

## SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

Il est présent uniquement dans les cellules eucaryotes. Il est considéré comme l'ensemble des cavités cytoplasmiques limitées par des membranes intercommunicantes entre elles par l'intermédiaire de vésicules ou canalicules. Les différents compartiments de ce système sont: le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les phagosomes et endosomes, les lysosomes et la vacuole végétale.

### 1. RETICULUM ENDOPLASMIQUE

C'est un ensemble de membranes délimitant des cavités sous forme de citernes ou de tubules. Il peut être dépourvu de ribosomes, c'est le cas du réticulum endoplasmique lisse (REL) ou porteur de ribosomes, c'est le réticulum endoplasmique granulaire (REG) qui est en relation avec l'enveloppe nucléaire.

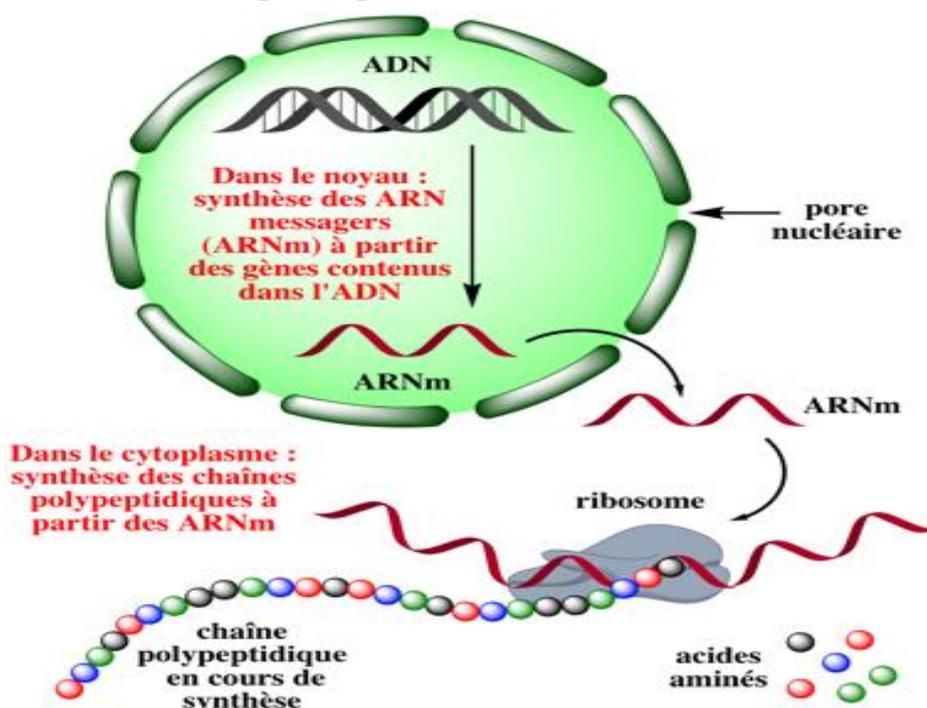
#### a. Membrane

Elle renferme environ 70% de protéines (glycosyl-transférase, cytochrome P450, glucose 6- phosphatase), 30% de lipides ; les phospholipides forment une bicouche avec un pourcentage important d'acides gras insaturés (fluidité importante). Le cholestérol est présent en faible quantité. Les glucides en faible pourcentage sont attachés aux protéines et aux lipides, ils se trouvent vers la face luminale. L'architecture moléculaire de la membrane est une mosaïque fluide asymétrique.

#### b. Contenu de la cavité

Il est différent d'une cellule à l'autre, exemples, la cavité du REG de la cellule du pancréas exocrine contient des protéines enzymatiques, celle du REL de la cellule lutéale contient des hormones stéroïdes, la cavité du réticulum sarcoplasmique de la cellule contient du  $Ca^{++}$ .

#### c. Fonctions Du Reticulum Endoplasmique



Une cellule est capable de synthétiser et de transporter des protéines dans son cytoplasme par l'intermédiaire de vésicules.

L'ADN est employé comme molécule de stockage robuste et non modifiable (hormis les mutations) de l'information génétique. La structure en double hélice de l'ADN, son empaiquetage très dense dans le noyau et son association étroite aux histones sont des éléments supplémentaires de stabilité.

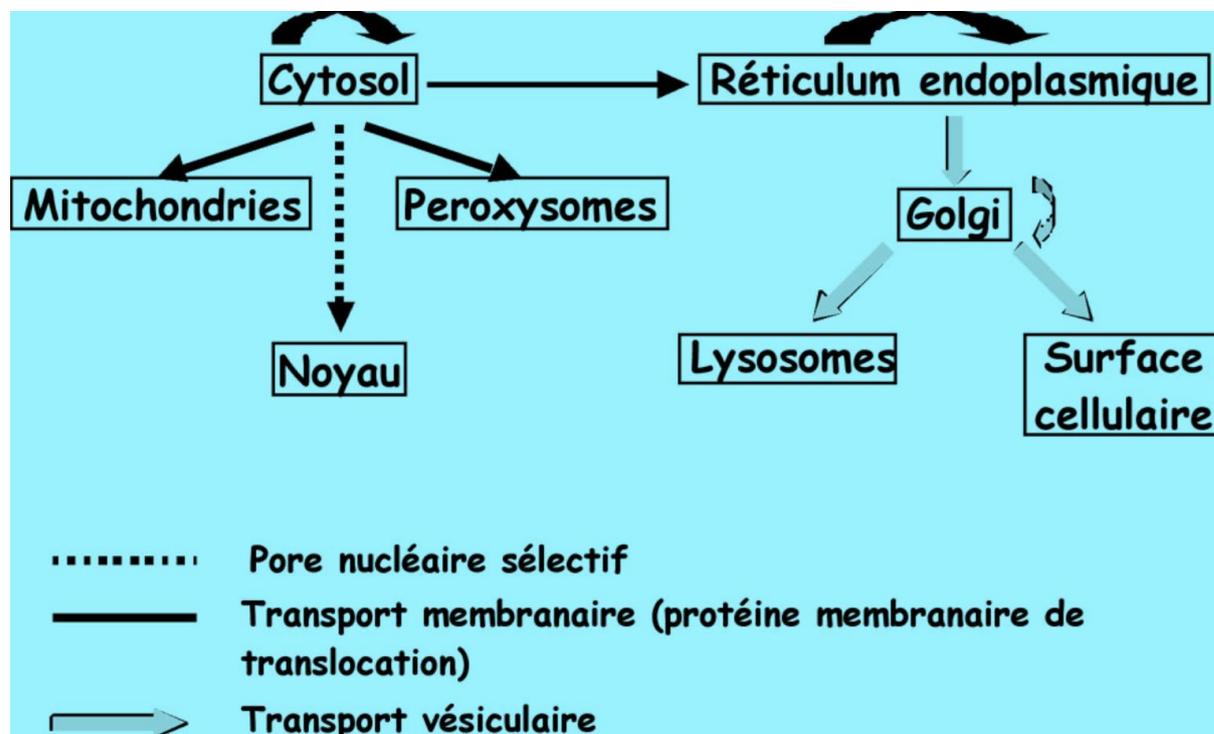
Pour que l'information passe de l'ADN aux protéines, la cellule utilise diverses classes de molécules d'acides ribonucléiques ou ARN.

- les ARN de transfert (ARNt) qui apportent les acides aminés à la machinerie de traduction des ARN messagers en protéines.
- les ARN ribosomiaux (ARNr) qui constituent (avec des protéines) les ribosomes.
- les ARN messagers (ARNm), découverts par J. Monod, F. Jacob et leurs collaborateurs.
- des petits ARN ("*small RNAs*" : snRNA, snoRNA, siRNA ("*small interfering RNA*"), miRNA, piRNA, ...) de faible taille (20 - 30 nucléotides). Ils participent à divers mécanismes métaboliques dont la maturation des ARN. Ces petits ARN possèdent souvent une activité catalytique

La synthèse des protéines commence toujours dans le cytosol par l'initiation et le début de l'élongation. Deux types de protéines peuvent être synthétisés au niveau du REG, les protéines solubles ou luminales et les protéines hydrophobes qui seront insérées dans la membrane.

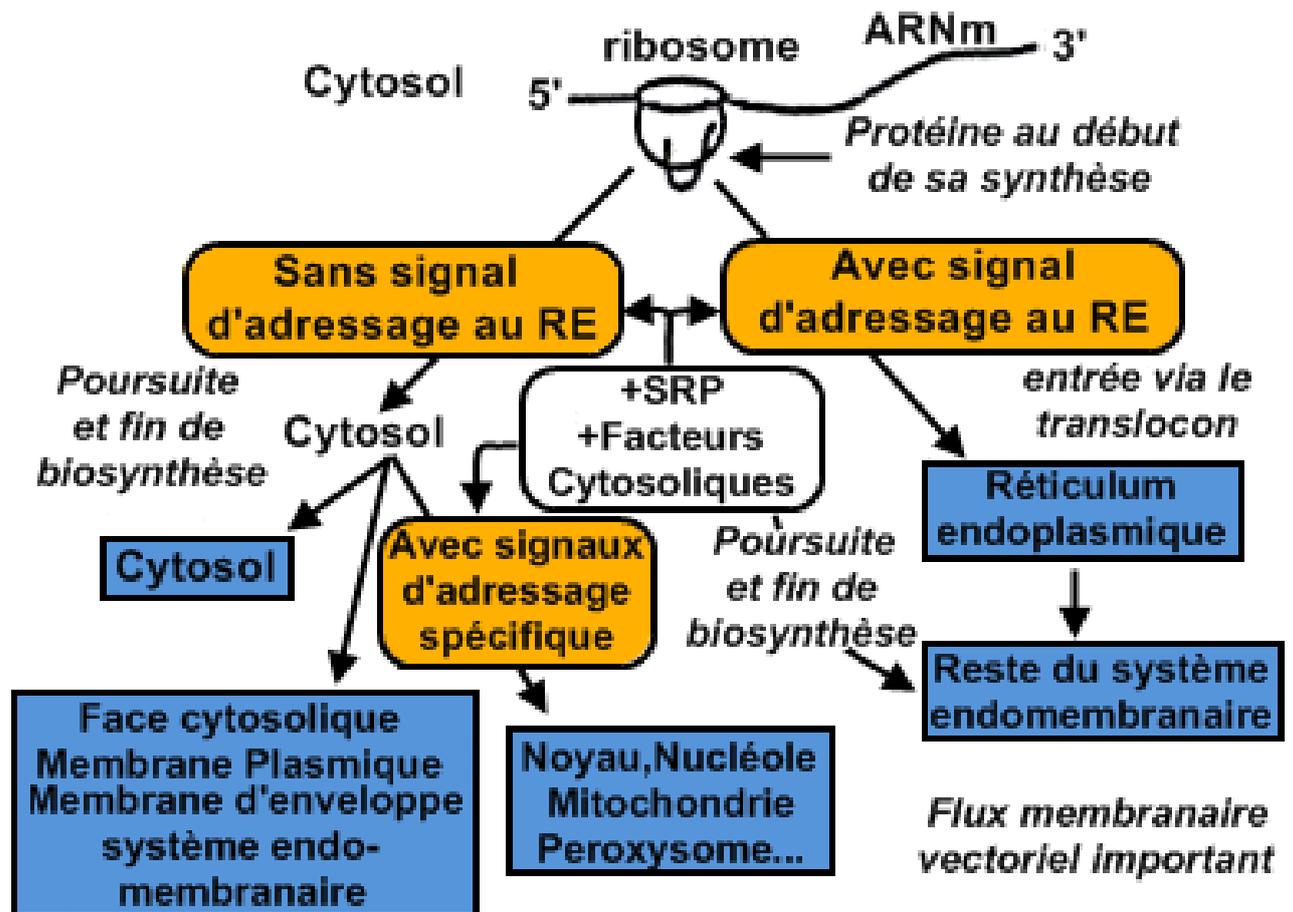
# LES PROTEINES

## I-LES DEUX PRINCIPALES DESTINEES DES PROTEINES :



.Quelques exemples de protéines acheminées vers le RE :

- ---composants de la membrane externe : canaux ioniques, transporteurs, molécules d'adhérence, récepteurs membranaires,...
- ---composants de la matrice extracellulaire : protéoglycanes, fibronectines, laminine, collagènes, protéases, ...
- ---hormones peptidiques : insuline
- ---protéines du plasma sanguin : albumine, immunoglobulines, facteurs du complément, facteurs de coagulation, fibrine, lipoprotéines, protéine C, ...
- ---facteurs de croissance impliqués dans la prolifération cellulaire
- ---facteurs impliqués dans l'inflammation et la réponse immunitaire
- ---composants des lysosomes : cathepsines, lipases, phospholipases, nucléases, glycosidases.
- ---les protéines dites "chaperonnes" qui aident au repliement de certaines protéines nouvellement synthétisées
- ---les enzymes des modifications post-traductionnelles : formation de ponts disulfure, glycosylation (glycosyltransférases, glycosidases et protéines de transport nucléotide-glucide)
- ---les enzymes de protéolyse partielle (furines)
- ---les récepteurs impliqués dans l'adressage des protéines aux différents compartiments subcellulaires (récepteur du mannoside-6 phosphate...)



## Les débuts cytosolique de synthèse des Protéines Les principales destinations des Protéines

### II-SITES ET SYNTHÈSE DES PROTÉINES :

**1- Définition du S.E. (système endomembranaire) :** Système complexe de cavités, vésicules et canalicules. Chaque compartiment possède 2 « constituants » qui peuvent passer d'un compartiment à l'autre :

---membrane d'enveloppe ↔ membrane plasmique.

---lumière des cavités ↔ milieu extracellulaire.

= ensemble de membranes spécialisées à l'interface entre cytosol, membrane plasmique et milieu extracellulaire.

