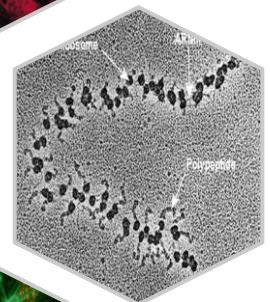
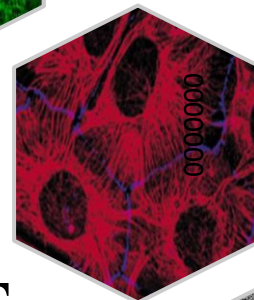
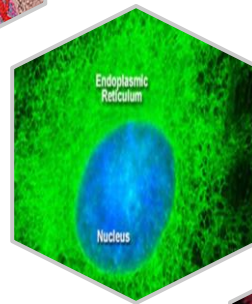
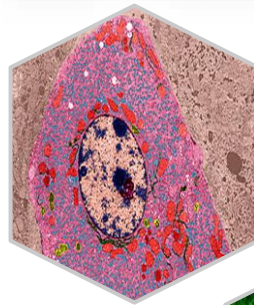


MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie Taoufik KHAZNADAR

المدرسة الوطنية العليا في البيوتكنولوجيا توفيق خزندار

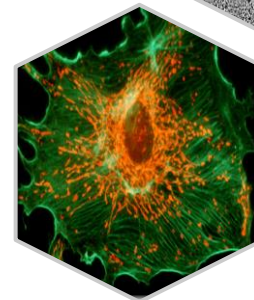
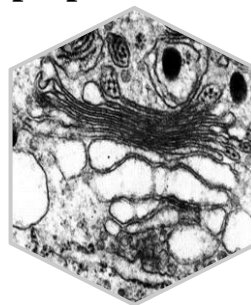


BIOLOGIE CELLULAIRE

Cours & applications

Aux étudiants de 1^{ère} année cycle préparatoire / ENSB

Dr Souad LAMDA, MCB



2022 - 2023

Avant-propos

Ce document a été conçu comme un outil pédagogique afin d'aider les étudiants de première année cycle préparatoire à appréhender les concepts fondamentaux de la biologie cellulaire. Une série d'exercices incite l'étudiant à se poser des questions sur la matière et complète ainsi progressivement ses connaissances.

L'ouvrage présente en six chapitres les bases de la biologie cellulaire, en commençant par l'unicité chimique des êtres vivants, une présentation des plans d'organisation du vivant et des méthodes d'investigation de la cellule. Les différents compartiments structuraux et fonctionnels de la cellule eucaryote sont ensuite abordés successivement, des filaments cellulaires au noyau en passant par les différents organites. L'organisation morpho-fonctionnelle de la membrane plasmique fait l'objet du chapitre suivant. L'ouvrage se termine par deux chapitres consacrés à l'adhérence cellulaire, indispensable pour permettre la formation de tissus, organes et systèmes assurant les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'individu et à la communication cellulaire assurant un développement puis un fonctionnement coordonné de l'organisme.

Chaque chapitre débute par un rappel théorique synthétique, accompagné de schémas didactiques destinés à faciliter la compréhension des données et leur mémorisation. Puis, de nombreux exercices de différents types (QCM, questions Vrai/Faux et exercices de synthèse) sont proposés afin d'évaluer ses connaissances et d'appliquer les concepts fondamentaux de la biologie cellulaire.

CHAPITRE 1 LES ORGANISMES VIVANTS	
1. Généralités	1
2. Niveaux d'organisation du vivant et ordres de grandeur associés	1
3. La cellule	2
3.1. Définition	3
3.2. Les propriétés fondamentales d'une cellule	3
4. Classification du monde vivant	3
5. Les différents types de cellules	3
5.1. Les procaryotes	3
5.2. Les eucaryotes	4
6. Les virus	5
6.1. Définition	5
6.2. Structure	6
6.3. Classification des virus	6
CHAPITRE 2 METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE	
1. Méthodes d'observations des cellules	8
1.1. Microscope photonique	8
1.2. Microscope électronique	9
2. Techniques de préparation des échantillons	10
2.1. Préparation des échantillons pour observation en MO	11
2.2 Préparation des échantillons pour observation en ME	13
3. Méthodes de fractionnement cellulaire	15
3.1. Homogénéisation	15
3.2. Purification	16
4. Culture cellulaire	17
4.1. Définition	17
4.2. Obtention des cellules pour culture	17
4.3. Culture primaire et culture secondaire	17
4.4. Les lignées cellulaires	18
4.5. Types de cultures des cellules	18
4.6. Milieu de culture	18
4.7. Conditions de culture	18
4.8. Les contaminants	18
4.9. Utilisation des cellules en cultures	18
CHAPITRE 3 STRUCTURES SUBCELLULAIRES	
1. Le cytosol	21
1.1. Définitions	21
1.2. Structure et ultrastructure	21
1.3. Étude biochimique du cytosol	21
1.4. Propriétés du cytosol	21
1.5. Fonctions du cytosol	22
2. Cytosquelette	22
2.1. Définition	22
2.2. Composants du cytosquelette	22
3. Réticulum endoplasmique et ribosomes	30

3.1. Réticulum endoplasmique granuleux	30
3.2. Réticulum endoplasmique lisse	32
3.3. Ribosomes	34
4. Appareil de Golgi	35
5. Lysosomes et vacuoles	38
6. Peroxysomes	42
7. Mitochondries	44
8. Chloroplastes	47
9. Noyau interphasique	49
CHAPITRE 4 : LA MEMBRANE PLASMIQUE	
1. Isolement de la membrane plasmique	56
2. Observation microscopique de la membrane plasmique	56
3. Constituants des membranes	57
3.1. Les lipides membranaires	57
3.2. Les protéines membranaires	60
3.3 Les glucides membranaires	63
4. Propriétés des membranes plasmiques	63
5. Transports membranaires	63
5.1 Perméabilité membranaire	64
5.2 Les transports cytotiques	69
Chapitre 5 : ADHERENCE CELLULAIRE	
1. Matrice extra cellulaire	74
1.1. Constituants de la MEC	74
1.2. Matrice extracellulaire végétale	78
1.3. La lame basale	79
2. Molécules d'adhérence	79
2.1. Molécules d'adhérence Cellule - Cellule	80
2.2. Molécules d'adhérence Cellule - MEC	82
3. Jonctions cellulaires	83
3.1. Forme des jonctions cellulaires	83
3.2. Type des jonctions cellulaires	84
Chapitre 6 : COMMUNICATION CELLULAIRE	
1. Les molécules de signalisation intercellulaire	89
1.1. Les molécules informatives hydrophiles	89
1.2. Les molécules informatives hydrophobes	90
2. Classification des molécules de signalisation	90
3. Modes de signalisation cellulaire	91
4. Les récepteurs des signaux hydrosolubles	91
4.1. Récepteurs membranaires couplés aux protéines G	92
4.2. Récepteurs à activité enzymatique	95
4.3. Récepteur membranaires couplés aux canaux ioniques	97
5. Récepteurs intracellulaires	98
6. Réponse cellulaire à un signal chimique	100
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AQP : Aquaporine
ARN : Acide ribonucléique
ARP 2/3 : Actin Related Proteins 2 et 3
CAM : Cell Adhesion Molecule
CGN : Cis Golgi Network
CMHI et CMHII : Complexes majeurs d'histocompatibilité I et II
COMT : Centre organisateur des microtubules
DAG : Di AcylGlycérol
ERGIC : Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment
GAGs : Glycosaminoglycanes
GDP : Guanosine diphosphate
GTP : Guanosine triphosphate
LAMP : Lysosomal-associated membrane protein
LDL : Low density lipoprotein
MAP : Microtubule Associated Protein
MEB : Microscope électronique à balayage
MEC : Matrice extracellulaire
MET : Microscope électronique à transmission
MO : Microscope optique
PC : Phosphatidylcholine
PDI : Protein disulfo-isomerase
PE : Phosphatidyl éthanolamine
PI : Phosphatidylinositol
PIP2 : Phosphatidylinositol diphosphate
PKC : Protéine Kinase Calcium-dépendante
PS : Phosphatidylsérine
PSI et PSII : Photosystèmes I et II
RCPG : Récepteurs couplés aux protéines
REG : Réticulum endoplasmique granulaire
REL : Réticulum endoplasmique lisse
SAMs : Substrate adhesion molecule
TGN : Trans Golgi Network

Chapitre 1

Les organismes vivants

Objectifs du cours

A la fin du premier chapitre l'étudiant sera capable de :

- ❖ Connaître les composants de la matière vivante.
- ❖ Acquérir les connaissances de base en biologie cellulaire.
- ❖ Comprendre la structure et les fonctions de la cellule.

Ce chapitre permettra de développer chez l'étudiant les aptitudes d'observer, de décrire, et de comparer les structures des différents types de cellules vivantes.

1. Généralités

Un organisme vivant est un système complexe, organisé et est constitué d'une ou plusieurs cellules. Ces dernières sont composées de matière vivante qui est constituée d'éléments minéraux (eau et sels minéraux) et d'éléments organiques.

Les molécules organiques à valeur énergétique appartiennent à trois grandes familles : glucides, lipides et protides. Les acides nucléiques forment aussi une famille de molécules organiques mais sans intérêt énergétique.

Les vitamines constituent un autre groupe de molécules organiques sans valeur énergétique propre : vitamines hydrosolubles (B1, B2, B3, B5, B8, B6, B9, B12 et C) et vitamines liposolubles (A, D, E et K).

Les sels minéraux sans valeur énergétique propre regroupent :

- Les macroéléments dont le besoin journalier >100mg (de l'ordre de gramme comme Na, K, Ca, P, S, Cl et Mg)
- Les oligo-éléments présents à l'état de trace (Besoin journalier <100 mg exemple : Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Cr, Mo, Se, I...).

2. Niveaux d'organisation du vivant et ordres de grandeur associés

Les différentes échelles d'observation du vivant sont exposées, par leur taille, du mètre au micromètre, avec le niveau d'organisation correspondant : organisme, organe, cellule, molécule, atomes (**figure 1**).

Atome : Plus petite partie d'un corps simple pouvant se combiner chimiquement avec une autre (nm).

Molécule : Groupe d'atomes liés par des liaisons chimiques (nm).

Organite : Compartiment intracellulaire assurant une fonction déterminée (µm).

Cellule : Structure limitée par une membrane et contenant toujours du cytoplasme et de l'information génétique (10-100µm).

Tissu : Ensemble de cellules de même type contribuant à une même fonction (mm- cm).

Organe : Partie d'un être vivant remplissant une ou des fonctions particulières et constituée par un ou plusieurs tissus cellulaires (mm-dm).

Organisme : Entité autonome (= individu), pouvant être unicellulaire ou pluricellulaire.

Chapitre 1. Les organismes vivants

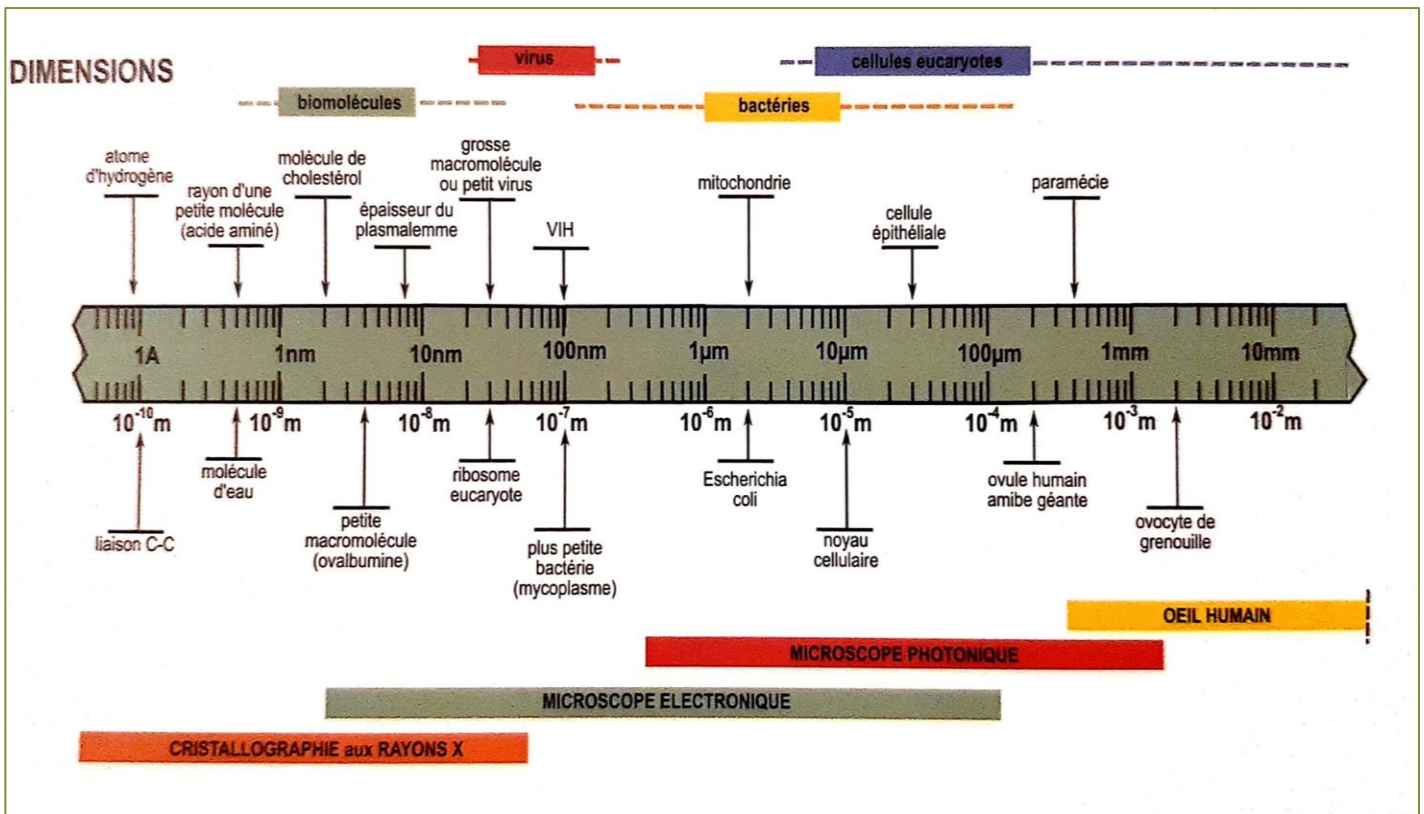


Figure 1. Echelle de dimensions (Peycru *et al.*, 2013).

3. La cellule

Les cellules, dont la taille est très petite, ne sont pas observables à l'œil nu. Leur examen nécessite le recours à un outil, le microscope optique, apparu au début du XVII^e siècle et perfectionné au XIX^e (**figure 2**).

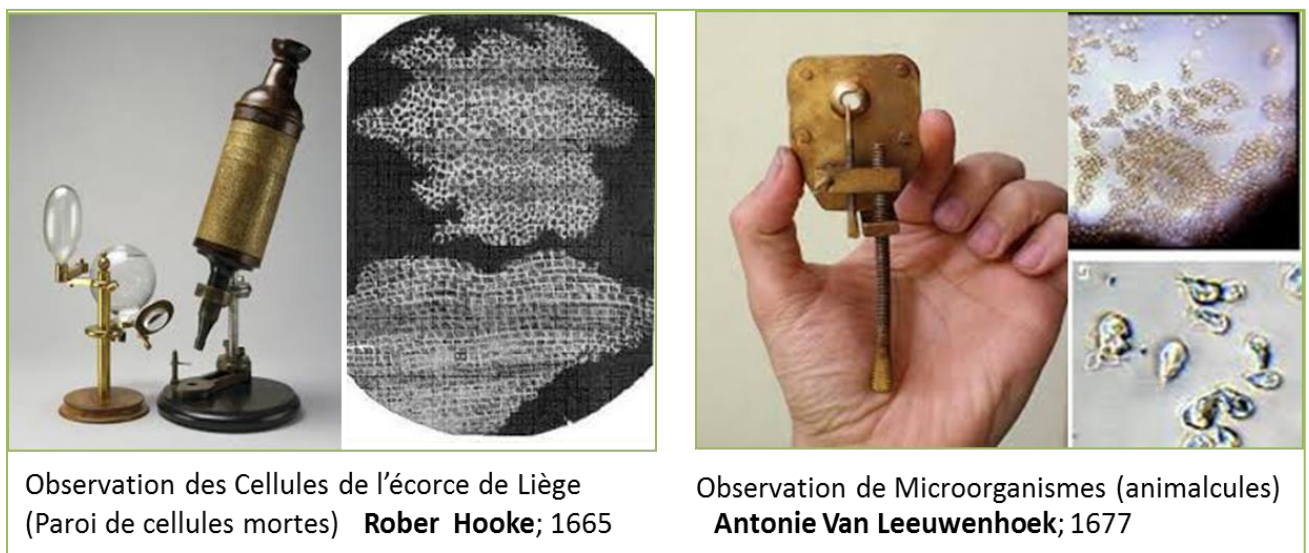


Figure 2. Les premiers microscopes (Bradbury ; 2014)

Le concept de cellule a été énoncé en 1838 par Schwann et Schleiden.

3.1. Définition

La cellule représente l'unité fondamentale de tout être vivant. C'est la plus petite portion de matière vivante qui puisse vivre isolée et qui puisse se reproduire. Elle synthétise ses propres constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire.

3.2. Les propriétés fondamentales d'une cellule

- La cellule est un système hautement organisé de molécules : eau, sels minéraux, protéines, lipides, glucides et acides nucléiques.
- Elle possède un programme génétique, se multiplie par elle-même: par mitose (division équationnelle) ou par méiose (division réductionnelle).
- Elle acquit et consomme l'énergie et peut faire une grande variété de réactions chimiques métaboliques
- Elle met en œuvre des activités mécaniques: transport des matériaux d'un endroit à l'autre, l'assemblage et le désassemblage des structures, déplacement de la cellule entière.
- Répondre aux stimuli afin de modifier son métabolisme, déclencher sa division ou même se suicider (apoptose). Elle est capable d'une autorégulation.

4. Classification du monde vivant

Les biologistes répartissent les êtres vivants dans différents groupes, en se fondant notamment sur leur anatomie et sur leur mode de vie. L'unité de base de la classification du monde vivant est l'*espèce*. Les espèces sont-elles mêmes réunies dans des *genres*: les genres sont des ensembles d'espèces qui ont de nombreux traits en commun, mais qui ne peuvent pas produire une descendance fertile. Ensuite, la pyramide s'élève : les genres sont groupés en *familles*, les familles en *ordres*, les ordres en *classes*, les classes en *embranchements* et les embranchements en *règnes*. Ainsi, un règne rassemble toutes sortes d'espèces très différentes les unes des autres. Le monde vivant est actuellement divisé en 5 règnes : animaux, végétaux, champignons, protistes et procaryotes.

5. Les différents types de cellules

Deux principaux types cellulaires constituent aujourd'hui le monde vivant : les cellules procaryotes et les cellules eucaryotes.

5.1. Les procaryotes

Les cellules procaryotes présentent une ultrastructure simple du fait de l'absence des organites intracellulaires. Elles possèdent une paroi cellulaire (polypeptides, polysaccharides) et contiennent un compartiment unique, le cytoplasme, contenant des ribosomes, un chromosome ou une molécule d'ADN unique (sans vrai noyau) qui est le plus souvent circulaire et que l'on appelle le nucléoïde (n'est pas associé à d'autres protéines) et possèdent également des plasmides (**figure 3**).

Les cellules procaryotes sont divisées en deux types cellulaires :

- Les **eubactéries** sont les plus proches des bactéries actuelles. Elles constituent l'essentiel des procaryotes. Elles se distinguent par leurs parois cellulaires mise en évidence par la coloration de Gram. On trouve des bactéries « gram + » et des bactéries « gram – ». Elles se répliquent rapidement par division cellulaire ou scissiparité. Elles peuvent être pathogènes ou non pathogènes.

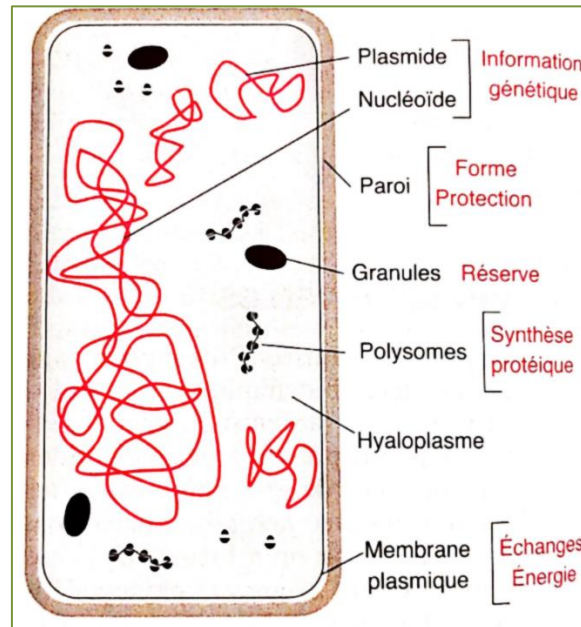


Figure 3. Cellule procaryote (Robert et Vian ; 2013)

Structure d'un colibacille, les flagelles et les cils ne sont pas présentés.

- Les **archées** anciennement appelés **archéobactéries** qui prennent en compte les cellules méthanogènes, les cellules halophiles et les cellules thermoacidophiles.

5.2. Les eucaryotes

Les eucaryotes correspondent aux organismes **multicellulaires** (*animaux, plantes, champignons*) ainsi qu'à quelques eucaryotes **unicellulaires**. Les eucaryotes monocellulaires correspondent aux **protistes** qui sont de deux types : animal les *protozoaires* et végétal les *protophytes*.

Les cellules eucaryotes sont délimitées par une membrane plasmique et possèdent un noyau délimité par une enveloppe nucléaire qui contient le matériel génétique. Dans la cellule eucaryote il existe également des organites qui font soit parti du système endo-membranaire (réticulum-endoplasmiques, enveloppe nucléaire, appareils de Golgi, lysosomes et endosomes), soit parti des organites clos (peroxysomes, mitochondries et chloroplastes) (**figure 4**).

Les organites clos sont les principaux transformateurs énergétiques de la cellule, ils permettent la formation d'énergie. Cependant, les organites du système endo-membranaire sont les consommateurs d'énergie.

Les cellules végétales sont dépourvues de centrioles et de lysosomes et renferment une grande vacuole, des chloroplastes et des plasmodesmes. Elles sont entourées par une paroi pectocellulosique et une membrane plasmique.

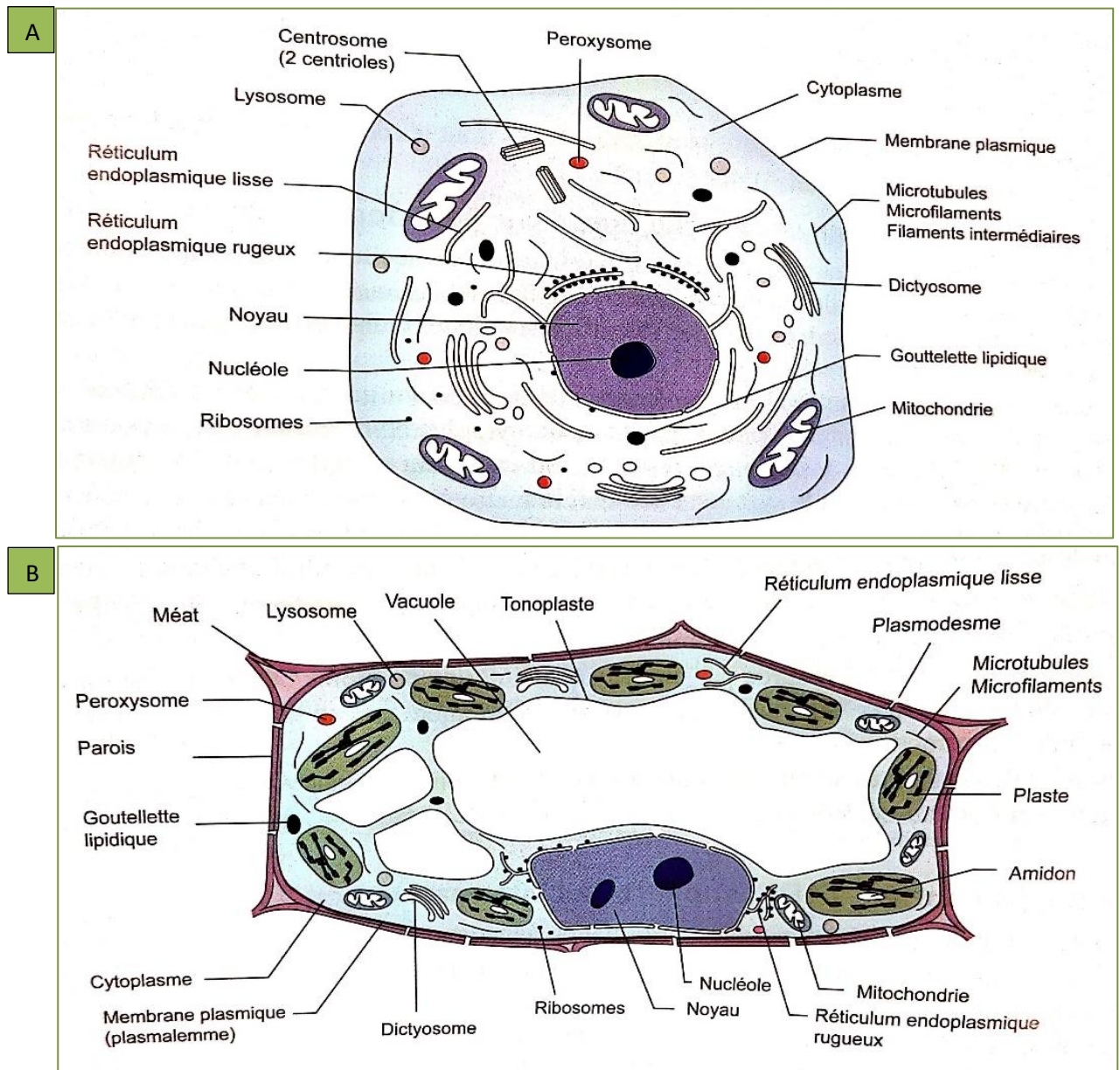


Figure 4. Cellules eucaryotes (**Richard *et al* ; 2014**)

A : Cellule animale ; B : Cellule végétale

6. Les virus

6.1. Définition

Les virus, ou acaryotes, sont des éléments biologiques acellulaire qui ne possèdent ni de noyaux ni de cytoplasme et ne peuvent se reproduire qu'en parasitant une cellule hôte en détournant la machinerie cellulaire.

Les virus sont retrouvés chez toutes les espèces animales, chez les végétaux (y compris les algues et les champignons), chez les bactéries (bactériophages).

6.2. Structure

- Un virus comporte toujours **un génome** qui est de l'**ADN** ou **ARN**. Ce génome peut-être **monocaténaire** (simple brin) ou **bicaténaire** (double brin).
- Le génome est emballé dans une structure protéique appelée **capside**.
- Certains virus sont pourvus d'une **enveloppe**. C'est l'élément le plus externe de certains virus. L'enveloppe est une membrane, dérivée des membranes cellulaires, cytoplasmique ou nucléaire, selon les virus. En effet, les virus à enveloppe terminent leur multiplication dans la cellule par bourgeonnement. Des glycoprotéines d'origine virales s'insèrent dans cette couche bi lipidique (**figure 5**).
- Les virus sont doués de parasitisme intracellulaire absolu.

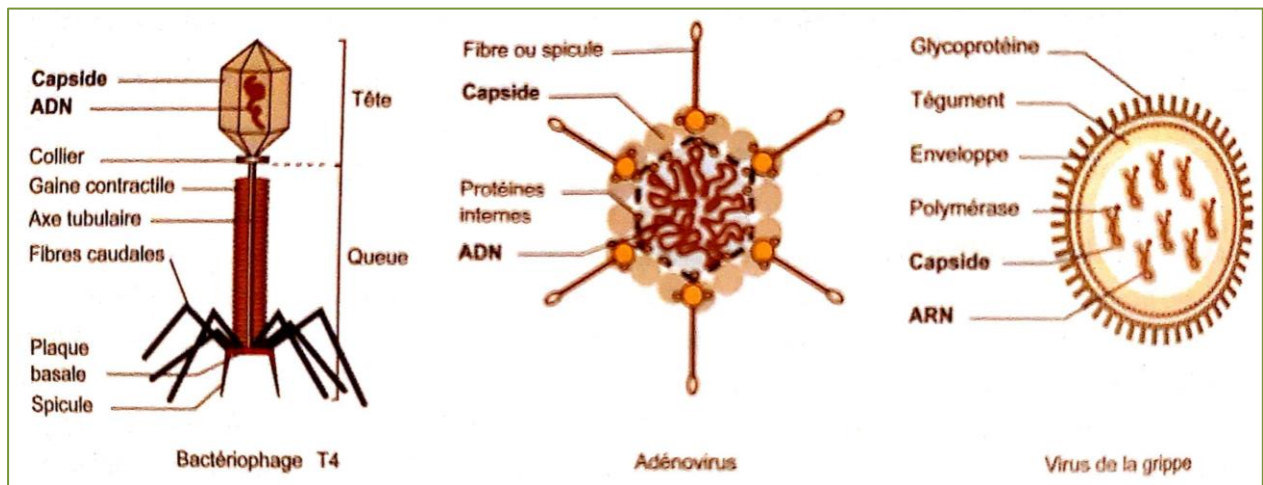


Figure 5. Exemples de structures virales (**Richard et al., 2014**).

6.3. Classification des virus

Trois critères de classification sont retenus :

- Le type d'acide nucléique du génome, ADN (adénovirus) ou ARN (rétrovirus).
- La symétrie de la capsid : capsid à symétrie cubique (icosaédrique) ou tubulaire (capsid hélicoïdal).
- La présence ou l'absence d'enveloppe.

Entrainement

QCM : Choisir la (les) bonne(s) réponse(s)

1- Les unicellulaires

- a. sont toujours des Eucaryotes.
- b. sont toujours des Procaryotes.
- c. ne contiennent jamais de noyau.
- d. sont constitués d'une seule cellule qui assure toutes les fonctions de l'organisme.

2- La particularité des cellules végétales est :

- a. de posséder un noyau.
- b. de posséder une membrane cytoplasmique.
- c. de posséder des mitochondries.
- d. de posséder une paroi squelettique (ou pectocellulosique).

3- Les cellules animales Eucaryotes contiennent :

- a. des mitochondries.
- b. des chloroplastes.
- c. des vacuoles.
- d. un noyau.

4- La cellule Procaryote possède :

- a. un cytoplasme compartimenté.
- b. une membrane plasmique.
- c. un noyau bien délimité par une enveloppe nucléaire.
- d. un filament d'ADN libre dans le cytoplasme.

5- Les cellules Eucaryotes :

- a. ne sont jamais compartimentées.
- b. possèdent un noyau délimité par une membrane nucléaire.
- c. possèdent de nombreux organites nécessaires au métabolisme cellulaire.
- d. ne possèdent jamais de chloroplastes.

6- Les cellules végétales Eucaryotes :

- a. possèdent toujours une paroi pecto-cellulosique sans membrane.
- b. possèdent une paroi doublée à l'intérieur, d'une membrane plasmique.
- c. possèdent un filament d'ADN libre dans le cytoplasme.
- d. sont surtout des bactéries et des virus.

7- Le chloroplaste :

- a. contient de la chlorophylle, pigment nécessaire à la photosynthèse.
- b. est le siège de la transformation de la matière minérale en matière organique.
- c. est le siège de la respiration cellulaire.
- d. est un organite typique des cellules hétérotrophes.

Chapitre 2

Méthodes d'étude de la cellule

Objectifs du cours

A la fin du chapitre l'étudiant sera capable de :

- ❖ Distinguer les méthodes d'observation des cellules mortes et vivantes.
- ❖ Décrire les techniques de fractionnement cellulaire et subcellulaire.
- ❖ Connaître la technique de culture cellulaire et ses applications.
- ❖ Appliquer les connaissances acquises pour la préparation des échantillons au cours des TP.

La taille des cellules (10 à 100 μm) et de leurs constituants est généralement trop petite pour qu'il soit possible de les observer à l'œil nu. La plupart des méthodes sont basées sur l'emploi des microscopes.

1. Méthodes d'observations des cellules

La microscopie est un ensemble de techniques permettant d'obtenir une image des structures biologiques. Il existe deux grands groupes: le microscope optique ou photonique (utilise des photons) et le microscope électronique (utilise des électrons).

1.1. Microscope photonique

Le microscope optique est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions (grossissement) et de séparer les détails de cette image (pouvoir de résolution) afin qu'il soit observable par l'œil humain.

a. Le principe :

Une onde est envoyée sur la préparation ou émise par la préparation. Cette onde est captée par un objectif qui la concentre et passe par un oculaire qui crée une image observable. Cette image est soit observée à l'œil nu, soit photographiée, soit enregistrée par caméra CCD et stocké sur ordinateur pour traitement.

- l'objectif : fourni une image réelle renversée de l'objet fortement agrandie.
- l'oculaire: agrandie encore plus l'image (l'objet observé est en fait une image virtuelle renversée).
- Le pouvoir séparateur ou pouvoir de résolution du microscope optique ne peut dépasser 0,2 μm . La résolution est définie comme étant la distance minimale séparant deux points individualisables. Chez l'homme le PS est de 0,1 mm à une distance de 25 cm.
- La puissance ou grossissement du microscope photonique étant au maximum de 1000.

Grossissement du microscope = Grossissement oculaire x Grossissement objectif

b. Domaine d'application

- Description structurale des tissus et des cellules (taille, forme cellulaire et tissulaire, forme et position des noyaux).
- Permet l'observation des cellules mortes et vivantes.

c. Types de microscopes photoniques

Un certain nombre de microscopes ayant chacun des montages optiques spéciaux ont été mis au point pour permettre l'observation des cellules dans certaines conditions et améliorer la qualité de celle-ci (augmenter les contrastes et améliorer le pouvoir de résolution) (**tableau I**).

Tableau I. Types de microscopes photoniques.

Types de microscope optique	Caractéristiques
MO à fond clair	Permet l'observation des structures cellulaires internes après coloration
MO à fond noir	Observation des échantillons non colorés et des cellules vivantes en déplacement
MO à fluorescence	Marquage fluorescent de structures et de composés macromoléculaires
MO à contraste de phase	Mise en évidence des différences d'indices de réfraction et de contraste
MO à balayage confocal	Marquage fluorescent image 3D
MO inversé	Observation des cellules en culture

1.2. Microscope électronique

a. Principe

Le principe de fonctionnement d'un ME ressemble un peu à celui d'un MO sauf, au lieu des photons ce microscope fonctionne avec des électrons, le faisceau est produit et accéléré par un canon à électrons (cathode et anode percée). L'ensemble du dispositif est placé sous vide. Les lentilles de verre sont remplacées par des bobines électromagnétiques ("lentilles" électromagnétiques) seules capables de focaliser les électrons, et de créer des images.

- Grossissement = 1,000 000X (vs 1000X microscope optique).
- Limite de résolution peut atteindre quelques Å (1Å = 0,1nm).

b. Types de microscopes électriques

Il existe deux variantes de la microscopie électronique :

- la microscopie électronique à transmission (MET)
- la microscopie électronique à balayage (MEB)

- Microscope électronique à transmission

C'est la technique la plus performante. Le faisceau d'électron est émis par un canon à électron, focalisé sur la préparation à l'aide de lentilles électromagnétiques et la traverse, ils sont plus ou moins absorbés (la préparation est dite plus ou moins dense aux électrons), l'image se forme derrière la préparation sur un écran fluorescent similaire à ceux qui équipent les téléviseurs noirs et blanc (**figure 1**).

- Microscope électronique à balayage

Le flux d'électrons balaye la surface de l'objet au préalable recouvert d'une couche métallique. Ce sont les électrons secondaires, renvoyés par la surface métallique, qui sont utilisés pour fournir une image. Bien que de résolution plus faible que la technique précédente, il fournit des renseignements sur l'aspect tridimensionnel des surfaces cellulaires absolument spectaculaires (**figure 1**).

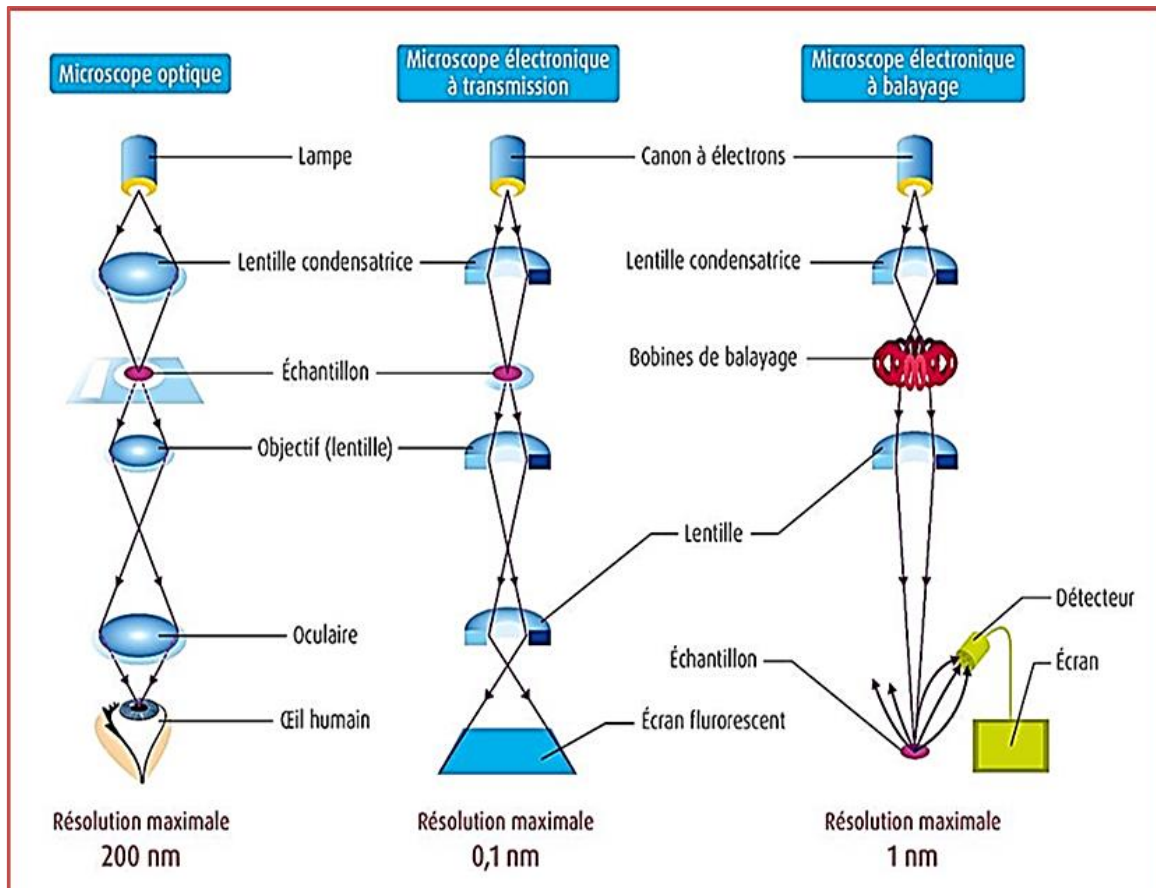


Figure 1. Principes comparés du microscope optique, MET et MEB (Daujean *et al* ; 2019)

c. Domaine d'application

Le MET : Avec ce microscope on ne peut examiner que des cellules tuées, mais le pouvoir séparateur est de l'ordre de quelques \AA . On aura donc accès à l'ultra structure des organites.

Le MEB : Il prend des photos des surfaces au lieu des tranches minces. Les photos ont une qualité de trois dimensions.

2. Techniques de préparation des échantillons

Le microscope permet d'observer les cellules d'un tissu, mais dans des conditions très strictes : il faut que l'objet à examiner soit transparent à la lumière. Les objets biologiques ne le sont que rarement, à l'exception des objets naturellement très minces : suspensions (sang,..) ou cultures cellulaires. Il faut donc les durcir et les découper en tranches très minces après avoir "immobiliser" les structures dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

Les techniques de préparation des échantillons sont conditionnées par le type de microscope utilisé. Pour effectuer une observation en microscopie deux exigences s'imposent :

- l'**épaisseur de l'échantillon** : des coupes très fines.
- le **contraste**: L'observation par transmission n'est possible que si certaines régions de la coupe absorbent les photons ou les électrons plus que d'autres (effet contraste).

