

TRAFIC MEMBRANAIRE

Le trafic membranaire est l'ensemble des phénomènes permettant à une cellule d'envoyer du matériel d'un compartiment membranaire à un autre. Le transfert s'effectue entre deux membranes ou entre deux lumières cellulaires grâce à des membranes ou à des vésicules qui se forment, on dit qu'elles bourgeonnent. On distingue deux voies :

- le trafic par exocytose : il démarre au niveau du RE, il passe par l'appareil de Golgi et le traverse de saccules en saccules puis à partir de la face trans de l'appareil de Golgi, on va vers :

- la membrane plasmique (exocytose constitutive)
- les endosomes et lysosomes
- les grains de sécrétion (exocytose régulée)

- le trafic par endocytose : il démarre au niveau de la membrane plasmique et aboutit dans les lysosomes (internalisation)

I. LES MECANISMES DU TRANSPORT

Les vésicules bourgeonnent à partir d'un compartiment donneur, se détachent, puis vont aller fusionner avec un compartiment accepteur.

Elles sont en général transportées le long du cytosquelette et ne se déplacent pas au hasard. La fusion des vésicules avec le compartiment accepteur est catalysée par une machinerie protéique complexe.

1) Bourgeonnement

Pour qu'il y ait un transport par l'intermédiaire de vésicules, il faut qu'elles se forment. La cellule utilise des manteaux cytoplasmiques (manteau à la face cytosolique de la vésicule). Les protéines membranaires sont incorporées dans les vésicules du fait de leur interaction avec le manteau. Après le transport, le manteau est désassemblé puis recyclé.

Les protéines solubles dans la lumière du compartiment sont naturellement mises dans la vésicule qui bourgeonne mais à concentration faible pour une protéine donnée.

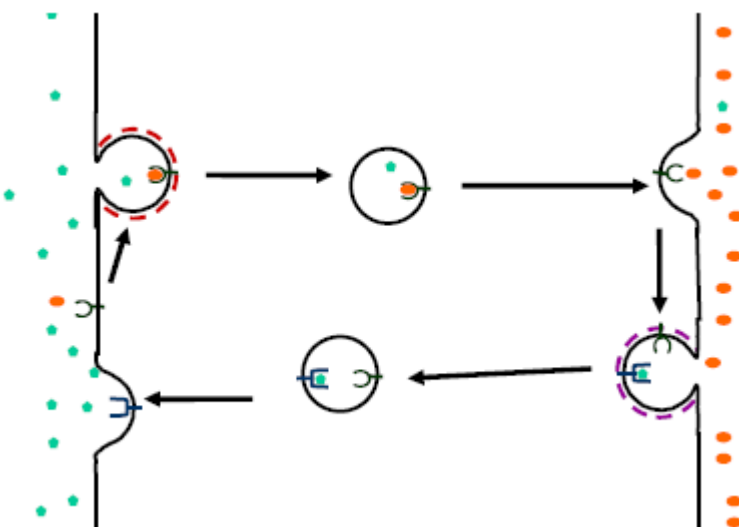
Dans de nombreux cas, des protéines solubles seront capturées par des récepteurs membranaires qui les emmènent avec eux dans la vésicule.

⇒ Mécanisme de reconnaissance et vérification pour que la vésicule n'aille pas vers n'importe quel compartiment (attachement spécifique).

Pendant le transport, le ligand reste associé à son récepteur. Après la fusion, les protéines solubles se détachent du récepteur pour gagner la lumière du compartiment accepteur alors

que les récepteurs seront recyclés pour un second tour.

Des protéines solubles du compartiment donneur qui auraient dû y rester peuvent être piégées dans des vésicules puis dans le compartiment accepteur.



Il existe des systèmes de récupération ou de sauvegarde pour les molécules captées « par hasard ».

Ce sont des récepteurs de récupération qui capturent ces protéines solubles. Elles vont alors être redirigées vers leur compartiment via d'autres vésicules.

On distingue différents types de manteaux cytoplasmiques autour des vésicules.

a) Les manteaux de clathrines

C'est le 1^{er} manteau découvert car il est très visible en ME. Il intervient dans certains transports à la sortie de l'appareil de Golgi et dans certaines voies de l'endocytose.

L'observation se fait en MO grâce aux billes d'or colloïdal qui se positionnent entre la vésicule et le manteau de clathrine.

