

COURS 04 - LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

PLAN

I. Le reticulum endoplasmique

A. Morphologie

i. Le REG

ii. Le REL

B. Les rôles du RE

II. L'appareil de Golgi

III. Vésicule destinée à la Mb cytoplasmique

IV. Vésicule destinée au système endolysosomal

V. Lysosome

VI. Les lysosomes sécrétoires

VII. Les flux membranaires

VIII. Types de trafic particuliers

A. Sequestration

B. Transcytose

C. Exosome

IX. Utilisation des flux

Trouvé que chez les eucaryotes, correspond à un ensemble de cavités, limitées par une membrane qui vont communiquer entre elles et avec la membrane cytoplasmique. Cette communication se faisant de manière transitoire et utilisant des petites vésicules/canalicules membranaires.

Ensemble des organites limité par une membrane, sauf les mitochondries et les peroxysomes. Ceci regroupe:

- Le REG
- Le REL
- L'appareil de Golgi
- Les dérivés de l'appareil de Golgi: Grains de Sécrétions, Lysosomes, Endosomes.

Il y aura échange de membranes et du contenu. Ces échanges ne se font pas au hasard mais régulé dans le cadre du trafic membranaire: qui permet le transfert de membrane, de protéine et phospholipide, et transfert d'éléments qui se trouve dans la lumière.

Cet échange ne se fait pas au hasard, il y a une identification des deux compartiments, pour que soit maintenue les fonctions spécifiques à chacun d'eux.

Principe général: Formation d'une vésicule à partir d'une membrane donneuse, transport vers un compartiment accepteur et fusion des deux.

La formation de vésicules recouvertes est un phénomène régulé par des protéines de manteau:

- **Clathrine**
- **Coatomères**
 - **COP-I**
 - **COP-II**

Les **adaptines** permettent la **liaison** de la **clathrine** et des récepteurs transmembranaires (récepteurs de cargos). Une fois refermé, le revêtement va pouvoir disparaître et on sera en présence de la **vésicule lisse** qui pourra **interagir** avec le **compartiment accepteur**.

Rôles du revêtement:

- **Concentrer des protéines** spécifiques dans des régions membranaires, sélection pour le transport.
- **Permet la déformation** de la membrane

Les vésicules perdent leur revêtement avant de fusionner avec le compartiment receveur. Pour ce trafic membranaire, il y a un **Adressage spécifique** d'un compartiment vers l'autre qui va faire intervenir d'une part des **protéines** qui sont **ancrées** dans les membranes et des **GTPases** qui vont **guider de manière spécifique les transports**.

I. Le reticulum endoplasmique

A. Morphologie

i. *Le REG ou ergastoplasme*

Il a des affinités pour les **colorants basiques** (Bleu de Toluidine), on verra au MO le noyau coloré au bleu de toluidine et une striation dans le pôle basale qui est basophile.

Au MET, la striation correspond à la présence des Ribosomes contenant de l'ARN qui va donner le caractère basophile.

Spécificité du REG:

- Il peut se présenter sous forme de citernes qui sont applaties portant à leur surface des ribosomes qui forment des petites granulations réparties sur l'ensemble de la membrane des citernes. Les citernes peuvent apparaître soit applaties ou dilatées, et le plus souvent c'est soit l'un soit l'autre.
- Lorsqu'elles sont **dilatées**, leur contenu apparaît clair, **finement granuleux** car c'est un contenu qui est riche en **glycoprotéines**
- Les citernes **applaties** le contenu est riche en **Protéines** qui sont **très faiblement glycosylé**.
- Les citernes vont communiquer entre-elles et avec la citerne périnucléaire. Il y aura une continuité avec le RE nucléaire et le REG.

ii. *Le REL*

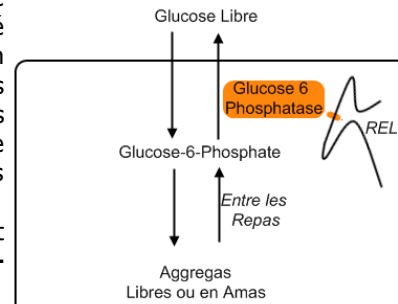
Est en continuité avec le REG mais va se présenter sous forme d'un réseau de **canaux** (canalicules) **intercommuniquant**. Vu les coupes très fines, les communications ne sont pas toujours visibles.

