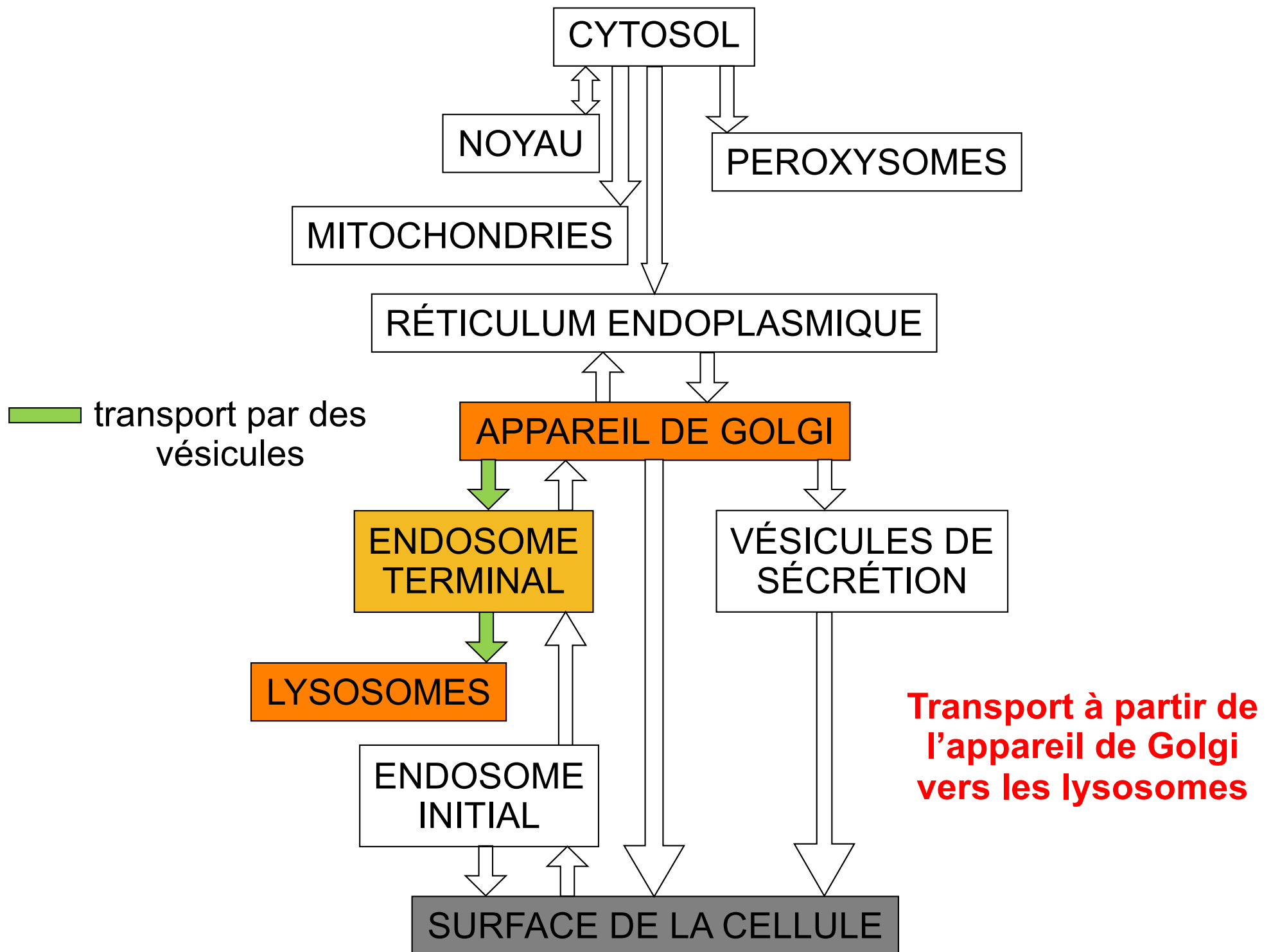


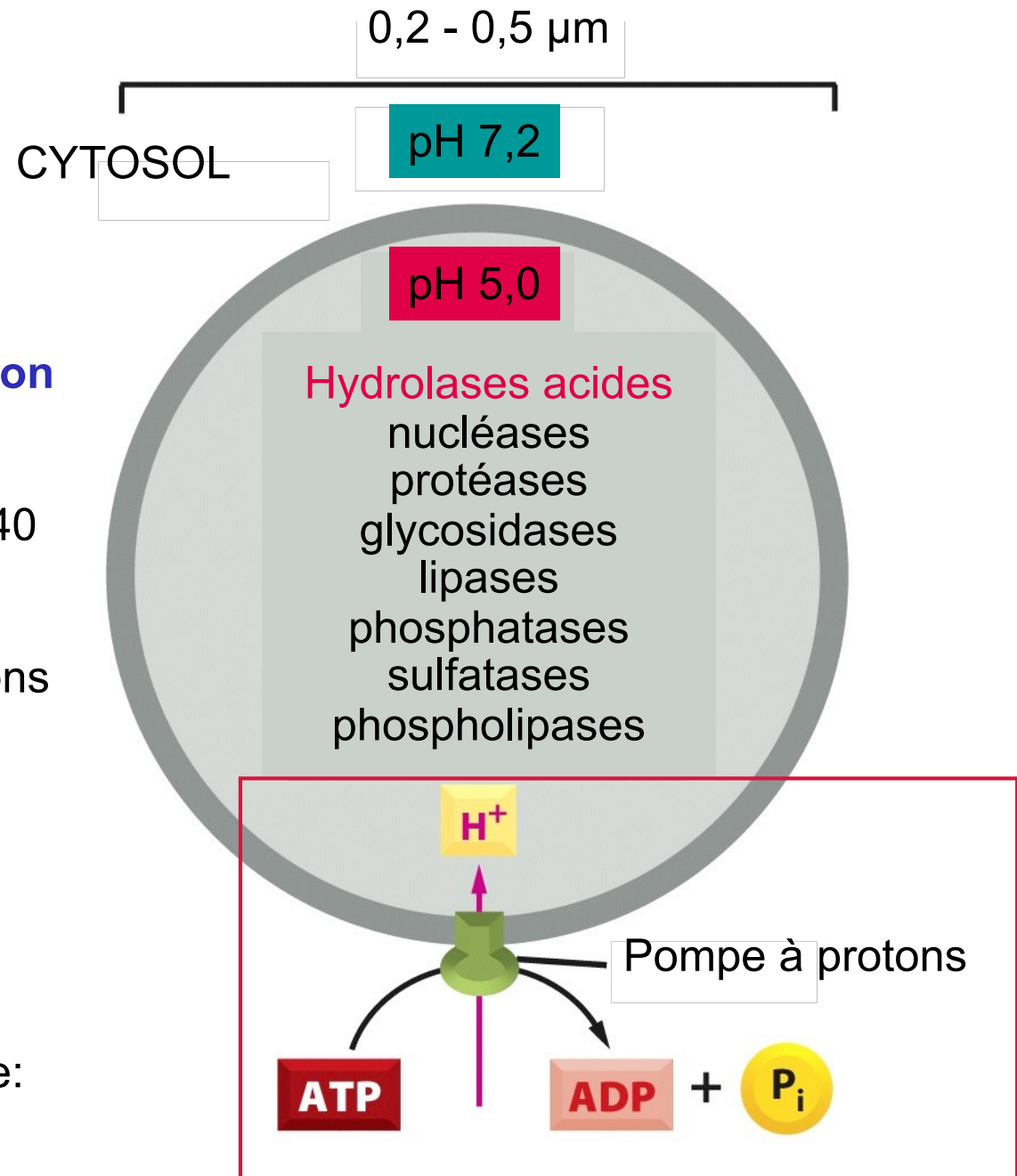
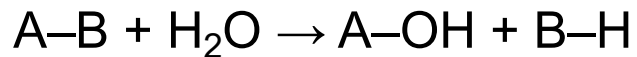


Lysosomes :

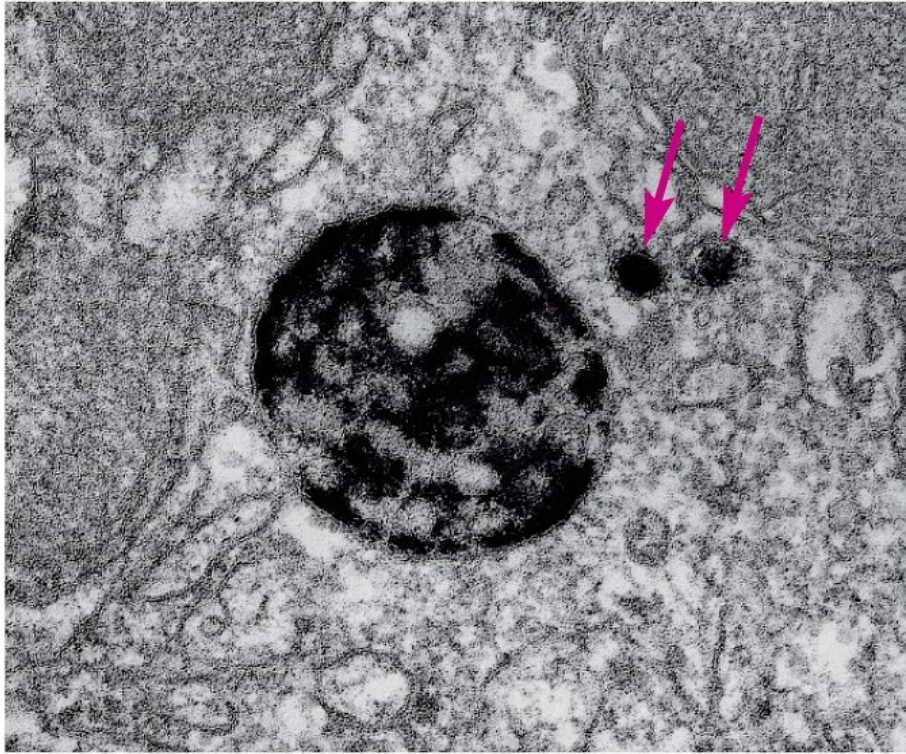
- **principaux sites de digestion intracellulaire**
- contenant des hydrolases actives à pH acide (plus de 40 sortes)
- lumière à pH 5 : membrane contient des pompes à protons de type V

Hydrolyse:

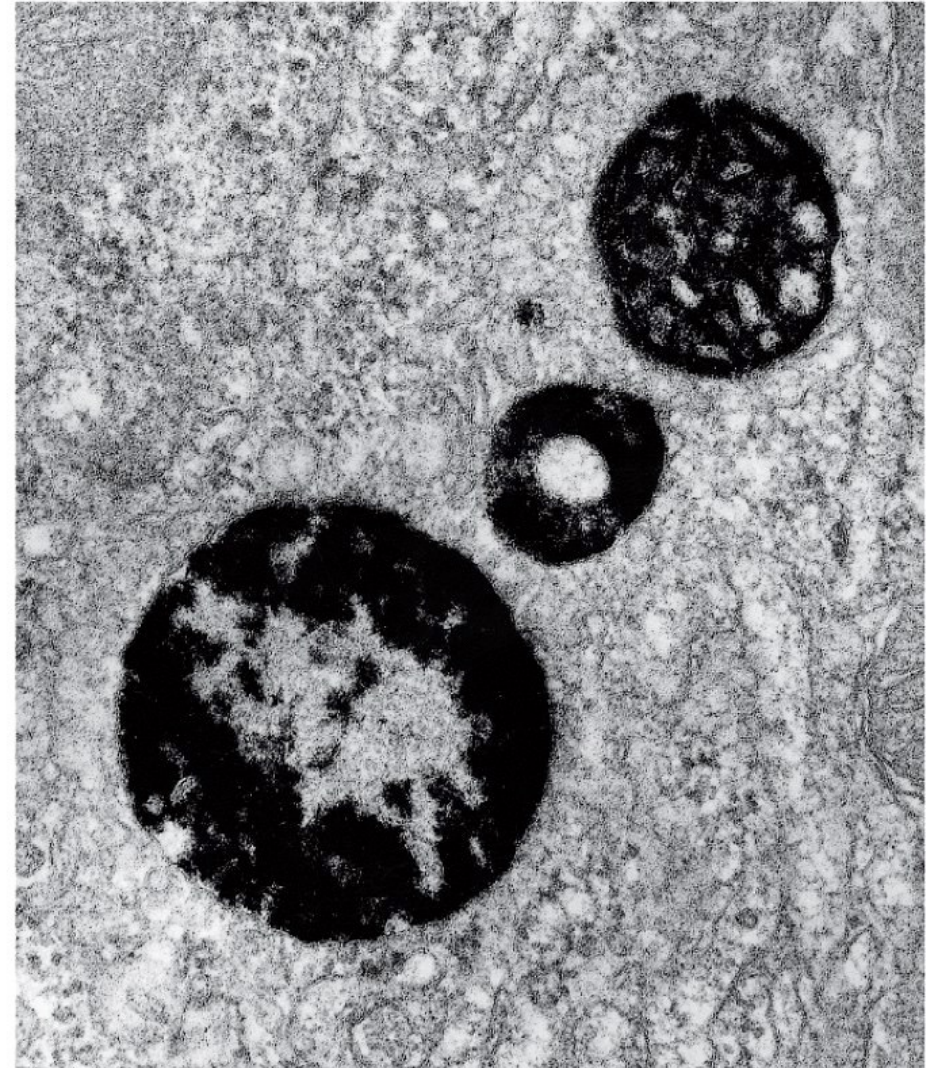
Réaction utilisant l'eau pour dissocier une liaison chimique:



Vésicules de transport



Grande hétérogénéité
de taille et de forme

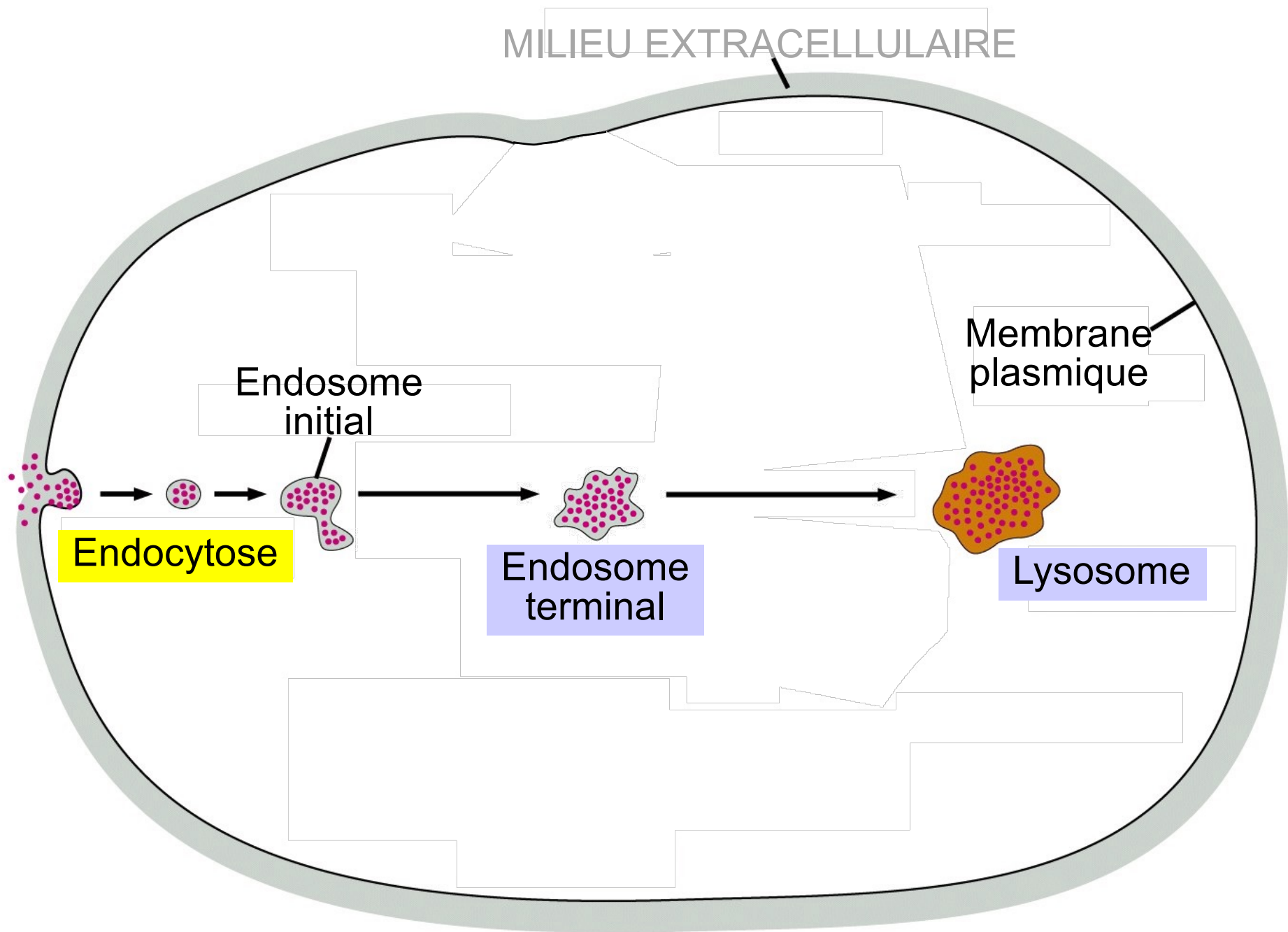


200 nm

Visualisation des lysosomes par méthode histochimique (ME) : révélation de l'activité de la phosphatase acide qui précipite le phosphate de plomb

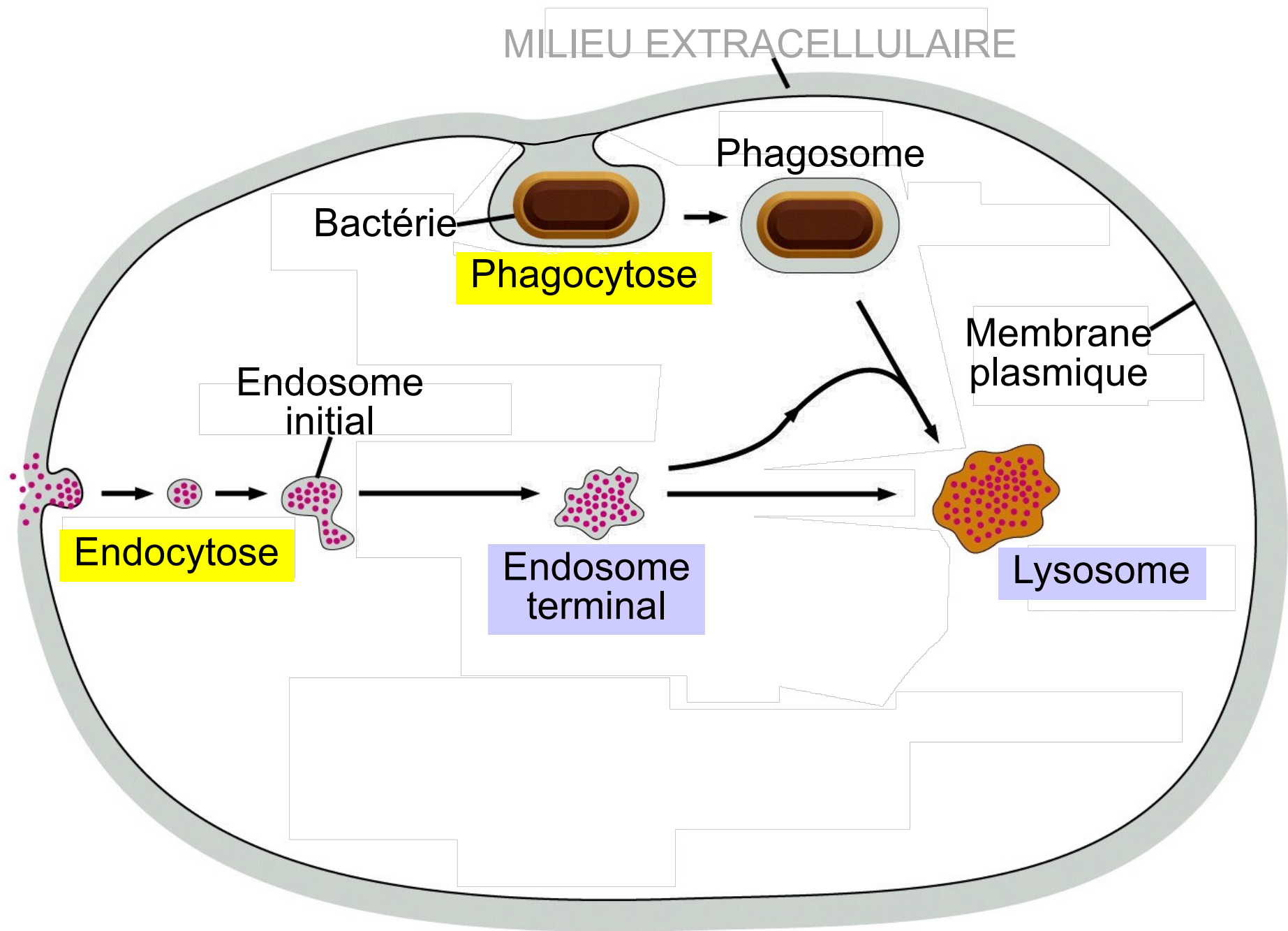
Trois voies de capture du matériel digéré par les lysosomes

- **Endocytose**
- **Phagocytose**
- **Autophagie**



Capture par endocytose du matériel digéré ensuite par les lysosomes

Phagocytose : Processus par lequel du matériel sous forme de particules subit une endocytose par une cellule. La phagocytose est la caractéristique première des cellules carnivores comme *Amoeba proteus* et des cellules macrophages et neutrophiles des vertébrés.



