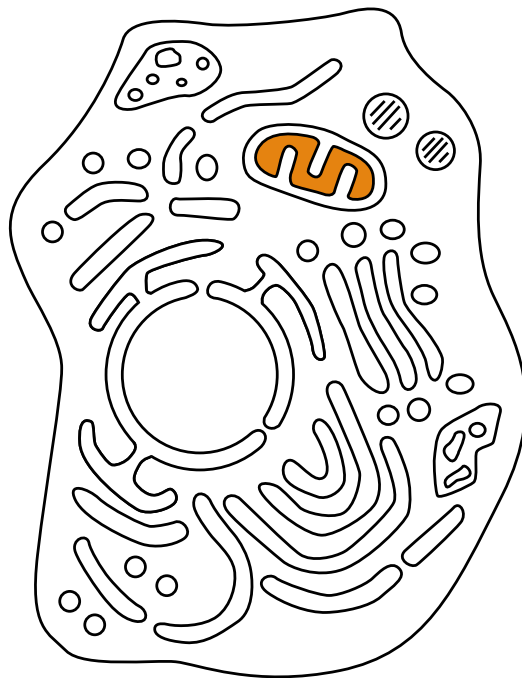


Première année de médecine

Cytologie

Riad Benchoucha



Ce document est distribué gratuitement
21 octobre 2011
L^AT_EX

Avant-propos

Ce modeste ouvrage, conçu comme un recueil de plusieurs livres de références, a pour objectif de présenter les bases de la biologie cellulaire aux étudiants de première année de médecine, ainsi qu'à tous ceux qui dans d'autres disciplines, s'intéressent à cette science.

C'est en constatant le manque de livres au niveau de notre université, que j'ai décidé d'apporter ma contribution. Tout au long de sa réalisation, j'ai été guidé par le souci de m'adresser à un large public et de présenter les informations de la manière la plus simple et didactique que possible.

Je serais bien évidemment heureux que les lecteurs me fassent part de leurs suggestions et critiques afin que je puisse améliorer et parfaire cet ouvrage. Je reste pour cela joignable par e-mail (riad47@gmail.com).

Riad BENCHOUCHA
Étudiant en médecine

Dans ce chapitre

- 1.1 Êtres unicellulaires et pluricellulaires
- 1.2 Plans d'organisation cellulaire
- 1.3 Cellule procaryote
- 1.4 Cellule eucaryote
- 1.5 Virus

Schéma général des cellules procaryotes et eucaryotes

En 1838 – 1839, Matthias Jakob SCHLEIDEN (botaniste) et Theodor SCHWANN (biologiste et anatomiste) formulent la *théorie cellulaire*, selon laquelle la cellule (du latin *cellula*, petite chambre) est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice de tout être vivant.

La cytologie ou biologie cellulaire est, selon l'encyclopédie libre Wikipédia, la discipline de la biologie qui étudie les cellules et leurs organites, les processus vitaux qui s'y déroulent ainsi que les mécanismes permettant leur survie.

1.1 Êtres unicellulaires et pluricellulaires

Être unicellulaire L'organisme unicellulaire ne comporte qu'une cellule, celle-ci doit donc assurer toutes les fonctions vitales (se nourrir, proliférer, etc.). Bien qu'a priori autonome, cette cellule dépend tout de même d'autres cellules (rares sont les cellules ne prélevant que dans le milieu des composés exclusivement inorganiques). Il peut donc exister une interdépendance cellulaire, même pour les êtres unicellulaires [1].

Être pluricellulaire L'organisme pluricellulaire – plus évolué et plus complexe – comporte plusieurs cellules interdépendantes. Chacune d'entre elles, bien qu'ayant le même matériel génétique (à de rares exceptions près), se spécialise et se différencie, formant des *tissus*, des *organes* et des *systèmes* qui accomplissent les fonctions nécessaires à la vie de l'organisme [1] [2].

1.2 Plans d'organisation cellulaire

Le monde des cellules est subdivisé en deux grands groupes qui sont fondamentalement différents dans leur structure interne et leur organisation générale.

Procaryotes Les procaryotes (du latin *pro*, « avant » et du grec *caryon*, « noyau ») sont des êtres vivants unicellulaires dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau. Le matériel génétique formé d'une unique molécule d'ADN double-brin circulaire¹, se trouve libre dans le hyaloplasme. Il est dépourvu d'une membrane qui le séparerait du cytoplasme environnant. Les procaryotes ne possèdent que très rarement des organites.

Eucaryotes Les eucaryotes ont une organisation complexe et de nombreux organites. Le matériel génétique est enfermé dans un noyau entouré d'une enveloppe nucléaire. Ils constituent un très large groupe d'organismes, uni- ou pluricellulaires.

1.3 Cellule procaryote

Dans la classification du vivant à trois domaines, les procaryotes regroupent les *archées* (ou archéobactéries) et les *bactéries*. Il ne sera retenu ici que les bactéries.

Les bactéries sont des micro-organismes vivants procaryotes, le plus souvent unicellulaires². Leur taille est réduite, la plupart mesurent entre 1 μm et 10 μm , toutefois les bactéries les plus grosses peuvent mesurer plus de 500 μm .³ L'étude des bactéries est la *bactériologie*, une branche de la *microbiologie*.

1.3.1 Morphologie et association des bactéries

Les bactéries se présentent sous plusieurs formes différentes (**figure 1.1**) : *sphériques* (coques), *allongées* ou en *bâtonnets* (bacilles), des formes plus ou moins *spiralées* (spirilles), etc.

Les bactéries de beaucoup d'espèces se regroupent de différentes façons. Les arrangements bactériens les plus fréquents sont par paire (diplocoque, diplobacille) par tétrade ou en amas plus ou moins réguliers (staphylocoque) et en chaînettes (streptocoques, streptobacilles).

1.3.2 Structures cellulaires d'une bactérie

Les bactéries, en tant qu'organismes procaryotes, possèdent un niveau d'organisation bien plus simple que les cellules eucaryotes (**figure 1.2**). Elles ne présentent pas de noyau, ni d'organites tels les mitochondries ou le réticulum endoplasmique. Elles sont toutefois caractérisées par de nombreuses structures, qui bien que n'étant pas systématiquement retrouvées dans chaque genre, semblent être partagées par la plupart des bactéries.

1. Il existe des exceptions, chez quelques espèces le chromosome est linéaire. D'autres possèdent deux chromosomes [3].

2. Il existe des bactéries pluricellulaires, comme les spirulines, des cyanobactéries filamenteuses ou encore certaines sulfo-bactéries [4].

3. *Thiomargarita namibiensis* (la perle de soufre de Namibie) est la bactérie la plus grosse jamais découverte, elle présente un diamètre compris entre 100 et 300 μm , mais certaines cellules peuvent atteindre 750 μm et peuvent être visible à l'œil nu [5].

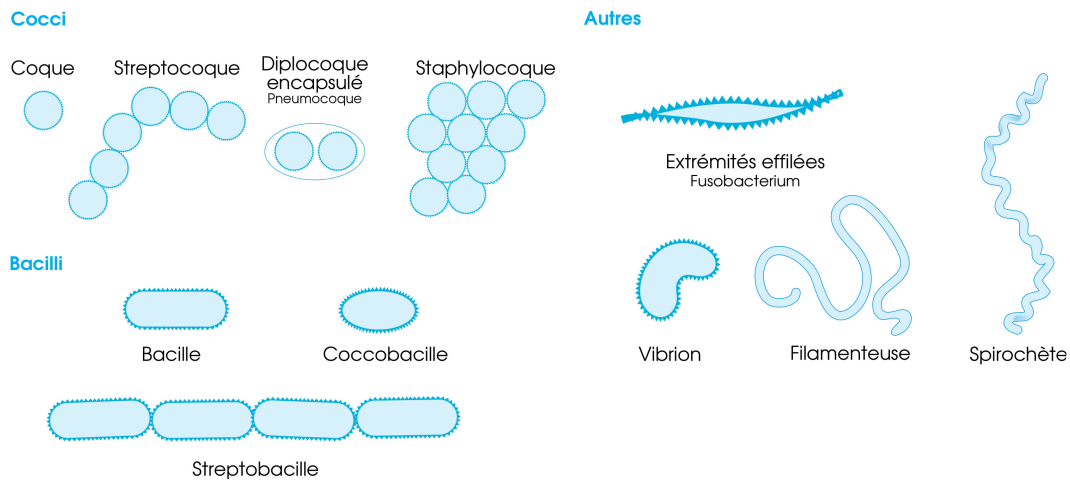


FIGURE 1.1 – Formes des bactéries.
Wikipédia, Mariana Ruiz Villarreal, domaine public.

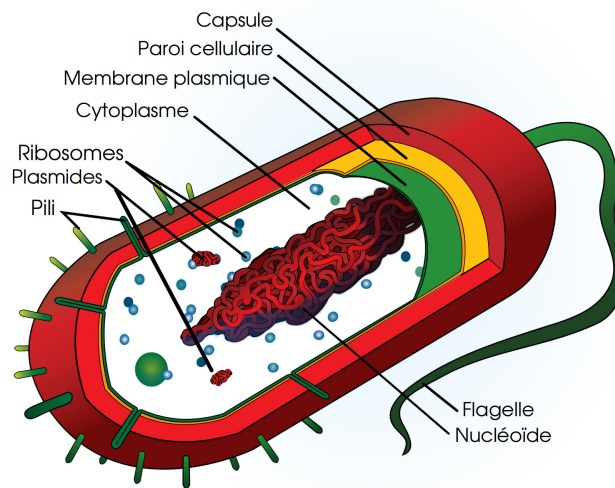


FIGURE 1.2 – Schéma de l'ultrastructure d'une cellule bactérienne typique.
Wikipédia, Mariana Ruiz Villarreal, domaine public.

A. Nucléotide

Le nucléotide est — comme évoqué plus haut — une région de forme irrégulière, non délimitée par une membrane, dans laquelle est concentré le chromosome bactérien.

B. Membrane plasmique

La membrane plasmique des bactéries ressemble sur de nombreux points à celle des cellules eucaryotes : elle est formée d'une double couche de phospholipides, avec des protéines membranaires et quelques chaînes glucidiques localisées du côté externe. Toutefois, elle ne contient pas de cholestérol.

Présente chez toutes les bactéries, elle est le lieu de plusieurs réaction métaboliques et accomplit un rôle de contrôle des échanges entre les milieux intérieur et extérieur permettant l'apport des nutriments et l'élimination des déchets ainsi que la détection des signaux de l'environnement [6].

C. Cytosol (hyaloplasme)

Le cytosol ou hyaloplasme est, chez les procaryotes, la phase liquide qui se trouve entre la membrane plasmique et le nucléotide. C'est le siège de la majorité des réactions chimiques du métabolisme. Il contient beaucoup d'eau, ainsi que des ions et des protéines.

D. Ribosomes

Les ribosomes sont présents dans le cytoplasme. Ce sont des éléments complexes, formés de protéines et d'acide ribonucléique (ARNr) et sont souvent groupés en amas qu'on appelle *polyribosomes* ou *polysomes*. Leur rôle est de synthétiser les protéines en assurant la traduction de l'information génétique portée par l'ARN messager.

Il est à noter que les ribosomes procaryotes diffèrent de ceux des eucaryotes par leur morphologie et leur composition chimique [7].

E. Plasmides

Les plasmides sont des fragments d'ADN double-brin (bicaténaire) distincts du nucléoïde, habituellement circulaires qui peuvent exister indépendamment du chromosome de l'hôte et se répliquer de manière autonome. Ils sont présents dans de nombreuses bactéries.

Les plasmides comportent souvent des gènes conférant des avantages sélectifs [8] :

Plasmides de résistance : les plasmides de résistance portent des gènes codant pour des enzymes capables d'inactiver ou de modifier certains antibiotiques et confèrent donc une résistance aux antibiotiques chez les bactéries qui les contiennent.

Plasmides de virulence : les plasmides de virulence portent des gènes codant pour des toxines ou autres substances dangereuses, rendant les bactéries plus pathogènes.

Plasmides métaboliques : les plasmides métaboliques portent des gènes d'enzymes qui métabolisent divers substances telles que des sucres, des pesticides, etc.

Certains plasmides peuvent se transmettre d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse grâce à la conjugaison bactérienne par l'intermédiaire de pili sexuels (section 1.3.5 page 7).

F. Mésosomes

Les mésosomes sont des invaginations de la membrane plasmique qu'on trouve chez les bactéries Gram-positives le plus souvent, mais aussi chez les Gram-négatives.

Chez les bactéries aérobies, il semble que les enzymes transporteurs d'électrons se trouvent préférentiellement au niveau de ces mésosomes.

L'existence des mésosomes est aujourd'hui discutée. De nombreux bactériologistes pensent que ce sont des zones de la membrane plasmique plus fragiles qui donnent cette apparence après la fixation des échantillons pour les observations en microscopie électronique, mais que dans la matière vivante, ces structures n'existent pas [9] [10].

G. Inclusions cytoplasmiques

De nombreux granules de matière organique ou inorganique, que l'on appelle inclusions cytoplasmiques se trouvent dans le cytoplasme des bactéries.

Les inclusions organiques sont le plus souvent des réserves énergétiques et contiennent du glycogène ou des lipides.

Une inclusion organique remarquable, la *vacuole gazeuse*, est présente chez de nombreuses cyanobactéries et leur permet de flotter à la surface [11].

Les inclusions inorganiques peuvent contenir du phosphate, et parfois du soufre que certaines bactéries emmagasinent temporairement [11].

H. Capsule

La capsule est une structure extérieure, plus ou moins épaisse qui entoure la paroi de certaines bactéries. Sa production n'est pas systématique dans une population bactérienne. Elle est influencée par les constituants du milieu.

Composition chimique : la constitution de la capsule est le plus souvent *polysaccharidique* (polymère de molécules de saccharose), parfois protéique ;

Rôle : la capsule protège la bactérie de la phagocytose et des agents physicochimiques (on dit que c'est un facteur de virulence) tout en lui permettant d'adhérer plus facilement aux autres êtres vivants ;

Mise en évidence : non colorable par les techniques bactériologiques habituelles, elle peut être mise en évidence au microscope optique par la réalisation d'une suspension bactérienne dans de l'*encre de chine*. On observe alors la capsule sous forme d'un halo clair, on parle de coloration négative (l'échantillon biologique apparaît plus clair que ce qui l'entoure).

I. Paroi bactérienne

La paroi bactérienne est une enveloppe rigide et résistante, présente chez toutes les bactéries à l'exception des mycoplasmes. Elle constitue le squelette externe et est responsable de la forme de celle-ci. La bactérie étant très riche en solutés, sa pression osmotique interne est très élevée. La paroi évite donc l'éclatement de la cellule [12].

La composition de la paroi n'est pas la même d'un groupe de bactéries à l'autre. La coloration de GRAM (section 1.3.3 page 7) met en évidence deux types de parois :

Gram positif La paroi des cellules gram-positives (figure 1.3 page 6) est formée d'une seule couche homogène de *peptidoglycane* ou *muréine* de 20 à 80 nm d'épaisseur qui se trouve à l'extérieur de la membrane plasmique. Le peptidoglycane des Gram positif est traversé latéralement par de grandes chaînes polymériques qui le relient à la membrane plasmique : les *acides téichoïques*. Comme la paroi de ces bactéries est plus épaisse, celles-ci sont plus résistantes à la déshydratation, aux chocs physiques et aux antibiotiques.

Gram négatif La paroi des bactéries gram-négatives (figure 1.4 page 6) est fort complexe. Elle contient une couche de *peptidoglycane* entourée d'une *membrane externe* épaisse de 10 à 20 nm. Il y a souvent un espace visible au microscope électronique entre la membrane plasmique et la membrane externe, cet espace s'appelle *espace périplasmique* ou *périplasma*.

La membrane externe est en contact direct avec le milieu extérieur. Elle est essentiellement composée de phospholipides organisés en bicouche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur) mais contient aussi de nombreuses *protéines intrinsèques*, essentiellement des protéines de transports nommées *porines*. La membrane externe est reliée au peptidoglycane par la *lipoprotéine* de BRAUN.

Énormément de bactéries Gram négatif (par exemple la *Salmonella*) possèdent aussi un composé nommé *lipopolysaccharide* ou *LPS*. Ce composé immunogène et pathogène s'active lors de la lyse de la bactérie.

J. Flagelles

Les flagelles sont des structures en forme de filaments longs (peuvent atteindre plusieurs fois celle de la bactérie) et très fins, attachés sous la membrane plasmique, servant au déplacement de plusieurs sortes de bactéries. Ils sont constitués d'une protéine contractile : la *flagelline*.

K. Pili

Les pili (singulier pilus) sont des évagination de la membrane plasmique se situant à la surface de la paroi de nombreuses bactéries. Ils sont fréquents chez les bactéries Gram négatif et rares chez les Gram positif. On les distingue en deux catégories, de morphologie et de fonction distinctes : les *pili communs* et les *pili sexuels* [13].

Pili communs Les pili communs sont nombreux (de 100 à 200), courts et rigides. Ils sont constitués par la polymérisation d'une protéine : la *piline*. Ils ont un rôle de fixation qui permet aux bactéries de s'attacher aux cellules eucaryotes. Cette capacité à se fixer est fortement liée au pouvoir infectieux de certaines espèces bactériennes.

Pili sexuels Les pili sexuels sont plus longs et moins nombreux (de 1 à 4). Ils permettent l'échange de matériel génétique entre deux bactéries par le phénomène de *conjugaison bactérienne* (section 1.3.5 page 7).

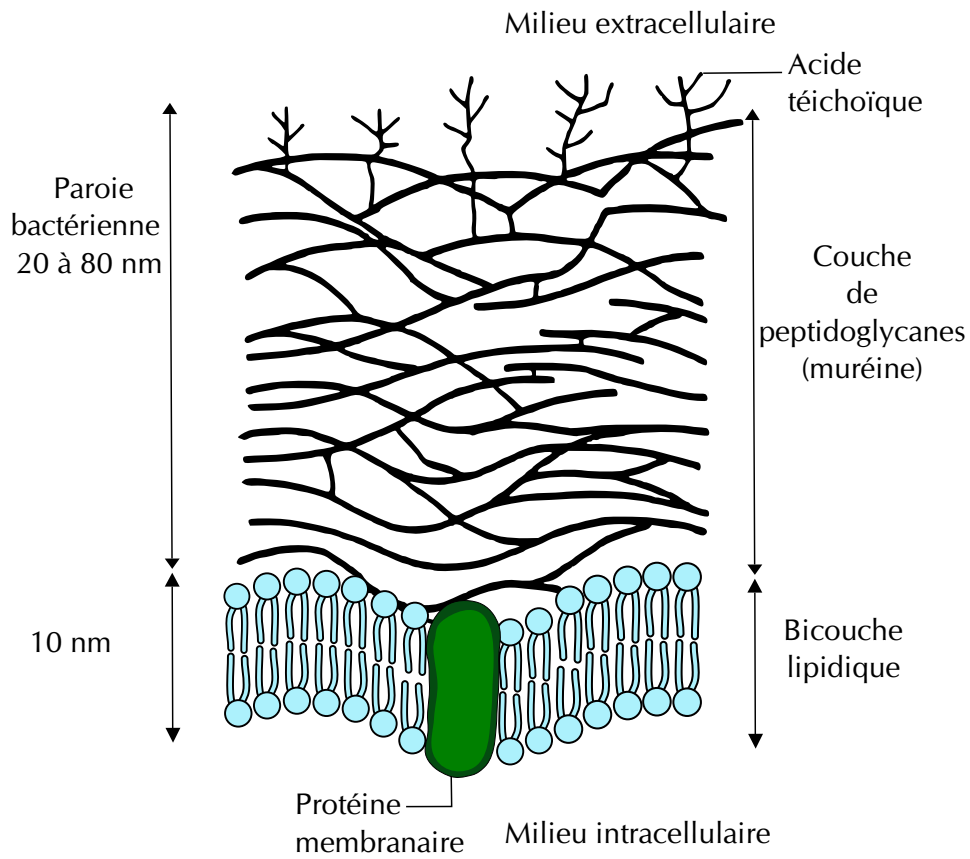


FIGURE 1.3 – Composition chimique des parois bactériennes Gram +.
Domaine public

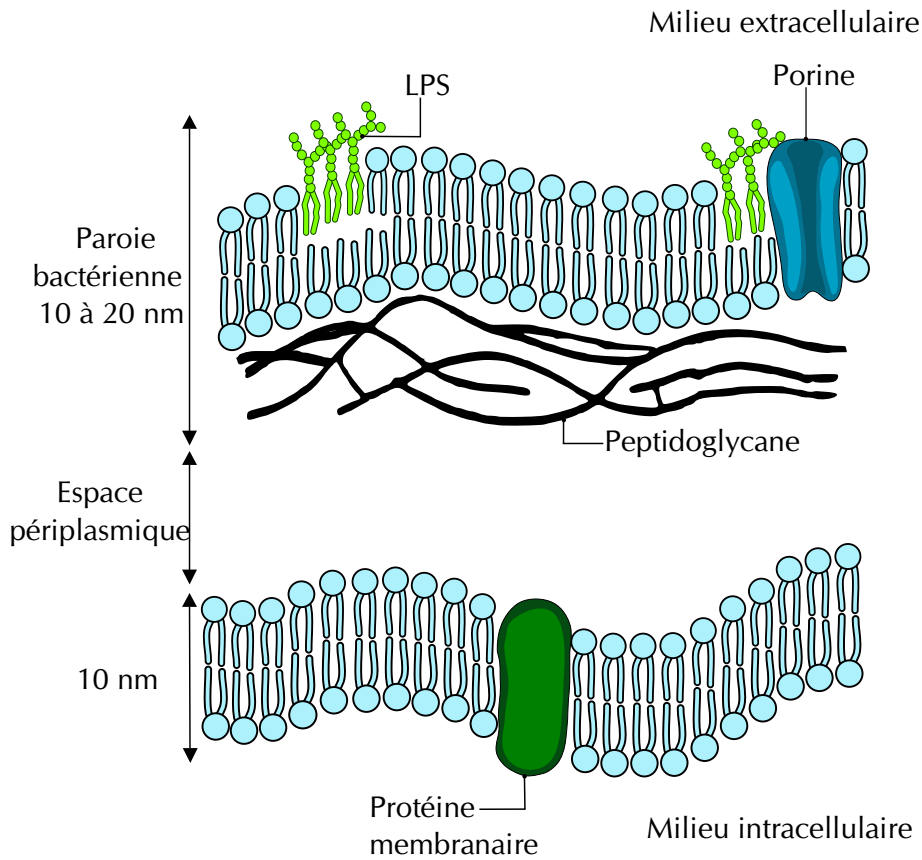


FIGURE 1.4 – Composition chimique des parois bactériennes Gram –.
Domaine public

1.3.3 Coloration de Gram

La coloration de Gram, du nom du bactériologiste danois Hans Christian GRAM qui l'a mis au point 1884, est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer.

A. Réalisation de la coloration

1. **Coloration primaire** : on verse quelques gouttes de *violet de gentiane* (parfois appelé *cristal violet*) en bout de lame (pour éviter une coloration trop intense) et on les fait glisser le long de la lame ;
2. **Fixation (mordantage)** : on étale une solution de lugol (iodure de potassium iodée) sur l'échantillon puis on rince à l'eau déminéralisée pour éliminer l'excédent ;
3. **Décoloration** : on verse goutte à goutte de l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée ;
4. **Re-coloration** : on verse de la *safranine* ou de la *fuchsine* en bout de lame puis on lave doucement à l'eau déminéralisée.

B. Interprétation

- Lors de l'étape 1 le violet de gentiane traverse les parois et membranes et se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Ainsi, il colore en violet le contenu de la bactérie.
- L'ajout de lugol en 2^e étape permet de fixer cette coloration interne par la formation d'un complexe avec le violet de gentiane.
- L'étape 3 sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatives ». En effet, celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycanes — donc plus fine — qui va laisser passer l'alcool ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites « Gram positif » la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une couche de peptidoglycane plus importante. Elles resteront alors violettes [14].
- L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de donner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

1.3.4 Mode de reproduction

Les bactéries se reproduisent de façon asexuée selon un mode de division cellulaire appelée *scissiparité* ou *fission binaire* (figure 1.5). Le matériel génétique est tout d'abord dupliqué (par réplication de l'ADN), puis la bactérie s'allonge et se produit la synthèse d'un *septum transversal* au milieu de la cellule, aboutissant à la séparation des deux cellules filles identiques à la cellule mère.

Ainsi, la descendance d'une cellule bactérienne est un clone de cellules génétiquement identiques, appelé *colonie*.

1.3.5 Conjugaison bactérienne

La conjugaison est une méthode *non sexuée* utilisée par les bactéries afin de s'échanger des informations génétiques. Elle consiste en une transmission de plasmides de conjugaison d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse.

Les conséquences de ces transferts pour les bactéries sont nombreuses. Les gènes de résistance aux antibiotiques, par exemple, peuvent très rapidement se propager dans la population mondiale de bactéries. D'autres résistances peuvent elles aussi être transférées : métaux lourds, radiations, bactériophages, etc.

Transfert du plasmide lors de la conjugaison

Le transfert entre les organismes donneur et accepteur de plasmide se fait en 4 grandes étapes (figure 1.6) :

1. reconnaissance entre donneur et accepteur grâce à l'interaction entre le pilus sexuel et certaines protéines présentes sur l'extérieur de la membrane de la bactérie acceptrice ;
2. transfert d'un des deux brins du plasmide de la bactérie donneuse à la receveuse et synthèse, en même temps, du brin complémentaire chez la bactérie donneuse afin de garder un plasmide avec un ADN double-brin ;
3. synthèse du brin complémentaire chez l'accepteur ;
4. recirculation du plasmide chez l'accepteur.

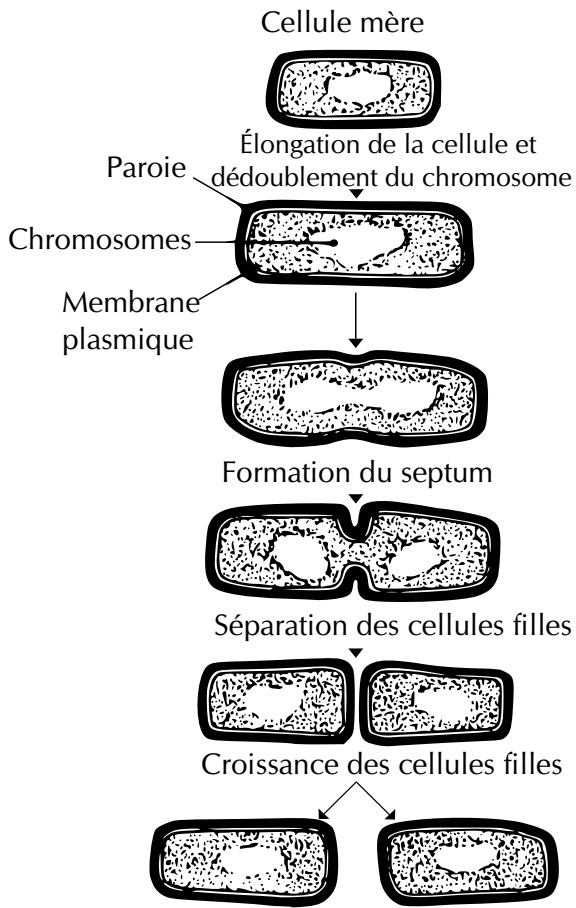


FIGURE 1.5 – Reproduction d’une cellule bactérienne.
A. BIRARD

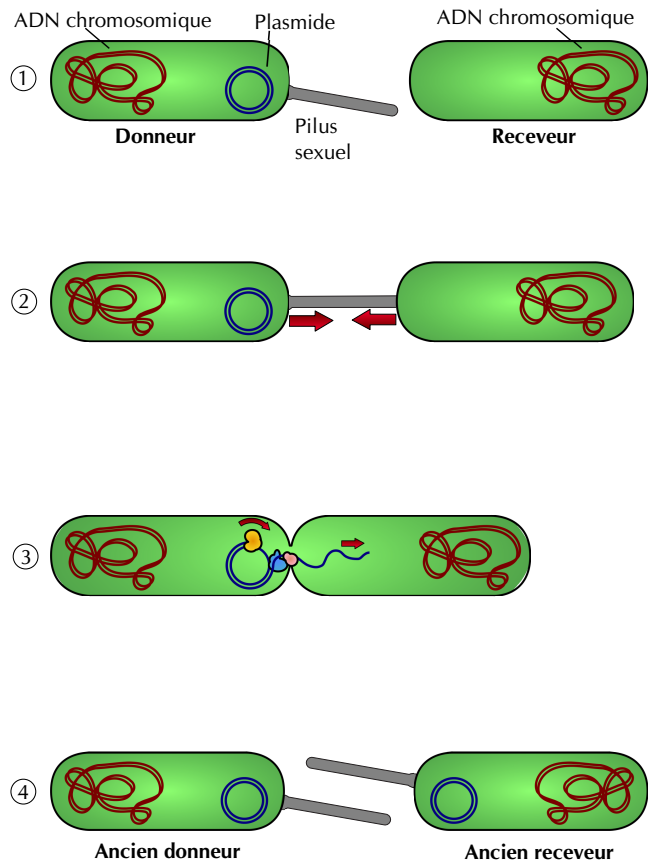


FIGURE 1.6 – Schéma de conjugaison bactérienne.
Wikipédia, Creative Commons BY-SA 3.0

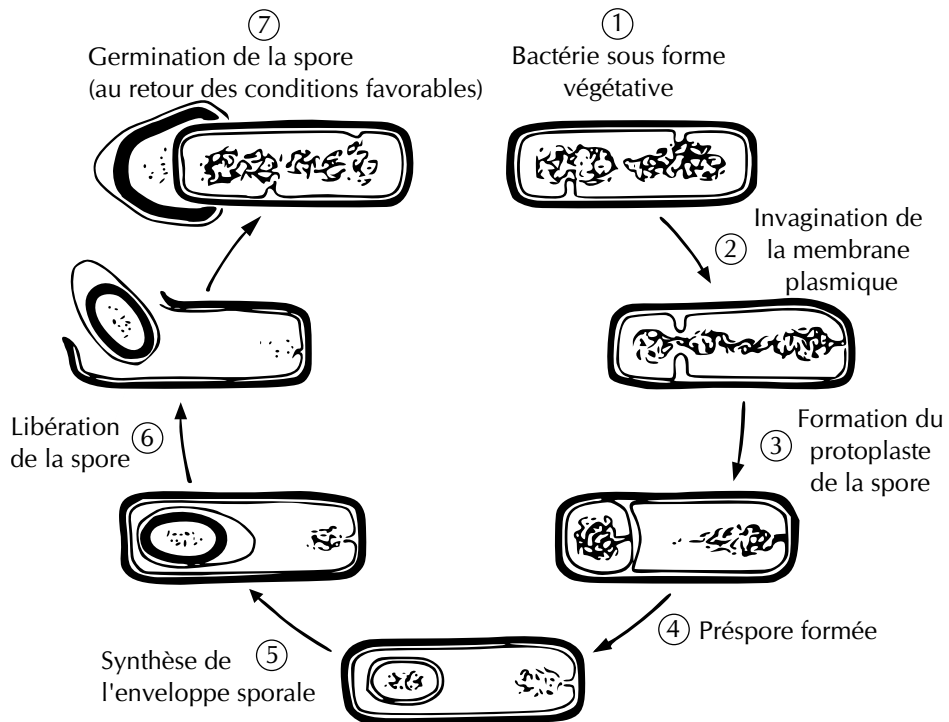


FIGURE 1.7 – Schéma du cycle sporal.
A. BIRARD

1.3.6 Sporulation

L'*endospore* ou *spore* est une structure qui se forme au sein du cytoplasme de certaines espèces de bactéries (figure 1.7) à *gram positif* lorsque les conditions environnementales sont défavorables (stress nutritif, dessiccation, chaleur...). L'endospore permet à la bactérie de survivre longtemps (plusieurs milliers d'années pour certaines) à ces conditions défavorables dans un état de vie ralentie (état de dormance). Elle représente donc une forme de résistance et de dissémination.

1.4 Cellule eucaryote

Le domaine des eucaryotes englobe une vaste variété d'êtres vivants, allant des organismes unicellulaires comme les *amibes* aux organismes complexes que sont les *animaux*, les *végétaux*, les *champignons*, etc.

Les cellules eucaryotes ont une taille relativement grande, qui se situe entre 10 et 100 μm , et possèdent des caractères qui les distinguent radicalement des procaryotes. Les plus évidents sont la présence d'un noyau entouré d'une enveloppe nucléaire et de divers organites.

Les organites sont des compartiments contenus dans le cytoplasme et délimités par une membrane lipidique⁴. Ils accomplissent des fonctions physiologiques spécialisées et permettent à la cellule de gérer la diversité et la complexité des réactions métaboliques [16].

1.4.1 Ultrastructure d'une cellule eucaryote

Au vu de la grande diversité du monde eucaryote, il semble évident que les cellules eucaryotes ne sont pas toutes semblables, et qu'elles présentent des différences morphologiques et structurales plus ou moins importantes selon les espèces. Ces différences s'étendent également au sein d'un même organisme de fait de la différenciation cellulaire.

Nous tenterons donc, dans un premier temps, de décrire brièvement les traits communs à tous les eucaryotes. L'étude détaillée de chaque structure fera l'objet de chapitres à part entière.

Nous indiquerons à la fin les spécificités des cellules animales et végétales, qui représentent deux règnes important du domaine eucaryote.

A. Noyau

Le noyau est un organite, présent dans la majorité des cellules eucaryotes, et contenant l'essentiel du matériel génétique de la cellule sous la forme d'un complexe ADN–protéines appelé *chromatine*. Lors de la division cellulaire, la chromatine se condense pour prendre la forme de *chromosomes* [17].

