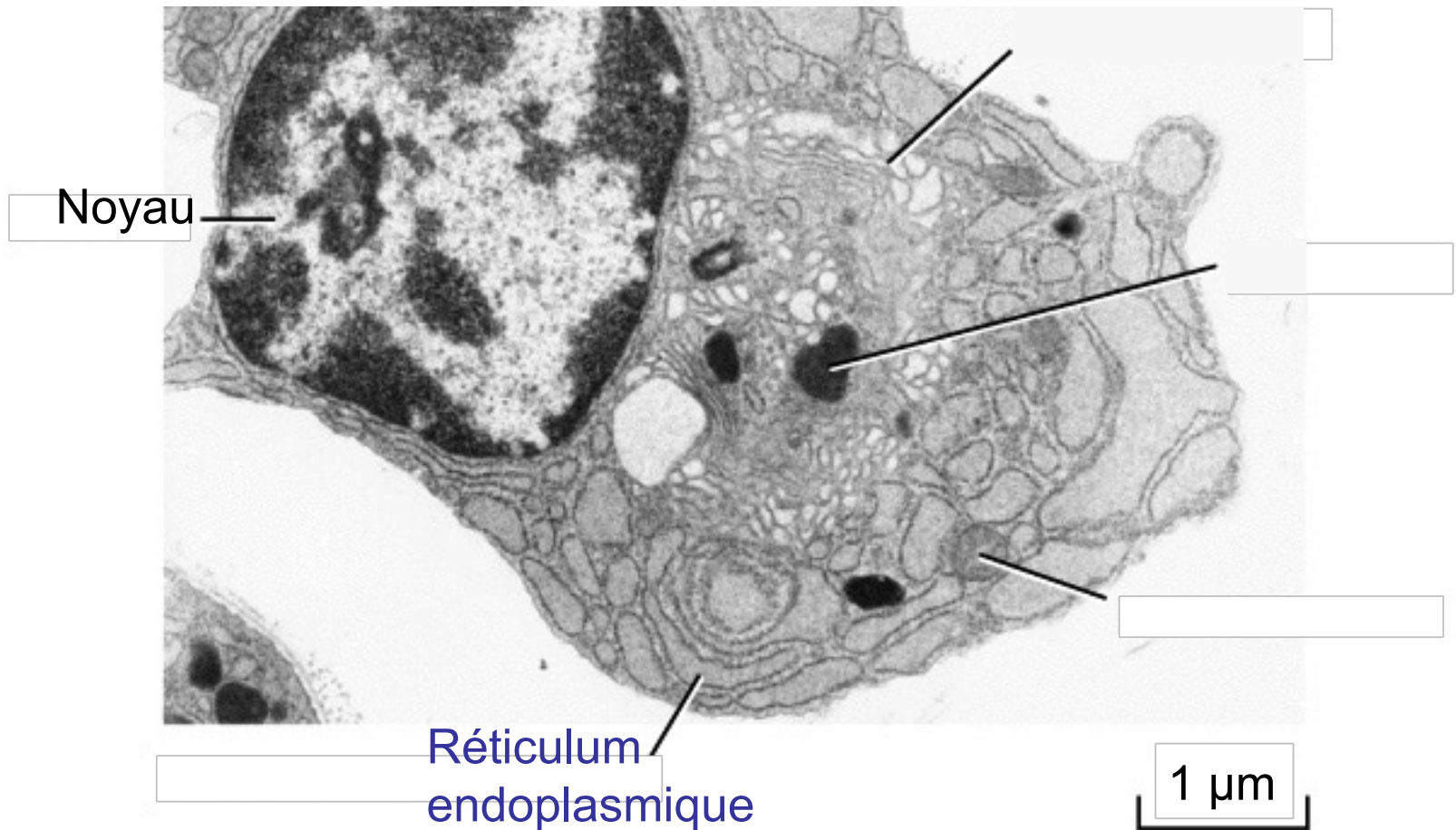


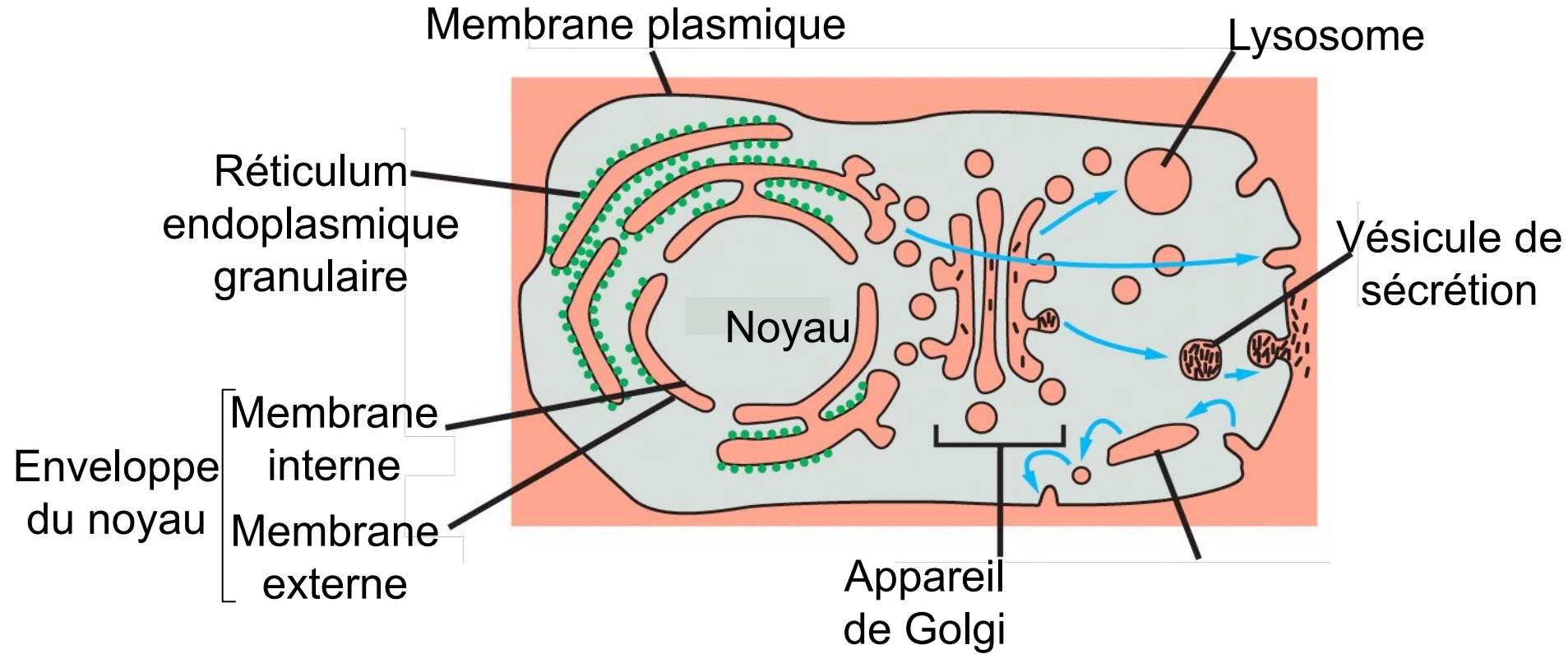
LE TRANSPORT À PARTIR DU RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE (RE)

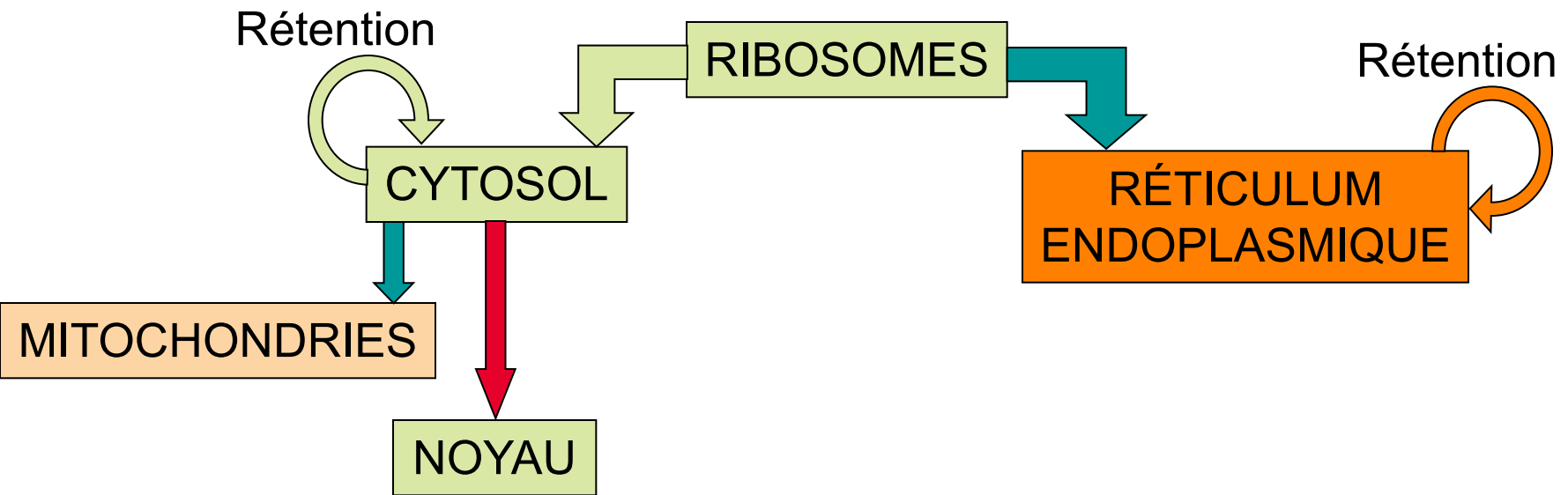


Réticulum endoplasmique : compartiment labyrinthe entouré d'une membrane, dans le cytoplasme des cellules eucaryotes, où sont synthétisés les lipides et où sont fabriquées les protéines associées aux membranes ainsi que celles qui seront sécrétées ou envoyées dans les lysosomes.

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

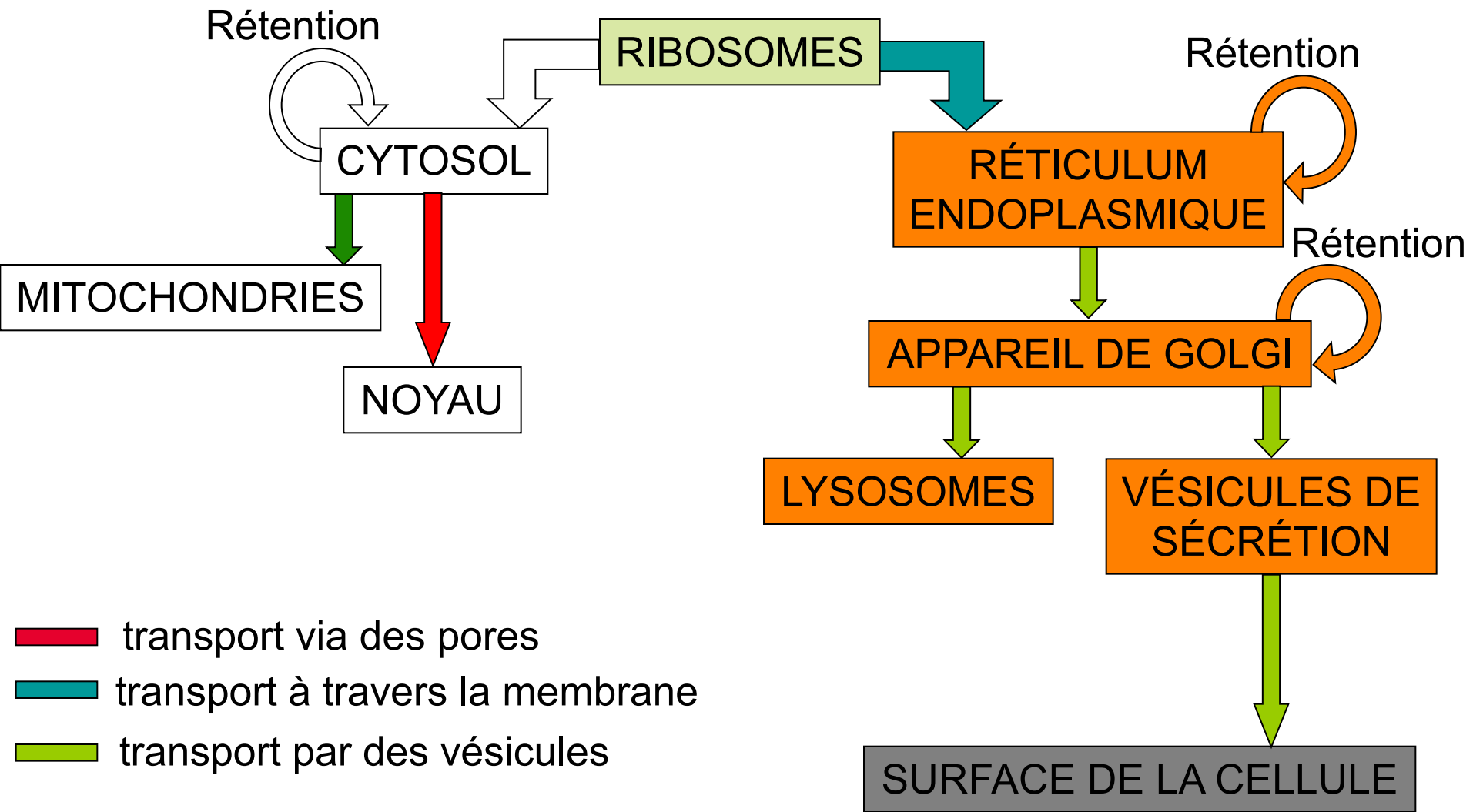
Relations topologiques entre les différents compartiments des voies de sécrétion et d'endocytose





- 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

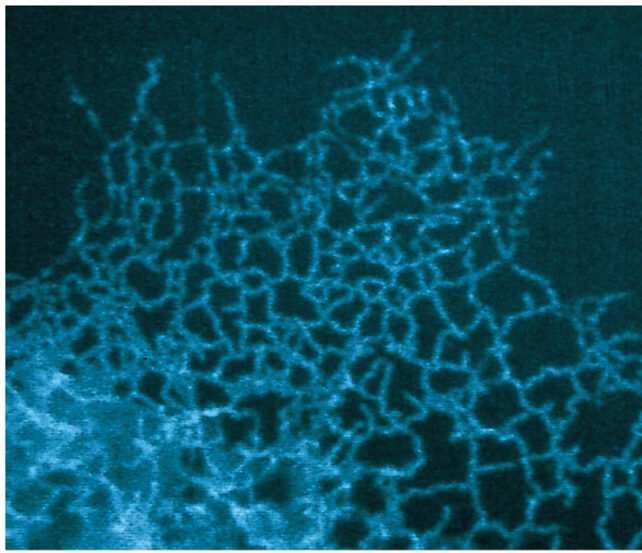
Rôle central du RE dans la synthèse des lipides et des protéines

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

RE lisse abondant dans certaines cellules. Par exemple :

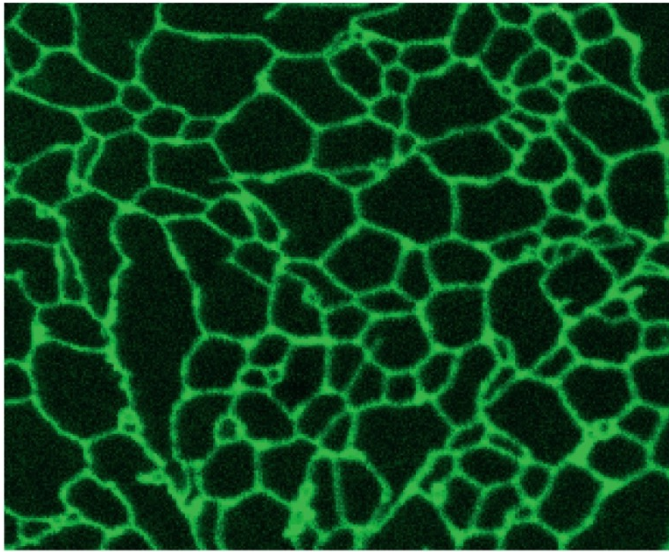
celui de l'hépatocyte -site de production des lipoprotéines
-siège de réactions de détoxification

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



2 μm

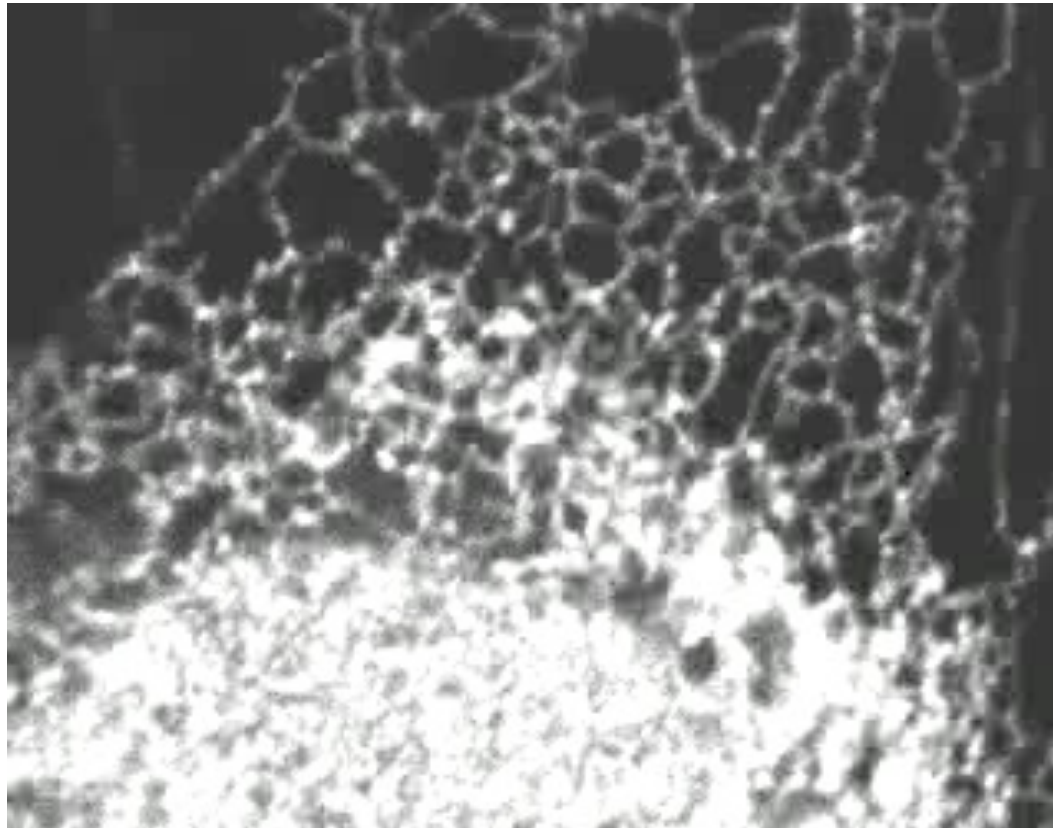
IF indirecte, après fixation
avec un anticorps dirigé
contre une protéine retenue
dans le RE



