

BIOLOGIE

Chapitre 5: LE SYSTEME D'ENDOMEMBRANE

Tous les compartiments intracellulaires sont delimites par une membrane biologique mais sont intercommunicants et sont en relation avec le plasmalemme. Il existe par exemple l'appareil de Golgi et le reticulum endoplasmique.

PARTIE A: LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE

A. MORPHOLOGIE

1- Microscope photonique

En observant des cellules pancreatiques, exocrines, on remarque un ensemble de filaments: il s'agit du reticulum endoplasmique. L'outil microscope photonique ne permet pas de detailler ces filaments.

2- Microscope electronique

On peu observer des petits canaux, des *canalicules* limites par une membrane d'environ 50-60Å. La lumiere des canaux est assez faible: elle peut aller de 1/2 a 1 micron selon si le canal est dilate.

La membrane a une composition chimique classique, elle est faite de deux monocouches:
- une face *luminale* en contact avec l'interieur du canal,
- une face *cytoplasmique* en contact avec la substance fondamentale.

Ces canaux occupent entre 13 et 15% du volume de la cellule, mais a peu pres 50% de la surface de toutes les membranes d'une cellule est occupe par la membrane biologique du reticulum.

Remarque: Le plasmalemme n'en occupe que 2 a 3 %.

Le reticulum est en relation avec l'enveloppe nucleaire (ce qui implique une differenciation du Reticulum).

Sur certains canaux sont accroches (ils sont en realite tres proches, mais pas veritablement colles) des ribosomes(ribosomes lies). On appelle alors ce complexe *Reticulum Endoplasmique Rugueux* ou canal de reticulum rugueux.

A ces types de ribosomes lies, s'opposent les ribosomes libres qui flottent dans la substance fondamentale.

Un sandwich de ribosomes libres entre deux tranches de canaux de reticulum rugueux correspond a une configuration particuliere appelee *Ergastoplasme*.

Les canaux du reticulum sans ribosomes lies sont dits *lisses*.
Ils sont generalement plus petits en forme de *tubules* ou de canaux aplatis.

Le nom *reticulum* vient de son organisation en reseaux: tous les canaux sont lies les uns aux autres dans differents plans spaciaux.

La proportion des deux aspects du reticulum endoplasmique depend de leur etat physiologique: une cellule peut differenciee ou au repos presentera assez peu de RER. Au contraire, une cellule en activite, et notamment une cellule specifique aura en majorite du reticulum endoplasmique de type rugueux.

Plus l'activite physiologique de la cellule est orientee vers la synthese de proteines, plus on pourra y trouver du RER.

Si les cellules sont plutoto orientees dans la fabrication de glucides ou de lipides (Glycogene dans les cellules hepatiques ou triglycerides dans les cellules du tissu adipeux), ou dans la fabrication d'hormones steroides, alors c'est du reticulum endoplasmique Lisse que l'on trouvera en abondance.

Un cas particulier de Reticulum lisse, est dans les cellules musculaires dans le systeme [S] (sarcoplasmique) ou le reticulum endoplasmique sert au *stockage de calcium* a l'interieur de la lumiere des canaux. Cette fonction implique la morphologie particuliere des cellules musculaires.

Certains facteurs externes peuvent egalement influencer sur ces proportions, c'est-a-dire des drogues ou des medicaments (ex: les neuroleptiques, barbiturique) et ainsi augmenter le pourcentage de reticulum lisse dans les cellules. Il existe en effet une enzyme de *detoxication* dans la membrane du reticulum.

B- BIOCHIMIE

Le rapport proteine sur lipides dans le Plasmalemme, nous l'avons vu est egal a 1. Dans la membrane du Reticulum endoplasmique, il est egal a 2.

En effet, la riches proteique de cette membrane vient notamment du fait que des enzymes y sont tres nombreuses.

Ex: les enzymes de detoxication, des enzymes qui interviennent dans le metabolisme des lipides, certaines reactions de glycosylation avec la glycosyl tranferase (glycoproteine).

Les lipides presents dans la membrane du reticulum endoplasmique sont des lipides membranaires classiques hormis le *cholesterol qui y est peu abondant*.

Pourtant, le metabolisme du cholesterol se fait au niveau de la membrane du reticulum.

L'architecture de cette membrane correspond a l'architecture moleculaire classique: elle est formee d'une bicouche, possede des proteines intrinseques, extrinseques, etc. du meme genre que le plasmalemme.

C- PHYSIOLOGIE

De nombreuses fonctions sont assurees par le Reticulum Endoplasmique:

La synthese et transport des proteines a destinee extracellulaire (proteines excretees) et intracellulaires (par exemple des proteines qui seront envoyees vers le plasmalemme, l'appareil de Golgi, ou le reticulum endoplasmique).