2.1. Préparation des échantillons pour observation en microscopie optique

- **Observation des cellules vivantes**

Les cellules vivantes peuvent être examinées sans préparation, mais dans un nombre très limité de cas. Il ne peut s'agir que des cellules isolées, naturellement ou en culture. L'observation en milieu de culture permet de maintenir la physiologie cellulaire. Mais les boîtes de culture interdisent des objectifs de grossissement utile. Dans ce cas, on illumine la boîte par le haut et l'on observe à travers le fond : microscope inversé.

Afin d'augmenter les contrastes deux méthodes sont utilisées, la méthode chimique utilise les colorants vitaux (sont rares) et la méthode physique, la microscopie à contraste de phase

- Des colorants vitaux (sans toxicité pour la cellule) sont utilisés pour augmenter les contrastes. Ils augmentent le contraste d'absorption de certaines longueurs d'onde, conférant une couleur aux structures qui les retiennent. On peut citer :

Le **Vert Janus B** spécifique des mitochondries

Le **bleu de Trypan**, qui ne peut rester dans des cellules vivantes, mais qui colore les cellules mortes (test d'exclusion du bleu trypan).

La quasi-totalité des colorants sont très toxiques pour les cellules, quelques rares colorants n'ont pas cet inconvénient.

- Le microscope à contraste de phase augmente le contraste des objets. C'est le seul moyen d'observer les mouvements cellulaires et de les filmer.

- **Observation des cellules mortes**

- Préparation d'un frottis fixé** : Le frottis est une étape d'étalement sur lame de verre nécessaire à la réalisation d'une observation microscopique de cellules. Le frottis est réalisé à partir d'un étalement d'une goutte de suspension sur la lame. Après séchage, le dépôt est fixé afin de tuer les cellules tout en permettant une bonne accroche sur la lame en vue d'une future coloration.

- Préparation d'une coupe histologique à partir de tissu** : Il est nécessaire la mise en œuvre de manipulations indispensables à l'obtention d'objets minces et contrastés. La séquence de ces manipulations suite au prélèvement de l'échantillon est la suivante : fixation, inclusion, coupe et coloration.

- a. Fixation**

C'est l'action de tuer les cellules, en évitant tout phénomène agonique, de manière à conserver les structures dans un état morphologique aussi proche que possible de l'état vivant. On peut fixer à l'aide de procédés chimiques : Alcool, formol, acide acétique, etc....ou bien par des procédés physiques, comme la congélation brusque (meilleur fixateur).

La fixation chimique par immobilisation des chaînes protéiques utilise deux groupes de fixateurs selon leur action sur les protéines :

Fixateurs coagulants : Conservent très mal les organites cytoplasmiques. Ils sont utilisés en histologie. Exemple : l'éthanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), l'acide acétique (CH_3COOH) dilué, les solutions aqueuses d'acide picrique (trinitrophénol).

Fixateurs non coagulants : altère le moins les structures cellulaires. Ils sont utilisés en cytologie. Exemple : solutions aqueuses de tétroxyde d'osmium OsO_4 , aldéhydes formaldéhyde, glutaraldéhyde, etc.).

La fixation doit être précoce, le volume du fixateur doit être suffisant (10 fois) et le temps de fixation est important selon la taille de l'échantillon.

b. Déshydratation

L'inclusion est précédée par la déshydratation. Pour déshydrater les tissus, on les plonge dans des alcools de degrés croissants, 30°, 50°, 70°, 80°, 90°, 100°, pour éliminer l'eau (déshydratation) et éviter la déformation des tissus. L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : xylène, toluène (substitution)

La paraffine n'est pas miscible à l'eau et n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation.

c. Inclusion

La coupe ne peut être pratiquée que dans une substance assez dure ; c'est pourquoi on imprègne les tissus d'une substance d'enrobage, en général la paraffine. Ainsi, les tissus déshydratés sont ensuite plongés dans la paraffine maintenue liquide à l'étuve entre 50 et 60°C. On refroidit alors et on obtient un bloc de paraffine durcie contenant le tissu à examiner. En effet l'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool).

d. Coupe (microtomisation)

Le bloc de paraffine est découpé en tranches minces (2-5 μm) à l'aide des microtomes qui sont des appareils permettant de débiter les blocs de paraffine en coupes de quelques microns à quelques dizaines de microns. On recueille les coupes sur des lames de verre (porte objets) et mises à sécher (sur la nuit à 40-45°C ou 1H max 60°C).

e. Réhydratation

Les coupes collées sur lame de verre sont déparaffinées à l'aide d'un solvant organique et ramenées à l'eau par des bains d'alcools de concentrations décroissantes. Cela permet de les colorer, car la majorité des colorants sont solubles dans l'eau ou dans l'alcool.

f. Coloration

Les colorations réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour pouvoir reconnaître différents éléments du tissu. On dispose de nombreux colorants naturels, qui se fixent sur telle ou telle structure de la cellule, par exemple: coloration H&E (hématoxyline –éosine)

Les solutions d'hématoxyline contiennent de l'hématéine et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer). Ce mordant est responsable de la coloration. L'éosine colore les cytoplasmes en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments.

Collagène	rose pâle
Muscle	rose foncé
Cytoplasme acidophile	rouge
Basophiles	pourpre
Noyaux	bleu
Erythrocytes	rouge cerise

2.2. Préparation des échantillons pour observation en MET

La séquence de manipulation est analogue à celle qui a été exposée pour la microscopie optique.

a. Fixation

Une fixation forte : double fixation au glutaraldehyde $C_5H_8O_2$ puis au tétraoxyde d'osmium OsO_4 . Ce sont les deux principaux fixateurs chimiques utilisés en microscopie électronique.

b. Déshydratation

Elle suit le même principe qu'en microscopie optique; mais elle est délicate car les tissus doivent être conservés jusqu'au niveau moléculaire. Les alcools et l'oxyde de propylène.

c. Inclusion

Elle se fait dans une résine plastique dense : l'araldite. Une fois refroidi, durci par polymérisation, on obtient un échantillon solide.

d. Coupe

Elle est effectuée sur un ultramicrotome, elle fournit des coupes ultrafines, de 50 à 80 nm d'épaisseur. Un couteau à tranchant moléculaire (coin de verre, ou diamant).

e. Contraste

La matière biologique est principalement composée des atomes relativement légers (H, C, O, N, P) qui interagissent peu avec les électrons, le contraste de l'image finale est donc faible et difficile à observer. Pour augmenter le contraste, on utilise des sels de métaux lourds : citrate de plomb, acétate d'uranyle. Appliqués sur les coupes avant observation, ces sels s'absorbent au niveau des structures biologiques, qui deviennent très opaques aux électrons ainsi, le contraste est renforcé.

Le microscope électronique convient tout autant pour l'étude de très petites particules, comme les virus, les ribosomes, éléments de cytosquelette et complexes protéiques. On peut également mettre en évidence la forme des protéines et acides nucléiques individuels au microscope pour autant qu'on leur donne un contraste suffisant. Trois techniques importantes ont été mises au point :

❖ *Coloration négative*

Consiste à déposer l'objet à observer sur un support, puis à plonger l'ensemble dans une solution de sel de métal lourd, qui est drainée immédiatement. Les quelques traces de solution qui restent se concentrent par capillarité aux bords des objets, qui apparaissent en clair sur un fond sombre à l'observation en microscopie à transmission (**figure 2**).

❖ *Ombrage métallique*

Cette technique consiste à déposer l'objet à observer sur un support, puis à exposer l'ensemble à des vapeurs métalliques, obtenues en vaporisant sous vide une électrode métallique, de platine par exemple. Les vapeurs se déposent sur l'objet, et y déposent un mince film d'atomes métalliques.

Si on prend la précaution de faire en sorte que la projection ait lieu d'un côté de l'objet, ce côté aura un film métallique plus épais, donc sera plus sombre à l'observation en microscope électronique à transmission : on verra l'objet avec une impression de relief (**figure 2**).

❖ *Cryofracture et cryodécapage*

Elle est généralement applicable au MEB et s'effectue comme suit : la congélation de l'échantillon, cryofracture, décapage, ombrage métallique et obtention de la réplique.

• *La cryofracture :*

Consiste à congeler l'échantillon biologique dans l'azote liquide (-196C°), puis à le casser sous vide à l'aide d'un couteau en coin (**cryofracture**). On soumet la surface ainsi obtenue à un ombrage métallique, souvent renforcé par des vapeurs de carbone, puis on se débarrasse du matériel biologique en le dissolvant dans un acide : on obtient ainsi une réplique observable au microscope électronique.

Au niveau membranaire cette méthode a permis des observations essentielles. Exemple : observation des protéines membranaires et mise en évidence des jonctions étanches.

• *Cryofracture + cryodécapage*

Au niveau cytoplasmique, cette technique a été complétée. Après la **cryofracture**, on effectue un **cryodécapage** : on sublime l'eau cytosolique (en rapprochant « simplement » le couteau de la fracture..), ce qui fait ressortir les autres constituants en relief. Un ombrage métallique, sous vide et à froid, pour renforcer les reliefs puis un film de carbone uniforme et très fin est ensuite vaporisé par-dessus la surface métallisée (la réplique) (**figure 2**).

Après obtention d'une réplique, l'ensemble **cryofracture + cryodécapage** permet par exemple de voir les filaments du cytosquelette en place dans le cytoplasme.

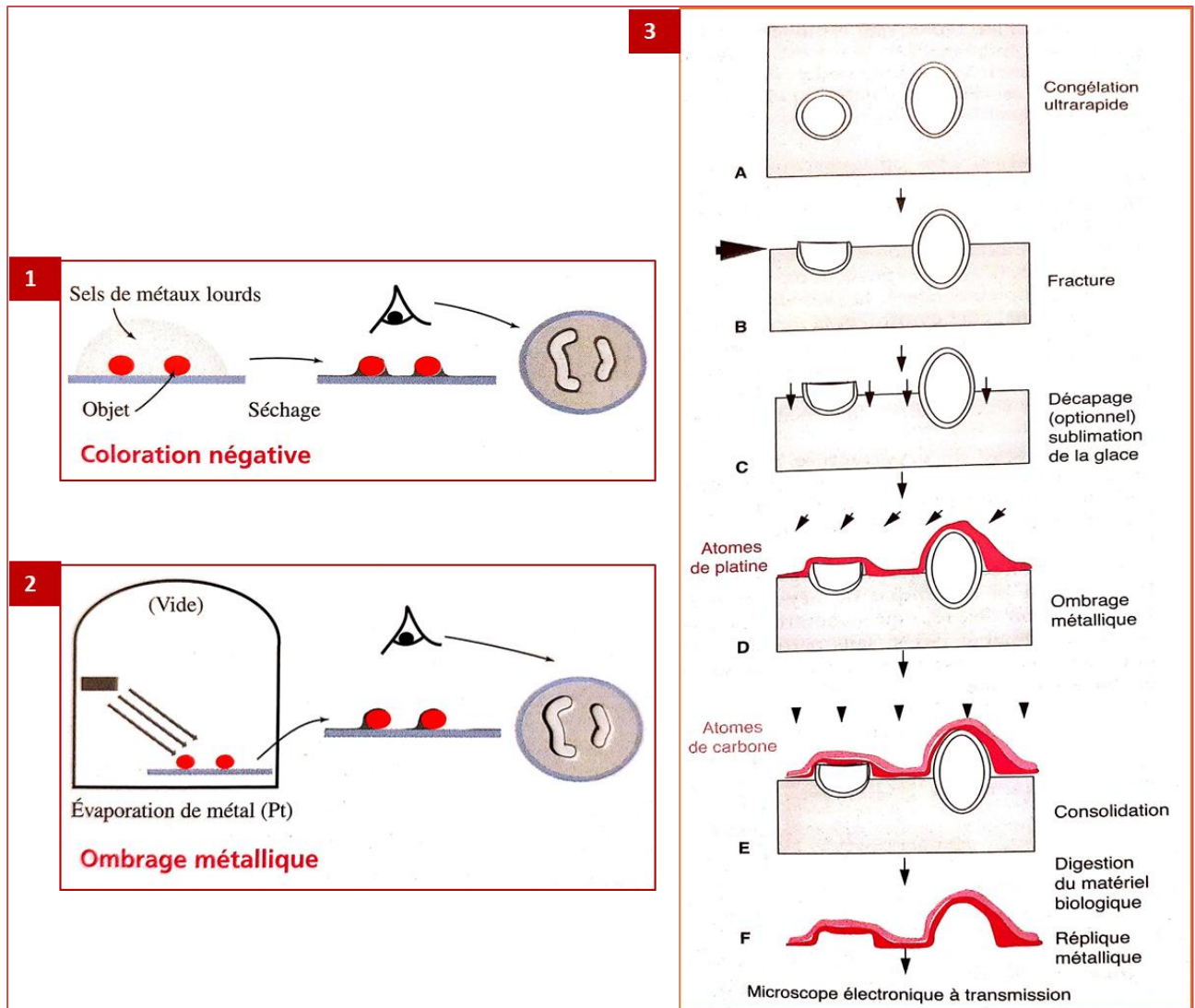


Figure 2. Méthodes de contraste.

1 : Coloration négative ; 2 : Ombrage métallique (**Bassaglia ; 2013**) ;

3 : Cryofracture et cryodécoupage (**Robert et Vian ; 2013**).

3. Méthodes de fractionnement cellulaire

Elle utilise des techniques de centrifugation après broyage des cellules pour séparer et concentrer les constituants de la cellule.

3.1. Homogénéisation

La destruction de la membrane plasmique et désorganisation de la cellule, conduit à un homogénat. Elle doit conserver autant que possible l'intégrité structurale, biochimique et physiologique des organites des cellules étudiées (**figure 3**).

Différentes méthodes d'homogénéisation sont utilisées : mécanique, physique (hautes pressions ou ultra-sons) ou chimique (détergents, enzymes).

Le milieu de broyage : Précautions à respecter pour obtenir un bon homogénat : liquide isotonique, basse température (0-4°C), en présence d'agents réducteurs et PH neutre.

3.2. Purification

Les homogénats cellulaires seront fractionnés en leurs composants par centrifugations répétées à des vitesses progressivement augmentées. Plus le composant subcellulaire est petit, plus la force centrifuge nécessaire pour le sédimenter est élevée. La vitesse de sédimentation des particules dépend de leur taille et de leur densité. La plupart des organites restent intacts, la membrane plasmique et les membranes du réticulum endoplasmique vont être fragmentées sous forme de vésicules appelées microsomes (**figure 3**).

Il existe 2 types de centrifugation: la centrifugation différentielle et la centrifugation en gradient de densité.

a. Centrifugation différentielle

Procédé qui sépare les particules (organites, macromolécules) en fonction de leur taille par une succession de centrifugation dans des conditions de vitesse et de temps variables. Le procédé de purification des composants cellulaires peut être réalisé en plusieurs étapes, le surnageant étant chaque fois centrifugé plus vite et plus longtemps. Le dernier surnageant non sédimenté constitue le cytosol.

b. Centrifugation sur gradient de densité (zonale)

Procédé qui sépare les particules en fonction de leur densité. On réalise un gradient de densité en saccharose par exemple (concentration qui varie continûment de haut en bas 5% et 20%), le broyat cellulaire est déposé à la surface de ce gradient, puis l'ensemble est centrifugé, les organites sédimentent et se stabilisent dans la zone correspondant à leur densité.

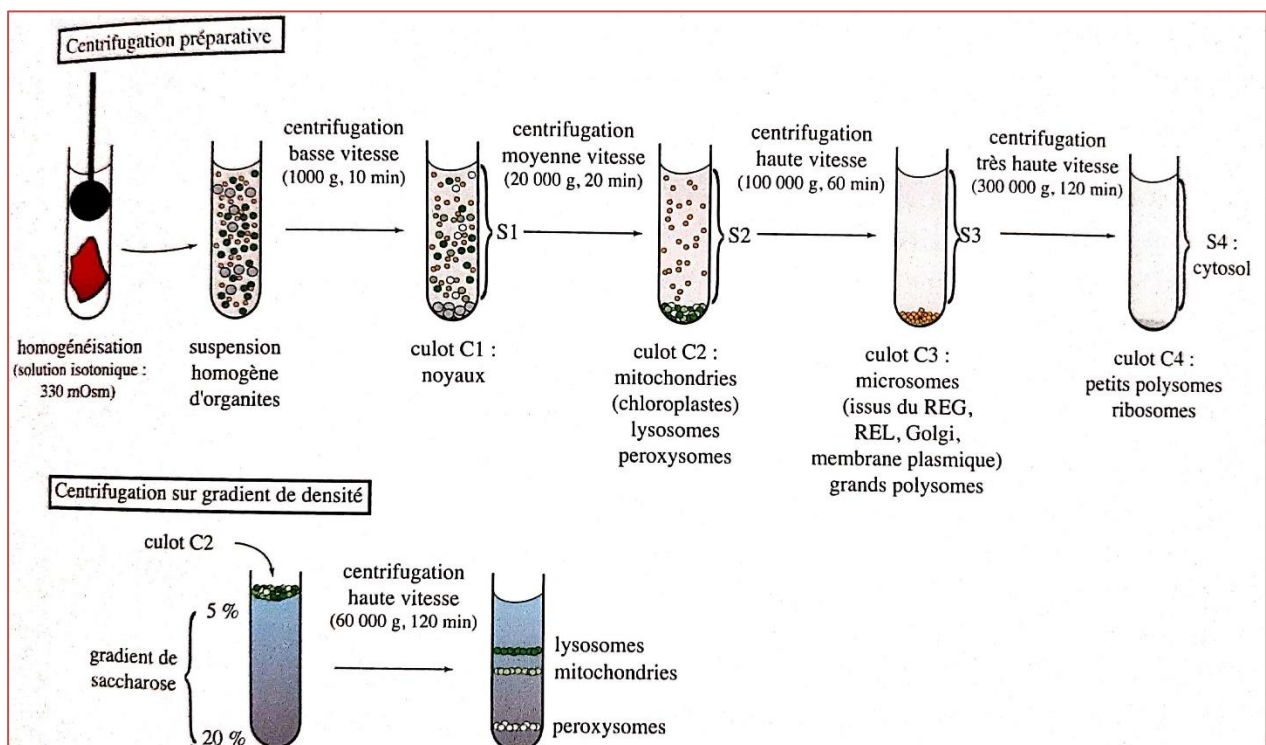


Figure 3. Fractionnement cellulaire (Bassaglia., 2013).

4. Culture cellulaire

4.1. Définition

La culture cellulaire est la technique permettant de maintenir des cellules vivantes hors de l'organisme dans des récipients de culture (in vitro) contenant des milieux nutritifs (pour la prolifération cellulaire) tout en respectant les conditions adéquates de stérilité, de température et de pH.

4.2. Obtention des cellules pour culture

On distingue 2 types de cellules:

- 1- Les cellules libres et circulantes comme les cellules du sang : sont récupérées facilement par centrifugation sur Ficoll (séparation selon la densité)
- 2- Les cellules en cohésion les unes avec les autres, constituant un tissu. Chaque type cellulaire nécessite un traitement particulier. De manière générale, la mise en culture passe par une dissection mécanique des tissus, suivie d'une dissociation enzymatique qui permet d'obtenir des cellules isolées.

4.3. Culture primaire et culture secondaire

Les cellules isolées sont alorsensemencées dans une boîte de culture, en présence d'un milieu de culture qui permet leur survie et leur prolifération éventuelle. Ce type de culture directement issue de l'animal, est appelé **culture primaire**.

Lorsque la densité cellulaire d'une boîte est importante, on réalise une sous-culture (un passage) : on récupère les cellules, et on les ensemence sur plusieurs boîtes équivalentes, à densité moindre. Ces cellules sont appelées **cultures secondaires**. Les cellules forment alors une lignée cellulaire (**figure 4**).

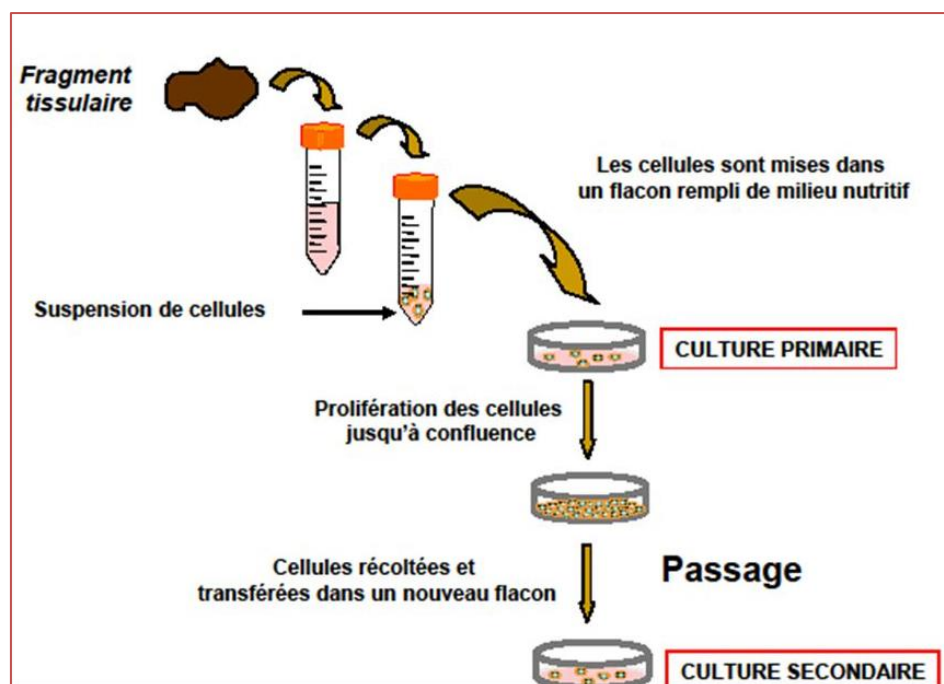


Figure 4. Culture primaire et culture secondaire

4.4. Les lignées cellulaires

- **Lignées finies** : Certaines lignées cellulaires prolifèrent pendant un certain nombre de passages, puis cessent de se diviser. Ces lignées sont sensibles au phénomène de sénescence cellulaire, qui se manifeste par une apoptose.
- **Lignées continues** : Ces lignées prolifèrent sans arrêt, elles sont immortelles. Parmi les lignées continues, certaines perdent leurs propriétés d'adhérence, et sont capable de donner des tumeurs lorsqu'elles sont injectées chez l'animal. : on parle alors de **lignées transformées**.

4.5. Types de cultures des cellules

Il existe deux types de culture de cellules :

- Culture de cellules en suspension : Ces cellules flottent dans le milieu et prolifèrent en suspension. Ce sont des cellules non adhérentes.
- Culture de cellules adhérentes : La plupart des cellules sont adhérentes. Elles sont encreées au fond de la boîte par des jonctions, et sont alors recouvertes par le milieu de culture.

4.6. Milieu de culture

- Liquide ou solide (gel)
- Composition chimique de base : Eau, ions minéraux, vitamines, acides aminés, acides gras, glucose, bases, ribose, désoxyribose, antibiotiques 1%, glutamine 1%, sérum de veau fœtal (SVF) et facteurs de croissance, facteurs d'adhésion, indicateur de PH.
- Le remplacement du milieu s'effectue tous les 2 à 3 jours. Ex. de milieu de culture : MEM (milieu essentiel minimum), RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium)

4.7. Conditions de culture

- Stérilité maximum en utilisant une hotte à flux laminaire, des lampes à UV germicides.
- pH : 7 à 7,4 ; Température : + 37°C (étuve)
- Ambiance : 95 % d'air et 5 % de CO₂ (étuve) qui permet le maintien du pH.

4.8. Les contaminants

- Contaminants biologiques : Bactéries, levures, champignons, protozoaires, virus mycoplasmes.
- Contaminants chimiques : Endotoxines qualité de plastique.
- Contaminants croisés : autres cellules.

4.9. Utilisation des cellules en cultures

L'étude des mécanismes de la physiologie cellulaire, en médecine humaine et l'industrie pharmaceutique (étude pharmacologique et toxicologique de nouvelles molécules médicamenteuses, production des substances à usage thérapeutique (hormones de croissance, insuline, interférons et cytokines, anticorps monoclonaux) et production de vaccins.

Entrainement

QCM : Parmi les propositions suivantes relatives aux méthodes de l'histologie classique, quelle(s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) pour l'ordre séquentiel dans la technique de routine :

1- Concernant la préparation de coupes histologiques

- a. Déshydratation, fixation, inclusion, coupe, coloration, réhydratation...
- b. Fixation, déshydratation, inclusion, coupe, réhydratation, coloration...
- c. Fixation, déshydratation, réhydratation, inclusion, coupe, coloration...
- d. Fixation, inclusion, coupe, déshydratation, coloration, réhydratation...
- e. Fixation, inclusion, déshydratation, coupe, réhydratation, coloration...

2- Concernant les techniques de microscopie photonique

- a. La microscopie électronique à balayage permet d'observer des organites en 3D.
- b. Le microscope confocal permet de suivre la colocalisation de deux protéines.
- c. La microscopie optique en lumière blanche ne permet d'observer les objets qu'en noir et blanc.
- d. Tous les types de microscopes optiques permettent l'étude de cellules vivantes.
- e. La microscopie biphotonique permet une reconstitution en 3D des structures analysées

3- Concernant les techniques de microscopie électronique

- a. La cryofracture permet de mettre en évidence l'ultrastructure du cytosquelette.
- b. L'analyse d'échantillons au microscope électronique à transmission nécessite la réalisation préalable de coupes fines au microtome.
- c. Grâce à son fort grossissement, le microscope électronique permet de suivre la dynamique de structures très fines comme les filaments du cytosquelette.
- d. L'autoradiographie apporte un complément d'information dynamique à la microscopie électronique, elle permet, par exemple, de suivre le devenir intracellulaire d'une protéine.
- e. Un immunomarquage peut être révélé en microscopie électronique.

4- Concernant la microscopie électronique

- a. L'échantillon étudié doit être totalement transparent aux électrons.
- b. Le principe est toujours celui de la transmission d'électrons.
- c. On améliore le contraste en utilisant des métaux lourds.
- d. La limite de résolution est plus grande qu'en microscopie optique.
- e. Le microscope électronique utilise des lentilles.

5- On ajoute du SVF dans les cultures de cellules humaines pour

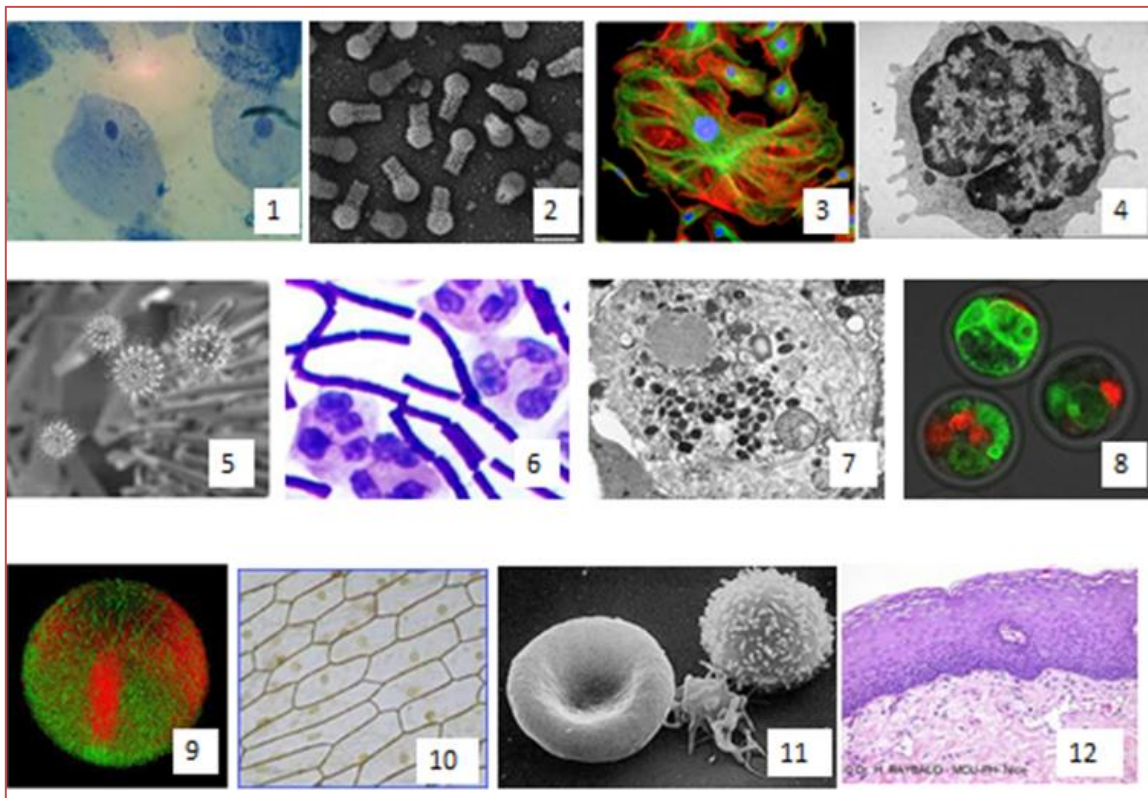
- a. Eviter la contamination des cellules avec des levures.
- b. Fournir une source de carbone.
- c. Fournir une source d'acide aminé.
- d. Stimuler leur croissance.
- e. Les immortaliser.

Chapitre 2. Méthodes d'étude de la cellule

Question 1 : Répondez par vrai ou faux aux propositions suivantes

Propositions	Vrai	Faux
1- Le microscope électronique oblige à ce que l'échantillon soit placé sous vide pendant l'observation.		
2- La technique d'autoradiographie nécessite l'utilisation de substances fluorescentes.		
3- Pour le MEB, la préparation des échantillons n'a pas besoins ni à l'inclusion ni à la réalisation des coupes.		
4- La coloration négative permet de contraster le contour de petits objets.		

Question 2 : Identifiez le type de microscope utilisé pour l'obtention des micrographies ci-dessous.



Chapitre 3

Structures subcellulaires

Objectifs du cours

A la fin du chapitre l'étudiant sera capable de :

- ❖ Nommer tous les compartiments cellulaires.
- ❖ Décrire leur localisation, structure et composition chimique.
- ❖ Examiner la relation structure et fonction des différents organites
- ❖ Démontrer les relations qui existent entre les divers organites cellulaires.

1. Le cytosol

1.1. Définitions

Le **cytosol** est un terme de biologie cellulaire qui désigne, à l'intérieur d'une cellule, la phase liquide et translucide dans laquelle baignent les organites cytoplasmiques. D'une manière plus technique, il s'agit de la fraction liquide du cytoplasme, obtenue après ultracentrifugation et élimination des organites.

Le **cytoplasme** est défini comme le matériel biologique contenu entre la membrane plasmique et l'enveloppe nucléaire. Il s'agit d'une phase liquide qui comporte de nombreux organites et structures en suspension dans le cytosol tels que: noyau, appareil de Golgi, réticulum endoplasmiques, mitochondries (plastides plantes), lysosomes, endosomes et peroxysomes.

Le **hyaloplasme** comprend le cytosol et le cytosquelette.

1.2. Structure

Au microscope optique, le cytosol a une structure homogène d'aspect astructuré (sans structure apparente). Il est caractérisé par une morphologie variable suivant le type cellulaire et surtout l'état physiologique de la cellule.

1.3. Étude biochimique du cytosol

1.3.1. Isolement

Par la technique d'ultracentrifugation différentielle, on obtient à la 4ème centrifugation d'un homogénat cellulaire, un surnageant correspondant au cytosol. Les organites, le noyau et les éléments du cytosquelette sont récupérés lors des centrifugations précédentes.

1.3.2. Composition moléculaire

H₂O : Elle constitue en moyenne 85 % du cytosol (l'eau liée qui participe à la constitution de macromolécules ; eau d'hydratation liée par liaison électrostatique aux groupes polaires de macromolécules ; eau libre qui représente 1/3 du total des molécules).

Ions inorganiques : Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl...

Gaz dissous : CO₂, O₂...

Les molécules: Glucides, lipides, acides aminés, nucléotides et métabolites divers.

Les macromolécules : Protéines, enzymes, polysaccharides, glycoprotéines, acides nucléiques solubles, ...

pH: 7

La viscosité : 4 fois supérieure à celle de l'eau et correspond à un gel colloïde.

1.4. Propriétés du cytosol

1.4.1. Viscosité

Étant un liquide aqueux, le cytosol ne présente pas de forme ou de structure stable, même si, temporairement, il peut prendre deux types d'aspect, une consistance de gel (état gel) et une consistance de fluide (état sol).

Les changements de formes du cytosol permettent à la cellule de s'adapter aux nécessités métaboliques et joue également un rôle important lors du mouvement cellulaire. Ces états sont essentiellement liés aux protéines du cytosquelette. Selon que les macromolécules protéiques d'actine soient liées par des liaisons fortes ou faibles, la consistance du cytosol varie.

1.4.2. Mobilité

Mouvements internes : Courants cytoplasmiques, il coule lentement dans la cellule sans déformation de la membrane plasmique. Ces mouvements internes entraînent les structures en suspension : mitochondries, ribosomes, vésicules...

Mouvements amiboïdes : Le mouvement amiboïde débute quand la membrane plasmique se gonfle vers l'avant pour former un pseudopode grâce aux éléments du cytosquelette et de leurs protéines associées.

1.5. Fonctions du cytosol

- Support des organites cellulaires.
- Reserve de matériaux : réserve énergétique grâce aux inclusions glycogéniques et lipidiques, réserve de macromolécules
- Transduction du signal à partir de la membrane plasmique vers les organites et le noyau.
- Carrefour de voies métaboliques : anabolisme et catabolisme des glucides, des acides aminés, des acides gras et des nucléotides.

2. Cytosquelette

2.1. Définition

Le cytosquelette est un réseau complexe de filaments et tubules protéiques qui s'étendent dans tout le cytoplasme. C'est une structure très dynamique qui se réorganise continuellement au cours des différents événements cellulaires (migration, division, etc.). Tous les éléments du cytosquelette sont des structures protéiques allongées résultant de la polymérisation d'éléments monomériques. Les éléments de cytosquelette sont associés à des protéines accessoires.

2.2. Composants du cytosquelette

Trois types principaux de structures protéiques constituent le cytosquelette les microtubules, les filaments d'actine (microfilaments) et les filaments intermédiaires diamètre.

2.2.1. Les microtubules

Les microtubules sont des tubes creux très fins de quelques microns de longueur et d'environ 25 nm de diamètre extérieur. Ils sont constitués d'une protéine globulaire appelée **tubuline**, qui existe sous deux formes moléculaires : α et β . Ces deux formes s'associent en *dimères (hétérodimères)*. Dans un hétérodimère, chaque molécule de tubuline est associée à un nucléotide : GTP pour la tubuline α , GTP ou GDP pour la tubuline β .

Les dimères de tubuline se polymérisent pour constituer un *protofilament* caractérisé par une alternance des deux types de tubuline. Dans chaque microtubule, on trouve 13 protofilaments disposés parallèlement de façon à former un tube creux. Dans le microtubule, les molécules de tubuline α et β de deux protofilaments voisins sont décalés d'une unité ce qui est responsable de leur disposition hélicoïdale (**figure 2**).

2.2.1.1. Propriétés

Les microtubules cytosoliques sont des polymères dynamiques et instables. Leur demi-vie est de quelques minutes dans des cellules en culture.

Ce sont des structures polaires caractérisées par une *extrémité positive*, à croissance rapide dirigée vers la périphérie de la cellule, et par une *extrémité négative*, à croissance lente se trouve le plus souvent enchâssée dans le matériel péri-centriolaire.

2.2.1.2. Biogenèse

Les microtubules prennent naissance au voisinage du centrosome, plus précisément dans le matériel péricentriolaire, appelé aussi centre organisateur des microtubules (COMT).

Il s'agit d'une matrice protéique composée essentiellement d'une isoforme de la tubuline : la tubuline γ (10-14 unités γ sous forme bague, associées à au moins cinq autres protéines appelées « gamma complex proteins »).

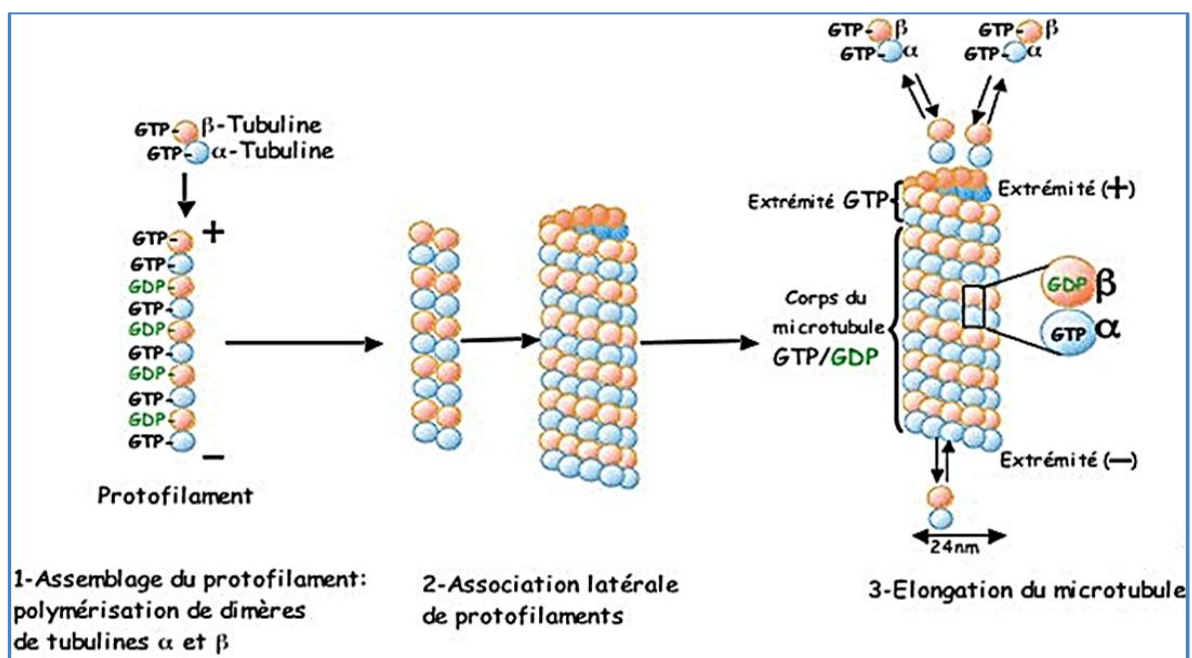


Figure 2. Les tubulines et leur polymère (**Bassaglia., 2013**).

La nucléation est la formation de petites amorces de microtubules suffisamment stables pour permettre une élongation rapide (**figure 3**).

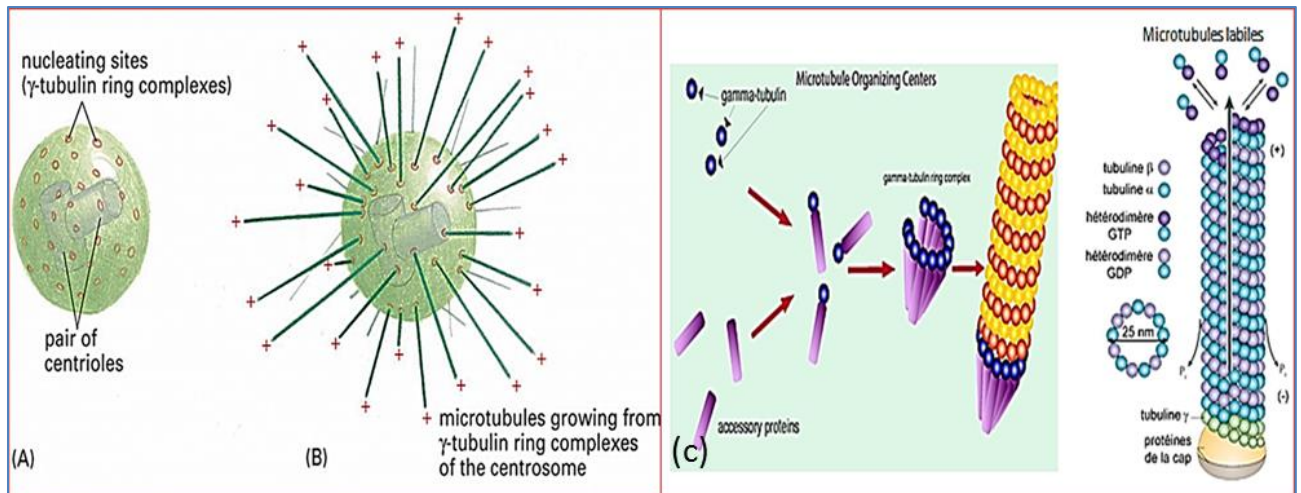


Figure 3. Centre organisateur des microtubules (**Bassaglia., 2013**)

A : Sites de nucléation ; B : Microtubules formés à partir du centre organisateur; C : Nucléation

2.2.1.3. Polymérisation

Les tubulines α et β s'associent en dimères en présence de GTP et d'ions Mg^{2+} . A partir de la tubuline γ du matériel péri-centriolaire, les dimères de tubuline (α et β) chargés en GTP sont ajoutés (α du côté pôle moins et β du côté pôle plus) et élaborent des protofilaments, qui s'assemblent entre eux pour former le microtubule. Quand un dimère de tubuline s'ajoute à l'extrémité d'un microtubule, la molécule de GTP apportée par la β -tubuline est hydrolysée en GDP et P_i après un certain temps. L'hydrolyse du GTP change la conformation des sous-unités et affaiblit les liaisons dans le polymère.

