

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

UNIVERSITE DES FRERES
MENTOURI CONSTANTINE

معهد العلوم البيطرية



Institut des Sciences Vétérinaires

Département : Préclinique

Polycopié pédagogique

Cours de Biologie Cellulaire

Destiné aux étudiants de : Première Année Docteur en Médecine
Vétérinaire

Élaboré par : Allaoui Assia

Maitre de conférences A – Maitrise des facteurs de la reproduction chez
les Herbivores

Année universitaire : 2024-2025

Préambule

Ce polycopié est destiné aux étudiants de première année docteur vétérinaire conformément au programme du Comité Pédagogique National (CPN), pour acquérir les notions générales et fondamentales nécessaires à la compréhension de la biologie cellulaire.

Dans ce cours et au fil des différents chapitres nous allons apprendre à connaître la cellule animale vivante, et à préciser le lien entre la structure et l'organisation des constituants cellulaires et les fonctions de la cellule.

Des schémas, photos et figures accompagnent chaque chapitre pour rendre plus aisées la compréhension et la mémorisation des informations données dans ce cours. Chaque chapitre est couplé de questions analytiques afin de permettre à l'apprenant de mieux retenir les points clés des différents concepts abordés. Le cours se termine par une liste de références bibliographiques, utilisés comme illustration de l'enseignement.

L'objectif de ce support de cours est de mettre à disposition des étudiants et des curieux, des données scientifiques facilitant la compréhension des bases essentielles de la biologie générale.

SOMMAIRE

SOMMAIRE	i
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
LISTE DES ABREVIATIONS	xii
INTRODUCTION.....	1
QUESTIONS ANALYTIQUES	2
CHAPITRE I : EXPLORATION DE LA CELLULE	3
1. PREREQUIS	3
2. OBJECTIFS	3
3. LA MICROSCOPIE.....	3
3.1 PARAMETRES IMPORTANTS EN MICROSCOPIE.....	4
3.1.1 Le grossissement	4
3.1.2 La résolution.....	4
3.1.3 Le contraste	4
3.2 DIFFERENTS TYPES DE MICROSCOPES.....	6
3.2.1 Microscope photonique	6
<i>A. Principe de fonctionnement</i>	8
<i>B. Types de microscope photonique</i>	8
3.2.2 Microscope électronique	10
<i>A. Principe de fonctionnement</i>	10
<i>B. Types de microscope électronique</i>	11
3.2.3 Comparaison entre le microscope optique et le microscope électronique	12
4. ETAPES DE PREPARATION DES COUPES POUR L'OBSERVATION MICROSCOPIQUE	14
4.1. Les milieux de survie	14
4.2. Fixation.....	14
4.3. Déshydratation	14
4.4. Inclusion ou Enrobage.....	15
4.5. Coupe	15
4.6. Réhydratation	15
4.7. Coloration.....	15

4.8. Montage.....	16
5. METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE LIEES A LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE	16
5.1. Fixation.....	16
5.2. Inclusion en résine.....	17
5. 3. Ultramicrotomie	17
5. 4. Coloration.....	17
5.5. Coloration négative et ombrage métallique.....	18
5.6. Cryofracture et cryodécapage.....	18
6. TECHNIQUE DE DETECTION ET DE LOCALISATION DES COMPOSES CELLULAIRES	20
6.1. Autoradiographie.....	20
6.2. L'immunodétection ou immunohistochimie.....	21
7. TECHNIQUE DE MISE EN EVIDENCE DU MOUVEMENT LATERAL DES PROTEINES MEMBRANAIRES.....	21
7.1. Diffusion des protéines membranaires après une fusion de cellules.....	21
7.2. Restauration de la fluorescence après photo décoloration	22
8. TECHNIQUES D'ISOLEMENT DES ORGANITES CELLULAIRES.....	23
8.1. Extraction	23
8.2. Homogénéisation.....	24
8.3. Centrifugation.....	25
QUESTIONS ANALYTIQUES	26
CHAPITRE II : SCHEMA GENERAL DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES	27
1. PREREQUIS	27
2. OBJECTIFS	27
3. DEFINITION DE LA CELLULE.....	27
4. LA THEORIE CELLULAIRE.....	29
5. ETRES UNICELLULAIRE ET PLURICELLULAIRE.....	31
5.1 PLAN D'ORGANISATION CELLULAIRE	31
5.1.1. Êtres vivants Procaryotes et unicellulaires.....	32
A. <i>Domaine des Archées</i>	32

<i>B. Domaine des Bactéries « classiques » dites Eubactéries</i>	33
5.1.2. Êtres vivants Eucaryotes et unicellulaires	34
5.1.3. Êtres vivants Eucaryotes et pluricellulaires.....	36
5.2. EVOLUTION DES CELLULES DEPUIS LA CELLULE PRIMORDIALE	38
5.2.1. La théorie endogène	38
5.2.2. La théorie endosymbiotique	39
5. 3. ULTRASTRUCTURE DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES	40
5.3.1 Cellule Procaryote	41
<i>A. Matériel génétique</i>	41
<i>B. Cytoplasme</i>	42
<i>C. Membrane plasmique</i>	42
<i>D. Paroi</i>	42
<i>E. Capsule</i>	43
<i>F. Flagelles</i>	44
5.3.2 Cellule Eucaryote	44
<i>A. Noyau</i>	45
<i>B. Cytoplasme</i>	46
<i>C. Système endomembranaire</i>	46
<i>D. Mitochondries et peroxysomes</i>	47
<i>E. Cytosquelette</i>	47
<i>F. Centrosome et centrioles</i>	47
<i>G. Plastès</i>	47
<i>H. Vacuole</i>	48
<i>I. Membrane plasmique</i>	48
<i>J. Paroi</i>	48
QUESTIONS ANALYTIQUES	48
EXERCICE 1	49
EXERCICE 2	49
CHAPITRE III : MATRICE EXTRACELLULAIRE ET CYTOSQUELETTE.....	50
1. PREREQUIS	50
2. OBJECTIFS	50
3. CONSTITUANTS DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE	51
3. 1. DEFINITION DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE.....	51
3.2. DEFINITION DU TISSU CONJONCTIF	52

3.3. NATURE ET COMPOSITION DES MATRICES EXTRACELLULAIRES ANIMALES	52
3.3.1. Protéines fibreuses.....	53
<i>A. collagène</i>	53
<i>B. Elastine</i>	55
<i>C. Fibronectine</i>	55
<i>D. Laminine</i>	56
3.3.2. Polysaccharides et protéoglycanes	56
<i>A. Polysaccharides</i>	56
<i>B. Protéoglycanes</i>	57
3.4. EXEMPLES DE MATRICES EXTRACELLULAIRES	58
3.4.1. La lame basale	58
3.4.2. La matrice osseuse.....	59
3.4.3. La matrice cartilagineuse.....	59
3.5. FONCTIONS DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE	59
3.5.1 Remplissage et consolidation des tissus	59
3.5.2 Rôle dans le maintien d'un état différencié	59
4. CONSTITUANTS DU CYTOSQUELETTE	60
4. 1. DEFINITION DU CYTOSQUELETTE	60
4.2. DEFINITIONS	61
4.2.1. Monomère	61
4.2.2. Polarisation et polymérisation	61
4.3. NATURE ET COMPOSITION DU SYSTEME CYTOSQUELETTIQUE.....	61
4.4 MICROFILAMENTS	62
4.4.1. Régulation de la dynamique de polymérisation des microfilaments d'actine.....	63
<i>A. Protéines de séquestration des monomères</i>	64
<i>B. Protéines de Coiffe</i>	64
<i>C. Nucléateurs de l'actine</i>	65
<i>D. Protéines d'assemblage</i>	65
<i>E. Protéines d'attache à la membrane cytoplasmique</i>	66
<i>F. Protéines de coupure</i>	67
4.4.2. Structures contractiles formées par les microfilaments.....	67
4.4.3. Exemples de toxines inhibant la polymérisation ou la dépolymérisation des microfilaments.....	70

4.5 MICROTUBULES.....	70
4.5.1. Organisation des MT	71
4.5.2. Structure du centrosome.....	72
4.5. 3. Moteurs moléculaires associés aux microtubules	72
4.5.3. Rôle des microtubules	73
<i>A. Formation du fuseau mitotique.....</i>	73
<i>B. Facilitation des mouvements cellulaires.....</i>	73
<i>C. Transport directionnel des matériaux au sein de la cellule</i>	75
4.5.4. Exemples de toxines inhibant la polymérisation ou la dépolymérisation des microfilaments.....	75
4.6 LES FILAMENTS INTERMEDIAIRES	75
4.6.1. Classes des sous unités de filaments intermédiaires	76
4.6.2. Assemblage des filaments intermédiaires	76
4.6.3. Rôle des filaments intermédiaires	77
5. RELATION MATRICE EXTRACELLULAIRE –CYTOSQUELETTE	77
5.1 LES JONCTIONS D’ANCRAGE	77
QUESTION ANALYTIQUE.....	78
CHAPITRE IV : LA MEMBRANE PLASMIQUE.....	79
1. PREREQUIS	79
2. OBJECTIFS	79
3. STRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE	80
3.1. CARACTERISTIQUES GENERALES.....	80
3.2. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA CYTOMEMBRANE	81
3.2.1 Les lipides membranaires.....	82
<i>A. Les phospholipides.....</i>	82
<i>B. Les stérols</i>	83
<i>C. Glycolipides</i>	83
3.3. ORGANISATION EN BICOUCHE DE LA MEMBRANE	84
3.4. FLUIDITE MEMBRANAIRE	84
3.4.1. Facteurs influençant la fluidité membranaire.....	85
<i>A. La composition en acides gras des lipides membranaires</i>	85
<i>B. La température.....</i>	86
<i>C. La richesse en cholestérol</i>	86
3.4.2. Importance de la fluidité pour la membrane	87

3.5. LES PROTEINES MEMBRANAIRES	87
3.5.1. Les protéines intégrales (transmembranaires)	88
3.5.2. Les protéines périphériques.....	88
3.6 LES GLUCIDES MEMBRANAIRES	88
4. ROLES PHYSIOLOGIQUES DE LA MEMBRANE	89
4.1. TRANSPORTS MEMBRANAIRES	89
4.1.1. La diffusion lipophile	89
4.1.2. La diffusion simple à travers les canaux	90
<i>A. Les canaux ioniques</i>	91
<i>B. Les aquaporines</i>	92
4.1.3. La diffusion facilitée	93
<i>A. Caractéristiques de la diffusion facilitée</i>	93
<i>B. Transporteurs de glucose de type GLUT</i>	94
4.1.4. Transport actif primaire.....	94
<i>A. La pompe Na⁺/K⁺ ATPase</i>	95
<i>B. La pompe Ca ATPase</i>	96
<i>C. La pompe H⁺/K⁺ ATPase</i>	96
4.1.5. Transport actif secondaire	96
<i>A. Transporteurs de glucose de type SGLT</i>	97
<i>B. Echangeur Na⁺/Ca⁺⁺</i>	98
<i>C. Transport des acides aminés</i>	99
<i>D. Régulation du pH cytosolique</i>	99
4.1.6. Transport vésiculaire d'endocytose.....	99
<i>A. Endocytose d'adsorption</i>	100
<i>B. La pinocytose</i>	102
4.1.6. Transport vésiculaire d'Exocytose	102
QUESTION ANALYTIQUE	103
CHAPITRE V : LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE	104
1. PREREQUIS	104
2. OBJECTIFS	104
3. CARACTERISTIQUES DU SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE.....	104
4. RETICULUM ENDOPLASMIQUE.....	105
4.1. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE GRANULEUX.....	106
4.1.1. Synthèse des protéines	107
4.2. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE LISSE	108

4.2.1. Détoxification des drogues liposolubles	108
4.2.2. Synthèse des lipides	108
4.2.3. Synthèse des hormones stéroïdes	108
4.2.4. Stockage du calcium et du Cl ⁻ intracellulaires	109
4.2.5. Déphosphorylation du glucose-6-P	109
5. APPAREIL DE GOLGI	109
5.1. Fonctions de l'Appareil de Golgi	110
5.1.1. Maturation et modification post traductionnelle des protéines	110
A. <i>Addition covalente</i>	110
B. <i>Sulfatation des protéines</i>	110
C. <i>Coupures protéolytiques</i>	110
III.2.2. Transport de substances	110
5.1.2. Distribution de substances dans la cellule	111
SOLUTIONS DES EXERCICES	112
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	118

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure générale d'une cellule nerveuse (neurone) connectée à d'autres neurones	1
Figure 2 : Diagramme représentant les dimensions comparées des cellules	5
Figure 3 : différents types de Microscopes utilisés par les premiers cytologistes	6
Figure 4 : Schéma simplifié du microscope photonique	7
Figure 5 : Schéma simplifié du microscope électronique	10
Figure 6 : Schémas comparés des trajets des rayons lumineux et des électrons dans un microscope photonique et dans un microscope électronique	12
Figure 7 : Cryofracture et cryodécapage	19
Figure 8 : résultats de l'expérience de Pulse-chasse réalisée par Palade et ses collaborateurs.	20
Figure 9 : Utilisation de l'expérience de la fusion cellulaire pour mettre en évidence la mobilité des protéines membranaires.	22
Figure 10 : restauration de la fluorescence des protéines membranaires après photodécoloration	23
Figure 11 : étapes du fractionnement subcellulaire par broyage électrique puis centrifugation différentielle.	24
Figure 12 : Schéma de la séparation des fractions subcellulaires par centrifugation différentielle.	26
Figure 13 : Des virus infectant une cellule bactérienne.	28
Figure 14 : Dessins représentant deux sections de liège observées au microscope optique	29
Figure 15 : Diagramme représentant le plan d'organisation cellulaire des Etres vivants	31
Figure 16 : Colonie d'archées.	32
Figure 17 : Les formes les plus courantes de Procaryotes.	34
Figure 18 : Colonie de cocci (<i>Staphylococcus aureus</i>), observée en microscopie à balayage	34
Figure 19 : <i>Paramécie</i> . En (a) représentation schématique.	36
Figure 20 : La levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	37
Figure 21 : Diagramme représentant la correspondance et évolution des cellules depuis le progénote	38
Figure 22 : Représentation simplifiée de la théorie endogène des systèmes membranaires internes.	39
Figure 23 : La théorie endosymbiotique	40

Figure 24 : Structure fondamentale de la cellule.	40
Figure 25 : Cellule procaryote.	41
Figure 26 : Représentation schématique et microscopique des principaux organites d'une cellule animale	44
Figure 27 : Matrice extracellulaire d'une cellule animale.	53
Figure 28 : Formation des fibres de collagène	54
Figure 29 : Structure d'une fibre d'élastine	55
Figure 30 : Structures des glycosaminoglycanes et des protéoglycanes.	57
Figure 31 : Lamé basale de la cornée d'un embryon de poulet.	58
Figure 32 : Micrographie à fluorescence du cytosquelette.	60
Figure 33 : Structure d'un microfilament et de sa sous-unité.	63
Figure 34 : protéines effectrices régulant la dynamique de polymérisation des microfilaments	64
Figure 35 : Schéma décrivant la polymérisation du réseau d'actine au voisinage de la membrane cellulaire.	65
Figure 36 : Microfilaments observés en microscopie électronique	66
Figure 37 : Coupe longitudinale d'une myofibrille dans une fibre musculaire striée.	67
Figure 38 : Structure du sarcomère.	68
Figure 39 : Structure de la myosine de classe II.	69
Figure 40 : La cytodierèse des cellules animales	69
Figure 41 : Organisation des microfilaments au niveau du cortex cellulaire	70
Figure 42 : Structure d'un microtubule et de ses sous-unités	71
Figure 43 : Le centrosome et sa paire de centrioles.	72
Figure 44 : Moteurs moléculaires associés aux microtubules.	73
Figure 45 : Structure d'un cil mobile d'une cellule eucaryote.	74
Figure 46 : rôle de la dynéine et de la nexine dans le mouvement des cils et des flagelles	75
Figure 47 : Structure de la membrane plasmique (Modèle de la mosaïque fluide de Singer et Nicholson)	80
Figure 48 : Clichés de microscopie de la membrane plasmique.	81
Figure 49 : représentation schématique d'une molécule de phospholipide.	82
Figure 50 : Semi-fluidité de la bicouche lipidique.	84
Figure 51 : Représentation de la transition gel-sol de la bicouche phospholipidique.	86
Figure 52 : Transport actif secondaire du glucose au niveau des cellules intestinales	98

Figure 53 : représentation schématique du réticulum endoplasmique	105
Figure 54 : représentation schématique de l'appareil de Golgi	109
Figure 55 : Le système lysosomal	111
Figure 56 : Coupe de cellules végétale et animale théoriques	116

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents types des microscopes optiques	9
Tableau 2 : Les différents types des microscopes électroniques	12
Tableau 3 : comparaison entre Microscope photonique et Microscope électronique	13
Tableau 4 : Principales caractéristiques des polymères du cytosquelette	62
Tableau 5 : Classes des sous unités protéiques constituant les filaments intermédiaires	76
Tableau 6 : Comparaison de la quantité des membranes des organites du système End membranaire dans deux types cellulaires	107

LISTE DES ABREVIATIONS

Å	Angstrom
ADF	Actin Depolymerizing Factor
ADP	Adénosine di phosphate
ARP2/3	Actin-Related Protein
ATP	Adénosine triphosphate
ADAPT	Adaptine
AQP	Aquaporine
FI	Filaments intermédiaires
GAG	Glycosaminoglycane
GLUT	GLUCOSE Transporteur
GTP	Guanine triphosphate
kDa	Kilo Dalton
kV	kilovolt
L	Litre
LDL	low density lipoproteins
ME	Microscope électronique
MEB	Microscope électronique à balayage
MEC	Matrice extracellulaire
MET	Microscope électronique à transmission
MO	Microscope optique
MP	Microscope photonique
MF	Microfilaments
MT	Microtubules
M-TOC	Centre Organisateur des Microtubules
NHE	Na ⁺ /H ⁺ Echangeur
nm	Nanomètre
REL	Réticulum endoplasmique lisse
RER	Réticulum endoplasmique rugueux
SGLT	Sodium glucose transporters
µm	micromètre

INTRODUCTION

La biologie est l'ensemble de toutes les sciences qui étudient les espèces vivantes et les lois de la vie. Considérant qu'il existe aujourd'hui plus de 10 millions, voire 100 millions, d'espèces vivantes sur Terre, vous vous demandez peut-être comment vous parviendrez à assimiler toute la matière de cette discipline. La réponse passe essentiellement par l'étude des cellules, aussi essentielles aux systèmes vivants de la biologie que les atomes le sont à la chimie.

La contraction des cellules des muscles oculaires déplace vos yeux pendant que vous lisez cette phrase. Les mots de cette page sont traduits en signaux que des cellules nerveuses transmettent à votre cerveau. La figure ci-dessous (figure 1) montre les extensions d'une cellule nerveuse qui se connectent à une autre cellule nerveuse. Lorsque vous étudiez, votre objectif consiste à établir des connexions comme celles-ci pour consolider les souvenirs et permettre l'apprentissage.

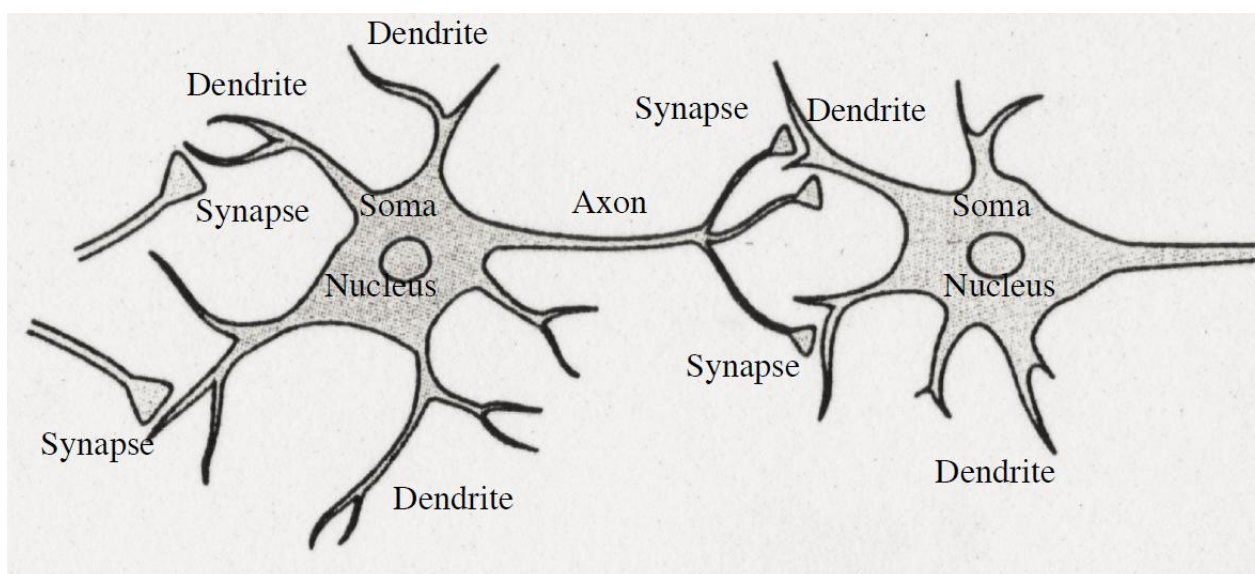


Figure 1 : Structure générale d'une cellule nerveuse (neurone) connectée à d'autres neurones (Kandel et al., 2000 ; cités par Smith, 2006)

Tous les organismes vivants se composent de cellules. Nous sommes formés de cellules, notre peau, nos organes, nos muscles sont formés de cellules. Le cerveau, siège de nos pensées et de nos désirs est composé de cellules, nos vaisseaux sanguins sont remplis de cellules et leur paroi est formée de cellules. La fécondation n'est ni plus ni moins que la réunion de deux cellules séparées qui ne forment plus qu'une cellule nouvelle qui se multiplie pour donner un embryon. Nous nous développons ensuite en un adulte de grande taille à partir de ce minuscule embryon simplement en lui ajoutant de plus en plus de cellules. Nous tombons malades bien souvent parce que nos cellules sont devenues incontrôlables. Et nous vieillissons parce que nos cellules vieillissent peu à peu.

Introduction

Les origines de la vie correspondent aux origines des cellules, et dans la hiérarchie de l'organisation biologique, la cellule est le premier ensemble de matière capable de vie. D'ailleurs, bien des êtres vivants ne sont constitués que d'une seule cellule. Les organismes supérieurs, dont les Végétaux et les Animaux, sont multicellulaires et comportent plusieurs sortes de cellules spécialisées incapables de survivre par elles-mêmes. Cependant, même lorsqu'elles s'unissent à d'autres pour constituer un niveau d'organisation supérieur, comme dans les tissus et les organes, les cellules demeurent les unités fondamentales de la structure et du fonctionnement des organismes.

Bien qu'elles proviennent de cellules ancestrales et soient, dans une certaine mesure, apparentées, toutes les cellules ont subi diverses modifications au cours de la longue histoire de la vie sur Terre. Elles peuvent différer considérablement les unes des autres, mais elles ont aussi de nombreux points en commun.

Dans les différents chapitres de ce cours, nous nous familiariserons avec les caractéristiques générales qui définissent la cellule. Nous commencerons dans le premier chapitre par connaître les instruments et les techniques expérimentales qui ont permis de comprendre les cellules, puis nous explorerons la cellule et ses constituants. De plus, nous aborderons tout au long de ce cours les différents mécanismes du fonctionnement de la cellule.

QUESTIONS ANALYTIQUES

- Est-il possible d'étudier la biologie sans étudier la cellule ?
- Quels sont les objectifs de la biologie cellulaire ?

CHAPITRE I : EXPLORATION DE LA CELLULE

1. PREREQUIS

- Notions de base sur la microscopie.
- Notions simples de physique en particulier concernant l'optique géométrique et la centrifugation
- Notions de base sur les techniques de coloration en biologie.

2. OBJECTIFS

A la fin de ce chapitre l'étudiant doit être capable de :

- Répondre à la question : Comment les cytologistes réussissent-ils à étudier le fonctionnement d'une entité comme la cellule, généralement invisible à l'œil nu
- Citer les méthodes d'études des cellules et des organites cellulaires
- Enumérer les étapes de préparation des coupes pour l'observation microscopique
- Connaître les différents types de microscopes utilisés pour étudier les cellules.
- Connaître les différentes techniques de détection et de localisation des composés cellulaires
- Connaître les différentes techniques d'isolement des organites cellulaires
- Faire une comparaison entre les microscopes, optique et électronique
- Définir le mécanisme de fonctionnement d'un microscope
- Décrire une expérience classique permettant de démontrer la fluidité de la membrane cytoplasmique des cellules animales en culture.

3. LA MICROSCOPIE

Les avancées scientifiques sont souvent tributaires de la mise au point d'outils, qui permettent à l'Etre humain, de dépasser les limites de ses sens. La plupart des développements récents, en biologie cellulaire, sont stimulés par les avancées technologiques, dans le domaine de l'instrumentation (comme le microscope) et de l'informatique. C'est l'invention du microscope en 1590 et son perfectionnement au 17^e siècle, qui ont rendu possibles la découverte et l'étude de la cellule.

De nos jours, la microscopie a atteint une complexité telle qu'elle permet l'analyse du fonctionnement interne de la cellule. Les biologistes disposent principalement, de deux types principaux d'outils pour l'observation des cellules : le microscope optique (MO) plus justement

nommée photonique (MP) et le microscope électronique (ME). Bien que basés sur un principe identique, à savoir la déviation d'un flux de particules traversant l'objet à observer, ces instruments utilisent deux sources d'énergie avec des particules différentes, respectivement les photons et les électrons.

3.1 PARAMETRES IMPORTANTS EN MICROSCOPIE

Selon leur dimension, les éléments peuvent être visualisés à l'œil nu, ou au microscope (figure 2). Un microscope est un objet permettant l'observation d'objets invisibles à l'œil nu.

Le grossissement, la résolution et le contraste sont trois paramètres importants en microscopie.

3.1.1 Le grossissement

Le grossissement est le rapport entre les dimensions de l'image obtenue et celles de l'objet réel. Les microscopes photoniques peuvent grossir environ 1 000 fois la taille réelle du spécimen.

3.1.2 La résolution

La résolution ou pouvoir séparateur est une mesure de la netteté de l'image ou, plus précisément, de la distance minimale séparant deux points pour que ceux-ci restent distincts (pour l'œil humain, cette distance est de 100 μm (micromètres)). Par exemple, là où l'œil nu voit une seule étoile dans le ciel, le télescope, qui a un plus grand pouvoir de résolution, permet d'apercevoir des étoiles jumelles. De même, en utilisant les techniques classiques, le microscope photonique peut grossir les objets tant qu'on veut, mais son pouvoir de résolution s'arrêtera toujours à 0,2 μm , soit 200 nm (nanomètres), ce qui représente la taille d'une petite bactérie ou d'une mitochondrie (figure 2).

Jusqu'à récemment, l'obstacle de la résolution empêchait les biologistes cellulaires d'utiliser la microscopie photonique classique pour étudier les organites, c'est-à-dire les diverses structures des cellules eucaryotes contenues dans une membrane (noyau, chloroplastes, mitochondries, etc.). Pour observer les détails de ces structures, il fallait toutefois mettre au point un instrument plus puissant, le microscope électronique, qui présente un pouvoir de résolution est beaucoup plus grand. Théoriquement, les microscopes électroniques modernes peuvent atteindre une résolution d'environ 0,002 nm, mais en pratique leur limite est généralement de 2 nm, ce qui représente tout de même une résolution 100 fois plus grande que celle du microscope photonique.

3.1.3 Le contraste

Le troisième paramètre, le contraste, accentue les différences entre les parties de l'échantillon. La plupart des perfectionnements apportés au microscope photonique depuis le début

du 20^e siècle ont amélioré le contraste, faisant mieux ressortir des détails déjà distinguables par la coloration des composantes cellulaires.

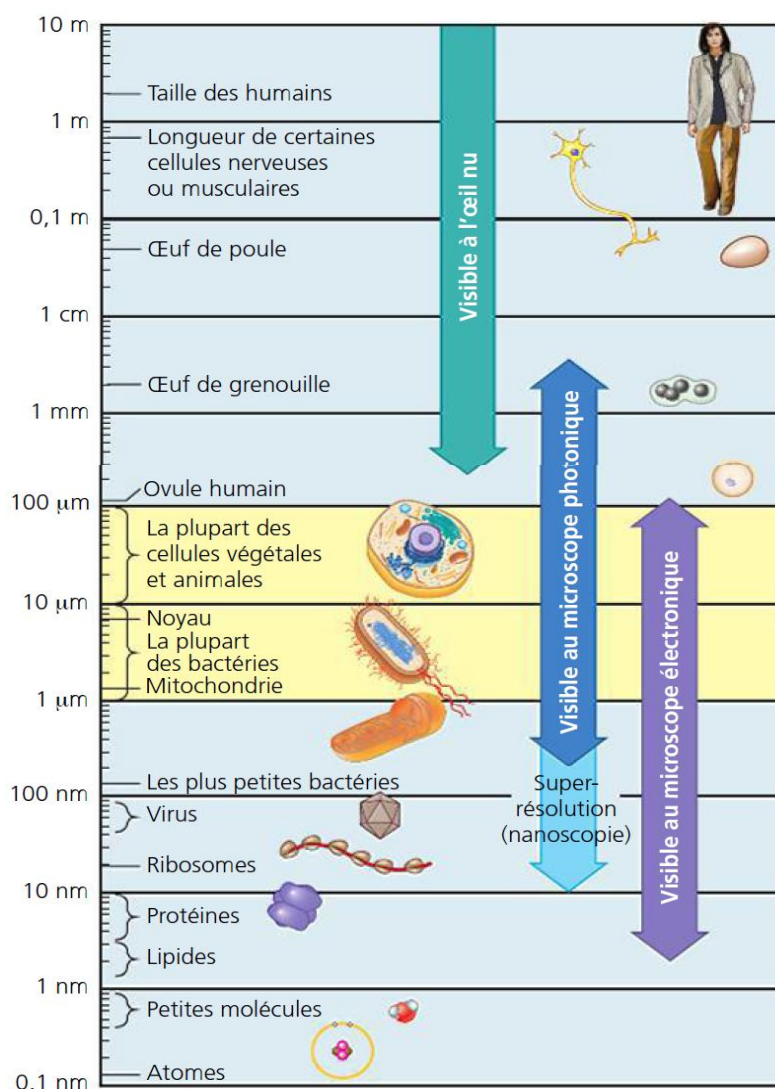


Figure 2 : Diagramme représentant les dimensions comparées des cellules. La plupart des cellules (zones en jaune) mesurent entre 1 et 100 µm de diamètre ; par conséquent, elles ne sont visibles qu'au microscope. Noter qu'étant donné l'écart entre les dimensions représentées, on a opté pour une échelle logarithmique : chaque mesure indiquée à gauche de la graduation est 10 fois inférieure à celle qui est inscrite au-dessus d'elle (Reece et al., 2012).

Remarque : En biologie cellulaire deux unités de mesure linéaires sont le plus souvent utilisés pour décrire les structures au sein d'une cellule le micromètre et le nanomètre. L'angström est encore souvent employé par les biologistes moléculaires pour décrire des dimensions atomiques.

On utilise le nanomètre et l'angström pour les molécules biologiques volumineuses : les macromolécules. Le micromètre convient mieux pour les cellules et leurs organites par exemple le noyau et les mitochondries.

Rappelez-vous que :

➤ 1 centimètre (cm) = 10^{-2} m

- 1 millimètre (mm) = 10^{-3} m
- 1 micromètre (μm) = 10^{-3} mm = 10^{-6} m
- 1 nanomètre (nm) = 10^{-3} μm = 10^{-9} m
- 1 angström ($\text{\AA}$) = un 10^{-10} mètre

3.2 DIFFERENTS TYPES DE MICROSCOPES

Par définition : le terme microscope (du grec *micros* « petit » et *skopein* « examiner ») désigne toute une gamme d'instruments permettant d'obtenir une image agrandie d'un objet. Bien que la notion d'image soit étroitement associée à l'œil, elle n'est pas exclusive à la lumière mais peut être obtenue à partir de tout rayonnement ondulatoire.

Un microscope assure deux fonctions principales. La première est d'agrandir l'image d'un échantillon pour le rendre visible à l'œil nu ou sur une caméra. On sait qu'une lentille permet d'agrandir une image, mais une autre propriété tout aussi importante du microscope est la réalisation d'un contraste qui permet de faire ressortir les détails de l'image agrandie.

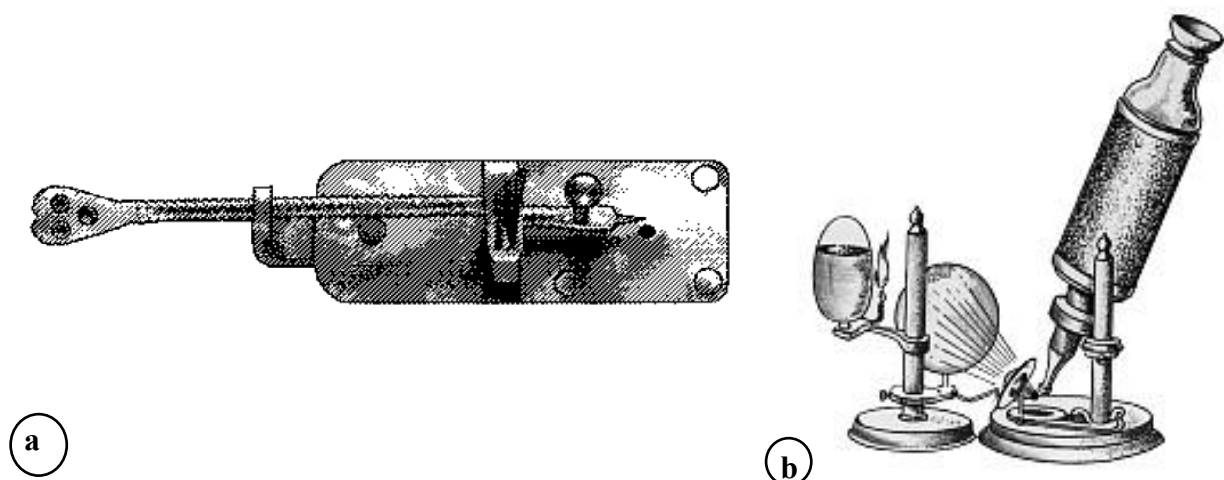


Figure 3 : différents types de Microscopes utilisés par les premiers cytologistes.

- En (a) : microscope simple employé par A. Leeuwenhoek, vers 1670. La minuscule loupe est incluse en haut de la plaque métallique rectangulaire ; la pointe portée par un double système de vis constitue le porte-objet.
- En (b) : microscope composé utilisé par R. Hooke, vers 1665 (voir chapitre II : la théorie cellulaire). Noter le système d'éclairage des préparations à gauche de l'appareil (éclairage par-dessus, et non pas en transmission) (Callen, 2005).

3.2.1 Microscope photonique

Les microscopes photoniques ou à lumière (également appelés microscopes optiques) ont comme point commun l'utilisation d'énergie lumineuse, c'est-à-dire un faisceau de photons, qui peut être de la lumière blanche (comme en microscopie optique à champ clair) ou d'une longueur d'onde bien précise (comme en microscopie à fluorescence). Le principe d'un microscope, quel

que soit son type, est de grossir l'image observée à l'aide d'un jeu de lentilles. En effet, pour observer la structure cellulaire sous le microscope optique, le principe se base sur la déviation des particules photoniques qui sont des éléments non chargés, ces particules traversent un système de lentilles de manière à former une image agrandie de l'échantillon à examiner. La lumière traversant l'objet, on parle d'observation en transmission et les objets illuminés deviennent très clairs mais il est souvent nécessaire de procéder à des colorations des tissus afin de les observer. Le microscope optique permet de visualiser des cellules vivantes ou fixés.

La partie optique de ce microscope est composée d'un premier système de lentilles appelé objectif, de très courte focale (donnant une image réelle agrandie de l'objet), et d'un deuxième système de lentilles appelé oculaire, qui donne une image virtuelle de cette dernière. L'image finale se forme au niveau de l'œil (figure 4) ou d'un appareil photographique associé au microscope. La puissance d'un microscope est définie par le produit du grandissement de l'objectif par la puissance de l'oculaire. Cette notion importante doit être complétée par celle de pouvoir séparateur, qui détermine la qualité optique réelle de l'appareil.

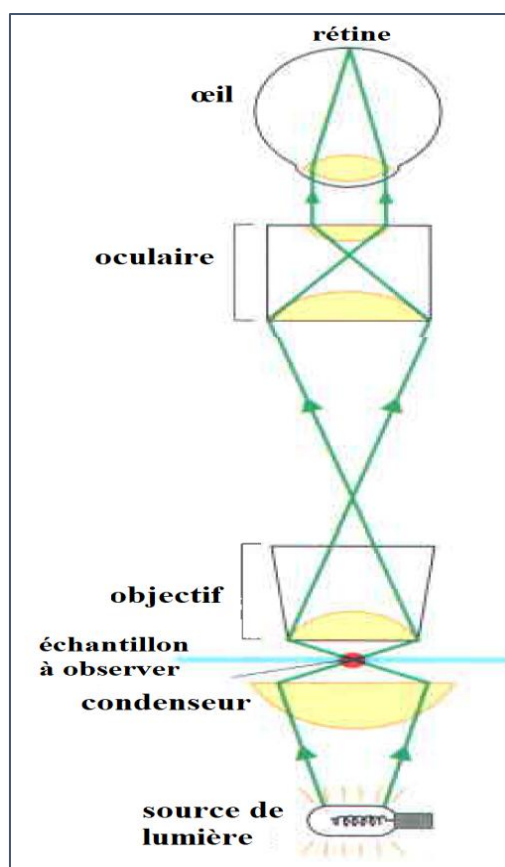


Figure 4 : Schéma simplifié du microscope photonique. Le schéma illustre le trajet de la lumière dans un microscope photonique. La lumière est focalisée sur l'échantillon par des lentilles situées dans le condenseur. Une combinaison de lentilles d'objectif et d'oculaires est disposée pour focaliser l'image de l'échantillon éclairé dans l'œil (adapté d'après Alberts et al., 2007).

A. Principe de fonctionnement

La lumière (composée de photons) passe à travers un condenseur qui concentre le flux lumineux en un rayon de lumière (figure 4). La lumière ainsi focalisée traverse l'échantillon. La lentille de l'objectif permet un premier grossissement (entre x4 et x200) puis la lentille de l'oculaire apporte un deuxième grossissement (en général x4) et l'œil reçoit enfin l'image agrandie. L'agrandissement final correspond au produit des deux grossissements des deux lentilles de verre.

La qualité de l'image dépend du pouvoir de résolution du microscope pour qu'ils soient correctement discernés. Le pouvoir séparateur est donné par la formule suivante :

$$d = 0,6 \lambda / n \sin (\alpha)$$

d : pouvoir séparateur λ : longueur d'onde de la source d'énergie (lumière) (0,4m 0,7m)

n : indice de réfraction du milieu α : demi-angle d'ouverture de l'objectif

Ainsi, c'est en jouant sur ces paramètres que l'on peut améliorer la résolution et observer des structures de plus en plus petites.

La limite de résolution du microscope standard est au mieux de 0,25 μm , ce qui permet au final un agrandissement possible de 1 000 fois sans perte de qualité, ce qui implique qu'avec cet instrument on peut distinguer à peine la plupart des bactéries. En dessous de cette limite de résolution le microscope optique ne permet pas d'avoir une image correcte. On rappelle que la limite de résolution, pour l'œil nu, est de 100 μm environ.

Très peu de cellules peuvent en fait être observées directement, à l'état vivant, au microscope photonique. Seules celles vivant à l'état isolé, telles que des bactéries ou des Protistes, ou bien des cellules sanguines, des cellules épithéliales (épidermiques chez les végétaux), ou enfin des cellules en culture, sont suffisamment fines et transparentes pour être analysables sans préparation particulière, c'est-à-dire sans réaliser de coupes. De plus, les cellules vivantes sont en général transparentes et incolores ou renferment peu de pigments qui pourraient absorber la lumière naturelle, peu de détails sont donc visibles en transmission directe de la lumière naturelle, ce qui rend impossible l'analyse fine des structures internes. Des techniques de préparation ont donc été mises au point pour rendre visibles les cellules ou leurs structures internes (exemple : coloration de Gram pour visualiser les bactéries). Des techniques spéciales d'illumination ont également été élaborées.

B. Types de microscope photonique

Il existe plusieurs types de microscopes optiques ayant chacun des montages optiques spéciaux. Les microscopes les plus utilisés sont regroupés dans le tableau (1).

Tableau 1 : Différents types des microscopes optiques (Reece et al., 2012).

Types de MP	Principe de fonctionnement et usage
MP à fond clair	Dans la microscopie à fond clair, la lumière passe directement à travers l'échantillon ; si la cellule n'est ni naturellement pigmentée ni artificiellement colorée, le contraste est faible. Divers colorants accentuent le contraste. La plupart des techniques de coloration exigent que la cellule soit fixée (rendue inerte par un fixateur).
MP à fluorescence	La microscopie à fluorescence fait ressortir certains composés macromoléculaires de la cellule en les colorant avec des substances fluorescentes ou avec des anticorps fluorescents (on parle alors d'immunofluorescence). Ces substances absorbent les rayons ultraviolets et émettent de la lumière visible.
MP confocale	Ce microscope comporte un dispositif d'éclairage par un fin faisceau laser focalisé, à travers l'objectif, sur un seul point de l'objet. Ce point, vivement éclairé, réémet une lumière qui traverse à son tour l'objectif et est captée par un système de photomultiplicateurs ; ceux-ci amplifient le signal qui est enregistré sur un système vidéo. L'utilisation d'un diaphragme très fin à l'entrée des photomultiplicateurs permet de ne capter que les rayons lumineux provenant du seul point éclairé de l'objet. Cette technique de « coupe optique » élimine les zones lumineuses hors foyer d'un échantillon relativement épais, créant un seul plan de fluorescence dans l'image. La captation d'images nettes de divers plans permet de procéder à une reconstruction en 3-D
MP à contraste de phase	La microscopie en contraste de phase amplifie les variations de masse volumique et transforme des différences minimales d'indice de réfraction de la lumière traversant les organites en différences d'intensité lumineuse ce qui accentue le contraste dans des cellules non colorées. Cette technique est particulièrement utile pour l'examen des cellules vivantes dépourvues de pigments.
MP polarisant	C'est un microscope photonique ordinaire pourvu de deux polaroids. Il donne des images de toutes structures dont les molécules sont orientées, par exemple : les fibres musculaires, le fuseau mitotique et les filaments de myosine du muscle strié.

3.2.2 Microscope électronique

Inventé dans les années 1950, le ME n'utilise pas la lumière, mais plutôt un faisceau d'électrons qui traverse la préparation ou en balaie la surface. Son principe est comparable à celui du microscope photonique, à la différence près que le faisceau de photons est remplacé par un faisceau d'électrons.

