



## **UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE III**

**« Site Maraîchers »**

## **PACES UE2 « LA CELLULE, LES TISSUS »**

**Année 2019 - 2020**

---

- **Présentation générale UE2**
  - **Biologie cellulaire (I. Lajoie-Mazenc)**
- 



**ATTENTION :**

**Des modifications pourront être apportées sur les diapositives présentées dans ce polycopié, lors des cours magistraux.**

Les diaporamas projetés en cours durant l'année universitaire seront mis à disposition au fur et à mesure sur le site de Moodle.

## Introduction cours biologie cellulaire



**UE2 : « la cellule et les tissus »**

Syllabus : 86h de CM et 15h de TD       **10 ECTS**

**4 modules :**

Biologie cellulaire	I.Lajoie-Mazenc, AD. Terrisse, B. Séguí
Embryologie	A. Parini
MBDR (Médecine Biologie du Développement et de la Reproduction)	V. Douin, A. Parini, D. Cussac, F. Trémollières
Histologie	D. Cussac, Y Sainte-Marie, V. De Mas

**1 épreuve commune : 40 QCM (1h30)**

**Moodle : Organisation pour l' UE2**  
<http://moodle.univ-tlse3.fr>   *Identifiant et mot de passe UPS*

Plateforme pédagogique de l'université Paul Sabatier - UT3

Accueil / Cours / Santé / PACES / PACES site Maraîchers

FRANÇAIS (FR) - Isabelle LAJOIE-MAZENC

**HLS102M (UE2 PACES Maraîchers)**

Participants Notes Accueil Tableau de bord Calendrier Fichiers personnels Mes cours EPVB1C1 : Biologie de la cellule 1 EPVTB1A4 : Biologie moléculaire et génétique EPVB1B201 : Biologie cellulaire 2 EDG1630CM : Biologie Cellulaire : architecture et trafic S6-Biologie Cellulaire

**Généralités**  
PACES 2018-2019 : UE2 "la Cellule et les Tissus"  
Cet enseignement comprend 4 modules d'enseignement :  
- Biologie Cellulaire  
- Histologie  
- Embryologie  
- Médecine et biologie du développement et de la reproduction

Les informations générales de l'UE sont déposées dans le forum des nouvelles, tous les inscrits à l'UE recevront les informations déposées par mail.

Les questions relatives aux différents enseignements devront être déposées dans les forums dédiés à chaque matière ou enseignant, suivant les consignes indiquées pour chaque forum.

Modalité contrôlé de connaissance UE2 : 40 QCM/1h30 (soit 12 QCMs Bio Cell, 20 QCMs Histologie-Embryologie, 8 QCMs Médecine et BDR)

**Informations déposées par les enseignants**

**MODULE DE BIOLOGIE CELLULAIRE**

Enseignants des CM : I.Lajoie-Mazenc, B. Séguí, AD. Terrisse

**- COURS MAGISTRAUX**  
Un polycopié (en 2 parties) correspondant aux diaporamas projetés l'année passée sera cette année distribué par l'administration en début d'année. Les support de cours de l'année en cours seront mis à disposition sur le site au fur et à mesure de l'enseignement (cf lien PDF ci-dessous).

CM Bio Cell Introduction ILM 2017-2018

**DOCUMENTS PDF**

**- TRAVAUX DIRIGÉS :**  
4 séances de TD sont prévues : séance 1 et 4 "moodle", séance 2 et 3 "présentiel". Les différents documents concernant les TD (lien pour les TD moodle et support pour les TD présentiel) seront déposés ci-dessous.

1- QCMs Généralités cellules et techniques  
 2- QCMs Cytosol-Noyau

**DOCUMENTS PDF TESTS EN LIGNE**

**- Questions des étudiants aux enseignants de Biologie cellulaire**

Questions étudiants cours Biologie Cellulaire 2017-2018

**QUESTIONS Etudiants REPONSES Enseignants**

**Annales Examen blanc et Concours Paces UE2**

## Introduction cours biologie cellulaire

### UE 2 : partie Biologie cellulaire

**PROGRAMME DES ENSEIGNEMENTS**

- Introduction à la Biologie cellulaire et généralités sur la cellule
- Cytosol et synthèse/dégradation protéique
- Structure et organisation du noyau
- Mitochondries et Peroxysomes
- Système endomembranaire et trafic intracellulaire
- Cytosquelette

*I. Lajoie-Mazenc*

- Membrane plasmique et transport trans-membranaire : BS
- Communication cellulaire : BS
- Prolifération cellulaire, cycle cellulaire et division cellulaire : BS
- Mort cellulaire : BS

*B. Ségui*

- Adhérence, migration, domiciliation : ADT
- Différenciation cellulaire : ADT

*AD Terrisse*

- 4 séances de TD (2 sur le site moodle, 2 en présentiel)

### INTRODUCTION Partie BIOLOGIE CELLULAIRE

- I. Définition Biologie cellulaire**
- II. Historique de la Biologie cellulaire**
- III. La théorie cellulaire**
- IV. Objectifs cours biologie cellulaire PACES**
- V. Place de la Biologie cellulaire dans l'étude des organismes pluricellulaires**

#### I. Définition Biologie cellulaire

**La biologie** est la science qui étudie les végétaux et animaux

**La biologie cellulaire** est la science qui étudie les cellules et les mécanismes moléculaires permettant leur survie et leur mort.

- Discipline de la biologie
- Etude des cellules et leurs organites
- Etude de mécanismes cellulaires

**Cytologie** : Analyse morphologique des cellules.

#### II. Historique biologie cellulaire(1)

**Science de l'observation du vivant**

- **1665** : Identification d'unités élémentaires nommées **cellules** (R. Hooke)
- **1674** : Observation des premières **cellules vivantes** (A. Van Leeuwenhoek)



X 30

*Micrographia, 1667*



de x 70 à 250 fois pour une résolution de 1,5 microns

# Introduction cours biologie cellulaire

## II. Historique (2)



- **1838** : (M. Schleiden et T. Schwann) établissement de la **1<sup>e</sup> théorie cellulaire** « *Cellule unité fonctionnelle et structurale des organismes* »



- **1858** : (R. Virchow) Rectification de la **théorie cellulaire** et théorie de la **pathologie cellulaire**
  - « *Toute cellule provient d'une autre cellule* »
  - « *Les maladies ont leurs origines dans des altérations des cellules du corps* »
- **1859** : Théorie de l'évolution (C. Darwin)
- **1860** : Réfutation de la génération spontanée (L. Pasteur)

## III. La théorie cellulaire

**La théorie cellulaire :**  
les bases de la biologie cellulaire établies au XIX siècle

- Tout être vivant ou organisme est constitué de cellules.
- La cellule est l'**unité structurale et fonctionnelle** des organismes.
- Toute cellule provient de la **division d'une cellule préexistante**.

Les cellules présentent une **unité de composition, structure et fonction**  
Les **grandes fonctions cellulaires** sont conservées dans les cellules  
Le **matériel génétique** se transmet d'une génération à l'autre.

➡ **Etude de la cellule type ou ARCHETYPE**

## IV. Objectifs cours PACES biologie cellulaire



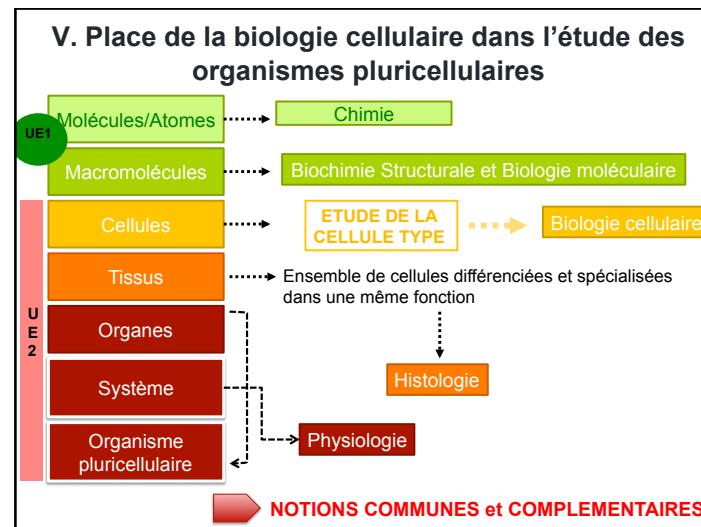
**Connaître la structure et l'organisation de la CELLULE ANIMALE**

- Comprendre les relations entre structure/fonction des différents compartiments
- Comprendre la régulation des mécanismes cellulaires (physiologie cellulaire)
- Comprendre comment certains dysfonctionnements cellulaires conduisent à certaines maladies (notion de physiopathologie cellulaire)



**Connaître les TECHNIQUES D'ÉTUDES utilisées en biologie cellulaire**

- Comprendre les expériences de biologie cellulaire

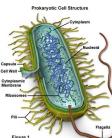


# Introduction cours biologie cellulaire

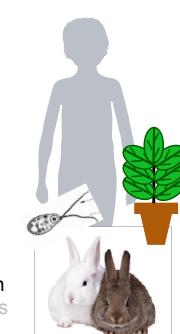
## GENERALITES CELLULE Partie 1

- I. Définition de la cellule
- II. Classification des cellules
- III. Taille des cellules
- IV. La cellule animale
  - Archétype de la cellule animale
  - Composition chimique
  - Cellules humaines
- V. Techniques d'études
  - Observation des cellules
  - Modèle d'étude : Culture cellulaire

## II. Classification des cellules

- 1. Cellules Prokaryotes :** pas de noyau (nucléoïde)  

- 2. Cellules Eucaryotes :** noyau délimité par une membrane
  - soit dans organismes unicellulaires (ex : amibe)
  - soit dans organismes pluricellulaires (ex : homme  $10^{14}$  cellules)

RQ1 : Virus non autonome pour leur multiplication  
RQ2 : Archéobactéries distinctes des Prokaryotes



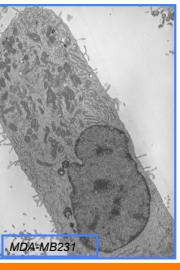
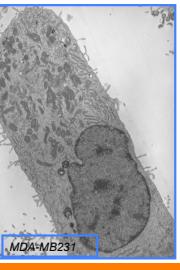
## I. Définition de la cellule

**Les cellules** sont les unités structurales et fonctionnelles communes à l'organisation de tous les êtres vivants (organismes unicellulaires ou pluricellulaires).

Une cellule représente donc **l'unité fondamentale de tout être vivant**, c'est la plus petite portion de matière vivante qui puisse vivre isolée et qui puisse se reproduire.

Elle synthétise l'ensemble de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire pour proliférer et éventuellement se différencier.

## III. Taille des différentes cellules

0,2-0,3 µm	0,5-20µm	1-50µm	50-200µm
Mycoplasmes	Bactéries Levures	Cellules animales	Cellules végétales
 E. coli	 S. cerevisiae		

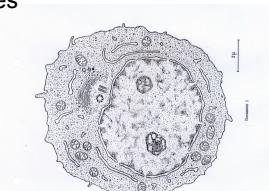
**Prokaryotes**      **Eucaryotes**

## Introduction cours biologie cellulaire

### IV. La cellule animale

**Constituants chimiques :**

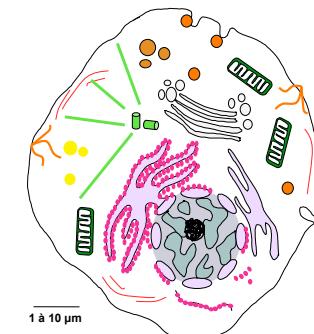
- H<sub>2</sub>O (>60%)
- Sels minéraux (Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>)
- Constituants organiques :
  - Acides nucléiques et nucléotides
  - Glucides complexes et Oses
  - Lipides et Acides Gras
  - Protéines et Acides Aminés



<http://florimont.info/images/celanimal.jpg>

### IV. La cellule animale

**Architecture cellulaire :**

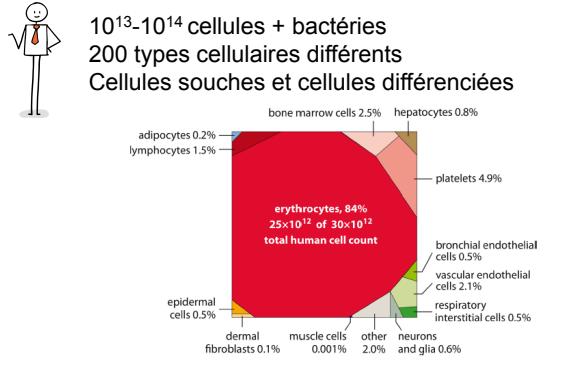


1 à 10 µm

- **Membrane plasmique**  
Bicouche lipidique, protéines membranaires, Glycocalyx
- **Noyau**  
Enveloppe Nucléaire, Pores nucléaires, Nucléole, Hétérochromatine, Euchromatine
- **Cytoplasme**  
Cytosol, Cytosquelette (Centrosome, Microtubules, Filaments intermédiaires et Microfilaments) Système endomembranaire (Reticulum endoplasmique Lisse, et Rugueux, Appareil de Golgi, Endosomes, Lysosomes, vésicules de sécrétion) Peroxysomes et Mitochondries Vésicules d'inclusion (lipides, glycogène)

### IV. La cellule animale

**Cellules humaines**

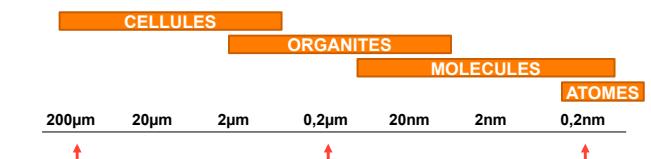


10<sup>13</sup>-10<sup>14</sup> cellules + bactéries  
200 types cellulaires différents  
Cellules souches et cellules différencierées

PLOS Biology | DOI:10.1371/journal.pbio.1002533 August 19, 2016

### V. Techniques d'études cellules

**Observation** Taille moyenne d'une cellule = 1-50µm  
Notion de « limite de résolution »



CELLULES      ORGANITES      MOLECULES      ATOMES

200µm      20µm      2µm      0,2µm      20nm      2nm      0,2nm

Résolution minimale à l'œil nu      Résolution minimale au microscope optique      Résolution minimale au microscope électronique

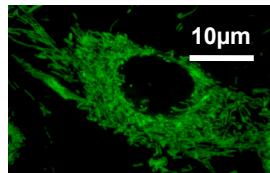
(Cf cours techniques UE2 Y. Saintes-Marie)

MICROSCOPIE

## Introduction cours biologie cellulaire

### Exemple MiCROSCOPIE

Observation Mitochondrie : organite intracellulaire (500nm)



Microscopie optique mitochondriale



Microscopie électronique organisation mitochondrie

Préparation spécifique des échantillons  
(Teneur en eau, Densité, Epaisseur, Transparence)

COLORATION ou MARQUAGE des Cellules  
Cellules vivantes/fixées, Perméabilisation

### 1. Conditions générales de culture des cellules animales

#### • Incubateurs

(37°C, 5% CO<sub>2</sub> et Atmosphère humide)



#### • Milieu synthétique contenant

- Sels minéraux
- Acides aminés
- Vitamines
- Glucose ou pyruvate
- Rouge de Phénol
- Solution Tampon (Carbonate ou HEPES)
- + **Sérum** (SVF ou Sérum de Veau Foetal)
- (Antibiotiques, Antifongiques)



- Cellules adhérentes
- Cellules non adhérentes

### V. Techniques d'études

#### Modèle d'étude : Culture cellulaire

Mise en culture de cellules pour les amplifier et les étudier  
« *in cellulo* »



PSM : Poste Sécurité Microbiologique



DANGER RISQUE BIOLOGIQUE

#### Conditions de culture :

- Culture conditions stériles (PSM)
- Milieu permettant la prolifération
- Environnement favorable (pH, T°C)
- Travail réglementé (L2, L3...)

### 2. Différents types de culture cellulaire (cellules animales)

#### Cultures primaires

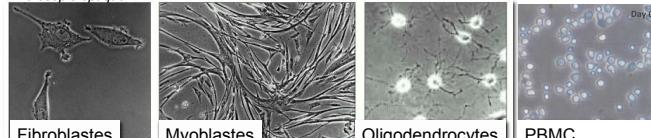
- Cellules proviennent directement d'un tissu sain (Culture ex-vivo)
- Cellules triées (anticorps, trieur par cytométrie en flux)

#### ► Prolifération limitée :

- nombre de division limité
- durée de vie limitée (Senescence)
- notion de confluence (inhibition de contact)



#### Microscopie optique



Péau      Tissu musculaire      Tissu nerveux      Sang

## Introduction cours biologie cellulaire

**Lignées cellulaires**

- Cellules immortalisées / transformées :
  - provenant de tumeurs cancéreuses
  - modifiées par un virus (SV40, ou Herpes virus)
  - modifiées par génie génétique (AgT de SV40, sous-unité de la télomérase)

**Prolifération illimitée**

- capacité illimitée de division
- perte de l'inhibition de contact

• Lignées conservées  
 • Banques de cellules ( $N_2$  liquide)  
 • Problème de dérivation

1951 : Cellule HeLa  
Cancer col de l'utérus

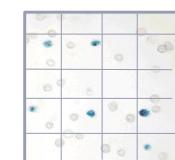
### 3. Numérisation cellulaire et détermination de la viabilité cellulaire

#### Utilisation du Bleu Trypan

Lame de comptage  
Cellules + bleu Trypan



Microscope  
Contraste de phase



Cellule de Malassez  
COMPTAGE :  
nombre de Cellules/mL

#### Bleu Trypan :

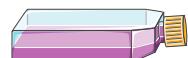
- Exclu des cellules vivantes
  - Accumulé dans les cellules mortes
- > Test d'exclusion

% Viabilité cellulaire =  
Cellules non colorées par le bleu / cellules totales X 100

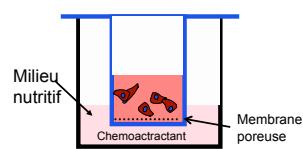
### 4. Evolution de la culture cellulaire

#### Études des interactions cellules/environnement

##### Flacon de culture:



##### EX 2 : Chambre de Boyden (migration, invasion)

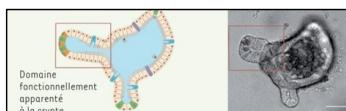


(Cf cours UE2 ADT)

##### EX 1 : Culture dans matrice solide (dépendance /ancrage)



##### EX 3 : Organoides



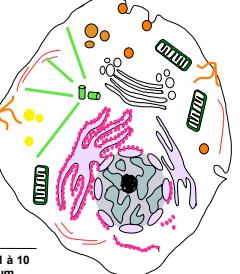
Med Sci, (2016) 983-990

## GENERALITE CELLULE Partie 2 (compartiments cellulaires)

- Définitions compartiments et organites
  - Compartiments et organites (cellule animale)
  - Pourquoi des compartiments dans les cellules eucaryotes ?
  - Technique d'étude des compartiments et organites
- Séparation (Fractionnement cellulaire)  
Marquage des différents compartiments

# Introduction cours biologie cellulaire

## I. Définitions compartiments et organites



**Compartiments et Organites :** Ensembles délimités par une membrane biologique

**Organites :** Structures spécialisées ayant une fonction spécifique au sein de la cellule

## II. Compartiments et organites (cellule animale)

**Compartiments cellulaires :** Noyau, Cytosol, Organites

**Organites à simple membrane :** Réticulum endoplasmique, Appareil de Golgi, Lysosomes, Vésicules type endosomes, Peroxysomes

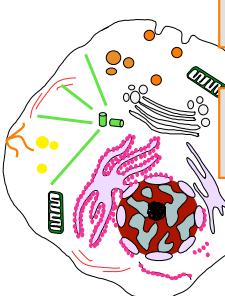
**Organites à double membrane :** Noyau, Mitochondries

**Système endomembranaire :** Ensemble des cavités délimitées par les membranes (internes)

correspondant aux différents compartiments qui communiquent par l'émission de vésicules

Réticulum endoplasmique, Appareil de Golgi, Lysosomes,  
Endosomes et Vésicules cellulaires  
Membrane nucléaire

## II. Pourquoi des compartiments dans les cellules eucaryotes ?



- Apparition des compartiments subcellulaires  
**Noyau / Cytosol / Organites**
- ↑
- Spécialisation de la cellule Eucaryote
- Séparation des activités cellulaires (pH, enzymes, ions, Δ)**
- ↓
- Mise en place entre les compartiments
  - ✓ systèmes de communication
  - ✓ systèmes de transport
- Echange entre compartiments  
**Trafic intracellulaire**

## III. Techniques étude des compartiments et organites

### Chaque compartiment :

- Composition spécifique
- Organisation et fonction propre
- Communication entre les différents compartiments

### ► Séparation des différentes organites ou compartiments (fractionnement cellulaire )

### ► Marquages des organites ou composés cellulaires (marquages spécifiques)

### ► Etude fonctionnelle de la cellule eucaryote (approches fonctionnelles, cf fin du cours UE2 ILM)

Complément techniques UE2 Y. Sainte-Marie

# Introduction cours biologie cellulaire

## 1. Séparation des différents organites ou compartiments



### FRACTIONNEMENT CELLULAIRE

Obtention de fractions purifiées des composants cellulaires

#### 1° étape : Obtention d'un HOMOGENAT

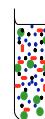
Organe  
Tissus  
Cellules en culture

**LYSE**

HOMOGENAT : cellules éclatées,  
organites, débris

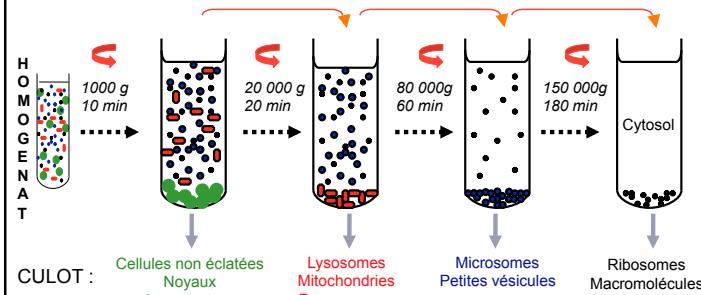


- broyeur
- ultrasons
- pression
- congélation/décongélation
- détergent doux
- choc hypotonique



## Fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle

### Transfert du SURNAGEANT :



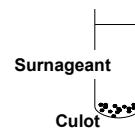
Obtention de fractions enrichies  
Vérification de la purification de la fraction indispensable  
Deuxième phase de purification possible (zonale, ex microsome)

## 2° étape : séparation par CENTRIFUGATION

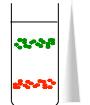
Utilisation de la force centrifuge (mesurée en g ou rpm)



Vitesse de sédimentation = fonction particules (diamètre + densité) et de la densité de la solution dans laquelle elles se trouvent  
Exprimée en **SVEDBERG** (S) coefficient de sédimentation  
ex : sous-unité 40S des ribosomes



Culot



Gradient de densité

### Différentielle

Différentes vitesses  
CULOT/SURNAGEANT

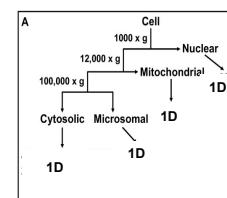
### Zonale

Utilisation de Gradient (Saccharose, Chlorure de Césium, Ficol)  
ZONES de DENSITE

Cf UE1 bio mol purif ADN

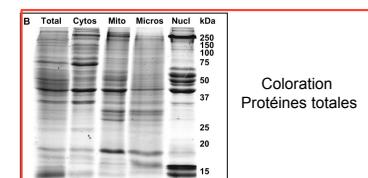
## Ex : Analyse d'un fractionnement cellulaire

### Protocole d'Ultracentrifugation (A)



D'après Domanski and Helbing BMC Developmental Biology 2007 7:94

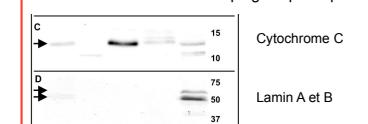
- Analyse par électrophorèse **SDS-PAGE** et coloration protéines (B)
- **Western Blot** avec AC spécifiques (C, D)



Coloration Protéines totales

D'après Domanski and Helbing BMC Developmental Biology 2007 7:94

Marquages spécifiques



Cytochrome C

Lamin A et B

# Introduction cours biologie cellulaire

**2. Marquages des organites ou composés cellulaires (marquages spécifiques)**

http://www.proteinatlas.org

**Marquage d'une molécule ou d'un organite**

Techniques de marquages spécifiques

Marqueurs chimiques	Anticorps	Sondes nucléiques	Précureurs radioactifs
Molécules Organites Compartiments Ca <sup>2+</sup> , pH Interactions spécifiques	Motifs Protéiques, AA modifiés, Motifs Osidiques Motifs Lipidiques Reconnaissance Ag/AC	Séquences ARN ou ADN Hybridation moléculaire Cf bio mol	Fonction des précurseurs H <sup>3</sup> , C <sup>14</sup> , P <sup>32</sup> , S <sup>35</sup> Incorporation spécifique

Système de Visualisation du lieu de fixation (fluorescence, enzyme/substrat, autoradiographie, billes d'or)

Système de visualisation du lieu de fixation des AC ou des sondes nucléotidiques

**MARQUAGE DIRECT**

- Marqueur fluorescent (ex FITC, Rhodamine, GFP)
- Enzyme révélée par Ajout de substrat (peroxydase)
- Marqueur radioactif
- Billes d'or

**MARQUAGE INDIRECT**

Amplification du signal : « marquage à étage »

- Marquage indirect :
  - AC II marqué
  - Système d'amplification (biotine + StreptAvidine marquée)

(Cf cours techniques UE2 Y. Saintes-Marie)

Exemple 1 : Marqueurs Chimiques et Anticorps

Cellule animale

www.invitrogen.com/Molecular-Probes

**Mitochondries : Mitotracker**

OXYDATION

NON FLUORESCENT      FLUORESCENT

**Noyau : DAPI ou 4',6'-diamidino-2-phénylindole**

Peroxysoomes : AC anti-PMP70 + AC II couplé au FITC (marquage indirect)

## Introduction cours biologie cellulaire

Exemple 1 : Marqueurs Chimiques et Anticorps

Peroxisomes : AC anti-PMP70 + AC II couplé au FITC (marquage indirect)

FITC : Isothiocyanate de fluorescéine

Alternative : expression protéine couplée à la GFP (PMP70 – GFP)

Diagram illustrating the indirect immunofluorescence labeling of Peroxisomes:

Peroxisome Protéine PMP70 → AC Anti-PMP70 (lapin) → AC II anti-Ig de lapin FITC

Exemple 2 : Marquages radioactifs

Utilisation de la radioactivité pour suivre molécule dans la cellule (précurseurs radiomarqués  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{3\text{H}}$ ,  $^{32}\text{P}$ )

**Protocole 1**

```

    graph TD
        A[marquage] --> B[Milieu avec précurseur radiomarqué (PULSE)]
        B --> C[PRÉLÈVEMENT]
        C --> D[COMPTAGE DE LA RADIOACTIVITÉ OU AUTORADIOGRAPHIE]
    
```

Marquage thymidine tritiée pendant une temps  $t$  puis autoradiographie des cellules  
---> marquage synthèse d'ADN

Cellule épithéliale issue d'un animal traité par de la thymidine  $\text{H}^3$   
(M. Chrélien et M. Pisam, Biol. of the Cell, 56, 137-150, 1986.)

