

Prosit 3 – Golgi?

Nous sommes à la fin des années 60. La science et la technologie sont en pleine ébullition. La télévision fait partie de la vie de tous les jours; il est question d'envoyer l'Homme sur la Lune... En physiologie, les chercheurs sont gâtés. Les outils d'observation sont précis et sensibles. Le microscope électronique en transmission a déjà l'âge respectable de 30 ans.

Vous travaillez à New Haven au Connecticut à l'université de Yale. Avec votre collègue Goldie, vous êtes sur le point de faire une nouvelles percé dans le monde de la physiologie cellulaire. Mais bien sûr, vous n'en savez encore rien... Vous avez mis au point une expérience de pulse-chasse, couplée à des autoradiographies*, qui permettra de suivre à la trace le transit d'un polypeptide nouvellement formé dans une cellule.

L'état de la question sur les protéines sécrétoires [destinées à être sécrétées dans l'espace extra-cellulaire] est à peu près le suivant: nous savons que les protéines sont synthétisées sur les ribosomes, à partir de l'ARN transcrit de l'ADN se trouvant dans le noyau. Nous savons qu'elles finissent par être éjectées de la cellule par des vésicules qui fusionnent avec la membrane cellulaire. Mais nous ne connaissons pas avec précision quel est le transit des protéines entre les ribosomes et la membrane plasmique.

Vous effectuez les manipulations de pulse-chasse et les autoradiographies. Après les 3 semaines d'exposition nécessaires au développement convenables des radiographies, votre curiosité est à son paroxysme. Vous observez enfin les radiographies de la figure 1. Mais il ne faut pas s'en tenir à ces résultats qualitatifs. Une analyse quantitative vient appuyer ces découvertes (voir tableau 1 et figure 2).

* * *

L'analyse de ces résultats se révéla fort intéressante. Vous pourrez publier des idées novatrices en ce qui concerne le transit des protéines sécrétoires. Mais vous avez encore du pain sur la planche car votre expérience reste partiellement muette quant à la synthèse des protéines destinées au cytosol, aux membranes ou aux autres organites. Et c'est sans compter les avancées concernant l'ADN et les protéines propres aux mitochondries...

*Inutile de vous rappeler en quoi consiste votre protocole de pulse-chasse, non ? ... Oui?

Il s'agit d'incuber une cellule [un échantillon de tissu vivant] sur un milieu riche en acides aminés radioactifs pendant un certain temps. C'est la pulsation: des traceurs radioactifs sont intégrés aux protéines produites par la cellule. Ensuite, on retire cet échantillon du milieu «chaud» et on le dépose dans un milieu «froid», c'est-à-dire non-radioactif. En supposant que les protéines ayant été fabriquées à partir des a.a. radioactifs se déplacent dans la cellule, nous pourrions suivre leurs traces après certaines périodes de temps (les périodes de chasse). Les a.a. «froids» vont s'intégrer dans les protéines qui succèdent aux précédentes. Elles «chassent» ainsi les traceurs radioactifs vers l'avant dans le transit des polypeptides nouvellement formés.

L'autoradiographie permet de «photographier» une empreinte de la position des particules radioactives sur une émulsion photographique. Ceci est dû au fait que les radiations sensibilisent l'émulsion, de manière analogue à la lumière.

