

Endosomes

Définition et caractéristiques des endosomes

Morphologie : hétérogène (taille: 60-400 nm, forme: vésicules + tubules)

Critères fonctionnels

Compartiment alimenté par

- Des vésicules d'endocytose (+ phagocytose)
- Des vésicules du Réseau Trans-Golgien

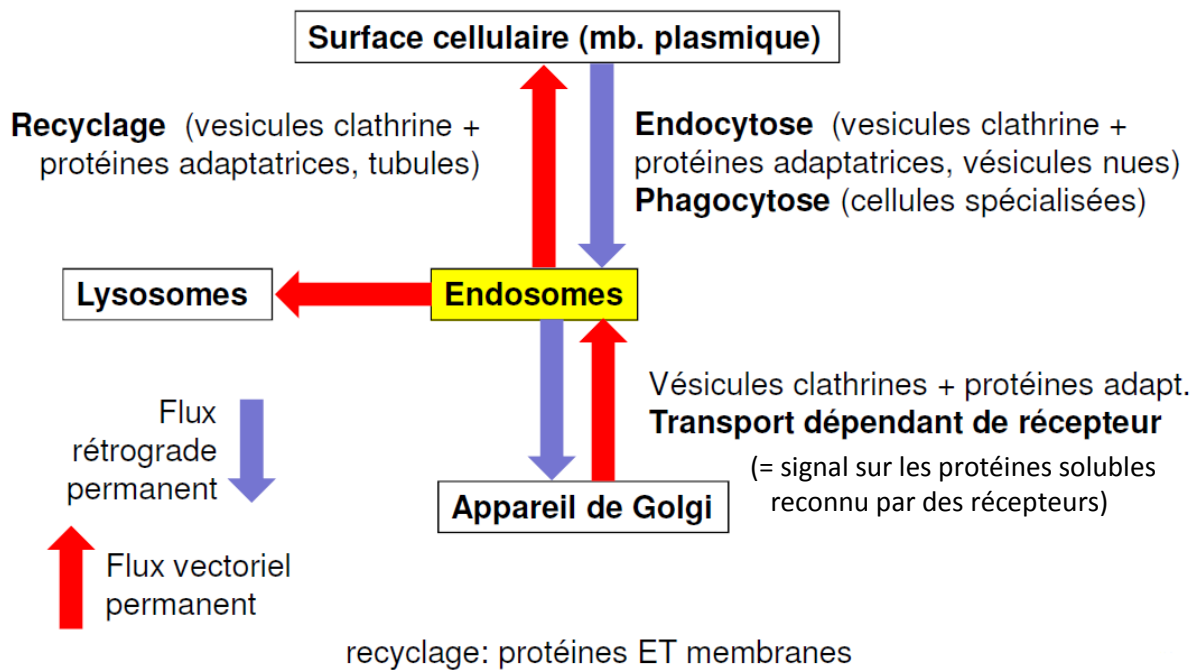
Contient une **pompe à proton** (H^+ -ATPase) dans sa membrane

- Permet une acidification progressive (endosome précoces: pH=7,4, tardif: pH=6,5)

Deux types de marqueurs spécifiques des endosomes :

- **Marqueurs protéiques** (ex: Rab5 à la surface des endosomes précoces, Rab7 à la surface des endosomes tardifs)
- **Marqueurs lipidiques** : phosphoinositide PI(3)P au stade précoce et PI(3,5)P₂ au stade tardif

Biogénèse des endosomes



Fusion des vésicules d'origine trans-golgienne parfois appelée lysosomes primaires

- Apport en hydrolases solubles et membranaires
- Apport en pompe H^+ -ATPase

Fusion des vésicules d'endocytose

- Apport de molécules du milieu extracellulaire (nutrition...)
- Dynamique membranaire (renouvellement des membranes)

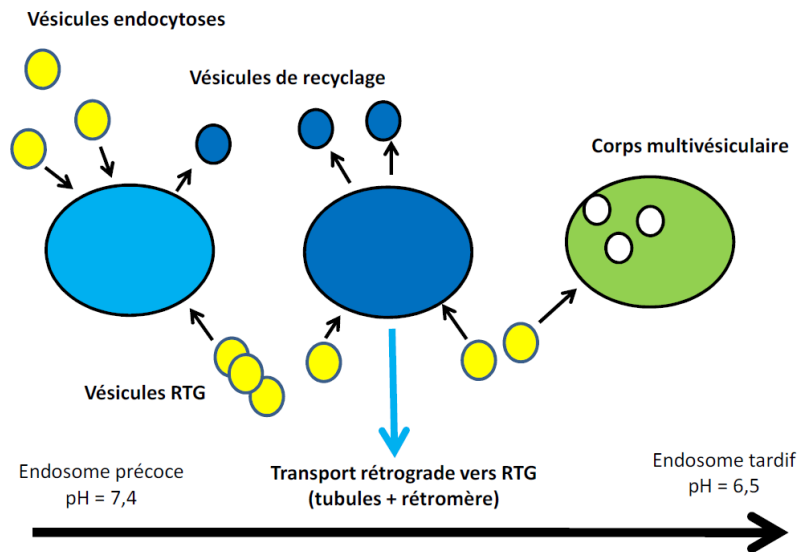
Phagosome : endosome précoce particulier issue d'une phagocytose (« ingestion » de particules de grandes tailles effectué généralement par des cellules spécialisées)

Gradient de pH d'endosome précoce (7,4) vers endosome tardif (6,5)

- Permet le début de l'hydrolyse des molécules

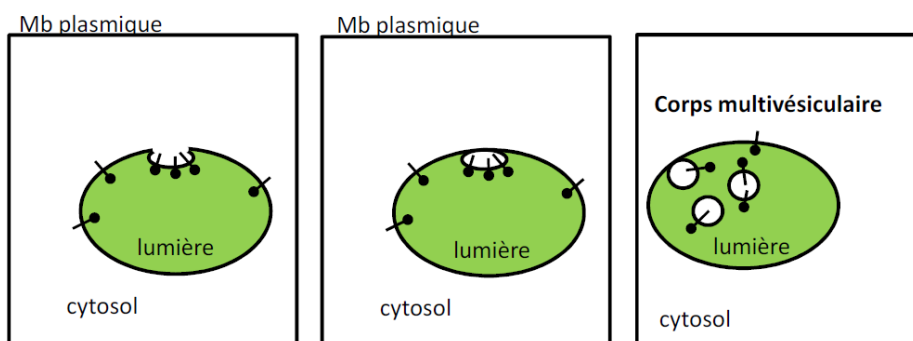
Transport rétrograde vers le RTG essentiellement par tubules formés d'un revêtement protéique appelé **rétromère**

Maturation des endosomes



| Endosome précoce pH = 7,4 | acidification | Endosome tardif pH = 6,5 |
|----------------------------------|---|--|
| Recyclage avec mb plasmique Rab5 | Modification de la spécificité de fusion | Pas de recyclage avec mb plasmique Fusion avec endo. tardif et lysosomes Rab7 |
| PI(3)P recyclage | Modification de la composition | PI(3,5)P ₂ Enrichissement en prot. lysosomales |
| Tubules+vésicules | Modification de la morphologie | vésicules |

