

CYTOSOL

I. Caractéristiques du cytosol (= hyaloplasme)

Cytosol → cytoplasme sans les organites, fluide interne de la cellule, fraction soluble obtenue après fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle

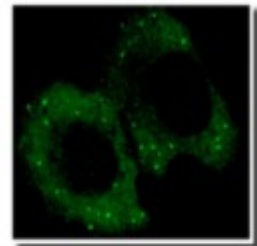
Compo :

- **85% d'eau** : milieu aqueux
- **pH = 7**, milieu **réducteur** : ne permet pas l'établissement de ponts disulfures ! (les Cys restent sous forme SH)
- **Viscosité > x4 eau** : « gel colloïde »
- **gaz dissout** : CO₂ + O₂
- **gradient osmotique** avec le milieu extra c
- ions : K⁺, Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺
- Molécules organiques : Protéines (**200mg/mL**), glucides, aa, nucléotides, ac. Nucléiques
- **Stockage** : Vésicules lipidiques + grains de glycogènes
- **Édifices macromoléculaires** : microtubules et cytosquelette

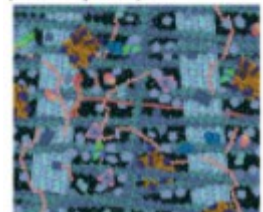
II. Organisation du cytosol

Le cytosol est :

- ME : **hétérogène**
- Organisé par le **cytosquelette**
- Gradient de concentration
- **Regroupement d'activités** : zones destinées à certaines fonctions



IF : Marquage cytoplasmique par immunomarquage d'une protéine cytosolique



III. Fonctions associées au cytosol = réactions cytosoliques

Réactions métaboliques : Carrefour métabolique :

- Métabolisme Glc
- Métabolisme glycogène
- Métabolisme aa
- Métabolisme protéines
- Synthèse AG et cholestérol

Transport cytosol/organites + stockage :

- Lipides, protéines, Nucléotides, ..
- Vésicules d'inclusion (lipides et granules de glycogène)

Transmission des signaux : MP → noyaux/organites

- Cascades de signalisation
- exemple de signalisation Ca^{2+}

A. Cytosol et métabolisme cellulaire

Cytosol = carrefour métabolique → réactions qui vont être entièrement cytosoliques et d'autres vont débuter ou finir dans le cytosol.

Rôle dans la régulation :

- **contrôle des flux** : substrats, produits, co-enzymes
ex : NADH produit au nv du cytosol et utilisé dans la mitochondrie : sans coenzyme pas de réaction
- **Séparation des réactions opposées** : la cellule ne synthétise et ne dégrade pas les mêmes produits dans les mêmes compartiments
ex : synthèse des AG dans le cytosol et dégradation dans la mitochondrie (B-oxydation et cétogénèse)

Dans la cytosol : Glycolyse + synthèse AG

Dans la mito : dégradation des AG (B-oxydation + cétogénèse)

B. Synthèse et dégradation des protéines

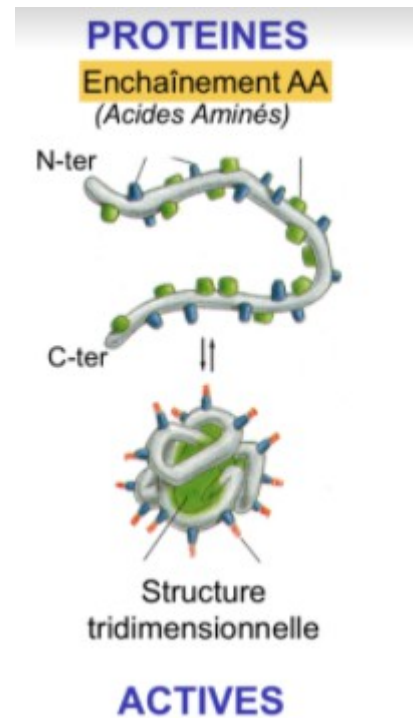
(1) Synthèse protéines = traduction grâce aux :

- Ribosomes (polysomes) dans le cytosol
- Ribosomes liées au REG dans la lumière du REG
- Mitoribosomes dans les mito

(2) le repliement :

- soit modification post-trad
- soit restent sur leur lieu de synthèse
- soit adressées à d'autres compartiments