2 μm

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

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



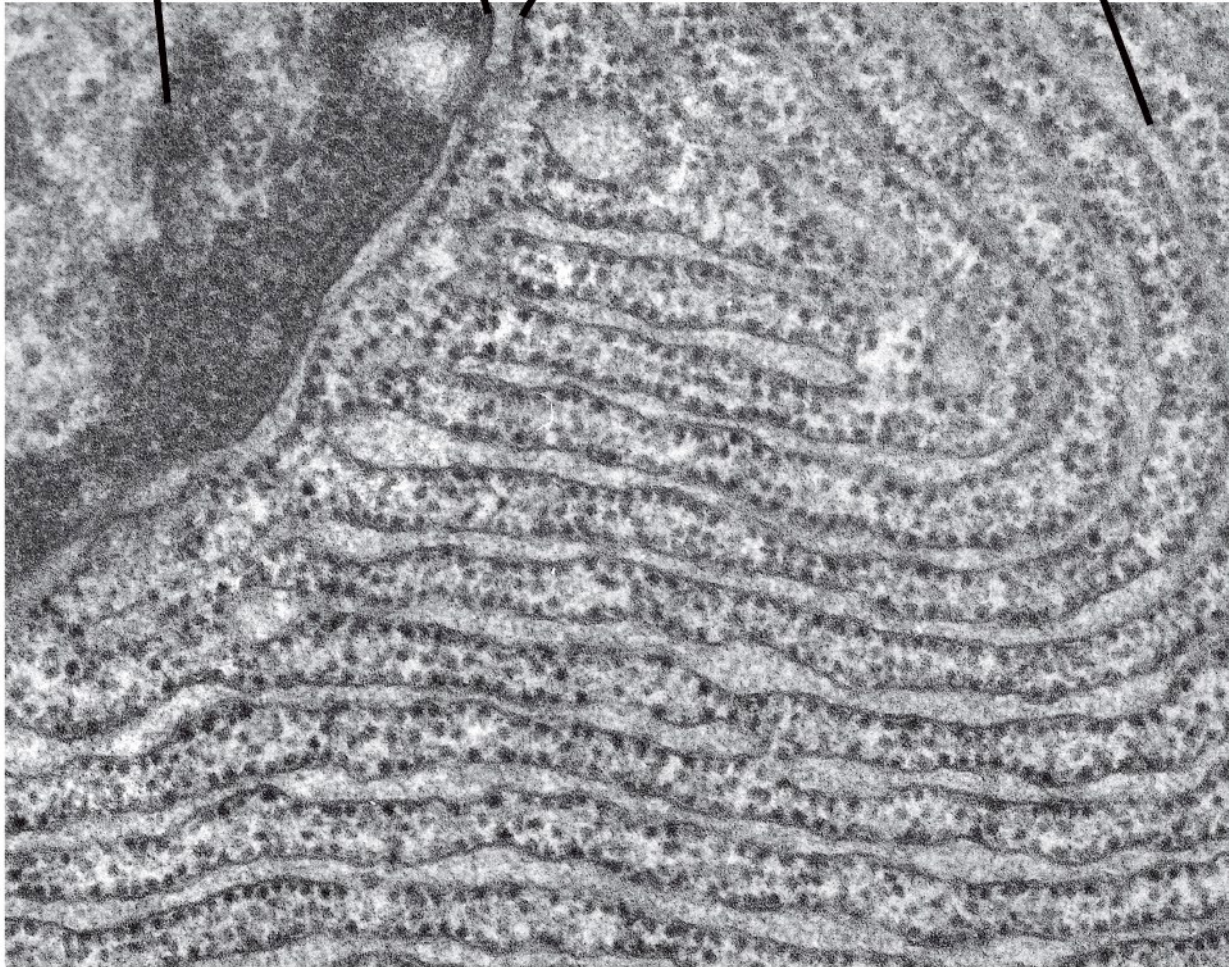
Dynamique du réticulum endoplasmique dans le cytosol
Réorganisation du réseau par des moteurs
qui se déplacent sur les microtubules

Membrane interne
du noyau

Noyau

Membrane externe
du noyau

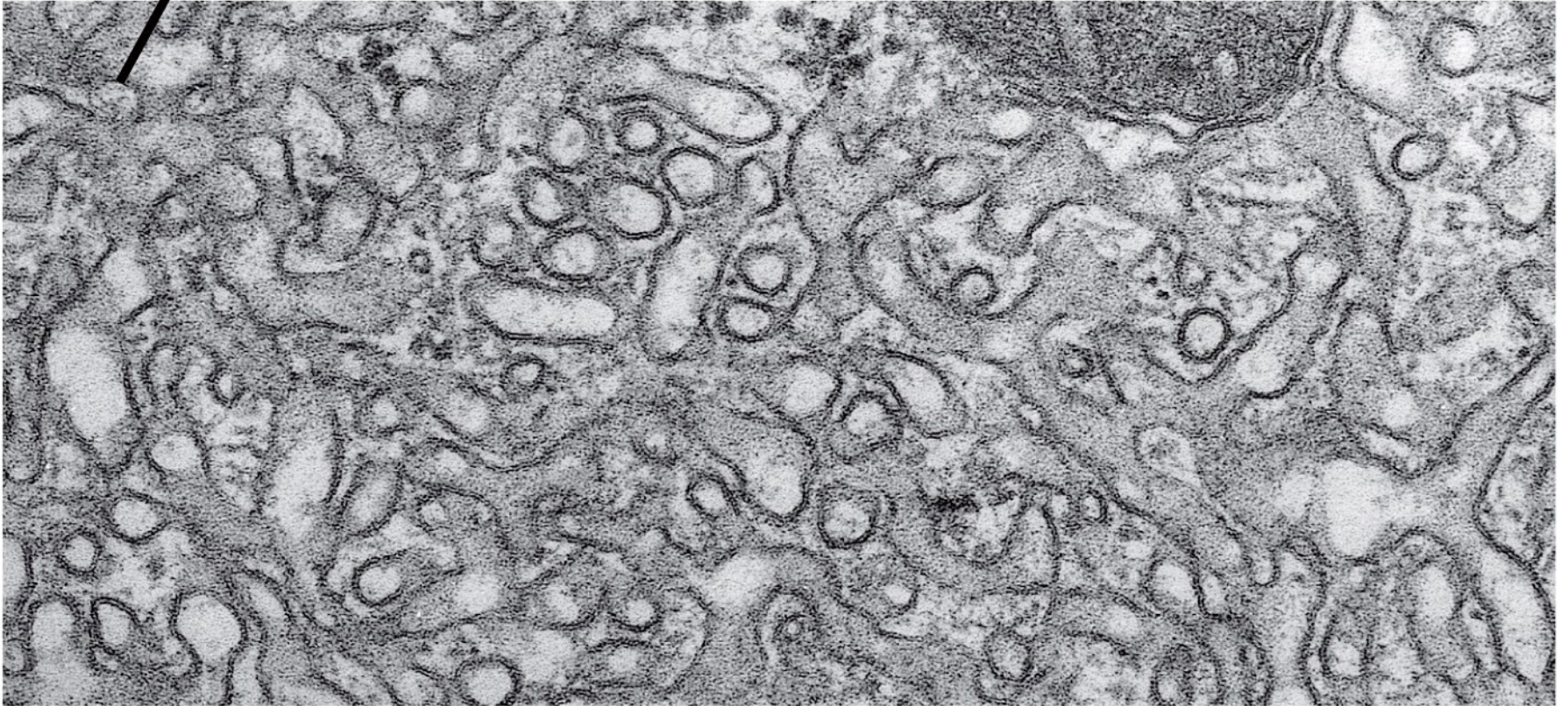
Membrane du
réticulum
endoplasmique



200 nm

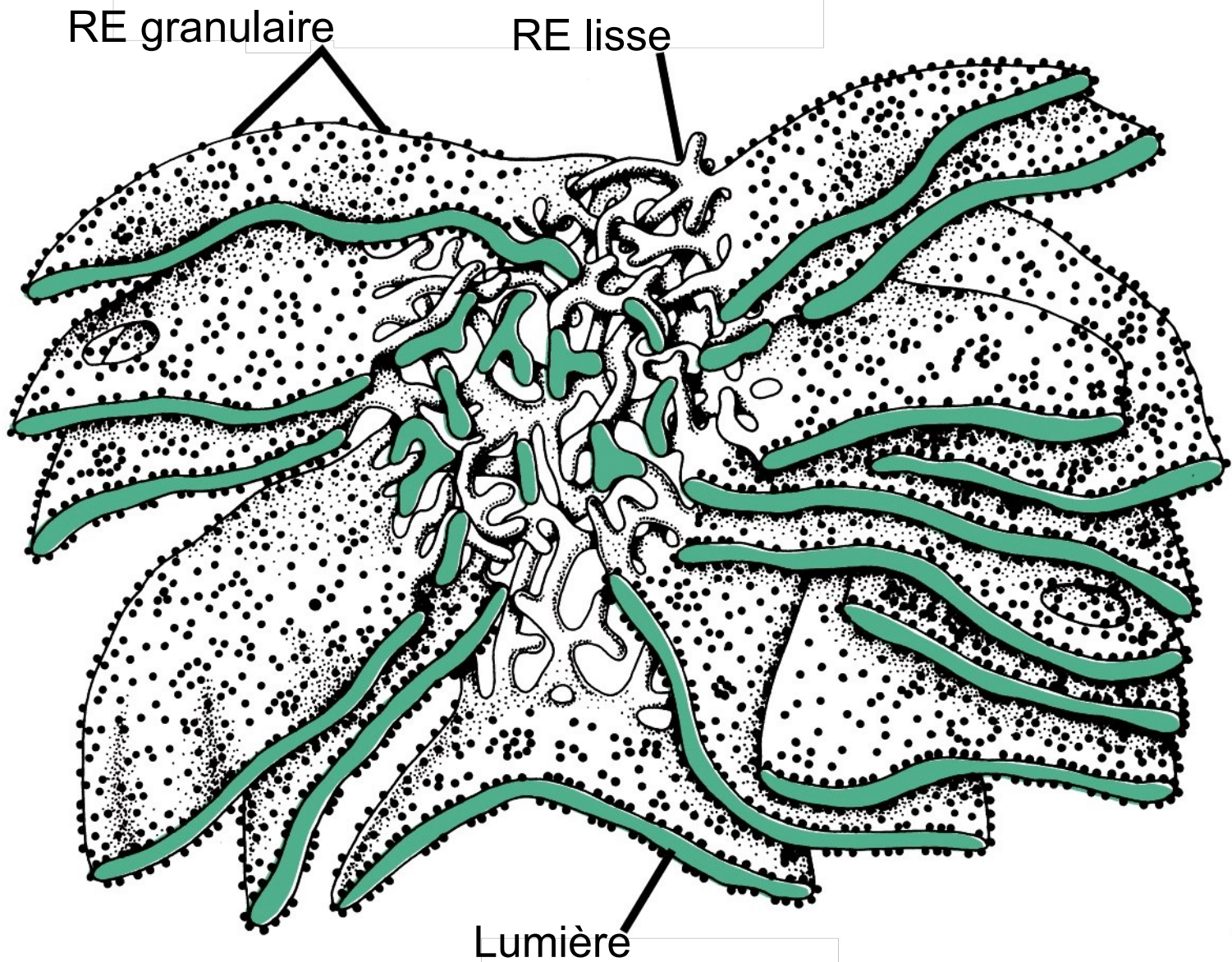
Réticulum endoplasmique granulaire (ME)

Membrane du réticulum endoplasmique



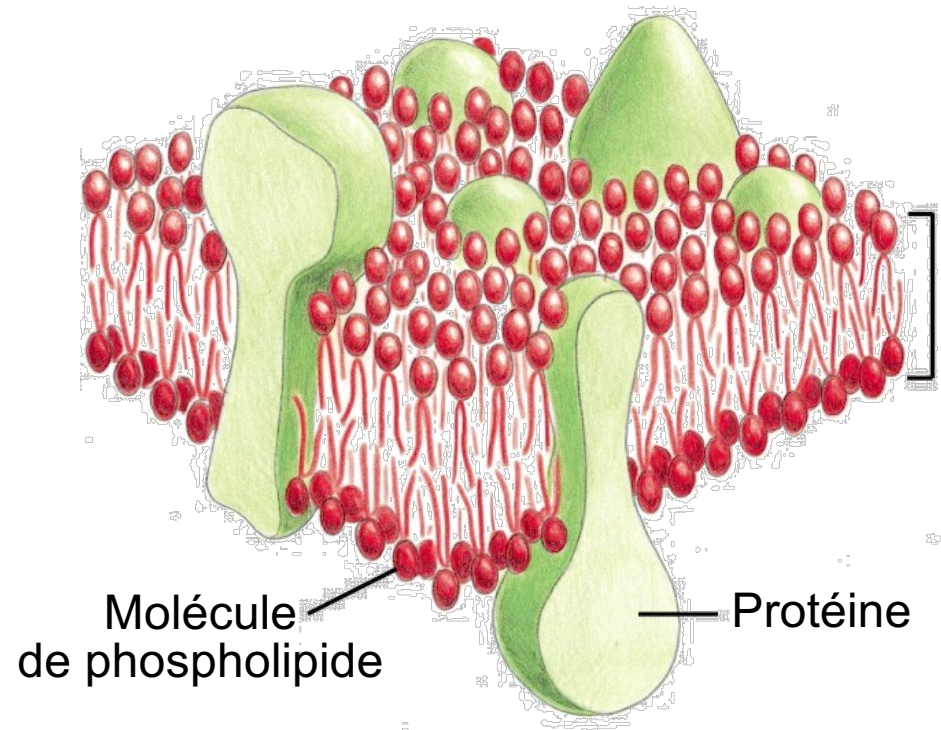
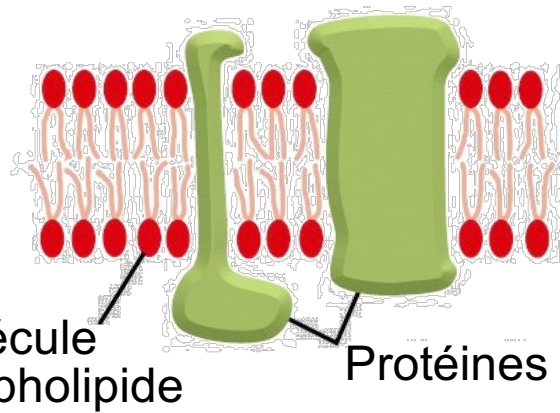
200 nm

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- Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe-Ile -Ser-Gly-Ser-Ala-Phe-Ser-Arg-... 
Chaîne légère de pré-IgG	Met-Asp-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gln- Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe -Pro-Gly-Thr-Arg-Cys-Asp-... 
Pré-lysozyme	Met-Arg-Ser- Leu-Leu-Ile-Leu-Val-Leu-Cys-Phe-Leu -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

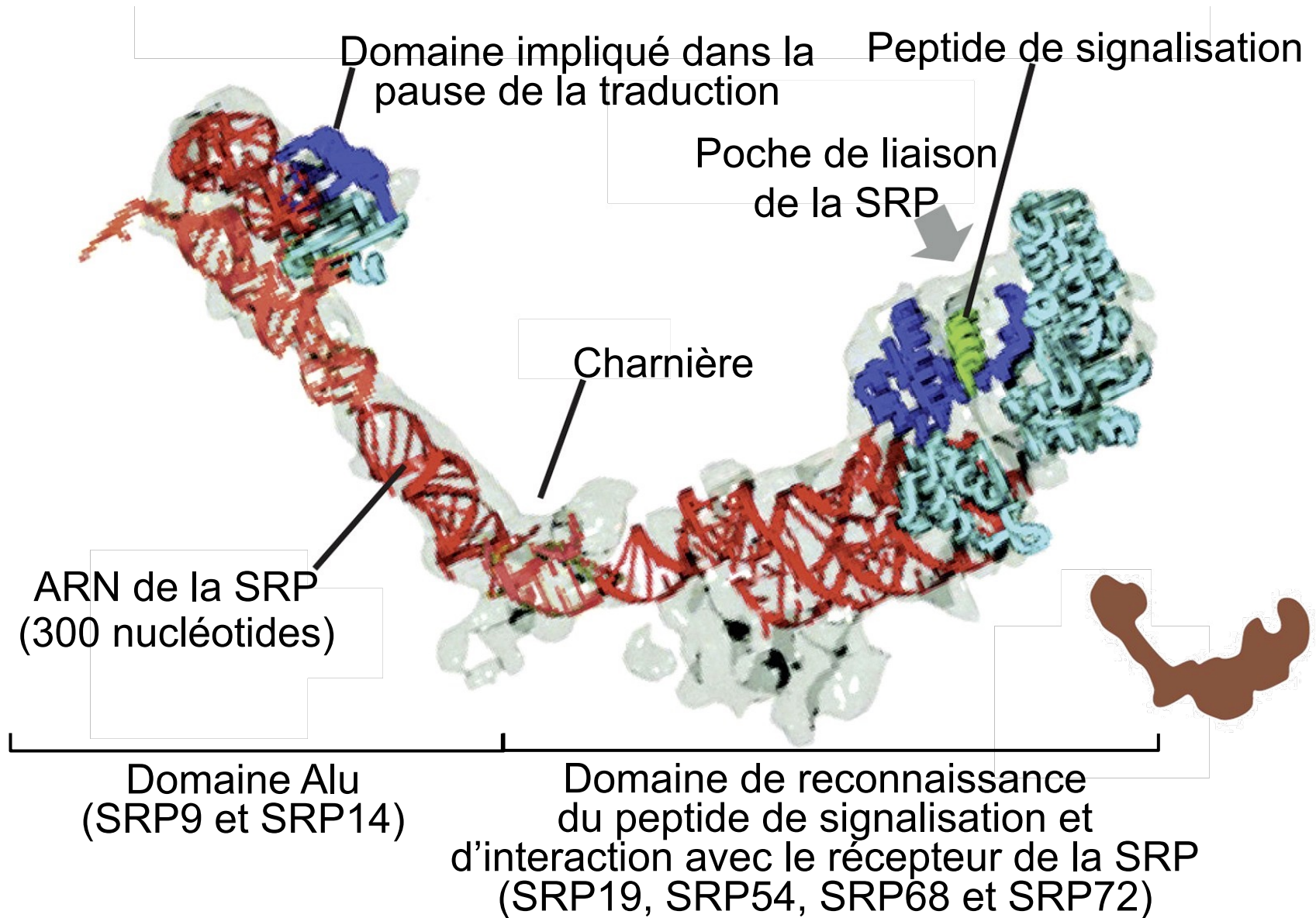
- Reconnaissance du peptide signal émergent du ribosome par un complexe ribonucléoprotéique («Signal-Recognition Particle», **SRP**) ; Cette liaison suspend la traduction
- SRP se fixe sur un récepteur sur la mb du REG (**SR** : « SRP receptor »)
- Un complexe **translocon** fixe le ribosome, et forme 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 NH₂ 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