Enveloppe nucléaire L'enveloppe nucléaire délimite le noyau et sépare deux milieux : le *cytosol* et le *nucléoplasme*.

Pores nucléaires Les membranes internes et externes de l'enveloppe nucléaire fusionnent à intervalles réguliers, formant des pores nucléaires qui rendent possible des échanges, aussi bien dans le sens noyau → cytoplasme que dans le sens cytoplasme → noyau.

B. Membrane plasmique

La membrane plasmique des cellules eucaryotes ressemble à celle des procaryotes. Elle est constituée d'une double couche lipidique associée à des protéines et à des glucides sur sa face externe. Entre les phospholipides se trouvent également des molécules de *cholestérol*.

C. Cytoplasme

Le cytoplasme désigne le contenu d'une cellule vivante, la totalité du volume cellulaire délimité par la membrane plasmique, à l'exception du noyau.

4. Il est commun d'utiliser le terme organite pour désigner des structures comme les ribosomes ou les flagelles qui ne sont pas délimitées par une membrane [15].

D. Réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite qui regroupe un ensemble de cavités limitées par une membrane lipidique.

Réticulum endoplasmique granulaire (REG) : le réticulum endoplasmique est dit *granulaire* lorsque sa surface est recouverte de ribosomes.

Réticulum endoplasmique lisse (REL) : le réticulum endoplasmique est *lisse* lorsqu'il est dépourvu de ribosomes.

E. Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est un organite constitué par des empilements de saccules. Les protéines sécrétoires sont très souvent modifiées dans l'appareil de Golgi par addition de groupements spécifiques et sont ensuite dirigées vers leur localisation propre [18].

F. Mitochondries

Les mitochondries sont des organites présents dans la majorité des cellules eucaryotes. Elles sont responsables des réactions métaboliques de la *respiration cellulaire* qui aboutissent à la fabrication d'énergie sous forme d'ATP. C'est pour cette raison qu'on les compare souvent à des « centrales électriques de la cellule ».

G. Cytosquelette

Le cytosquelette est un ensemble d'éléments présent dans le nucléoplasme et le hyaloplasme des cellules eucaryotes. Il est responsable, entre autres, de la forme interne et externe de la cellule, des mouvements cellulaires et du transport de différents organites ou vésicules à l'intérieur de la cellule.

H. Peroxysomes

Les peroxysomes sont des organites cellulaires entourés par une membrane simple, renfermant des enzymes qui catalysent la production et la décomposition de l'eau oxygénée, c'est-à-dire le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Leur principale fonction est l'élimination des radicaux libres produits par l'oxygène dans la cellule.

1.4.2 Cellule animale

L'organisation typique des cellules animales est illustrée dans la **figure 1.8**. Il faut bien évidemment garder à l'esprit que la morphologie et organisation interne peuvent varier sensiblement afin de remplir au mieux une fonction spécialisée ; on peut citer par exemple, les cellules nerveuses (conduction de l'influx nerveux), les cellules musculaires (contraction), etc.

Les *lysosomes* et les *centrosomes* sont deux structures caractéristiques des cellules animales.

A. Lysosomes

Les lysosomes sont des organites cellulaires présents dans le cytosol de presque toutes les cellules eucaryotes animales. Ils ont pour fonction d'effectuer la digestion intra-cellulaire grâce à des enzymes.

B. Centrosome

Le centrosome est une structure propre aux cellules eucaryotes animales. Il se compose d'une paire de centrioles perpendiculaires l'un à l'autre, entourée par un ensemble de matériel appelé *matériel péricentriolaire*.

Le centriole est une structure cellulaire constituée de neuf triplets inclinés de microtubules.

1.4.3 Cellule végétale

L'organisation typique des cellules végétales est illustrée dans la **figure 1.9**. Par rapport aux cellules animales, elles possèdent une taille plus grande (50 à 250 μm) et ont généralement une forme anguleuse et géométrique [19].

Les cellules des végétaux présentent certaines structures caractéristiques, parmi les quelles :

A. Paroi pectocellulosique

La paroi pectocellulosique est un élément de structure cellulaire rigide qui protège chaque cellule végétale et lui confère une résistance mécanique. Elle est constituée de *cellulose* et de *protéines*.

B. Vacuole

La vacuole est un compartiment limité par une membrane simple, rempli d'eau et contenant diverses molécules inorganiques et organiques. La vacuole n'a pas de forme ou de taille particulière, sa structure variant en fonction des besoins de la cellule [20].

C. Plastés

Les plastés sont présents dans les plantes et les algues. Les plus connus sont les **chloroplastes**, dans les cellules d'organismes photosynthétiques, qui sont le siège de la photosynthèse. Ils possèdent également leur propre génome.

D. Plasmodesmes

Les plasmodesmes sont des canaux reliant les pores de la paroi cellulaire, ce qui permet à chaque cellule végétale de communiquer avec les cellules adjacentes.

TABLE 1.1 – Principales différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes.

Propriété	Procaryotes	Eucaryotes
Représentants	Bactéries principalement	Protistes, champignons, plantes, animaux...
Taille typique	1–10 μm	10–100 μm
Noyau	Nucléoïde ; pas de véritable noyau délimité par une enveloppe ; pas de nucléole	Noyau avec une enveloppe nucléaire ; présence de nucléole
ADN	Circulaire (un seul chromosome), sans histones ;	Molécules linéaires (chromosomes) avec des protéines histones
Synthèse ARNm/protéines	Se déroulent tous deux dans le hyaloplasme	Synthèse d'ARN dans le noyau ; synthèse de protéines dans le cytoplasme
Membrane plasmique	Phospholipides, protéines, peu de glucides et absence de cholestérol	Phospholipides, cholestérol, protéines et glucides
Organites	Absence d'organite	REG, REL, appareil de Golgi, mitochondries...
Reproduction	Scissiparité	Mitose et Méiose (formation de gamètes)
Cytosquelette	Absent	Présent

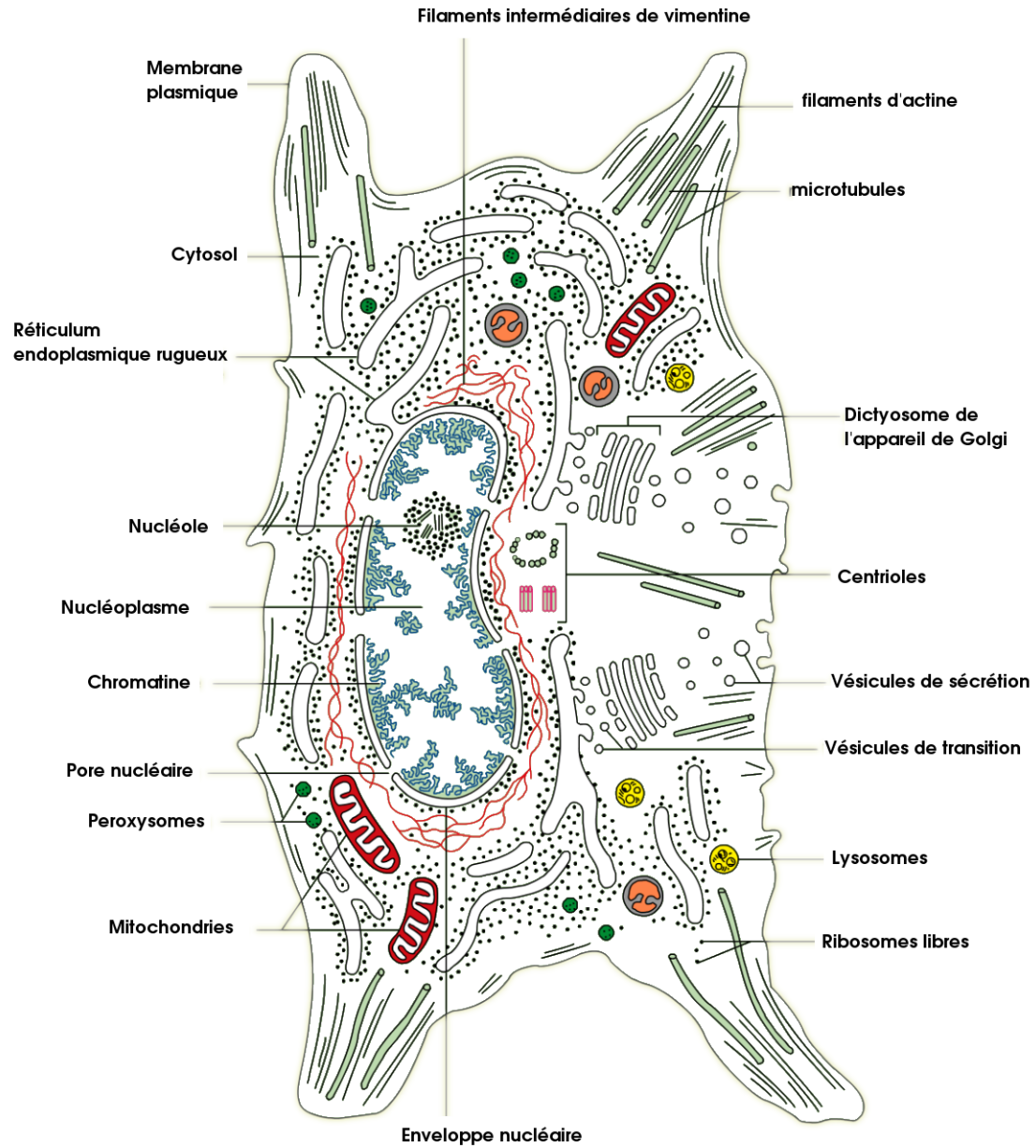


FIGURE 1.8 – Schéma de l'ultrastructure d'une cellule animale eucaryote typique.
Encyclopédie Universalis ©

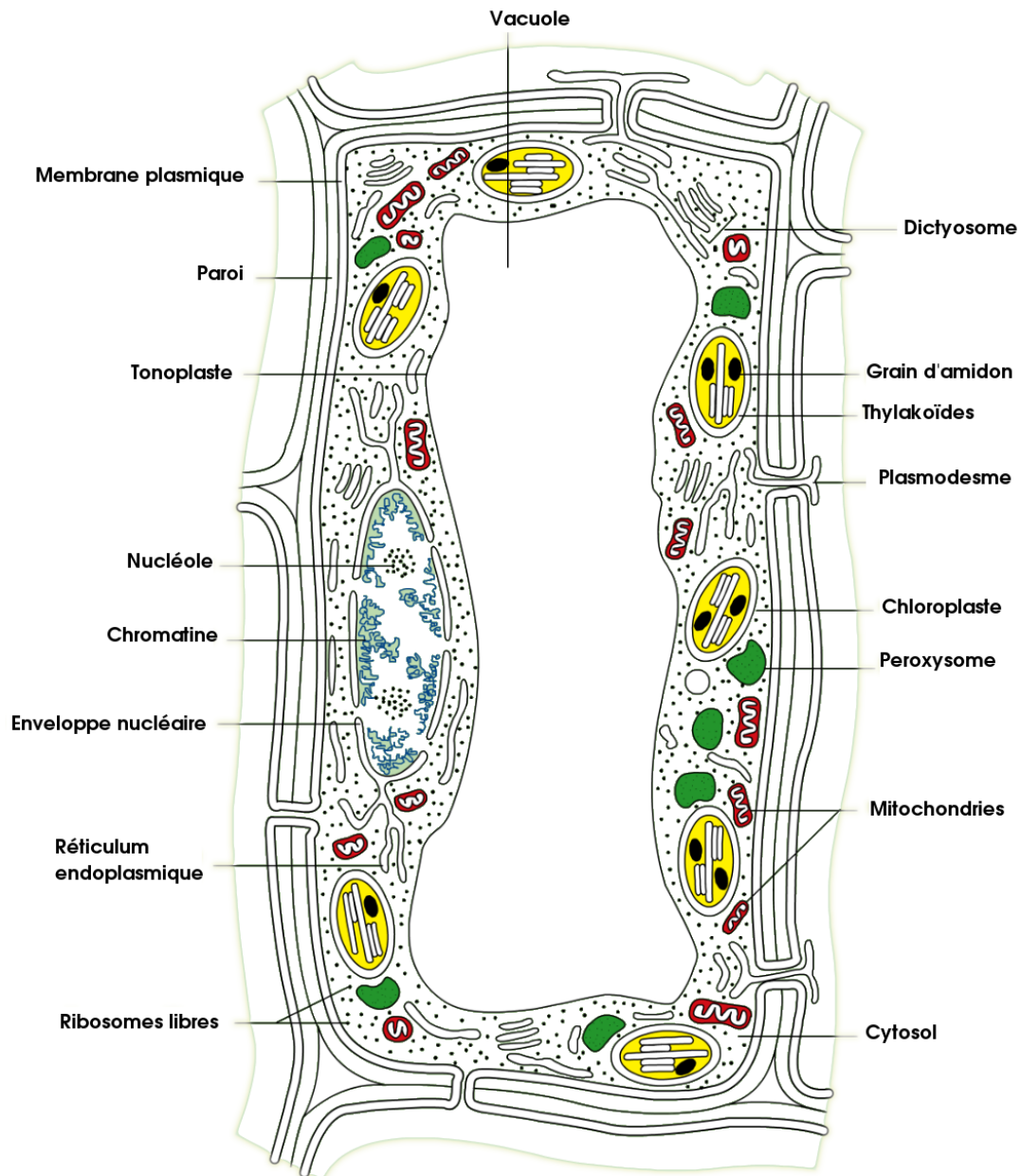


FIGURE 1.9 – Schéma de l'ultrastructure d'une cellule végétale eucaryote typique.
Encyclopédie Universalis ©

1.5 Virus

Un virus (mot latin signifiant *poison*) est une entité biologique particulière, un agent infectieux touchant tous les êtres vivants, caractérisé par son incapacité à se multiplier seul par division. Il a besoin pour cela d'utiliser une *cellule hôte*, c'est pour cette raison que l'on dit qu'un virus est un *parasite intracellulaire obligatoire*. Certains virus n'infectent qu'une seule catégorie de cellules sensibles, alors que d'autres attaquent des catégories variées [21].

La *virologie* est la science qui étudie les virus. Elle est étudiée par des *virologues* ou *virologistes*.

Virion En dehors d'une cellule vivante, le virus existe sous la forme d'une particule virale appelée *virion*. Les virions sont caractérisés par une taille extrêmement réduite (entre 15 et 300 nm) et ne sont, à quelques exceptions près, observables qu'au microscope électronique.

1.5.1 Organisation des virions

A. Acide nucléique

Le génome viral est constitué d'une ou plusieurs molécules d'*acide nucléique*, qui peuvent être de l'ADN ou de l'ARN – jamais les deux en même temps – à l'état simple-brin ou double-brin, circulaire ou linéaire [22]. Le nombre de gènes est quant à lui très variable : de quelques gènes à plus de 1 200.⁵

B. Capside

La capsid (du grec *capsa*, boîte) est une coque de nature protéique qui entoure et protège l'acide nucléique viral, elle est constituée de sous-unités protéiques appelées *capsomères* [24].

Nucléocapside On désigne sous le terme de *nucléocapside* l'ensemble que constitue la capsid protéique du virus et le génome viral.

C. Enveloppe

De nombreux virus sont entourés d'une enveloppe qui prend naissance au cours de la traversée des membranes cellulaires de la cellule hôte. Sa constitution est complexe et présente un mélange d'éléments cellulaires et d'éléments d'origine virale. On y trouve des protéines, des glucides et des lipides [24].

Les virus possédant une enveloppe sont appelés *virus enveloppés*, ceux n'en possédant pas sont les *virus nus*.

1.5.2 Morphologie des virions

La structure de la nucléocapsid, souvent géométrique, permet de classer les virions en trois groupes principaux.

A. Virus à symétrie icosaédrique

La capsid a la forme d'un icosaèdre (polyèdre régulier à 20 faces) (**figure 1.10**). Quelquefois on rencontre d'autres expressions de même sens mais moins rigoureuses telles que celle de « *symétrie sphérique* » ou même celle de « *symétrie cubique* », car c'est sous ces formes là que la capsid apparaît lorsqu'on l'observe à un faible grossissement au microscope électronique [25] [26].

Exemples : virus de l'hépatite A et B, herpès, fièvre jaune...

B. Virus à symétrie hélicoïdale

L'acide nucléique s'enroule en hélice au sein d'une capsid en forme de cylindre creux, conférant une forme de bâtonnet au virus (**figure 1.11**).

Exemples : virus de la mosaïque du tabac (VMT), virus de la grippe...

C. Virus à symétrie complexe

Certains virus sont à symétrie mixte tels de nombreux *bactériophages* (ou phages, il s'agit de virus n'infectant que des bactéries) qui ont une tête icosaédrique et une queue à symétrie hélicoïdale (**figure 1.12**).

5. C'est le cas du Mimivirus, un virus à ADN géant, plus gros que de nombreuses bactéries [23].

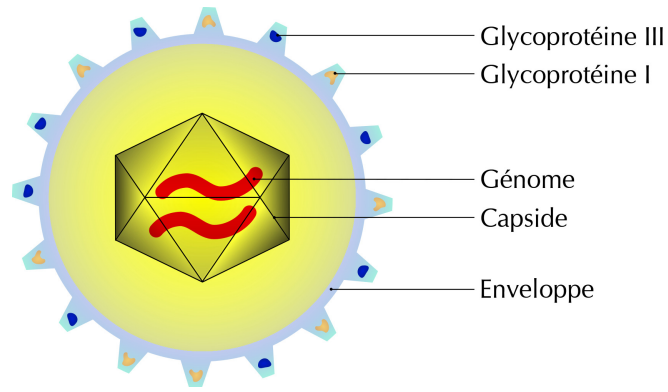


FIGURE 1.10 – Schéma d'un Cytomégalovirus.
Wikipédia, Emmanuel BOUTET, Creative Commons BY-SA 2.5

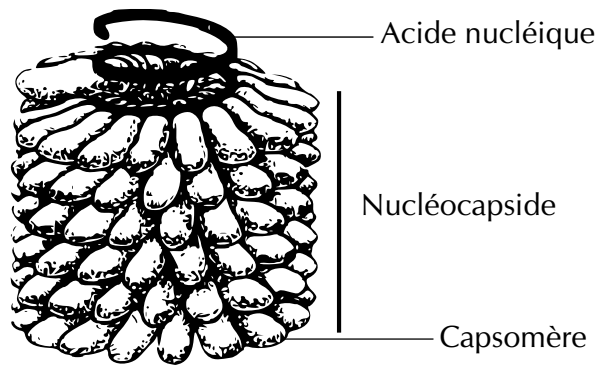


FIGURE 1.11 – Schéma du virus de la mosaïque du tabac.
Microbiologie, PRESCOTT, HARLEY et KLEIN ©

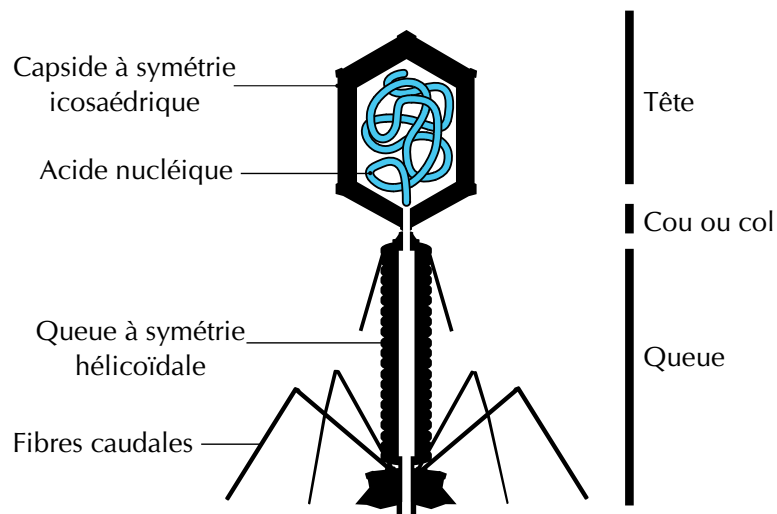


FIGURE 1.12 – Schéma d'un bactériophage.
Wikipédia, Creative Commons BY-SA 2.5

1.5.3 Classification des virus

En 1962, LWOFF, HORNE et TOURNIER ont proposé un système de classification des virus qui retient 3 critères [27]. Bien que de nos jours, il ne soit plus utilisé en tant que tel, la classification de l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) se base sur un système similaire afin de définir les familles de virus [28].

Ces trois critères sont :

- la nature de l'acide nucléique : permettant de distinguer les *virus à ADN*, des *virus à ARN* ;
- la symétrie de la nucléocapside : *hélicoïdale*, *cubique* ou *mixte* ;
- la *présence* ou l'*absence* de l'enveloppe.

TABLE 1.2 – Classification de quelques virus [29] [30].

Nature de l'acide nucléique	Symétrie de la capside	Enveloppe	Exemples
ARN	Hélicoïdale	Enveloppé Nu	Grippe Mosaïque du tabac
	Icosaédrique	Enveloppé Nu	HIV Hépatite A
ADN	Hélicoïdale	Enveloppé Nu	Baculovirus Phage M13
	Icosaédrique	Enveloppé Nu	Hépatite B (virus oncogénique) Papillomavirus humain, polyomavirus [31] (virus oncogéniques)
ADN ou ARN	Complexe	Enveloppé Nu	Ebola Bactériophages

1.5.4 Pourquoi est-ce que les virus sont incapables de se multiplier par eux-mêmes ?

La reproduction est un ensemble des processus durant lequel un être vivant doit reproduire un édifice de macromolécules, à la fois complexe et organisé. Pour réussir cela, il faut quatre sortes d'éléments [32] :

Information génétique : le virus a cette information dans son génome, c'est la séquence des bases de son génome, ADN ou ARN.

Matière première : en biologie, il s'agit de petites molécules : acides aminés, acides gras, molécules organiques simples, sels minéraux, etc. Le virus n'a pas de réserves de telles molécules. Pas de vacuoles, pas de système digestif, même primitif, qui lui permettrait de puiser ces composants dans le milieu extérieur.

Sources d'énergie : toute édification consomme de l'énergie. En biologie, c'est très souvent l'énergie libérée par hydrolyse de composés tels que l'ATP. Le virus n'a pas de réserve d'ATP, ni les moyens d'en constituer ; il n'a aucune source d'énergie propre.

Enzymes : l'assemblage des petites molécules en macromolécules exige des catalyseurs biologiques, des enzymes. Sans enzymes, les assemblages ne se feraient pas. Les virus n'ont pas les chaînes enzymatiques des grandes voies des synthèses biologiques.

1.5.5 Réplication virale

Les virus sont des parasites intracellulaire obligatoire, ils ne peuvent se multiplier qu'au sein de cellules vivantes. La *réplication virale* est l'ensemble des processus biochimiques qui se déroulent dans la cellule infectée par un virus et qui ont pour effet de produire de nouvelles unités de ce virus (ou virions). Chaque virus possède des modes de réplication bien particuliers, notamment selon qu'il s'agit d'un virus à ADN ou d'un virus à ARN. La réplication virale n'est présentée ici que dans ses grandes lignes [33].

A. Cycle lytique

Le cycle lytique est considéré comme la méthode principale de réplique virale. Durant ce cycle il y a :

- adsorption du virus au contact de la membrane de la cellule infectée, grâce à des récepteurs spécifiques ;
- pénétration dans la cellule ;
- décapsidation (libération de l'acide nucléique) ;
- répllication du génome viral ;
- synthèse de protéines virales ;
- assemblage et encapsidation des particules virales produites ;
- libération des virions hors de la cellule-hôte.

Ce qui entraîne la mort de la cellule infectée. Les virions quant à eux peuvent de nouveau infecter d'autres cellules.

B. Cycle lysogénique

Tous les virus présentent un cycle lytique. Cependant, certains bactériophages peuvent présenter un cycle alternatif appelé cycle lysogénique, au cours duquel aucune descendance phagique n'est produite [34].

Dans le cycle lysogénique, le génome viral s'intègre à celui de la cellule hôte *sans s'exprimer*, il se divise et se transmet aux cellules filles à chaque division cellulaire. Cet ADN étranger est appelé *prophage*.

Sous certaines conditions, irradiation par la lumière UV par exemple, le génome viral se sépare du matériel génétique de l'hôte et induit un cycle lytique.

Dans ce chapitre

- 2.1 Microscopes
- 2.2 Techniques histologiques et cytologiques
- 2.3 Techniques d'observation des formes et des surfaces
- 2.4 Techniques de détection et de localisation
- 2.5 Techniques d'ultracentrifugation

Les techniques d'étude de la cellule

La découverte de la théorie cellulaire et de tout ce qui en découle est intimement lié à l'invention des instruments d'optique et de leur amélioration. C'est principalement grâce au microscope que les cytologistes ont pu observer pour la première fois de nombreux micro-organismes.

Aujourd'hui, les biologistes cellulaires ont à leur disposition un grand nombre d'instruments et de techniques permettant l'étude détaillée de la cellule et de ses constituants. En faire un inventaire exhaustif et détaillé dépasse le cadre de cet ouvrage. Nous tenterons donc de présenter brièvement les outils les plus utilisés.

2.1 Microscopes

La microscopie est un ensemble de techniques d'imagerie qui permet d'obtenir une image agrandie de bonne qualité d'objets de petites dimensions. On distingue principalement deux types de microscopies : la microscopie *optique* (ou *photonique*) et la microscopie *électronique*.

Les microscopes dits à *transmission* nécessitent d'avoir des échantillons de très faible épaisseur. Le matériel biologique devra donc être traité pour pouvoir être analysé. Les techniques histologiques et cytologiques décrites plus loin répondent à ce besoin [35].

Résolution Une notion importante à connaître et celle du *pouvoir de résolution*. Le pouvoir de résolution, ou *pouvoir de séparation*, est la distance minimale séparant deux points individualisables. À titre d'exemple, le pouvoir de séparation de l'œil humain est d'environ 0.1 mm à 25 cm.

2.1.1 Microscopes optiques

Les biologistes utilisent plusieurs variétés de microscopes optiques : les microscopes à *fond clair*, à *fond noir*, à *contraste de phase*, à *fluorescence*, etc. Les longueurs d'ondes utilisées (spectre visible) limitent le pouvoir séparateur de ces microscopes à environ 0,2 μm . Le grossissement quant à lui peut atteindre 1500 \times [36].

A. Microscope optique à fond clair

La microscopie optique en *champ clair* ou à *fond clair* permet d'étudier des cellules fixées et colorées (tuées et traitées en vue d'un examen) et de les observer sur une image foncée avec un fond brillant. C'est la plus simple et la plus ancienne des techniques de microscopie.

Principe de fonctionnement Le microscope optique à fond clair fonctionne par *transmission de lumière blanche*, l'échantillon éclairé par dessous est traversé par des photons qui atteindront ensuite le système optique du microscope, ce qui permet le grossissement. Au final, l'échantillon pourra être observé à travers l'oculaire.

Les lois d'optique géométrique qui régissent le fonctionnement du microscope optique seront étudiées en biophysique.

Constituants principaux du microscope optique De bas en haut (**figure 2.1**) :

Statif : assure la stabilité de l'appareil.

Miroir : sert à réfléchir la lumière pour éclairer l'échantillon par en dessous.

Source de lumière artificielle : selon le microscope utilisé il peut y avoir une source de lumière artificielle et éventuellement une lumière polarisée ou ultraviolet, pour faire ressortir certaines propriétés chimiques de la matière.

Diaphragme : ouverture de diamètre variable permettant de restreindre la quantité de lumière qui éclaire l'échantillon.

Platine porte-échantillon : où l'on pose l'échantillon ; les pinces servent à tenir l'échantillon lorsque celui-ci est mince.

Objectif : lentille ou ensemble de lentilles réalisant le grossissement. Il y a en général plusieurs objectifs, correspondant à plusieurs grossissements, montés sur un barillet.

Mise au point grossière et fine : ces molettes font monter et descendre l'ensemble objectif-oculaire avec un système de crémaillère, afin de régler la netteté de l'image.

Oculaire : lentille ou ensemble de lentilles formant l'image d'une manière reposante pour l'œil.

L'oculaire peut être remplacé par un appareil photographique, ou par une caméra vidéo.

B. Microscope à contraste de phase

Le microscope à contraste de phase permet d'observer les cellules vivantes, dans leur milieu d'origine, sans préparation ni coloration.

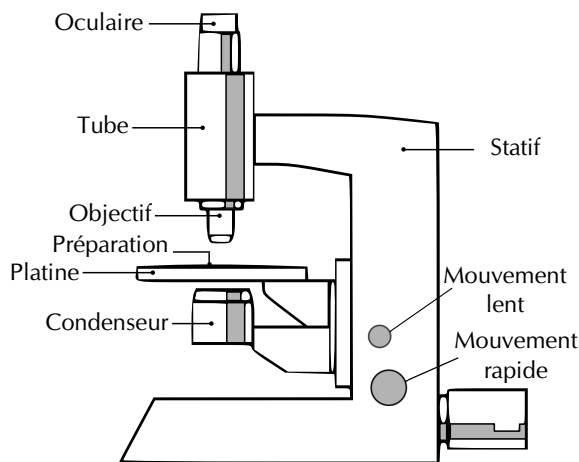


FIGURE 2.1 – Schéma d'un microscope optique à fond clair.
Techniques d'ingénieur ©

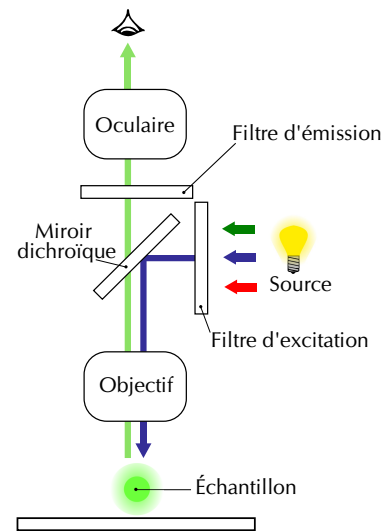


FIGURE 2.2 – Schéma de fonctionnement d'un microscope à fluorescence.
Wikipédia, domaine public

C. Microscope à fluorescence

Fluorescence La fluorescence est une *émission lumineuse* provoquée par l'*excitation* d'une molécule (généralement par absorption d'un photon) immédiatement suivie d'une émission spontanée [37].

On appelle *fluorochrome* ou *fluorophore* (ou encore chromophore) une substance chimique capable d'émettre de la lumière de fluorescence après excitation.

Exemples de fluorochromes :

Rhodamine : absorbe la lumière verte et restitue une fluorescence rouge ;

Fluorescéine : absorbe la lumière bleue et restitue une fluorescence verte.

Principe de fonctionnement Le microscope à fluorescence se base sur le microscope optique en tirant profit de la lumière émise lors du phénomène de fluorescence, au lieu de l'observation classique par la lumière visible (figure 2.2). L'observation de signaux de fluorescences repose sur :

- une source de lumière pour l'excitation ;
- un filtre d'excitation qui ne sélectionne que la longueur d'onde d'excitation du fluorochrome ;
- un filtre d'émission qui ne sélectionne que la longueur d'onde d'émission du fluorochrome ;
- un oculaire pour observer l'image ainsi formée.

2.1.2 Microscopes électroniques

A. Microscope électronique à transmission

La résolution du microscope électronique à transmission (MET) est de l'ordre de l'*ångström* (environ 0.2 nm), ce qui permet après des traitements appropriés d'étudier l'*ultrastructure des cellules*. Le grossissement quant à lui va de $20\,000\times$ à $1\,000\,000\times$.

L'amélioration des performances par rapport à un microscope optique tient à la très faible longueur de l'onde associée à l'électron accéléré par rapport à celle des photons de la lumière visible.

Principe de fonctionnement Le microscope électronique à transmission (MET) fonctionne également selon le principe de *transmission* : un faisceau condensé d'*électrons* est transmis *sous vide* (afin d'éviter sa déviation), en une trajectoire linéaire, à travers un échantillon très mince. Une lentille magnétique permet de former sur un écran une image très agrandie de l'objet à partir des interactions entre les électrons et la matière traversée. Une région plus épaisse de l'échantillon diffractera plus d'électrons et apparaîtra plus sombre sur l'image puisque moins d'électrons touchent cette région de l'écran. Au contraire les régions transparentes seront plus brillantes. L'écran peut être remplacé par un film photographique pour avoir un document permanent [38].

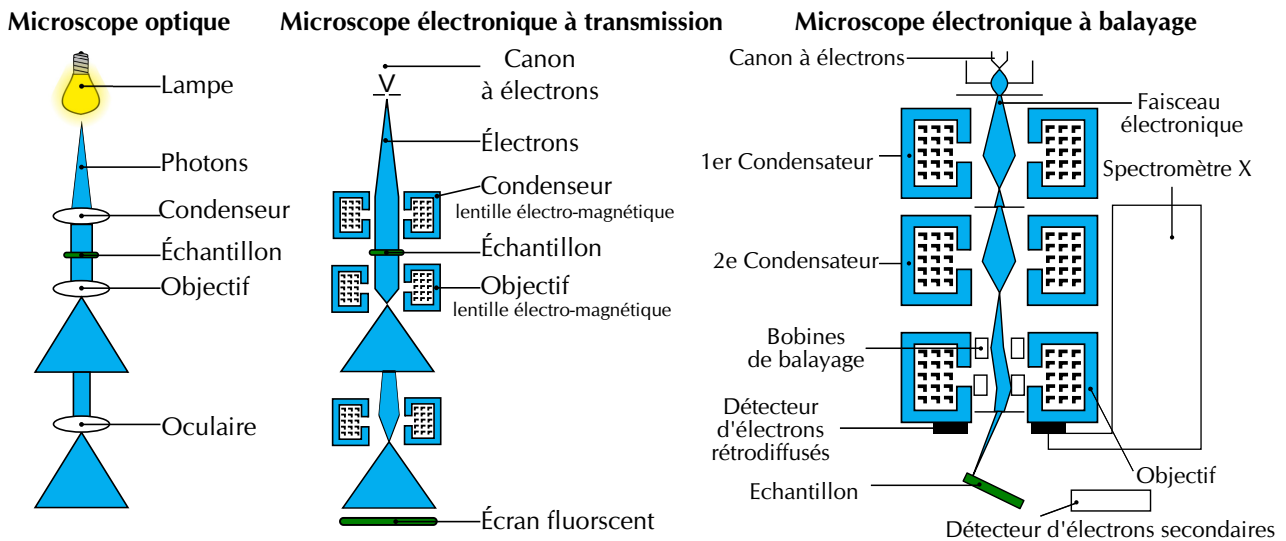


FIGURE 2.3 – Schémas comparés des trajets des rayons lumineux et des électrons dans un microscope photonique et dans un microscope électronique.

