

CHAPITRE 3 ORGANISATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE EUKARYOTE

1 La membrane plasmique

1.1 Organisation structurelle de toutes les membranes cellulaires

1.1.1 Constituants des membranes

- a) Lipides 55% poids 33% acide gras (phospholipide + cholestérol) dans
- b) Protéines 30% poids 2% acide gras bilancé
- c) Cell coat glycosylation → charge négative

1.1.2 Propriétés des membranes

- a) Imperméables
- b) Assymétriques
- c) Fluides flippase (selon température et les lipides)
- d) Croissance et fusion

1.1.3 Différenciations localisées de la mb plasmique

- a) Surface augmentée bordure en brosse microvillosités
- b) Cohésion des cellules jonction - appariement des noyaux
- c) Etanchéité barrière protéiques
- d) Jonctions lacunaires peu d'espace interst., protéines transmb
- e) Plasmodesme (à végétal, par canal commun) ≈ 50nm

1.2 Rôles des membranes

1.2.1 Transport des molécules

- a) Osmose (gradient) l'eau se déplace pour équilibrer
- b) Transport passif diffusion simple ou facilitée (poros) suit le gradient
- c) Transport actif canal ionique = pompe à H⁺ - cotransport contre le gradient
- d) Voies vésiculaire phagocytose endocytose exocytose

1.2.2 Communication entre cellules

- a) Transduction directe prot. L'osmose activ. G-cop.
- b) Transduction du signal via messenger(s) secondaires

1.2.3 Reconnaissance du soi

marqueurs chimiques

2 Réseau membranaire intracellulaire 50% RE + Golgi 40% autres

2.1 Réticulum endoplasmique

2.1.1 Structure du RE

- a) Membrane du RE 70% protéines 30% lipides
- b) Compartiment intérieur, lumière du RE

2.1.2 Fonctions du REG

- a) Adressage de protéines le long des RE → Golgi ou même exocytose → mb
- b) Modifications post traductionnelles ponts disulfid. et oligomères + glycosyl. et ions
- c) Biogenèse des membranes cellulaires

2.1.3 Fonctions du REL

- a) Synthèse des lipides mb selon les pt
- b) Synthèse d'autres lipides acides gras, cholestérol, hormones stéroïdes
- c) Détoxification endos. hydrophiles → eau
- d) Stockage de calcium réticulum sarcoplasmique

2.2 Appareil de Golgi

2.2.1 Structure dictyosome ← (en 4 à 8 cisternes + vésicules + tubules) cis - médium - trans

2.2.2 Fonctions

- a) Adressage des protéines transitant par le REG REG → cis → Golgi → trans
- b) Modifications post traductionnelles glycosylation sp. et / ou N. oligosac. + olivigos

Trouble Fig 2-42

23 Les lysosomes ensemble de vésicules à ezy de dégradation (lysozyme acide)

231 Les lysosomes primaires
a) Structure petites sphères hydrolysés
b) Rôle stockent enzymes ezy

232 Les lysosomes secondaires
a) Structure grandes irrégulières hydrolysés + others
b) Rôle digère tout
c) Formation hétérophagiques (extrin) autophagiques (intrin)

233 Les corps résiduels
a) Structure corpuscule ovales
b) Rôle partic. recyclage ou par évacuation par exocytose
c) Devenir

234 Fonctions des lysosomes
a)
b) Entretien de
c) Cas particulier: fécondation de l'ovule

24 Conclusion sur le réseau endomembranaire

a) Continuité RE → Golgi → vésicules
b) Adaptabilité (chez les levures, lip de lysosomes, ...)
c) Renouellement RE, vésicules

3 Les organelles cytoplasmiques

3.1 La mitochondrie

3.11 Structure de la mitochondrie 2 mb + 1 matrice bactérienne
a) Enveloppe mb externe (lip pour 6 pro) + mb interne (lip spot) + protéines
b) Matrice mitochondriale mitochondries + ADN mt + ezy de l'inter / l'ext / l'ap

3.12 Fonctions de la mitochondrie
a) Fin des voies du catabolisme décarboxylation → AcetylCoA → oxydation → CO₂
b) La chaîne respiratoire NADH, H⁺ + FADH₂ → cascade d'oxydo → O₂ → H₂O
c) Phosphorylation oxydative ATPases = ADP + 3H⁺ → ATP

3.13 Biogenèse de la mitochondrie
a) Le ADN mt 30 à 40 gènes (2-3 mtARN + 20-30 mtARNr + 10-20 protéines)
b) La chlorodièse mitochondries de mère à enfant
c) Origine évolutive

32 Aut.

32 Autres organelles producteurs d'énergie

321 Le peroxydome 2H₂C₂ → 2H₂O + O₂ (catalase, c)

322 Le glycosome Acide gras [] → succinate [] → glucose

33 Chloroplaste

33.1 Structure du chloroplaste thylakoïdes en grana dans le stroma
a) Enveloppe chloroplastique mb externe perméable + espace (cytoplasme) + mb int.

b) Intérieur du chloroplaste ADN ch + chlorosomes + inclusions + chlorophylles + ezy Kohn

332 Photosynthèse

a) Phase lumineuse photon excite pigment PSI, PSII → phosphorylation (glucose)
b) Phase obscure rubisco fixe CO₂ à pentose + H₂O en G3P + (2643P) → glucose

333 Biogenèse

a) Le ADN ch ≈ 120 gènes (4 mtARN + 37 chARN + 50 protéines)
b) La chlorodièse
c) Origine évolutive

34 La vacuole tonoplaste

- 34.1 Rôle de stockage 2 pompes à H^+ stockage ions + nutriments + déchets métab.
34.2 Rôle de contrôle des échanges hydriques par différence de pression osmotique

35 Le noyau

35.1 Enveloppe nucléaire

- a) Structure = mb interne + externe (pore) lamina, multi-épou, pores CBF
b) Rôles protection & exp. + contrôle échanges

35.2 Nucléoplasme

- a) Chromatine support de l'ADN (+ protéines + ARN) - 15% ADN 12% ARN 75% histone
b) Nucléole ARNs + ... lieu de synthèse des ARNs et ribosomes
c) Structuration du nucléoplasme en territoires eu hétéro- chromatin

4 Les particules cytoplasmiques et le cytosol

4.1 Le cytosquelette réseau protéique + filamentaire + tubulaire cytosol (hyaloplasme)

4.1.1 Les microtubules

- a) Structure des microtubules tubulaires $\alpha + \beta$ → dimère $\alpha + \beta$ → protofilament ($\alpha \beta$ = microtubule)
b) Microtubules isolées individuellement forme & transport K⁺ vers et partir
c) Structures pluritubulaires contrôle et expansion basal 3 triplets → on tube → cent. orb.

4.1.2 Les microfilaments

- a) Structure des microfilaments globulaires actines G et F
b) Rôle des microfilaments contraction (myosine...)
c) Autres rôles des microfilaments forme & cytolise réticulation cytosol

4.1.3 Les filaments intermédiaires

- a) Structure 3 protéines mélanes spectrophilaments → 1 filament intermédiaire
b) Rôles charnières/angles attaché cytoplasmique neurofilaments attaché à la lamina

4.1.4 Réseau trabéculaire 3 nm \emptyset structure fixe cytoplasmique

4.2 Le cytosol

- a) Structure = 75% eau organisé gélifique (protéines) ou semi-solide active...
b) Rôle lieu de très mbx métabolisme + stockage inclusions

5 L'extérieur de la cellule

5.1 La matrice extracellulaire (animale)

5.1.1 Constituants de la matrice

- a) Collagènes 25% masse protéique résistantes et flex
b) Protéoglycannes capte l'eau (poly saccharides) → hyalophile
c) Hyaluronates polysaccharide capte beq d'eau → très " + dihyalu. notes
d) Fibronectine 2 prot. fibreuses lien & - matrice

5.1.2 Rôles de la matrice

- a) Adhésion des cellules entre elles
b) Composant principal du tissu conjonctif lâche (qui permet le passage d' O_2 et nutriments)
c) Propriétés mécaniques des os, tendons, cartilages beq de collagènes, protéo et hyalu
d) Communication intercellulaire protège hormones et fact. de croissance & exp

52 La paroi squelettique (végétaux)

52.1 Constituants

- a) Cellulose polymère linéaire rigide de glucose en microfibrilles parallèles insolubles
- b) Hémicellulose cellulose + courts oligo-saccharides
- c) Pectines polysaccharides à group^{es} COOH, COO⁻
- d) Lignines polymères complexes à nombreux phénols

52.2 Formation de la paroi

- a) Lamelle moyenne mince, pectine + lignine se "ciment" sécrète par ZG fille après mitose
- b) Paroi primaire mince, 20% hémicellulose, 10% cellulose + le reste
- c) Paroi secondaire épaisse, cellulose + hémicellulose

6

6 Adressage des protéines

6.1 Transfert co-translationnel

6.1.1 Synthèse protéique au niveau du REG peptide signal SRP préproprotéine

- a) Arrachage du ribosome contre le REG
- b) Transfert de la protéine dans le REG
- c) Libération dans le REG
- d) Cas des intrinsèques

6.1.2 Maturation dans le réseau endomembranaire

- a) Obtention de la structure tertiaire et quaternaire dans le REG S-S repliements
- b) Glycosylation dans le REG et le Golgi oligosaccharide lié à N ou O
- c) Clivage dans les molécules de transport clivage

6.1.3 Adressage de protéine récepteur "donneur" et "récepteur" (Golgi/destination)

- a) Vers les lysosomes propep. d'un ou plusieurs résidus Man6P
- b) Vers la vacuole ≈ -600 aa
- c) Vers la membrane plasmique ou l'extérieur défaut
- d) Restent dans Golgi hélice transmembranaire
- e) Restent dans le RE 4aa = Lys - Asp - Glu - Leu
- f) Vers la membrane nucléaire ≈ inconnue!

6.2 Le transfert post-translationnel

6.2.1 Synthèse protéique dans le cytoplasme

6.2.2 Maturation dans le cytoplasme repliement (rare S-S très rares glycosylations)

6.2.3 Adressage de la protéine

- a) Vers le noyau 5aa NLS
- b) Vers la mitochondrie mature → 3 à 5 aa intermb → 2^e étiquette mb externe → 2^e étiquette
- c) Vers le chloroplaste stroma → étiqu à N thylacoïdes → 2^e étiquette
- d) Autres destinations peroxyssomes et glyoxyssomes → 3aa Ser - Lys - Leu

CHAPITRE III

ORGANISATION FONCTIONNELLE DE LA CELLULE EUKARYOTE

1 La membrane plasmique

Une cellule est délimitée par une membrane plasmique. Le milieu intérieur est le cytoplasme composé de réseaux de membranes internes, d'organites et d'un noyau.

1.1. Organisation structurale de toutes membranes cellulaires

1.1.1 Constituants

	lipides	protéines
poils	50%	50%
wt de moles	98%	2%

a) Lipides : phospholipide + cholestérol (sauf végétaux)

Proportions variables selon :

- organismes
- types cellulaire
- la membrane au sein de la cellule (il y a 30 mb différentes dans la ♀)

Organisation en bicouche : rôle structural de la membrane plasmique

b) Protéines

2 catégories :

- périphériques** (adhèrent à la surface hydrophile de la membrane par des liaisons hydrogènes ou ionique et sont détachables par lavage)
- intrinsèques** (ancrées dans la zone hydrophobe de la membrane) Interactions hydrophobes, on ne peut les récupérer qu'après destruction de la membrane.
- transmembranaires** (qui sont des transporteurs (d'eau ou de glucose), des récepteurs (hormones...), des enzymes (synthèse de cellulose), ou des protéines de structure qui établissent un lien entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.)

c) Cell coat

Quelques lipides et de nombreuses protéines sont glycosylées, mais seulement sur la face externe de la membrane.

Les glycolysat^o représentent une couche d'éléments chargés négativement. La surface externe de la cellule est donc chargée négativement.

2 types de glycosylation → sur lipide
→ sur protéine.

d) Apparence en microscopie électronique (Figures 6 et 7)

1.1.2. Propriétés

a) Imperméable

Seules quelques molécules traversent la mbr plasmique: H_2O , CO_2 , O_2 + quelques autres.
Les autres molécules sont arrêtées par leur taille ou par leur hydrophilie.
Ainsi, le compartiment interne du milieu ext.

b) Asymétrique (Figures 6 et 7)

Les deux feuillets de la mbr plas ne sont pas équivalents:

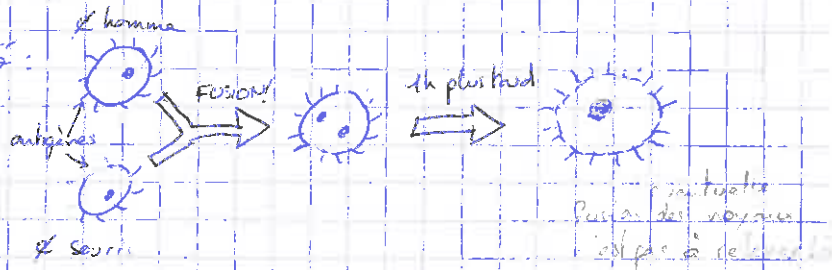
- les protéines périphériques sont surtout sur la face cytoplasmique.
- les protéines intrinsèques sont toujours orientées de la même manière.
- grande asymétrie fonctionnelle.
- Du côté des lipides, l'asymétrie est moins forte, mais présente
on pense que certains lipides sont fortement liés à certaines protéines
- d'où une asymétrie lipidique.
- les glucides se trouvent exclusivement sur la face extérieure.

c) Fluide

les mts et déplacements sont csts au sein de la membrane

les protéines flottent ds la couche lipidique
elles se déplacent en permanence

Mise en évidence de cette fluidité:



migration des protéines Fig 8

La fluidité dépend de la température Fig 9

Froid: état gelifié cristallin → mts rares
chaud: état liquide fluide → mts fréquents

La fluidité dépend de la composition en lipides

La T^o de fusion des acides gras diminue avec les insaturations (chaînes courtes)

d) Croissance et fusion

Toute membrane croît par insertion de nouveaux constituants dans une membrane préexistante (pas de création "de novo")

La fusion des membranes est un processus fréquent et CAPITAL pour le pct d
mais non-spontané: les mbrs sont chargées négativement donc se repoussent.

Il n'y a pas de bord libre, il faut séparer les 2 feuillets.

→ Augmentation locale de la fluidité qui forme des zones instables: réorganisation après fusion.

1.1.3. Différenciation localisées de la membrane plasmique

a) Augmentation de la surface d'échange avec le milieu extracellulaire

exemple: borduis en brosse des cellules épithéliales de l'intestin
3000 microvillosités par cellules donc une surface multipliée par 10

b) Cohésion des cellules entre elles (P. 12)

* Matrice extra-cellulaire: gel situé entre les cellules permettant de les relier.

* Engrenages et interdigitation (ex: engrenage des ϕ épidermiques de pétales d'œuf)

* desmosome: protéines fibreuses transmembranaires reliées de chaque côté à une plaque protéique (un peu comme un rivet)

Ils permettent un meilleure rigidité d'un tissu en répartissant les forces de cisaillement. Ils se trouvent donc dans les muscles, la peau ou le col utérin (soumis à des forces distordantes)

c) Étanchéité entre cellules (P. 13)

Les jonctions étanches sont des protéines nombreuses s'accrochant entre deux ϕ au niveau de l'espace intercellulaire.

Elles sont organisées en réseaux (nid d'abeille) qui se forment tout autour de la cellule.

La jonction étanche est un obstacle à la libre diffus. des prot. membranaires)

Elle permet donc de polariser la ϕ (lui donne un sens).

Il n'y a plus d'espace inter- ϕ donc les molécules sont forcées de passer à travers les ϕ (ex: absorption du glucose dans les intestins)

d) Jonctions lacunaires (communication entre les cellules)

Une jonction lacunaire est un espace inter-cellulaire rétréci (mais présent!)

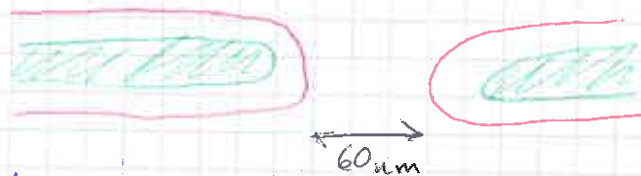
Elle est formée par des protéines transmembranaires.

Un canal permet le passage de petites molécules directement de cytoplasme à cytoplasme (ions, acides aminés, ATP, messagers secondaires...) (P. 14)

e) Plasmodesme (dans les ϕ végétales)

Membrane plasmique

Paroi cellulaire



Pas de jonction étanche, ni de desmosome (l'étanchéité et la cohésion étant assurées par la paroi).

La jonction lacunaire est remplacée par les plasmodesme.

Au plasmodesme, la paroi squelettique s'interrompt et les membranes plasmiques sont mises en commun, permettant le passage de petites molécules.

1.2 Rôles des membranes

1.2.1 Transport de molécule

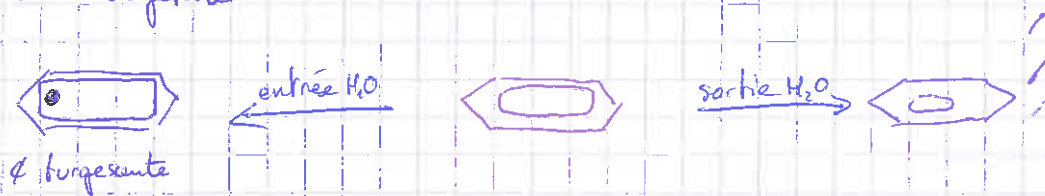
a) Osmose

En absence d'autres forces, une substance diffuse de la zone la + concentrée vers la zone la - concentrée suivant un gradient de concentration.

Cellule animale



Cellule végétale



Les plantes "aux et Plasques" manquent d'eau OU ont trop de fertilisant / leurs racines sont dans un milieu hypertonique.

L'eau diffuse à travers la membrane plasmique pr. équilibre les pressions osmotiques.

b) Transport passif (F. 16 et 17) gradient

Transport se faisant en suivant le gradient des milieux jusqu'à l'équilibre.

Ne nécessite pas d'énergie.

- diffusion simple : passage spontané des gaz et de très petites @ au travers de la mbr plasmique
- diffusion facilitée : passage de petites molécules non-chargées grâce à des protéines membranaires, les permeases, qui accélèrent la diffusion de façon spécifique et (peu saturables) pas de limite de passage.

c) Transport actif

Transport se faisant contre un gradient, pour Nécessite de l'énergie

* canal ionique: laisse passer des ions tels que K^+ , Na^+ , Cl^- ...
dans la nature, les concentrations ioniques intra et extra cell sont très différentes, ce qui entraîne des gradients de concentrations et des gradients de charges électriques. Ces gradients sont très importants et maintenus grâce à des canaux ioniques qui consomment de l'énergie.

50% de l'ATP consommé par un globule rouge sert à maintenir ses gradients ioniques.

exemple de la Na^+-K^+ ATPase, complexe protéique de la membrane plasmique elle hydrolyse l'ATP pour faire entrer 2 K^+ et sortir 2 Na^+ contre leur gradient. (P. 19)

* la pompe à H^+ : cherche à maintenir un gradient de charge. Activée par de l'ATP et véhicule des charges positives sous forme de protons. (P. 20)

* cotransport: la source d'énergie n'est pas l'hydrolyse de l'ATP mais le gradient ionique. Le passage d'un ion suivant son gradient sert à faire passer une molécule contre son gradient.

- symport: un ion entre ou sort, entraînant une molécule avec elle.

- antiport: un ion sort (ou entre), entraînant l'entrée (ou la sortie) d'une m .

d) Voies vésiculaires

Elles permettent la capture de grosses molécules et particules (bactériennes) et impliquent des fusions de membrane.

* phagocytose: la mbm plasmique se soulève autour de la particule pour former une vésicule de phagocytose. \curvearrowright \triangle

* endocytose: une petite zone de la mbm plasmique s'invagine pour former un puit qui va s'individualiser en vésicule contenant du milieu extra ϕ .

* exocytose: inverse de l'endocytose, permet la sécrétion de m et d'enzymes dans le milieu extra ϕ .

1.2.2. Communication entre cellules

se fait soit directement grâce aux jonctions lacunaires, soit indirectement via des signaux chimiques tels que les hormones et neurotransmet

a) Transduction directe du signal

Le récepteur est une protéine transmb possédant une activité enzymatique du côté du cytoplasme. La fixation de l'hormone active cette enzyme, d'où un résultat cytoplasmique. (exemple: récepteur de l'insuline où l'activité kinase est déclenchée par la fixation de l'insuline)

Cette transduction conduit à la phosphorylation de protéines cytoplasmiques et donc à la modulation de leur activité.

b) Transduction du signal via message(s) secondaire(s)

La fixation de l'hormone sur le récepteur active une enzyme membranaire qui produit un message secondaire. Ce message migre dans la ϕ et active d'autres enzymes, ce qui conduit à un résultat cytoplasmique.

AMP cyclique : récepteur de l'adrénaline

- activation de l'enzyme mb (adénylate cyclase) = par activation
- synthèse d'AMPc et diffusion ds le cytoplasme
- activation d'une protéine kinase cytoplasmique (PKA)
- activation d'enzymes par phosphorylation
- résultat cytoplasmique (ici, activation de la glycogène phosphatase donc libération de glucose par glycogénolyse)

Phosphatidylinositol Fig 2:

- fixation de l'acétylcholine \rightarrow activation de l'enzyme mb PLC
- l'enzyme coupe la PIP_2 en $\text{IP}_3 + \text{DAG}$
- le DAG reste dans la membrane et active une kinase
- phosphorylation de protéines cytoplasmiques
- le IP_3 migre dans le cytoplasme et active des canaux à ions Ca^{2+}
- libération de Ca^{2+} dans le cyto
 - o fixation du Ca^{2+} sur une protéine (calmoduline)
 - o modification conformationnelle de la calmoduline
 - o fixation sur d'autres protéines et modification de leur activité (réponse cellulaire)

\rightarrow ces deux réactions se produisent en même temps...

Il existe des hormones hydrosolubles qui se fixent à des récepteurs membranaires. On observe alors la transduction du signal : comment le message est transmis au cytoplasme. \Rightarrow réponse rapide mais éphémère.

Il existe des hormones ^{ou lipophiles} liposolubles, diffusant à travers la mb plasmique, alors un récepteur cytosolique le fixe et l'ensemble migre vers le noyau où il fonctionne comme un facteur de transcription de vnx gènes. \Rightarrow réponse lente (qg heures) mais durable.

1.2.3. Reconnaissance du soi

Chaque être vivant possède à la surface de ses cellules des marqueurs chimiques qui le différencie des autres organismes de son espèce.

On parle de reconnaissance de (m) du soi et du non soi.
exemple: la différence entre les groupes sanguins (A, B, O) est liée aux oligo-saccharides du manteau ϕ .

2 le réseau membranaire intracellulaire

2.1 le réticulum endoplasmique

Environ 50% des surfaces mb totales d'une ϕ corresp. aux mb du réticulum endoplasmique (REL ou RE) et de l'appareil de Golgi

→ 50% RE + Golgi
→ 40% mitochondries

2.1.1 Structure

On distingue :

- le REG (granuleux), qui présente des lamelles parallèles et une surface cytoplasmique granuleuse corresp. aux ribosomes accrochés.
- le REL (lisse), formé de tubules enmêlés et d'une surface cytoplasmique lisse.

a) Mb du RE

Il y a plus de protéines que ds la mb plasmique car les Fct enzymatiques sont nombreuses : d'un point de vue massique on a :
30% de lipides (peut variés, pauvres en cholestérol, riches en phosphati)
70% de protéines (très variées, nbre en Fct des enzymes qui varient selon le type ϕ .)

b) le compartiment intérieur, lumière du RE

Il est isolé du cytoplasme par la mb du RE

2.1.2 Fct du REG

Ces Fct sont communes à tous les types ϕ , mais \pm ou - dulp.

a) Adressage de certaines protéines

Les protéines à destination du RE, du Golgi, de la vacuole, des lysosomes, de la mb plasmique et de l'extérieur sont synthétisées par les ribosomes accolés à la mb du REG. Elles sont ensuite stockées dans sa lumière avant d'être distribuées dans le bon compartiment ϕ (adressage protéique que nous verrons)

Les lipides mb (phospholipides, cholestérols etc...) sont synthétisés dans la mb du REL.

Ils migrent jusqu'au REG par voie vésiculaire.

Les ezy de chaque voie de biosynthèse et des protéines intrinsèques de cette mb.

WTF C'est indispensable car les différents intermédiaires sont hydrophobes donc ça ne pourrait pas se faire ds le cytoplasme.

Au contraire, les intermédiaires* s'insèrent directement ds la bicouche et diffèrent d'une ezy à l'autre.

* soit ceux qui sont pas terminés

b) Synthèse de nbx lipides (\neq phospholipides)

• acides gras : l'étape d'élongation et de désaturation se fait par des ezy

• cholestérol : l'ezy clef conduisant à sa formation est présente ds la mb du REL.

• hormones stéroïdes : elles sont synthétisées à partir du cholestérol ds le REL.

c) Détoxification

De nbx médicaments ou drogues sont détoxifiés par des ezy du REL, c-à-d rendus plus hydrophiles pour une élimination via les urines plus facile.

d) Stockage du calcium Ca^{2+}

Dans les μ musculaires, le REL est très dulp, avec une forme particulière: le réticulum sardoplasmique, qui stocke le Ca^{2+} et le libère lors des contractions musculaires.

Le REL est donc le lieu des synthèses des lipides mb
Le REG est donc le lieu de synthèse protéines mb

À partir des RE, les lipides et protéines rejoignent leur compartiment de destination par migration dans des vésicules.

désaturation = introduction de dble liaison

2.2 Appareil de Golgi

2.2.1. Structure

C'est un réseau de vésicules imbriquées organisées en dictyosomes.
On compte 1 à 100 dictyosomes par cellule.
Un dictyosome correspond à un empilement de 4 à 10 citernes aplaties, avec des vésicules et tubules sur leurs bords.
Chaque dictyosome a une polarité avec trois compartiments distincts.

Zone →	Cis	médiane	Trans
Morphologie	→ face convexe → dictyosomes liés entre eux par tubules		→ face concave → dernières citernes très fragmentées (= réticulum du trans Golgi)
Fonction	capture des vésicules venant du REG	maturation et tri des protéines	envoi vers destination finale par vésicules

2.2.2. Fonctions

22h22, je pense a toi

a. Adressage des protéines transitant par le REG

Les protéines synthétisées contre le REG et accumulées ds sa lumière transittent toujours par l'appareil de Golgi, en arrivant par la face cis et en repartant par la face trans.

- Transit :
- le REG émet des vésicules emportant une portion du contenu de la lumière du REG. Ce sont des vésicules de transition.
 - ces vésicules positionne avec la face cis du dictyosome et déversent leur contenu dans la 1^{ère} citerne.
 - le transit de la face cis à la face trans se fait aussi par transport vésiculaire, les citernes ne se déplacent pas, elles émettent des vésicules par bourgeonnement sur les bords.
 - Ces vésicules positionnent alors avec la citerne suivante.

b. Modification post traductionnelles des protéines

Dans Golgi, on a des glucosylations (ajouts de sucre) de plusieurs types :

- motif des oligosaccharides accrochés dans le REG
- ajout de new "
- clivage de certaines parties de protéines

23 Les lysosomes

Les lysosomes sont un ensemble de vésicules de formes et de tailles variables, caractérisés par la présence d'enzymes de dégradations agissant à pH acide (elles sont les lysolases acides).

231 Les lysosomes primaires

a) Structure

Petites vésicules sphériques au contenu homogène, leur pH est acide ($\approx 4,8$) et elles contiennent des hydrolases acides. Environ 40 enzymes différentes dégradant toutes les m biologiques en molécules de bases du métabolisme. Elles n'agissent qu'à pH acide. Elles sont inactives à pH neutre (dans le cytoplasme)

b) Rôle

Les lysosomes primaires stockent les enzymes après avoir été utilisés. Ces vésicules sont issues du Golgi où transitent les enzymes.

232 Les lysosomes secondaires

a) Structure

Grandes vésicules de forme irrégulière, leur contenu est hétérogène, à l'intérieur on trouve des particules, des fractions d'organites et contiennent des hydrolases acides. \rightarrow pH acide

b) Rôle

Le lysosome actif sert à dégrader les m , les organites et "périmes" les bactéries ingérées et digérant les m qui les composent.

c) Formation

\rightarrow vacuoles **hétérophagiques** (dites aussi digestives)
elles permettent de digérer du matériel extra ϕ
l'entrée de ce matériel se fait par phagocytose (de globules rouges, ...) OU
entrée par endocytose (hormones)
Formation d'une vésicule de phago ou endocytose qui va fusionner avec un lysosome primaire.
Cette fusion entre cette vésicule et un lysosome forme le lysosome secondaire. (phagolysosome)

\rightarrow vacuoles **auto phagiques**

elles permettent de digérer du matériel intra ϕ
3 modes possibles

- fusion d'une vésicule avec un lysosome primaire qui forme un lysosome secondaire
- englobement d'un organite par un
- encerclement d'un organite par la REG puis fusion avec un lysosome primaire qui forme un lysosome secondaire (les enzymes présentes sont revenues de Golgi)

\rightarrow en gros, à chaque fois, un lysosome primaire apporte le m

233 Les corps résiduels

Structure

Ce sont des corpuscules circulaires ou ovoïdes ne contenant plus de pH acide.

Rôle

C'est la poubelle de la ϕ : après digestion du repas capturé ds les lysosomes secondaires, ce qui est réutilisable (donc les m^{\ominus} de base du métabolisme) passent dans le cytoplasme pour être recyclés, et ce qui n'a pas pu être entièrement dégradé reste dans le lysosome secondaire et devient un corps résiduel.

Devenir

Le contenu des corps résiduels est rejeté par exocytose ou reste dans le cytoplasme où il s'accumule (ce qui devient toxique pour la ϕ).

234 Fonctions

a)

L'entretien de la ϕ se fait par
qui a un rôle de digestion des produits nutritifs absorbés par la ϕ
et un rôle de dégradation et recyclage des organites ϕ .
La durée de demi-vie d'une mitochondrie est de 10 jours.

b) Entretien de l'

Il se fait par les vacuoles hétérophagiques
→ il correspond à l'élimination des ϕ sénescents
La durée de $\frac{1}{2}$ vie d'un globule rouge est de 3 mois
→ aussi l'élimination de bactéries, virus et protozoaires.

c) Cas particulier : fécondation de l'ovule par le spermatozoïde

L'acrosome (tête du spz) : gros lysosome dont les ezy ϕ servent à dégrader l'envlp protectrice de l'ovule pour parvenir à la mb plasmique.



24 Conclusion sur le réseau endomembranaire

a) Continuité

Le réseau endomb se situe en continuité dans

- l'espace = le REG, Golgi et les lysosomes sont svl associés p car ils sont en continuité (REG lié au REL et d'lysozymes liés entre eux)
- temps = on observe un flux de vésicules permanent entre les différents compartiments

encore 20 jours et je le souvre en main

b) Adaptabilité

Le réseau s'adapte très rapidement aux besoins de la ϕ

ex: • une forte dose de médicaments entraîne une hypertrophie du REL dans le foie pour détoxifier

• si on a besoin d'insuline, on observe un fort dvp du RE et Golgi

• les leucocytes contiennent bcp de lysosomes II

c) Renouvellement

- La fct ~~permet~~ la biogenèse des mb ^{dans le} réticulum endoplasmique.
- la distribution de ces mb par le flux de vésicules
- dégradation de portions de mb par les lysosomes.

la durée de $\frac{1}{2}$ vie - ϕ de foie 6 à 12 mois
- de ces protéines mb 10 à 20 jours

Lysosomes
forme
contenu

~~Les~~ primaires
forme sphérique
hydrolases (40 dif.)

secondaires
forme irrégulière
hydrolases + bouts d'organites particule

ATP ça veut dire 3 phosphates \rightarrow libère énergie \rightarrow libère bcp énergie
ADP 2
AMP 1 (mono, \downarrow se \rightarrow)

3 Les organites cytoplasmiques

Les org. cyto sont délimités entièrement par une mb biologique (qui déf. donc un compartiment interne (\neq cytoplasme), bien individualisés). Ils sont différents du réseau mbaire.

3.1 La mitochondrie

Elle est une centrale énergétique de la ϕ .

3.1.1 Structure de la mitochondrie

Les mitoc. sont en forme de batonnet, (des genre de haricot). Leur nb/ ϕ est variable selon les besoins énergétique.

exemple : 2000 mitoc. par ϕ hépatique
→ jusqu'à 25% du volume du cytoplasme.

Elles sont mobiles dans le cytoplasme (Fig 45)

Elles comptent : + 2 mb (interne et externe) + matrice (milieu intérieur)

a) Enveloppe

- mb externe : similaire à la mb plasmique eucaryote. 40% lipides 60% protéines de nombreuses porines (protéines-pore)
→ donc très perméables aux petites et moyennes molécules

- espace inter-mbairé : semblable au cytosol

- mb interne : très différente de l'externe cette mb ressemble à une mb bactérien 20% de lipide 80% protéines

→ donc un rôle fonctionnel très important

+ de 60 protéines différentes correspondant aux ezy et protéines de la chaîne respiratoire, des protéines de transport et des ATP synthétases.

La surface de contact est augmentée grâce aux crêtes. Ainsi elle est 5 à 20 fois + grande que la mb externe.

b) Matrice mitochondriale

- Présence de mitoribosomes (\neq ribosomes cytoplasmiques) et ressemblent aux ribosomes bactériens.

- ADN mitochondriale (ADN mt) dont les caractéristiques sont : dble brin, circulaire, sans histone* ("no") et petit. Soit un genre de plasmide bactérien.

- Enzymes : de la répliq, transcrip et traduc. Mais aussi celles du cycle du citrate et de la P oxydation.

- Particules de cplx multi-enzymatiques

* l'histone est une protéine n'est-ce pas

312 Fonctions de la mitochondrie

a) Fin des voies de catabolisme = acétyl CoA

obtention de l'AcCoA par successivement.

→ la décarboxylation du Pyruvate + β oxydation des AG + cétolyse l'eau
→ obtention de CO_2 en oxydation de l'AcCoA par le cycle des citrate

b) La chaîne respiratoire

Mise au point: les unités énergétiques monétaires de la d

→ NADH: m la + riche en énergie → réducteur le + fort



Nicotinamide

(réduction = addition de 2 H à une m ou élimination d'un Oxygène
NADH agit ds de nombreuses réac' de réduc'

Lorsqu'il transfère 2 H à l'oxygène, on a formation d'eau et libération de bcp d'énergie (→ 206 KJ!)

→ nucléosides triphosphate (ATP, GTP...)

hydrolyse d'un ATP → 30 KJ

→ gradient d'H au travers de la mb mitochondriale

Il existe un fort gradient électrochimique au niveau de la mb interne de la mitoc'. du coup, les ions H^+ passent de l'espace inter-mb à la matrice mitochondriale en libérant 17 KJ par m .

Note: seul phénomène énergétique hors-mitoc'.

sortent

→ gradient des ions sodium au travers de la mb plasmique

Les Na^+ entrent grâce à un gradient électrochimique, en libérant entraînant l'entrée de K^+ ce qui libère alors 15 KJ par m phénomène.

• Dans la mitoc' on a l'énergie chimique qui est transformée en énergie osmotique.

• Il y a transfert des électrons du NADH, H^+ et FADH_2 jusqu'à l' O_2 , accepteur final, via une cascade d'oxydo-réductions.

• Formation d'un gradient de proton: le passage des e^- permet de faire sortir des H^+ de la matrice vers l'espace inter-mb. Dans la matrice: pH = 8

Dans l'inter-mb: pH = 7 (Fig 69)

c) Phosphorylation oxydative

Au niveau d'une ATPase ou ATP synthétase, l'enzyme est composée d'au moins 15 monomères formant deux sous-unités. Donc dans la mb de la mitochondrie on peut trouver 2000 à 4000 ATPase par μm^2 .

Le passage de 3 H^+ selon leur pal permet de phosphoryler une m d'ADP en ATP

3.13 Bio-génèse de la mitochondrie

a) Le mtADN (ou ADNmt)

Plusieurs copies identiques, taille très variable en fct des organismes (17 Kpb chez l'H, 78 Kpb chez la levure, 2 à 2,5 10^3 Kpb chez les plantes!)

Le nombre de gènes est limité et constant: 30 à 60 gènes

Ils se répartissent en ceux:

- codant pour les mtARNr (2 ou 3)
- codant pour les mtARNt (20 à 30)
- codant pour les protéines (10 à 20)

Ces gènes sont transcrits et traduits ds la matrice grâce aux mito-ribosomes et forment des ss-unités qui ne sont jamais des enzymes entièrement fonctionnelles

Il faut donc importer des protéines depuis le cytoplasme vers la mitoc (pour avoir des ezy fonctionnelles)

La mitoc possède donc un ADN, une répliq, traduc et transcrip autonome, mais elle n'est pas autonome en protéines.

b) La chondrodrièze

nb Jamais formée de novo (comme les mb)

Chaque mitoc dérive d'une autre par division binaire → c'est la chondrodrièze

Déroul^t → répliq du mtADN

- invagination de la mb interne pour séparer la matrice en 2 compartiments
- invagination de la mb externe pour bipartitionner!

Rmq: l'hérédité mitochondriale est maternelle car

les mitochondries du spermatozoïde ne pénètrent pas dans l'ovule.

→ toutes les mitochondries d'un individu proviennent des mitochondries de sa maman! ♀

c) Origine évolutive des mitochondries

On constate: c'est un organe à 2 mb avec de l'ADN dedans!

Il présente de nb ses caractéristiques procaryotes: (mb interne, structure des gènes, mitoribosomes...)

Abs on suppose qu'à l'origine, une bactérie est entrée dans la ϕ

Théorie

(1940)

Il y avait 2 à 3 milliards d'années, une bactérie aurait été capturée par une ϕ eucaryote:

Cette bactérie aurait d'abord vécu en symbiose (comme chez de nbx organismes qui hébergent



La ϕ donne protection et métabolite et la bactérie une production efficace d'ATP. Puis la bactérie aurait perdu son autonomie (tout son métabolisme, sauf la respiration), mais aussi une partie de son génome (on observe un génome 10x plus petit que chez les bactéries).

3.2 Autres organites producteurs d'énergie

3.2.1 Les péroxysomes

Petites vésicules limitées par une seule mb caractérisée par l'enzyme de la catalase.
La catalase fait ça : $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Fabrique eau et oxygène donc.

Ces péroxysomes sont présent chez toutes les animales et la plupart des plantes.

De nombreux réac d'oxydation produisent de l' H_2O_2 éliminé ensuite par la catalase (oxydation des acides gras, des glucides...)

Peu de production d'ATP mais on suppose une production de chaleur...

3.2.2 Les glyoxysomes

Petites vésicules à une seule mb, présente seulement dans les végétales (notamment les graines en germination)

Rôle : transformer les acides gras en glucose (pour le dével^{pt} de la plantule) grâce à une association glyoxysome + mitochondrie (Fig 35)

(on fait ça : Acide gras [-] \rightarrow succinate [-] \rightarrow glucose)

Bilan :

3.3 Le chloroplaste

Il assure la photosynthèse chez les plantes, algues et certaines bactéries.

3.3.1 Structure du chloroplaste

Forme et taille très variable selon les organismes, de 5 à 20 μm de ϕ .

Milieu intérieur \rightarrow stroma délimité par une dbl mb

Dedans \rightarrow des thylakoïdes empilés en grana

a) Enveloppe chloroplastique

Formée de 2 mb : - l'externe est assez perméable (porines)

- espace inter-mb semblable au cytoplasme (pH = 7)

- l'interne est une barrière de perméabilité et présente quelques replis (mais d'vlp que la mitoc)

b) Intérieur du chloroplaste

Dans le stroma, on a des chlororibosome, de l'ADN_{ch} (chloroplastique), et des ezy du cycle de Calvin, des inclusions (amidon, lipides...)

Un pH de 8

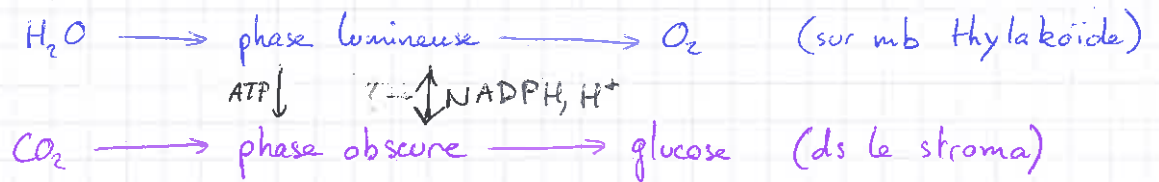
Système de vésicules aplaties, les thylakoïdes, empilés en grana (sg: granum)

Mb des thylakoïde contiennent les protéines de la photosynthèse

Chlorophylle contiennent les pigments.

Dans la lumière du thylakoïde : pH = 5

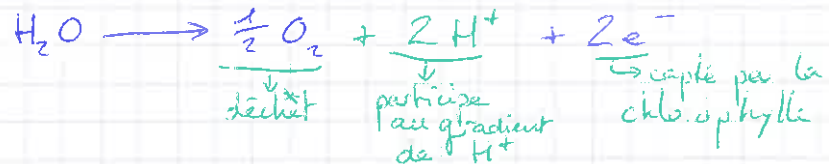
3.3.2 La photosynthèse (approximative)



o a) Phase lumineuse

- les photosystèmes sont composés d'un cplx photocollecteur (nbx pigments chlorophylés et caroténoïdes surtout) = un pigment percuté par un photon passe à un état excité et transmet son excitation au pigment voisin jusqu'au centre réactionnel. Le centre réactionnel est composé de 2 chlorophylles et récupère toute l'énergie des photons. (Fig 58)
- il y a deux photosystèmes

- **PSII** : la chlorophylle excitée cède un e^- (riche en énergie) pris en charge par des transporteurs d'électron jusqu'en PSI. En chemin, l'électron perd de l'énergie utilisée pour faire un gradient de H^+ . La chlorophylle ayant perdu un e^- devient un oxydant puissant capable d'oxyder l'eau pour récupérer des e^- .

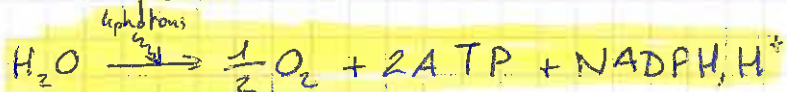


- **PSI** : la chlorophylle excitée cède un e^- (riche en énergie) pris en charge jusqu'à réduire de NADP^+ en NADPH, H^+ . La chlorophylle ayant perdu un e^- récupère celui issu du PSII.



- phosphorylation (phosphorylation oxydative de la mitoc) Il existe des ATPases (très similaires à celles des mitoc) permettant :
 - le passage de 3H^+ vers le stroma
 - la phosphorylation d'un ATP.

⇒ Bilan de la phase lumineuse



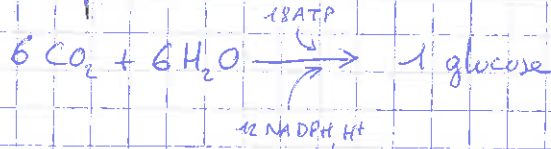
b) Phase obscure

Cette phase correspond au cycle de Calvin.

Ce cycle se déroule dans le stroma:

- Fixation d'un CO_2 sur un pentose grâce à la rubisco*
- réduction des trioses formées en G3P
- 2 G3P forme un glucose par néoglucogénèse

Bilan de la phase obscure



Rappel: le saccharose est: 1 glucose + 1 fructose

3.3.3 Biogénèse

a) Le chADN (ou chlADN selon les versions)

ADN dbl brin circulaire et "nu" de petite taille mais comprenant de nbx gènes (≈ 120). On a 4 chARNr
37 chARNt
 ≈ 80 protéines

Ces gènes sont transcrits et traduits dans le chloroplaste grâce au chlororibosome. Ils ne forment pas des ezy. ptnelles mais seulement des s. s. unités. Il faut donc importer le reste (s. s. unités manquantes) du cytoplasme.

b) La chlorodivision

Comme la chondrodierèse: division en 2 de l'organe.

c) Origine évolutive

Comme pour la mitochondrie, mais le phénomène serait plus récent d'où un génome moins réduit que celui de la mitochondrie.

* en masse rubisco = 50% des protéines végétales!

3.4 La vacuole

3.4.1 Compartiment de stockage

Compartiment isolé du cytoplasme par une mb (tonoplaste)
Parfois les vacuoles sont toutes petites, eff. à 2 % du volume total, ont donc un rôle réducteur → ϕ animales
Parfois les vacuoles sont grosses (80% du volume total), ont donc un rôle important → ϕ végétales

Sur le tonoplaste on a 2 pompes à H^+ .
Le gradient de H^+ entre la vacuole (pH de 3 à 6) et le cytoplasme (pH 7)
Ce gradient a pour conséquence le stockage d'ions, des anions entrent pour rétablir la neutralité électrique (transport passif par perméase) et ~~laissent alors~~ les cations entrent par anti-port H^+ cation (transport actif).

Le gradient permet aussi de stocker du saccharose (qui entre par anti-port H^+ -saccharose) : transport actif

Le gradient permet enfin de stocker des déchets du métabolisme : la vacuole contient des hydrolases actives à pH acide pour dégrader ces déchets.