(3) Dégradation



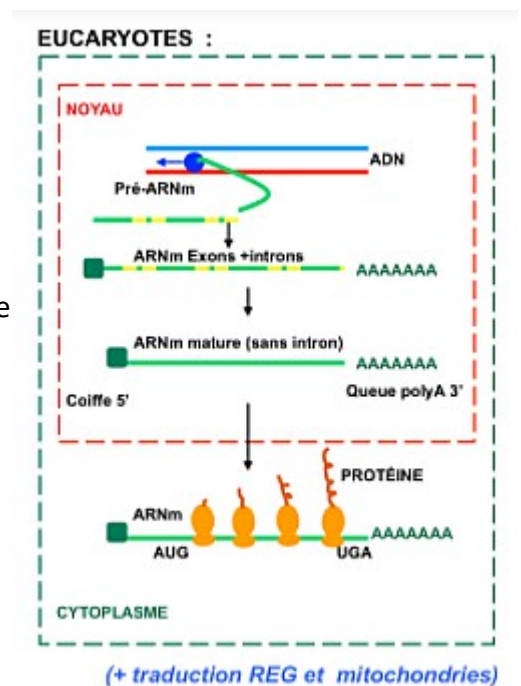
1. Synthèse des protéines : principe général

(1) ADN : noyau → transcription

- ARN pol ADN dep
- Facteurs de transcription

(2) ARNm : cytosol → traduction

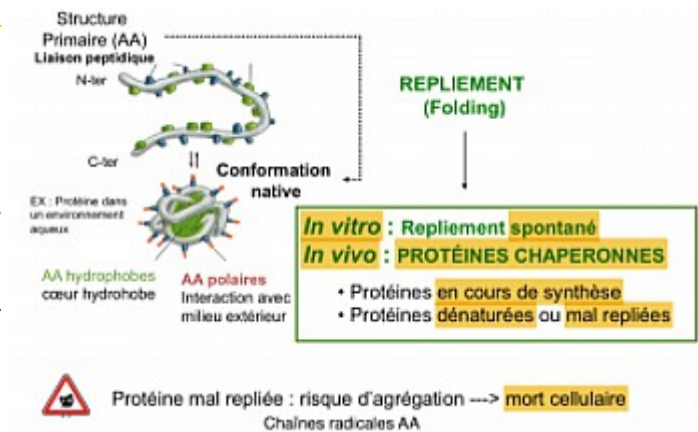
- Ribosomes (polysomes) libres ou associés à la Mb nucléaire ou à la mb de REG
- Facteurs de traduction
- ARNt + aa
- Code génétique (universel, dégénéré)
- NB : si ARNm mito : dans la mitochondrie



2. Acquisition de la conformation native des protéines

La protéine se replie (= Folding) sur elle-même pour former :

- un cœur hydrophobe (aa hydrophobes) pour échapper au cytosol hydrophile
- aa hydrophiles tournés vers l'extérieur



In vitro : repliement spontané car ne dépend que de la **séquence**

In vivo : il faut des **protéines chaperonnes** → favorisent l'acquisition de la conformation native

Protéine mal repliée = risque d'agrégation → signal de mort cellulaire !

Protéines chaperonnes = Protéines HSP

Famille des **HSP** (Heat Shock Protein) : découverte initialement après un choc thermique infligé à des cellules

Caractéristiques :

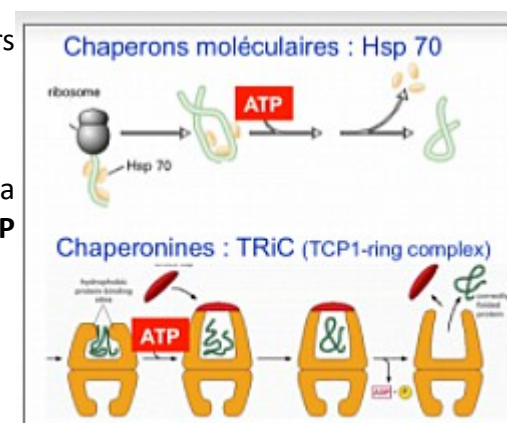
- **Conservées** au cours du temps : mécanisme fondamental pour la cellule
- Non-limitées au cytosol !
- **ATPases** : hydrolysent l'ATP → ont besoin d'nrj pour fonctionner
- Fonctionnent avec des protéines associées : **co-chaperonnes**
- Reconnaittent les **zones hydrophobes** sur les protéines qui doivent être repliées
- Permettent un **repliement correct** (activité, transport jusqu'au lieu d'utilisation)
- Coopération des différentes protéines chaperonnes :

