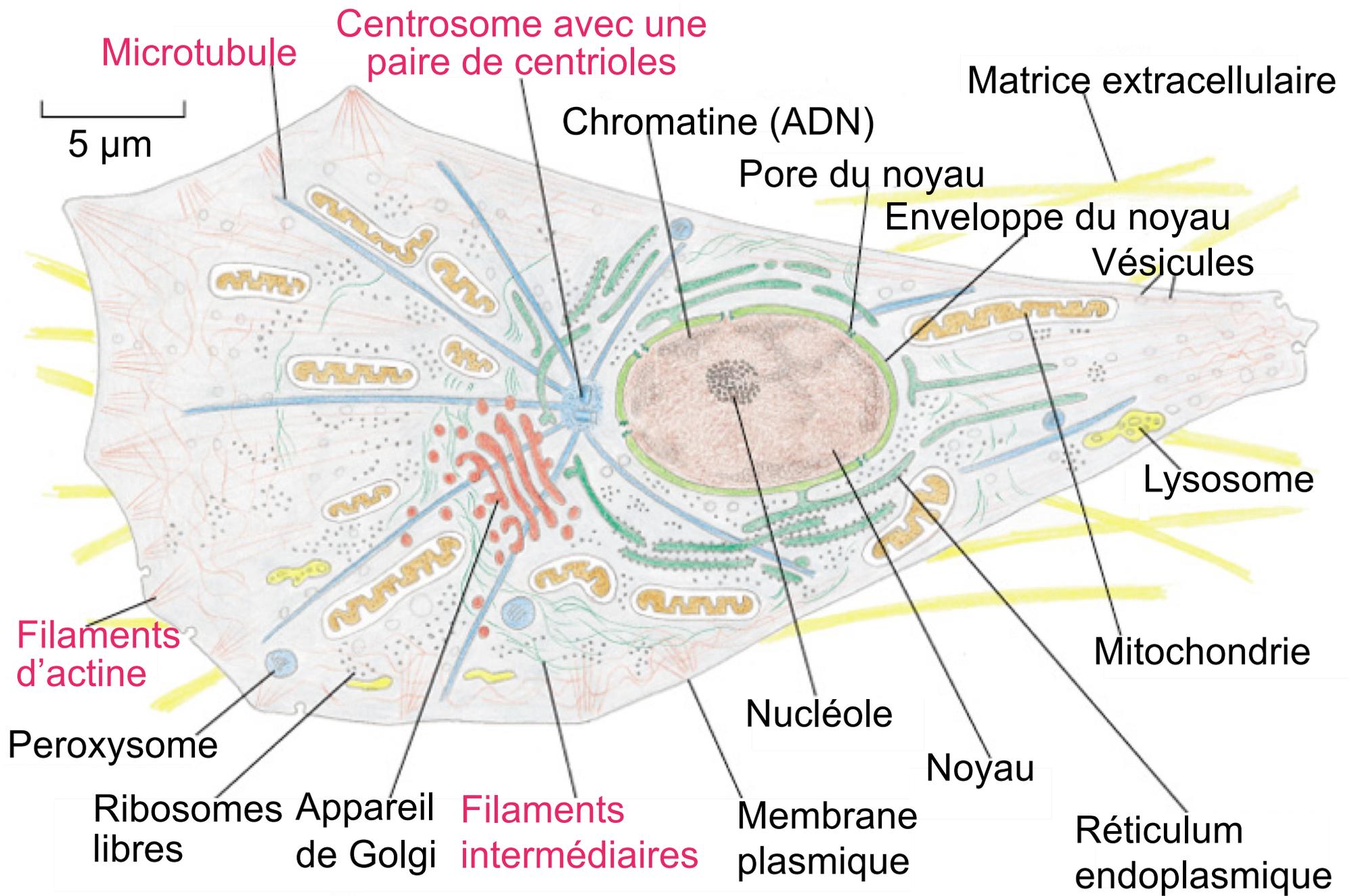


## **Chapitre 8 :**

### **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

---

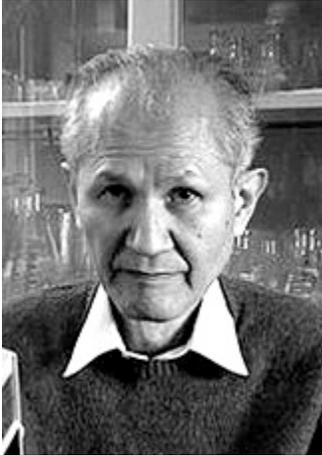
**COMMENT CONTRUIRE  
CES COMPARTIMENTS  
ET Y ADRESSER LEURS  
CONSTITUANTS ?**

LYSOSOMES

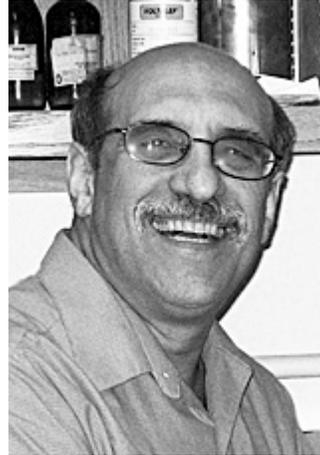
ENDOSOME  
INITIAL

SURFACE DE LA CELLULE

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



Osamu Shimomura  
1928-2018

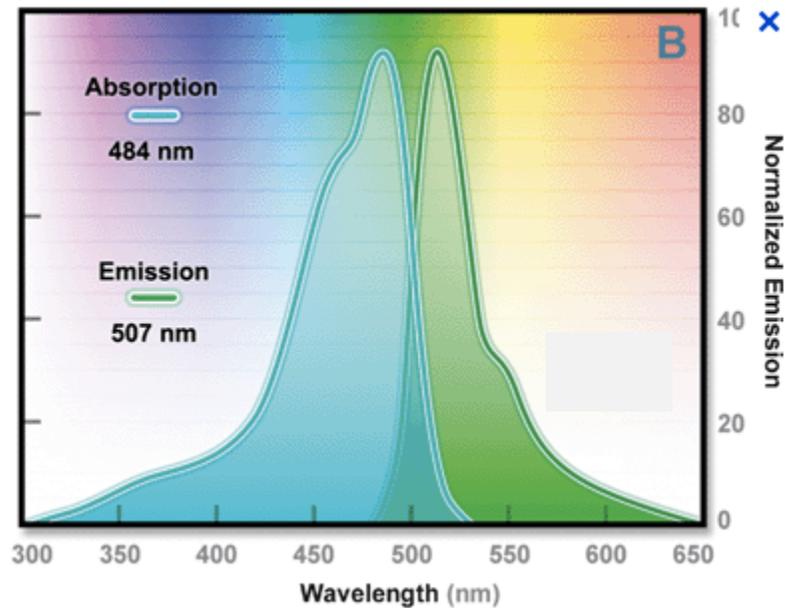
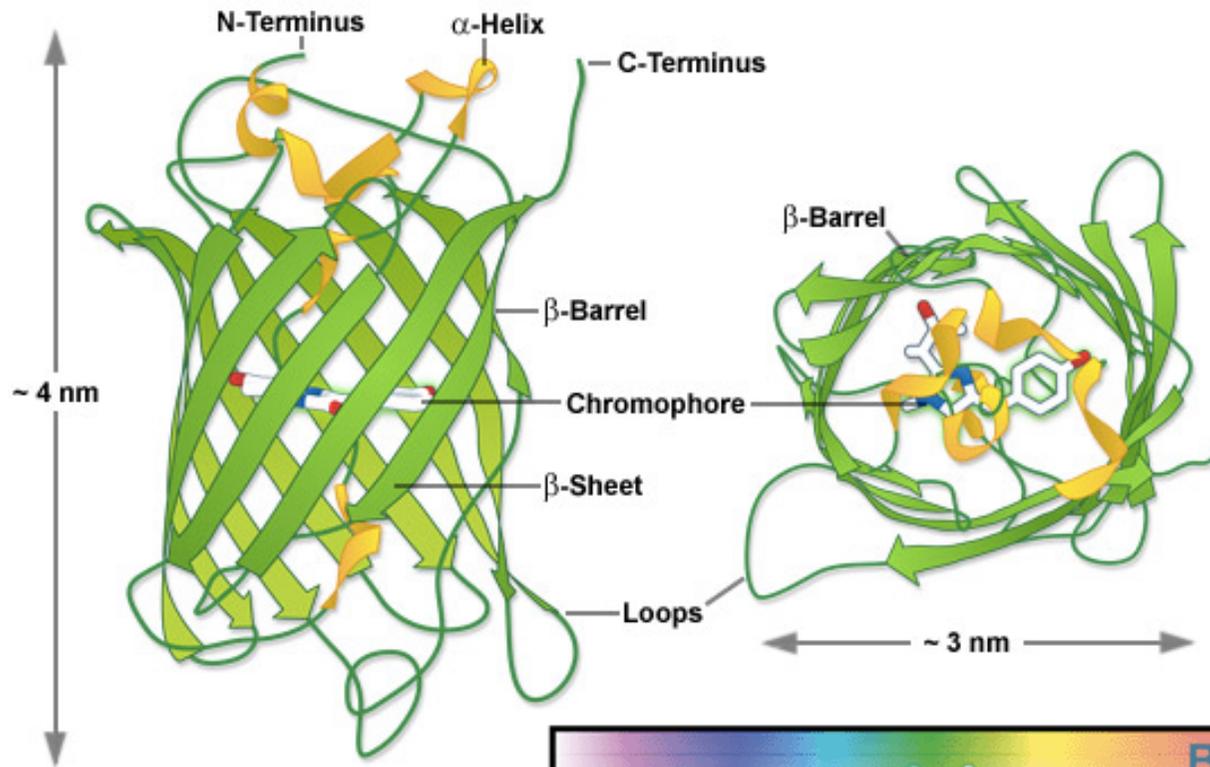


