



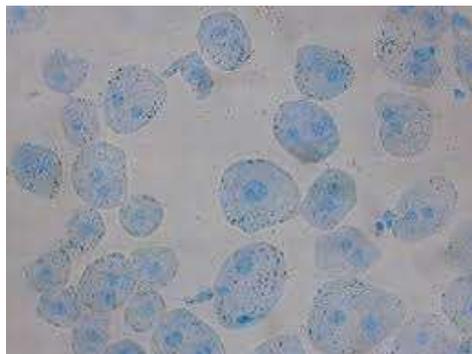
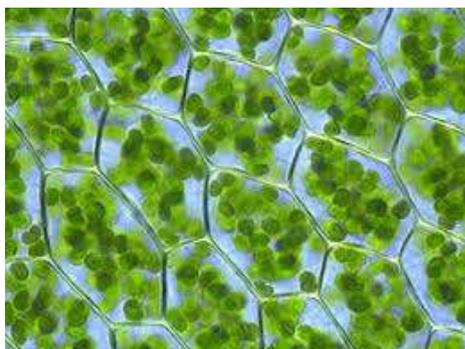
Université Mohammed V
Faculté des Sciences
Rabat

Cours de Biologie Cellulaire, SVI S1

Pr Qamar Lahlimi Alami

Introduction à la biologie cellulaire

- I. Composition chimique de la cellule
- II. Méthodes d'étude de la cellule
- III. Membrane plasmique
- IV. Hyaloplasme
- V. Noyau
- VI. Système de conversion d'énergie (mitochondrie, chloroplaste)
- VII. Système endomembranaire (Réticulum endoplasmique, Appareil de Golgi et Systèmes vésiculaires : endosomes, lysosomes, peroxysomes)



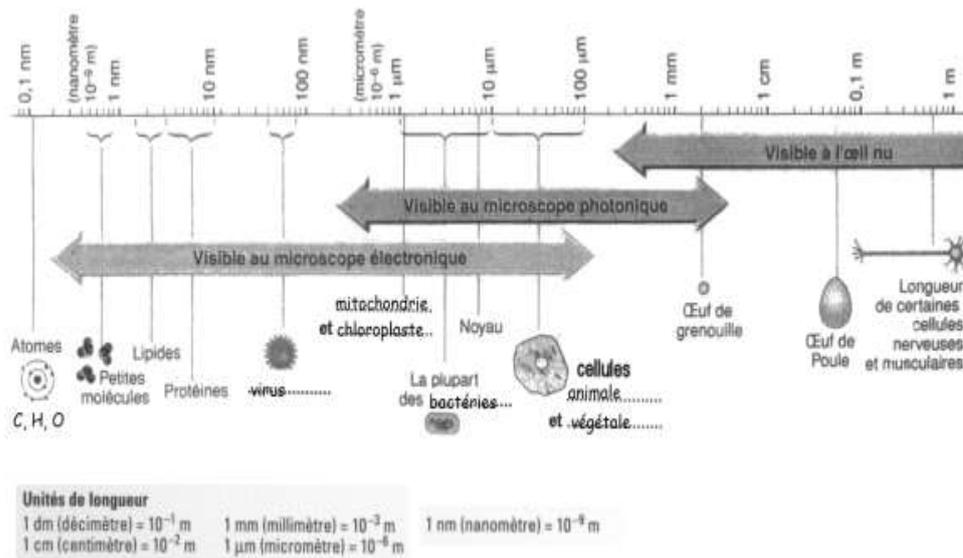
INTRODUCTION

Théorie cellulaire émise au 18^{ème} siècle : « La cellule est la plus petite unité structurale, fonctionnelle et reproductrice de tous les êtres vivants ».

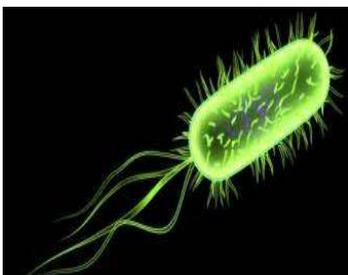
. Toute cellule dérive d'une cellule préexistante. Elle peut constituer, à elle seule, un organisme unicellulaire (ex : bactérie, protiste, champignon), soit s'assembler avec d'autres cellules pour former un organisme (animaux, végétaux). Une cellule méristématique est capable de se différencier en tous types de cellules d'un organisme : c'est la totipotence.

Les cellules sont constituées de molécules (lipides, protéines, glucides), elles-mêmes formées d'atomes (C, O, H, ...).

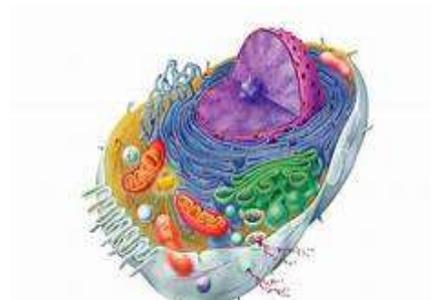
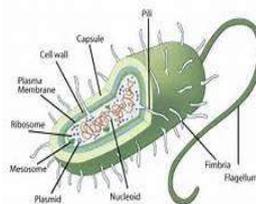
Niveaux de structuration du monde vivant



A partir des années 50, on caractérise deux grands types de cellules : cellule procaryote (pas de vrai noyau, ex : bactérie) et cellule eucaryote (noyau délimité par l'enveloppe nucléaire, ex : cellules animale et végétale, champignons).



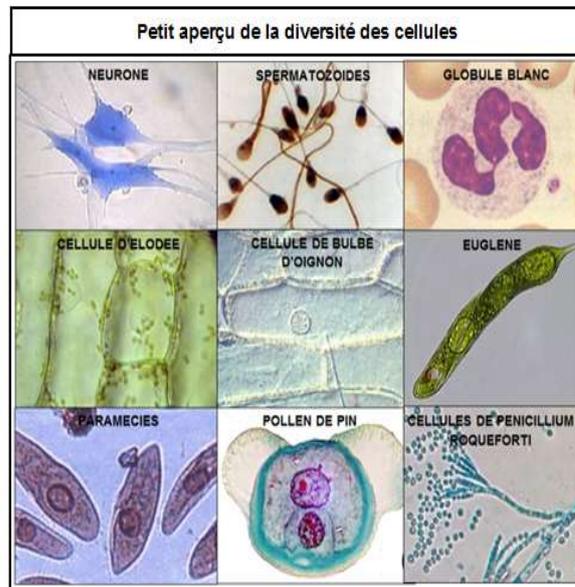
Cellule procaryote



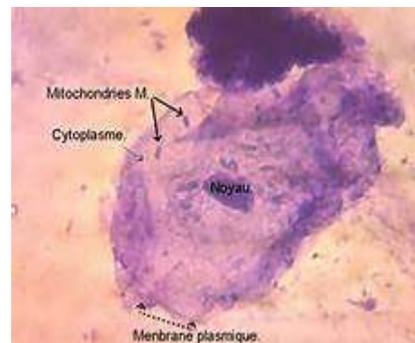
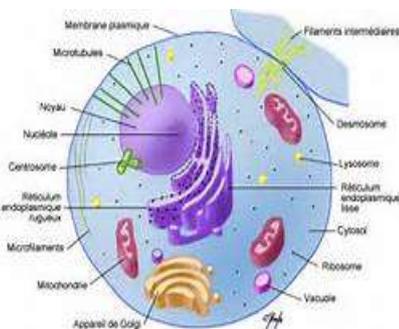
Cellule eucaryote

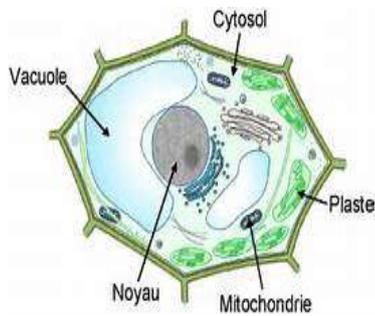
Caractères distinctifs	
Cellule procaryote	Cellule eucaryote
Pas de noyau	Noyau délimité par une enveloppe nucléaire
Division cellulaire par scissiparité	Division cellulaire par mitose et méiose
Pas d'organites, à part des replis de la membranes :les mésosomes	Nombreux organites
Paroi glycoproyéique	Paroi pectocellulosique chez les végétaux
Pas de cytosquelette	Cytosquelette (microtubules, ...)

Les cellules eucaryotes sont des cellules différenciées, qui présentent une spécialisation structurale et fonctionnelle. Les cellules d'un organisme donné sont caractérisées par des états de différenciation différents mais possèdent le même génome : c'est l'expression de gènes spécifiques qui explique la différence.



Les 2 grands types de cellules eucaryotes sont les cellules animales et les cellules végétales.

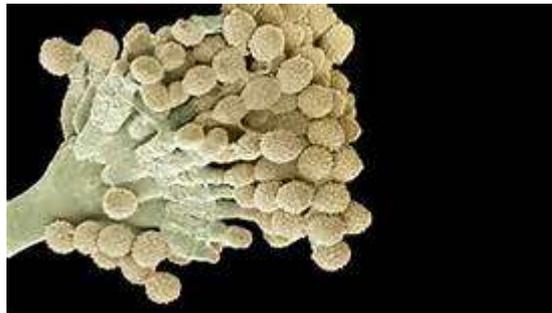




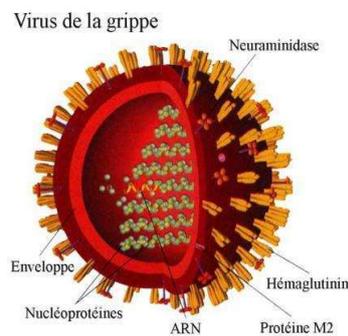
Cellule animale	Cellule végétale
Forme circulaire Uniquement membrane plasmique Plusieurs petites vacuoles Respiration	Forme géométrique Paroi pectocellulosique Une seule grande vacuole Chloroplastes, photosynthèse

Les champignons sont aussi des organismes eucaryotes, unicellulaires ou pluricellulaires.

Ex : levures, Aspergillus.



Et les virus, sont-ils des cellules ?



Les virus, ne sont considérés ni comme cellules eucaryotes ni comme cellules procaryotes (ce ne sont pas des cellules) ; ce sont des éléments qui ne possèdent ni noyau ni cytoplasme et ne peuvent se reproduire qu'en parasitant une cellule hôte en détournant la machinerie cellulaire. C'est un état acaryote.

COMPOSITION CHIMIQUE DE LA CELLULE

Les cellules sont en grande partie composées d'eau, jusqu'à 90% de leur poids. Toutes les réactions chimiques qui ont lieu dans les cellules sont en phase aqueuse. L'eau et les sels minéraux sont les molécules minérales.

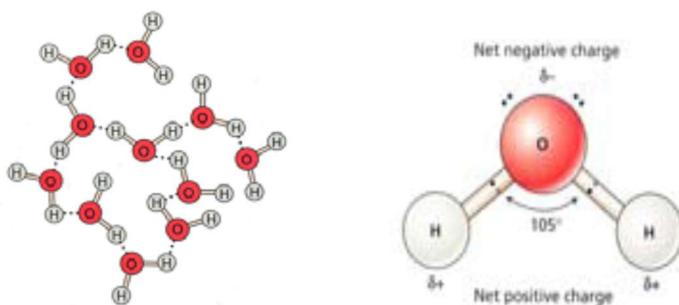
En s'associant à l'hydrogène, l'oxygène et l'azote (et d'autres atomes en plus faible quantité) les atomes de carbone forment les 4 grandes familles de molécules qui composent les cellules : protéines, lipides, glucides et acides nucléiques. Ce sont les molécules organiques.

MOLÉCULES MINÉRALES : Eau, sels minéraux	MOLÉCULES ORGANIQUES : Protéines, glucides, lipides et acides nucléiques
<ul style="list-style-type: none">• Molécules ne contenant pas de carbone• Unies par des liaisons ioniques• De petite taille, peuvent servir de support structural aux êtres vivants• Appelées aussi molécules inorganiques	<ul style="list-style-type: none">• Molécules à base de carbone sous forme de chaînes carbonées• Unies par liaisons covalentes• très petites ou très grandes tailles et servent de molécules structurantes

I - Les molécules minérales

1- L'eau

a- Structure de la molécule d'eau : C'est une petite molécule. L'atome d'oxygène et l'atome d'hydrogène occupent les sommets d'un triangle. Ils sont liés par des liaisons covalentes.

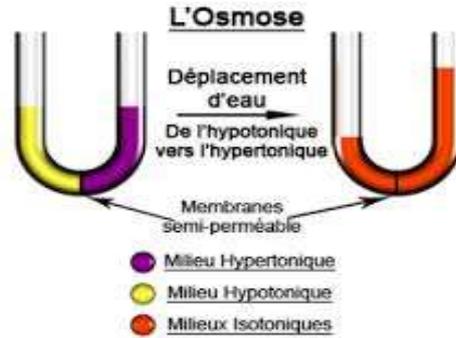


- La molécule d'eau est une molécule polaire : les électrons du nuage électronique sont inégalement répartis : défaut d'électrons au niveau de l'hydrogène et excès au niveau de l'oxygène. Cette électronégativité crée un dipôle électrique.

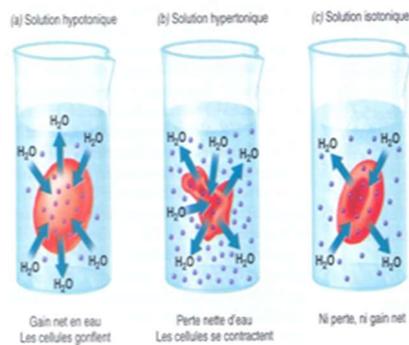
- Cette polarité conditionne les interactions avec les autres types de molécules : c'est le caractère hydrophile (affinité de l'eau pour les molécules polaires et les ions) ou hydrophobe (repousse les molécules apolaires).

b- Loi d'osmose

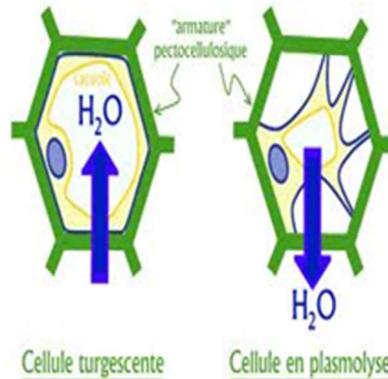
- Le transport de l'eau est passif et obéit à la loi d'osmose. C'est le passage d'un solvant à travers une membrane hémiperméable (ex : membrane plasmique).
- Ce flux s'effectue d'une solution hypotonique (moins concentrée : diluée) vers une solution hypertonique (plus concentrée) jusqu'à l'équilibre osmotique ou isotonie.



Cellules animales: les hématies



Cellules végétales



2- Les sels minéraux

Chimiquement, ce sont des éléments ionisés chargés soit positivement (cations) ou négativement (anions). Ils sont divisés en 2 groupes:

- les éléments principaux ou macroéléments: Ca, P, K, Cl, Na, Mg
- les éléments traces ou oligoéléments: Fe, Zn, Cu, Mn, I, Mo, etc.

Outre le fait qu'ils font partie des os et des dents, ils interviennent dans divers mécanismes : contrôle de l'équilibre hydrique (pression osmotique), de l'équilibre acide-base (pH), en tant que catalyseurs de nombreuses réactions métaboliques, entrent dans la composition des enzymes, des hormones, ...

Une carence en sels minéraux chez les plantes peut entraîner des symptômes tels un ralentissement dans la croissance, des chloroses voir même des nécroses. Exemple :

	Importance dans la plante	Carence	
Azote	Dans les acides aminés et protéines	Jaunissement, chute des feuilles	
Phosphore P	Dans les acides nucléiques et molécules énergétiques	Faible croissance, floraison retardée	
Potassium K	Régulation osmotique et ouverture des stomates	Faible résistance au froid et à la sécheresse	
Calcium Ca	Cohésion de la paroi pectocellulosique	Dommages sur les méristèmes	
Magnésium Mg	Constituant de la chlorophylle	Dépérissement des feuilles	
Manganèse Mn	Constituant de nombreuses enzymes	Dessèchement des feuilles	

Certaines de ces carences peuvent être corrigées par un apport d'engrais.

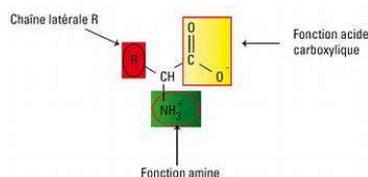
II- Les molécules organiques

Ce sont des molécules constituées d'un squelette carboné sur lequel se greffent d'autres atomes comme l'hydrogène, l'oxygène, l'azote et le phosphore ... Elles sont classées en 4 grands groupes : protéines, glucides, lipides et acides nucléiques.

1- Les protéines

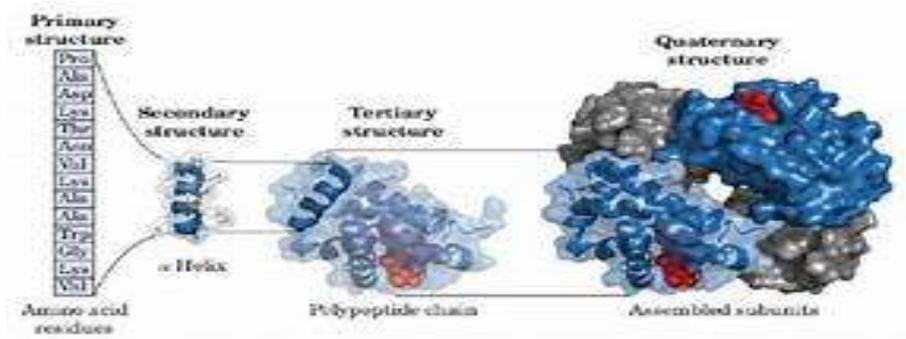
Ce sont des polymères d'acides aminés (les monomères) liés par une liaison peptidique, covalente **CO-NH**. La structure de base des acides aminés est toujours la même :

- Un carbone central sur lequel se greffe un atome d'H, deux groupements: amine et carboxyle
- Une chaîne latérale qui varie selon les 20 acides aminés.



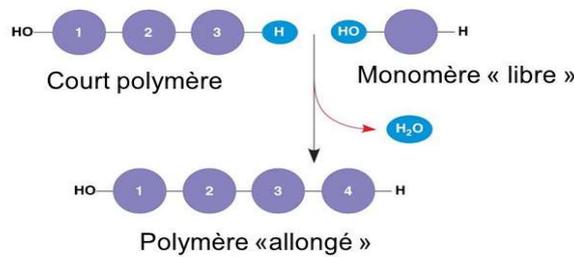
La succession des acides aminés varie d'une protéine à l'autre. On parle de séquence primaire. Différentes interactions au sein des chaînes peptidiques donnent une structure secondaire, tertiaire puis quaternaire aboutissant à une structure tridimensionnelle aboutissant à une protéine fonctionnelle.

Organisation structurale des protéines

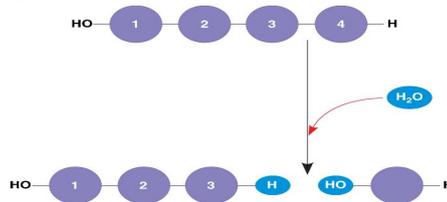


<u>Structure primaire</u> <u>des aa</u>	<u>Structure secondaire</u> Premier repliement par des liaisons H à intervalle régulier	<u>Structure tertiaire</u> Deuxième repliement par des liaisons diverses à intervalle irrégulier. La molécule prend la forme d'une boule. (conformation native)	<u>Structure quaternaire</u> Interaction de diverses chaînes déjà en structure tertiaire
--	--	--	---

La fabrication des protéines se fait par **condensation** d'acides aminés.



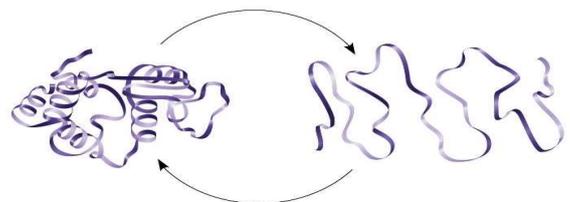
Les polymères se coupent souvent par des réactions d'**hydrolyse** (hydratation): Réaction chimique par laquelle une molécule est coupée par l'addition d'une molécule d'eau. C'est un processus qui libère de l'énergie.



Il existe deux grands groupes de protéines :

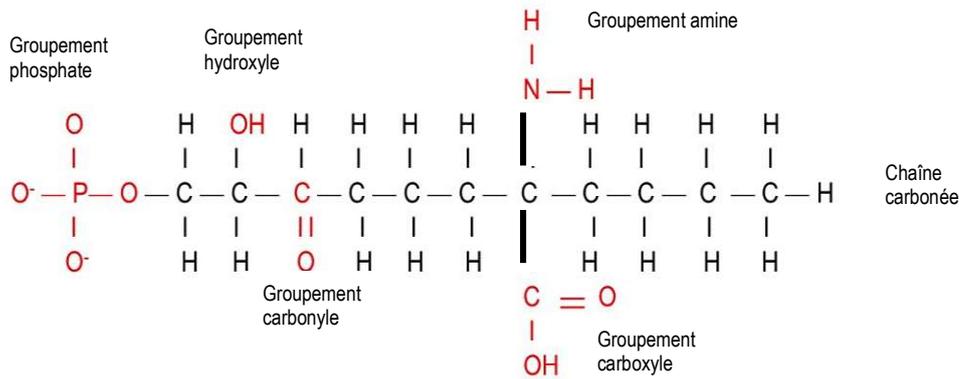
- Protéines de structure: dans les membranes, le cytosquelette ...
- Protéines enzymatiques, nécessaires à divers processus métaboliques, ex : protéases, hydrolases, ...

Les protéines peuvent se dénaturer (perdre leur conformation native) sous l'effet de la chaleur, d'un pH inadéquat ou d'une mauvaise concentration en sels (protéines non fonctionnelles) et elles peuvent reprendre leur forme si le milieu redevient normal.



- La séquence des acides aminés d'une protéine est dictée par un « gène » de l'ADN. Si une mutation génétique survient, la protéine sera modifiée : mutée.

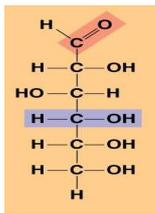
Il existe des regroupements d'atomes particuliers «accroché» aux squelettes carbonés des molécules. Ce sont les groupements fonctionnels qui donnent aux molécules une plus grande réactivité.



2- Les glucides

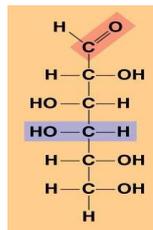
Ce sont des molécules, appelées aussi sucres, composées de C, H, O selon la formule brute $(CH_2O)_n$. Ce sont des molécules hydrophiles.

Selon l'arrangement des atomes, on distingue plusieurs isomères qui n'ont pas les mêmes propriétés.

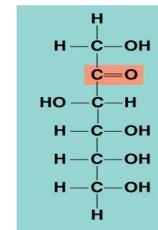


Glucose : $C_6H_{12}O_6$

(pain, du riz, ...)

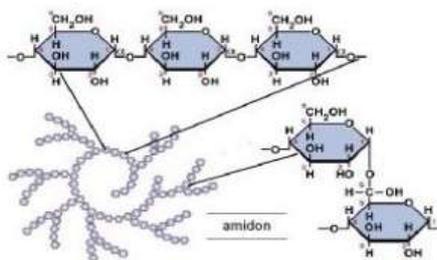


Galactose (lait)

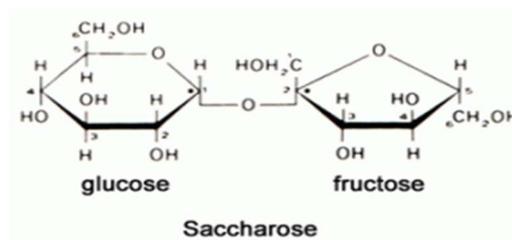


Fructose (fruits)

En fonction du nombre de monosaccharides, on distingue les disaccharides : association de 2 monosaccharides (maltose) et les polysaccharides : association de plusieurs monosaccharides pour former des polymères (amidon, glycogène, cellulose).



Amidon : polymère du glucose

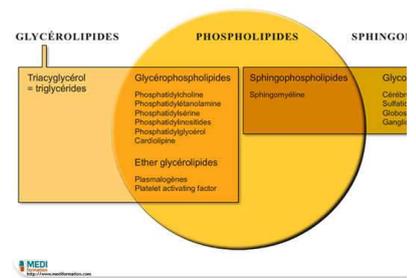


➤ Rôle des glucides : Essentiellement, rôle de réserve (graines), énergie pour la cellule, composants de la paroi pectocellulosique, des acides nucléiques et des membranes et également rôle dans la jonction dans le mécanisme de reconnaissance cellulaire.

3- Les lipides

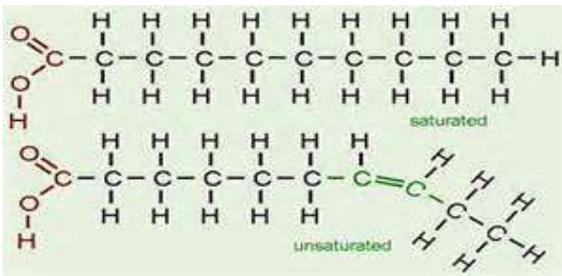
- Ce sont des macromolécules formées d'une molécule de glycérol (alcool) et de 3 molécules d'acides gras.
- Formule générale : $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$
- Hydrophobes ou amphiphiles, ils sont solubles dans l'éther.

CLASSIFICATION DES LIPIDES



-**Les lipides de réserve** sont constitués d'acides gras (qui peuvent être saturés ou insaturés) et de leurs associations en triglycérides et en phospholipides.

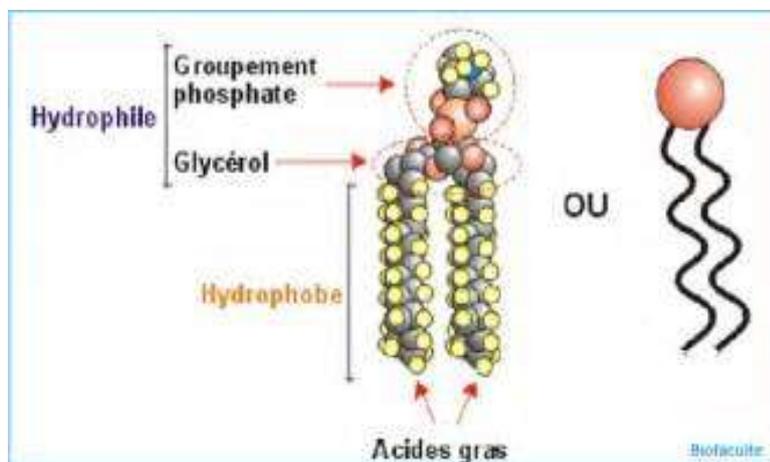
Les acides gras sont de longues chaînes carbonées à nombre pair de carbones et portant une fonction acide au niveau du carbone 1.



Les AG saturés ne comportent que des liaisons simples alors que les AG insaturés présentent des doubles et des triples liaisons.

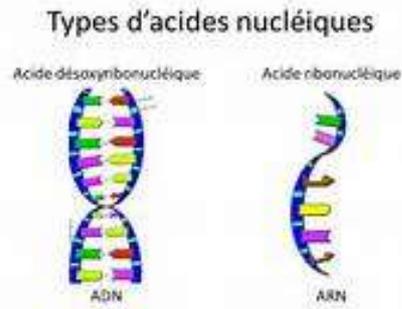
Les lipides membranaires sont constitués par un assemblage de **2 acides gras, de glycérol et de phosphate**. Ils ont une manière particulière de s'organiser en présence d'eau : pôle hydrophobe et pôle hydrophile (voir chapitre « membrane plasmique »)

→ caractère hydrophobe des membranes.



➤ Rôles des lipides : Réserves d'énergie (graines oléagineuses chez les végétaux et tissus adipeux chez les animaux), constituant des membranes, source d'énergie pour la cellule.

3- Les acides nucléiques



Les acides nucléiques ont été isolés initialement des noyaux des cellules. On peut en distinguer deux grands types :

- les acides désoxyribonucléiques (ADN) : localisés dans le noyau des cellules et constituent le support de l'information génétique
- les acides ribonucléiques (ARN) : participent à l'expression de l'information génétique.

Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont des macromolécules et comportent des sous unités appelées nucléotides.

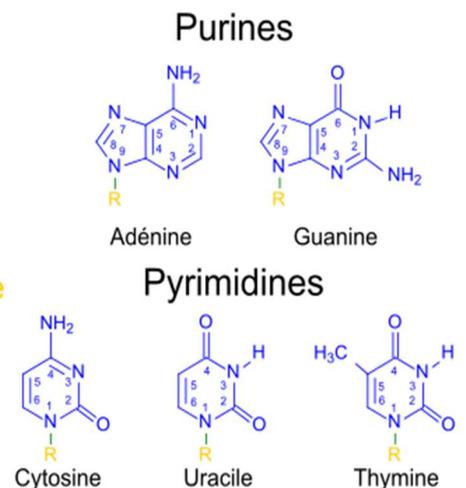
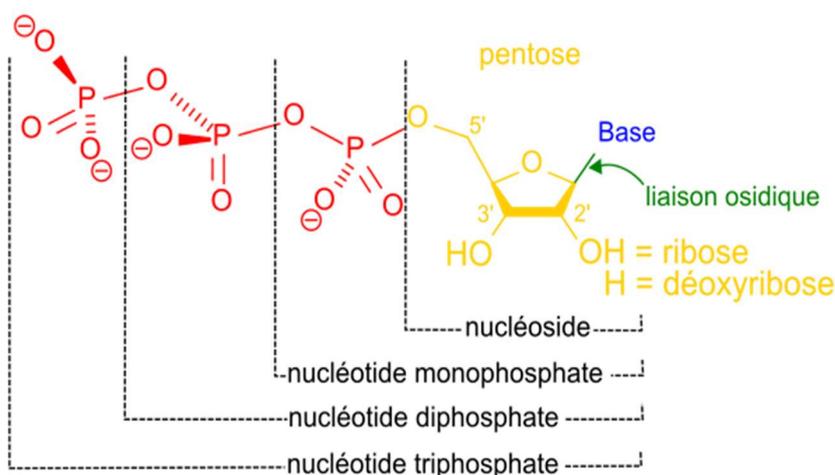
3.1. ADN : Acide DéoxyriboNucléique

C'est une chaîne de plusieurs nucléotides, eux-mêmes composés de :

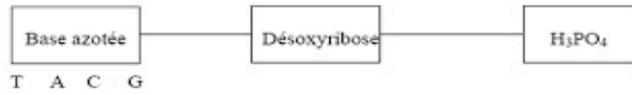
- ✚ Bases azotées dérivées de 2 noyaux hétérocyclés azotés :
 - Noyau Purine : Adénine (A), Guanine (G) : Bases Puriques
 - Noyau Pyrimidine : Cytosine (C), Uracile (U), Thymine (T) : Bases Pyrimidiques

La Thymine (T) se trouve uniquement chez l'ADN et l'Uracile (U) uniquement chez l'ARN.

- ✚ Pentose : est soit le Ribose (dans l'ARN) ou le Désoxyribose (dans l'ADN)
- ✚ L'acide phosphorique (H_3PO_4)



La liaison Pentose–base est une liaison N-osidique. Cette association est appelée nucléoside.



Chaque nucléotide d'ADN est composé de :

- Thymidine = Thymine + Désoxyribose
- Uridine = Uracile + Ribose
- Guanosine = Guanine + Ribose/ Désoxyribose
- Adénosine = Adénine + Ribose/ Désoxyribose
- Cytidine = Cytosine + Ribose/ Désoxyribose

La liaison acide phosphorique-pentose est une liaison phosphoester.

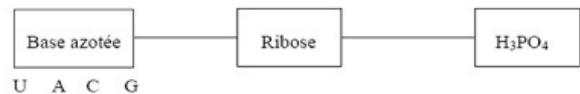
L'ADN est une macromolécule de longue chaîne polynucléotidique orientée dans le sens de l'extrémité 5' (comportant un groupement phosphate) vers l'extrémité 3' qui possède un OH C'est la structure primaire.

Elle a une structure secondaire importante: elle est formée d'une double chaîne nucléotidique: 2 brins anti-parallèles, disposés dans des directions opposées (5' à 3' et 3' à 5'), hélicoïdaux (double hélice à rotation droite) et complémentaires (2 liaisons hydrogène entre A et T et 3 liaisons hydrogène entre C et G).

L'ADN est le support qui sert de base à la biosynthèse des protéines.

3.2. ARN : AcideRiboNucléique

Chaque nucléotide d'ARN est composé de :

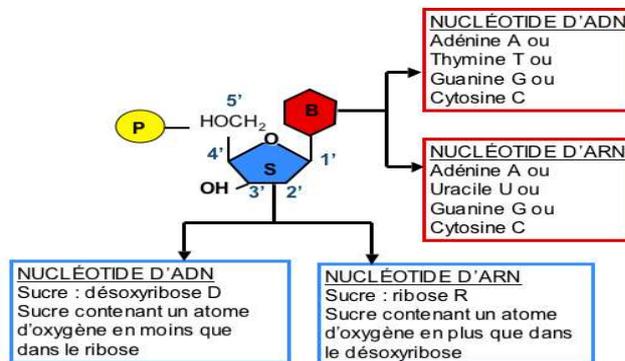


Les ARN sont des macromolécules composées d'une seule chaîne nucléotidique = Monocaténares.

Mais dans une même chaîne d'ARN des portions peuvent être sous forme bicaténaire avec une complémentarité suivant la règle :

- 2 liaisons hydrogène entre A et U
- et 3 liaisons hydrogène entre C et G

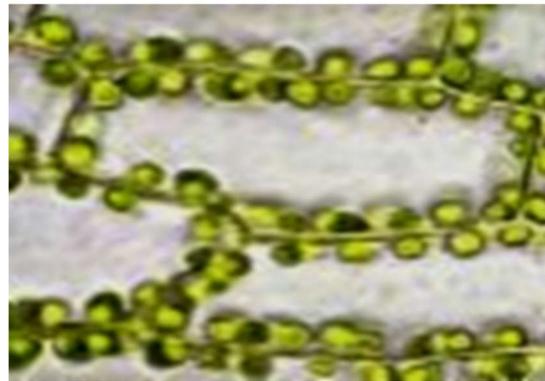
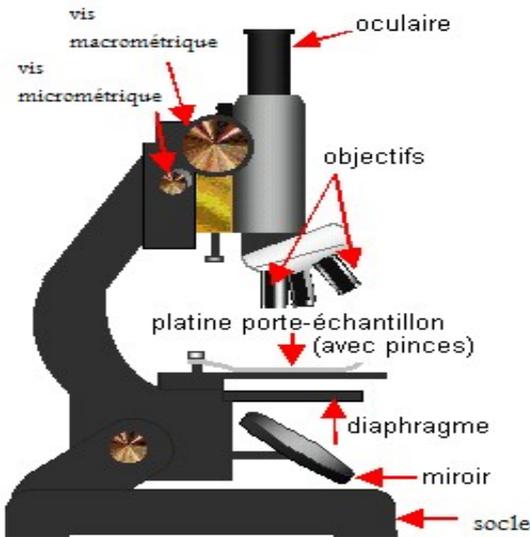
Il existe 3 types d'ARN qui jouent un rôle essentiel dans la transcription (ARNm) et la traduction (ARNt et ARNr) de l'information génétique qui aboutit à la biosynthèse des protéines.