Formation des corps multivésiculaires



Bourgeonnement de la membrane endosomale: implication de protéines cytosoliques (Système ESCRT: Endosomal Sorting Complex Required for Transport)

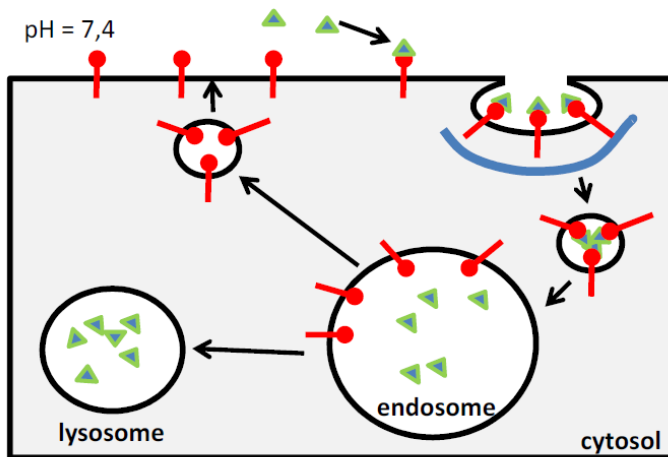
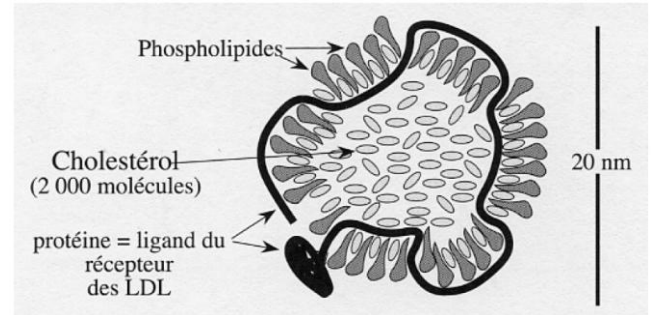
Permet la dégradation des parties cytosoliques des protéines transmembranaires par des hydrolases après action de lipases lysosomales qui dégradent la membrane des vésicules.

Fonction des endosomes

- Recyclage des récepteurs

Le recyclage des récepteurs LDL a lieu dans l'endosome

Transport sanguin du cholestérol sous forme de LDL
(Low Density Lipoprotein)



Exemple de recyclage du récepteur au LDL (Low Density Lipoprotein)

- 1: fixation LDL-récepteur
- 2: endocytose
- 3: dissociation LDL-récepteur (endosome précoce acide)
- 4: récepteurs libres recyclés à la membrane plasmique
- 5: LDL libres vers lysosomes (via endosome tardif)

Rouge : récepteur des LDL

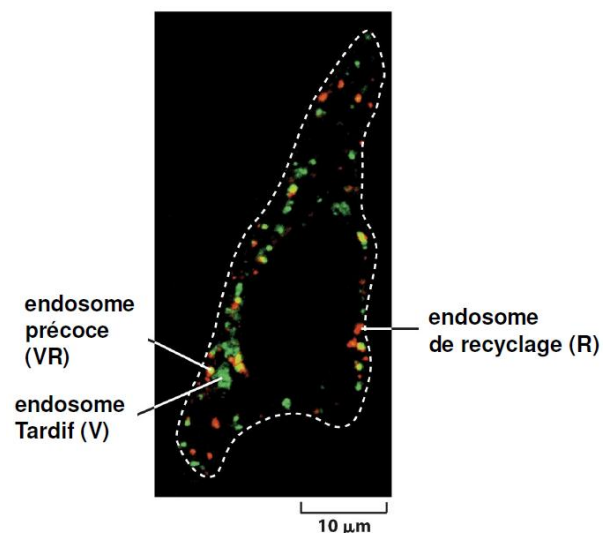
Vert : LDL

Certains récepteurs ne sont pas recyclés et se font dégrader dans les lysosomes

Rouge (R) : récepteur à la transférine (recyclé à la MP)

Vert (V) : récepteur aux endorphines (dégradé par le lysosome)

30 min après addition des substrats dans le milieu:
enrichissement sélectif vers endosome de recyclage et voie de dégradation (endosomes tardifs)

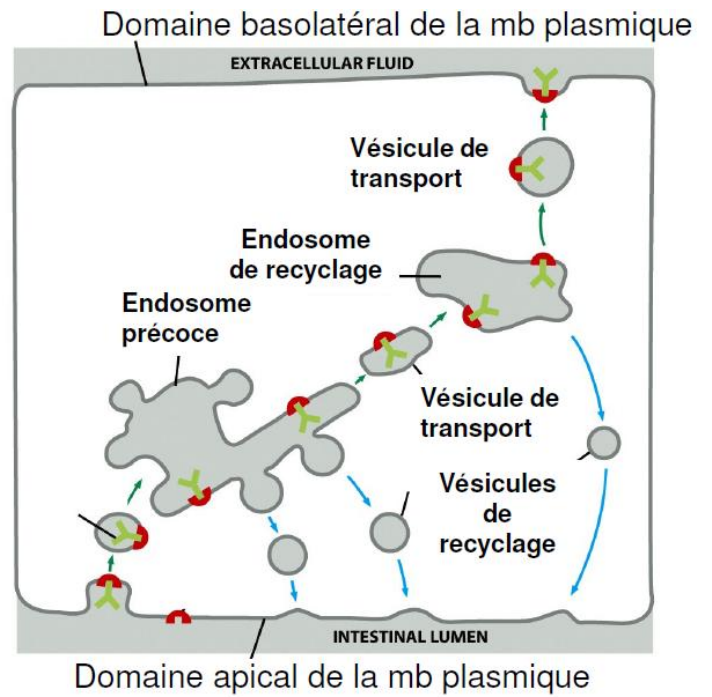


- Endosomes de recyclage et transcytose

Transcytose = transport de macromolécule à travers la cellule épithéliale

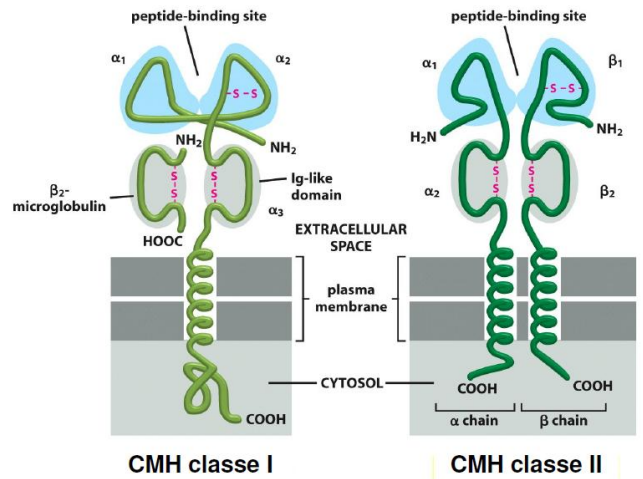
Exemple des anticorps maternels du lait absorbés au niveau intestinal et recyclés dans la circulation sanguine sans dégradation du complexe récepteur-anticorps

Rouge: récepteur Fc
Vert: anticorps



- Le CMH II

A peu près la même structure entre CMH I et CMH II
 Même fonction : captent un peptide antigénique pour le présenter au système immunitaire