Tous ces composants intracellulaires sont lies entre eux par une seule et meme membrane biologique qui delimite tout le systeme d'endomembrane.

1- Synthèse et transport des protéines excrétées

Dans une cellule, toutes les protéines sont synthétisées sur les ribosomes: on les appelle *ribosomes cytosoliques*.

On trouve deux types de ribosomes au sein d'une cellule:

- Les ribosomes *Libres*, c'est-à-dire qu'ils sont noyés dans la Substance Fondamentale
- Les ribosomes *Lies*, c'est-à-dire ceux qui sont "colles" à la membrane du Reticulum.

Ces deux types de ribosomes ont les mêmes fonctionnalités.

Leur différence concerne la qualité des protéines qui en sortent.

Les ribosomes liés sont à proximité de la membrane du reticulum, mais ne sont pas exactement accrochés à cette membrane.

Tous, en réalité sont libres, mais certains, dits liés, sont très proches de la membrane du reticulum.

Toute synthèse protéique démarre sur un ribosome libre. Sa proximité avec le reticulum endoplasmique détermine la qualité d'ARN_m lu.

Les ribosomes libres vont synthétiser des protéines qui doivent rester dans la Substance Fondamentale de la cellule. Ce sont les *protéines cytosoliques*. Nombreuses d'entre elles sont des enzymes qui vont catalyser des réactions métaboliques. D'autres vont se placer en dessus du plasmalemme, ce peut être le cas de *protéines cytosquelettiques* comme l'actine ou la spectrine. D'autres encore peuvent être destinées à entrer dans les mitochondries (ou les plastides chez les végétaux). Celles-ci sont codées par des gènes nucléaires.

On peut également citer les *Peroxisomes* qui peuvent être synthétisés par ces ribosomes, ou encore des protéines destinées au noyau de la cellule, les *protéines nucléaires*, ou *Histones*.

Parmi ces protéines du noyau, il y a aussi celles qui vont permettre la synthèse des ribosomes.

Les ribosomes liés accrochent particulièrement des ARN_m caractéristique qui possèdent au début de leur séquence l'information sous forme de nucléotides, c'est-à-dire un enchaînement de certains acides aminés que l'on retrouve au tout début des protéines. On appelle cet enchaînement la *séquence signal*. C'est ce bout d'ARN qui permet aux protéines de rentrer à l'intérieur du Reticulum.

Dans ce cas, les protéines excrétées vont complètement traverser la membrane du Reticulum et être acheminées vers le milieu extracellulaire, et les protéines membranaires vont s'accrocher à la membrane.

Des protéines non membranaires peuvent aller dans le reticulum endoplasmique et être adressées vers un organelle cellulaire particulier: les lysosomes, ou dans les cellules végétales: la grande vacuole.

Le rôle du Reticulum endoplasmique lui vient de la proximité des ribosomes.

a- Fabrication des protéines excrétées

On les appelle également *secrétées* ou *exportées*.

Ce sont les protéines à *destination extracellulaire*.

Leur mécanisme de fabrication implique un mécanisme de *translocation* de la protéine à travers la membrane du Reticulum Endoplasmique. on l'appelle ***Translocation co-translationnelle***.

Cela correspond au passage à travers la membrane du réticulum en même temps que se fait la synthèse de la protéine. Ce sont deux processus simultanés.

Ces protéines possèdent une *sequence signal terminal* au tout début de la protéine.

C'est une courte séquence d'environ 16-30 acides aminés très riche (environ la moitié) en acides aminés très hydrophobes ce qui procure à ce petit morceau de protéine une grande affinité avec la membrane.

Une des protéines de l'enveloppe du virus du SIDA possède une séquence plus longue mais qui peut être clivée par des enzymes. (cf schéma)

La synthèse commence hors de la membrane du réticulum par la séquence signal.

À ce moment-là, un facteur cytosolique d'adressage (SRP) vient se coller sur le début de cette protéine naissante pour former un complexe ribonucléoprotéique.

Dans ce complexe, il faut noter la présence de 6 protéines majeures (entre 9 et 70KD) dont une joue un rôle MAJEUR, la P₅₄ (54KD). Il est associé à un petit ARN (75-300 nucléotides) et est formé dans le noyau puis envoyé dans le cytoplasme. Il peut lier le GDP et GTP et peut hydrolyser l'un en l'autre. Le SRP est donc un complexe moléculaire compliqué qui possède une fonction GTPasique.