Méthodes d'étude de la cellule : microscopes, fractionnement, cultures cellulaires

I - Microscopes

1.1. Microscope optique ou photonique



Il permet d'observer sur une coupe très fine les détails infiniment petits d'un objet ou échantillon. Il faut que l'objet soit mince pour que la lumière (photons) puisse le traverser.

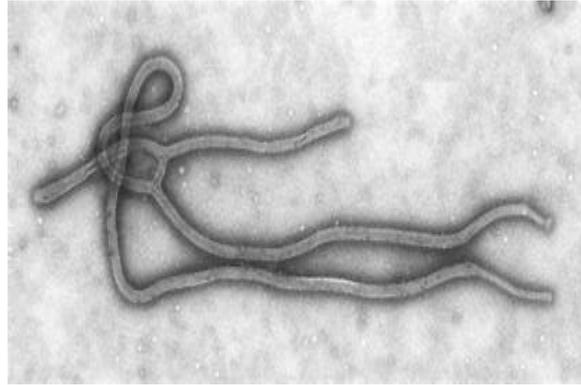
- Étapes de l'observation:
 - Préparation de l'échantillon
 - Mise au point
 - Changement de grossissement
 - Observation

1.2. Microscope électronique

Le microscope électronique utilise le même principe de lentilles et de faisceaux qu'un microscope optique.

Ce qui varie, c'est que le microscope électronique est doté de lentilles électromagnétiques et d'un faisceau d'électrons, alors qu'un microscope optique utilise un faisceau de lumière et des lentilles en verre.

La résolution des microscopes électroniques est beaucoup plus grande (le grossissement atteint 2 millions de fois, contre 2.000 fois avec un microscope optique).

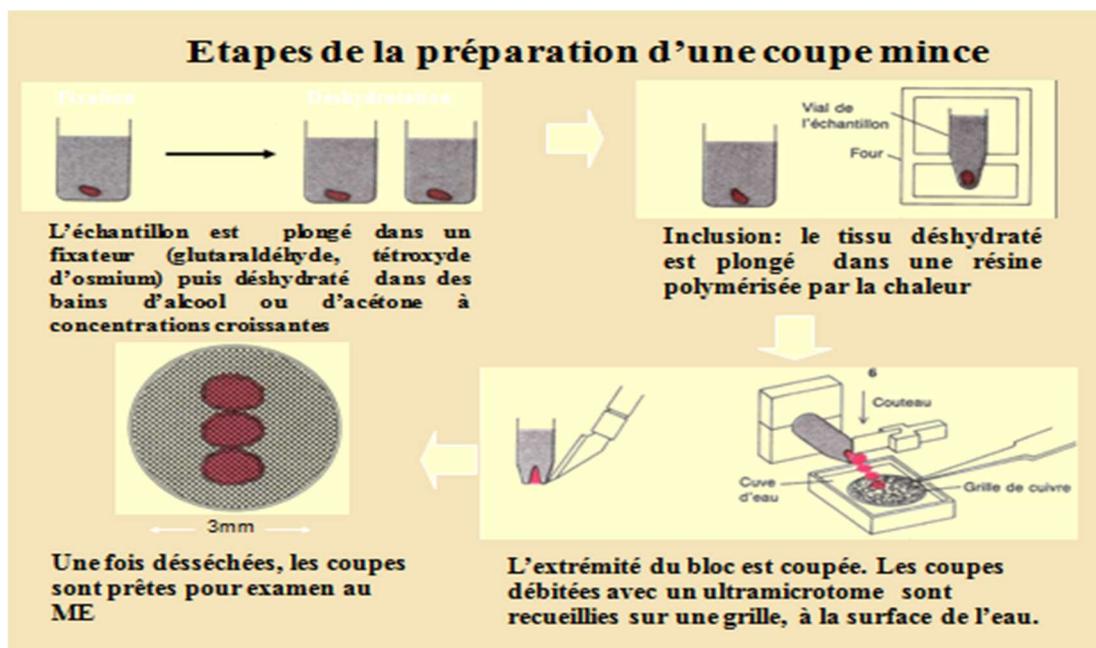


Virus Ebola

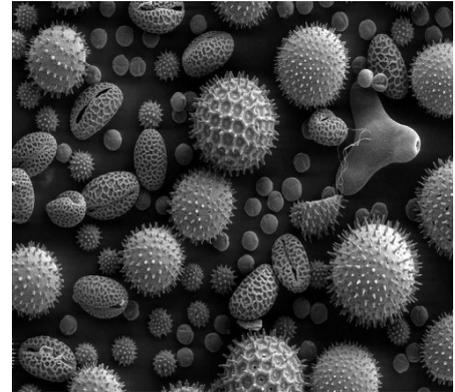
a) Microscope électronique à transmission

Le microscope électronique en transmission (MET ou TEM en anglais) utilise un faisceau d'électron à haute tension, émis par un canon à électrons. Des lentilles électromagnétiques sont utilisées pour focaliser le faisceau d'électrons sur l'échantillon. En traversant l'échantillon et les atomes qui le constituent, le faisceau d'électrons produit différentes sortes de rayonnements. En général, seuls les électrons transmis sont alors analysés par le détecteur, qui traduit le signal en image contrastée.

Les échantillons doivent être préparés selon un protocole précis, qui doit à la fois conserver sa structure et être conducteur pour laisser passer le faisceau d'électrons. Des coupes très fines de l'échantillon sont réalisées à l'ultramicrotome (de 60 à 100 nanomètres). Des colorations aux métaux lourds sont également possibles pour augmenter les contrastes de structures particulières des échantillons, préalablement placées sur des grilles d'observation.



b) Microscope électronique à balayage



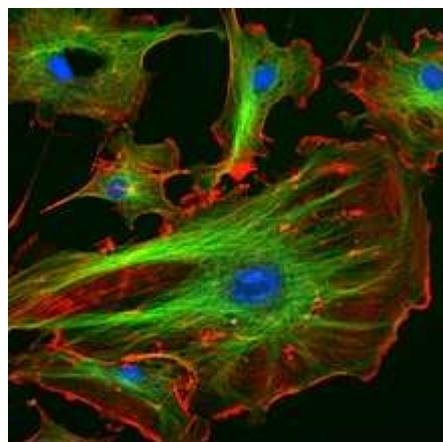
Grains de pollen (Gr : 500x)

Le microscope électronique à balayage (MEB ou SEM en anglais pour *scanning electron microscopy*) utilise un fin faisceau d'électrons, émis par un canon à électrons. Des lentilles électromagnétiques permettent de focaliser le faisceau d'électrons sur l'échantillon.

L'interaction entre les électrons et l'échantillon provoque la formation d'électrons secondaires de plus faible énergie. Ils sont amplifiés puis détectés et convertis en un signal électrique. Ce processus est réalisé en chaque point de l'échantillon par un balayage du microscope. L'ensemble des signaux permet de reconstruire la typographie de l'échantillon et de fournir une image en relief.

La préparation des échantillons est contraignante. Ils doivent être déshydratés puis subir un traitement pour devenir conducteur (fixation des tissus, nettoyage). L'échantillon est ensuite placé sur le porte-objet.

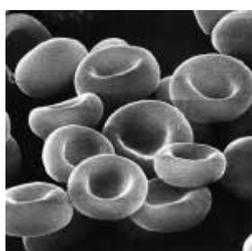
c) Microscope à épifluorescence



Les cellules endothéliales de l'artère pulmonaire de la vache. Les noyaux cellulaires sont de couleur bleue; les microtubules sont de couleur verte; les filaments d'actine sont de couleur rouge.

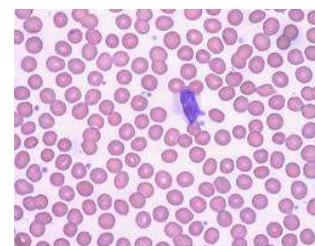
La fluorescence est la propriété que certains corps ou molécules ont à émettre une lumière après avoir été excités avec une lumière d'énergie supérieure. Ainsi, un objet excité par une longueur d'onde émettra une fluorescence à une longueur d'onde supérieure.

La technique du microscope en fluorescence est donc la même qu'un microscope optique, sauf que la lumière utilisée n'est pas blanche, mais possède une gamme définie de longueur d'onde. La lumière arrive sur l'échantillon par le haut (*épi*-fluorescence) et non par-dessous. À l'émission, on peut alors utiliser des lasers possédant une longueur d'onde unique ou des filtres d'excitation ne laissant passer que la lumière de longueur d'onde désirée sur l'échantillon. Après excitation de l'échantillon, celui-ci émet à son tour une lumière d'une longueur d'onde différente. On peut utiliser des filtres permettant de n'observer que la longueur d'onde désirée.



Comparaison entre microscope électronique et microscope photonique

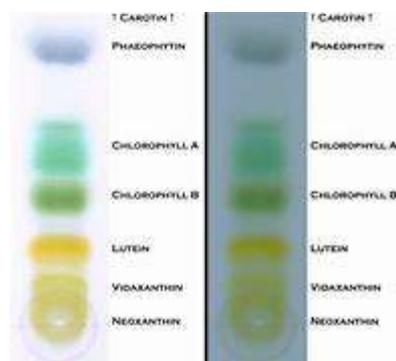
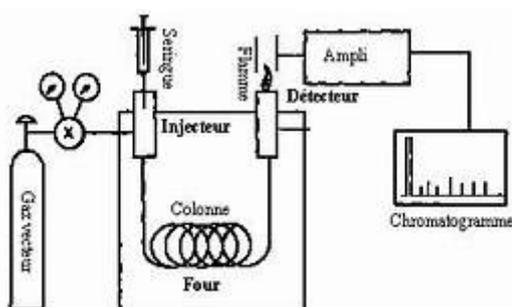
	MET	MO
Source d'énergie	Électrons	Photons
Couleur	Noir et blanc	Couleurs:lugol,RN
Etat des cellules	Mortes: fixées	Mortes ou vivantes
Grossissement	2000 à 1million x	25 à 1000 x
Pouvoir séparateur	4 Å	0.2 µm
Lentilles	Magnétiques	En verre
Image reçue	Sur écran fluorescent	Par l'oeil
Préparations coupées	A l'ultra microtome	Au microtome



II- Méthodes d'étude chimique

Ce sont des méthodes de séparation de molécules (chromatographie et électrophorèse) ou d'organites (fractionnement cellulaire).

a) Chromatographie



La chromatographie est une technique de séparation des substances chimiques (mélange homogène liquide ou gazeux) qui repose sur des différences de comportement entre une phase mobile courante et une phase stationnaire (ou phase fixe).

On peut classer les méthodes chromatographiques d'après la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mis en œuvre dans la séparation.

La phase mobile en chromatographie peut être :

- soit un gaz (chromatographie en phase gazeuse), la phase mobile est alors appelée gaz vecteur ou gaz porteur ;
- soit un liquide (chromatographie sur papier, couche mince ou colonne), la phase mobile est alors appelée éluant.

La phase fixe peut être solide ou liquide. Les solides, silice ou alumine traitées, permettent la séparation des composants des mélanges grâce à leurs propriétés adsorbantes. Ils peuvent être employés comme remplissage d'une colonne (chromatographie par gravité et chromatographie à haute performance ou HPLC) ou étalés en couche mince sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille de matière plastique (chromatographie sur couche mince ou CCM).

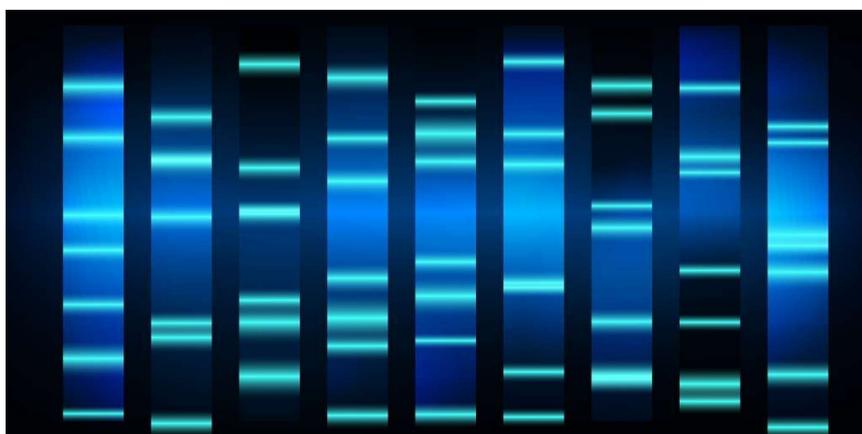
b) Electrophorèse

L'électrophorèse est une technique biochimique de séparation fondée sur le fait que des molécules portant des charges électriques différentes migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique.

Si l'idée d'utiliser cette caractéristique pour séparer des molécules remonte à la fin du dix-neuvième siècle, c'est le biochimiste suédois Arne Tiselius (1902-1971), prix Nobel de chimie en 1948, qui réussit le premier à séparer par cette technique les protéines contenues dans des liquides biologiques complexes comme le sérum sanguin et le lait.

L'électrophorèse des protéines peut être réalisée sur des supports variés, notamment sur gel de polyacrylamide ou sur gel d'agarose selon les informations recherchées.

La séparation de l'ADN est souvent utilisée en biologie moléculaire pour identifier des fragments particuliers. Pour séparer des séquences, les chercheurs réalisent habituellement une électrophorèse avec un gel d'agarose : soumis à un champ électrique, les fragments d'ADN les plus petits migrent le plus vite, d'où leur séparation en fonction de leur taille. Cependant, cette technique est longue et, peu sensible, elle nécessite des quantités suffisantes d'ADN. La résolution pour de grosses molécules d'ADN (par exemple 40 à 50 kb) est limitée.



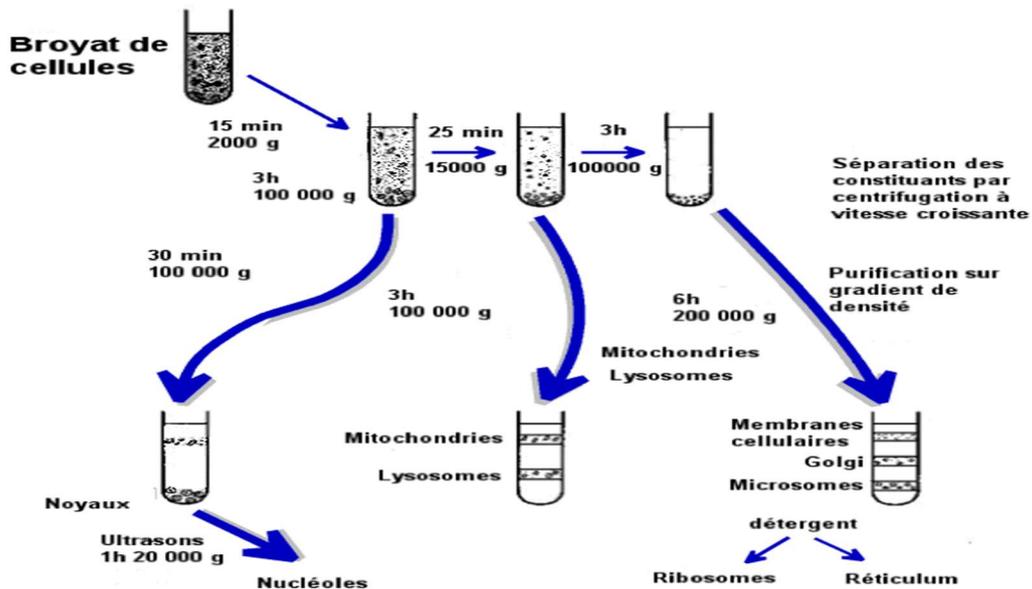
c) Fractionnement cellulaire

Afin d'analyser leur structure ou leur composition, il faut d'abord séparer les différentes structures présentes dans la cellule.

Pour cela, on broie une culture de cellules. La séparation des constituants peut alors se faire par centrifugation.

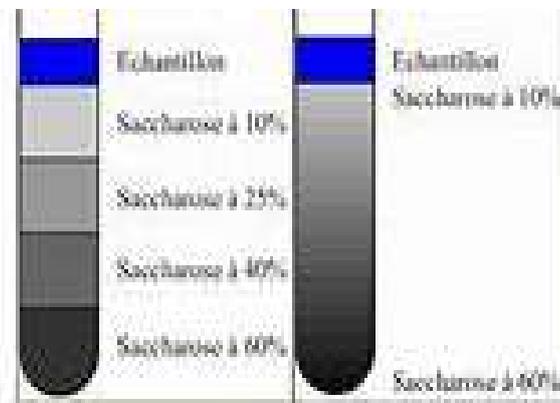
➤ Centrifugation différentielle

On centrifuge en fonction de la taille et de la densité de ses constituants et donc à différentes vitesses : à chaque vitesse, différents organites se déposent dans le culot, qui sera prélevé.



➤ Centrifugation par gradient préformé

Cette technique consiste à déposer une mince couche d'homogénat au-dessus de la solution de saccharose dont la concentration varie de façon régulière et décroissante du bas vers le haut. Les différents constituants de l'homogénat sédimentent tous à des vitesses différentes, on obtient ainsi différentes bandes (la couche la plus dense étant au fond) qui seront alors séparées.



III- Méthodes d'étude physiques

a) Autoradiographe : Cette technique permet de suivre et de localiser des substances au sein d'un organisme. Elle repose sur l'utilisation de produits radioactifs qui possèdent 2 propriétés essentielles:

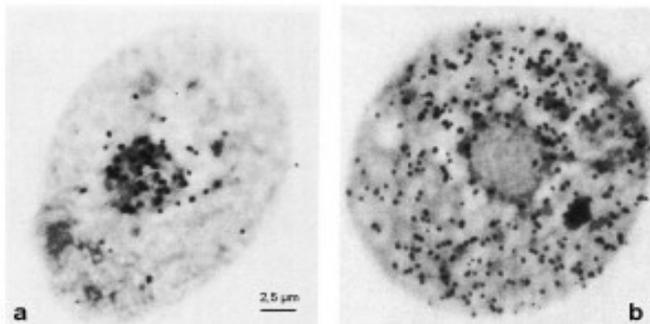
- ils sont utilisés par les êtres vivants exactement comme leurs isotopes non radioactifs.
- Ils émettent un rayonnement qui peut être repéré par l'utilisation d'une émulsion photographique.

On fournit à l'organisme un composé radioactif (contenant le plus souvent du ^{14}C ou du ^3H = tritium) soit par injection directe ou par incubation de cellules : c'est le « pulse ».

On réalise des coupes dans les tissus à étudier, ou on prélève les cellules en culture. On fixe le matériel et les composants radioactifs non incorporés sont éliminés par lavage.

On recouvre le matériel d'une émulsion photographique (mélange de gélatine et de cristaux de bromure d'Ag). On maintient le tout plusieurs jours ou plusieurs semaines à l'obscurité. Pendant ce laps de temps, les rayonnements émis par les éléments radioactifs vont transformer l'AgBr en Ag métallique. C'est le « chase ».

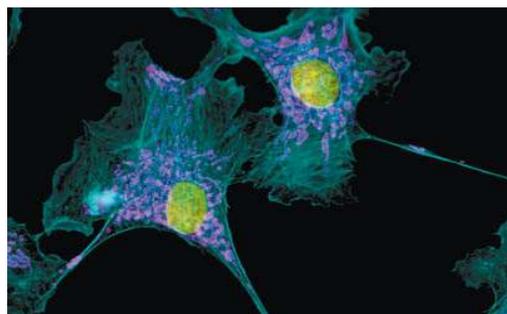
On développe le film pour faire apparaître en noir les zones impressionnées (présence des grains d'argent opaques). L'observation simultanée du matériel permet de localiser les molécules ayant incorporé l'élément radioactif (molécules marquées).



a. Autoradiographie après 15 min de culture sur milieu contenant de l'**uracile radioactif**.
b. Autoradiographie après culture sur milieu radioactif pendant 15 minutes puis transfert sur un milieu de culture non radioactif pendant une heure et demi.

L'ARN est formé dans le noyau (a) mais, contrairement à l'ADN, on le retrouve peu après dans le cytoplasme (b). On peut donc observer que l'ARN radioactif se déplace.

b) Fluorescence : L'imagerie en fluorescence utilise un éclairage à haute intensité pour exciter les molécules fluorescentes dans l'échantillon qui absorbent l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et la restituent sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission).



LA MEMBRANE PLASMIQUE

1. Définition

C'est la membrane qui limite la partie vivante de la cellule et la sépare du milieu extérieur.

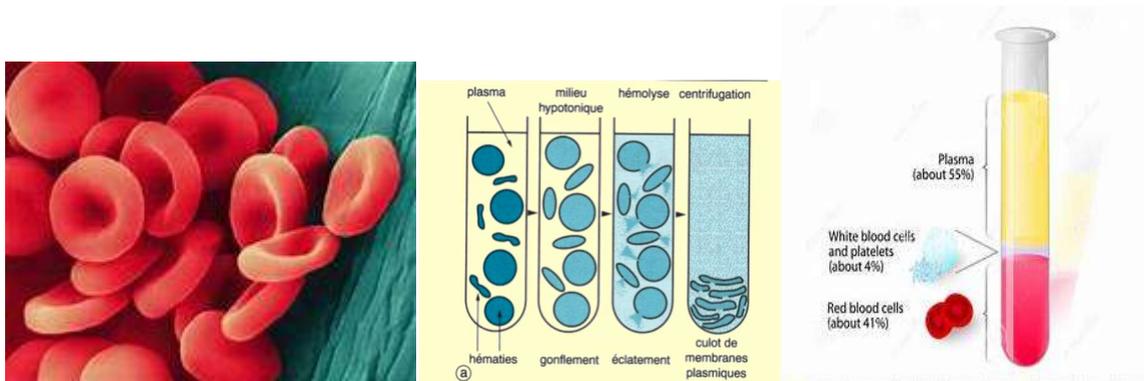
De faible épaisseur: 75 Å, son ultrastructure est observée au microscope électronique.

Toutes les membranes des organites cellulaires et du système endomembranaire ont une structure similaire à celle de la membrane plasmique. On parle **d'unité membranaire**.

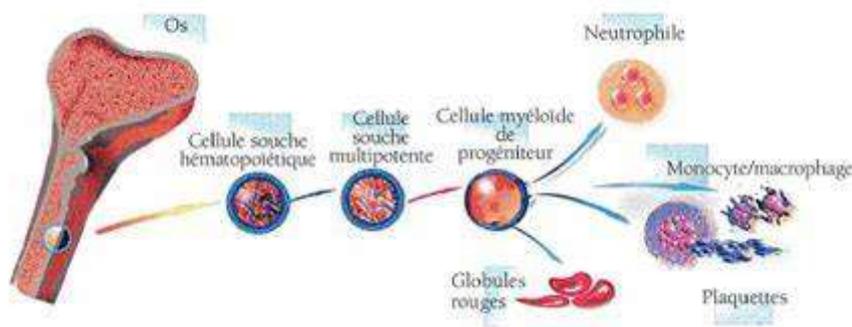
2. Isolement des membranes plasmiques

Exemple des hématies ou globules rouges : le fractionnement se fait par fractionnement cellulaire ou hémolyse. Un simple choc osmotique dans une solution hypotonique permet de faire éclater ces cellules et éliminer le cytoplasme (hémoglobine).

Une centrifugation permet de récupérer la fraction « membrane plasmique ».



Remarque importante : Les hématies sont des cellules anucléées.



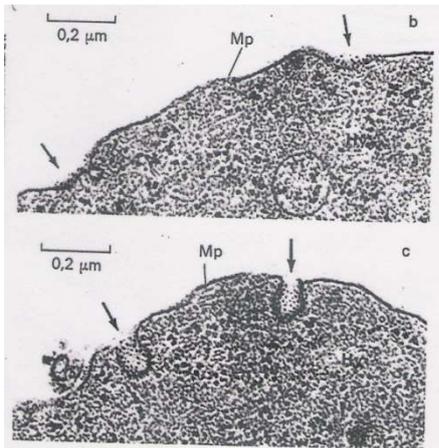
Elles sont faciles à obtenir (sans tuer l'animal), très nombreuses, isolées et dépourvues d'organites.

3. Composition chimique de la membrane

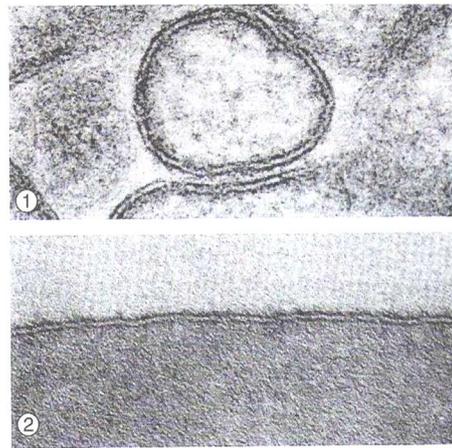
- 60% de protéines et glycoprotéines
- 40% de lipides (surtout des phospholipides)

4. Structure de la membrane plasmique

4.1. Observation au microscope électronique à transmission

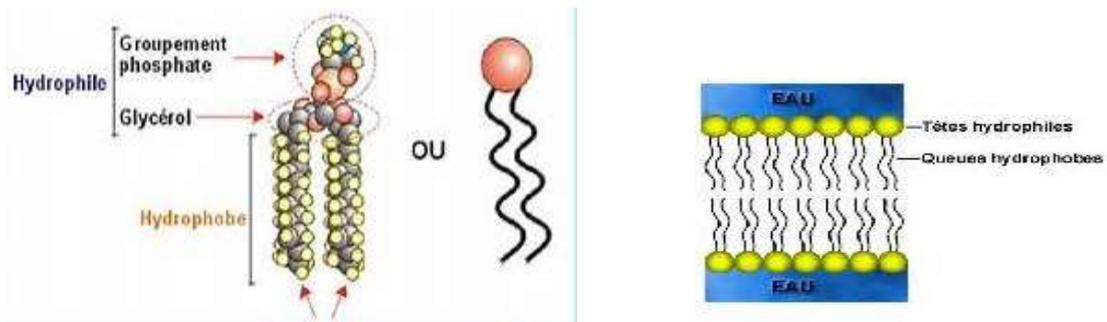


A faible Gr (3000-100 000x): structure simple, dense et noire



Gr >150 000x: structure en 3 feuillets:
2 feuillets denses protéiques (20Å) entourant un feuillet clair lipidique (35Å)

4.2. Les lipides membranaires



Au sein de la membrane ; les lipides sont présents sous différentes formes :

✓ Phospholipides : présentent tous une tête hydrophile (phosphate et groupement spécialisé) et une queue hydrophobe (glycérol et acides gras). On distingue 2 types de phospholipides :

- les glycérophospholipides : association de glycérol, 2 acides gras, 1 acide phosphorique et alcools ou acides aminés.

- les sphingophospholipides : association de sphingosine, acides gras, acide phosphorique et alcools ou acides aminés.

✓ Glycolipides : 2 types : glycéroglycolipides et sphingoglycolipides

Ce sont les glycolipides des membranes des érythrocytes qui définissent les groupes sanguins.

✓ Cholestérol : uniquement présent dans les membranes des cellules animales, il est composé d'un noyau stéroïde hydrophobe, d'une queue hydrophobe et d'une fonction alcool hydrophile. C'est donc une molécule amphiphile qui représente environ le quart des lipides membranaires et influence la fluidité membranaire.

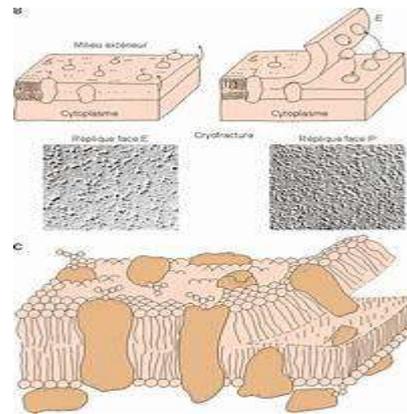
4.3. Les protéines membranaires

Les protéines membranaires ont des rôles spécifiques au sein de la bicouche phospholipidique : récepteurs, transporteurs, adhérence cellulaire, catalyse enzymatique, messagers intracellulaires, ...

Chaque protéine possède une extrémité N-terminale et une extrémité C-terminale.

Elles sont ancrées de différentes manières dans la membrane.

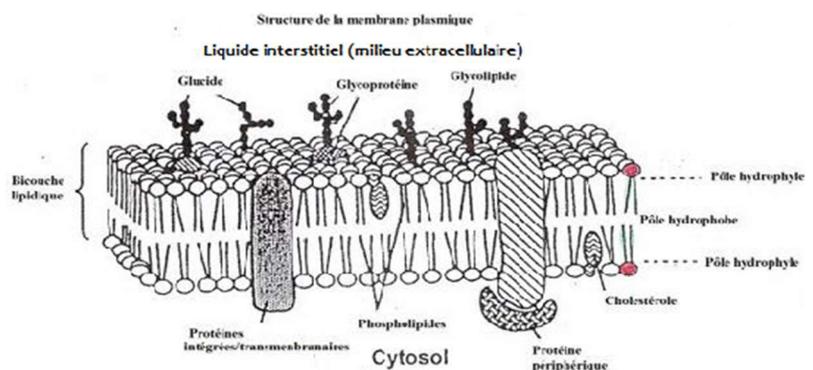
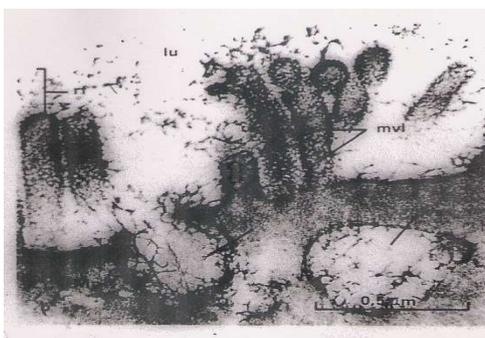
➤ Observation au microscope électronique à balayage



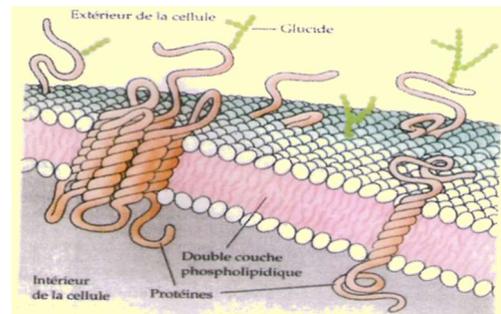
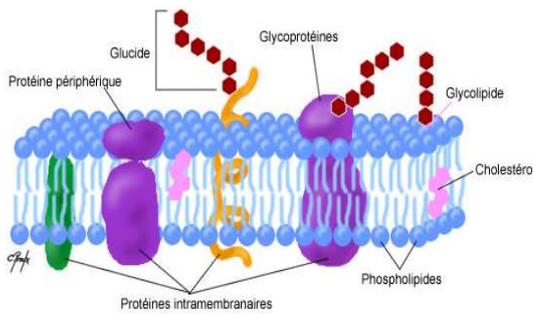
- ✓ Les protéines extrinsèques : localisées en dehors de la bicouche phospholipidique, elles sont soit entièrement intracellulaires soit entièrement extracellulaires. Elles interagissent avec la membrane par des liaisons hydrogènes qui peuvent être facilement rompues par des variations de forces ioniques et de pH.
- ✓ Les protéines transmembranaires traversent les 2 feuillets de la membrane. Elles sont liées de manière stable avec l'environnement hydrophobe de la face interne de la membrane par les acides aminés apolaires. Elles ne peuvent ainsi être séparées de la double couche phospholipidique que par des détergents.

4.4. Revêtement fibreux glucidique

La grande majorité des glucides membranaires sont sous forme de glycoprotéines et une petite partie de glycolipides. Ils n'existent pas à l'état libre : ils sont liés aux protéines par des liaisons N-glycosidiques et des liaisons O-glycosidiques sous forme de petites glycoprotéines.



4.5. Modèle moléculaire de la membrane plasmique: Mosaïque fluide (Singer et Nicholson, 1972)



4.6. Asymétrie et mobilité

- Lipides : les membranes sont constituées de feuillettes dont les compositions lipidiques sont différentes, sauf le cholestérol qui se trouve en quantité équivalente dans l'un ou l'autre des feuillettes, pouvant basculer facilement de l'un à l'autre.

L'asymétrie des lipides entraîne ainsi une asymétrie de la charge globale de chaque feuillet.

La mobilité des lipides est nécessaire pour l'activité cellulaire. Ils peuvent se mouvoir de différentes manières au sein de la membrane : rotation, diffusion latérale et flip flop (passage d'un feuillet à l'autre).

Le cholestérol renforce la solidité et rigidité membranaire et correspond jusqu'à 50% des lipides totaux de la membrane.

- Glucides : La plus grande asymétrie est celle présente au niveau des glucides : tous les motifs glucidiques sont localisés sur le feuillet externe de la membrane plasmique.

Pour les organites intracellulaires les sucres sont dirigés vers la lumière de l'organite formant l'arbre glucidique (glycocalix). Plus les chaînes carbonées des acides-gras sont courtes et insaturées plus la membrane est fluide.

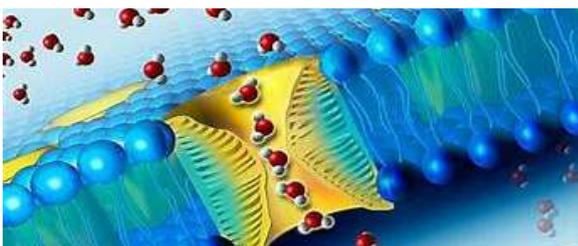
- Protéines : Les protéines diminuent la fluidité membranaire.

5. Perméabilité membranaire

Passage de l'eau et des molécules dissoutes à travers la membrane.

5.1. Transport de l'eau (solvant biologique)

La petite taille de la molécule d'eau et son manque de charge lui permettent de traverser la bicouche lipidique ou d'emprunter des pores hydrophiles. Son transport est assuré par les **aquaporines**.



Les échanges d'eau suivent la **loi d'osmose**, d'un milieu hypotonique (le - concentré) vers un milieu hypertonique (le +concentré) à travers la membrane plasmique.

