

LES RIBOSOMES

Schéma 1

Compartiment cellulaire (hépatocyte):

Un ribosome est composé d'une membrane plasmique, d'un cytosol et d'un noyau.

Le cytosol est rempli par de nombreuses inclusions.

Organites: 46%

Avec noyau 6%, réticulum endoplasmique (granuleux + lisse) 10%, appareil de Golgi 5%, endosomes 1%, lysosomes 1%, peroxyosomes 1% et mitochondries 22%.

Cytosol: 54%

Avec ribosomes, cytosquelette et enclaves de glycogène ou lipides.

Le cytosol est rempli de particules en ME.

La technique d'ultracentrifugation différentielle sépare ces éléments constitutifs par gradients de densité, des plus denses aux moins denses.

Le cytosol est le moins dense, sorte de gel aqueux qui compose la majorité du volume cellulaire. On y rencontre de très nombreuses substances en solution tels que des sels minéraux, des ions ou des protéines solubles a fonction enzymatique, voir des protéines de signalisation comme les kinases qui phosphoryle d'autres protéines pour les activer.

Le cytosol est un compartiment extrêmement dynamique.

Ribosome: Particule visible en ME constituée de ribonucléotides. Les ribosomes jouent un rôle dans la protéosynthèse. Il y a des ribosomes là où la protéosynthèse est nécessaire c'est à dire dans toutes les cellules exceptées les spermatozoïdes et les hématies. Les ribosomes jouent un rôle dans la traduction. Les ribosomes sont osmiophiles, ils sont en amas (par douzaines environ) désignés sous le terme de polysomes. Un filament (= une molécule) d'ARNm relie les ribosomes donc ces ribosomes sont responsable de la basophilie du cytoplasme.

Les ribosomes ont un diamètre d'environ 30nm donc trop petit pour être discernable en MO. Leur présence est détectable car riche en acide ribonucléique. La mise en évidence se fait via des colorants basiques qui se fixe aux structures basophiles c'est à dire aux acides. Les acides ribonucléiques sont repérable par la technique de Feulgen et différenciable par la technique de Unna-Brachet via du vert de méthyl pour l'ADN et du pyronine pour colorer l'ARN en rouge.

Dans le noyau, l'on verra le nucléole ou s'élabore l'ARN.

Rq: Le cytoplasme est basophile.

Les ribosomes peuvent être libres ou "liés". Ils sont libres dans le cytosol et liés aux cytomembranes pour former le réticulum endoplasmique granuleux (REG).

La traduction qu'opère les ribosomes permet la naissance de protéines. Ils font correspondre le fragment de code génétique porté par l'ARNm, à un code protéique identifier par une succession d'acides aminés. l'acide passe d'un code nucléotidique à un code protéique.

Les ribosomes se disposent aux lieux de la cellule où la traduction est nécessaire.

1. Ribosomes libres.

Ces ribosomes en ME sont la plupart du temps rassemblés en petits amas qui forment des rosettes ou des structures spiralées.

En ME à très fort grossissement doublé de techniques d'ombrage, l'on s'aperçoit que ces ribosomes sont en fait réunis par un très fin filament d'ARNm:

Schéma 2

Les ribosomes comme les polysomes sont des structures actives.

Schéma 3

Un même ARNm est lu plusieurs dizaines ou centaines de fois pour produire plusieurs dizaines ou centaines de copies de protéines.

Chaque ribosome lie plusieurs fois l'ARNm.

Le ribosome est composé de deux sous unités produites au niveau du nucléole indépendamment l'une de l'autre. Elle ne s'associe que lorsqu'il y a traduction d'un ARNm.

Schéma 4

Schéma 5

Le ribosome a un coefficient de sédimentation de 80 Svedberg:

Il est composé d'une grande sous unité (60S), et d'une petite sous unité (40S).

