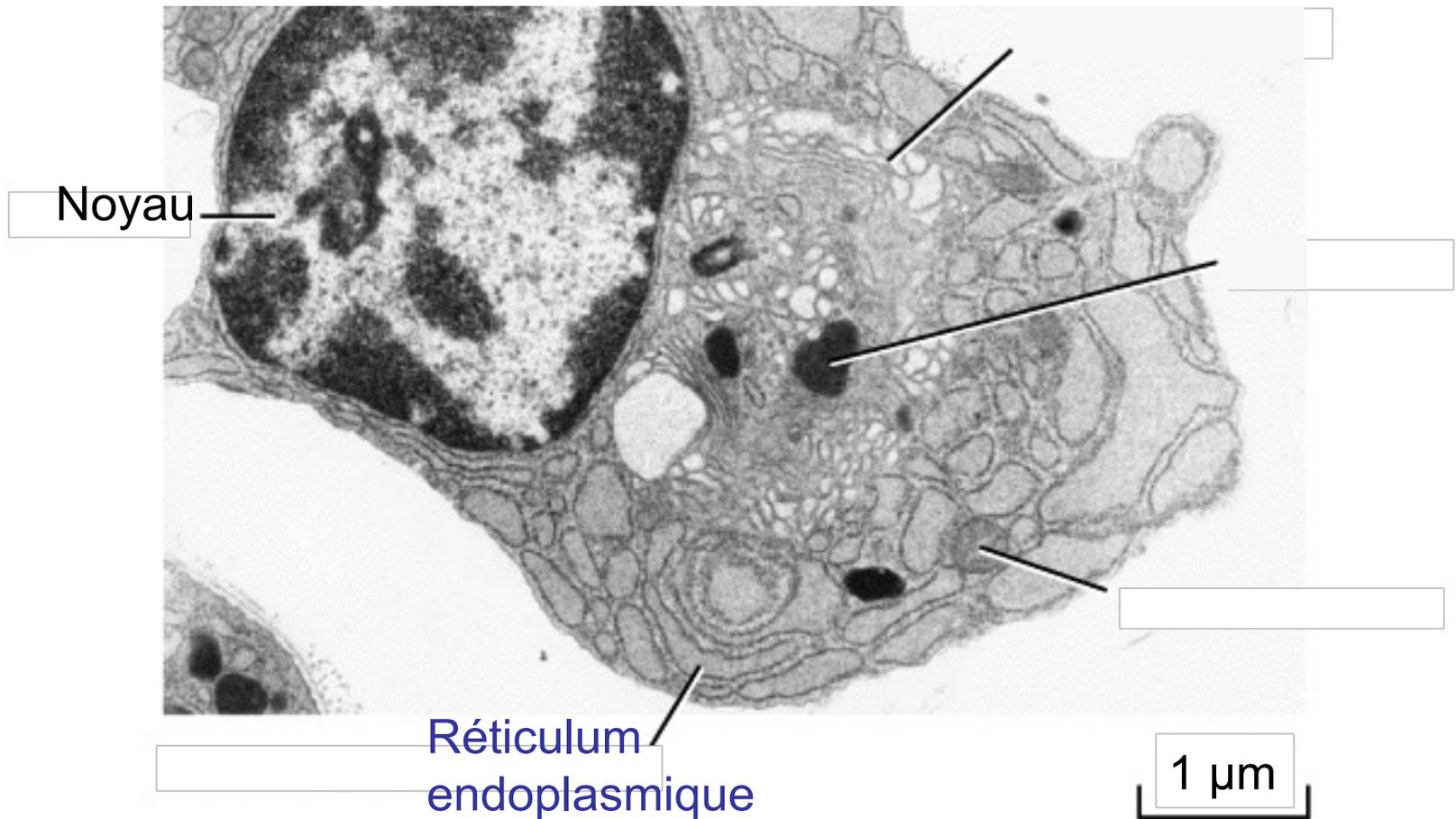


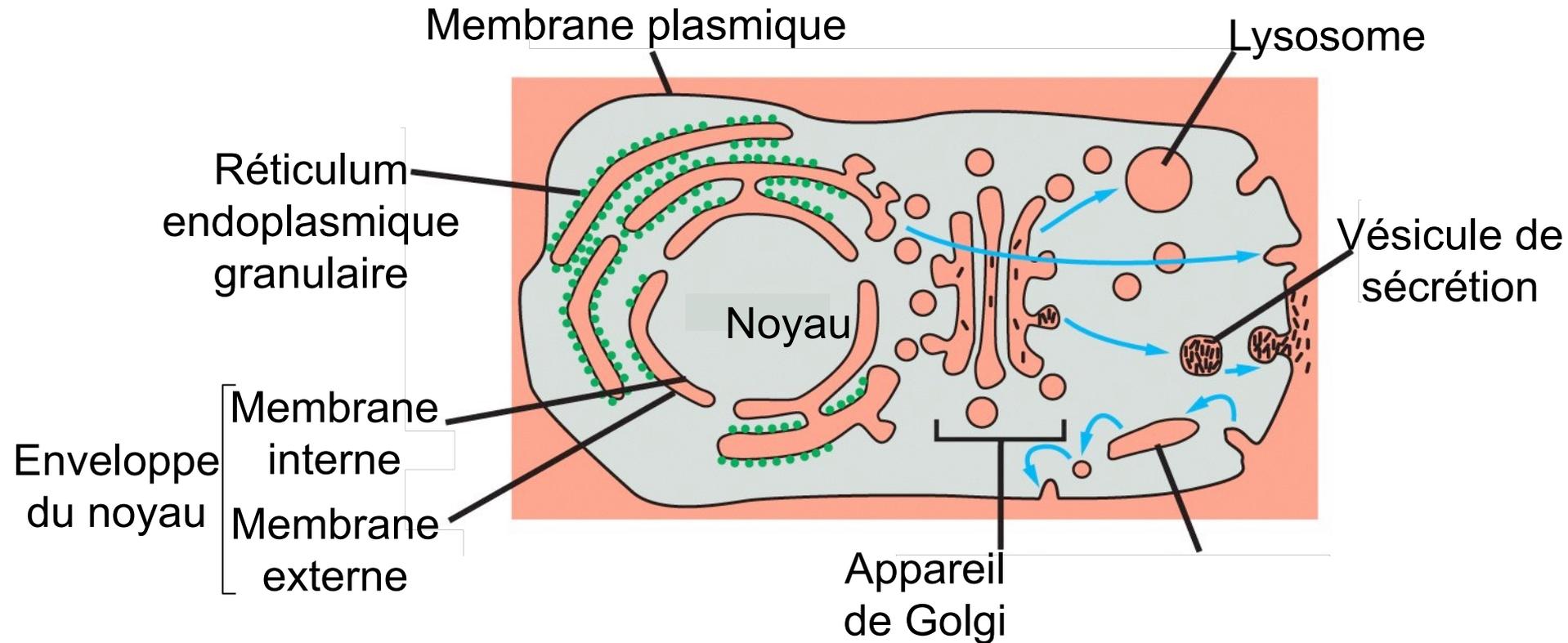
# **LE TRANSPORT À PARTIR DU RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE (RE)**

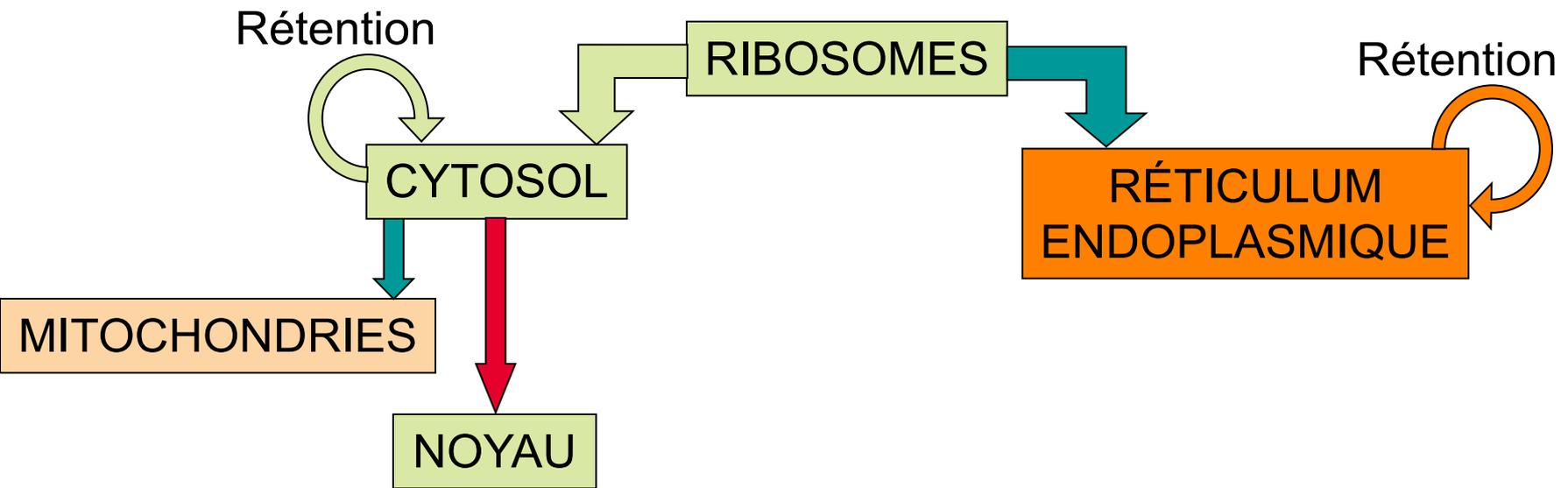


**Réticulum endoplasmique** : compartiment labyrinthe entouré d'une membrane, dans le cytoplasme des cellules eucaryotes, où sont synthétisés les lipides et où sont fabriquées les protéines associées aux membranes ainsi que celles qui seront sécrétées ou envoyées dans les lysosomes.

On distingue le RE lisse, dépourvu de ribosomes et le RE granulaire auquel sont associés des ribosomes.

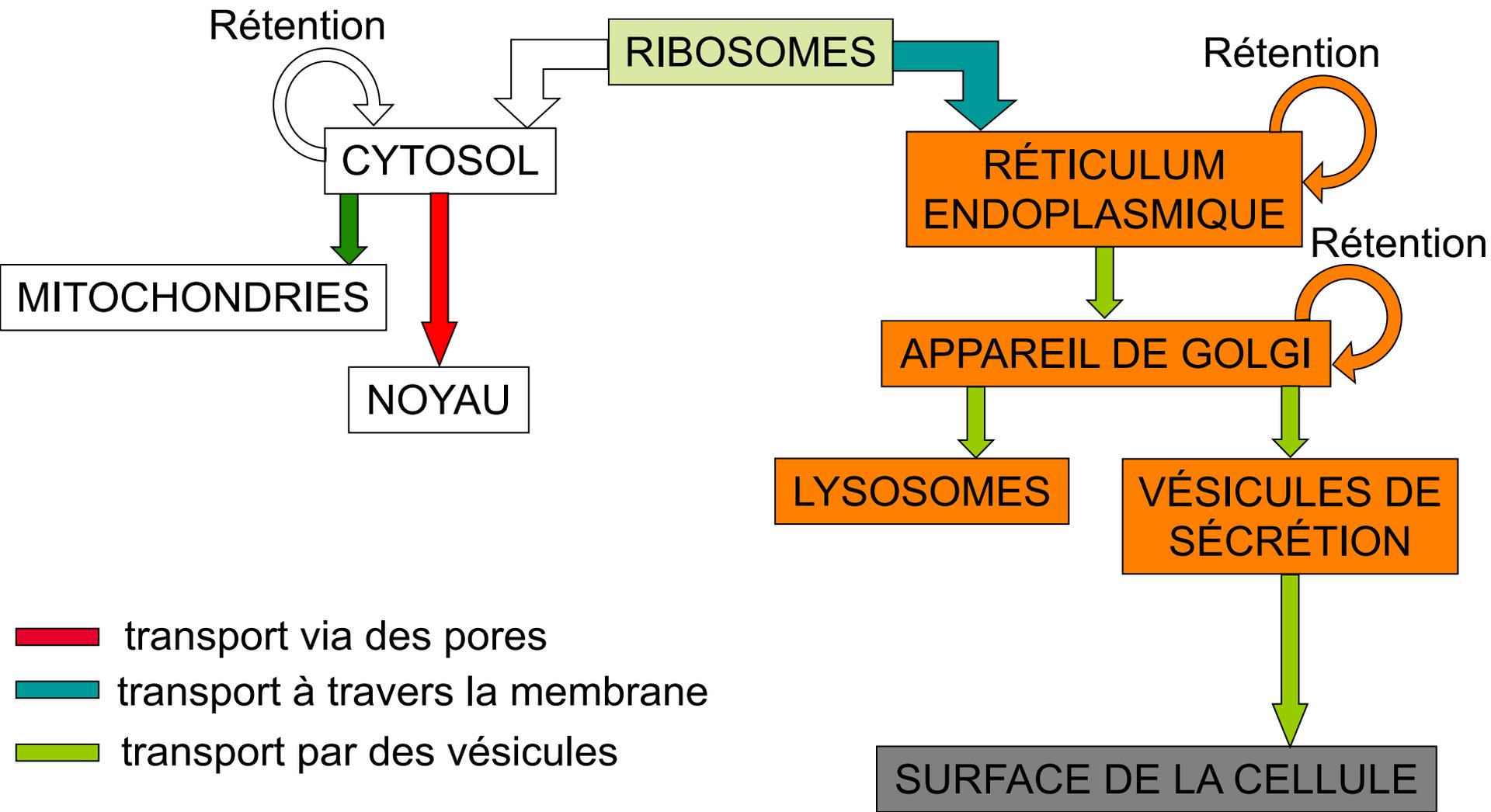
# Relations topologiques entre les différents compartiments des voies de sécrétion et d'endocytose





- transport via des pores
- transport à travers la membrane
- transport par des vésicules

Deux routes divergentes pour les protéines synthétisées :  
 par les ribosomes libres **VIA LE CYTOSOL**  
 par les ribosomes liés au réticulum endoplasmique  
**VIA LE RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE**



**Le Reticulum Endoplasmique est la structure d'entrée dans les membranes et dans les compartiments communiquant avec l'extérieur de la cellule**

# Réticulum endoplasmique (RE)

RE : > 50% de la totalité des membranes de la cellule

Lumière du RE : > 10% du total du volume de la cellule

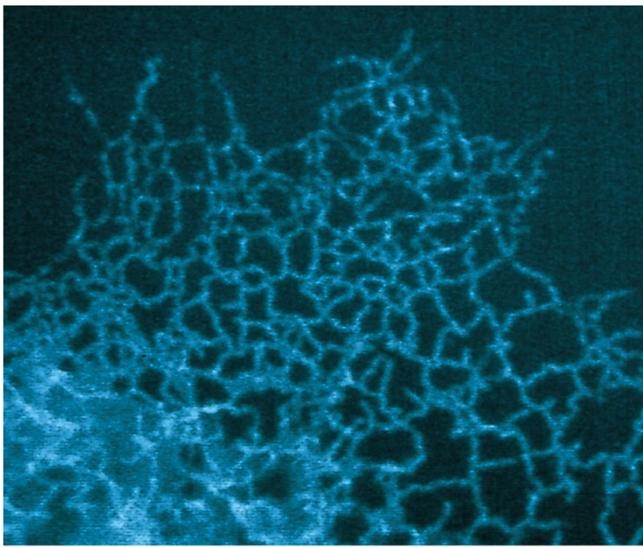
Rôle central du RE dans la synthèse des lipides et des protéines

RE = RE lisse + RE granulaire avec des éléments de transition entre les deux

RE lisse abondant dans certaines cellules. Par exemple :

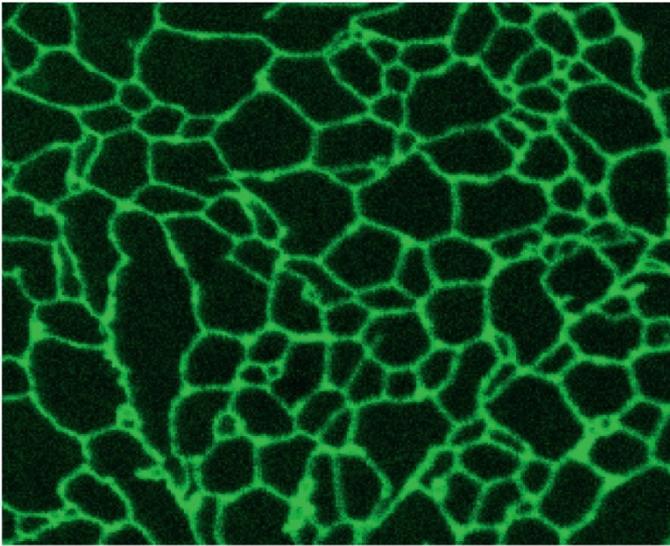
celui de l'hépatocyte -site de production des lipoprotéines  
-siège de réactions de détoxification

Rôle du RE lisse -dans la séquestration du  $\text{Ca}^{++}$  et donc  
-dans la signalisation cellulaire



IF indirecte, après fixation  
avec un anticorps dirigé  
contre une protéine retenue  
dans le RE

