

**PLAN**

- I. Généralités**
  1. Méthode de détermination
  2. Prise en charge de l'ARN.
  3. Transport des protéines
  4. Conséquences au niveau protéique
- II. Les ribosomes des cellules eucaryotes 80S**
  1. Synthèse de protéines
  2. Les protéines à destination du cytosol
  3. Les protéines à destination des peroxysomes
  4. Les protéines à destination des mitochondries
- III. Méthodes d'études des mécanismes d'adressage des protéines vers une organelle**
  1. Identification des séquences signaux
  2. Marquage de la protéine par radioactivité ou incorporation d'une séquence fluorescente (GFP)
  3. Fractionnement subcellulaires en présence et absence de détergeant
- IV. Etudes des mécanismes de translocation**
- V. Etude acellulaire des mécanismes de transport vésiculaire**
- VI. Reticulum endoplasmique et appareil de golgi**
- VII. Reticulum endoplasmique**
  1. Synthèse de protéines sur la membrane du RE et transports
  2. Modification des protéines, contrôle de qualité au niveau du RE
    - i. Formation de pont disulfure (Cys-S-S-Cys)
    - ii. Les N-Glycosylations
    - iii. Structuration des protéines autour de la membrane
  3. Translocation du cytosol vers le RE des peptides antigéniques provenant de la protéolyse cytosolique par les protéasomes
  4. Le REL: site de stockage du Calcium (Ca++)
  5. Autre fonctions spécialisées du RE, localisées dans la membrane
- VIII. Structures et fonctions du système golgien**
  1. Observations
  2. Types de vésicules
  3. Fonctions
- IX. Mécanisme de transport entre RE, Golgi et Mb Plasmique**
  1. Types de vésicules
  2. Mécanisme de reconnaissance et de fusion.

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

### I. Généralités

Des coupes sériées du cytoplasme permettent de visualiser au microscope optique des territoires cytoplasmique fortement colorés basique indiquant la présence d'acides nucléique.

De telles particules de 250-300Å de diamètre, globalement globulaire correspondent aux ribosomes ou ribonucleoprotéines, lieu de synthèse de protéines (formation des liaisons peptidiques). Quelque soit le gène d'origine ou la destination des protéines, ce sont les ribosomes qui sont responsable de la synthèse.

Les ribosomes existent chez tout les eucaryotes et sont très proche structuralement et fonctionnellement.

Ces ribosomes ont des configurations qui leur sont propre et qui sont facilement reconnaissable:

- **Ribosomes libre ou polysome:** ribosome non attaché à des membranes, regroupé dans de petit assemblage, situé entre les structures membranaires, libre dans le cytoplasme. Structure parfois circulaire, démonstratif par rapport à l'optimisation des synthèses.
- **Ribosomes attaché aux membranes:** empilements de membrane tapissé de ribosomes. Constituant le réticulum endoplasmique granulaire.

Les mécanismes de synthèse et dégradation des protéines sont intimement liées:

- 4 millions de protéines synthétisées par minute, à l'aide de 6 millions de ribosomes. Il y a un excès de ribosomes, donc plusieurs ribosomes seront simultanément en charge de la synthèse d'une seule protéine.
- La cellule contient 3 milliards de protéines, il faudrait quelques minutes les synthétiser.
- Le tiers des protéines synthétisées seront dégradées et recyclées rapidement par la cellule.

Environ 50% des protéines synthétisés sont à destination de membrane (transmembranaire ou attaché au GPI) ou soluble (cytoplasme ou noyau). Parfois des protéines solubles peuvent être rattachées aux membranes par des protéines membranaires.

#### 1. Méthode de détermination

- **Marquage à la Leucine <sup>3</sup>H** (méthode simple)
- Mise en évidence de modification des protéines glycosylées (fixation post traductionnelle d'une copule glucidique) qui peuvent être localisé par anticorps.
- Localisation subcellulaire dynamique des protéines marquées par la **GFP** (Green Fluorescent Protein)  
Des poissons et coraux des mers du Sud fluorescent en présence de lumière. Les protéines le permettant ont été clonée et étudiée. On peut alors intégrer cette séquence ADN dans une séquence codant pour une protéine.  
La séquence fluorescente est une **Serine-Tyrosine-Glycine**, qui est un **chromophore**.
- **Technique de blanchiment** rattaché à la méthode précédente: illumination saturée d'un groupement fluorophore, l'excitation qui en résulte désactivera la fluorescence pendant un temps, puis la cellule mettra un petit moment avant de recommencer à fluorescer.  
On peut alors mesurer le temps que met la cellule pour remplacer les protéines aveuglées. Permet la mesure de vitesse, de cinétique.