Mécanisme de présentation d'un antigène par le CMH II

Endocytose d'un antigène en entier (molécule entière)

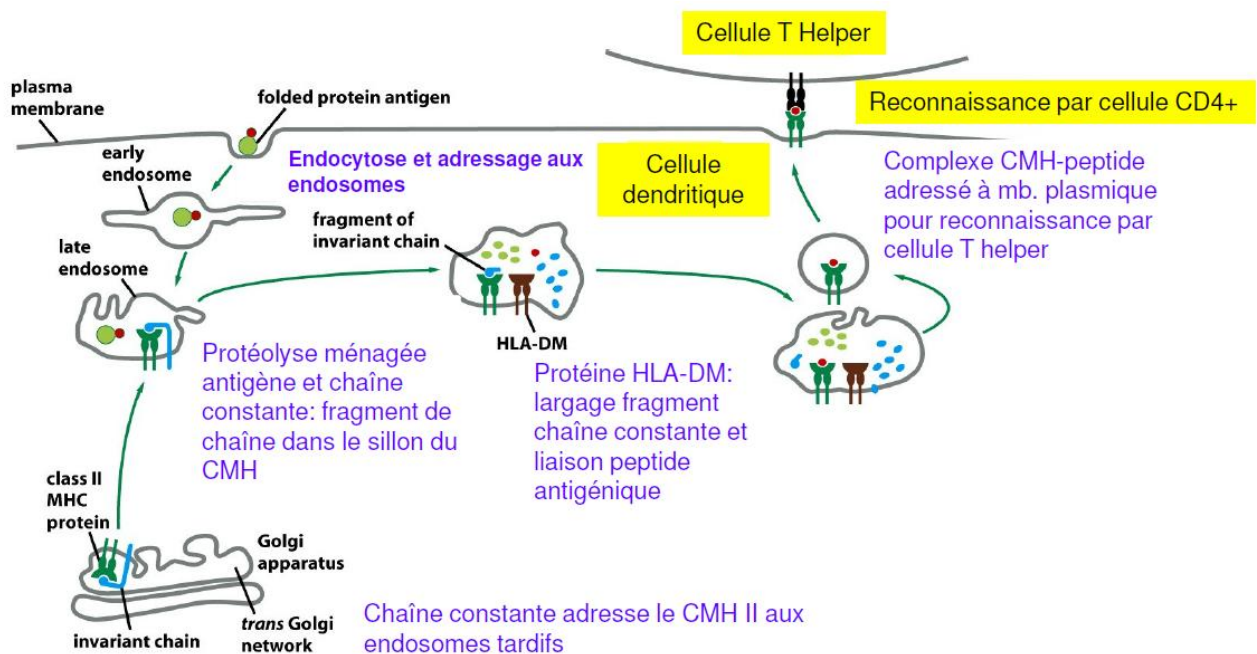
Début de protéolyse de l'antigène et des chaînes constantes par des hydrolases dans les endosomes

- **Protéolyse ménagée** : dégradation en peptides de l'antigène qui est fixé au **CMH II**

Voie de recyclage à la MP : présentation de l'antigène à des cellules immunitaires

Le CMH II est fabriqué par la cellule, adressé via le RE à la voie de sécrétion

La **chaîne constante** permet l'adressage du CMH II aux endosomes et bloque le site de fixation des peptides



Présentation par CMH I (toute cellule)

- Activation de lymphocytes CD8+ cytotoxique

Présentation par CMH II (cellule présentatrice d'antigène)

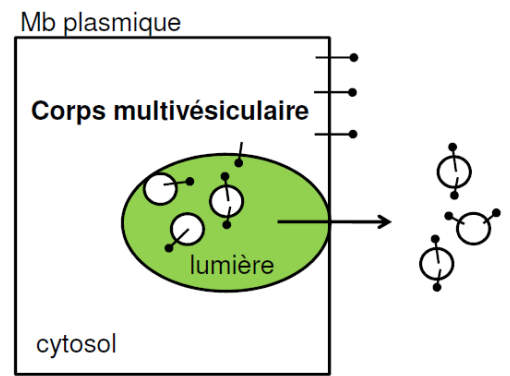
- Activation de lymphocytes CD4+ (T-helper), qui peuvent activer les lymphocytes B (production d'anticorps)

Phénomène mis en jeu lors d'infections et de vaccinations

- Les exosomes

Fusion d'un corps multivésiculaire avec la MP

- Libération des **exosomes** (= vésicules dans les corps multivésiculaires) dans le milieu extracellulaire



Même orientation des protéines que dans l'endosome:

présentation d'antigènes par CMH II à distance de la cellule (+ autres molécules de surface, CAM...)

Les exosomes contiennent des ARNm et microARN: influence sur la traduction dans des cellules distantes (après fusion et libération du contenu dans le cytosol...)

Ils permettent une **stimulation et une communication intercellulaire à distance**

Haut potentiel thérapeutique: vectorisation, stimulation immunitaire, thérapie génique...

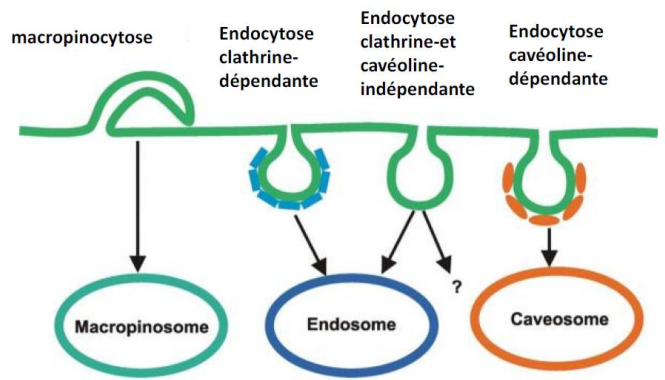
- Perméases et métabolites

Activités enzymatiques (+/- optimales selon le pH) dans les endosomes: dégradation de certaines molécules

Perméases dans la membrane endosomale: passage de métabolites après dégradation de la lumière dans le cytosol (petites molécules)

Exemples:

- **Dégradation de la thyroglobuline** (glycoprotéine) endocytée: précurseur des hormones thyroïdiennes
- **Dégradation des LDL:** libération de cholestérol par des perméases spécifiques (cible pharmacologique pour médicaments hypocholestémiants)
- **Dégradation d'antigènes:** « peptides antigéniques » libérés dans le cytosol, puis importés dans le RE par des transporteurs (TAP) et chargé dans CMH I (différent pour le CMH II)



Endosomes et pathogènes

- Cas des virus

Les virus peuvent utiliser diverses voies d'endocytose pour infecter une cellule

- **Infection directe** par fusion avec la MP pour certains virus (ex: VIH)
- **Voies d'endocytose** utilisées par d'autres pathogènes (parasites, bactéries)

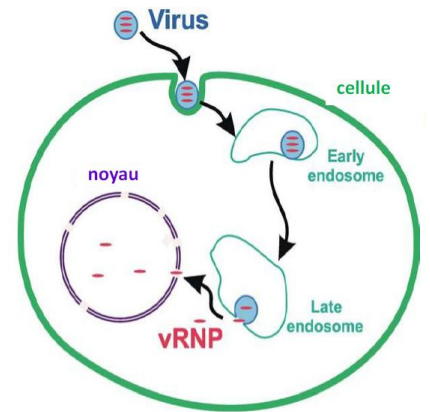
Exemple du virus de la grippe

Acidification nécessaire pour fusion virus-endosome tardif et libération de la nucléocapside dans le cytosol