Le domaine explorable avec cet outil est celui des ultrastructures et même des molécules ; aux faibles grossissements (200 fois) il recoupe cependant le domaine du microscope photonique. Rappelons qu'il n'y a pas de couleurs visibles en microscopie électronique ; quand des clichés en montrent, il s'agit de fausses couleurs. En effet, les micrographies électroniques sont en noir et blanc, mais on les colore souvent pour rendre certaines structures plus apparentes.

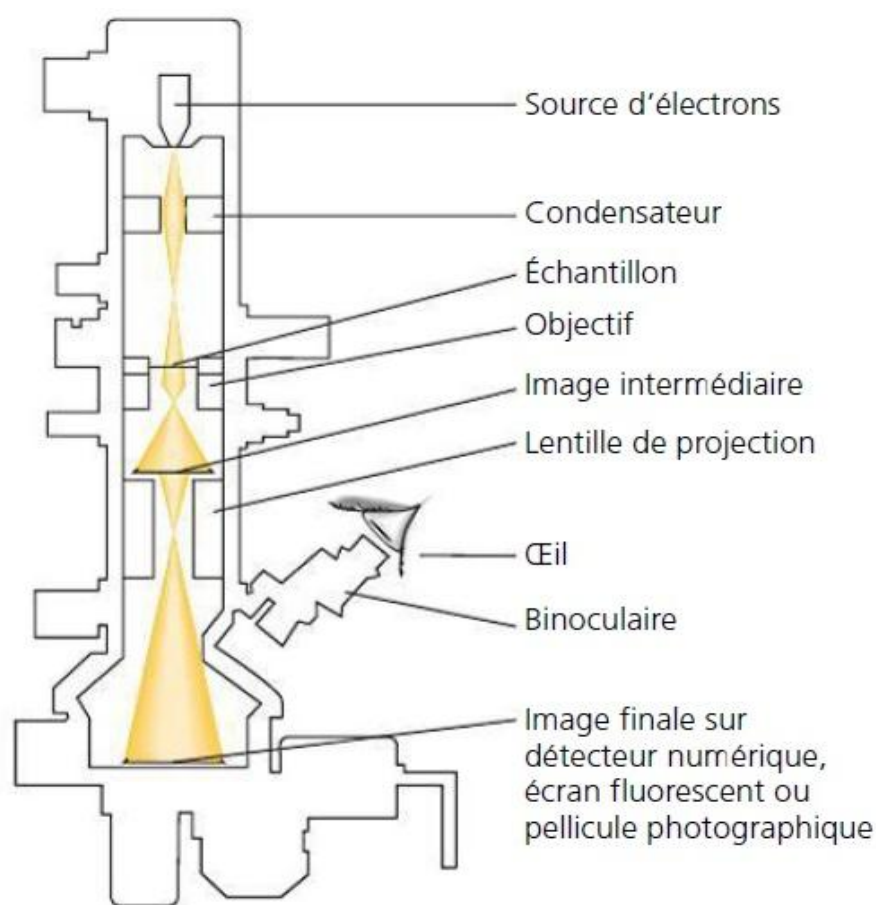


Figure 5 : Schéma simplifié du microscope électronique (Reece et al., 2012).

A. Principe de fonctionnement

La longueur d'onde associée à un faisceau d'électrons est d'autant plus courte que leur vitesse est plus élevée : lorsque ceux-ci sont accélérés sous vide sous une tension de 50 000 volts, celle-ci est de 0,005 nm, c'est-à-dire 10 5 fois plus courte que celle de la lumière visible moyenne; cette longueur d'onde est beaucoup plus petite que la taille d'un atome d'hydrogène (voisine de

0,1 nm). La limite de résolution théorique d'un tel instrument est donc très inférieure à celle du microscope à lumière. Pour différentes causes techniques, le pouvoir séparateur obtenu n'est pas celui attendu, mais il atteint néanmoins 0,2 nm et est 1 000 fois plus élevé que pour le microscope classique (photonique) ce qui explique l'intérêt du microscope électronique.

Les images obtenues peuvent être agrandies directement jusqu'à 500 000 fois, et bien plus avec l'agrandissement photographique.

Lorsque le faisceau incident d'électrons primaires traverse l'objet à analyser, ceux-ci sont absorbés ou réfléchis par certains de ses atomes et ils ne participent donc pas à la formation de l'image. Les atomes majeurs de la matière vivante (C, H, O, N) sont transparents aux électrons, d'où la nécessité de contraster les structures au moyen d'atomes lourds, opaques aux électrons, qui se fixent plus ou moins sélectivement à leur niveau.

Les avantages considérables apportés par cet appareil ne doivent pas dissimuler plusieurs contraintes et limitations :

- Un vide très poussé doit être maintenu dans la colonne afin que les électrons ne soient pas freinés et que leur trajectoire soit bien linéaire ; ceci implique que l'échantillon soit déshydraté (donc non vivant), pour ne pas être détruit ;
- En raison du faible pouvoir pénétrant des électrons, les objets observés doivent être extrêmement fins (coupes de 50 à 100 nm), ce qui nécessite des techniques spécifiques d'inclusion et de coupe des échantillons : un spécimen de 0,5 à 1 μm d'épaisseur apparaît presque totalement opaque à 50 kv ;
- Sous l'action des électrons qui les traversent, les échantillons subissent une dégradation parfois rapide.
- Les images obtenues avec la technique d'observation de coupes en transmission ne sont que le reflet très incomplet des objets étudiés. En effet, la troisième dimension et la notion de volume disparaissent totalement. Dans une cellule de 20 μm de diamètre, on peut débiter 200 à 400 coupes ultrafines, qui ne pourront pas toutes être aisément recueillies et analysées.

Outre les coupes, le ME permet d'observer des répliques (moulages métalliques) obtenues dans le cadre de la technique de cryofracture, des préparations de molécules, ombrées de la même façon, ou bien des préparations de type coloration négative

B. Types de microscope électronique

Il existe plusieurs types de microscopes électroniques ayant chacun des montages spéciaux. Les deux principaux microscopes électroniques sont regroupés dans le tableau (2).

Tableau 2 : Les différents types des microscopes électroniques (Reece et al., 2012).

Types de ME	Principe de fonctionnement et usage
Microscopie électronique à balayage (MEB).	Microscope électronique permettant de balayer à l'aide d'un faisceau d'électrons la surface d'un échantillon préalablement recouvert d'une pellicule d'atomes métalliques, afin de révéler les détails. Les micrographies obtenues avec un microscope électronique à balayage produisent une image tridimensionnelle de la surface d'un échantillon.
Microscope électronique à transmission (MET).	Microscope permettant d'étudier l'ultrastructure interne de cellules en projetant un faisceau d'électrons à travers une coupe très mince d'un spécimen coloré au moyen d'atomes de métaux lourds.

3.2.3 Comparaison entre le microscope optique et le microscope électronique

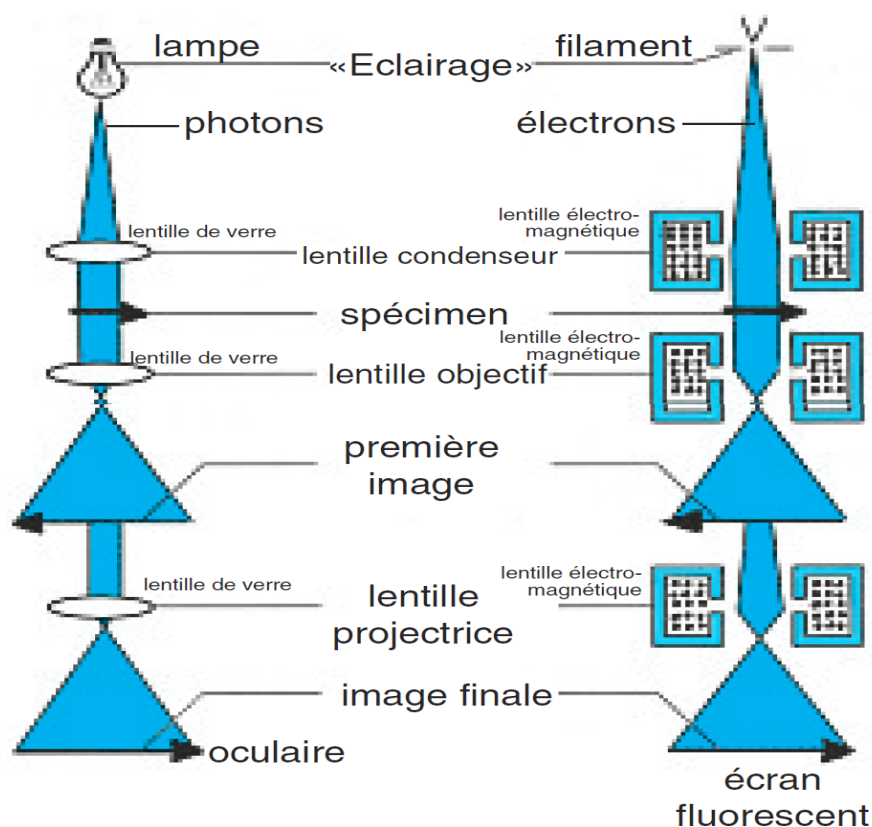


Figure 6 : Schémas comparés des trajets des rayons lumineux et des électrons dans un microscope photonique et dans un microscope électronique. Le microscope photonique est équipé de trois systèmes de lentilles transparentes (verre). Un condenseur concentre la lumière sur l'objet. Un objectif et un oculaire grossissent l'image. Dans le microscope électronique, le faisceau de photons est remplacé par un faisceau l'électron émis sous vide, accélérés par une forte différence de potentiel et canalisés par une série de lentilles (électromagnétiques) (Callen 2005).

Tableau 3 : comparaison entre Microscope photonique et Microscope électronique (Reece et al., 2012).

	Microscope optique	Microscope électronique
Source d'énergie	Lampe électrique	Filament de tungstène porté à incandescence
Rayonnement	Faisceau lumineux (photons)	Faisceau d'électrons Electrons libres accélérés dans le vide pour traverser ensuite l'échantillon.
Système optique	Lentille de verre	Lentille électromagnétique (champs)
Pouvoir séparateur Résolution	0.2µm	0.2nm (2Å) (peut atteindre 0.05 nm)
L'image	observée directement par les oculaires.	reçue sur un écran fluorescent.
Epaisseur de l'échantillon les coupes au microtome	2 à 10µm	les coupes à l'ultramicrotome : 0,05µm 300-800Å
Grossissement	40 à 2000	500.000(MET)
Principe de fonctionnement	En microscopie photonique, un condensateur de verre concentre sur l'échantillon la lumière provenant de la source lumineuse (partie inférieure du microscope). Puis, un objectif et un oculaire grossissent l'image et la projettent dans l'œil, dans un appareil photo ou dans une caméra vidéo numérique.	En microscopie électronique, un condensateur qui est un électroaimant concentre sur l'échantillon un faisceau d'électrons (partie supérieure du microscope) qui se déplacent à l'intérieur d'une colonne où un vide poussé a été réalisé. Puis, les lentilles de l'objectif et une lentille de projection, qui sont elles aussi des électroaimants, grossissent l'image et la projettent sur un détecteur numérique, un écran fluorescent ou une pellicule photographique.

4. ETAPES DE PREPARATION DES COUPES POUR L'OBSERVATION MICROSCOPIQUE

En raison du faible pouvoir pénétrant des électrons et des photons, les objets observés doivent être extrêmement fins (coupes de 50 à 80 nm), ce qui nécessite des techniques spécifiques de coupe des échantillons.

Lorsque le matériel biologique est massif (tissus animaux ou végétaux : foie, cerveau, muscle..., ou tige, feuille, racine...), il faut préalablement le débiter en tranches fines et régulières, qui seront ensuite colorées. Dans une cellule de 20 μm de diamètre, on peut débiter 200 à 400 coupes ultrafines.

Les étapes de ce protocole diffèrent dans la mesure où l'observation se fait sous microscopie photonique ou électronique. Les étapes du protocole classique utilisé lors de l'observation photonique sont présentées ci-dessous.

4.1. Les milieux de survie

En microscopie photonique, si l'observation doit se prolonger, il faut utiliser des milieux de montage et des dispositifs appropriés appelés « chambres de survie », dans lesquels les conditions d'alimentation des cellules, de température, d'oxygénation, de pH, sont bien contrôlées, et ce d'autant plus que la durée de l'observation se prolonge.

Il existe en outre des microscopes spécialement conçus pour l'observation des cellules en culture, directement dans leur boîte de milieu ; les objectifs sont situés sous la platine, porte-objet, et la lumière arrive par le dessus, puis traverse les parois transparentes de la boîte de culture. On parle dans ce cas de « microscope inversé ».

4.2. 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, contenant des substances connues pour dénaturer et coaguler essentiellement les protéines : acides, alcools, aldéhydes, certains sels...

Ces fixateurs, dits coagulants, doivent être adaptés à la nature du matériel biologique analysé et au type de coloration employé ultérieurement. Par exemple en microscopie photonique on peut utiliser la chaleur, l'alcool ou le formol.

4.3. Déshydratation

Elle 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.

Cette opération doit être progressive pour que la substitution n'entraîne pas de déformation des tissus. 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...

4.4. Inclusion ou Enrobage

Cette technique 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 ou la résine Epoxy qui est liquide à 60 °C, dure à la température ambiante et pénètre très aisément dans les tissus. Après plusieurs bains à 60 °C et durcissement de la résine, on obtient un «bloc» qui pourra être correctement coupé et qui sert aussi de moyen de stockage des échantillons. En microscopie optique la paraffine est souvent utilisée.

4.5. Coupe

Elle a pour but de réaliser des sections fines et transparentes de l'objet inclus. On utilise un microtome pour la microscopie optique, muni d'un rasoir métallique de l'ordre de 5 à 7 µm, qui donne des coupes sériées ; celles-ci sont collées avec une solution de gélatine 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.

4.6. Réhydratation

Cette opération nécessite l'emploi d'une série d'alcools de titres décroissants, pour arriver à l'eau.

4.7. Coloration

La coloration est une étape qui consiste en un simple renforcement des contrastes : on parle de « coloration positive ». Elle permet de teinter de façon différentielle les divers territoires de l'échantillon biologique. Pour la microscopie photonique tous les colorants utilisés étant hydrosolubles ils colorient l'échantillon et permettent le passage de la lumière.

Dans ce type de microscopie, de nombreuses techniques de coloration utilisant des colorants dits « vitaux », non toxiques, ont été développées. On peut citer quelques exemples de tels colorants :

- Le violet dahlia et le violet cristal se fixent plus particulièrement sur le noyau ;
- Le vert janus B et le nitro-bleu de tétrazolium, composés fonctionnant comme indicateurs spécifiques d'oxydoréduction, permettent de colorer les mitochondries, ces colorations sont sublétales, plutôt que vitales ;

- Le rouge neutre permet de colorer efficacement les vacuoles des Protistes, des Champignons ou des Végétaux. Ce composé de masse moléculaire élevée pénètre par endocytose puis est transféré et accumulé dans les vacuoles ; son innocuité est liée au fait qu'il est séquestré dans un compartiment physiologiquement marginal au sein de ces cellules. Cette caractéristique a permis des études de longue durée sur la différenciation des vacuoles dans les racines.
- Plusieurs composés de faible masse moléculaire, le plus souvent fluorescents, et ayant des propriétés de coloration vitale ont récemment été développés. On peut également considérer que des anticorps fluorescents injectés dans des cellules vivantes, qui reconnaissent des structures spécifiques sans perturber la physiologie cellulaire, font partie de ce groupe de marqueurs vitaux d'organites.

4.8. Montage

Le montage a pour but de rendre la préparation permanente, c'est-à-dire observable pendant des années. Après une déshydratation rapide de la préparation colorée, celle-ci est recouverte d'une goutte de résine naturelle ou synthétique, par-dessus laquelle on dépose une lamelle de verre. Ce nouveau milieu transparent, dans lequel se trouve l'échantillon coloré, durcit par polymérisation

5. METHODES D'ETUDE DE LA CELLULE LIEES A LA MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

La préparation du matériel biologique, pour l'examen au microscope électronique, a nécessité l'apport de plusieurs modifications au protocole utilisé en microscopie photonique. Dans la mesure où les structures cellulaires doivent être ici parfaitement préservées, pratiquement jusqu'à un niveau moléculaire, la fixation et l'inclusion sont des opérations cruciales, dont la mise au point a été longue et difficile. De plus, la réalisation de coupes ultrafines n'a été possible qu'à la suite de la fabrication d'ultramicrotomes très sophistiqués. Les grandes lignes de ce nouveau protocole détaillées ci-dessous.

5.1. Fixation

Les fixateurs classiques, utilisés pour la microscopie photonique, ne suffisent pas car ils tendent à coaguler les protéines et à détruire les structures fines. Il faut utiliser ici des agents chimiques qui réalisent des pontages entre les molécules voisines, plus qu'ils ne les dénaturent ; cette fixation « en douceur » stabilise les structures auxquelles elles appartiennent :

- Le permanganate de potassium assure une excellente conservation des membranes lipoprotéiques, mais les structures cellulaires contenant des acides nucléiques sont très mal fixées ;
- Le tétroxyde d'osmium se comporte comme le précédent, mais il pénètre mal dans les cellules ;
- Le glutaraldéhyde pénètre bien dans les cellules, fixe efficacement de nombreuses structures, sauf les membranes.

Le plus souvent, on combine les avantages des différents fixateurs en réalisant une double fixation : un traitement au glutaraldéhyde suivi d'un traitement au tétroxyde d'osmium.

5.2. Inclusion en résine

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. Les milieux d'inclusion utilisés sont souvent des résines de la famille des araldites, qui polymérisent à chaud en présence d'un catalyseur. 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. On utilise aussi des résines hydrosolubles pouvant être éliminées des coupes, ce qui autorise des expériences d'immunocytochimie en microscopie électronique.

5. 3. Ultramicrotomie

Les coupes ultrafines sont réalisées grâce à des couteaux de verre ou de diamant très affûtés. Le problème technique de l'avance régulière et surtout très progressive du porte-objet devant le couteau est résolu par la mise au point de systèmes basés, par exemple, sur la dilatation d'un axe métallique (avance thermique). Les coupes, de très faible taille (moins de 0,5 mm de côté) et très fines, sont invisibles à l'œil nu et difficilement manipulables sans l'aide d'une loupe. Le couteau est en fait muni d'une petite cuvette contenant de l'eau à la surface de laquelle les coupes flottent. Celles-ci sont récupérées sur des grilles de 3 à 4 mm de diamètre, à mailles très fines, qui servent en fait de porte-objet et seront introduites dans la colonne du microscope.

5. 4. Coloration

Certains atomes de métaux lourds se fixent sélectivement sur diverses structures cellulaires, fixation qui arrête efficacement les électrons à leur niveau. Le résultat est un meilleur contraste des images. On utilise pour cela des solutions d'acétate d'uranyle ou de citrate de plomb et on fait flotter quelque temps les grilles portant les coupes sur des gouttes de ces substances.

5.5. Coloration négative et ombrage métallique

Il existe des échantillons et objets de très petites dimensions, de forme relativement simple (molécules, Virus ou éléments cellulaires isolés : organites ou fragments d'organites) possédant de très fins détails qui ne nécessitent pas de coupe. L'observation de ces derniers au microscope électronique à transmission pose un problème de manque de contraste. De ce fait de techniques peuvent être utilisées : la coloration négative et l'ombrage métallique.

La coloration négative permet de voir, en microscopie électronique à transmission, de très fins détails que les coupes ne permettent pas de visualiser, en particulier dans le cas des structures fibreuses (protofilaments protéiques, flagelles, queue de certains Virus...). Elle consiste à déposer l'objet à étudier (des particules ou des cellules) sur une membrane-support, puis à plonger l'ensemble dans une solution de sel de métal lourd, après drainage, les traces de la solution métallique qui restent se concentrent sur les angles ou sur les bords des objets. On obtient donc un effet de halo permettant de voir ces particules ou cellules en négatif, en microscopie électronique.

L'ombrage métallique s'applique aux mêmes objets, mais le principe est un peu différent et les images obtenues sont plus empâtées que dans le cas du protocole précédent. La technique consiste à déposer l'objet à étudier sur un support, puis à exposer l'ensemble à des vapeurs métalliques (obtenue en vaporisant sous vide une électrode métallique) et ceci sous incidence pour avoir une ombre formée.

L'ombrage métallique permet, en particulier, de visualiser de façon simple les molécules d'acides nucléiques. Il constitue également une étape dans le protocole de cryofracture.

5.6. Cryofracture et cryodécapage

Cette technique constitue un développement de la technique d'ombrage métallique, elle est d'abord basée sur la congélation très rapide d'un tout petit échantillon biologique (moins de 1 mm³), dans de l'azote liquide (– 196 °C). L'étape cruciale du protocole est la fracture, et non la coupure (figure 7(A)), de l'échantillon congelé, et ceci à très basse température. Cette cryofracture dégage une surface irrégulière à travers l'échantillon, et c'est cette surface qui sera observée.

On réalise ensuite 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).

On enchaîne avec un ombrage métallique, sous vide et à froid, pour renforcer les reliefs. Un film de carbone uniforme et très fin est ensuite vaporisé par-dessus la surface métallisée pour la renforcer et couvrir les zones non atteintes par le métal. On a ainsi réalisé un vrai moulage extrêmement précis de la surface fracturée de l'échantillon : la réplique ; c'est elle qui est observée au microscope électronique à transmission. Avant l'observation, il faudra la décoller de

l'échantillon par décongélation, la rincer et enfin la déposer sur une grille de microscopie électronique.

Cette technique présente deux avantages considérables :

- 1) Elle permet de travailler sur un matériel congelé dont la structure est aussi proche que possible de la structure native
- 2) Elle permet d'observer l'organisation superficielle des membranes cellulaires, ce que les coupes n'autorisent pas, sauf dans le cas (rare) de coupes tangentielles.

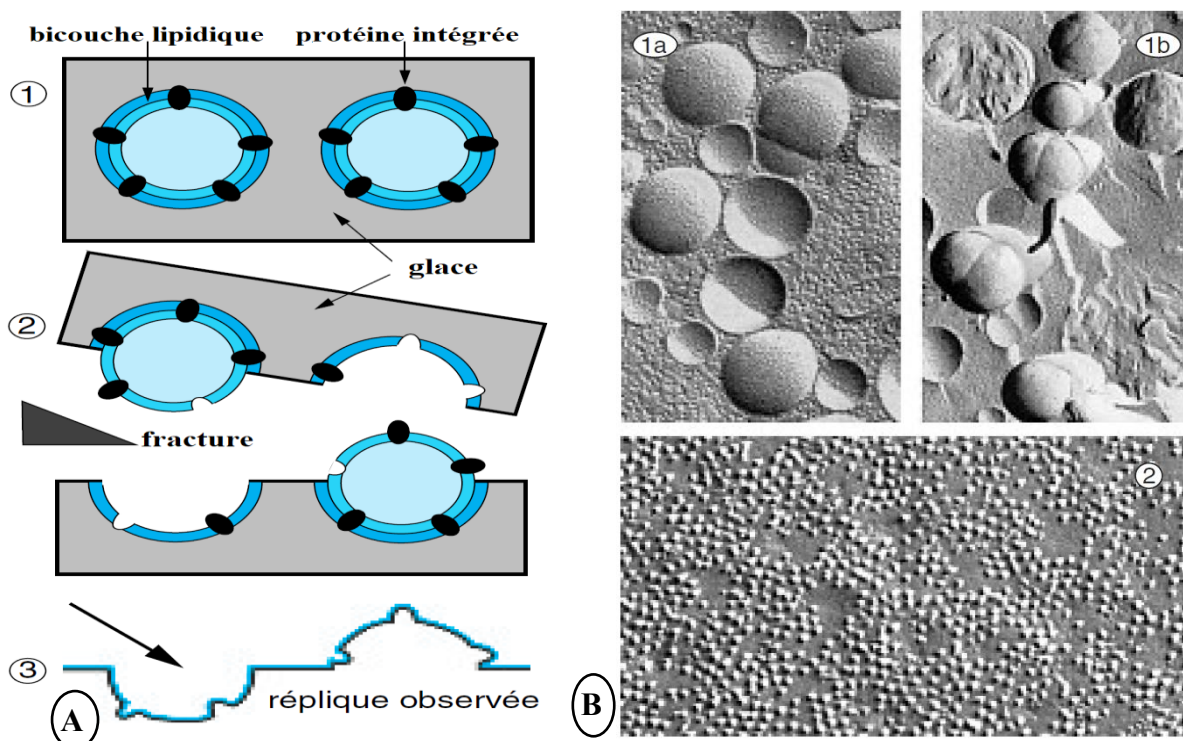


Figure 7 : Cryofracture et cryodécapage (Callen 2005). **(A) :** Principe de la formation des images lors du protocole de cryofracture/cryodécapage. **(1)** Exemple de deux protéoliposomes inclus dans la glace. **(2)** Fracture de la glace dégageant soit la partie concave (à gauche), soit la partie convexe (à droite) des vésicules. **(3)** Aspect de la réplique métallique obtenue après ombrage unidirectionnel (flèche) et vaporisation de carbone. La fracture fait apparaître la face supérieure ou l'empreinte de la face inférieure des protéines intrinsèques, en fonction de leur degré d'enfouissement dans la bicouche. La réplique métallique de cette surface présente ainsi des « creux » ou des « bosses », selon les cas.

(B) : Clichés obtenus par cryofracture. **(1a)** Aspect de liposomes contenant des protéines intégrées à la bicouche (protéoliposomes) et ayant une surface rugueuse. **(1b)** Aspect de liposomes lisses constitués uniquement de lipides. **(2)** Aspect d'une membrane biologique (ici la membrane cytoplasmique d'un ovocyte de Xénope ; x 75 000) (Clichés P. Van Gansen, cité par Callen 2005).

Remarque : Un protéoliposome est une structure formée par ajout de protéines hydrophobes purifiées à une structure, appelée liposome, organisée en vésicule close et constituée de deux couches de lipides opposées par leurs domaines hydrophobes (voir chapitre 4).

6. TECHNIQUE DE DETECTION ET DE LOCALISATION DES COMPOSES CELLULAIRES

6.1. Autoradiographie

L'autoradiographie est une technique qui vise à enregistrer l'image de molécules marquées par des isotopes radioactifs, pour les localiser avec précision dans des tissus ou des cellules ou lors de réactions chimiques. Le principe est donc d'apporter aux cellules un précurseur radioactif de la molécule à détecter. Par exemple, des acides aminés radioactifs permettront de mettre en évidence des protéines. Pour cela, on fait synthétiser ces acides aminés (généralement par des bactéries) dans un milieu contenant un isotope radioactif : cela peut être du tritium (^3H), du carbone ^{14}C ou soufre ^{35}S . L'autoradiographie se déroule ensuite en deux phases : la phase de *pulse* et de *chasse*.

Lors du pulse, les coupes de tissu vivant sont mises dans un milieu dit "chaud" contenant le précurseur radioactif. Lors de cette phase, les cellules vont utiliser les précurseurs pour fabriquer des macromolécules qui deviendront donc radioactives (figure 8). Cette phase de pulse doit être relativement courte pour que seules quelques molécules soient marquées (et pas l'intégralité de la cellule) et pour éviter que la radioactivité ait un effet cytotoxique trop important.

Ensuite vient l'étape de chasse. Les cellules contenant les marqueurs radioactifs sont ensuite transférées dans un milieu "froid", sans précurseur radioactif. Lors de cette phase, les cellules synthétisent de nouveau des macromolécules non-radioactives, mais conservent tout de même les molécules marquées durant la phase de pulse.

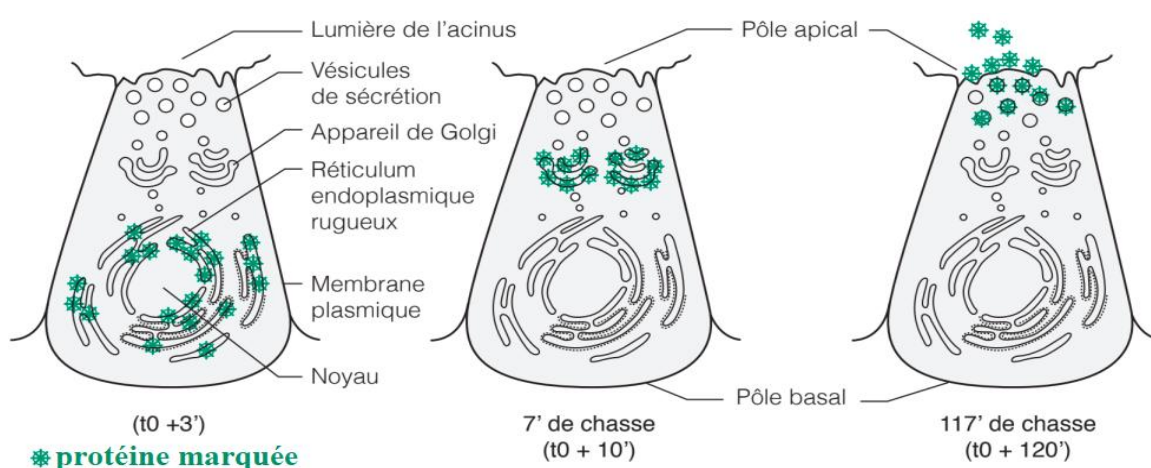


Figure 8 : résultats de l'expérience de Pulse-chasse réalisée par Palade et ses collaborateurs en 1967. L'autoradiographie permet d'identifier le lieu initial de synthèse des protéines (pendant le *pulse*), et leurs voies de transport au sein de la cellule acineuse pancréatique (pendant la *chasse*). Cette cellule sécrétrice est polarisée présentant un pôle basal et un pôle apical au contact de la lumière de l'acinus (Palade 1975 cité par Segarra et al., 2014).

Reste alors à visualiser ces molécules. Pour cela, on recouvre la préparation d'une solution contenant des ions argent Ag^+ . Les ondes émises par la radioactivité vont alors former des grains d'argent métallique Ag(s) à partir des ions et ainsi révéler indirectement la présence de la molécule marquée. Ces grains d'argent seront alors visibles en microscopie optique ou électronique.

6.2. L'immunodétection ou immunohistochimie

L'immunohistochimie est une méthode de localisation de molécules (généralement des protéines) dans les cellules d'une coupe de tissu, par la détection d'antigènes au moyen d'anticorps. Pour rappel, un antigène est une macromolécule spécifiquement reconnue par un anticorps. Pour les protéines, le motif reconnu est appelé épitope. Un anticorps est une protéine quaternaire produite par les lymphocytes B, constituée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Ces chaînes portent à leur extrémité des régions variables qui reconnaissent spécifiquement un motif moléculaire.

L'immunohistochimie consiste à utiliser la spécificité de reconnaissance des anticorps pour détecter les molécules qui nous intéressent. Il faut donc produire en quantité les anticorps, à l'aide d'une technique dite des anticorps monoclonaux. Ensuite, il s'agit de rendre ces anticorps observables en microscopie afin de pouvoir détecter la protéine d'intérêt. Pour cela, on couple l'anticorps avec un des marqueurs suivants :

- Un fluorochrome : molécule émettant une lumière fluorescente lorsqu'elle est excitée avec une certaine longueur d'onde
- Un atome radioactif, permettant une détection par autoradiographie. On peut aussi y ajouter un atome métallique pour une observation en directe.
- Une enzyme transformant un substrat incolore en produit coloré, comme pour la cytoenzymologie.

7. TECHNIQUE DE MISE EN EVIDENCE DU MOUVEMENT LATERAL DES PROTEINES MEMBRANAIRES

7.1. Diffusion des protéines membranaires après une fusion de cellules

La fusion cellulaire est une technique qui permet de réunir deux types différents de cellules ou des cellules de deux espèces différentes pour non plus former qu'une cellule, avec un cytoplasme commun et une membrane plasmique continue. On induit la fusion des cellules en rendant collantes leur surface extérieure, pour que leurs membranes plasmiques adhèrent. On peut induire la fusion en ajoutant certains virus inactivés qui s'attache à la membrane, par le polyéthylène glycol ou par un choc électrique modéré. La fusion cellulaire a joué un rôle important en biologie cellulaire et elle est utilisée couramment pour la préparation d'anticorps spécifiques.

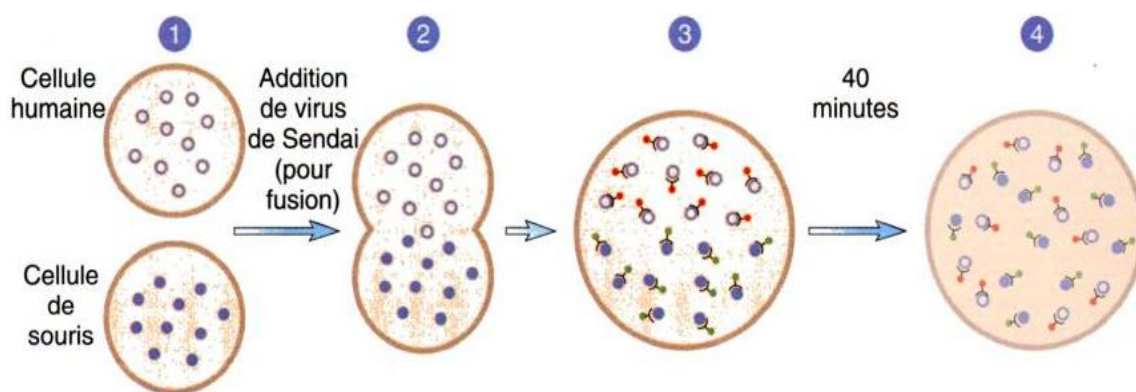


Figure 9 : Utilisation de l'expérience de la fusion cellulaire pour mettre en évidence la mobilité des protéines membranaires. Etapes 1 et 2 : fusion entre cellules humaines et de souris. Etapes 3 et 4 : distribution des protéines des deux cellules chez les hybrides au cours du temps. Les protéines membranaires de souris sont représentées par des cercles pleins les protéines humaines par des cercles ouverts (Karp et al., 2018).

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 40 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.

7.2. Restauration de la fluorescence après photo décoloration

Dans la technique de restauration de la fluorescence après photo décoloration, illustrée à la figure 10, les composants de la membrane intacte des cellules en culture sont d'abord marqués par liaison à un colorant fluorescent. On peut marquer une protéine particulière on se servant d'un anticorps fluorescent. Après marquage les cellules sont placées sous le microscope optique et irradiées individuellement par un faisceau laser très focalisé qui décolore les molécules

fluorescentes situées sur son parcours et laisse une tâche circulaire, généralement d'environ $1\mu\text{m}$ de diamètre, dépourvu de fluorescence à la surface de la cellule. Si les protéines marquées dans la membrane sont mobiles leurs déplacements latéraux, aléatoires, entraînent la réapparition progressive de la fluorescence dans le cercle irradié.

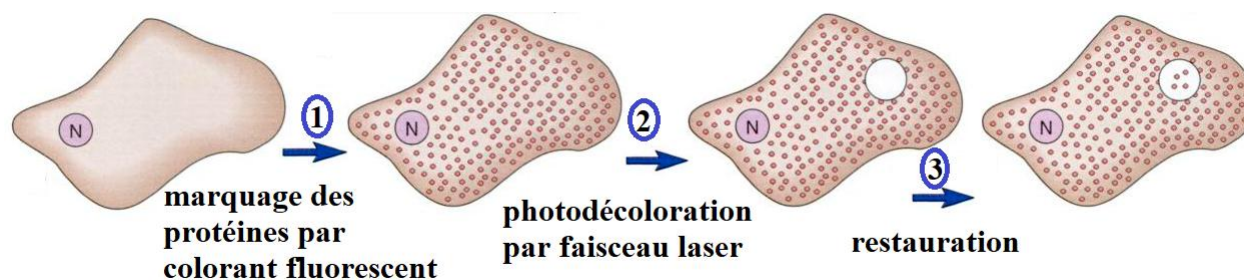


Figure 10 : restauration de la fluorescence des protéines membranaires après photodécoloration. Étape 1 : on marque une protéine particulière de la membrane par un colorant fluorescent. Étape 2 : on irradie ensuite une petite partie de la surface pour décolorer les molécules de colorant. Étape 3 : on suit la restauration de la fluorescence de la région décolorée en fonction du temps (Karp et al., 2018).

8. TECHNIQUES D'ISOLEMENT DES ORGANITES CELLULAIRES

Afin d'étudier en détail un organite, il faut tout d'abord l'isoler sous une forme relativement pure, par exemple de toute contamination significative par d'autres organites. La voie habituelle pour y parvenir est le fractionnement subcellulaire (figure 11) qui comporte en général trois étapes : extraction, homogénéisation et centrifugation.

8.1. Extraction

La première étape pour isoler un organite donné ou une biomolécule consiste à l'extraire de la cellule dans laquelle il se trouve. La plupart des organites et de nombreuses biomolécules sont instables et perdent leur activité biologique, ils doivent être extraits dans des conditions douces ; c'est-à-dire en utilisant des solutions aqueuses, en évitant des valeurs extrêmes de pH, de pression osmotique et les températures élevées. En fait, la plupart des étapes d'isolement des organites sont réalisés à des températures de 0 à $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, c'est à dire dans une chambre froide ou bien au contact de la glace. Des pertes importantes d'activités peuvent se produire à température ambiante, en partie à cause de différentes enzymes digestives cellulaires, tels que : les protéases et les nucléases qui sont libérés lors de la rupture des cellules.

La solution aqueuse employée pour l'extraction peut être à base de solvants organiques, comme celle utilisée pour extraire les lipides et les acides nucléiques. Une solution souvent utilisée pour extraire des organites est composée de sucrose à une concentration de $0,25\text{ M}$ (iso-

osmotique), ajustée à un pH de 7,4 avec un tampon un tampon TRIS (tris-hydroxyméthyl aminométhane), acide chlorhydrique à 0,05M, en présence d'ion K^+ et Mg^{++} de à une concentration presque physiologique ; cette solution est communément appelée STKM.

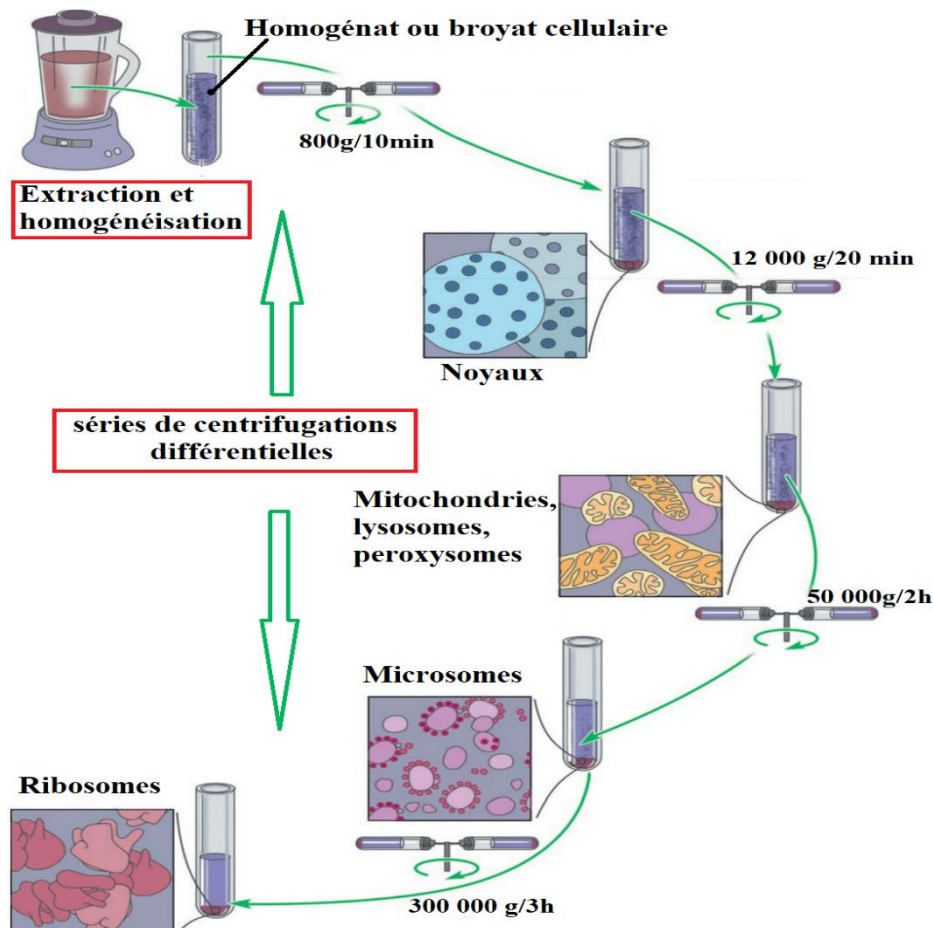


Figure 11 : étapes du fractionnement subcellulaire par broyage électrique puis centrifugation différentielle (Tachdjian et al., 2018).

8.2. Homogénéisation

Opération qui consiste à casser les cellules dans des conditions douces. Les organes, par exemple : le foie, le rein le cerveau et leurs cellules, peuvent être convenablement cassés en utilisant un pilon qu'on fait tourné manuellement ou à l'aide d'un moteur ; dans un tube de verre de dimensions convenable renfermant des fragments et émincés de l'organe étudié et un milieu d'extraction approprié (par exemple : une solution aqueuse de type STKM). La rotation contrôlée du piston exerce des forces de cisaillement mécanique qui rompent les cellules, libérant ainsi leurs constituants dans la solution aqueuse. La suspension résultante qui contient de nombreux organites intacts s'appelle l'homogénat ou le broyat cellulaire (figure 11).

8.3. Centrifugation

Le sous-fractionnement des constituants d'un homogénat par centrifugation différentielle a été une technique d'importance capitale en biochimie.

La centrifugation est une technique de séparation de phases. Sous l'effet des forces centrifuges, les particules solides (phase solide) suspendues dans une phase liquide se sédimentent avec une vitesse accrue et différente, selon leurs caractéristiques hydrodynamiques, de sorte que l'on peut fractionner l'homogénat. Le principal paramètre déterminant la vitesse de sédimentation est la masse volumique (densité), les particules les plus grosses et les plus denses de l'homogénat forment le premier sédiment (ou culot) rassemblé au fond du tube de centrifugation, le liquide surnageant contient quant à lui, les plus petites et les plus légères particules. Le surnageant et le culot sont séparés par décantation. C'est-à-dire qu'on laisse reposer le mélange hétérogène liquide solide suffisamment longtemps, après la centrifugation, pour que les particules solides en suspension se sédimentent au fond du tube.

