

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
UNIVERSITE DES FRERES
MENTOURI CONSTANTINE

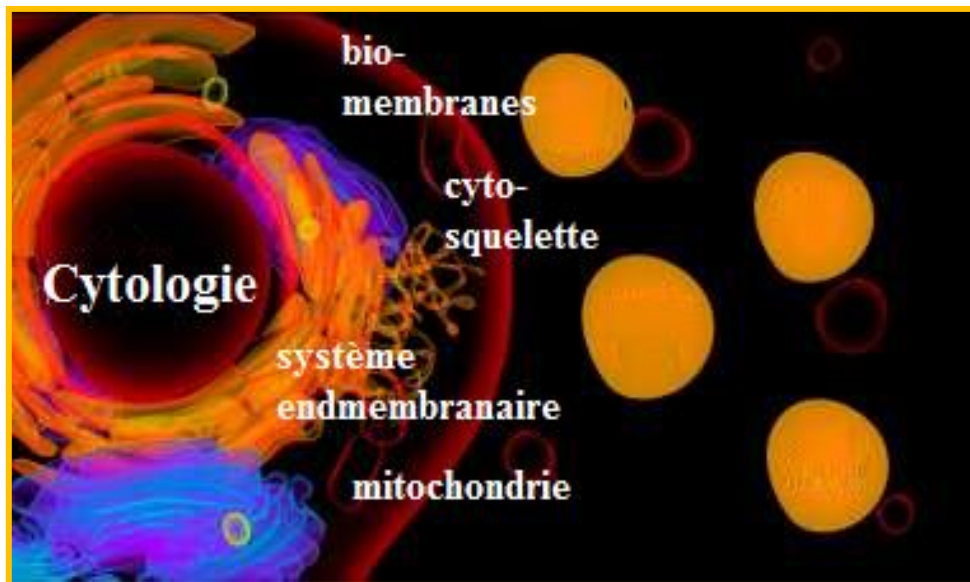
Institut des Sciences Vétérinaires
معهد العلوم البيطرية
Département de préclinique
قسم ما قبل العيادي



Polycopié pédagogique

TRAVAUX DIRIGES DE CYTOLOGIE

Solution des exercices



Dr ALLAOUI. ASSIA
Maitre de conférences A

Module de Cytophysiologie
Première Année Docteur Vétérinaire

Année universitaire 2021-2022.



SOLUTION DES EXERCICES

SOLUTION DES EXERCICES

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION A LA CYTOLOGIE

II. QROC

- 1. Le métabolisme :** est constitué de toutes les réactions chimiques qui se déroulent dans les cellules vivantes, permettant leur croissance ou le renouvellement de leur matière. Le métabolisme peut aussi être divisé en deux phases principales : le catabolisme (dégradations) et l'anabolisme (synthèses), qui ont lieu simultanément dans les cellules et sont eux aussi étroitement interconnectés au niveau de nombreux métabolites communs.
- 2. L'homéostasie :** consiste dans le maintien, autour de valeurs stables de référence, des paramètres physiques, chimiques et biologiques caractérisant le milieu intérieur des organismes (ou le cytoplasme des cellules). Diverses réponses régulatrices, en général hormonales, permettent de corriger les dérives de paramètres physiologiques tels que la glycémie, la calcémie, ou l'équilibre phosphocalcique, chez les Animaux.
- 3. L'espèce moléculaire la plus abondante chez les êtres vivants en activité est :** l'eau, qui représente près de 75 % de leur masse totale. Solvant quasi universel des molécules organiques, elle intervient dans de nombreuses réactions chimiques (hydrolyse et condensation), et constitue le milieu interstitiel des cellules et l'élément de base du milieu intérieur des organismes pluricellulaires (la lymphe et le sang des Vertébrés, par exemple).
- 4. Les tailles des molécules et des cellules sont exprimées respectivement en :** nanomètres et en micromètres (certaines cellules pouvant cependant exceptionnellement atteindre des tailles de l'ordre du millimètre ou du centimètre, dans une de leurs dimensions).
- 5. Les êtres vivants sont caractérisés par quatre propriétés fonctionnelles majeures:** une activité chimique (ou métabolisme), une capacité de réaction (communication cellulaire avec le milieu environnant qui s'exerce à tous les niveaux d'organisation),

une capacité de reproduction conforme à court terme, et enfin une aptitude à l'évolution (croissance et différenciation cellulaire).

6. **On distingue deux grands groupes d'êtres vivants, sur la base de leur organisation cellulaire** : les Procaryotes, à structure cellulaire très simple et de très petite taille, et les Eucaryotes, dont les cellules ont une organisation bien plus complexe (dite compartimentée) et des tailles beaucoup plus grandes (1 000 à 10 000 fois).

7. **Par définition** : une cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout (bactérie) ou partie d'un être (animal ou végétal) vivant. La cellule est une entité vivante qui fonctionne de manière autonome et dans le cas d'organismes multicellulaires, les fonctions d'une cellule bien qu'elles soient autonomes, elles sont toujours coordonnées avec celles des autres cellules. Les virus quant à eux ne sont pas considérés comme des êtres vivants car ils ne présentent pas de structure cellulaire, n'ont aucun métabolisme propre et ne peuvent être reproduits que grâce à des cellules vivantes qu'ils sont obligés d'infecter pour assurer leur cycle de multiplication (parasitisme absolu).

8. **Les premières observations de cellules** datent de la deuxième moitié du 17^e siècle : 1665 pour R. Hooke (cellules mortes de liège) et 1674 pour A. Leeuwenhoek (cellules vivantes : unicellulaires Eucaryotiques et même Procaryotiques). Le premier utilisait un microscope composé, et le second un microscope simple (loupe).

9. Quelles que soient leur forme, leur dimension, leur spécialisation, et leur mode de vie, toutes les cellules présentent une structure fondamentale caractérisée par la présence des trois éléments suivants :
 - 1) **Membrane cellulaire ou membrane plasmique**, sans laquelle, les biomolécules intracellulaires seraient diluées dans le milieu environnant.
 - 2) **Région qui contient le matériel génétique**, retrouvée à l'intérieur de la cellule avec les molécules qui peuvent lire et copier les instructions héréditaires.
 - 3) **Cytoplasme** : région entre le noyau (ou l'ADN) et la membrane cellulaire, contenant une substance semi fluide nommé le cytosol.

10. Les caractéristiques fondamentales différenciant les Procaryotes des Eucaryotes

concernent : la taille moyenne des cellules, leur compartimentation (présence ou non de systèmes membranaires) interne, l'existence ou non d'un cytosquelette, l'organisation de la membrane limitante et de la paroi, l'organisation du matériel génétique et son fonctionnement, les possibilités métaboliques et l'aptitude à former des organismes pluricellulaires.

III. Exercice 1

Les propositions vérifiées par ces observations sont :

(1). Ces cellules sont Eucaryotes, car la cellule Eucaryote est caractérisée par :

- Un vrai noyau avec double membrane qui renferme l'ADN.
- Taille typique de 10-100 μm de diamètre

(4). Ces organismes sont des cellules qui prolifèrent normalement dans l'eau salée car elles supportent les variations de l'osmolarité du milieu extracellulaire.

IV. Exercice 2 :

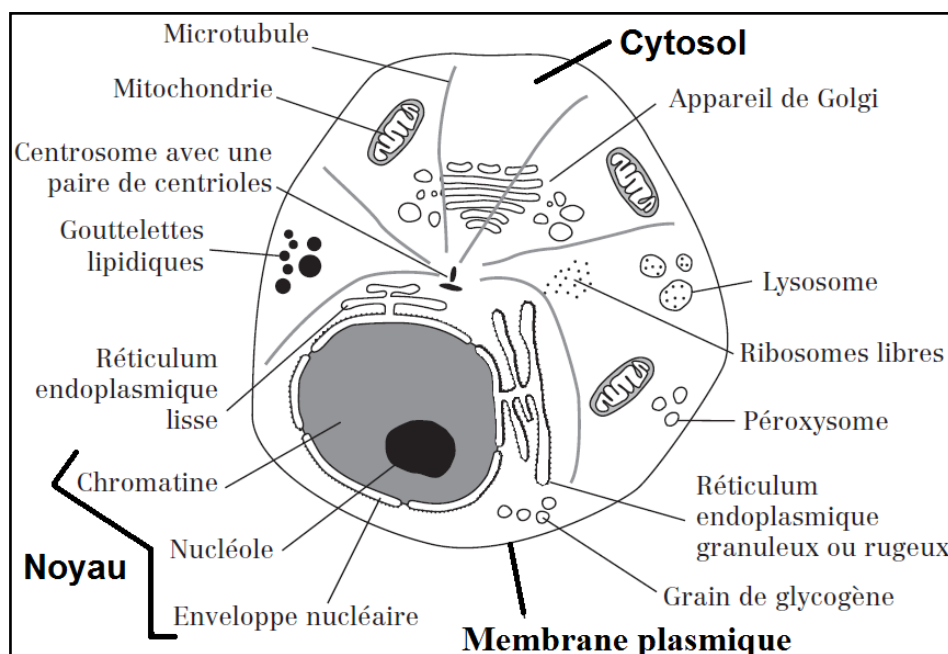


Figure 4 : Cellule Eucaryote (Coupe de cellule théorique) : Cellule animale (Callen, 2009)

V. Exercice 3 :

Les cellules 1 et 4 sont de très petite taille (respectivement 1,5 μm et 3,4 μm) et visiblement non ou peu compartimentées ; il s'agit de Procaryotes.

Les cellules 2 et 3 sont de taille bien supérieure (respectivement 80 μm et 14 μm) et possèdent de nombreux organites, dont le noyau, volumineux et très reconnaissable ; il s'agit donc d'Eucaryotes.

La cellule 2, qui possède de grandes vacuoles, des chloroplastes et une paroi épaisse, est une cellule végétale ; la cellule 3 est donc de type animal.