Biologie cellulaire, des molécules aux organismes © et Wikipédia (CC BY-SA 3.0) pour l'illustration du MEB

- Constituants principaux du MET** Les principaux constituants du microscope électronique à transmission sont :
- Ensemble de pompage :** destiné à assurer un vide convenable dans l'enceinte du microscope (celui-ci est imposé pour éviter que le faisceau d'électrons, qui ne se propage librement que dans le vide, n'interagisse avec la matière).
- Canon à électrons :** le faisceau d'électrons est produit au moyen d'un canon à électron. Souvent un filament de tungstène porté à une très haute tension (jusqu'à 200 kV) est utilisé.
- Lentilles magnétiques :** parmi elles :
- Les lentilles condenseur : assurent la condensation du faisceau d'électrons.
 - L'objectif : donne la première image agrandie.
 - Les lentilles intermédiaires : reprennent plusieurs fois l'image fournie par l'objectif.
- Etage porte-échantillon :** il permet l'introduction des échantillons.
- Système d'enregistrement et de visualisation :** pour visualiser ou enregistrer les images produites par les électrons.

B. Microscope électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la *surface d'un échantillon*.

Principe de fonctionnement Le microscope électronique à balayage (MEB) fonctionne selon le principe de *réflexion*, un faisceau condensé d'électrons est projeté *sous vide* sur l'échantillon à analyser. Des bobines de balayage permettent de faire *balayer* le faisceau sur l'échantillon. Les électrons *réfléchis* par la surface de l'objet sont captés pour reconstruire une image très agrandie et en trois dimensions de la *surface* qui sera regardée sur un écran ou enregistrée.

La résolution du MEB est de moins de 20 nm. Le grossissement va de 10× à 500 000× [39].

2.2 Techniques histologiques et cytologiques

2.2.1 Technique histologique

Pour une observation au microscope photonique, l'échantillon doit être de faible épaisseur (2 à 10 μm) afin de permettre le passage de la lumière. Ainsi, lorsque le matériel biologique est massif (tissus animaux ou végétaux : foie, cerveau, muscle, etc. ou tige, feuille, racine, etc.), il faut préalablement le débiter en tranches fines et régulières, que l'on appelle *coupes histologiques* [40].

De plus, les cellules vivantes non pigmentées ne sont pas clairement visibles au microscope à fond clair à cause de la faible différence de contraste entre les cellules et l'eau. D'où la nécessité d'utiliser des colorants spécifiques pour une observation correcte [41].

Étapes du protocole

Les étapes du protocole sont les suivantes [40] :

Fixation : la fixation a pour but de tuer les cellules tout en modifiant le moins possible leurs structures internes. On utilise à cet effet des mélanges variés : acides (acide acétique), alcools, aldéhydes (formol), etc.

Déshydratation : la déshydratation a pour but d'éliminer l'eau de l'échantillon et de la remplacer par un solvant du milieu utilisé pour l'inclusion ; elle consiste en une série de bains dans des alcools de plus en plus concentrés. Un dernier bain est réalisé dans un mélange alcool/solvant organique du milieu d'inclusion, pour arriver enfin à avoir l'échantillon dans ce solvant pur : xylène, toluène. . .

Inclusion : l'inclusion a pour objectif d'imprégner totalement les cellules d'une substance durcissante, qui permettra une coupe fine et régulière. Cette substance, dont les molécules remplacent en fait les molécules d'eau initiales, est souvent la *paraffine* qui est liquide à 60 °C et dure à la température ambiante ; soluble dans les solvants cités plus haut, elle pénètre très aisément dans les tissus. Après plusieurs bains à 60 °C et durcissement de la paraffine, on obtient un « bloc » qui pourra être correctement coupé et qui sert aussi de moyen de stockage des échantillons.

Coupe : la coupe a pour but de réaliser des sections fines (de 2 à 10 μm d'épaisseur) et transparentes de l'objet inclus. On utilise un *microtome*, muni d'un rasoir métallique et d'un système mécanique qui donne des coupes sériées ; celles-ci sont collées sur des lames de verre, séchées et déparaffinées avec du xylène ou du toluène. Seule la matière organique de la coupe subsiste sur la lame.

Coloration : de nombreux colorants — plus ou moins spécifiques — peuvent être utilisés pour observer les structures cellulaires : bleu de méthylène, vert de méthyle, rouge Soudan III...

2.2.2 Technique cytologique

Les particularités du microscope électronique à transmission apportent des restrictions sévères quant à la nature et au mode de préparation des échantillons. Puisque les électrons sont très facilement absorbés par la matière solide, seules des coupes ultrafines (de 30 à 50 nm d'épaisseur) pourront être examinées [38].

Sachant que les atomes majeurs de la matière vivante (C, H, O, N) sont transparents aux électrons, il est également nécessaire de contraster les structures au moyen d'atomes lourds, opaques aux électrons, qui se fixent plus ou moins sélectivement à leur niveau [42].

La préparation de tels échantillons adaptés à la microscopie électronique a nécessité l'apport de modifications au protocole précédent, mais les grandes lignes restent conservées :

Fixation : les fixateurs classiques ne suffisent pas car ils tendent à détruire les structures fines. Il faut utiliser d'autres agents chimiques tels le *tétroxyde d'osmium* (OsO_4) et le *glutaraldéhyde* ou le permanganate de potassium.

Déshydratation : le principe est le même que pour l'histologie classique, à la différence près que la déshydratation préalable doit se terminer dans un solvant de la résine utilisée pour l'inclusion.

Inclusion : les milieux d'inclusion utilisés sont souvent des résines de la famille des araldites. On obtient des petits blocs solides et très durs, incluant et imprégnant l'échantillon à analyser ; la dureté de ce matériel permet d'obtenir des coupes extrêmement fines et régulières.

Coupe : les coupes ultrafines sont réalisées grâce à un *ultramicrotome*, il s'agit d'un appareil qui permet d'obtenir des coupes d'une épaisseur de 30 à 50 nm. Les coupes sont récupérées sur des *grilles métalliques* permettant le passage des électrons.

Contraste positif : afin de renforcer le contraste des préparations d'échantillons transparents aux électrons, on imprègne les coupes ultrafines par des contrastants. Le plus souvent, il s'agit de sels de métaux lourds opaques aux électrons (de par leur forte masse atomique) qui se fixent préférentiellement sur des zones précises de la cellule, tels que l'*acétate d'uranyle* ou le *citrate de plomb*.

2.3 Techniques d'observation des formes et des surfaces

2.3.1 Contraste négatif

Le contraste négatif s'applique à des objets de très petites dimensions, de forme relativement simple (molécules, virus ou éléments cellulaires isolés : organites ou fragments d'organites). Elle permet de voir, en microscopie électronique à transmission, des détails macromoléculaires que les coupes ne permettent pas de visualiser.

Protocole

1. isoler l'échantillon (voir techniques d'isolement, section 2.5 page 27).
2. mettre dans un tube à essai l'échantillon avec de l'eau et de l'acide phosphotungstique à 2%.
3. déposer l'échantillon sur une grille recouverte d'une membrane perméable aux électrons.
4. séchage sous une hotte dite chambre aspirante. L'eau s'évapore et la substance opaque aux électrons se dépose autour de l'échantillon.
À l'observation au MET, l'objet apparaît *clair* sur un *fond sombre*. C'est le pourtour de l'objet qui est contrasté et non l'objet lui-même.

2.3.2 Cryofracture

La cryofracture est une technique qui permet l'observation de tissus massifs, dont elle donne une vue interne qui n'est pas le résultat d'une coupe, mais celui d'une fracture [43].

Protocole

Congélation : la congélation dans l'azote liquide (-196°C) permet de fixer très rapidement l'échantillon et de conserver une structure aussi proche que possible de la structure native.

Cryofracture : la cryofracture est l'étape cruciale du protocole. À l'aide d'une lame métallique très fine, on fracture l'échantillon congelé qui est devenu très fragile. Il a été montré que, de façon générale, le plan de fracture passe à l'intérieur des membranes cellulaires, au sein même de la bicouche phospholipidique, car celle-ci représente une zone de moindre résistance par rapport à la glace environnante.

Cryodécapage : on réalise le décapage de la surface de l'échantillon en sublimant, sous vide et à basse température, une fine pellicule de glace superficielle ; ce qui a pour effet d'augmenter très légèrement les reliefs des structures (cryodécapage).

Ombfrage : afin de faire ressortir les détails superficiels de l'échantillon, et d'accentuer les reliefs, on réalise une première vaporisation *oblique* d'une fine couche métallique (or ou platine) à la surface de la préparation. Un film de carbone uniforme et très fin est ensuite vaporisé *verticalement* par dessus la surface métallisée pour la renforcer et couvrir les zones non atteintes par le métal.

Destruction du matériel biologique : avant l'observation, on doit éliminer la partie organique de l'échantillon tout en laissant intacte la réplique. On utilise pour cela un acide fort (acide sulfurique ou chlorhydrique). La réplique pourra ensuite être retirée de l'enceinte sous vide.

À l'observation au MEB, on distinguera des reliefs et des dépressions.

2.4 Techniques de détection et de localisation

2.4.1 Autoradiographie

L'autoradiographie est une méthode qui permet de *localiser* un composé, d'estimer sa *quantité* et de *suivre* son cheminement dans la cellule. On utilise pour cela un *traceur* ou *marqueur radioactif*, généralement un métabolite (produit intermédiaire du métabolisme) renfermant un atome radioactif (tel que le ^{14}C ou le ^3H), qui sera incorporé dans le composé au cours de l'activité cellulaire étudiée. Ces isotopes émettent des rayonnements radioactifs qui seront captés et révélés par des procédés spécifiques.

A. Principe

L'autoradiographie est basée sur le principe selon lequel les composés radioactifs impressionnent les émulsions photographiques vierges. Les particules β émises par l'atome radioactif réduisent les grains de bromure d'argent contenus dans l'émulsion en argent métallique, à la manière de la lumière.

B. Méthode

Marquage métabolique Le marquage métabolique consiste à incorporer le traceur radioactif dans le composé que l'on désire suivre et localiser. Le choix du métabolite radioactif se fait en fonction de l'activité cellulaire étudiée, de sorte qu'il intervienne spécifiquement dans cette activité. Par exemple, un acide aminé radioactif pour l'étude de la synthèse d'une protéine, un acide nucléique radioactif pour l'étude de la transcription d'une enzyme...

- Prenons comme exemple le marquage d'une cellule pancréatique par de la leucine radioactive : Leu*
- on prélève sur un cobaye le pancréas, puis on le prépare en effectuant de coupes fines ;
 - on place pendant un court moment les cellules pancréatiques dans une boîte de Petri contenant un milieu physiologique avec une concentration élevée en glucose et la Leu* en petite quantité. La Leu* sera incorporée dans la structure de l'insuline ;
 - on transfère les cellules dans une nouvelle boîte de Petri contenant un milieu physiologique avec une concentration normale en glucose. Chaque coupe y séjournera un temps plus ou moins long pour pouvoir suivre l'évolution de la Leu*.

Traitement pour observation

- on fixe les cellules pour stopper toute activité ;
- on recouvre les coupes par une émulsion photographique liquide à base de cristaux de bromure d'argent ;
- la préparation est mise à l'abri de la lumière pendant quelques semaines ;
- les rayonnements radioactifs de l'insuline ayant incorporé la Leu* transforment les cristaux d'argents en grains d'argent qui seront localisés au dessus de cette insuline radioactive ;
- on procède au traitement de l'émulsion.

Observation À l'observation, le composé étudié est révélé sous forme de taches noires (grains d'argent) localisées dans les structures cellulaires l'ayant incorporé, ce qui indique sa position. Le nombre de grains d'argent quant à lui, renseigne sur sa quantité et sur l'intensité du phénomène étudié.

2.4.2 Immunomarquage

L'immunomarquage est une méthode qui permet de *localiser* très précisément un composé et de *suivre* son cheminement dans la cellule. Pour cela, on utilise un *anticorps* dirigé contre le composé recherché, qui sera donc considéré comme un *antigène*. Cet anticorps est couplé à un *fluorochrome*. Au final, on utilisera un microscope à fluorescence pour observer le résultat.

A. Expérience de FRYE et EDIDIN

En 1970, FRYE et EDIDIN ont réalisé la première expérience prouvant la fluidité des protéines membranaires. Ils ont utilisé pour cela le principe d'immunomarquage (**figure 2.4**). Le procédé expérimental se déroule comme suit :

Préparation et marquage des anticorps : on utilise deux cultures cellulaires issus d'individus d'espèces différentes des cellules de souris blanches et des cellules humaines, par exemple. À partir des cellules de souris blanches, on prépare un sérum qui contient des *anticorps spécifiques* aux membranes plasmiques des cellules de souris blanches. De la même manière, à partir de cellules humaines on prépare un sérum qui contient des *anticorps spécifiques* aux membranes plasmiques des cellules humaines.

Ces deux types d'anticorps sont ensuite isolés et marqués par deux fluorochromes différents : la Rhodamine et la Fluorescéine par exemple.

Préparation des hétérocaryons : grâce à des glycoprotéines isolées du *virus de Sendai*, on peut provoquer une fusion entre les membranes des cellules de souris blanches et les cellules humaines, il se forme donc des hétérocaryons, qui sont des cellules qui contiennent dans leur cytoplasme deux noyaux d'origine différente.

Obtention des membranes hybrides : on rajoute aux hétérocaryons un mélange des anticorps marqués obtenus lors de la 1^{re} étape. Les anticorps vont s'accrocher aux antigènes membranaires. On observera les résultats au microscope photonique à fluorescence :

- Après 5 min, les anticorps membranaires sont distribués de manière équilibrée aux hémisphères de l'hétérocaryon.
- Après 40 min, on remarque une distribution hétérogène des anticorps membranaires sur toute la surface de l'hétérocaryon.

Conclusion : le résultat démontre la fluidité de la membrane plasmique.

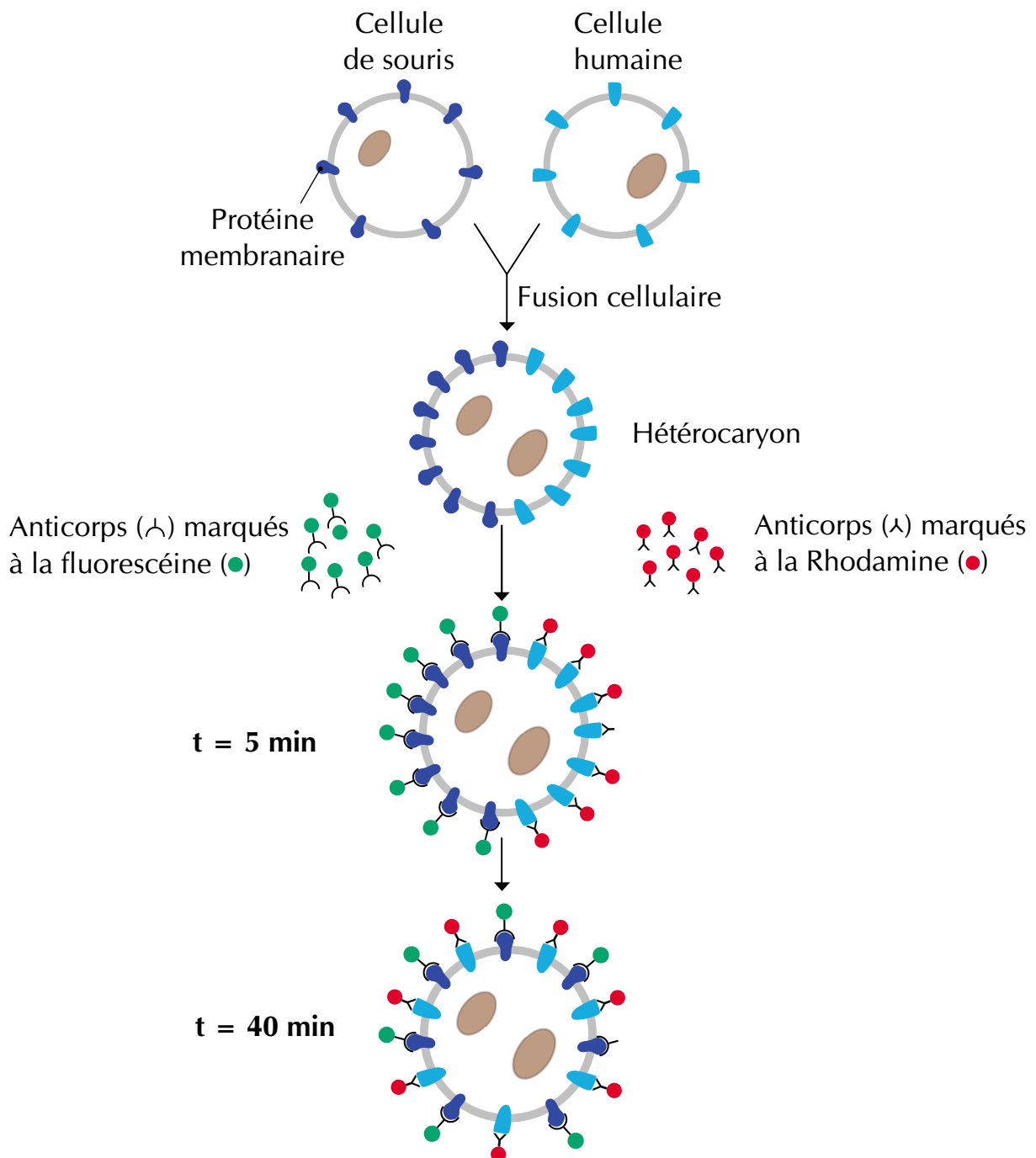


FIGURE 2.4 – Expérience de FRYE et EDIDIN.
Adaptée depuis le livre « Molecular Biology of the Cell. 3rd edition ».

2.5 Techniques d'ultracentrifugation

La technique d'ultracentrifugation permet la séparation de particules biologiques allant des petites macromolécules jusqu'aux gros édifices supramoléculaires.

Les ultracentrifugeuses sont des machines très sophistiquées par rapport aux centrifugeuses classiques ; leurs rotors peuvent tourner jusqu'à près de 80 000 tours par minute, et ils fournissent des champs de gravité atteignant 500 000 fois la gravité terrestre [44].

2.5.1 Principes de base de la centrifugation

Tout corps plongé dans un liquide subit l'action de deux forces : son poids, dirigé vers le bas, et la poussée d'Archimède dirigée vers le haut. Selon sa densité, supérieure ou inférieure à celle du milieu, la force résultante sera dirigée vers le bas ou vers le haut, le corps descendra ou remontera dans le liquide. Ce phénomène est la *sédimentation*.

Les macromolécules biologiques n'échappent pas à cette règle. Un exemple simple est fourni par les globules rouges qui tombent au fond du tube quand on laisse reposer un prélèvement de sang, les globules blancs moins denses formant une fine couche juste au dessus. En attendant assez longtemps, les molécules se répartiront en trois groupes, celle qui sont descendues au fond, celles qui sont remontées à la surface et celles qui sont encore en solution.

Ce phénomène est long, il prend près d'une heure dans le cas du sang, et pourtant il s'agit de cellules, donc de quelque chose d'assez gros. La plupart des molécules biologiques sont beaucoup plus petites et la sédimentation naturelle prend plus de temps : plusieurs semaines, plusieurs années voire plusieurs siècles, etc.

En mettant une préparation biochimique dans le rotor d'une centrifugeuse et en faisant tourner celui-ci, on génère une accélération qui va pousser les particules qui la composent vers l'extérieur du rotor, c'est-à-dire le fond du tube à centrifuger. La vitesse avec laquelle se déplaceront ces particules est proportionnelle à :

- la force gravitationnelle à laquelle la particule est soumise ;
- la masse de la particule ;
- la différence entre la densité de la particule et celle du solvant.

et inversement proportionnelle à la friction avec le milieu, en fonction de la taille et à la géométrie des particules.

Une particule donnée (par exemple une sous-unité d'un ribosome) a donc une vitesse spécifique de sédimentation lors d'une centrifugation parce qu'elle a une combinaison donnée de masse, de densité et de morphologie. On exprime souvent cette caractéristique en *coefficient de sédimentation*, généralement exprimée en unités *Svedberg* (S). Plus une particule est massive ou dense ou ne génère qu'une faible friction (due à sa forme), plus son S sera élevé [45].

A la fin de la centrifugation, les grosses particules sédimentent et forment un *culot*, les autres particules restent en suspension et forment un *surageant*.

2.5.2 Ultracentrifugation différentielle

L'ultracentrifugation différentielle (UCD) est une série de centrifugations à des vitesses croissantes. Elle a pour but de séparer les organites cellulaires et les macromolécules biologiques contenus dans un homogénat suivant leur différence de poids moléculaire.

A. Homogénéisation

Dans un premier temps, il est nécessaire de dissocier les organites et de les suspendre dans un milieu approprié, c'est ce que l'on appelle l'homogénéisation.

Pour obtenir un *homogénat*, on place les cellules dans un tube à essai contenant une solution isotonique, cette suspension sera fractionnée par l'un des traitements suivants :

Physique : avec des ultrasons.

Chimiques : avec des détergents acides ou basiques.

Mécanique : écrasement par un piston.

puis diluée dans une autre solution isotonique, on obtient alors un homogénat contenant tous les organites et macromolécules.

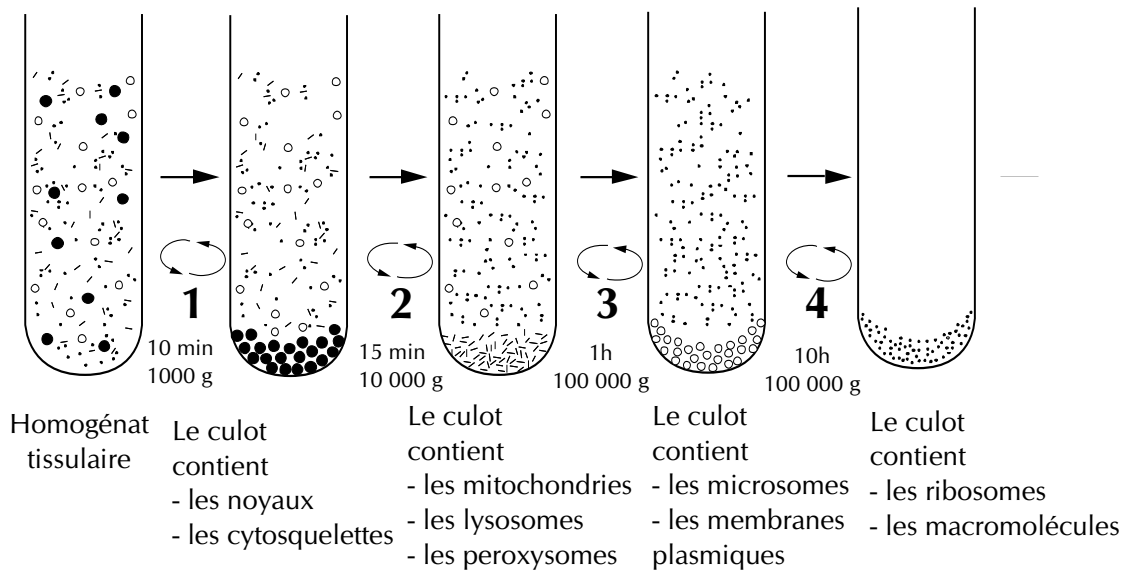


FIGURE 2.5 – Protocole de fractionnement cellulaire par ultracentrifugation différentielle.
 Biologie cellulaire : des molécules aux organismes ©

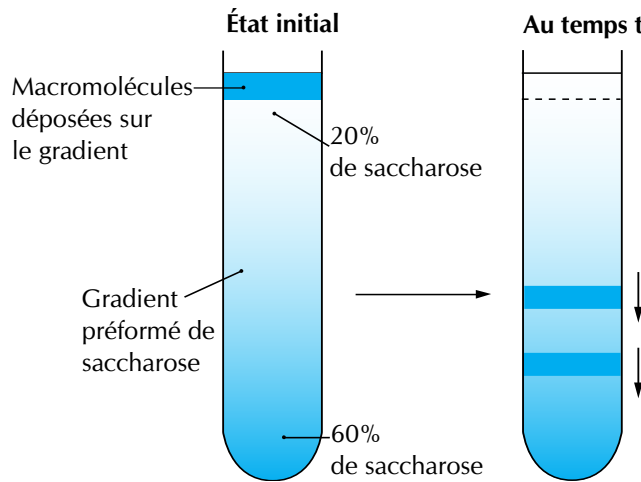


FIGURE 2.6 – Gradient de saccharose.
 Biologie cellulaire : des molécules aux organismes ©

B. Centrifugation de l'homogénat

Grâce à une série de centrifugations de plus en plus longues et donnant des champs de gravité de plus en plus élevés, on fractionne l'extrait initial en une série de culots et de surnageants (figure 2.5)¹.

2.5.3 Ultracentrifugation sur gradient de densité

Certains organites et macromolécules sédimentent à des vitesses tellement voisines qu'ils sont très difficiles à séparer par une ultracentrifugation différentielle. C'est le cas des mitochondries, des lysosomes et des peroxysomes.

La technique d'ultracentrifugation sur gradient de densité (UGD) permet de séparer des organites cellulaires et même des petites particules biologiques présentant de très faibles différences dans leurs caractéristiques, et ce en fonction de leur densité. Elle se base sur le principe suivant : lorsque la densité d'une particule est égale à la densité du solvant elle atteint un niveau d'équilibre.

1. Les microsomes (culot 3) sont de petites vésicules provenant de la fragmentation de certains systèmes membranaires de la cellule au cours de l'homogénéisation.

Protocole

On utilise un solvant dont la densité va varier en fonction de la position dans le tube : on parle de *gradient*. La plupart du temps il s'agit de gradient de *saccharose* (**figure 2.6**), mais on utilise aussi du *chlorure de césium*.

Après centrifugation, chaque constituant rejoindra la zone de densité équivalente à la sienne. Le contenu du tube peut être récupéré par fractions successives, souvent du bas vers le haut, pour utilisation et/ou analyse ultérieure.

Dans ce chapitre

- 3.1 Structure de la membrane plasmique
- 3.2 Étude biochimique de la membrane plasmique
- 3.3 Architecture moléculaire de la membrane plasmique

L'organisation de la membrane plasmique

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.

3.1 Structure de la membrane plasmique

3.1.1 En microscopie électronique à transmission

Après fixation et contraste au tétr oxyde d'osmium, les coupes de membrane plasmique apparaissent au microscope électronique à transmission comme étant *tristratifiée* (ou trilamellaire), c'est-à-dire formée de trois feuillets :

- un feuillet externe dense (osmiophile¹) 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.

Asymétrie de la membrane Le feuillet externe — qui est 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 [46]. Le feuillet interne est en relation avec un *feutrage microfilamentaire* de filaments d'actine du cytosquelette.

La présence du glycocalix et du feutrage microfilamentaire fait que les deux faces de la membranes ne sont pas identiques, c'est ce que l'on appelle l'*asymétrie structurale* de la membrane plasmique.

3.1.2 En microscopie électronique à balayage

En utilisant la technique de cryodécapage, on peut obtenir une réplique dont le plan de fracture passe par la zone entre les deux feuillets, la membrane plasmique est alors séparée en deux hémimembranes (**figure 3.1**) :

Hémi-membrane E : (« E » pour exoplasmique) c'est la couche externe de la membrane.

Hémi-membrane P : (« P » pour protoplasmique) c'est la couche interne de la membrane.

En microscopie électronique à balayage, les hémimembranes présentent des reliefs et des dépressions. Les reliefs correspondent aux protéines d'une hémimembrane, les dépressions à l'emplacement des protéines de l'hémimembrane opposée.

3.2 Étude biochimique de la membrane plasmique

3.2.1 Méthode d'étude

Pour étudier les membranes plasmiques, les cellules les plus fréquemment utilisées sont les *globules rouges* (hématies ou encore érythrocyte) car étant anuclées et sans organites elles sont dépourvues de membranes intracellulaires.

Tout d'abord, on procède à une *hémolyse* : les hépaties sont placées en un milieu *hypotonique* (un milieu hypotonique a une faible concentration en soluté), l'eau va passer dans les cellules à cause de la pression osmotique provoquant un gonflement et un éclatement des hématies.

On procède par la suite à une ultracentrifugation différentielle (UCD), on obtient alors un culot de membranes plasmiques qu'on appelle aussi « fantômes d'hématies ».

Osmose On met en évidence l'osmose par le passage de molécules ou d'ions à travers une membrane qui sépare deux solutions de composition différente. Il faut que la membrane soit semi-perméable, c'est-à-dire perméable uniquement à l'eau (ou au solvant de façon plus générale) et imperméable aux solutés. Tant que les deux solutions ne contiennent pas le même nombre de particules dissoutes par unité de volume, on observe un déplacement de l'eau (ou du solvant) du compartiment le plus dilué vers le compartiment le plus concentré, qui tend à équilibrer les concentrations [47].

L'analyse chimique des membranes plasmiques ainsi obtenues révèle la composition chimique suivante [48] :

- 40% de lipides ;
- 52% de protéines ;
- 8% de glucides.

Il faut toutefois noter que ces proportions relatives varient selon le type de cellules.

1. Le tétr oxyde d'osmium est une molécule opaque aux électrons qui se fixe sur les régions polaires des molécules lipidiques contenues dans les feuillets, qui possèdent une affinité pour OsO_4 , d'où l'appellation osmiophile.

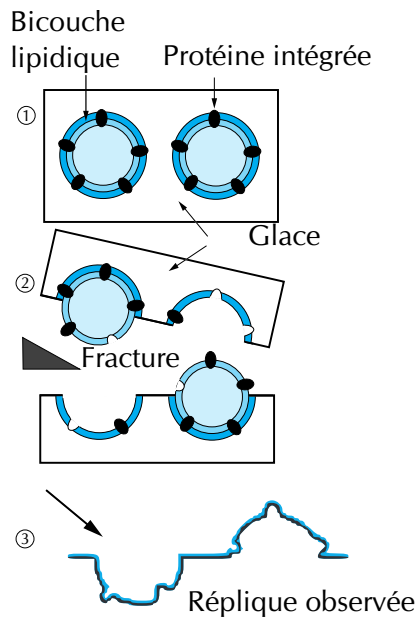


FIGURE 3.1 – Formation d'une réplique d'une membrane plasmique.

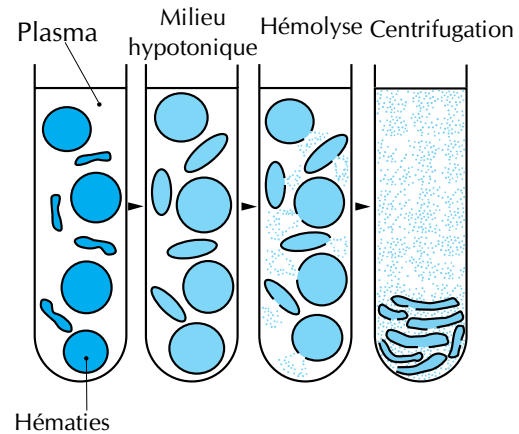


FIGURE 3.2 – Lyse des hématies.

Biologie cellulaire : des molécules aux organismes ©

3.2.2 Les lipides membranaires

Les lipides sont les composants majoritaires de la membrane plasmique et de l'ensemble des membranes biologiques. Ce sont des molécules amphiphiles, ce qui leur confère divers propriétés que nous verrons par la suite. Les membranes cellulaires contiennent trois types de lipides membranaires : les *phospholipides* (essentiellement des *glycérophospholipides*), le *cholestérol* et les *glycolipides*.

A. Glycérophospholipides

Les glycérophospholipides représentent la première classe majeure des lipides de la bicouche de la membrane plasmique. Les principaux phospholipides membranaires sont la *phosphatidylcholine* (PC), la *phosphatidyléthanolamine* (PE), le *phosphatidylinositol* (PI) et la *phosphatidylsérine* (PS).

Le phosphatidylinositol peut être modifié par l'estérification des fonctions hydroxyle de l'inositol par plusieurs phosphates (jusqu'à 4), on trouve le plus souvent le *phosphatidylinositol diphosphate* (PIP_2) [49].

Charges électriques : les PI et les PS sont porteurs d'une charge globale négative.

Distribution : la répartition des PC, PE, PI et PS entre les deux couches lipidiques est asymétrique. La PC est du côté exoplasmique, la PE, PS et le PIP_2 se trouvent du côté protoplasmique, d'où la notion d'*asymétrie biochimique* de la membrane.

Phosphatidylsérine : son passage du feuillet interne au feuillet externe caractérise les cellules apoptotiques, c'est l'un des déterminants de leur identification et de leur suppression par les macrophages.

B. Cholestérol

C'est une molécule lipidique appartenant à la famille des stérols. Il est présent dans les deux feuillets membranaires et possède une morphologie plane, sa partie cyclique est rigide.

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.

C. Glycolipides

Les glycolipides sont pourvus d'un résidu de sucre ou d'un oligosaccharide. Ils sont particulièrement abondants dans les cellules nerveuses. Leur présence est exclusivement du côté exoplasmique de la bicouche lipidique.