→ **chaperons moléculaires** : se fixent **sur les polypep** en cours de **formation**

ex : HSP70

→ **chaperonines** : comportent un **cavité** où se dispose la protéine déjà synthétisée qui doit se replier, agitation grâce à l'**ATP** (shaker)

ex : TriC (TCP1-ring-complex)



3. Modifications post-traductionnelles des protéines

Modifications qui consistent à : régulation des protéines (activité, stabilité, adressage), effectuées par des enzymes.

Ex :

- élimination de la Met initiale
- clivages protéiques
- modification d'aa : phosphorylation, acétylation
- ancrages lipidiques : prenylation ou acylation
- ubiquitinylation
- N-glycosylation + création ponts disulfures (dans le REG), maturation de la N-glycosylation + O-glycosylation (App. De Golgi)

C. Cytosol et dégradation des protéines = catabolisme

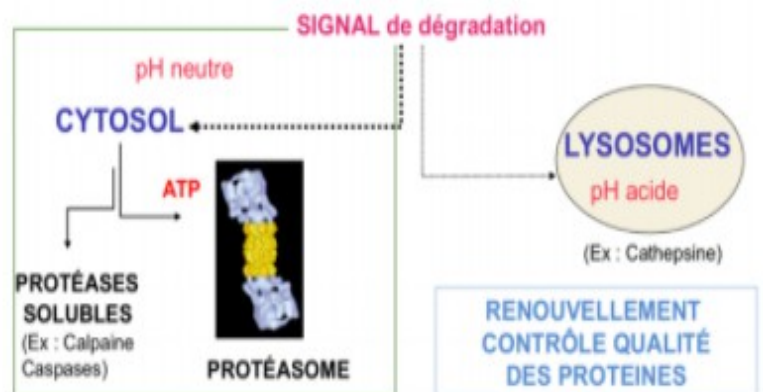
Protéolyse : protéases avec activité protéolytique

Quelles protéines sont dégradées ?

- protéines **normales** : durée de vie variable
- protéines **anormales** : mal conformées / altérées / anormalement exprimées / anormalement localisées
- protéines **exogènes** : virus / phagocytose et endocytose

Le signal de dégradation va entraîner les protéines vers les voie de dégradation :

- **lysosomes** (pH acide)
- **cytosol** (pH neutre)
 - par des **protéases solubles** : calpaïnes ou caspases
 - par le **protéasome** : nécessite de l'**ATP**



Les aa sont ensuite recyclés.

1. Les protéasomes

Responsables de la dégradation des protéines à **pH neutre** (cytosol), **ATP dep**, majoritairement cytosoliques

Le protéasome **26S** :

- **2 SU 19S**:partie **régulatrice**

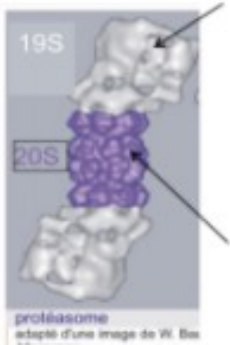
Reconnaissent les protéines à dégrader via signal de dégradation = chaîne **ubiquitine**

Fixation + dépliage (activité unfoldase) → besoin d'**ATP**

- **1SU 20S** : partie **catalytique** → dégradation des protéines en peptides

4 anneaux formant un tonneaux

3 activités protéolytiques : **capsase-like, chymotrypsine-like, trypsine-like**



2. Signaux qui déclenchent la dégradation

SIGNAL 1 : la protéine doit être dégradée

→ zones hydrophobes exposées : la protéine a échappé aux chaperonnes

→ Règle de l'aa N-term :

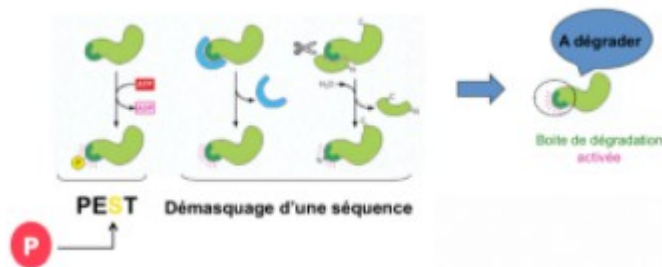
Soit stable → protéine stable, ne doit pas être dégradée