Si **blocage H⁺-ATPase**: pas de libération des virus (lysosomes) car pas d'acidification

Remarque : l'amantadine bloque un canal ionique du virus

vRNP: nucléocapside (viral RiboNucleoProtein)

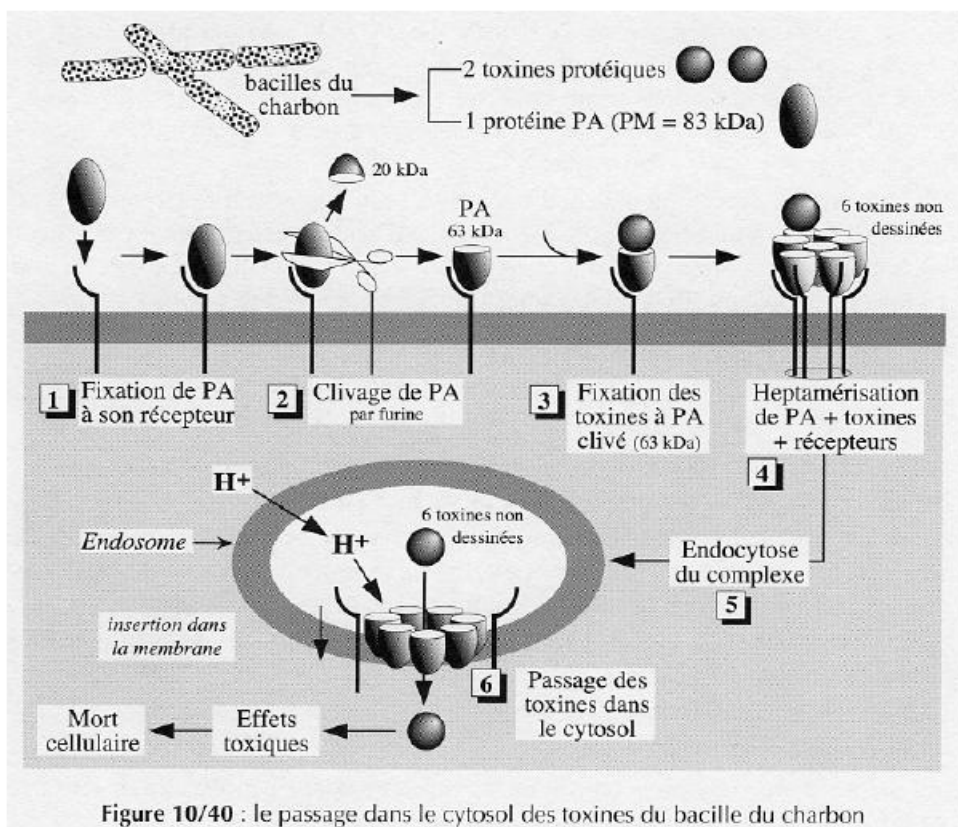


- Cas des toxines

Exemple des toxines du bacille du charbon

L'acidification permet l'insertion de l'heptamère de PA (*Protective Antigen*) dans la membrane endosomal (forme un pore)

« Vectorisation » des toxines protéiques du charbon vers le cytosol



Endosomes et vésicules synaptiques

La majorité des vésicules synaptiques sont générées par un recyclage local au niveau de la MP

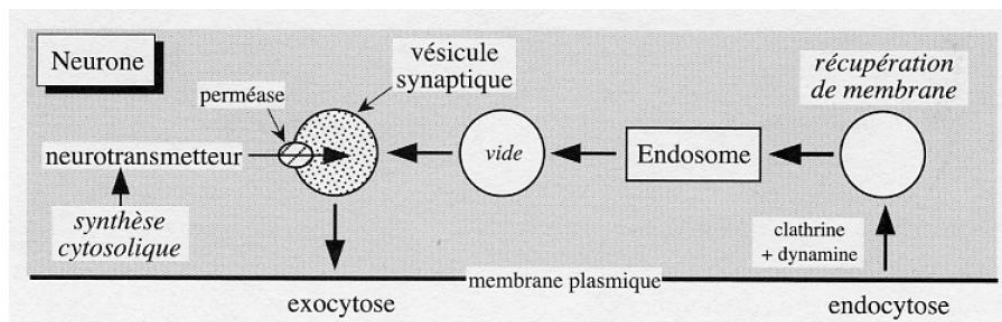
Une partie des vésicules fusionnent avec l'endosome / bourgeonnent de l'endosome

La majorité des vésicules sont directement chargées en neurotransmetteurs

Ce chargement en neurotransmetteur (cytosol) se fait par des **perméases**

Arrimage des vésicules en attente de fusion (relargage rapide des neurotransmetteurs en réponse à potentiel d'action, parfois > 1000 décharge/sec)

Mécanisme commun avec certaines interleukines



Conclusion sur les endosomes

Carrefour entre les voies d'exocytose et d'endocytose

Tri, recyclage et adressage de molécules (récepteurs, hormones...)

Rôle dans la maturation/dégradation de molécules (nutrition cellulaire, antigènes et CMH II, activation de proenzymes, communication...)

Transport vésiculaire: interaction avec le cytosquelette

Rôles particuliers dans des cellules spécialisées: système immunitaire, endocrine, nerveux, digestif...
(Exemple de la transcytose)

Cible thérapeutique et haut potentiel en biotechnologie (exosomes, thérapie génique, vectorisation...)

Lysosomes

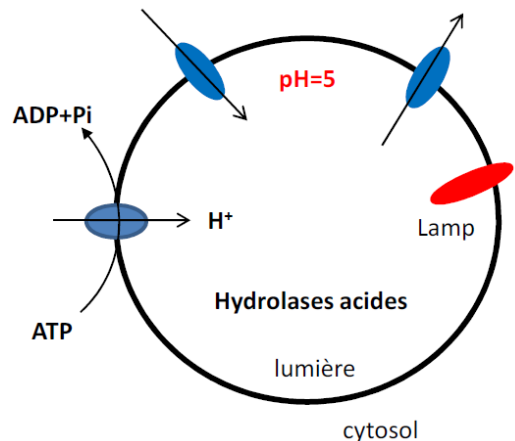
Définition et caractéristiques

Morphologie hétérogène: vésicules 200-500 nm (variable selon origine et fonction, peut fusionner avec les endosomes tardifs)

Critères fonctionnels

- pH=5 (H^+ -ATPase)
- Contenu en **hydrolases acides** (pH optimal à 5)
- **Marqueurs protéiques** : **protéine Lamp**
- **Marqueurs lipidiques**

Les lysosomes sont présents dans toutes les cellules
Site majeur de la « **digestion** » **cellulaire**



Composition du lysosome

Hydrolases acides (solubles et membranaires)

Lipases, protéase, nucléases, glycosidases, phosphatase acide (protéine transmembranaire spécifique du lysosome), sulfatases, phospholipase

- Activité optimale à pH=5

Les hydrolases sont généralement activées par clivage protéolytique (commence au niveau de l'endosome) : elles sont synthétisées sous forme de préproenzyme puis deviennent proenzyme et enzymes activées

