

ORGANITES DE TRI CELLULAIRE

R.E. ET GOLGI.

Ces deux organites participent au "Tri Cellulaire" c'est-à-dire à la production de protéines et de leur adressage au sien de la cellule.

Ces deux organites sont spécifiquement dédiés aux protéines exocytées, membranaires et celles destinées aux organites enveloppées (comme les vésicules, Golgi, R.E., Peroxysomes, Lysosyme ...).

1. Réticulum Endoplasmique (R.E.)

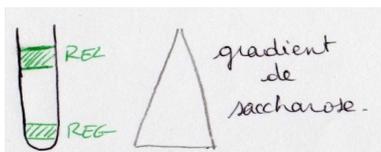
- **Organisation – Composition.** (cf. Poly A doc. 1)
 - **Structure:**

Toute les cellules Eucaryotes possèdent cet organite. Il est constitué de saccules aplatis recouvertes de ribosomes, ce qui caractérise le R.E.Granuleux (ou R.E.Rugueux). La partie centrale est constituée de tubules délimitées par une membrane; ces tubules caractérisent de R.E.Lisse. Toutes ces structures sont communicantes et possèdent une lumière (où il y a beaucoup d'enzymes et de protéines). Enfin le R.E. est issu du bourgeonnement de l'enveloppe nucléaire.

- **Composition:**
 - **Membrane:** elle est très riche en protéines (70%de protéines, 30% de phospholipides). Ce qui est expliqué par de nombreuses activités enzymatiques liées au fonctionnement de cet organite. Synthèse de stéroïdes, maturation des lipides et synthèse de glycoprotéines.
 - **Lumière:** elle est riche en protéines néosynthétisées en attente de maturation et beaucoup d'enzymes qui participent à la maturation protéique. Ce sont des protéines dites "chaperonnet" qui induisent le repliement protéique et la structure tridimensionnelle.
- **Deux types de R.E.**
 - **Comment les isoler?**

Ils sont isolés à la suite d'un broyage de cellules. Généralement on travail sur des cellules riches en R.E. = cellules hépatiques. On récupère alors des vésicules isolées = les "microsomes". On ne récupère pas la structure 3D mais des fraguements.

On distingue donc le R.E.L. et le R.E.G. On sépare ces deux types de microsomes par centrifugation sur gradient de saccharose.



Il y a une différence de densité due à la présence des ribosomes.

On récupère alors les bandes correspondantes.

- **Le R.E.G.:**

Il participe à la synthèse des protéines. On distingue les protéines transmembranaires et protéines "libres" uniquement présentes dans la lumière du R.E. Dans ce R.E., ces protéines vont subir des glycolysations caractéristiques des protéines transmembranaires ou exocytées (les protéines cytolisées sont très peu glycosylées, elles sont élaborées par des ribosomes libres. Ce sont les même ribosomes mais ils peuvent se fixer quand il faut produire des protéines transmembranaires ou être libres si il y a besoin de produire des protéines libres. Il existe une dynamique)

- **Le R.E.L.:**

Il n'y pas de ribosomes ici. Il participe à la synthèse des lipides membranaires.

Peut servir de stockage du Calcium (cellules musculaires striées squelettiques). Participe aux fonctions de détoxification des xénobiotiques (cellules hépatiques).

-->cf. pharmacologie B.T.S. B.C.1

- **Synthèse des protéines dans le R.E.G.**

- **Nécessite un signal d'adressage:**

Mise en évidence en 1971 pour la première fois, par Blobel et Sabatini (Prix Nobel).

Etude des ARNm de protéines cytosoliques et exocytées. L'ARNm exocyté a une plus longue taille que la chaîne peptidique synthétisée par cet ARNm. Donc l'ARNm du R.E.G. Possède une séquence en 5' ARNm qui code pour un "peptide signal" qui induit que la synthèse protéique s'effectue dans le R.E.G. Ce signal est éliminé quand la synthèse est terminée.

De nos jours il existe différents types de peptides signaux permettant l'adressage vers d'autres organites (chloroplastes, mitochondries ou noyau).