Soit **déstabilisant** (car aa N-term stabilisant coupé) → la protéine doit être dégradée

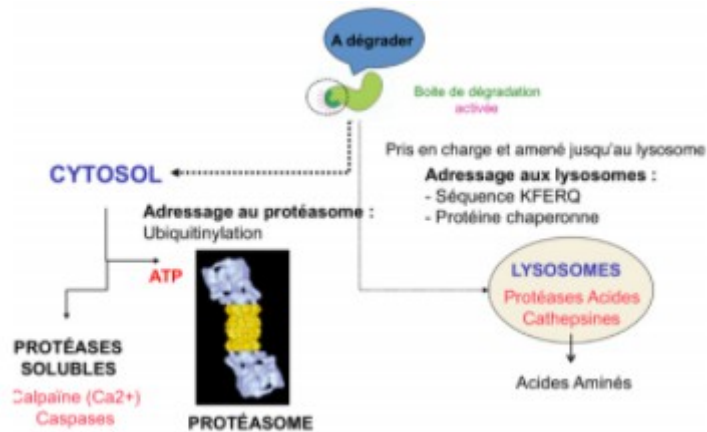
→ **Boîtes de dégradation activées** :

Phosphorylation (ex : Phosphorylation de la **Ser** sur la seq PEST)

Démasquage : ex : mise à jour d'une seq hydrophobe ou d'un aa déstabilisant



SIGNAL 2 : Adressage vers le système de dégradation



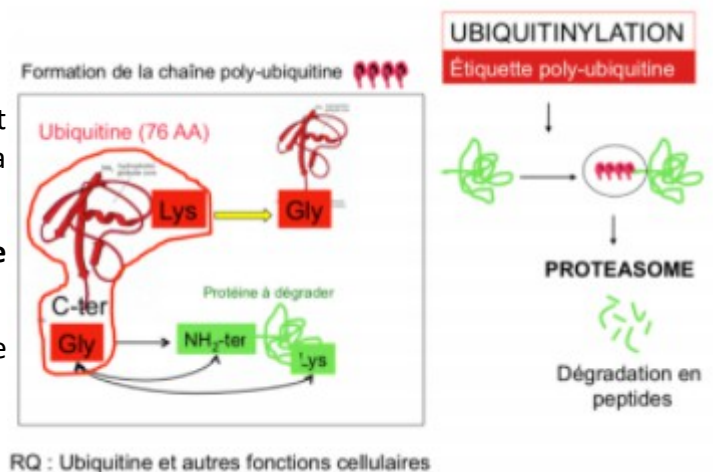
- Seq KFERQ → adressage au **lysosome** (protéases acides : Cathepsines)
- Seq reconnues par **protéases solubles** → adressage aux Protéases solubles : **calpaïne** (Ca^{2+}) ou **caspases** (mécanisme d'apoptose)
- chaîne d'ubiquitine = **ubiquitinylation** → adressage au **protéasome**

UBIQUITINYLATION :

Chaîne poly-ubiquitine → enchaînement d'ubiquitine qui va se lier sur les protéines à dégrader.

Fixation de la 1ère ubiquitine : **Liaison covalente** entre :

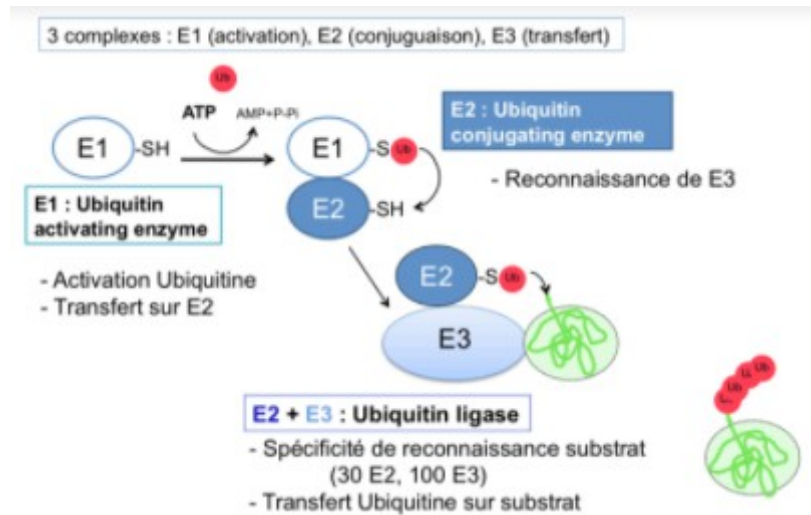
- le **N-term** protéine – **Gly** C-term de l'ubiquitine
- OU
- une **Lys** de la protéine – **Gly** C-term ubiquitine