3.4.2 Contrôles des échanges hydriques de la cellule

L'accumulation d'ions et cations de la vacuole génère une pression osmotique très élevée (+ que celle du cytoplasme ou du milieu extérieur)
Cette différence de pression osmotique permet de pomper efficacement de l'eau. En effet, pas de danger d'éclatement de la ϕ grâce à la paroi. Cette différence de po permet aussi aux ϕ de croître : l'entrée d'eau dans une ϕ jeune (paroi squelettique encore déformable) permet d'agrandir la paroi, donc la ϕ . → turgescence

3.5 Le noyau

Le noyau est un organe particulier, à taille importante et à rôle essentiel.
En g^l il y a une ou un noyau par ϕ mais certaines cellules n'ont pas de noyau (le globule rouge perd son noyau et survit 3 mois) et d'autres en ont plusieurs (ϕ musculaires : plusieurs mitoses sans séparation des ϕ filles).

3.5.1 Enveloppe nucléaire

- Double mb : une interne qui isole un espace interne nucléaire, une externe en continuité avec le REG.
- Couche de lamina sous la mb interne : réseau de fibres formées par des lamines (protéines) β . Ça fait par polymérisation un treillis épais. Tout ça donne une forme au noyau et permet l'ancrage de l'ADN.
- Pores nucléaires : plusieurs protéines assemblées en un canal formant et constituent jusqu'à 25%. Il existe plusieurs milliers de pores par noyau et constituent jusqu'à 25% de la surface du noyau. Ils ont un rôle de filtre pour contrôler les échanges noyau/cytoplasme. Le pore reconnaît la tête des ARN grâce à la CBP (Cap Binding Protein)

b) Rôles

Le nucléoplasme est protégé par l'envel. nuclé. de l'action des ezy lytiques du cytoplasme. L'envel. nuclé. permet aussi un contrôle des échanges avec le cytoplasme grâce aux pores.

3.5.2 Nucléoplasme

a) Chromatine, support de l'ADN

La chromatine est l'association de l'ADN avec des protéines ... et qq ARN.

13% ADN

12% ARN

75% protéines (histones)

La chromatine permet donc le compactage de l'ADN en chromosomes et participe à la régulation de la transcription de l'ADN.

On distingue : **eu-chromatine** = fibre nucléosomique

hétéro-chromatine = fibre épaisse en périphérie

b) Nucléole

On le visualise parce qu'il forme une tache.

Il contient de l'ADN codant pour des ARN_n (organisateur nucléolaire)

↳ dont la présence suffit à recruter des protéines spécifiques qui organisent le nucléole.

On y trouve aussi des ARN_{pol I}, protéines de structure, protéines, ARN de l'ARN pol I et des protéines ribosomales.

C'est le lieu de synthèse des ARN_r et ribosomes.

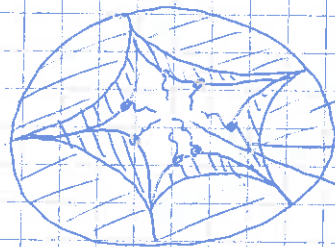
c) Structuration du nucléoplasme en territoires.

Un réseau de fibres mal connu structure le nucléoplasme en :

• chromatine non-transcrite, proche de l'env. nuclé.

• chromatine transcrite, proche du centre du noyau

• pas de chromatine, zone de maturation des ARN_m.



chromatine non-transcrite

chromatine transcrite

zone de maturation des ARN_m

NUCLEOLASME EN
TERRITOIRE

4 Les particules cytoplasmiques et le cytosol

4.1 Le cytosquelette

cytoplasme : tout ce qu'il y a dans le cytoplasme, sauf le noyau.
Si on centrifuge* on a : des mb et vésicules, des organites, et des particules sans mb, mais trop grosses pour être en solution.

Ce qui reste en solution, c'est le **cytosol** (ou **hyaloplasme**)

cytosquelette : réseau d'éléments protéiques, filamenteux et tubulaires, dans le cytoplasme (Fig 70)

4.1.1 Les microtubules (mt)

a) Structure

Deux protéines tubulaires = les tubulines α et β qui s'associent en dimères $\alpha\beta$ qui s'associent en protofilaments $\alpha\beta - \alpha\beta - \alpha\beta \dots - \alpha\beta$.
13 protofilaments s'associent en parallèle pour former des microtubules.

• Diamètre mt = 24 nm

• Forme : rectiligne, jamais ramifiée

• Longueur = 0,1 μm à 30 μm (longueur de la ϕ)

• Présence : dans toutes les ϕ

Propriétés : - dynamique (des dimères sont en permanence ajoutés ou retirés aux 2 extrémités)

- polarisée (dimères tous orientés de la même façon)

⇒ l'extrémité \oplus , positive, est très dynamique

l'extrémité \ominus négative est peu dynamique

b) Mt isolées

Elles rayonnent à partir de la région du centrosome (noté MTOC : centre organisateur de microtubules), située près du noyau et comprenant deux centrioles (sauf chez les plantes) et des extrémités - des mt.

Rôles

• Maintien des formes de la ϕ

• Transport des K dans la mitose

• Transport intra ϕ : les vésicules et particules sont parfois transportées le long de ces microtubules.

c) Structures pluri-tubulaires (donc pas isolées)

* On les trouve ds les **centrioles** et **corpuscules basaux**.

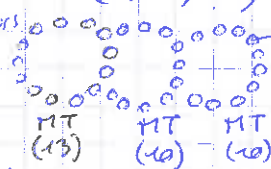
Ce sont des particules cylindriques courtes (0,2 μm) de structure 3 triplets de mt forment un tube, plusieurs tubes forment des **centrioles**.

Présence ds des ϕ animales

Formé de 2 éléments perpendiculaires

Se reproduit juste avant le début de la mitose

Centre de formation des microtubules isolées dans la ϕ .



le corpuscule basale, (situé à la base d'un cil ou d'une flagelle) est toujours seul.
Il est un ancrage à l'axonème dans.

* On les trouve (ailleurs?) l'axonème.

L'axonème est

Caractérisé par 3 doublets de mt formant un tube + 2 microtubules axiaux



Il sert d'armature aux cils et flagelles. C'est une protubérance très fine et allongée que l'on trouve dans le cytoplasme.

La dyneïne est une protéine motrice qui permet des mvts (si on fournit l'énergie).

L'axonème a un rôle dans l'audition (cils oreille interne), dans l'élimination de poussière (trachée) et le dpl^{ur} des spermatozoïdes.

Note: les flagelles ondulent et les cils battent.

4.1.2 Les microfilaments (mf)

a) Structure

Composés de protéines globulaires (comme l'actine G) avec deux domaines très séparés.

↳ l'actine G polymérise en filament très torsadé, l'actine F.
actine F = actine au sens commun.

Diamètre = 7 nm

Forme = rectiligne, jamais ramifiée

Présence = dans toutes les ϕ

Propriétés: filament dynamique et polarisé (association/dissociation aux extrémités, mais moins que chez les mt)

On distingue très les extrémités + dyn et - par dyn.

b) Rôle

• dans la contraction musculaire avec:

- la myosine, 4 chaînes peptidiques formant une queue rigide et une tête articulée. Les tétramères s'agglomèrent pour former un filament épais aux extrémités hérissées de têtes.

- contraction en soi: les têtes de myosine se fixent sur l'actine, et la consommation d'un ATP permet un changement de conformation des têtes qui génère un dpl^{ur} de la myosine par rapport à l'actine. Ça permet un raccourcissement de la fibre musculaire.

c) Autres rôles

• soutien de la forme des cellules (les microvillosités sont soutenues par un faisceau de microfilament réticulé P. 8 8^e)

• glissement de vésicule ou organites le long des mf, c'est la cytose

• structuration du cytosol par réticulation

4.13 Les Filaments intermédiaires

a) Structure

5 groupes de protéines similaires corresp. à 5 familles de Fi.
Ces protéines s'assemblent de façon identique.
Elles sont fibreuses et forment des tétramères et s'associent les unes à la suite des autres en protofilaments.
8 protofilaments \rightarrow 1 filament intermédiaire.

b) Rôles

Les Fi entrent dans la composition principale des cheveux et des ongles.
Forment une armature dans le cytoplasme.
Ancrés dans le noyau et la mb plasmique.
Peuvent être soutien de l'axone des neurones (\rightarrow neurofilament)
Soutien de l'envlp nucléaire (au niveau de la lamina).

4.14 Réseau trabéculaire

On observe que des filaments de 30nm de diamètre forment un réseau très enchevêtré de nature et de structure mal connues.
Ils formeraient l'armature fine du cytoplasme.
et organiseraient les organites, ribosomes ou enzymes les un par rapport aux autres.

4.2 Le cytosol

Soit tout ce qui ne sédimente jamais

a) Structure

On a 70 à 80% d'eau, le reste étant des protéines. $\text{pH} \approx 7$
(avant, on pensait que c'était à l'importance qu'on leur accordait)
Système très organisé, composants situés placés grâce au cytosquelette.
On le trouve plus ou moins liquide :
liquide, mais gélatineux par la présence des protéines
solide semi-solide quand l'actine se réticule

b) Rôles

Le cytosol est siège de très nombreuses fonctions métaboliques grâce à des milliers d'enzymes. Le réseau trabéculaire favoriserait la rencontre ezy-substrat.
Lieu de stockage de produits sous forme d'inclusion (vésicule sans mb)
ex. d'inclusion : acides gras (gouttelettes lipidiques), de glycogène (granules en rosette)

5 L'extérieur de la cellule

5.1 La matrice extracellulaire des cellules animales Réseau de macromolécules sécrétées par les ϕ et qui les entoure.

5.1.1. Les constituants de la matrice extracellulaire

a) Les collagènes

Protéines les plus abondantes dans le monde animal : 25% de la masse protéique.
Protéine fibreuse sans ~~secondaire~~ secondaire, formant des fibres très résistantes (plus résistantes que l'acier proportionnellement).
Permettent la résistance à la traction et déformation dans la matrice.

b) Les protéoglycanes

Forment une charpente protéique sur laquelle de gros polysaccharides sont accolés. Région alors hydrophile qui capte bcp d'eau.

c) Les hyaluronates

Long polysaccharide (jusqu'à 100 monomères) et répétitif et hydrophile. (très)
Il capte bcp d'eau : jusqu'à 100000 fois plus que le volume de la cellule .
Le dihyaluronate forme un gel permettant la résistance à la compression et à l'absorption des chocs.

d) La Fibronectine

2 protéines fibreuses attachées par leur extrémité c-terminale.
Permettent le lien entre la ϕ et la matrice grâce à des sites de fixation aux collagènes, aux protéoglycanes et aux ϕ elles-mêmes.

5.1.2 Rôles de la matrice

a) Adhésion des cellules entre elles

Dans un tissu, les ϕ ne sont pas tout à fait collés : une matrice + ou - large les sépare. Au niveau des muscles de la paroi artérielle, de grosses ϕ musculaires sont séparées par une fine matrice de collagène (résiste à la déformation) de protéoglycanes et hyaluronates (consistance de gel) et de fibronectines (arrimage à la matrice).

b) Composant principal du tissu conjonctif lâche

Le tissu conjonctif lâche sert de support à de gros organes et de remplissage entre organes : sous l'épiderme, il forme une couche épaisse permettant la diffusion de l'oxygène et des nutriments des capillaires à l'épiderme.

Il y a dans ce tissu bcp de ϕ fibroblastes qui synthétisent la matrice. Ces ϕ sont noyées ds une matrice importante composée de collagènes en réseau lâche et de protéoglycanes qui, grâce à une consistance de gel permet une diffusion facile de l'oxygène et des nutriments.

c) Propriétés mécaniques des os, tendons, cartilages

c) Propriété mécanique des os, tendons, cartilage

Tissus très pauvres en ϕ principal constitués d'une matrice rigide, résistante et flexible.

On observe ϕ rases fibroblastes sécrétant les constituants de la matrice

- de nbx collagènes en faisceaux de fibres parallèles pour une grande résistance à la traction
- des protéoglycanes et hyaluronates qui permettent une résistance à la déformation.

d) Communication intercellulaire

La matrice n'a pas qu'un rôle structural, mais elle joue aussi un rôle factuel. Les hormones et facteurs de croissance du sang diffusent hors des capillaires et sont captés par la matrice qui les fixe à proximité des ϕ cibles, et les protège des dégradations enzymatiques.

⇒ la matrice renforce l'action des hormones.

Rmq: la matrice extra ϕ est synthétisée par les ϕ à proximité:

- synthèse dans le cytoplasme des précurseurs (tropocollagène) et des m telles que fibronectine et glycoprotéines
- sécrétion par exocytose
- fin de l'assemblage à l'extérieur de la ϕ (dans la matrice):
là tropocollagène \rightarrow collagène
et protéines + glycoprotéines \rightarrow protéoglycanes.

La matrice est une "extension des ϕ à proximité". Selon les cellules, la matrice sera souple et élastique (cartilage), résistante et dure (os), ou très déformable (muscles)...

5.2 La paroi squelettique des cellules végétales

Pas de matrice extra ϕ mais une paroi rigide caractéristique

5.2.1 Les constituants

a) La cellulose

C'est la composé organique le plus abondant sur Terre. La cellulose est un polymère linéaire rigide de glucose qui s'organise en microfibrilles parallèles insolubles.

b) L'hémicellulose

Squelette de cellulose sur lequel on observe des branchements de courts oligo-saccharides (donc "moitié-cellulose" quoi...)

c) Les pectines

Ce sont des polysaccharides avec des group^{nt} COOH ou COO^- , m très hydratées. Les pectines forment un gel qui emprisonne les fibrilles de cellulose.

d) Les lignines

Polymères complexes avec de nbx group^{nt} phénol. Il rigidifie les tissus et se trouve très abondant dans le bois (vaisseaux conducteurs de sève ainsi rigidifiés).

5.2.2 Formation de la paroi

Toutes ces @ sont synthétisées ds le cytoplasme puis secrétées par exocytose. On observe la formation d'une couche à l'extérieur de la mb plasmique. La couche suivante se retrouve ainsi plus près de la mb plasmique et la couche initiale est la + éloignée.

a) La lamelle moyenne

C'est une couche mince formée soit de pectine et de lignine.

Elle est "le ciment" liant les deux cf.

Elle est synthétisée par les 2 cf filles après mitose d'où 1 seule lamelle moyenne pour les 2 cf.

b) La paroi primaire

C'est une couche mince formée de 20% d'hémicellulose, 10% de cellulose, de pectines, lignines, lipides et protéines.

Cette couche est synthétisée par chaque cf fille, on a donc deux parois primaires de part et d'autre de la lamelle moyenne. La cellulose forme un réseau lâche qui peut encore se déformer, donc la cellule peut encore s'allonger.

c) La paroi secondaire

Couche épaisse formée de cellulose et hémicellulose, synthétisée par chaque cellule fille (la ~~couche~~ paroi secondaire est donc plus proche de la mb plasmique). Dans chaque couche de la paroi secondaire - la cellulose est orientée différemment. Dans cette paroi on trouve des tissus lignifiés (avec lignine).

	lamelle moyenne	paroi primaire	paroi secondaire
composés pectiques	+++	++	+
hémicelluloses	0	++	+
cellulose	0	++	+++
lignine	++	≈ 0	++

6. Adressage des protéines

Les protéines sont traduites dans le cytoplasme, mais comment rejoignent-elles leur compartiment de destination?

On distingue 2 types d'adressage : co-translationnel et post-translationnel, au plus de la nature.

Le tri se fait au niveau des ARNm, très tôt, mais tous les ARNm commencent leur traduction dans le cytoplasme en s'associant à un ribosome libre.

Transfert ⇒ Ribosome ⇒	Co-translationnel accroché au REG	Post-translationnel libre dans le cytoplasme
Compartiments de destination ⇒	<ul style="list-style-type: none"> • Lysosome - Extérieur • Membranes <ul style="list-style-type: none"> - plasmique - nucléaire - RE - Golgi - Lysosome - Vacuole • Golgi • RE • Vacuole 	<ul style="list-style-type: none"> • Noyau • Mitochondrie • Chloroplaste • Peroxysome, glyoxysome • Protéine périphérique de la mb plasmique (côté cytoplasmique) • cytoplasme

ARNm : traduction cytoplasmique
Association avec un ribosome libre

↓
les 1^{er} aa traduits
comportent une seq. particulière
↓
le ribosome s'accroche au REG

Co-translationnel

↓
Pas de seq. particulière
↓
le ribosome reste libre
dans le cytoplasme

Post-translationnel

6.1. Le transfert co-translationnel

6.1.1 Synthèse protéique au niveau du REG

a) Accrochage du ribosome contre le REG

- les 1^{ers} aa traduits forment une seq. particulière, hydrophobe (≈ 16 à 30aa)
Celle seq. est un peptide (ou séquence) signal.
- la protéine SRP reconnaît ce signal (SRP elle-même est reconnue par un récepteur du REG).
- le ribosome (avec l'ARNm en cours de traduction) est ancré sur la face cytoplasmique des REG (pas dans le REG).
- la séquence est aussitôt privée (elle ne fait pas partie de la protéine mature)
On passe de l'état de préprotéine (avec peptide signal) à protéine (sans peptide signal).

b) Transfert de la protéine dans le REG

La chaîne peptidique en formation traverse la mb du REG par un tunnel protéique.

L'extrémité N terminale se trouve dans la lumière, tandis que l'extrémité C terminale (en cours de traduction) se trouve du côté cytoplasme.

Au cours de son allongement, la chaîne peptidique se déplete dans la lumière du REG. Elle n'est jamais dans le cytoplasme et passe directement dans le REG.

La traduction a lieu dans le cytoplasme, mais la protéine est libérée dans le REG.

c) Libération de la protéine dans le REG

Lorsque le ribosome arrive au codon stop, ses 2 9S-unités se séparent et lâchent l'ARNm (et donc la mb du REG) et retournent vaguer dans le cytoplasme.

À ce moment, la protéine formée traverse entièrement la mb et est libérée dans la lumière du REG.

d) Cas particuliers des protéines membranaires intrinsèques

Les protéines intrinsèques (= avec une portion ds la mb)

Ne sont pas libérées entièrement dans la lumière du REG.

Elles ont une ou plusieurs parties hydrophobes, les séquences topogènes

qui correspondent au domaine trans-mb.

Lors du transfert elles restent donc bloquées dans la mb.

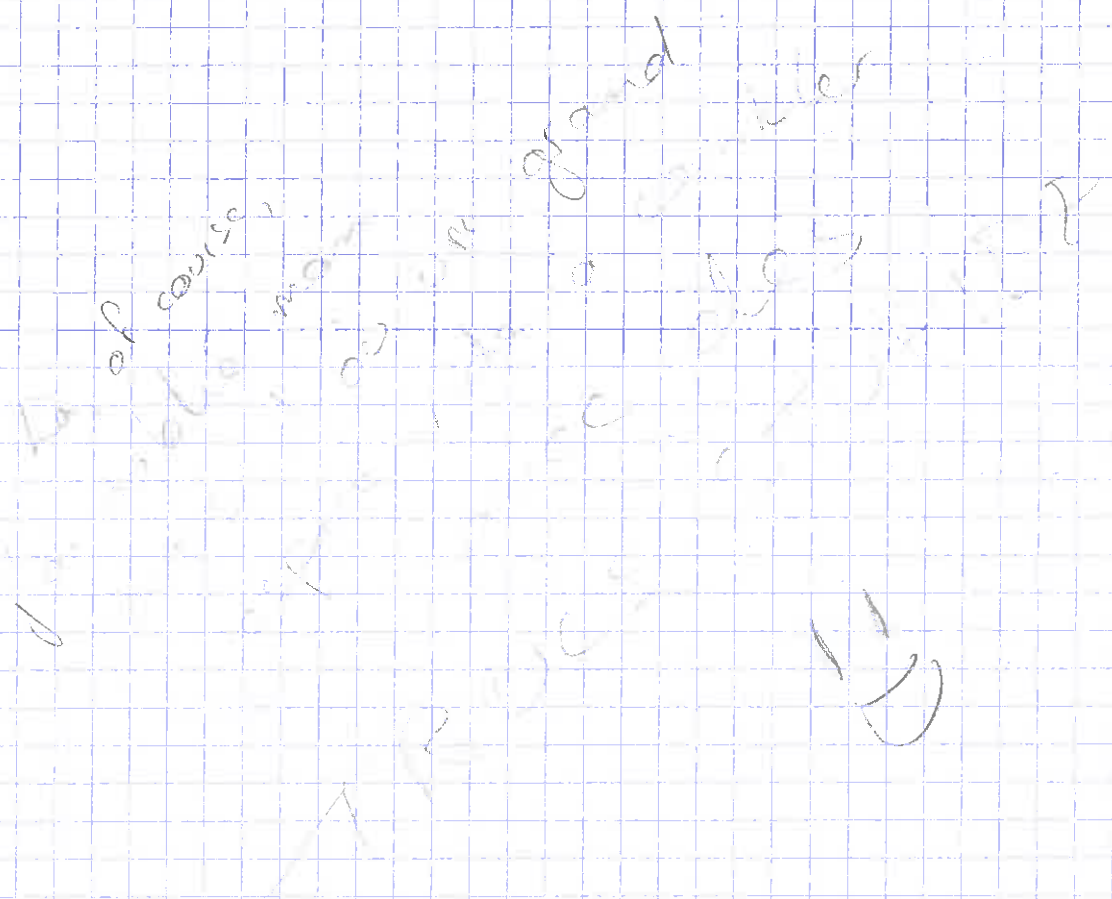
Si il y a une 2^e seq. topogène, le transfert reprend (vers la lumière) et s'arrête à la portion hydrophobe suivante.

La protéine se retrouve avec sa localisation caractéristique : ds la mb du REG (extrémité N terminale dans la lumière du REG).

6.1.2 - Maturation dans le réseau endomembranaire

Ces maturations se font en même temps que l'adressage : dans le REG, puis dans le Golgi, puis des vésicules issues du Golgi.

- a) Obtention de la structure tertiaire et quaternaire dans le REG
 - formation de ponts disulfures $S-S$ au cours de la sortie dans la lumière RE
 - obtention de la structure tertiaire correcte (la plus stable) au cours de repliements successifs
 - obtention de la structure quaternaire éventuelle par association de chaînes peptidiques repliées.
- b) Glycosylation dans le REG et le Golgi



b) Glycosylation dans le REG et le Golgi

Asp traduite
 ↓
 + oligosacch.
 ↓
 - 3 glucoses
 - 3 manoses
 ↓
 Dans Golgi
 ↓
 + ou - monomères

* Les oligosaccharides liés à N (azote) sur les asparagines (Asn)
 Ces oligosaccharides sont synthétisés dans le REG sous la forme d'un précurseur de 14 monomères et accolé au dolipdol (long lipide torpénique). Elles sont transférées sur certaines asparagines lors de la traduction de celles-ci (les asparagines sont entourées de N). Cette @ obtenue est alors remaniée : perte de 3 glucoses et 3 manoses dans le REG. Ainsi, toutes les @ quittent le REG avec les mêmes espèces.
 Cette @ est remodelée dans le Golgi de façon sélective (selon la protéine) = perte ou ajout de monomères. Ainsi, chaque protéine quitte le Golgi avec certains oligosaccharides caractéristiques.

Thr ou Ser traduite
 ↓
 Dans Golgi
 ↓
 + oligosacch.

* Les oligosaccharides liés à O sur les sérines (Ser) et thréonines (Thr)
 L'oligosaccharide est synthétisé au fur et à mesure le long de la protéine. Se fait dans le Golgi en principe, mais peut commencer dans le REG.

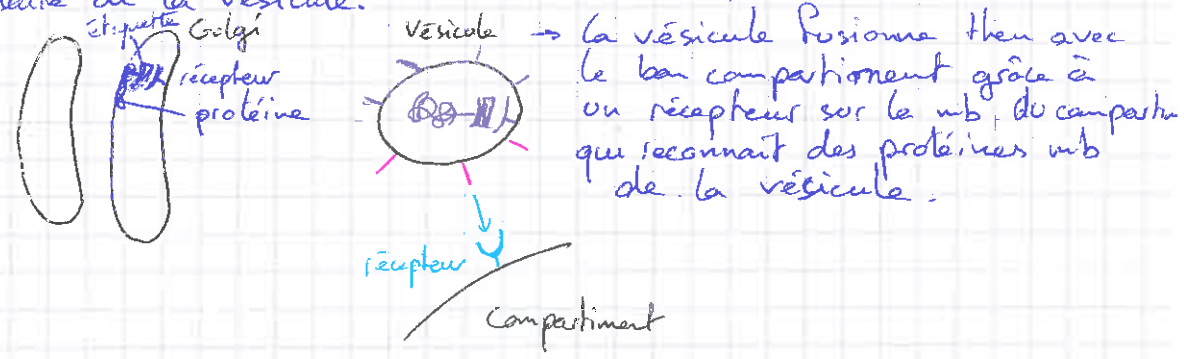
c) Clivage dans les molécules de transport (après Golgi)

Certaines protéines sont synthétisées sous une forme inactive, ce qui évite des effets fort néfastes sur la ϕ (ezy lytique, qui pourrait zigzaguer le RE, ou l'hormone qui pourrait engendrer une réponse permanente et so inadaptee). La protéine active est obtenue par clivage d'une portion d'aa juste avant son arrivée dans le compartiment de destination. (passage de proprotéine à protéine)

6.1.3. Adressage de protéine

C'est l'envoi dans le bon compartiment après synthèse.
 Mécanisme général

- La protéine porte une "étiquette" qui signal sa destination, elle est nécessaire et suffisante pour un adressage correct.
- La protéine est, après Golgi, dirigée vers certaines vésicules de transport grâce à la reconnaissance de cette étiquette par un récepteur membranaire de la vésicule.



a) Vers les lysosomes

L'étiquette est une phosphorylation d'un ou plusieurs manoses sur un oligosaccharide lié à N (se fait dans cis Golgi et sera enlevé dans les vésicules de transport qui vont reconnaître le manose 6 phosphate (Man 6P). Les dernières vésicules fusionnent avec les lysosomes primaires (reconnaissance non élucidée), apportant par instance des ezy lytiques.

b) Vers la vacuole

L'étiquette est une chaîne d'aa (ensuite clivés dans la vacuole)
On ne connaît pas les mécanismes d'adressage
Les protéines sont par exemple

c) Vers la membrane plasmique ou l'extérieur

C'est l'adressage par défaut des sans étiquettes!
hors de la fusion des vésicules de transport avec la mb plasmique, soit la protéine en solution est déversée à l'extérieur (p. de sécrétion) soit elle est intégrée dans la mb de la vésicule et se retrouve dans la mb plasmique (protéine intrinsèque)



exemple de déplacement de protéine intrinsèque

That's why les oligosaccharides se retrouvent sur la face externe de la mb cellulaires (→ cell coat)

exemples de protéines mb = récepteurs, pompe à H^+ , perméases...
exemples de protéines de sécrétion : collagène, ezy digestives

d) Restent dans Golgi

L'étiquette est une hélice transmb particulière.
exemples : ezy de phosphorylation des manoses ou de modifications des oligosaccharides.

e) Restent dans RE

L'étiquette est 4aa : lysine + acide aspartique + glutamine + leucine
Soit Lys-Asp-Glu-Leu
au côté C terminal.

Il existe un récepteur dans la mb du RE permettant de retenir ces protéines. Ce m récepteur se retrouve dans Golgi pour ramener celles qui cherchent à fuir

exemples de protéines : récepteur du peptide signal SRP

↑
reah' tu gère
grand mEP

f) Vers la mb nucléaire

L'étiquette est reconnue, les protéines migrent sans doute depuis le REG jusqu'à la mb nucléaire grâce à la continuité.
exemple: protéines des pores du noyau.

6.2. Le transfert post-traductionnel

6.2.1 Synthèse protéique dans le cytoplasme

Les premiers aa de la protéine ne comportent pas de peptide signal.
Pas d'accrochage du ribosome au REG: la protéine est libérée dans le cytoplasme.

6.2.2. Maturation dans le cytoplasme

- 1 → Repliments pour obtenir des structures tertiaires et quaternaires.
- très peu de ponts disulfures (S-S)
- pratiquement pas de glycosylation

6.2.3. Adressage de la protéine

a) Vers le noyau

Les étiquettes est de 5 aa basiques (séquence NLS, Nuclear Localisation Sequence)

Les protéines entrent par les pores, grâce à une reconnaissance de la NLS par un récepteur sur la face cytoplasmique.
NLS n'est pas excisée.

exemple de protéines: polymérase, histones etc

b) Vers la mitochondrie

Seules 10 à 20 protéines étant synthétisées par la mitoc.
Les autres sont codées par le noyau et synthétisées dans le cytoplasme.

• vers la matrice ou mb interne:

étiquette de 3 à 5 aa basiques côté N terminal.
La protéine passe par un tunnel à travers les deux mb.

Excision de l'étiquette dans la matrice.

On observe des repliments: si la protéine est hydrophile, elle reste dans la matrice, si elle est hydrophobe, elle est incrustée dans la mb interne.

• vers l'espace intermb

si en plus, il y a une 2^e étiquette, la protéine déployée retraverse la mb interne et s'accumule dans l'espace intermembranaire.
L'étiquette est excisée et la protéine se replie.

• vers la mb externe

si la 2^e étiquette est une autre, la protéine reste bloquée lors du transfert dans la matrice, dans la mb externe.

Rng: l'étiquette n'est pas excisée, elle correspond à la future portion intermb.

c) Vers le chloroplaste

80 protéines codées et synthétisées dans le chloroplaste.
Les autres sont codées dans le noyau et synthétisées dans le cyto.

• envoi vers le stroma :

une étiquette côté N terminal mais pas de motifs communs
la protéine traverse un homot à travers les deux mb.
L'étiquette est excisée, rapidement.

• envoi vers les thylacoïdes

il y a une 2^e étiquette qui fait traverser la mb du thylacoïde.

d) Autres destinations

• peroxysoèmes et glyoxysoèmes

étiquette de 3aa à la fin de la protéine (non excisées)
Ser-Lys-Leu

• cytoplasme

pas d'étiquette (adressage par défaut)
exemple : les protéines du cytosquelette.

• périphériques

les protéines migrent dans le cytoplasme et se collent
à la mb par liaison faible

Légendes Fig. 116

Inclusion dans
la mb

sésotion

mitochondrie

chloroplaste

mtADN

chlADN

mitoribosome

chlororibosome

protéines mitoch

golgi

peroxysoème

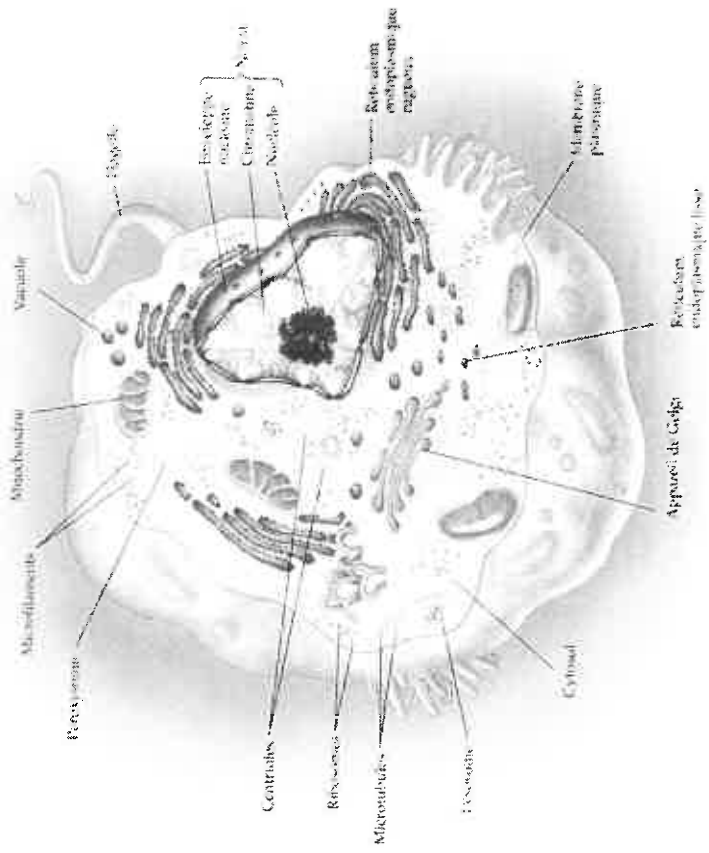
REG

protéines

protéines

cytoribosomes

-cellule eucaryote animale -



-cellule eucaryote végétale-

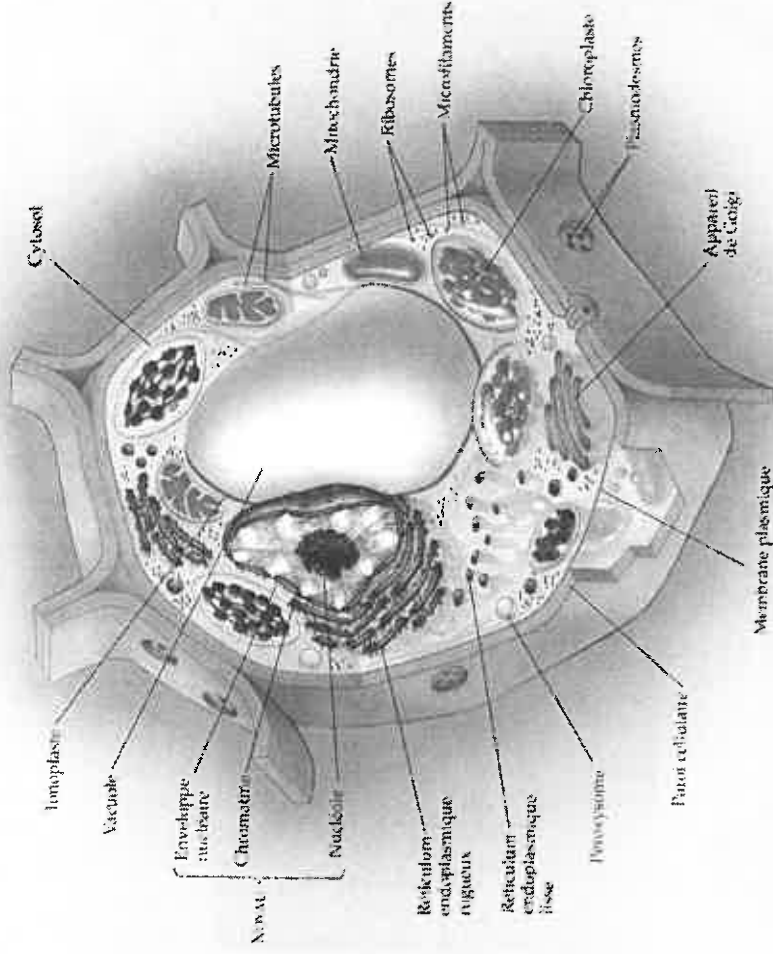


Fig1: Organisation générale d'une cellule eucaryote animale et végétale

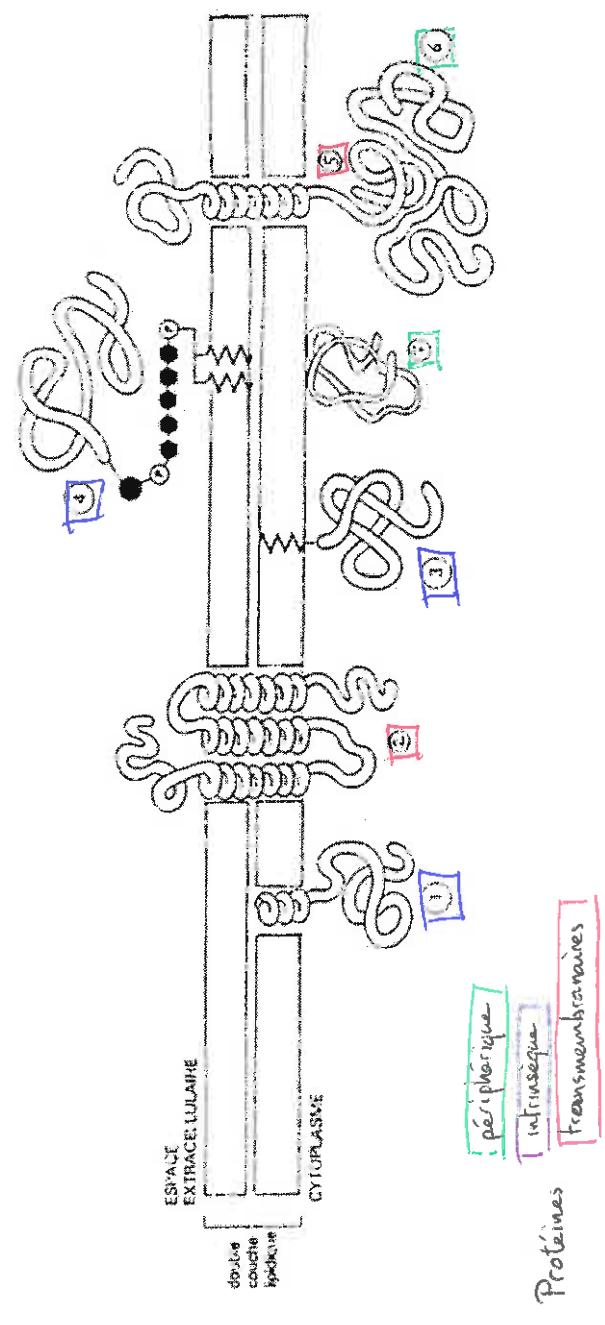
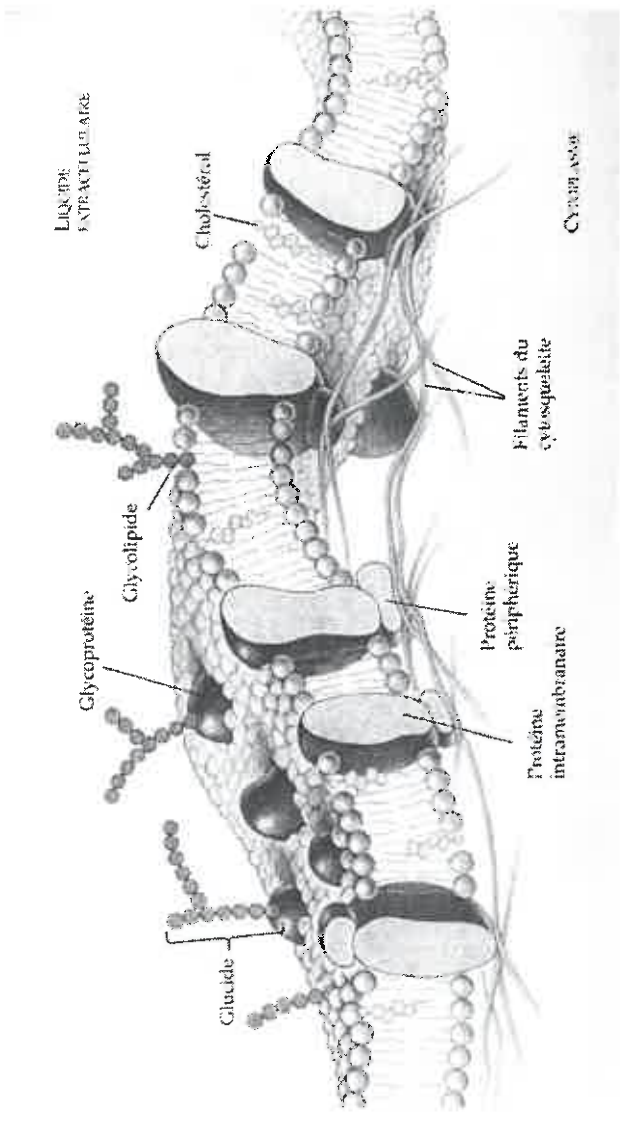


Fig2: Les différents types de protéines membranaires

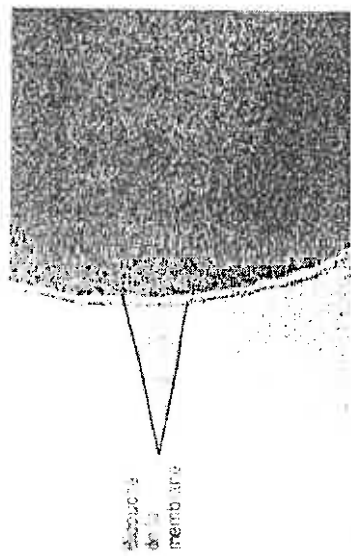


Fig 5 Micrographie électronique d'une coupe fine de membrane d'érythrocyte colorée au tétraméthyle d'osmium. Notez que la bicouche phospholipidique de la face cellulaire fait penser aux raills d'une voie latérale. Aimablement communiqué par J. D. Robertson

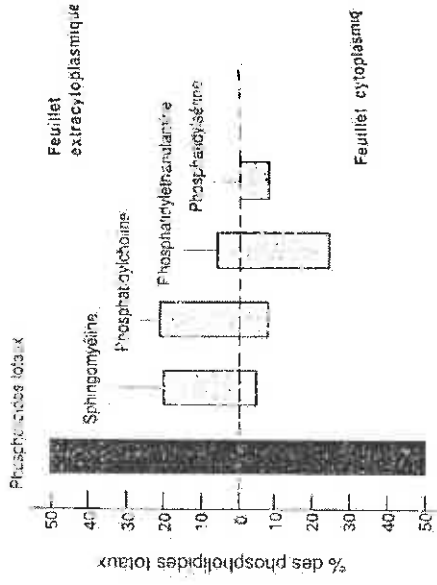


Fig 6 Répartition des phospholipides dans les deux feuillets de la membrane plasmique de l'érythrocyte humain. On exprime les valeurs en % des lipides membranaires totaux. Remarquez que chaque feuillet contient 50 % des phospholipides totaux. [Voir J.E. Rothman & J. Lenard, 1977, Science 195 : 743.]

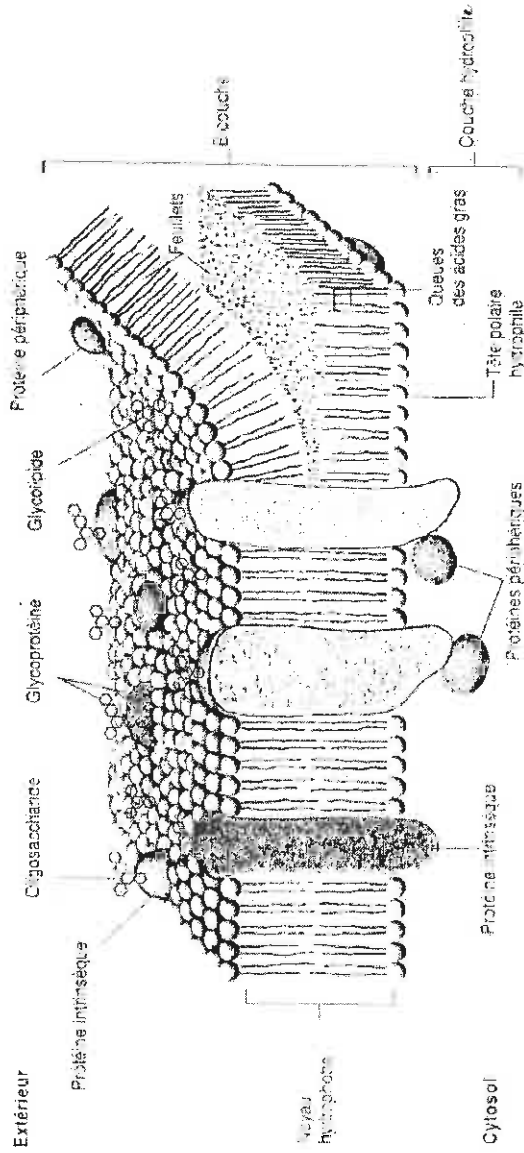
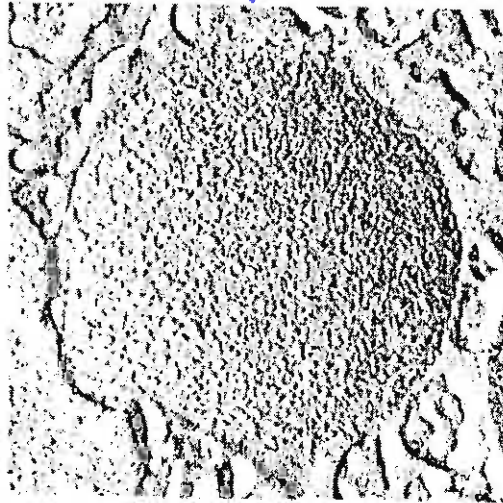
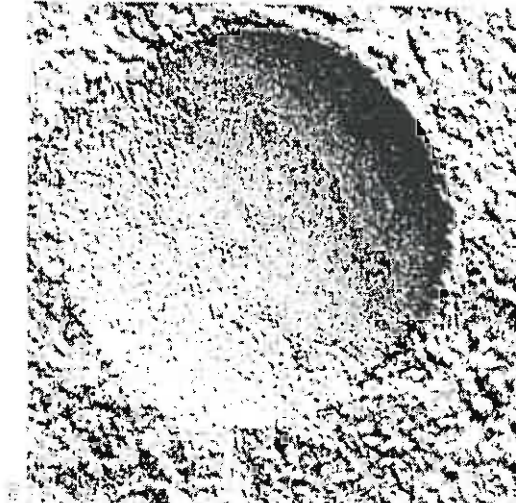


Fig 7 Une bicouche phospholipidique constitue la structure fondamentale des membranes biologiques. Les queues hydrophobes des acides gras des phospholipides forment la partie centrale de la bicouche, les têtes polaires hydrophiles des phospholipides en bordent les deux faces. Un ou plusieurs fragments des protéines intrinsèques sont encastrés dans la bicouche lipidique. Des protéines

extrinsèques sont associées à la membrane, surtout par interactions spécifiques de protéine à protéine. Les oligosaccharides sont surtout fixés à la membrane par l'intermédiaire de protéines membranaires, mais peuvent aussi y être liés à l'intervenant lipides, constituant alors les glycolipides.