Martin Chalfie  
1947-

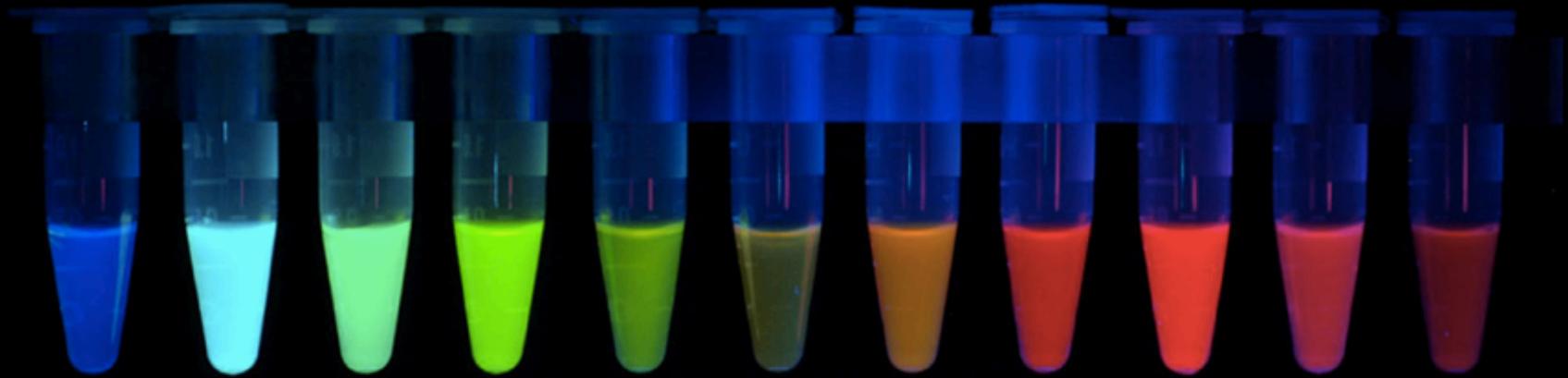


Roger Y. Tsien  
1952-2016

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

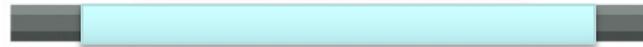


Labo. Roger TSIEN

Des variants de toutes les couleurs

ADNc de l'ARNm de la protéine d'intérêt

ATG

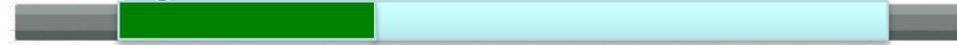


**INSERTION DE LA SÉQUENCE  
DE LA GFP**



ATG

ATG



**VECTEUR D'EXPRESSION**

Étiquetage d'une protéine pour la localiser

ADNc de l'ARNm de la protéine d'intérêt

ATG

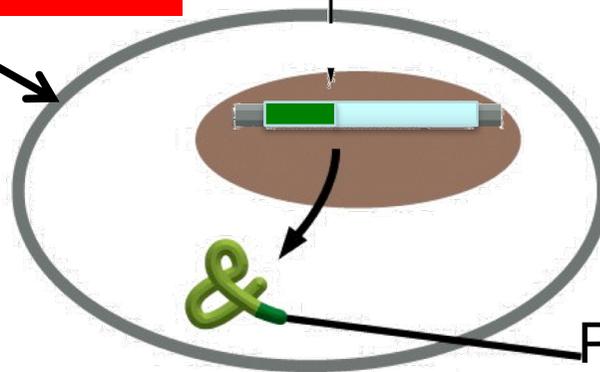


**INSERTION DE LA SÉQUENCE DE LA GFP**



INTRODUCTION DANS LA CELLULE

**VECTEUR D'EXPRESSION**



Protéine étiquetée fluorescente

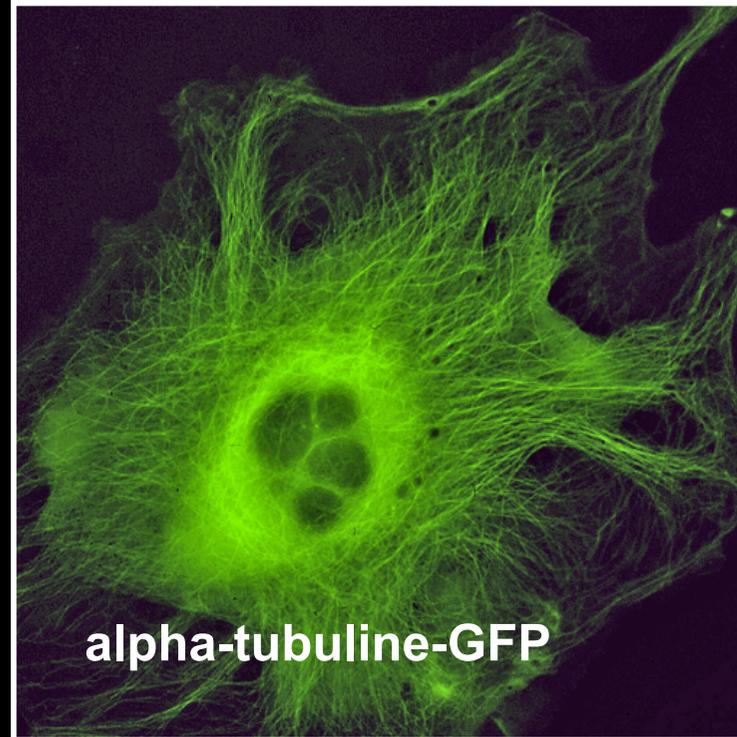
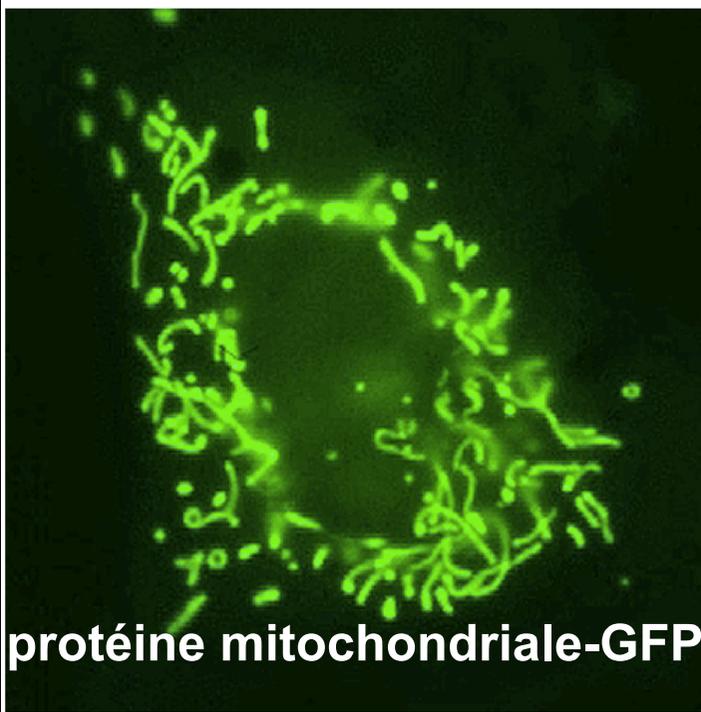
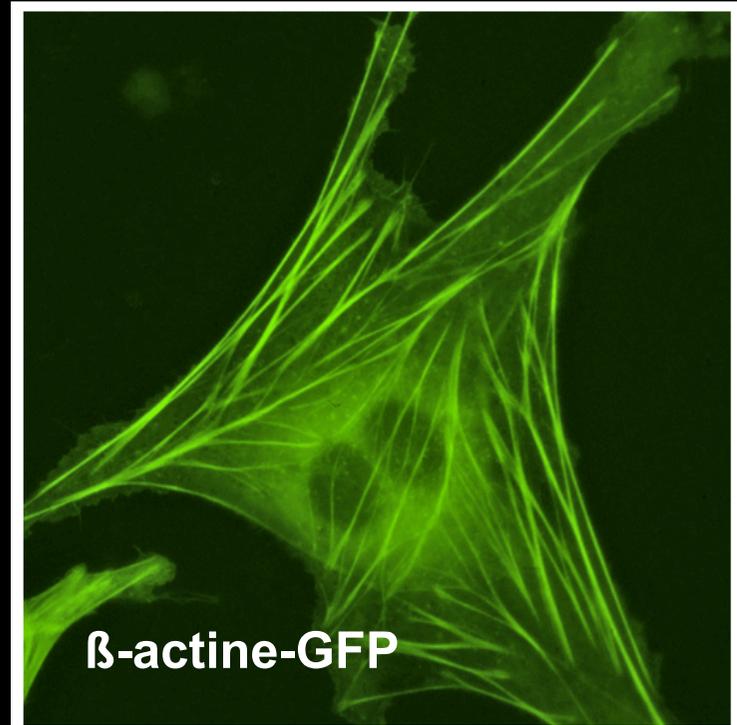
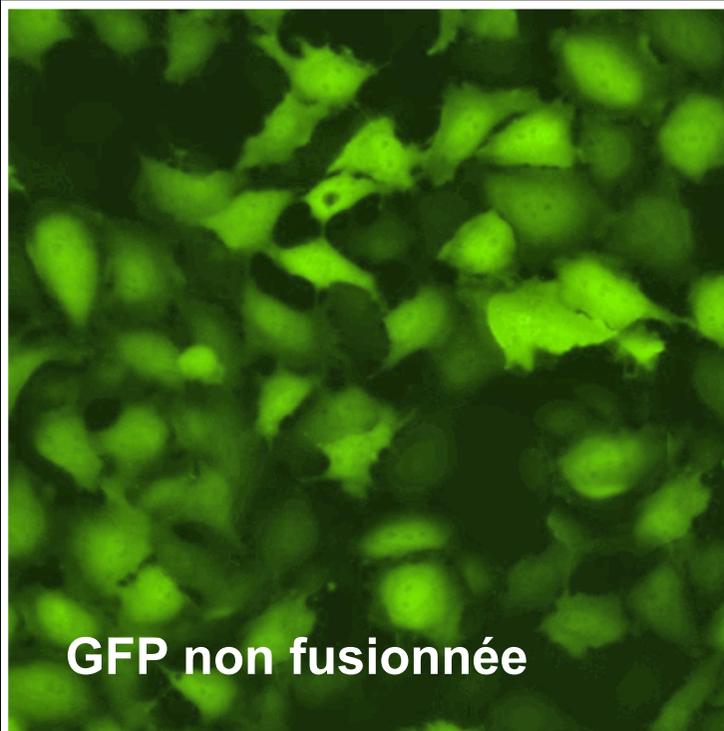
Localisation par la fluorescence émise par la GFP

**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**

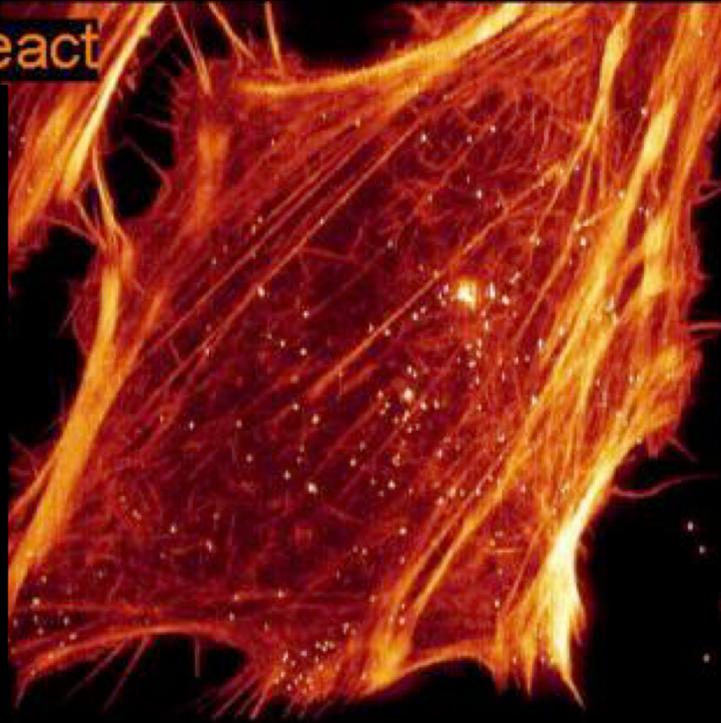




Transport d'une protéine fusionnée à la GFP depuis l'appareil de Golgi jusqu'à la surface de la cellule.