**Protocole 2**

```

    graph LR
        A[marquage] --> B[lavage]
        B --> C[Milieu avec précurseur radimarqué]
        C -- "« PULSE »" --> D[Milieu avec précurseur non marqué]
        D --> E[PRÉLÈVEMENTS À DIFFÉRENTS TEMPS]
        E -- "« CHASSE »" --> F[COMPTAGE DE LA RADIOACTIVITÉ OU AUTORADIOGRAPHIE]
    
```

Marquage méthionine  $\text{S}^{35}$  pendant un temps  $t$  puis chasse  
---> Synthèse de protéines  
---> Analyse du devenir de ces protéines

Graph showing the fraction of labeled proteins over time during chase:

Chasse (min)	1 $\beta$	0.5 $\beta$	$\alpha_2$	$\alpha_2\text{A327S}$	$s\alpha_2$
0	1.0	0.5	0.5	0.5	0.5
100	0.8	0.4	0.4	0.4	0.4
200	0.6	0.3	0.3	0.3	0.3
300	0.4	0.2	0.2	0.2	0.2
400	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1

Wedgegaertner PB. BMC Cell Biology 2002 3:12

Exemple 3 : Protéines fluorescentes

- Cellules modifiées pour exprimer des protéines fluorescentes (type GFP)
- Microscopie en temps réel

Voir films sur <http://www.microscopyu.com/>

Obtention des protéines fluorescentes Cf fin du cours ILM UE2

## CYTOSOL :

### Organisation et fonctions associées

- I. Caractéristiques du cytosol
- II. Organisation du cytosol
- III. Fonctions associées au cytosol
  - 1. Cytosol et métabolisme cellulaire
  - 2. Cytosol et synthèse/dégradation des protéines
  - 3. Cytosol et dégradation des protéines
  - 4. Cytosol et transports cytosoliques
  - 5. Cytosol et signalisation cellulaire
- IV. Pathologies associées au cytosol

## I. Caractéristiques du Cytosol (ou Hyaloplasme)

### DÉFINITION :

- Fluide interne de la cellule
- Fraction soluble obtenue après fractionnement cellulaire par centrifugation différentielle



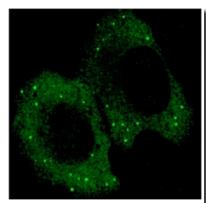
### COMPOSITION ET PROPRIÉTÉS Physico-chimiques :

- 85% d'eau (milieu aqueux)
- pH=7, milieu réducteur
- viscosité > eau (x4) « gel colloïde »
- gaz dissous ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ )
- gradient osmotique avec le milieu extracellulaire
- ions ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ )
- Molécules organiques (protéines (200mg/mL), glucides, acides aminés, nucléotides, et acides nucléiques)
- vésicules lipidiques et grains de glycogène
- édifices macromoléculaires

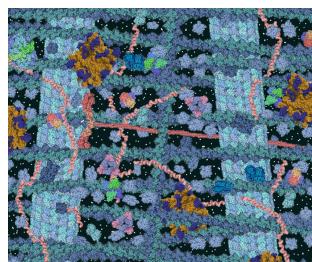
## II. Organisation du Cytosol

### STRUCTURE ORGANISÉE AU NIVEAU MOLÉCULAIRE :

- Hétérogène en microscopie électronique
- Organisé par le Cytosquelette (Organites et réseau membranaire)
- Gradient de concentration
- Regroupement de certaines activités



IF : Marquage cytoplasmique par immunomarquage d'une protéine cytosolique



"Inside a living cell". Trends Biochem. Sci. 16 (6): 203-6.

## III. Fonctions associées au cytosol = Réactions cytosoliques

### RÉACTIONS METABOLISME : Carrefour métabolique

- Métabolisme du glucose
- Métabolisme du glycogène
- Métabolisme des acides aminés
- Synthèse acides gras et cholestérol
- Métabolisme des protéines
  - Synthèse des protéines ou TRADUCTION
  - Dégradation des protéines

Biochimie  
Métabolique

Biologie Moléculaire

### TRANSPORT entre le cytosol et les organites + STOCKAGE

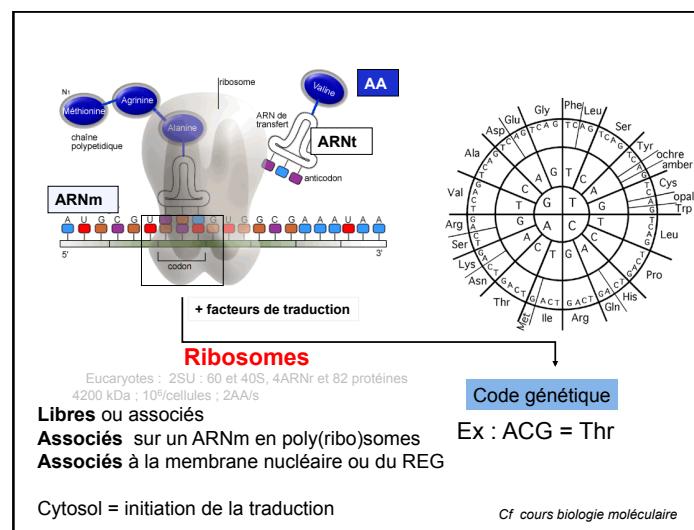
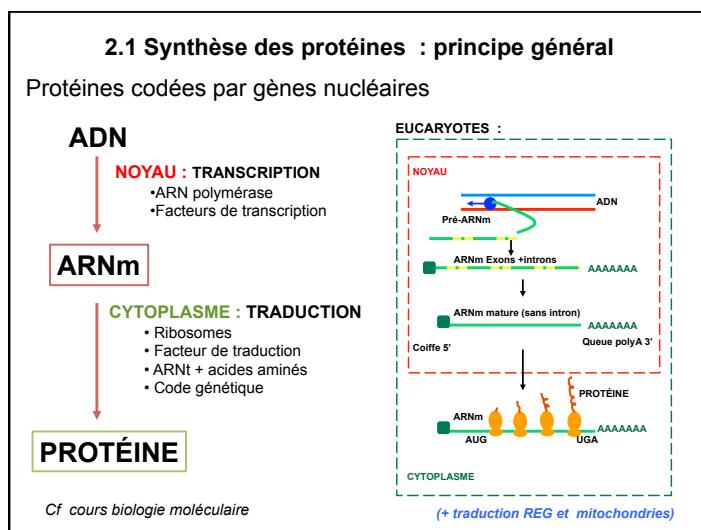
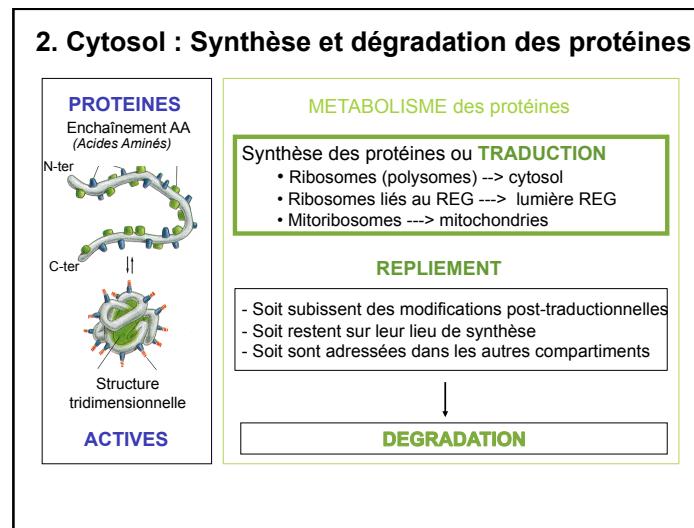
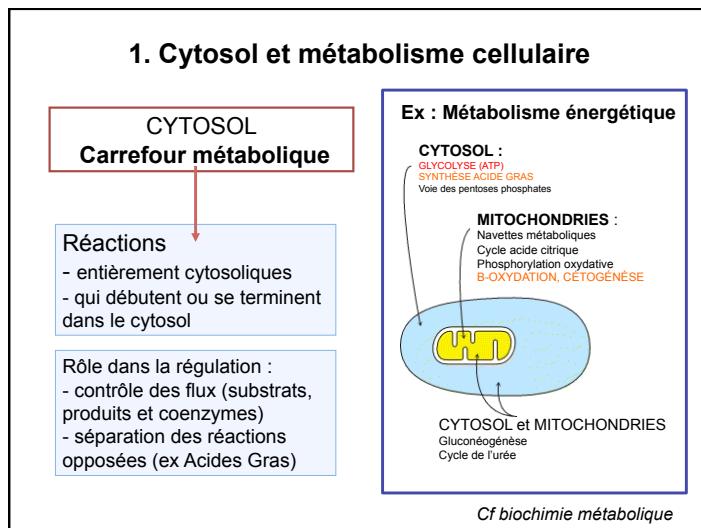
- Lipides, Protéines, Nucléotides...
- Vésicules d'inclusion (lipides et granules de glycogène)

### TRANSMISSION DES SIGNAUX (membrane plasmique vers noyau et organites)

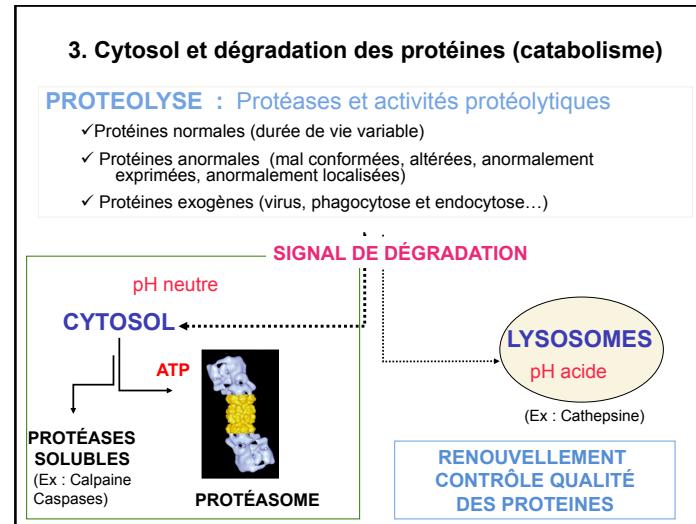
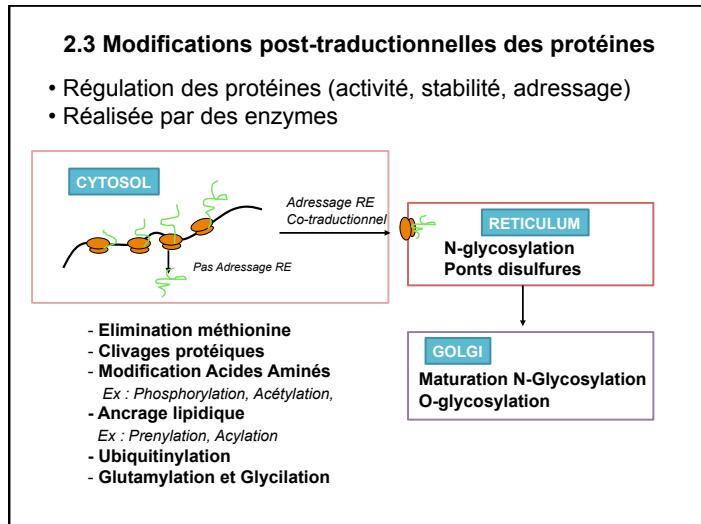
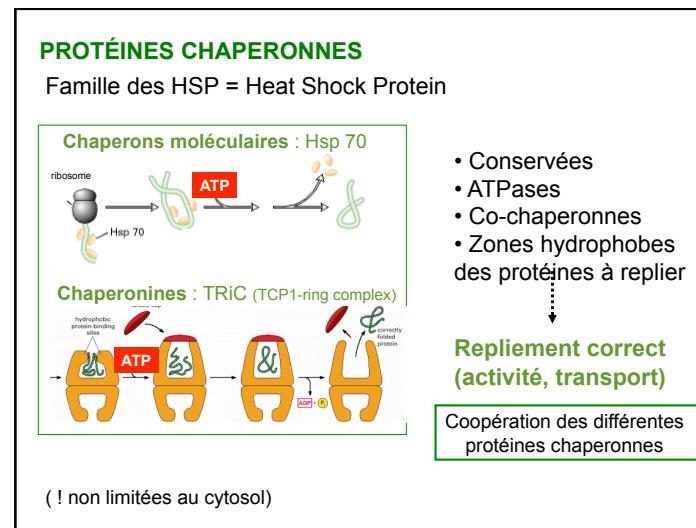
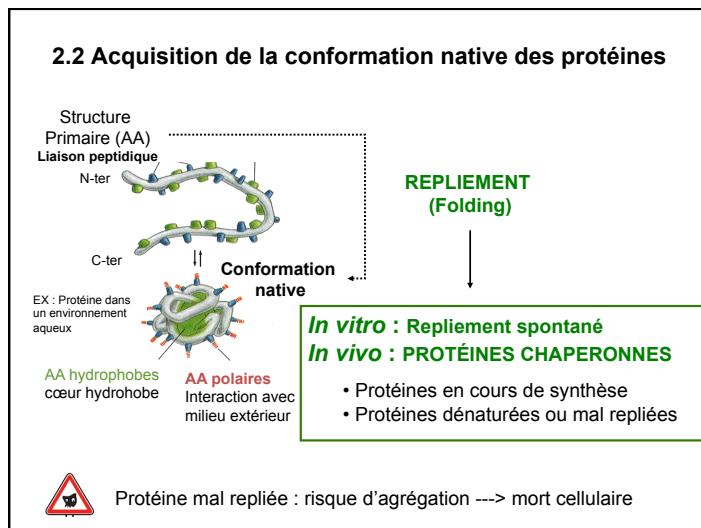
- Cascades de signalisation
- $\text{Ca}^{2+}$

Cours BS  
Signalisation cellulaire

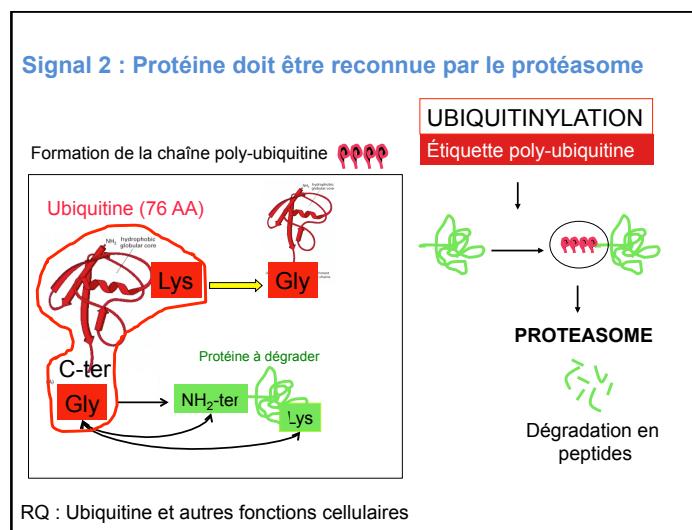
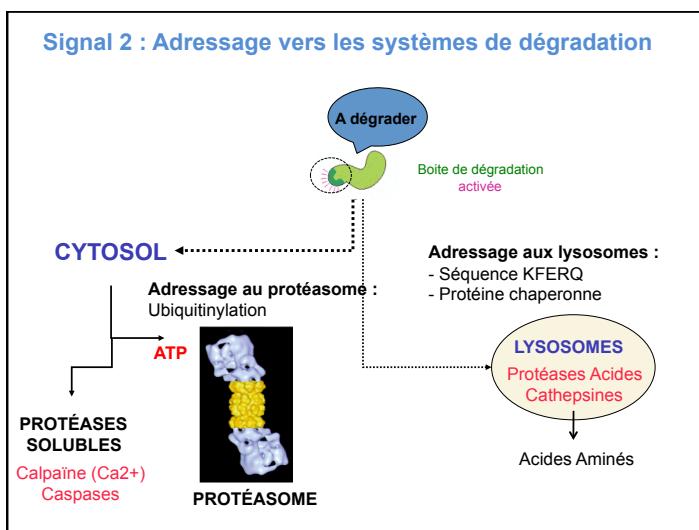
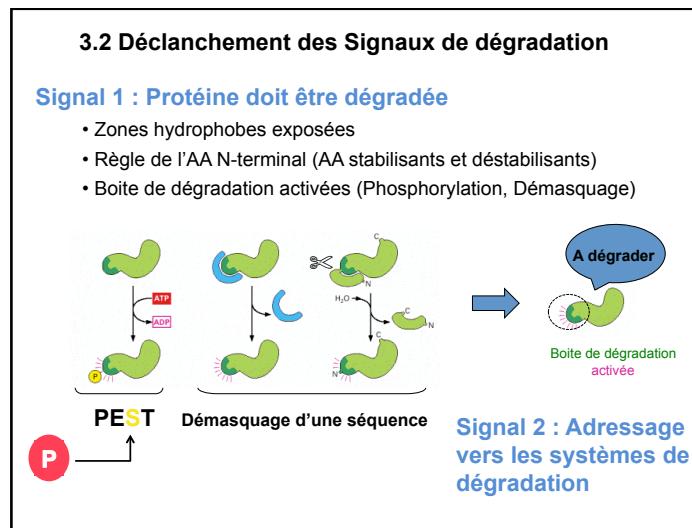
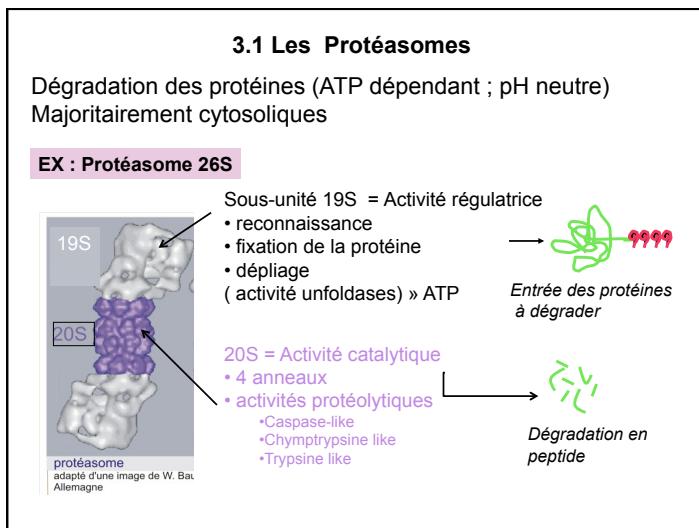
### *Cytosol*



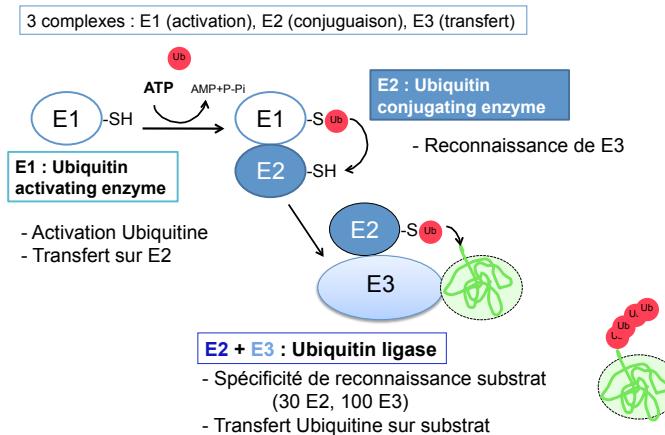
# Cytosol



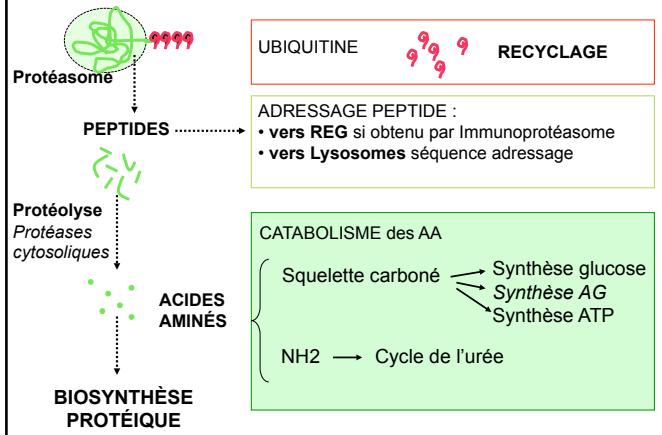
# Cytosol



### 3.3 Mécanisme de l'ubiquitinylation



### 3.4 Dégradation des protéines : Utilisation des produits



### 4. Cytosol et transports cytosoliques

#### QUI ?

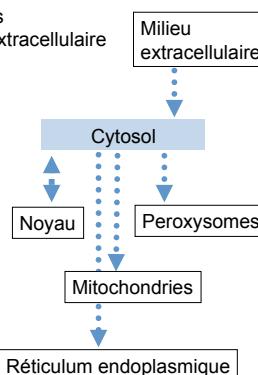
- Composés impliqués dans le métabolisme  
Protéines, Lipides, Glucides, Nucléotides
- Composés et agents provenant du milieu extracellulaire
- Vésicules

#### COMMENT ?

- Signaux d'adressage
- Modifications post-traductionnelles
- Facteurs cytosoliques (Chaperonnes, Transporteurs spécifiques)

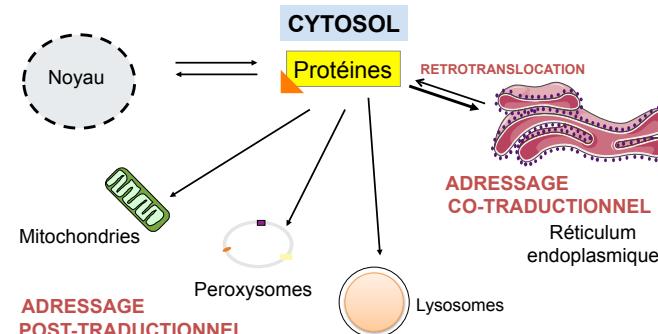
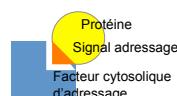
#### DESTINATION ?

Partout dans la cellule

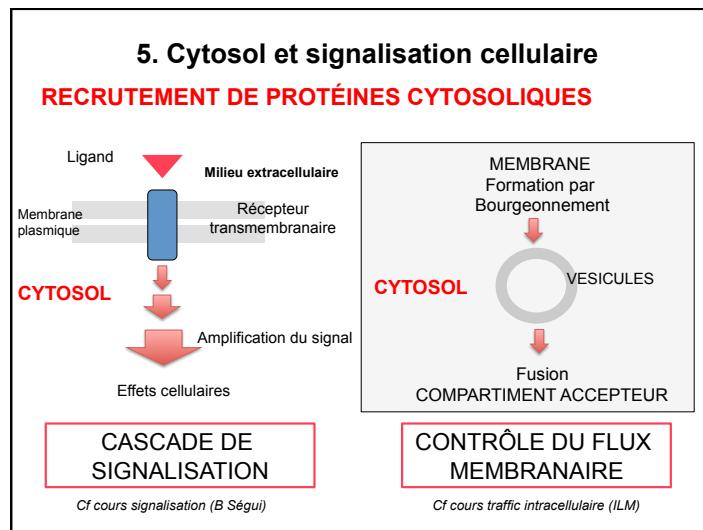


### EX : CYTOSOL et Transport des protéines

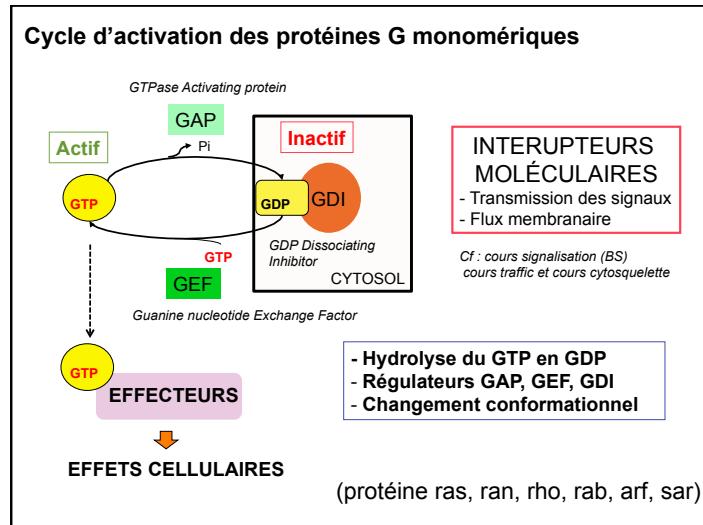
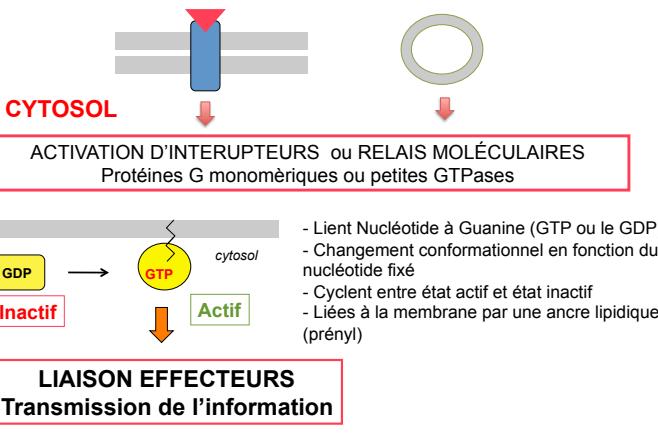
Présence de Signaux d'adressage sur les protéines  
Reconnues par protéines cytosoliques, chaperonnes



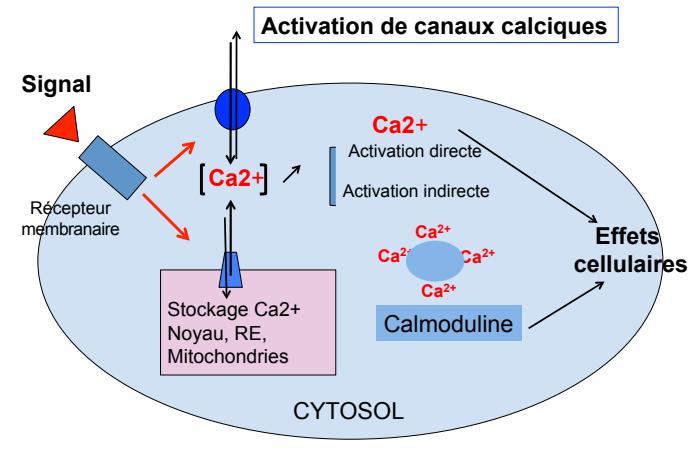
# Cytosol



**Ex1 : Activation des protéines G monomériques (GTPases)**



**Ex2 : Cytosol et voie de signalisation par les ions calcium**



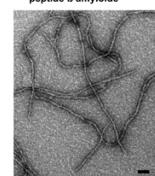
## IV. Pathologies associées au cytosol

### • Défaut au niveau de la dégradation des protéines

Protéines non dégradées par le protéasome : (défaut ubiquitinylation ou protéines « résistantes à la dégradation ») ---> formation agrégats protéiques