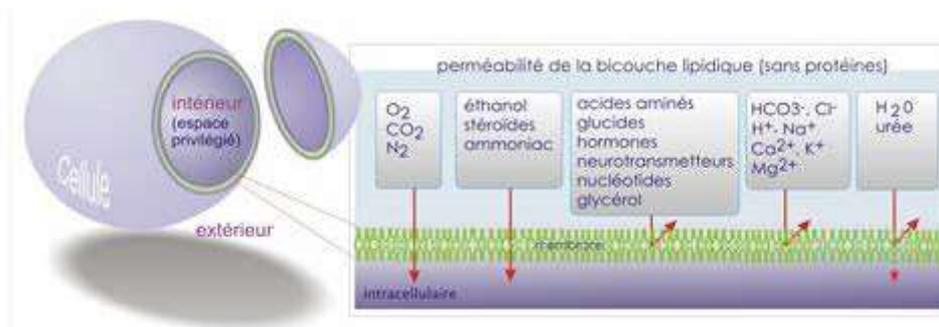
5.2. Perméabilité aux molécules dissoutes : Influencée par 3 facteurs :

- **liposolubilité**: facteur positif à cause de la nature hydrophobe (lipophile) de la bicouche lipidique membranaire.

- **taille**: les petites molécules traversent plus vite que les grandes (à liposolubilité égale). La membrane est imperméable aux macromolécules (trop grandes).

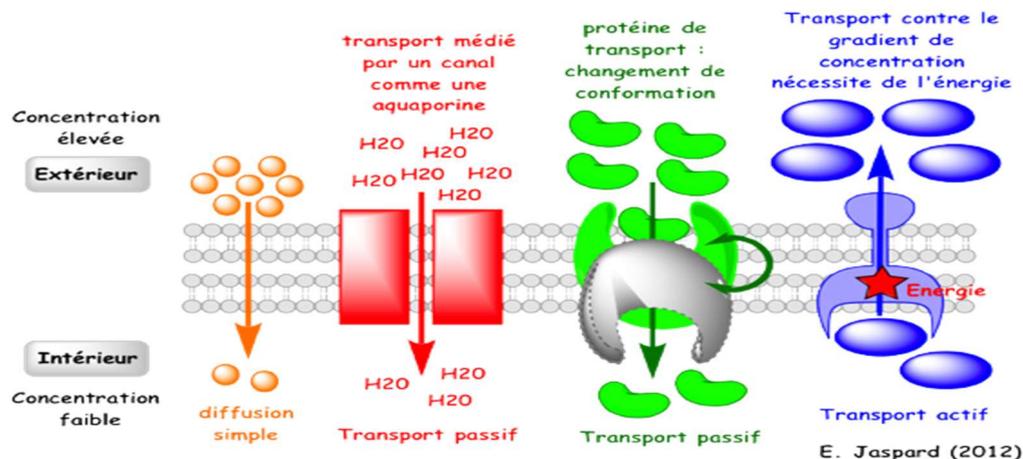
Ex: protéines, polysaccharides et acides nucléiques. Ces molécules peuvent quand même entrer ou sortir de la cellule par endocytose ou exocytose.

- **Charge électrique**: les ions (Mg^{++} , K^+ , Cl^-) sont hydrophiles et très hydratés ce qui les empêche de traverser la bicouche lipidique. Cependant, il existe dans la cellule des mécanismes de transport spécifiques pour faire entrer et sortir certaines molécules hydrophiles.



5.3- Mécanismes de transport

A travers la membrane plasmique, s'effectuent des échanges entre les deux milieux intra et extra cellulaire. Ces échanges sont possibles grâce aux propriétés structurales (présence de transporteurs) de la membrane et des propriétés physicochimiques (liposolubilité) des substances qui la traversent.



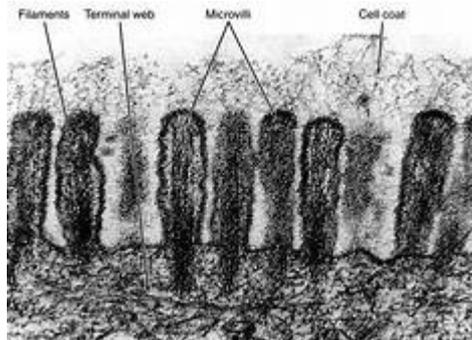
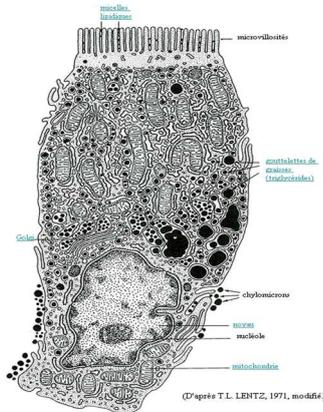
- **Transport passif**: dans le sens du gradient de diffusion (solution hypotonique vers solution hypertonique), sans apport d'énergie.

- **Transport facilité**: des transporteurs protéiques spécifiques permettent le passage de molécules non liposolubles de grande taille telles que le glucose dans le sens du gradient de concentration. C'est donc un transport passif, car il ne nécessite pas d'énergie.

- **Transport actif**: Les pompes membranaires transfèrent spécifiquement un soluté dans le sens inverse du gradient de concentration. Ce transport nécessite donc de l'énergie (fournie par l'hydrolyse de l'ATP).

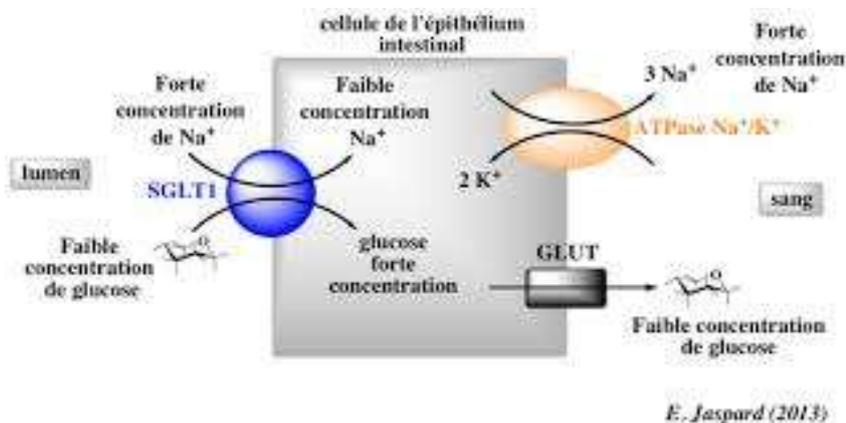
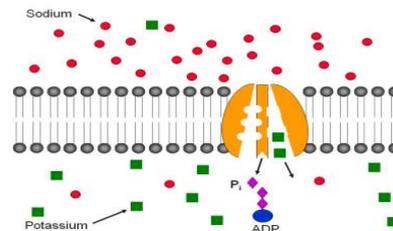
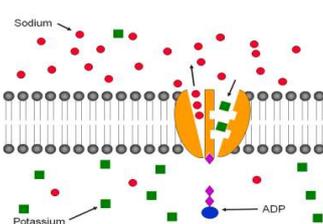
Ex: pompe Na⁺/K⁺ dans la cellule épithéliale de l'intestin

Du côté où les cellules sont en contact avec les aliments, leur surface présente environ 3000 microvillosités qui constituent une bordure en brosse (plateau strié) qui ne sont visibles qu'au microscope électronique. A leur niveau se fait l'absorption des aliments contenus dans le tube digestif. Si on calcule la surface de la membrane plasmique hérissée, on constate qu'elle est 10 000 fois supérieure à ce qu'elle serait si la membrane était plane.



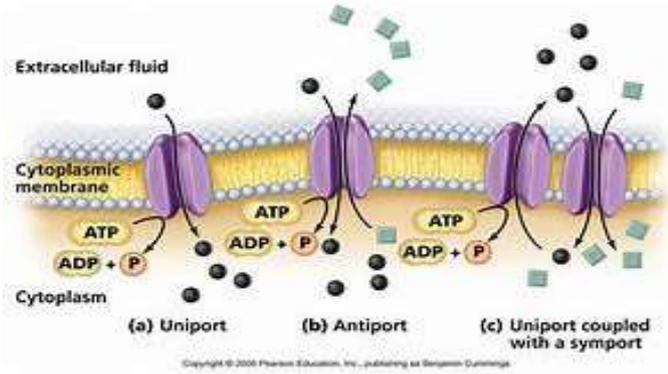
La membrane plasmique est imperméable aux molécules polaires comme le glucose d'où nécessité d'un captage cellulaire via des transporteurs. L'absorption du glucose se fait conjointement avec celle du Na⁺. La concentration en K⁺ est 30 à 40 fois plus élevée à l'intérieur des cellules qu'à l'extérieur et l'inverse pour le Na⁺. La pompe Na/K, protéine (enzyme) membranaire expulse 3 ions Na⁺ vers l'extérieur et importe 2 ions K⁺ vers l'intérieur, contre leur gradient électrochimique. Ce transport est couplé à l'hydrolyse de l'ATP : **transport actif primaire**.

Le gradient Na/K généré à travers la membrane est impliqué dans différentes fonctions : régulation du pH et du volume cellulaire, **transport de glucose (transport actif secondaire)** et d'acides aminés et transport du signal dans le système nerveux



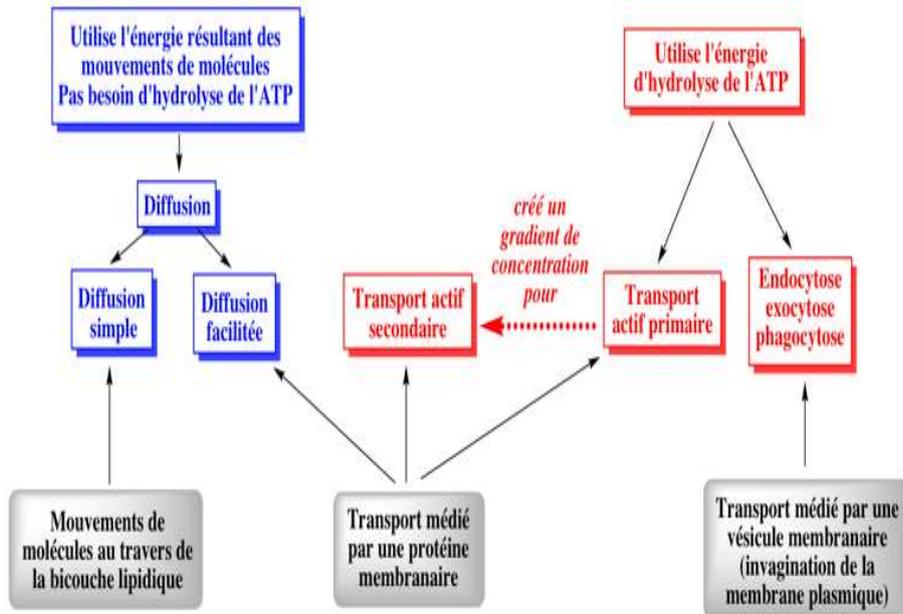
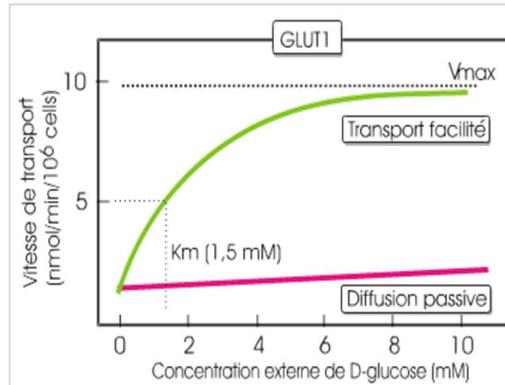
5.4- Fonctionnement d'un transporteur

Les transporteurs fonctionnent donc selon trois systèmes:



- Système uniport : transport **d'1 molécule** à travers la membrane à l'aide d'un transporteur
- Système symport : transport simultané de **2 molécules** dans le **même sens**
Ex : glucose et Na^+
- Système antiport : transport simultané de **2 molécules** dans des **sens opposés**

La diffusion par un transporteur augmente très largement la vitesse et la sélectivité de transport par rapport à la diffusion simple. Ex : Le transporteur de glucose : la perméase GLUT1



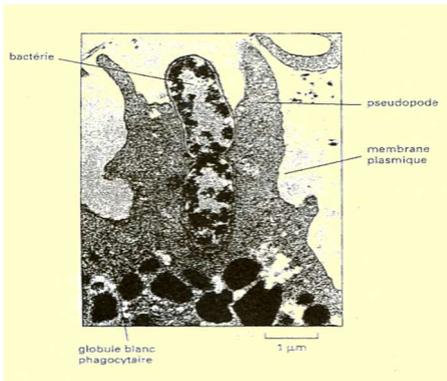
5.5. Perméabilité aux macromolécules

5.5.1. Endocytose

a- **Phagocytose** : Ingestion de grosses molécules, d'organites et de cellules.

Elle est réalisée essentiellement par des cellules spécialisées comme les macrophages et de façon moins importante, chez les fibroblastes, les cellules épithéliales et les cellules endothéliales. La phagocytose intervient essentiellement dans le système de défense de l'organisme et entraîne la destruction de l'élément absorbé.

Son déclenchement se fait par reconnaissance entre des récepteurs dans la membrane et la particule à ingérer. Ex: phagocytose d'une bactérie



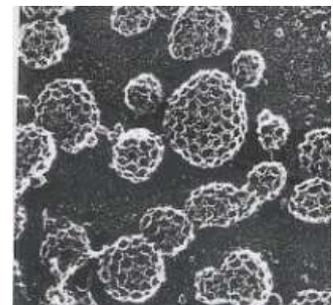
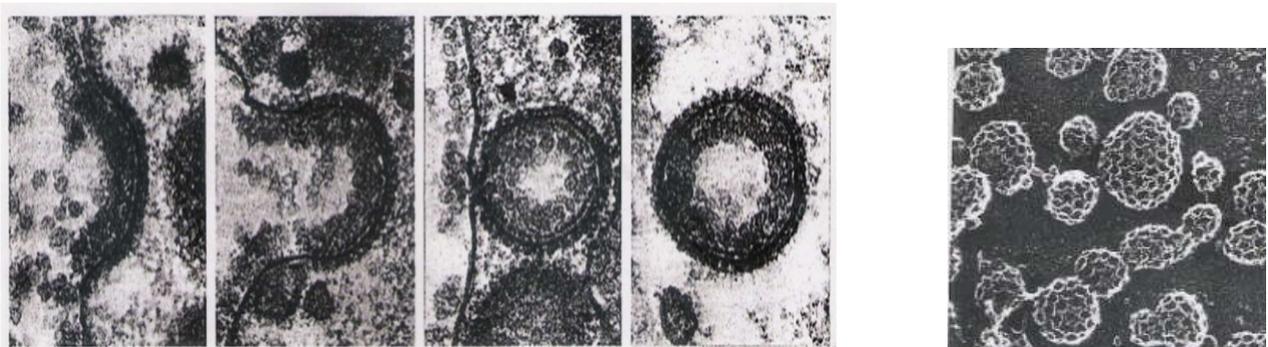
- Les anticorps se lient à la surface des bactéries infectieuses en laissant une région **Fc** exposée à l'extérieur. Ces régions Fc seront reconnues et liées aux récepteurs Fc dans la membrane des macrophages et neutrophiles.
- Cette liaison déclenche la formation de pseudopodes qui enveloppent la particule et fusionnent à leur extrémité pour former un **phagosome**.

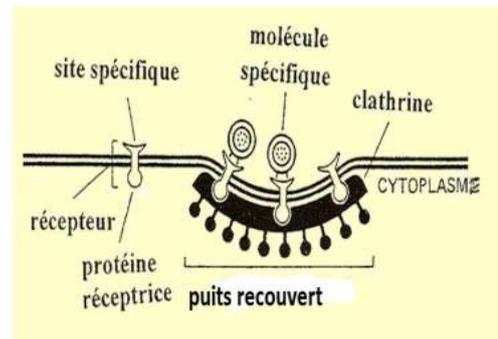
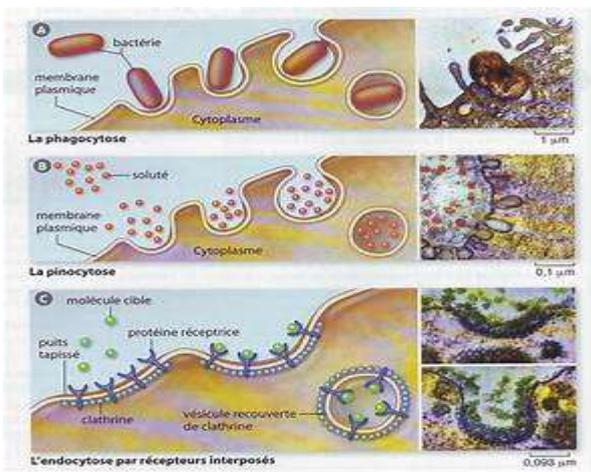
b- **Pinocytose** : Existe chez toutes les cellules et semble impliquer des zones particulières des membranes cellulaires avec reconnaissance de certains composés. C'est la voie normale d'absorption d'éléments indispensables comme le cholestérol transporté par les lipoprotéines de faible densité (LDL) ou le fer transporté par les transferrines.

Les voies de pinocytose sont classées en fonction des protéines et des médiateurs impliqués :

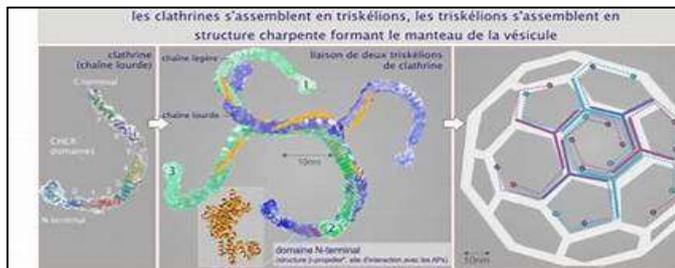
- o pinocytose indépendante de la clathrine : cette catégorie rassemble plusieurs voies en fonction de l'enzyme qui intervient (caveoline, tyrosine kinase, pinocytose Arf6 dépendant, pinocytose flotilline dépendant, ...)
- o pinocytose dépendant de la clathrine

Le macrophage ingère 3% de sa membrane plasmique chaque minute soit 100% en 30 min.





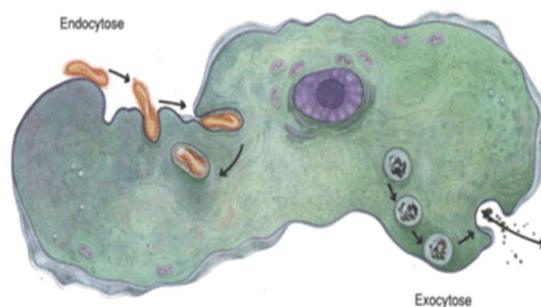
Les « puits recouverts de clathrine » sont recouverts à la surface cytoplasmique par une matière dense constituée d'un réseau protéique : les clathrines qui forment un panier autour de la vésicule d'endocytose qui se détache de la membrane. Très vite, cette enveloppe est perdue par les vésicules permettant leur fusion.



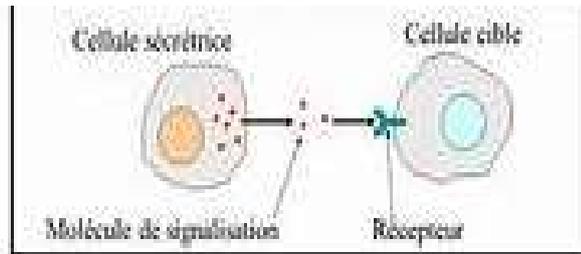
5.4.2. Exocytose : La matière est expulsée de la cellule.

Ce sont normalement les déchets mais également certaines protéines : hormones, enzymes, ...

La surface et le volume cellulaire restent constants donc la même quantité de membrane est restituée par exocytose. On peut parler d'un cycle endocytose – exocytose.



6 - Signalisation



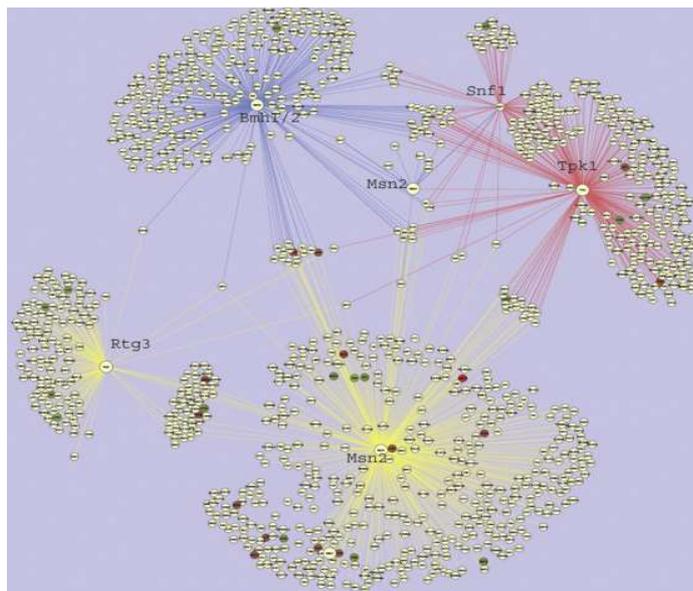
C'est le système de communication entre les cellules. Il est à la base de leurs processus métaboliques, leur développement, leur organisation et leur activité. Les molécules impliquées dans ces échanges peuvent être des hormones, des neurotransmetteurs, des facteurs de croissance...). Ce sont des molécules informatives : elles assurent le transport de l'information entre les cellules et à l'intérieur d'une même cellule.

Il s'agit de communication intercellulaire, souvent à distance se faisant entre deux types de cellules:

- La cellule de transmission qui synthétise le signal (molécule informative) et le fait sortir, souvent par exocytose, dans le milieu extracellulaire.
- La cellule cible capte le signal grâce à des récepteurs sur sa membrane plasmique. Un récepteur est une protéine spécifique composée de deux parties: un récepteur externe et une partie catalytique interne qui provoque une réponse cellulaire: c'est la transduction c'est-à-dire la réception d'un signal externe et formation d'un deuxième signal intracellulaire pour y répondre.

Ex 1 : l'insuline est synthétisée dans le pancréas et agit au niveau du foie.

Ex 2 : Visualisation d'une partie du réseau dans lequel des protéines de la levure sont impliquées dans des mécanismes de signalisation (logiciel "[Cytoscape](#)").



- **TD3 : Répondre aux questions de la série (3).**

TD 4 : Cultures cellulaires et marquage radioactif

On appelle **culture cellulaire**, le maintien en dehors de l'organisme, des cellules non organisées en tissu mais capable de se diviser in-vitro et d'exprimer des métabolismes et des fonctions spécifiques.

1- Intérêts de la culture cellulaire

- Etudes de toxicologie: en raison des problèmes d'expérimentation animale, qui ne peut malgré tout être supprimée car les effets sur l'animal entier ne sont pas les mêmes que sur des cellules isolées
- Etudes chromosomiques (caryotype fœtal)
- Suivre le déroulement de la mitose, dans les conditions normales ou après application de substances antimitotiques.
- Production de peau neuve par culture pour autogreffe ultérieure (pour les grands brûlés)
- Culture de virus (production de vaccin ou diagnostic).
- Observation des cellules cancéreuses et leur comportement.

1.1. Techniques d'obtention des cellules

On distingue 2 types de cellules:

- Les cellules libres et circulantes comme les cellules du sang
- Les cellules en cohésion les unes avec les autres, constituant un tissu.

Les techniques d'obtention de ces 2 classes de cellules sont différentes.

- Les cellules circulantes sont obtenues par prélèvement et centrifugation.
- Les cellules organisées en tissus nécessitent la mise en oeuvre de techniques plus originales qui peuvent être divisées en 2 groupes: la méthode par dissection et la méthode par digestion enzymatique.

- **La méthode de dissection** consiste à couper en fragment d'environ 1 à 4 mm³ le tissu que l'on réduit encore à l'aide de pince. Ces fragments sont ensuite placés dans un flacon de culture contenant un milieu nutritif. Les cellules vont migrer à partir des différents fragments puis se multiplier. Cette méthode s'appelle également la méthode des explants.

La méthode par dissection est souvent utilisée quand le tissu à mettre en culture est très petit.

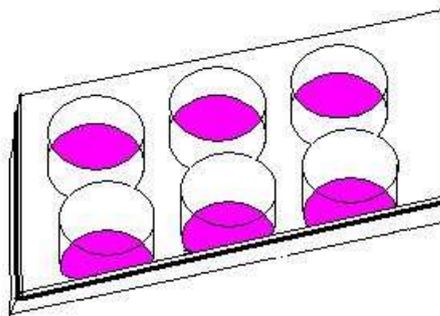
- **La méthode par digestion enzymatique:** Les enzymes utilisées sont des enzymes protéolytiques qui digèrent la trame protéique qui entoure les cellules. On utilise souvent la trypsine à une concentration de 0,5 à 2,5 g/l dans une solution saline.

La méthode enzymatique est beaucoup plus rapide avec un bon rendement mais certaines cellules à membrane fragile peuvent être lésées par cette méthode.

1.2. Méthodes de culture

1.2.1. Culture stationnaire ou monocouche

Le principe général de cette méthode est lié à l'affinité des cellules au support qui peut être du verre ou du plastique traité pour la culture. Le plastique peut être recouvert d'un support physiologique: collagène, fibronectine ou d'une membrane basale reconstituée ou encore l'utilisation de gel d'agarose, de gel de collagène pour une orientation vers la culture 3D.



Les cellules sont placées dans des boîtes micropuits de diamètres différents ou sur des microporteurs (microbilles en plastique) recouverts ou non de support physiologique. Les microporteurs sont ensuite placés dans des récipients puis soumis à une agitation modérée et continue permettant aux cellules de demeurer dans le milieu de culture.

1.2.2. Culture en suspension

Les cellules sont cultivées dans un bouillon contenant tous les éléments nécessaires à la croissance cellulaire, sous agitation.

➤ Contrôles fonctionnels des cellules en culture

On vérifie les conditions d'asepsie lors de la dissection et augmente la dose d'antibiotique et fongique si nécessaire.

On vérifie l'état des cellules recueillies par le bleu de trypan qui est un colorant qui pénètre dans les cellules et entraîne un mécanisme d'exclusion qui va éjecter certaines molécules vers le milieu extérieur. Ce mécanisme nécessitant de l'énergie, seules les cellules possédant une source d'ATP peuvent le mettre en place.

Ainsi, une cellule vivante expulsera la molécule et restera blanche au microscope, au contraire une cellule morte n'aura pas les moyens de la rejeter et restera bleue.

➤ Conservation des cellules

La conservation des cellules est indispensable pour les cellules à durée de vie limitée et pour les cellules difficiles à entretenir. Elle se fait par cryoconservation.

La conservation de longue durée se réalise dans de l'azote liquide à -180°C . Les cellules sont placées en présence de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), de FCS à 10% et de DMSO (diméthyle sulfoxyde) à 10% ou de glycérol (Le DMSO et le glycérol sont des agents cryoprotecteurs) dans des tubes de congélation de 1ml. La concentration des cellules doit être de 10 milliards de cellules par ml.

La conservation de court durée se réalise à -20°C .

La décongélation des cellules se fait de manière rapide, en plaçant celles-ci sous une ampoule dégageant une température de 37°C .

➤ Evolution des cellules en culture

Les cellules in-vitro présentent 2 propriétés fondamentales qui sont: la capacité proliférative et leur fonction différenciée.

Les cellules conservent la plupart du temps leur potentiel de division, pouvant être stimulé au

début de la culture par des facteurs de croissance. Même si au cours du temps, on peut noter un ralentissement de celui-ci.

- **Cellules normales:** Se multiplient rapidement. En quelques jours, lorsque tout le milieu est recouvert, les mitoses s'arrêtent, les cellules meurent. Ce mécanisme d'arrêt est l'inhibition de contact qui dépend de la transmission de signaux entre les cellules. D'où la nécessité de repiquages pour conserver des cellules longtemps mais elles ne sont pas immortelles.

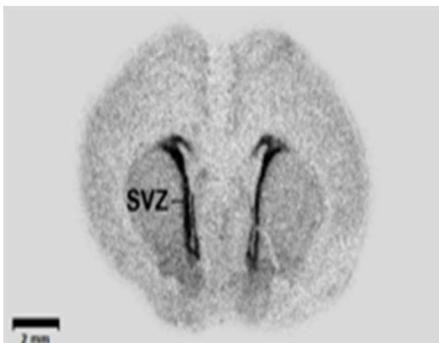
On peut réaliser des cultures à partir d'une seule cellule. Toutes les cellules issues de cette multiplication constituent un clone: elles possèdent toutes le même patrimoine génétique.

- **Cellules cancéreuses:** Les cellules cancéreuses ont perdu l'inhibition de contact et donc le signal d'arrêt des divisions: elles sont devenues immortelles. Leur mort est conditionnée uniquement par l'appauvrissement du milieu de culture. Des repiquages successifs les maintiennent en vie.

2. Marquage des molécules et immunocytochimie

2.1- Marquage: C'est la fixation sur une molécule, d'un signe de reconnaissance facilement identifiable qui permet le suivi d'un composé dans un organisme, un organe, un tissu ou dans la cellule. 2 types de marqueurs: isotopes radioactifs (autohistoradiographie) et composés fluorescents.

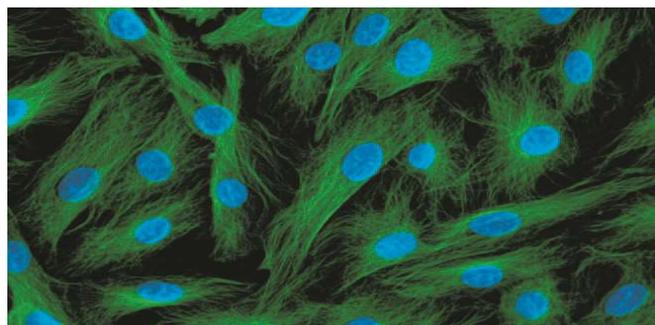
a- Marquage par des isotopes radioactifs : auto historadiographie



Ex: marquage de la cystéine par du soufre 35 permet de connaître le chemin qu'elle parcourt dans le cartilage. La cystéine marquée est injectée à plusieurs rats qui sont sacrifiés à des intervalles réguliers.

b- Marquage par des substances fluorescentes

- Analogue fluorescent: molécule à étudier couplée avec un colorant fluorescent.
- Cet analogue est introduit dans la cellule par micro-injection avec une micropipette de verre d'1micron de diamètre. EX : noyaux vus au ME à fluorescence

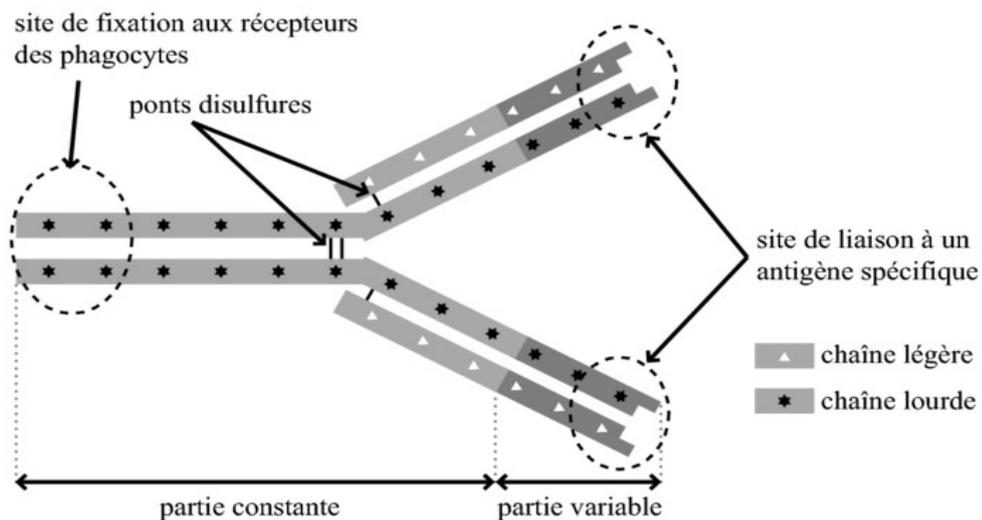


2.2- Immunocytochimie : C'est une technique qui repose sur l'antigénicité des protéines. Elle permet de révéler spécifiquement des molécules qui ne pourraient l'être avec les plus puissants microscopes électroniques.

On peut produire des anticorps contre n'importe quel constituant cellulaire.

a- Préparation des anticorps

- Par injection d'un antigène purifié (protéine) à un animal d'une autre espèce que celle dont on a extrait l'antigène injecté.
- L'animal traité développe une réaction immunologique: des macrophages phagocytent la protéine, la fragmentent en peptides et les exposent à leur surface grâce au CMH II (complexe majeur d'histocompatibilité de type II).
- Chacun de ces peptides déclenche la multiplication de lymphocytes T différents. Les lymphocytes T activent ensuite les lymphocytes B qui se transforment en cellules productrices d'anticorps, les plasmocytes.
- L'anticorps ainsi obtenu se fixe sur la protéine qui est à l'origine de sa fabrication.



Anticorps = Glycoprotéine de la famille des immunoglobulines

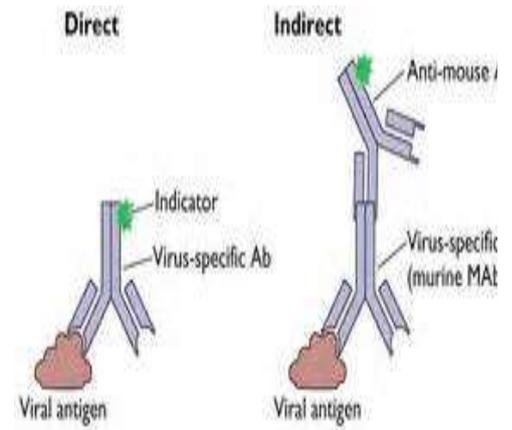
b- Marquage de l'anticorps

Pour visualiser le complexe antigène-anticorps, on associe à l'anticorps un système marqueur (ou révélateur) composé d'une molécule détectable en microscopie:

- une substance fluorescente (ex: l'isothiocyanate de fluorescéine) : technique d'immunofluorescence utilisable uniquement au MO.
- une enzyme (peroxydase du raifort, phosphatase alcaline). La visualisation du marqueur se fait par la production de précipité coloré par l'enzyme: technique immunoenzymologique utilisable au MO et ME.
- marqueurs métalliques (ferritine, or colloïdal) utilisés en ME car spontanément opaques aux électrons.

c- Technique de détection

- **Immunocytochimie directe:** Les anticorps repérables par leur marqueur se fixent sur leur antigène. Le complexe antigène anticorps marqueur est alors détectable en microscopie.
- **Immunocytochimie indirecte:** Augmente la sensibilité de la réaction, en combinant deux types d'anticorps:
 - les anticorps anti-protéine (anticorps primaires)
 - et des anticorps « anti-anticorps primaires » (=anticorps secondaires) porteurs de marqueurs.



d- Exemple d'application : la mobilité des protéines

Les glycoprotéines de la face externe de la membrane plasmique sont spécifiques d'un type cellulaire donné.