#### 2. Prise en charge de l'ARN.

**ARNm** est exporté dans le cytoplasme. Ce n'est que dans le cytoplasme qu'il y aura interaction entre ARNm et les ribosomes et synthèse peptidique.

Les deux classes de ribosomes vont permettre des déformations de protéines différentes:

- en solution aqueuse la protéine se replie naturellement.
- dans les membranes du RE, le repliement mettra en jeu les membranes

Destination des ribosomes libres: membranes, peroxyosomes, mitochondries, noyau

Destination des ribosomes systèmes golgiens et système réticulaires: membranaire/excretion

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

---

### 3. Transport des protéines

Transport des ribosomes en interaction avec les structures membranaires (RE occupe le tiers des structures membranaires d'une cellule). Les protéines à destination de membranes restent en contact avec des membranes tout au long de leur transport.

Dans une protéine codée par des ARNm, il existe des domaines qui sont responsables de l'adressage interagissant avec d'autres protéines d'adressages à proximité. C'est à dire qu'on peut induire la destination d'une protéine en changeant la séquence signal.

Les ribosomes membranaires et ribosomes des polysomes sont les **même**. Ce ne sont pas les ribosomes qui sont responsable de l'adressage.

Le complexe ARNm, ribosome, protéine d'adressage va interagir avec le RE.

### 4. Conséquences au niveau protéique

Différence entre les protéines à destination des organelles/noyaux et celle qui seront membranaires ou excrétées.

Dans **les compartiments membranaires**, il y a des modifications des protéines:

- Formation contrôlée de **pont S-S**, Les vésicules sont donc **oxydante**, favorisant la formation des ponts.  
Exemple de l'insuline, dont le fonctionnement dépend de son repliement
- O ou N-Glycosylation (addition d'hydrates de carbone): la protéine est modifiée
- Protéolyse dans la maturation de protéines: certaines chaînes excisées
- Plusieurs chaînes peuvent s'assembler
- Phosphorylation et déphosphorylation
- Repliement tridimensionnel
- Ubiquitinylation sur les lysines
- Accrochage de chaînes d'acides gras.

Ces modifications se font en milieu clos, oxydant, n'altérant pas le reste de la cellule.

## II. Les ribosomes des cellules eucaryotes 80S

### 1. Synthèse de protéines

Le ribosome est formé d'une structure 80S. Elle est formée de deux sous-unités formées de protéines et d'acide ribonucléique (d'où leur coloration) qui sont:

- La grande sous-unité 60S: 3 ARN 28S, 5.8S et 5S avec une 40aine de protéines
- La petite sous-unité 40S: contenant 18S et des protéines

La structure active du ribosome est formée lorsqu'il y a interaction entre les deux sous-unités, elles ne sont pas toujours associées, mais lorsqu'une protéine a besoin de sécréter ou synthétiser, il y a accollement des deux SU.

Les ARN de transfert (ARNt) sont localisés sur la grande sous-unité. Le cheminement du premier codon vers le deuxième etc... fait que la liaison peptidique est formée.

Il n'y a pas de ribosome fonctionnel dans le noyau. Les ARNm vont s'associer d'abord avec la petite sous-unité grâce à une séquence de 30 nucléotides. L'ARNm est reconnu, il y a fixation de l'ARNt et de la grande sous-unité. Les différents codons seront présentés aux ARNt et il y aura formation de liaison de chaîne peptidique.

La chaîne peptidique commence à se replier et à interagir avec des protéines environnantes.

Le sens de la lecture du ribosome va du 5' vers le 3'. Dès que la chaîne protéique est exprimée à la surface du ribosome, elle se retrouve accessible aux facteurs du milieu environnant et donc pourront adresser le complexe ribosome-protéine vers les destinations.

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

---

### 2. Les protéines à destination du cytosol

La moitié des protéines sont synthétisées au niveau des ribosomes libres. Ces protéines forment l'essentiel des protéines cytoplasmique et nucléaire.