La *clathrine*, complexe protéique à 3 jambes (= triskèle) est le composant majeur de ce manteau permettant la formation de la vésicule.

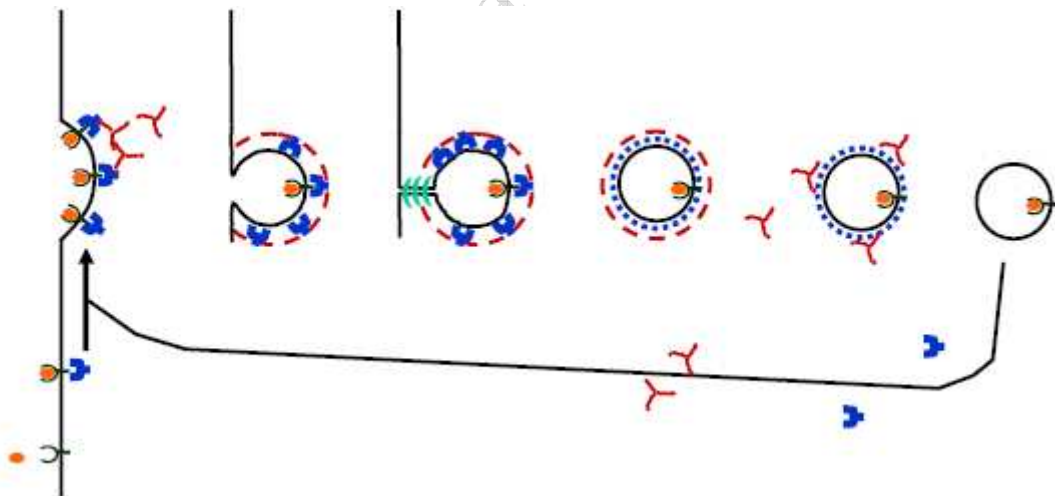
Les triskèles s'assemblent spontanément pour former un réseau hexagonal plan.

Des pentagones permettent de courber le réseau afin de former une cage (petite bosse) qui lorsqu'elle sera complètement fermée aboutira à une vésicule.

En fait, la clathrine n'interagit pas directement avec les protéines transmembranaires de la membrane du compartiment donneur (= récepteurs membranaires).

Ce sont des *adaptines* qui vont réagir avec les récepteurs membranaires d'un côté et qui vont fixer la clathrine de l'autre.

Le signal reconnu par l'adaptine est différent selon les adaptines et selon la localisation : les vésicules recouvertes de clathrines sont donc sélectives grâce aux adaptines ; leur contenu est donc différent.



Certaines adaptines seront spécifiques du réseau trans golgien alors que d'autres seront spécifiques des puits recouverts de la membrane plasmique.

L'adaptine interagit avec la clathrine lors de la formation de la cage, les récepteurs sont tirés dans la cage avec la bicouche lipidique.

On suppose que la vésicule se ferme avec l'aide d'une protéine, la *dynamine* qui se place au cou de la vésicule. La dynamine présente une activité GTPase qui permet la fermeture. Il existe deux théories :

-Soit, la dynamine est une mécano-enzyme qui utilise du GTP et en agirait soit en étirant ou en pinçant le cou de la vésicule

-Soit la dynamine est une petite protéine G associée à l'enzyme mécanique.

Une fois que la vésicule s'est détachée, il y a une perte des triskèles et des adaptines qui seront recyclées pour un 2nd tour : c'est la dénudation de la vésicule.

b) Les manteaux de COP

Le manteau de coatomères (ou COP) se forme grâce à la protéine ARF. La formation de ce type de vésicules est permise par les complexes protéiques COP.

On distingue différents manteaux.

- COP II et COP I

Les manteaux de COP II et COP I ont la même morphologie

COP II agit avant (au niveau du RE et entre le RE et le Golgi) et est constitué des complexes sec23/sec24 et sec13/sec31.

COP I bien que découvert en 1^{er}, agit après (dans l'appareil de Golgi) et est formé par un coatomère de 7 sous-unités α , β , β' , γ , δ , ζ , ϵ .

- ARF et protéines apparentées

ARF sont des protéines G monomérique. Elles existent sous forme inactive liée au GDP et sous une forme active associée au GTP. C'est grâce à l'action du GEF (G exchange factor), que les protéines ARF échangent leur GDP contre du GTP.

