

TRAFIC MEMBRANAIRE

I. MECANISMES DU TRANSPORT :

A) Bourgeoisement :

1. Manteaux de clathrines :
 - a) La chlatrine :
 - b) Les adaptines :
 - c) La dynamine :
2. Manteaux de cop :
 - a) Cop i et cop ii :
 - b) Arf et protéines apparentées :
3. La cavéoline :

B) Reconnaissance et attachement :

1. Protéines rab :
2. Facteurs d'attachement :

C) Fusion :

1. Snare :
2. Fusion membranaire :

II. LA VOIE D'EXOCYTOSE-SECRETION :

A) Transport RE-appareil de golgi :

1. Organisation de l'appareil de golgi :
2. Les éléments de transition :
3. Glycosylation :
4. Récepteur au Kdel :

B) Au delà de l'appareil de golgi :

1. Tri moléculaire dans le réseau trans-golgien :
2. Les grains de sécrétion :
3. La sécrétion constitutive :
4. Le récepteur au mannose-6-phosphate :
5. Tri dans les cellules polarisées :
6. Le transport axonal :

C) L'exocytose régulée :

1. Mise en réserve :
2. Les vésicules synaptiques :

III. ENDOCYTOSE :

A) La pinocytose :

B) Les Endosomes précoces :

1. Tri et recyclage et les récepteurs β -adrénergiques :
2. Le récepteur à l'EGF :
3. Le récepteur au LDL :
4. Le récepteur a la transferrine :

C) Les endosomes tardifs :

D) Les lysosomes :

1. Fonctionnement normal :
2. Les maladies de surcharge :

E) La phagocytose :

F) La transcytose :

Le transport membranaire comporte l'ensemble des phénomènes qui permettent à la cellule de transférer du matériel d'un compartiment membranaire vers un autre, entre deux membranes ou entre deux lumières.

Ce transport va se faire grâce à des vésicules qui bourgeonnent à partir d'un compartiment donneur et fusionnent avec un compartiment accepteur.

Le trafic membranaire va débiter au niveau du RE et se rendre dans l'AdG qu'il traverse saccule après saccule de la face CIS à la face TRANS. A partir de l'AdG les vésicules peuvent se rendre vers la membrane plasmique ou vers l'endosome.

On parle d'exocytose pour les voies qui se rendent du RE au milieu extérieur et d'endocytose pour les voies qui partent de la membrane plasmique et qui se rendent vers l'intérieur de la cellule.

Dans l'endocytose, le trafic membranaire ira d'abord dans l'endosome puis dans le lysosome qui est l'organe de dégradation de la cellule. Le terme d'endocytose couvre toutes les voies qui partent de la membrane plasmique et qui peuvent aboutir au lysosome même si elles n'arrivent pas au lysosome tout de suite.

La fusion entre la vésicule et la membrane plasmique est catalysée par une machinerie protéique.

I. MECANISMES DU TRANSPORT :

A) BOURGEONNEMENT :

Dans de très nombreux cas, les protéines vont être capturées par des récepteurs membranaires spécifiques ce qui va permettre de les regrouper.

D'une façon générale, la vésicule va se former grâce à des manteaux qui forcent la membrane à former une vésicule et dans cette vésicule, on retrouve le récepteur et la protéine spécifique.

Les protéines membranaires qui interagissent avec le réseau vont pouvoir entrer dans la vésicule.

Après fermeture, la vésicule va se détacher et l'ensemble le manteau va se désassembler de la vésicule. Les éléments du manteau seront recyclés pour servir à un deuxième cycle de formation de vésicule, la vésicule va poursuivre son chemin pour aller s'associer à son compartiment récepteur.

Evidemment, si n'importe quelle vésicule fusionnait avec n'importe quel récepteur, on aurait un mélange dans la cellule. On a donc un mécanisme de sélectivité qui permet d'assurer que les bonnes vésicules fusionnent avec les bons compartiments récepteurs.

Après fusion, la protéine soluble va se dissocier de son récepteur et le récepteur va être incorporé dans une vésicule retour qui lui permet d'être ramené au compartiment donneur où il pourra servir à un nouveau cycle de transport.

Ici, on a trouvé une protéine soluble incorporée dans la vésicule après avoir interagi avec le récepteur, on voit bien que dans la lumière de la vésicule, un peu de liquide est incorporé.

On peut donc avoir des substances qui étaient dans la lumière du compartiment donneur qui se retrouvent dans le compartiment accepteur sans qu'il y ait de spécificité simplement parce que la vésicule s'est formée.

Si cela se reproduit, la concentration de cette protéine dans le compartiment donneur diminuerait et il changerait de composition. Il existe donc des mécanismes qui permettent de récupérer ces molécules qui se sont « perdues ».

Il y a aussi des manteaux spécifiques qui vont permettre de ramener ces protéines à leur compartiment d'origine ce qui évite à la cellule de re-synthétiser en permanence des protéines qui existent déjà mais simplement mal localisées.

1. MANTEAUX DE CLATHRINES :

Il est le premier à avoir été découvert.

Ici on a une micrographie qui nous montre un puits, formé à partir de la membrane plasmique, recouvert de clathrine, et une vésicule complètement fermée recouverte d'un manteau de clathrine (ce sont ces espèces d'épis à la surface de la vésicule)

Si on regarde en cryodécapage (c'est quelque chose de similaire à la cryofracture, on a posé une membrane et évaporé le liquide de façon à préserver et voir les reliefs solides) on voit que ce manteau a un réseau hexagonal avec quelques pentagones au début de sa formation, quand la vésicule est complètement formée, il y a beaucoup plus de pentagone.

a) LA CLATHRINE :

La clathrine est une protéine à trois jambes, c'est une triskèle.

Elle s'assemble spontanément pour former des réseaux hexagonaux plan, ça permet d'avoir un grand nombre d'alvéoles. Pour former une cage, il faut pouvoir courber la vésicule en incluant des pentagones au milieu des hexagones.

La membrane va être piégée dans ces cages, et lorsque la cage sera complètement refermée, la membrane piégée à l'intérieur va former une vésicule.

