

PARTIE B: L'APPAREIL DE GOLGI

A. MORPHOLOGIE

1- Microscope photonique

On utilise du sel d'argent ou de l'acide osmique (OsO_4) pour la fixation.

On peut observer des structures applaties qui ont la forme de disques: des *dictyosomes*.

Au niveau des spermatoocytes, on voit bien l'appareil de Golgi.

L'hétérogénéité de la prise des colorants montre bien l'hétérogénéité de la composition chimique.

L'appareil de Golgi est constitué de l'ensemble des dictyosomes. On en trouve en général 5 ou 6 par cellule qui sont un peu dispersés dans le hyaloplasme.

Dans les cellules sécrétrices qui possèdent une face apicale et une face basale, les dictyosomes sont plutôt du côté apical, c'est-à-dire du côté où les éléments sont excrétés.

Tous les dictyosomes sont faits de la même manière.

2- Microscopie électronique à transmission

On remarque que chaque dictyosome est un empilement de saccules, qui ressemblent à des citernes. Elles sont incurvées et chacune est délimitée par une membrane biologique, mais aucune ne possède de ribosomes associés à cette membrane.

Chaque dictyosome possède 5 ou 6 saccules qui sont presque collées les unes aux autres.

Elles sont séparées d'environ 50Å.

On appelle *lumière* l'espace des saccules à l'intérieur de leur membrane biologique.

Au niveau des dictyosomes, on remarque un environnement de vésicules et de vacuoles dont la membrane est dépourvue de ribosomes.

Une vésicule peut passer d'une saccule à une autre.

Les vésicules confluent pour donner des vacuoles qui s'agglutinent au niveau de *concavités* internes.

Dans un dictyosome, il existe une *face Cis*, une *face Trans* et une *zone médiane*.

Une petite vésicule au niveau de la face Cis est issue du Réticulum Endoplasmique Rugueux.

Le Réticulum Endoplasmique Rugueux produit une vésicule qui fusionne avec la première saccule.

On les appelle des *vésicules de transition*.

Sur la portion latérale, se forment des vésicules plus importantes, de l'ordre d'un millier d'Angstrom.

Au niveau de la face _____, il existe des microtubules qui participent au positionnement du dictyosome.

Si ces microtubules disparaissent, les dictyosomes ne peuvent plus se placer où il le faut dans la cellule.

Par microscopie électronique à balayage, on voit que les différentes saccules ne sont pas isolées les unes des autres, mais qu'elles ont une fine relation entre elles.

Il y a donc une continuité au sein d'un même dictyosome.

Au sein d'une même cellule, les différents dictyosomes sont reliés les uns aux autres par des espèces de canaux. Chaque dictyosome n'est pas isolé, mais il existe une continuité entre eux.

Il y a un phénomène de polarisation correspondant aux faces Cis, Trans et à la zone médiane.

B- BIOCHIMIE

La subdivision correspond à une compartimentation biochimique et fonctionnelle.

La membrane limitant les saccules varie:

- Sur la face Cis, elle avoisine les 60Å, ce qui est une épaisseur comparable à celle de la membrane limitant les canaux du réticulum endoplasmique. Cette membrane Cis fixe facilement les *métaux lourds*.

- Sur la face Trans, elle est plutôt de l'ordre de 75-80Å, c'est-à-dire assez proche de la membrane plasmique.

La membrane golgienne renferme des lipides et des protéines avec un ratio intermédiaire entre celui du Réticulum endoplasmique et celui du plasmalemme.

On a une filiation qui part du réticulum endoplasmique, qui passe par l'appareil de Golgi et qui va jusqu'au plasmalemme. On parle de *Système d'Endomembranes*.

Parmi les protéines, il y a de nombreuses enzymes qui peuvent se trouver soit dans la membrane, soit dans la lumière: on les appelle Enzymes Membranaires et Luminales.

On peut effectuer une localisation différentielle de ces enzymes:

- Au niveau de la face Cis se fait un type de *phosphorylation*, donc il se trouvent des enzymes responsables de cette activité de phosphorylation à ce niveau.

- Au niveau de la zone médiane, on trouve des enzymes qui peuvent accrocher du Gluc-nac: ce sont les *Gluc-nac Transférases*, des enzymes qui enlèvent du mannose: les *mannosidases*.

- Enfin, au niveau de la face Trans, on peut trouver des enzymes responsables de l'addition de galactose, d'acides sialiques ou de soufre. Dans ce dernier cas, on parle de *sulfatation* de la protéine. Il existe également des *phosphatases* qui fonctionnent à pH acide.