Glycosphingolipides Les glycosphingolipides sont prédominants, ce sont des dérivés de la sphingosine. On distingue les **cérébrosides** qui ne contiennent qu'un seul ose et les **gangliosides** qui contiennent une chaîne glucidique formée entre autre par plusieurs résidus d'acide N-acétyl-neuraminique (NANA) ou acide sialique.

Glycosyl-phosphatidylinositols (GPI) Les GPI de la membrane plasmique permettent l'ancrage des glycoprotéines au feuillet externe et *uniquement au feuillet externe*.

3.2.3 Propriétés des lipides membranaires

Auto-organisation : le caractère amphiphile des phospholipides leur confère la possibilité de former spontanément des doubles couches en milieu aqueux (propriété d'auto-assemblage) qui se refermeront pour former des micelles ou des liposomes (propriété d'auto-fermeture) (**figure 3.3**).

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

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

Fluidité : les membranes ne sont pas rigides. La maintenance de 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. La cellule s'adapte aux variations de température en modifiant la composition lipidique de ses membranes.

Rôle du cholestérol : le cholestérol, grâce à son cycle stéroïdien, rend la membrane moins fluide et augmente sa stabilité.

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. Ces déplacements latéraux sont très rapides.

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 **flippases**.

Imperméabilité de la bicouche lipidique : les membranes ont une très faible perméabilité aux ions et à la plupart des molécules polaires. L'eau les traverse aisément.

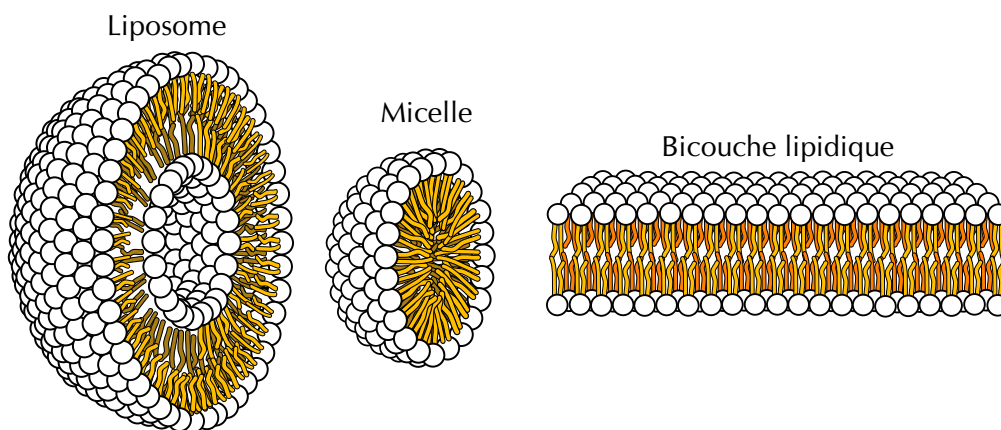


FIGURE 3.3 – L'auto-organisation des lipides en milieu aqueux.
Wikipédia, domaine public.

3.2.4 Les protéines membranaires

Le terme protéines membranaires englobe la totalité des protéines qui entrent dans la constitution de la membrane plasmique. Elles assurent la plupart des fonctions de la membrane et confèrent, à chacun des types cellulaires, des propriétés fonctionnelles caractéristiques, ce qui implique que la quantité et la nature de ces protéines sont extrêmement variables (**figure 3.4**) [50].

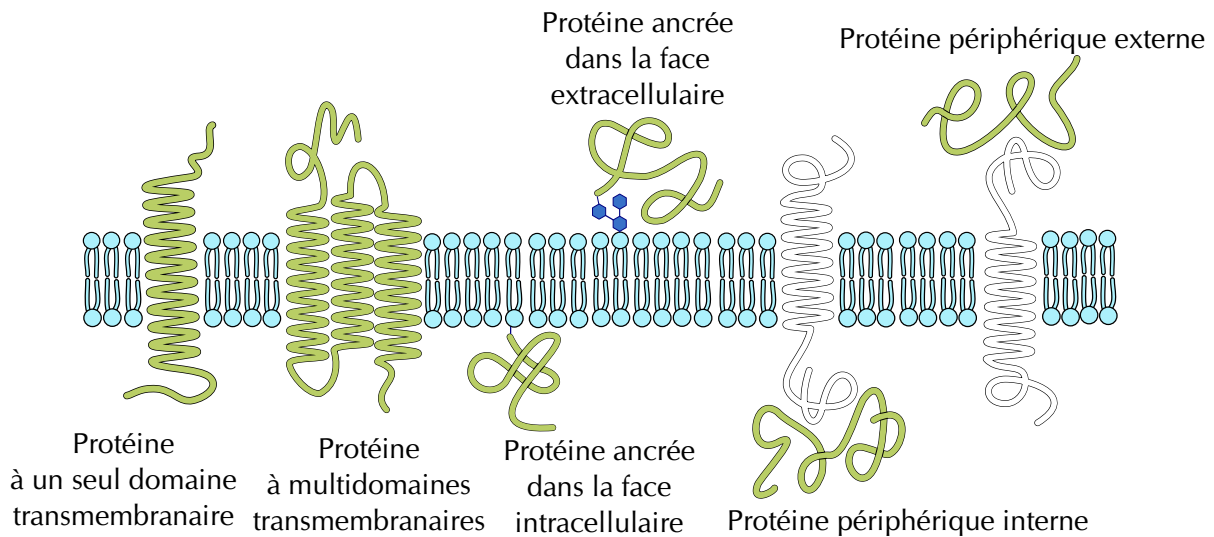


FIGURE 3.4 – Différents types de protéines membranaires.
Adaptée depuis Molecular Biology of the Cell ©

A. Les protéines intégrées

a. Protéines transmembranaires Les 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 composés de chaînes polypeptidique en hélice α . Généralement l'extrémité N-terminale est du côté extracellulaire et l'extrémité C-terminale du côté intracellulaire.

Protéines à un seul domaine transmembranaire Ces protéines ne traversent la bicouche lipidique qu'une seule fois. La **glycophorine A** appartient à cette catégorie. C'est la principale protéine de la membrane plasmique des érythrocytes et elle est spécifique à ces cellules.

Protéines à multidomaines transmembranaires Ces protéines traversent plusieurs fois la bicouche lipidique.

La protéine **bande 3** traverse 14 fois la bicouche lipidique. Il s'agit de la protéine transmembranaire la plus abondante de la membrane du globule rouge.

b. Protéines ancrées à la membrane On en distingue de types, selon la face dans laquelle elle 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.

Kinases : ce sont des enzymes qui catalysent les réactions de phosphorylation par l'ajout d'un ion phosphate à une molécule cible.

Phosphatases : ce sont des enzymes dont la fonction est d'enlever un groupe phosphate d'une molécule simple ou d'une macromolécule biologique, par hydrolyse.

Protéines G trimériques : ce sont des protéines qui permettent le transfert d'informations à l'intérieur de la cellule.

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

CD 45 : ce sont des récepteurs des lymphocytes.

N-CAM 120 : ce sont des protéines d'adhésion qu'on trouve au niveau des neurones.

B. Les protéines périphériques

Les protéines périphériques sont hydrophiles et ne pénètrent pas dans l'intérieur hydrophobe de la bicouche lipidique. Elles sont liées par des forces ioniques, soit aux extrémités hydrophiles des phospholipides, soit aux extrémités hydrophiles des protéines transmembranaires.

Elles peuvent se situer soit sur la face cytosolique soit sur la face extracellulaire.

Protéines périphériques situées sur la face cytosolique : spectrine, ankyrine.

Protéines périphériques situées sur la face extracellulaire : fibronectine, laminine.

3.2.5 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.

Glycosylation des protéines membranaires : la plupart des protéines membranaires qui entrent dans la constitution de la membrane plasmique sont des glycoprotéines.

3.2.6 Fonctions des protéines membranaires

Les protéines membranaires interviennent en fonction de leur nature dans divers processus, parmi eux :

- le transport transmembranaire de divers substances ;
- la réception d'informations ;
- la reconnaissance cellulaire ;
- l'adhérence entre cellules ou sur un support conjonctif.

3.2.7 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 implantés 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 (NANA) qui est très riche en charges négatives.

3.2.8 Fonctions des glucides du glycocalix

Les glucides du glycocalix ont plusieurs fonctions :

- antigènes de surface pour la reconnaissance du soi (système CMH, ABO) ;
- protection des muqueuses contre l'acidité et l'action des enzymes digestives ;
- l'acide sialique contribue par ses charges négatives à la fixation de Co-facteurs enzymatiques (Ca^{2+} et Mg^{2+} par exemple) et participe ainsi aux fonctions des enzymes membranaires.

3.2.9 Les microdomaines lipidiques

Les microdomaines lipidiques, rafts (radeaux) ou DIG (Detergent Insoluble Glycolipid enrich domain) sont des zones spécialisées de la membrane plasmique des eucaryotes, disposées aléatoirement, plus épaisses que les autres parties de la bicouche, particulièrement riches en cholestérol, sphingolipides, acides gras insaturés à longues chaînes aliphatiques et en protéines membranaires de signalisation (récepteurs de facteurs de croissance, de l'acétylcholine, de l'insuline ...).

La face cytosolique de ces microdomaines lipidiques est revêtue par une protéine, la **cavéoline** dont les extrémités N- et C-terminales plongent dans le cytosol.

Rôle des microdomaines Les microdomaines lipidiques servent de plates-formes pour la fixation et l'accumulation de protéines membranaires qui ne fonctionnent que sous forme regroupée.

3.3 Architecture moléculaire de la membrane plasmique

Modèle de la mosaïque fluide L'étude de l'organisation moléculaire de la membrane plasmique, par les techniques de cryofracture associée aux études en MET et à l'analyse biochimique, montre que la membrane plasmique est un assemblage de molécules protéiques (souvent glycosylées) et de molécules lipidiques organisées en une double couche. Cet édifice n'est stabilisé que par des liaisons faibles (aussi bien entre les lipides eux-mêmes qu'entre les lipides et les protéines), de sorte qu'il manifeste des propriétés caractéristiques de mobilité et de fluidité [51].

Ce modèle, qualifié de *mosaïque fluide* est celui qui est actuellement admis. Il a été proposé par SINGER et NICOLSON en 1972.

Membrane unitaire Toutes les membranes cellulaires (les membranes qui limitent le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, les endosomes, les lysosomes, etc.) ont la même organisation moléculaire à l'exception du cell coat. C'est pour cette raison qu'on parle de *membrane unitaire* (membrane de base) ou de *cytomembrane* (membrane biologique) [51].

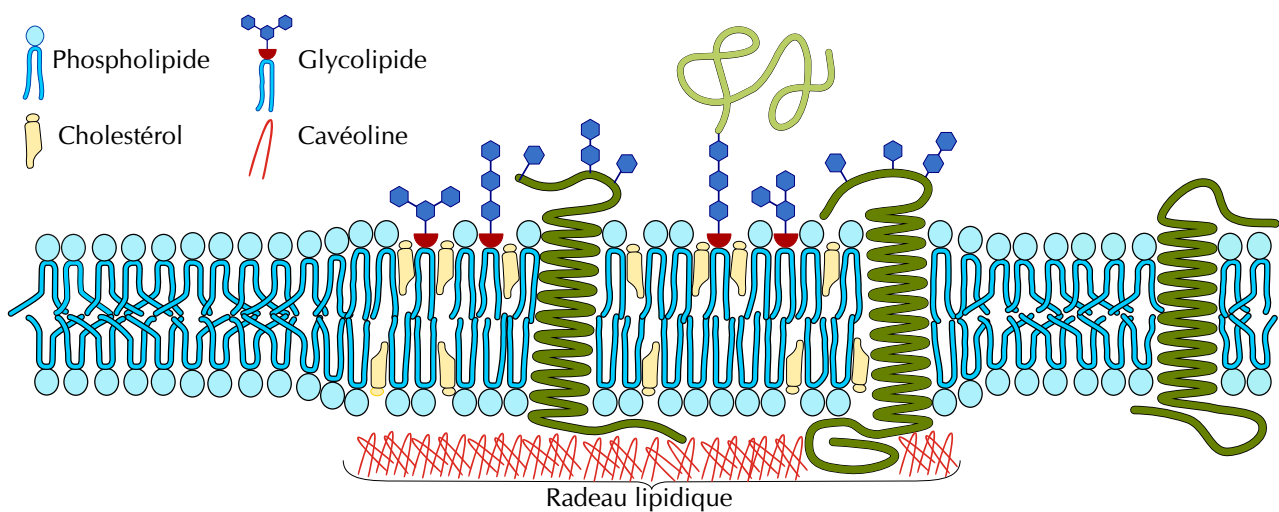


FIGURE 3.5 – Architecture moléculaire de la membrane plasmique.
Adaptée depuis Wikipédia, Creative Commons BY-SA 2.5

Dans ce chapitre

- 4.1 Les différenciations apicales
- 4.2 Les différenciations basales
- 4.3 Les différenciations latéro-basales

Les spécialisations de la membrane plasmique

Les spécialisations de la membrane plasmique sont des différenciations de cette membrane et du cytoplasme superficiel, qui permettent à la cellule d'assurer une ou plusieurs fonctions précises.

4.1 Les différenciations apicales

4.1.1 Les microvillosités

Structure Les microvillosités sont des expansions cytoplasmiques cylindriques d'environ $1 \mu m$ de longueur et de $0.1 \mu m$ de diamètre (figure 4.3). Elles sont recouvertes de glycocalyx et sont soutenues grâce à des faisceaux de *microfilaments d'actine* et des protéines du cytosquelette, dont la *villine* et la *fimbrine* qui réunissent les microfilaments en faisceaux et la *myosine I* qui attache ces faisceaux à la face interne de la membrane de la villosité [52].

Localisation Les microvillosités recouvrent toute la surface libre du pôle apical de certaines cellules épithéliales et constituent notamment le plateau strié des entérocytes et la bordure en brosse des tubes contournés du rein.

Rôle Les microvillosités augmentent considérablement la surface de contact de la membrane plasmique avec les nutriments et accroissent donc leur absorption.

A. Plateau strié

Des microvillosités recouvrent toute la surface libre de pôle apical des *entérocytes* (figure 4.1). Leur identité de forme, de longueur, de diamètre, d'espacement et de direction font qu'au microscope optique elles apparaissent sous forme de *plateaux striés*.

B. Bordure en brosse

Au microscope optique, le pôle apical des cellules des tubes contournés du rein apparaît revêtu d'une *bordure en brosse* (figure 4.2). Les microvillosités des bordures en brosse diffèrent des précédentes par leurs plus grande longueur et leur espacement plus irrégulier.

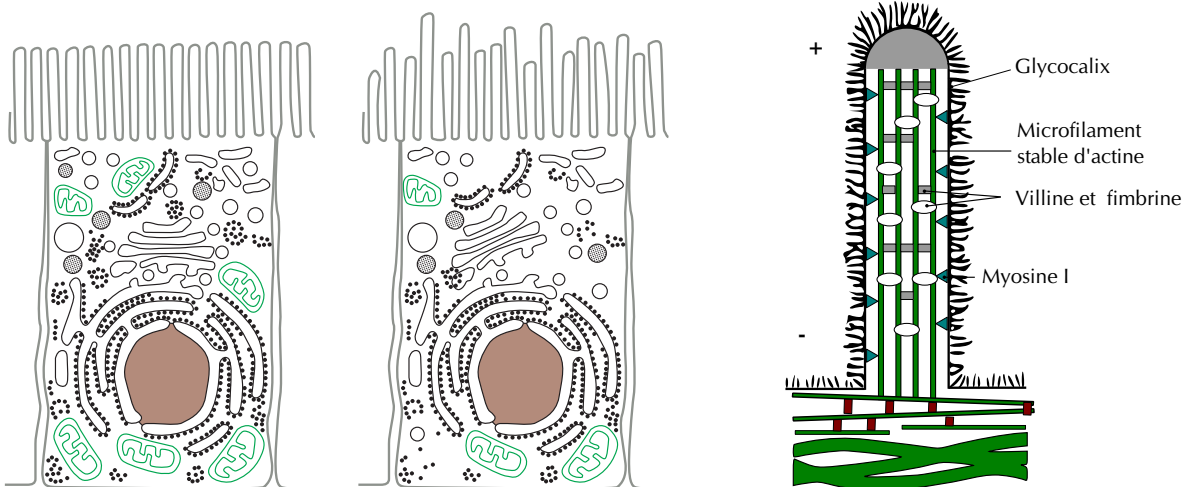



FIGURE 4.1 – Plateau strié. FIGURE 4.2 – Bordure en brosse. FIGURE 4.3 – Ultrastructure d'une microvillosité.
Molecular Biology of the Cell © Molecular Biology of the Cell © Domaine public

4.1.2 Les stéréocils

Structure Les stéréocils sont de longues expansions cytoplasmique immobiles, ressemblant par leur forme à de grandes microvillosités ramifiées et agglutinées par touffes. Ils sont recouverts de glycocalyx et leur axe est occupé par des faisceaux de microfilaments d'actine associés divers protéines [53] [54] [55].

Localisation On retrouve les stéréocils principalement au niveau des cellules de l'épididyme et des cellules auditives de l'oreille interne.

Rôle Les stéréocils de l'épididyme augmentent la surface de contact du tissu, celles de l'oreille interne permettent de transformer les vibrations sonores en potentiel d'action. 

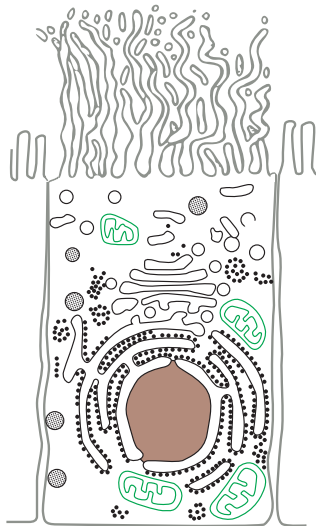


FIGURE 4.4 – Stéréocils.
Adaptée depuis Molecular Biology of the Cell ©

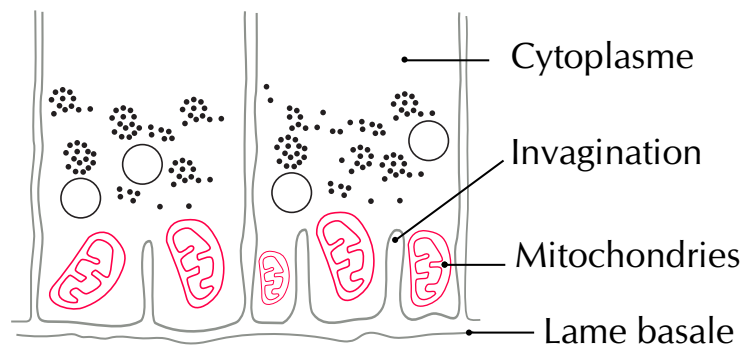


FIGURE 4.5 – Invaginations de la membrane plasmique basale.
Adaptée depuis Molecular Biology of the Cell ©

4.1.3 Les cils

Structure Les cils sont des expansions cytoplasmiques mobiles, occupées par un assemblage complexe de microtubules (structures du cytosquelette).

Localisation Les cils sont présents sur de nombreuses cellules, notamment les cellules épithéliales de la trachée et de l'oviducte.

Rôle Les cils permettent le déplacement des structures externes : dans l'oviducte ils jouent un rôle important dans le transport de l'ovule fécondé vers la cavité utérine, dans l'épithélium trachéen ils font remonter du mucus dans la gorge de manière à débarrasser la trachée des impuretés, etc.

4.2 Les différenciations basales

Le pôle basal d'une cellule épithéliale repose sur une lame basale continue. La membrane plasmique présente à ce niveau deux types de différenciations : des invaginations (ou replis) particulièrement développés et les hémidesmosomes qui attachent la cellule à la lame basale.

4.2.1 Les invaginations de la membrane plasmique basale

Dans la majorité des épithéliums, la membrane plasmique du pôle basal de la cellule est linéaire (parallèle à la lame basale) et non spécialisée.

Toutefois, les cellules épithéliales impliquées dans les échanges hydrominéaux actifs (tube contourné du rein, par exemple) présentent du côté basal des invaginations profondes qui divisent le cytoplasme en compartiments où sont logées les récepteurs des hormones contrôlant ces échanges et de nombreuses mitochondries qui fournissent l'énergie nécessaire (figure 4.5).

4.2.2 Hémidesmosomes

Les hémidesmosomes seront étudiés avec les autres jonctions cellulaires au chapitre 7.

4.3 Les différenciations latéro-basales

4.3.1 Les interdigitations

Dans les épithéliums, les cellules maintiennent des rapports par le biais des interdigitations latérales qui sont des interpénétrations des membranes plasmiques des cellules voisines (**figure 4.6**). Les interdigitations augmentent la surface de contact entre les deux cellules ainsi que leur adhésion. Ils disparaissent lors de la modification de la taille ou de la forme des cellules concernées.

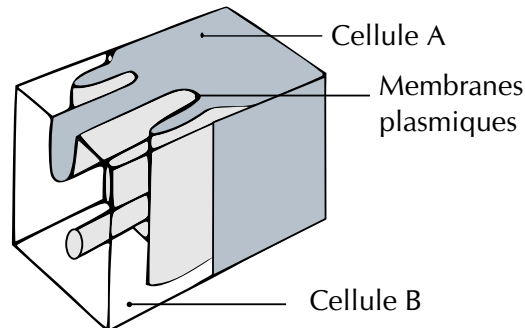


FIGURE 4.6 – Interdigitations entre deux cellules voisines A et B.
Biologie cellulaire, Marc MAILLET ©

4.3.2 Les jonctions cellulaires

Voir chapitre 7.

Dans ce chapitre

- 5.1 Constituants de la matrice extracellulaire
- 5.2 Lamé basale
- 5.3 Fonctions des matrices extracellulaires

La matrice extracellulaire

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. Cette structure possède une composition chimique et une organisation complexes. Outre le rôle de consolidation et de cohésion, la matrice extracellulaire permet de nombreuses interactions entre les cellules.

Nous n'étudierons dans ce chapitre que les matrices extracellulaires des cellules eucaryotes animales.

5.1 Constituants de la matrice extracellulaire

5.1.1 Glycoprotéines

A. Collagènes

Structure 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*.

Au moment de son excrétion, des peptidases transforment les molécules de procollagène en tropocollagène. Les fibres de collagène sont formées dans l'espace extracellulaire par l'assemblage de ces molécules de tropocollagène.

Type de collagènes Il existe plus de 15 types de collagènes connus. Ils sont numérotés en chiffres romains à partir de I. Nous n'envisagerons ici que les collagènes I, II, III et IV. Le collagène I est le plus abondant. Les collagènes I, II, et III sont surtout présents dans les tissus conjonctifs. Le collagène IV est spécifique à la lame basale.

B. Fibronectine

Structure La fibronectine est une grosse glycoprotéine synthétisée constituée par un dimère de deux chaînes peptidiques, liées l'une à l'autre à leur extrémité C-terminale par des ponts disulfures (**figure 5.1**).

Rôle La fibronectine assure l'adhérence des cellules avec la matrice extracellulaire, elle peut se lier à de nombreuses molécules dont les intégrines, le collagène, protéoglycanes, etc.



FIGURE 5.1 – Molécule de fibronectine.

C. Laminine

Structure La laminine est une glycoprotéine trimérique 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 5.2**).

Rôle La laminine sert d'intermédiaire entre la cellule et la lame basale en se liant avec le collagène IV et les intégrines.

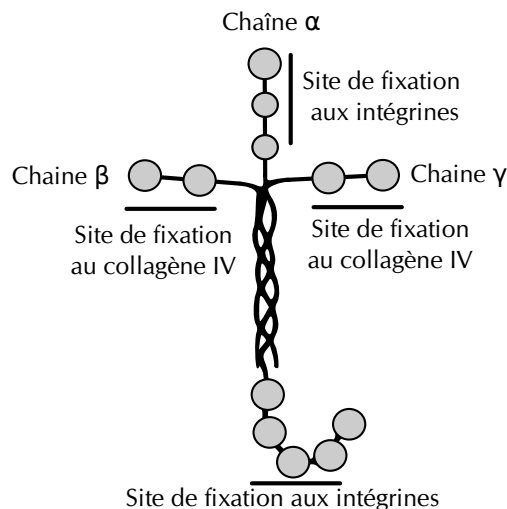


FIGURE 5.2 – Molécule de laminine.
Biologie cellulaire, Marc MAILLET ©

5.1.2 Polysaccharides

A. Glycosaminoglycane

Les glycosaminoglycane (GAG) sont de longs polymères non ramifiés d'unités disaccharidiques. Il en existe 5 types majeurs :

1. le chondroïtine sulfate ;
2. le dermatane sulfate ;
3. le kératane sulfate ;
4. l'héparane sulfate ;
5. l'acide hyaluronique.

Seul l'acide hyaluronique (**figure 5.3**) existe à l'état libre dans la matrice ; les autres GAG sont toujours liés de façon covalente à des protéines (protéoglycane).

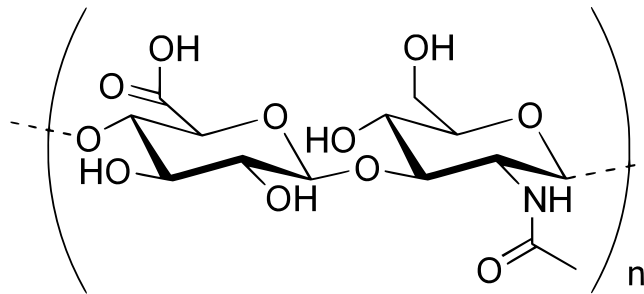


FIGURE 5.3 – Molécule d'acide hyaluronique.
Wikipédia, domaine public

B. Protéoglycane (PG)

Les protéoglycane sont formés d'une molécule protéique axiale sur laquelle sont liées de longues chaînes de glycosaminoglycane.

Des agrégats importants de protéoglycane peuvent se former quand des molécules individuelles se fixent sur une chaîne d'acide hyaluronique (**figure 5.4**).

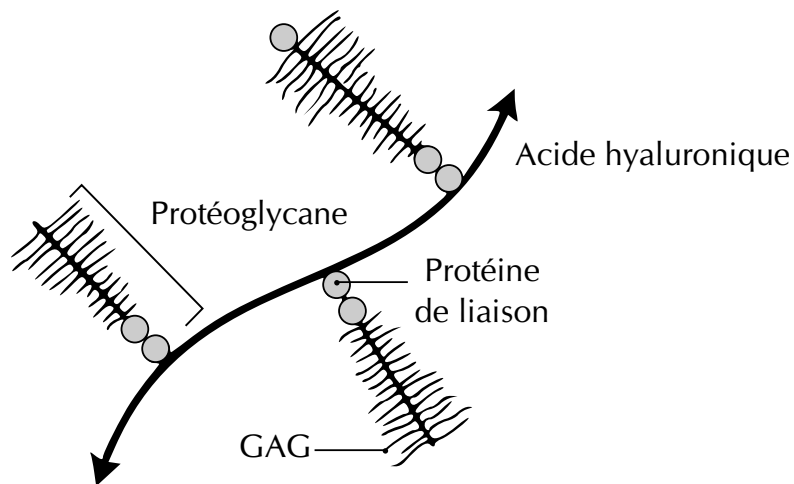


FIGURE 5.4 – Schéma d'un agrégat de protéoglycane.
ilo.org ©

5.2 lame basale

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.

5.2.1 Principaux composants des lames basales

La lame basale est constituée d'un assemblage de protéines et glycoprotéines extracellulaires, les plus importants sont :

- le collagène IV ;
- la laminine ;
- la fibronectine ;
- les protéoglycanes.

5.2.2 Fonctions des lames basales

Les lames basales possèdent des rôles importants :

- rôle de support (ancrage des cellules dans le tissu conjonctif) ;
- rôle de filtration moléculaire (comme dans les capillaires) ;
- rôle important dans la détermination de la polarité et le maintien de la différenciation cellulaires (tout particulièrement au niveau des cellules épithéliales) ;
- rôle dans le contrôle de la prolifération cellulaire ;
- rôle dans la réparation tissulaire, où elle sert de support à la migration cellulaire.

5.3 Fonctions des matrices extracellulaires

Les matrices extracellulaires participent à de nombreuses fonctions physiologiques, par elles [56] :

Remplissage des espaces intercellulaires : chez les animaux, le premier rôle des matrices extracellulaires est celui de remplissage des espaces intercellulaires. Les tissus conjonctifs lâches contiennent un enchevêtrement complexe de collagène et de protéines fibreuses baignant dans un gel très hydraté d'acide hyaluronique et de protéoglycanes (substance fondamentale). Ce gel permet la diffusion aisée de l'eau, des ions, des nutriments, des hormones, des facteurs de croissance et autres moyens de signalisation intercellulaire.

Maintien d'un état différencié : il est démontré que certaines macromolécules des matrices extracellulaires influent sur la forme et la polarité des cellules, ainsi que sur leurs capacités de synthèse et leur différenciation. Si des chondrocytes sont cultivés *in vitro*, sur un milieu structuré (une matrice artificielle formée d'un gel), ils conservent une forme typique arrondie et continuent à sécréter une matrice extracellulaire spécifique, voisine par sa composition chimique (présence de collagène de type II) de celle trouvée dans le cartilage d'origine. Cependant, si on cultive les cellules dans un milieu liquide banal, on constate qu'elles se modifient progressivement. Elles cessent de fabriquer du collagène de type II et se mettent à synthétiser du collagène de type I (codé par un autre gène), à la manière des fibroblastes.

La matrice extracellulaire influence directement, au moyen d'une boucle de rétroaction encore mal connue, le maintien d'un état différencié.

Contrôle de la prolifération cellulaire : on constate que de nombreuses cellules animales cultivées *in vitro* manifestent des propriétés de prolifération très différentes selon leurs conditions de culture. Lorsqu'elles sont maintenues à l'état isolé et en suspension, elles ne se divisent pratiquement jamais. Si, au contraire, on leur laisse la possibilité d'adhérer sur un support, elles peuvent entrer en division, c'est ce que l'on appelle la *dépendance d'ancrage*. De même, on constate que presque toutes les cellules cancéreuses, qui sont caractérisées par une prolifération anarchique et continue, ont perdu cette dépendance vis-à-vis du substrat pour leur division.

Migration cellulaire : l'acide hyaluronique et les protéines de la matrice extracellulaire décrites plus haut interviennent de manière capitale dans les phénomènes de migration cellulaire ; si le premier composé est présent dans tous les tissus et fluides des animaux adultes, il est particulièrement abondant dans les tissus embryonnaires. On a montré que leur matrice jouait un rôle dans ces processus au cours du développement précoce.

Dans ce chapitre

- 6.1 Les cadhérines
- 6.2 Les sélectines
- 6.3 Les immunoglobines Ig-CAM
- 6.4 Les intégrines

Les molécules d'adhérence cellulaire

Un grand nombre de molécules joue un rôle essentiel dans l'assemblage des cellules en tissu et leur organisation en organe. 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 se divisent en 4 familles principales : les cadhérines, les intégrines, les immunoglobulines et les intégrines. Elles 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 d'une cellule voisine (liaison homophile) ou avec une CAM appartenant à une classe différente (liaison hétérophile) [57].

6.1 Les cadhérines

6.1.1 Structure

Les cadhérines sont des glycoprotéines transmembranaires. Elles possèdent une spécificité de *liaison homophile calcuim-dépendante* (le mot cadhérine vient de calcuim adhérite) 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 [58].

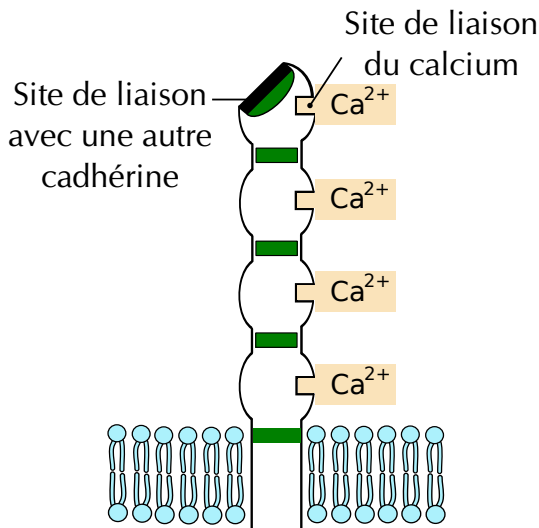


FIGURE 6.1 – Structure de la cadhérine.
Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique ©

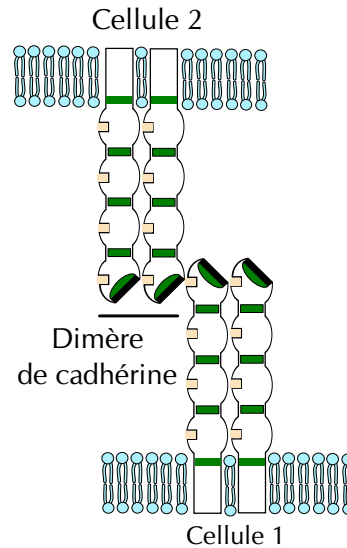


FIGURE 6.2 – Bordure en brosse.
Adaptée depuis Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique ©

6.1.2 Classification

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

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.

6.1.3 Fonctions des cadhérines

A. Formation de jonctions

Les cadhérines sont principalement impliquées dans la formation de jonctions stables entre les cellules, jonctions adhérente et desmosome.

B. Inhibition de contact

L'inhibition de contact est un mécanisme de contrôle de la division cellulaire. Des cellules normales en culture se multiplient jusqu'à ce que toute la surface de la culture soit entièrement recouverte par une monocouche cellulaire. À ce moment, les cellules cessent de se diviser et se différencient, si elles sont cultivées sur un milieu adapté. L'inhibition de la cadhérine bloque l'inhibition de contact et les cellules prolifèrent sans interruption sans autre limite que l'épuisement du milieu.

c. Rôle dans la morphogénèse

La morphogénèse est l'ensemble des lois qui déterminent la forme, la structure des tissus, des organes et des organismes.