Comment la membrane se retrouve t'elle piégée dans la vésicule ?

b) LES ADAPTINES :

Elle pourrait interagir directement avec la clathrine mais on sait que c'est faux, elle a besoin d'intermédiaires.

Ces intermédiaires sont les ADAPTINES. Elles vont reconnaître certains signaux sur la partie cytoplasmique de protéines transmembranaires

Du fait que l'adaptine reconnaisse un signal, elle ne va pas venir s'attacher à n'importe quoi, elle va donc opérer un tri dans les protéines.

Le signal est différent en fonction des adaptines. Certaines fonctionnent au niveau de la membrane plasmique d'autres au niveau de l'AdG, elles ont des destinées différentes.

L'interaction entre le récepteur, l'adaptine et la clathrine va permettre de tirer la membrane plasmique à l'intérieur de la cage en formation.

c) LA DYNAMINE :

Pour fermer la vésicule, on va avoir besoin d'une autre protéine appelée la DYNAMINE. C'est ce qui fait ces petits lacets sur le coup des vésicules vues précédemment.

Elle a une activité GTP-ase et il se pourrait que cette activité GTP-ase lui permette d'obtenir de l'énergie à partir du GTP mais également que la dynamine soit une petite protéine G. C'est-à-dire une protéine active en présence de GTP.

On sait qu'elle agit comme une mécano-enzyme mais on ne sait pas si elle pince le cou de la vésicule jusqu'à la couper, ou si elle tire entre la vésicule et la membrane jusqu'à l'arracher.

On ne sait pas encore si la protéine active est la dynamine elle-même ou si elle active la mécano-enzyme.

Une fois que la vésicule est détachée, on aura un désassemblage d'abord des triskèles de clathrine puis des adaptines pour obtenir la vésicule dénudée prête à fusionner avec le compartiment récepteur.

Les adaptines et la clathrine sont recyclées vers le compartiment donneur.

2. MANTEAUX DE COP :

a) COP I ET COP II :

Ces manteaux fonctionnent entre le RE et l'AdG ou à l'intérieur de l'AdG.

COP II : entre RE et AdG – formée de deux complexes protéiques : SEC 23/SEC24 qui vient former le manteau dans un premier temps et le complexe SEC 13/SEC 31 qui vient renforcer le manteau une fois que celui-ci est formé.

COP I : à l'intérieur de l'AdG – formée d'un seul ensemble de 7 sous-unités protéiques qui s'appelle le coatomère ($\alpha\beta\beta'\gamma\delta\epsilon$).

b) ARF ET PROTEINES APPARENTÉES :

• COP II :

Petite protéine G SAR 1, associée à un GTP et liée de façon covalente avec un acide gras:

- Inactive avec un GDP, acide gras à l'intérieur de la protéine.

- Interaction avec SEC 12 (GnRP): échange son GDP contre un GTP : elle est active et expose son acide gras et permet à SAR 1 de s'ancrer à la membrane du compartiment donneur.

Elle va ensuite recruter le complexe SEC 23/SEC 24 et c'est ce complexe qui va recruter les protéines membranaires incorporées dans la vésicule.

Dans un deuxième temps le complexe SEC 13/SEC 31 (réseau plus grossier avec des mailles plus lâches) va venir renforcer et structurer le manteau de COP II en formation.

La vésicule va se détacher et le manteau va se détacher relativement rapidement après la formation de la vésicule.

- **COP I:**

On a également une GnRP : GEA 1.

La petite protéine G est Arf 1.

- GDP : inactive.
- Interaction avec GEA 1, elle échange son GDP contre un GTP, elle est donc active. Elle expose son acide gras et s'ancre à la membrane du compartiment donneur.

Arf 1 active et ancrée à la membrane recrute le coatomère.

Celui-ci interagit avec les protéines membranaires.

Après bourgeonnement, une Arf-GAP (protéine activatrice du pouvoir GTP-asiq) qui va stimuler l'hydrolyse du GTP en GDP par Arf, Arf est donc inactive (puisque sous forme GDP) et cache son acide gras. Elle n'interagit plus avec la membrane et se détache.

Par contre le manteau de COP I reste assemblé autour de la vésicule, il semble qu'il puisse se désassembler à différentes moments du transport de la vésicule (précocement ou juste avant la fusion avec la membrane réceptrice.)

3. LA CAVEOLINE :

C'est une protéine responsable de la formation de cavéoles.

Ce sont des structures qui ont un peu la forme de fioles et qui sont sous la membrane plasmique.

Ces cavéoles permettent des passages au travers des cellules endothéliales, c'est un mécanisme d'endocytose dans d'autres types cellulaires.

La cavéoline est une protéine qui fait une boucle dans la membrane sans la traverser complètement jusqu'à la face exoplasmique.

En plus de cette boucle, des acides palmitiques viennent renforcer l'interaction avec la membrane.

Des cystéines vont former des ponts disulfures et permettent à la cavéoline de se dimériser. Par ailleurs, la cavéoline peut interagir avec les MFA (actine) grâce à la FILAMINE.

Les régions riches en cavéoline sont également riches en GLYCOSPHINGOLIPIDES, en protéines glypiées, et riches en protéines ancrées par une chaîne grasse (ce peut être un acide gras ou autre).

Le fait que l'on ait un enrichissement en GSL et en certaines protéines veut dire que d'autres protéines vont-elles aussi se retrouver enrichies DANS la cavéole.

[Endocytic/exocytic CELL MEMBRANE STRUCTURES rich in glycosphingolipids, cholesterol, and lipid-anchored membrane proteins that function in ENDOCYTOSIS (potocytosis), transcytosis, and SIGNAL TRANSDUCTION. Caveolae assume various shapes from open pits to closed vesicles. Caveolar coats are composed of CAVEOLINS.]

B) RECONNAISSANCE ET ATTACHEMENT :

Chaque type de vésicule a sa propre spécificité, si l'on veut la converser il faut qu'il y ait aussi une spécificité dans la reconnaissance et la fusion.