Puis allongement de la chaîne d'ubiquitine : **liaison covalente entre Gly en C-term** (nvl ubiquitine)
– **Lys** (ubiquitine déjà fixée)

NB : L'ubiquitine a d'autres fonctions cellulaire

3. Mécanisme de l'ubiquitylation



3 complexes enzymatiques :

- **E1** : enzyme d'activation
- **E2** : enzyme de conjugaison
- **E3** : enzyme de transfert

NB : **E2 + E3 = Ubiquitin ligase**

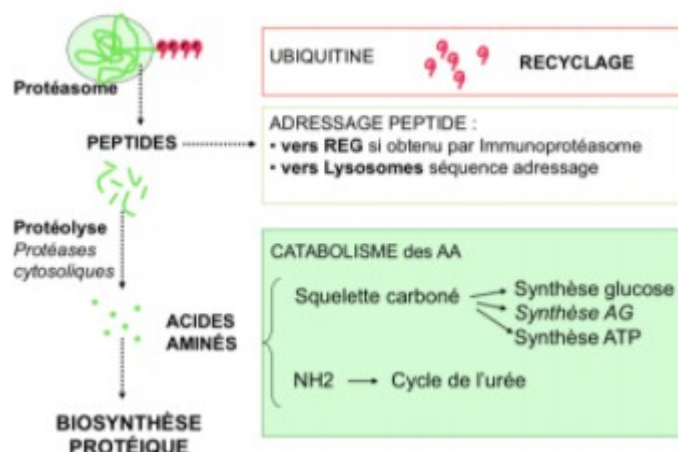
- (1) E1 active ubiquitine qui peut alors se fixer (liaison covalente) sur E1 : utilise **ATP**
- (2) E1 peut reconnaître E2 : transfert de l'Ub sur E2
- (3) E2-Ub peut reconnaître E3-protéine à dégrader
- (4) Transfert de l'Ub sur la protéine à dégrader
- (5) Ainsi de suite jusqu'à obtenir une chaîne d'Ub

Spécificité de reconnaissance du substrat car dans la cellule il y a 30 E2 et env 100 E3 → **complexe E2—E3 spécifique de la protéine à dégrader**

4. Dégradation des protéines: utilisation des produits

Par le protéasome :

- (1) Dégradation des protéines en peptides par le protéasome
- (2) Peptides dégradés par des protéases solubles
→ aa réutilisés pour la synthèse protéique (++)



Si adressé par **immunoprotéasome** : peptides vont au **REG** → **présentation Ag sur les mb c**

Si **seq d'adressage** : peptides vont vers les **lysosomes**

Si dégradation des aa :

- sque carboné récupéré (synthèse Glc/AG/ATP)
- NH₂ éliminé : cycle de l'urée

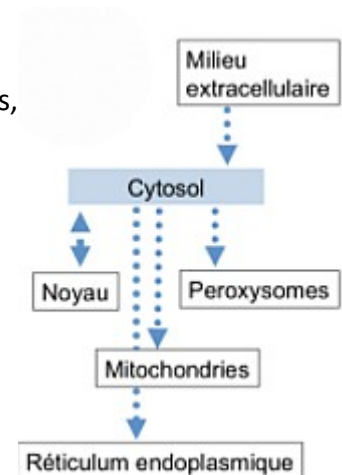
D. Cytosol et transports cytosoliques

Qui ?

