

# Système Endomembranaire

## Définition du Système Endomembranaire

**Présent uniquement dans les cellules eucaryotes:** ensemble des compartiments intracellulaires limités par une membrane, (sauf mitochondries, peroxysomes et chloroplastes) communiquant entre eux et avec la membrane plasmique par des vésicules (parfois canalicules) et tubules

**Membrane d'enveloppe:** correspond à la membrane plasmique

**Lumière:** correspond au milieu extracellulaire

Echange de molécules avec le cytosol

## Les différents compartiments

- Enveloppe nucléaire
- Reticulum endoplasmique (lisse et rugueux)
- Appareil de Golgi
- Endosomes, lysosomes et cavéosomes

## Ensemble hétérogène de vésicules et de canalicules

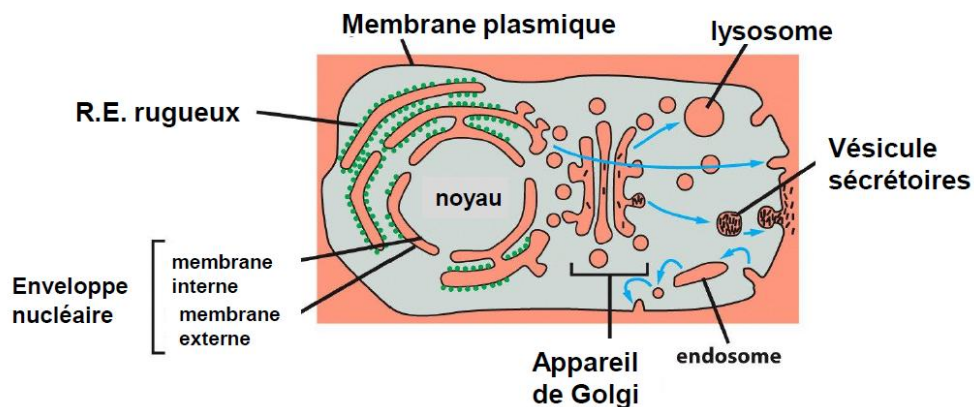
### Importance quantitative dans la cellule

*Exemple:* Système endomembranaire de l'hépatocyte

17% volume cellulaire

58% de la surface membranaire totale

**Equivalence topologique** entre la lumière des compartiments du système endomembranaire et le milieu extérieur



## Étapes du transport vésiculaire entre compartiments

1. Bourgeonnement de vésicules recouvertes d'un revêtement protéique (clathrine, COP, FAPP, cavéoline)
2. Déshabillage de la vésicule (clathrine, coatomères COP I, COP II, FAPP) sauf la cavéoline
3. Transport cytosolique (via le cytosquelette)
4. Fusion de la membrane d'enveloppe de la vésicule avec celle du compartiment «recepteur»

Flux membranaire (échange de membranes) et flux de molécules solubles dans les vésicules

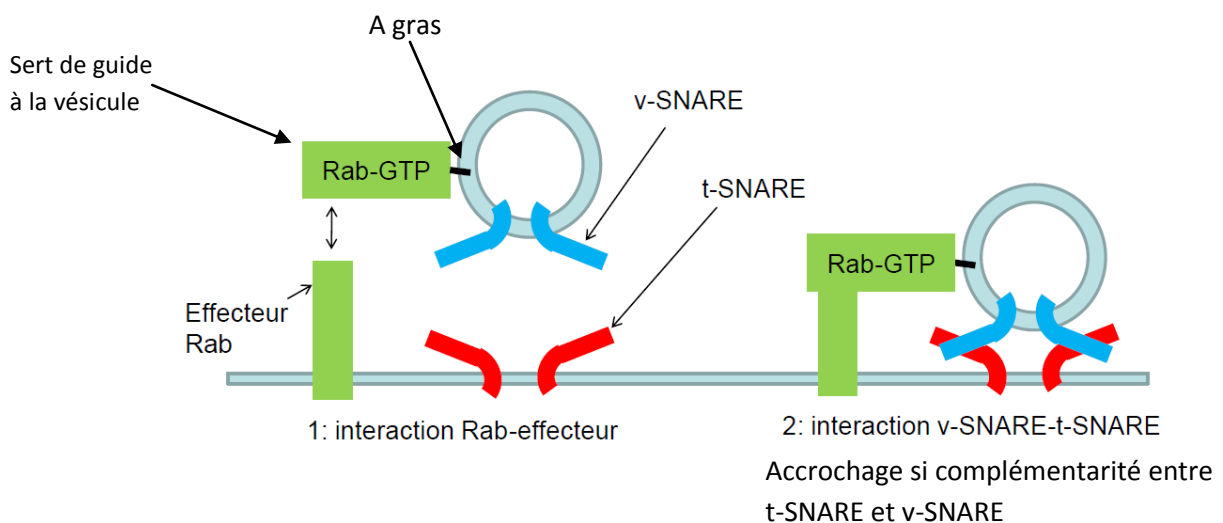
## Spécificité de l'adressage des vésicules

### Protéines Rab et groupes de SNARE complémentaires

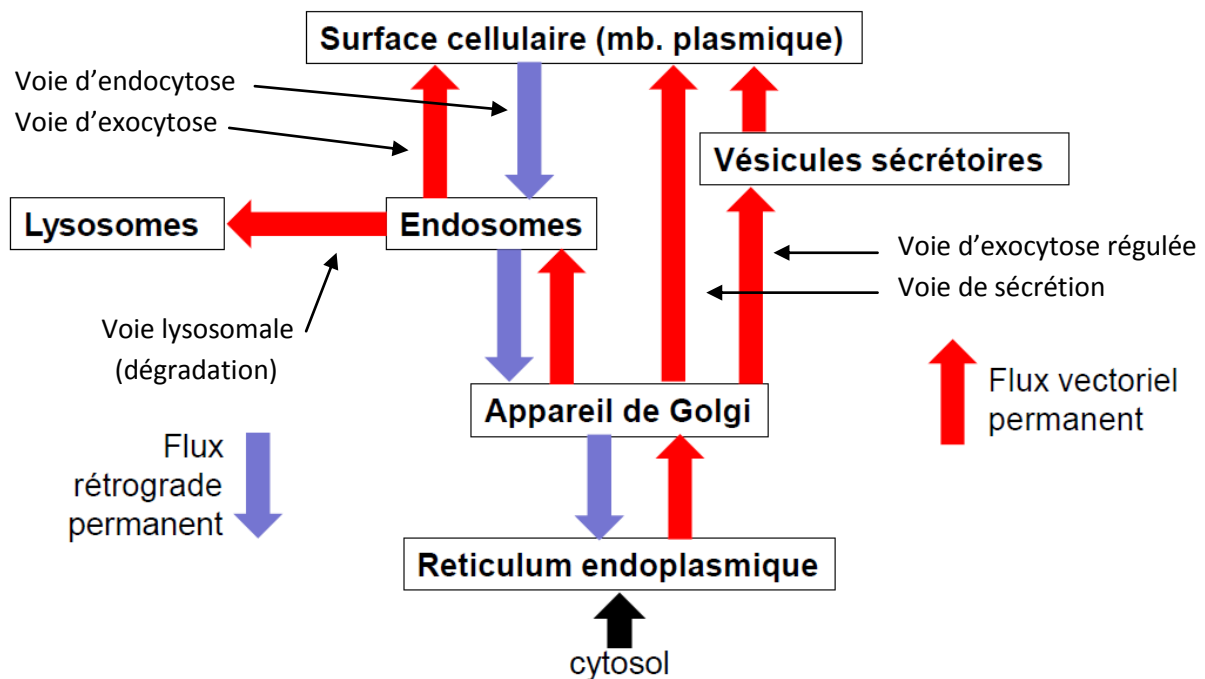
- **Rab**: GTPase monomérique, >30 membres, localisation spécifique de certains compartiments
- **SNARE**: protéines avec domaines en hélices, > 20 membres, v-SNARE sur la vésicule, t-SNARE sur le compartiment cible (*target*)

**Rab + effecteurs** = interactions facilitant l'arrimage de la vésicule

**Appariement de v-SNARE et t-SNARE**: verrouille l'arrimage par les domaines en hélice et prépare la fusion



## Flux membranaires entre compartiments



+ cavéole/cavéosome (spécifique de protéines ancrées par un GPI)

Le flux vectoriel permanent s'interrompt uniquement durant la mitose

## Adressage et rétention des protéines du système endomembranaire

### Conséquence du flux vectoriel permanent

2 types de signaux nécessaires : signaux **d'adressage** et de **rétention** spécifiques d'un compartiment  
Si aucun signal de rétention : voie de sécrétion jusqu'à la MP

- **Protéines transmembranaires**: signaux sur le domaine cytosolique ou le segment transmembranaire
- **Protéines solubles**: 1 signal dans la protéine (arborisation osidique ou séquence peptidique) et 1 signal porté par un récepteur transmembranaire (dont le domaine luminal reconnaît le signal dans la protéine...)