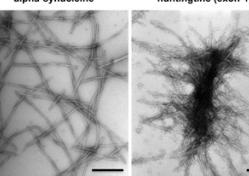
Ex : maladies neurodégénératives

ALZHEIMER

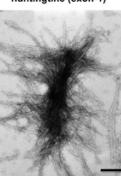


Observation au microscope électronique à transmission de formes fibrillaires de protéines impliquées dans différentes pathologies , © LEBS, Ronald Melki

PARKINSON



HUNTINGTON



## Utilisations thérapeutiques associées au cytosol

### • Bortezomib (inhibiteur Protéasome, thérapie anti-cancéreuse)

- cible l'activité protéasique du protéasome
- cellules cancéreuses plus sensibles à l'inhibition du protéasome (utilisation dans les myélomes multiples )
- inhibition protéasome induit apoptose
- blocage de la voie NFkB (inhibition de la dégradation de I kB,)



### • Geldanamycine (Antibiotique inhibiteur Hsp90)

- cible Hsp 90 suractivée dans des cellules cancéreuses (protéines prolifération, et protéines favorisant la migration)



## NOYAU : structure et fonctions associées

- I. Caractéristiques générales du noyau
- II. Organisation du noyau
  - 1. Matrice nucléaire et Chromatine
  - 2. Nucléole
  - 3. Enveloppe nucléaire
- III. Transport nucléo-cytoplasmique
- IV. Pathologies associées au Noyau

### I. Caractéristiques générales du noyau

#### NOYAU INTERPHASIQUE

Microscopie fluorescence  
Coloration DAPI

— 5µm

Microscopie optique  
Coloration MGK

— 5µm

M. Electronique Transmission  
X1540 agents de contraste

— 5µm

- Cellules eucaryotes (Brown 1831)
- Forme et nombre variable
- Taille 5 à 20 µm de diamètre
- Organite délimité par une double membrane
- Fonctions associées (information génétique / expression des gènes)

#### ACTIVITES NUCLEAIRES

- RÉPLICATION : ADN 2n ---> 4n (Phase S)
- TRANSCRIPTION : ADN ---> ARN (interphase+prophase)
- RÉPARATION : ADN (interphase +prophase)

Séparation physique des mécanismes de Transcription/Réplication et Traduction  
*Cf UE1 pour description des activités*

#### ECHANGES AVEC LE COMPARTIMENT NUCLÉAIRE

(interphase+prophase)

- Cytosol ---> Noyau : Enzymes, nucléotides, protéines de structure
- Noyau ---> Cytosol : ARN, Ribonucléoprotéines, Sous-unité ribosomes
- Membrane nucléaire <--> réticulum endoplasmique

### II. Organisation du noyau

**ENVELOPPE NUCLÉAIRE :**  
Double membrane + Pores nucléaires  
En continuité du Réticulum endoplasmique

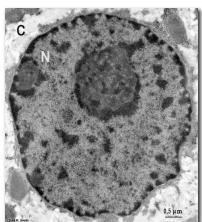
**Nucléole**

**Matrice nucléaire**  
**Chromatine**

**NUCLEOPLASME**

## 1. Matrice nucléaire et Chromatine

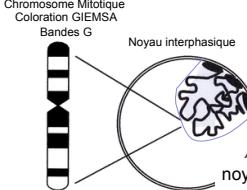
Microscopie électronique  
Noyau hépatocytes  
Coloration agents de contraste



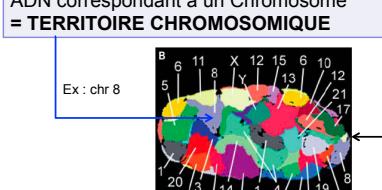
- MATRICE NUCLÉAIRE**  
= Réseau de protéines insolubles après traitement (déturgent, nucléases)  
+ lamina nucléaire
- CHROMATINE** : ADN + Protéines
  - Hétérochromatine
  - Euchromatine
- + Territoires chromosomiques  
+ Zones inter-chromosomiques
- Autres domaines spécialisés**  
(corps nucléaires, corps de Cajal, grains et granules perchromatidiens, speckles, fibrilles.)

## 1.1 Territoires chromosomiques

Chromosome Mitotique  
Coloration GIEMSA  
Bandes G



Noyau interphasique



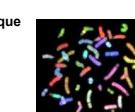
Ex : chr 8

noyau

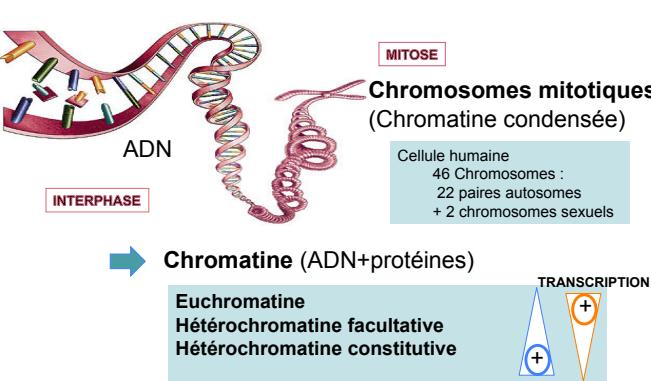
ADN correspondant à un Chromosome = **TERRITOIRE CHROMOSOMIQUE**

Position des chromosomes  
Noyau interphasique fibroblastes humain Bolzer et coll., PLoS 3(5) e157, 2005

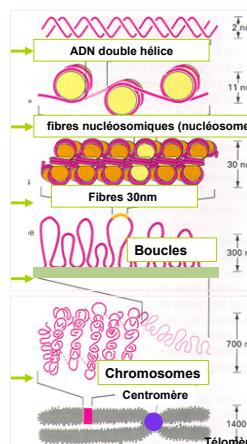
Peinture chromosomique (Technique FISH)



## 1.2 Organisation de la chromatine



### 1.2.1 Modèle de condensation de la Chromatine



**INTERPHASE**

**CHROMATINE = ADN + PROTÉINES**

Nucléosomes : ADN + histones nucléosomales (H2A, H2B, H3, H4) X2 (OCTAMERES)

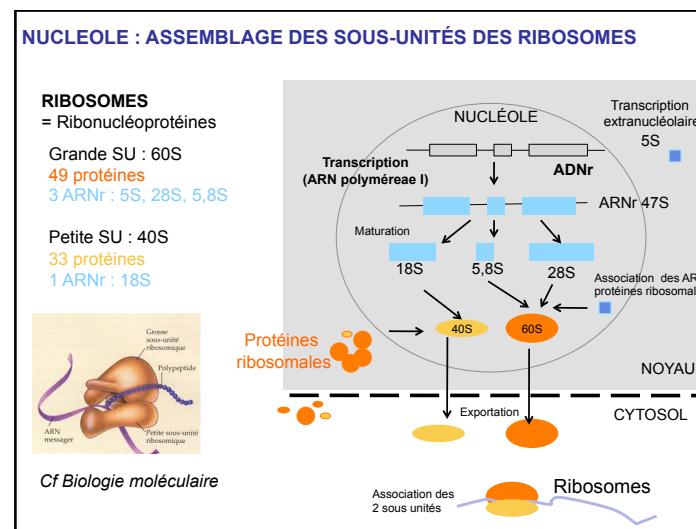
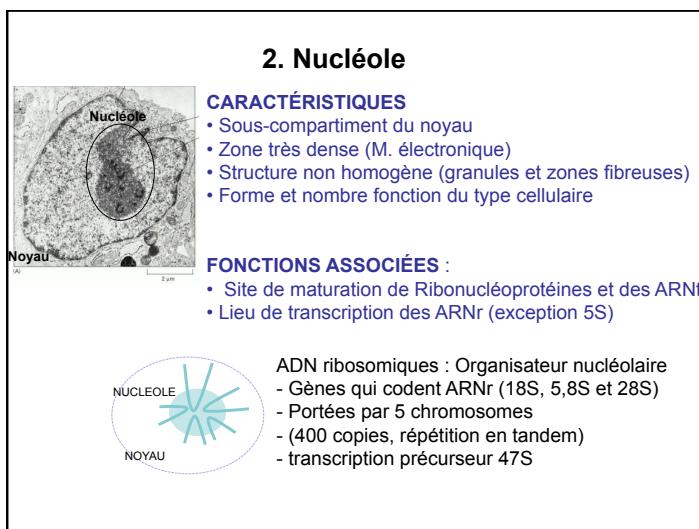
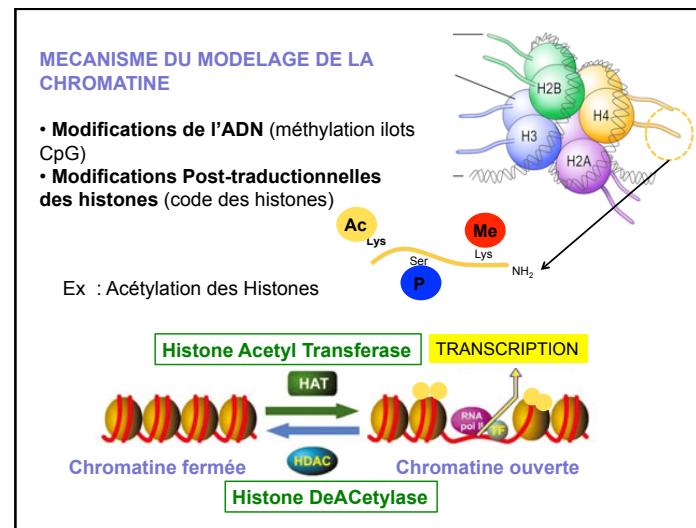
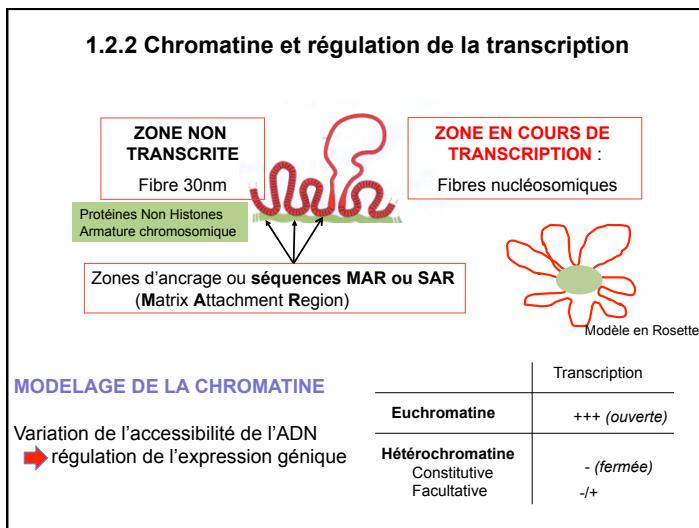
Histones extranucléosomiques (H1)

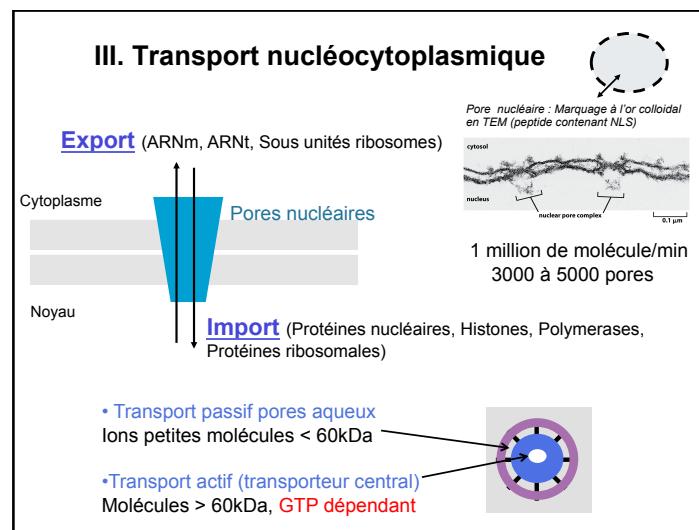
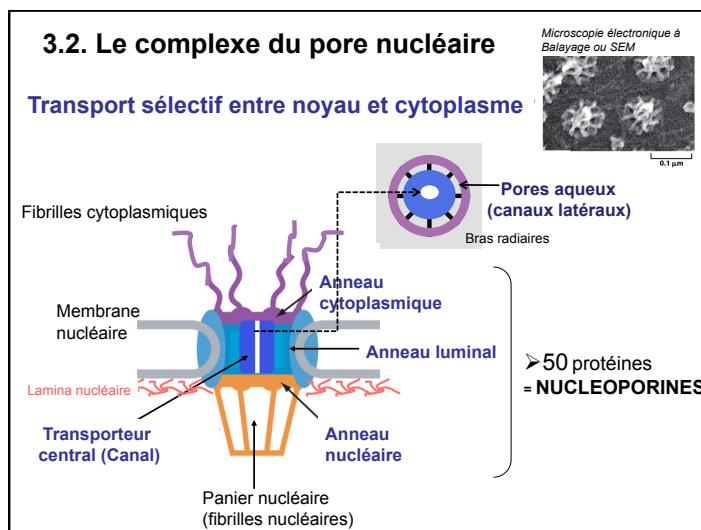
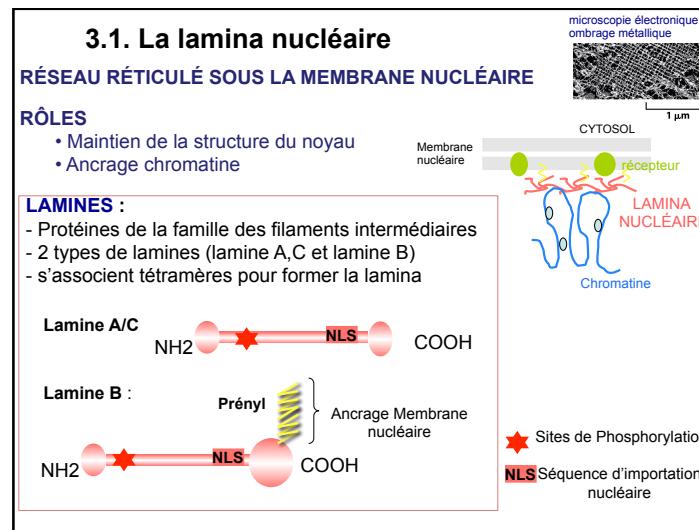
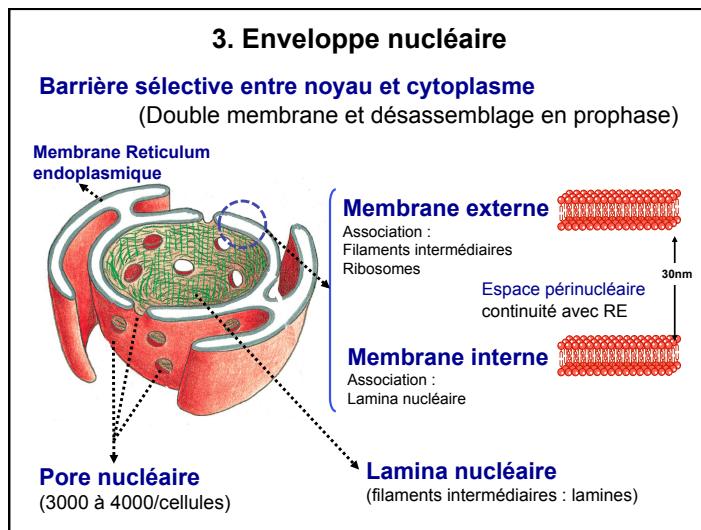
Protéines chromatiniennes Non-histones (ARMATURE CHROMOSOMIQUE)

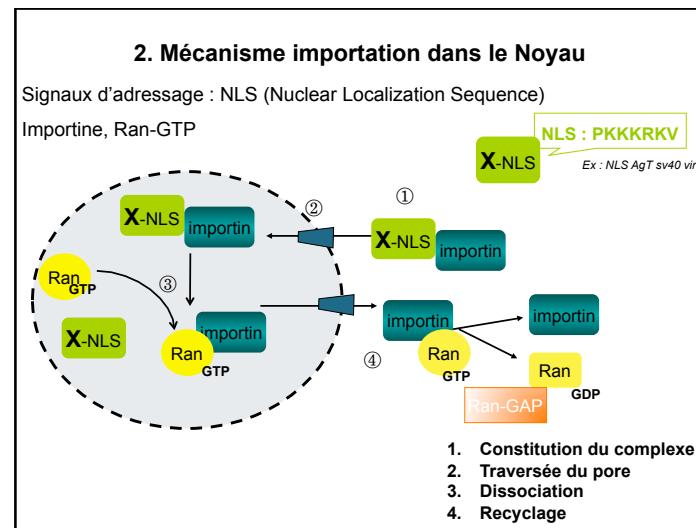
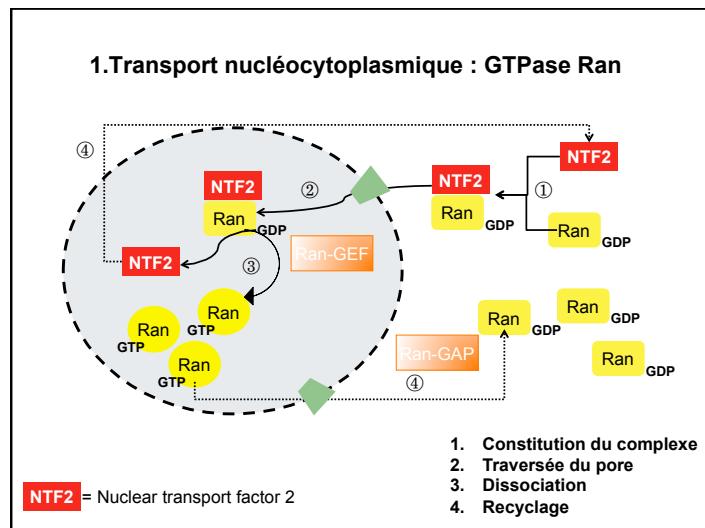
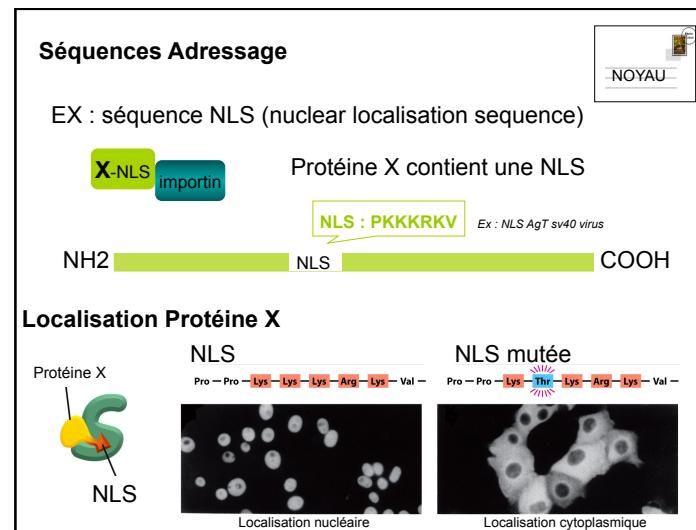
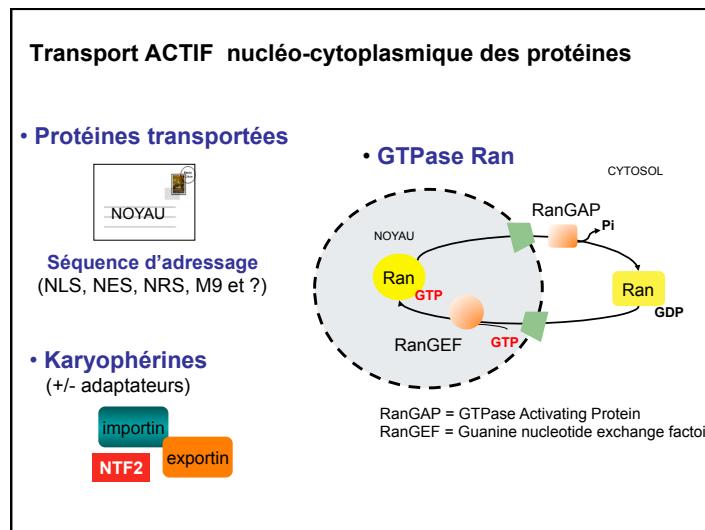
**MITOSE**

Chromosomes mitotiques 2 chromatides

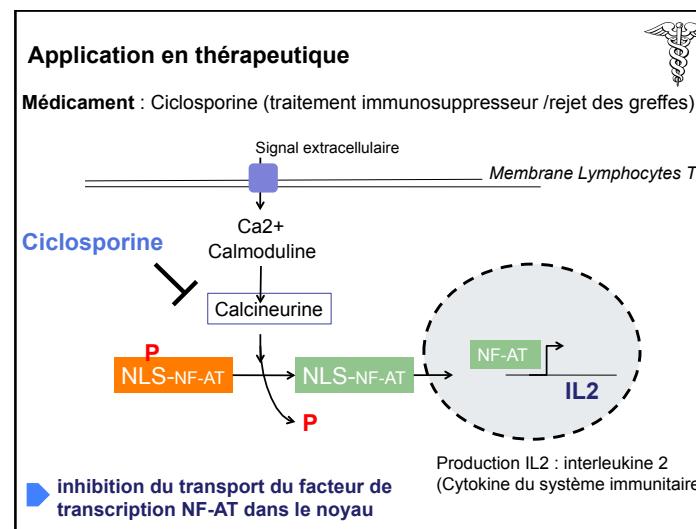
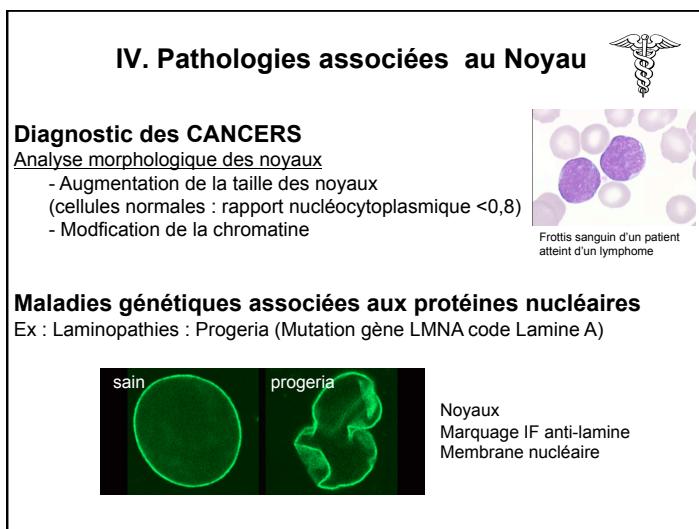
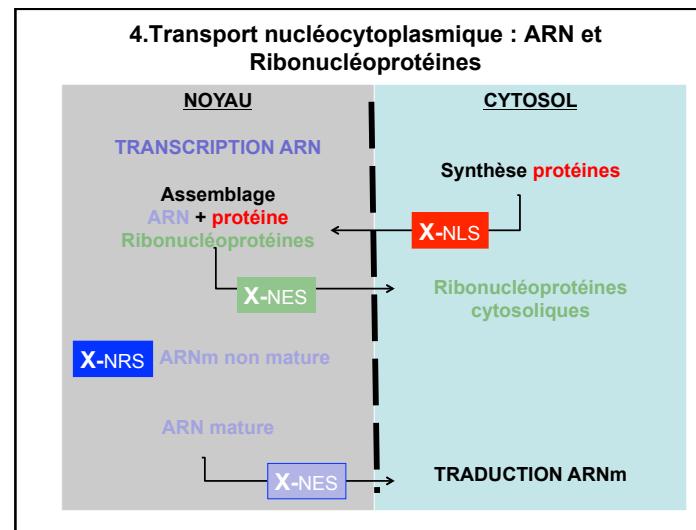
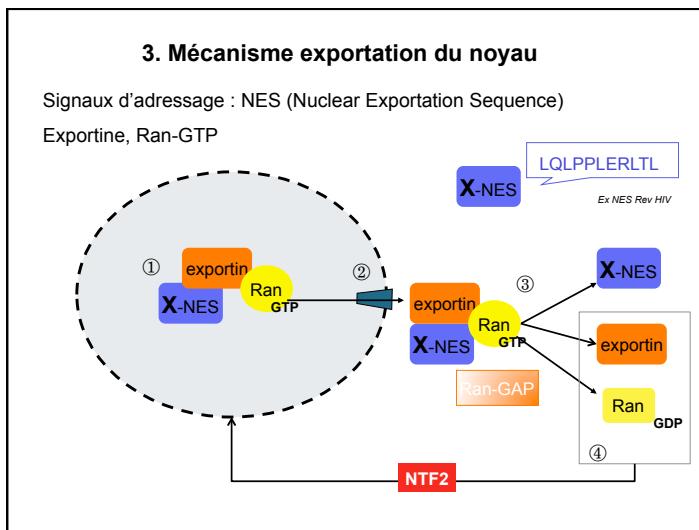
Cf cours biologie moléculaire







# Noyau



**MITOCHONDRIES**  
**structure et fonctions associées**

- I. Généralités
- II. Structure et dynamique des mitochondries
- III. Composition des mitochondries
  - 1. Composition générale
  - 2. ADN mitochondrial
  - 3. Membranes et Espace intermembranaire
- IV. Activités métaboliques mitochondrielles
- V. Echanges mitochondries et autres compartiments
- VI. Pathologies associées aux Mitochondries

**II. Structure et dynamique des Mitochondries**

**STRUCTURE GENERALE**

- Organite clos (double membrane)
- Forme variable
- Diamètre de 0,5 à 1µm
- Organisées en réseau

**2 membranes spécialisées**

- membrane Externe (Outer)
- membrane Interne (Inner)
- nombreux replis (crêtes)

**2 compartiments fonctionnels**

- Matrice mitochondriale
- Espace intermembranaire

*Microscopie électronique à transmission*

Fonctions associées aux compartiments

**I. Généralités Mitochondries**

**MITOCHONDRIES**

- Spécifiques cellules eucaryotes (except GR)
- Jusqu'à 2000 Mitochondries /cellule
- Dans les zones de haute consommation énergétique
- Réseau cytoplasmique = **MITOCHONDRIOME**
- Se déplacent grâce au cytosquelette
- Répartition au hasard en mitose entre les 2 cellules filles
- Elimination par autophagie