↑ protéines



↓ sous
 ⇒ charges
 protéiques des
 cellules sont
 dans charges

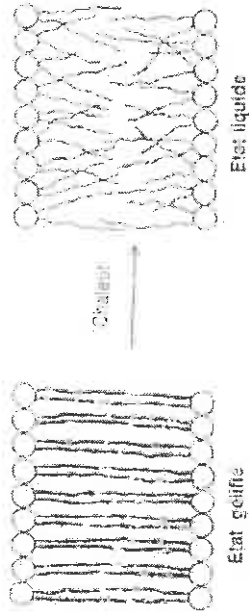


Fig 9 Deux états possibles d'une bicouche phospholipidique. Le chauffage provoque la transition gel-liquide dans un intervalle de température de quelques degrés seulement ; l'état liquide est, de plus, favorisé par la présence d'acides gras à chaînes courtes et de chaînes insaturées.

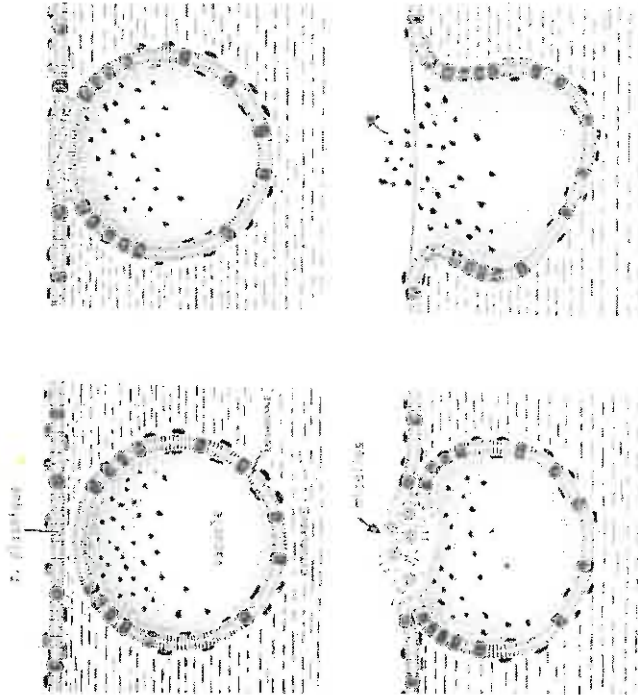
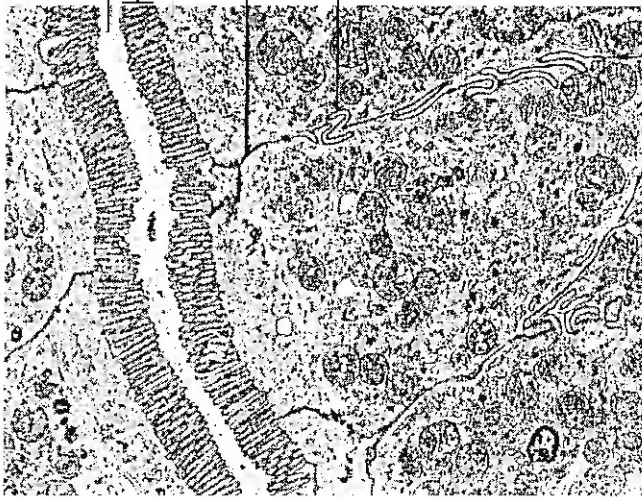


Fig10: Modèle moléculaire de l'exocytose. La vacuole contenant le produit d'excrétion arrive au contact de la membrane plasmique. (1) Les deux membranes se touchent (2) et les lipides entrent en contact. Peut-être à cause d'une enzyme les rendant plus fluides, ils fusionnent et s'écartent latéralement (3). Une membrane plasmique continue se reforme ainsi, tandis que les produits d'excrétion se trouvent libérés à l'extérieur de la cellule (4).

Fig 8 (a) Micrographie électronique d'une vacuole de membrane mitochondriale interne après cryofracture, illustrant la distribution au hasard des particules figurant les protéines intrinsèques. (b) Quand on soumet la vacuole à un champ électrique intense avant de la congeler rapidement, on retrouve toutes les particules tassées à un des pôles, ce qui montre que les porocines se sont déplacées latéralement dans le plan membranaire sous l'effet du champ électrique. La vitesse de migration est identique à la diffusion de beaucoup de protéines dans une membrane en mosaïque fluide. (Paris (a) voir A. E. Sowers & C. R. Hackenbrack, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci., 78, 6246; Paris (b) amablement communiqué par A. E. Sowers, page (b) dimab@emil.commu.ca; que par A. E. Sowers & C. R. Hackenbrack.



lumière de l'intestin
 bordure en brosse formée
 de microvillosités alignées

Membranes plasmiques adjacentes

interdigitations assurant
 la cohésion des c

Fig 11: Coupe de cellules épithéliales de l'intestin vue au TEM

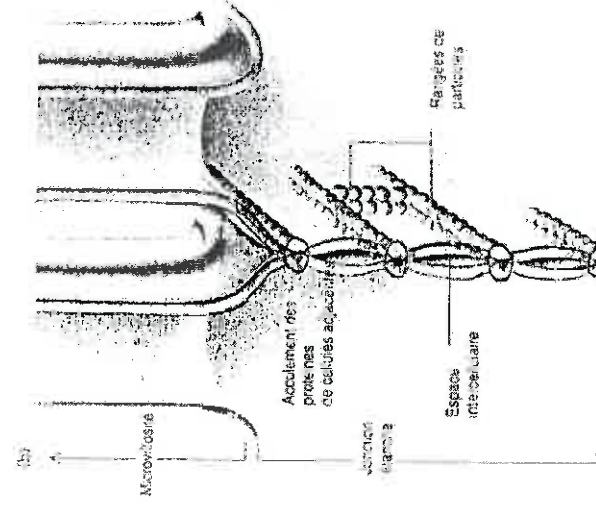


Fig 13: (a) Micrographie électronique, après cryofixation, d'une jonction étroite entre deux cellules de l'épithélium intestinal. Le plan de fracture passe par la membrane plasmique de l'une des deux cellules adossées. La jonction est constituée d'un réseau d'actine et de microvillosités qui se voient comme un réseau alvéolaire et en nid d'abeilles. (b) Modèle d'architecture présumée de la jonction où les rangées de particules se joignent à l'autre. Partie (a) aimablement communiquée par L. A. Staehelin; partie (b) d'après L. A. Staehelin & B.E. Hull, 1978, Sci. Am. 238(5) : 140.

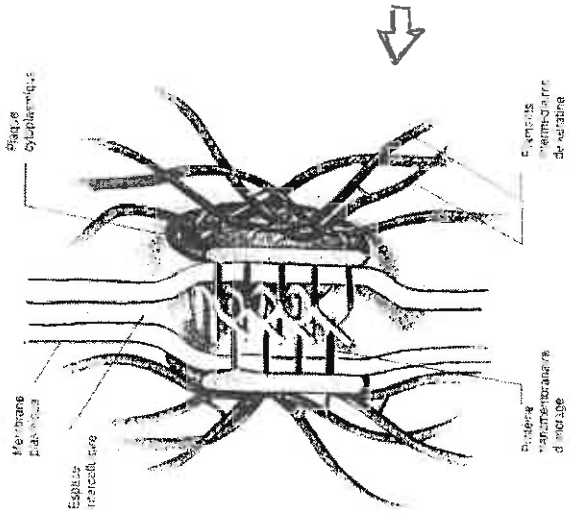


Fig 12: Structure d'un desmosome ponctuel entre deux cellules épithéliales. Les filaments intermédiaires de kératine forment une trame tendue dans tout le volume cellulaire et arrivent à la plaque cytoplasmique. Des protéines transmembranaires plus longues, issues des plaques, traversent la membrane plasmique et s'attachent par une disposition en chicane : ceci rend solidaire les plaques cytoplasmiques ainsi que le réseau de filaments intermédiaires des deux cellules. Ces jonctions permettent aux cellules de résister à la traction exercée sur elles.

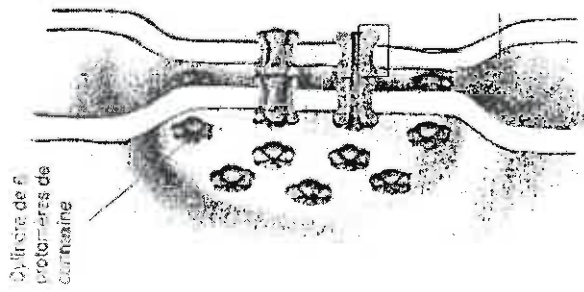


Fig 14: Schéma d'une jonction lacunaire

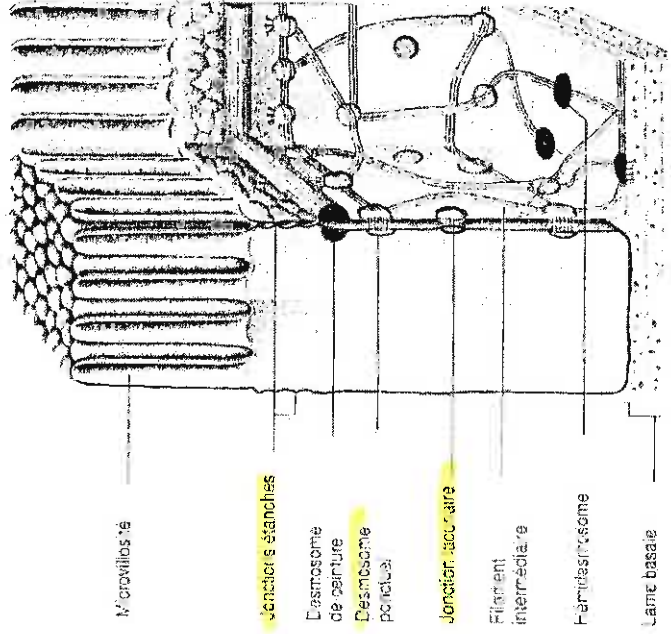
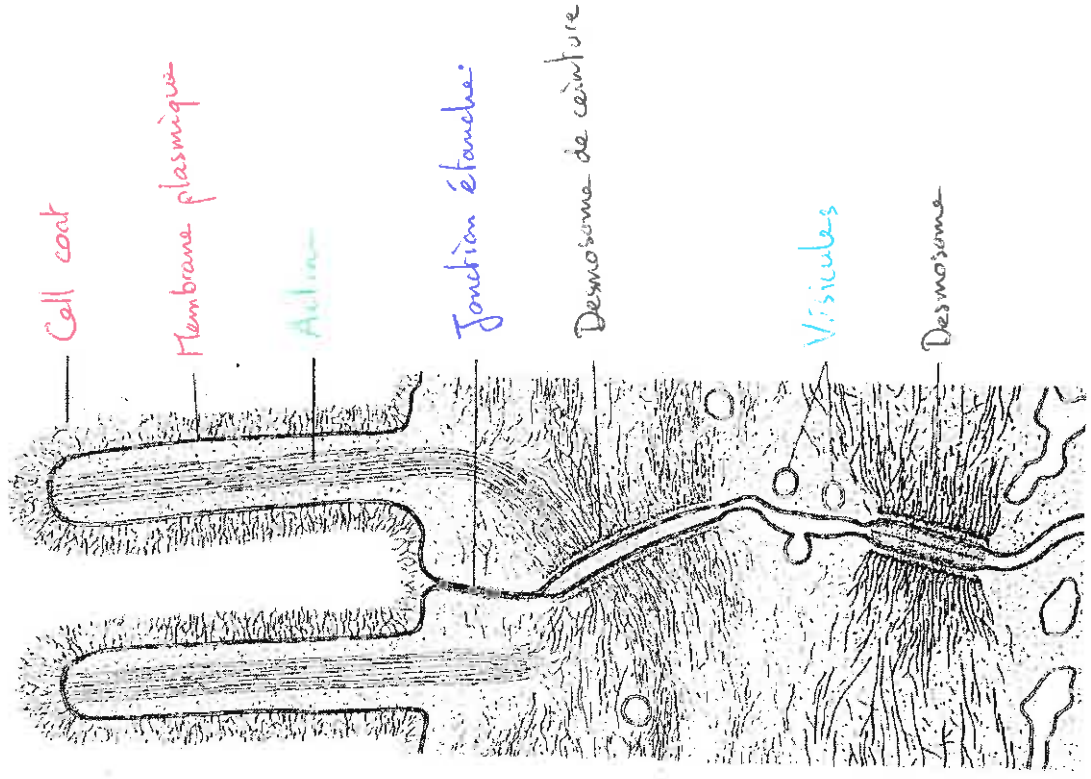


Fig 15: Jonctions entre 2 cellules épithéliales de l'intestin



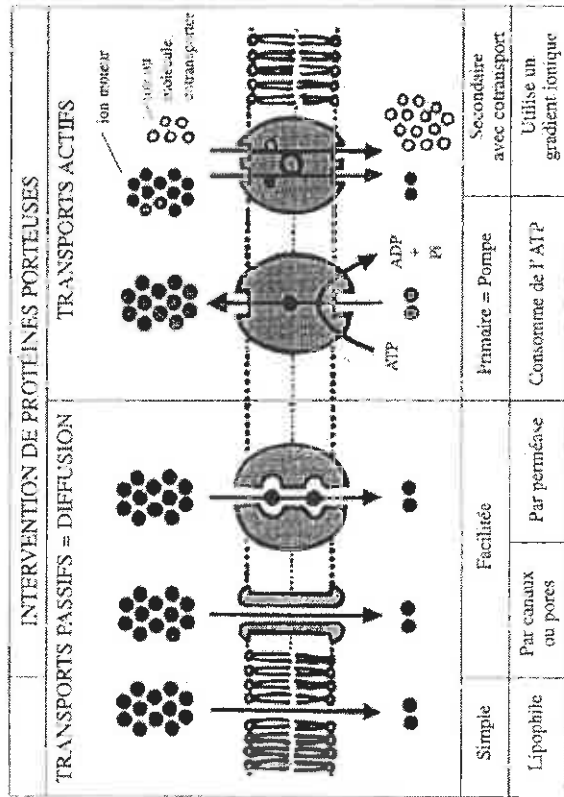
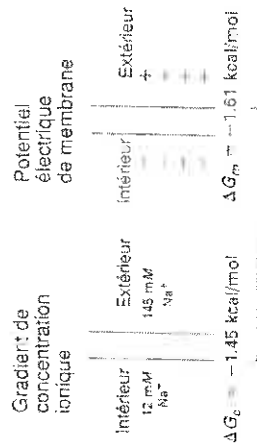


Fig 16: Les différents types de transport à travers la membrane plasmique



Variation d'énergie libre au cours du passage du Na⁺ extérieur au compartiment intérieur

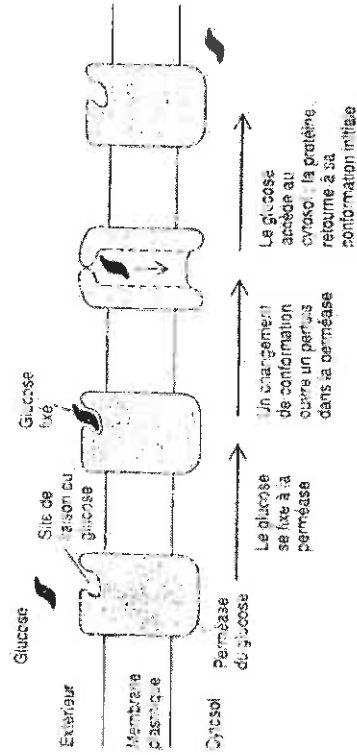
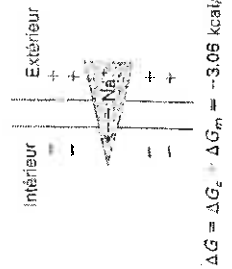


Fig 17: La diffusion facilitée. Exemple de la glucose perméase (mécanisme possible d'action)

Fig 18: Les gradients ioniques

Forces transmembranaires exercées sur les ions Na⁺. Comme c'est le cas de tous les ions, le mouvement des ions Na⁺ à travers la membrane plasmique dépend de la résultante de deux forces distinctes ; l'une a sa source dans le potentiel électrique membranaire, l'autre, dans le gradient de concentration ionique. Pour l'ion Na⁺, ces deux forces sont habituellement dirigées dans le même sens.

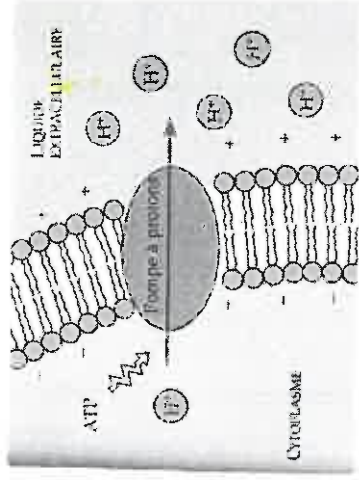


Fig 20

Pompe électrogène. La pompe à protons est un exemple de pompe membranaire qui crée une réserve d'énergie en engendrant un potentiel électrique (suite à une séparation des charges) de part et d'autre de la membrane. Activée par l'ATP, la pompe véhicule des charges positives sous forme de protons. Le potentiel électrique et le gradient de H^+ constituent une double source d'énergie, que la cellule peut utiliser pour alimenter d'autres processus, telle l'absorption du glucose et d'autres nutriments. La pompe à protons est la principale pompe électrogène des Végétaux, des Mycètes et des Bactéries, et elle sert aussi à emmagasiner de l'énergie dans les chloroplastes et les mitochondries.

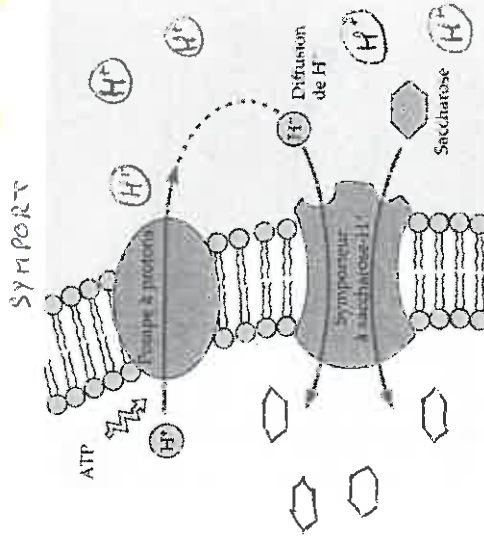


Fig 21

Cotransport. Une pompe activée par l'ATP crée une réserve d'énergie en concentrant une substance (H^+ dans ce cas-ci) dans le liquide extracellulaire. En même temps que des protéines de transport spécifiques ramènent la substance dans le cytoplasme, elles transportent d'autres substances contre la force résultante de leur gradient de concentration. Ci-haut, la pompe à protons de la membrane favorise indirectement l'accumulation de saccharose dans une cellule végétale, avec l'aide d'un symporteur à saccharose- H^+ .

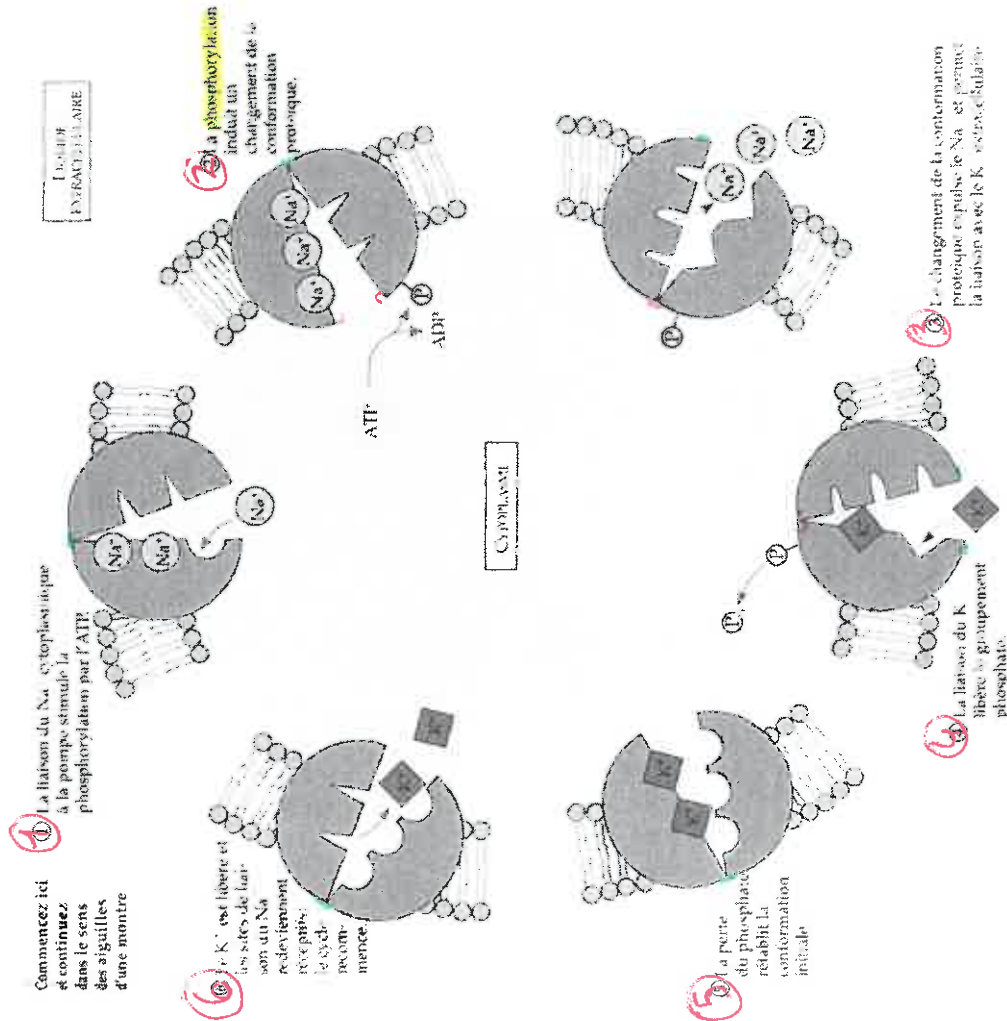


Fig 19: Un cas particulier de transport actif: la pompe à sodium et potassium

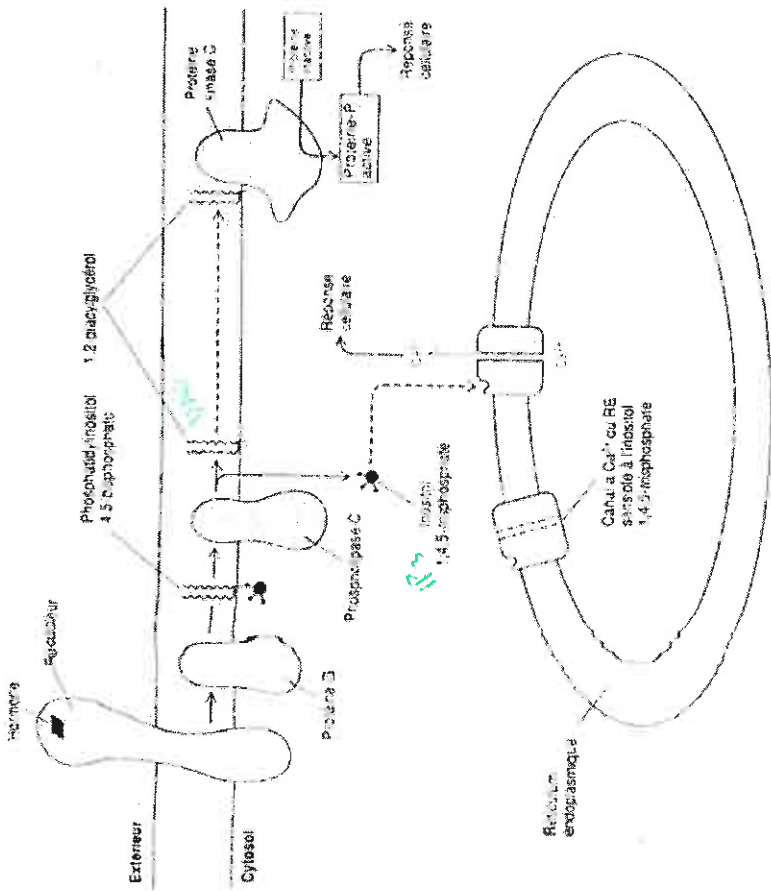


Fig 27: Messagers secondaires de signal transmis par la voie des inositol phospholipides la liaison d'une hormone à son récepteur déclenche l'activation d'une protéine G qui va de son côté activer la phospholipase C. Cet enzyme active le phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate en inositol 1,4,5-trisphosphate et 1,2-diacylglycérol. L'inositol 1,4,5-trisphosphate diffuse dans le cytosol et atteint les membranes du réticulum endoplasmique de la lumière duquel il provoque la libération de Ca^{2+} ; le 1,2-diacylglycérol reste ancré à la membrane, où de concert avec Ca^{2+} , il induit l'activation de la protéine kinase C. Une fois activée, celle-ci phosphoryle plusieurs enzymes et récepteurs cellulaires dont elle modifie l'activité. D'après M.J. Berridge, 1985, Scientific American 253:147

2. procalcitonin (ip3) → Réponse 4
 → IP3 → RE → Ca^{2+} → Réponse 4
 → PAc (sur Gmb) → kinase C active → Réponse

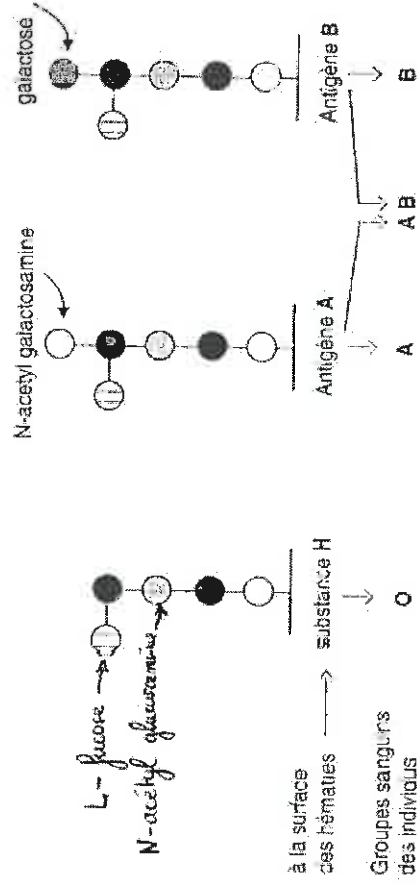


Fig 28: Oligosaccharides du cell coat responsables des groupes sanguins ABO chez l'homme

	n° cellule	% du volume	% des membranes
Cytosol	1	54	-
Mitochondries	1700	22	39
RE G	-	9	38
REL + Golgi	-	6	23
Noyau	1 à 4	6	0,2
Péroxyssomes	400	1	0,4
Lysosomes	300	1	0,4
Membrane plasmique	-	-	2

Fig 29: Importance relative des différents compartiments cellulaires (pour un hépatocyte)

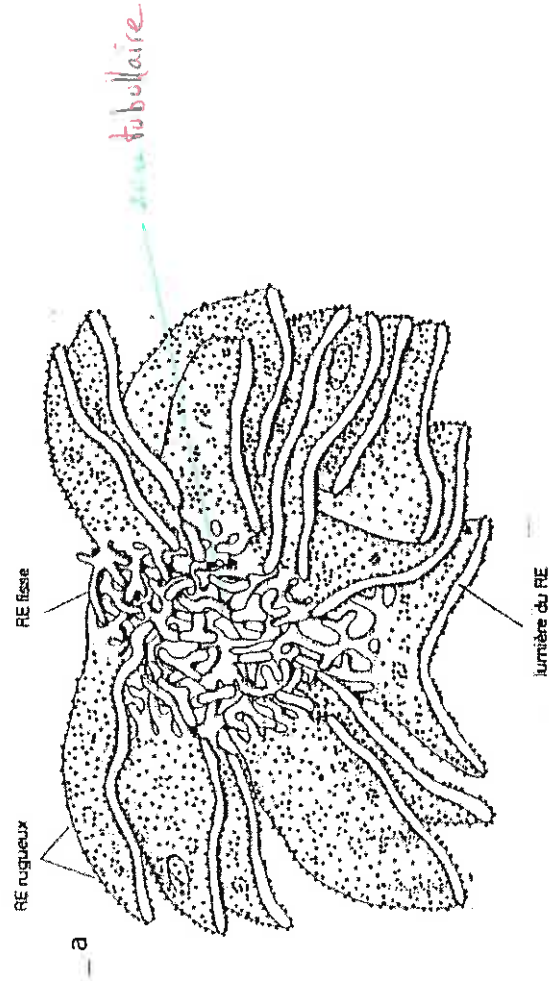
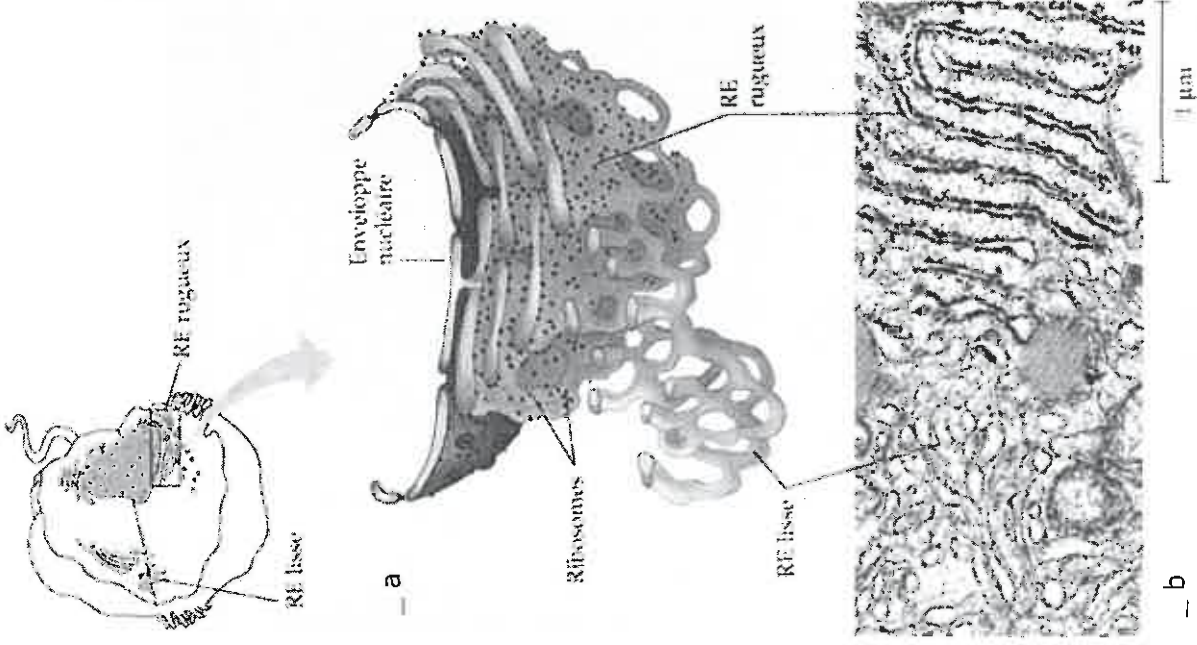
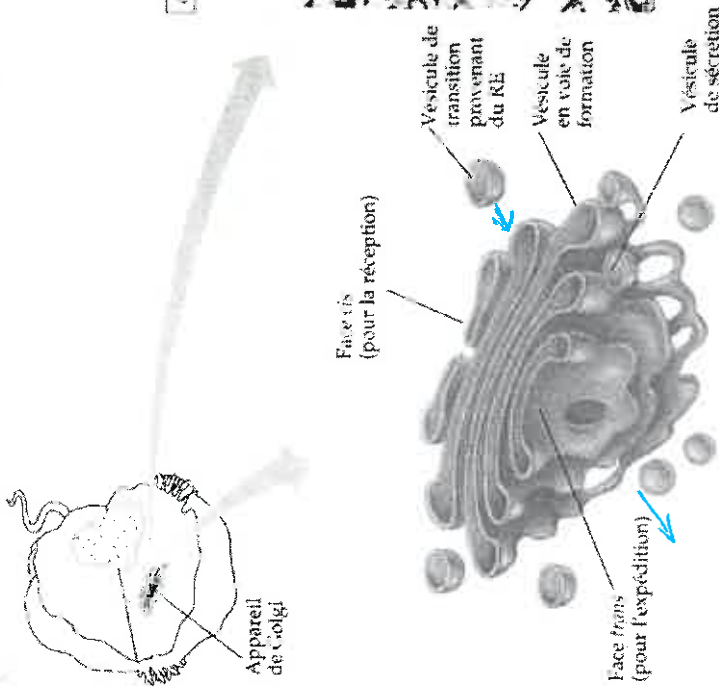


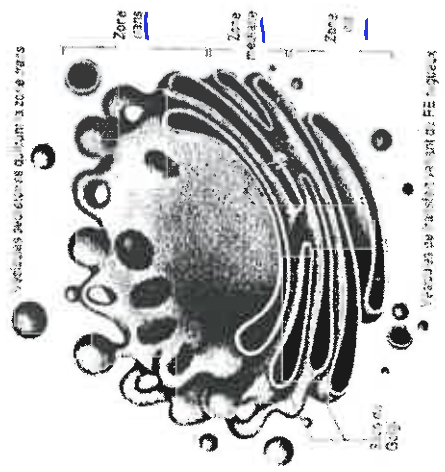
Fig 30: Les deux aspects du RE _ a: représentation schématique du REG et du REL_b: observation du REG et du REL sur une coupe d'hépatocyte au TEM.





Appareil de Golgi. L'appareil de Golgi forme un empilement de saccules membranaux aplatis. Il reçoit les vésicules de transition provenant du réticulum endoplasmique, modifie les matières qu'elles contiennent et les emmagasine pour exportation ultérieure vers la membrane plasmique ou d'autres destinations. Remarquez les vésicules qui commencent à se former aux extrémités de l'appareil, ainsi que les vésicules (de Golgi) libres nouvellement apparues. L'appareil de Golgi présente une polarité structurale et fonctionnelle : il comporte une face **cis** qui reçoit les vésicules, et une face **trans**, qui les redistribue (à droite, MET).

Fig 34: L'appareil de golgi



Modèle et dimensions de l'appareil de Golgi, composé de sacs aplatis, les vésicules de transition provenant du RE rugueux et les vésicules de transition détachées du RE rugueux fusionnant avec les sacsules cis du Golgi. Dans les cellules animales, les vésicules sécrétoriaires qui bourgeonnent des sacsules du Golgi trans emmagasinent les protéines de sécrétion, tel le chymotrypsinogène, sous forme condensée. D'après un modèle de J. Keppeler.

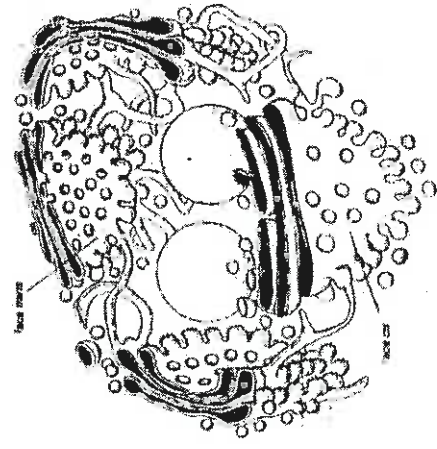
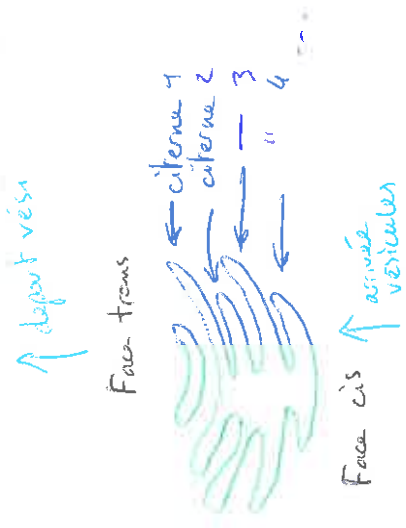
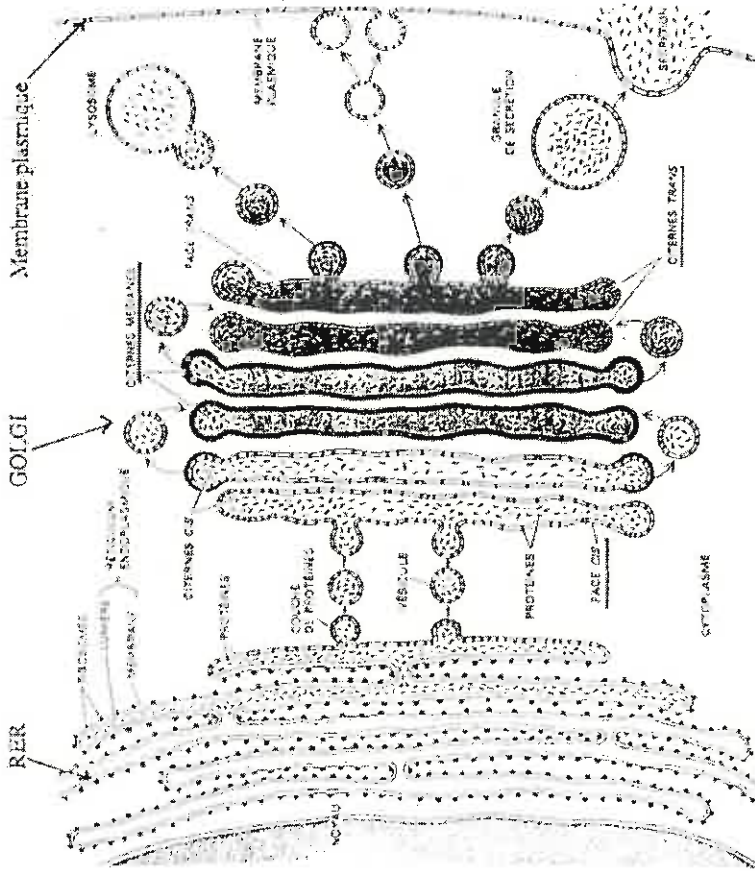


Fig 35: Représentations schématiques de dictyosomes



TROIS COMPARTIMENTS, pourvus chacun d'un lot particulier d'enzymes, ont été identifiés dans les empilements de l'appareil de Golgi. Une fois synthétisés, les protéines sont soit insérées dans la membrane du réticulum, soit injectées dans sa lumière (l'espace intérieur). Les protéines s'encapsulent dans des vésicules formées dans la membrane du réticulum. Les vésicules en formation sont recouvertes d'une couche de protéines (clatrine), nécessaires au bourgeonnement de la membrane ; lorsque les vésicules se détachent, elles perdent cette couche protéique, elles migrent ensuite vers un extrémité de l'appareil de Golgi et fusionnent avec les cisternes situées à l'une de ses extrémités, qui contiennent le compartiment médian. Les protéines sont transportées par d'autres vésicules vers les cisternes du compartiment médian, puis vers celles du compartiment trans. A mesure qu'elles traversent les empilements, chacune est modifiée en fonction de sa destination finale dans la cellule. Dans le compartiment trans, les protéines sont triées et emballées. Certaines seront stockées dans des granules de sécrétion, d'autres seront véhiculées vers les lysosomes (grandes vésicules qui contiennent des enzymes de dégradation) ; d'autres encore seront expédiées vers la membrane plasmique dont elles participent au renouvellement.

