

L'endocytose

Toutes les cellules eucaryotes, sauf les hématies, capturent des molécules extracellulaires en les englobant dans des vacuoles ou des vésicules. Ces vacuoles/vésicules proviennent de la membrane plasmique par un mécanisme appelé endocytose.

Les cellules utilisent l'endocytose pour se nourrir, se défendre et préserver leur homéostasie

Deux catégories d'endocytose

L'endocytose a été divisée en deux catégories:

- **La phagocytose** pour la capture des particules de grandes tailles que la cellule intègre dans de volumineux phagosomes
- **La pinocytose** pour la capture de substances fluides et de solutés de petite taille

L'endocytose est une activité majeure de certaines cellules

Dans les macrophages et les polynucléaires neutrophiles, l'endocytose est une activité très importante. Ces cellules assimilent toutes les heures l'équivalent de leur surface membranaire. Lorsqu'on met des petits bouts de papier pH auprès de macrophage, la couleur du papier vire dans les vésicules démontrant que le milieu interne de ces vésicules est acide.

Endocytose : pourquoi ?

La plupart des phénomènes d'endocytose consistent à capturer sélectivement des ligands qui se lient avec une affinité élevée à des protéines de la membrane plasmique avant d'être internalisés.

Au cours de cette endocytose médiée par un récepteur les complexes ligand-récepteur se concentrent dans des régions de la membrane qui s'invaginent en vésicules dans la cellule.

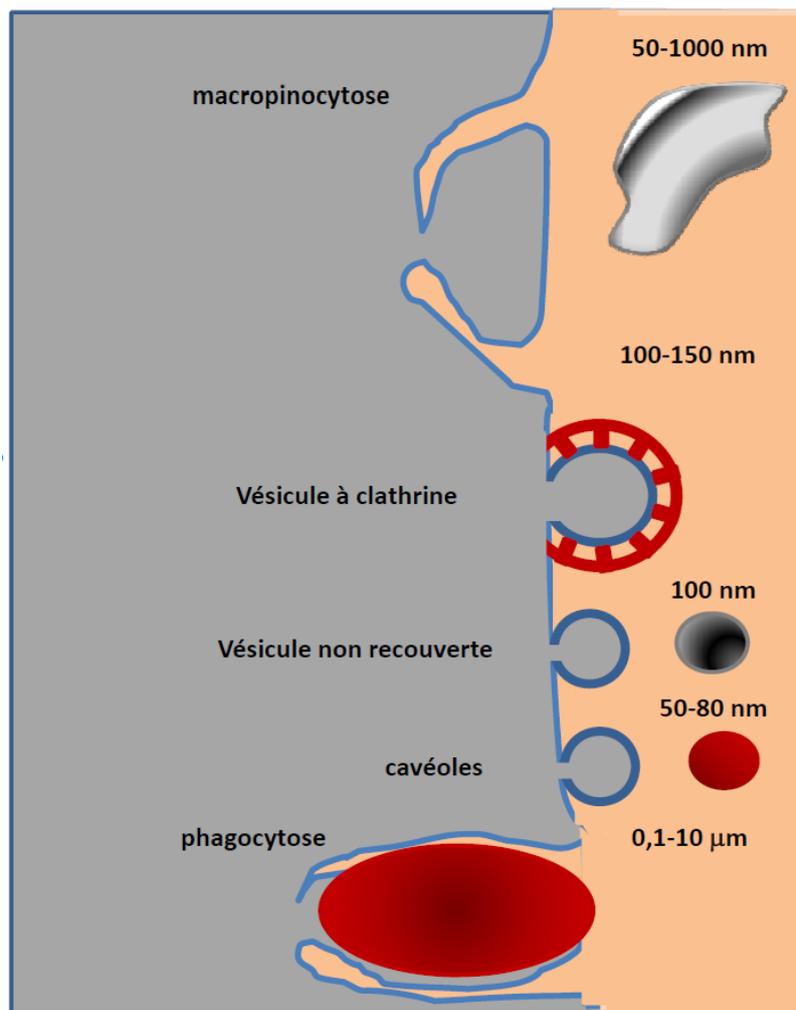
D'autre part la cellule peut englober du liquide du milieu extracellulaire de façon non sélective par pinocytose ou encore par macropinocytose.