**Origine Endosymbiotique (Hypothèse)**

**FONCTIONS :**

- Production d'énergie en présence d' $O_2$  (synthèse et stockage d'ATP) = **RESPIRATION CELLULAIRE**
- Impliquées dans les mécanismes de mort cellulaire par apoptose
- Synthèse de métabolites (Hormones stéroïdes, PhosphoLipides, AA)
- Régulation de la  $[Ca^{2+}]$

**DYNAMIQUE DES MITOCHONDRIES**

**MITOCHONDRIOME** = Réseau dynamique ( $\neq$  formes et mouvement)  
Morphologie change en fonction des conditions cellulaires

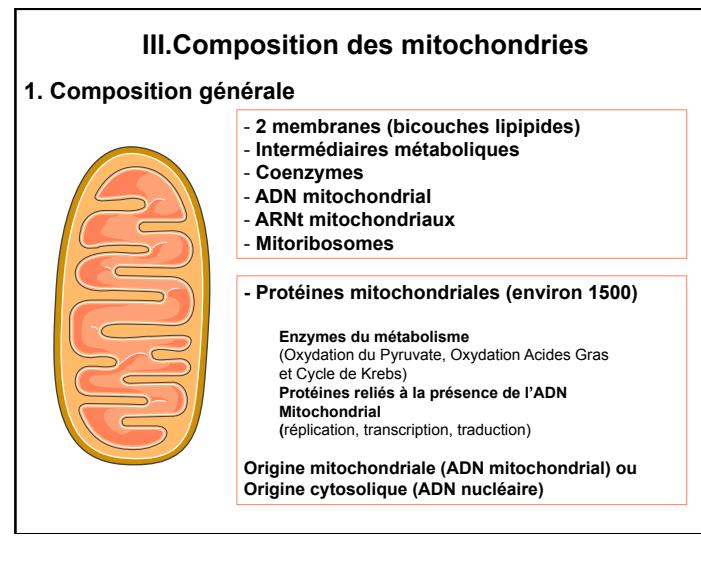
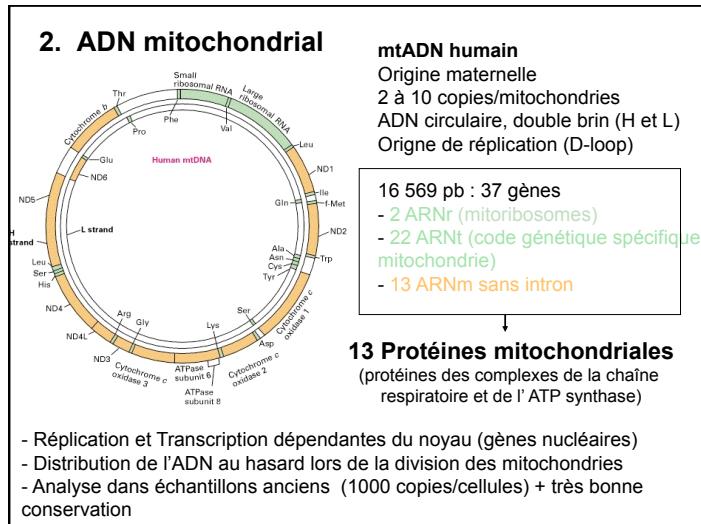
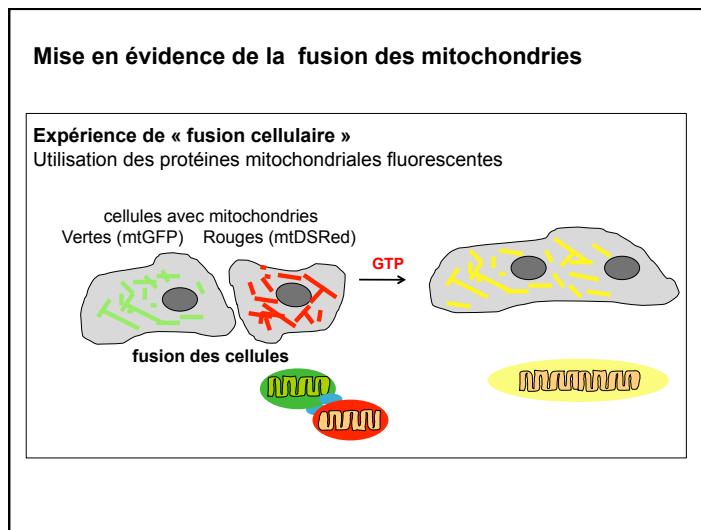
**FUSION**      **FISSION**

**MnF**      **DRP1 et OPA**

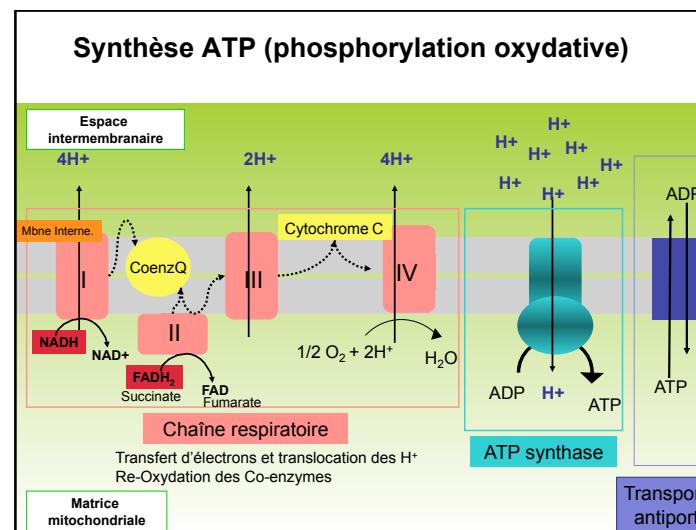
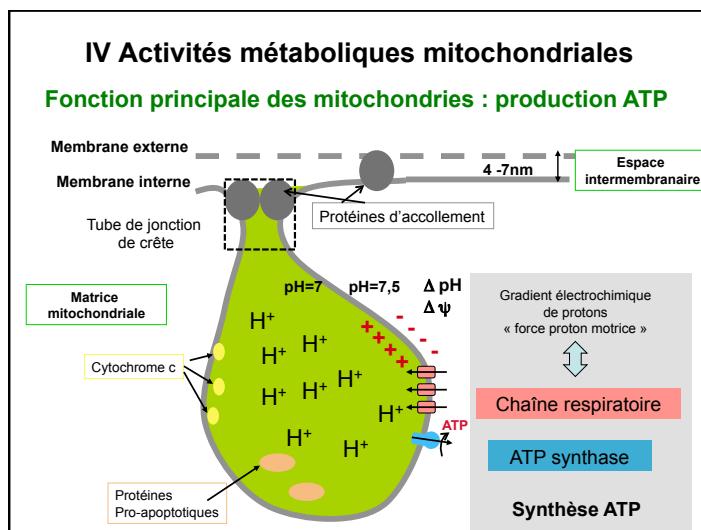
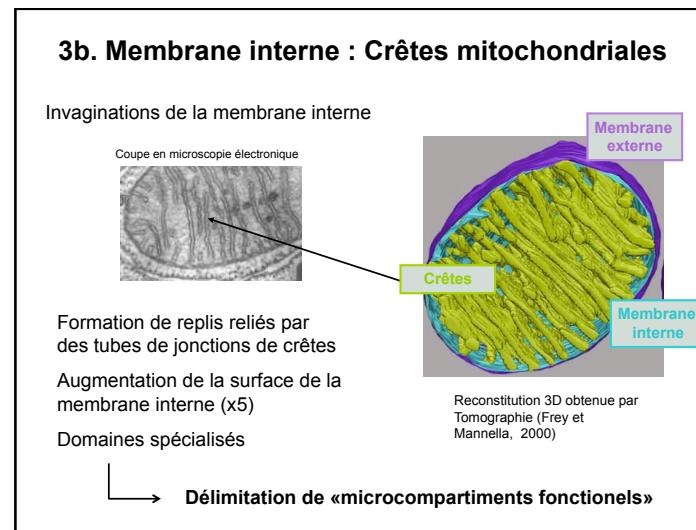
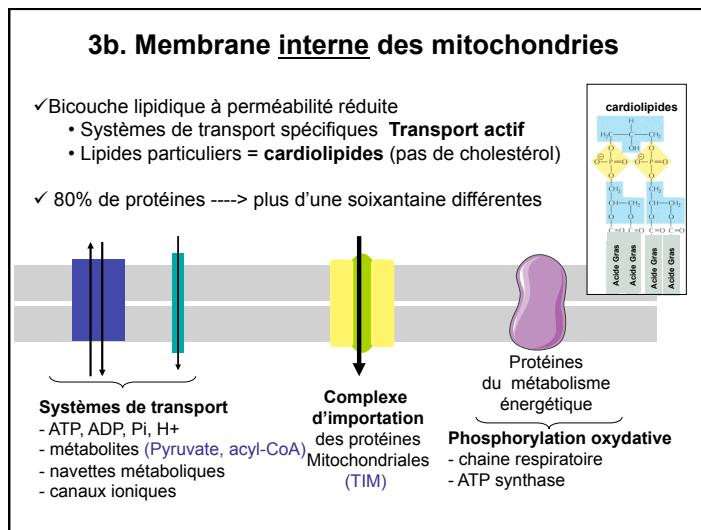
**Consommation  $O_2$**       **Consommation  $O_2$**   
**Synthèse ATP**      **Synthèse ATP**  
**Potentiel de membrane**      **Potentiel de membrane**

Cycle de Fusion/Fission : échange de protéines/lipides/ADN  
famille des dynaminnes  
Mitofusine (Mfn), DRP1, OPA1

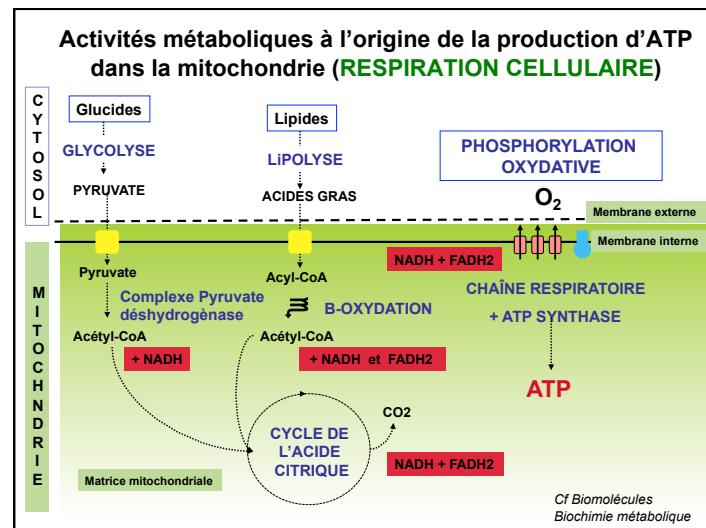
# Mitochondries



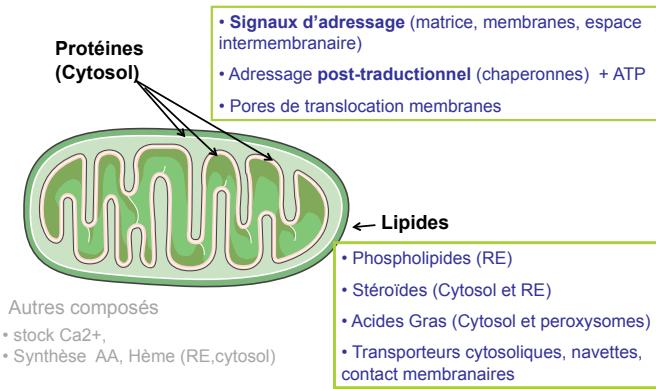
# Mitochondries



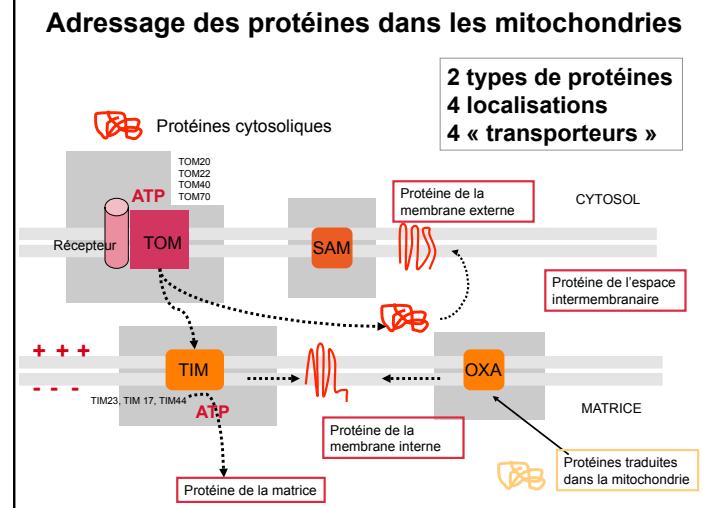
## *Mitochondries*



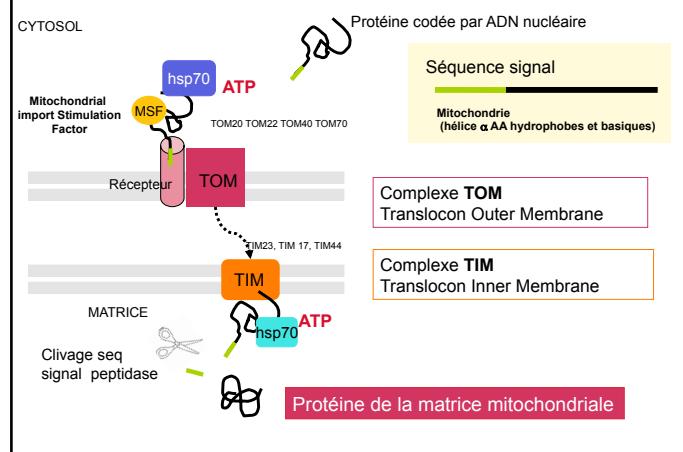
## V. Echange mitochondries autres compartiments



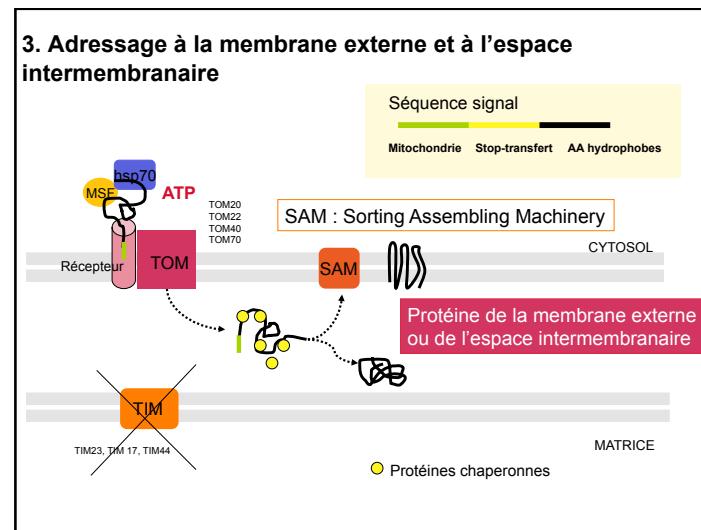
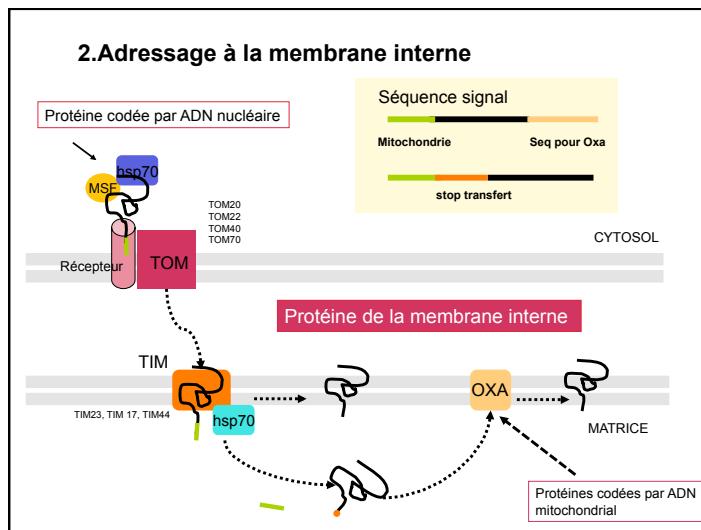
## Adressage des protéines dans les mitochondries



## 1. Adressage à la matrice



# Mitochondries



**VI. Pathologies associées aux mitochondries**

DYSFONCTIONNEMENT MITOCHONDRIAL (DÉFICIT PRODUCTION ATP)  
= MITOCHONDRIOPATHIES

Pathologies hétérogènes (Tissus touchés et Anomalies observées)

Vieillissement : accumulation mutations ADN mitochondrial

Maladies mitochondrielles génétiques

- mutations ADN mitochondrial (homoplasmie/hétéoplasmie)
- mutations ADN nucléaire (toutes les mitochondries)
  - ex : maladie Charcot-Marie-Tooth de type axonale
  - mutation MFN2 (mitofusine) : anomalie de la fusion

Mitochondriopathies médicamenteuses

**PHARMACOLOGIE DES MITOCHONDRIES**

Inhibiteurs des fonctions des mitochondries  
= Poisons des mitochondries

- Cyanure (cytochrome oxydase)
- Arsenic (cycle acide citrique ou cycle de Krebs)
- Oligomycine (inhibiteur ATP synthase)

# Peroxisomes

## PEROXYSMES : structure et fonctions associées

I. Généralités  
II. Caractérisation des peroxysomes  
III. Composition  
IV Fonctions des peroxysomes  
V. Adressage lipides et protéines aux peroxysomes  
VI. Maladies peroxysoïdales

## I. Généralités Peroxisomes

**Organites à simple membrane**

- Organites ovoïdes (0,2 à 0,5 µm de Ø)
- Spécifiques aux cellules eucaryotes
- Nucléoïde cristallin
- Pas de génome

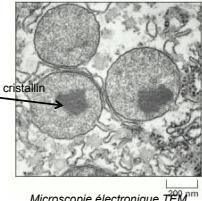
**Réseau dans le cytosol**

- Nombre variable
- Forment un réseau de peroxysomes
- Indépendant du système endomembranaire

**Impliqués dans réaction du métabolisme (utilisant O<sub>2</sub>)**

- Contiennent plus de 40 enzymes (oxydases)

**Prix Nobel de physiologie et médecine (de Duve 1974)**  
Fractionnement cellulaire + microscopie électronique



Microscopie électronique TEM  
Nucléoïde cristallin  
200 nm

## II. Caractérisation des Peroxisomes

- Fraction peroxysoïdale obtenue par fractionnement cellulaire  
- Caractérisée par la présence des Oxydases et de la catalase

Métabolites + O<sub>2</sub> → OXYDASES → Métabolites' + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
**Peroxyde d'hydrogène**

**Réactions d'oxydation pour le métabolisme**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en excès → 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>  
CATALASE

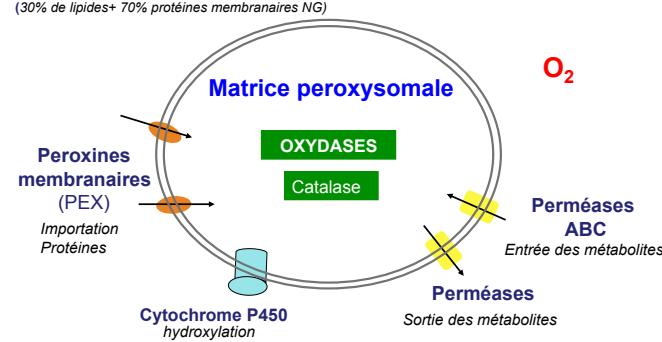
Peroxydation H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + RH<sub>2</sub> → 2H<sub>2</sub>O + R

**Réactions de détoxicification**

Détection cyto-enzymologique de la CATALASE  
(utilisation pour caractérisation de la fraction peroxysoïdale)

## II. Composition des Peroxisomes

**Membrane peroxysoïdale**  
Bicouche Lipidique  
(30% de lipides + 70% protéines membranaires NG)



Matrice peroxysoïdale

O<sub>2</sub>

Peroxines membranaires (PEX)  
Importation Protéines

OXYDASES

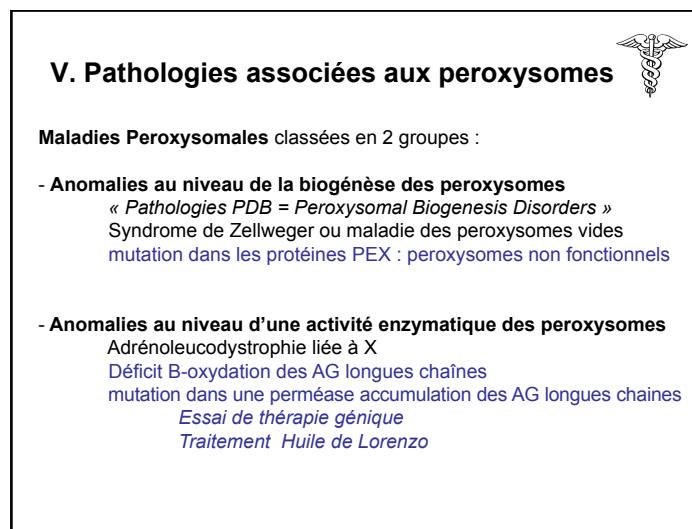
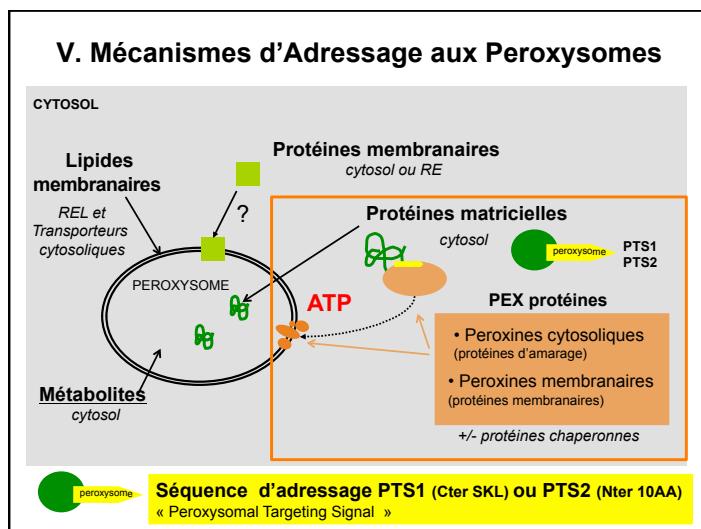
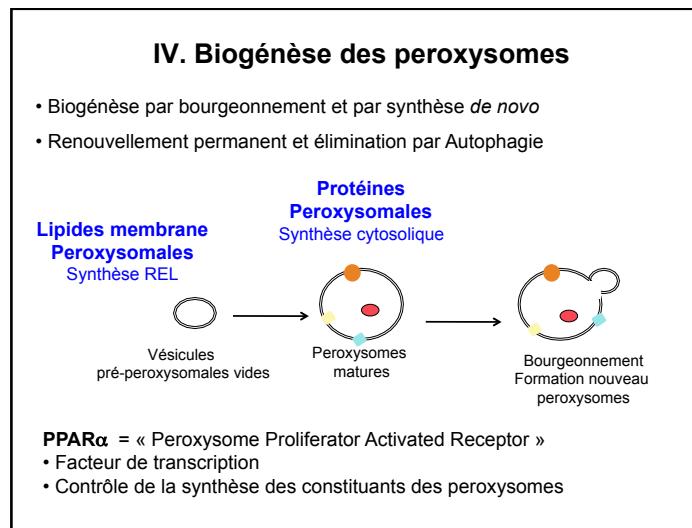
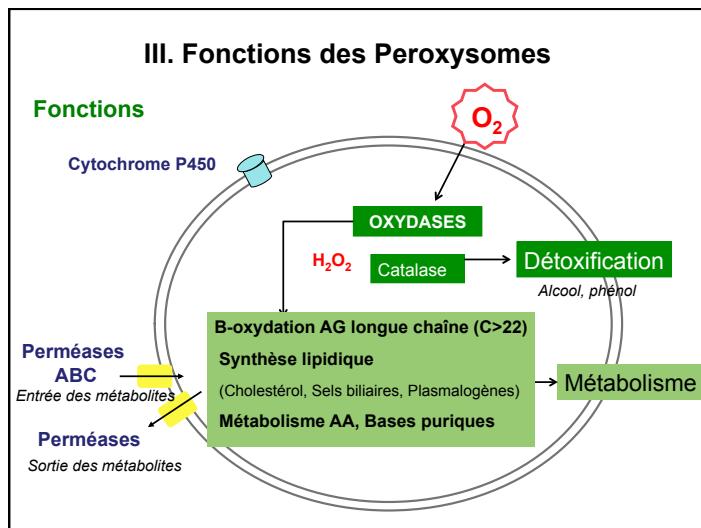
Catalase

Cytochrome P450 hydroxylation

Perméases ABC  
Entrée des métabolites

Perméases  
Sortie des métabolites

# Peroxisomes



# Système endomembranaire

## SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE Structure et Fonctions associées

Partie 1 : description des différents composants

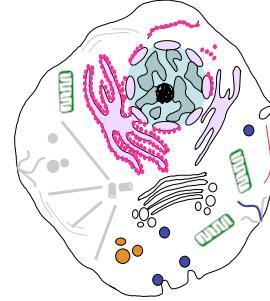
- I. Définitions générales
- II. Description des différents compartiments
  - Réticulum endoplasmique
  - Appareil de Golgi
  - Compartiment Endosomal et lysosomes

### 1. Définitions générales

#### SYSTÈME ENDOMEMBRANAIRE

Ensemble des cavités délimitées par les membranes (internes) correspondant aux différents compartiments qui communiquent par l'émission de vésicules

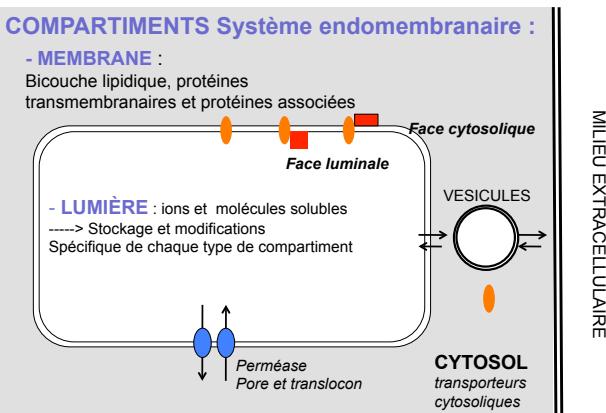
- Réticulum endoplasmique
- Appareil de Golgi
- Lysosomes
- Endosomes
- Vésicules et tubules intermédiaires



**Membrane, Cavités, vésicules, tubules organisés qui communiquent entre eux via le TRAFIC VÉSICULAIRE**

#### COMPARTIMENTS Système endomembranaire :

- MEMBRANE :  
Bicouche lipidique, protéines transmembranaires et protéines associées
- LUMIÈRE : ions et molécules solubles  
----> Stockage et modifications Spécifique de chaque type de compartiment