Les mécanismes de modification des protéines ont lieu au cours de synthèse et ne font pas intervenir de membrane.

Ces mécanismes sont extrêmement efficace et on considère qu'une protéine moyenne peut être synthétisé en **quelques dizaines de seconde**. Pour satisfaire les besoins de la cellule (qui s'évalue en milliard de protéines), et sachant que la durée de vie d'une cellule est d'environ de 24h, les ribosomes libres s'associent en polysomes synthétisant la même protéine: sur une seule molécule d'ARNm il y aura plusieurs ribosomes, la vitesse de synthèse sera plus élevée.

Les ribosomes libres se rassemblent en polysome (pseudo circulaire), ainsi l'ARN qui arrive en bout de synthèse sur un ribosome sera rattaché directement à un autre ribosome.

La cellule optimise le lieu de synthèse de la protéine par rapport à son utilisation: le complexe de synthèse sera transféré dans le lieu de localisation.

*Exemple:*

- *Dans des cellules nerveuses: ARNm des protéines à distances sont acheminés.*
- *Les cellules musculaires (myoblaste), l'ARNm codant pour la Beta-Actine est acheminée par le système de microtubules à la périphérie de la cellule à l'endroit de formation des complexes. De même pour l'alpha-Actine, synthèse à la périphérie du noyau au niveau des myotubes*

Si on bloque la polymérisation/depolyomérisation des microtubules, on perd ces localisations de protéines. Donc il y a un dysfonctionnement de la cellule

### 3. Les protéines à destination des peroxysomes

L'entrée des protéines repliées dans la matrice des peroxysomes est due à la présence d'une **séquence signale** présente aux extrémités N- ou C-Terminale.

Les peroxysomes (0.2 microns) ont **une seule bicouche** et contiennent des **oxydases** et des **catalases** (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dont l'énergie est convertie en **chaleur** et groupement acétyls transportés dans le cytosol.

Permettent de **detoxifier** un certain nombre de molécules. On les reconnaît par:

- L'existence d'une seule bicouche lipidique
- Présence de **micro-cristaux** ± importants qui sont des cristaux d'une oxydase.

Ces peroxysomes sont particuliers par rapport aux systèmes de détoxification: il y a un mécanisme de **reconnaissance** et **transport**, les protéines qui sont destinées aux peroxysomes ont des structures qui l'adresse. Les protéines sont synthétisées au niveau d'un polysome et vont entrer dans les structures membranaires dans lesquelles vont se rassembler d'autres protéines.

Dans le cytoplasme, les protéines à destination du peroxysome sont reconnues par un récepteur (Reconnaissance cytoplasmique), s'accrochent à la membrane (Reconnaissance membranaire) et passent la membrane du peroxysome.

Certaines maladies génétiques touchant des protéines de transport et de reconnaissance donnent un dysfonctionnement du peroxysome: Les séquences d'acides aminés qui servent aux mécanismes de reconnaissance ne sont pas reconnus.

Le dysfonctionnement des mécanismes de transport (mutation des récepteurs ou protéine cytoplasmique) génère des maladies invalidantes:

*Exemple de l'adénoleucodystrophie: l'enzyme qui permet la dégradation d'acide gras à très grande chaîne n'est pas transporté à l'intérieur du peroxysome.*

## **COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES**

---

### **4. Les protéines à destination des mitochondries**

La synthèse et l'adressage de protéines à destination des mitochondries seront étudiés dans le chapitre sur les mitochondrie. Présence de séquences signal, reconnaissance, transport au travers de la double membrane, repliement et adressage final: séquence protéique synthétisé dans le cytoplasme puis adressé.

### **III. Méthodes d'études des mécanismes d'adressage des protéines vers une organelle**

#### **1. Identification des séquences signals**

Ces séquences sont reconnus au cours de la synthèse et non une fois dans le cytoplasme. Identifiées par génie génétique de la séquence sur une protéine résident dans le cytosol.

#### **2. Marquage de la protéine par radioactivité ou incorporation d'une séquence fluorescente (GFP)**

#### **3. Fractionnement subcellulaires en présence et absence de détergent**

Les protéines incorporées dans un organelle sont protégées des protéases en absence de détergent, et sensible aux protéase si il y a détergent. Une protéine a une activité enzymatique ne pourra pas être mis en évidence si elle est enfermée dans une membrane.