La méthode de centrifugation différentielle classique, des constituants cellulaires, comporte 3 étapes de centrifugation à des vitesses croissantes chacune donnant un culot et un surnageant (figure 12). Le surnageant sera soumis à une nouvelle centrifugation à vitesse supérieure dans l'étape suivante. Ce procédé donnera 3 culots, appelés fractions : nucléaire, mitochondriale, et microsomiale. Aucune de ces fractions ne contient des organites absolument purs. Cependant, la microscopie électronique et la mesure de marqueurs enzymatiques adéquats ainsi que d'autres composants chimiques comme l'ADN et l'ARN, ont démontré que les constituants majeurs de chacun des trois culots sont respectivement les noyaux, les mitochondries et les microsomes. Un marqueur enzymatique ou chimique est localisé presque exclusivement dans un organite particulier par exemple la phosphatase acide dans les lysosomes et l'ADN dans les noyaux. Ainsi un marqueur peut servir à détecter la présence ou l'absence d'un organite donné dans chacune des fractions. La fraction microsomiale microsome contient surtout un mélange de réticulum endoplasmique lisse et de réticulum endoplasmique rugueux et de ribosomes libres. La composition du surnageant final équivaut approximativement à celle du liquide cellulaire (cytosol).

Des modifications de de cette approche de base en changeant les milieux d'homogénéisation les protocoles ou les méthodes de centrifugation ont permis d'isoler les organites cellulaire sous une forme relativement pure.

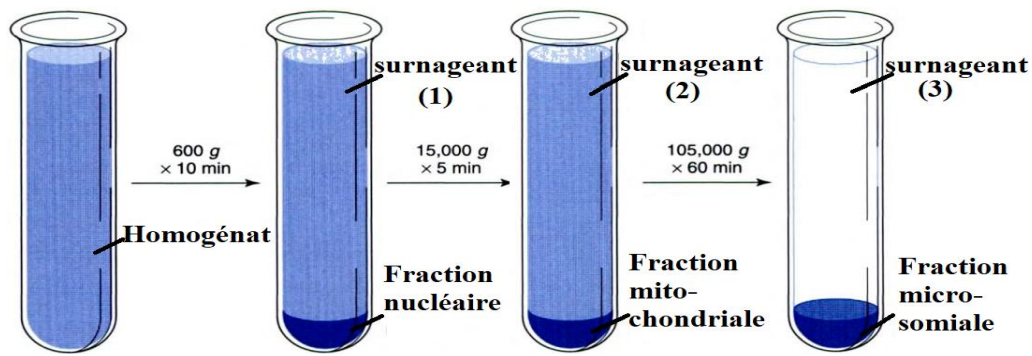


Figure 12 : Schéma de la séparation des fractions subcellulaires par centrifugation différentielle. Le tissu homogénéisé par exemple : le foie, est d'abord soumis à une centrifugation à basse vitesse pour obtenir la fraction nucléaire (elle contient les noyaux et des cellules non lysées) et le surnageant (1) après décantation, ce surnageant est soumis à une centrifugation à une vitesse intermédiaire pour obtenir la fraction mitochondriale (elle contient les mitochondries, les lysosomes et les peroxysomes) et un surnageant (2). Ce dernier est ensuite décanté et soumis à une centrifugation à une vitesse élevée qui donne la fraction microsomiale (elle contient un mélange de ribosomes libre, de réticulum endoplasmique lisse et du réticulum endoplasmique rugueux) et un surnageant clair (3) celui-ci correspond approximativement au cytoplasme ou liquide cellulaire (Harper et al., 2002).

QUESTIONS ANALYTIQUES

- Pourquoi les cellules sont-elles presque toujours microscopiques ?
- Si une mitochondrie mesure 2 micromètres de long combien d'angströms cela représente-t-il combien de nanomètres combien de millimètres ?

CHAPITRE II : SCHEMA GENERAL DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES

1. PREREQUIS

- Connaître les notions de base de la biologie.
- Connaître les principales caractéristiques de la cellule

2. OBJECTIFS

A la fin de ce chapitre l'étudiant doit être capable de :

- Comprendre le principe de la biologie cellulaire.
- Décrire l'organisation des systèmes vivants
- Décrire une cellule et ses propriétés fondamentales
- Expliquer la notion de la théorie cellulaire.
- Expliquer la notion de la diversité de la vie.
- Classer les différents Êtres vivants
- Donner une définition simple d'un virus.
- Légender une cellule
- Distinguer les différents types cellulaires avec leurs composants
- Connaître les principales différences anatomiques et fonctionnelles entre cellule Procaryote et cellule Eucaryote.

3. DEFINITION DE LA CELLULE

La cellule (en latin *cellula* signifie petite chambre) est un compartiment cloisonné (une structure fermée) par une biomembrane renfermant un matériel génétique plus un liquide visqueux appelé cytoplasme. Généralement trop petite pour être visible à l'œil nu, la cellule représente l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout (bactérie) ou une partie d'un Être (animal ou végétal) vivant

La cellule occupe une place spéciale dans la hiérarchie structurale de la vie, car elle est le plus bas niveau d'organisation capable d'accomplir toutes les activités nécessaires à la vie. De plus, les activités des organismes reposent toutes sur celles des cellules.

La cellule réagit aux stimuli, se nourrit et respire, se multiplie, et se reproduit. De plus elle peut être capable de se mouvoir. La cellule est capable de tous les processus que nous appelons

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

collectivement « vie ». Ainsi, tout organisme vivant est vivant du fait que les cellules qui le composent sont vivantes.

Les cellules peuvent être de tailles et de formes variées. Leur forme et leur taille sont liées aux fonctions spécifiques qu'elles remplissent dans l'organisme. Mais quelle que soit leur forme, leur dimension, leur spécialisation, et leur mode de vie, toutes les cellules vivantes (Eucaryotes ou Procaryotes) 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.

Il est à noter que les Virus ne sont pas considérés comme des Êtres vivants, car ils ne présentent pas de structures cellulaires, 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).

Lors de leur découverte, ils étaient considérés comme des substances chimiques biologiques ; en fait, la racine latine du mot *virus* signifie « poison ». La plupart des biologistes qui étudient les Virus aujourd'hui affirment que ces particules infectieuses se situent plutôt dans une zone d'ombre entre formes de vie et substances chimiques.

Les Virus sont constitués d'un acide nucléique (ADN ou ARN) enfermé dans une coque de protéines appelée capside, parfois recouverte d'une enveloppe membraneuse. Les sous-unités protéiques formant la capside sont appelées capsomères.

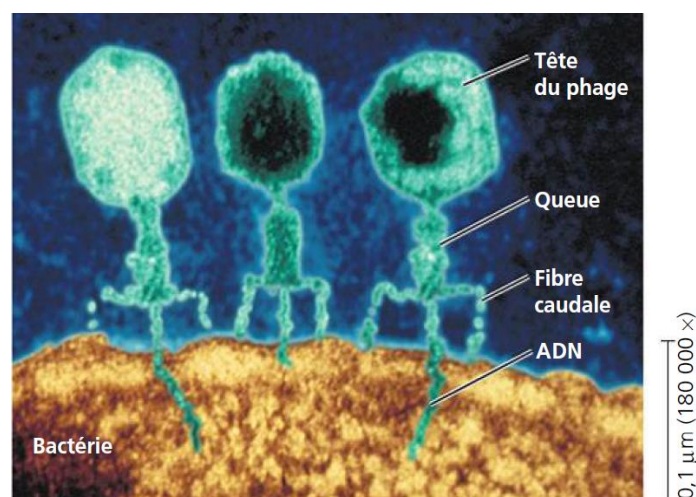


Figure 13 : Des virus infectant une cellule bactérienne. Des virus bactériens (bactériophages) se fixent aux cellules bactériennes hôtes et leur injectent leur matériel génétique à travers la membrane plasmique tandis que les parties de la tête et de la queue restent à l'extérieur sur la surface bactérienne (MET : Microscopie électronique à transmission) (Reece et al., 2012).

4. LA THEORIE CELLULAIRE

La théorie cellulaire est un des concepts de base de la biologie, car elle est essentielle pour comprendre la reproduction et la croissance de tout organisme. Les trois composantes fondamentales de la théorie cellulaire sont :

- 1) Tous les organismes (plantes, animaux, champignons, protistes, bactéries) sont composés d'une ou plusieurs petites unités appelées cellules.
- 2) La cellule est l'unité de base de la vie chez tous les êtres vivants.
- 3) Toutes les cellules sont issues de la division de cellules préexistantes.

C'est l'Anglais Robert Hooke qui, en observant une fine tranche de liège, découvrit les cellules en 1665. Hooke met au point un microscope qui comporte deux lentilles. Ce premier microscope permet de grossir les objets trente fois. Il décrivait les cellules comme de minuscules boîtes ou un nid d'abeilles (figure 14). Il pensait que les cellules n'existaient que chez les plantes et les champignons.

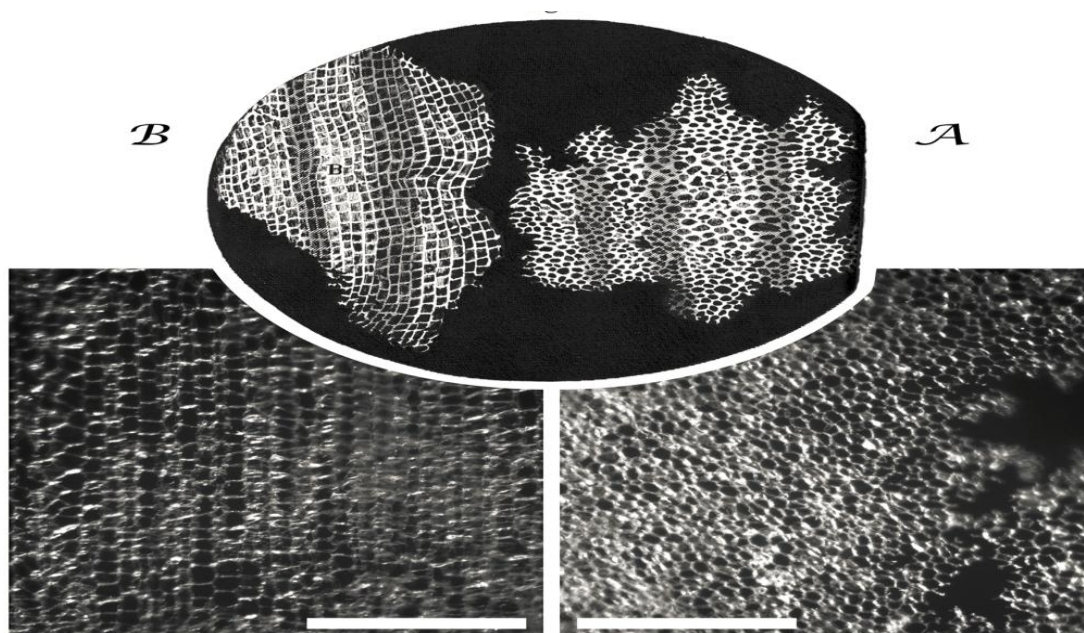


Figure 14 : Dessins de Robert Hooke représentant deux sections de liège observées au microscope optique. Observation à l'origine du mot cellule. La figure A présente une section parallèle à la surface de l'écorce (section tangentielle), montrant de nombreux pores irréguliers. La figure B est une section perpendiculaire à ce plan (section transversale ou radiale), « qui représente ces pores étalés dans le sens de la longueur ». Les cavités de la coupe sont rondes à polygonales, sans disposition géométrique particulière sur la figure A, tandis que sur la figure B, elles apparaissent plus ou moins rectangulaires et disposées en rangées alignées de haut en bas. Les parois séparant les cavités apparaissent brillantes. Barres d'échelle : 300 µm. (Robert Hooke (1665) cité par Peters (2024))

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

Peu de temps après, Anton van Leeuwenhoek, un scientifique hollandais et l'un des précurseurs de la biologie cellulaire, développa des microscopes capables de grossir 300 fois ; ceux-ci lui permirent de découvrir un monde fascinant d'êtres unicellulaires dans une goutte d'eau d'un étang.

En 1838 le botaniste allemand Matthias Schleiden conclut que toutes les parties des plantes sont constituées de cellules.

Et en 1839 les biologistes allemands Mathias Schleiden et Theodor Schwann, qui travaillaient sur l'observation de tissus d'animaux : os, dents, muscles, tissus nerveux, et sur base d'un très grand nombre d'observations personnelles et de celles d'autres chercheurs, conclurent que tous les tissus animaux sont composés de cellules et que tous les organismes vivants sont constitués de cellules. Cette conclusion est connue comme la théorie cellulaire, à laquelle fut ajoutée un peu plus tard, en 1858, par le médecin allemand Rudolf Virchow l'idée que toutes les cellules proviennent de cellules préexistantes.

Les travaux de recherche liés à l'étude ultra-structurale de la cellule et à la biologie moléculaire ont enrichi la théorie cellulaire et ont apporté beaucoup d'explication à de nombreux phénomènes physiologiques, ce qui a donné naissance à une théorie cellulaire moderne. Cependant les principaux points définissant la théorie cellulaire sont toujours restés les mêmes.

Les principes de la théorie cellulaire moderne (ou principes cellulaires) comprennent :

- 1) La vie n'existe que dans les cellules.
- 2) Les organismes vivants peuvent être composés d'une seule cellule libre, de plusieurs cellules ou d'une masse de cellules multi nucléées.
- 3) Une cellule est une petite masse de cytoplasme contenant généralement un noyau ou du matériel nucléaire et délimitée par une membrane cellulaire.
- 4) La cellule, en plus d'être une unité structurelle, est aussi une unité fonctionnelle, reproductive et héréditaire.
- 5) Les cellules naissent toujours de cellules préexistantes par division.
- 6) Les cellules maintiennent un état stable pour rester en vie.
- 7) Une cellule peut croître, se diviser et mourir indépendamment des cellules environnantes.
- 8) L'information génétique est stockée et exprimée dans les cellules.
- 9) La vie se transmet d'une génération à l'autre sous forme de cellules.
- 10) La structure et la fonction d'une cellule sont contrôlées par son matériel génétique, l'ADN.
- 11) Chaque type de cellule n'utilise qu'une partie de l'information génétique codée, nécessaire à sa structure et à sa fonction spécifique.

5. ETRES UNICELLULAIRE ET PLURICELLULAIRE

Les organismes sont les Êtres vivants considérés individuellement. Certains organismes, comme les Amibes et la plupart des Bactéries, sont formés d'une cellule unique qui exécute toutes les fonctions vitales. D'autres organismes, dont les Plantes et les Animaux, sont multicellulaires, et ont des cellules spécialisées qui se répartissent les tâches.

5.1 PLAN D'ORGANISATION CELLULAIRE

Les divers groupes d'organismes vivants doivent être étudiés par rapport à leur unité de structure : la cellule (figure 15). Ainsi, au plan strictement structural, l'ensemble des êtres vivants actuels se répartit en deux grands groupes seulement :

1) Les Procaryotes

Les Procaryotes comprennent le domaine des Archées et le domaine des Bactéries.

2) Les Eucaryotes

Les Eucaryotes, sont représentés à la fois par des micro-organismes unicellulaires : les Protistes, mais surtout par des Êtres pluricellulaires : les Algues pluricellulaires, les Champignons, les Végétaux et les Animaux.

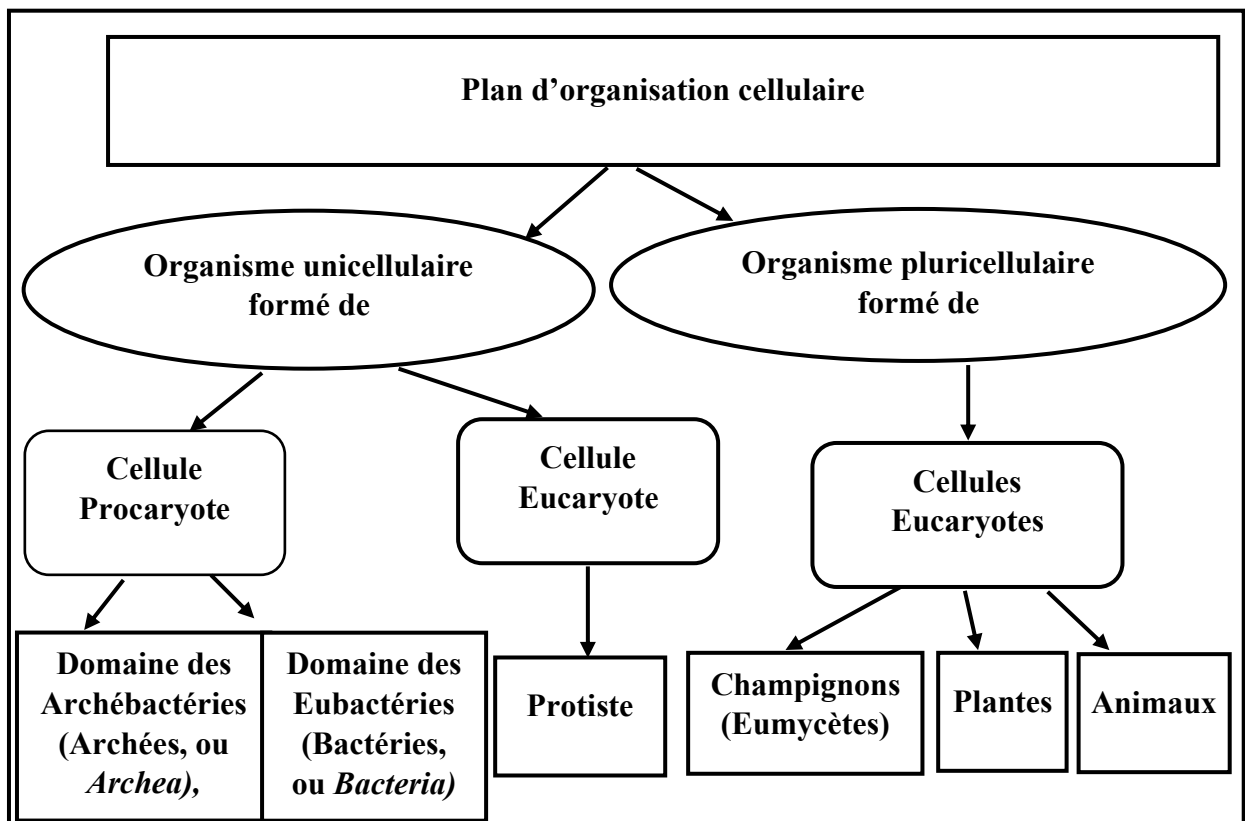


Figure 15 : Diagramme représentant le plan d'organisation cellulaire des Êtres vivants (Adaptée d'après Raven et al., 2017).

5.1.1. Êtres vivants Procaryotes et unicellulaires

Les Êtres vivants Procaryotes et unicellulaires sont des microorganismes qui présentent des capacités métaboliques exceptionnelles. En effet, les Procaryotes : les Bactéries classiques mais aussi les Archées sont aujourd'hui d'importants outils dans les différents domaines de la recherche scientifique. Ces dernières années, les nouvelles connaissances acquises sur les Procaryotes ont conduit à une explosion de nouvelles applications en biotechnologie. Des expériences mettant en jeu des Procaryotes comme *E. coli* ont débouché sur d'importants progrès en biotechnologie. Les Procaryotes sont utiles dans les domaines de la biorestauration, de la production de plastiques biodégradables ainsi que dans celui de la synthèse des vitamines, des antibiotiques et d'autres produits.

A. Domaine des Archées.

Les Archées forment un groupe à part des autres Êtres vivants. Les études phylogénétiques fondées sur l'analyse des séquences nucléotidiques de l'ARN ribosomale ont confirmé que les Archéobactéries présentent une structure proche de celle des cellules procaryotes par leur taille leur appareil nucléaire diffus et leur cytoplasme.

Elles sont pourtant originales par leurs composants de parois, de membranes cytoplasmiques, d'ARN de transfert et d'ARN polymérase. De plus les Archéobactéries présentent des données biochimiques, physiologiques et moléculaires très différentes à la fois de celles des Eubactéries et des Eucaryotes.

Le domaine des Archées se distingue des bactéries notamment par l'absence d'espèces pathogènes pour les humains ou même pour les animaux.

La plupart des organismes du domaine des Archées sont qualifiées d'extrémophiles car elles vivent et se développent dans des conditions extrêmes, incompatibles avec la vie de tous les autres organismes (ex : températures de 100 °C, pH = 1, milieux très salés, fortes pressions...). Un exemple d'archaeobactérie est celui de *Thermophilus aquaticus*.



Figure 16 : Colonie d'archées. Chacune des structures rondes de cette micrographie est une Archée (Reece et al., 2012).

B. Domaine des Bactéries « classiques » dites Eubactéries

Les Eubactéries font partie des premières formes de vie connues sur Terre. Ces organismes sont les procaryotes les plus anciennement identifiés et étudiés depuis les débuts de la Microbiologie, et dont font partie des organismes-modèles tels que : *Escherichia coli* ou *Bacillus subtilis*.

Les Eubactéries sont des organismes unicellulaires, microscopiques, qui vivent dans tous les environnements possibles, partout dans le monde. Elles vivent dans la terre, dans la mer et dans les profondeurs de la croûte terrestre. On a même rapporté que certaines bactéries vivaient dans les déchets radioactifs.

De nombreuses Eubactéries vivent dans et/ou sur des organismes plus grands (Homme, animaux, plantes). On peut les rencontrer au niveau de la peau et dans les voies respiratoires, la bouche, le tube digestif, les voies génito-urinaires de l'Homme sans causer de préjudices. De telles bactéries sont appelées flore résidente, ou microbiome. Il existe au moins autant de bactéries dans la flore résidente qu'il existe de cellules dans l'organisme. La plupart des bactéries de la flore résidente sont en fait utiles à l'Homme, par exemple, en aidant à la digestion des aliments ou en empêchant la croissance d'autres bactéries plus dangereuses. Toutefois et dans certaines conditions, la flore bactérienne résidente peut agir comme un agent pathogène et provoquer une maladie. Seul un petit nombre de bactéries provoquent des maladies : elles sont dites pathogènes. Mais la grande majorité de ces espèces présente de nombreux bienfaits. Par exemple, nous utilisons depuis longtemps les bactéries pour transformer le lait en fromage et en yogourt.

Les Eubactéries se présentent sous de nombreuses formes et tailles. La plupart de ces bactéries ont l'une des trois formes de base suivantes : forme de bâtonnet, de sphère ou de spirale ou d'hélice. Les bactéries en forme de bâtonnet sont appelées bacilles (bacillus au singulier). Les streptobacilles (Figure 17) sont un exemple de bacille. Les bacilles sont des cellules individuelles ou peuvent être regroupées en colonies de différentes formes. Les bactéries spiralées sont des spirilles (spirochètes) (spirillum au singulier) ou des vibrions (en forme de virgule). Les bactéries sphériques sont appelées cocci (coccus au singulier). Les *Staphylococcus aureus*. (Figure 18) sont un exemple de cocci. Les cocci sont également des cellules individuelles ou regroupées en agrégats de différentes formes.

La morphologie des Eubactéries semble correspondre à une adaptation à leur niche écologique et à leur capacité à se déplacer. Ainsi, les bactéries sphériques dont le rapport surface/volume est faible seraient avantagées dans des milieux riches en nutriments et sont rarement mobiles. Inversement, les bacilles, dont le rapport surface/volume est plus grand, seraient mieux adaptés à une vie dans des milieux pauvres. Ils peuvent par ailleurs être munis de flagelles et se déplacer.



Figure 17 : Les formes les plus courantes de Procaryotes. (a) Forme sphérique (cocci) (b) Forme de bâtonnet (bacilles) (c) Forme hélicoïdale

(a) Les cocci (*coccus* au singulier), ou Procaryotes sphériques, vivent seuls, deux par deux (diplocoques), en chaînes de plusieurs cellules (streptocoques, montrés ici) ou en amas semblables à des grappes de raisin (staphylocoques).

(b) Les bacilles, dont la forme rappelle un bâtonnet, vivent le plus souvent seuls, mais ils peuvent aussi s'organiser en chaînes (streptobacilles).

(c) Les Procaryotes de forme hélicoïdale comprennent les spirilles, qui peuvent prendre la forme d'une virgule ou d'un long filament, et les Spirochètes (illustrés ici), en forme de tire-bouchon (MEB, clichés colorés artificiellement) (Reece et al., 2012).

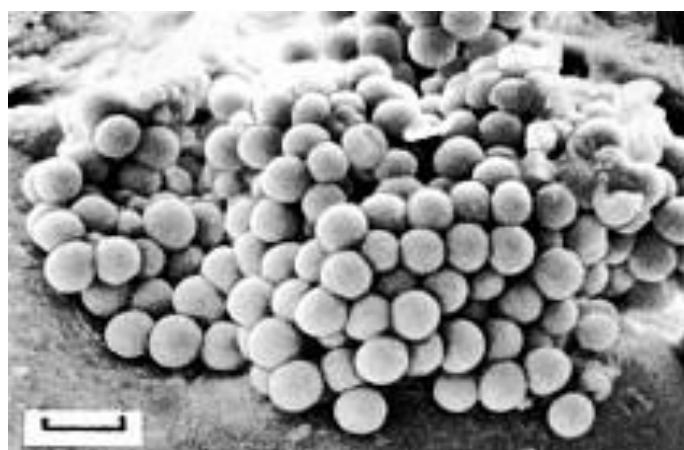


Figure 18 : Colonie de cocci (*Staphylococcus aureus*), observée en microscopie à balayage ; cette bactérie est responsable d'infections respiratoires chez les sujets fragiles (barre = 2 μm). (Cliché Labo, BG, Orsay cité par Callen, 2005).

5.1.2. Êtres vivants Eucaryotes et unicellulaires

Les êtres vivants Eucaryotes et unicellulaires, anciennement regroupés au sein de l'embranchement des Protistes, présentent des milieux et des modes de vie très divers : ils sont

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

rencontrés aussi bien en milieu marin (Foraminifères) qu'en eau douce (*Amibe*, *Paramécie*) mais également dans le sol. Certains sont mobiles (*Amibe*, *Paramécie*), d'autres vivent fixés (*Vorticelle*). Il existe par ailleurs des espèces parasites (*Trypanosome*, *Plasmodium*) et des espèces vivant en symbiose avec d'autres organismes (symbiotes de Termites, symbiotes de Ruminants).

Des différences d'ordre métabolique (hétérotrophie ou autotrophie) ainsi que d'organisation (absence ou présence d'une paroi cellulosique, structure du noyau, mode de division) ont permis de classer les espèces Eucaryotes unicellulaires en deux types :

- 1) Espèces plus étroitement apparentées aux Animaux : les protozoaires (exemple : *Amibe* et *Paramécie*).
- 2) Espèces plus étroitement apparentées aux Végétaux comme les Algues vertes unicellulaires.

Les organismes Eucaryotes et unicellulaires sont donc constitués par une cellule unique, possédant l'organisation typique de toute cellule eucaryote. Limitée par une membrane cytoplasmique, elle est composée d'un cytoplasme structuré par un système de fibrilles, dans lequel baignent divers organites. Le matériel génétique est contenu dans un noyau. Cette cellule est à elle seule un organisme et réalise l'ensemble des fonctions caractéristiques de la vie. Elle présente ainsi des structures dont la différenciation est poussée, qui lui permettent de se mouvoir, de s'alimenter, d'excréter et de contrôler sa pression osmotique. En ce sens, elle ne peut être comparée directement à une cellule d'organisme pluricellulaire mais plutôt à l'organisme lui-même.

La cellule d'une *Paramécie* par exemple (Figure 19) apparaît de forme allongée à la forme d'une pantoufle, dont l'extrémité antérieure est arrondie et l'extrémité postérieure effilée. Son corps est uniformément recouvert de cils disposés en rangées régulières, les cinéties, caractéristique des Ciliés. Elle porte sur sa face ventrale une vaste dépression ciliée, qui s'élargit en un vestibule donnant accès au péristome (cavité buccale). Le cytostome (invagination de la membrane plasmique de certains Eucaryotes unicellulaires qui peut être assimilée à la bouche des organismes multicellulaires) s'ouvre au fond de celui-ci et débouche sur le cytopharynx (Invagination de la membrane des protozoaires ciliés, limitée par la bouche (cytostome) et comparée à un pharynx). Les particules alimentaires y sont englobées au sein de vacuoles digestives qui migrent ensuite dans le cytoplasme. Durant ce transit, les aliments sont digérés. Les déchets non assimilables sont déversés dans le milieu extérieur au niveau du cytoprocte (ou pore anal structure spécialisée servant à l'élimination des déchets).

L'appareil nucléaire est composé de deux noyaux de tailles inégales et de fonctions complémentaires. Le macronucleus, de grande taille (35 µm x 12 µm), ovoïde, est impliqué dans la vie végétative. Le micronucleus, de petite taille (3 µm de diamètre), étroitement accolé au précédent, participe quant à lui à la vie reproductive.

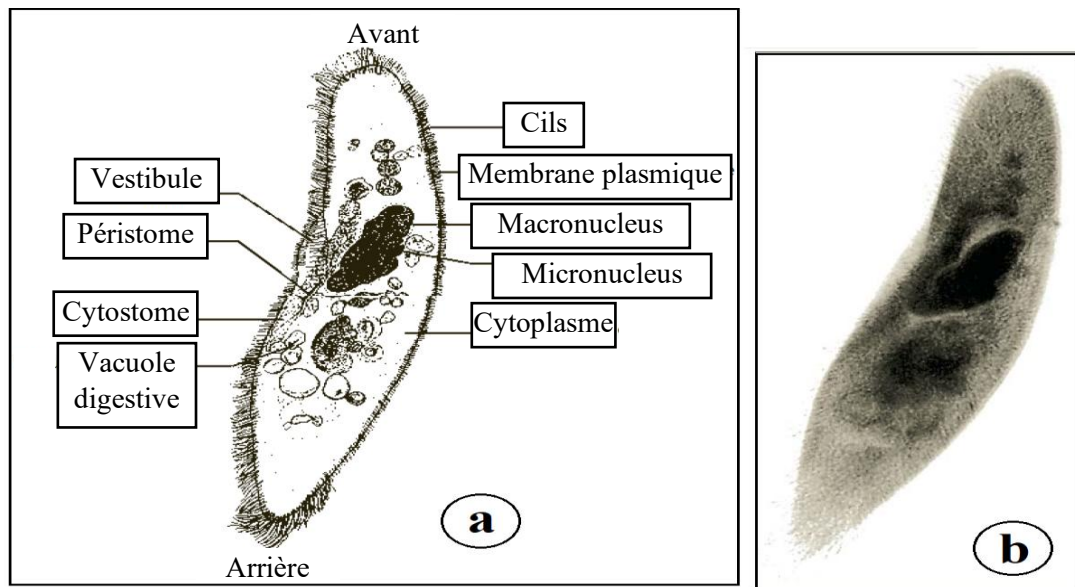


Figure 19 : *Paramécie*. En (a) représentation schématique. En (b) cliché microscopique (Microscopie optique (montage in toto), x 400) (Heusser et Dupuy., (2008)).

5.1.3. Êtres vivants Eucaryotes et pluricellulaires

A. *Champignon*

Comme les Animaux, les Champignons vrai ou les Eumycètes, sont des eucaryotes hétérotrophes, C'est-à-dire qu'ils ne peuvent fabriquer leur nourriture ainsi que le font les Végétaux et les Algues. Mais, contrairement aux Animaux, les Eumycètes n'ingèrent pas leur nourriture. Ils absorbent les nutriments qui se trouvent dans l'environnement.

Sur le plan structural, la plupart des Champignons se présentent sous la forme d'organismes multicellulaires. Les organismes unicellulaires tels que les levures (Figure 20) sont, quant à eux beaucoup moins nombreux

Les champignons constituent un groupe d'organismes vaste et diversifié, composé de moisissures, de champignons et de levures (organismes unicellulaires et traditionnellement utilisés dans l'industrie agroalimentaire).

Les cellules fongiques sont constituées des mêmes organites que les autres eucaryotes. Elles possèdent un véritable noyau, une membrane plasmique et un système endomembranaire complexe. La plupart des espèces possèdent des mitochondries. Les cellules fongiques sont plus grandes que leurs homologues bactériens, mais généralement plus petites que les cellules animales et végétales.

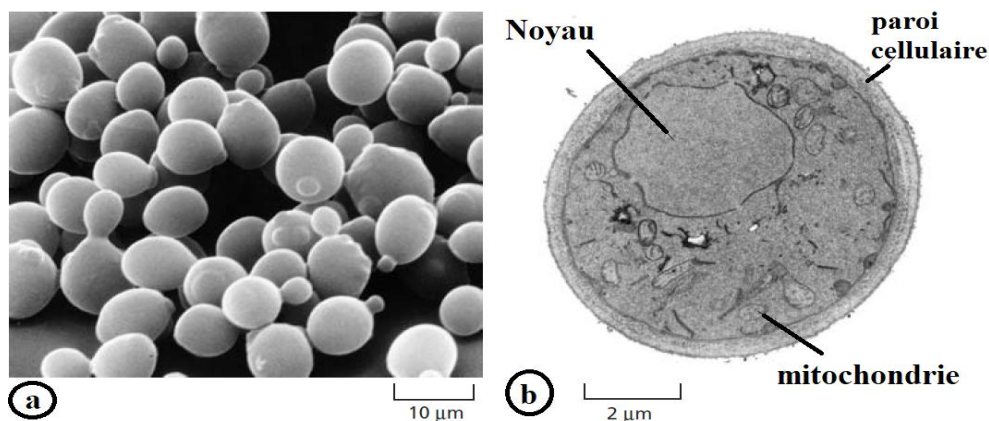


Figure 20 : La levure *Saccharomyces cerevisiae*. (a) Micrographie électronique à balayage d'un groupe de cellules. Cette espèce est également appelée levure bourgeonnante ; elle prolifère en formant une protubérance ou bourgeon qui s'agrandit puis se sépare du reste de la cellule d'origine. De nombreuses cellules présentant des bourgeons sont visibles sur cette micrographie. (b) Micrographie électronique à transmission d'une coupe transversale d'une cellule de levure, montrant son noyau, sa mitochondrie et son épaisse paroi cellulaire. (Adapté d'après Herskowitz et Schabatach cités par Alberts et al., 2007)

B. Végétaux

Nom commun donné à l'ensemble des plantes vertes. Il s'agit d'organismes eucaryotes, pluricellulaires et capables d'effectuer la photosynthèse. Les plantes vertes sont autotrophes vis-à-vis du carbone ; c'est-à-dire qu'elles sont capables de se nourrir principalement ou exclusivement de sels minéraux et de gaz carbonique. La plupart des Végétaux, sont incapables de se déplacer.

Comme pour les animaux, la pluricellularité des espèces végétales s'accompagne toujours d'une différenciation morphologique et fonctionnelle des cellules, qui se regroupent en tissus, formant des organes, eux-mêmes organisés en appareils, dont l'ensemble constitue un organisme.

C. Animaux

Le mot « animal » vient du latin *anima* qui signifie souffle, vie. Les animaux sont tous pluricellulaires et le terme animal est maintenant synonyme de métazoaire. Parmi les eucaryotes, les animaux se distinguent par 3 propriétés importantes :

- 1) L'hétérotrophie, c'est-à-dire qu'ils utilisent, pour leurs synthèses, la matière organique produite par les organismes autotrophes ;
- 2) La sensibilité, c'est-à-dire la capacité à réagir à un stimulus ;
- 3) La motilité, c'est-à-dire la capacité à effectuer des mouvements.

Ces 3 propriétés peuvent se manifester chez d'autres êtres vivants, mais elles sont rarement présentes en même temps et de manière aussi marquée (par exemple, les champignons sont hétérotrophes, mais ils ne sont pas mobiles, les végétaux sont sensibles à certains stimuli, mais ils sont autotrophes...).

5.2. EVOLUTION DES CELLULES DEPUIS LA CELLULE PRIMORDIALE

Malgré sa grande diversité, la vie montre les signes d'une remarquable unité, dont témoignent les ressemblances entre divers types d'organismes. On admet aujourd'hui que les Bactéries, les Archaeobactéries et les Eucaryotes ont un ancêtre commun, la cellule primordiale ou le progénote, dont sont issus successivement les Bactéries, puis les Archaeobactéries et enfin les Eucaryotes (figure 21). Deux théories principales ont été proposées afin d'expliquer cette hypothèse : la théorie endogène et la théorie endosymbiotique.

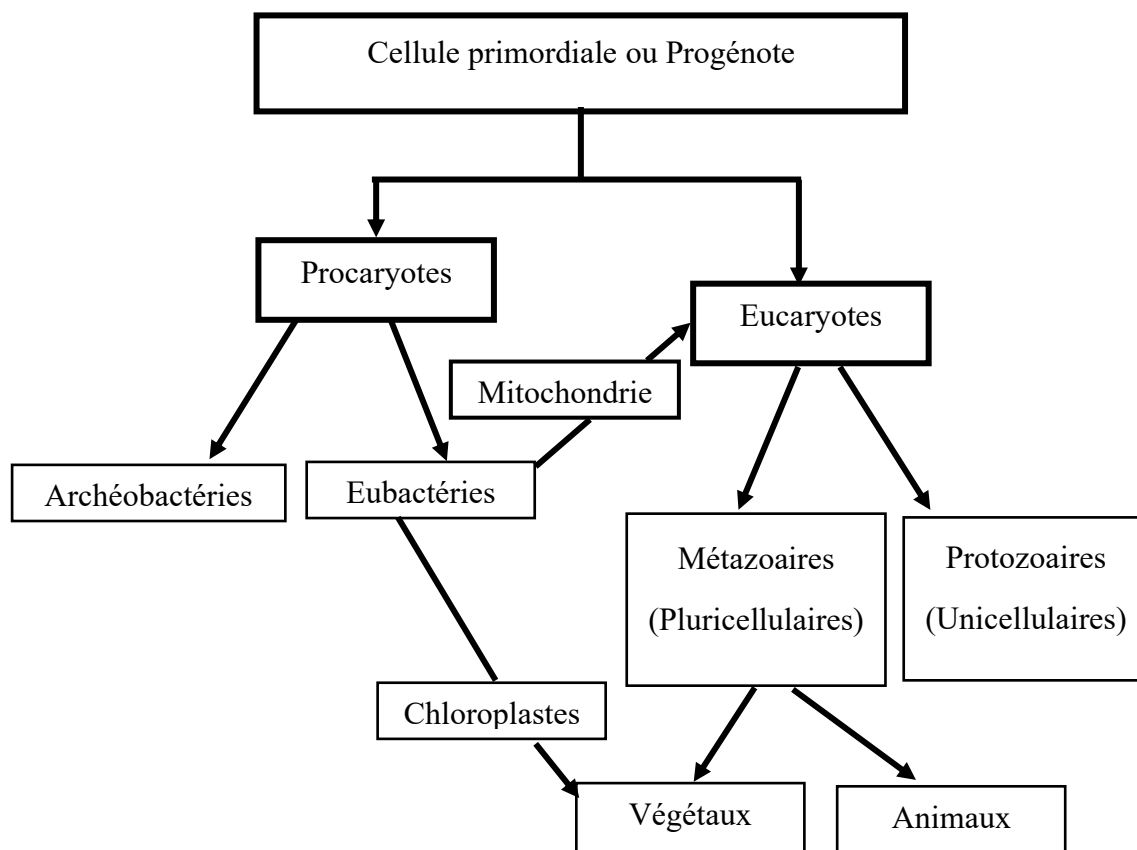


Figure 21 : Diagramme représentant la correspondance et évolution des cellules depuis le progénote (Favro et Nicolie, 2011).

5.2.1. La théorie endogène

Le plan d'organisation eucaryotique, caractérisé par une compartimentation poussée, étant beaucoup plus complexe que le plan d'organisation procaryotique. L'origine de la compartimentation de la cellule eucaryotique est expliquée par la théorie endogène, en proposant des phénomènes multiples d'invagination de la membrane plasmique dans une cellule procaryotique géante dépourvue de paroi (figure 22). Il est ainsi facile d'expliquer, par une simple vésiculation de type endocytose, l'apparition du réticulum endoplasmique rugueux ; les

ribosomes qui le recouvrent sont en effet équivalents, par leur position, à ceux observés sur la face interne de la membrane plasmique des cellules bactériennes actuelles.

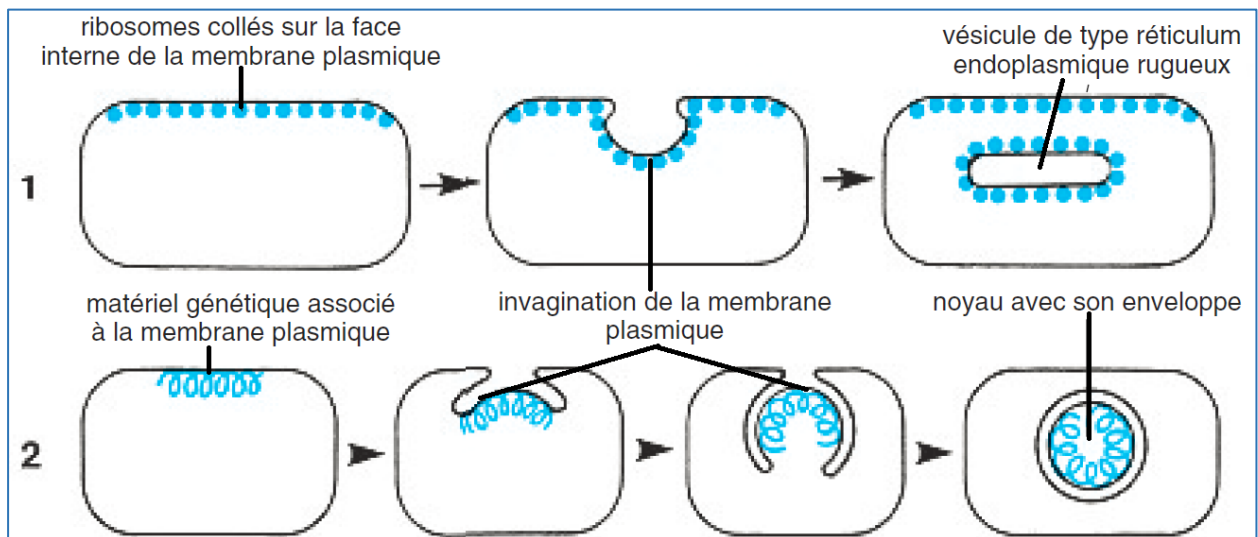


Figure 22 : Représentation simplifiée de la théorie endogène des systèmes membranaires internes.

1) genèse du réticulum endoplasmique par invagination de la membrane plasmique d'une cellule ancestrale procaryotique. ; **2)** genèse du noyau par invagination de la membrane plasmique d'une cellule ancestrale procaryotique (Callen, 2005).

5.2.2. La théorie endosymbiotique

La théorie endosymbiotique est considérée à l'heure actuelle comme démontrée pour les mitochondries et les chloroplastes. En effet, les similarités que les mitochondries et les chloroplastes présentent avec les bactéries sont à l'origine de cette théorie, selon laquelle, un ancêtre lointain des cellules eucaryotes a absorbé une cellule procaryote non photosynthétique aérobique (figure 23). Avec le temps, la cellule absorbée a établi une relation avec la cellule hôte, devenant ainsi un endosymbionte (une cellule qui vit dans une autre cellule). Au fil de l'évolution, la cellule hôte et son endosymbionte ont fusionné pour ne former qu'un seul organisme, soit une cellule eucaryote renfermant une mitochondrie (la cellule procaryote non photosynthétique aérobique s'est transformée en mitochondrie). Au moins l'une de ces cellules a acquis un procaryote photosynthétique, devenant ainsi l'ancêtre des cellules eucaryotes photosynthétiques (la cellule procaryote photosynthétique s'est transformée en chloroplaste).