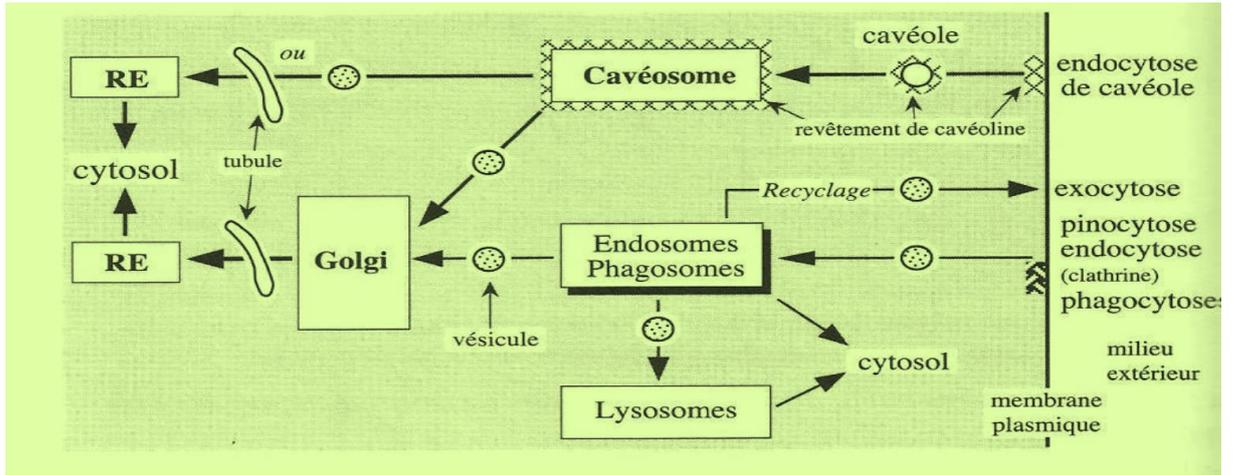
Fonctions du S.E. dépendent de 4 étapes :

- a)- Interaction de la face membranaire cytosolique / cytosol
- b)- Traversée totale ou partielle de la membrane d'enveloppe
- c)- Modifications du matériel transporté dans la cavité

d)- Transport éventuel du matériel :

--- vers d'autres compartiments du S.E. (+ facteurs cytosoliques et cytosquelette).

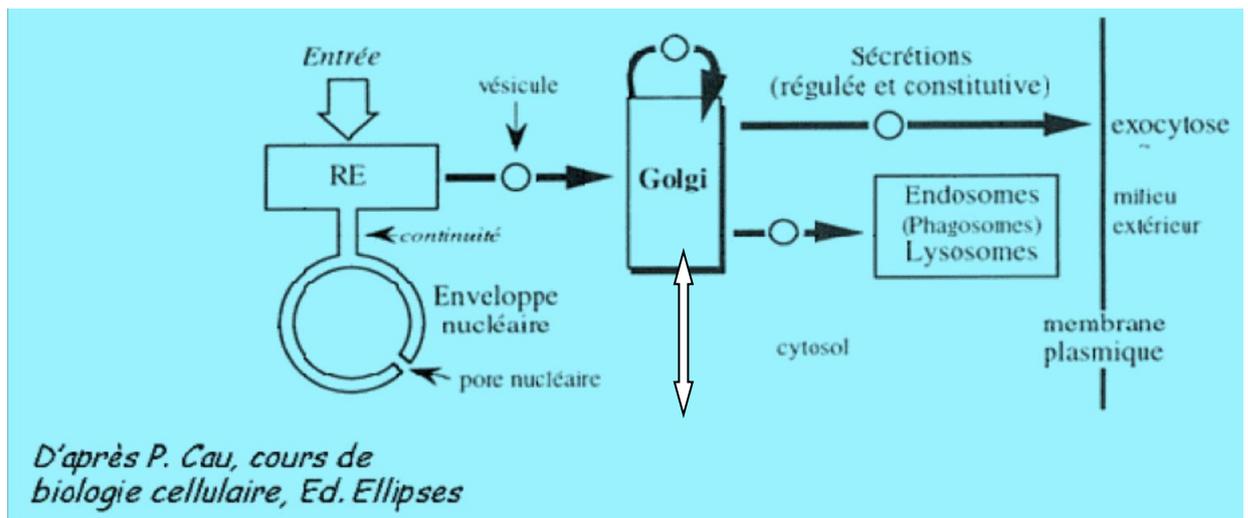
--- vers le cytosol = traversée de la membrane d'enveloppe.



## 2- Les flux membranaires du S.E. :

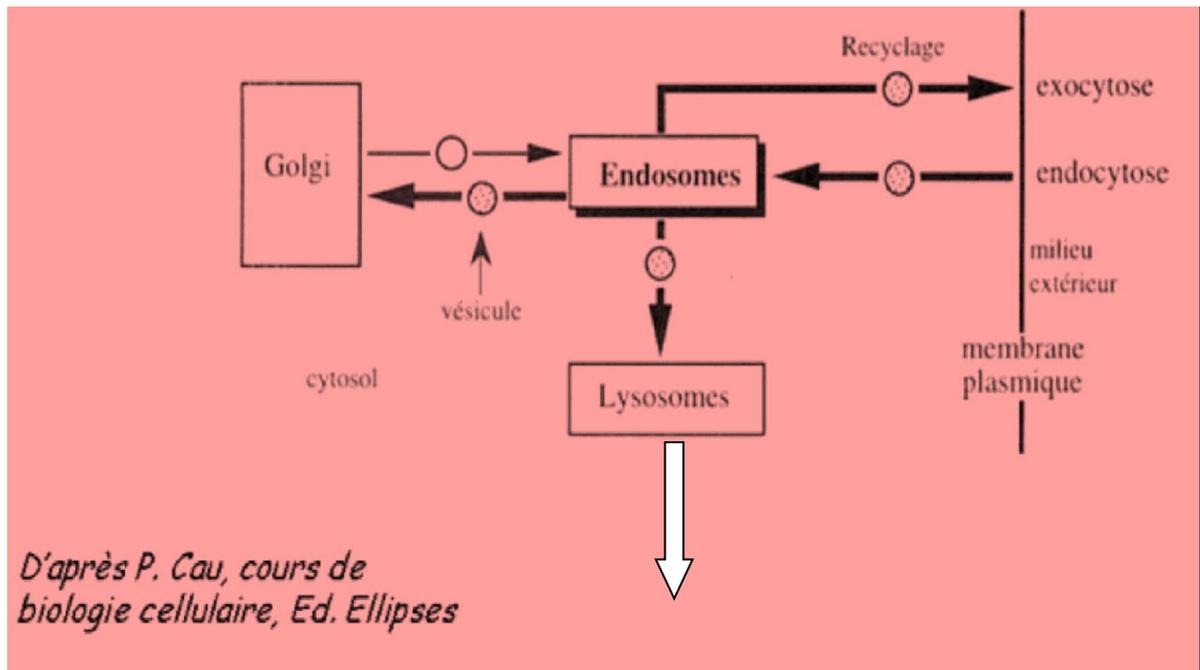
Transport : des membranes d'enveloppe du contenu des cavités

a)-Flux membranaire vectoriel & permanent



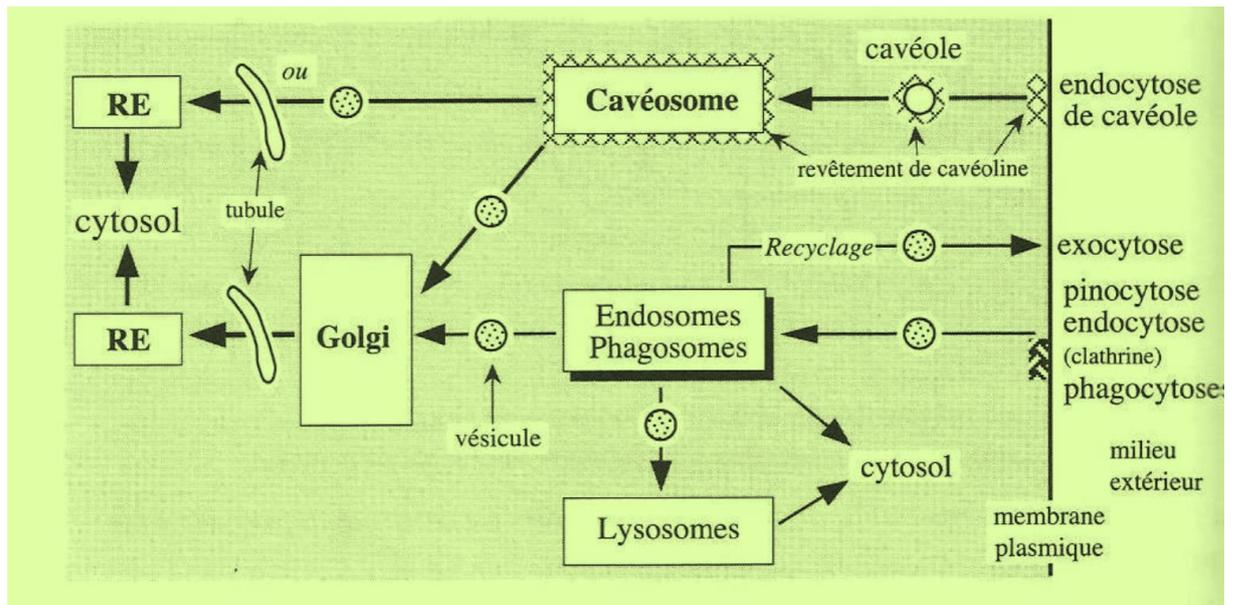
Carrefour

b)-Flux membranaire à partir des endosomes :



**Carrefour=Endosomes**

**c)-Flux membranaire à destination du RE, par cavéoles et cavéosomes,**



Les protéines, macromolécules composées d'acides aminés qui résultent de la traduction du message génétique, sont présentes dans tous les organismes vivants où elles assurent l'essentiel des fonctions de la cellule, soient sous formes d'enzymes, de transporteurs membranaires, de récepteurs ou autres. Pour être biologiquement actives, chacune doit être exprimée en un endroit précis de la cellule où elle y est acheminée grâce à des signaux particuliers contenus dans la séquence peptidique.

Les protéines faisant partie de la voie sécrétoire, c'est-à-dire celles qui sont sécrétées, membranaires ou résidentes dans une organelle, doivent traverser différents compartiments en partant de leur lieu de synthèse qu'est le réticulum endoplasmique (RE) . Ce type de protéines, par comparaison aux protéines cytoplasmiques, doit traverser plusieurs compartiments cellulaires dont la composition moléculaire diffère de l'un à l'autre. Une protéine membranaire sécrétoire nouvellement synthétisée contient un peptide signal, nécessaire pour l'enchâssement membranaire, qui est clivé à son insertion dans la membrane du RE après translocation à travers le complexe protéine sécrétoire soluble-61 (Sec61), un complexe enchâssé dans la membrane du RE permettant l'entrée d'une protéine néo-synthétisée dans la voie sécrétoire.

À partir de son lieu de synthèse, la protéine sera dirigée vers son compartiment de résidence, soient l'appareil de Golgi, les endosomes, les lysosomes ou la membrane plasmique, dans lesquels elle demeurera ou cheminera pour poursuivre son chemin jusqu'à sa cible finale.

Différentes séquences peptidiques ou modifications post-traductionnelles reconnues par des protéines résidant dans le RE ou l'appareil de Golgi permettent le triage des protéines sécrétoires vers leurs lieux de résidence. Ce tri protéique est permis par le 2eme transport vésiculaire qui achemine les protéines d'une organelle à l'autre.

## 1. Contrôle de qualité des protéines

Le RE, où la concentration protéique avoisine les 100 mg/ml, doit constamment évaluer la qualité des protéines qu'il synthétise à l'aide de chaperonnes qui réagissent à tout type de configurations non-natives. Lorsque le processus d'aide au repliement fourni par les chaperonnes n'est plus apte à contrôler le niveau élevé de protéines mal repliées ou dépasse sa capacité de fonctionnement, des systèmes de réponse au stress (unfolded protein response; UPR) sont induits dans la cellule. Les protéines de contrôle du repliement s'accrochent aux protéines tronquées ou mutées en des positions qui interfèrent avec le repliement protéique. Elles peuvent ainsi faciliter la multi-mérisation et mener à une structure quaternaire fonctionnelle. Le système de contrôle de qualité empêche aussi les protéines non-liées à un ligand spécifique ou n'ayant pas subi de modification post-traductionnelle (clivage du peptide signal, formation de ponts disulfures, N-glycosylations appropriées ou ancre glycophosphoinositide manquante) de quitter le RE. Sont aussi interceptées les protéines qui ont une conformation native afin d'évaluer leur bon repliement et de réguler leur acheminement. De facto, les protéines défectueuses sont prises en charge par le système de dégradation associé au contrôle de qualité. Autrement, les modifications conformationnelles ou post-traductionnelles subies dans le RE identifient les protéines à évaluer par le système de contrôle de qualité.

En premier lieu, suivant l'état de repliement d'une protéine, celle-ci peut être conservée dans le RE, s'agréger à d'autres peptides ou poursuivre son chemin si sa conformation native a été parachevée. Les protéines retenues dans le RE ont une période de temps déterminée pour adopter une conformation native, sinon elles seront détruites par le protéasome dans un processus appelé dégradation assistée par le RE ou ERAD (ER-associated degradation). Dans ce cas, elles sont transloquées vers le cytosol avant d'aboutir au protéasome. En continuant leur route vers l'appareil de Golgi, les protéines mal repliées seront soit réacheminées vers le RE par un système de cis-vésiculation ou ciblées vers la dégradation lysosomiale. Au sein du système de contrôle de qualité, les mécanismes qui assurent le repliement des protéines glycosylées sont des lectines qui se collent aux chaînes de N-glycosylation des protéines (Parodi, 2000), telles les glucotransférases et les chaperonnes s'attachant à des parties hydrophobes des entités protéiques. Les protéines di sulfures isoméras (protein disulfide isomerase; PDI), menant à bien la formation des ponts disulfures, font aussi partie du contrôle de qualité puisque leur fonction de formation de ponts disulfures entre deux cystéines est crucial pour le bon repliement protéique et pour le cheminement dans la voie sécrétoire. Le système de contrôle de qualité emploie aussi ces composantes pour la détermination et l'adressage d'une protéine vers la dégradation. À celles-ci peuvent être ajoutées des protéines faisant partie du signal UPR. Les protéines membranaires sont enchâssées dans un environnement

stérique lipophile et, de ce fait, elles évitent habituellement le système des chaperonnes.