**Phagocytose et digestion dans les lysosomes
(par les macrophages et les cellules neutrophiles)**

L'autophagie est un mécanisme cellulaire régulé qui consiste en la dégradation partielle du cytoplasme de la cellule en utilisant ses propres lysosomes.

L'autophagie intervient dans des processus multiples:

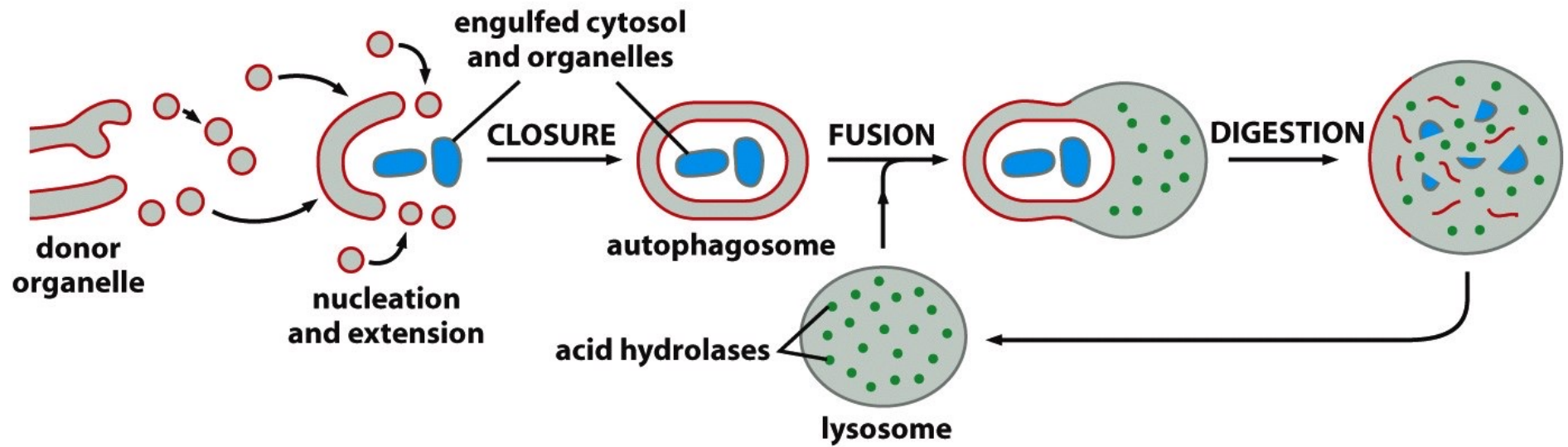
- la réparation d'éléments cellulaires
- nutrition de la cellule en cas de jeûne
- réponse immunitaire (élimination de micro-organismes,...)
- mort cellulaire
- maladies dégénératives
- ...

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2016

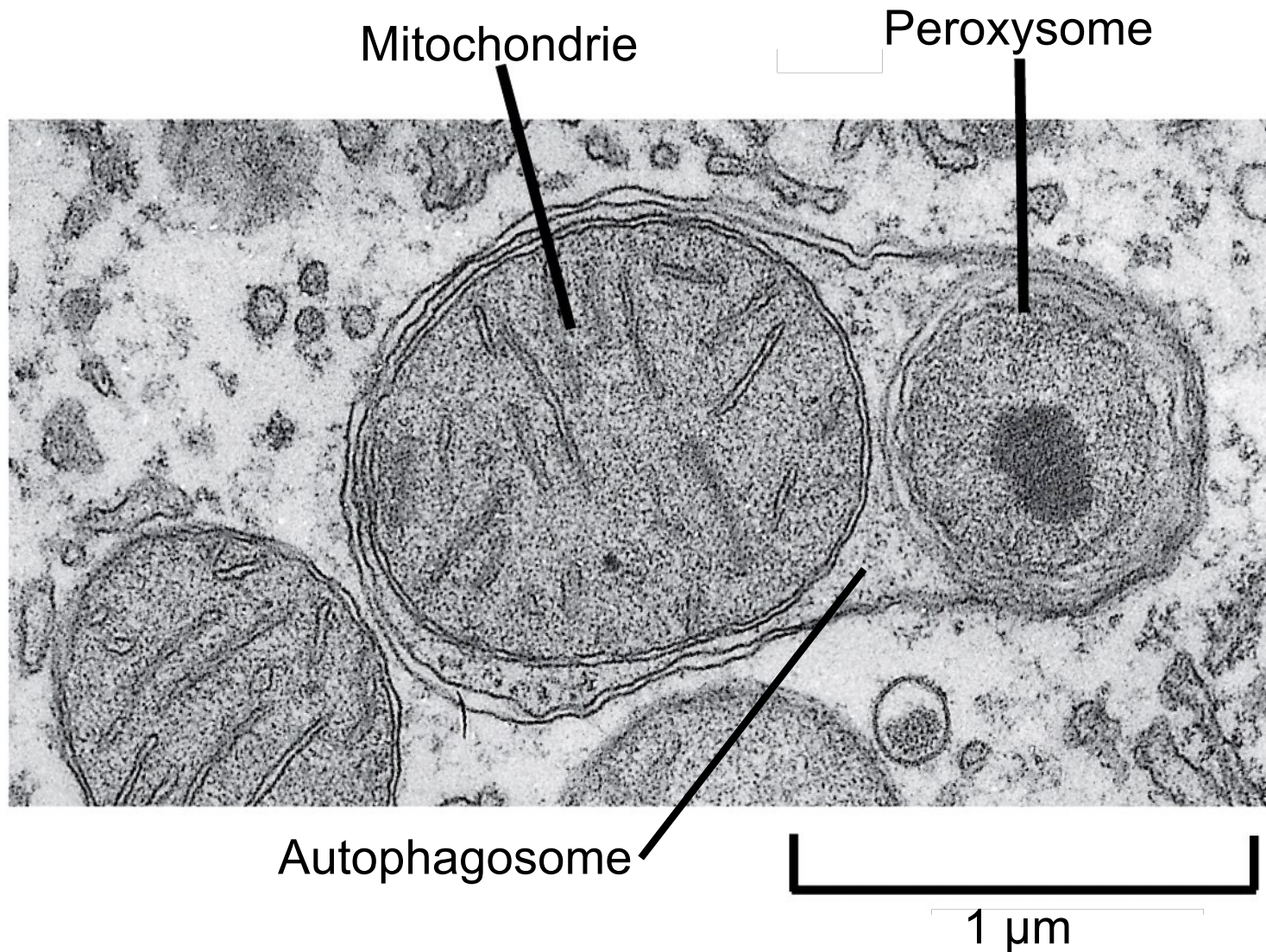


Photo: Mari Honda
Yoshinori Ohsumi
Prize share: 1/1

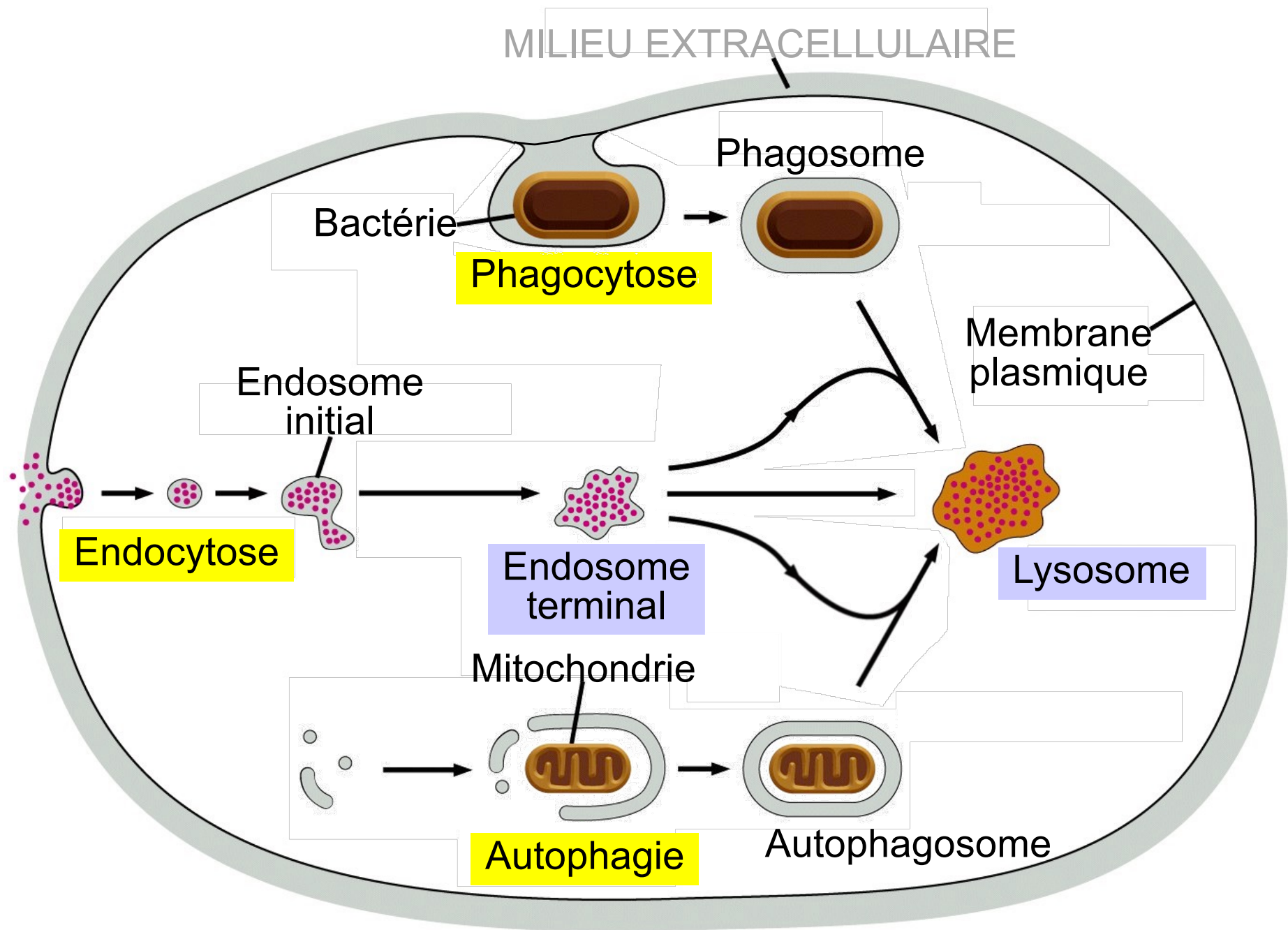
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2016 was awarded to Yoshinori Ohsumi *"for his discoveries of mechanisms for autophagy"*.



**Formation d'un autophagosome par autophagie
et digestion par les lysosomes**



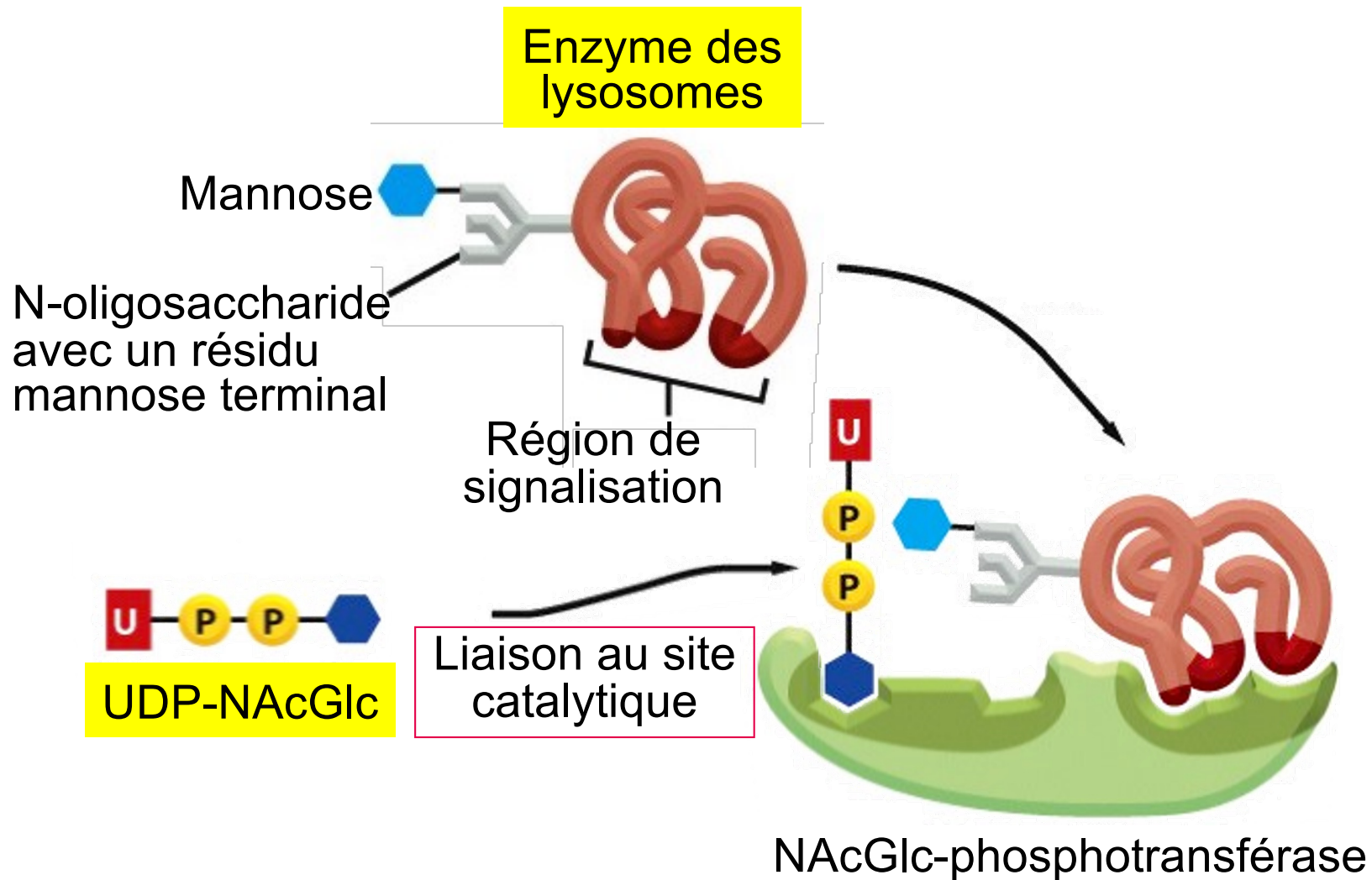
**Autophagosome contenant une mitochondrie et un peroxysome (ME)
(durée de vie de 10 jours des mitochondries dans les hépatocytes)**



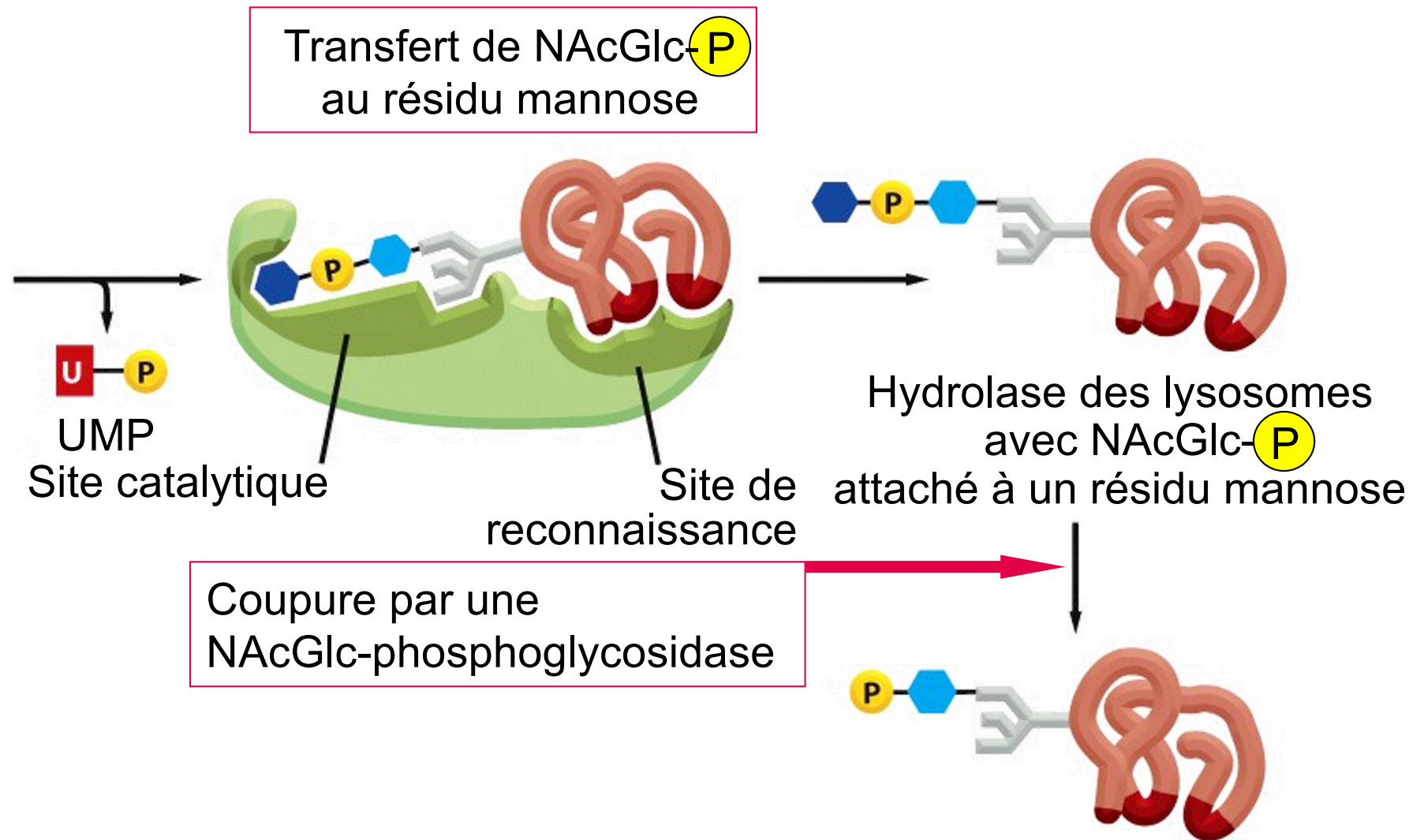
**Confluence dans les lysosomes du matériel capturé
selon les trois voies de capture**

Trafic des enzymes destinées aux lysosomes

- marquage et tri dans le réseau cis de l'appareil de Golgi: addition d'un phosphate à un mannose terminal d'un N-oligosaccharide
- Reconnaissance par un récepteur du M6P dans le réseau trans du Golgi