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

PEROXY SOMES

MITOCHONDRIES

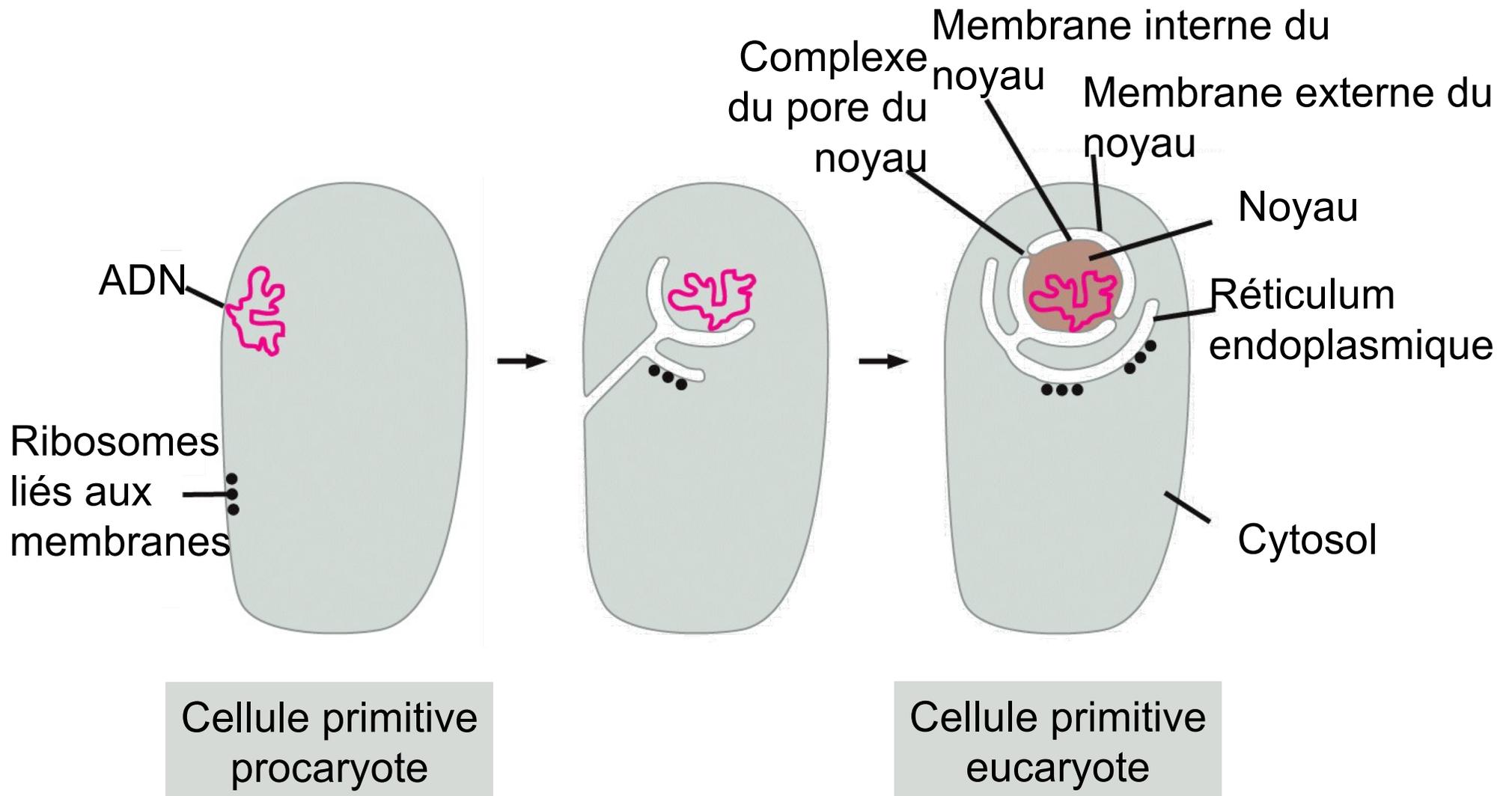
---

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

LYSOSOMES

ENDOSOME  
INITIAL

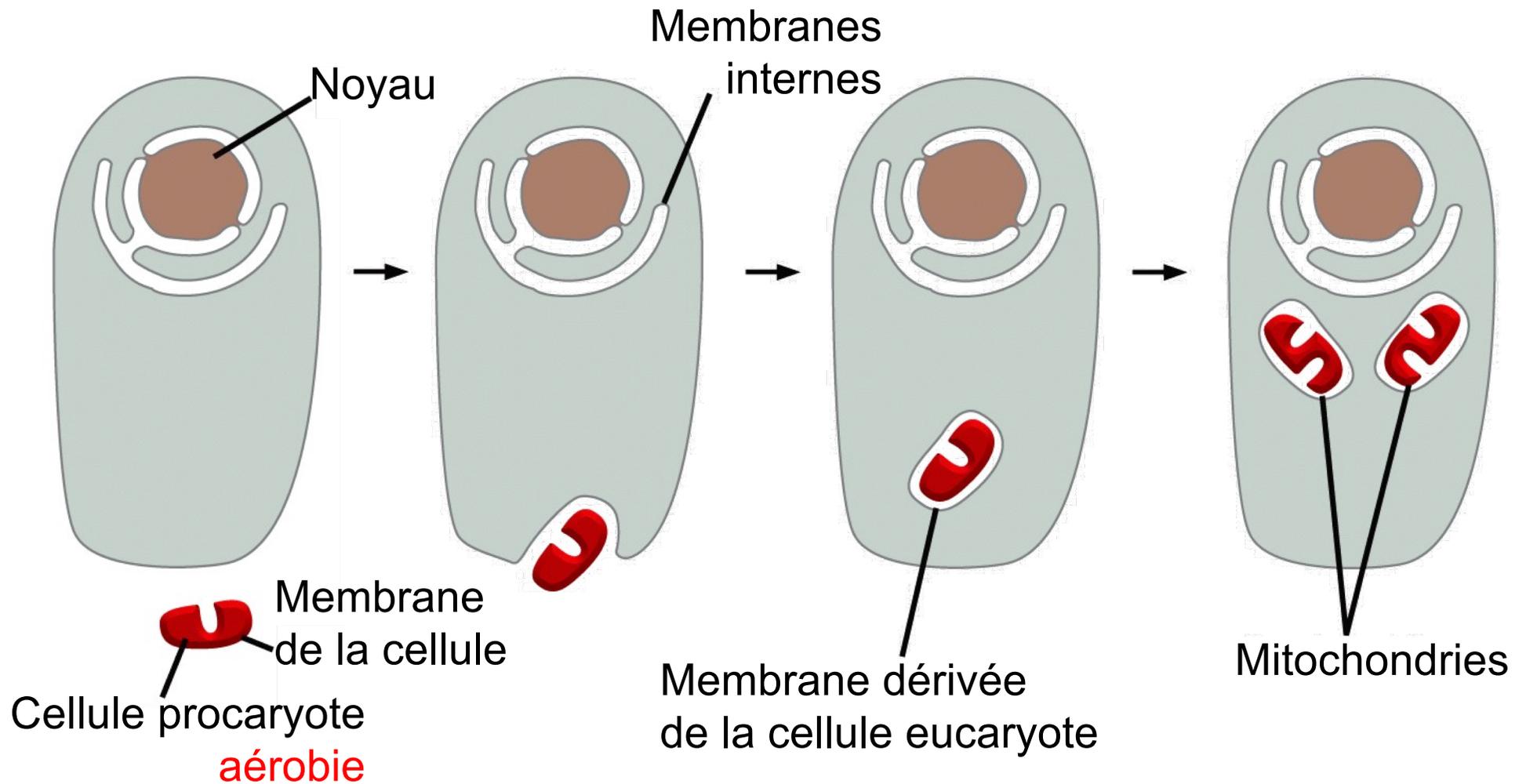
SURFACE DE LA CELLULE



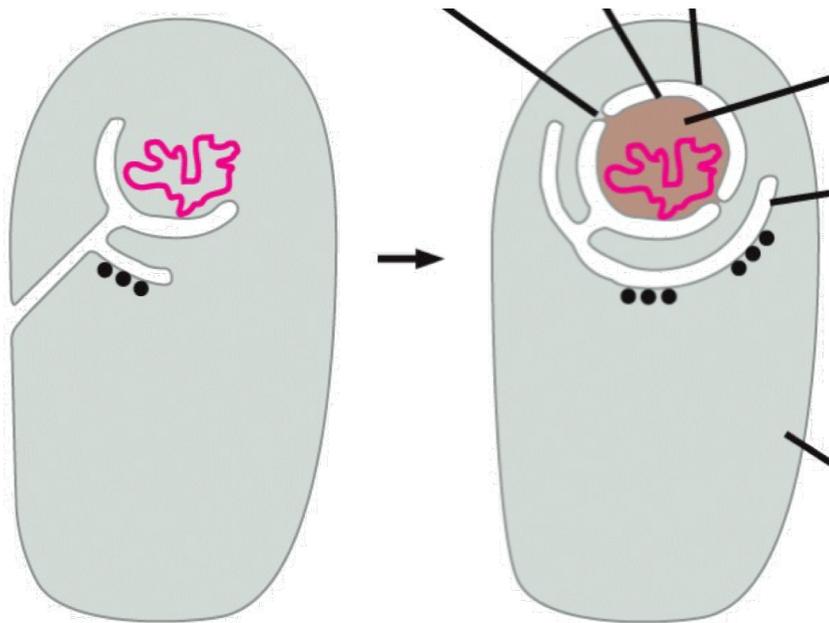
**Passage d'une cellule procaryote à une cellule eucaryote**