# Réticulum endoplasmique

## Définition

Réseau de saccules et de canalicules limités par une membrane continue

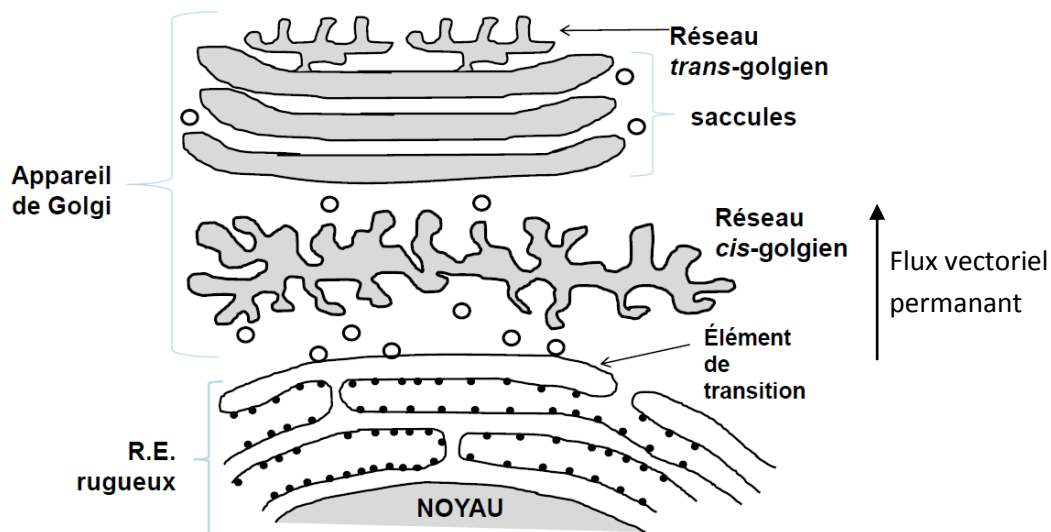
- Très grande surface développée dans la cellule
- Lieu de synthèse de très nombreuses protéines, synthèse lipidique

## Ultrastructure

**RE rugueux:** saccules aplatis, en continuité avec l'enveloppe nucléaire, recouvert de ribosomes (face cytoplasmique), élément de transition vers Golgi: 1 face lisse et 1 face rugueuse  
Grosse quantité dans les cellules exocrines du pancréas car synthèse protéique importante

**RE lisse:** pas de ribosomes, labyrinthe de canalicules interconnectés  
Grosse quantité dans les cellules sécrétrices d'hormones stéroïdes (ex : cellule de Leydig du testicule sécrétrice de testostérone)

**Élément de transition** vers Golgi: 1 face lisse et 1 face rugueuse



## Composition chimique

### Etudes *in situ*

- Méthodes cytoenzymologique

Exemple: mise en évidence de Glucose-6-phosphatase (spécifique du RE)

- Immunomarquage : par fluorescence ou M.E.T.

Exemple: mise en évidence des Ig dans les plasmocytes

### Fractionnement et sous-fractionnement du RE

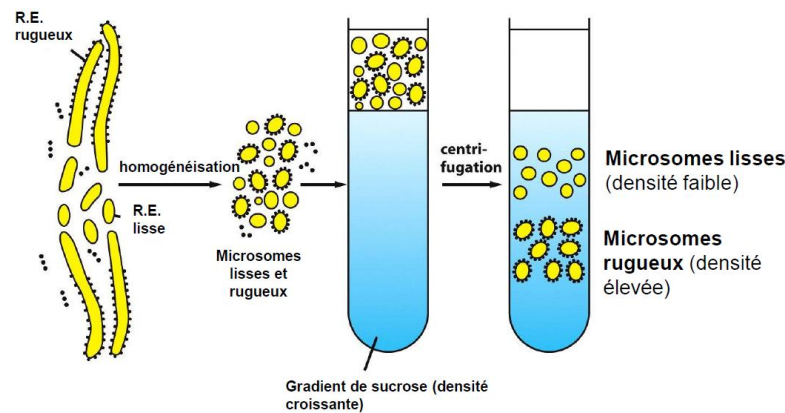
**Homogénat cellulaire:** fragmentation du RE en **microsomes** rugueux et lisse

Microsome : utilisation dans la traduction de protéines *in vitro* (garde sa fonction de RE)

#### Contrôle de pureté des fractions

- ✓ Critère morphologique: M.E.T.
- ✓ Critère biochimique: activités enzymatiques (ex : Glu-6-phosphate = RE, catalase = peroxysonne)

**Sous-fractionnement:** membranes et contenu soluble des vésicules



### Analyses chimiques

Membranes: 30 % lipides, 70% protéines (enzymes)

- Synthèse et glycosylation des protéines
- Synthèse des phospholipides
- Synthèse des stéroïdes (classe de lipides qui dérive du cholestérol) au niveau du REL
- Détoxification (enzyme cytochrome P450)
- Hydrolases (Glucose-6-phosphatase...)

Cavités du RE :

- **Protéines** (ex: Ig dans plasmocytes, procollagène pour fibroblastes, proinsuline pour cellules  $\beta$  pancréatiques...)
- **Ions  $Ca^{2+}$**  : présent chez la plupart des cellules eucaryotes, stockage dans le REL  
Exemple: Réticulum sarcoplasmique des cellules musculaires

### Architecture moléculaire du RE

Mosaïque fluide

Phospholipides contenant des acides gras polyinsaturés

Asymétrie membranaire

Plus de 20 protéines présentes uniquement dans le RE (donc signal d'adressage et de rétention au RE)

## Fonctions

### Synthèse et translocation des protéines

1. Début de synthèse des protéines: ribosomes cytosoliques
2. Adressage à la membrane du R.E. (pas pour toutes les protéines)
3. Translocation co-translationnelle

**Signal de rétention:** protéines résidentes du R.E. (solubles ou transmembranaires)

**Pas de signal de rétention:** suit le flux membranaire vectoriel permanent

### Adressage des protéines solubles

- **Résidentes R.E.** (signal de rétention **KDEL** = 4 AA en position C-ter), Golgi, endosomes, lysosomes (hydrolases)...
- **Membrane plasmique** (protéines extrinsèques externes = liaisons faibles avec la membrane)
- **Milieu extracellulaire** (protéines sécrétées)

### Adressage des protéines intrinsèques

#### Transmembranaires

- **Résidentes R.E.** (autre signal de rétention), Golgi, endosomes, lysosomes...
- **Membrane plasmique** (pas de signal de rétention)

#### Ancrage GPI

- **Feuillet externe de la MP** (protéines intrinsèques externes) : voie de sécrétion via vésicules recouvertes de cavéolines

### Fixation des ribosomes au R.E.R.

- Seuls les ribosomes synthétisant une protéine adressée au R.E. se fixent
- La sous-unité 60 S se fixe au **translocon** (complexe protéique formant un canal) sur la membrane du R.E.R.
- Les ribosomes sont maintenus par la chaîne polypeptidique en cours d'élongation