CHAPITRE II. LA STRUCTRE MEMBRANAIRE

III. QROC

1. Description de la structure de la membrane cytoplasmique

Membrane cellulaire, cytomembrane, ou membrane plasmique, unitaire ou encore plasmalemme, est une enveloppe biologique continue qui sépare le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire, elle sépare mais n'isole pas la cellule de son environnement. Cette enveloppe donne à la cellule sa forme

La membrane cytoplasmique est une structure fluide bidimensionnelle: les lipides (essentiellement des phosphoglycérolipides) sont organisés en bicouche. Elle est constituée d'une « mosaïque » : des macromolécules de nature protéique et/ou glycoprotéique sont insérés dans la bicouche. La membrane plasmique est organisée de manière asymétrique. Et ne présente pas une composition chimique homogène. Le plasmalemme est en continuité transitoire avec le système endomembranaire (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et lysosomes).

2. La structure trilaminaire des membranes biologiques est observée, en coupe, et à très fort grossissement, sur du matériel biologique traité par les méthodes de la cytologie électronique.

En coupe transversale, les images montrent une structure typique en trois couches comprenant :

- 1) Deux **feuilletts denses (osmiophiles)** de 20 à 25 Å (2,5 nm) chacun, l'**un externe** (espace extracellulaire), l'**autre interne** en regard du cytoplasme.
- 2) Un **feuillelet clair (osmiophobe)** de 30 à 40 Å (3 nm).

3. Principales classes des différentes composantes biochimiques (lipides, protéines et glucides) de la membrane cytoplasmique

I. Lipides membranaires

I.1. Les phospholipides

I. 1.1. Glycérophospholipide

I.1.2. Les Sphingolipides

I. 2. Le Cholestérol

I. 3. Les Glycolipides

II. Protéines membranaires

II.1. Les protéines intégrales (transmembranaires ou intramembranaires)

II.2. Les protéines périphériques, externes ou internes ou associées à une protéine intégrale.

III. Glucides membranaires

III.1. glycolipides :

III.2. glycoprotéines et les Protéoglycanes

4. Les lipides sont des molécules Amphiphiles ou amphipatiques car ils présentent une queue ou extrémité apolaire hydrophobe ou osmiophobe (lipophile), et une tête polaire hydrophile osmiophile (lipophobe).

5. La propriété physico-chimique qui est à la base de l'organisation des lipides en bicouche lorsqu'ils sont placés dans un milieu aqueux est : Le caractère Amphiphile est à la base de l'organisation *spontanée* par autoassemblage des lipides en bicouche continue ou en *micelles* lorsqu'ils sont placés dans un milieu aqueux.

6. Les liposomes sont des structures artificielles formées de bicouches organisées en vésicules. Les liposomes unilamellaires (*voir figure ci-dessous*) n'ont qu'une membrane limitante et une vaste lumière, tandis que les plurilamellaires sont formés de nombreuses membranes concentriques (leur lumière est donc restreinte). Ils sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique comme vecteurs de médicaments ou de produits cosmétiques. **Les micelles** sont minuscules et n'ont pas de lumière, car leur cœur est formé par les chaînes d'acides gras des lipides qui les constituent.

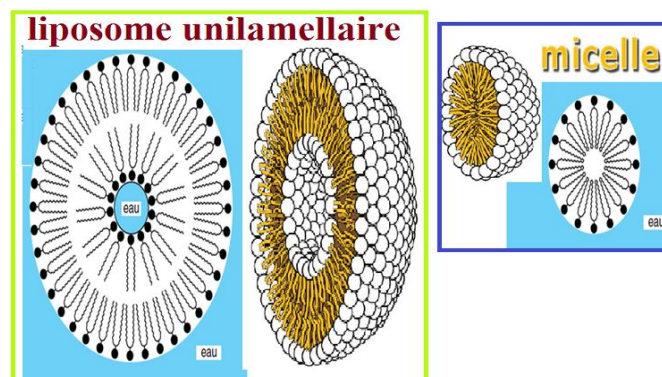


Figure 5 : structure des liposomes et des micelles (Callen. 2005)

7. On peut démontrer l'existence de la fluidité membranaire chez les cellules animales en culture au moyen d'une expérience utilisant des hétérocaryons : cellules « hybrides » issues de la fusion de deux cellules (ici, d'espèces différentes : Homme/souris). Des marqueurs immunologiques (anticorps anti- protéines membranaires marqués par des fluorochromes différents) sont utilisés pour visualiser et suivre le déplacement latéral des protéines spécifiques de chaque type cellulaire, une fois que la fusion des cellules est obtenue. Au cours du temps les observations obtenues sont les suivantes :

- Si les protéines de souris et les protéines humaines sont localisées peu de temps après la fusion cellulaire entre les deux cellules, elles occupent des domaines distincts sur l'hétérocaryon. Les domaines membranaires provenant de la cellule de souris sont séparés de ceux qui sont issus de la cellule humaine ;
- Par contre, si la localisation à lieu 30 minutes à une heure après la fusion, il est impossible d'attribuer des domaines précis à chaque protéine sur l'hétérocaryon. Les domaines membranaires ne sont plus séparés dans l'espace : il y a eu déplacement latéral des protéines dans le plan de la membrane.

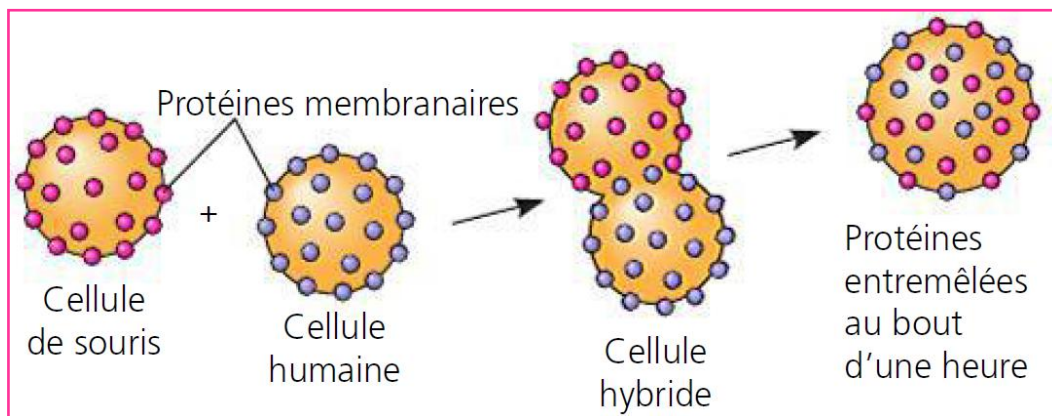


Figure 6 : Différentes étapes de l'expérience utilisant des cellules « hybrides » et démontrant l'existence de la fluidité membranaire chez les cellules animales (**Faucher et Lachaine 2012**).

8. La fluidité membranaire est due aux mouvements de diffusions latérales des protéines mais surtout des lipides. Ces déplacements sont à la base de la fluidité membranaire. Lors d'un déplacement latéral: chaque molécule lipidique peut se mouvoir latéralement dans le plan d'une même couche. Ces mouvements sont rapides. Les phospholipides changent de position 10^7 fois par seconde. Un phosphoglycérolipide peut se déplacer à la vitesse moyenne de $2\mu\text{m}$ /seconde.

Il est à noter que ces mouvements de déplacements latéraux dans le plan de la membrane (autrement dit au sein d'une hémimembrane) sont possibles et fréquents, contrairement aux mouvements de diffusion transversale en flip-flop (autrement dit échanges entre hémimembrane) qui sont extrêmement difficiles et rares pour les lipides, et impossibles pour les protéines.

9. Les facteurs qui influencent la fluidité des membranes sont les suivants : la température (agitation moléculaire) ; la nature des acides gras des lipides membranaires (leur longueur et leur saturation ou insaturation) ; la richesse en cholestérol.

10. Importance de la fluidité pour la membrane

- Si la membrane est percée ou déchirée, les molécules de phospholipides qui s'étaient écartées les unes des autres peuvent à nouveau se rapprocher et fermer l'ouverture ce qui permet à la membrane de se réparer d'elle-même
- La membrane peut varier facilement sa taille : Lors des différents phénomènes physiologiques **d'endocytose, les mouvements des cellules ou leurs croissance** l'ajout de nouvelles molécules de phospholipides, qui en se joignant aux autres, permettent à la membrane de s'agrandir. Inversement, elle peut réduire sa taille cas **de l'exocytose par exemple**, si on enlève des molécules.
- La fluidité permet à la cellule de se diviser : Il suffit de resserrer l'équateur de la sphère pour obtenir deux sphères.
- Pour les protéines membranaires : Grâce a la fluidité, les protéines peuvent s'unirent a des zones des la membranes et former des structures solides (jonctions , les récepteurs , les synapses).

11. Les résidus glucidiques des glycoprotéines et des glycolipides sont situés sur la face externe de la membrane plasmique et sur la face interne des saccules ou des vésicules du réseau membranaire interne. C'est au niveau de ce dernier compartiment en particulier dans l'appareil de Golgi que s'effectue la glycosylation de ces molécules membranaires.

12. Les glucides et les lipides participent à l'asymétrie structurale des membranes car ils sont inégalement distribués dans les deux feuillet de la bicouche qui les constitue. Dans la membrane plasmique des hématies, par exemple, la sphingomyéline et phosphatidylcholine sont essentiellement localisées dans le feuillet externe, alors que la la phosphatidylsérine et la phosphatidylethanolamine sont majoritairement intégrées dans le feuillet membranaire

interne. Les glycolipides sont toujours tournés vers l'extérieur des cellules, de même que les glucides des glycolipides.

13. Les glycolipides comprennent les glycéroglycolipides et les sphingoglycolipides. Les premiers se rencontrent surtout chez les Bactéries et les Végétaux, tandis que les glycolipides neutres à sphingosine sont très abondants chez les Animaux, en particulier dans les cellules nerveuses

14. Le glycocalyx, ou manteau cellulaire, est un revêtement fibreux plus ou moins épais qui se situe à la face externe de la membrane plasmique de nombreux types cellulaires (certains épithéliums, en particulier). De nature essentiellement polysaccharidique, il est mis en évidence par les techniques cytochimiques qui détectent ces molécules

15. Les membranes des cellules Eucaryotes remplissent de multiples fonctions : rôle de barrière physique (membrane plasmique ; membranes des organites) ; échange de matière ; support d'activités enzymatiques diverses ; fonction de capture et de transformation d'énergie (mitochondries et chloroplastes) ; rôle dans la transduction des signaux extracellulaires ; conduction d'information à longue distance (influx nerveux) ; reconnaissance et adhérence intercellulaires.