Cellule primitive  
eucaryote **anaérobie**

Cellule eucaryote  
**aérobie**



**Passage d'une cellule anaérobie à une cellule aérobie**



Membrane plasmique

Lysosome

Réticulum  
endoplasmique  
granulaire

Noyau

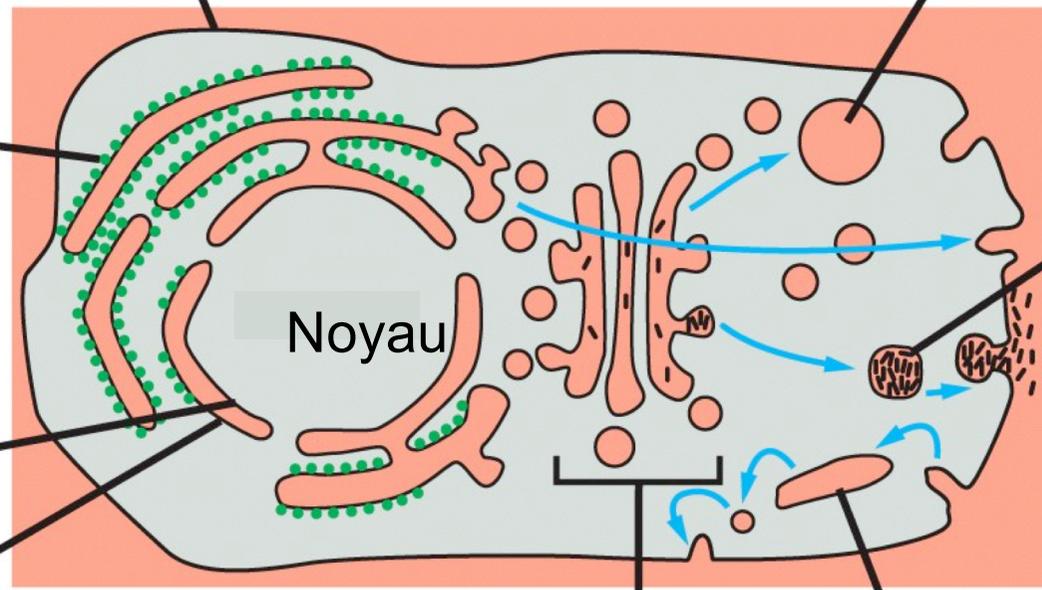
Vésicule de  
sécrétion

Enveloppe  
du noyau

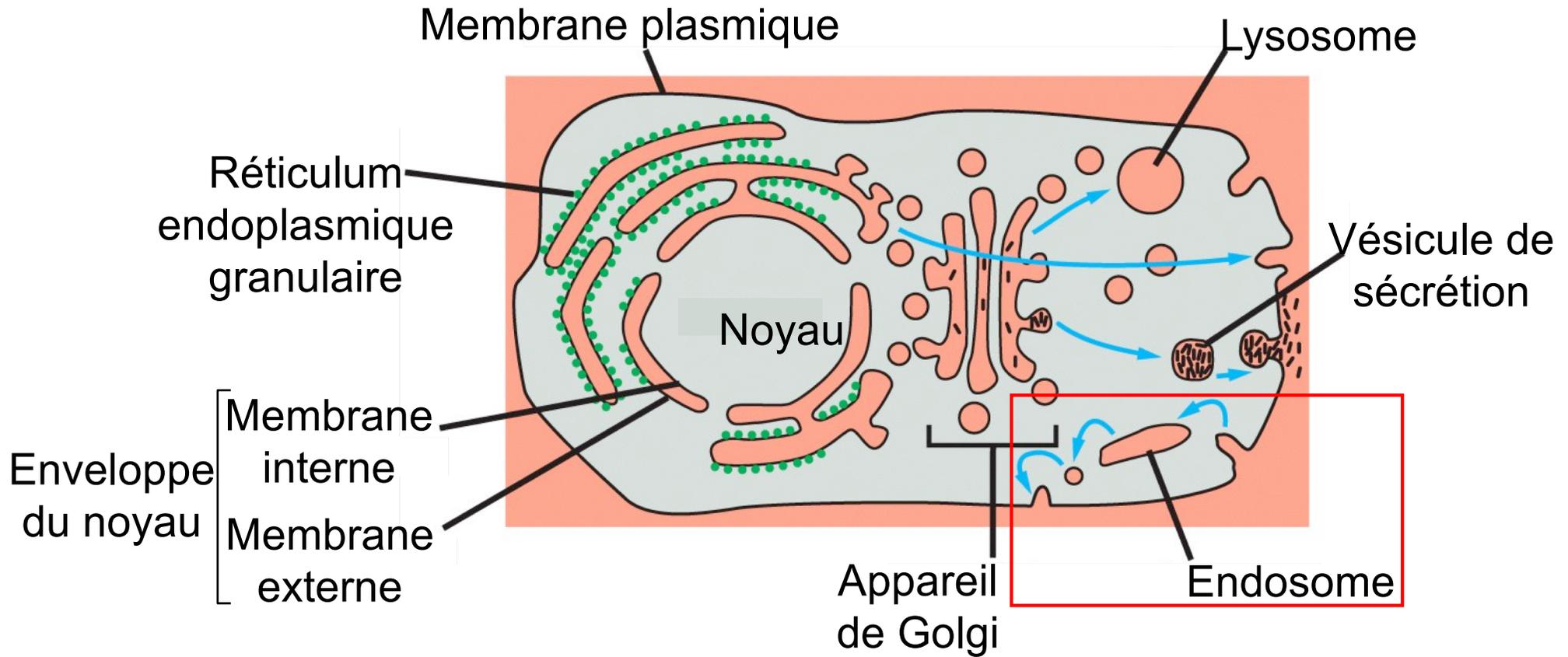
- Membrane interne