Le SRP reconnaît la séquence signal, notamment grâce à la P₅₄ et bloque alors le processus de traduction de l'ARN_m sur le ribosome.

Il guide ensuite la séquence signal au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique.

Le tout est alors fixé au Réticulum par un récepteur à SRP: dans ce cas, on peut dire que le ribosome est vraiment lié.

Le travail de guidage se fait en fixant le GDP.

Le récepteur *R-SRP* est un complexe protéique qui possède une activité GTPasique. Il se trouve à la périphérie de la membrane du Réticulum endoplasmique.

À côté du récepteur, la fixation du ribosome au réticulum se fait au niveau d'un translocon, c'est-à-dire un tunnel transmembranaire primitivement fermé. Il s'agit d'un complexe multiprotéique. La grosse sous-unité du ribosome vient se fixer au-dessus de ce translocon.

Lorsque tout est fixé, le récepteur et le SRP hydrolysent du GTP.

De nouvelles conditions sont créées et le SRP se détache du récepteur pour repartir dans le cytoplasme (comme un processus de recyclage), puis la séquence signal libérée s'insère dans la lumière du translocon.

Alors la synthèse protéique du ribosome reprend, maintenant qu'il est complètement lié.

Puis la protéine entre dans le translocon qui s'ouvre. Alors la séquence signal n'est plus utile étant donné que la protéine est attachée à la membrane interne du translocon. La *Signal Peptidase* coupe alors la séquence signal et la protéine continue d'être synthétisée.

La séquence signal en revanche sera détruite.

Ensuite la protéine synthétisée passe à travers le translocon dans la lumière du Réticulum endoplasmique et des protéines prennent en charge les nouvelles formées. Ce sont des *BIP Protéines* (Binding...) qui les font ainsi entrer dans le réticulum.

Une fois que la nouvelle protéine a complètement traversé les ribosomes se détachent.

Dans le Réticulum endoplasmique, les nouvelles protéines acquièrent leur *structure secondaire et tertiaire* c'est-à-dire leur forme (feuilletés β et hélices α) ainsi que leur sites spécifiques.

La structure tertiaire dépend beaucoup des relations des *groupements thiol* avec les *ponts disulfure*. Pour effectuer ce travail de structuration des enzymes sont abondantes dans la lumière du réticulum: elles sont accrochées sur la face P de la membrane.

Ex: la *PDI* (Isomérase des liaisons disulfures Protéiques).

Quelques protéines acquièrent également leur structure quaternaire grâce à certaines enzymes qui catalysent le processus d'*oligomérisation*.

Ex: Les *Immunoglobulines*, c'est-à-dire les cellules qui fabriquent les anticorps sont des tétramères (2x2 peptides). Si le processus d'oligomérisation ne fonctionne pas correctement pour elles, il n'y a pas de production d'anticorps.

Les protéines formées peuvent également être *glycosylées*. C'est-à-dire qu'on leur accroche des sucres.

Enfin, les protéines se baladent dans la lumière du Réticulum et sont distribuées dans tous les compartiments de la cellule.

b- Fabrication des protéines intrinsèques des membranes

La différence avec la synthèse précédente est due au fait que le mécanisme de translocation co-translationnel est incomplet.

Ce phénomène intéresse l'ensemble des protéines transmembranaires.

Il n'existe pas une seule modalité car il y a différents mécanismes de positionnement des protéines dans la membrane. Il se fait en fonction:

- De la position de la séquence signal,
- Du nombre d'acides aminés hydrophobes,
- De la possibilité qu'il soit coupé du reste de la protéine.

Toutes les topologies des protéines transmembranaires s'expliquent par un mécanisme qui commence par l'étape que l'on vient de voir, puis se fait par le passage complet ou incomplet de la protéine synthétisée.

- Lorsque la séquence signal se trouve en position terminale, elle est *clivable*, c'est-à-dire *caduque*.

Ce sont alors des protéines possédant un segment hydrophobe en plus de la séquence signal.

A un moment donné des séquences traversant le translocon se trouve une *séquence très hydrophobe*. La protéine va alors se coller dans le translocon.

Ces séquences sont appelées *séquences arrêt transfert*. Tout le reste de la protéine synthétisée va rester dans le cytosol.

Ensuite la Signal Peptidase coupe la séquence signal de la protéine, elle a ainsi son extrémité N Terminal dans la lumière du Réticulum.

Elle devient alors une protéine transmembranaire.

Il existe une autre possibilité:

La séquence signal se retourne dans le translocon, ainsi l'extrémité N Terminal se trouvera dans le cytosol et C Terminal dans la lumière du Réticulum.