V. Exercice 2

1) Rôle détaillé du cholestérol dans la fluidité et la stabilité mécanique de la membrane cytoplasmique

Par sa conformation (rigide au niveau du noyau tétracyclique, souple au niveau de la chaîne hydrophobe) (*voir figure ci-dessous*) et sa position par rapport aux autres lipides, le cholestérol peut moduler la fluidité liée à ces derniers.

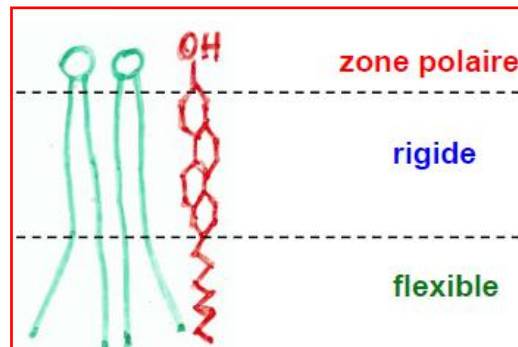


Figure 7 : Conformation du cholestérol (rigide au niveau du noyau tétracyclique, et flexible au niveau de la chaîne hydrocarbonée).

Au niveau des membranes biologiques, il présente un effet tampon puisqu'il influence la fluidité membranaire de deux façons opposées. Il rigidifie les membranes fluides; et fluidifie les membranes rigides.

En effet le cholestérol tend à empêcher les acides gras (surtout à chaîne longue et saturée) d'entrer en contact étroit et d'établir des liens solides lorsque la température de transition est atteinte ($T \leq 10^{\circ}\text{C}$), et au contraire à maintenir les acides gras (surtout à chaîne courte et insaturée) associés aux températures élevées ($T \geq 40^{\circ}\text{C}$).

De plus, son effet varie en fonction de la composition globale de la membrane (*voir figure ci-dessous*). Dans ce cas, son action se réalise grâce à son intercalation entre les chaînes des acides gras, dont il renforce ou diminue les interactions hydrophobes, selon leur forme. Ainsi son encombrement tend à écarter les chaînes rigides d'acides gras saturés (et donc à augmenter la fluidité) et au contraire à stabiliser les chaînes d'acides gras insaturées, qui sont au départ moins tassées les unes sur les autres (diminution de la fluidité).

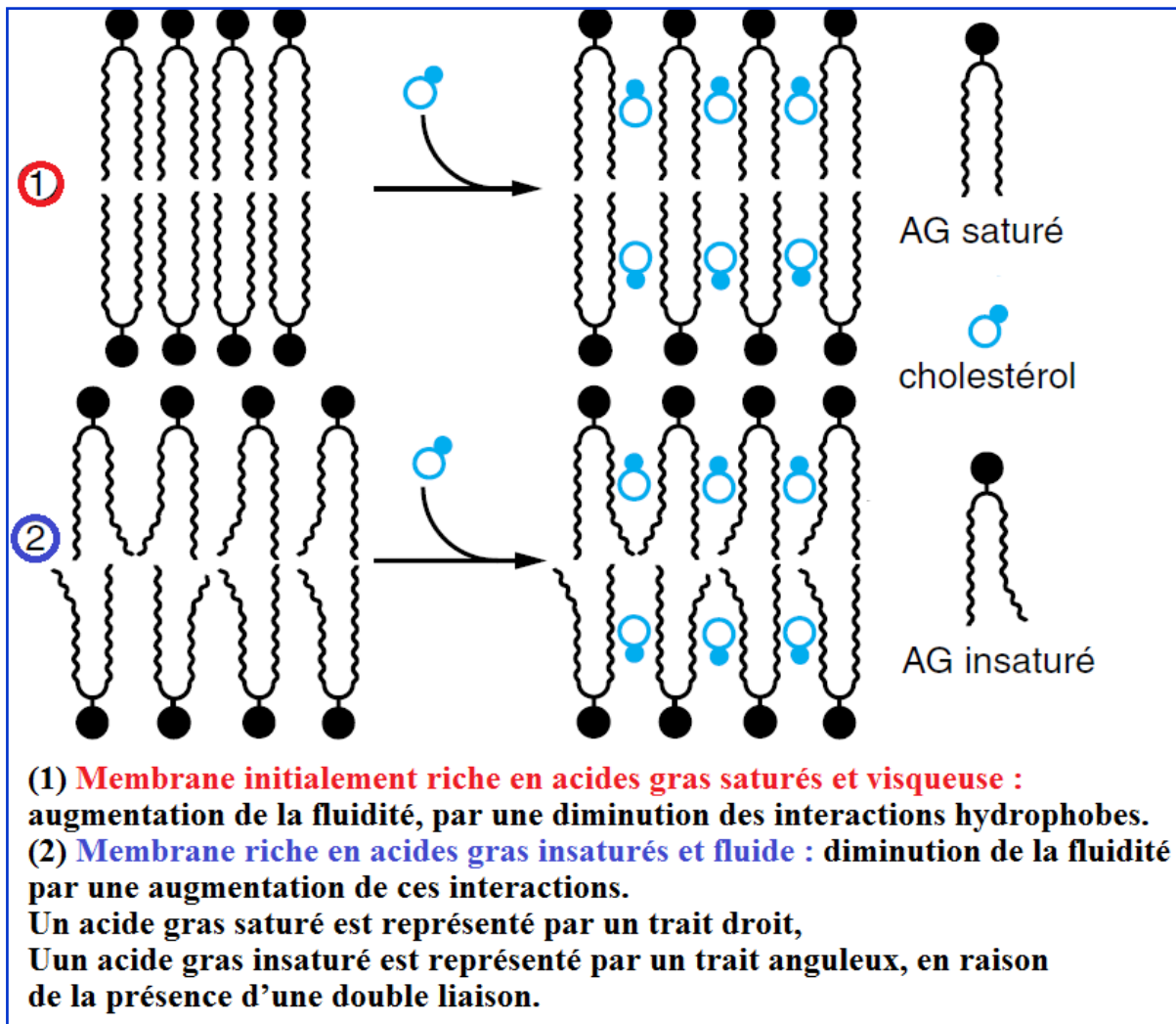


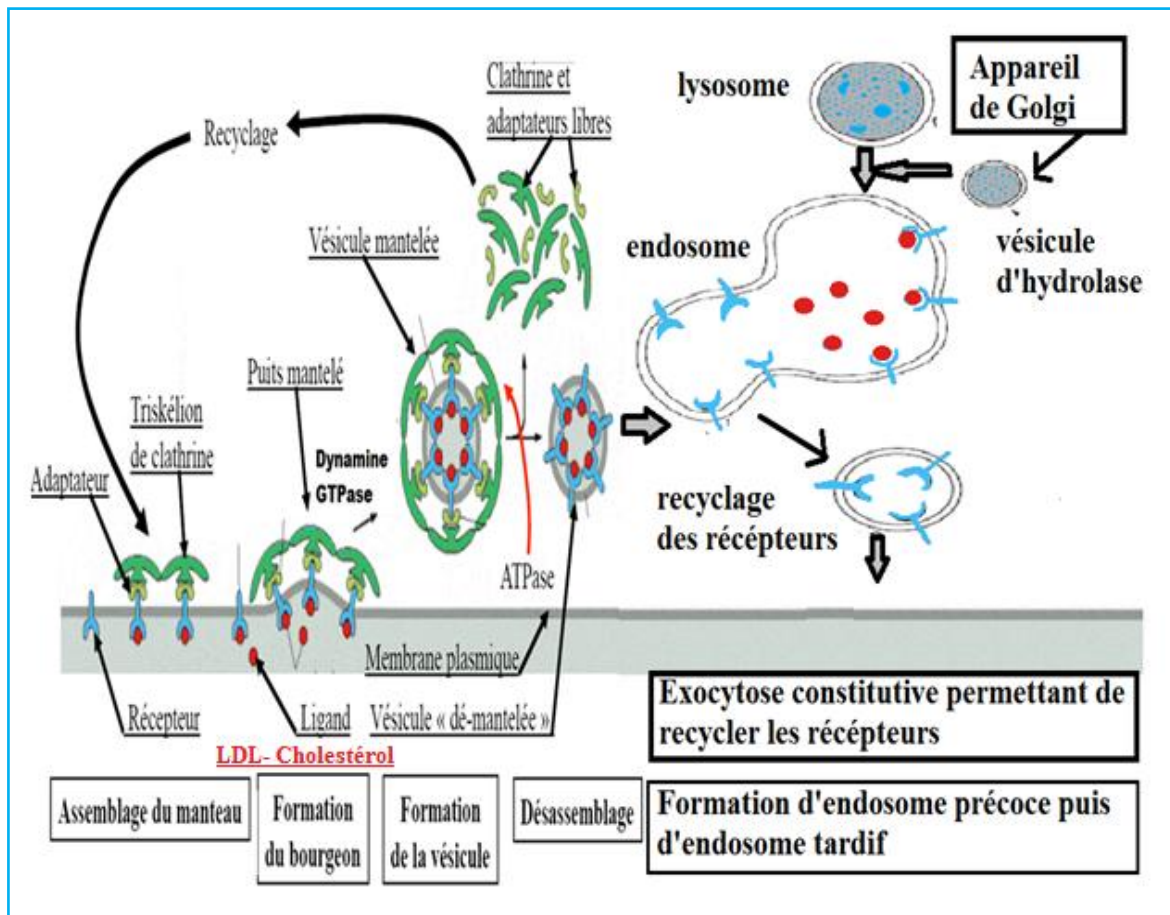
Figure 8: Importance du cholestérol dans le contrôle de la fluidité membranaire, en fonction de la composition en lipides de la membrane (adapté d'après Callen. (2005))

2) Nom du mode de transport à travers la membrane plasmique permettant l'internalisation sélective du cholestérol par la cellule :

Endocytose de vésicules recouvertes de clathrine « endocytose d'adsorption » ou « endocytose adsorptive »

3) Différentes étapes de ce mode de transport.