- Membrane externe

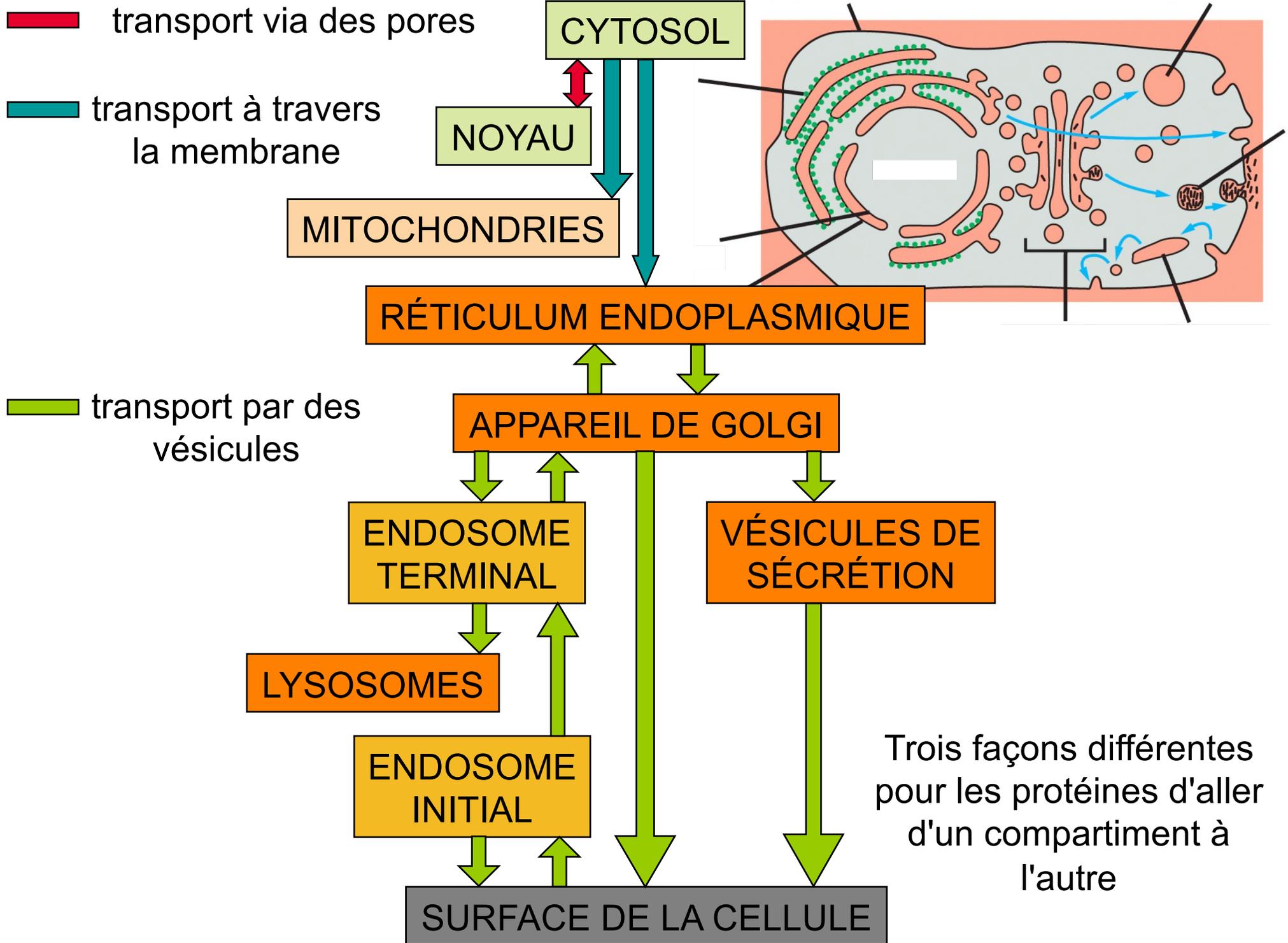
Appareil  
de Golgi

Endosome

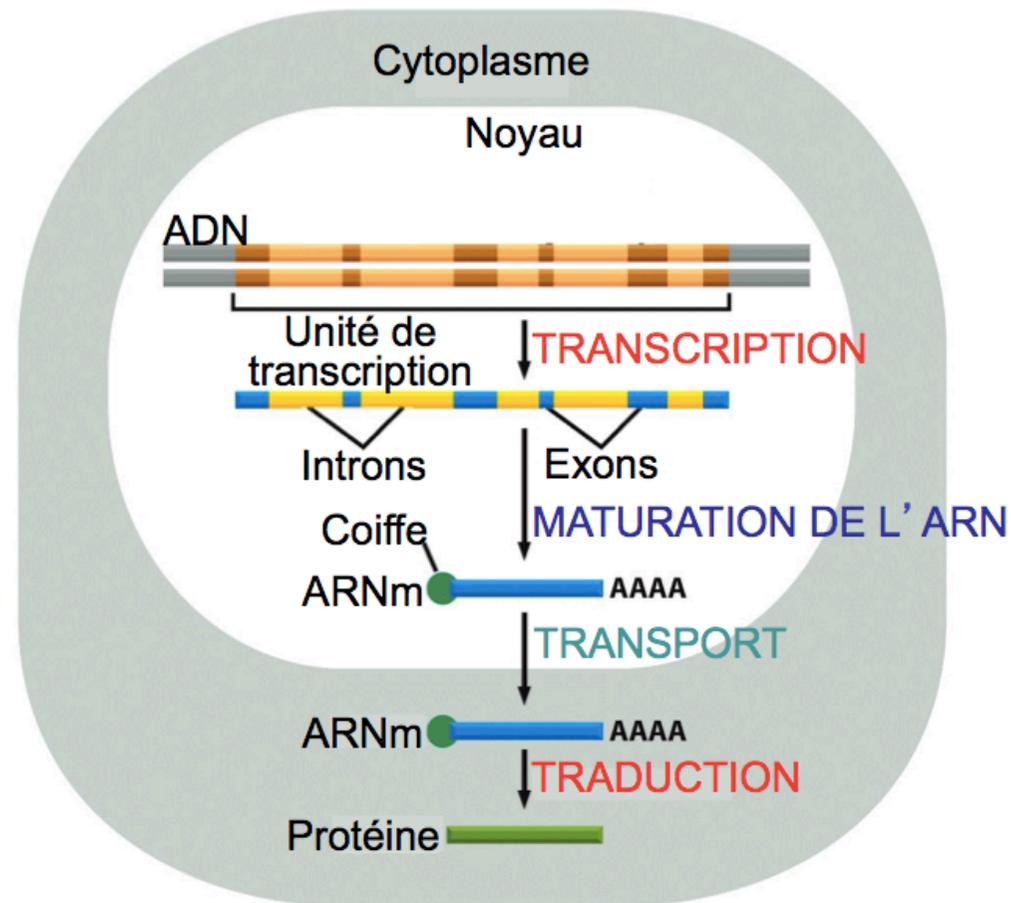


# Relations topologiques entre les différents compartiments des voies de sécrétion et d'endocytose

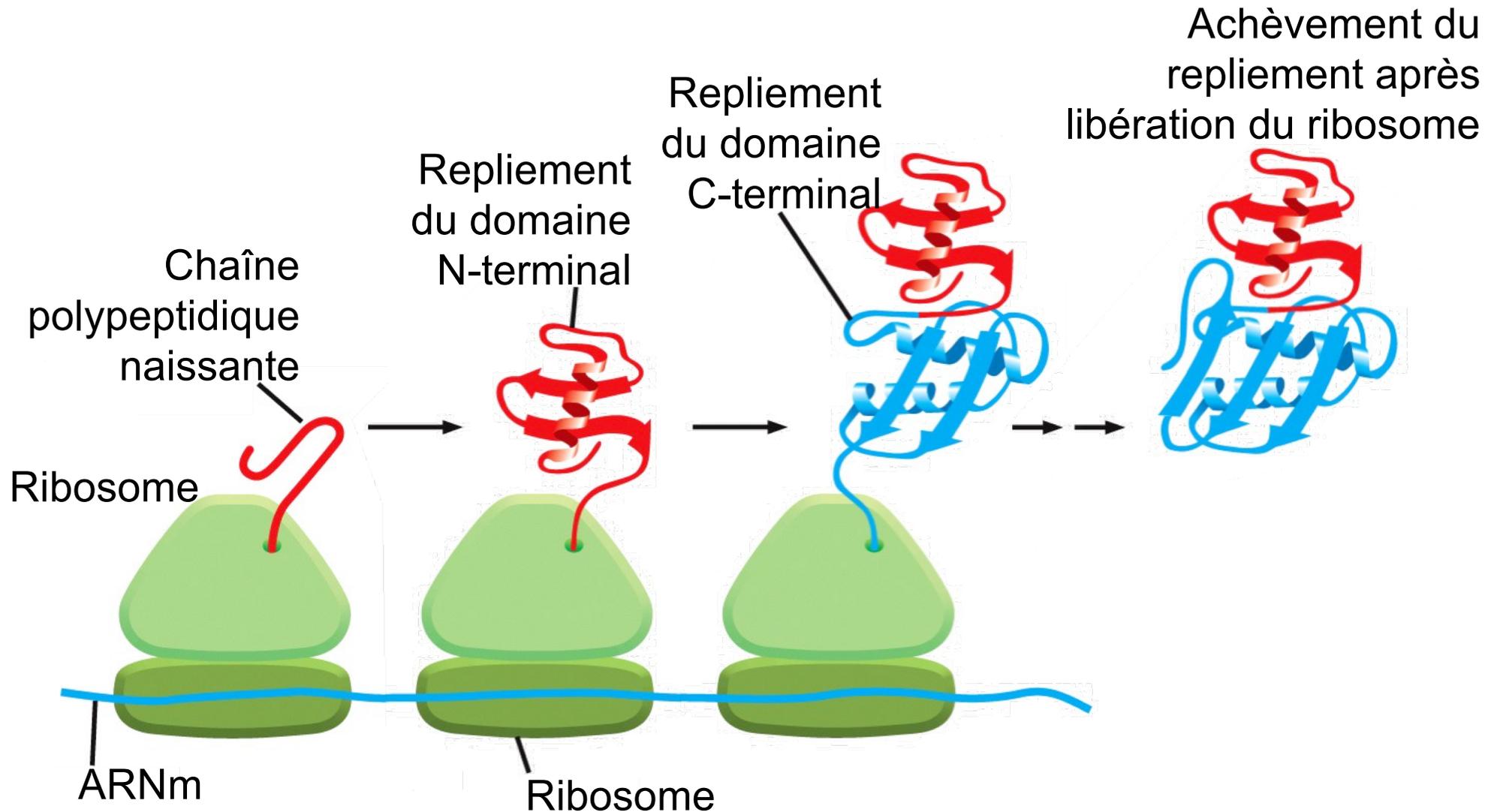




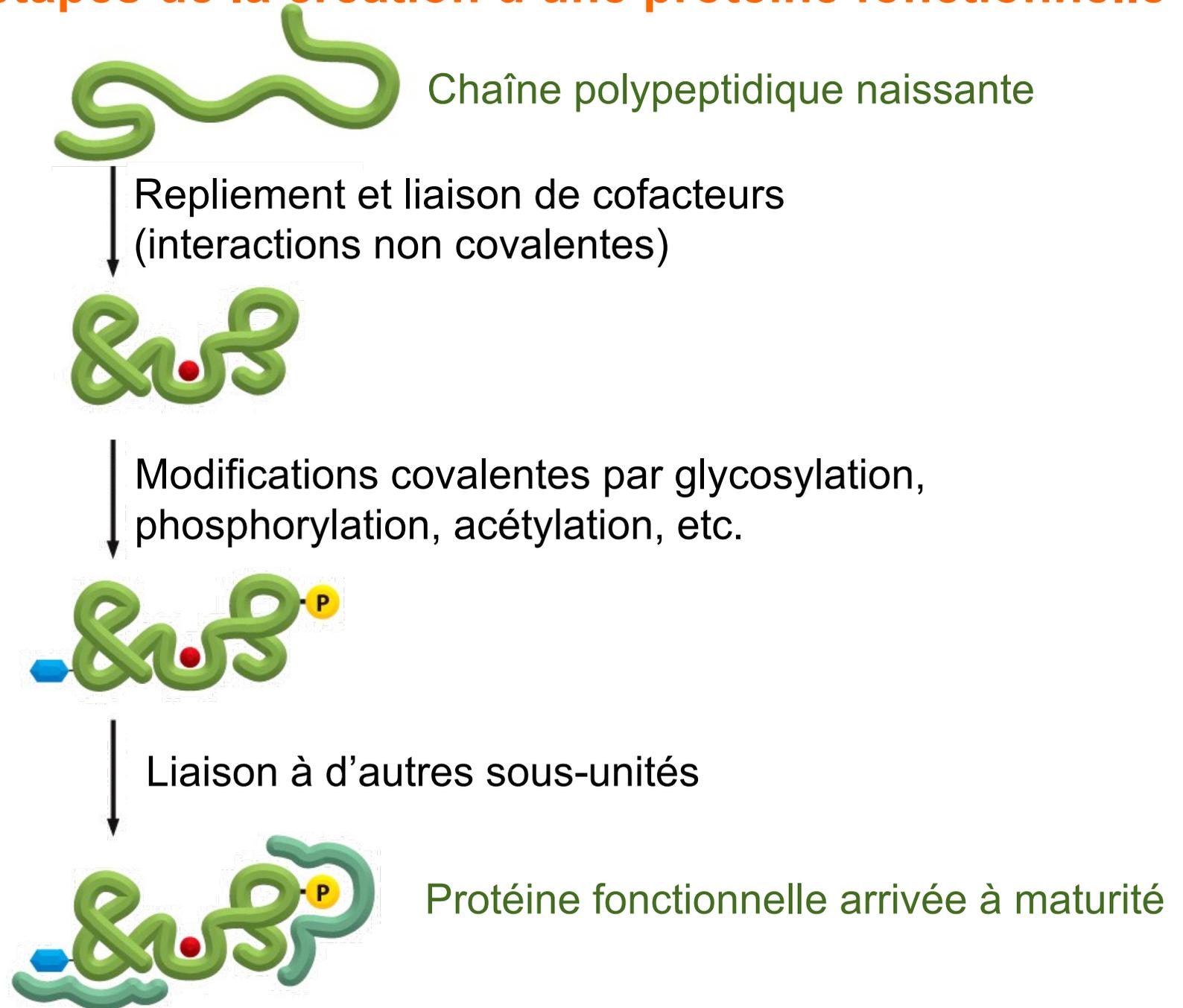
# La **SYNTHÈSE PROTÉIQUE** a lieu dans le **CYTOPLASME**