1. PROTEINES RAB :

Elles ont des rôles essentiels à plusieurs niveaux du trafic membranaire pour contrôler la spécificité de ce trafic.

Les protéines RAB sont de petites protéines G

- GDP inactive, lipide caché
- GTP active, interagit avec une membrane

Il en existe plus de 60 chez le mammifère, associées à différents compartiments cellulaires. Elles jouent un rôle à différentes étapes du trafic mais ne font pas toujours la même chose pour chaque étape.

- RAB 1 & 2 : RE -> AdG
- RAB 6 : AdG (intérieur)
- RAB 10 : réseau trans-golgien
- RAB 3 : sécrétion régulée
- RAB 4 & 5 : endosomes précoces
- RAB 7 : endosomes tardifs
- RAB 9 : réseau trans-golgien et les endosomes tardifs

Dans le CYTOSOL, la protéine RAB-GDP est inactive et interagit avec une protéine GDI qui va piéger la protéine RAB et l'empêcher d'échanger son GDP contre du GTP.

Sur la MEMBRANE, il existe une Gnrp qui permet à RAB de faire cet échange et de s'associer à la protéine.

La reconnaissance entre la vésicule et la cible s'effectue grâce à des facteurs d'attachement.

2. FACTEURS D'ATTACHEMENT :

Ce sont des complexes de composition variée et de grande taille.

Ils jouent avant que V-SNARE et T-SNARE puissent se rencontrer.

On a un complexe d'attachement (en rouge) entre des vésicules (en bleu) et l'AdG.

Complexes avec beaucoup de protéines ou véritables petites particules, les complexes d'attachement sont très différents ; mais ils doivent tous pouvoir interagir avec des protéines RAB vérifiant qu'il y a une bonne association entre les deux parties du complexe d'attachement.

Dans le complexe d'attachement, on peut différencier les éléments localisés sur la membrane cible de ceux localisés sur la membrane donneuse. Dans certains cas, le complexe d'attachement peut s'arrimer à un lipide de la membrane réceptrice ; un PI modifié peut être un point d'ancrage d'un complexe d'attachement.

C) FUSION :

1. SNARE :

La vésicule va également emmener avec elle une protéine que l'on appelle V-SNARE (Récepteur au SNAP).

La V-SNARE va reconnaître sur la membrane cible une T-SNARE et former un complexe indispensable à la fusion membranaire.

Ce complexe persiste même après la fusion. Pour réutiliser chaque élément, il faut le dissocier. Il va être hydrolysé par SNAP qui reconnaît V-SNARE et utilise l'énergie produite par l'hydrolyse de l'ATP en ADP par NSF.

Cette hydrolyse peut avoir lieu juste après la fusion ou juste avant la formation d'un nouveau complexe.

Dans tous les cas, après hydrolyse, la T-SNARE va être utilisée pour lier la V-SNARE d'une nouvelle vésicule et la V-SNARE va être recyclée par l'intermédiaire d'une vésicule vers le compartiment donneur.

2. FUSION MEMBRANAIRE :

La fusion membranaire est une étape encore incomprise mais il semble que dans un certain nombre de cas la formation de complexe SNARE soit suffisante pour permettre la fusion des membranes.

Dans d'autres cas, on sait qu'il faut des facteurs supplémentaires, le calcium avec ses $2+$ par exemple pourrait agir comme pompe électrostatique entre les membranes pour les rapprocher ou aussi sur les protéines dépendantes du calcium.

Dans la fusion des membranes, il y a maintien de la topologie :

EXO : rose et bleu

CYTO : rouge et jaune.

- 1) Fusion entre les deux feuilletts cytoplasmiques => membrane orange
- 2) Séparation au point de fusion et contact entre les deux feuilletts exoplasmiques
- 3) Fusion des deux feuilletts exoplasmiques => membrane prune
- 4) Le point de fusion s'élargit progressivement jusqu'à permettre la continuité complète entre la membrane de la vésicule et la membrane de compartiment accepteur.

II. LA VOIE D'EXOCYTOSE-SECRETION :

Il débute dans le site majeur de synthèse de protéines de la cellule : le RE.

Ici, on a le RE d'un pancréas exocrine de cobaye dans lequel on a injecté un agent radioactif.

- 1) Toute la radioactivité est sur le RE
- 2) Ensuite, la voie d'exocytose-sécrétion va vers l'AdG.
- 3) Le trafic traverse l'AdG saccule après saccule.
- 4) A partir de la face trans de l'AdG, il y aura trois voies possibles :
 - Grain de sécrétion : elles ont pour fonction de déverser les enzymes pancréatiques dans le tube digestif après alimentation. (Il existe des grains immatures et matures)
 - Directement vers la membrane plasmique.
 - Vers les lysosomes.

Ces voies sont doublées par des voies retour qui permettent de recycler un certain nombre d'éléments importants pour le trafic membranaire et de corriger des défauts de composition.

Par ailleurs, au cours de ce transport, les protéines et les lipides vont être modifiés.

A) TRANSPORT RE-APPAREIL DE GOLGI :

1. ORGANISATION DE L'APPAREIL DE GOLGI :

C'est un empilement de saccules avec quelques vésicules autour.

La face proche de RE est appelée CIS

L'autre face est appelée TRANS où il y a un grand réseau de vésicules et de saccules appelé réseau trans golgien. Les protéines vont se déplacer de saccule en saccule par l'intermédiaire de vésicules.

Les protéines de chaque compartiment golgien s'arrêtent à l'emplacement qui leur convient grâce à des signaux dans la séquence protéique (ils ne sont pas encore connus).

Le fait que chaque saccule ait une composition spécifique peut être démontré en utilisant des réactions histochimiques pour certaines enzymes.

Il semble qu'il y ait à la fois un transport par l'intermédiaire de vésicules à la périphérie de l'AdG et une maturation lente des saccules golgi de la face cis vers la face trans.

Cette maturation lente permet le transport de structures trop grosses pour passer dans de petites vésicules.