ARF présente un acide gras : celui-ci est caché en présence du GDP (ARF est alors soluble), mais exposé lorsque ARF lie du GTP (ARF est alors ancré à la membrane).

Assemblage du manteau de COP II :

Sur la membrane, il y a présence de la GNRP (GEF) Sec12 qui favorise le relargage des nucléotides à Guanine. Sar1 est une petite protéine G active sous forme GTP et inactive sous forme GDP,

Sous l'action de Sec12, Sar1 relargue son GDP et reçoit du GTP. Sar 1-GTP va alors exposer un acide gras à sa surface, qui était caché lorsque sous forme GDP.

⇒ Ancrage de Sar1 à la membrane.

Sar 1, ancrée à la membrane, permet :

⇒ Recrutement du complexe Sec23/Sec24 : ce dernier recrute via des protéines cytosoliques, des protéines transmembranaires qui seront incorporées dans la vésicule.

⇒ Recrutement de Sec13/sec31 : qui renforce la coque protéique en se fixant sur sec23/sec24



On observe sec13/sec31 sur des vésicules déjà formées ; on observe sec23/sec24 sur des vésicules en formation.

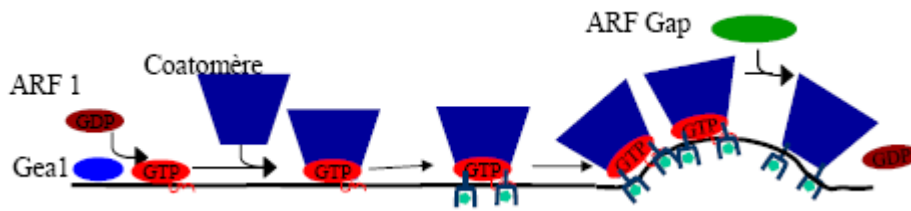
Une fois la vésicule détachée, le manteau se maintient un moment puis se détache à son tour.

Assemblage du manteau de COP I :

Sur la membrane, Gnrp = Gea1 ; Arf 1 = petite protéine G (soluble dans sa forme inactive (GDP), ancrée à la membrane dans sa forme active (liée au GTP)).

Gea1 stimule ARF1, qui va lier le GTP pour exposer son acide gras.

- ⇒ Ancrage de Arf1 à la membrane.
- ⇒ Recrutement d'un unique et gros complexe, le coatomère (provoquant une courbure sur la membrane : la vésicule se forme progressivement puis se détache). ARF1 et le coatomère vont recruter des protéines membranaires dans la vésicule.



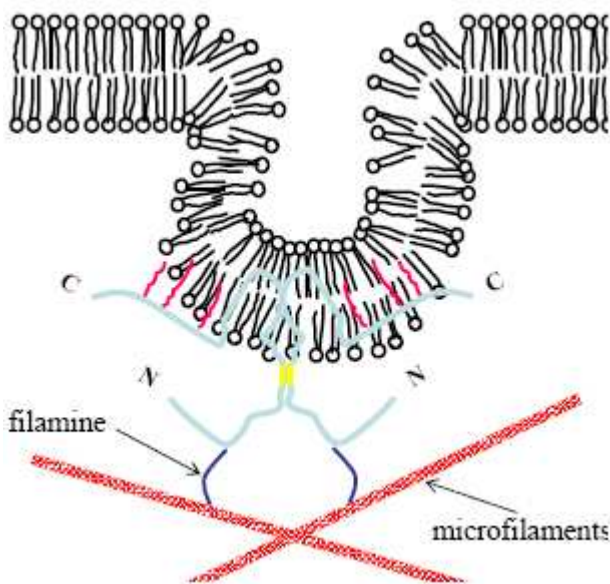
Une fois que la vésicule a bourgeonné, ARF Gap vient stimuler l'hydrolyse de GTP en GDP de ARF1.

ARF1 devient donc sous forme inactive et se détache de la vésicule cependant le coatomère reste associé à la vésicule.

Le manteau de COP I se désassemble rapidement ou au contraire au dernier moment avant la fusion.

c) Les manteaux de cavéoline

Contrairement aux protéines des autres manteaux, la cavéoline n'est pas une protéine soluble mais une protéine membranaire. La cavéoline est responsable de la formation de vésicules dans la membrane qui sont de petites structures en forme de fioles : les cavéoles.