- De nombreuses substances utilisées en thérapeutique perturbent la polymérisation ou la dépolymérisation des microtubules :

- * la colchicine (alcaloïde extrait des plantes) se fixe sur la tubuline libre, non polymérisée et empêche la formation de polymères.
- * la vinblastine exerce le même effet.
- * le taxol exerce l'effet contraire : il stabilise les microtubules et empêche leur dépolymérisation.

2.2.1.4. Protéines associées aux microtubules

Les MAP (Microtubule Associated Protein) sont des protéines interagissant avec les microtubules.

- Les **MAP 1** et **MAP 2** stabilisent le réseau des microtubules en reliant les microtubules parallèles entre eux. Cependant, les protéines **Tau** n'existent que dans les neurones et principalement dans les axones pour stabiliser la structure des microtubules (**figure 4**).

- **MAP motrices** : Les déplacements d'organites ou de vésicules se font en présence d'ATP avec la concurrence entre les microfilaments d'actine et les microtubules grâce à des protéines motrices : la *Kinésine* se déplace vers la membrane plasmique (mouvement antérograde) et la *Dynéine* permet les déplacements vers le centre de la cellule (mouvement rétrograde).

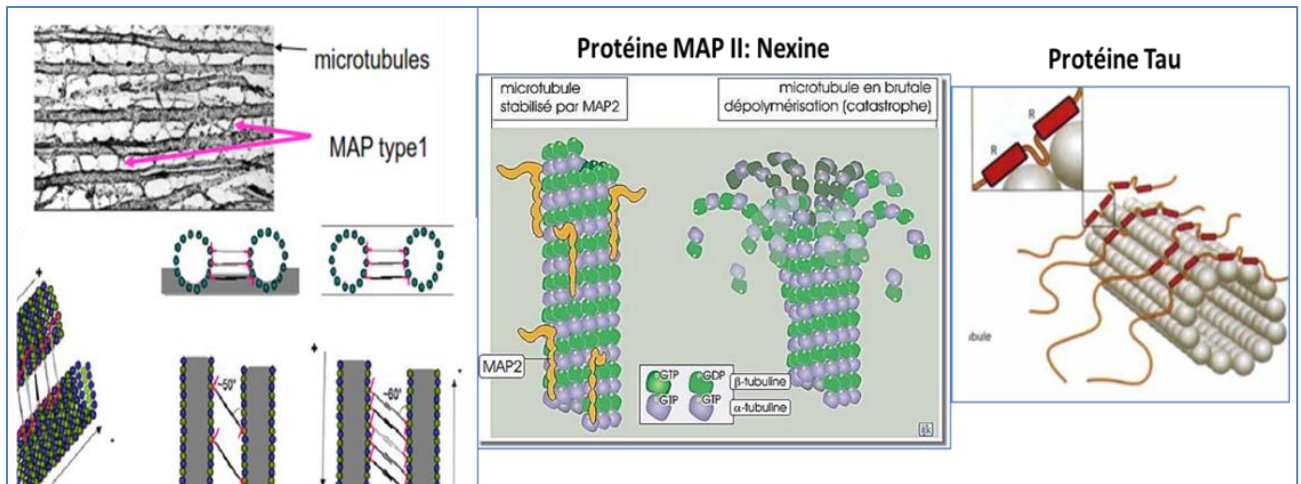


Figure 4. Protéines associées aux microtubules (Bassaglia ., 2013).

2.2.1.5. Structures stables de tubuline

Il existe des structures stables à base de tubuline qui sont représentées par :

- les paires de centrioles (ensemble de microtubules rayonnants enchâssés dans cette zone.
- les corpuscules basaux qui sont situés à la base des cils et des flagelles.
- les cils et les flagelles.

Les centrioles : En général, une cellule en interphase renferme deux centrioles situés près du noyau, placés perpendiculairement l'un à l'autre.

Un centriole est formé de 9 triplets de microtubules qui constituent la paroi incomplète d'un cylindre de 0,4 à 0,7 μm de hauteur et de 0,2 à 0,3 μm de diamètre. Chaque triplet comprend un microtubule complet appelé A (formé de 13 protofilaments, c'est le plus proche de l'axe du cylindre) et deux microtubules incomplets B et C (plus éloignés de l'axe). Des ponts protéiques stabilisent la structure du centriole (**Figure 5**).

Les cils et flagelles

Ce sont des expansions de la membrane plasmique, animés de mouvements ondulants. Un cil (ou un flagelle, plus long) présente la même organisation dans presque toutes les cellules ciliées ou avec flagelle des protozoaires à l'Homme. Cette structure est ancrée dans le cytoplasme par un **corpuscule basal** ayant la même structure d'un centriole. Son diamètre est de 0,25 à 0,3 μm . L'**axonème** est le prolongement du corpuscule basal (**Figure 5**).

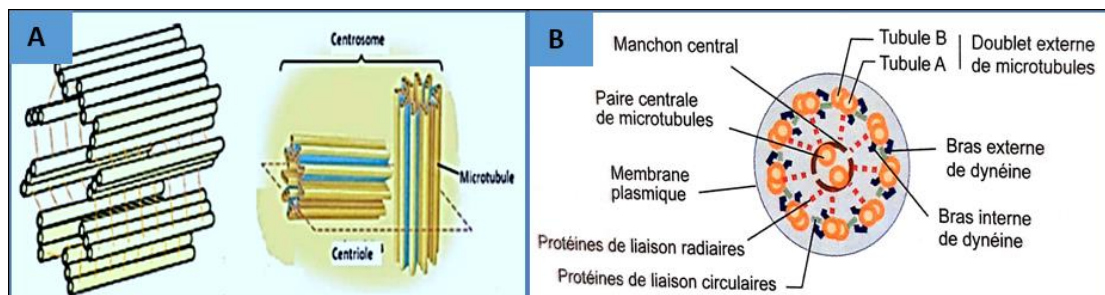


Figure 5. Structure du centriole (Richard *et al.*, 2015)

A : Centromère ; B : Corpuscule basal.

2.2.1.6. Fonctions

Les microtubules interviennent dans :

- Le maintien de la forme de la cellule ;
- Le déplacement des chromosomes au cours de la division cellulaire ;
- Le transport des vésicules d'endocytose ou d'exocytose et déplacement des organites intracellulaires ;
- Les mouvements cellulaires : cils et flagelles.

2.2.2. Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires sont les éléments du cytosquelette les plus stables et les plus permanents. Il s'agit de protéines filamenteuses super-enroulées dans des filaments épais d'un diamètre de 8nm en moyenne, qui existent dans le nucléoplasme et le cytoplasme de toutes les cellules animales. Ils n'existent pas chez les eucaryotes unicellulaires. Leur nombre augmente dans les cellules soumises à des contraintes mécaniques.

Les protéines qui composent les filaments intermédiaires diffèrent d'un type cellulaire à un autre. Ces protéines filamenteuses sont classées en 5 familles.

Neurofilamines : situés au niveau des neurones, où ils s'associent aux microtubules

Cytokératines : situés au niveau des cellules épithéliales (desmosomes et hémi-desmosomes) et les dérivés épidermiques (ongles, cheveux, poils...).

Desmines : situés au niveau des muscles lisses et striés, ils relient les myofilaments entre eux et à la membrane plasmique.

Vimentines : situés au niveau des tissus qui dérivent du mésenchyme (muscles lisses, vaisseaux sanguins), fibroblastes, cellules endothéliales...

Lamines (A, B et C) : situés au niveau du noyau où ils forment le réseau péri-nucléaire.

2.2.2.1. Polymérisation

Les filaments intermédiaires sont formés de dimères de protéines fibreuses enroulés en hélices torsadées. Ces dimères s'associent de manière antiparallèle pour former des tétramères. Les tétramères se mettent bout à bout et constituent un protofilament. Huit protofilaments s'associent et forme un filament intermédiaire dont la section est composée de 32 monomères (**Figure 6**).

Les filaments intermédiaires **ne présentent pas de polarité**, et donc n'interviennent pas dans le transport directionnel.

2.2.2.2. Fonctions

Les filaments intermédiaires interviennent surtout dans le maintien de la morphologie cellulaire, dans la résistance au stress mécanique et dans le maintien d'une cohésion entre les cellules (exemple : épithélium) via l'ancrage aux desmosomes et les plaques d'adhérence.

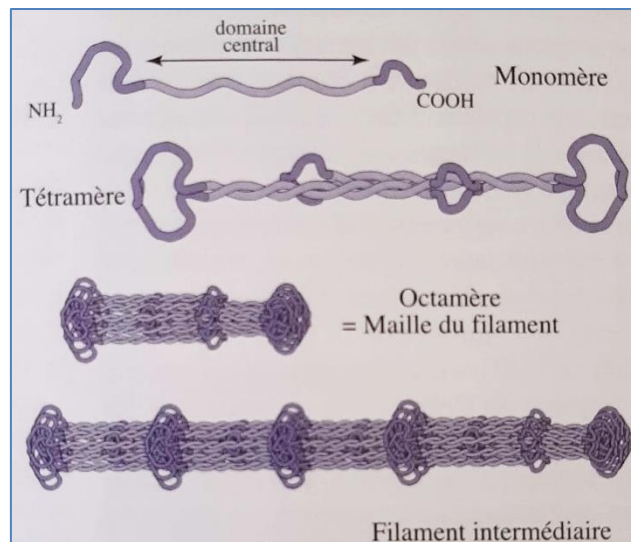


Figure 6. Polymérisation des filaments intermédiaires (Favro et Nicolle., 2011)

2.2.3. Les microfilaments d'actine

Les microfilaments sont des polymères protéiques suivant une disposition monocaténaire en hélice d'un diamètre compris entre 6 et 8 nm. Ils sont ubiquitaires chez les eucaryotes, et existent dans presque toutes les cellules et spécialement dans les cellules musculaires. Ce sont des polymères instables et polarisés.

2.2.3.1. Composition moléculaire

Les microfilaments du cytosquelette sont formés d'actine, une molécule globuleuse constituée par deux lobes. Elle possède deux domaines, séparés par un sillon. Les sites de liaisons pour Mg^{2+} et pour l'ATP ou l'ADP sont localisés au fond du sillon.

2.2.3.2. Polymérisation

Le microfilament d'actine (actine F) est obtenu par une polymérisation de monomères d'actine globuleuse (actine G) en un long empilement, les sillons contenant les nucléotides étant tous orientés vers la même extrémité du filament. Chaque monomère est décalé par rapport au précédent : les molécules d'actine dessinent deux spirales à la surface du filament, ce qui donne l'impression que le polymère est constitué de deux filaments enroulés l'un sur l'autre (**figure 7**).

La polymérisation s'amorce par une phase de **nucléation**. L'ARP 2/3 (Actin Related Proteins 2 et 3), une protéine, sert de point de départ : sa présence favorise la formation d'une amorce constituée de trimères d'actine G (appelés noyaux).

La nucléation est suivie par l'étape de l'élongation au cours de laquelle l'actine G s'assemble en filaments à partir des noyaux préformés. L'extrémité (+) a tendance à capter en très grande majorité de l'ATP-actine, favorisant par conséquent la polymérisation à cette extrémité. En revanche, l'extrémité (–) étant moins active, l'actine du filament qui en est proche a passé plus de temps sous forme filamentaire, et est majoritairement sous forme d'ADP-actine. Par conséquent, à l'extrémité (–) l'équilibre est déplacé vers la dépolymérisation.

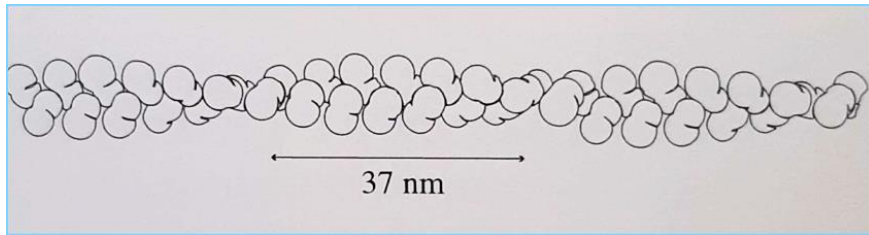


Figure 7. Microfilament d'actine (Bassaglia., 2013)

2.2.3.3. Protéines associées et leurs rôles

Les protéines de liaison sont des protéines qui, en s'associant à l'actine G ou aux microfilaments, contrôlent leur polymérisation et leur dépolymérisation, leur stabilisation, leur organisation...

- **Protéines impliquées dans la régulation de la polymérisation des microfilaments**

- **Régulation de la concentration en actine G libre** : La *Profiline* se fixe à l'actine G et favorise l'échange de l'ADP par de l'ATP favorisant la polymérisation.
- **Régulation des échanges de monomères** : Ces protéines sont capables de s'associer aux extrémités des filaments d'actine. Deux types de protéines peuvent avoir cette action :
Protéines de coiffe : la *protéine Cap Z* (s'associe à l'extrémité (+) et empêche tout échange de monomères) ; la *tropomoduline* (s'associe à l'extrémité (-) joue un rôle important dans la stabilisation des microfilaments).

Protéines de désagrégation ou de fragmentation : Ces protéines s'unissent à une région des microfilaments et la fragmente en deux parties. Exemple : la *gelsoline* fragmente les microfilaments avant de blocage des extrémités (+)

- **La stabilisation latérale des filaments** : En s'associant latéralement aux filaments d'actine, les protéines de stabilisation réduisent les échanges de monomères. Exemple : la *nébuline*.

- **Protéines impliquées dans l'assemblage des microfilaments**

- **Protéines de réticulation**

L' α -actinine : se fixe aux microfilaments d'actine et forme des faisceaux contractiles larges. Elle est notamment présente dans les desmosomes de ceinture et les contacts focaux.

Fimbrine et Villine : se fixent aux microfilaments d'actine et forment des faisceaux serrés non contractiles occupant l'axe des microvillosités.

Filamine : se fixe à des microfilaments croisés et les stabilise en réseau (réticulation), favorisant ainsi l'état gel du hyaloplasme.

- **Protéines d'ancrage membranaire ou de pontage**

Spectrine : La spectrine assure l'ancrage du réseau de microfilaments d'actine à la membrane plasmique en s'associant aux microfilaments par une extrémité et à des protéines de la membrane plasmique par l'autre. Elle contrôle également la forme biconcave des globules rouges.

2.2.3.4. Disposition des microfilaments

Les microtubules s'assemblent pour donner deux types de structures : des réseaux (fibroblastes) et des faisceaux [larges (desmosomes), sérés (microvillosités), contractiles (fibres musculaires striées)]. Ces structures sont fréquemment en contact avec la membrane plasmique, et des protéines associées permettent leur ancrage à cette membrane (**figure 8**).

Les réseaux d'actine sont formés grâce à des **protéines de réticulation**.

Les faisceaux d'actine sont liés à la présence de **protéines de pontage**.

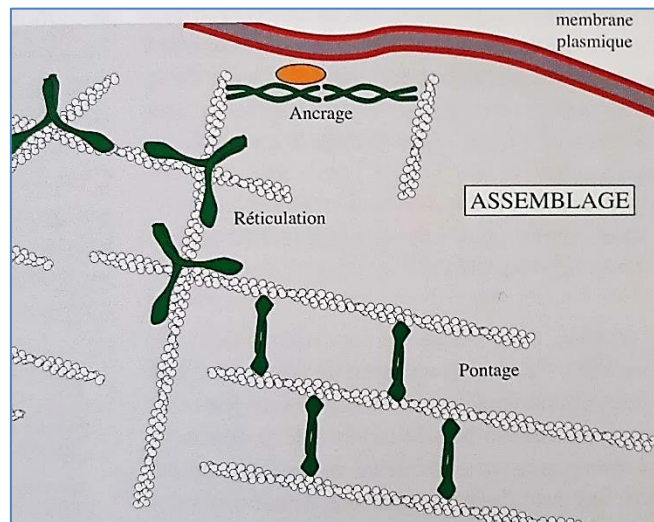


Figure 8. Assemblage des microfilaments d'actine (**Bassaglia., 2013**)

2.2.3.5. Microfilaments stables

Les microfilaments stables ne présentent pas la même dynamique de polymérisation et de dépolymérisation et sont stabilisés par des protéines stabilisatrices. On les trouve au niveau des microvillosités, des contacts focaux, des desmosomes...

2.2.3.6. Moteur moléculaire associé à l'actine : myosine et contraction

Les filaments d'actines ou microfilaments sont généralement associés à la myosine ce qui leur permet une certaine mobilité.

Les myosines se déplacent le long des filaments d'actine en utilisant l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP (fonction ATPasique de la myosine favorisée par l'actine). Ce déplacement nécessite du calcium.

La myosine I est un monomère formé d'une tête globulaire à activité ATPasique ayant un site de fixation à l'ATP, un site de fixation pour l'acide phosphorique et un site de fixation à l'actine et une queue courte se fixant à la membrane plasmique. La myosine I est le moteur des mouvements du cytosol (pseudopodes, endocytose ou exocytose). Elle stabilise également la structure des microvillosités.

La myosine II (2 têtes globulaires) est responsable de la contraction musculaire; les têtes réagissent avec l'actine; les queues forment les filaments épais des cellules musculaires striées

2.2.3.7. Fonctions

- Absorption, échange (microvillosités).

- Mobilité (pseudopodes, lamellipodes, la contraction et l'élongation de certaines parties du cytoplasme, permettant ainsi le déplacement de la cellule).
- Forme défense de la cellule contre les agressions mécaniques
- Division : l'anneau contractile lors de la cytodierèse

3. Réticulum endoplasmique et ribosomes

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organe que l'on ne rencontre que chez les cellules eucaryotes, il est toujours absent chez les cellules procaryotes. Il représente jusqu'à 50% de la surface des membranes d'une cellule. Il correspond à un ensemble de cavités ou citernes, de canalicules et de vésicules. Il est composé d'une membrane (de composition différente de la membrane plasmique) qui apparaît au MET comme tristratifiée et épaisse de 60 Å, et d'une lumière.

Il constitue un élément essentiel du réseau membranaire interne des cellules eucaryotes, en continuité avec l'enveloppe nucléaire et en relation avec les autres compartiments, notamment les vésicules de l'appareil de Golgi. Il assure le transport et le stockage des matériaux à l'intérieur de la cellule.

Le réticulum endoplasmique peut se présenter sous deux aspects particuliers :

- Le réticulum endoplasmique "rugueux ou rugueux" (RER ou REG) : porte des ribosomes à la surface externe de sa membrane. Le REG est abondant dans les cellules embryonnaires, les cellules mitotiques, les cellules du pancréas exocrines.
- Le réticulum endoplasmique lisse (REL) n'en porte pas du tout, d'où son aspect particulier. Le REL est plutôt abondant dans les cellules synthétisant les lipides et les hormones stéroïdes, tels que les adipocytes, les cellules du corps jaune, les cellules de la corticosurrénale, les cellules hépatiques...

La quantité de REL et de REG varie selon les cellules. De même la proportion de REG par rapport à celle de REL varie aussi selon l'état d'activité de la cellule, selon les besoins en protéosynthèse de la cellule.

Le réticulum se nomme corps de Nissl dans les neurones, corps de Berg dans les hépatocytes et calciosome ou bien réticulum sarcoplasmique dans les cellules musculaires.

3.1. Réticulum endoplasmique granuleux

La fraction de microsomes rugueux est obtenue après 3 ultracentrifugations différentielles successives d'un homogénat cellulaire, puis une ultracentrifugation sur gradient de densité. En ajoutant un détergent puis en effectuant une UCD on obtient un culot de microsomes lisses du REG et un surnageant de ribosomes.

3.1.1. Composition biochimique

Les membranes du REG sont constituées à 70% de protéines et à 30% de lipides.

Lipides : on note une faible teneur en cholestérol et une quantité élevée de phospholipides à chaînes d'acides gras insaturés, ce qui dote la membrane d'une fluidité importante. Exemple de lipide : Dolichol.

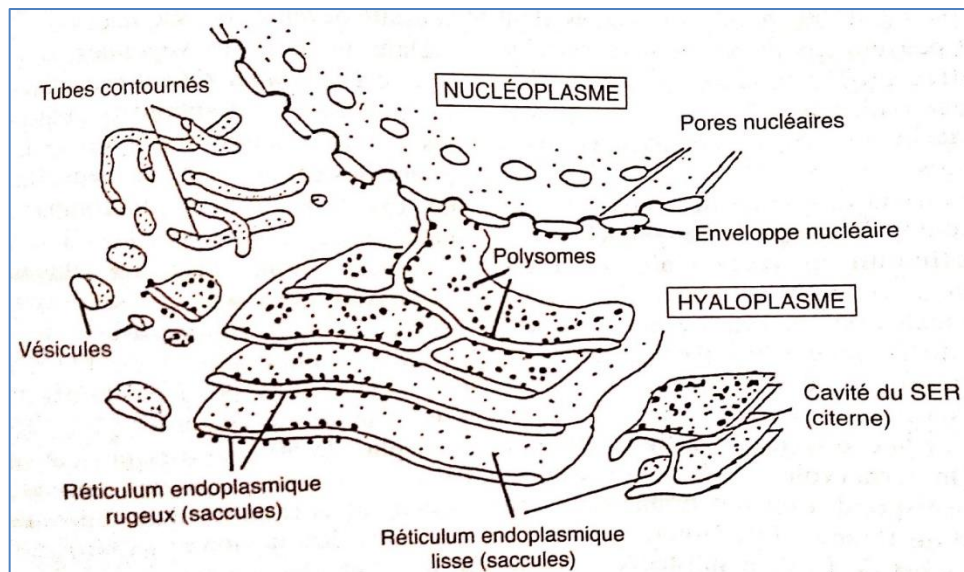


Figure 11. Réticulum endoplasmique (REG et REL) (Robert et Vian., 2013).

Protéines : les protéines présentes sont essentiellement enzymatiques.

Protéines enzymatiques : les pompes Ca^{2+} ATPasiques, canaux Ca^{2+} voltage-dépendants et ligand-dépendants, les PDI (protein disulfo-isomerase), les protéines chaperonnes BiP (binding protein) les perméases d'entrée, les glycosidases, les N-glycosyl transférases.

Protéines structurales : le translocon, le récepteur SRP, les SNAREs.

Glucides : les membranes du REG sont pauvres en glucides. Les glucides attachés aux protéines et aux phospholipides se trouvent sur le côté luminal, déterminant ainsi l'asymétrie de la membrane.

Contenu de la lumière du REG : Le contenu des cavités du REG est spécifique au type cellulaire. On y trouve notamment les protéines synthétisées (immunoglobulines pour les plasmocytes, pro-collagène pour les fibroblastes...), des protéines chaperonnes BiP et des ions Ca^{2+} .

3.1.2. Fonctions

- **Synthèse et translocation des protéines membranaires et des protéines sécrétoires ayant des signaux de tri** :

La synthèse de toutes les protéines commence toujours dans le cytosol, au niveau de ribosomes associés en polysomes par un ARNm. Une fois la synthèse commencée, la protéine peut avoir deux destinations :

1) Soit elle reste dans le cytosol pour la suite et la fin de la synthèse : c'est le cas des protéines solubles cytosoliques, nucléaires, mitochondriales, chloroplastiques et péroxysomales. Ces protéines sont synthétisées par les ribosomes libres du cytosol.

2) Soit elle est adressée à la membrane du REG qu'elle va traverser pendant que la biosynthèse se poursuit. On parle de translocation à travers la membrane du REG. C'est le cas des protéines membranaires, résidentes (des endosomes par exemple) ou sécrétées. Ces protéines sont synthétisées par les ribosomes du RE et vont pour cela faire appel au peptide signal :

- *N-glycosylation* :

Les protéines synthétisées de manière classique par les cytoribosomes ne sont pas glycosylées. Ce phénomène concerne seulement les protéines synthétisées au niveau du RE. La N-glycosylation est une modification co-tranductionnelle se déroulant dans le REG. Elle consiste en l'addition d'un bloc précurseur de 14 oses sur l'azote de l'asparagine (Asn) contenu dans une séquence Asn- X- Ser ou Asn -X-Thr d'une protéine. Cette réaction est catalysée par une enzyme membranaire de type N-glycosyltransférase. Ce précurseur est ensuite modifié dans la voie de sécrétion notamment dans l'appareil de golgi, il va y avoir des opérations de suppression de sucre et d'ajout de nouveaux sucres sur l'arborescence.

- *Acquisition de la structure tridimensionnelle*

Plusieurs mécanismes actifs contribuent à donner aux protéines néo-synthétisées leur conformation définitive (structure fonctionnelle). Ces mécanismes actifs nécessitent de l'ATP et du Ca^{+2} et font intervenir plusieurs protéines :

- Les protéines chaperonnes du RE comme la BiP (Binding Protein), la calréticuline et la calnexine qui permettent à la protéine d'acquérir sa conformation définitive.

- les PDI (Peptide Disulfide Isomérase) établissement de ponts disulfures entre les résidus cystéines : les *PDI membranaires* assurent, de manière co-tranductionnelle, la formation de ponts disulfures de manière aléatoire entre les différentes cystéines de la chaîne peptidique, alors que les *PDI-luminales* assurent, de manière post-tranductionnelle, la correction des ponts disulfures établis par erreur et la formation de nouveaux ponts disulfures correctes.

- *Production de biomembranes* :

Le REG produit des vésicules (dites de 'transition'), qui engendrent l'appareil de Golgi, ce dernier produira des vésicules de sécrétion, à l'origine de l'exocytose. La membrane de ces vésicules sera en fin de compte incorporée à la membrane plasmique, ainsi régénérée en permanence.

3.2. Réticulum endoplasmique lisse

Le réticulum endoplasmique lisse prolonge le RE rugueux et est formé d'un réseau de tubules ramifiés. Il ne présente pas de citernes.

La sous-fraction de microsomes lisses du REL est obtenue après 3 ultracentrifugations différentielles successives d'homogénat cellulaire, puis une ultracentrifugation sur gradient de densité.

3.2.1. *Composition biochimique*

Les membranes du REL sont- elles aussi constituées à 70% de protéines et à 30% de lipides.

Lipides : on note également une faible teneur en cholestérol et une quantité élevée de phospholipides à chaînes d'acides gras insaturées, ce qui dote la membrane d'une fluidité importante.

Protéines : les protéines présentes sont essentiellement enzymatiques : enzymes de synthèse des hormones stéroïdes, cytochrome P450, les pompes Ca^{2+} , ATPasiques, les flipases...

Ses enzymes qui sont toutes des protéines intégrées faisant partie de ses membranes ne jouent aucun rôle dans la synthèse des protéines.

Glucides : les membranes du REL sont pauvres en glucides. Les glucides attachés aux protéines et aux phospholipides se trouvent sur le côté luminal, déterminant ainsi l'asymétrie de la membrane.

Contenu de la lumière du REL : Le contenu des cavités du REL est spécifique au type cellulaire. Dans les citernes du REL des cellules musculaires on trouve une grande quantité de ions Ca^{2+} et dans celles des cellules lutéales des hormones stéroïdes.

3.2.2. Fonctions

- *Synthèse des phospholipides membranaires* :

Le REL est impliqué dans la synthèse des phospholipides membranaires et joue donc un rôle clé dans le renouvellement du système cytomembranaire (synthèse de la bicouche phospholipidique).

- *Synthèse des hormones stéroïdes* :

Dans les cellules sécrétrices endocrines (cortex surrénalien, cellules lutéales de l'ovaire, cellules de Leyding, etc.) le REL coopère avec les mitochondries pour la synthèse des hormones stéroïdes (oestrogènes, androgènes, progestérones, aldostérones, etc.). Celle-ci se déroule grâce à l'intervention de plusieurs enzymes de la famille des cytochromes dont le P450 qui hydroxylent la prégnénolone, un précurseur des stéroïdes synthétisé à partir du cholestérol.

- *Stockage du calcium intracellulaire* :

Les cellules eucaryotes renferment des citernes spécialisées du REL servant au stockage du calcium. Dans les cellules musculaires striées ou cardiaques le REL est très développé. À l'exception des cas que nous venons de mentionner, la plupart des cellules du corps humain contiennent peu ou pas du tout de véritable RE lisse.

Le stockage et la libération du calcium fait intervenir trois types de protéines : des pompes à calcium ATP dépendantes (transportent les ions Ca^{2+} du hyaloplasme vers la lumière du REL), des protéines de fixation (la calséquestrine des cellules musculaires), et des canaux ioniques de calcium (ligand IP_3 ou voltage dépendants). Ils peuvent être bloqués par la ryanodine.

- *Détoxification* :

La détoxification concerne surtout les molécules toxines liposolubles (drogues, métabolites, certains médicaments, alcool, etc.). Ce phénomène se fait en partie grâce au cytochrome P450 qui les rend solubles en les hydroxylant. Les toxines ainsi rendues hydrosolubles sont évacuées dans les urines et par voie sanguine.

La détoxification a surtout lieu dans le rein et le foie.

3.3 Les ribosomes

Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques présents dans les cellules eucaryotes et procaryotes. Comportant des ARN ribosomiques (ou ARNr) et des protéines ribosomiques, ils sont composés de deux sous-unités : une grande (L pour large) et une petite (S pour small) sous-unité.

Les ribosomes sont soit libres dans le hyaloplasme, soit attachés aux membranes du réticulum endoplasmique. Un polysome ou polyribosome est un ensemble de ribosomes (5 à 20) reliés entre eux par un ARN messenger.

3.3.1. Architecture des ribosomes

La forme des ribosomes chez les procaryotes et eucaryotes est extrêmement voisine. Le coefficient de sédimentation des ribosomes des procaryotes est de 70 S pour le ribosome entier (50 S pour la grande sous unité et 30 S pour la petite). Chez les eucaryotes, il est de 80S (60S pour la grande sous unité et 40 S pour la petite)

Un ribosome comporte 3 sites de liaisons :

- un site de liaison pour l'ARN messenger
- un site P qui intervient dans la liaison du peptidyl-ARN t
- un site A intervient dans la liaison de l'aminoacyl-ARNt peptidyl-ARN t

Les sites A et P sont très voisins

3.3.2. Composition chimique des ribosomes

Les ribosomes sont formés par l'association d'acides nucléiques et de protéines.

- **Les ARN ribosomaux** ou ARNr : sont produits à partir de gènes codés dans l'ADN. Dans le nucléole, les ARNr sont produits sous forme d'un long précurseur qui se clivera et s'associe à un ARN extranuléolaire et à des protéines pour former le préribosome. Ce dernier poursuit sa maturation dans le cytoplasme pour donner le ribosome final formé de deux sous unités.

- **Les protéines ribosomales** : la structure des diverses protéines qui constituent les ribosomes est connue et il est même possible de reconstituer un ribosome en associant les protéines et les ARNt. L'assemblage des protéines dépend d'un agencement programmé.

Les protéines S (short) de la petite sous-unité reconnaissent l'ARNm.

Les protéines L (33 protéines de L1 à L33), se répartissent dans la grande sous-unité.

Les protéines ribosomales L et S assurent de nombreuses fonctions qui permettent aux ribosomes de traduire les informations transportées par l'ARNm.

3.3.3. Synthèse des ribosomes

- **Synthèse des ARN ribosomaux** : se fait selon différentes étapes :

- 1- Dans le noyau, l'ADN est transcrit par l'ARN polymérase I en ARN ribosomique 45 S.
- 2- Avant de quitter le noyau, l'ARN 45 S est clivé (par méthylation) pour donner des ARN fonctionnels : ARN 28 S, ARN 18 S et ARN 5,8 S qui vont constituer le ribosome final.
- 3- Pendant la maturation de la molécule d'ARNr 45 S, des protéines (L et S) synthétisées dans le cytoplasme, migrent vers le noyau et s'associent à cet ARN 45 S.

4-Le tout (ARN 45 S+ Protéines) lui est assemblée une molécule d'ARN 5 S, transcrite au niveau d'un site chromosomique extra-nucléolaire (ou en dehors du nucléole) vecteur des gènes 5 S, par l'ARN polymérase III.

- **La maturation de l'ARN 45 S** est achevée en donnant à la fin une grande particule ribonucléoprotéine appelée Préribosome 80 S.

- Le préribosome 80 S se divise pour donner une grande sous unité 60 S (ARNs 8.5S, 5S, 28S + 40 protéines L) et une petite sous unité ribosomique 40 S (ARN 18S+30 protéines S).

- La grande et la petite sous unités quittent séparément le noyau et arrivent au cytoplasme en s'assemblant en polysome.

3.3.4. Fonction des ribosomes

Les ribosomes assurent la traduction des ARN messagers (ARNm) en protéines.

4. Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi se rencontre dans toutes les cellules, à l'exception des cellules procaryotes. Il est constitué d'un ou plusieurs dictyosomes, 20 en moyenne, mais ce nombre varie selon l'état physiologique et le type cellulaire. Chaque dictyosome est formé d'un empilement de 4 à 8 saccules membranaires incurvés entourés de vésicules, séparés les uns des autres par une bande hyaloplasmique et stabilisés par des microtubules et des microfilaments d'actine.

Lorsque la cellule entre en mitose, le Golgi se fragmente pour être ensuite réparti dans les deux cellules filles. Son organisation typique se remet en place après la cytotédière.

4.1. Compartimentation de l'appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est un organite polarisé, chaque dictyosome peut être divisé en trois régions fonctionnelles différentes :

Les saccules de la face cis : face d'entrée du matériel du réticulum endoplasmique, encore dite face « Cis Golgi Network : CGN ». Ils sont alimentés par le matériel provenant du compartiment intermédiaire RE-Golgi (ERGIC: Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment). L'épaisseur des membranes des saccules Cis est de 60 Å.

Les saccules de la face trans (face de sortie) : Ils sont en continuité avec un réseau de canalicules constituant le « Trans Golgi Network : TGN ». L'épaisseur des saccules Trans est de 75 Å.

Le compartiment médian est composé de plusieurs saccules situés entre les deux faces (**figure 12**).

Des vésicules de dimension variable accompagnent les saccules golgiens :

- Vésicules de transition : se trouvent entre l'ERGIC et le cis golgien, elles sont recouvertes de coatomère.

- Vésicules de transport : se trouvent entre les saccules, elles sont également recouvertes de coatomère.
- Vésicules de sécrétion : bourgeonnent du TGN et contiennent le produit définitif. Elles sont recouvertes de Coatomère lors d'une voie d'exocytose constitutive (composants de la matrice extracellulaire, protéines périphériques de la membrane plasmique), de Clathrine lors d'une voie d'exocytose régulée (elles forment des grains de sécrétion de contenu dense Ex : l'insuline, vésicules à hydrolases acides) et de Cavéoline lors d'une voie de renouvellement des microdomaines membranaires.

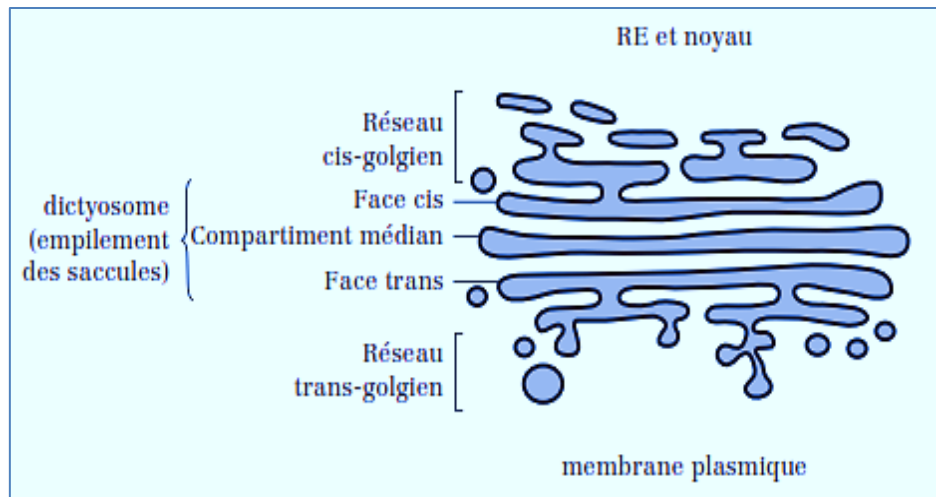


Figure 12. Organisation d'un dictyosome de l'appareil de Golgi (**Favro et Nicolle., 2011**)

4.2. Composition chimique

La sous-fraction de microsomes lisses des dictyosomes est obtenue après trois ultracentrifugations différentielles successives puis une ultracentrifugation sur gradient de densité. Les membranes des saccules golgiens présentent un taux de lipides et de protéines intermédiaire entre celui de la membrane du RE et celui de la membrane plasmique, entre 30 % et 40 % de lipides et entre 60 % et 70 % de protéines. La quantité de glucides est négligeable.

Les lipides sont composés d'acides gras insaturés et de cholestérol.

Les protéines sont essentiellement enzymatiques. Exemples: la sulfotransférase, le récepteur du mannose-6P, la O-glycosyl transférase, la phosphatase, les perméases d'entrée...

Les glucides sont attachés aux protéines et aux phospholipides. Ils sont orientés vers la lumière des saccules, déterminant ainsi l'asymétrie de la membrane.

La composition de la lumière des saccules est proche de celle de la lumière du REG mais à des concentrations différentes, on y trouve des ions Ca^{2+} , des produits de synthèse, des enzymes protéases...

4.3. Fonctions

L'appareil de Golgi reçoit les protéines en provenance du REG, les modifie (glycosylation, sulfatation, clivage de précurseurs...), les trie puis les exporte vers d'autres compartiments ou vers le milieu extracellulaire.

- *O-glycosylation* :

La O-glycosylation est une modification post-traductionnelle se déroulant dans la lumière des saccules médians et trans. Elle consiste en l'addition séquentielle de glucides (un par un) au niveau des -OH des acides aminés : sérine et thréonine des chaînes peptidiques. Cette réaction est également catalysée par un groupe d'enzymes de type O-glycosyltransférase. Elle est, dans la plupart des cas, effectuée sur les protéoglycanes.

- *Phosphorylation des hydrolases lysosomales* :

Les protéines solubles N-glycosylées destinées aux lysosomes doivent subir une phosphorylation sur les résidus mannose aboutissant à la formation du mannose-6 phosphate. Cette phosphorylation est indispensable à leur maturation en enzymes digestives. Elle se fait dans le cis-Golgi. Dans le trans-Golgi, des récepteurs au mannose-6-phosphate concentrent les protéines à mannose-6-phosphate dans des vésicules spécifiques qui sont ensuite adressées aux lysosomes.

- *Sulfatation des composés destinés à la matrice extracellulaire* :

La sulfatation des glucides et de certains acides aminés (comme Tyr) a lieu dans le Golgi trans. C'est le transfert d'un sulfate (SO_4^{2-}) ou groupe de sulfates à un accepteur via une sulfotransférase. Cette réaction concerne des composants destinés à la matrice extracellulaire comme les glycoprotéines, protéoglycannes et glycosaminoglycannes.

- *Clivage protéolytique* :

L'appareil de Golgi comporte des protéases qui participent à la maturation du matériel sécrétoire ou membranaire destiné à l'exportation par exocytose. De très nombreuses hormones polypeptidiques et la quasi-totalité des neuropeptides sont synthétisés sous forme de longues chaînes peptidiques dépourvues d'activité biologique. Dans la lumière des saccules trans et / ou les grains de sécrétions s'effectue un clivage protéolytique conduisant à la formation de molécules biologiquement actives.

- *Tri et adressage des produits de sécrétion* :

Les protéines synthétisées dans le REG transitent successivement par le CGN, la partie médiane puis le TGN. Le transport entre ces compartiments est assuré par des canalicules ou des vésicules. Le tri précède l'export des protéines vers d'autres compartiments (membrane plasmique, endosomes, lysosomes...) ou vers le milieu extracellulaire (sécrétion, par exocytose, constitutive et régulée)

On appelle **flux centrifuge**, le transfert des vésicules qui bourgeonnent des saccules trans et qui véhiculent le produit de sécrétion, vers les endosomes, lysosomes, phagosomes ou vers la membrane plasmique et flux **centripète**, est le transfert des vésicules qui bourgeonnent de la membrane plasmique vers les endosomes ou les cavéosomes, de l'endosome vers le TGN, ou encore du cavéosome vers le REG.

5. Lysosomes et Vacuoles

5.1. Lysosomes

Les lysosomes sont des organites cellulaires de 0,1 à 0,2 μm de diamètre limités par une membrane épaisse de 60 à 100 Å. Ils sont présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes animales, à l'exception des hématies et ont pour fonction d'effectuer la digestion intracellulaire (ou extracellulaire via exocytose dans le cas des chondroblastes, ostéoclastes et macrophages) grâce à différents types d'enzymes, dits hydrolases acides.