B. Les rôles du reticulum endoplasmique

- Le **REG**
 - responsable de **synthèse** de **protéines membranaires** et des **protéines** qui vont passer dans la **lumière du réticulum**
 - Début de la **Glycosylation** dans le REG
- Fonctions communes aux **REL** et **REG**
 - **Synthèse** de **phospholipides** dans le REL et REG:
 - Elle va se faire du **coté cytosolique** de la membrane du réticulum. Sur ce coté seront apportés tout les éléments nécessaire à la synthèse.
 - L'assemblage va se faire formant un nouveau Glycero-phospholipide dans le feuillet du coté cytosolique.
 - Il va alors
 - soit rester dans le feuillet externe,
 - soit via un Flip-Flop va passer au niveau du feuillet interne
 - soit être arraché pour être transporté vers d'autres compartiments qui ne font pas partie du système endomembranaire (mitochondries et peroxysomes).
- Fonctions du **REL**
 - **Stockage de Ca^{2+}** à l'aide de pompe (ATPase) et de protéines comme la **Calsequestrine** dans le muscle. Le calcium va être libéré du REL vers le cytosol par l'intermédiaire de deux groupes de protéines intégrée à la membrane du réticulum, comme le récepteur à la **Ryanodine** dans le muscle ou le récepteur à l'**Inositol Tri-phosphate (IP3)**

COURS 04 - LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

- Métabolisme du **Glucose**: le Glucose-6-phosphate devient du Glucose 1-phosphate, qui va être stocké sous forme d'aggrégas (Glycogène) visible en microscopie électronique sous la forme de petites particules d'environ 40nm. Ce sont des dépôts libres dans le cytosol. Dans la cellule hépatique le glycogène va être localisé dans les espaces cytosoliques entre les canalicules de REL. Cette proximité entre ces deux structures est expliquée par la présence d'une enzyme (**Glucose-6-phosphatase**) localisée sur la membrane du REL. Dans les périodes entre les repas, le glycogène pourra être retransformé en Glucose repassant par le Glucose-6-phosphate qui sera transformé dans le réticulum en Glucose, qui repassera dans le cytosol par des transporteurs et pourra être éjecté de la cellule via d'autres transporteurs.
- Rôle de **Detoxification**: présence d'enzyme qui transforme certaines molécules, pouvant abaisser leur niveau de toxicité et qui pourront ensuite être éliminées.
- **Synthèse de stéroïdes** dans les cellules stéroïdiennes:
 - Cellule de Leydig => de la Testostérone
 - Ovaire => Progestérone et E2
 - Cortex surrénalien => Cortisol



Elements indispensables à la synthèse d'hormone stéroïdienne dans les cellules stéroïdiennes:

- **Gouttelette Lipidique** (dépôt homogène, non dense aux électrons, à diamètre variable) contenant du cholestérol
- **Mitochondries**, dont la membrane interne va former des **crêtes tubulaires**
- **Richesse en REL.**

Une hormone stéroïdienne dérive du cholestérol, qui va être progressivement transformé (Hydroxylation, coupure de certaines chaînes...), des dérivés sont transformés par une enzyme spécifique jusqu'à constitution du stéroïde. Ces enzymes seront localisées et distribuées de manière spécifique dans les crêtes tubulaires et dans la membrane du REL. Les dérivés progressifs seront pris en charge par une protéine, transportée vers le compartiment concerné.

II. L'appareil de Golgi

Il y aura des membranes qui vont se détacher du REG, se formant grâce aux protéines **COP-II** qui vont aller alimenter le compartiment membranaire suivant qui est l'appareil de Golgi.

Il est composé d'un ensemble de Dictyosome qui vont être des empilements de saccules associées à des vésicules et les différents dictyosomes de l'appareil de Golgi d'une cellule vont communiquer entre eux.

Le dictyosome sera organisé avec une face **Cis** qui est celle en regard du REG, et une face **Trans** qui donnera les différents dérivés de l'appareil de Golgi. Du côté Trans il y aura un ensemble de canalicules communiquant constituant le **Réseau Trans-Golgien**.