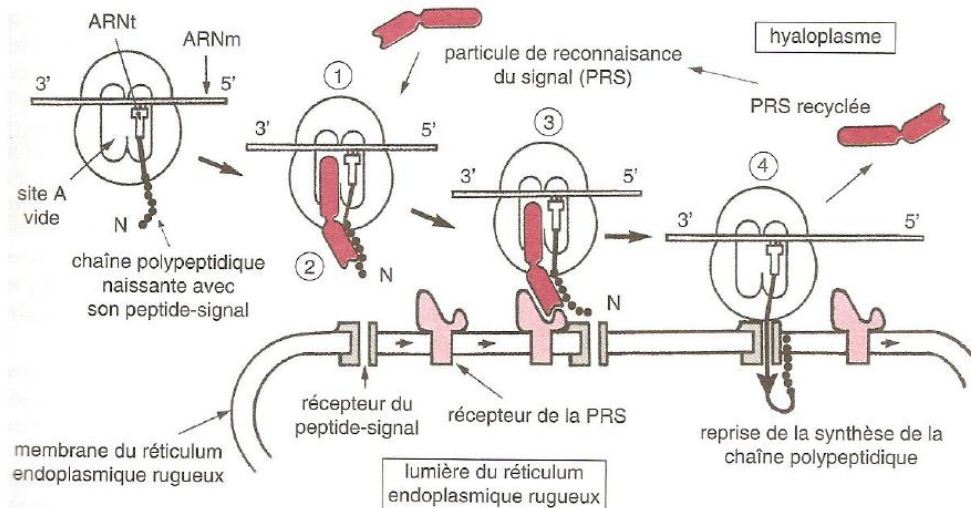
## Adressage des protéines solubles

(prot. résidentes du système endomembranaires, prot. extrinsèques externes et prot. sécrétées)

- **Signal d'adressage au R.E.** (= peptide signal)

Séquence d'une vingtaine d'AA hydrophobe en position N-terminale

- **Translocation:** rôle des Particules de Reconnaissance du Signal (**PRS**, cf schema) et du translocon qui reconnaissent 20 AA hydrophobes (pas séquence d'AA)



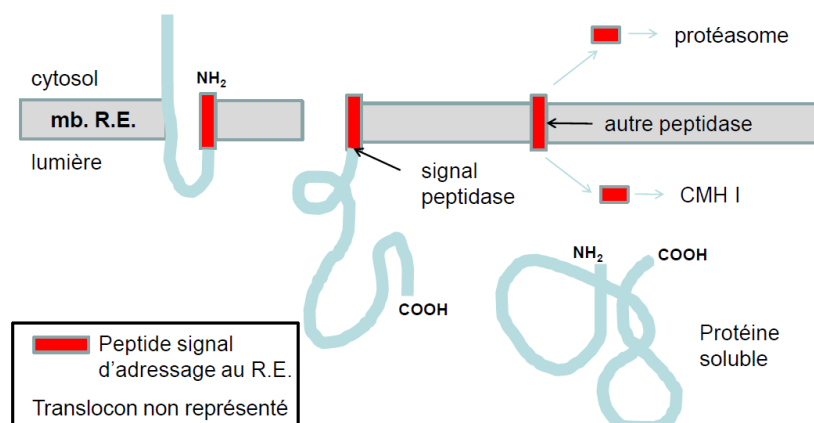
1. Blocage de la traduction par fixation de la PRS sur le ribosome et la protéine
  2. Reconnaissance du peptide signal par la PRS
  3. Fixation PRS, récepteur PRS : interaction peptide signal / translocon
  4. Reprise de la synthèse protéique par détachement de la PRS
- = **translocation co-traductionnelle** des protéines dans la lumière du REG

**Modifications de la partie protéique dans la lumière pour les protéines solubles :** glycosylation, ponts disulfures, conformation 3D correcte (ex : *protéines disulfides isomérase*)

**Phénomènes intervenant après la synthèse**

- Dissociation des ribosomes en sous-unités
- Ouverture latérale du translocon
- Excision du peptide signal (par la *signal peptidase* dans la lumière du R.E.)
- Dégradation du peptide signal restant (*peptidase*)

### Synthèse et translocation des protéines solubles



## Adressage des protéines transmembranaires

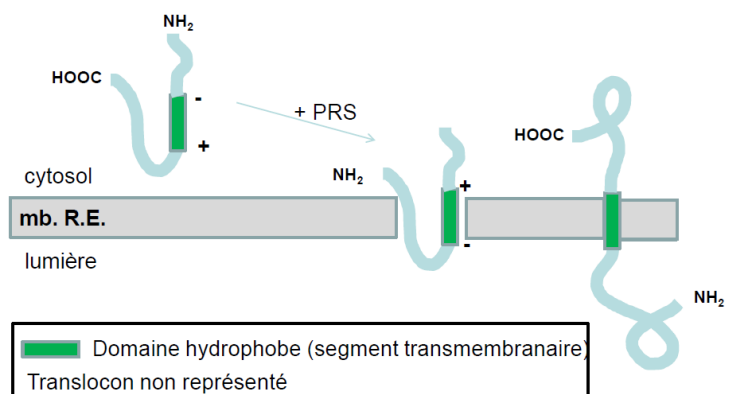
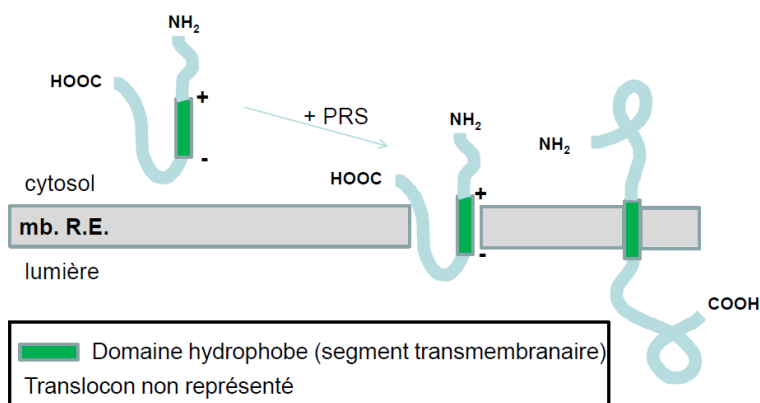
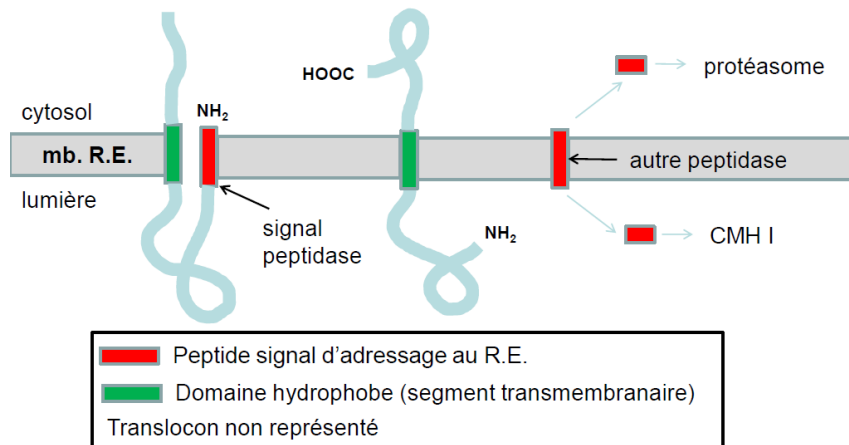
- Soit peptide signal N-terminal (cf prot. solubles)
- Soit signal d'adressage intracaténaire (= 1<sup>er</sup> domaine transmembranaire, hydrophobe) reconnu par les PRS, l'orientation dépend de la répartition des charges (AA) de part et d'autre du segment transmembranaire

### Segment transmembranaire jamais excisé

#### Cas des protéines à traversée unique

- **Présence d'un peptide signal N-terminal** : 2<sup>ème</sup> séquence hydrophobe (segment transmembranaire) = arrêt de la translocation  
Excision (puis fragmentation) du peptide signal N-terminal
- **Absence de peptide signal** (segment TM+PRS): orientation selon la répartition des charges, pas d'excision (charge - côté lumière, charge + côté cytosol)

#### Synthèse et translocation des protéines à 1 domaine transmembranaire

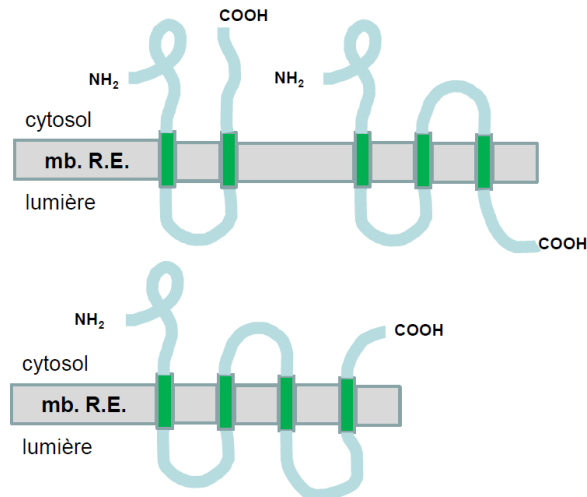




### Cas des protéines à traversées multiples

- 1<sup>er</sup> segment hydrophobe synthétisé (N-terminal ou non) + PRS = adressage au R.E.
- Orientation du 1<sup>er</sup> segment détermine l'orientation de l'extrémité N-terminale de la protéine
- 2<sup>ème</sup> segment hydrophobe: **signal d'arrêt de translocation**
- Alternance: reprise de translocation, arrêt, reprise...