Le pH à l'intérieur des lysosomes, compris entre 3,5 et 5 est indispensable au fonctionnement des hydrolases acides qu'ils contiennent. Les lysosomes se déplacent en permanence dans la cellule grâce à leur liaison avec le cytosquelette.

La microscopie électronique a révélé l'existence des lysosomes sous des aspects variables (lysosome primaire, secondaire, corps résiduel).

5.1.1. Composition chimique

La sous-fraction de lysosomes est obtenue après 2 ultracentrifugations différentielles successives d'un homogénat cellulaire (cellules hépatiques) puis une ultracentrifugation sur gradient de densité. La rupture membranaire réalisée grâce à un choc hypotonique ou une agitation mécanique, suivis d'une centrifugation, permettent d'isoler les fractions membranes et matrices pour être analysées.

La membrane lysosomale est composée de lipides et de protéines, en majorité glycoprotéiques.

Glycoprotéines structurales : certaines de ces glycoprotéines sont utilisées comme marqueurs de ce compartiment tels que les LAMP-1, LAMP-2 et LAMP-3 (LAMP pour Lysosomal-associated membrane protein).

Glycoprotéines enzymatiques : comme la phosphatase acide.

Protéines de transport : des pompes à protons pour l'hydronium (protons H^+) et des canaux ioniques spécifiques aux ions chlorures Cl^- permettent le maintien à l'intérieur des lysosomes d'un pH acide.

Perméases d'importation : des perméases d'importation permettent l'entrée dans la lumière lysosomale de molécules hyaloplasmiques destinées à la dégradation.

Perméases d'exportation : des perméases d'exportation assurent la sortie, de la lumière des lysosomes vers le hyaloplasme, des produits finaux du catabolisme. Exemples : perméases pour les acides aminés, les acides gras, les oses...

Composition de la matrice du lysosome : Les lysosomes contiennent des hydrolases acides ainsi que des macromolécules à digérer. Pour fonctionner correctement, les enzymes digestives requièrent l'environnement acide du lysosome. Toutes ces enzymes sont produites par le réticulum endoplasmique, transportées et traitées par l'appareil de Golgi. Chaque hydrolase acide est ensuite ciblée vers un lysosome. Quelques enzymes importantes dans les lysosomes sont : *lipases*, *glycosidases*, *protéases* et les nucléases.

5.1.2. Caractéristique de la membrane lysosomale

La membrane lysosomale a les caractéristiques suivantes :

- 1) Elle maintient le système clos et empêche la fuite des enzymes lysosomales dans le cytosol.
- 2) Elle conduit à son acidification de la lumière lysosomale (entrée des H^+ ATPase à proton)
- 3) Elle assure l'entrée directe de matériaux à hydrolyser depuis le cytosol vers la lumière lysosomale et la sortie des produits de l'hydrolyse lysosomale depuis la lumière vers le cytosol par des perméases.
- 4) Elle est protégée contre son autodigestion par les marqueurs spécifiques de la membrane lysosomale les LAMPs

5.1.3. Origine des lysosomes

Les lysosomes résultent de la fusion d'une ou plusieurs vésicules de transport et d'une vésicule (endosome tardif, phagosome) renfermant des matériaux à dégrader.

- Les vésicules de transport bourgeonnent depuis l'appareil de Golgi et contiennent, entre autres, les hydrolases acides et les ATPases à protons. Elles sont recouvertes de clathrine lorsqu'elles bourgeonnent. Elles constituent les *lysosomes primaires*.

- Les endosomes sont un compartiment membranaire très hétérogène sur le plan morphologique. Ils proviennent des vésicules d'endocytose issues de la membrane plasmique (vésicules lisses ou revêtues de clathrine ou cavéoline et transportent des molécules prélevées dans le milieu extracellulaire) ou des vésicules de transport ayant bourgeonné du Golgi trans et du TGN (elles leur apportent des hydrolases acides et des pompes à protons ATPase H. Grâce à cet apport, les endosomes se transforment progressivement en lysosomes). Le matériel membranaire et soluble des endosomes est transporté vers les lysosomes avec lesquels il peut fusionner pour former le *lysosome secondaire* (Figure 13).

On distingue deux classes d'endosomes en fonction de leur pH :

Les *endosomes précoces* sont directement alimentés par l'endocytose. Ils présentent un pH proche de celui du milieu extracellulaire (7,4).

Les *endosomes tardifs* présentent un pH plus acide (6,5) intermédiaire entre le pH des endosomes précoces et celui des lysosomes (5).

Le phénomène d'acidification est très important pour deux raisons, permet au matériel endocyté (ligand) de se décrocher de son récepteur, dans le cas où l'endocytose est spécifique (le récepteur est souvent recyclé vers la membrane plasmique par l'intermédiaire de vésicules bourgeonnant depuis les endosomes précoces) et permet le fonctionnement optimal des hydrolases qui commencent à digérer le matériel endocyté.

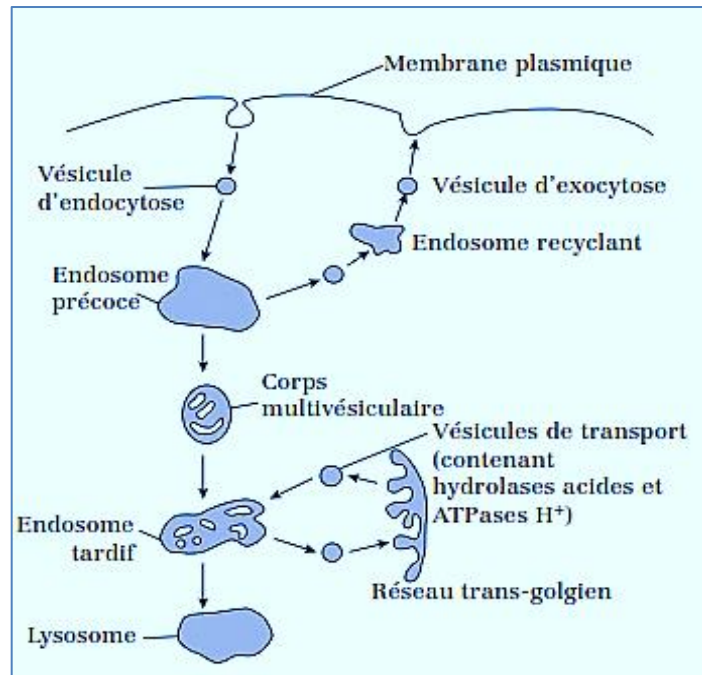


Figure 13. Origine des lysosomes (Favro et Nicolle., 2011)

5.1.4. Fonctions

Les lysosomes ont pour fonction d'effectuer la digestion intracellulaire. Les molécules à digérer dans les lysosomes y arrivent par deux voies exogène et endogène:

1) L'**hétérophagie** correspond à l'absorption et à la dégradation de corps étranger.

*L'**endocytose** : les vésicules d'endocytose ou *endosome* apportent au compartiment endosomal puis lysosomal les molécules prélevées dans le milieu extracellulaire pour former l'*endolysosome*.

*La **phagocytose** : le phagosome (vésicule de phagocytose) fusionne avec des vésicules provenant de l'appareil de Golgi (vésicules transportant les hydrolases acides et les pompes à protons) et se transforme progressivement en lysosome : *phagolysosome*. Ce mécanisme est rencontré chez des cellules dites phagocytaires comme les macrophages et les granulocytes neutrophiles.

2) L'**autophagie** : c'est un mécanisme qui permet aux cellules de dégrader leurs propres organites et molécules afin d'assurer leur renouvellement. Il existe 3 types d'autophagie :

* La **macroautophagie** joue un rôle dans la destruction d'organites endommagés ou en fin de vie, l'autodestruction contrôlée de certains tissus et l'involution de certains organes comme le rein. Elle intervient dans le renouvellement des organites subcellulaires dans des conditions de nutrition normales, c'est aussi un mécanisme de survie des cellules en souffrance, par exemple par dénutrition après un jeûne prolongé. Enfin, c'est un mécanisme de défense de la cellule contre les infections et l'invasion par des bactéries.

Au cours de la macroautophagie une membrane issue du reticulum endoplasmique séquestre une partie du cytoplasme donnant ainsi naissance à une vacuole de grande taille l'autophagosome renfermant des organites. Les autophagosomes vont fusionner avec des lysosomes (autophagolysosomes) et les hydrolases lysosomiales vont assurer la dégradation du contenu de la vacuole.

* la *micro-autophagie*, il n'y a pas de formation de vésicules préalablement à la fusion avec les lysosomes ; le matériel cytoplasmique pénètre directement par invagination de la membrane lysosomiale.

* L'*autophagie médiée par une chaperone* est un phénomène sélectif. Le matériel à ingurgiter passe les complexes hsc70 (heath shock cognate) du cytoplasme et des lysosomes.

5.2. Les vacuoles

Les vacuoles sont des compartiments délimités par une membrane, remplis d'eau et contenant diverses molécules inorganiques et organiques telles que des enzymes. La vacuole n'a pas de forme ou de taille particulière, sa structure variant en fonction des besoins de la cellule. La fonction et l'importance des vacuoles varient selon le type de cellule dans lesquelles elles sont présentes.

Chez les végétaux on rencontre une grande vacuole qui occupe environ 80% du volume cellulaire. Les cellules animales peuvent renfermer plusieurs vacuoles de petite taille.

5.2.1. Types de vacuoles

Selon le contenu et le rôle de la vacuole, on distingue 07 types de vacuoles :

- **les vacuoles contractiles** : ce type de vacuoles on les rencontre chez les organismes unicellulaires (les protozoaires) vivant dans les eaux douces. Ces vacuoles permettent l'évacuation de l'eau en excès dans le cytoplasme afin d'éviter à l'animale une forte turgescence.
- **Les vacuoles de condensation** : sont présentes dans certaines cellules sécrétrices (cellules du pancréas) contenant des grains de sécrétions issus de l'appareil de Golgi.
- **Les vacuoles d'endocytoses** : ce type de vacuole résultent lors d'un phénomène hétérophagique (Hétérophagie), ce phénomène se rencontre chez les organismes unicellulaires se nourrissant par invagination de leurs membranes plasmiques en contact d'une proie ou chez les macrophages tel que les globules blancs pour se défendre des pathogènes ; on distingue : les pinosomes et les phagosomes,
- **Les vacuoles autophagiques** : ce type de vacuoles se forment à l'intérieur de la cellule sous le phénomène autophagique (Autophagie) ; cela aboutira à la formation d'autophagosomes, cytophagosomes et de crinophagosomes.
- **Les vacuoles digestives** : elles se forment généralement lorsque les vacuoles d'endocytose ou les vacuoles autophagiques entrent en contact avec des lysosomes primaires. on distingue les endolysosomes (pinolysosome), les phagolysosomes, les autophagolysosomes, les cytophagolysosomes et les crinophagolysosomes.
- **Les vacuoles d'exocytoses** : sont constituées de vacuoles chargés de produits de sécrétion destinés à être exporter ver l'extérieure de la cellule et également de vacuoles chargées de corps résiduels provenant de déchets métabolique ou d'organites morts de la cellule.

- **Les vacuoles centrales des cellules végétales** : sont des cavités entourées de simples membranes assurant la turgescence cellulaire. Elles contiennent de l'eau, des glucides, des ions, des pigments. Certaines vacuoles végétales sont des sites d'accumulation des réserves ou de substances particulières, parfois toxiques (latex, opium.....)

5.2.2. Fonctions des vacuoles

La fonction et l'importance des vacuoles varient selon le type de cellule dans lesquelles elles sont présentes. En général, ses fonctions comprennent :

- L'isolement de composant potentiellement nocif pour la cellule
- La gestion des déchets à l'aide d'enzyme de digestion ou l'endocytose des organites vieillissants
- Le maintien de l'équilibre hydrique
- Le stockage de l'eau et de molécules tel que certains pigments, stockage transitoire des glucides, protéines et lipides.
- Rôle dans la pression et la turgescence cellulaire permettant la rigidité de certaines structures telles que les fleurs, les tiges ou les feuilles.
- Les vacuoles peuvent aussi protéger la plante contre les prédateurs, car elles renferment parfois des composés toxiques ou désagréables au goût.

6. Les peroxysomes

Les peroxysomes sont des organites présents dans toutes les cellules eucaryotes à l'exception des hématies et des réticulocytes. Ils sont sphériques de 0,1 à 0,5 μm (on parle de micropéroxyosomes ou microbodies) jusqu'à 1 μm de diamètre chez les animaux. Ils peuvent atteindre 1,7 μm chez les plantes.

Chaque peroxysome est limité par une membrane simple qui isole un espace appelé matrice et ne contenant pas de matériel génétique. A l'intérieur de cette matrice, il existe un noyau cristallin (contient les enzymes oxydatives) qui apparaît dense aux électrons.

Les Peroxysomes forment un réseau dynamique, de la même façon que les mitochondries. C'est un réseau dit « canaliculaire » où chaque vésicule va être reliée à une autre vésicule par des petits canaux qui vont permettre la communication entre les différents Peroxysomes. Ce réseau est indépendant du RE, du Golgi et des Mitochondries.

Les Peroxysomes ne sont pas immobiles et se déplacent dans le cytoplasme en utilisant des microtubules. Ils sont en permanence renouvelés par autophagie, leur durée de vie varie suivant les cellules (3 à 5 jours pour les hépatocytes).

6.1. Composition chimique

La sous-fraction des peroxysomes est obtenue après deux ultracentrifugations différentielles successives puis une ultracentrifugation sur gradient de densité.

La membrane des peroxysomes est constituée de 30% de Lipides et 70% de protéines non glycosylées. Elle est perméable à l'eau et aux petites molécules. Elle contient :

- ✓ Des perméases appartenant à la famille dite : ABC qui permettent l'entrée des métabolites dans le peroxysome.

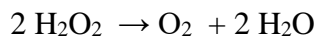
- ✓ Des protéines membranaires spécifiques aux peroxysomes, importées du cytoplasme appelées peroxines. Il existe 24 peroxines actuellement connues intervenants dans la biogenèse du peroxysome.
- ✓ un cytochrome P450 spécifique aux peroxysomes.
- ✓ D'autres protéines ayant une activité dans le métabolisme des acides gras

La matrice est homogène ou finement granulaire renferme plusieurs familles d'enzymes les plus importants sont:

Les oxydases : qui dégradent les métabolites en consommant de l'oxygène et produisent le H_2O_2

- Les enzymes de la β oxydation : des acides gras à chaînes très longue
- Les enzymes responsables de la synthèse d'acides biliaires
- Les enzymes responsables de la synthèse du cholestérol

Les catalases : les plus abondantes, catalysent la décomposition de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) :



Le nucléoïde: D'aspect dense, il occupe le centre des peroxysomes, il est cristallin protéique (urate oxydase)

Les protéines nécessaires aux peroxysomes sont synthétisées par des ribosomes libres et obtenues à partir du cytosol.

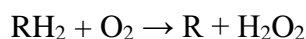
6.2. Origine des peroxysomes

Les peroxysomes proviennent des peroxysomes préexistants. Ils sont formés essentiellement par croissance et division de l'organite, parfois par bourgeonnement.

6.3. Fonctions

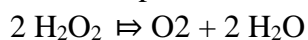
- Fonction d'oxydation et de détoxification :

Les oxydases (D aminoacide-oxydase, urate-oxydase) enlèvent des atomes d'hydrogène libres (réaction d'oxydation) à des substrats organiques spécifique R. Ces substrats liés à des atomes d'hydrogène, sont potentiellement toxiques pour la cellule. L'oxydation de ces molécules les détoxifient. L'oxydation aboutit à la production de H_2O_2 . Cette réaction correspond à 20% de la consommation d' O_2 au niveau hépatique, l'énergie est simplement libérée sous forme de chaleur. Le H_2O_2 doit être éliminé par la suite car c'est un catabolite toxique.



La catalase utilise le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 engendré par d'autres enzymes pour oxyder une variété d'autres substrats toxiques R' (phénols, acide méthanoïque, alcool): on parle de réaction de peroxydation : $H_2O_2 + R'H_2 \rightleftharpoons R' + 2 H_2O$.

Ce type de réaction est très important dans le foie, les cellules rénales, où les peroxysomes détoxifient certaines toxines passant dans le sang. En cas d'excès de H_2O_2 , la catalase catalyse la réaction :



- Fonction de dégradation des acides gras à longue chaîne :

Dans la cellule animale la β -oxydation (hélice de Lynen) des acides gras à chaînes très longues ($> C22$) aboutit à la formation d'acides gras à chaînes courtes (en $C13$) avec libération d'acétyl-CoA, ce dernier est ensuite transféré à la mitochondrie pour aller au cycle de Krebs, pour être ensuite converti en glucides dans le cytosol au cours de la néoglucogenèse.

Dans les graines (cellules végétales), le peroxysome intervient dans la conversion des acides gras en acétyl-CoA et ensuite en glucides dans le cycle du glyoxylate, raison pour laquelle certains auteurs nomment glyoxysomes, les peroxysomes présents dans les cellules des graines. Néanmoins, le bilan énergétique est réduit à la production d'acétyl CoA car les électrons des coenzymes réduits ($NADH, H^+$ et $FADH_2$) aboutissent à la formation de peroxyde d'hydrogène, détoxifié sur place par la catalase.

- *Photorespiration* :

Le peroxysome est impliqué avec le chloroplaste et la mitochondrie dans la photorespiration. Au cours de leur photosynthèse les végétaux effectuent aussi dans leurs chloroplastes, la photorespiration mais à un degré moindre. Au cours de ce phénomène la production normale de glucides dans le cycle de Calvin est modifiée. Cette modification est corrigée grâce à l'intervention du péroxysome couplée à celle de la mitochondrie, aboutissant ainsi à la formation du glycérate, molécule qui permet la production normale de glucides dans le cycle de Calvin après son transfert au chloroplaste.

- *Autres fonctions* :

- Synthèse des acides biliaires, du cholestérol et catabolisme des purines (xanthine-oxydase).

7. Les mitochondries

La mitochondrie est souvent décrite comme « la centrale énergétique de la cellule » en effet elle ne produit pas l'énergie, mais transforme une certaine forme de celle-ci en une autre forme. Dans la cellule, elles sont généralement plus abondantes près des lieux de consommation de l'ATP et leur nombre varie en fonction de l'activité cellulaire (une cellule hépatique humaine active en contient ≈ 1000 à 2000).

Les dimensions des mitochondries sont de l'ordre de celles d'une bactérie : 1 à $2\mu m$ de longueur, leur étude morphologique fine par la microscopie électronique à transmission, montre un organe ovoïde de 1 à $2\mu m$ de longueur pour $0,5$ à $1\mu m$ de diamètres, limité par deux membranes séparées par un espace inter-membranaire, la membrane interne formant des replis ou crêtes mitochondriales, vers l'intérieur de l'organe.

A un instant donné de la vie cellulaire, les mitochondries présentent des morphologies très variées : elles peuvent atteindre 20 à $30\mu m$ de longueur, être sphériques ou ramifiées. En moyenne, le volume du chondriome (ensemble des mitochondries) représente 15 à 20% du volume cellulaire. Toutefois, le nombre de mitochondries par cellule est très variable, selon les cellules (1 mitochondrie géante chez le trypanosome, plusieurs milliers chez l'amibe).

7.1. Composition chimique

La fraction des mitochondries est obtenue après 2 ultracentrifugations différentielles successives d'un homogénat cellulaire (cellules hépatiques) puis une ultracentrifugation sur gradient de densité de saccharose.

**Membrane externe très perméable* : proche par sa composition chimique de la membrane plasmique. Elle est composée de 60% de protéines, 40 de lipides. Sa principale caractéristique est la présence abondante d'une protéine transmembranaire de 31kda, la porine (forme des canaux de 2 à 3 nm de diamètres). La membrane externe renferme aussi des perméases et des récepteurs à certaines protéines cytoplasmiques.

La membrane externe est un tamis responsable d'une perméabilité passive aux ions et petites protéines de PM < 5000da. La composition de l'espace inter membranaire se rapproche donc de celle du cytosol (grosses protéine exceptés).

**Membrane interne imperméable et riche en protéines* : forme des crêtes ce qui augmente considérablement sa surface, elle comporte une classe de lipide particulier, les cardiolipines (diphosphatidyl glycérol). Ces molécules, abondantes (20% des lipides de la membrane interne), seraient responsables d'une imperméabilité particulière de la membrane interne aux ions, et notamment aux protons.

La membrane interne est caractérisée par sa richesse en protéines (80% en poids), on y trouve :

- Des *perméases* permettant des échanges entre l'espace intermembranaire et la matrice, en particulier un antiport ADP/ATP, des symports métabolites /H⁺ transportant des métabolites issus du métabolisme cytosolique, en particulier le pyruvate issu de la glycolyse.
- Les *transporteurs d'électrons et de protons* formant la chaîne respiratoire qui permettent la phosphorylation oxydative.
- La plus importante et la plus connue de ces molécules est l'*ATP synthase* de la membrane interne. Par microscopie électronique, ce complexe a été décrit sous le nom de sphère pédonculée, et présente (≈15%) des protéine de la membrane interne sa tête sphérique (partie F1) dépasse largement (8,5 nm) de la membrane côté matrice, et repose sur une base (Fo) enchâssé dans la membrane signalant enfin qu'il existe des points de contact transitoires entre les deux membranes.

**La matrice* : Riche en enzymes et contenant des acides nucléiques :

La matrice mitochondriale est très riche en enzymes. De nombreux processus métaboliques s'y déroulent. On peut citer, parmi les plus importants :

- La β - oxydation des acides gras (hélice de l'ynen) qui débite progressivement les acides gras sous forme de fragments de deux carbones liés au coenzyme A : l'acétyl-coA ;
- La décarboxylation du pyruvate issu de la glycolyse cytoplasmique par un complexe enzymatique de grosse taille (pyruvate déshydrogénase) produisant du dioxyde de carbone, de NADH, H⁺ et de l'acétyl-coA.
- Le cycle de krebs (cycle de l'acide citrique) permettant l'oxydation complète du groupement acétyl de l'acétyl-coA sous forme de deux molécules de dioxyde de carbone, cette oxydation s'accompagne de la production de GTP et de coenzymes à l'état réduit : NADH, H⁺, FADH₂.

La matrice mitochondriale contient également toutes les classes d'acides nucléiques : L'ADN mitochondrial et présent sous forme d'une molécule circulaire de petite taille (16 à 19 K bases) chez les animaux, (150 à 2500 KB) chez les végétaux, il n'est pas associé à des histones. Il existe en générale plusieurs copies (5 à 10) de cet ADN par mitochondrie. L'ADN mitochondrial représente un nombre restreint de gènes, sa transcription permet l'existence dans la matrice : d'ARNm, ARNr. Il existe des ribosomes plus petits que les ribosomes cytoplasmiques (**figure 14**). La matrice est finement granuleuse. Des granulations denses et irrégulières de 30 à 50nm de diamètre correspondent à une accumulation de cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , ...).

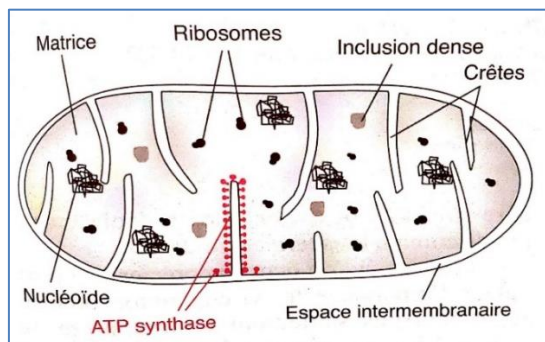


Figure 14 Structure d'une mitochondrie (**Robert et Vian., 2013**).

7.2. Origine des protéines mitochondriales

La synthèse des protéines nécessaires au fonctionnement de la mitochondrie (complexe I, complexe II, complexe III, complexe IV et complexe V ou ATP synthase, autres protéines) est un phénomène complexe sous la dépendance de deux génomes :

- Le génome mitochondrial code pour 13 protéines (20% de protéines mitochondriales)
- Le génome nucléaire code pour 80% des protéines restantes

Les phospholipides membranaires de la mitochondrie sont synthétisés à la surface du feuillet cytosolique du réticulum endoplasmique.

7.3. Fonctions

La principale fonction mitochondriale et la production d'ATP cette molécule essentielle pour le métabolisme cellulaire est obtenue par phosphorylation oxydative grâce au fonctionnement de la chaîne respiratoire de la membrane interne mitochondriale.

a. la chaîne respiratoire et synthèse d'ATP :

C'est l'ensemble de complexes protéiques responsable de la phosphorylation oxydative, le transfert des électrons le long des complexes de la chaîne respiratoire permet le pompage des protons au travers de la membrane interne. La synthèse d'ATP est couplée au transfert des électrons par le gradient de protons.

b. Stockage du calcium

Les mitochondries sont avec le réticulum endoplasmique lisse, le principal réservoir du calcium, elles sont en effet capable de capturer le calcium, de le stocker dans la matrice, ensuite

de le libérer dans le cytosol à partir des canaux ioniques de la membrane interne et des échangeurs Na/Ca.

c. Production de précurseurs pour diverses biosynthèses

Le cycle de Krebs fournit des précurseurs pour diverses synthèses tels que le glucose, certains acides aminés non essentiels et des porphyrines.

d. Autres fonctions : thermogénèse, synthèse des hormones stéroïdes.

8. Chloroplastes

Les chloroplastes sont des organites présents dans le cytoplasme des cellules végétales eucaryotes. L'ensemble des chloroplastes d'une cellule constitue le plastidome. Ils sont caractérisés par leurs pigments, chlorophylles et caroténoïdes, qui assurent l'absorption de l'énergie solaire qu'ils transforment en énergie chimique au cours de la photosynthèse.

Chez les végétaux supérieurs, au microscope photonique les chloroplastes ont une forme de disques aplatis de 2 à 10 microns de diamètre pour une épaisseur d'environ 1 micron, de couleur verte due aux pigments chlorophylliens. Le chloroplaste est un organite composé de deux membranes séparées par un espace inter membranaire (**figure 15**). Il contient un réseau membraneux constitué de sacs aplatis nommés thylakoïdes qui baignent dans le stroma. Un empilement de thylakoïdes se nomme granum (au pluriel : des granas).

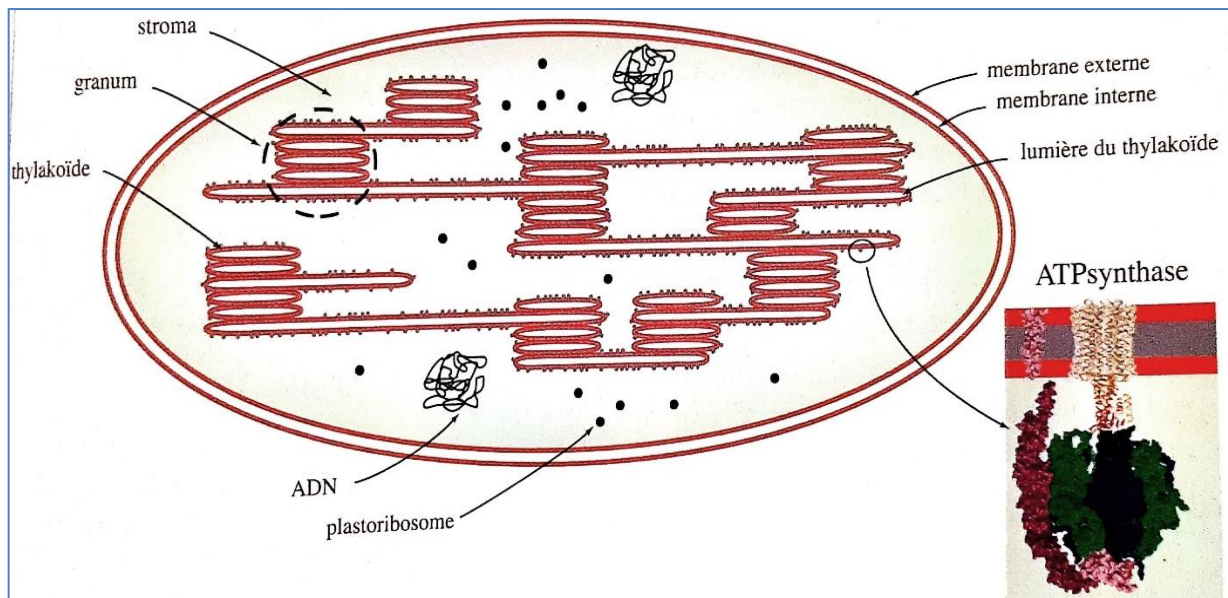


Figure 15. Structure du chloroplaste (Bassaglia., 2013).

8.1. Composition chimique

La fraction des chloroplastes est obtenue après 2 ultracentrifugations différentielles successives d'un homogénat cellulaire (broyage des feuilles puis filtration) puis une ultracentrifugation sur gradient de densité.

* *Les membranes externe et interne* de l'enveloppe (6nm d'épaisseur chacune) et les membranes des thylakoïdes (6 à 8nm d'épaisseur) présentent au MET une structure trilamellaire. Présence de particules globulaires au MEB dans les 3 types de membranes dont l'asymétrie est plus importante au niveau des membranes thylakoïdales. L'application de la technique de coloration négative a permis de mettre en évidence dans les membranes des thylakoïdes la présence d'ATP.

Les membranes externe et interne sont composées de 60% de lipide (riches en glycolipides, sulfolipides et pauvres en phospholipides) ; 40% de protéines (le taux des protéines est plus faible dans la membrane externe, on trouve essentiellement des glycosyl transférase et des transporteurs : perméases passives et actives) et un faible pourcentage de caroténoïdes.

* *Espace intermembranaire :*

Le contenu intermembranaire est aqueux et formé par les constituants qui transitent entre le stroma et le cytosol comme les CO₂, O₂, ATP, ADP, H₂O, ions, protéines etc.

* *Membrane thylakoi'dienne :*

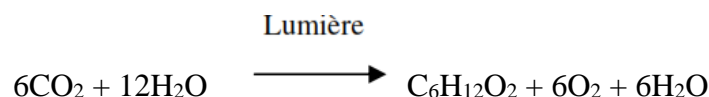
Les membranes thylakoi'diennes sont composées de 38% de lipide (glycolipides, riches en AG insaturés, sulfolipides et pauvres en phospholipides) ; 50% de protéines (les photosystèmes I et II, ainsi qu'un gros complexe d'oxydoréduction membranaire (complexe b6-f), participe à la capture de la lumière et à la création du gradient de protons qui est exploité par l'ATP synthétase pour fabriquer l'ATP. La plastocyanine (PC) et la ferrédoxine (Fd) sont des protéines mobiles transportant des électrons ; la plastoquinone (Q) est un transporteur d'hydrogène) et 12% de pigments associés aux PSII et PSI (chlorophylles et caroténoïdes).

* *Contenu du stroma :* C'est une solution aqueuse renfermant des enzymes du cycle de Calvin, acides aminés, acides gras, oses, nucléotides, ADN, ARN, grains d'amidon, plastoribosomes, plastoglobules (granules lipidiques) et ions Mg⁺².

8.2. Fonction

a. La photosynthèse

En présence d'eau et de dioxyde de carbone (CO₂), les végétaux photosynthétiques convertissent l'énergie lumineuse en énergie chimique et produisent des sucres (amidon). Ce processus appelé photosynthèse s'accompagne d'une libération d'oxygène, elle comporte deux phases:



- *Phase claire* (phase primaire) :

Absorption de la lumière par les pigments au niveau des PSI et PSII, formation de NADPH, H⁺, dégagement d'oxygène et production d'ATP.

- *Phase sombre* (phase secondaire) :

Elle permet la fixation du CO_2 grâce à la Rubisco (enzyme Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase-oxygénase). L'ATP et le NADPH, H^+ formés au cours de la phase claire sont utilisés dans le cycle de Calvin-Bassham-Bensson, pour former des molécules organiques (glucides à 3 carbones), qui seront soit transformées en glucose puis en amidon qui s'accumule, ou exportées vers le cytosol, directement après leur formation ou indirectement après dégradation de l'amidon.

Dans le cytosol ils serviront alors de substrat pour les chaînes de biosynthèses d'autres sucres, de lipides, d'acides aminés, de nucléotides etc. ces molécules peuvent aussi être oxydées dans les mitochondries et libérer leur énergie sous forme d'ATP.

b. Synthèse des protéines

En comparaison avec la mitochondrie, la présence de l'ADN permet de synthétiser une partie des protéines plastidiales. Les plastoribosomes synthétisent une partie de certaines protéines du stroma (ex. grosse sous- unité de la Rubisco), quelques protéines de structure des plastoribosomes, une partie des PSI et PSII, du cytochrome b6-f, de l'ATP synthétase, et des facteurs d'élongation.

c. Echanges entre hyaloplasme et chloroplastes

Ces échanges sont contrôlés par la membrane interne de l'enveloppe chloroplastidiale :

- perméable aux petites molécules non chargées CO_2 , H_2O , O_2 .
- imperméable aux ions chargés (H^+ , Mg^{+2} , Na^+ , K^+), aux nucléotides (ADP, ATP, Pi et NADP), aux produits du cycle Calvin Bensson Bassham. Ces éléments ne passent qu'à l'aide de transporteurs ou des navettes actives le plus souvent).

9. Noyau interphasique

Le noyau correspond au compartiment cellulaire renfermant le matériel génétique sous la forme d'un complexe ADN-protéines appelé *chromatine*. Lors de la division cellulaire, la chromatine se condense pour prendre la forme de chromosome. A l'interphase, le noyau apparait comme une masse fortement colorable. Il a pour rôle de contrôler l'ensemble des activités de la cellule.

Le noyau est présent dans tous les types cellulaires eucaryotes sauf les hématies et les kératinocytes. En général, les cellules renferment un seul noyau sauf pour certains types cellulaires plurinucléés (cellules musculaires squelettiques, ostéoclastes, ...).

La forme du noyau s'adapte à la forme et/ou à l'activité cellulaire. La position du noyau dépend de l'âge de la cellule (embryonnaire ou différenciée) et de l'importance des réserves élaborées (Exemple : noyau centrale pour la cellule embryonnaire, noyau basale pour la cellule pancréatique, noyau périphérique pour l'adipocyte).

La taille du noyau varie entre 5 et $10\mu\text{m}$ de diamètre, en fonction de la quantité de chromatine et le volume nucléaire varie d'un type cellulaire à un autre et est fixe pour un même type cellulaire.

9.1. Composition chimique

L'enveloppe nucléaire est formée de deux membranes de 75Å et d'un espace intermembranaire (péri nucléaire) de 200 à 400 Å. L'enveloppe nucléaire est une différenciation locale du réticulum endoplasmique.

La membrane externe contient 70% de protéines et 30% de lipides. Le feuillet externe est recouvert de ribosomes. Elle est en continuité avec le REG. On peut noter la présence d'une pompe calcique ATP dépendante en plus de cytochrome b5 (mêmes composants membranaires que le REG).

L'espace périnucléaire: situé entre les deux membranes, représente le lieu de stockage des ions calcium.

La membrane interne est tapissée par un réseau squelettique composé de lamines nucléaires. La lamina sert aussi de point d'attache à l'ADN. La *membrane interne* possède des canaux calciques transmembranaires, qui libèrent des ions calcium contenus dans l'espace périnucléaire (Ex: $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$) et contient des protéines transmembranaires jouant un rôle de site de fixation pour les lamines et les protéines de la chromatine (Histones).

Les pores nucléaires : La fusion des deux membranes de l'enveloppe entraîne la formation de *pores nucléaires*. Leur nombre varie de 3000 à 4000. Ce nombre est proportionnel à l'activité cellulaire (structures dynamiques : susceptibles de disparaître au cours de la mise en repos de la cellule et de réapparaître lorsque les échanges nucléo cytoplasmiques sont augmentés.). Les pores sont circulaires et leur diamètre est voisin de 70 nm. Chaque pore apparait comme une roue avec en son centre un canal qui peut être ouvert ou fermé, de 15 à 26nm de diamètre. Il est constitué d'un assemblage complexe de protéines appelées nucléoporines (**figure 15**).

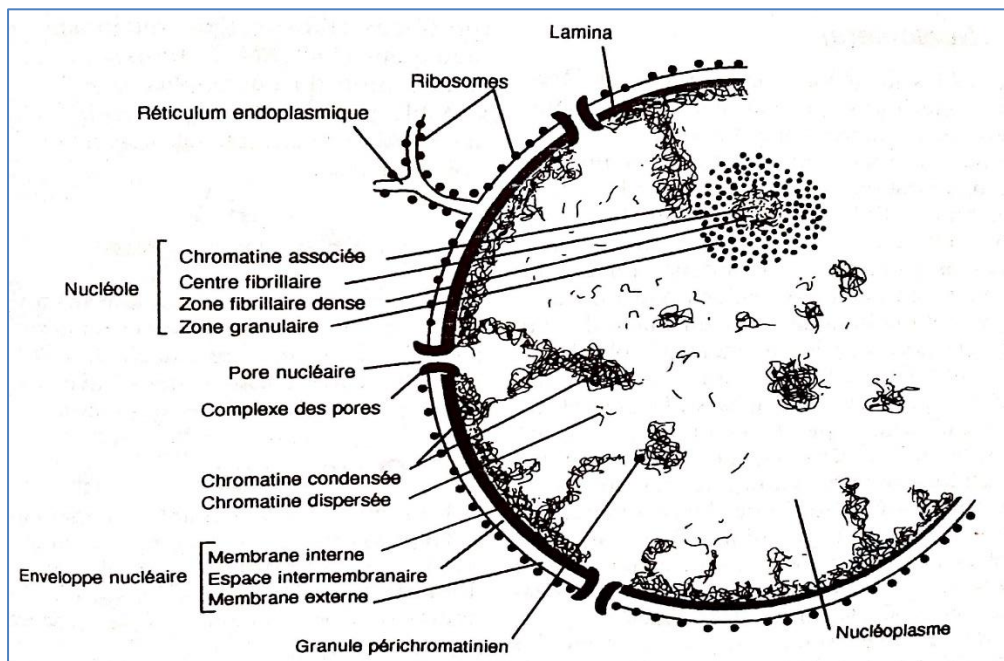


Figure 18 Représentation schématique du noyau d'une cellule eucaryote (Robert et Vian., 2013).

Le nucléoplasme : C'est une matrice gélatineuse contenant des ions, des protéines, des enzymes et des nucléotides.

Le nucléole : masse sphérique mesurant 1 à 7µm de diamètre non limitée par une membrane et observable que lorsque la cellule ne se divise pas. En général il y'a un nucléole par noyau mais le nombre, la taille, et la morphologie varient en fonction de la synthèse protéique dans une cellule. Il présente une organisation structurale qui reflète ses activités métaboliques :

Le centre fibrillaire : Il existe un ou plusieurs par nucléole selon le type cellulaire, il est peu dense aux électrons. Il est formé d'ADN (hétérochromatine nucléo associée)

Le composant fibrillaire dense : plus dense que le centre fibrillaire, correspond aux fibres de l'ARNr (18s, 5,8s, 28s, 45s, 5s), l'ARN polymérase et les boucles de l'ADNr. L'ADNr sera transcrit en ARNr 45s avec des gènes agencés, ensuite des endonucléases coupent l'ARNr 45s en 18s, 5,8s, 28s à la frontière entre centre fibrillaire et composant fibrillaire dense. Quant à l'ARNr 5s il vient d'une autre chromatine extra-nucléolaire.

Le complexe (cortex) granulaire : Aspect granulaire peu dense aux électrons. Il stocke les particules pré-ribosomiques formées d'ARNr en cours de maturation, des protéines ribosomales et des enzymes ARNase.

La Chromatine : est constituée d'ADN (le génome) et de protéines. En microscopie électronique, elle apparaît sous la forme d'un réseau qui a deux aspects possibles :

- Au centre (à l'intérieur du nucléoplasme): un réseau lâche, peu coloré, c'est l'*euchromatine*.
- A la périphérie du noyau et du nucléole : un réseau plus dense, c'est l'*hétérochromatine*

L'euchromatine : claire après coloration en microscopie optique et moins dense aux électrons en microscopie électronique, représente 10 à 20% de la chromatine d'une cellule adulte et correspond aux régions métaboliquement actives (transcription). L'euchromatine apparaît décondensée pendant l'interphase.

L'hétérochromatine : foncée après coloration en microscopie optique, dense aux électrons en microscopie électronique; représente 80 à 90% de l'ensemble de la chromatine d'une cellule adulte et correspond aux régions métaboliquement inactives (pas de transcription). Elle ne change pas d'état de condensation au cours du cycle cellulaire.