Autour de ces saccules on voit une accumulation de vésicules et de petits canalicules qui permettent la communication avec les dictyosomes voisins. Du côté du REG, on décrit également un réseau Cis-golgien, mais les vésicules qui se détachent du REG grâce au manteau de Coatamères vont venir fusionner avec la Face Cis du dictyosome.

COURS 04 - LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

Cet appareil de Golgi constitué des dictyosomes vont avoir différents rôles:

- **Transformation** des **protéines** et des **lipides** qui ont été synthétisé dans le REG, notamment le siège des Glycosylation des protéines.
- **Tri des protéines et des lipides** pour leur destination finale pour la face trans à partir de laquelle vont se former différentes structures destinée soit à la membrane cytoplasmique soit vers le compartiment endo-lysosomal.
- **Stockage de Ca^{2+}** par la Ca^{2+} ATPase et libération par récepteurs à IP_3
- Synthèse des **Sphingolipides** sur le feuillet **luminale** de la membrane de Golgi **Cis** et **Median**

Le réseau transgolgien va former:

- des **vesicules destinées à l'exocytose constitutive** (présent dans tout les types cellulaires) et **régulée** (observé dans les cellules spécifiques comme les cellules glandulaires).
- Les **prolysosomes** qui vont contenir les enzymes qui vont **fusionner** avec le système **endomembranaire** (endosomes) pour **constituer les lysosomes**. C'est pour ça qu'on parle de système endo-lysosomal.

III. Vésicules destinées à la membrane cytoplasmique

A. Voie soumise à la régulation

Elle forme des grains de sécrétions destinés à l'exocytose. Trouvé dans les cellules glandulaires qui peuvent être de deux types:

- **exocrine** déversant à l'extérieur de l'organisme. Les cellules sont polarisées, le produit de sécrétions vont se diriger vers la membrane apicale.
- **endocrine** déversant dans l'intérieur de l'organisme

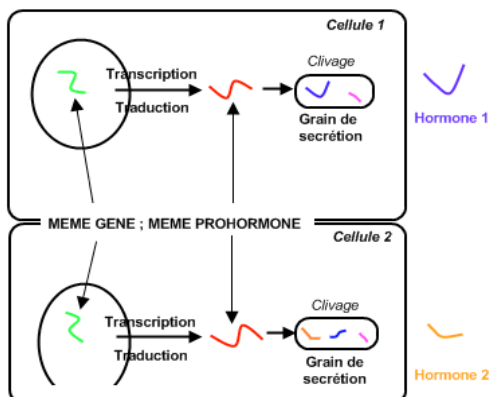
Les grains de sécrétions sont entourés de membrane à contenu plus ou moins dense aux électrons: si la vésicule est dense elle est chargée en protéine, si elle est claire, c'est une vésicule chargée de Glycoprotéines fortement glycosylées.

Différentes façons de former des grains de sécrétions:

- Formation de vacuoles à contenu non dense aux électrons, qui vont maturer, perdent leur membrane (bourgeoisement de membrane), diminution de volume et augmentation de densité.
- Vésicules qui se détachent du réseau transgolgien fusionnant pour former le grain de sécrétions.

Augmentation de la densité (surtout si c'est protéique) et modification du pH à l'intérieure de la vésicule (le réseau Transgolgien est acide, le grain de sécrétions est neutre). Maturation du produit de sécrétion lui même avant qu'il ne soit exocyté.

Si les grains de sécrétions comportent des hormones, la maturation fait passer des pro-hormones à des hormones.



Cellules hypophysaires: Deux types cellulaires vont sécréter chacune une hormone, mais le gène initial est le même. L'équipement enzymatique (convertase) des grains de sécrétion n'est pas le même

COURS 04 - LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

Le grain de sécrétions aboutit à la membrane cytoplasmique pour que le contenu soit déversé hors de la cellule. Il y a **fusion** de la **membrane** du grain avec la membrane cytoplasmique mais cette fusion ne sera pas aléatoire, mais se fera au niveau de **port de fusion** (Porosome). Ces structures vers lesquels vont se diriger les grains de sécrétions ont été étudié au microscope à force atomique. Il y a de petite dépression de la membrane cytoplasmique avec les porosomes.