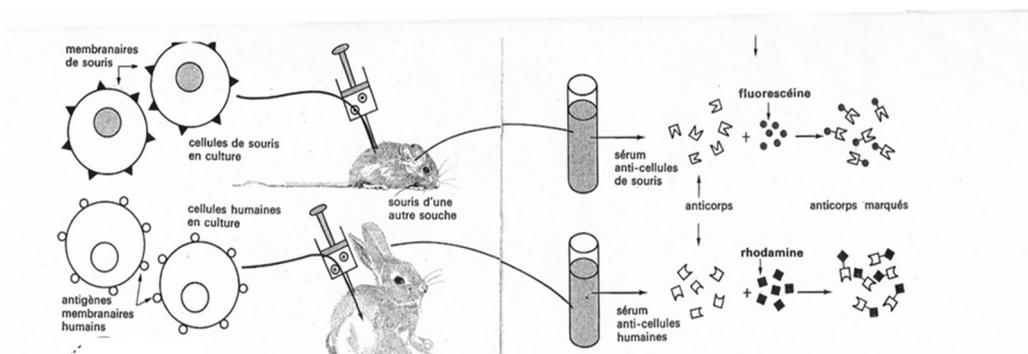
Lorsqu'une cellule est introduite dans un organisme étranger, elle déclenche la production d'anticorps qui se fixent sur les antigènes leur correspondant et les neutralisent.

Les anticorps spécifiques peuvent être préparés au labo, puis ils sont marqués avec un composé fluorescent. Ces anticorps rendus fluorescents sont utilisés comme marqueurs spécifiques des glycoprotéines.

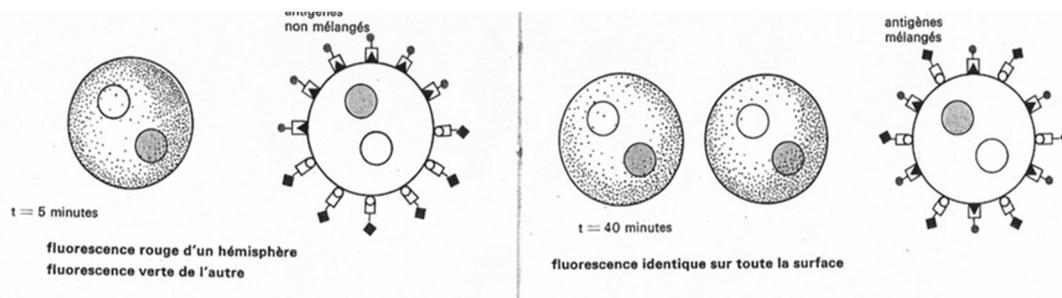
➤ Mise en évidence de la diffusion des protéines dans le plan membranaire

Cette diffusion des glycoprotéines a été mise en évidence lors de la fusion de cellules d'espèces différentes.

Ex: cellules de souris et cellules humaines



- On injecte à un lapin des cellules de souris maintenues en culture in vitro. Le lapin réagit en produisant des anticorps « anti-cellule de souris ». Ces anticorps sont marqués à la fluorescéine (fluorescence verte au microscope à UV).
- On injecte à un autre lapin des cellules d'homme en culture. Le lapin réagit en produisant des anticorps « anti-cellule d'homme », ces anticorps seront marqués à la rhodamine (fluorescence rouge au microscope à UV).



➤ Fusion des deux types de cellules

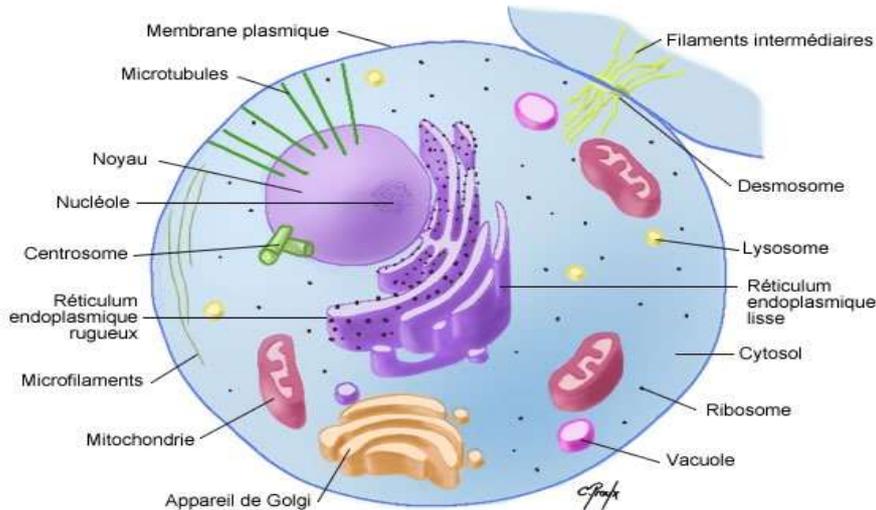
- On provoque la fusion entre les cellules de souris et les cellules humaines. Il se forme des hétérocaryons contenant chacun un noyau de souris et un noyau humain.
- à t=0mn: on ajoute à l'hétérocaryon un mélange d'anticorps marqués par la rhodamine et la fluorescéine, pour identifier la position des glycoprotéines (antigènes) de l'homme et de la souris dans la membrane de l'hétérocaryon.

Résultats:

À t=5mn, on observe au microscope à UV, une fluorescence rouge d'une hémisphère de l'hétérocaryon et une fluorescence verte de l'autre hémisphère. Donc les anticorps marqués se sont fixés sur les antigènes correspondants: les glycoprotéines membranaires.

À t=40mn, on observe une fluorescence homogène (verte et rouge) sur toute la surface de l'hétérocaryon. Donc le complexe antigène-anticorps de type souris et de type humain se sont mélangés dans la membrane de l'hétérocaryon.

Conclusion: les protéines membranaires se déplacent ou diffusent dans la membrane plasmique.



1. Définition

C'est la substance fondamentale de la cellule qui représente 50 – 60% du volume cellulaire. C'est une solution aqueuse complexe (cytosol) consolidée par un réseau de filaments protéiques: le cytosquelette.

Cytoplasme = hyaloplasme + organites (sans le noyau)

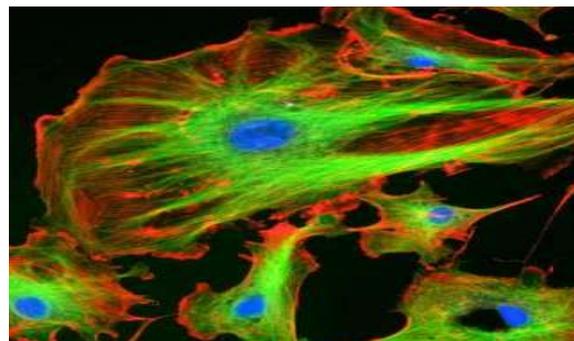
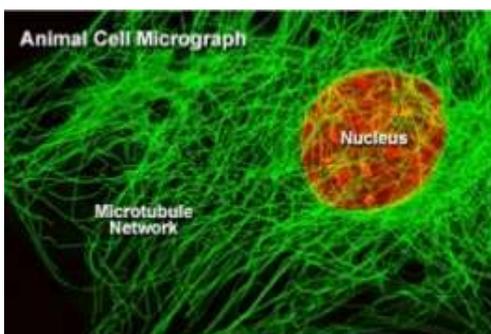
2. Composition chimique du cytosol

- Eau: 70%
- Protéines: 15-20%
- ARNm et ARNt
- Divers solutés: sucres solubles, acides aminés, nucléotides, composés organiques, ions...
- pH 7 (cellule animale) et pH 5,5 à 6 (cellule végétale)

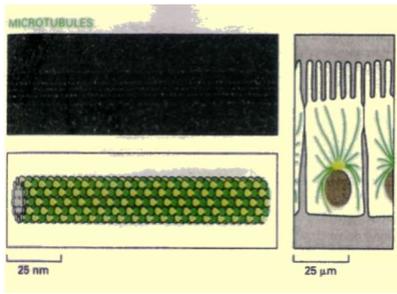
3. Réserves granulaires du hyaloplasme

- Réserves de glucose: particules de glycogène (polymère de glucose) dans les CA.
- Réserves de lipides: globules lipidiques observés dans les CA et CV.

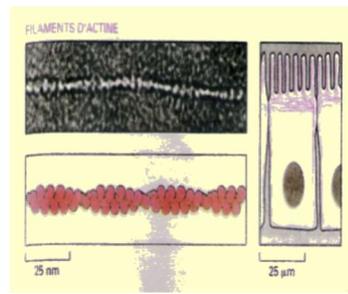
4. Cytosquelette : Ensemble de protéines fibreuses, uniquement chez les eucaryotes.



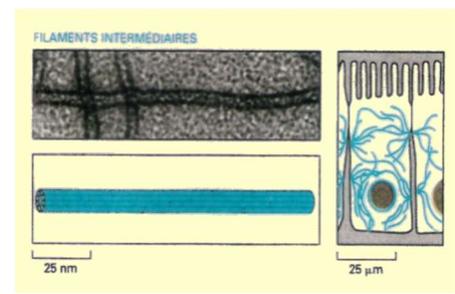
Trois réseaux sont identifiables au ME et en immunofluorescence chez les CA:



Microtubule
(Tubuline)



Filaments d'actine
(Actines)

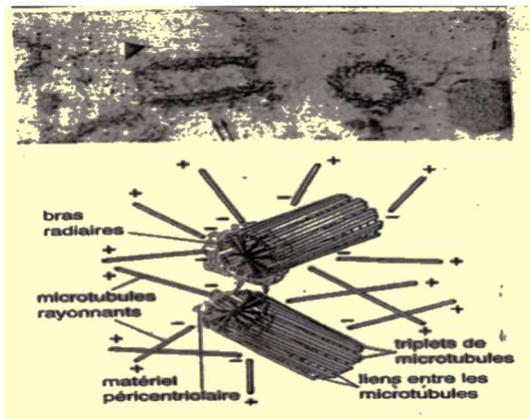


Filaments intermédiaires
(Protéines hétérogènes)

4.1 Microtubules

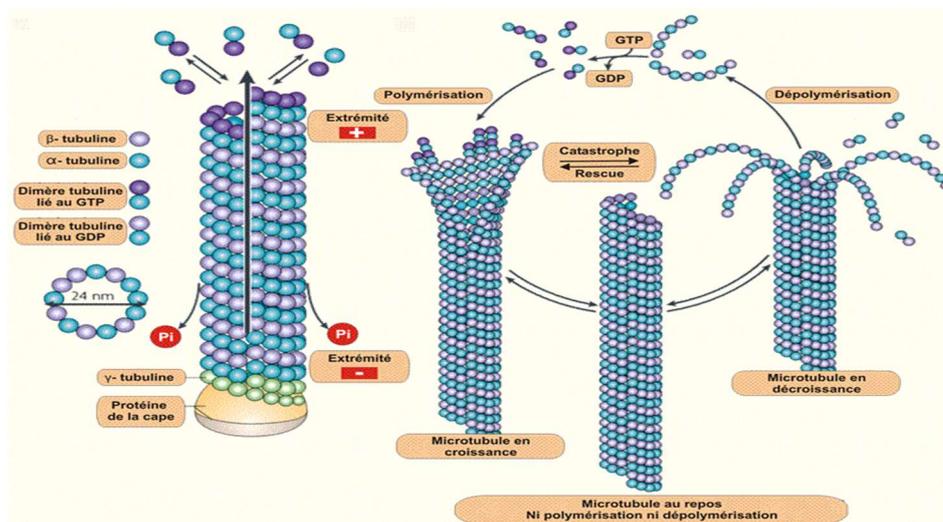
Structures tubulaires linéaires de 25 nm de diamètre, apparaissent sous forme de « rails » en coupe longitudinale et sous forme circulaire en coupe transversale.

- Le constituant principal est une protéine globulaire de 50 kDa: **la globuline** qui elle-même comprend 2 s/u: les tubulines α et β .
- Les tubulines α et β constituent spontanément des filaments linéaires : **protofilaments** (cylindres de 25 nm).
- La paroi du microtubule est constituée de 13 protofilaments.



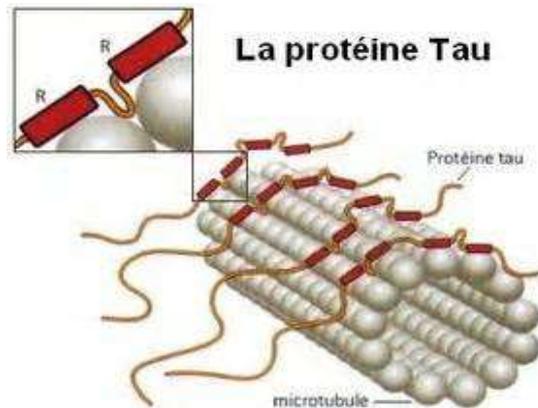
Ce sont des structures polaires avec une extrémité (+) dirigée vers la périphérie de la cellule et une extrémité (-) associée au centrosome qui est un complexe protéique constitué de 2 centrioles.

Les microtubules sont des structures dynamiques : ils sont constamment en cours de polymérisation et de dépolymérisation.



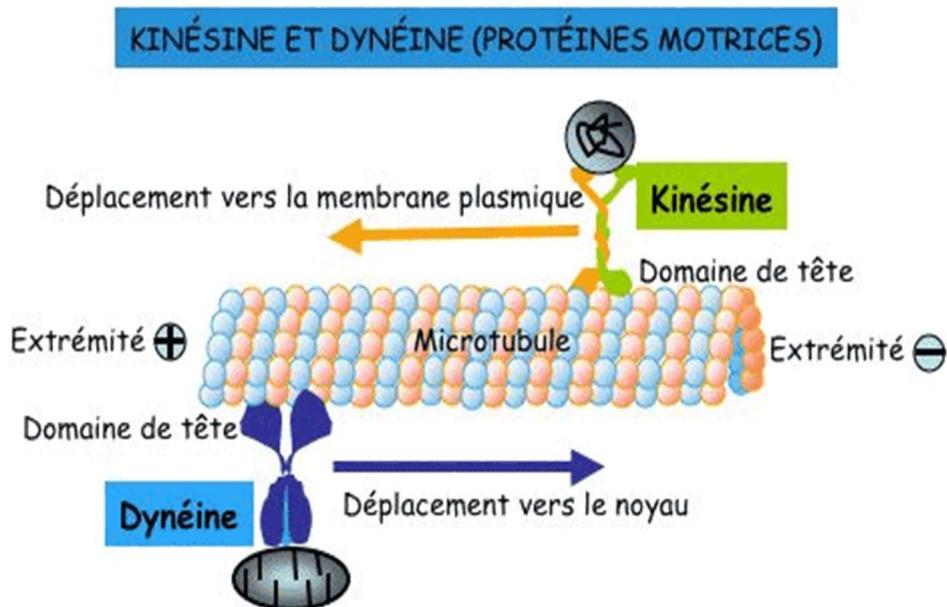
Ces structures sont stabilisées par les MAP (microtubule-associated-proteins) qui sont regroupées dans 2 groupes :

- MAP2 et 4 ainsi que Tau (principalement dans les cellules nerveuses)



- Les protéines motrices : kinésines et dynéines qui assurent le transport des organites et des vésicules vers différents compartiments de la cellule en se déplaçant sur le microtubule : les kinésines se déplacent vers l'extrémité(+) et les dynéines vers l'extrémité (-).

Ces protéines motrices utilisent l'énergie dérivée de l'hydrolyse de l'ATP pour se déplacer.



4.1.1- Constitution des cils et flagelles

A la base des cils et flagelles, on trouve les corpuscules basaux ou cinétosomes : 9 triplets périphériques (comme les centrioles) et des lames rayonnantes partant de chaque triplet et orientées vers le centre du cinétosome.

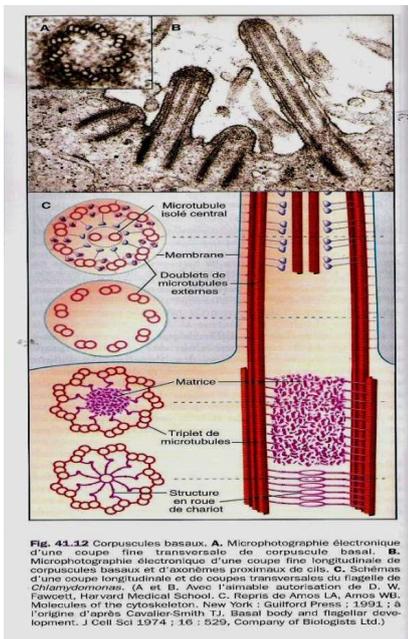
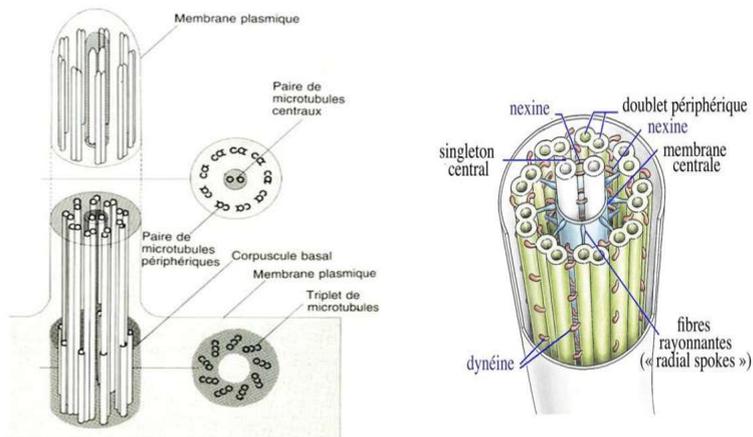


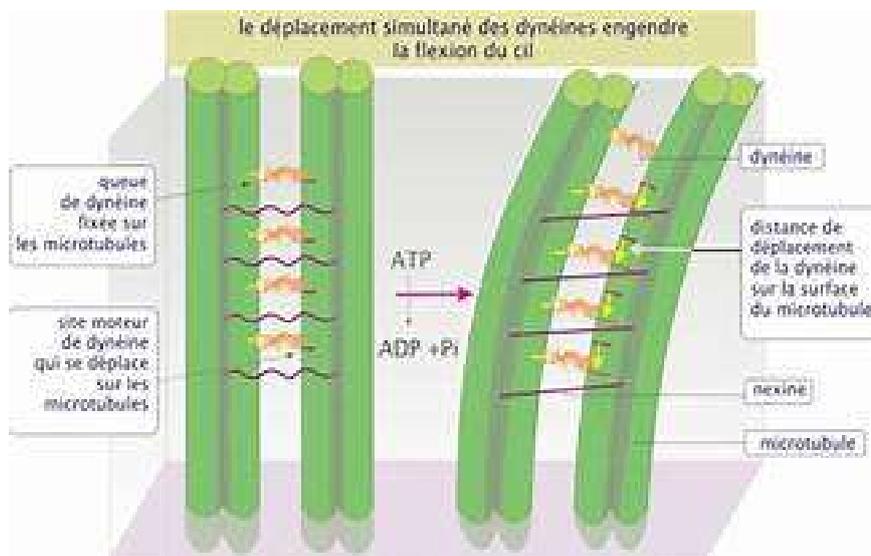
Fig. 41.12 Corpuscules basaux. A. Microphotographie électronique d'une coupe fine transverse de corpuscule basal. B. Microphotographie électronique d'une coupe fine longitudinale de corpuscules basaux et d'axonèmes proximaux de cils. C. Schémas d'une coupe longitudinale et de coupes transversales du flagelle de *Chlamydomonas*. (A et B. Avec l'aimable autorisation de D. W. Fawcett, Harvard Medical School. C. Repris de Amos LA, Amos WB. Molecules of the cytoskeleton. New York : Guilford Press ; 1991 ; à l'origine d'après Cavalier-Smith T.J. Basal body and flagellar development. J Cell Sci 1974 ; 16 : 529, Company of Biologists Ltd.)

Axonème de type (9+2)



Principe de courbure des cils et flagelles

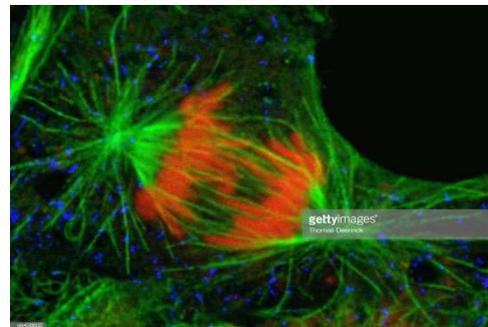
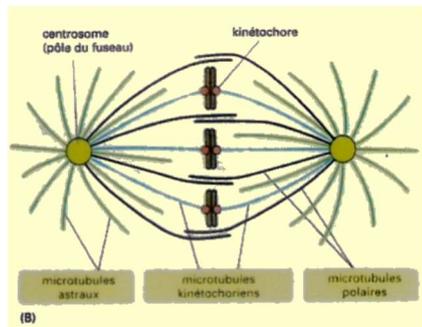
- (a) Glissement de 2 doublets de microtubules adjacents, les têtes de dynéine se déplacent de l'extrémité (+) vers l'extrémité (-) grâce à l'hydrolyse de l'ATP.
- (b) Courbure des 2 doublets fixés par leur extrémité (-) au sein de l'axonème. Le mouvement des têtes de dynéine provoque la flexion de l'ensemble.
- (c) La molécule de nexine agit comme un élastique, permettant le retour à la position initiale.



4.1.2- Constitution des faisceaux de division

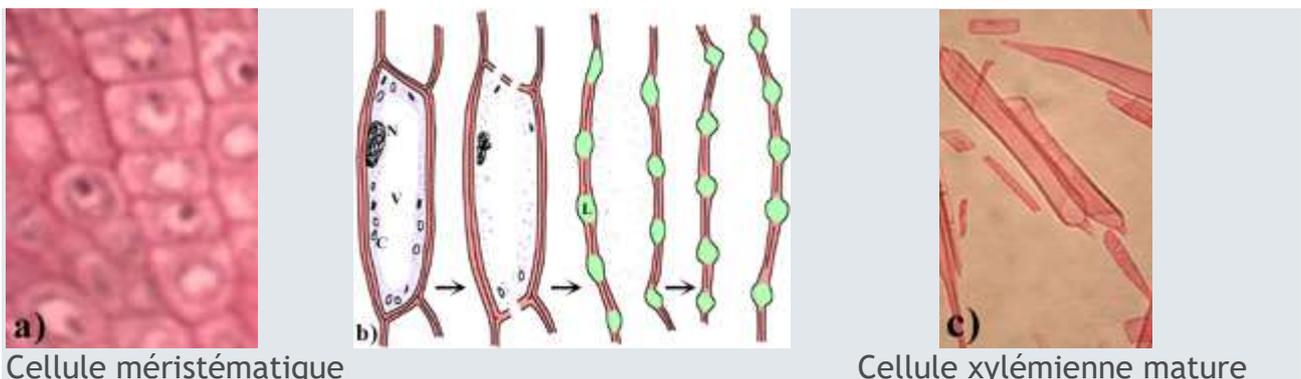
Les protéines motrices jouent un rôle important au moment de la division cellulaire. Elles permettent le transport des chromosomes après leur division le long du fuseau achromatique.

Au cours de la mitose, le centrosome se duplique en 2 centrosomes fils : chaque centrosome devient un pôle du fuseau. Le fuseau est constitué de deux types de microtubules: les polaires et les kinétochoriens.



4.1.3- Différenciation de la forme cellulaire

Le terme "**différenciation**" désigne l'ensemble des événements qui transforment une cellule méristématique en cellule mature. La cellule acquiert donc la structure et la fonction qui seront les siennes, à l'état mature.



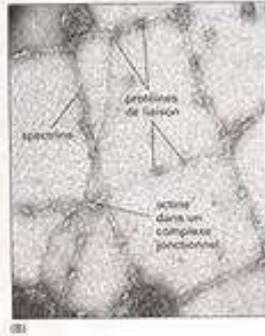
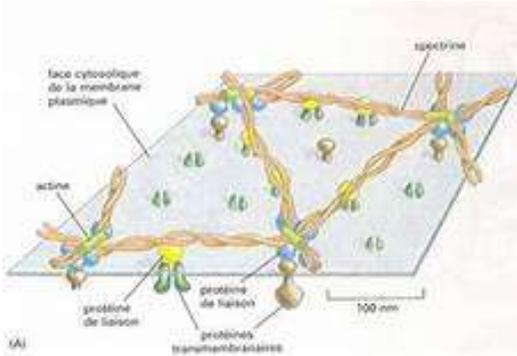
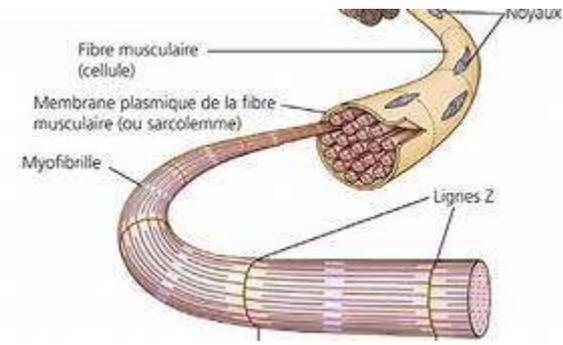
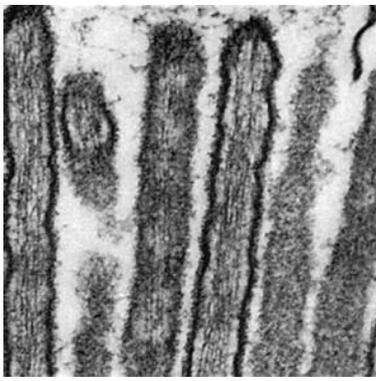
Cellule méristématique

Cellule xylémienne mature

Les microtubules et les myofibrilles participent à l'orientation de l'allongement cellulaire lors de la différenciation.

4.2. Microfilaments d'actine

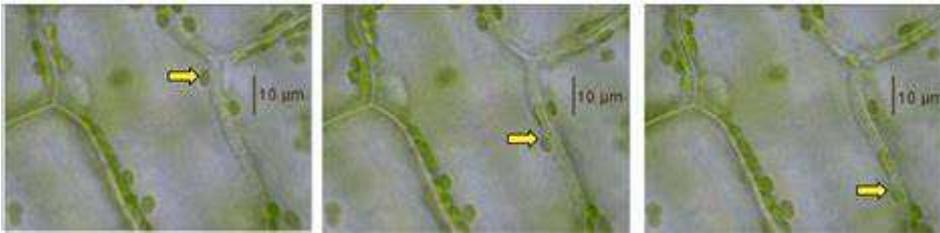
Ce sont des fibres fines contractiles, organisées en faisceaux de 7 à 8 nm d'épaisseur, constituées d'une protéine globulaire: l'actine. Elles sont souvent localisées dans le cortex (près de la membrane plasmique). Elles existent dans toutes les cellules animales, particulièrement abondantes dans les cellules musculaires (myofilaments) et les microvillosités de l'épithélium intestinal où elles jouent un rôle de soutien et de mouvement cellulaire. Elles sont relativement instables (labiles): peuvent s'allonger ou se raccourcir assez rapidement.



Ces microfilaments sont associés à plusieurs types de protéines accessoires : protéines de rassemblement, de stabilisation ou de fragmentation, de coiffage et les myosines.

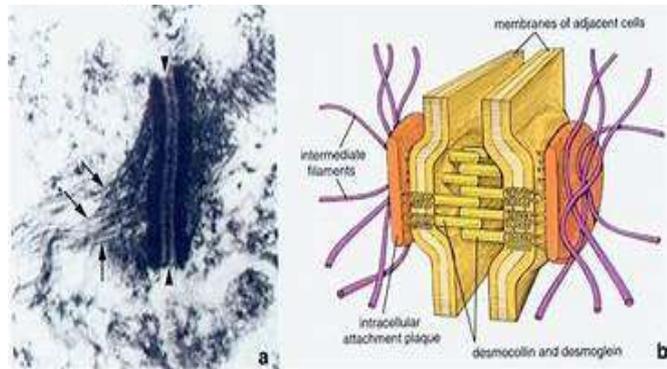
Une autre protéine peut se fixer sur l'actine et glisser dessus : la myosine.

Dans le cas des cellules végétales chlorophylliennes, la myosine XI se fixe par une extrémité à la membrane des chloroplastes et parcourt l'actine par son autre extrémité. C'est le mouvement de cyclose.



4.3. Filaments intermédiaires ou tonofilaments

Ce sont des fibres de 8 à 12 nm d'épaisseur, constituées de protéines fibreuses sous forme de monomères qui diffèrent selon le type cellulaire (ex: kératine). Ils existent en particulier dans les cellules épidermiques et les cellules nerveuses (neurofilaments). Ils jouent un rôle de jonction entre les cellules animales.



5. Activités métaboliques du hyaloplasme

Cytosol: milieu aqueux riche en enzymes et millions de substrats qui subissent des modifications en chaîne constituant des voies métaboliques.

Ex: la **glycolyse** : dégradation de glucose-6P pour former deux molécules d'acide pyruvique.

Rappels

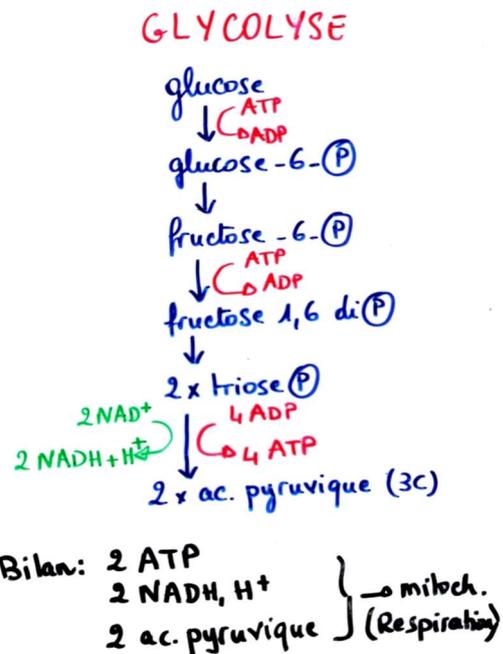
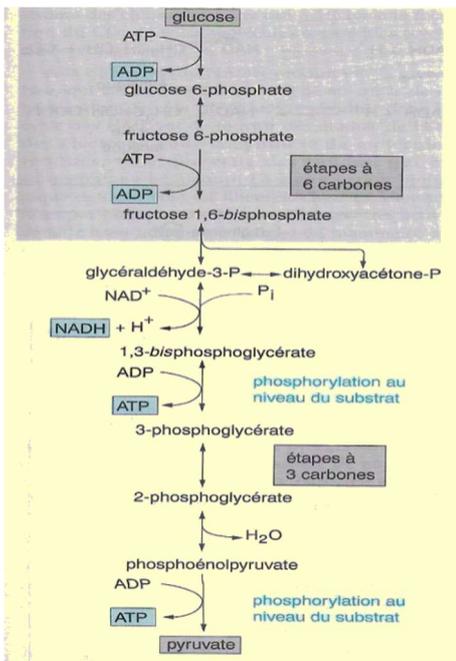
➤ ATP: adénosine-tri-phosphate (nucléotide), forme d'énergie directement utilisable par la cellule. Les deux derniers phosphates sont reliés à la molécule par des liaisons riches en énergie, sous l'action d'une enzyme ATPase. La réaction est réversible.

ATP → ADP + P + énergie

➤ Co-enzymes transporteurs d'H₂ :

- NAD⁺, NADP⁺: nicotinamide-adénine-dinucléotide (P): formes oxydées, accepteurs d'H₂
- NADH, H⁺, NADPH, H⁺ : formes réduites, donateurs d'H₂

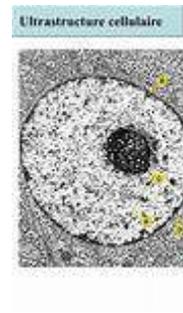
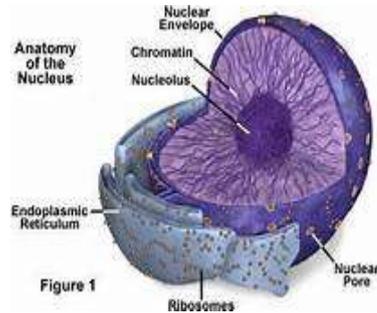
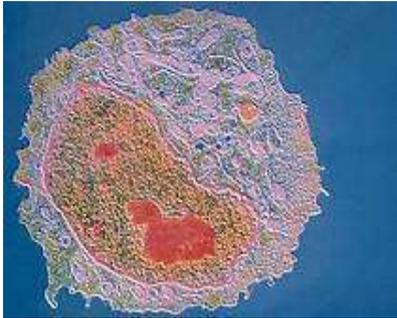
Une co-enzyme (molécule **non protéique**) travaille en collaboration avec une enzyme en effectuant une fonction précise: ici le transport d'H₂.



Le pyruvate produit par la glycolyse peut être utilisé de différentes manières :

- chez les animaux, en présence d'oxygène, il est oxydé et produit de l'eau et du CO₂.
- Si l'oxygène est en quantité limitée, il est converti en lactate ou éthanol:

Le noyau



C'est l'organe qui caractérise les cellules eucaryotes. Observé au cours du XVII^e siècle, le noyau fut pour la première fois interprété comme un constituant essentiel et permanent de la cellule par Robert Brown, à la suite de ses observations sur des épidermes d'Orchidées, en 1831.

1. Caractéristiques

- Nombre : En général, la cellule contient un noyau : cellule mononucléée.

Il existe cependant certaines cellules anucléées (hématies) ou bien polynucléées (fibres musculaires striées squelettique).

- Forme : Pendant l'interphase, la forme du noyau est sphérique ou ovoïde. Il peut aussi être polylobé.

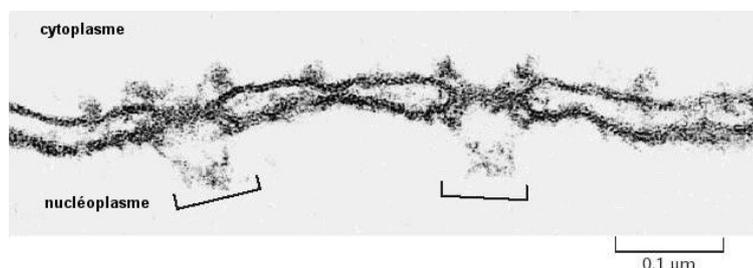
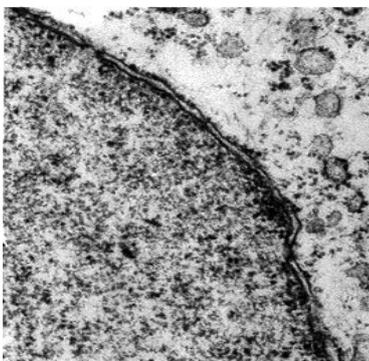
- Taille : elle varie entre 3 et 10 μm de diamètre. Elle est quantifiée par le Rapport NucléoPlasmique (R.N.P)

$$\text{RNP} = \frac{\text{volume du noyau}}{\text{volume du cytoplasme}}$$

Plus une cellule est différenciée, plus le R.N.P augmente. Par contre, le R.N.P d'une cellule en division diminue de façon très importante.