On distingue :

- l'hétérochromatine constitutive qui contient peu de gènes, formée principalement de séquences répétées et dont les plus grandes régions sont situées à proximité des centromères et des télomères, de chromosomes.
- l'hétérochromatine facultative qui contient des régions codantes pouvant adopter les caractéristiques structurale et fonctionnelle de l'hétérochromatine, comme le chromosome X inactif chez la femelle des mammifères.

9.2. Niveaux de compaction de l'ADN nucléaire

L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le nucléosome qui est composé d'ADN et d'histones. L'ADN possède plusieurs degrés de compaction dans le noyau interphasique (**figure 19**) :

1^{er} niveau de compaction : *les nucléosomes*.

Ce sont des structures ayant la forme d'un cylindre de 10 nm de diamètre, formées de petites protéines appelées histones nucléosomiques qui sont chargées positivement, ce qui facilite leur fixation à l'ADN (qui est chargé négativement). Il s'agit d'un octamère (H2A, H2B, H3 et H4) x2. L'ADN fait 2 tours (146 paires de bases) autour de chaque cylindre. Les nucléosomes sont séparés par un court segment d'ADN de taille variable 0 à 60-80 pb. La chaîne d'ADN ressemble alors à un collier de perles.

2^{ème} niveau de compaction : *le solénoïde*

Les nucléosomes sont associés par 6 par une autre histone, l'histone H1, pour former des "solénoïdes". L'histone H1 se lie à l'ADN à sa sortie du nucléosome. Les molécules d'histone H1 sont reliées entre elles par des liaisons peptidiques. Elles sont responsables de la constitution des fibres de chromatine de 30nm de diamètre.

3^{ème} niveau de compaction : *les boucles d'ADN*

Les fibres de 30 nm forment des boucles des quelques mégabases qui s'attachent à une armature protéique flexible

4^{ème} niveau de compaction : *le chromosome métaphasique*

La forme de compaction ultime est observée au niveau du chromosome métaphasique.

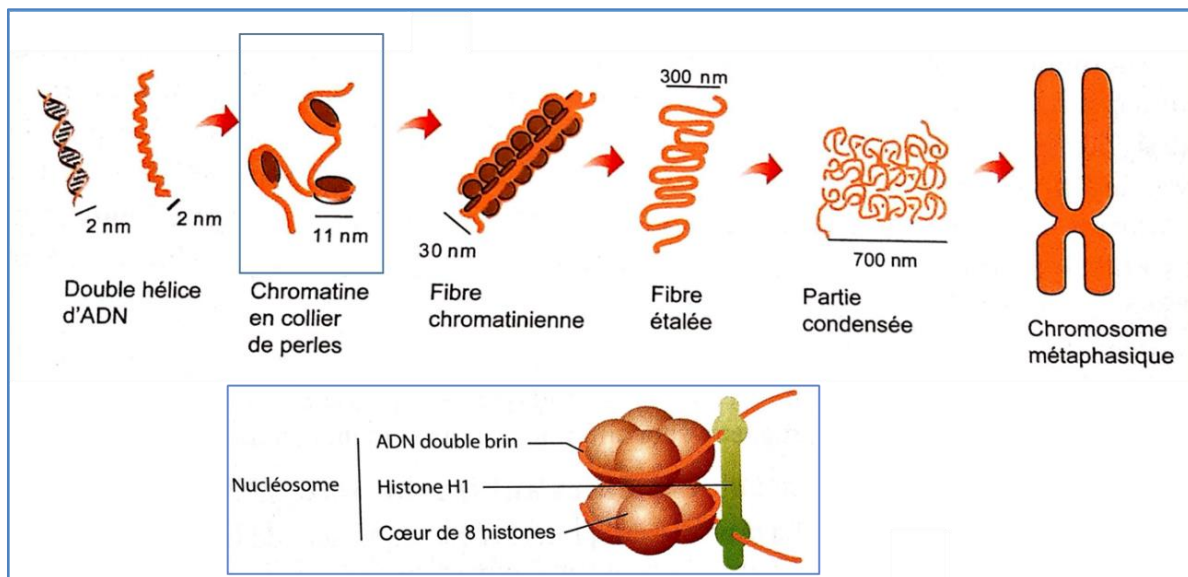


Figure 19. Organisation structurale du matériel génétique dans les cellules eucaryotes
(Richard *et al.*, 2015).

9.3. Fonctions

Rôles de l'enveloppe nucléaire :

- Joue le rôle de barrière contrôlant le passage de l'eau, des ions et des macromolécules.
- Est impliquée dans les échanges nucléo cytoplasmiques.

Chapitre 3. Structures subcellulaires

- Participe à la synthèse des protéines, de par sa membrane externe qui est garnie de ribosomes.
- Assure le transport actif du Ca^{2+} , ainsi que son stockage dans l'espace périnucléaire.

Rôles des pores :

Les pores contrôlent les échanges nucléo cytoplasmiques, dans les 2 sens, aussi bien dans le sens cytoplasme-noyau que dans le sens noyau-cytoplasme, et permettent un transit sélectif:

- Les petites molécules de poids moléculaire $< 40\text{Kda}$ et les ions traversent le pore sans intervention extérieure par diffusion passive travers les canaux latéraux du pore.
- Le transport des grosses molécules se produit à travers le transporteur central et s'associe à des protéines spécialisées de transport, dont le transport nécessite de l'énergie:
 - Le transport met en jeu un système d'adressage basé sur l'existence de séquences spécifiques d'acides aminés. Seules les protéines portant ce signal seront transportées. Le transport met en jeu un adaptateur (importine, exportine) reconnaissant un système d'adressage.

Rôles du nucléole :

- La biosynthèse du ribosome
- La régulation du cycle cellulaire

Entrainement

QCM : Choisir la (les) bonne(s) réponse(s)

1- Concernant le cytosquelette :

- a. Le cytosquelette est composé de trois types de polymères fibreux de nature protéique
- b. Les microtubules sont les plus épais des filaments du cytosquelette
- c. Les filaments intermédiaires sont les seuls filaments du cytosquelette composés de monomères protéiques fibreux
- d. Les filaments du cytosquelette se localisent uniquement dans le cytosol
- e. Le cytosquelette peut participer au maintien de la polarité cellulaire

2- Propositions concernant l'endocytose

- a. Il existe trois voies d'endocytose : la pinocytose, l'endocytose par récepteur interposé et la phagocytose
- b. L'exocytose permet l'élimination de cellules sénescents ou apoptotiques
- c. L'endocytose par récepteur interposé est un mode d'endocytose non spécifique
- d. Le manteau de clathrine est constitué d'une association de triskèles
- e. Le rôle principal de la phagocytose est le renouvellement de la membrane cellulaire

3- Concernant les endosomes :

- a. Les molécules retrouvées dans les endosomes tardifs proviennent de vésicules ayant deux origines : le milieu extracellulaire (endocytose) et le milieu intracellulaire (AG)
- b. Le pH des endosomes précoces est intermédiaire entre celui des endosomes tardifs et celui des lysosomes
- c. Le matériel endocyté parcourt le chemin suivant : Endosome précoce-endosome tardif-corps multivésiculaires-lysosome
- d. L'endosome précoce est l'organite où le ligand endocyté peut se séparer de son récepteur ; ce dernier est recyclé vers la membrane plasmique tandis que le ligand est dirigé vers le compartiment lysosomal où il sera dégradé

4- Concernant les lysosomes :

- a. Les lysosomes sont des organites dont le pH luminal est très acide
- b. La face cytosolique de la membrane des lysosomes est recouverte de glycoprotéines, appelées LAMP dont le rôle est la protéger contre l'action des hydrolases
- c. Les hydrolases lysosomales fonctionnent uniquement lorsque le pH est alcalin
- d. Les pompes à protons et les hydrolases lysosomales sont des protéines solubles arrivant aux lysosomes par transport vésiculaire
- e. Les molécules digérées par les lysosomes sont toutes d'origine extracellulaire.

5- Concernant le réticulum endoplasmique (RE) :

- a. Le RE est constitué d'un ensemble de saccules aplatis
- b. La membrane du RE a rigoureusement la même composition que celle de la membrane plasmique
- c. Le RE est en continuité avec l'enveloppe nucléaire

- d. Le REL ne porte pas de ribosomes à sa surface ; il est notamment impliqué dans l'anabolisme des lipides (cholestérol et phospholipides) et participe au renouvellement des membranes
- e. Les ribosomes portés par la face hyaloplasmique du REG permettent la traduction des protéines sécrétées dans le milieu extracellulaire

6- Concernant l'appareil de Golgi (AG) :

- a. L'AG d'une cellule animale est généralement composé d'un seul dictyosome
- b. L'AG est un organite polarisé ; sa face cis est tournée vers la membrane plasmique et prolongée par un réseau de canalicules
- c. Les protéines synthétisées dans le cytosol sont transloquées dans l'AG où elles sont modifiées puis triées en fonction de leur destination finale
- d. Les vésicules assurant les échanges entre le RE et l'AG forment le réseau cis-golgien
- e. Les vésicules bourgeonnant de la face trans de l'AG sont toutes destinées à la membrane plasmique

7- Concernant la translocation des protéines solubles à travers la membrane du RE :

- a. Les protéines possèdent une séquence signal ; il s'agit d'une séquence d'une vingtaine d'acides aminés hydrophobes situés à l'extrémité C-terminal
- b. La séquence signal est reconnue par la SRP, une ribonucléoprotéine à activité GTPasique composée de plusieurs petits ARN et d'une chaîne peptidique
- c. La SRP se fixe sur le peptide signal et sur la petite sous-unité du ribosome, bloquant momentanément la traduction de la protéine
- d. Le translocon est un récepteur spécifique de la SRP, situé sur la membrane du RE
- e. Dès son entrée dans le RE, la protéine est prise en charge par la protéine chaperonne BiP

8- Concernant la structure des mitochondries :

- a. Les mitochondries sont des organites de forme ovale, délimités par une double membrane
- b. La membrane interne forme des crêtes plongeant dans la matrice
- c. La surface de la membrane mitochondriale interne est plus élevée que celle de la surface externe
- d. La taille des mitochondries rappelle celle des cellules procaryotes
- e. La membrane interne est comprise entre l'espace intermembranaire et le cytoplasme

9- Concernant le noyau interphasique :

- a. La membrane nucléaire externe est en contact avec la lamina nucléaire
- b. Les nucléoles sont limités par une membrane
- c. L'espace intermembranaire est en continuité avec la lumière de l'appareil de Golgi
- d. On peut observer plusieurs nucléoles par noyau
- e. Les gènes codant l'ARN ribosomal 45S sont transcrits dans le nucléole

Chapitre 4

La membrane plasmique

Objectifs du cours

A la fin du chapitre l'étudiant sera capable de :

- ❖ Décrire la structure de la membrane cellulaire et son rôle dans les phénomènes d'échanges.
- ❖ Identifier les composants majeurs de la membrane plasmique ; protéines et lipides, et le rôle des lipides dans la fluidité de la membrane.
- ❖ Démontrer l'importance de la membrane plasmique pour la vie d'une cellule.

La membrane plasmique est une structure dynamique, organisée et complexe, indispensable à la vie d'une cellule. Elle sépare le cytoplasme (milieu intracellulaire) du milieu extracellulaire.

Grâce à une perméabilité très sélective, elle joue un double rôle de protection et de contrôle des échanges entre les milieux intracellulaire et extracellulaire.

1. Isolement de la membrane plasmique

Nos connaissances biochimiques reposent essentiellement sur des travaux effectués sur des hématies de vertébrés supérieurs, qui sont dépourvus de toute membrane autre que la membrane plasmique. Les hématies recueillies par centrifugation, après lavage dans un sérum isotonique (NaCl 9‰), sont placées dans un milieu hypotonique (NaCl 5‰) qui provoque une hémolyse : les hématies se gonflent, la membrane plasmique se perfore, laissant échapper l'hémoglobine. Les membranes plasmiques « fantômes d'hématies » sont alors recueillies par sédimentation et analysées.

2. Observation microscopique de la membrane plasmique

- Au microscope photonique, la membrane apparaît comme une densification périphérique du hyaloplasme, non colorable.
- Au microscope électronique à transmission, la membrane plasmique après contacte au tétraoxyde d'osmium, apparaît sous forme de 3 strates parallèles (**figure 1**) :
 - un feuillet externe dense (osmiophile) d'une épaisseur de 20 à 25 Å ;
 - un feuillet moyen clair (osmiophobe) d'une épaisseur de 30 à 40 Å ;
 - un feuillet interne dense (osmiophile) d'une épaisseur de 20 à 25 Å.

Ainsi, l'épaisseur de la membrane plasmique varie entre 70 et 100 Å.

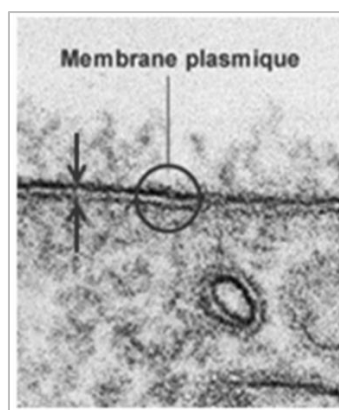


Figure 1. Membrane plasmique au microscope électronique à transmission
(Richard *et al.*, 2015).

Le feuillet externe (en relation avec le milieu extracellulaire) est doublé par un feutrage fibrillaire glucidique, le cell coat ou encore glycocalix, dont l'épaisseur est extrêmement

variable d'un type cellulaire à un autre. Le feuillet interne est en relation avec un feutrage microfilamentaire de filaments d'actine du cytosquelette.

La technique de cryofracture, lorsque la cassure est tangentielle, passe souvent par le feuillet intermédiaire, clair et sépare donc la membrane en deux héli-membranes :

Héli-membrane exoplasmique: c'est la couche externe de la membrane.

Héli-membrane protoplasmique: c'est la couche interne de la membrane. .

Les répliques de ces fractures observées après ombrage métallique apparaissent granuleuses, des particules globulaires de 5 à 8nm sont enchâssées, sans ordre apparent dans la couche lipidique.

3. Constituants des membranes

L'analyse chimique des membranes plasmiques ainsi obtenues révèle la composition chimique suivante : 40% de lipides, 52% de protéines et 8% de glucides.

Il faut toutefois noter que ces proportions relatives varient selon le type de cellules. Le rapport des masses protéines/lipides est en général voisin de 1 pour les membranes plasmiques ; la plupart des endomembranes sont plus riches en protéines (jusqu'à 80% en masse pour la membrane interne des mitochondries). Les lipides forment l'immense majorité des molécules constitutives des membranes.

Les résidus glucidiques sont associés à des lipides (glycolipides) ou à des protéines (glycoprotéines) et sont toujours orientés vers l'extérieur de la cellule. Ils forment le glycocalix (cell-coat) (**figure 2**).

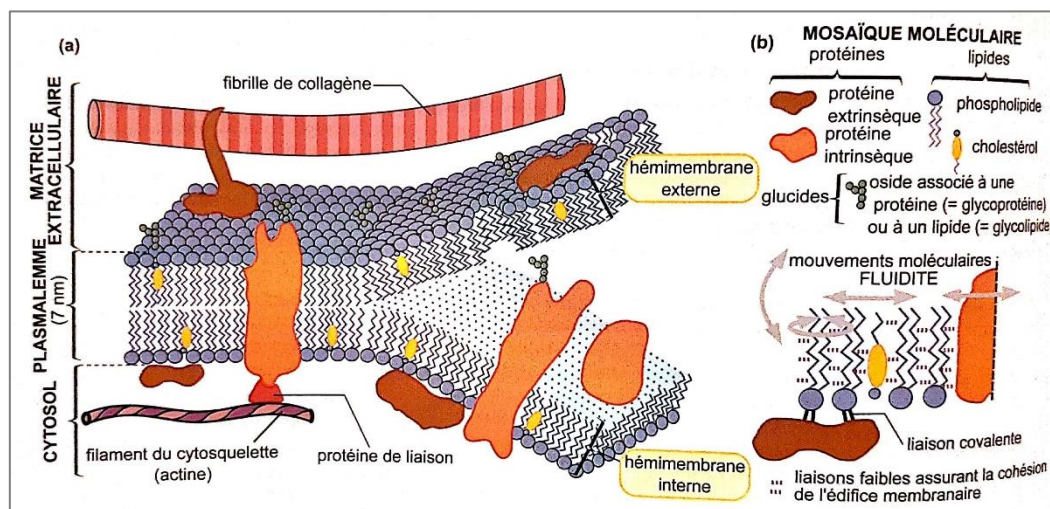


Figure 2. La membrane plasmique (Peycru *et al.* , 2013)

(a) : Le modèle de mosaïque fluide ; (b) Diverses mobilités des molécules.

3.1. Les lipides membranaires

Les lipides sont les éléments de base des membranes. Ils sont relativement peu variés d'une membrane à l'autre, seules changent les abondances relatives des différentes classes.

3.1.1. Les phospholipides :

Les phospholipides sont soit des glycérides dont la structure de base est l'acide phosphatidique, composé d'une molécule de glycérol estérifiée par deux acides gras et un acide phosphorique, soit des sphingomyélines.

3.1.1.1. Les glycerophospholipides

Sont les plus abondants, ils représentent environ 55% des lipides membranaires. Chaque molécule de phospholipide est un ester bâti sur le glycérol. Elle comporte deux chaînes aliphatiques, issues des acides gras engagées dans l'estérification de deux groupements alcool du glycérol. Le troisième groupement alcool est estérifié par l'acide phosphorique (chargé -), l'ensemble forme un groupement phosphatidyl. Ce dernier est lié à un groupement X : choline (phosphatidylcholine : PC), éthanolamine (phosphatidyl éthanolamine : PE), serine (phosphatidylsérine : PS) ou inositol (phosphatidylinositol : PI).

Les phospholipides sont des molécules amphiphiles, ils possèdent deux zones :

- les chaînes aliphatiques sont fortement hydrophobes (la queue).
- La zone hydrophile constitué du groupement X, phosphate et glycérol (la tête) (**figure 3**).

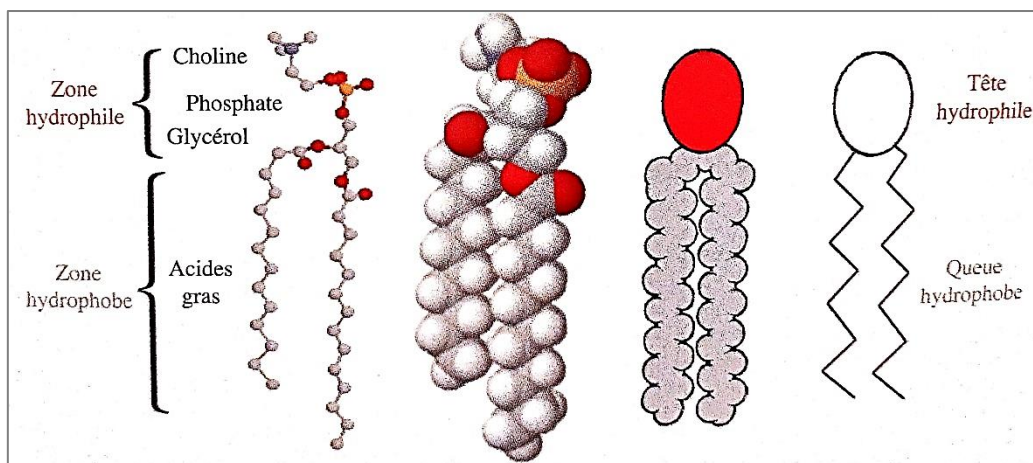


Figure 3 Glycerophospholipide : la phosphatidylcholine (Peycru *et al.*, 2013).

3.1.1.2. Les sphingophospholipides

Ce sont des molécules ubiquitaires présentes chez les cellules eucaryotes et certaines bactéries ; ils ont une base sphingoïde commune, la sphingosine (**figure 4**). Lorsque la sphingosine est liée à un acide gras par une liaison amide, on obtient une sphingosine N-acylée, communément appelée céramide. L'acide gras constitutif du céramide est une chaîne carbonée, généralement saturée, contenant de 14 à 26 atomes de carbone.

Ces deux chaînes carbonées (sphingosine et acide gras) forment la queue apolaire des sphingosines, leur tête polaire étant représentée par un groupement phosphate lié à un alcool, la choline. Les sphingophospholipides sont représentés par la sphingomyéline et ses dérivés chez les mammifères. Ils jouent un rôle essentiel dans les membranes des neurones (gaine de myéline). Les sphingolipides peuvent jouer un rôle structural, posséder une activité de récepteurs et se comporter comme des seconds messagers.

3.1.2. Les glycolipides

Les glycolipides résultent de la liaison d'un simple hexose ou d'un oligosaccharide à une fonction hydroxyle appartenant soit au glycérol d'un diglycéride (glycéroglycolipide) soit à la sphingosine d'un céramide (**figure 4**)

Les glycosphingolipides ont pour tête polaire un groupement glucidique. Ils sont représentés par les cérébrosides (un seul ose), les sulfatides et les gangliosides (tete oligosidique).

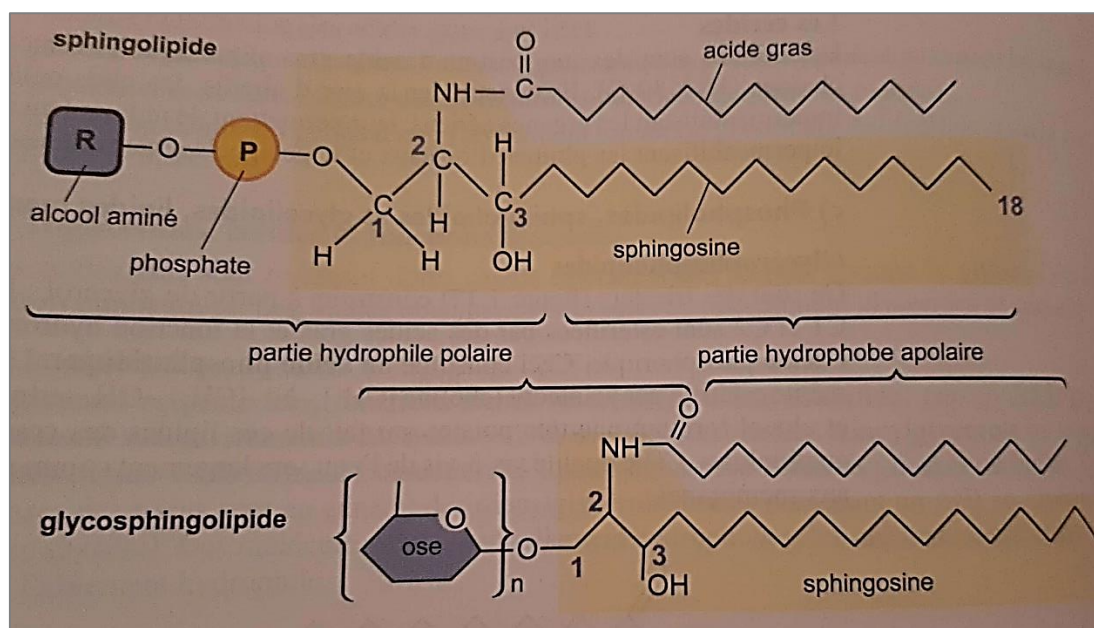


Figure 4. Sphingolipide et glycosphingolipide (Peycru *et al.*, 2013).

3.1.3. Le cholestérol : c'est un dérivé de l'unité isoprène, sa structure composée de nombreux cycles donne une morphologie plane à la molécule. Il est présent dans les deux feuillets membranaires. La teneur en cholestérol de la membrane varie en fonction de l'état physiologique de l'organisme, elle peut atteindre 25% de la totalité des lipides membranaires.

Le cholestérol est la forme présente chez les mammifères, l'ergostérol chez les champignons et le stigmastérol chez les plantes (**figure 5**). Il possède comme les phospholipides une région polaire et une chaîne hydrocarbonée non polaire.

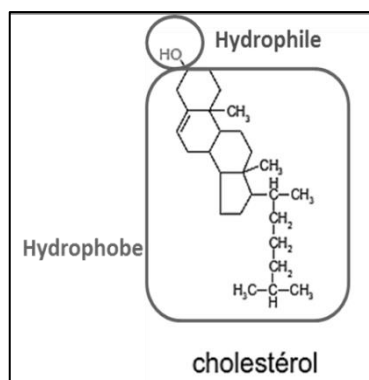


Figure 5. Structure du cholestérol (Peycru *et al.*, 2013).

Tous les lipides membranaires sont amphiphiles, même si parfois la zone hydrophile est réduite (cas du cholestérol où la zone hydrophile est réduite à un hydroxyle). Or le milieu cellulaire, est un milieu aqueux. Les lipides membranaires interagissent donc, dans le milieu aqueux de la cellule, de façon à rassembler leurs pôles hydrophobes et à présenter au milieu leurs pôles hydrophiles : ils forment des bicouches lipidiques, maintenues par « interaction hydrophobes ». D'autres interactions faibles stabilisent l'ensemble : liaison ioniques entre les zones polaires des lipides, interactions de Van Der Waals entre les queues hydrophobes.

3.1.4. Propriétés des lipides membranaires

***Auto-organisation** : le caractère amphiphile des phospholipides leur confère la possibilité de former spontanément des doubles couches en milieu aqueux qui se refermeront pour former des micelles ou des liposomes.

Micelles : vésicules limités par une mono-couche lipidique, sans cavité.

Liposomes : vésicules limités par une double couche lipidique, avec une cavité au centre.

***Mouvements des lipides** : les lipides se déplacent dans la double couche lipidique.

Diffusion latérale : c'est un mouvement durant lequel les phospholipides changent de place avec leurs voisins à l'intérieur d'une même mono-couche.

Mouvement de rotation : les lipides tournent fréquemment sur eux-mêmes autour de leur axe longitudinal.

Flexion : la présence de doubles liaisons rend les chaînes hydrocarbonées flexibles, elles présentent des angulations.

Mouvement de bascule ou flip-flop : les phospholipides et le cholestérol peuvent passer d'une bicouche à l'autre par un mouvement de bascule (flip-flop). Ce mouvement est très lent, il se fait grâce aux flipases.

Mouvement en haut et en bas : dans la même monocouche.

***Fluidité** : La fluidité membranaire est indispensable à leur bon fonctionnement, elle dépend du taux de cholestérol, de l'insaturation et de la longueur de la chaîne aliphatique des acides gras constituant les phospholipides ainsi que de la température. Le cholestérol, grâce à son cycle stéroïdien, rend la membrane moins fluide et augmente sa stabilité à T° habituelle et augmente la fluidité à basse T°.

3.2. Les protéines membranaires

Les protéines sont des éléments essentiels de diversité et de la spécificité des membranes : elles sont très variées d'une cellule à l'autre, et dans une cellule, d'une membrane à l'autre.

Elles forment une structure en mosaïque dans la double couche de phospholipides et peuvent diffusées librement dans le plan de la membrane. En effet, elles sont encastrées entre les lipides qui servent de milieu de dispersion.

L'analyse des protéines membranaires a permis l'isolement et la caractérisation d'une cinquantaine de protéines, regroupées en cinq catégories principales : transporteurs, récepteurs, enzymes, marqueurs, structurales.

Il est actuellement prouvé que les protéines peuvent interagir de différentes façons avec les lipides membranaires. Deux catégories de protéines sont décrites :

3.2.1. Protéines périphériques

Elles sont hydrophiles, les interactions liant ces protéines à la membrane sont essentiellement ioniques, ces protéines sont à la surface de la bicouche lipidique. Elles interagissent avec les groupements polaires des lipides ou d'autres protéines transmembranaires. Ces protéines sont aussi nommées protéines superficielles. Elles peuvent se situer soit sur la face cytosolique soit sur la face extracellulaire.

3.2.2. Protéines intégrées

Les protéines intégrées interagissent avec la partie hydrophobe de la bicouche lipidique. Cette interaction est possible par l'intermédiaire de zone hydrophobe de la protéine, ou par l'intermédiaire d'un encreage à base lipidique (dans ce cas sa position est superficielle par rapport à la membrane). Il existe deux types :

Protéines transmembranaires: sont des protéines solidement maintenues dans la membrane. Elles sont amphiphile, elles possèdent des régions hydrophobes qui sont intramembranaires et qui interagissent avec les chaînes hydrophobes des molécules lipidiques et des régions hydrophiles qui sont les segments transmembranaires et qui sont exposés à l'eau des deux côtés de la membrane.

Ces protéines sont habituellement composées de chaînes polypeptidiques en hélice. Généralement l'extrémité N-terminale est du côté extracellulaire et l'extrémité C-terminale du côté intracellulaire. On distingue des protéines à un seul domaine transmembranaire et des protéines multidomaines transmembranaires (**figure 6**).

Protéines ancrées à la membrane : On en distingue deux types, selon la face dans laquelle elles sont ancrées.

Protéines ancrées dans la face intracellulaire : La plupart de ces protéines sont associées à un segment hydrophobe permettant leur insertion dans la bicouche lipidique. Il s'agit le plus souvent d'associations covalentes avec un acide gras. Exemples : kinases (catalysent les réactions de phosphorylation), phosphatases (enlèvent un groupement phosphate), protéines G (permettent le transfert de l'information à l'intérieur de la cellule)

Protéines ancrées dans la face extracellulaire : Ce sont souvent des protéines ancrées au glycosyl-phosphatidylinositol. Ce dernier est lié par son oligoside à l'extrémité C-terminale des protéines du côté extracellulaire.

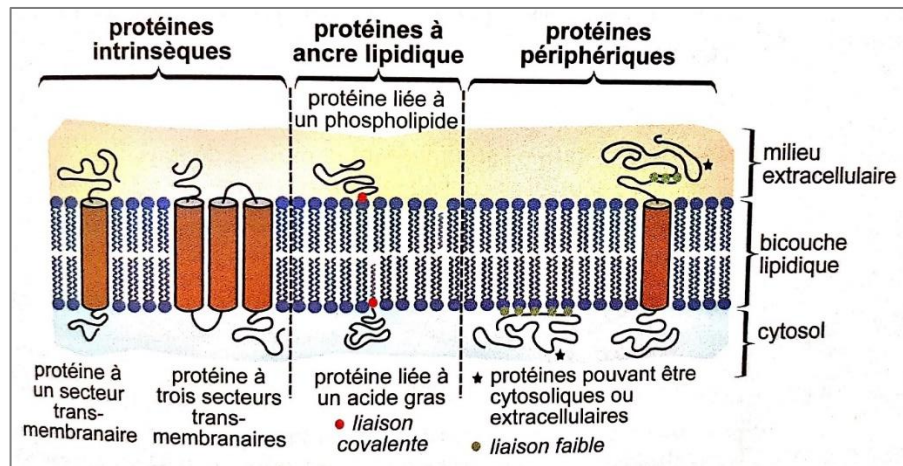


Figure 6. Diversité de localisation et d'ancrage des protéines membranaires (Peycru et al., 2013)

3.2.3. Propriétés des protéines membranaires

* **Mobilité des protéines** : les protéines membranaires sont douées de mouvements lents par diffusion latérale dans la bicouche. Cette fluidité a été mise en évidence par plusieurs techniques dont l'expérience de FRYE et EDIDIN (expérience utilisant des hétérocaryons souris/homme, résultant de la fusion de deux cellules d'origine différentes : **figure 7**).

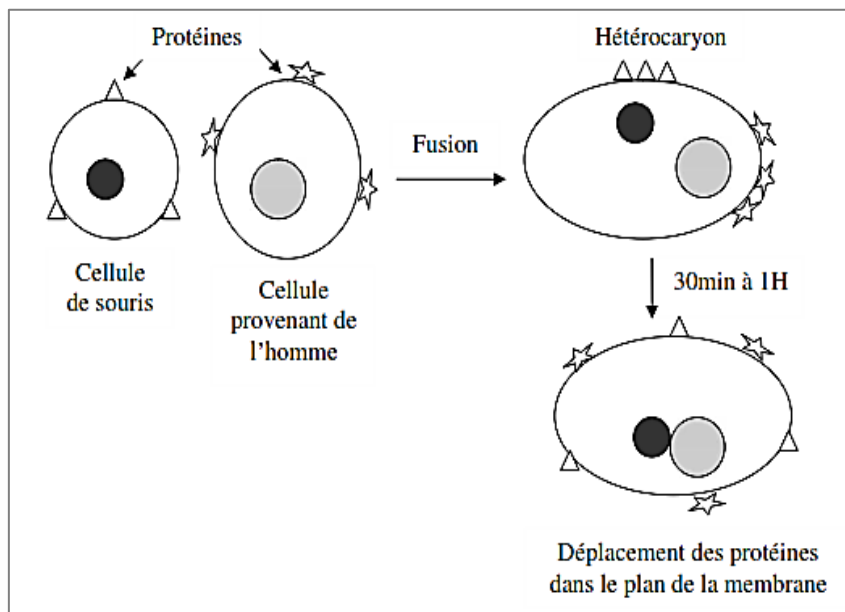


Figure 7. Déplacement des protéines dans le plan de la membrane (Robert et Vian., 2013)

* **Les restrictions des mouvements des protéines dans la membrane plasmique** :

- 1- Liaison intracellulaire: contact avec le cytosquelette
- 2- Liaison extracellulaire: contact cellule- cellule
- 3- Liaison extracellulaire: contact cellule- matrice extracellulaire
- 4- Formation des complexes protéiques dans la membrane

3.2.4. Fonction des protéines membranaires

Les protéines membranaires interviennent en fonction de leur nature dans divers processus : le transport transmembranaire, la réception d'informations, la reconnaissance cellulaire et l'adhérence entre cellules ou sur un support conjonctif.

3.3. Les glucides membranaires

Les glucides sont présents dans les membranes, non pas en tant que tels, mais comme des constituants partiels, des résidus osidiques linéaires ou ramifiés des glycoprotéines et des glycolipides. Les résidus glucidiques, dans la membrane plasmique, sont toujours situés sur le versant extracellulaire de la membrane et sont implémentés perpendiculairement : ils constituent le cell coat (glycocalix), un feutrage filamenteux d'épaisseur variable selon le type cellulaire étudié.

Les principaux glucides membranaires sont : le glucose, le galactose, le mannose, le galactosamine, le glucosamine et l'acide sialique (acide N acétyl neuraminique) qui est très riche en charges négatives.

Fonctions des glucides du glycocalix

Ces glucides représentent un ensemble spécifique de marqueurs biologiques impliqués dans la reconnaissance et donne l'identité cellulaire.

– Antigènes de surface pour la reconnaissance du soi :

- Complexe majeur d'histocompatibilité : Glycoprotéines des cellules nucléées (CMHI: sur toutes les cellules de l'organisme ; CMHII: sur les cellules immunitaires)
- Groupes sanguins ABO : Oligosaccharides portés par des glycolipides membranaires des hématies.

- Adhésion des cellules avec leur environnement.

4. Propriétés des membranes plasmiques

- Organisation asymétrique entre les deux feuillets est liée à la composition en phospholipides, la nature des protéines insérées, la présence ou non de glucides et liens avec le cytosquelette, avec la matrice extracellulaire
- La composition chimique hétérogène qui varie d'un type cellulaire à un autre ou bien entre deux régions différentes au sein de la cellule. la répartition des PC, PE, PI et PS entre les deux couches lipidiques est asymétrique. La PC est du côté exoplasmique (extracellulaire), alors que PE, PS et le PIP₂ (phosphatidylinositol diphosphate) se trouvent du côté protoplasmique (intracellulaire).

5. Transports membranaires

La membrane plasmique est une frontière physique qui sépare le milieu intracellulaire de l'environnement externe. Ors toute cellule vivante doit effectuer des échanges permanents avec le milieu externe, en particulier il y a pénétration de métabolites et rejet de déchets. En outre la membrane maintient une différence de concentration ionique notable entre le contenu cellulaire et l'extérieur.

Tous les échanges se font à travers la membrane qui assure une perméabilité sélective pour les petites molécules. Lorsqu'il s'agit de macromolécules et de particules, celles-ci entrent dans la cellule (ou en sortent) grâce à un mécanisme particulier que l'on appelle l'endocytose (exocytose) par un transport cytotique.

5.1 Perméabilité membranaire

La membrane plasmique assure un transport spécifique, sélectif, adapté aux besoins de la cellule. Les échanges qu'elle assure sont réalisés conformément aux gradients de concentration, c'est les transports spontanés. La membrane assure en outre un transport contre le gradient de concentration avec dépense d'énergie, c'est les transports non spontanés permettant le maintien d'une différence de concentration entre milieu cellulaire et l'extérieur.

5.1.1 Transports passifs

Certains transports sont spontanés. Il s'agit de la diffusion simple et de la diffusion facilitée. Dans les deux cas, une molécule diffuse des régions de concentration élevée vers les régions de concentration faible (dans le sens de son potentiel électrochimique décroissant).

5.1.1.1. Diffusion simple

Le transport s'effectue à travers la bicouche lipidique sans interaction spécifique avec les constituants de la membrane.

Le mouvement des substances à travers la membrane est conditionné :

- Par la taille des molécules : Plus la molécule est volumineuse, plus sa vitesse de pénétration est lente.
- Par le coefficient de partition : Au-dessus d'une certaine taille, la pénétration est fonction du coefficient de partition (rapport : solubilité dans les lipides/solubilité dans l'eau). En effet les molécules solubles dans les lipides passent très rapidement.
- Par le gradient de concentration : La vitesse de progression d'une molécule à travers la membrane, est fonction de sa concentration de part et d'autre de celle-ci.

a. Perméabilité à l'eau ou osmose

Les membranes biologiques se comportent comme des membranes hémiperméables et permettent avant tout les mouvements d'eau.

En effet, l'observation d'hématies placées dans un milieu plus concentré (hypertonique) ou moins concentré (hypotonique) révèle les mouvements d'eau dans le sens du gradient osmotique. Dans une solution isotonique de NaCl, les hématies ne changent pas de volume, par contre en solution plus concentrée, elles gonflent et la membrane peut même se rompre.

Ces variations de volume traduisent des mouvements essentiellement d'eau, liés à la différence d'osmolarité entre milieu extérieur et cytoplasme.

b. Perméabilité aux molécules non chargé

Les petites molécules en particulier les gaz (CO_2 , O_2 , CO), l'urée traverse librement la membrane par simple diffusion.

5.1.1.2. Diffusion facilitée

Certaines molécules comme les acides aminés, les oses, les métabolites et les ions traversent beaucoup plus rapidement la membrane, leur transport présente des caractéristiques incompatibles avec une diffusion passive :

- Ils diffusent beaucoup plus vite malgré leur caractère hydrophile ou leur taille.
- La vitesse de diffusion présente une saturation lorsque la concentration externe augmente.
- Le transport peut être inhibé par des analogues structuraux du soluté.
- Le transport peut être inactivé par des réactifs de protéines.

Ces caractéristiques s'expliquent par la participation au transport d'une protéine membranaire, présente dans la membrane en un nombre limité de copies. Cette protéine reconnaît et fixe de manière plus ou moins spécifique le soluté et accélère son transport à travers la membrane, il s'agit d'une diffusion facilitée.

Dans ce type de transport, la molécule transportée interagit spécifiquement avec un constituant membranaire de nature protéique qui facilite son transport. Les protéines membranaires qui accélèrent le transport des solutés et des ions sont soit des transporteurs, soit des canaux : les transporteurs sont responsables de la diffusion facilitée de solutés organiques ; les canaux sont responsables principalement de la diffusion facilitée des ions inorganiques.

a. Mécanisme de diffusion facilitée par transporteur

Un transporteur est une protéine transmembranaire dont la chaîne qui possède un site de fixation spécifique pour un soluté ou une classe donnée de solutés, traverse la membrane plusieurs fois (transporte 10^2 à 10^3 molécules par seconde).

Les étapes de la diffusion facilitée d'un soluté transporté par un transporteur de l'intérieur vers l'extérieur sont suivantes :

1) La reconnaissance du soluté par la face interne (fixation analogue à celle d'un substrat sur son enzyme). Un transporteur donné reconnaît un soluté ou une classe de solutés.

2) Le franchissement de la membrane par le soluté à la suite du changement de conformation de la protéine qui voit le site de fixation passer de la face interne à la face externe. On peut penser que plusieurs segments transmembranaires de la protéine participent à la formation du site de fixation et que le changement de conformation s'accompagne d'une modification de leur orientation d'une face à l'autre de la membrane.

3) Le relâchement du soluté dans le compartiment externe.

4) En fin, le retour du site de fixation de la protéine sur la face de départ à la suite d'un nouveau changement de conformation.

Donc le site de fixation n'est jamais accessible simultanément par les deux compartiments aqueux.

Exemple : le transport facilité du glucose à travers la membrane plasmique de toutes les cellules permettant leur alimentation à partir du sang (**figure 8**). Les isomères des transporteurs de glucose ont une distribution tissulaire différente :

- Glu T1 : érythrocyte, cerveau.
- Glu T2 : β pancréas, foie, intestin grêle (lame basale).

- Glu T3 : cerveau, nerfs.
- Glu T4 : muscle, tissu adipeux.