Fig 36

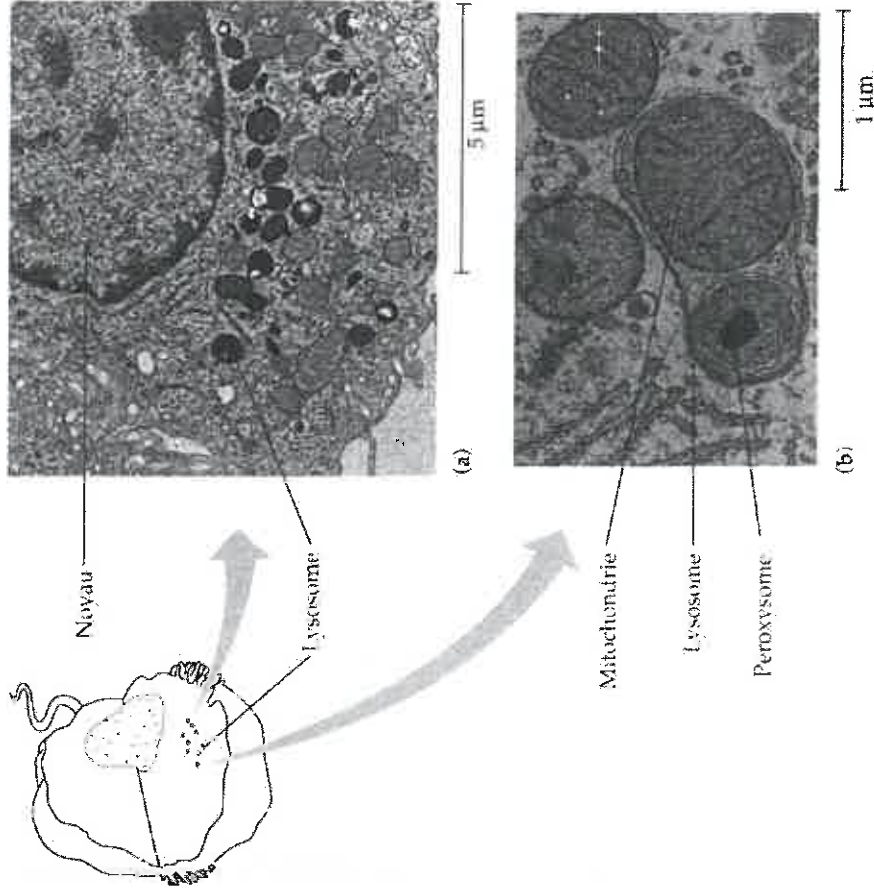


Fig 37

Lysosomes. (a) Les lysosomes de ce globule blanc du Rat sont très sombres parce que le colorant utilisé réagit avec l'un des produits de digestion contenus dans les lysosomes (MET). Ce genre de globule blanc englobe les agresseurs bactériens ou viraux et les détruit dans ses lysosomes. (b) Dans le cytoplasme de cette cellule hépatique, on peut voir un lysosome autophagique qui a englobé deux organites defectueux, en l'occurrence une mitochondrie et un peroxyosome (MET)

Fig 38 : Hydrolases acides décelées dans les lysosomes

Enzymes	Substrat naturel
PHOSPHATASES	
Phosphatase acide	La plupart des monosiers phosphoriques
Phosphatase acide	Oligonucleotides et autres phosphoesters
NUCLEASES	
Ribonucléase acide	ARN
Désoxyribonucléase acide	ADN
PROTEINASES	
Cathepsines	Protéines
Collagénase	Collagène
Peptidases	Peptides

HYDROLASES ACTIVES SUR LES POLYSACCHARIDES ET LES MUCOPOLYSACCHARIDES

- β -Galactosidase
- α -Glucosidase
- α -Mannosidase
- β -Hexosaminidase
- Glucosébrusidase
- β -Gibcaronidase
- Lysozyme
- Hyaluronidase
- Aly sulfatase

ENZYMES DÉGRADANT LES LIPIDES

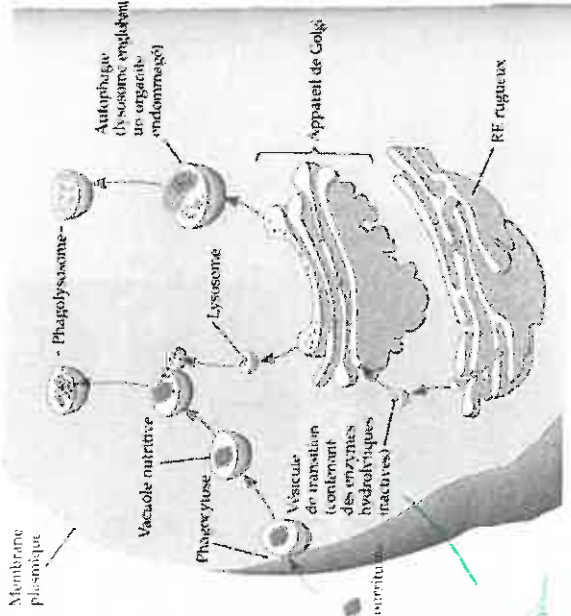
- Estérase(s)
- Phospholipase(s)

Hydrolases dans les lysosomes

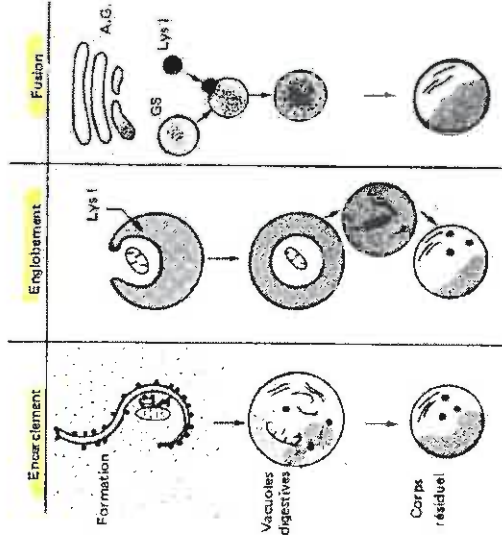
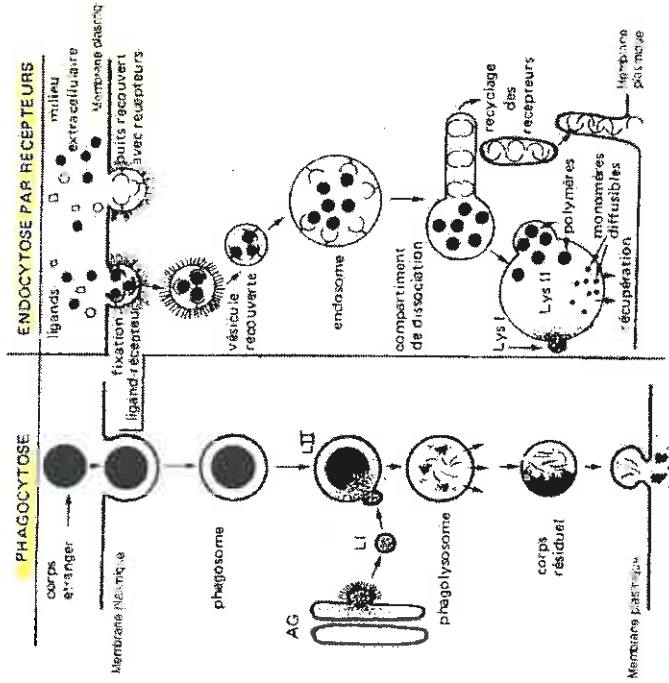
Fig 40: Formation des vacuoles a_ Formation des vacuoles hétérophagiques

↳ digère toute l'extra

Fig 39: formation et fonction des lysosomes_ les lysosomes digèrent les matières absorbées par la cellule et recyclent les déchets intracellulaires



matières en cours de dégradation



b_ Formation des vacuoles autophagiques

↳ digère tout l'extra

Fig 41: Formation de corps résiduels

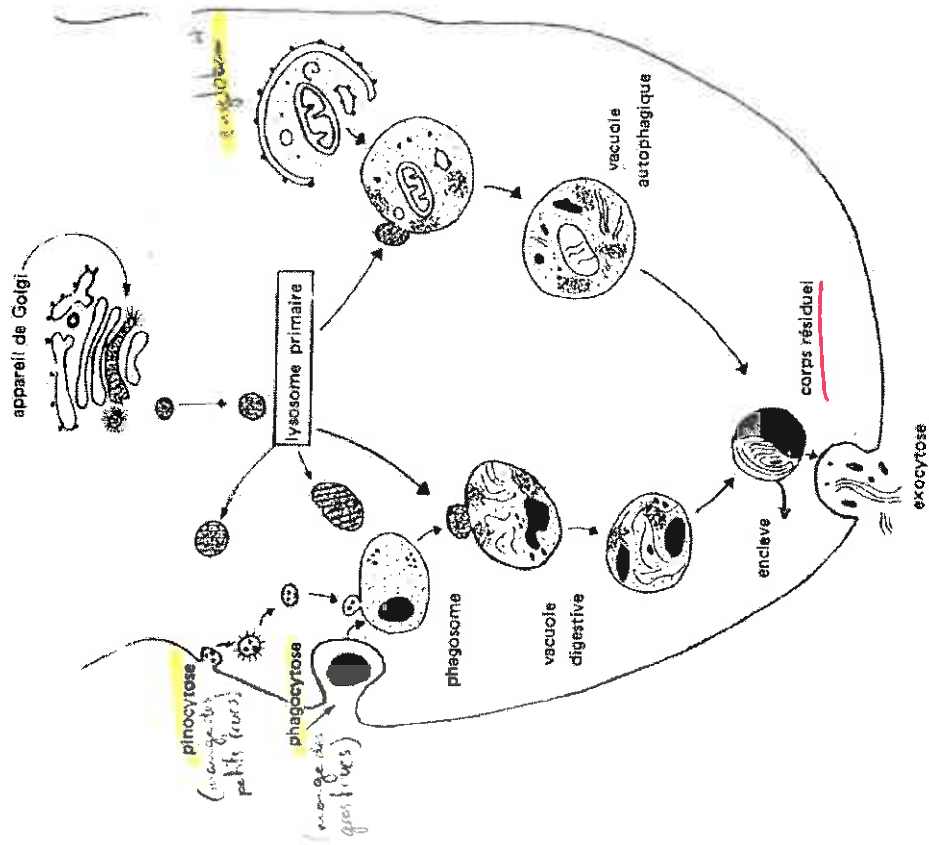


Fig 42: Leucocyte polynucléaire phagocytant des staphylocoques

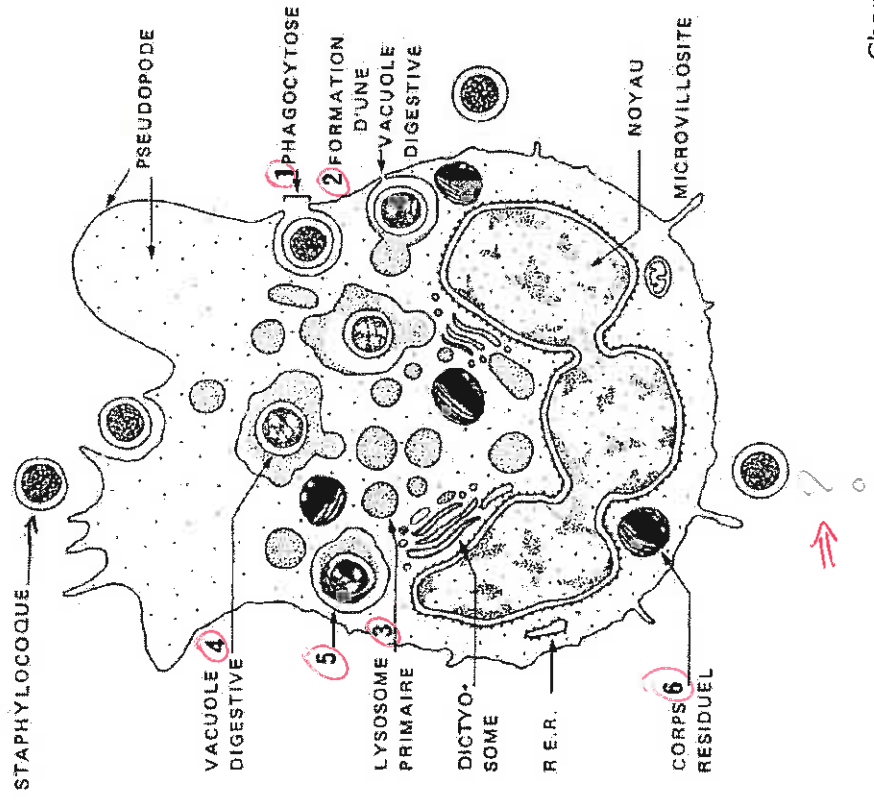
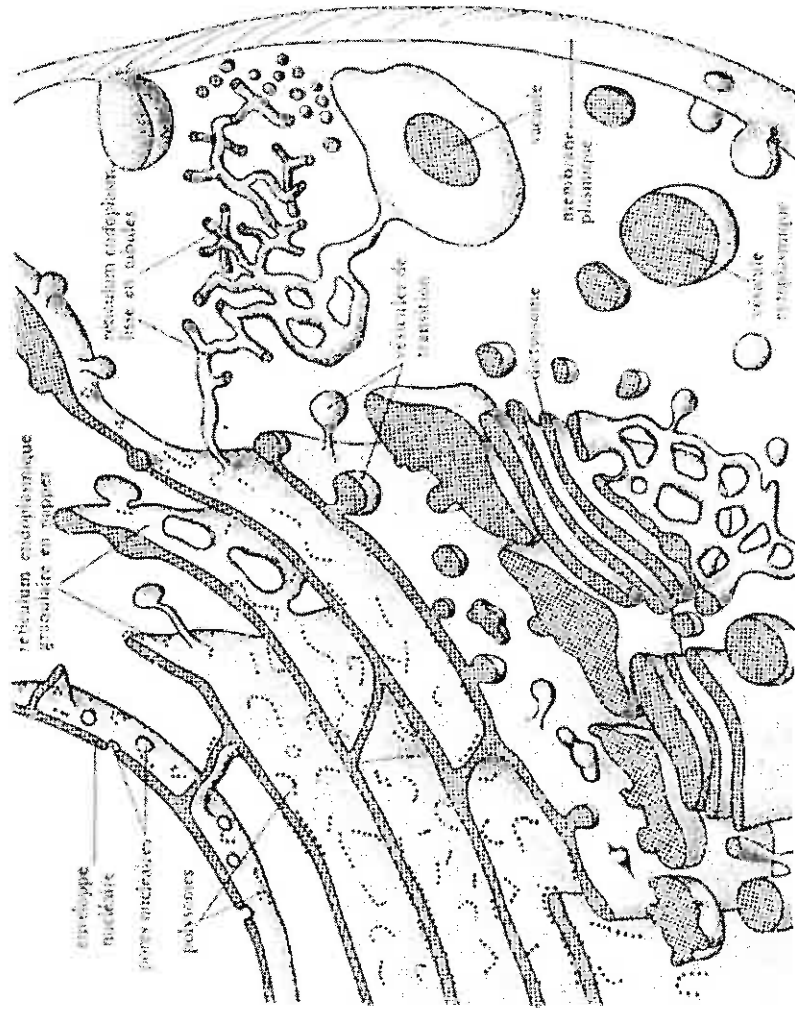


Fig 43: Continuité dans l'espace du réseau endomembranaire



Les éléments isolés, comme les vésicules cytoplasmiques, ne peuvent être rattachés au système endomembranaire que par une étude évolutive qui précise leur origine et le sens de leur migration. C'est ainsi que des images statiques montrant des vésicules en relation avec la membrane plasmique et ouvertes vers l'extérieur, ne permettent pas de distinguer l'exocytose (secretion) de l'endocytose (absorption).

Fig 44: Les flux membranaires au sein de la cellule = Continuité dans le temps du réseau endomembranaire

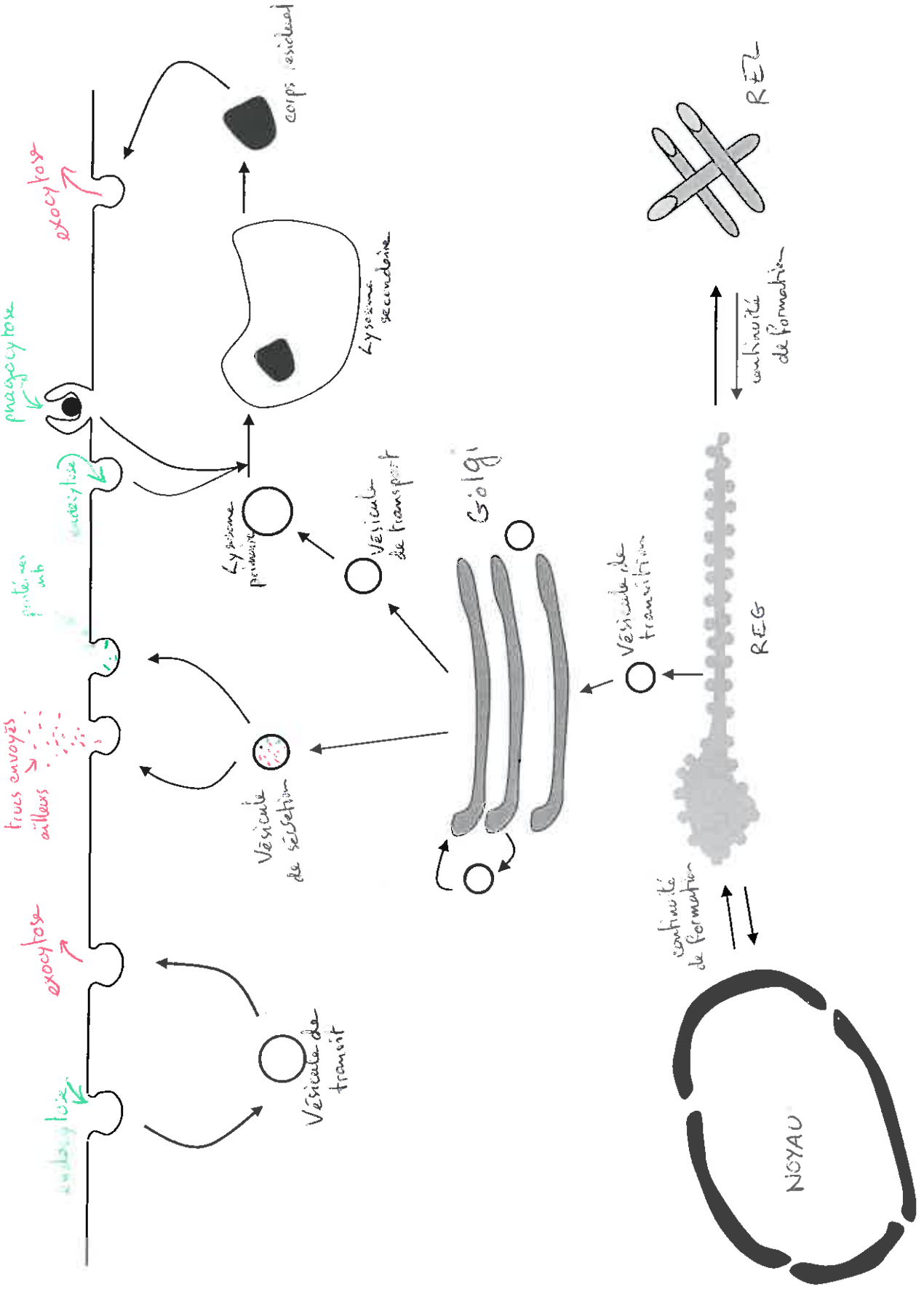


Fig 45: Structure de la mitochondrie a_diagramme d'une coupe longitudinale b_micrographie électronique

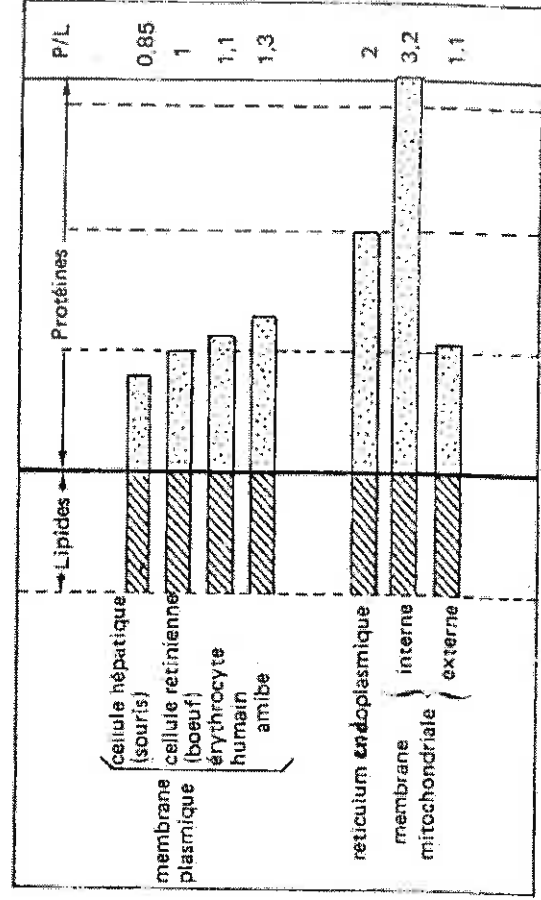
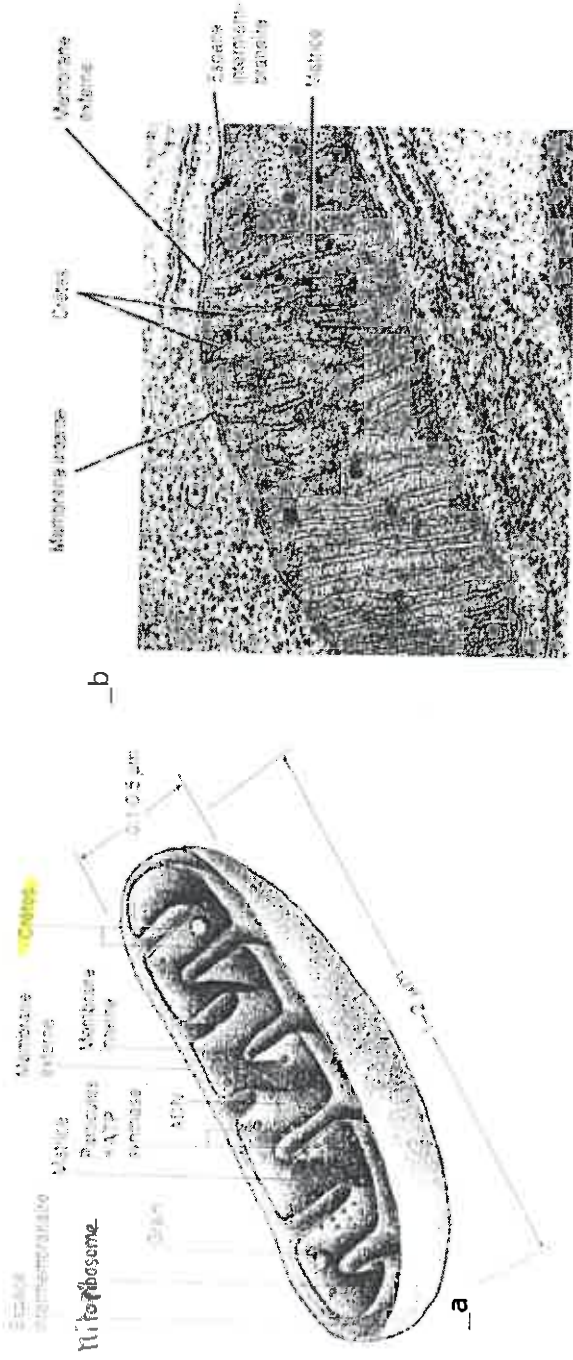


Fig 46: Rapport entre lipides et protéines (en masse) dans différentes membranes biologiques

Fig 47: Les unités monétaires énergétiques de la cellule :

a_NADH: nicotinamide adénine dinucléotide réduit
 b_nucléosides triphosphate (ATP + GTP...)

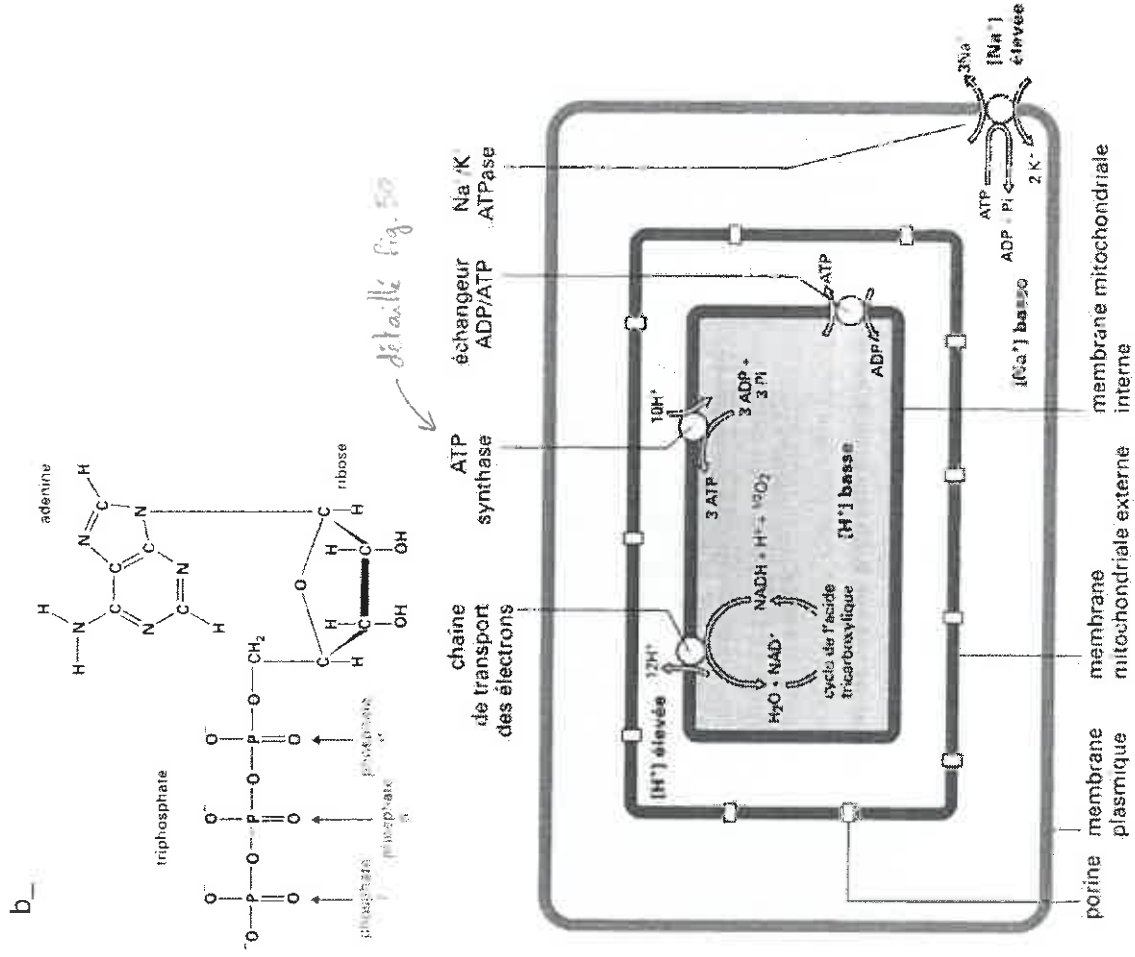
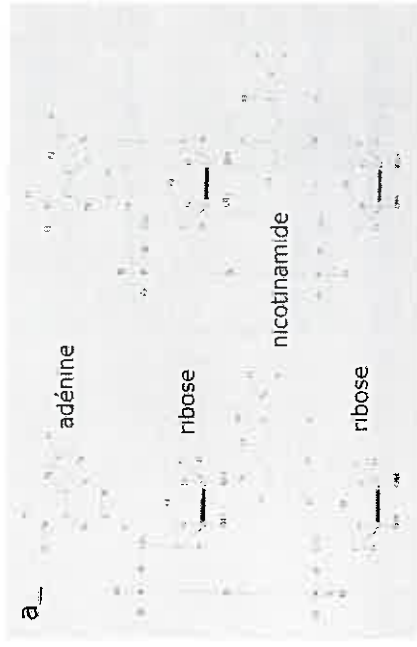


Fig 48: Sites de la cellule où les unités d'énergie sont interconverties.

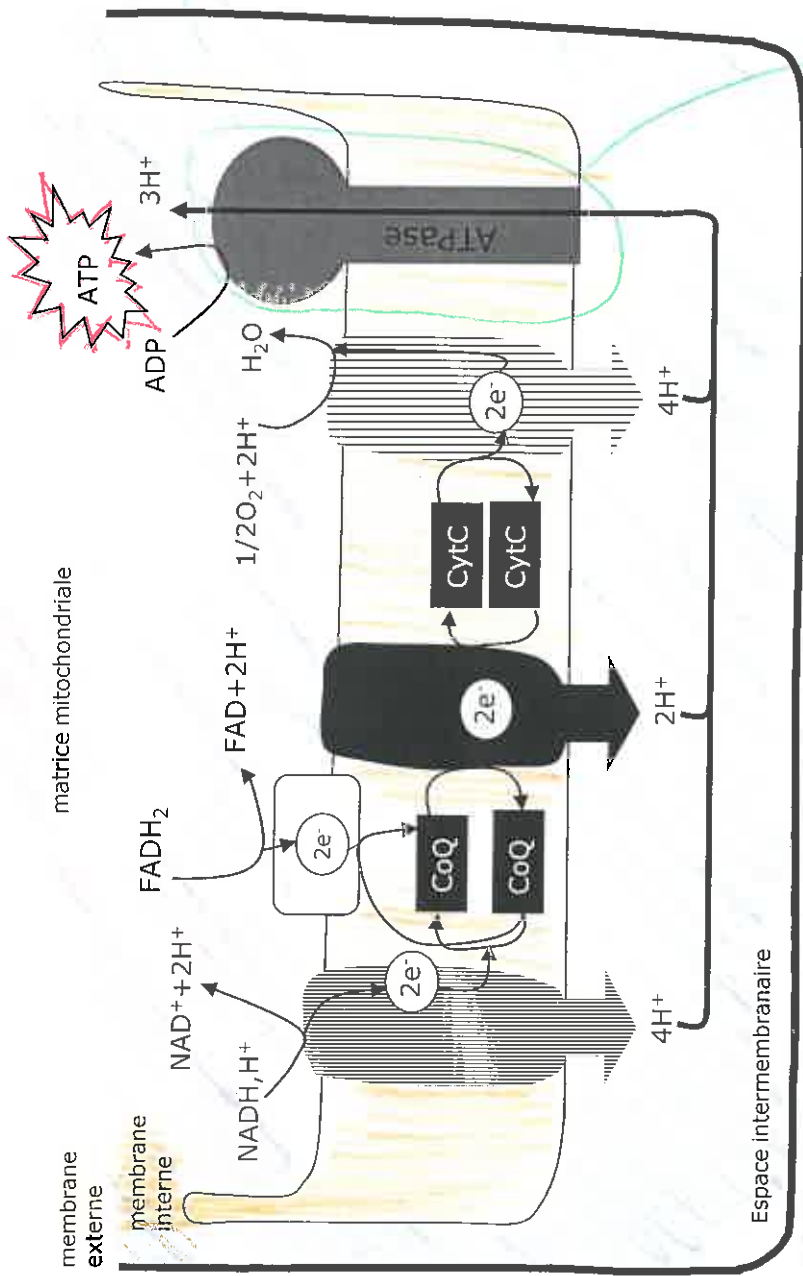


Fig 49: La chaîne respiratoire et les phosphorylation oxydative.

L'ATP synthase des mitochondries, des bactéries et des chloroplastes est une enzyme bicatalytique composée des complexes oligomériques Fo et F₁. Fo est une protéine membranaire intrinsèque que chez les bactéries, elle comprend trois protomères, le b et d, qui constituent l'anneau dominant l'axe axial. F₁ comprend trois protomères β , δ et ϵ qui se rattachent à Fo. La synthèse d'une molécule d'ATP à partir d'ADP et de P_i s'effectue spontanément au site catalytique d'un protomère β ou F₁, grâce à la fixation d'une molécule d'ATP sur ce site, les protons s'écoulent à travers Fo par la forme protonomère entraînant la synthèse catalytique d'ATP en l'absence de P_i qui se détache du site. Le redressement libre de l'ATP est lié à une activité catalytique passive orientée vers le site d'un des sites actifs des trois protomères β . Anciennement, communiqué par B. F. F. F. F.

Fig 50: ATPase ou ATP synthase

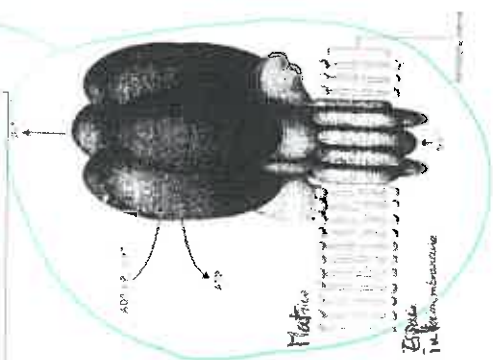
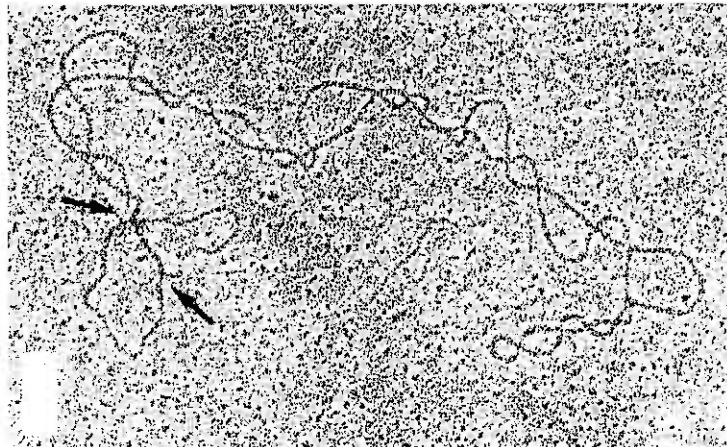


Fig 51: le mt ADN



Molécule d'ADN mitochondrial à l'état natif; noter l'aspect torsadé (forme dite « sur-enroulée ») et la boucle de réplication (entre les flèches) qui marque le début du processus de réplication (ovaire de Xénopus, x 90 000; cliché Labo. B.-G., Orléans).

Fig 52 Gènes mitochondriaux et leur produit

	Animaux		Levures		Champignons	
	Taille (milliers de paires de bases)		Taille (milliers de paires de bases)		Taille (milliers de paires de bases)	
ARNr	14-18	78	19-108	200-2.500		
grosse sous-unité	16S	21S	21S	26S		
petite sous-unité	12S	15S	15S	18S		
ARN 5S	-	-	-	+		
ARNr	22	23-25	23-25	≈50		
Protéine du ribosome (var-1)	-	+	+	?		
Cytochrome oxydase (protomères 1, 2, 3)	+	+	+	+		
Apocytochrome b	+	+	+	+		
Complexe de l'ATPase F ₀						
protomère 6	+	+	+	+		
protomère 8	+	+	+	+		
protomère 9	-	-	-	-		
Complexe de l'ATPase F ₁						
protomère α	-	-	-	+		
Protomères de la NADH-CoQ réductase	7	0	6	6 ^a		

Fig 53 chondrodièse

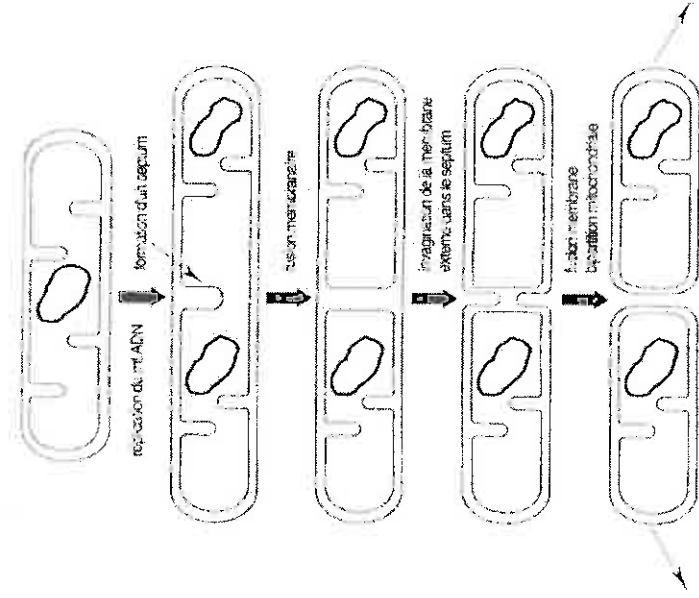
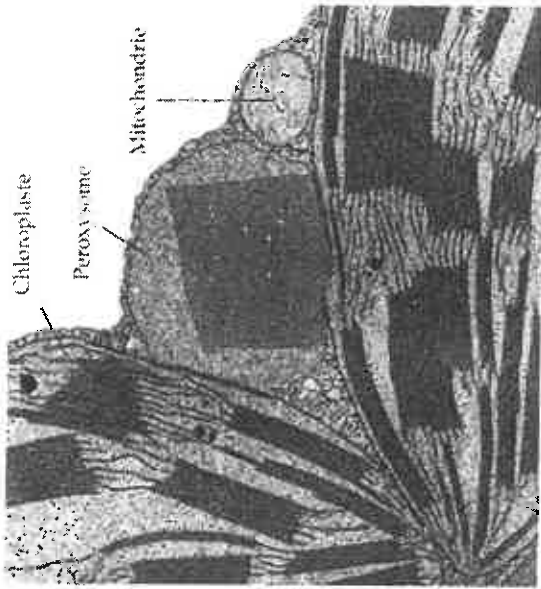


Fig 54: les peroxysomes



Peroxisomes. Les peroxysomes mesurent entre 0,15 et 1,2 μm environ. Ils ont généralement une forme sphérique. Ils présentent souvent une matrice granulaire ou cristalline formée, croit-on, par un amas d'enzymes. Ce peroxysome appartient à une cellule de feuille. Notez que le peroxysome est étroitement associé à des mitochondries et à des chloroplastes, avec lesquels il coopère pour l'accomplissement de certaines fonctions métaboliques (MET).

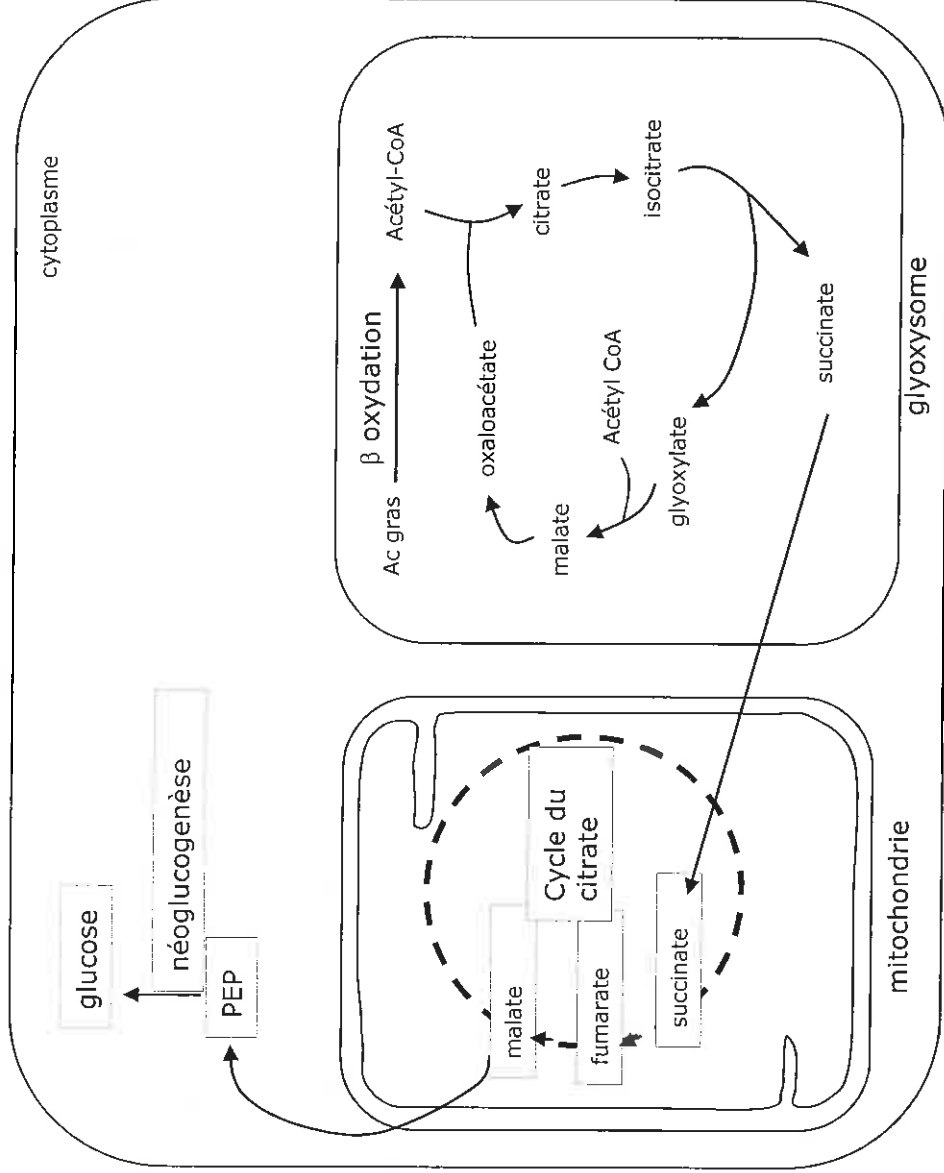


Fig 55: le cycle de glyoxylate dans les glyoxysomes végétaux. Bilan du cycle:
 $2 \text{ Acétyl-CoA} \rightarrow \text{succinate} \rightarrow \text{NADH, H}^+$

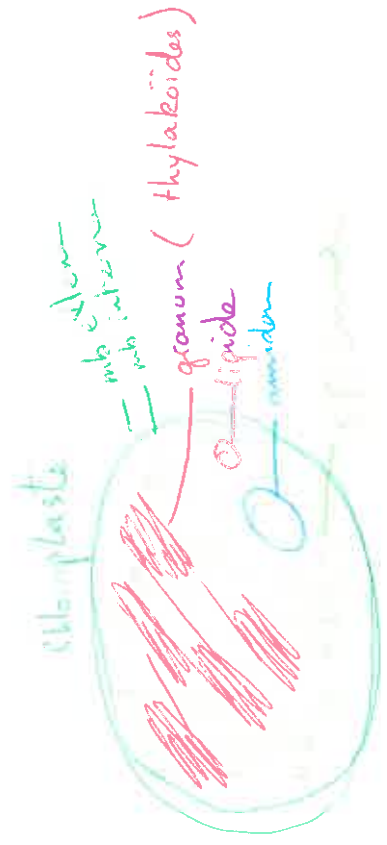
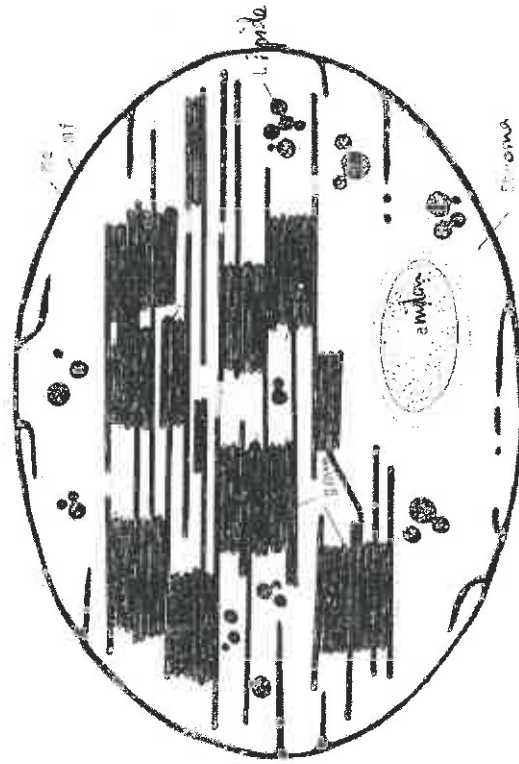
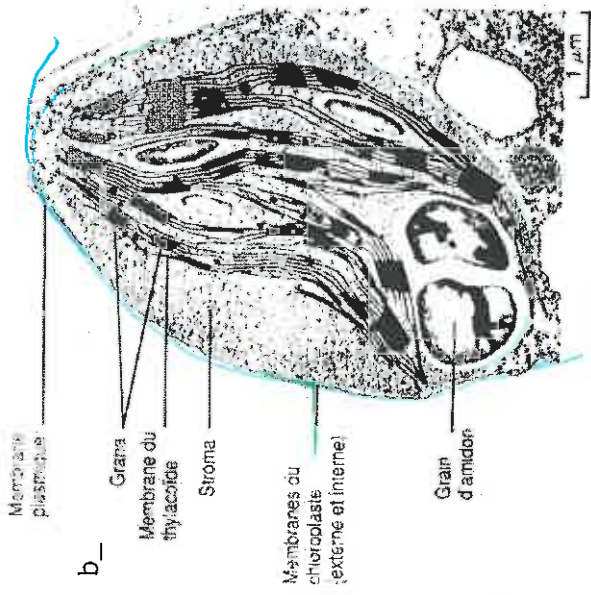
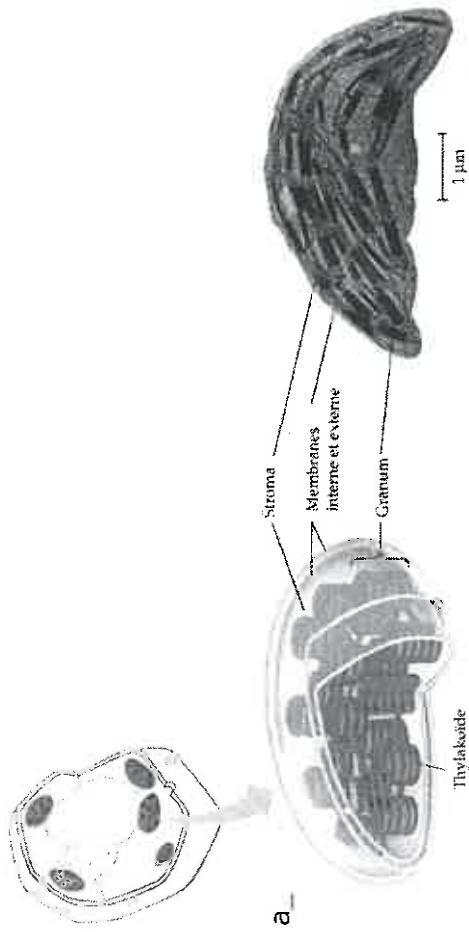
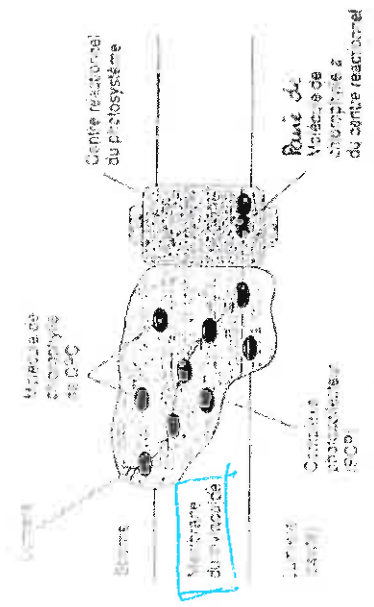


Fig 56: a_Structure d'un chloroplaste b_chloroplaste dans une partie de cellule de Phléum(graminées)

Fig 57

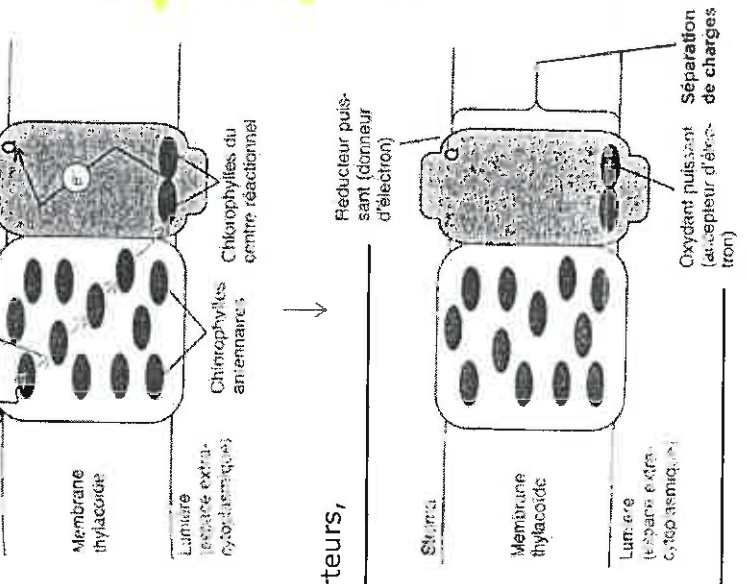
SCHEMATA D'UN CHLOROPLASTE GRANUMINE DE VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS. Il est limité par une double membrane comme les mitochondries (ne et ni). La plus interne forme des replis rappelant les grênes mitochondriales. Le contenu du stroma est formé par une substance fondamentale ou stroma (pro) et des structures lamellaires : les lamelles thylacoïdales qui s'associent et forment des recuites aplatis. Les associations de ces recuites forment les grana (2). La chlorophylle se trouve sur les surfaces d'assortition des saccharides (traits épais). Le stroma renferme des grains d'amidon (1) et des lipides (3).



Les complexes photosynthétiques (CPC) font partie de chacun des systèmes photosynthétiques. Le complexe CPC comprend des dizaines de molécules de chlorophylle, toutes aptes à piéger un photon. L'énergie absorbée est alors transférée à l'élément réactionnel du photosystème.