Le cholestérol est transporté dans le sang sous forme de particules complexes nommées lipoprotéines de faible densité (LDL). Cette molécule (LDL) est précisément reconnue par un récepteur appartenant à la membrane plasmique des cellules animales : le récepteur des LDL. La figure ci-dessous regroupe les principales étapes du transport du cholestérol dans la cellule animale.



Titre 9 : Endocytose par des vésicules recouvertes de clathrine, (Endocytose d'adsorption)
Internalisation du complexe Récepteur- LDL- Cholestérol (adapté d'après Callen. (2005))

Principales étapes de l'internalisation du cholestérol dans la cellule animale.

- 1) Les ligands (LDL-Cholestérol) se fixent sur ces récepteurs (récepteur des LDL), induisant leur diffusion latérale et leur regroupement au niveau des « puits recouverts », du côté cytosolique par le feutrage épineux formé par les molécules de clathrine et les protéines d'adaptation
- 2) Le remaniement des molécules de clathrine, entraîne la déformation de la membrane cytoplasmique, puis le bourgeonnement de la vésicule d'endocytose.
- 3) Fixation de la Dynamine GTPasique, au niveau du collet de la vésicule en formation, cette enzyme hydrolyse le GTP, et permet le détachement de la vésicule épineuse de la membrane plasmique.
- 4) Disparition du revêtement à clathrine.
- 5) La vésicule lisse fusionne avec les endosomes.
- 6) Le milieu endosomal est acidifié en raison du transport actif d'ion H^+ par une ATPase à proton : l'acidification provoque la dissociation des ligands de leur récepteur membranaire

et la désagrégation des ligands. Les récepteurs sont recyclés vers la membrane plasmique à partir des endosomes.

7) Les ligands (LDL-Cholestérol) entrent dans le compartiment lysosomal où ils sont hydrolysés.

4. Rôle du cholestérol lors de la potocytose

La potocytose ne se produit qu'au niveau de zones spécialisées de la membrane plasmique : dénommées « radeaux membranaires », qui sont très riches en cholestérol et en sphingolipides

- **Le nom spécifique de la protéine de revêtement membranaire associée à la potocytose : La cavéoline**

5. Nom du compartiment cellulaire responsable de la synthèse des Hormones stéroïdiennes : Le Réticulum Endoplasmique Lisse

6. Le rôle de ce compartiment cellulaire lors de l'intoxication par le Phénobarbital :

Le Phénobarbital est un xénobiotique lipophile non polaire (par définition : Un xénobiotique est une substance présente dans un organisme vivant mais qui lui est étrangère. Il s'agit d'une substance possédant des propriétés toxiques, même à très faible concentration, exemple des pesticides).

Au niveau du REL la métabolisation du Phénobarbital se fait par diverses réactions biochimiques dont la plus importante est l'hydroxylation (ajout de groupement OH) par les enzymes à cytochrome P450 ; la membrane des citernes du REL est riche en ces enzymes. Après l'hydroxylation la molécule passe dans la lumière des citernes du REL où elle subira une réaction de conjugaison par ajout d'acide glycuronique. Ce processus permet de rendre des métabolites encore plus hydrosolubles ce qui facilite leur élimination. Dans ces situations le RE lisse des cellules hépatiques peut doubler de surface en quelques jours, pour augmenter sa capacité fonctionnelle, puis revenir ensuite aux dimensions d'origine.

La figure suivante illustre les différentes étapes de la métabolisation de substances toxiques, comme le phénobarbital au niveau des citernes du REL.

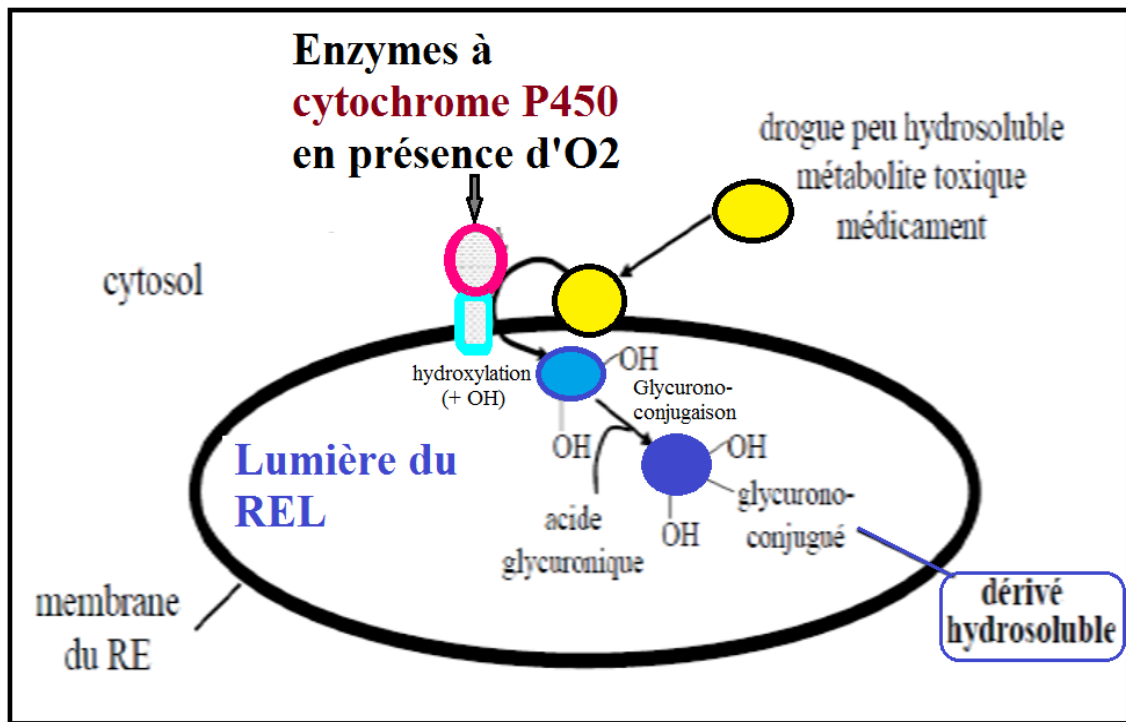


Figure 10 : différentes étapes de la métabolisation de substances toxiques au niveau des citernes du REL.

VI. Exercice 3

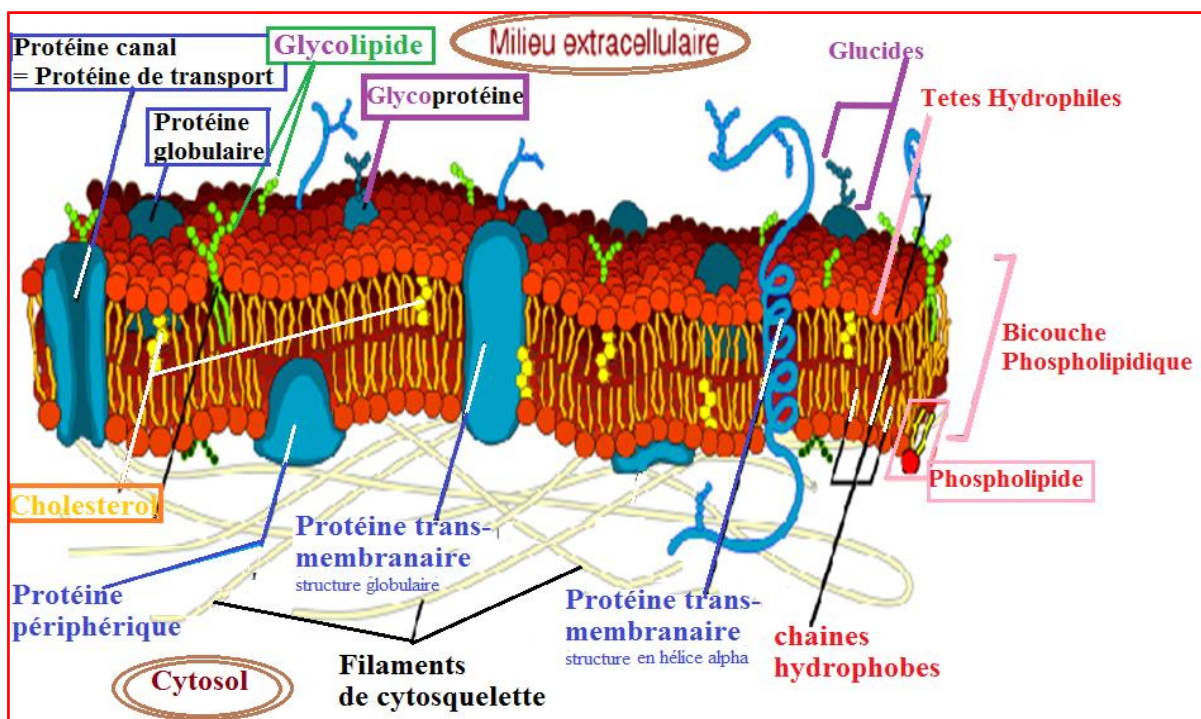
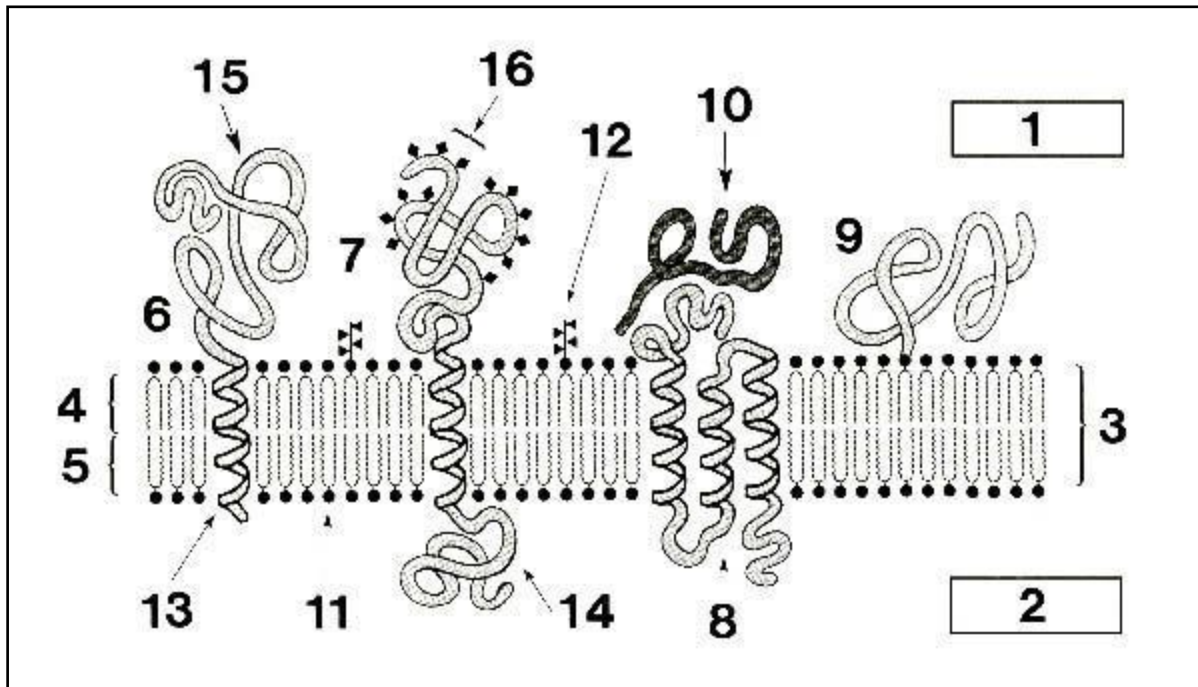