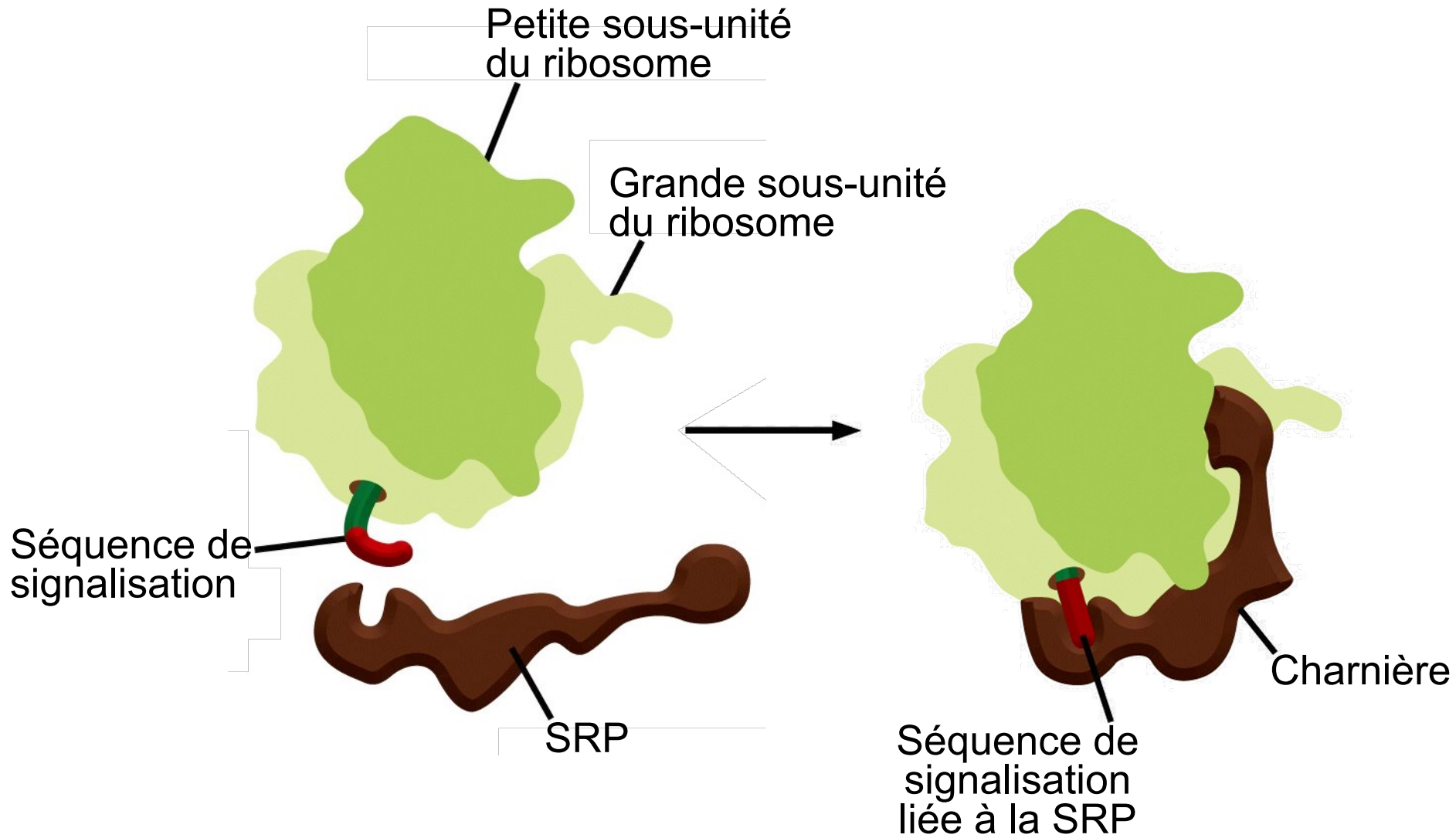
SRP : « **S**ignal **R**ecognition **P**article »

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

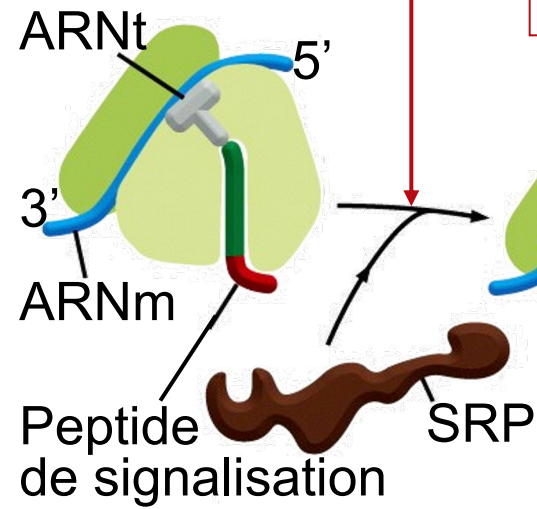
La liaison de la SRP au peptide de signalisation entraîne un arrêt de la traduction

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

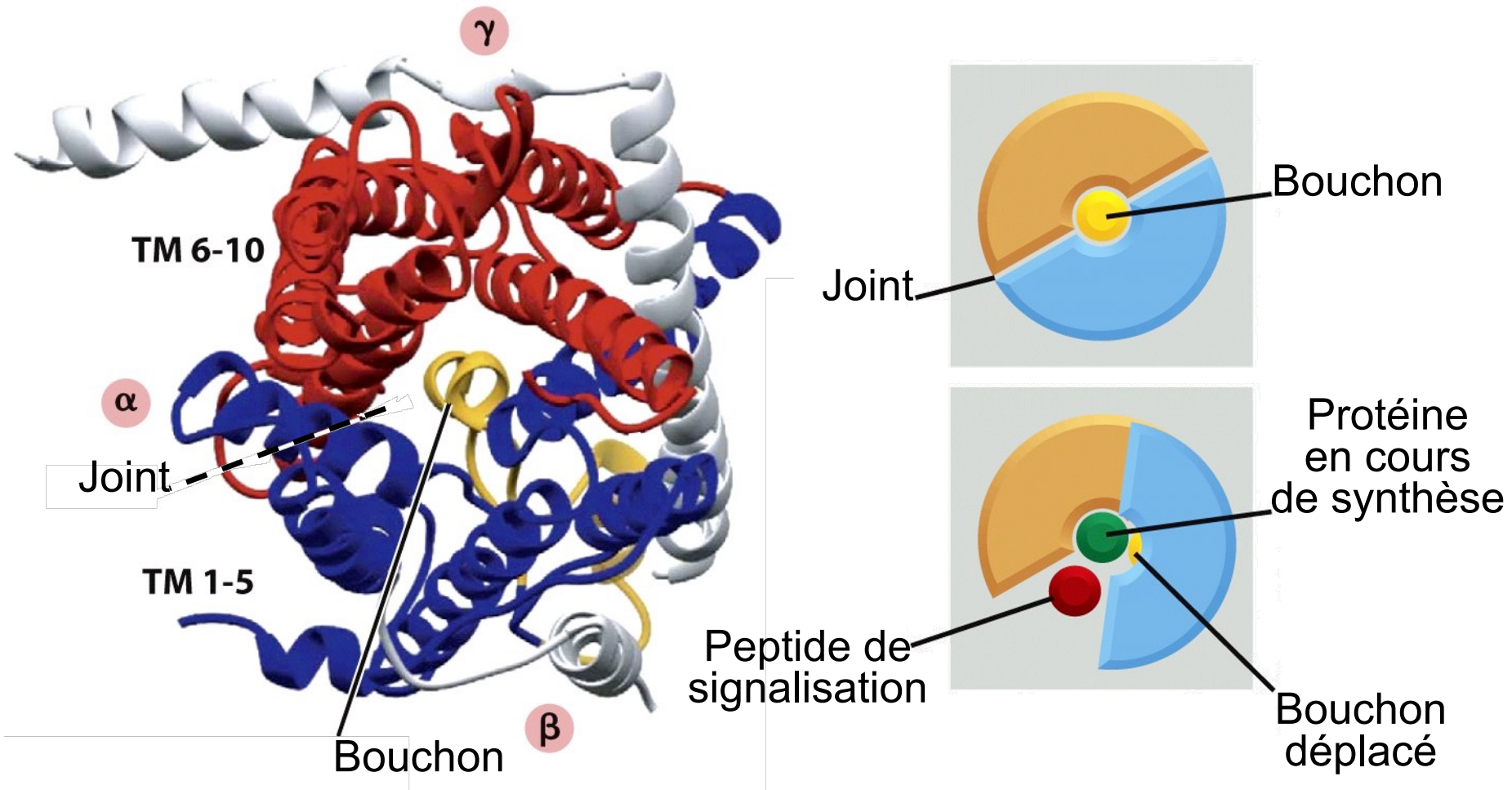


LUMIÈRE DU RE

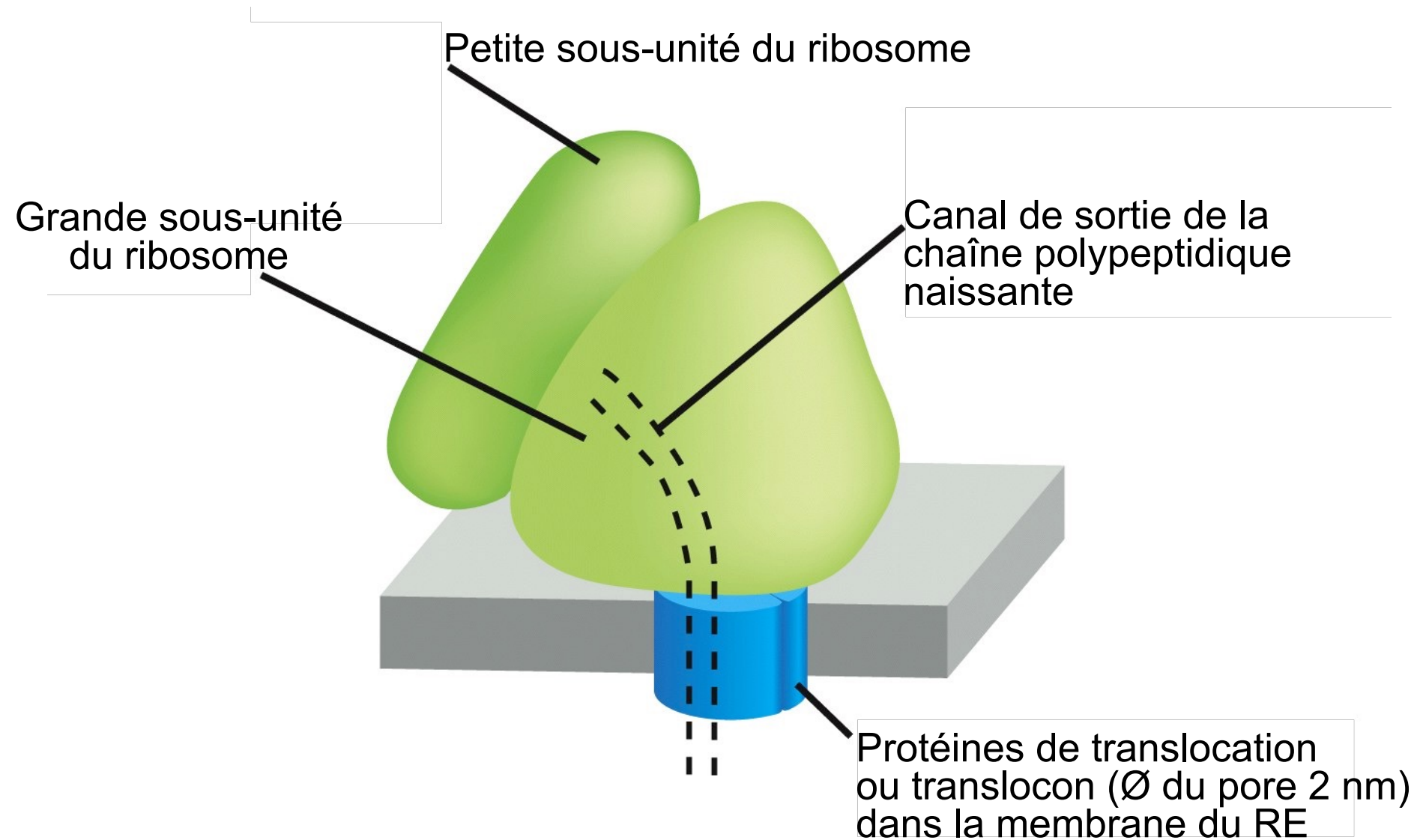


Translocation à travers la membrane de la protéine en cours de synthèse grâce à un récepteur de la SRP et au translocon situés dans la membrane du RE

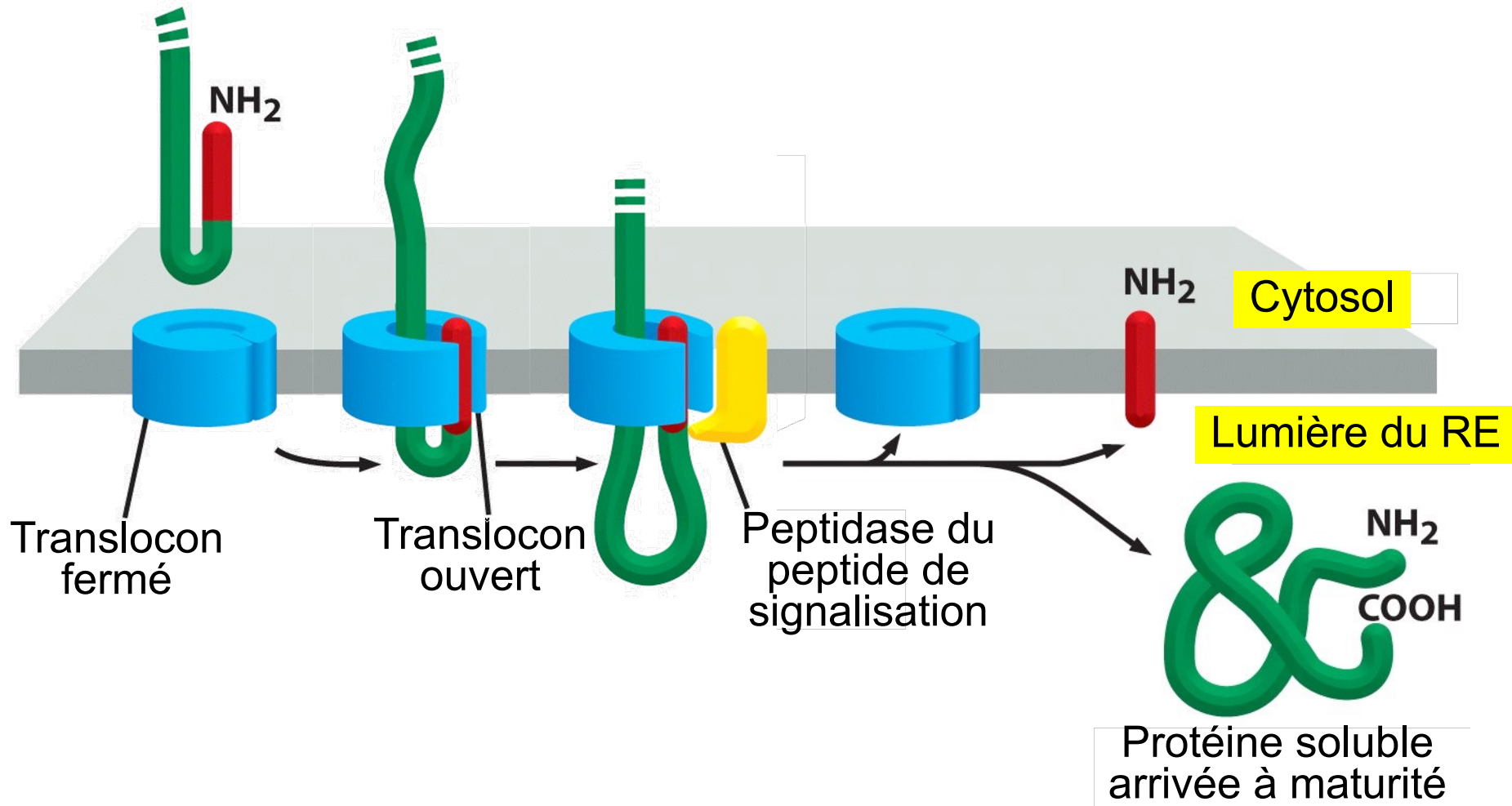
Structure du translocon



Association du ribosome et du translocon



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



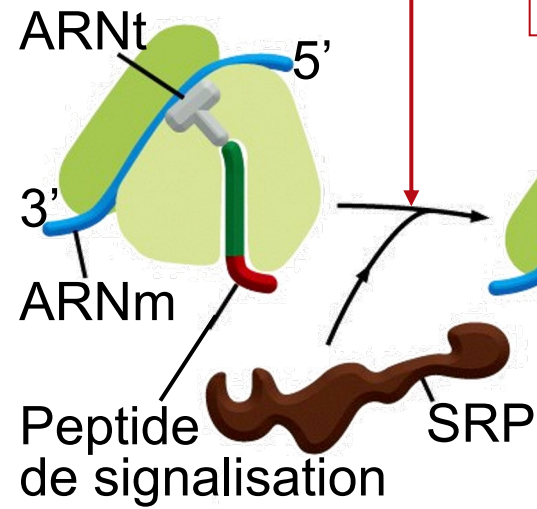
La liaison de la SRP au peptide de signalisation entraîne un arrêt de la traduction