### II. Description des différents compartiments du système endomembranaire

#### 1. Réticulum endoplasmique :

- 1.1 Description du Réticulum Endomembranaire (RE)
- 1.2 Fonction du REL (RE Lisse)
  - ✓ Biosynthèse des lipides
  - ✓ Fonctions du REL dans cellules spécialisées
- 1.3 Fonction du REG (RE Granuleux)
  - ✓ Synthèse protéique
  - ✓ Maturation protéique
  - ✓ Stress du RE
- 1.4 Echanges à partir du RE
- 1.5 Pathologies et RE

# Système endomembranaire

## 1.1 Description du Réticulum endoplasmique (1)

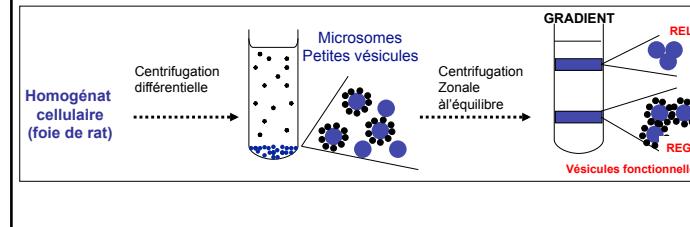
**RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE (REL et REG)**

- Réseau de tubules et cisternes interconnectées
- En continuité de l'enveloppe nucléaire
- Présent dans les cellules nucléées
- Fragmentation en mitose
- Elimination par autophagie

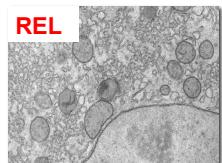
Proportion REL/REG : Variation en fonction du type ou de l'activité cellulaire

## 1.1 Description du Réticulum endoplasmique (2)

- ✓ **MEMBRANES** : 50% des membranes cellulaires  
Bicouche lipidique Asymétrique, riche en protéines
- ✓ **LUMIERE** : Espace cisternal ou endoplasmique : 10 à 15 % du volume cellulaire
- ✓ **ANALYSE BIOCHIMIQUE** : Fractionnement cellulaire vésicules avec ou sans ribosomes



## 1.2 Fonctions aux associées Réticulum endoplasmique LISSE

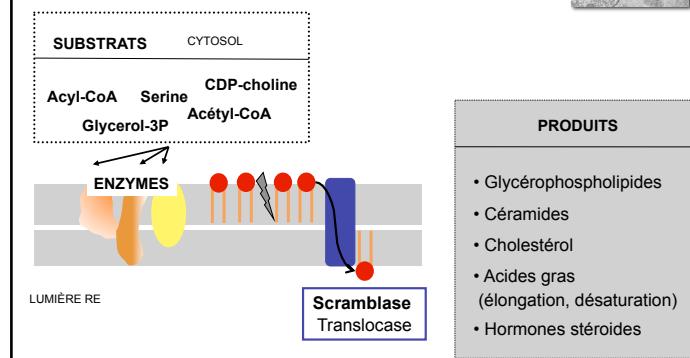


- **Biosynthèse des lipides**
- Stockage du Calcium
- Métabolisme glucidique
- Détoxification cellulaire

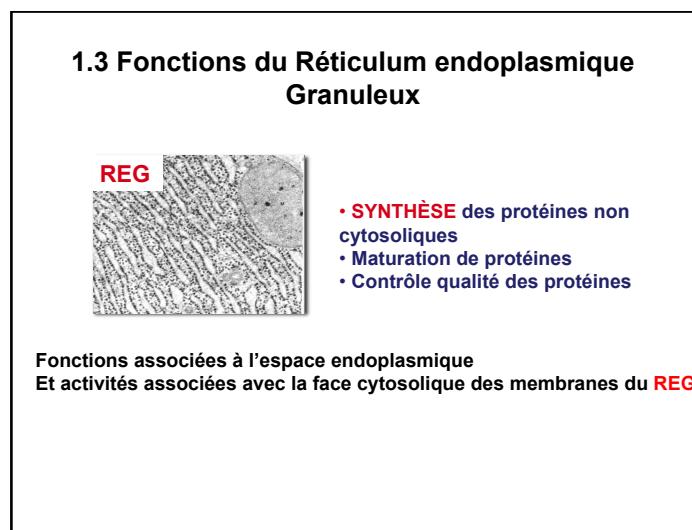
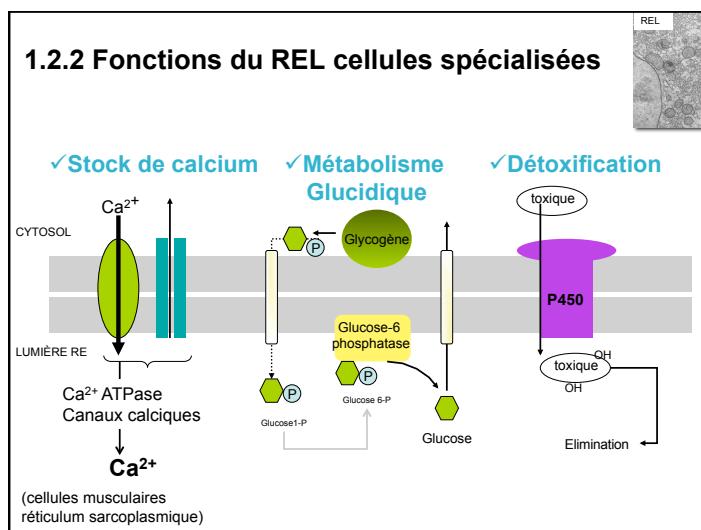
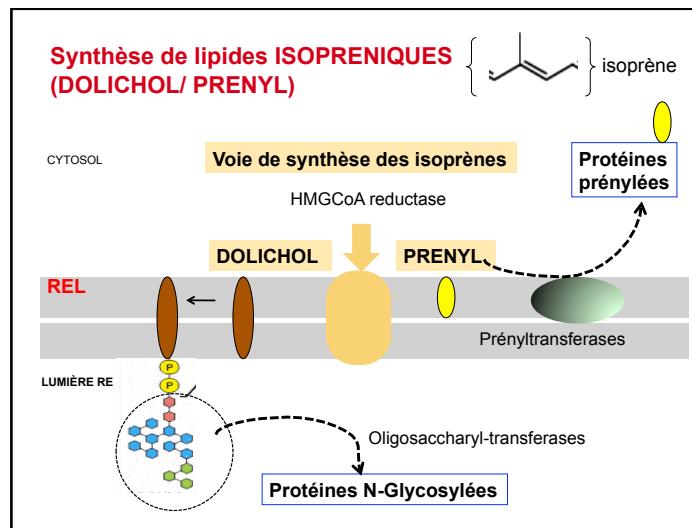
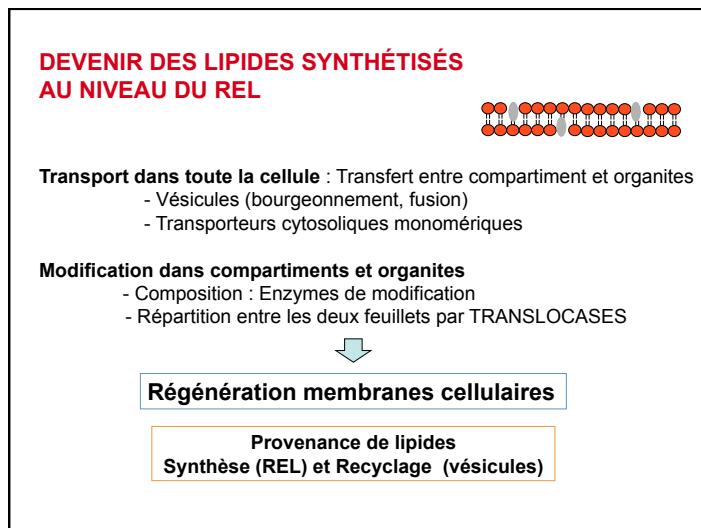
Fonctions associées à l'espace endoplasmique et activités associées avec la face cytosolique des membranes du **REL**

## 1.2.1 REL et Biosynthèse des lipides

### BIOSYNTHESE



## Système endomembranaire



# Système endomembranaire

**1.3.1 REG et synthèse protéique**

**REG**

**Synthèse des protéines ou TRADUCTION**

- ribosomes --> cytosol
- mitoribosomes --> mitochondries
- ribosomes liés au REG --> lumière REG

**Protéines du système endomembranaire, (solubles et transmembranaires) Protéines sécrétées**

- ✓ Initiation de la traduction dans le cytosol
- ✓ Association du ribosome à la membrane du RE (Mécanisme Co-Traductionnel)
  - Séquence signal traduite dans le cytosol
  - Complexe SRP (cytosol)
  - Récepteur à SRP (membrane RE)
  - Translocon (membrane RE)

**REG et synthèse protéique**

**1. ADRESSAGE AU REG**

**Séquence signal : 8 AA hydrophobes minimum**

**SRP : « Signal Recognition Particle » + cycle hydrolyse GTP**

**REG et synthèse protéique**

**2. FIN DE TRADUCTION DANS LE REG**

Traduction de l'ARNm (codon STOP)

Clivage de la séquence signal (Élimination par protéases)

Protéine libérée dans la lumière (Protéine soluble)

Protéines résidentes du RE Exportées autres compartiments

**REG et synthèse protéique**

**3. CAS PARTICULIER DES PROTÉINES MEMBRANAIRES**

Segments hydrophobes Insérés dans la membrane

Ex : Protéine membranaire avec 1 segment hydrophobe

NH<sub>2</sub> — Séquence Signal — Segment hydrophobe — COOH

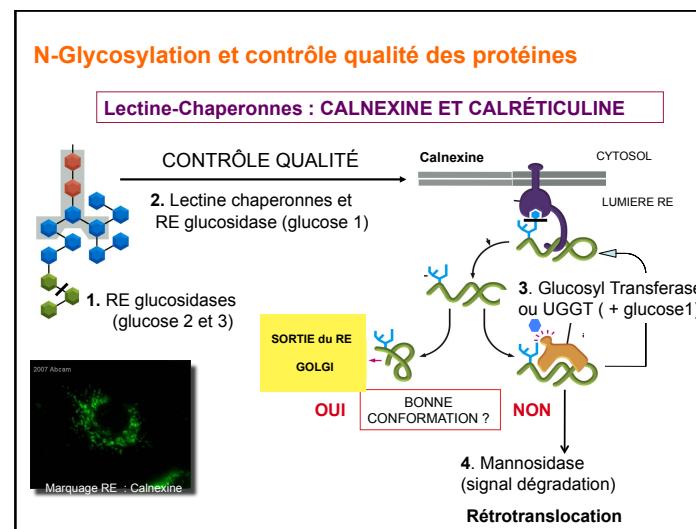
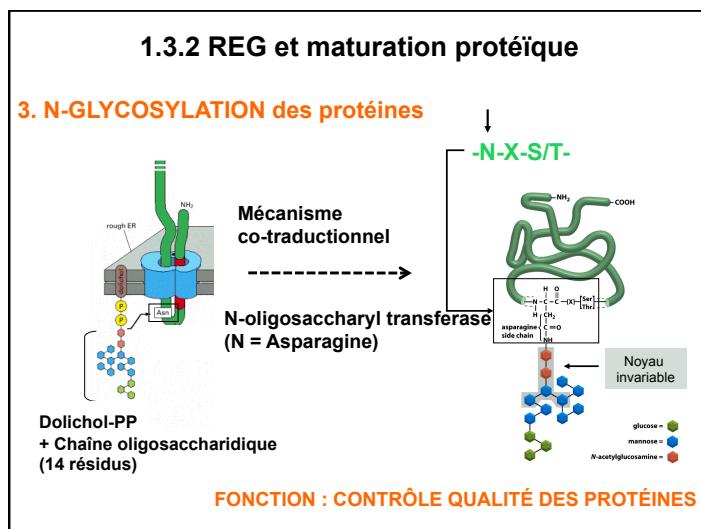
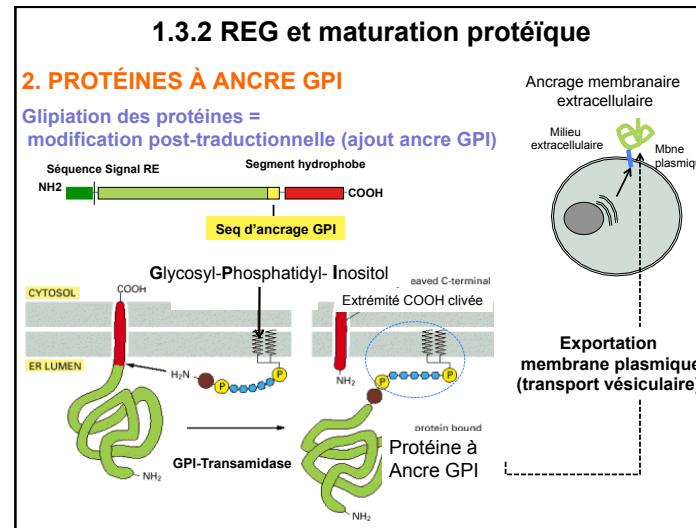
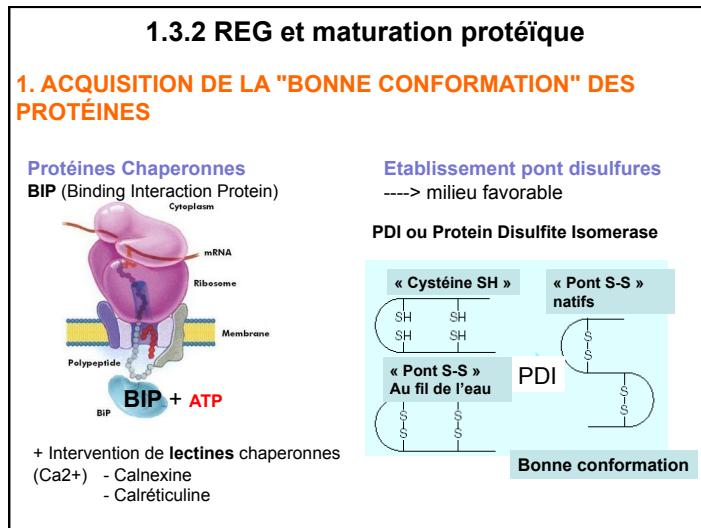
Ouverture latérale Translocon Insertion membrane

FERME OUVERT

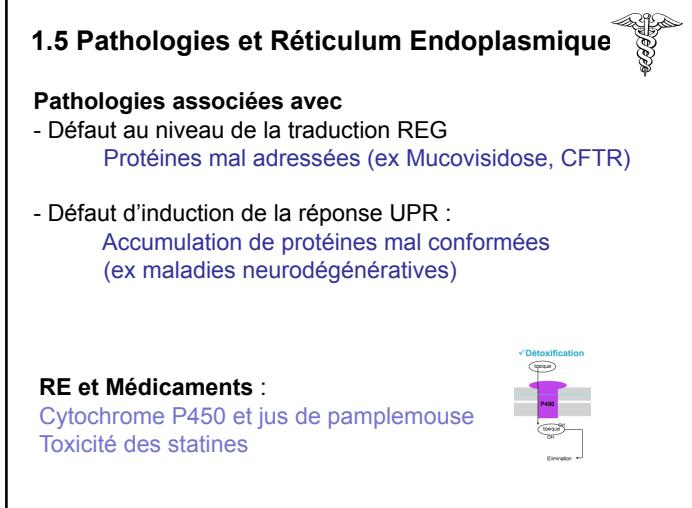
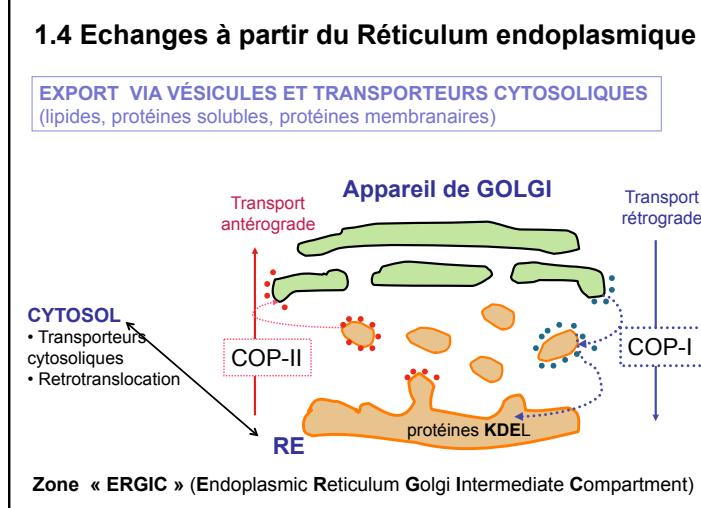
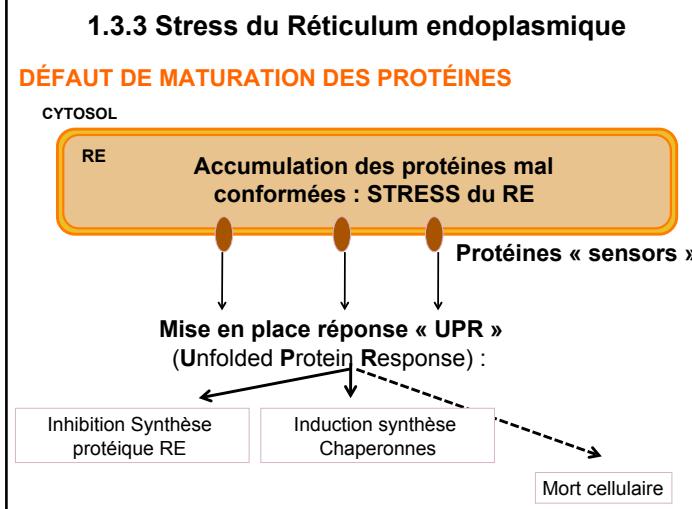
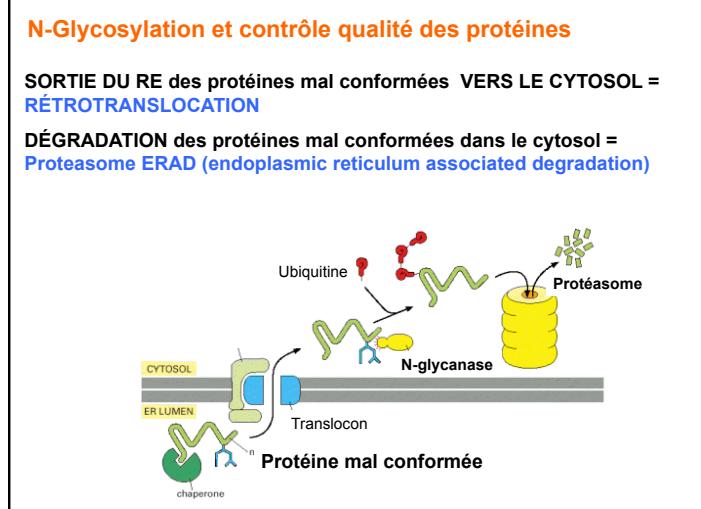
Signal : ouverture latérale

Cf cours B.séguí

# Système endomembranaire



# Système endomembranaire



## II. Description du système endomembranaire

### 2. Appareil de Golgi :

2.1 Généralités

2.2 Organisation

2.3 Appareil de Golgi et glycosylation des protéines

2.4 Appareil de Golgi et modification des lipides

2.5 Appareil de Golgi et autres modifications

2.6 Trafic intracellulaire à partir de l'appareil de Golgi

2.7 Pathologies associées à l'appareil de Golgi

### 2.1 Généralités Appareil de Golgi

#### Microscopie Optique

Appareil de Golgi

#### Microscopie Electronique

#### DESCRIPTION :

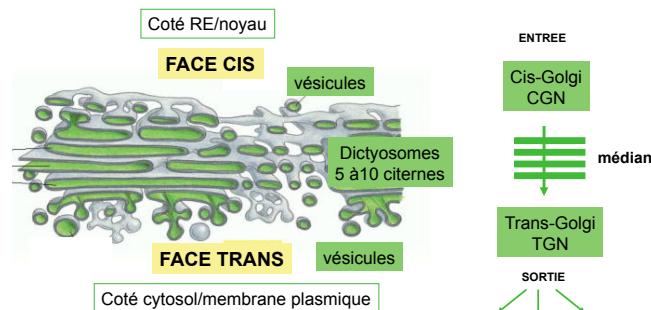
- Proximité du Noyau
- Position Péricentrosomale
- Empilement de sacs + vésicules (Microtubules + protéines matrice)
- Interphase
- Fragmentation en Mitose

#### FONCTIONS

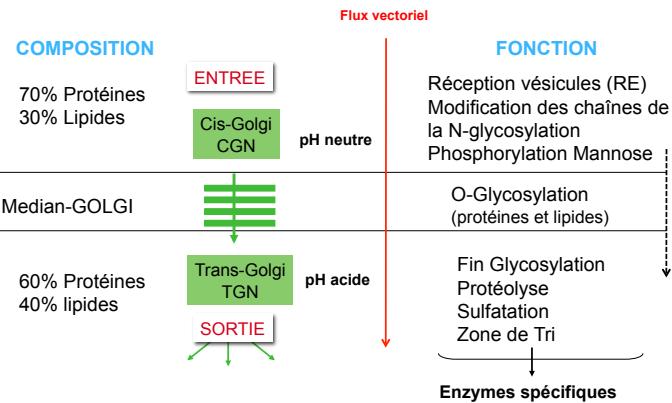
- Maturation des Protéines et des Lipides
- Tri et adressage des protéines

### 2.2 Organisation de l'Appareil de Golgi

#### Organisation polarisée (structural et fonctionnel)

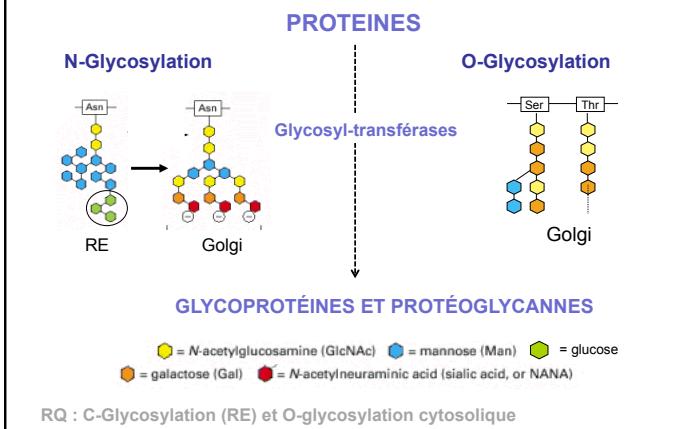


### Organisation fonctionnelle de l'Appareil de Golgi

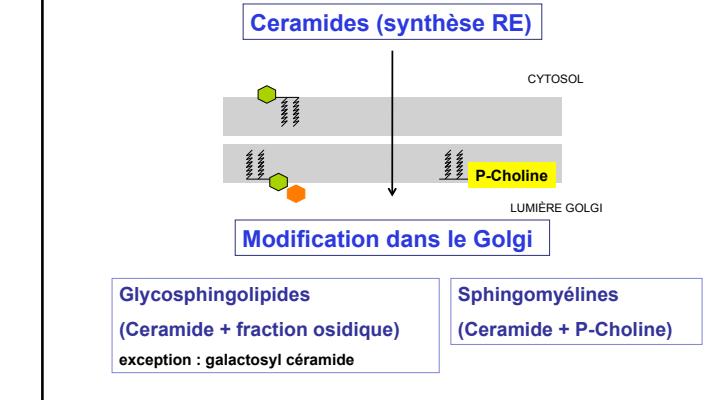


# Système endomembranaire

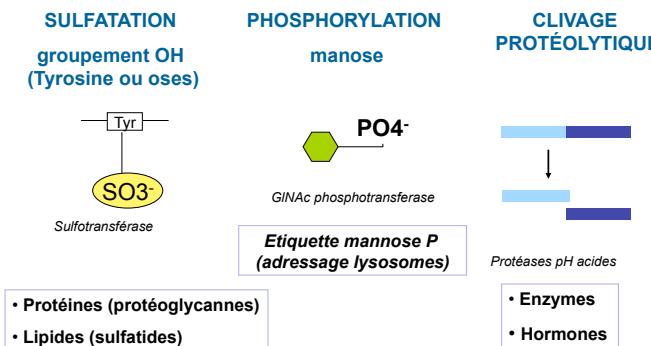
## 2.3 Appareil de Golgi et Glycosylation des protéines



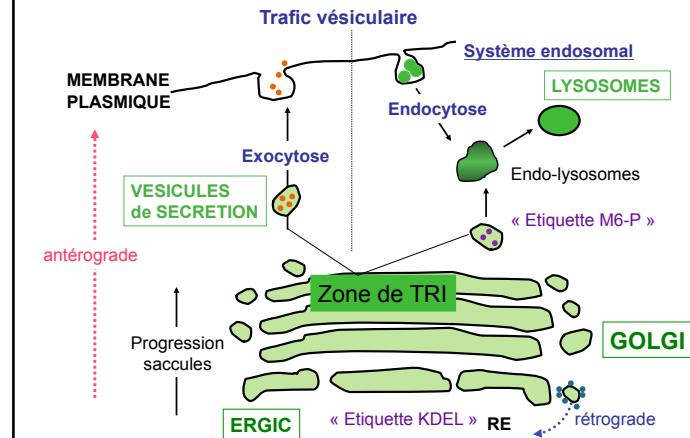
## 2.4 Appareil de Golgi et modification des lipides



## 2.5 Autres Modifications dans le Golgi



## 2.6 Trafic intracellulaire à partir de l'appareil de Golgi



## 2.7 Pathologies associées avec l'appareil de Golgi



### Pathologies associées :

Défaut au niveau de la glycosylation des protéines :

EX1 : Dystroglycanopathies (myopathie)

Défaut de Glycosylation du dystroglycane

18 gènes différents identifiés (défaut O-glycosylation)

EX2 : Ulcères par Infection Helicobacter pylori  
induit inhibition de l'UDP-galactosyltransferase golgienne  
Défaut de glycosylation des mucines gastriques

## II. Description du système endomembranaire

### 3. Compartiment Endosomal et Lysosomes

#### 3.1 Définition et description des endosomes

#### 3.2 Lysosomes composition et fonction

#### 3.3 Echanges du compartiment endosomal et lysosomes

#### 3.4 Pathologies associées aux lysosomes

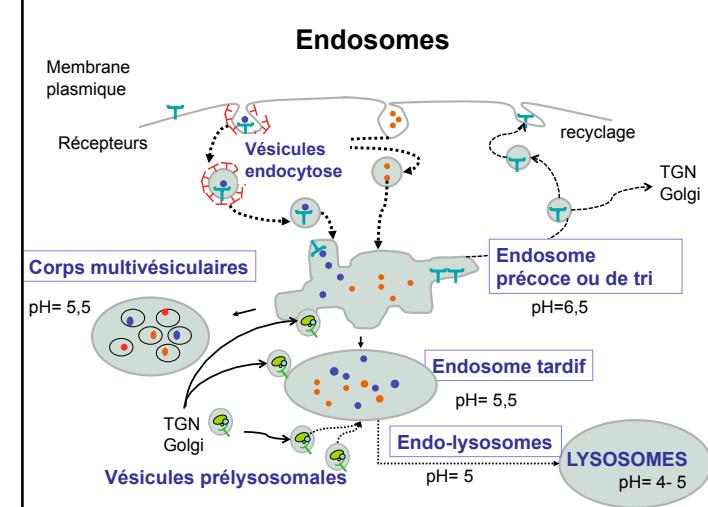
### 3.1 Définition et description endosomes