C'est un mécanisme régulé et réglé par Stimulus.

B. Voie Constitutive (toutes cellules)

Amène les petites vésicules à la membrane cytoplasmique. Ces vésicules vont être de deux types:

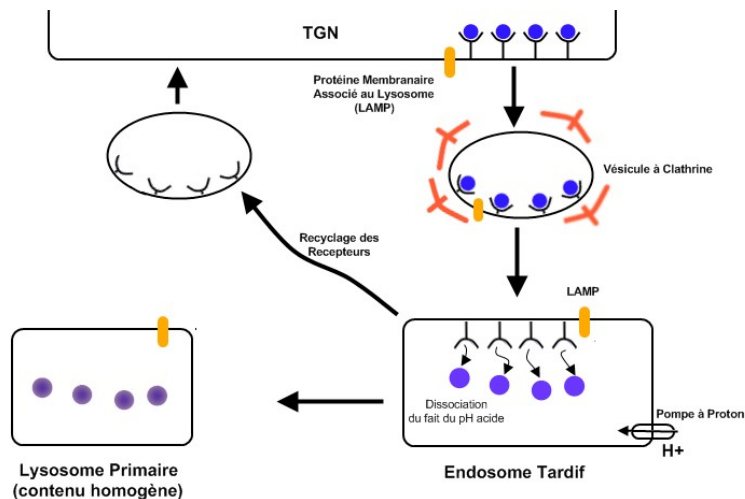
- **Vésicules à coatomère:** manteau recouverte de COP, qui se détachera une fois la vésicule formée. Permet le renouvellement de la membrane cytoplasmique: phospholipide, protéine intégrée à la membrane, le glycocalyx.
- **Vésicules à cavéoline:** on verra une vésicule lisse permettent la régénérescence des radeaux lipide avec sphingolipides, GPI.

IV.Vésicules destinée au système endolysosomal

Ce sont les **prolysosomes**. C'est un système hétérogène dont la traduction morphologique n'est pas fixe: ensemble de membranes lisses qui vont recevoir les vésicules de la membrane cytoplasmique (par voie d'endocytose), les vésicules du réseau trans-golgien et dont une partie sera transformé/transporté en lysosome.

- **Les vésicules du réseau transgolgien** vont contenir les enzymes lysosomal vont bourgeonner à partir du TGN avec la clathrine. Dans le REG sont synthétisé les enzymes portant un Mannose-6-P qui vont être reconnus par les récepteurs (Récepteur au Mannose 6-Phosphate) du Golgi.
- Ces récepteurs vont être concentrés dans des vésicules où le manteau sera constitué par de la **clathrine**, la membrane comportera aussi des Protéines de la membrane associé au lysosome (LAMP).
- La clathrine va retourner vers le cytoplasme, on aura alors des vésicules lisse qui constitueront les Prollysosomes. Ils ont le récepteur au Mannose 6-P sur lequel sont fixé les enzyme et les LAMP.
- Ces vésicules vont se diriger vers l'**endosome tardif**. C'est une vacuole irrégulière. Il vont fusionner
- Dans cet endosome tardif il y aura les récepteurs au mannose 6-P, les protéines LAMP et des pompes à protons qui acidifient le contenu de l'endosome.
- Du fait du pH acide, les enzymes vont pouvoir se **détacher du récepteur** et elles vont devenir active ayant pour rôle de dégrader tout les éléments qui constituent une cellule.
- Les récepteurs au **mannose-6-P vont être recyclés**, on aura des vésicules qui concentre les récepteurs, se détachent et retournent vers l'appareil de golgi.
- Le reste de l'endosome tardif va se transformer en **lysosome**, qui est une structure entouré d'une membrane et qui va avoir un contenu homogène (lysosome primaire aspect similaire à un grain de sécrétion; discernable grâce à l'immunoenzymologie afin de détecter la phosphatase acide) ou hétérogène.

COURS 04 - LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE



V. Lysosome

Ce sont des systèmes membranaires contenant des Hydrolase capable de détruire sucre/ADN.... ces enzymes on été synthétisé au niveau du REG, transigent par l'appareil de golgi.