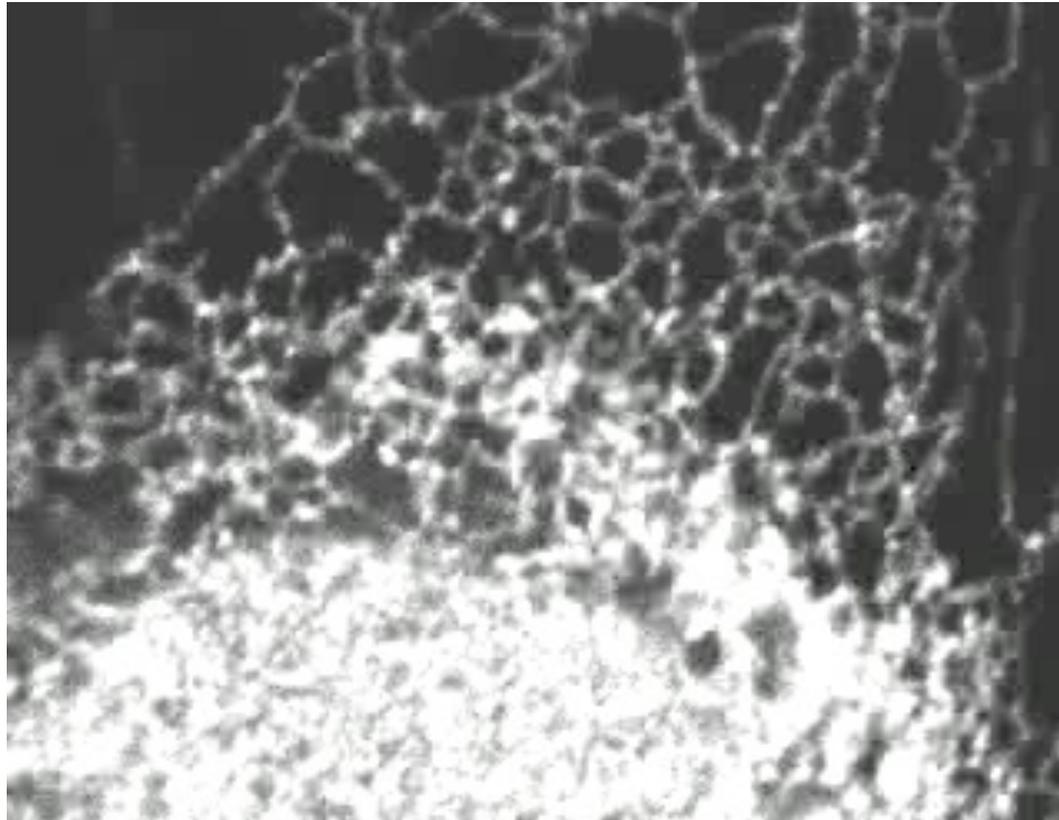
2  $\mu\text{m}$



Visualisation *in vivo*  
d'une protéine du RE  
couplée à la GFP

2  $\mu\text{m}$

**Réseau du réticulum endoplasmique d'une cellule de mammifère (en haut)  
et d'une cellule de plante (en bas)**



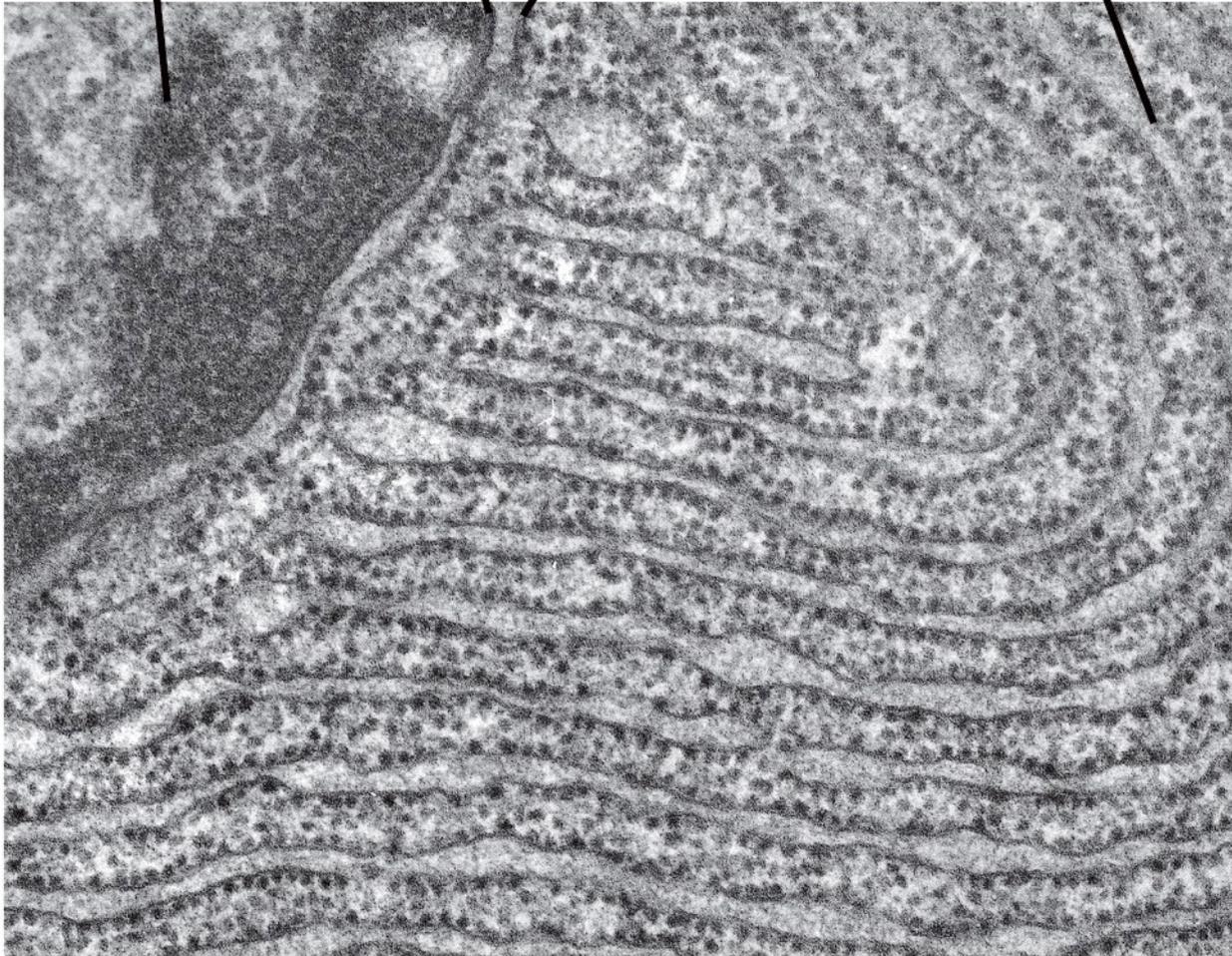
**Dynamique du réticulum endoplasmique dans le cytosol**  
**Réorganisation du réseau par des moteurs**  
**qui se déplacent sur les microtubules**

Membrane interne  
du noyau

Noyau

Membrane externe  
du noyau

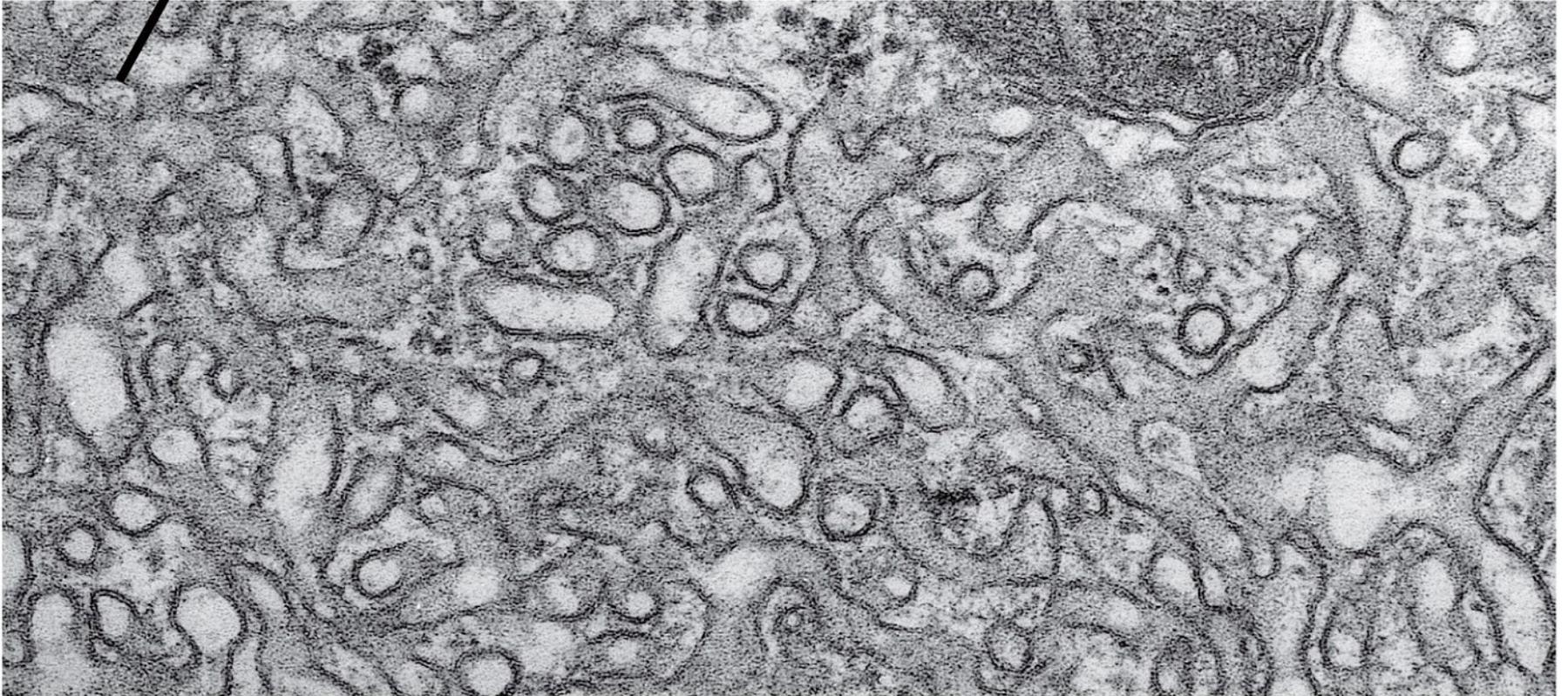
Membrane du  
réticulum  
endoplasmique



200 nm

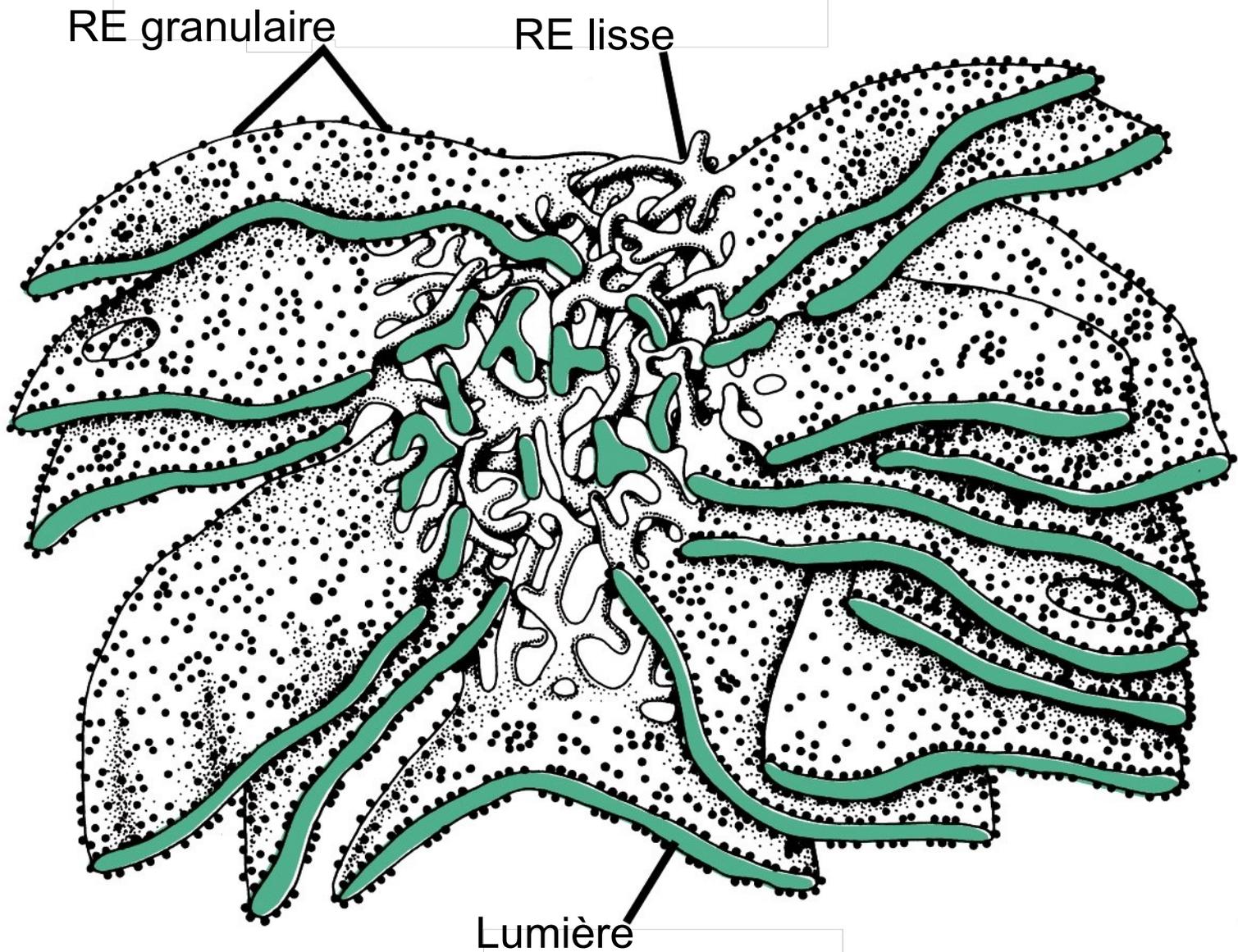
**Réticulum endoplasmique granulaire (ME)**

Membrane du réticulum endoplasmique



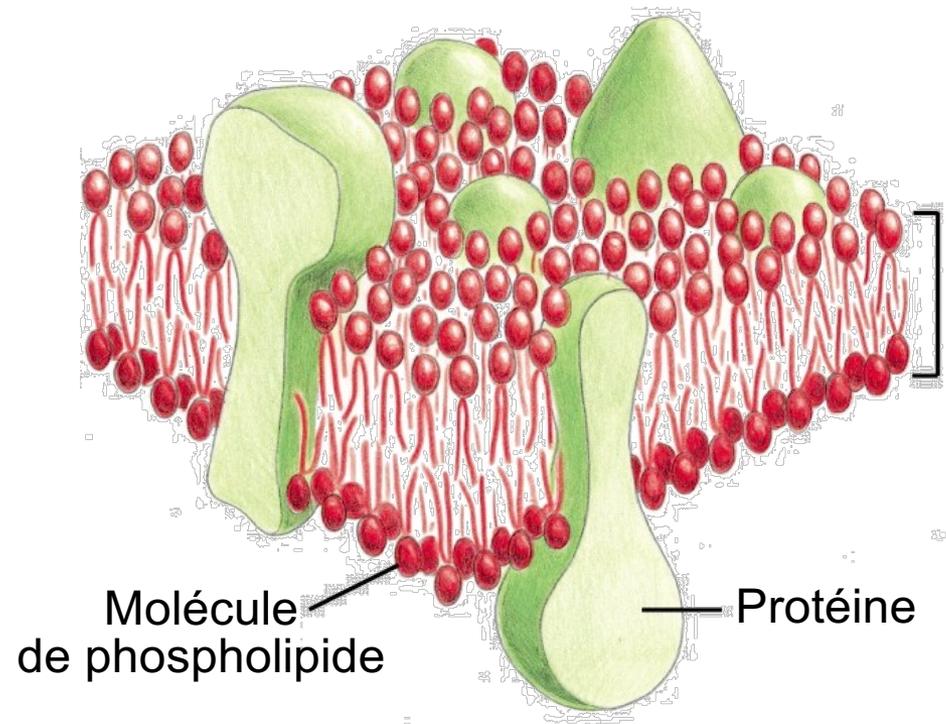
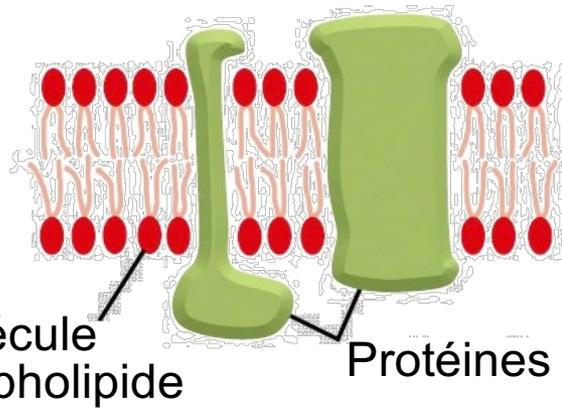
200 nm

**Réticulum endoplasmique lisse (ME)**



**Rapports entre le RE lisse et le RE granulaire**

La membrane du réticulum endoplasmique est  
**une barrière hydrophobe :**  
comment y insérer des protéines ou leur faire  
traverser cette membrane ?



# Peptides "signal"

Protéine	Séquence d'acides aminés
Pré-proalbumine	Met-Lys-Tryp-Val-Thr- <b>Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe-Ile</b> -Ser-Gly-Ser-Ala-Phe-Ser-Arg-... 
Chaîne légère de pré-IgG	Met-Asp-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gln- <b>Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe</b> -Pro-Gly-Thr-Arg-Cys-Asp-... 
Pré-lysozyme	Met-Arg-Ser- <b>Leu-Leu-Ile-Leu-Val-Leu-Cys-Phe-Leu</b> -Pro-Leu-Ala-Ala-Leu-Gly-Lys-... 

Peptides de signalisation de trois protéines de cellules eucaryotes

## Translocation des protéines en cours de synthèse dans le RE

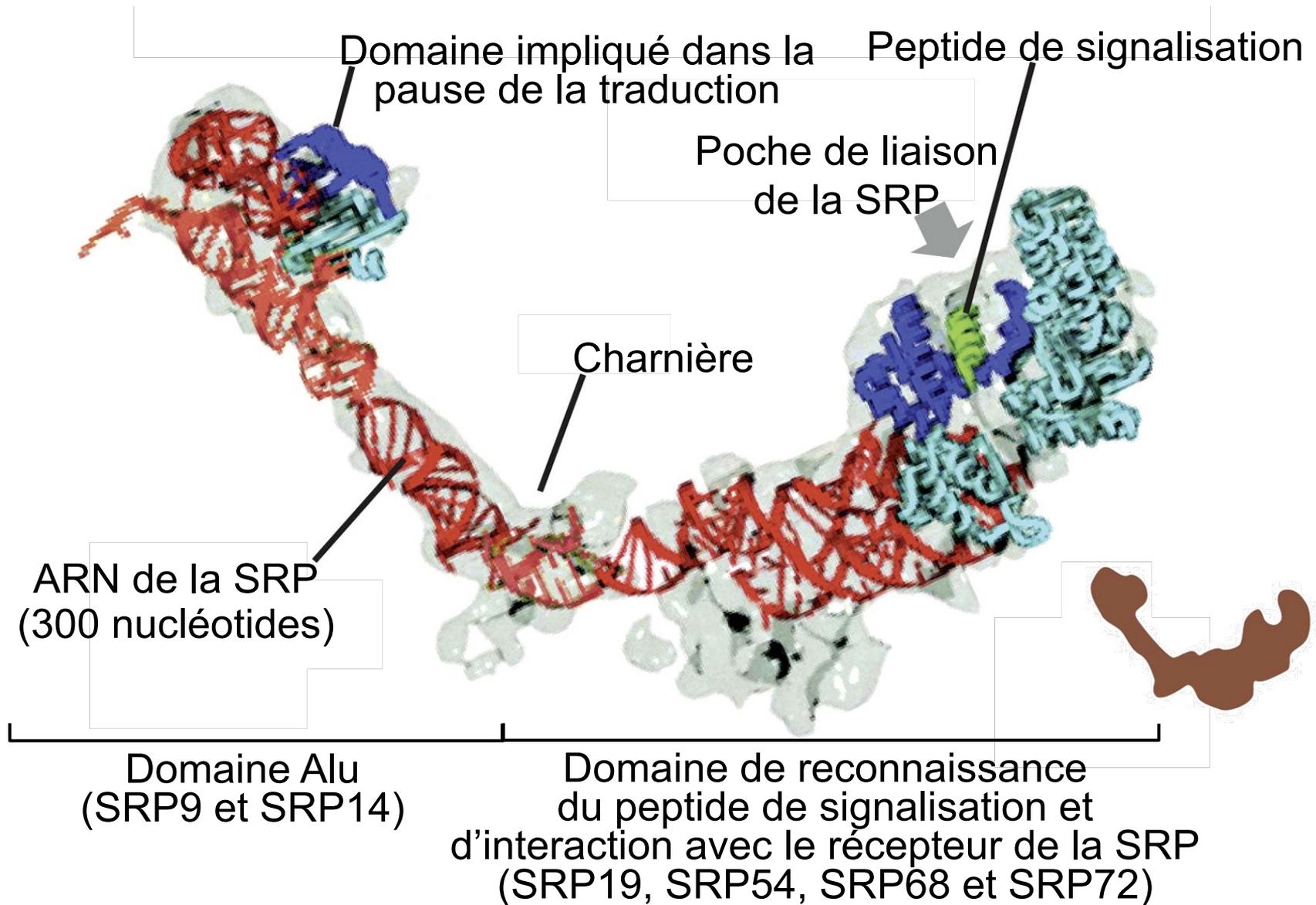
- Reconnaissance du peptide signal émergent du ribosome par un complexe ribonucléoprotéique («Signal-Recognition Particle», **SRP**) ; Cette liaison suspend la traduction
- SRP se fixe sur un récepteur sur la mb du REG (**SR** : « SRP receptor »)
- Un complexe **translocon** fixe le ribosome, et forme un canal permettant le passage de la protéine synthétisée ( $\emptyset$  du pore: 2 nm)
- La SRP se détache (après hydrolyse du GTP), la traduction reprend
- La séquence signal (**hydrophobe**) s'associe avec la bicouche lipidique ou le complexe Translocon, formant une boucle telle que l'extrémité NH<sub>2</sub> est du côté cytoplasmique, et le site de clivage du côté de la lumière du RE
- Une **peptidase** associée au translocon reconnaît un site en C-ter du peptide signal et coupe à cet endroit (SPC: "signal peptidase complex")