Vésicules impliquées

En fonction du type cellulaire, plusieurs types de vésicules participent à l'activité globale d'endocytose:

- **Les vésicules de clathrine, les vésicules de pinocytose non recouvertes et les cavéoles** qui sont de petite taille (50 à 150 nm de diamètre)
- **Les phagosomes et les macropinosomes** sont volumineux (plusieurs centaines de nm de diamètre)

Les différentes formes d'endocytose



La phagocytose

La phagocytose n'est présente que dans les cellules mobiles telles que les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. C'est un des systèmes de défense contre les organismes étrangers. Par un mécanisme médié par un récepteur l'agent pathogène va être englobé par la membrane cytoplasmique.

Mécanisme de la phagocytose

La phagocytose comporte 4 étapes:

- La fixation
- L'enveloppement
- La fusion
- La dégradation

Elle est facilitée par des molécules que l'on a regroupées sous le nom d'**opsonines** qui se fixent sur les substances étrangères et les marquent pour qu'elles soient reconnues.

Phénomènes externes de la phagocytose

Les macrophages utilisent des récepteurs spécifiques comme les récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines qui reconnaissent les domaines constants des immunoglobulines. L'incorporation dans la cellule nécessite de l'énergie qui est obtenue lors de la fixation du ligand sur son récepteur. Cette liaison déclenche une cascade de transduction notamment de phosphorylations (GTPase en particulier).

Phénomènes cytoplasmiques liés à la phagocytose

Sur le versant cytoplasmique de la membrane, ces signaux déclenchent des réarrangements du réseau d'actine, à proximité du site de liaison ligand-récepteur, permettant ainsi une extension de la membrane autour de la particule.

De proche en proche la particule est ainsi entourée par la membrane plasmique.

Des moteurs de myosine associés à l'actine permettent d'englober la particule dans une vacuole de phagocytose (phagosome).

Les filaments adjacents d'actine doivent se dissocier pour que les protéines motrices microtubulaires puissent véhiculer le phagosome vers l'intérieur de la cellule.