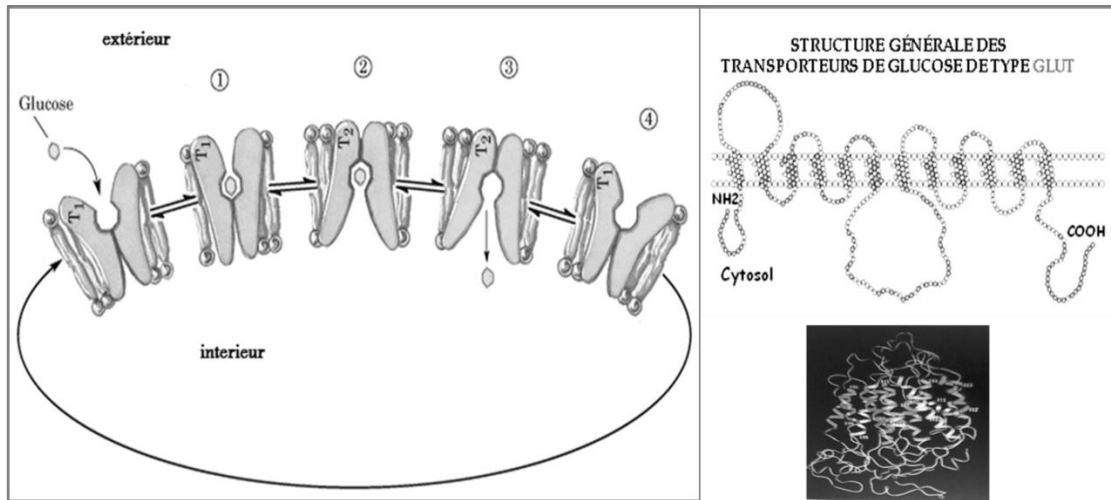


Figure 8. Diffusion facilitée par transporteur (Callen., 2009)

Structure du transporteur de glucose

b. Canaux hydriques

L'eau malgré son caractère très polaire, diffuse à travers la bicouche lipidique de liposomes. De ce fait et indépendamment de la présence de protéines, toutes les membranes sont perméables à l'eau. Ceci étant, le degré de perméabilité à l'eau de diverses membranes diffère considérablement.

La grande perméabilité à l'eau de certaines membranes (rein) est due à la présence de canaux aqueux. Ceux-ci constituent une famille dénommée aquaporines AQP (**figure 9**). Ces canaux présentent en leur centre un pore polaire, lieu de passage de l'eau. L'aquaporine du globule rouge AQP1 a été la première caractérisée. C'est une protéine tétramérique, chaque unité (une chaîne polypeptidique de 28KDa) est fonctionnel (4 pores).

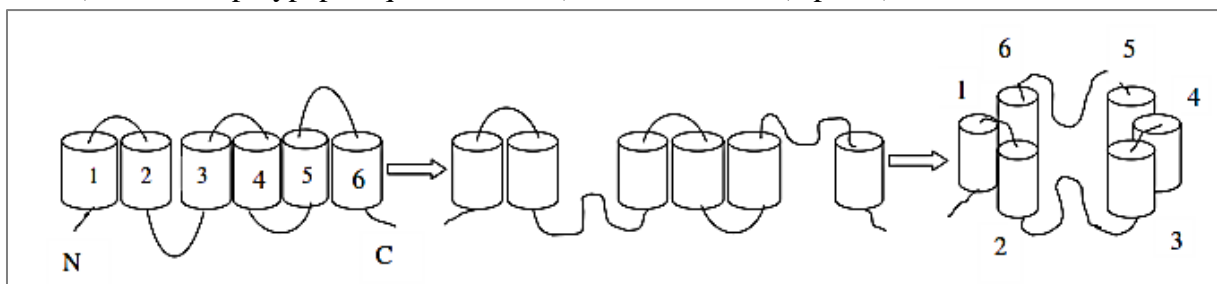


Figure 9. Modèle structural de l'aquaporine (Callen., 2009).

c. Mécanisme de diffusion facilitée par canaux ioniques

La membrane plasmique est peu perméable de manière passive aux ions inorganiques : la bicouche lipidique hydrophobe s'oppose à leur diffusion.

Il existe au niveau des membranes des entités protéiques qui catalysent la diffusion facilitée de ces ions. Il s'agit de canaux ioniques qui assurent vis-à-vis des ions les mêmes fonctions que les transporteurs vis-à-vis des solutés organiques.

Dans les conditions physiologiques, le canal existe dans deux états conformationnels différents entre lesquels il oscille :

- un état fermé dans lequel le canal ne catalyse pas de diffusion.
- un état ouvert dans lequel le canal catalyse la diffusion.

Un stimulus externe augmente la probabilité de trouver le canal dans un état ouvert. Ce stimulus peut être une variation du potentiel de membrane (canal potentiel – dépendant), la fixation d'un ligand sur le canal (canal ligand –dépendant), la variation de la concentration d'un ion particulier (par exemple, le Ca^{2+}).

Une fois le canal ouvert, on peut considérer que le site de fixation pour l'ion est accessible simultanément des deux côtés de la membrane. Ceci entraîne des vitesses de transport beaucoup plus élevées que celles des transporteurs : un canal permet le passage de 10^7 à 10^8 ions par seconde.

Certains canaux sont très spécifiques pour un cation ou un anion donné, d'autres acceptent différents cations ou différents anions (**figure 10**).

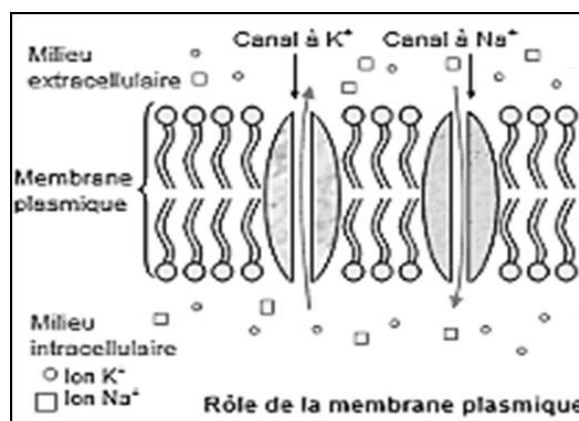


Figure 10. Transport facilité des ions par des canaux ioniques (Callen., 2009).

5.1.2 Transports non spontanés ou transports actifs

De nombreux transports sont non spontanés et le soluté est transporté dans le sens de son potentiel électrochimique croissant. Ces transports non spontanés sont obligatoirement couplés à une autre transformation, qui est spontanée et qui fournit le travail nécessaire. On parle d'un couplage énergétique entre deux transformations.

Un tel couplage nécessite un élément de couplage, une protéine ou un complexe protéique membranaire, qui permet aux deux transformations de s'effectuer simultanément.

La transformation fournissant le travail permettant le transport actif peut être une réaction chimique (couplage chimio- osmotique). Ce peut être également un second transport, lui-même spontané (couplage osmo - osmotique). En fin, un transport spontané peut être couplé à une réaction non spontanée (couplage osmo - chimique).

5.1.2.1. Transport actif primaire

Certains couplages chimio –osmotiques associent des réactions chimiques spontanées (réactions d'oxydoréduction, hydrolyse de l'ATP) au transport actif non spontané d'ions variés

(H^+ , Na^+ , K^+ et Ca^{2+}). Les éléments de couplage (chaînes membranaires de transfert d'électron, ATPase) constituent des pompes ioniques.

Le fonctionnement de certaines pompes s'accompagne d'un transport net de charge à travers la membrane se sont des *pompes électrogènes* :

- Les chaînes membranaires de transfert d'électron qui transportent des protons dans un sens donné.
- ATPases, soit qu'elles transportent un ion dans un sens mais avec stœchiométrie différente (ATPase Na^+/K^+ , $3Na^+$ pour $2K^+$).

Le fonctionnement d'autres pompes ne s'accompagne pas d'un transport net de charge à travers la membrane elle sont dites *pompes électroneutres* :

- ATPase K^+/H^+ des cellules gastriques qui transport un H^+ dans un sens pour un K^+ dans l'autre sens. La pompe ne peut pas crée une différence de potentiel de membrane mais uniquement une différence de concentration d'ions (**figure 11**).

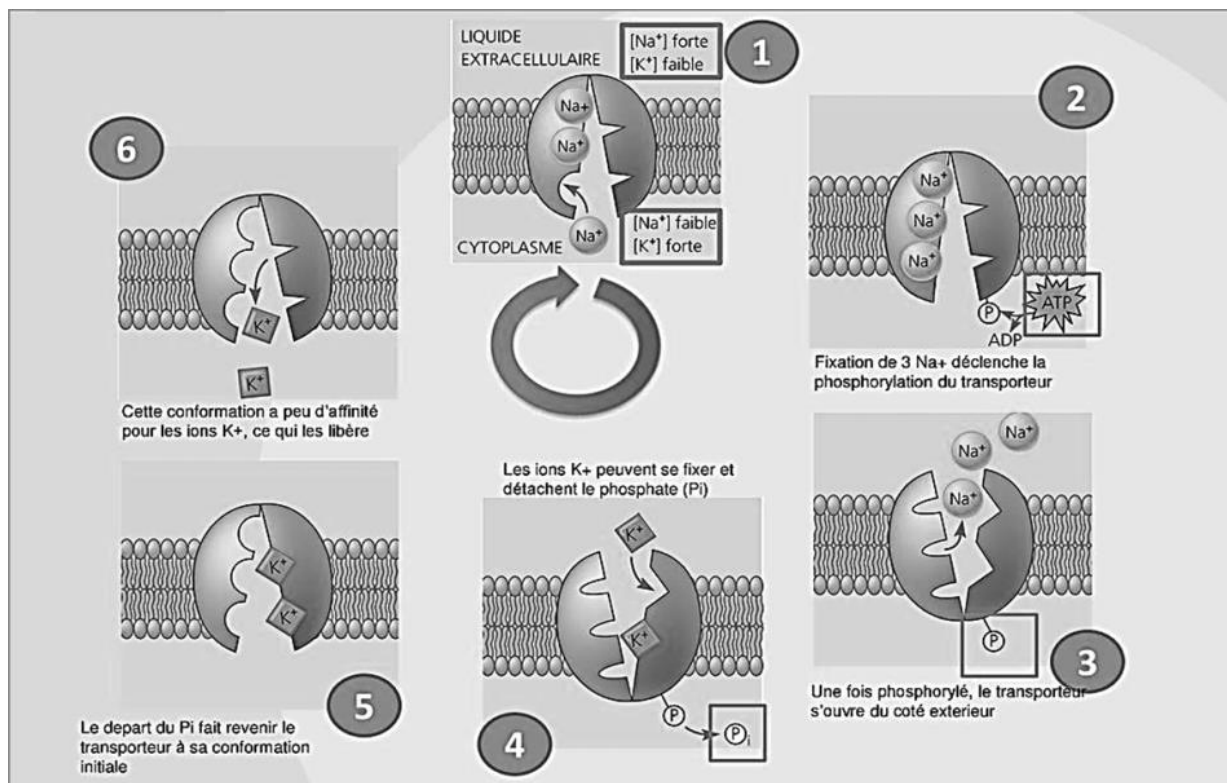


Figure 11 Transport actif primaire – ATPase Na^+/K^+ (Callen., 2009).

5.1.2.2. Transport actif secondaire

Les couplages chimio – osmotiques conduisent à la formation de part et d'autre des membranes d'une différence de potentiel électrochimique des ions transportés activement. En conséquence, ceux-ci ont tendance à diffuser spontanément dans le sens de leur potentiel électrochimique croissant vers leur compartiment d'origine. La diffusion peut être passive (limitée vue l'imperméabilité de la membrane), également facilitée (par des canaux). En fin, la diffusion spontanée peut être couplée au transport actif non spontané d'autres molécules.

Il s'agit d'un couplage osmo – osmotique, l'élément de couplage es une protéine membranaire, transporteur qui reconnaît et transporte simultanément deux solutés, l'ion qui diffuse spontanément (ion moteur) et la molécule transportée activement.

Le couplage osmo – osmotique est également appelé transport actif secondaire, ce qui signifie qu'un tel transport ne peut se faire qu'après un transport actif primaire créant la différence de potentiel chimique de l'ion nécessaire au transport actif secondaire.

Si la diffusion facilitée et le transport actif s'effectuent dans le même sens on parle d'un symport, s'ils s'effectuent en sens opposé on parle d'antiport.

Exemple des transports actifs secondaires : transport actif du glucose couplé au transport facilité du sodium, suite à la création d'une différence de potentiel électrochimique de Na^+ par la pompe Na^+/K^+ au niveau du rein et de la membrane apicale des cellules intestinales (**figure 12**).

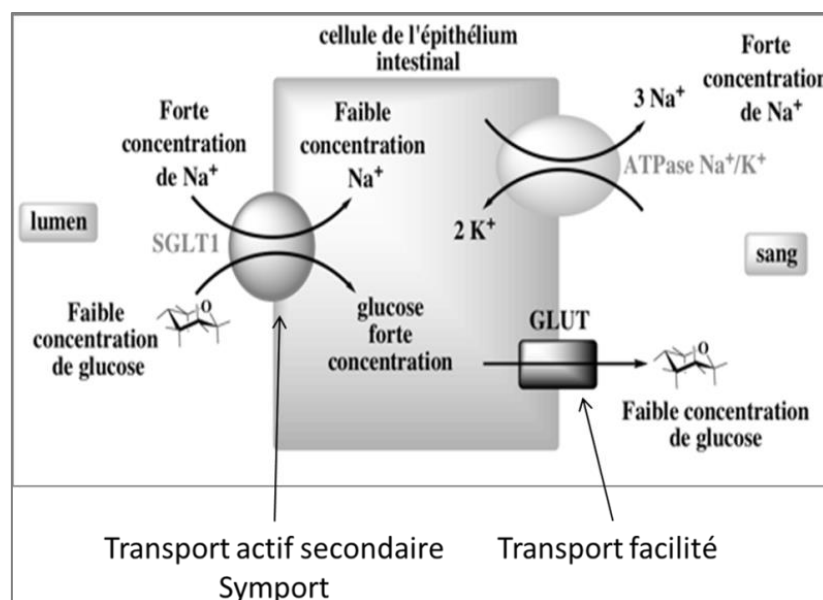


Figure 12. Schéma illustrant le transport du glucose intestinal à travers un entérocyte (Callen., 2009).

5.2. Les transports cytotiques

Lorsque la taille de l'élément à transporter dépasse celle d'un nutriment (macromolécule, éléments cellulaires), la cellule l'emballe dans une membrane. Le système fonctionne pour l'entrée (endocytose) comme pour la sortie (exocytose) du cytoplasme. Morphologiquement, ces deux phénomènes sont similaires. Cependant leurs mécanismes sont très différents.

5.2.1. Endocytose

L'endocytose désigne le processus par lequel les cellules retiennent une fraction du volume extracellulaire contenant des molécules voire de particules à l'intérieur d'un compartiment membranaire intracellulaire. L'endocytose est un phénomène « actif », consommateur d'énergie. Selon le volume endocyté, la présence ou non d'un revêtement protéique sur la face cytosolique des vésicules endocytées et la nature chimique des éléments

internalisés, on distingue trois types d'endocytose : la pinocytose, la phagocytose et l'endocytose par récepteurs (**figure 13**).

a) Pinocytose

La pinocytose est la capture et l'absorption, par la cellule de macromolécules et de solutés dans de petites vésicules lisses, non recouvertes (diamètre d'environ 100nm). Comme tous les solutés dissous dans les gouttelettes sont englobés sans discrimination, la pinocytose ne constitue pas une forme de transport spécifique. Il n'y a pas d'intervention de récepteurs membranaires contrairement à l'endocytose à récepteurs que nous verrons par la suite.

La pinocytose se déroule en permanence dans la plupart des cellules eucaryotes. La surface membranaire reste constante : l'apport de membrane, par les vésicules sécrétoires au cours de l'exocytose, compense, en effet, la perte occasionnée par la pinocytose.

b) Phagocytose

La phagocytose est l'ingestion de substances ou de particules de grande taille. La cellule reconnaît le matériel à ingérer. Elle émet une expansion cytoplasmique qui enveloppe l'élément figuré puis l'entraîne dans le cytoplasme en formant par invagination, une vacuole ou phagosome de 100 à 400nm de diamètre. La phagocytose est destinée à assurer la nutrition chez les êtres unicellulaires, le matériel phagocyté est alors formé de débris organiques.

Elle permet également la défense d'organismes pluricellulaires, dans ce cas, des cellules mobiles comme les macrophages ou les granulocytes neutrophiles sont spécialisées dans cette fonction. Cette activité permet de capturer les bactéries, les virus, les particules étrangères, les hématies vieillies et les débris cellulaires. Les cellules phagocytaires savent reconnaître les substances à ingérer par la présence de nombreux récepteurs spécifiques sur leur membrane plasmique (endocytose spécifique).

c) Endocytose par récepteurs

L'endocytose à récepteurs est une forme d'endocytose hautement spécifique, très sélective, caractérisée par la formation de vésicules à manteau. Au cours de ce type d'endocytose, les récepteurs sont rassemblés en un point de la membrane, puis une vésicule d'endocytose (un « puit ») se forme. Elle est associée à une couverture de clathrine (protéine périphérique) du côté cytoplasmique, d'où son nom de vésicule couverte (80nm de diamètre). Cette couverture disparaît rapidement lorsque la vésicule est détachée de la membrane.

Un tel mécanisme a été décrit pour l'endocytose des LDL qui permettent l'alimentation des cellules en cholestérol, ou pour l'endocytose de la transferrine, qui assure l'apport de du fer.

5.2.2. Exocytose

L'exocytose désigne le mécanisme d'excrétion de composés synthétisés par la cellule ou les déchets dans le milieu extracellulaire. Elle n'est possible que s'il y a fusion entre la membrane de la vésicule et la membrane plasmique. Elle est souvent précédée d'une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} (établissement de ponts entre un Ca^{2+} et deux phospholipides acides localisés sur la monocouche externe de la vésicule et la monocouche interne de la membrane plasmique).

Chapitre 4. La membrane plasmique

On distingue classiquement deux grandes voies :

a) L'exocytose constitutive : par laquelle certaines protéines sécrétées ou membranaires, ainsi que des phospholipides, sont continuellement acheminés vers la membrane plasmique, au moyen de petites vésicules. Toutes les cellules eucaryotiques ont la faculté de sécréter divers composés dans le milieu extérieur. Ceux-ci ont plusieurs destinées : ils restent étroitement accrochés à la membrane plasmique (glycocalyx), ils constituent une matrice extracellulaire emplissant les espaces libres entre les cellules,

b) L'exocytose induite : dans laquelle des vésicules de stockage sont mises en œuvre ; celles-ci ne fusionnent avec la membrane que lorsque la cellule a reçu un signal extracellulaire bien précis. Elle caractérise certaines catégories cellulaires qui synthétisent une substance et la rejettent à l'extérieur pour l'usage des autres cellules (hormone, neurotransmetteur...etc.).

L'exocytose peut être une conséquence de la phagocytose : les particules digérées après dégradation par les lysosomes forment des résidus qui sont rejetés hors de la cellule (**figure 13**).

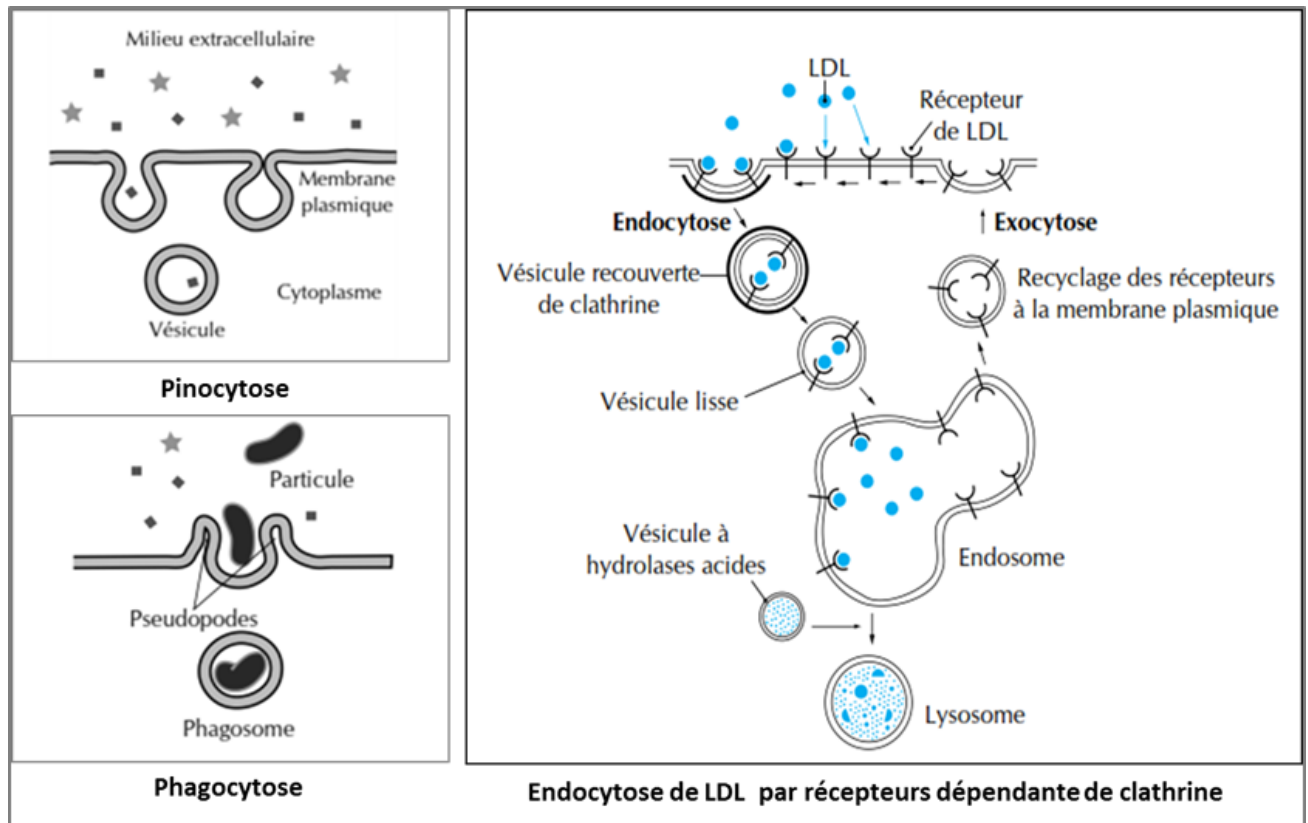
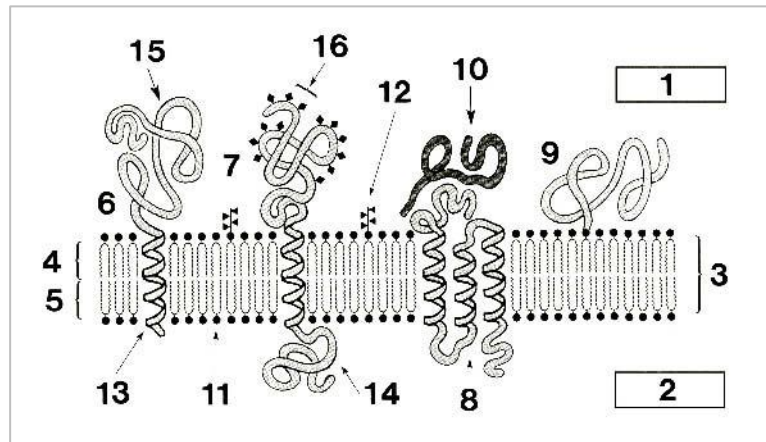


Figure 13. Phénomènes d'endocytose et exocytose (Callen., 2009)

Endocytose non spécifique, Phagocytose et Endocytose spécifique

Entrainement

Question 1 : Schéma à légender, en précisant la polarité de la membrane.



QCM : Choisir la (les) bonne(s) réponse(s)

1- Quelle partie de la membrane peut varier énormément d'une personne à l'autre ?

- a. phospholipides
- b. glycoprotéines
- c. cholestérol

2- La présence d'acides gras insaturés :

- a. augmente la fluidité de la membrane.
- b. diminue la fluidité de la membrane

3- Lequel de ces éléments ne peut pas passer directement à travers la double couche de phospholipides ?

- a. CO₂
- b. H₂O
- c. O₂
- d. Na⁺

4- Pourquoi dit-on que les canaux de la membrane sont spécifiques ?

- a. Chaque sorte de cellule a sa sorte bien précise de canaux qui lui sont propres.
- b. Un canal donné ne laisse souvent passer qu'une substance bien précise.
- c. Les canaux ne sont jamais les mêmes d'une cellule à l'autre.

5- Quels deux types de lipides retrouve-t-on dans la membrane des cellules ?

- a. glycérol et phosphate
- b. glycérol et cholestérol
- c. phospholipides et cholestérol
- d. triglycérides et cholestérol
- e. cholestérol et glucides

6- Les canaux des membranes des cellules sont faits :

- a. de protéines
- b. de phospholipides
- c. de cholestérol
- d. de glucides

7- Un gradient de concentration c'est :

- a. la différence de concentration entre deux milieux.
- b. la concentration totale en ions d'un milieu donné.
- c. la concentration en eau d'une solution.
- d. le total des solutés d'une solution.

8- Comment se modifie la vitesse de diffusion si on augmente le gradient de concentration ?

- a. elle augmente
- b. elle diminue
- c. elle ne change pas

9- Comment se modifie la vitesse de diffusion si on augmente la température du milieu ?

- a. elle augmente
- b. elle diminue
- c. elle ne change pas

10- Comment se modifie la vitesse de diffusion si on diminue le nombre de canaux de la membrane permettant cette diffusion.

- a. elle augmente
- b. elle diminue
- c. elle ne change pas

11- Lequel de ces énoncés est vrai ? La diffusion facilitée...

- a. nécessite la présence d'une protéine spéciale servant de transporteur.
- b. se fait contre le gradient de concentration.
- c. nécessite une source d'énergie.
- d. tous ces énoncés sont vrais

12- La pompe à sodium potassium est un exemple :

- a. d'osmose
- b. de diffusion facilitée
- c. de diffusion simple
- d. de transport actif

Chapitre 5

Adhérence cellulaire

Objectifs du cours

  la fin de ce cours, l tudiant sera capable de :

- ❖ Décrire les composants de la matrice extracellulaire.
- ❖ Identifier les molécules d'adhérence.
- ❖ Différencier les différents types de jonctions cellulaires.
- ❖ Démontrer l'importance de l'interaction cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire dans le maintien de l'intégrité des tissus.

L'adhérence cellulaire est une fonction indispensable pour permettre la formation de tissus, organes et systèmes assurant les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'individu. Elle est permise d'une part grâce à la présence d'une matrice extracellulaire (adhérence indirecte) et d'autre part par la formation de jonction cellulaire (adhérence directe) par la présence de molécules d'adhérence au sein des membranes plasmiques.

1. Matrice extra cellulaire

Dans la plupart des tissus animaux ou végétaux, les cellules sont en contact avec un constituant extracellulaire formé de macromolécules, que l'on appelle la matrice extracellulaire (MEC). Cette structure possède une composition chimique et une organisation complexes. Outre le rôle de consolidation et de cohésion, la matrice extra cellulaire permet de nombreuses interactions entre les cellules.

La MEC n'est pas exclusive de l'état pluricellulaire, elle occupe l'espace interstitiel englobe totalement ou plus ou moins les cellules.

Dans certains tissus, la matrice extracellulaire forme une couche fine compacte et résistante sur laquelle reposent les cellules : la lame basale. On la trouve à la base de tous les feuilletts épithéliaux et endothéliaux, elle entoure les cellules musculaires, les cellules adipeuses, les cellules de Schwann (qui forment la gaine de myéline entourant les axones des cellules nerveuses périphériques), etc.

1.1. Constituants de la MEC

Elle est constituée de deux ensembles de molécules. Des molécules essentiellement saccharidiques (protéoglycanes) constituant la substance fondamentale et des protéines fibreuses, structurent l'ensemble. En fonction de l'abondance relative de ces deux ensembles, on obtient une structure plus ou moins lâche qui donne sa morphologie au tissu (**figure 1**).

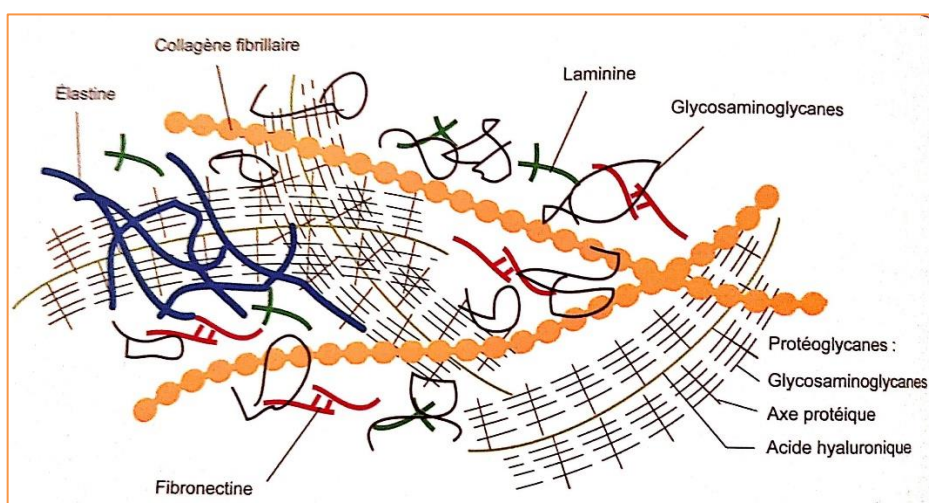


Figure 1 Organisation de la matrice extracellulaire (Robert et Vian., 2013).

La substance fondamentale est une substance amorphe de consistance semi fluide constituée d'eau, d'ions et de composés organiques non fibrillaires (protéoglycanes, glycoprotéines). En microscopie optique, elle présente un aspect homogène et remplit les espaces entre les fibres et les cellules.

1.1.1. Les polysaccharides

1.1.1.1. Les Glycosaminoglycanes

Les glycosaminoglycanes (GAGs) sont de longues chaînes polysaccharidiques non ramifiées : polymères d'un disaccharide dont l'un des sucres est aminé (osamine), l'autre sucre est un dérivé d'ose acide (**figure 2**). En fixant l'eau, ils constituent le gel de remplissage de la MEC. Il existe deux types :

GAG non sulfaté : Acide hyaluronique, est un long polymère (25000-50000 résidus) de deux sucres non sulfatés, l'acide glucuronique et le N acétyl glucosamine .Il est chargé négativement et participe à la formation d'un gel très hydraté (lubrifie les articulations).

GAGs sulfatés : sont de longs polymères d'unités disaccharidiques sulfatés. Il en existe 4 types majeurs : chondroïtine sulfate, dermatane sulfate, kératane sulfate et l'héparane sulfate.

Seul l'acide hyaluronique existe à l'état libre dans la matrice ; les autres GAG sont toujours liés de façon covalente à des protéines (protéoglycanes).

1.1.1.2. Les protéoglycanes

Ils sont constitués de longues chaînes polysaccharidiques non ramifiées, rigides et étirées, les glycosaminoglycanes (GAGs) greffées sur une protéine centrale. Colorés par l'acide périodique de Schiff (PAS).

1.1.1.3. Les complexes de protéoglycanes

Des agrégats importants de protéoglycanes peuvent se former quand des molécules individuelles se fixent sur une chaîne d'acide hyaluronique liés au collagène appelés: aggrécane. Ils composent 10% en poids de la matrice et 75% en volume et servent au maintien de l'intégrité de la matrice extracellulaire (**figure 2**).

La biosynthèse des protéoglycanes s'effectue dans le système endomembranaire (réticulum endoplasmique granulaire, appareil de Golgi, vésicules de sécrétion).

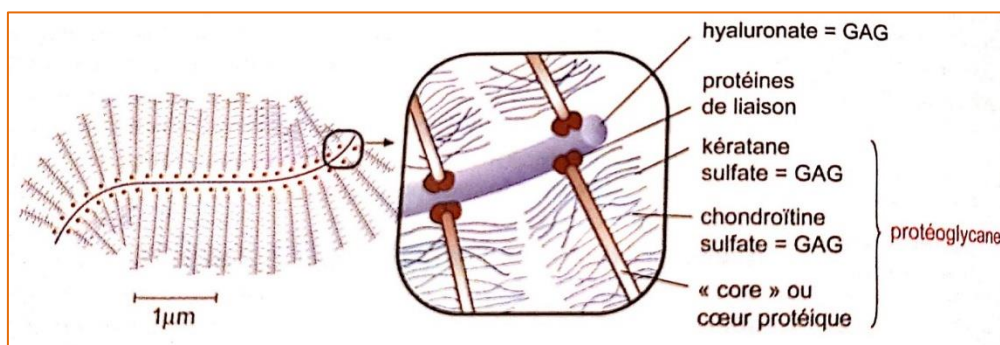


Figure 2. Organisation d'un complexe de protéoglycanes (Weinman et Méhul ; 2004)

Rôle des polysaccharides de la matrice extracellulaire assurent plusieurs fonctions :

- Forment un gel poreux qui contrôle la diffusion des molécules (très hydrophile).
- Possèdent de nombreuses charges négatives qui retiennent les charges positives (Na^+), donc l'eau par effet osmotique).
- Organisation de la matrice extra cellulaire et favorise l'adhérence cellulaire.
- Zone de stockage de facteurs de croissance.

1.1.2. Les protéines

La MEC renferme deux types de protéines :

- Des protéines fibreuses très volumineuses : Collagène (Polymère protéique fibrillaire ou non) et élastine (Protéine fibreuse élastique).
- Glycoprotéines de structure : Ce sont des protéines d'adhérence comme la fibronectine, la laminine...etc.

1.1.2.1. Protéines fibreuses

a) Les collagènes : sont des glycoprotéines fibreuses. Ce sont des polymères d'une molécule élémentaire, le tropocollagène qui est synthétisée par les fibroblastes sous forme d'un précurseur, le procollagène.

Le collagène est visible en microscopie optique surtout après certaines colorations (le safran le colore en jaune, le trichrome de Masson en vert ou en bleu, le rouge Sirius en rouge).

On parle de superfamille des collagènes puisque l'on compte aujourd'hui une trentaine de molécules différentes (**tableau I**).

Tableau I : Différents types de collagène

	Types	Forme	localisation
En fibrilles	I	Fibrille	Os, peau, tendon, ligament, cornée
	II	Fibrille	Cartilage, disques intervertébraux
	III	Fibrille	Peau, vaisseaux
	V	Fibrille	Associées au type I
En réseau	IV	Réseau en feuillet	Lame basale
Associé aux fibrilles	IX	Assoc .lat	cartilage
	XII	Assoc. Lat	Tendons, ligaments

Synthèse du collagène :

Le collagène dérive de l'association de trois chaînes polypeptidiques α . Chaque chaîne α (1000 acides aminés) possède à ses extrémités des acides aminés supplémentaires.

- Les chaînes α s'associent 3 par 3 et s'enroulent les unes sur les autres pour former une molécule hélicoïdale de procollagène (**figure 3**).
- Le procollagène est excrété par la cellule conjonctive (le fibroblaste par exemple) et se retrouve dans la matrice extracellulaire.

- Les rallonges peptidiques sont alors éliminées par des peptidases et le procollagène devient le tropocollagène.
- Les molécules de tropocollagène s'associent pour former des fibrilles, qui se regroupent en faisceaux épais : fibres de collagènes (diamètre 5 μm). Cette association se faisant toujours à l'extérieur de la cellule.

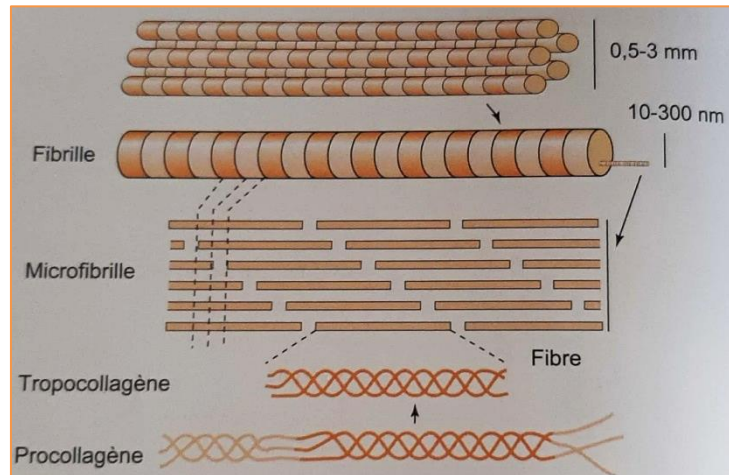


Figure 3. Structure des fibres de collagène (Richard *et al.*, 2014)

Rôle : Les collagènes permettent la résistance à la tension subie par différents tissus.

b) Les fibres élastiques

Les fibres élastiques sont formées par l'interaction de l'élastine et la fibrilline.

L'élastine est une protéine très hydrophobe non glycosylée, riche en proline et en glycine, qui s'assemble en filaments. Elle est présente en quantité importante dans la matrice des tissus soumis à de grandes variations de taille et de forme. Ex : poumon, peau, les grosses artères comme l'aorte.

Les microfibrilles de fibrilline organisent l'élastine sécrétée de telle sorte que cette dernière se dépose et s'individualise en fibres entre les microfibrilles.

Les fibres élastiques ne sont visibles en microscopie optique qu'après coloration spéciale (orcéine, résorcine).

Rôle : élasticité, permettant aux tissus de se rétracter après étirement.

1.1.2.2. Glycoprotéines de structure

a) Fibronectine : est une glycoprotéine multifonctionnelle qui existe sous trois formes principales : une protéine plasmatique circulante ; une protéine attachée transitoirement à la surface cellulaire et des fibrilles insolubles constituant une partie de la MEC.

Elle est synthétisée sous forme d'un monomère de grande taille, subit la glycosylation, se dimérise par formation de ponts disulfures. Le dimère à 2 bras en forme d'un V présente

plusieurs sites de liaison spécifiques au collagène, aux intégrines, aux protéoglycanes (**figure 4**).

Rôle : son importance fonctionnelle tient de sa capacité à adhérer à différents constituants des tissus dont elle assure l'orientation et la cohésion. Elle existe très tôt au cours du développement embryonnaire et joue un rôle dans la migration des cellules, en particulier neuronales.

b) Laminine : est une glycoprotéine trim rique en forme de croix, caractéristique des lames basales. Elle est formée par trois chaînes α , β et γ associées les unes aux autres par des ponts disulfures et possède plusieurs sites de liaison : pour le collagène IV, pour les intégrines et pour les protéoglycanes (**figure 4**).

Rôle: molécule majeure de liaison entre cellule et matrice extracellulaire.

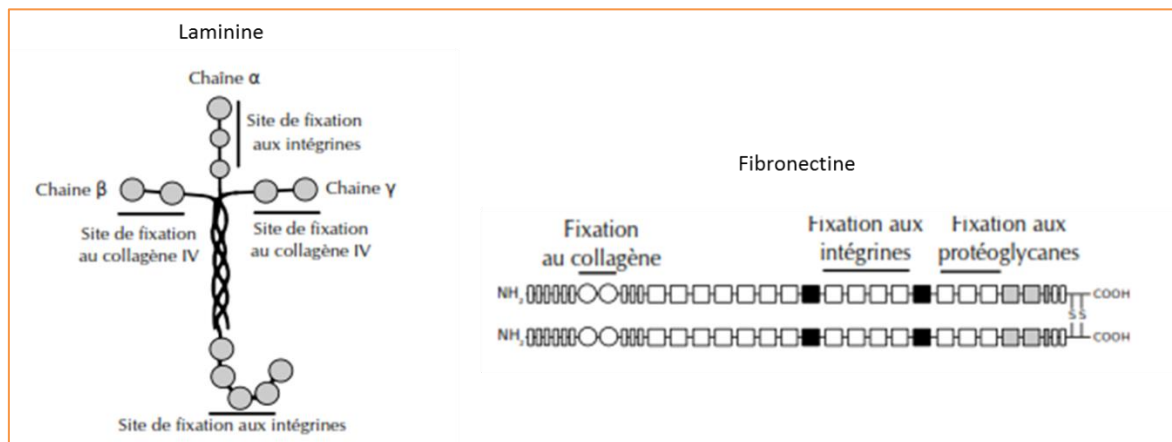


Figure 4. Laminine et fibronectine (Callen., 2005).

1.2. Matrice extracellulaire végétale

Elle est composée majoritairement de longues fibres glucidiques de cellulose, reliées entre elles par d'autres glucides (hémicellulose, pectine).

Ce réseau permet l'adhérence des cellules entre elles, mais aussi la protection des cellules contre les stress mécaniques ou hydriques. L'ensemble des parois donne au végétal sa rigidité, jouant le rôle de « squelette ».