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



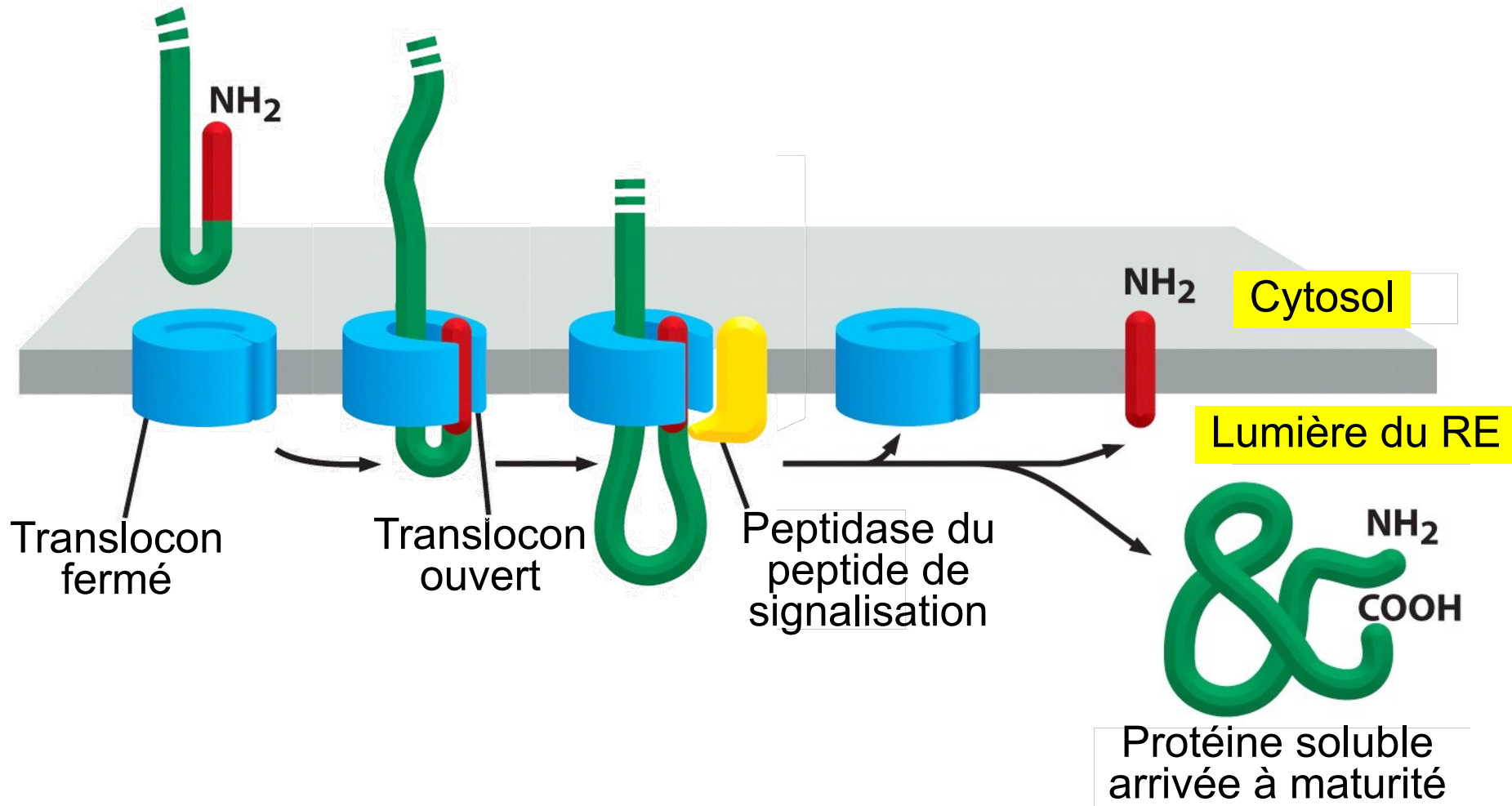
LUMIÈRE DU RE

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

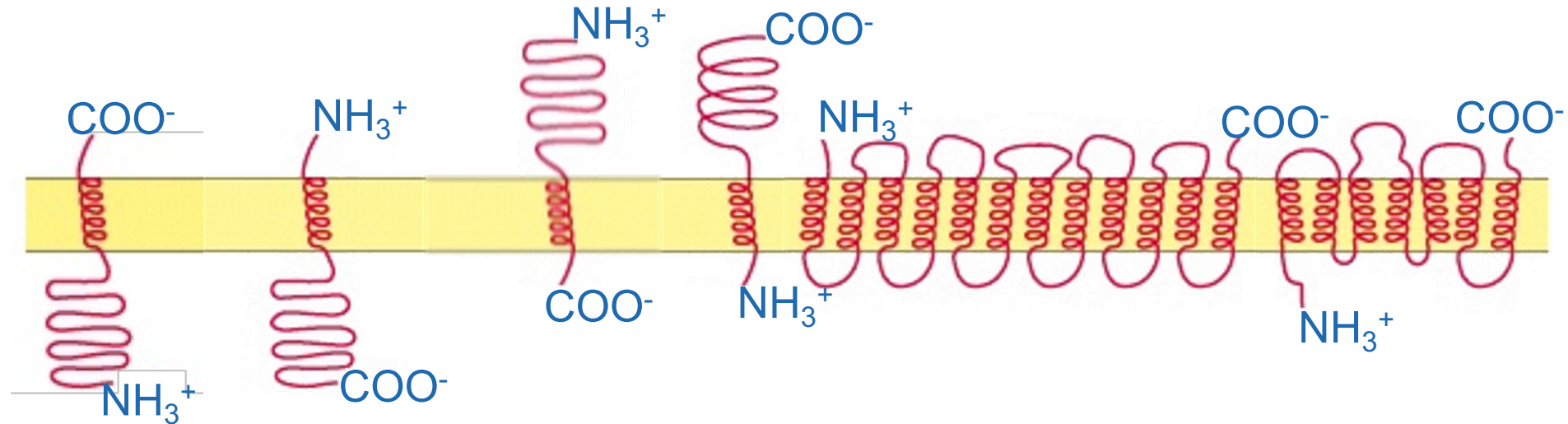
Modèle de translocation d'une protéine soluble à travers la membrane du RE



**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

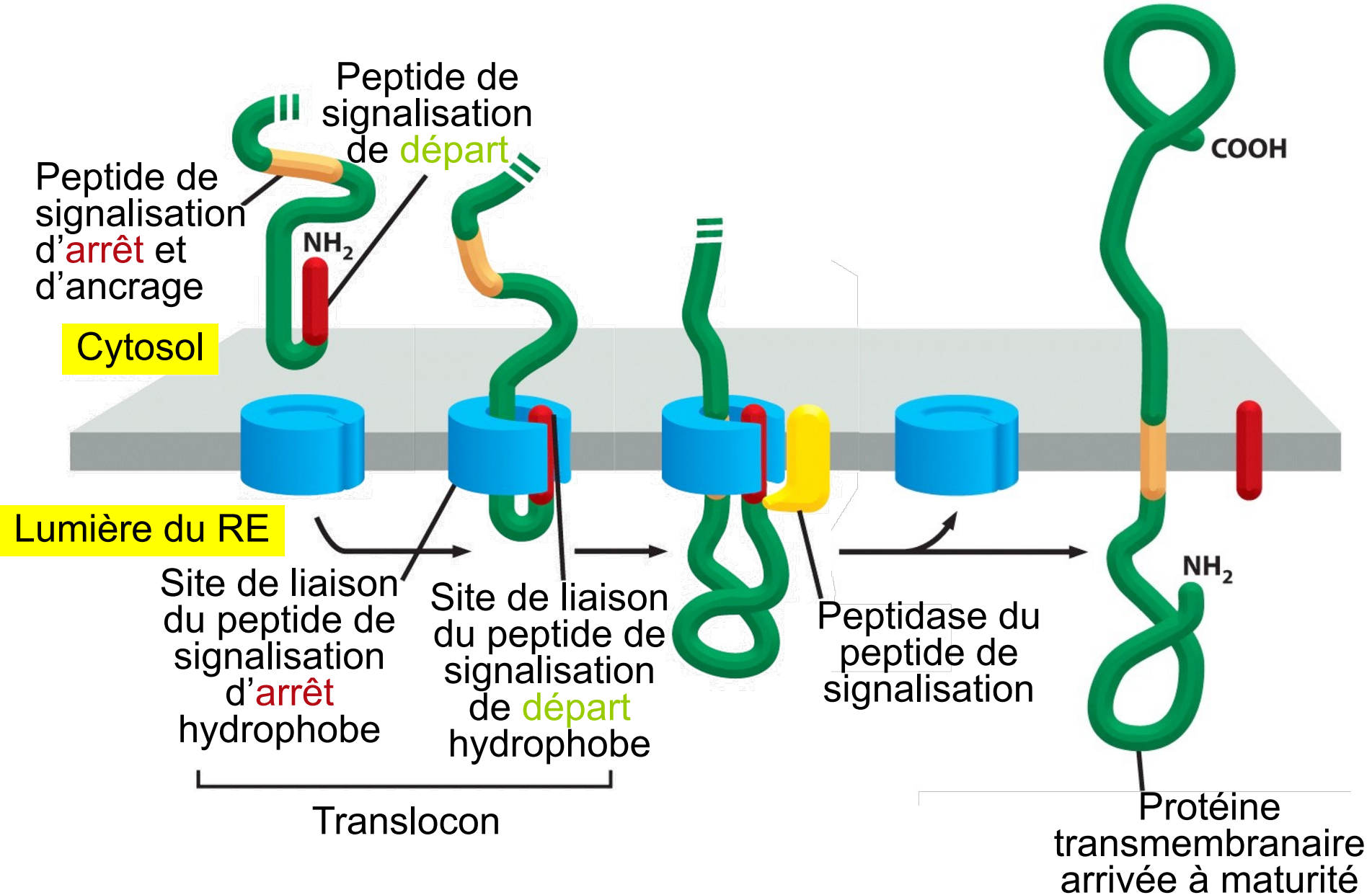
CYTOSOL

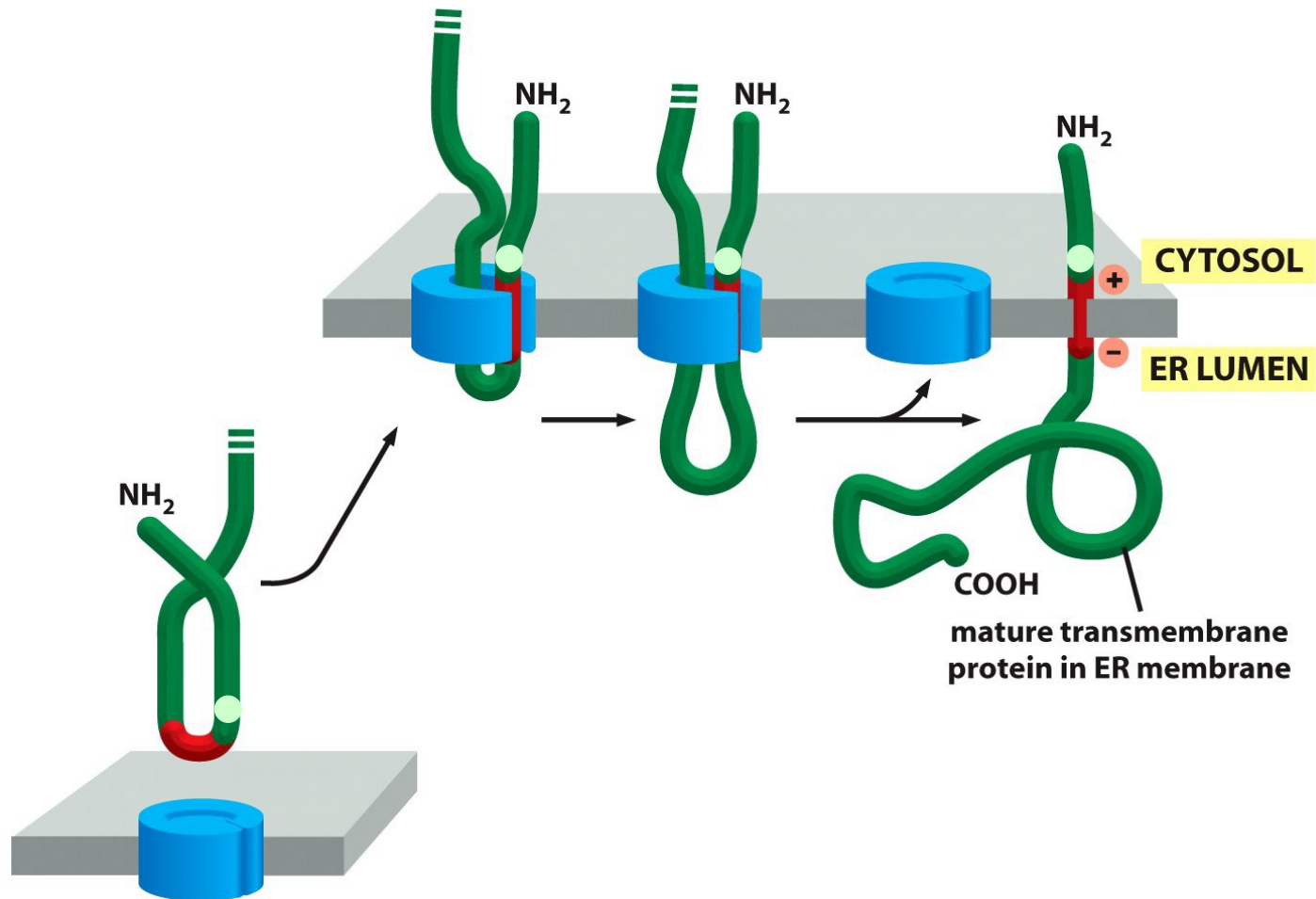


ESPACE EXOPLASMIQUE

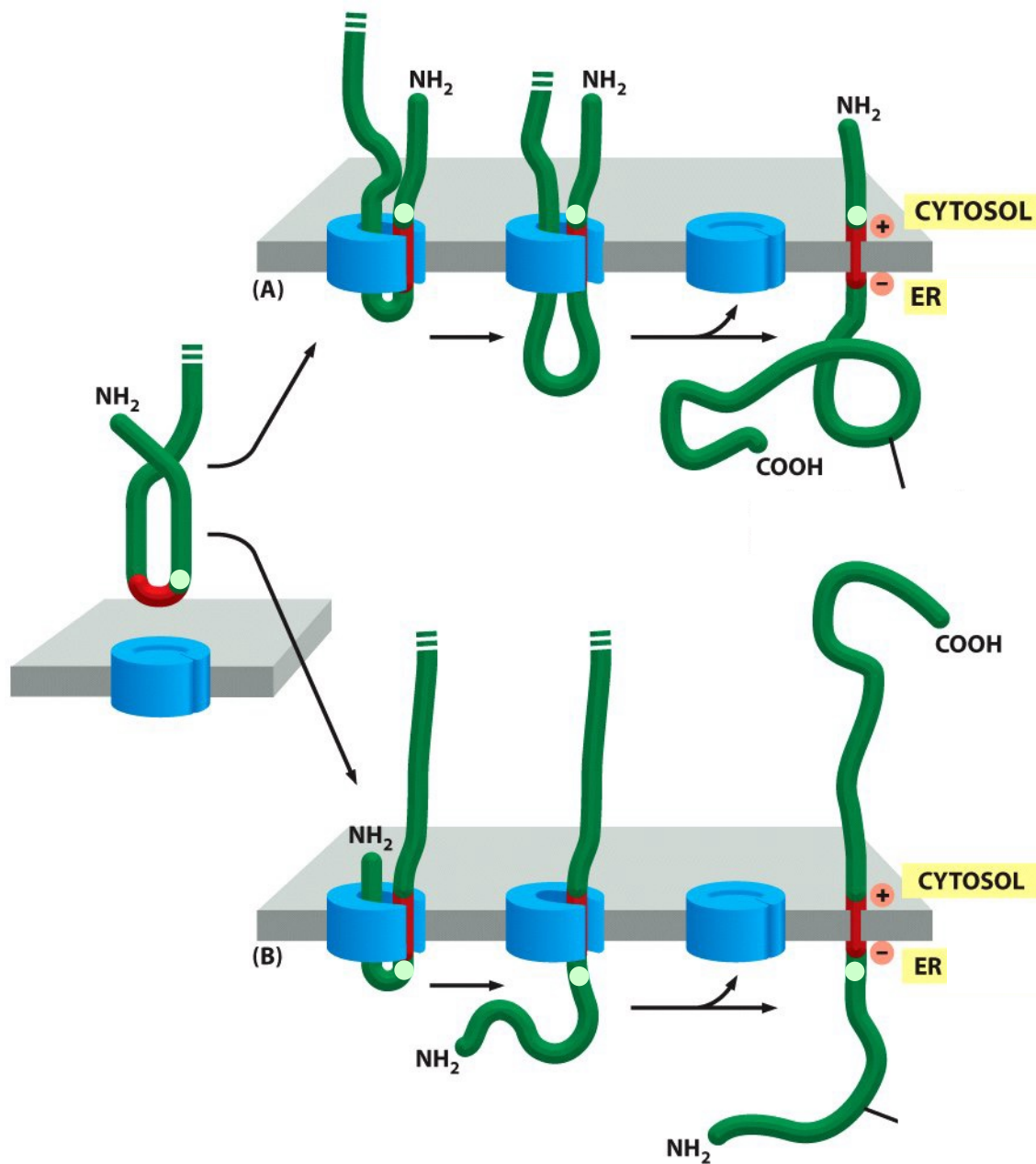
(lumière du RE ou de l'appareil de Golgi ;
extérieur de la cellule)