#### Endosomes :

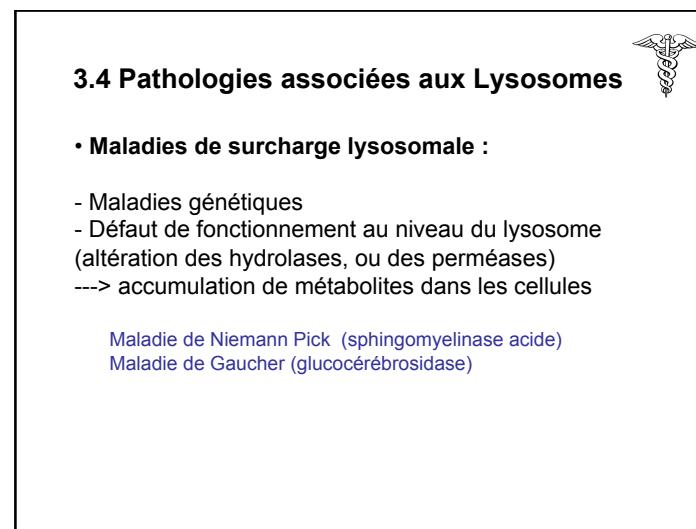
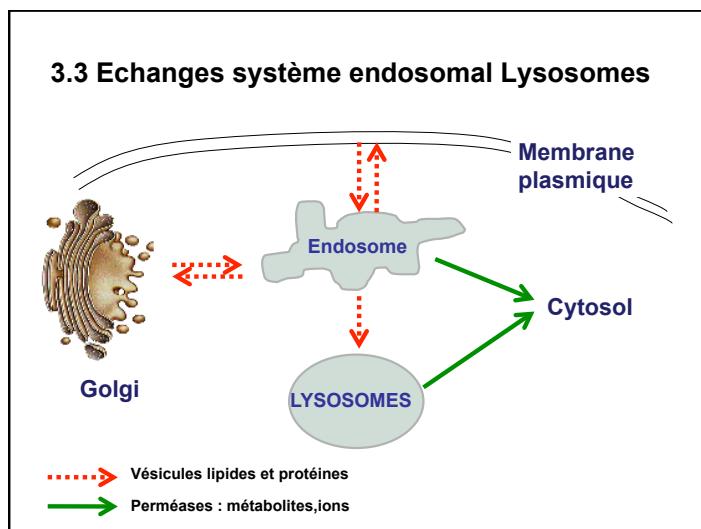
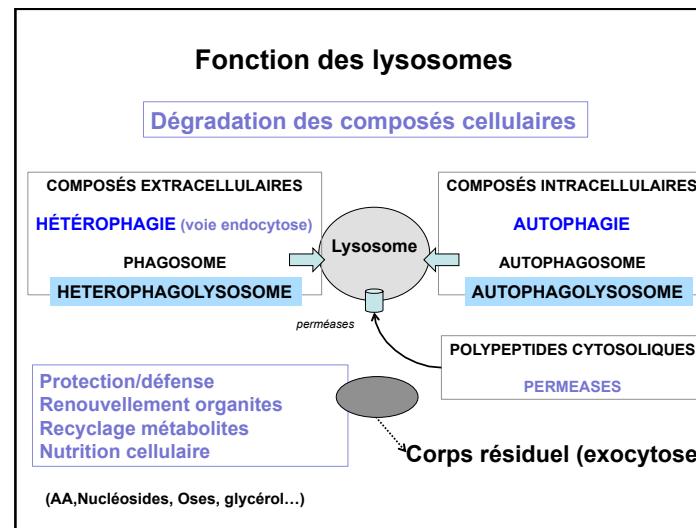
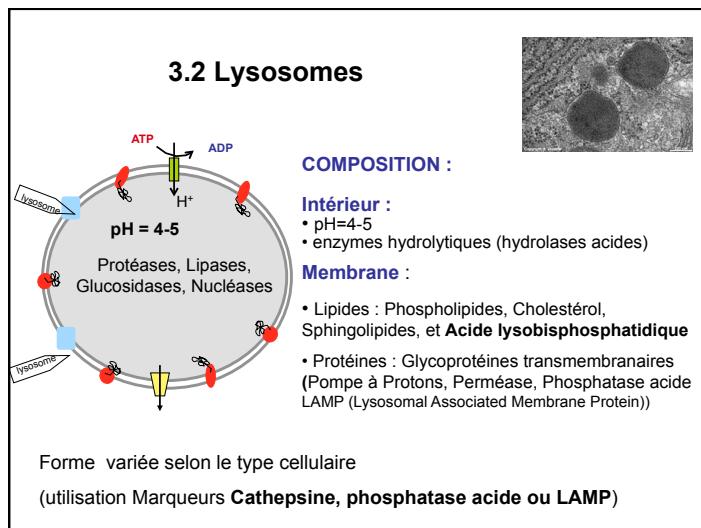
- Compartiments du système endo-membranaire alimentés par l'endocytose et le réseau Transgolgien
- Délimités par une simple membrane

ENDOSOMES PRÉCOSSES OU DE TRI  
ENDOSOMES TARDIFS  
ENDO-LYSOSOMES  
CORPS MULTIVÉSICULAIRES

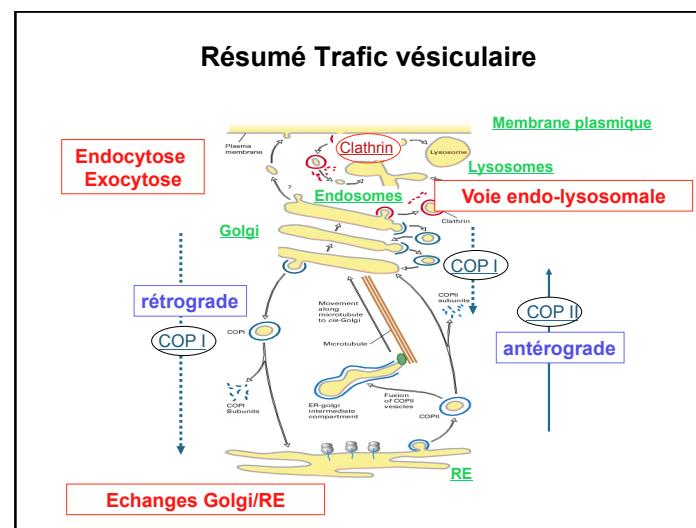
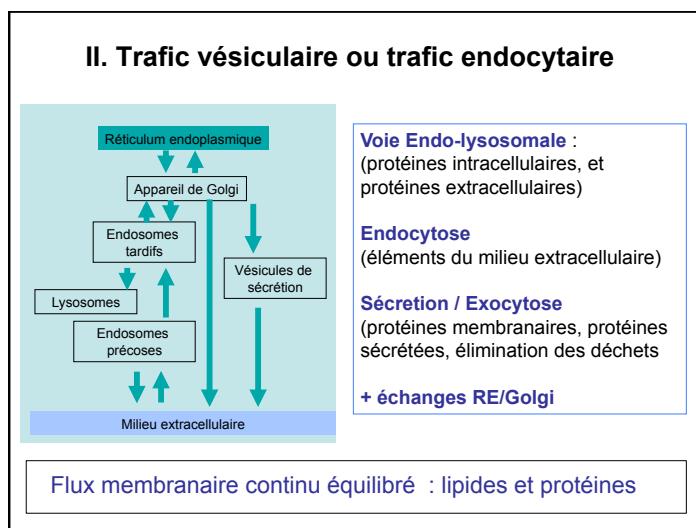
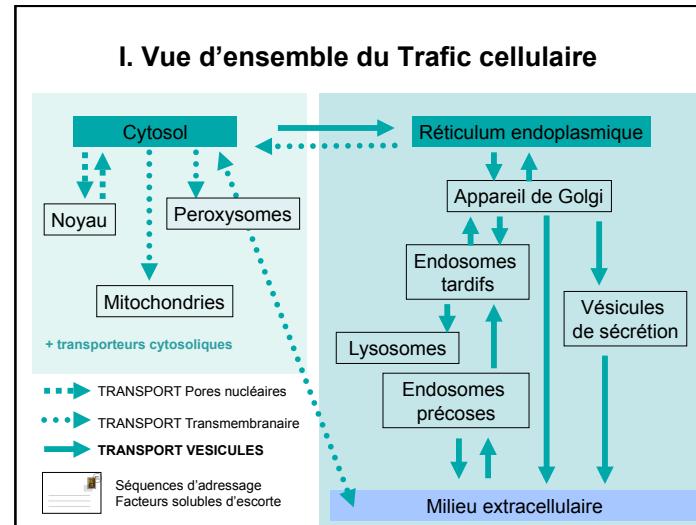
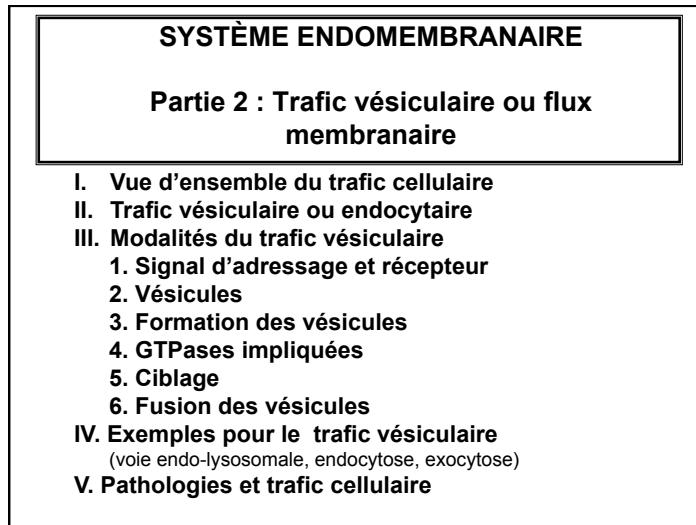
Définition fonctionnelle et structurale



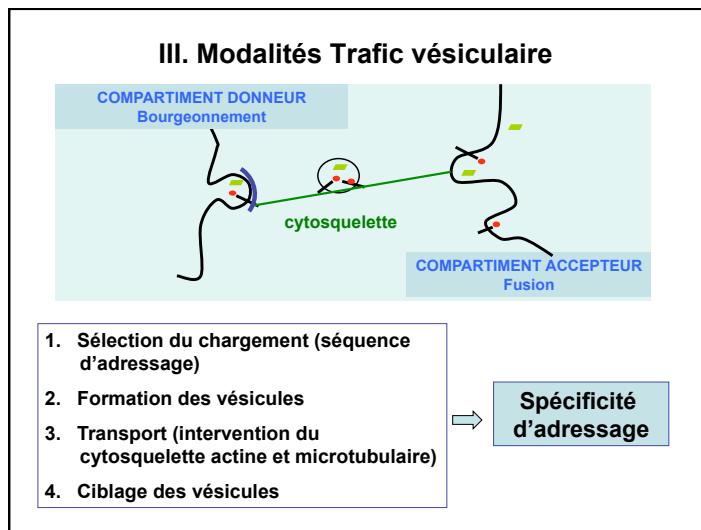
# Système endomembranaire



# Système endomembranaire



## Système endomembranaire

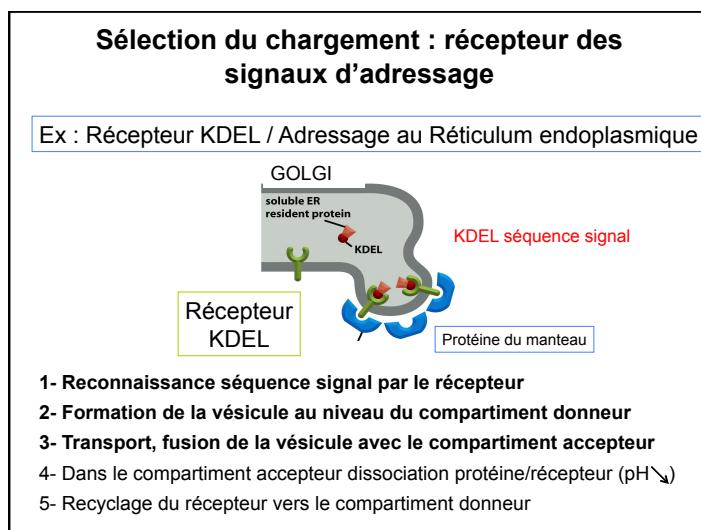


### 1. Sélection du chargement : signal d'adressage

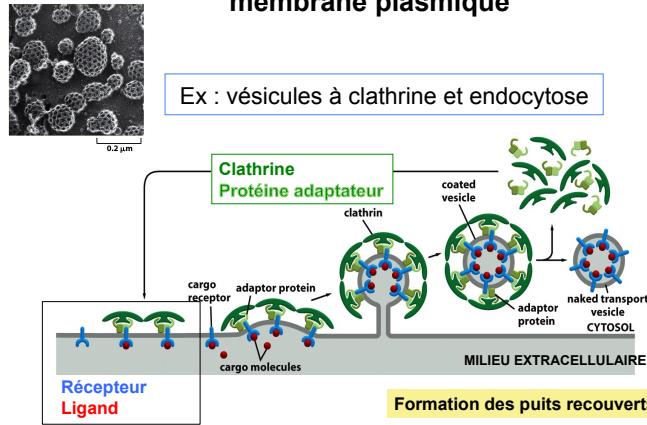


Signal d'adressage	Message ou Indication de localisation
KDEL	Protéine résidente du RE
Manose-6P	Protéine à adresser dans les lysosomes
Motif diacide EXE ; DXD	Protéines transmembranaires de la membrane plasmique

Séquences reconnues par des récepteurs : Ciblage



### Sélection du chargement : récepteur de la membrane plasmique



## Système endomembranaire

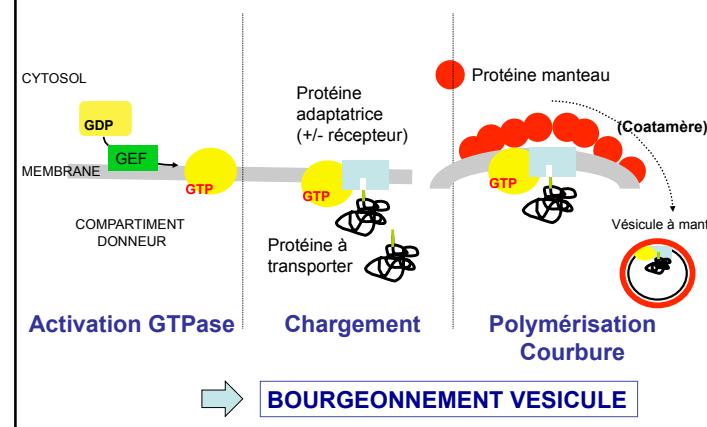
## 2. Les vésicules

Vésicules sphériques de 60 à 80nm  
Vésicules recouvertes ou « à manteau » + protéines adaptatrices  
Vésicules nues (riches en microdomaines lipidiques)

Type de vésicule (Coatamères ou protéines du manteau)	GTPases	Etape du transport
COP II	Sar-1	REG vers cis-Golgi (transport antérograde)
COP I	ARF	Cis-Golgi vers RE Trans-Golgi Cis-Golgi (transport rétrograde)
Clathrine	ARF	Trans-Golgi vers endosomes Golgi vers lysosomes Membrane plasmique vers endosomes



### **3. Formation des vésicules**

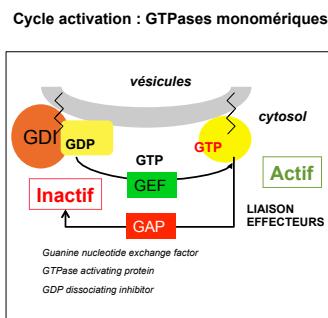
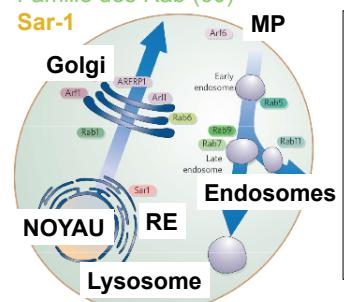


#### **4. Les petites GTPases monomériques impliquées dans le trafic vésiculaire**

## Famille des Arf (5)

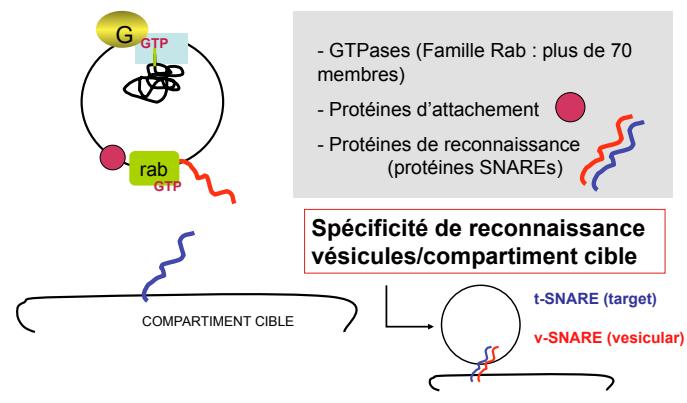
## Famille des Rab (60)

Sar-1

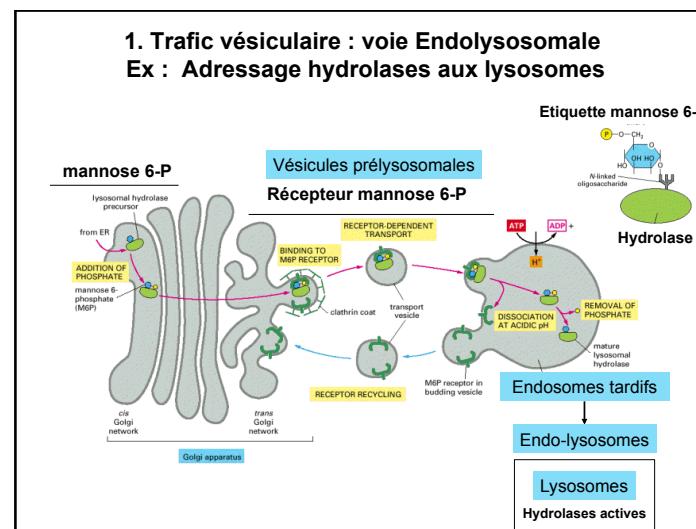
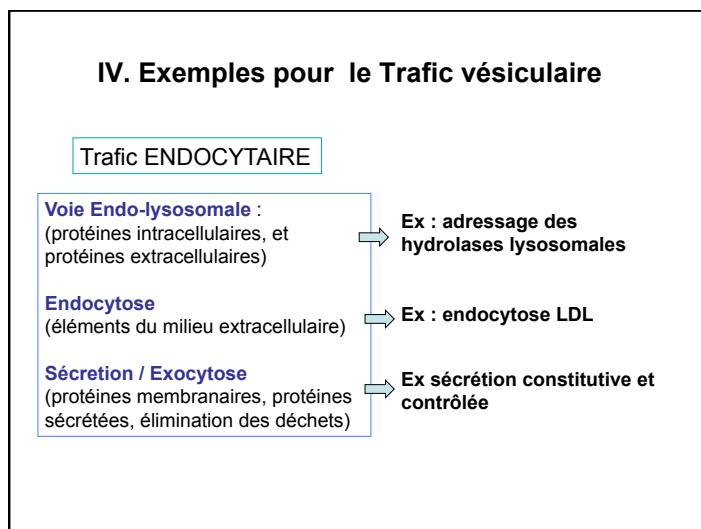
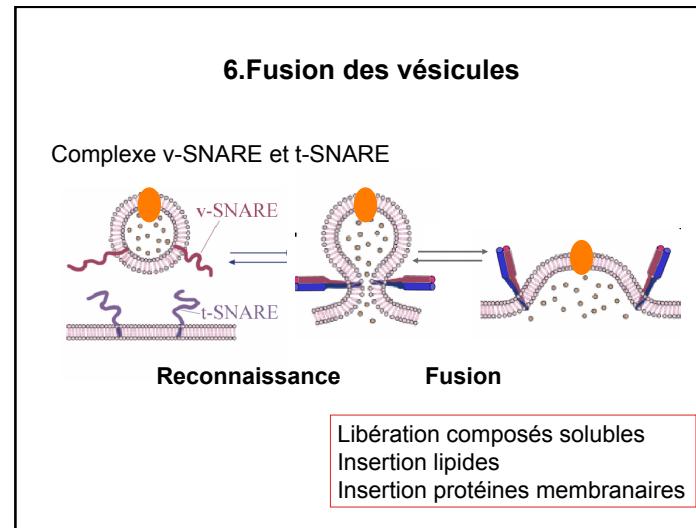
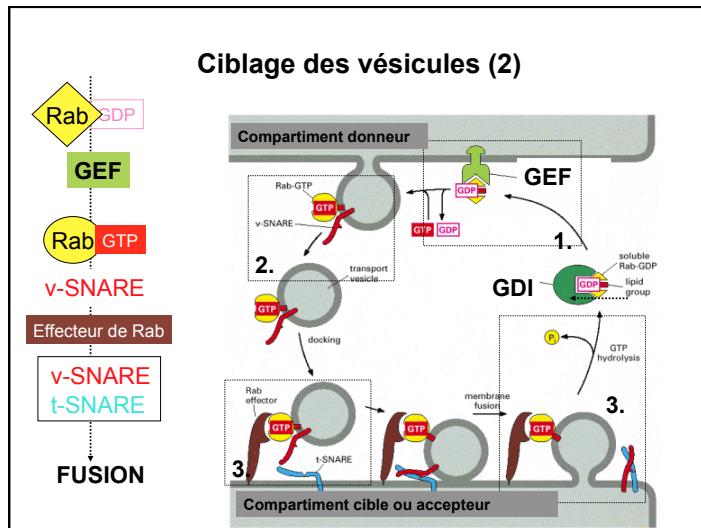


### Activation/inactivation en fonction de la localisation des protéines régulatrices

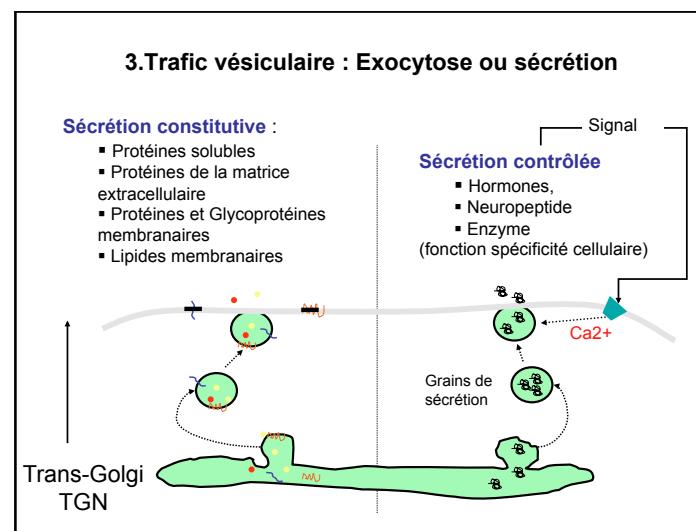
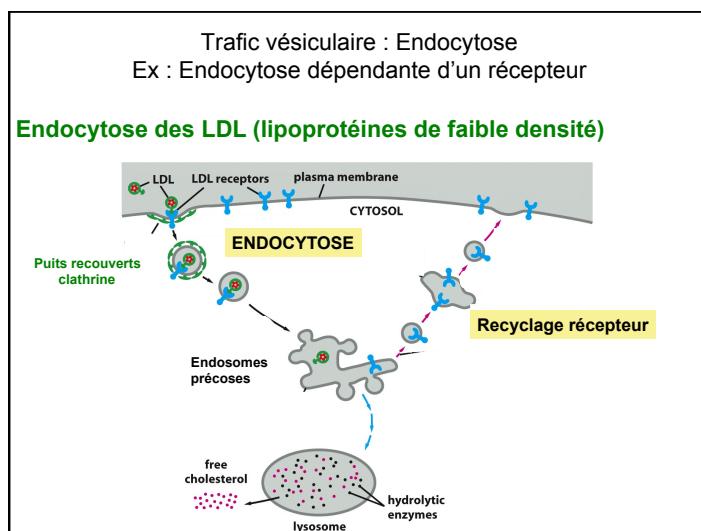
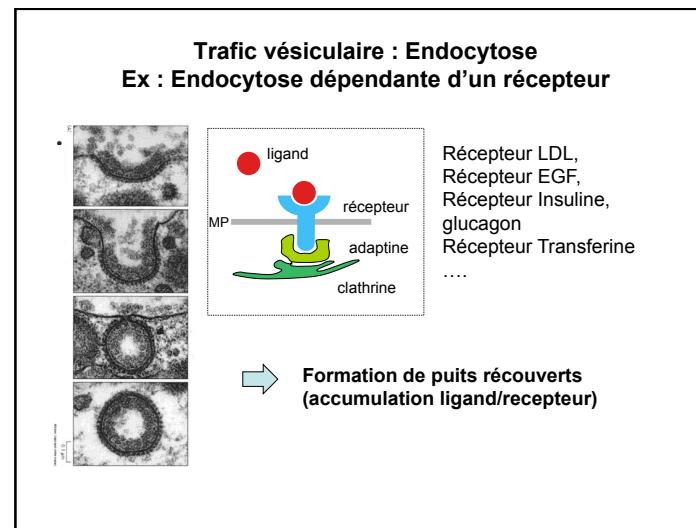
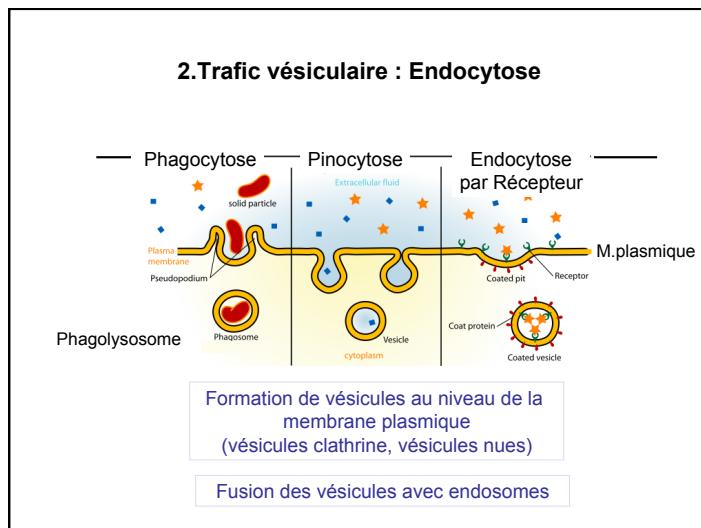
## **5. Ciblage des vésicules vers le compartiment cible**