Le pH des zones Cis et médiane est neutre: on n'y trouve donc pas de phosphatases.

On peut trouver aussi des protéines membranaires participant à la cohésion entre les différentes saccules.

C- PHYSIOLOGIE

Il y a plusieurs aspects physiologiques au niveau de l'appareil de Golgi.

On peut y trouver des éléments synthétisés au niveau du Réticulum Endoplasmique Rugueux.

Ce qui se passe dans le Golgi:

- Modification du matériel importé:

- . Clivage de précurseurs
- . Glycosylation
- . Sulfatation

- Association entre éléments membranaires pour constituer des assemblages complexes.

Ex: Le Mucus qui est une association de plusieurs protéines. Ce sont même des glycoprotéines qui commencent à se glycolyser au niveau du réticulum endoplasmique et ce processus continue dans le Golgi. Il y a également un processus de sulfatation qui s'effectue dans le Golgi.

- Tri des éléments en transit pour conduire à des exportations vers d'autres compartiments cellulaires. Il existe un flux vectoriel permanent au niveau de l'appareil de Golgi orienté dans le sens Réticulum Endoplasmique - Appareil de Golgi - Autres compartiments cellulaires. Il existe également un retour du matériel vers le réticulum endoplasmique, il s'agit alors d'un flux membranaire opposé.

1- Maturation des glycoprotéines

Il se produit une O-Glycosylation dans le Golgi, au niveau des saccules médianes et Trans. Ce phénomène intéresse aussi bien les protéines solubles dans la lumière du saccule que les protéines transmembranaires, mais dans ce cas, uniquement le domaine luminal glycosylé. Les sucres sont importés du cytosol, sous forme de dérivés nucléotidiques, c'est-à-dire sous forme activée.

Cette importation se fait grâce à des transporteurs membranaires.

Au niveau de l'appareil de Golgi se continue l'arborescence glucidique de type N. Au sortir du Réticulum Endoplasmique, les glycoprotéines possèdent 10 sucres.

Il se fait une succession de réactions ordonnées:

- . amputation de 5 mannoses: il ne reste à la glycoprotéine que 3 mannoses.
- . ajout de 2 ou 3 Gluc-nac: la protéine en possède alors 4.
- . ajout de 2 ou 3 galactoses
- . ajout d'un fucose
- . ajout de 2 acides sialiques.

Cette transformation est séquentielle.

Toutes les glycoprotéines ne sont pas modifiées de la même façon: ce phénomène dépend:

- de la structure de la partie protéique qui porte le motif glucidique
- de l'équipement enzymatique de Golgi d'une cellule donnée.

La pluralité des motifs glucidiques associés aux protéines et un phénomène non mécanique. Les sucres greffés sont pris dans le cytosol à l'état activé.

2- Tri des protéines

Cela correspond à l'aiguillage des protéines ou à l'adressage des protéines pour les amener là où elles sont nécessaires.

a- Exemple 1: Les protéines lysosomiales

Dans les lysosomes, il y a des enzymes qui sont des protéines N-Glycosylées solubles dans la lumière du Réticulum Endoplasmique.

Quand ces protéines entrent, elles sont inactives, sinon elles auraient une activité à l'intérieur du Réticulum Endoplasmique et de l'appareil de Golgi.

Elles possèdent alors 10 sucres.

Elles ne subissent pas d'amputation des 3 mannoses mais on phosphoryle 1 ou 2 mannoses de l'arborescence glucidique au niveau de la région Cis du Golgi.

Le choix des mannoses cibles de la phosphorylation dépend des protéines.

Cette phosphorylation se fait en 2 étapes:

- On accroche un acétyl-glucosamine phosphaté qui se trouve dans la lumière sur le mannose cible par réaction enzymatique.

- On enlève le Gluc-nac en laissant le phosphore sur le mannose cible grâce à l'action de la *gluc-nac phosphoglucosidase*.

La phosphorylation se fait sur le C₆ pour obtenir un mannose 6 phosphate, caractéristique des protéines enzymatiques à destinée lysosomiale.

Pour accrocher le Gluc-nac phosphaté, la Gluc-nac transférase ne reconnaît pas qu'une seule séquence d'acides aminés, mais plusieurs qui vont engendrer des configurations tridimensionnelles des protéines.

Dans le système de reconnaissance, la protéine porte des *Sceaux de Signalisation*.

