'elle commence à rentrer dans le réticulum endoplasmique</p>
<p>expérience 2</p>	
<p>explication</p>	<p>→ <u>Observation</u> : cette fois, on synthétise les protéines avec et sans le RE, mais les 2 protéines n'ont pas de peptide signal</p> <p>→ <u>Résultat</u> : les protéines ne rentrent pas dans le réticulum endoplasmique</p>

conclusion	L'importance de la signal peptidase au niveau de la co-translation a été démontré
-------------------	--

Apparté sur l'expérience et l'électrophorèse réalisée sur l'expérience d'avant :

→ On a **synthétisé la protéine avec et sans réticulum endoplasmique** mais en plus on caractérise la protéine qui a été synthétisée par **un gel de Polyacrylamide SDS**, permettant de mesurer la taille des protéines radioactives.

→ Pour cela on a fait une **électrophorèse**. Ça consiste à faire **migrer dans un champ électrique la protéine en fonction de leur taille** (plus elles seront petites, plus elles seront légères donc plus elles migreront loin). On les repère facilement par autoradiographie puisque les protéines synthétisées sont radioactives.

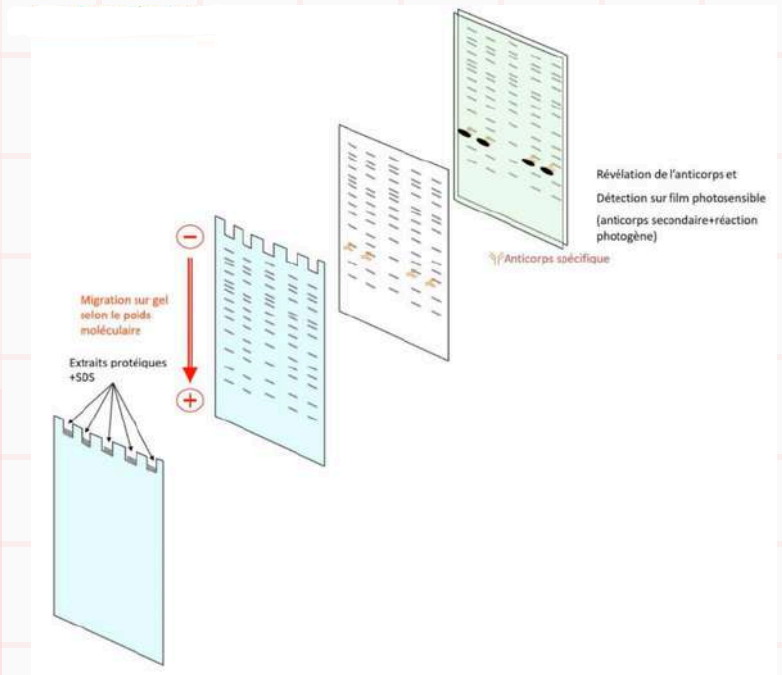
Méthode d'électrophorèse :

1. On part d'un gel fin de 10cm de polyacrylamide composé de puits dans lesquels on peut poser les protéines en condition dénaturante (grâce à SDS)
→ migration en fonction de leur taille/poids moléculaire