Ils ont la caractéristique d'être activé à **pH Acide (~4-5)**, leur rôle va être de dégrader les macromolécules pour les **transformer en éléments simple** (AA, monosaccharide...) qui pourront être transporté hors du lysosome.

Les lysosomes se distinguent de l'endosome tardif par le fait qu'il **n'y a plus de recepteurs au mannose-6-P**, puisque celui ci a été recyclé vers golgi, par contre, **il y aura des LAMP**.

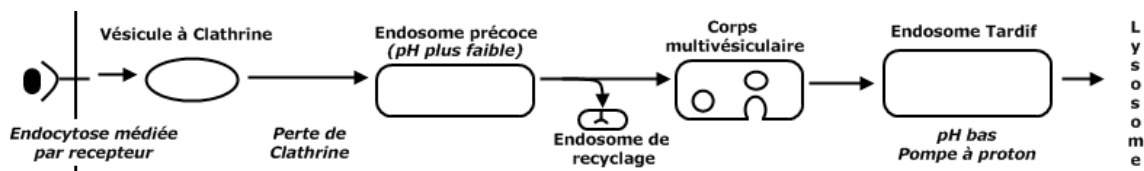
Le lysosome sert principalement à la dégradation. Il a deux types de dégradation:

- Dégradation non lysosomiale faisant intervenir le **protéasome** (cours prochain)
- Dégradation faisant intervenir les **lysosome**.

Les éléments pouvant être dégradé par les lysosomes se sont les éléments extracellulaire qui arrivent dans la cellules par la **voie de l'endocytose** et d'autre part des éléments intra cellulaire qui vont être dégradé par une voie appelé **l'autophagie**.

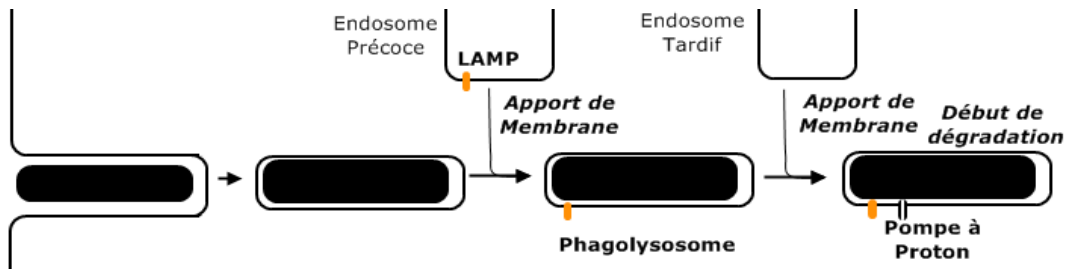
- **Dégradation des éléments extérieurs** arrivant dans la cellule par endocytose médiée par recepteurs faisant intervenir la clathrine.

• Endocytose médiée par recepteurs



Le système est aidé par des GTPase (RAB).

• Phagocytose



Soit l'ensemble de l'élément sera digéré, et le phagolysosome se transformera en lysosome à contenu homogène, soit tout ne sera pas dégradé, il va rester des éléments membranaires ce qui donnera un aspect hétérogène correspondant à des lysosomes secondaires. Parfois ces lysosomes secondaires vont rester tel quel constituant des **grains de lipofusine** à contenu très dense et hétérogène.

➤ L'autophagie se fera par différents mécanismes.

- **Crinophagie** est un système très régulé et qui apparaît dans certaines cellules glandulaires. Elle correspond à la dégradation de grains de sécrétions qui sont en excès dans une cellule. Il y aura fusion entre grains de sécrétions et lysosomes qui vont aboutir à la dégradation.

Ex: La cellule sécrétant la prolactine intervient dans le phénomène de lactation. Au moment du sevrage, les grains de sécrétion chargés en prolactine ne seront plus exocytés. La cellule enclenche le mécanisme de crinophagie pour éliminer l'excès.