2. LES ELEMENTS DE TRANSITION :

Après le RE on passe dans une zone entre le RE et l'AdG.

On part du RE avec des régions où on voit des bourgeonnements de vésicules lisses : ce sont les éléments de transition où il n'y a aucun ribosome (les protéines issues des ribosomes sont exclues des vésicules).

Les vésicules vont s'accumuler entre le RE et l'AdG, on appelle cette région COMPARTIMENT INTERMEDIAIRE.

Ces vésicules vont fusionner avec la face CIS de l'AdG.

3. GLYCOSYLATION :

Il existe des ribosomes qui synthétisent la protéine en même temps qu'elle est transloquée à l'intérieur du RE. Au cours de cette translocation, des protéines sont modifiées par l'ajout sur certains résidus asparagine d'un OLIGOSACCHARIDES.

Cet oligosaccharide est synthétisé sur un lipide très bizarre et comporte 2 N-Acétyl-Glucosamine (Glc-nac), 9 mannoses (Man) et 3 glucoses (Glc) . Tout cet ensemble est transféré à la protéine sur l'asparagine.

Dès qu'il est transféré, il est tout de suite modifié :

- 1) Au niveau du RE , on enlève séquentiellement les 3 glc et 1 man (ça peut paraître inutile mais ces glucoses permettent à la protéine d'interagir avec des chaperons qui protègent la protéine et l'aide à se replier correctement).
 - 2) La protéine est transportée dans l'AdG.
 - 3) Saccule CIS : - 3 Man
 - 4) Saccule MEDIAN : - 2 Man + 1 GlcNac/Man(3) + 1 glc sur le GlcNac le plus proche de l'asparagine.
 - 5) Saccule TRANS : sur chaque GlcNac + 1 Gal; sur chaque Gal + 1 NANA (acide sianique : Acide N-acétyl Neuranimique)
- ⇒ Toutes ces réactions ne s'effectuent pas forcément :
- Quand elles s'effectuent toutes, on parle d'oligosaccharides complexes.
 - Il reste 2 Man sur l'oligosaccharide, il reste une seule branche sur laquelle on peut construire : oligosaccharide hybride.
 - Quand aucune réaction ne s'effectue, si elles restent dans le RE : oligosaccharide riche en mannose (oligomannosidique).

Il y a également des modifications des sucres au niveau des GSL et qu'il y a la glycosylation OG ?

Les différentes modifications de ces sucres peuvent donner des informations sur les oligosaccharides :

- Sucre riche en mannose, la protéine est résident du RE
- Sucre pauvre en mannose, la protéine a traversé au moins jusqu'au compartiment médian.
- Modifications plus complexes, la protéine est arrivée au compartiment trans.

4. RECEPTEUR AU KDEL :

Il existe des récepteurs spécifiques qui reconnaissent les protéines amenées par erreur dans un compartiment, le mieux caractérisé est le récepteur au KDEL qui ramène les protéines au RE.

Il reconnaît la séquence LYS-ASP-GLU-LEU.

On le trouve dans tous les saccules de l'AdG, ce qui va augmenter la probabilité de récupérer les protéines échappées du RE.

Les vésicules « remontent » l'AdG mais il se pourrait également que des vésicules chargées en KDEL et en protéines du RE retournent directement des faces TRANS de l'AdG vers le RE.

Par contre on sait que ces vésicules voyagent le long de microtubules entre l'AdG et le RE.

B) AU DELA DE L'APPAREIL DE GOLGI :

1. TRI MOLECULAIRE DANS LE RESEAU TRANS-GOLGIEN :

Une des fonctions du réseau trans-golgien est d'effectuer un tri moléculaire des protéines et des lipides vers la destination appropriée.

- La sécrétion constitutive, qui va vers la membrane plasmique sans aucun signal biologique particulier
- Vers les lysosomes
- Vers les grains de sécrétion

Ici, on est dans une cellule simple, dans certains types cellulaires, il existe des régions particulières de la membrane plasmique et des voies spécifiques pour aller vers chacun des domaines de la membrane plasmique, que ce soit la sécrétion constitutive ou les sécrétions régulées.

2. LES GRAINS DE SECRETION :

Ce sont les intermédiaires de la voie exocytose de sécrétion régulée.

On voit un grain de sécrétion en train de bourgeonner sur un réseau trans-golgien, on voit dessus des petites épines...c'est un manteau de clathrines en train de se former.

Le contenu de ces grains peut se condenser jusqu'à 200 fois environ pour donner quelque chose qui va être maintenant très dense.

Dans ces grains de sécrétion, on peut avoir des arrangements presque cristallins et des phénomènes de maturation des protéines.

On a couplé des billes d'or à un anticorps qui reconnaît un précurseur de l'insuline. Dans ces grains immatures, on a un précurseur de l'insuline.

Dans un grain mature, des billes d'or d'une taille différente qui reconnaissent l'insuline mature. Les grains de sécrétion ne contiennent plus que de l'insuline mature.

La fusion des grains de sécrétion va se faire avec la membrane plasmique, son contenu se dissout dans le milieu extérieur.

Cette dissolution ne se fait que sous l'influence d'une stimulation, la liaison d'un stimulateur à son récepteur, en raison d'une stimulation électrique de la cellule, ou autre.

On peut avoir des phénomènes de protéines complexes, par exemple la PRO-OPIOCORTINE qui est une protéine synthétisée dans l'hypophyse. Elle va subir différentes destinées en fonction de la région de l'hypophyse :

- Lobe antérieur : cortico-trophine (ACTH) et en β -lipotrophine
 - Lobe intermédiaire : α -MSH, γ -lipotrophine, β -MSH, β -endorphine.
- ⇒ Un seul précurseur donne des produits matures différents en fonction du découpage.

3. LA SECRETION CONSTITUTIVE :

Ou exocytose constitutive.

C'est une voie pour laquelle on n'a pas besoin de signal particulier pour la fusion de la vésicule avec la membrane plasmique.

Autrefois, on pensait que c'était une voie par défaut. On sait maintenant que pour entrer dans ces vésicules, les protéines ont besoin de signaux spécifiques.