Fig 58: Structure du photosystème

Fig 59: Transformation de l'énergie lumineuse en énergie d'oxydoréduction

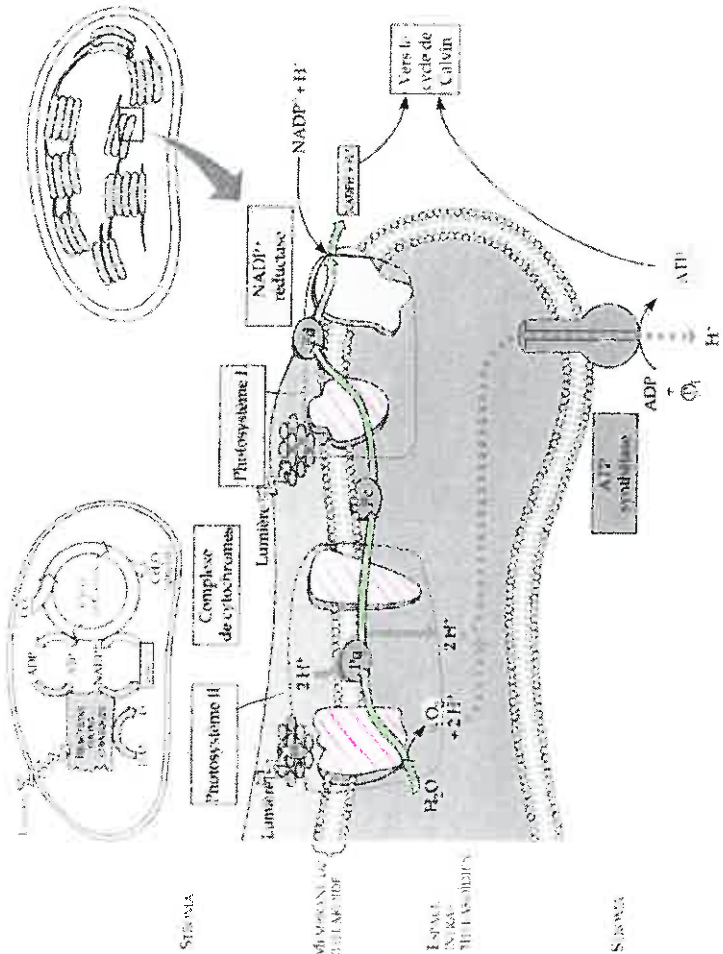


Événement premier de la photosynthèse, la capture d'un photon de longueur d'onde proche de 680 nm, provoque la formation d'un oxydant puissant et d'un réducteur puissant, créant une séparation de charges à travers la membrane thylacoïde. Le photon est capturé par une des nombreuses molécules de chlorophylle des complexes photosynthétiques (CPC) d'une antenne (une seule est dessinée) : une partie de l'énergie absorbée se transfère à la paire de molécules de chlorophylle du centre réactionnel. Une fois à l'état excité, celles-ci cèdent un électron à une molécule acceptrice (Q) logée à la face stromale de la membrane thylacoïde. Chargée de l'électron reçu, l'accepteur est devenu un puissant réducteur—it tend à céder son électron à une autre molécule. Par sa charge positive, la molécule de chlorophylle est devenue un oxydant énergétique.

Va céder l'électron à des transporteurs, pour l'amener sur le NADP+

Va capter l'électron issu de la photolyse de l'eau

Fig 60: Phase lumineuse de la photosynthèse



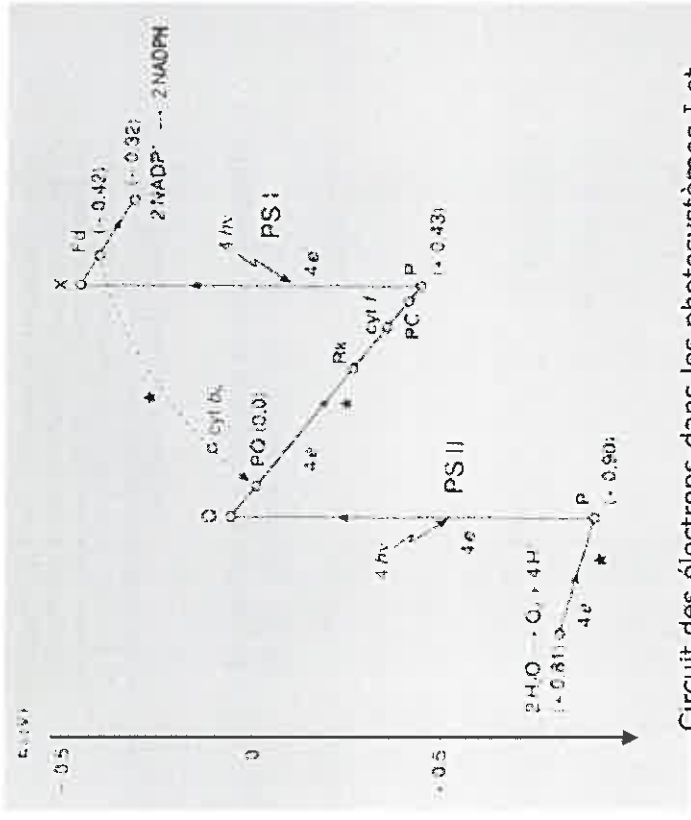
conduites
réactionnelles

Modèle hypothétique de l'organisation de la membrane des thylakoïdes. Les transporteurs d'électrons se trouvent placés de façon telle que les électrons passent d'un côté de la membrane à l'autre. (Les flèches or représentent la trajectoire des électrons.) A mesure que les électrons circulent à travers la membrane, les protons extraits du stroma sont déposés dans l'espace intrathylakoïdien. Troisième-

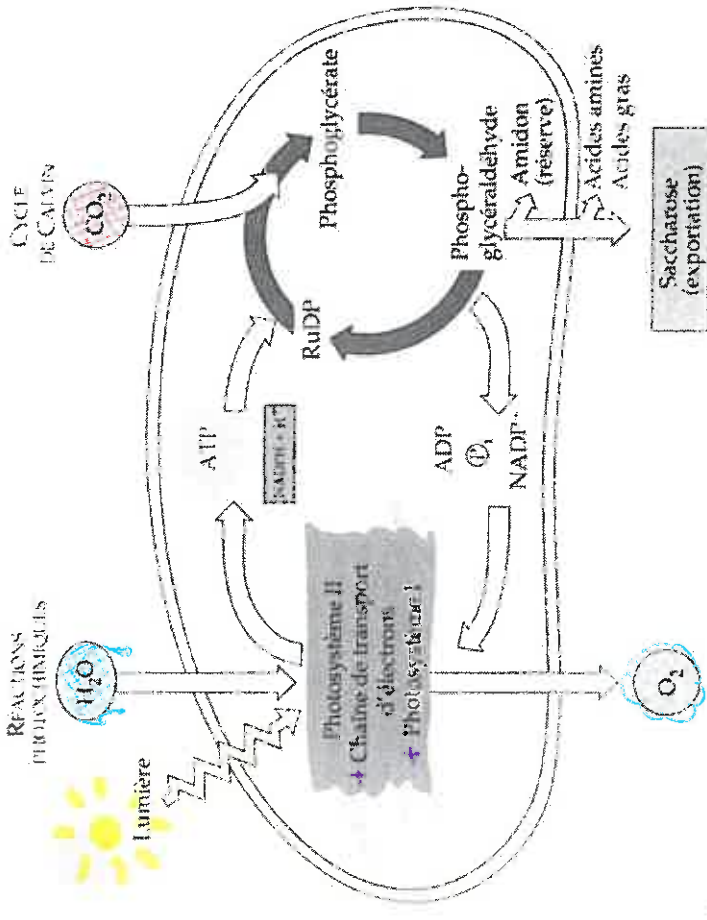
ment, le NADP+ capte un proton dans le stroma lors de sa réduction en NADPH + H+. La diffusion des protons de l'espace intrathylakoïdien vers le stroma (suivant le gradient de concentration) augmente l'ATP synthétisée. Déclenchés par la lumière, ces réactions enregistrent l'énergie chimique dans le NADPH + H+ et dans l'ATP qui apportent l'énergie au cycle de Calvin.

Etapes:

1. H₂O est cassée en intrathy
2. Le transporteur d'e- Pq
protons importés en intrathy
3. du NADP+ devient NADPH+H+ → chargée énergie
4. le gradient H en intrathy crée ATP



Circuit des électrons dans les photosystèmes I et II et niveaux d'énergie



Résumé de la photosynthèse. Ce diagramme présente les principaux produits et réactifs de la photosynthèse dans le chloroplaste. Les réactions photochimiques convertissent l'énergie lumineuse en l'énergie chimique de l'ATP et du NADPH. Les molécules de pigments et de protéines qui participent aux réactions photochimiques se trouvent dans la membrane des thylakoïdes : elles comprennent les molécules des deux photosystèmes et une chaîne de transport d'électrons. Les réactions photochimiques scindent la molécule d'eau et libèrent de l'oxygène dans l'atmosphère. Le cycle de Calvin, qui se déroule dans le stroma du chloroplaste, utilise l'ATP et le NADPH pour convertir le dioxyde de carbone en glucose. Le diagramme montre trois composés clés du cycle. Le produit direct du cycle de Calvin est le phosphoglyceraldéhyde, un composé à trois atomes de carbone. Des enzymes agissant dans le chloroplaste et dans le cytoplasme convertissent cette petite molécule en divers autres composés organiques. Le cycle de Calvin renvoie de l'ADP, du phosphate inorganique et du NADP⁺ aux réactions photochimiques. La bonne marche de l'opération repose sur l'intégrité structurale du chloroplaste et de ses membranes.

Fig 61

Fig 62

Protéines de l'appareil photosynthétique

Gènes codés par l'ADN chloroplastique de l'hépatique *Marchantia polymorpha*

Gènes	Produit du gène	Protéines de l'appareil photosynthétique
ARNT	37 types d'ARNt	rbcL
ARN polymérase		psaA, psaB
rpo A	Homologue de l'élément α d' <i>E. coli</i>	rpsA
rpo B	Homologue de l'élément β d' <i>E. coli</i>	rpsB, rpsC
rpo C1	Homologue de l'élément β' d' <i>E. coli</i>	rpsD
rpo C2	Homologue de l'élément β'' d' <i>E. coli</i>	rpsE, rpsF
Protéines ribosomiales		rpsG
sous-unité 50S:		atpA, atpB, atpE
8 protéines (rpl)		atpF, atpH, atpI
sous-unité 30S:		petA
11 protéines (rps)		petB
		petD
Gènes suggérés par une séquence homologue d'acides aminés		
ndh1, ndh2, ndh3		Homologue aux protomères du complexe de la NADH-CoQ réductase mitochondriale humaine
ndh4, ndh4L		
ndh5, ndh6		
frxA, frxB, frxC		Homologue à une ferrédoxine à 4 Fe
Autre		Plus de 28 cadres de lecture ouverts (ORF) non identifiés

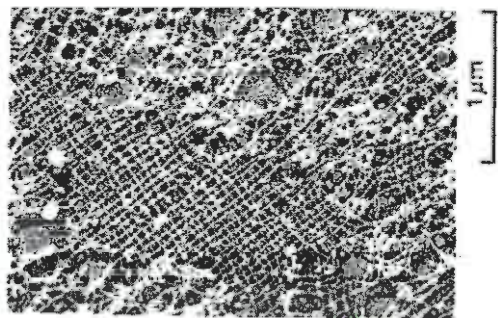


Fig 67: la lamina

La membrane nucléaire prélevée d'un ovocyte disséqué manuellement est déposée sur une grille de microscope électronique et traitée sur la grille par un détergent non ionique qui en extrait les protéines solubles et les protéines membranaires. La lamina nucléaire est formée de deux trames perpendiculaires de filaments de lamine de 10 nm de diamètre.

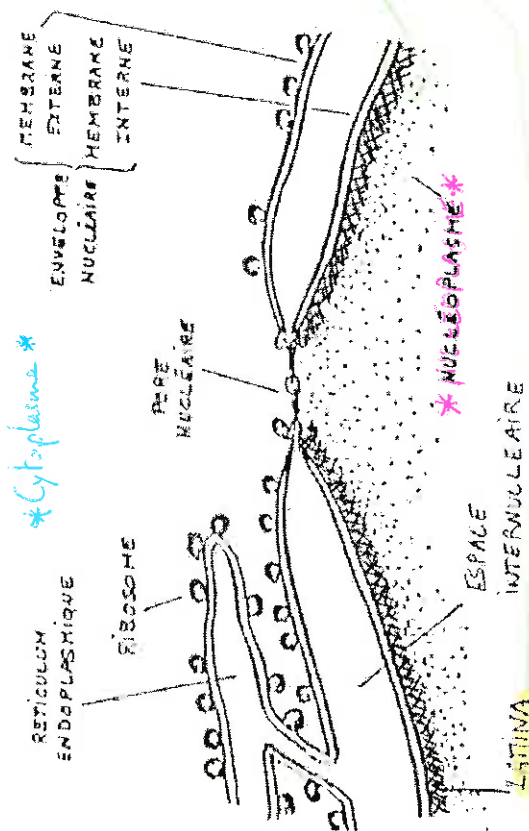


Fig 66: schéma montrant la relation entre la membrane nucléaire externe et le réseau du RE

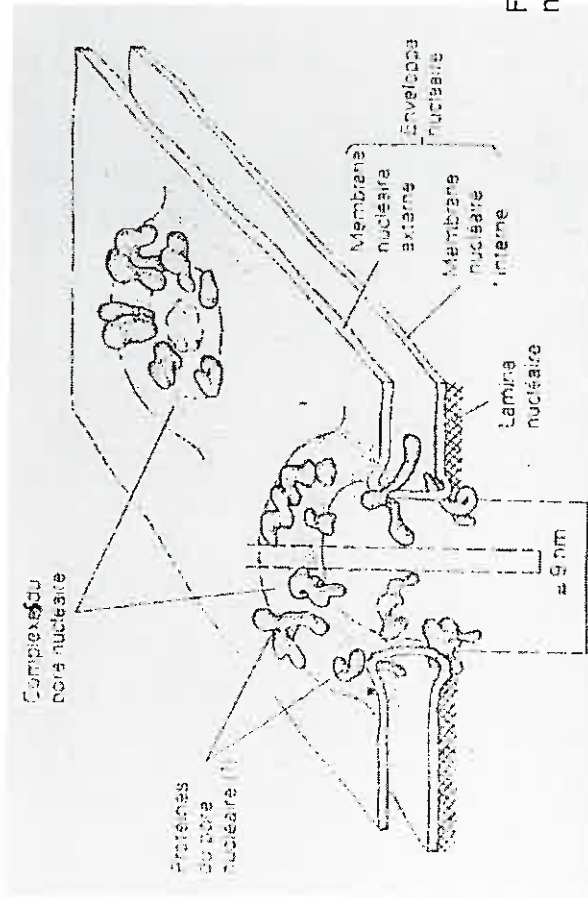


Fig 68: schéma de l'insertion d'un pore dans l'enveloppe nucléaire

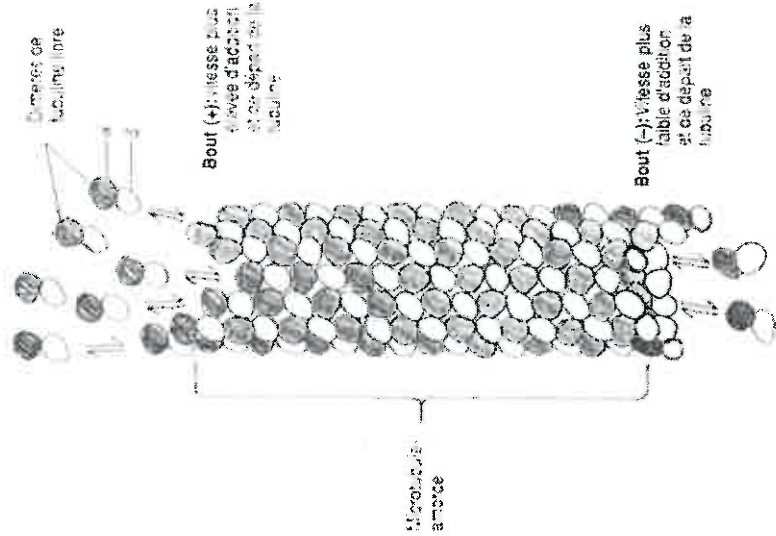


Fig71: Réaction de polymérisation et de dépolymérisation des microtubules *in vitro*. Les dimères $\alpha\beta$ de tubuline s'ajoutent de préférence à un noyau de microtubules préexistants ; rarement la tubuline se polymérise-t-elle spontanément en petits microtubules qui servent alors de noyaux de croissance. *In vitro*, la vitesse d'addition et de départ de tubuline est à peu près double au bout (+) de ce qu'elle est au bout (-) d'un microtubule. Les basses températures favorisent le démembrement du microtubule, mais son assemblage est favorisé à 37°C et en présence de GTP.

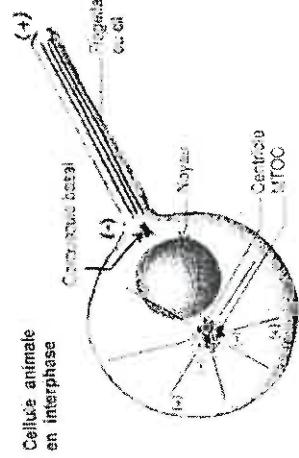


Fig72: Polarité des microtubules. Pendant l'interphase, le bout (+) de la plupart des microtubules est voisin de MTOC. (Les microtubules se prolongent autour du noyau pendant l'interphase.) De même, dans les flagelles et les cils, le bout (-) des microtubules est tourné vers le corpuscule basal, qui sert de MTOC dans ces structures.

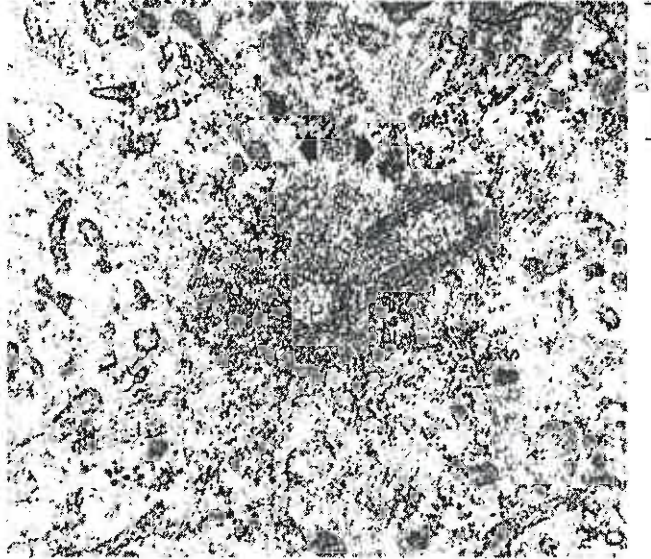


Fig73: Micrographie d'une cellule de rat kangourou en culture, montrant les détails du centrosome ou centre organisateur de microtubules. Le centrosome d'origine (C) et le centrosome-fils (C') sont entourés d'un matériau péricentriolaire (PC) dense aux électrons ainsi que de corpuscules denses, les satellites (S). Plusieurs microtubules irradient du MTOC. D'après B. R. Brinkley, 1987, in *Encyclopedia of Neuroscience*, vol. II, p. 505, Birkhäuser Press, Grinzing, Allemagne.

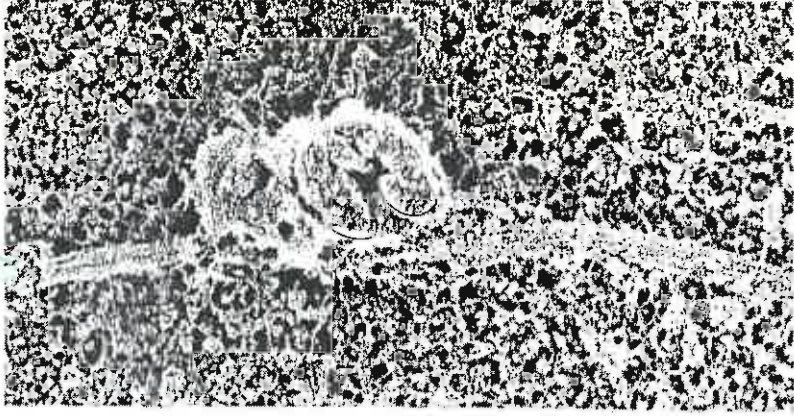
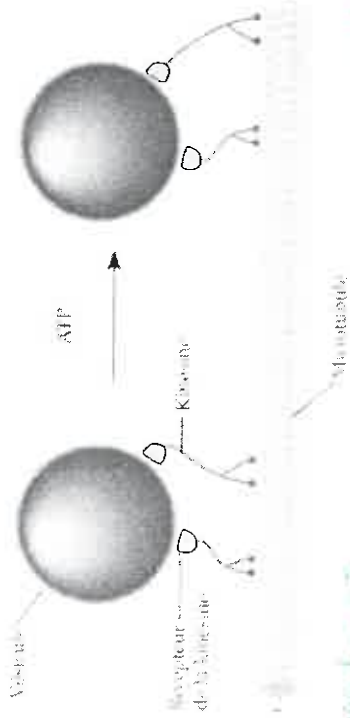


Fig74: Une zone de cytoplasme a été lyophilisée, ombrée au platine et photographiée au microscope électronique. Deux structures volumineuses sont fixées à un microtubule, on présume que ce sont deux petites vésicules entraînées le long du microtubule au moment où on a congelé la préparation. [Voir B. J. Schnapp et al., 1985, *Cell* 40:455.] Clichés aimablement transmis par B. J. Schnapp, R. D. Valle, M. P. Sheetz & T. S. Reese.

Fig75:

Molécules motrices et cytosquelette.
 Les molécules motrices sont des protéines qui convertissent l'énergie chimique en mouvement. Une d'entre elles, la kinesine, fait glisser des organites le long des microtubules, du pôle négatif au pôle positif de ces derniers. On voit ici, des molécules de kinéline qui font glisser une vésicule; chaque molécule s'attache à un récepteur situé à la surface de la vésicule, et ses prolongements mobiles marchent sur les microtubules. Le mouvement de la kinéline est assuré par l'hydrolyse de l'ATP.



kinéline s'attache à destination pour ses vésicules... substrat en tubules sur une microtubule.
 → kinésine (aperte) pour marcher

Fig77: Auto-reproduction d'un diplosome (duplication avant mitose)

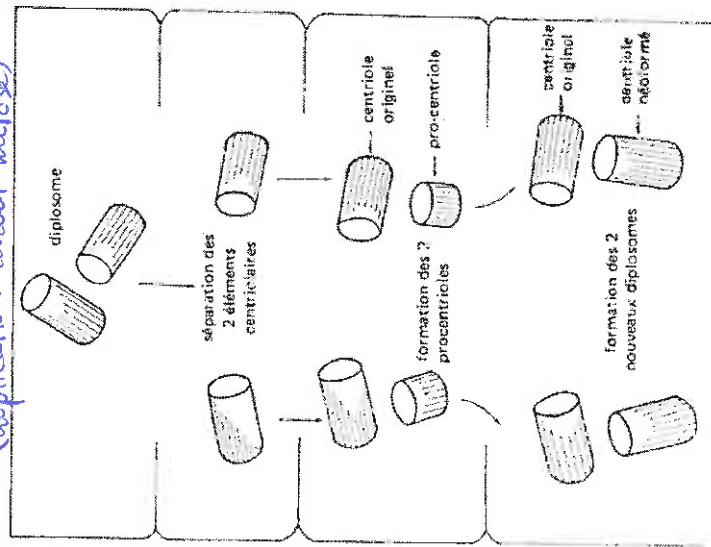
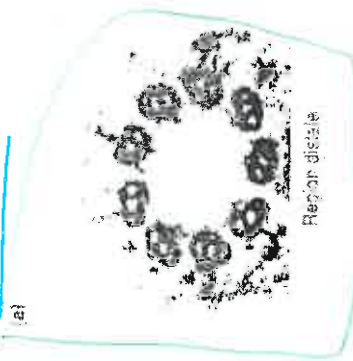
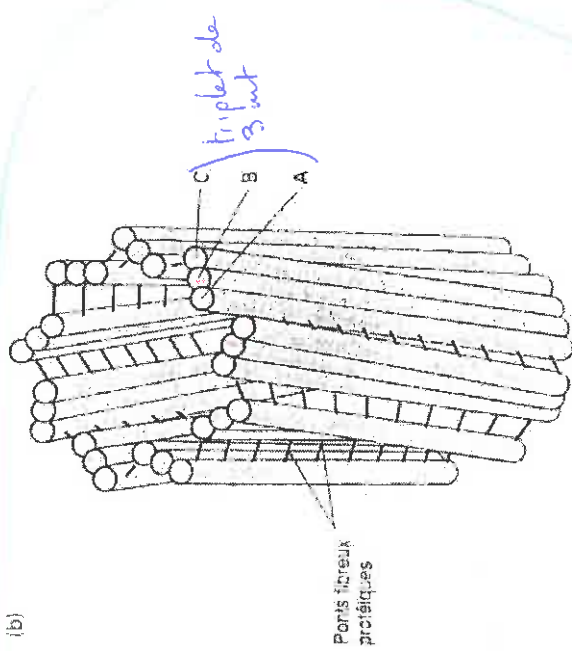


Fig76: Caractéristiques d'un centriole ou corpuscule basal: a- vue en coupe, b- schéma 3D



corpuscule basale = centriole = tube de microtubules

(b)



3x3 mt = 1 centriole

Fig78: Centrioles centre de nucléation de microtubules in vitro

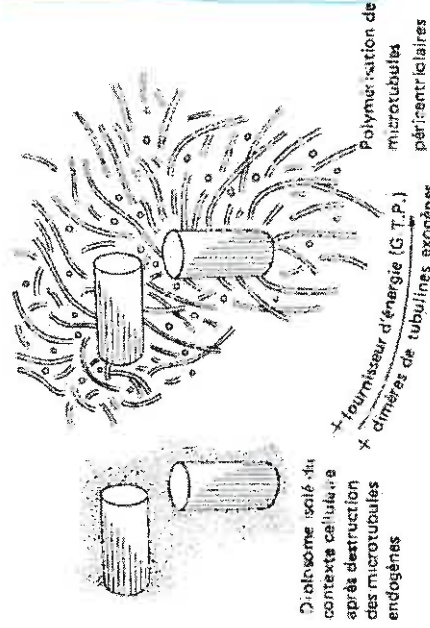


Fig80: Deux exemples de cellule avec axonème

a-avec cils: cellule de trachée couverte de cils

b-avec flagelles: l'algue chlamydomonas avec ses 2 flagelles, vue au microscope électronique à balayage

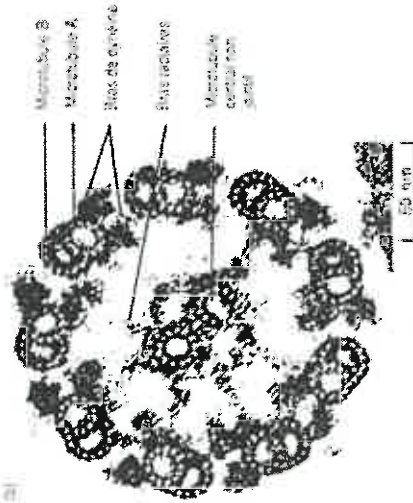
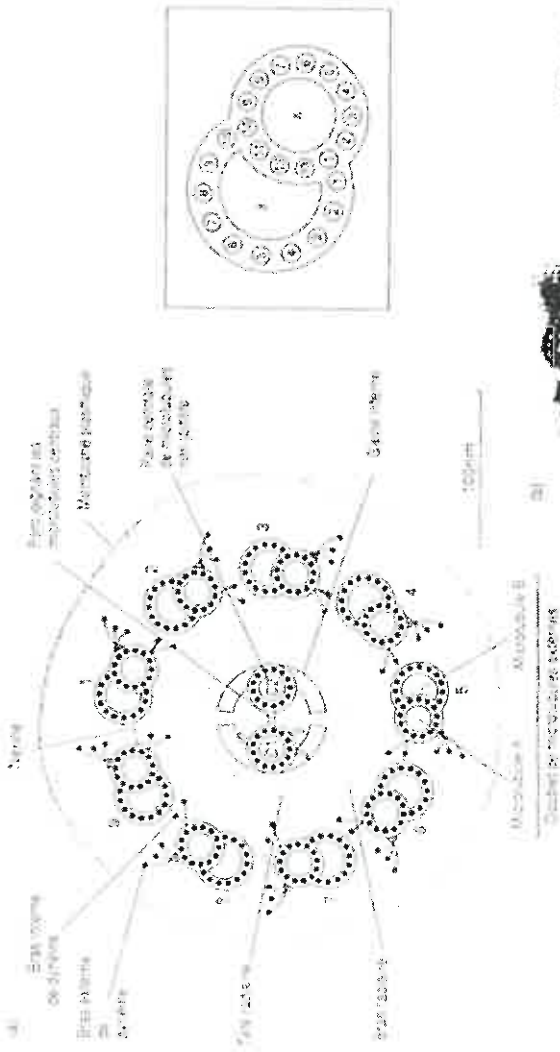
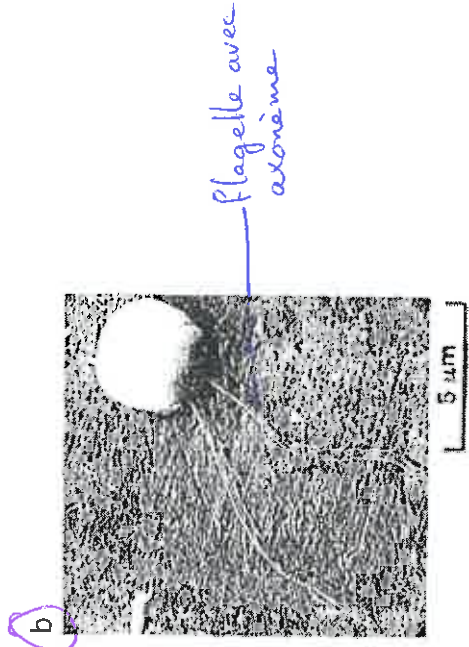
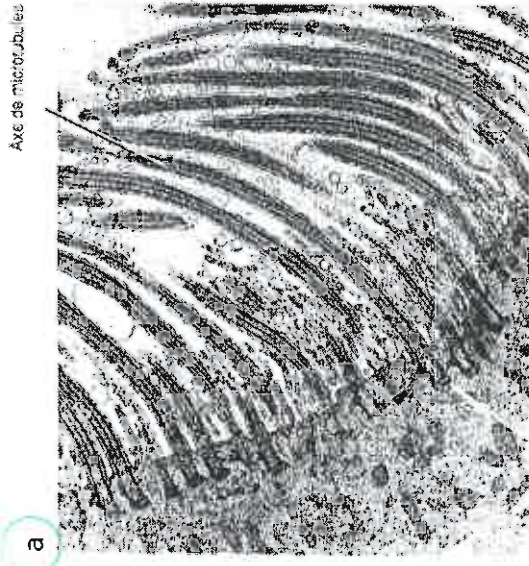
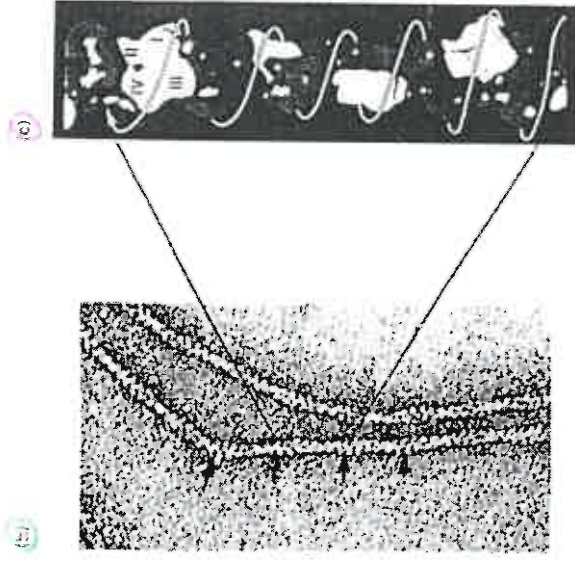
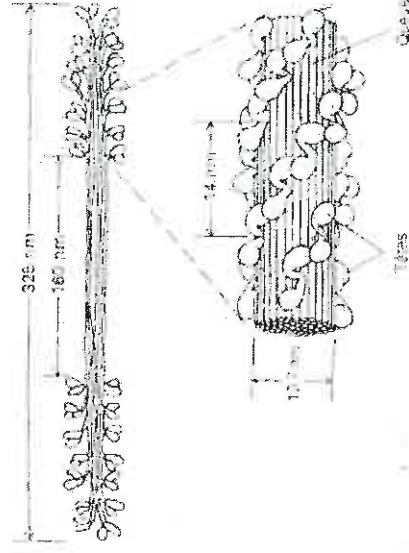
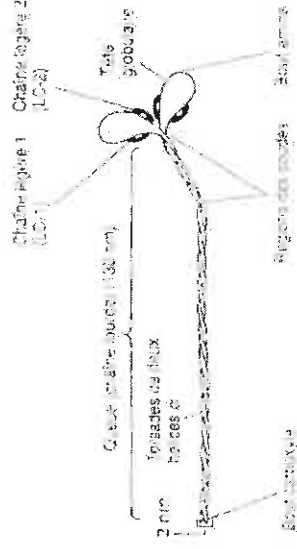


Fig79: Structure à axonème de cil et de flagelle. (a) Coupe transversale de flagelle avec les structures microscopiques. Comme les cils et les flagelles, les bras et les raies latérales sont espacés le long de l'axe longitudinal. On distingue le microtubule central (C) de son voisin. Ce dernier est composé de fibres. En coupe transversale, on voit généralement des arrangements dans les microtubules A et B d'un doublet. (b) Micrographie électronique à une coupe transversale de cil isolé, dépourvu de sa membrane plasmique. Les deux microtubules centraux non jointifs sont entourés de 9 doublets axonémiques composés chacun d'un microtubule A et d'un microtubule B. Coupe (a) amputée par Tracy (voir U. W. Suckewald & J. Müller, 1953, J. Cell Biol. 100:2108)

Fig82: la myosine

deux paires de chaînes légères différentielles et deux chaînes lourdes identiques. Le tronçon N-terminal de 95 kd de chaque chaîne lourde est replié en tête globuleuse, leurs segments C-terminaux de 125 kd forment une queue d'oiseaux et torsadées, de 130 nm de long. A noter que ce bâtonnet est flexible au niveau de deux coudes. (b) Modèle du filament épais bipolaire de myosine. Sa zone centrale de 107 nm, est faite que de queues torsadées, sans aucune tête.



enfilade. Tous les 36 nm, l'hélice présente successivement un rétrécissement (diamètre de 7 nm) et un renflement (diamètre de 9 nm). (c) Modèle d'assemblage des protofilaments en un filament d'actine comportant 14 protofilaments : ceux-ci forment un filament hélicoïdal compact. Le module répétitif comprend 28 protofilaments (13 tours d'hélice) qui s'étendent sur 72 nm. La fente qui s'attache à l'ATP est tournée dans le même sens (vers le haut) dans tous les protofilaments d'actine d'un filament. (Partie (a) adaptée d'après Schmitt *et al.* 1983, Nature 305 810 ; armablement transmis par M. Feyziyeh, Partie (b) d'après armablement transmis par R. Craig, partie (c) d'après Schmitt *et al.*, 1984, J. Cell Biol. 124 : 341 ; armablement transmis par M. Schmitt)

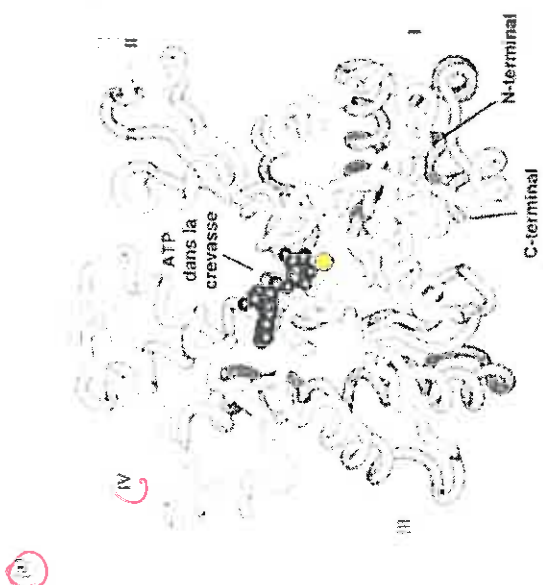


Fig81:

Structure du monomère d'actine et du filament d'actine. (a) La structure atomique du monomère d'actine. β d'une capsule non musculaire montre une molécule de taille 15.5 x 5.5 x 5.5 nm partagée par une fente centrale en deux lobes de taille à peu près égale et quatre sous-domaines, numérotés de I à IV. L'ATP, coloré en rouge siège au bord de la fente et brèche les deux lobes (la sphère jaune est l'ion Mg^{2+}). Les feuillets aminés et carboxyliques appartiennent au sous-domaine I. (b) Au microscope électronique, les segments d'actine tendus négativement apparaissent comme de longues brins tendus, flexibles, formés d'un crapahot de protofilaments appariés. On voit bien l'arrangement hélicoïdal des protofilaments en relevant la page pour voir le filament en

Fig83: la contraction musculaire
 a-cycle de fixation de la myosine à l'actine
 b-conséquences sur la longueur de la fibre musculaire

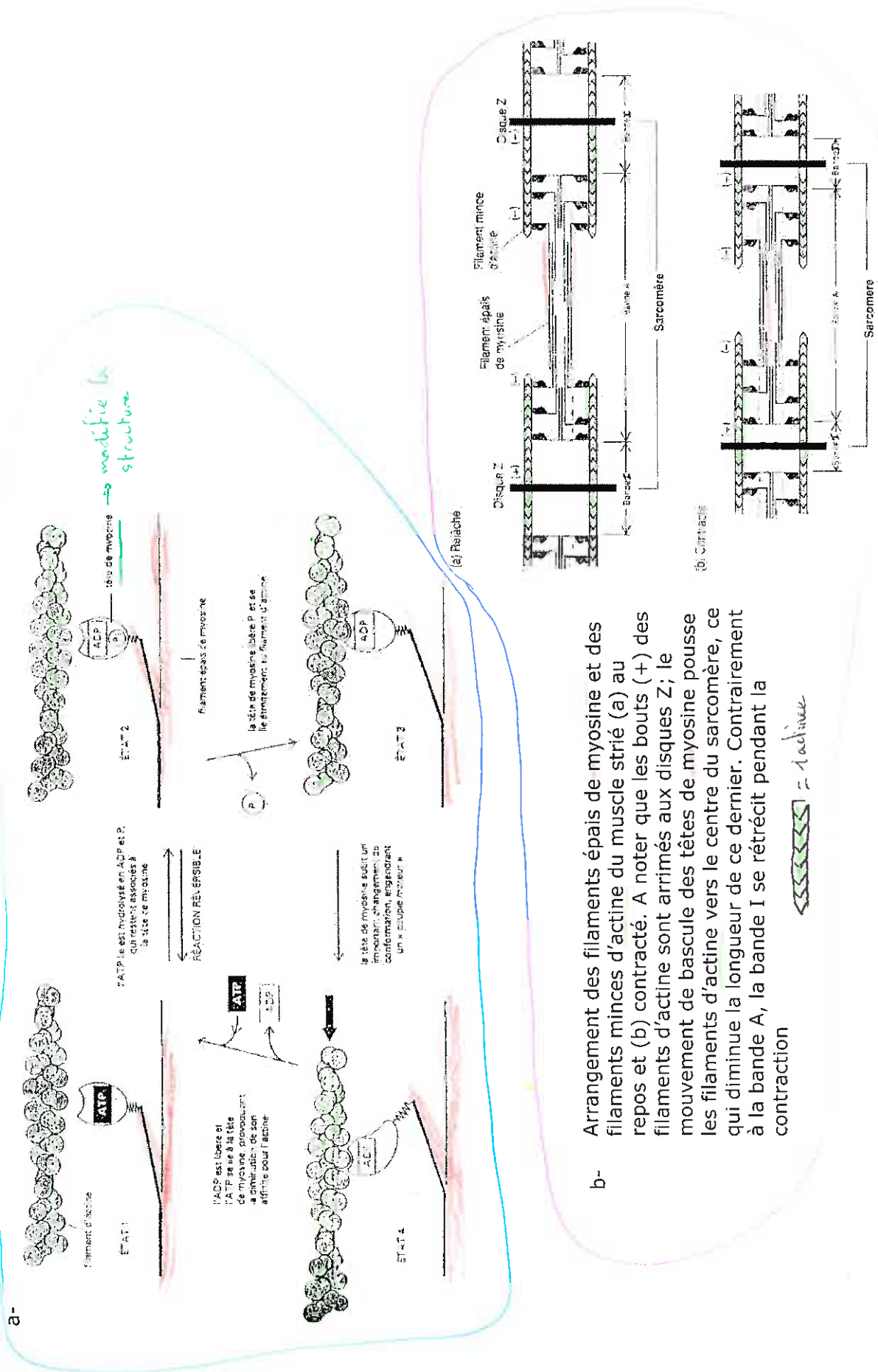
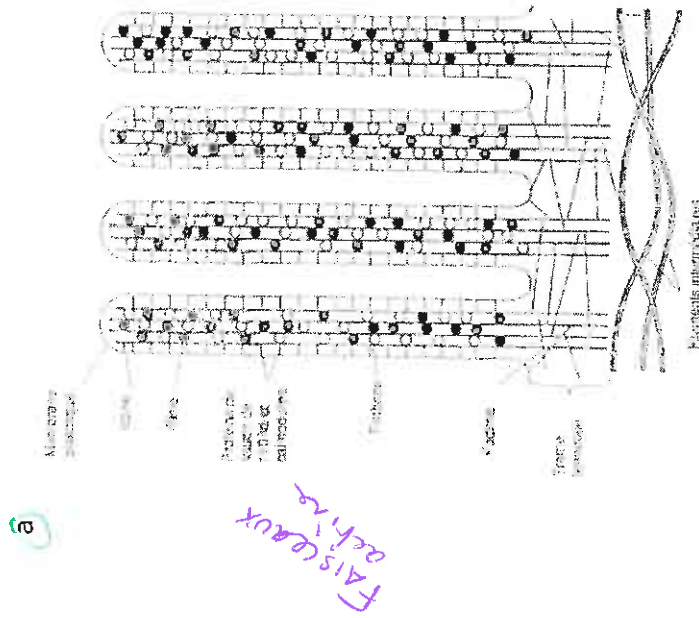
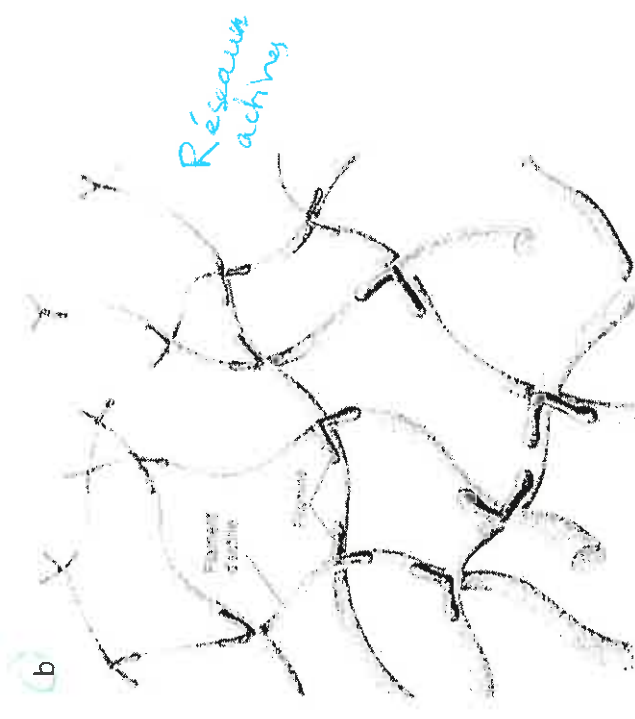


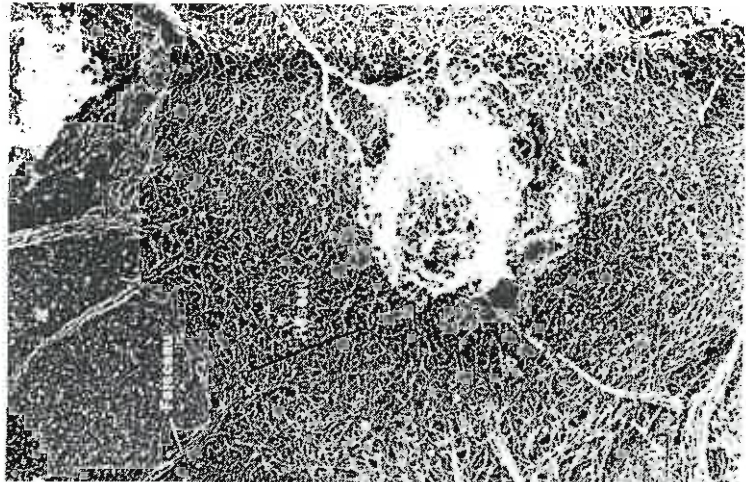
Fig84: organisation de l'actine en faisceaux et en réseau
a et c



Un jeu de protéines relient les filaments d'actine dans la bordure en brosse de l'intestin. Les microfilaments d'actine sont unis par des protéines de liaison, la filipine et la spectrine, les ponts de 20 à 30 nm de long, tendus entre les microfilaments d'actine et la membrane se composent d'une protéine semblable à la myosine, la protéine de 110 kDa, ainsi que de la calmoduline. Dans la lame terminale, ce sont la fodrine qui unis les filaments d'actine en faisceaux.