Lors de la différenciation des tissus au cours de la morphogénèse, la quantité et parfois la nature des cadhérines situées à la surface des cellules change, permettant aux cellules de migrer puis de se réorganiser. Une fois cette réorganisation finie, les cadhérines sont de nouveau exprimées.

6.2 Les sélectines

6.2.1 Structure

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, et 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).

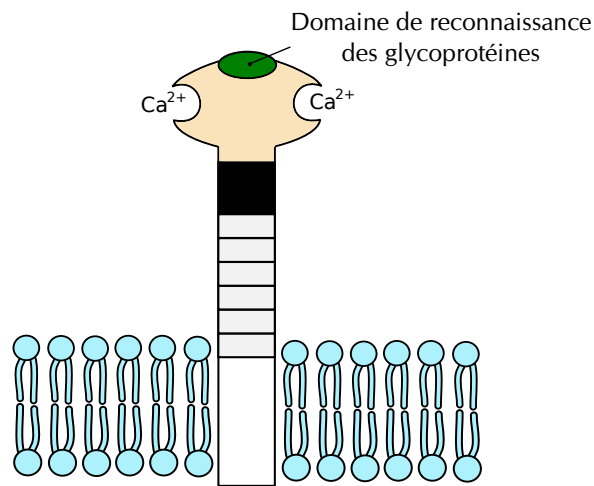


FIGURE 6.3 – Structure d'une sélectine.
Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique ©

6.2.2 Classification

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.

6.2.3 Fonctions de sélectines

Les sélectines reconnaissent spécifiquement des parties glucidiques et oligosaccharidiques de glycoprotéines et des glycolipide présentes sur les autres cellules et interviennent dans de nombreux phénomènes.

A. Diapédèse

Lors d'une réaction inflammatoire les sélectines ralentissent la vitesse de déplacement des leucocytes, afin de permettre la diapédèse.

Une inflammation est une réaction physiologique et dynamique de défense immunitaire du corps à une agression : infection, brûlure, allergie...

Étapes de la réaction inflammatoire Les principales étapes d'une réaction inflammatoire sont :

Lésion et infection : c'est ce qui initie la réaction inflammatoire.

Chimiotactisme : c'est le processus d'attraction qui oriente les globules blancs vers le site de l'infection.

Vasodilatation : La vasodilatation locale a pour but d'augmenter la circulation du sang afin d'évacuer les cellules mortes et les toxines (détersion), et d'apporter les éléments nécessaires à la guérison, notamment des globules blancs (lymphocytes). Ce gonflement local des vaisseaux sanguins provoque la rougeur et la sensation de chaleur, ainsi qu'un épanchement de l'eau du plasma sanguin par osmose vers les tissus, ce qui provoque l'œdème. L'œdème comprime les nerfs aux alentours et provoque la sensation douloureuse et les démangeaisons.

Roulement des leucocytes sur la paroi interne de l'endothélium : ce roulement est dû à :

1. L'activation des cellules endothéliales et des leucocytes par les chémokines libérées et l'expression de la **P-sélectine** par l'endothélium.
2. Le leucocyte reconnaît la P-sélectine par grâce à un motif glucidique et exprime la **L-sélectine**.
3. La cellule épithéliale reconnaît la L-sélectine du leucocyte grâce à un motif glucidique et exprime la **E-sélectine**.
4. Le leucocyte reconnaît la E-sélectine grâce à un motif glucidique.

Cette expression alternée des sélectines spécifiques des leucocytes et des cellules endothéliales induit le roulement du leucocyte.

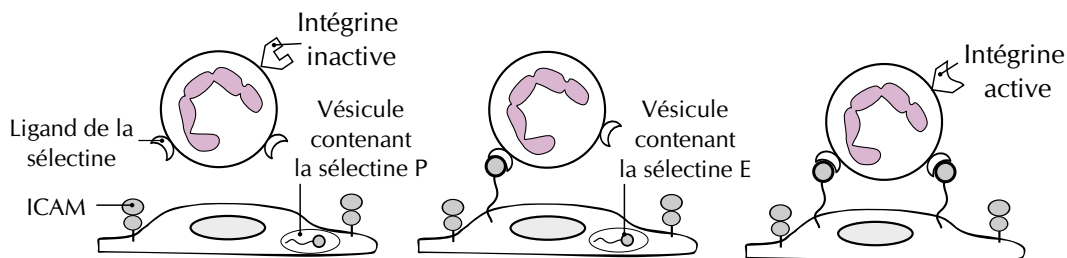


FIGURE 6.4 – Adhésion et roulement du leucocyte.

Fixation ferme du leucocyte sur les cellules endothéliales : l'activation des intégrines du leucocyte et leur interaction avec les I-CAM des cellules endothéliales permet la fixation ferme du leucocyte entre les deux cellules et son aplatissement.

Diapédèse : la diapédèse est le 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.

Phagocytose : c'est le procédé par lequel les microbes sont détruits par les phagocytes.

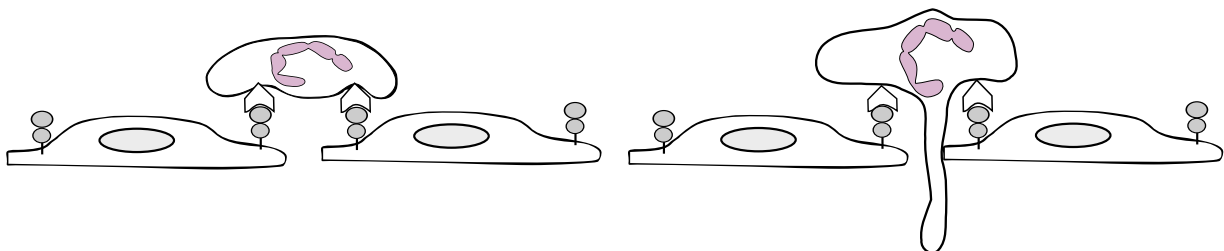


FIGURE 6.5 – Fixation du leucocyte puis diapédèse.

B. Inhibition de contact

Les sélectines interviennent également dans le phénomène d'inhibition de contact.

6.3 Les immunoglobulines Ig-CAM

6.3.1 Structure

Les Ig-CAM sont des immunoglobulines 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*, *homophiles* ou *hétérophiles*.

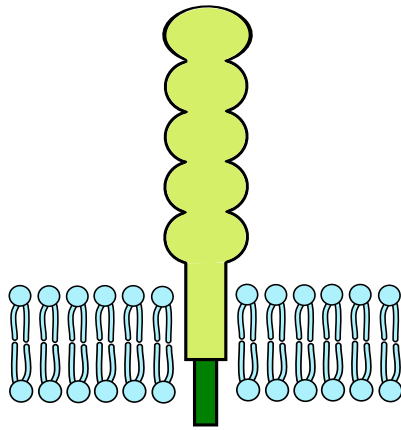


FIGURE 6.6 – Structure moléculaire de N-CAM.
Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique ©

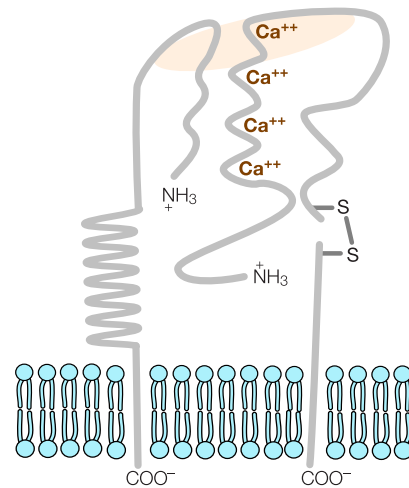


FIGURE 6.7 – Structure d'une intégrine.
Wikipédia.

6.3.2 Classification

Cette famille est particulièrement nombreuse, on compte parmi elle :

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

I-CAM : qui sont présentes au niveau des cellules endothéliales ;

L-CAM : qui sont présentes au niveau des cellules hépatiques.

6.3.3 Fonctions des Ig-CAM

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

6.4 Les intégrines

6.4.1 Structure

Les intégrines sont des glycoprotéines transmembranaires composées de deux chaînes peptidiques différentes α et β . Elles assurent des interactions *hétérotypiques* et *hétérophiles* et sont *calcium-dépendantes*.

La chaîne α présente des liaisons avec les ions Ca^{2+} alors que la chaîne β est reliée dans la portion intracellulaire aux protéines du cytosquelette (notamment l'actine, cytokératine) par l'intermédiaire d'autres protéines (talline, vinculine, α actinine). Leurs domaines extracellulaires se lient à de nombreux ligands de la matrice extracellulaire (laminine, fibronectine, etc.).

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.

6.4.2 Fonctions des intégrines

A. Attachement de la cellule à la matrice extracellulaire

Les intégrines sont les responsables majeurs de l'attachement des cellules à la matrice extracellulaire.

B. Coagulation

La coagulation est le résultat de l'agrégation des plaquettes sanguines en présence de fibrine. L'agrégation des plaquettes se produit après l'activation des intégrines IIb/IIIa. L'activation augmente leur affinité pour la fibrinogène. La fibrine ne préexiste pas dans le sang, elle n'apparaît qu'au moment de la coagulation, elle est libérée à partir de la fibrogène par clivage enzymatique.

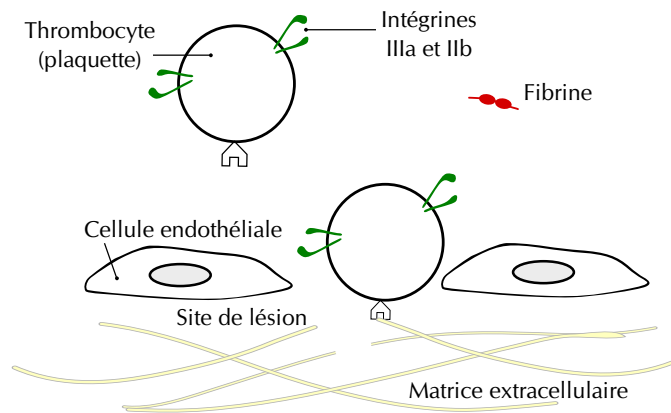


FIGURE 6.8 – Les plaquettes s'attachent à la lame basale grâce à des intégrines.
Domaine public.

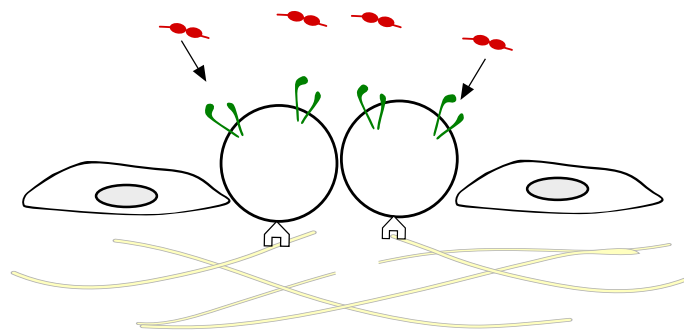


FIGURE 6.9 – Une fois les plaquettes attachées à la lame basale, les molécules de fibrines se fixent sur les intégrines IIb/IIIa.

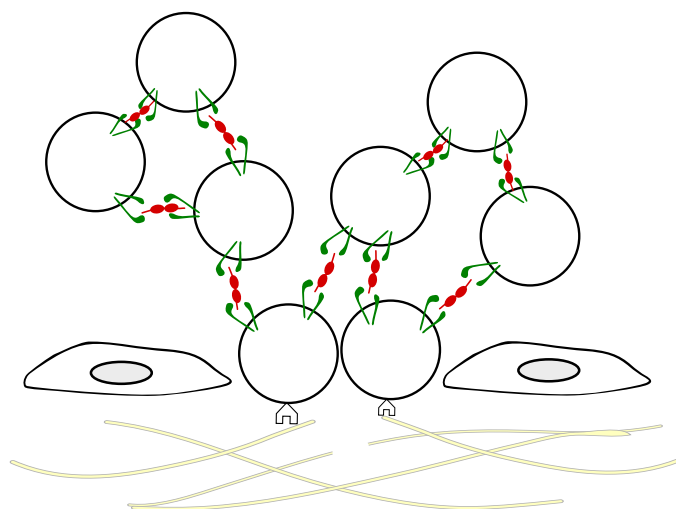


FIGURE 6.10 – D'autres plaquettes se fixent sur les molécules de fibrine et forment ainsi un caillot.

Dans ce chapitre

- 7.1 Type des jonctions cellulaires
- 7.2 Forme des jonctions cellulaires
- 7.3 Les jonctions serrées (zonula occludens)
- 7.4 Les jonctions d'ancrage
- 7.5 Les jonctions communicantes
- 7.6 Les hémidesmosomes

Les jonctions cellulaires

Les jonctions intercellulaires sont des régions spécialisées de la membrane plasmique qui, outre l'adhérence, assurent en fonction de leur structure soit l'étanchéité de l'espace intercellulaire ou l'ancrage des cellules et ce grâce à un complexe protéique.

7.1 Type des jonctions cellulaires

Les jonctions cellulaires se classent selon l'espace intercellulaire en :

Jonctions occlusives (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 ou avec la lame basale, 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.

7.2 Forme des jonctions cellulaires

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

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

La macula : c'est une jonction circulaire.

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

7.3 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 (**figure 7.1**).

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

Description au MET : au MET la jonction apparaît comme une structure en 5 feuillettes (les 2 feuillettes externes de chacune des membranes forment un seul feuillet médian).

Composition moléculaire : les protéines qui constituent les brins de scellement sont les **claudines** et **occludines**.

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

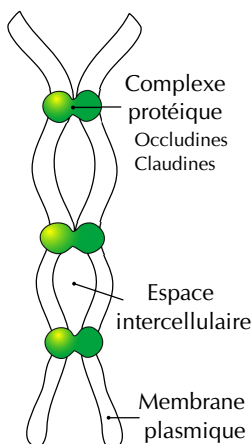


FIGURE 7.1 – Structure d'une jonction serrée.
Domaine public.

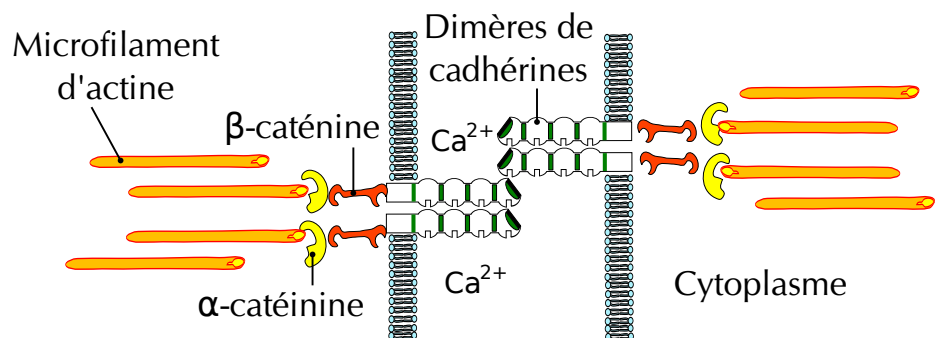


FIGURE 7.2 – Structure d'un desmosome de ceinture.
Domaine public.

7.4 Les jonctions d'ancrage

7.4.1 Les desmosomes de ceinture (zonula adherens)

Les desmosomes de ceinture (*jonctions adhérentes*, *ceinture d'adhérence* ou *zonula adherens*) sont localisés en dessous de la jonction serrée. Ils font complètement le tour de la partie apicale de la cellule, assurant ainsi une excellente adhérence entre les cellules.

Description au MET : au MET le desmosome de ceinture apparaît comme une structure en 7 feuillets (les 3 feuillets de chacune des membranes et l'espace intercellulaire).

Composition moléculaire : l'espace intercellulaire contient des molécules de cadhérine et du calcium. Le domaine cytosolique des cadhérines est lié aux β et γ -caténines, elles-mêmes fixées à l' α -caténine qui vient se fixer aux filaments d'actine du cytosquelette (**figure 7.2**) (**figure 7.2**).

Rôles 

7.4.2 Les desmosomes ponctuels (macula adherens)

Les desmosomes du type macula adherens, se retrouvent presque exclusivement dans les cellules épithéliales, en dessous de la jonction serrée et des desmosomes de ceinture, où ils se disposent à des intervalles plus ou moins réguliers.

Description au MET : au MET le desmosome ponctuel apparaît comme une structure en 7 feuillets.

Composition moléculaire : ces jonctions sont caractérisées par des plaques cytoplasmiques denses de protéines dans lesquelles s'insèrent les filaments intermédiaires (également appelés filaments de cytot kératine ou tonofilaments) des deux cellules adjacentes. L'espace intercellulaire est divisé en deux par une ligne médiane dense, il contient des cadhérines (d'un type différent que celui des desmosomes de ceinture). Les cadhérines sont liées aux filaments intermédiaires grâce aux **desmoglobines** et aux **desmoplakines** contenus dans les deux plaques cytoplasmiques (**figure 7.3**).

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.

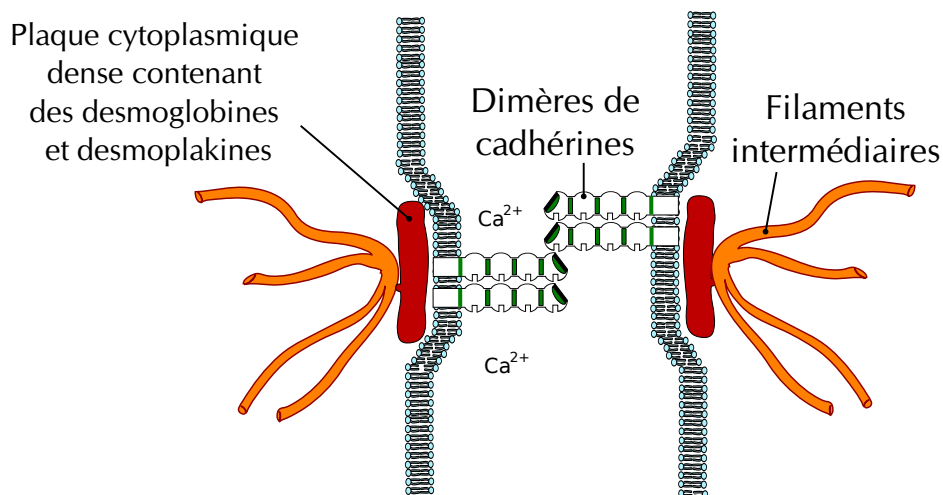


FIGURE 7.3 – Structure d'un desmosome.
Domaine public.

Complexe jonctionnel La succession des trois jonctions précédentes (zonula occludens, zonula adherens, macula adherens) forment ce que l'on appelle un complexe jonctionnel.

7.5 Les jonctions communicantes

Les jonctions communicantes (*jonctions lacunaires* ou *gap junction*) 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. Elles assurent le transfert de molécules informatives.

La fascia est un ensemble de ces jonctions communicantes.

Description au MET : au MET la jonction communicante apparaît comme une structure en 7 feuillets.

Composition moléculaire : les connexons sont constitués par l'association de six molécules de **connexine** (figure 7.4). Chaque connexon s'apparie avec un connexon situé dans la membrane de la cellule voisine formant ainsi un canal qui traverse la bicouche lipidique et permet le passage de l'eau, quelques ions, ATP, AMPc...

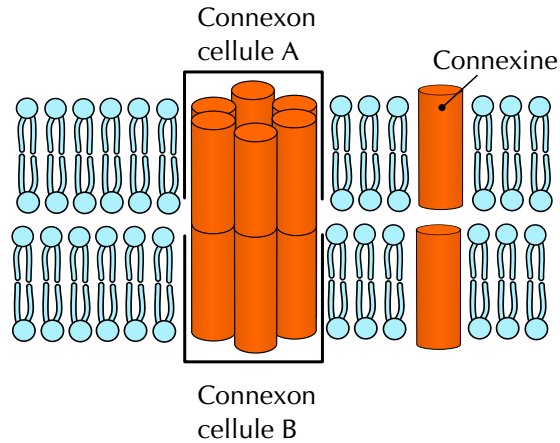


FIGURE 7.4 – Structure d'une jonction communicante.
Domaine public.

7.6 Les hémidesmosomes

Un hémidesmosome est un type de jonction qui unit le pôle basal des cellules épithéliales à la lame basale. Il est formé d'une seule plaque cytoplasmique reliée aux filaments intermédiaires du côté extracellulaire et aux intégrines du côté extracellulaire (figure 7.5).

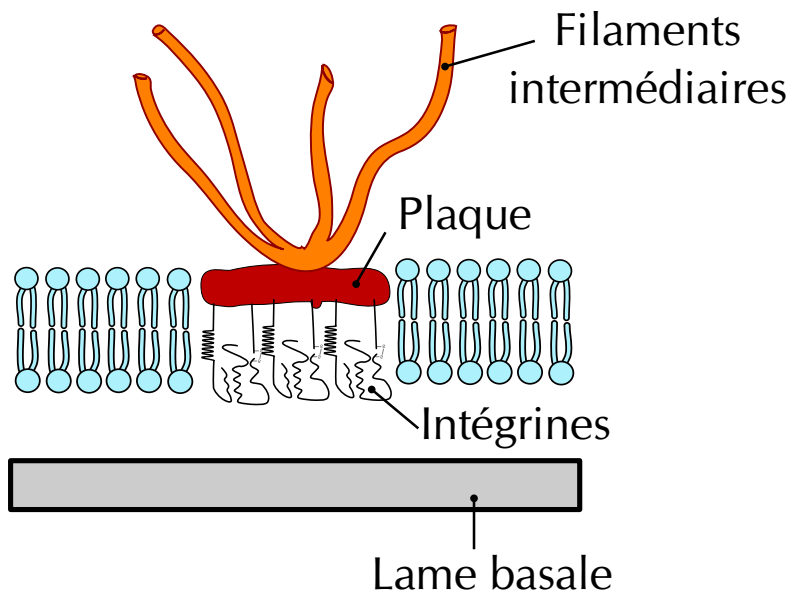


FIGURE 7.5 – Structure d'un hémidesmosome.
Domaine public.

Dans ce chapitre

- 8.1 Les transports perméatifs passifs
- 8.2 Les transports perméatifs actifs

Les transports perméatifs de la membrane plasmique

Le transport membranaires est le passage d'une molécule ou d'un ion à travers une membrane plasmique.

Les transports perméatifs sont des transports transmembranaires qui n'impliquent pas de modifications morphologiques visibles en microscopie électronique de la membrane plasmique. Ils se déroulent à l'échelle moléculaire sans intervention du cytosquelette, sans vésicule de transport et concernent les molécules non polaires de faible poids moléculaire ou des molécules dont le passage dépend de la présence de protéines transmembranaires spécialisées dans le transport spécifique de substances.

Les transports perméatifs regroupent les *transports passifs*, qui dépendent de l'énergie fournie par le gradient de concentration de la substance à transporter, et les *transports actifs* dépendant des pompes qui consomment de l'énergie.

8.1 Les transports perméatifs passifs

En biologie, un transport passif désigne le passage d'un ion ou d'une molécule à travers une membrane sans apport d'énergie d'origine cellulaire. Le transport passif peut se réaliser selon différentes modalités.

8.1.1 La diffusion simple

La diffusion simple est le passage transmembranaire des molécules de la région où elles sont le plus concentrées vers celle où elles sont le moins concentrées, c'est à dire dans le sens du *gradient de concentration*, sans dépense d'énergie d'origine cellulaire et sans l'intervention de protéines de transport.

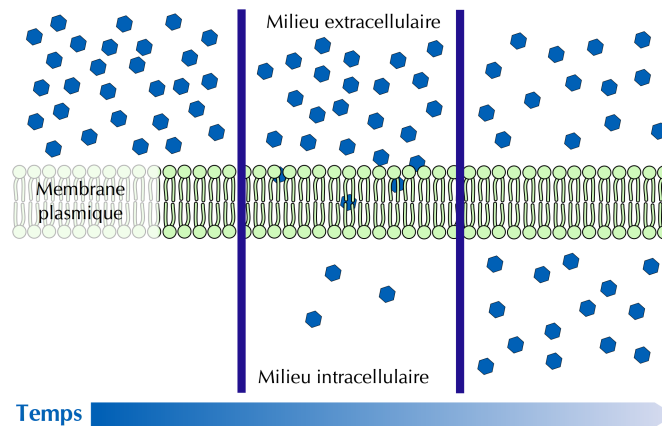


FIGURE 8.1 – Diffusion simple d'une molécule à travers la bichouche lipidique.

Caractéristiques de la diffusion simple Les caractéristiques de ce transport sont :

- un déplacement dans le sens du gradient de concentration de la substance transportée, et donc sans dépense d'énergie d'origine cellulaire.
- une absence de saturation, la vitesse de diffusion dépend uniquement de la différence de concentration (gradient de concentration, ou électrochimique pour des ions) ;
- une absence de spécificité et de régulation ;
- une certaine lenteur : les molécules doivent se dissoudre dans la double couche de phospholipides avant de passer de l'autre côté.

Conditions nécessaires à la diffusion simple

Faible masse et volume moléculaires : seuls les petites molécules de faible masse moléculaire peuvent traverser la membrane.

L'absence de polarité : la molécule doit donc être hydrophobe (apolaire ou lipophile) comme les stéroïdes, les gaz (oxygène, dioxyde de carbone, oxyde d'azote), si elle est hydrophile (polaire), être suffisamment petite (en pratique : éthanol, méthanol, urée...).

Gradient de concentration : le déplacement de la molécule repose sur la différence de concentration d'une part et d'autre de la membrane.

8.1.2 La diffusion facilitée

La diffusion facilitée est le passage transmembranaire de molécules, dans le sens du gradient de concentration, sans dépense d'énergie d'origine cellulaire, grâce à des transporteurs membranaires spécifiques. Les ions et les petites molécules polaires sont transportées à travers la membrane par un complexe de protéines qui forme des **canaux ioniques**. Les molécules de taille plus importante (oses, acides aminés, certaines vitamines...) traversent la membrane grâce à des transporteurs, les **perméases**.

Caractéristiques de la diffusion facilitée

Les caractéristiques de ce transport sont :

- un déplacement dans le sens du gradient de concentration de la substance transportée, et donc sans dépense d'énergie d'origine cellulaire.

- la présence de protéines de transport (canaux ioniques, perméases) ;
- une spécificité rigoureuse ;
- une régulation grâce à la capacité des transporteurs de se fermer ;
- une grande rapidité.

A. Les perméases

Les perméases sont des protéines transmembranaires membranaires qui assurent la diffusion facilitée.

Propriétés

- les perméases sont spécifiques aux molécules transportées ;
- ils sont saturables, ils ne peuvent assurer le passage que d'un nombre donné de molécules par seconde ;
- ils fonctionnent sans dépense d'énergie d'origine cellulaire ;
- ils transportent les molécules dans un sens ou dans l'autre en fonction du gradient de concentration.

Classification L'ensemble de ces protéines se distingue selon le nombre et le sens des molécules transportées. Elles se subdivisent en trois catégories :

Uniport : les protéines de type uniport (ou uniporteurs) transportent une molécule ou un ion dans une direction.

Symport : les protéines de type symport (ou symporteurs) transportent deux substances de nature différente dans la même direction.

Antiport : les protéines de type antiport (ou antiporteurs) transportent deux substances de nature différente dans des directions opposées.

a. Les GLUT

Les GLUT (Glucose Transporters, transporteurs de glucose) sont des perméases formées de 12 hélices alpha s'insérant dans la bicouche lipidique constituante de la membrane, qui transportent le glucose. Chez les mammifère, le transport de glucose est assuré en fonction du type cellulaire, par l'un des 5 transporteurs de ce type connus actuellement.

GLUT1 Le transporteur GLUT1 est ubiquitaire (s'exprime sur la paroi de la plupart des cellules) et assure le transport basal du D-glucose dans l'ensemble des cellules de l'organisme.

GLUT2 Le transporteur GLUT2 est exprimé dans les hépatocytes, les cellules bêta du pancréas endocrine, le pôle basal des les cellules de l'intestin et des reins. C'est le principal transporteur assurant le transfert du glucose entre le foie et le sang.

GLUT4 Le transporteur GLUT4 est spécifiquement exprimé dans les muscles squelettiques et le tissu adipeux. Il permet d'augmenter de façon importante et rapidement l'utilisation de glucose de ces tissus en réponse à l'insuline.

Mécanisme de fonctionnement des GLUT1 et GLUT2

Les GLUT1 et GLUT2 fixent par complémentarité une molécule de glucose, cette liaison provoque un changement de conformation tel que le site de fixation change d'orientation. Le glucose est ensuite libéré et le GLUT retrouve sa conformation originelle.

Mécanisme de fonctionnement des GLUT4 Les GLUT4 sont stockés dans des vésicules cytoplasmiques. L'activation des cellules par l'insuline induit une migration des vésicules vers la membrane plasmique et l'apparition des GLUT4 à sa surface. Le glucose entre dans la cellule. À la fin de la stimulation, lorsque l'insuline se dissocie, l'endocytose plasmique entraîne la disparition des GLUT4 et le retour à l'état initial.

b. Les aquaporines

Les aquaporines (AQP) sont des perméases formées de 4 monomères et de 6 hélices alpha s'insérant dans la bicouche lipidique constituante de la membrane. Elles permettent aux molécules d'eau de traverser la membrane beaucoup plus rapidement que par simple diffusion à travers la bicouche lipidique. En 2009, environ 500 aquaporines ont été découvertes aussi bien dans le règne végétal qu'animal, dont 131 chez l'Homme. Elles ont une spécificité d'expression tissulaire sauf pour AQP1 qui est ubiquitaire.

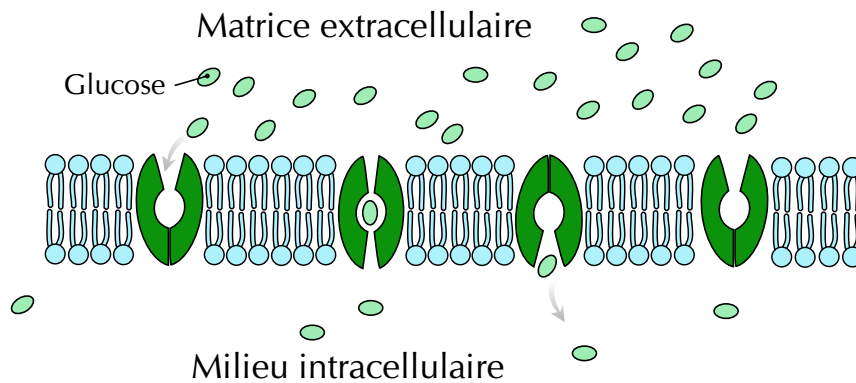


FIGURE 8.2 – Transport du glucose par des GLUT1.

Leur fonctionnement est contrôlé par des hormones (vasopressine chez les mammifères) et peut être inhibé par certains produits toxiques (mercure par exemple).

B. Les canaux ioniques

À l'inverse des protéines transporteuses, les canaux ioniques forment un pore au travers la membrane qui, lors de son ouverture (contrôlée), permet, de manière sélective, aux ions ayant une taille et une charge appropriée de traverser librement la bicouche lipidique. Le canal est une protéine transmembranaire constituée d'un ensemble de sous-unités.

L'ouverture ou la fermeture de ces canaux obéit à deux types de mécanismes.

Les canaux voltage-dépendants Les canaux ioniques voltage-dépendants (canaux Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Cl^-) sont des canaux dont l'ouverture dépend du potentiel de membrane.

Les canaux ligand-dépendants Les canaux ligand-dépendants ou chimio-dépendants sont des canaux protéiques (récepteurs canaux) dont l'ouverture dépend de la fixation d'un ligand sur une ou plusieurs de leurs sous-unités, porteuse(s) d'un site récepteur spécifique. Ces canaux ioniques existent dans toutes les cellules, mais particulièrement dans les cellules excitables. Les canaux ioniques ligand-dépendants des neurones en sont un exemple.

8.2 Les transports perméatifs actifs

En biologie, le transport actif désigne le passage d'un ion ou d'une molécule à travers une membrane contre son gradient de concentration. Si le processus utilise de l'énergie chimique produit par exemple, par l'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP), on le nomme transport actif **primaire**. Le Transport actif **secondaire** implique l'utilisation d'un gradient électrochimique.

8.2.1 Transport actif primaire

Le transport actif primaire, aussi appelé transport actif direct, utilise de l'énergie fournie pour transporter des molécules à travers la membrane. La plupart des enzymes qui réalise de genre de transport sont des ATPase transmembranaires.

A. Pompe sodium / potassium

La pompe sodium/potassium ou Na^+/K^+ -ATPase est une protéine enzymatique dont l'activité utilise l'énergie issue de la dégradation de l'ATP en ADP et phosphore inorganique pour échanger les ions sodium (Na^+) issus du milieu intracellulaire avec les ions potassium K^+ issus du milieu extracellulaire, donc contre leur gradient de concentration, dans un rapport précis ($3Na^+/2K^+$).

La digoxine et l'ouabaïne (strophanthine) bloquent la pompe sodium.

Structure Il s'agit d'un tétramère formé de deux chaînes α et de deux chaînes β (**figure 8.3**), on écrit aussi $\alpha_2\beta_2$. La grosse sous-unité α contient, sur sa face intracellulaire, un site de fixation pour les ions K^+ et un site d'hydrolyse pour l'ATP; et sur sa face extracellulaire, un site de fixation pour les ions Na^+ .

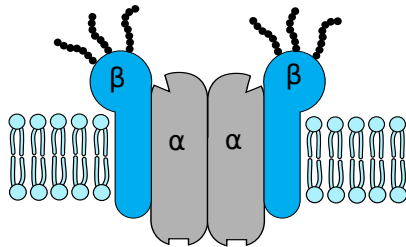


FIGURE 8.3 – Structure schématique de la pompe Na^+/K^+ ATP dépendante.