### Synthèse et translocation des protéines à traversées multiples (plusieurs TM)



### Phénomènes communs à toutes les protéines transmembranaires

- Pas d'excision des segments TM
- Après leur synthèse, les segments TM s'échappent latéralement du translocon
- Modifications éventuelles des domaines protéiques dans la lumière du R.E.

## Glycosylation des protéines

- N-glycosylation

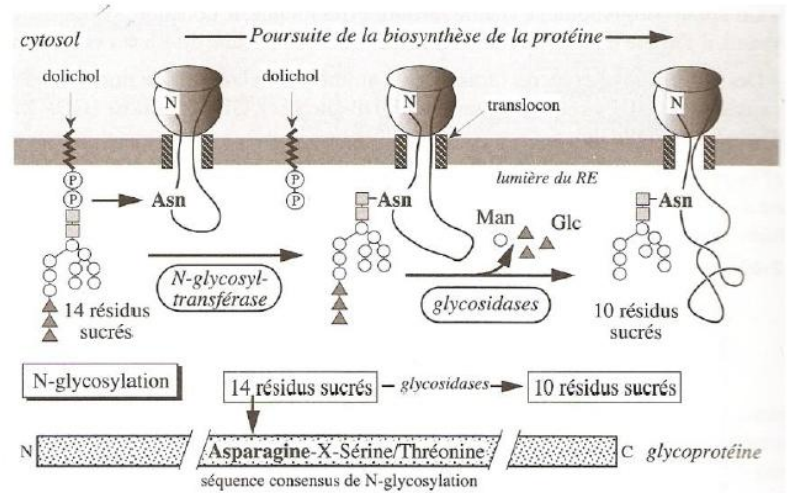
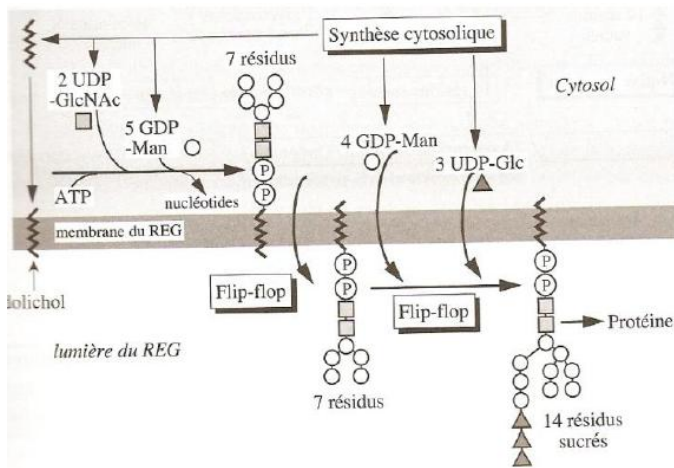
**Étape initiale:** synthèse d'un oligosaccharide (7 résidus) lié à un dolichol sur la face cytosolique de la membrane du R.E.

**Flip-flop:** bascule de l'oligosaccharide lié au dolichol vers la lumière du R.E., puis addition de 7 résidus supplémentaires (total : 2 N-acétylglucosamines, 9 mannoses et 3 glucoses)

**Transfert en bloc** de l'oligosaccharide (14 résidus) par N-glycosyltransférase sur Asn (site spécifiques: Asn-X-Ser/Thr)

Après le transfert, élagage de l'arborisation osidique (1 mannose + 3 glucose) puis poursuite dans le Golgi

Les unités osidiques sont utilisées sous forme activée (liées à un GDP ou UDP)

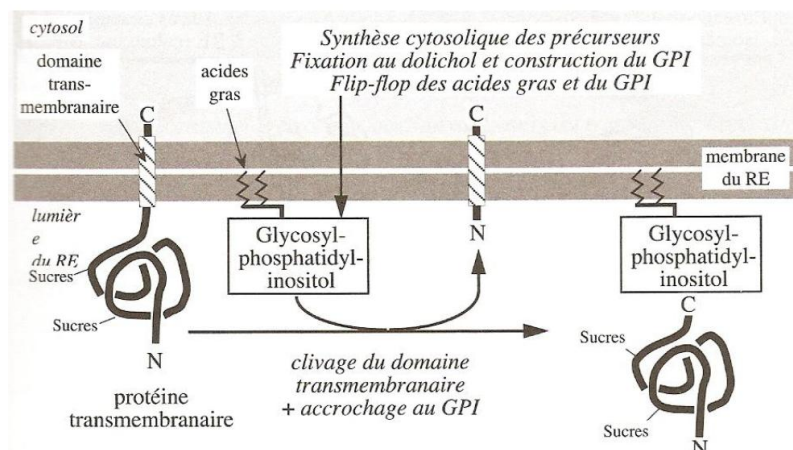


- Ancrage GPI

**Signal d'ancrage:** séquence hydrophobe C-terminale (15-20 résidus) sur la protéine + quelques AA chargés

Ancre glycosylphosphatidylinositol (GPI) préformée dans le cytosol puis flip-flop

Coupe de la séquence hydrophobe et transfert en bloc de l'ancre GPI



## Maturation des protéines

- Ponts disulfures

Ponts « spontanés » (conditions oxydoréductrices favorables dans la lumière de R.E.)

**PDI** (Protein Disulfide Isomerase): clivage des ponts disulfures et reformation dans la conformation la plus stable

- Repliement des protéines

**Dans la lumière du R.E.** (prot. solubles et transmb.)

Intervention de chaperonnes: rétention des protéines mal repliées jusqu'à leur conformation définitive

**Protéine BiP** (Hsp70, soluble), homologues de lectines

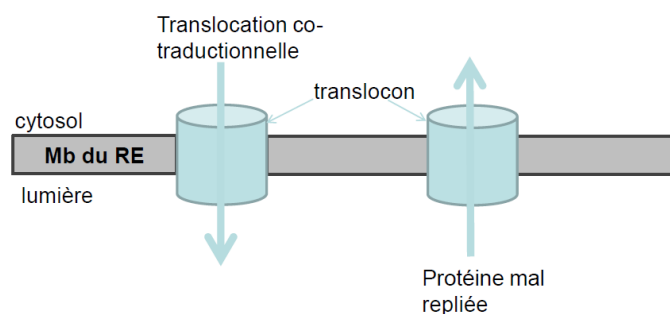
**Calréticuline** (soluble) } Contrôle de qualité  
**Calnexine** (transmb.) } Dépendantes du calcium

**Domaines cytosoliques des prot. transmembranaires:** intervention de chaperonnes cytosoliques

- Contrôle qualité avant l'exportation

Rétention des protéines mal repliées

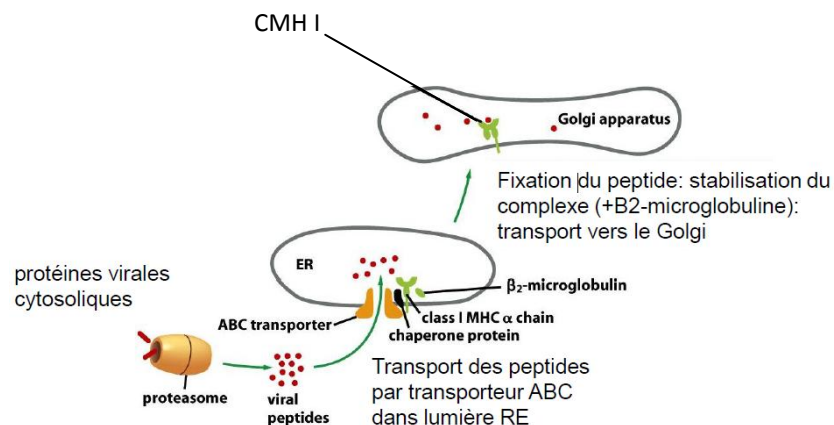
Si échec du repliement: dégradation de la protéine dans le cytosol (protéasome)



