

COURS N° 11 : LE SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

Introduction

Le système endomembranaire d'une cellule eucaryote est constitué d'un ensemble de sacculés limités par une membrane simple, en communication permanente les uns avec les autres et avec la membrane plasmique. Des vésicules très polymorphes assurent la liaison entre les différents compartiments. Ce système comprend :

- ✓ Le réticulum endoplasmique (RE)
- ✓ L'appareil de Golgi
- ✓ Les lysosomes.

Les peroxysomes représentent une classe de vésicules particulières, dont la relation avec le système endomembranaire reste contestée, et dont les relations fonctionnelles sont surtout importantes avec les organites producteurs d'énergie : les chloroplastes et les mitochondries.

1/- Le réticulum endoplasmique

1.1/- Ultrastructure : c'est un réseau de cavités membranaires interconnectées caractéristiques des eucaryotes. Il constitue un système vacuolaire complexe finement divisé et ramifié occupant 10 à 15% du volume cellulaire. Il est délimité par une membrane plus mince que la MP (50 Å) et qui est moins riche en lipides (30%) et donc moins fluide. Quand les membranes du RE portent des ribosomes, le RE est appelé REG ou RER (Réticulum Endoplasmique Granuleux ou Rugueux) et quand elles en sont dépourvues, le RE est appelé REL (Réticulum Endoplasmique Lisse). Le contenu du RE est généralement homogène, moins dense que le cytoplasme et se trouve toujours en continuité avec l'espace périnucléaire. La membrane nucléaire ne serait qu'une partie du RE. Le RE peut présenter de grandes variations selon l'état physiologique des cellules; dans certaines cellules, il envahit tout le cytoplasme laissant peu de place aux autres organites cellulaires alors que dans d'autres cellules, il est réduit à quelques éléments. Des variations de forme peuvent se produire d'un moment à l'autre dans la même cellule. (figure 1 et 2)

1.2/- Composition chimique : l'ultracentrifugation différentielle d'un broyat a permis d'obtenir des fractions appelées microsomes (100 nm de diamètre) qui peuvent être rugueux (provenant du RER) ou lisses (provenant du REL). Ces 2 types de microsomes sont séparés par sédimentation dans un gradient de densité puis les ribosomes sont séparés des microsomes granuleux par l'action d'un détergent (figure 3).