2. On peut les relever car elles sont :

- radioactives
- associées à des anticorps spécifiques

3. Enfin, on ne voit que les protéines marquées



3. La séquence signale est NÉCESSAIRE, mais est-elle SUFFISANTE ?

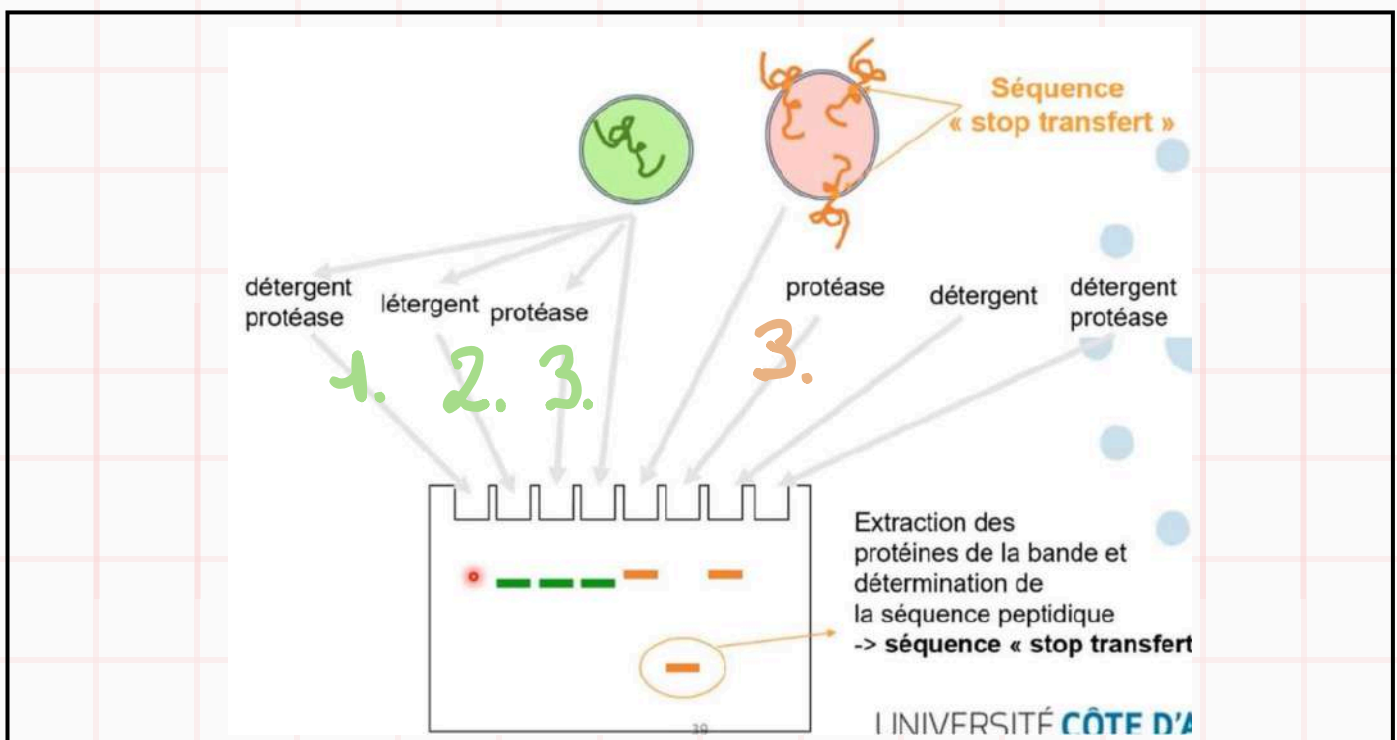
expérience	<p>Traduction in vitro de l'ADNc codant pour une protéine non-membranaire (GFP)</p> <p>pas de concentration de fluorescence dans le RE</p> <p>Traduction in vitro d'un ADN hybride PS-GFP</p> <p>concentration de fluorescence dans le RE</p> <p style="text-align: right;">L'UNIVERSITÉ CÔTE D'IVOIRE</p>
-------------------	--

explication	1^{er} cas : (en haut) → <u>Observation</u> : on synthétise la protéine GFP (protéine non membranaire) sans peptide signal, associée au RE → <u>Résultat</u> : la GFP ne s'associe pas au réticulum endoplasmique
	2^{ème} cas : (en bas) → <u>Observation</u> : on synthétise la GFP avec un peptide signal associée au RE → <u>Résultat</u> : la GFP s'associe au réticulum endoplasmique
conclusion	Le peptide signal est NÉCESSAIRE et SUFFISANT pour l'association des protéines au réticulum endoplasmique

4. Comment la protéine est-elle associée au RE ?

Pour voir cela, on utilise un détergent et une protéase :

- **détergent** = détruit la membrane du réticulum endoplasmique
- **protéase** = détruit la protéine



3. utilisation de la **protéase** : taille de la protéine identique = protéine non accessible à la protéase (à l'intérieur du RE)
2. Utilisation du **détergent** : ne change rien puisque ne s'attaque pas à la protéine
1. utilisation **protéase + détergent** : séquence contrôle pour voir si tout marche bien → on ne voit rien : protéase marche bien

3. utilisation de la **protéase** : la protéine est clivée car une partie est exposée à l'extérieur et une autre protégée par la membrane du RE → exposée à la protéase = clivage → protéine plus petite/légère donc migre

<p>→ La GFP est complètement dans le réticulum endoplasmique et est donc protégée de l'action de la protéase</p>	<p>→ en plus du peptide signal, il y a une autre séquence : "stop transfert". Cette séquence arrête la synthèse de la protéine avec le RE et se retrouve coincée dans la membrane → protéine transmembranaire</p>
--	---

TUT'Récap :

<p style="text-align: center;">séquence signal</p>	<p style="text-align: center;">séquence "stop transfert"</p>
<p style="text-align: center;">→ adressage au réticulum endoplasmique</p>	<p style="text-align: center;">→ arrêt de la synthèse avec le réticulum endoplasmique – protéine transmembranaire</p>

traduction protéine avec peptide signal (vert)			traduction avec protéine séquence "stop transfert" (orange)		
<p>dégradation de la protéine → prouve que ça marche : contrôle</p>	<p>ça ne change rien car détergent n'agit pas sur la protéine</p>	<p>taille de la protéine identique car protégée par la membrane du RE</p>	<p>coupe la partie exposée à l'extérieur du RE</p>	<p>ça ne change rien car détergent n'agit pas sur la protéine</p>	<p>dégradation de la protéine → prouve que ça marche : contrôle</p>

Bon les gars c'est la dernière page après donc lâchez rien svpppp je sais que c'est dur mais vous inquiétez pas, plus vous allez le voir, mieux ça ira !!!!