Figure 11 : Le modèle actuel de la membrane plasmique d'une cellule animale (en coupe transversale). Modèle de la mosaïque fluide modèle de Singer et Nicholson (Adaptée d'après Cooper 1999).

VII. Exercice 4



1. extérieur de la cellule. 2. intérieur de la cellule
3. bicouche lipidique
4. feuillet lipidique externe. 5. feuillet lipidique interne
6. protéine intrinsèque (à un passage)
7. glycoprotéine intrinsèque
8. protéine intrinsèque (à trois passages)
9. protéine intrinsèque à ancre lipidique
10. protéine extrinsèque externe
11. phospholipide
12. glycolipide
13. hélice alpha hydrophobe
14. domaine globulaire intracellulaire
15. domaine globulaire extracellulaire
16. motifs glycosidiques

CHAPITRE III

TRANSPORTS ET DIFFUSIONS A TRAVERS LA MEMBRANE PLASMIQUE DES PETITES ET DES MACROMOLECULES.

IV. QROC

1. Les molécules de O₂ et de CO₂ traversent facilement l'intérieur hydrophobe d'une membrane parce qu'elles ne sont pas chargées.
2. La membrane plasmique s'oppose à la libre diffusion des ions et des solutés hydrophiles. L'eau étant une molécule chargée (polaire), elle ne peut pas traverser très rapidement le centre hydrophobe de la bicouche de phosphoglycérolipides.
3. L'ion hydronium est chargé, tandis que le glycérol ne l'est pas. La charge est probablement un critère d'exclusion plus important que la taille pour le canal protéique de l'aquaporine.
4. Dans la pompe Na⁺/K⁺ ATPase chaque ion est transporté contre son gradient électrochimique. Si un des ions traversait suivant son gradient électrochimique, on pourrait dire qu'il s'agit de cotransport.
5. Un transporteur actif primaire nécessite de l'énergie pour assurer le transport d'une molécule, lequel est assuré contre son gradient de concentration (ou son gradient électrochimique). Cette énergie est en général de l'ATP, mais il peut aussi s'agir de l'énergie provenant d'une réaction d'oxydoréduction. Une pompe transporte des ions : exemple de la pompe Na⁺/K⁺ ATPase ou de la pompe Ca²⁺. On peut aussi citer l'exemple des pompes à protons : pompe H⁺ au niveau de la membrane des lysosomes.
6. Dans ce type de transport le gradient électrochimique d'un ion donné va fournir l'énergie pour transporter une molécule vers l'autre face de la membrane plasmique.
 - ❖ Exemple de Symport des acides aminés : Dans les entérocytes (cellules intestinales), le passage des acides aminés à travers la membrane plasmique utilise

un symport fonctionnant à l'aide du gradient de sodium. L'exemple est celui du transporteur Na⁺/ L-leucine

- ❖ Exemple d'antiport : transport du Ca⁺⁺ dans les cellules cardiaques : L'entrée passive du Na⁺ entraîne la sortie du Ca⁺⁺.

7. L'endocytose est le terme général décrivant le phénomène par lequel la cellule transfère une fraction de volume de l'espace extracellulaire qui l'entoure et une portion de la membrane plasmique à un compartiment membranaire intracellulaire. Ce phénomène est appelé aussi internalisation. Il joue un rôle clé dans de nombreux événements cellulaires : absorption de nutriments, contrôle de la composition de la membrane plasmique et son renouvellement, mobilité cellulaire, transduction de signaux.....

La taille des molécules internalisées (et donc des vésicules mises en jeu dans l'absorption), ainsi que les mécanismes précis de leur internalisation sont à la base de la classification des différents types d'endocytose.

8. L'intensité du flux membranaire des cellules pratiquant l'endocytose est évaluée grâce à des molécules marquées qui restent en phase liquide, ou qui suivent la voie des récepteurs, et dont on mesure la vitesse d'accumulation dans le cytoplasme. Dans les cellules en culture, on estime que la surface occupée par les puits recouverts de clathrine représente 2 % de celle de la membrane cytoplasmique ; 2 500 vésicules recouvertes environ s'y forment toutes les minutes. Les cellules en culture peuvent ainsi ingérer le double de leur surface membranaire en une heure.

9. Ce schéma illustre l'absorption et la destruction d'un microorganisme par un phagocyte.

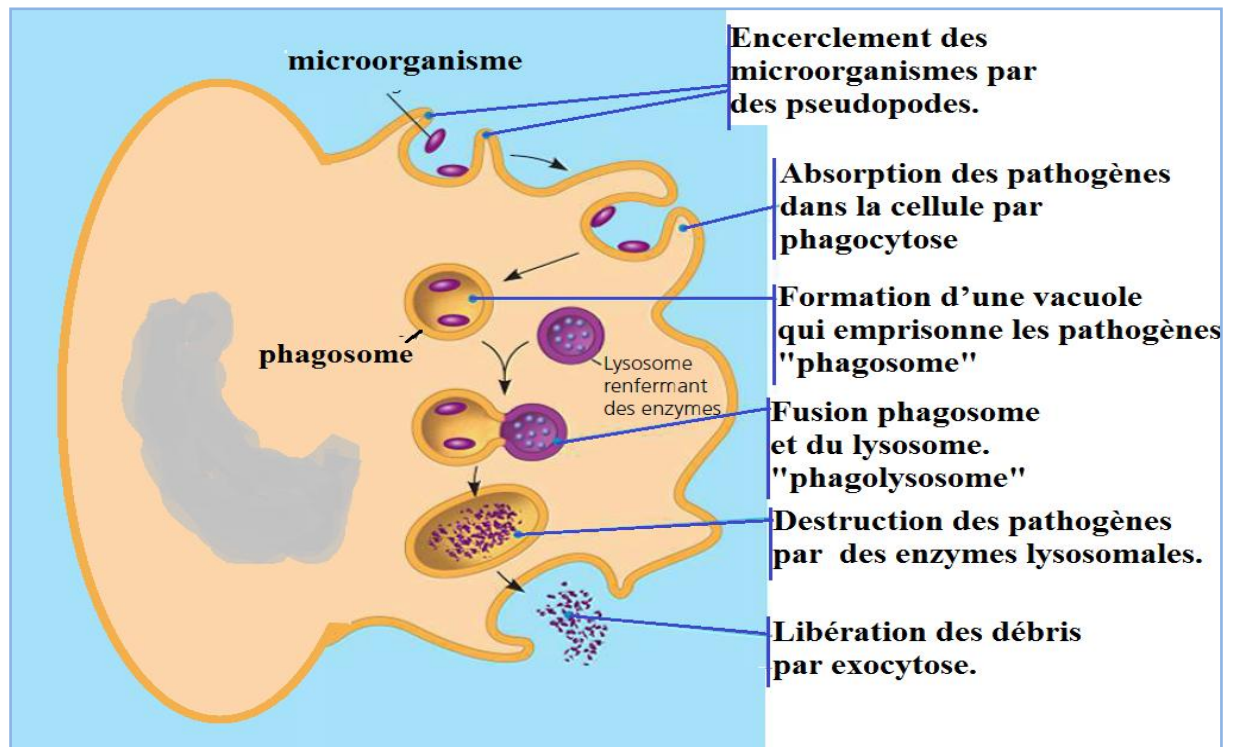


Figure 12 : illustration schématique des différentes étapes de l'absorption et de la destruction d'un microorganisme par une cellule animale (adapté d'après Faucher et Lachaine 2012).

10. Les vésicules d'endocytose sont recouvertes d'un revêtement épineux de nature protéique (Clathrine et protéines d'adaptation ou Cavéoline)
- Fait intervenir des récepteurs membranaires spécifiques pour des molécules présentes dans le milieu extracellulaire
 - Le détachement des vésicules d'endocytose fait intervenir la Dynamine

Ce type d'endocytose est un mécanisme de concentration sélectif qui augmente de plus de 1000 fois l'efficacité de l'incorporation de molécules présentes dans le milieu extracellulaire en faible concentration. Ces molécules à importer sont rangées sous le terme de ligand. Elles entrent dans les cellules sans qu'un important volume de liquide extracellulaire soit également endocyté. En effet les vésicules d'endocytose contiennent en grande concentration les récepteurs membranaires et leurs ligands : environ 1000 complexes récepteur/ligand par vésicule.