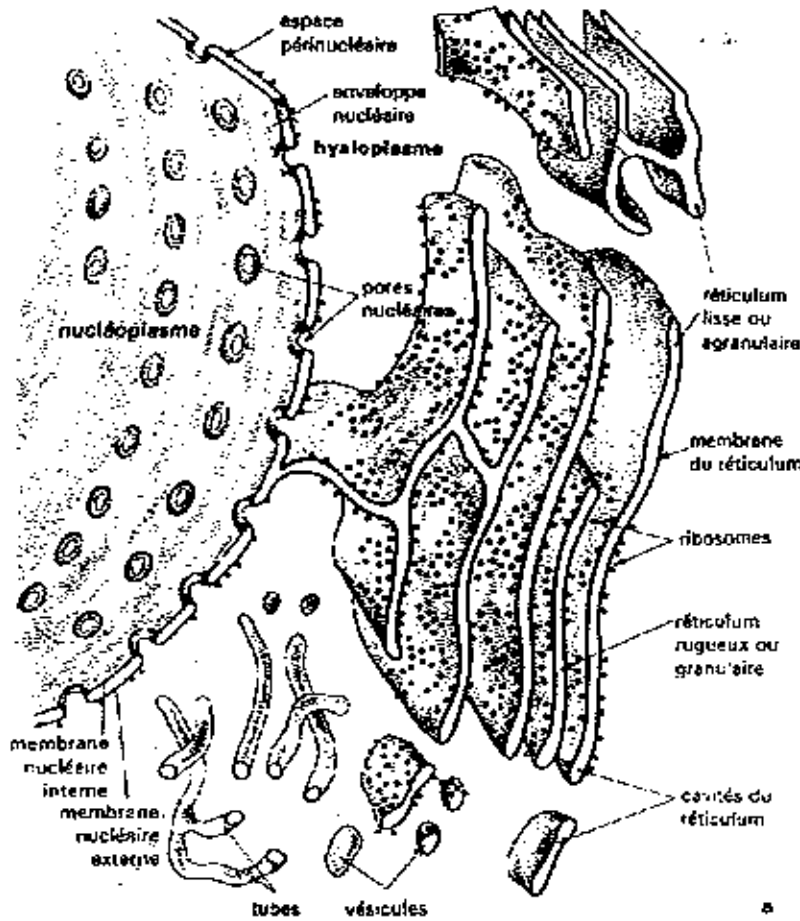


Figure 1 : structure du RE

Figure 2 : structure du RE au MET

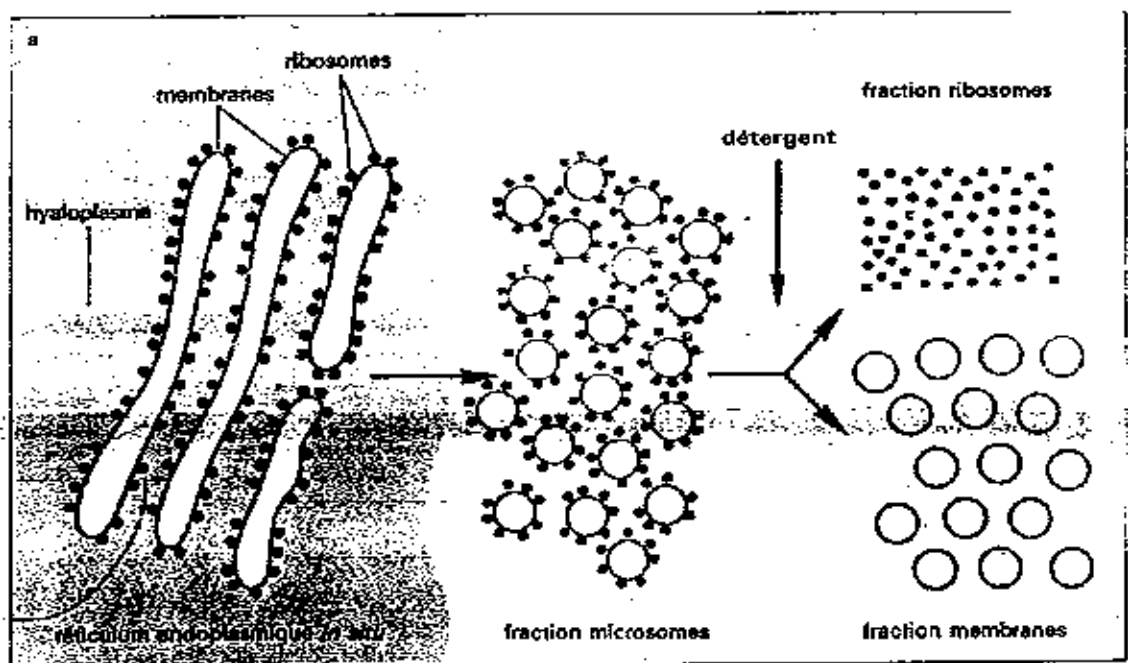


Figure 3 : Formation des microsomes rugueux et lisses

La membrane du RE est constituée de lipides et de protéines. Les lipides sont moins abondants que dans la MP (30% au lieu de 40%) avec moins de cholestérol et de glycolipides. Les protéines sont nombreuses (70%) notamment des enzymes : des hydrolases (glucose-6-phosphate, nucléotides phosphatases,...), des enzymes du métabolisme des acides gras, des glycosyltransférases, des cytochromes p450 et b5.

Le contenu des cavités est une solution aqueuse où domine un mélange de protéines dont la nature varie selon le type cellulaire.

1.3/- Rôles physiologiques : les fonctions du RE sont multiples. Le réseau membranaire assure un support mécanique et un système de circulation pour la cellule, alors que les cavités sont le lieu d'accumulation et de transformation de certaines molécules.

1.3.1/- Transport co-translationnel des protéines : les protéines destinées à être exportées hors de la cellule ou séquestrées dans un compartiment cellulaire sont synthétisées au niveau du REG. Ces protéines sécrétées ont des particularités biochimiques les distinguant nettement de celles qui restent confinées dans le cytoplasme. Elles sont, d'une part, le plus souvent stabilisées par des ponts disulfures et, d'autre part, elles sont très riches en résidus glucidiques liés de façon covalente à la chaîne polypeptidique : on parlera alors de glycoprotéines et de proéoglycannes. Ces modifications caractéristiques sont liées au trajet intracellulaire spécifique qui les conduit du REG jusqu'à l'extérieur de la cellule en passant par l'appareil de Golgi. Certaines sont sécrétées de façon continue par les cellules responsables (protéines sériques, collagène), tandis que d'autres (enzymes, hormones) sont déchargées de manière épisodique, faisant l'objet d'un stockage transitoire au sein de vésicules de sécrétion, dont l'exocytose est contrôlée.

La translocation des protéines destinées au RE s'effectue de la manière suivante (figure 4) :