# Repliement d'une protéine lors de sa synthèse

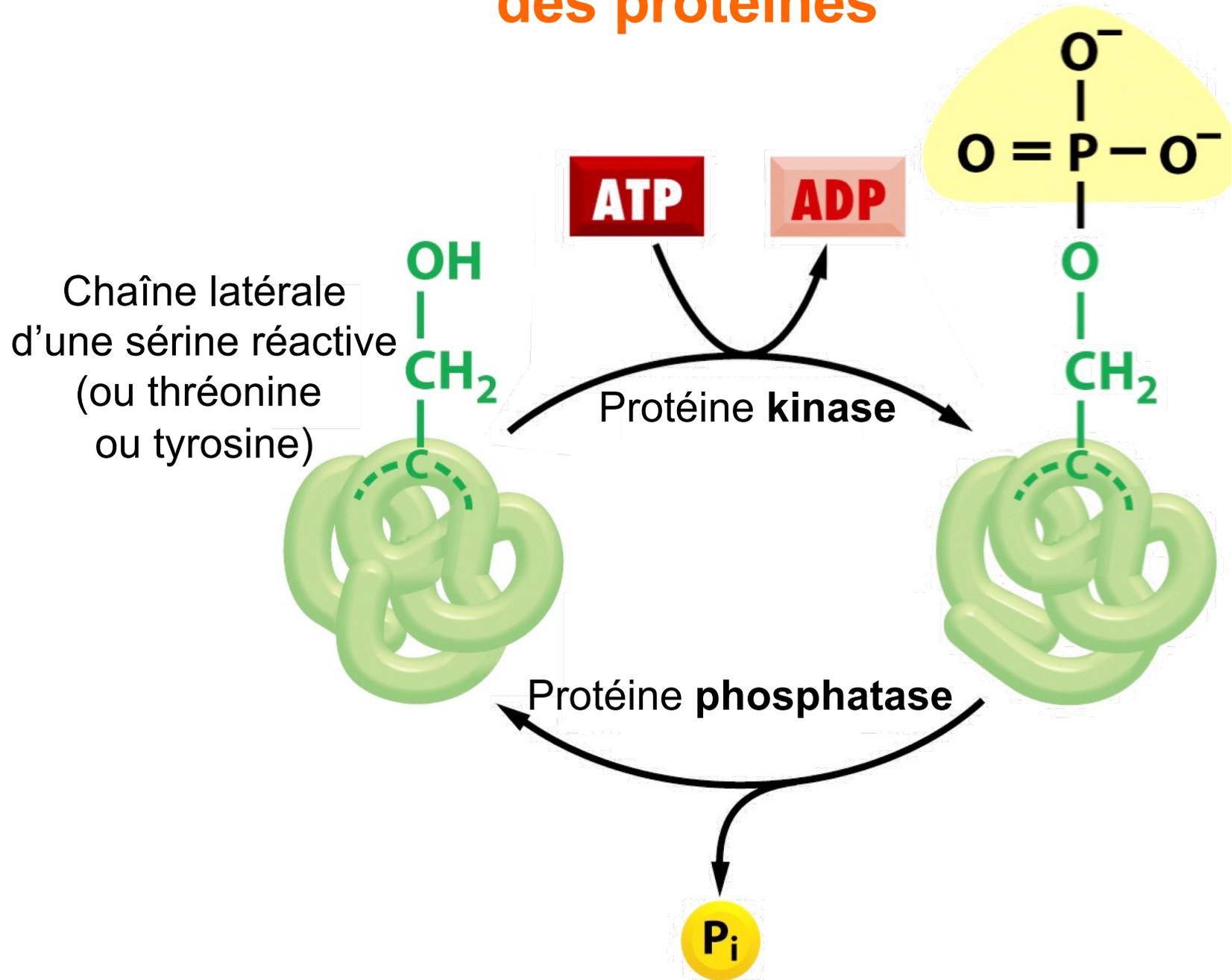


# Principales étapes de la création d'une protéine fonctionnelle



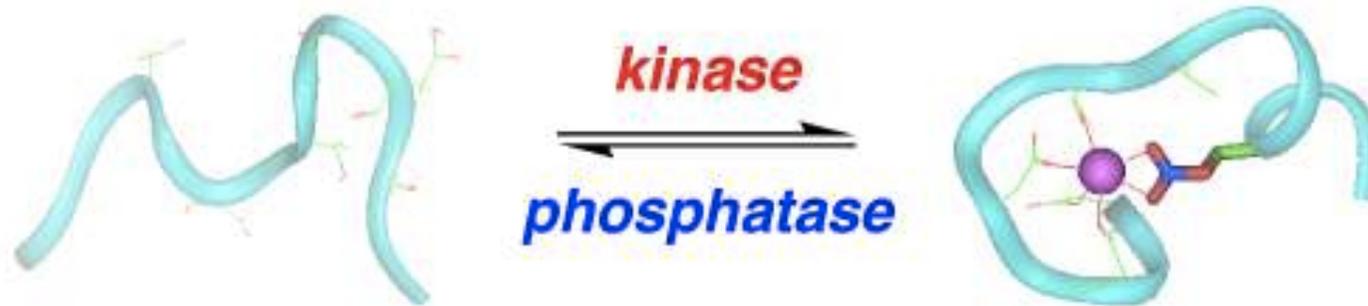
**De nombreuses modifications post-traductionnelles  
ont lieu dans le cytoplasme**

# 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

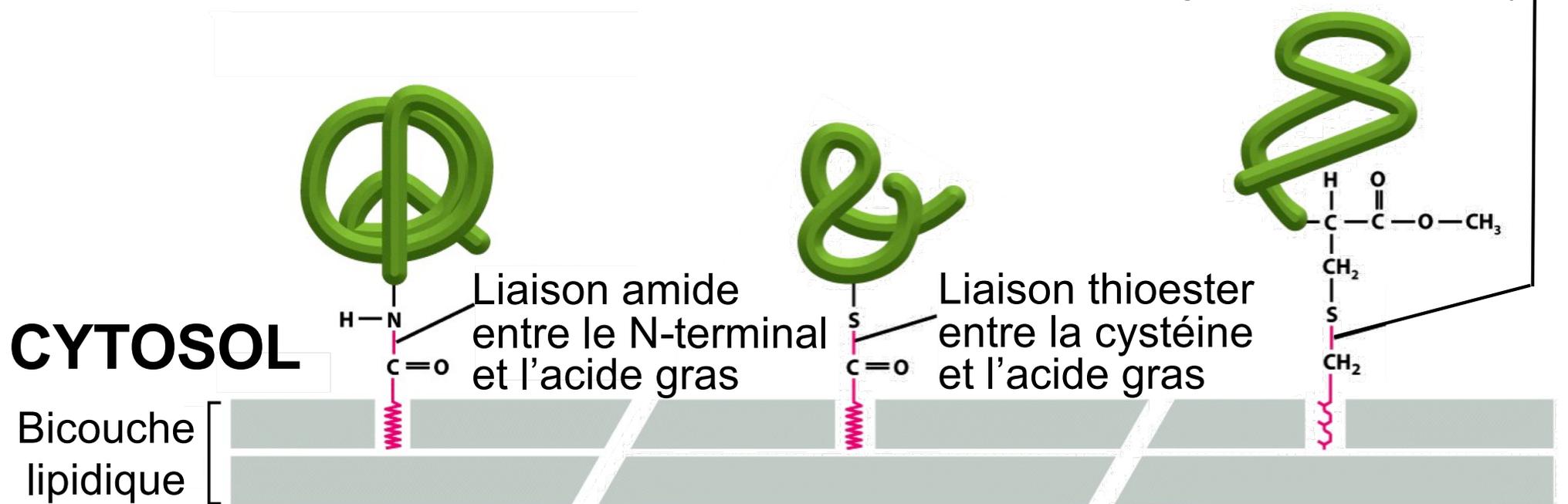
*Environ 1/3 des 10 000 protéines différentes présentes dans une cellule sont phosphorylées*

# 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

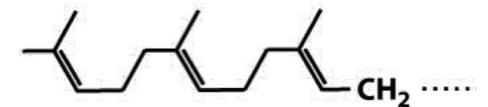
Liaison thioéther entre la cystéine et le groupement prényl



Ancre de myristyl



Ancre de palmitoyl



Ancre de farnésyl

# Repliement des protéines et contrôle de qualité

Repliement correct  
de la protéine



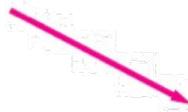
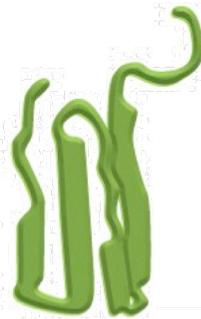
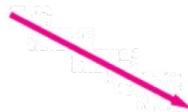
État de repliement  
intermédiaire



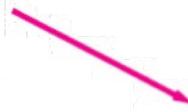
Protéine  
correctement  
repliée



Repliement incorrect  
de la protéine



Accidents  
irréparables



Destruction par  
des protéases



Catalyse par des  
protéines chaperons

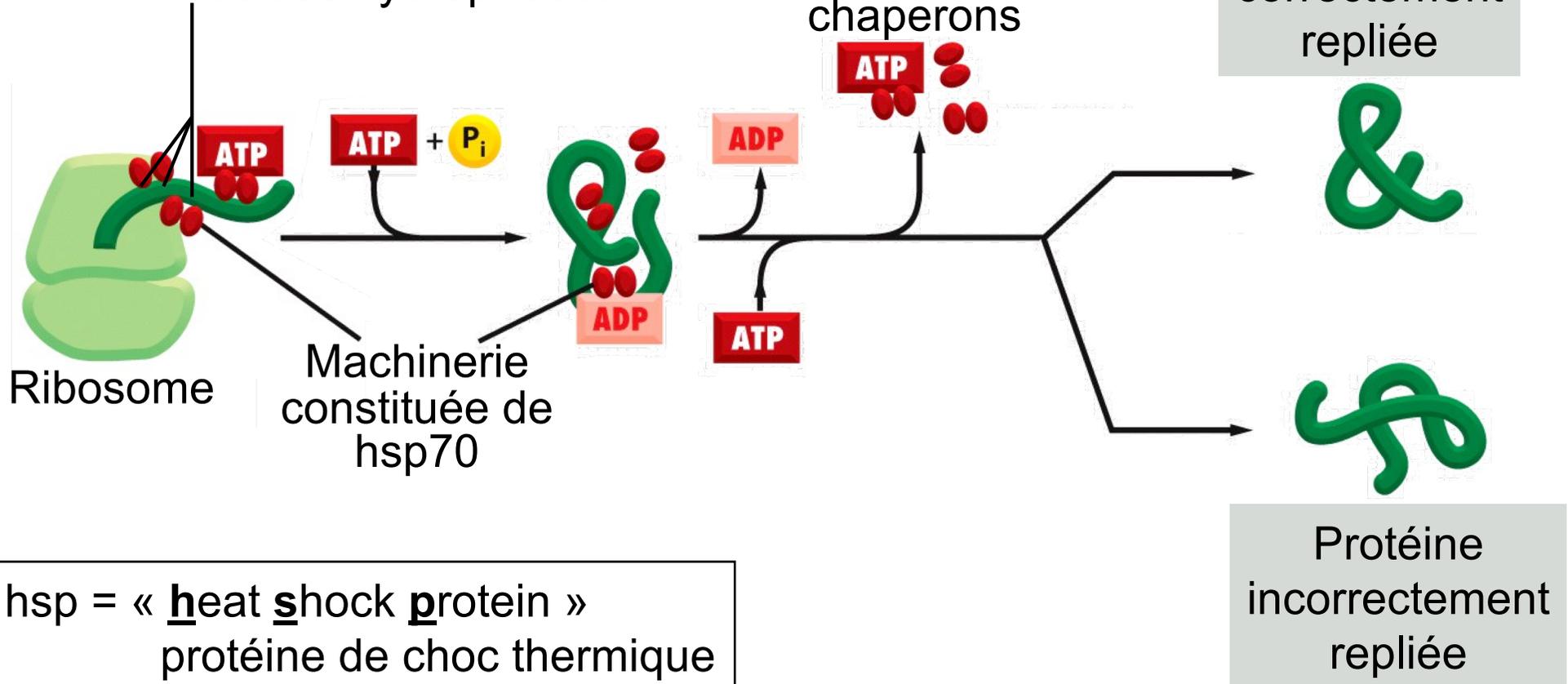
Vue actuelle de la voie de repliement des protéines

**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

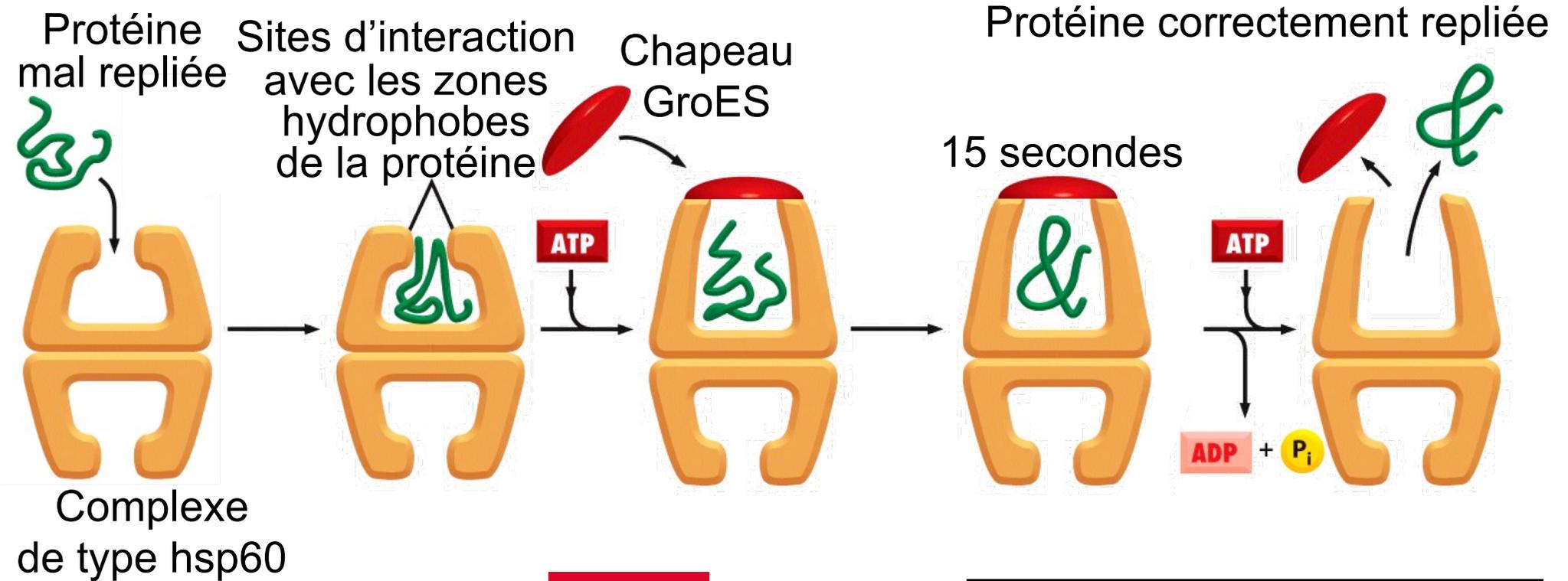
## La famille hsp70 de chaperons moléculaires