## **2. Les lectines et la N-glycosylation**

La grande majorité des protéines sont glycosylées par l'oligosaccharyl transférase. Cette protéine ajoute un résidu N-glycosyl, provenant du dolicholphosphate, sur le site consensus de N-glycosylation. Cette N-glycosylation, prenant place dans le RE, permet l'ajout d'un sucre riche en mannose sur un résidu asparagine. Ce groupement glycosyl sera reconnu par le contrôle de qualité, qui décidera du futur de la protéine.

Le sucre est synthétisé dans le RE sur le dolichol-phosphate, un phospholipide. Une N-glycosyltransférase clive le sucre du lipide et l'attache à la protéine néosynthétisée. Dans le RE, le sucre sert de matrice de liaison dans l'aide au repliement protéique et subit ensuite un clivage de son extrémité avant l'envoi de la protéine au Golgi. Dans le Golgi, le sucre dont la forme est Glucose<sub>3</sub>Mannose<sub>9</sub>N-acetylglucosamine<sub>2</sub> aura de plus ample modifications afin de créer un sucre complexe contenant des fucose, N-acetylgalactosamine, mannose et glucose. Le sucre complexe est le sucre qui coiffe l'AQP2 lorsqu'il se présente à la membrane plasmique.

Une protéine néo-synthétisée se replie alors sur elle-même pour adopter sa conformation native. C'est la présence de chaperonnes intra-réticulaires qui la maintient dans le RE jusqu'à son repliement. La présence de N-glycosylation y facilite sa rétention en créant un site d'attache pour les lectines que sont la calnexine (CNX), protéine membranaire du RE, et la calréticuline (CRT), son homologue soluble. Ces dernières ne peuvent s'attacher qu'à des groupements N-saccharidiques de protéines spécifiques où le sucre est monoglucosylé. Cette monoglucosylation est maintenue par un cycle de dé- et reglucosylation assuré par les glycosylase II ou reglucosydase qui reconnaissent diverses configurations non-natives de la protéine.

L'oxydoréductase nommée protéine-57 du réticulum endoplasmique ou ERp57 (Endoplasmic Reticulum protein-57), liant les lectines CNXICRT en leur domaine P, domaine qui est exposé en surface, agit comme PDI en catalysant la formation de ponts disulfures.

## **3. Autres systèmes de repliement protéique**

Tel que mentionné préalablement, PDI est une isomérase qui crée des ponts disulfures entre résidus cystéines, permettant ainsi aux protéines néo-synthétisées d'adopter une structure adéquate. L'adoption de la structure tertiaire est facilitée par la formation de ponts intra-chaînes alors que celle de la structure quaternaire l'est par la création de ponts inter-chaînes. En plus de ces chaperonnes qui interagissent avec les

groupements N-glycosylés, certaines reconnaissent les régions hydrophobes des protéines. C'est le cas de la protéine liante (binding protein; BiP), aussi connue sous le nom de grp78 qui facilite le repliement protéique en permettant aux zones hydrophobes d'interagir ensemble pour éviter ainsi l'apparition de conformations non-naturelles pouvant se former en un milieu aqueux. Lorsque les protéines sont non-glycosylées, BiP est le seul acteur au niveau du repliement. BiP amène aussi la protéine plus près de sa forme native en contrecarrant la formation d'agrégats

#### **4. Chaperonnes d'adressage**

Le repliement protéique assisté par les chaperonnes se termine par le cycle de déglucosylation impliquant la glycosidase II. À moins que la protéine ne réside dans le RE, elle poursuit son chemin vers l'appareil de Golgi. C'est à ce niveau que s'effectue la dernière étape de contrôle de qualité des protéines issues du RE grâce au rôle de chaperonne exercé par ERGIC-53 qui permet leur envoi vers le Golgi et leur retour vers le RE en cas de nécessité. Dans les citernes du Golgi, la protéine est tout d'abord partiellement déglycosylée avant l'ajout de nouveaux résidus glycosylés pour former un polysaccharide plus complexe.

### **III. Fonctions communes du RE à toutes les cellules eucaryotes :**

1. Synthèse et translocation des protéines.
2. N- & C- glycosylation des protéines.
3. Conformation spatiale des protéines.
4. Contrôle qualité des protéines avant exportation.
5. Émission de signaux (FRT) vers noyau.
6. **Synthèse de phospholipides** membranaires.
7. Stockage & libération de  $Ca^{++}$ .
8. Production de glucose.

#### **B-Sites de la synthèse des protéines en général :**

Plusieurs types de protéines sont synthétisés par différentes cellules de vertébrés dont nombreuses sont celles spécialisées dans la sécrétion de protéines spécifiques (voir tableau):

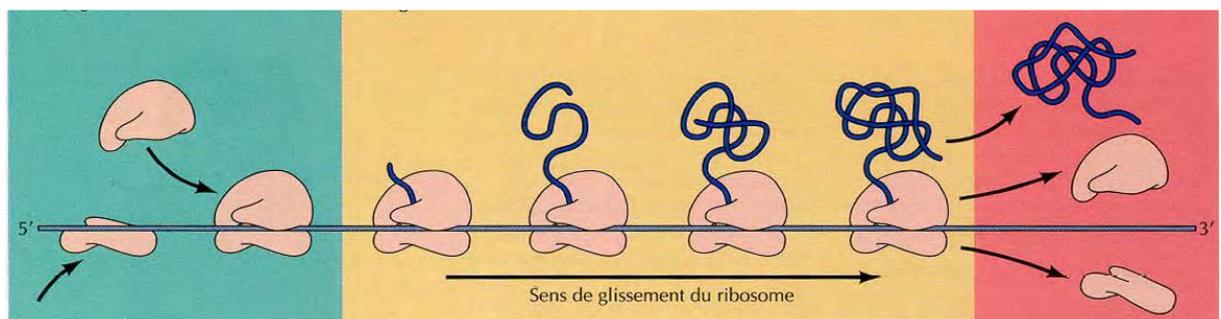
#### **Protéines synthétisées par les différentes catégories de ribosomes :**

Localisation des ribosomes	Types de protéines synthétisées	
Mitochondrie	Toutes les protéines codées par ADN mitochondrial : certaines protéines intrinsèques de la membrane interne	
Chloroplaste	Toutes les protéines codées par ADN.	
Ribosomes cytosoliques libres	<ul style="list-style-type: none"> <li>---Protéines du cytosquelette et celles fixées sur la face cytosolique aux protéines intrinsèques (spectrine et ankyrine).</li> <li>---Protéines ancrées par un lipide à la MP (GPI...).</li> <li>---Protéines mitochondriales codées par ADN nucléaire.</li> <li>---Protéines des chloroplastes par ADN nucléaire.</li> <li>---Protéines des peroxysomes et nucléaires (histones, lamines,...)</li> </ul>	
Ribosomes cytosoliques fixés aux membranes	<ul style="list-style-type: none"> <li>---Protéines et glycoprotéines intrinsèques (Mbranes P,nucléaire ,golgienne, RE,lysosomes et endosomes).</li> <li>---Protéines sécrétées et celles de la matrice extracellulaire : fibronectine et collagène qui sont fréquemment attachés aux protéines intrinsèques de la MP, enzymes des lysosomes,RE,complexe golgien.</li> </ul>	

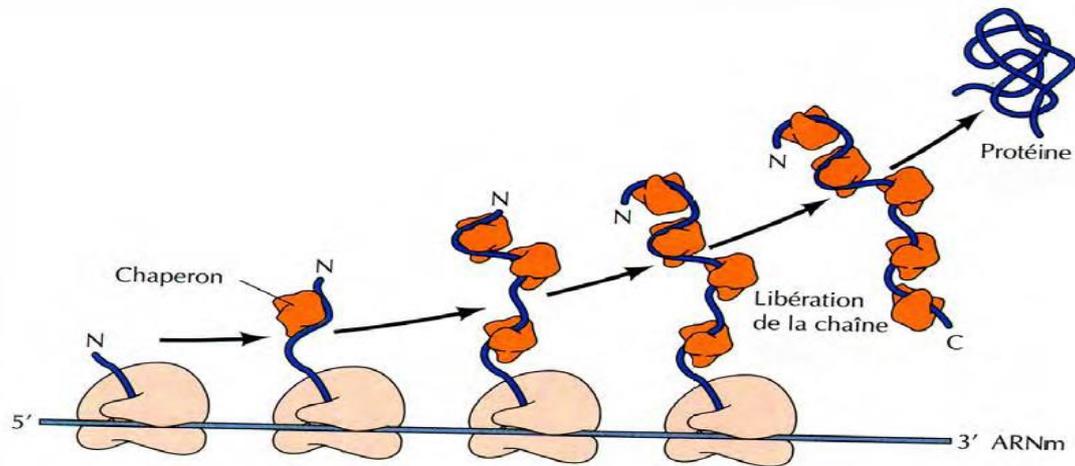
### A --Les protéines cytosoliques :

La petite sous-unité ribosomale se positionne sur l'ARNm, en amont du codon d'initiation de la traduction, vient ensuite la grosse sous-unité et la traduction progresse à partir du codon d'initiation en direction de l'extrémité 3'. Au niveau du codon «stop», la dissociation du ribosome et la libération de la protéine se produisent.

Toutes les protéines commencent leur synthèse dans le cytosol. Certaines seulement l'y termineront. Il s'agit des protéines cytosoliques, nucléaires, mitochondriales (non codées par le génome mitochondrial) et des peroxysomes.



## 1)-Repléments de la chaîne protéique :

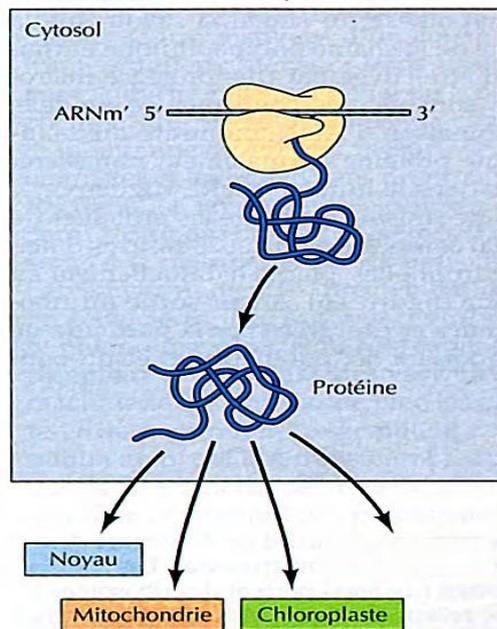


Plusieurs tentatives, catalysées par des chaperons (molécules s'associent à la chaîne protéique pour éviter un repliement prématuré), sont nécessaires pour atteindre le repliement correct de la protéine. En cas d'échec, les protéines mal conformées seront détruites.

## 2)-Adressage au RE :

Toutes les protéines débutent leur synthèse dans le cytosol mais certaines sont

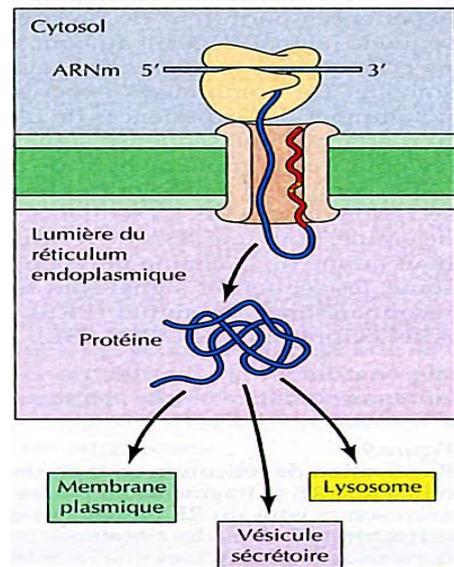
### Ribosomes libres dans le cytosol



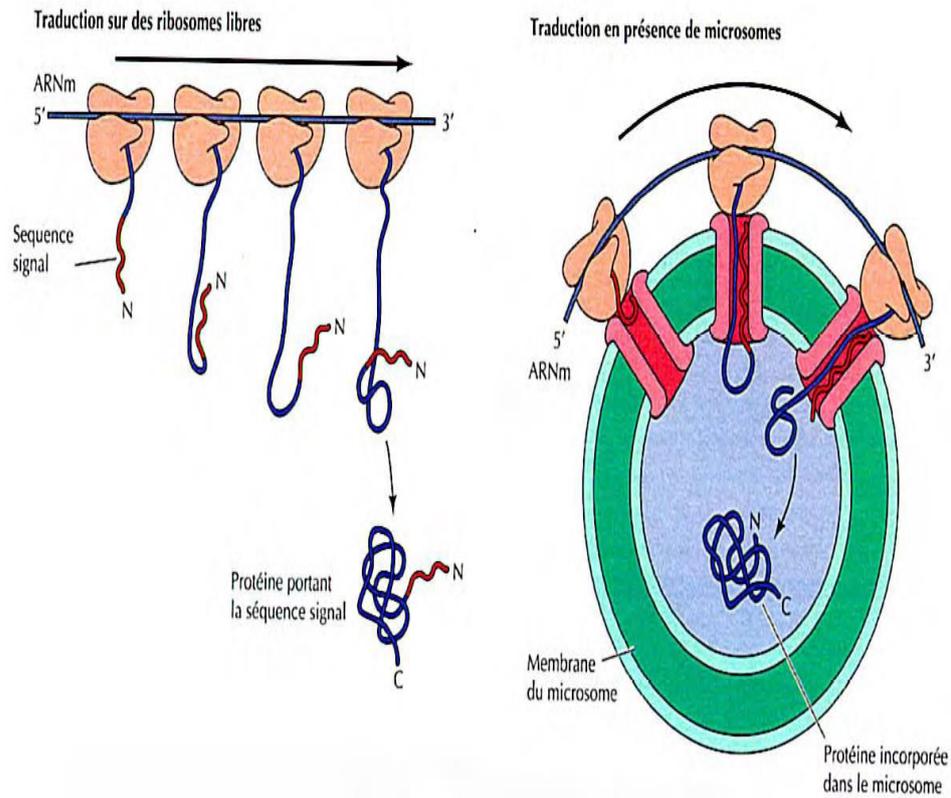
acheminées, pendant la traduction, vers le REG.