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

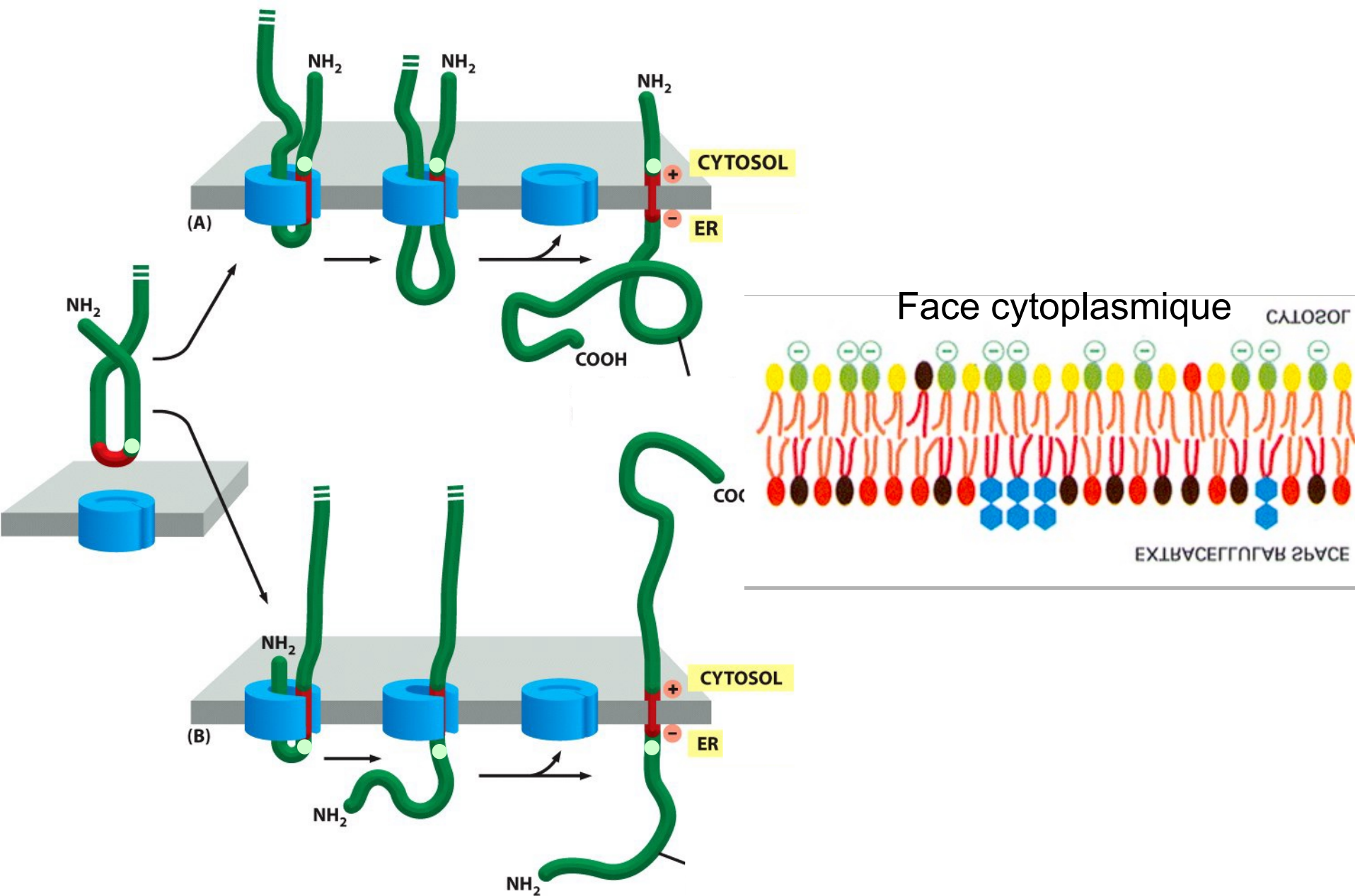




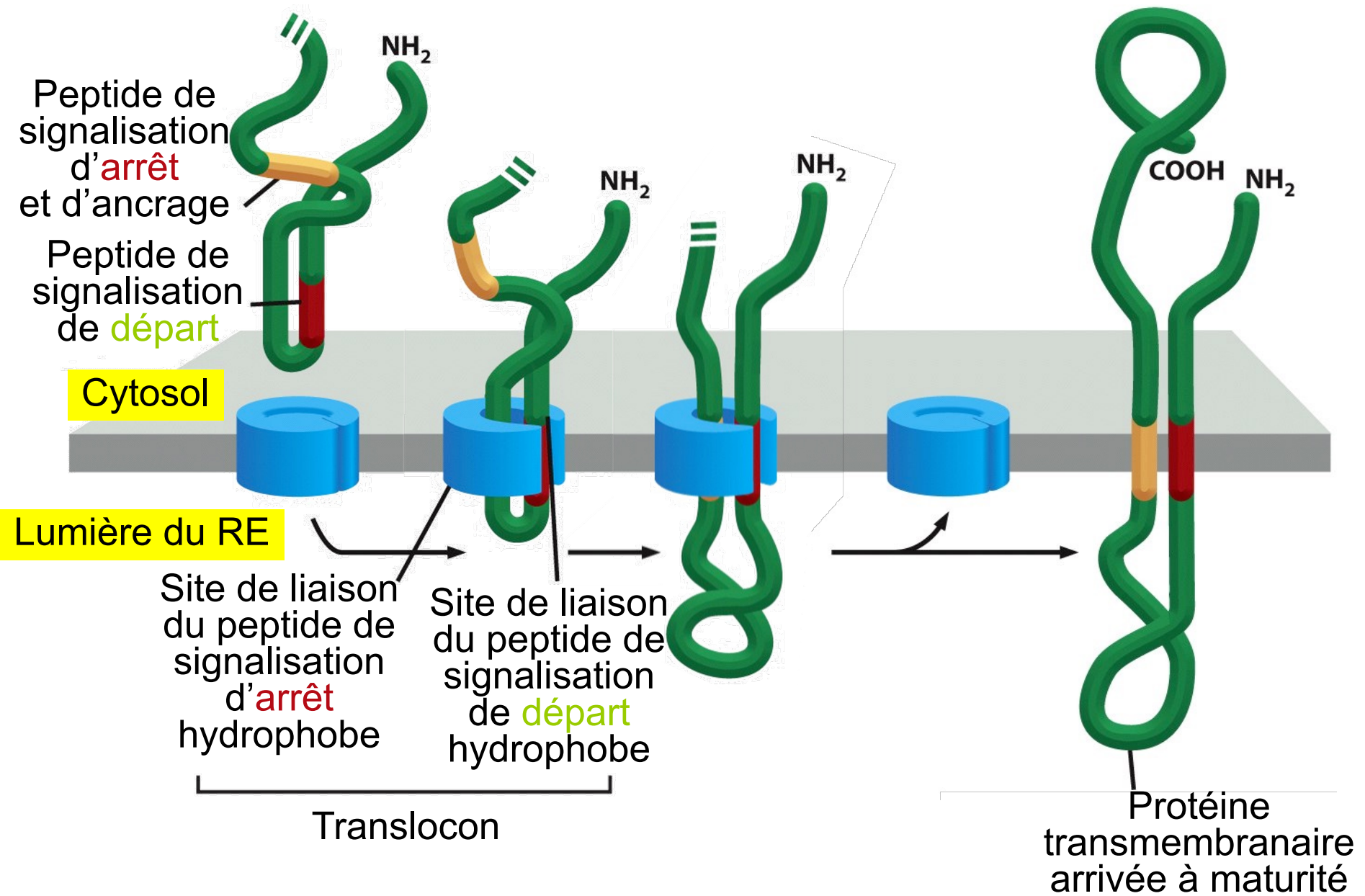
L'utilisation d'une séquence signal interne permet d'orienter l'extrémité N-terminale de la protéine vers le compartiment cytosolique



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

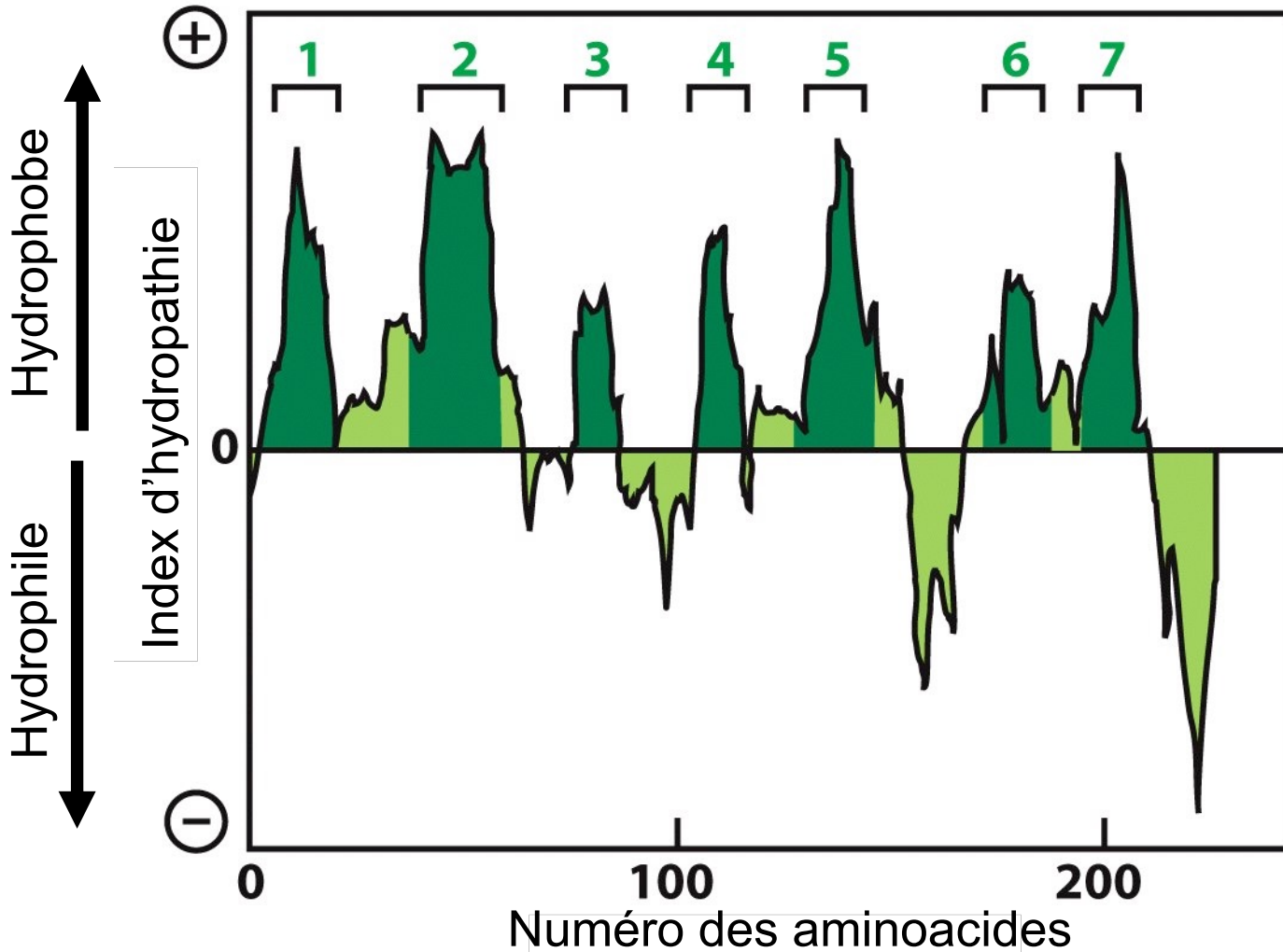


(la face cytoplasmique **de la membrane plasmique** porte un excès de charges négatives fournies par la phosphatidyl-sérine)

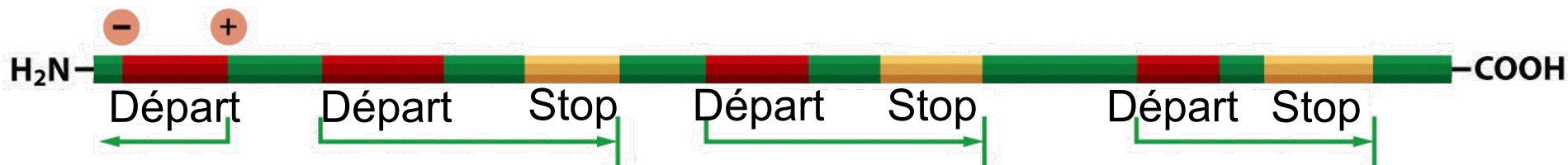
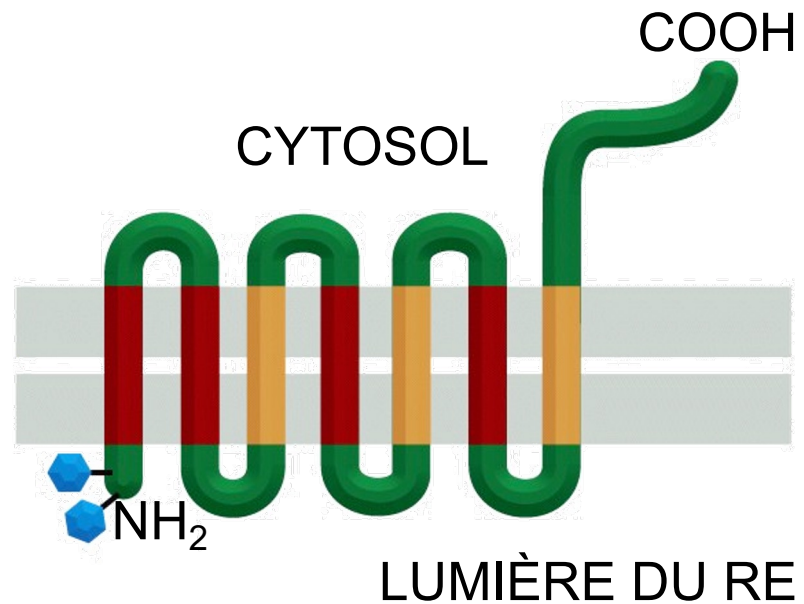
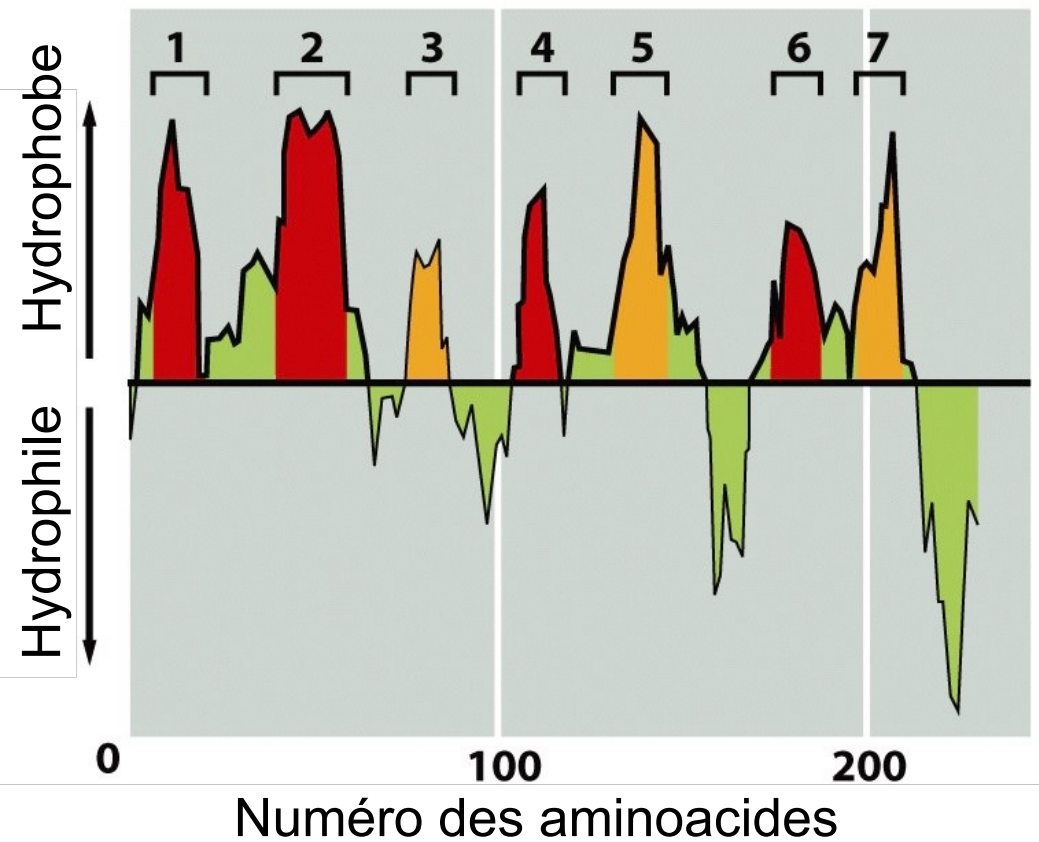


Protéine à deux passages transmembranaires avec le N- et le C-terminal dans le cytosol grâce à un peptide de signalisation de départ interne