La grande sous unité elle-même composée des ARNr 5S, 5,8S et 28S (5,8S et 28S sont dus à la fragmentation d'un ARN nucléaire 45S), ainsi que de 49 protéines. La petite sous unité est composée d'1 ARNr de 18S et de 33 protéines.

La grande sous-unité ne se fixe sur la petite que lorsque celle-ci à rencontré un codon traduit en méthionine (AUG).

Rq: chaque ribosome glisse sur l'ARNm.

Schéma 6

Ceci était un ribosome cytoplasmique d'une cellule eucaryote. Mais il existe aussi des ribosomes de cellules procaryotes d'ailleurs assez semblables aux ribosomes mitochondriaux.

S'il n'y a pas de protéosynthèse c'est à dire de traduction, l'on peut observer la mort de la cellule. Cette propriété est d'ailleurs pratique pour les antibiotiques qui bloque ainsi la protéosynthèse des procaryotes donc des bactéries sans altérer la protéosynthèse des eucaryotes.

Sur le filament d'ARNm, l'extrémité 5' est désignée sous le terme de coiffe (=cap). Lui succède une zone non traduite jusqu'au codon AUG (→ méthionine) initiateur. On parle de cadre de lecture depuis AUG jusqu'au codon stop (UAA, UAG ou UGA). Ensuite, jusqu'à l'extrémité 3' se trouve un site de fixation de protéines régulatrices et d'adénine (extension polyA).

Fonction des ribosomes.

Traduction rendu possible par le fait que l'ARNm est pourvu d'un certains nombres de sites particuliers permettant l'association du ribosome:

1/ Initiation → 2/ Élongation → 3/ Terminaison= séparation du ribosome.

1/ Initiation.

Fixation des 2 sous unités d'un même ribosome + ARNt portant l'anticodon UAC (complémentaire de AUG) sur le codon AUG initiateur. L'ARNt est porteur de l'aa méthionine (un aa possible et un seul).

2/ Élongation.

Apparition d'un ARNt portant l'anticodon complémentaire du codon suivant sur la chaîne d'ARNm. Création d'une liaison entre les 2 aa (= transpeptidation).

3/ Translocation.

Le ribosome se déplace au codon suivant ce qui provoque le déplacement de la chaîne d'aa sur la grande sous unité.

Cette addition d'aa s'effectue 20 fois par seconde.

Grâce aux protéines chaperonnes, la chaîne protéique va simultanément prendre une conformation.

Rq: La traduction est hautement régulée.

Le blocage de la traduction (comme le font certains antibiotiques sur les cellules procaryotes) engendre la mort de la cellule.

L'ARNt permet le couplage. En effet, de petite taille, il véhicule les acides aminés constitutifs de la chaîne protéique naissante. L'ARNt est beaucoup moins abondant que l'ARNribosomal.

Le phénomène d'amplification:

-1e niveau d'amplification: 2 gènes vont donner plusieurs ARNm.

-2e niveau d'amplification: plusieurs ARNm vont donner beaucoup de protéines.

Le devenir des protéines:

-Elles restent dans le hyaloplasme.

-Elles sont à destination nucléaire (par adressage. Dans le code génétique, élément de séquence protéique qui indique que telle protéine sera à destination nucléaire).

ex: protéine ribosomale est synthétisé dans le cytoplasme mais à destination nucléaire.

-Elles sont à destination mitochondriale (par adressage).

-Elles sont à destination des peroxysomes (par adressage).

Schéma 7

Polymère linéaire, orienté (sens de lecture).

Il y a une partie non traduite de longueur variable.

Trois nucléotides AUG formant le codon d'initiation. Il existe des variantes telles que CUG ou CAA mais en général, la protéine commence par une méthionine.

Mise en place du ribosome, et progression de ce dernier sur une longueur variable, fonction de la taille de la protéine.

Un ou plusieurs codons stop déterminant l'arrêt de la traduction.

Lecture séquentielle stricte des nucléotides par groupe de trois (= codon).

