

## RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE

### I- STRUCTURE

Toutes les cellules eucaryotes possèdent un réticulum endoplasmique (RE). Le RE est organisé en tubules qui se ramifient et en sacs aplatis qui sont interconnectés et leurs membranes sont en continuité avec la membrane nucléaire externe. Le RE et les membranes nucléaires forment un feuillet continu enfermant un seul espace interne appelé lumière du RE ou citerne du RE qui occupe 10 à 15 % du volume cellulaire total. Selon la présence ou l'absence de ribosomes liés à la membrane du RE, on parlera respectivement de réticulum endoplasmique granuleux (REG) ou rugueux (RER) et de réticulum endoplasmique lisse (REL).

### II- COMPOSITION BIOCHIMIQUE

La membrane du RE renferme 30% de lipides et 70% de protéines.

#### Les protéines

Les protéines sont essentiellement:

- des enzymes nécessaires à la synthèse protéique, au métabolisme des lipides et aux phénomènes de détoxification (le cytochrome P450).
- des enzymes intervenant dans la glycosylation, situées sur la face luminale.
- des enzymes intervenant dans la biosynthèse des phospholipides.

#### Les lipides

Les lipides sont polyinsaturés et leurs chaînes aliphatiques sont plus courtes que celles des lipides de la membrane plasmique. Le pourcentage de cholestérol est plus bas que dans la membrane plasmique, d'où une augmentation considérable de la fluidité de la membrane du RE.

### III- FONCTIONS DU RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE

#### Fonctions du REG

##### 1-Translocation des protéines néosynthétisées dans le RE

###### a- Signal peptidique

Si une molécule d'ARNm code une protéine dépourvue d'un peptide signal du RE (signal peptidique hydrophobe d'adressage au RE), le polyribosome qui se forme reste libre dans le cytosol et son produit protéique y reste libéré. Par conséquent, seules les molécules d'ARNm codant les protéines qui ont un peptide signal du RE se lient aux membranes du RE et les protéines seront alors transloquées à travers la membrane du REG. Le ribosome commence à synthétiser une protéine qui porte un peptide signal hydrophobe d'adressage au RE.

###### b- Reconnaissance du signal peptidique par la SRP

Le peptide signal est reconnu par la SRP (Signal Recognition Particle: Particule de Reconnaissance du Signal). La SRP est une particule complexe composée de six chaînes polypeptidiques différentes fixées sur une seule petite molécule d'ARN. La séquence signal du RE est caractérisée par la présence d'au moins huit acides aminés non polaires spécifiques.

La SRP fait la navette entre la membrane du REG et le cytosol. Elle reconnaît le peptide signal et s'associe avec lui dès qu'il émerge de la grande sous-unité du ribosome. La SRP se fixe alors sur le site A de la grande sous-unité et bloque temporairement la traduction jusqu'à ce que la sous-unité soit fixée sur le REG. La SRP associée au ribosome se lie à son récepteur (récepteur de la SRP), qui est un complexe protéique entièrement enchâssé dans la membrane du REG. Cette interaction mène le complexe SRP- ribosome sur une protéine de translocation.

###### c- Fixation du ribosome sur son récepteur

Le ribosome se fixe par sa grande sous-unité à un récepteur membranaire du REG, le récepteur du ribosome.

#### **d- Translocateur**

La chaîne polypeptidique passe à travers un transporteur de protéine transmembranaire: le translocateur qui forme dans la membrane un pore à travers lequel passe la chaîne polypeptidique.

Le peptide signal se lie à un site spécifique à l'intérieur du pore ce qui entraîne son ouverture. Il sert donc de signal de transfert (ou peptide de début de transfert).

#### **e- Séparation SRP/récepteur de la SRP**

Dès que le ribosome repose sur la membrane du REG, la SRP se sépare du peptide signal. La séparation SRP/récepteur de la SRP permet le début de la translocation (cad, le passage à travers la membrane du RE par le translocateur).

#### **f-Translocation co-traductionnelle de la protéine**

La protéine en cours de formation décrit, en s'allongeant, une boucle qui pénètre dans le RE par le pore du translocateur. Cette translocation se déroule en même temps que s'effectue la traduction: la translocation est co-traductionnelle.

#### **g- Fin de la traduction**

A la fin de la traduction, quand les chaînes polypeptidiques naissantes ont atteint une longueur suffisante, une signal peptidase du RE coupe le peptide signal du reste de la molécule. Le pore se ferme mais le translocateur s'ouvre latéralement dans la bicouche lipidique et permet au peptide signal de diffuser dans la bicouche lipidique où il est rapidement dégradé en acides aminés par d'autres protéases de la membrane du RE. Cette excision libère ainsi les protéines. Ces protéines hydrosolubles (destinées à la lumière du RE, à la sécrétion ou au transfert dans la lumière d'autres organites) sont ainsi complètement transloquées (translocation totale) à travers la membrane du RE et libérées dans sa lumière. Les ribosomes se détachent de la membrane, leurs deux sous-unités se séparent et gagnent le cytosol.