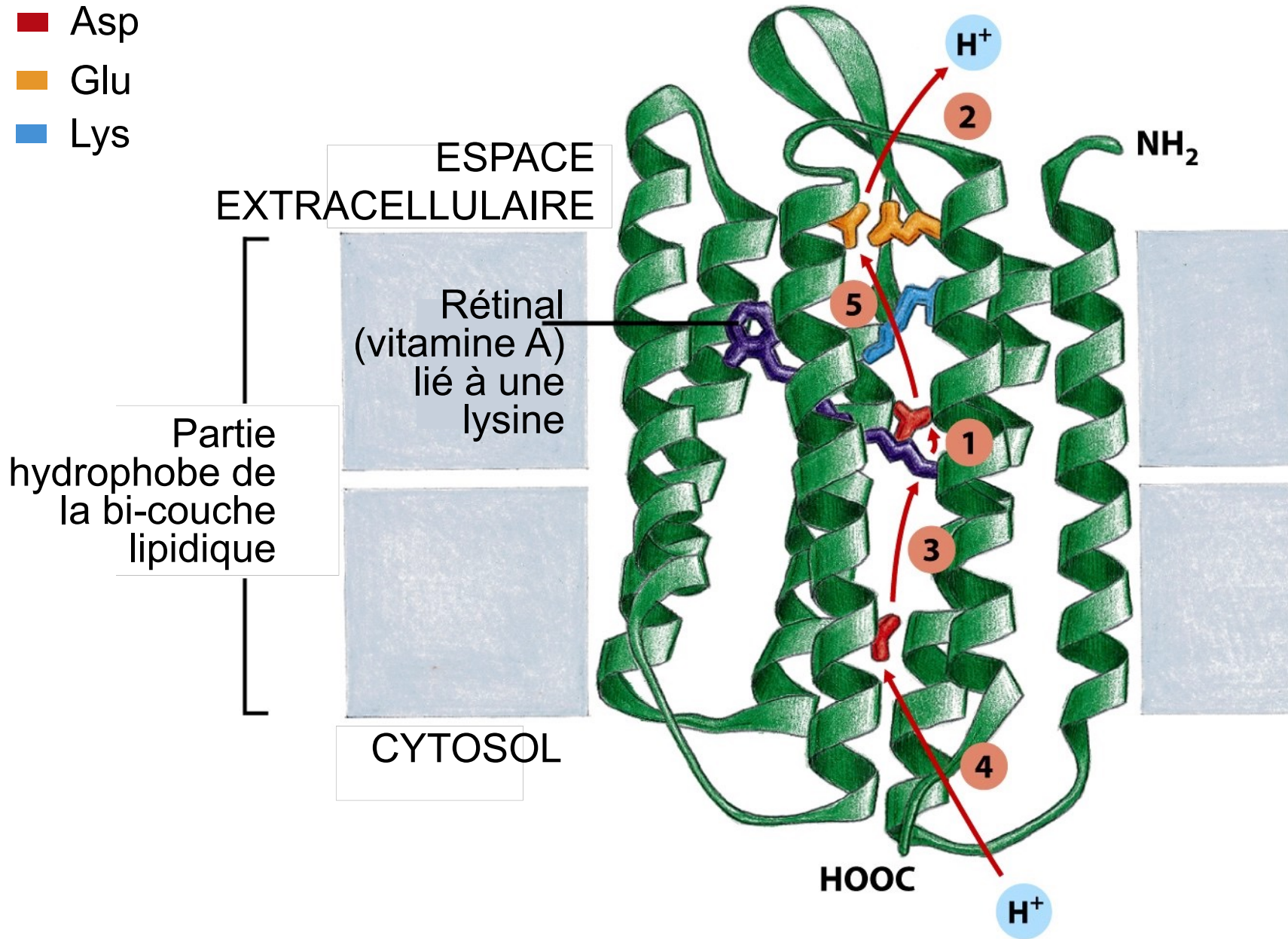
Bactériorhodopsine



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



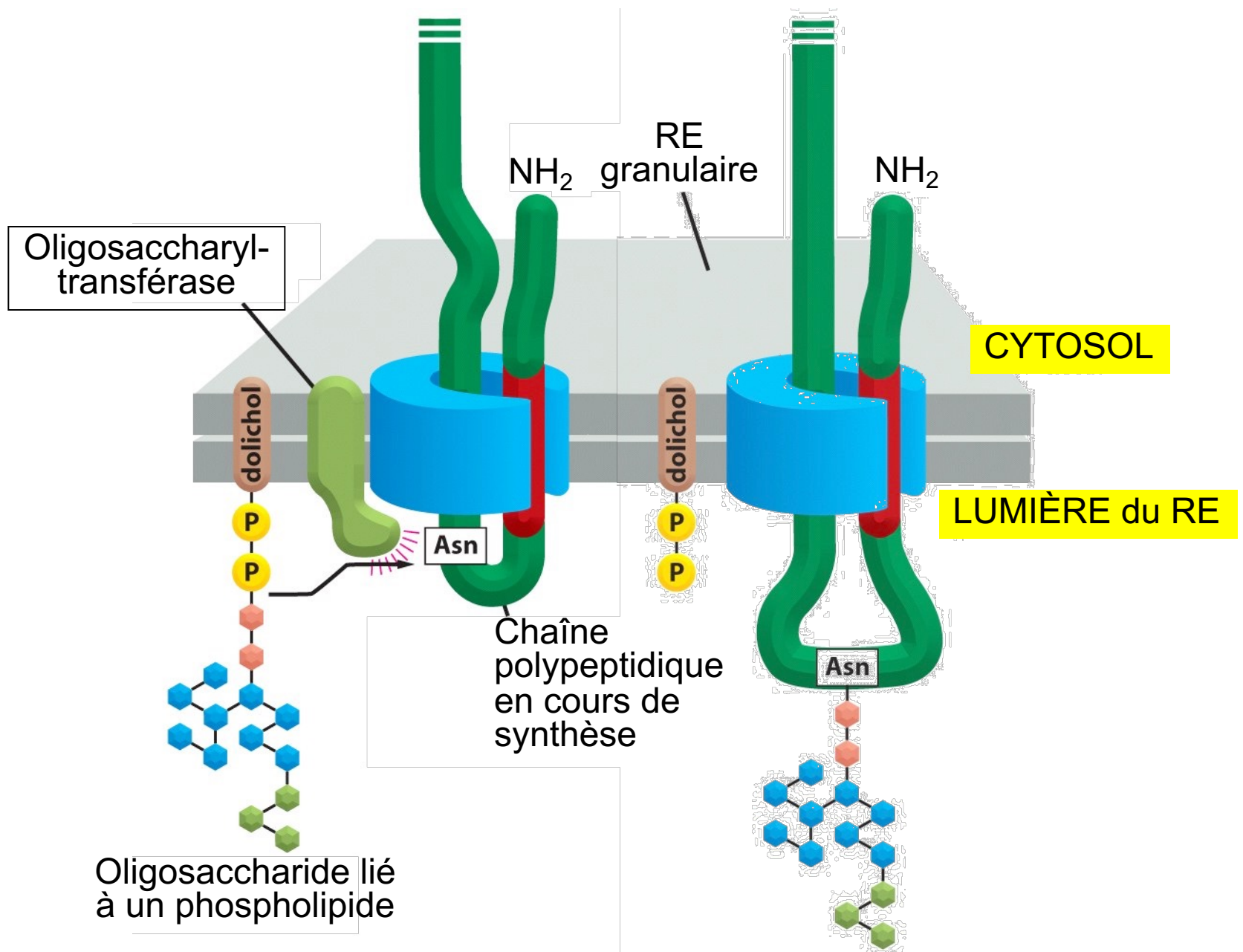
Structure tridimensionnelle de la molécule de bactériorhodopsine (pompe à protons de *Halobacterium salinarium* activée par la lumière)

Modifications des protéines dans la lumière du réticulum endoplasmique

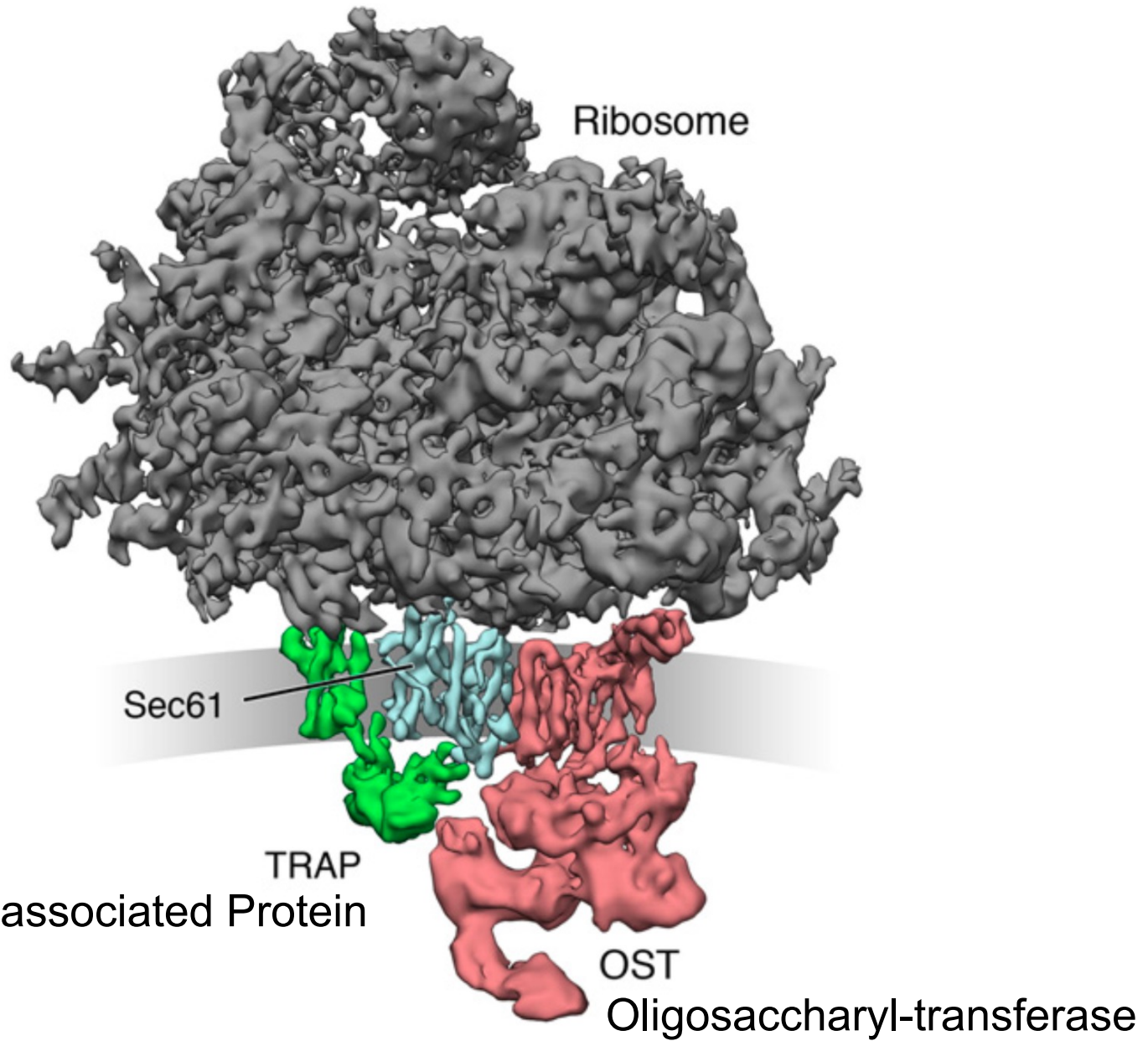
N-GLYCOSYLATION

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 NH_2 d'une Asn (si dans une séquence consensus -Asn-X-Ser ou -Asn-X-Thr)



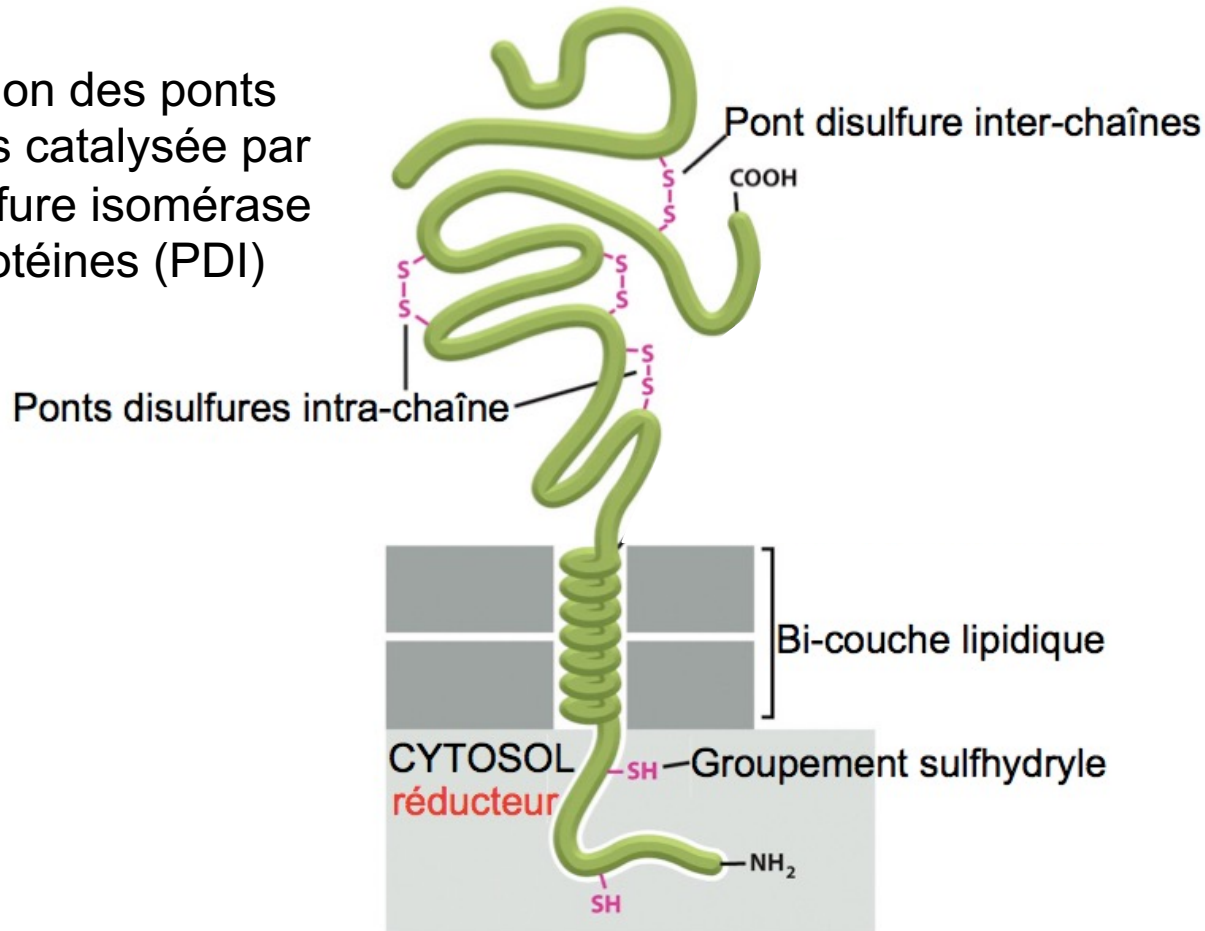
N-glycosylation co-translationnelle



Organisation du complexe ribosome-translocon à la membrane du RE

Formation des ponts disulfures

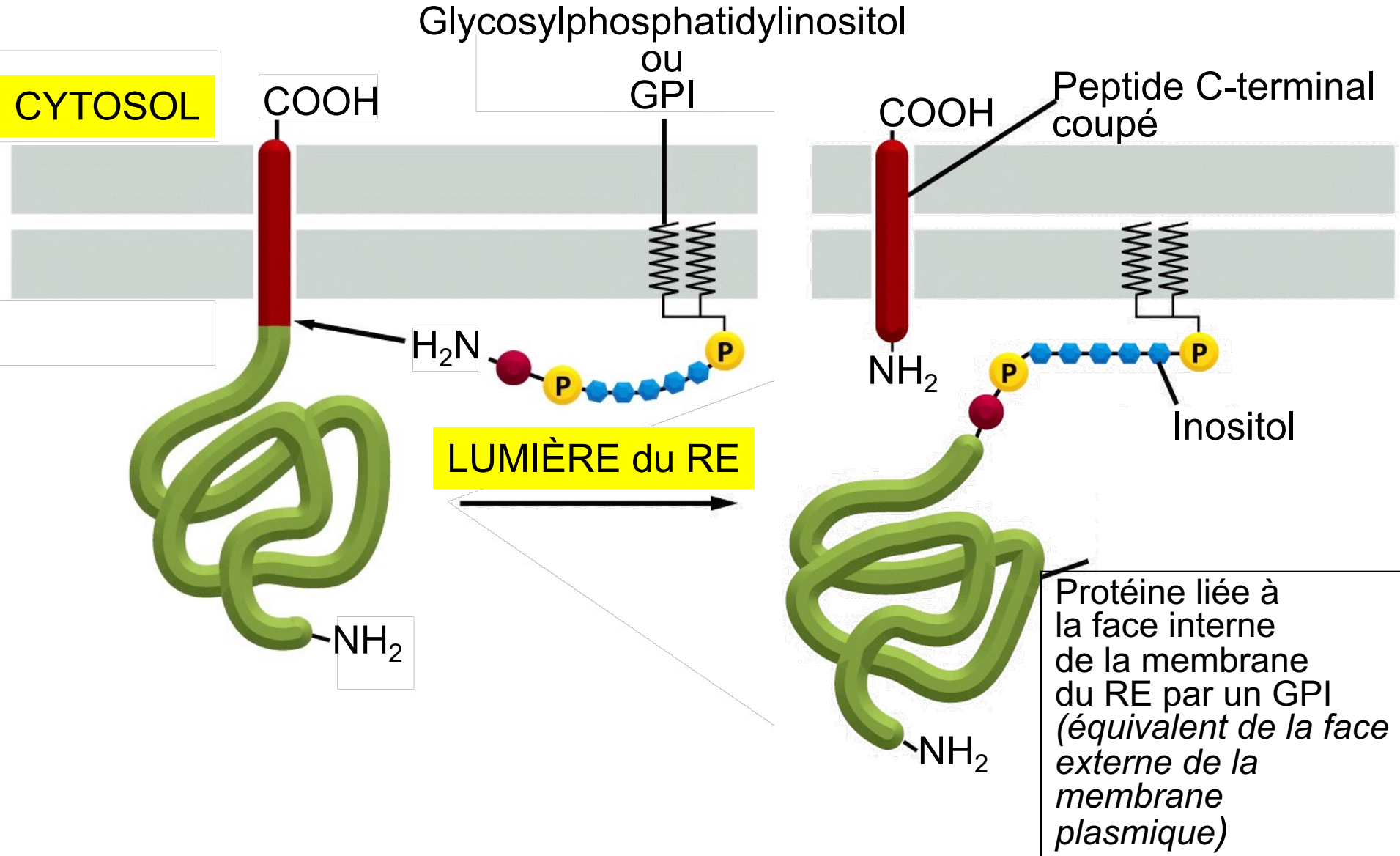
Formation des ponts disulfures catalysée par des disulfure isomérase des protéines (PDI)



Le milieu cytosolique est REDUCTEUR

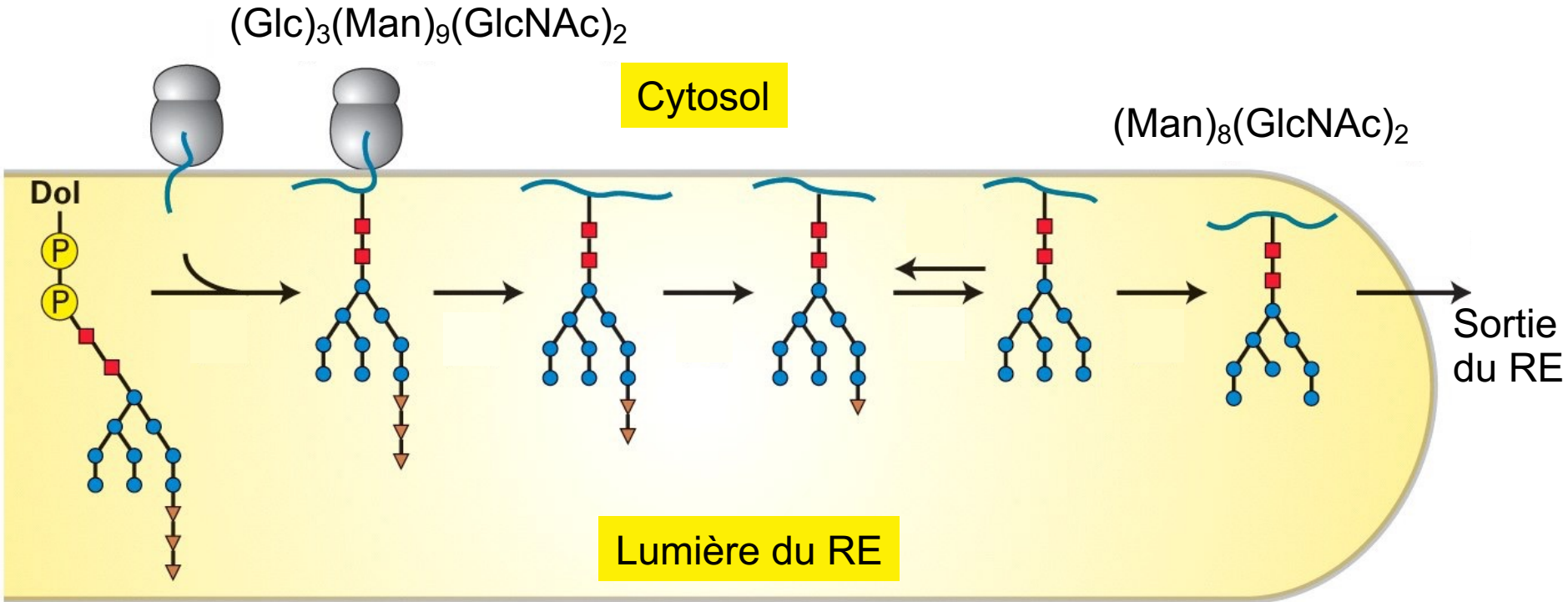
L'intérieur du RE et des compartiments de sécrétion est OXYDANT