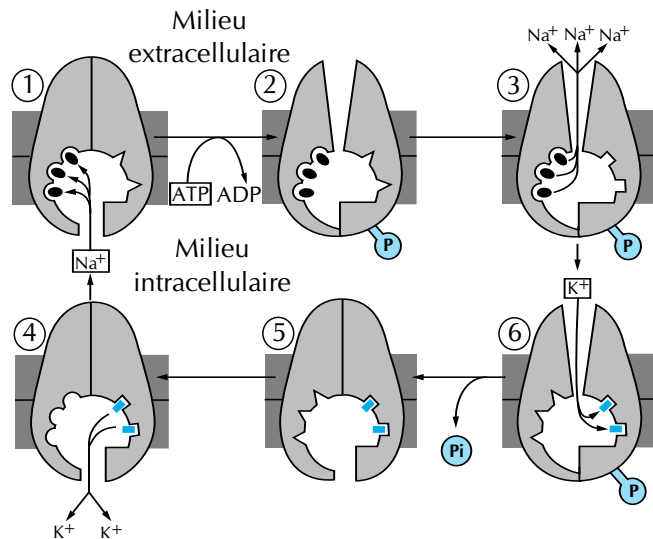


FIGURE 8.4 – Modèle schématique illustrant le fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ ATP dépendante.

Biologie cellulaire : des molécules aux organismes ©

Fonction Cette pompe joue un rôle dans le maintien du potentiel de repos des cellules nerveuses, musculaires et cardiaques. Elle est également responsable du rétablissement de l'équilibre initial après un potentiel d'action.

Fonctionnement [59]

1. Trois ions Na^+ se fixent sur la face interne de la protéine, qui est ouverte vers l'intérieur de la cellule. Les sites de fixation des ions K^+ sont fermés.
2. L'ATP phosphoryle le domaine protéique tourné vers le cytoplasme. Un changement de conformation de la protéine a lieu, qui s'ouvre vers l'extérieur.
3. Les trois ions Na^+ préalablement fixés sont en conséquence exposés à l'extérieur, où ils sont libérés. Ce phénomène fait alors s'ouvrir deux sites de fixation des ions K^+ .
4. Deux ions K^+ se fixent à leur tour, ce qui a pour conséquence la déphosphorylation de la protéine (Pi : phosphate inorganique), et la fermeture des sites Na^+ .
5. Un nouveau changement de conformation, conduisant à un « basculement » en sens inverse, ouvre la protéine vers l'intérieur.
6. Les ions K^+ sont exposés à l'intérieur où ils sont libérés ; les sites de fixation des ions Na^+ réapparaissent. Le cycle recommence avec une nouvelle fixation des ions Na^+ et une phosphorylation par l'ATP.

8.2.2 Transport actif secondaire

Le transport actif secondaire, contrairement au transport actif primaire, n'utilise pas l'énergie qui lui est directement fournie comme lors de l'hydrolyse de l'ATP, à la place, c'est la différence de potentiel électrochimique qui est utilisée. Un type de soluté se déplace en fonction d'un gradient électrochimique permettant ainsi à un soluté d'un autre type de se déplacer en allant à l'encontre de son gradient de concentration. Les deux principales formes sont le **symport** et l'**antiport**.

A. Antiport

Échangeur Na^+/Ca^{2+} L'échangeur Na^+/Ca^{2+} est utilisé par plusieurs cellules, notamment les cellules cardiaques pour retirer le calcium cytoplasmique, il permet de faire sortir un ion calcium en faisant entrer 3 ions sodium.

B. Symport

Les symports utilisent un gradient électrochimique de solutés, les deux espèces transportées le sont dans le même sens, sachant que l'un l'est dans le sens de son gradient de concentration et l'autre dans le sens opposé à son gradient de concentration.

Transporteur sodium-glucose Les cotransporteurs glucose sodium dépendant (SGLUT) sont une famille de transporteur de glucose retrouvés dans la membrane plasmique du pôle apical des entérocytes (SGLUT1) et des épithéliums rénaux (SGLUT2). Ces protéines utilisent l'énergie créée par le gradient de sodium pour transporter le glucose à travers la membrane apicale contre le gradient de glucose. Ainsi, ces cotransporteurs sont un exemple de transport actif secondaire symport. Le ratio de transport des SGLUT1 est de deux ions de sodium pour une molécule de glucose. Quant aux SGLUT2, il est d'un ion de sodium pour une molécule de glucose.

Les GLUT1 permettent ensuite au glucose de traverser la membrane basolatérale vers les capillaires péri-tubulaires.

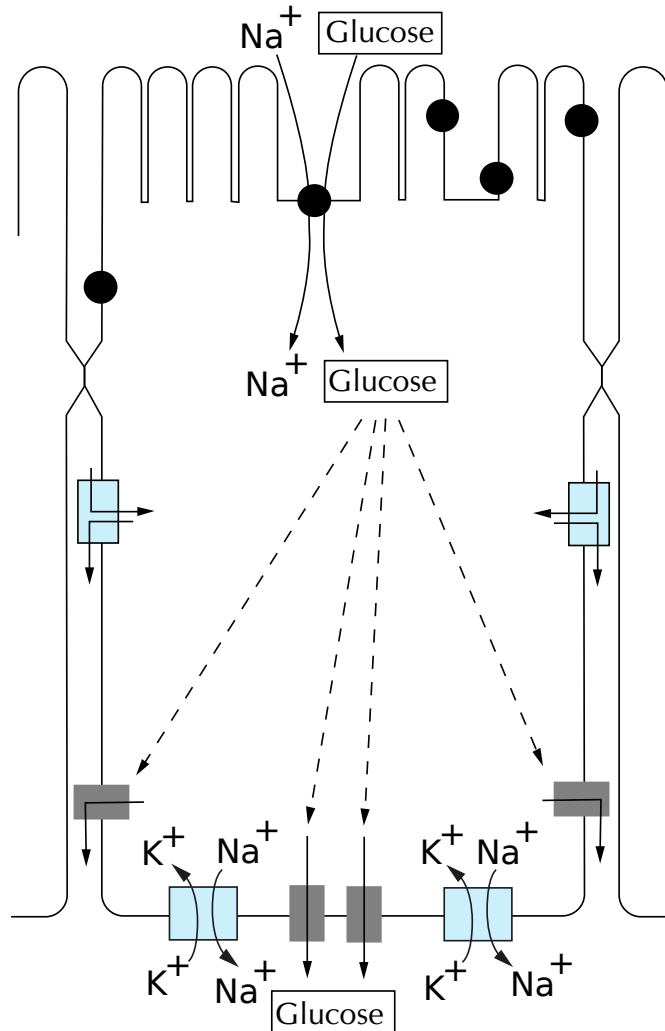


FIGURE 8.5 – Schéma illustrant le transport du glucose intestinal à travers un entérocyte.
Biologie cellulaire : des molécules aux organismes ©

Dans ce chapitre

9.1 L'endocytose

9.2 Exocytose

Les transports cytosoliques

Les transports cytotiques sont des transports qui impliquent des déformations et modifications morphologiques visibles en microscopie électronique de la membrane plasmique. Ils se déroulent à l'échelle cellulaire avec l'intervention du cytosquelette, la consommation d'énergie et l'utilisation de vésicules de transport appartenant au système endomembranaire. Ils concernent les molécules de poids moléculaire élevé, voir des particules de grande taille (virales, bactériennes, etc.).

Ils sont classés en deux grands groupes : l'*endocytose* et l'*exocytose*.

9.1 L'endocytose

Du grec endon (à l'intérieur) et kytos (enveloppe), 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, qui joue un rôle dans diverses fonctions physiologiques, 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 ;
- la nature chimique des éléments internalisés.

on distingue trois types d'endocytose : la pinocytose, la phagocytose et l'endocytose par récepteurs.

9.1.1 Pinocytose

La pinocytose, du grec pinein, « boire », 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.

Déroulement de la pinocytose

1. piégeage des particules ;
2. pincement de la membrane plasmique ;
3. formation d'une vésicule lisse qui, en fusionnant avec d'autres vésicules formera un endosome précoce.

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.

9.1.2 Phagocytose

Chez l'homme, la phagocytose est une forme d'endocytose caractéristique des cellules spécialisées du système immunitaire appelées phagocytes professionnels (macrophages et certains leucocytes). Elle correspond à la capture, l'ingestion et la destruction, dans une vacuole spécialisée, **phagosome** (diamètre d'environ 250nm), des micro-organismes, des cellules apoptotiques et des débris cellulaires. Fonction immunitaire de base non spécifique, elle sert de point de départ à la réaction immunitaire globale spécifique.

Chez les protozoaires, comme une amibe, la phagocytose assure uniquement leur nutrition en capturant les nutriments.

Déroulement de la phagocytose

Il est habituellement découpé en trois phases : adhésion, ingestion, et digestion - cette dernière étape n'étant pas systématique.

Adhésion : adhésion de la particule à la membrane plasmique grâce à des récepteurs spécifiques : région fonctionnelle des anticorps, composants du complément, oligosaccharides de surface présents chez certains micro-organismes ou encore un signal apoptotique ;

Ingestion : – formation de voiles hyaloplasmiques (pseudopodes), entourant la particule phagocytée, par déformation du cytosquelette ;
– séquestration de la particule et formation du phagosome ;

Digestion : la digestion est consécutive à l'accolement et à la fusion des lysosomes avec la membrane du phagosome constituant ainsi un phagolysosome duquel les divers enzymes vont se déverser et, selon leur spécificité, s'attaquer aux divers constituants de la particule ou du micro-organisme.

9.1.3 Endocytose par récepteurs

L'endocytose à récepteurs est une forme d'endocytose hautement spécifique, très sélective, caractérisée par la formation de vésicules à manteau, se déroulant au niveau de régions spécifiques de la membrane plasmique contenant des protéines transmembranaires, servant de récepteurs et recouvertes sur leurs faces internes ou cytosoliques par des protéines formant un revêtement. Selon la nature du revêtement on parlera d'endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine ou d'endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine.

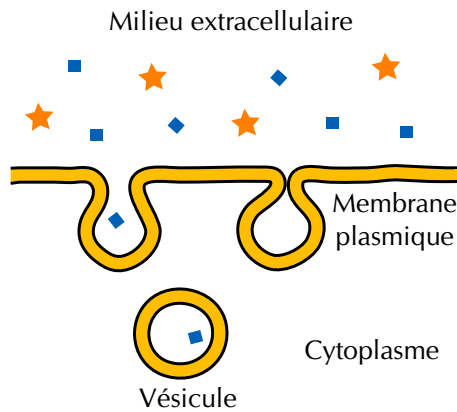


FIGURE 9.1 – Schéma illustrant le phénomène de pinocytose par vésicules lisses.

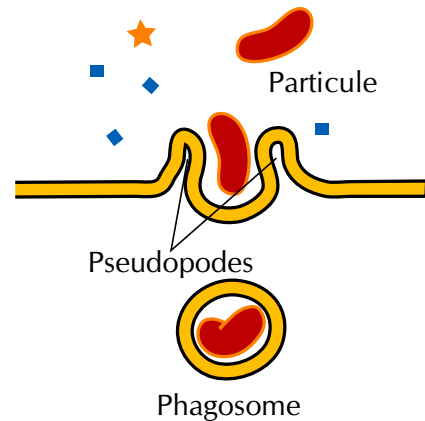


FIGURE 9.2 – Schéma illustrant le phénomène de phagocytose.

Wikipédia, domaine public.

A. Endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine

L'endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine est la principale voie d'endocytose pour la majorité des cellules, c'est un mode de collecte sélectif et efficace de macromolécules même si elle sont présentes à des concentrations relativement faibles dans le liquide extracellulaire. Ce processus conduit à la formation de vésicules recouvertes de clathrine.

Ce type d'endocytose intervient lors :

- de l'internalisation du complexe hormone polypeptidique-récepteur pour l'arrêt de la réponse ;
- le transport des anticorps de la mère vers son bébé au cours de la lactation ;
- le transport du cholestérol contenu dans les LDL vers les différents types cellulaires pour le renouvellement des membranes (voir figure 9.3).

B. Endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine

L'endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine a lieu au niveau des microdomaines lipidiques (rafts) (voir sous-section Référencesrafts). La cavéoline est une protéine en forme d'épingle à cheveux qui se lie au cholestérol dans les microdomaines, la dépression qu'elle entraîne est dite cavéole, après pincement elle donne naissance à des vésicules mesurant 50 à 100 nm de diamètre.

Chez l'homme, ce type d'endocytose est parfois détourné par des bactéries ou des virus afin d'infecter les cellules de l'organisme.

9.2 Exocytose

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, ils sont émis dans le milieu intérieur (hormones) ou dans le tractus digestif (enzymes), etc.

L'exocytose désigne le mécanisme d'excrétion de ces composés.

On distingue classiquement deux grandes voies :

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 ;

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.

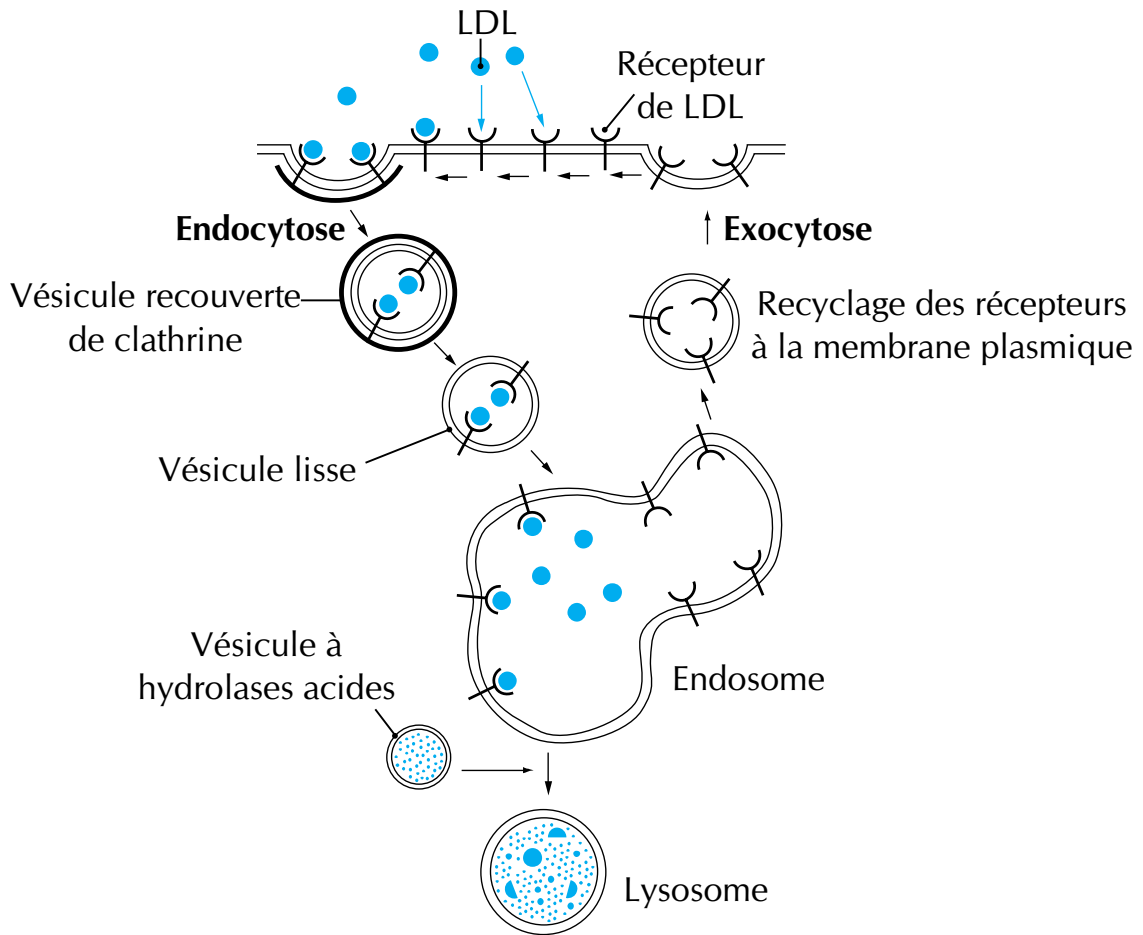


FIGURE 9.3 – Schéma représentant les étapes du transport des LDL dans une cellule cible.

Dans ce chapitre

- 10.1 Les molécules de signalisation intercellulaire
- 10.2 Les divers modes de communication intercellulaire
- 10.3 Les récepteurs de la membrane plasmique

La membrane plasmique et les échanges d'informations

Les cellules contiennent dans leur membrane plasmique de très nombreux récepteurs qui déterminent les réactions de la cellule comme l'entrée et la sortie de diverses molécules.

Les cellules réagissent à toute une variété de molécules de signalisation intercellulaire susceptibles d'agir sur le métabolisme, les synthèses, la sécrétion, la prolifération, la mort cellulaire... Les messagers possèdent généralement une structure complémentaire des récepteurs. C'est leur fixation sur le récepteur qui déclenche une cascade de réactions capable de modifier le comportement cellulaire.

10.1 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).

10.1.1 Caractères des molécules de signalisation

Ces ligands sont extrêmement nombreux : ils comprennent tout un ensemble de molécules informatives qui vont des gaz aux protéines en passant par les lipides. Il existe, en fonction de leur capacité à diffuser à travers la membrane plasmique deux grands groupes de molécules de signalisation :

A. Molécules informatives hydrophiles

L'imperméabilité de la membrane plasmique aux molécules informatives hydrophiles entraîne la mise en oeuvre d'un processus qui comprend la reconnaissance du ligand et la transduction.

Reconnaissance : la molécule est reconnue par le récepteur qui possède un *site de fixation* dont la forme est complémentaire de celle de la molécule informative. La fixation provoque l'activation du récepteur.

Transduction : la transduction est 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.

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...

B. 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.

Hormones stéroïdiennes : les hormones stéroïdiennes constituent une classe d'hormones non polaires dérivant du cholestérol. Elles traversent la membrane plasmique et agissent en se liant à leurs récepteurs situés dans le cytoplasme.

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

Eicosanoïdes : Les eicosanoïdes sont des molécules informatives synthétisées continuellement, à partir de l'acide arachidonique, par la membrane plasmique des cellules des mammifères. Ils regroupent les *leucotriènes*, les *prostacyclines*, les *prostaglandines*, les *thromboxanes*. Il est intéressant de souligner que ces ligands sont des lipides et que contrairement aux hormones stéroïdiennes, ils agissent en se liant aux récepteurs situés dans la membrane plasmique.

Oxyde nitrique : l'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.

10.2 Les divers modes de communication intercellulaire

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...

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

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...

10.3 Les récepteurs de la membrane plasmique

10.3.1 Les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)

A. Structure

Les récepteurs couplés aux protéines G, GPCR (G protein-coupled receptors) sont une famille de récepteurs membranaires chez les mammifères. Ils se caractérisent par une structure commune de sept hélices hydrophobes transmembranaires (TM), 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 trimériques**.

À l'état inactif, les protéines G trimériques sont situées dans le cytoplasme sous-membranaire. Elles se composent de trois sous-unités différentes (α, β, γ). La sous-unité α (G_α) est associée au GDP (guanosine diphosphate).

B. Mécanisme d'action

Schématiquement, tous les GPCR agissent selon le même schéma :

1. La fixation d'un ligand (premier messager) sur le récepteur provoque un changement de conformation.
2. L'activation du récepteur stimule la libération du GDP qui est remplacé par un GTP. Le complexe, formé par le récepteur, le dimère $\beta\gamma$ et la sous-unité $G_\alpha - GTP$ se dissocie.
3. La $G_\alpha - GTP$ libérée s'associe à un premier effecteur, par exemple l'adényl cyclase (AC).
4. L'activation du premier effecteur déclenche la production d'un second messager (L'AMPc dans le cas de l'adényl cyclase), qui provoque l'activation d'un second effecteur (PKA, protéine kinase A, dans notre cas).
5. S'en suit une cascade de réactions enzymatiques permettant d'activer divers effecteurs.
6. La réponse cellulaire dépendra du type cellulaire et du ligand qui s'y est fixé.

L'interruption du signal se fait par la dégradation de l'AMPc, hydrolyse du GTP en GDP ce qui arrête l'interaction $G_\alpha - GTP$ /effecteur. $G_\alpha - GTP$ s'associe alors à la sous-unité $\beta\gamma$. La forme inactive de la protéine G trimérique est reconstituée. Puis il y'a une internalisation du complexe ligand-récepteur par une endocytose dépendante de la clathrine.

C. Fonctions

Ces récepteurs couplés aux protéines G trimériques assurent la reconnaissance de signaux provenant de notre environnement (saveurs amères, sucrées ou salées, lumière, odeurs). Les GPCR reconnaissent donc des signaux ou messagers très variés (photons, ions, molécules odoriférantes, acides aminés et dérivés, nucléotides, nucléosides, lipides, peptides et protéines). Les GPCR constituent la famille la plus nombreuse des récepteurs.

TABLE 10.1 – Exemples de molécules de signalisation des récepteurs GPCR.

Molécule de signalisation	Organe ou tissu cible	Réponse principale	1 ^{er} effecteur	2 ^{ème} effecteur
Adrénaline	Muscle	Glycogénolyse	Adénylate cyclase	PKA
	Coeur	Augmentation du rythme cardiaque		
Glucagon	Foie	Glycogénolyse		
Vasopressine	Rein	Réabsorption d'eau		
Adrénaline, ACTH, glucagon	Tissu adipeux	Dégradation des triglycérides		

10.3.2 Les récepteurs-enzymes

Les récepteurs-enzymes sont des récepteurs qui, lorsqu'ils sont activés par la fixation d'un ligand, par exemple un facteur de croissance (PDGF, NGF, EGF...) ou des hormones comme l'insuline développent une activité enzymatique.

A. Structure des récepteurs à activité tyrosine kinase (TKR)

Les TKR représentent la famille la plus importante des récepteurs liés aux enzymes. Ils interviennent principalement dans le contrôle de la croissance et de la différenciation des cellules.

Ce sont tous des récepteurs transmembranaires monomériques, exception faite pour l'insuline qui est un hétérodimère associé par pont disulfure, donc tétramérique. Chaque monomère de TKR possède un seul segment intramembranaire sous la forme d'une hélice α . Ils sont dotés d'une extrémité *extracellulaire réceptrice du ligand* et une extrémité *intracellulaire ayant une activité catalytique*. 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...

B. Structure du récepteur de l'insuline

Le récepteur de l'insuline est une protéine enzymatique *tyrosine kinase*. Il s'agit d'un **dimère** stable, formé par deux chaînes polypeptidiques α qui contiennent les sites récepteurs de l'insuline et deux chaînes β qui traversent la membrane plasmique.

C. Mécanisme du récepteur de l'insuline

La sécrétion de l'insuline par les cellules des îlots de LANGERHANS pancréatiques est déclenchée par une augmentation de la glycémie. De nombreuses cellules et, en particulier les hépatocytes, les adipocytes et les cellules musculaires, possèdent des récepteurs de l'insuline.

1. L'insuline se fixe sur les deux chaînes α du récepteur, cette fixation déclenche l'activité tyrosine kinase des sous-unités β .
2. Le récepteur TKR activé assure la phosphorylation croisée des domaines kinases cytosoliques de ses sous-unités β . Cela induit l'endocytose du complexe ligand-récepteur.
3. Dans le cytoplasme les domaines tyrosines kinases phosphorylent et activent une protéine IRS sur de multiples tyrosines.
4. Le système effecteur est activé en cascade.
5. Les effecteurs interviennent pour assurer :
 - la captation des molécules de glucose grâce à la mobilisation des vésicules à GLUT4 vers la membrane plasmique.
 - l'activation des enzymes de synthèse du glycogène.

Le complexe ligand-récepteur fusionne avec un endosome précoce puis un endosome tardif. Les récepteurs de l'insuline sont recyclés et l'insuline est dégradée dans un lysosome.

TABLE 10.2 – Exemples de molécules de signalisation des récepteurs enzymes.

Molécule de signalisation	Réponse principale	Cible
EGF	Prolifération cellulaire	Divers types cellulaires
PDGF	Survie, croissance et prolifération cellulaire	
Insuline	Glycogénèse et synthèse de protéines	
NGF	Survie croissance	Neurones

Dans ce chapitre

- 11.1 Structure et ultrastructure
- 11.2 Étude biochimique du cytosol
- 11.3 Propriétés du hyaloplasme
- 11.4 Rôles et activités physiologiques du hyaloplasme

Le hyaloplasme

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.

Une grande partie des biologistes utilise désormais les termes *cytosol* et *hyaloplasme* sans distinction. Il existait par le passé de subtiles nuances voulant que le hyaloplasme corresponde au cytosol débarrassé du cytosquelette [60].

11.1 Structure et ultrastructure

11.1.1 Structure au microscope optique

Au microscope optique, le hyaloplasme 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.

11.1.2 Ultrastructure

Au microscope électronique à transmission, après contraste, le hyaloplasme révèle des structures *granulaires* et des structures *fibrillaires*.

A. Les structures granulaires

Globules lipidiques Ces enclaves lipidiques de quelques microns de diamètre peuvent exister dans toutes les cellules. Elles ne possèdent pas de membrane. Les adipocytes du tissu conjonctif représentent une forme avancée de différenciation cellulaire adaptée au stockage des lipides (triglycérides).

Particules de glycogène Le glycogène est un glucide complexe polymère du glucose. La topographie (souvent à proximité du REL) des particules de glycogène et leur nombre est fonction de la physiologie de la cellule. Ces particules se différencient en deux types :

- Les particules sphériques isolées de 15 à 30 nm de diamètre présentes dans le cytoplasme des *cellules musculaires* et des *granulocytes neutrophile*.
- Les particules muriformes (en forme de rosette) de 100 à 200 nm de diamètre présentes dans le cytoplasme des *cellules hépatiques*.

Ribosomes Les ribosomes sont des complexes ribonucléoprotéiques (c'est-à-dire composés de protéines et d'ARN). Leur fonction est de synthétiser les protéines en décodant l'information contenue dans l'ARN messager.

B. Les structures fibrillaires

Les structures fibrillaires sont les différentes protéines qui structurent les éléments du cytosquelette :

- les filaments d'actine ;
- les microtubules ;
- les filaments intermédiaires.

11.2 Étude biochimique du cytosol

11.2.1 Isolement

Par la technique d'UCD, on obtient à la 3^e 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.

11.2.2 Composition moléculaire

A. L'eau

Elle constitue en moyenne 85 % du cytosol et se retrouve sous trois formes :

- l'eau liée qui participe à la constitution de macromolécules ;
- l'eau d'hydratation liée par liaison électrostatique aux groupes polaires de macromolécules ;
- l'eau libre qui représente 1/3 du total des molécules.

B. Les petites molécules

- Ions inorganiques : Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} ...
- Gaz dissous : CO_2 , O_2 ...

C. Les molécules de taille moyenne

Glucides, lipides, acides aminés, nucléotides et métabolites divers.

D. Les macromolécules

Protéines, enzymes, polysaccharides, glycoprotéines, acides nucléiques solubles, ...

11.2.3 Conditions biochimiques du milieu

Le pH de la phase soluble est stable : pH 7, à l'exception de petites variations en fonction de la compartimentation par les cytomembranes. Avec ses macromolécules en suspension dans un milieu aqueux salé, le cytosol présente une viscosité 4 fois supérieure à celle de l'eau et correspond à un **gel colloïde**.

11.3 Propriétés du hyaloplasme

11.3.1 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) ;
- 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 hyaloplasme varie.

11.3.2 Mobilité

11.3.3 Mouvements internes

Le hyaloplasme est doté de 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...

11.3.4 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. Ce mouvement est accompagné de changements dans la viscosité du hyaloplasme qui passe d'un état de sol à un état de gel et inversement.

11.4 Rôles et activités physiologiques du hyaloplasme

11.4.1 Réserve de macromolécules

- régulation des pH intra et extracellulaire grâce à la grande quantité d'eau et d'ions ;
- réserve énergétiques grâce aux vacuoles lipidiques et glycogéniques ;
- réserve de matériaux nécessaires à la construction des édifices macromoléculaires ;
- activation de certaines molécules par phosphorylation ;
- Adressage des protéines synthétisées.

11.4.2 Carrefour de voies métaboliques

Le hyaloplasme intervient dans l'anabolisme et le catabolisme des glucides, des acides aminés, des acides gras et des nucléotides.

Dans ce chapitre

- 12.1 Les microfilaments d'actine du cytosquelette
- 12.2 L'actine des fibres musculaires striées
- 12.3 Les microtubules
- 12.4 Les filaments intermédiaires
- 12.5 Fonctions du cytosquelette

Le cytosquelette

Le cytosquelette est l'ensemble des éléments, microfilaments d'actine, microtubules, filaments intermédiaires, associés à des protéines accessoires, présents dans le nucléoplasme et le hyaloplasme des cellules eucaryotes. Il est responsable entre autres, de la forme interne et externe de la cellule, des mouvements cellulaires et du transport de différentes organites ou vésicules à l'intérieur de la cellule.

12.1 Les microfilaments d'actine du cytosquelette

12.1.1 Architecture moléculaire

Les microfilaments du cytosquelette, d'un diamètre compris entre 6 et 8 nm, sont des *polymères d'actine G suivant une disposition monocaténaire en hélice*. Ils sont ubiquitaires chez les eucaryotes, et existent dans presque toutes les cellules et spécialement dans les cellules musculaires.

L'actine sous forme de filaments est appelée **actine F** (Fibrillaire), tandis que la forme monomérique est appelée **actine G** (Globulaire).

12.1.2 Actine G

L'actine G est une molécule globulaire 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.

12.1.3 Isoformes de l'actine

Trois variétés d'actine G sont connues :

Actine α : est caractéristique des microfilaments d'actines présentes dans les muscles striés squelettiques et cardiaque et les muscles lisses.

Actine β et γ : forme les microfilaments fins des autres types cellulaires (non musculaires).

12.1.4 Dynamique de polymérisation

La polymérisation des microfilaments est l'association de monomères d'actine G en un filament hélicoïdal, correspondant à une hélice simple de monomères, qu'on appelle actine F (filament d'actine).

A. Nucléation

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).

B. Élongation

L'actine G s'assemble en filaments (actine filamenteuse, dite actine-F) à partir des noyaux préformés. C'est l'étape d'élongation des filaments. Cette étape rapide est souvent appelée *phase de polymérisation*.

À l'une des extrémités, notée (+), les constantes cinétiques sont en ordre de grandeur 10 fois supérieures à celles de l'autre extrémité, notée (-). En outre, les monomères associés à l'ATP (ATP-actine), présents en majorité dans les cellules vivantes, ont plus tendance à polymériser que ceux associés à l'ADP (ADP-actine).

L'actine associée à un filament a tendance à hydrolyser son ATP. Cette propriété est, avec la polarité du filament, à l'origine du phénomène dit de « tapis roulant ». En effet, l'extrémité (+) va avoir 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*.

L'apport d'énergie nécessaire pour maintenir cet état hors équilibre se fait dans le milieu liquide environnant, où l'ADP-actine est régénérée en ATP-actine.

12.1.5 Localisation des microfilaments

L'actine se répartit dans la totalité du cytoplasme. Cependant, sa concentration est plus grande dans la région périmoléculaire où elle se dispose en une corbeille, ainsi que sous la membrane plasmique, où elle forme avec les protéines membranaires périphériques internes, le *cortex cellulaire*.

Certains types de cellules spécialisées contiennent des microfilaments en abondance, en particulier les *fibres musculaires*, qui sont des cellules allongées et contractiles caractéristiques des muscles striés ou lisses. Dans les fibres striées on décrit une succession remarquable de filaments fins et épais disposés en unités répétitives appelées sarcomères, dont nous rappellerons l'organisation et le fonctionnement plus loin.

Chez les cellules non musculaires, de nombreuses structures contiennent aussi des microfilaments, on peut citer :

- les microvillosités des cellules absorbantes ;
- les stéréocils ;
- les jonctions intercellulaires des cellules épithéliales nommées ceintures d'adhérence ;
- l'anneau contractile apparaissant à la fin de la division et permettant la séparation des cellules-filles ;
- les divers prolongements cellulaires, appelés lamellipodes, des cellules mobiles.

Certains de ces exemples seront décrits en détail à la fin du chapitre.

12.1.6 Disposition des microfilaments

Les microfilaments d'actine peuvent se disposer en (figure 12.3) :

Réseau : comme chez les fibroblastes ;

Faisceaux parallèles à la membrane : comme au niveau des desmosomes de ceinture ;

Faisceaux serrés : comme au niveau microvillosités des entérocytes ;

Faisceaux contractiles : comme au niveau des fibres musculaires striées.

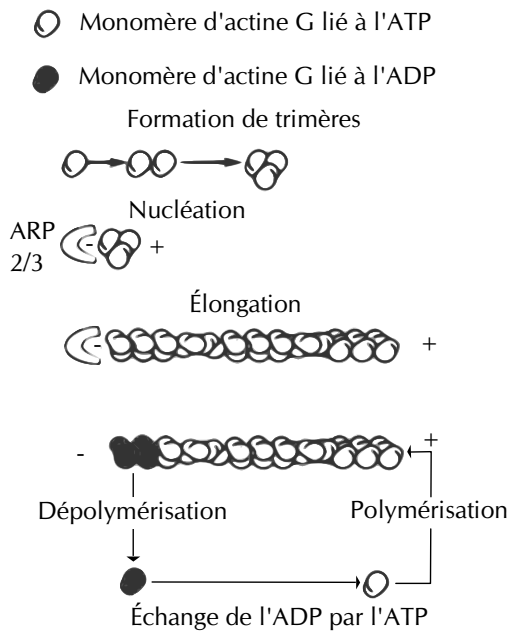


FIGURE 12.1 – Dynamique du microfilament d'actine.