*A titre indicatif : le translocon peut fonctionner dans les deux sens*

## Passage des « peptides antigéniques » dans la lumière du R.E.

Présentation des peptides antigéniques dans le RE et sur la MP par le **CMH I**

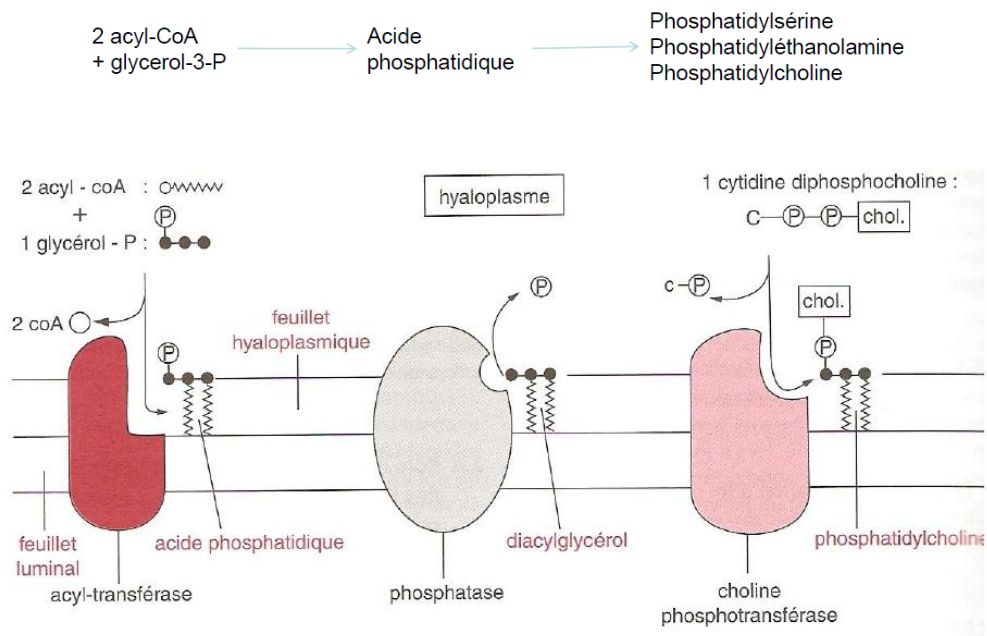


## Synthèse des lipides (R.E.L.)

Élongation et désaturation des acides gras

Synthèse du cholestérol et dérivés (stéroïdes)

Synthèse des phospholipides (face cytosolique puis bascule dans le feuillet interne)



## Synthèse des membranes

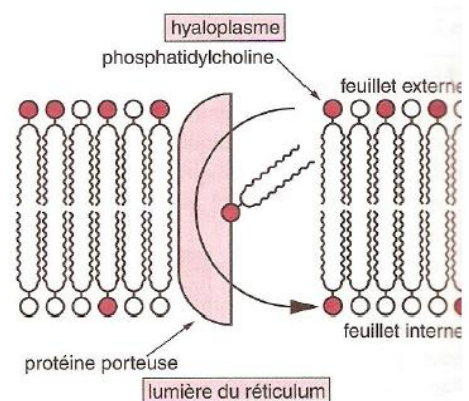
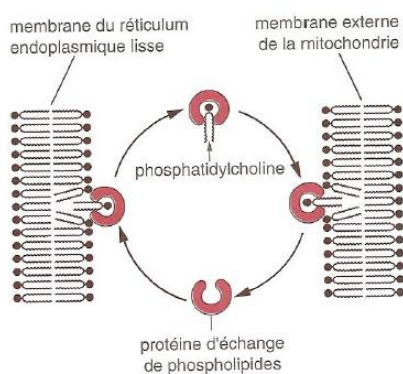
R.E. = "usine à membranes"

**Flux vectoriel membranaire permanent:** export de membranes vers les composants du système endomembranaire

**Protéines de transport de phospholipides:** vers les mb d'autres organites (mitochondries, peroxyosomes)

**Flippase** (= protéine porteuse): facilite le basculement du phospholipide vers le feuillet interne (lumière)

Remarque: exemple spécifique pour phosphatidylcholine



Entre feuillet de deux membranes différentes: protéine de transport de lipide (= protéine porteuse)

Remarque: une protéine porteuse par type de lipide

## Stockage

### Stockage de molécules d'origine intracellulaire

- Ig dans les plasmocytes
- Lipoprotéines dans les hépatocytes
- Ions calcium (cf. reticulum sarcoplasmique dans le muscle strié)

**Stockage de molécules d'origine extracellulaire** (cf endocytose): protéines, micelles lipidiques...

*Remarque:* glucose-6-phosphatase = seule enzyme du métabolisme du glucose dont le site actif est dans la lumière du R.E.

## Detoxification (R.E.L.)

Modification d'une molécule toxique par ajout d'un groupement soluble : molécule hydrosoluble facilement éliminable par l'organisme

Lieu: **foie**, reins, intestins, peau, poumons

Détoxification de molécules exogènes (pesticides, médicaments...) ou endogènes (ex.: bilirubine)

**Cytochromes P450:** hydroxylation de nombreux composés (médicaments, molécules exogènes et endogènes)

# Appareil de Golgi

## Définitions et ultrastructure

**Dictyosome:** empilement de saccules (3 à 10, de 1 à 3  $\mu\text{m}$ )

**Localisation:** proche du noyau et du centrosome

**Taille:** variable selon le type cellulaire et l'état fonctionnel

### Fonctions

- Transfert et tri des molécules élaborées dans le R.E.
- Maturation des glycoprotéines (suite du R.E.)
- Lieu majeur de synthèse des sphingolipides

### Structure

- **Dictyosome:** réseau *cis* golgien (entrée) + face *cis* + région médiane + face *trans* + réseau *trans* golgien (sortie)
- **Vésicules et canalicules :** communication entre saccules du dictyosome

## Composition chimique

### Méthodes d'étude

- Cytochimie, cytoenzymologie et immunomarquages
- Fractionnement et sous-fractionnement:
  - **Homogénéisation classique:** vésicules lisses
  - **Homogénéisation douce:** dictyosomes

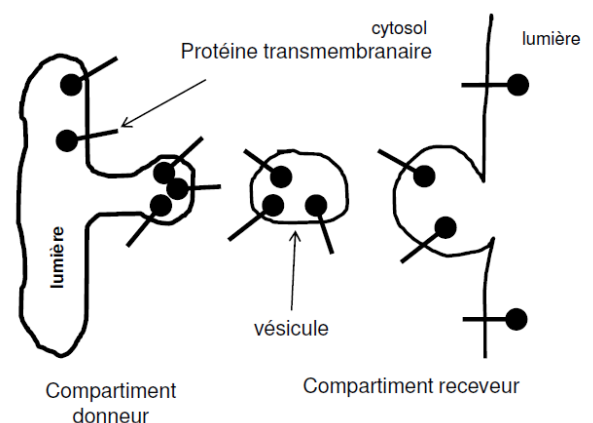
**Compartimentation fonctionnelle du Golgi** (polysaccharides et activités enzymatiques localisés)

*Exemple:* Nucléoside diphosphatase dans saccules *trans*  
Phosphatase acide dans réseau *trans* golgien  
Osmium dans citernes *cis* golgien

### Architecture et composition

- **Face cytosolique:** microtubules + MAP (protéines associés aux MT), protéines G (permettent le ciblage du transport membranaire)
- **Membrane:** mosaïque fluide, lipides 35 % (asymétrie), nombreuses enzymes (sulfotransférases, glycosyltransférases, phosphatases...) et glucides
- **Cavité** (lumière): protéines
- **Matrice protéique** dans laquelle baigne le dictyosome (maintient de l'intégrité du dictyosome, autres rôles potentiels...)