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

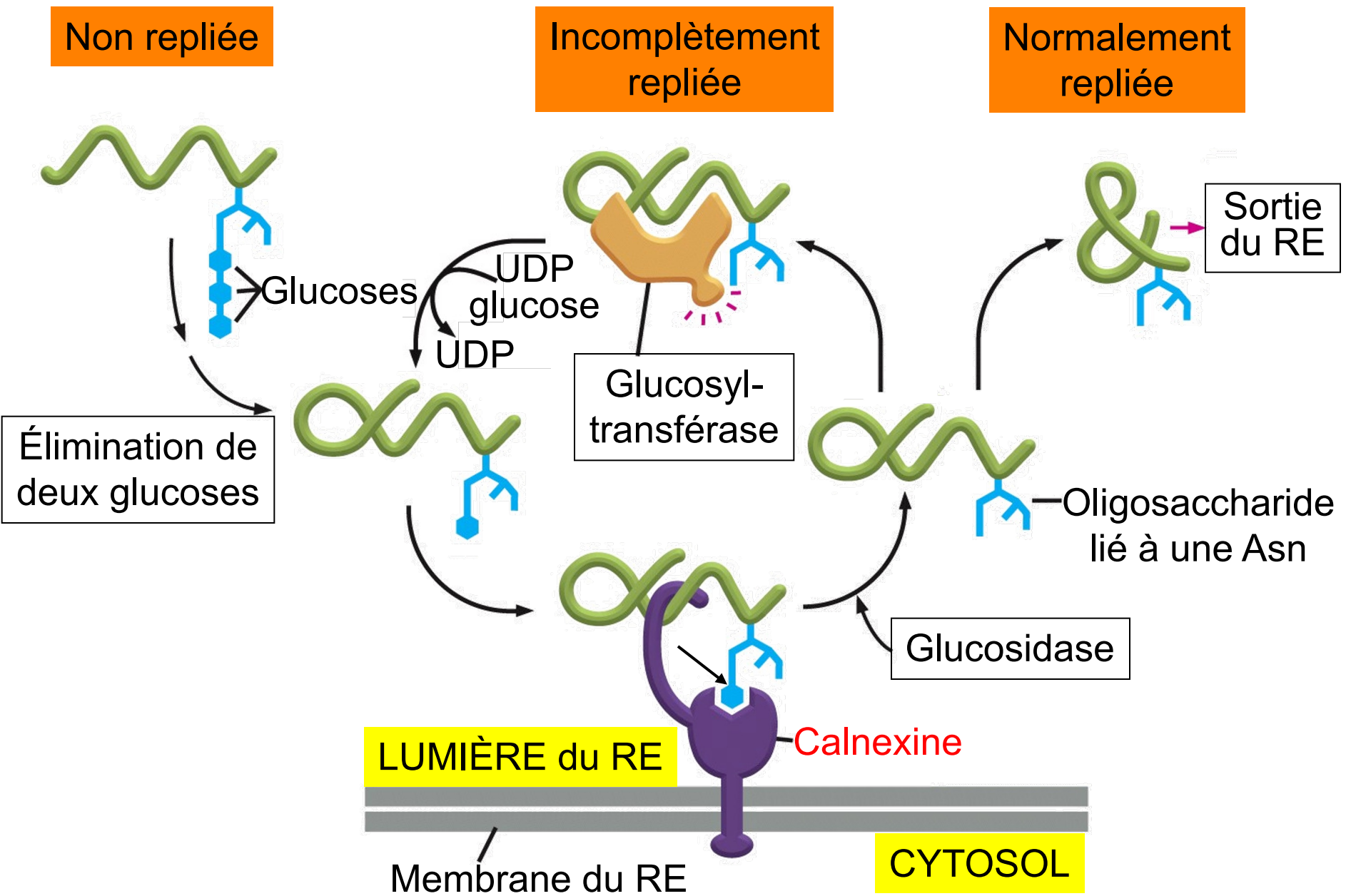


Dol = Dolichol

● = Mannose

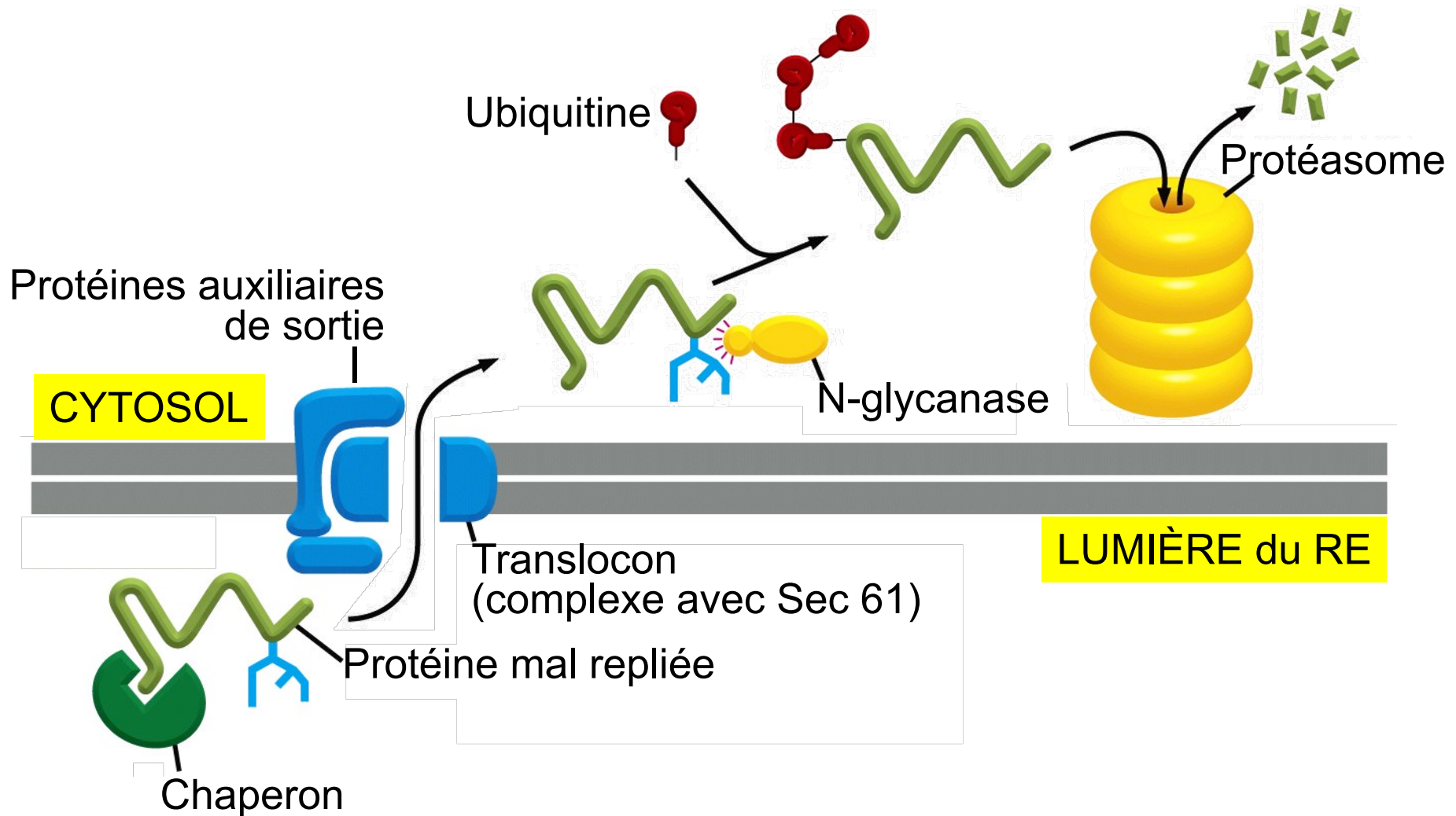
■ = N-Acetylglucosamine

▲ = Glucose



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 »

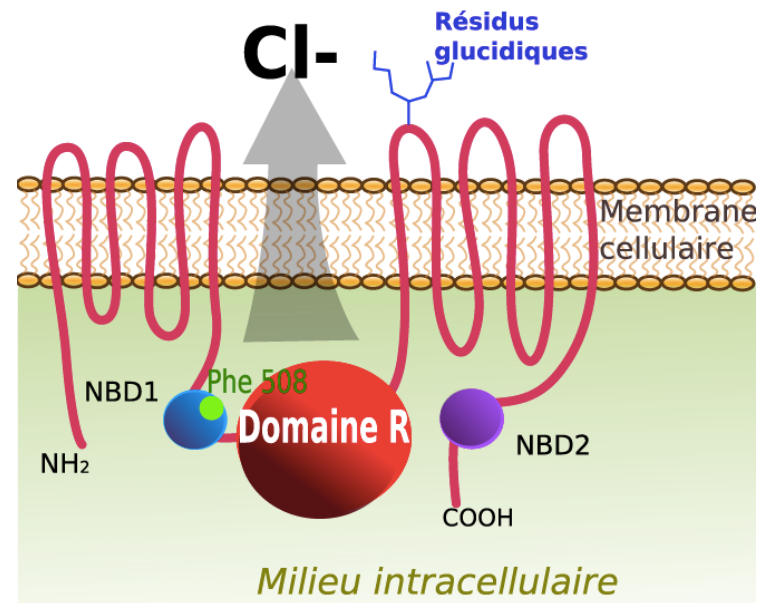
Maladie génétique autosomique récessive

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.

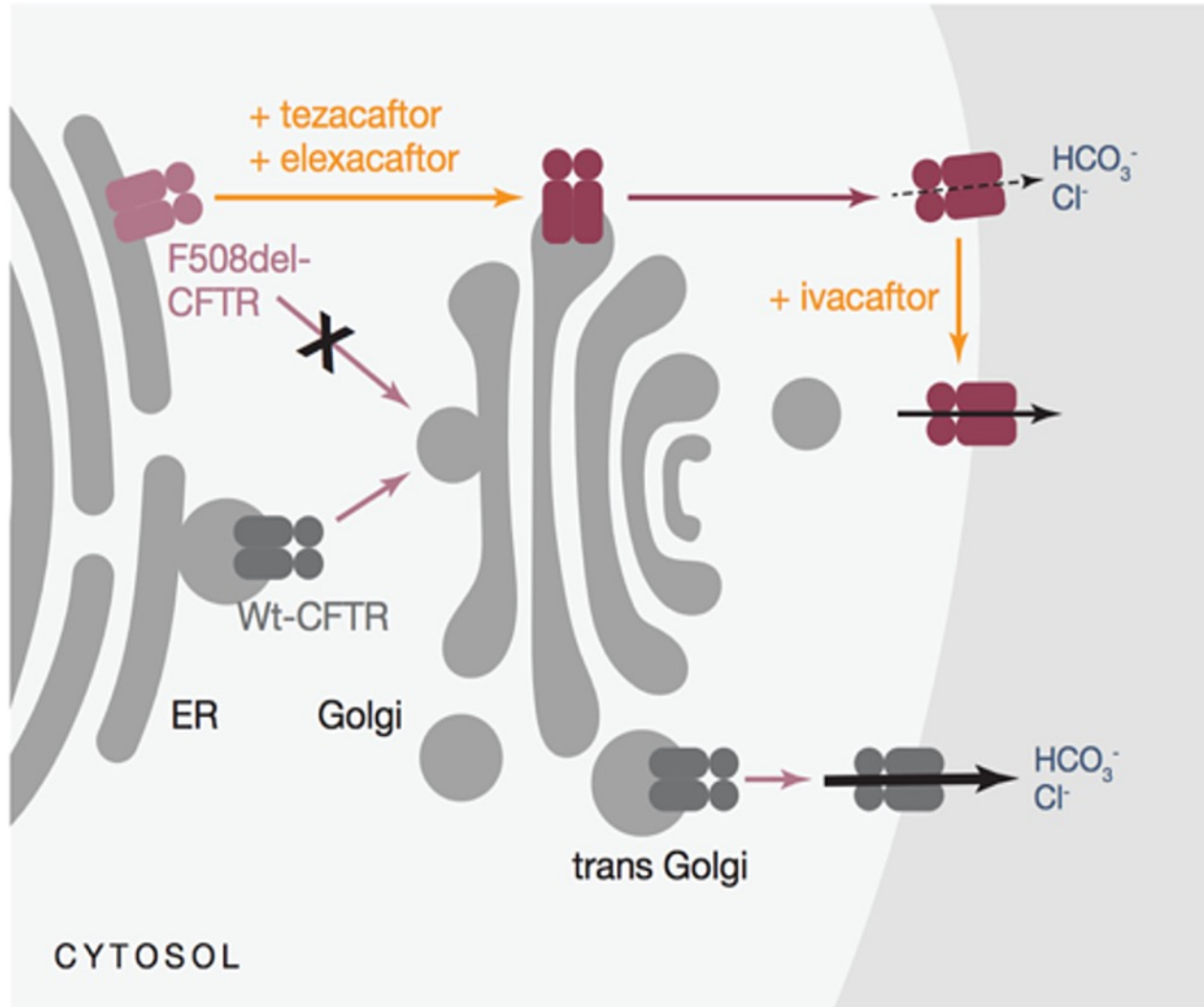
$\Delta F 508$ responsable de plus de 70% des cas.

Symptômes essentiellement pulmonaires et
digestifs.

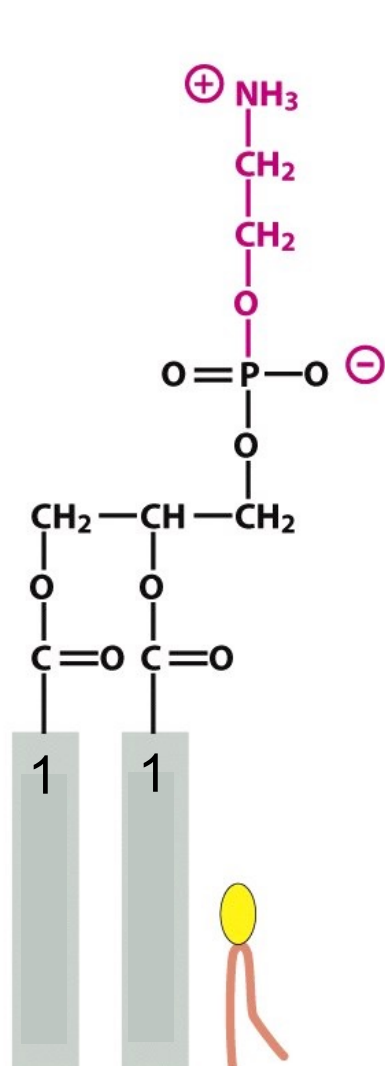


Mauvais repliement des protéines et ERAD

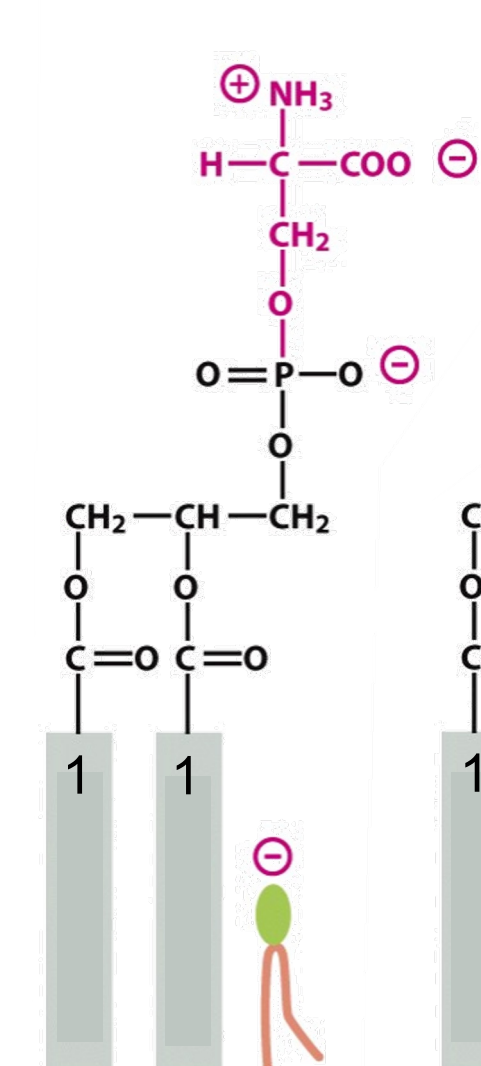
Nouveaux traitements de la mucoviscidose



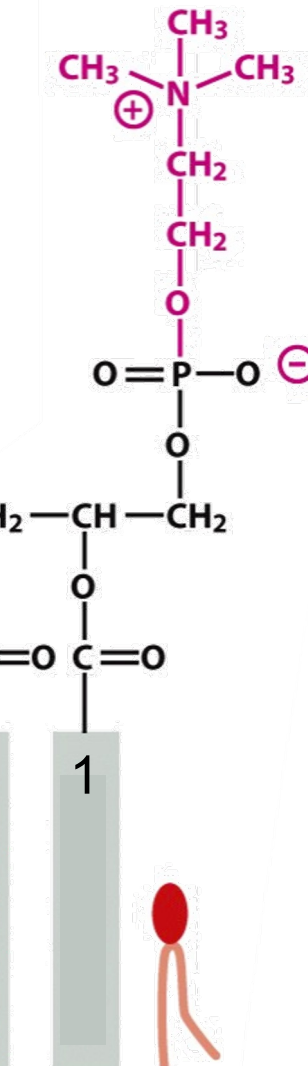
Synthèse des lipides membranaires au niveau du réticulum endoplasmique



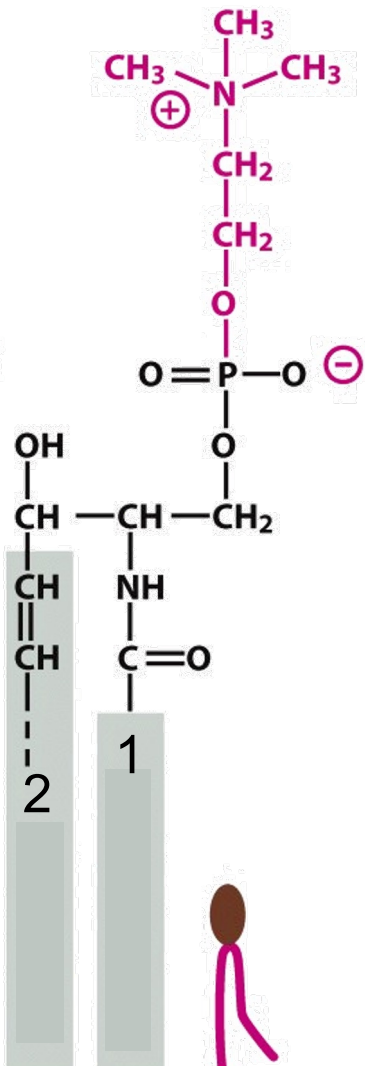
Phosphatidyl-éthanolamine



Phosphatidyl-sérine



Phosphatidyl-choline



Sphingomyéline

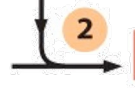
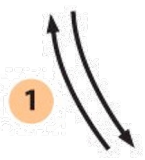
1-Queue de l'acide gras

