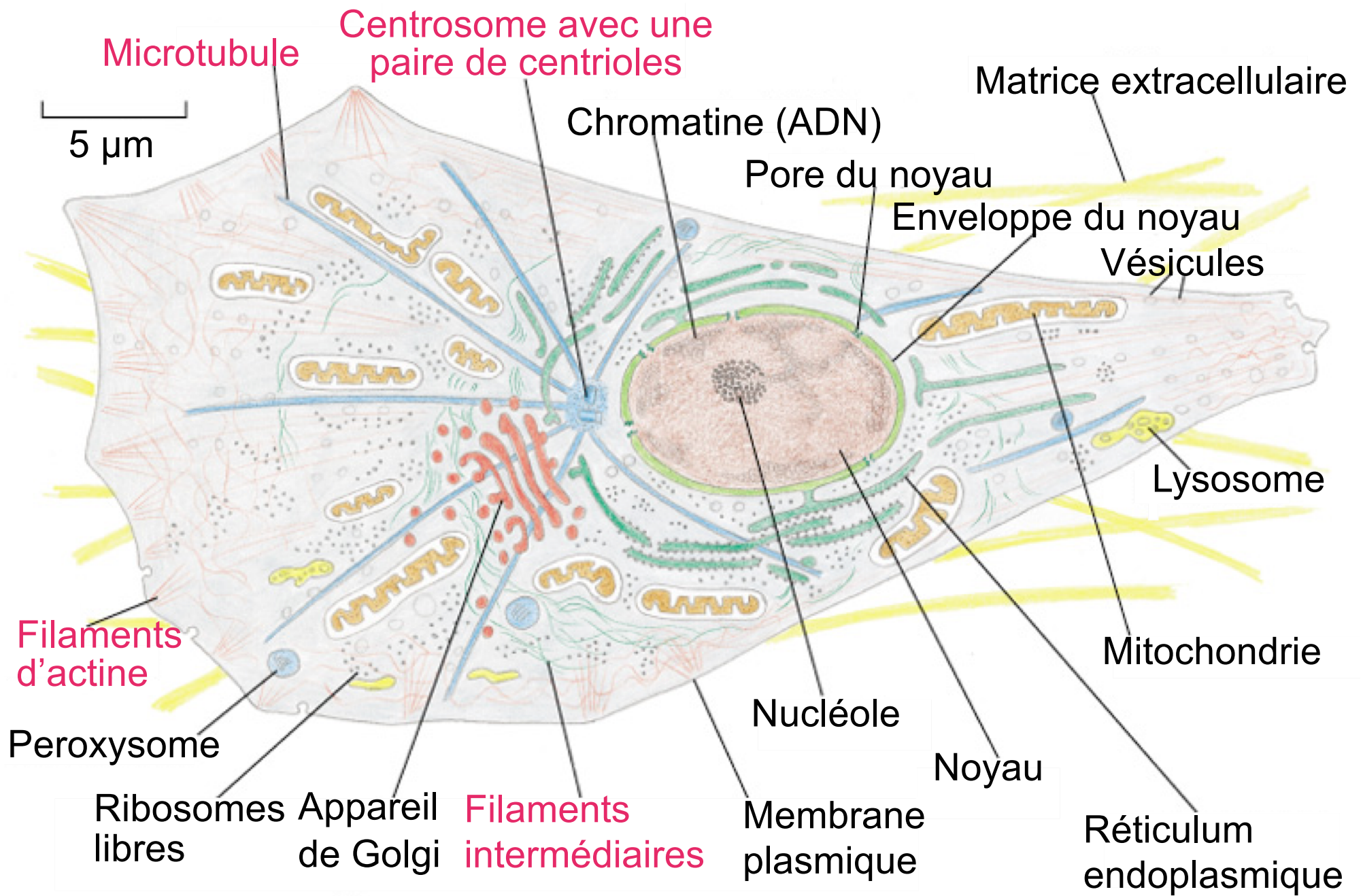


Chapitre 8 :

Maturation et transport des constituants de la cellule

- Relations topologiques des compartiments intracellulaires
- Transport nucléo-cytoplasmique
- Trafic des protéines membranaires, des protéines du système endomembranaire et des protéines sécrétées
- Endocytose, dégradation-renouvellement des constituants
- La mitochondrie



Principaux compartiments à l'intérieur d'une cellule eucaryote

CYTOSOL

NOYAU

PEROXYSOMES

MITOCHONDRIES

RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE

APPAREIL DE GOLGI

ENDOSOME
TERMINAL

VÉSICULES DE
SÉCRÉTION

LYSOSOMES

ENDOSOME
INITIAL

SURFACE DE LA CELLULE

CYTOSOL

NOYAU

PEROXYSONES

MITOCHONDRIES

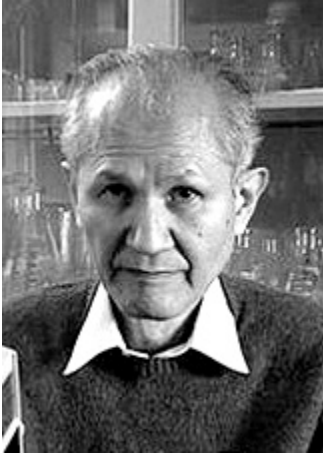
**COMMENT CONTRUIRE
CES COMPARTIMENTS
ET Y ADRESSER LEURS
CONSTITUANTS ?**

LYSOSOMES

ENDOSOME
INITIAL

SURFACE DE LA CELLULE

**Comment localiser et suivre les protéines
dans la cellule ?**



Osamu Shimomura
1928-2018

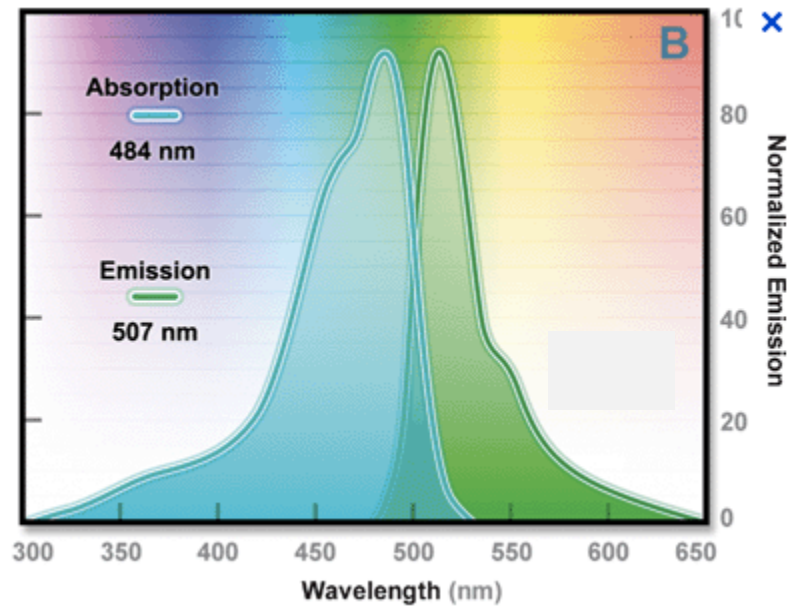
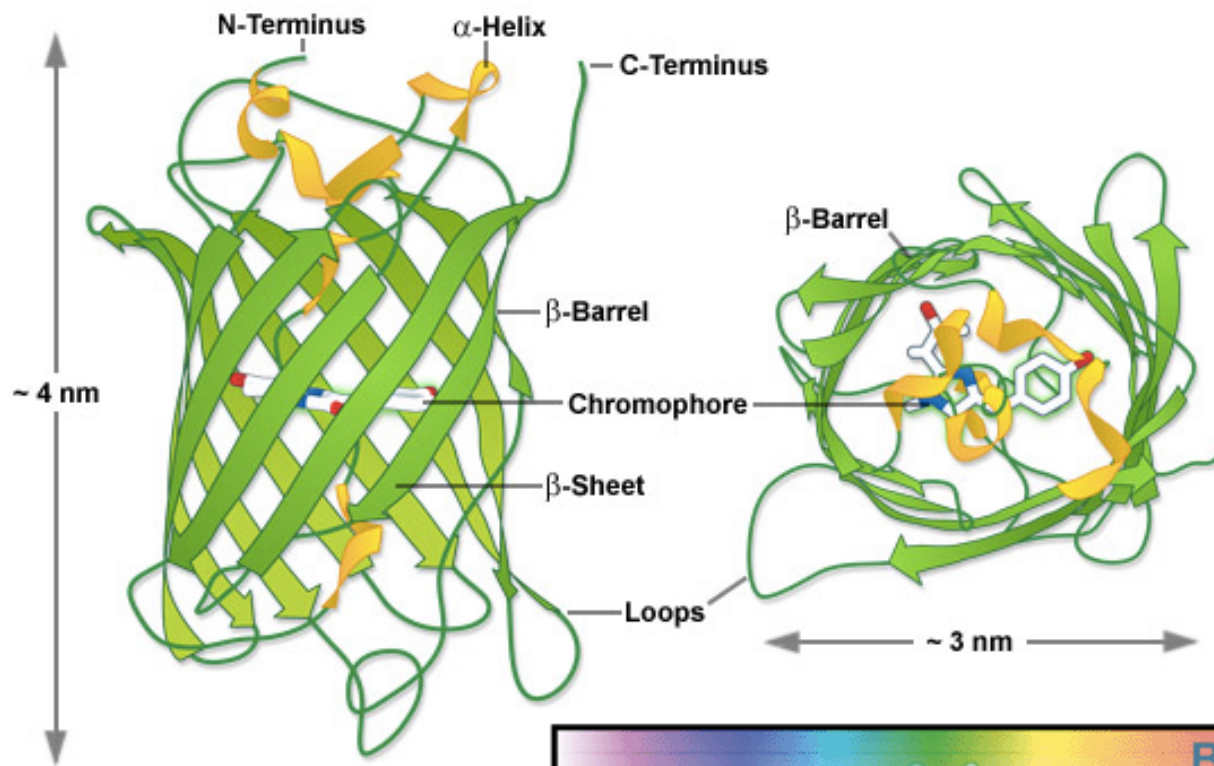


Martin Chalfie
1947-

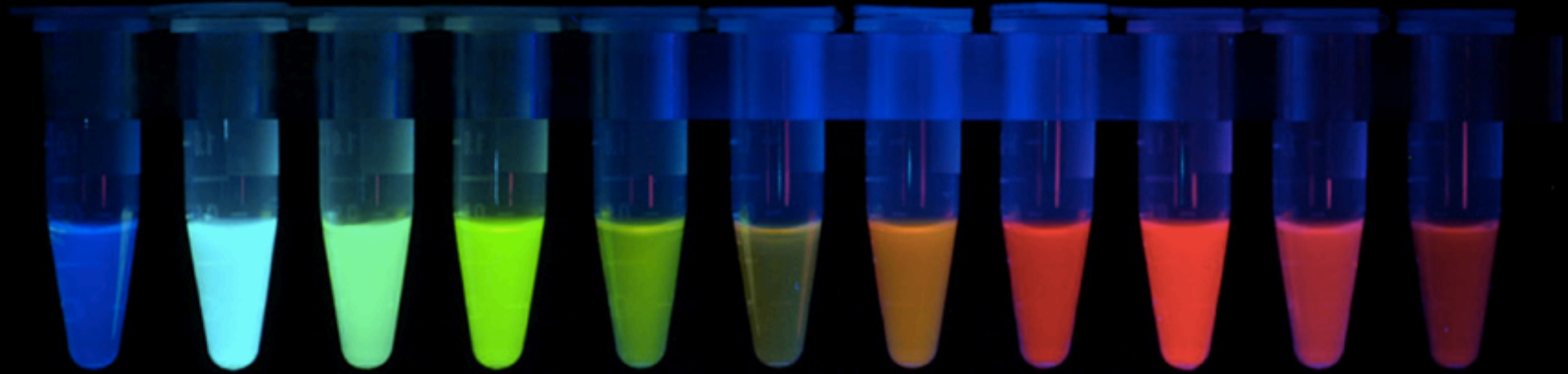


Roger Y. Tsien
1952-2016

Prix Nobel de Chimie en 2008
« pour la découverte et le développement de
la protéine fluorescente verte GFP »