### Conservation de l'orientation des protéines transmembranaires au cours du transport vésiculaire



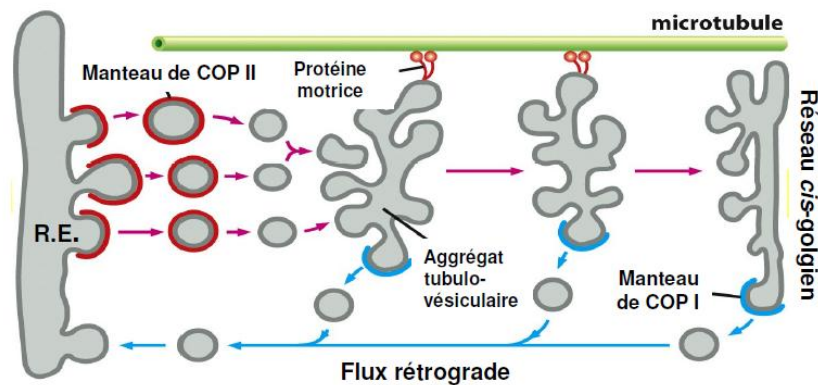
## Fonctionnement général d'un dictyosome

**Compartiments *cis*, médian et *trans*** : flux vectoriel permanent (mis en évidence par autohistoradiographie)

**Du R.E. au compartiment *cis***: vésicules (coatomères **COP II**) puis agrégats tubulovésiculaires (ERGIC: ER-Golgi Intermediate Compartment)

**Transport entre saccules**: encore mal connu

**Réseau trans-Golgien (RTG)**: tri puis exportation (vésicules+cavéoline, tubules et vésicules+clathrine)

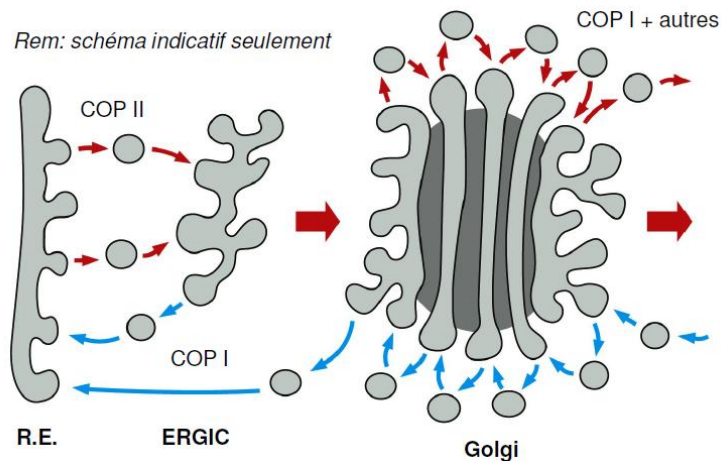


ERGIC : ER-Golgi Intermediate Compartment

Compartiment intermédiaire entre le RE et l'appareil de Golgi = agrégats tubulo-vésiculaires

**COP II**: revêtement des vésicules bourgeonnant du R.E.

**COP I**: revêtement de certaines vésicules bourgeonnant du Golgi (+ERGIC)



**Transport antérograde:** vésicules COP I + autres vésicules à revêtement inconnu + maturation des citernes pour de gros édifices protéiques (lent)

COP I: transport rétrograde et antérograde (selon flux vectoriel)

### Flux membranaire rétrograde

#### - Golgi vers RE

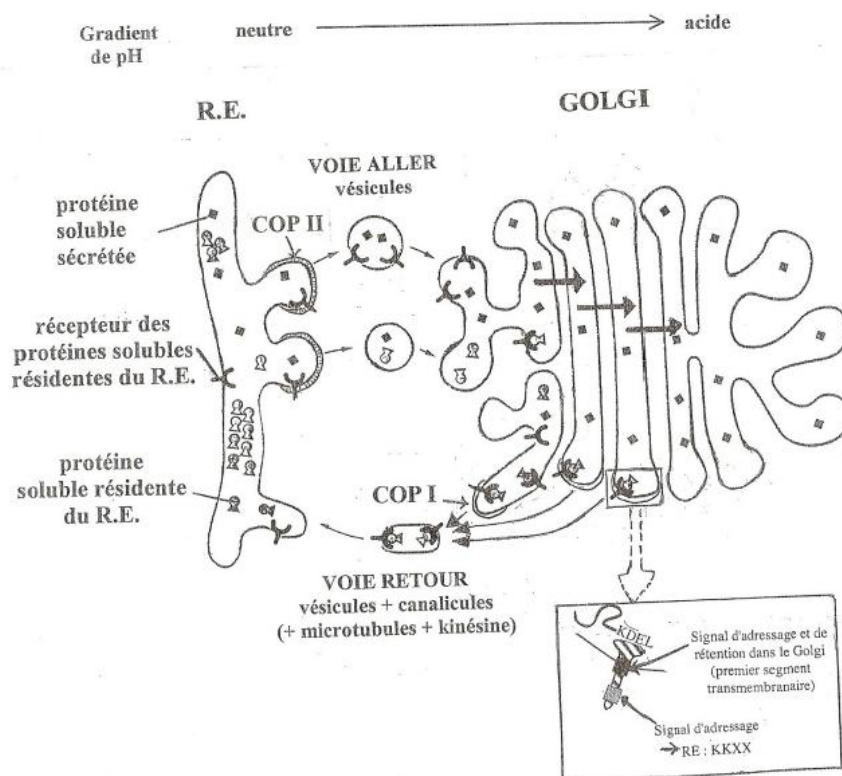
Vésicules (COP I): transport des prot. résidentes du R.E. (signal **KDEL** reconnu par récepteurs résidents du Golgi *cis* et médian, activation de leur signal cytosolique **KKXX** de retour au R.E.)  
Après transport (microtubules) et perte du revêtement: fusion au R.E. (dissociation des complexes, inactivation du signal KKXX et export des récepteurs vers le Golgi)

#### - RTG vers Golgi médian:

Les vésicules COP I peuvent aussi participer au flux antérograde

### Retour des protéines solubles résidentes du R.E. depuis le Golgi par vésicules COP I

- Signal KDEL reconnu par des récepteurs résidents du Golgi *cis* et médian
- Activation de leur signal KKXX (côté cytosolique) de retour au RE





## Fonctions de l'appareil de Golgi

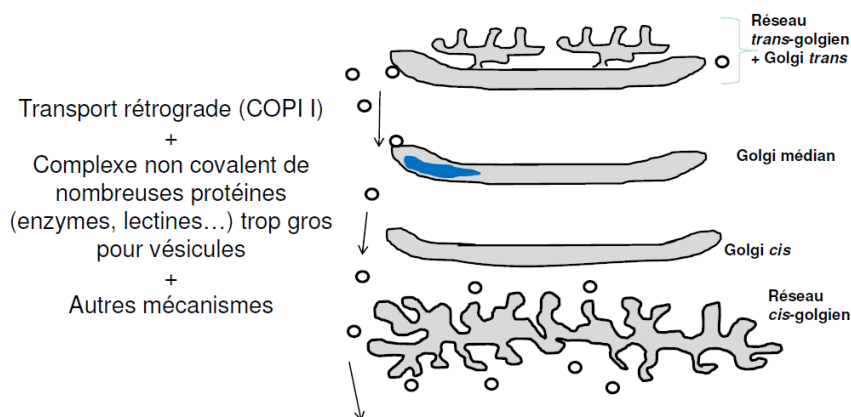
### Transfert des protéines

Les protéines adressées au R.E. sans signal de rétention pour le R.E. ni pour le Golgi traversent jusqu'au RTG :

- Protéines sécrétées
- Protéines de la membrane plasmique
- Protéines des endosomes/lysosomes

Les molécules sécrétées (protéines, polysaccharides...) se concentrent dans les vésicules lors du transfert