### Translocation post-traductionnelle

### Ribosomes liés à la membrane

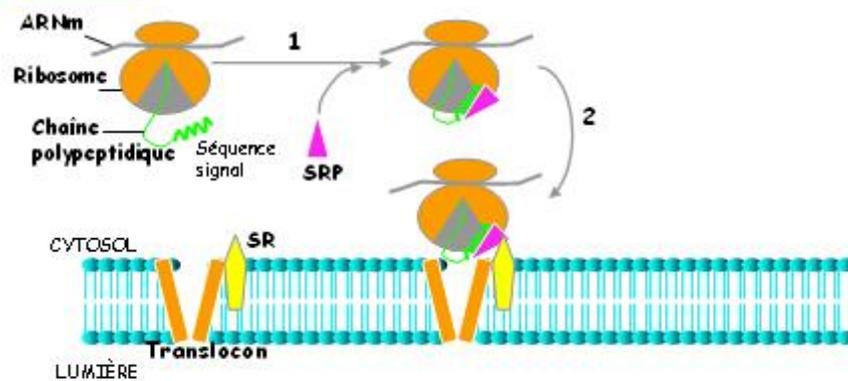


### Translocation Co-traductionnelle

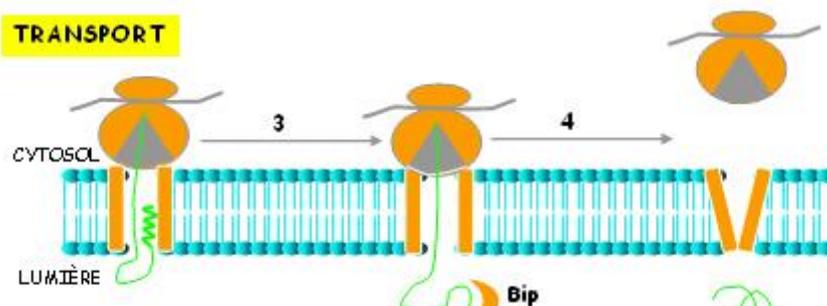


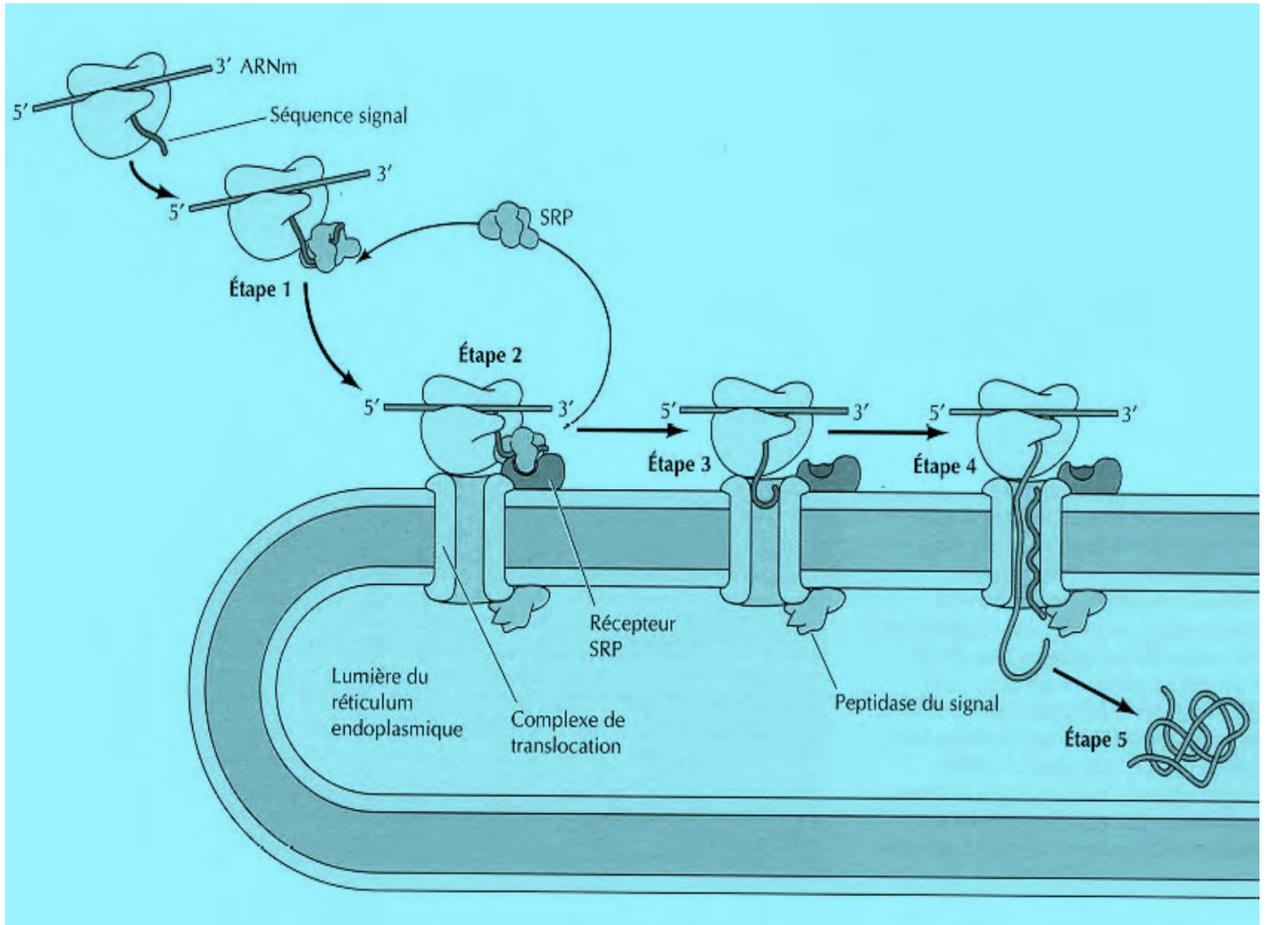
## TRANSLOCATION MEMBRANAIRE DES PROTÉINES

### CIBLAGE



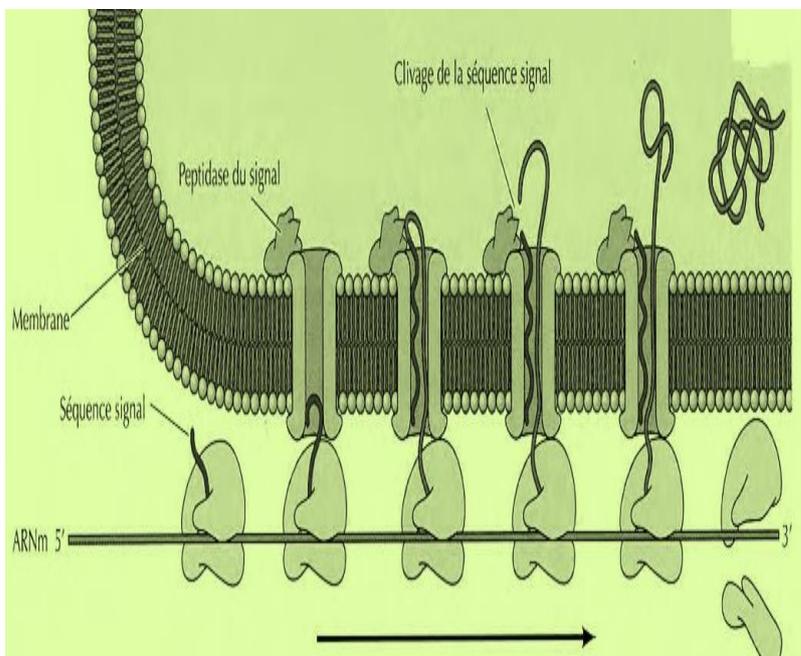
### TRANSPORT





La particule SRP, contient un ARN de 7S uni à plusieurs protéines, s'associe à certaines chaînes peptidiques naissantes pour les adresser au réticulum endoplasmique.

L'appareil de translocation est composé d'un récepteur de la particule SRP, d'un translocon formé de plusieurs protéines. Clivage de la séquence signal: la signal peptidase



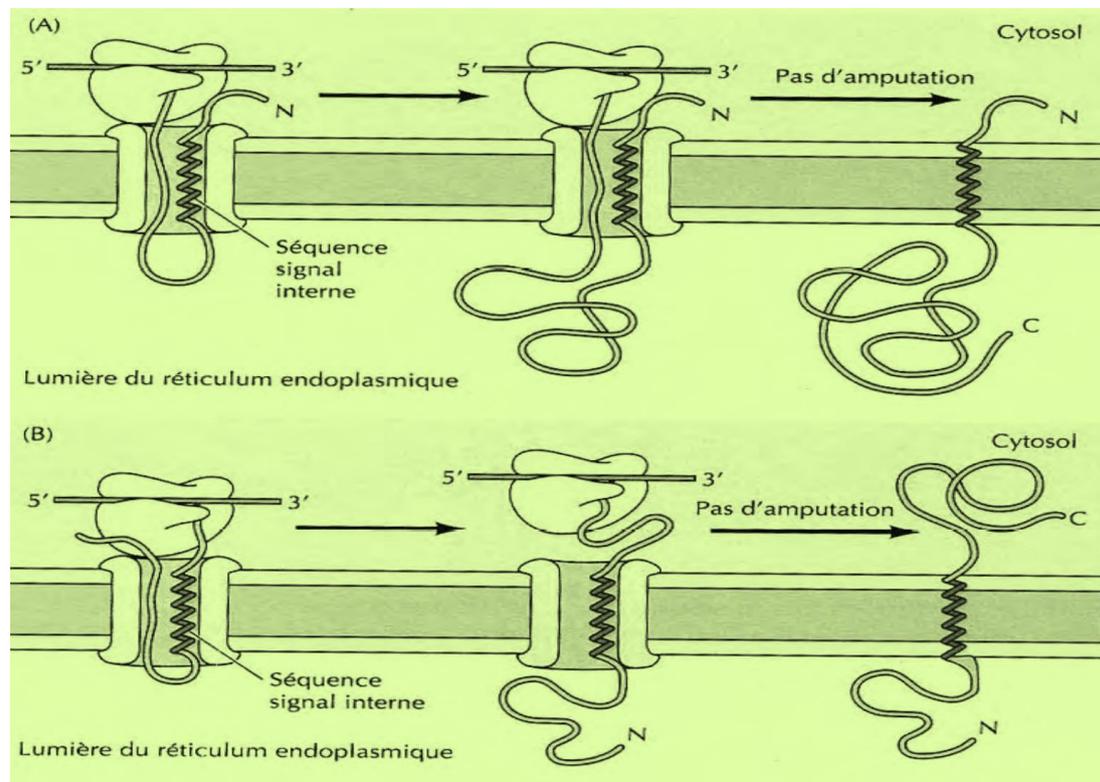
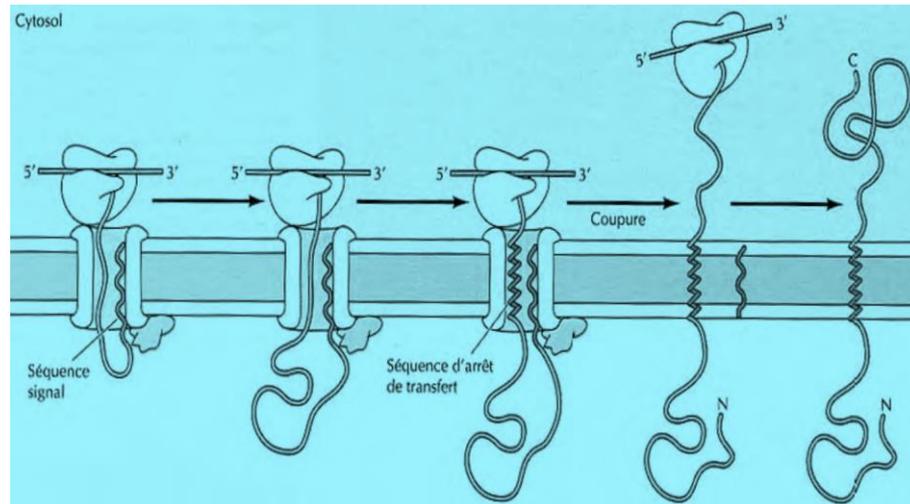
## II--Synthèse des protéines membranaires :