GFP = **G**reen **F**luorescent **P**rotein
 Protéine qui émet une fluorescence verte

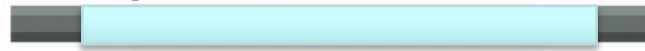


Labo. Roger TSIEN

Des variants de toutes les couleurs

ADNc de l'ARNm de la protéine d'intérêt

ATG

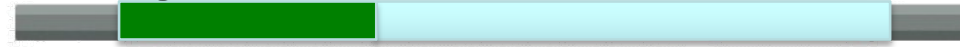


**INSERTION DE LA SÉQUENCE
DE LA GFP**



ATG

ATG

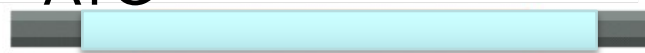


VECTEUR D'EXPRESSION

Étiquetage d'une protéine pour la localiser

ADNc de l'ARNm de la protéine d'intérêt

ATG

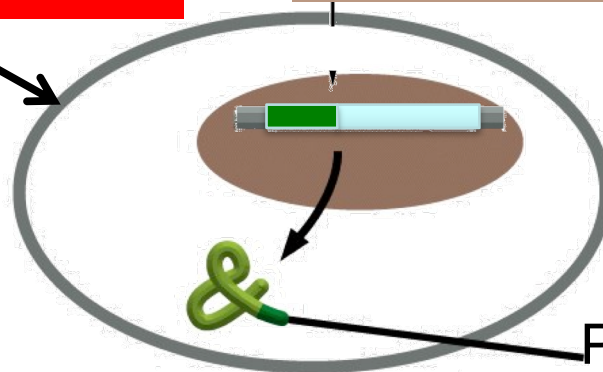


INSERTION DE LA SÉQUENCE DE LA GFP



INTRODUCTION DANS LA CELLULE

VECTEUR D'EXPRESSION



Protéine étiquetée fluorescente

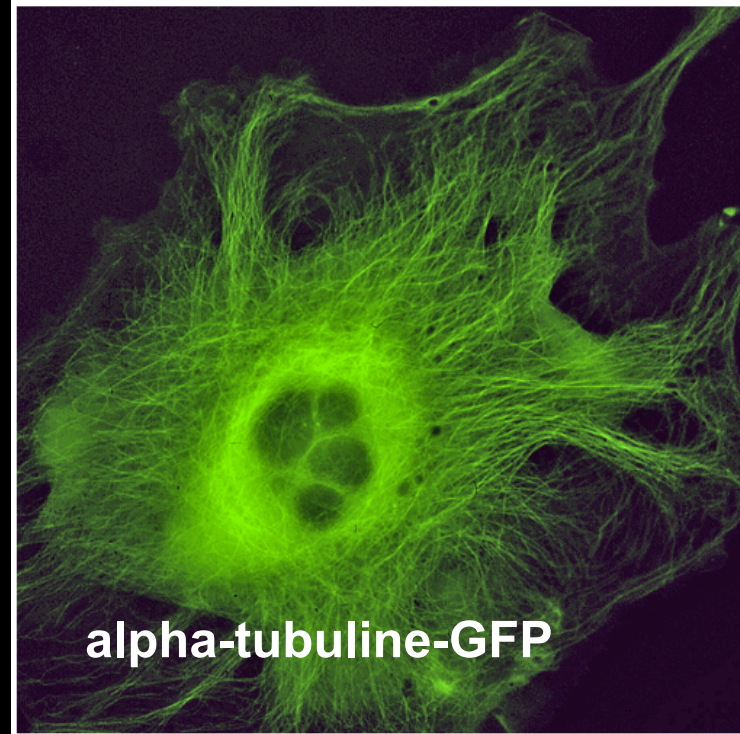
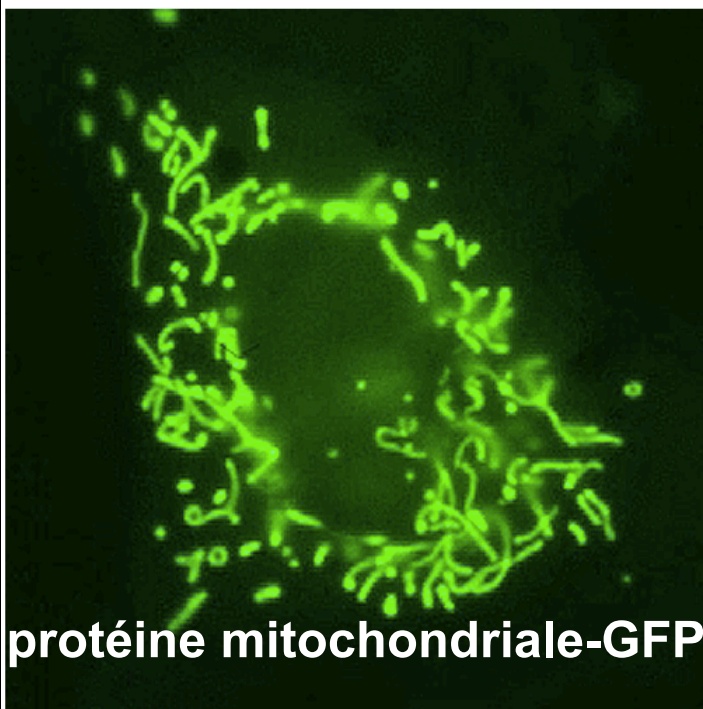
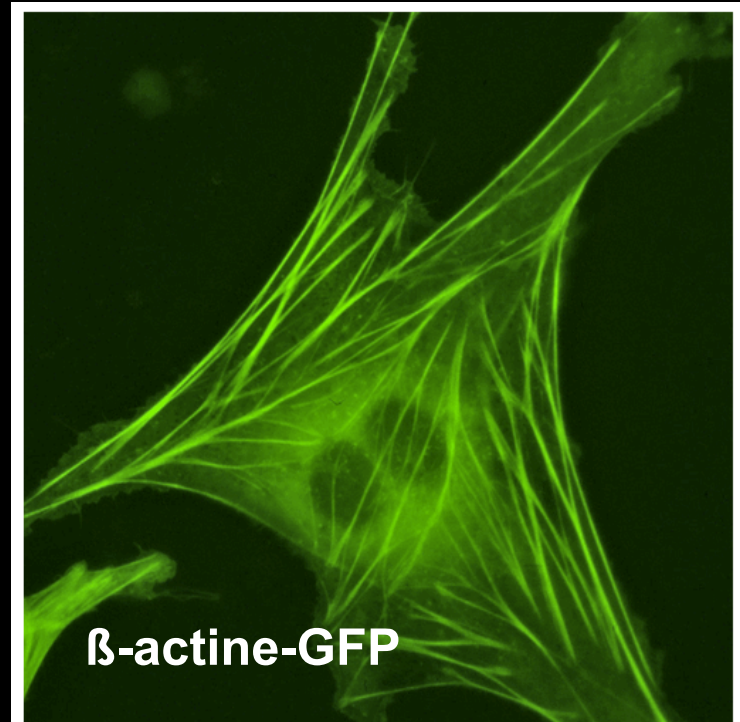
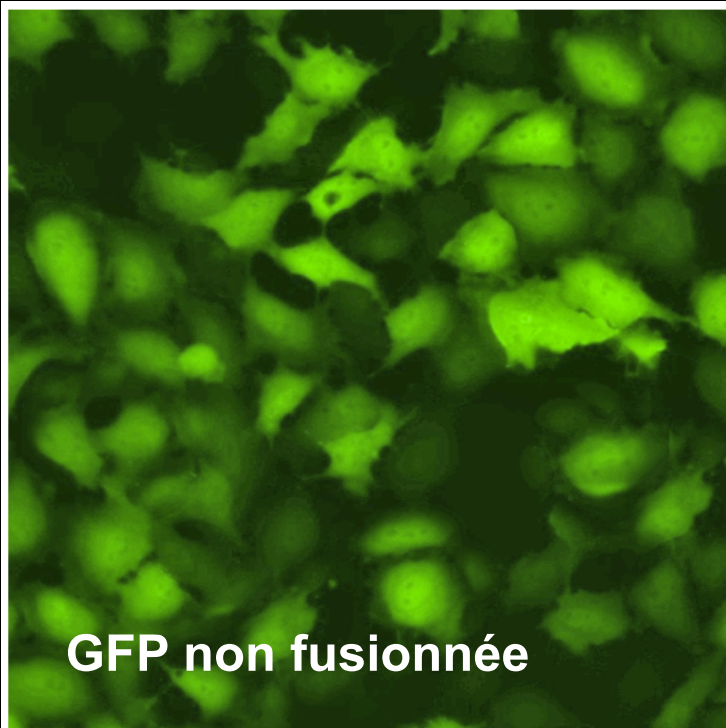
Localisation par la fluorescence émise par la GFP

Étiquetage d'une protéine pour la localiser

- l'étiquette (le "tag") peut être fusionnée en N-term ou en C-term de la protéine dont on veut analyser la distribution (ou plus rarement à l'intérieur de la protéine)

!! ATTENTION !!

- pour que les profils de fluorescence aient un sens, il faut s'assurer que la protéine étiquetée est **toujours fonctionnelle**

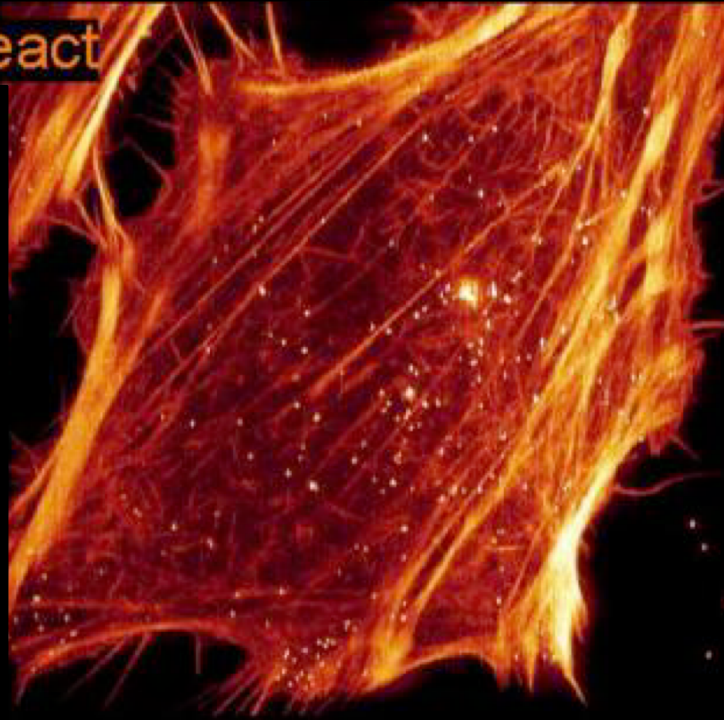




Transport d'une protéine fusionnée à la GFP depuis l'appareil de Golgi jusqu'à la surface de la cellule.