- 11.** Un récepteur membranaire, comme celui des LDL, est une molécule transmembranaire à passage unique, porteuse d'un très gros domaine extracellulaire spécialisé dans la reconnaissance et la capture d'un ligand particulier. Son petit domaine intracellulaire est impliqué dans la liaison à des protéines telles que l'adaptine et la clathrine.
- 12.** La voie de sécrétion dite constitutive fonctionne en permanence, et dans toutes les cellules, pour apporter essentiellement des constituants lipidiques et protéiques à la membrane plasmique, et ainsi assurer son renouvellement. La voie dite contrôlée, ou provoquée, est une voie spécifiquement destinée à apporter des molécules dans le milieu extracellulaire (sécrétion sensu stricto) ; elle est trouvée dans des cellules sécrétrices spécialisées, souvent polarisées, qui ne sécrètent que « suite à un signal de stimulation ». La sécrétion est alors exocrine ou endocrine.
- 13.** Ce processus relève de l'exocytose. Quand une vésicule de sécrétion fusionne avec la membrane plasmique, la membrane de la vésicule présente une continuité avec la membrane plasmique.
- Il est à noter que lors de mouvements cellulaires, on va observer une alternance : D'endocytose (permettant d'éliminer de la membrane) et d'exocytose (permet un apport de membrane), permettant aux volumes et surfaces membranaires des cellules adultes de rester stables

V. Exercice 1: Classification des types de transport utilisés par les cellules pour les échanges avec leur environnement

1-transport d'un soluté dans le sens de son gradient de concentration

Diffusion Simple. Diffusion Facilitée.

2-transport par le biais d'une protéine

Diffusion Simple (canal ionique). Osmose (aquaporine). Diffusion Facilitée (perméase). Transport Actif (pompe) (ou Transport Actif secondaire perméase : symport ou antiport)

3-transport qui requiert une dépense d'énergie

Transport Actif (ou Transport Actif secondaire). Transport Vésiculaire.

4-transport de gaz dissous et de vitamines liposolubles

Diffusion simple (lipophile : entre les phospholipides de la cytomembrane)

5-transport d'une substance spécifique

Diffusion Simple (canal ionique : ion). Osmose (aquaporine : eau). Diffusion Facilitée (perméase : monosaccharides, acides aminés). Transport Actif (pompes : ions, H⁺) (ou Transport Actif secondaire (perméases : glucose, leucine, Ca⁺⁺). Transport Vésiculaire (endocytose d'adsorption : LDL-Cholestérol)

6-peut s'accomplir à travers une membrane non vivante

Diffusion Simple. Osmose

7-transport d'ions

Diffusion Simple. Osmose. Transport Actif. Transport Actif secondaire.

8-mode de transport utilisé pour l'absorption du glucose et des acides aminés dans l'intestin : Transport Actif secondaire.

9-transport qui s'effectue d'un milieu hypotonique à un milieu hypertonique

Osmose

10-permet à une grosse protéine bien précise de passer du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire : Transport vésiculaire par récepteurs interposés

11-la cellule absorbe une grosse gouttelette d'eau ou de liquide

Transport vésiculaire et plus précisément pinocytose (car absorption de liquide)

12-entrée rapide du glucose, une molécule hydrosoluble, dans les cellules autres que celles de l'intestin (exemple: cellules musculaires). Diffusion facilitée par des perméases de type GLUT

13-transport dont la vitesse augmente directement en fonction du gradient

Diffusion simple, Osmose (aussi Diffusion Facilitée mais, dans ce cas, il y a une limite : la saturation des transporteurs qui se trouvent en nombre limité au niveau des membranes)

14-diffusion d'un solvant dans le sens de son propre gradient, déterminé en tenant compte de l'ensemble des solutés et non d'un seul. Osmose.

VI. Exercice 2: La diffusion simple des gaz à travers la bicouche lipidique.

Explication :

Constamment, du sang circule de vos poumons vers votre cerveau. Ce sang est plus riche en O₂ que l'intérieur et l'environnement immédiat de vos neurones (car ces neurones utilisent continuellement de l'O₂, le puisant dans leur milieu). Dans les capillaires (minuscules vaisseaux sanguins) de votre cerveau, où des globules rouges chargés d'O₂ affluent constamment, l'O₂ diffuse donc vers vos cellules, dans le sens de son gradient.

De même, ce sang est moins riche en CO₂ que vos cellules (qui produisent constamment de ce déchet en grande quantité). Le CO₂ diffuse donc lui aussi dans le sens de son gradient, en allant donc rejoindre vos globules rouges qui l'apportent vers les poumons (qui, eux, l'expulseront de votre corps).

La diffusion simple dite lipophile concerne les molécules capables de se dissoudre dans la bicouche lipidique: gaz (O₂, CO₂), hormones stéroïdes ; hormones thyroïdiennes, vitamines liposolubles: A, D, E et K, alcool, urée, anesthésiques. Ce mécanisme non spécifique est très efficace et rapide pour les substances lipophile mais limité (très lent pour les molécules hydrophiles)

VII. Exercice 3 : la perméabilité de la membrane

1ère partie

La diffusion la plus rapide est toujours celle de l'eau (osmose). Comme le milieu (40 mmol/L de **A**) est hypertonique p/r à la cellule (1 mmol/L de **A**), l'eau sort immédiatement de la cellule, ce qui explique la légère plasmolyse. Ensuite, si la cellule reprend sa forme, c'est que la substance (**A**) a pu entrer dans la cellule; de l'eau a suivi et a rétabli le volume cellulaire (une cellule vivante reprend généralement sa forme en milieu isotonique, lorsque l'égalité des concentrations est atteinte). Il y a donc eu diffusion de (**A**), jusqu'à égalité des concentrations de (**A**).

2^{ème} partie :

Ici, le gradient de concentration de (**A**) est plus fort que dans la 1ère partie DONC (**A**) va diffuser plus rapidement (rappel : la vitesse de diffusion d'un soluté est proportionnelle au gradient de concentration qui existe de part et d'autre de la membrane).

3^{ème} partie :

Ici, le gradient est encore plus fort, MAIS pourtant, la vitesse de diffusion n'est pas plus grande que dans la 2e partie. On peut donc conclure que la substance (**A**) traverse la membrane par diffusion facilitée, en passant dans des protéines membranaires (perméases), qui sont en nombre limité dans la cellule. Déjà dans la 2e partie de l'expérience, toutes les perméases de la cellule devaient être occupées à faire entrer du (**A**) ; lorsqu'on les soumet à un gradient encore plus fort de (**A**) (3e partie), elles ne peuvent pas faire diffuser le soluté plus vite...

4^{ème} partie :

Ici, la seule différence avec la 3e partie de l'expérience réside dans la température... et les résultats sont complètement différents! Comment l'expliquer ? Rappelez-vous qu'une protéine doit avoir une forme tridimensionnelle précise pour pouvoir faire son travail ; c'est le cas notamment des pores des canaux et des perméases (qui doivent pouvoir « reconnaître » leur soluté pour les transporter). Qu'arrive-t-il si la température est aussi élevée que 48°C ? Les protéines se dénaturent : elles perdent leur conformation tridimensionnelle à cause des interactions modifiées entre leurs acides aminés (ici, certaines liaisons chimiques plus faibles ne résistent sans doute pas à l'agitation moléculaire accrue découlant de la température élevée).

Voyons si cette explication tient la route : qu'arrive-t-il à notre cellule si elle ne peut plus faire entrer du (**A**) (par ce que les perméases de nature protéiques, spécifiques à (**A**), sont dénaturées)?

Elle est en milieu hypertonique, donc de l'eau va sortir ; elle le fera en passant entre les phospholipides (= osmose par diffusion simple), car les aquaporines, des canaux protéiques, sont aussi probablement non fonctionnelles, dénaturées par la température élevée (d'où la lenteur de la plasmolyse).

La plasmolyse est accentuée, car la concentration extracellulaire en solutés est élevée, donc beaucoup d'eau doit sortir pour atteindre l'égalité des concentrations de solutés. La plasmolyse persiste, car puisque (**A**) ne peut plus diffuser, c'est le seul moyen de maintenir l'égalité des concentrations.

VIII. Exercice 4 : l'osmose

Une solution hypertonique. Normalement, si l'animal est déshydraté, il a déjà une pression osmotique plasmatique plus élevée que la normale (concentration de solutés totaux dans le sang plus élevée que la valeur de référence –normale-). Normalement, la vache devrait déjà percevoir une sensation de soif. Mais allez savoir pourquoi, elle refuse de boire...

En faisant cette injection, le vétérinaire augmente la pression osmotique du plasma encore plus qu'elle ne l'est alors ; les récepteurs osmotiques vont être extrêmement stimulés et envoyer un message très fort, « irrésistible » à l'animal : il FAUT boire!

IX. Exercice 5 : Transport des ions Na^+/K^+ dans les cellules animales.

La concentration de sodium augmente dans le milieu tandis que celle de potassium diminue. Le sodium est donc excrété tandis que le potassium pénètre dans les cellules. La présence de glucose augmente d'un facteur 2 la vitesse d'excrétion du sodium alors que la vitesse d'entrée du potassium n'est pas affectée. Le glucose est un métabolite énergétique des cellules. On peut supposer

(1) que son entrée est couplée à la sortie de sodium mais son absence dans la solution n'empêche pas la sortie de sodium,

Ou (2) qu'il permet une plus grande production d'ATP dont le potentiel d'hydrolyse fournit de l'énergie permettant une excrétion active du sodium. On peut donc éliminer les propositions (a), (c) et (d).

Concernant la proposition (e), la vitesse de l'efflux de sodium apparaît supérieure à la vitesse d'entrée de potassium, laissant supposer une plus grande perméabilité au sodium.

En fin la proposition (b) est en accord avec les résultats consignés sur la figure. La concentration de sodium reste élevée dans le milieu en présence ou en absence de glucose. En présence de source d'énergie (le glucose) l'expulsion du Na^+ est accélérée. Le Na^+ sorti ne doit pas pouvoir rentrer à l'intérieur de la cellule. Tandis que la diminution de la concentration du potassium (en présence et en absence de glucose) laisse supposer l'existence dans la membrane plasmique de canaux K^+ constamment ouverts qui permettent la diffusion passive du K^+ du milieu le plus concentré (la solution) vers le milieu le moins concentré (le cytoplasme). En effet au niveau des cellules excitables c'est le gradient de K^+ qui est responsable de la polarité membranaire de repos.

