

Introduction au transport intracellulaire

Le cours de cette année a pour thème le transport dans la cellule et l'étude des compartiments cellulaires qui sont impliqués dans le transport. La physique qui régit ces phénomènes est la physique du transport (actif et passif), celle des moteurs moléculaires et celle des membranes.

Je voudrais dédié ce cours à la mémoire de Wolfgang Helfrich décédé au mois de septembre et qui est le fondateur de la physique théorique des membranes (figure) et plus globalement un des fondateurs de la physique de la matière molle. Je veux aussi remercier les collègues avec qui j'ai discuté pour préparer ce cours B. Goud, P. Sen, A.-R. Thiéry et J. Tavaré.

L'image qui vient en tête quand on parle de transport cellulaire est celle du transport axonal qui est assuré par le mouvement de moteurs moléculaires le long des microtubules des axones, tous orientés dans la même direction et qui servent de "rail" pour le transport. Un exemple est montré dans le film de *Vossel et al.*⁽⁴⁾ Il y a transport dans les deux directions, antérograde à partir du corps cellulaire et rétrograde avec des moteurs différents : les kinesines et les dynames qui marchent vers les extrémités⁺ et - des microtubules. Le matériel biologique est transporté dans des vésicules liées aux moteurs. Les croisements entre moteurs et leurs interactions jouent un rôle des embouteillages (aux conséquences dramatiques) étudiés par exemple par *L. Goldstein*, *Cours 3*.

Un autre exemple de transport unidimensionnel est celui du transport intraflagellaire qui permet d'assurer le croissances des vésicules à la surface des cellules *W. Marshall (2017)*, *Houdusse (Stéphanie)*, *Miyoshi et al.*⁽⁵⁾

Dans ce cours nous n'étudierons pas en détail le fonctionnement des moteurs moléculaires ni ce transport unidimensionnel mais le transport dans le cytoplasme des cellules animales.

Il existe deux mécanismes extrêmes de transport dans la cellule⁽¹⁾, le transport diffusif et le transport actif par des moteurs moléculaires. La viscosité d'une cellule est de l'ordre de 10 fois celle de l'eau et le coefficient de diffusion d'une petite protéine est de l'ordre de $1 \mu\text{m}^2/\text{s}$. La protéine diffuse sur $1 \mu\text{m}$ en 1 s. La vitesse typique des moteurs moléculaires est de $1 \mu\text{m/s}$. Les transports diffusif et actif ont donc la même

même efficacité pour des petites molécules sur $1\mu m$. Pour un objet plus gros (vésicule) ou sur des distances plus grandes (taille de la cellule), le mouvement collectif est plus efficace. Cependant à cause de la proximité finie des moteurs, le transport est moins ballistique à temps court et diffusif à temps long. On parle de marche aléatoire persistante (voir le modèle pour les particules actives). **ajouter figure au tableau**. Si t grand $v t > \sqrt{D t}$

Dans une cellule, les gènes sont transcrits dans le noyau et les ARN messagers sont exportés dans le cytoplasme où ils sont traduits par le ribosome soit dans le cytosol, soit dans le réticulum endoplasmique (ER). Les protéines traduites dans le ER sont transportées ^{dans des vésicules} vers l'appareil de Golgi qui agit comme le "centre de tri" de la cellule et sont adressées vers les sites où elles sont actives, membrane plasmique ou compartiment cellulaire. Ce transport antérograde est appelé la voie de sécrétion **figure de princiotti**. Il y a aussi un transport rétrograde des molécules ou objets exportés dans la cellule vers l'intérieur de la cellule. (transport dans des vésicules liées à des molécules)

Ce sont ces deux processus de transport que je veux discuter dans ce cours de mon point de vue de physicien. Le sujet est extrêmement vaste et a des aspects biologiques très subtils. Je me limiterai à certains aspects physiques en introduisant les éléments biologiques nécessaires et en essayant de ne pas trop simplifier.