SRP : « **S**ignal **R**ecognition **P**article »

Particule de reconnaissance du peptide de signalisation

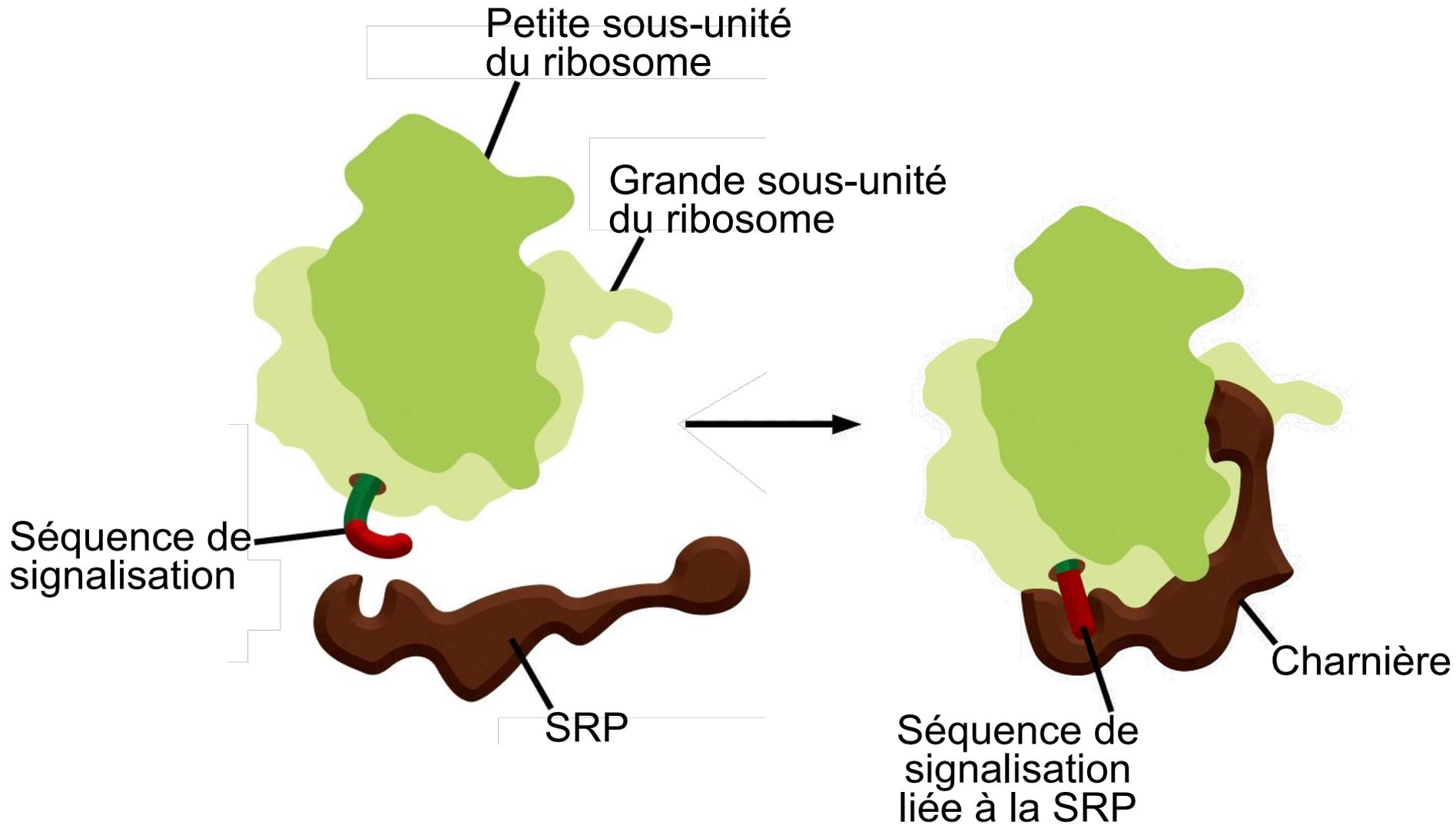
SRP : « **S**ignal **R**ecognition **P**article »

Particule de reconnaissance du peptide de signalisation



**Structure de la SRP : ARN + 6 protéines**

# Interaction de la SRP avec le ribosome



Interaction de la SRP avec le ribosome

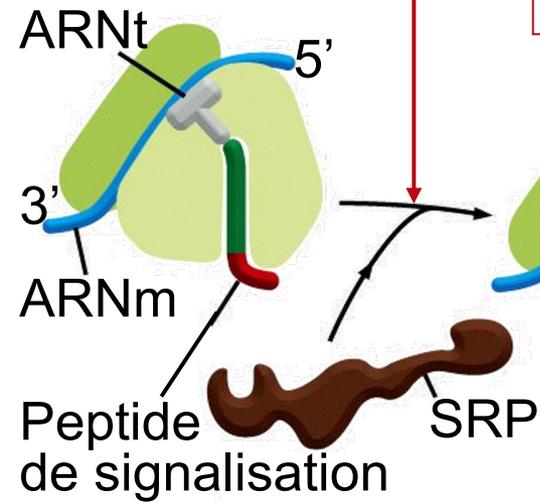
La liaison de la SRP au peptide de signalisation entraîne un arrêt de la traduction

Attachement du ribosome au récepteur de la SRP via la SRP

Reprise de la traduction et début de la translocation

Libération de la SRP

CYTOSOL



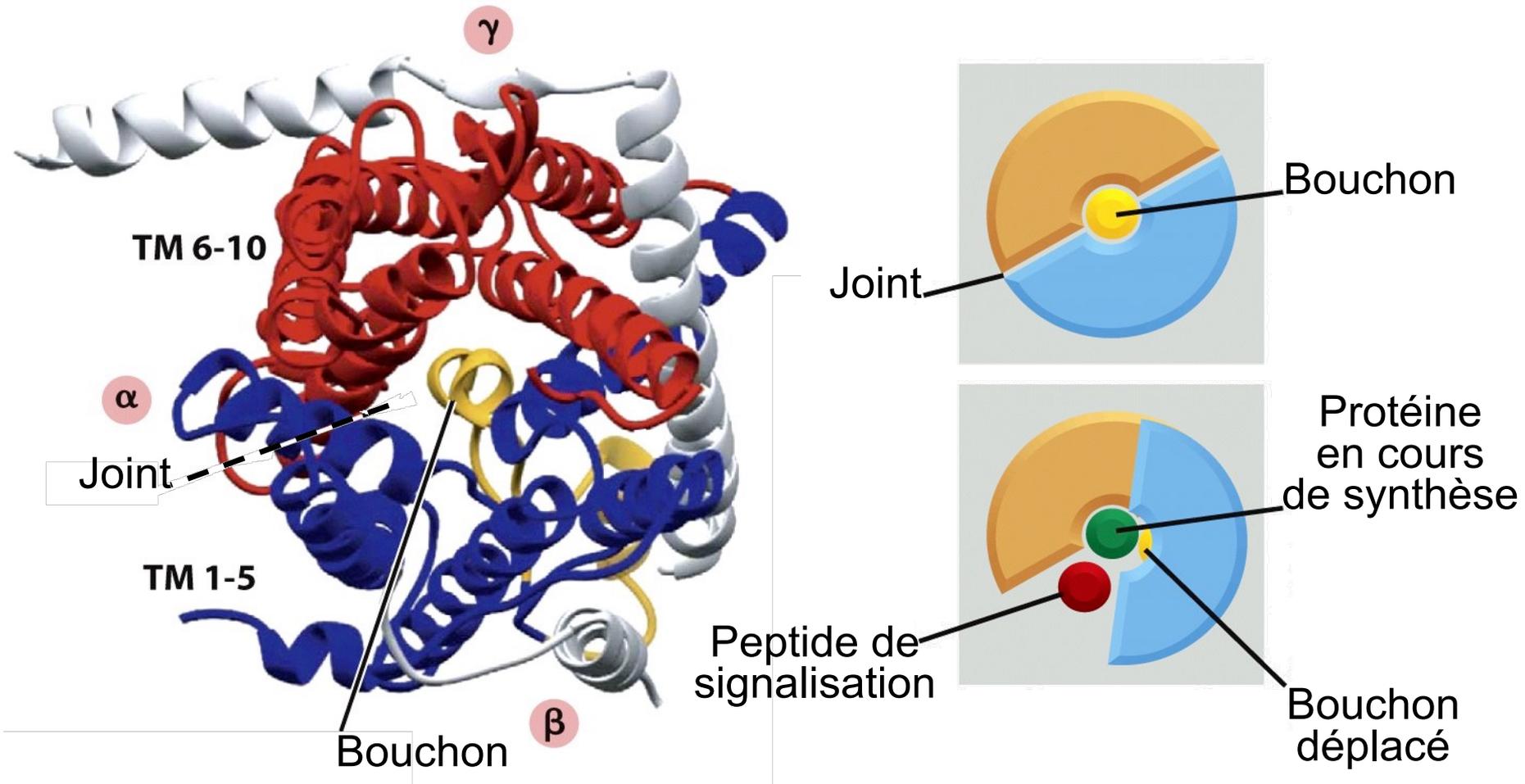
LUMIÈRE DU RE

Translocon

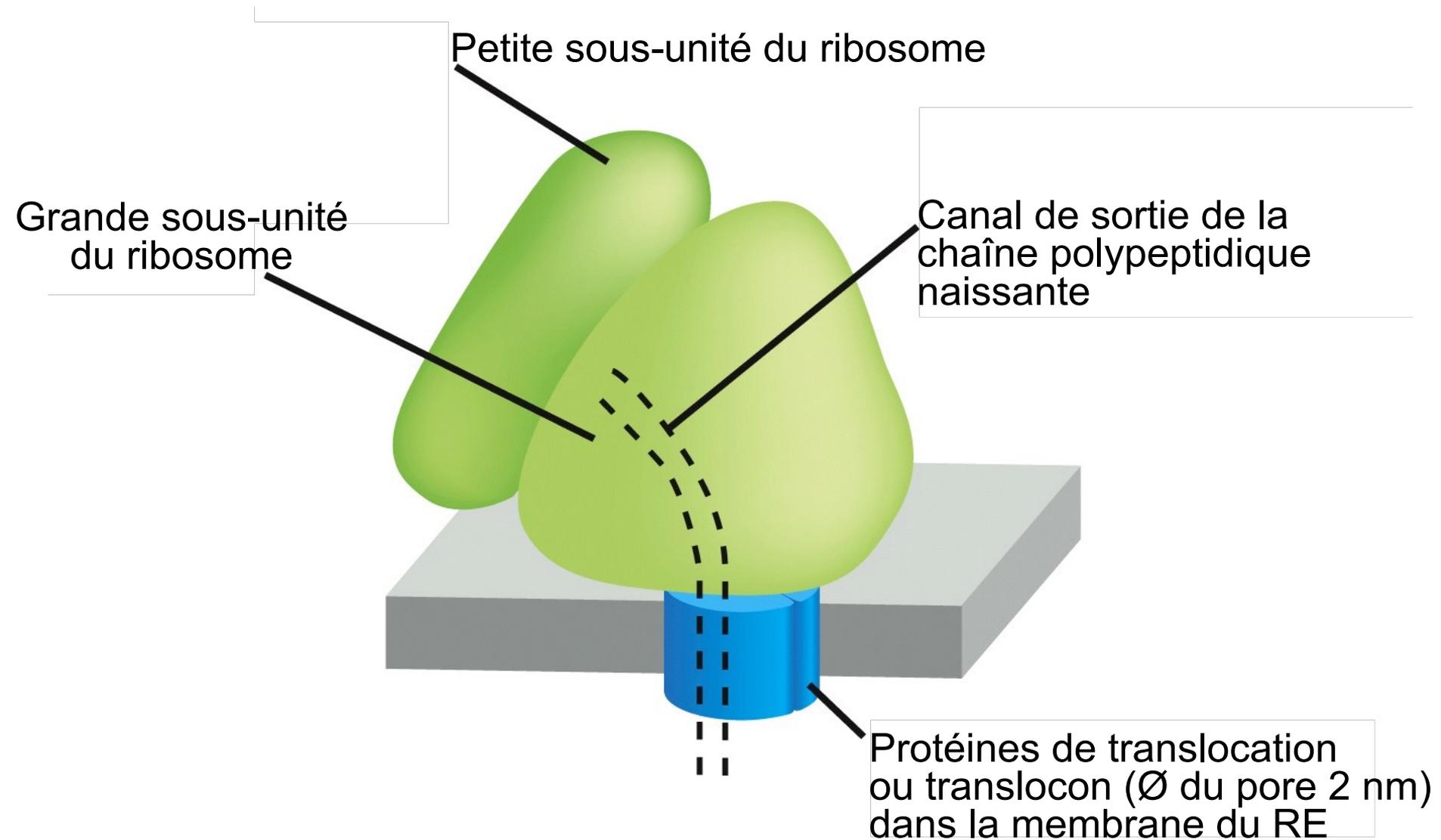
Récepteur de la SRP

**Translocation à travers la membrane de la protéine en cours de synthèse grâce à un récepteur de la SRP et au translocon situés dans la membrane du RE**

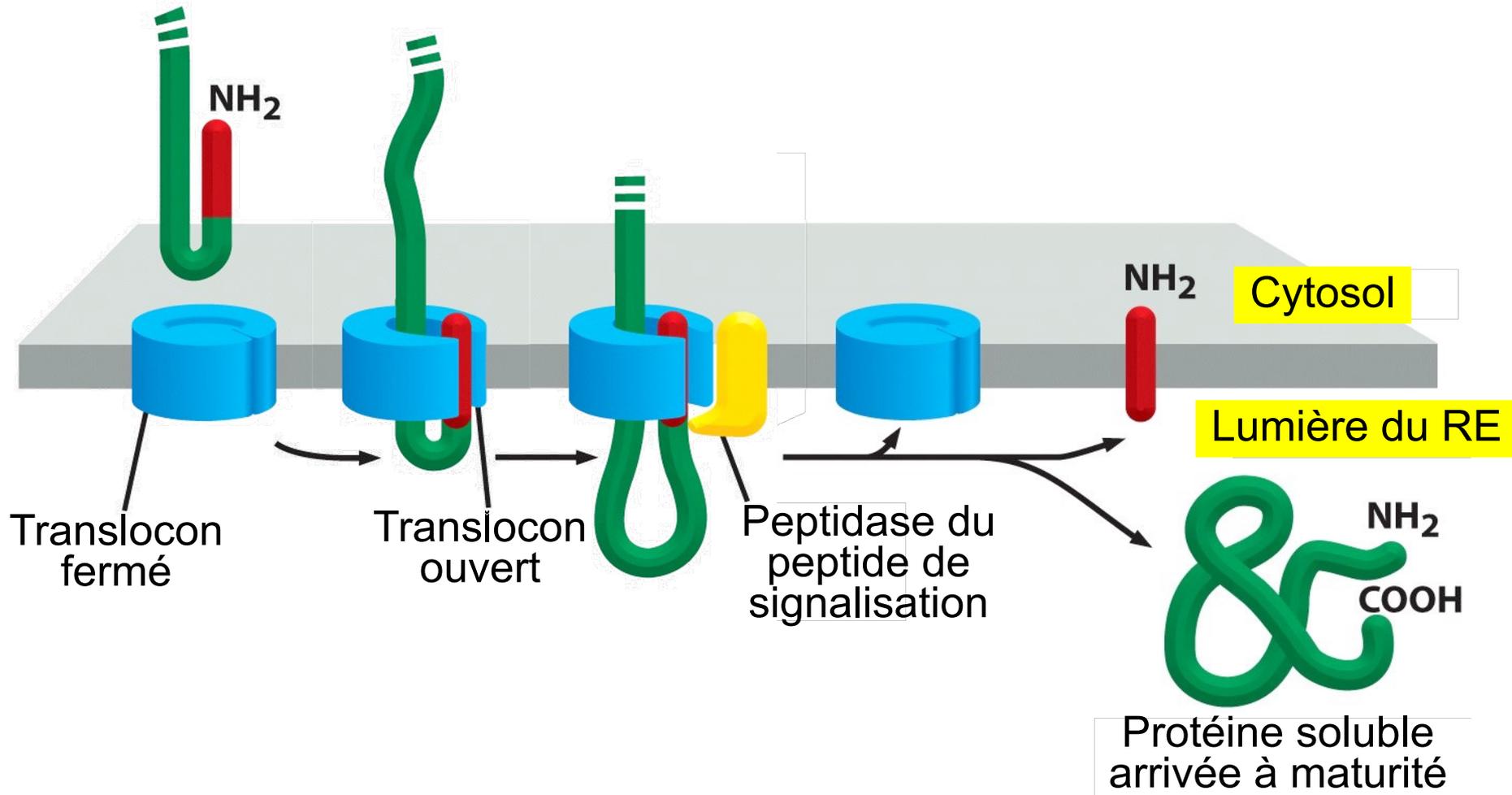
# Structure du translocon



# Association du ribosome et du translocon



# Modèle de translocation d'une protéine soluble à travers la membrane du RE



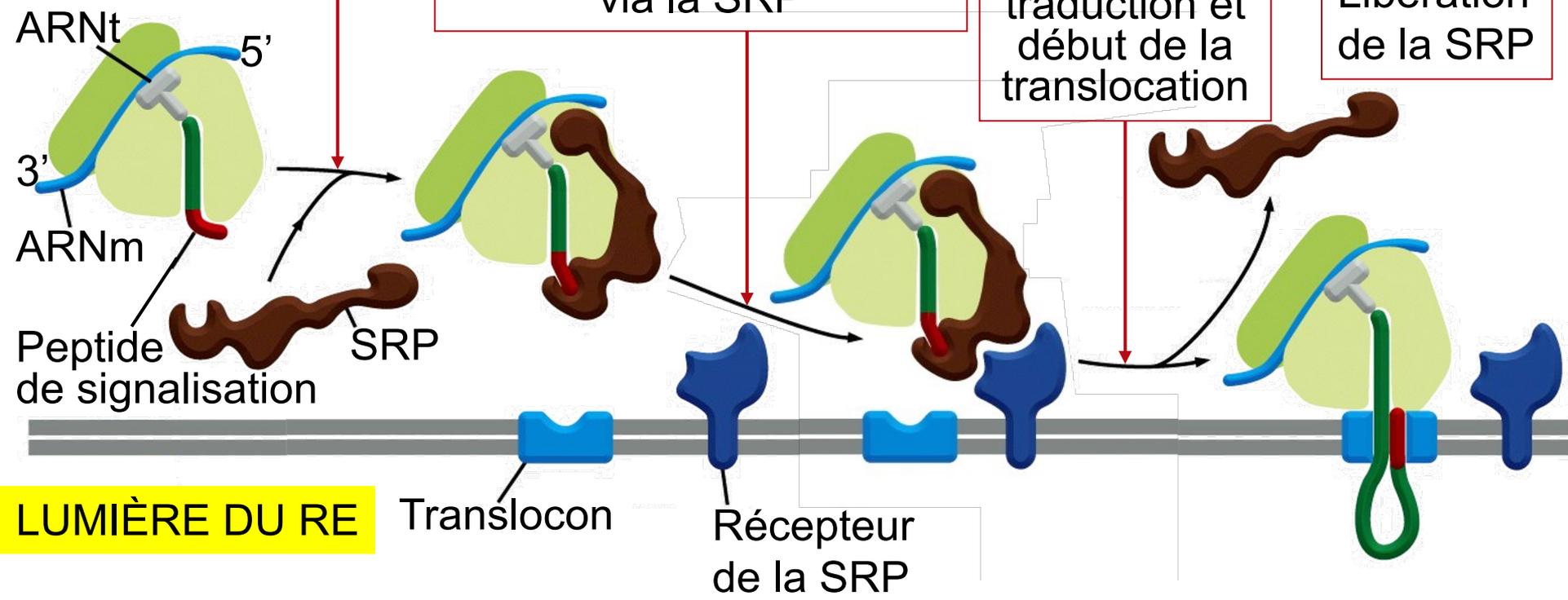
La liaison de la SRP au peptide de signalisation entraîne un arrêt de la traduction