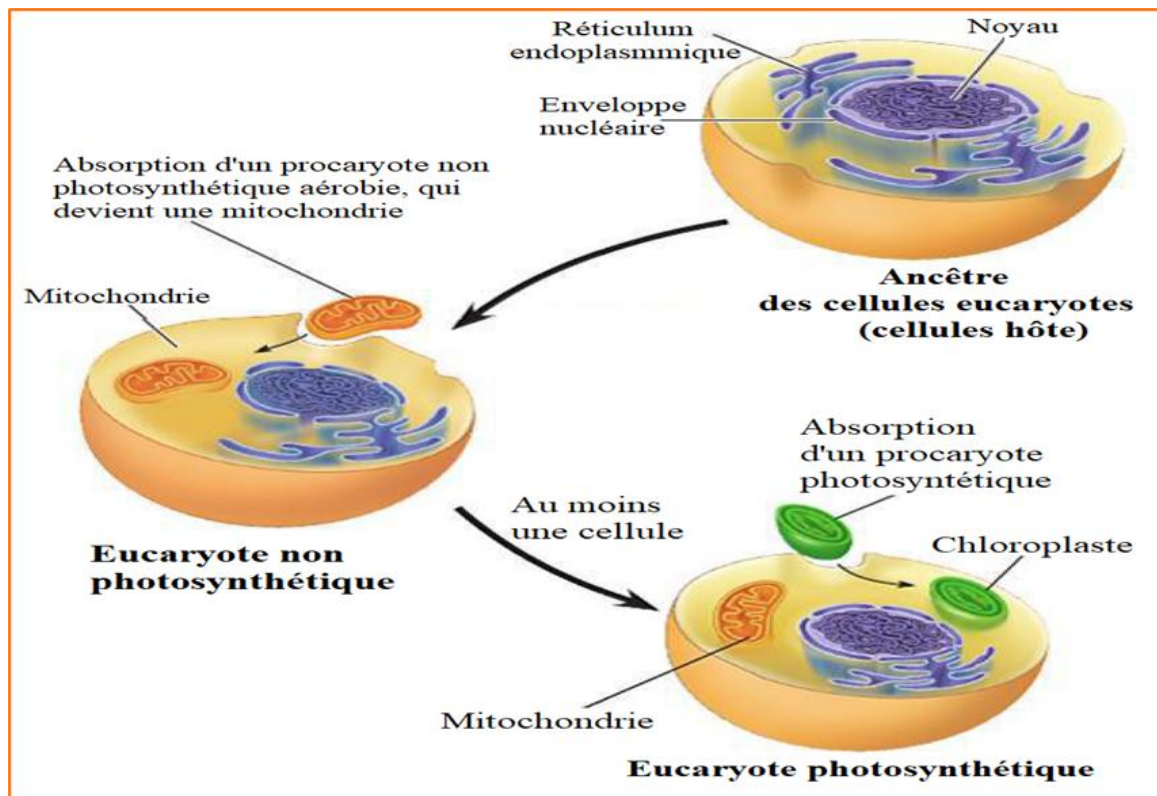


Figure 23 : La théorie endosymbiotique de l'origine des mitochondries et des chloroplastes dans les cellules eucaryotes. Les grandes flèches indiquent le changement au fil de l'évolution ; les petites flèches dans les cellules montrent le processus par lequel l'endosymbionte est devenu un organe (Reece et al., 2012).

5. 3. ULTRASTRUCTURE DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES

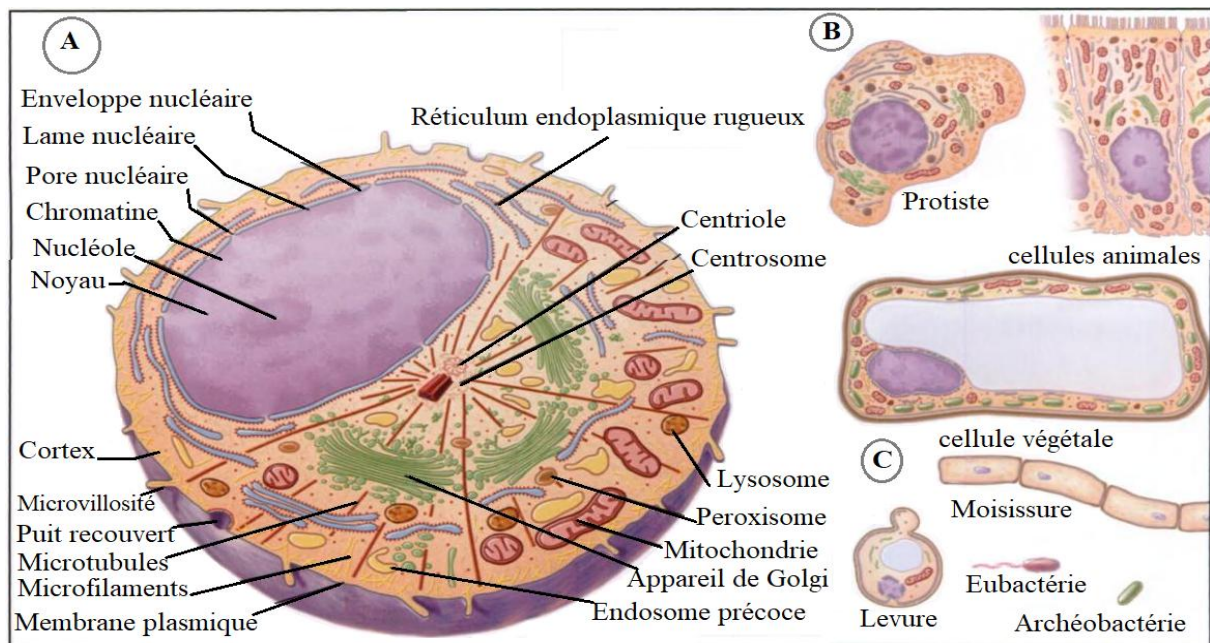


Figure 24 : Structure fondamentale de la cellule. **A.** Illustration de la coupe d'une cellule eucaryote montrant les éléments internes. **B et C.** Illustrations de cellules appartenant aux branches majeures de l'arbre phylogénétique utilisant le même code de couleur (Pollard et al., 2004).

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

En 1937 le protozoologiste Édouard Chatton (1883–1947) proposa les termes « cellule eucaryote » et « cellule procaryote » mais la vraie nature de ces deux types cellulaires ne fut clairement précisée que vers 1957 avec les progrès de la microscopie électronique. On distingue en effet les cellules eucaryotes caractérisées par un vrai noyau et les cellules procaryotes caractérisées par un noyau rudimentaire.

5.3.1 Cellule Procaryote

Les cellules procaryotes, sont des cellules de très petite taille. Leur taille, de l'ordre du micromètre : varie de 1 à 10 μm de diamètre et de quelques μm de longueur. La cellule procaryote est beaucoup plus simple que la cellule eucaryote. Elle ne présente pas ou peu de compartimentation au sein de son cytoplasme (absence des organites cellulaires limités par des membranes). Et son matériel génétique est dispersé dans le cytosol sous forme de nucléoïde : pas de véritable noyau. La structure cellulaire générale des Eubactéries et des Archées est essentiellement la même. Toutes les cellules procaryotes ont en commun différents éléments structuraux, que nous allons détaillés ci-dessous.

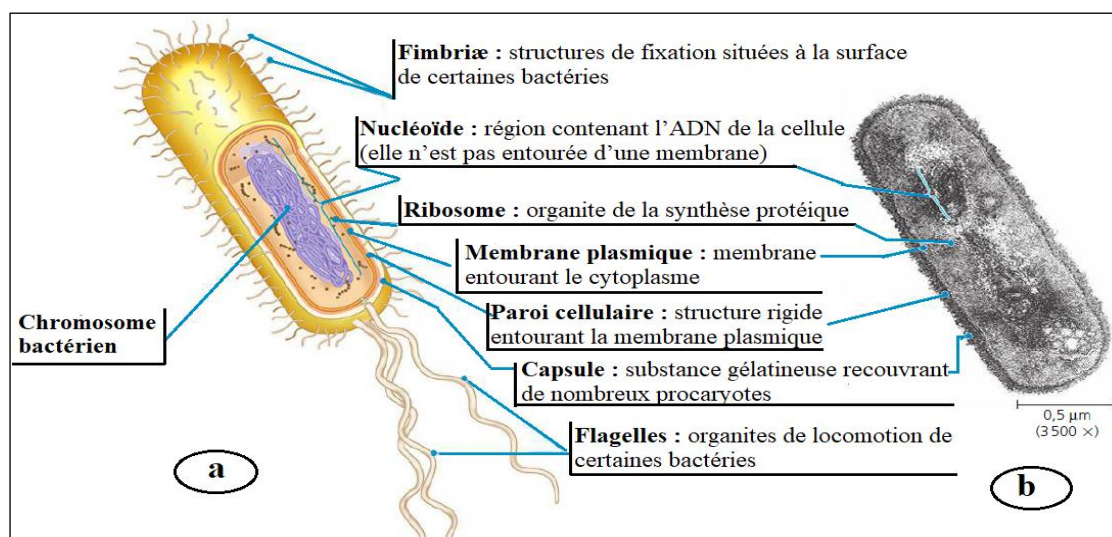


Figure 25 : Cellule procaryote. (a) Bactérie typique en forme de bâtonnet. (b) Micrographie d'une coupe mince de la bactérie *Bacillus coagulans* (MET) (Reece et al., 2012).

A. Matériel génétique

Les Procaryotes ne comportent pas de noyau ; leur génome est situé dans le nucléoïde, une région du cytoplasme qui, n'est pas entourée par une membrane. Le génome se présente sous la forme d'un seul chromosome. C'est une molécule d'ADN bicaténaire et circulaire. Le chromosome bactérien peut être associé à la membrane plasmique au niveau de sites spécifiques d'attachement.

Les bactéries peuvent parfois contenir une ou plusieurs molécules d'ADN bicaténaires, circulaires et extra-chromosomiques : les plasmides. Les plasmides sont des structures facultatives.

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

Ils codent généralement des caractères qui apportent un avantage sélectif et qui ne sont pas codés par le chromosome bactérien (ex : résistance aux antibiotiques, toxines).

B. Cytoplasme

Le cytoplasme des bactéries est peu structuré, il est dépourvu de système endomembranaire (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, et enveloppe nucléaire), de mitochondrie, et de péroxysome. Il présente un aspect relativement homogène au microscope optique et contient essentiellement de très nombreux ribosomes, des inclusions renfermant des substances de réserve organiques, telles que de l'amidon ou du glycogène, ou inorganiques telles que des phosphates inorganiques.

Les ribosomes sont visibles, au microscope électronique à transmission, dans le cytosol des bactéries. Ils sont formés de 2 sous-unités différentes de celles des eucaryotes et sont responsables de la synthèse des protéines.

C. Membrane plasmique

Elle est constituée de deux feuillets phospholipidiques renfermant des protéines et dont les stérols sont absents, mis à part chez les mycoplasmes. Elle contrôle le mouvement des substances qui entrent ou sortent du cytoplasme. Chez les procaryotes, la membrane plasmique joue le rôle de la mitochondrie des cellules eucaryotes car elle porte les enzymes nécessaires à l'oxydation des molécules organiques. Elle porte aussi des récepteurs pour les molécules requises pour les réactions métaboliques et des protéines qui participent à la photosynthèse.

D. Paroi

La paroi est une structure continue, rigide et résistante. Localisée à l'extérieur de la membrane plasmique, elle donne à la bactérie sa forme caractéristique et la protège en lui conférant un support physique. Elle est retrouvée chez la plupart des espèces bactériennes sauf chez les mycoplasmes.

La structure de la paroi varie selon les groupes bactériens. Ces variations sont à l'origine de la coloration de Gram qui permet de distinguer deux grands groupes bactériens, les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Mais, malgré ces différences structurales, la paroi des Eubactéries est constituée d'un polymère complexe constant, le peptidoglycane ou muréine. Il est formé d'oses aminés (glucosamine et acide muramique), et d'acides aminés constituant des ponts peptidiques entre les chaînes glucidiques. Il représente le principal constituant de la paroi des bactéries à Gram positif. Cette paroi présente une structure homogène et une épaisseur variant de 10 à 80 nm. Les bactéries à Gram négatif possèdent une paroi de 10 nm d'épaisseur, constituée d'une fine couche de peptidoglycane recouverte d'une membrane externe ou pariétale, renfermant des phospholipides, des lipopolysaccharides et des protéines.

➤ Le test de GRAM

Ce test porte le nom d'un bactériologiste danois, C. GRAM, qui l'a mis au point en 1884 ; cette technique simple de coloration permet de distinguer deux grands groupes parmi les Bactéries. Le protocole est le suivant :

- Les Bactéries sont étalées sur une lame de verre (frottis) puis fixées par chauffage à la flamme ; elles sont ensuite colorées par un colorant violet : le violet de gentiane, puis mordancées par le lugol. Cette opération teinte le cytoplasme de toutes les cellules en violet.
- Un traitement ultérieur rapide à l'alcool décolore certaines Bactéries, alors que d'autres restent colorées en violet ; une contre-coloration de la préparation à la safranine permet de voir les cellules décolorées. Les cellules retenant le violet de gentiane sont dites Gram positives tandis que les autres, apparaissant en rose, sont dites Gram négatives.

Au départ, cette distinction était purement opérationnelle, et seules les méthodes de la microscopie électronique ont permis de comprendre les raisons précises de la différence de coloration obtenue suivant les souches. En fait, c'est l'organisation de la paroi des Bactéries qui est responsable de ce comportement vis-à-vis de la coloration : chez les Gram négatives, dont le peptidoglycane est très fin, l'alcool pénètre aisément dans le cytoplasme et efface la coloration bleue initiale ; l'épaisseur très importante du peptidoglycane chez les secondes empêche que la décoloration par l'alcool soit efficace.

La coloration de Gram est utile en médecine pour déterminer rapidement si l'infection dont souffre un patient est causée par une bactérie à Gram négatif ou à Gram positif, ce qui influera sur le traitement à administrer. Les portions lipidiques des lipopolysaccharides contenus dans les parois de nombreuses bactéries à Gram négatif sont souvent toxiques et provoquent la fièvre ou un état de choc. De plus, la membrane externe protège les bactéries à Gram négatif des défenses de leur hôte. Par ailleurs, les bactéries à Gram négatif opposent souvent plus de résistance aux antibiotiques que les espèces à Gram positif, car leur membrane externe entrave la pénétration de ces médicaments. Certaines espèces à Gram positif proviennent cependant de souches virulentes qui résistent à un ou à plusieurs antibiotiques.

E. Capsule

Substance visqueuse, plus ou moins épaisse qui entoure la paroi. Possédant un pouvoir pathogène, elle permet à la bactérie d'adhérer plus facilement aux autres Êtres vivants tout en la protégeant de la phagocytose.

F. Flagelles

Filaments longs, très fins servant au déplacement de plusieurs types de bactéries. Le nombre et la position des flagelles constituent un critère de classification des bactéries à flagelles.

G. Pili

Ce sont de minces tubes rigides au nombre important atteignant parfois les 1000 et composés de sous unités protéiques arrangées en hélice, servant de moyen de fixation aux surfaces environnantes. Ils sont aussi utilisés par la bactérie pour tirer la nourriture, quant aux pili sexuels ils servent au transfert de matériel génétique entre bactéries au cours d'un processus appelé conjugaison.

5.3.2 Cellule Eucaryote

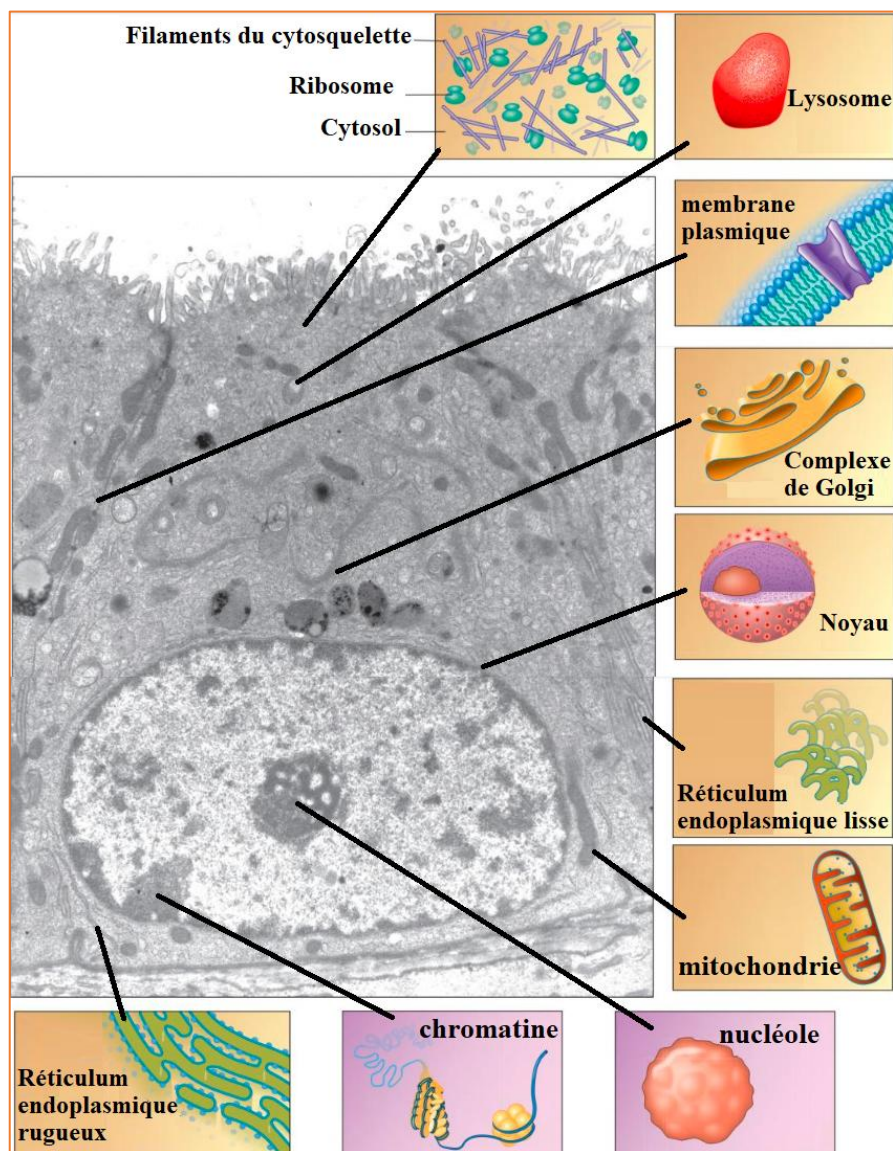


Figure 26 : Représentation schématique et microscopique des principaux organites d'une cellule animale (image microscopique en MET) (Reece et al., 2012).

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

Les cellules eucaryotes sont des cellules hautement structurées. Elles sont beaucoup plus volumineuses que les cellules procaryotes. Dans le cas d'organismes pluricellulaires, chaque cellule est une entité vivante qui fonctionne de manière autonome, mais coordonnée avec les autres cellules.

Bien que l'architecture fondamentale de toutes les cellules eucaryotes comprenne les membranes, les organites et le cytosol, chaque type de cellule présente une forme caractéristique ainsi qu'un rôle physiologique bien précis. Chez les organismes multicellulaires, à l'exception des Champignons, la pluricellularité s'accompagne toujours d'une différenciation morphologique et fonctionnelle des cellules. Ainsi, les cellules du même type sont réunies en tissus, eux-mêmes réunis en organes. Les organes s'organisent en appareils, dont l'ensemble constitue un organisme.

Ces cellules peuvent aussi être libres comme pour les hématies (appelées aussi globules rouges ou érythrocytes) et les cellules immunitaires (exemple : macrophages, granulocytes)

Toute cellule consiste en une masse liquide, le cytoplasme, circonscrite par une fine membrane, et incluant une grande diversité d'organites. Elles possèdent :

- Un vrai noyau avec double membrane qui renferme l'ADN.
- Taille typique de 10-100 μm de diamètre
- Fonctions cellulaires réparties chez plusieurs organites (Noyau, système end-membranaire, cytosquelette, mitochondries, peroxyosomes, plastides et vacuoles....).

A. Noyau

Le noyau régit la croissance et la multiplication cellulaire, car il sert de réservoir du matériel génétique. En effet, le noyau contient la plupart des gènes d'une cellule eucaryote, et sa fonction principale étant la protection, l'organisation, la réplication et l'expression de ce matériel génétique. Une autre fonction importante du noyau correspond à l'assemblage des sous-unités ribosomiques.

Au sein de la cellule, toute production de protéines dépend essentiellement, de l'information codée dans la séquence des éléments constitutifs de l'ADN (Acide Désoxyribonucléique), qui sont séquestrés à l'intérieur du noyau. Le noyau dirige la synthèse des protéines en synthétisant l'ARNm (Acides Ribonucléiques messenger). L'ARNm se dirige vers le cytoplasme et se combine aux ribosomes pour traduire son message génétique en la structure primaire d'une protéine spécifique.

Le noyau est séparé du cytoplasme par une double membrane appelée enveloppe nucléaire. Cette enveloppe est composée d'une membrane interne et d'une membrane externe, qui se rejoignent au niveau des pores nucléaires. Le noyau et le cytoplasme communiquent entre eux par ces pores.

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

La membrane nucléaire interne est tapissée par des protéines des filaments intermédiaires de la classe des lamines qui forment une structure rigide appelée lamina nucléaire, dont le rôle essentiel est de maintenir la forme du noyau.

L'intérieur du noyau contient :

- Des fibres de chromatine, composées d'ADN et de protéines histones, fixées à la matrice nucléaire.
- Un nucléole, où sont assemblées les sous-unités des ribosomes.
- Une matrice semi-fluide appelée nucléoplasme.

Lorsque la cellule se prépare pour la division, les fibres de chromatine s'enroulent et se condensent pour former des chromosomes. Chaque espèce eucaryote possède un nombre caractéristique de chromosomes. Une cellule humaine typique possède 46 chromosomes, mais les cellules sexuelles ou gamètes (ovules et spermatozoïdes) n'en possèdent que 23.

B. Cytoplasme

Le cytoplasme est tout le milieu interne de la cellule à l'exclusion du noyau. Il contient toute la machinerie physiologique cellulaire, dont celle permettant d'exécuter les instructions envoyées par le noyau.

Les différents organites et constituants, contenus dans le cytoplasme, sont individualisés sur le plan morphologique, mais ils sont métaboliquement interactifs.

Dans le cas des cellules Eucaryotes le cytoplasme regroupe l'hyaloplasme et les organites. L'hyaloplasme est une structure transparente, qui sert de support aux organites cellulaires, il comprend le cytosol et le cytosquelette. Le cytosol est une sorte de gel riche en enzymes, sucres, vitamines et divers précurseurs. De nombreuses réactions biochimiques ont lieu dans le cytosol (ex : glycolyse).

C. Système endomembranaire

Le système endomembranaire est un ensemble de compartiments membranaires intercommunicants car les constituants de leur membrane et les molécules solubles dans leur lumière (= cavité) peuvent passer d'un compartiment à l'autre par des phénomènes de flux membranaires. Ces compartiments membranaires communiquent entre eux par l'intermédiaire de vésicules. On distingue ainsi le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi (appelé dictyosome chez les cellules végétales), endosomes, lysosomes et les vésicules.

Les lysosomes sont de minuscules vésicules d'origine golgienne. Ils contiennent les enzymes lytiques permettant la digestion cellulaire (digestion des glucides, les acides nucléiques, les protéines et les lipides). Et sont présents seulement dans les cellules animales,

D. Mitochondries et peroxysomes

La mitochondrie est un organe bi-membranaire à membrane interne repliée. Les mitochondries assurent la respiration cellulaire (consommation d'O₂, production de CO₂ et d'H₂O) et la synthèse de molécules riches en énergie (Adénosine Triphosphate ou ATP). Elles jouent aussi un rôle majeur dans la mort cellulaire programmée ou apoptose.

Les peroxysomes sont de petits organites délimités par une membrane. Ils ont été initialement identifiés grâce à la présence de l'enzyme catalase, qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène. Les peroxysomes se distinguent des lysosomes notamment par leur origine et leur contenu enzymatique. Contrairement aux lysosomes, les peroxysomes ne sont pas formés directement par l'appareil de Golgi. Ils contiennent un ensemble spécifique d'enzymes impliquées dans diverses réactions métaboliques, notamment dans la dégradation des acides gras et la détoxification cellulaire.

E. Cytosquelette

Le cytosquelette est un ensemble de polymères filamentaires protéiques (microtubules, microfilaments et filaments intermédiaires) constituant l'armature intracellulaire. Il est aussi responsable de mouvements cellulaires et du trafic intracellulaire.

Les Procaryotes possèdent également des éléments cytosquelettiques, mais leur cytosquelette est généralement moins complexe et moins diversifié que celui des Eucaryotes.

F. Centrosome et centrioles

Le centrosome est un organe cellulaire, d'environ 1 micron, qui n'est pas entouré d'une membrane. Le centrosome est le centre organisateur des microtubules (ou MTOC). Il se compose d'une paire de centrioles.

Les centrioles forment les pôles qui permettent la formation du fuseau bipolaire qui favorise la division cellulaire : ils sont les "ancres" vers lesquelles les chromosomes se rassemblent au cours de la division cellulaire.

Les cellules végétales ne contiennent généralement pas de centrosome et de centrioles. Dans ce cas, le fuseau bipolaire est formé par des mécanismes alternatifs, indépendants des centrosomes.

G. Plastides

Présents chez les végétaux, les plastides sont des organelles bi-membranaires qui peuvent contenir de l'amidon et des pigments cellulaires, dont la chlorophylle ; ils sont le siège de la photosynthèse.

Chapitre II _____ Schéma général des cellules Procaryotes et Eucaryotes

H. Vacuole

Chez les plantes, l'appareil vacuolaire se présente sous la forme de petites vacuoles isolées dans les jeunes cellules, et sous la forme d'une grande vacuole unique dans les cellules différenciées. Elles accumulent l'eau en excès, des pigments et divers solutés.

I. Membrane plasmique

La membrane plasmique ou plasmalemmme, est une frontière entre le cytoplasme et l'environnement extracellulaire. Elle permet et régule les échanges entre les milieux intra et extracellulaires. Elle permet ainsi à la cellule d'interagir avec son environnement.

La membrane plasmique est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle sont enchâssées (ou simplement fixées) des protéines ou des glycoprotéines. En fonction de leur structure, ces protéines assurent différentes fonctions : canaux (échanges), immunoglobulines (reconnaissance), récepteurs (communication intercellulaire), protéines d'adhésion (adhérence et jonctions cellulaires).

J. Paroi

La membrane des cellules des végétaux est extérieurement doublée, d'une épaisse paroi pectocellulosique, assurant résistance et rigidité à la cellule.

La résistance de la paroi est due à la présence de fibres de cellulose insérées dans un réseau de protéines pariétales incluant un gel de pectines. Dans le cas du bois, de la lignine est ajoutée à cet ensemble moléculaire, lui conférant imperméabilité et dureté. Par sa rigidité, la présence de la paroi empêche donc toute migration cellulaire.

La paroi comprend de nombreux « pores » permettant la communication entre deux cellules voisines : les plasmodesmes. Chaque plasmodesme est bordé d'une membrane en continuité avec les membranes plasmiques des cellules voisines. Au centre du plasmodesme, un canal membranaire interne relie le réticulum endoplasmique des deux cellules connectées. L'ensemble des cytoplasmes connectés permet la circulation de molécules par des transports passifs, constituant une voie d'échanges intercellulaires. Les cellules animales ne présentent pas de paroi cellulaire.

QUESTIONS ANALYTIQUES

- Comparez votre mode de nutrition avec celui des Champignons (Eumycètes).
- Comment l'organisation complexe de la cellule eucaryote a-t-elle pu évoluer à partir de la cellule procaryote, si simple ? Comment les caractéristiques eucaryotes sont-elles apparues à partir de cellules procaryotes ?

EXERCICE 1

De mémoire, dessinez deux cellules eucaryotes, nommez et pointez les structures suivantes et montrez tous les liens entre les structures internes de chaque cellule : noyau, réticulum endoplasmique rugueux, réticulum endoplasmique lisse, mitochondrie, centrosome, chloroplaste, vacuole, lysosome, microtubule, paroi cellulaire, matrice extracellulaire, microfilament, appareil de Golgi, filament intermédiaire, membrane plasmique, peroxyosome, ribosome, nucléole, pore nucléaire, vésicule, flagelle, microvillosité, plasmodesme.

EXERCICE 2

Volumes cellulaires comparés (retour sur le concept de la compartimentation interne et de la théorie endosymbiotique)

Une cellule bactérienne de type « coque », une cellule animale de type hépatocyte (cellule du foie) et une cellule de parenchyme végétal sont comparées du point de vue de leurs volumes. Toutes les trois sont sphériques, et leurs diamètres respectifs sont les suivants : 2 μm , 20 μm et 100 μm .

- 1) Calculer le volume de la cellule bactérienne et prévoir, sans faire les calculs directs, les rapports existants entre les volumes des deux autres types de cellules et celui de cette bactérie.
- 2) Prévoir également, sans faire les calculs directs, l'évolution du rapport Surface cellulaire/Volume cellulaire quand on passe d'un type de cellule à l'autre, et en tirer les conséquences physiologiques concernant les liens entre échanges avec le milieu et métabolisme cellulaire.

On donne : surface d'une sphère = $4\pi r^2$; volume d'une sphère = $\frac{4}{3}\pi r^3$.

CHAPITRE III : MATRICE EXTRACELLULAIRE ET CYTOSQUELETTE

1. PREREQUIS

Savoir que :

- La cellule animale typique et son noyau sont de forme sphérique.
- Chez les organismes multicellulaires, les cellules s'assemblent pour former des tissus.
- L'hyaloplasme est une structure transparente qui sert de support aux organites.

2. OBJECTIFS

A la fin de ce chapitre l'étudiant doit être capable de :

- Connaître définition, composition, morphologie (en relation avec la localisation) de la matrice extracellulaire.
- Connaître les cellules productrices de la matrice extracellulaire.
- Connaître les fonctions de la matrice extracellulaire
- Connaître la composition et les rôles du cytosquelette dans une cellule.
- Connaître les trois types de filaments du cytosquelette, leur diamètre et leur localisation respectifs.
- Savoir distinguer monomères fibreux et globulaires.
- Comprendre la notion de polymérisation/dépolymérisation.
- Connaître les protéines associées aux filaments d'actine et les conséquences sur le réseau d'actine obtenu au niveau intracellulaire, ainsi qu'au des membranes cellulaires.
- Connaître la composition et le fonctionnement d'un sarcomère.
- Connaître la structure d'un microtubule en particulier la notion de protofilament, les liaisons des tubulines avec le GTP/GDP ainsi que la polarité.
- Connaître les conditions de la dynamique des microtubules ainsi que les particularités des extrémités + et –.
- Connaître des exemples de drogues inhibant cette dynamique.
- Connaître la composition et les fonctions du centrosome, des cils et des flagelles.
- Connaître pour chaque cas les particularités de composition et de disposition des microtubules.
- Connaître les étapes conduisant à la formation d'un filament intermédiaire.
- Savoir distinguer les particularités des filaments intermédiaires vis-à-vis des microtubules et filaments d'actine.

- Expliquer comment les cellules animales peuvent :
 - Changer de forme et se déplacer (comme dans les macrophages)
 - Conserver leur forme sphérique
 - S'organiser et se maintenir ensemble dans l'espace pour former des tissus
 - Interagir mécaniquement avec leur environnement, comme dans le cas de l'endocytose et de l'exocytose
 - Réorganiser leurs composants internes au fur et à mesure de leur croissance

3. CONSTITUANTS DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE

Contrairement aux cellules bactériennes, fongiques et végétales, les cellules animales ne sont pas entourées d'une paroi cellulaire rigide qui leur assure structure et soutien. Cependant, les cellules animales sécrètent des substances qui forment une matrice extracellulaire, laquelle assure également un soutien structurel et contribue à l'organisation cellulaire.

Chez les organismes multicellulaires tels que les animaux, les cellules sont regroupées en tissus.

Dans ce cas, les cellules sont maintenues ensemble par trois moyens différents :

- La matrice extracellulaire,
- Les molécules d'adhésion cellulaire dans les membranes plasmiques des cellules,
- Les structures spécialisées de jonctions cellulaires.

3. 1. DEFINITION DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE

La matrice extracellulaire (MEC) est un édifice supramoléculaire qui entoure les cellules. Elle est fabriquée par des cellules spécialisées qui s'y trouvent prisonnières et détermine de nombreuses propriétés des tissus.

Généralement, elle est définie comme étant la composante non cellulaire des tissus et des organes, qui se présente sous la forme d'une substance chimiquement complexe, très dense et hautement structurée contenant de l'eau, des minéraux et des macromolécules telles que des protéines fibreuses et des polysaccharides.

La matrice extracellulaire animale a une composition différente de celle de la matrice des tissus végétaux. Chez les végétaux la paroi peut être considérée comme une matrice extracellulaire, au sens défini chez les Animaux.

3.2. DEFINITION DU TISSU CONJONCTIF

Les matrices extracellulaires sont surtout développées dans les tissus dits conjonctifs et leurs dérivés, où elles représentent souvent un volume plus important que celui des cellules.

Le tissu conjonctif est le substrat qui entoure les cellules épithéliales des organes. En plus de la matrice extracellulaire, le tissu conjonctif contient différents types de cellules fixes tels que : les fibrocytes, les chondrocytes, les ostéocytes et les adipocytes, ou libres tels que : le macrophage, les polynucléaires, les lymphocytes et les mélanocytes. Il est aussi formé de vaisseaux sanguins et lymphatiques, de nerfs et d'eau.

Le tissu conjonctif est un tissu de soutien, plus ou moins résistant, dont le rôle principal consiste à protéger les organes. En fonction de leurs propriétés, ces tissus réalisent de manière très variée cette protection.

3.3. NATURE ET COMPOSITION DES MATRICES EXTRACELLULAIRES ANIMALES

La multiplicité des molécules qui constituent les matrices extracellulaires (à laquelle s'ajoutent des variations de leurs proportions) est responsable d'une grande diversité de types dont les propriétés physiques et mécaniques sont très différentes. Par exemple, dans le tissu osseux, la substance extracellulaire se calcifie donnant à l'os son aspect rigide caractéristique. Dans les tissus épithéliaux, cette matrice est essentiellement formée par les lames basales sur lesquelles les cellules s'appuient.

La matrice extracellulaire des tissus conjonctifs est sécrétée par ;

- Les fibroblastes dans le tissu conjonctif lâche,
- Les chondroblastes dans le cartilage
- Les ostéoblastes dans l'os.

En général, la matrice extracellulaire est composée de macromolécules fibreuses (protéines fibreuses) (figure 27) et de molécules de plus petite taille, de nature glucidique et protéique (les glycosaminoglycanes et les protéoglycanes), qui jouent le rôle de ciment.

Ces molécules sont synthétisées par les cellules spécialisées du tissu conjonctif et sont libérées, dans la matrice extracellulaire, par exocytose. Ces différentes structures sont le plus souvent pontées entre elles, formant des édifices complexes au sein du tissu conjonctif (lames basales, matrice osseuse, matrice cartilagineuse, ...).

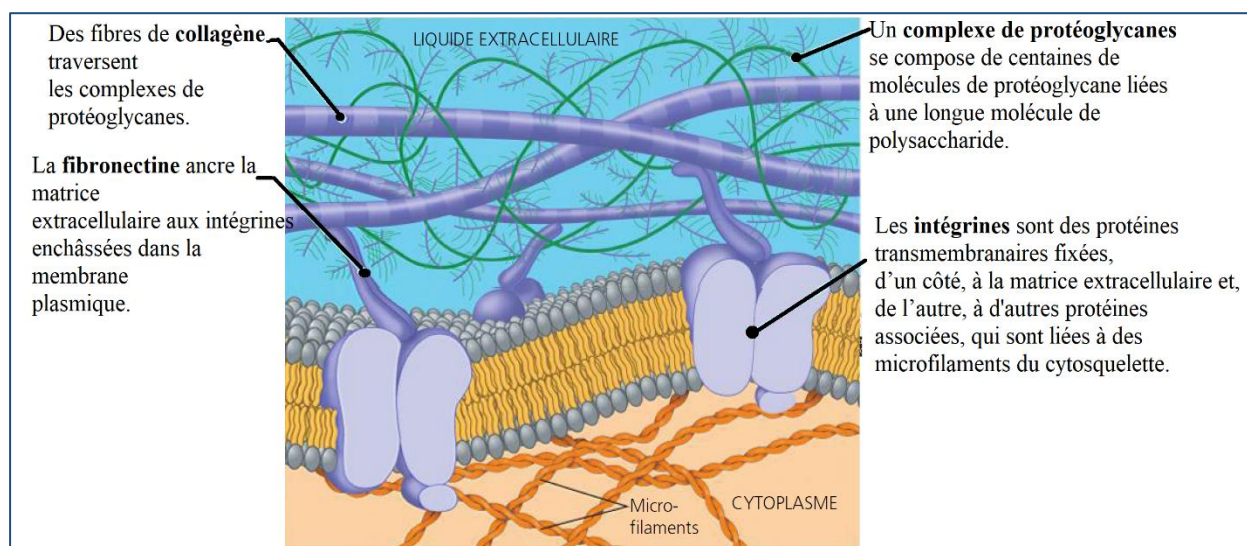


Figure 27 : Matrice extracellulaire d'une cellule animale. La structure et la composition de la matrice extracellulaire varient selon le type de cellule. Dans cet exemple, trois sortes de glycoprotéines sont illustrées : les protéoglycanes, les fibres de collagène et les fibronectines (Reece et al., 2012).

3.3.1. Protéines fibreuses

Les protéines sont les composants majeurs de la matrice extracellulaire des animaux. Les protéines les plus abondantes sont celles qui forment des fibres volumineuses.

Les protéines de la matrice extracellulaire, peuvent être réparties en deux grandes familles :

- 1) Protéines structurales : telles que le collagène et l'élastine, qui forment de grosses fibres conférant à la matrice extracellulaire sa résistance mécanique et son élasticité ;
- 2) Protéines adhésives : Les cellules animales sont souvent « collées » en chaîne par les protéines d'adhésion cellulaire (fibronectine, laminine). Certaines de ces protéines, comme la fibronectine, lient les cellules entre elles et confèrent à la matrice sa résistance et son élasticité, d'autres, comme la laminine, ancrent les cellules à la matrice extracellulaire, formant ainsi une unité cohésive. Les laminines peuvent aussi servir de support de migration aux cellules de la matrice.

A. collagène

Le collagène (du grec signifiant : « production de colle ») forme des fibres en forme de câbles qui assurent la résistance à l'étirement (résistance aux contraintes longitudinales).

Les collagènes se rencontrent chez tous les Animaux où ils représentent les protéines les plus abondantes (25 % chez les Mammifères, soit bien plus que toute autre protéine).

Leurs chaînes polypeptidiques (légèrement glycosylées) forment les monomères de collagène qui s'enroulent en structure hélicoïdale droite à trois brins de 300 nm de long (figure 28).

On connaît chez les Mammifères une vingtaine de chaînes différentes de collagène, avec chacune un assemblage d'acides aminés et une séquence différente (chaque monomère correspond à un gène particulier). Les différentes chaînes de collagènes, s'organisent pour donner une dizaine de combinaisons, dont quatre sont majeures : les collagènes I, II et III se retrouvent dans le tissu conjonctif, tandis que la forme IV est spécifique des lames basales.

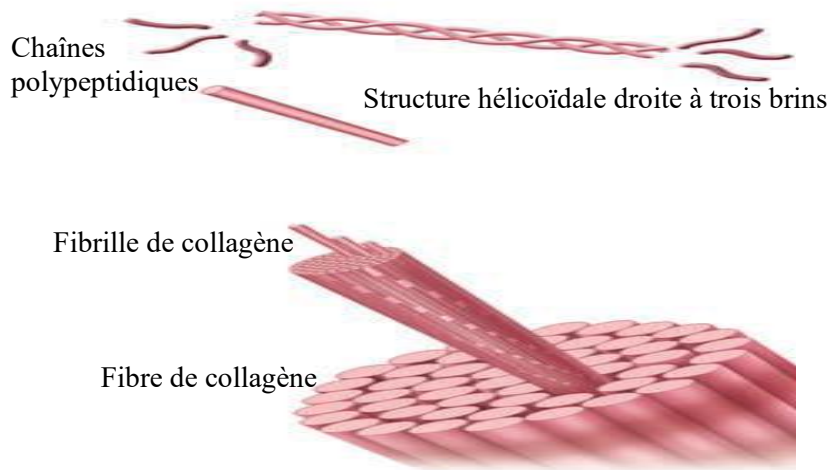


Figure 28 : Formation des fibres de collagène (Brooker et al., 2011).

Dans de nombreux tissus, les fibres de collagène sont organisées en faisceaux parallèles plus ou moins serrés prenant parfois une disposition en contreplaqué, particulièrement rigide (os, peau, cornée). Le collagène de type IV forme plutôt des structures en réseau aplati de 50 à 100 nm d'épaisseur.

A peine extensibles les fibres de collagènes représentent le matériel idéal pour la confection des ligaments, des fascias, des tendons, des capsules et du stroma des organes, et du derme. Ainsi, elles jouent un rôle important comme constituant des os, de la dentine du cartilage et de la peau (environ 75 % des protéines de la peau des mammifères sont composées de collagène).

Dans le cas du scorbut, une maladie causée par une carence en vitamine C, ces fibres ne se forment pas correctement (la vitamine C est essentielle à la formation des fibres de collagène). Par conséquent, les tissus, notamment ceux de la peau et des vaisseaux sanguins, deviennent très fragiles. Cela entraîne des saignements de la peau et des muqueuses, particulièrement visibles au niveau des gencives.

B. Elastine

L'élastine est une protéine de 830 acides aminés, non glycosylée, riche en glycine et en proline, plutôt hydrophobe. De façon unique, elle n'a pas une structure précise, organisée dans l'espace ; cette disposition aléatoire de la chaîne polypeptidique, ajoutée au fait que, les diverses molécules sont pontées entre elles par des liaisons croisées, conduit à réaliser un édifice ayant des propriétés élastiques remarquables.