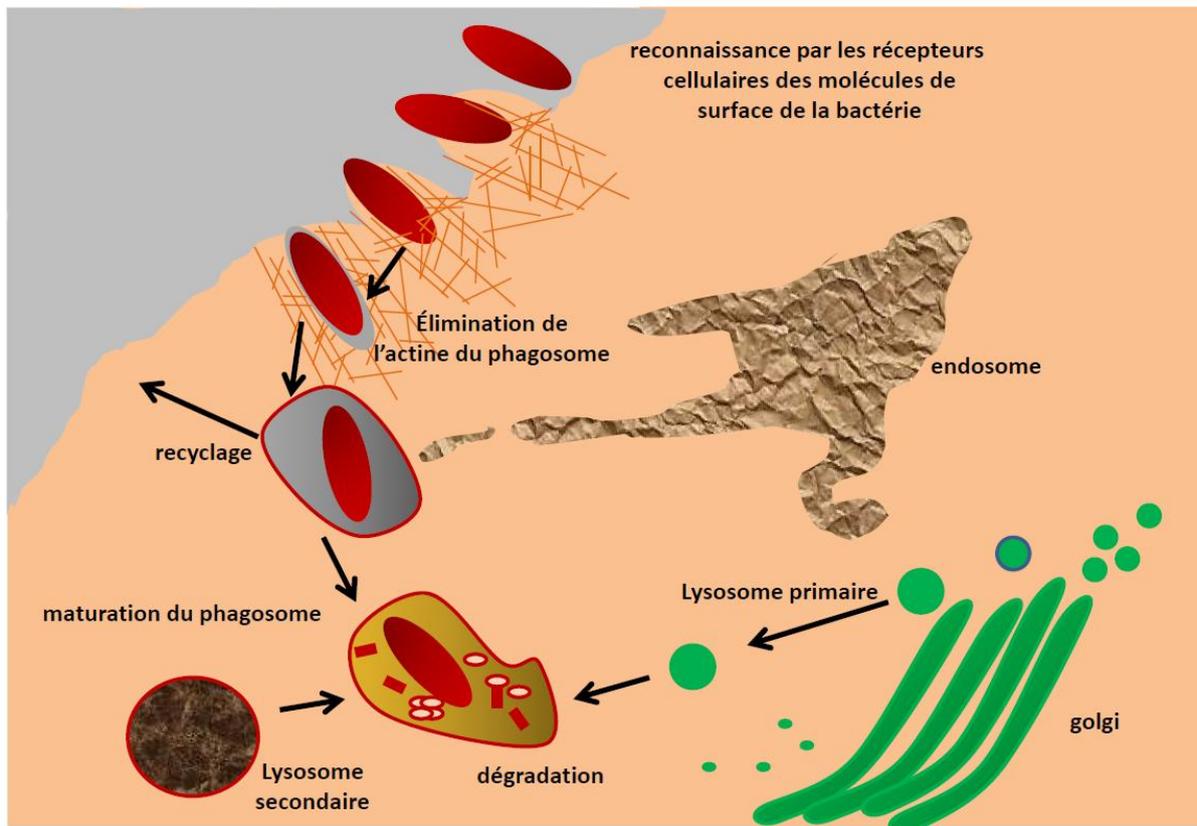
Maturation du phagosome et son devenir

Au cours de la maturation du phagosome les protéines de la membrane cytoplasmique sont éliminées pour laisser la place à une machinerie de ciblage et de fusion spécifique des endosomes. Ce processus appelé maturation prépare la fusion du phagosome avec les lysosomes.

Cette fusion donne naissance à un phagolysosome où les hydrolases vont dégrader la particule ingérée.

Certains des produits de la digestion peuvent être réutilisés par la cellule (acides aminés, lipides, glucides...).

Les substances non dégradées restent séquestrées dans le lysosome pour former un corps résiduel.



Élimination intracellulaire des organismes envahisseurs

Lors d'une infection bactérienne ou parasitaire, ces organismes sont exposés :

- Au pH très acide du phagolysosome
- À l'effet d'agents oxydants très toxiques produits par la forme réduite de la NADPH oxydase située dans la membrane du phagosome
- Aux protéases et hydrolases acides du phagolysosome

Ils sont aussi dépendants de petits peptides appelés **défensines** qui désorganisent la membrane bactérienne.

La pinocytose

L'endocytose dépendante de la clathrine

Elle est utilisée par toutes les cellules eucaryotes pour:

- Assimiler des nutriments essentiels comme le fer ou le cholestérol
- Pour éliminer du milieu extracellulaire des produits potentiellement toxiques

Des récepteurs de la surface membranaire **concentrent les ligands du milieu liquide environnant**. L'endocytose dépendante de la clathrine se fait dans des régions particulières de la membrane plasmatique appelées **puits** qui sont tapissés par un réseau protéique constitué de **triskèles** de clathrine et de molécules d'adaptation.

Une fois les complexes ligand-récepteur concentrés au niveau des puits, ceux-ci s'invaginent et se détachent pour donner des vésicules à clathrine qui véhiculent leur chargement dans la vésicule. Les vésicules à clathrine participent aussi au recyclage de vésicules synaptiques après la libération des neurotransmetteurs.

Les constituants du revêtement de clathrine

La clathrine est utilisée dans de nombreux sites de formation de vésicule comme le réseau transgolgien et les endosomes.

Elle est constituée de 3 chaînes lourdes de 190 kD, chacune d'elle étant associée à une chaîne légère de 30 kD dont il existe 2 types: LCa et LCb.

L'hexamère ainsi constitué porte le nom de **triskèle**.

Dans certaines conditions les triskèles de clathrine peuvent s'auto-assembler pour former des cages ressemblant à des ballons de football, la clathrine correspondant aux coutures.

L'assemblage spontané de la clathrine provoquerait l'inflexion de la membrane et la création d'une vésicule.

