

# Reticulum Endoplasmique

Le cours décrit les structures membranaires que l'on observe dans le réticulum endoplasmique. Ce sont des structures membranaires planes (essentiellement de feuilles, citernes, sacs) pour le réticulum rugueux et tubulaires (branches ou mailles) dans le réticulum lisse. Certaines protéines situées dans la membrane favorisent la courbure (les reticulons et nous avons déjà parlé de COP II pour la formation de vésicules et D<sub>3</sub>/REER) ou des régions planes (clump 63 ou p180). Le réticulum endoplasmique interagit avec les filaments du cytosquelette, notamment les microtubules. Certains moteurs des microtubules s'attachent au réticulum et induisent un mouvement de réticulum : deux exemples sont la création de l'écoulement cytoplasmique méiotique dans les zygotes de *C. Elegans* A. Kumura et le centrage des astères de microtubules après la fertilisation des oocytes d'oursin N. Minc.

## I. Structure du ER

Le cours m'a appris ici sur un très bel article de revue de l'équipe de J. Lippincott-Schwartz *Obama et al 2023*. Cet article décrit la structure du ER à l'échelle de la cellule (microscopie confocale) et à une échelle plus locale par microscopie optique supra-résolution.

À l'échelle de la cellule (avec une technique Army Scan). L'article distingue 4 régions en se basant sur la densité de l'ER. *figure 1*

- La membrane nucléaire connectée au ER par des structures membranaires tubulaires

- La région périnucléaire dans laquelle le réticulum est dense.
- La région de transition formée d'aggrégats de ER avec des espaces entre les agrégats
- La région périphérique (lisse) où le réticulum a une structure tubulaire avec des réseaux de tubes qui interagissent avec les microtubules (en bleu)

À l'échelle microscopique on observe des structures très variées notamment dans les régions périphériques du ER en utilisant diverses méthodes de microscopie supra-résolution. Cette technique montre par exemple

que des structures qui étaient configurées comme planaire sur un fait de structures tubulaires. En particulier le ER lisse est fait de structures tubulaires dans des architectures très variées

La structure de ER peut changer avec l'environnement de la cellule ou les besoins nutritionnels (Gouttes lipidiques). En mitose, il y a des réarrangements empruntés de l'enveloppe nucléaire et de la région périphérique avec des jonctions des feuillettes et appartenance de tige. En cas de manque de nutriments, la région perinucléaire s'élargit et fait de nombreux contacts avec les lysosomes, les mitochondries et les gouttes de lipide (mal compris).

Dans la suite j'aborde 3 sujets : les emplacements de membrane plane, la structure du réticulum periplaïque et les gouttelettes de lipides

II Emplacement de feuillettes de ER rugueux : rampes de Terashaki.

Dans la région perinucléaire le ER est en partie fait de membranes planes enroulés en feuillettes les uns sur les autres. L'article de **Terashaki et al.** montre que ces feuillettes sont connectés par des structures hélicoïdales qui forment des dislocations vis dans la phase structurelle de membranes **figues et films**. Ces structures sont observées dans le corps cellulaire des neurones mais aussi dans les cellules sécrétrices de la glande salivaire où l'on voit beaucoup de feuillettes. Chaque feuillette est formé de 2 brucelles distantes de 50 nm. Le pas est 250 nm.

Rq : On trouve des hélices droites et gauches

Ces structures en rampes sont étudiées dans l'article de **Guan et al.** L'article considère d'abord une membrane avec une structure hélicoïdale et fait de l'énergie de Helfrich

$$E = \int dA \left\{ \frac{1}{2} \kappa H^2 + \gamma \right\}$$

Un calcul précis de la structure membranaire est compliqué à cause des non-linéarités. Les auteurs argumentent que la théorie linéaire permet de se faire une très bonne idée de ces structures. Dans ce cas la membrane est définie par sa hauteur  $h(\vec{r})$  perpendiculaire au plan des membranes  $dA = \sqrt{1 + |\nabla h|^2} dx dy$  et  $H = \Delta h$

La minimisation de l'énergie donne

$$k \left[ \nabla^2 - \frac{1}{\lambda^2} \right] \nabla^2 h = 0 \quad \text{où } \lambda^2 = \frac{k'}{\sigma} \quad (\text{rayon des tubes})$$

Cette équation a des solutions telle que  $\nabla^2 h = 0$  que l'on peut écrire en terme de transformations conformes. On introduit  $z = x + iy = r e^{i\theta}$  les fonctions harmoniques de Laplace nul sont la partie imaginaire d'une fonction holomorphe  $Z = f(z)$ . Un choix est  $Z = \mu \text{Log } z/\rho$  pour lequel  $h = \mu \theta$ . Le pas est  $2\pi \mu$  et il y a un défaut à  $r=0$ .