### Rétention des protéines résidentes du Golgi



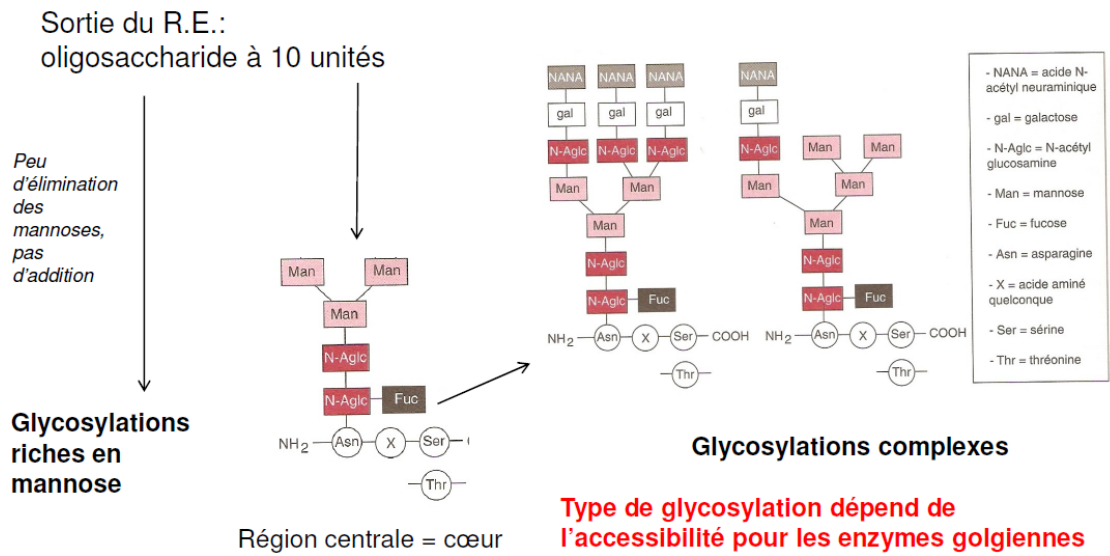
### Glycosylation des protéines

**Modification des oligosaccharides N-liés** provenant du R.E. selon l'accessibilité stérique pour les enzymes golgiennes :

- **Protéines sécrétées/mb. plasmique**: suppression mannoses, ajout de N-acétylglucosamine, galactose, acide sialique, (fucose)
- **Hydrolases lysosomales solubles**: phosphorylation de certains mannoses (signal M6P)

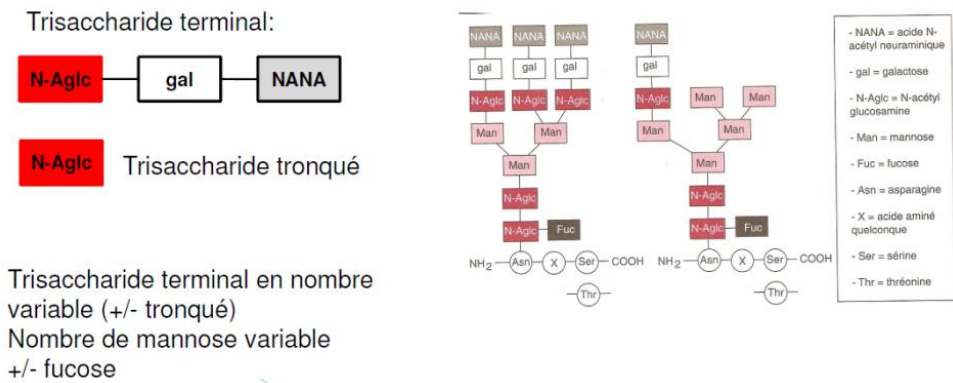
**O-glycosylation des protéines**: liaison sur -OH de Ser ou Thr (+ fixation des GAG sur protéoglycanes)

# N-glycosylation des protéines

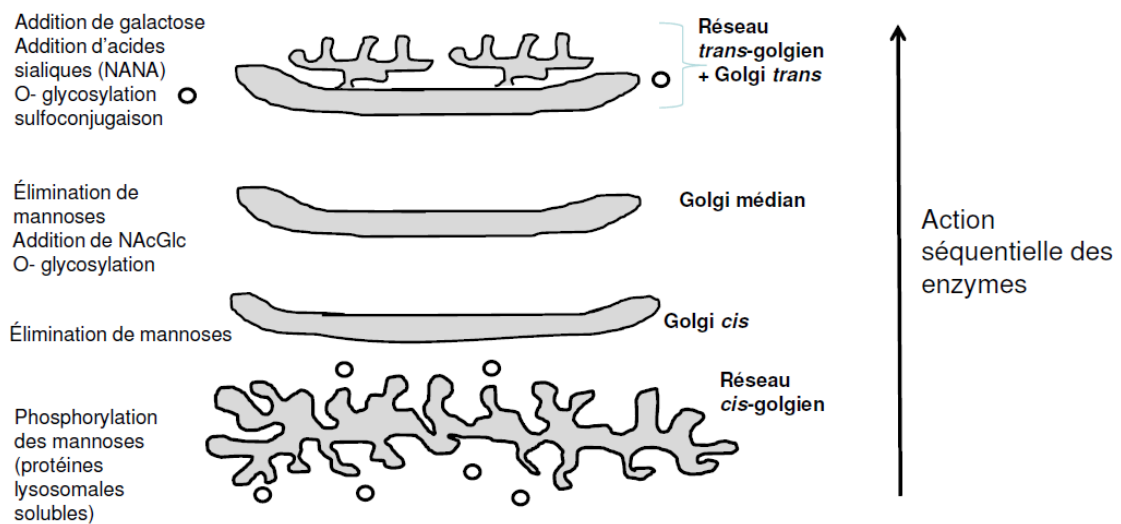


## Hétérogénéité des glycosylations

L'hétérogénéité des glycosylations à un impact sur la fonction des molécules



## Compartmentation fonctionnelle de l'appareil de Golgi



## Sulfoconjugaison

**Sulfotransférases:** enzymes de la membrane du Golgi

Fixation de **sulfates** sur les glycoprotéines, GAG et protéoglycanes (protéine + GAG)

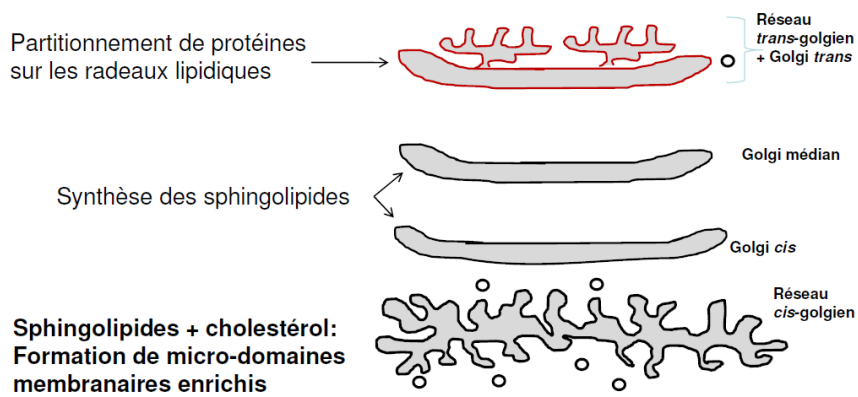
- Molécules sulfatées: nombreuses charges -

*Exemple:* héparane sulfate, molécules sulfoconjuguées fabriquées par les chondrocytes (cellules du cartilage)

## Synthèse des sphingolipides

Face **luminale** des compartiments *cis* et médian du Golgi

Partitionnement de protéines sur les radeaux lipidiques (= association cholestérol + sphingolipides)