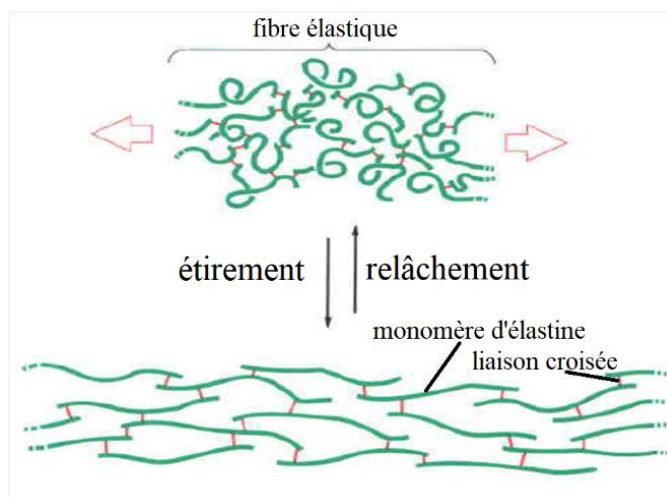


Figure 29 : Structure d'une fibre d'élastine (Alberts et al., 2007)

L'élastine permet à la fibre élastique d'augmenter d'une fois et demie sa longueur rendant les tissus extensibles. En l'absence de force d'étirement, chaque monomère d'élastine tend à adopter une conformation compacte. En revanche, lorsqu'elles sont soumises à une force d'étirement, les protéines compactes deviennent plus linéaires. Lorsque la force d'étirement cesse, les protéines retrouvent naturellement leur conformation compacte (figure 29). Ainsi, les fibres d'élastine se comportent comme un élastique : elles s'étirent sous tension et se rétractent lorsque la tension est relâchée.

On trouve l'élastine dans des tissus où l'élasticité a un rôle physiologique important à jouer, par exemple dans les poumons, qui s'étirent et se rétractent lorsque l'air entre et sort. Ainsi que dans la matrice extracellulaire des artères, où elle est la protéine dominante représentant 50 % du poids sec de la plus grande artère, l'aorte.

Des mutations du gène de l'élastine entraînant un déficit en cette protéine chez la souris ou l'Homme entraînent un rétrécissement de l'aorte ou d'autres artères et une prolifération excessive de cellules musculaires lisses dans la paroi artérielle. Apparemment, l'élasticité normale d'une artère est nécessaire pour limiter la prolifération de ces cellules.

C. Fibronectine

La fibronectine est constituée par un dimère de deux chaînes identiques de 2 500 acides aminés ; cette grosse protéine glycosylée est dite multifonctionnelle car elle peut se lier à de

nombreuses autres molécules telles que le collagène, l'héparine et les intégrines membranaires. Son organisation est remarquable car elle est formée de plusieurs modules identiques et souvent répétés un grand nombre de fois.

La fibronectine favorise l'adhésion cellulaire et maintient les cellules en place. Des quantités réduites de cette protéine ont été détectées dans certains types de tissus cancéreux, ce qui pourrait expliquer le fait que les cellules cancéreuses n'adhèrent pas bien les unes aux autres et ont tendance à se détacher et à métastaser (à se propager ailleurs dans l'organisme).

D. Laminine

La laminine est spécifique des lames basales, où on la trouve en même temps que le collagène de type IV et des protéoglycanes particuliers. Elle se présente sous la forme d'un ensemble de trois chaînes polypeptidiques disposées en croix. Comme la fibronectine, c'est une protéine multifonctionnelle glycosylée possédant des domaines de liaison variés, en particulier pour le collagène IV et les intégrines. Elle sert d'intermédiaire entre la cellule et la lame basale.

Il faut bien noter que la laminine ainsi que la fibronectines sont des protéines capables de s'accrocher à la fois à la cellule et à la matrice extracellulaire, *via* les intégrines.

3.3.2. Polysaccharides et protéoglycanes

A. Polysaccharides

Les polysaccharides sont le deuxième composant majeur (après les protéines) de la matrice extracellulaire des animaux.

Chez les vertébrés, les glycosaminoglycanes (GAG) sont les polysaccharides les plus abondants dans la matrice extracellulaire. Les glycosaminoglycanes (figure 30) sont de longs polymères, non ramifiés, d'unités disaccharidiques répétitives contenant un acide uronique (ou un ose) et une osamine acétylée, parfois sulfatée. Leur longueur peut varier de quelques dizaines à 25 000 unités disaccharidiques.

Un exemple de glycosaminoglycanes est l'acide hyaluronique, qui est le seul à exister à l'état libre dans la matrice ; son poids moléculaire est très élevé (jusqu'à 8.106 Da) et il n'est pas sulfaté. Les autres GAG sont toujours liés de façon covalente à des protéines formant des protéoglycanes, par exemple : le sulfate de chondroïtine, que l'on trouve couramment dans le cartilage sous forme complexe associée à une protéine (figure 30).

. Les GAG sont fortement négativement chargés, ce qui leur donne une grande capacité à attirer les ions chargés positivement et l'eau.

B. Protéoglycanes

Les protéoglycanes sont des complexes de protéines et de GAG dans lesquels la composante polysaccharidique est largement prédominante (plus de 90 % en masse). Dans un protéoglycane la molécule de protéine est centrale tandis que les chaînes du glycosaminoglycane sont latérales (figure 30), les molécules du GAG sont accrochées sur des résidus sérine ou thréonine de la chaîne polypeptidique, dans l'appareil de Golgi, par une liaison de type O-glycosidique. Ces protéines peuvent en outre porter des chaînons oligosaccharidiques N-liés ou O-liés. D'imposants complexes peuvent se former quand des centaines de protéoglycanes se lient à une longue molécule de polysaccharide.

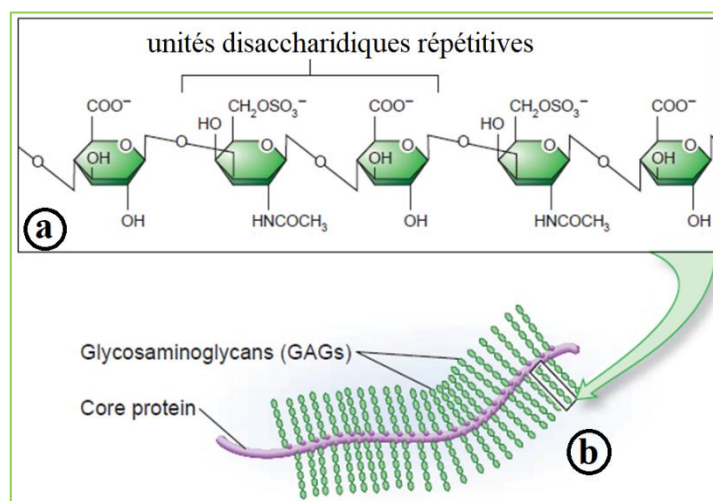


Figure 30 : Structures des glycosaminoglycanes et des protéoglycanes. (a) Structure d'un glycosaminoglycane ici il s'agit du sulfate de chondroïtine. (b) Structure générale d'un protéoglycane. Notez que chaque GAG est généralement long de 80 unités disaccharidiques, mais que seule une courte chaîne de sucres est représentée sur cette illustration (Brooker et al., 2011).

La fonction principale des glycosaminoglycanes et des protéoglycanes est de résister à la compression. Une fois sécrétées par les cellules, et en raison de leur forte hydrophilie, ces macromolécules forment un composant gélatineux aqueux dans la matrice extracellulaire. La forte teneur en eau, ainsi que leur repliement lâche, leur permettent d'occuper un grand volume, ce qui confère à la matrice extracellulaire et aux tissus une grande résistance vis-à-vis des forces de compression. De plus, le gel aqueux assure la diffusion des nutriments, des déchets et d'autres substances hydrosolubles entre le sang et les cellules tissulaires.

Les glycosaminoglycanes et les protéoglycanes sont présents en abondance dans les zones du corps soumises à des contraintes mécaniques importantes, comme les articulations et le cartilage. L'acide hyaluronique est retrouvé dans la peau, les yeux et le liquide articulaire.

3.4. EXEMPLES DE MATRICES EXTRACELLULAIRES

La composition, la quantité relative des constituants et la présence de protéines spécifiques confèrent des propriétés particulières à la MEC des tissus animaux. Ainsi elle va déterminer les caractéristiques fonctionnelles des tissus épithéliaux, osseux et cartilagineux.

3.4.1. La lame basale

La lame basale, est une mince épaisseur matricielle de 0,1 μm , située à la base de l'épithélium. À travers cette matrice, de nombreux échanges se réalisent entre la cellule et les vaisseaux sous-jacents. Cette matrice renferme des glycosaminoglycanes, des protéoglycanes, de la fibronectine et du collagène IV. Ce dernier ne s'agence pas en fibres comme le collagène I, mais s'assemble en formant un treillis moléculaire multicouche. À cet ensemble se lie la laminine et d'autres protéines secrétées par les fibroblastes (comme le nidogène et l'entactine).

Les lames basales constituent des matrices d'ancrage des cellules épithéliales lors d'interaction entre les molécules d'adhérences situées sur la face basale et les constituants matriciels. Elles participent également à la différenciation des cellules et au maintien de leurs caractères fonctionnels.

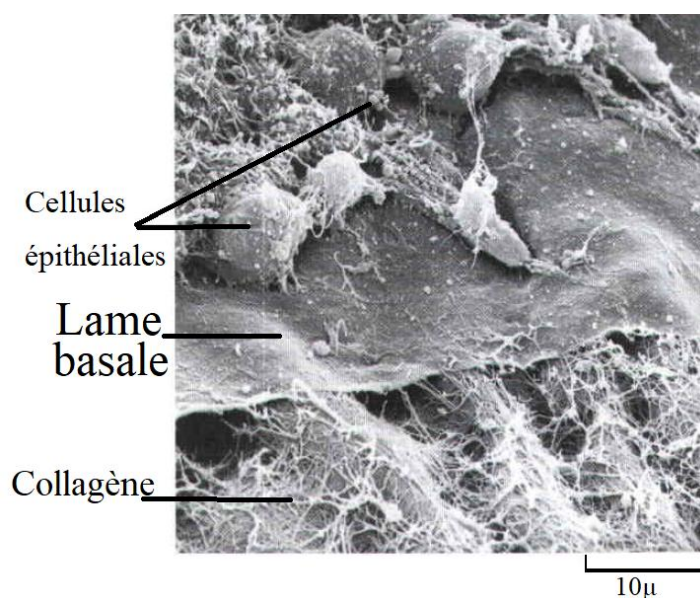


Figure 31 : Lame basale de la cornée d'un embryon de poulet. Sur cette microscopie électronique à balayage, certaines cellules épithéliales ont été retirées pour exposer la face supérieure de la lame basale, en forme de tapis. Un réseau de fibrilles de collagène, présent dans le tissu conjonctif sous-jacent, interagit avec la face inférieure de la lame (Trelstad R., cité par Alberts et al., 2007).

3.4.2. La matrice osseuse

La matrice osseuse, quant à elle, est synthétisée par les ostéoblastes. Elle est composée des molécules de base de la matrice. Le collagène type I constitue une fraction très importante de la matrice osseuse et assure l'ancrage des cellules ainsi que la formation des cristaux d'hydroxyapatite, et de carbonate de calcium.

Une telle matrice minéralisée détermine les propriétés du tissu squelettique. Une telle matrice minéralisée détermine les propriétés du tissu squelettique, à savoir un tissu résistant à la compression et à l'étirement comme c'est le cas pour le squelette interne des Vertébrés.

3.4.3. La matrice cartilagineuse

La matrice cartilagineuse, autre exemple, est synthétisée par des chondrocytes. Elle prend la forme d'un milieu riche en glycosaminoglycanes et en protéoglycannes, où se trouvent dispersées des molécules de collagène type II.

Cette matrice flexible permet de résister à la compression sans qu'il y ait de rupture. Ainsi on la retrouve au niveau des articulations de l'endosquelette des Vertébrés par exemple.

3.5. FONCTIONS DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE

Longtemps considéré comme amorphe et inerte, la matrice extracellulaire qui est parfois majoritaire dans certains tissus remplit un grand nombre de fonctions. En effet, les interactions cellulaires avec la matrice extracellulaire sont cruciales pour le développement et la croissance, ainsi que pour le maintien de l'architecture tissulaire.

3.5.1 Remplissage et consolidation des tissus

Chez les Animaux, le premier rôle des matrices extracellulaires est celui de remplissage des espaces intercellulaires en formant un gel diffus dans l'espace intercellulaire. Ce qui permet la diffusion aisée de l'eau, des ions, des nutriments, des hormones, des facteurs de croissance et autres moyens de signalisation intercellulaire.

3.5.2 Rôle dans le 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.

4. CONSTITUANTS DU CYTOSQUELETTE

À l'image d'un corps humain qui ne pourrait maintenir sa forme sans la présence d'un squelette osseux, la cellule doit le maintien de sa forme à la présence d'un cytosquelette interne. Cependant, contrairement au squelette osseux qui est rigide, le cytosquelette est une structure très dynamique qui se réorganise continuellement au cours des différents événements cellulaires (division, migration, etc.).

Au moment de l'invention du microscope électronique, les biologistes imaginaient que les organites des cellules eucaryotes baignaient librement dans le cytosol, mais les avancées en matière de microscopie photonique et électronique, ont permis la mise en évidence de ce réseau fibreux qui parcourt le cytoplasme (Figure 32).

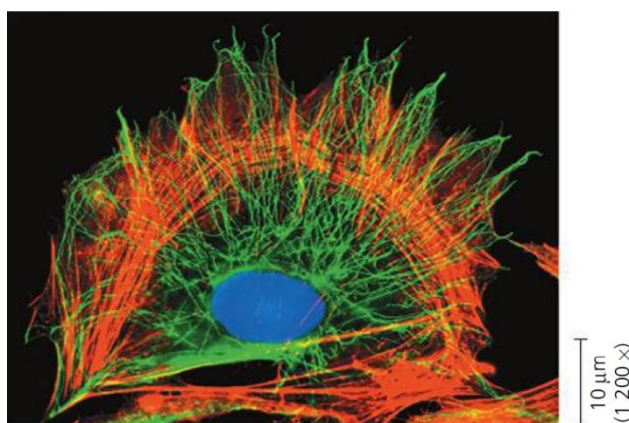


Figure 32 : Micrographie à fluorescence du cytosquelette. Comme on le voit sur cette micrographie à fluorescence, le cytosquelette s'étend à toute la cellule. Les éléments cytosquelettiques ont été mis en évidence à l'aide de diverses molécules fluorescentes : vertes pour les microtubules et rouges pour les microfilaments. Un troisième composant du cytosquelette, les filaments intermédiaires, ne sont pas visibles ici. (L'ADN contenu dans le noyau est bleu.). (Reece et al., 2012).

4. 1. DEFINITION DU CYTOSQUELETTE

Le cytosquelette est un réseau complexe de filaments protéiques, dispersés dans le nucléoplasme (La lamina nucléaire) et l'hyaloplasme. Il assure la forme de la cellule tout en lui permettant de s'adapter à une grande variété de changements morphologiques et d'effectuer des mouvements coordonnés. Il a deux fonctions principales :

- **Structurale :** il permet le maintien de la cellule dans son environnement (jonctions cellulaires), le positionnement des organites intracellulaires (lamina nucléaire), et l'organisation caractéristique de la morphologie cellulaire (cortex cellulaire, microvillosités).

- **Motrice** : il assure la motricité des organites dans la cellule (trafic intracellulaire : transport vésiculaire), et de la cellule dans son environnement (motilité : spermatozoïdes cils et pseudopodes).

4.2. DEFINITIONS

4.2.1. Monomère

Se dit d'un composé constitué de molécules simples, et capable de former des polymères. En biologie, un monomère (ou sous-unité) est l'élément constitutif des protéines multimériques ou des filaments protéiques du cytosquelette. L'agencement de deux monomères forme un dimère et l'agencement de deux dimères forme un tétramère alors que l'agencement de plusieurs monomères les uns par rapport aux autres forme un polymère. Un monomère peut être filamentaire ou globulaire.

4.2.2. Polarisation et polymérisation

La polarisation est l'apparition ou existence de deux pôles au sein d'une structure, alors que la polymérisation est la réaction de formation des chaînes macromoléculaires à partir d'entités plus légères

4.3. NATURE ET COMPOSITION DU SYSTEME CYTOSQUELETTIQUE

Le cytosquelette est un système complexe, formé de trois types de réseaux protéiques superposés, sous forme de fins filaments ou de tubules qui parcourent et remplissent l'hyaloplasme.

Les polymères fibreux du cytosquelette sont classés selon leur diamètre en :

- **Microfilaments (MF)** : fines fibres de 7 à 8 nm d'épaisseur, et qui se présentent le plus souvent sous la forme de faisceaux serrés. Chaque microfilament ne dépasse généralement pas 2 à 3 μm de long, mais les faisceaux eux-mêmes atteignent 10 à 20 μm .
- **Microtubules (MT)** : polymères polarisés de protéines globulaires appelées tubulines (α , β). Ils ont la forme de tube creux de 24nm de diamètre dont la longueur va de 200nm à 25 μm .
- **Filaments intermédiaires (FI)** : leur diamètre va de 8 à 12 nm

Tableau 4 : Principales caractéristiques des polymères du cytosquelette (adapté d'après Reece et al. 2012).

Polymères Structures fibreuses	Monomères (globulaires ou fibreux)	Diamètre	Fixation Nucléo- tidique	Stabilité	Moteurs Molé- culaires
Micro- filaments	Actine (Globulaire)	7-8 nm	ATP	Instables Sauf les structures stables (sarcomère, microvillosités,...)	Myosine
Micro- tubules	Tubulines alpha et Béta (Hétéro-di- mères globulaires)	24-28nm	GTP	Instables, durée de vie très courte car détruites lorsque la fonction est remplie Sauf les structures stables (centrosome, flagelle,...)	Kinésines et Dynéines
Filaments Inter- médiaires	Kératines, desmine, vimentine, lamines ... (Protéines fibreuses)	8-12 nm		Stables (mis en place de façon définitive)	

4.4 MICROFILAMENTS

L'actine G est un monomère de forme globulaire bivalve, délimitant une crevasse au centre de la quelle se fixe l'ATP ou l'ADP. L'actine G est polarisée, elle se polymérise en actine F. Chaque microfilament d'actine est composé de deux chaînes torsadées d'actine F (Figure 33).

La polymérisation de l'actine G en actine F est amorcée par l'ajout d'ions Mg^{2+} , K^{+} , Na^{+} , selon un processus réversible. La dépolymérisation de l'actine F se produit quand on abaisse la force ionique de la solution. Le MF isolé est un polymère instable et polarisé, il possède deux extrémités différentes. L'extrémité plus (+) à croissance rapide c'est-à-dire qu'à ce niveau la vitesse de polymérisation est supérieure à la vitesse de dépolymérisation. Et l'extrémité moins (-) (pointue) à croissance lente ; c'est-à-dire qu'à ce la vitesse de polymérisation est inférieure à la vitesse de dépolymérisation. La dépolymérisation des MF nécessite l'hydrolyse préalable de l'ATP fixé à l'actine G.

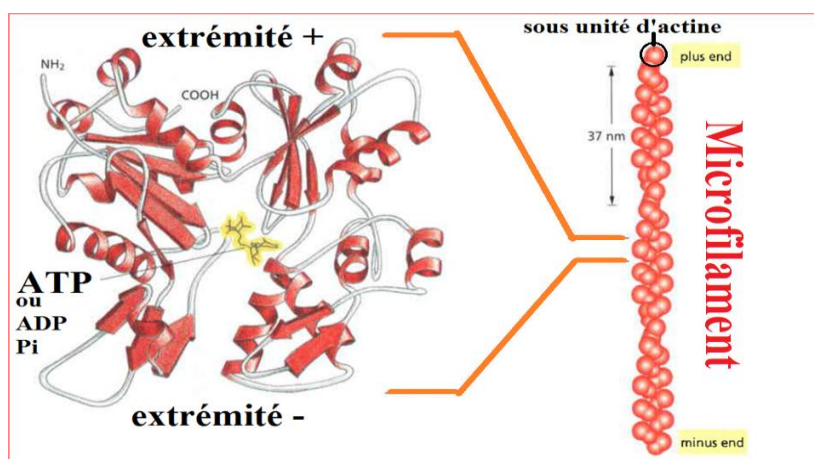


Figure 33 : Structure d'un microfilament et de sa sous-unité. La sous-unité est une protéine globulaire l'actine G, elle est polarisée et porte dans son centre une molécule d'ATP (ici colorée en jaune). Le microfilament d'une structure hélicoïdale et d'une longueur de 37nm est lui-même polarisé (Alberts et al., 2007) .

4.4.1. Régulation de la dynamique de polymérisation des microfilaments d'actine

Les MF sont des structures polarisées et très dynamiques, la dynamique des MF permet à la cellule d'avoir une réaction adéquate et une adaptation rapide à son environnement et de répondre rapidement aux signaux. En effet le désassemblage (la dépolymérisation) et le réassemblage (la polymérisation) des Microfilaments sont toujours sous l'effet de stimuli externes.

La stabilité et l'organisation des MF sont contrôlées en plus des paramètres intrinsèques, par de nombreuses protéines régulatrices. Au sein de la cellule, la dynamique de polymérisation de l'actine est très complexe. De nombreuses protéines entrent en interaction avec les microfilaments. Ces protéines sont appelées protéines effectrices de la polymérisation et sont classées selon leur mode de liaison à l'actine (Figure 34).

Les protéines effectrices contrôlent : la polymérisation et la dépolymérisation des MF, leur organisation dans la cellule, leur interaction avec des protéines membranaires, ou comme dans le cas des myosines, elles sont responsables des mouvements des MF.

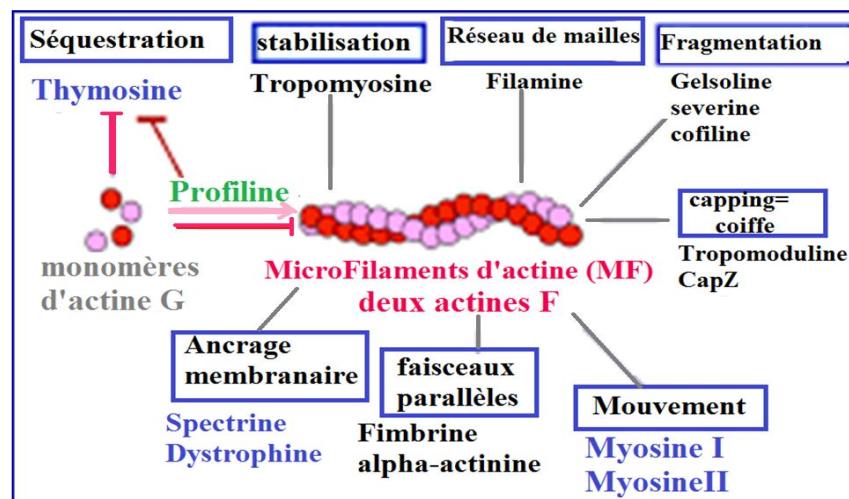


Figure 34 : protéines effectrices régulant la dynamique de polymérisation des microfilaments (adaptée d'après Alberts et al., 2007).

A. Protéines de séquestration des monomères

- La Thymosine, se lie aux monomères d'Actine G, afin de les maintenir sous forme de réserve. Son affinité pour l'actine G-ATP est 50 fois plus importante que pour l'actine G-ADP. La liaison Thymosine -Actine G empêche le monomère d'actine G de polymériser.
- La Profiline, favorise l'échange ADP-ATP. Le monomère d'actine G-ADP lié à la profiline libère l'ADP dans le cytosol et le remplace par un ATP. La liaison Profiline-Actine G permet au monomère d'actine G de polymériser. La profiline est activée lorsque la cellule a besoin d'Actine G ATP. La profiline intervient lors de situations nécessitant : l'allongement de MF déjà existants, la polymérisation urgente de nouveaux MF, comme par exemple lors de la formation de protrusions membranaires

B. Protéines de Coiffe

Certaines d'entre elles participent à la stabilité du microfilament (comme dans le cas des MF du sarcomère) ou contrôlent sa longueur (comme dans le cas des MF des protrusions), en s'attachant à une de ses extrémités, l'empêchant ainsi soit de se polymériser, soit de se dépolymériser.

Exemples :

- Les protéines CapZ (Capping Z) : bloquent la polymérisation des MF en s'attachant à leur extrémité (+) empêchant ainsi l'ajout de nouveaux monomères d'actine G-ATP.
- La tropomoduline bloque la dépolymérisation en s'attachant à l'extrémité (-) du MF, empêchant ainsi la libération des monomères d'actine G-ADP.

D'autre, comme la vinculine, ancrent les microfilaments à la membrane plasmique, par leur extrémité +, au niveau des points de contact focaux.

C. Nucléateurs de l'actine

Les MF peuvent être de simples filaments linéaires, mais ils se présentent le plus souvent sous forme de réseaux structuraux en raison de la présence de protéines qui se lient le long d'un MF et permettent à un nouveau filament de former une ramification. Le complexe protéique ARP2/3 (pour Actin-Related Protein) favorise la polymérisation des monomères d'actine en MF puis l'assemblage de ces derniers en un réseau de branches ramifiées à 70°, dans lequel ARP2/3 est localisé aux points de ramification. En s'allongeant, les bouts nouvellement créés fournissent la force qui pousse la membrane vers l'avant.

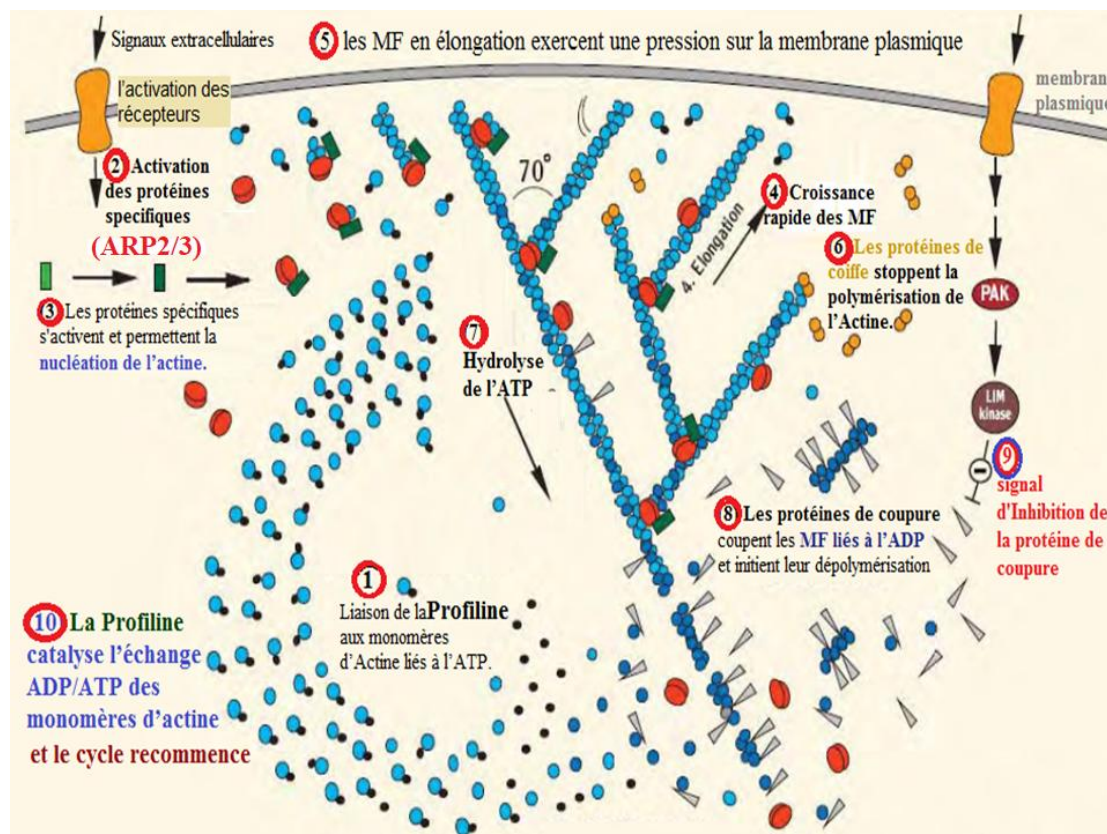


Figure 35 : Schéma décrivant la polymérisation du réseau d'actine au voisinage de la membrane cellulaire. Cette illustration montre comment ARP 2/3 entame l'assemblage d'un réseau de filaments d'actine ramifiés à la suite d'un signal extracellulaire, assurant l'envoi des protrusions membranaires ; l'intervention de plusieurs protéines (la profiline (1) et (10), protéines de coiffe (6), protéines de coupure (8)) est indispensable (adaptée d'après Cassimeris et al., 2011) .

D. Protéines d'assemblage

Elles permettent l'assemblage des microfilaments par une liaison latérale entraînant la formation d'un réseau de filaments parallèles : ce sont les fimbrine et alpha-actinine, ou en réseau par la filamine, donnant au cytosol un aspect de *gel*. Lorsque ce réseau n'est plus présent le cytosol prend alors un aspect *sol*.

La fimbrine lie les MF tout en permettant leur assemblage sous forme de faisceaux parallèles serrés. Dans les cellules intestinales, des faisceaux de microfilaments (25 à 30 MF) remplissent les microvillosités. Ces faisceaux sont à disposition parallèle serré. Les faisceaux des MF des microvillosités sont des structures stables.

L'Alpha-actinine lie les MF tout en permettant leur assemblage sous forme de faisceaux parallèles contractiles lâches.

La Filamine est une protéine de liaison qui permet l'assemblage des microfilaments en réseau de mailles.

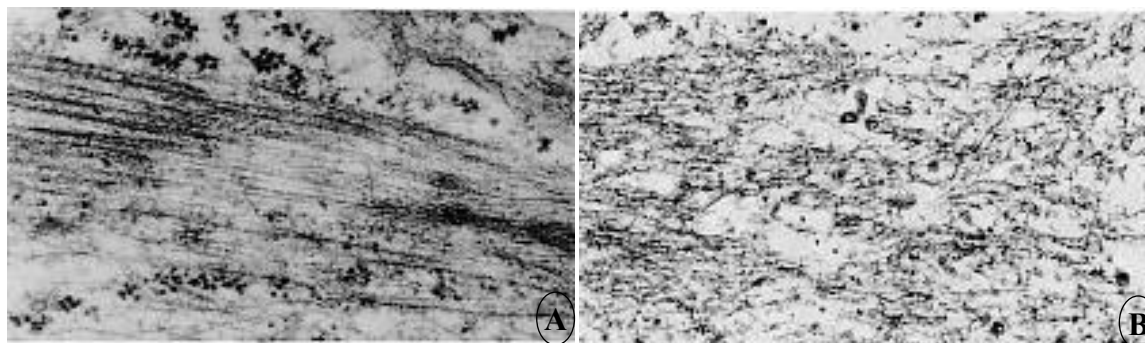


Figure 36 : Microfilaments observés en microscopie électronique (A) coupe longitudinale d'un faisceau serré de microfilaments observé dans une cellule de larve d'Amphibien ; (B) microfilaments organisés en un réseau lâche présent à la marge d'une cellule en culture. (Clichés J. Auber et Labo. BG, Orsay ; cités par Callen 2005).

E. Protéines d'attache à la membrane cytoplasmique

Ces protéines attachent le réseau d'actine qui se trouve sous la membrane cytoplasmique à un complexe protéique intégré à la membrane plasmique. Exemples : la Dystrophine dans le muscle et la spectrine, dans les hématies,....

La dystrophine représente 5 % des protéines associées à la face interne de la membrane des myocytes. Elle est concentrée à l'endroit où les stries Z (qui marquent les limites des sarcomères, et sur lesquelles l'actine est fixée) entrent en contact avec la membrane plasmique. En accrochant l'actine à la face interne de celle-ci, elle a un rôle d'arrimage (synchronisation) de la machinerie contractile des sarcomères à cette membrane. De ce fait, l'ancrage dans la lame basale consolide la cellule musculaire et lui permet de résister aux déformations dues à la contraction.

Dans le cas de la myopathie de Duchenne, la dystrophine est totalement absente à cause d'une forme mutée du gène de cette protéine. Chez ces malades n'ayant pas de dystrophine, la membrane, qui n'est plus renforcée par son cytosquelette cortical, est plus aisément endommagée par les contractions musculaires répétées. L'atrophie musculaire inexorable est liée à cette nécrose cellulaire progressive.

F. Protéines de coupure

Elles découpent le microfilament en petits fragments ce qui fait passer le cytoplasme de la phase "Gel" à une phase "Sol" (liquide).

La gelsoline présente une activité potentielle de fragmentation. Activée par le calcium la gelsoline se fixe au MF et induit un changement de conformation et une fragilisation de l'actine F. Cela conduit à la rupture du filament et à la génération d'une nouvelle extrémité (+) et d'une nouvelle extrémité (-). La gelsoline coiffe alors l'extrémité (+) du filament, tandis que l'extrémité (-) qui reste libre se dépolymérise.

L'ADF/Cofiline (ADF : Actin Depolymerizing Factor), se lie préférentiellement à l'extrémité riche en actine-ADP et favorise le relargage du Pi, ce qui entraîne la fragmentation du MF.

4.4.2. Structures contractiles formées par les microfilaments

Les microfilaments sont surtout connus pour leur rôle dans la contraction musculaire. Dans la cellule musculaire striée, des milliers de MF sont disposés parallèlement les uns aux autres, sous forme de faisceaux parallèles contractiles lâches, formant ainsi des unités contractiles appelées sarcomères.

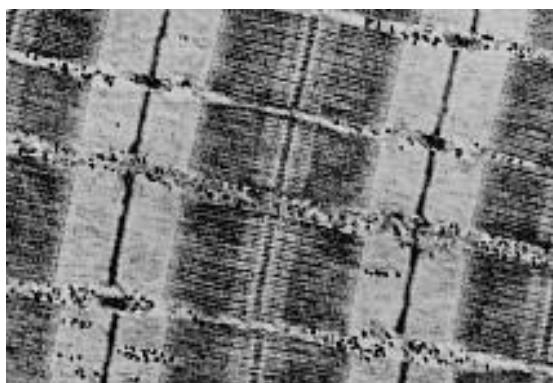


Figure 37 : Coupe longitudinale d'une myofibrille dans une fibre musculaire striée. Chaque unité répétée, comprise entre deux bandes sombres fines (stries Z), représente un sarcomère (2,5 μm de long). Les filaments épais centraux sont constitués de faisceaux bipolaires de myosine ; ils sont encadrés par deux zones plus claires constituées de fins filaments parallèles : les microfilaments d'actine. Muscle gastrocnémien d'Amphibien ; microscopie électronique ; x 40 000. (Cliché J. André, Labo. BC4, Orsay cités par Callen 2005).

Le sarcomère présente une structure stable et symétrique : deux ensembles de MF parallèles d'actine s'intercalent dans un ensemble de filaments plus épais composés de molécules d'une protéine motrice appelée myosine. Les MF d'actine sont maintenus à équidistance les uns des autres par des protéines de liaisons de type alpha actinine. Au niveau du sarcomère, les MF

d'actine sont renforcés longitudinalement par des molécules de type tropomyosine (protéine de stabilisation) elle protège et consolide les MF en formant un manchon autour d'eux.

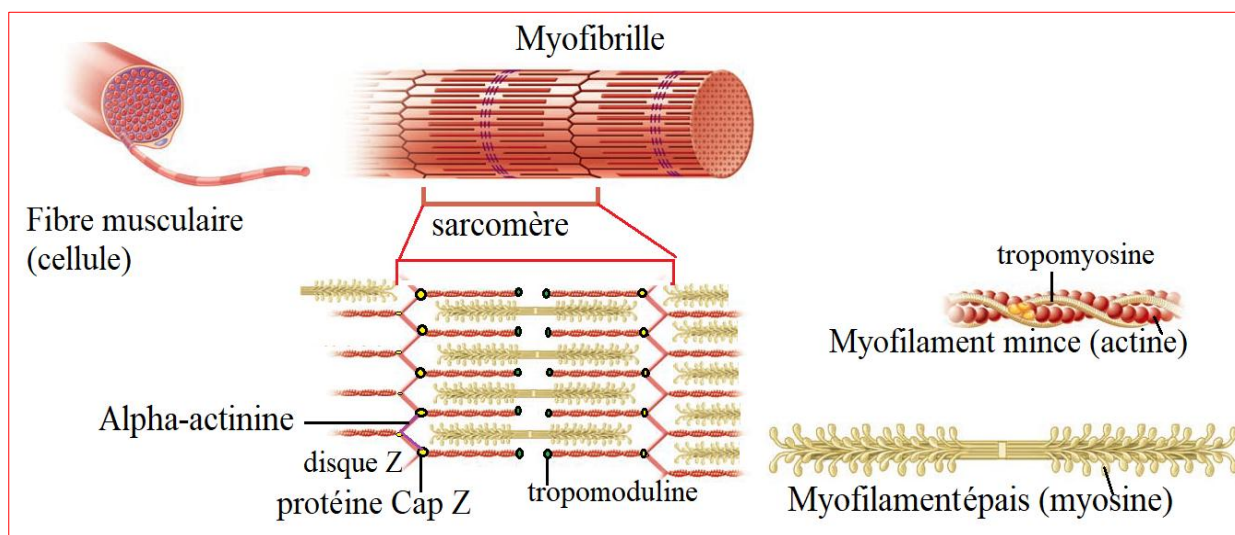


Figure 38 : Structure du sarcomère. Chaque fibre musculaire (myocyte) est constituée de plusieurs myofibrilles, qui eux aussi sont formés de plusieurs unités de myofilaments fins et épais. La disposition parallèle serrée des myofilaments, produit un motif strié. Chaque unité répétitive de ces motifs constitue un sarcomère (Brooker et al., 2011).

La myosine est une protéine motrice qui s'associe au microfilament d'actine pour constituer des structures contractiles. Deux types de myosine sont à retenir :

- **Myosine type I :** appelée aussi minimyosine. Elle est retrouvée dans tous les types cellulaires, elle est courte et monomérique c'est-à-dire qu'elle est formée d'une courte queue fibreuse munie d'une seule tête globulaire. Cette protéine motrice diffère de la myosine musculaire par la forme de sa queue qui est beaucoup plus courte, et qui est capable de se lier aussi bien à l'actine qu'à des membranes cellulaires. Les molécules de la minimyosine arrimées au réticulum endoplasmique se déplacent ainsi unidirectionnellement sur des rails d'actine par un glissement (consommant de l'ATP). Le déplacement de l'ensemble du réseau membranaire entraîne passivement tous les autres organites, qui y sont associés, ou simplement piégés. Dans un autre cas, la myosine monomérique courte, permet le transport des vésicules le long des microfilaments à proximité de la membrane cellulaire. Sa tête globulaire s'attache aux microfilaments et hydrolyse de l'ATP ce qui permet de mobiliser la myosine. Là la queue interagit avec la vésicule et la myosine I va marcher le long des microfilaments, la vésicule sera alors propulsée vers l'extrémité +. Ces deux modèles montrent donc le rôle du cytosquelette en tant que moteur moléculaire permettant le déplacement des vésicules et des organites.

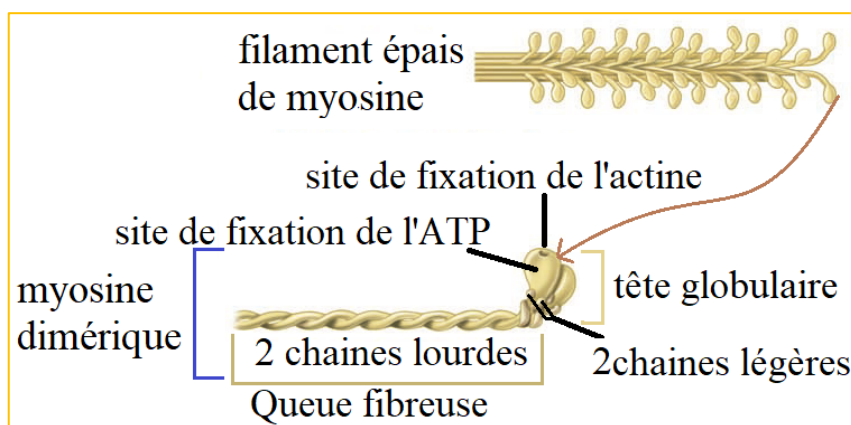


Figure 39 : Structure de la myosine de classe II. Les filaments épais sont constitués de myosine, une protéine dimérique, composée de deux chaînes lourdes enroulées l'une autour de l'autre et associée chacune à une chaîne légère. L'extrémité d'une molécule de myosine dimérique, est formée par deux têtes globulaires qui contiennent chacune un site de liaison à l'actine et un site de liaison l'ATP. (Brooker et al., 2011).

- Myosine type II : elle a une forme dimérique. Elle est formée d'une longue queue fibreuse munie de deux têtes globulaires contenant chacune une ATPase. Les molécules de myosine musculaire type II sont associées par centaines en faisceaux bipolaires épais situés au milieu des sarcomères (figure 39). La contraction d'une cellule musculaire résulte, du mouvement, le long des microfilaments d'actine des filaments de myosine, lequel a pour effet de raccourcir la cellule.

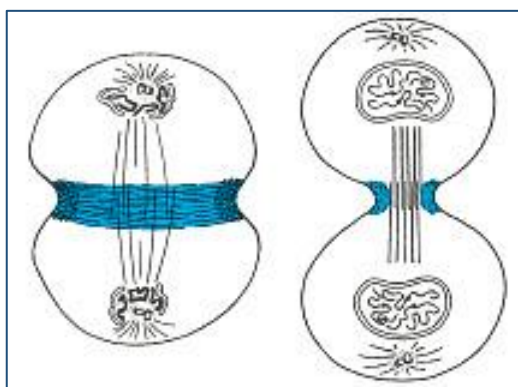


Figure 40 : La cytodierèse des cellules animales : Formation du sillon de division, impliquant un anneau contractile (coloré en bleu sur cette illustration) d'actine et de myosine (Callen 2005).

Dans d'autres types de cellules non musculaires, des microfilaments s'associent à la myosine II : ils reproduisent en miniature, mais de façon plus rudimentaire, leur disposition dans les cellules musculaires. Ces agrégats d'actine et de myosine, sont à l'origine des contractions cellulaires localisées. Un exemple typique de contraction d'actine-myosine II dans les cellules non musculaires est représenté par le processus de cytodierèse (cytokinèse) (Figure 40). A la fin de la mitose, un anneau contractile, constitué d'actine et de myosine II s'assemble sous la membrane

plasmique. A la fin de la télophase, cet anneau comprime le centre de la cellule en division pour la séparer en deux cellules filles.

Les MF corticaux : s'organisent en un réseau fibreux de mailles, de forme tridimensionnelle, situé sous la membrane plasmique à laquelle il est fixé par de nombreux points d'ancrage (la spectrine). Ce réseau cortical appelé cortex cellulaire est une structure stable qui aide la cellule à maintenir sa forme. Et donne à la couche périphérique du cytoplasme sa consistance gélatineuse (*gel*), tandis que l'intérieur du cytoplasme est plus fluide (*sol*).