Cela correspond bien à une rampe de pentes  $2\pi \mu$ . L'énergie de cette rampe<sup>(3)</sup>  $E = \pi \gamma \mu^2 \text{Log } \frac{L}{r_0}$  où  $L$  est la taille du système et  $r_0$  une coupure qui correspond au rayon du cœur de la rampe. Cette solution est une surface minimale.

Pour pallier à cette énergie qui diverge, on peut chercher une solution qui est une paire de dislocations de chiralités opposées placés en  $-\frac{d}{2}$  et  $\frac{d}{2}$ . Dans ce cas  $f(z) = \mu \left[ \text{Log} \left( \frac{z - d/2}{\rho} \right) + \text{Log} \left( \frac{\bar{z} + d/2}{\rho} \right) \right]$ . En prenant

le complexe conjugué on change le chiralité du défaut. On peut récrire la fonction  $f(z) = \mu \text{Log} \left[ \frac{|z|^2 - d^2/4 + d z \sqrt{(z - \bar{z})}}{\rho^2} \right]$  soit

$\frac{h}{\mu} = \text{Arctg } \frac{2 d \sin \theta}{|z|^2 - d^2/4}$ . La solution est tracée sur la figure avec en quadruple. L'énergie des défauts est finie  $E = 2\pi \gamma \mu^2 \text{Log } \frac{L}{r_0}$ . Elle correspond à une énergie attractive entre les deux défauts.

La solution avec des surfaces minimale n'est pas la seule solution. Il y a aussi des solutions non minimales. Ces solutions non minimales ne sont pas les seuls solutions. Il y a aussi des solutions telles que  $[\nabla^2 - \frac{1}{\lambda^2}] h = 0$   $k' = \alpha k_0 \left( \frac{r}{r_0} \right)^\alpha$  et les combinaisons linéaires. Le préfacteur  $\alpha$  est empirique par les constantes aux limites. Pour des défauts formés avec ces solutions non minimales il peut y avoir une distance d'équilibre dans le défaut. Les axes des rampes peuvent être enclenchés et cela limite le nombre de feuillets.

L'article étudie ensuite le cœur de la rampe où les deux branches du feuillet se rejoignent en formant un tube. C'est la courbure de ce tube qui assure la stabilité de l'hélice formant le cœur 2D-3D. Puis il donne un modèle de nucléation des dislocations vis à partir d'une jonction à S telle que est basé sur l'idée qu'un paramètre

un point est la différence d'axe entre les 2 surfaces. Ce modèle fixe le pas  $\mu$  de la structure

L'article original de Terashima présente en calcul différent des rampes qui ne suppose pas la courbure faible mais qui est entièrement numérique. Il présente notamment des réseaux de rampes alternées

### III Réticulum endoplasmique lisse : tubes

Un des résultats importants de travail de J. Lippincott-Schwartz par microscopie optique super-résolution est que beaucoup de structures qui étaient identifiées comme des feuilletés ou des vésicules dans le ER lisse sont en fait des structures tubulaires droites ou branchées qui peuvent avoir un rayon non uniforme

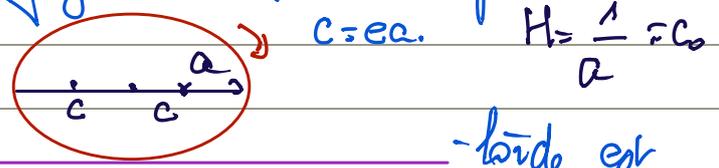
Certains des structures observées ont été étudiées par M. Kozlov en étudiant la physique des membranes

L'idée de Kozlov est de partir de l'énergie de Helfrich en introduisant une courbure spontanée  $C_0$  qui est due aux protéines de ER (réticulum)

$$E = \frac{1}{2} \int dA \left[ \frac{\kappa}{2} (H - C_0)^2 + \gamma \right]$$

Et il suppose que le modèle de courbure est suffisamment grand pour que  $\gamma$  soit négligeable. En négligeant  $\gamma$  le minimum de l'énergie est une surface de courbure constante. Une de ces surfaces est un cylindre de rayon constant mais ce n'est pas la seule. Une famille de ces courbes est appelée *induloïde*. Une bonne référence est le livre de D'Arcy Thompson que j'ai déjà cité dans ce cours

L'induloïde est une surface de révolution autour d'un axe dont la directrice est obtenue en faisant rouler une ellipse le long de l'axe de révolution et en suivant la position des foyers. L'ellipse a un grand axe  $a$  et une excentricité  $e$   $0 < e < 1$