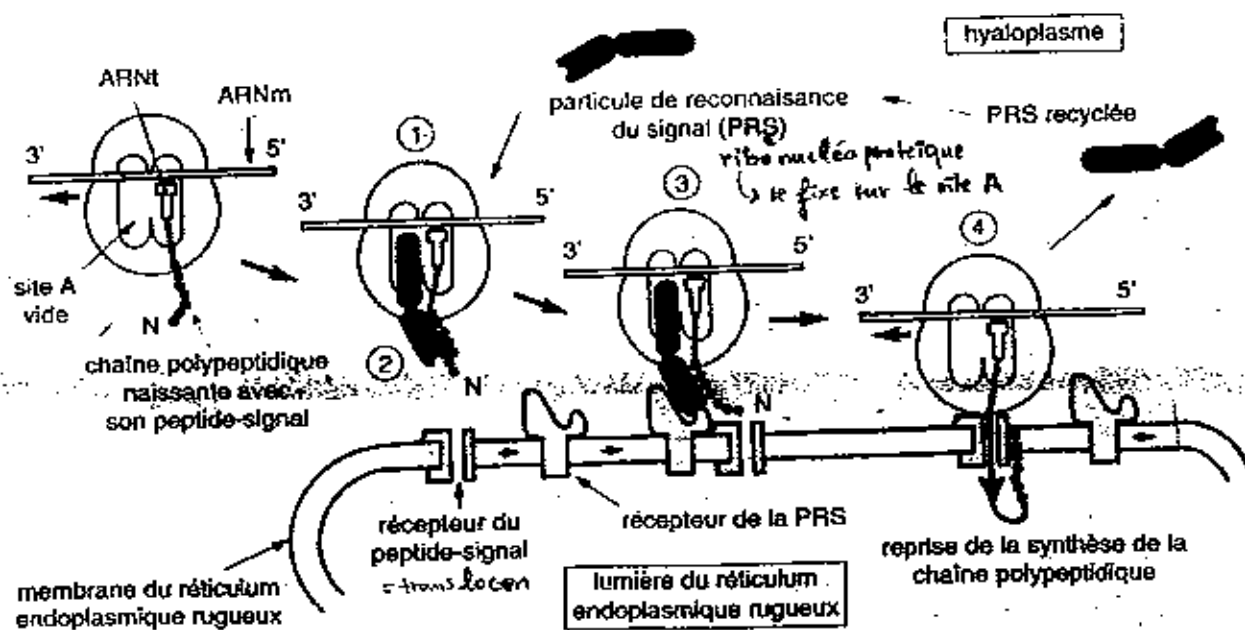


Figure 4 : Mécanisme de l'insertion cotraductionnelle des protéines dans le REG.

- 1 ➤ Le complexe d'initiation, résultant de la fixation de l'ARNm sur la petite sous-unité, se forme dans le cytoplasme à distance du RE ;
- 2 ➤ La grande sous-unité s'associe au complexe d'initiation et commence à synthétiser une protéine qui porte à son extrémité amino-terminale, un signal peptidique hydrophobe d'adressage au RE ;
- 3 ➤ Le signal peptidique est reconnu par une PRS (Particule de Reconnaissance du Signal) ; Une PRS est un complexe ribonucléoprotéique, formé par un ARN 7 S associé à des protéines, qui fait la navette entre la membrane du RE et le cytosol : il s'associe au signal peptidique dès que celui-ci émerge de la grande sous-unité ;
- 4 ➤ La PRS se fixe alors sur le site A de la grande sous-unité et bloque temporairement le processus jusqu'à ce que la sous-unité soit fixée sur le RE . La PRS agit comme une étiquette et permet à l'ensemble PRS/ribosome de s'unir au récepteur de la PRS, une protéine intrinsèque de la membrane du RE, cette liaison est GTP-dépendante ;
- 5 ➤ Le ribosome se fixe par sa grande sous-unité à un récepteur membranaire du RE, le récepteur du ribosome ; la grande sous-unité repose alors sur un transporteur de protéine transmembranaire du RE appelé translocon ;
- 6 ➤ Dès que le ribosome est fixé sur la membrane du RE, la PRS se sépare de la séquence signal (cette séparation nécessite l'union de GTP à une protéine G) et également du site A et du récepteur de la PRS ;
- 7 ➤ Cette séparation autorise le début de la translocation (passage à travers la membrane du RE par le translocon) : elle dépend de l'hydrolyse de l'ATP ;
- 8 ➤ La chaîne polypeptidique recommence à s'allonger mais cette fois-ci en traversant la membrane et en étant injectée dans la lumière du RE ;
- 9 ➤ A la fin de la traduction, le peptide signal est éliminé par une peptidase. Cette excision marque donc la fin de la synthèse et le début du transfert de la protéine néosynthétisée dans le RE ;
- 10 ➤ Les ribosomes se détachent de la membrane, leurs 2 sous-unités se séparent et peuvent être éventuellement réutilisées ;
- 11 ➤ Les protéines sont en général glycosylées au cours de la traduction : la glycosylation modifie la solubilité, la stabilité et la charge des protéines. Les groupes glucidiques des glycoprotéines servent de signaux de reconnaissance.

1.3.2/- Biosynthèse des lipides destinés aux membranes cellulaires : elle se produit sous le contrôle d'enzymes membranaires situées sur la face cytosolique grâce à une série de réactions telles que :

- réactions d'élongation et de désaturation des acides gras dans les membranes du REL des hépatocytes ;
- synthèse d'acides phosphatidiques sur le côté cytosolique de la membrane du REL ;
- synthèse de cholestérol dans les membranes du REL qui se transforme après en acides biliaires et en hormones stéroïdes.

1.3.3/- Détoxification : c'est l'élimination par le REL des substances toxiques dans un organisme. Elle se déroule dans le foie, le rein, l'intestin, les poumons, la peau. Elle se produit par hydroxylation et glycuconjugaison.