Glycoprotéines transmembranaires non-enzymatiques

Lamp-1, -2, -3 (protection de la membrane des lysosomes contre les hydrolases acides)

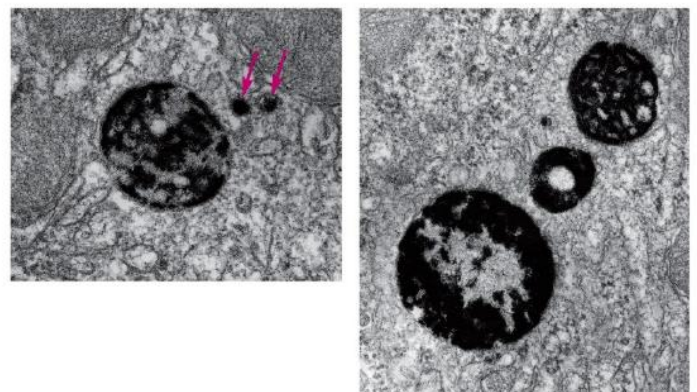
Perméases

Entrée de molécules à dégrader depuis le cytosol et sortie des métabolites vers le cytosol

Technique d'étude

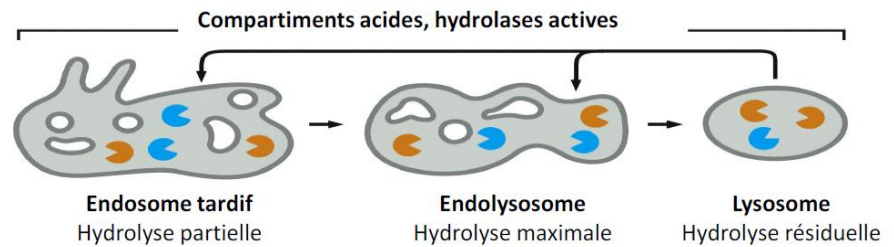
Révélation cytoenzymatique de la **phosphatase acide**: **technique de Gomori** (précipités de sels de plomb, denses en microscopie électronique)

Flèches rouges : vésicules d'origine trans-golgienne (autrefois appelées lysosomes primaires)



200 nm

Biogénèse des lysosomes



Ils sont issus de la **maturation des endosomes tardifs**

Fusion des endosomes tardifs et des endolysosomes avec le lysosome ou des lysosomes primaires (= lysosomes n'ayant pas encore fusionné avec une vésicule d'endocytose)

Digestion « itérative » : utilisation optimale des enzymes qui sont réutilisées lors de la fusion des lysosomes avec les endosomes tardifs ou les endolysosomes

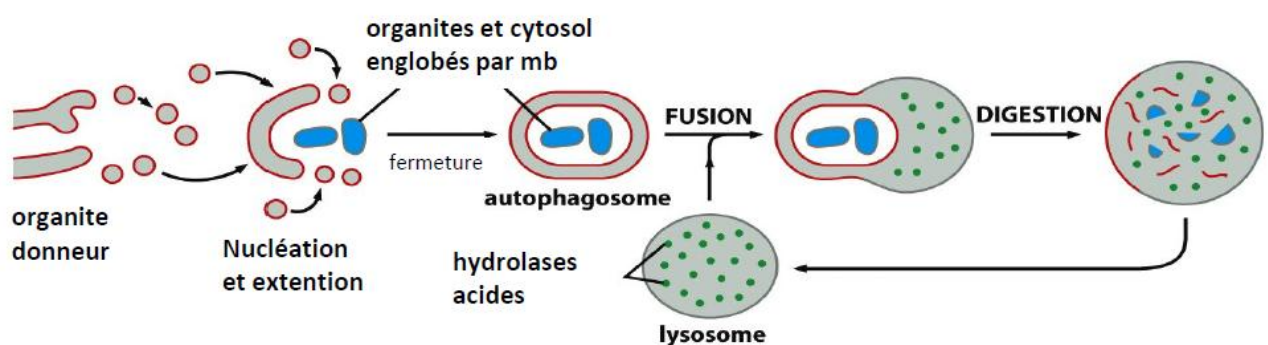
Continuum dynamique des endosomes précoces vers les lysosomes

4 voies vers les lysosomes

- **Endocytose** : commun à toutes cellules, arrêt pendant la mitose
- **Phagocytose** : cellules spécialisées (macrophage, neutrophiles, éosinophiles), organismes unicellulaires (amibes...)
- **Entrée directe par des perméases** : fragments protéiques issus du protéasomes
- **Autophagie** : englobement d'organites et de cytosol par des vésicules particulières (autophagosome), permet la dégradation/renouvellement des organites (mitochondrie, RE...), commun à toutes cellules

L'autophagie

Fusion de vésicules (origine inconnue) : formation d'un **autophagosome** avec double membrane
Marquage sélectif des composants à dégrader (régulation mal connue)



L'autophagie intervient dans :

- La différenciation cellulaire
- L'élimination de bactéries et de virus
- Réponse à la privation de nutriments

Exemples d'autophagie intense : Métamorphose des insectes (de larve à adulte), formation des doigts chez le fœtus humain