Le rayon maximal de l'induloïde est  $a(1+e)$  et son rayon minimal est  $a(1-e)$ . La période est  $2\pi = E(e)$  (fonction elliptique de 2<sup>es</sup> espèce). Si  $e=0$  l'ellipse est un cercle et le induloïde est un cylindre de rayon  $a$  et si  $e=1$  l'ellipse est un segment et

L'inclusion est une légende s'opère de rayon  $\lambda$ . Sa stratégie pour une structure donnée est de régler  $\gamma$  et de minimiser l'énergie de surface pour obtenir les structures possibles. L'énergie due à  $\gamma$  fait la dégénérescence entre les structures. Je vais vous montrer 3 exemples

- La fenestration dans une membrane
- La structure des sites de sortie du ER
- Les compartiments intermédiaires qui sont transportés à partir de sites de sortie vers le Golgi.

(4) minimales

- Membrane fenestrée : réseau hexagonal de tubes  $L_n = \lambda_0 + n \lambda_1$

- Sites de sortie : la structure est un réseau de tubes qui forme un polymère flexible se reliant sur leur réseau mais avec des interactions de valence locale. Une question empirique est de comprendre comment cette structure "charge" les protéines transportées

- Quand la structure devient le compartiment intermédiaire, elle est écartée par une force élastique à  $f = \frac{kT}{L}$  où  $L$  est le rayon des tubes =  $2 \mu m$ .

#### IV Gouttelettes de lipides

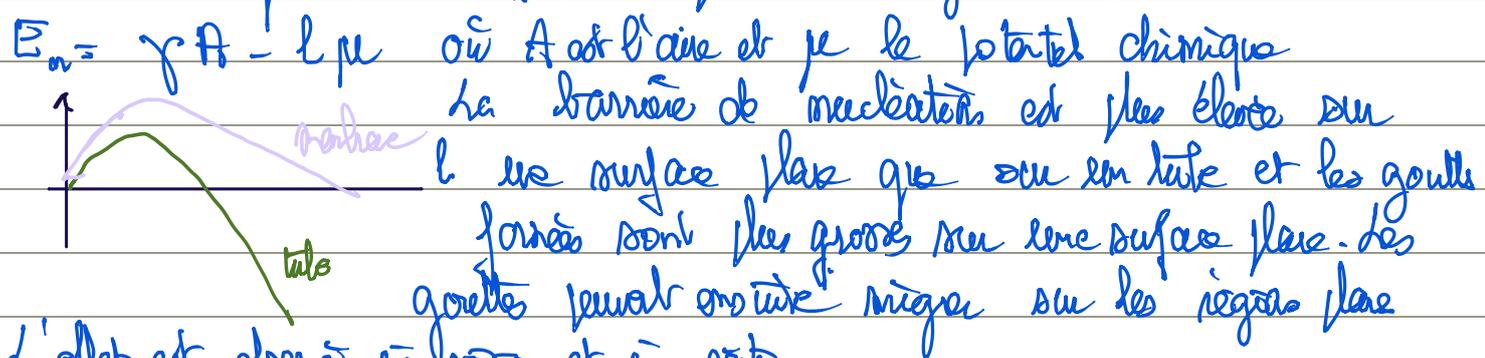
Dans une cellule les lipides sont produits comme les protéines dans le ER: il y a à la fois les phospholipides chargés qui forment les membranes et les lipides neutres (6) très hydrophobes qui sont essentiels pour le métabolisme. Les lipides neutres ne sont solubles que dans l'intérieur hydrophobe de bras des membranes de ER. Ils forment à partir de ces bras des gouttelettes entourées par une membrane phospholipide chargée. Les gouttes émagent de la membrane et se détachent du ER. Elles migrent vers le cytosol où elles forment une émulsion. Les gouttes sont détruites soit par le lysosome (hydrolyse des lipides) soit par autophagie (formation d'un autolysosome). Dans les 2 cas elles peuvent être considérées comme des réserves d'énergie. Leurs autres fonctions sont liées à leur caractère très hydrophobe comme le stockage de protéines très hydrophobes ou toxiques pour la cellule. Les adipocytes sont des cellules qui contiennent beaucoup de gouttelettes lipidiques dans leur cytosol. La taille typique est de 100 nm à 1  $\mu m$ . Elles forment une émulsion dans le cytosol dont les gouttes peuvent croître par coalescence, par mécanisme d'Ostwald:

Altman 1894 Wdoon EB 1895. les mentionnent déjà. Elles sont très grosses dans les hépatocytes (stockage d'acides gras) et peuvent être à l'origine de maladies (cirrhose) + cellules de sang de sang

Il y a 3 étapes dans la production des gouttes lipidiques, une étape de nucléation, une étape de croissance et une étape de détachement.