Le processus de détoxification débute par une hydroxylation dans le cytosol, puis une série de réactions d'oxydation, catalysées par une classe de protéines actives, le cytochrome P 450 associé à la cytochrome P 450-réductase. Ces molécules sont transloquées dans la cavité du RE, où elles se combinent avec l'acide glycuronique pour former une molécule non toxique (figure 5).

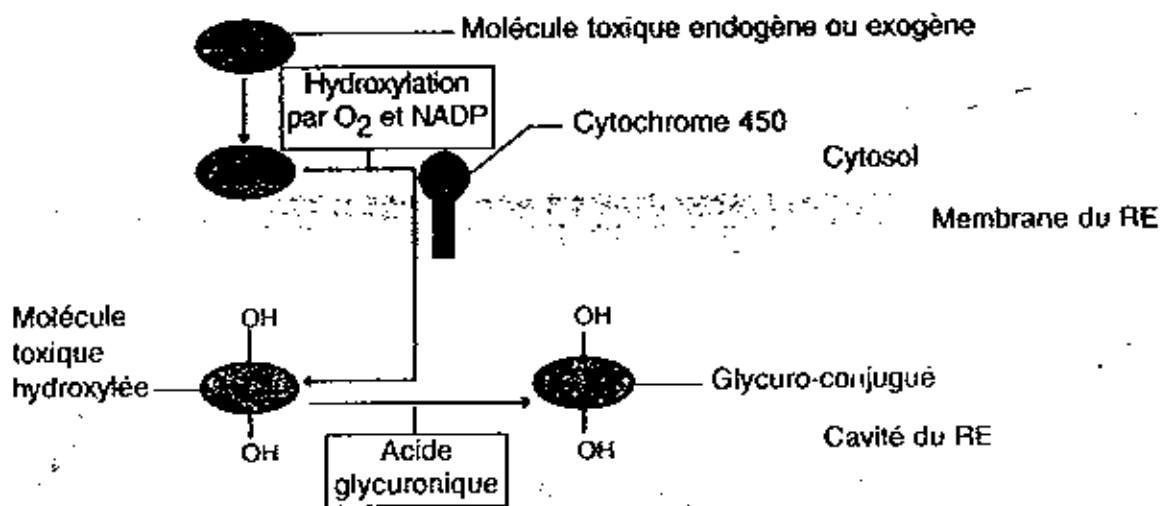


Figure 5 : Détoxification par le RE

1.3.4/- Stockage du calcium : la membrane du REL contient une Ca^{++} -ATPase qui pompe le calcium dans le RE, le concentre dans la lumière et le stocke sous une forme liée à une protéine.

1.4/- Biogenèse : les membranes du RE peuvent être formées par bourgeonnement de la membrane externe de l'enveloppe nucléaire. Dans un premier temps, des lipides forment la bicouche architecturale de base, puis des protéines synthétisées par les polysomes libres ou liés aux membranes du RE préexistant viennent compléter la membrane. D'autre part, on a pu démontrer que les membranes lisses du REL se forment à partir du REG.

2/- L'appareil de Golgi

2.1/- Ultrastructure : il existe dans toutes les cellules eucaryotes et se localise près du noyau. Il est constitué par plusieurs dictyosomes de 1 à 3µ de diamètre et empilés les uns sur les autres.

Chaque dictyosome est constitué de cavités aplaties limitées par une membrane (60 à 70 Å d'épaisseur). Ces cavités ou saccules au nombre de 4 – 8 s'empilent les uns sur les autres et sont séparés par un espace d'environ 200 Å.

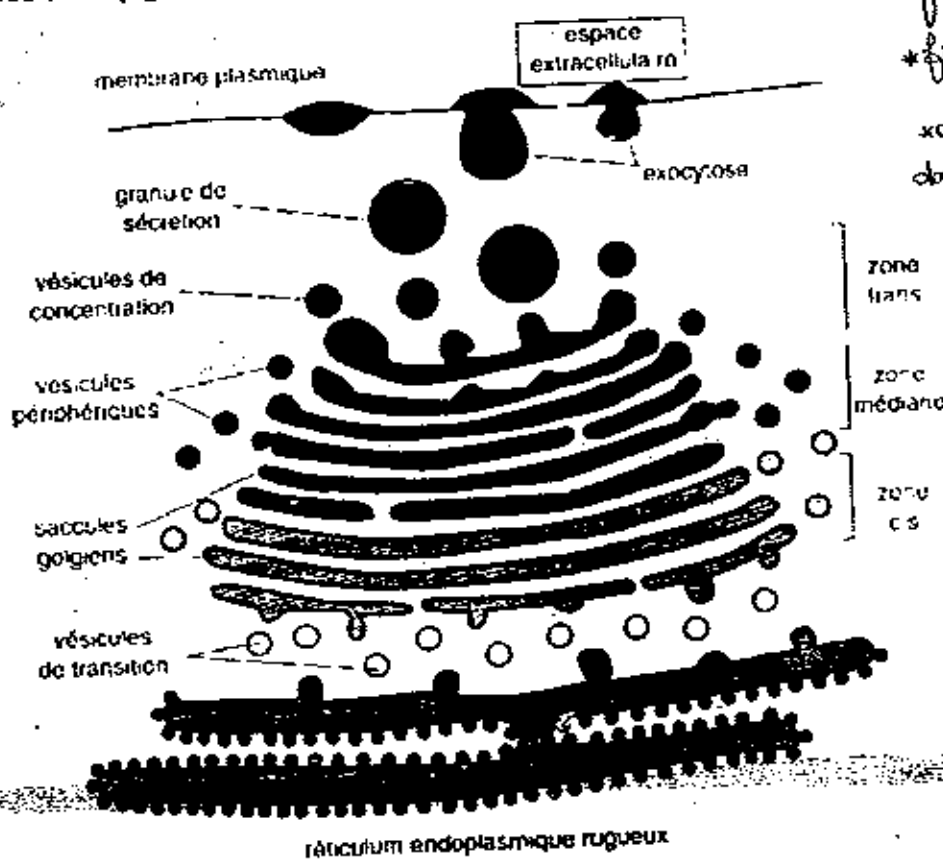
Chaque dictyosome a la forme d'un disque et présente 2 faces : une face cis (face externe) et une face trans (face interne).