Les cavéoles sont très abondantes dans les cellules endothéliales, cellules qui bordent les vaisseaux sanguins.

C'est une protéine qui fait des boucles dans la membrane sans la traverser (structure en épingle à cheveux à 2 domaines). Elle comporte des acides gras (acides palmitique) qui renforcent son interaction avec la membrane et des cystéines lui permettant de se dimériser. De plus, la cavéoline peut interagir avec les microfilaments d'actine via la filamine.

Les régions riches en cavéolines sont aussi enrichies en glycosphingolipides, en protéines glypiées et en protéines ancrées par un acide gras (ou un autre groupement lipidique).

Il existe donc une composition protéique et lipidique particulière à ce niveau.

2) Reconnaissance et attachement

a) Les protéines Rab

Les protéines Rab ont un rôle essentiel pour le contrôle de la spécificité du trafic puisqu'elles renforcent la vérification du contenu des vésicules.

Ce sont de petites protéines G monomériques de la même famille que Ras. Lorsqu'elles sont liées au GDP, elles sont solubles dans le cytosol.

Soluble, les protéines Rab peuvent être piégées par des protéines GDI (Guanine Dissociation Inhibiteur) les empêchant de perdre leur GDP.

Sur la membrane, une GEF permet à Rab d'échanger le GDP pour du GTP afin d'exposer son lipide et de s'ancrer à la membrane.

On connaît plus de 60 protéines Rab différentes intervenant à des différentes étapes du trafic membranaire :

- Rab 1 et 2 : entre le RE et l'Appareil de Golgi.
- Rab 6 : dans l'appareil de Golgi.
- Rab 10 : dans le réseau transgolgien.
- Rab 3 : dans la sécrétion régulée.
- Rab 4/5 : dans les endosomes
- Rab 7 : dans l'endosome tardif...

b) Les facteurs d'attachement

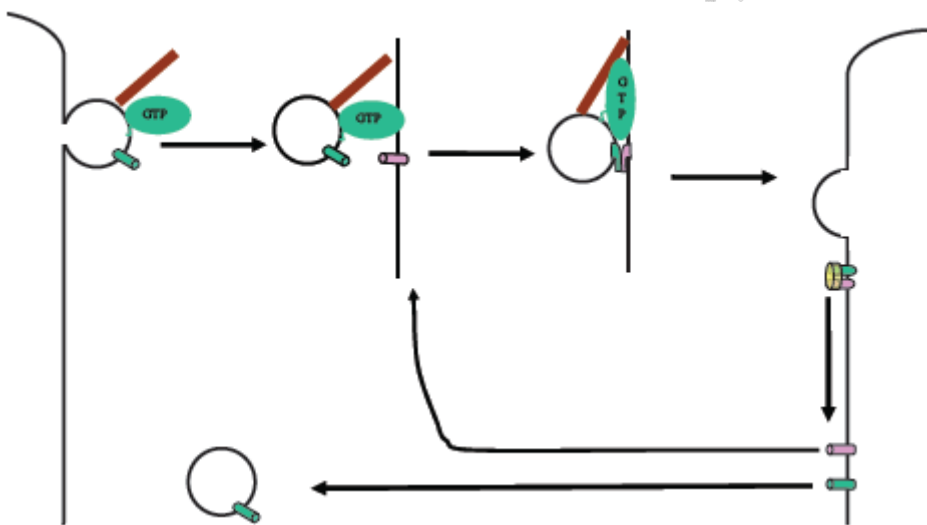
On les trouve sur la vésicule. Ce sont généralement des complexes multimoléculaires. Ils permettent l'attachement de la vésicule à la membrane cible.

La reconnaissance fait intervenir des protéines Rab qui vérifie que le complexe d'attachement de la vésicule correspond au bon complexe d'attachement côté vésicule.

3) Fusion membranaire

Fusion : mélange entre deux membranes biologiques (pas de hasard).

La vésicule emmène une protéine v-SNARE (v pour vésicule) avec elle. Les v-SNARE interagissent avec des t-SNARE (t pour « target » =cible), située sur la membrane cible, de façon étroite pour entraîner la fusion membranaire.



Après la fusion, il faut que le complexe soit dissocié : t-SNARE doit rester sur la membrane cible, v-SNARE doit repartir vers la membrane du compartiment donneur. L'énergie nécessaire à la dissociation est fournie par NSF qui hydrolyse l'ATP : $ATP \rightarrow ADP + P_i$. La protéine qui disjoints les SNARE est la protéine SNAP.