Ces deux types de protéines transmembranaires ne possèdent qu'un seul segment transmembranaire.

- Lorsque la protéine possède une séquence signal interne, elle n'est pas clivable, on parle de *séquence signal subterminale*.

La synthèse commence comme avant, mais il y a un petit morceau de protéine qui est hydrophyle, c'est celui qui contient la séquence signal.

La séquence signal interne est aussi dite *séquence signale d'ancrage* car, comme elle n'est pas éliminée de la protéine, elle joue un rôle *topogène*, c'est-à-dire qu'elle colle la protéine à l'intérieur de la bicouche lipidique.

La séquence signal équivaut à une séquence hydrophobe et tout ce qui la suit se trouve dans la lumière: la protéine aura son N Terminal dans le cytosol, et son C Terminal dans la lumière du Reticulum.

La différence avec la protéine membranaire de type I est que c'est la séquence signal qui accroche la protéine dans les canaux.

- Lorsque la protéine possède plusieurs segments transmembranaires: le début de la synthèse est toujours le même.

Le premier segment transmembranaire peut être une séquence signal interne qui va orienter la protéine, selon si l'extrémité C Terminal doit être du côté cytosolique ou luminal.

La différence avec la protéine de type II est qu'il existe une deuxième séquence hydrophobe différente de la séquence signal.

Lorsque cette séquence hydrophobe traverse le translocon, elle se fixe à lui. Le ribosome se détache alors légèrement de la membrane du réticulum et à nouveau, il va y avoir synthèse d'une séquence signal.

La protéine et le ribosome sont alors pris en charge par un SRP, mais la séquence signal ne sera pas clivée: la protéine continue d'être synthétisée.

Ce processus se prolonge autant de fois qu'il y a de séquences hydrophobes.

La protéine se positionne différemment selon qu'il y a un nombre pair ou impair de ces segments hydrophobes.

Le SRP n'intervient que pour les séquences signal et pas pour les autres séquences hydrophobes d'arrêt de transfert.

2- Glycosylation des protéines

Il s'agit d'une modification des protéines par accrochage de glucides.

Plus particulièrement les protéines intrinsèques et celles à destinée extracellulaire sont glycosylées afin de les protéger de l'action des *protéases*.

Chez les cellules eucaryotes, les sucres s'accrochent seulement sur 5 acides aminés: *Sérine, Thréonine, Hydroxylisine, Hydroxylproline, Asparagine*.

Ces cinq acides aminés permettent de différencier deux types de glycosylation:

a- La Glycosylation de type O

Ce type de glycosylation concerne les acides aminés qui possèdent une fonction OH: *Sérine, Thréonine, Hydroxylisine, Hydroxylproline*.

C'est au niveau de la fonction OH que se fait la glycosylation.

Elles sont assez faibles, c'est-à-dire qu'elles ne permettent l'accrochage que de quelques sucres: 4 au plus.

Ces sucres peuvent être soit du *galactose*, soit du *N-acetylglucosamine* (Glucnac) suivit d'une chaîne pouvant aller de 0 à 3 autres sucres de n'importe quel type.

La O-glycosylation est la seule à se produire dans le cytosol. Elle intervient sur les *protéines fabriquées par les ribosomes libres*.

Elle se fait en minorité dans le Réticulum Endoplasmique:

Les sucres mis en réserve dans le hyaloplasme traversent la membrane du Réticulum endoplasmique grâce à des transporteurs spécifiques de ces sucres.

Puis, ils sont activés sous forme de dérivés nucléotidiques, et la liaison avec les acides aminés se fait par un phénomène enzymatique réalisé par des *glycosyl-transférases* spécifiques de chaque sucre.

Ces enzymes se trouvent dans la membrane du reticulum et leur site actif est tourné vers la lumière du reticulum.

Ce type de glycosylation est séquentiel: 1 sucre est d'abord accroché, puis le deuxième, etc..

La situation la plus fréquente est la glycosylation de la *thréonine* par du N-acétyl-glucosamine. On retrouve cette situation au niveau des protéines participant aux groupes sanguins.

b- La glycosylation de type N

Ce phénomène n'intéresse jamais les protéines cytosoliques, mais seulement les protéines fabriquées par des ribosomes liés.

Dans ce type de glycosylation, le motif glucidique est plus long.

L'asparagine possède deux fonctions amine. C'est sur sa fonction amine secondaire que se fait l'accrochage des sucres.

Tout commence par la fabrication d'un précurseur osidique commun pour toutes les protéines, constitué de 14 oses et qui sera ensuite simplifié.

Il est transféré globalement sur le résidu d'asparagine des protéines à glycosyler.