Adressage des protéines lysosomales

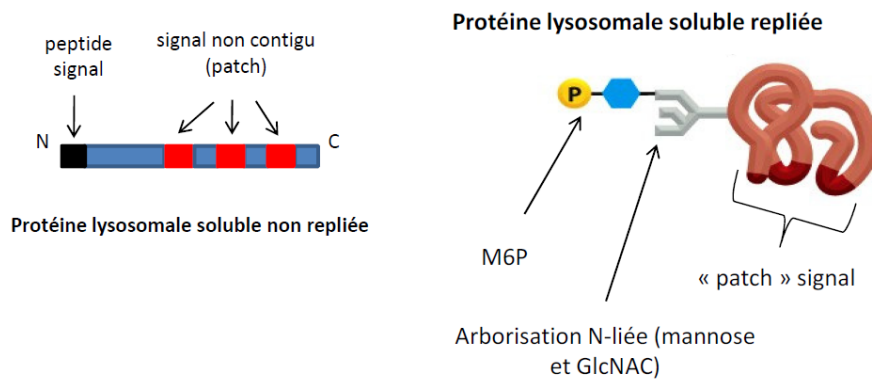
- Protéines transmembranaires

Signal d'adressage = **séquence de quelques AA dans la partie cytosolique**

- Protéines solubles

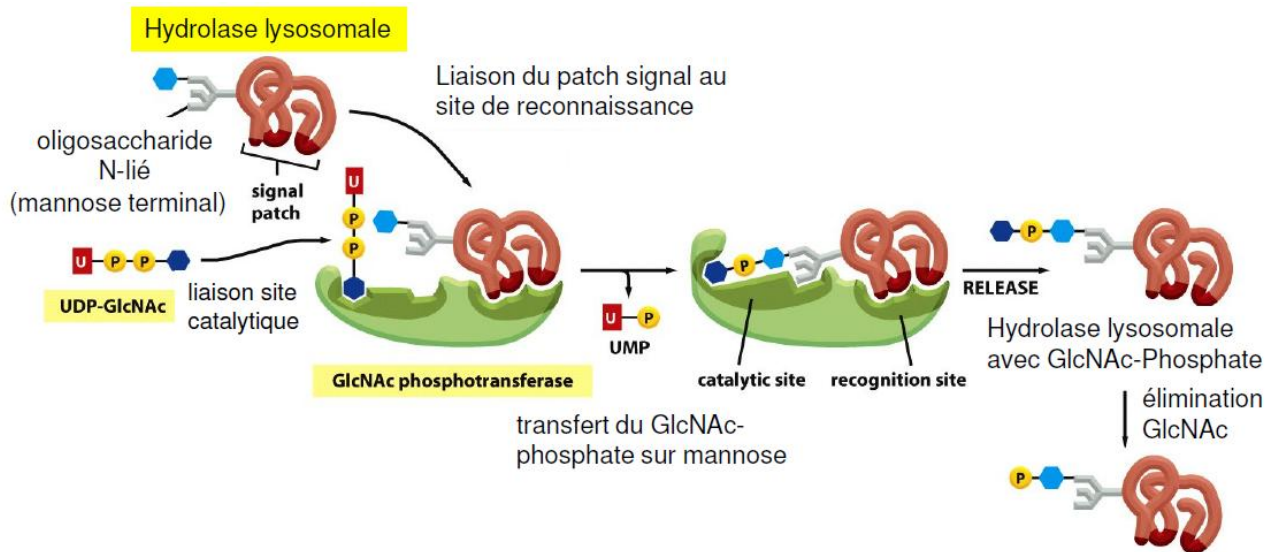
Rôle du mannose-6-phosphate (M6P) mis en place au niveau du *cis*-Golgi

- Une région (**patch d'acides aminés non contigus**) des protéines solubles est reconnue par une enzyme (**GlcNAc-phosphotransférase**) qui permet l'addition d'une molécule de GlcNAc-phosphate sur un mannose de l'arborisation N-liée (glycoprotéine avec arborisation riche en mannose)
- Une 2^{ème} enzyme (la **phosphoglycosidase**) clive le GlcNAc : M6P exposé
- Le signal M6P est reconnu par le domaine luminal du **récepteur au M6P** (possède un signal d'adressage au lysosome dans sa partie cytosolique)



Plus la protéine va subir de N-glycosylation portant du M6P, plus son affinité sera importante pour le récepteur du M6P

Mise en place du signal M6P (glycoprotéine lysosomale soluble)



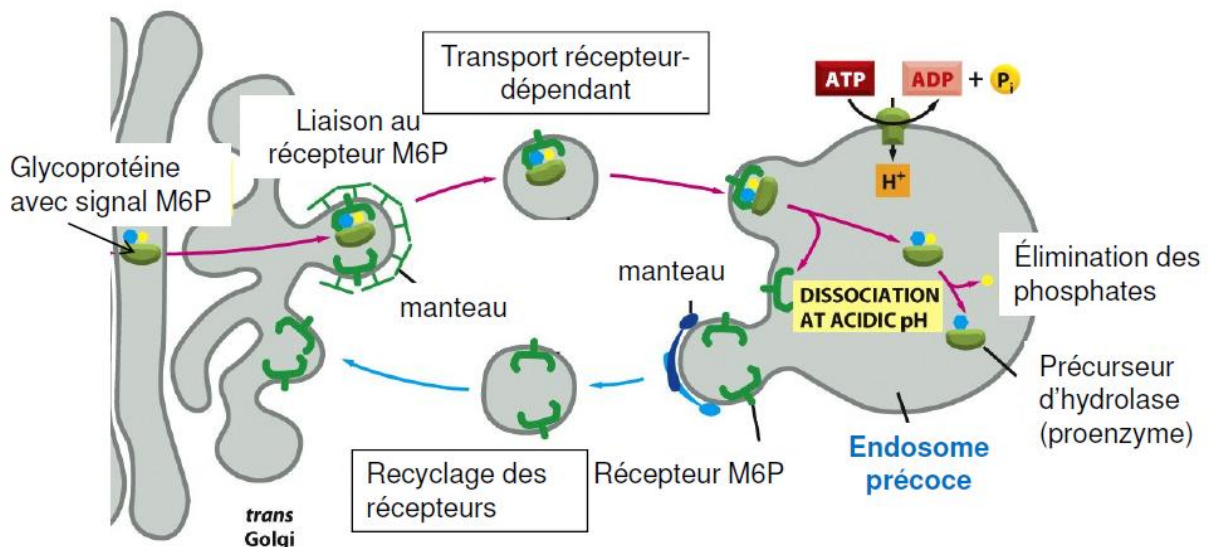
Le récepteur au M6P: navette entre RTG et endosome précoce

Signal d'adressage aux lysosomes dans la partie cytosolique du récepteur M6P + signal de recyclage au RTG...

- Adressage aux lysosomes par des **vésicules recouvertes de clathrine**
- Adressage aux RTG par des **tubules recouverts de rétromère**

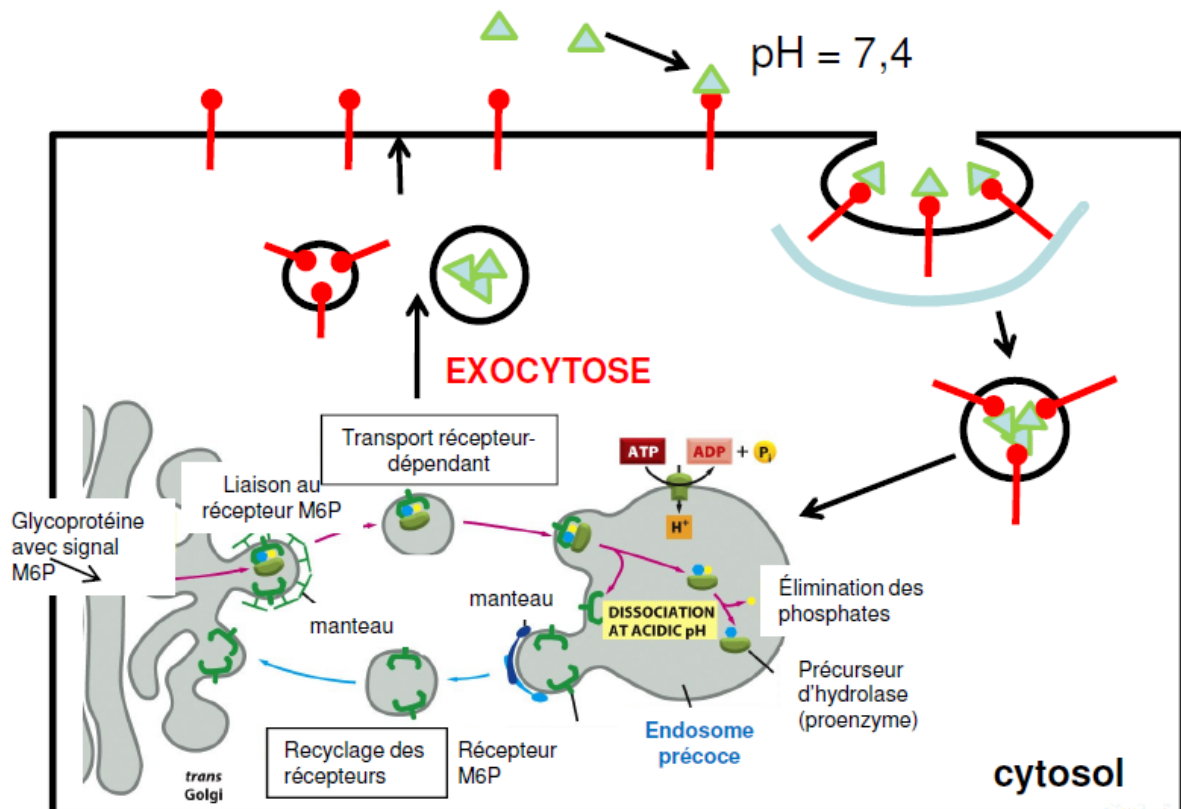
Dans les endosomes, les phosphatases acides éliminent le phosphate du M6P