HeLa cell mEmerald - Lifeact

marquage de l'actine
filamenteuse



Lattice SIM



Labo. Eric BETZIG

Stack = 0
Time = 0.0 min

—
2 um

CYTOSOL

NOYAU

PEROXYSOMES

MITOCHONDRIES

RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE

APPAREIL DE GOLGI

ENDOSOME
TERMINAL

VÉSICULES DE
SÉCRÉTION

LYSOSOMES

ENDOSOME
INITIAL

SURFACE DE LA CELLULE

CYTOSOL

NOYAU

PEROXYSONES

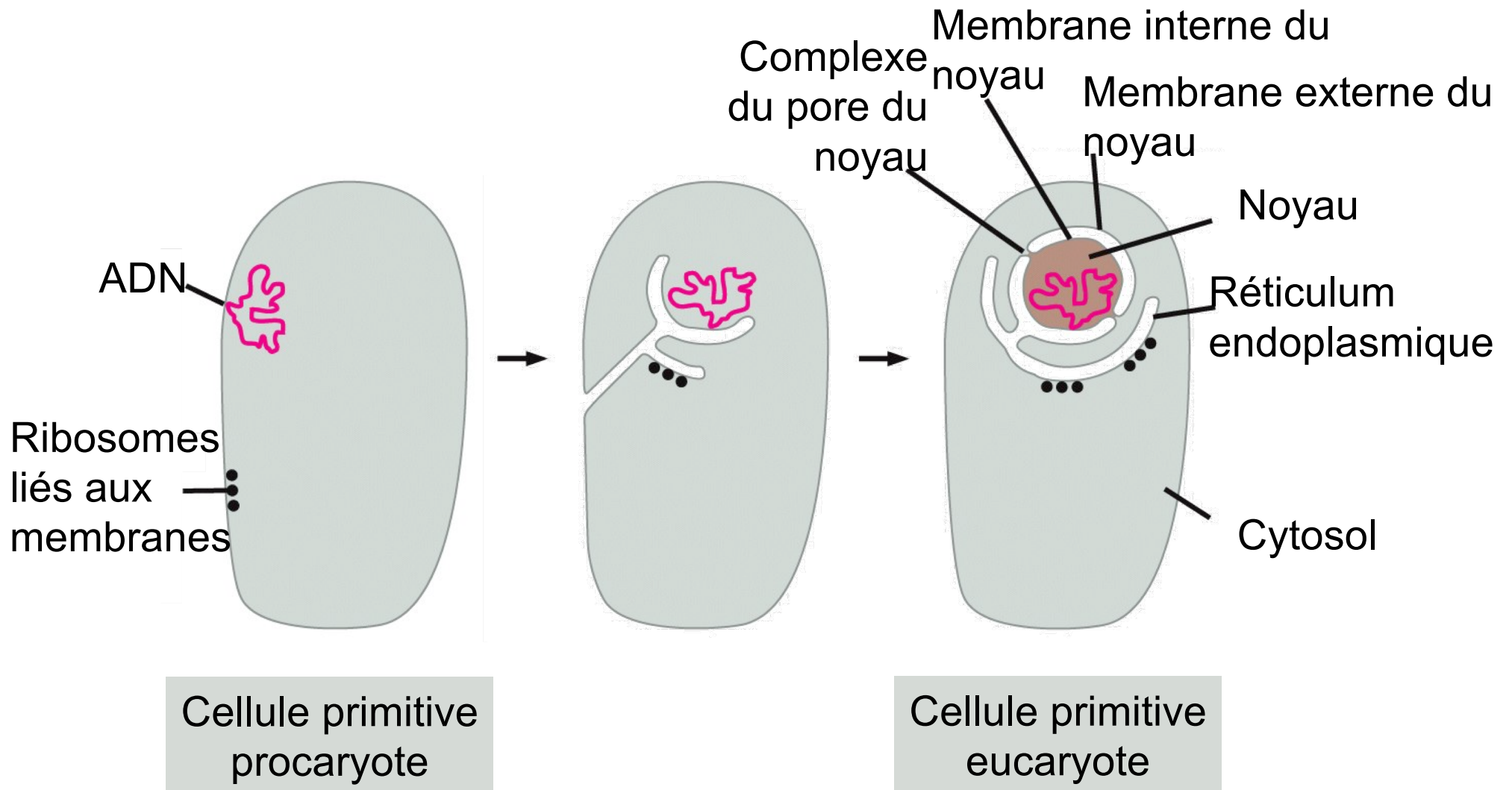
MITOCHONDRIES

**Le passage d'un compartiment
cellulaire à un autre est contraint
par les relations topologiques
de ces compartiments**

LYSOSOMES

ENDOSOME
INITIAL

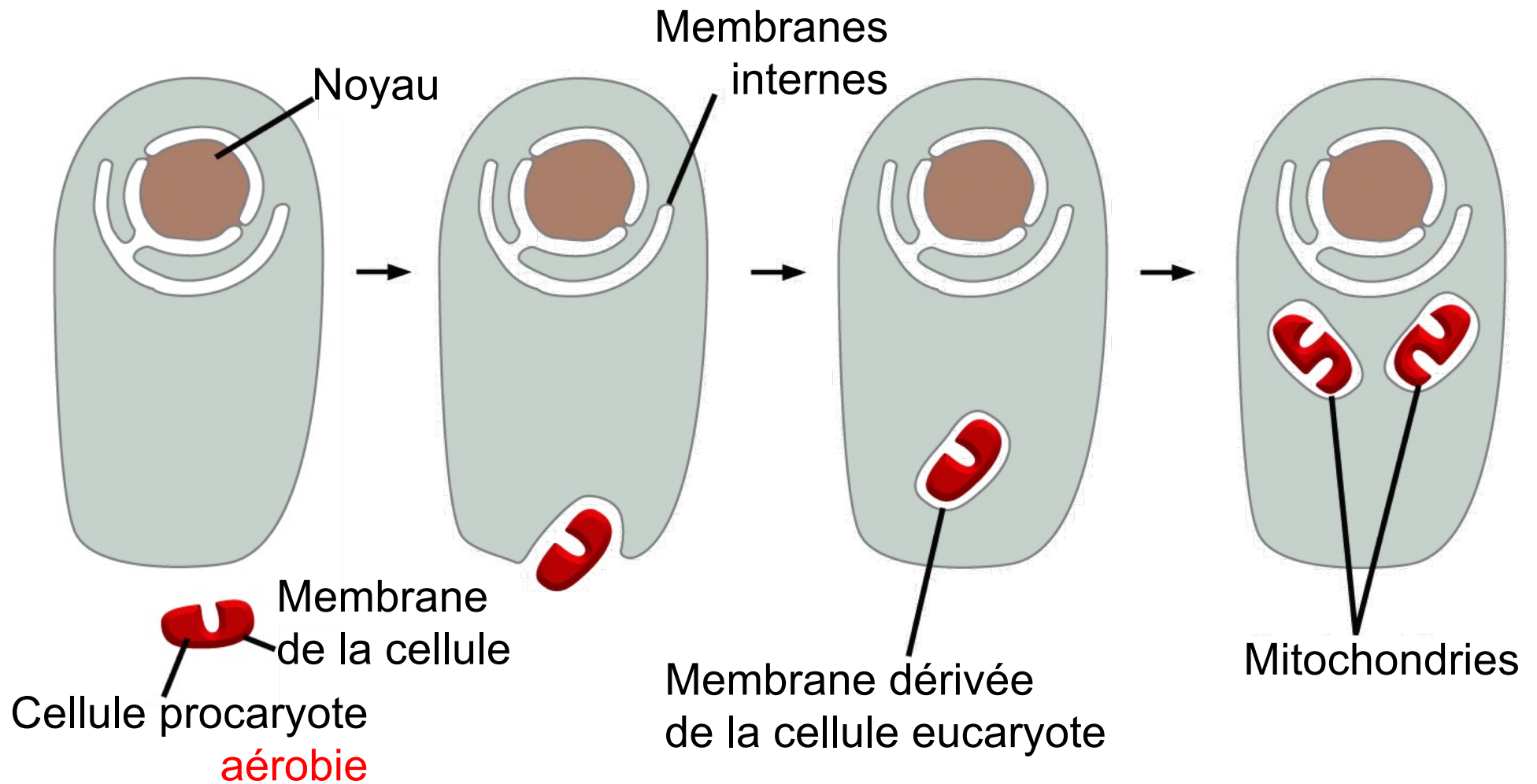
SURFACE DE LA CELLULE



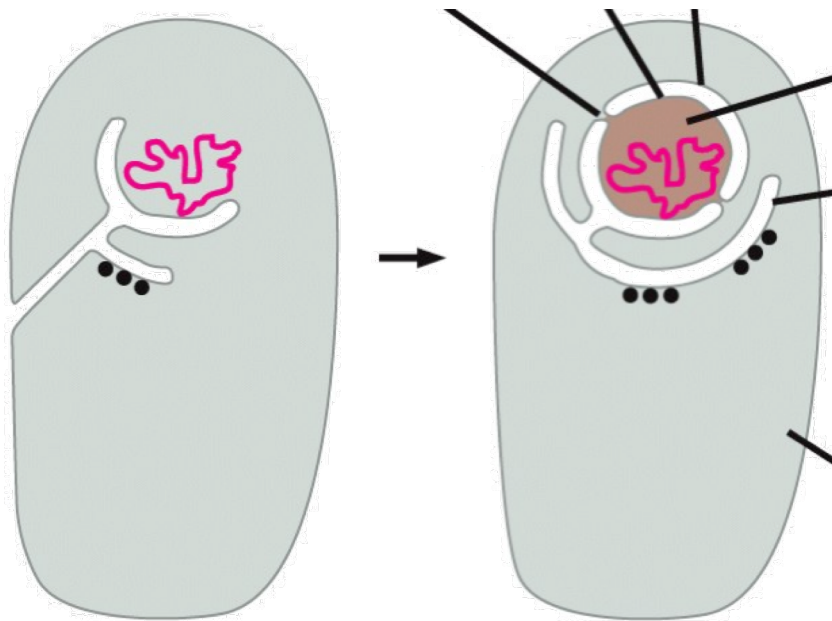
Passage d'une cellule procaryote à une cellule eucaryote