## Système endomembranaire



# Système endomembranaire



### V. Pathologies et trafic cellulaire



#### - Pathologies liées au défaut d'adressage des protéines

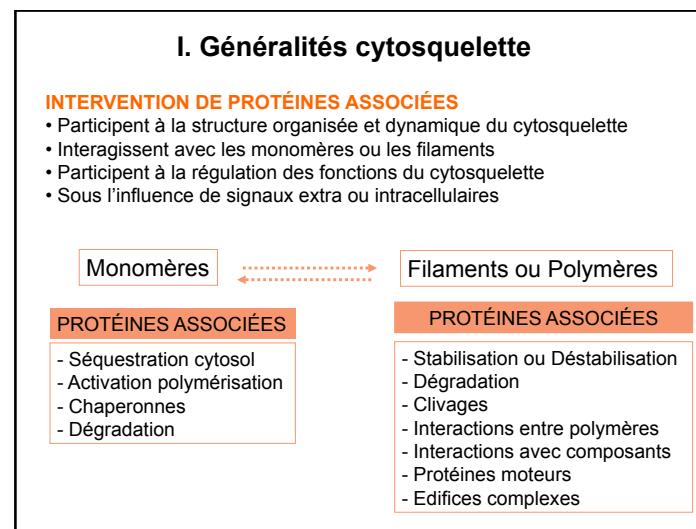
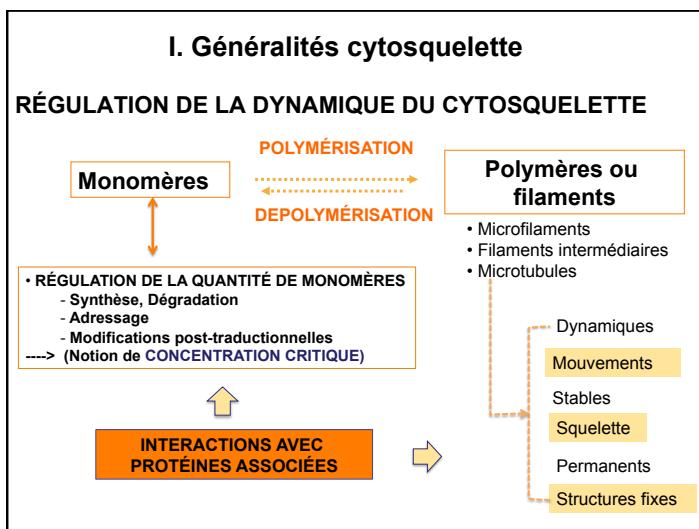
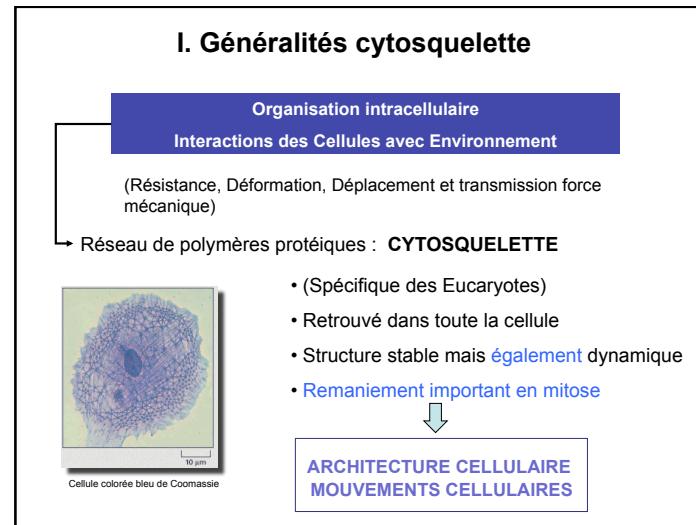
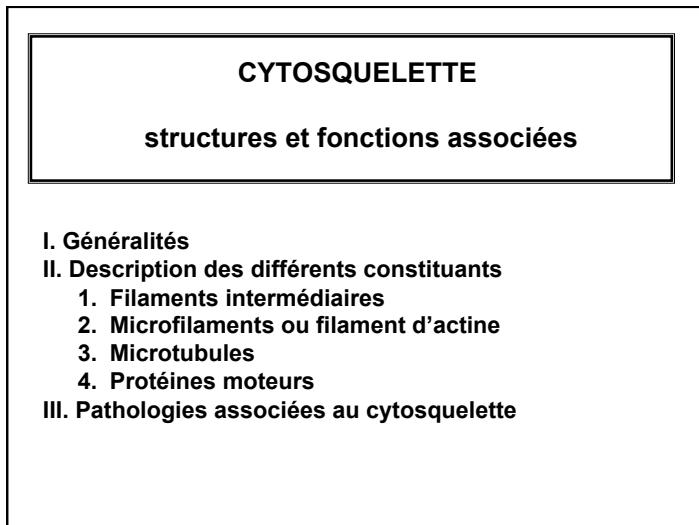
EX : canal chlore (CFTR) Mucovisidose  
mutation F508

#### - Pathologies liées au détournement des mécanismes de transport du trafic vésiculaire :

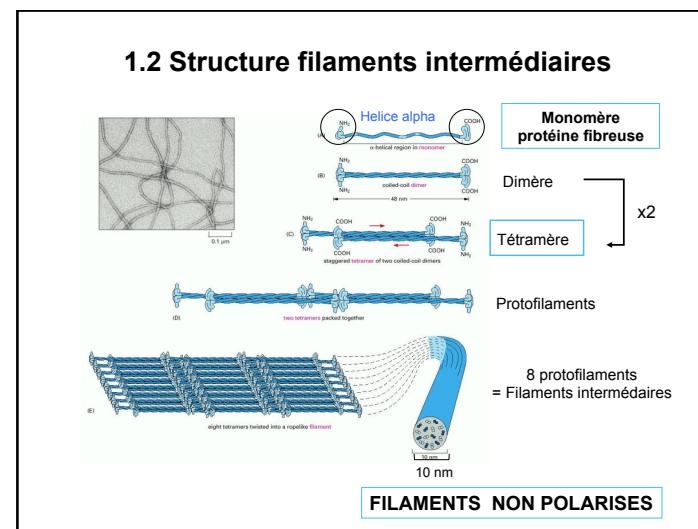
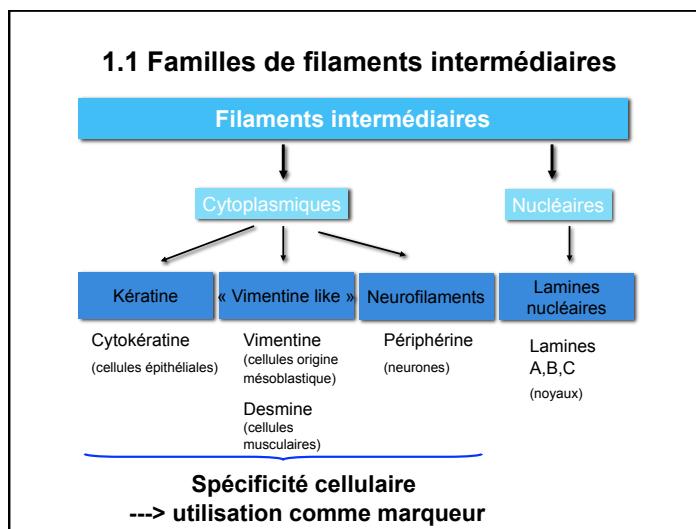
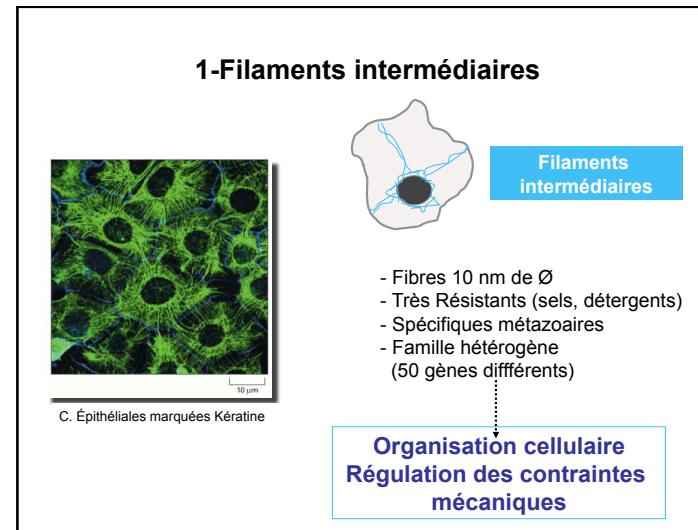
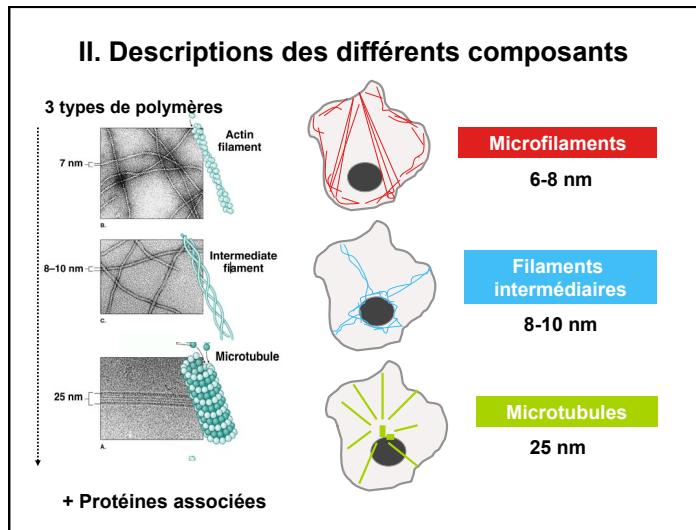
EX : Endocytose agents pathogènes  
(toxine bactérienne du bacille du tétanos)  
(virus type Ebola)

EX : Endocytose de particules non biologiques (silice,  
amiante)

# Cytosquelette



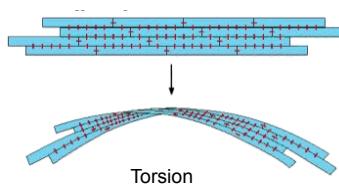
# Cytosquelette



# Cytosquelette

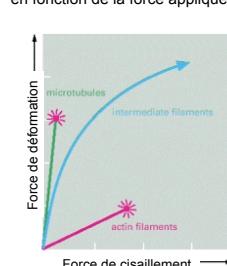
## 1.3 Résistance des filaments intermédiaires

Assemblage protéines fibreuses



Recouvrement des sous unités  
Interactions hydrophobes

Analyse de la déformation en fonction de la force appliquée



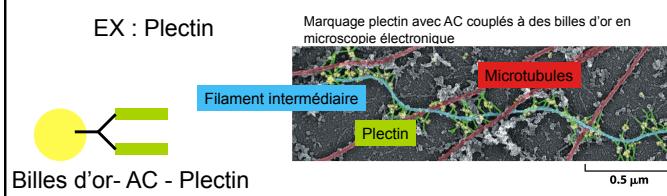
→ Forte résistance mécanique et chimique

## 1.5 Protéines associées aux filaments intermédiaires

IFAP = « Intermediate Filament Associated Protein »

- Formation des réseaux et faisceaux de filaments intermédiaires
- Interactions avec microfilaments et microtubules
- Interactions avec autres structures cellulaires
- Dégénération des filaments intermédiaires
- Pas de protéines moteurs associées aux filaments intermédiaires

EX : Plectin



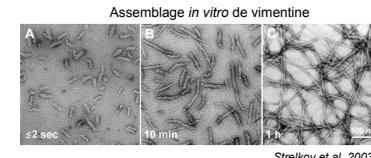
## 1.4 Assemblage des Filaments intermédiaires

Réseau dynamique

Addition des sous-unités aux extrémités et dans le filament

In vitro

Auto-Assemblage



Strelkov et al. 2003

In vivo

Mécanismes d'assemblage/désassemblage mal connus

Cycle P/déPhosphorylation ?

Mécanisme de nucléation inconnu

Pas de poisons ciblant l'assemblage des filaments intermédiaires

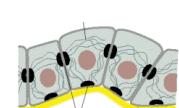
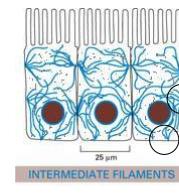
## 1.6 Organisation cellulaire des Filaments intermédiaires

Réseau nucléaire : lamina nucléaire

- enveloppe nucléaire
- nucléoplasme

Réseau cytoplasmique :

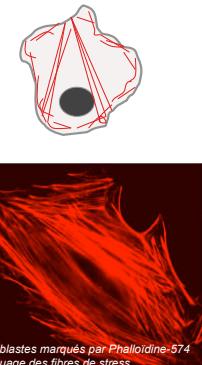
- entourant le noyau
- ancré dans la membrane
- stabilisation avec autres composés cellulaires



Organisation de la cellule et tissus  
Résistance aux forces de traction

# Cytosquelette

## 2-Microfilaments ou Filaments d'actine



**Microfilaments**

Filaments d'actine ou Actine F

- Ø 6-8 nm
- Rigides
- Résistance à la tension

- Organisation cellulaire  
- Contraction cellulaire  
- Mouvements cellulaires

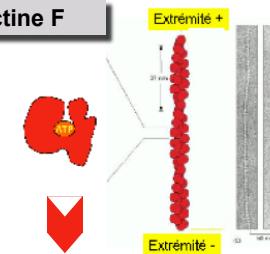
Fibroblastes marqués par Phalloïdine 574  
Marquage des fibres de stress

## 2.1 Structure Microfilaments

### Actine G ----> Actine F

**Actine G**

- Protéine globulaire (43kDa)
- Très conservée
- 3 classes ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )
- 5% des protéines cellulaires
- 2 domaines
- site de liaison à l' ATP



Extrémité +  
Extrémité -

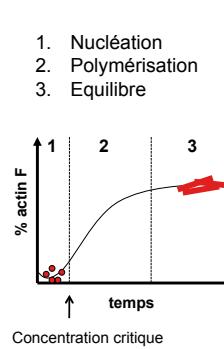
**Actine F**  
Structure hélicoïdale de Ø 6-8 nm  
Filament polarisé

Pointue « pointed » ← Brosse « barded »

## 2.2 Polymérisation des filaments d'actine

**In vitro** (Actine purifiée, Mg<sup>2+</sup>, ATP, 37°C)

1. Nucléation
2. Polymérisation
3. Equilibre



Extrémité -      Extrémité +

Déplacement des sous-unités dans le filament « tapis roulant ou Treadmilling »  
Coiffe ATP (assemblage ATP)

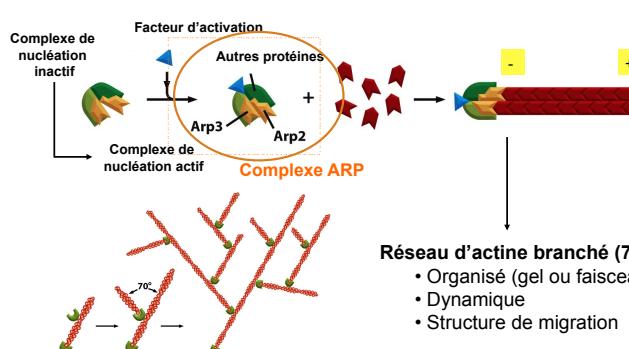
% actin F

Concentration critique

temps

## 2.2 Polymérisation des filaments d'actine

**In vivo** Complexes de Nucléation complexe ARP (Actin-Related-Protein)



Complexe de nucléation inactif → Complexe de nucléation actif → Complexe ARP

Facteur d'activation, Autres protéines, Arp3, Arp2

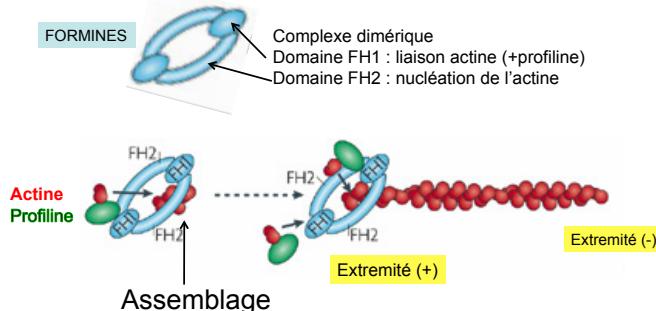
Réseau d'actine branché (70°)

- Organisé (gel ou faisceau)
- Dynamique
- Structure de migration

# Cytosquelette

## 2.2 Polymérisation des filaments d'actine

*In vivo* Protéines de nucléation : FORMINES (réseaux non réticulés) :



## 2.3 Régulation polymérisation actine

DYNAMIQUE du réseau d'actine

Régulation par signaux extracellulaires

(intervention GTPases monomériques famille Rho)

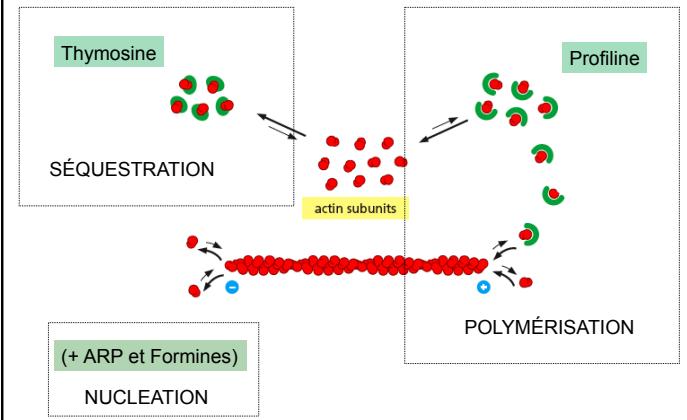
- Concentration Actine libre (Notion de concentration critique)
- Stabilité des Microfilaments  
---> Interaction avec protéines associées

**FAMILLE DES « ABP » = ACTIN BINDING PROTEIN**

Drogues spécifiques Actine

- Inhibiteur polymérisation : Cytochalasine,
- Liaison actine libre : Latrunculine
- Stabilisation : Phalloïdine

## 2.4 Famille des ABP : protéines se liant à l'actine G



## 2.4 Famille des ABP : protéines se liant à l'actine F

### DÉPOLYMERISATION

Facteur déstabilisant

Cofiline

Fragmentation

Gelsoline

### STABILISATION

Tropomyosine

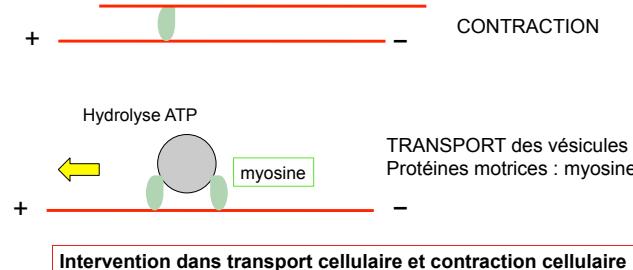
Protéines de coiffe : CapZ

# Cytosquelette

## 2.4 Famille des ABP : protéines se liant à l'actine F

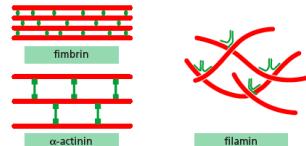
### PROTÉINES MOTEURS

#### Famille des Myosines



## 2.4 Famille des ABP : protéines se liant à l'actine F

### • ABP permettant la formation de réseau et de faisceau

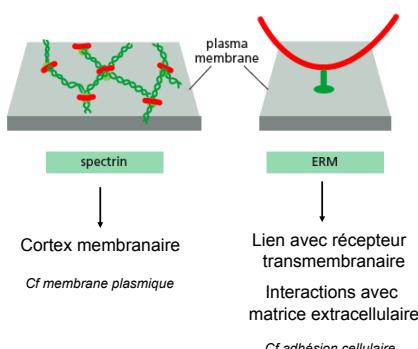


Faisceau protéines de fasciculation      Réseau protéines de réticulation

Structure	Protéines associées
Fibres de stress	α-actinine
Filopodes Lamellipodes Pseudopodes...	Filamine

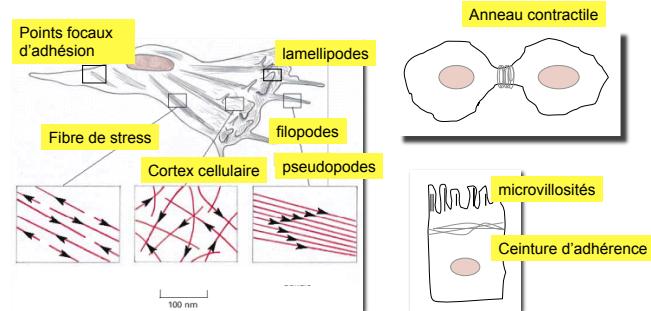
## 2.4 Famille des ABP : protéines se liant à l'actine F

### • ABP permettant association avec la membrane plasmique



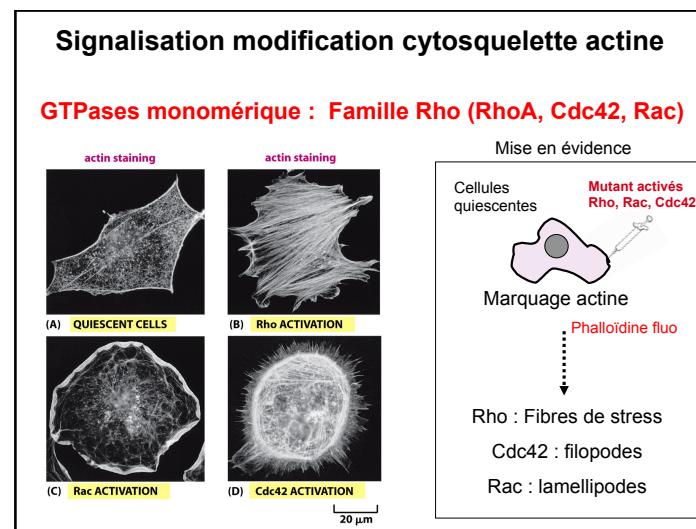
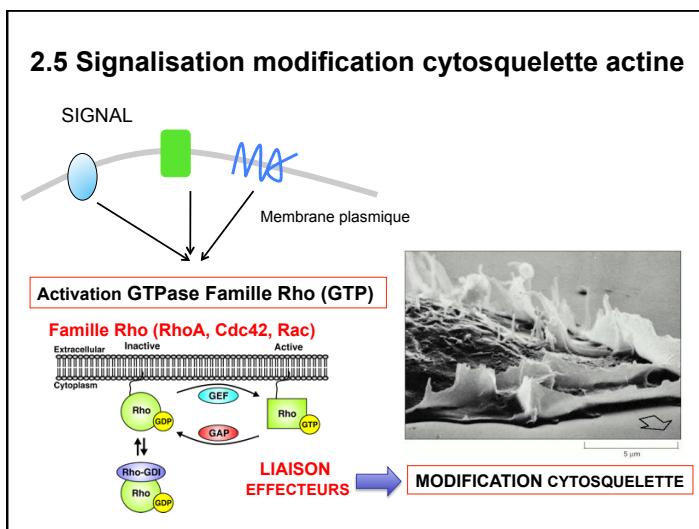
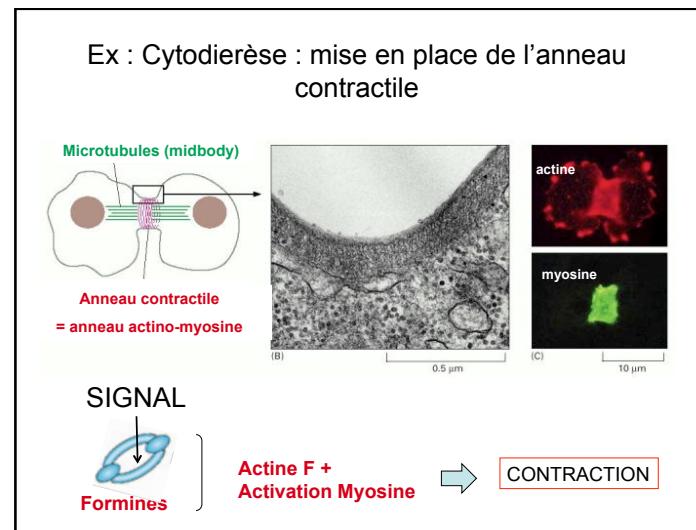
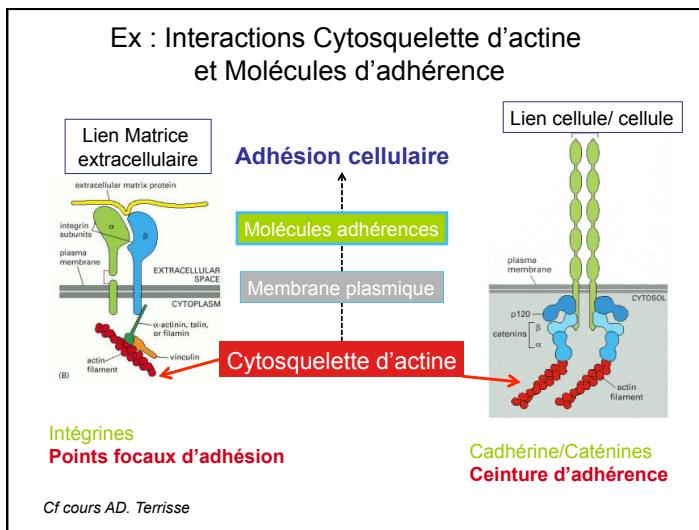
## 2.5 Structures associées aux microfilaments dans la cellule