Biologie cellulaire, Marc MAILLET ©

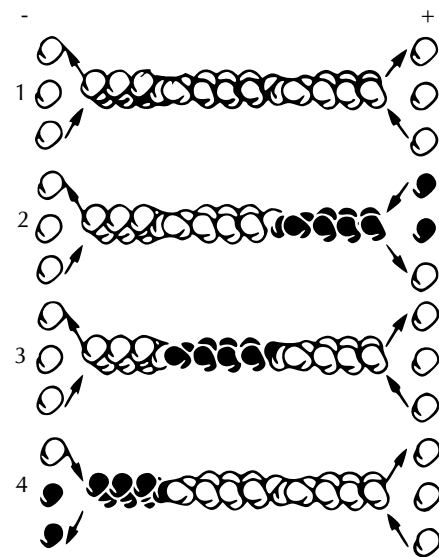


FIGURE 12.2 – Tapis roulant.

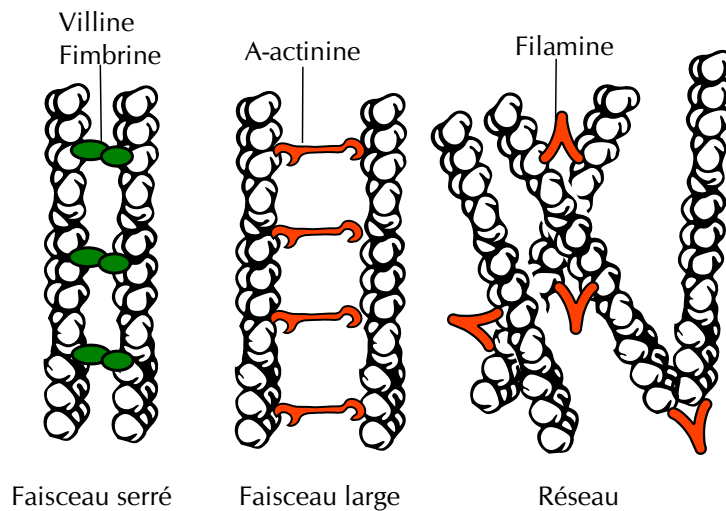


FIGURE 12.3 – Organisation des microfilaments.

Adaptée depuis Biologie cellulaire, Marc MAILLET ©

12.1.7 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...

12.1.8 Inhibiteurs de la polymérisation et de la dépolymérisation

A. Les cytochalasines

Les cytochalasines extraites de champignons microscopiques, en se fixant sur l'extrémité positive (+) des microfilaments, inhibent la polymérisation de l'actine en empêchant la fixation de nouvelles molécules d'actine G. Favorisant ainsi la dépolymérisation et l'état sol du hyaloplasme.

B. Les phalloïdines

Les phalloïdines sont des protéines toxiques hexapeptidiques, extraites d'un champignon, l'amanite phalloïde : elles inhibent la dépolymérisation en se fixant sur les côtés des microfilaments et réunissent les monomères d'actine G en adhérant sur chacun d'eux, favorisant l'état gel du hyaloplasme.

12.1.9 Protéines de liaison de l'actine

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...

A. Protéines de régulation

Ces protéines servent à réguler la quantité d'actine G présente dans le cytoplasme.

Profiline : La profiline se fixe à l'actine G et favorise l'échange de l'ADP par de l'ATP favorisant la polymérisation.

B. Protéines de fragmentation

Ces protéines s'unissent à une région des microfilaments et la fragmente en deux parties.

Gelsoline : La gelsoline possède une activité de coupure des microfilaments et de blocage des extrémités (+) qui est accrue par l'augmentation de la concentration en Ca^{2+} ce qui favorise l'état sol du hyaloplasme. Elle permet la fluidification locale du cortex cellulaire lors de l'exocytose.

C. Protéines d'organisation

α -actinine : 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 : La fimbrine et la villine se fixent aux microfilaments d'actine et forment des faisceaux serrés non contractiles occupant l'axe des microvillosités.

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

D. Protéines d'ancrage membranaire

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.

E. Protéines motrices

Myosine I

Structure La myosine I est un monomère formé d'une tête globulaire à activité ATPaseique 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.

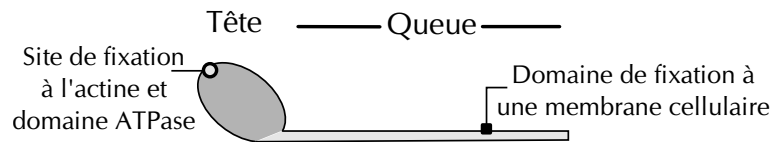


FIGURE 12.4 – Structure de la Myosine I.
Domaine public

Fonction La myosine I forme des filaments d'*actomyosine* lors de l'exocytose qui permet le mouvement des vésicules. Elle stabilise également la structure des microvillosités.

Distribution cellulaire

Microvillosités : chez les enterocytes ;

Hyaloplasme : chez les cellules eucaryotes non musculaires ;

Cortex cellulaire : au cours de l'exocytose.

12.2 L'actine des fibres musculaires striées

Les myocytes striés contiennent, dans leur *sarcoplasme* (cytoplasme), des structures permanentes spécialisées dans la contraction : les **myofibrilles**.

12.2.1 Myofibrilles

Les myofibrilles sont des structures différenciées, formées par l'association de *myofilaments épais* constitués par des molécules de myosine II et des *myofilaments fins* composés par des molécules d'actine, capables de se raccourcir sous l'influence d'un stimulus.

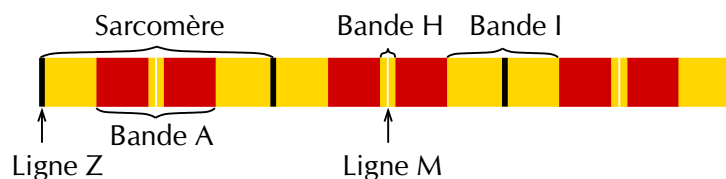


FIGURE 12.5 – Structure d'un Myofibrille.
Wikipédia, Creative Commons BY-SA 3.0.

12.2.2 Sarcomère

Le sarcomère est l'unité de base des myofibrilles des muscles striés. On définit un sarcomère comme étant le segment entre deux lignes-Z voisines.

Dans les coupes longitudinales des muscles en microscopie électronique, les **lignes-Z** (de l'allemand *zwischen*, signifiant « entre ») apparaissent comme une série de lignes foncées. À côté de la ligne-Z, on retrouve la **bande-I** (pour isotropique). On retrouve une partie plus pâle dans cette région appelée la **zone H** (de l'allemand *heller*, plus pâle).

A. Principaux composants du sarcomère

Les myofilaments d'actine les myofilaments d'actine sont les composants principaux des bandes I. Ils sont *stables* et reliés à la ligne Z via la protéine α -actinine et ont des sites de fixation pour les têtes de myosine II.

Tropomyosine : la tropomyosine est une protéine fibreuse dimérique (composée d'une sous-unité alpha et d'une sous-unité bêta) logée dans la gouttière du microfilament d'actine. Elle s'enroule autour de celui-ci pour le stabiliser. Elle est associée à la troponine dans les cellules musculaires striées.

Troponine : La troponine est un complexe de protéines qui masque le site de l'actine qui sert à la liaison avec la myosine.

Troponine C (TnC) : sous-unités responsable de la liaison avec le calcium. Une fois le calcium lié le complexe troponine-calcium se déplace et cesse d'empêcher la liaison entre la myosine et l'actine.

Troponine I (TnI) : sous-unités responsable de l'inhibition de la liaison entre la myosine et l'actine (en masquant le site de l'actine qui sert à la liaison avec la myosine). Elle a donc une fonction inhibitrice qui a pour effet d'amorcer la décontraction musculaire.

Troponine T (TnT) : sous-unités responsable de la liaison avec la tropomyosine.

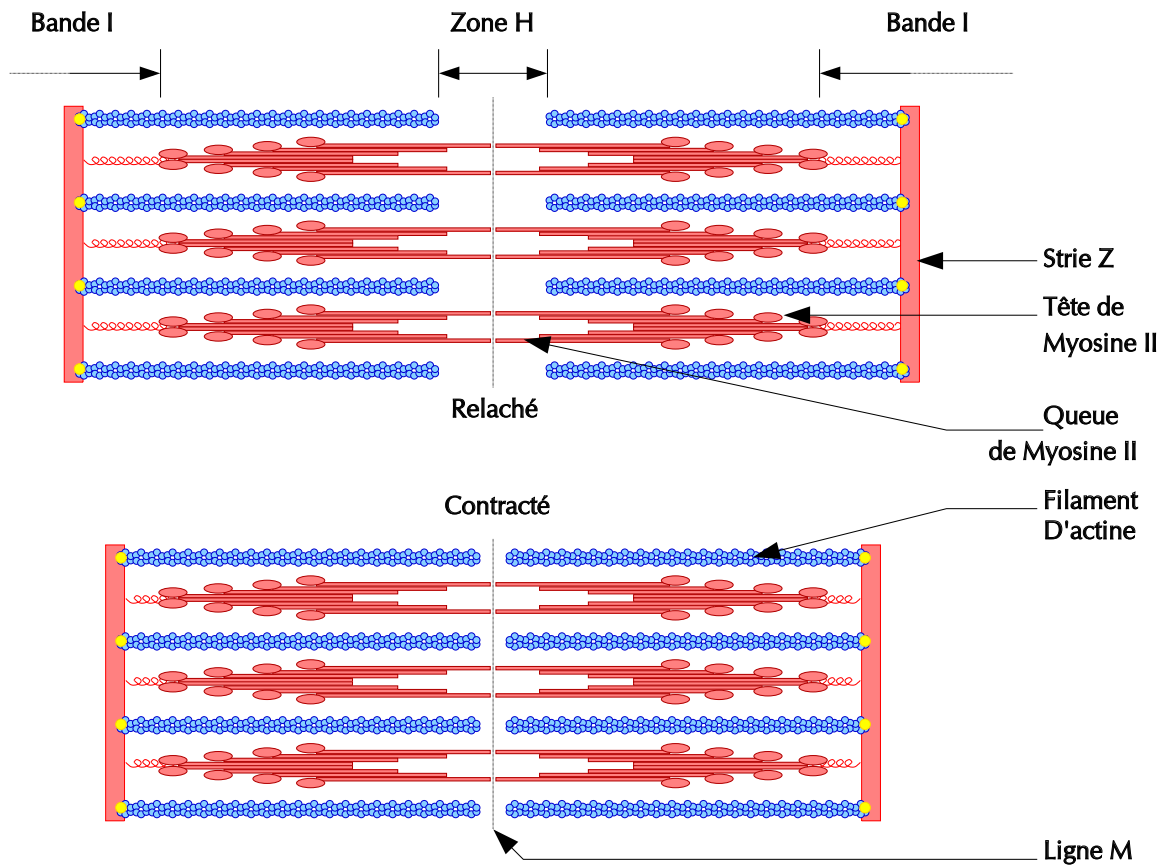


FIGURE 12.6 – Structure d'un sarcomère.
Wikipédia, Creative Commons BY-SA 3.0.

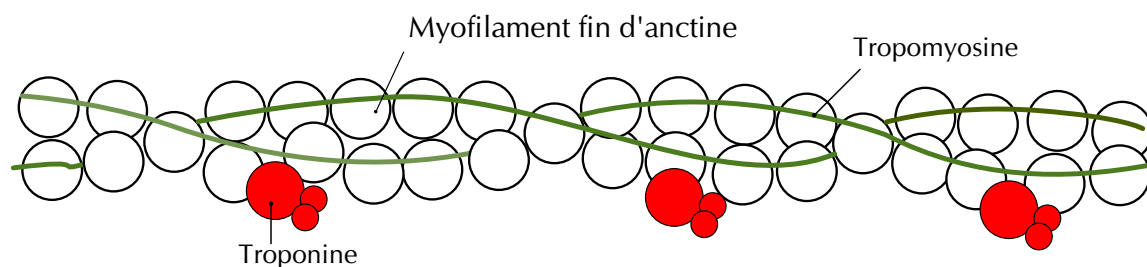


FIGURE 12.7 – Structure d'un myofilament fin d'actine.
Domaine public

Les myofilaments épais de Myosine II La myosine II caractérise les cellules musculaires. Elle est formée de deux têtes globulaires à activité ATPasique réagissant avec l'actine, et d'une longue queue. Les monomères de Myosine II s'auto-phosphorylent et s'organisent en faisceaux épais et bipolaires appelés *myofilaments épais de Myosine*. Les myofilaments épais sont attachés à l'actine et forment ainsi le complexe acto-myosine.

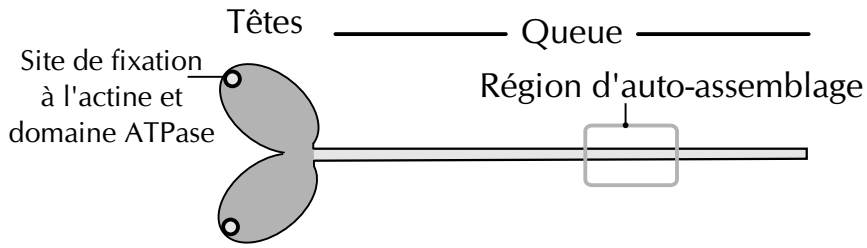


FIGURE 12.8 – Structure de la Myosine II. Domaine public.

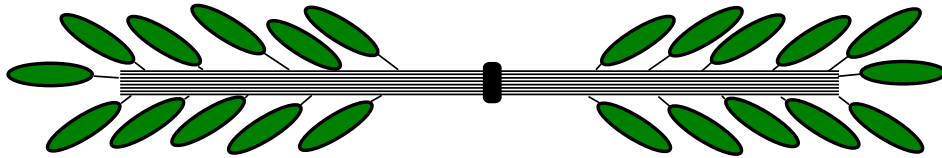


FIGURE 12.9 – Structure d'un myofilament épais. Domaine public.

12.3 Les microtubules

Les microtubules sont des structures *cylindriques creuses* et rigides constitutives du cytosquelette. Ils ont un diamètre d'environ 25 nm, une épaisseur de 5 nm et une longueur variable du fait de leur dynamique (liée à leur fonction au sein de la cellule et à leur dynamique). Ils sont présents dans une très grande majorité de cellules eucaryotes, à l'exception des *érythrocytes*.

12.3.1 Composition moléculaire

un microtubule est un tube dont la paroi est constituée de plusieurs **protofilaments**, en général on en compte 13 par microtubule. Chaque protofilament est constitué d'un assemblage orienté de dimères de **tubuline** : tubuline α et β . Ces dimères possèdent des sites de fixation de GTP. Le site de GTP de la tubuline α est situé profondément dans la molécule, il ne peut être échangé. En revanche, le site de GTP de la tubuline β permet un échange lent avec le GDP.

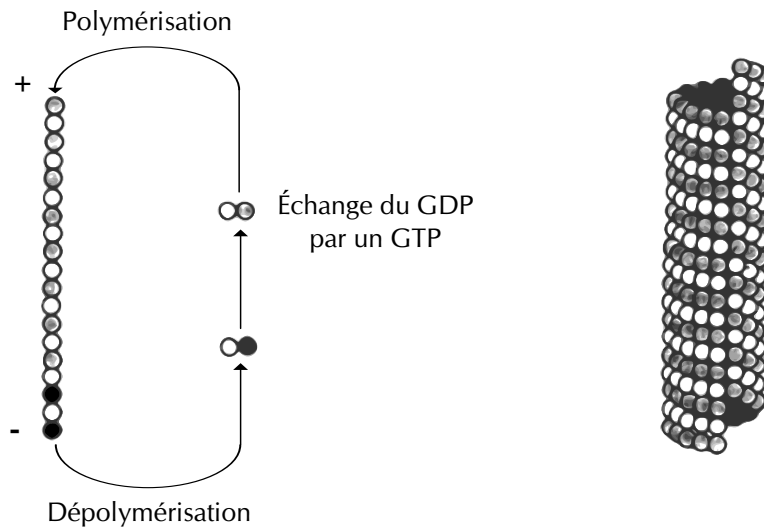
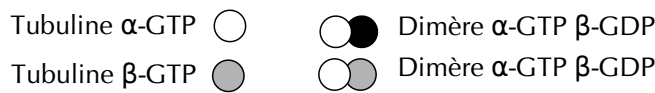


FIGURE 12.10 – Dynamique des microtubules.

12.3.2 Biogenèse

Les microtubules prennent naissance au voisinage du centrosome, plus précisément dans le *matériel péri-centriolaire*, appelé aussi *centre organisateur des microtubules* (COMT ou MTROC). Il s'agit d'une matrice protéique composée essentiellement d'une isoforme de la tubuline : la tubuline γ .

12.3.3 Microtubules labiles

Les microtubules labiles subissent en permanence des alternances de polymérisation et de dépolymérisation.

A. Polarité

Les microtubules sont des structures polaires : une extrémité est capable de polymérisation rapide (extrémité plus +), alors que l'autre extrémité (extrémité moins -) se trouve le plus souvent enchâssée dans le matériel péri-centriolaire sur la tubuline γ , qui joue un rôle essentiel dans la nucléation des microtubules.

B. 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 Pi après un certain temps. L'hydrolyse du GTP change la conformation des sous-unités et affaiblit les liaisons dans le polymère.

C. Inhibiteurs exogènes de la polymérisation

Les molécules de tubuline possèdent non seulement des sites de liaison pour le GTP mais aussi pour des inhibiteurs de la polymérisation. La fixation de la **colchicine** ou de la **vinblastine** provoque un raccourcissement, puis une disparition des microtubules par défaut de polymérisation (c'est pour cette raison qu'elle inhibe la division cellulaire au stade de la métaphase).

D. Inhibiteurs exogènes de la polymérisation

Le **taxol** stabilise les microtubules polymérisés et inhibe la dépolymérisation des microtubules.

E. Protéines associées aux microtubules

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

MAP structurales Les cellules peuvent modifier l'instabilité dynamique des microtubules par des protéines qui s'associent aux microtubules sur toute leur longueur.

Les MAP2 : stabilisent le réseau des microtubules en reliant les microtubules parallèles entre eux.

Protéines Tau : les protéines Tau n'existent que dans les neurones et principalement dans les axones.

MAP motrices Les déplacements d'organites ou de vésicules se font avec la concurrence entre les microfilaments d'actine et les microtubules grâce à des protéines motrices. Ces protéines présentent 3 domaines :

- une tête globulaire à activité ATPasique qui se fixe au microtubule ;
- un segment intermédiaire (tige) ;
- une queue qui se fixe à la membrane des vésicules ou des organites à transporter.

Le déplacement se fait par la fixation des têtes sur la β -tubuline, se fixant tour à tour en effectuant une semi-rotation. Chaque « pas » consomme une molécule d'ATP et lors de la libération d'ADP et de phosphate inorganique il y a propulsion de la tête expliquant la semi-rotation.

Kinésine : la kinésine est une protéine capable de se déplacer en présence d'ATP. Son déplacement se fait vers la membrane plasmique, c'est-à-dire en direction du pôle positif (+) du microtubule (**mouvement antérograde**).

Dynéine : la dynéine est un complexe protéique fixée sur les microtubules du cytoplasme. Par une activité ATPasique, elle permet les déplacements de vésicules qui lui sont associées, vers le centre de la cellule, c'est-à-dire vers l'extrémité négative (-) des microtubules (**mouvement rétrograde**).

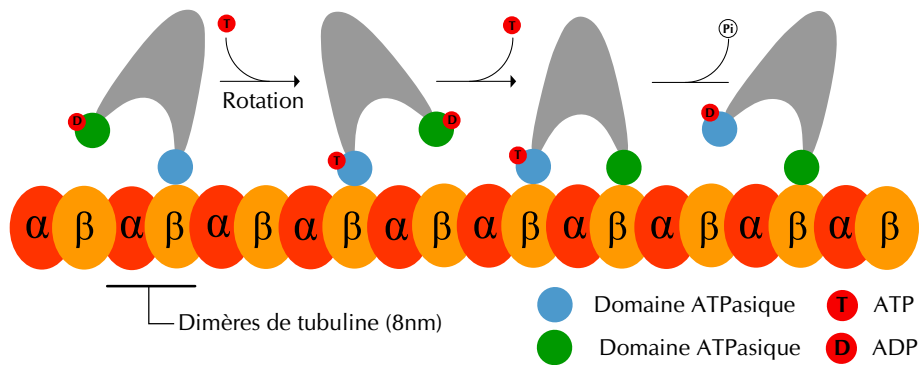


FIGURE 12.11 – Déplacement d'une kinésine le long d'un microtubule.
Wikipédia, domaine public

12.3.4 Microtubules stables

Les microtubules stables se polymérisent jusqu'à atteindre une certaine taille, la dynamique de polymérisation et de dépolymérisation est ensuite bloquée par des protéines stabilisatrices.

A. Les centrioles

Le centriole est une structure cellulaire constituée de *neuf triplets inclinés de microtubules*, entourés par un certain nombre de protéines collectivement appelé **matériel péricentriolaire**.

Dans la cellule animale, deux centrioles sont disposés perpendiculairement, ne se touchent pas et l'ensemble, avec le matériel péricentriolaire, forme le **centrosome** qui est toujours à proximité du noyau.

Le centrosome forme aussi bien les microtubules stables des cils et des flagelles que les microtubules labiles.

Ultrastructure Par la technique de coloration positive, chaque centriole apparaît comme un cylindre creux mesurant en moyenne $0.5 \mu\text{m}$ de long et $0.25 \mu\text{m}$ de diamètre. Sa paroi est formée de *9 triplets de microtubules stables*. Ils sont désignés de l'intérieur vers l'extérieur par les lettres A, B et C.

Le microtubule A est complet (13 protofilaments), tandis que les microtubules B et C ne le sont pas (10 protofilaments).

Les triplets de microtubules sont réunis par des liaisons de **nexine** tendues entre les microtubules A et C de triplets voisins.

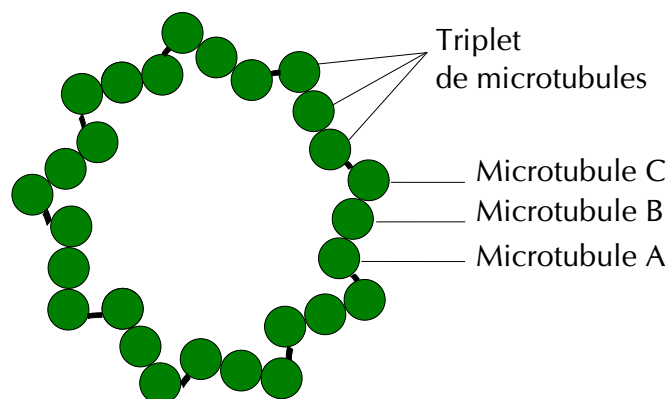


FIGURE 12.12 – Coupe transversale d'un centriole.
Wikipédia, Creative Commons BY-SA 3.0

Biogenèse Lors d'une division cellulaire, chaque centrosome se duplique en deux à la fin de l'interphase. Ces deux centrosomes seront composés de deux centrioles perpendiculaires chacun.

12.4 Les filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires ont une dimension intermédiaire (10 nm en moyenne) entre les filaments fins d'actine et les microtubules, d'où leur appellation.

12.4.1 Composition moléculaire

Les microfilaments 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. 8 protofilaments s'associent et forme un filament intermédiaire dont la section est composée de 32 monomères.

12.4.2 Propriétés

Les filaments intermédiaires sont les éléments du cytosquelette les plus stables et les plus permanents. Ils ne sont pas impliqués directement dans les mouvements cellulaires mais interviennent dans le maintien de la morphologie cellulaire, dans la résistance au stress mécanique et dans le maintien d'une cohésion entre les cellules.

12.4.3 Classification

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

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

Cytokératines (tonofilaments) : situés au niveau des cellules épithéliales (desmosomes et héli-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.

12.5 Fonctions du cytosquelette

12.5.1 Transport vésiculaire

A. L'exocytose

1. La membrane de la vésicule d'exocytose se fixe sur la tête d'une kinésine liée à l'extrémité (-) d'un microtubule labile.
2. Grâce à la dynamique de polymérisation du microtubule et à l'action de la kinésine qui se déplace sur le microtubule de l'extrémité (-) vers l'extrémité (+), la vésicule se rapproche de la périphérie.
3. L'action de la gelsoline permet une fluidification locale du cortex cellulaire.
4. Au niveau du cortex, la membrane de la vésicule se fixe sur la queue d'une myosine I liée à l'extrémité (-) d'un microfilament d'actine.
5. La myosine I se déplace le long du microfilament d'actine, de l'extrémité (-) vers l'extrémité (+) (vers la membrane plasmique).
6. La membrane de la vésicule fusionne avec la membrane plasmique et le produit de sécrétion est libéré.

B. L'endocytose

1. L'action de la gelsoline permet une fluidification locale du cortex cellulaire.
2. Une queue de microfilament d'actine se forme, elle est orientée de la sorte :
Extrémité (+) libre, orientée vers la vésicule.
Extrémité (-) bloquée, orientée vers la membrane plasmique.
3. La polymérisation et l'élongation du microfilament d'actine permettent la propulsion de la vésicule dans le hyaloplasme.

4. La membrane de la vésicule se fixe sur la tête d'une dynéine liée à l'extrémité (+) d'un microtubule labile.
5. Grâce à l'action de la dynéine qui se déplace sur le microtubule de l'extrémité (+) vers l'extrémité (-), la vésicule est dirigée vers le compartiment endosomal.

12.5.2 Contraction musculaire

A. Au niveau de la cellule nerveuse (présynaptique)

1. Un influx nerveux induit la dépolarisation de la membrane présynaptique.
2. Les canaux Ca^{2+} voltage-dépendant s'ouvrent.
3. Entrée des ions Ca^{2+} , fixation de la membrane des vésicules à acétylcholine sur la tête d'une kinésine liée à l'extrémité (-) d'un microtubule labile et déplacement des vésicules vers la terminaison nerveuse (extrémité +).
4. Exocytose régulée de l'acétylcholine, avec l'intervention du complexe (kinésine-microtubule labile) puis (myosine I-microfilament d'actine).
5. La concentration d'acétylcholine dans la fente augmente.

B. Au niveau de la cellule musculaire (postsynaptique)

1. Fixation de l'acétylcholine sur des récepteurs nicotinique de l'acétylcholine qui sont des canaux ioniques ligand-dépendants.
2. Dépolarisation de la membrane plasmique postsynaptique.
3. Activation de la membrane du réticulum sarcoplasmique (réserve interne d'ions Ca^{2+}) et ouverture des canaux ioniques Ca^{2+} voltage-dépendants.
4. Augmentation de la concentration en ions Ca^{2+} dans le hyaloplasme.
5. Les ions Ca^{2+} se fixent sur la troponine C ce qui induit un changement de conformation qui lève l'inhibition de la troponine I et rend les sites de fixations des têtes de myosine II sur les filaments d'actine libres.
6. Les têtes de myosine II hydrolysent l'ATP en ADP et phosphate inorganique (Pi).
7. Le départ du phosphate inorganique, puis de l'ADP entraîne un changement de conformation de la myosine II. L'angle que fait la tête de myosine II avec la queue allongée va diminuer de 90° à 50° puis à 45° .
8. Ce changement de conformation va entraîner le glissement des myofilaments d'actine du sarcomère sur les têtes de myosine II vers l'extrémité (-). Les deux disques Z se rapprochent, ce qui correspond à un raccourcissement du sarcomère.
9. La fixation d'une nouvelle molécule d'ATP et son hydrolyse permettent le redressement des têtes de myosine II.
10. On estime que le temps nécessaire pour ramener le taux de calcium intracellulaire à sa valeur de repos est de l'ordre de 30 ms. La concentration en calcium diminuant, on a dissociation du calcium lié à la troponine C, ceci entraînant le rétablissement de l'inhibition exercée par la troponine I sur la liaison actine-myosine. En conséquence, le muscle se relâche.

12.5.3 Division cellulaire (mitose)

Les microtubules jouent un rôle très important dans la division cellulaire (mitose). Leur instabilité dynamique permet la formation du fuseau mitotique et la migration des deux centrosomes et des chromatides.

Le fuseau mitotique ou fuseau achromatique est une structure cellulaire constituée de microtubules. Il n'est présent que lors de la division cellulaire. Au cours de la phase S de l'interphase le centrosome est dupliqué et lors de la phase G on voit apparaître trois types de microtubules labiles :

Les microtubules polaires Les microtubules polaires ont l'extrémité (-) bloquée (pas de dépolarisation). La polymérisation des extrémités (+) permet la migration des deux centrosomes vers les deux pôles cellulaires.

Les microtubules radiaires Les microtubules radiaires (également appelés microtubules astériens) ancrent les centrosomes aux membranes plasmiques.

Les microtubules kinetochoriens Les microtubules kinétochorien relie les centrosomes (extrémité -) aux kinétochores (extrémité +) situés au niveau du centromère des chromosomes. Leur dépolymérisation favorise la migration des chromatides filles vers les deux pôles cellulaires.

A. Cytodiérèse

La cytotiérèse est la dernière étape de la mitose chez une cellule animale. La cellule mère subit un étranglement grâce à une structure appelée *anneau contractile*.

Principe de fonctionnement de l'anneau contractile Les têtes de myosine II fixent et hydrolysent l'ATP ce qui provoque un glissement des myofilaments d'actine vers l'extrémité (-). S'en suit la contraction de l'anneau, l'étranglement de la cellule mère puis sa séparation en deux cellules filles.

12.5.4 Mouvements amiboïdes - migration des fibroblastes

Le mouvement amiboïde des fibroblastes lors de leur migration peut être défini par 3 événements :

1. Glissement des filaments d'actine sur les têtes de myosine II au niveau des fibres de stress, rapprochement des deux contacts focaux adjacents et soulèvement de la partie de la membrane plasmique comprise entre ces deux contacts focaux.
2. Formation de pseudopodes du côté antérieur. Les pseudopodes sont des évaginations de la membrane plasmique soutenues par un réseau d'actine associée à la filamine.
3. Une série d'endocytose / exocytose permet la rétractation de la membrane plasmique du côté postérieur et l'augmentation de la surface membranaire du côté antérieur.

Dans ce chapitre

- 13.1 Le réticulum endoplasmique
- 13.2 Appareil de Golgi
- 13.3 Les lysosomes
- 13.4 Endosomes
- 13.5 Fonctions du REG
- 13.6 Fonctions du REL
- 13.7 Fonctions de l'appareil de Golgi
- 13.8 SNARE

Le système endomembranaire

Le système endomembranaire regroupe des *compartiments intracellulaire* d'une cellule eucaryote limités chacun par *une seule membrane*, c'est-à-dire les *endosomes*, le *réticulum endoplasmique*, l'*appareil de Golgi*, les *lysosomes* et les *phagosomes*.

Le système endomembranaire est particulièrement dynamique : il assure la production de molécules, leur transport vers une destination spécifique, leur stockage, la sécrétion de molécules d'origine biologique, la dégradation de substances toxiques...

13.1 Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite que l'on ne rencontre *que chez les cellules eucaryotes*, il est toujours absent chez les cellules procaryotes.

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.

13.1.1 Réticulum endoplasmique lisse et réticulum endoplasmique rugueux

Une partie du réticulum endoplasmique est couverte de ribosomes. L'apparence rugueuse de ces parties au microscope électronique leur vaut la qualification de **réticulum endoplasmique granuleux** (REG ou RER). Les parties sans ribosomes sont appelées **réticulum endoplasmique lisse** (REL).

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 REG est abondant dans les cellules embryonnaires, les cellules mitotiques, les cellules du pancréas exocrines... 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...

13.1.2 Composition chimique membranes du REG

A. Isolement des membranes du REG

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

B. Analyse biochimique des membranes du REG

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.

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+} .

13.1.3 Composition chimique membranes du REL

A. Isolement des membranes du REL

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

B. Analyse biochimique des membranes du REL

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.

Protéines enzymatiques : enzymes de synthèse des hormones stéroïdes, cytochrome P_{450} , les pompes Ca^{2+} ATPasiques, les flipases...

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.

13.2 Appareil de Golgi

L'appareil de Golgi est un organite localisé près du noyau propre aux eucaryotes. 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 **sacculs** membranaires incurvés entourés de vésicules, séparés les uns des autres par une bande hyaloplasmique et stabilisés par des *microtubules* et des *microfilaments d'actine*.

13.2.1 Régions fonctionnelles de l'appareil de Golgi

Chaque dictyosome peut être divisé en trois régions fonctionnelles différentes :

Les sacculs de la face cis : ou face d'entrée du matériel du réticulum endoplasmique, encore dite face CGN (Cis Golgi Network). Ils sont alimentés par le matériel provenant de l'ERGIC (Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment).

Les sacculs de la région médiane

Les sacculs de la face trans : ou face de sortie. Ils sont en continuité avec un réseau de canalicules constituant le TGN (Trans Golgi Network).

13.2.2 Vésicules associées aux dictyosomes

Des vésicules de dimension variable accompagnent les sacculs golgiens :

Vésicules de transition : les vésicules de transition se trouvent entre l'ERGIC et le cis golgien, elles sont recouvertes de *coatômère*.

Vésicules de transport : les vésicules de transport se trouvent entre les sacculs, elles sont également recouvertes de *coatômère*.

Vésicules de sécrétion : les vésicules de sécrétion bourgeonnent du TGN et contiennent le produit définitif. Elles sont recouvertes de :

Coatômère : lors d'une voie d'exocytose constitutive.

Exemple : composants de la matrice extracellulaire, protéines périphériques de la membrane plasmique.

Clathrine : lors d'une voie d'exocytose régulée, elles forment des grains de sécrétion de contenu dense.

Exemple : l'insuline, vésicules à hydrolases acides.

Cavéoline : lors d'une voie de renouvellement des microdomaines membranaires.