La forme de l'appareil de Golgi diffère non seulement d'une cellule à une autre, mais aussi dans la même cellule, car elle varie avec le cycle cellulaire.

La taille varie en fonction du type et de l'activité de la cellule à laquelle il appartient. Il est volumineux dans les cellules glandulaires ou nerveuses, petit dans les cellules musculaires, très développé dans les cellules en hyperactivité, peu développé dans les cellules au repos ou en hypoactivité.

La position de l'appareil de Golgi est péricentrosomale : elle dépend des microtubules et de la kinésine. Elle est relativement fixe pour chaque type cellulaire.

- ❖ **Polarité du dictyosome** : chaque dictyosome possède 2 faces : une face cis proche du RE et de forme convexe et une face trans tournée dans les cellules sécrétrices vers les grains de sécrétion et de forme concave. Cette polarité morphologique va de paire avec une polarité fonctionnelle. Les protéines qui transitent dans l'appareil de Golgi pénètrent dans les saccules par la face cis et s'en échappent par la face trans (figure 6).



* face cis (face externe) : convexe
 * face trans (face interne) : concave
 au cours de la mitose on observe les vésicules golgiennes

Figure 6 : Organisation d'un dictyosome golgien

- ❖ **Rôle des microtubules dans l'intégrité de l'appareil de Golgi** : quelque soit le type cellulaire considéré, l'appareil de Golgi occupe une région proche du noyau et du centre cellulaire, entre le RE et la MP. Les MTs associés à des protéines motrices (la kinésine) maintiennent la localisation, la forme et donc les fonctions du RE et de l'appareil de Golgi.

Au cours de la mitose, l'appareil de Golgi se fragmente en petites vésicules qui se répartissent dans tout le cytoplasme. Au début de l'interphase, lorsque les MTs se reforment, les vésicules golgiennes se déplacent en direction du centrosome. Ces mouvements des vésicules en direction du centrosome ou MTOC dépendent d'une protéine motrice, la kinésine associée aux membranes golgiennes. Elle assure avec les MTs, la responsabilité du maintien de la morphologie et de la position de l'appareil de Golgi.

2.2/- Composition chimique : la composition moléculaire des membranes golgiennes réalise une transition progressive entre le RE et la MP.

La composition en lipides des membranes golgiennes est qualitativement et quantitativement intermédiaire entre celle du RE et celle de la MP. La proportion des protéines membranaires varie également. La membrane des saccules trans est la région de l'appareil de Golgi la plus riche en protéines glycosylées donc riche en glucides.

2.3/- Rôles physiologiques : la fonction essentielle de l'appareil de Golgi paraît être de concentrer certains composés dans des vésicules destinées à être excrétées, ces composés peuvent lui être transmis par le RE ou encore élaborés ou transformés dans le dictyosome.

2.3.1/- Formation des vésicules de sécrétion : la microscopie électronique permet de mettre en évidence les différentes étapes de bourgeonnement des vésicules, de leur fusion en granules et de leur excrétion par exocytose. Le contenu de ces granules est relativement varié; ils peuvent renfermer :

- Des polysides associés à des protéines ;
- Des protéines : grains de zymogène dans les cellules pancréatiques...

Le transfert de ces molécules depuis le RE jusqu'à leur excrétion peut être suivi grâce au marquage par des radioéléments comme la leucine tritiée (voir TD).