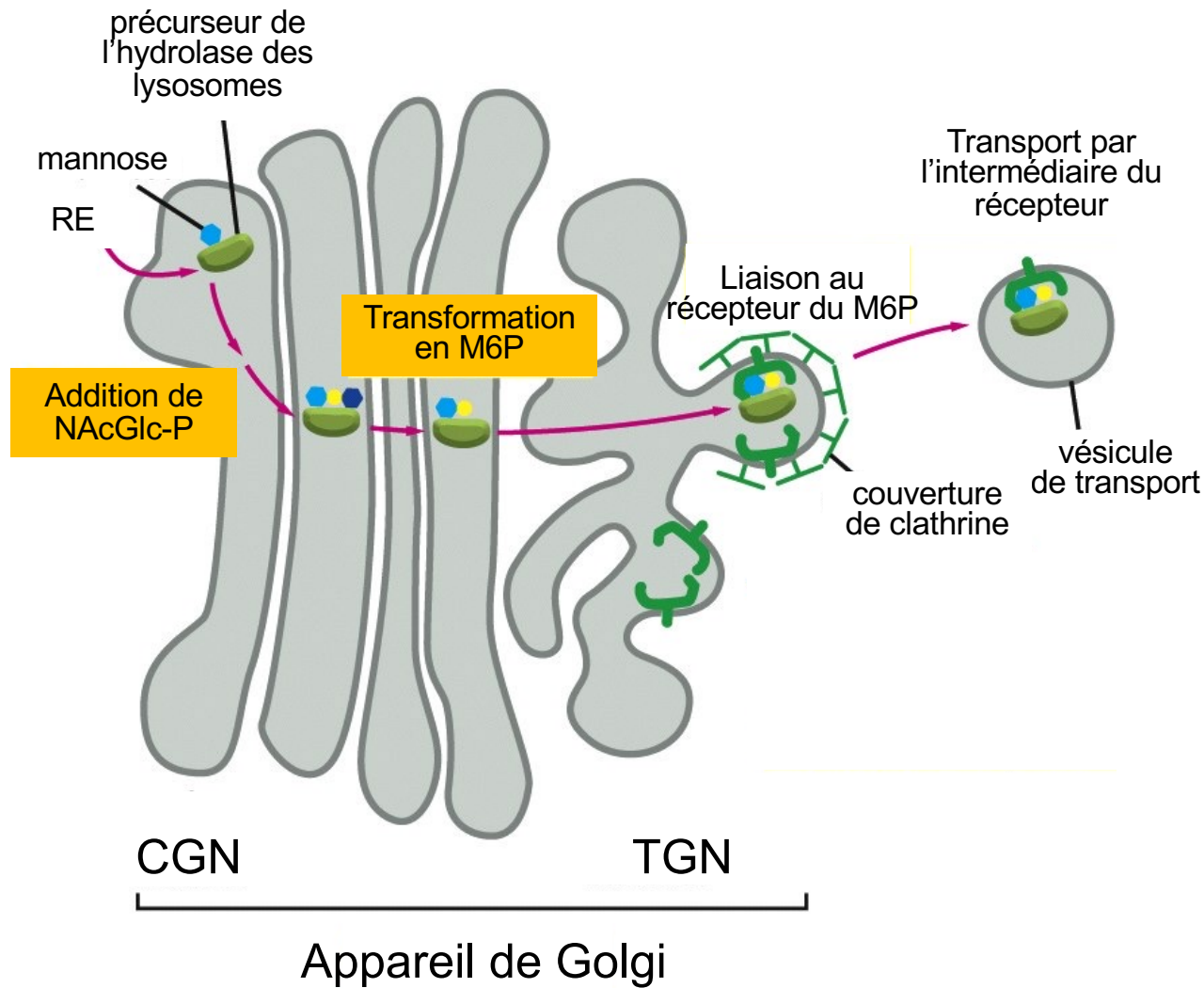
Reconnaissance d'une hydrolase des lysosomes par une N-acétylglucosamine phosphotransférase (CGN)



**Transfert du phosphate de N-acétylglucosamine au résidu mannose
et coupure par une NAcGlc-phosphoglycosidase (TGN)**

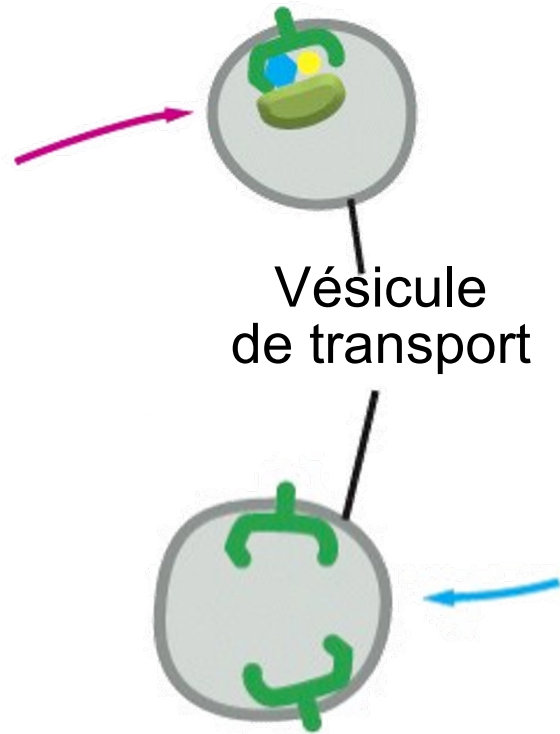
Trafic des enzymes destinées aux lysosomes

- marquage et tri dans le réseau cis de l'appareil de Golgi: addition d'un phosphate à un mannose terminal d'un N-oligosaccharide
- Reconnaissance par un récepteur du M6P dans le réseau trans du Golgi
- Transport par une vésicule recouverte de clathrine à partir du trans-Golgi
- Fusion des membranes entre la vésicule et un endosome terminal (voie d'endocytose)
- Libération du chargement par abaissement du pH
- Recyclage du récepteur du M6P



Transport par une vésicule à partir du réseau *trans* de l'appareil de Golgi

Transport par l'intermédiaire du récepteur



Couverture du « rétromère »

Dissociation à pH acide

Élimination du phosphate

Précurseur de l'hydrolase du lysosome

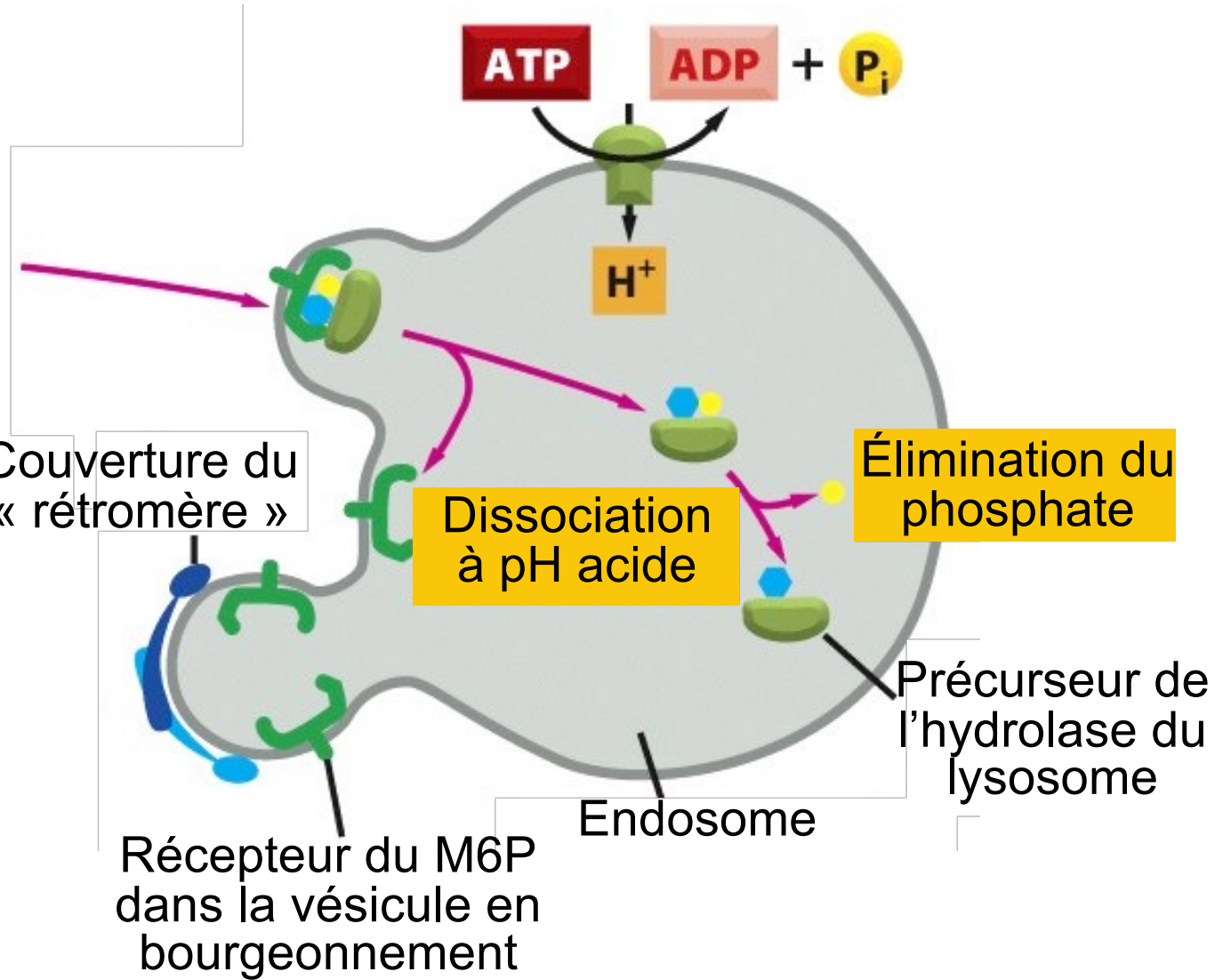
Endosome

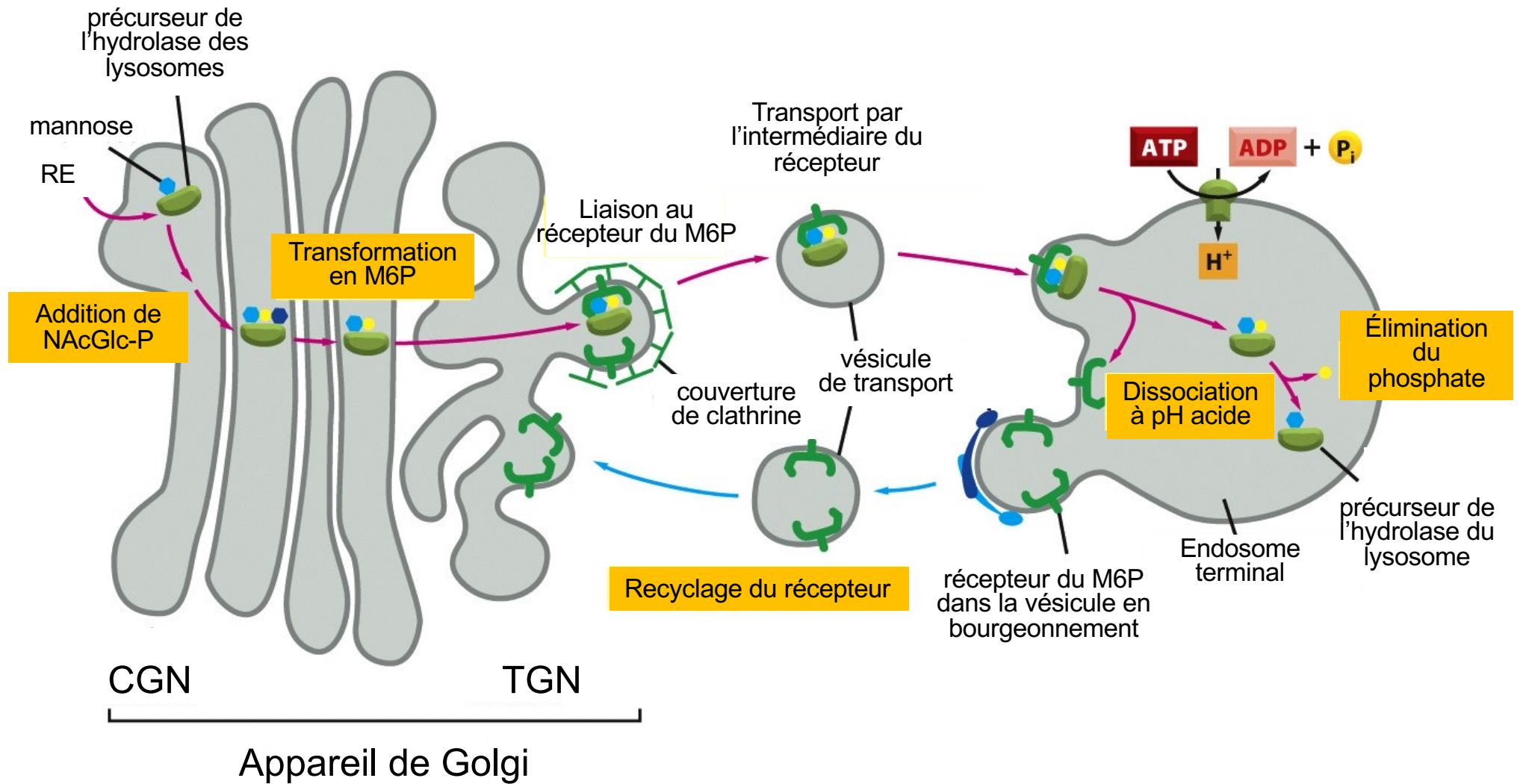
Récepteur du M6P dans la vésicule en bourgeonnement

ATP → ADP + P_i

H⁺

Recyclage du récepteur du M6P





Recyclage du récepteur du M6P

Maladie de Hurler

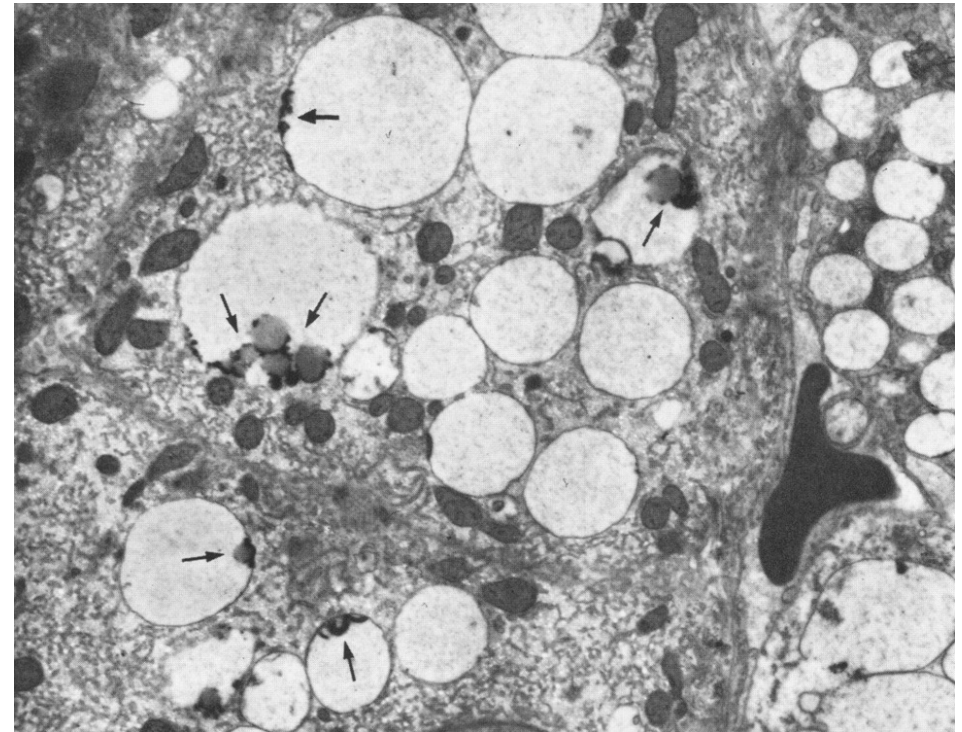
Maladie de surcharge des lysosomes dans laquelle une enzyme nécessaire à la dégradation des glycosaminoglycanes (alpha –L iduronidase) est absente ou présente un défaut de fonctionnement.

1/100.000 naissances – Anomalies morphologiques progressives – Retard mental et troubles sensoriels – Décès dans la deuxième décade.

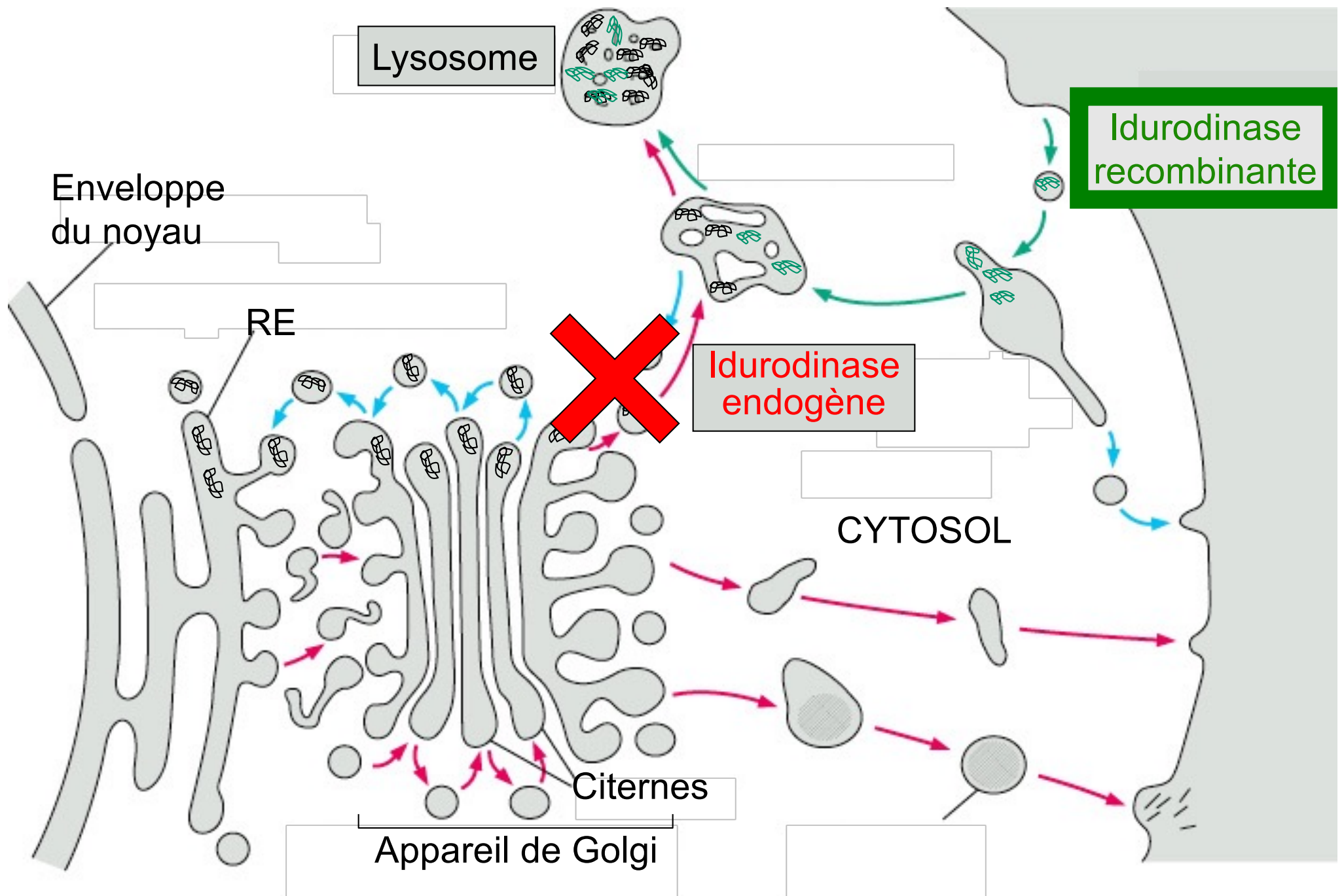
Traitement par transplantation de cellules hématopoïétiques et perfusions d'enzyme purifié.