Les protéines transmembranaires (destinées à la membrane du RE ou aux autres membranes cellulaires) sont transloquées à moitié (translocation partielle) à travers la membrane du RE et y restent ancrées par une ou plusieurs régions d'hélice  $\alpha$  de la chaîne polypeptidique qui traverse la membrane. Ces portions hydrophobes de protéines peuvent agir comme un signal soit de début de transfert, soit d'arrêt de transfert, pendant le processus de la translocation.

#### **Dans le cas des protéines transmembranaires à traversée unique:**

- Quand la séquence signal est à l'extrémité N-terminale, la séquence signal N-terminale initie la translocation comme pour les protéines solubles mais un autre segment hydrophobe de la chaîne polypeptidique arrête ce processus de transfert avant que tout le polypeptide n'ait été transloqué. Ce signal d'arrêt de transfert ancre la protéine dans la membrane une fois que le peptide signal du RE (le signal de début de transfert) est libéré du translocateur et coupé. La séquence d'arrêt du transfert est transférée dans la bicouche par la vanne latérale et y reste sous forme d'un seul segment en hélice  $\alpha$  qui traverse la membrane, l'extrémité N-terminale de la protéine se trouvant du côté luminal de la membrane et son extrémité C-terminale du côté cytosolique.

- Quand la séquence signal est interne, elle sert également de signal de début de transfert initiant la translocation de la protéine. Après sa libération du translocateur, le peptide signal interne de début de transfert reste dans la bicouche lipidique sous forme d'une hélice  $\alpha$  à un seul passage transmembranaire.

L'orientation de la séquence de début de transfert dépend de la distribution des acides aminés chargés proches. S'il ya plus d'acides aminés chargés positivement immédiatement avant qu'après le cœur hydrophobe de la séquence signal de début de transfert (peptide signal de transfert), la protéine membranaire est insérée dans le translocateur en ayant l'extrémité C-terminale dans la lumière du RE.

Inversement, dans le cas où il ya plus d'acides aminés chargés positivement immédiatement après le cœur hydrophobe du peptide signal de début de transfert, l'extrémité N-terminale de la protéine membranaire est insérée dans la lumière du RE.

#### **Dans le cas des protéines transmembranaires à traversées multiples:**

- **Concernant les protéines transmembranaires à double domaine transmembranaire**, la séquence signal interne du RE agit comme un signal de début de transfert et initie la translocation, celle-ci se poursuit jusqu'à ce qu'une séquence signal d'arrêt de transfert soit atteinte. Le polypeptide est alors libéré dans la bicouche.

- **Concernant les protéines transmembranaires à traversées multiples**, lorsqu'un polypeptide contient de multiples signaux alternant le début de transfert et d'arrêt de transfert, il passera d'avant en arrière à travers la bicouche de multiples fois et formera une protéine à multiples domaines transmembranaires.

Les protéines synthétisées sont en général glycosylées au cours de la traduction: dans ce cas la glycosylation est co-traductionnelle.

## 2- Glycosylation

L'addition covalente de sucres sur les protéines est l'une des fonctions biosynthétiques majeures du RE. La plupart des protéines solubles reliées à la membrane qui sont produites dans le RE (y compris celles destinées à être transportées vers l'appareil de Golgi, les lysosomes, la membrane plasmique ou l'espace extracellulaire) sont des glycoprotéines. A l'opposé, très peu de protéines cytosoliques sont glycosylées, et celles qui le sont portent une modification plus simple qui consiste en l'addition d'un seul groupement N-acétylglucosamine sur un résidu sérine ou thréonine de la protéine.

Dans la lumière du RE, les protéines se replient et des oligosaccharides y sont ajoutés par des liaisons N-osidiques. La N-glycosylation sert à indiquer l'étendue du repliement protéique de telle sorte que les protéines ne quittent le RE que lorsqu'elles sont correctement repliées.

Lors de la glycosylation, il y'a transfert en bloc d'un précurseur oligosaccharidique préformé (composé de 2N- acétylglucosamines, de 9 mannoses et de 3 glucoses) sur les protéines du RE.

Le précurseur oligosaccharidique est construit entièrement, sucre par sucre, sur cette molécule lipidique fixée sur la membrane avant d'être transfère sur la protéine. Le précurseur oligosaccharidique est lié à une molécule lipidique spéciale (le dolichol) dans la membrane du RE par une liaison pyrophosphate riche en énergie qui fournit l'énergie d'activation nécessaire à la réaction de glycosylation. Les sucres sont d'abord activés dans le cytosol par la formation d'un intermédiaire nucléotide-sucré qui donne ensuite son sucre au lipide selon une séquence ordonnée. Au cours de ce processus, l'oligosaccharide relié au lipide du coté cytosolique de la membrane du RE, bascule du coté luminal de cette membrane.

Cet oligosaccharide est transféré sur le groupement NH<sub>2</sub> de la chaîne latérale d'une asparagine de la protéine: il s'agit d'une liaison N-osidique ou liaison à l'asparagine. Ce transfert est catalysé par un complexe enzymatique lié à la membrane: une oligosaccharyl transférase, dont le site actif est exposé du coté luminal de la membrane du RE. Le précurseur oligosaccharidique est transféré sur l'asparagine cible en une seule étape enzymatique, dès que cet acide aminé émerge dans la lumière du RE lors de la translocation protéique. Une copie de l'oligosaccharyl transférase est associée à chaque protéine de translocation afin de glycosyler les chaînes polypeptidiques qui arrivent.