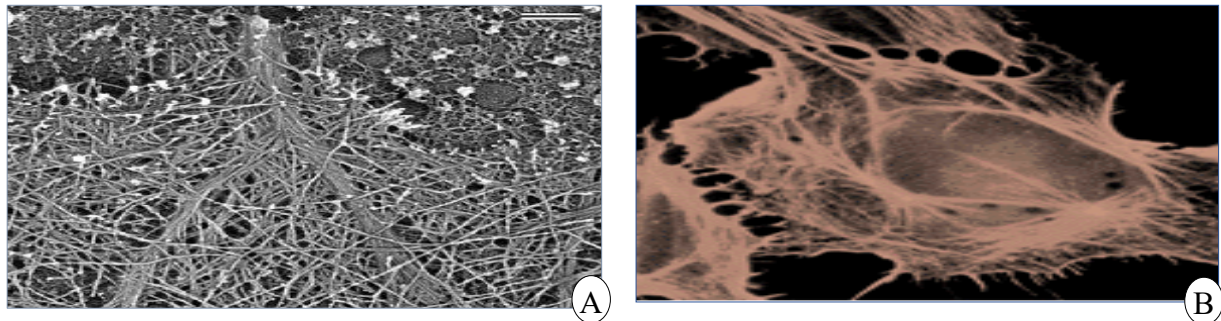


Figure 41 : Organisation des microfilaments au niveau du cortex cellulaire. (A) Cliché de microscopie électronique permettant de visualiser l'organisation des filaments d'actine au bord avant d'une cellule motile. (B) Microscopie électronique à fluorescence permettant de visualiser l'organisation des micro-filaments d'actine du cortex cellulaire (cellules animales) (Alberts et al., 2007).

4.4.3. Exemples de toxines inhibant la polymérisation ou la dépolymérisation des microfilaments

Exemples de substances d'origine fongique :

- Cytochalasine : se fixe à l'extrémité (+) des MF, empêche la polymérisation et altère l'organisation du réseau des MF.
- Phalloïdine : Molécule produite par un champignon : l'Amanite phalloïde (champignon mortel). Elle coiffe l'extrémité (-) des MF empêchant leur dépolymérisation et causant ainsi leur accumulation dans le cytosol et donc un dysfonctionnement cellulaire.

4.5 MICROTUBULES

Les microtubules (MT) sont des polymères polarisés de protéines globulaires appelées tubuline α et tubuline β . Ils ont la forme de tube creux de 24nm de diamètre dont la longueur va de 200nm à 25 μ m. Cette forme en tube est constituée de 13 protofilaments de tubuline. Chaque protofilament est formé par la polymérisation d'hétérodimères des protéines tubuline α et tubuline β . Les protofilaments s'associent avec décalage et se disposent côte à côte au tour d'un cœur central creux donnant à la structure la forme tubulaire caractéristique.

Chaque molécule de tubuline est un dimère constitué d'une sous-unité de tubuline α et d'une autre de tubuline β . la tubuline α lie en permanence un GTP (GTP non échangeable), tandis que la tubuline β , dotée d'activité GTPase, lie un GTP qu'elle peut l'hydrolyser en GDP selon l'état du microtubule. Les microtubules s'allongent par l'ajout d'hétéro-dimères de tubuline surtout à l'extrémité +. La polymérisation des MT nécessite : la présence de Mg^{2+} et de GTP.

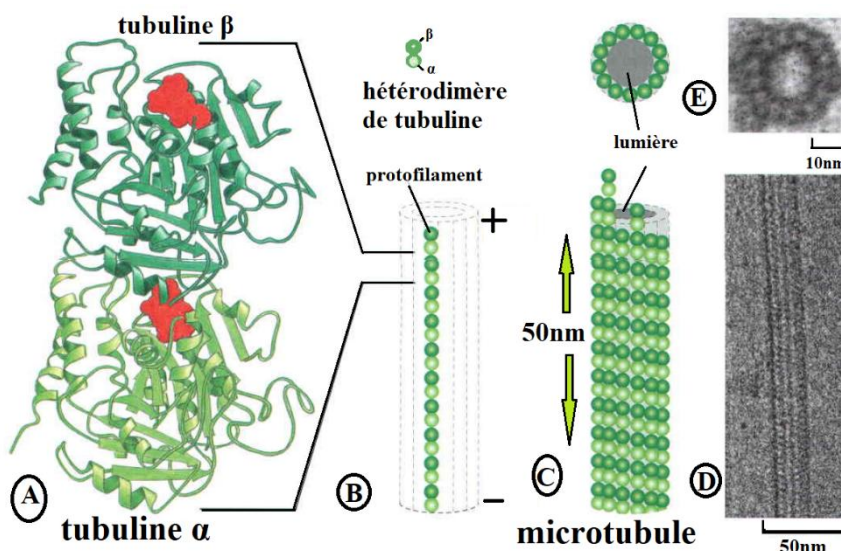


Figure 42 : Structure d'un microtubule et de ses sous-unités. (A) la sous-unité de chaque proto filament est un hétérodimère de tubuline formé par les monomères de tubulines α et β . La molécule de GTP est colorée en rouge ; (B) Un hétérodimère de tubuline α - β et un protofilament, sont représentés schématiquement ; (C) Le microtubule est un tube creux rigide formé de 13 protofilaments alignés en parallèle ; (D) Un court segment d'un microtubule observé au microscope électronique ; (E) Micrographie électronique d'une coupe transversale d'un microtubule montrant un anneau de 13 protofilaments distincts (Alberts et al., 2007) .

4.5.1. Organisation des MT

Les microtubules (MT) constituent un réseau ayant pour centre organisateur, le centrosome d'où ils irradient. Ils s'organisent grâce à ce centre appelé d'ailleurs, Centre Organisateur de Microtubules = M-TOC «Micro-Tubules Organizing Center », centre de nucléation ou centre cellulaire.

Les microtubules placent leur extrémités (-) au centre de la cellule, à proximité du centrosome et l'extrémité (+) vers la périphérie c'est-à-dire vers la membrane cytoplasmique.

4.5.2. Structure du centrosome

La plupart des cellules animales possèdent un centrosome, une zone près du noyau où se forment les microtubules.

Le centrosome ou diplosome est une masse finement granulaire située près du noyau. Le centrosome est composé de deux centrioles, plus le matériel pericentriolaire. Les deux centrioles dans une cellule qui n'est pas en division sont disposés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre, solidarisés par des liens protéiques.

Le centriole correspond à un petit cylindre d'un diamètre d'environ 250 nm (0,25 μm) et d'une longueur de 0.5 μm . Chacun comporte 9 triplets de microtubules et un doublet central. Les triplets périphériques se lient en rayon de roue reliant le doublet central.

Remarque : Les microtubules sont présents chez toutes les cellules Eucaryotes à l'exception des Érythrocytes qui sont des cellules anucléées et dépourvues de centriole (le MTOC).

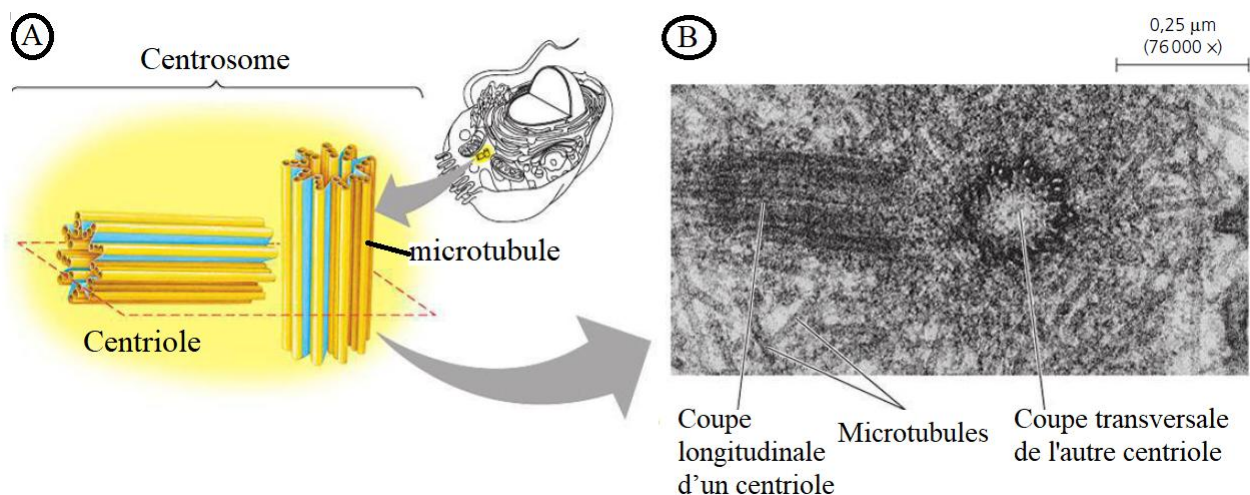


Figure 43 : Le centrosome et sa paire de centrioles. (A) Le centrosome contient une paire de centrioles, disposés à angle droit l'un par rapport à l'autre et se composant chacun de neuf triplets de microtubules. Les parties bleues du schéma représentent les protéines (autres que la tubuline), qui relient les triplets. (B) Microscopie électronique à transmission d'une coupe transversale et longitudinale des centrioles d'un centrosome (Reece et al. 2012).

4.5. 3. Moteurs moléculaires associés aux microtubules

Ils sont représentés par des protéines motrices appartenant à la famille des kinésines ou à celle des dynéines. Ces protéines sont capables de produire une force responsable des mouvements orientés, de molécules, de vésicules ou d'organites le long des microtubules.

- Les kinésines, transportent les organites vers les extrémités «+» (vers la périphérie) (Transport Antérograde)
- Les dynéines les transportent vers les extrémités «-» (Transport Rétrograde).

Ces protéines sont des hétéropolymères organisés en trois domaines :

- Deux têtes identiques se fixant sur les microtubules et possédant une activité ATPasique ; (L'hydrolyse de l'ATP est nécessaire au déplacement des protéines motrices le long des MT).
- Une tige à l'extrémité de laquelle se fixe le matériel à transporter
- Un complexe protéique adaptateur. Exemple : le complexe protéique de la dynactine dans le cas de la dynéine.

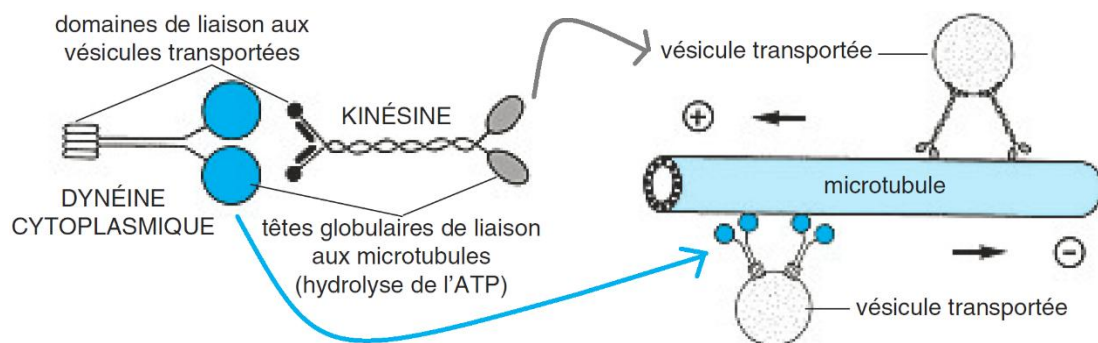


Figure 44 : Moteurs moléculaires associés aux microtubules. La kinésine et la dynéine cytoplasmique assurent le transport de vésicules dans deux directions opposées le long d'un microtubule. Ces molécules sont formées de deux têtes globulaires, qui glissent à la surface de ce dernier, et de queues plus ou moins longues, qui fixent des vésicules spécifiques (Callen 2005).

4.5.3. Rôle des microtubules

A. Formation du fuseau mitotique

Les MT sont, à chaque division cellulaire, organisés en fuseau bipolaire appelé le fuseau mitotique. Le fuseau mitotique est indispensable à l'organisation des chromosomes durant les différentes phases de la division cellulaire

B. Facilitation des mouvements cellulaires

Grâce aux flagelles et aux cils qui sont des structures stables construites à partir des microtubules. Les cils ont une structure similaire à celle des flagelles mais sont plus courts (longueur : cils= 5-10 μm . flagelle=jusqu'à 200 μm).

Un flagelle d'Eucaryote provient directement d'un corpuscule basal qui est formé de neuf triplets de microtubules connectés par de courts segments protéiques. L'axonème flagellaire ou ciliaire possède deux microtubules en son centre, connectés par des bras radiaires à une couronne de neuf paires de microtubules porteurs de bras de dynéine. Les paires adjacentes de MT sont reliées par une protéine de liaison appelée la nexine mais aussi par la dynéine (figure 45).

Des dynéines forment des bras internes et des bras externes. La tige de chaque bras de dynéine part du MT complet (A) d'un doublet pour que le domaine tête-Dynéine entre plus ou

moins en contact avec le MT incomplet du doublet voisin. Les têtes de la dynéine portées par le MT incomplet du doublet voisin, hydrolysent l'ATP et se déplacent vers l'extrémité négative de ce MT, cela permet le glissement des doublets de MT les uns par rapport aux autres. Noter que le bout + des MT d'un axonème est situé à son extrémité distale, alors que l'extrémité négative est située dans le corpuscule basal.

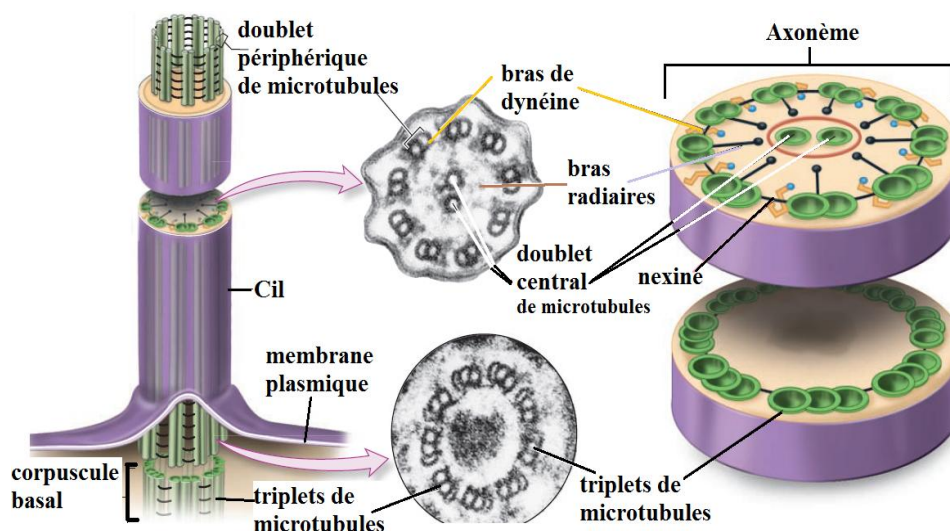


Figure 45 : Structure d'un cil mobile d'une cellule eucaryote. La coupe transversale au niveau de l'axonème montre la disposition de type « 9x2 MT+2 » des microtubules. Des protéines (ponts de nexine et ponts radiaires) relient les doublets périphériques entre eux et aux deux microtubules centraux. Les doublets portent aussi des protéines motrices, les dynéines. Les neuf doublets périphériques de l'axonème s'enfoncent dans le corpuscule basal, où chacun d'eux s'unit à un microtubule ; un cylindre de neuf triplets est ainsi formé. Chaque triplet est relié au triplet suivant par des protéines autres que la dynéine. Il s'agit là d'une disposition de types « 9x3MT+0 » : les deux microtubules centraux sont absents, La micrographie électronique à balayage représente une coupe transversale au niveau du cil d'un protiste, *Tetrahymena themophila* (Brooker et al., 2011).

La présence de la protéine d'interconnexion appelée nexine assure que ce glissement soit converti en courbure et induit l'incurvation caractéristique de l'axonème. En cas d'absence de protéines de liaison « la nexine », les deux « têtes » de dynéine d'un doublet (alimentées par de l'ATP) tireraient et relâcheraient en alternance le doublet adjacent, et ce mouvement de marche pousserait ce doublet vers le haut. Au lieu de fléchir, les doublets glisseraient l'un par rapport à l'autre (figure 46). L'absence de dynéine dans les flagelles et les cils les rend immobiles, cela conduit à une stérilité masculine et à des infections pulmonaires fréquentes.

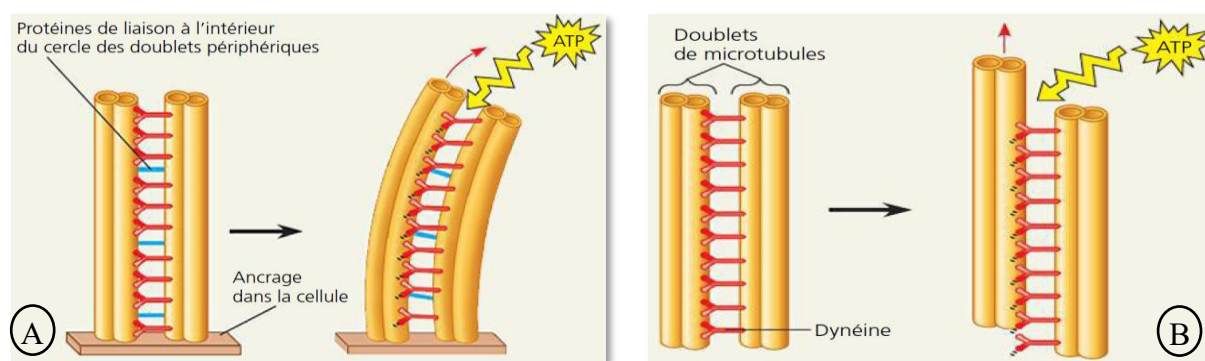


Figure 46 : rôle de la dynéine et de la nexine dans le mouvement des cils et des flagelles. (A) Courbure de l'axonème en cas de présence de dynéine et de nexine ainsi que d'autres points fixes d'ancrage. (B) Mouvement des doublets de MT en cas d'absence de « nexine » on remarque un mouvement de glissement avec absence de courbure de MT (Reece et al. 2012).

C. Transport directionnel des matériaux au sein de la cellule

Dans la cellule, les déplacements polarisés se produisent le long des microtubules grâce à l'action de moteurs moléculaires spécifiques qui permettent d'acheminer divers composants moléculaires (organites, vésicules....) vers la périphérie ou le centre de la cellule (Figure 44).

4.5.4. Exemples de toxines inhibant la polymérisation ou la dépolymérisation des microfilaments

Il s'agit de substances d'origine exogène, (poisons) qui interfèrent avec la dynamique des MT.

Exemples :

- La colchicine (alcaloïde extrait de plantes du Genre *Colchicum* : la colchique) inhibiteur de l'assemblage des microtubules. Elle bloque donc la mitose et est utilisée comme antimitotique (substance anticancéreuse).
- Le Nocodazole inhibe également l'assemblage des Microtubules utilisée aussi comme antimitotique.

4.6 LES FILAMENTS INTERMÉDIAIRES

Les filaments intermédiaires (FI) doivent leur nom à leur diamètre, qui va de 8 à 12 nm ; il est donc supérieur à celui des microfilaments, mais inférieur à celui des microtubules (voir le tableau 04). Ils constituent des réseaux fibreux rigides autour de l'enveloppe nucléaire et s'étendant jusqu'à la membrane plasmique.

Les FI, capables de résister à la tension (comme les microfilaments), sont des éléments constitutifs du cytosquelette des Eucaryotes multicellulaires. Ils sont les composants les plus stables du cytosquelette des cellules animales car ils persistent sous forme de fibres intactes, même après la mort.

4.6.1. Classes des sous unités de filaments intermédiaires

Chaque type de filament intermédiaire est formé par l'assemblage de sous-unités protéiques, filamenteuses et résistantes mais hétérogènes, c'est-à-dire, qu'à l'opposé, des microtubules et des microfilaments, qui sont constitués de sous unités homogènes, de même diamètre et de même composition dans toutes les cellules eucaryotes, le FI sont formés par l'assemblage de sous unités protéiques appartenant à différentes familles de protéines (Tableau 5).

Tableau 5 : Classes des sous unités protéiques constituant les filaments intermédiaires (Callen, 2005).

Filaments intermédiaires	Localisation	Rôle
Lamines	Lamina localisé sous la membrane interne du noyau	Architecture du noyau
Vimentine	Cellules d'origine endodermique (un des feuilletts embryonnaires,)	Théoriquement elles disparaissent à l'âge adulte
Desmines	Cellules musculaires	
Cytokératines	Les cellules épithéliales : Kératine de type acide, kératine de type basique	Résistance et imperméabilité
Neurofilaments	Cellules nerveuses : neurone	Armature axones et dendrites

4.6.2. Assemblage des filaments intermédiaires

Les monomères de protéines filamenteuses sont entrecroisés selon un système d'insertion particulier :

- 1) Assemblage des monomères de protéines filamenteuses, ces monomères ont une extrémité N et C terminales, les monomères vont s'assembler pour former des dimères parallèles (les extrémités N et C terminales vont se correspondre).
- 2) Les dimères eux vont s'assembler en tétra-mère de manière anti-parallèle.
- 3) Les tétra-mères vont s'assembler bout à bout avec l'extrémité C terminale face à l'extrémité N terminale pour former un protofilament
- 4) Les protofilaments vont ensuite s'assembler latéralement, par paire, pour former une protofibrille.
- 5) 04 protofibrilles s'enroulent en corde pour former un filament intermédiaire de 10nm d'épaisseur.

Ce système d'assemblage particulier des sous unités fibreuses aboutit à une absence de polarisation dans les filaments intermédiaires.

Remarque :

Les filaments intermédiaires forment des édifices stables, chimiquement et structuralement, car ils sont formés de structures filamenteuses au départ, associées les unes aux autres par une multitude de liaisons faibles. Bien qu'ils soient issus d'un phénomène d'autoassemblage, ils sont donc très difficiles à se désorganiser. Leur demi-vie moyenne est très élevée, contrairement aux deux autres filaments du cytosquelette.

4.6.3. Rôle des filaments intermédiaires

On trouve les filaments intermédiaires, en abondance dans pratiquement tous les types cellulaires : cellules épithéliales, cellules nerveuses, ou cellules musculaires.

Ils sont particulièrement robustes et jouent un rôle important dans le maintien de la forme de la cellule et dans l'ancrage de certains organites. Mais contrairement aux MF et aux MT les FI ne contribuent pas à la motilité cellulaire.

Les neurofilaments des fibres nerveuses renforcent la structure des axones et des dendrites et leur donnent une forme caractéristique.

Les lamines forment la lamina nucléaire sous la membrane interne du noyau. La lamina assure la fixation du noyau et joue un rôle important dans le démantèlement de la membrane nucléaire lors de la division cellulaire.

Dans les cellules épithéliales, les FI fournissent un support mécanique à la membrane plasmique, car ils entrent dans la formation de nombreuses structures de jonctions cellulaires : Desmosome et hémidesmosome.

5. RELATION MATRICE EXTRACELLULAIRE –CYTOSQUELETTE**5.1 LES JONCTIONS D'ANCRAGE**

Les jonctions d'ancrage permettent aux tissus de résister aux tensions mécaniques car ce sont des structures reliant les filaments du cytosquelette d'une cellule à une autre et d'une cellule à la matrice extracellulaire.

Elles sont largement réparties dans les tissus animaux et plus abondantes dans les tissus soumis à d'importantes contraintes mécaniques (cœur, muscles, poumons et épiderme). Les jonctions d'ancrage sont composées de deux classes de protéines :

- Les protéines d'ancrage intracellulaires qui forment une plaque cytosolique sous la membrane plasmique et qui relient les jonctions aux filaments du cytosquelette (microfilaments d'actine ou filaments intermédiaires) ;

Chapitre III _____ Matrice extracellulaire et cytosquelette

- Les protéines d'adhésion transmembranaires qui ont un domaine cytosolique qui interagit avec les protéines d'ancrage et un domaine extracellulaire qui interagit soit avec des molécules de la matrice extracellulaire, soit avec des protéines transmembranaires d'adhésion situées sur d'autres cellules.

On peut séparer les jonctions d'ancrage en deux groupes :

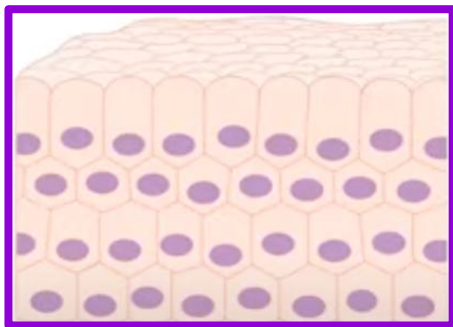
- Les jonctions adhérentes et les desmosomes, responsables d'adhésion cellule/cellule. Leurs protéines d'adhésion transmembranaires sont les cadhérines ;
- Les contacts focaux et les hémidesmosomes, responsables d'adhésion cellule/matrice extracellulaire. Leurs protéines d'adhésion transmembranaires sont les intégrines.

Remarque :

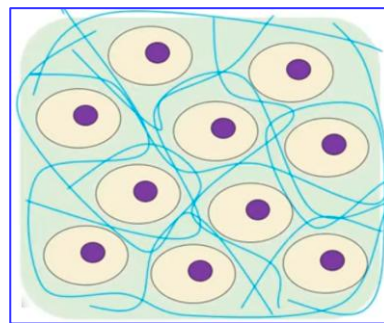
- Les jonctions adhérentes et les contacts focaux servent de site de connexion aux microfilaments d'actine.
- Les desmosomes et les hémidesmosomes servent de site de connexion aux filaments intermédiaires

QUESTION ANALYTIQUE

Si nous essayons de dessiner une coupe théorique d'un tissu cellulaire, laquelle des deux figures suivantes est la plus correcte ?



Modèle de cellules compactées



Modèle de cellules étalées

CHAPITRE IV : LA MEMBRANE PLASMIQUE

1. PREREQUIS

Savoir que :

- La cellule est la plus petite forme de vie.
- La cellule est entourée par une membrane lipidique qui est peu perméable aux solutés et aux macromolécules.
- Comme tous les êtres vivants, la cellule a besoin d'énergie et elle produit des déchets.

2. OBJECTIFS

- Connaître les composants de la membrane plasmique et leurs dérivés.
- Connaître l'agencement de ces composants au travers de la structure de la membrane plasmique.
- Connaître les différents lipides membranaires et leur composition.
- Savoir distinguer les parties hydrophiles et hydrophobes afin d'en déduire la disposition au sein de la membrane plasmique.
- Connaître les critères de la fluidité membranaire.
- Connaître la notion d'asymétrie membranaire.
- Connaître les radeaux lipidiques et leurs particularités structurales.
- Connaître la sélectivité de la membrane plasmique ainsi que des exemples de molécules capables ou non de la franchir.
- Comprendre pourquoi les cellules ont-elles besoin des protéines de transport membranaire
- Connaître les différents systèmes de transport d'ions et des différentes molécules et macromolécules ainsi mis en place.
- Savoir distinguer transport actif primaire et transport actif secondaire.
- Savoir distinguer symport et antiport.
- Répondre aux questions :
 - Pourquoi dit-on que la membrane cellulaire est une membrane à perméabilité sélective ?
 - Comment la cellule absorbe-t-elle des nutriments et comment se débarrasse-t-elle des déchets ?
 - Pourquoi la membrane cellulaire est importante pour la santé de la cellule ?

3. STRUCTURE DE LA MEMBRANE PLASMIQUE

La membrane plasmique, ou cytomembrane, ou encore plasmalemm, est une enveloppe biologique continue, qui sépare le milieu intracellulaire et le milieu extracellulaire. La membrane cytoplasmique sépare mais n'isole pas la cellule de son environnement, car elle interagit localement avec la matrice extracellulaire. Cette enveloppe donne à la cellule sa forme.

3.1. CARACTERISTIQUES GENERALES

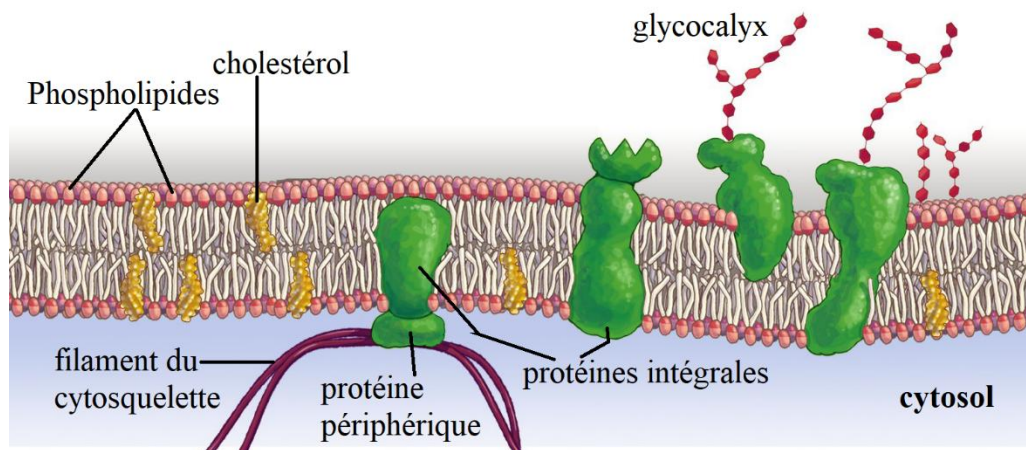


Figure 47 : Structure de la membrane plasmique (Modèle de la mosaïque fluide de Singer et Nicholson) (Krogh, 2005).

La membrane cellulaire est caractérisée principalement par :

- Sa structure fluide bidimensionnelle : les lipides (essentiellement des phosphoglycérolipides) sont organisés en bicouche.
- Son organisation en mosaïque : des macromolécules de nature protéique et/ou glycoprotéique sont insérés dans la bicouche
- Son aspect asymétrique : Au feuillet externe est accroché un revêtement fibrillaire appelé cell-coat (manteau ou couverture cellulaire) ou glycocalyx. Il s'agit d'un film de matériel essentiellement glycoprotéique dont les fibrilles sont disposées perpendiculairement au plan de la membrane. Alors que le feuillet interne porte du côté hyaloplasmique un feutrage micro filamentaire qui unit la membrane plasmique au cytosquelette.
- Sa composition chimique qui n'est pas homogène : les phosphatidylserine sont localisés au niveau du feuillet interne de la membrane, alors que les glycolipides ne sont retrouvés qu'au niveau du feuillet externe. D'autre part, les phosphatidylethanolamine sont majoritaires (90%) au niveau du feuillet interne tandis que les phosphatidylcholines le sont au niveau du feuillet externe.

- Sa continuité transitoire avec le système endomembranaire (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi et lysosomes).

Au MO (figure 48 A) : la cytomembrane prend la forme d'un cadre cellulaire extrêmement mince : environ 50 à 100 Angströms. Ce cadre présente des replis associés aux structures intracellulaires.

Au ME (figure 48 B) : À faible grossissement, la membrane présente l'aspect d'une ligne sombre. À fort grossissement, en coupe transversale, les images montrent une structure typique dite trilaminaire, comprenant :

- 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.
- Un feuillet clair (osmiophobe) de 30 à 40 Å (3 nm).

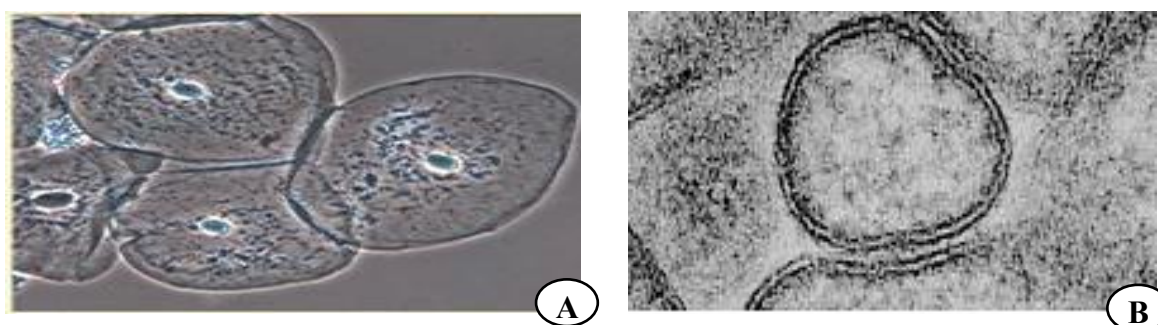


Figure 48 : Clichés de microscopie de la membrane plasmique. **(A)** Cliché de microscopie optique à contraste de phase montrant des cellules épithéliales de la muqueuse buccale (joue humaine) (x 300). **(B)** Clichés de microscopie électronique montrant la structure trilaminaire caractéristique des membranes biologiques. Membranes de microvillosités de cellules stomacales. L'épaisseur de ces membranes est de 7 à 8 nm ; fixation par le KMnO₄ (x 220 000) (Callen, 2005).

3.2. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA CYTOMEMBRANE

Les membranes cellulaires se composent principalement de lipides et de protéines et, accessoirement, de glucides. Selon le modèle de la mosaïque fluide (figure 47), les lipides (essentiellement des phosphoglycérolipides) sont organisés en bicouche et la cytomembrane présente ainsi, une structure fluide bidimensionnelle, constituée d'une « mosaïque » de protéines diverses incorporées à cette bicouche ou fixées sur elle. Les glucides membranaires existent toujours sous la forme de résidus associés à des protéines (glycoprotéines) ou à des lipides (glycolipides) et orientés vers l'extérieur de la cellule.

3.2.1 Les lipides membranaires

Ils représentent en moyenne, 40% du poids sec de la membrane plasmique. Les lipides confèrent à la membrane son squelette et sa structure caractéristique, ils ont la propriété de s'associer par des liaisons hydrophobes pour former par auto-assemblage une double couche lipidique. Les lipides ont en moyenne une masse molaire beaucoup moins importante que les protéines. Un rapport de masse protéines/lipides égale à 1 correspond environ à une cinquantaine de molécules de lipides pour une molécule protéique. Ainsi suivant les types de membranes, on compte de 10 à 100 molécules de lipides pour une molécule de protéine. Les lipides forment donc l'immense majorité des molécules constitutives des membranes.

On distingue trois catégories principales de lipides membranaires : les phospholipides, les glycolipides et les stérols (cholestérol).

A. Les phospholipides

Ce sont des molécules complexes contenant, outre C, H et O, du phosphore et éventuellement de l'azote. L'alcool, qui est lié à un ou deux acides gras, est soit le glycérol ($\text{HOH}_2\text{C}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$), soit un alcool aminé à chaîne grasse (chaîne hydrocarbonée) : la sphingosine ($\text{C}_{18}\text{H}_{37}\text{O}_2\text{N}$). Le dernier groupement hydroxyle de la sphingosine ou du glycérol est lié à un groupement phosphate porteur de charges négatives. On parle donc, selon le cas, de glycérophospholipide ou de sphingophospholipide.

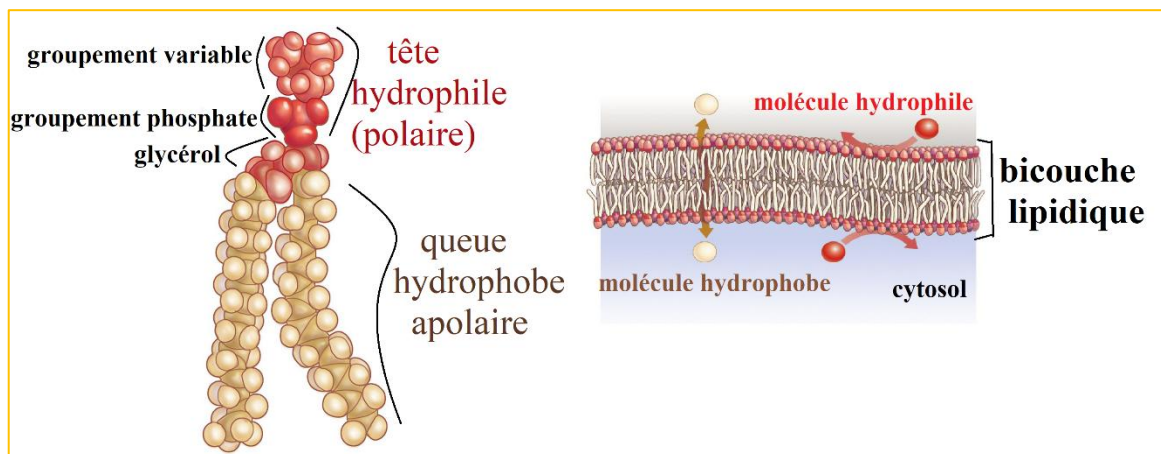


Figure 49 : représentation schématique d'une molécule de phospholipide. (Krogh, 2005).

Parmi toutes les classes des lipides membranaires les phosphoglycérolipides sont de loin les plus abondants. Un phosphoglycérolipide (figure 49) est un lipide composé d'une molécule de glycérol unie à deux acides gras et à un groupement phosphate. Le glycérol et le phosphate forment la «tête» hydrophile (polaire), et les chaînes hydrocarbonées des acides gras, les « queues » hydrophobes. La diversité des phosphoglycérolipides vient de différences dans les deux acides gras de la queue et dans les groupements liés au phosphate de la tête. On peut citer par exemple : le phosphatidyl-glycérol appelé diphosphatidyl-glycérol ou cardiolipide, qui est caractéristique de

la membrane interne des mitochondries, le phosphatidyl- inositol, la phosphatidyléthanolamine, la phosphatidylcholine (lécithine) qui est la plus connue (trouvée en abondance dans le jaune d'œuf), ou la phosphatidylsérine. La présence dans une seule molécule de zones hydrophiles (non polaires) et de zones hydrophobes fait du phosphoglycérolipide la molécule idéale pour constituer le principal composant d'une membrane.

Comparés aux glycérophospholipides, les sphingolipides ont en place du glycérol un aminoalcool complexe : la sphingosine. Cette dernière s'associe d'une part à un groupement phosphate formant ainsi la « tête » hydrophile (polaire) du sphingolipide, et d'autre part à une chaîne hydrocarbonée d'une molécule d'acide gras, qui représente la « queue » hydrophobe. Comme les glycoprotéines, les sphingolipides sont des molécules de reconnaissance (antigène de surface du système des groupes sanguins ABO, sites de fixation),

L'organisation des glycolipides rappelle celle des lipides précédents, à la différence près qu'ils ne possèdent pas d'acide phosphorique ; ils sont construits à partir de glycérol (glycéroglycolipides) ou de sphingosine (sphingoglycolipides), mais la troisième fonction alcool du premier ou la fonction alcool terminale du second sont directement estérifiées par un sucre ou un dérivé de sucre qui constituent le groupement polaire « de tête ». Chez les Bactéries ou les Végétaux, on ne trouve que des glycolipides neutres à glycérol, tandis que ceux à sphingosine sont très abondants chez les Animaux, en particulier dans les cellules nerveuses. Chez l'Homme, les sphingomyélines constituent environ 85 % de tous les sphingolipides.

B. Les stérols

Ils représentent en moyenne, 25% du poids sec de la membrane plasmique. Les stérols ne répondent pas exactement à la définition classique des lipides mais sont des molécules apparentées au plan physicochimique. En effet, les stéroïdes sont classés parmi les lipides en raison de leur faible affinité pour l'eau et non à cause de leur structure. Le Cholestérol est une molécule essentielle chez les Animaux. Il constitue le précurseur des Hormones stéroïdiennes et il est également abondant dans les membranes cellulaires (De 17% en poids des lipides dans la membrane de l'hépatocyte, à 23% dans celle des globules rouges). Le cholestérol intervient dans la fluidité et la stabilité mécanique de la membrane cytoplasmique et il est l'un des constituants des radeaux membranaires lipidiques (voir la partie de l'endocytose par vésicules recouvertes de cavéoline).

C. Glycolipides

Ils représentent en moyenne, 18% du poids sec de la membrane plasmique. Leur organisation rappelle celle des phospholipides, à la différence près qu'ils ne possèdent pas d'acide phosphorique ; ils sont construits à partir de glycérol (glycéroglycolipides) ou de sphingosine

(sphingoglycolipides), mais la troisième fonction alcool du premier ou la fonction alcool terminale du second sont directement estérifiées par un sucre ou un dérivé de sucre qui constituent le groupement polaire « de tête ». Chez les Bactéries ou les Végétaux, on ne trouve que des glycolipides neutres à glycérol, tandis que ceux à sphingosine sont très abondants chez les Animaux, en particulier dans les cellules nerveuses.

3.3. ORGANISATION EN BICOUCHE DE LA MEMBRANE

Le caractère amphiphile des lipides membranaires est à la base de leur organisation en bicouche. Tous les lipides, décrits précédemment, ont en commun, la propriété remarquable d'être bipolaires (amphiphiles ou amphipatiques). Ils présentent une queue apolaire hydrophobe (osmiphobe ou lipophile), cette partie de la molécule est la plus importante en volume et très hydrophobe, en raison de la présence des chaînes d'acides gras ou des cycles d'hydrocarbure (cas du cholestérol), tandis que l'autre pôle est hydrophile (polaire, osmiphile ou lipophobe), en raison de la présence de l'acide phosphorique et/ou des motifs hydroxyles ou glucidiques riches en groupements polaires.

3.4. FLUIDITE MEMBRANAIRE

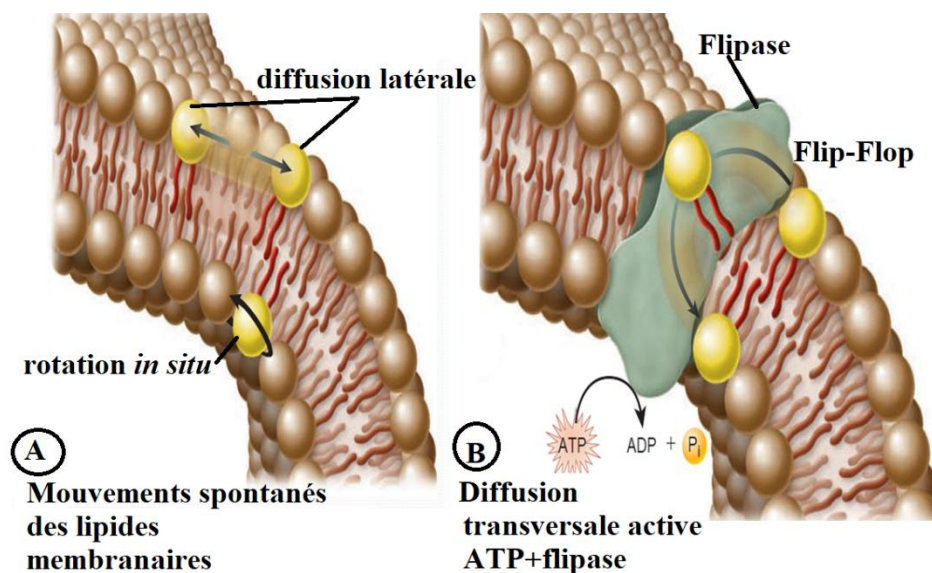


Figure 50 : Semi-fluidité de la bicouche lipidique. (A) Mouvements spontanés dans la bicouche. Les lipides peuvent pivoter (rotation sur place à 360°) et se déplacer latéralement (par exemple, de gauche à droite dans le plan de la bicouche). (B) Le basculement ne se produit pas spontanément, car le groupe polaire de la tête devrait traverser la région hydrophobe de la bicouche. L'enzyme flipase utilise alors l'ATP pour basculer les phospholipides d'un feuillet à l'autre. (Brooker 2011).