X. Exercice 6 : la pompe Na⁺/K⁺ ATP dépendante

Le maintien de concentrations inégales de part et d'autre de la membrane d'un neurone (maintien d'un gradient électrochimique) est essentiel au déclenchement et à la propagation de tout influx nerveux (et donc essentiel à tout animal !). Au niveau des cellules excitables cette polarité membranaire est indispensable pour la décharge d'un potentiel d'action en réponse à une dépolarisation suffisante (supérieure à un certain seuil de dépolarisation) du potentiel de membrane).

Une diffusion des ions (un peu comme des « fuites ») par diffusion simple dans des canaux ioniques (canaux potassiques essentiellement), tend à transporter les ions dans le sens de leur gradient de concentration (ce qui va à l'encontre du maintien d'un gradient). C'est grâce à la pompe (ATPase) à Na⁺/K⁺ que les deux types d'ions Na⁺ et K⁺ peuvent être pompés à l'encontre de leur gradient de concentrations respectifs. Le principe d'action de la pompe se base sur les *changements de configuration* de la sous-unité α et des *changements d'affinité* des sites pour la liaison de Na⁺ et de K⁺, suite à la phosphorylation et à la déphosphorylation d'un résidu aspartate de cette sous-unité α . La pompe se voit alors transférer le 3^{ème} groupement phosphate d'un ATP, puis s'en libère, et que l'ajout ou le détachement du groupement phosphate permet à la conformation (forme tridimensionnelle) de cette protéine d'alterner entre deux (2) formes. Cette action permet à l'ATPase alternativement de faire sortir 3 ions Na⁺, puis de faire entrer 2 ions K⁺.

Rappelons que la Na⁺/K⁺ ATPase est une pompe ionique ubiquitaire dans les cellules du règne animal. L'Américain *R.B. Dean* postula le premier, en 1941, la présence d'une pompe à sodium dans la membrane plasmique des fibres musculaires, mais il a fallu attendre 1957 et les travaux du Danois *J.C. Skou* pour que le lien ait été fait entre le concept de la pompe à sodium et une ATPase activée par les ions Na⁺ et K⁺. Entre ces deux dates, il est à relever qu'un chercheur suisse, *H.T. Schatzmann*, montra en 1953 que la pompe à Na⁺ **était inhibée par l'ouabaine**. Cet inhibiteur, dont l'action s'est avérée très spécifique, appartient à un groupe de substances qui sont depuis longue date utilisées comme des médicaments dits *cardiotoniques* dans différentes maladies cardiaques.

Les différentes étapes du fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ ATPase sont détaillées dans la figure ci-dessous.

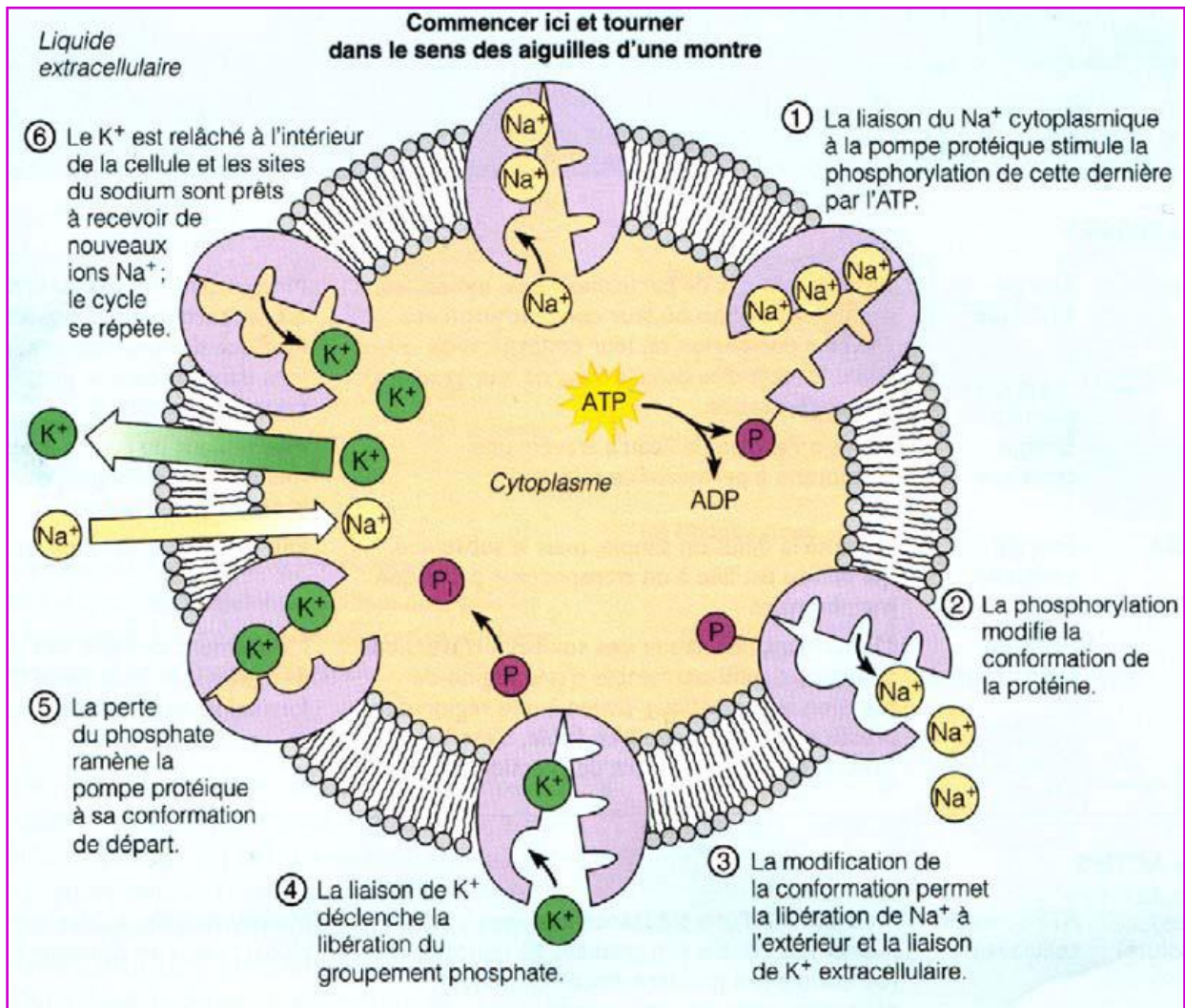


Figure 13 : Modèle schématique illustrant le fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ ATPase dépendante des cellules animales

(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 (P_i : 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.

XI. Exercice 7 : Perméabilité des hématies de Mammifère au Glucose.

1. Le D-glucose et le L-glucose sont des isomères (même masse moléculaire) ; on peut donc exclure un phénomène de diffusion simple, car le seul paramètre en jeu (outre les propriétés physico-chimiques, ici identiques) serait ici la taille.

2. L'égalité des concentrations de part et d'autre de la membrane permet de confirmer qu'un phénomène (passif) de diffusion régit le transport du D-glucose.

3. Le transport du D-galactose et du D-mannose (même masse moléculaire) est possible mais avec une efficacité beaucoup plus faible que pour le glucose. Seuls les isomères D des oses sont utilisables par les cellules et sont capables d'y rentrer.

4. Si le mannose ou le galactose ralentissent la pénétration du glucose, c'est parce qu'ils entrent en compétition avec lui au niveau d'un transporteur spécifique (capable de discriminer des isomères). Le modèle que l'on peut établir est le suivant : il s'agit d'un transport diffusif, susceptible d'être inhibé par des « analogues » chimiques du D-glucose, et qui est lié à la présence d'une protéine porteuse catalysant une **diffusion facilitée**. Il s'agit du transporteur nommé GLUT 1.

XII. Exercice 8 : Absorption du Glucose par les Entérocytes.

1. La concentration extracellulaire en Na^+ influe beaucoup sur la pénétration du glucose ; plus celle-ci est élevée du côté apical des cellules et plus il entre aisément (rappel : la concentration normale du milieu intérieur en Na^+ = 145 mM).

2. Les concentrations intracellulaires en glucose peuvent être dix fois plus élevées que celle mesurée à l'extérieur ; il s'agit donc d'un transport qui s'effectue contre un gradient de concentration de cette molécule (dans le sens inverse de celui dicté par la diffusion), et donc d'un **transport actif**. On doit donc évoquer le rôle d'une molécule porteuse de glucose fonctionnant en consommant une source d'énergie.

3. L'arrêt de l'activité de cette pompe, qui chasse en permanence les ions Na^+ vers le milieu extérieur, conduit rapidement à l'augmentation de sa concentration intracellulaire; la différence de concentration entre milieu extracellulaire et cytoplasme disparaît. Ce fait doit être corrélé avec l'arrêt de l'entrée du glucose, qui est sous le contrôle de la concentration extracellulaire en Na^+ . C'est en fait le **gradient transmembranaire** en cet ion, du côté apical de l'Entérocyte, qui permet à un **transporteur actif de type secondaire** activé par le Na^+ , par un cotransport de type symport, l'entrée du glucose situé dans la lumière de l'intestin grêle (SGLT 1) (voir figure ci-dessous).