Enfant atteint de maladie de Hurler



Hépatocyte avec vacuoles et corps denses correspondant à des lysosomes anormaux



Pourquoi la perfusion d'iduronidase peut traiter la maladie de Hurler

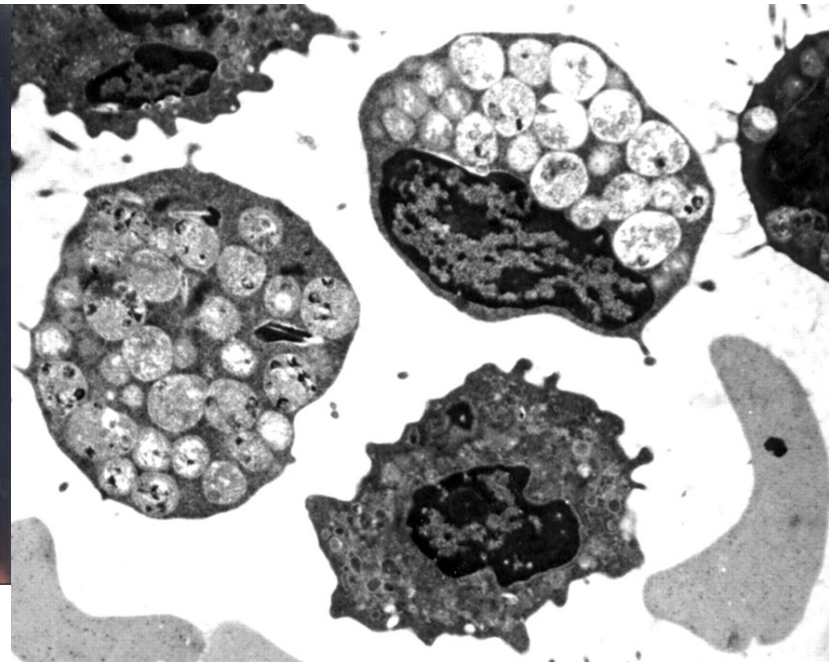
Maladie des inclusions cellulaires

« I-cell disease » ou « inclusion-cell disease »

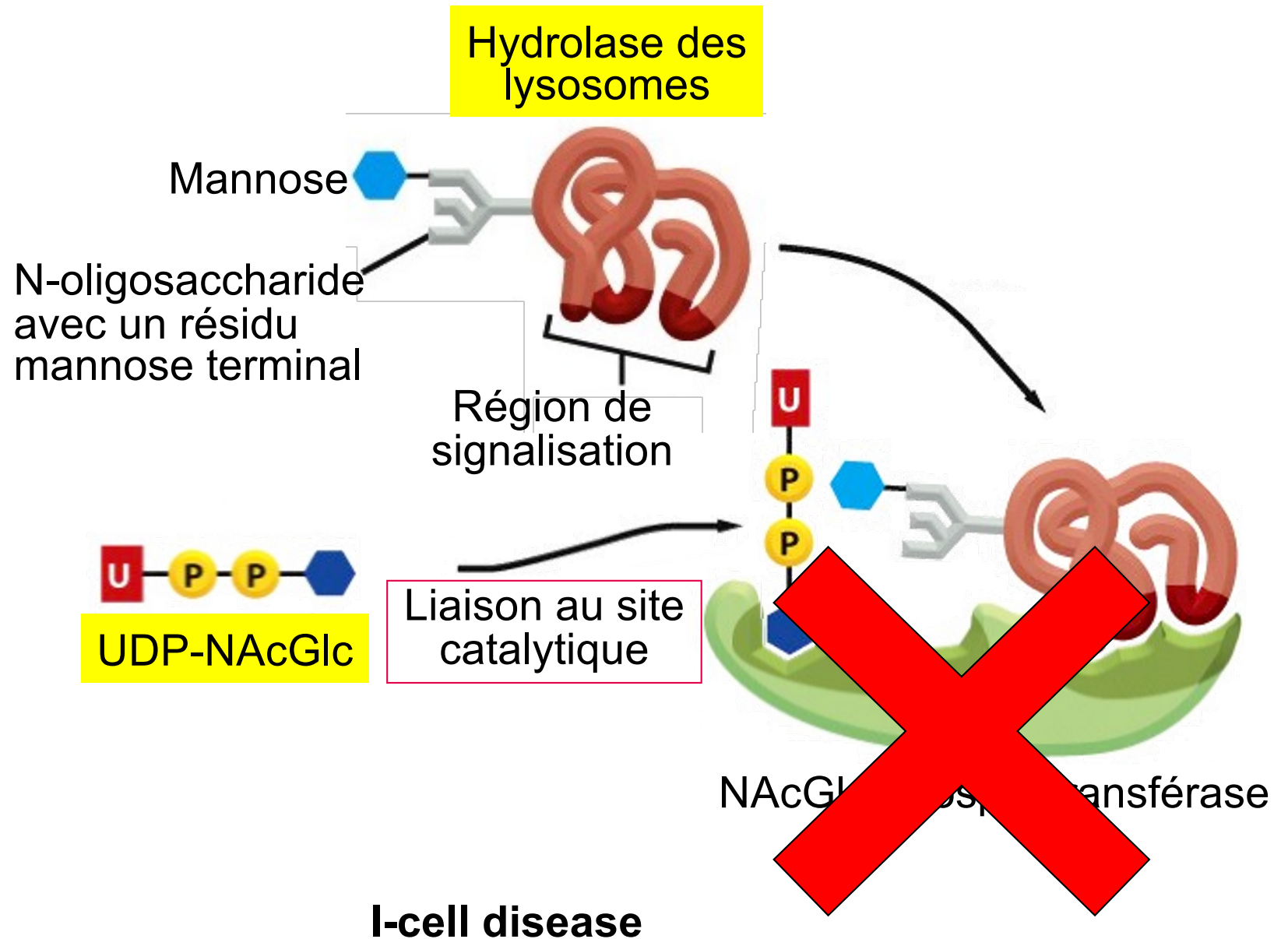
- Forme extrêmement rare ($< 1/100.000$ à $1/500.000$) mais la plus sévère de toutes les maladies de surcharges des lysosomes.
- Maladie monogénique, récessive qui ne se manifeste que chez les homozygotes.
- Pratiquement toutes les enzymes d'hydrolyse habituellement présentes dans les lysosomes sont absentes des lysosomes des fibroblastes ; leurs substrats s'accumulent dans les lysosomes sous forme de grandes inclusions.



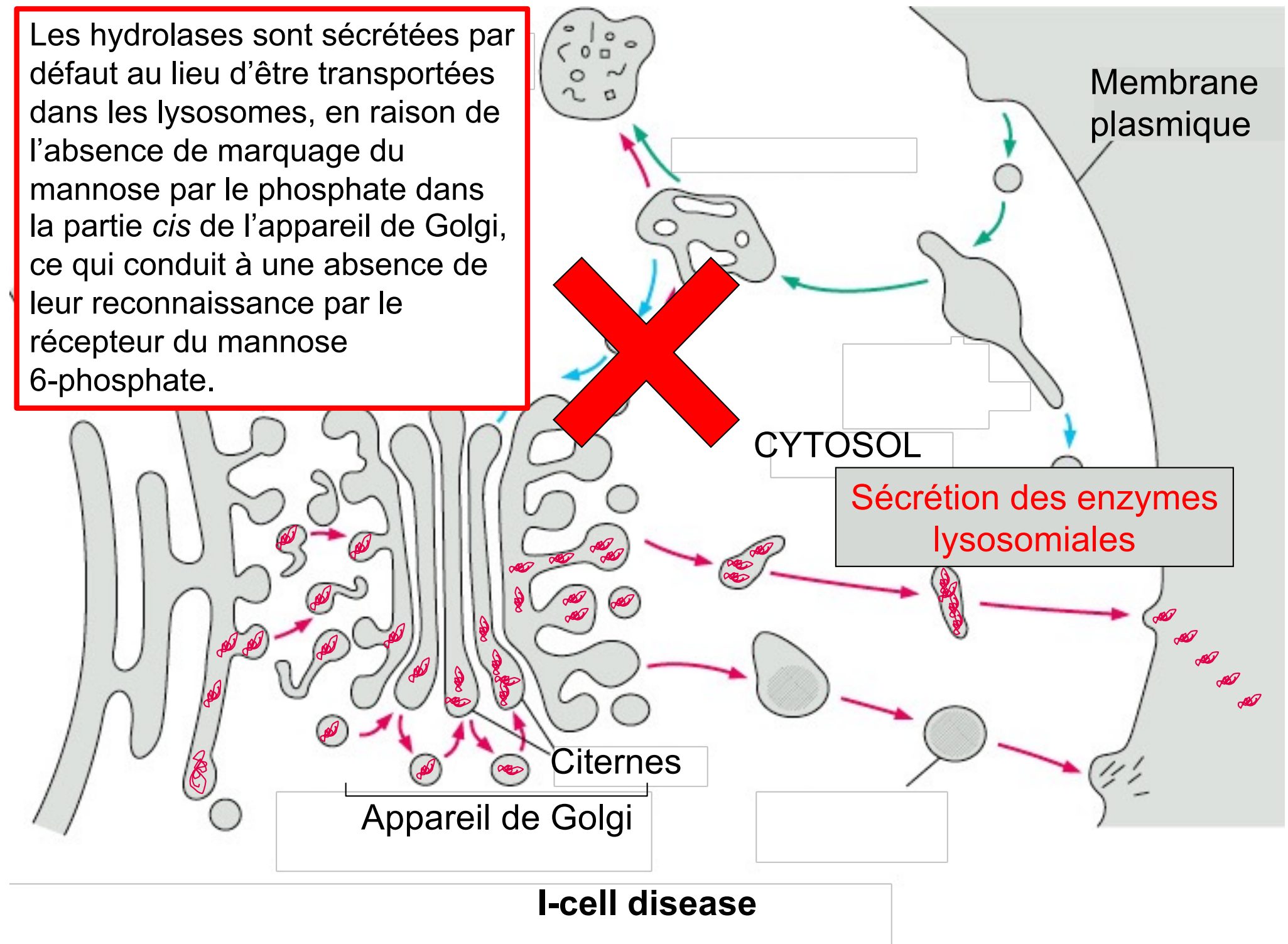
Figure 1: Clinical photograph of a two-year old girl with coarse facial features, gum hypertrophy and thick alveolar ridges

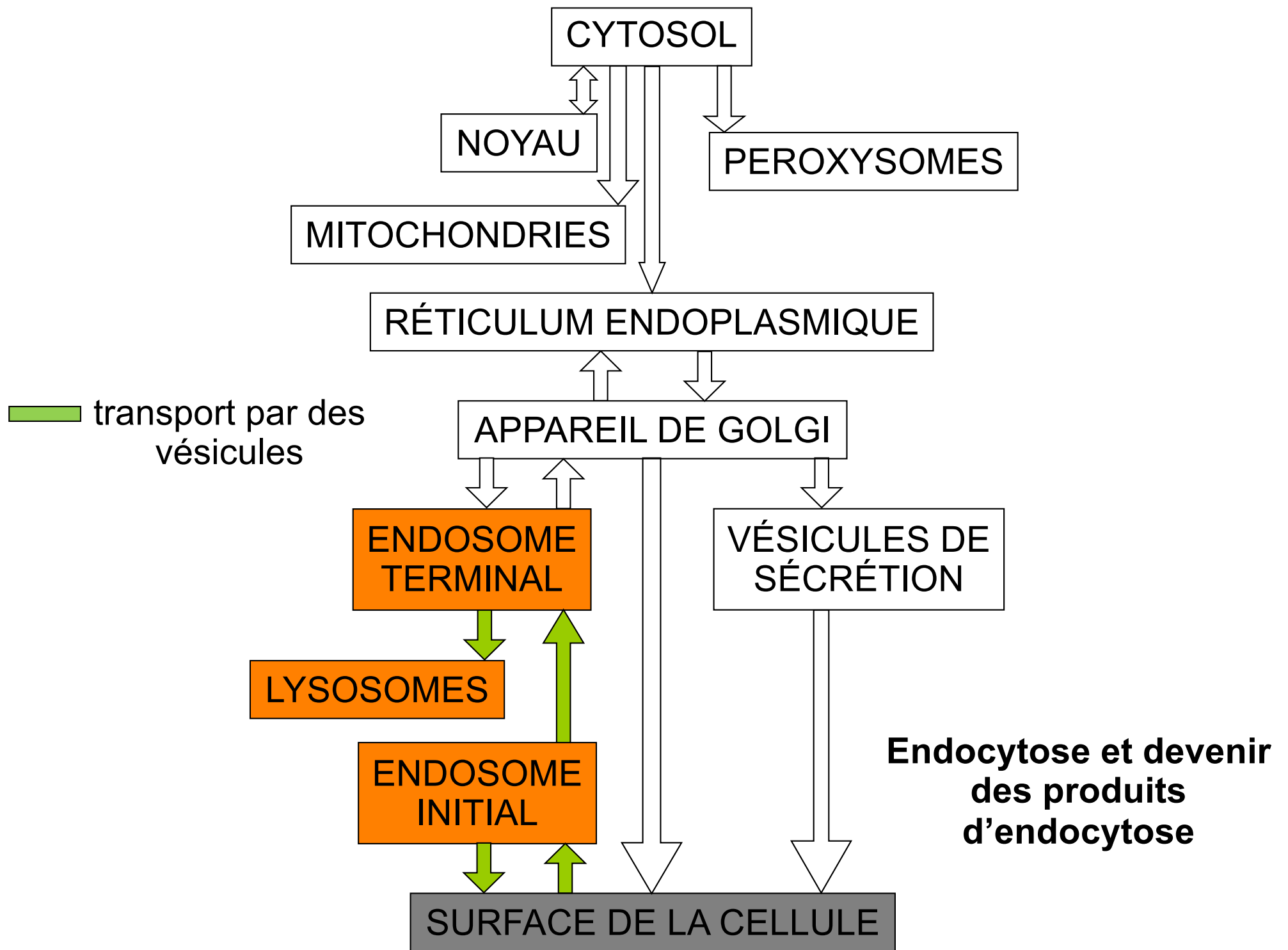


L'enzyme défectueuse ou absente est la N-acétyl glucosamine-phosphotransférase



Les hydrolases sont sécrétées par défaut au lieu d'être transportées dans les lysosomes, en raison de l'absence de marquage du mannose par le phosphate dans la partie *cis* de l'appareil de Golgi, ce qui conduit à une absence de leur reconnaissance par le récepteur du mannose 6-phosphate.





TRANSPORT À PARTIR DE LA MEMBRANE PLASMIQUE : ENDOCYTOSE

Distinction selon la taille du contenu

- Phagocytose (phago : je mange) : contenu observable en microscopie standard
- Pinocytose (pino : je bois)

TRANSPORT À PARTIR DE LA MEMBRANE PLASMIQUE : ENDOCYTOSE

Distinction selon la taille du contenu

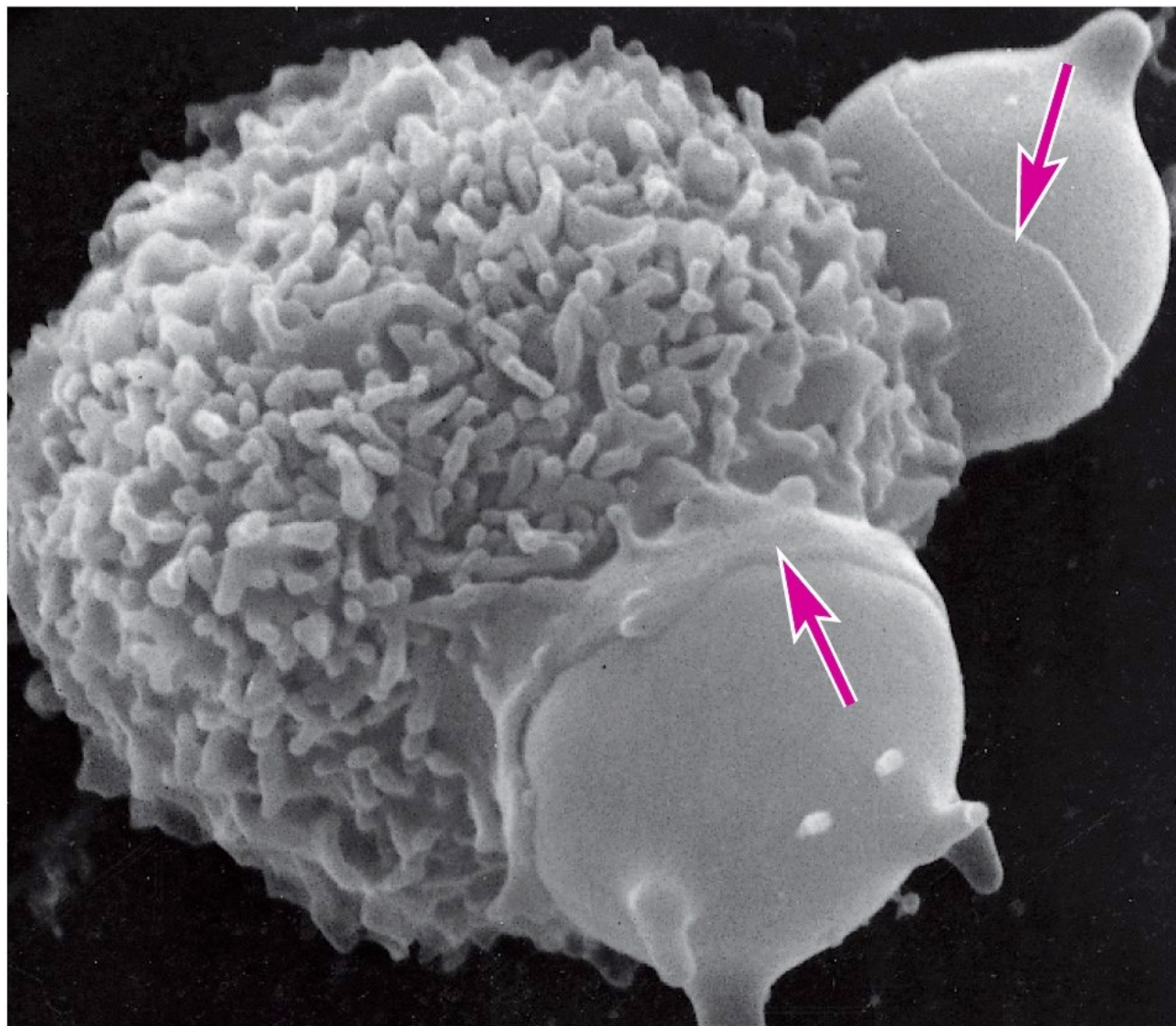
- Phagocytose (phago : je mange) : contenu observable en microscopie standard
- Pinocytose (pino : je bois)

Selon la spécificité de l'élément absorbé

- Endocytose aspécifique : absorption de molécules non triées
- Endocytose par récepteur interposé :
ex :
 - pinocytose spécifique : LDL, transferrine
 - phagocytose spécifique : bactérie opsonisées, c'est-à-dire recouvertes d'immunoglobulines

Phagocytose

- Forme spéciale d'endocytose dans laquelle de grandes particules tels que les micro-organismes et les cellules mortes sont ingérées via de grande vésicules d'endocytose appelées phagosomes ($\varnothing > 250 \text{ nm}$).
- Pour les protozoaires la phagocytose est une forme d'alimentation.
- Dans les organismes pluricellulaires, peu de cellules sont capables d'ingérer de telles particules de grande taille. Dans l'intestin des animaux, ce sont les produits d'hydrolyse qui sont importés dans les cellules.
- Les animaux utilisent des cellules spécialisées pour assurer une phagocytose à des fins autres que l'alimentation : Ces phagocytes professionnels sont les **macrophages**, les **cellules neutrophiles** et les **cellules dendritiques** qui dérivent des cellules souches hématopoïétiques et assurent la défense de l'organisme contre les infections.
- Les macrophages jouent aussi un rôle important dans l'élimination des cellules sénescents : ils phagocytent plus de 10^{11} globules rouges sénescents tous les jours.