- **Autophagie médiée par les molécules chaperones.** Ce sont des **protéines** du cytoplasme qui sont **malformés** et seront ciblés par les **molécules chaperones**, qui seront transportés dans le lysosome où elles seront dégradées. Vu que c'est une molécule il n'y aura aucune traduction morphologique.
- **La micro-autophagie** une portion de la membrane du lysosome va s'invaginer entraînant avec elle une petite portion de cytoplasme qui pourra être dégradé.
- **La macro-autophagie** phénomène régulé dans les cellules. Toute une portion du cytoplasme de la cellule qui va être dégradée. Une membrane lisse vient sequestrer une partie de cytoplasme. Pendant un temps court on aura une vacuole à double membrane. Vers cette vacuole vont se diriger des lysosomes entraînant la rupture de la membrane interne. Par leur fusion sont apportées les pompes à protons et les enzymes activées.

Soit tout peut être **dégradé** et on retourne à un **stade lysosome**

Soit il y aura des **restes** et on aura un aspect **hétérogène** constituant les **Grains de Lipofusine** ou **Corps résiduel**.

Le pH permet la dénaturation des protéines, la libération du ligand de son récepteur, la maturation enzymatique, et certains transporteurs fonctionneront lorsque le pH est acide.

Les maladies lysosomiales seront variées. Ce sont soit des enzymes qui sont absentes/anormales ou un système de transport qui est déficient. Ceci va aboutir à l'accumulation de lysosomes à contenu non dégradé et cela va détériorer le fonctionnement cellulaire, les neurones y sont très sensibles et cela s'exprimera par des troubles du système nerveux (retard mental).

VI. Les lysosomes sécrétoires

Ce lysosome contient des produits de sécrétions, des enzymes et le contenu destiné à l'exocytose. Présent dans des cellules particulières dont le rôle est de sécréter à l'extérieur comme les **Lymphocytes T cytotoxiques** qui vont former des lysosomes sécrétoires qu'ils vont exocytoter sous l'effet d'un stimulus. **Le but va être de détruire une cellule en particulier.**

VII. Les flux membranaires

Ces flux ont été décrits dans les années 60 par Palade qui étudiait une cellule glandulaire (formant des grains de sécrétions). Il injecté de la leucine tritiée et suivait par autoradiographie le cheminement dans la cellule de la Leucine.

Il a observé que a un temps très court après l'injection de leucine tritiée,

- le marquage est d'abord localisé dans le RE.
- Puis dans L'appareil de golgi.
- Puis dans Grains de sécrétions.
- Puis à la membrane cytoplasmique.

C'est le flux antérograde.

Il y a trois flux:

- **le flux antérograde** va aller du REG à la membrane cytoplasmique. Passe à travers l'appareil de golgi. C'est dans le golgi que se feront l'addition de glycoprotéines qui seront retrouvés dans le glycocalyx. Dans golgi se retrouve les vésicules destinées à l'exocytose (grain de sécrétions), ou vésicule dont les membranes renouvellent la membrane cytoplasmique.
Les synthèses de membranes se font dans le RE, les protéines dans le REG, le contenu protéique dans le REG. Puis l'ensemble fait passer dans Golgi où il sera trié et certaines portions de membranes forment des grains, d'autres des vésicules.
- **le flux faisant intervenir l'endosome** qui est un carrefour en équilibre avec les lysosomes. Partant de Golgi, certaines portions s'enrichissent en récepteur au mannose-6-P, formant les prolysosomes convergeant vers l'endosome tardif, d'autres vésicules proviennent de la membrane cytoplasmique, convergeant d'abord vers l'endosome précoce, ce dernier évolue vers l'endosome tardif en passant éventuellement par un corps multi-vésiculaire.
- **le flux rétrograde** qui va aller en sens inverse du flux antérograde, ramène les éléments soit de la membrane soit du contenu vers le lieu où ils vont exercer leur fonction spécifique comme les protéines dans l'appareil de Golgi où elles n'ont aucune utilité et donc seront envoyées vers le REG.
Les vésicules retournent vers les systèmes précédents, de même que des vésicules vont retourner de la face Cis de Golgi vers le REG.
Le but est de ramener les molécules utiles, il faut donc qu'il y ait un ciblage particulier de ces molécules: lors du retour du Golgi vers le REG il y a deux situations possibles:
 - **Retour d'une protéine membranaire**, cette protéine comporte dans sa partie extra-membranaire du côté cytosolique des motifs qui vont pouvoir être reconnus et cette reconnaissance va induire la formation d'un manteau qui permettra le détachement de la vésicule et ensuite la fusion avec les saccules ou le RE.
 - **Retour d'une protéine dissoute**: elle ne pourra pas être reconnue par un système présent dans le cytosol mais ces protéines dissoutes vont comporter des motifs dans leur structure (**KDEL**) qui vont être reconnus de manière spécifique par des protéines de la membrane du golgi qui vont donc fonctionner comme des récepteurs. À partir de là, ces récepteurs seront reconnus par des protéines cytosoliques et il se formera à nouveau un manteau et lui permettant son retour.