2. Organisation du noyau

2.1. Enveloppe nucléaire

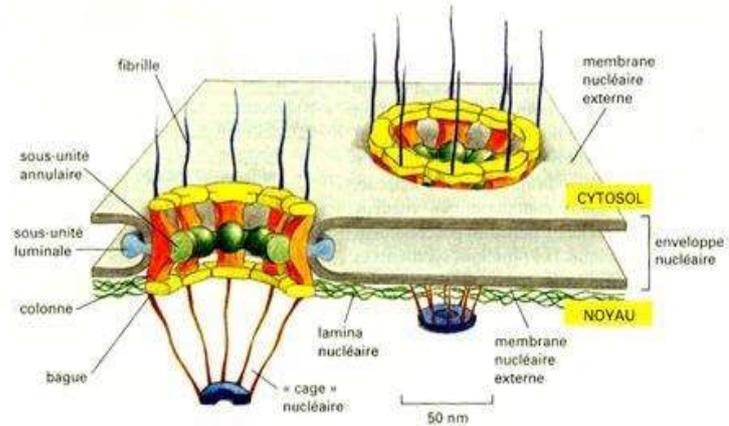
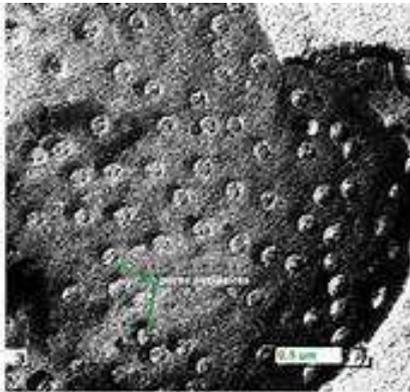


C'est une double membrane (70% protéines et 30% lipides) séparée par un espace périnucléaire de nature protéique et de 20-50 nm d'épaisseur :

- Membrane nucléaire externe, recouverte de ribosomes et en continuité directe avec les membranes du réticulum endoplasmique rugueux.
- Membrane nucléaire interne, recouverte d'une couche protéique fibreuse: la lamina.

L'enveloppe nucléaire est percée de pores nucléaires qui permettent la communication entre le cytoplasme et le nucléoplasme :

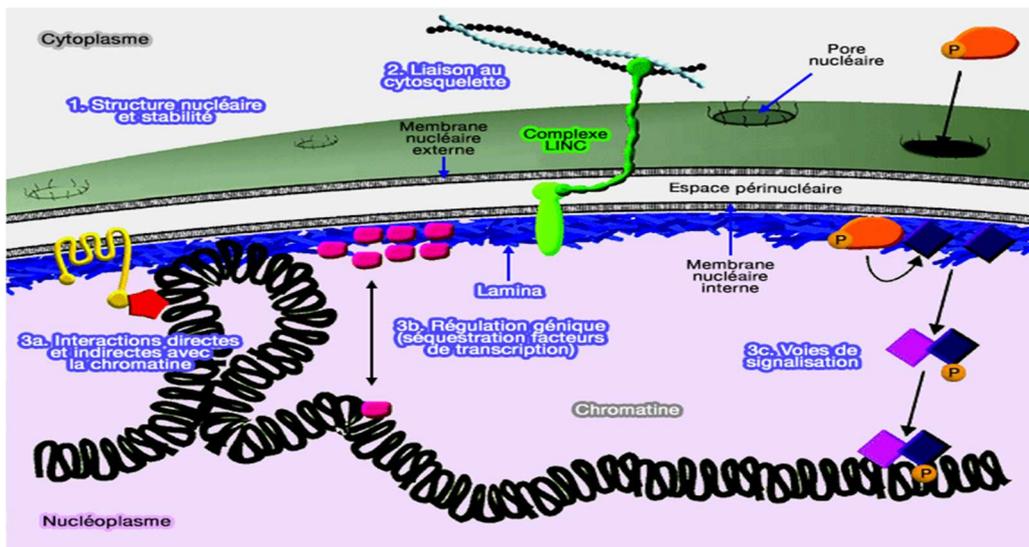
- molécules transportées du cytoplasme vers le noyau: protéines de formation de la chromatine, protéines de formation de la lamina et protéines qui régulent l'activité de réplication et de transcription de l'ADN.
- les molécules synthétisées dans le noyau et exportées vers le cytoplasme : les ARN.



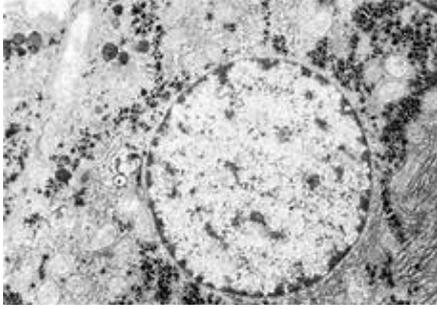
Chaque pore est formé par une structure appelée le complexe du pore nucléaire, qui semble être composé d'au moins 100 protéines différentes (les nucléoporines), arrangées selon une symétrie octogonale (d'ordre 8). Ce complexe correspond à une fusion des membranes externes et internes. Leur nombre varie de 3 000 à 4 000 par noyau (2 à 60 / μm^2).

2.2. Lamina

C'est une couche protéique (10 à 20 nm d'épaisseur) constituée de filaments intermédiaires assemblés à partir de 3 protéines: lamines nucléaires A, B et C.



2.3 .Nucléoplasme

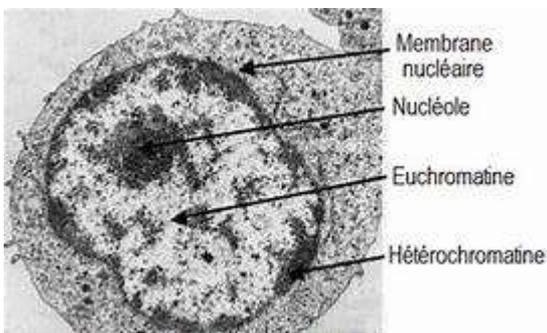


Le nucléoplasme (matrice gélatineuse) renferme la quasi-totalité de l'information génétique, soit 2m d'ADN double brin enfermé dans une structure chromatinienne présentant dans le temps différents niveaux de condensation.

Il contient également des ions, des protéines, des enzymes et des nucléotides. S'y trouvent également les nucléoles et la chromatine.

2.4. Chromatine

C'est la forme sous laquelle apparaît le matériel génétique quand la cellule n'est pas en division: enchevêtrement de filaments qui est la forme la plus décondensée des chromosomes.



C'est un assemblage d'ADN et de protéines, principalement histones et non histones (PNH).

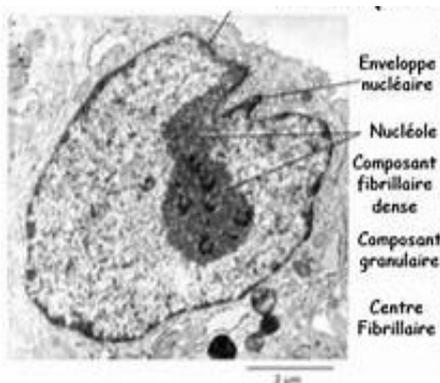
L'hétérochromatine est dense, très opaque aux e-. Située contre l'enveloppe nucléaire et en amas isolés au centre du noyau.

L'euchromatine est diffuse, claire et dispersée. Constituée de fines fibres associées à l'hétérochromatine.

2.5. Nucléole

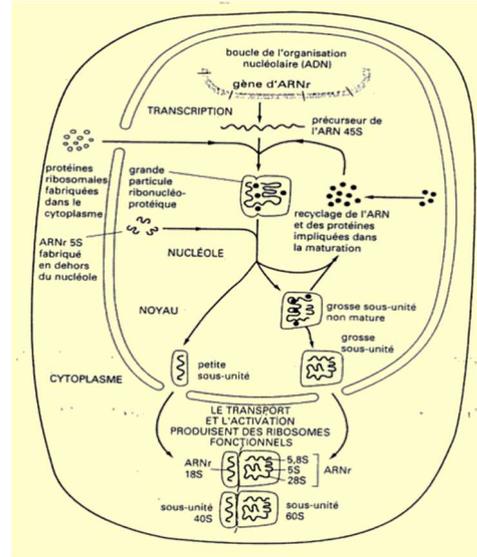
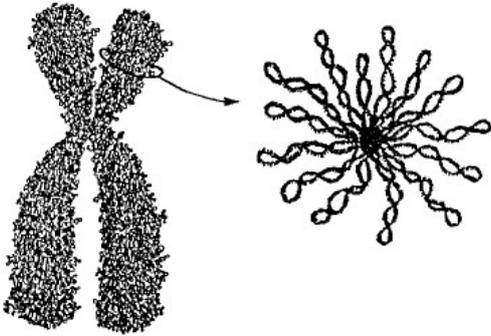
C'est une structure de quelques micromètres de diamètre dans le noyau qui peut être isolée et caractérisée. Elle contient de l'ADN (chromatine condensée et non condensée), des protéines et des ARN.

Il est le siège de transcription des gènes ribosomiques et des gènes de transcription des ARN.



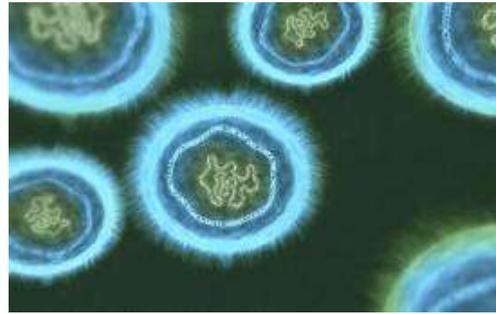
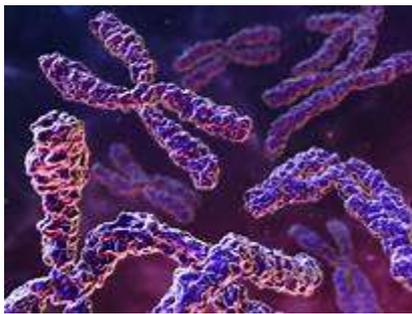
- Centre fibrillaire: c'est le siège de l'allongement des ARN pré-ribosomique.
- Composant granulaire (zone de stockage des pré-ribosomes): contient des particules pré-ribosomiques (ribonucléoprotéines) à aspect granulaire de 15-20 nm de diamètre.
- Centre fibrillaire dense: entourant les centres fibrillaires, c'est une chromatine compacte. Elle correspond aux organisateurs nucléolaires (segments d'ADN qui expriment les gènes sous forme d'ARNr).

C'est donc le lieu de synthèse de l'ARNr, qui sera assemblé avec les protéines ribosomales cytoplasmiques pour former les s/u des ribosomes. Ils correspondent sur les chromosomes en division à des constriction secondaires.

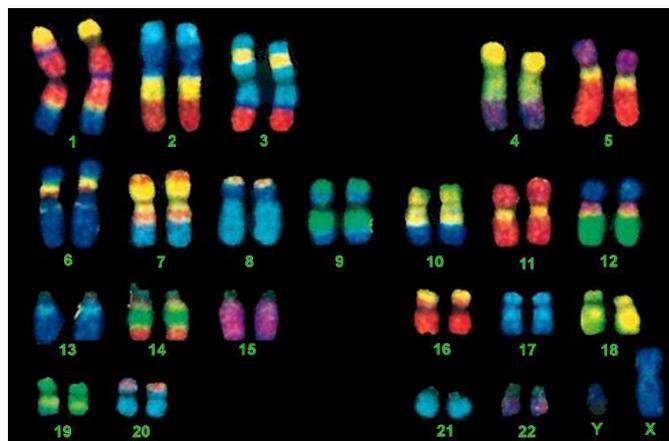


3. Chromosomes

C'est le support physique des gènes, constitués surtout d'ADN et de protéines. Ils sont présents dans les cellules de tous les êtres vivants, en forme de bâtonnet dans le noyau des cellules eucaryotes et circulaires chez les bactéries.



Le nombre chromosomique est caractéristique de chaque espèce, ex: 46 chez l'homme.



Caryotype humain

4. L'ADN

En 1953, James Watson, physicien anglais, et Francis Crick, biologiste américain, qui travaillent au Cavendish laboratory à Cambridge, proposent une structure hélicoïdale de la molécule d'ADN.

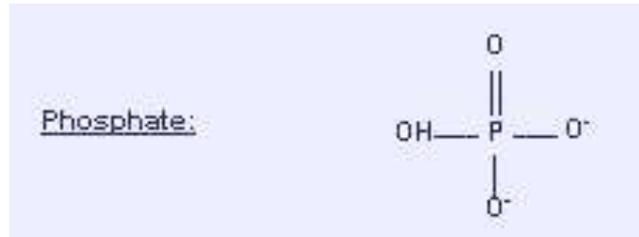
a- Structure primaire

Un nucléoside est constitué d'un sucre + une base azotée.

Un nucléotide est constitué d'un phosphate + un sucre + une base azotée.

L'ADN est un polymère de nucléotides.

➤ **Acide phosphorique: Donne un groupement phosphate.**



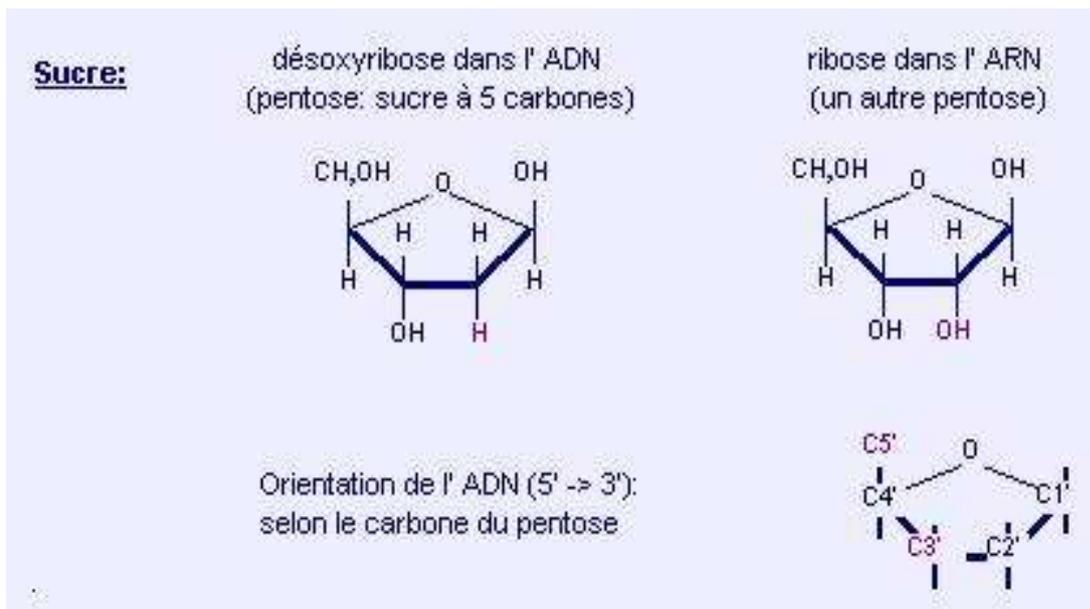
➤ **Sucre :** Désoxyribose, qui est un pentose (sucre à 5 carbones) cyclique.

Le sucre de l'ARN est un ribose.

Les carbones du sucre sont notés de 1' à 5'.

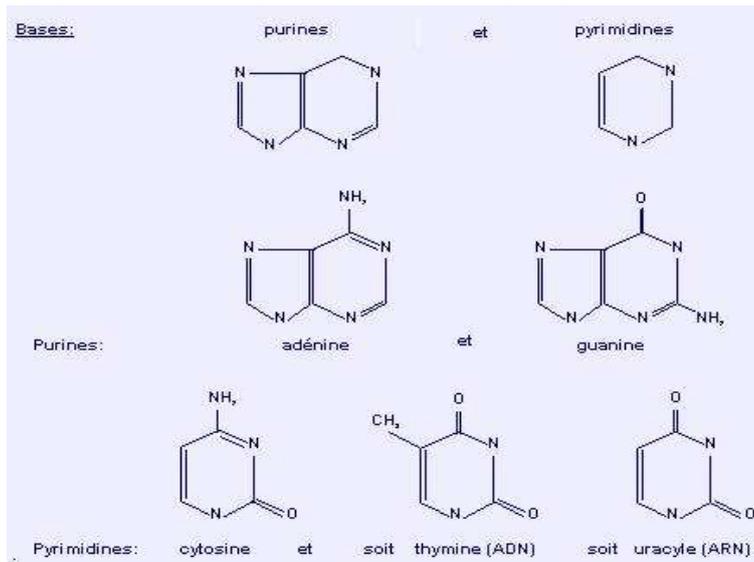
Un atome d'azote de la base azotée se lie au C1' (liaison glycosidique), et le phosphate se lie au C5' (liaison ester) pour former le nucléotide.

Le nucléotide est donc: phosphate - C5' sucre C1' - base.



➤ Bases azotées

- Purines: adénine (A) et guanine (G).
- Pyrimidines: cytosine (C) et thymine (T)
- La thymine est remplacée par l'uracyle (U) dans l'ARN).



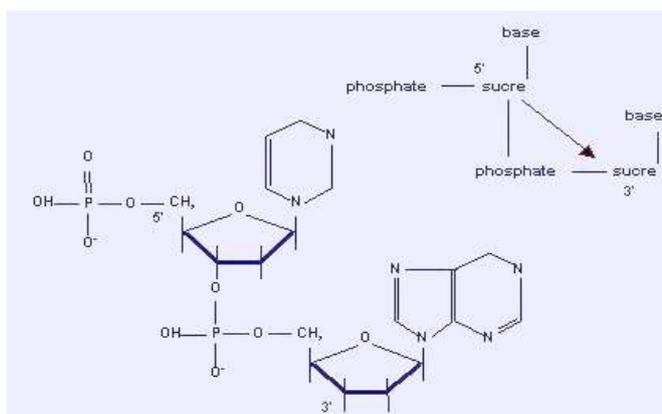
b- Structures secondaire et tertiaire de la molécule : Conformation tri-dimensionnelle de l'ADN

b1. Dinucléotides

Les dinucléotides se forment par liaison phosphodiester entre 2 mononucléotides. Le phosphate d'un mononucléotide (en C5' de son sucre) se lie au C3' du sucre du mononucléotide précédant. Ainsi, nous partons d'un phosphate, puis un 5' sucre (+base) et le 3' de ce sucre, lié à un second phosphate - 5' sucre, dont le 3' est libre pour la prochaine étape d'élongation. L'orientation de la molécule est par conséquent **5' -> 3'**.

Les polynucléotides sont faits donc de l'addition successive de monomères dans une configuration **5' -> 3'** et le squelette de la molécule est fait de la succession de

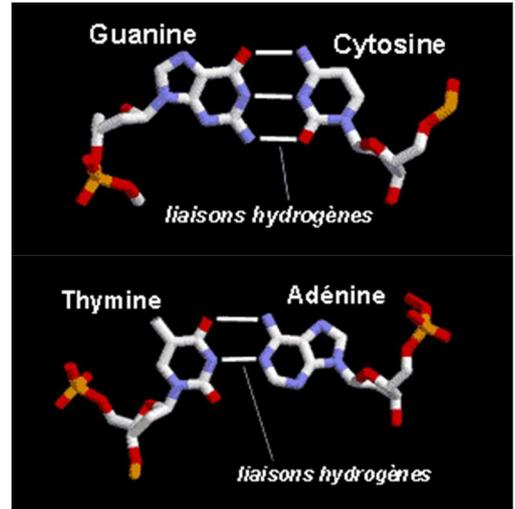
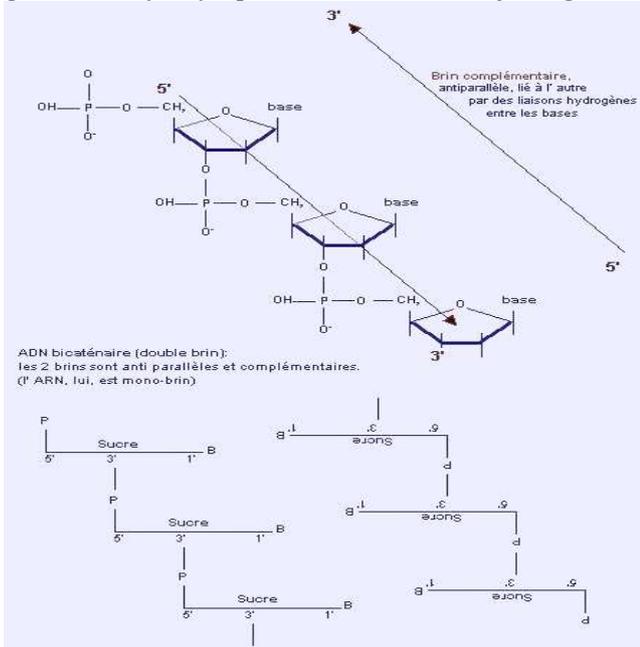
phosphate-sucre (nucléotide n) - phosphate-sucre (nucléotide n+1) - ..., liés de manière covalente, les bases étant à l'extérieur.



b2. Molécule d'ADN

La succession des nucléotides au niveau d'un brin d'ADN varie au sein de la même molécule et entre les molécules de différents individus et différentes espèces: on parle de séquence d'ADN. Cette séquence constitue une information génétique écrite avec un alphabet à 4 lettres.

Les deux chaînes de nucléotides sont reliées au niveau des bases azotées. L'adénine est toujours associée à la thymine (A-T) par 2 liaisons hydrogène, la cytosine est associée à la guanine (G-C) par 3 liaisons hydrogène : les deux chaînes sont complémentaires.

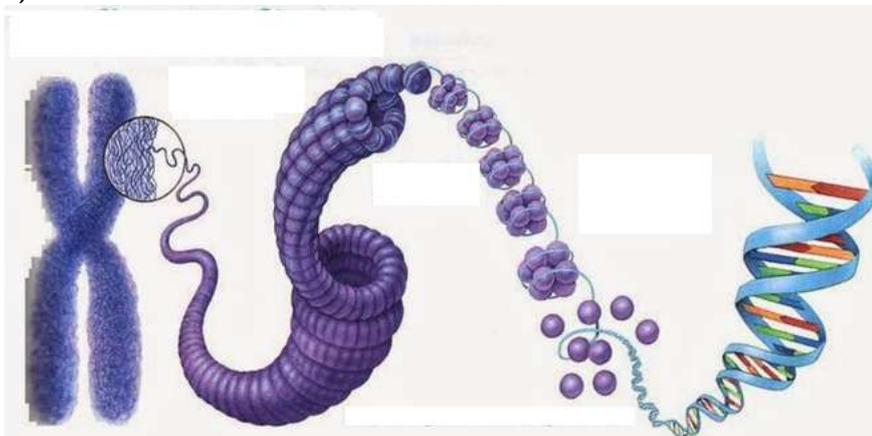


L'ADN d'un individu donné est divisé en différentes parties, chacune gouverne un caractère donné. Ces fragments sont appelés gènes.

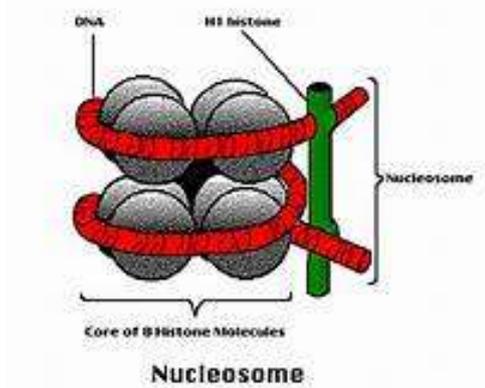
Les différentes versions du même gène issues généralement de mutations sont appelées allèles.

5- De la chromatine aux chromosomes

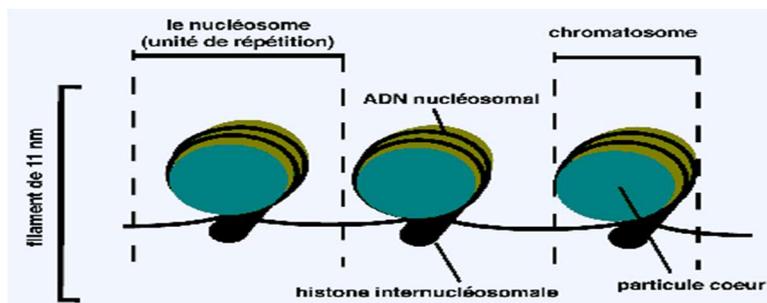
La longueur totale de la double hélice d'une cellule humaine est de 1,90m alors que la longueur totale du chromosome métaphasique est de 220µm. Donc pour être contenu dans le chromosome, l'ADN doit être condensé 8600 fois.



- Nucléosome : L'ADN des cellules eucaryotes se combine avec des protéines basiques appelées histones pour former des structures appelées nucléosomes. Ces structures contiennent 4 paires de particules protéiques histones (H2A)x2, (H2B)x2, (H3)x2 et (H4)x2 entourées deux fois par le filament d'ADN d'une longueur de 60 paires de base (pb). Entre les nucléosomes, il y a les liens internucléosomiques constitués d'ADN associé à l'histone H1.

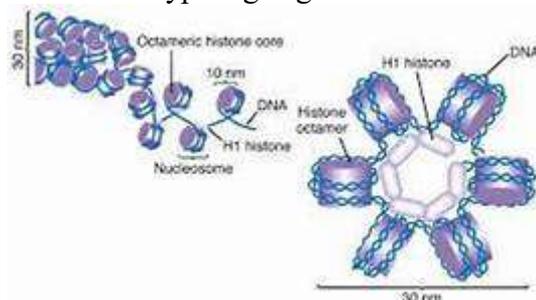


- Fibre nucléosomique : L'étape suivante est une étape de maturation nécessitant la présence d'ATP, au cours de laquelle les nucléosomes sont régulièrement espacés et forment le nucléofilament. Pendant cette étape, les histones nouvellement incorporées sont désacétylées. Cette étape condense l'ADN de 6 à 7 fois.



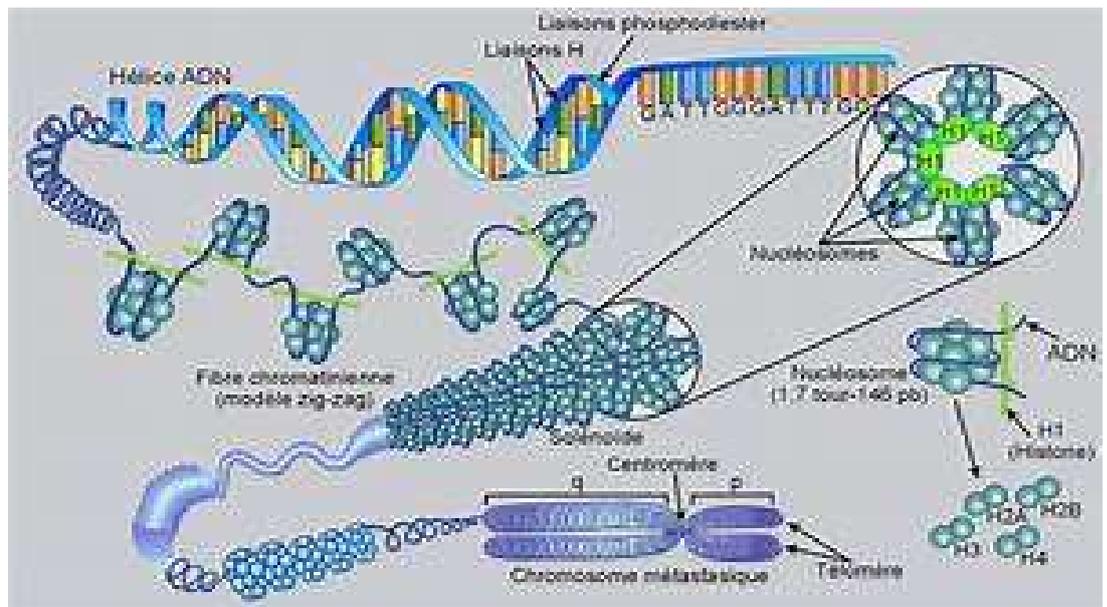
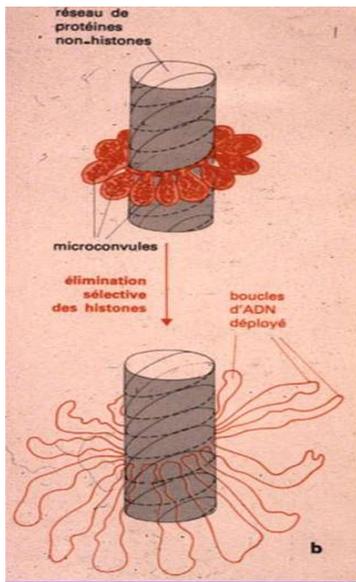
- Nucléofilament : La formation de ce filament cylindrique de 10 nm induit un raccourcissement de la fibre nucléosomique d'un facteur 7 (structure en collier de perles).

- Fibre chromatinienne ou chromosomique : Ensuite l'incorporation des histones internucléosomales est accompagné par le repliement (d'ordre 7) du nucléofilament en fibre de 30 nm dont la structure n'est pas élucidée à ce jour. Deux modèles principaux existent : le modèle de type solénoïde et le modèle de type zig zag.



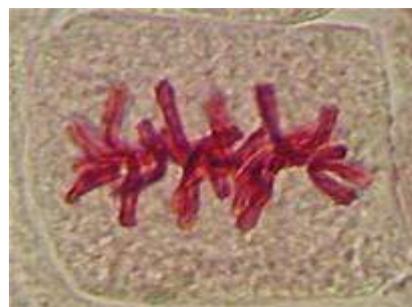
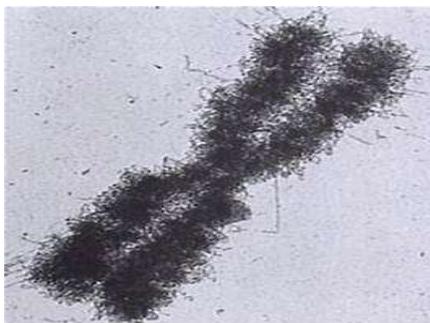
- Au MEB, la surface de cette fibre chromatinienne apparaît couverte de boucles, les microconvules: formations provenant du repliement du nucléofilament avec un facteur de condensation de cette fibre d'ordre 10

- Enfin, au cours de la prophase ces microconvules vont à leur tour s'enrouler autour d'une colonne axiale formée de protéines non-histones (ordre 20).



Ce processus permet de passer d'une longueur totale de 1,90 m pour l'ADN humain à une longueur de 220µm correspondant à la longueur totale des chromosomes. C'est une condensation d'environ 8000 fois.

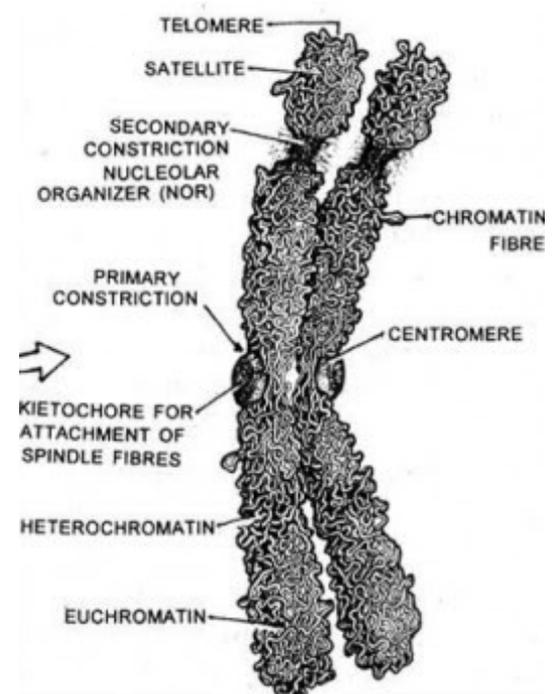
Le degré de condensation et la visibilité maximale des chromosomes sont atteints à la métaphase: ils sont constitués de 2 chromatides identiques liés au niveau du centromère.



➤ Le centromère ou constriction primaire est une région étranglée du chromosome où les 2 chromatides sont reliés entre elles. Chaque chromatide porte un centre organisateur de microtubules: le kinétochore qui joue un rôle dans les mouvements des chromosomes lors de la division. Les bras du chromosome sont situés de part et d'autre de ce centromère.

➤ Les constriction secondaires correspondent à l'emplacement d'un nucléole en période interphasique, il s'agit de l'organisateur nucléolaire qui contient les gènes ribosomiques.

➤ Les télomères sont des séquences d'ADN particulières situées aux extrémités des chromosomes. Ils sont composés de répétitions d'une courte séquence qui contient un ensemble de nucléotides G voisins. Par exemple, chez l'homme : **GGGTTA**
Ils jouent un rôle de stabilisation et de protection des extrémités chromosomiques empêchant les chromosomes de fusionner entre eux.



6- Transmission de l'information génétique

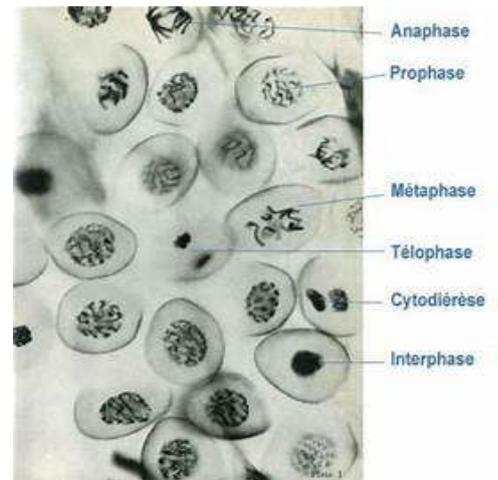
En prenant l'exemple du cycle biologique humain, il est possible de connaître la progression du nombre de chromosomes. L'être humain a reçu 46 chromosomes, 23 du père et 23 de la mère. Ces chromosomes paternels et maternels se sont assemblés dans le noyau d'une cellule unique appelée zygote formée par la fusion d'un spermatozoïde et d'un ovule. A partir de ce zygote, la mitose produit les milliards de cellules somatiques qui composent l'organisme humain. Ce même processus continue d'engendrer de nouvelles cellules pour remplacer les cellules mortes ou endommagées.