### **IV. Etudes des mécanismes de translocation**

**Fixation par génie Génétique de séquence d'adressage en N ou C terminal, avec fixation d'un marquage par la GFP, permet de visualiser l'organite cible.**

Si la protéine est marqué en N-terminale, la GFP fluorescera précocément, et on pourra observer les phénomènes précoces: mécanisme de translocation des ribosomes. Les marquages sur C-terminal permettent de voir les destinations et les mécanismes terminaux des protéines.

***Exemple d'une déshydrogénase** qui utilise comme substrat l'histidine. C'est une enzyme normalement cytosoluble, donc une levure qui a cette enzyme fonctionnelle va pouvoir utiliser le précurseur de l'histidine et en fabriquer. Les levures qui manquent cette enzyme vont avoir besoin d'une histidine toute faite pour survivre.*

*Cette enzyme est normalement cytoplasmique, si on greffe une séquence d'adressage pour le RE, elle devient une protéine présente dans les structures membranaires. Donc la déshydrogénation de l'histidinol ne va plus être possible, et celle-ci aura besoin d'histidine déjà prête.*

Les séquences signales sont essentielles pour la fonction de la protéine. Ces séquences sont différentes pour l'importation dans le noyau ou le peroxysome par exemple.

### **V. Etude acellulaire des mécanismes de transport vésiculaire**

Il est possible de fractionner les éléments vésiculaires intracytoplasmique et d'isoler ainsi les dictyosomes (empilement golgien). Tout système hydrosoluble va rester à l'extérieur, et tout système liposoluble pourra entrer dans de tels système.

Il permet de voir quels systèmes membranaires sont utile à une protéine. Le RE sert à choisir une destination, tandis que le Golgi est plus pour les transports.

Entre ces systèmes, il y a des transports vésiculaires, dont les protéines sont dépendantes jusqu'à leur destination finales. Séparation en deux: ce qui est synthétisé au niveau membranaire et ce qui est synthétisé dans le noyau.

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

---

En système membranaire, la synthèse se fait sur des vésicules que l'on peut isoler.

*Expérience: Synthèse de protéine liposoluble sans microsomes (vésicules)=> les protéines synthétisées ne seront pas intégrées à une membrane. Si le milieu n'est pas adapté, la protéine ne se replie mal ou arrête sa synthèse. Elle n'intégrera pas de membrane après coup.*

*Synthèse avec des microsomes, les ribosomes adhèrent à ces vésicules et les protéines néo-synthétisées pourront être intégrées dans la membrane. Les séquences signales seront excisées.*

### VI. Reticulum endoplasmique et appareil de golgi

Ces deux ensemble de structures font partie du système endomembranaire, cavités limitées par une bicouche lipidique associées à des protéines sur ces deux faces. A lui seul, le réticulum endoplasmique correspond à 50 % de la surface membranaire de la cellule.

A l'intérieur de ce système membranaire, il y a un milieu hydrosoluble et qui contient des protéines hydrosolubles. Les protéines membranaires seront en interaction avec des structures/séquence qui seront accessibles à l'intérieur et à l'extérieur du cytoplasme.

Ces structures membranaire sont dépendante d'une architecture:

- Le RE est associé à l'enveloppe nucléaire et accolé au noyau.
- Golgi et une partie du RE, il y a adossement à un réseau de microtubules. Donc si les microtubules bougent, il y aura changement de disposition membranaire.

On distingue:

- Le **REG** (recouvert de ribosomes): synthèse de protéine membranaires
- Le **REL** (dépourvu de ribosomes): mécanismes de synthèse de lipide et production de microvésicule et mécanisme de transport.

Il est possible de les séparer après agitation et centrifugation différentielle. C'est ainsi que l'on a pu d'une part identifier les mécanismes de translocation dans le REG, d'autre part les mécanismes de transport et de synthèse de phospholipide dans le REL. Ces structures sont en continuité et interagissent

Le RE est le lieu de passage des protéines excrétées et membranaires.

Ces deux systèmes **contiennent** pour partie des **constituants** provenant ou se dirigeant vers la **membrane plasmique**. Des protéines présentes dans la lumière resteront dans la partie aqueuse de la vésicule et seront excrétées, les protéines qui sont dans la membrane y resteront.