Cellule primitive
eucaryote **anaérobie**

Cellule eucaryote
aérobie



Passage d'une cellule anaérobie à une cellule aérobie



Membrane plasmique

Lysosome

Réticulum
endoplasmique
granulaire

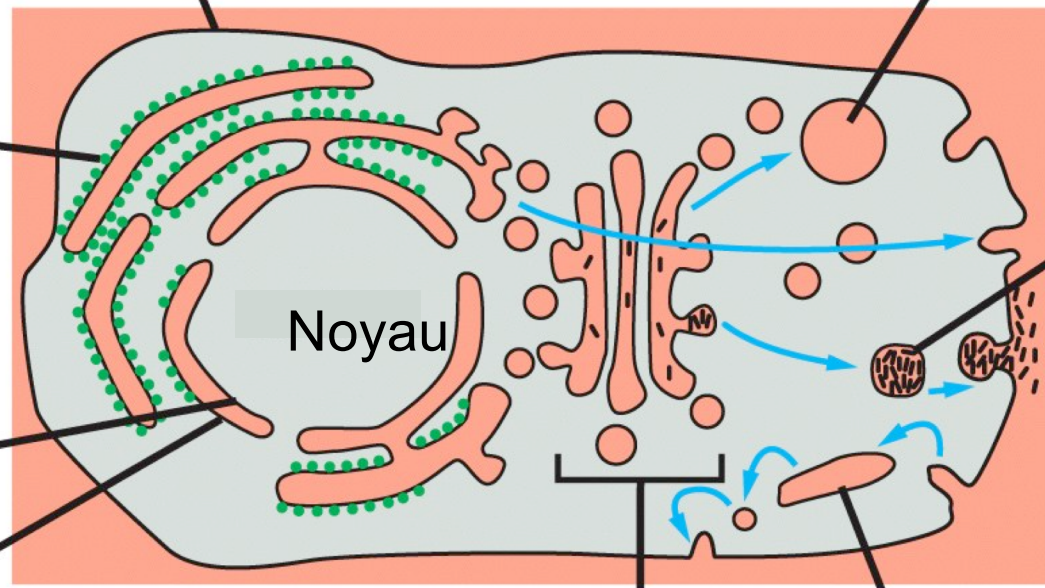
Vésicule de
sécrétion

Noyau

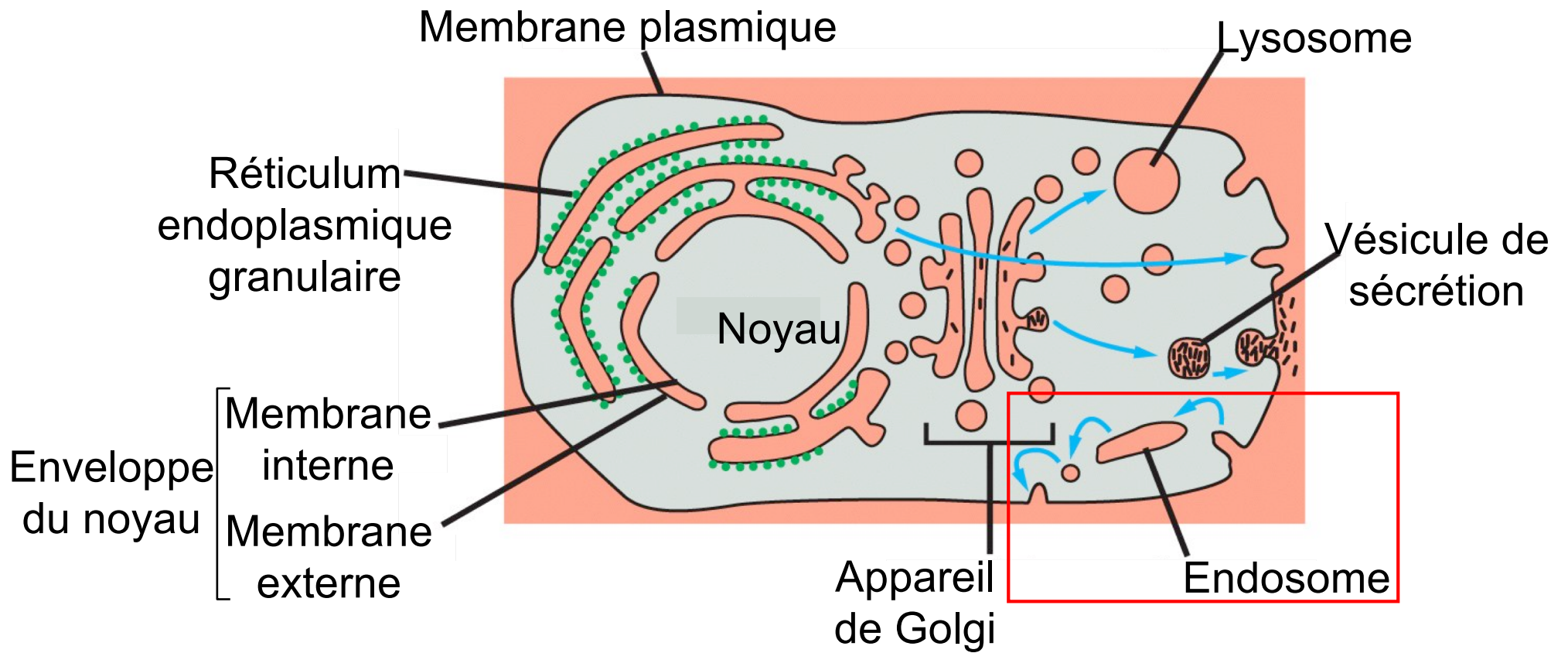
Enveloppe
du noyau
Membrane
interne
Membrane
externe

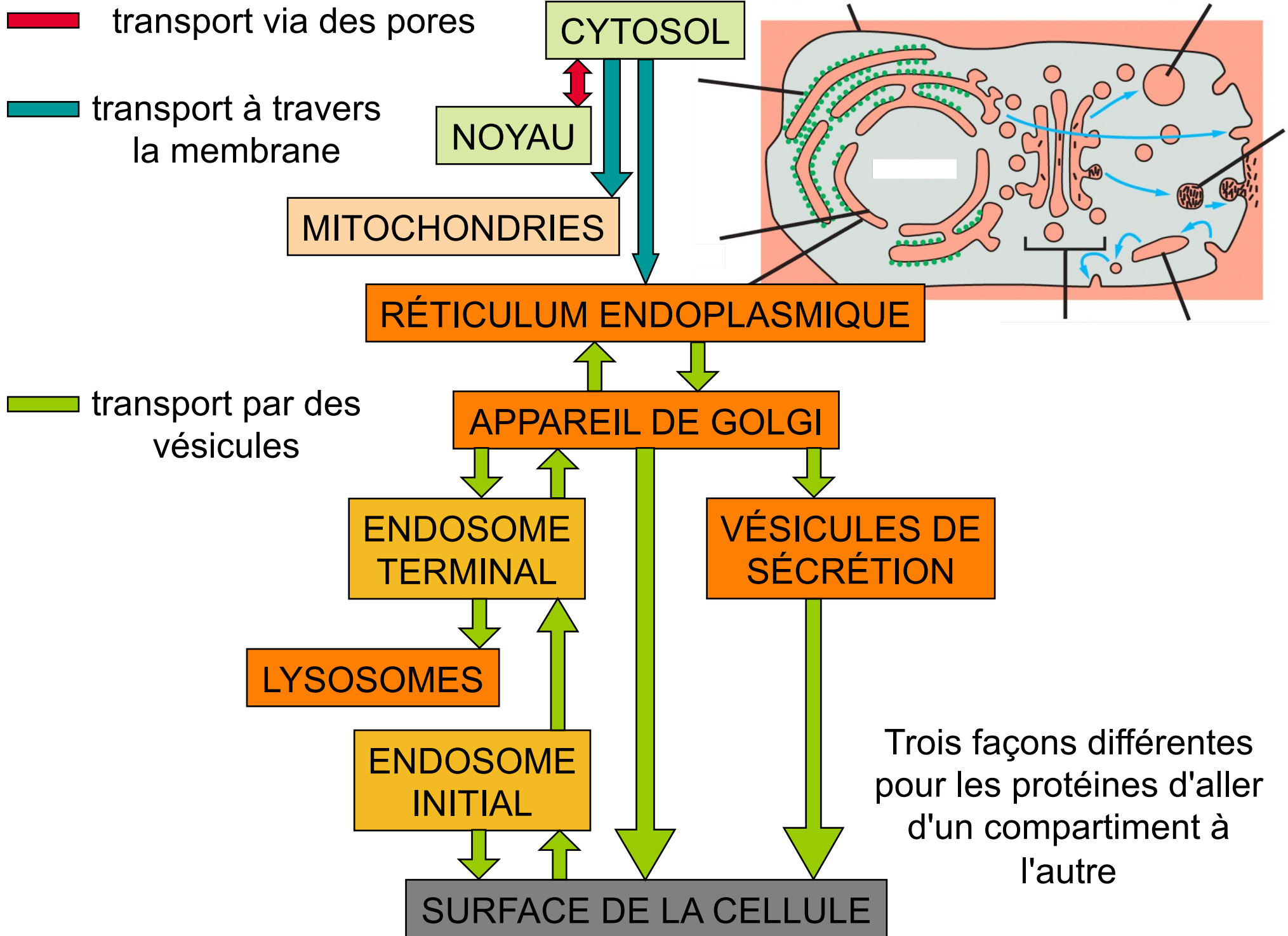
Appareil
de Golgi

Endosome

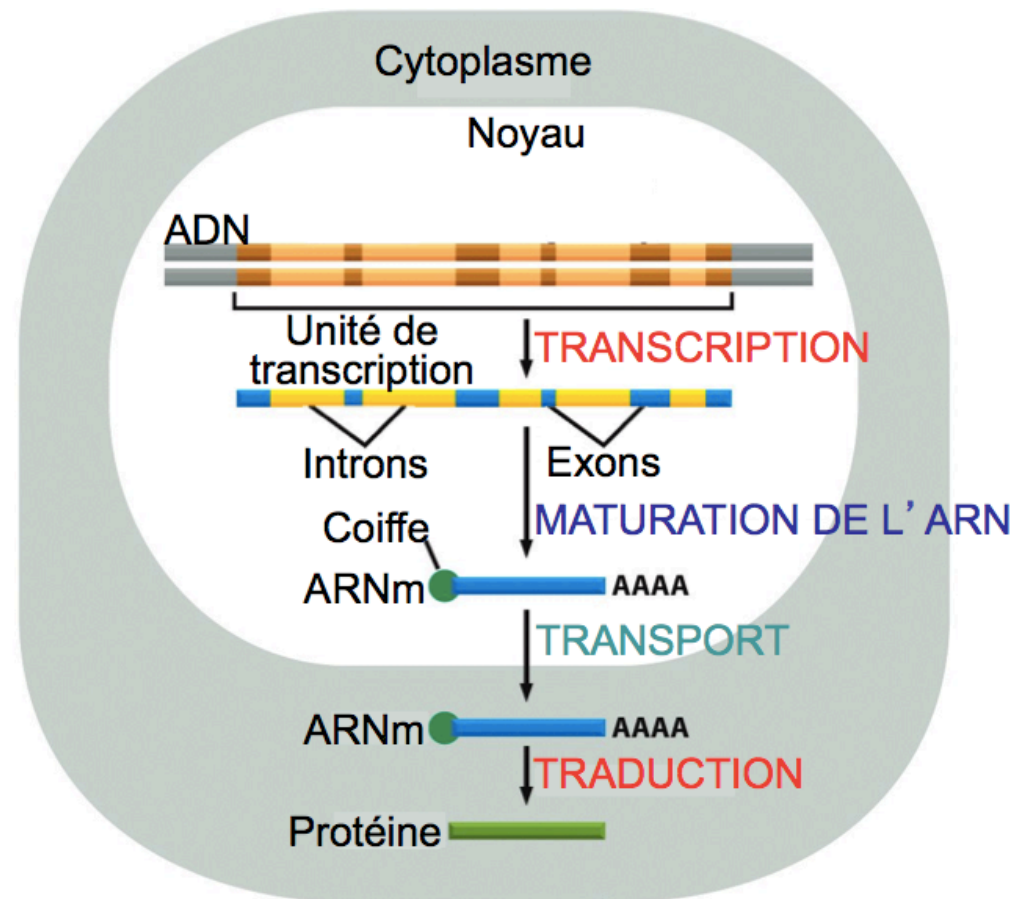


Relations topologiques entre les différents compartiments des voies de sécrétion et d'endocytose