Ce type de glycosylation n'est pas séquentielle.

Le précurseur est constitué de 2 Gluc-nac, 9 mannoses et 3 glucoses.

Il s'agit d'un oligosaccharide fixé sur le Dolychol. On le dit d'ailleurs *oligosaccharide activé* car il est accroché à 2 phosphates permettant la liaison au Dolychol.

La génèse de l'oligosaccharide est compliquée:

Elle commence par la synthèse du Dolychol dans le hyaloplasme de la cellule, qui vient ensuite s'insérer dans la membrane du reticulum endoplasmique.

Il est alors phosphorylé grâce à l'ATP présent dans le cytosol. C'est alors un *dolychol monophosphate* du côté cytosolique.

Toujours du côté du cytosol, un Gluc-nac phosphaté présent dans la substance fondamentale vient s'accrocher au Dolychol qui devient alors un *Dolychol biphosphaté qui porte un Gluc-nac*.

La *Tunicamycine* empêche la liaison entre le dolychol monophosphaté et le Gluc-nac phosphaté. Elle bloque donc l'activité de N-Glycolysation.

Ensuite, viennent se fixer d'autres oses du cytosol:

- Ajout d'un Gluc-nac
- Ajout de 5 Mannoses

Puis le dolychol se retourne par un phénomène comparable au Flip-Flop.

Dans la lumière du reticulum, on ajoute:

- 3 glucoses
- 4 mannoses.

Ainsi, on obtient un motif de 14 résidus.

Pour les 7 oses ajoutés dans la lumière du réticulum endoplasmique, il existe des transporteurs capables de faire passer des glucides activés à travers la membrane du reticulum.

L'ensemble est ensuite greffé sur l'asparagine grâce à l'action de la *glycosyl transférase* qui fixe un Gluc-nac sur l'asparagine.

Après avoir collé la totalité du motif, on retire 3 glucoses et un mannose pour obtenir un motif glucidique avec 10 résidus osidiques.

Cette simplification fait également intervenir des enzymes. Elle est séquentielle, c'est-à-dire que le motif perd en premier le glucose terminal, puis globalement les 2 glucoses suivants et enfin le mannose.

Contrairement à ce type de glycosylation, la O-Glycosylation ne présente pas de remodelage.

3- Métabolisme des lipides

La membrane du reticulum est importante c'est son aspect lisse qui prend le pas sur le reticulum endoplasmique rugueux.

La biosynthèse des dérivés du cholestérol implique la membrane du reticulum. Ex: l'acide biliaire, les hormones stéroïdes (produites par les cellules de Leydig chez l'homme ou par les cellules du corps jaune chez la femme).

Le métabolisme des lipides intestinaux est très important:

Les lipides du bol alimentaire sont décomposés dans la lumière de l'intestin en *monoglycérides* qui vont reformer des *triglycérides* dans les cellules intestinales grâce à des *enzymes réticulaires*.

La fabrication des phospholipides membranaires que l'on trouve dans toutes les cellules se passe également dans la membrane du Reticulum Endoplasmique.

Au niveau du reticulum, il y a des enzymes responsables de cette fabrication.

Ex: La lécithine (phosphatidyl-choline) est fabriquée en 3 étapes dans la membrane du reticulum endoplasmique lisse ou rugueux:

- Dans le cytoplasme, deux molécules de diacyl gras COA (ce sont des acides gras qui s'accrochent à une molécule de Coenzyme A) se couplent avec du glycérol monophosphaté grâce à la *acyltransférase* présente dans la membrane du réticulum endoplasmique. On obtient alors un acide phosphatidique et deux COA.

- L'acide phosphatidique est déphosphorylé par la *phosphatase* pour donner un diglycéride.

- La CPP (*citidine biphosphate*) est porteur d'une *choline*. Grâce à la *choline-phosphotransférase* on transfère une partie du CPP + Choline au niveau du diglycéride.

Comme il y a beaucoup de phospholipides, il existe dans la membrane du Reticulum endoplasmique une multitude d'enzymes différentes.

Le lipide ainsi fabriqué se retrouve dans la monocouche, tournée du côté du cytosol. Pour passer à l'autre monocouche, il se produit un phénomène de Flip-Flop grâce à des *flippases* présentes dans la membrane du réticulum endoplasmique.

La lumière du réticulum endoplasmique sert de milieu de concentration à des ions, et notamment les ions calcium.

Dans certaines cellules, comme les cellules musculaires, cette fonction est la plus importante.

Le réticulum endoplasmique lisse est relativement abondant dans les cellules musculaires où il représente le *système sarcoplasmique*.