Chaque molécule lipidique peut effectuer trois types de mouvements.

- 1) Diffusion latérale : chaque molécule lipidique peut se déplacer latéralement dans le plan de chaque couche, ces mouvements sont les plus fréquents et les plus rapides. Les phospholipides changent de position 10^7 fois par seconde avec une vitesse moyenne de $2\mu\text{m}$ /seconde à 37°C .
- 2) Rotation sur place (rotation in situ) : ces mouvements sont aussi fréquents et rapides
- 3) Déplacement transversal ou diffusion en flip-flop : La molécule lipidique passe d'une couche à l'autre, il s'agit d'un mouvement plus difficile, car il nécessite le retournement complet de la molécule et exige le passage du groupe polaire de la tête à travers la région hydrophobe de la bicouche, pour cela, un apport énergétique (ATP) ainsi que la présence d'enzymes spécifiques les flipases sont indispensables. Un phosphoglycérolipide met 100 fois plus de temps à basculer que dans un mouvement latéral.

Remarque : Les protéines aussi ont un mouvement latéral, mais par ce qu'elles sont plus volumineuses, elles glissent plus lentement, certaines protéines ont un mouvement plus organisé, elles glissent le long des filaments du cytosquelette grâce aux protéines motrices cytoplasmiques elles même attachées au feuillet interne de la membrane plasmique.

3.4.1. Facteurs influençant la fluidité membranaire

Le degré de fluidité des membranes est conditionné par plusieurs facteurs intrinsèques mais aussi et surtout extrinsèques.

A. La composition en acides gras des lipides membranaires

Les acides gras sont les constituants de base des phospholipides et des glycolipides, ce sont des acides carboxyliques caractérisés par une répétition de groupements méthyliques $\text{--CH}_2\text{--}$ formant une chaîne hydrocarbonée. S'il n'y a pas de liaisons doubles entre des atomes du squelette carboné, un maximum d'atomes d'hydrogène est lié à l'acide gras. Une telle structure est dite saturée d'hydrogène et forme ainsi un acide gras saturé.

Un acide gras insaturé, par contre, comporte une ou plusieurs liaisons doubles, et il y a un atome d'hydrogène en moins sur chaque carbone engagé dans une telle liaison ; on parlera alors d'acide gras monoinsaturé (une seule liaison double) ou polyinsaturé (deux liaisons doubles ou plus). Dans les acides gras d'origine naturelle les liaisons doubles créent un angle ou un coude rigide à 30° dans la chaîne d'hydrocarbures donnant à la molécule une structure non linéaire contrairement aux acides gras saturés qui possèdent une structure linéaire.

La longueur des acides gras et la présence ou l'absence de doubles liaisons (acides gras insaturés ou saturés) conditionnent directement la conformation et la mobilité des chaînes et

influencent ainsi sur la fluidité ; plus une bicouche est riche en acides gras courts et insaturés, plus elle constitue un assemblage souple et fluide.

B. La température

La conformation des chaînes d'acides gras des lipides est très sensible à l'agitation thermique ; une élévation de la température entraîne une mobilité accrue et des déformations des chaînes d'acides gras des lipides, alors qu'à basse température ils sont étirés au maximum et en contact étroit. À mesure que les chaînes se déforment, l'épaisseur de la bicouche diminue également (figure 51). Les corps gras sont solides à basse température et liquides au-delà d'une température caractéristique, qui est fonction de leur nature chimique.

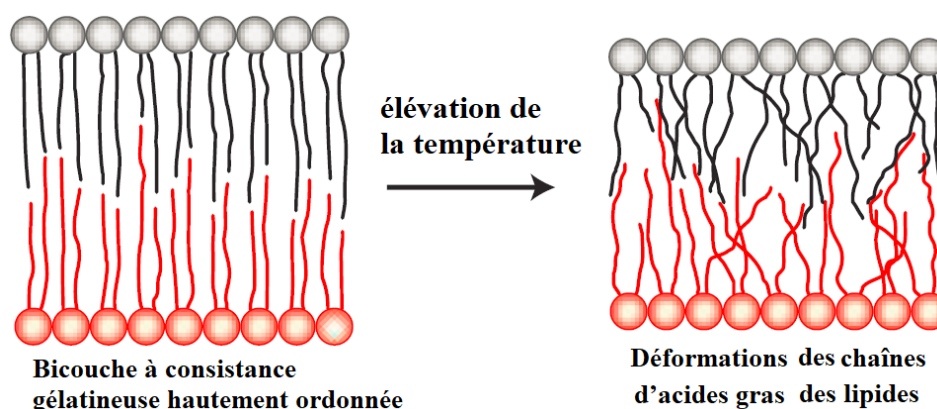


Figure 51 : Représentation de la transition gel-sol de la bicouche phospholipidique. (Amon et al., 2014)

C. La richesse en cholestérol

La proportion de cholestérol dans les bicouches, peut être élevée et atteindre parfois 25 % des lipides totaux. Par sa conformation (rigide au niveau du noyau tétracyclique, souple au niveau de la chaîne hydrophobe) et sa position par rapport aux autres lipides, le cholestérol peut moduler la fluidité liée à ces derniers.

Son effet varie en fonction de la composition globale de la membrane ; 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 insaturées, qui sont au départ moins tassées les unes sur les autres (diminution de la fluidité).

Par rapport à l'action de la température, il présente aussi un effet tampon puisqu'il tend à empêcher les acides gras d'entrer en contact étroit et d'établir des liens solides lorsque la température de transition est atteinte, et au contraire à les maintenir associés aux températures élevées.

Exemples :

Toutes les cellules, y compris les plus simples d'entre elles, les Bactéries, sont capables de réguler et d'adapter la composition lipidique de leurs membranes en fonction des conditions du milieu, afin de maintenir une fluidité optimale. Lorsque *Escherichia coli*, dont la température de croissance est normalement de 37 °C, est cultivée à 27 °C, on observe que la quantité relative des chaînes hydrocarbonées insaturées contenues dans ses lipides membranaires augmente significativement ; la fluidité est ainsi conservée.

Durant leur séjour dans l'épididyme, les spermatozoïdes subissent de nombreux remaniements dans la composition biochimique de leurs membranes plasmiques. On note notamment des changements dans la composition des lipides membranaires par l'accroissement des acides gras courts et non saturés et la diminution du rapport cholestérol / phospholipide. Ces modifications permettront à la membrane d'acquérir une grande fluidité et une élasticité élevée octroyant ainsi au spermatozoïde une résistance à la variation du volume, de plus elles représentent un facteur déterminant dans les phénomènes de capacitation et de réaction acrosomiale.

3.4.2. 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 à la fluidité, les protéines peuvent s'unir à des zones de la membrane et former des structures solides (jonctions, les récepteurs, les synapses).

3.5. LES PROTEINES MEMBRANAIRES

Elles sont des éléments essentiels de la diversité et de la spécificité des membranes. Suivant leur localisation par rapport à la double couche lipidique, on peut décrire deux types de protéines membranaires :

- 1) Protéines intégrales (transmembranaires ou intramembranaires)
- 2) Protéines périphériques

3.5.1. Les protéines intégrales (transmembranaires)

Elles traversent de part en part la membrane, et interagissent avec la partie hydrophobe de la bicouche lipidique. Elles sont donc intrinsèques, leur extraction entraîne la déstabilisation de la membrane.

Ces protéines peuvent se présenter sous forme de :

- 1) Protéine à traversée unique possédant une seule hélice ou un seul segment transmembranaire.
- 2) Protéine à traversées multiples possédant plusieurs segments (parfois plus d'une dizaine).

Les protéines intégrales possèdent

- Un domaine amino-terminal (-NH₂) extracellulaire souvent porteur de résidus glucidiques
- Une extrémité carboxyle (COOH) intracellulaire
- Un corps hydrophobe, qui interagit avec la partie hydrophobe de la bicouche lipidique.

3.5.2. Les protéines périphériques

Elles sont localisées sur la face membranaire extracellulaire, ou cytosolique. Elles peuvent être :

- Extrinsèques (superficielles) : détachées de la membrane par une simple modification de la force ionique du milieu. Elles se lient par des interactions essentiellement ioniques, soit aux groupements de tête hydrophile des phospholipides, soit aux portions hydrophiles des protéines.
- Intrinsèques ancrées à la membrane par un ancrage lipidique, leur extraction passe par la déstabilisation des interactions hydrophobes de la bicouche lipidique.

3.6 LES GLUCIDES MEMBRANAIRES

L'analyse chimique de très nombreuses membranes cellulaires montre la présence constante, bien qu'en quantité très variable, de molécules de nature glucidique. En fait, celles-ci n'existent pas à l'état libre mais sont toujours associées, de façon covalente, aux autres molécules constitutives de la membrane (protéines et lipides).

Les glycolipides : chaînes sucrées attachés aux lipides pouvant être trouvées dans les membranes, mais en faible quantité.

Les glycoprotéines et les protéoglycanes : Chaînes sucrées liées aux protéines, ils forment la plus grande partie de la masse des glucides membranaires

Pour les glycoprotéines la partie glucidique ne représente jamais plus de 50-60 % de la masse totale de la molécule.

Tandis que pour les protéoglycanes on peut obtenir des molécules de très haute masse moléculaire, dont l'essentiel est constitué de sucres ou dérivés (jusqu'à 95 %) et dont la partie axiale, proprement protéique, devient très minoritaire en masse.

4. ROLES PHYSIOLOGIQUES DE LA MEMBRANE

La membrane plasmique a deux fonctions, en apparence contradictoires. La première fonction est de former une barrière physique de séparation à perméabilité sélective entre deux milieux aqueux : milieux intra- et extracellulaire ; dont la composition chimique est fort différente. En raison de son caractère hydrophobe, la membrane plasmique s'oppose en effet à la libre diffusion des ions et des solutés hydrophiles, de même qu'à celle de la plupart des macromolécules biologiques.

La deuxième fonction est de permettre la communication entre les cellules et leur milieu environnant, grâce à des complexes macromoléculaires de nature protéique et /ou glycoprotéique insérés dans la bicouche lipidique, ces complexes interviennent dans les échanges de la cellule avec le milieu extracellulaire (transporteurs d'ions et de molécules, enzymes, récepteurs aux hormones molécules d'adhésion...). Sans cette communication la vie des cellules, et encore celle de l'organisme, serait impossible.

4.1. TRANSPORTS MEMBRANAIRES

Le fonctionnement cellulaire implique en effet une importation continue de matières premières (d'eau, d'ions ou de molécules), et une exportation des produits ou déchets du métabolisme. Pour transporter efficacement tous ces composants du milieu indispensables à la vie, les cellules possèdent des systèmes spécifiques constitués de protéines transmembranaires spécialisées. Celles-ci sont chargées du transfert d'ion, d'une molécule ou d'un groupe particulier de petites molécules apparentées. Par ailleurs, les cellules ont aussi la capacité à ingérer ou à libérer des macromolécules ou même des particules de grande taille, mais selon des mécanismes totalement différents : l'endocytose et l'exocytose.

4.1.1. La diffusion lipophile

Concerne un nombre limité de molécules hydrophobes (non polaires) capables de se dissoudre dans la bicouche lipidique des membranes plasmiques, et donc de les franchir lentement mais aisément sans l'aide de protéines membranaires: les gaz (N_2 , O_2 , CO_2), les hormones stéroïdes (apparentées au cholestérol) et les hormones thyroïdiennes, elles aussi relativement hydrophobes, les vitamines A, D, E et K (liposolubles), l'alcool, l'urée, et les anesthésiques utilisent ce mode de transport.

La diffusion simple à travers la bicouche lipidique est un processus non sélectif puisque toute molécule qui se dissout dans la membrane plasmique (ou toute membrane biologique) est capable de la traverser et de s'équilibrer entre le milieu extracellulaire et intracellulaire.

Toutefois, ce mécanisme non spécifique est relativement lent puisque la partie interne, hydrophobe, de la membrane empêche les ions et les molécules polaires, qui sont hydrophiles, de passer directement à travers la membrane. Les molécules polaires comme le glucose et d'autres sucres ne traversent que très lentement la bicouche phospholipidique ; même l'eau ne franchit pas facilement la bicouche.

Un certain passage, toujours marginal, est toutefois possible en raison de la très petite taille de ces molécules, malgré leur polarité. L'eau arrive alors à se faufiler lentement entre les phosphoglycérolipides d'une membrane très fluide (riche en acides gras courts ou insaturés et possédant peu de cholestérol). Enfin avec leur revêtement aqueux, les ions et les molécules chargées (certains acides aminés, par exemple) ont encore plus de mal à franchir la partie interne, hydrophobe.

Les principaux facteurs régulant la vitesse de diffusion des molécules à travers la bicouche lipidique sont les suivants :

1. La solubilité dans les lipides : le passage des substances liposolubles est plus facile à travers la bicouche lipidique de la membrane. La liposolubilité est mesurée par le coefficient de partition huile/eau. En général, à liposolubilité égale, les petites molécules passent plus facilement que les grandes molécules
2. Le poids moléculaire : s'il est élevé la vitesse de diffusion est lente.
3. La charge : Les petites molécules non chargées traversent très rapidement la membrane cellulaire
4. La forme moléculaire : les molécules globulaires à structure symétrique diffusent plus rapidement

La molécule doit donc être hydrophobe ou être suffisamment petite et non chargée si elle est hydrophile (l' H_2O par exemple) pour traverser la membrane.

4.1.2. La diffusion simple à travers les canaux

La membrane plasmique renferme également des protéines qui jouent un rôle clé dans la régulation des transports. Les bicouches lipidiques étant imperméables aux ions minéraux ou organiques, leur passage se fait à travers des pores formés par des protéines de transport transmembranaire appelées protéines tunnels ou protéines canaux ou conductines.

Les pores et les canaux sont de différentes tailles. Ils forment un passage hydrophile à travers la membrane, par lequel peuvent passer simultanément de nombreuses molécules (molécules d'eau ou des ions) en file indienne et à une vitesse très élevée. Par exemple : Environ un million d'ions peuvent traverser un canal ionique par seconde, soit environ cent fois la vitesse de transport des protéines transporteuses.

A. Les canaux ioniques

Le mouvement de tout ion à travers un canal est couplé à ce qu'on appelle le gradient électrochimique de cet ion ; ce dernier se déplace à la fois en fonction de la différence de concentration existant de part et d'autre de la membrane et du champ électrique qui la caractérise. Les solutés non chargés (H₂O, urée), quant à eux, subissent uniquement l'influence du gradient de concentration.

L'ouverture des canaux ioniques est transitoire et régulée par des stimuli spécifiques. On distingue ainsi les canaux dont l'ouverture est dépendante de la fixation d'un ligand (neurotransmetteur), de l'interaction avec un composant intracellulaire (Ca⁺⁺, nucléotide cyclique) ou d'un changement dans le potentiel membranaire (canaux dépendant du voltage).

Chaque protéine-canal est sélective, la sélectivité de transport dépend de la nature des canaux. Pour les canaux ioniques le passage semble être déterminé par deux paramètres : les forces électrostatiques à l'intérieur du canal et son diamètre.

Quelques exemples de canaux ioniques spécifiques sont détaillés ci-dessous :

- **Les canaux activés par des ligands** : appelés aussi récepteurs canaux ioniques, s'ouvrent en réponse à la liaison d'un neurotransmetteur ou d'autres molécules de signalisation. Le mieux décrit est le récepteur canal de l'acétylcholine ("type nicotinique") qui s'ouvre en réponse au ligand et se laisse traverser par Na⁺ et K⁺, (il est imperméable à Cl⁻). Si l'on prend l'exemple du muscle, au niveau de la plaque motrice, l'influx de Na⁺ dépolarise la cellule musculaire membranaire et déclenche un potentiel d'action. Ce potentiel déclenche, à son tour, l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants ce qui entraîne une augmentation du Ca⁺⁺ intracellulaire et la réponse est la contraction du muscle.
- **Les canaux voltage-dépendants** : sont sensibles aux variations du potentiel transmembranaire. Ils s'ouvrent en réponse à une dépolarisation et se ferment lors d'une hyperpolarisation. Exemple : les canaux K⁺ et Na⁺ des nerfs et des muscles (possèdent un très haut degré de sélectivité) ainsi que les canaux Ca⁺⁺ qui contrôlent la libération des neurotransmetteurs dans les terminaisons pré-synaptiques.
- **Les canaux activés par des nucléotides** : sont particulièrement importants dans les systèmes olfactifs et visuels des mammifères. Dans le système visuel, le canal activé par

le GMPc est localisé dans la membrane des cellules photoréceptrices rétinienne. Dans ces cellules, en réponse à l'obscurité, il y'a une élévation intracellulaire du GMPc ce qui conduit à une ouverture du canal qui laisse entrer des ions chargés positivement dans la cellule, ce qui génère une hyperpolarisation. A l'inverse, en réponse à la lumière (photon) il y a une diminution du GMPc dans les cellules photoréceptrices, ce qui génère cette fois, une hyperphosphorylation.

Le rôle fondamental des canaux ioniques a été clairement établi par Alan Hodgkin et Andrew Huxley en 1952, lors d'études de la transmission de l'influx nerveux (potentiel d'action) dans l'axone des neurones géants (diamètre d'environ 1mm) du calamar.

En permettant de créer des mouvements d'ions et de dépolariser la membrane, les canaux ioniques provoquent des phénomènes tels que :

- La conduction nerveuse
- La contraction cellulaire
- La sensibilité de certains récepteurs sensoriels (les systèmes olfactifs et visuels des mammifères notamment au niveau des cellules photoréceptrices rétinienne)
- La sensibilité aux neurotransmetteurs et aux hormones.

Cette variété de rôle est permise grâce à un nombre élevé de canaux. La diversité des réponses est aussi due au fait que l'ouverture d'un même type de canal (canal calcique par exemple, où il en existe une dizaine) diffère tant en mode qu'en durée.

B. Les aquaporines

Les membranes biologiques constituent une barrière semi-perméable pour les molécules d'eau. Ne pouvant pas traverser la bicouche lipidique, l'eau a besoin de passer à travers des pores formés par des protéines de transport spécifiques appelées aquaporines. Ces protéines spécifiques aux molécules d'H₂O et imperméables aux ions, accélèrent considérablement le processus de la diffusion qui se fait par osmose. Les aquaporines permettent aux molécules d'eau de traverser la membrane beaucoup plus rapidement que par simple diffusion à travers la bicouche lipidique.

Les aquaporines forment une grande famille de protéines (11 isoformes chez l'Homme) ayant une spécificité d'expression tissulaire, sauf pour AQP1 qui est ubiquitaire.

Les aquaporines sont abondantes au niveau des membranes plasmiques des cellules épithéliales du rein (néphron), de l'intestin, du poumon, de la conjonctive de l'œil ainsi qu'au niveau des cellules des glandes lacrymales, des cellules endothéliales et des hématies.

La diffusion de l'eau par osmose à travers les aquaporines est d'une grande importance pour une multitude de fonctions de l'organisme vivant. Les aquaporines des cellules rénales réabsorbent l'eau de l'urine avant de l'excréter. Dans le tubule rénal environ 70 % de l'eau est

réabsorbée dans le sang par l'aquaporine AQP1, située dans les membranes luminales et basolatérales du tubule proximal et du segment grêle descendant. Au niveau du tubule collecteur, les 10 % d'eau restants sont réabsorbés par l'AQP2 et l'AQP3. Si les reins ne remplissaient pas cette fonction, un être humain adulte éliminerait environ 180 L d'urine par jour.

4.1.3. La diffusion facilitée

La diffusion facilitée ou médiée nécessite l'intervention des protéines porteuses appelées perméases, qui possèdent un site de fixation qui permet, une fois la molécule fixée, de modifier la forme de la protéine afin que la molécule puisse intégrer le cytoplasme.

Une perméase est une protéine ou un édifice de plusieurs protéines transmembranaires responsables du transport. Le terme de perméase a été choisi par analogie avec les enzymes. Toutefois, si l'ensemble des perméases «catalysent» le transport au travers des membranes plasmiques seules certaines d'entre elles possèdent une véritable activité enzymatique (fournissant l'énergie nécessaire au transport).

On distingue trois formes de perméases :

- 1) Les protéines de type uniport (ou uniporteurs) transportent une molécule dans une direction.
- 2) Les protéines de type symport (ou symporteurs) transportent deux substances de nature différente dans la même direction.
- 3) Les protéines de type antiport (ou antiporteurs) transportent deux substances de nature différente dans des directions opposées.

La perméase lie d'une manière spécifique la molécule à transporter cela provoque le changement de sa conformation ensuite la molécule à transporter sera libérée de l'autre côté de la membrane.

Cette protéine de transport, peut fonctionner dans les deux sens présentant alternativement le site de fixation du soluté vers l'extérieur puis vers l'intérieur de la cellule selon le gradient de concentration. Dans les cellules du foie : en cas d'hyperglycémie (après un repas) le glucose va être capté par les GLUT2 et diffusera dans le cytoplasme ; en période de jeûne (hypoglycémie) c'est l'inverse.

A. Caractéristiques de la diffusion facilitée

Le transporteur est spécifique d'une molécule donnée, par exemple : le transporteur de l'isomère D-Glucose est spécifique à cette forme et ne reconnaît pas l'isomère L-Glucose.

Un transporteur peut aussi prendre en charge un groupe de substance ayant des structures voisines et que chaque molécule doit présenter une complémentarité spatiale avec le site de fixation, par exemple : les transporteurs de glucose Glut1 peuvent fixer le mannose et le galactose.

Glut2 transporte non seulement le glucose mais aussi le fructose et le galactose. Ceci crée une compétition entre deux molécules chimiquement voisines, dont la présence de l'un ralentit l'autre

La diffusion facilitée est un mécanisme saturable, contrairement à la diffusion simple. La vitesse de transport atteint un maximum (V_{max}) lorsque le transporteur est saturé. Plus la concentration de la substance à transporter augmente, plus le nombre de perméases recrutées augmente et le système de transport devient saturé, par conséquent la vitesse de transport ralentit.

B. Transporteurs de glucose de type GLUT

Le glucose est une petite molécule hydrophile qui circule librement dans le sang mais ne peut pas franchir la membrane plasmique de la cellule. En effet, la bicouche lipidique, étant hydrophobe, l'entrée du glucose nécessite donc la présence de protéines spécifiques appelées transporteurs de glucose. Le premier type de ces transporteurs est appelé : GLUT= GLUCOSE Transporteur.

Les GLUT sont présents dans la plupart des cellules des mammifères qui utilisent le glucose sanguin comme principale source d'énergie cellulaire. Chez les Mammifères, on connaît 6 formes distinctes et importantes de transporteurs GLUT. Chaque forme est spécifique de certains tissus et contrôlée de manière différente.

- Le transporteur GLUT 1 est l'isoforme la plus répandue. Elle est détectée dans pratiquement tous les tissus et cellules de l'organisme bien qu'à des concentrations variables.
- L'isoforme GLUT2 présente une faible affinité pour le glucose ce qui lui permet d'avoir une activité directement proportionnelle à la glycémie. On la trouve dans les hépatocytes, sur les membranes baso-latérales des entérocytes et des cellules épithéliales du néphron ainsi que les cellules du pancréas.
- Le GLUT3, qui a la plus forte affinité pour le glucose, favorise la fourniture de glucose aux neurones
- L'isoforme GLUT4 spécifique des muscles et du tissu adipeux, est sensible à l'action de l'insuline.
- L'isoforme GLUT5, est la plus divergente de la famille car c'est un transporteur de fructose.

4.1.4. Transport actif primaire

Dans le transport Actif direct ou primaire la consommation d'ATP est directe : dans ce cas la perméase est une enzyme de type ATPase, souvent appelée pompe. Les Mécanismes de transport actifs se produisent contre le gradient de concentration de l'élément à transporter (du compartiment où la concentration est la plus faible vers celui où elle est la plus élevée).

A. La pompe Na^+/K^+ ATPase

La pompe à sodium potassium (pompe Na^+/K^+ , ATPase) ou (pompe ATPase Na^+/K^+ dépendante) est une glycoprotéine transmembranaire antiport formée de 4 sous unités : deux grosses sous unité α qui effectuent le transport, et deux petites sous unité β qui interviennent dans la maturation et l'assemblage de la pompe. La sous unité α renferme 8 à 10 segments transmembranaires, alors que la sous unité β n'en contient qu'un seul.

Cette pompe agit en exportant 3 ions Na^+ vers le milieu extracellulaire et en pompant 2 ions de K^+ vers l'intérieur de la cellule. Ce transport nécessite l'hydrolyse de l'Adénosine Tri Phosphate ATP en l'Adénosine Di Phosphate ADP.

Les étapes du fonctionnement de la pompe Na^+/K^+ ATP dépendante des cellules animales sont les suivantes :

- 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 l'hyaloplasme. Un changement de conformation de la protéine a lieu. Cela entraîne l'ouverture de la pompe 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 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, 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.
- 7) Le cycle recommence avec une nouvelle fixation des ions Na^+ et une phosphorylation par l'ATP.

Le gradient Na^+/K^+ généré de part et d'autre de la membrane est essentiel au fonctionnement de la cellule. Il est impliqué dans diverses fonctions :

- Transmission du signal notamment dans les cellules excitables des systèmes nerveux et musculaires : Les influx dépendent des pompes Na^+/K^+ ATPase ainsi que les canaux ioniques K^+ et Na^+ ; en effet, après un potentiel d'action, le retour à l'état polarisé de la membrane cytoplasmique (potentiel de repos) n'est possible que sous l'action des pompes.
- Régulation du volume cellulaire : En chassant les ions Na^+ qui ont tendance à entrer dans la cellule, la pompe Na^+/K^+ tend aussi à abaisser la pression osmotique interne et à assurer un volume constant à l'hyaloplasme. En effet, lorsque des cellules animales sont traitées par l'ouabaïne (drogue, connue pour supprimer le transport membranaire des ions Na^+ et

K⁺ par la pompe), le flux entrant d'eau augmente et elles ont tendance à gonfler (elles peuvent même éclater).

- Transport de nutriments tels que glucose et certains acides aminés (voir la section du transport actif secondaire).
- Régulation du volume cellulaire (voir la section du transport actif secondaire).

B. La pompe Ca ATPase

D'un point de vue structure/fonction, la pompe Ca/ATPase ressemble beaucoup à l'ATPase Na⁺/K⁺, mais elle est sélective du Ca²⁺. La sous-unité α de cette ATPase présente une organisation similaire à celle de la pompe Na⁺/K⁺

L'activité de la pompe Ca/ATPase est déclenchée par l'hydrolyse d'ATP, suivie par l'expulsion simultanée de deux ions Ca²⁺.

Les ATPases Ca²⁺ classe P sont des protéines situées dans la membrane plasmique mais aussi dans la membrane du réticulum endoplasmique (réticulum sarcoplasmique pour les cellules musculaires où l'ATPase Ca²⁺ représente 90% des protéines membranaires).

Les cellules animales maintiennent des concentrations intracellulaires très faibles de ions Ca²⁺ 10⁻⁴ mM contre 1,2 - 2 mM en extracellulaire. Les ions Ca²⁺ sont étroitement impliqués dans les voies de signalisation commandant la contraction musculaire et l'exocytose.

La pompe Ca ATPase participe au maintien de cette concentration intracellulaire en ions Ca²⁺, qui est de 1000 à 10 000 fois plus faible à l'intérieur qu'à l'extérieur et ce malgré l'entrée des ions calcium par les canaux voltage-sensibles et les récepteurs-canaux et aussi malgré la libération dans l'hyaloplasme des ions calcium à travers la membrane du réticulum endoplasmique (lors de la contraction musculaire par exemple).

Le maintien de la faible concentration intracellulaire en calcium libre a une grande importance, toute élévation de cette concentration étant considérée comme signifiante car elle contrôle de nombreuses réactions intracellulaires.

C. La pompe H⁺/K⁺ ATPase

La pompe protons - potassium ou ATPase - [H⁺/K⁺] est de type antiport, elle joue un rôle important dans la régulation du pH gastrique. Cette pompe se trouve associée à la membrane plasmique des cellules gastriques pariétales de mammifère où elle pompe un proton H⁺ à l'extérieur en important au cytosol un ion K⁺

4.1.5. Transport actif secondaire

Le transport actif secondaire ou indirecte est un type de transport nécessitant des complexes protéiques transmembranaires type : symport ou antiport qui assurent le transport d'ion ou d'une petite molécule organique (monosaccharides ou acides aminés) contre leurs gradients en utilisant

comme source d'énergie, l'énergie potentiellement stockée sous forme d'un gradient ionique généré par les pompes

Dans ce type de transport le gradient électrochimique d'un ion donné va fournir l'énergie pour transporter une molécule donnée contre son gradient de concentration vers l'autre face de la membrane plasmique. Ce sont des transports couplés (= co-transport).

A. Transporteurs de glucose de type SGLT

Les SGLT, (SGLT = Sodium Glucose Transporteur) appelés aussi symporteurs Na^+ /glucose, sont des co-transporteurs qui réalisent un transport actif indirecte du glucose, en utilisant le fort gradient transmembranaire de Na^+ , mis en place par l'ATPase Na^+/K^+ .

Dans ce cas, la concentration extracellulaire en Na^+ influe beaucoup sur la pénétration du glucose ; plus celle-ci est élevée dans le milieu extracellulaire et plus les molécules de glucoses entrent aisément (rappel : la concentration normale du milieu intérieur en Na^+ = 145 mM).

Les concentrations intracellulaires en glucose sont le plus souvent plus élevées que celle mesurée à l'extérieur (peuvent être dix fois plus supérieur). De ce fait le transport du glucose à l'intérieur de la cellule réalisé par les SGLT, est un transport qui s'effectue contre le gradient de concentration (dans le sens inverse de celui dicté par la diffusion) de cette molécule. Il s'agit donc d'un transport actif mais indirectement, du fait que le cotransporteur SGLT ne possède pas dans sa structure de sites enzymatiques responsables de la dégradation de l'ATP, mais fonctionne plutôt en consommant secondairement l'énergie produite par la pompe Na^+/K^+ . 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 est corrélé avec l'arrêt de l'entrée du glucose, qui est sous le contrôle de la concentration extracellulaire en Na^+ .

Les SGLT sont abondants dans l'épithélium du tube digestif (isoforme SGLT1) et du tubule rénal (néphron) (isoforme SGLT2). Les étapes de l'acheminement du glucose depuis la lumière intestinale jusqu'aux vaisseaux sanguins sont les suivantes (voir figure ci-dessous).

- 1) Au niveau de la membrane apicale de l'entérocyte le transporteur SGLT 1 fait entrer simultanément dans les cellules une molécule de glucose contre son gradient de concentration et deux ions Na^+ selon leur gardaient de concentration. Glucose et Na^+ ont chacun deux sites de reconnaissance sur la protéine ;
- 2) Le sodium pénètre passivement, ce qui crée l'élévation de la concentration du sodium intracellulaire ;

- 3) Le gradient sodique généré, entraîne l'activation de la pompe Na^+-K^+ , au niveau des membranes basolatérales, qui transporte activement le Na^+ hors de la cellule, maintenant ainsi la concentration intracellulaire en Na^+ inférieure à la concentration luminale ;
- 4) Après son entrée dans la cellule par transport actif secondaire, le glucose est transporté vers le sang par diffusion facilitée, médiée par un transporteur de type GLUT 2 au niveau de la membrane basale ;
- 5) La pompe Na^+-K^+ transporte également activement le K^+ dans la cellule, maintenant une concentration intracellulaire élevée en K^+ .

C'est en fait le gradient transmembranaire en Na^+ , du côté apical de l'Entérocyte, qui permet aux SGLT de transporter le glucose situé dans la lumière de l'intestin grêle.

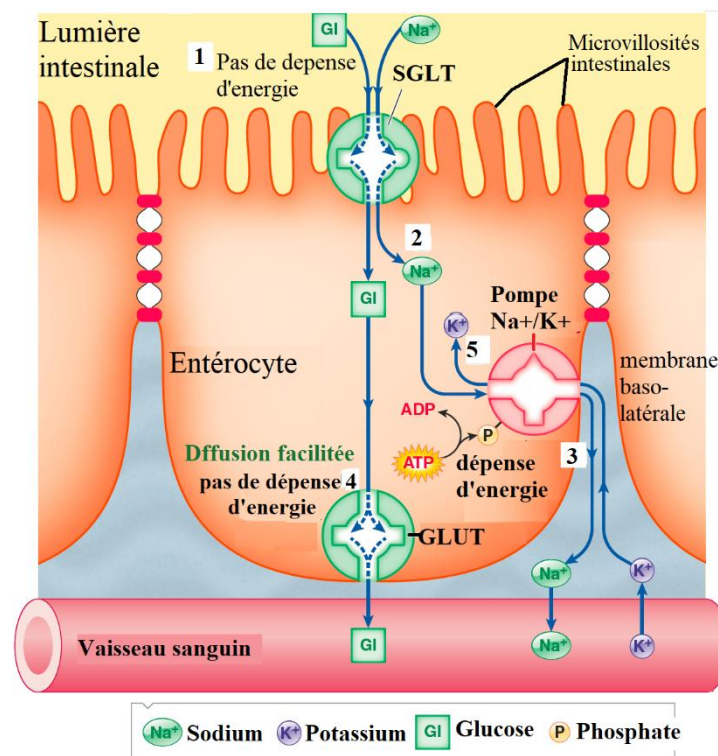


Figure 52 : Transport actif secondaire du glucose au niveau des cellules intestinales (Sherwood et al., 2018).

B. Echangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$

Exemple de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ dans les cellules cardiaques : Le calcium intracellulaire est exporté vers le domaine extracellulaire grâce à un système antiport $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$. Dans ce cas 3 ions sodium entrent passivement et un ion Ca^{++} est expulsé. De sa part la pompe ATPase Na^+K^+ dépendante récupère les ions Na^+ et agit en exportant 3 de ces ions vers le milieu extracellulaire et en pompant 2 ions de K^+ vers l'intérieur de la cellule.

C. Transport des acides aminés

Dans cellules intestinales, le passage de l'acides aminé : L-leucine à travers la membrane plasmique utilise un symporteur : $\text{Na}^+/\text{L-leucine}$ fonctionnant à l'aide du gradient sodique généré par la pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$.

D. Régulation du pH cytosolique

La concentration de H^+ détermine l'acidité d'une solution. Le pH est la grandeur utilisée pour cette mesure.

La fonction d'une protéine dépend du pH environnant, de ce fait, la cellule doit assurer dans ses différents compartiments un pH bien précis et stable. Par exemple : les enzymes lysosomiales fonctionnent préférentiellement à pH 5,5 alors que les enzymes cytoplasmiques fonctionnent de façon optimale à pH 7,2.

Une concentration stable en ions H^+ (protons) ne se maintient dans le cytosol que du fait de l'existence de mécanismes de transport actif rejetant des protons hors de la cellule. Ce type de transport sert à compenser à la fois la production métabolique de molécules acides et l'entrée passive de protons.

Le pH cytoplasmique est essentiellement régulé par un mécanisme de transport actif secondaire faisant intervenir deux types différents d'échangeurs (parmi d'autres mécanismes non mentionnés ici) :

- Le premier échange une molécule de Na^+ externe contre un proton H^+ interne. Cet échange est effectué par une famille de protéines membranaires appelée Na^+/H^+ échangeur ou NHE. L'échange est rendu possible par le gradient de Na^+ généré par la pompe $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ et est activé par une acidification intracellulaire.
- Le second est un antiport $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ appelé encore échangeur d'anions. Il permet l'expulsion hors de la cellule d'une molécule de HCO_3^- contre la diffusion d'une molécule Cl^- externe. Cet échange est rendu possible par le gradient de Cl^- et est activé par une alcalinisation intracellulaire.

4.1.6. Transport vésiculaire d'endocytose

L'endocytose ou internalisation est le phénomène par lequel la cellule transfère, par inclusion de la membrane plasmique, une fraction de volume de l'espace extracellulaire qui l'entoure et une portion de la cytomembrane à un compartiment membranaire intracellulaire. En fonction de la taille du matériel absorbé, on distingue deux processus mettant en jeu des mécanismes différents :

- 1) Phagocytose : du grec phagein = manger, concerne l'endocytose de particules volumineuses. Les vésicules (les phagosomes) sont de grandes tailles supérieures à 250 nm. Les vésicules contiennent des microorganismes et/ou des débris cellulaires.
- 2) Pinocytose : les vésicules ne dépassent pas 150nm de diamètre, elles contiennent du liquide extracellulaire, et de petites particules. La cellule peut englober du liquide du milieu extracellulaire de façon non sélective par pinocytose.

Mais la plupart de ces phénomènes consistent à capturer sélectivement des ligands qui se lient avec une affinité élevée à des protéines de la membrane plasmique avant d'être internalisés. Au cours de cette pinocytose médiée par un récepteur les complexes ligand-récepteur se concentrent dans des régions de la membrane qui s'invaginent en vésicules dans la cellule. La liaison spécifique ligand-récepteur permet une concentration sélective du matériel dont la cellule a besoin sans qu'un important volume de liquide extracellulaire ne soit également internalisé

A. Endocytose d'adsorption

C'est un type d'endocytose par des vésicules recouvertes de clathrine qui fait intervenir des molécules associées à la membrane (récepteurs, protéines de clathrines). Ces molécules vont intervenir dans la formation de la vésicule d'endocytose.

Le détachement des vésicules d'endocytose fait intervenir la dynamine: protéine G monomérique indispensable au bourgeonnement, puis au détachement, à partir de la membrane plasmique, des vésicules recouvertes de clathrine. Des cellules comportant une dynamine mutée (qui n'est plus capable d'hydrolyser le GTP en GDP) ne peuvent réaliser ce type d'endocytose.

L'endocytose dépendante de la clathrine est utilisée par toutes les cellules Eucaryotes notamment dans l'assimilation des nutriments essentiels comme le fer ou le cholestérol.

La clathrine est une protéine cytoplasmique qui peut s'assembler en réseau, formant une cage de forme complexe elle est composée de 6 chaînes polypeptidiques, 3 légères et 3 lourdes. Les 6 chaînes forment une structure en étoile à 3 branches (en forme de U) appelée triskèle ou triskélion. La clathrine et d'autres protéines d'adaptation constituent, dans le cytoplasme, un réseau à maille pentagonale et hexagonale dont les remaniements représentent le moteur responsable de la déformation de la membrane plasmique lors de la formation puis le bourgeonnement de la vésicule d'endocytose. Le maillage rigide (la cage rigide) formé par le réseau de clathrine permettrait de piéger les récepteurs en cours d'internalisation.

Les étapes de l'endocytose adsorptive sont les suivantes :

- 1) Les récepteurs membranaires sont d'abord dispersés sur la surface de la membrane cellulaire
- 2) Les ligands se fixent sur ces récepteurs, induisant leur migration dans le plan de la membrane par diffusion latérale et leur regroupement au niveau des régions membranaires,

appelées « puits recouverts », recouvertes du côté cytosolique par le feutrage épineux dense aux électrons et formé par les molécules de clathrine et les protéines d'adaptation (Les molécules d'adaptine fixent chaque récepteur au feutrage de clathrine sous-jacent)

- 3) Le remaniement des molécules de clathrine, entraîne la déformation de la membrane cytoplasmique, puis le bourgeonnement de la vésicule d'endocytose, encore appelée vésicule recouverte ou épineuse.
- 4) 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.
- 5) Disparition du revêtement à clathrine : étape indispensable pour que la membrane de la vésicule, devenue lisse, puisse interagir avec le cytosquelette et ses protéines motrices.
- 6) La vésicule lisse fusionne avec les endosomes.
- 7) 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.
- 8) Les récepteurs sont recyclés vers la membrane plasmique à partir des endosomes.
- 9) Les ligands entrent dans le compartiment lysosomal où ils sont hydrolysés.

Un des exemples classiques de ce mécanisme est celui de l'importation du cholestérol par les cellules animales. Ce constituant hydrophobe, qui entre dans la composition des membranes cellulaires est transporté dans le sang sous forme de particules complexes nommées lipoprotéines de faible densité (LDL = *low density lipoproteins*), fabriquées par le foie. En effet, cette molécule (LDL) est précisément reconnue par un récepteur appartenant à la membrane plasmique des cellules animales : le récepteur des LDL. Chaque particule LDL contient un noyau hydrophobe d'environ 1500 à 2000 molécules de cholestérol estérifié par un acide gras (linoléique). Sa surface est formée d'une monocouche de phospholipides et de cholestérol. Une grosse molécule de protéine hydrophobe est ancrée dans la surface de la particule.

D'autres molécules de nature protéiques utilisent ce mécanisme d'endocytose via des vésicules recouvertes de clathrine : la transferrine (protéine transportant le fer dans le sang), des protéines de réserve (dans le cas des ovocytes), les immunoglobulines, de nombreuses hormones (l'insuline)...

Dans les cellules en culture, on estime que la surface occupée par les puits recouverts représente 2 % de celle de la membrane cytoplasmique ; 2 500 vésicules recouvertes environ s'y forment toutes les minutes. Ces vésicules contiennent en grande concentration les récepteurs membranaires et leurs ligands : environ 1000 complexes récepteur/ ligand par vésicule.

L'endocytose par vésicules recouvertes de clathrine intervient dans :

- Le transport de différents types de métabolites dans le sang vers les cellulaires, l'exemple du cholestérol circulant sous forme de LDL.
- L'internalisation du complexe : hormone-polypeptide-récepteur dans la cellule, l'exemple du « complexe insuline-récepteur ».
- Le transport des anticorps de la mère vers son fœtus durant la grossesse.

B. La potocytose

La vésicule formée est appelée cavéole (50 à 80 nm). Les cavéoles ont été décrites morphologiquement dès 1953 par Palade comme des invaginations de la membrane plasmique non couvertes de clathrine. Les cavéoles sont observables dans la majorité des types cellulaires et particulièrement, dans les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales : elles sont plus abondantes dans la microcirculation (le transport cavéolaire participe au transfert des grosses molécules à travers la paroi des capillaires) qu'au niveau des gros vaisseaux.

La formation et la stabilisation des cavéoles sont étroitement liées à la présence de cavéoline. La cavéoline qui constitue le manteau des cavéoles est une protéine membranaire intrinsèque. Elle a une structure en épingle à cheveux avec les extrémités N- et C-terminales cytoplasmiques. La cavéoline présente une grande affinité au cholestérol.

La potocytose se produit dans des microdomaines rigides de la membrane appelées radeaux lipidiques (en anglais, lipid-raft). Les radeaux membranaires sont riches en cavéolines en cholestérol et en sphingolipides.

La voie cavéolaire, peut intervenir dans l'internalisation de :

- L'albumine par les cellules endothéliales au niveau des capillaires sanguins.
- Certains Virus. Exemple : Virus : SV40; Ebola; Marburg
- Certaines Toxines bactériennes l'exemple de la sous-unité B de la toxine cholérique
- Certains GPCR « récepteurs couplés à la protéine G »
- Protéines GPI «*glycosyl phosphate inositol*»
- Les cavéoles sont également impliquées dans le mécanisme de transcytose qui intervient dans les cellules endothéliales

4.1.6. Transport vésiculaire d'Exocytose

L'exocytose est l'exportation de grandes quantités de matériaux synthétisés par la cellule et contenus dans les compartiments membranaires intracellulaires.