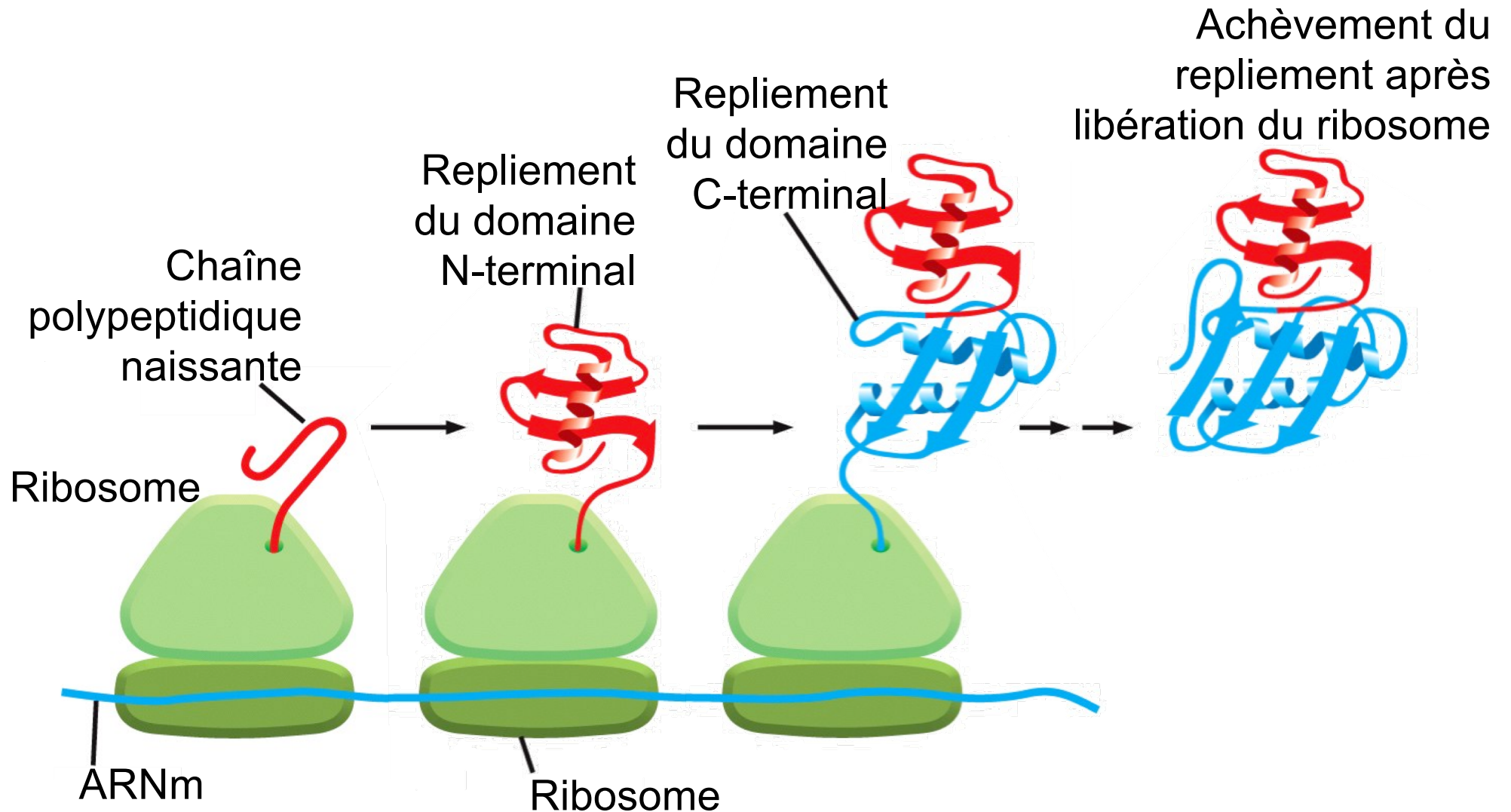




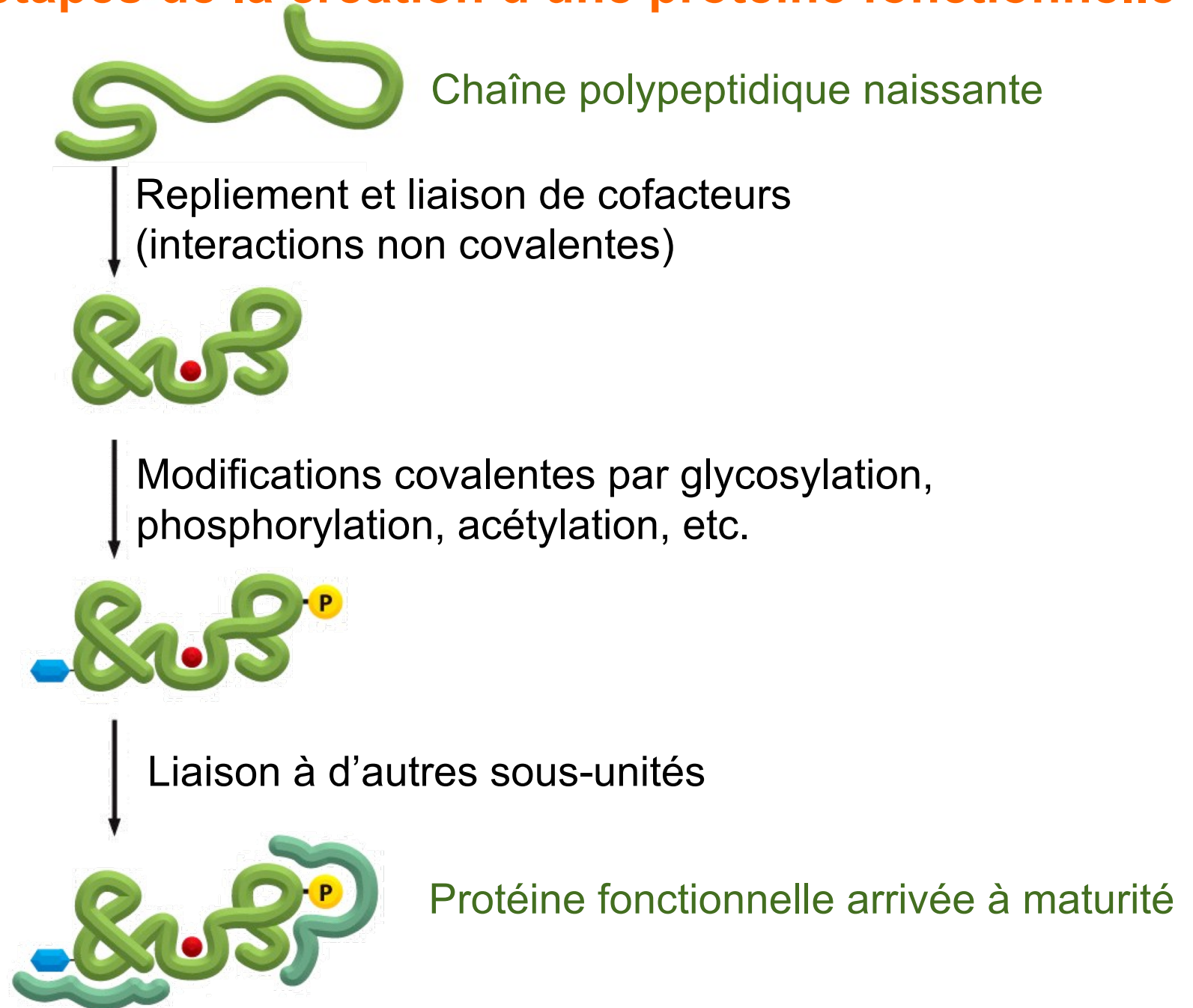
La SYNTHÈSE PROTÉIQUE a lieu dans le CYTOPLASME



Repliement d'une protéine lors de sa synthèse

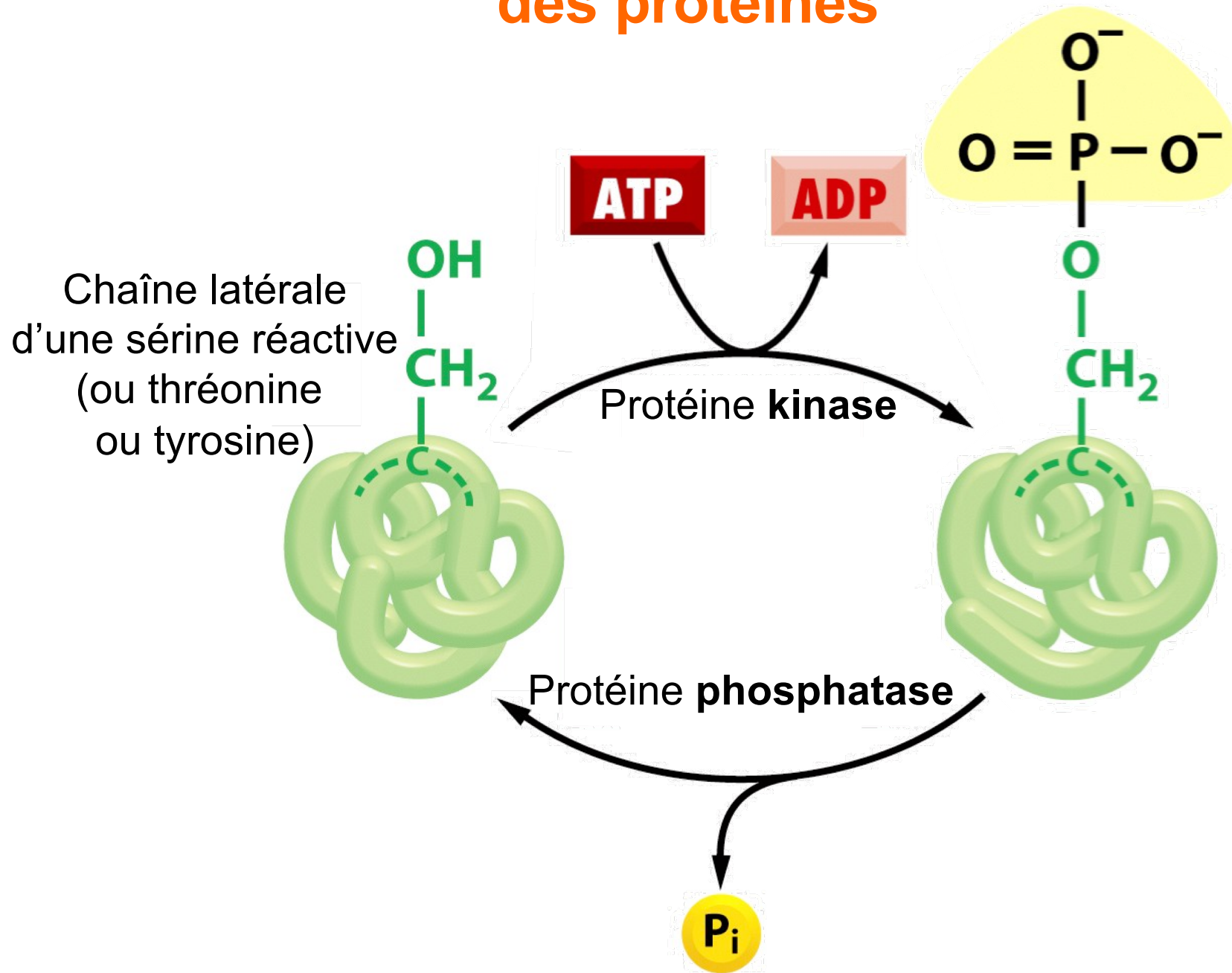


Principales étapes de la création d'une protéine fonctionnelle



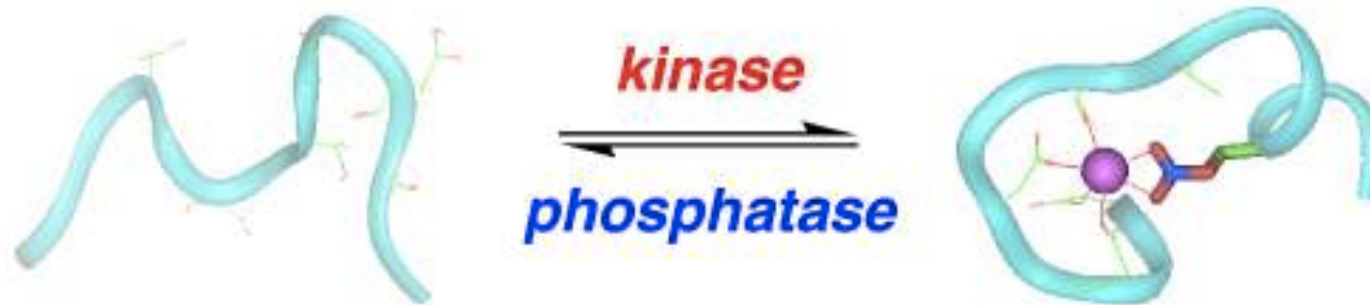
**De nombreuses modifications post-traductionnelles
ont lieu dans le cytoplasme**