Ces produits peuvent être sécrétés hors de la cellule par exocytose d'une façon continue (non contrôlée) ou discontinue (contrôlée) (figure 7). Voir cours « Membrane plasmique »

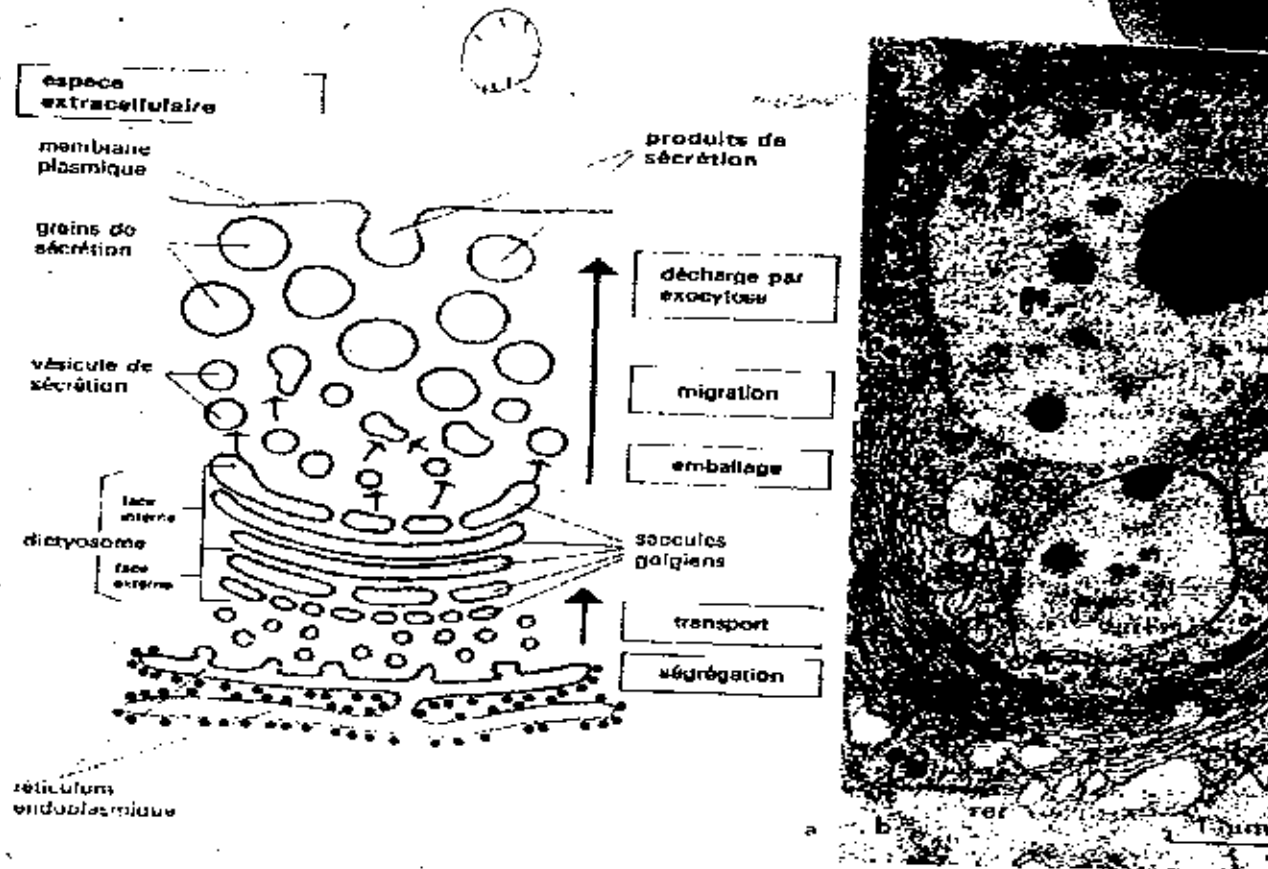


Figure 7 : Emballage des produits de sécrétion par l'appareil de Golgi

2.3.2/- Glycosylation : la synthèse des polysides et leur couplage avec les protéines se font dans les dictyosomes ; cependant, la glycosylation des protéines et des lipides commence généralement dans le RE. Il n'y a pas seulement polymérisation de glucides mais également sulfatation. La sulfatation par les sulfotransférases au niveau des membranes golgiennes concerne les lipides membranaires ou les produits de sécrétion.

La glycosylation de la MP se fait tj sur le côté externe, car la MP naît du fus des vésicules de sécrétion qui sont glycosylées sur le côté interne qui va être le côté externe.

2.3.3/- Production de membranes plasmiques : la décharge des produits de sécrétion dans le milieu extracellulaire par exocytose s'accompagne de la fusion de la membrane des vésicules avec la membrane plasmique. Cette fusion est préparée par des modifications de la composition de la membrane des vésicules au cours de leur migration.

C'est entre la face de formation proximale et la face de maturation distale des dictyosomes que les membranes perdent progressivement leurs caractéristiques RE pour acquérir celles de la MP.

Ce phénomène de différenciation dans l'appareil de Golgi est évident en ce qui concerne la formation du cell coat. C'est en effet dans l'appareil de Golgi que sont glycosylés les protéines et les lipides membranaires qui constitueront les glycolipides et les glycoprotéines de la MP.

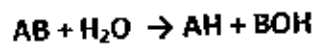
Les vésicules golgiennes spécialisées dans la mise en place du cell coat sont donc elles même pourvues d'un revêtement polysaccharidique interne qui, après exocytose, constituera le cell coat.