5 μm

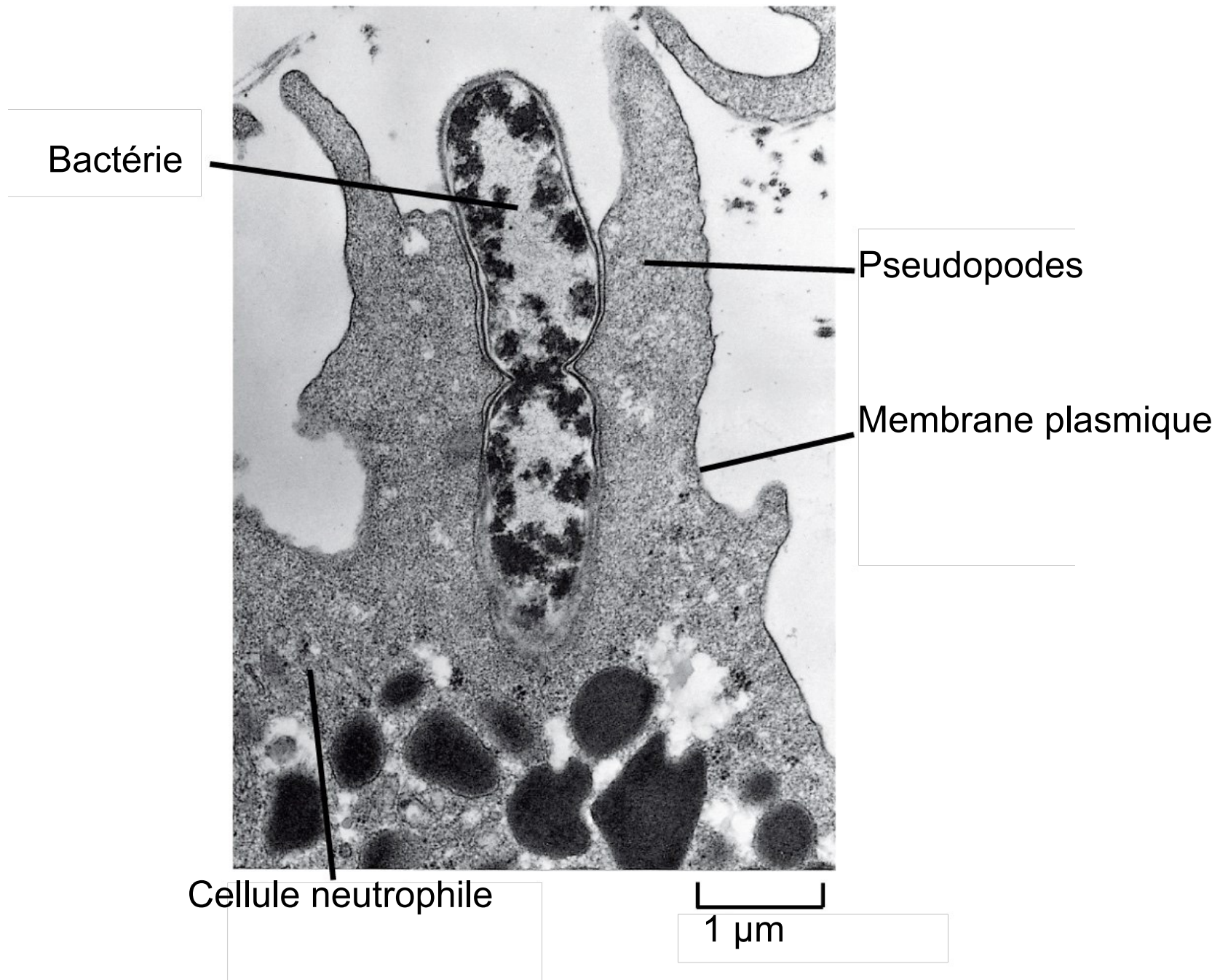
Phagocytose de deux globules rouges par un macrophage de souris (ME)

Phagocytose

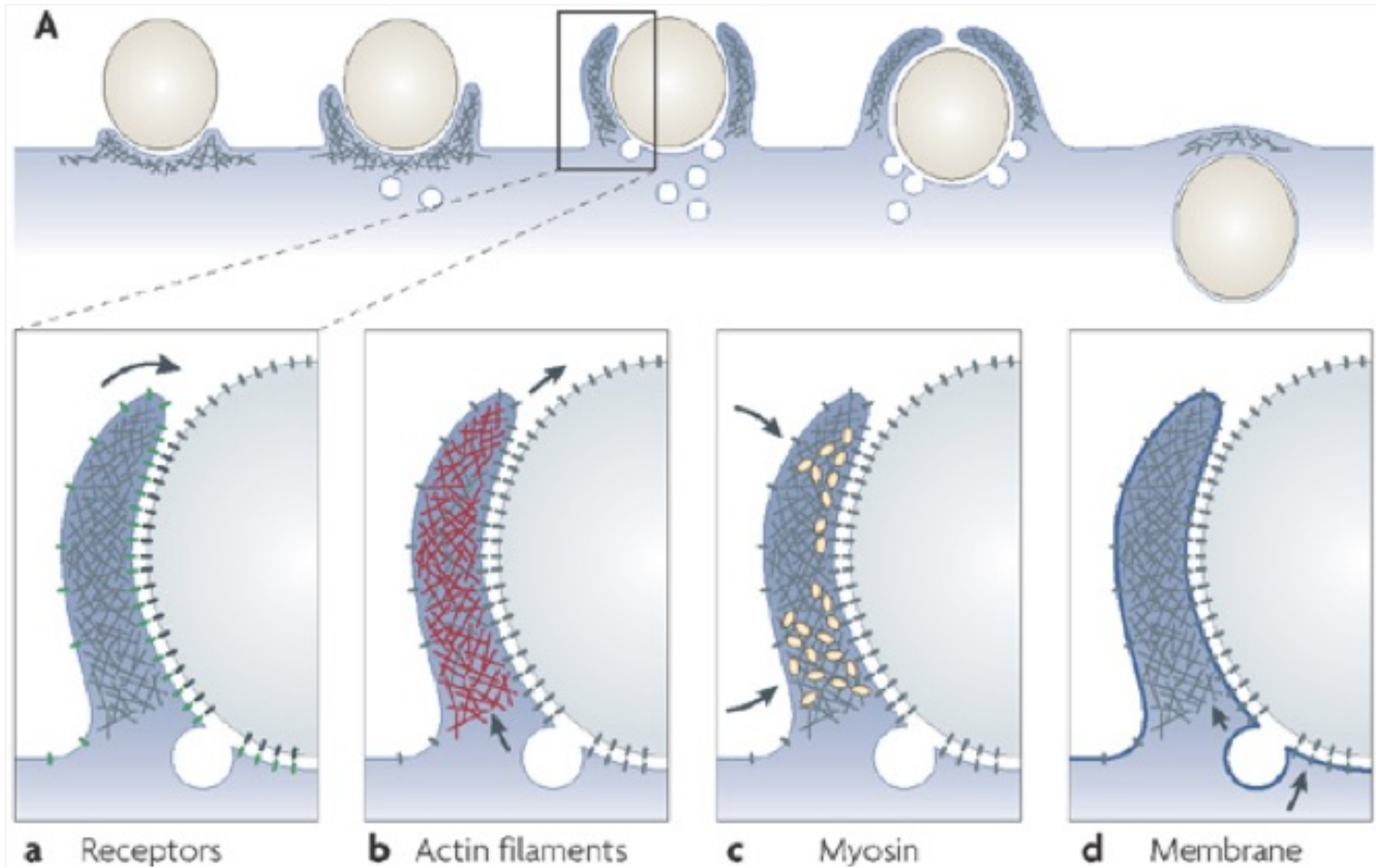
- Nécessite l'activation de récepteurs de surface

Ex: R aux Immunoglobulines, qui recouvrent les microorganismes pathogènes

- Extension de prolongements (pseudopodes), par polymérisation de l'actine, pour incorporer la particule
- Fusion phagosome - lysosomes



Phagocytose d'une bactérie en cours de division par une cellule neutrophile
(ME)



Acteurs moléculaires de la phagocytose

Pinocytose

Pinocytose : ingestion continue de liquide par la cellule via de petites vésicules de 100 nm de diamètre environ.

1-Phénomène continu et permanent, à des taux différents selon les types cellulaires

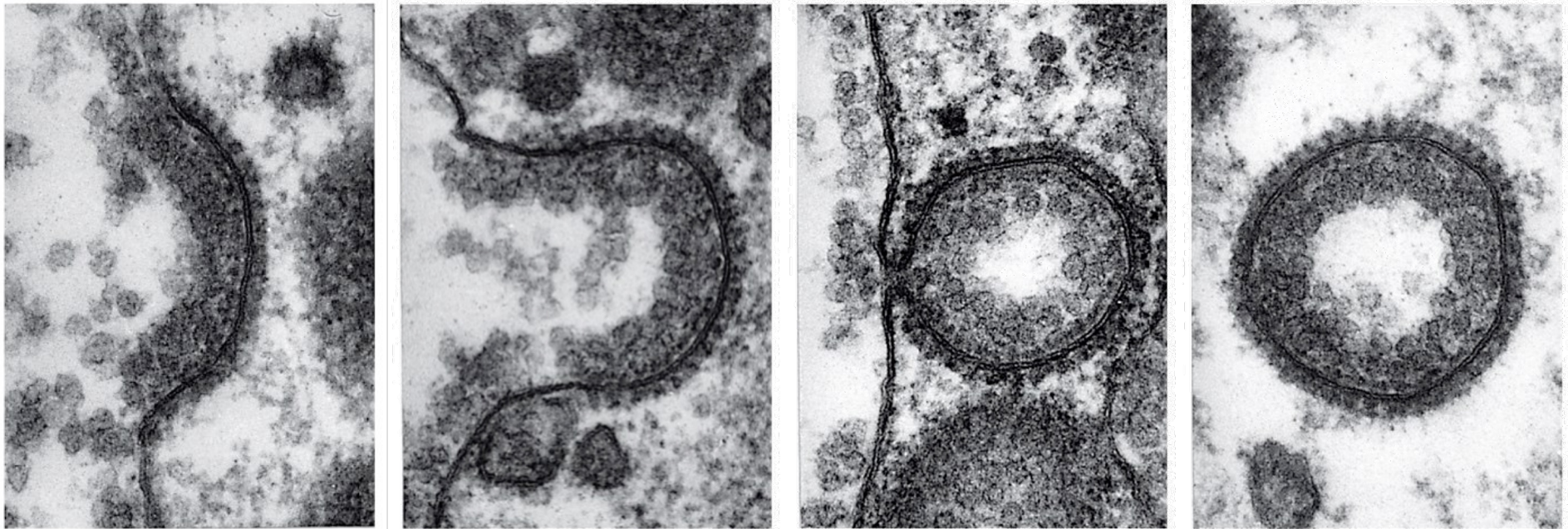
ex: un macrophage ingère 25 % de son propre volume de fluide toutes les heures, et l'équivalent de la totalité de sa membrane plasmique toutes les 30 minutes.

! Doit être compensé par une activité exocytique équivalente

2- Par formation de **vésicules recouvertes de clathrine**

ex: 2500 vésicules par minute dans un fibroblaste en culture.

3- Par formation de **cavéoles**



0,1 µm

Formation d'une vésicule d'endocytose par invagination de la membrane plasmique recouverte de clathrine (ME)

Cavéoles

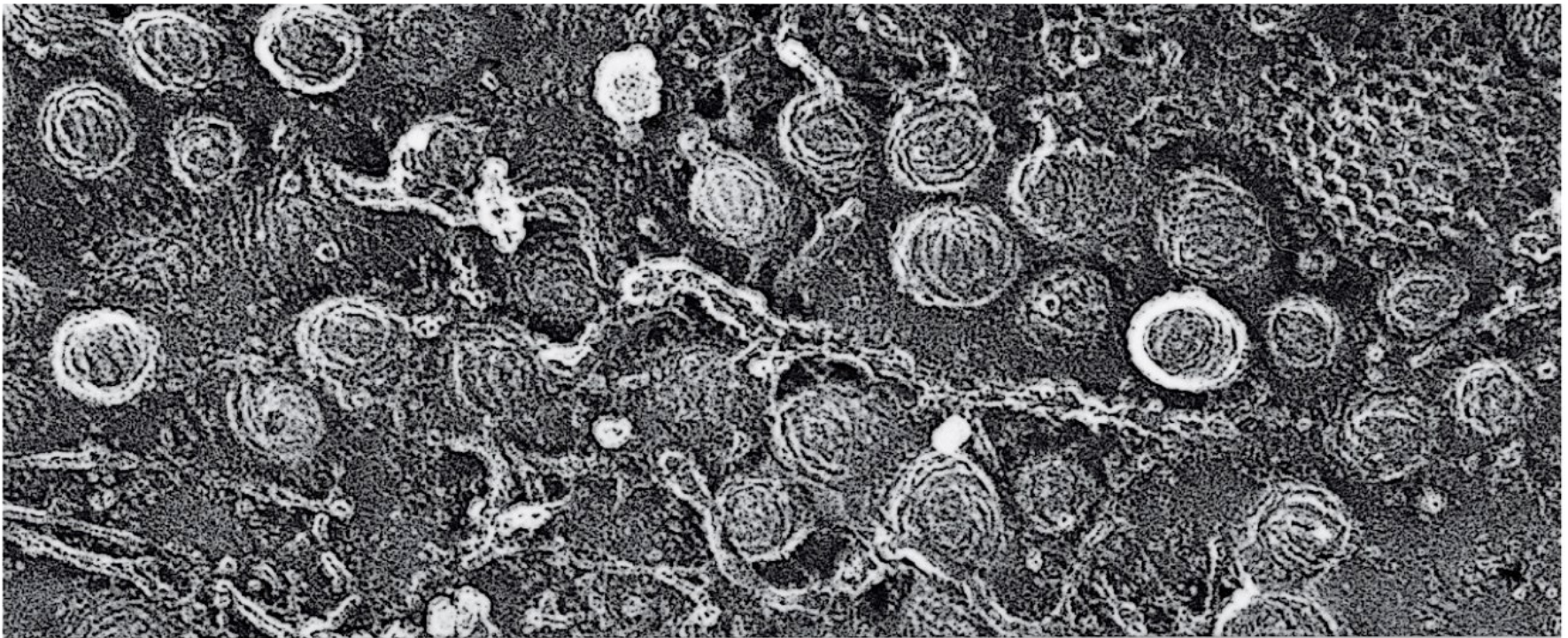
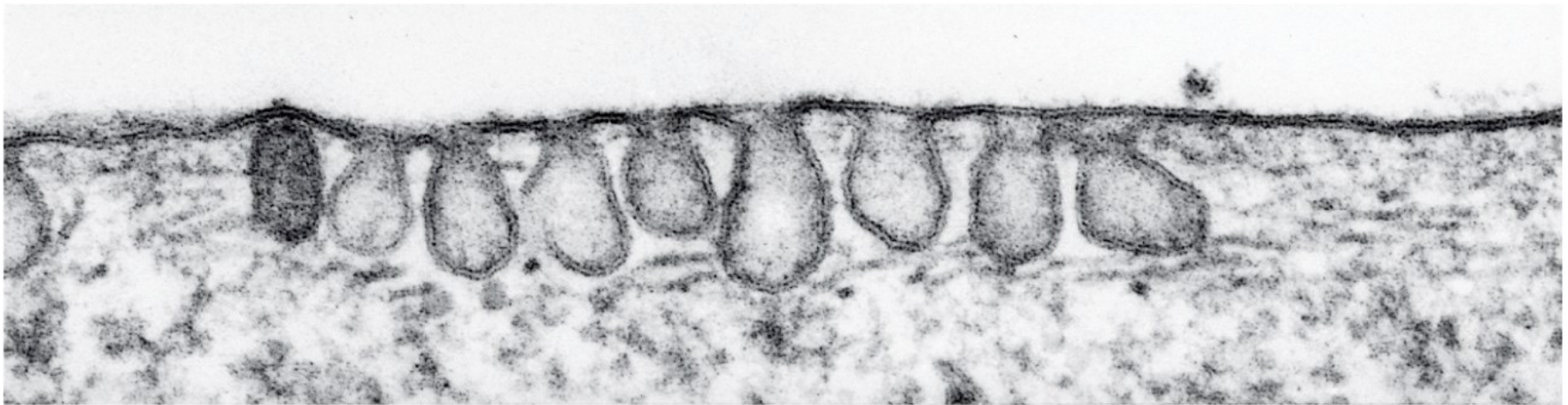
Les cavéoles sont présentes à la membrane plasmique de la plupart des cellules.

Elles seraient formées à partir des radeaux lipidiques qui contiennent une protéine plusieurs fois transmembranaire, la cavéoline.

Les cavéoles collectent une cargaison qui dépend de la composition de leur membrane (interaction préférentielle avec les radeaux lipidiques).

Elles ne sont pas recouvertes et délivrent le contenu de leur cargaison à des structures du type de l'endosome.

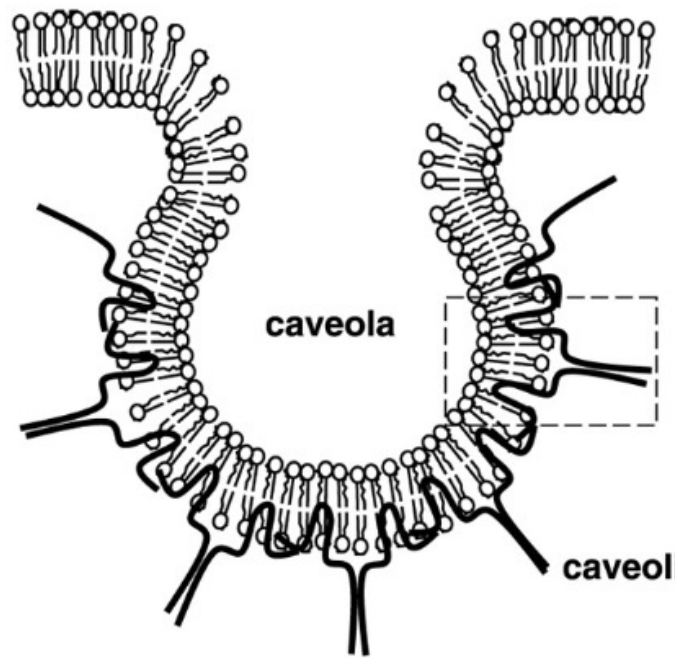
Radeau lipidique : petite région de la membrane plasmique enrichie en sphingolipides et en cholestérol.