Au niveau de l'appareil de golgi s'effectue le tri des protéines avant leurs sorties dans des vésicules de sécrétion. La vésicule migre grâce à l'intervention des protéines du cytosquelette et leurs protéines motrices associées, arrivant au niveau de la membrane plasmique, les deux

Chapitre IV _____ La membrane plasmique

membranes, vésiculaire et cytoplasmique, s'accolent par fusion du feuillet externe de la vésicule et le feuillet interne de la membrane plasmique. Un déplacement des protéines intra membranaires en bordure de la zone de fusion provoque l'ouverture de la vésicule et l'excrétion de son contenu. Ce phénomène exige de l'ATP et des Ca^{2+} .

On peut distinguer deux types d'exocytose :

- 1) Exocytose constitutive : observée dans toutes les cellules. Les vésicules transportent de façon continue les molécules néo synthétisées vers la membrane plasmique
- 2) Exocytose régulée : fonctionne dans les cellules spécialisées en réponse à une stimulation. Elle peut être observée chez les mastocytes (cellules de la lignée sanguine, situées dans le tissu conjonctif), qui libèrent l'histamine par exocytose, dans les espaces extracellulaires suite à certains stimuli (infection locale, lésion tissulaire). Ou dans le cas de la sécrétion d'hormones par les glandes endocrines comme dans le cas de l'Insuline qui est relâchée des cellules du pancréas en réponse à un état d'hyperglycémie. L'exportation d'enzymes pancréatiques utilisés dans l'intestin ou la sécrétion de la salive par les glandes salivaires, ou encore la décharge de molécules de neurotransmetteurs dans les synapses, sont d'autres cas qui peuvent être cités.

QUESTION ANALYTIQUE

- Dans une cellule animale, comment les changements dans la composition lipidique peuvent-ils affecter la fluidité membranaire ? Donnez quelques exemples.

CHAPITRE V : LE SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

1. PREREQUIS

Connaitre :

- La structure de la membrane plasmique
- La définition et les caractéristiques des deux types du transport vésiculaire
- Les différentes classes du système cytosquelettique et leurs caractéristiques

2. OBJECTIFS

- Décrire la structure, la composition et les principales fonctions des organites du système endo-membranaire (Réticulum Endoplasmique Rugueux (RER), RE lisse (REL), appareil de Golgi, lysosomes et endosomes)
- Savoir distinguer le RER du REL.
- Connaître la notion de dictyosome.
- Connaître le lien entre l'enveloppe nucléaire, le RE, l'appareil de Golgi, les différentes vacuoles et la membrane cytoplasmique.
- Comprendre l'implication de ces organites dans le trafic vésiculaire, et déduire la notion de « Flux membranaires antérograde et rétrograde ».

3. CARACTERISTIQUES DU SYSTEME ENDOMEMBRANAIRE

Le système endomembranaire correspond à l'ensemble des compartiments intracellulaires limités par une membrane, de composition comparable à celle de la membrane cytoplasmique. Ce système existe seulement chez les Eucaryotes et il comprend :

- Enveloppe nucléaire
- Réticulum endoplasmique
- Appareil de Golgi
- Endosomes (phagosomes) et lysosomes
- Toutes les vésicules, canicules et vacuoles permettant la communication des compartiments entre eux et avec la membrane plasmique.

On exclut de ce système les peroxysomes, les mitochondries et les chloroplastes pour les cellules végétales.

Le système endomembranaire est appelé aussi système de flux membranaires (flux antérograde et rétrograde), car toutes les membranes de ce réseau intracellulaire sont liées de deux façons :

1. Ou bien elles se prolongent les unes les autres :
 - L'enveloppe nucléaire est reliée aux membranes du RER ce dernier est lui-même prolongé par le REL.
2. Ou bien elles changent des portions d'elles-mêmes par l'intermédiaire de minuscules vésicules :
 - Le RE produit des vésicules dites de « transition », qui engendrent l'appareil de Golgi, ce dernier produira des vésicules de sécrétion, à l'origine de l'exocytose.
 - La membrane de ces vésicules sera en fin de compte incorporée à la membrane plasmique, ainsi régénérée en permanence.

Le système endomembranaire accomplit diverses tâches dans la cellule, dont la synthèse des protéines et leur transport vers des membranes et des organites ou vers l'extérieur de la cellule, le métabolisme et le mouvement des lipides, ainsi que la détoxification des poisons.

4. RETICULUM ENDOPLASMIQUE

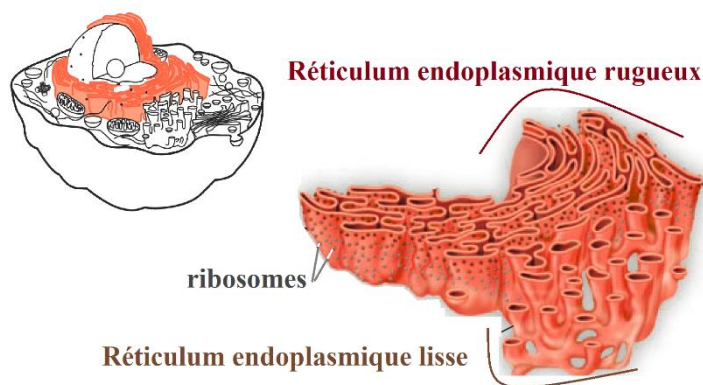


Figure 53 : représentation schématique du réticulum endoplasmique (Enger et al., 2007).

Le réticulum endoplasmique de mot latin « réticulum » qui signifie réseau, est un réseau de membranes internes interconnectées sous forme de tubules et canicules, issues des membranes nucléaires ; Le RE se présente sous la forme d'ensemble polymorphe de cavités (ou citernes) plus ou moins dilatées, limitées par une seule membrane de 5 à 6 nm d'épaisseur. Bien que de géométrie complexe dans l'espace, ce compartiment (le RE) est considéré comme formé d'un seul sac fermé, dont la lumière représente jusqu'à 10 % du volume cellulaire. Le RE est l'un des plus grands organites de la majorité des cellules Eucaryotes (Représente 50 % des membranes cellulaires totales et une surface totale : 10 à 30 fois celle de la membrane plasmique). La lumière des citernes

du réticulum est remplie de solutions diverses, on trouve essentiellement de l'eau et des protéines : enzymes.

Ses membranes sont plus riches en phosphatidylcholine que la membrane plasmique. Alors que la membrane plasmique est plus riche en cholestérol que les autres membranes internes. La membrane du réticulum est en continuité avec la membrane nucléaire externe. La lumière du RE et l'intérieur du noyau sont donc séparés par une seule membrane : La membrane nucléaire interne. Deux types de réticulum sont définis:

- 1) Le réticulum endoplasmique rugueux
- 2) Le réticulum endoplasmique lisse

Globalement le réticulum endoplasmique présente quatre fonctions différentes :

- 1) Stockage de substances dans la cellule : Diverses substances, venues du milieu extracellulaire ou de l'intérieur de la cellule, peuvent se rassembler et se concentrer dans les cavités du réticulum endoplasmique. Grâce au fusionnement des vésicules chargées de ces substances avec les membranes des canalicules du RE, les vésicules déversent, ensuite, leur contenu dans la lumière du RE où il sera stocké. De plus, la lumière des canicules est aussi le lieu de stockage des produits de sécrétion, élaborés par le RE. Exemple : Les plasmocytes (le Plasmocyte est un Lymphocyte B qui s'est différencié après stimulation antigénique en cellule spécialisée dans la production d'anticorps) concentrent les anticorps qu'ils ont élaborés dans les cavités de leur RER, où ils s'accumulent parfois sous forme de cristaux.
- 2) Transport de substances : Les cavités du réticulum endoplasmique servent également à transporter, d'un point à l'autre de la cellule, diverses substances venant soit du milieu extracellulaire, soit du milieu intracellulaire ; le RE participe au flux membranaire vectoriel et permanent antérograde et le flux membranaire rétrograde
- 3) Synthèse de substances : protéines (REG) et lipides (REL).
- 4) Distribution de substances dans la cellule : Le réticulum endoplasmique sert également à distribuer diverses substances dans la cellule. Exemple : Le REL des cellules musculaires striées est un réservoir de calcium et d'ATP (réservoir permanent) Il joue le rôle de réseau distributeur de ces molécules nécessaires à la contraction.

4.1. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE GRANULEUX

Le réticulum endoplasmique granuleux ou rugueux est un réseau membraneux de sacs aplatis appelés citernes. Celles-ci délimitent une cavité remplie de solutions diverses. La membrane du réticulum endoplasmique rugueux prolonge l'enveloppe nucléaire. Et elle est parsemée de ribosomes sur sa face cytoplasmique. Le RER est très abondant dans les cellules

spécialisées dans la production de protéines sécrétées (tableau 6). Exemple : Cellules acineuses pancréatiques responsables de la sécrétion des enzymes digestives. Un des rôles importants du RER consiste au maintien de la structure des cellules vu son volume important et la surface qu'il occupe. Mais la principale fonction de cet organite est sa capacité d'être le lieu de synthèse de la majorité des protéines produite par la cellule.

Tableau 6 : Comparaison de la quantité des membranes des organites du système Endomembranaire dans deux types cellulaires (Callen, 2005).

Type de membrane	Pourcentage des membranes totales cellulaires	
	Hépatocyte	Cellule exocrine pancréatique
Membrane plasmique	2	5
Membrane RE granuleux	35	60
Membrane RE lisse	16	≤1
Membrane appareil de Golgi	7	10

4.1.1. Synthèse des protéines

Le RER est le lieu de synthèse des différents types de protéines :

- Les canaux, perméases, récepteurs ou enzymes, de la membrane cytoplasmique et de la plupart des organelles (appareil de Golgi et lysosome). Les protéines membranaires sont libérées par l'exocytose constitutive, qui est observée dans toutes les cellules. Les vésicules transportent de façon continue les molécules néo synthétisées vers la membrane plasmique
- Les protéines sécrétées de façon continue par certaines cellules spécialisées, exemple des hépatocytes qui sécrètent de façon continue les protéines sériques.
- Les protéines (enzymes, hormones) qui sont déchargées de manière épisodique par exocytose régulée, faisant l'objet d'un stockage transitoire au sein de vésicules de sécrétion.

La présence de ribosomes liés à la surface externe du RER joue un rôle majeur dans la synthèse des protéines (membranaires et exportées). A différencier des ribosomes libres dans le cytosol qui participent à la synthèse des protéines destinées au : noyau, mitochondrie et au peroxysome.

Les ribosomes accrochés à la surface du REG effectuent l'assemblage des acides aminés en protéines. Lorsque la nouvelle protéine est terminée, elle traverse la membrane du REG par un canal membranaire appelé translocon et passent dans la lumière du REG, où elle sera modifiée, repliée et sa qualité est contrôlée (Clivage, stabilisation par des ponts disulfure et acquisition de la conformation spatiale des protéines). Ce contrôle se fait grâce à des protéines spécifiques se trouvant dans la lumière ou intégrées à la membrane du REG (exemple : l'isomérase, la glycosyl-transférases).

Un grand nombre de protéines fabriquées dans le RER subiront la N-glycosylation : fixation d'oligosaccharide (constitué de 14 résidus sucrés) sur l'extrémité NH₂ de l'acide aminé asparagine, mais seuls certains de ces acides aminés le long de la chaîne protéique seront concernés ; chaque protéine a ainsi un profil de glycosylation caractéristique. La N-glycosylation débute dans le RER et se termine dans l'appareil de Golgi ; par opposition à la O-glycosylation, qui se déroule dans l'appareil de Golgi.

Les protéines sont ensuite transportées vers les citernes du réticulum, puis accumulés dans des vésicules (vésicule de transition) formées par bourgeonnement de la membrane du RE. Ces vésicules sont libérées dans le cytosol et vont se rendre à l'appareil de golgi.

4.2. LE RETICULUM ENDOPLASMIQUE LISSE

C'est un réseau membraneux de tubules, canalicules et cavités circulaires. Il représente un compartiment peu abondant dans la plupart des cellules. Exception : les cellules hépatiques (hépatocytes)

4.2.1. Détoxification des drogues liposolubles

Le réticulum endoplasmique lisse est le lieu de la détoxification des poisons liposolubles tels que : le Phénobarbital, ou les Pesticides. La métabolisation des produits toxiques, souvent très lipophiles, au niveau du REL par divers processus biochimique : hydroxylation (+ OH) par les enzymes à cytochrome P450, Glycurono-conjugaison (+ acide glucuronique), déméthylation (- CH₃),..... permet de rendre ces substances 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.

4.2.2. Synthèse des lipides

Toutes les classes majeures de lipides sont synthétisées par le REL : Les lipoprotéines tel que le LDL qui sont synthétisés au niveau du REL des hépatocytes. Les phospholipides, les glycolipides et le cholestérol qui sont fabriqués dans les différents types de cellule, et sont assemblés en bicouches lipidiques dans le RER puis libérés par exocytose constitutive, permettant ainsi le remaniement de la membrane cytoplasmique. Le REL représente aussi la source de lipides pour la membrane externe de la mitochondrie.

4.2.3. Synthèse des hormones stéroïdes

Le REL est responsable de la synthèse des hormones dérivées du cholestérol. Ces hormones sont la testostérone libérée par les cellules du testicule, les œstrogènes par les cellules folliculaires, la progestérone par le corps jaune, et enfin les hormones libérées par les cellules de la

corticosurrénale. Toutes, ces cellules possèdent un réticulum endoplasmique lisse développé et constitué de très nombreux tubules enchevêtrés.

4.2.4. Stockage du calcium et du Cl⁻ intracellulaires

Le REL est un réservoir permanent pour le Ca⁺⁺ notamment au niveau des cellules excitable. La lumière des citernes du REL est riche en protéine spécifique appelée la calciréticuline qui est capable de fixer le calcium et de les maintenir sous forme de réserve ; La libération massive d'ions calcium stockés dans le réticulum sarcoplasmique déclenche la contraction des muscles striés. Dans les cellules à HCl de l'estomac le REL représente le lieu de stockage des ions Cl⁻

4.2.5. Déphosphorylation du glucose-6-P

Au niveau du RER des cellules hépatiques s'effectue la production du glucose à partir du glucose-6-P grâce à la glucose-6-phosphatase ; enzyme accolée à la membrane du REL de ces cellules.

5. APPAREIL DE GOLGI

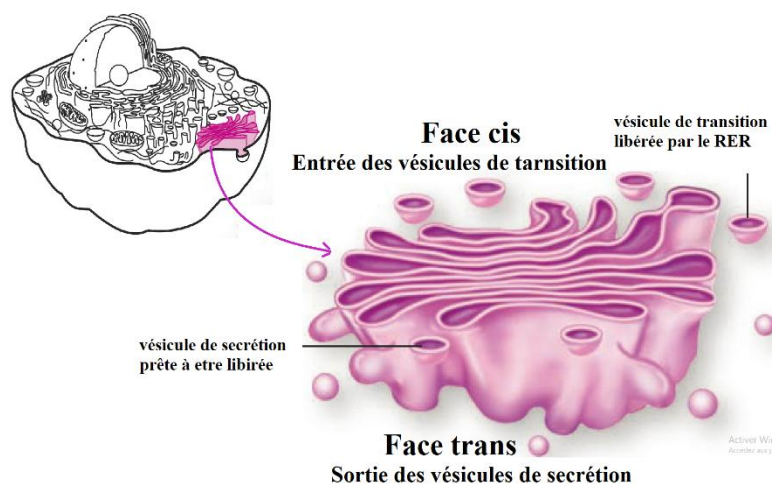


Figure 54 : Représentation schématique de l'appareil de Golgi (Enger et al., 2007).

L'appareil de Golgi se présente sous forme d'organites, en forme d'écailles, séparés les uns des autres et appelés Dictyosomes. Chaque Dictyosome est une pile de 4 à 8 saccules, c'est-à-dire un empilement de 4 à 8 petits sacs uni-membranaires lisses, aplatis, clos, et très allongés en forme de disque légèrement concave dits saccules.

Le nombre de Dictyosomes qui constitue l'appareil de golgi par cellule Eucaryote varie d'un à une centaine, selon le type et l'état fonctionnel de la cellule. Dans les cellules à vocation non glandulaire, l'appareil de Golgi est généralement représenté par un unique dictyosome, situé à proximité du centrosome. Tandis qu'au niveau des cellules épithéliales glandulaires à sécrétion

exocrine polarisées, dont le noyau se situe généralement en position basale, les Dictyosomes, sont nombreux et l'appareil de golgi est particulièrement étendu et il occupe la région supra nucléaire.

Chaque Dictyosome peut être subdivisé en trois régions fonctionnellement différentes, selon l'orientation du flux membranaire vectoriel et permanent

- 1) Des saccules de la face cis ou face d'entrée, convexe, situés près du réticulum endoplasmique : cette face est alimentée par du matériel provenant de RE, les saccules reçoivent les vésicules de transition,
- 2) Des saccules de la région médiane,
- 3) Des saccules de la face trans ou face de sortie, en continuité avec un réseau de canalicules constituant le réseau trans-golgien qui donne naissance aux vésicules de sécrétion.

5.1. Fonctions de l'Appareil de Golgi

5.1.1. Maturation et modification post traductionnelle des protéines

La maturation et modification post traductionnelle des protéines synthétisées au niveau du RER se fait Par différents types de réactions.

A. Addition covalente

Par adition covalente les protéines néo synthétisées subissent la fin de la N-glycosylation au niveau du compartiment cis golgien. D'autres protéines subiront la O-glycosylation qui consiste en l'ajout d'une chaîne glycosylée sur un résidu sérine ou thréonine. Chaîne glycosylée très variable. Les lipides quant à eux, peuvent être glycosylés dans la lumière de l'appareil de Golgi par ajout de résidus glucidiques.

B. Sulfatation des protéines

Ajout d'un groupement SO₄²⁻ à des résidus tyrosines ou à des chaînes glycosylées issues de la N-glycosylation

C. Coupures protéolytiques

Les coupures protéolytiques sont initiées dans le trans Golgi et se poursuivent dans les grains de sécrétion du compartiment post-golgien.

III.2.2. Transport de substances

Comme le RE, les cavités de l'appareil de golgi servent également à transporter, d'un point à l'autre de la cellule, diverses substances venant soit du milieu extracellulaire, soit du milieu intracellulaire ; l'appareil de golgi participe au flux membranaire vectoriel et permanent antérograde et le flux membranaire rétrograde.

5.1.2. Distribution de substances dans la cellule

L'appareil de golgi sert également à distribuer diverses substances dans la cellule. Une fois traitées, et au cours de leurs migration vers la périphérie de la cellule, les produits de sécrétion restent séparés du cytoplasme par des membranes golgiennes, les protéines sont emballées en fonction de leur destination finale, dans des vésicules qui se détacheront de leurs sacs membraneux.

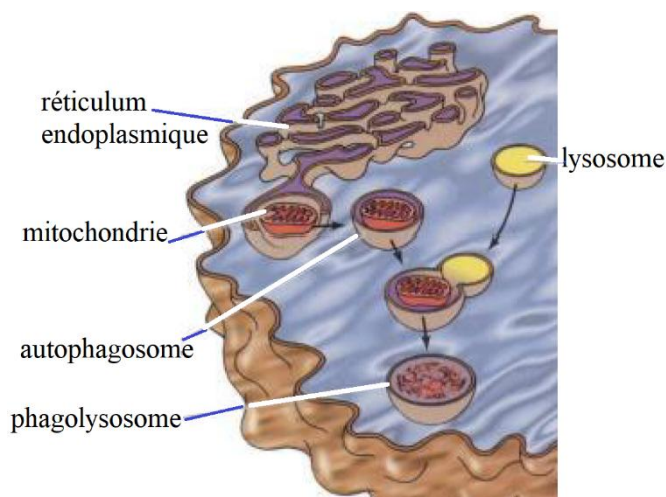


Figure 55 : Le système lysosomal. Sur ce schéma, le lysosome renferme divers enzymes digestifs nommés des protéases. Il capture des protéines cellulaires par fusion avec des autophagosomes issus d'un enclavement de zone de cytoplasme ou de fragments d'organites (par exemple des mitochondries) par des régions du réticulum endoplasmique. Cette fusion donne un phagolysosome qui digère le contenu de l'autophagosome (Geoffrey et al., 2007).

Les vésicules golgiennes ont trois possibilités de destination :

- 1) Les vésicules transportant les protéines de sécrétion, sont libérés à l'extérieur de la cellule par exocytose, après avoir migré jusqu'au niveau de la membrane plasmique. On parle alors de vésicules de sécrétion ou grains de sécrétion. La membrane de ses vésicules sera incorporée à la membrane plasmique, qui se trouve ainsi régénérée en permanence.
- 2) Les vésicules contenant des protéines destinées à faire partie de la membrane cellulaire fusionnent avec cette dernière (exocytose constitutive).
- 3) Les vésicules contenant les enzymes digestives (hydrolases) pouvant se transformer en organites à part entière nommées lysosomes (figure 55). Les enzymes lysosomales proviennent du réticulum endoplasmique rugueux puis, ils sont transférés dans l'appareil de golgi pour aboutir en finalité dans le cytoplasme. Les lysosomes sont des sacs membraneux à pH= 5 remplis d'enzymes hydrolytiques.

SOLUTIONS DES EXERCICES

INTRODUCTION

- **Est-il possible d'étudier la biologie sans étudier la cellule ?**

Non car l'étude de la biologie passe essentiellement par l'étude des cellules, aussi essentielles aux systèmes vivants de la biologie que les atomes le sont à la chimie. Tous les organismes vivants se composent de cellules. Les origines de la vie correspondent aux origines des cellules, et dans la hiérarchie de l'organisation biologique, la cellule est le premier ensemble de matière capable de vie. La cellule est aussi la plus petite portion de matière qui puisse vivre isolée et qui puisse se reproduire. Elle synthétise l'ensemble de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire.

Au cours de ces deux dernières décennies, Il est apparu, aux yeux des chercheurs qui avaient une approche plus globale, à l'échelle des organismes, que la solution de tout problème biologique se trouverait finalement à l'échelle cellulaire. Qu'il s'agisse des fonctions digestive, nerveuse, musculaire ou respiratoire..., il devenait de plus en plus évident que la connaissance des propriétés d'absorption spécifiques des entérocytes, de conduction électrique de la membrane des neurones, de contraction des fibres musculaires, de transport de l'oxygène par les hématies..., était indispensable. De même, en physiologie végétale, les phénomènes d'absorption racinaire, de transport de l'eau, d'assimilation du carbone, ne pouvaient être compris en dehors de l'élucidation des questions de perméabilité cellulaire, d'osmose, d'oxydations cellulaires ou de photosynthèse par les tissus chlorophylliens. La génétique, la biologie du développement, démontrèrent aussi que les phénomènes fondamentaux de la vie se situaient au niveau cellulaire : prolifération cellulaire, gamétogenèse, fécondation, différenciation...

- **Quels sont les objectifs de la biologie cellulaire ?**

La biologie cellulaire est une science relativement jeune, car elle date d'environ 150 ans ; elle s'est affirmée comme discipline à part entière seulement après l'énoncé de la théorie cellulaire, en 1838. En effet, la théorie cellulaire est la théorie centrale et principale de la biologie cellulaire. L'objectif initial de la biologie cellulaire était de décrire avec un maximum de précision toutes les structures caractéristiques des cellules animales, végétales ou des êtres unicellulaires, leurs modifications au cours de la vie des cellules, la diversité de celles-ci au sein des organismes ou au cours du développement embryonnaire...

Par la suite, la biologie cellulaire s'est rapidement trouvée au cœur de la biologie car seule l'étude des propriétés des cellules individuelles permettrait de comprendre le fonctionnement et la construction des édifices pluricellulaires. De descriptive, la biologie cellulaire est devenue

expérimentale et son objet est désormais la compréhension des structures et des mécanismes au niveau moléculaire. Ses principaux sujets d'étude sont actuellement : le trafic membranaire au sein de la cellule, le cytosquelette, la biogenèse des organites dits semi-autonomes, les fonctions des matrices extracellulaires et la signalisation membranaire.

Science intégrative et pluridisciplinaire, la biologie cellulaire supprime les frontières entre diverses approches et fournit une vision plus complète des structures et des fonctions cellulaires : elle identifie les molécules constitutives des organites, elle replace les enzymes dans les compartiments, elle étudie les relations physiologiques qui existent entre eux et mesure enfin les flux métaboliques et énergétiques dans les conditions physicochimiques rencontrées *in vivo*.

Tout au long de son histoire, la biologie cellulaire a connu des progrès constants grâce à deux types d'événements :

- Le développement d'instruments d'optique de plus en plus résolutifs et puissants, le dernier en date étant le microscope électronique, qui a permis de faire sauter un verrou capital dans le domaine des observations cellulaires ;
- La convergence de diverses approches développées initialement de manière indépendante, telles que la génétique, la physiologie, la biochimie et, plus récemment, la biologie moléculaire.

CHAPITRE I : EXPLORATION DE LA CELLULE

• Pourquoi les cellules sont-elles presque toujours microscopiques ?

Plusieurs raisons expliquent pourquoi la plupart des cellules sont si petites en voici quelques-unes :

- La plupart des cellules eucaryotes renferment un seul noyau contenant deux copies seulement de la plupart des gènes. Etant donné que les gènes fonctionnent comme modèles pour la production des ARN messagers, chargés du transport de l'information, une cellule ne peut produire qu'un nombre limité de ces ARN messagers en un temps donné. Plus le volume du cytoplasme est grand, plus il sera difficile de synthétiser le nombre de messages requis.
- Quand la taille de la cellule s'accroît, le rapport surface/volume diminue. (vous pouvez vérifier cette affirmation en calculant l'aire et le volume d'un cube de 1 cm de côté et ceux d'un cube de 10 cm de côté. Le rapport surface volume du petit cube est considérablement plus grand que celui d'un grand cube). La capacité d'échange entre la cellule et son environnement est proportionnelle à sa surface. Si une cellule s'accroissait au-delà d'une certaine valeur, sa surface ne suffirait pas à l'approvisionnement en matériaux (oxygène et nutriments) nécessaires à ses activités métaboliques. Les cellules dans la spécialisation et l'absorption des solutés, comme les entérocytes de l'épithélium intestinal, possèdent

typiquement des microvillosités qui augmentent fortement la surface disponible pour les échanges (voir chapitre IV). La partie interne d'une grosse cellule végétale et habituellement occupée par une grande vacuole remplie de liquide au lieu de cytoplasme métabolique actif (voir chapitre II)

- La cellule dépend, pour une large part, du déplacement aléatoire de molécules (les mouvements de diffusion ou le transport passif des molécules) (voir chapitre IV). L'oxygène, par exemple, peut diffuser à partir de la surface cellulaire au travers du cytoplasme jusqu'à l'intérieur de ses mitochondries. Le temps nécessaire à la diffusion est proportionnel au carré de la distance à parcourir. Par exemple l'oxygène n'a besoin que de 100 microsecondes pour diffuser sur une distance d'un micromètre, mais il lui faut 10^6 fois plus de temps pour diffuser sur une distance d'un millimètre. Si une cellule devient plus grande, et si la distance entre la surface et l'intérieur s'accroît, le temps nécessaire au déplacement des substances par diffusion, vers l'intérieur et vers l'extérieur d'une cellule métaboliquement active devient trop long.

Toutefois malgré ces contraintes, certaines cellules eucaryotes peuvent être extrêmement grandes, par exemple dans notre propre corps, le corps cellulaire, des motoneurons de la moelle épinière, se prolonge par des processus extrêmement longs : les axones, qui peuvent mesurer jusqu'à un mètre de longueur. Cependant, il faut préciser que, dans ces conditions, l'ultrastructure de ces cellules de grande taille est dotée d'éléments spécialisés. En effet, les prolongements axoniques sont riches en mitochondries afin de diminuer la distance parcourus par les molécules d'oxygènes au cours de leur diffusion.

- **Si une mitochondrie mesure 2 micromètres de long combien d'angströms cela représente-t-il combien de nanomètres combien de millimètres ?**

La mitochondrie mesure $20 \times 10^4 \text{ \AA}$

$20 \times 10^3 \text{ nm}$

$20 \times 10^{-3} \text{ mm}$

CHAPITRE II : SCHEMA GENERAL DES CELLULES PROCARYOTES ET EUCARYOTES

- **Comparez votre mode de nutrition avec celui des Champignons (Eumycètes).**

Les Eumycètes et les humains sont hétérotrophes. De nombreux eumycètes sécrètent des enzymes qui digèrent les nutriments qui se trouvent encore dans l'environnement ; ensuite, ils absorbent les petites molécules issues de cette digestion. D'autres eumycètes absorbent de telles petites molécules provenant directement de l'environnement. En effet, le carbone absorbé par la plante est fixé sous forme de glucose par photosynthèse. Une partie du glucose est absorbée par

l'eumycète partenaire de la plante ; le reste est transporté dans les autres parties de la plante. Pour leur part, les humains (et la plupart des autres animaux) ingèrent des morceaux d'aliments relativement gros et les digèrent à l'intérieur de leur organisme.

- **Comment l'organisation complexe de la cellule eucaryote a-t-elle pu évoluer à partir de la cellule procaryote, si simple ? Comment les caractéristiques eucaryotes sont-elles apparues à partir de cellules procaryotes ?**

Les scientifiques expliquent cette évolution par deux théories : la théorie endogène et la théorie de l'endosymbiose. La théorie endogène explique l'origine de la compartimentation de la cellule eucaryotique en proposant des phénomènes multiples d'invagination de la membrane plasmique dans une cellule procaryotique géante dépourvue de paroi. Ce processus, avec quelques variantes, est à même de rendre compte de l'origine des organites à membrane simple ou double. Il est ainsi facile d'expliquer, par une simple vésiculation de type endocytose, l'apparition du réticulum endoplasmique rugueux ; les ribosomes qui le recouvrent sont en effet équivalents, par leur position, à ceux observés sur la face interne de la membrane plasmique des cellules bactériennes actuelles. Au lieu d'être directement sécrétées dans le milieu extracellulaire, les protéines que ces ribosomes fabriquent sont alors transitoirement accumulées dans la lumière d'une vésicule.

D'autre part, selon la théorie endosymbiotique, les mitochondries et les plastes (un terme général qui désigne les chloroplastes et les organites connexes) étaient auparavant de petits Procaryotes qui vivaient à l'intérieur de cellules plus grandes. On appelle *endosymbionte* une cellule qui vit à l'intérieur d'une autre cellule hôte. Les ancêtres procaryotes des mitochondries et des plastes ont probablement pénétré dans la cellule hôte sous forme de proies non digérées ou de parasites. Étonnamment, les scientifiques ont observé directement des cas ou des endosymbiontes qui étaient d'abord des proies ou des parasites en sont venus à entretenir une relation mutuellement bénéfique avec leur hôte, et ce, en moins de cinq ans.

Exercice 1

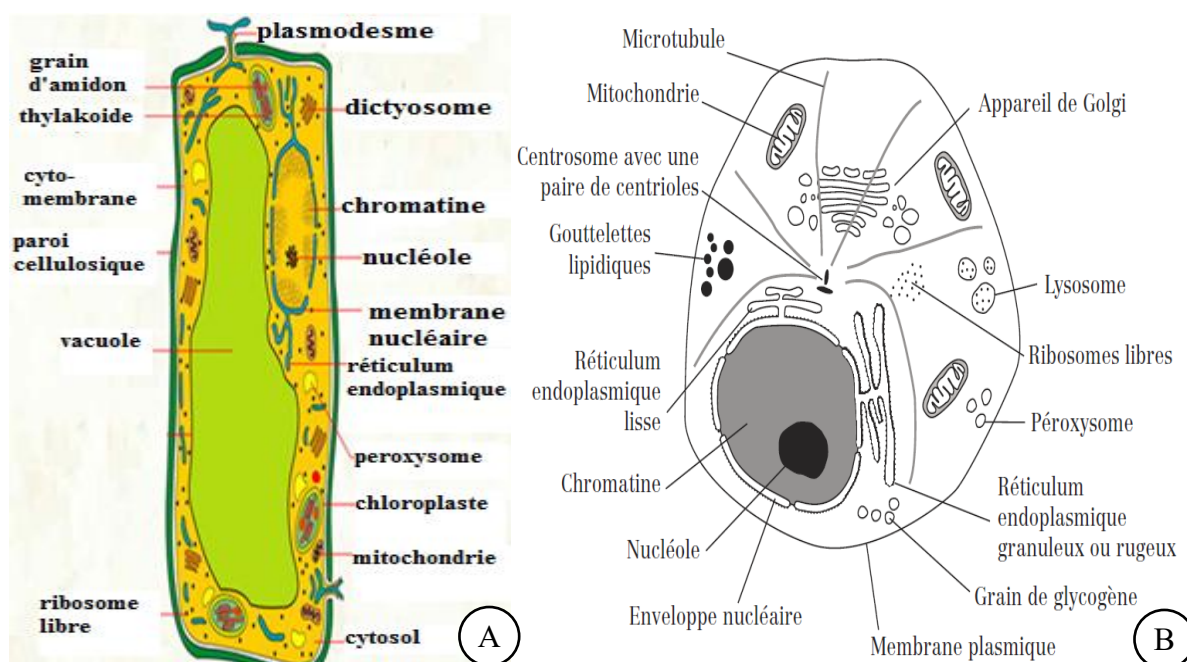


Figure 56 : Coupe de cellules, végétale(A) et animale(B), théoriques (Favro et Nicolie, 2011).

Exercice 2 : volumes cellulaires comparés (retour sur le concept de la compartimentation interne et de la théorie endosymbiotique)

1. Le volume de la bactérie (rayon = 1 μm) est de 4,18 μm^3 . Le rayon de la cellule animale étant 10 fois plus grand que celui de la bactérie, son volume est 1 000 fois supérieur (on élève 10 au cube) et vaut donc 4 180 μm^3 . Celui de la cellule végétale étant 50 fois plus grand, son volume est 125 000 fois supérieur à celui de la bactérie, soit un volume de 522 500 μm^3 . Ces calculs simples montrent que les cellules eucaryotiques sont beaucoup plus volumineuses que les cellules procaryotiques ; ceci explique aisément pourquoi les premières peuvent faire l'objet d'une compartimentation et/ou d'une différenciation poussées, absentes chez les dernières.

2. Sans avoir à faire de calculs, on constate que la surface est une fonction du carré de la dimension de la cellule, alors que son volume est une fonction du cube de cette même dimension; plus les cellules sont grosses et plus le rapport S/V diminue. Ceci a des conséquences importantes pour l'activité cellulaire, car c'est à travers la surface que se font les nécessaires échanges nutritifs avec le milieu, alors que l'activité métabolique concerne l'ensemble du volume cellulaire.

Il est admis que le passage évolutif du plan d'organisation procaryotique au plan eucaryotique, avec une grande augmentation de la taille des cellules, n'a pu être réalisé qu'au prix d'une compartimentation interne poussée et de l'acquisition/invention d'organites diversifiés prenant en charge des activités remplies par la membrane plasmique des Procaryotes. Voir la notion de «théorie endosymbiotique »

CHAPITRE III : MATRICE EXTRACELLULAIRE ET CYTOSQUELETTE

C'est le modèle de cellules étalées qui est correcte. Dans la plupart des tissus animaux ou végétaux, les cellules ne sont pas étroitement accolées les unes aux autres (modèle de cellules compactées), mais sont en contact avec un constituant extracellulaire parfois très abondant, formé de macromolécules sécrétées. La composition et l'organisation complexes de cette structure universelle nommée matrice extracellulaire (MEC), ont longtemps été méconnues. Ses fonctions sont multiples et dépassent largement, en particulier chez les animaux, le seul rôle de soutien qui est lui est généralement attribué.

CHAPITRE IV : LA MEMBRANE PLASMIQUE

La longueur des acides gras et la présence ou l'absence de doubles liaisons (acides gras insaturés ou saturés) conditionnent directement la conformation et la mobilité des chaînes et influent ainsi sur la fluidité ; plus une bicouche est riche en acides gras courts et insaturés, plus elle constitue un assemblage souple et fluide.

Exemple : Durant leur séjour dans l'épididyme, les spermatozoïdes subissent de nombreux remaniements dans la composition biochimique de leurs membranes plasmiques. On note notamment des changements dans la composition des lipides membranaires par l'accroissement des acides gras courts et non saturés et la diminution du rapport cholestérol / phospholipide. Ces modifications permettront à la membrane d'acquérir une grande fluidité et une élasticité élevée octroyant ainsi au spermatozoïde une résistance à la variation du volume, de plus elles représentent un facteur déterminant dans les phénomènes de capacitation et de réaction acrosomiale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. 2007. *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.). W.W. Norton & Company. 1539 P.
2. Amon, A., Berk, A., Bretscher, A., Kaiser, C., Kriege, M., Lodish, H., ... & Scott, M. 2014. *Biologie moléculaire de la cellule* 5^{ème} édition. *De Boeck Supérieur*, pp147-971.
3. Baudry C., Brezellec H., 2006. *Microbiologie Immunologie, exercices d'application*, 2^e édition. Edition Prophyre, pp 7-67.
4. Bautz AM., Bautz A., Chardard D., *Mini manuel de biologie animale. Cours + QCM*. 2^e édition. Dunod. 216P.
5. Blanchet, C., 2020. *Biologie cellulaire In : Dictionnaire thématique de Biologie à l'usage des étudiants de médecine, de BCPST et de licence*. Royaume-Uni : Editions Ellipses. pp. 07-40.
6. Bonnin, T., & Lombard, J. 2019. Situer l'analyse phylogénétique entre les sciences historiques et expérimentales. *Philosophia Scientiæ. Travaux d'histoire et de philosophie des sciences*, (23-2), 131-148.
7. Brooker R J., Widmaier E P., Graham L E., Stiling P D. 2011. *Biology*, second edition. McGraw-Hill, pp 65-256.
8. Callen, J. C. 2005. *Biologie cellulaire. Des molécules aux organismes*, 2e édition. Dunod, Paris. 514 P.
9. Callen, J. C. 2009. *Biologie cellulaire en 30 fiches*. Dunod, Paris. 163 P.
10. Cassimeris, L., Plopper, G., Lingappa, V. R. 2010. *Lewin's cells*. Second edition Jones & Bartlett Publishers, pp 12-821.
11. Dickenson J., Freeman F., Lloyd Mills C., Sivasubramaniam S., Thode C. 2013. *Molecular Pharmacology. From DNA to Drug Discovery*. First edition, John Wiley & Sons, Ltd., Publication, pp 71-169.
12. Enger E., Ross FC., Bailey DB. 2003. *Concepts in Biology'2007* 40th edition. Ed. Rex Bookstore, Inc..707 P.
13. Favro, C., Nicolie, F., 2011. *Biologie cellulaire UE2*. Hachette Livre. 340 P.
14. Geoffrey M., Cooper., Robert E., Hausman. 2007. *THE CELL: A Molecular Approach*. Fourth edition; Sinauer Associates, Inc. 848 P.
15. Heusser, S., & Dupuy, H. G. 2008. *La cellule organisme : les eucaryotes unicellulaires In : Atlas de biologie animale-Tome 1-3e éd: Les grands plans d'organisation*. Hachette. pp. 05-14.

Références bibliographiques

16. Karp, G., Isawa, J., Marshall, W. F. 2018. Biologie cellulaire et moléculaire de Karp. Belgique: 4e édition. De Boeck supérieur. 828 P.
17. Kierszenbaum, A. L. 2006. Histologie et biologie cellulaire : Une introduction à l'anatomie pathologique. De Boeck Supérieur. 638 P.
18. Krogh, D. 2005. Biology: A guide to the natural world, fifth edition. Pearson Education, pp 64-105.
19. Lodish, H. F., Berk, A., Kaiser, C., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H. L., ... and Amon, A. 2013. Cell Structure and Function. In: Molecular cell biology, seventh ed, W. H. Freeman and Company New York. pp. 397-920, pp 17-62.
20. Madigan MT., Martinko JM., Stahl DA., Clark DP. 2012 Biology of Microorganisms Thirteenth Edition. Cummings edition, pp 1-47
21. Margulis, L., & Chapman, M. J. (2009). Kingdoms and domains: an illustrated guide to the phyla of life on Earth. Academic Press, pp 33-109.
22. Maillet, M. 2006. Biologie cellulaire. 10^{ème} ed. France: Masson.
23. Meyer A., Deiana J., Bernard A. 2004. Cours de microbiologie générale 2^e édition. Dion éditeurs, pp 1-75.
24. Murray, R. K. 2002. Biomolécules et méthodes biochimiques. In: H. A. Harper (ed). Biochimie de Harper. 25^{ème} ed. Belgique : De Boeck. 6-14.
25. Peters, W. S. 2024. The cells of Robert Hooke: pores, fibres, diaphragms and the cell theory that wasn't. Notes and Records, 78(1), 53-74.
26. Pollard, T. D., Earnshaw, W. C., Housset, C. 2004. Biologie cellulaire. France: Elsevier, pp 1-85.
27. Raven, P. H., Singer, S. R., Johnson, G. B., Mason, K. A., & Losos, J. B. 2017. Biologie. De Boeck supérieur. 1278 P.
28. Reece, J. B., Urry, L. A., & Cain, M. L. Wasserman S., Minorsky P., Jackson R. 2012. Campbell biology. 4^{ème} édition Pearson 1611 P.
29. Richard D., Giraud N., Pradere F., Soubaya T. 2010 BIOLOGIE Licence tout le cours en fiches. Dunod 712P.
30. Segarra J., Chauvet E., Colson-Proch., Huille M., Labrousse M., Louet F., Metz F., Piètre E. 2014. Biologie BCPST1 - conforme au nouveau programme 2013. . Royaume-Uni: Editions Ellipses. pp 131-367.
31. Sherwood, L., Kell, R. T., & Ward, C. (2018). Human physiology: from cells to systems. 4th Canadian edition. 965 P

Références bibliographiques

32. Smith, L.S., 2006. Implementing Neural Models in Silicon. In: Zomaya, A.Y. (eds) Handbook of Nature-Inspired and Innovative Computing. Springer, Boston, MA.
https://doi.org/10.1007/0-387-27705-6_13
33. Tachdjian, G., Baudin, B., Bobé, P., Cuif-Lordez, M., Faivre, J., Guiochon-Mantel, A., Poüs, C., Schoëvaërt, D. (2018). Toute L'UE 2 - Cours + QCM: La Cellule Et Les Tissus. 2^{ème} ed. France: Elsevier Masson, pp 21-66.
34. Thiry, M., Rigo, P., Racano, S., 2021. Biologie cellulaire : exercices et méthodes 3ème édition. Tout en fiches, pp. 21-317.
35. Verma, P. S., 2007. Cell Biology, Genetics, Molecular Biology: Evolution and Ecology. 28th edition. Inde: S. Chand Limited, pp 03-224.
36. Adresse de site web : Dictionnaire Français en ligne :
<https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais-monolingue>.