Les protéines transmembranaires à traversée unique

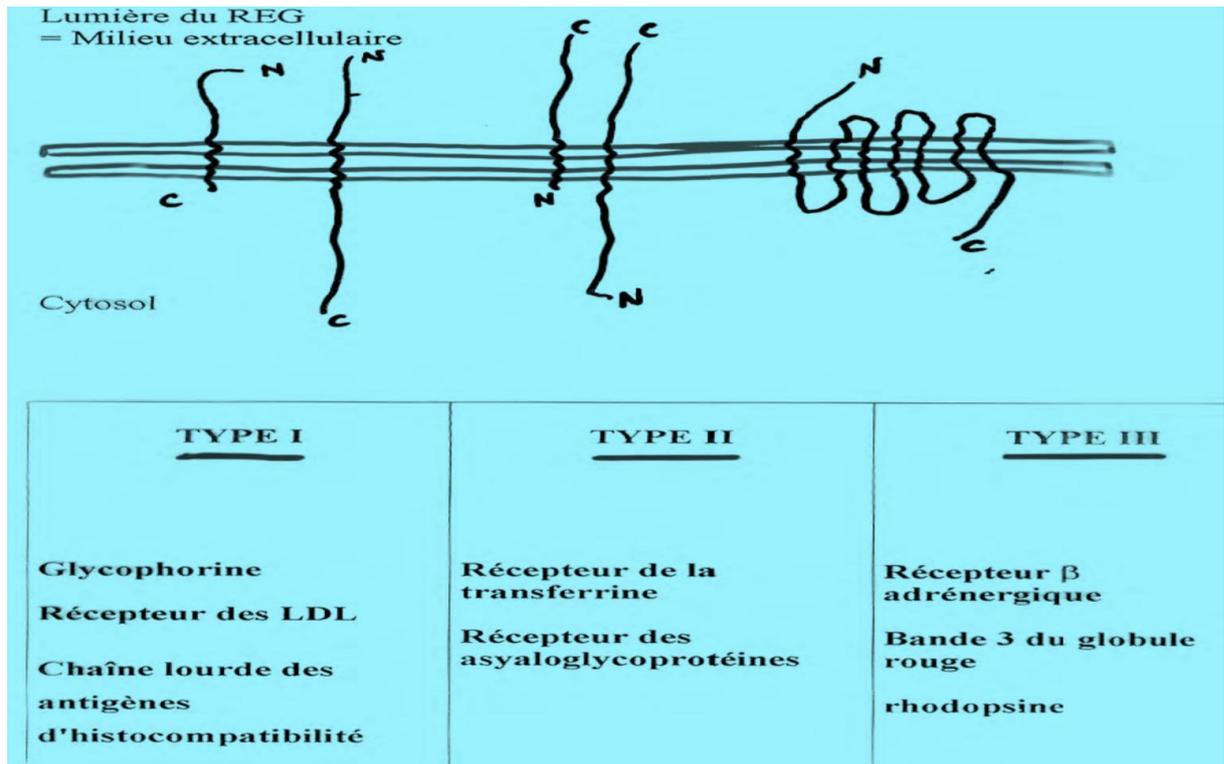
La signal peptidase est associé à la face interne de la membrane, du RE et clive la séquence signal.

La protéine transmembranaire dont l'extrémité N-terminale est interne au RE est définie comme protéine de type I

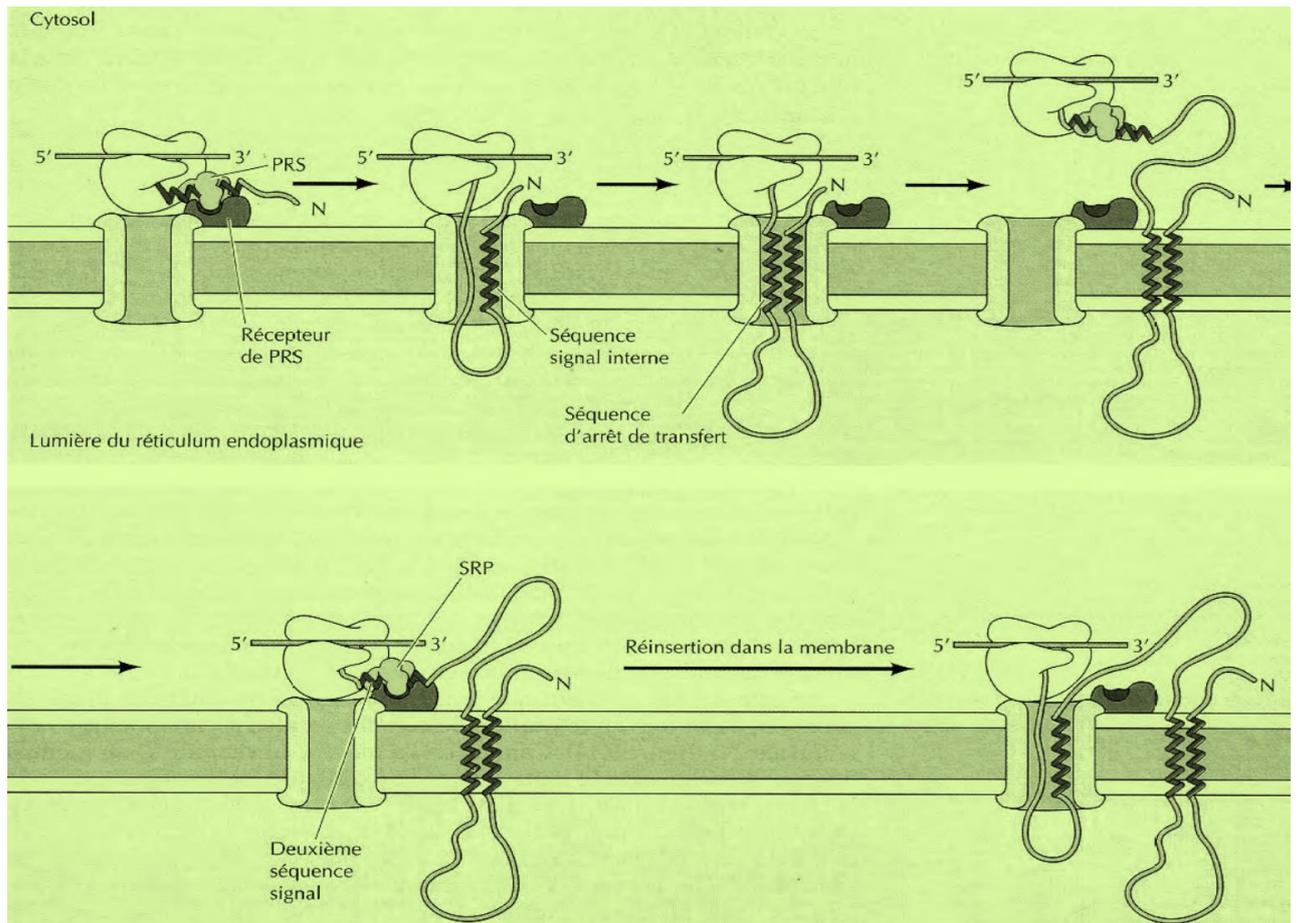
### 1)-Protéines transmembranaires à traversée unique



Les protéines transmembranaires à traversée unique, de type II (A) et I (B)

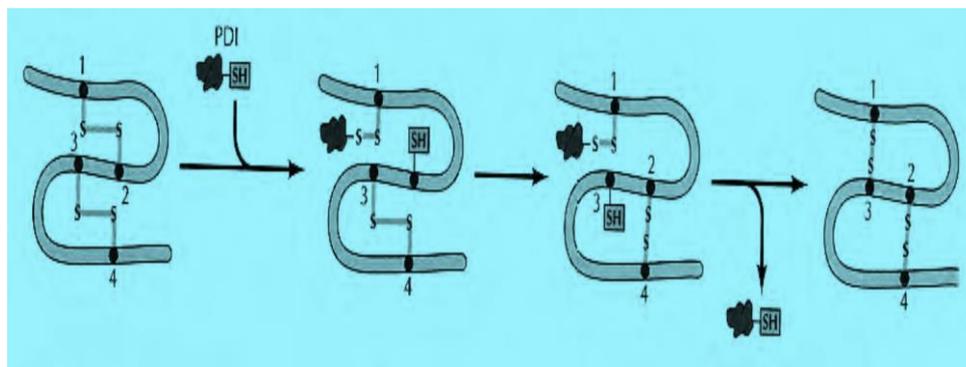


2)-Les protéines transmembranaires à traversées multiples :



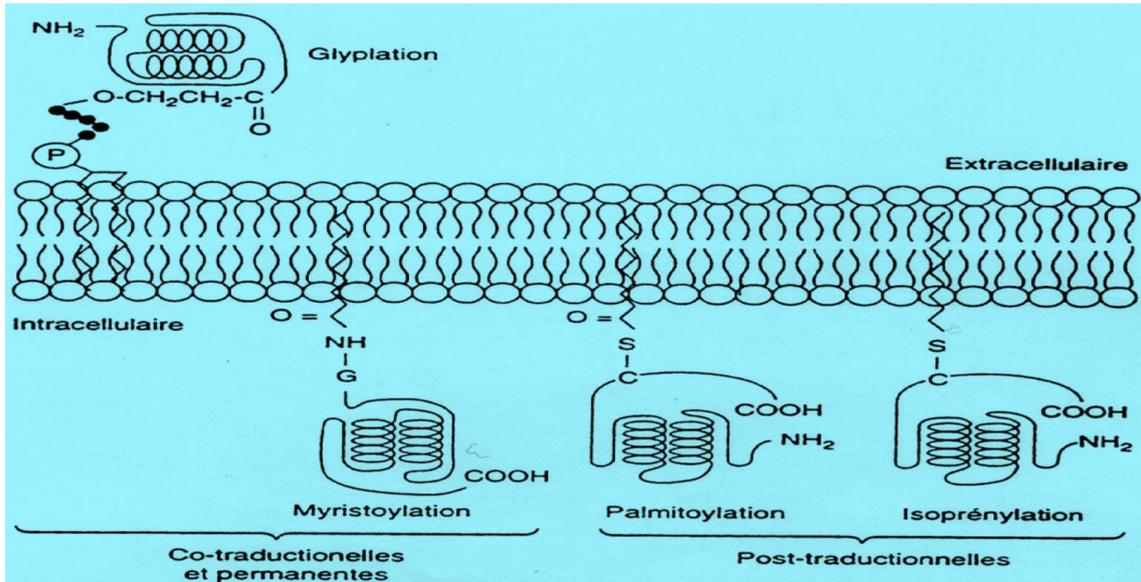
Des signaux internes présents dans la chaîne en cours de traduction: Signaux de transfert et d'arrêt de transfert conduisent à l'insertion de protéines à traversées multiples de la membrane : il est possible que SRP participe à cette insertion particulière.

### 3)-Modifications des protéines



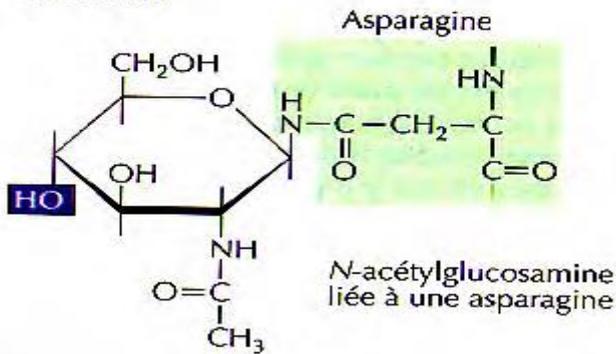
a)-  
Formati  
on des  
ponts  
disulfure  
s intra et  
inter-  
chaînes.

La Peptide Disulfure Isomérase (PDI) établit les ponts disulfures dans les positions correctes et stabilise les repliements. De plus, l'assemblage des chaînes d'oligomères se fait souvent grâce à des ponts disulfures: exemple les Ig, la cholinestérase : ces assemblages ont lieu dans le REG.

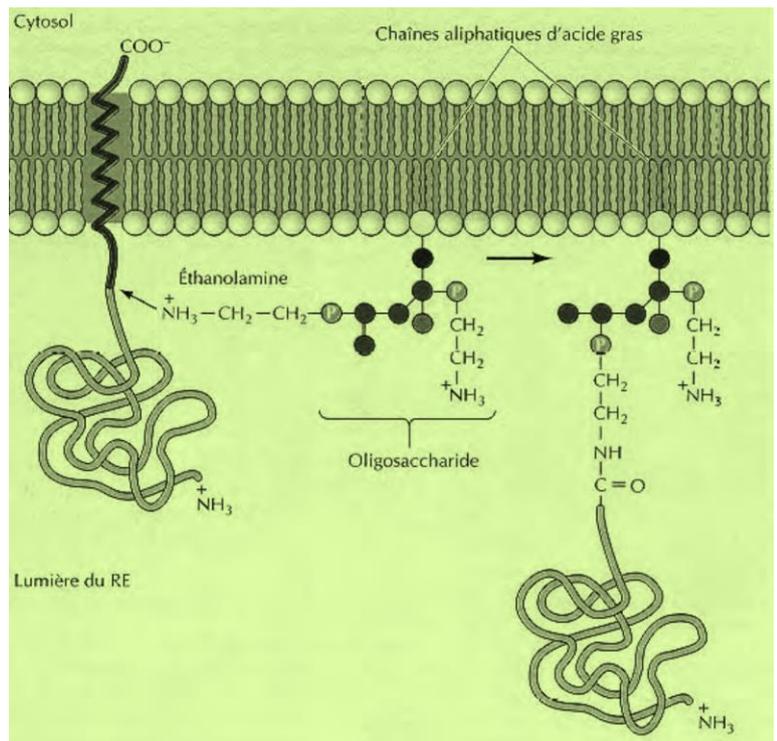
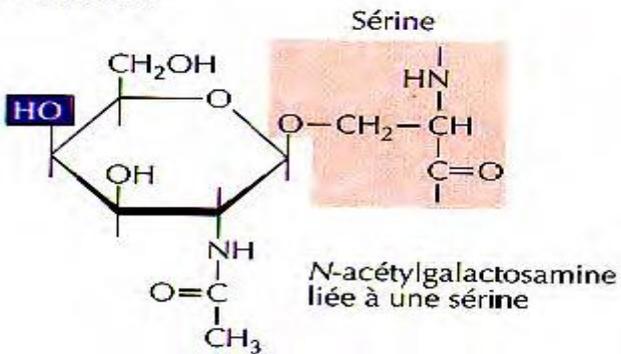


a)-Principales modifications co-et post-traductionnelles établissant des relations de protéines à la membrane par le biais de lipides : Glyplation : ancré GPI dans le RE.