2.4/- Biogenèse : le dictyosome est une structure dynamique et sa face externe est appelée face de formation car c'est à son niveau que se forment de nouveaux saccules. Les membranes des saccules golgiens prennent donc naissance par bourgeonnement des membranes du RE.

Au cours de cette biogenèse par transport ou bourgeonnement, tout se passe comme s'il y avait un courant ou flux de membranes depuis le RE jusqu'à la MP.

3/- Les lysosomes

3.1/- Définition et morphologie : ce sont des vésicules cytoplasmiques monomembranaires de 0,5µm de diamètre, visibles en microscopie électronique. Les lysosomes sont riches en enzymes hydrolytiques (une quarantaine d'hydrolases acides dont l'activité optimale se situe à un pH acide compris entre 4,5 et 5,5 et catalysent les réactions de type :



La lumière du lysosome est maintenue à pH acide par une pompe H⁺ membranaire qui consomme de l'ATP pour pomper les protons H⁺ dans la vésicule (figure 8).

Le nombre, la taille et l'aspect du contenu de ces organites sont différents selon la nature de la cellule et sa physiologie.

On classe les lysosomes en 2 catégories : les lysosomes primaires qui ne renferment que des enzymes lytiques et les lysosomes secondaires qui contiennent à la fois des hydrolases et des substrats en cours de digestion.

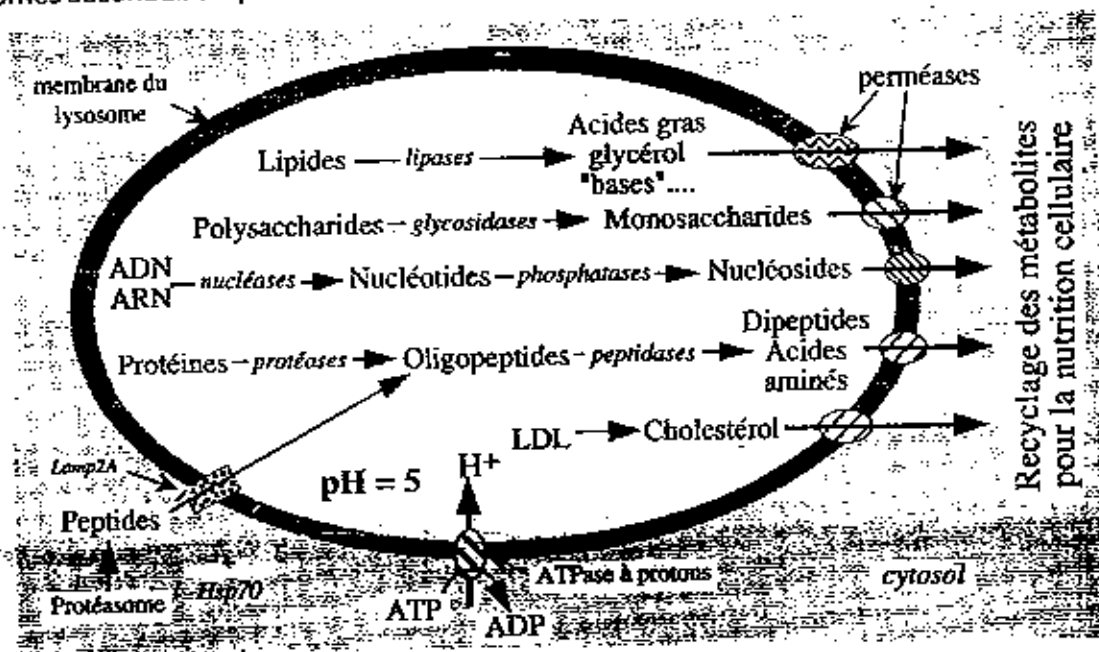


Figure 8 : structure schématique d'un lysosome

3.2/- Rôles physiologiques : les lysosomes permettent la digestion par la cellule de substrats d'origine très variée. Le plus souvent cette digestion est intracellulaire et se déroule à l'intérieur des lysosomes II qui sont de véritables estomacs à l'échelle cellulaire.

3.2.1/- Digestion Intracellulaire : Hétérophagie et autophagie :

Quand le matériel digéré dans la cellule est d'origine exogène, cette fonction digestive est appelée **hétérophagie**, quand le matériel digéré est d'origine endogène (les propres constituants de la cellule), cette fonction est appelée **autophagie**.

La digestion intracellulaire intervient dans de nombreux processus biologiques comme la défense et la nutrition des organismes, la régulation de la sécrétion au cours du développement de certains tissus ou organes.

3.2.2/- Digestion extracellulaire : les enzymes lysosomales peuvent être déchargées hors de la cellule ce qui entraîne la digestion de substrats extracellulaires.

Les ostéoclastes jouent un rôle essentiel dans la résorption du tissu osseux en libérant par exocytose leurs enzymes dans les espaces osseux.

Les collagénases contenues dans les lysosomes I sont également déversées dans la MEC pour détruire le collagène usé, les produits de dégradation subissent ensuite une endocytose et sont transférés à l'intérieur vers les lysosomes I.