Observée au microscope photonique, les cellules végétales présentent une paroi dont l'épaisseur est variable.

1.2.1. Ultrastructure : Observation au MET

1. Lamelle moyenne ou mitoyenne : c'est un ciment intercellulaire commun à deux cellules voisines (mitoyennes). Elle est composée de pectine

2. Paroi primaire : elle est située entre la lamelle moyenne et la membrane plasmique, son épaisseur est variable. Elle est composée de cellulose, hémicellulose, pectine, glycoprotéines, H₂O

3. Paroi secondaire : entre la paroi primaire et la membrane plasmique. Elle est formée de plusieurs strates. Plus riche en cellulose que la paroi primaire, moins riche en hémicellulose, H_2O , et dépourvue de pectine et de glycoprotéines (**figure 5**).

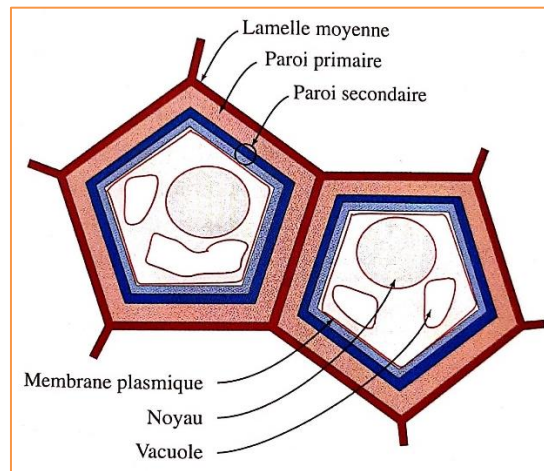


Figure 5. Structure de la paroi cellulaire végétale (Bassaglia., 2013).

1.3. La lame basale

C'est une région différenciée de la MEC à la base ou autour de certaines cellules. Elle contient les mêmes constituants que la MEC mais certains lui sont spécifiques. Elle est située au pôle basal des cellules épithéliales et autour des autres cellules.

Mise en évidence en microscopie photonique par coloration cytochimique (PAS de Sciff). Elle contient le collagène IV, la laminine (glycoprotéine formée de 3 chaînes enroulée en forme de croix), la fibronectine et PG.

La lame basale a plusieurs fonctions:

- C'est un substrat pour la migration cellulaire.
- Joue le rôle de filtre en contrôlant l'apport des molécules à partir des vaisseaux.
- Contrôle la division des cellules de la souche interne des épithéliums stratifiés.

2. Molécules d'adhérence

Les molécules d'adhérence cellulaire sont des récepteurs retrouvés à la surface de la membrane plasmique. Ce sont des glycoprotéines transmembranaires qui déterminent la capacité d'adhérence d'une cellule. Dans les tissus, les cellules adhèrent soit les unes avec les autres, soit aux composants de la matrice extracellulaire grâce à des glycoprotéines transmembranaires dites CAM (Cell Adhesion Molecule).

Les CAM correspondent à 4 superfamilles de glycoprotéines transmembranaires regroupées selon leurs caractéristiques structurales : intégrines, cadhérines, sélectines et I-CAM (immunoglobulines).

Les CAMs interviennent dans l'adhérence soit entre des cellules de même type (liaison homotypique), soit entre cellules de type différent (adhésion hétérotypique). La partie extracellulaire d'une CAM peut se lier directement à une CAM identique d'une cellule voisine (liaison homophile) ou avec une CAM appartenant à une classe différente (liaison hétérophile).

2.1. Molécules d'adhérence Cellule - Cellule

2.1.1. Cadhérines

Protéines transmembranaires calcium-dépendantes, de 720 à 740 acides aminés responsables d'interactions cellule-cellule. Elles sont portées par de nombreuses cellules : les neurones, les muscles, les ostéoclastes et par les membranes des cellules épithéliales.

Elles possèdent une spécificité de liaison homophile calcium-dépendante et leurs interactions favorisent l'adhésion de cellules semblables (liaison homotypique). Le site de fixation des ions calcium se trouve sur la partie N-terminale extracytoplasmique. Lorsque le calcium se fixe, cela entraîne une modification de la conformation de la cadhérine qui lui permet de reconnaître une autre cadhérine et de s'y fixer. L'absence de calcium aboutit à une dissociation du domaine extracellulaire et donc de la rupture de la jonction cellulaire (**figure 6**)

Il existe presque une cadhérine spécifique pour chaque tissu, en voici quelques-unes :

* Les cadhérines « classiques » : dans les jonctions adhérentes et sont associés au cytosquelette par les caténines :

E-cadhérine : élaborée par les cellules épithéliales et embryonnaires.

L-cadhérine : élaborée par les cellules hépatiques.

VE-cadhérine : élaborée par les cellules endothéliales.

P-cadhérine : que l'on trouve dans le placenta.

N-Cadhérine retrouvée au niveau du système nerveux central.

* Les cadhérines « non classiques » : que dans les desmosomes :

1- Desmoglénines 1 et 3

2- Desmocollines

Les cadhérines sont indispensables à la formation des complexes de jonction d'adhérence (zonula adhérens et desmosome).

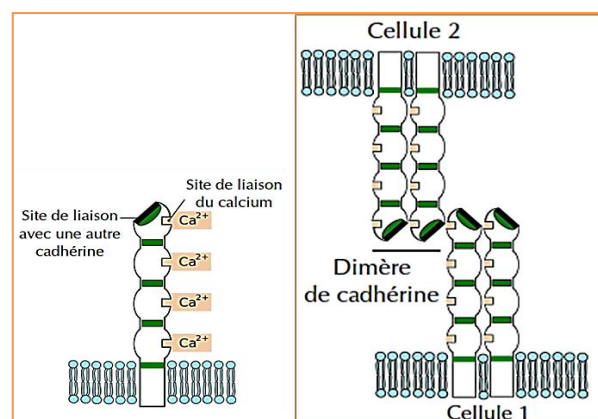


Figure 6. Structure de la cadhérine (Callen., 2009).

Rôle. Principales protéines de l'adhérence intercellulaire : Jonctions adhérentes (cadhérines-filament d'actine), desmosomes (cadhérines- filaments intermédiaires)

Autres rôles : morphogenèse et inhibition de contact

2.1.2. Les sélectines

Les sélectines sont des glycoprotéines transmembranaires. Elles sont calcium dépendantes et sont impliquées dans des liaisons hétérophiles et hétérotypiques. Elles ne sont pas présentes en permanence, elles peuvent être induites par un signal extracellulaire : elles sont présentes dans des vésicules à l'intérieur de la cellule et lorsque la cellule est stimulée, ces vésicules migrent à la surface. L'exposition des sélectines sur la face extracytoplasmique de la membrane plasmique est rapide (quelques minutes) (**figure 7**).

Les sélectines constituent des récepteurs d'adhérence (récepteurs d'oligosaccharides) des leucocytes à l'endothélium vasculaire, elles s'apparentent aux lectines (protéines qui lient les résidus glucidiques des glycoprotéines et glycolipides).

Il existe trois types de sélectines:

Sélectines L (leucocytaires) : exprimées par les leucocytes ;

Sélectines P (plaquettaires) : exprimées par les plaquettes et les cellules endothéliales ;

Sélectines E (endothéliales) : exprimées par les cellules endothéliales.

Rôle: Elles sont responsables, à l'intérieur du compartiment vasculaire sanguin, des interactions adhésives entre:

Leucocytes - l'endothélium vasculaire

Leucocytes - plaquettes

Elles interviennent dans de nombreux phénomènes :

- Inhibition de contact
- Diapédèse : Lors d'une réaction inflammatoire les sélectines ralentissent la vitesse de déplacement des leucocytes, afin de permettre la diapédèse (mécanisme par lequel un leucocyte s'insinue entre les cellules endothéliales d'un capillaire sanguin. Cela se fait grâce à un relâchement temporaire des jonctions d'adhérence).

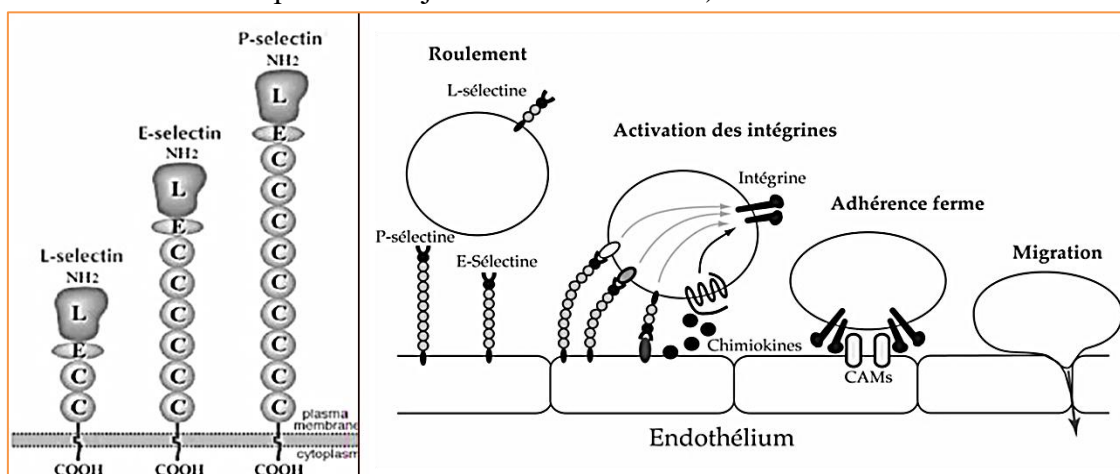


Figure 7. Structure et rôle des sélectines dans le compartiment vasculaire (**Callen., 2009**).

▪ Les immunoglobulines Ig-CAM

Les Ig-CAM sont des immunoglobines transmembranaires dont le domaine extracellulaire est caractérisé par la présence de 5 boucles. Les extrémités de ces boucles sont réunies par des ponts disulfures. Elles sont calcium indépendantes et sont impliquées dans des interactions homotypiques ou hétérotypiques, homophiliques ou hétérophiliques (**figure 8**).

Interagisse avec les intégrines, ICAM, protéoglycanes à héparanes sulfates

Cette famille est particulièrement nombreuse, on compte parmi elle :

N-CAM et Ng-CAM : abondantes dans le système nerveux ;

I-CAM : présente au niveau des cellules endothéliales ;

L-CAM : présente au niveau des cellules hépatiques.

V-CAM : vasculaire

P-CAM : plaquette

Rôle : Les Ig-CAM assurent l'adhésion cellulaire dans plusieurs tissus, les N-CAM par exemple, interviennent au cours de la formation du système nerveux.

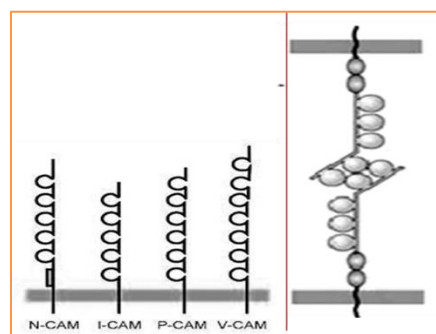


Figure 8. Structure des I-CAM (Callen., 2009).

2.2. Molécules d'adhérence Cellule - MEC

2.2.1. Les intégrines

Les intégrines sont des hétérodimères formés de deux sous unités α et β , responsables des interactions matrice-cellule. Elles assurent des interactions hétérotypiques et hétérophiliques et sont calcium-dépendantes. Leur présence est permanente au niveau de la membrane plasmique des cellules qui entre en contact avec la matrice extracellulaire ou avec la lame basale (**figure 9**).

Ce sont des récepteurs de diverses molécules de la MEC, en particulier au niveau de la membrane basale. Interagissent avec: Collagène, fibronectine, laminine, vitronectine, polysaccharidiques (protéoglycanes sulfate d'héparane).

Elles interagissent avec des CAMs immunoglobulines et cadhérines. Elles se lient également aux composants du cytosquelette, avec les microfilaments d'actine dans les contacts

Chapitre 5. Adhérence cellulaire

focaux (jonction cellule – MEC) et les filaments intermédiaires (cytokératines) dans les hémidesmosomes (jonction cellule – MEC)

Rôle :

- Attachement de la cellule à la matrice extracellulaire
- Constituent une des voies majeures de la transduction des signaux venus de la MEC à destination des cellules épithéliales (régulation de l'expression de leurs gènes).
- Les intégrines jouent un rôle essentiel dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires : forme, polarité, prolifération, migration, survie, différenciation, etc...

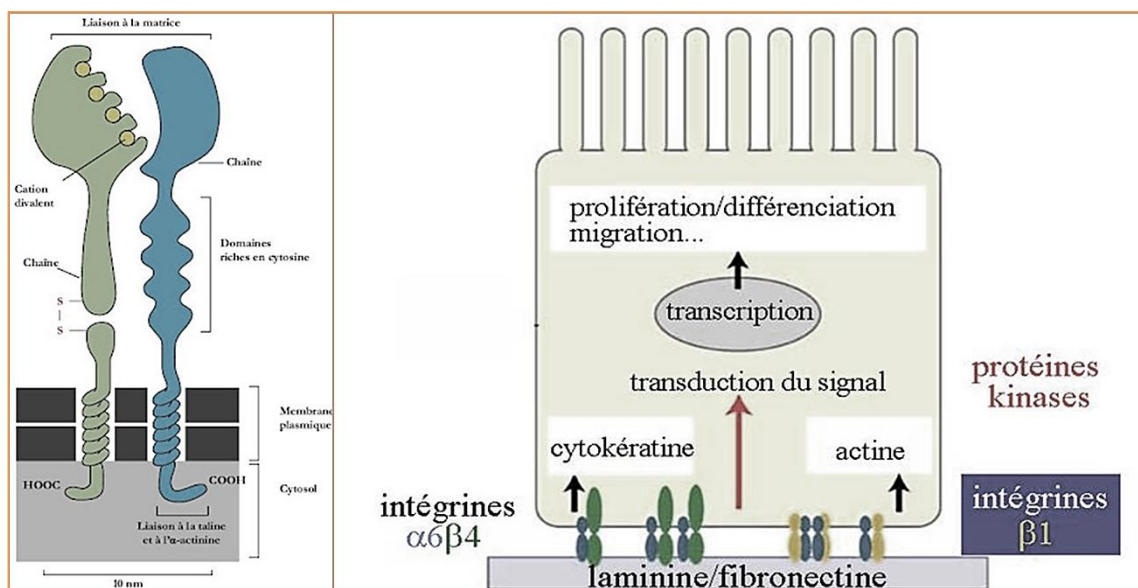


Figure 9. Structure et rôle des intégrines dans la transduction du signal (Callen., 2005).

3. Jonctions cellulaires

Dans les organismes pluricellulaires, les cellules voisines sont maintenues côte à côte par des jonctions intercellulaires. Ces dernières diffèrent en fonction de leur forme, de leur fonction et de la largeur de l'espace intercellulaire.

3.1. Forme des jonctions cellulaires

Les jonctions cellulaires diffèrent non seulement par leurs structures et leurs fonctions mais également par leur forme. On distingue :

Zonula : il s'agit d'une jonction sous forme de ceinture qui encercle complètement la cellule.

Macula : c'est une jonction circulaire.

Fascia : c'est une jonction plus ou moins étendue, à contours irréguliers.

3.2. Type des jonctions cellulaires

Les jonctions cellulaires se classent selon leurs fonctions en :

Jonctions occlusives (serrées, étanches, occludens) : ce sont des jonctions étanches, l'espace intercellulaire est presque nul, il est imperméable.

Jonctions d'ancrage (adherens) : elles attachent les cellules entre elles (zonula adherens, desmosome) ou avec la lame basale (hemidesmosome, cotact focal), l'espace intercellulaire est large.

Jonctions communicantes (gap) : elles assurent le passage de molécules informatives d'un certain poids moléculaire. L'espace intercellulaire est réduit.

Les trois types communs de jonction cellulaire dans les cellules animales sont les jonctions étanches (serrées), jonctions d'ancrage (adhésives) et jonctions communicantes (GAP). Dans les cellules végétales on trouve un seul type de jonction : les plasmodesmes (jonctions communicantes).

3.2.1. Les jonctions serrées (zonula occludens)

Les jonctions serrées (étanches, occlusives, tight junctions ou encore zonula occludens) sont des régions spécialisées de la membrane plasmique qui ceinture la cellule à l'apex. Les feuillettes externes des membranes plasmiques appartenant à deux cellules voisines établissent un contact si étroit (sans toutefois fusionner) qu'ils rendent l'espace intercellulaire étanche et empêchent le passage de toute substance.

Localisation : ce type de jonction caractérise les cellules endothéliales, les cellules épithéliales polarisées comme les entérocytes, etc.

Les molécules d'adhérence impliquées sont : les claudines et occludines. Elles sont associées à des protéines intracellulaires ZO1, ZO2 et ZO3. ZO1 interagit avec la spectrine qui est reliée aux microfilaments d'actine du cytosquelette (**figure 10**).

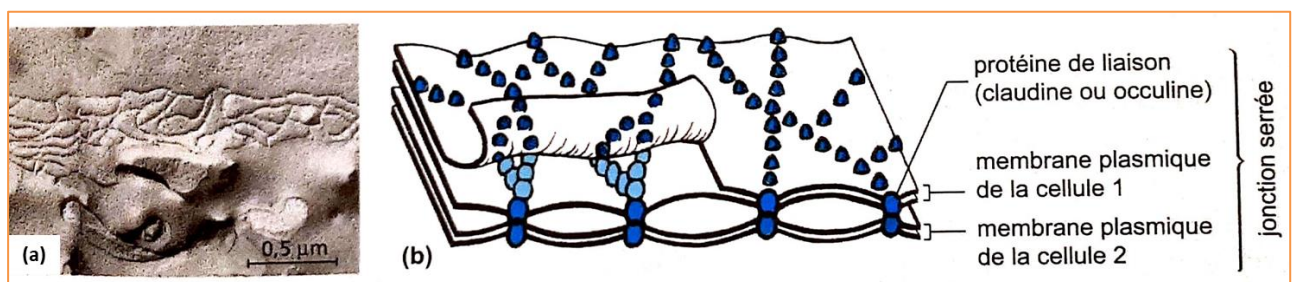


Figure 10. Jonction serrée (Peycru *et al.*, 2013).

(a) : jonction serrée obtenue par cryodécoupage ; (b) : Schéma d'organisation moléculaire d'une jonction serrée.

Rôles : Elles déterminent la polarité des cellules épithéliales en séparant le domaine apical du domaine basolatéral ; elles empêchent le libre passage des molécules de la lumière vers l'espace intercellulaire.

3.2.2. Jonctions d'ancrages

a) Jonctions adhérentes (Zonula adherens)

Dans les tissus épithéliaux, les jonctions adhérentes forment une ceinture d'adhérence nommée zonula adherens qui est localisée juste en dessous de jonction étanche. Elle n'est rencontrée qu'entre deux cellules épithéliales polarisées.

Les molécules d'adhérence impliquées sont des cadhérines (**figure 11**). Au niveau cytosolique, des microfilaments d'actine sont rattachés à la jonction par l'intermédiaire de protéines (caténine α , caténine β et des protéines cytoplasmiques liant filaments d'actine - actinine α : vinculine).

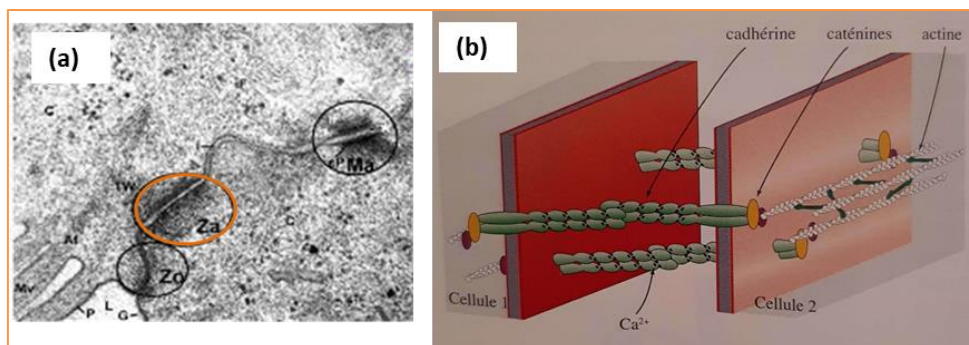


Figure 11. Jonction adhérente (Bassaglia., 2013).

(a) : Jonction adhérente par MET ; (b) : Organisation moléculaire schématique d'une jonction adhérente.

Rôle : Ils assurent une excellente adhérence entre les cellules et donc l'intégrité de l'épithélium.

b) Les desmosomes (Macula adherens)

Ce sont des jonctions ponctuelles. Les desmosomes se retrouvent presque exclusivement dans les cellules épithéliales, en dessous de la jonction serrée et la jonction adhérente, où ils se disposent à des intervalles plus ou moins réguliers.

Ces jonctions sont caractérisées par des plaques cytoplasmiques denses de protéines dans lesquelles s'insèrent les filaments intermédiaires de cytokératine des deux cellules adjacentes. L'espace intercellulaire est divisé en deux par une ligne médiane dense, il contient des cadhérines non classiques desmoglérine et desmocolline. Les cadhérines sont liées aux filaments intermédiaires grâce aux desmoglobines et aux desmoplakines contenus dans les deux plaques cytoplasmiques (**figure 12**).

Rôle : les desmosomes augmentent la résistance des tissus soumis à des forces mécaniques en répartissant les tensions à travers l'ensemble de la ou des couches cellulaires.

c) Contacts focaux et hémidesmosomes

Ces jonctions assurent la liaison cellule - matrice extracellulaire (lame basale). Ils sont de deux types : les hémidesmosomes et les plaques d'adhérences encore appelés contacts focaux (**figure 13**). Les molécules d'adhérence impliquées sont des intégrines : elles se lient à certains composants de la matrice extracellulaire : fibronectine ou laminine.

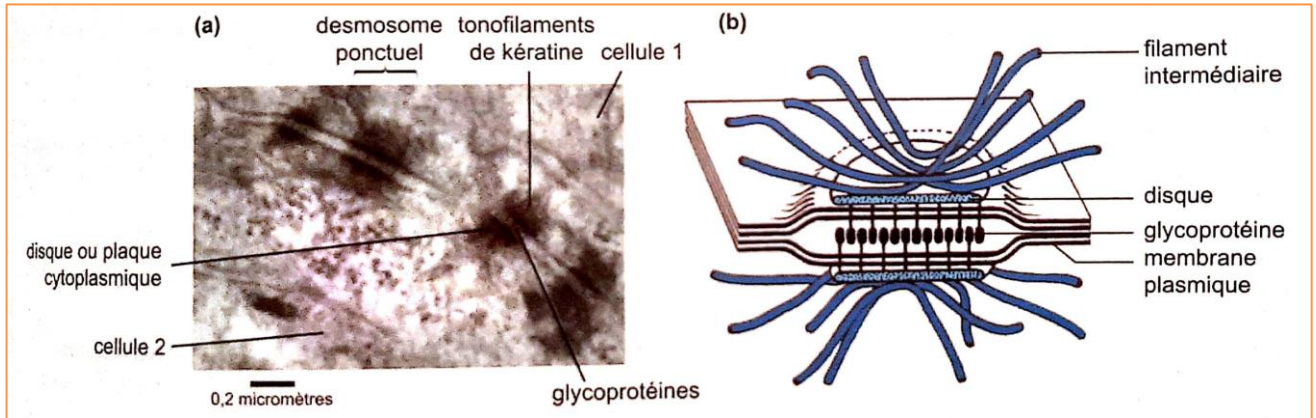


Figure 12. Structure d'un desmosome (Peycru *et al.*, 2013).

(a) : Desmosome par MET ; (b) : Organisation moléculaire schématique d'un desmosome ponctuel.

Les contacts focaux sont liés aux microfilaments d'actine par l'intermédiaire de la taline et la vinculine contenus dans la plaque cytoplasmique.

Les hémidesmosomes sont liés aux filaments intermédiaires de cytokératine grâce à la plectine de la plaque cytoplasmique (une seule plaque).

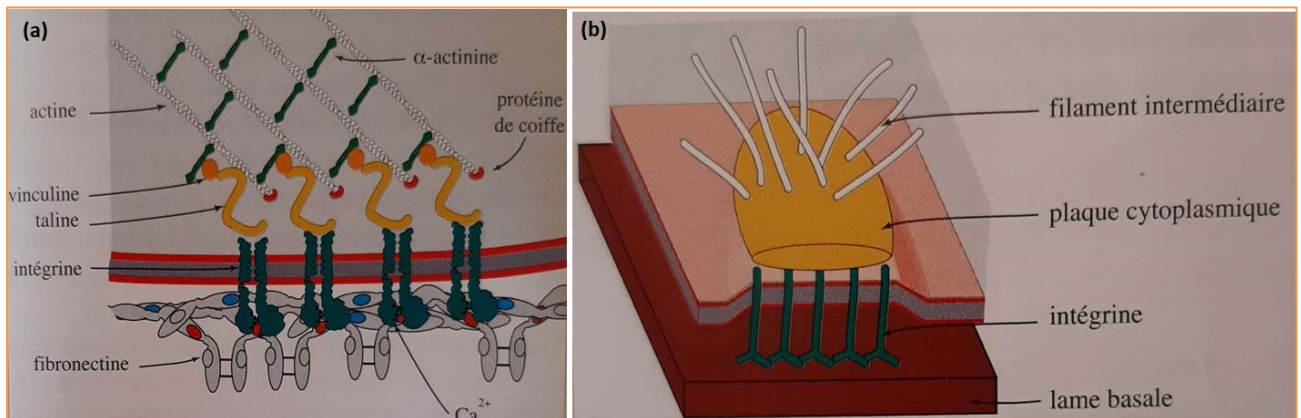


Figure 13. Contact focal (a) et Hémidesmosome (b) (Bassaglia., 2013).

Rôle :

- Les hémidesmosomes assurent la cohésion entre les cellules et la matrice extracellulaire.
- Les contacts focaux ont un rôle dans la mobilité et migration cellulaire.

3.2.3. Jonctions communicantes

Les jonctions communicantes (jonctions lacunaires ou gap junction ou macula communicans ou nexus) sont des régions spécialisées des membranes de deux cellules adjacentes, qui se caractérisent essentiellement par la présence de connexons (canaux transmembranaires qui font communiquer les compartiments cytoplasmiques de deux cellules) et un espace intercellulaire réduit mais perméable.

Chapitre 5. Adhérence cellulaire

Elles sont présentes dans de nombreuses cellules (système nerveux central, le cœur, le foie, la rétine, les vaisseaux sanguins et les muscles lisses). Elles assurent le transfert de molécules informatives.

Elles permettent à de petites molécules PM <1,5Kd (vitamines, acides aminés, les oses, ions, IP3, AMPc, GMPc, glutamate etc.) de passer directement du cytoplasme d'une cellule au cytoplasme de l'autre. Mais elles ne permettent pas de partager les macromolécules (protéines, acides nucléiques....).

Elles sont constituées par l'association de plusieurs connexons entre deux cellules adjacentes. Chaque connexon étant formé de six sous-unités protéiques appelées connexines. Chaque connexon s'apparie avec un connexon situé dans la membrane de la cellule voisine formant ainsi un canal qui traverse la bicouche lipidique (**Figure 14**)

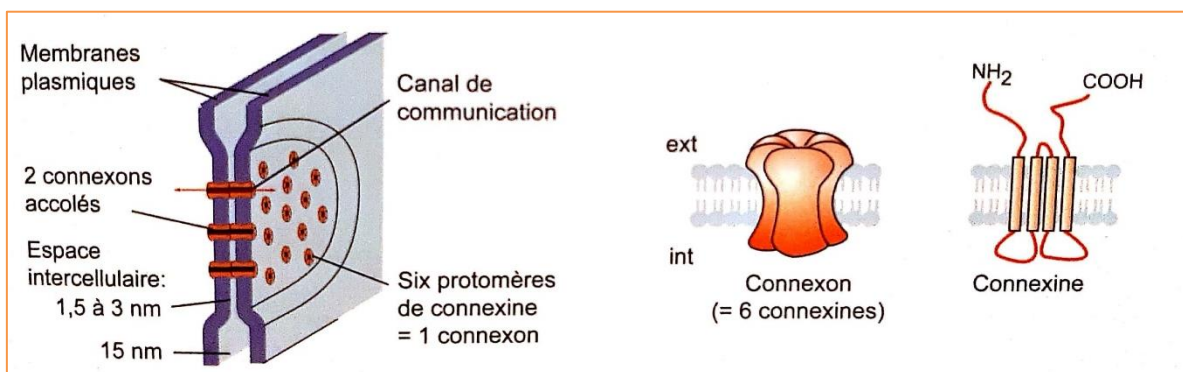


Figure 14. Jonction communicante (GAP junction) (**Richard *et al.*, 2014**).

Rôle :

- l'amplification de la réponse hormonale (couplage métabolique) : permet l'échange de petites molécules. Par exemple, quand une cellule capte une molécule d'hormone, elle va synthétiser un second messager. Par ces jonctions, il va être transmis aux cellules voisines et leur permettre de réagir également à l'hormone, bien qu'elles ne l'aient pas capté directement.
- la transmission de signaux (couplage électrique) :
- le comportement synchronisé des cellules ;
- la communication entre les cellules.

Entrainement

QCM : Choisir la (les) bonne(s) réponse(s)

1- Concernant la composition de la matrice extracellulaire :

- a. La matrice est composée de macromolécules synthétisées en grande partie par les fibroblastes
- b. La substance fondamentale est un gel hydraté composé de glycosaminoglycanes
- c. La lame basale est une forme de matrice extracellulaire à trame lâche dans laquelle sont éparpillées les cellules épithéliales
- d. Les chondroblastes sécrètent les molécules de la matrice extracellulaire entrant dans la composition du tissu cartilagineux
- e. Le tissu osseux est un tissu conjonctif durci par des dépôts minéraux

2- Les glycosaminoglycanes :

- a. sont composés de polysaccharides fixés de façon covalente sur une protéine centrale
- b. sont de longs polysaccharides ramifiés composés par la répétition d'un même disaccharide
- c. portent de nombreux groupements sulfates et carboxyles les rendant très hydrophiles
- d. sont des molécules cationiques
- e. permettent aux tissus de résister aux forces de traction

3- La lame basale :

- a. est observée, entre autres, au contact des cellules épithéliales et endothéliales
- b. est entièrement synthétisée par les fibroblastes du tissu conjonctif
- c. est composée par un enchevêtrement de collagène IX, de laminine, de perlecan et de nidogène
- d. est altérée dans certaines pathologies comme le cancer
- e. est utilisée comme un guide de migration lors de la régénération des tissus musculaires et nerveux suite à une lésion

4- Concernant les jonctions :

- a. Ce sont des domaines membranaires spécialisés, souvent en contact avec le cytosquelette
- b. Seules les cellules épithéliales possèdent des jonctions
- c. Toutes les jonctions sont des zones d'adhésion intercellulaire
- d. Les zonules forment une bande continue autour des cellules
- e. Les desmosomes sont des jonctions d'ancrage intercellulaires

5- Concernant les molécules d'adhésion :

- a. Les CAMs (cell adhesion molecule) sont des molécules responsables de l'adhésion cellule/matrice : Elles englobent notamment les intégrines et les protéoglycanes
- b. Les molécules d'adhésion sont présentes uniquement dans des zones spécialisées de la membrane plasmique appelées jonctions
- c. Toutes les molécules d'adhésion sont Ca^{2+} dépendantes, ce qui explique l'utilisation fréquente de l'EDTA pour la préparation de suspensions cellulaires
- d. Les molécules d'adhésion interviennent dans la transduction mécanochimique
- e. Les CAMs font des liaisons homophiles tandis que les SAMs (substrate adhesion molecule) font des liaisons hétérophiles

Objectifs du cours

À la fin de ce cours, l'étudiant sera en mesure de :

- ❖ Décrire les différentes échelles de la communication cellulaire et ses acteurs moléculaires dans les différents compartiments de la cellule.
- ❖ Identifier les molécules de signalisation intercellulaire.
- ❖ Différencier les modes de signalisation cellulaire.
- ❖ Décrire les récepteurs de signaux et la transduction du signal.
- ❖ Appréhender la réponse cellulaire à un signal.

Tout au long de la vie d'un organisme multicellulaire, les cellules communiquent par des signaux assurant un développement puis un fonctionnement coordonné de l'organisme : c'est la communication cellulaire.

L'intégration des activités des différents types cellulaires constituant un organisme supérieur est principalement réalisée par les trois grandes fonctions de relation : le système nerveux, le système endocrinien et le système immunitaire.

Aux niveaux moléculaire et cellulaire, les frontières entre ces trois systèmes sont très floues car les produits et les mécanismes impliqués sont souvent communs et les interactions entre ces systèmes sont très nombreuses. Les communications intercellulaires impliquées dans le fonctionnement de ces systèmes peuvent s'établir de trois manières différentes.

1. Les molécules de signalisation intercellulaire

Les molécules de signalisation sont des ligands qui transmettent des signaux à une cellule en se fixant soit sur des récepteurs de la membrane plasmique, soit sur des récepteurs intracellulaires (dans ce cas, ils diffusent à travers la membrane plasmique).

1.1. Les molécules informatives hydrophiles

L'imperméabilité de la membrane plasmique aux molécules informatives hydrophiles entraîne la mise en œuvre d'un processus qui comprend la **reconnaissance** du ligand par **un récepteur** spécifique et la **transduction** par un mécanisme de transfert d'informations qui assure le passage du signal extracellulaire à travers la membrane plasmique, sans le passage de la molécule qui transporte le signal, afin d'activer les voies biochimiques intracellulaires qui produisent une réponse de la cellule stimulée..

Leur durée de vie très courte (ms, s pour les neurotransmetteurs ou quelques min pour les hormones). Elles induisent des réponses rapides et de courte durée. Ces réponses correspondent à une régulation et activation de protéines pré-existantes dans la cellule cible (enzymes, canaux ioniques, facteurs de régulation de la transcription) (**figure 1**).

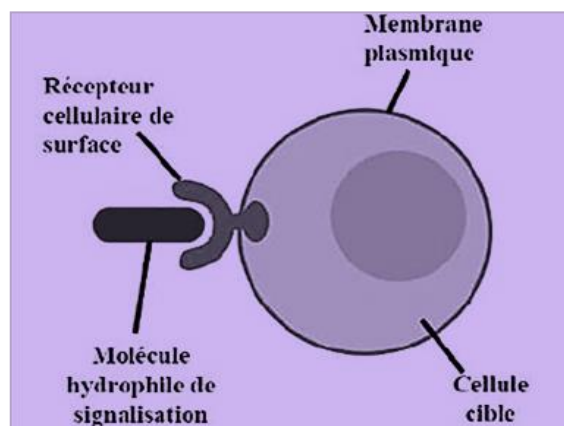


Figure 1 Signalisation par des molécules hydrosolubles (Moussard., 2005).

Neurotransmetteurs : les neurotransmetteurs sont des molécules qui assurent la transmission de l'influx nerveux, d'un neurone à un autre ou d'un neurone à une cellule non nerveuse. Exemples : Acétylcholine, noradrénaline, sérotonine, dopamine...

Hormones peptidiques : les hormones peptidiques regroupent les hormones hypophysaires (vasopressine, par exemple), les hormones pancréatiques (insuline et glucagon), les hormones parathyroïdiennes, digestives...

1.2. Les molécules informatives hydrophobes

Les molécules informatives hydrophobes sont liposolubles : elles peuvent franchir facilement la membrane plasmique par diffusion et se fixer sur les récepteurs intracellulaires (figure 2).

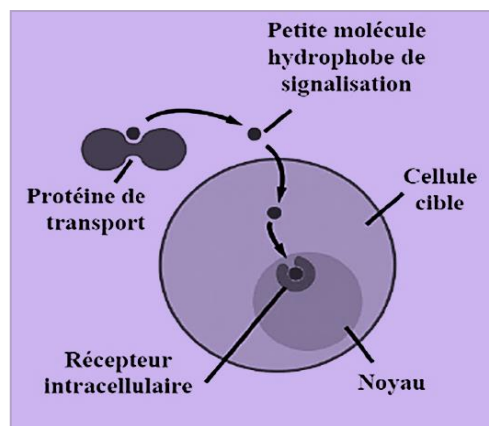


Figure 2 Signalisation par des molécules liposolubles (Moussard., 2005).

Hormones stéroïdiennes : les hormones stéroïdiennes dérivant du cholestérol. Elles traversent la membrane plasmique et agissent en se liant à leurs récepteurs intracellulaires situés dans le cytosol et le noyau. Les hormones stéroïdes ne sont pas stockées dans la cellule endocrine qui les produit.

Hormone thyroïdienne : les hormones thyroïdiennes, la thyroxine (tétraiodothyronine T4) et la triiodothyronine (T3), sont des hormones produites par la glande thyroïde.

Eicosanoïdes : Ils regroupent les leucotriènes, les prostacyclines, les prostaglandines, les thromboxanes. Ces ligands sont des lipides, contrairement aux hormones stéroïdiennes, ils agissent en se liant aux récepteurs situés dans la membrane plasmique.

Oxyde nitrique NO : est un gaz instable, d'une demi-vie de quelques secondes, qui intervient comme molécule de signalisation paracrine des : système nerveux, circulatoire et immunitaire.

2. Classification des molécules de signalisation

Les molécules de signalisation sont classées en fonction du système auquel elles appartiennent :

- les messagers intercellulaires du système immunitaire sont appelés « cytokines » ;

Chapitre 6. Communication cellulaire

- les messagers intercellulaires qui provoquent la multiplication et la différenciation cellulaires sont appelés « facteurs de croissance » ;
- les messagers endocriniens sont appelés « hormones » ;
- les messagers appartenant au système nerveux central sont appelés « neuromédiateurs » ou « neurotransmetteurs ».

3. Modes de signalisation cellulaire

On peut classer ces modes de communication en fonction de la distance qui sépare la cellule émettrice du signal de la cellule cible. De la distance la plus longue à la plus courte on trouve :

3.1. Signalisation endocrine : la cellule émettrice de l'information, distante de la cellule réceptrice, émet un signal dont la transmission se fait par l'intermédiaire d'une hormone acheminée par le système circulatoire. Exemples : l'insuline, le glucagon, la LH, FSH...

3.2. Signalisation paracrine : la cellule réceptrice, voisine de la cellule émettrice, reçoit le signal émis par cette dernière. Exemples : l'acétylcholine, le GABA...

3.3. Signalisation autocrine : les cellules peuvent envoyer des signaux à elles-mêmes en excréant dans le milieu intercellulaire, des molécules qui se fixent sur ses propres récepteurs. Exemples : les eicosanoïdes, les interleukines....

3.4. La communication synaptique chimique : Le signal est libéré par la cellule présynaptique et agit seulement sur la cellule post-synaptique d'une jonction spécialisée voisine (synapse chimique). Il n'y a pas de dispersion du signal et l'action est très rapide (de l'ordre ms). Elle concerne les neurotransmetteurs (acétylcholine, glutamate, noradrénaline...) (**figure 3**).

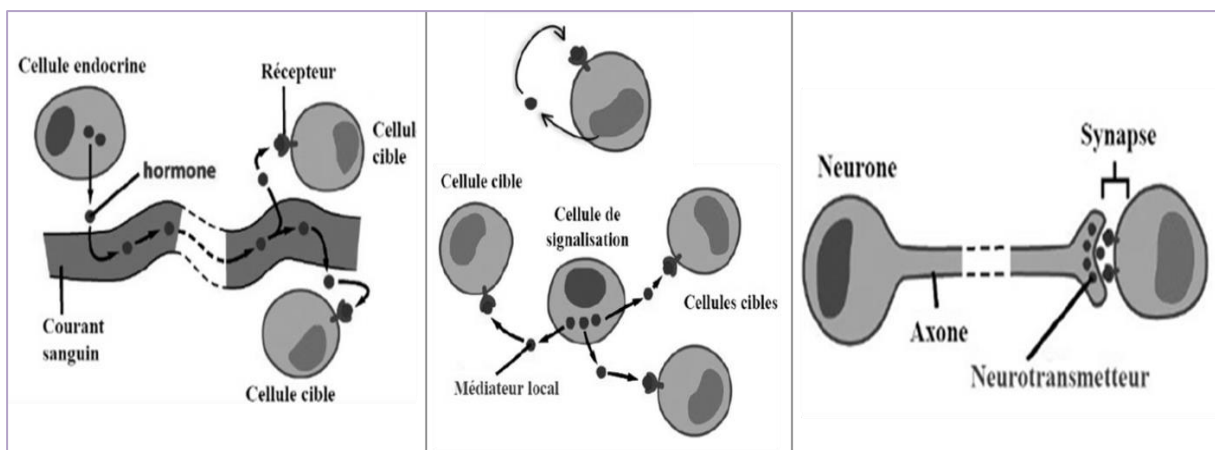


Figure 3 Les modes de communication cellulaire par molécules chimiques (Moussard., 2005).