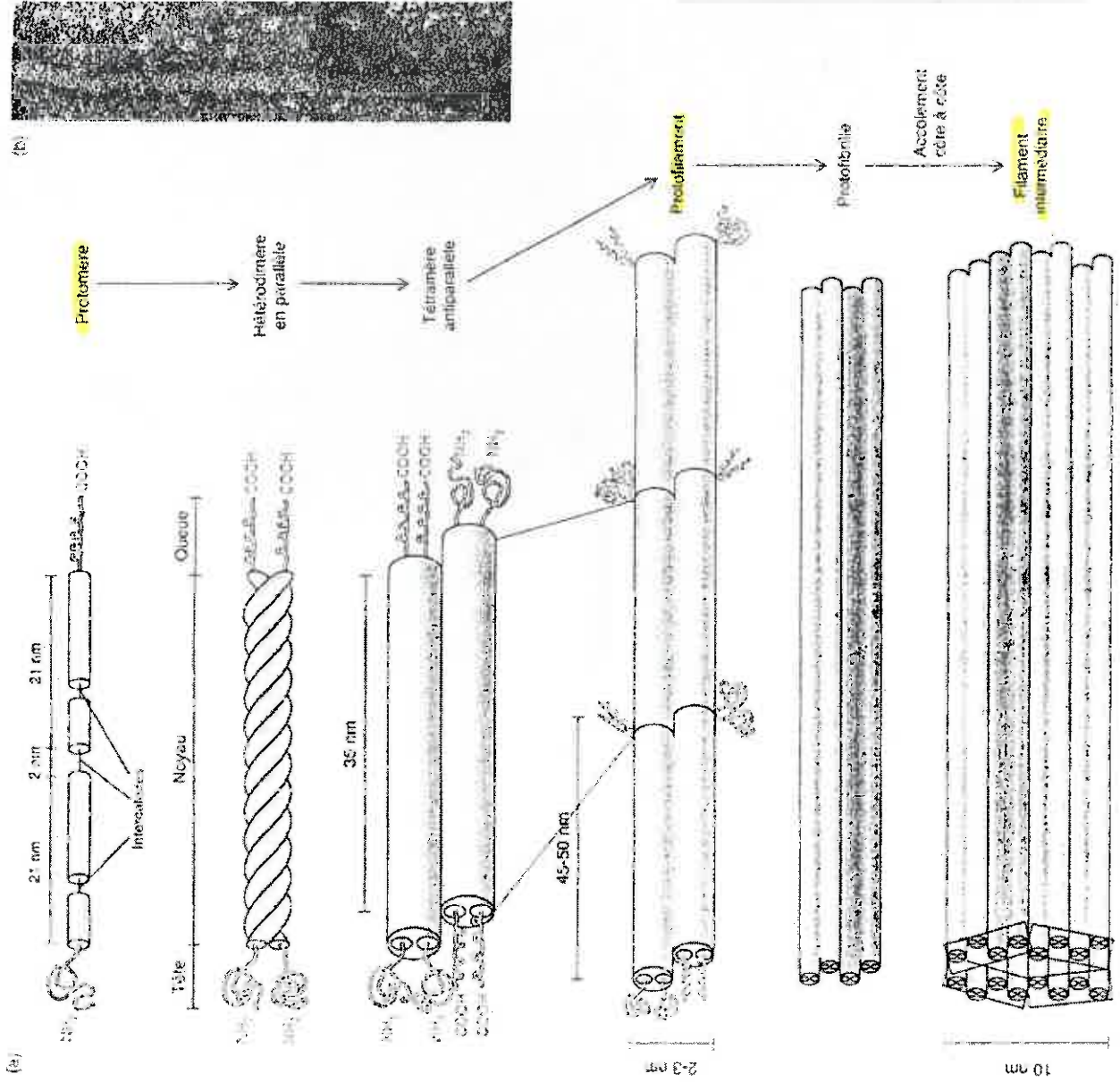


Les systèmes de filaments à crochets aux filaments d'actine en se reliant perpendiculairement, ce qui transforme les filaments d'actine solides en un réseau tridimensionnel aux propriétés d'un gel. Comme d'autres protéines qui relient l'actine, pour exemple l'alpha-actinine et la spectrine ou la fodrine assure une site de fixation à l'actine et crochets de ses extrémités.



Faisceaux aux crochets de filaments d'actine dans le cytosol d'une paquette élaste et traitée par un détergent qui élimine la membrane plasmotique. Les faisceaux d'actine s'implantent sur la cellule pour former des filopodes; poils. Dans la zone lamellaire de la cellule, les filaments d'actine forment un réseau à travers tout le cytosol. Contrairement à l'alignement assez parallèle des filaments dans un faisceau, les filaments des réseaux se croisent à des angles variables; proches de 90°. [Cliché de J. Hartwig]

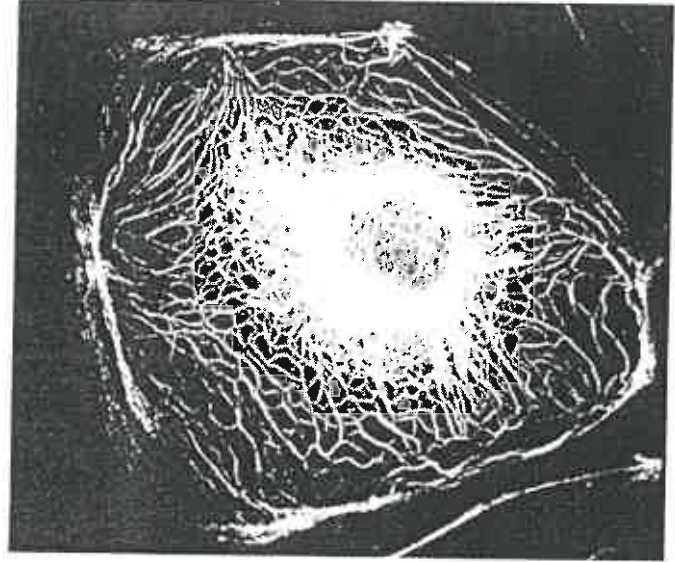
Fig85: structure des filaments intermédiaires



Échelons d'organisation dans l'assemblage des filaments intermédiaires. (a) Modèle structural commun aux protéines de FI. Ces dimères protomères comportent un réseau trihélicoïdal en superhélice (en vert), très bien conservé, finique d'une tête et d'une queue non hélicoïdales (en bleu), de longueur et de séquence variables ; le domaine central comporte trois éléments intercalaires non hélicoïdaux. Le tetramère se forme par aggrégation antiparallèle.

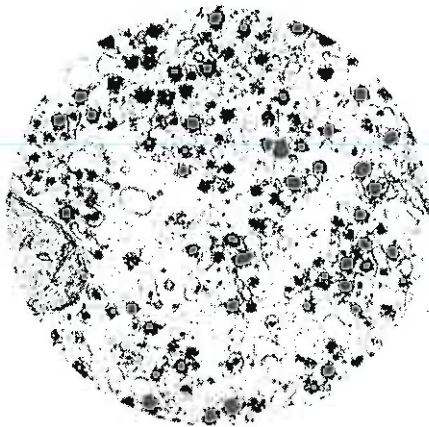
côte à côte et avec décalage, de deux dimères. Les tetramères s'associent bout à bout, pour former un protofilament ; ceux-ci s'apparient latéralement deux à deux en une protofibrille et quatre de celles-ci forment une filament cylindrique de 10 nm d'épaisseur. (b) Micrographie électronique en contraste négatif d'une préparation de filament intermédiaire de type neurofilament. [Partie (b), aimablement transmise par E. M. Mandelkew]

Fig86: structuration du cytoplasme par les filaments intermédiaires



Filaments intermédiaires de kératine tendus contre la membrane nucléaire et le cytosol dans des cellules PK2. [Cliche du à l'arrabille de H. D. Goltzman]

Fig88: inclusions cytoplasmiques



Reserves de glycogène dans une cellule hépatique. Foie de grenouille (x 50 000). Les petites taches de 150 à 300 Å, elles sont fréquemment associées à des tubules de réticulum endoplasmique lisse; celui-ci intervient dans le stockage et la mobilisation de ces réserves.

reserves cytotiques
good inclusion

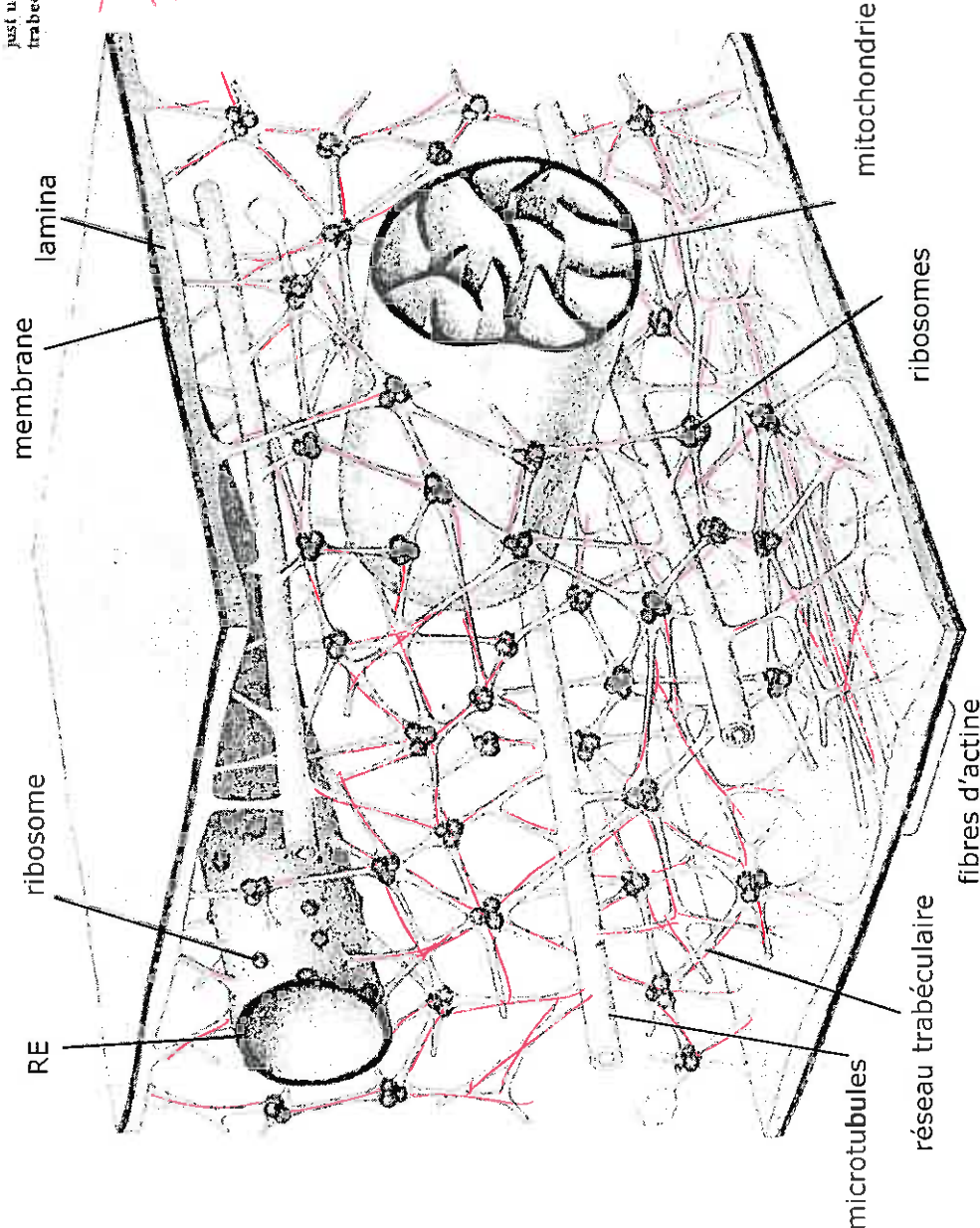


Accumulation de lipides. Cellule adipeuse de rat (x 12 000). Des mitochondries sont fréquemment associées aux globules lipidiques; elles interviennent dans leur synthèse et leur mobilisation.

cellule
good cytotiques
inclusion

Fig87: le réseau trabéculaire

MODEL OF THE MICROTUBECULAR LATTICE, some 300,000 times its actual size, was derived from hundreds of images of cultured cells viewed in the high-voltage electron microscope. The model illustrates how the microtubecular filaments are related to the other components of the cell cytoplasm: the substance of the cell outside the cell nucleus. In the model the microtubeculae suspend the elongated structures of the endoplasmic reticulum (the system of interconnected channels within the cell where some of the proteins manufactured by the cell are sequestered), the mitochondria (the organelles that manufacture ATP, the universal fuel of the cell), the microtubules (the complex fibers that serve many functions of cell structure) and the microfilaments buried in the cell cortex (the layer of material just under the outer membrane of the cell). At junctions of the microtubular lattice are polysomes: organized clusters of ribosomes.



~~réseau trabéculaire~~
 = le + fin (3nm)

Structure chimique de l'hyaluronate : une molécule peut contenir jusqu'à 50.000 unités disaccharidiques. L'hyaluronate est le seul glycoconjugué extracellulaire qui ne soit pas conjugué par covalence à une protéine.

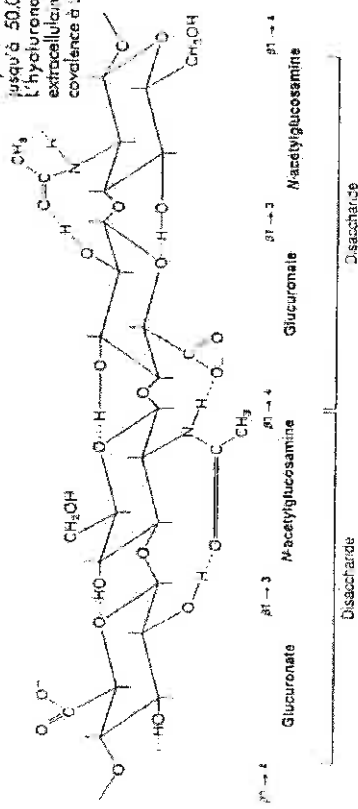


Fig91: l'hyaluronate

Structure de la fibronectine et de ses variétés. (a) La fibronectine est formée de deux polypeptides identiques soudés à leur extrémité carboxyle par deux ponts disulfure. (b) La dégradation protéolytique révèle six domaines, parmi chacun d'un site de liaison particulier pour des récepteurs de la surface cellulaire, pour des protéoglycanes de type héparane sulfate, pour le collagène ainsi que pour la fibrine. Le composant principal des caillots sanguins A, noter les deux domaines de liaison, d'affinités différentes, envers l'héparane sulfate et la fibrine, respectivement. Chaque domaine de liaison comporte plusieurs exemplaires de petites séquences répétées, qui, chacune, contribuent à la liaison. Chaque case représente une séquence répétée qu'on peut classer parmi trois types ; chaque séquence est codée par un ou deux exons. D'après R. H. Hynes et al., 1989, *Nectins and Integrins: versatility in cell adhesion*, in G. M. Edelman, B. Cunningham & J. P. Thiery, eds, *Morphoregulatory Molecules*, Wiley, in press.

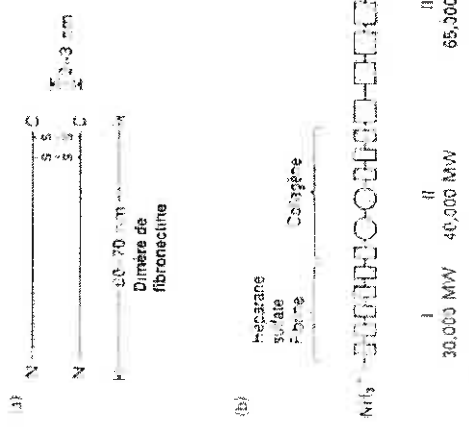
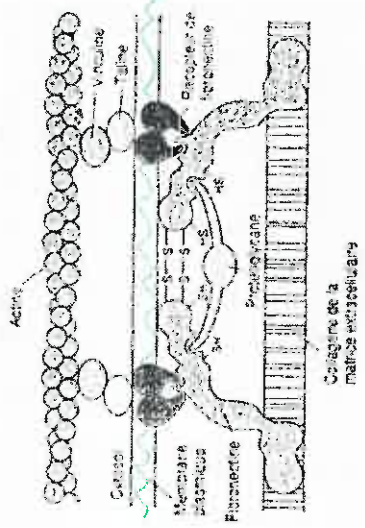
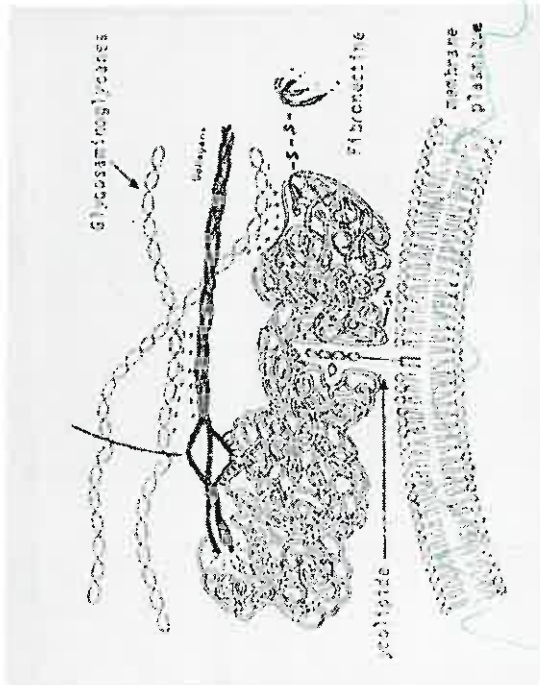


Fig92: la fibronectine

a) Structure et domaines de liaisons



b) 2 manières de représenter les liens entre la fibronectine et la matrice ou la cellule

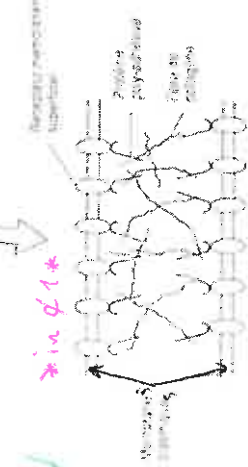
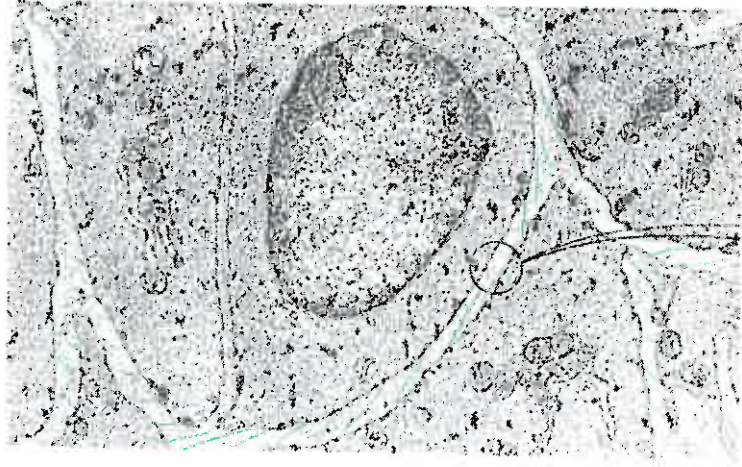


Fig 93 Micrographie électronique en coupe de la partie supérieure d'un tendon de poulet. Les cellules fibroblastiques sont séparées par des espaces contenant des fibres collagènes et des protéoglycanes. Les fibres de collagène sont organisées en faisceaux aux extrémités proximales et distales de la matrice extracellulaire. Les fibres de collagène sont organisées en faisceaux et contiennent des fibres de collagène. D'après D. W. Fowkes, 1981, *TeCell, 2nd ed.*, Saunders, Philadelphia, Pa.

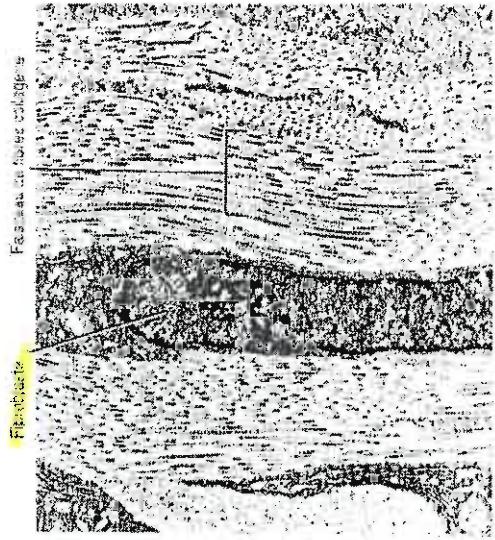


Fig 95 Micrographie électronique de fibres collagènes en coupe transversale. Les fibres de collagène sont organisées en faisceaux. D'après D. Fowkes, 1980, *Science*, 207, 1314.

Micrographie électronique d'une coupe transversale de tissu conjonctif dense du tendon de poulet. La plus grande partie du tissu est occupée par des fibrilles collagènes de type I de 50 nm de diamètre, disposées parallèlement. Le tissu est très pauvre en cellules.

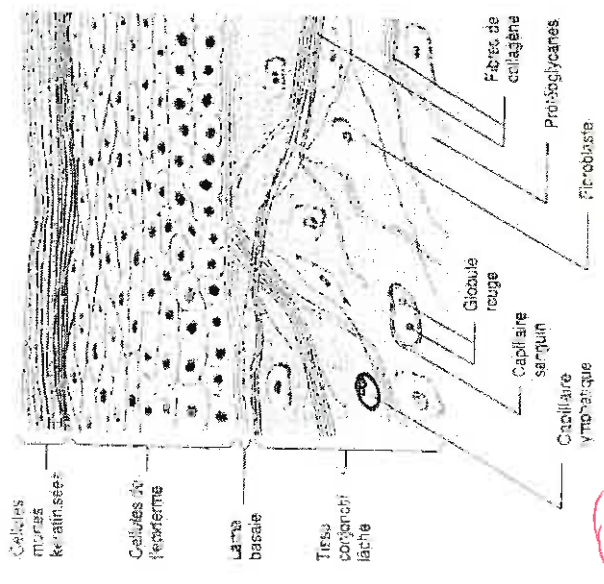
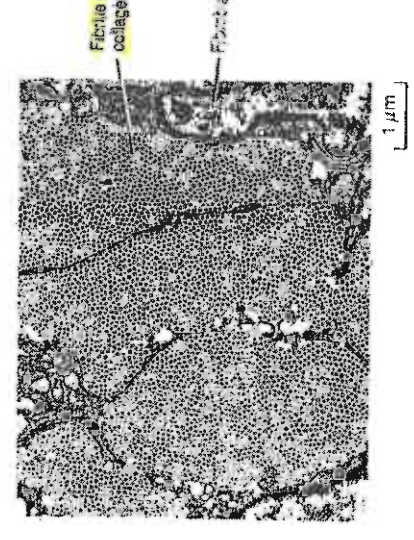


Fig 94 Dessin schématique d'une coupe dans la partie externe de la peau de porc. L'épithélium repose sur une mince lame basale, bordant une couche épaisse de tissu conjonctif lâche ; celui-ci contient de nombreuses fibres collagènes et cellulaires, surtout fibroblastiques, qui synthétisent les protéines et les polysaccharides du tissu conjonctif. Les interstices entre les fibres collagènes contiennent les prostéoglycanes. Le tissu conjonctif lâche est parcouru par les capillaires lymphatiques et sanguins.

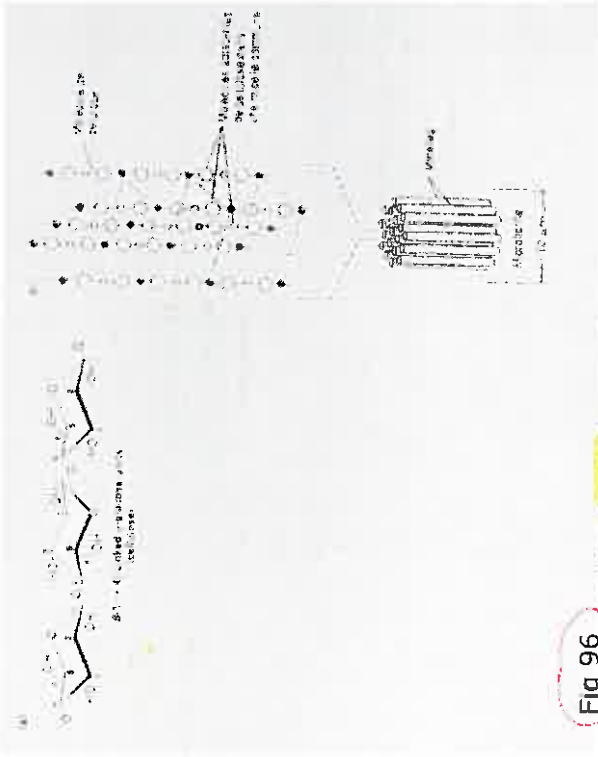
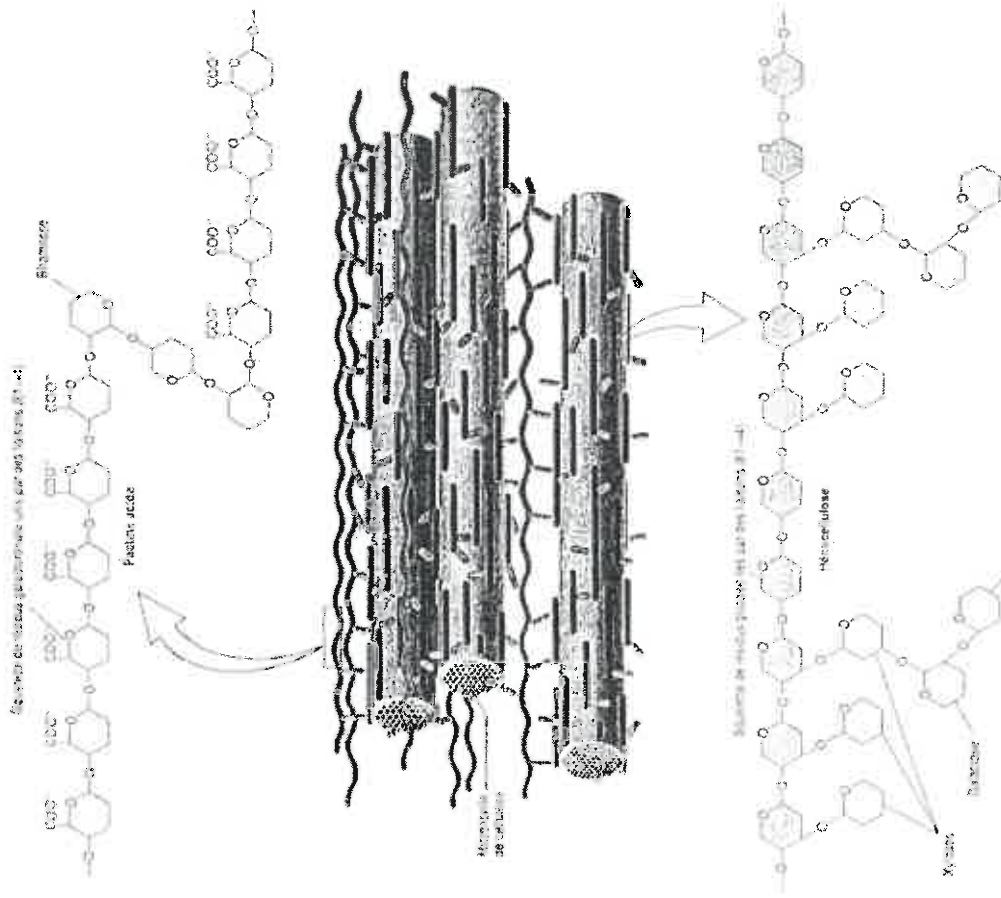


Fig 96

Structure chimique de la cellulose. Les unités de glucose sont liées par des liaisons glycosidiques de type 1-4. Les unités de galactose et de mannose sont liées par des liaisons glycosidiques de type 1-6.

Les liaisons hydrogène entre les molécules de cellulose. On a représenté d'une part les oses et d'autre part les liaisons hydrogène entre les oses. Les liaisons hydrogène sont représentées par des traits pointillés. Les liaisons hydrogène sont de deux types : les liaisons hydrogène de type 1-4 et les liaisons hydrogène de type 1-6.

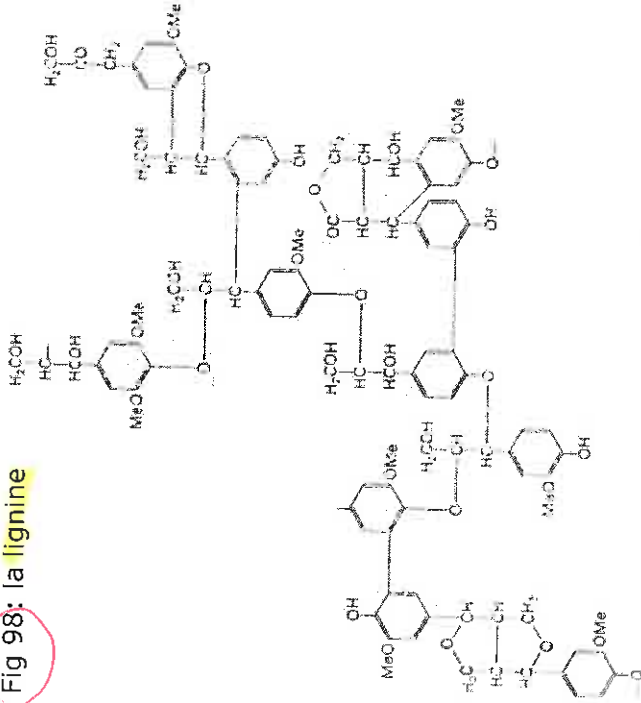


Structure chimique de la cellulose. Les unités de glucose sont liées par des liaisons glycosidiques de type 1-4. Les unités de galactose et de mannose sont liées par des liaisons glycosidiques de type 1-6.

Les microfibrilles de la pectine (en violet). Cette dernière consiste en un squelette de courtes chaînes de galacturone liées par des liaisons 1-3 (en violet) et de longues chaînes de mannose liées par des liaisons 1-6 (en violet). Les unités de glucose sont liées par des liaisons glycosidiques de type 1-4.

Fig 97: protéines et hémicellulose

Fig 98: la lignine



Structure d'un fragment de lignine de coriandre montrant plusieurs liaisons covalentes entre des groupes phénoliques (en orange). Les liaisons rouges sont fixées à d'autres groupes de cette structure hétérogène et complexe. Tiré de K. Freudenberg 1965, Science 148 595.

Fig 99: composition de la paroi squelettique végétale

répartition des composés dominants (glucidiques) au sein d'une paroi

	lamelle moyenne	paroi primaire	paroi secondaire
composés pectiques	+++	++	+
hémicelluloses	0	++	+
cellulose	0	++	+++

La paroi primaire contient un peu de protéines (< 10 %, l'extensine en particulier) et quasiment pas de lipides (près de 0 %).

Certains parois comportent d'autres substances liées à certaines spécialisations : par exemple, la lignine est localisée surtout dans la lamelle moyenne et la paroi primaire.

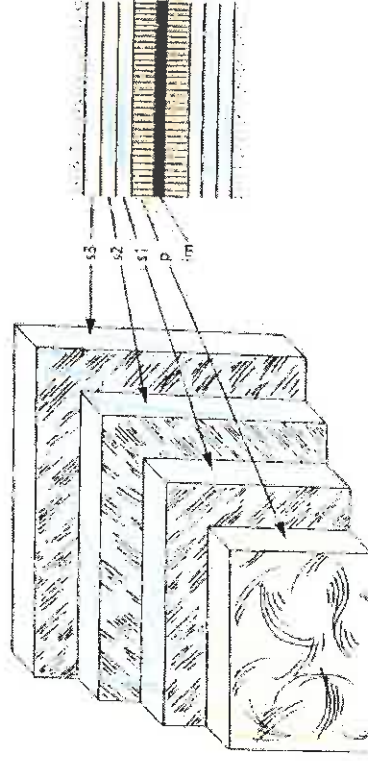


Fig 100: Orientation des fibres de cellulose dans la paroi squelettique végétale
Lm: lamelle moyenne
P: paroi primaire
s1,s2,s3: couches successives de la paroi secondaires

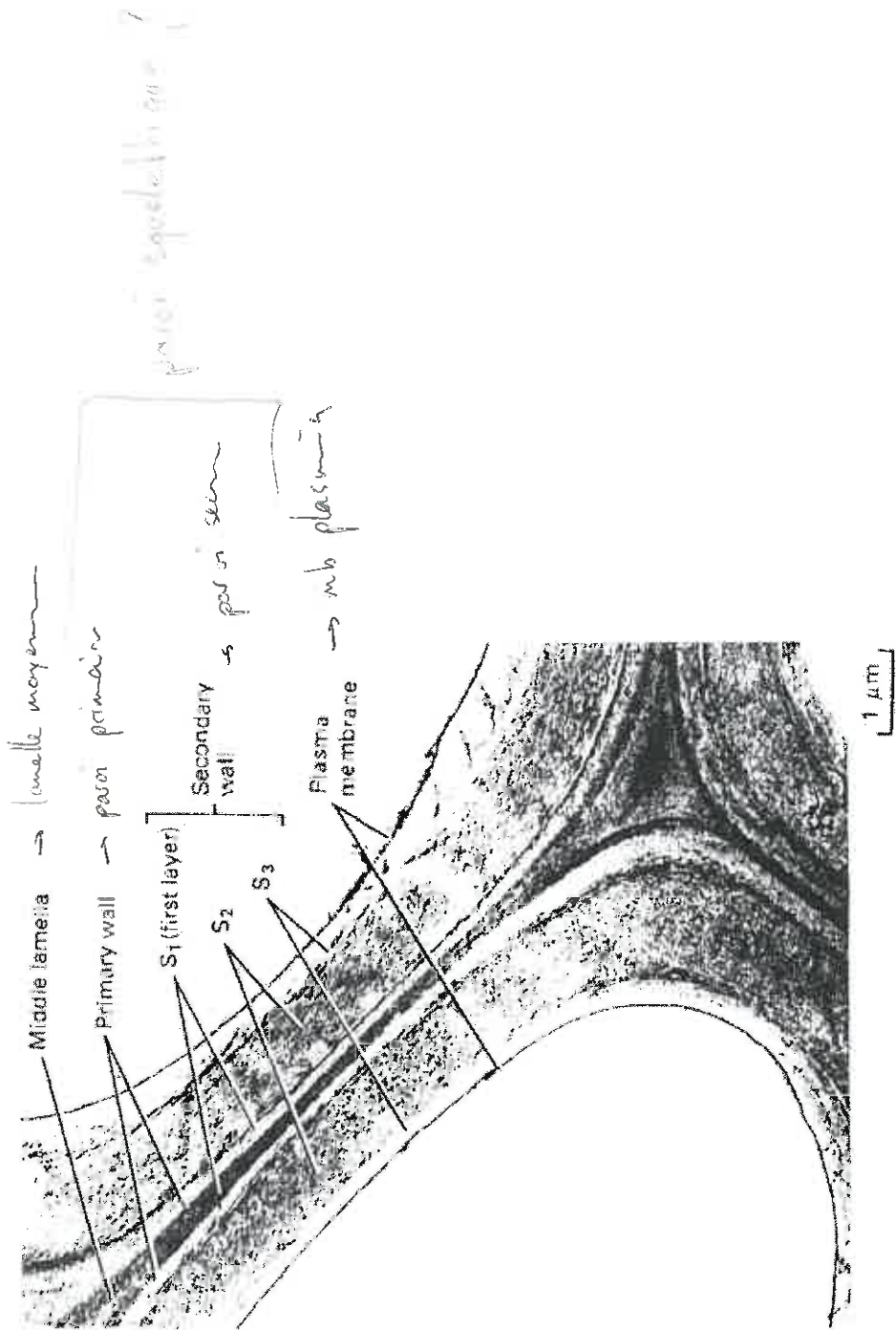


Fig 101 Micrographie électronique d'une coupe mince de la jonction de trois cellules (végétales) de *Taxus canadensis*. A noter les trois couches principales de chaque paroi : la lame médiane, la paroi primaire et les trois couches de la paroi secondaire (S₁, S₂ et S₃). La maturation de la cellule s'accompagne du dépôt successif de chacune de ces trois couches de fibres de cellulose. Les fibres d'une couche courent dans une direction différente de celle des couches adjacentes. La membrane plasmique est adossée à la couche S₃, le feuillet le plus récent de la paroi. Aimablement communiqué par Biophoto Associates / Myron C. Ledbetter / Brookhaven National Laboratory.

Fig102: les différentes classes de ribosomes

Protéines synthétisées par différentes classes de ribosomes	
Situation du ribosome	Sorte de protéine synthétisée
Mitochondrie	Toutes celles codées par l'ADN mitochondrial, surtout des protéines intrinsèques de la membrane interne
Chloroplaste	Toutes celles codées par l'ADN du chloroplaste
Ribosomes cytosoliques non attachés à des membranes	Protéines cytosoliques solubles Protéines cytosquelettiques (dont celles, telles les spectrine et ankyrine, souvent ancrées à la face cytoplasmique des protéines membranaires adossées) Protéines fixées aux membranes par liaison covalente à du myristate ou à des polyisoprénoides (p. ex. Ras, Src)
Ribosomes cytosoliques fixés aux membranes du RE	Protéines mitochondriales codées par l'ADN nucléaire Protéines du chloroplaste codées par l'ADN nucléaire Protéines des peroxysomes Protéines du noyau (histones, lamines, etc.)
Ribosomes cytosoliques fixés aux membranes du RE	Glycoprotéines membranaires intrinsèques Membrane plasmique Enveloppe nucléaire Membrane du RE rugueux Membranes du Golgi Membrane du lysosome Membrane des endosomes
Ribosomes cytosoliques fixés aux membranes du RE	Protéines de sécrétion (dont celles de la matrice extracellulaire, comme la fibronectine et les collagènes, ancrés souvent à des protéines enfouies dans la membrane plasmique) Enzymes lysosomiaux Enzymes du RE rugueux L'enzymes de l'appareil de Golgi

b)

a)

Micrographie électronique de ribosomes fixés au RE d'une cellule excisée de pancréas. A. certain endroite on distingue la grosse sous-unité ribosomiale de la petite (encadré). La grosse sous-unité est accolée à la membrane du RE. Les protéines produites dans cette cellule sont, en majeure partie, destinées à l'exportation et sont formées sur des ribosomes ancrés aux membranes. On peut observer aussi quelques ribosomes libres, vraisemblablement ceux qui synthétisent les protéines cytosoliques et d'autres protéines non destinées. Cliché amablement fourni par G. Palade.

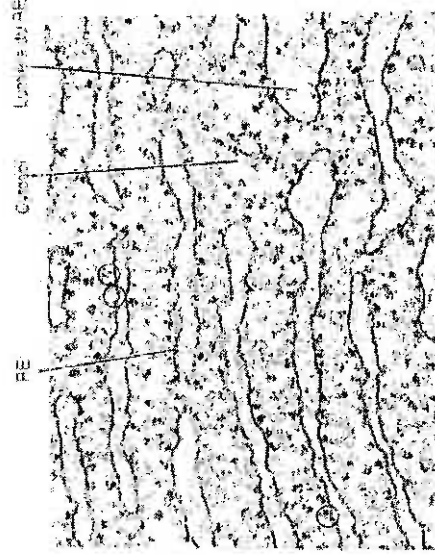
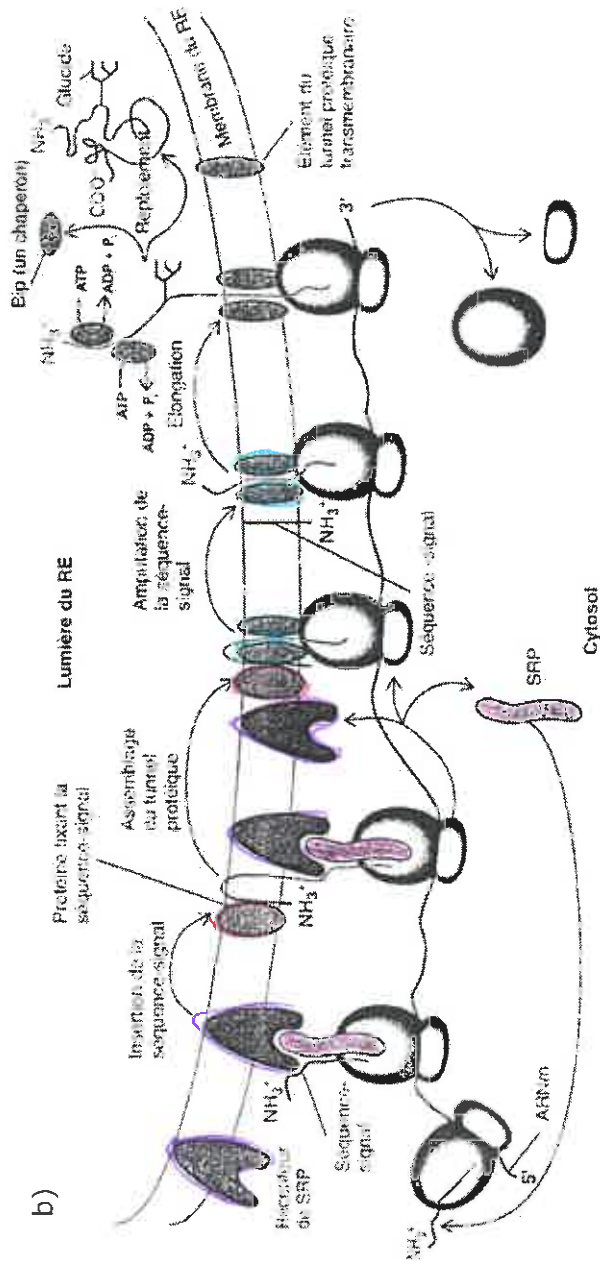


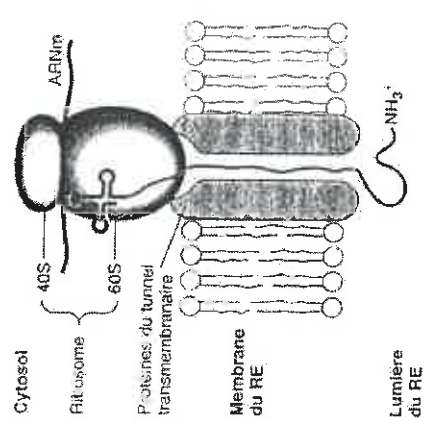
Fig103 Séquence d'acides aminés des peptides-signal de quelques protéines membranaires et de quelques protéines de sécrétion

Protéine de sécrétion et membranaire	Séquence primaire (résidus hydrophobes)
Prophosphatidase	Mét-Lys-Ile-Phe-Leu-Ile-Leu-Leu-Phe-Ile-Sér-Gly-Ser-Ala-Phe-Sér-Arg
Prophosphatidase	Mét-Arg-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gly-Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Ile-Leu-Phe-Phe-Phe-Phe
L-PH40	Thr-Asp-Cys-Lys
Prophosphatase	Mét-Arg-Ser-Leu-Leu-Ile-Leu-Leu-Cys-Phe-Leu-Pro-Ile-Ala-Ala-Leu-Gly-Lys
Prophosphatase	Mét-Arg-Ser-Ile-Ser-Ala-Arg-Lys-Ala-Gly-Thr-Leu-Leu-Leu-Met-Met-Ser-Asp-Leu-Leu
Prophosphatase	Mét-Ser-Ile-Gln-His-Phe-Arg-Yal-Ala-Leu-Ile-Pro-Phe-Phe-Ala-Phe-Cys-Leu-Pro-Vale
Prophosphatase	Phe-Ala-Lys
Prophosphatase	Mét-Lys-Cys-Leu-Leu-Tyr-Leu-Ala-Phe-Leu-Phe-Ile-His-Vale-Arg-Cys-Lys
Prophosphatase	Mét-Lys-Ala-Thr-Lys-Leu-Yal-Leu-Gly-Ala-Yal-Ile-Leu-Gly-Ser-Tyr-Leu-Leu-Ala-Gly-Cys

Fig104: la synthèse des protéines au niveau du REG



a) Protéines en jeu dans le transport des protéines de sécrétion en cours de formation à travers les membranes du RE. (a) Assortiment des protéines qui forment le tunnel transmembranaire livrant passage aux chaînes naissantes ; ces protéines semblent aussi arrimer l'élément ribosomiel 60S à la membrane. (b) Chez la levure, trois protéines de la membrane du RE, Sec61p (produit du gène sec61), Sec62 et Sec63 sont indispensables au transport des chaînes naissantes dans la lumière du



ce signal et du récepteur de SRP. La séquence-signal est excisée par une peptidase de la lumière du RE, puis est rapidement dégradée. La chaîne peptidique s'allonge et est extrudée dans la lumière du RE, à travers le tunnel transmembranaire. A la surface du compartiment du RE, la protéine chaperonne Bip s'accroche à la chaîne en formation puis, aux dépens de l'énergie du GTP, s'en détache ; ce cycle d'attachement et de détachement de Bip à la chaîne naissante est indispensable à la poursuite de la translocation ; elle favorise aussi le repliement ultérieur de nombreux polypeptides sécrétés.