La formation du complexe SNARE est souvent suffisante pour l'attachement de la vésicule à la membrane du compartiment donneur. Le calcium est lui indispensable à la fusion membranaire en servant de pont électrostatique entre les membranes ou d'activateur de protéine.

Au cours de la fusion membranaire, la typologie membranaire est conservée : les feuillet cytoplasmiques restent cytoplasmiques et les feuillet exoplasmiques le sont toujours. Dans la vésicule, la face exoplasmique est du côté de la lumière tandis que la face cytoplasmique est toujours du côté cytosolique.

II. LA VOIE D'EXOCYTOSE-SECRETION

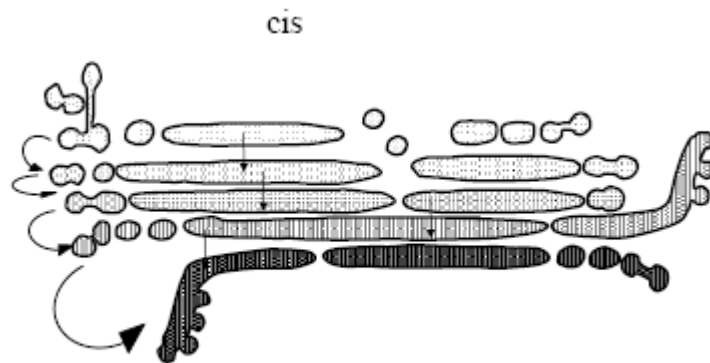
1) Transport RE/Appareil de Golgi

a) Organisation de l'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi correspond à l'empilement de 3 à 30 saccules autour desquelles on trouve des vésicules. Les saccules sont identifiées : elles ont des compositions lipidiques et protéiques particulières. Chaque saccule contient des enzymes différentes mises en évidence par des réactions biochimiques. Les protéines de chaque saccule restent là où il faut grâce à des signaux spécifiques.

Il est polarisé : la face CIS vers le RE, la face TRANS du côté opposé.

La face trans est composée d'un réseau de tubules interconnectés, le réseau trans-golgien, qui est la station de tri moléculaire.



Réseau trans-golgien

Dans l'app. de Golgi, on trouve des vésicules souvent porteuses de manteau de COP I avec des mouvements :

- de la face cis vers trans (transport de matériel rapide)
- de la face trans vers cis (recyclage de la machinerie de transport, ramener les protéines égarées)

Par ailleurs, il existe aussi un mouvement progressif des saccules qui se déplacent (saccule cis devient médian puis devient trans) pour le transport d'éléments trop gros pour les vésicules.

b) Éléments de transition

Il s'agit d'un domaine de transition dans le RE où il y a des régions rugueuses (recouvertes de ribosomes) et des régions lisses.

Les vésicules y bourgeonnent grâce aux manteaux de COP II, puis sont tassés entre le RE et l'appareil de Golgi : il s'agit du compartiment intermédiaire (VTC)

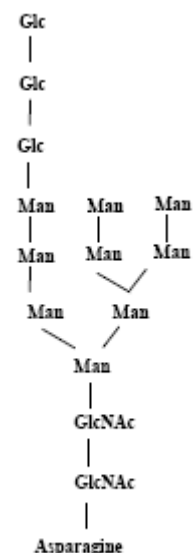
Ces vésicules vont ensuite rentrer dans l'appareil de Golgi.

c) Glycosylation

Les protéines qui entrent dans le RE, sont synthétisées par des ribosomes liés. Il peut y avoir sur cet protéine un ajout d'oligosaccharide qui comprend : 2 N-Acétylglucosamines (GlcNAc) + 9 mannoses (Man) + 3 glucoses (Glc)