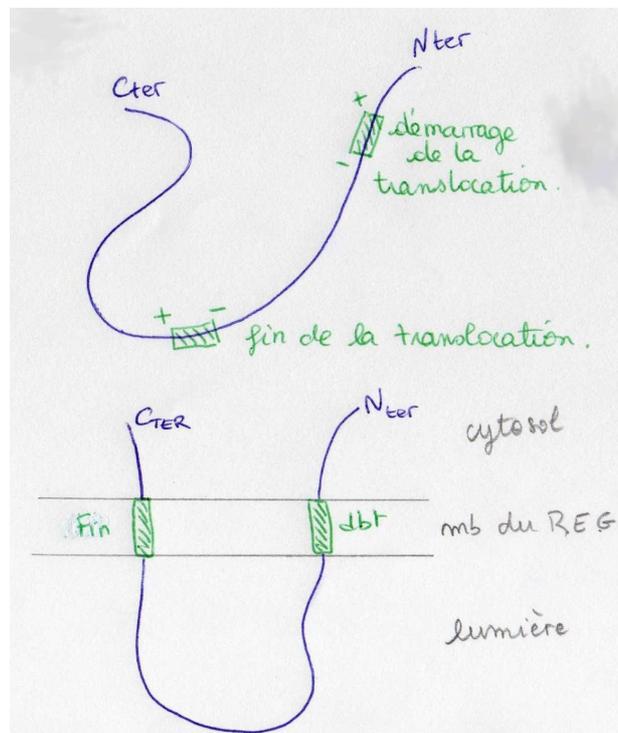
- **Chronologie de la synthèse:** (cf. doc. 2 poly. A)

1. Reconnaissance du peptide signal par S.R.P. (Signal Recognition Particle = protéine libre dans le cytoplasme qui reconnaît le peptide signal). Ici le ribosome est libre. L'ARNm traduit donne le peptide signal traduit entraîne l'association [Peptide signal-SRP].
2. Fixation du complexe au R.E.G. Elle nécessite le récepteur du SRP et le récepteur du Ribosome. Il faut ces deux interactions pour que la fixation s'établisse. La biosynthèse de la protéine se poursuit parallèlement à l'ouverture d'un pore au travers de la membrane. Ceci permet la translocation de la protéine.
3. Translocation.
4. Ici le peptide signal se libère du SRP pour se fixer au niveau de la protéine de transport. Poursuite de la biosynthèse de la protéine.
5. Coupure du peptide signal = clivage. Il se fait par une protéase qui se localise sur le transporteur protéique.
6. Fin de la biosynthèse, libération dans la lumière. La protéine est prête à subir les maturations structurales.

- **Devenir de la protéine:**

Soit la protéine est soluble dans la lumière et alors ces protéines possèdent un peptide signal pour protéines solubles. (cf. doc.2 poly A)

Soit la protéine est transmembranaire et alors il y a plusieurs peptides signaux (signaux de translocation) ce qui lui permet de rester encastré dans la membrane.



- **Glycolysations – Maturations.**

- **Glycolisations:**

Cette glycosylation est co-traductionnelle, c'est-à-dire qu'elle se fait en même temps que la traduction, que la biosynthèse de la protéine.

Elle nécessite deux éléments pour être réalisée:

→ un site spécifique de glycosylation, c'est une séquence du type: Asn – X – Ser ou Asn – X – Thr.

→ une enzyme de glycosylation qui va fixer un motif glucidique complexe.

(cf. Doc. 3 poly A)

La glycolisation se fait dans la lumière.

Le motif est déjà présent sur la membrane, fixé à un diPhosphate.

Ce motif est constitué de 3Phosphates + 2Nacétylglucosamines + 9 résidus de mannoses + 3 glucoses. Ce motif glucidique sera mûri au sein du R.E.G. puis au niveau du Golgi majoritairement. Le motif glucidique se fixe sur une Asn par une liaison N-oligosaccharidique. Ce type de glycosylation marquera les protéines transmembranaires et les protéines exocytées.

- **Maturations:**

Dans le R.E.G., elle a lieu au niveau peptidique et glucidique. Elle se poursuivra (et se terminera) au niveau du Golgi.

→ Peptidique: la protéine va acquérir les ponts diSulfures et donc début de repliements 3D (grâce aux protéines chaperonnes).

→ Glycosylation: épuration du résidu oligosaccharidique pour ne garder que le "Core".

- **R.E.L.**

(cf. Cours BC1 pharmaco- détoxification hépatique)

Le R.E.L. produit presque tous les lipides nécessaires à l'élaboration de nouvelles membranes, phospholipides et dérivés du cholestérol. Assemblage des lipides membranaires.

Ce R.E.L. permet des transferts de lipides grâce aux protéines d'échanges de lipides. Des lipides du R.E.L. peuvent être transférés sur d'autres membranes comme celles des chloroplastes ou des mitochondries.

Le R.E.G. a un rôle central dans la synthèse des protéines transmembranaires et des phospholipides.