C'est par cette voie d'exocytose constitutive que les lipides et les protéines de la membrane plasmique arrivent jusqu'à la membrane plasmique.

4. LE RECEPTEUR AU MANNOSE-6-PHOSPHATE :

Mène aux endosomes et aux lysosomes.

Au niveau de l'AdG-cis, on a modification du sucre à 9 mannoses par ajout à partir du DP-glc-nac de 2 groupements phosphate et d'un Glc-nac, ensuite on coupe au niveau du groupement phosphate, et on obtient un sucre avec du mannose et un phosphate en position 6.

Ce mannose-6-phosphate ou M6P n'est ajouté que sur certaines protéines reconnues par leur structure tridimensionnelle, leur structure particulière est nécessaire à leur modification.

Ce M6P va être reconnu par le récepteur au M6P au niveau du réseau trans-golgien.

Ce récepteur et son chargement vont être inclus dans les vésicules qui bourgeonnent à partir du réseau trans-golgien grâce à de la clathrine.

Ces vésicules vont venir fusionner avec l'endosome tardif.

Sur la membrane de l'endosome tardif, on a une pompe à protons. Qui dit plus de protons dit pH acide (<5), au pH acide le M6P n'est plus reconnu par son récepteur.

Les protéines porteuses de M6P vont se dissocier de leur récepteur et vont être séparées de leur phosphate, de cette façon elles ne pourront plus jamais se relier au récepteur.

Le récepteur vide est recyclé vers le réseau trans-golgien par une nouvelle vésicule pour être réutilisé.

5. TRI DANS LES CELLULES POLARISEES :

Les cellules polarisées ont des domaines différents sur leur membrane plasmique.

- Un domaine équivalent à une membrane plasmique classique appelé domaine baso-latéral, il est au contact du milieu intérieur.
- Un domaine spécialisé appelé domaine apical, il fait face à la lumière de l'organe.

Ces domaines sont séparés par une structure appelée jonction serrée et ont des compositions en protéines et en lipides différentes, ceci peut être vu par exemple lors de l'infection de ces cellules par un virus.

Ici, on a une cellule épithéliale de rein qui a été infectée par le virus de la grippe. C'est un virus qui se forme uniquement à partir du domaine apical, sur le domaine basolatéral il n'y a donc aucune particule virale.

D'autres virus vont venir s'assembler sur le domaine basolatéral, le virus de la stomatite vésiculeuse par exemple.

Si ces virus viennent bourgeonner à partir d'un domaine spécifique, c'est parce que les protéines de leur membrane ont été transportés vers ce domaine et non pas vers l'autre.

D'une façon générale, il existe dans les cellules polarisées, une voie qui va directement du réseau trans-golgien vers le DOMAINE APICAL de la membrane plasmique.

Les signaux qui peuvent recruter des protéines dans cette voie sont de différents types :

- Présence d'une ancre glypiée sur la protéine
- Carbohydrates (glucose) N ou O-liés, un peptide
- Dans le domaine transmembranaire, dans la partie cytoplasmique ou dans la partie exoplasmique.

Les signaux sont donc divers et variés mais permettent tous à une protéine d'être transportée vers le domaine spécialisé de la membrane plasmique.

Les vésicules qui permettent le transport dans ces voies sont des vésicules formées grâce à la CAVEOLINE.

Et on a déjà vu que les protéines glypiées interagissent facilement avec les régions riches en cavéoline, dans le cas de signaux cytoplasmiques, on sait que certaines de ces signaux peuvent interagir avec le cytosquelette.

Les protéines destinées au DOMAINE BASOLATERAL sont également sélectionnées de façon positive. Ces signaux sont d'une façon générale des peptides plus ou moins modifiés très proches des signaux d'endocytose.

Ce sont dans l'ensemble des petits peptides situés sur le domaine transmembranaire.

Les vésicules destinées au domaine basolatéral, comme les vésicules de la sécrétion constitutive, se forment grâce à des manteaux que l'on cherche à identifier.

Par ailleurs, dans CERTAINES CELLULES EPITHELIALES, les protéines destinées au domaine apical suivent un chemin plus compliqué puisqu'elles suivent la voie qui les emmène vers le domaine basolatéral puis elles sont transportées vers le domaine apical.

Ce type de mécanisme en deux temps fonctionne pour les constituants membranaires mais ne peut pas fonctionner pour les grains de sécrétion puisqu'une fois qu'il a fusionné, son contenu est déversé en dehors de la cellule et ne peut être récupéré.

Donc les granules sont toujours fusionnés avec le domaine où leur contenu va agir.

→ Par exemple, les cellules du pancréas exocrine de cobaye : les enzymes pancréatiques vont être déversées dans la lumière des canalicules pancréatiques et vont ensuite agir au niveau du tube digestif. Les grains de sécrétion du pancréas de cobaye fusionnent donc avec le domaine apical.

→ Par contre, dans les cellules de la thyroïde, les grains de sécrétion qui contiennent de l'hormone thyroïdienne vont être fusionnés avec le domaine basolatéral pour être déversées directement dans le milieu intérieur.

6. LE TRANSPORT AXONAL :

Le neurone comporte aussi deux domaines.

- La membrane du corps cellulaire et des dendrites présente des analogies avec le domaine basolatéral des cellules épithéliales.
- La membrane de l'axone va présenter des analogies avec le domaine apical des cellules épithéliales

Les mécanismes de tri à l'intérieur du neurone vont beaucoup ressembler au mécanisme de tri à l'intérieur des cellules épithéliales.

Le matériel va être transporté le long de MICROTUBULES à l'intérieur de l'axone.

Dans le sens corps cellulaire -> terminaison synaptique :

- Kinésine,
 - Transport antérograde
 - Forme rapide : 3-4,5 $\mu\text{m/s}$ (25-40 cm/j)
 - RE vésicules et granules.
- ⇒ Au bout du MT, les vésicules quittent le MT et passent sur le MFA et vont ensuite fusionner avec la membrane de la terminaison synaptique.