CYTOSOL

Attachement du ribosome au récepteur de la SRP via la SRP

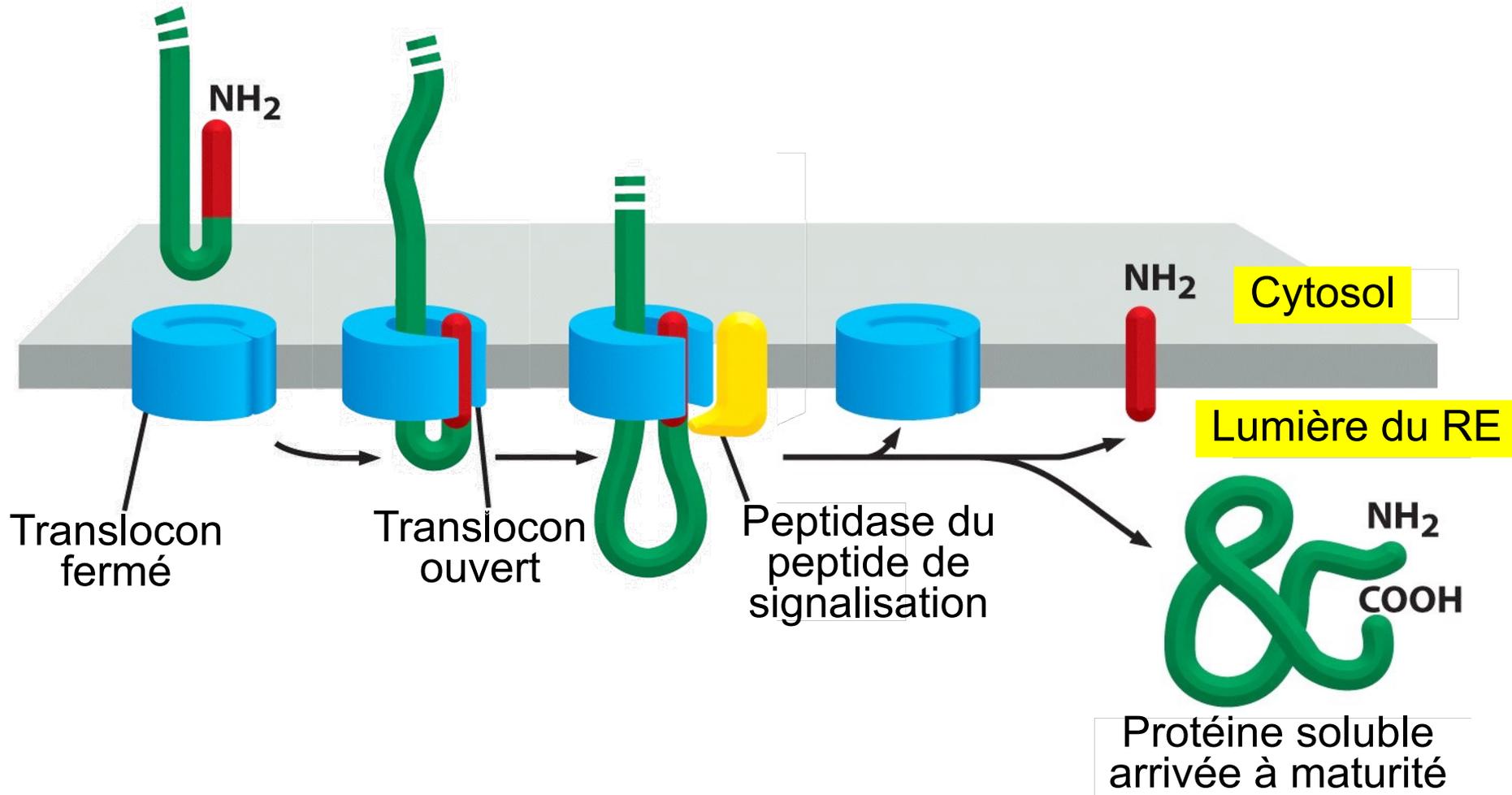
Reprise de la traduction et début de la translocation

Libération de la SRP



**Translocation à travers la membrane de la protéine en cours de synthèse grâce à un récepteur de la SRP et au translocon situés dans la membrane du RE**

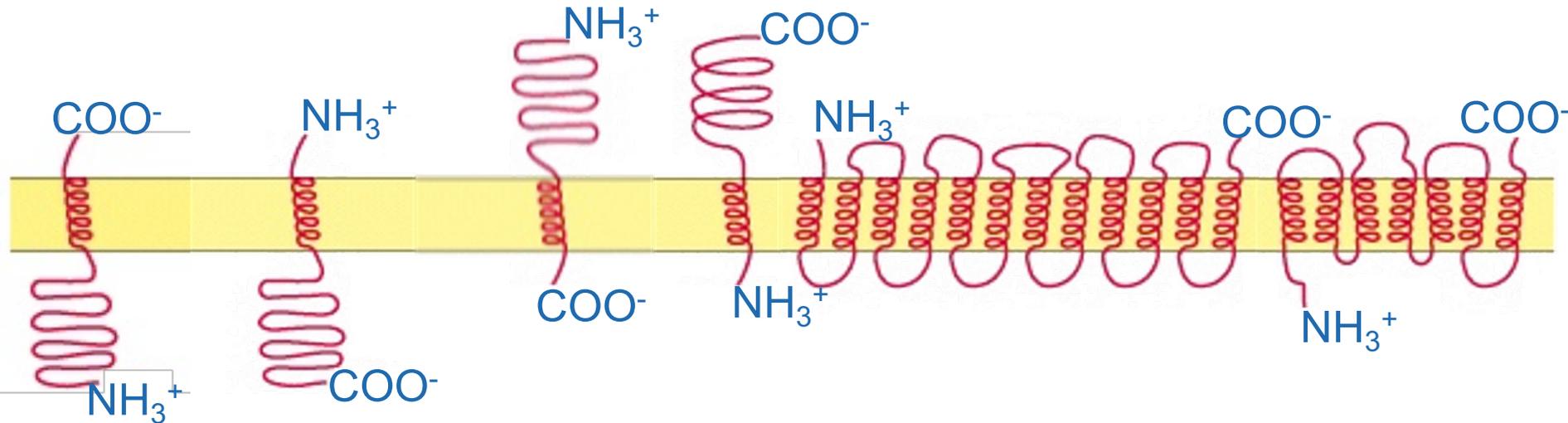
# Modèle de translocation d'une protéine soluble à travers la membrane du RE



**La topologie des protéines membranaires  
est dictée par la succession  
de signaux de transfert et d'arrêt**

# Différentes topologies possibles des protéines transmembranaires synthétisées sur les membranes du RE granulaire

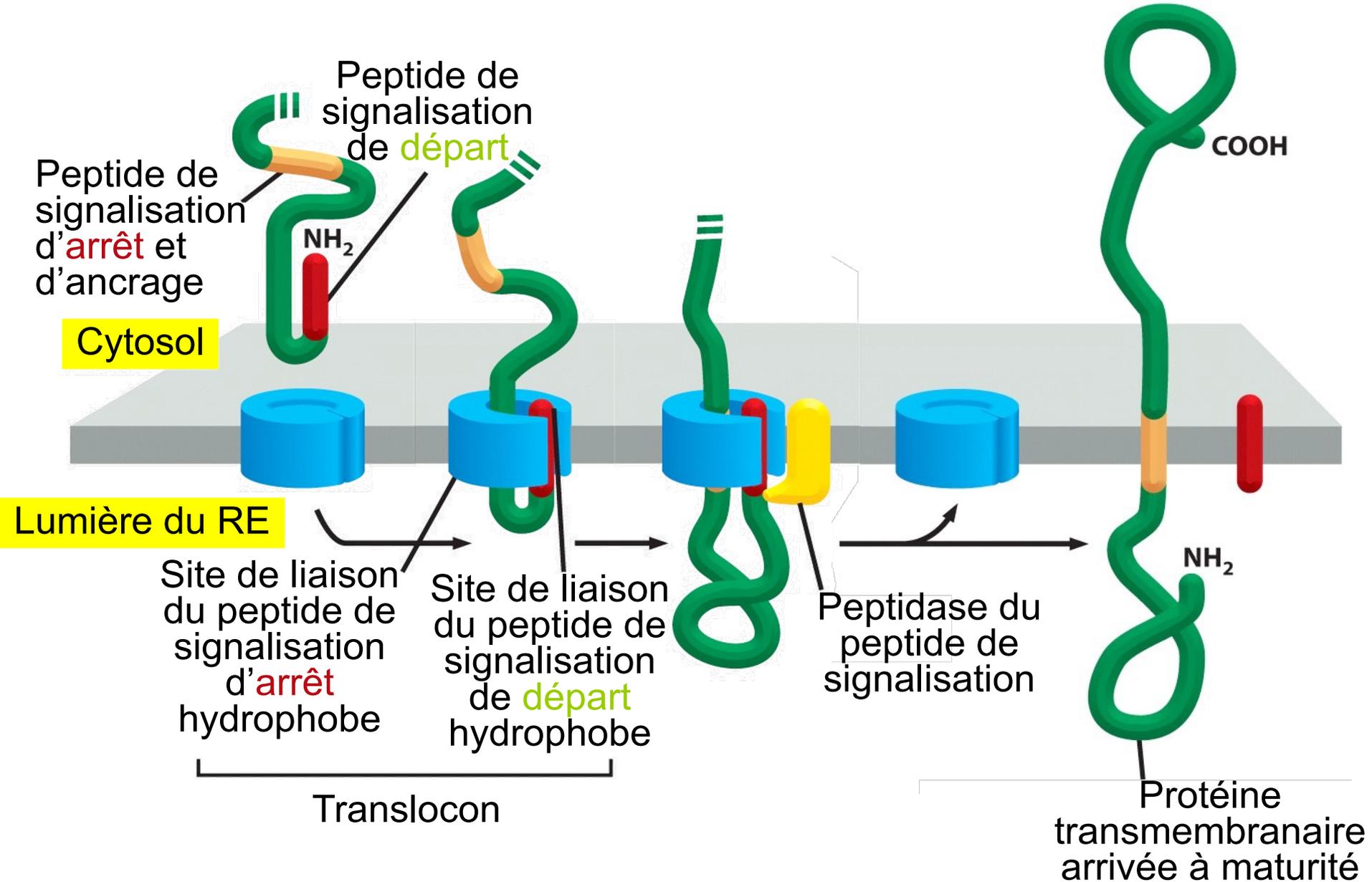
CYTOSOL

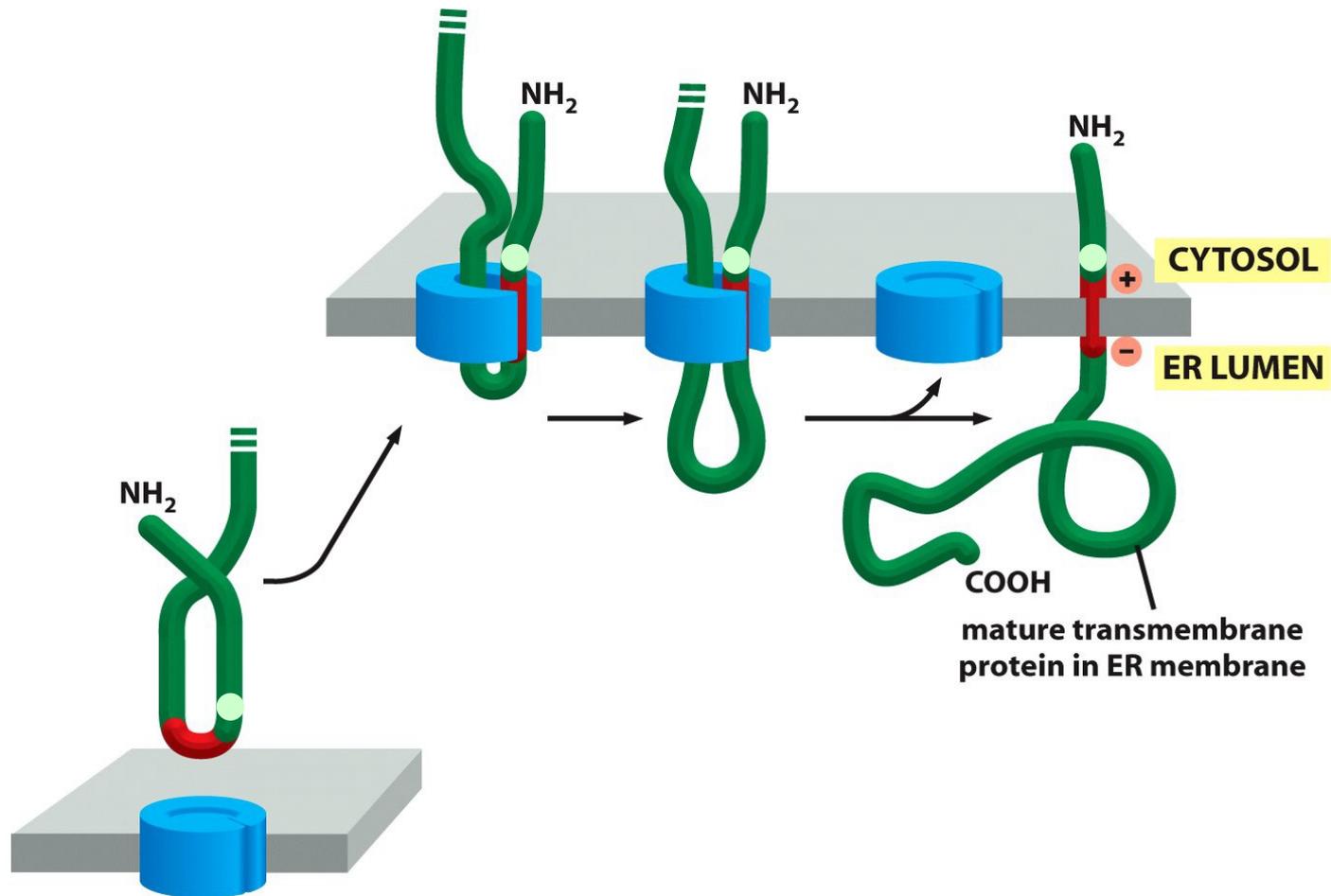


ESPACE EXOPLASMIQUE

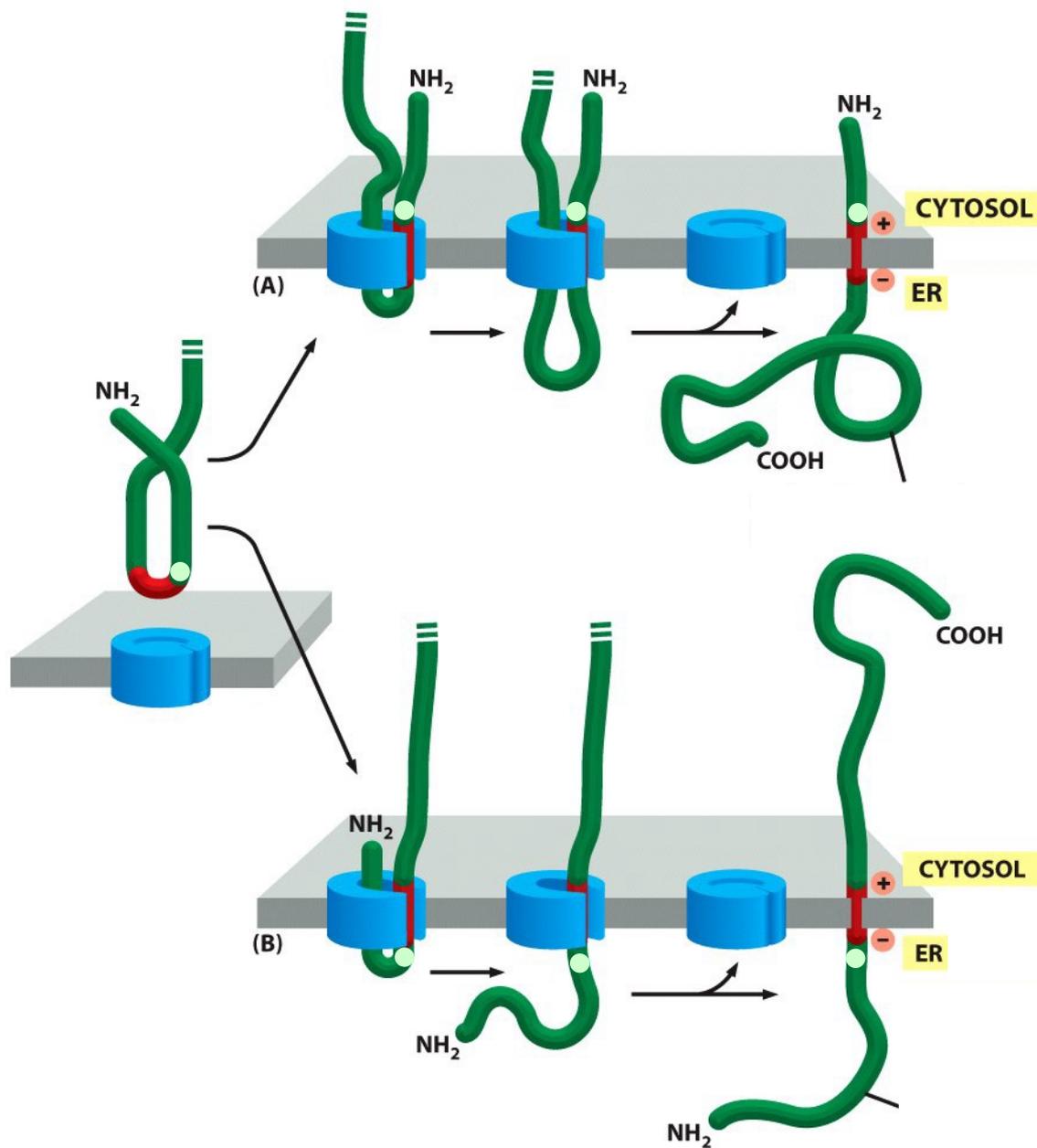
(lumière du RE ou de l'appareil de Golgi ;  
extérieur de la cellule)