Fixation d'éléments qui vont permettre la séparation des deux sous unités et de la protéine.

Segment non traduit de l'ARNm. C'est un homopolymère, une extension poly A, après le codon stop.

Cette traduction va s'opérer à très grande vitesse puisqu'un ribosome va mettre en place 20 acides aminés par secondes et qu'une protéine en comporte environ 500.

Formation de liaisons donc endergonique, nécessite beaucoup d'ATP.

L'élongation s'accompagne du repliement de la protéine qui dépend de la séquence amino acidique mais aussi de l'environnement (protéines chaperonnes).

Ces protéines chaperonnes vont imprimer à cette protéine naissante sa conformation définitive.

Ce mode de lecture est rapide et dure aussi longtemps que l'ARNm est en place.

Ces derniers sont détruits par l'ARNase. Mais il existe aussi des éléments qui stoppent temporairement la traduction.

Schéma 8

Ces érythroblastes produisent de l'hémoglobine dans la cellule pour peu à peu remplacer leur constituants par de l'hémoglobine.

2. Le réticulum endoplasmique (10% dans l'hépatocyte).

Citernes (= cavités) limités par membrane plus fluide et plus riche en protéine donc moins en cholestérol (30% lipides, 70% protéines).

Ensemble de cavités (= citernes) qui communiquent entre elles par un système vésiculaire ou par des tubules; c'est un compartiment divisé en deux régions fonctionnelles:

-REL: membrane sans particularités notables.

-REG: membrane hérissée de petits grains superficiels périphériques (= ribosomes). Il peut donc synthétiser des protéines.

Le RE est présent dans toutes les cellules sauf hématies.

C'est le lieu où sont produites les membranes cellulaires.

Proportion variable de REG/REL.

Les membranes du RE sont nettement plus riches en protéines (70%, pas de glucides, et pour les lipides, beaucoup d'insaturés, peu de cholestérol (→ membrane fluide).

2.1 Réticulum endoplasmique granuleux (REG).

= RE rugueux= ergastoplasme.

Présence de ribosomes confère au cytoplasme une basophilie.

Cellule du pancréas exocrine est localisée dans un acinus (structure glandulaire). Sa région basale est basophile (ergastoplasme), son pôle apical contient des grains de zymogènes.

Pancréas produit des enzymes de digestions.

C'est Garmer et Bovin qui ont mis en évidence le REG.

Schéma 9

En état de jeûne, l'ergastoplasme diminue et les grains de zymogènes s'accumulent. Lorsqu'il y a insertion d'alimentation, grain de zymogène s'active, et renforcement de la basophilie de l'ergastoplasme (c'est donc l'inverse du jeûne). L'ergastoplasme est impliqué dans la synthèse protéique.

En phase de digestion, dans les deux minutes qui suivent l'injection d'acides aminés radioactifs (leucine), ils se fixent à l'ergastoplasme puis migrent du pôle basal au pôle intermédiaire (10min), puis l'on constate un marquage uniquement dans l'appareil de Golgi (après 20min) et enfin juste dans les grains après 1h. Il y a donc une migration du pôle basal au pôle apical.

ME nécessaire pour observer le REG.

Par définition, le REG est des polysomes associés aux membranes.

Citernes anastomosées:

Partout où il y a des ribosomes, il y a protéosynthèse.

Protéines produites circulent dans les citernes du REG.

Cellules riches en REG:

Cellule acineuse pancréatique:

Schéma 10

Plasmocyte (c'est une cellule libre; lymphocyte B activé pour produire un anticorps spécifique. Le REG est dans toute la cellule, il n'y a pas de stock des sécrétions):

Schéma 11

Neurone:

Schéma 12

Rq: C'est Nissl qui avec la coloration de Nissl a mis en évidence le REG dans les neurones d'où son nom de corps de Nissl.