Terminaison synaptique -> corps cellulaire :

- Dynéine
- Transport rétrograde
- Forme rapide 1,5-2,5 μ m/s (10-20 cm/j)
- Structures pré-lysosomiales (variante des structures endosomiales)

Transports axonaux lents : transportent des éléments du cytosquelette, on ne connaît pas leur mécanisme.

C) L'EXOCYTOSE REGULEE :

On a parlé des grains de sécrétion, qui concerne les protéines solubles et les protéines ou lipides membranaires nouvellement synthétisés.

1. MISE EN RESERVE :

Ce peut être également des éléments mis en réserve après internalisation. Elle peut concerner certains récepteurs et certains transporteurs.

Il existe des moments où la cellule n'a plus besoin d'autant de transporteur x à sa surface, plutôt que de le détruire, elle l'internalise et le met en réserve.

Lorsque le besoin de ce transporteur à la surface va se faire sentir, il y aura un signal qui permettra la fusion de cette vésicule de réserve au niveau de la membrane plasmique : endocytose, exocytose au niveau de la membrane plasmique.

Quelque soit le type d'exocytose régulée, les mécanismes sont très similaires, on a besoin d'un signal pour qu'elle se fasse.

2. LES VESICULES SYNAPTIQUES :

Cas particulier d'exocytose régulée.

Les protéines des vésicules synaptiques ont été synthétisées au niveau du REG, sont transportées le long de l'axone vers la terminaison synaptique où elles vont fusionner avec la membrane synaptique.

La protéine va se retrouver sur la membrane.

A partir de cette membrane, elle pourra à nouveau être internalisée.

Il y a un type particulièrement important de protéine pour la cellule : les pompes à neurotransmetteurs, capables de pomper du neurotransmetteur à l'intérieur de la vésicule.

Sous l'influence d'un signal électrique, la vésicule synaptique va fusionner avec la membrane, le neurotransmetteur va être libéré dans la synapse et agir sur la cellule voisine.

Les protéines membranaires et en particulier les pompes à neurotransmetteurs vont être ré-internalisées et renvoyées sous forme de vésicules synaptiques pour se re-remplir en neurotransmetteurs.

Ce mécanisme permet de recycler de façon efficace les protéines de la terminaison synaptique qui ont été coupées à synthétiser ET à transporter.

III. ENDOCYTOSE :

Le terme endocytose est très général. Tous les processus d'internalisation sont regroupés sous ce terme.

A) LA PINOCYTOSE :

Vient du mot grec pour boire, c'est l'internalisation de liquide. Elle se fait par des vésicules.

Pour beaucoup de types cellulaires, la pinocytose est le seul type d'endocytose.

C'est un phénomène très rapide :

→ On a permis à des fibroblastes d'internaliser des enzymes qui par un processus histochimique font un précipité noir pendant 3 minutes, on a déjà d'assez grosses vacuoles atteintes par l'enzyme.
Au bout de 2 heures, (on a utilisé de la ferritine) on voit que ces particules sont venues s'accumuler dans des structures très denses (lysosomes) ou des structures presque vides (endosomes).

Le processus d'endocytose s'effectue par l'intermédiaire des PUIITS RECOUVERTS DE CLATHRINE mais aussi par l'intermédiaire de CAVEOLES ou d'autres types de vésicules dont on n'a pas forcément identifié le mécanisme de formation. La pinocytose que l'on connaît le mieux est celle qui se fait par l'intermédiaire des puits recouverts de clathrine.

Si la vésicule contient du liquide extracellulaire ingéré de façon complètement non-sélective.

On va parler d'ENDOCYTOSE EN PHASE FLUIDE pour décrire ce qui a été internalisé simplement parce qu'il était dans le milieu dans lequel baigne la cellule.

Sur la membrane de la vésicule on va également avoir des récepteurs qui eux auront lié un certain nombre de substances spécifiques : on parle d'ENDOCYTOSE PAR L'INTERMEDIAIRE DE RECEPTEURS pour les substances endocytées de cette manière.

Elles ne seront internalisées que si le récepteur est présent dans le puits recouvert de clathrine et que si la cellule qui l'internalise possède ce récepteur.

On a vu qu'on avait une dénudation de la vésicule très rapidement après qu'elle se soit détachée de la membrane plasmique. La vésicule dénudée va alors fusionner avec une structure que l'on appelle ENDOSOME PRECOCE.

B) LES ENDOSOMES PRECOCES :

Sur la membrane des endosomes précoces, il existe une pompe à protons, c'est la même pompe que sur la membrane de l'endosome tardif.

Cette pompe va abaisser le pH à l'intérieur de l'endosome précoce, provoquer une dissociation entre le récepteur et son ligand.

Le ligand continue son chemin jusqu'au lysosome et le récepteur va être renvoyé à la surface de la cellule pour être réutilisé.

1. TRI ET RECYCLAGE – LES RECEPTEURS β -ADRENERGIQUES :

Nous avons un certain nombre de variantes à ce cycle.

Un certain nombre de récepteurs après internalisation peuvent relarguer leur substance toute suite après l'interaction et subir une étape de phosphorylation après avoir relargué leur liquide.

Cette phosphorylation va leur permettre d'être internalisés dans une vésicule et envoyés dans des vésicules de réserve où ils vont être stockés.

Ceci va permettre de diminuer la quantité de récepteurs à la surface et donc diminuer la sensibilité de la cellule au récepteur, on parle d'une DESENSIBILISATION ou d'une REGULATION NEGATIVE DU RECEPTEUR.

Au bout d'un certain temps, quand on a de nouveau besoin du récepteur, les vésicules de stockage vont fusionner avec la membrane plasmique sous l'influence d'un signal.

2. LE RECEPTEUR A L'EGF :

Certains récepteurs à des facteurs de croissance, comme le récepteur à l'EGF, ne sont pas normalement présents dans les puits recouverts de clathrines.

Mais lorsqu'un récepteur s'associe à l'EGF, il se rend au niveau du puits recouvert.