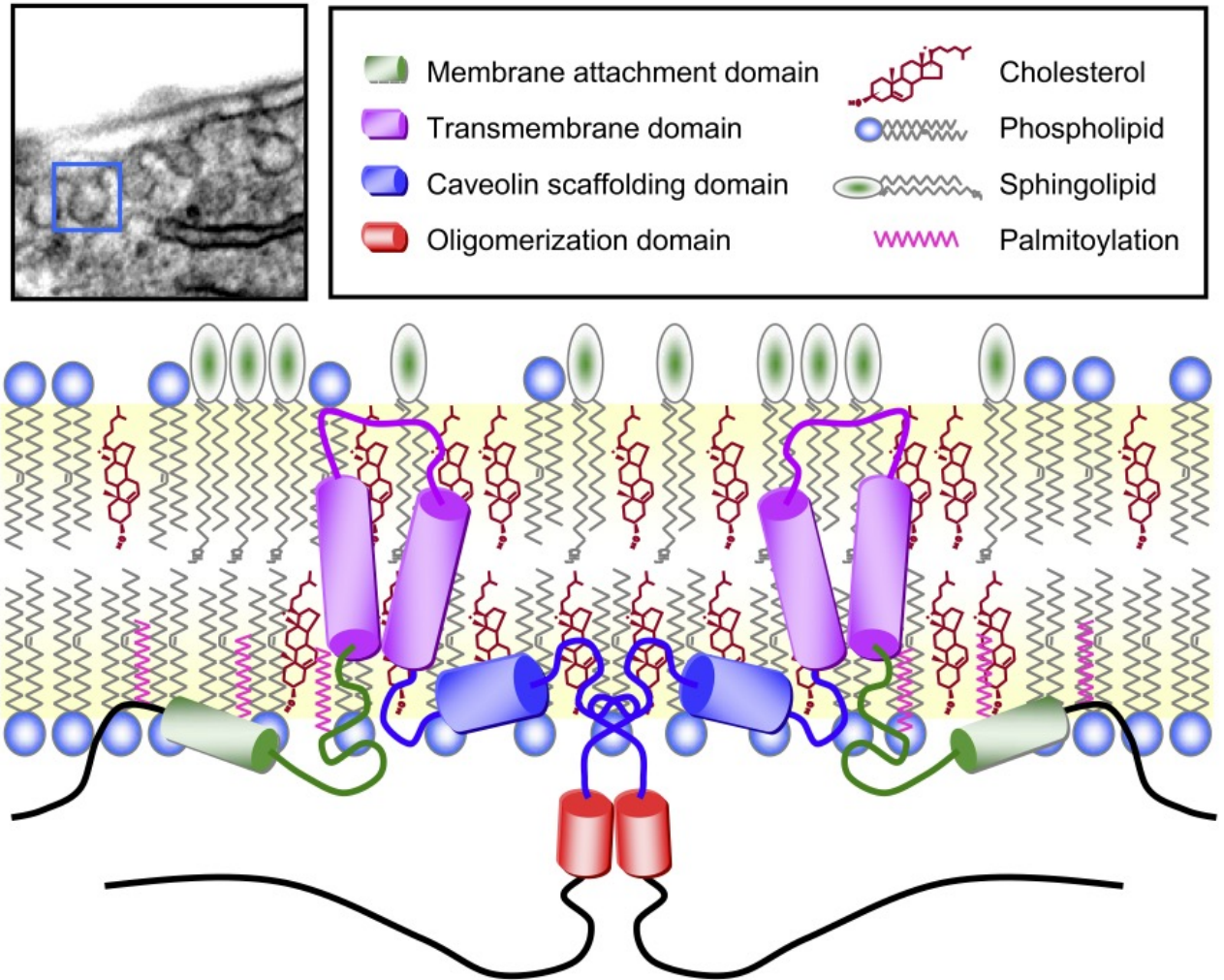
Caveolæ = petite cavité

0,2 μm

Cavéoles (ME)



la dynamine est utilisée pour refermer et détacher les cavéoles



Cavéoles

TRANSPORT À PARTIR DE LA MEMBRANE PLASMIQUE : ENDOCYTOSE

Distinction selon la taille du contenu

- Phagocytose (phago : je mange) : contenu observable en microscopie standard
- Pinocytose (pino : je bois)

Selon la spécificité de l'élément absorbé

- Endocytose aspécifique : absorption de molécules non triées
- Endocytose par récepteur interposé :
ex :
 - pinocytose spécifique : LDL, transferrine
 - phagocytose spécifique : bactérie opsonisées, c'est-à-dire recouvertes d'immunoglobulines

Endocytose par récepteur interposé

- Sélection de molécules ou de particules par des récepteurs présents à la membrane plasmique,
- concentration dans une cavité provenant de l'invagination de la membrane recouverte de clathrine,
- entrée dans la cellule sous forme de complexes macromoléculaires enfermés dans une vésicule recouverte de clathrine
- Elimination du manteau

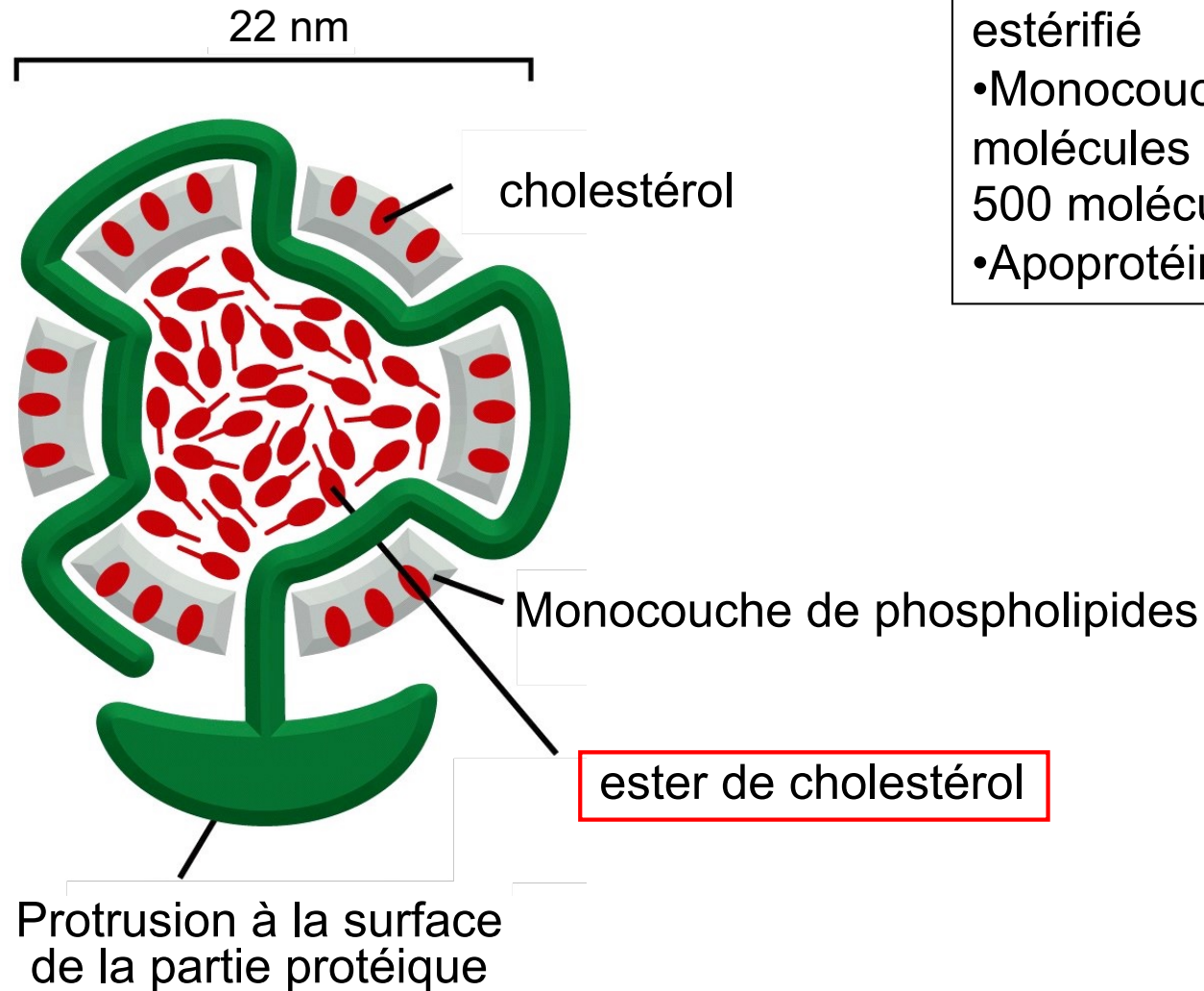
Endocytose par récepteur interposé

- Sélection de molécules ou de particules par des récepteurs présents à la membrane plasmique,
- concentration dans une cavité provenant de l'invagination de la membrane recouverte de clathrine,
- entrée dans la cellule sous forme de complexes macromoléculaires enfermés dans une vésicule recouverte de clathrine
- Elimination du manteau
- Fusion rapide avec endosomes précoces (1-5 min)(pH=6,5)(résident près de la membrane)
- Fusion ultérieure avec endosomes tardifs (5-15 min)(pH=6)(proches du Golgi et du noyau)

Exemple de l'endocytose des LDLs

Particule de LDL (low-density lipoproteins) : amas lipoprotéiques (3000kDa) permettant le transport du cholestérol dans le sang

- apolipoprotéine + phospholipides + cholestérol libre
- cholestérol estérifié



- 3×10^6 Da
- 1.500 molécules de cholestérol estérifié
- Monocouche lipidique de 800 molécules de phospholipides et 500 molécules de cholestérol libre
- Apoprotéine de 500 kDa

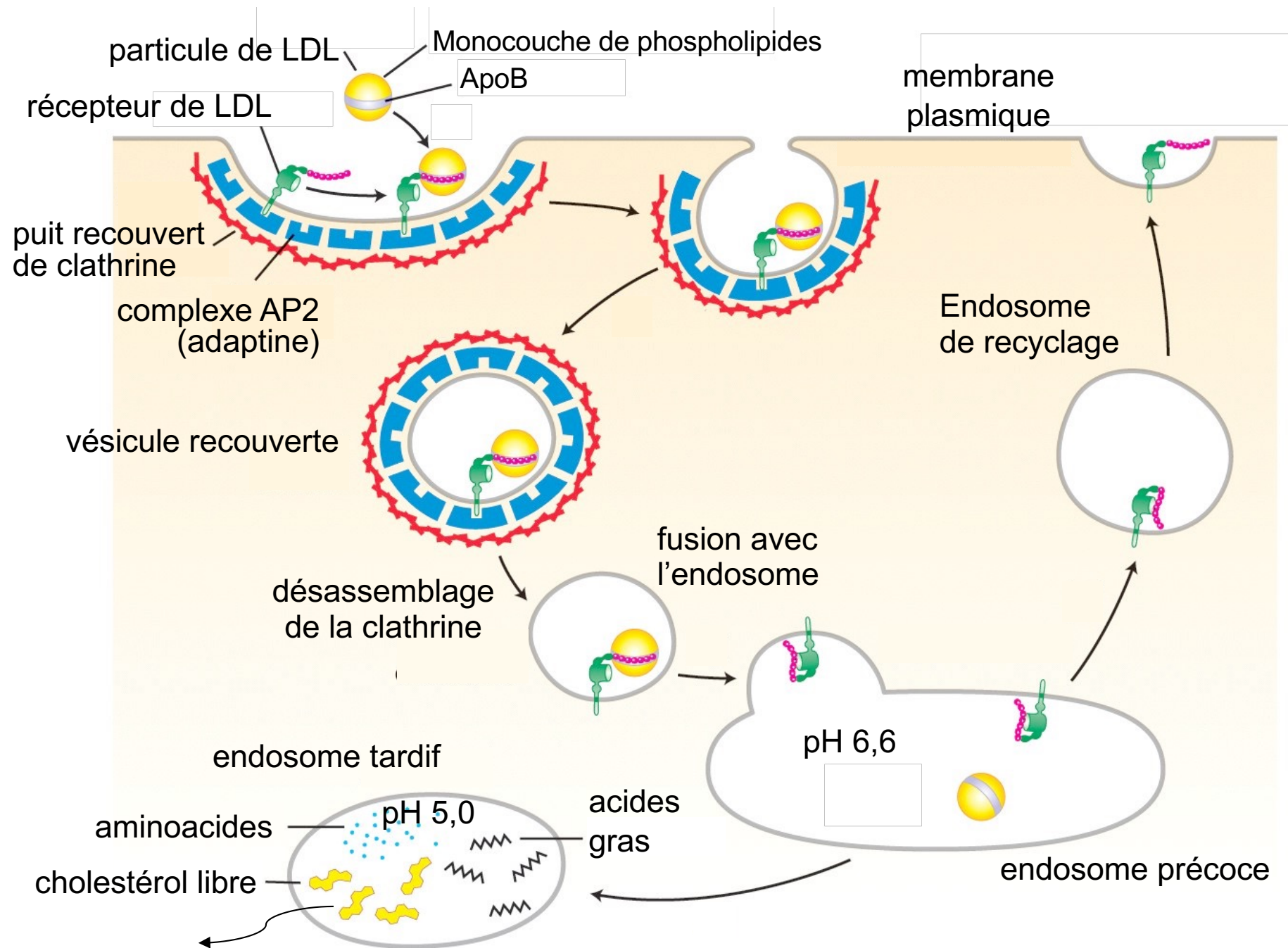
Particule de lipoprotéine de basse densité (LDL)



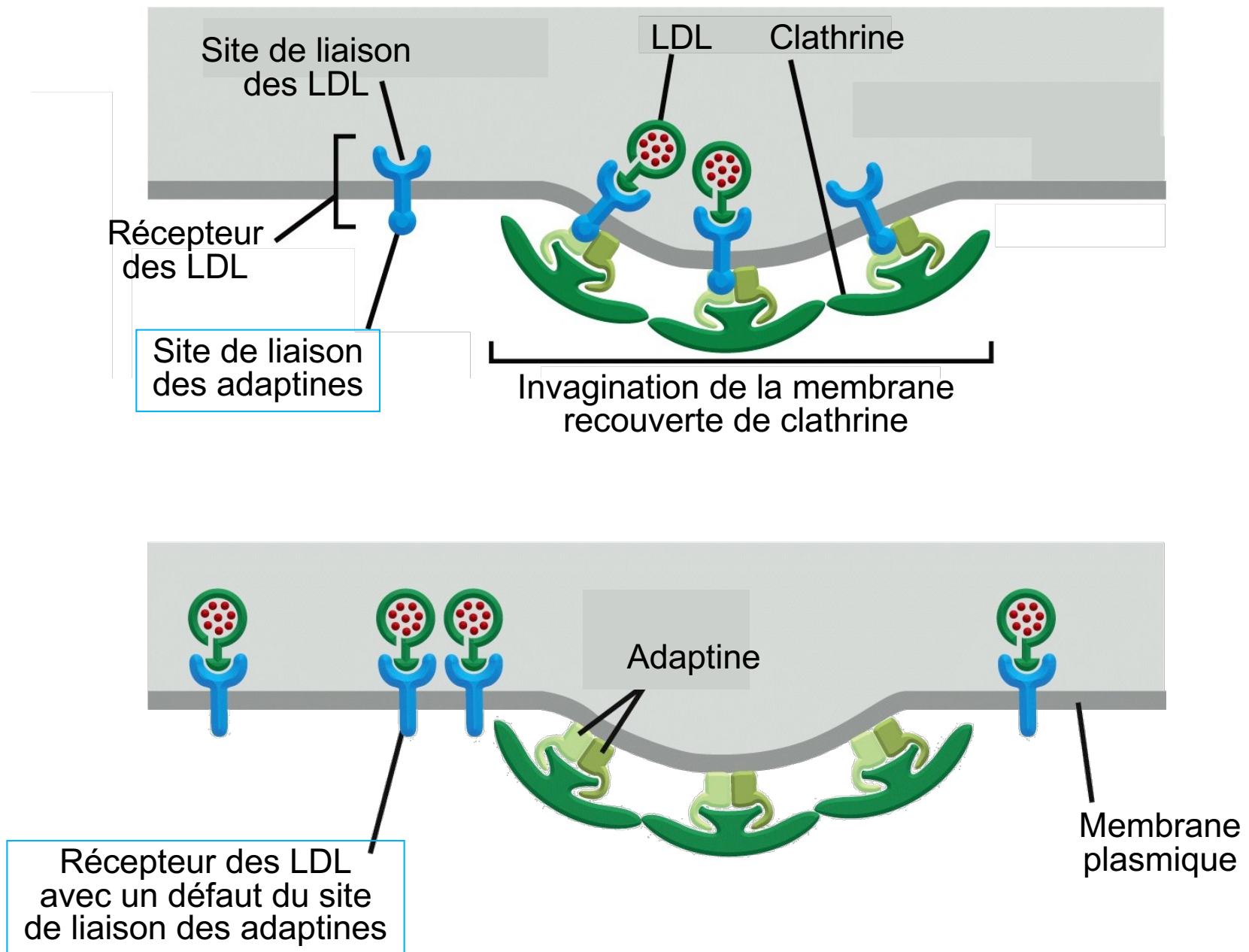
Figure 1.

A 10-year-old girl with homozygous FH. Note the elevated orange-yellow xanthomas lying superficially over the knees, the wrists, and interdigital webs. These xanthomas arise from the deposition of plasma LDL-derived cholesterol into macrophages of the skin. The rate of deposition is proportional to the severity and duration of the elevation in plasma LDL. A similar deposition of LDL-derived cholesterol occurred in the coronary arteries of this girl, producing atheromas of artery wall, which led to her first myocardial infarction at age 8.

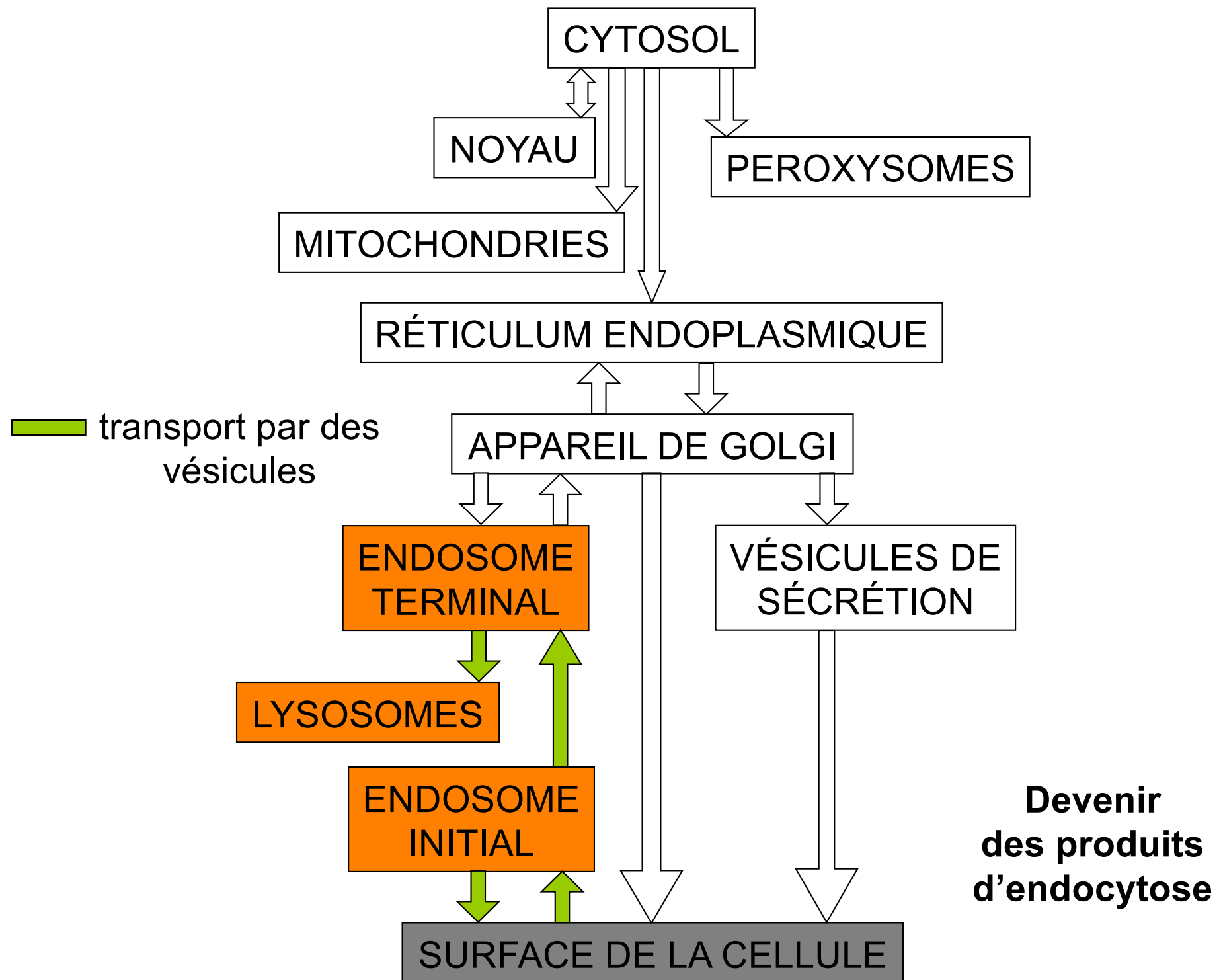
**La mutation des récepteurs des LDL
est à l'origine d'hypercholestérolémies familiales**