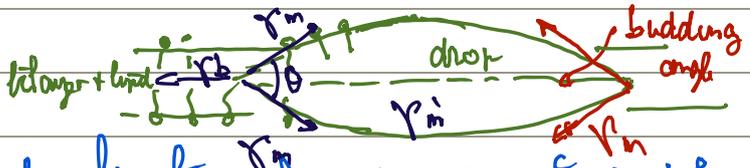
Les lipides sont produits dans le ER lisse et la nucléation peut se faire sur des structures planes, des citernes ou sur des tubes. L'article de **Santinho et Thoen** montre clairement que la nucléation se fait essentiellement sur des structures tubulaires **figure**.

La nucléation peut se faire avec l'aide de protéines mais aucune protéine n'est indispensable et elle peut se faire aussi sans protéines. Un paramètre important est la composition en lipides. Les triglycérides sont solubles si la membrane est courbée mais moins soluble dans les tubes. Cela est dû au fait que la courbure donne un meilleur accès à l'eau et crée des contacts défavorables entre l'eau et les lipides. Cet effet n'existe pas pour le stérols esters. Le potentiel chimique des Triglycérides est plus élevé dans un tube que sur une membrane plane. L'énergie de nucléation s'écrit



L'effet est observé *in vitro* et *in vivo*. La protéine Scp1m joue un rôle important et semble abaisser la barrière de nucléation.

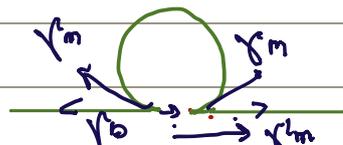
Les gouttes lipidiques piégées dans une membrane ont la configuration suivante



Il y a deux tensions  $\gamma_b$  le long

de la brochette et  $\gamma_{ml}$  à l'interface entre la goutte et l'extérieur membrane. Pour obtenir la géométrie il faut écrire la loi de Neumann  $\vec{\gamma}_b + \vec{\gamma}_{lm} + \vec{\gamma}_{ml} = 0$ . Si  $\gamma_{lm} = \gamma_{ml}$  et  $\gamma_{lm} \cos \theta = \gamma_b$ . Le paramètre d'ordre est  $S = \gamma_b - 2\gamma_{lm} = 2\gamma_{lm} (\cos \theta - 1)$ . L'angle de contact est nul si  $\gamma_b = 2\gamma_{lm}$  et dans ce cas les lipides sont dissous dans la membrane. Si on décroît  $\gamma_b$  avec une protéine phospholipase A2, l'angle de contact augmente.

Au moment du budding  $\gamma_b + \gamma_{lm} = \gamma_{ml}$  et la goutte a un coup frot et peut se détacher. La mécanique microscopique



de détachement dépend des détails locaux, courbure et protéine attachées à la goutte lipidique sont importants :  $S = -2\gamma_m$

Si  $\gamma_b$  augmente, en principe on voit bien que la quantité de lipides dissouts dans la bicouche augmente. Les tensions de surface dépendent des lipides neutres et des phospholipides - on peut identifier des situations où  $\gamma_b$  est petit et  $\gamma_m$  plus grand qui favorisent le budding et d'autres qui sont moins favorables. Les auteurs ont établi des systèmes *in vitro* qui leur permettent de mesurer l'angle de contact, qui doit être le plus grand possible pour les détails.

Rq: Il faut aussi que la goutte croisse : elle croît par synthèse de lipides et par des apports externes d'acides gras dans les deux cas il faut des protéines liées à la goutte pour les transférer en lipides neutres.

① Les deux membranes du feuillet sont maintenues parallèles par la protéine  $\text{Clp}^3$  qui est dans le lumen entre les 2 feuillet. La courbure est induite par des protéines réticulons

② Nucleation a une jonction triple de tubes qui sont des structures fréquentes dans le ER. Les lipides sont produits dans le ER et peuvent s'intégrer dans cette structure ils vont faire croître la surface supérieure et en dessous où la courbure Gaussienne est positive. Cela crée un réseau de tubes. On ne peut pas faire croître le rayon des tubes formé par le réticulon. Si la croissance crée une anse plus grande sur la surface supérieure, elle peut flamber et donner lieu à la nucleation d'un dipôle de dislocations

③ - L'ensemble donc facteur 2 dans la tension qui est celle des 2 membranes (comme  $k$ )

④ Cinétiques étudiées forcées par la condition aux limites aux extrémités. Période  $L_m = r_0 + \lambda_p m$

⑤ Energie de courbure  $F = \frac{k}{2} \frac{\phi^2}{l}$   $\phi$  petit

⑥ Triglycéride et stéroïdes