2-Queue de la chaîne hydrocarbonée

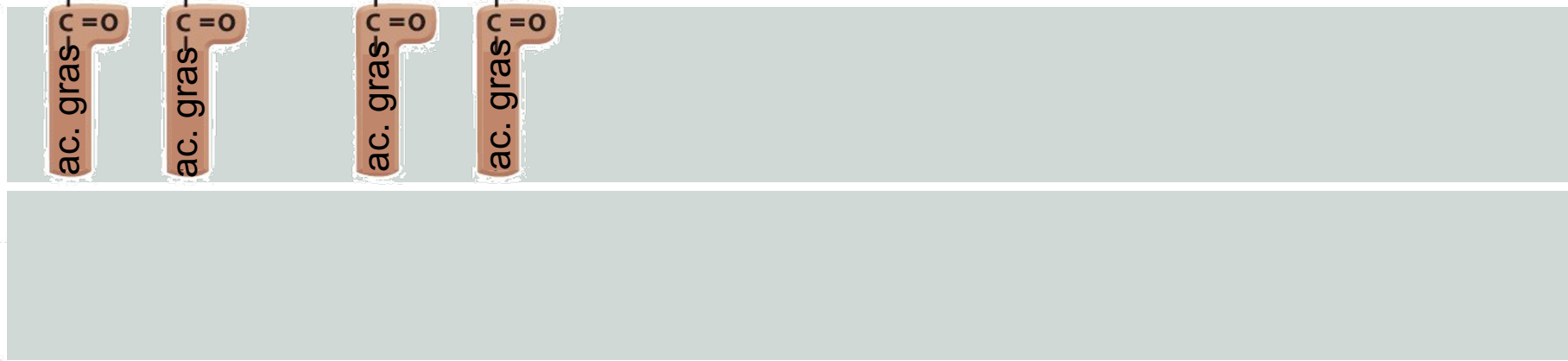
Quatre phospholipides majeurs de la membrane plasmique des cellules de mammifère



Protéine de liaison
des acides gras

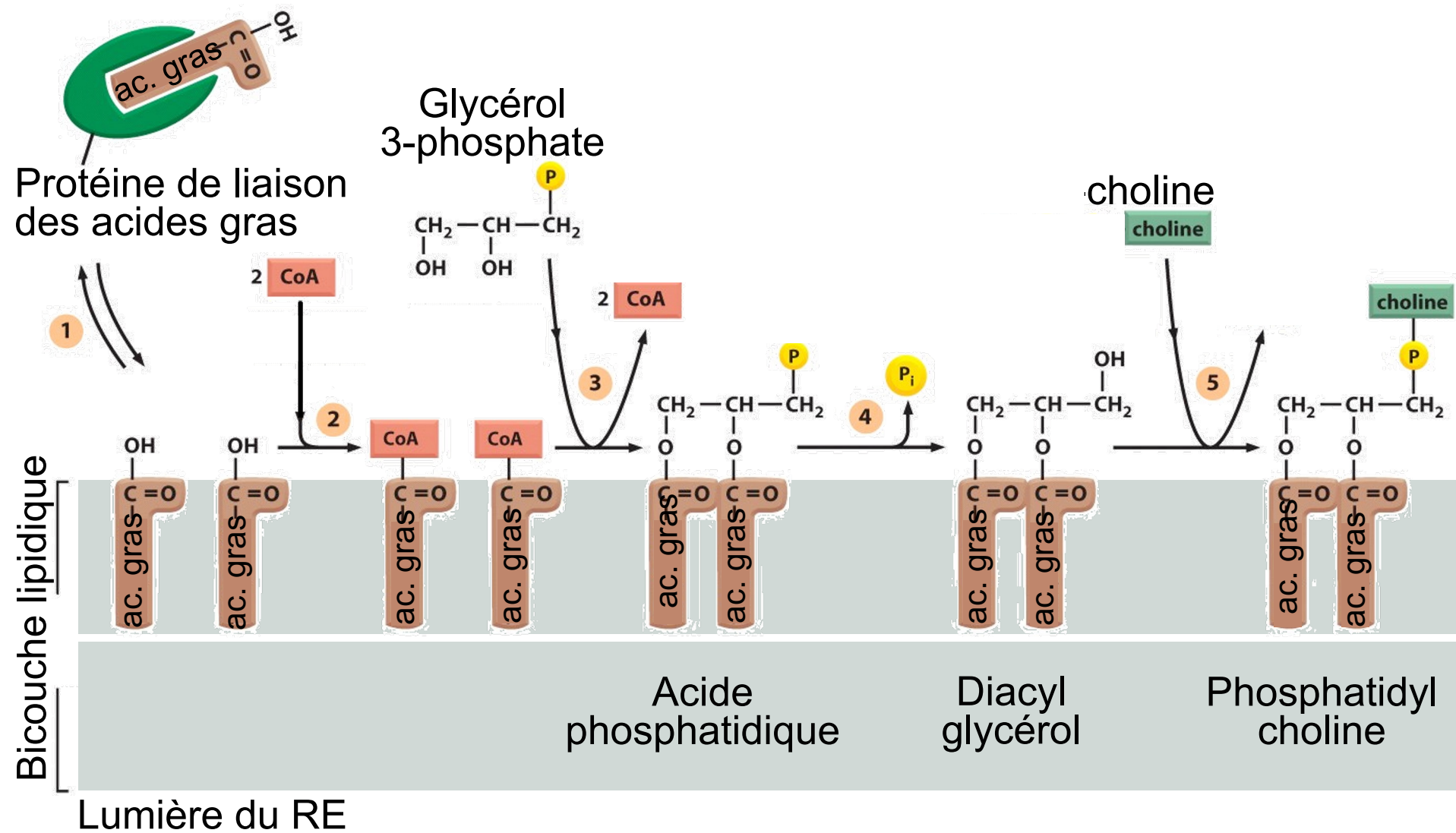


Bicouche lipidique

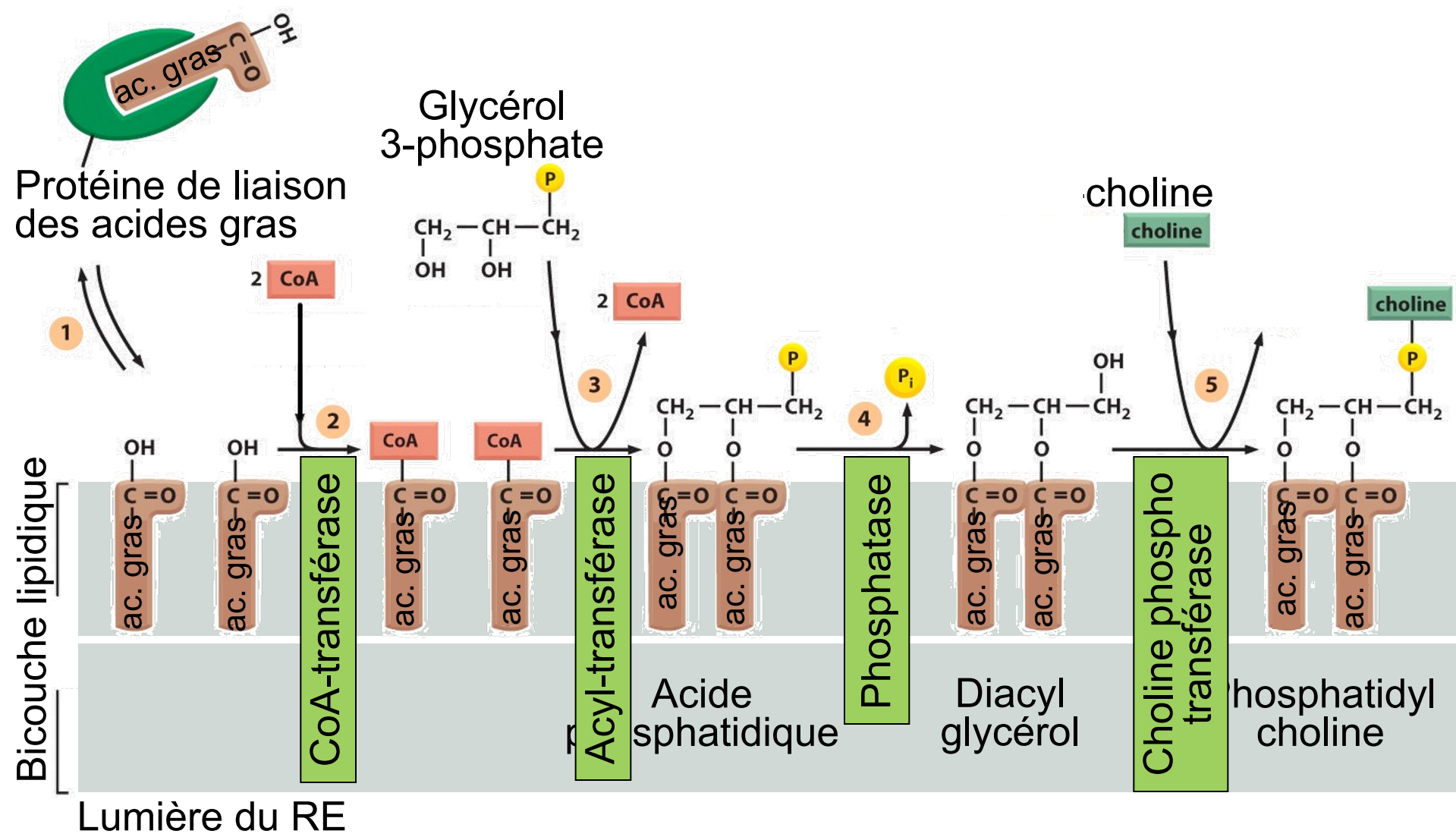


Lumière du RE

Synthèse de la phosphatidylcholine ou lécithine



Synthèse de la phosphatidylcholine ou lécithine

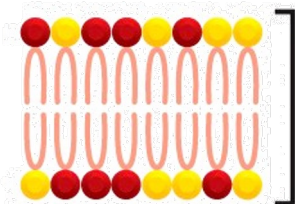
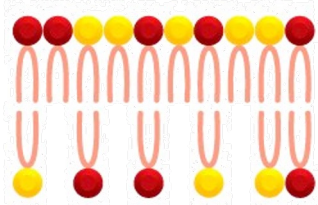


Synthèse de la phosphatidylcholine ou lécithine

CYTOSOL

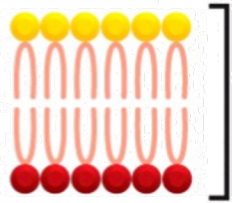


LUMIÈRE DU RE



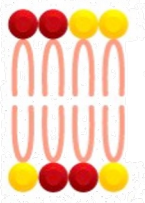
Translocation des phospholipides lors de la synthèse de la bi-couche lipidique de la membrane du RE

EXTÉRIEUR DE LA CELLULE

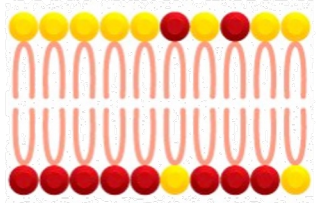


Lipides de la bi-couche asymétrique de la membrane plasmique

CYTOSOL

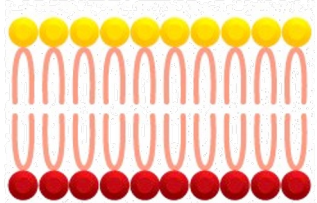


ADDITION DE NOUVELLE MEMBRANE PAR EXOCYTOSE



CATALYSE DU BASCULEMENT DE PHOSPHOLIPIDES SPÉCIFIQUES PAR UNE ENZYME SPÉCIFIQUE

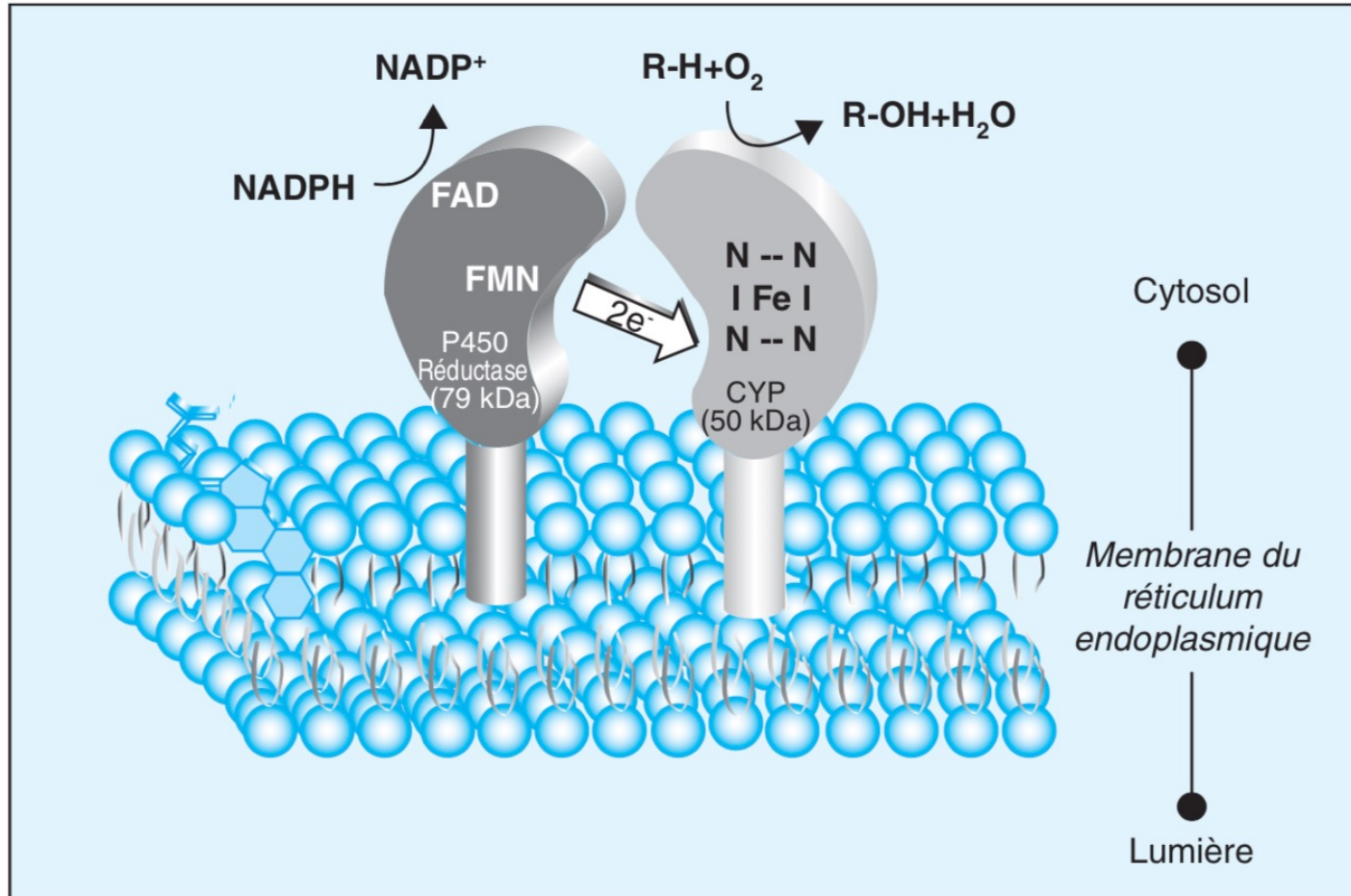
« flippase »



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

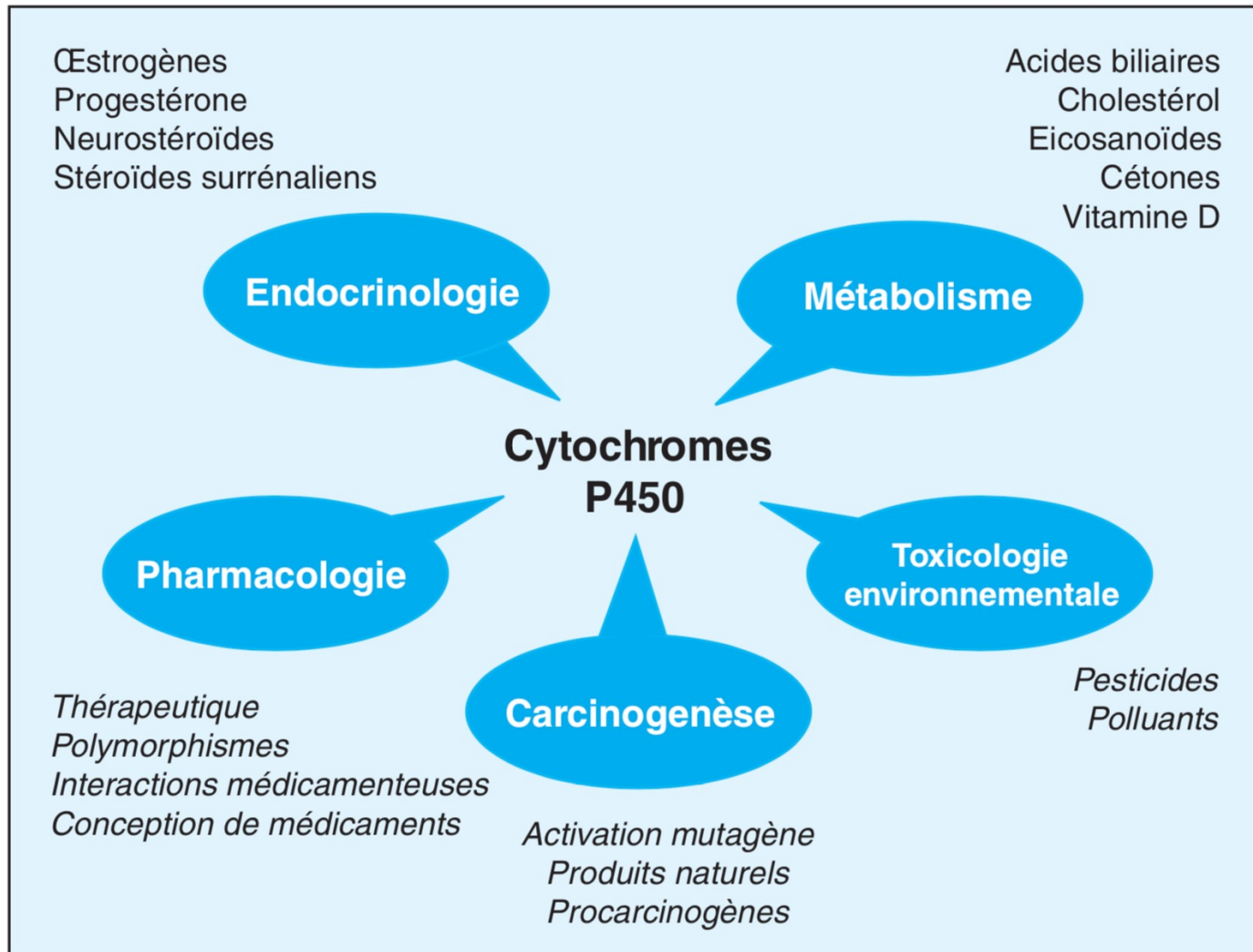
Des fonctions multiples et essentielles des cytochromes P450

- 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