La spécificité du ciblage des vésicules de clathrine

Elle est due aux **protéines d'assemblage ou d'adaptation (AP)** (adapter protein) qui entrent dans la composition du revêtement.

Les AP sont des hétérotétramères composées de :

- 2 polypeptides différents appelés adaptines de 100kD environ
- D'une chaîne moyenne (appelée μ) de 50 kD;
- D'une chaîne plus petite (appelée σ) de 20kD.

Spécificité des vésicules à clathrine

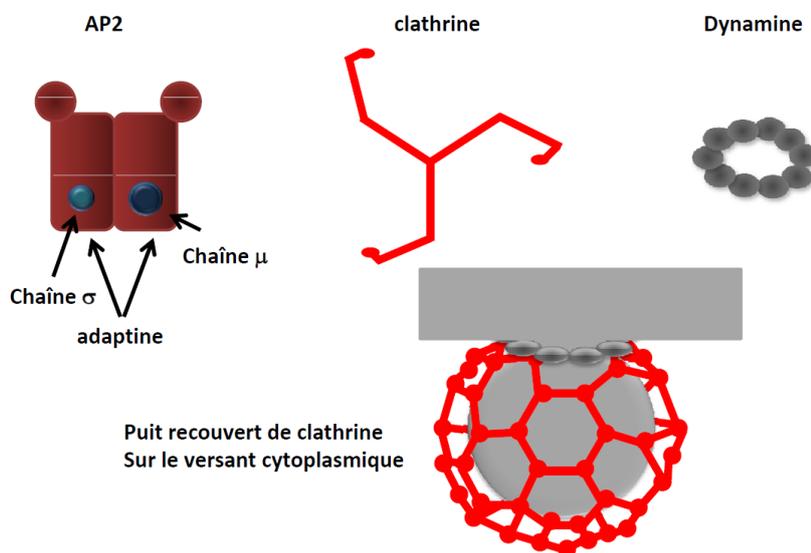
Quatre complexes AP différents (AP1, AP2, AP3 et AP4) ont été identifiés dans les cellules de mammifères:

- Les complexes AP1 et AP3 médient le trafic vésiculaire entre le transgolgie et les endosomes
- Le complexe AP2 participe à la constitution des vésicules de clathrine à partir de la membrane plasmique

Le ciblage des complexes AP est médié par l'une des sous unités d'adaptine:

- L' α -adaptine spécifique de AP2 cible ce complexe sur la membrane plasmique
- La sous-unité γ spécifique de AP1 cible le complexe vers le transgolgie
- Les sous unités μ des complexes AP interagissent directement avec les motifs de tri et concentrent les récepteurs dans des puits recouverts

Les constituants des vésicules à clathrine



La concentration des récepteurs dans les puits recouverts

L'endocytose dépendante de la clathrine commence par le recrutement et l'assemblage des complexes AP2 sur la membrane plasmique. Cette activité est dépendante de GTPases.

Les complexes AP2 recrutés se regroupent et déclenchent l'assemblage de la clathrine.

Les récepteurs impliqués dans l'endocytose ont tous au moins **un segment transmembranaire et un motif d'internalisation** situé sur leur domaine intracytoplasmique.

Le récepteur des LDL et le récepteur de la transferrine sont des récepteurs qui sont internalisés de façon constitutive qui se concentrent dans les puits de clathrine.

La dynamine et le bourgeonnement des vésicules recouvertes

L'assemblage du revêtement de clathrine et l'apparition de sites d'interaction entre récepteurs et constituants du revêtement déforment la membrane plasmique sous jacente pour donner naissance à un puit profond.

Cette activité nécessite de l'énergie qui est fournie par l'ATP, le GTP et des protéines accessoires.

La dynamine, une GTPase de 100 kD, s'auto assemble après son association au GTP en un anneau hélicoïdal autour du collet du puit. Cet anneau va permettre la constriction du collet du puit et la libération de la vésicule dans le cytoplasme.

La fonctionnalité de la dynamine dépend de sa liaison au phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate et d'une autre protéine, l'endophiline qui catalyse l'acylation de l'acide lysophosphatidique.