3.2.3/- Rôle dans les synthèses hormonales : les thyrocytes de la glande thyroïde élaborent dans leur REG la thyroglobine. Cette hormone sera sécrétée dans le milieu extérieur où elle subit une réaction d'iodation puis revient de nouveau dans le thyrocyte par endocytose. Les endosomes fusionnent avec les lysosomes I où les hydrolases se chargent de scinder l'hormone en 2 molécules : T3 et T4.

3.2.4/- Rôle dans la fécondation : l'acrosome des spermatozoïdes est un lysosome volumineux riche en hyaluronidases, sialidases et en phosphatases acides, qui sont nécessaires à la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte.

L'ovocyte contient lui aussi des lysosomes appelés granules corticaux riches en hydrolases libérées après la fécondation dans le milieu extérieur pour empêcher une double fécondation.

3.3/- Biogenèse des lysosomes : les enzymes lysosomales sont synthétisées dans le REG puis glycosylées dans l'appareil de Golgi. Des vésicules à hydrolases bourgeonnent alors de la membrane de la zone trans de l'appareil de Golgi et sont recouvertes par un manteau de clathrine/adaptine. Dès que ces vésicules recouvertes s'éloignent de l'appareil de Golgi, elles se débarrassent de ce manteau et se laissent entraîner par les courants cytoplasmiques vers les compartiments renfermant le substrat à dégrader (figure 9).

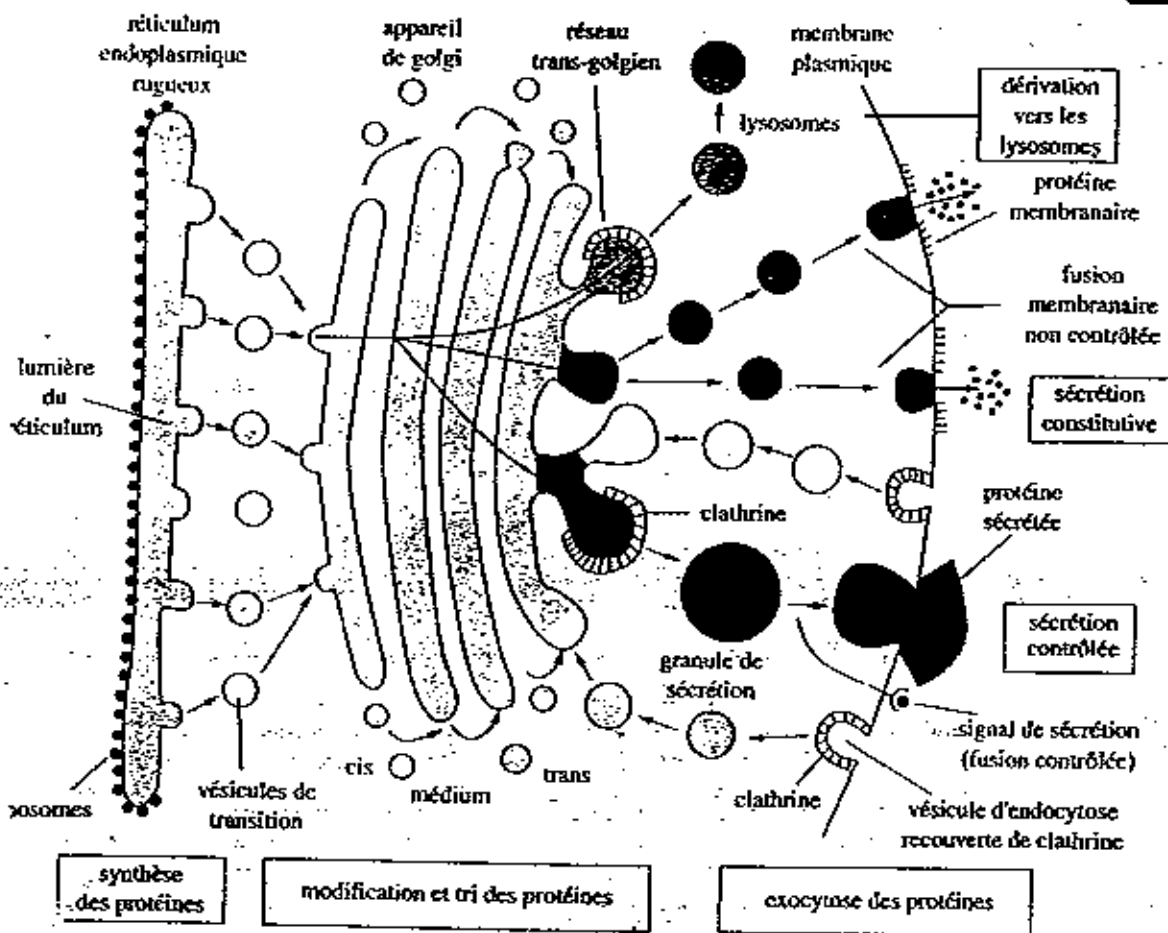


Figure 9: schéma récapitulatif de la biogenèse des lysosomes dans le flux membranaire golgien