Le mécanisme de biosynthèse est spécifique grâce au peptide-signal qui permet un adressage au niveau de cet organite.

2. Appareil de Golgi.

- **Présentation.**

- **Structure:**

Empilement de saccules dites "Dictosome". Cet organite est regroupé à un endroit particulier de la cellule. Il est fractionné en 3 zones:

- une proche de R.E.: le "cis-golgi" qui reçoit les vésicules bourgeonnées du R.E.
- une seconde partie: le "golgi-médian".
- une troisième partie: le "trans-golgi" qui émet des vésicules d'exocytose, ou destinées à d'autres organites.

Les protéines néosynthétisées poursuivent leur maturation au sein du Golgi et seront adressées spécifiquement à leur destinataire (=> TRI Cellulaire).

- **Composition:**

Comme le R.E., il s'agit d'un organite enveloppé avec une bicouche phospholipidique permettant un système de communication entre ses trois parties. Sa membrane est très riche en protéines.

C'est un espace délimité, il y a une lumière où l'on retrouve les protéines en maturations.

- **Fonctions biologiques du Golgi.**

- **Maturation des glycolisations:**

- ◆ Maturation post-traductionnelle du motif glucidique.

En fonction des protéines il y a deux types de glycolisations finales:

→ riche en Mannose "Core"; ici il n'y a eu que des suppressions glucidiques.

→ motifs glucidiques complexes; le motif, après avoir été érasé, va être complété avec d'autres résidus. On retrouve ici du Galactose, de l'Acide Sialique (hétéroside avec -COOH, seule forme glucidique chargée -). (cf. Fig. 17-30 poly B)

Lors de l'élaboration du motif glucidique complexe, il y a intervention d'une dizaine d'enzymes Golgiennes (nécessité d'activer les glucides avant de les additionner).

Pour les protéines qui présentent un site glucidique peu accessible = glycosylation Mannose. Ces résidus se retrouvent dans des zones internes de la protéines.

Par contre les protéines qui retrouvent leurs sites glucidiques en périphérie = glycosylation plus riche et plus complexe.

- ◆ Synthèse des protéoglycanes.

C'est une chaîne glucidique qui possède quelques résidus d'acides-aminés (inverse des glycoprotéines). Ici 60% à 95% en masse de glucides (dans glycoprotéines moins de 15% en masse de glucides).

Ex: collagène, lastine, mucoprotéine.

Ils se retrouvent dans la matrice extracellulaire. Ces structures sont impliquées dans la souplesse des tissus.

- **Tri des protéines:**

Golgi = plateforme d'adressage des protéines.

Chaque protéine possède un signal d'adressage qui permet à l'appareil de Golgi de connaître sa destination finale.

Ce signal est une séquence peptidique (séquence de la protéine) ou motif glucidique (dépend de la maturation).

Voie 1: Recyclage des protéines vers le R.E.G.

Cette voie va être suivit par des enzymes du R.E.G., par des enzymes mal repliées (trop vite passées dans le Golgi). Les enzymes du R.E.G. ont un signal d'adressage: Lys - Asp - Glu - Leu. Cette séquence est reconnue par des récepteurs des vésicules du Golgi ce qui entraîne alors un mouvement rétrograde. Toute protéine en cours de repliement est associée à une B.I.P. = "Binding-proteine".

Voie 2: Adressage au Lysosyme.

Lysosymes = vésicules qui contiennent de nombreuses hydrolases stockées inactives (proenzymes). Elles s'activent par acidification du lysosome. Toutes les vésicules sont pourvues de pompes ATPases.

Ces lysosymes fusionnent avec un endosome (vésicule d'endocytose) pour former un endolysosome, permettant la dégradation de la vésicule d'endosome.(cf. Poly B fig. 8-24)

Toute protéine destinée au lysosyme est couplée à un Mannose-6-Phosphate.

Toute enzyme destinée au lysosyme possède dans sa séquence primaire des motifs d'acide-aminés spécifiques reconnus par l'enzyme qui réalise la phosphorylation du Mannose en position 6.

Le tri a lieu au niveau du Trans-golgi. La vésicule de transport translysosomiale possède un récepteur au Mannose-6-Phosphate, puis la vésicule est dirigée vers le lysosyme. Le mouvement des vésicules nécessite une dépense d'énergie (ATP). Le mouvement des vésicules suit les rails du cytosquelette.

Voie 3: Exocytose.

Les protéines exocytées ne possèdent pas de séquence particulière d'adressage et vont suivre la voie classique d'exocytose.