**Liaison à N**



**Liaison à O**



**b)-Formation d'une ancre GPI ou <<glyplation>>**

Après clivage endoprotéolytique d'une protéine de type I, composé d'un oligosaccharide lie à l'éthanolamine (ancré dans la membrane par deux chaînes

d'acides gras) peut lui être greffé : une telle protéine sera liée à la membrane par cette ancre GPI.

De nombreuses protéines des membranes plasmiques répondent à cette définition.

### c)-Glycosylation des protéines :

Des modifications opérées sur des acides aminés précis conduisent à la glycosylation des protéines

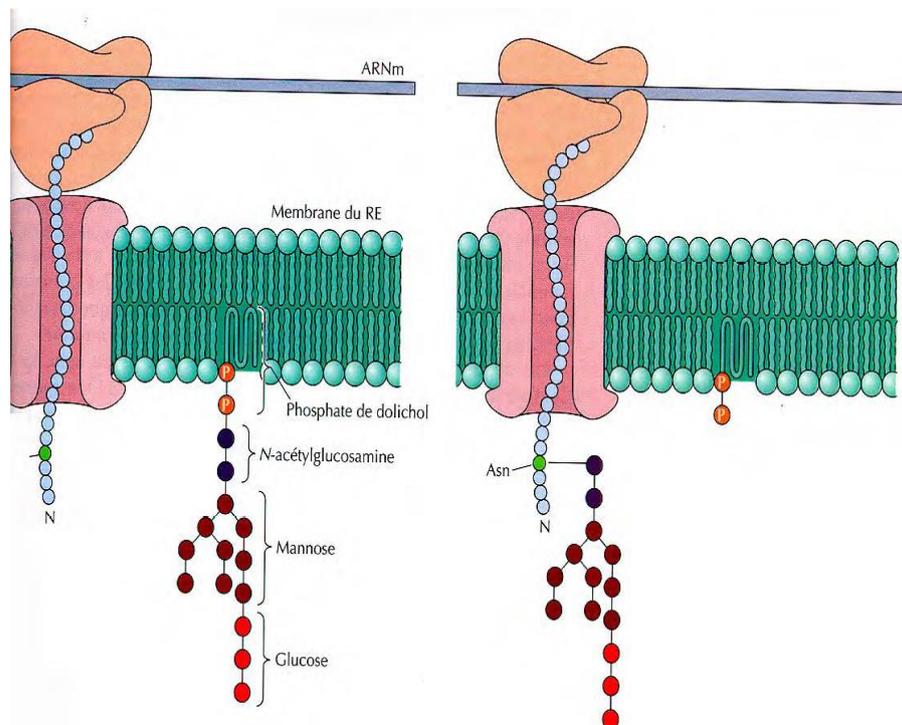
L'ajout peut se faire sur le groupement amine d'une asparagine

Le motif osidique est alors dit **N-lié**

Si l'ajout d'un motif osidique est réalisé sur le groupement -OH d'une sérine ou d'une thréonine, on parle de sucres **O-liés**

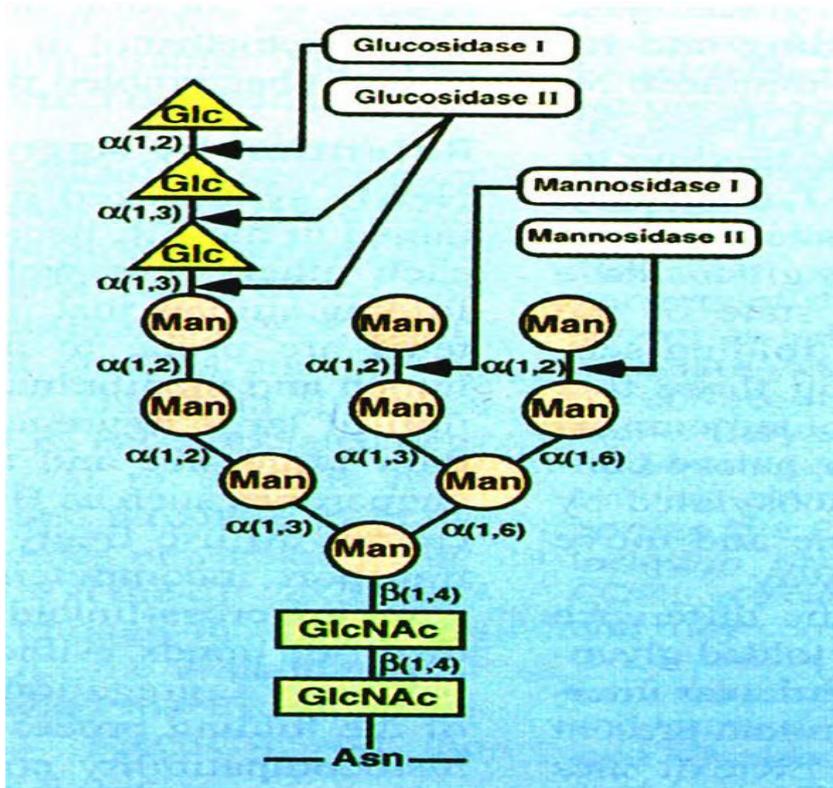
#### **1Glycosylation co-traductionnelle sur l'asparagine glycoprotéines sucres N-liés**

Un motif préformé fait de 14 sucres disposés suivant une chaîne ramifiée est transféré grâce à une **glycosyl transférase** du dolichol sur l'asparagine d'une chaîne protéique: ce motif est composé de 2N-acétyl-glucosamines de 9 mannoses et de 3 glucoses. Ce motif sera modifié plusieurs fois par élagage ensuite par additions de nouveaux sucres



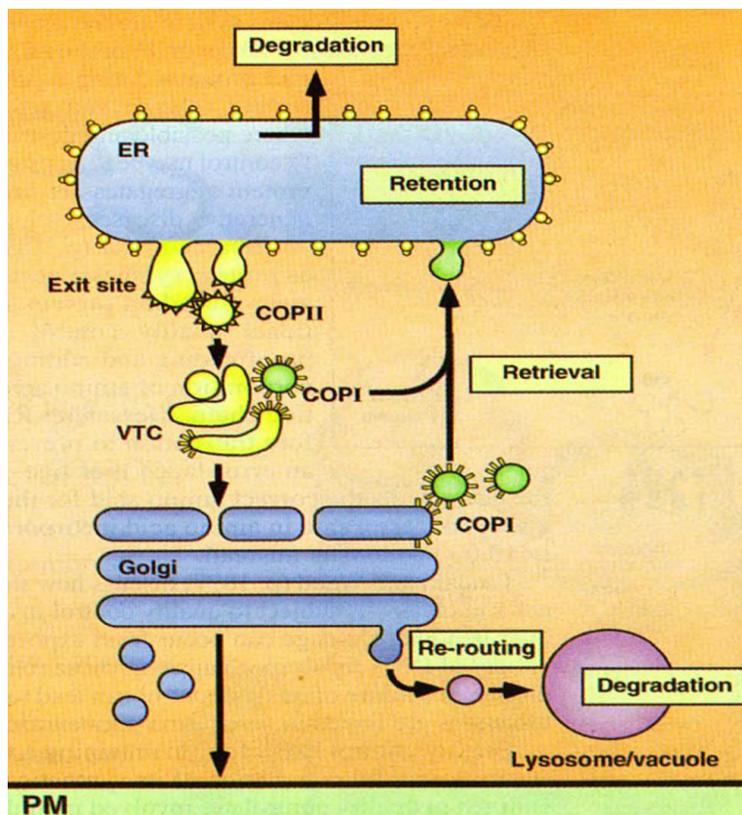
#### **Les premiers élagages du motif N-lié sont réalisés dans le REG :**

- 1) l'action des glucosidases I et II conduit à la disparition des 3 glucoses
- 2) les mannosidases I et II éliminent 2 motifs mannoses.

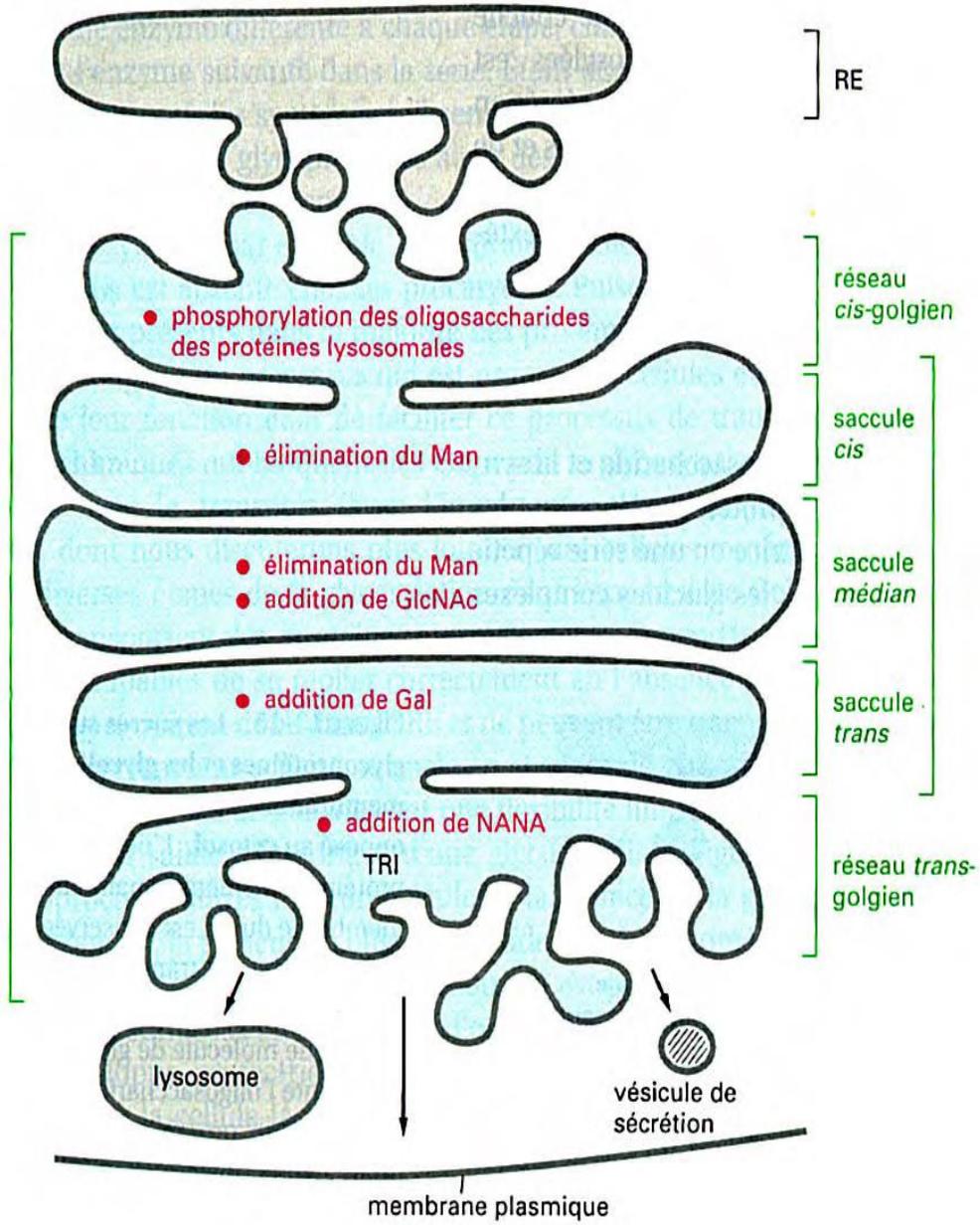


#### 4)-Tri des protéines :

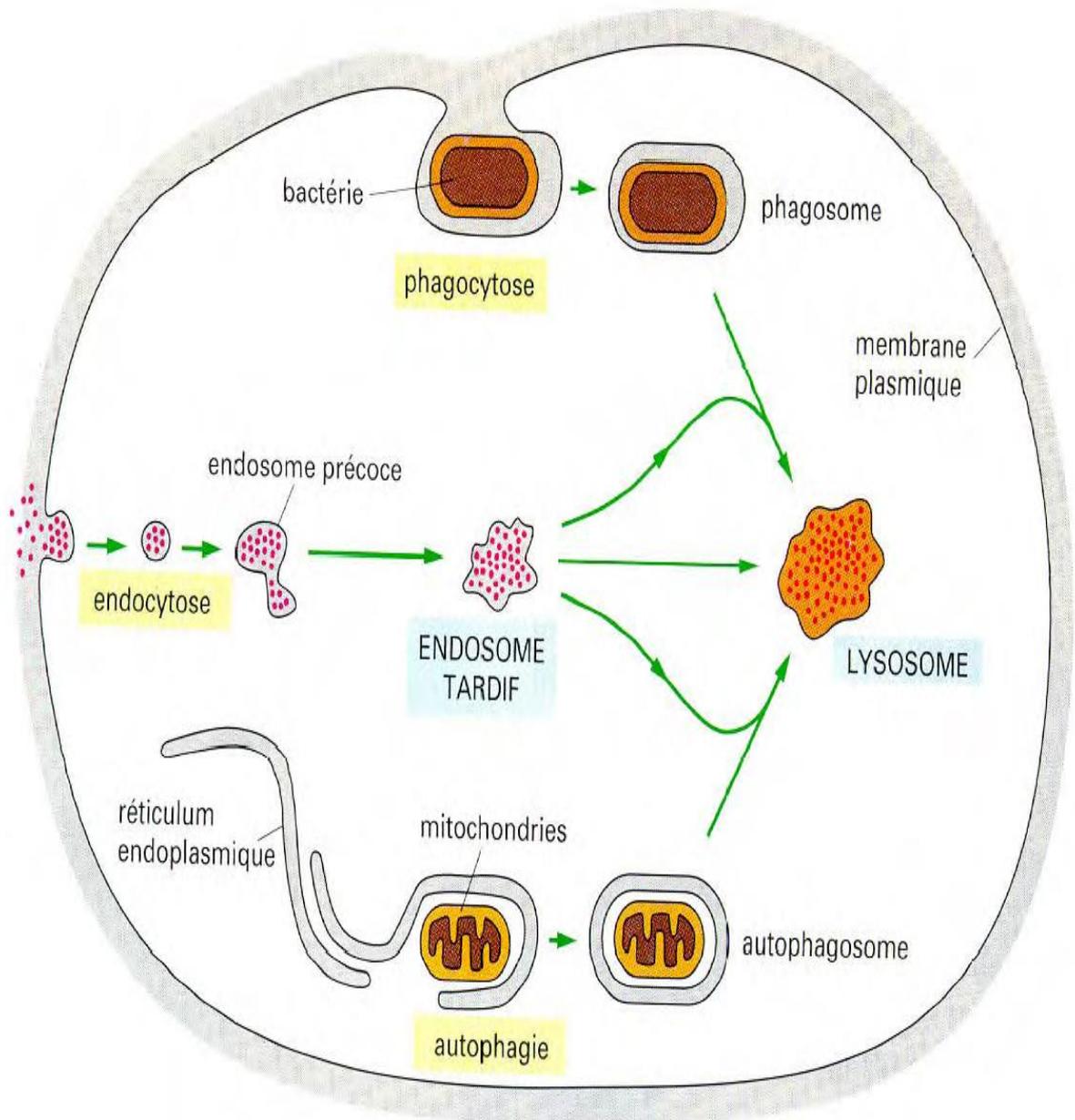
- \* Une fois les protéines synthétisées, leur conformation doit être contrôlée.
- \* Parmi les protéines correctes, certaines sont retenues car actives dans le REG,
- \* D'autres sont dirigées vers le complexe golgien, par transport vésiculaire.