Des oligosaccharides, sont greffés aux résidus asparagins, sérine et thréonine par des enzymes placés à la face luminale de la membrane. Une fois la synthèse terminée et les ribosomes libérés, la queue C-terminale restante de la protéine de sécrétion est entraînée dans la lumière du RE, le tunnel transmembranaire se dissout et la protéine de sécrétion acquiert sa conformation définitive [Voir Rappoport, 1991, FASEB J. 5:2792; Rappajko & Gilmore 1992, J. Biol. Chem 117:493; Sanders et al., 1992, Cell 69:353; Mignacco et al., 1992, J. Cell Biol. 117:15 et Gorchich et al., 1992, Nature 357:47]

Modèle de la synthèse des protéines de sécrétion sur le RE. Comme près de 30 acides aminés sont attachés au sein du ribosome, la séquence-signal N-terminale s'allonge du ribosome que lorsque le polypeptide est long d'environ 70 résidus d'acides aminés. Une particule de reconnaissance du signal (SRP), de forme assez allongée, s'attache alors à la séquence-signal, puis l'ensemble forme de la SRP. Le polypeptide naissant et du ribosome se lie à la membrane du RE par l'intermédiaire du récepteur de SRP. La séquence-signal s'insère dans la membrane du RE en s'attachant à une de ses protéines, la protéine de liaison à la queue-signal. Plusieurs protéines de la membrane du RE s'assemblent pour former un tunnel transmembranaire permettant à la chaîne de traverser la bicouche phospholipidique. Durant sa traversée, l'insertion du juste après, la particule SRP se dissocie du complexe ribosome-particule et est relâchée dans le cytosol. Le récepteur de SRP est libéré lui aussi et peut amorcer l'insertion d'une autre protéine de sécrétion ; l'hydrolyse de GTP (amorce dans la queue) par la particule SRP et son récepteur est indispensable pour que SRP se détache de la séquence-

De la C-terminale
pour amorcer
la synthèse de
la protéine de sécrétion

PROTEINES TRANSMEMBRANAIRES

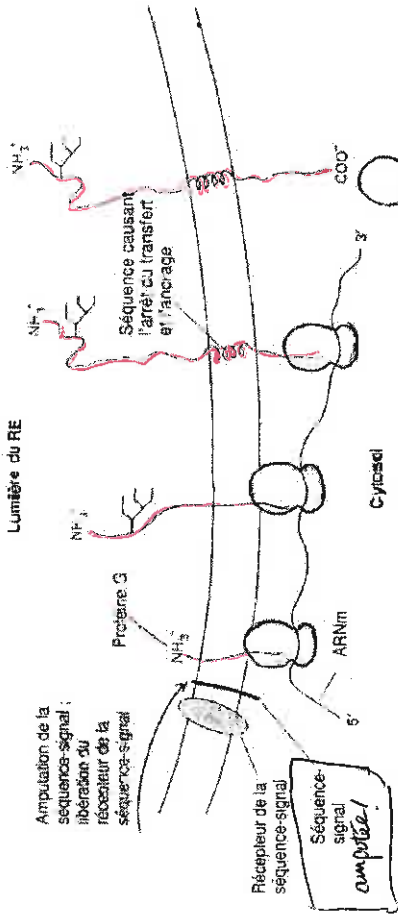


Fig 105

Modèle de synthèse et d'insertion membranaire de la glycoprotéine du virus de la stomatite vésiculaire (MSV). Ce modèle est identique à celui de la synthèse des protéines de sécrétion (voir figure 17-11), mais seulement jusqu'au point où commence la synthèse de la portion C-terminale de la chaîne. La séquence causant l'arrêt de transfert et l'ancrage à la membrane, séquence hydrophobe de 22 acides aminés, empêche la chaîne naissante de s'enfoncer plus avant dans la membrane du RE. Le ribosome se détache de la membrane et achève la synthèse de la protéine en tant que de ribosome libre cytosolique. La synthèse terminée et les ribosomes partent, la séquence hydrophobe causant l'arrêt de transfert et l'ancrage à la membrane arrive la protéine à la membrane. Les autres protéines membranaires intrinsèques de structure semblable, comme le récepteur d'insuline s'insèrent par le même mécanisme. D'après W. Wickner & H. F. Lodish, 1985, Science 230:400-407.

1 SEQUENCE TOPOGENE UNIQUE

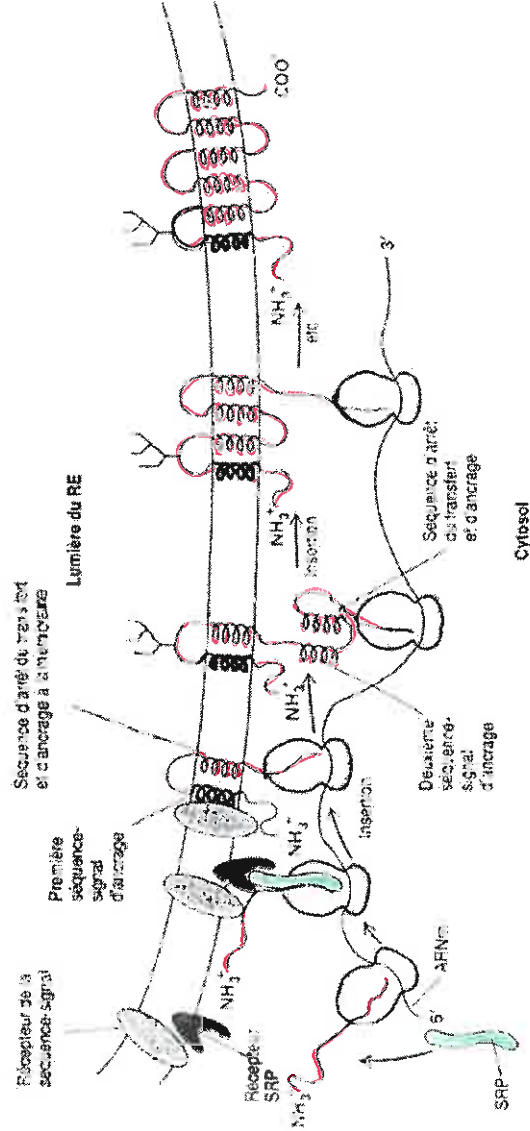


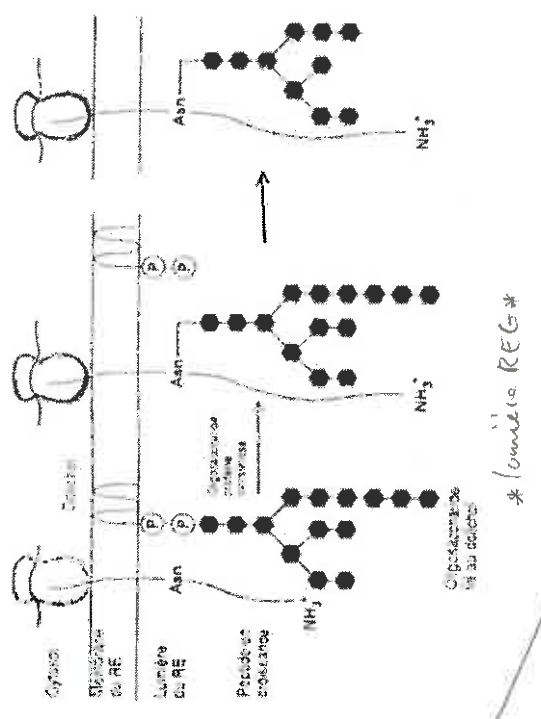
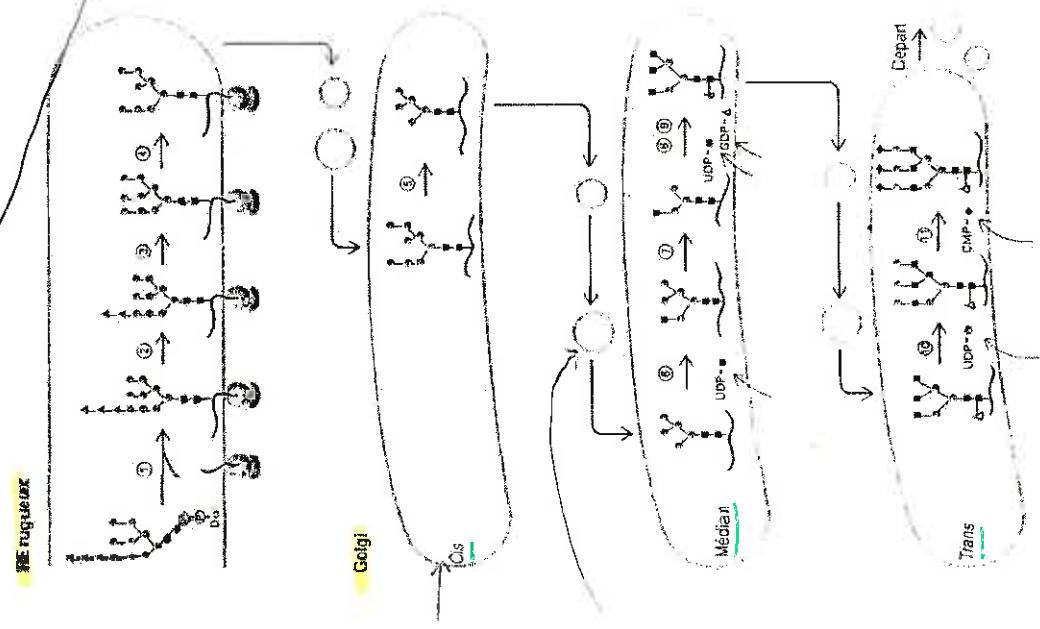
Fig 106

Modèle d'insertion transmembranaire co-productive du transporteur de glucose. Comme beaucoup de protéines intrinsèques, cette protéine s'étend vraisemblablement à travers de la membrane sous forme d'hélices α en épingle à cheveux. On sait qu'une séquence-signal d'ancrage, interne et persistante, gouverne l'attachement des chaînes naissantes à la membrane du RE rugueux et amorce leur insertion co-productive. Dans ce modèle-ci, la séquence-signal interne et persistante gouvernant l'ancrage ainsi que la chaîne naissante qui lui succède et contient une séquence d'arrêt de transfert et d'ancrage à la membrane, s'insèrent dans la membrane du RE sous forme d'hélices α disposées en épingle à cheveux; la particule SRP et son récepteur entrent en jeu à cette étape. La chaîne naissante continue à croître dans le cytosol. Les épingles à cheveux constituées d'hélices α qui suivent sur la chaîne pourraient s'insérer de façon identique, encore que la particule SRP n'intervienne que dans l'insertion de la première séquence-signal d'ancrage. Bien que la figure n'indique que six hélices α transmembranaires, ce transporteur et les protéines de structure semblable comportent au moins 12 hélices. [Voir W. Wickner & H. F. Lodish, 1985, Science 230:400-407; H. P. Weisses & M. Spiess, 1988, Cell 55:61-70.]

SIX SEQUENCES TOPOGENES

arytoplasma*

Fig107 Transfert catalytique d'une enzyme oligosaccharidique au dolichol, son transporteur, au résidu asparagine réactionnel d'une protéine en cours de synthèse. L'oligosaccharide est transféré en site actif que le résidu asparagine émerge de la face luminale du RE.



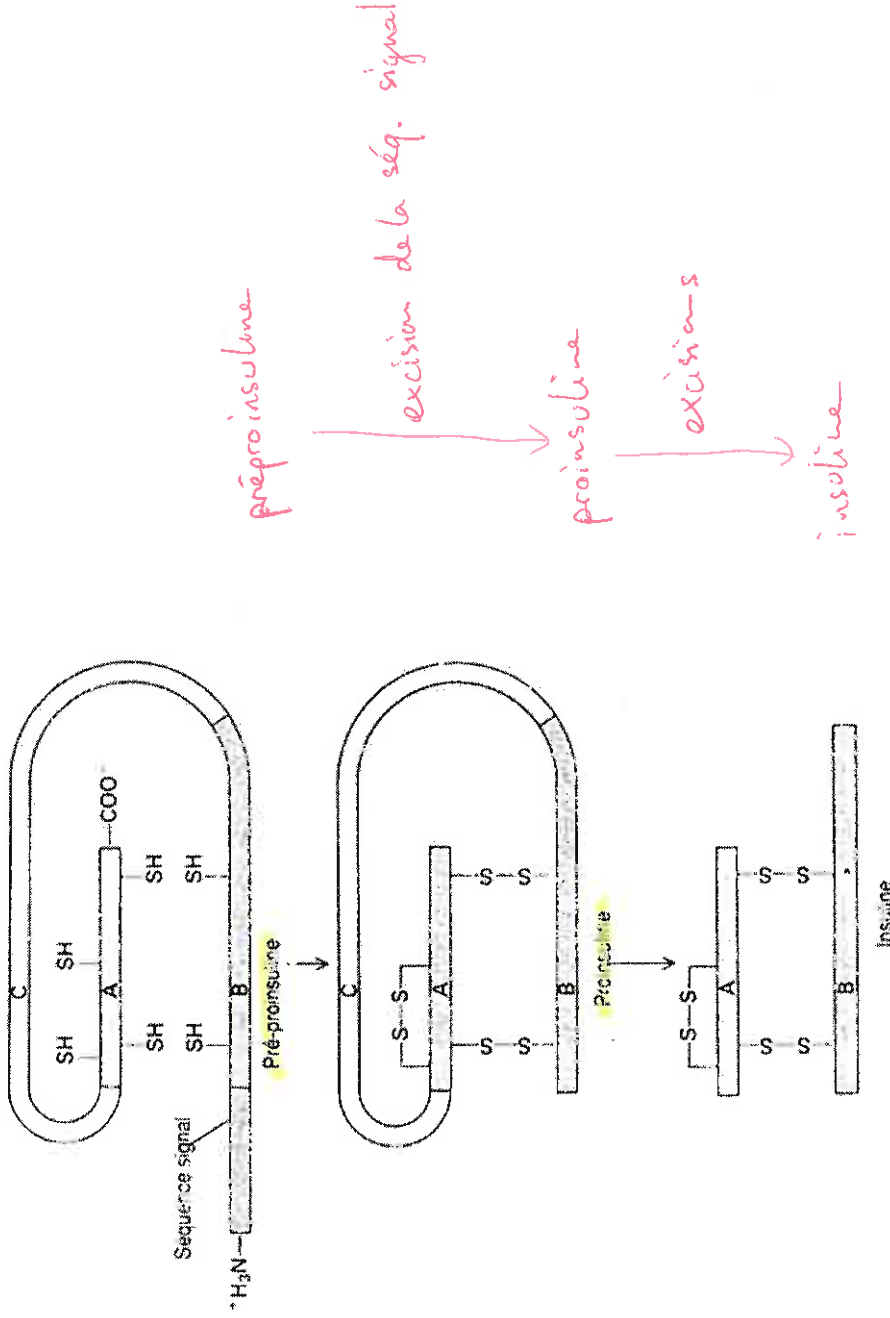
* l'unité RE*

Fig108

Formation des oligosaccharides de type complexe liés à N. Pas moins de 11 enzymes, confinés à quatre sortes d'organites distincts, interviennent les uns à la suite des autres pour modeler le précurseur commun à tous les oligosaccharides liés à N, à savoir : amputation des trois résidus glucose (2,3), puis, de quatre résidus mannose (4,5), un dans le RE rugueux et trois dans le cis-Golgi ; greffage d'une N-acétylglucosamine (6) ; amputation de deux résidus mannose (7) ; greffage d'un fucose et de deux N-acétylglucosamines (8,9) ainsi que de trois galactoses (10) et de trois N-acétylneuraminates (11). On a dessiné la plupart de ces enzymes dans les organites où ils ont été mis expérimentalement en évidence. [Voir R. Kornfeld & S. Kornfeld, 1985, Ann. Rev. Biochem. 54:631-664.]

- Dol = dolichol
- N-acétylglucosamine
- ▲ Mannose
- Glucose
- Galactose
- ▲ Fucose
- ◆ N-Acétylneuraminale

Fig109 maturation de l'insuline



Maturation de la pré-proinsuline en proinsuline et de celle-ci en insuline. La scission de la pré-proinsuline tout de suite après que s'achève la synthèse de sa chaîne de 108 acides aminés élimine 24 résidus (l'ensemble porte le nom de séquence-signal) de l'extrémité aminée de la molécule. Les 84 acides aminés restants constituent la proinsuline, une molécule dans laquelle les ponts disulfure sont tous correctement formés. Pendant que l'hormone est acheminée aux vésicules de sécrétion, 33 des résidus connectant les chaînes A et B sont excisés (chaîne C) pour donner l'insuline mature. D'après L. Stryer, 1988, Biochemistry, 3d ed., W. H. Freeman and Company, p. 995.

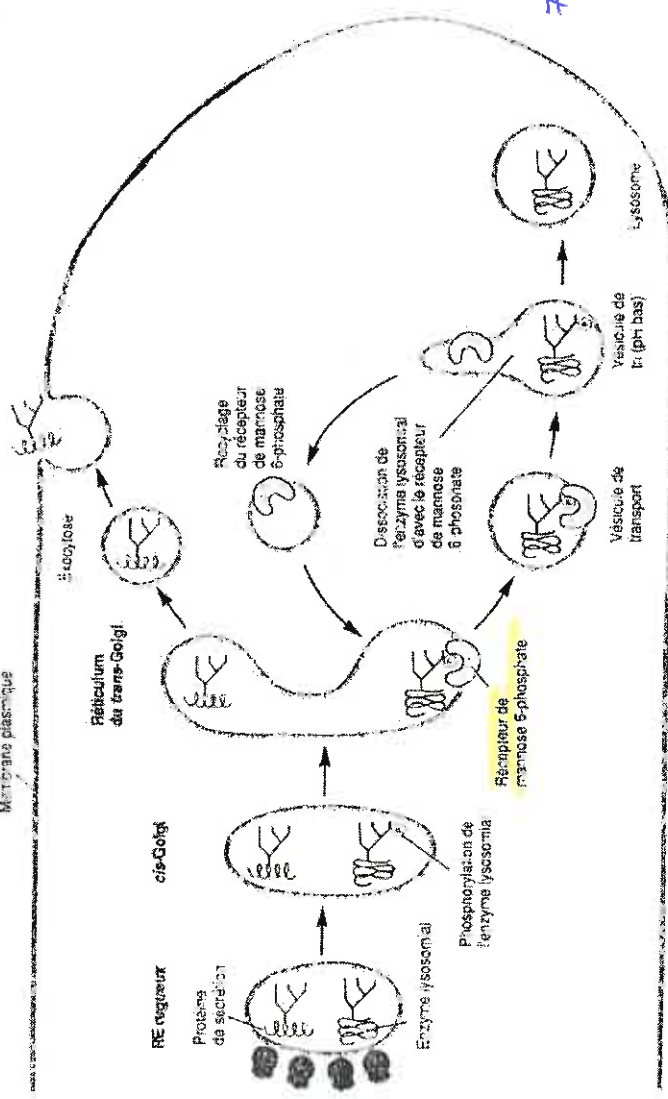


Fig 110 Mise en place des enzymes lysosomiaux dans les lysosomes: Au cours de la biosynthèse, les enzymes lysosomiaux arrivent au cis-Golgi où un ou plusieurs de leurs groupes mannose sont phosphorylés. Dans le réticulum du trans-Golgi, le récepteur membranaire de mannose 6-phosphate entraîne l'attachement de ces protéines aux vésicules qui seront finalement dirigées vers les lysosomes. Le pH assez bas des vésicules de triage provoque la dissociation de l'enzyme phosphorylé d'avec son récepteur et ce dernier est ramené au Golgi. L'enzyme phosphorylé perd alors son groupe phosphate et arrive dans un lysosome. C'est donc dans le réticulum du trans-Golgi que s'effectue la discrimination entre enzymes lysosomiaux et protéines de sécrétion, les uns et les autres étant retrouvés dans des vésicules distinctes qui bourgeonnent du Golgi.

*la protéine de sécrétion est mise direct
≠ l'enzyme lysosomal*

Fig 111 Quelques protéines mitochondriales d'origine cytosolique

Place dans la mitochondrie	Protéine*
Matrice	ATPase F ₁ protomérite α (exempte chez les Plantes) protomérite β protomérite γ protomérite δ (certains champignons) Carboxyphosphate synthétase (Mammifères) Superoxyde dismutase à Mn ²⁺ ARN polymérase Protéases ribosomiales Citrate synthase et autres enzymes du cycle du citrate Oxalibine transcarboxylase (Mammifères) Oxalibine aminotransférase (Mammifères) Alcool déshydrogénase (levure)

Membrane interne	Membrane externe
Cytochrome a_1 Antipporteur ADP-ATP Cytochrome c oxydase protomérite 4 protomérite 5 protomérite 6 protomérite 7 Protéolipide du complexe de l'ATPase F ₀ Complexe des cytochromes bc ₁ (CoQ, cytochrome c réductase) protomérite 1 protomérite 2 protomérite 4 (cytochrome c) protomérite 5 (protéine Fe-S) protomérite 6 protomérite 7 protomérite 8 Protéine découplante Cytochrome c Cytochrome b ₂ Porine	Espace inter-membranaire Cytochrome c Cytochrome b ₂ Porine

Fig 11.2: a Importation d'un polypeptide dans la matrice mitochondriale. Le précurseur protéique, précédé de sa séquence d'importation et d'acétylure N-terminale est synthétisé sous forme entièrement repliée dans le cytoplasme. Il s'attache à une protéine de dépliegement qui utilise l'énergie d'hydrolyse de l'ATP pour dérouler en partie le précurseur (étape 1). Le complexe précurseur-protéine de dépliegement se fixe à un récepteur de la membrane externe, en un point où celle-ci entre en contact avec la membrane interne (étape 2). La protéine est alors tirée à travers les membranes externe et interne par un processus qui met en jeu la force motrice protonique ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) existant à travers la membrane interne (étape 3), force qui est la résultante d'un potentiel électrique membranaire et d'un gradient de pH. Le schéma montre que la translocation a lieu aux rares endroits où les deux membranes sont accolées. Sa fonction remplit la séquence d'importation et d'acétylure. Sa fonction remplit la séquence d'importation et d'acétylure. A ce moment ou peu après, la protéine mature se replie en sa conformation finale, active (étape 5).

b: coupe transversale de mitochondrie. Plusieurs points de contact entre les 2 membranes sont visibles (flèches)

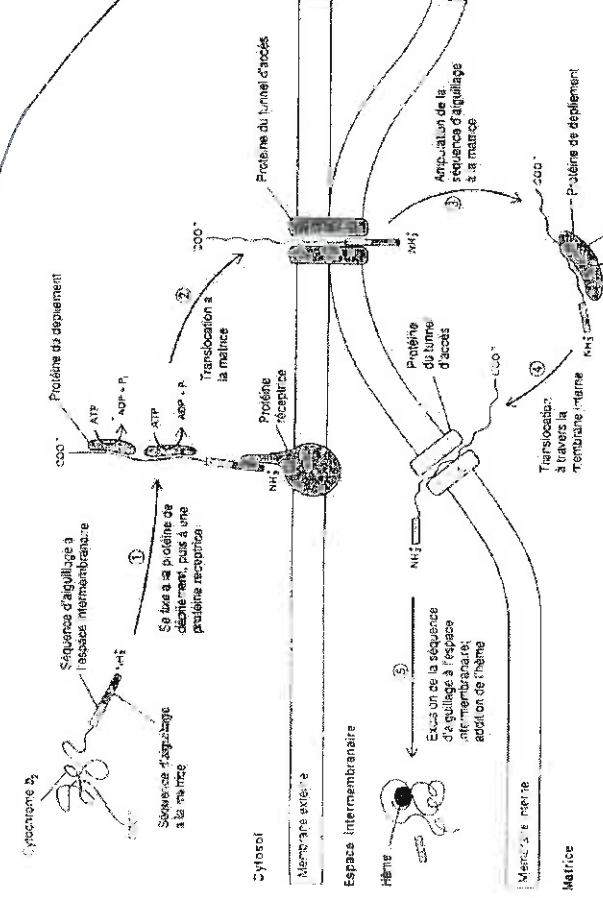
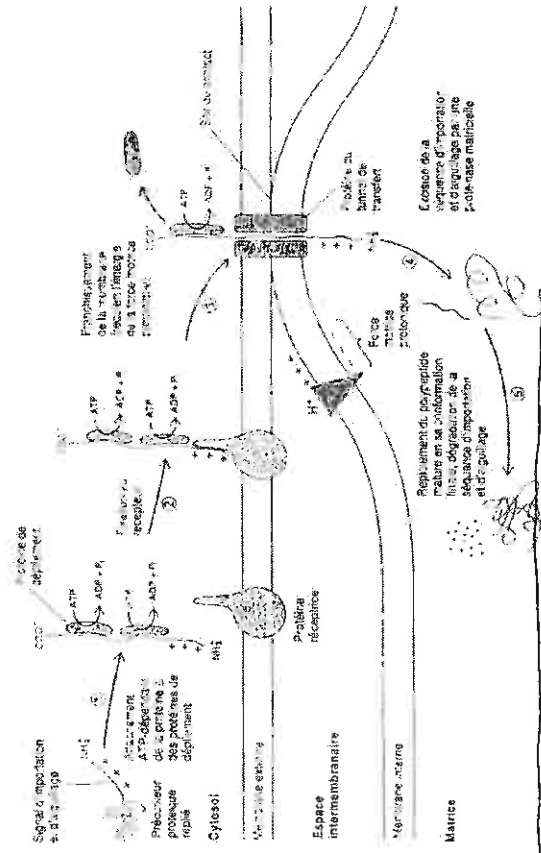
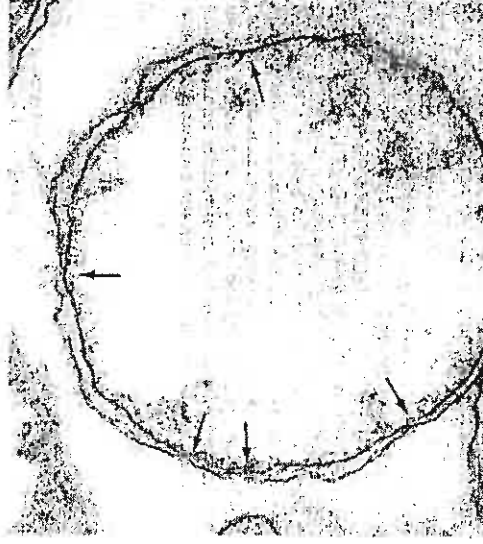


Fig 11.3 Deux translocations sont nécessaires pour amener des protéines comme le cytochrome *b* et le cytochrome *c* dans l'espace intermembranaire. Les précurseurs de ces protéines portent deux séquences N-terminales d'importation et d'acétylure. La première, une séquence d'acétylure à la matrice (en rouge) sert à orienter la protéine à la matrice mitochondriale (étapes 1-3), comme si ces protéines étaient typiquement des protéines de matrice.

... séquence, séquence d'orientation à l'espace intermembranaire (en jaune) entraîne la protéine dans la membrane interne, probablement en se liant à un récepteur, puis provoque sa translocation à l'espace intermembranaire (étape 4). La séquence signal y est amputée par une protéinase spécifique, l'hème est incorporé et le cytochrome *c* se replie en sa conformation définitive (étape 5). D'après F.-U. Hartl, J. Ostermann, B. Groll, & W. Neupert, 1987.

Fig 114 La plupart des protéines importées dans le chloroplaste sont orientées par une ou plusieurs séquences N-terminales d'importation et d'ajiguillage, à l'abord dans la cavité itochondriale, ensuite au compartiment itochondrial approprié. Les protéines destinées à la matrice ou à la membrane interne ne possèdent qu'une seule séquence de guidage à matrice (en rouge). Après la translocation de la protéine à la matrice et amputation de la séquence signal, la protéine demeure dans la matrice (par exemple, l'alloxyl déshydrogénase) ou s'insère dans la membrane interne (par exemple, la protéine 4 de la cytochrome c oxydase). Les protéines destinées à l'espace intermembranaire, comme le cytochrome c, ont appelé à deux séquences : (1) une séquence d'ajiguillage à la matrice (en rouge), qui est libérée lorsque la protéine est parvenue à la matrice et (2) une séquence d'ajiguillage à l'espace intermembranaire, faite d'acides aminés hydrophobes (en jaune), qui réside à proximité, à travers la membrane interne, de la matrice jusqu'à l'espace intermembranaire, où la séquence guide est amputée. La parine et autres protéines de la membrane externe possèdent une séquence typique d'orientation à la matrice (en rouge), suivie d'une séquence d'arrêt transitoire, longue séquence d'acides aminés hydrophobes (en vert). Une fois l'entrée de ces séquences n'est excisée, le rôle de la dernière aminée est de prévenir l'extrusion de la parine à travers la membrane externe, ce qui a pour effet d'y insérer la parine. D'après E. C. Hurf et al., 1986, Trends Biochem. Sci., 11, 204-207; U. Hartl et al., 1989, Biochim. Biophys. Acta 10, 1-45.

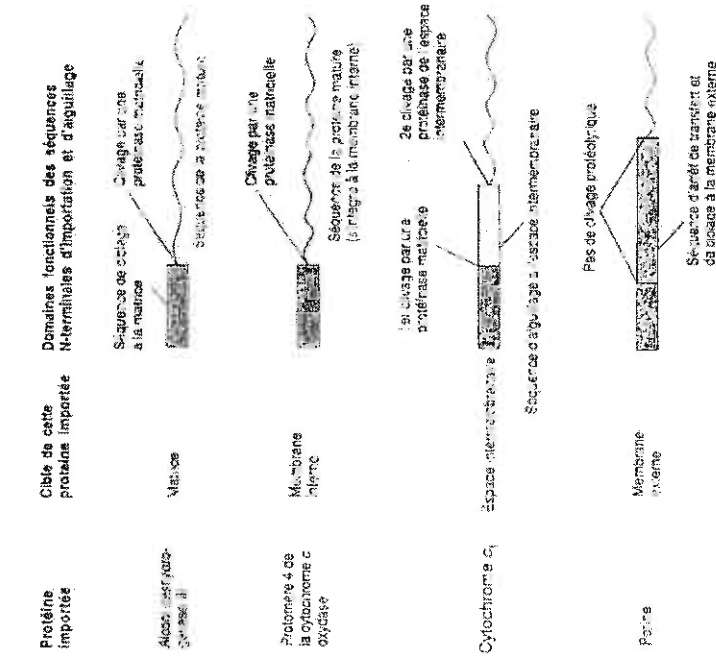
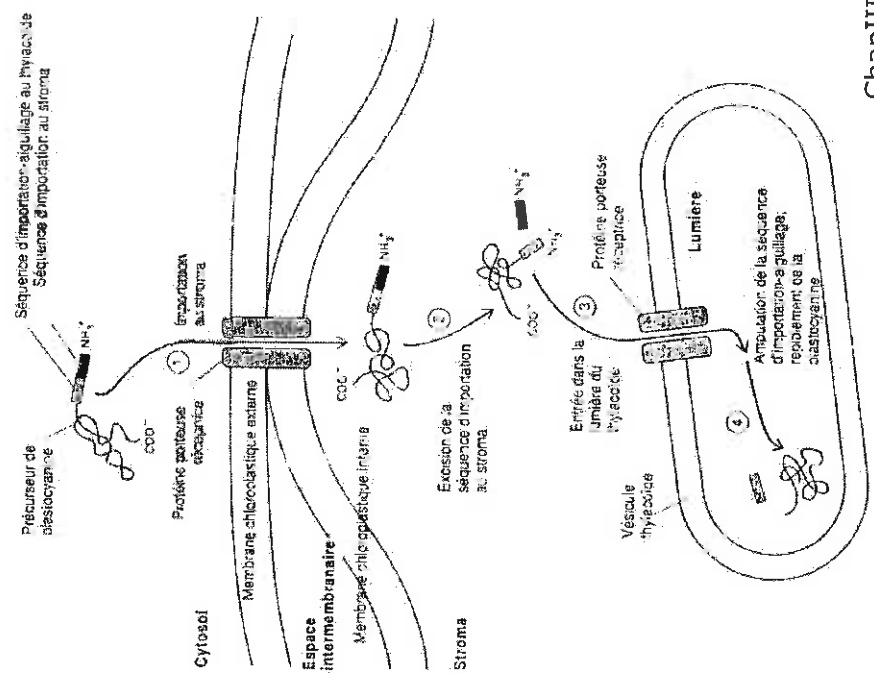


Fig 115 L'intervention en cascade de deux séquences d'importation et d'ajiguillage achemine la plastocyanine à la cavité des thylacoïdes. Dans le cytosol, se forme un précurseur de plastocyanine comprenant un segment N-terminal de 66 acides aminés (en violet et bleu) absent de la protéine mature accumulée dans la cavité des thylacoïdes. La séquence signal de 30 résidus N-terminaux (en violet) reçoit l'entrée du précurseur dans le stroma du chloroplaste (étape 1). Comme cela se passe dans l'importation par la mitochondrie, la translocation du cytosol au stroma fait appel à une protéine porteuse réceptrice placée aux jonctions des membranes chloroplastiques externe et interne. La séquence de translocation au stroma est excisée par une protéinase du signal propre au stroma (étape 2). La séquence de ciblage au thylacoïde (en bleu), longue d'environ 25 résidus, est fort hydrophobe et provoque le transbordement de la protéine stromale dans la lumière du thylacoïde (étape 3); cette séquence de ciblage s'attachera à une protéine porteuse réceptrice particulière à la membrane thylacoïde. Cette séquence signal est excisée par une endoprotéinase propre à la cavité (étape 4). D'après S. Smeekens, C. Bauerle, J. Hagemann, K. Kaegstra & P. Weisbeek, 1986, Cell 46:365-375.



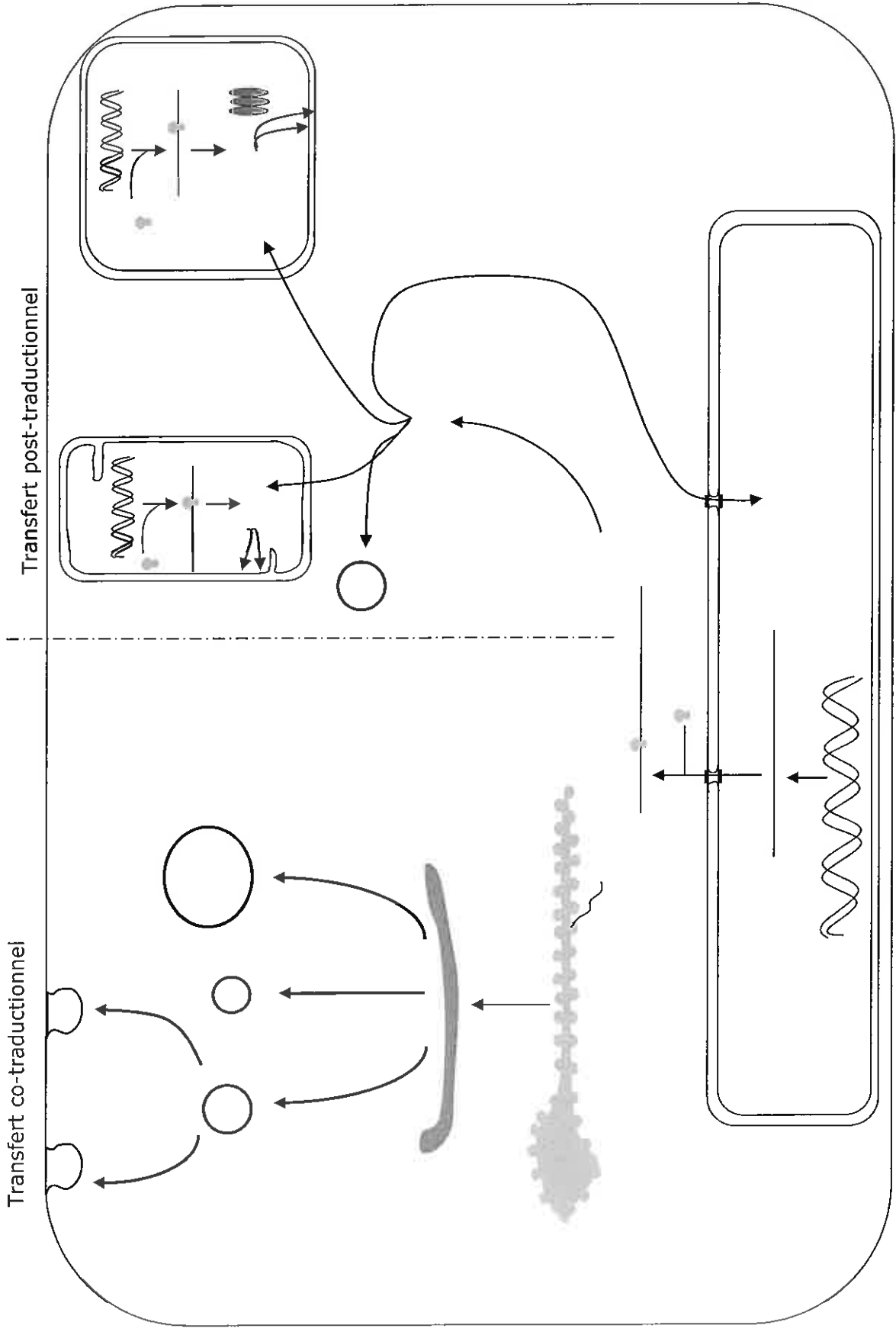


Fig116:Résumé du devenir des protéines codées dans le noyau, la mitochondrie et le chloroplaste, et traduites dans le cytoplasme, la matrice mitochondriale et le stroma chloroplastique

TD1- Mécanismes génétiques fondamentaux

Exercice 1 (à faire avant le TD)

Soit le brin anti-sens d'ADN 5'-TTACGTATTTTCGAA-3'. Ecrire le brin sens d'ADN et l'ARN correspondants, en situant leurs extrémités 5' et 3'.

Exercice 2 (à faire avant le TD)

Dans la séquence d'ADN qui suit, repérer et souligner la boîte conservée du promoteur. S'agit-il du brin sens? Numéroté les nucléotides de 10 en 10, puis proposer la séquence de l'ARN après transcription, en indiquant ses extrémités 5' et 3'.

5'-TTGCACGCAT TAAGCATATA AAGCACCAGC ATGCCGTACA CAATGACGGC

TTACGTCCGC CTAGTTCAAG CATCGAAGCA -3'

Exercice 3 (à faire avant le TD)

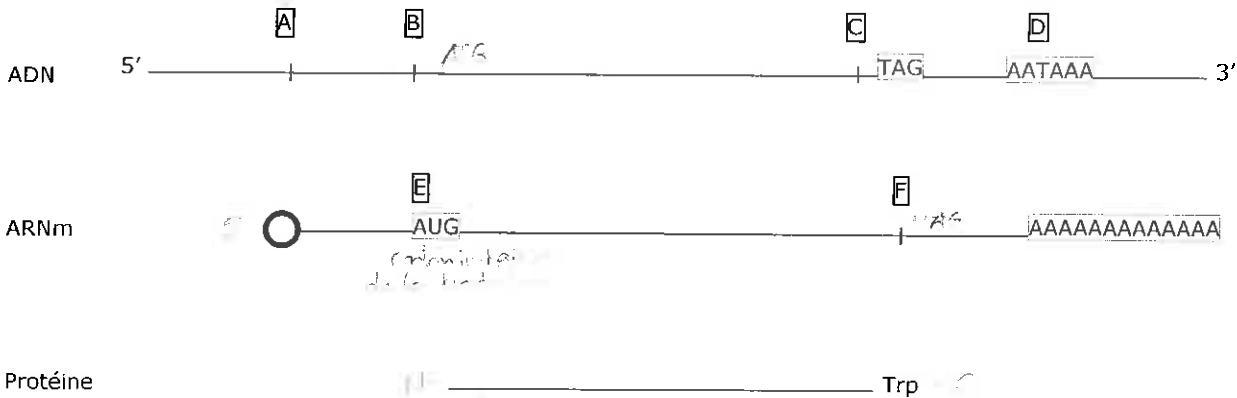
Dans la séquence d'ARN qui suit, souligner la séquence consensus de début de traduction et encadrer le codon AUG associé à cette séquence. Encadrer le premier codon stop rencontré dans le cadre de lecture. Puis traduire le peptide codé. Indiquer ses extrémités N- et C-terminales. Combien d'acides aminés comporte ce peptide?

5'-AUCCGACUGC GAAUGUAUGC ACCAUGGACA GUAGCUUCAC CGUAAUGUUA

CGCAGCUGAA GCCAUAAGCA UCGCCAUCAG-3'

Exercice 4 (à faire avant le TD)

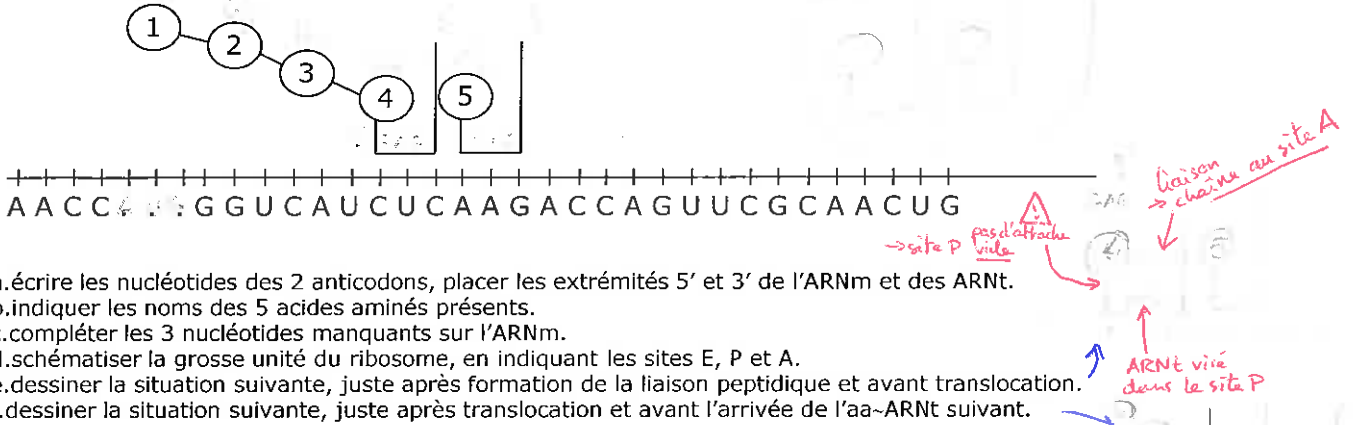
Soit le schéma suivant, qui représente un brin d'ADN, l'ARNm et la protéine correspondants.



- le brin d'ADN dessiné est-il le brin sens ?
- comment appelle-t-on la région en amont de A ?
- comment appelle-t-on le nucléotide situé en A ?
- comment appelle-t-on la région entre A et D ?
- quels sont les 3 nucléotides trouvés en B ?
- placer les extrémités 5' et 3' sur l'ARNm.
- comment appelle-t-on les 3 nucléotides trouvés en E ?
- quels sont les 3 nucléotides trouvés en F et comment s'appellent-ils ?
- comment appelle-t-on la région en aval de F ?
- placer les extrémités N- et C- terminales sur la protéine.
- quel est le premier acide aminé de la protéine ?
- quels sont les 3 nucléotides trouvés en C (c'est à dire juste avant le triplet TAG) ?

Exercice 5

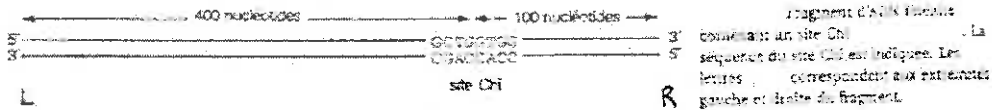
Le schéma ci-dessous représente une étape de la traduction d'un ARNm: les 2 sous-unités du ribosome ne sont pas représentées, mais 2 ARNt sont appariés à l'ARNm.



- écrire les nucléotides des 2 anticodons, placer les extrémités 5' et 3' de l'ARNm et des ARNt.
- indiquer les noms des 5 acides aminés présents.
- compléter les 3 nucléotides manquants sur l'ARNm.
- schématiser la grosse unité du ribosome, en indiquant les sites E, P et A.
- dessiner la situation suivante, juste après formation de la liaison peptidique et avant translocation.
- dessiner la situation suivante, juste après translocation et avant l'arrivée de l'aa-ARNt suivant.

Exercice 6

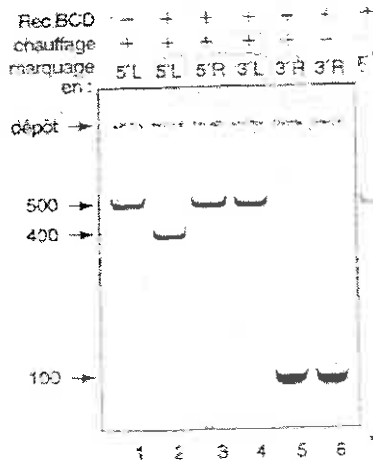
Des séquences d'ADN spécifiques, appelées sites Chi, stimulent localement la recombinaison homologue faisant intervenir RecBCD chez *E. coli*. Afin d'étudier cette interaction en détail, RecBCD est purifiée et incubée en présence d'un fragment d'ADN double brin linéaire contenant un site Chi :



Différents échantillons de cet ADN sont tout d'abord spécifiquement marqués radioactivement, soit à l'extrémité 5' de gauche (échantillon noté 5'L), soit à l'extrémité 3' de gauche (noté 3'L), soit à l'extrémité 5' de droite (noté 5'R), soit à l'extrémité 3' de droite (noté 3'R). Chaque échantillon est alors incubé dans un milieu réactionnel tamponné contenant RecBCD. Comme témoin négatif, on incube un échantillon d'ADN sans RecBCD.