La perte du revêtement de clathrine

Peu après son internalisation, la vésicule perd son revêtement de clathrine ce qui permet de recycler les constituants du revêtement et libère la vésicule qui va fusionner avec l'endosome.

L'**Hsp70**, une protéine chaperone et de choc thermique catalyse l'élimination des triskèles de clathrine.

L'**auxiline**, spécifique des vésicules provenant du cerveau facilite la libération de clathrine par l'Hsp 70 comme la synaptojanine qui est une phosphatidyl inositol-5-kinase.

Le taux d'endocytose par les puits à clathrine

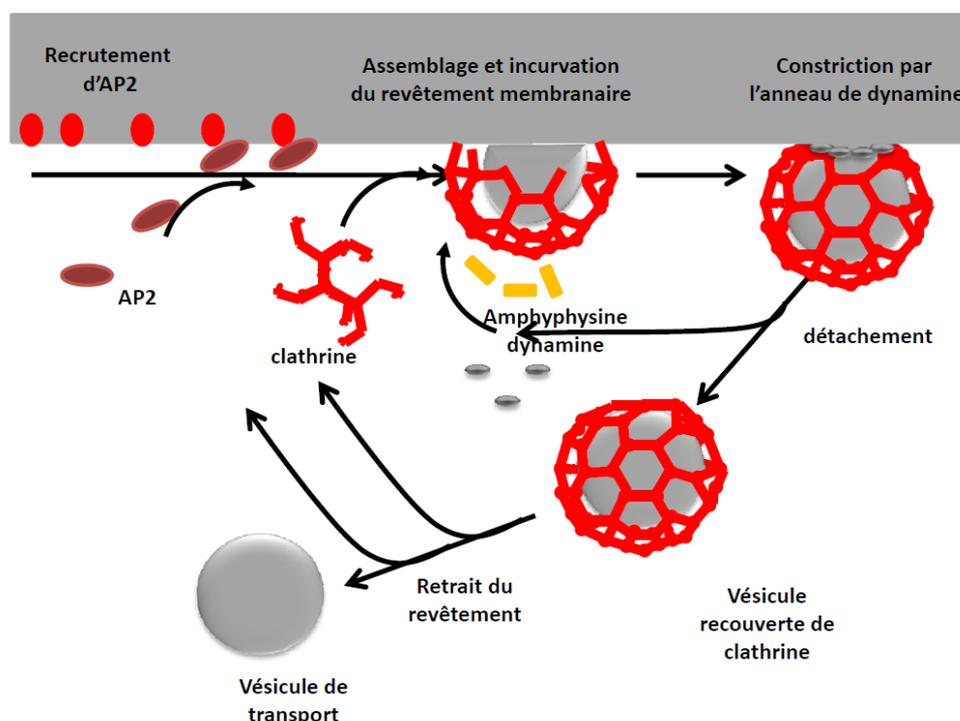
Chaque cellule de vertébré comporte plusieurs types de récepteurs de surface à des concentrations de 5 000 à 500 000.

Le même puit peut être utilisé par plusieurs types de récepteur

Les puits recouverts de clathrine occupent en général 1 à 2% de la superficie de la membrane plasmatique.

Chaque bourgeonnement vésiculaire se déroule en 1 minute environ.

Selon la concentration en complexe récepteur de surface-ligand, 20 à 40% des récepteurs peut être internalisé chaque minute.



Cavéoles/vésicules plasmiques

Les vésicules plasmiques ou cavéoles sont des invaginations piriformes de petite taille (50 nm) qui occupent plus de 10% de la surface cellulaire des cellules endothéliales.

Leur rôle est le transport de substances du plasma vers les tissus à travers l'endothélium

Elles sont constituées par l'auto assemblage d'une petite protéine de PM 22kD appelée **cavéoline**

Cette protéine se caractérise par une grande affinité pour le cholestérol.

Les cavéoles sont riches en cholestérol et en glycosphingolipides et constituent un ensemble particulier des **radeaux lipidiques** de la membrane plasmique.

Les cavéoles bourgeonnent à partir de la membrane plasmique pour former des vésicules de transport.