Hépatocyte (glandulaire mais non polarisée):

Schéma 13

Rq: Pour la même raison que précédemment, ici, le REG a été nommé motte de Berg.

Comment s'effectue le ciblage des différentes protéines:

Lors de la protéosynthèse la protéine a différents avènements:

-La protéine reste dans le cytoplasme.

-La protéine va dans le REG car elle possède une séquence de signalisation.

Ensuite, elle reste dans le REG, ou elle va dans la membrane ou elle est sécrétée.

Ces protéines constituent des protéines intrinsèques (principalement celles qui restent dans la membrane) ou extrinsèques.

-La protéine reste dans la citerne.

-La protéine est destinée à retourner dans le noyau grâce au signal d'adressage.

-La protéine va dans les mitochondries.

-La protéine va dans le peroxysoxe.

Le REG synthétise la quasi totalité des protéines membranaires, les protéines résidentes de l'appareil de Golgi, les protéines qui vont passer dans les grains de sécrétions ou dans un système vésiculaire autre.

L'ARNm possède un peptide signal (environ 20 aa) au début donc à l'extrémité 5'. PRS (protéine reconnaissante du signal) qui une fois fixée au peptide signal arrête la traduction ce qui donne le temps au ribosome de se fixer à la membrane. Une fois le translocon mis en place, le peptide passe dans le REG et PRS peut partir.

Le système s'arrête lorsque le ribosome parvient au codon stop. Le ribosome se dissocie.

Tout passe par la présence ou non du code génétique qui code pour la séquence signal (une vingtaine d'acides aminés hydrophobes):

Schéma 14

Il y a glycosylation de la protéine au niveau du REG (= N-glycosylation) et addition de résidus au niveau de l'appareil de Golgi.

En effet, la biosynthèse de protéines nécessite un signal de glycosylation: l'asparagine = N asparagine → N glycosylation.

Schéma 15

1. Une chaîne sucrée portée par un acide gras (= dolichol) sur la membrane coté cytosol.
2. Elle subit un flip-flop pour passer coté cavité.
3. Il y a complémentation de la synthèse.
4. Transférase sur la chaîne polypeptidique. La nouvelle chaîne va venir se fixer sur une asparagine de la protéine croissante.

Schéma 16

Les séquences transmembranaires vont rester dans la membrane.
Les protéines membranaires s'installent d'emblée dans la membrane avec la position qu'elles auront définitivement.

2.2 Réticulum endoplasmique lisse (= REL) (15% de la surface mb totale).
Les cavités internes de la cellule constituent un réseau de citernes délimitées par des membranes. Si celles ci sont associées à des ribosomes, nous avons à faire au REG sinon au REL.

Schéma 17

Notons que la face luminale du RE devient la face externe de la membrane.
Le RE est un réseau de transport qui participe aux flux membranaires. Ceux ci sont importants et permanents.

Flux inverses:

Secteurs périphériques → pinocytose → compartiment endosomal → RE.

Cavéoles → cavéolosomes → RE.

Flux membranaire → RE.

Les membranes sont complexes et actives, reflet d'une activité métabolique intense.

Fonctions qui concerne l'ensemble des cellules.

-Production de membrane, mise en place de certains lipides membranaires. Donc, le RE héberge des protéines spécifiques dans la production de phospholipides.

Les céramides et glycoliques sont créés dans le RE mais terminent dans l'appareil de Golgi.

Les autres basculent coté cytosol → addition d'acides aminés (glycérol, phosphate).

Transférase → insertion de choline...

Répartition des phospholipides asymétrique d'où la présence de flipase comme pour la phosphatidylcholine.

Prise en charge de certains phospholipides → transport dans d'autres compartiments.

Cholestérol, précurseur de stéroïdes.

Interrelation REL/mitochondrie.

Détoxification se fait dans toutes les cellules:

Organe privilégié: le foie.