### Filaments actine + protéines associées

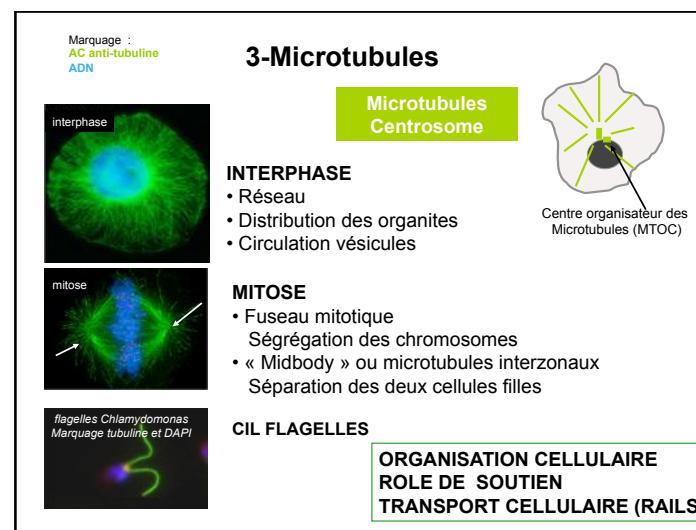
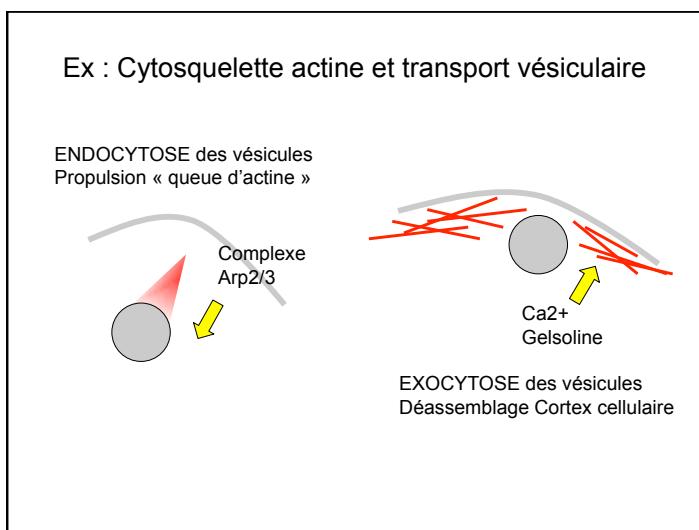
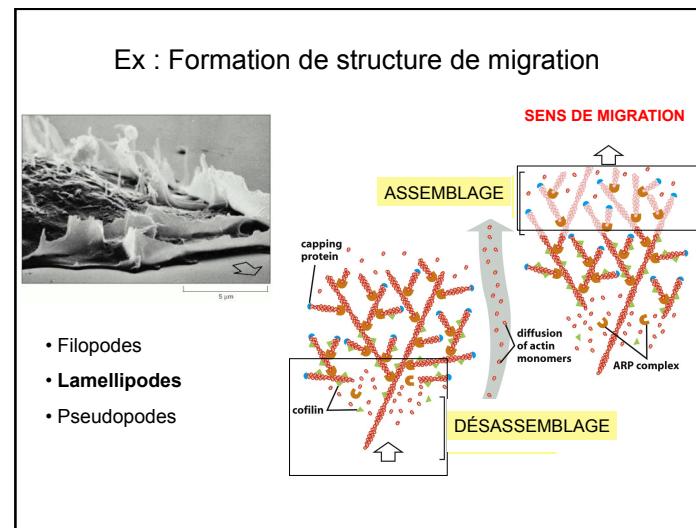
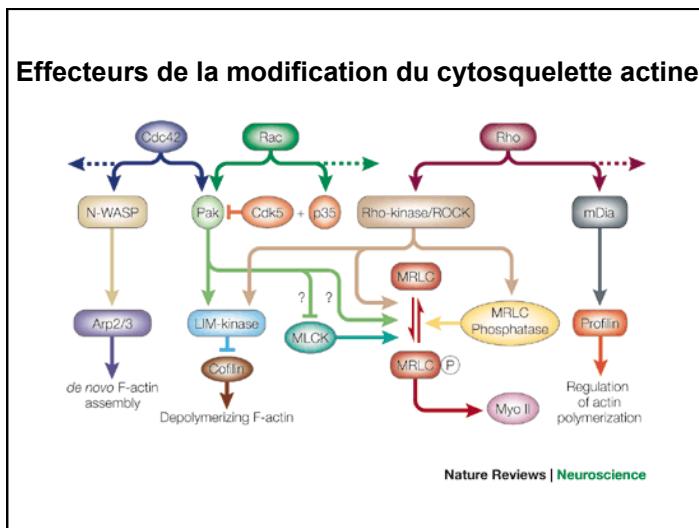


+ organisation fibres musculaire (cf cours histologie)

## Cytosquelette



## Cytosquelette



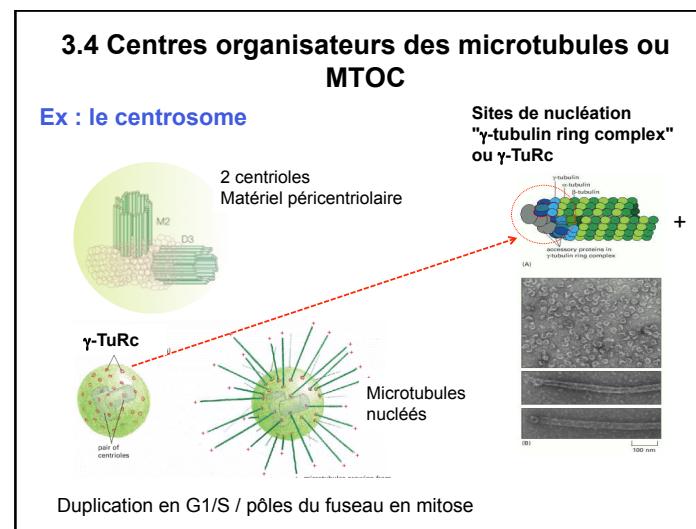
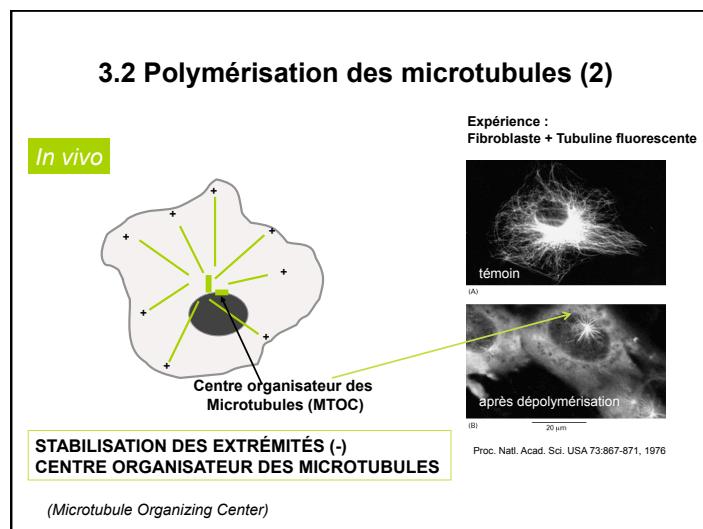
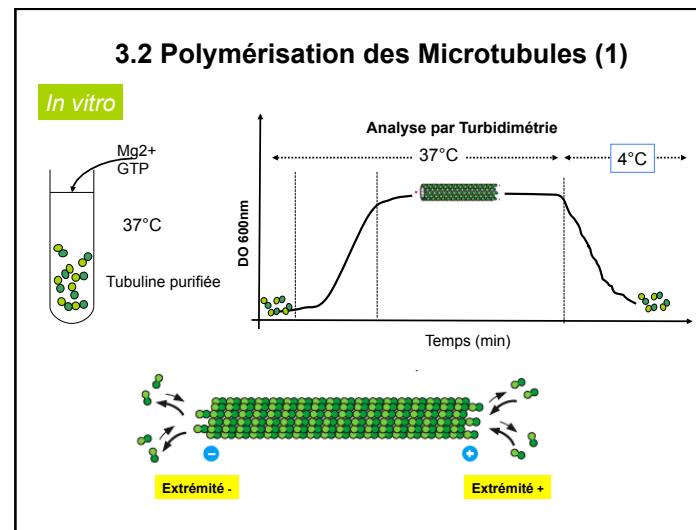
# Cytosquelette

### 3.1 Structure des Microtubules

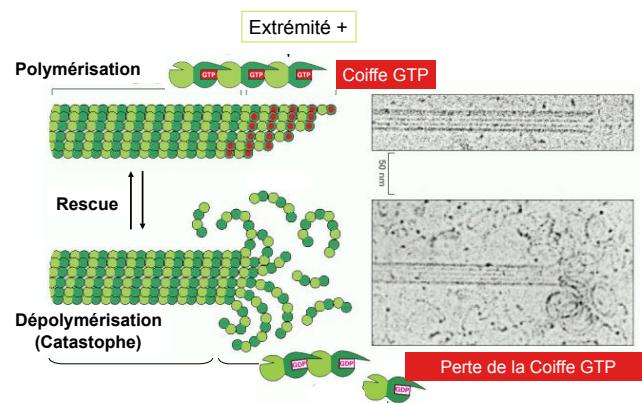
**Hétérodimères tubulines ----> Microtubules**

**Hétérodimères Tubuline**

- Tubuline  $\alpha$  et Tubuline  $\beta$
- (2x 52 kDa)
- Protéine globulaire
- Liaison au GTP
- Plusieurs gènes
- Modifications post-traductionnelles



## 3.5 Instabilité dynamique des microtubules *in vivo*



## 3.6 Régulation de la dynamique des microtubules

### INSTABILITE DYNAMIQUE des MTs

Variation la dynamique des MTs

*Ex : Interphase long et stable, Mitose court et très dynamique*

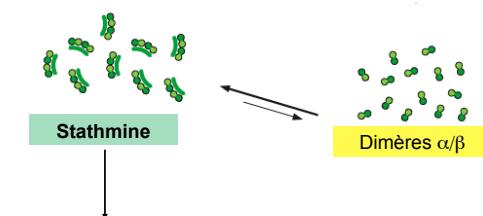
Concentration tubuline (Notion de concentration critique)

- Quantité de tubuline libre
  - Régulation de la synthèse des tubulines
- Stabilité des Microtubules
- Modifications post-transcriptionnelles des tubulines
  - Association avec des protéines (MAPs)

### Drogues Microtubules « Poisons du fuseau »

- Inhibiteur polymérisation : Colchicine, Vinblastine
- Stabilisation des Microtubules : Taxol

## 3.7 Protéines associées avec les hétérodimères de tubuline libre



Séquestration tubuline libre : [tubuline libre] < C<sub>critique</sub>  
Pas de polymérisation de Microtubules

Dépolymérisation

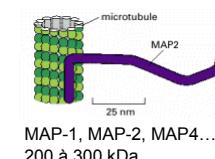
Régulation par Phosphorylation

## 3.8 Protéines associées aux microtubules

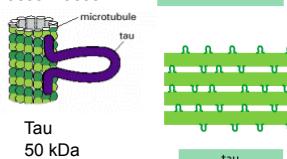
MAPs = Microtubules Associated Proteins

### PROTEINES STABILISATRICES

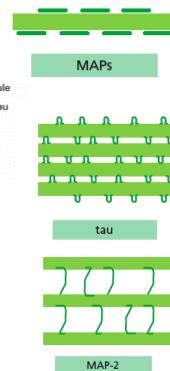
Haute masse moléculaire

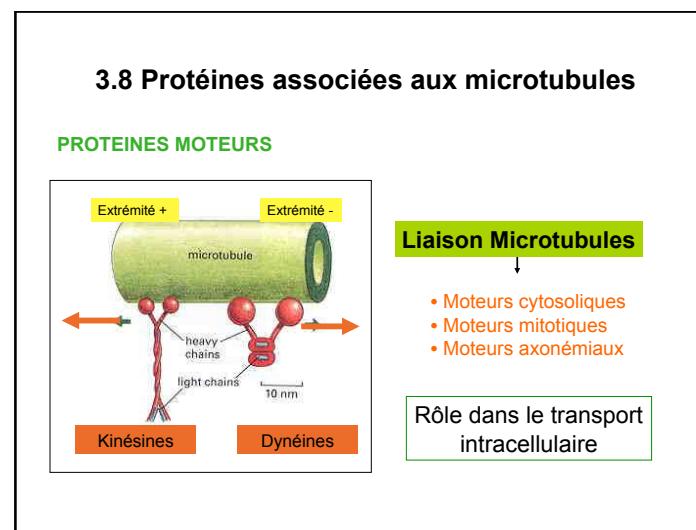
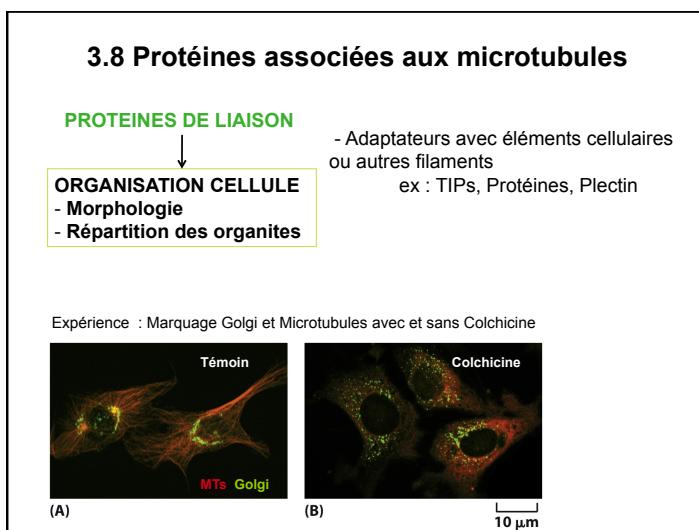
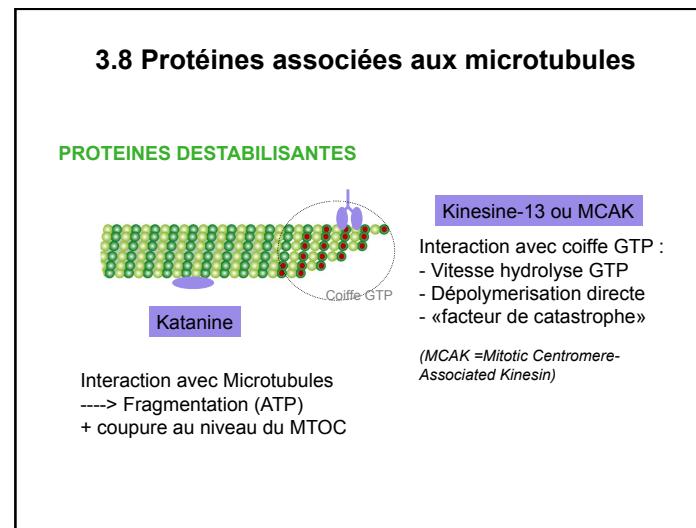
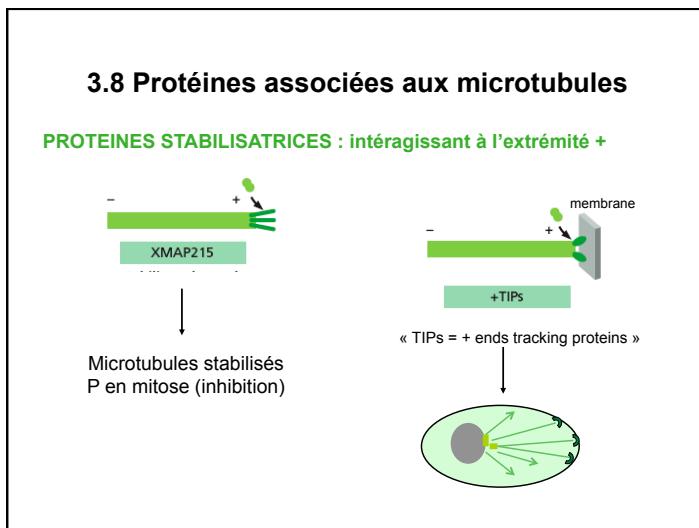


Basse masse m.

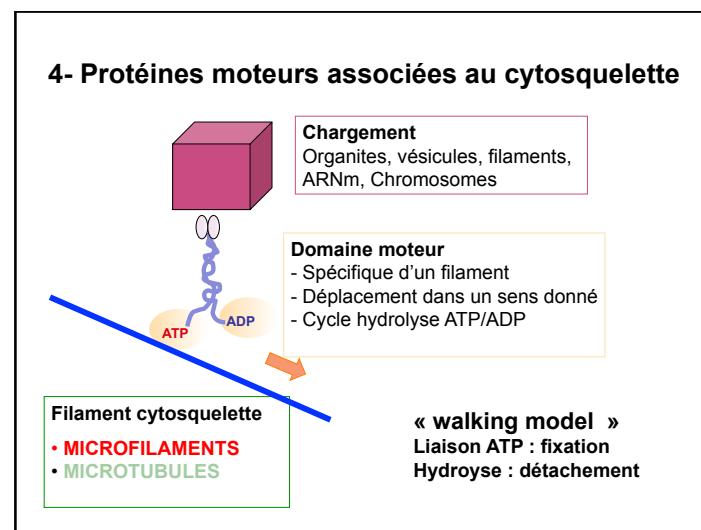
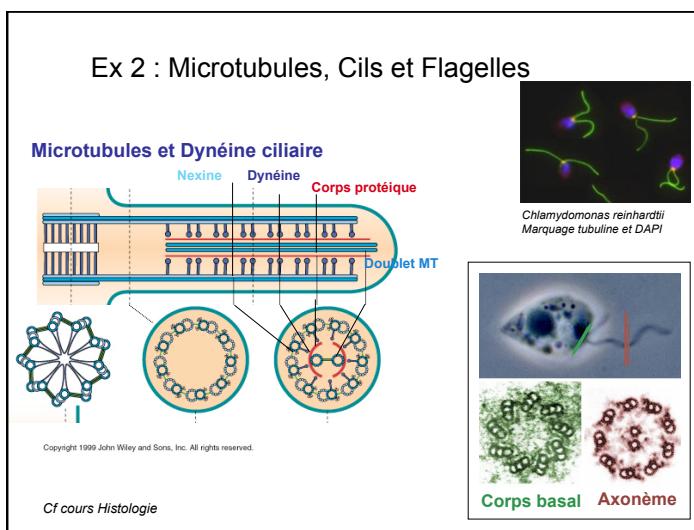
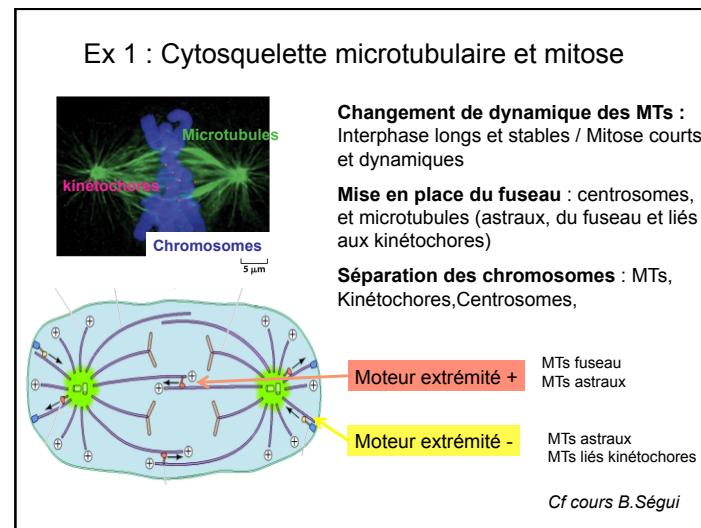
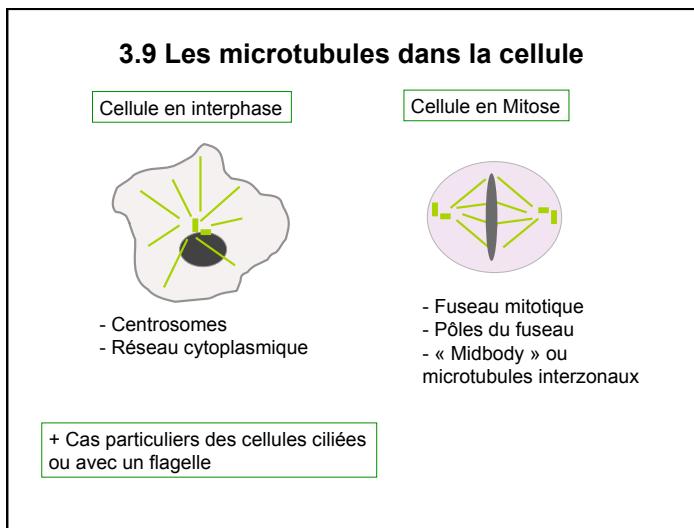


- Copurifient avec les microtubules
- Régulation par Phosphorylation
- Impliquées dans la formation de réseau





# Cytosquelette



# Cytosquelette

**Protéines Moteurs associées au Cytosquelette**

Spécificité (filament et cargaison)

- Déplacement le long des filaments polarisés (microtubules, microfilaments)
- Déplacement de vésicules, organites, molécules ou complexes
- Organisation du cytosol

**4.1 Familles des Myosines**

**Liaison à l'actine** Déplacement vers extrémité + (except VI)

Type	Activité
Myosine I	Liaison membrane Vésicules endocytose
Myosine II (cellules musculaire)	Glissement de filament Contraction
Myosine V	Transport de vésicules
Myosine VI	Endocytose
Myosine XI	Courant cytoplasmique
XIV	

Intervention dans transport cellulaire et contraction cellulaire

**4.2 Famille des Kinésines et Dynéines**

**Liaison Microtubules**

Kinésines      Dynéines  
2 classes  
10 sous groupes

Intervention dans transport intracellulaire

EX : Transport rétrograde (dynéine)

**4.3 Modèle d'étude des protéines moteurs : Test de mobilité *in vitro***

Filament Actine fluorescente  
Myosine purifiée fixée sur la lamelle  
+ ATP

Filament Actine  
Billes recouvertes de Myosine  
+ATP

Analyse en microscopie vidéo : (sens, pas réalisé et détermination de la vitesse)

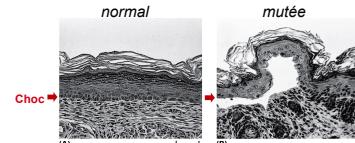
# Cytosquelette

## III. Pathologies associées au Cytosquelette



Ex1 : Pathologies associées aux **filaments intermédiaires** :  
Maladies de l'épiderme

Ex : mutation kératine  
(coupe épiderme souris  
transgénique)



Ex2 : Pathologie associée au **cytosquelette microtubulaire** :  
Maladie d'Alzheimer : Accumulation de protéines Tau hyperphosphorylée

Ex3 : Pathologie associée au **cytosquelette d'actine**  
Syndrome de Griscelli de type 1 : Mutation d'une myosine (défaut de transport des mélanosomes)

# Etudes fonctionnelles de la cellule

UE 2 Biologie cellulaire  
Compléments de techniques

### 1. Reconstitutions cellulaires

- Fractions purifiées  
- Utilisation de support  
- Vésicules lipidiques.... → **Système *in vitro***  
« cell-free system »

EXEMPLE : Polymérisation des microtubules sur le centrosome

Centrosomes purifiés  
Tubuline purifiée  
+ MgCl<sub>2</sub> + GTP, 37°C

Formation d'aster de microtubules

Utilisé pour mettre en évidence rôle tubuline gamma

**Etude fonctionnelle de la cellule**

- Etudier les fonctions associées aux compartiments
- Etudier la cellule entière

**Stratégies**

- 1. Reconstitutions cellulaires :**  
Système *in vitro*  
(mélange de différents composés cellulaires purifiés)
- 2. Modification le contenu cellulaire**  
Traitement pharmacologiques (inhibiteurs chimiques, toxines)  
Apport exogène ADN, ARN, Protéines

### 2. Modification du contenu cellulaire :

**2.1 Traitement Pharmacologiques** : Utilisation d'inhibiteurs chimiques et toxines (banques d'inhibiteurs)

EX : **Colchicine**  
(poison des Microtubules)  
---> implication du cytosquelette

Non traité

Cochicine

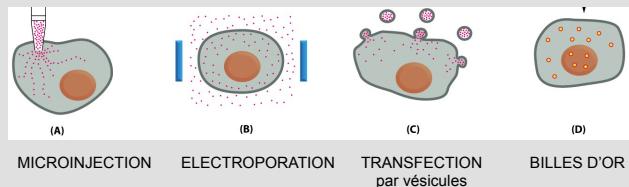
Images TP bio cell L2

## Etudes fonctionnelles de la cellule

### 2.2 Apport exogène ADN, ARN, Protéines

**TRANSFECTION** : Apport exogène d'ADN, ARN dans la cellule

Méthodes d'entrée dans la cellule



**TRANSDUCTION**: Apport exogène d'ADN, ARN dans la cellule par utilisation virus

**APPORT EXOGENE de PROTEINES** : Protéines, anticorps

### MODIFICATION DE LA QUANTITE OU DE LA QUALITE D'UNE PROTEINE

#### AUGMENTATION

- Surexpression protéine : utilisation d'un vecteur d'expression
- Microinjection d'une protéine purifiée

#### DIMINUTION

- Inhibition de l'expression : ARN interférent, Oligonucléotides antisens

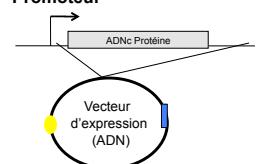
#### MODIFICATION ACTIVITE

- Microinjection d'un anticorps bloquant
- Surexpression protéine mutée

Analyse des conséquences de la modification au niveau cellulaire

#### Exemple : Utilisation de vecteur d'expression

**VECTEUR D'EXPRESSION**  
Promoteur



**TRANSFECTION dans la cellule**

**EXPRESSION de la protéine dans la cellule**

Localisation de la protéine  
Fonction de la protéine  
Conséquence cellulaire

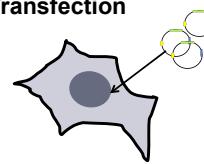
Option Etiquette :  
• Protéine fluorescence  
• Séquence reconnue par un AC

#### Exemple : Utilisation de vecteur d'expression

GFP ou Green Fluorescence Protein

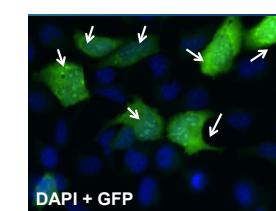
Seq étiquette ADNc Protéine

#### Transfection



Expression cassette d'expression

Analyse de la fluorescence (Microscopie, Cytométrie, ou WB)



DAPI + GFP

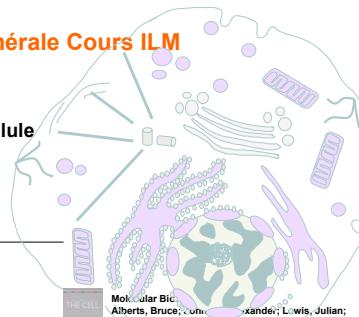
Cellules transfectées

## **Etudes fonctionnelles de la cellule**

**Conclusion générale Cours ILM**

- Définition de la cellule
- Techniques d'études de la cellule
- Compartiments cellulaires
  - organites
  - trafic cellulaire
- Cytosquelette

**Bibliographie**



The Cell - A Molecular Approach  
Cooper, Geoffrey M.  
Sunderland (MA): Sinauer Associates, Inc.; c2000

Molecular Cell Biology  
Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian;  
Raff, Martin; Roberts, Keith; Walter, Peter  
New York and London: Garland Science; c2002

Molecular Cell Biology  
Lodish, Harvey; Berk, Arnold; Zipursky, S. Lawrence;  
Matsudaira, Paul; Baltimore, David; Darnell, James E.  
New York: W. H. Freeman & Co.; c1999

L'essentiel de la biologie cellulaire  
Alberts, Bray, Hopkin, Lewis, Raff, Roberts, Walter  
Medecine-science Flammarion 2<sup>e</sup> édition (juillet 2005)

Film : «The inner of the cell» [BioVisions - Harvard University](#)