La vitesse et le pourcentage d'endocytose effectués par les cavéoles sont largement inférieurs à celui des vésicules bordés de clathrine.

Outre leur participation dans la transduction des signaux et la transcytose, les cavéoles interviennent dans d'autres activités:

- Le transport rétrograde vers le réticulum endoplasmique et le golgi
- La potocytose qui est une fermeture transitoire des cavéoles pour permettre l'acidification de leur contenu
- Le maintien des taux cellulaires de cholestérol par les voies de transport intracellulaire et son exportation vers les lipoprotéines sériques.

Autres types de pinocytose

Les cellules internalisent en permanence du liquide extracellulaire sans en concentrer les molécules. Il peut s'agir des vésicules à clathrine et de la macropinocytose.

La macropinocytose est constitutive dans certaines cellules comme les cellules thyroïdiennes qui captent la thyroglobuline et les cellules dendritiques qui prélèvent des volumes de liquide extracellulaire pour la surveillance immunitaire.

Endosomes et voie d'endocytose

Les vésicules de pinocytose, issues des voies dépendantes ou indépendantes de la clathrine fusionnent avec les éléments du compartiment endosomal.

Les endosomes constituent les principaux compartiments de tri de la voie d'endocytose.

Les endosomes se caractérisent par une structure pléiomorphe composée d'un ensemble de vésicules, vacuoles (s'engagent dans la maturation), tubules (recyclage sur la membrane plasmique) et corps multivésiculaires.

On décrit 4 classes d'endosomes

- Les protéines nouvellement internalisées sont acheminées vers les **endosomes précoces ou de tri**, proche de la membrane plasmique et qui se présente comme un réseau de tubules et de vacuoles
- Les récepteurs qui doivent retourner à la surface de la membrane cytoplasmique sont accumulés dans des **endosomes de recyclage** qui sont des structures tubulaires situées dans le golgi périnucléaire
- Les vacuoles ou les vésicules endosomales de transport se détachent de l'endosome précoce pour acquérir progressivement des vésicules membranaires internes. Ces éléments sont appelés **corps multivésiculaires**
- Ces corps multivésiculaires évoluent pour donner des **endosomes tardifs**

Acidification des endosomes et le tri des protéines

La lumière de l'endosome est acidifiée par une pompe à protons, l'ATPase vacuolaire situé dans la membrane de l'endosome.

Le pH des endosomes passent progressivement de 6,5 dans les endosomes précoces à 5,0 dans les endosomes tardifs.

Les interactions de nombreux ligands avec leur récepteur sont sensibles au pH. Lorsque les complexes récepteur-ligand atteignent le seuil de pH de leur dissociation, le ligand est libéré dans la lumière de l'endosome alors que le récepteur reste lié à la membrane.

Les ligands solubles s'accumulent dans la vacuole endosomale tandis que les récepteurs vont dans les segments tubulaires.

Selon la chronologie de la dissociation des récepteurs de leur ligand ceux ci peuvent être véhiculés jusqu'à la membrane plasmique ou bien vers le transgolgi.

Les segments vacuolaires, par contre, sont directement matures et fusionnent avec les lysosomes où leur contenu est dégradé.

Le recyclage des récepteurs et endosomes

L'ensemble des constituants membranaires est internalisé à un taux de 2% /mn alors que celui des récepteurs de nutriments peut dépasser 20%/mn.

Les protéines de la membrane dont la demi-vie est de 20h ou plus doivent donc être recyclées de façon efficace.

Plus de 90% des protéines ou des lipides de surface sont rapidement recyclés au niveau des endosomes précoces par le biais des tubules ou indirectement par des endosomes de recyclage

Les récepteurs dirigés vers les lysosomes restent dans les structures vacuolaires.

Le tri des récepteurs à recycler se fait progressivement durant la maturation des endosomes et par la machinerie cytoplasmique qui récupère les récepteurs à recycler.