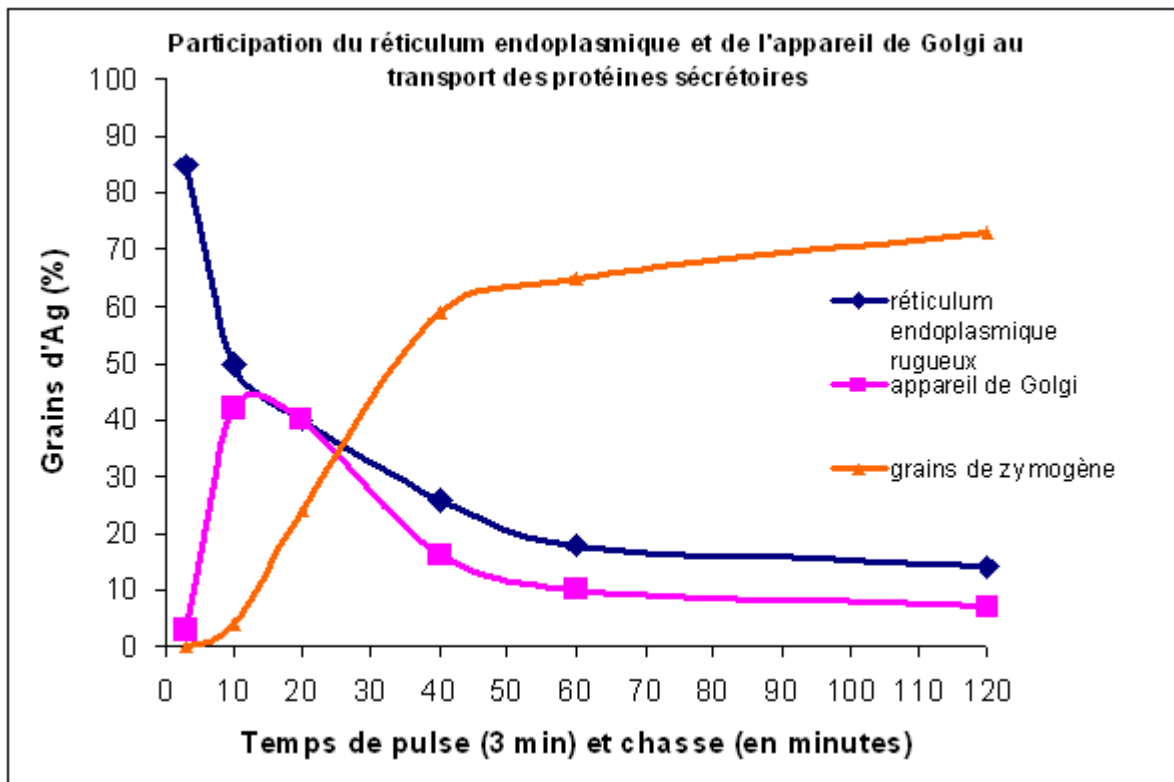


Figure 2

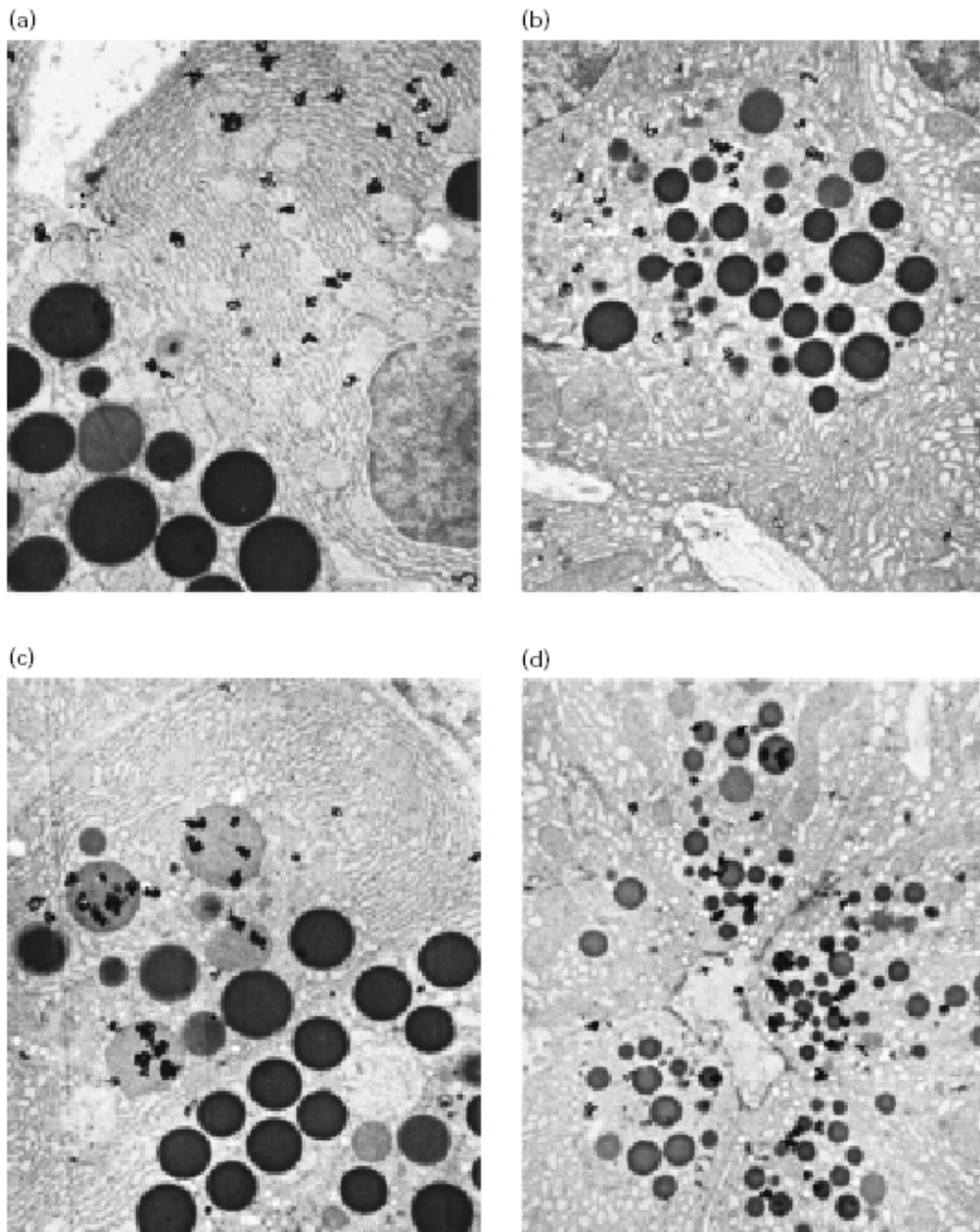


Figure 1. Guinea pig pancreas. Slices incubated *in vitro**

Cell Compartments	% radioautographic grains			
	Pulse 3 min	chase minutes		
		+7	+37	+117
Rough endoplasmic reticulum	<i>86.3</i>	<i>43.7</i>	<i>24.3</i>	<i>20.0</i>
Golgi complex	peripheral vesicles	<i>2.7</i>	<i>43.0</i>	<i>14.9</i>
	condensing vacuoles	<i>1.0</i>	<i>3.8</i>	<i>48.5</i>
Zymogen granules	<i>3.0</i>	<i>4.6</i>	<i>11.3</i>	<i>58.6</i>
Acinar lumen	—	—	—	<i>7.1</i>
Other compartments**	<i>7.0</i>	<i>4.6</i>	<i>1.1</i>	<i>3.2</i>

* Simplified from J. D. Jamieson and G. E. Palade, J. Cell Biol. 34(1967)597.

pulse: 200 μ Ci/ml L-[³H-4,5]leucine (40 μ M).

chase: ³H-leucine (2mM).

** Nuclei and mitochondria

For each compartment of the secretory pathway the maximal concentration figures are given in italics.

Tableau 1

Tableau 1

Cell compartments	% radioautographic grains			
	Pulse 3 min.	Chase		
		+7 min.	+37 min.	+117 min.
RER	86.3	43.7	24.3	20.0
Golgi	2.7	43.0	14.9	3.6
peripheral vesicles				
condensing vacuoles	1.0	3.8	48.5	7.5
Zymogene granules	3.0	4.6	11.3	58.6
Acinar lumen	-	-	-	7.1
Other (nudei, mitochondria)	7.0	4.6	1.1	3.2

Simplified from J.D. Jamieson and G.E. Palade, J. Cell. Biol. 34(1967)597.

pulse: 200 μ Ci/ml L-[³H-4,5]Leucine (40 μ M)

chase: ¹H-leucine (2mM)