- composés impliqués dans le métabolisme : Protéines, lipides, glucides, nucléotides
- composés et agents provenant du milieu extra c
- vésicules

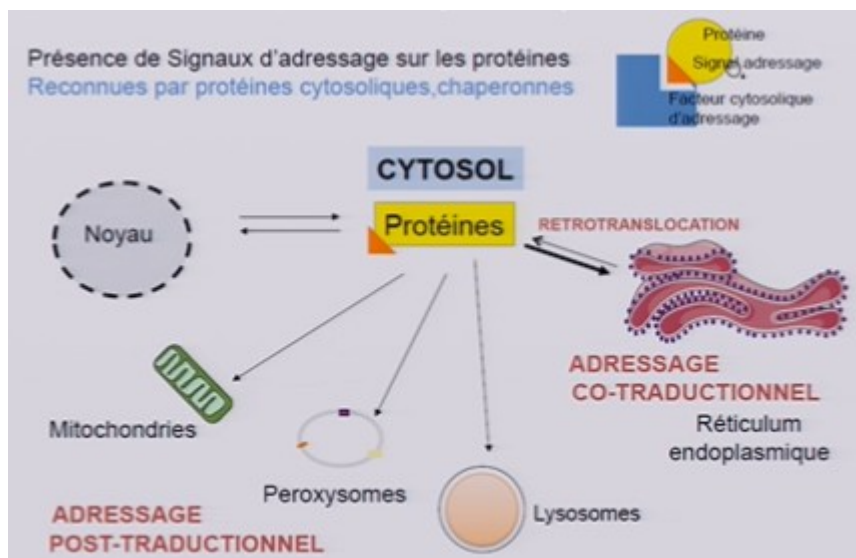
Comment ?

- signaux d'adressage
- Modif post-trad
- Facteurs cytosoliques : chaperonnes ou transporteurs spécifiques



Destination : partout dans la cellule

- Adressage **post-traductionnel** : noyau, mito, peroxysomes, lysosomes
- Adressage **co-traductionnel** : RE



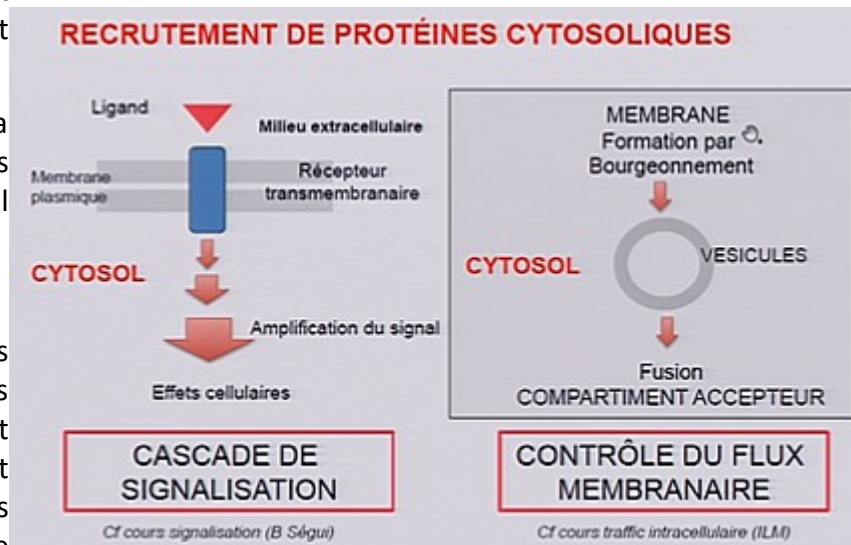
E. Cytosol et signalisation cellulaire

Un signal extérieur à la cellule crée des effets cellulaires.

Cascade de signalisation → Recrutement des protéines cytosoliques qui vont permettre la transmission des signaux.

Un ligand va se fixer sur son R_{tm}, ce R va transmettre l'info via des protéines cytosoliques, à chaque transmission d'info il y a **amplification** du signal.

Contrôle du flux mb → il y a des vésicules qui entrent ou sortent de la cellule. Les vésicules se forment par bourgeonnement et sont adressées vers un compartiment accepteur où elles vont fusionner. Les protéines cytosoliques vont contrôler ce mécanisme en intervenant dans la formation des vésicules ou qui vont participer à la fusion avec le compartiment accepteur.