4. Les récepteurs des signaux hydrosolubles

Il existe trois grandes classes de récepteurs membranaires :

4.1. Récepteurs membranaires couplés aux protéines G

▪ **Les récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)** sont une famille de récepteurs membranaires chez les mammifères. Ils se caractérisent par une structure commune de sept hélices hydrophobes transmembranaires, connectées par trois boucles extracellulaires et trois boucles intracellulaires. Le domaine N-terminal orienté du côté extracellulaire est opposé au domaine C-terminal intracytoplasmique. Ces récepteurs sont connectés à des protéines hétérotrimériques appelées protéines G (**figure 4**).

▪ **Les protéines G** se composent de trois sous-unités (SU) différentes (α , β et γ). La SU α fixe le GDP et le GTP et possède une activité GTPasique. Les SU β et γ forment un dimère indissociable. La SU α et la SU γ sont liées de manière covalente à des acides gras, ce qui leur permet de s'ancrer de façon temporaire au feuillet cytosolique de la membrane plasmique (**figure 4**).

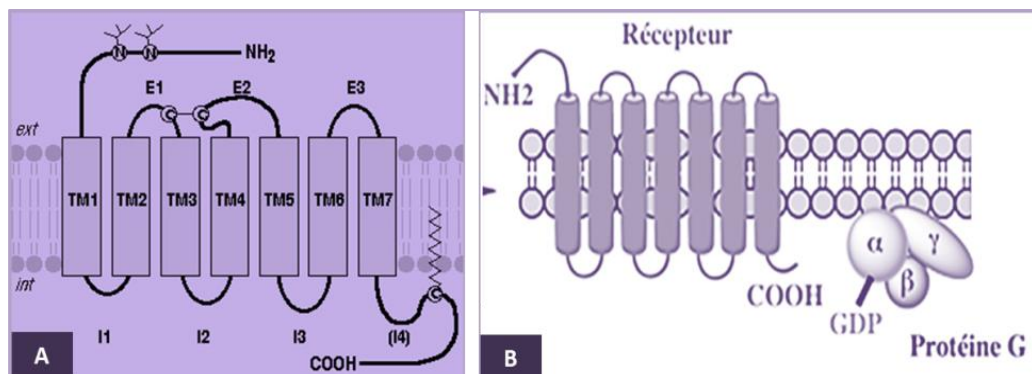


Figure 4 Structure du récepteur couplé à la protéine G (**Kierszenbaum., 2006**).

A. Récepteur ; B. Récepteur et protéine G ; TM 1-7 : Domaines transmembranaires

▪ Partenaires intervenant dans la voie de signalisation par RCPG

Cette voie de signalisation fait intervenir 6 partenaires :

- Le **premier messager** qui est un ligand extracellulaire. Ex : noradrénaline, glucagon.
- Les **récepteurs membranaires** couplés aux protéines G.
- Les **protéines G** hétérotrimériques : transducteurs.
- Des **effecteurs primaires** qui sont des canaux ioniques ou des enzymes. Ex : adénylate cyclase, phospholipase C...
- Des **seconds messagers** dont la concentration intracellulaire est contrôlée par les effecteurs primaires. Ex : AMPc, Ca^{2+} ...
- Des **effecteurs secondaires** activés par les seconds messagers (protéine kinase A, protéine kinase C).

La fixation du premier messager sur le récepteur couplé à la protéine G aboutit après un très important phénomène d'amplification, à la modification de nombreuses activités cellulaires.

▪ Transduction du signal et protéines cibles de la protéine G activée

Le transfert d'informations entre le récepteur couplé à la protéine G et l'effecteur primaire repose sur le cycle fonctionnel des protéines G :

- 1) La fixation du premier messenger sur le RCPG active la protéine G et déclenche l'échange d'une molécule de GDP par une molécule de GTP au niveau de la SU α .
- 2) Cet échange induit la dissociation du complexe trimérique et la SU α se sépare des deux autres.
- 3) Il y a plusieurs catégories de protéines G. Chacune est spécifique d'un ensemble particulier de récepteurs et d'un ensemble particulier d'enzymes cibles ou de canaux ioniques dans la membrane plasmique. Les SU α et $\beta\gamma$ modulent l'activité de nombreux effecteurs primaires :
 - la SU α des protéines Gs stimule l'adénylate cyclase ;
 - la SU α des protéines Gi inhibe l'adénylate cyclase ;
 - la SU α des protéines Gq stimule la phospholipase C (PLC) ;
 - le dimère $\beta\gamma$ des protéines G active des canaux à K^+ , également quand il est lié à un récepteur histaminique, peut activer la phospholipase A₂.

Suite au détachement du premier messenger, la SU α exerce une activité GTPasique qui conduit à l'hydrolyse du GTP et à la reconstitution de la forme trimérique inactive (liée au GDP).

a. La voie adénylate cyclase – AMPc

L'adénylate cyclase est une enzyme transmembranaire dont le site actif est tourné vers le cytosol. Lorsqu'elle est activée par la SU α elle catalyse la transformation d'ATP en AMPc, petite molécule soluble qui se répand dans le cytosol et agit comme second messenger.

L'effet principal de l'AMPc est l'activation de la PKA, une Protéine Kinase AMPc-dépendante. Cette PKA peut alors phosphoryler de nombreux substrats, ce qui amplifie considérablement les effets des signaux extracellulaires (**figure 5**).

b. La voie phospholipase C (PLC) – IP3, DAG et Ca^{2+}

Cette voie est activée par l'intermédiaire d'une enzyme cytosolique située à proximité de la membrane plasmique : la PLC.

Lorsque cette enzyme est activée par la SU α , elle hydrolyse le PIP2 (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate), un composant du feuillet interne de la membrane plasmique. L'hydrolyse produit du DAG (DiAcylGlycérol), qui reste dans la membrane, et de l'IP3 (Inositol Tri Phosphate), petite molécule soluble (**figure 5**).

L'IP3 quitte la membrane pour aller se fixer sur son récepteur, situé sur la membrane du REL. Ce récepteur est un canal Ca^{2+} qui s'ouvre et permet la libération de Ca^{2+} dans le cytoplasme. Les ions Ca^{2+} se fixent et activent la calmoduline. Celle-ci devient alors capable

d'activer de nombreuses enzymes dont des protéines kinases Ca^{2+} /calmoduline dépendantes (CaM Kinase).

Le DAG active une PKC (Protéine Kinase Calcium-dépendante). Elle phosphoryle de nombreux substrats qui relaient le message, en particulier des facteurs de transcription.

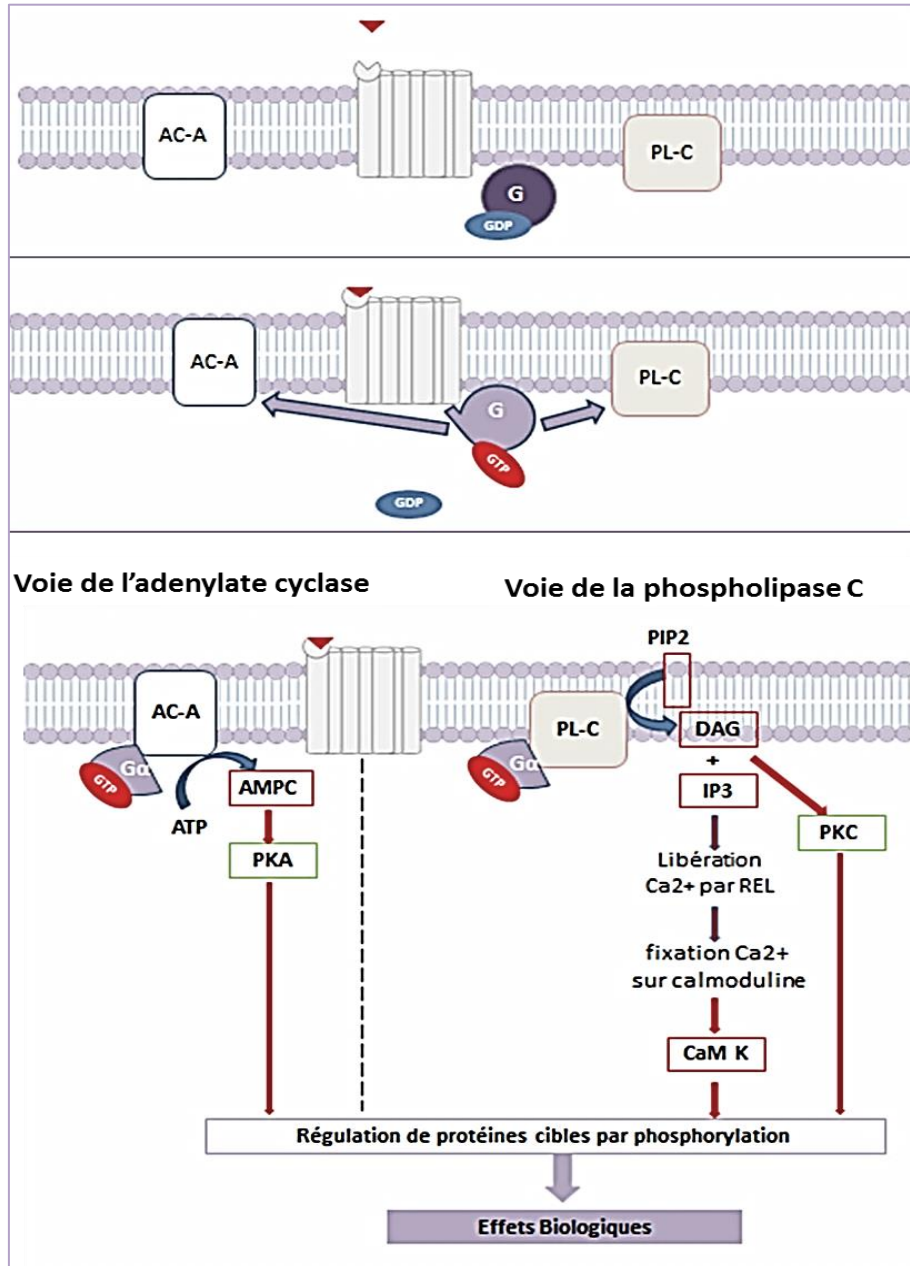


Figure 5. Comparaison des voies de l'adénylate cyclase et de la phospholipase C (Favro et Nicolle., 2011)

c. La voie des canaux ioniques

La protéine G peut aussi activer ou inactiver directement les canaux de la membrane plasmique de la cellule cible et modifier ainsi sa perméabilité et son excitabilité (**figure 6**).

Les sous-unités β et γ sont solidement liées l'une à l'autre, on parle alors de complexe beta-gamma. Le complexe $G\beta\gamma$ est libéré de la sous-unité $G\alpha$ après un échange GDP-GTP.

Le complexe $G\beta\gamma$ libre peut agir comme une molécule signal elle-même, en activant d'autres messagers secondaires ou en commandant directement des canaux ioniques. Par exemple, Les complexes $G\beta\gamma$ liés à des récepteurs muscariniques - acétylcholine, d'un autre côté, ouvrent directement les canaux GIRK (canaux à courant potassique rectifiant activé par les protéines G).

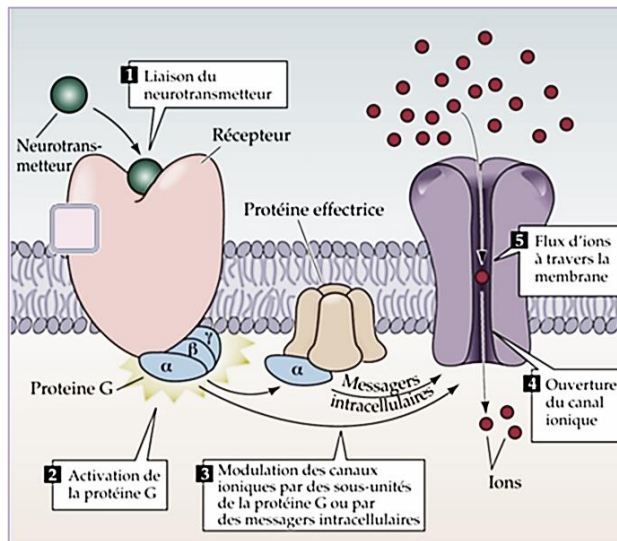


Figure 6 Récepteur couplé à la protéine G : Voie des canaux ioniques (Kierszenbaum., 2006).

4.2. Récepteurs à activité enzymatique

Les récepteurs-enzymes sont des récepteurs qui, lorsqu'ils sont activés par la fixation d'un ligand, développent une activité enzymatique. Ils possèdent un seul domaine transmembranaire, un domaine extracellulaire N-terminal glycosylé qui fixe le ligand et une extrémité cytoplasmique C-terminale qui porte l'activité enzymatique intrinsèque ou est directement associée à une enzyme.

Ils sont inactifs à l'état de monomère et agissent pour la plupart sous forme de dimère. Il existe plusieurs classes de récepteurs enzymes. Les plus répandus sont les récepteurs à activité tyrosine-kinase. Ils jouent un rôle déterminant dans l'action des facteurs de croissance (PDGF, EGF...) et de l'insuline.

Certains de ces récepteurs agissent comme des enzymes (le récepteur est lui-même une protéine kinase), d'autres sont couplés à des enzymes, à des protéines kinases. En fonction de la nature de l'activité enzymatique, on distingue les récepteurs à activité tyrosine kinase, sérine/thréonine kinase, guanylate-cyclase...

▪ Récepteurs à activité tyrosine kinase : récepteur aux facteurs de croissance

La fixation successive de 2 molécules de ligand induit la dimérisation du récepteur et son autophosphorylation qui lui permet alors de recruter des protéines associées.

Cette fixation permet au récepteur d'activer la protéine monomérique Ras dont la fonction est analogue à celle de la $SU\ G\alpha$. Cette activation est indirecte et fait intervenir deux protéines intermédiaires (Grb2 et Sos): l'une se fixe sur le récepteur et l'autre se fixe sur la première et stimule l'échange de GDP par du GTP au niveau de Ras. La stimulation d'un récepteur de facteur de croissance provoque l'activation de la protéine Ras (pour rat sarcoma virus) liée au GTP qui interagit avec la protéine kinase Raf. Raf phosphoryle et active MEK (pour MAP kinase ou, ERK kinase) qui active à son tour ERK (pour extracellular signal-regulated kinase) par phosphorylation des résidus sérine et thréonine. ERK phosphoryle alors des protéines cibles du noyau et du cytoplasme (**figure 7**).

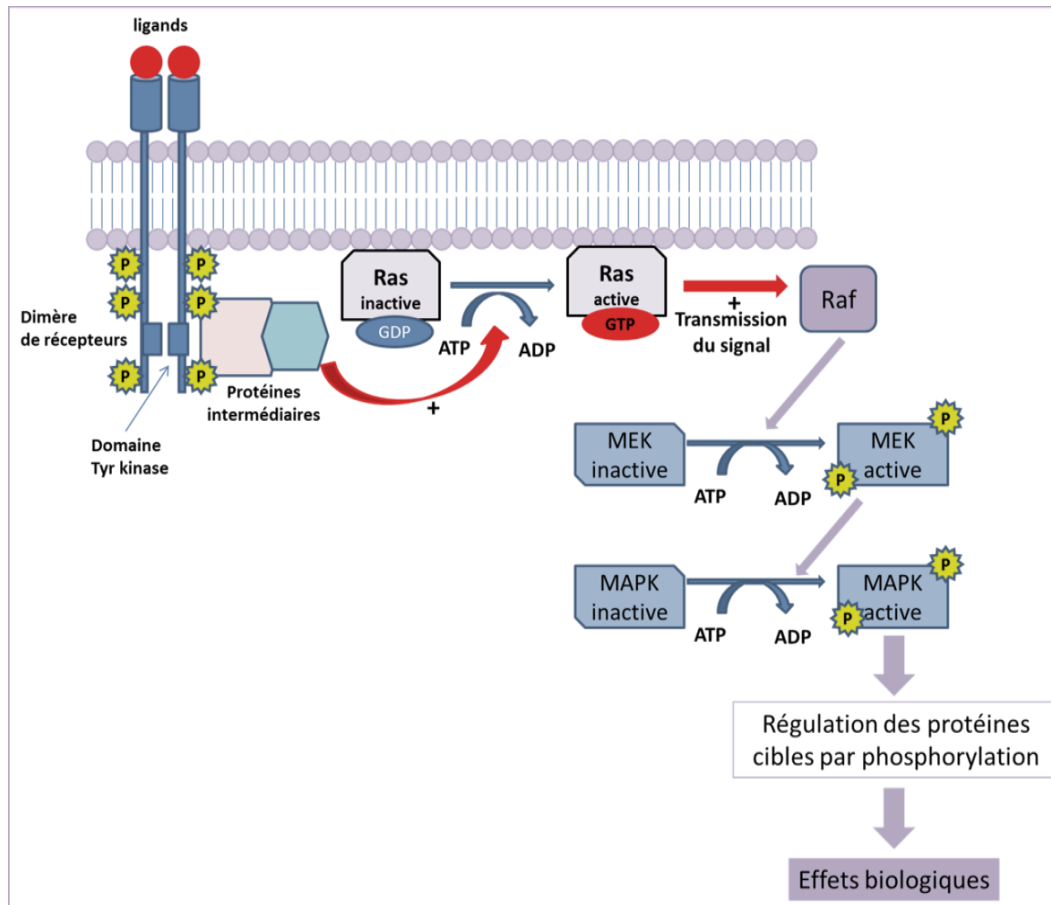


Figure 7 Récepteur à activité tyrosine kinase et voie de la MAP Kinase/ERK (Favro et Nicolle., 2011)

La famille ERK constitue une forme de MAP-kinases (pour mitogen activated protein kinases, kinases activées par les mitogènes). Les membres de la famille ERK agissent par l'intermédiaire de récepteurs de type tyrosine-kinase ou associés à des protéines G. Les voies de l'AMPc et Ca^{2+} -dépendantes peuvent stimuler ou inhiber la voie ERK dans différents types cellulaires.

Dans le noyau, ERK activée phosphoryle les facteurs de transcription Elk-1 et le facteur de réponse sérique (serum response factor SRF), qui reconnaît la séquence régulatrice appelée élément de réponse sérique (serum response element SRE).

Cette cascade aboutit à la modification d'activité de protéines cytosoliques et à l'activation de facteurs de transcription. Cette voie permet de réguler la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire.

4.3. Récepteur membranaires couplés aux canaux ioniques

C'est une superfamille de récepteurs multimériques dont chaque monomère possède 4 domaines transmembranaires. Leur ouverture est déclenchée par la fixation de leur ligand spécifique (un messenger chimique ou neurotransmetteur).

Ils sont localisés au niveau des synapses, où ils convertissent de manière extrêmement rapide un message pré-synaptique chimique (neurotransmetteur) en message post-synaptique électrique. Ils sont impliqués dans la transmission rapide des signaux au travers de la synapse entre deux cellules électriquement excitables. Ce type de transmission se fait par les neurotransmetteurs, tels qu'ATP, glutamate, glycine, acétylcholine ou sérotonine, qui ouvrent ou ferment transitoirement les canaux ioniques sur lesquels ils se fixent.

Dans cette ressource nous prendrons comme exemple le récepteur nicotinique de l'acétylcholine.

▪ Le récepteur nicotinique musculaire de l'acétylcholine

C'est un pentamère de 300 kDa formé de 5 sous-unités : 2 SU α portant les sites de fixation du ligand, 1 SU β , 1 SU γ ou ϵ et 1 SU δ . Ces 5 sous-unités délimitent le canal ionique (**figure 8**).

Ce type de canal n'a pas une sélectivité aussi poussée que celle des canaux voltages dépendants : il laisse aisément passer les cations de petite taille inférieurs à 0,65nm de diamètre, donc le Na^+ , le K^+ , le Ca^{2+} . C'est davantage la concentration environnementale du cation qui règle une entrée préférentielle (donc effectivement dans ce cas particulier le sodium qui est majoritaire dans le milieu extracellulaire)

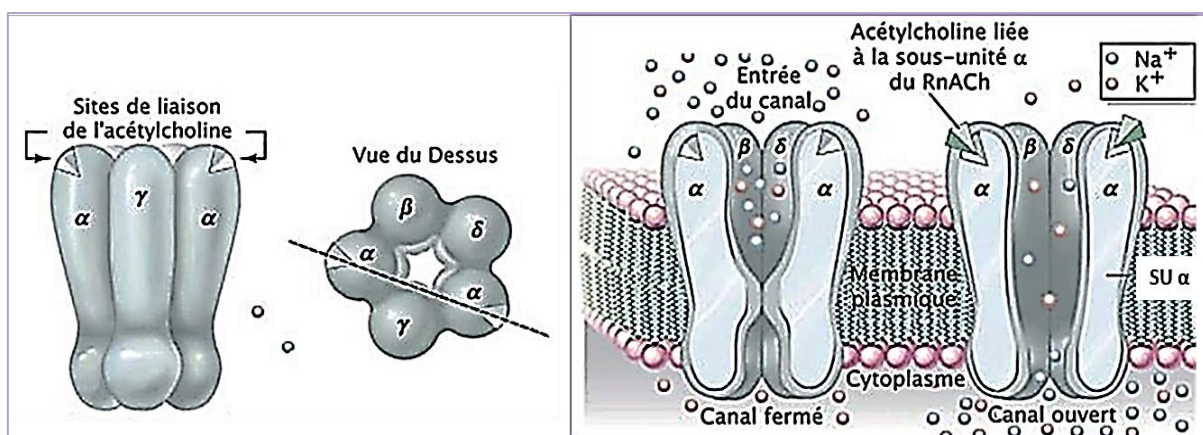


Figure 8 Récepteur canal ligand-dépendant (Kierszenbaum., 2006).

Récepteur nicotinique de l'acétylcholine

La fixation de l'acétylcholine sur chaque sous-unité α provoque une réorganisation de la structure des 5 sous-unités qui déclenche l'ouverture du canal ionique. Conséquences : entrée de Na^+ à l'origine d'une dépolarisation de la cellule musculaire. C'est ainsi que le récepteur

nicotinique joue un rôle important dans la transmission neuromusculaire et le couplage excitation-contraction :

1- L'influx nerveux atteint la terminaison nerveuse et dépolarise sa membrane plasmique. La dépolarisation provoque l'ouverture momentanée des canaux et entrée du Ca^{2+} . L'augmentation de la concentration en Ca^{2+} dans le cytosol de la terminaison nerveuse stimule une libération localisée d'acétylcholine dans la fente synaptique. L'acétylcholine libérée se fixe aux récepteurs de l'acétylcholine situés dans la membrane plasmique de la cellule musculaire, ouvrant de façon transitoire le canal cationique associé (en fait intégré). L'influx résultant de Na^+ provoque une dépolarisation localisée de la membrane.

2- La dépolarisation de la membrane plasmique de la cellule musculaire obtenu par le récepteur-canal de l'acétylcholine ouvre alors des canaux Na^+ contrôlés par la tension, permettant l'entrée d'une plus grande quantité d'ions Na^+ et une dépolarisation plus intense de la membrane. La dépolarisation va alors se propager (potentiel d'action) avec un recrutement de la totalité de la membrane plasmique amenant l'onde de dépolarisation jusqu'au niveau du système T.

3- La dépolarisation généralisée de la cellule musculaire active alors des canaux Ca^{2+} contrôlés par la tension dans les régions spécialisées du système T. Cette activation déclenche une libération dans le cytosol du Ca^{2+} stocké dans le réticulum sarcoplasmique. L'augmentation soudaine de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} provoque la contraction des myofibrilles dans la cellule musculaire, via une interaction avec la troponine et le démasquage du site liaison actine-myosine.

4- Finalement, le taux de calcium est rétabli grâce à une ATPase- Ca^{2+} dépendante du réticulum. Enfin, l'acétylcholinestérase de la plaque motrice contribue aussi à éviter une contraction prolongée.

5. Récepteurs intracellulaires

Une classe importante de molécules dépendant d'un récepteur intracellulaire est constituée par les hormones stéroïdes (entre autres cortisol, œstradiol, testostérone) et les hormones thyroïdiennes comme la thyroxine.

Toutes ces molécules hydrophobes traversent la membrane plasmique des cellules cibles et se lient à des récepteurs, protéines situées soit dans le cytosol, soit dans le noyau. Qu'ils soient dans le cytosol ou dans le noyau, ces récepteurs sont appelés récepteurs nucléaires, car lorsqu'ils sont activés par la liaison de l'hormone, ils agissent comme régulateurs de la transcription dans le noyau. Dans les cellules non stimulées, ces récepteurs sont habituellement présents sous une forme inactive.

Quand une hormone se lie au récepteur, celui-ci subit un changement de conformation qui l'active, lui permettant d'activer ou d'inhiber la transcription de gènes spécifiques. Chaque hormone se lie à un récepteur différent, et chaque récepteur agit sur des sites différents de régulation au niveau de l'ADN (**figure 9**). De plus, comme une hormone donnée contrôle généralement des groupes de gènes divers dans les différents types cellulaires, elle entraîne des réponses physiologiques différentes dans les diverses cellules cibles.

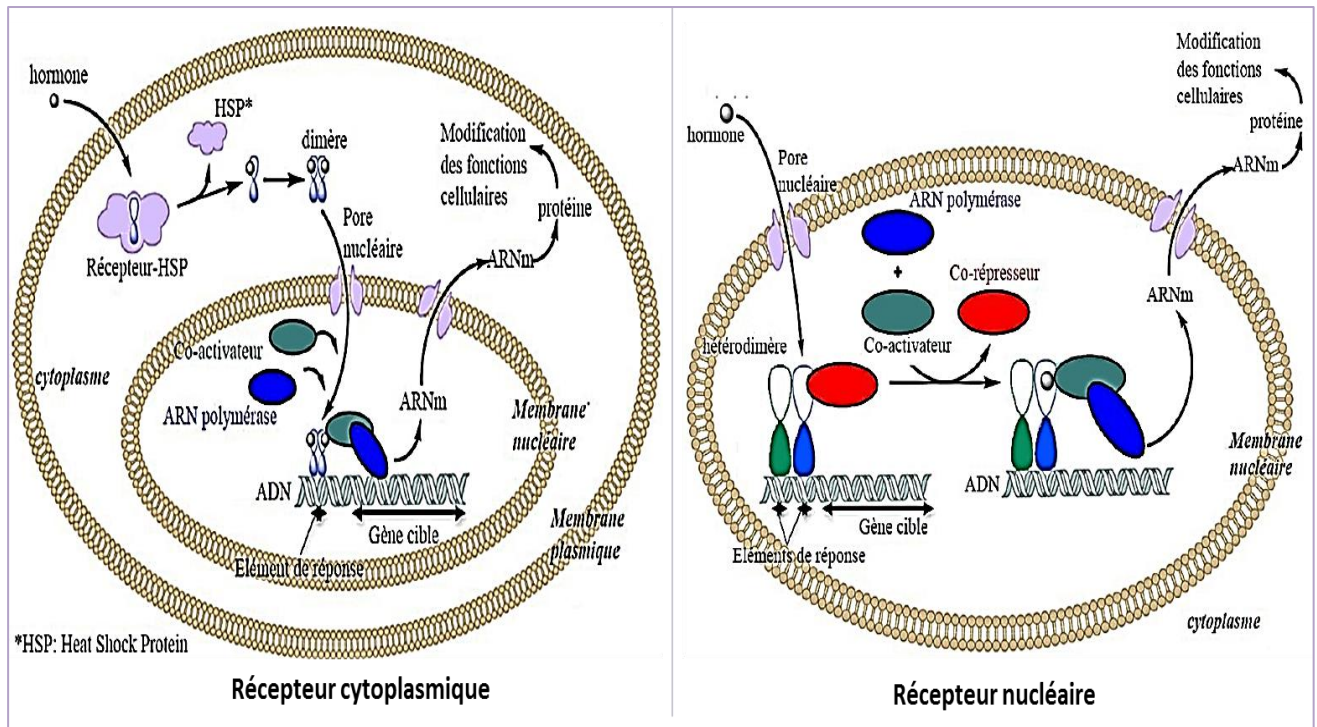


Figure 9 Récepteurs cytoplasmique et nucléaire (Ren et Guo., 2013).

Tous les récepteurs nucléaires possèdent un domaine N-terminal responsable de l'activation de la transcription, un domaine central responsable de la liaison à l'ADN et un domaine C-terminal responsable de la fixation du ligand (l'hormone).

▪ Le récepteur des hormones stéroïdes

Les récepteurs des hormones stéroïdes comportent quatre domaines qui sont appelés : domaine AB (N-terminal), domaine E (C-terminal), domaine C et un petit domaine D. Chacun de ces domaines possède des fonctions particulières :

- Le domaine A/B (extrémité N-terminal) : domaine variable qui agit comme un facteur de régulation de la transcription (domaine de transactivation).

- Le domaine C : domaine de fixation à l'ADN qui présente une architecture à deux doigts de zinc. Un doigt de Zn (4 Cys liés à un atome de zinc). Il est responsable de la liaison du récepteur à la région ERH (Élément de Réponse à l'Hormone ou HRE en anglais) des gènes cibles.

- Le domaine D : domaine charnière.

- Le domaine E (extrémité C-terminal) : comporte le site de liaison du ligand et un signal de localisation nucléaire (NLS) qui peut être masqué par les PAR (Protéines Associées aux Récepteurs : Hsp70, Hsp90) et démasqué par la fixation du ligand.

En absence de l'hormone, le récepteur intra-cytoplasmique est associé à des molécules particulières qu'on appelle « protéines Hsp90 (Heat Shock Proteins 90) ». Plusieurs molécules Hsp90 entourent le domaine E du récepteur qui représente le domaine de liaison de l'hormone et forment un complexe hétéro-oligomérique. Les Hsp90 possèdent deux fonctions : elles

Chapitre 6. Communication cellulaire

protègent le récepteur contre la dégradation protéique et maintiennent le récepteur dans un état inactif (domaine C maintenu rigide).

La présence de l'hormone et son interaction déclenchent la translocation du complexe hormone-récepteur dans le noyau:

- 1) La liaison de l'hormone libère le récepteur du complexe PAR et induit une transconformation du récepteur qui autorise sa dimérisation.
- 2) Le NLS est démasqué et le complexe hormone-récepteur est transloqué dans le noyau où il peut se fixer à la région ERH d'un gène.

La réponse globale à une hormone stéroïdienne se déroule en deux étapes :

- 1) L'induction de quelques gènes spécifiques est dite primaire : les gènes sont transcrits en ARNm qui sont exportés dans le cytosol et traduits en protéines.
- 2) Certaines de ces protéines (de réponse primaire) peuvent agir à leur tour comme des facteurs de régulation de transcription de gènes. C'est la réponse secondaire.

Elles peuvent avoir un effet :

- inhibiteur sur les gènes de la réponse primaire (rétrocontrôle négatif) ;
- stimulateur sur d'autres gènes, caractéristiques de la réponse secondaire.

6. Réponse cellulaire à un signal chimique

La réponse de la cellule cible se fait toujours par l'intérieur. Une même cellule peut recevoir plusieurs molécules de signalisation. À côté de la signalisation extracellulaire existe une signalisation intracellulaire. Ces deux voies sont organisées et intégrées, cette intégration correspond en six types d'ordres ou de consignes à exécuter et qui sont :

- la prolifération ou la différenciation : ces deux ordres opposés constituent la voie de prolifération ;
- l'adhésion ou la migration : ces deux ordres opposés constituent la voie de la motilité ;
- la survie ou la mort de la cellule : ces deux ordres opposés constituent la voie de la survie cellulaire.

Certains types de réponses cellulaires, comme l'accélération de la croissance ou de la division cellulaire, impliquent des changements de l'expression des gènes et la synthèse de nouvelles protéines ; elles sont donc relativement lentes. D'autres réponses comme les changements de mouvements cellulaires, de sécrétion ou de métabolisme n'ont pas besoin d'impliquer la machinerie nucléaire et peuvent donc se produire plus rapidement

Entrainement

QCM : Choisir la (les) bonne(s) réponse(s)

1- Concernant les différents modes de communication cellulaire

- a. La distance séparant la cellule émettrice de la cellule cible est plus courte lors de la communication synaptique que lors de la communication endocrine
- b. Dans la communication autocrine, la cellule émettrice est également la cellule cible
- c. La communication synaptique est caractérisée par une dispersion du signal
- d. Lors de la communication paracrine, la molécule de signalisation est un médiateur local sécrété dans la matrice extracellulaire
- e. Lors de la communication endocrine, la molécule de signalisation est une hormone sécrétée dans la circulation sanguine

2- Les molécules de signalisation hydrophiles

- a. ont une durée de vie très courte
- b. sont reconnues par des récepteurs spécifiques intracellulaires
- c. provoquent une réponse de courte durée
- d. ne traversent pas la membrane plasmique
- e. provoquent rapidement une réponse de la cellule cible

3- Concernant les récepteurs couplés aux protéines G

- a. Ce sont des protéines à 4 domaines membranaires
- b. Leur ligand extracellulaire est une molécule hydrophile qualifiée de second messenger
- c. Ils sont couplés à des protéines G monomériques
- d. Les protéines G couplées à ces récepteurs activent directement des effecteurs secondaires pouvant être des canaux ou des enzymes
- e. Leur activation entraîne une amplification du signal

4- Concernant les récepteurs des facteurs de croissance

- a. Ce sont des récepteurs enzymes à activité tyrosine kinase
- b. La fixation de leur ligand entraîne leur dimérisation et leur activation
- c. La fixation de leur ligand entraîne l'activation de la protéine G Ras par l'intermédiaire de Grb2 et Sos
- d. La fixation de leur ligand induit des phosphorylations en chaîne et aboutit à l'activation d'une MAP kinase
- e. Leur activation module la transcription de gènes cibles

5- Concernant le mode d'action des récepteurs nucléaires aux hormones stéroïdes :

- a. En absence de ligand, le récepteur a une localisation cytosolique
- b. En absence de ligand, le récepteur est dimérique
- c. En absence de ligand, le signal de localisation nucléaire (NLS) est masqué par des protéines associées au récepteur (PAR)
- d. La fixation du ligand entraîne un changement de conformation du récepteur, une dissociation des PAR et une translocation du récepteur vers le noyau
- e. La fixation du ligand entraîne la fixation du récepteur sur des séquences d'ADN appelées ERH (élément de réponse à l'hormone)

Références bibliographiques

- Abdelali, M., Benzine-Challam, H., Madoui-Dekar, A. (2015). *Cytologie & Physiologie cellulaire*. Fascicule 1, 9^{ème} édition Office des Publications Universitaires.
- Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (1999). *L'essentiel de la biologie cellulaire: introduction à la biologie moléculaire de la cellule*. Edition Flammarion Médecine Sciences.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2004). *Biologie de la cellule*. 4^{ème} édition, Flammarion Médecine/Science.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2017). *Biologie moléculaire de la cellule*, 6ème édition, Lavoisier Msp.
- Alberts, B., Wilson, J. (2011). *Biologie moléculaire de la cellule*. 5ème édition Lavoisier.
- Bassaglia, Y. (2001). *Biologie Cellulaire*. Maloine.
- Bassaglia, Y. (2013). *Biologie cellulaire*. Collection Sciences fondamentales. 3ème édition Maloine.
- Bendjelloul M. (2011). *La cellule et sa physiologie*. Office des Publications Universitaires
- Berkaloff, A., Bourguet, G., Favard, p., Lacroix, J.C. (1997). *Biologie et physiologie cellulaires*. Hermann.
- Botham, K. M., Weil, A., Rodwell, V. W., Kennelly, P. J., Bender, D. A. (2017). *Biochimie de harper*. De Boeck Supérieur.
- Bradbury, S. (2014). *The evolution of the microscope*. Elsevier.
- Callen, J.C. (2005). *Biologie Cellulaire. Des molécules aux organismes, Cours, questions de révision et QROC*. 2^{ème} édition Dunod.
- Callen, J.C. (2009). *Biologie Cellulaire en 30 fiches*. Dunod.
- Campbell, N. A., Reece, J. B. (2004). *Biologie*. 2^{ème} Edition De Boeck université.
- Cau, P., Seïte, R. (1999). *Cours de Biologie Cellulaire. Cours du PCEM*. 2^{ème} Edition Ellipses.
- Cau, P., Sïete, R. (1996). *Biologie cellulaire*. Ed Ellipses.
- Cau; P.et Seite, R. (2002) - Cours de Biologie cellulaire. Ed. Ellipses.
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J. (2013). *Molecular Biology*. 2nd Edition. Academic Press Cell.
- Combarous, Y. (2013). *Communications et signalisations cellulaires*. 4ème édition Lavoisier.
- Cooper, G. M. (1999). *La cellule une approche moléculaire*. Edition de Boeck.
- Descamps, M.C. (2007). *Biologie cellulaire PCEM1*. EdiScience.
- Daujean, C., Delandre, J et al. (2019). Livre élève. Collection Enseignement scientifique 1^{re}, chapitre 3 ; Editions Hatier.

- Favro, C., Nicolle, F. (2011). *Biologie cellulaire UE2. Plus de 110 fiches pour s'entraîner aux concours !* Edition Hachette supérieur.
- Fleury, H. J. A. (2009). *Virologie humaine, Abrégés Connaissances et pratiques*. Elsevier Masson Collection.
- H Bürgmann, H. (2010). *Biodiversité microbienne une richesse cachée*. Eawag News
- Hopkins, W.G. (1999). *Introduction to plant physiology*, 2nd Edition. Willy, NewYork.
- Jensh, R. P., Fawcett, D. W. (2002). *Histologie. l'essentiel*. Maloine.
- Karp, G. (2008). *Cell and Molecular Biology: Concepts and experiments*. 5th Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- Karp, G., Isawa, J., Marshall, W. (2018). *Biologie cellulaire et moléculaire*. De Boeck Supérieur.
- Kessel, R. G. (1998). *Basic Medical Histology: The Biology of Cells, Tissues, and Organs*. 1st Edition. Oxford University Press.
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histologie et biologie cellulaire: Une introduction à l'anatomie pathologique*. Edition De Boeck Université
- Kierszenbaum, A. L., Tres, L.L. (2011). *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 3rd Edition, Elsevier .
- Madoui Dekar A, Benzine-Challam, H.(2018). *L'essentiel en biologie cellulaire*. Office des Publications Universitaires.
- Madoui-Dekar, A., Benzine-Challam, H. (2008). *Cytologie & Physiologie cellulaire*. Office des Publications Universitaires.
- Maillet, M. (2002). *Biologie Cellulaire Abrégés*. 9^{ème} édition Masson.
- Maillet, M. (2006). *Biologie Cellulaire. Abrégés*. 10^{ème} édition, Masson.
- Michael H. Ross, M. H., Wojciech, M. D. P. (2010). *Histology: A Text and Atlas, with Correlated Cell and Molecular Biology*. 6th Edition. Lippincott Williams & Wilkins.
- Moussard, C. (2005). *Biologie moléculaire. Biochimie des communications cellulaires*. De Boeck Supérieur.
- Muller, Y., Clos, J. (1995). *Organisation fonctionnelle de la cellule* (tome I). Edition Nathan
- Murray, R. K. (2015). *Biochimie de Harper Poche*. 4^{ème} Edition. De Boeck Supérieur.
- Petit, J. M., Arico, S., Julien, R. (2007). *Mini manuel de Biologie Cellulaire: Cours plus QCM-QROC*. Paris-Dunod.
- Peycru, P., Grandperrin, d., Perrier, c et al. (2013). *Biologie tout-en-un*. Dunod.
- Raff, M., Alberts, B., Lewis, J., Johnson, A., Roberts, K. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. 4th Edition. Garland Science.

- Raven, P. H., et Johnson, G. B (2001). *Biology*. 6th Edition. McGraw-Hill.
- Ren, X. M., Guo, L. H. (2013). Molecular toxicology of polybrominated diphenyl ethers: nuclear hormone receptor mediated pathways. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(4), 702-708.
- Richard, D., Chevalet, P., Soubaya. (2014). *Mémo visuel de Biologie. L'essentiel en fiches*. 2^{ème} édition Dunon.
- Richard, D., Chevalet, P., Fournel, S., Giraud, N., Gros, F., Lairenti, P., Pradère, F., Soubaya. (2015). *Biologie. Tous le cours en fiches*. 3^{ème} édition Dunod.
- Robert, D., Vian, B. (2013). *Éléments de biologie cellulaire*. 4^{ème} édition Doin.
- Thiry, M., Racano, S., Rigo, P. (2014). *Biologie cellulaire - Exercices et méthodes : Licence, PACES, CAPES*. 2ème édition. Dunod.
- Thiry, M., Racano, S., Rigo, P. (2016). *Biologie cellulaire - Exercices et méthodes : Fiches de cours et 500 QCM et exercices d'entraînement corrigés*. 2ème édition Dunod.
- Weinman, S., Méhul, P. (2004). *Toute la Biochimie*. Collection science sup- sciences de la vie. Edition Dunod.