Pour qu'une enzyme aille dans les lysosomes, il faut l'aiguiller. Ce processus se fait grâce à un phénomène de reconnaissance dans la lumière du Golgi.

Dans la partie Trans du Golgi, il existe des récepteurs transmembranaires spécifiques au mannose 6 phosphate. Chaque fois qu'une protéine est porteuse d'un mannose 6 phosphate, elle est piégée par le récepteur.

Une vésicule de transport, bordée par de la Clathrine est alors formée.

L'accrochage de la protéine au récepteur se fait à pH neutre ou acide.

Rapidement, les vésicules perdent leur revêtement de clathrine grâce aux Hsp₇₀.

Les vésicules lisses peuvent alors fusionner avec une vésicule de triage ou directement avec le lysosome.

Dans les deux cas, le complexe Protéine-Récepteur se retrouve en pH acide et la protéine se détache du récepteur qui sont ensuite recyclés: ils reviennent au niveau du Golgi grâce à une nouvelle vésicule qui s'entoure à nouveau de clathrine, qui s'enlève de nouveau pendant le voyage.

Des protéines de fusion interviennent ensuite.

Lorsque la glycoprotéine arrive dans le lysosome, on lui enlève le mannose 6 phosphate: on parle de *déphosphorylation de cette pré-enzyme*.

Elle est alors Découpée et Maturée pour devenir active.

Il existe un cas très particulier où une partie de la protéine porte la même étiquette: mannose 6 phosphate, mais qui ne va jamais dans les lysosomes: il s'agit d'un précurseur de thyroxine, la thyroglobuline:

. elle sera soit expulsée hors de la cellule pour être iodée,

. ou absorbée par la cellule pour être redécoupée, auquel cas elle passera par les lysosomes...

Dans une cellule, il y a plusieurs vésicules bordées par de la clathrine qui peuvent être d'origine Golgienne ou Plasmique.

On peut les distinguer grâce à la *Brefeldine A* qui fait que la vésicule d'origine golgienne perdront leur revêtement de clathrine, mais pas les vésicules plasmiques.

b- Exemple 2: Les protéines à destinée extracellulaire

On les appelle également protéines excrétées ou secrétées.

Elles sont secrétées par exocytose. Ce processus peut être de deux types, donc il existe deux types de vésicules d'exocytose qui sont triées au niveau du Golgi.

Pour effectuer le processus de sécrétion régulée, un stimulus est nécessaire. Les Hormones (ex: Insuline) et les produits de sécrétion exocrine sont concernés.

Le tri de ces protéines implique des motifs polysaccharidiques reconnus par des récepteurs de la membrane Trans de l'appareil de Golgi.

Ces protéines sont également emballées dans des vésicules golgiennes recouvertes de clathrine.

Les vésicules fusionnent pour donner des vacuoles, qui deviennent lisses et qui vont rester dans la cellule.

Ces vacuoles sont appelées *grains de Sécrétion*.

La fusion des vésicules avec le plasmalemme ne nécessite pas de stimulus dans le cas d'une exocytose constitutive.

Les vésicules sont recouvertes d'un manteau, dit *vésiculaire*, chimiquement différent de la clathrine. Il s'agit de COP qui sont des protéines de revêtement.

Ce sont des protéines associées à des molécules de GTP et qui constituent des unités qui vont se polymériser en *coatomes*.

Les protéines qui ne présentent aucun signal d'adressage particulier sont placées dans ces vésicules en guise d'adressage par défaut.

Le transport du matériel de sécrétion jusqu'au plasmalemme implique des microtubules associées à des protéines appelées MAPs Motrices.

L'exocytose constitutive est la principale loi de renouvellement du plasmalemme.

3- Autres rôles

. L'appareil de Golgi est impliqué dans le métabolisme des lipides :

- Les phospholipides synthétisés au niveau du Reticulum Endoplasmique vont se retrouver dans la membrane des différents saccules golgiens. Ils peuvent y subir des modifications, comme par exemple un ajout de sucres.

- Certains phospholipides peuvent être fabriqués dans les saccules golgiens. Les précurseurs de ces lipides doivent traverser la membrane des saccules pour passer du cytosol dans la lumière afin que les enzymes membranaires tournées vers l'intérieur des saccules puissent agir sur ces précurseurs lipidiques.

. L'appareil de Golgi joue également un rôle de stockage d'un certain nombre d'ions. Notamment les ions Calcium, stockés de manière prépondérante.