Il est internalisé et au niveau de l'endosome précoce :

- 50% du récepteur va se dissocier de son ligand et retourner à la membrane plasmique
- 50% du récepteur va rester associé à son ligand. Ces derniers 50% seront envoyés dans les lysosomes et détruits en même temps que leur ligand.

Comme l'endocytose et le recyclage sont des phénomènes rapides, en quelques minutes, tout le récepteur à l'EGF sera détruit.

Il faudra attendre que la cellule ait à nouveau synthétisé des récepteurs pour qu'elle puisse à nouveau répondre à l'EGF.

Ceci est important parce que les signaux donnés par les facteurs de croissance sont des signaux très puissants de prolifération cellulaire et une mauvaise gestion de ces signaux ou un signal inadapté peut conduire à la cancérisation des cellules.

Cette destruction des récepteurs correspond à un phénomène de régulation négative des récepteurs.

3. LE RECEPTEUR AU LDL :

Low Density Lipoprotein, elles transportent le cholestérol dans le sang.

- Au centre, on trouve des esters de cholestérol, qui sont des molécules très hydrophobes.
- Autour, on va avoir une monocouche de phospholipides et de cholestérol qui sont des molécules amphiphiles. La partie hydrophile interagit avec l'eau et permet sa solubilisation.
- Les LDL contiennent une protéine qui organise la particule et cette protéine est reconnue par le récepteur au LDL (il reconnaît un morceau de la protéine).

Le LDL et son récepteur sont internalisés dans une vésicule, elle se dévêt, va dans l'endosome précoce où le LDL et son récepteur se dissocient, le récepteur retourne à la membrane.

Le LDL poursuit son chemin jusqu'au lysosome où il sera dégradé en cholestérol et des acides gras. Ce cholestérol et ces AG vont sortir du lysosome pour être utilisés par la cellule pour synthétiser des nouvelles membranes.

La concentration en cholestérol libre va contrôler :

- La synthèse d'endogènes de cholestérol. Si on n'a pas assez de cholestérol, la cellule doit en fabriquer
- La synthèse du récepteur au LDL. Si on n'a pas assez de cholestérol, ça veut dire qu'on n'a pas internalisé assez de LDL => il faut mettre plus de récepteurs à la surface.

Il existe une maladie génétique très grave : l'hypercholestérolémie familiale.

Dans cette maladie, le taux de cholestérol sanguin est très supérieur à la normale.

Cette maladie est autosomique dominante, c'est-à-dire que :

- Si on a un exemplaire du gène codant pour le récepteur qui est déficient, on a la maladie
- Si les deux gènes sont déficients, on a une forme très grave de la maladie qui donne une artériosclérose avant l'âge de 20 ans avec des infarctus du myocarde qui parfois se produisent dès l'âge de 2 ans.

C'est une maladie rare, puisque les hétérozygotes : 1/500 et les homozygotes : 1/250 000.

La maladie peut être provoquée par trois types de mutation sur le récepteur au LDL :

- Pas de récepteur
- Le récepteur est présent mais il est incapable de lier les LDL
- Le récepteur est présent, il lie le LDL mais il n'est pas reconnu par les adaptines => même lorsqu'il lie du LDL il reste en dehors du puits recouvert de clathrine et n'est pas internalisé. Le LDL s'accumule donc dans le milieu extérieur.

4. LE RECEPTEUR A LA TRANSFERRINE :

La transferrine est une protéine qui sert à transporter le fer.

La FERROTRANSFERRINE est la transferrine associée à 3 ions Fe³⁺.

A pH alcalin : la ferrotransferrine est affinité à son récepteur.

La ferrotransferrine et son récepteur vont être internalisés dans la cellule.

Une fois dans l'endosome précoce, à pH=5, la ferrotransferrine n'est plus affinité pour le fer.

Les 3 ions Fe³⁺ vont se détacher, on se retrouve avec l'APOTRANSFERRINE, qui est la protéine seule.

L'apotransferrine reste associée à son récepteur, à pH acide, le récepteur reconnaît l'apotransferrine.

Elle va être retransportée sur la membrane plasmique où le récepteur et l'apotransferrine seront exposés à pH alcalin. A ce pH le récepteur ne reconnaît plus l'apotransferrine qui se détache.

Dans le milieu extracellulaire elle va se recharger en fer.

C) LES ENDOSOMES TARDIFS :

A partir de l'endosome précoce, on va avoir un transport vers l'endosome tardif.

On est sûr qu'il y a un transport par l'intermédiaire de vésicules, ce qui ne veut pas dire qu'il n'y a pas de temps à temps de maturation de l'endosome précoce en endosome tardif.

Les endosomes tardifs fusionnent avec les vésicules qui contiennent le récepteur au M6P venant de l'AdG.

Dans l'endosome tardif qui est toujours à pH acide, on va avoir libération par le récepteur au M6P de son ligand qui va rester dans la lumière de l'endosome tardif.

Le récepteur va être renvoyé vers l'Adg, quand il n'y a PLUS DE RECEPTEUR, on parle de lysosome.

D) LES LYSOSOMES :

1. FONCTIONNEMENT NORMAL :

Le lysosome est un organite extrêmement important dans la cellule.

Il a à l'intérieur un $\text{pH} < 5$ et comporte une pompe à protons à la surface de sa membrane.

Ce pH est proche du pH optimum de très nombreuses hydrolases (enzymes de dégradation):

- Protéases
- Nucléases
- Lipases
- Phospholipases
- Sulfatases
- Glucosylases
- Mais PAS de kinases (!)

Ces lysosomes peuvent dégrader en leurs éléments constitutifs à peu près n'importe quelle structure biologique. On va obtenir des sucres, des acides aminés, des acides gras qui vont pouvoir être réutilisés par la cellule.

Ces enzymes sont des enzymes extrêmement puissantes qui doivent être contenues séparément du reste de la cellule. La membrane du lysosome est donc particulière et résiste à l'action de ces hydrolases.

Si la membrane venait à rompre, les enzymes se retrouveraient immédiatement à pH neutre ou légèrement alcalin, et seraient inactivées immédiatement.