Il y'a ensuite une modification post-traductionnelle de cet oligosaccharide dans le REG (étape importante pour le contrôle qualité de la protéine dans le REG) suite à l'action de 3 glucosidases et d'une mannosidase. Au final, le motif N-lié contient 8man et 2GlcNac après sa modification post-traductionnelle dans le REG. Par la suite, cette maturation des oligosaccharides se poursuit dans l'appareil de Golgi.

L'asymétrie de l'insertion protéique et de la glycosylation dans le RE établit la position sur les faces des membranes de tous les autres organites dont le RE fournit les protéines membranaires.

## 3- Exportation des protéines mal repliées hors du RE et leur dégradation dans le cytosol

Beaucoup de protéines néosynthétisées transloquées dans le RE n'arrivent pas à atteindre leur état de repliement correct. Ces protéines sont à nouveau exportées du RE dans le cytosol ou elles sont dégradées. Les protéines à détruire subissent une rétrotranslocation (dislocation) grâce à une molécule chaperon du RE: elles passent par le pore du translocateur pour gagner le cytosol. Ces protéines exposées dans le cytosol, sont déglycosylées, ubiquitinylées (l'ubiquitine est une molécule qui permet de cibler les protéines à dégrader) et dégradées dans les protéasomes (complexes protéolytiques).

## 4- Protéines résidentes du RE

Les protéines résidentes du RE sont des protéines qui restent dans le RE. Ces protéines contiennent au niveau de leur extrémité C- terminale, des signaux de rétention dans le RE, formés de quatre acides aminés [KDEL (K: lysine; D: acide aspartique; E: acide glutamique; L: leucine)] et qui sont responsable de leur maintien dans le RE. Cette séquence KDEL se fixe à un récepteur membranaire du RE (récepteur de KDEL) et maintient ainsi la protéine dans le RE. Certaines de ces protéines sont des catalyseurs qui aident les nombreuses protéines transloquées dans le RE à se replier et à s'assembler correctement.

Exemple de protéines résidentes du RE:

- la Disulfure Isomérase des Protéines (DIP).
- La protéine chaperon (BiP= Binding Protein).

## **Fonctions du REL**

### **1-Métabolisme des lipides**

La membrane du REL synthétise la majorité des principales classes de lipides, y compris les phospholipides et le cholestérol, nécessaires à la production de nouvelles membranes cellulaires.

La biosynthèse des lipides est catalysée par des enzymes de la membrane du RE dont le site actif fait face au cytosol ou se trouve tous les métabolites nécessaires.

Comme les molécules lipidiques ne sont ajoutées que sur la face cytosolique de la bicouche, un translocateur de phospholipides appelé scramblase bascule rapidement les phospholipides de tous types entre les monocouches de la bicouche.

### **2- Détoxification**

Le RE contient des enzymes qui catalysent une série de réactions qui permettent d'éliminer les molécules toxiques. Ces réactions de détoxification sont effectuées par les enzymes de la famille des cytochromes P450, qui catalysent une série de réactions permettant de solubiliser et d'excréter dans les urines, les drogues ou les métabolites insolubles dans l'eau, qui autrement s'accumuleraient jusqu'à atteindre des niveaux toxiques pour l'organisme. La détoxification se déroule essentiellement dans le foie, les reins, l'intestin, les poumons et la peau. Elle se fait en deux étapes. Au cours de la première étape, la molécule toxique est généralement hydroxylée. L'hydroxylation dépend du cytochrome P450, une protéine intrinsèque membranaire du REL qui est associée à un complexe transporteur d'électrons et dont le site actif est situé sur le versant cytosolique du REL. Pendant la seconde étape, la molécule toxique hydroxylée est transloquée vers la lumière du REL et y subit une réaction de conjugaison (généralement avec l'acide glucuronique:glucuronidation). Ainsi, l'augmentation de la solubilité de la molécule toxique facilite son élimination.

### **3- Stockage et libération des ions calcium**

Une autre fonction capitale du RE dans la plupart des cellules eucaryotes est de retenir le  $\text{Ca}^{2+}$  hors du cytosol. La libération du  $\text{Ca}^{2+}$  dans le cytosol à partir du RE et ensuite sa recapture est un processus qui se produit au cours de nombreuses réponses rapides à des signaux extracellulaires. Une pompe à  $\text{Ca}^{2+}$  transporte les ions  $\text{Ca}^{2+}$  du cytosol dans la lumière du RE. Une forte concentration de protéines liant le  $\text{Ca}^{2+}$  dans le RE facilite le stockage du  $\text{Ca}^{2+}$ . Les cellules musculaires ont un RE lisse modifié appelé réticulum sarcoplasmique. La libération et la captation du  $\text{Ca}^{2+}$  par le réticulum sarcoplasmique déclenche respectivement la contraction et la relaxation des myofibrilles au cours de chaque cycle de contraction musculaire.