Par contre, les spermatozoïdes et les ovules sont produits par un autre type de division cellulaire, la méiose, qui produit des cellules filles non identiques à la cellule mère et qui contient 2 fois moins de chromosomes (23 seulement). La méiose se produit uniquement au niveau des organes reproducteurs.

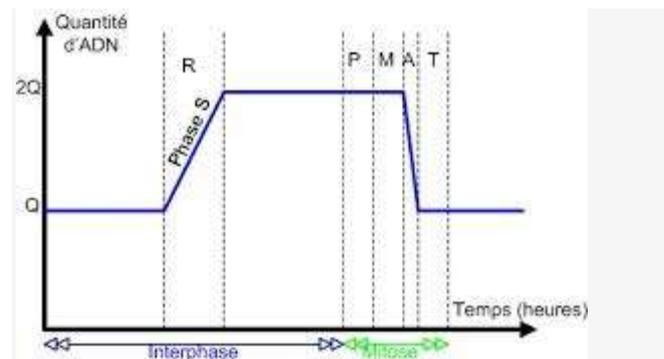
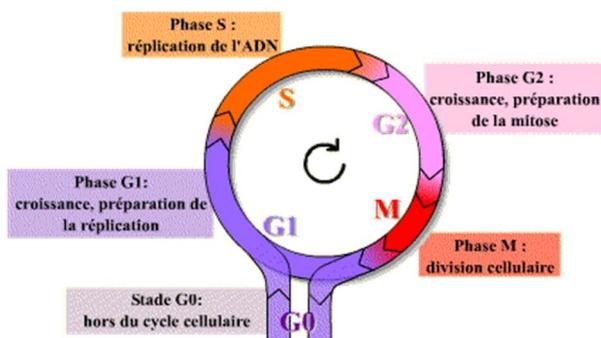
6.1. Mitose

Un cycle cellulaire complet comporte 2 phases :

- La mitose = la division cellulaire proprement dite
- L'interphase qui sépare 2 mitoses.



a) Interphase : constituée de 3 périodes : G1, S et G2.



➤ La phase G1, du terme anglais Gap (= vide), c'est-à-dire pas d'activité répliquative de l'ADN. Pendant cette phase, il y a une synthèse intense de divers ARN (ARNm, ARNr...), de divers enzymes (ADN polymérase, ARN polymérase...) et de diverses protéines (histones...) : la cellule se prépare à la réplication de son ADN.

➤ La phase S: C'est la phase de la biosynthèse de l'ADN. La cellule duplique son ADN, à ce moment la cellule diploïde aura 4C d'ADN et 4N de chromosomes.

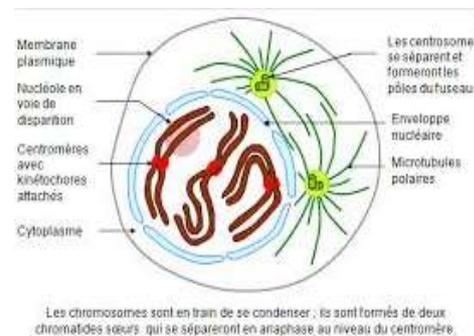
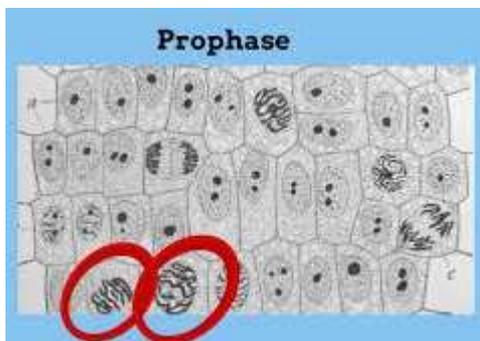
➤ La phase G2 : La cellule est toujours en condition tétraploïde (4N et 4C). La synthèse protéique est intense et concerne surtout les protéines de l'appareil mitotique. A ce moment la cellule augmente grandement de volume mais elle n'est pas encore en division, la mitose est en préparation.

b) Mitose : S'articule autour de 4 phases, suivies par la division cytoplasmique (cytodiérèse).

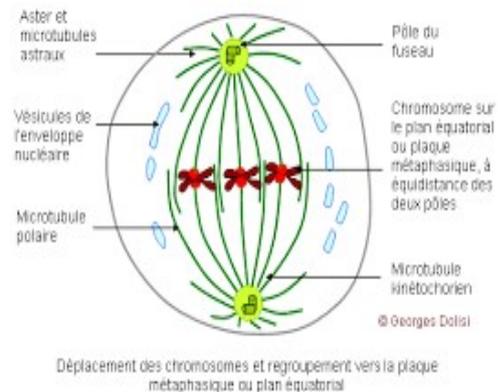
✓ Prophase : La chromatine se condense (se spiralise) en chromosomes bien visibles au microscope. Chaque chromosome est formé de deux chromatides sœurs unies par un centromère. Durant cette phase, le nucléole se désintègre peu à peu puis disparaît totalement.

Le centrosome (qui comporte deux centrioles) qui a commencé à se dupliquer depuis la fin de la phase S, se dédouble et chaque centrosome s'entoure de microtubules rayonnants (aster) et se déplace vers un pôle opposé de la cellule formant ainsi deux asters diamétralement opposés.

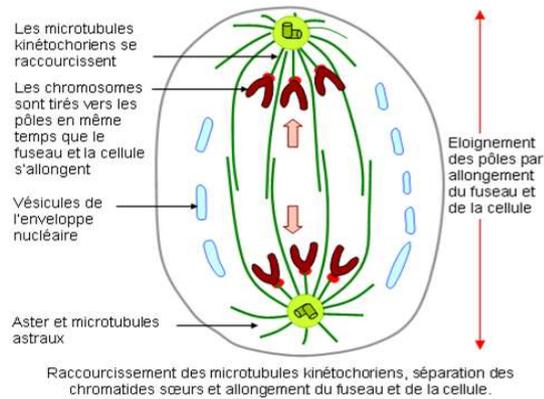
La membrane nucléaire a disparu et les fuseaux des microtubules commencent à irradier des centrosomes.



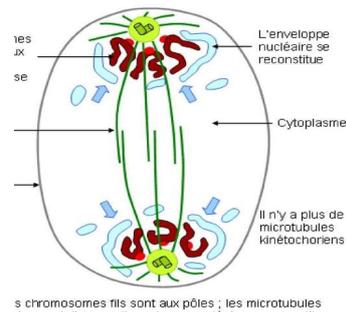
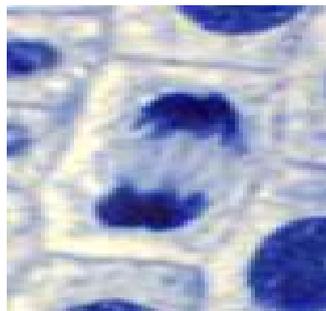
✓ Métaphase : Les chromosomes, dont la spiralisation est maximale, sont animés de mouvements par les fibres du fuseau achromatique. Ils finissent par se placer dans la région médiane de la cellule à égale distance des deux pôles formant la plaque équatoriale (ou plaque métaphasique). Les microtubules kinétochoriens sont dirigés de part et d'autre des chromatides vers les centrioles. Les chromatides sœurs ne sont pas encore séparées. La métaphase est la phase durant laquelle la plupart des études morphologiques sur les chromosomes mitotiques sont réalisées.



✓ Anaphase : Au cours de cette phase, les centromères se fissentent et les chromatides sœurs se séparent en deux chromosomes indépendants. Chacun de ces chromosomes contient un centromère qui est lié à un pôle de la cellule par une fibre du fuseau achromatique. Chaque chromosome se déplace vers un pôle de la cellule par raccourcissement des microtubules kinétochoriens qui se dépolymérisent. C'est donc dans cette phase que chaque copie du chromosome est distribuée à chaque cellule fille.



✓ Télophase: Au cours de la télophase, les chromatides atteignent les pôles de la cellule, les microtubules kinétochoriens deviennent de plus en plus courts et se dépolymérisent. A ce moment, les chromosomes fils se regroupent autour de l'aster, se déroulent et deviennent moins apparents. Le nucléole réapparaît de nouveau et de nouvelles membranes nucléaires se reforment autour des noyaux des cellules filles. Le fuseau mitotique et les microtubules disparaissent.

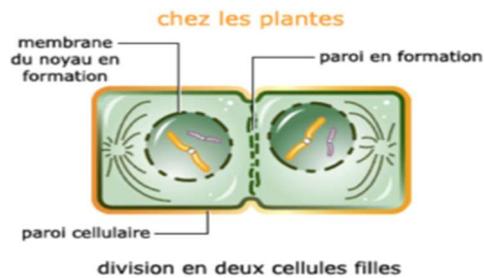


c) La cytotdiérèse: La division cytoplasmique débute en fin d'anaphase ou lors de la télophase. Au cours de cette phase finale de la mitose, la membrane plasmique de la cellule en division s'invagine dans la région médiane de la cellule formant un sillon de division qui se creuse peu à peu jusqu'à scinder la cellule en deux cellules filles.

Dans la cellule animale, un anneau contractile d'actine et myosine se forme dans la zone équatoriale et se contracte, tirant la membrane vers l'intérieur. Ainsi, une rainure de clivage est provoquée qui étrangle le cytoplasme jusqu'à ce que les 2 cellules filles se séparent.

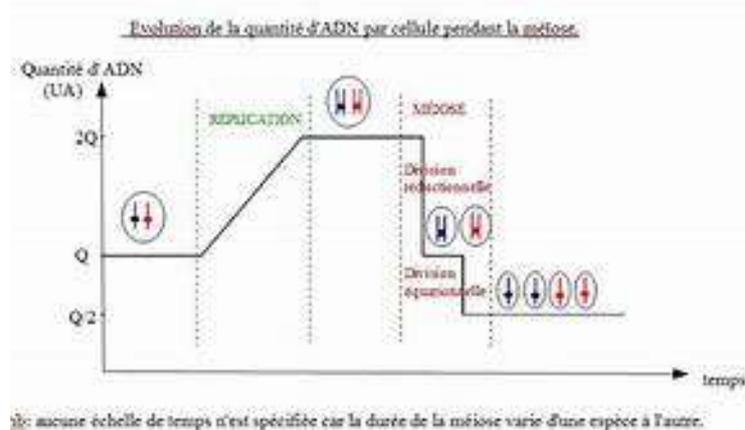


Dans la cellule végétale, des vésicules golgiennes chargées en substances pariétales se placent à l'équateur de la cellule pour former une paroi. Puis la membrane cellulaire se développe des deux côtés, formant 2 cellules filles complètement séparées.



6.2. Méiose

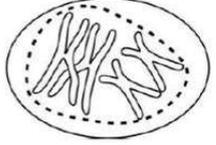
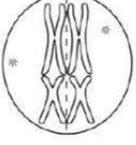
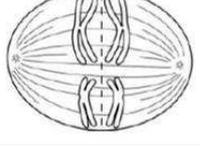
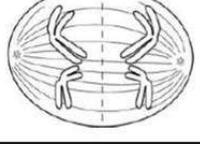
C'est une division cellulaire particulière dans laquelle une cellule diploïde à $2n$ chromosomes donne naissance à 4 cellules haploïdes à n chromosomes. C'est une division réductionnelle qui réduit de moitié le nombre de chromosomes. La seconde division est équationnelle : elle scinde chaque chromosome en deux chromatides.



a) Méiose I :

- Prophase I : constituée de cinq stades.
 - Leptotène (=condensation) l'ADN se condense en chromosomes déjà constitués de 2 chromatides.
 - Zygotène (=disposition par paire) les chromosomes homologues s'apparient formant des bivalents.
 - Pachytène (=échange de matériel génétique) les 2 chromatides ne sont plus reliés que par le centromère formant des tétrades. A ce stade, commence le crossing-over.
 - Diplotène : les chromosomes ne restent unis qu'au niveau des crossing-over.
 - Diacinèse : nouvelle condensation des chromosomes et séparation des chromatides qui restent attachées au niveau des chiasmats. Le nucléole et la membrane nucléolaires disparaissent.
- Métaphase I: les bivalents se disposent en plaques équatoriales avec formation du fuseau achromatique et disparition de la membrane nucléaire et des nucléoles.

- Anaphase I: les chromosomes homologues se séparent et migrent vers les pôles. La rupture des chiasmats aboutit à l'échange de morceaux de chromosomes entre les chromosomes homologues.
- Télaphase I: formation de noyaux fils haploïdes.

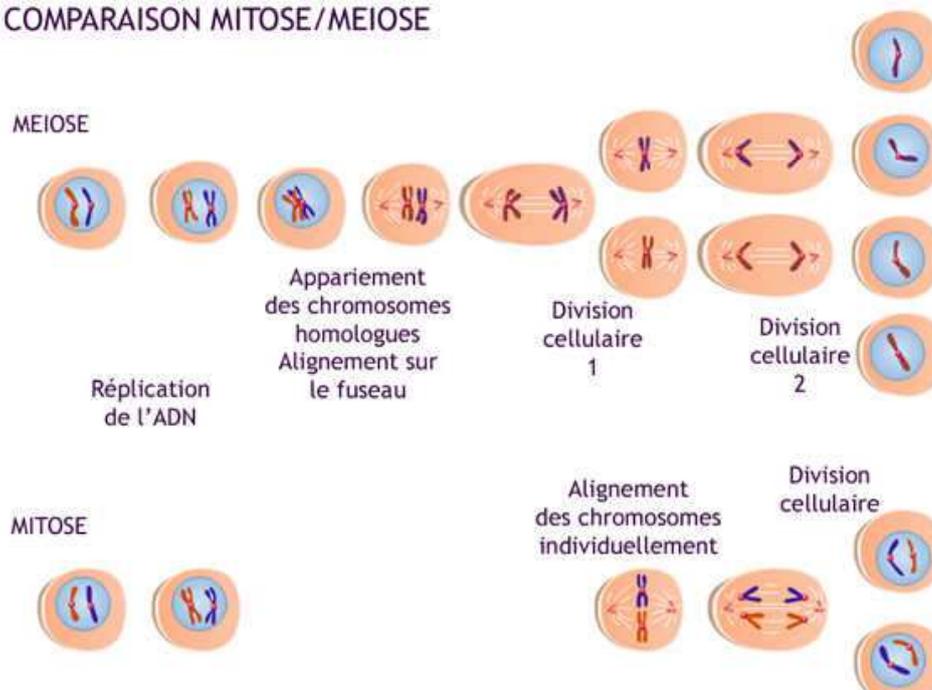
Description des caractéristiques Principales de chaque étape		Photographies numériques observations au MO	Schémas Représentation de 2 paires de chromosomes ($2n = 4$)
1^{ère} division de méiose : La division réductionnelle			
Prophase I			
A	$2n$		
B	$4c$		
C	2		
☒ Individualisation et appariement des chromosomes homologues « tétrade ou bivalent »			
Métaphase I			
A	$2n$		
B	$4c$		
C	2		
☒ Alignement des chromosomes homologues dans le plan équatorial ☒ les chromosomes homologues se font face 2 à 2			
Anaphase I			
A	$2n \text{ à } n$		
B	$4c \text{ à } 2c$		
C	2		
☒ Disjonction puis séparation des chromosomes homologues ☒ Un lot haploïde migre vers chacun des pôles de la cellule.			
Télaphase I			
A	n		
B	$2c$		
C	2		
☒ Formation de 2 cellules haploïdes avec n chromosomes doubles			

b) Méiose II :

- Prophase 2: Disparition de l'enveloppe nucléaire et Formation du fuseau achromatique.
- Métaphase 2: Les chromatides se placent au centre de la plaque équatoriale.
- Anaphase 2: séparation des chromatides qui migrent vers les pôles opposés.
- Télaphase 2 : Formation de 4 cellules haploïdes résultant des 2 divisions chromatiques

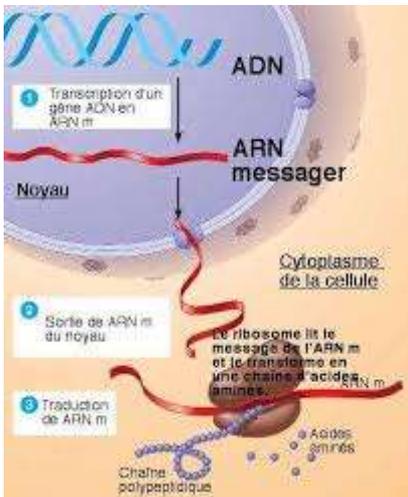
Description des caractéristiques Principales de chaque étape			Photographies numériques <i>observations au MO</i>	Schémas <i>Représentation de 2 paires de chromosomes (2n = 4)</i>
2^{ème} division de méiose : La division équationnelle				
Prophase II				
A	n	⌘ Préparation des chromosomes pour la 2 ^{ème} division		
B	2c			
C	2			
Métaphase II				
A	n	⌘ Alignement des chromatides sœurs dans le plan équatorial ⌘ Les chromatides sœurs se font face		
B	2c			
C	2			
Anaphase II				
A	n	⌘ Disjonction puis séparation des chromatides sœurs ⌘ Un lot haploïde migre vers chacun des pôles de la cellule		
B	2c à c			
C	2 à 1			
Télophase II				
A	n	⌘ Formation de 4 cellules haploïdes avec n chromosomes simples		
B	c			
C	1			

COMPARAISON MITOSE/MEIOSE



7- La synthèse protéique

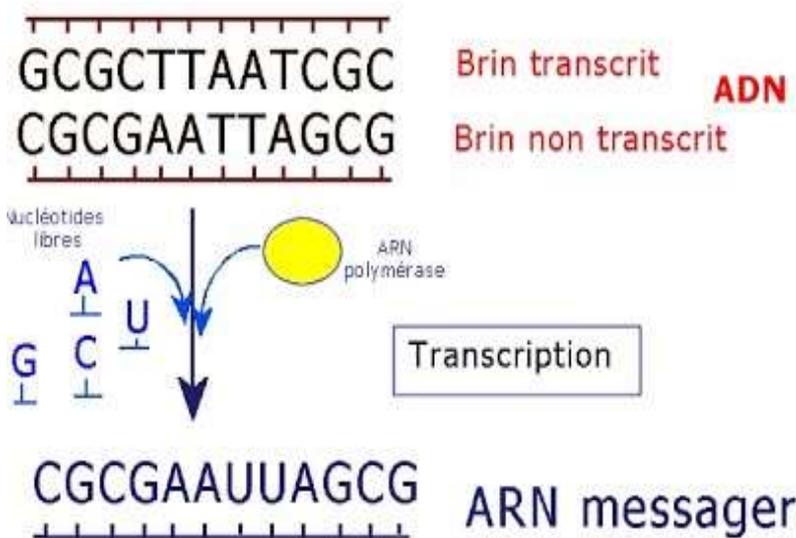
C'est le processus par lequel une cellule assemble une chaîne protéique en combinant des acides aminés isolés présents dans son cytoplasme, guidé par l'information contenue dans l'ADN. Elle se déroule en deux étapes au moins : la transcription de l'ADN en ARN messager et la traduction de l'ARN messager en une protéine.



L'information est localisée dans le noyau (sous forme d'ADN) et la synthèse des protéines s'effectue dans le cytoplasme (au niveau des ribosomes du réticulum endoplasmique) : l'ADN ne sort pas du noyau. L'information passe au cytoplasme sous forme d'une copie : l'ARN.

7.1. Transcription : première étape de la synthèse d'une protéine

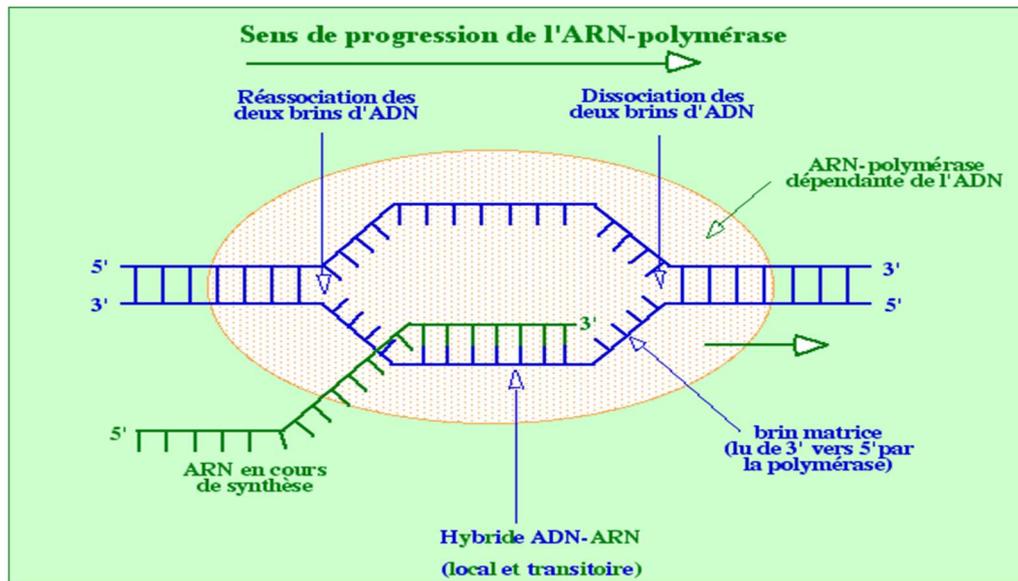
C'est la copie du gène (ADN) en une molécule d'ARN.



Les ARN sont synthétisés à partir de segments bien définis de l'ADN. Ce sont des unités de transcription ou gènes. Chaque unité de transcription présente un site promoteur et un site de terminaison que les enzymes de transcription, ARN polymérases (ARNpol) reconnaissent.

La transcription commence par l'ouverture et le déroulement d'une portion de la molécule en double hélice d'ADN. Au fur et à mesure de sa progression le long de l'ADN, l'ARN-polymérase incorpore des nucléotides présents dans le milieu cellulaire. Cette incorporation s'effectue par complémentarité des bases azotées avec l'un des brins de la molécule d'ADN : l'adénine (A) se place en face de la thymine (T) et l'uracile (U) se place en face de l'adénine (A), la cytosine (C) se place en face de la guanine (G) et inversement.

Le brin d'ARN messager ainsi synthétisé est complémentaire du brin d'ADN transcrit. L'information contenue dans l'ARN messager est identique à celle du brin d'ADN non transcrit. Le nucléotide uracile (U) occupe dans l'ARN la place du nucléotide thymine (T) de l'ADN.



L'ARN-polymérase se déplace toujours dans le même sens sur un brin et dans le sens opposé sur l'autre brin. Elle se détache sur un site présentant des caractéristiques particulières signalant la fin du gène. Ensuite, lorsque l'ARN-polymérase s'est détachée, les deux brins d'ADN s'associent de nouveau au fur et à mesure de l'avancée de l'enzyme, et se retrouvent comme ils étaient avant la synthèse d'ARN.

Remarque importante : De l'ARN est produit très rapidement et en grande quantité : plusieurs molécules d'ARN-polymérase effectuent simultanément la transcription du même gène. Plusieurs gènes peuvent être transcrits simultanément dans le noyau d'une même cellule.

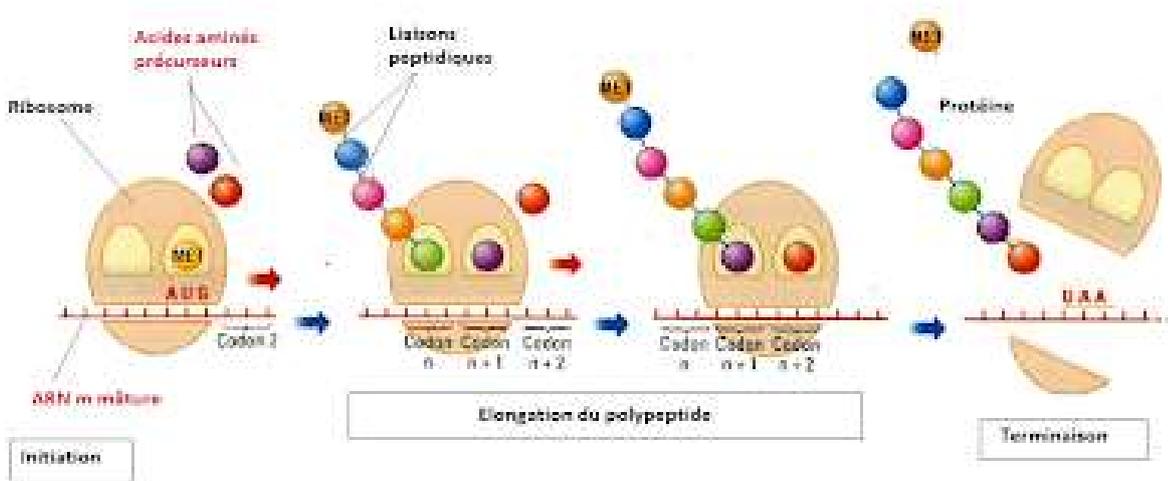
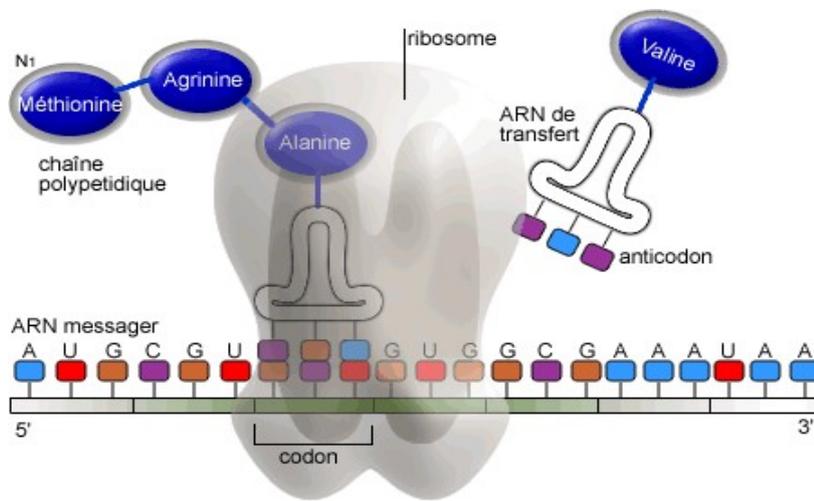
7.2. Traduction : de l'ARN à la protéine

La traduction se déroule dans le cytoplasme des cellules eucaryote, au sein de structures spécialisées : les polysomes comprenant

- une molécule d'ARN messager mature.
- des ribosomes
- des acides aminés précurseurs.

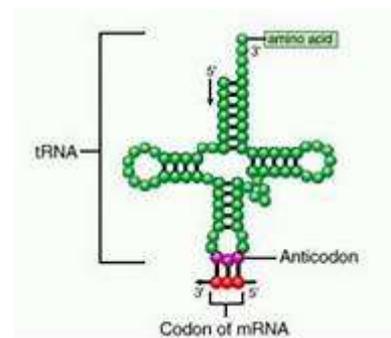
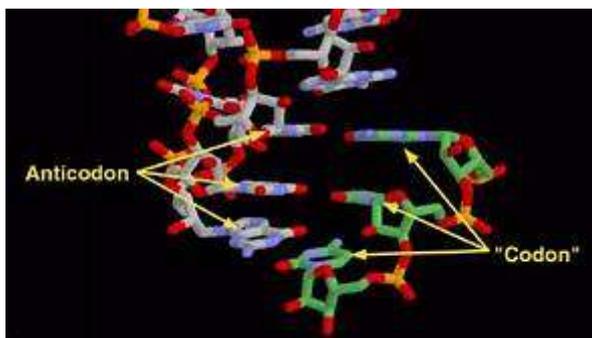
Chaque ribosome se lie à l'ARN au niveau du codon AUG ou codon d'initiation puis progresse le long de l'ARN jusqu'à un codon stop (UAA ou UAG ou UGA) où le ribosome se détache et libère le polypeptide synthétisé.

Au cours de son déplacement, le ribosome met en place chaque acide aminé en fonction du codon correspondant sur l'ARN. Au cours de sa progression la chaîne peptidique s'allonge donc d'un acide aminé tous les trois nucléotides de l'ARN.



L'anticodon est un groupe de 3 nucléotides localisé dans la structure des ARN de transfert. Ce triplet s'apparie spécifiquement à la séquence complémentaire du codon présent sur le brin d'ARNm. Cette complémentarité spécifique « codon-anticodon » permet de faire correspondre un acide aminé à un codon, selon le code génétique.

Lorsque l'appariement « codon-anticodon » se fait dans le ribosome, celui-ci peut ajouter l'aa à la protéine en cours de synthèse.



7.3. Le code génétique

Le code génétique

		Deuxième nucléotide								
		U	C	A	G					
Premier nucléotide	U	UUU	phényl-alanine	UCU	sérine	UAU	tyrosine	UGU	cystéine	
		UUC		UCC			UAC		UGC	
		UUA	leucine	UCA			UAA	STOP	UGA	STOP
	UUG	UCG			UAG		UGG	tryptophane		
	C	CUU	leucine	CCU	proline	CAU	histidine	CGU	arginine	
		CUC		CCC		CAC	CGC			
		CUA		CCA		CAG	CGA			
	CUG	CCG	CAG	CGG						
	A	AUU	isoleucine	ACU	thréonine	AAU	asparagine	AGU	sérine	
		AUC		ACC		AAC	AGC			
		AUA		ACA		AAG	AGG			
	AUG	méthionine	ACG	AAG	lysine	AGA	arginine			
G	GUU	valine	GCU	alanine	GAU	acide aspartique	GGU	glycine		
	GUC		GCC		GAC	GGC				
	GUA		GCA		GAA	GGG				
GUG	GCG	GAG	GAG	glutamine	GGA					

C'est la correspondance entre les codons c'est-à-dire les triplets de nucléotides des ARNm et les acides aminés enchaînés lors de la production d'une protéine (séquence peptidique).

- Un codon code toujours pour le même aa.
- Un aa peut être codé par plusieurs codons différents : le code génétique est redondant.
- Il existe des codons-stop: triplets de nucléotides marquant la fin de l'information le long d'un ARN m
- Il existe un codon d'initiation: le codon AUG qui marque le début de l'information génétique sur un ARN m.
- le code génétique est universel: il est le même chez tous les êtres vivants.

La reconnaissance entre une molécule d'ARNt et l'acide aminé approprié se fait grâce à des enzymes : les aminoacyl-ARNt synthétases.

Il existe 20 enzymes, toutes présentes dans le cytoplasme, capables de reconnaître à la fois l'acide aminé et l'ARNt correspondant et de permettre leur couplage.

L'enzyme d'activation libère l'ARNt chargé (ARNt attaché à son AA) et peut ensuite charger un autre ARNt. L'énergie libérée par la rupture de la liaison AA - ARNt permet la création d'une liaison AA-AA.

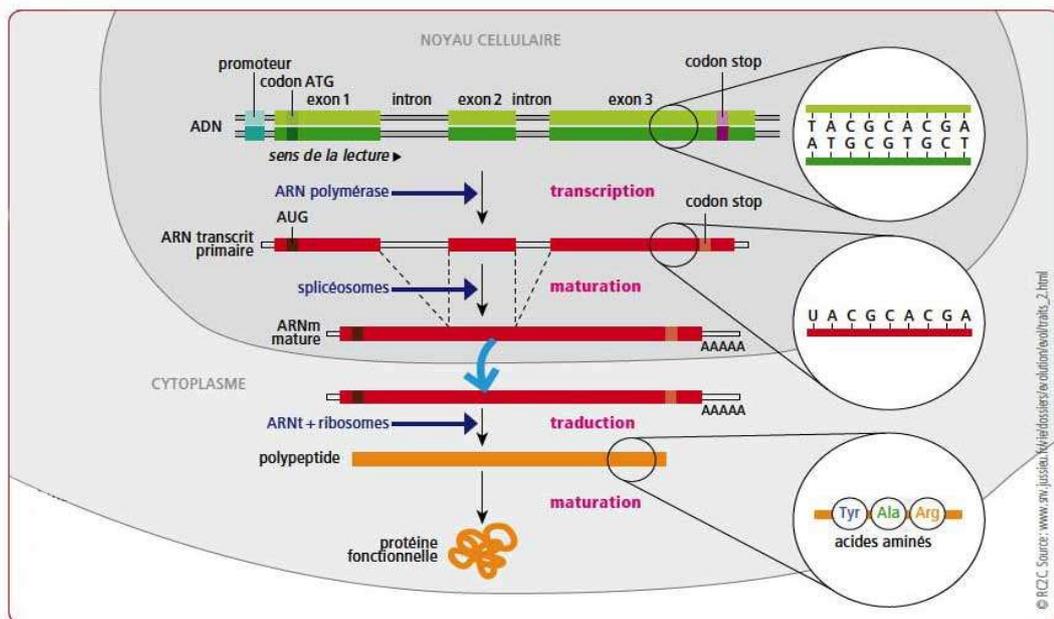


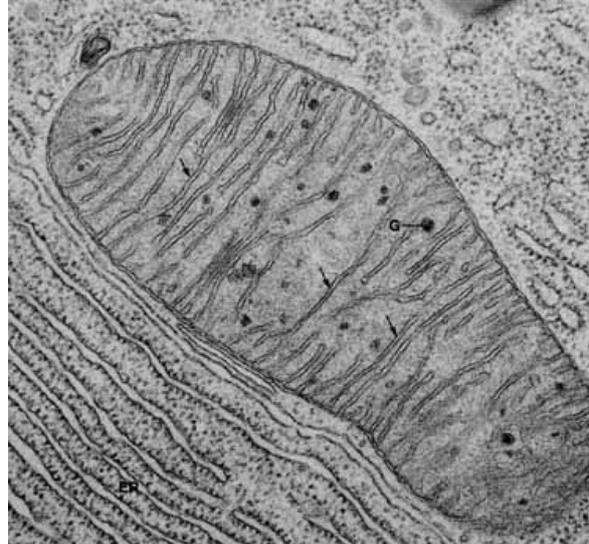
Schéma de la synthèse protéique chez les eucaryotes

Rmq : Les introns sont donc des régions non-codantes (supprimés par épissage) et les exons des régions codantes (exprimés).

MITOCHONDRIE

1. Caractéristiques

- Forme: bâtonnet ou sphérique
- Longueur: 1 à 4 μm
- Diamètre: 0,3 à 0,7 μm
- Localisation: dans toutes les cellules des Eucaryotes
- 1000/cellule, en moyenne
- Volume: 20% du cytoplasme



2. Ultrastructure

2.1. Membranes

- Membrane externe (60 Å d'épaisseur): 60% protéines et 40% lipides
- Espace intermembranaire (100 Å de largeur)
- Membrane interne (60 Å d'épaisseur): 80% protéines et 20% lipides
 - Forme des replis vers l'intérieur ce qui augmente sa surface: crêtes, perpendiculaires au grand axe de la mitochondrie.
 - Imperméable à la diffusion de H^+ (protons).
 - La surface des crêtes est tapissée de sphères de 90 Å de diamètre reliées à la crête par un pédoncule. Il s'agit de l'ATP synthase qui catalyse la synthèse d'ATP.