13.2.3 Ultrastructure des membranes des sacculs

Au microscope photonique, l'appareil de Golgi se présente sous forme de petites écailles, localisées près du noyau.

Au MET, les membranes des sacculs apparaissent tristratifiées et asymétriques. L'épaisseur des membranes des sacculs Cis est de 60 Å, celle des sacculs Trans est de 75 Å.

13.2.4 Composition chimique

A. Isolement

La sous-fraction de microsomes lisses des dictyosomes est obtenue après 3 ultracentrifugations différentielles (UCD) successives puis une ultracentrifugation sur gradient de densité (UGD).

B. Analyse biochimique

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.

Lipides Le taux d'acides gras insaturés et de cholestérol est intermédiaire entre celui de la membrane du RE et celui de la membrane plasmique. La fluidité est également intermédiaire.

Protéines Les protéines sont essentiellement enzymatiques.

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

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

Composition de la lumière des saccules La composition 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...

13.3 Les 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 intra-cellulaire (ou extra-cellulaire 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.

13.3.1 Composition chimique

A. Isolement des lysosomes

La sous-fraction de lysosomes est obtenue après 2 ultracentrifugations différentielles (UCD) successives d'un homogénat cellulaire (cellules hépatiques) puis une ultracentrifugation sur gradient de densité (UGD).

B. Analyse chimique

Composition de la membrane du lysosome 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 : tel 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. Le lysosome lui-même est apparemment protégé de la digestion par ses structures tridimensionnelles internes uniques qui préviennent une action enzymatique.

Quelques enzymes importantes dans les lysosomes sont :

Lipase : qui dégradent les lipides en acides gras.

Glycoside : hydrolases, qui dégradent les glucides.

Protéases : qui dégradent les protéines en peptides, dégradés ensuite par peptidase en tripeptides, dipeptides, puis acides aminés.

Nucléases : qui dégradent les acides nucléiques en nucléosides.

13.3.2 Classification des lysosomes

A. Les autolysosomes

Les organites cellulaires sénescents ou des molécules cytoplasmiques partiellement dégradées s'entourent d'une membrane provenant du réticulum endoplasmique. Ceci forme une *vacuole autophagique*, qui, par fusion avec un lysosome aboutirait à la formation d'un *autolysosome*. Les autophagolysosomes assurent le mécanisme d'*autophagie* cellulaire.

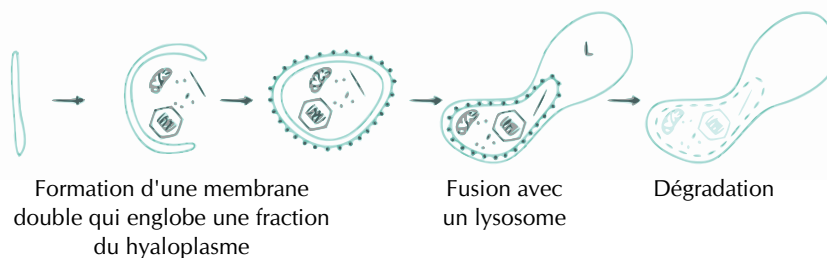


FIGURE 13.1 – Mécanisme de l'autophagie.

B. Les hétérolysosomes

Des produits d'endocytose ou de pinocytose, contenus dans des endosomes fusionnent avec les vésicules de lysosome, chargées d'hydrolases, pour former les *hétérolysosomes*. Dans le cas des macrophages et des polynucléaires neutrophiles la vésicule d'endocytose peut contenir des bactéries et des virus, elle est alors nommée vacuole de phagocytose ou *phagosome*.

13.4 Endosomes

Les endosomes sont des sous compartiments de la cellule, ou organites, sur lesquels les vésicules de pinocytose et d'endocytose par récepteur s'accrochent et fusionnent pour relarguer leur contenu. Les endosomes permettent le tri des molécules internalisées. Celles-ci pourront avoir plusieurs devenir : repartir à la membrane plasmique (recyclage), être dégradées par des systèmes de dégradation intracellulaire, ou être redirigées vers d'autres compartiments intracellulaires (appareil de Golgi, réticulum endoplasmique, etc.), pour agir ailleurs dans la cellule.

Endosomes précoces Ce sont les endosomes se situant près de la membrane plasmique. Ils ont un pH neutre et ne contiennent pas d'enzymes.

Endosomes tardifs Les endosomes tardifs résultent de la fusion d'un endosome précoce avec des vésicules à hydrolases acides, riches en enzymes non actives.

13.5 Fonctions du REG

13.5.1 Translocation et élongation des protéines solubles et membranaires

À l'exception des protéines mitochondriales, la synthèse de l'ensemble des protéines cellulaires débute dans le hyaloplasme à partir de polysomes libres. La translocation est le mécanisme d'adressage grâce auquel certaines protéines seront dirigées vers le REG.

Les protéines solubles concernées sont :

Les composants de la matrice extracellulaire : glycoprotéines, GAG, collagène, protéoglycannes...

Les protéines destinées à l'excrétion : hormones peptidiques (insuline, glucagon), enzymes digestives...

Les hydrolases acides lysosomales

Les protéines périphériques externes de la membrane plasmique

A. Étapes de la synthèse et translocation des protéines solubles et membranaires

- Initiation de la synthèse dans le hyaloplasme à partir de polysomes libres et apparition de la *séquence signal* (SS) à l'extrémité N-terminale.
- Reconnaissance de la séquence signal le *complexe ribonucléoprotéique SRP* (GTP) (Signal Recognition Particle), arrêt de la synthèse protéique dans le hyaloplasme et orientation du complexe « ribosome-ARNm-SRP-SS » vers la membrane du REG.
- Association de la grande sous-unité ribosomale sur le *translocon* et le SRP sur son récepteur.
- Le SRP hydrolyse son GTP en GDP, se détache de la séquence signal et est recyclé vers le hyaloplasme.
- Passage de la séquence signal dans la lumière et reprise de la traduction.
- La translocation dans la lumière est *co-tranductionnelle*.
- Excision de la séquence signal par la signal peptidase, dégradation du peptide signal et libération de la protéine soluble.

13.5.2 N-glycosylation

La N-glycosylation est une modification co-tranductionnelle se déroulant dans le REG. Elle consiste en l'addition d'un bloc 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*.

A. Étapes de la N-glycosylation

- Le dolichol diphosphate fixe 2 *N-acétylglucosamines* et 5 *mannoses*.
- L'ensemble des 7 oses est orienté vers la lumière par un mouvement de flip-flop.
- Fixation de 4 *mannoses* et 3 *glucoses* sur le bloc précédent.
- Transfert des 14 oses sur l'azote de l'asparagine (Asn) contenu dans une séquence $-Asn - X - Ser-$ ou $-Asn - X - Thr-$ de la protéine grâce à la *N-glycosyltransférase*.
- Des glucosidases et mannosidases modifient la chaîne d'oses, il y a perte de 3 *glucoses* et un *mannose*.

13.5.3 Acquisition de la structure tridimensionnelle

Plusieurs enzymes contribuent à donner aux protéines néo-synthétisées leur structure fonctionnelle.

A. Les BiP

Les protéines chaperonnes BiP assurent le repliement correct du peptide et protègent ses domaines hydrophobes. Cette modification est *post-tranductionnelle*.

B. Les PDI

Les PDI assurent la formation des ponts disulfures S-S.

Les PDI membranaires Les PDI membranaires assurent, de manière *co-tranductionnelle*, la formation de ponts disulfures de *manière aléatoire* entre les différentes cystéines de la chaîne peptidique.

Les PDI-luminales Les PDI luminales assurent, de manière *post-traductionnelle*, la correction des ponts disulfures établis par erreur et la formation de nouveaux ponts disulfures correctes.

13.5.4 Contrôle de qualité

Le contrôle de qualité des produits synthétisés se fait grâce aux protéines BiP. Si la protéine est bien structurée, les BiP se détachent et la protéine quitte le REG. En cas d'erreur, la protéine quitte le REG et repasse dans le hyaloplasme à travers le translocon pour être dégradée par un protéasome.

13.6 Fonctions du REL

13.6.1 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). Les phospholipides sont construits progressivement sur la face hyaloplasmique de la membrane du REL avec la coopération des mitochondries à partir de précurseurs :

- Les acides gras activés par la conenzyme A ;
- Le glycérol ;
- La CDP (cytosine diphosphate) associée à une base (sérine, choline).

Ces phospholipides ont deux devenir possibles.

1. Les phospholipides restent dans la membrane du RE et forment les phospholipides du système endomembranaire et ceux de la membrane plasmique. La monocouche externe du REL se retrouvera à la face interne de la membrane plasmique. L'asymétrie de la bicouche lipidique est conservée, les phosphatidylcholines basculeront grâce à une *flippase* (enzyme ATPasique).
2. Les phospholipides peuvent se lier à des transporteurs hyaloplasmiques pour être adressés vers les membranes des mitochondries, peroxyosomes ou être stockés sous forme de gouttelettes lipidiques.

13.6.2 Synthèse des hormones stéroïdes

Dans les cellules sécrétrices endocrines (comme le cortex surrénalien, la thèque interne, les cellules lutéales de l'ovaire, les cellules de Leyding, etc.) le REL coopère avec les mitochondries pour la synthèse des hormones stéroïdes. Celle-ci se déroule grâce à l'intervention de plusieurs enzymes de la famille des cytochromes dont le P_{450} qui hydroxylent la *prégnénolone*, un précurseur des stéroïdes synthétisé à partir du cholestérol.

Deux types de dérivés sont produits :

1. Des hormones stéroïdes comme les *oestrogènes*, *androgènes*, *progestérones*, *aldostérones*, etc. qui seront exportés dans le milieu extracellulaire vers la circulation sanguine.
2. La progestérones retourne dans la matrice mitochondriale où d'autres cytochromes l'utilisent pour synthétiser le *cortisol* qui repasse dans le hyaloplasme avant son exportation vers la membrane plasmique.

13.6.3 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 et il est nommé *réticulum sarcoplasmique*.

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 : comme la *calsequestrine* des cellules musculaires.

Des canaux ioniques de calcium : ligand (IP_3) ou voltage dépendants. Ils peuvent être bloqués par la *rhyanodine*.

A. Détoxification

La détoxification concerne surtout les molécules toxines liposolubles (drogues, métabolites, certains médicaments, ect.). Le cytochrome P_{450} les rend solubles en les hydroxylant. Les toxines ainsi rendues hydrosolubles sont évacuées dans les urines et par voie sanguine.

13.7 Fonctions de l'appareil de Golgi

13.7.1 O-glycosylation

La O-glycosylation est une modification co-traductionnelle se déroulant dans la lumière des saccules médians et trans. Elle consiste en l'addition de glucides au niveau des résidus $-OH$ des acides aminés *sérine* et *thréonine* des chaînes peptidiques. Cette réaction est également catalysée un groupe d'enzymes de type O-glycosyltransférase.

A. Étapes de la O-glycosylation

1. Les glucides (galactose, NANA, etc.) synthétisés dans le hyaloplasme sont lié à des nucléotides comme l'UDP.
2. L'entrée du complexe Nucléotide-sucre dans la lumière du saccule se fait via une perméase antiport.
3. Une nucléoside diphosphatase déphosphoryle l'UDP en UMP.
4. Fixation du galactose par une O-glycosyltransférase sur le $-OH$ d'une *sérine* ou *thréonine*.

La O-glycosylation est *séquentielle*, les oligosaccharides sont bâtis progressivement ose par ose. Elle est, dans la plupart des cas, effectuée sur les *protéoglycannes*.

13.7.2 Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire

La sulfatation est le transfert d'un sulfate (SO_4^{2-}) ou groupe de sulfates à un accepteur via une sulfotransférase. Cette réaction se produit dans les *saccules trans* et concerne des composants destinés à la matrice extracellulaire comme les *glycoprotéines*, *protéoglycannes* et *glycosaminoglycannes*.

A. Étapes de la sulfatation

1. Le donneur de sulfate, le *phospho-Adénosine-phospho-sulfate* (PAPS), est synthétisé dans le hyaloplasme et pénètre dans la lumière des saccules trans par une perméase.
2. Le radical sulfaté est transféré aux sucres ou à certains acides aminés comme la tyrosine par une *sulfotransférase*.

13.7.3 Phosphorylation des glycoprotéines enzymatiques solubles des lysosomes

Au niveau des saccules cis, les protéines solubles N-glycosylées destinées aux lysosomes doivent subir une phosphorylation indispensable à leur maturation en enzymes digestives.

A. Étapes de la phosphorylation des glycoprotéines des lysosomes

1. Une *N-acétylglucosamine-phosphotransférase* (GlcNac-P-transférase) accroche un résidu *N-acétylglucosamine-phosphate* (GlcNac-P) au carbone 6 des résidus mannose, c'est la séquence signal de phosphorylation.
2. Une enzyme, la *N-acétylglucosamine-phosphoglycosidase*, libère le GlcNac.

Les enzymes lysosomales désormais porteuses de *mannose-6-phosphate* sont transportées au Trans golgien, où elles sont reconnues par un récepteur du mannose-6-phosphate. Une fois fixées à leurs récepteurs, elles bourgeonnent du TGN et sont adressées au compartiment endosomal.

13.7.4 Clivage protéolytique de certaines protéines

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.

Exemple de l'insuline : l'insuline est produite par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas endocrine sous la forme d'une pro-insuline qui une fois clivée donne de l'insuline fonctionnelle.

13.7.5 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 (voir la sous-section 13.2.2).

A. Flux centrifuge

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.

Étapes de la sécrétion

1. Bourgeonnement de vésicules recouvertes à partir du TGN.
2. Enlèvement du revêtement et formation de vésicules nues marquées par des protéines membranaires v-SNAREs.
3. Transport des vésicules vers le compartiment receveur doté de protéines membranaires réceptrices t-SNAREs.
4. Fusion de la membrane des vésicules avec celle du compartiment receveur après reconnaissance des v-SNAREs par les t-SNAREs.

B. Flux centripète

On appelle flux centripète, 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.

13.8 SNARE

Les protéines SNARE sont des protéines trans-membranaire intervenant dans la fusion membranaire via une complémentarité de deux types de protéines SNARE (V-SNARE et T-SNARE), aboutissant à la fusion d'une vésicule à un compartiment cible spécifique.

13.8.1 Types de protéines SNARE

Les deux types de protéines SNARE sont :

V-SNARE : (V pour vésicule) qui sont des protéines membranaires, situées dans la membrane des vésicules émises.

T-SNARE : (T pour target, signifiant cible en anglais) situées sur la membrane du compartiment receveur.

TABLE 13.1 – Revêtements mis en jeu dans les flux membranaires bidirectionnels.

Type de revêtement	Compartiment donneur	Compartiment receveur	Effets	Type de flux
Coatomères	R.E.	CGN	Maturation, tri et adressage des composants membranaires et solubles	
	CGN	Golgi médian		
	Golgi médian	Golgi trans		
	Golgi trans	TGN		
	TGN (vésicules de sécrétion constitutives)	Membrane plasmique	Renouvellement des composants membranaires et ceux de la matrice extracellulaire	
Clathrine	TGN (Vésicules de sécrétion régulée)	Membrane plasmique	Signalisation cellulaire et renouvellement de la membrane plasmique	Flux membranaire centrifuge
	TGN (Vésicules à hydrolases acides)	Endosome	Dégradation du contenu (évolution en lysosome)	
		Vacuole autophagique		
		Vacuole hétérophagique		
	Endosome	Membrane plasmique	Recyclage des récepteurs des ligands	
	Membrane plasmique	Endosome	Endocytose dépendante de la clathrine et voie d'infection bactérienne : toxine tétanique.	Flux membranaire centripète
Endosome	TGN	Recyclage des récepteurs mannose-6-P		
Cavéoline	Membrane plasmique	Cavéosome	Endocytose clathrine indépendante et voie d'infection bactérienne et virale	
	Cavéosome	REG	Voie d'infection	
	TGN	Membrane plasmique	Renouvellement des microdomaines (radeaux)	Flux membranaire centrifuge

Table des matières

1	Schéma général des cellules procaryotes et eucaryotes	1
1.1	Êtres unicellulaires et pluricellulaires	2
1.2	Plans d'organisation cellulaire	2
1.3	Cellule procaryote	2
1.3.1	Morphologie et association des bactéries	2
1.3.2	Structures cellulaires d'une bactérie	2
A.	Nucléoïde	3
B.	Membrane plasmique	3
C.	Cytosol (hyaloplasme)	3
D.	Ribosomes	4
E.	Plasmides	4
F.	Mésosomes	4
G.	Inclusions cytoplasmiques	4
H.	Capsule	4
I.	Paroi bactérienne	5
J.	Flagelles	5
K.	Pili	5
1.3.3	Coloration de Gram	7
A.	Réalisation de la coloration	7
B.	Interprétation	7
1.3.4	Mode de reproduction	7
1.3.5	Conjugaison bactérienne	7
1.3.6	Sporulation	9
1.4	Cellule eucaryote	9
1.4.1	Ultrastructure d'une cellule eucaryote	9
A.	Noyau	9
B.	Membrane plasmique	9
C.	Cytoplasme	9
D.	Réticulum endoplasmique	10
E.	Appareil de Golgi	10
F.	Mitochondries	10
G.	Cytosquelette	10
H.	Peroxisomes	10
1.4.2	Cellule animale	10
A.	Lysosomes	10
B.	Centrosome	10
1.4.3	Cellule végétale	10
A.	Paroi pectocellulosique	10
B.	Vacuole	11

	C.	Plastes	11
	D.	Plasmodesmes	11
1.5	Virus		14
1.5.1	Organisation des virions		14
	A.	Acide nucléique	14
	B.	Capside	14
	C.	Enveloppe	14
1.5.2	Morphologie des virions		14
	A.	Virus à symétrie icosaédrique	14
	B.	Virus à symétrie hélicoïdale	14
	C.	Virus à symétrie complexe	14
1.5.3	Classification des virus		16
1.5.4	Conditions nécessaires à la multiplication d'un virus		16
1.5.5	Réplication virale		16
	A.	Cycle lytique	17
	B.	Cycle lysogénique	17
2	Les techniques d'étude de la cellule		19
2.1	Microscopes		20
2.1.1	Microscopes optiques		20
	A.	Microscope optique à fond clair	20
	B.	Microscope à contraste de phase	20
	C.	Microscope à fluorescence	21
2.1.2	Microscopes électroniques		21
	A.	Microscope électronique à transmission	21
	B.	Microscope électronique à balayage	22
2.2	Techniques histologiques et cytologiques		22
2.2.1	Technique histologique		22
2.2.2	Technique cytologique		23
2.3	Techniques d'observation des formes et des surfaces		23
2.3.1	Contraste négatif		23
2.3.2	Cryofracture		24
2.4	Techniques de détection et de localisation		24
2.4.1	Autoradiographie		24
	A.	Principe	24
	B.	Méthode	24
2.4.2	Immunomarquage		25
	A.	Expérience de FRYE et EDIDIN	25
2.5	Techniques d'ultracentrifugation		27
2.5.1	Principes de base de la centrifugation		27
2.5.2	Ultracentrifugation différentielle		27
	A.	Homogénéisation	27
	B.	Centrifugation de l'homogénat	28
2.5.3	Ultracentrifugation sur gradient de densité		28
3	L'organisation de la membrane plasmique		31
3.1	Structure de la membrane plasmique		32
3.1.1	En microscopie électronique à transmission		32
3.1.2	En microscopie électronique à balayage		32
3.2	Étude biochimique de la membrane plasmique		32
3.2.1	Méthode d'étude		32
3.2.2	Les lipides membranaires		33
	A.	Glycérophospholipides	33
	B.	Cholestérol	33
	C.	Glycolipides	33
3.2.3	Propriétés des lipides membranaires		34
3.2.4	Les protéines membranaires		34
	A.	Les protéines intégrées	35
	B.	Les protéines périphériques	36
3.2.5	Propriétés des protéines membranaires		36

3.2.6	Fonctions des protéines membranaires	36
3.2.7	Les glucides membranaires	36
3.2.8	Fonctions des glucides du glycocalix	36
3.2.9	Les microdomaines lipidiques	36
3.3	Architecture moléculaire de la membrane plasmique	37
4	Les spécialisations de la membrane plasmique	39
4.1	Les différenciations apicales	40
4.1.1	Les microvillosités	40
A.	Plateau strié	40
B.	Bordure en brosse	40
4.1.2	Les stéréocils	40
4.1.3	Les cils	41
4.2	Les différenciations basales	41
4.2.1	Les invaginations de la membrane plasmique basale	41
4.2.2	Hémidesmosomes	41
4.3	Les différenciations latéro-basales	42
4.3.1	Les interdigitations	42
4.3.2	Les jonctions cellulaires	42
5	La matrice extracellulaire	43
5.1	Constituants de la matrice extracellulaire	44
5.1.1	Glycoprotéines	44
A.	Collagènes	44
B.	Fibronectine	44
C.	Laminine	44
5.1.2	Polysaccharides	45
A.	Glycosaminoglycane	45
B.	Protéoglycane (PG)	45
5.2	Lame basale	45
5.2.1	Principaux composants des lames basales	46
5.2.2	Fonctions des lames basales	46
5.3	Fonctions des matrices extracellulaires	46
6	Les molécules d'adhérence cellulaire	47
6.1	Les cadhérines	48
6.1.1	Structure	48
6.1.2	Classification	48
6.1.3	Fonctions des cadhérines	48
A.	Formation de jonctions	48
B.	Inhibition de contact	48
C.	Rôle dans la morphogenèse	49
6.2	Les sélectines	49
6.2.1	Structure	49
6.2.2	Classification	49
6.2.3	Fonctions de sélectines	49
A.	Diapédèse	49
B.	Inhibition de contact	50
6.3	Les immunoglobines Ig-CAM	51
6.3.1	Structure	51
6.3.2	Classification	51
6.3.3	Fonctions des Ig-CAM	51
6.4	Les intégrines	51
6.4.1	Structure	51
6.4.2	Fonctions des intégrines	51
A.	Attachement de la cellule à la matrice extracellulaire	51
B.	Coagulation	52

7 Les jonctions cellulaires	53
7.1 Type des jonctions cellulaires	54
7.2 Forme des jonctions cellulaires	54
7.3 Les jonctions serrées (zonula occludens)	54
7.4 Les jonctions d'ancrage	55
7.4.1 Les desmosomes de ceinture (zonula adherens)	55
7.4.2 Les desmosomes ponctuels (macula adherens)	55
7.5 Les jonctions communicantes	55
7.6 Les hémidesmosomes	56
8 Les transports perméatifs de la membrane plasmique	57
8.1 Les transports perméatifs passifs	58
8.1.1 La diffusion simple	58
8.1.2 La diffusion facilitée	58
A. Les perméases	59
B. Les canaux ioniques	60
8.2 Les transports perméatifs actifs	60
8.2.1 Transport actif primaire	60
A. Pompe sodium / potassium	60
8.2.2 Transport actif secondaire	61
A. Antiport	61
B. Symport	61
9 Les transports cytosoliques	63
9.1 L'endocytose	64
9.1.1 Pinocytose	64
9.1.2 Phagocytose	64
9.1.3 Endocytose par récepteurs	64
A. Endocytose par récepteurs dépendante de la clathrine	65
B. Endocytose par récepteurs indépendante de la clathrine	65
9.2 Exocytose	65
10 La membrane plasmique et les échanges d'informations	67
10.1 Les molécules de signalisation intercellulaire	68
10.1.1 Caractères des molécules de signalisation	68
A. Molécules informatives hydrophiles	68
B. Molécules informatives hydrophobes	68
10.2 Les divers modes de communication intercellulaire	68
10.3 Les récepteurs de la membrane plasmique	69
10.3.1 Les récepteurs couplés aux protéines G (GPCR)	69
A. Structure	69
B. Mécanisme d'action	69
C. Fonctions	69
10.3.2 Les récepteurs-enzymes	69
A. Structure des récepteurs à activité tyrosine kinase (TKR)	70
B. Structure du récepteur de l'insuline	70
C. Mécanisme du récepteur de l'insuline	70
11 Le hyaloplasme	71
11.1 Structure et ultrastructure	72
11.1.1 Structure au microscope optique	72
11.1.2 Ultrastructure	72
A. Les structures granulaires	72
B. Les structures fibrillaires	72
11.2 Étude biochimique du cytosol	72
11.2.1 Isolement	72
11.2.2 Composition moléculaire	72
A. L'eau	72
B. Les petites molécules	72
C. Les molécules de taille moyenne	73

D. Les macromolécules	73
11.2.3 Conditions biochimiques du milieu	73
11.3 Propriétés du hyaloplasme	73
11.3.1 Viscosité	73
11.3.2 Mobilité	73
11.3.3 Mouvements internes	73
11.3.4 Mouvements amiboïdes	73
11.4 Rôles et activités physiologiques du hyaloplasme	73
11.4.1 Réserve de macromolécules	73
11.4.2 Carrefour de voies métaboliques	73
12 Le cytosquelette	75
12.1 Les microfilaments d'actine du cytosquelette	76
12.1.1 Architecture moléculaire	76
12.1.2 Actine G	76
12.1.3 Isoformes de l'actine	76
12.1.4 Dynamique de polymérisation	76
A. Nucléation	76
B. Élongation	76
12.1.5 Localisation des microfilaments	76
12.1.6 Disposition des microfilaments	77
12.1.7 Microfilaments stables	78
12.1.8 Inhibiteurs de la polymérisation et de la dépolymérisation	78
A. Les cytochalasines	78
B. Les phalloïdines	78
12.1.9 Protéines de liaison de l'actine	78
A. Protéines de régulation	78
B. Protéines de fragmentation	78
C. Protéines d'organisation	78
D. Protéines d'ancrage membranaire	78
E. Protéines motrices	78
12.2 L'actine des fibres musculaires striées	79
12.2.1 Myofibrilles	79
12.2.2 Sarcomère	79
A. Principaux composants du sarcomère	79
12.3 Les microtubules	81
12.3.1 Composition moléculaire	81
12.3.2 Biogenèse	82
12.3.3 Microtubules labiles	82
A. Polarité	82
B. Polymérisation	82
C. Inhibiteurs exogènes de la polymérisation	82
D. Inhibiteurs exogènes de la polymérisation	82
E. Protéines associées aux microtubules	82
12.3.4 Microtubules stables	83
A. Les centrioles	83
12.4 Les filaments intermédiaires	84
12.4.1 Composition moléculaire	84
12.4.2 Propriétés	84
12.4.3 Classification	84
12.5 Fonctions du cytosquelette	84
12.5.1 Transport vésiculaire	84
A. L'exocytose	84
B. L'endocytose	84
12.5.2 Contraction musculaire	85
A. Au niveau de la cellule nerveuse (présynaptique)	85
B. Au niveau de la cellule musculaire (postsynaptique)	85
12.5.3 Division cellulaire (mitose)	85
A. Cytodiérèse	86
12.5.4 Mouvements amiboïdes - migration des fibroblastes	86

13 Le système endomembranaire	87
13.1 Le réticulum endoplasmique	88
13.1.1 Réticulum endoplasmique lisse et réticulum endoplasmique rugueux	88
13.1.2 Composition chimique membranes du REG	88
A. Isolement des membranes du REG	88
B. Analyse biochimique des membranes du REG	88
13.1.3 Composition chimique membranes du REL	88
A. Isolement des membranes du REL	88
B. Analyse biochimique des membranes du REL	89
13.2 Appareil de Golgi	89
13.2.1 Régions fonctionnelles de l'appareil de Golgi	89
13.2.2 Vésicules associées aux dictyosomes	89
13.2.3 Ultrastructure des membranes des saccules	89
13.2.4 Composition chimique	90
A. Isolement	90
B. Analyse biochimique	90
13.3 Les lysosomes	90
13.3.1 Composition chimique	90
A. Isolement des lysosomes	90
B. Analyse chimique	90
13.3.2 Classification des lysosomes	91
A. Les autolysosomes	91
B. Les hétérolysosomes	91
13.4 Endosomes	91
13.5 Fonctions du REG	92
13.5.1 Translocation et élongation des protéines solubles et membranaires	92
A. Étapes de la synthèse et translocation des protéines solubles et membranaires	92
13.5.2 N-glycosylation	92
A. Étapes de la N-glycosylation	92
13.5.3 Acquisition de la structure tridimensionnelle	92
A. Les BiP	92
B. Les PDI	92
13.5.4 Contrôle de qualité	93
13.6 Fonctions du REL	93
13.6.1 Synthèse des phospholipides membranaires	93
13.6.2 Synthèse des hormones stéroïdes	93
13.6.3 Stockage du calcium intracellulaire	93
A. Détoxification	93
13.7 Fonctions de l'appareil de Golgi	94
13.7.1 O-glycosylation	94
A. Étapes de la O-glycosylation	94
13.7.2 Sulfatation des protéines destinées à la matrice extracellulaire	94
A. Étapes de la sulfatation	94
13.7.3 Phosphorylation des glycoprotéines enzymatiques solubles des lysosomes	94
A. Étapes de la phosphorylation des glycoprotéines des lysosomes	94
13.7.4 Clivage protéolytique de certaines protéines	94
13.7.5 Tri et adressage des produits de sécrétion	95
A. Flux centrifuge	95
B. Flux centripète	95
13.8 SNARE	95
13.8.1 Types de protéines SNARE	95

Bibliographie

- [1] WIKIPÉDIA : Cellule (biologie).
Lien : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Cellule_\(biologie\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Cellule_(biologie)).
- [2] Remy BATTINGER : *Les niveaux d'organisation du vivant*. Educagri, 2^e édition, 2004. Page 67.
- [3] WIKIPÉDIA : Chromosome.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Chromosome>.
- [4] Céline LOOZEN et Sonia IDIR : Les bactéries : organismes primitifs ? page 3.
- [5] WIKIPÉDIA : *Thiomargarita namibiensis*.
Lien : http://fr.wikipedia.org/wiki/Thiomargarita_namibiensis.
- [6] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 48.
- [7] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 52.
- [8] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 297.
- [9] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Pages 48–49.
- [10] Wikipédia FRANÇAISE : Mésosome (biologie cellulaire).
Lien : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Mesosome_\(biologie_cellulaire\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Mesosome_(biologie_cellulaire)).
- [11] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Pages 49–52.
- [12] LESBEAUXJARDINS.COM : Procaryotes.
Lien : <http://www.lesbeauxjardins.com/cours/botanique/3-procaryotes/bacteries.htm>.
- [13] Guy LEYRAL et Élisabeth VIERLING : *Microbiologie et toxicologie des aliments*. Doin, 4^e édition, 2008. Page 34.
- [14] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 60.
- [15] Wikipédia ANGLAISE : Organelle.
Lien : <http://en.wikipedia.org/wiki/Organelle>.
- [16] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 34.
- [17] WIKIPÉDIA : Noyau (biologie).
Lien : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Noyau_\(biologie\)](http://fr.wikipedia.org/wiki/Noyau_(biologie)).
- [18] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 80.
- [19] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 37.
- [20] WIKIPÉDIA : Vacuole.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Vacuole>.
- [21] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Pages 451–453.
- [22] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 101.

- [23] WIKIPÉDIA : Mimivirus.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Mimivirus>.
- [24] WIKIPÉDIA : Virus.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Virus>.
- [25] WIKIPÉDIA : Capside.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Capside>.
- [26] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 369.
- [27] G. HERBEIN : Définition, structure, et classification des virus. page 13, 2004.
- [28] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 377.
- [29] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 378.
- [30] Anne DECOSTER, Jean-Claude LEMAHIEU, Eric DEHECQ, Philippe GONTIER et Marc DUHAMEL : Principes de la classification des virus. Lien : <http://anne.decoster.free.fr/d1viro/vgclass.html>.
- [31] Wikipédia ANGLAISE : Polyomavirus.
Lien : <http://en.wikipedia.org/wiki/Polyomavirus>.
- [32] Jean-Marie HURAUX : Virologie.
Lien : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/viro/poly/POLY.Chp.1.2.html>.
- [33]
- [34] Daniel L. HARTL et Elisabeth W. JONES : *Génétique : les grands principes*. Dunod, 3^e édition, 2003. Page 314.
- [35] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 25.
- [36] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 21.
- [37] WIKIPÉDIA : Fluorescence.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fluorescence>.
- [38] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 32.
- [39] Wikipédia ANGLAISE : Scanning electron microscope.
Lien : http://en.wikipedia.org/wiki/Scanning_electron_microscope.
- [40] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 30.
- [41] PRESCOTT, HARLEY et KLEIN : *Microbiologie*. De Boeck, 2^e édition, 2003. Page 22.
- [42] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Pages 31–32.
- [43] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Pages 32, 33 et 119.
- [44] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Pages 32, 33 et 119.
- [45] tpe-cellulessouches.e MONSITE.COM : Centrifugation.
Lien : <http://tpe-cellulessouches.e-monsite.com/rubrique,centrifugation,1298944.html>.
- [46] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 50.
- [47] WIKIPÉDIA : Osmose.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Osmose>.
- [48] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 54.
- [49] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 56.
- [50] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 63.
- [51] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 52.
- [52] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 101.
- [53] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 102.
- [54] WIKIPÉDIA : Stéréocil.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Stereocil>.
- [55] Abraham L. KIERSZENBAUM : *Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique*. De Boeck, 1^e édition, 2006. Page 9.

- [56] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Pages 440–442.
- [57] Marc MAILLET : *Biologie cellulaire*. Masson, 10^e édition, 2006. Page 131.
- [58] WIKIPÉDIA : Cadherine.
Lien : <http://fr.wikipedia.org/wiki/Cadherine>.
- [59] Jean-Claude CALLEN : *Biologie cellulaire : des molécules aux organismes*. Dunod, 2^e édition, 2005. Page 152.
- [60] WIKIPÉDIA : Cytosquelette.
Lien : <http://forums.futura-sciences.com/biologie/424299-cytosquelette.html>.