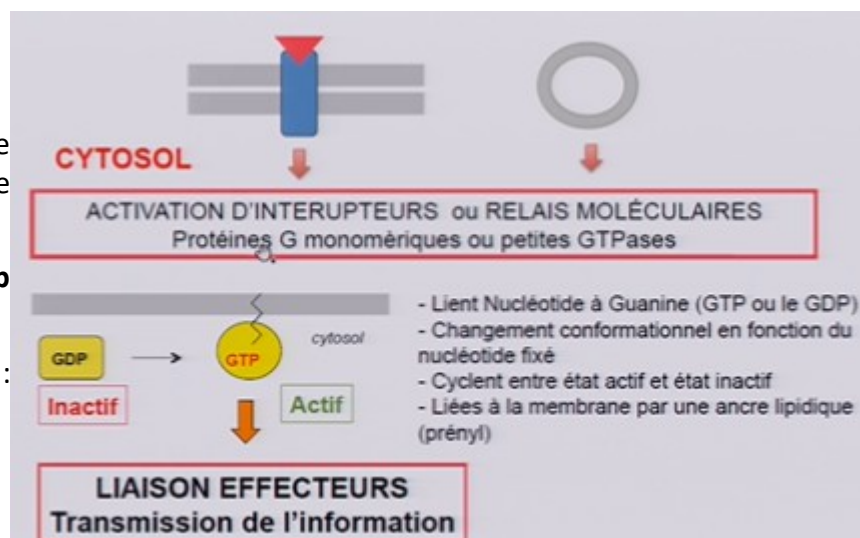


Exemple : Activation des Protéines G monomériques (GTPases)

Activation de protéines « interrupteurs » / relais moléculaires qui vont activer le signal (1er maillon des cascades) et dicter l'action des vésicules.

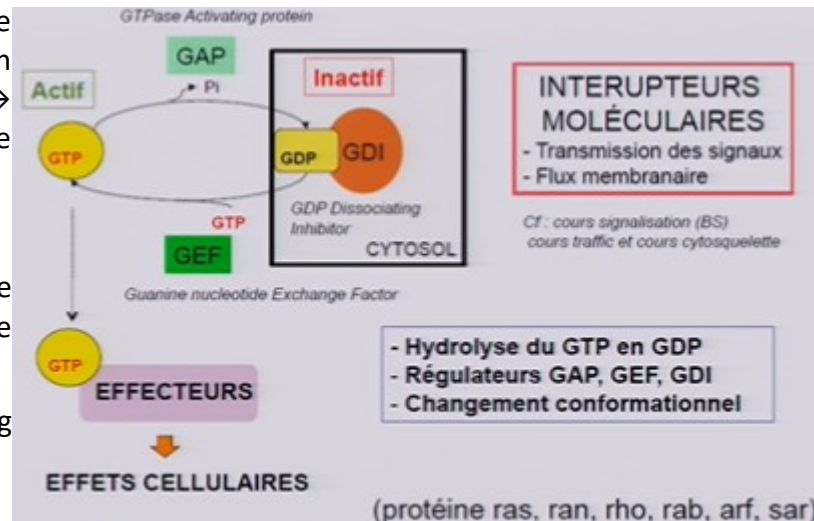
Caractéristiques :

- famille des GTPases = protéines G monomériques
 - petites
 - Soit **inactives** : liée à **GDP**
 - Soit **actives** : liée à **GTP**, capable de lier des effecteurs : transmission de l'information
- La plupart du temps liée à la mb par une ancre lipidique prényl
- Passage inactive ↔ active : changement conformationnel



Cycle d'activation des protéines G monomériques :

- (1) La protéine G monomérique sous forme **inactive** (liée à une GDP) est liée à un **GDI** (GDP Dissociating Inhibitor) → inhibe dissociation du GDP donc reste sous forme inactive
- (2) **Signal d'activation**
- (3) Recrutement de **GEF** (Guanine Nucleotide Exchange Factor) → échange GDP par GTP : protéine **active**
- (4) Recrutement **GAP** (GTPases Activating Protein) → **hydrolyse GTP en GDP**



Cycle régulé par protéine GAP, GEF et GDI.