# Protéine à un passage transmembranaire avec le N-terminal dans la lumière du RE

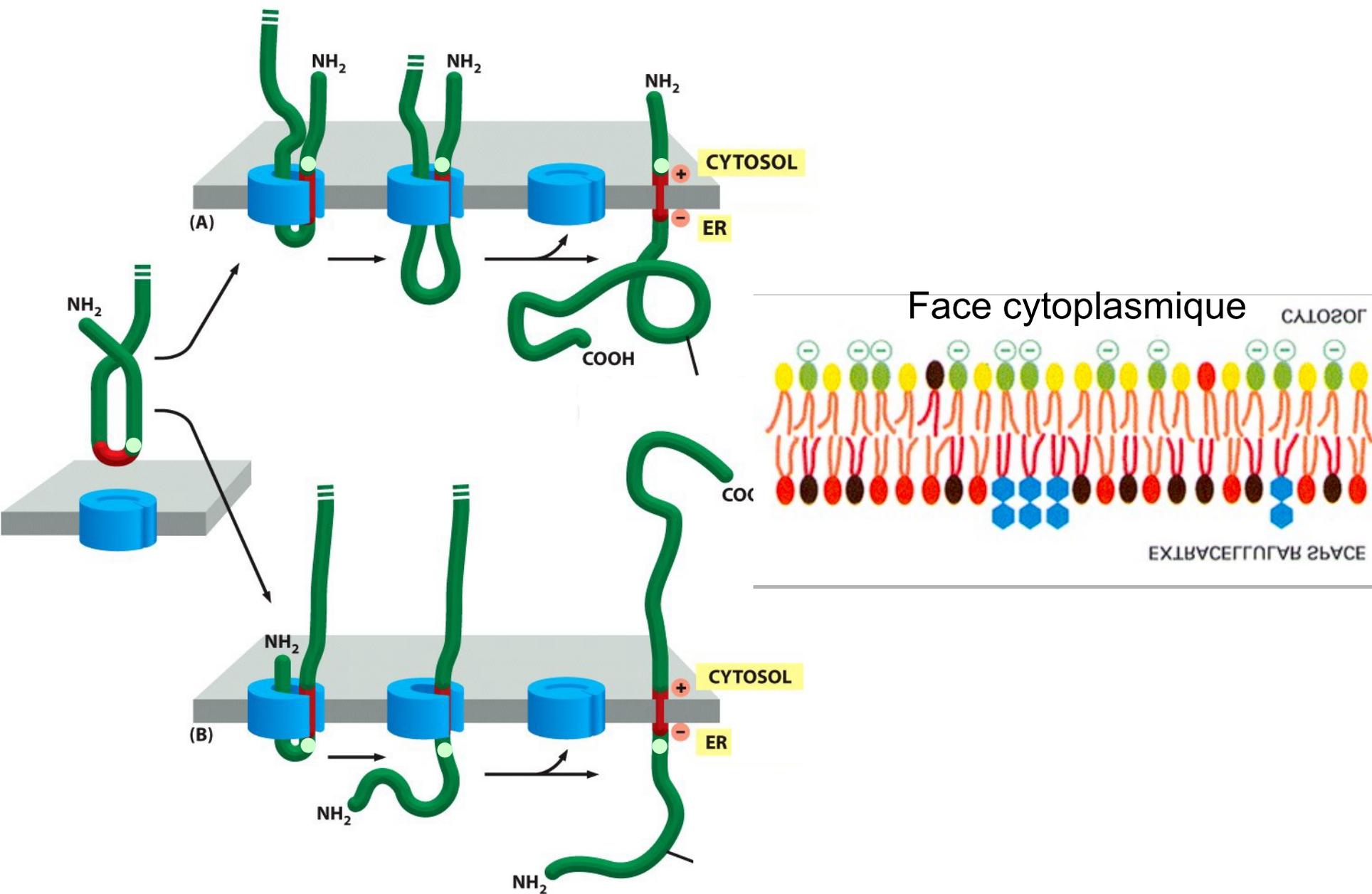




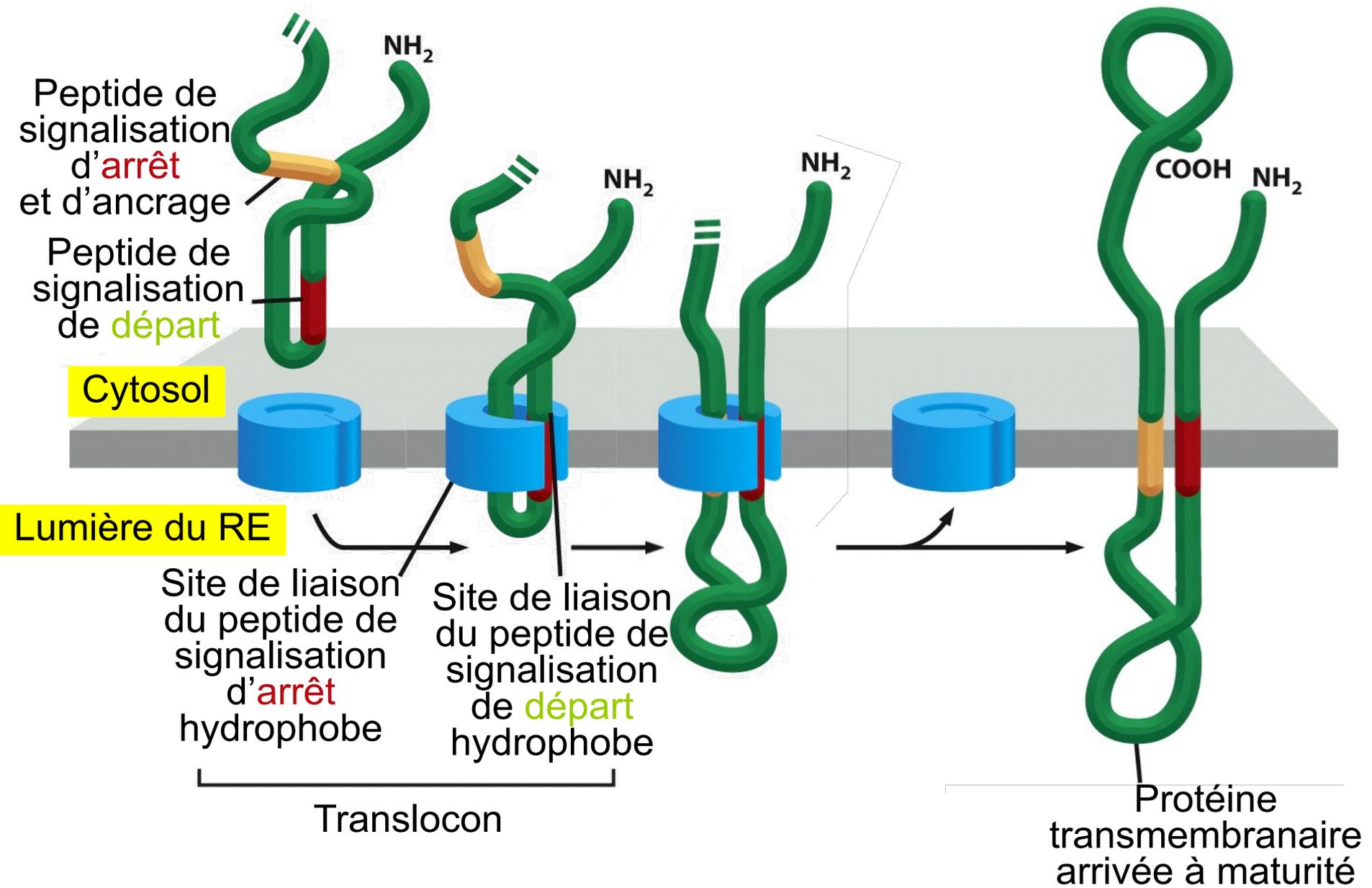
**L'utilisation d'une séquence signal interne permet d'orienter l'extrémité N-terminale de la protéine vers le compartiment cytosolique**



mais l'orientation de la séquence signal dépend des acides aminés chargés qui entourent le cœur hydrophobe (positifs=cytosol)

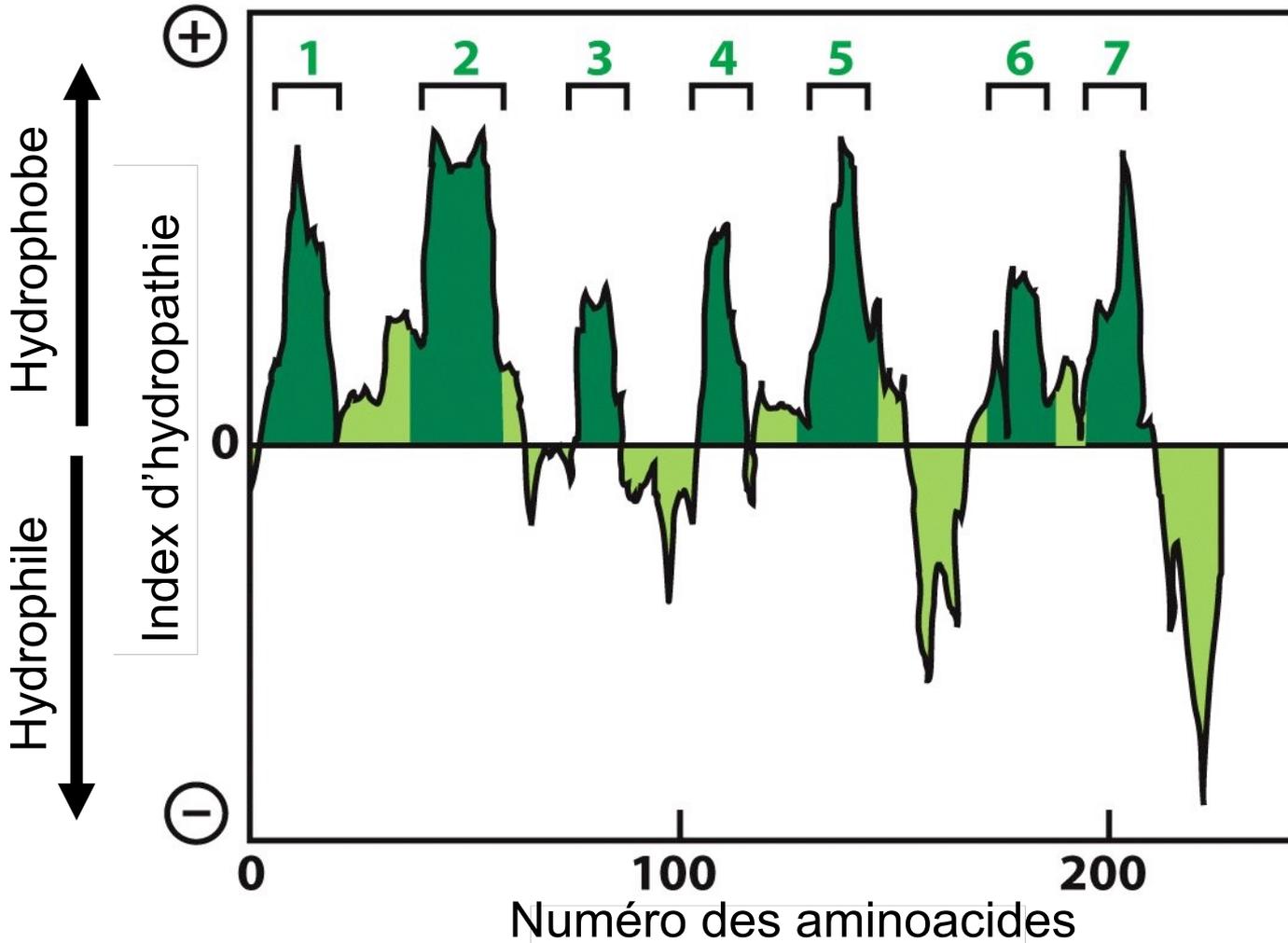


(la face cytoplasmique de la membrane plasmique porte un excès de charges négatives fournies par la phosphatidyl-sérine)

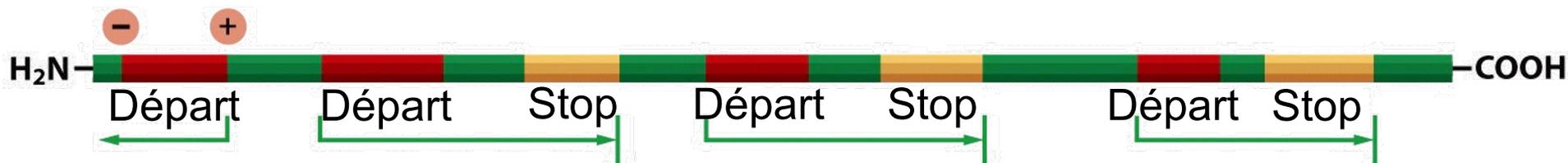
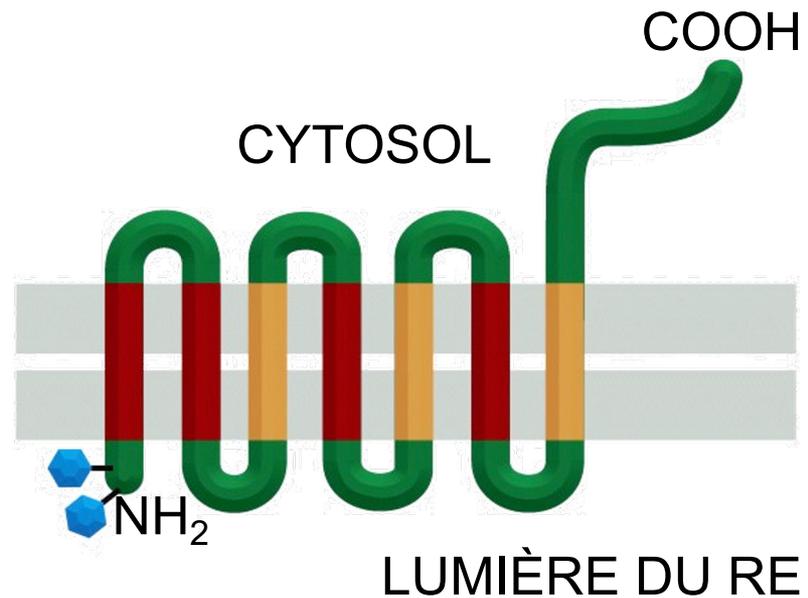
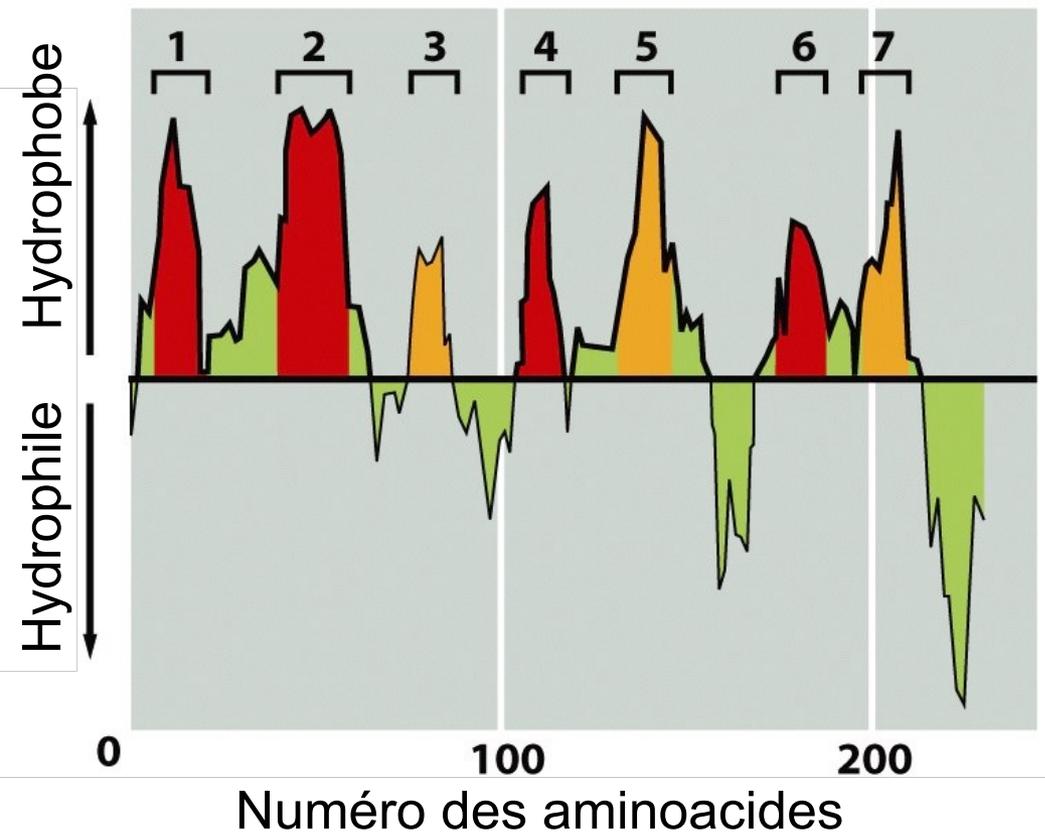


**Protéine à deux passages transmembranaires avec le N- et le C-terminal dans le cytosol grâce à un peptide de signalisation de départ interne**