**Les séquences qui sont accessibles ou reconnues, le restent à leur destination finale:**

- **Le cheminement d'une protéine synthétisée est le même:**
  - Entrée dans le RE: bourgeonnement et formation de vésicule
  - Fusion avec le système golgien, à nouveau passage dans une vésicule
  - Fusion avec la membrane plasmique.
- **Les mécanismes d'endocytose:**
  - Récupération des éléments de l'extérieur de la cellule, passage dans des vésicules
  - Passage dans les endosomes, passage dans le système golgien, puis RELe flux retrograde part des endosomes et membrane plasmique vers le RE.

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

### VII. Reticulum endoplasmique

#### 1. Synthèse de protéines sur la membrane du RE et transports

Il assure la synthèse et la translocation des protéines solubles, membranaire ou ancrées.

Rôle du RE

- **N-Glycosylation**
- Le **repliement** à lieu dans le RE.
- L'émission de **signaux** vers le **noyau**
- Synthèse de **phospholipides**
- **Réserve de calcium**
- **Déphosphorylation** du Glucose-6-phosphate

La synthèse de la plupart des protéines qui vont quitter le cytosol est initiée sur les ribosomes libres, et ensuite passent dans le système membranaire. Ces protéines comportent donc au niveau de leur extrémité N-terminale une séquence signal. Ces séquences ont des particularités:

- Derrière une courte séquence d'AA, il y a une séquence de **15AA hydrophobes** qui vont pouvoir **s'ancrer** directement dans la **membrane**.
- A courte distance, en aval de cette séquence signal, il y a une **séquence signal de coupure**.

Le site de coupure induira la perte de la séquence signal et de la séquence d'ancrage.

On peut artificiellement adresser une protéine qui est normalement adressé au cytoplasme:

- La séquence signal est reconnue par une particule du cytosol (**SRP, rnp GTPase**) fixant de nombreuses protéines comme les **HSP**.
- Fixation sur la **membrane du RE** qui contient un **recepteur** pour la **SRP**.
- Le complexe se **fixe sur le translocateur transmembranaire** par l'intermédiaire de la **grande SU ribosomique**. Le complexe ribosome-ARNm-AA, va **s'associer** à la **membrane** plasmique à travers le **translocon**, qui est d'abord fermé.
- **Ouverture du translocateur** poursuite de la synthèse, protéine en synthèse associée aux chaperrone intraluminale.
- La **séquence signal hydrophobe** va rester **ancrée** à la **membrane**, c'est une première **interaction forte**.
- Extrémité N-terminale cytosolique, la séquence signal associée aux protéines du translocateurs.

Au cours de la synthèse, certaines séquences vont passer dans la lumière. La séquence hydrophobe va être excisée et la protéine va se replier. Ceci fait intervenir un nombre de protéines de reconnaissance qui sont présente dans le cytoplasme et sur la surface du RE.

Les interactions sont de type ionique, et on peut isoler ces recepteurs en jouant sur la force ionique. On peut mettre en évidence l'utilisation d'énergie, il y a des mécanismes actifs donc, nécessitant du GTP, cet apport d'énergie est couvert par la cellule.

Les systèmes d'adressage du RE nécessitent un **adressage** et une **interaction** entre la **protéine** en voie de synthèse et les **paroi** du REG.

Transport à travers une membrane, d'où le terme de **Translocation**: Mécanisme de synthèse protéique + Mécanisme de transport dans le RE.

Ce mécanisme se retrouve aussi bien chez les procaryotes et chez les eucaryotes:

Chez les eucaryotes: reconnaissance des protéines dans la lumière, et ceci forme un complexe présent au niveau de la membrane.

Chez les bactéries, il y a les même systèmes, mais le système de translocation se met en contact avec l'espace extra-cellulaire.

On distingue trois modes de translocation:

- Sans énergie supplémentaire
- Avec ATP
- Avec protéine cytosolique

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

### 2. Modification des protéines, contrôle de qualité au niveau du RE

#### i. Formation de pont disulfure (Cys-S-S-Cys)

Les lumières du **cytoplasme** est un milieu **reducteur**, il y a donc peu ou pas de pont dissulfure. Les pont SS ont besoin d'être dans un milieu oxydant, présent dans la lumière d'un élément membranaire.

Certaines protéines interviennent dans la formation de pont dissulfure dans l'espace cytoplasmique.