2.2. Matrice : C'est la substance fondamentale où se produisent des réactions métaboliques et qui contient:

- des granules denses de 300 Å environ (accumulations de cations)
- des mitoribosomes, plus petits que ceux du cytoplasme (synthèse protéique)
- ADNmt sous forme de chromosome circulaire qui permet à la mitochondrie de synthétiser certaines de ses protéines (environ 20%). La mitochondrie reste cependant dépendante de l'ADN nucléaire pour la synthèse de la plupart de ses protéines : **organite semi-autonome.**

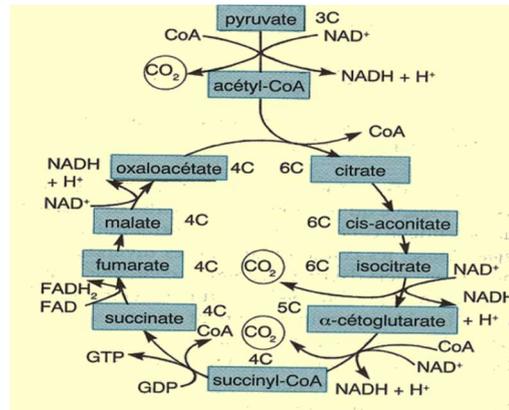
3. Respiration cellulaire (mitochondriale)

- Ensemble de réactions complexes qui aboutissent à la formation d'ATP et qui sont accompagnées par des échanges gazeux respiratoires: absorption d' O_2 et dégagement de CO_2 .
- On peut la diviser en trois étapes qui fonctionnent simultanément.

3.1. Première étape: oxydation des substrats (Lieu: la matrice)

L'acide pyruvique et les acides gras sont oxydés par perte d'H₂ (déshydrogénation) qui sont captés soit par le NAD⁺ pour devenir NADH,H⁺ soit par le FAD pour devenir FADH₂.

Ces 2 substrats fournissent l'**acétyl-CoA** qui permet le fonctionnement du Cycle de Krebs (Cycle de l'acide citrique).



Les co-enzymes réduits vont participer à la chaîne respiratoire (2^{ème} étape) en tant que donneur d'H₂.

3.2. Deuxième étape: chaîne respiratoire

(Lieu: membrane mitochondriale interne: crêtes mitochondriales)

Le NADH,H⁺ subit une déshydrogénation au niveau du complexe NADH déshydrogénase dans la membrane interne mitochondriale.

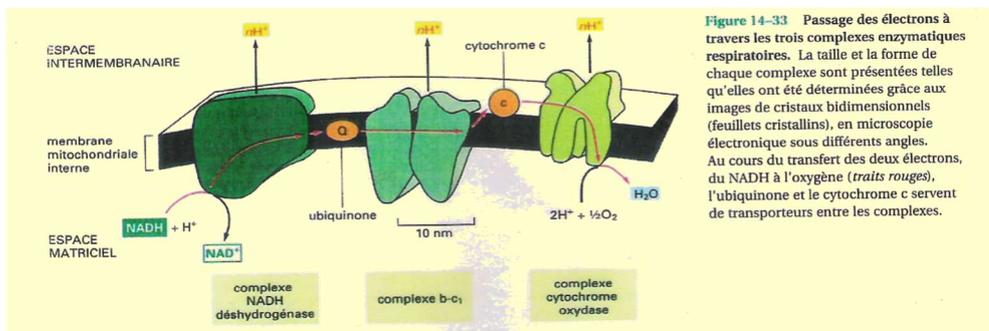


Figure 14-33 Passage des électrons à travers les trois complexes enzymatiques respiratoires. La taille et la forme de chaque complexe sont présentées telles qu'elles ont été déterminées grâce aux images de cristaux bidimensionnels (feuilles cristallines), en microscopie électronique sous différents angles. Au cours du transfert des deux électrons, du NADH à l'oxygène (traits rouges), l'ubiquinone et le cytochrome c servent de transporteurs entre les complexes.

Seuls les e⁻ seront transportés le long de la chaîne respiratoire qui comporte 3 complexes enzymatiques respiratoires principaux ainsi que 2 transporteurs intermédiaires:

a- Complexe NADH déshydrogénase (Plus de 22 chaînes polypeptidiques)

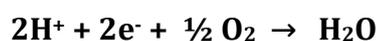
Accepte des e⁻ du NADH,H⁺ et les transporte à l'ubiquinone.

b- Complexe cytochrome b-c 1 (8 chaînes polypeptidiques)

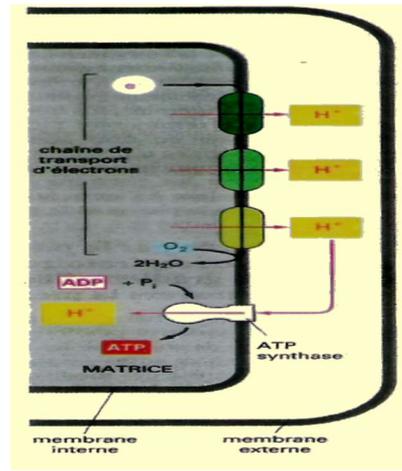
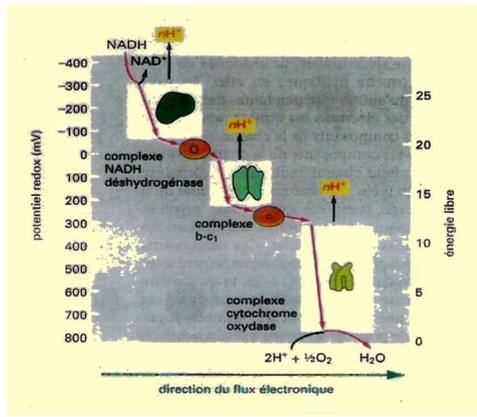
Contient un atome de fer ou de cuivre qui permet le transport des e⁻ de l'ubiquinone vers le cytochrome c.

c- Complexe cytochrome oxydase (9 chaînes polypeptidiques au moins)

Accepte des e⁻ du cytochrome c et les transmet à O₂ qui capte en même temps des protons (2H⁺) ⇒ production d'eau :



3.3. Troisième étape: formation d'ATP: phosphorylation oxydative

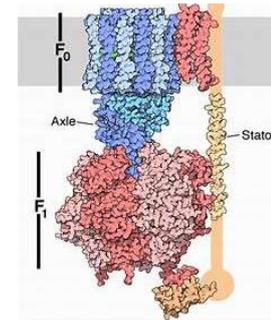
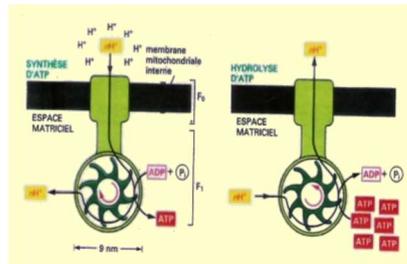
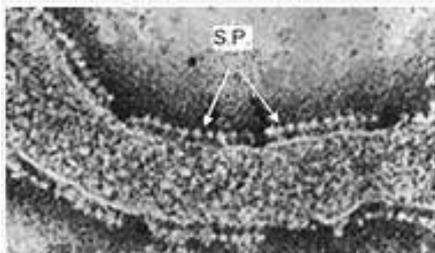


Le transport des électrons entraîne une chute importante de l'énergie qui est utilisée pour le pompage de protons (H^+) de la matrice vers l'espace intermembranaire.

Comme la membrane interne est imperméable aux protons, il se crée un gradient de pH entre la matrice et l'espace intermembranaire.

L'espace intermembranaire est plus concentré en H^+ (gradient chimique) et en e^- (gradient électrique) que la matrice.

D'où le retour des H^+ dans la matrice à travers les canaux à protons au niveau des sphères pédonculées (ATP synthase).



L'ATP synthase utilise l'énergie du flux protonique pour synthétiser l'ATP à partir d'ADP et P_i dans la matrice.



C'est une **phosphorylation oxydative** puisque l'énergie provient des H_2 des substrats par oxydation (1^{ère} étape).

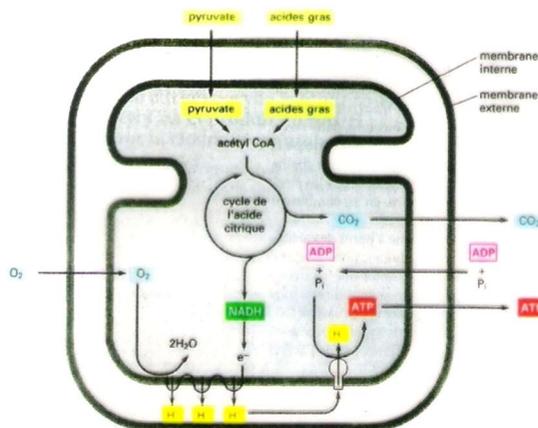
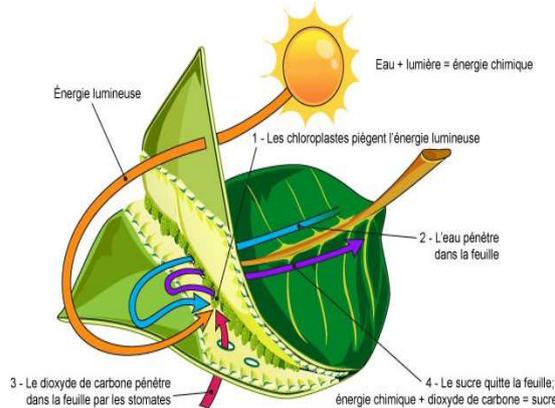


Figure 14-16 Un résumé du métabolisme énergétique mitochondrial. Le pyruvate et les acides gras pénètrent dans les mitochondries, sont dégradés en acétyl CoA et sont métabolisés par le cycle de l'acide citrique, qui produit NADH (et $FADH_2$ qui n'est pas montré ici). Dans le processus de phosphorylation oxydative, des électrons à haute énergie provenant du NADH (et de $FADH_2$) sont ensuite transmis à l'oxygène par la chaîne respiratoire située dans la membrane interne, produisant de l'ATP par un mécanisme chimiosmotique. Le NADH produit par glycolyse dans le cytosol transmet également des électrons à la chaîne respiratoire (non représenté). Puisque le NADH ne peut pas traverser la membrane mitochondriale interne, le transfert d'électrons depuis le NADH cytosolique doit être réalisé indirectement, par un des divers systèmes de « navette » qui transportent un autre composé réduit dans la mitochondrie; après avoir été oxydé, ce composé est renvoyé dans le cytosol, où il est à nouveau réduit par NADH.

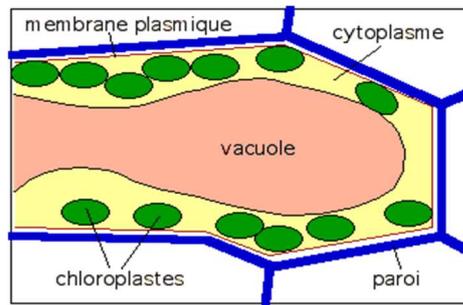
CHLOROPLASTE

Ce sont des organites cellulaires spécialisés, siège de la photosynthèse.

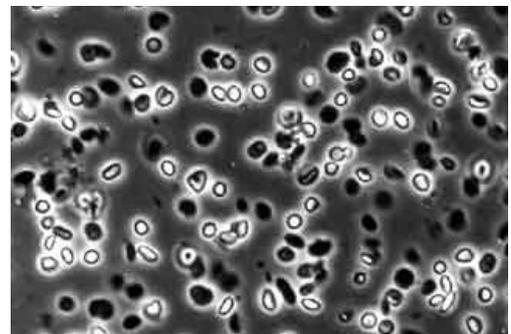
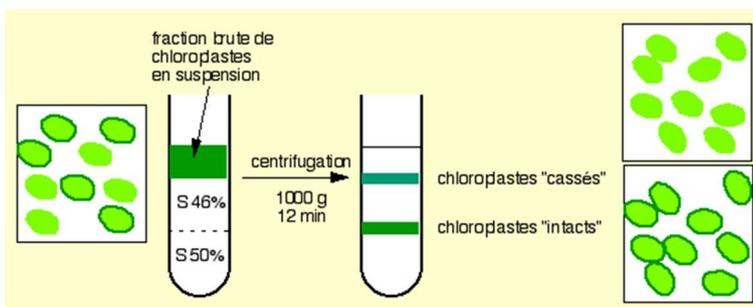


La photosynthèse consiste en une consommation de CO_2 et H_2O , en présence de lumière et une production d' O_2 et de molécules organiques telles que le glucose.

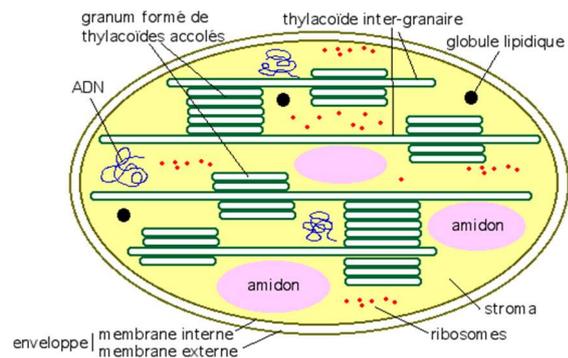
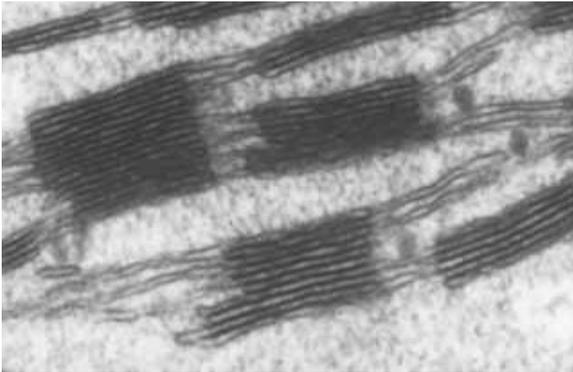
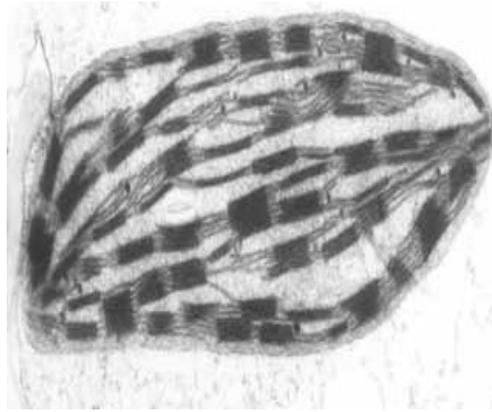
1. Caractéristiques des chloroplastes



1.1. Isolement



1.2. - Ultrastructure

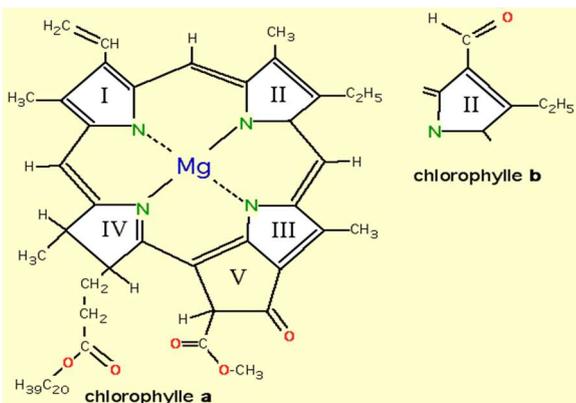


Détail de grana

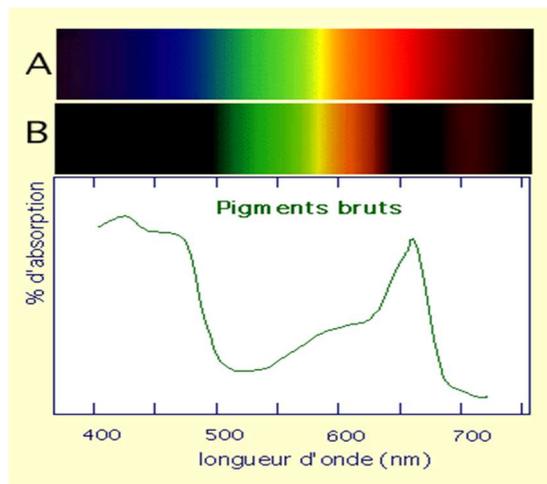
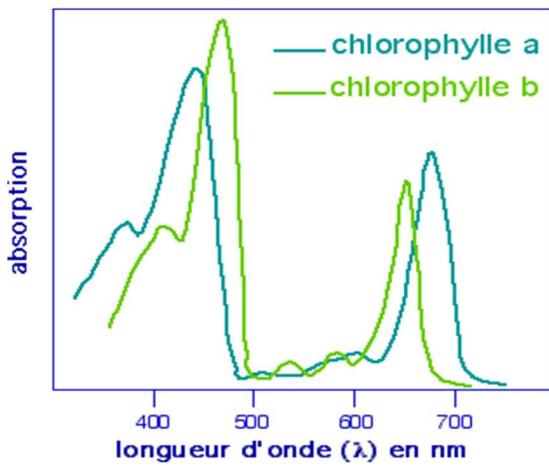
Le chloroplaste est un organe semi-autonome qui possède (comme la mitochondrie) son propre matériel génétique et une double membrane phospholipidique:

- **membrane externe**, relativement perméable
- **membrane interne**, peu perméable, présente des replis : les **thylakoïdes**, empilés et formant des granas (ensemble de **granum**). Contient des acides gras insaturés et des pigments (chlorophylle et caroténoïde) souvent associés à des protéines.
- **stroma**: ADN, ribosomes, amidon, globules lipidiques, ...

2. Chlorophylle: pigment de la photosynthèse



- 2 variantes de la chlorophylle **a** ⇒ pics d'absorption ≠ selon les protéines qui lui sont associées :
- P680, absorbe à 680 nm, dans le photosystème II (PSII).
- P700, absorbe à 700 nm, dans le photosystème I (PSI).
- La chlorophylle **b** absorbe à 450 et 643 nm.



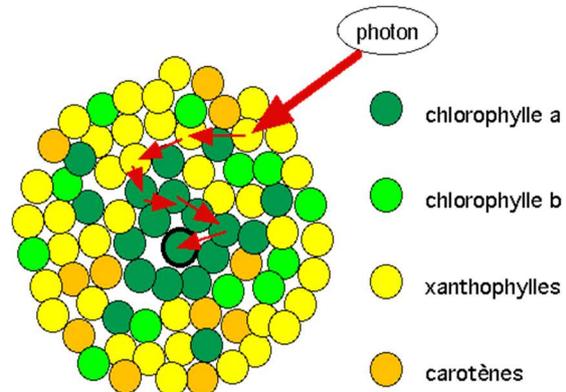
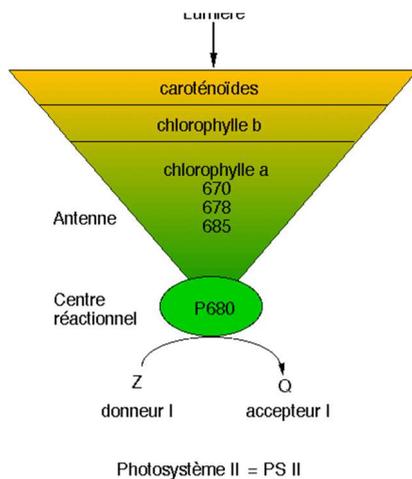
La photosynthèse se déroule en 2 phases:

2. Phase claire

Les photosystèmes captent l'énergie lumineuse des photons et la transmettent, grâce aux électrons chargés, à une chaîne d'accepteurs d'électrons. C'est la **phase photochimique**.

Cette phase nécessite de la lumière (et de l'eau) et aboutit à la formation d'ATP et NADPH.

2.1. Structure des photosystèmes



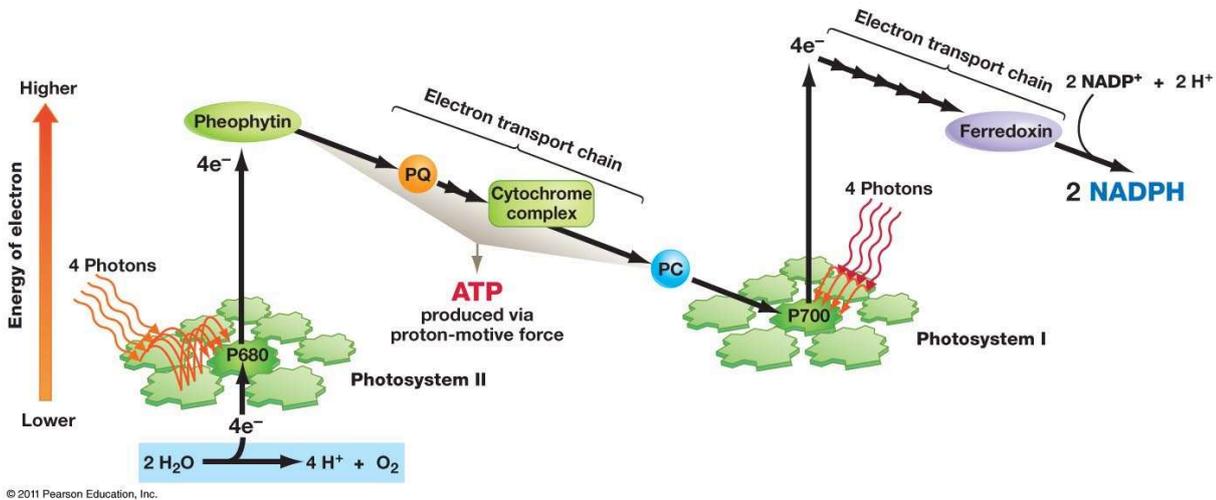
Antenne

L'antenne est schématisée par un entonnoir qui draine l'énergie des photons reçus par de nombreuses molécules de pigments jusqu'à une paire de molécules de **chlorophylle a** correspondant au centre réactionnel. L'électron cédé par la chlorophylle à un accepteur primaire lui est rendu par un donneur primaire.

De très nombreuses molécules de pigments peuvent être excitées par les photons et elles peuvent transmettre l'énergie reçue, par résonance à la molécule de **chlorophylle a** du centre réactionnel.

2.2. Mécanisme de la photosynthèse

Les électrons sont fournis par l'eau au PSII, puis transmis au PSI: c'est bien le PSII qui démarre la photosynthèse.

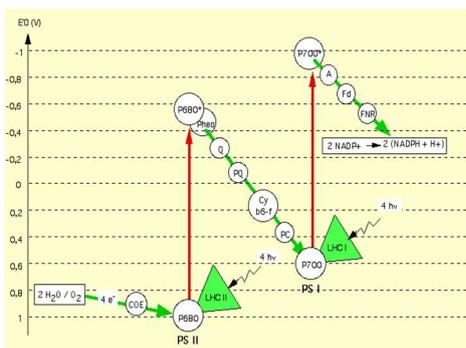


- L'antenne absorbe l'énergie lumineuse et la transmet à la **chl a** du complexe P₆₈₀ ou PSII.
- La chl a libère les électrons qui sont captés par l'accepteur primaire: la phéophytine (la chl a devient chl a*) et transportés par la chaîne d'accepteurs d'électrons jusqu'au P₇₀₀ ou PSI.
- Ces électrons passent donc par le complexe des cytochromes.
 - Les protons (H⁺) passent du stroma vers l'espace intra-thylakoïdienne qui crée un gradient électrochimique, active alors l'ATPsynthétase et enfin synthétise de l'ATP.

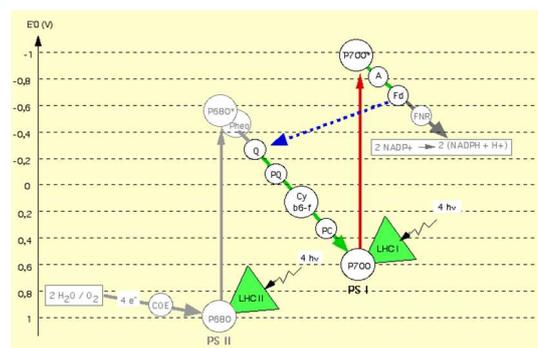
C'est donc une **photophosphorylation**.

- Il manque alors 1 e⁻ à la chl a*: elle le récupère par oxydation de l'eau.
- En quittant le complexe de cytochromes, les e⁻ sont transmis au PSI (P 700) par la plastocyanine (PC).
- L'accepteur final d'e⁻ du PSI est la ferredoxine (Fd) qui les transmet à la NADPréductase qui réduit le NADP⁺ en NADPH+H⁺.
- Le transport d'e⁻ est soit acyclique (en Z) soit cyclique:

- Schéma « en Z » : transfert acyclique des e⁻



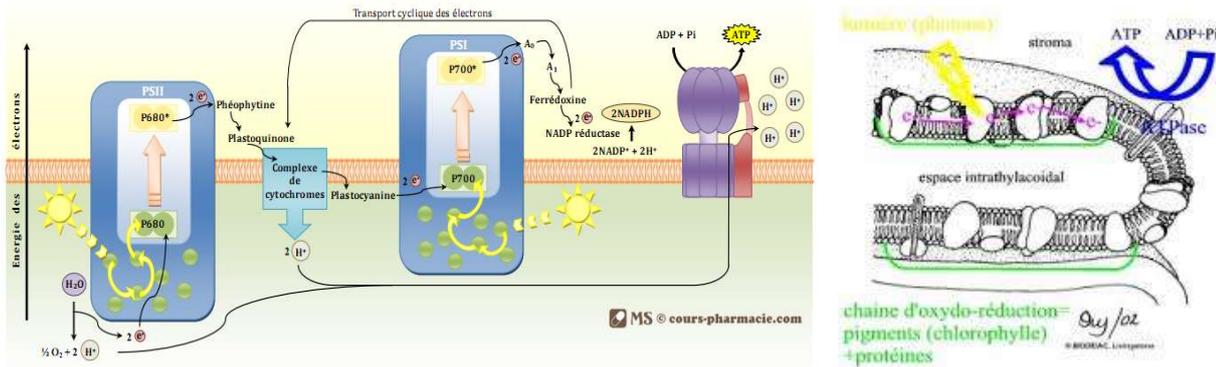
Transfert cyclique des e⁻



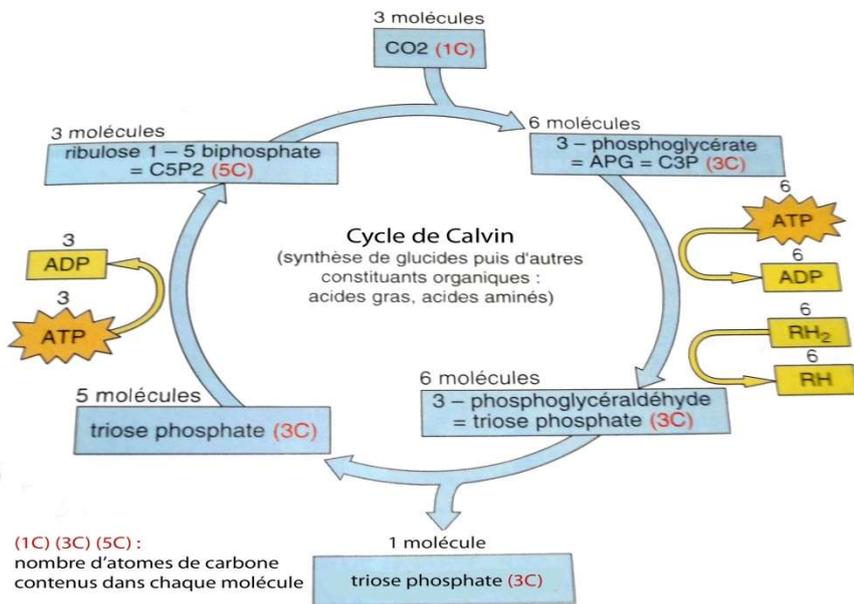
Le transport non cyclique permet de réduire du NADP en NADPH, H⁺ pour le cycle de Calvin qui consomme davantage d'ATP que de NADPH, H⁺. Un déséquilibre finit par se créer et le cycle est momentanément bloqué par manque d'ATP.

Les e⁻ sont alors transmis de la ferredoxine à la plastoquinone par l'intermédiaire d'un cytochrome. Ils sont pris en charge par la chaîne de transporteurs jusqu'au PSI, où ils vont combler les vides qu'ils avaient laissés. Ce trajet cyclique permet d'accumuler des protons supplémentaires dans l'espace intra-thylacoïdien sans réduire de NADP⁺ mais favorise la production d'ATP.

Résumé

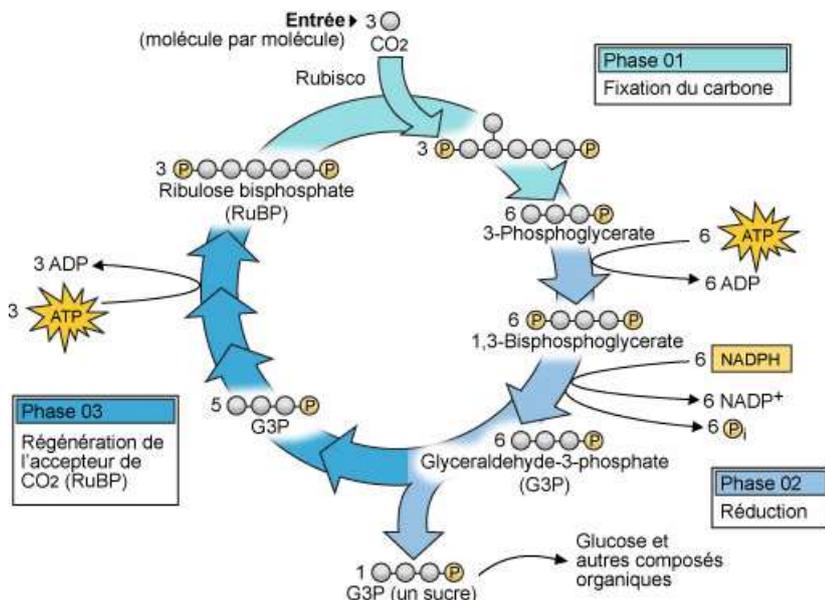


3. Phase sombre



- Phase cyclique, débute dans le stroma et finit dans le cytosol.
- Aucun besoin de lumière.
- Incorporation de carbone minéral, issu du CO₂ de l'air, dans les molécules organiques.
- NADPH et ATP produits lors de la phase claire fournissent les hydrogènes et l'énergie nécessaires à la synthèse de glucides par réduction du CO₂ atmosphérique.

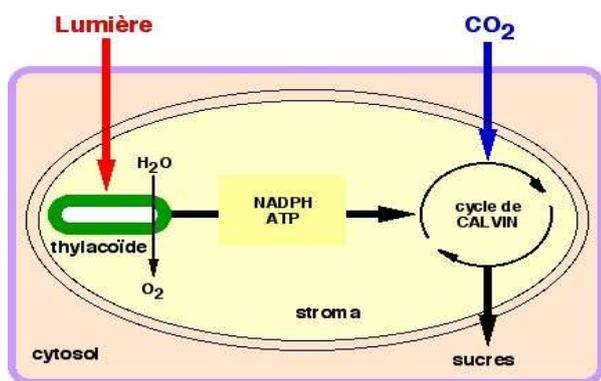
- L'assimilation du CO₂ se fait en quatre étapes principales dont les trois premières se déroulent dans le cycle de Calvin et la dernière dans le cytoplasme.
 - Fixation du CO₂ : carboxylation (RUBISCO)
 - Réduction du carbone fixé.
 - Régénération de l'accepteur de CO₂.
 - Synthèse des sucres.



RUBISCO: Ribulose-1,5-bisphosphate : carboxylase-oxygénase. C'est l'enzyme la plus répandue sur terre et remplit 2 fonctions:

- **carboxylase:** responsable de la fixation du CO₂ (carboxylation du RuBP) ⇒ Cycle de Calvin
- **oxygénase:** oxygénation du RuBP, en consommant de l'O₂ et libérant du CO₂ dans 4 compartiments cellulaires: chloroplaste, peroxyosome, mitochondrie et cytosol.

C'est la **photorespiration**.



Chaque tour de ce cycle consomme trois molécules de CO₂. Ces réactions aboutissent à la production de six molécules de PGAL (phosphoglyceraldéhyde : composé à trois carbones). **Cinq** d'entre elles servent à la poursuite du cycle : elles sont recyclées en trois molécules de RudiP (avec consommation de 3 ATP). La **sixième** molécule sort du cycle, pour servir, en particulier, à la fabrication de sucres. Chaque tour de cycle (qui consomme 3 CO₂, 9 ATP et 6 NADPH₂) aboutit donc à une production nette d'une molécule de PGAL.

TD 5 : Comparaison entre mitochondrie et chloroplaste

1- Points communs:

- Organites semi-autonomes intracellulaires constitués d'une double membrane (enveloppe)
- Formation de molécules d'ATP et de molécules à pouvoir réducteur
- Siège d'échanges gazeux (O₂, CO₂)
- Existence d'une chaîne d'oxydo-réduction (transferts d'électrons réalisés par des protéines) et d'ATP synthase membranaire
- Le fonctionnement de la chaîne d'oxydo-réduction permet à l'ATP synthase de fabriquer de l'ATP

2- Différences:

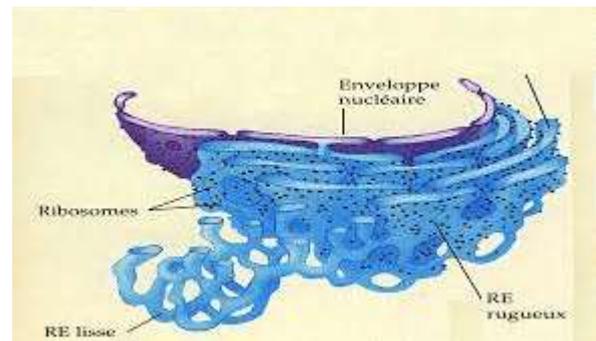
Mitochondrie	Chloroplaste
mitochondrie présente dans toutes cellules eucaryotes (animales et végétales)	chloroplaste présent uniquement dans les cellules végétales (tiges, feuilles, parties vertes)
chaîne d'oxydoréduction et ATP synthase dans la membrane interne	chaîne d'oxydoréduction et ATP synthase dans la membrane des thylacoides
ATP formé exporté de la mitochondrie et utilisé pour de nombreux processus cellulaires	ATP et pouvoir réducteur utilisés uniquement dans le chloroplaste pour la synthèse de matière organique (cycle de Calvin...)
le pouvoir réducteur est le donneur d'électrons et de l'énergie qui permet le fonctionnement de la chaîne d'oxydo-réduction	l'énergie lumineuse permet le fonctionnement de la chaîne d'oxydo-réduction et la formation de pouvoir réducteur
matière organique dégradée (oxydation) en CO ₂ (déchet) l'O ₂ est l'accepteur d'électrons de la chaîne d'oxydo-réduction et est transformé en eau (déchet, mais réutilisable par la cellule)	l'eau est le donneur d'électrons à l'origine du fonctionnement de la chaîne d'oxydo-réduction et elle est transformée en O ₂ (déchet) CO ₂ absorbé par le chloroplaste et incorporé à la matière organique (réduction)
absorption O ₂ et rejet CO ₂ , en phase claire	absorption CO ₂ et rejet O ₂
matière organique oxydée	matière organique réduite
Bilan de la respiration: n(CH₂O) + nO₂----->nCO₂ + nH₂O	bilan de la photosynthèse : nCO₂ + nH₂O + hv (énergie lumineuse)---->n(CH₂O) + nO₂
énergie chimique de la matière organique transformée en énergie chimique (ATP et pouvoir réducteur)	énergie lumineuse utilisée pour synthétiser de la matière organique(amidon, acides gras, aa et nucléotides) : organites autotrophes

3- Répondre aux questions du TD5 bis.