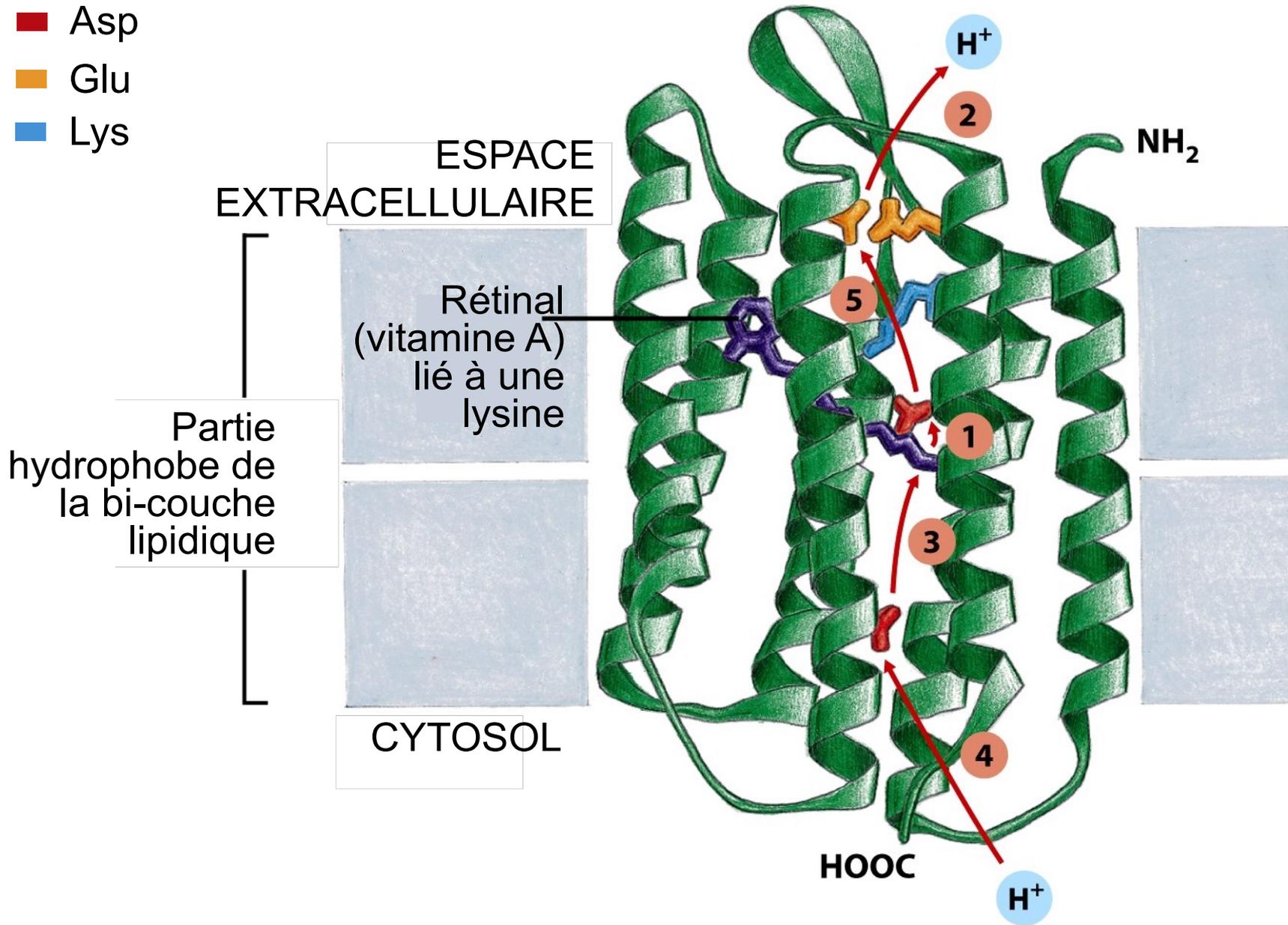
# Bactériorhodopsine



**Déduction du nombre d'insertions de la bactériorhodopsine dans la membrane à partir de sa séquence**



**Déduction des modalités d'insertion de la rhodopsine à partir de sa séquence**



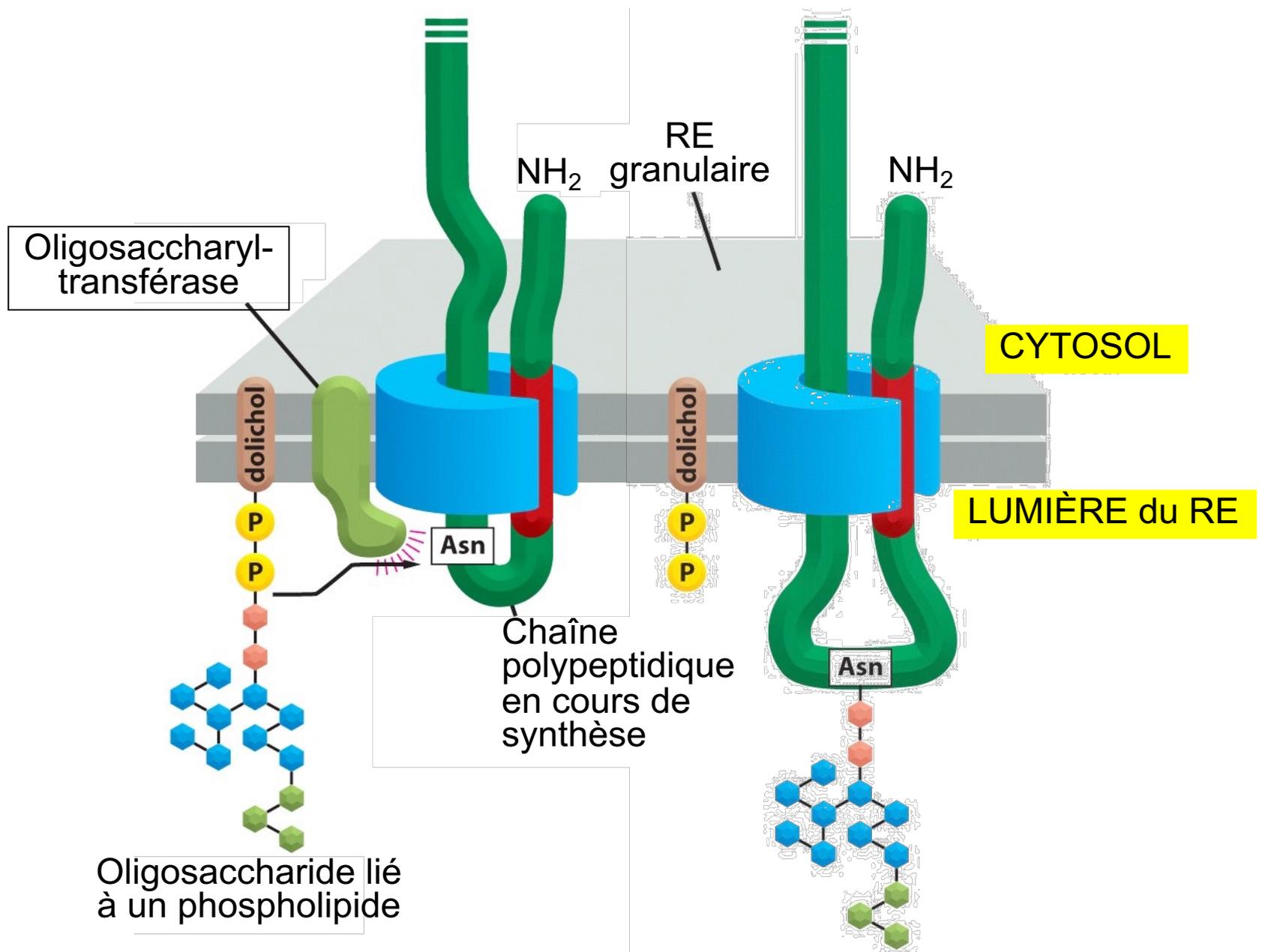
**Structure tridimensionnelle de la molécule de bactériorhodopsine (pompe à protons de *Halobacterium salinarium* activée par la lumière)**

# **Modifications des protéines dans la lumière du réticulum endoplasmique**

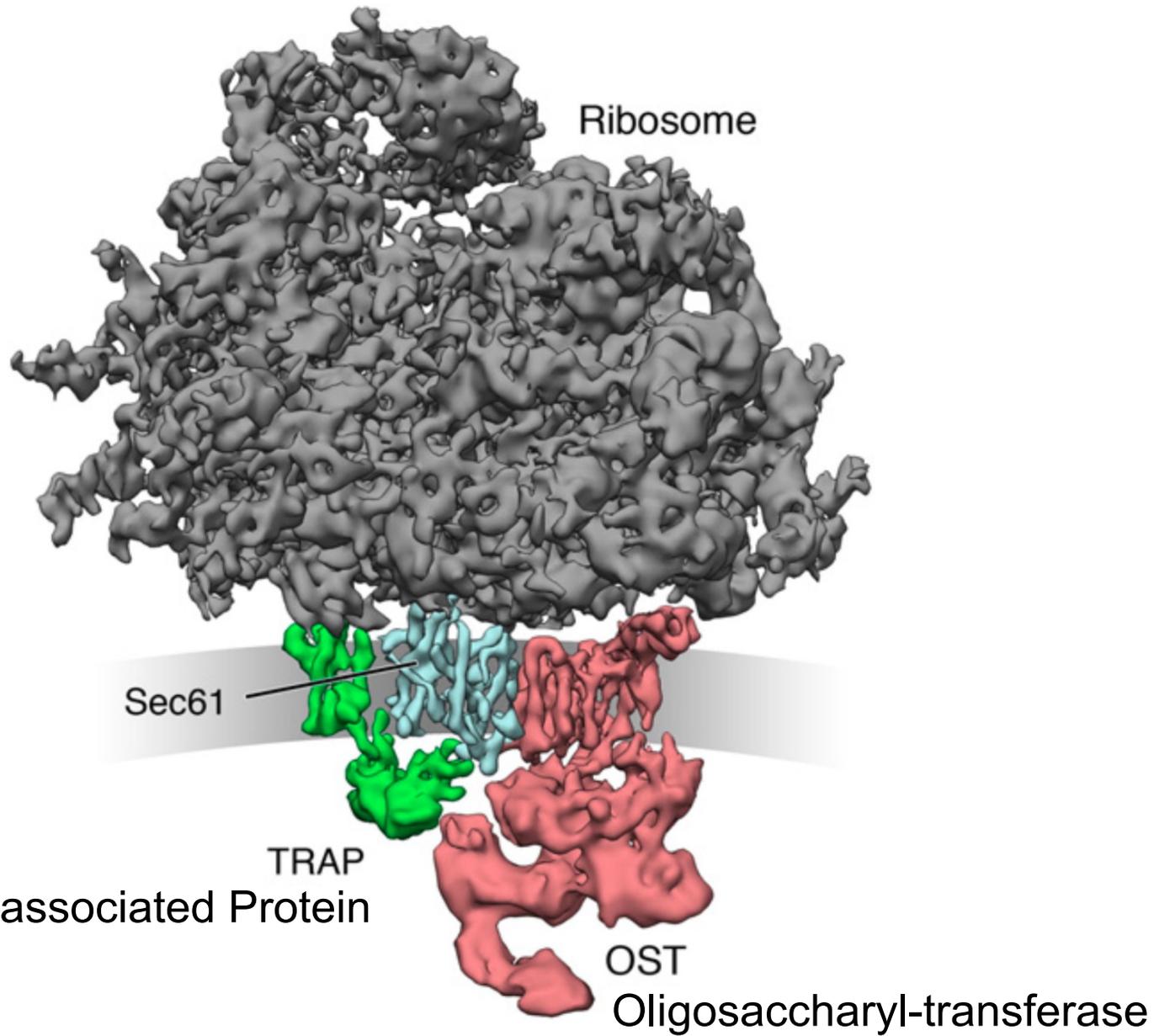
# N-GLYCOSYLATION

## Modification co-traductionnelle

- concerne la plupart des protéines produites au niveau du RE
- par transfert en bloc d'un oligosaccharide (14 résidus glucidiques)
- à partir d'un précurseur, branché sur un lipide membranaire
- dans la lumière du RE
- sur groupe  $\text{NH}_2$  d'une Asn (si dans une séquence consensus -Asn-X-Ser ou -Asn-X-Thr)



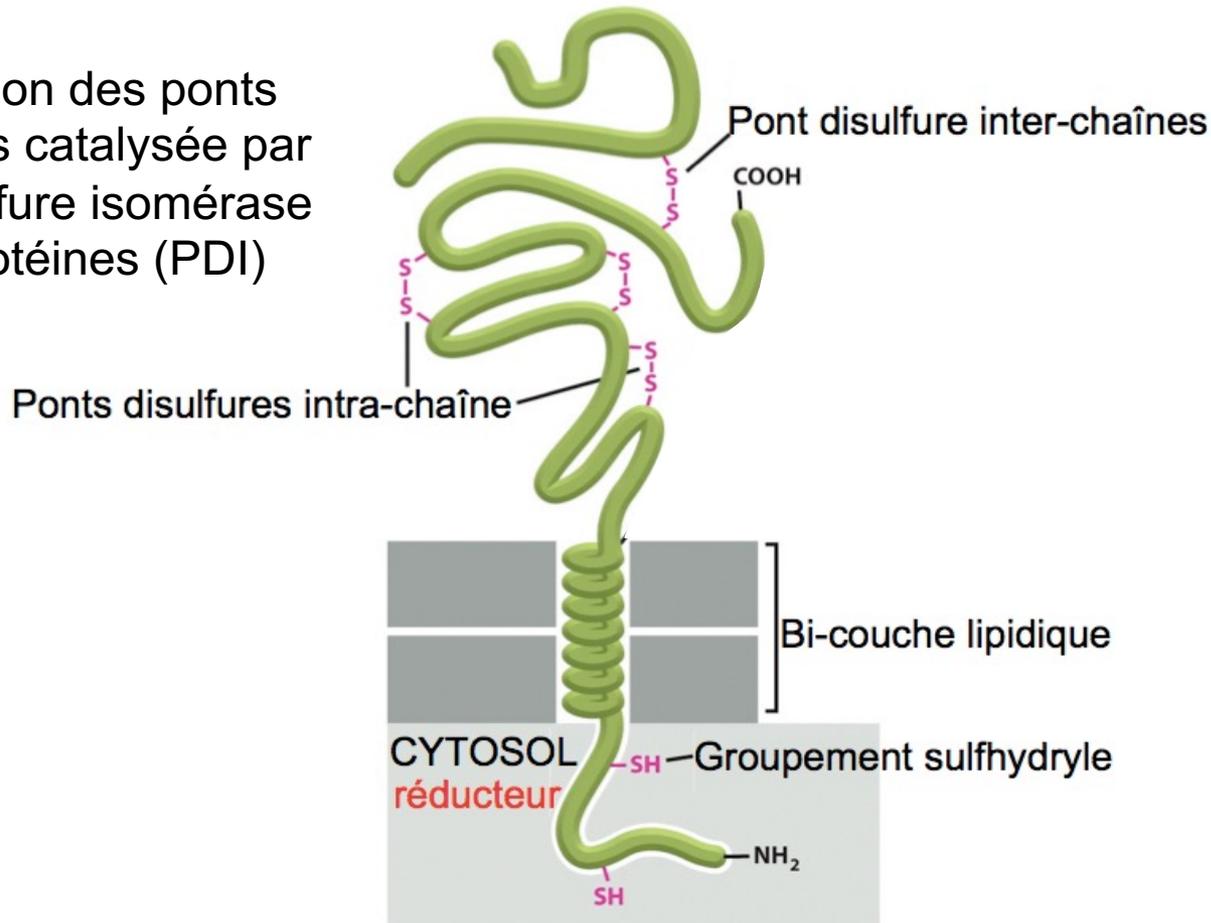
## N-glycosylation co-traductionnelle



**Organisation du complexe ribosome-translocon à la membrane du RE**

# Formation des ponts disulfures

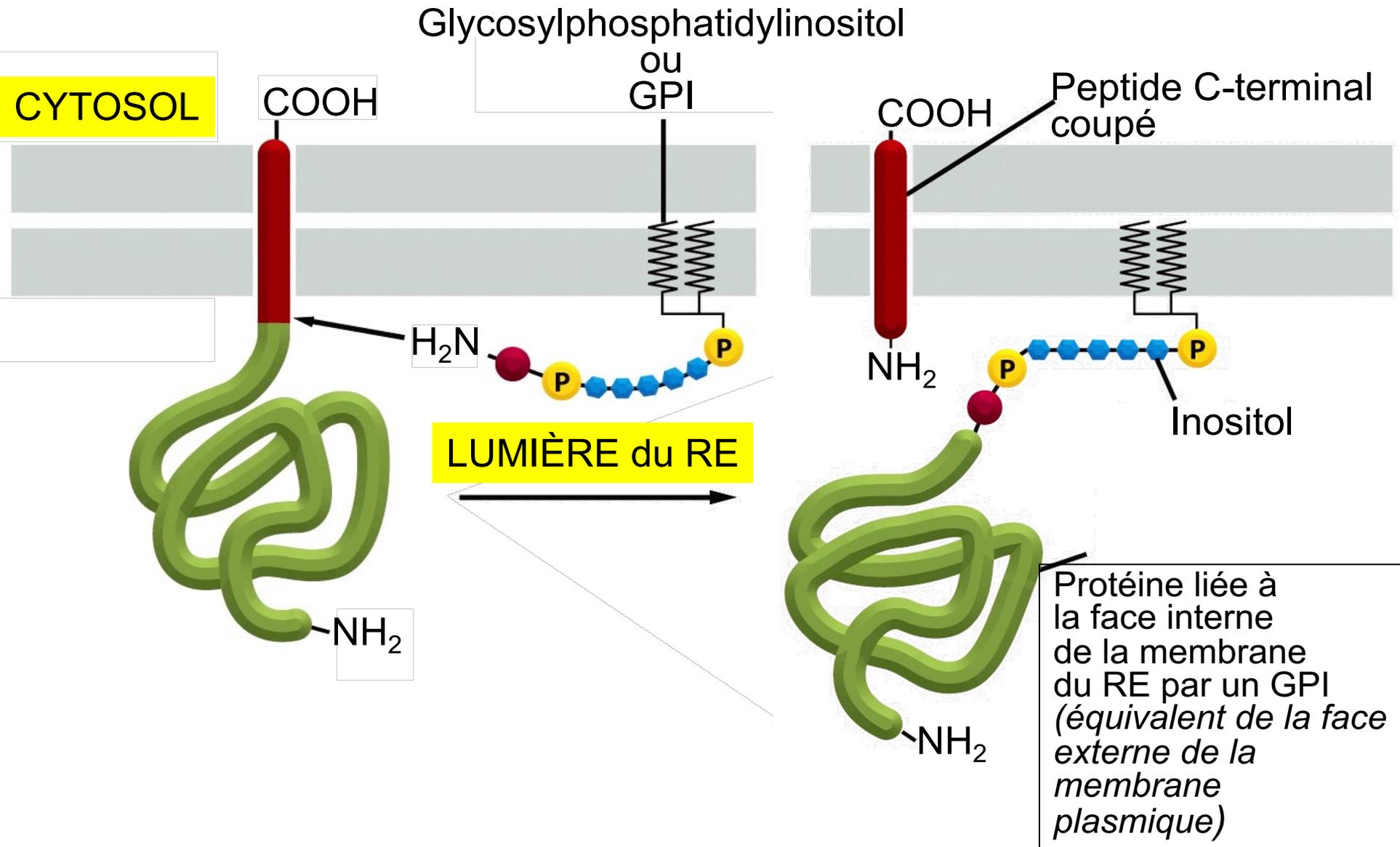
Formation des ponts disulfures catalysée par des disulfure isomérase des protéines (PDI)