- Plus de retour possible des protéines au RTG



Tri imparfait (1 seule étape): des hydrolases suivent la voie par défaut (sécrétion), 10 % des récepteurs M6P sont mal adressés et sont délivrés à la MP

- Récupération par le récepteur M6P des hydrolases (M6P) sécrétées dans le milieu extracellulaire
- **Élimination des phosphates** : perte définitive de l'affinité avec le récepteur M6P



Devenir et fonctions des lysosomes

Stade terminal de la maturation des lysosomes = **corps résiduels**

Sortie du cycle de fusion avec les endosomes tardifs

Composés d'enzymes inactives

Selon le type cellulaire, l'élimination de ces corps résiduels se fait par :

- Élimination par exocytose
- Accumulation dans le cytoplasme sous forme de **granule de lipofuscine** (formée par oxydation/polymérisation de résidus protéiques et lipidiques)
Exemple: accumulation de corps résiduels dans les neurones

Exocytose du contenu lysosomal actif

En cas de stress: réparation de la MP

« **Phagocytose frustrée** » : attaque d'éléments plus gros que la cellule

Digestion extracellulaire chez les champignons : dégradation de MEC puis digestion des métabolites dégradés

Spécialisation des lysosomes selon le type cellulaire ou le type d'organisme

Vacuole des les cellules végétales (= lysosome spécialisé)

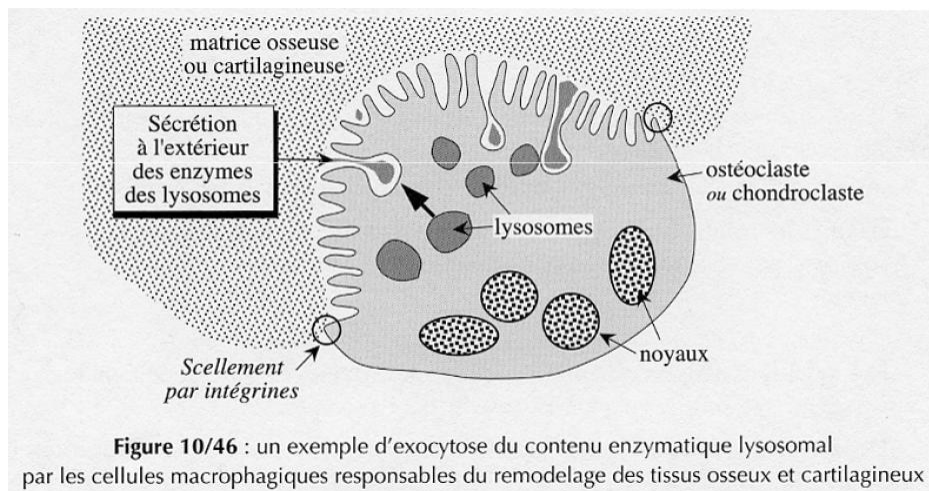
Mélanosomes dans les cellules pigmentées

Granules des lymphocytes T cytotoxiques, plaquettes...

- Exocytose du contenu lysosomal

Exemple des ostéoclastes : (« phagocytose frustrée »)

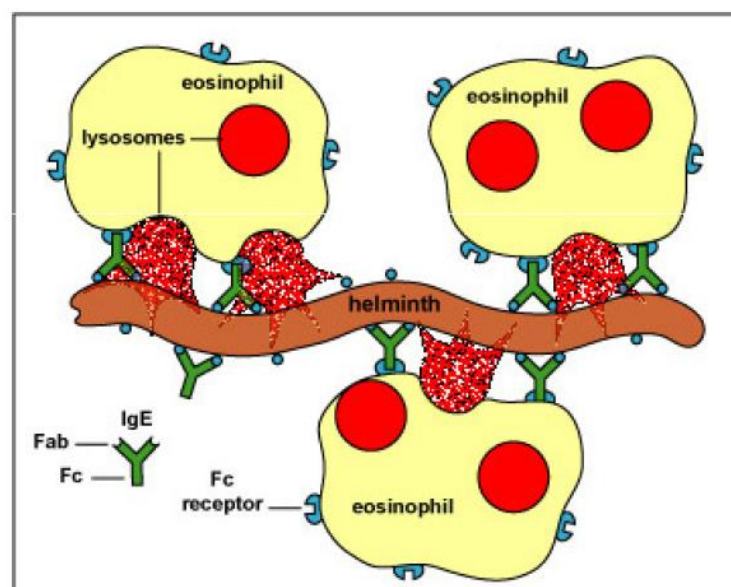
- Scellement par intégrines entre os et cellule: compartiment étanche
- Acidification de ce compartiment par une pompe H^+ -ATPase : activité optimale des hydrolases
- Exocytose du contenu lysosomal
- Absorption par endocytose des produits de dégradation de l'os
- Produits de dégradation généralement éliminés par transcytose



Exemple des éosinophiles

Après opsonisation par des anticorps (IgE), les éosinophiles peuvent sécréter le contenu des lysosomes à proximité du parasite (ver)

- **Dégradation de pathogènes de taille supérieure à la cellule**



- Spécialisation des lysosomes (dérivés de lysosomes)

Mélanosomes

- Mélanosomes des cellules pigmentées de la rétine = lysosomes contenant de la mélanine (organites de stockage)
- Mélanosomes des cellules épithéliales pigmentées : les mélanocytes synthétisent la mélanine sous forme de mélanosomes qui sont exocytés puis phagocytés par les kératinocytes (cellules de la peau) qui répartissent de façon homogène la mélanine sur la surface de la peau

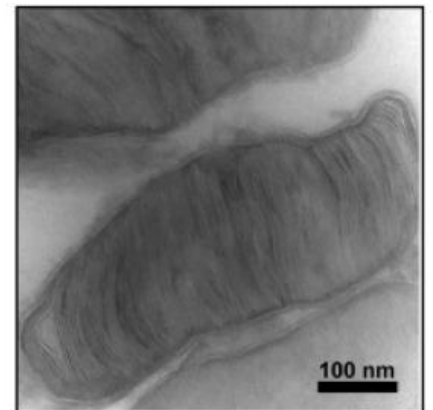
On retrouve dans les **plaquettes** des granules contenant des enzymes qui sont sécrétées lors de l'activation plaquettaire

Granule lytique de lymphocyte T cytotoxique: contiennent des protéines Lamp-1 et des granzymes B