# SYNTHÈSE PROTÉIQUE



## MODIFICATIONS DES CHAINES N-LIEES



Le matériel à dégrader peut être apporté aux lysosomes par 3 voies au moins :

---Deux voies ont un départ au niveau de la membrane plasmique : phagocytose et endocytose.

---La troisième voie démarre dans le cytoplasme et conduit à l'autophagie d'un territoire intracellulaire. Cette voie dite «macro-autophagie»est stimulée par le jeûne alimentaire.

**1)-Voie de la synthèse des protéines de sécrétion:** Quand les protéines sont synthétisées et modifiées dans la lumière du REG on assiste aux différents transports entre les compartiments du système endomembranaire qui se déroulent en quatre étapes successives:

--- qui sont communes aux trois flux membranaires qui utilisent des vésicules de transfert.

--- Elles consomment de l'énergie, font intervenir le cytosquelette et de nombreuses molécules cytosoliques comme les petites protéines G et autres facteurs qui restent incomplètement inconnus.

a)-A partir d'un compartiment membranaire dit donneur, on observe un bourgeonnement de vésicules possédant sur leur face cytosolique un revêtement protéique dont deux types, différents, seulement sont connus à savoir :

---**La clathrine** (composée de six chaînes protéiques dont trois sont lourdes et trois légères organisées en un squelette à trois branches) et ses protéines d'adaptation qui reconnaissent un signal porté par la séquence peptidique cytosolique des glycoprotéines transmembranaires transportées par les vésicules à clathrine. Le revêtement s'organise en présence de facteurs cytosoliques indispensables, en particulier les petites protéines G et le GTP.

---**Les coatomères.**

b)-Les vésicules sont transportées dans le cytosol d'un compartiment à l'autre par un transport actif (consomme de l'énergie) et fait intervenir le cytosquelette.

c)-Ces vésicules perdent leur revêtement pendant le transport (sans cet enlèvement ou perte l'étape suivante de fusion membranaire est impossible.

d)-La membrane d'enveloppe des vésicules fusionne avec celle du compartiment receveur.

Malgré ces flux membranaires, chacun des compartiments du SE possède des constituants qui lui sont spécifiques. Cependant, deux phénomènes élucident la stabilité et la spécificité de la composition de chacun des compartiments du SE.

---**Un phénomène d'adressage :**

Les constituants possèdent des signaux d'adressage spécifiques de chaque compartiment, signaux décodés par des mécanismes d'adressage : l'ensemble permet d'adresser ces constituants à leur compartiment de destination après leur biosynthèse.

---**Un phénomène de rétention :**

La cellule dispose de signaux de rétention, décodés et utilisés par des mécanismes de rétention car ils permettent aux constituants spécifiques de chaque compartiment d'échapper aux flux membranaires. Il faut signaler que les protéines transmembranaires et en solution dans les cavités utilisent des mécanismes et des signaux de rétention différents. Ainsi donc une fois que la protéine est synthétisée et acheminée dans la lumière du RE, de petites vésicules de transport se forment à partir

de ce compartiment et se déplacent vers la face cis de golgi. A ce moment là, elle est transférée à travers golgi jusqu'à la face trans et puis dans un réseau complexe de vésicules dit réseau trans-golgien réticulum ou la protéine sera triée dans des vésicules qui vont fusionner avec la MP.

On remarque qu'un grand nombre d'enzymes agissent de manière séquentielle pour modifier les protéines de sécrétion durant leur maturation selon les étapes suivantes :

- Modification des chaînes latérales des acides aminés.
- Addition de radicaux oligo-saccharidiques.
- Clivage protéolytique spécifique.
- Formation de ponts disulfures et assemblage en complexes multi protéiques.

Par exemple, dans certaines cellules, de nombreuses protéines de sécrétion (collagène, protéines sériques) sont continuellement synthétisées et excrétées alors que dans d'autres cellules elles sont stockées dans des vésicules intracellulaire en attendant le signal d'excrétion par le phénomène d'exocytose (augmentation du taux de  $Ca^{2+}$  intracellulaire et de la gel-soline= protéine de cassure des microfilaments d'actine et activée par une concentration accrue de  $Ca^{2+}$  provenant du REL par ouverture des canaux ionique à calcium).

## **2)-Translocation, du cytosol dans la lumière du RE, des protéines solubles au cours de leur biosynthèse :**

Elles peuvent avoir trois destinations :

- La MP=protéines extrinsèques externes.
- Le milieu extracellulaire : protéines sécrétées en général.
- Les autres compartiments du SE situés en aval du RE dans le flux membranaire vectoriel et permanent (Golgi, endosomes et lysosomes) cas des enzymes lysosomales. Ces trois groupes de protéines (selon leur destinée finale) sont véhiculés à l'état soluble dans les cavités du système endomembranaire par le flux vectoriel et permanent. Ce phénomène de translocation est rencontré dans toutes les cellules eucaryotes plusieurs étapes successives :

a)-Les premières étapes se déroulent toujours dans le cytosol, au niveau des ribosomes associés en polysomes par un ARNm ( à l'exception des 13 protéines mitochondriales dont cet organite assure la synthèse sous le contrôle de son propre génome). Ainsi, la protéine dès que sa synthèse est commencée dans le cytosol soit elle reste dans celui-ci pour la suite et la fin de sa synthèse comme les protéines cytosoliques (enzymes, constituants du cytosquelette ...) et nucléaires, des protéines

des mitochondrie et peroxysomes. Ou encore elle est adressée vers la membrane du RE qu'elle traverse pendant que sa biosynthèse se poursuit.

b)-Les protéines de sécrétion possèdent un signal d'adressage d'entrée dans la lumière du RE(le signal traverse la membrane de cet organe).Ce signal constitué 16 à 30 aminoacides hydrophobes (soit une séquence dite consensus retrouvée dans presque toutes les protéines sécrétées : lysosomales, membranaires extrinsèques ...) est situé du côté de l'extrémité N-terminal de la protéine.

c)-Dès le début de l'élongation de la chaîne polypeptidique,le signal est reconnu par une particule cytosolique de reconnaissance de ce signal dite SRP=Signal Recognition Particle qui est un complexe ribonucléotéique,constitué de plusieurs polypeptides et d'un ARN de petite taille (ARN7S, environ 300 nucléotides) .La SRP possède une activité GTPasique :elle fixe le GTP et l'hydrolyse en GDP. Cette SRP se fixe sur le signal d'adressage vers le RE porté par la protéine .Il mentionner aussi que d'autres facteurs cytosoliques participent à ce phénomène de reconnaissance dont les molécules Hsp

d)-Le complexe SRP-signal d'adressage vers le REG se fixe sur la membrane de celui-ci qui comporte un premier complexe protéique qui joue le rôle de récepteur de la SRP.

e)-Le ribosome qui traduit l'ARNm se rapproche de la membrane du REG et se fixe sur un deuxième complexe protéique appelé récepteur du ribosome, ainsi il se fixe par sa grande sous-unité sur les protéines du récepteur du ribosome.

f)-D'autres ribosomes, les uns après les autres, commencent alors la traduction du même ARNm et finissent par s'attacher à la membrane du REG selon le même mécanisme .

--Ce segment du RE devient temporairement REG.

---REG synthétise donc en même temps plusieurs chaînes polypeptidiques identiques codées par le même ARNm. Cependant, à un certain moment de leur biosynthèse, ces chaînes sont de longueur différente et la plus longue est synthétisée par le premier ribosome attaché au RE dans le milieu extracellulaire.

Les glycoprotéines liées par un GPI sont sélectivement insérées dans des domaines de la membrane plasmique au niveau desquels se déroule la potocytose.Dans les cellules épithéliales ces glycoprotéines liées au GPI sont adressées spécifiquement au pôle apical.

## **6) Les trois fonctions de Golgi :**

AG reçoit les produits en provenance du réticulum, les modifie (glycosylation...) puis les exporte vers d'autres compartiments (MP, lysosomes...) dans le cadre du flux membranaire vectoriel et permanent.

a)-O-glycosylation présente 3 analogies et 3 différences avec la N-glycosylation. .

---**Analogies :**

\*\*\*Les sucres synthétisés dans le cytosol et apportés sous-forme activés liés à des nucléotides comme UDP couplé au galactose (UDP-Gal), le CMP couplé à l'acide N-acétyl-Neuraminique ou NANA(CMP-NANA).

\*\*\*O-glycosylation concerne à la fois le domaine luminal des protéines transmembranaires ou des protéines solubles contenues dans le golgi.

\*\*\*Les sucres sont accrochés aux protéines dans golgi grâce à des O-oligosaccharides-protéine-transférases.

---**Différences :**

\*\*\*Le nucléotide débarrassé de son sucre perd un P (sous l'action de la nucléoside-di phosphatase) qui traverse la membrane des saccules par une perméase et regagne le cytosol pour réutilisation.

\*\*\*Le précurseur nucléotide-sucré pénètre dans le saccule par une perméase spécifique (alors que ce même précurseur ne pénètre pas dans le réticulum).

\*\*\*Le sucre est accroché par une O-oligosaccharide-protéine-transférase sur l'oxygène (OH) de la sérine ou la thréonine d'où le nom de O-g)-Le mécanisme de traversée de la membrane reste mal élucidé :

La chaîne protéique en cours d'élongation forme une boucle comportant sur l'un de ses cotés le signal d'adressage au RE. La SRP, fixée sur son récepteur de la membrane du RE, facilite l'engagement de la boucle de la protéine, en cours d'élongation, dans un troisième complexe protéique appelé complexe du canal qui constitue un pore aqueux entre le cytosol et la lumière du REG et qui reste fermé sur sa face cytosolique par la grande sous-unité ribosomale fixée elle-même à la membrane par son propre complexe récepteur. Donc cette protéine s'engage dans le pore aqueux et traverse progressivement la membrane tout ceci se traduit par :

--Puisque la synthèse se poursuit, la protéine est poussée par l'allongement de la chaîne protéique.

--Elle peut être aussi tirée par des molécules chaperonnes localisées dans la lumière du REG.

\*\*\*La séquence peptidique correspondant au signal d'adressage vers le REG poussée entre les protéines du canal dans la membrane du REG de façon à ce que l'extrémité N terminale de la protéine reste située dans le cytosol. La SRP ainsi se détache et sera recyclée dans le cytosol.

\*\*\*Le phénomène de traduction de ARNm par le ribosome se poursuit et pousse la protéine néo-synthétisée dans le canal, jusqu'à la fin de la synthèse de la protéine et son passage presque en totalité dans la lumière du REG.

\*\*\*A la fin de la synthèse de la protéine, seule l'extrémité N-terminale, qui comporte la séquence du signal d'adressage au REG, reste incluse dans la bicouche lipidique.

h)-Pendant, que la protéine en cours de biosynthèse traverse la membrane du réticulum, elle subit déjà deux types de modifications dans la région protéique située dans la lumière :

--L'accrochage de radicaux glucidiques, c'est le phénomène de la N-glycosylation.

--Des modifications de conformation.

i)-Quatre phénomènes se produisent lorsque la biosynthèse de la protéine est terminée .

--Le ribosome impliqué se détache de la membrane du REG et ses deux sous-unités se séparent dans le cytosol mais elles peuvent se réassocier à l'occasion d'une nouvelle synthèse protéique et lorsque tous les ribosomes ayant traduit le même ARNm se détachent donc le REG devient REL en perdant ses ribosomes.

--Une peptidase dite « du signal » coupe alors une liaison peptidique –CO-NH- donc elle sépare le polypeptide transmembranaire comportant le signal d'adressage au REG, qui reste enchâssé dans la membrane, du reste de la protéine qui se solubilise dans la lumière ce qui donne ainsi une protéine raccourcie avec une nouvelle extrémité N-terminale.

--D'autres protéases contenues dans la lumière du REG dégradent ensuite le polypeptide comportant le signal d'adressage au réticulum, alors qu'il se trouve toujours dans la membrane du compartiment.

--La protéine soluble prend alors sa conformation définitive sous l'action des chaperonnes de la lumière.