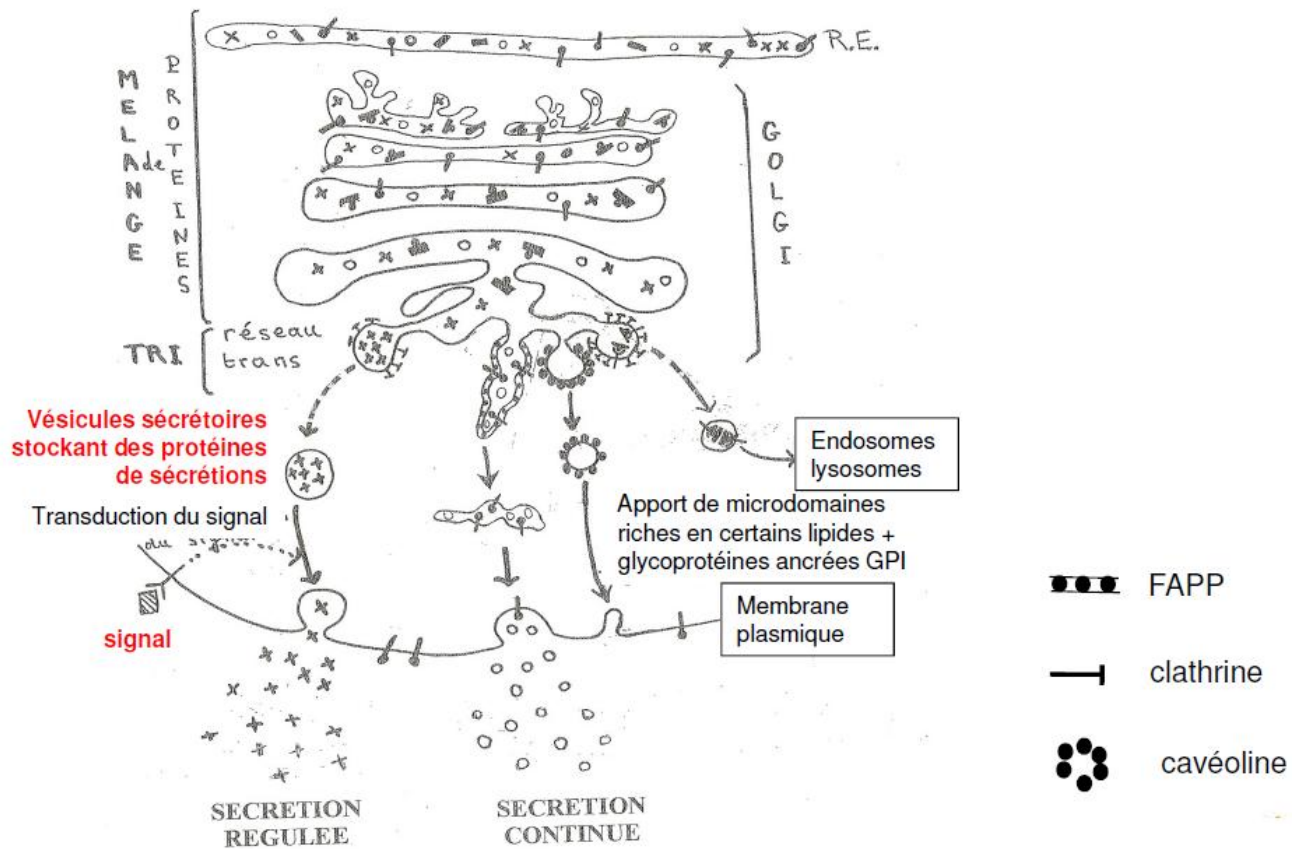


## Tri des molécules dans le réseau *trans* (RTG)

### Flux vectoriel permanent

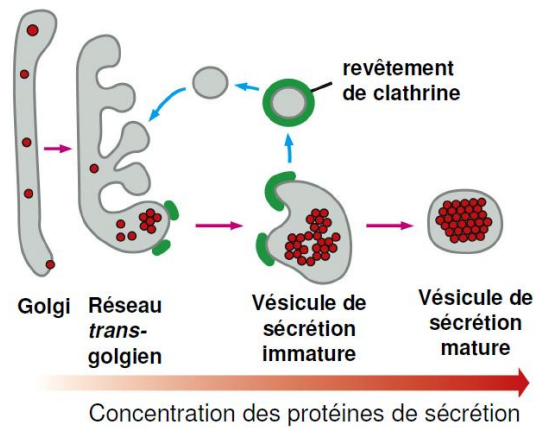
- Vésicules + clathrine (+AP): sécrétion régulée ou voie des lysosomes
- Vésicules ou tubules: sécrétion continue (FAPP : forme des tubules)
- Vésicules à cavéoline: radeaux lipidiques (mb. plasmique)

**Flux retrograde:** du RTG vers Golgi médian puis R.E. par vésicules recouvertes de COP I



## Cas de la voie de sécrétion régulée

- **Cellules spécialisées** (ex : cellules sécrétrices d'hormones): **stockage** et sécrétion rapide après transduction d'un signal (vésicule déjà arrimée à la MP par v-SNARE et t-SNARE)
- **Maturation des vésicules** : granules de sécrétion (condensation du contenu, perte de membrane...)
- **Maturation du contenu**: synthèse d'un précurseur inactif (proprotéine) suivie d'une protéolyse durant le transport



1. Formation de la vésicule de sécrétion (taille ++)
2. Maturation de la vésicule: bourgeonnement (+ clathrine) puis retour au RTG
3. Vésicule de sécrétion mature, en attente du signal de sécrétion (forte concentration des protéines)

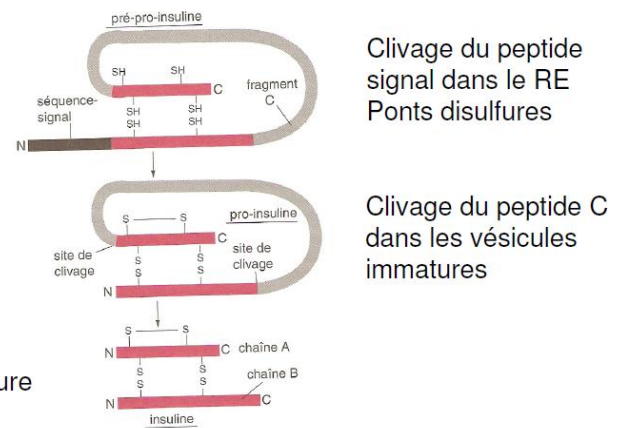
*Exemple: Insuline*

R.E: préproinsuline → proinsuline (clivage du peptide signal)

Golgi: proinsuline → insuline (clivage peptide C dans vésicules immatures)

**Agrégation** de l'insuline mature dans cœur dense

**Exclusion** du peptide C en périphérie de la vésicule en cours de maturation



**Certaines cellules sont spécialisées dans la sécrétion régulée (ex : les mastocytes spécialisés dans la sécrétion d'histamine)**

- Sécrétion de mucus dans l'intestin
- Libération d'insuline et d'autres hormones
- Cellules immunitaires
- Neurones (*remarque: cas particulier des vésicules synaptiques*)
- Etc...

## Cas de la voie de sécrétion continue ou constitutive (cf. exocytose)

Présent dans toutes les cellules: sécrétion continue donc pas de stockage

- **Vésicules/tubules** recouvert par FAPP: RTG vers mb. plasmique, voie par défaut (si aucun signal particulier)
- **Vésicules à cavéoline**: région du RTG riche en cholestérol, sphingolipides et protéine GPI, fusion avec mb. plasmique au niveau des radeaux lipidiques, pas de perte de la cavéoline (car insérée dans la membrane)

## Cas des cellules polarisées

Cellules dont la membrane plasmique contient 2 domaines (*exemple : les cellules épithéliales*):

- Apical
- Baso-latéral (signal spécifique sur le domaine cytoplasmique)

Adressage ciblé par l'appareil de Golgi: selon l'arborisation osidique, ancrage GPI (adressage mb apical) etc...

+ Transcytose d'un domaine à l'autre (endocytose d'un côté et exocytose de l'autre)

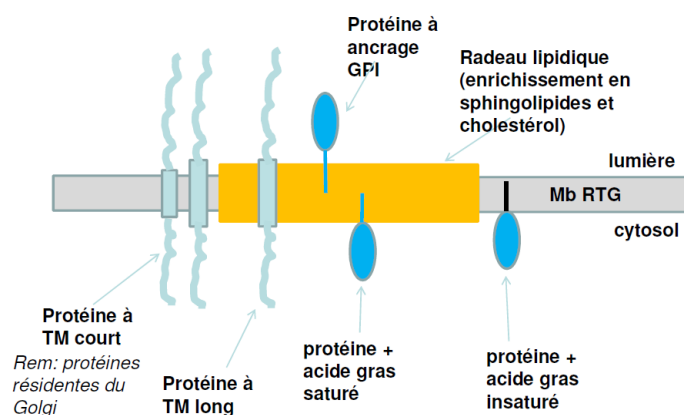
## Quelques déterminants du tri par l'appareil de Golgi

**Formation de complexe non covalent** de grande taille, interactions de faible affinité, dans la lumière des citernes (ex: rétention des enzymes golgiennes de glycosylation) : permet une action simultanée des enzymes

**Agrégation/exclusion**: favorisée par les ions calcium et le pH acide (gradient), impliqué pour la sécrétion régulée (*exemple : l'insuline*)

**Interactions par le domaine cytosolique** des protéines transmb. (ex: vésicules + clathrine + adaptateur)

### Partitionnement selon la composition lipidique



## Autres fonctions

**Renouvellement des composants** de la membrane plasmique : protéines et lipides néosynthétisés (flux vectoriel permanent), recyclage des membranes de vésicules d'endocytose

**Stockage du calcium**