*Ex: Insuline synthétisé en pro-insuline qui comporte 6 cystéine, il y aura donc 3 ponts dissulfure. Or les ponts dissulfure se font entre la 1-4 la 3-5 et la 2-6. Lors de la synthèse, il faudra éviter que l'insuline ne fasse de pont entre la 1-2 par exemple. La lumière du RE aura donc des protéines qui régulent le repliement.*

**Le repliement et la formation de pont dissulfure sont donc régulé dans le RE par des protéines Chaperrones. Elles permettent un adressage et un repliement correct. Des disulfides-isomérase permettant d'ouvrir un pont dissulfure permettant la formation d'un autre pont disulfure.**

#### ii. Les N-Glycosylations

La présence de **glucides** sur une protéine est utile à **l'interaction** ou **signalisation**. Une partie de ces sucres sont synthétisés au niveau du RE. **Il est possible de modifier les glycosylations génétiquement**. La plupart des protéines de la membrane plasmique ou excrétées comportent une ou plusieurs copules glucidiques. La N-Glycosylation est plus dynamique et comprend la fixation d'oligosaccharride (ils sont complexe >10aine) branché qui sont ultérieurement remaniés débute dans le reticulum endoplasmique.

- **La synthèse initiale des oligosaccharrides a lieu dans le cytoplasme.** Cette copule glucidique peut prendre plusieurs formes
- Elle s'ancre à la membrane du RE.
- Il y a transfert glucidique de l'extérieur vers la lumière du reticulum, assuré par enzyme.
- Dans la lumière du RE, il y a des modifications:
  - le nbr de branchement augmente, le nombre de copules augmente
  - le tout sera accroché à la protéine.Cette structure n'est pas définitive mais dynamique. La protéine sera adressée vers le système golgien ou elle sera remanié.

**La fixation de cette cupule glucidique se fait au niveau des Asparagines**, dans la lumière du RE. Si cette protéine est à destination de la membrane glucidique, cette séquence sera exprimé à l'extérieur de la membrane cytoplasmique.

Ce système est régulé, il y aura des modifications: les protéines transmembranaires du RE peuvent fixer la partie glucidique. La protéines pourront donc être repliées spécifiquement et le contrôle de ce repliement se fera par des molécules chaperonnes ou en liant un nouveau glucose.

**La N-glycosylation est structurée par des mécanismes présent dans le cytosol et dans la lumière du RE et s'est associé au contrôle du repliement de la protéine.**

En cas de non reconnaissance, la cellule peut recycler la protéine mal repliée: la protéine est excrétée, repasse dans le cytoplasme, fixation d'ubiquitine et dégradation.

Pour la secretion des anti-corps: tant que ces protéines n'ont pas eut d'interaction correcte, ces protéines ne seront pas transféré du RE vers le système golgien.

## COURS 05 - SYNTHÈSE, ADRESSAGE ET MODIFICATIONS DES PROTÉINES

---

### iii. Structuration des protéines autour de la membrane

Une protéine membranaire peut être présente au niveau d'une hélice ou plusieurs hélices au travers de la membrane. Ces hélices sont jointives ou séparées par des séquences hydrophiles. Ces séquences hydrophiles sont retrouvées sur la partie cytoplasmique ou lumenale. Les mécanismes de synthèse seront dirigés par la présence de membrane.

*Une protéine à séquence transmembranaire sera présente dans la membrane du RE. A la suite d'elle, vient une séquence hydrophile qui s'orientera par rapport à la membrane.*

La séquence hydrophobe va orienter la séquence hydrophile. La synthèse de la protéine membranaire dans le RE structure déjà la protéine.

### 3. Translocation du cytosol vers le RE des peptides antigéniques provenant de la protéolyse cytosolique par les protéasomes

Présent dans la **membrane du RE le CMH1** qui est un complexe enzymatique qui **peut interagir avec des peptides**. Le protéasome interagit avec des protéines endocytées, il les fait passer dans la lumière du RE où elle peuvent interagir avec le CMH1.

Le CMH1 (activé) va ensuite passer dans golgi, sera secrété à l'extérieur de la cellule et formera le LymphocyteT CD8+.