Les endosomes tardifs et les corps multivésiculaires

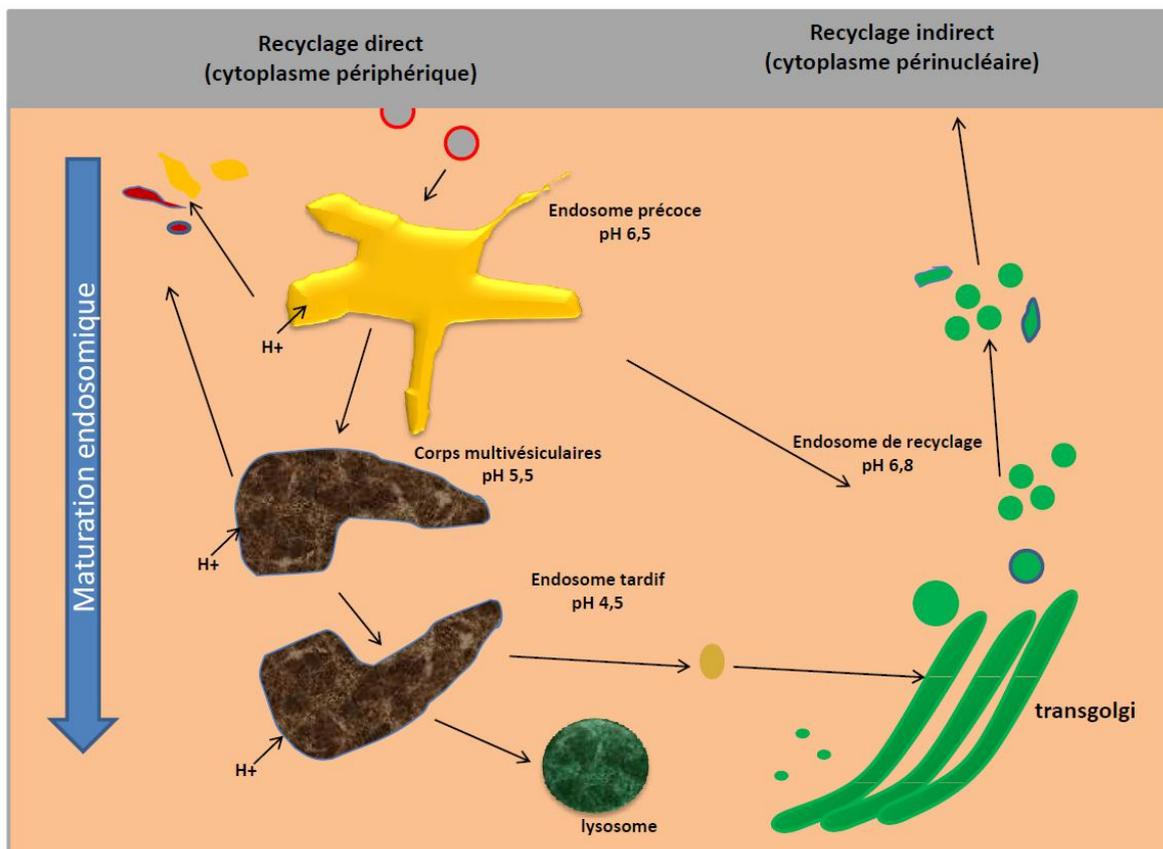
Après la dissociation des tubules de recyclage, la partie vacuolaire des endosomes va migrer le long des microtubules vers la région périnucléaire.

Les vacuoles accumulent des petites vésicules et des tubules dans leur lumière par invagination de leur membrane. Ce sont les corps multivésiculaires qui perdent progressivement les marqueurs restants de la membrane plasmique et les récepteurs incorporés par erreur.