Réactions générales de la phosphorylation réversible des protéines



Conséquences de l'introduction d'un groupe phosphate dans une protéine

- changement de conformation par interaction des charges négatives avec des chaînes latérales d'acides aminés chargés dans la protéine



- création de sites de liaison pour un ligand

les domaines PTB (Phospho-Tyrosine Binding) lient la chaîne latérale des tyrosines uniquement quand elle est phosphorylée

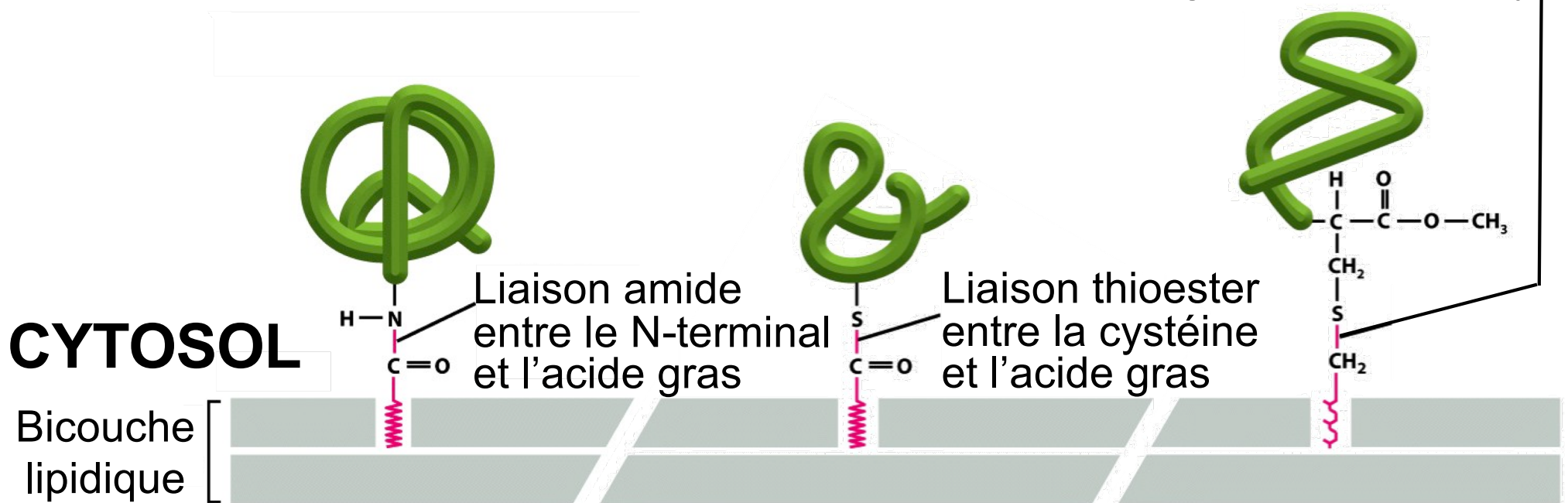
Environ 1/3 des 10 000 protéines différentes présentes dans une cellule sont phosphorylées

Attachement des protéines à la face INTERNE de la membrane

Protéine accrochée à la membrane par une chaîne d'acide gras

Protéine accrochée à la membrane par un groupement prényl

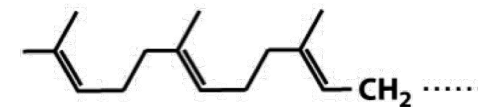
Liaison thioéther entre la cystéine et le groupement prényl



Ancre de myristyl



Ancre de palmitoyl



Ancre de farnésyl

Repliement des protéines et contrôle de qualité

Repliement correct
de la protéine



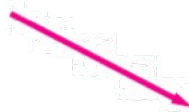
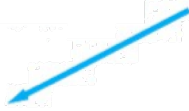
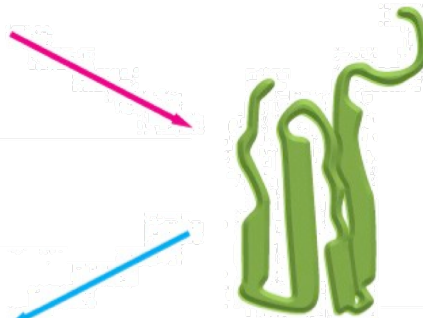
État de repliement
intermédiaire



Protéine
correctement
repliée



Repliement incorrect
de la protéine



Catalyse par des
protéines chaperons

Accidents
irréparables



Destruction par
des protéases

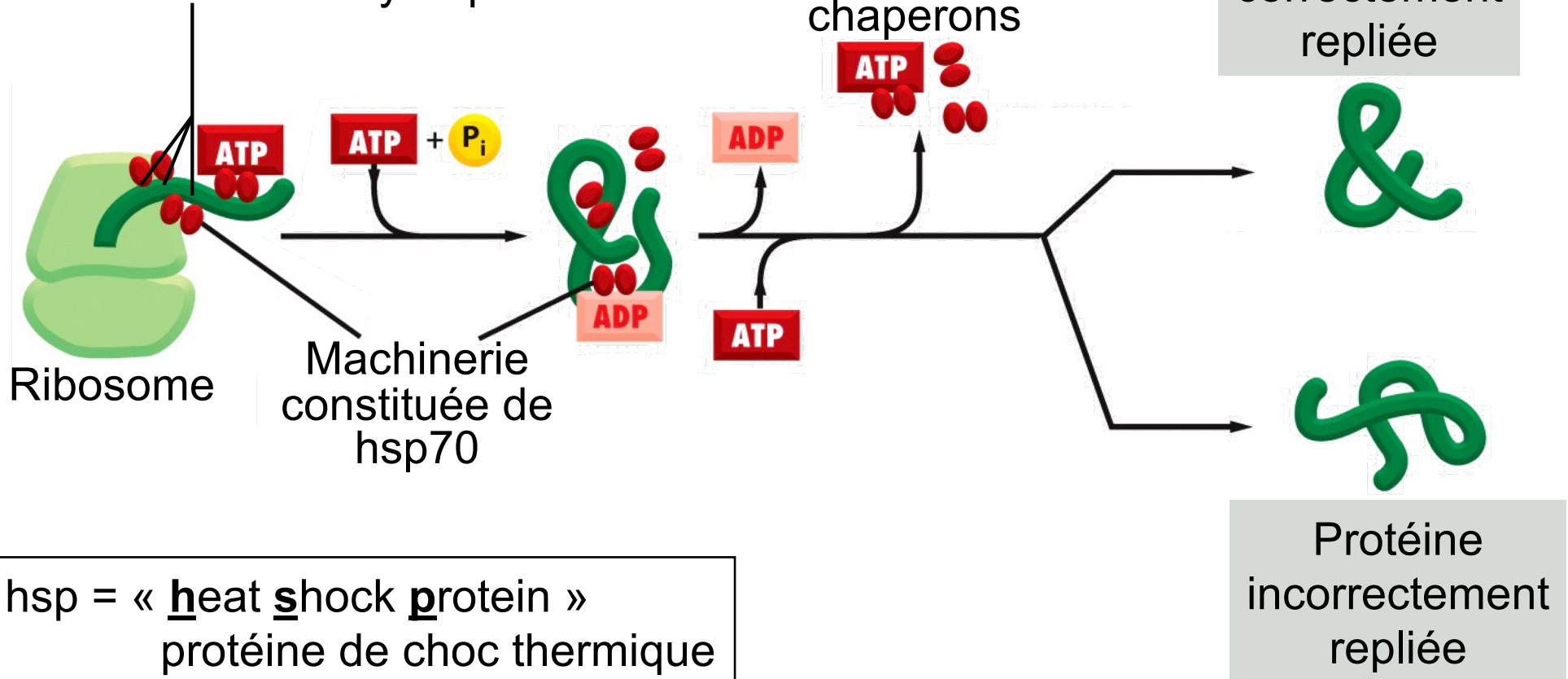
Vue actuelle de la voie de repliement des protéines

Chaperon : personne d'un âge respectable qui accompagnait une jeune fille ou une jeune femme par souci des convenances.

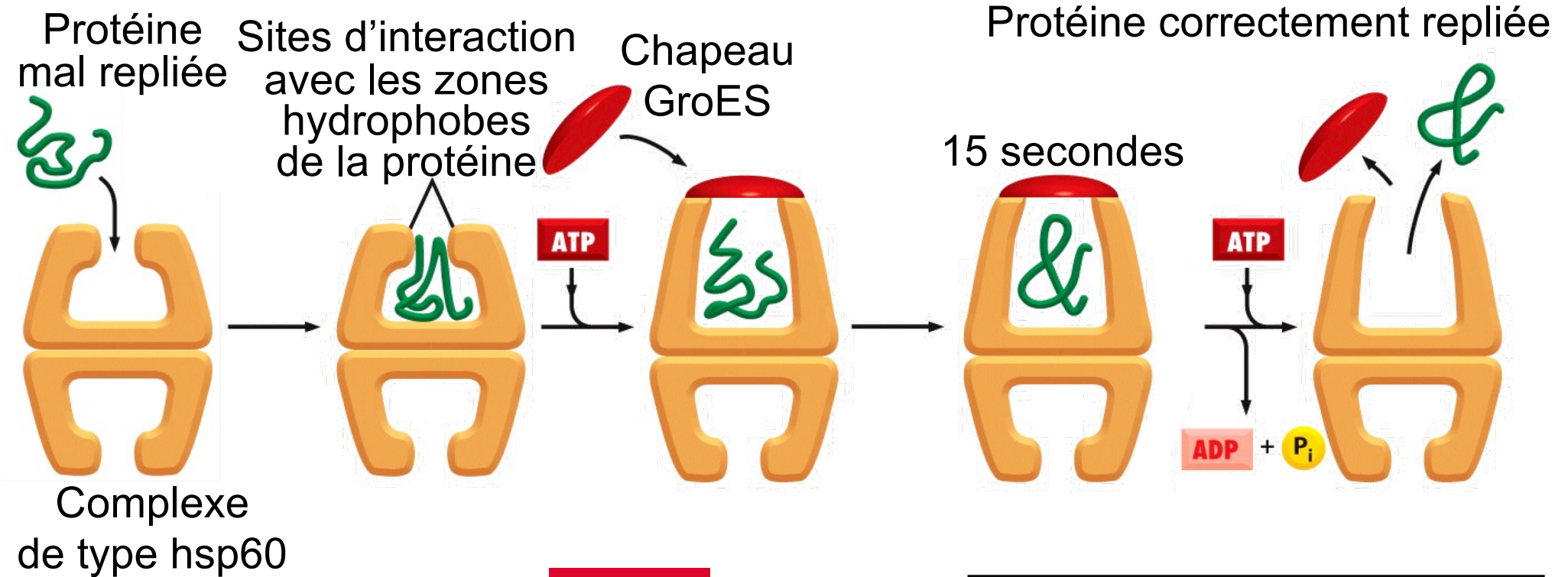
En biologie, **chaperons moléculaires** : famille de protéines ayant pour rôle d'aider au repliement des polypeptides, et à leur assemblage dans des structures oligomériques, et ainsi de prévenir la formation de structures protéiques incorrectes résultant de l'exposition transitoire de surfaces protéiques hydrophobes ou chargées normalement impliquées dans des interactions entre chaînes polypeptiques, pouvant aboutir à la formation d'agrégats