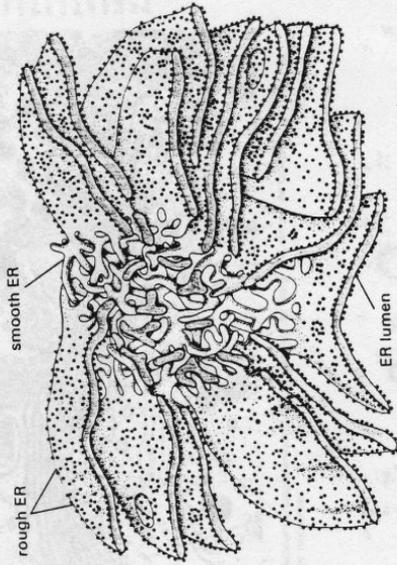
Donc Golgi = tri des protéines et maturation.

Grande importance des signaux d'adressage spécifiques.

CA.5 BETH

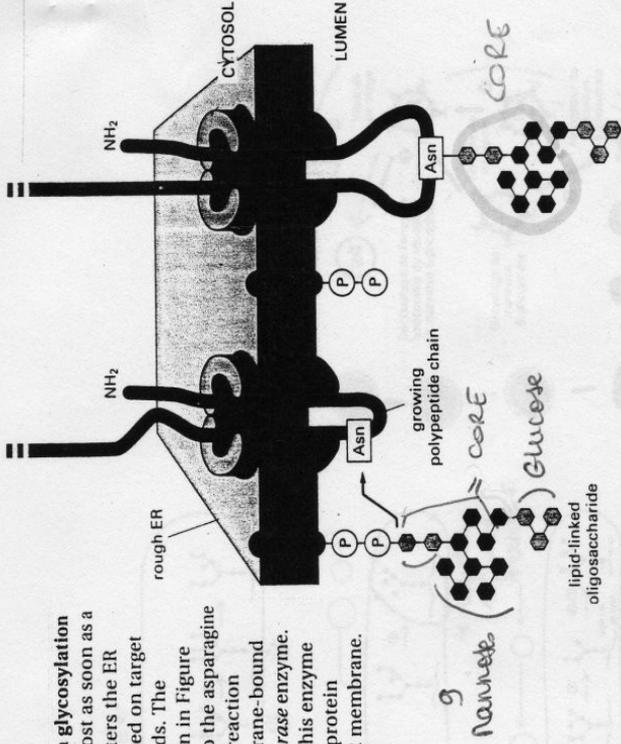
Document 1 :

Three-dimensional reconstruction of a region of the smooth and rough ER in a liver cell.



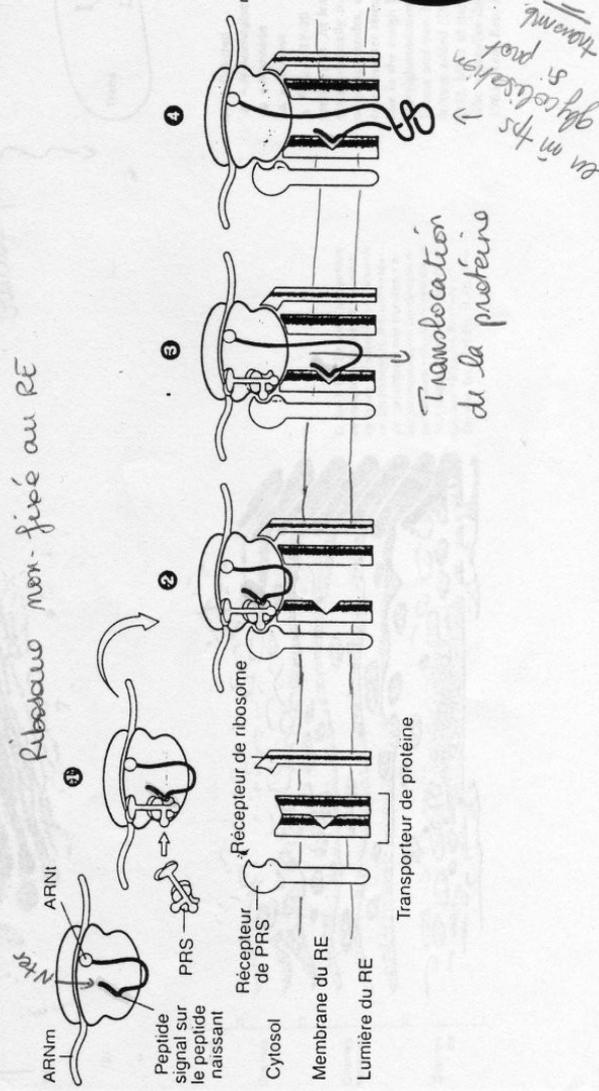
Document 3 :