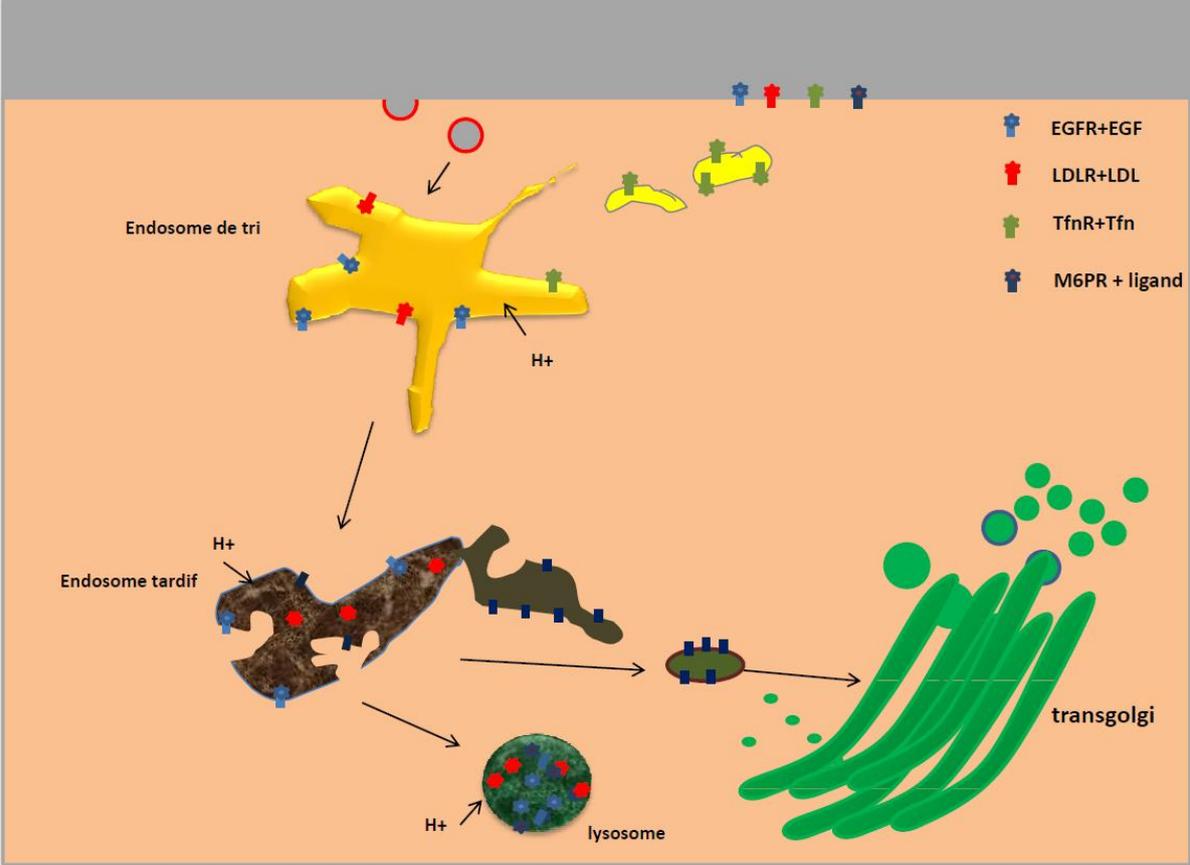
Ils acquièrent progressivement des hydrolases lysosomales en incorporant les vésicules qui proviennent du transgolgi et deviennent des endosomes tardifs.

Les endosomes tardifs ont sur leur membrane interne de nombreux récepteurs du mannose -6-phosphate qui véhiculent les enzymes lysosomales.

Puis les endosomes tardifs vont fusionner avec les lysosomes.



La diminution progressive du pH facilite le tri des protéines dans les endosomes



Virus et toxines protéiques sont des ligands opportunistes d'endocytose

Certains **virus encapsidés** pénètrent dans la cellule en se liant à des protéines membranaires qui sont internalisées par endocytose. Dans la lumière de l'endosome les protéines de la capsid virale vont subir des modifications dépendantes du pH et qui permettent leur insertion dans la membrane de l'organe. La nucléocapside est alors face au cytoplasme dont elle peut utiliser la machinerie pour se répliquer.

Les bactéries et les plantes secrètent des **substances toxiques** qui lysent les cellules eucaryotes. Ces toxines ont des chaînes B qui se lient à des récepteurs de surface membranaire. Les toxines sont alors internalisées par endocytose et la sous unité A qui possède une activité biologique va être libérée dans le cytoplasme ou elle va bloquer certains métabolismes nécessaires à la survie de la cellule.