La famille hsp70 de chaperons moléculaires

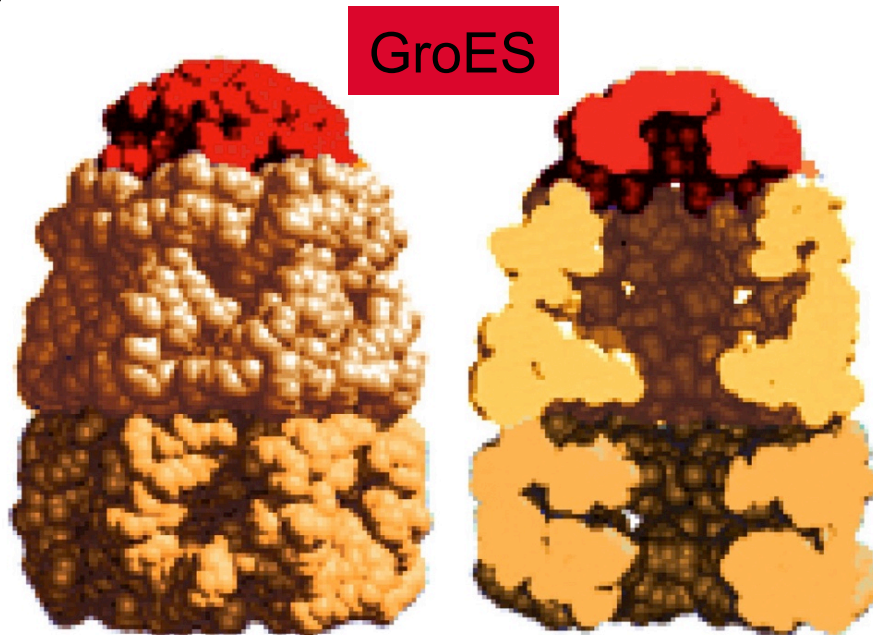
Segments de la protéine constitués d'acides aminés hydrophobes



Structure et fonction d'un chaperon moléculaire de type hsp60



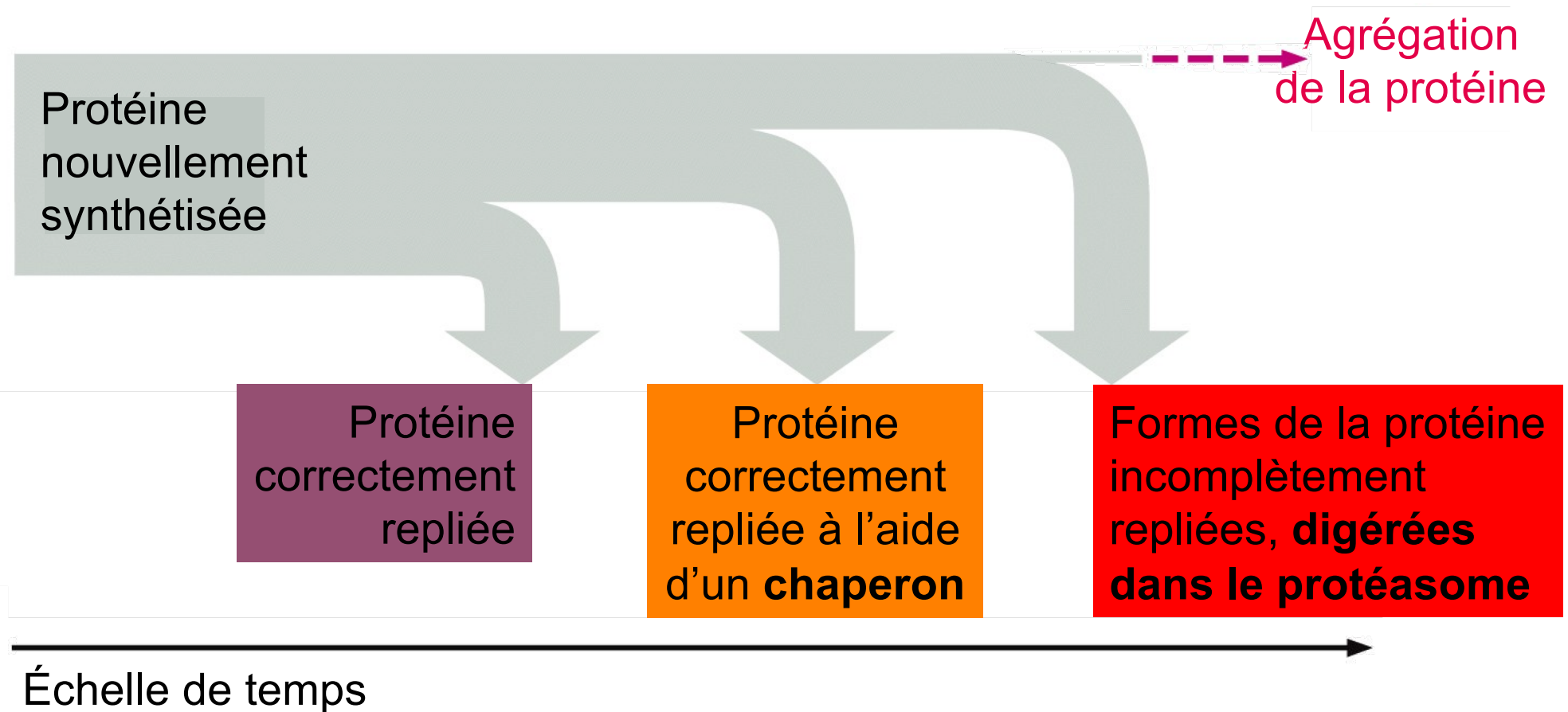
GroEL



GroES

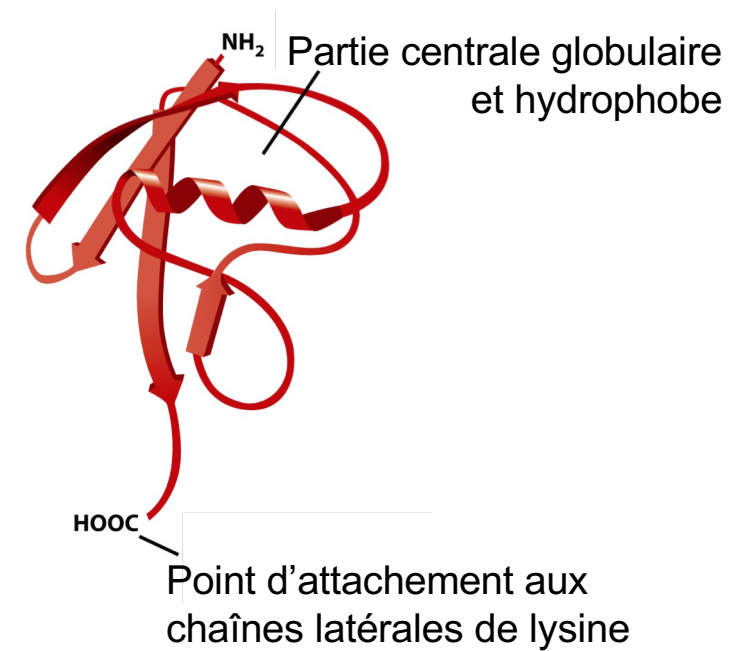
Chaperonine :

- hsp60 dans la mitochondrie
- TCP1 dans le cytosol des cellules de vertébrés
- GroEL dans la bactérie



Mécanismes mis en jeu par la cellule pour l'évaluation de la qualité d'une protéine après sa synthèse

UPS : Ubiquitine-Proteasome System



Ubiquitine : polypeptide de 76 résidues

Une cascade d'enzymes vont lier une chaine d'ubiquitines sur les protéines mal repliées associées aux chaperons moléculaires.

Les substrats poly-ubiquitinilés sont reconnus par le complexe protéasome.

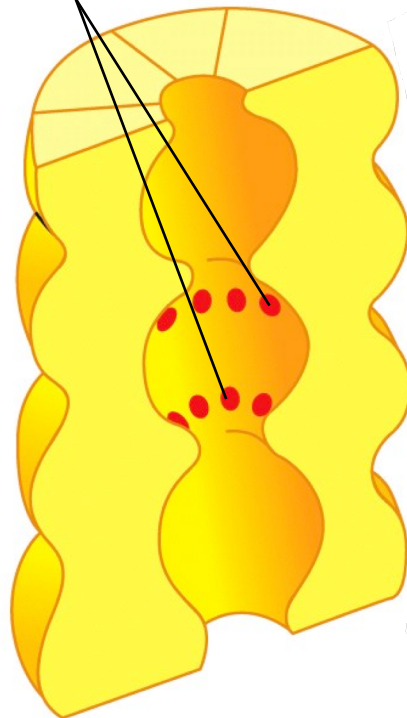
Protéasome : grand complexe protéique (2500 kDa), situé dans le cytosol et le nucléoplasme, qui possède une activité de protéolyse responsable de la dégradation des protéines, en fragments de 10-12 aa.

20S : quatre anneaux d'heptamère de protéines

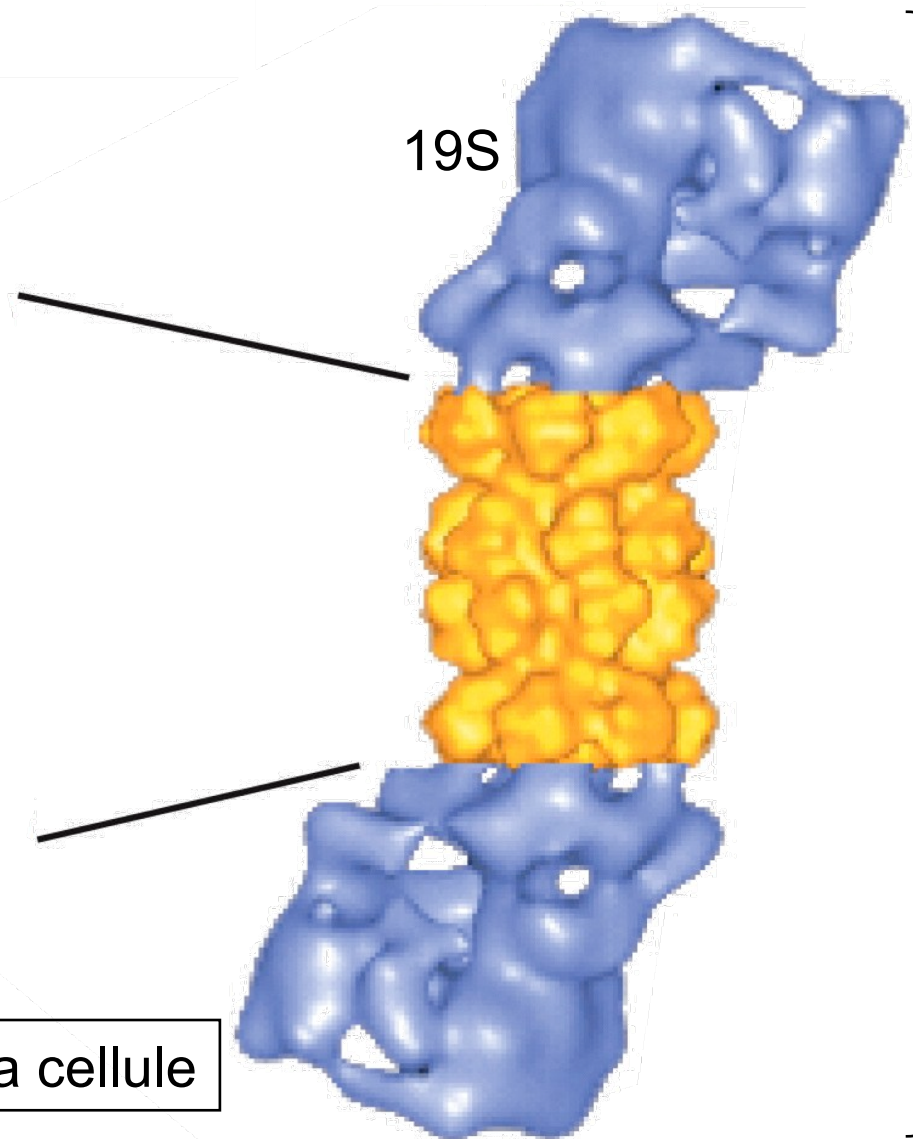
19S : capuchon contenant un anneau de protéines fait de six sous-unités