**Le milieu cytosolique est REDUCTEUR**

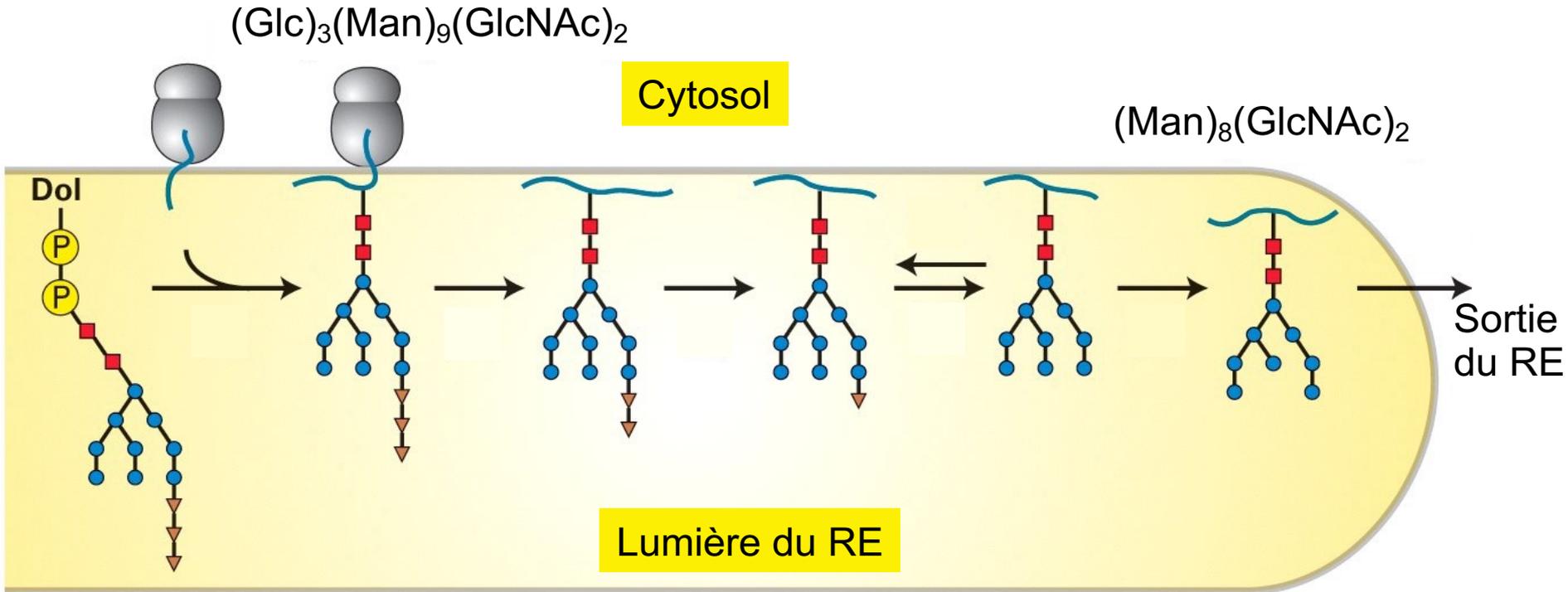
**L'intérieur du RE et des compartiments de sécrétion est OXYDANT**

# Attachement de certaines protéines à la membrane par une ancre GPI



# **Maturation et repliement des protéines au niveau du réticulum endoplasmique**

# Maturation initiale de l'oligosaccharide N-lié dans la lumière du RE des cellules de vertébrés



**Dol** = Dolichol

**■** = N-Acetylglucosamine

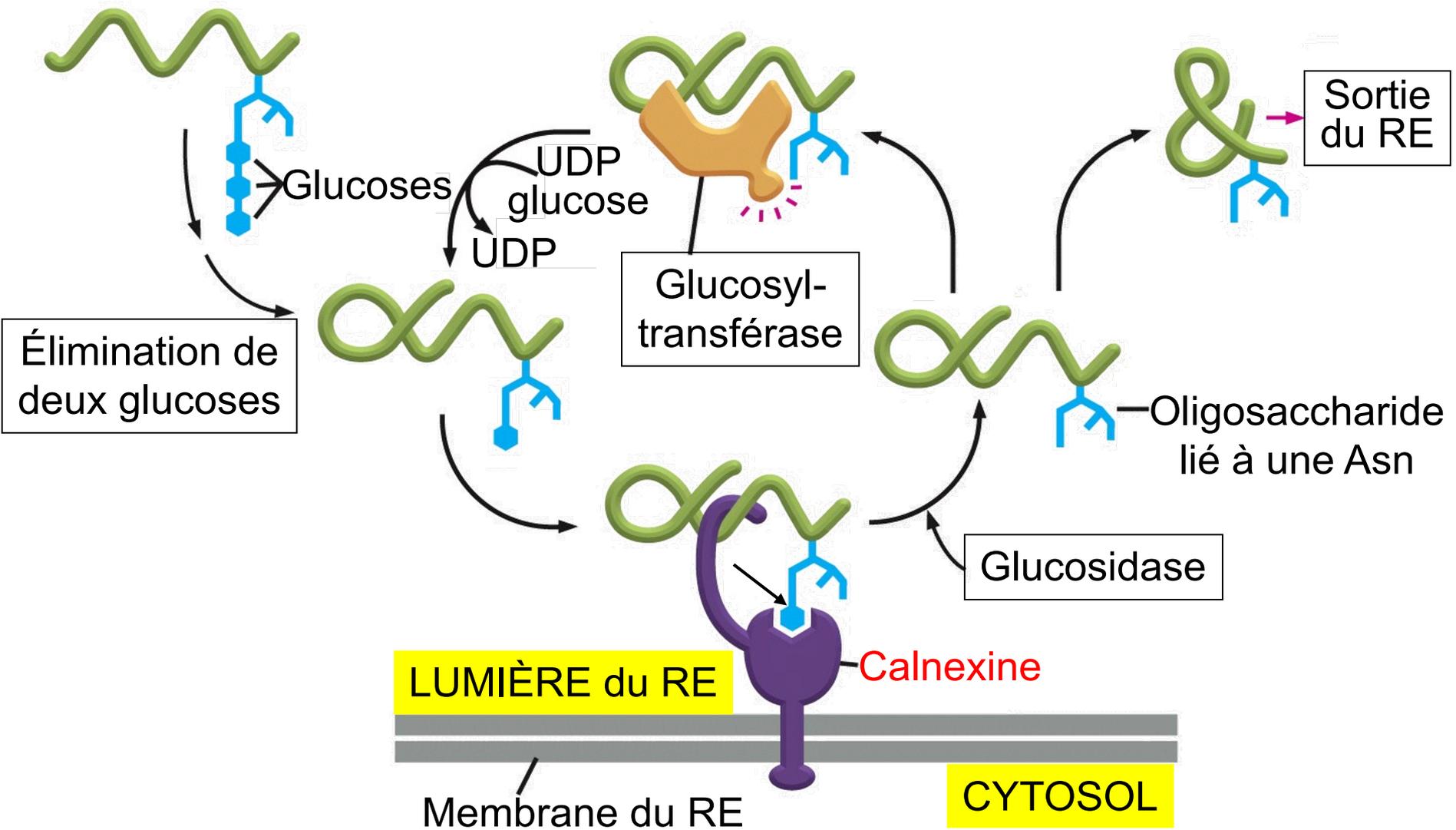
**●** = Mannose

**▲** = Glucose

Non repliée

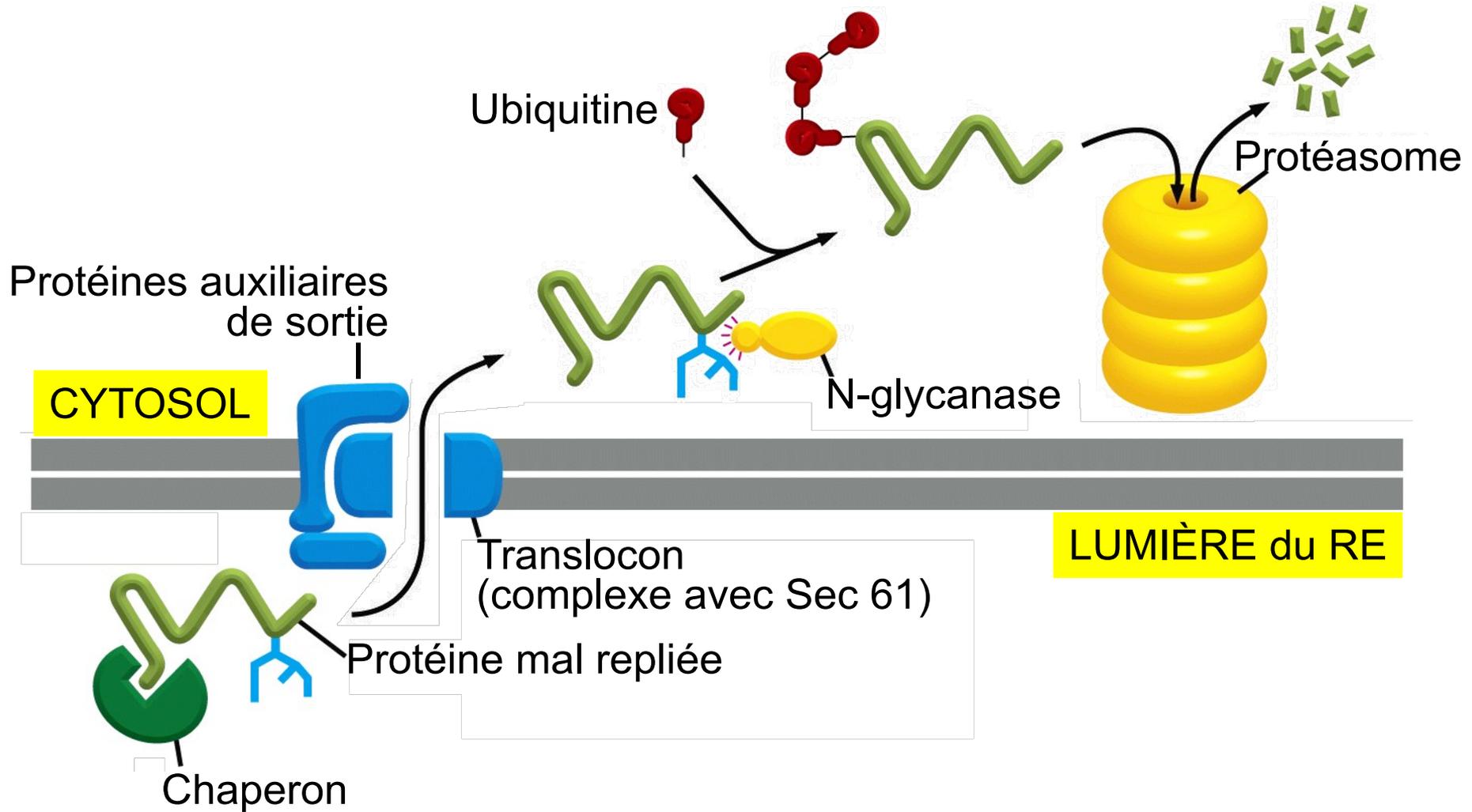
Incomplètement  
repliée

Normalement  
repliée



Rôle de la N-glycosylation dans le repliement des protéines dans le RE

ERAD = « **E**ndoplasmic **R**eticulum-**A**ssociated Protein **D**egradation »  
Dégradation des protéines associée au RE



**Élimination des protéines mal repliées par transport dans le cytosol (rétro-translocation ou dislocation) et dégradation par le protéasome**

# L'accumulation de protéines mal repliées dans le RE déclenche une réponse de type UPR

UPR = « Unfolded Protein Response »

Réponse aux protéines mal repliées

- augmentation de la transcription des gènes codant :

les chaperons

les protéines de la rétrotranslocation

les protéines impliquées dans la dégradation cytosolique des protéines mal repliées.

- diminution globale de la traduction (et donc de la surcharge du RE)

# Mauvais repliement des protéines et ERAD

## Maladie ou syndrome

## Protéine en cause

Mucoviscidose

CFTR « **C**ystic **F**ibrosis **T**ransmembrane conductance **R**egulator »

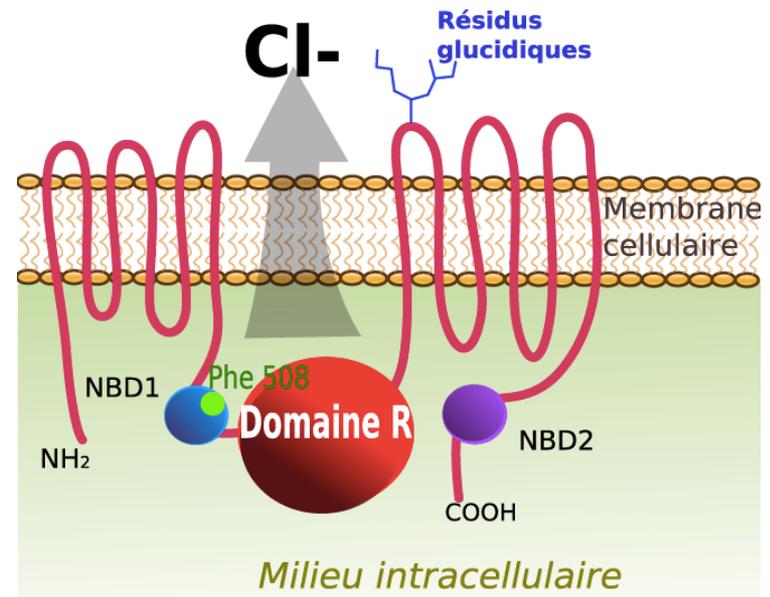
Maladie génétique autosomique récessive

1/2.500 naissances (4% de la population porteuse d'une mutation)

Des mutations dans ce canal des ions chlorures entraînent une rétention dans le RE et une ERAD dans les cellules épithéliales essentiellement.

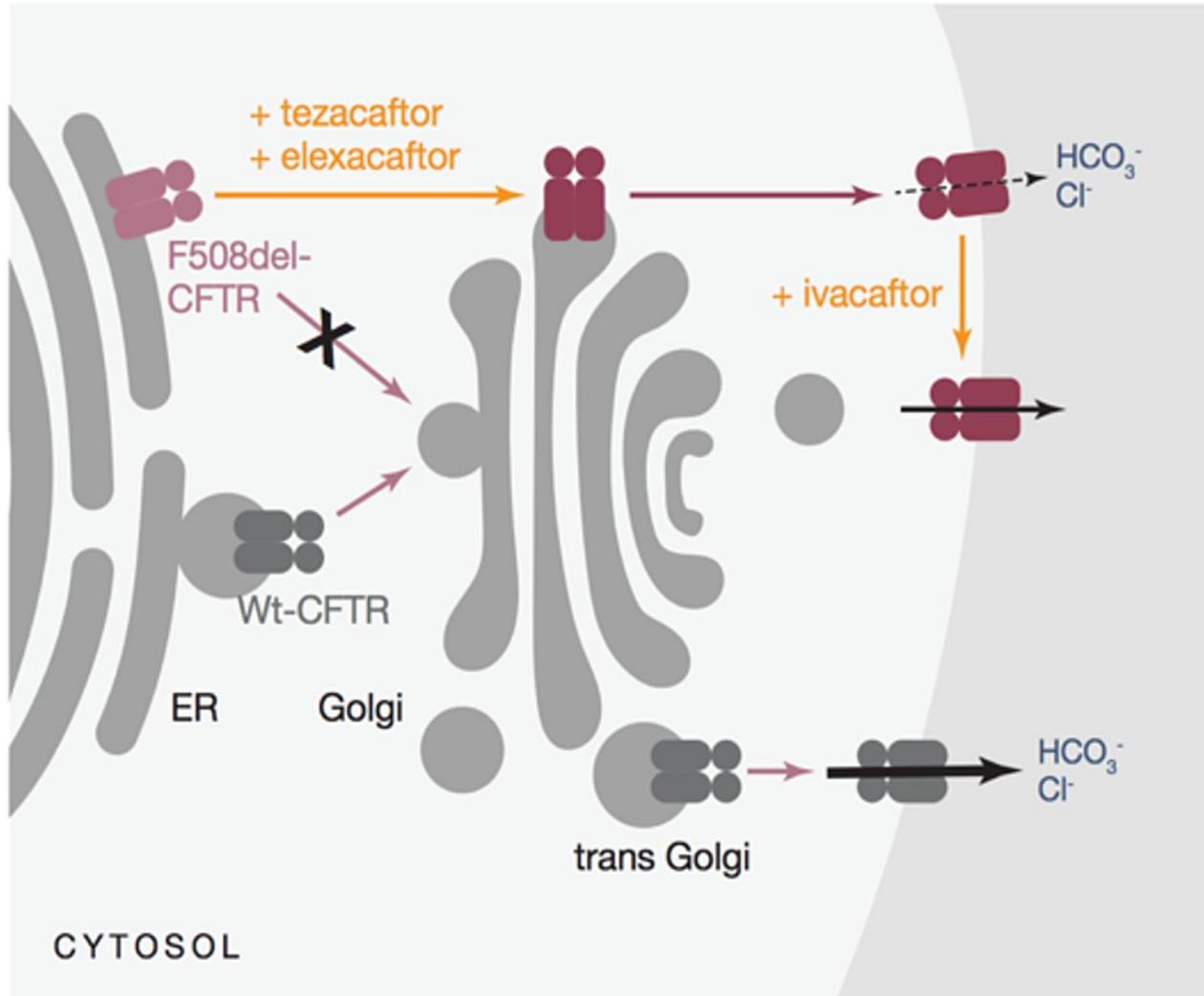
$\Delta F 508$  responsable de plus de 70% des cas.

Symptômes essentiellement pulmonaires et digestifs.