Protéines anormales débitées dans les protéasomes. Petits peptides transférés hors du RE. Ces peptides deviennent antigéniques.

-Le REL joue un rôle dans le métabolisme du glucose (dans cytosol puis dans mitochondries).

G6Pase est contenu dans la lumière du REL, cet enzyme peut agir sur le glucose via perméase pour laisser entrer le G6P. Le G6P repasse alors dans le cytosol via perméases.

-Réservoir de calcium.

L'ion calcium joue un rôle important dans la signalisation. Il est séquestré de façon active par des ponts dans la membrane du REL. Le REL stocke le calcium qui peut être libéré à la demande via des signaux qui vont provoquer l'ouverture de canaux ioniques. Ce calcium dans le REL n'est pas à l'état libre mais lié à un certain nombre de protéines (protéines résidentes dans REL).

Le RE possède une pompe à calcium et peut par conséquent le stocker pour augmenter la concentration de l'ion calcium dans la cellule. Peut aussi contrôler la sortie du calcium.

Notons que la contraction du muscle est dûe à la liaison actine/myosine uniquement possible si présence de Ca^{2+} .

-Autophagie: Dans autophagosome sont libérés des enzymes de destruction, enzyme des lysosomes.

L'ensemble du comportement REL va avoir d'autres fonctions au près des protéines. La protéosynthèse fait parfois des protéines non conformes qui vont être reconnues par les protéines chaperonnes dans le REL. Ces protéines chaperonnes vont réadresser ces protéines non conforme vers le cytosol; il y a translocation inverse des protéines, du REL → cytosol via canaux.

Dans le cytosol, machinerie protéique complexe, le protéasome → fragmente la protéine en fragments, les peptides. Le RE va récupérer ces peptides pour les traiter dans l'appareil de Golgi → serviront de bases aux antigènes.

La membrane du RE renferme un certain nombre d'enzyme capable d'assurer la détoxification de certains produits → production d'acide biliaire. Certains

toxiques seront dénaturés via le cytochrome P450 qui fait intervenir le RE → modification de certains lipides complexes pour les rendre non toxiques.

Propriétés mise en jeu dans les populations spéciales.

Toutes les cellules sont actives pour enlever les déchets. Mais d'autres cellules comme les cellules hépatiques, ont pour rôle essentiel de détoxiquer le sang d'où le grand nombre de RE dans les hépatocytes (4% du volume mais 16% de la surface). Mais puisqu'il y a aussi métabolisme glucidique il y a cytochrome P450. Le RE absorbe lipides dans organites.

Les cellules absorbantes de l'intestin (entérocytes) stockent les lipides (glycérol,...) avant de les transformer en structure lipidique complexe dans le RE → finalisation dans l'appareil de Golgi.

Synthèse d'hormones stéroïdiennes à partir de cholestérol dans le RE;

transformation en œstrogène via cytochrome P450 dans le REL.

Présence massive de REL dans le cortex et les gonades....

Flux calciques particulièrement important dans les cellules musculaires striées → contraction du à l'interaction actine, myosine avec comme intermédiaire la troponine par exemple. Ne peut s'effectuer qu'en présence de calcium. Pour qu'il y ait contraction, il doit y avoir relâchement de calcium.

Les myofilaments sont accolés au réticulum sarcoplasmique qui constitue des citernes allongées.

Libération puis recaptage actif du calcium par les ponts calciques.

Ouverture des canaux calcium quand l'onde de dépolarisation est envoyée du cerveau.

Il est également clair que les citernes endoplasmiques lisses vont avoir une fonction spéciale quand la cellule a besoin de se séparer d'une partie de ses compartiments → autophagie.

Lors d'une activité intense par exemple, constitution d'un autophagosome, fraction du cytoplasme cellulaire. Mise en place d'un enroulement de citernes autour de cet autophagosome pour déverser des lysosomes utiles à la dégradation du contenu de l'autophagosome:

Schéma 18