Protein glycosylation in the rough ER. Almost as soon as a polypeptide chain enters the ER lumen, it is glycosylated on target asparagine amino acids. The oligosaccharide shown in Figure 12-48 is transferred to the asparagine as an intact unit in a reaction catalyzed by a membrane-bound *oligosaccharyl transferase* enzyme. There is one copy of this enzyme associated with each protein translocator in the ER membrane.



Document 2 :

Modèle représentant la synthèse d'une protéine de sécrétion (ou d'une enzyme du lysosome) sur un ribosome uni à une membrane du RE rugueux.



A

Chs Bch



(a)

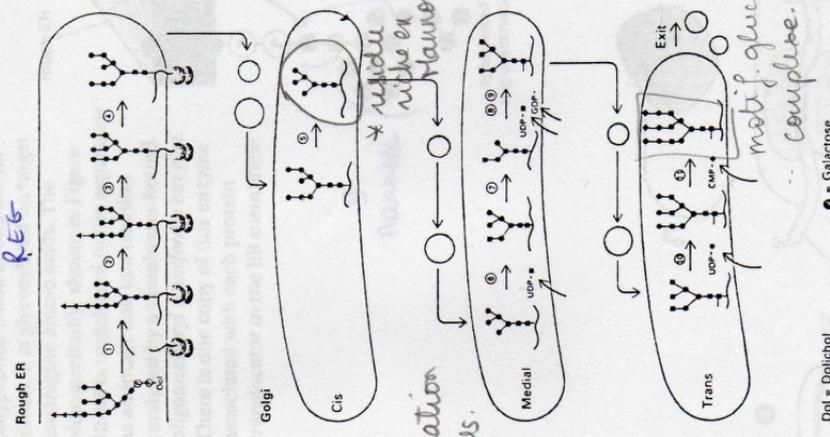


(b)



Golgi

Figure 8-15 • Le complexe de Golgi. (a) Micrographie électronique du Golgi montrant les vésicules à partir d'un côté du côté de la zone de sécrétion et par l'autre des extrémités de la stack trans. (b) Micrographie électronique montrant un détail du Golgi qui illustre la différence de structure de la partie cis et de la partie trans.



étape "niche en mannose"

* fin de maturation de certains protéines.

add. motifs Glucidiques

motif glucidique complexe

- = Galactose
- = N-Acetylglucosamine
- ◆ = N-Acetylneuraminic acid
- = Mannose
- ▲ = Glucose

▲ Figure 17-30 The formation of complex N-linked oligosaccharides. At least 11 enzymes in four discrete organelles act sequentially to modify the common precursor of N-linked oligosaccharides, according to the following steps: three glucose residues removed (2, 3); four mannose removed (4, 5), one in the rough ER and three in the cis Golgi; one N-acetylglucosamine added (6); two mannose removed (7); one fucose and two N-acetylglucosamine added (8, 9); three galactose added (10); three N-acetylneuraminic acid added (11). Most of these enzymes have been localized to the specific organelles depicted. [See R. Kornfeld and S. Kornfeld, 1985, *Ann. Rev. Biochem.* 45:631-664.]

B

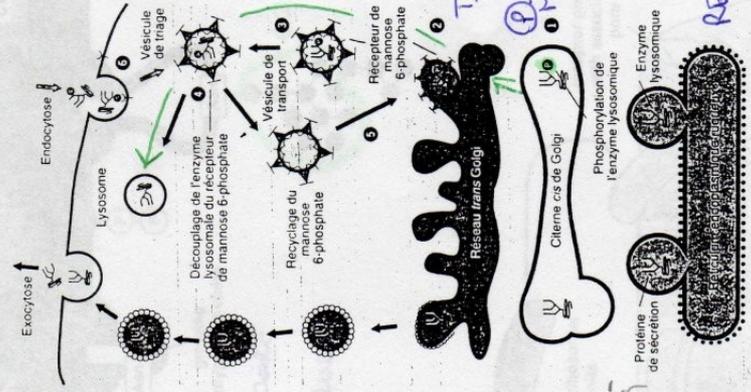


Figure 8-24 • Mécanisme de guidage des enzymes lysosomiques vers les lysosomes.

Lo dépose d'atp-