Endosome de lymphoblaste B : contiennent des protéines Lamp-1 et des CMH II

Lysosomes spécialisés dans le stockage

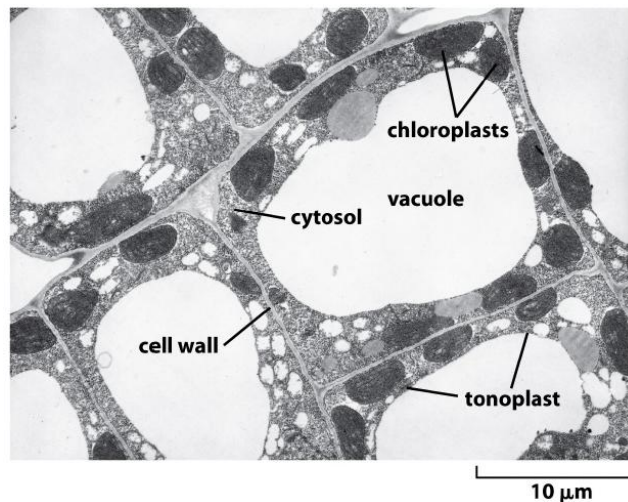
Lysosome spécialisé dans le stockage de surfactant (permet aux alvéoles pulmonaires de ne pas coller entre elles) sous forme de corps multilamellaires



Spécialisation des lysosomes: **vacuole (cellule végétale)**

Plusieurs fonctions chez la plante :

- **Régulation de la pression osmotique**: turgescence de la plante et croissance des racines
- **Stockage de métabolites primaires** : saccharose, acides aminés, acide malique...
- **Stockage de macromolécules** (graines et tubercules): inuline, amidon, protéines, phosphates d'inositol...
- **Stockage de métabolites secondaires**: nicotine, morphine, vinblastine, tanins, huiles essentielles...



Tonoplaste = mb de la vacuole

Lysosomes spécialisés selon le type de cellule

- Peuvent servir de **réserve** (graines et tubercules): rôle nutritionnel pour l'organisme
- **Stockage** (réversible ou définitif) de molécules et de membranes: neutralisation de déchets, régulation de la pression osmotique...
- Peuvent contribuer à la **synthèse de molécules** (mélanine, saccharose...)
- Peuvent contribuer à la **défense de l'organisme**: lymphocyte T, plaquette, métabolites secondaires dans les vacuoles végétales

Remarque: l'acrosome de certains spermatozoïdes est un lysosome spécialisé, contient de la hyaluronidase facilitant l'accès à l'ovocyte lors de la fécondation

Pathologies lysosomales

4 mécanismes sont responsables de l'accumulation d'éléments dans les lysosomes:

- **Absence/inactivité d'une ou plusieurs enzymes** (maladie congénitale) : accumulation de molécules biologiques non hydrolysées
- **Absence/inactivité de perméases** (maladie congénitale) : accumulation de molécules biologiques hydrolysées (métabolites)
- **Blocage de l'acidification** (acquis)
- **Absorption de matériaux non hydrolysables** (acquis)

Remarque: si absence/inactivité d'une protéine lysosomale, soit mutation du site actif, du signal d'adressage ou défaut de maturation

Si absence de GlcNAc-phosphotransférase: pas de signal M6P, sécrétion des glycoprotéines solubles lysosomales (idem si absence du récepteur M6P)

Blocage de l'acidification

➤ **Par des organismes pathogènes**

Exemple: bactéries intracellulaires *Mycobacterium tuberculosis* (bacille de Koch) et *Legionella* inhibent la fusion phagosome-lysosome

➤ **Par des molécules (médicaments)**

Exemple: les dérivés de la quinine (chloroquine) inhibent l'acidification des endosomes du parasite, utilisés pour bloquer la digestion de l'hémoglobine par *Plasmodium* (parasite responsable du paludisme)

Si $\text{pH} > 5$: Activité réduite des hydrolases lysosomales

Absorption de matériaux non hydrolysables

- **Particules non biologiques**

Exemple: amiante (asbestose), silice (silicose), particules métalliques, goudrons de fumée...

- **Molécules biologiques organisées sous forme quasi-minérale**

Exemple: cristaux d'acide urique (goutte)

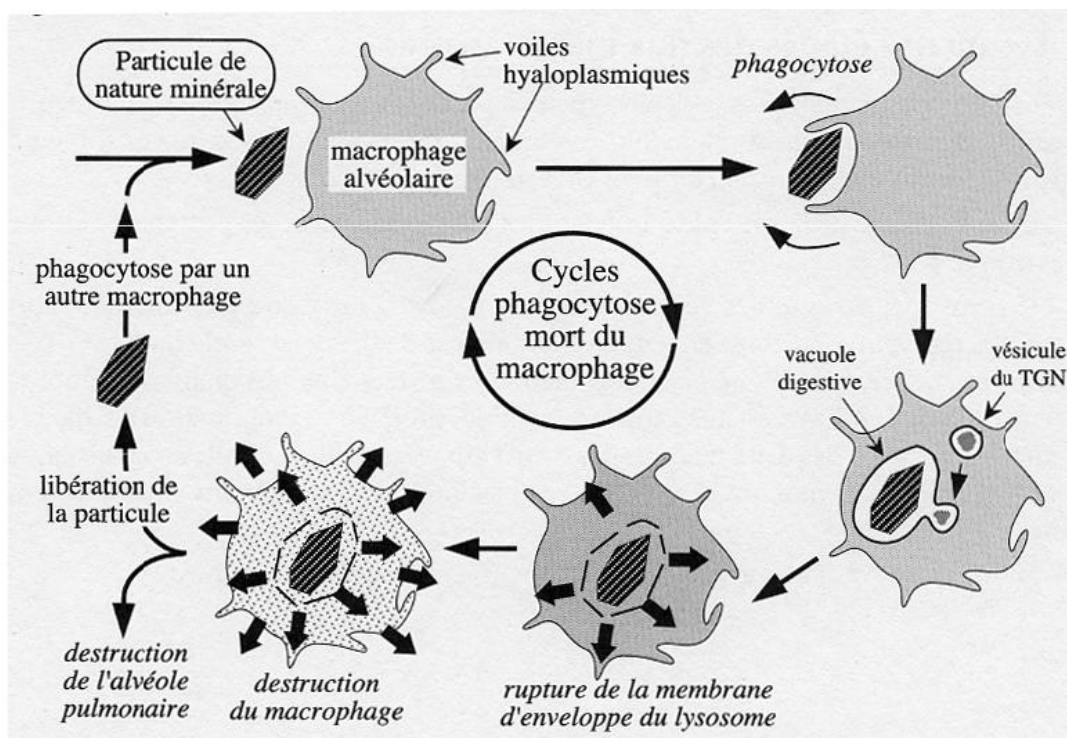
Si absorption d'une particule non-hydrolysable :

- **Échec de la dégradation**: libération des hydrolases dans la cellule entraîne la mort de la cellule
- **Mort des cellules phagocytaires**: libération des particules et destruction des tissus

Cycle phagocytose/destruction des phagocytes

Exemple de la silicose chez les mineurs de fond

Destruction des alvéoles pulmonaires



Exemple de la goutte

- **Accumulation de cristaux d'acide urique** au niveau articulaire
- **Traitement par la colchicine** (désorganisation des MT) : inhibition de la phagocytose et diminution de l'afflux de macrophages