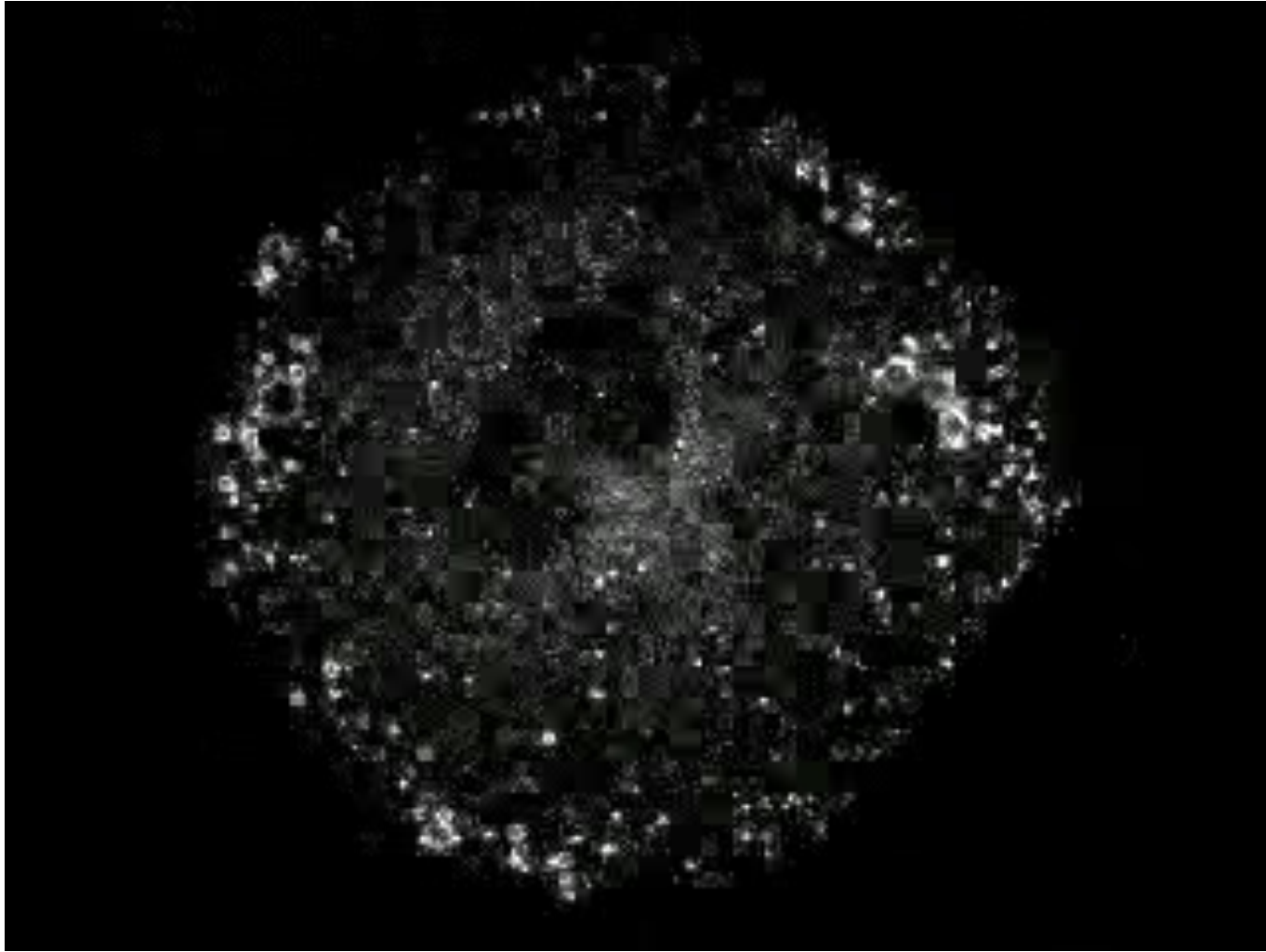


Voie d'endocytose qui conduit à l'internalisation des LDL

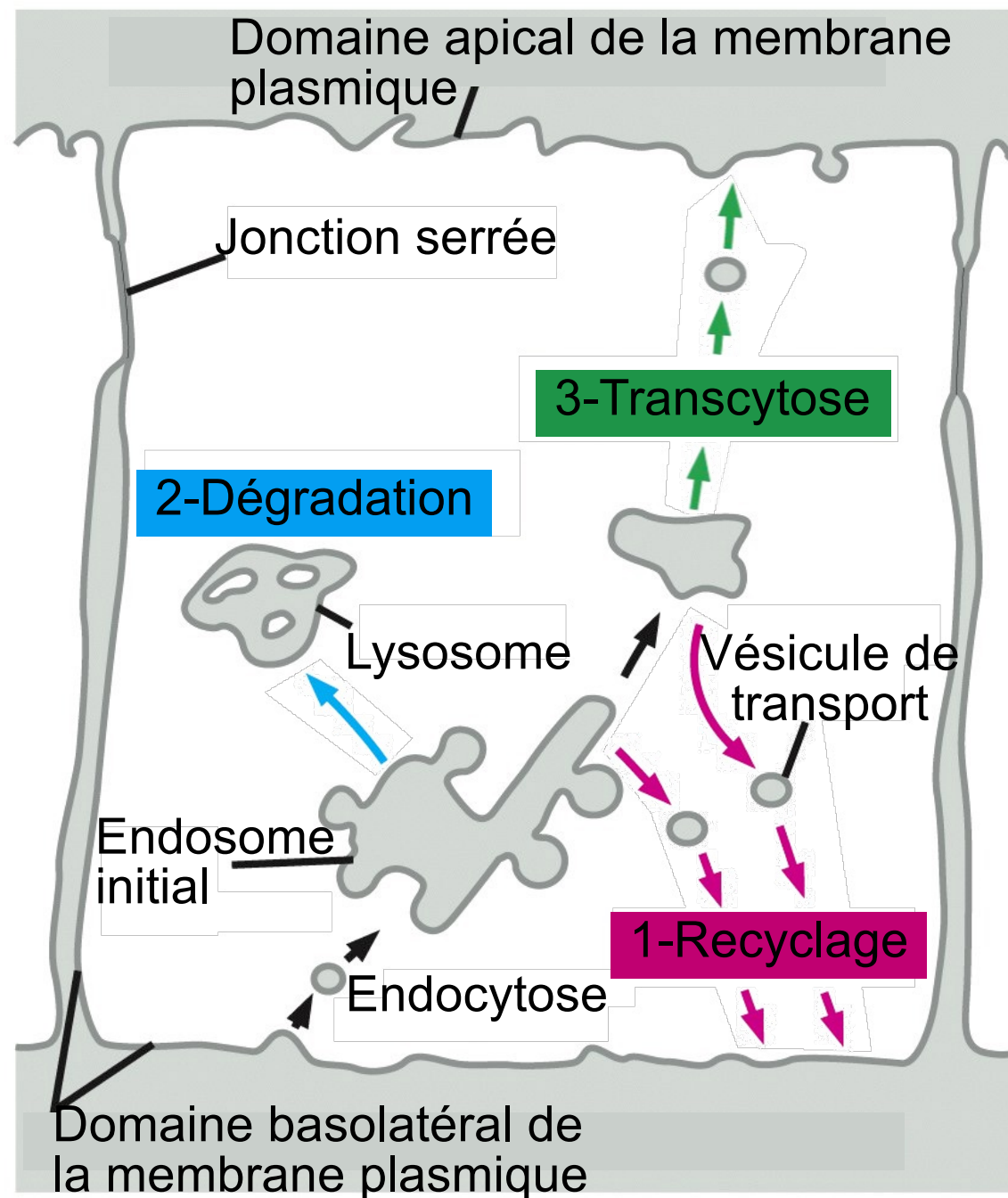


**La mutation des récepteurs des LDL
est à l'origine d'hypercholestérolémies familiales**

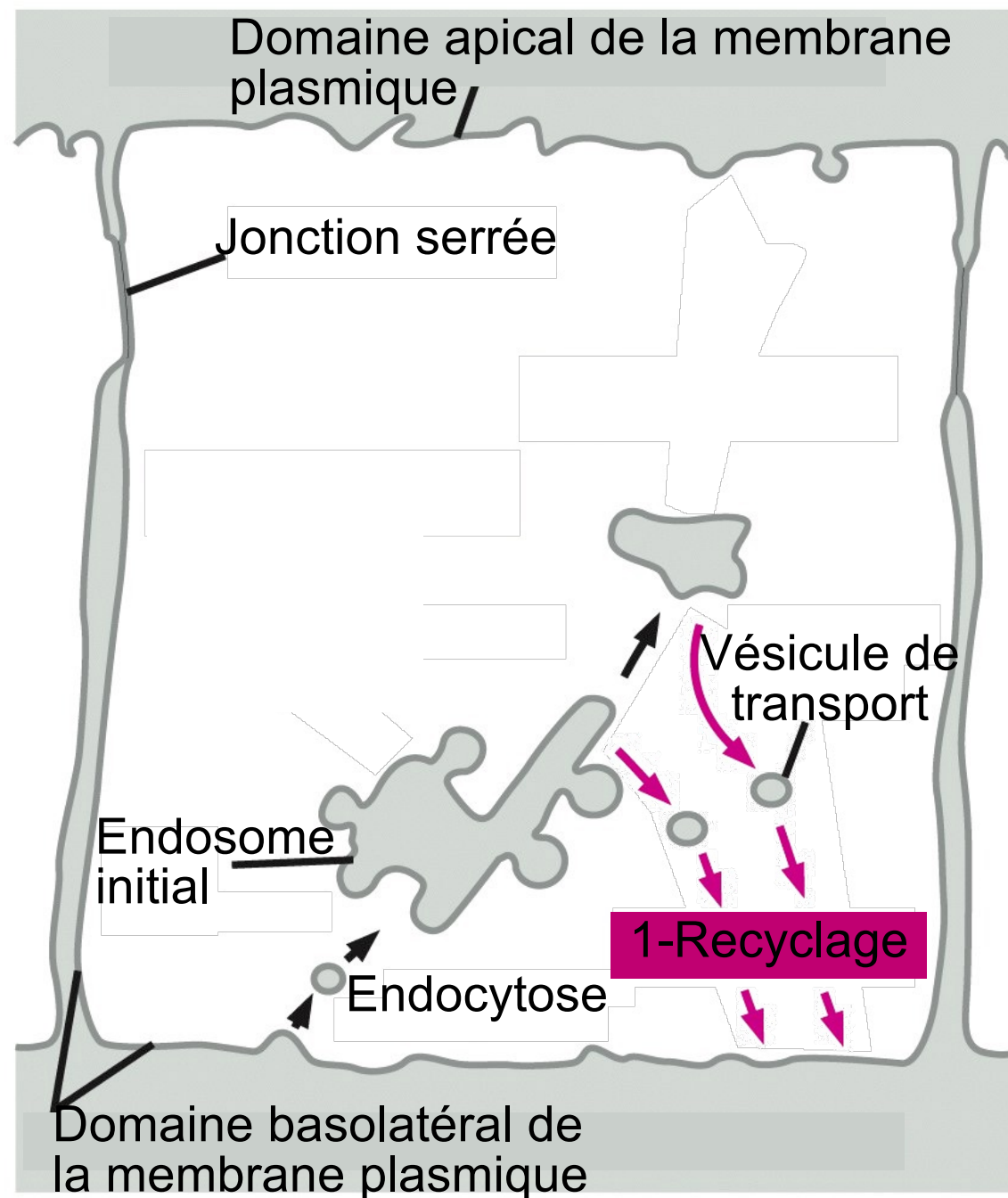




**Formation des endosomes par endocytose
visualisée par Rab5 fluorescente dont le gène a été surexprimé
(Rab 5 se lie aux endosomes)**



L'endosome précoce/initial est le compartiment de triage



Recyclage vers la membrane plasmique

Les deux récepteurs subissent l'endocytose dans les mêmes vésicules rouge + vert = jaune

Endosome initial
contient les
deux récepteurs

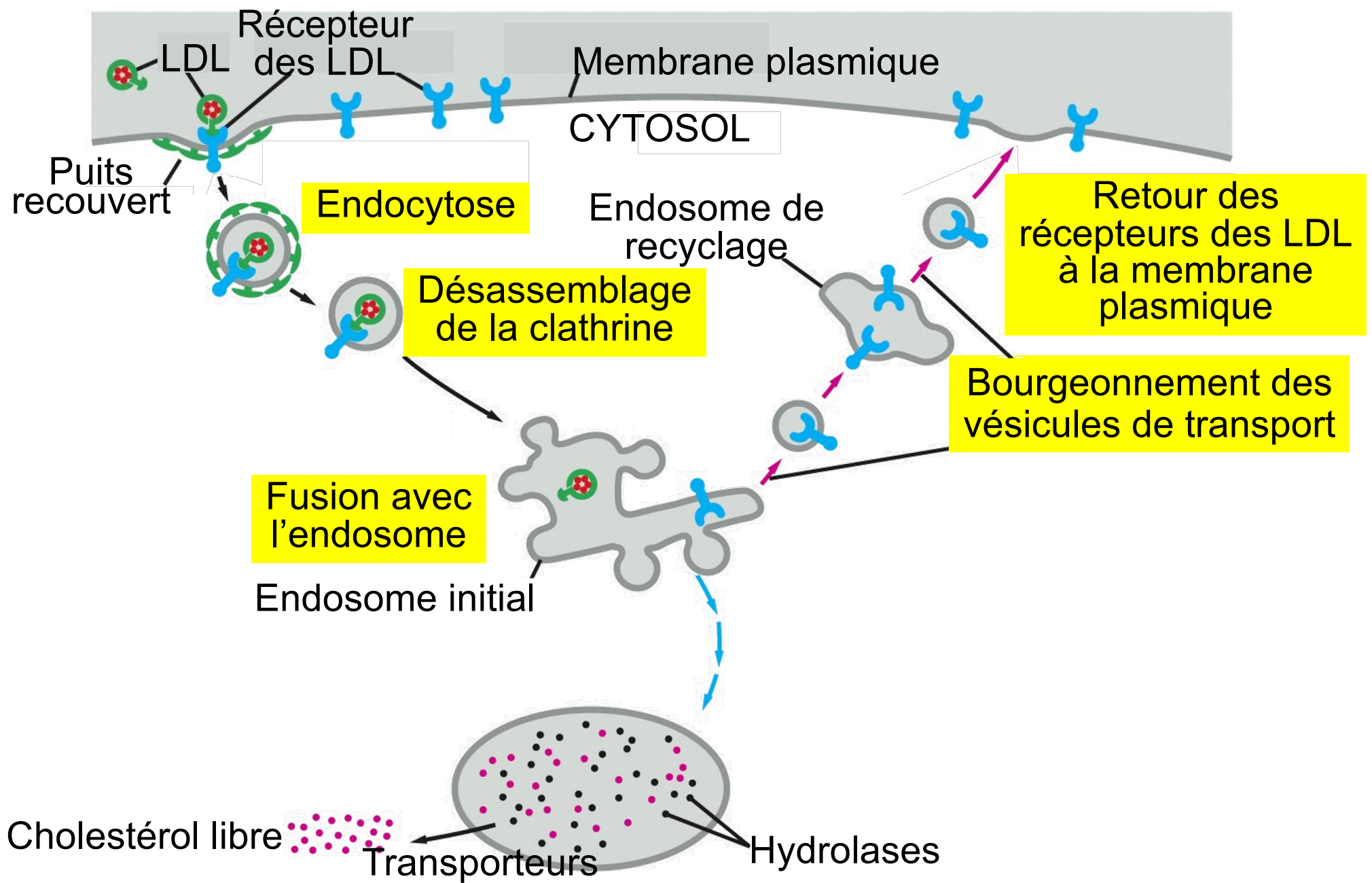
Endosome terminal
(ne contient que le
récepteur des opiacés)

Endosome de recyclage
(ne contient que le
récepteur de la
transferrine)

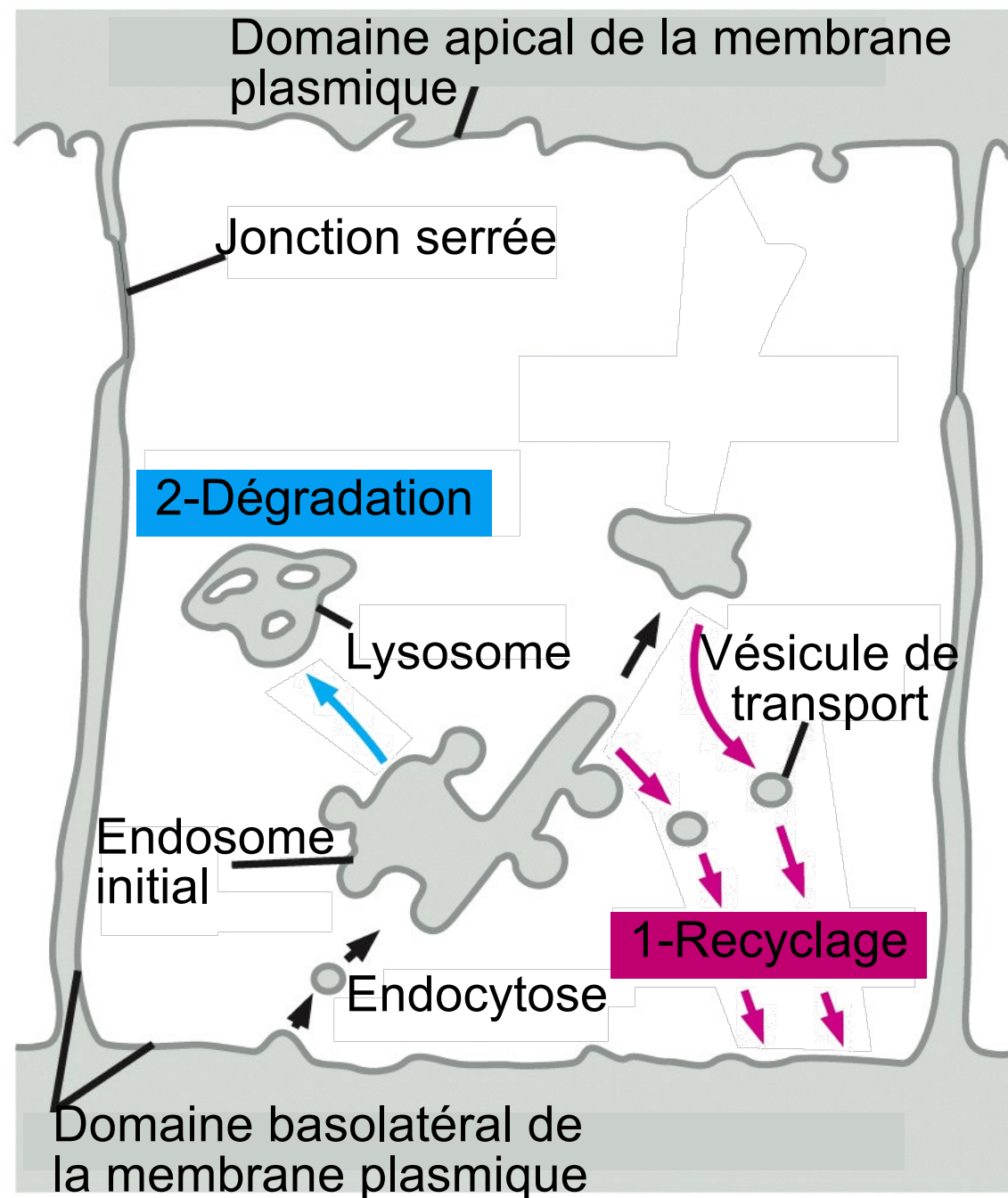
Récepteurs de la transferrine = ●
Récepteurs des opiacés = ●