VIII. Types de trafic particuliers

A. Sequestration et réexposition des transporteurs

Concerne les cellules qui ont **besoin** urgent de **protéines spécifiques** au niveau de leur membrane cytoplasmique (recepteurs au glucose, ATPase...) pour que des transports puissent se faire. Ces cellules auront un mécanisme pour transporter des molécules sequestrées dans le cytoplasme. Ces vésicules vont par fusion avec la membrane apporter les transporteurs.

Ceci se fait sous l'effet d'un stimulus, et lorsque le stimulus s'interrompt, la cellule reforme les vésicules contenant les transporteurs et seront ainsi stocké à proximité de la membrane.

B. Transcytose

Les protéines (Ig) vont être **transportées du pôle basal des cellules en direction du pôle apical**. Reconnaissance des protéine à la base, endocytose mais protégé de la dégradation intracellulaire, elles passeront par le système endosomique sans être dégradé pour aboutir à la membrane cytoplasmique du coté opposé où elles seront libérées.

C. Exosome

La membrane cytoplasmique porte des recepteurs particuliers qui seront endocytosé, passage par l'endosome précoce et formation d'un **corps multivesiculaire**. Des éléments qui étaient auparavant intra-cellulaire qui vont se retrouver sur la **face externe** de ces vésicules.

Certains de ces corps vésiculaires vont aller à la membrane cytoplasmique ce qui va permettre de **libérer les exosomes** qui vont circuler dans le **sang** et qui par les protéines portées pourront aller agir sur des **sites éloignés** de la cellule qui les a produite.

IX. Utilisation des flux

Interaction séquentielle ou continue. Exemple des cellules se déplaçant sur support... les protéines vont servir à créer des points focaux où des intégrines de la membrane cytoplasmiques vont se réunir permettant l'adhérence.

Lorsque les cellules adhèrent, il y aura un signal intracellulaire qui va modifier le cytosquelette:

- formation du lamellipode
- fibre de stress qui se forment sur les points focaux interagissant avec la myosine et qui crée une certaine tension: permettant de nouvelles adhésions à l'avant, en même temps qu'à l'arrière se désintègre les points focaux, permettant au cytoplasme de la cellule de basculer vers l'avant

Egalement utilisé par les **microorganismes** ou bactérie pour **infecter les cellules**. Ces microorganismes vont entrer dans la cellule (soit entièrement soit se sont des toxines produites). L'introduction se fera par **contact direct**, où alors il y aura stimulation de la cellule à créer un **voile cytoplasmique (macropinocytose)**.

Dans d'autre cas ce sont des toxines qui seront néfastes. Celles-ci rentrent dans la cellule

- **Certaines seront reconnus par des recepteurs** ce qui va leur permettre de s'intégrer directement à la membrane cytoplasmique et de **former un pore**, il va y'avoir beaucoup d'éléments qui pourront passer.
- **Vésicules à clathrine** (toxine de diphtérie) utilisé après fixation sur recepteurs. Une fois endocyté, **elle devra passer dans le cytosol**, elle utilisera d'abord la **voie de l'endosome** sans être dégradé, ou alors elle va aller plus loin en utilisant le flux rétrograde, jusque dans le **REG** où la membrane comporte les protéines qui permettent aux protéines néo-synthétisées par le ribosome de passer dans la lumière du RE, la toxine va utiliser ce petit canal (**translocon**) pour sortir de la lumière du RE en direction du cytosol.