2. LES MALADIES DE SURCHARGE :

Elles sont dues au fait que certains éléments ne vont pas pouvoir être dégradés dans le lysosome et s'y accumuler.

Le lysosome va grossir, la cellule va se remplir de lysosomes et souffrir.

Ces maladies de surcharge sont d'origine génétique : maladies autosomiques récessives ou liées à l'X.

Ces maladies sont très rares et ont deux types de causes :

Système du récepteur au M6P qui n'est pas fonctionnel : mucopolysaccharidose de type 2 :

Il n'y a pas ajout de M6P aux enzymes du lysosome, elles ne sont donc pas reconnues par le M6P-R et pas transportées dans le lysosome.

Il y a donc accumulation de beaucoup de composés qui ne peuvent pas être dégradés (étant donné l'absence d'enzymes nécessaires).

Comme il y a quand même une voie de transport, de temps en temps des enzymes lysosomiales arrivent au niveau du lysosome donc certains patients atteignent l'âge adulte.

Frein mental et anomalies de développement.

Lorsqu'une seule enzyme qui est génétiquement absente : Maladie de Fabry et de Tay-Sachs :

Le substrat de cette enzyme et uniquement lui qui s'accumule.

Maladie de Fabry :

C'est une maladie liée à l'X.

-Les hommes qui sont porteurs d'un chromosome X où il n'y a pas l'enzyme vont exprimer la maladie.

Opacité cornéenne, problèmes rénaux et vasculaires.

Les hommes meurent vers 40-50 ans.

-Les femmes ont un chromosome X malade et un chromosome X sain.

Si c'est surtout le chromosome X qui fonctionne, elle sera normale.

Si c'est surtout le chromosome X atteint qui fonctionne, elle peut avoir des symptômes presque aussi sévères que ceux d'un homme.

Dans l'œil en particulier, on peut avoir des tâches qui correspondent aux régions où c'est le chromosome X atteint qui fonctionne.

Maladie de Tay-Sachs :

Maladie autosomique récessive.

Dans cette maladie, c'est une glycosidase qui agit sur un GSL du cerveau.

Comme cette enzyme n'agit pas, le GSL s'accumule dans le cytoplasme des neurones

Retard mental qui débute vers l'âge de 6 mois et qui va en s'aggravant vers la mort qui survient entre 2 et 4 ans.

Cette maladie donne un avantage sélectif à l'hétérozygote : dans certaines conditions de vie, si on est TS/normal, on survit mieux que si on est normal/normal.

C'est probablement un problème de maladie infectieuse et de résistance à la tuberculose.

Il y a eu apparition du chromosome de TS dans une population bien déterminée et sélection de l'ADN de TS dans cette population. Puisque c'est une population bien déterminée, on a pu proposer un dépistage génétique à tous les descendants, on connaît tous les porteurs de l'allèle de TS.

Malheureusement, parce que ce GSL s'accumule dans le cerveau, les approches de thérapie ne sont pas envisageables.

E) LA PHAGOCYTOSE :

Vient du mot grec pour manger. Correspond à l'endocytose de particules grosses à l'échelle de la cellule :

- Bactéries
- Particules de Zn
- Particules de C
- D'autres cellules
- Un polynucléaire

La phagocytose se produit par un processus qui déforme la membrane plasmique, on a assemblage sous la membrane plasmique de MFactine qui vont pousser la membrane plasmique le long de la particule à ingérer (comme une seconde peau.)

Une fois que la particule est complètement enveloppée, on obtient un PHAGOSOME = particule enveloppée d'une membrane.

Ce phagosome va fusionner avec un LYSOSOME PRIMAIRE, c'est un dire un lysosome plein d'enzymes lysosomiales prêtes à agir.

Le résultat de cette fusion est un LYSOSOME SECONDAIRE dans lequel la particule internalisée va être détruite.

C'est la phagocytose qui nous permet de contrôler les infections bactériennes à leur début et d'éliminer les cellules mortes de l'organisme.

Certaines bactéries comme celles de la lèpre ou de la tuberculose s'arrangent pour ne pas être détruites au niveau du lysosome mais pour se multiplier dans le phagosome.

Dans la cellule, il existe un autre processus : l'AUTOPHAGIE, au cours duquel un morceau de cytoplasme ou un organe (ici, mitochondrie) va se faire envelopper par des membranes qui proviennent du RE.

On obtient ensuite une vésicule à double membrane : AUTOPHAGOSOME dont le devenir est similaire à celui du phagosome. Cela permet d'éliminer les organites sénescents ou dont on n'a plus besoin en fonction des conditions physiologiques de la cellule.

F) LA TRANSCYTOSE :

Elle est effectuée par les cellules épithéliales.

Elles ont deux domaines séparés par la jonction serrée. On peut avoir de l'endocytose à partir de chacun des domaines.

A partir du domaine apical => Endosome précoce apical

A partir du domaine basolatéral => Endosome précoce basolatéral.

A partir de ces endosomes, on a recyclage vers le domaine de provenance.

On a également transport vers l'endosome tardif commun aux deux domaines, et à partir de l'endosome tardif (le compartiment endosomal tardif), on va aboutir aux lysosomes aussi communs aux deux domaines.

On a également une voie supplémentaire appelée TRANSCYTOSE où à partir de l'endosome précoce, on a transport vers le domaine opposé.

Cette transcytose permet le transport de macromolécules trop grosses pour être transportées par les transporteurs vus dans la suite du cours.

Dans l'intestin grêle, on a des anticorps qui vont être transcités pour se retrouver dans la lumière du tube digestif.
Dans le rein, on aura des protéines transportées vers le domaine basolatéral pour être récupérées.
Il existe des pathogènes capables d'exploiter ces voies de transport pour pénétrer la cellule.

*Ce document, ainsi que l'intégralité des cours de P1, sont disponibles gratuitement à l'adresse suivante :
<http://coursp1bichat-lariboisiere.weebly.com/>*

<http://coursp1bichat-lariboisiere.weebly.com/>