Segments de la protéine constitués d'acides aminés hydrophobes



hsp = « **h**eat **s**hock **p**rotein »  
protéine de choc thermique

# Structure et fonction d'un chaperon moléculaire de type hsp60

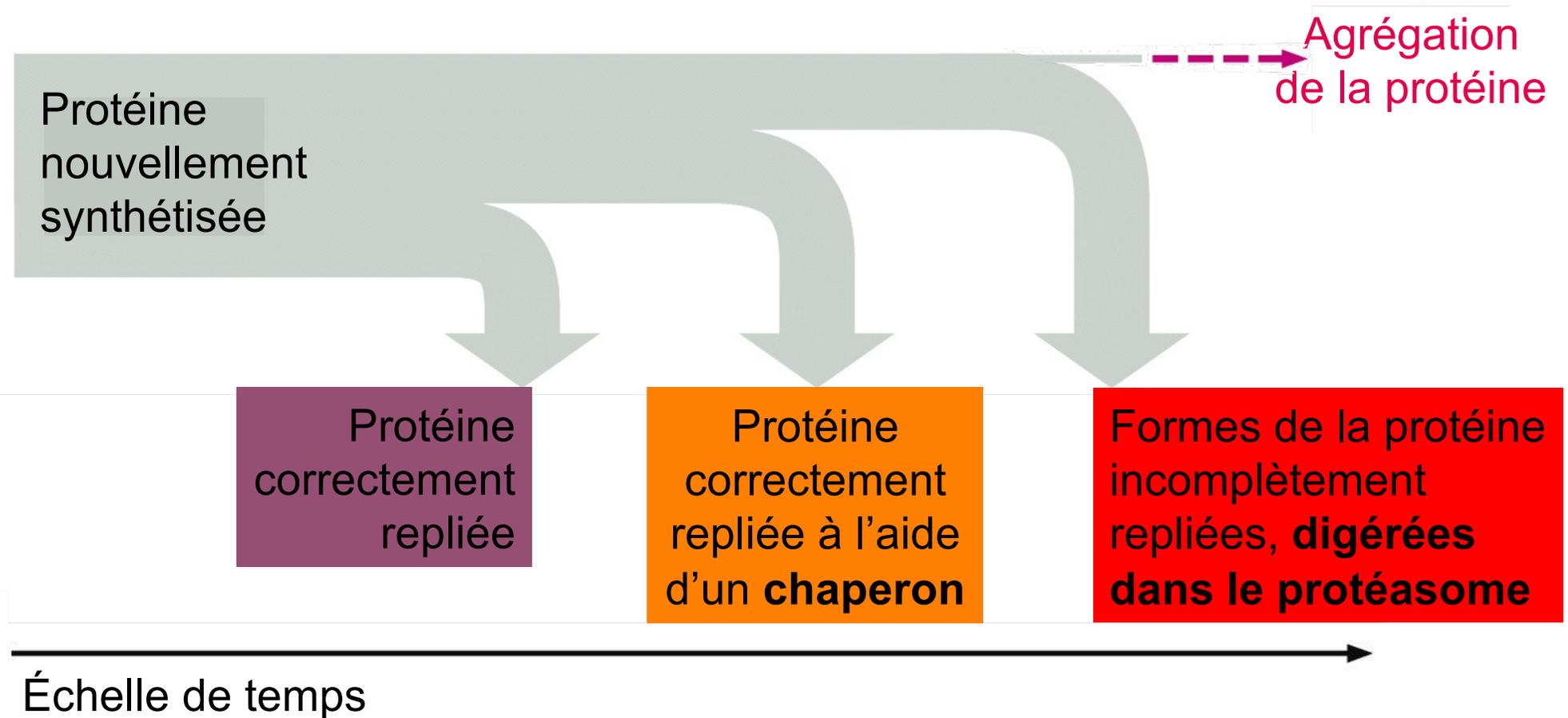


GroEL

GroES

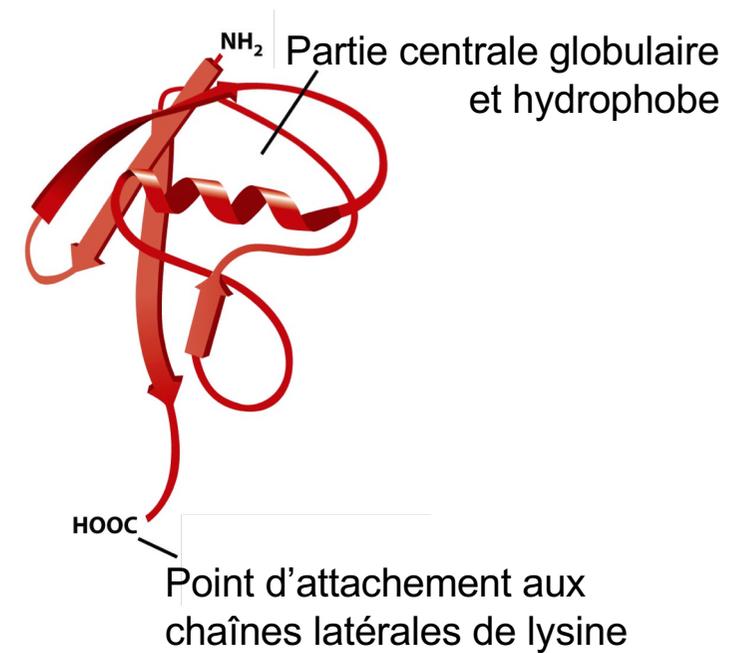
Chaperonine :

- 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.

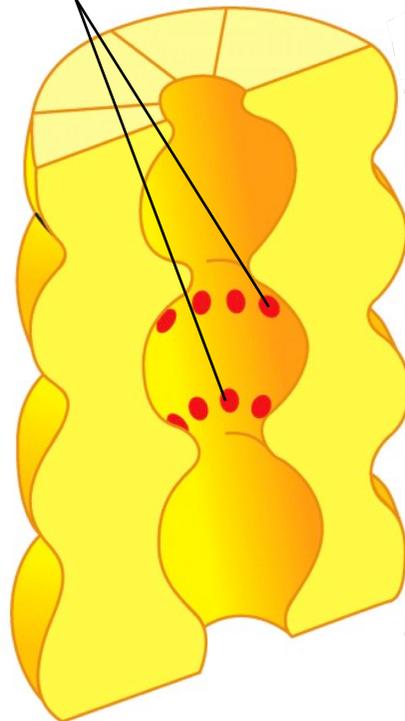
**Protéasome** : grand complexe protéique (2500 kDa), situé dans le cytosol et le nucléoplasme, qui possède une activité de protéolyse responsable de la dégradation des protéines, en fragments de 10-12 aa.

20S : quatre anneaux d'heptamère de protéines

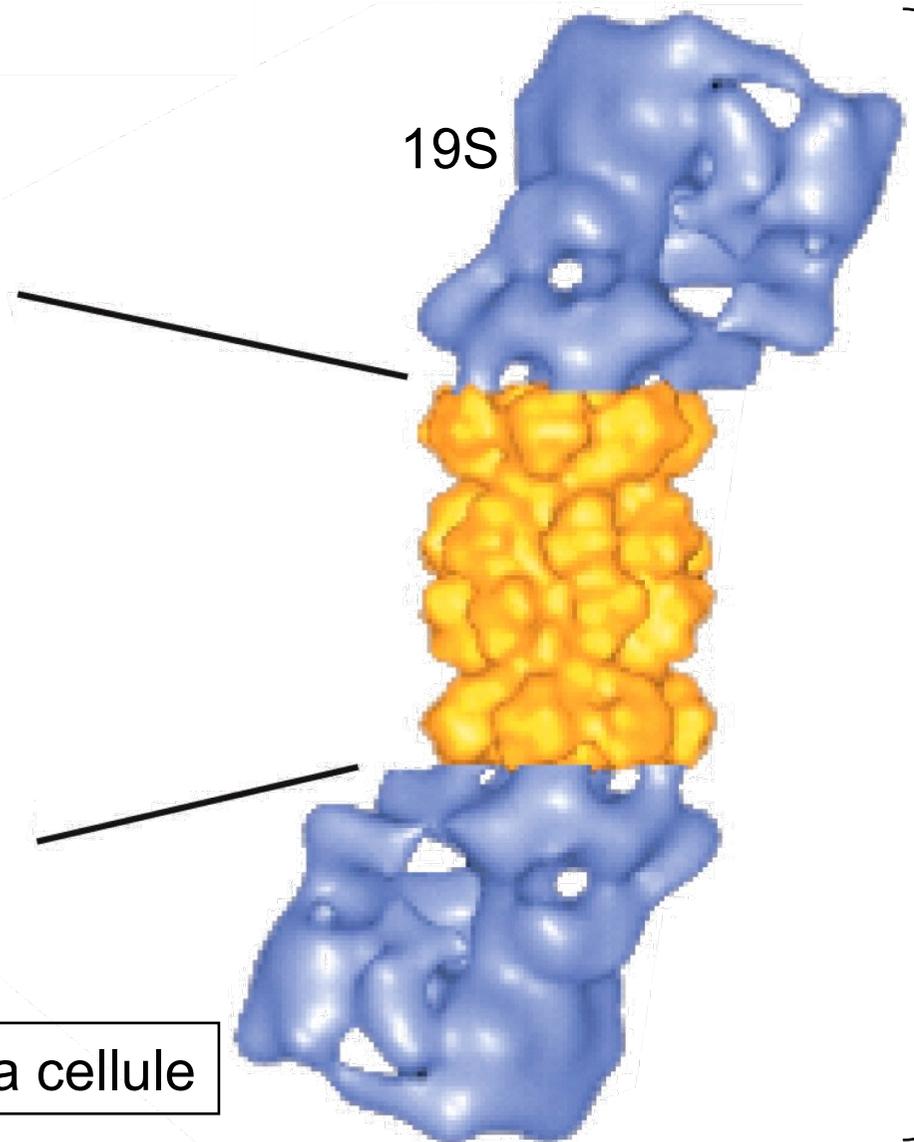
19S : capuchon contenant un anneau de protéines fait de six sous-unités