I - Réticulum Endoplasmique et appareil de Golgi

1 - Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique a été découvert par **Porter, Claude et Fullam** en 1948. Ils ont observé des structures vésiculaires de 100 à 150 nm, riches dans un "réticulum membranaire". C'est un compartiment cellulaire qui est une structure membranaire continue qui sépare l'espace central du cytosol et qui est continue avec la membrane nucléaire **figure Palade**. Il a plusieurs fonctions

- Synthèse des protéines : les protéines membranaires et les protéines de sécrétion (enzymes digestives, hormones, protéines de la matrice extracellulaire, anticorps, cytokines) $\leq 50\%$ des protéines. Les autres protéines sont synthétisées dans le cytosol (ribosomes, facteurs de traduction, enzymes métaboliques) 50 à 70%.

- régulation du calcium, la concentration dans l'ER est maintenue constante par des pompes à calcium

- Synthèse des lipides : phospholipides (membrane) et lipides neutres (triglycérides et stérol-esters) en grande partie pour le métabolisme

Il y a 2 régions dans le ER. Le réticulum rugueux est couvert de ribosomes pour la synthèse de protéines ^{magn. pers} autour du noyau et le réticulum lisse ^{lisses} plus loin du noyau sans ribosomes (réticulum lisse)

La membrane du ER est liée à la membrane nucléaire par des structures tubulaires et membranaires. Les sites de sortie du ER sont des structures spécifiques où les protéines (ou autres objets) sont exportés vers Golgi par bourgeonnement de vésicules. L'ER est traversé par des microtubules qui assurent le transport des vésicules avec des moteurs. Cours 4

2. Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi a été découvert en 1898 par Golgi en étudiant des cellules nerveuses par une méthode pas très contrôlée "black reaction method" ^{figure Marzella et al.}. Son existence en fut controversée au départ a été confirmée par son groupe ^{Venetti} et Ramon y Cajal (Nobel 1906 avec Golgi) ^{Précipitation de chromate d'argent}

Une image de l'appareil de Golgi (de 1981) est montrée sur la figure ^{J. Rothman} (Nobel 2013). Elle montre la structure en citernes de Golgi et l'empilement des citernes. Dans certaines cellules le Golgi a une structure plus dispersée. Le Golgi est polarisé de la partie cis à la partie trans.

La fonction de l'appareil de Golgi est le tri et l'acheminement des protéines de sécrétion qui arrivent du ER. Ces protéines traversent le Golgi et sont peu à peu matures au cours de ce transport par les protéines du Golgi attachées aux citernes (maturation par exemple glycosylation). Elles sont ensuite acheminées à la membrane plasmique (vésicules) ou à un autre compartiment (lysosomes). Les protéines sont marquées par des protéines de type Rab ^{Gowd} et par les molécules d'adhésion SNARE ^{Robinson} qui doivent trouver leur partenaire SNARE sur la citerne vers le Golgi

Il existe deux modèles concurrents de l'appareil de Golgi montrés sur la figure ^{Luini}

- Modèle de transport vésiculaire ^{Rothman}. Les compartiments du

Golgi (cisternes) sont fixes et les protéines de sécrétion sont transportées dans des vésicules sur les microtubules de compartiment en compartiment du cis-Golgi au trans-Golgi. Dans chaque cisterna elles sont modifiées par les protéines du Golgi. Le mouvement des vésicules est antérograde.

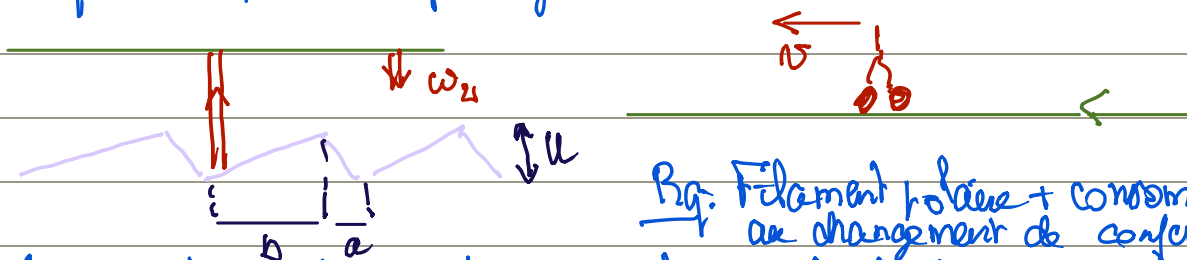
- Modèle de maturation **Lumen**. Les cisternes bougent dans la direction se formant en cis et se détruisant en trans. A chaque position la cisterna doit avoir la composition en protéines golgiennes pour atteindre le bon degré de maturation. Cela nécessite un transport rétrograde de vésicules pour recycler les protéines golgiennes. Ce modèle est plus couramment admis. Il y a des variantes des 2 modèles. Réalité entre les deux? **Cours 5**