Différentes protéines G monomériques :

- **Ras** : signalisation cellulaire
- **Ran** : transport au nv du noyau
- **Rho** : cytosque
- **Rab/Arf/Sar** : trafic intra c avec adressage/formation des vésicules

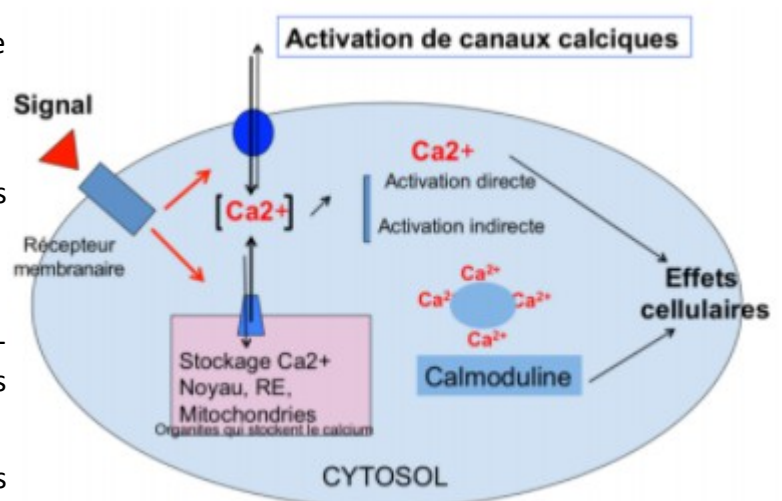
Exemple : Cytosol et voie de signalisation par les ions Ca^{2+}

Signal de l'extérieur via un R mb → aug de Ca^{2+} intra c via :

- **ouverture de canaux calciques**
- **déstockage** de Ca via les organites qui le stocke (noyau, RE ou mito)

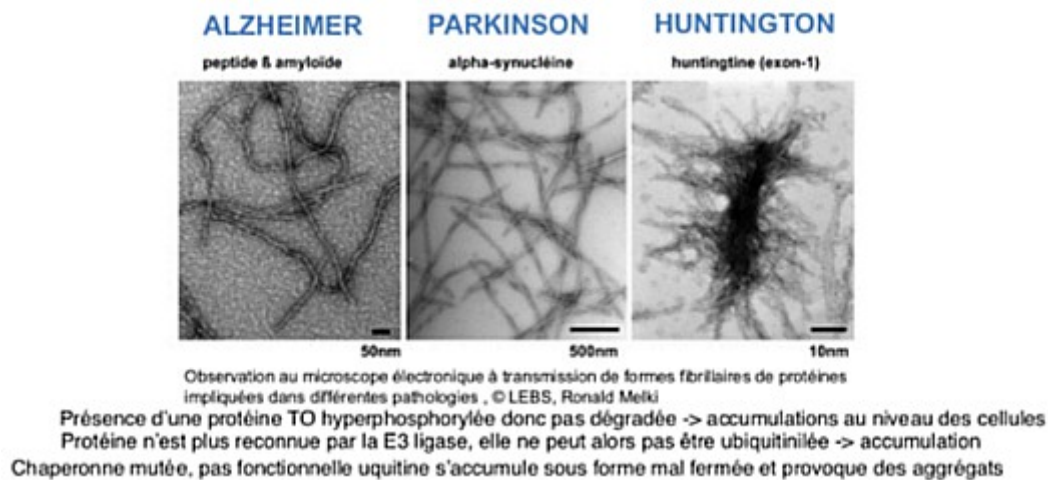
Si augmentation de la concentration Ca^{2+} cytosolique → provoque des effets cellulaires directs ou indirects :

- **directs** : **enzymes** directement activées par Ca élevé
- **indirects** : intervention de la **calmoduline** : complexe **calmoduline- Ca^{2+}** va activer des enz



IV. Patho associées au cytosol

A. Défaut au nv de la dégradation des protéines



Maladies **neurodégénératives**.

Dans les 3 cas, les protéines vont s'accumuler sous forme agrégée dans le cytoplasme → protéines non-dégradées par le protéasome car :

- soit protéines non-ubiquitinylée
- soit résistantes à la dégradation

ex : Parkinson

Protéine qui s'accumule : alpha-synucléine, car mutation dans une E3 ubiquitine ligase

B. Utilisations thérapeutiques associées au cytosol

- **Bortezomib** : inhibiteur protéasome, TT anti KC (myélomes multiples)

Inhibition protéasome → apoptose → mort cellulaire

Blocage de la voie Nf κ B → inhibe dégradation I κ B

→ la cellule ne survie pas

- **Geldanamycine** (ATB) : inhibe chaperonne Hsp90, TT anti KC

Hsp90 sur-activée dans les cellules kc : protéines de prolifération + favorise la migration