RETICULUM ENDOPLASMIQUE

- C'est un réseau de membranes internes interconnectées sous forme de tubules et sacs (cisternes) issues des membranes nucléaires.
- C'est un des plus grands organites de la majorité des cellules eucaryotes ($\geq 50\%$ des membranes, 10% du volume)
- Le réticulum endoplasmique a de nombreuses fonctions, mais il est particulièrement important pour la synthèse des protéines (RER) et des lipides (REL). Le stockage du calcium intracellulaire est une autre fonction assurée par le RE des muscles striés.

1- Ultrastructure



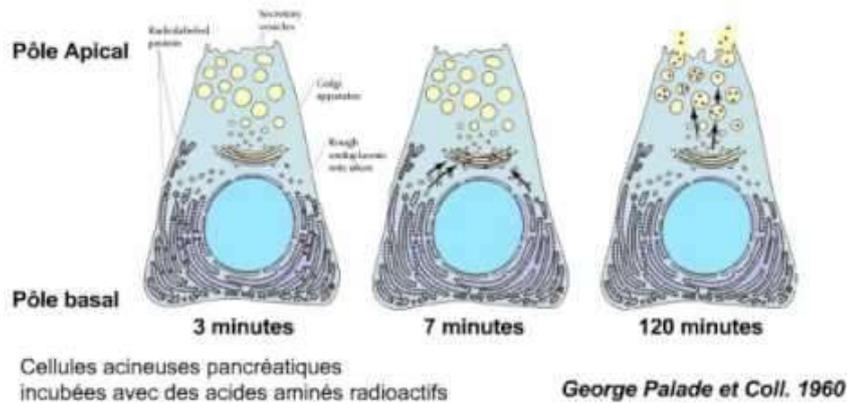
2. Composition chimique

- Membrane: 70% protéines (nb enzymes et glycoprotéines)
30% lipides (glycolipides)
- Cavité: Contient une solution aqueuse composée d'ions et d'un mélange de protéines (glycoprotéines, lipoprotéines) caractéristique de chaque type cellulaire, de son état physiologique et de l'espèce.

3. Rôles physiologiques

3.1. Synthèse des protéines qui font partie des membranes, de toutes les structures cellulaires et des protéines secrétées. Il est donc très abondant dans les cellules spécialisées dans la production de protéines secrétées telles que les cellules acineuses pancréatiques.

Réticulum Endoplasmique Granuleux et sécrétion des protéines



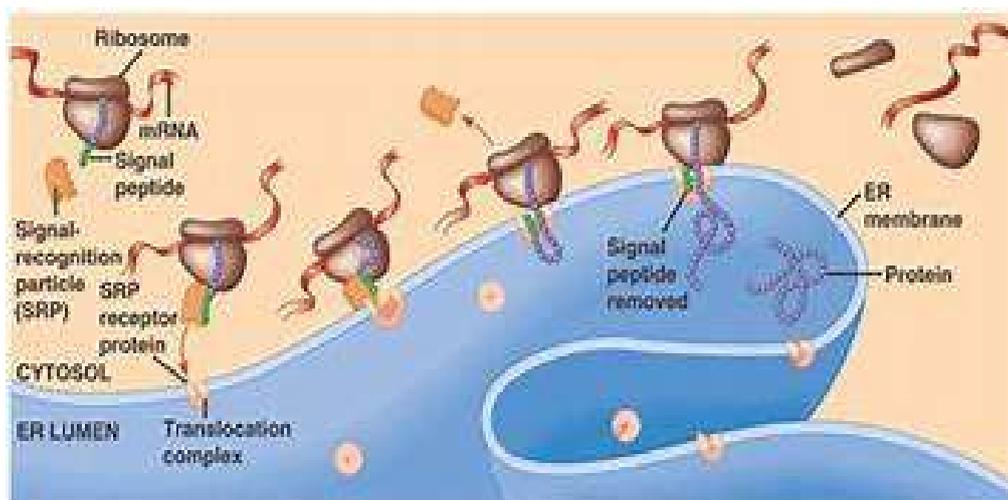
3.2. Le peptide-signal

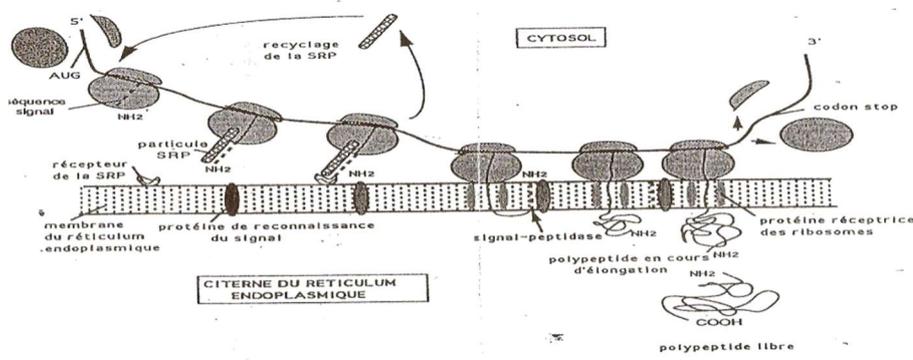
Lorsqu'une protéine est synthétisée, sa structure secondaire ou tertiaire se construit au fur et à mesure de la traduction et elle est libérée dans le cytoplasme.

Lorsque cette protéine est destinée à être incorporée dans les membranes ou les organites de la cellule, la partie codante de l'ARNm commence par une séquence de quelques acides aminés qui sert d'adresse pour l'incorporation de cette protéine dans la membrane.

Ces peptides orientent la destinée de la protéine : incorporation dans les membranes (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, membrane plasmique, lysosomes...), entrée dans les mitochondries, excrétion hors de la cellule via l'appareil de Golgi, etc...

Le signal-peptide est un peptide d'adressage situé à l'extrémité NH₂-terminale des protéines à excréter. Sa fonction est de pénétrer dans la membrane du réticulum endoplasmique, par conséquent, sa structure est riche en acides aminés hydrophobes (Phe, Leu, Ile, Met, Val).



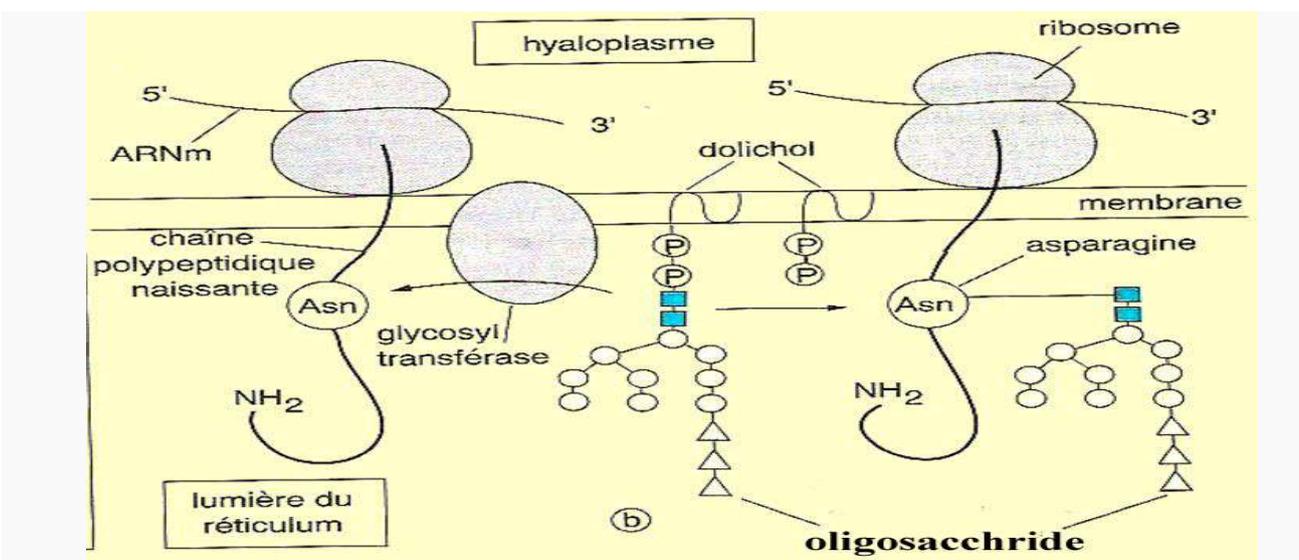


- Dans le cytoplasme, la particule SRP reconnaît la séquence-signal (succession d'aa spécifiques) et se lie à la fois à cette séquence et au ribosome libre.
- Sur la membrane du RER, le récepteur de la particule SRP reconnaît la SRP et entraîne la fixation du ribosome (qui devient lié).
- Dès que le complexe ribosome-particule SRP se fixe sur le récepteur de la SRP, la séquence-signal s'associe à des protéines de la membrane et les rapproche pour former un tunnel.
- La séquence-signal traverse le tunnel puis elle est coupée par la signal-peptidase.
- Après la terminaison, le polypeptide est libéré dans la cavité.
- Le ribosome se détache de la membrane et de l'ARNm et le tunnel disparaît.

3.3. Glycosylation

C'est une réaction enzymatique qui lie un glucide à une chaîne peptidique, à une protéine, à un lipide ou toute autre molécule par une liaison covalente. Elle débute dans le RE et s'achève dans l'appareil de Golgi.

➤ N-glycosylation : C'est l'addition de glucides aux chaînes peptidiques dès leur entrée dans le RE. Un oligoside : N-acétyl-glucosamine initialement lié à un lipide membranaire (le dolichol) se lie à l'Asparagine (disponible dans une séquence Asp-X-Serine/Thréonine). Cette réaction est catalysée par une glycosyltransférase.



➤ O-glycosylation : C'est l'addition de glucides au niveau des résidus -OH des aa : Sérine et Thréonine des chaînes peptidiques présentes dans la lumière de l'appareil de Golgi. Cette réaction est également catalysée par une glycosyltransférase et réalisée uniquement dans l'appareil de Golgi.

➤ C-glycosylation : C'est l'addition d'un mannose sur le carbone C2 du noyau indole du 1^{er} Tryptophane de séquences particulières de certaines protéines, ex : interleukine 12, ribonucléase 2, ...

3.4. Rôle du Réticulum Endoplasmique Lisse dans la synthèse lipidique

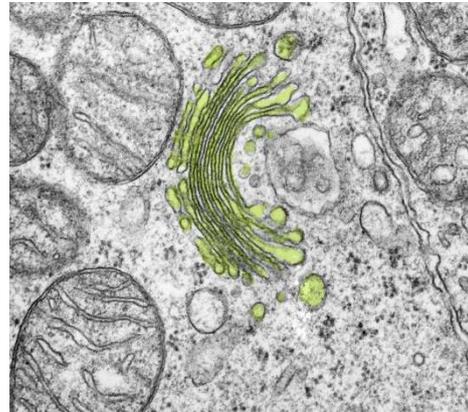
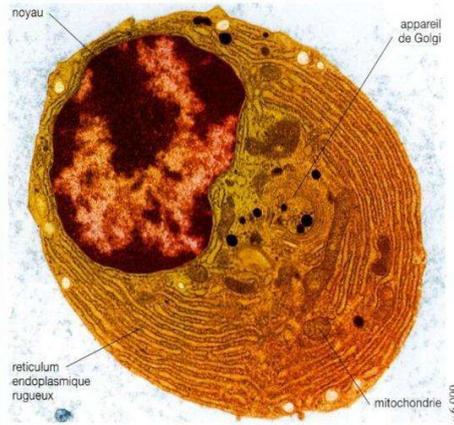
- Assemblage des bicouches lipidiques dans le RE avec synthèse de toutes les classes majeures de lipides, phospholipides et cholestérol.
- Synthèse et assemblage des lipoprotéines.
- Synthèse de céramides (combinaison entre sphingolipide et acide gras), exportées dans le Golgi.
- Source de lipides pour la membrane externe de la mitochondrie.

3.5. Rôle du Réticulum Endoplasmique dans la détoxification de produits chimiques qui se fait sur les molécules endogènes et exogènes, captées par pinocytose, par déméthylation, désamination

Les molécules liposolubles devenues ainsi hydrosolubles sont éliminées par les reins via le sang, essentiellement au niveau du foie, des reins, intestins, poumons et peau.

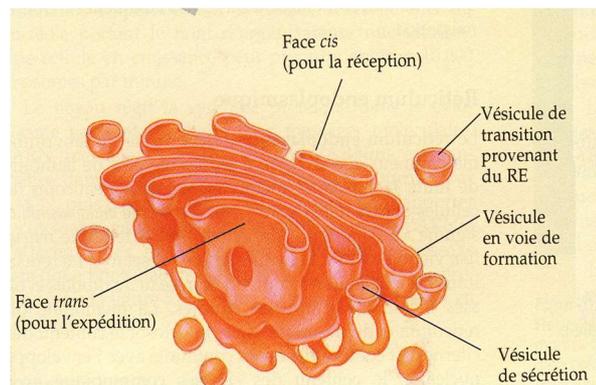
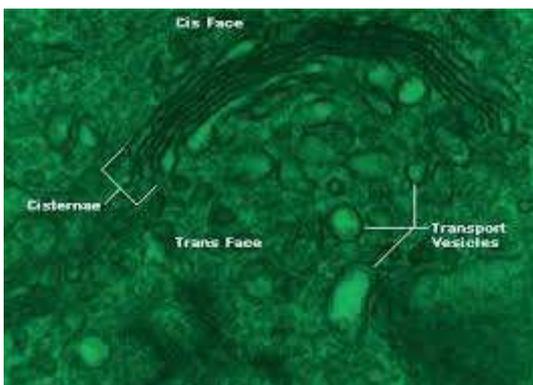
APPAREIL DE GOLGI

L'appareil de Golgi est un organite regroupant l'ensemble des dictyosomes (formations constituées de saccules ou citernes empilées). C'est un lieu de passage obligatoire des protéines synthétisées par le réticulum endoplasmique rugueux (granuleux).



1- Structure et ultrastructure

- Vu au MO, c'est une structure fragile en forme d'écaillés de 1 à 3 μ de largeur.
- Vu au ME, il apparait constitué de membranes lisses (sans ribosomes) de 60 à 75 Å d'épaisseur qui délimitent des cavités aplaties ou saccules.
- Les saccules sont empilés les uns sur les autres et séparés par une mince bande de hyaloplasme d'épaisseur = 200 Å.
- L'AG présente 3 compartiments, contenant chacun au moins 2 saccules ou citernes.

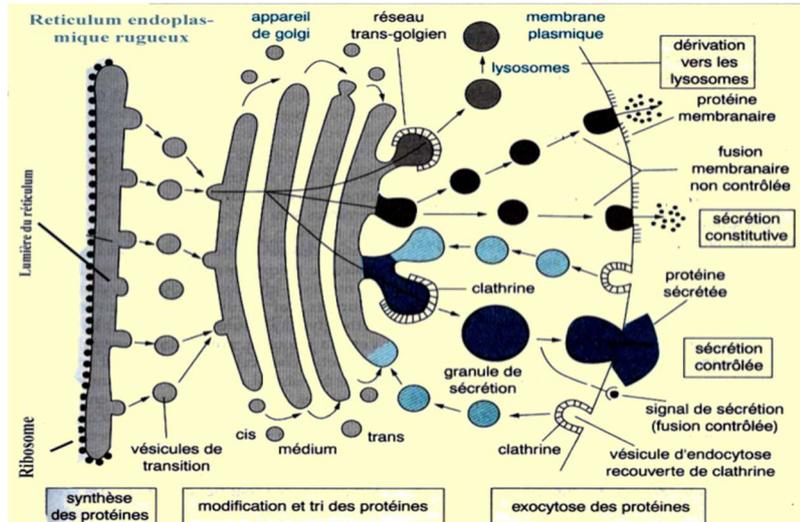


2- Composition chimique

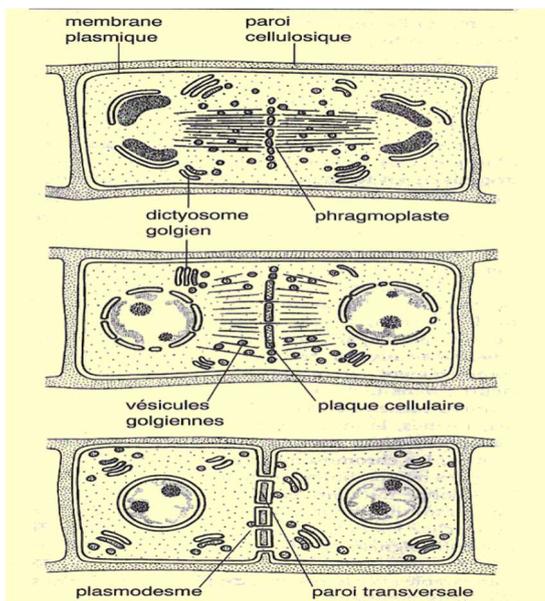
Les membranes de l'AG contiennent 35 à 40% de lipides (surtout des phospholipides) et moins de protéines que le RE (60 à 65%). Elles renferment un nombre important de glycosyltransférases, de sulfotransférases et de phosphotransférases.

L'AG présente une polarité biochimique puisque les 2 faces sont biochimiquement distinctes.

3-Fonctions



a- **Transfert des protéines du RER** vers les vésicules de sécrétion contenant des grains de sécrétion destinés à la membrane plasmique ou à la paroi squelettique.



La paroi se forme en 3 étapes à la télophase:

- A l'équateur du fuseau, se rassemblent des vésicules d'origine golgiennes remplies de substances pectiques qui constituent le phragmoplaste.

- Les vésicules se rejoignent et se placent au centre de la plaque équatoriale qui s'étend de manière centrifuge jusqu'à la paroi ancienne.

A la fin du processus, la nouvelle paroi se soude aux parois longitudinales anciennes

b- **Maturation** des protéines par modification des chaînes oligosaccharidiques comprenant d'une part une N-glycosylation et d'autre part une O-glycosylation de certaines protéines.

4- Expédition des produits sécrétés

- o **Tri** des molécules synthétisées
- o **Emballage** dans des vésicules de sécrétion (pour les produits destinés à la sécrétion)
- o **Ciblage** des produits élaborés (par marquage de la membrane des vésicules par des séquences d'adressage) afin qu'ils atteignent leur destination finale.
 - o **Activation** de certaines protéines. Les protéines traversent le golgi en 30 minutes du compartiment cis vers le trans. Au cours de ce passage, la plupart d'entre elles subissent un remaniement de leur portion glucidique, de leurs ponts disulfures et quelquefois une protéolyse partielle.

ENDOSOMES ET LYSOSOMES

1- Les endosomes

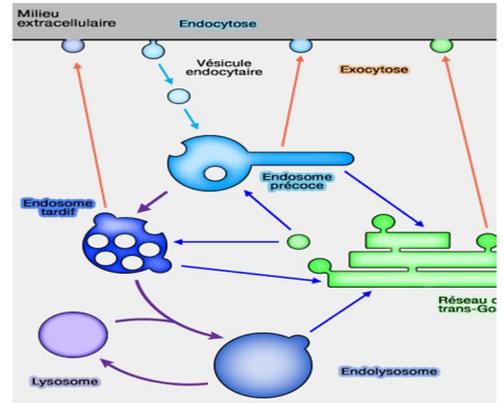
Un endosome est un organe délimité par une membrane sous forme de vésicule :

- soit une vésicule d'endocytose issu de la membrane plasmique,
- soit une vésicule de transport à cage de clathrine en provenance de l'appareil de Golgi trans.

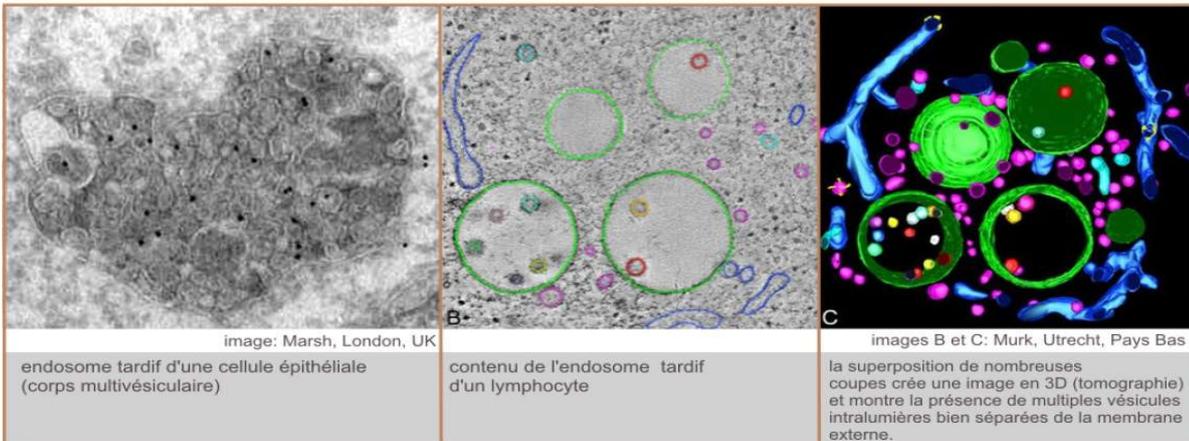
C'est un carrefour et une interface essentielle

du système endomembranaire entre :

- la membrane plasmique,
- l'appareil de Golgi trans,
- les lysosomes,
- le cytosol.



Les endosomes précoce et tardif forment de multiples vésicules dans leur lumière (MVB) par invagination de leur membrane



Deux catégories d'endosomes peuvent être définies selon leur pH interne :

- les endosomes précoces à pH 7,4,
- les endosomes tardifs à pH 6,5.

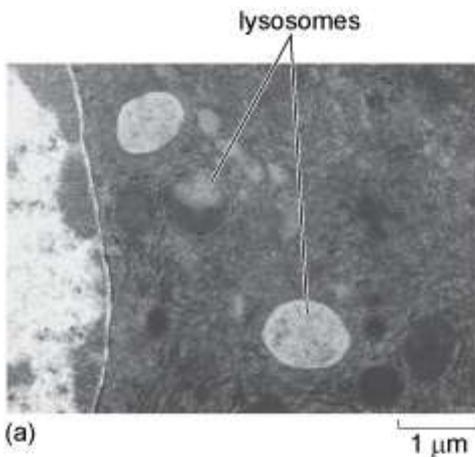
Les endosomes précoces sont formés par la fusion des vésicules d'endocytose. Ils peuvent :

- évoluer en endosomes tardifs par l'apport d'hydrolases des vésicules de transport en provenance de l'appareil de Golgi trans,
- être recyclés pour rejoindre la membrane plasmique et être exocytés,
- être adressés à l'appareil de Golgi trans.

Les endosomes tardifs sont formés par les endosomes précoces. Ils peuvent aussi incorporer des molécules directement du cytosol. Ils peuvent :

- évoluer en lysosomes par l'apport d'hydrolases des vésicules de transport en provenance de l'appareil de Golgi trans, en formant un organite hybride, l'endolysosome,
- recycler leur contenu dans le cytosol (par exemple les métabolites des hydrolyses) ou bien vers la membrane plasmique pour être exocyté.

2- Les lysosomes



Les lysosomes digèrent les molécules dénaturées et les organites détériorés. En fonction de l'origine du matériel digéré, il existe deux modes de digestion:

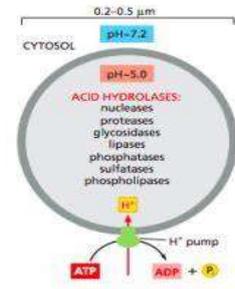
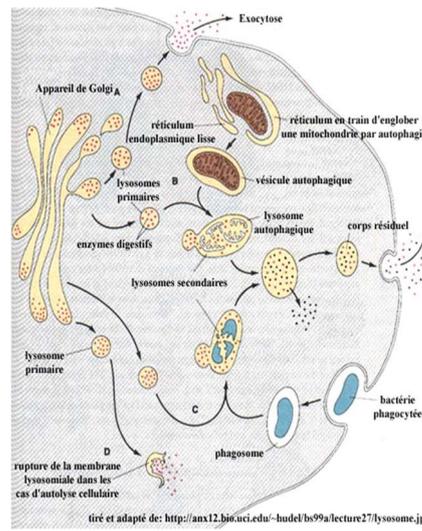
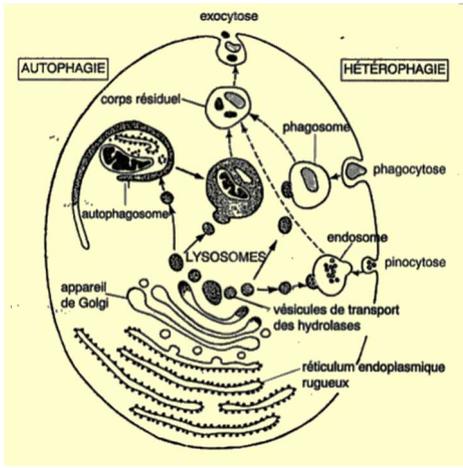
- Autophagie : du grec « auto »= soi-même, le matériel digéré est endogène.
- Hétérophagie : « hétéro »=autre, la cellule digère du matériel extracellulaire (ex : virus, bactéries).

les protéines gagnent les lysosomes par les phénomènes d'hétérophagie (endocytose) ou d'autophagie

<p>endocytose par puits tapissé de clathrine</p>	<p>endosomes et lysosomes dans un lymphocyte B.</p>	<p>autophagosomes dans un nerf en dégénérescence</p>
<p>image: J-E Surlève-Bazelle, Bordeaux, France</p>	<p>image: M. Kleijmeer, Utrecht, Pays Bas</p>	<p>image: J-E Surlève-Bazelle, Bordeaux, France</p>

Diagramme illustrant le processus d'autophagie: le cytoplasme est représenté par des cercles jaunes, et les hydrolases sont représentées par des cercles violets à l'intérieur d'un autophagosome.

Le matériel phagocyté est enfermé dans un phagosome qui va fusionner avec un lysosome primaire. L'ensemble constitue alors un lysosome secondaire à l'intérieur duquel va s'effectuer la digestion enzymatique ce qui va produire ainsi des petites molécules simples, des aa, des monosaccharides, des acides gras, ... Ces molécules vont traverser la membrane héli-perméable des phagosomes et seront recyclées.

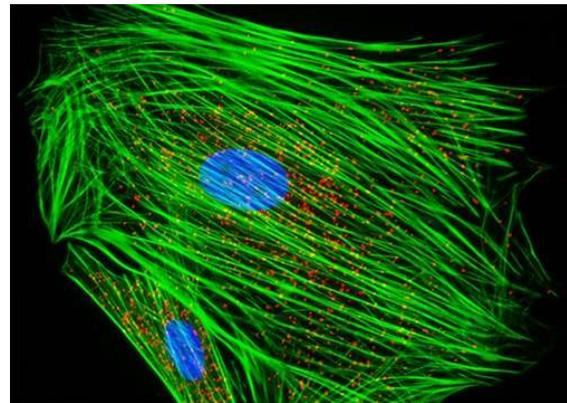
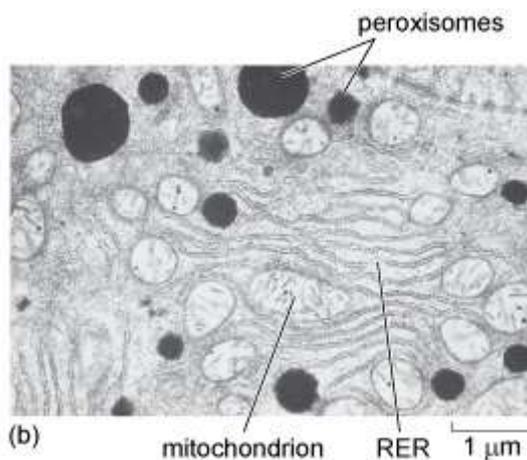


Normalement, la digestion est totale. Sinon, les résidus non dégradés s'accumulent sous forme de déchets : les corps résiduels.

Il existe environ 40 hydrolases : toutes apportées par des vésicules issues de l'appareil de Golgi.

PEROXYSOMES

Leur nom provient de leur capacité à produire du peroxyde d'hydrogène, ou eau oxygénée H_2O_2 . Les peroxysomes se forment par autoréplication et non à partir du Golgi comme les lysosomes.

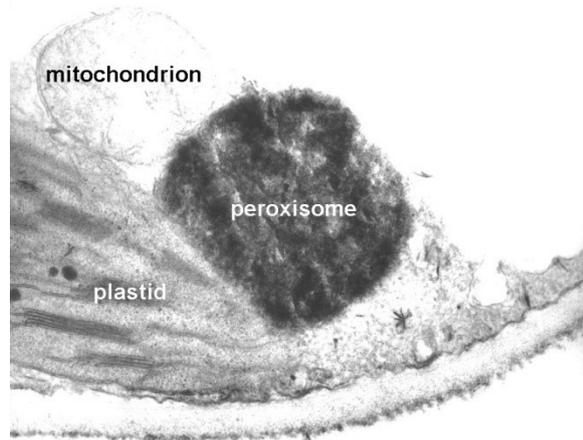
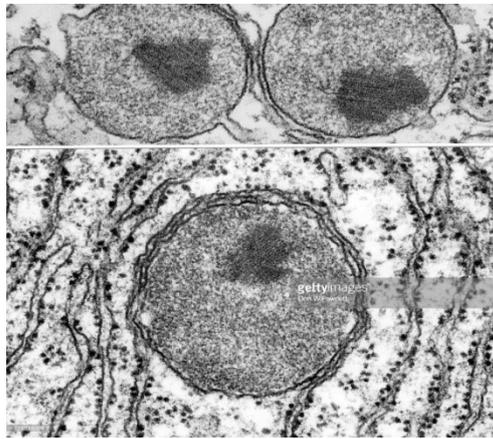


Immunofluorescences de peroxysomes (avec coloration de l'actine)

Ce sont des structures reliées entre elles par de fins canalicules formant un réseau au sein du cytoplasme, aussi bien dans les cellules animales que végétales.

Ils sont limités par une seule membrane (60 Å à 80 Å d'épaisseur) semblable à la membrane plasmique qui renferment une matrice homogène contenant des protéines toutes importées du cytosol ou du R.E :

- **les oxydases** oxydent un substrat **R** en consommant l'**O₂** et produisent le **peroxyde d'hydrogène H₂O₂**
- **les catalases** décomposent le **H₂O₂** (toxique pour l'organisme) et donnent de l'**H₂O** et l'**O₂** ou bien utilisent le **H₂O₂** pour dégrader un autre substrat **R'** toxique.



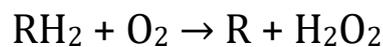
II) Rôles physiologiques

2..1. Détoxification

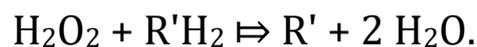
Comme les mitochondries, les peroxysomes sont des sites essentiels pour l'utilisation du dioxygène O_2 (réactions d'oxydation) :

- les enzymes oxydases (D-amino-acide-oxydase, urate-oxydase) enlèvent des atomes d'hydrogène libres (réaction d'oxydation) à des substrats organiques spécifique **R**.

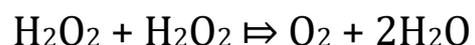
Ces substrats liés à des atomes d'hydrogène, sont potentiellement toxiques pour la cellule. L'oxydation de ces molécules les détoxifie :



- la catalase utilise le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 engendré par d'autres enzymes pour oxyder une variété d'autres substrats toxiques **R'** (phénols, acide méthanoïque, alcool): on parle de réaction de peroxydation, principalement dans le foie et les cellules rénales.



La catalase catalyse aussi la réaction :



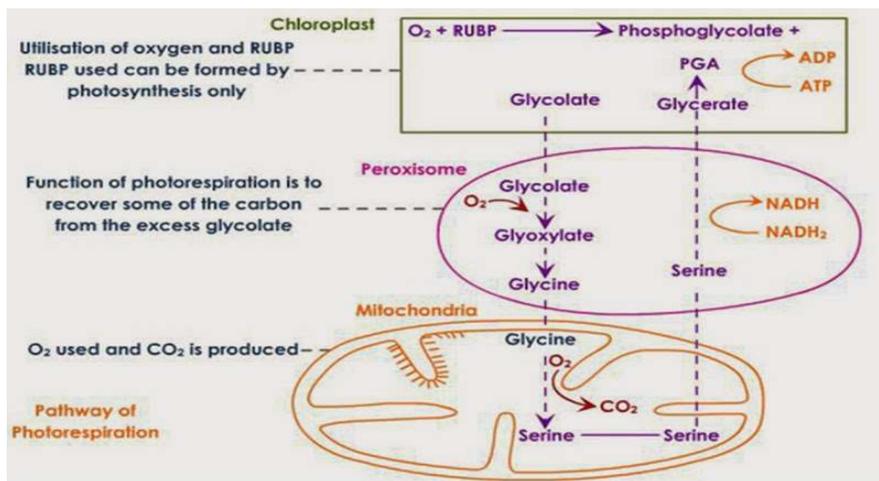
La catalase est l'enzyme la plus abondante des peroxysomes.

2.2. β oxydation

Les peroxysomes réalisent la beta-oxydation des acides gras à longue chaîne par un mécanisme similaire à celui de la mitochondrie. Ils ont même l'exclusivité de cette voie chez les levures et les plantes. Néanmoins, le bilan énergétique est réduit à la production d'acétyl-coenzyme A car les électrons des coenzymes réduits aboutissent à la formation de peroxyde d'hydrogène détoxifié sur place par la catalase.

2.3. Photorespiration

Dans les feuilles des végétaux chlorophylliens, ils interviennent lors de la photorespiration en faisant intervenir les chloroplastes et les mitochondries.



2.4. Conversion des lipides en glucides dans les graines

Dans les cellules de graines en cours de germination, ils sont associés aux corpuscules lipidiques à partir desquels ils permettent la formation de glucides nécessaires à la croissance de la plantule. Dans ce cas, le peroxysome prend le nom de glyoxysome.