10 µm

**Devenir du récepteur de la transferrine et de celui des opiacés
30 min après le début de l'endocytose**

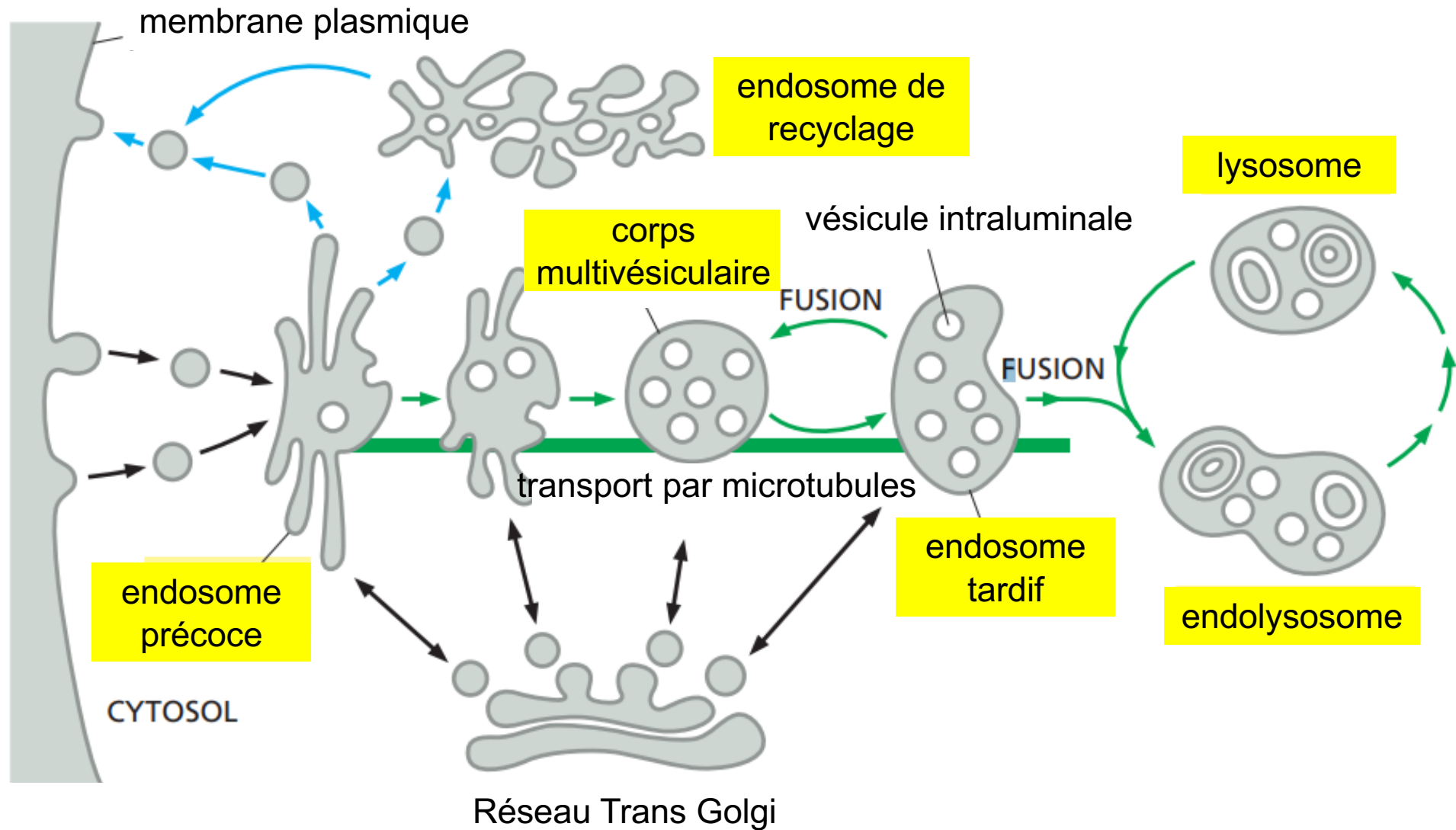


Exemple : recyclage du récepteur des LDL après endocytose

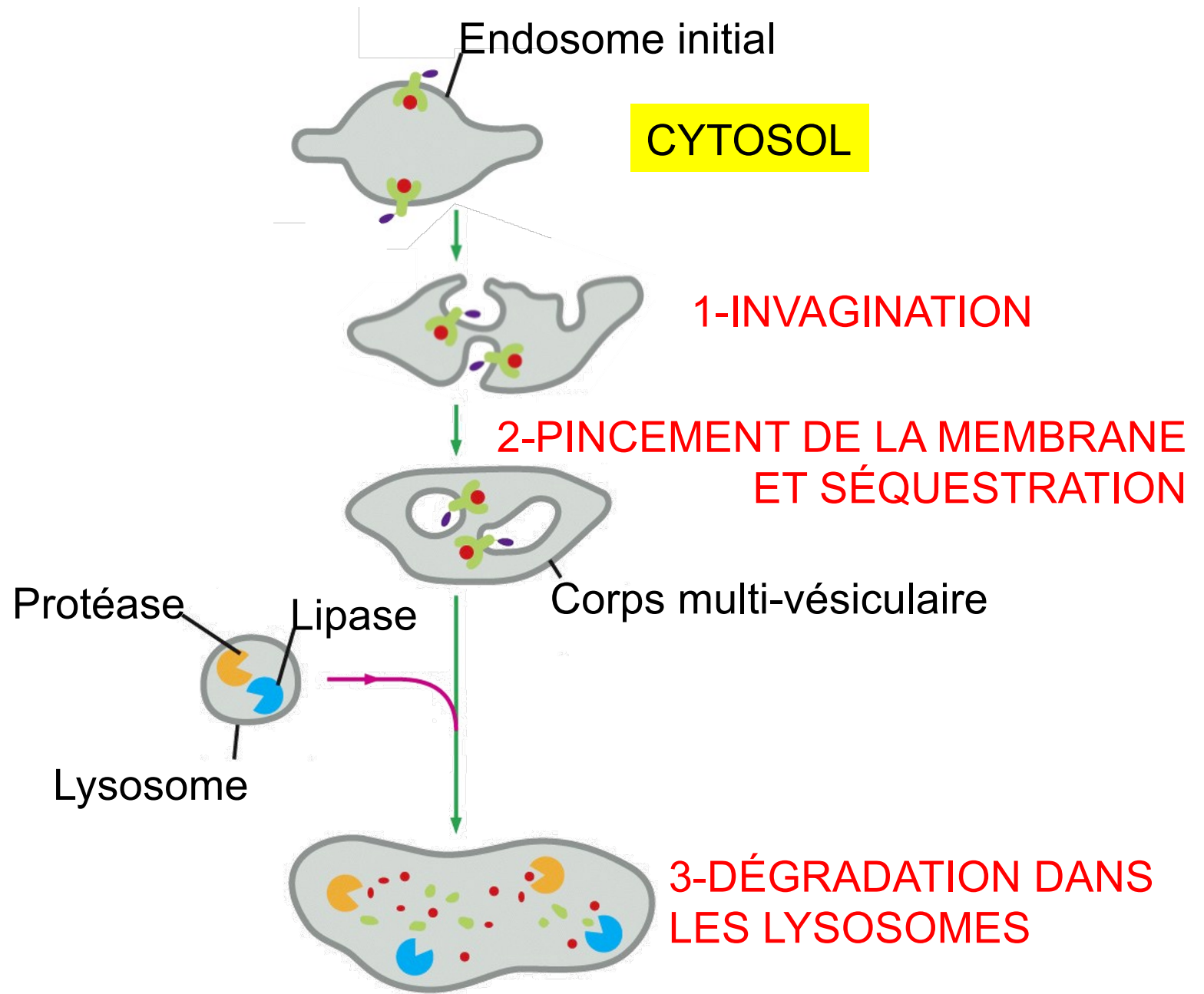


Dégradation dans les lysosomes

acidification



Maturation des endosomes



Séquestration des protéines ayant subi l'endocytose dans des membranes internes de corps multi-vésiculaires

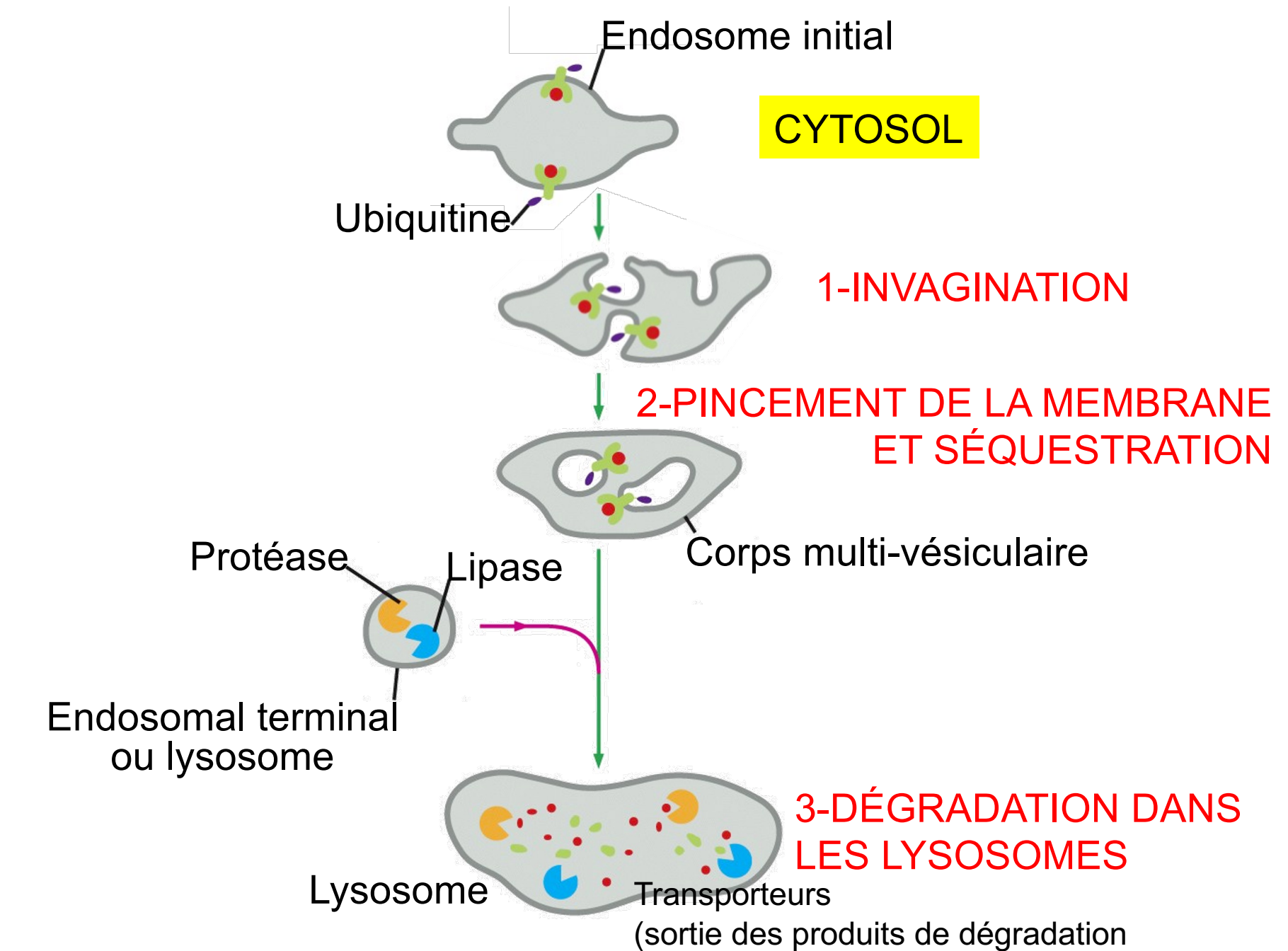
Corps multi-vésiculaire



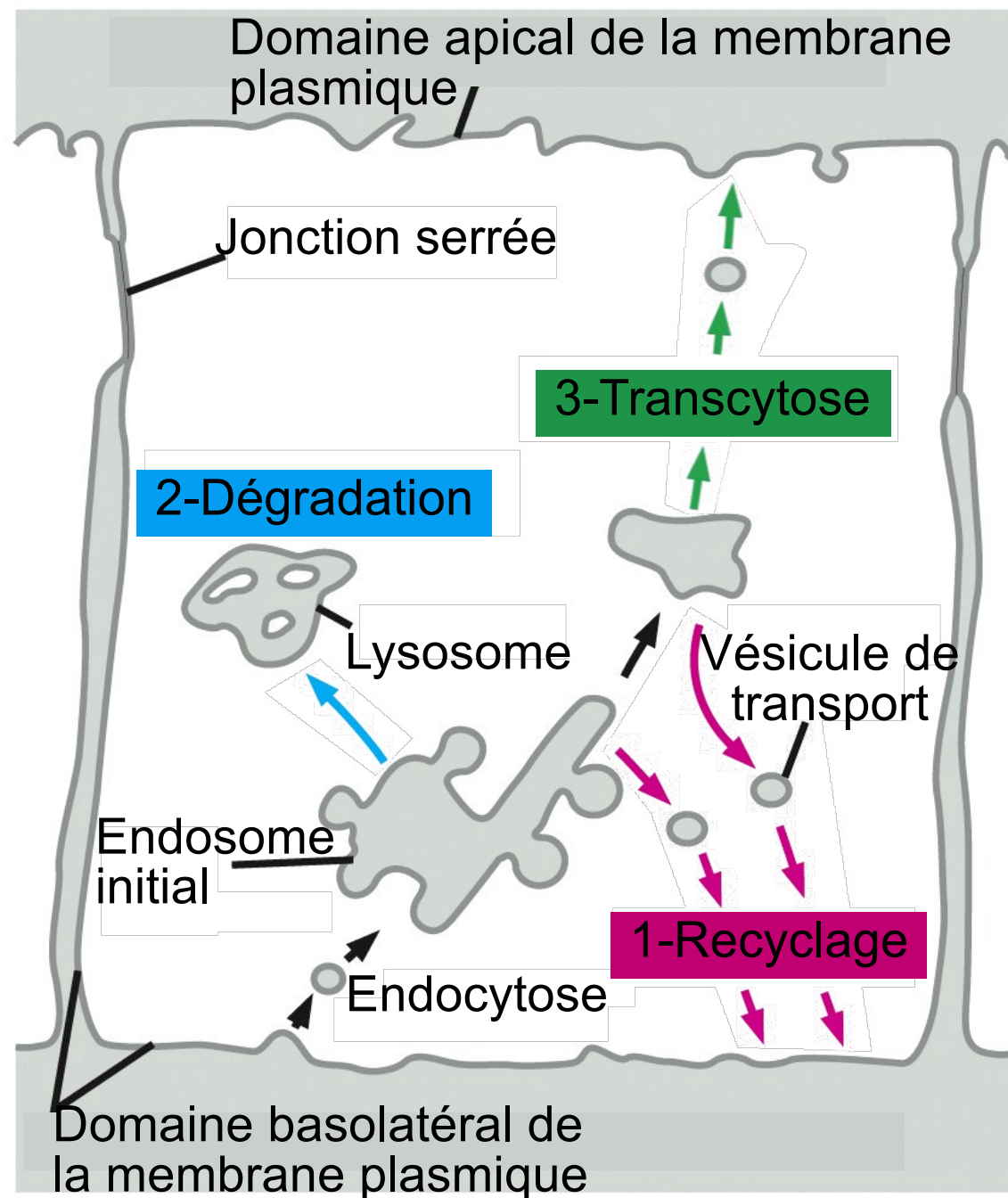
Citernes de
l'appareil de Golgi

0,5 μm

Corps multi-vésiculaires (ME)

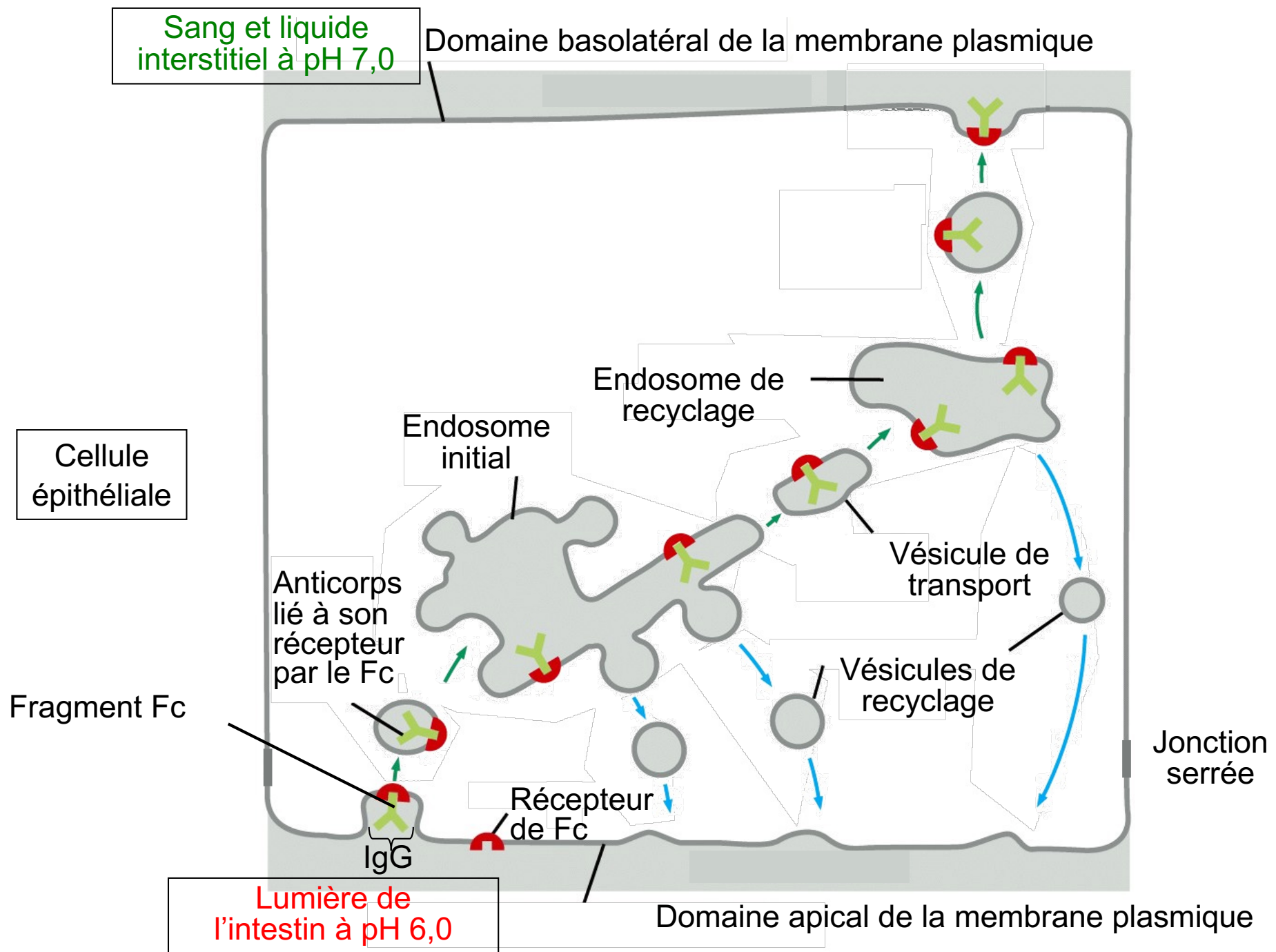


Séquestration des protéines ayant subi l'endocytose dans des membranes internes de corps multi-vésiculaires



La transcytose permet de passer d'une face à l'autre de la cellule en évitant les lysosomes

La **transcytose** correspond au transport transcellulaire de matériaux inclus dans des vésicules qui ne sont pas interceptées par les lysosomes et qui passent, sans être modifiées, à travers la cellule, d'un côté à l'autre.



Transcytose des IgG maternelles à travers les cellules épithéliales de l'intestin

Points à retenir

- Trans-golgi: plate-forme de tri pour partir dans 3 grandes voies de trafic (exocytose constitutive, régulée et trafic vers lysosome)
- pH dans les compartiments intracellulaires : acidification progressive
- les lysosomes fusionnent avec les endosomes tardifs, les autophagosomes et les phagosomes
- importance de l'acidification des lysosomes ($\text{pH} \approx 5$; cytoplasme $\text{pH} \approx 7,2$)
- voie de ciblage vers le lysosome dépendant du mannose-6-phosphate
- sécrétion constitutive (matériel extracellulaire, protéines membranaires et non membranaires, lipides) et régulée
- maturation protéolytique dans les vésicules de sécrétion
- importance des microtubules dans le trafic intracellulaire
- les vésicules de sécrétion permettent de concentrer leur cargaison
- principes de base de l'exocytose aux synapses neurochimiques (déclenchée par l'entrée de calcium provoquée par la dépolarisation de la terminaison synaptique)
- il y a un équilibre dynamique entre les différents compartiments intracellulaires

- Différences entre phagocytose (englobement de gros objets) et pinocytose/endocytose
- Cavéoles, relations avec les radeaux lipidiques
- Endocytose par récepteur interposé, adaptines et constitution du manteau clathrine
- Endosome précoce/initial : plate-forme de tri vers endosome de recyclage ou vers...
- ... Endosome tardif/terminal qui est un corps multivésiculaire séquestrant les composants à dégrader au niveau des vésicules internes
- la dégradation des protéines dans le lysosome n'a rien à voir avec la dégradation par le protéasome.
- la transcytose permet de traverser une cellule en évitant les lysosomes
- immunomarquage en microscopie électronique utilisant des anticorps couplés à des billes d'or