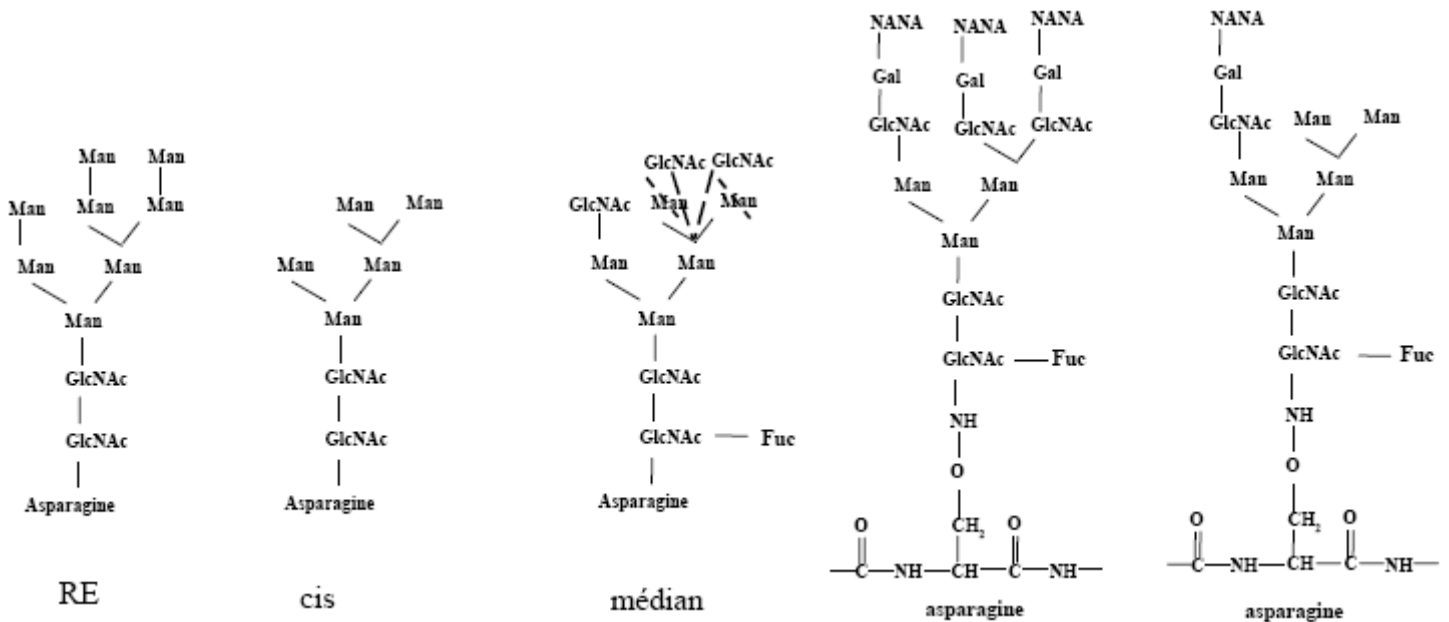
Cet oligosaccharide N-lié est synthétisé sur un lipide particulier, le dolicholphosphate et est ensuite transféré en bloc au niveau des asparagines (noté N) des protéines. Dès son transfert, il est modifié.

Il va y avoir clivage de 3 résidus Glc puis d'un mannose : tant que du glucose est présent, la protéine interagit avec un chaperon dans le RE. Ce chaperon permet à la protéine de se replier correctement.



Une fois que les trois Glc et un Man sont enlevés, la protéine est transportée au Golgi.
L'oligosaccharide continue à être modifié :

Saccule cis golgi : on enlève 3 Man
Saccule médian golgi : on enlève 2 Man, on ajoute 3 GlcNAc et un résidu fucose
Saccule trans golgi : sur chaque GlcNAc, on ajoute un galactose
sur chaque galactose, on ajoute un acide sialique (=NANA=
acide N acétyl neuraminique).



Si les réactions se font partiellement, (peu de Man enlevés, ajout de Gal d'un côté), on obtient un oligosaccharide hybride ou intermédiaire.

Ces modifications sont des indications sur le trajet des oligosaccharides

Si une protéine est modifiée par une enzyme du saccule médian, c'est qu'elle a atteint le médian golgi

d) Récepteur au KDEL

Le récepteur au KDEL permet de ramener les protéines résidentes du RE qui s'en sont échappées : c'est un système de récupération.

Les protéines échappées sont donc récupérées au niveau du Golgi grâce à des récepteurs qui reconnaissent sur les protéines une séquence spécifique « K D E L » (code 1 lettre pour les aa Lys Asp Glu Leu).

On ne sait si les protéines sont ramenées saccules par saccules ou directement au RE. On sait que ces récepteurs au KDEL sont des éléments membranaires qui circulent le long des microtubules.

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