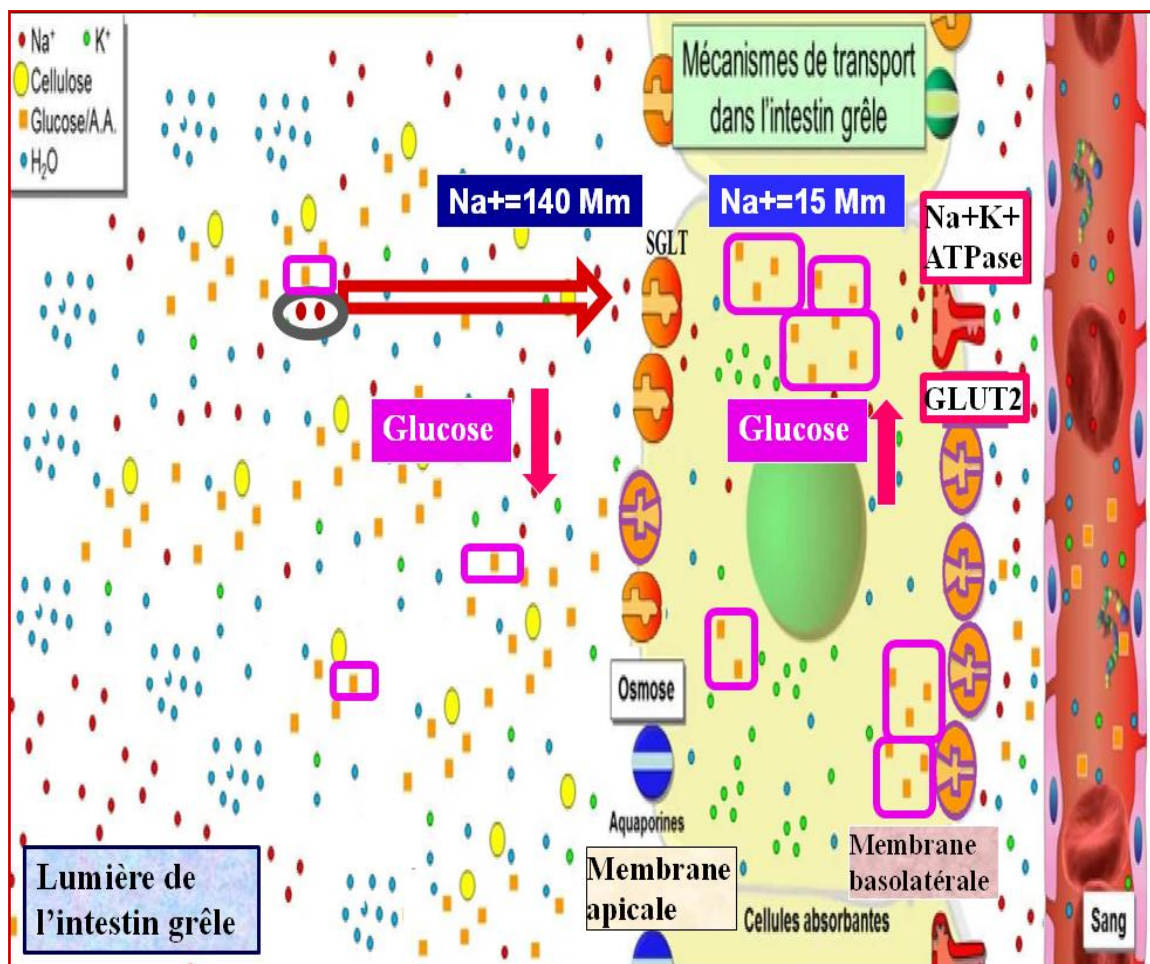


Figure 14: Transport du glucose au niveau de l'entérocyte

XIII. Exercice 9: Mécanisme de l'endocytose du Fer

1. À 4 °C, les membranes biologiques sont figées et tous les phénomènes liés à la fluidité membranaire : la diffusion latérale des protéines (ici, les récepteurs) et l'endocytose, sont supprimés. La fixation de la ferrotransferrine (ici, le ligand) sur son récepteur n'est pas, en revanche, affectée. Après 30 min d'incubation, tous les récepteurs ont lié leur protéine, et le passage à 37 °C provoquera l'endocytose simultanée et immédiate de tous ces récepteurs chargés : synchronisation du phénomène à temps (0), début des mesures de radioactivité.

2. Au cours du temps, la radioactivité en surface diminue rapidement dans les deux expériences, ce qui montre l'internalisation par endocytose de tous les récepteurs chargés ; elle est presque complète au bout de 20 minutes.

3. Lorsqu'on mesure la radioactivité liée au Fer pendant les 5 premières minutes, on observe son accumulation régulière dans le cytoplasme selon une courbe « symétrique » de celle vue pour la radioactivité mesurée en surface ; il faut noter que 50 % de la ferrotransferrine fixée en surface par les récepteurs est déjà entrée dans les cellules au bout de 5 minutes !

Lorsqu'on mesure la radioactivité liée à la partie protéique (apotransferrine) pendant les premières minutes, la courbe montre une accumulation rapide dans la cellule, mais qui semble nettement s'atténuer lorsqu'on atteint les 5 minutes. Ceci montre également que les récepteurs entrent dans les cellules par endocytose.

4. La radioactivité liée au fer continue d'augmenter dans les cellules, et tout le Fer fixé par la ferrotransferrine est finalement absorbé au bout de 25 minutes.

En revanche, la radioactivité liée à l'apotransferrine a un comportement très différent de celle du Fer puisqu'elle diminue à partir de 5 minutes, pour atteindre une valeur quasi nulle au bout de 30 minutes. Ceci montre clairement que le devenir du Fer et celui de la protéine qui le fixe sont très différents ; ces deux composantes de la ferrotransferrine doivent donc se dissocier à un moment de cette histoire.

5. On ne retrouve jamais de radioactivité liée au Fer dans le milieu de culture, au cours de l'expérience, ce qui montre que tout le fer fixé est entré dans les cellules de façon irréversible. En revanche, on retrouve de la radioactivité liée à l'apotransferrine dans le milieu, ce qui montre que cette protéine a été exocytée et donc libérée de son récepteur, après que ce dernier soit retourné en surface de la cellule.

6. Le récapitulatif de tous ces événements est donné sous la forme d'un schéma général montrant les rôles respectifs de l'endocytose et de l'exocytose des protéines impliquées dans ces processus, ainsi que les compartiments mis en jeu (voir figure ci-dessous).

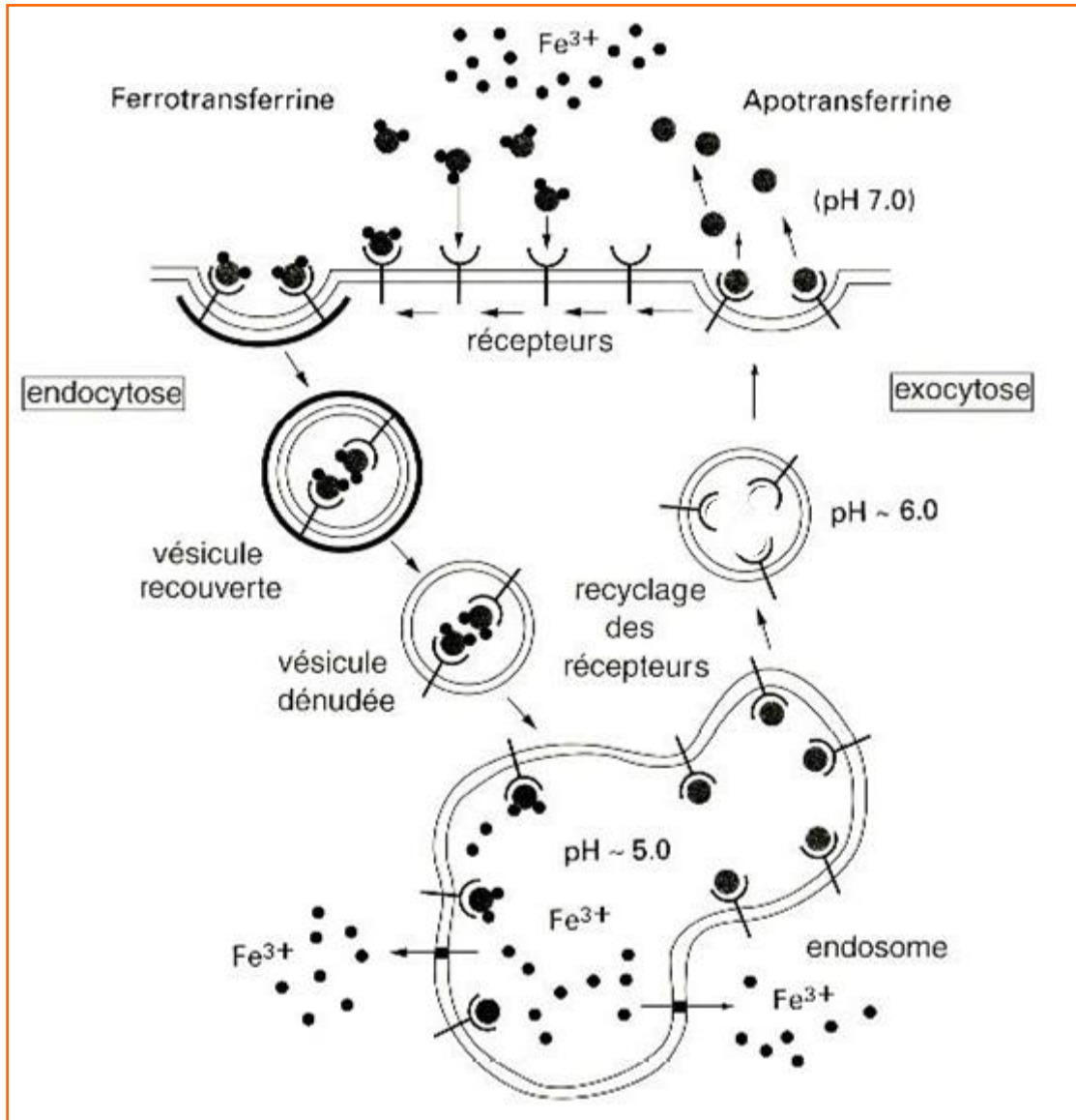


Figure 15 : Le cycle de la transferrine dans les cellules (Callen. 2009)

Remarque : La sortie des ions Fe^{3+} des endosomes se fait par un mécanisme encore mal connu.

XIV. Exercice 10: L'exocytose

L'exocytose est un processus de transport **Actif** destiné à l'exportation de **Macromolécules** comme les protéines, les polysaccharides, et les matériaux synthétisés par la cellule et contenus dans les compartiments membranaires **Intracellulaires**.

L'exocytose peut être considérée comme le phénomène **Inverse** de **l'endocytose**. C'est une voie qui permet aux substances **intracellulaires** d'être libérées dans le milieu **extracellulaire**.

Les produits destinés à être rejetés sont emprisonnés à l'intérieur de **vacuoles** puis sont déversés **hors** de la cellule, la membrane de ces **vacuoles** se confond alors avec la **membrane plasmique**.

-Il existe deux types d'exocytose : l'exocytose **constitutive** et l'exocytose **régulée**, cette dernière fonctionne dans les cellules **spécialisées** en réponse à un **stimulus**.