Après un temps de réaction d'une heure, l'ADN est dénaturé à la chaleur (excepté un échantillon, qui n'est pas dénaturé), et les fragments d'ADN simple-brin résultants sont séparés selon leur taille par électrophorèse.

La détection de la radioactivité dans le gel après électrophorèse donne le résultat suivant :



Résultats de l'incubation de la protéine RecBCD et de fragments d'ADN contenant un site Chi, marqués à une extrémité d'un brin défini. Les nombres à gauche de la figure indiquent la longueur en nucléotides du fragment marqué. Tous les échantillons ont été dénaturés avant l'électrophorèse, sauf l'échantillon non chauffé de la piste 6.

RecBCD agit sur les extrémités des brins...

activité des brins... (handwritten notes)

pas besoin de chauffage pour couper... (handwritten notes)

la partie marquée en mesure... nucléotides (handwritten notes)

à la mesure des bases... (handwritten notes)

- a. qu'est-ce qui prouve que RecBCD coupe l'ADN au site Chi?
- b. coupe-t-elle l'un des brins ou les 2? Si elle coupe un seul brin, préciser lequel.
- c. qu'est-ce qui prouve que RecBCD agit comme une hélicase, c'est à dire qu'elle peut séparer les deux brins d'un ADN en ouvrant la double hélice?

Exercice 7

Les pages suivantes montrent la séquence nucléotidique codant la protéine ribosomiale humaine L21, telle qu'elle figure dans les bases de données.

- a. où va débiter la transcription? Donner les 10 premiers nucléotides du transcrit primaire, en indiquant les extrémités 5' et 3' de ce transcrit primaire.
- b. l'ARNm issu de ce gène s'arrête au niveau du nucléotide 5979. Repérer et encadrer la séquence signalant la fin de transcription (située à proximité), et donner les 10 derniers nucléotides du transcrit primaire.
- c. que représente la portion d'ADN qui va du nucléotide 5980 au nucléotide 7654?
- d. la base de données signale la position des exons de la manière suivante: exon 1 (1...990), exon 2 (3171...3249), exon 3 (3626.....3687), exon 4 (4654.....4766), exon 5 (5595....5745), exon 6 (5847.....5979). Surligner ces exons dans la séquence. Par quels nucléotides commencent et finissent les introns dans ce transcrit primaire? Remplir le tableau suivant. Les introns dans ce gène commencent-ils et finissent-ils par la séquence consensus vue en cours?

Intron	6 premiers nucléotides	6 derniers nucléotides
1	GUA	UUU CAG
2	GUA	UUG UAG
3	GUA	UAA UAG
4	GUA	GUC CAG
5	GUA	UAA UAG

- e. quelle sera la longueur de l'ARNm après excision de ces introns? La comparer à la longueur minimale du transcrit primaire.
- f. la traduction commence au nucléotide 3183. Encadrer le codon initiateur. La séquence consensus normalement associée à ce codon initiateur est-elle présente? Quelle est la longueur de la séquence 5' non traduite?
- g. le dernier nucléotide codant est le 5933. Encadrer le codon stop présent à proximité. Comment s'appelle la séquence 5934-5979?
- h. quel est le 23^{ème} acide aminé de cette protéine?

```

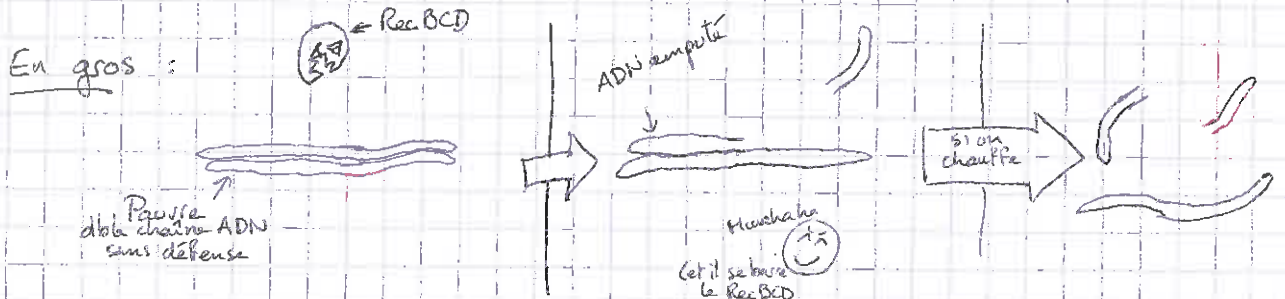
1  acagttaaag cctcccttta ttgtcccctc cttaccagat atgactgctt ttctcaactt
61  gattttcatt ctcttgtatt tcttgacttc tttactaca tatgtatgca taactaagca
121 atatatagca ttgttttaca agtttttagag ttgaatgtat atgaattgtc atactattta
181 tttttctaca tctttctctt tttgctctat cacatttctg agttcagtct tcttttattg
241 gcgtataata ctacatccta acatcccata aggtatttat tctgttattg atggacgttt
301 ctaatttttt gcttctacct acagecctgt tacgtacatc cttgttcact taccaaagtt
361 tctacaagac atataggtag gagcagagtg ctgggggtta gtaattgaaa acttttacta
421 gattttgcca cattgctttc ccaaagaggt tttaacattt ggcacactac tagcaggtgc
481 gtatgtttag acgtgtggag gagaaactat ttaaagacat acaaactaga taatatactt
541 gcttcattct cgtttgacct tcgtacccaa gcaattattt ctgcaaacia acaataaaac
601 aactactaat agcacttccc gcaccgccag ccgcagtttt ccttggggag acgoggatag
661 aaggcagctt ccggcgaaag cgggtgacgca aaggatggcg taagcacgct cgggacgacg
721 gcgtcctctt gatcgcctt gaaggccctt ttcgggctg tctgacacga tgcaagtgtc
781 agcttgtgtt ggccggttgc ctttctttcg caagagggga aaatatoctc acagactttc
841 tgtgttctca gagacgatct tcttccctag aaagaagtgc cttacggatg gcttctccct

```


T

- ⑥ a. Sans RecBCD, le fragment fait 500n (piste 1).
 Avec RecBCD sur 5' le fragment fait 400n (piste 2)
 ⇒ RecBCD clive à 400 n de l'extrémité 5' donc au site chi.
- b. Lorsqu'on a un marquage en 5' le fragment fait 400n (piste 1)
 Marquage 3' → 500n (piste 2)
 ⇒ RecBCD ne coupe que le brin du haut sur le schéma
- c. Hypothèse 1: si les 2 brins restent appariés après coupure on attend un frag. de 500n en piste 6.
 Hypothèse 2: si les 2 brins se séparent après coupure, on attend un de 400n
 ⇒ H2 vérifiée.

- capture d'un brin à GC T
- ouverture de la dble hélice à partir de l'extrémité 5' libérée



⑦ a. On a à partir du nucléotide 1, la transcription commence avant.
 Transcrit primaire (on suppose qu'on a le brin sens): 3'-ACAGUUAAG-3'

b etc e. Comme on commence à 1 et on va à 0...
 Bon, you know that la 1^{er} exon fait 390 soit $(390-1)+1 = 390$
 et on va rebattre avec tous

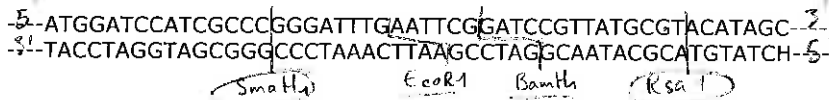
2 ^a	250-191
3 ^a	88-26
4 ^a	68-54
5 ^a	746-595
6 ^a	380-847

→ somme des exons (ceux qui restent en fait)

TD2- Mécanismes génétiques fondamentaux

Exercice 1 (à faire avant le TD)

- a) Quels sont les 2 fragments obtenus après coupure de la portion d'ADN suivante par l'enzyme de restriction BamH1? Idem avec EcoR1, SmaH1 et Rsa 1. (Utiliser les fiches du polycopié...). Indiquer sur chaque fragment les extrémités 5' et 3'. Quelles sont les enzymes coupant à bord franc et celles coupant en bord collant?



- b) On dispose de 2 fragments d'ADN que l'on souhaite relier (seules leurs extrémités sont indiquées), et de plusieurs enzymes de restriction (mentionnées ci-dessous) ainsi que d'une ligase. Proposer 2 protocoles possibles en détaillant les enzymes utilisées à chaque étape.

Fragment A
 ----GAATTC|GGGGAT
 ----CTTAAGGGCCCTA

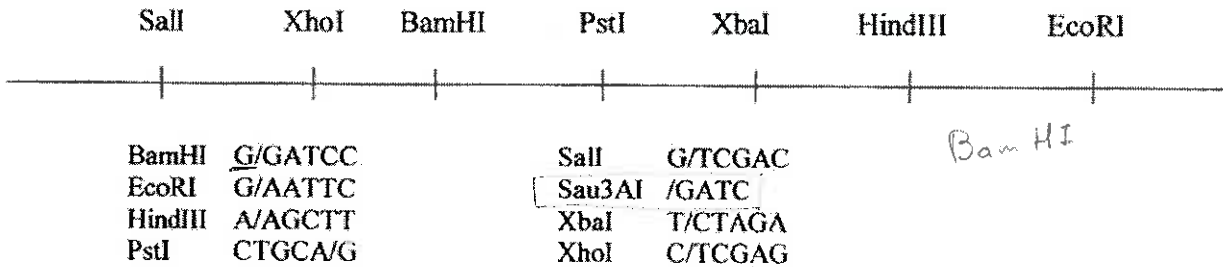
Fragment B
 AGCTTAT|CGATCCCGAG----
 TCGAATAG|TAGGGCTC----

Enzymes et sites de coupure:

AluI	HpaII	EcoRI	ClaI	SmaHI
AG/CT	C/CGG	G/AATC	AT/CGAT	CCC/GGG
<i>TCGA</i>	<i>G G C C</i>	<i>C T T A A G</i>	<i>T A G C A T</i>	<i>G G G C C C</i>

Exercice 2 (à faire avant le TD)

Vous avez à disposition un segment d'ADN digéré par Sau3AI, un vecteur dont la région du polylinker est schématisé ci-dessous, et toutes les enzymes nécessaires:

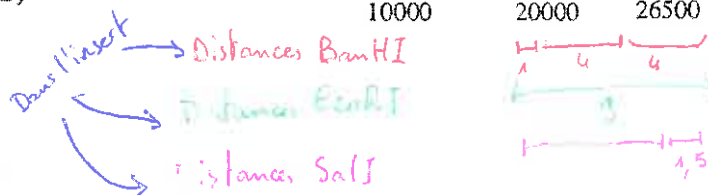
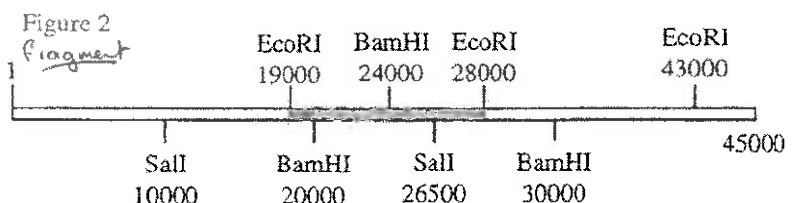
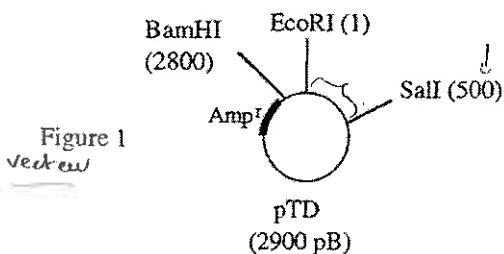


- a- comment cloner ce fragment d'ADN dans ce vecteur? Décrire les grandes étapes en mentionnant les enzymes utilisées.
 b- comment réexciser (=libérer à nouveau) le fragment d'ADN cloné? Décrire les grandes étapes en mentionnant les enzymes utilisées.

Exercice 3 (à faire avant le TD)

On clone dans le vecteur pTD (fig1) un fragment d'ADN génomique de 9 kb obtenu par digestion EcoRI du phage dont la carte est donnée dans la figure 2.

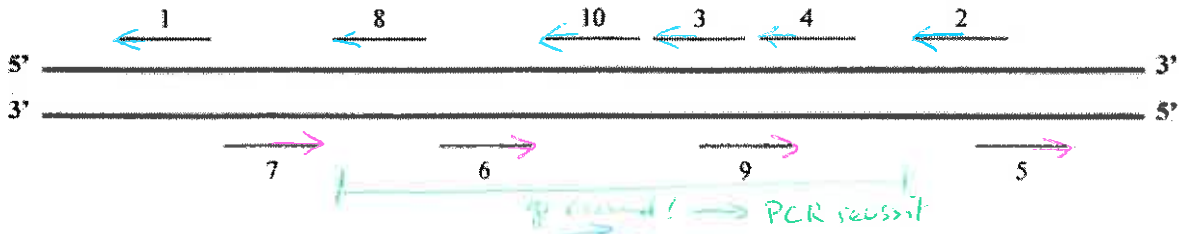
- 1- décrire brièvement les différentes étapes du clonage.
- 2- combien obtient-on de plasmides recombinants différents? Pourquoi?
- 3- donner les tailles des fragments obtenus par digestion des plasmides recombinants par les enzymes de restriction suivantes: EcoRI, BamHI, Sall, BamHI+Sall



Toujours 5' → 3'

Exercice 4 (à faire avant le TD)

Le schéma ci-dessous représente un fragment d'ADN sur lequel est représentée la position après hybridation de 10 amorces utilisables pour faire de la PCR.



a) Compléter le schéma en indiquant à l'aide d'une flèche par quelle extrémité se fera l'élongation de chaque amorce par la Taq Polymérase lors de la PCR.

b) Compléter les cases non grisées du tableau ci-dessous en indiquant, pour chaque couple d'amorces, si la PCR peut réussir ou non. *Il faut un espace entre les amorces → grands*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	>									
2		x				OK	OK		OK	
3			x			OK	OK			
4				x		OK	OK			
5					x					
6						x				bof
7							x			OK
8								x		
9									x	
10										x

Exercice 5

On souhaite étudier dans le détail le promoteur du gène *adp* afin de savoir dans quelles conditions s'exprime ce gène. La méthode choisie utilise un gène rapporteur, le gène *CAT*. Ce gène code pour l'enzyme chloramphénicol acétyl transférase (CAT). Le taux de transcription dû au promoteur s'évalue en dosant l'activité de l'enzyme CAT présente dans un extrait de cellules, c'est-à-dire en dosant la quantité de chloramphénicol acétylé formé dans le tube au bout d'un certain temps.

a) Représenter schématiquement le type de plasmide qu'il faut-il construire pour mener à bien cette étude

Le promoteur étudié a été arbitrairement découpé en 6 zones de 50 pb, appelées A à F (la zone A étant la plus éloignée du +1). Les différentes constructions réalisées contiennent ou non ces zones. De plus, 3 facteurs de transcription susceptibles d'influencer le taux de transcription du gène *adp* sont ajoutés ou non au milieu de culture des cellules : c-jun, myc, fas. Le taux de transcription de chaque construction dans chaque condition expérimentale est exprimé en % de l'activité mesurée avec le promoteur normal sans facteur de transcription ajouté

Les différents résultats sont résumés dans le tableau situé sur la page suivante.

b) Quelle pourrait être la structure située dans la zone F ?

c) Parmi les 3 facteurs de transcription étudiés, lesquels influent sur le taux de transcription du gène *adp*, comment l'influent-ils, et dans quelle zone du promoteur se fixent-ils ?

d) Représenter schématiquement ce promoteur, les zones importantes pour le contrôle du taux de transcription qu'il contient, et les zones de fixation des différents facteurs de transcription identifiés.

e) Quel résultat peut-on attendre si on teste la construction CDEF sans facteur de transcription ajouté ? Et avec le facteur c-jun ajouté ?

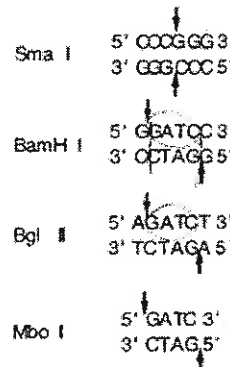
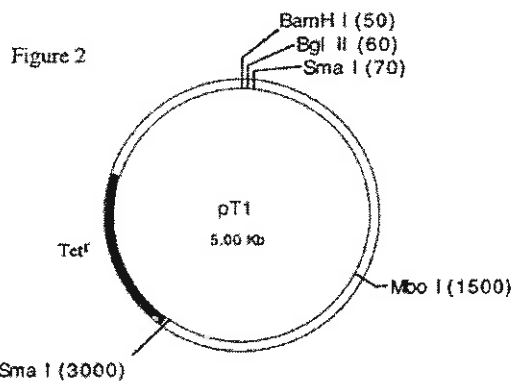
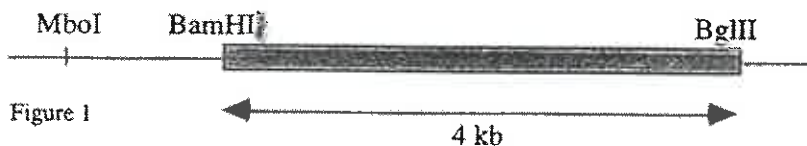
↳ activité à 100% quoi qu'il arrive.

promoteur	c-jun	myc	fas	activité CAT
ABCDEF	-	-	-	100 %
ABCDE	-	-	-	0 %
ABCD F	-	-	-	100 %
ABC EF	-	-	-	100 %
AB DEF	-	-	-	100 %
A CDEF	-	-	-	100 %
BCDEF	-	-	-	100 %
ABCDEF	+	-	-	150 %
ABCDE	+	-	-	0 %
ABCD F	+	-	-	150 %
ABC EF	+	-	-	150 %
AB DEF	+	-	-	150 %
A CDEF	+	-	-	150 %
BCDEF	+	-	-	100 %
ABCDEF	-	+	-	80 %
ABCDE	-	+	-	0 %
ABCD F	-	+	-	80 %
ABC EF	-	+	-	80 %
AB DEF	-	+	-	80 %
A CDEF	-	+	-	100 %
BCDEF	-	+	-	80 %
ABCDEF	-	-	+	100 %
ABCDE	-	-	+	0 %
ABCD F	-	-	+	100 %
ABC EF	-	-	+	100 %
AB DEF	-	-	+	100 %
A CDEF	-	-	+	100 %
BCDEF	-	-	+	100 %

⇒ F est crucial à l'activité de CAT
 ⇒ forte TATA
 c-jun
 ⇒ plus d'activité de CAT
 ⇒ plus d'activité de CAT
 ⇒ plus d'activité de CAT
 ⇒ plus d'activité de CAT

Exercice 6

Le fragment d'ADN génomique BamHI - BglII de 4 kb, représenté dans la figure 1, a été cloné dans le vecteur pT1 (figure 2) préalablement digéré à la fois par BamHI et BglII.



⇒ MboI coupe tout!

1- Lors de ce clonage, comment pourront être sélectionnées les bactéries transformées ?

→ avec tétracycline

2- Dessinez la carte physique du (des) plasmide (s) recombinant (s) obtenu (s) en détaillant les séquences des sites de restriction.

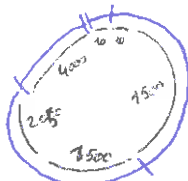
△ le clonage n'est pas orienté *

Le (s) plasmide (s) recombinant (s) est (sont) digéré (s) exhaustivement par l'enzyme Mbo I.

3- Donnez la taille en kb du (des) fragment (s) de restriction obtenu (s) en expliquant brièvement vos résultats.

Solution 1 → insert à BamHI

Sol. 2 → insert à BglII



↑↑
travail perdu

fin
22646

24658	5	15	score final	13	X 15
24640	4	25	4 points		
24627	3	25	3		
24605	2	25	2		
20640	1	25	1		

↓
moins

4 points

← ballons de pauc


↓
date de l'heure

3-10

① a) look at the polypoki!


b) On utilise les enzymes HpaII et ClaI sur respect. les fragments A et B. Les découpes sont complémentaires à bord collant.

• On peut aussi ligaser par bord franc mais c'est moins efficace.

② a- Le fragment est donc 

Le vecteur peut être coupé par plusieurs ezy.
L'ezy qui permet de découper le vecteur de façon à avoir les bons bords sont BamHI et XbaI

b- Pour réexercer le fragment d'ADN cloné... bah on utilise Sau3AI

(parce qu'on a plus de site BamHI. 

③ 1- Clonage

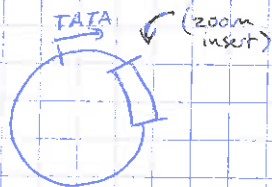
- digestion du vecteur par EcoRI (+ phosphate \times auto-ligation)
- digestion de l'insert \rightarrow on a 3 tailles \neq
- électrophorèse \rightarrow séparation des 3 brins / récupérer les 3Kb au scalpel / retirer le gel
- insert ds le vecteur + ligase \rightarrow on a le plasmide ok
- Transformer les bactéries \rightarrow incruster les plasmides dedans
- Milieu + ampicilline \rightarrow les ϕ sans vecteur meurent

NB: les bactéries avec vecteur survivent. MAIS certains vecteurs sont dépourvus d'inserts.

\rightarrow c'est pourquoi on utilise des techniques telles que pBlue script

2- On a 2 plasmides recombinants selon le sens d'insertion !!!
En effet, l'insert n'est pas orienté (ses 2 extrémités sont similaires)

On peut avoir :



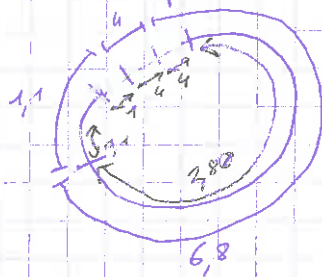
\rightarrow le brin / est transcrit



\rightarrow le brin / est transcrit

3- BamHI :

Schéma du plasmide BamHI iné



(vecteur de 2900 pB
 / insert 0,35 Kb
 / sites BamHI
 ↗ fragments résultants avec BamHI (en Kb)

SalI

ya l'idée
 mais j'ai
 mal calculé

(Attendu : 8 et
 3,9)



/ vecteur de 2900 pB
 / insert
 Kb
 / sites SalI

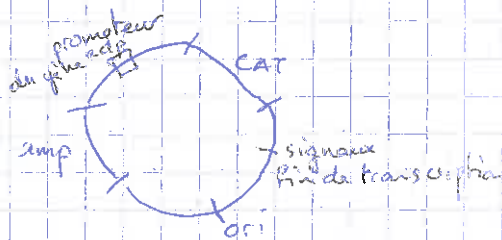
↗ fragments résultants avec SalI

BamHI + SalI

(attendu : 6,8 + 4 + 1,1)

PCR Polymérase Chain Reaction

⑤ a) Plasmide

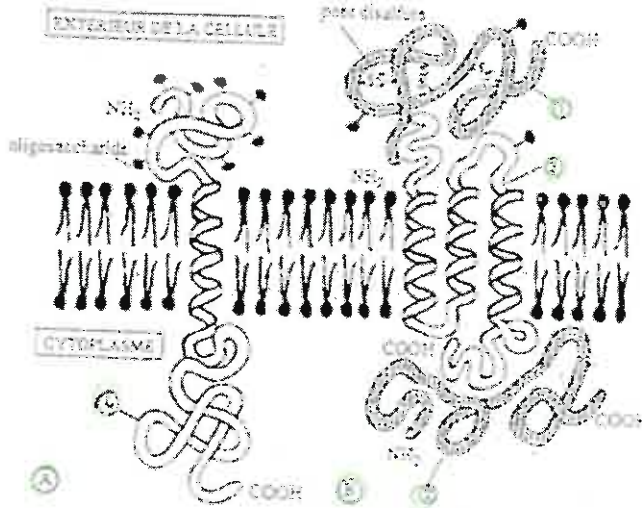


b)

c)

Exercice 1 (à faire avant le TD)

Voici le schéma de 2 protéines (A et B) composées respectivement du peptide 4 et des peptides 1,2 et 5:



a) Complétez le tableau en indiquant dans chaque case si le terme est correct pour la protéine ou le peptide considéré :

	Protéine A	Protéine B	Peptide 1	Peptide 2	Peptide 3	Peptide 4
cytoplasmique	X	X	X	X	X	X
membranaire	✓	✓	✓	✓	✓	✓
périphérique	X	X	✓	✓	X	X
intrinsèque	X	X	X	X	X	X
transmembranaire	✓	✓	X	X	✓	✓

b) Complétez le tableau suivant par oui ou par non

	Peptide 1	Peptide 2	Peptide 3	Peptide 4
Pont S-S	✓	X	X	X
glycosylé	✓	X	✓	✓

c) Pour les différents peptides composant la protéine B, utiliser leur position finale et leurs modifications post-traductionnelles éventuelles pour proposer leur mode de traduction et d'adressage. Quelles sont donc les différentes étapes de l'assemblage de la protéine B?

Exercice 2 (à faire avant le TD)

Les virus sont des parasites intracellulaires, c'est à dire qu'ils ne peuvent se répliquer que dans une cellule. Le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) est un virus de l'enveloppe. Les particules virales quittent la cellule infectée par bourgeonnement au niveau de certaines régions de la membrane plasmique où se sont préalablement concentrées les protéines virales nouvellement synthétisées. La synthèse des protéines de l'enveloppe virale s'effectue donc selon des modalités semblables à celles suivies par les protéines constitutives de la membrane plasmique de la cellule hôte.

Expérience 1: Des cellules animales en culture sont infectées par du VSV. De la méthionine ³⁵S est ajoutée au milieu de culture recouvrant le tapis de cellules infectées. Quelques heures après le début de l'infection, on recueille:

- D'une part les particules virales libérées dans le milieu de culture;
- D'autre part les cellules par simple grattage du fond des boîtes de culture.

Ces deux échantillons sont mis en suspension dans une solution contenant un détergent afin d'en solubiliser les constituants. Ces préparations sont analysées par électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS). Les gels sont ensuite colorés par un colorant spécifique des protéines et autoradiographiés.

La coloration des gels correspondant aux particules virales révèle 5 bandes toutes les 5 visibles en autoradiographie. a) Interprétez ce résultat → 5 particules différentes

Sur l'autoradiographie du gel correspondant aux cellules infectées, on n'observe que ces 5 mêmes bandes, alors que la coloration du gel révèle des dizaines de bandes.

b) Ce type d'infection virale conduit plus ou moins rapidement à la mort des cellules. Quel effet ce type d'infection virales exerce-t-il sur le métabolisme cellulaire? → synthèse de protéines virales au départ des protéines de la cellule

Expérience 2: Le protocole de cette expérience est le même que précédemment, mis à part que le précurseur radioactif est un ose (glucosamine ³H ou mannose ³H) et que seules les particules virales sont analysées. L'autoradiographie et la coloration du gel révèlent qu'une seule bande correspondant à l'une des 5 protéines précédemment observées.

c) Quels sont les constituants de cette molécule que nous nommerons « G »? → 1 protéine co-traduction

Les polysomes cytoplasmiques sont soit libres dans le cytoplasme, soit associés au réticulum endoplasmique granulaire (REG). Le problème est de déterminer au niveau de quel type de polysome sont synthétisées les protéines virales.

Expérience 3: Trois heures après infection de cellules en culture par du VSV, de la méthionine ³⁵S ou du mannose ³H sont ajoutés pendant une brève période de 5min au milieu de culture des cellules infectées. Les cellules sont immédiatement lavées puis broyées, à partir de cet homogénat cellulaire, la fraction correspondant au REG (microsomes rugueux) est purifiée. Après solubilisation par un détergent, cette fraction subit une électrophorèse en gel de polyacrylamide-SDS suivie d'une autoradiographie. Sur l'autoradiographie, quel que soit le marqueur radioactif utilisé, on ne détecte qu'une seule bande correspondant à la glycoprotéine virale.

d) Précisez le lieu de synthèse des différentes protéines constitutives du VSV. → une synthétisée sur le REG

Les cellules infectées par le VSV constituent un excellent modèle pour l'étude de la synthèse et des modifications post-traductionnelles des glycoprotéines.

e) D'après les résultats précédents, pouvez-vous préciser les avantages de ce système.

f) *In vivo*, dans quels compartiments cellulaires retrouverait-on la glycoprotéine G avant que le VSV ne quitte la cellule? → vésicules

g) Faites un schéma représentant le cheminement intracellulaire de la glycoprotéine virale depuis son lieu de synthèse jusqu'à son intégration dans l'enveloppe de la particule virale. La glycoprotéine sera représentée par une flèche dont la pointe indiquera l'extrémité N terminal du polypeptide.

Exercice 3

On s'intéresse à la traduction d'un ARNm isolé de cellules de souris, en cherchant à déterminer la taille et la localisation de la protéine codée par cet ARNm.

Pour cela, on réalise la traduction *in vitro* de cet ARNm, en mettant dans un tube à essai tout ce qui est nécessaire: ribosomes, ARNt, ATP, acides aminés, enzymes, facteurs d'initiation et d'élongation de la traduction. Dans ces tubes, on ajoute également des vésicules de REG purifiées. On ajoute l'ARNm au temps 0, et on laisse la traduction se dérouler durant 20 min.

A l'issue de cette réaction, on traite certains tubes par un détergent qui détruit les membranes biologiques, puis on ajoute éventuellement une protéase qui hydrolyse toutes les protéines en petits peptides ou en acides aminés.

Enfin, on analyse tous les tubes pour détecter la présence éventuelle d'une protéine traduite et pour déterminer sa masse moléculaire (MM).

a) Les différentes conditions expérimentales et les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

tube	1	2	3	4	5
REG	-	-	-	+	+
détergent	-	-	-	-	+
protéase	-	+	-	+	+
MM de la protéine détectée (en kDa)	21	-	19	19	-

Analysez ces résultats.

↓
bah... normal

↓
la protéase
fut tout

↓
protéines
protégées
in la REG

↓
REG tué par détergent
protéines à la merci
des protéases

normal + excitation

b) Quel pourrait donc être le compartiment de destination de la protéine codée par cet ARNm ?
 les co-land : lysosome, ext, ~~mit~~, golgi, RE, vacuole

c) On complique un peu l'expérience en réalisant maintenant des tubes où le REG est rajouté soit en début d'expérience soit à la fin des 20 min de traduction. Le détergent n'est par contre jamais ajouté. Les résultats sont les suivants :

tube	6	7	8	9
moment d'ajout du REG	début	début	fin	fin
protéase	-	+	-	-
MM de la protéine détectée (en kDa)	19	19	21	-

Qu'en concluez-vous ?

Euh...

d) On traite maintenant le REG par un tampon de forte force ionique, ce qui a pour effet de détacher les protéines périphériques. Pourquoi ?
 parce que cell coat ?

e) Dans les tubes sont ajoutés soit le REG après traitement par ce tampon, soit la solution de protéines périphériques recueillies, soit les deux. Les résultats sont les suivants :

tube	10	11	12	13	14	15
REG après traitement par tampon	+	+	-	-	+	+
protéines périphériques recueillies	-	-	+	+	+	+
protéase	-	+	-	+	-	+
MM de la protéine détectée (en kDa)	21	-	21	-	19	19

Qu'en concluez-vous ? I don't understand why REG + periph < REG seul !!

f) On teste maintenant des portions de REL. Les résultats sont les suivants :

tube	16	17	18	19
REL	+	+	+	+
protéines périphériques du REG	-	-	+	+
protéase	-	+	-	+
MM de la protéine détectée (en kDa)	21	-	21	-

Qu'en concluez-vous ?

Exercice 4

On s'intéresse à la synthèse de la glycoprotéine G du virus de la Stomatite Vésiculaire à partir de son ARNm. Cette synthèse s'effectue dans un système de traduction *in vitro* similaire à celui décrit dans l'exercice 3 contenant en plus divers monosaccharides. De plus, on ajoute dans certains tubes des vésicules de REG purifiées, de la méthionine radioactive. Après 20 min de traduction, les différents tubes réalisés sont traités ou non par une protéase. On détecte ensuite uniquement les molécules radioactives produites, et on détermine leur masse moléculaire (MM)

Les différentes conditions expérimentales et les résultats obtenus sont les suivants :

tube	1	2	3	4	5	6
REG	-	-	+	+	+	+
Met radioactive	+	-	+	-	+	-
mannose radioactif	-	+	-	+	-	+
protéase	-	-	-	-	+	+
MM de la molécule radioactive obtenue (kDa)	56	-	60	60	58	58

a) Que concluez-vous des tubes 1 à 4 ? A quoi correspondent les molécules p56 et p60 (c'est-à-dire de MM 56 et 60 kDa) ? Que concluez-vous des tubes 5 et 6 ? A quoi correspond la molécule p58 ? Comment se situe donc la protéine p60 par rapport à la membrane du REG ?

b) De quel type de glycosylation s'agit-il ici ?

c) La glycoprotéine extraite à partir de la particule virale (et non pas obtenue dans le système de synthèse *in vitro*) a une MM de 62 kDa. Comment expliquez-vous la différence avec la molécule p60 obtenue dans le système *in vitro* ?

d) Afin de déterminer à quel niveau de la chaîne peptidique se fait la glycosylation, une expérience complémentaire est réalisée. Le protocole de départ est identique, mais on ajoute en cours d'expérience un détergent qui provoque la destruction des vésicules de REG, sans perturber cependant le déroulement de la traduction en cours. La protéase n'est jamais ajoutée en fin d'expérience. Les résultats sont les suivants :

tube	7	8	9	10	11	12
REG	+	+	+	+	+	+
Met radioactive	+	-	+	-	+	-
Man radioactif	-	+	-	+	-	+
ajout du détergent (en min après le début de l'expérience)	5	5	10	10	15	15
MM de la molécule radioactive obtenue (kDa)	54	-	57	57	60	60

A quoi correspond p54 ? Et p57 ?

Sachant que la traduction complète des 511 acides aminés codés par l'ARNm demande 15 min dans les conditions de cette expérience, quelles seraient les différentes positions de glycosylation dans la chaîne peptidique ?

e) La glycoprotéine G extraite du virus est constituée de 495 acides aminés. Comment expliquer la différence avec la valeur de 511 acides aminés donnée ci-dessus ?

f) L'étude de la séquence primaire de cette glycoprotéine G montre que les acides aminés 463 à 488 sont hydrophobes et que les positions 183 et 412 sont occupées par des asparagines.

Représenter par un schéma la structure détaillée de p56, en indiquant les positions des acides aminés remarquables ainsi que les extrémités de la chaîne peptidique. Quelle serait donc la longueur du domaine cytoplasmique ? Sachant qu'en moyenne un acide aminé a une MM de 110 Da, cela est-il compatible avec les résultats obtenus précédemment ?

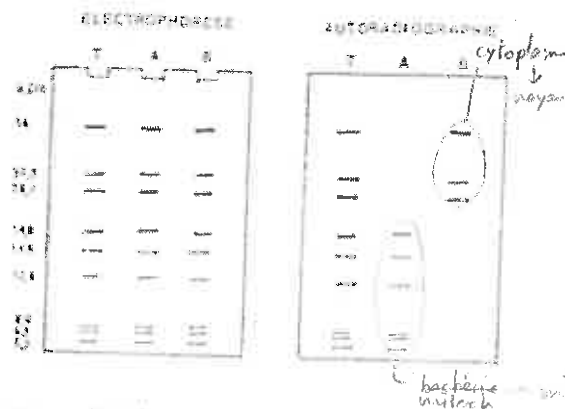
Faire un deuxième schéma représentant maintenant p60, après sa traduction/glycosylation dans le REG. Les informations du premier schéma seront reprises, et la position de la membrane du REG sera indiquée.

Exercice 5

La cytochrome oxydase est une enzyme située dans le complexe IV de la chaîne respiratoire mitochondriale, où elle assure le transfert final des électrons vers l'oxygène. Cette enzyme est en fait un complexe formé de 9 protomères différents. On souhaite déterminer dans quels compartiments cellulaires ils sont synthétisés.

Pour cela, on étudie des cellules de Levure, que l'on cultive dans 3 conditions différentes. Le lot témoin (T) reçoit un mélange d'acides aminés marqués radioactivement, afin de permettre la détection des protéines qui viennent d'être synthétisées. Le lot A reçoit en plus du chloramphénicol, une molécule qui bloque sélectivement le fonctionnement des ribosomes de type procaryote (ribosomes bactériens, mitochondriaux ou chloroplastiques). Le lot B reçoit lui en plus de la cycloheximide, qui bloque sélectivement le fonctionnement des ribosomes de type eucaryote (ribosomes cytoplasmiques).

a) Après 2 jours de culture, les cellules de ces 3 lots sont lysées, les mitochondries sont isolées, puis traitées par un détergent pour détruire leurs membranes, ce qui permet de rendre soluble la cytochrome oxydase et de la purifier. Les différents protomères sont séparés par électrophorèse (en fonction de leur masse moléculaire) puis on détermine par autoradiographie quelles bandes sur le gel d'électrophorèse contiennent de la radioactivité. Les résultats sont les suivants :



A bloque ribosomes: bactérie mitochond chloro
 B bloque ribosomes cytoplasmique
 T témoin de toutes les prot
 électrophorèse

Dans quels compartiments cellulaires ces différents protomères sont-ils synthétisés ? Par conséquent, quelle est la localisation de l'information génétique correspondante ?

b) Une 2^{ème} expérience est réalisée : des cellules sont à nouveau mises en culture suivant les 3 conditions décrites précédemment, puis les cellules sont broyées après 2 ou 4 jours de culture et l'activité enzymatique de la cytochrome oxydase est dosée :

nombre de jours de culture	2 jours			4 jours		
	T	A	B	T	A	B
activité de la cytochrome oxydase	++++	-	+	++++	-	-

Comment expliquer que l'activité ne devienne pas complètement nulle dans les lots A et B après 2 jours ?
 Comment expliquer que l'activité devienne complètement nulle dans les lots A et B après 4 jours ?
 Ces résultats sont-ils compatibles avec les précédents ?

c) Une 3^{ème} expérience est ensuite réalisée : à l'issue de 2 jours de culture dans les 3 conditions, les cellules sont préparées pour analyse en microscopie électronique afin de déterminer la localisation cellulaire des protéines radioactives synthétisées. Les résultats sont les suivants :

lot	T	A	B
radioactivité dans le cytosol	++++	++++	-
radioactivité dans les mitochondries	++++	++	+

Quelles sont les protéines radioactives dans les 2 compartiments analysés du lot T ?
 Comment expliquer la présence de protéines radioactives dans les mitochondries du lot A ?
 Comment expliquer l'absence totale de protéines radioactives dans le cytosol du lot B ?
 Comment expliquer la faible quantité de protéines radioactives dans les mitochondries du lot B ?
 Ces résultats sont-ils compatibles avec les précédents ?

Tout peptide lié à la mb est dit membranaire.

Exercice 1

c) Peptide 1 (adressé à l'extérieur), 3 (adressé à la mb), 4 (adressé à l'intérieur)
 Adressage dans le REG de façon co-translationnelle.

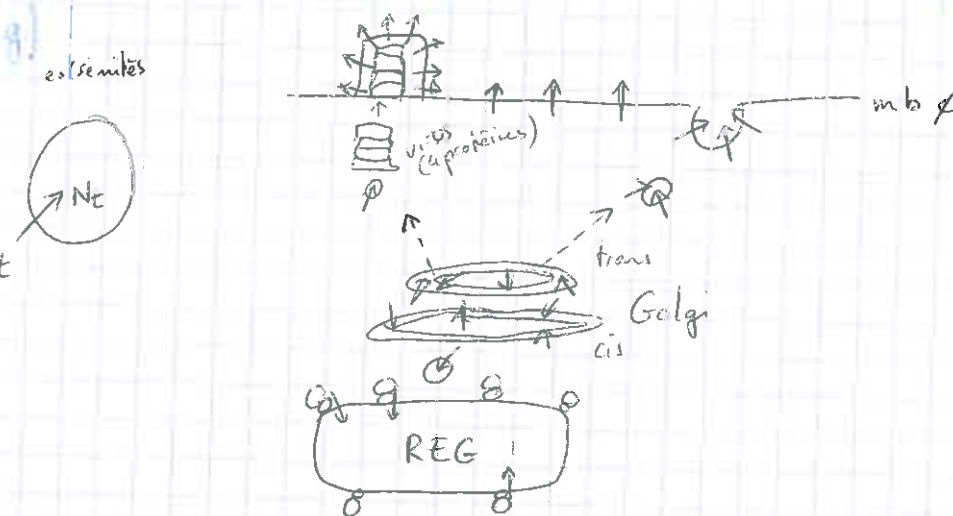
Peptide 2 (adressé au cytoplasme)
 Adressage dans le cytoplasme : post-translationnel
 (il va débiter jusqu'à entrer en contact avec peptide 3 et s'y fixe).

Exercice 2

- a) la particule vésiculaire contient 5 protéines de même poids moléculaire ≠
 Ces protéines ne sont pas synthétisées dans la même cellule
- b) l'autoradiographie révèle 5 bandes → 5 protéines synthétisées
 la coloration révèle 5 autres bandes, mais elles ne sont pas radiolabélisées :
 les protéines p ont pu être synthétisées depuis la pénétration de
 virus dans la cellule.
 • virus éliminent les protéines p → fait de la place
- c) G est une glycoprotéine (chaîne polypeptidique + oligosaccharides)
- d) Seule la glycoprotéine est retrouvée au niveau des vésicules, suggérant
 (= REG), elle est attachée.
 Les autres protéines sont les pré-traductes dans le cytoplasme.
- e) Dans ces cellules, la VSV inhibe des protéines p.

Le gène de VSV code pour une glycoprotéine et la seule synthétisée
 en RE - et transportée jusqu'à la mb par vésicules.
 La particule vésiculaire s'insère dans la mb.

7) → est vésiculaire par bourgeonnement à la partie de la mb présente
 les filaments. Pour l'attachement, la G est passée du REG à
 l'appareil de Golgi puis dans des vésicules d'exocytose.



Exercice 3

- a) La protéine de base fait 24 kDa.
Elle est digérée si on met dans la protéase.
Si on ajoute du RER, son entrée dans le RER raccourci la protéine à cause de la perte du peptide signal.
Si la protéine est dans le RER, la protéase ne peut pas pénétrer car la digère pas.
Si on dérive le RER après avoir décapé, les protéines sont à la suite des protéases.

b) ses compétiteurs sont : liposomes, vésicules, Golgi, RE, cytosol...

c) La protéine 43 est liée dans le RER avec son peptide signal.

Après 3, la protéine a toujours son peptide signal (car la protéine subit des repliements sachant le signal).

d) Les protéines périphériques sont liées (faiblement) entre des hydrophiles (liaisons H ou ioniques). Si comparé avec 200 d'ions, les protéines périphériques sont liées.

e) L'association avec le RER + protéines périphériques se reforme spontanément et redevient fonctionnelle par transfert de la p₁₁₅ et exciter le peptide signal.

f) La p₁₁₅ s'entraîne pas dans le RER, son peptide signal n'est pas excité, les p₁₁₅ nécessaires au transfert sont.

Il manque des p₁₁₅ intrinsèques → pas de transloc.

Exercice 4

a) Tube *Interprétation*
 1 et 2 : molécule non glycosylée
 3 et 4 : @ glycosylée
 5 et 6 : protéine digérée par la protéase

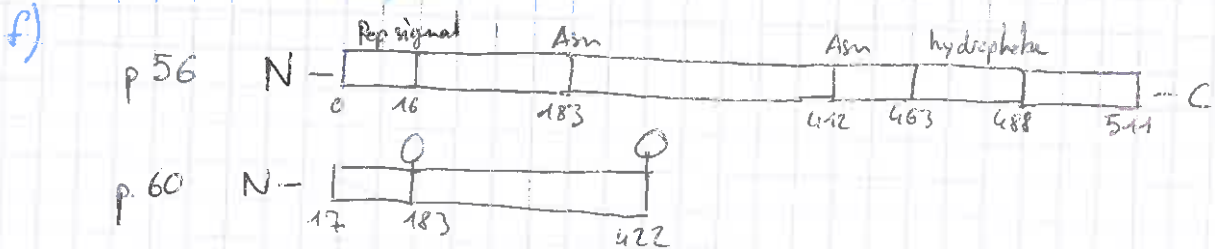
b) Glycosylation (et N) (dans le RER)

c) Glycosylation dans Golgi en plus.

d) Tube *Interprétation*
 7 et 8
 9 et 10
 après 5 min de traduction, la protéine n'est pas encore glycosylée, mais p56 a perdu son signal peptidique. p glycosylée, mais pas aussi grande qu'elle devrait l'être.

e) voir correction

e) perte du peptide signal (10 aa)



Exercice 5

a) Celles du A : mitochondrie (dont code dans la mitochondrie)
Celles du B : cytoplasmie (dont code dans le noyau).

b) → activité résiduelle
→