### **REMARQUE :**

C'est ainsi qu'on peut dire :

\*\*Trois complexes différents sont insérés dans la membrane du REG et agissent successivement lors du phénomène de translocation des protéines solubles du cytosol vers la lumière :

- ✓ Le récepteur de la SRP.
- ✓ Le récepteur de la grosse sous-unité du ribosome
- ✓ Enfin le complexe du canal

\*\*La lumière du REG comporte au moins trois familles de protéases agissant successivement après la fin de la synthèse de la protéine soluble :

- ✓ La « peptidase du signal » sépare la protéine contenue dans la lumière de son signal d'adressage qui reste placé dans la membrane (au niveau du complexe protéique du canal).
- ✓ D'autres protéases dégradent ce signal d'adressage au REG, après action de la peptidase du signal.
- ✓ Alors que d'autres protéases du REG hydrolysent les protéines qui ne présentent pas une conformation normale.

\*\*La translocation est un phénomène actif et fait intervenir des facteurs cytosoliques à activité GTPasique :

- ✓ L'un des constituants de la SRP fixe le GTP et l'hydrolyse en GDP
- ✓ Le récepteur de la SRP présente aussi une activité GTPasique hors son analogue de structure non hydrolysable du GTP bloque la translocation.

### **3)-Insertion dans la membrane du REG des protéines transmembranaires au cours de leur biosynthèse :**

a)-Ce phénomène intéresse l'ensemble des protéines membranaires intrinsèques, quelle que soit leur destination finale :

--Les autres compartiments du SE.

--La MP.

b)-Les protéines membranaires intrinsèques peuvent posséder un seul ou plusieurs domaines transmembranaires qui correspondent à un arrangement particulier d'acides aminés hydrophobes (hélice  $\alpha$ ).

---Quel que soit le nombre de domaines transmembranaires d'une protéine, les premières étapes de sa synthèse se déroulent dans le cytosol, suivant le même chemin que les protéines solubles.

---L'adressage au REG des protéines membranaires intrinsèques en cours de leur biosynthèse fait appel à deux types différents de signaux d'adressage .

\*\*\*Le premier type est identique à celui des protéines solubles donc c'est une courte séquence située au niveau de l'extrémité N-terminale de la protéine mais il reste facultatif car il n'existe pas dans toutes les protéines transmembranaires.

\*\*\*Le deuxième type ne se situe pas dans la région N-terminale des protéines transmembranaires, mais plus loin dans l'enchaînement des acides aminés et correspond au signal de début de translocation dans le REG (généralement on le trouve dans la sous-unité principale des canaux  $\text{Na}^+$ potentiel-dépendants, mais il reste

reconnu par la SRP comme dans le cas du type situé dans la région N-terminale des autres protéines.

c)-La translocation des protéines membranaires au travers de la membrane du REG se déroule selon le même processus que celui des protéines solubles.

d)-La translocation s'arrête dès qu'un domaine de la protéine, composé d'acides aminés hydrophobes organisés en hélice  $\alpha$ , passe dans le complexe du canal. Ce domaine particulier de la protéine transmembranaire représente **un signal d'arrêt de sa translocation** au travers de la membrane du REG.

e)-Les protéines qui traversent plusieurs fois la membrane peuvent avoir 3 types différents de signaux, dont 2 peuvent être repérer plusieurs fois dans leur séquence peptidique :

---Un signal d'adressage au réticulum, dans la région N-terminale (facultatif)

---Un ou plusieurs signaux de début de la translocation dans le réticulum, qui agissent chacun comme un signal d'adressage à des moments successifs de la synthèse des protéines .Cependant, leur nombre dépend de celui des domaines transmembranaires de la protéine mature.

---Un ou plusieurs signaux d'arrêt de la translocation (leur nombre dépend de celui des domaines transmembranaires de la protéine mature).

**NB** : Les signaux de début et d'arrêt de la translocation sont des domaines hydrophobes de la protéine.

Les chaperonnes de la lumière du REG, solubles ou transmembranaires « tirent » la protéine au cours de sa synthèse et aident à traverser, les protéines transmembranaires partiellement ou presque totalement les protéines solubles, la membrane du réticulum sans oublier que leur action est complétée par celle des chaperonnes cytosoliques.

3)-La N-glycosylation des protéines solubles ou transmembranaires :

a)-Elle présente plusieurs caractéristiques :

---Un complexe glucidique (arborisation) est accroché aux protéines dans la lumière, puis dans un deuxième temps il est simplifié, donc la N-glycosylation donne un produit qui sera par la suite corrigé

---Les sucres sont accrochés à la protéine dans la lumière.

---Il se déroule pendant que la synthèse protéique continue (sur la face cytosolique du REG) et à travers la membrane du réticulum.

---Les sucres sont accrochés sur l'azote de l'asparagine (d'où le nom de N-glycosylation )

---L'asparagine impliqué fait partie des deux séquences de la N-glycosylation : Asparagine-x-serine ou asparagine-x-thréonine, dans lesquelles x est un acide aminé indifférent.

**b)-La N-glycosylation nécessite 3 types de métabolites synthétisés dans le cytosol :**

---Le dolichol (acide gras à chaîne carbonée très longue) synthétisé dans le cytosol s'insère dans la bicouche lipidique de la lumière du réticulum et est phosphorylé à partir d'ATP.

---Des précurseurs des sucres (plus ou moins acétylés et aminés) : Ce sont des nucléotides couplés aux sucres comme UDP-acétyl-glucosamine (UDP-GlcNAc), GDP-mannose (GDP-Mann), UDP-glucose (UDP-Glc)...

c)-La N-glycosylation se déroule en 4 étapes successives

---Sur la face cytosolique de la membrane du réticulum : La phosphorylation du dolichol et accrochage au dolichol-P de 2 résidus GlcNAc puis de 5 résidus mannose (Mann) l'un après l'autre. Donc la formule finale sur la face cytosolique de la membrane est **(dolichol)-GlcNAc 2-(Mann) 5**.

---Basculement du dolichol final par un mécanisme de flip-flop ce qui donne les 7 sucres fixés au dolichol vont se retrouver dans la lumière.

---L'accrochage supplémentaire de mannose et glucose (Glc) (apportés par des nucléotides sur la face cytosolique du reg attachés à d'autres dolichol qui les font passer dans la lumière par flip-flop) dans la lumière fait augmenter la taille de la chaîne sucrée et la formule générale sera :



---Accrochage à la protéine du complexe glucidique sous l'action d'une N-glycosyltransférase (le premier Glc-NAc est lié à l'azote de l'asparagine).

d)-Le complexe sucré est modifié dès sa liaison à la protéine. Cependant, des glucosidases de la lumière enlèvent successivement 3 résidus glucose, 1 mannose. Après ces modifications on aura **(protéine)-(GlcNAc)2-(mann)8**

Mais la glycoprotéine peut subir d'autres modifications des résidus glucidiques dans le Golgi.

4)-Repliement des protéines membranaires ou solubles :

Au moins deux mécanismes actifs contribuent à donner protéines néo-synthétisées et N-glycosylées leur conformation définitive dans la lumière du réticulum.

a)-l'établissement de ponts disulfures est contrôlé par une enzyme dite protéin disulfure isomérase(PDI).

La lumière est un milieu oxydant qui favorise l'établissement de ponts disulfures au hasard, alors que ceux-ci sont impossibles dans le cytosol. La PDI, enzyme soluble, catalyse la constitution de « bons » ponts disulfures, au besoin en rompant les liaisons au hasard constituées dès l'entrée de la protéine synthétisée dans la lumière.

b)-En plus des chaperonnes, la BIP (binding protéin) aide la protéine à acquérir sa conformation normale et empêche la sortie des protéines solubles mal configurées et seront hydrolysées par des protéases dans la lumière.

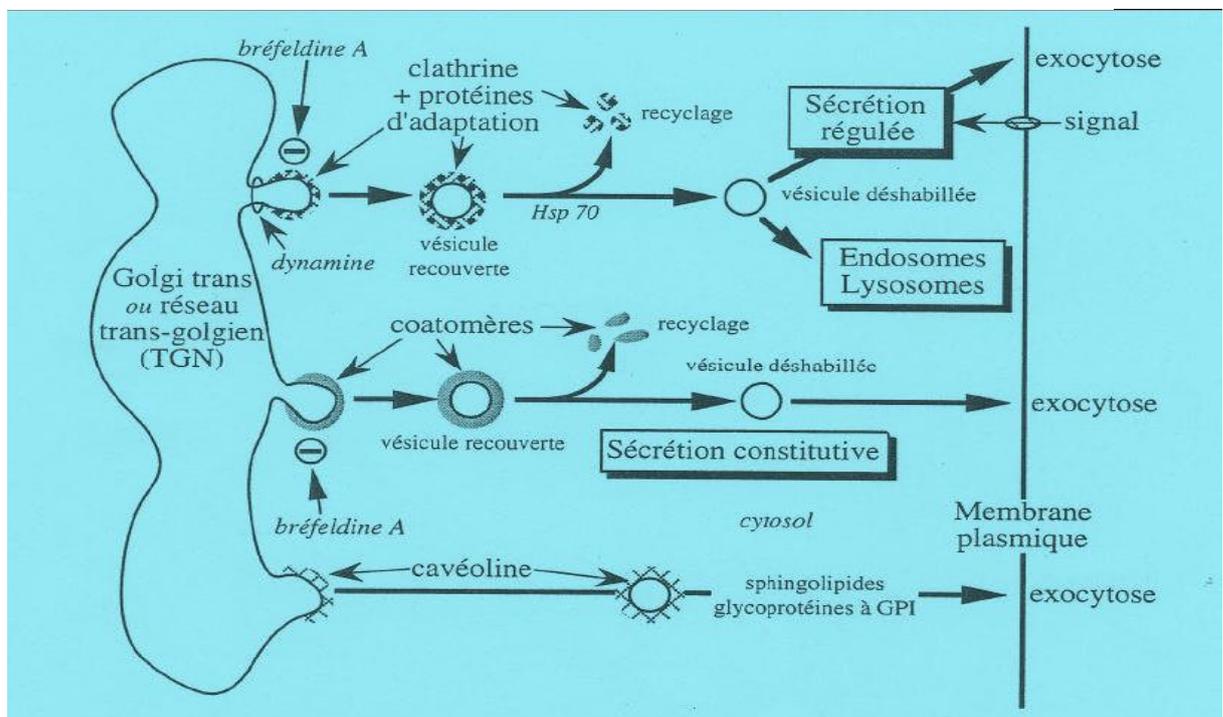
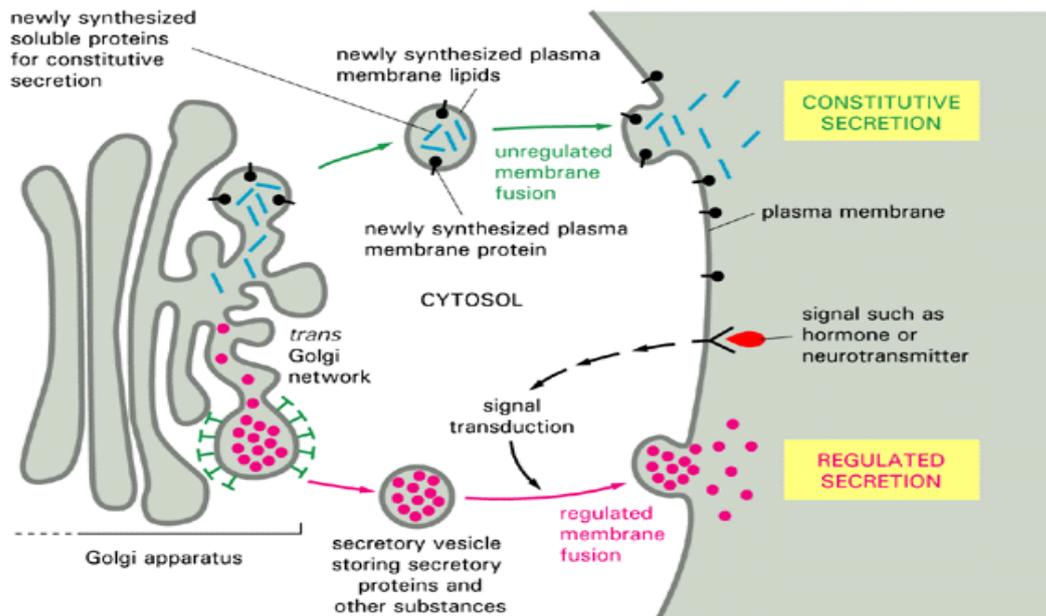
c)-Des molécules chaperonnes cytosoliques participent au repliement des protéines transmembranaires.

--PDI et BIP sont des molécules solubles de la lumière possèdent un mécanisme de rétention dans ce compartiment.

--Les mécanismes de repliement des protéines consomment de l'énergie(ATP).

#### **5)-Synthèse des glycoprotéines liées à la membrane par un GPI :**

Elles commencent à être synthétisées dans le cytosol et traversent la membrane du reg ou elles restent ensuite ancrées par l'extrémité C-terminale ce qui les différencie des protéines solubles. Elles subissent toutes les étapes de maturation comme les autres protéines : N-glycosylation et modification des radicaux glucidiques, repliement et obtention de la conformation définitive...Cependant, une peptidase les solubilisent dans la lumière .Le GPI est construit sur la face cytosolique de la membrane du RE à partir de précurseurs cytosoliques. Le GPI ancré dans la membrane par des acides gras, est transloqué dans la lumière par le mécanisme de flip-flop. La protéine soluble est alors liée au GPI dans la lumière du reg par action enzymatique, après exocytose le complexe protéine-GPI sera glycosylé



## CONCLUSION

- Transport / SE:
  - RE vers Golgi
  - TGN vers Lysosomes
- Transport à partir de la membrane plasmique
  - Endocytose
- Transport du TGN vers extérieur de la cellule
  - Exocytose