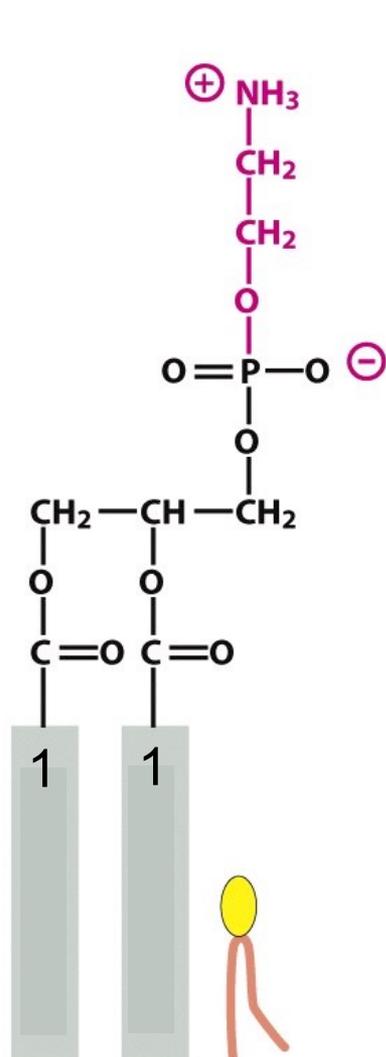


# Mauvais repliement des protéines et ERAD

## Nouveaux traitements de la mucoviscidose

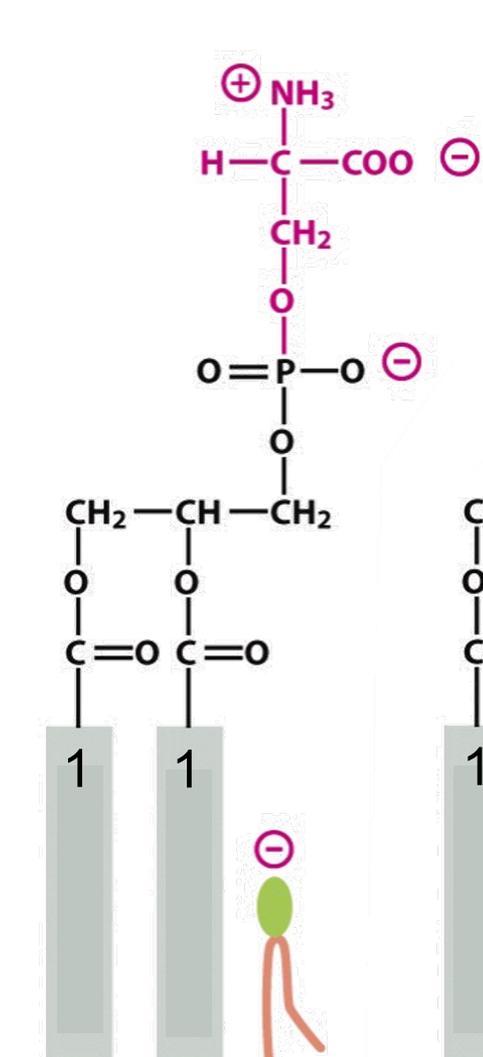


# **Synthèse des lipides membranaires au niveau du réticulum endoplasmique**

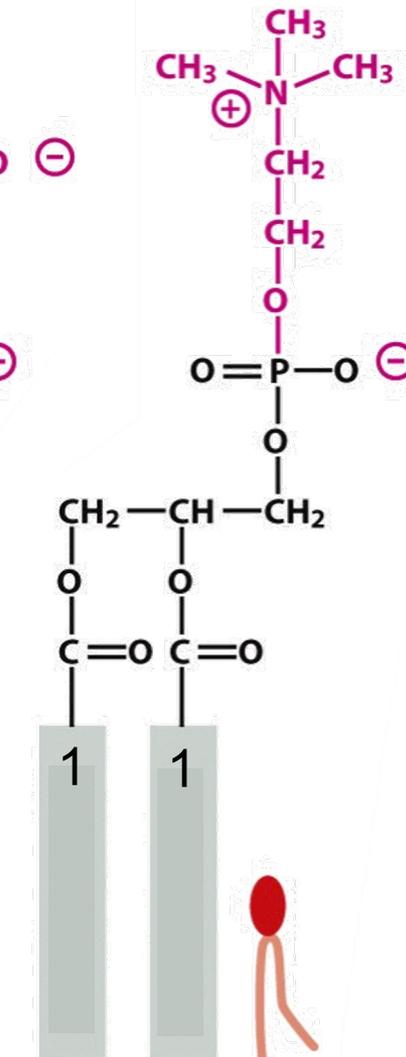


Phosphatidyl-éthanolamine

1-Queue de l'acide gras

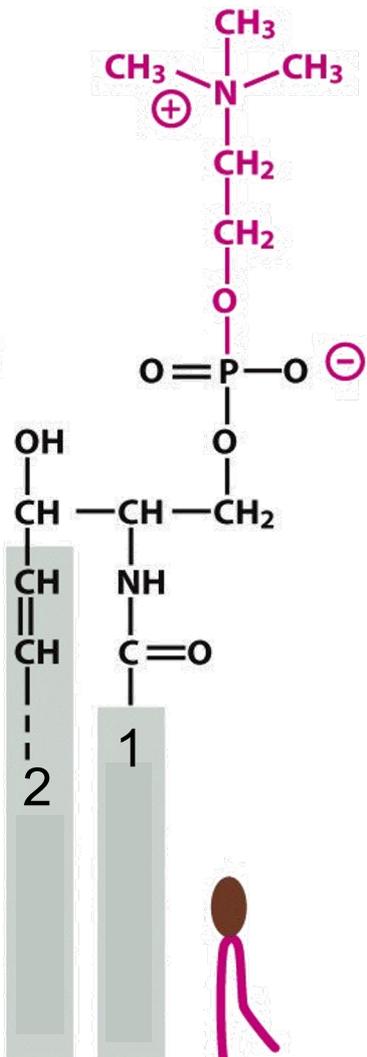


Phosphatidyl-sérine



Phosphatidyl-choline

2-Queue de la chaîne hydrocarbonée

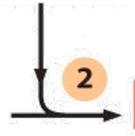
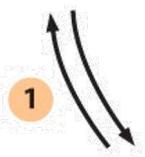


Sphingomyéline

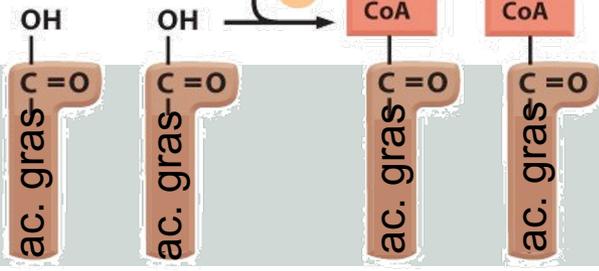
**Quatre phospholipides majeurs de la membrane plasmique des cellules de mammifère**



Protéine de liaison  
des acides gras

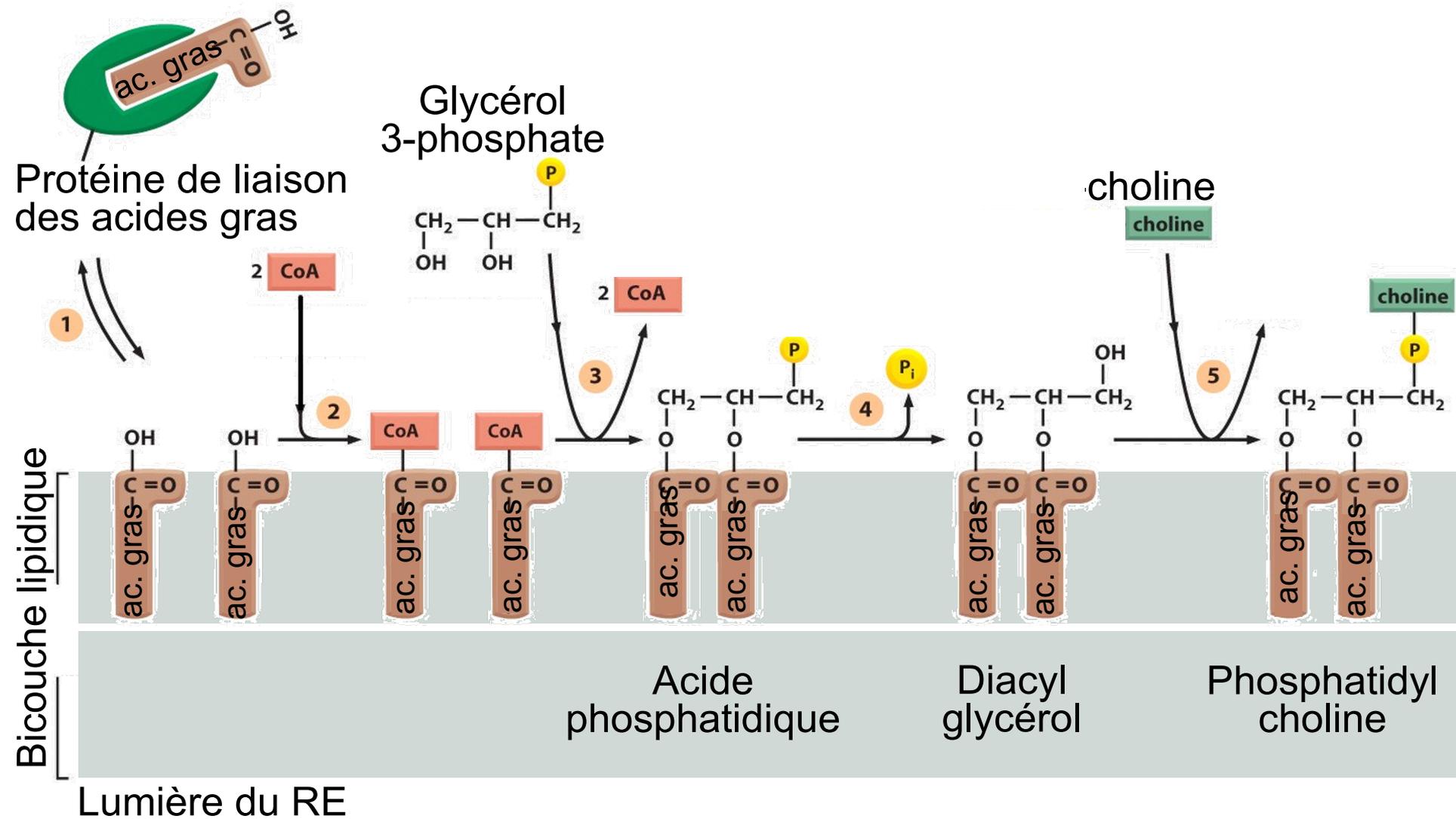


Bicouche lipidique



Lumière du RE

Synthèse de la phosphatidylcholine ou lécithine



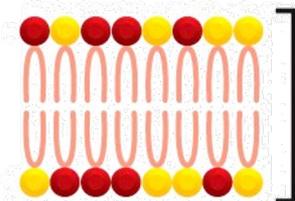
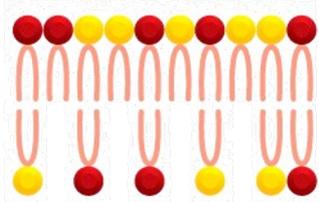
**Synthèse de la phosphatidylcholine ou lécithine**



CYTOSOL

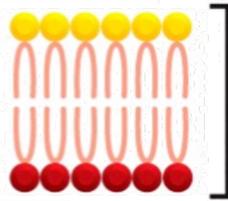


LUMIÈRE DU RE



**Translocation des phospholipides lors de la synthèse de la bi-couche lipidique de la membrane du RE**

# EXTÉRIEUR DE LA CELLULE

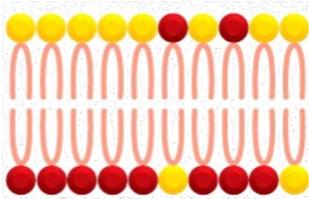


Lipides de la bi-couche asymétrique de la membrane plasmique

# CYTOSOL

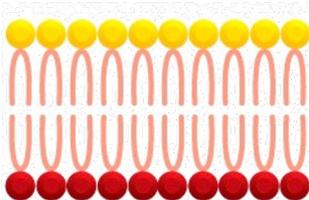


ADDITION DE NOUVELLE MEMBRANE PAR EXOCYTOSE



CATALYSE DU BASCULEMENT DE PHOSPHOLIPIDES SPÉCIFIQUES PAR UNE ENZYME SPÉCIFIQUE

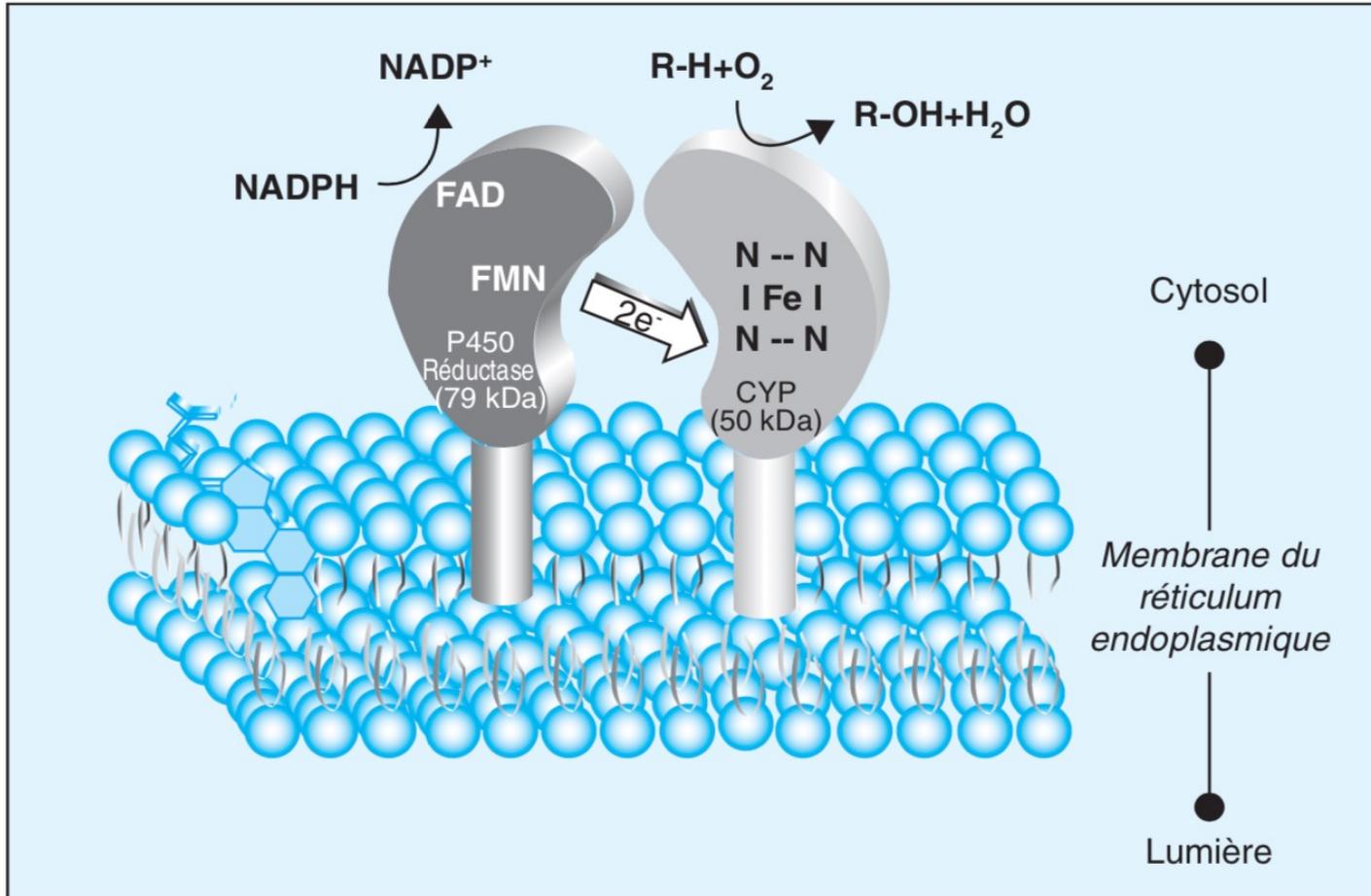
« flippase »



**Translocation sélective des phospholipides dans la bi-couche lipidique de la membrane plasmique**

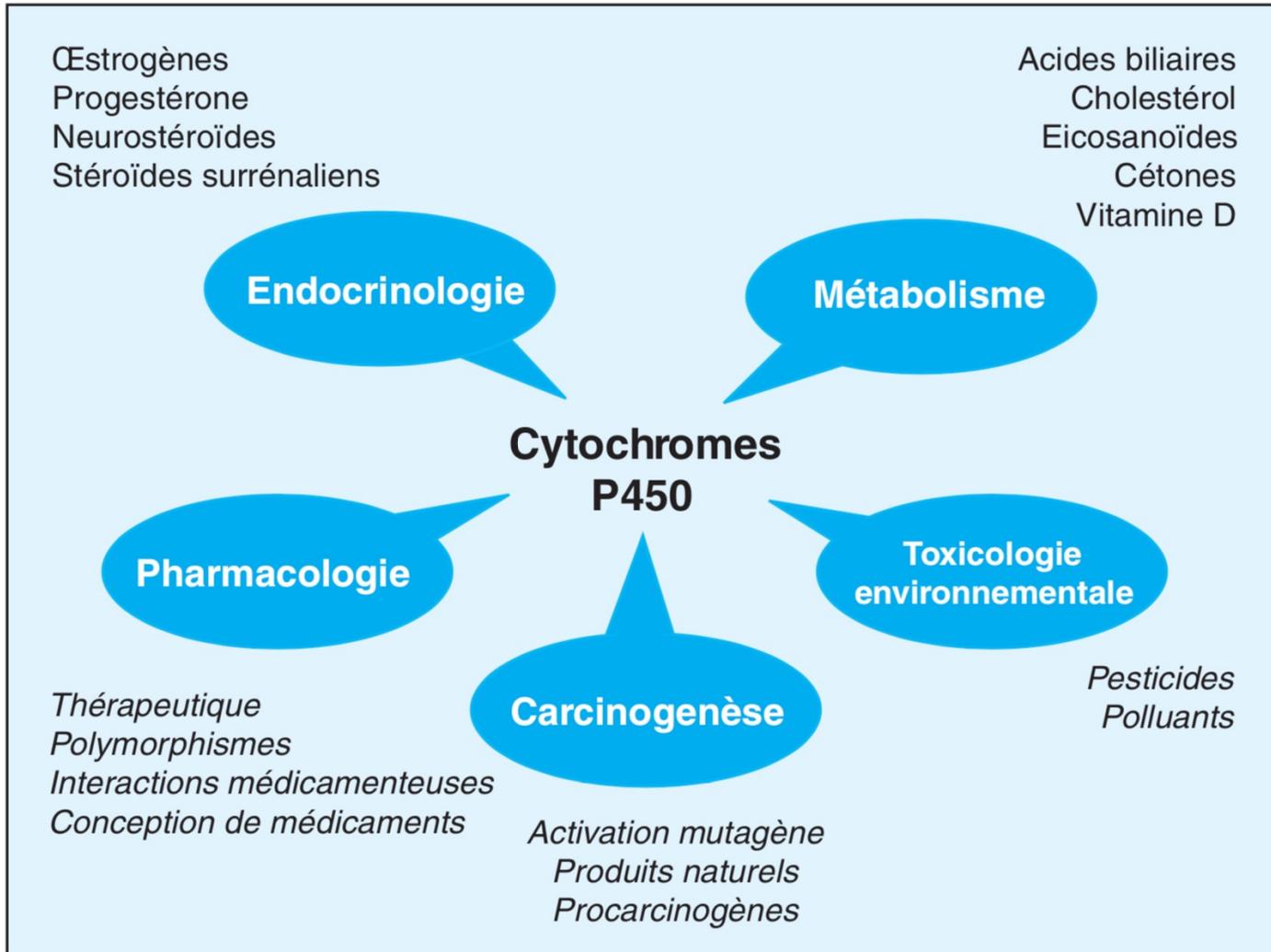
# Des fonctions multiples et essentielles des cytochromes P450

- le RE contient le cytochrome P450 dont le site d'action est cytosolique
- le cytochrome P450 est capable d'hydroxyler des molécules variées
- il participe à la synthèse des hormones stéroïdes
- il participe à la détoxification des molécules exogènes (toxiques, médicaments, ...).



**Le complexe réductase P450-cytochrome P450 est capable d'hydroxyler des molécules variées.**

# Implications physiologiques et physiopathologiques des cytochromes P450



# Points à retenir

- Structure et principales fonctions du Réticulum Endoplasmique
- avoir compris ce qu'est un profil d'hydrophobie d'une protéine
- le "peptide signal" est hydrophobe et est éliminé de la protéine mature par coupure
- la translocation des protéines vers le RE est cotraductionnelle
- la topologie d'une protéine transmembranaire est conditionnée par la succession de peptides de départ et d'arrêt de transfert à travers la membrane
- l'exoplasme (dont l'intérieur du RE) est oxydant; conséquence sur les ponts S-S
- ancre GPI (attachement au feuillet exoplasmique de la membrane )
- la N-glycosylation est co-traductionnelle et résulte du transfert en bloc d'un arbre oligosaccharidique
- les protéines mal repliées sont rétro-transloquées et dégradées dans le cytoplasme par le protéasome (ERAD)
- l'UPR et sa finalité
- les phospho-lipides sont synthétisés à la face cytoplasmique de la membrane du RE puis transloqués par des enzymes
- rôle du RE dans la détoxification