II. Moteurs moléculaires

Les moteurs moléculaires sont des protéines qui marchent sur les filaments de la cellule et qui peuvent exercer des forces. Nous étudions dans ce cours surtout le transport sur les microtubules qui sont des filaments polaires. Les moteurs marchent vers l'extrémité + sont les kinesines et vers l'extrémité - des dyennes. **Films**

Je ne vais pas présenter de modèle détaillé des moteurs moléculaires mais présenter un modèle simple de système à 2 niveaux qui montre bien les principes physiques. Rq. 1 jambe (barreau / processus) au bar de 2 (thymosin β).

Le moteur a 2 états un état faiblement lié où il ne sent pas la structure du filament et un état fortement lié dans lequel le filament exerce un potentiel périodique et polaire que je choisis en dent de scie.



Rq. Filament polaire + consommation d'ATP au changement de conformation

Le décrochage du moteur se fait instantanément quand il arrive au minimum du potentiel et le retour se fait avec un taux uniforme. Ils sont dus à un changement de conformation.

Si le moteur sort du minimum du potentiel. Il diffuse dans l'état excité. S'il va vers la gauche et $\frac{1}{\omega_2} \geq \frac{a^2}{2}$ il retombe sur la pente du potentiel que le pour vers le minimum suivant vers la gauche. S'il diffuse vers la droite le potentiel le ramène à son point de départ, la période est donc $T \approx \frac{a+b}{v}$ où T est le temps du cycle et

Rq Temp de cycle $1/\omega_c + \frac{8b^2}{a} \sim \omega^3 \frac{b}{a}$

Count 3

logue on here

Singer Nicholson

membranes biologiques par la théorie des plaques en mécanique.



Symétric

$$E = \int d\phi \left\{ \gamma + \frac{1}{2} K (H - c_0)^2 + \overline{K} K \right\}$$

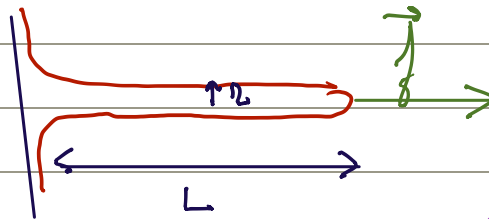
Le module k est une énergie et pour une membrane de phospholipides
 $k = 20 kT \approx 8 \cdot 10^{-20} \text{ J}$

de théorie de Gauss. Bonnet dit que pour une surface fermée l'intégrale de la courbure Gaussienne est une propriété qui ne dépend que de la topologie de la surface. Si κ est constant le deuxième terme est constant on ne change pas la topologie. Si la surface a un bord, l'énergie a un terme de bord proportionnel à la longueur du bord.

Pq une membrane biologique réelle est couverte de protéines qui modifient ses propriétés mécaniques et qui jouent un rôle essentiel dans ce modèle de membrane idéale. Il faut souvent de se faire une très bonne idée. La courbure spontanée est en particulier fournie par les protéines de la membrane (coot proteins) qui pincent les membranes courbées. Les membranes peuvent être aussi actives (pomp, flipases). Cela n'est pas pris en compte dans cette description.

Figure

Exemple tube de membrane.