• Sites actifs
des protéases

20S



19S



26S

taille
150 Å
=
15 nm

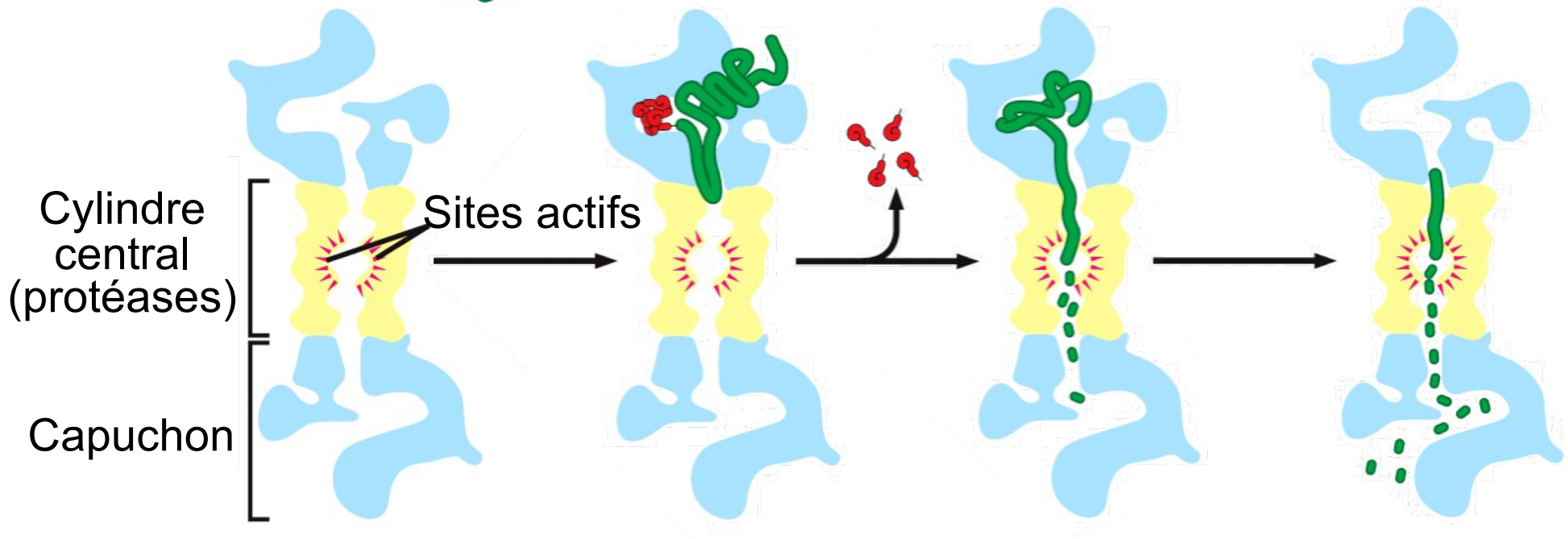
Environ 1 % des protéines de la cellule

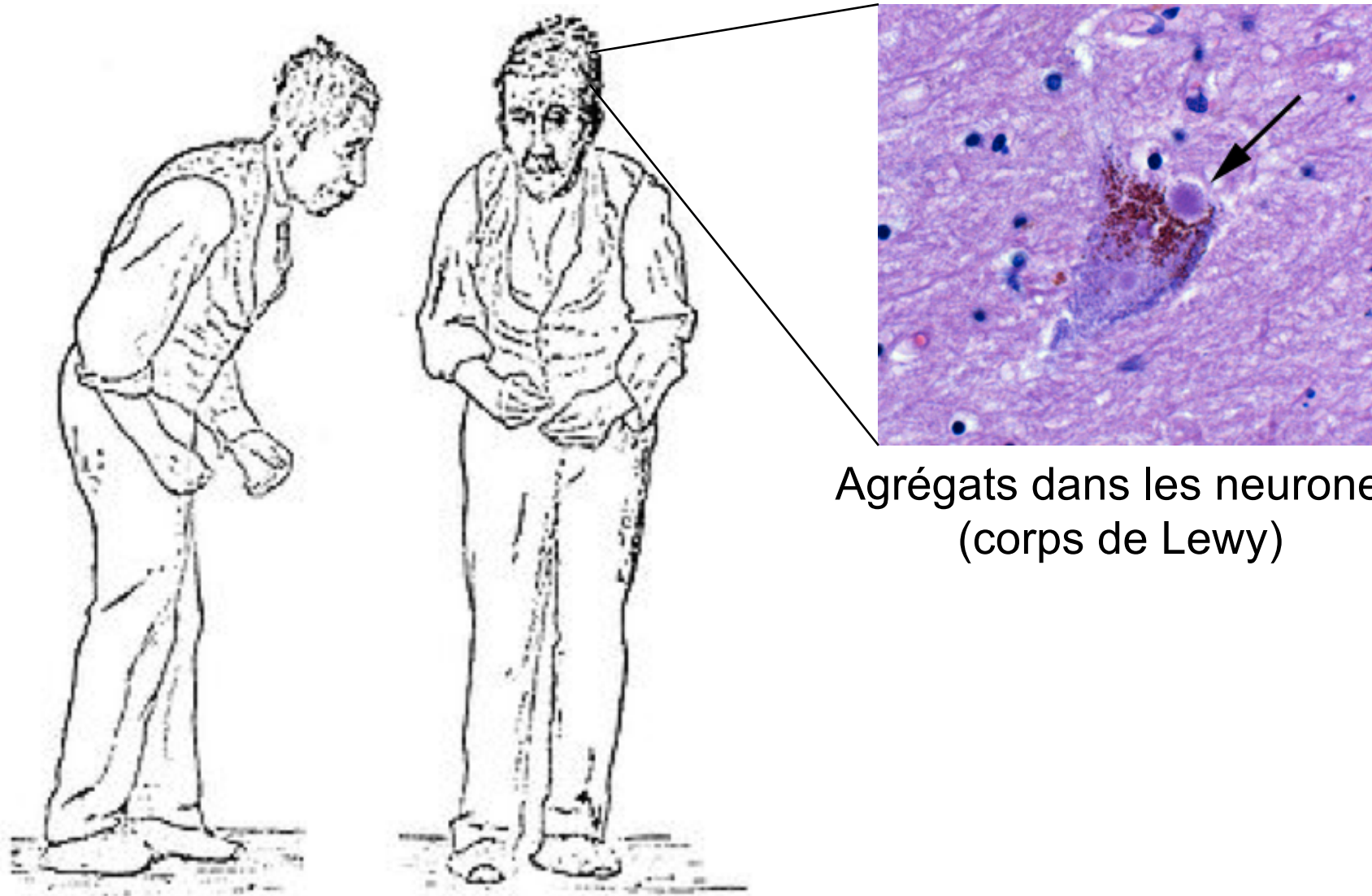
Structure du protéasome

obtenue par diffraction des rayons X pour la partie centrale et par reconstruction par ordinateur à partir d'images de ME de l'ensemble

Modalité de digestion des protéines par le protéasome

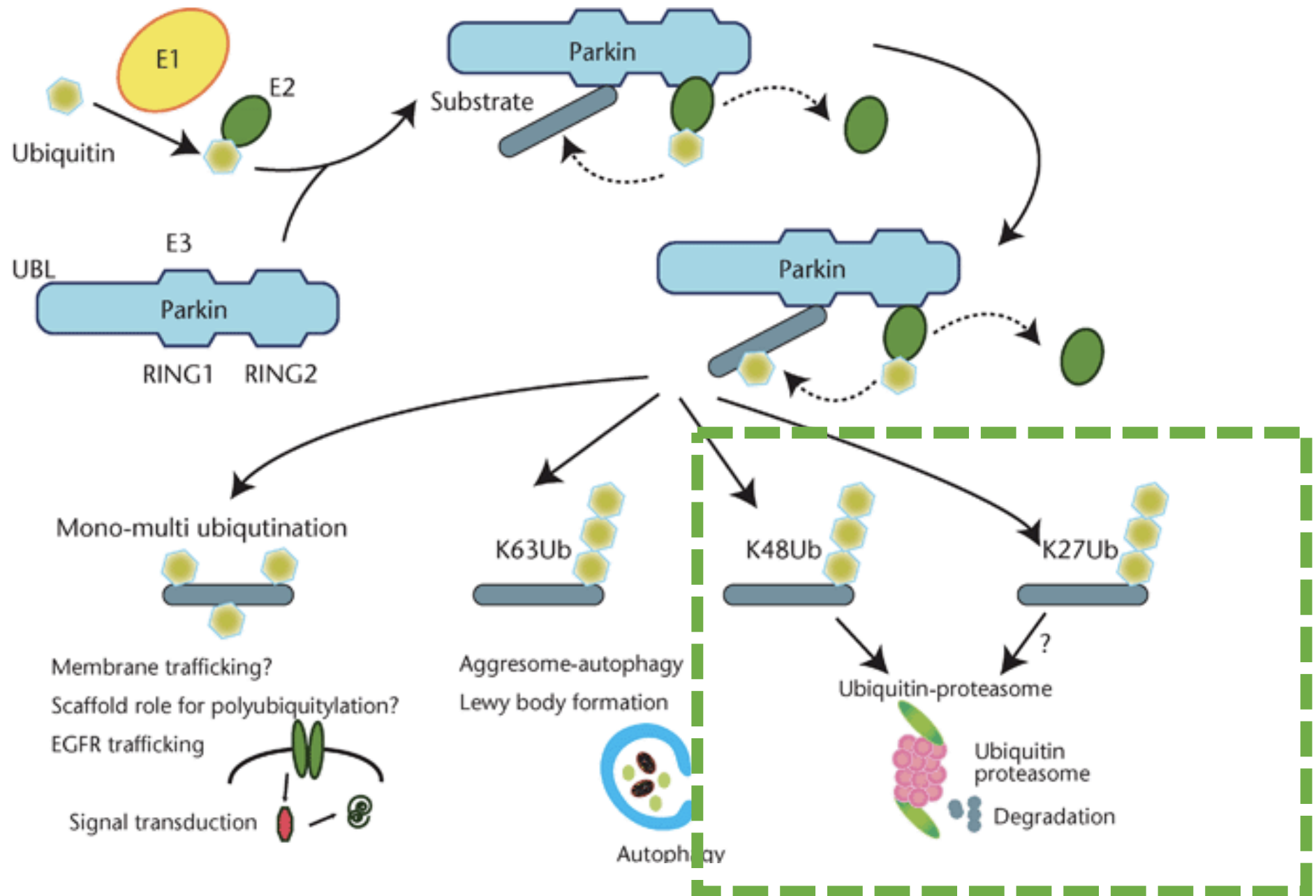
Protéine cible
marquée par
une chaîne
d'ubiquitine





Agrégats dans les neurones
(corps de Lewy)

La mutation de la PARKIN, une ubiquitine ligase, est responsable de formes génétiques de maladie de Parkinson



La mutation de la PARKIN, une E3 ligase, est responsable de formes génétiques de maladie de Parkinson

Points à retenir

- comprendre les relations topologiques des différents compartiments intracellulaires
- la traduction a toujours lieu dans le cytoplasme
- les protéines sont des structures qui se replient progressivement
- il existe un contrôle de qualité des protéines synthétisées; les protéines mal repliées ont tendance à s'agréger et sont toxiques
- les protéines peuvent être modifiées de façon covalente (phosphorylation; l'addition d'une ancre lipidique à une protéine cytoplasmique permet son interaction avec la face cytoplasmique d'une membrane)
- la poly-ubiquitinylation marque les protéines vers la dégradation par le protéasome