### 4. Le REL: site de stockage du Calcium (Ca<sup>++</sup>)

Le **calcium** est un **cofacteur** de certains mécanismes important du métabolisme. Il peut grandement **augmenter l'activité enzymatique**. Le calcium est un facteur nécessaire à la vie et est modulé par rapport aux activités de la cellule.

Dans la membrane du RE il y a des pompes à calcium, réversibles. Le calcium va interagir avec des protéines de stockages, systèmes enzymatiques impliqué dans le repliement protéique.

### 5. Autre fonctions spécialisées du RE, localisées dans la membrane

- **La synthèse de lipide en bicouche:** elle est localisé dans la membrane du RE. La membrane du RE va augmenter de taille, les bourgeonnements et l'expansion du RE est due à ce mécanisme de synthèse. Le RE génère des structures (tubule/vesicule) qui sont des néo-formations de lipides. Le transport de ces lipides se fait au travers de structures membranaires.
- **Hydroxylation** (détoxification) de drogues ou molécules: phénobarbital, bilirubine.

## VIII. Structures et fonctions du système golgien

### 1. Observations

Ensemble de vésicules aplaties formant des piles ou dictyosomes mais à différentes fonctionnalités.

Les dictyosomes sont entourés de vésicules qui sont des structures de transports: les microtubules. Les moteurs des microtubules interviennent dans la localisation et le déplacement des structures golgiens.

### 2. Types de vésicules

Il existe une orientation fonctionnelle d'entrée-sortie pour les différents saccules.

Pour **passer d'une vesicule à l'autre** il est indispensable d'utiliser des **microvésicules**.

**Les saccules de sortie sont en continuité avec un réseau de canalisation formant le réseau trans-golgien.**

### 3. Fonctions

- **Activité enzymatique:**
  - Modification de protéine par **Phosphorylation** et **Glycosylation**
  - **Modification** des **copules glucidique** (ex du mannose)
  - **Sulfatation** des tyrosines.
  - Il y a aussi un **gradient de pH**, expliquant des activités différentes: au début, on est à pH neutre, puis devient de plus en plus acide.
- Le système golgien **stocke** des **ions calcium** donc est utile aux réactions enzymatiques
- Les **O-Glycosylation** des protéines: Sucre synthétisé dans le cytosole et activités liées à des nucléotides.  
La glycosylation concerne le domaine lumenal des protéines membranaires et des protéines contenues dans le Golgi médié par des O-Glycosyl Transférase sur l'oxygène Thréonine et Serine.

Le précurseur nucléotides-sucre entre par une perméase et non par une flipase.

*Exemple de glycosylation: Le **système ABO** (sanguin) est modulé par des glycosylation importantes. Ces glycosylation interviennent dans la stabilité des protéines (Mannose 6 P pour les protéines à destinations du lysosome), fait que les protéines auront tendance à ce diriger vers l'un ou l'autre compartiments.*

### IX. Mécanisme de transport entre RE, Golgi et Mb Plasmique

Les protéines membranaires le sont jusqu'à leur destination finale, cependant, **il n'y a pas de continuité entre le RE et Golgi**, mais que des vésicules membranaires.

Ces vésicules sont constituées de lipide et d'un manteau protéique. Ce manteau dépend de la constitution de la membrane et de sa destination.

La membrane n'est pas homogène: il existe des domaines qui vont générer des structures de transports.

#### 1. Types de vésicules

Il y a 3 types de vésicules:

- Vésicules à **Clathrine**: forme des cages. Elle s'accroche aux surfaces lipidiques et va déformer la membrane pour en faire une vésicule. C'est un complexe membrane-protéine qui va être acheminé sur un système de rail+moteur. Lorsqu'elle rejoint un système membranaire, il y a fusion et recyclage des protéines
- Vésicules **COP-II**: vésicule allant du RE au Golgi
- Vésicules **COP-I**: Golgi vers RE

Chronologie de formation de vésicules:

- **Bourgeoisement**.
- **Déshabillage** de vésicule: recyclage des protéines.
- **Transport** cytoplasmique: énergie et cytosquelette.
- **Fusion** des membranes

Il y a interaction avec le réseau de microtubules.

#### 2. Mécanisme de reconnaissance et de fusion.

**Système SNARE:** T-SNARE dans la membrane cible  
V-SNARE sur la membrane de la vésicule

La proximité fera que **les hélices de ces deux protéines s'enroulent** et permettent la **fusion** des couches lipidiques.