$C_0 = 0$

figure Barrelet

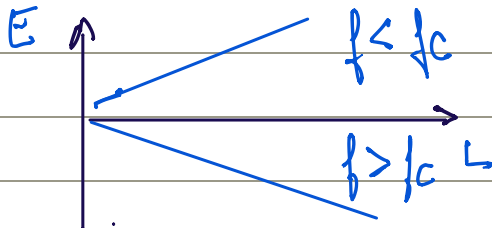
$$E = 2\pi r L \left\{ \gamma + \frac{1}{2} \kappa \frac{1}{r^2} \right\} - fL$$

Le minimum de l'énergie est calculé en écrivant $\frac{dE}{dr} = 0 \Rightarrow r^2 = \frac{2\kappa}{f}$. La tension est de l'ordre de $\gamma \approx 10^{-5} \text{ N/m}$ et cela conduit à un rayon du tube $r \approx 30 \text{ nm}$.

L'énergie est alors $E = L(f_c - f)$ où $f_c = 2\pi \sqrt{2\kappa\gamma} \approx 10 \text{ pN}$.
Si $f < f_c$, pas de tube et si $f > f_c$ le tube croît. Pour avoir un tube de taille finie $f = f_c$.

Pq Nous avons supposé que la tension γ est constante.

Ces formules décrivent très bien l'expérience mais le rayon n'est pas mesurable directement. Prost Derenjo



Pour faire un tube de membrane de taille finie, il faut donc tirer le tube avec une force. In vivo ces forces peuvent être exercées par des moteurs moléculaires et il y a de très belles expériences sur ce sujet. Barrelet.

Dans le ER la membrane a une courbure spontanée à cause des protéines qui s'attachent à la couche lipidique (coat protéines). On peut regner le calcul des propriétés du tube avec une courbure C_0 . On trouve un rayon du tube $r_0^2 = \frac{K}{2(\gamma + \frac{KC_0^2}{2})}$ et une force pour tirer le tube

$$f = 2\pi \frac{K}{r_0} (1 - C_0 r_0). \quad \text{La force est nulle ou } C_0 r_0 = 1 \text{ soit } \gamma = 0$$

La même relation est $\tilde{\gamma} = \gamma + \frac{KC_0^2}{2} > 0$ et on peut atteindre $\gamma = 0$ avec $\tilde{\gamma} > 0$.
Le tube pour ainsi spontanément $f = 0$

Si on utilise $\tilde{\gamma}$ le rayon est indépendant de la courbure spontanée. On peut faire des tubes en vitro de rayon $\frac{1}{C_0}$ sans appliquer de force (ER)

Pour conclure, je voudrais mentionner certains aspects importants que je ne vais pas traiter, soit par manque de temps soit parce que je n'ai pas trouvé de modèle assez physique

- Endocytose et exocytose : mécanismes d'entrée et de sortie de la cellule

- Vésicule intracellulaires : vésicules émises par la cellule

D. Lownd, F. Gargue (apoptosis), G. Raposo

- Protéines de "coat" et leur spécificité COPII, COPI, clathrine (à la membrane plasmique) ou carécline

Certains de ces sujets seront abordés dans la réminiscence

Notes 1. Autres formes de transport : évalueur cytoplasmique glissés par des moteurs. Transport dans ou sur des tubes de membrane

Transport actif consomme de l'énergie sous forme d'ATP

Transport dans des réseaux pour le transport actif les moteurs marchent sur des microtubules (dans toute la cellule) mais il y a aussi du transport sur l'actine par des myosines comme Myosine V.

2 - Le temps passé dans l'état excité est $1/\omega_2$

3 - Si on ajoute une force opposée au mouvement vers la droite cela ajoute dans les 2 états un potentiel $U_{ex} = -f x$. Dans l'état fondamental la pente du potentiel total sur la partie de taille b est $\frac{U}{b} - f$. Le moteur ne marche plus si $f > \frac{U}{b}$.

Dans l'état excité la probabilité d'aller vers la droite et vers la gauche n'est plus symétrique par effet pour atteindre a . Si $f a > 1$ le moteur n'atteint jamais a . Au bord le mouvement s'arrête si $f < \min(\frac{k_B T}{a}, \frac{U}{b})$.

4 - Vessel et al culture neurale 2 déficiente hippocampe de souris

5 - Théorème de Gauss. Bonnet $\int_{\partial S} H + \int_S g \, dL = 4\pi(m-g)$

6 - Treadmilling de l'actine dans les nerfs ou les oléocrânes