• Sites actifs  
des protéases

20S



19S



26S

taille  
150 Å  
=  
15 nm

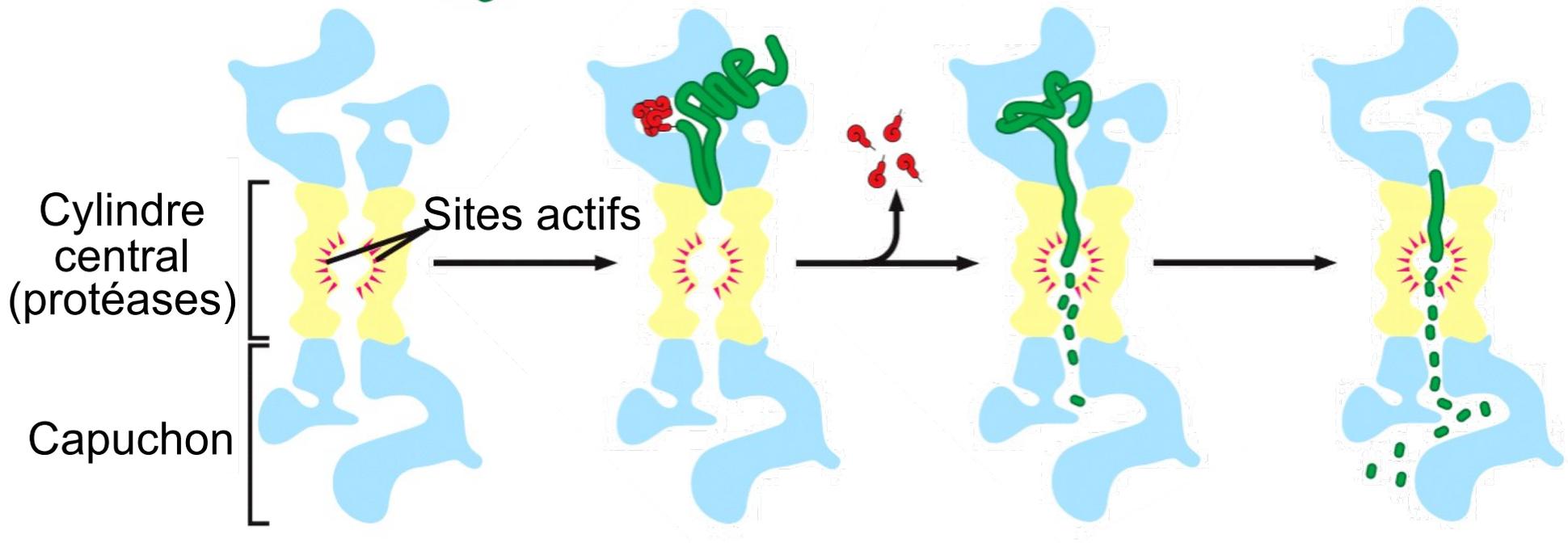
Environ 1 % des protéines de la cellule

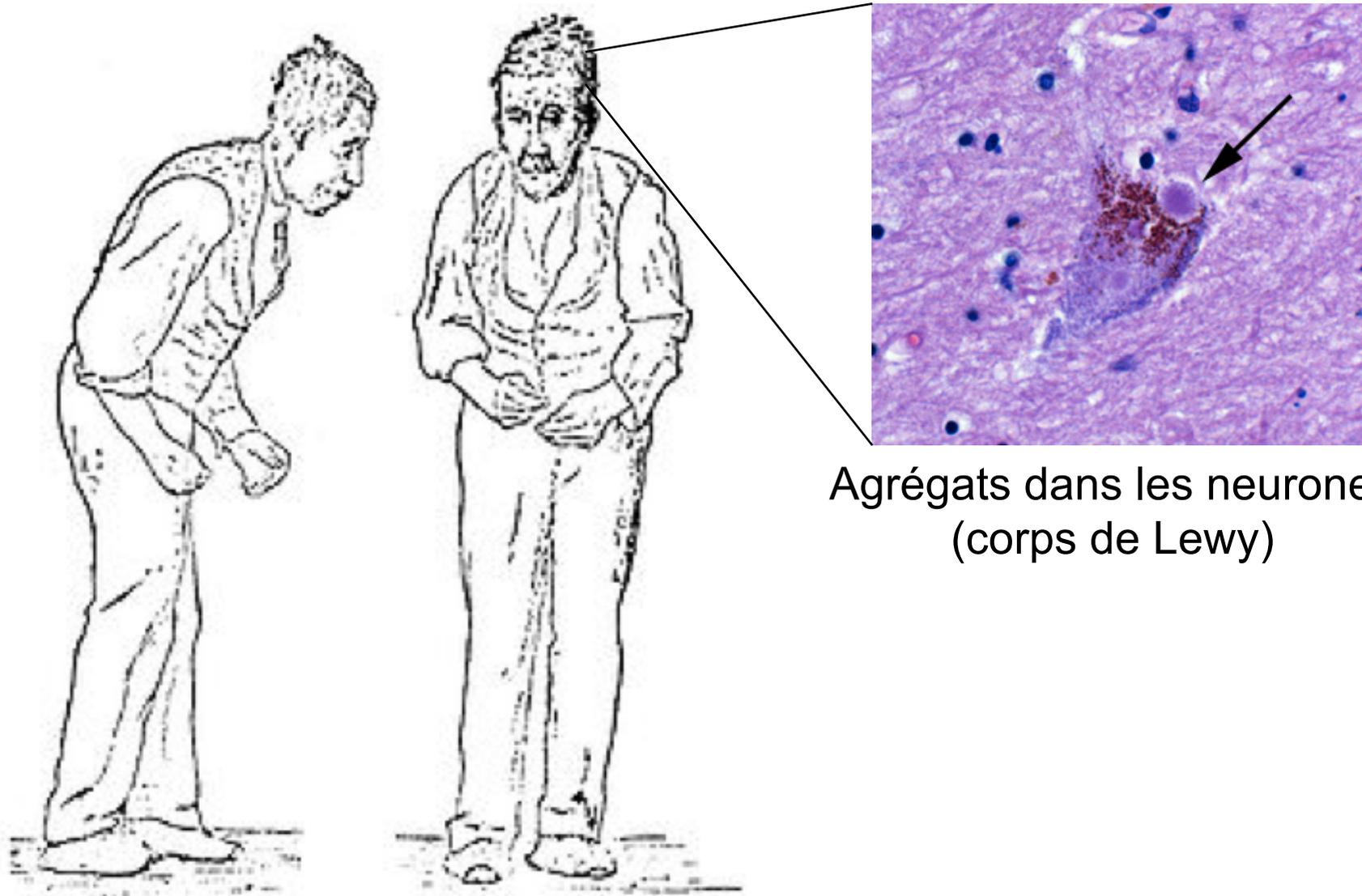
**Structure du protéasome**

**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

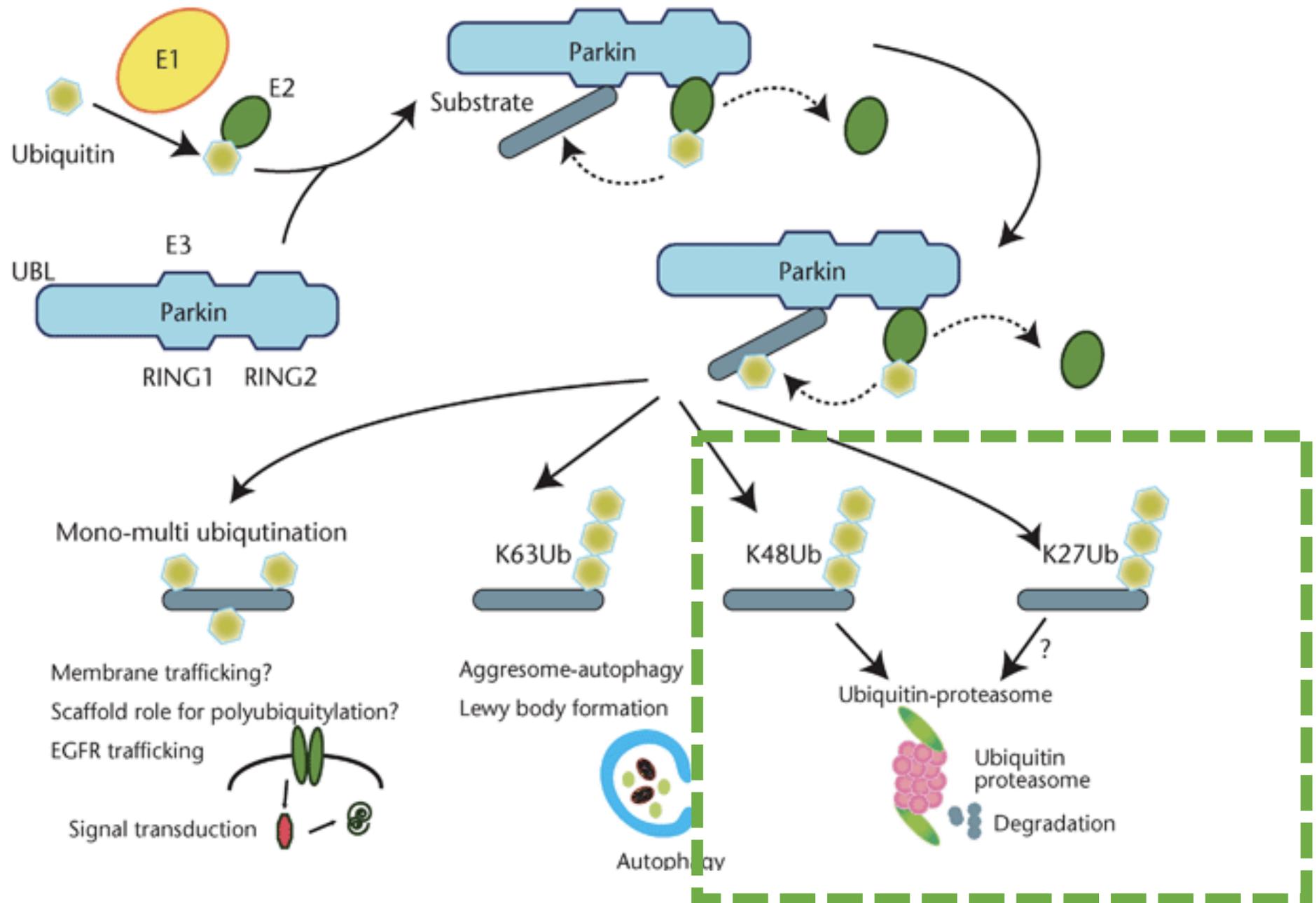
Protéine cible  
marquée par  
une chaîne  
d'ubiquitine





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