

1. Introduction aux méthodologies – la membrane cellulaire

I. Présentation de la cellule

A. Définition

La cellule eucaryote a un noyau qui a une enveloppe = 1 citerne, interrompue par des pores.

Dans le noyau, on a l'ADN chromatinien.

Dense=hétérochromatine

Claire=euchromatine

Il y a aussi le nucléole à l'origine de certains ARNr.

Les ARN passent par les pores. Ils se font traduire ds le cytopl. Ds le cytopl, il y a des ribs libres et associés à des mb (comme la mb nucléaire, en continuité avec le REG).

La production du REG est modifiée ds l'appareil de Golgi. A partir de l'AG se forment des structures entourées de mb. Les granulations pour l'exocytose venant du Golgi sont des **grains de sécrétion**.

On les trouve ds les cellules spécialisées.

La cellule a aussi un système de digestion, les **lysosomes**.

Entre la mb cytopl et le lysosome, il y a tout un système de cheminement de mb, mal défini : le système endosomique.

Le REG donne aussi un réseau de canaux : le REL.

Pour la respiration, la cellule possède des mitochondries qui puisent dans les gouttelettes lipidiques ou ds le glycogène.

Le milieu nucléaire et cytoplasmique est aqueux. L'ensemble de la cellule est sous tendue par le cytosquelette constitué de filaments et de tubules.

La structure est reliée au fonctionnement. L'environnement (molécules informatives) induit une réponse des cellules.

Les mb biologiques st constituées d'assemblage de lipides et de protéines associées par des liaisons non covalentes.

1. Présentation morphologique et biochimique des eucaryotes, procaryotes.

Des cellules sans enveloppes : les procaryotes, l'adn est libre, des ribosomes ds le cytoplasme.

Des cellules à enveloppe autour du noyau : les eucaryotes, où la mb cytopl sépare le milieu intérieur de la MEC. La cellule peut avoir des expansions avec des éléments du cytosquelette.

La mb permet des transferts par mouvements de mb (endocytose, exocytose) et le passage de petites molécules.

La mb détecte ce qui se passe ds l'environnement. Elle fixe des molécules informatives grâce à des récepteurs où se fixent des ligands, ou bien par des jonctions cellulaires à rôles mécanique et informatif.

2. Interactions moléculaires fondamentales

II. Notion d'échelle de dimension dans le vivant

A. les microscopes

1. optique

a) classique

3 lentilles, un oculaire, un objectif, une platine, un condenseur, une source.

La qualité de l'observation est liée à la qualité des lentilles et des préparations. L'objet doit être traversé : il doit être fin et contrasté.

En MO on est limité par le pouvoir de résolution. Il faut que l'image soit nette. Le pouvoir de résolution dépend de la longueur d'onde de la lumière, du facteur de réfraction, du milieu entre la préparation et l'objet. Air=1, huile=1,5.

Dépend de alpha l'ouverture entre la préparation et l'objet.

Pour les meilleurs lentilles, alpha=70°.

On arrive à obtenir un pouvoir séparateur de **0,2 μ** .

En MO on ne peut pas voir les organites.

b) Microscope à contraste de phase

Si on veut voir les cellules vivantes ou en division. On observe une culture cellulaire.

Quand les ondes lumineuses traversent l'objet l'onde est déviée. Si la lumière est en phase ou non, on fait apparaître certains contrastes.

$f(\Delta I) = \text{contraste}$.

2. électronique

a) le MET

pour voir la mb cytopl. On utilise une source d'électrons. Les lentilles sont électromagnétiques.

On est devant un écran fluorescent et des plaques photo. Dans l'enceinte règne le vide. Refroidissement permanent.

Le pouvoir de résolution atteint 0,1 nm. Le grossissement va de x3 000 à x100 000 - 250 000.

L'épaisseur des coupes est de 60 nm.

B. Les principaux moyens d'étude de la cellule

1. Techniques morphologiques

a) Préparation pour l'étude en MO

- **cellules en suspension**

5-20 μ de diam. Etalement sur une lame monocouche de cellules étalées.

- **Bloc tissulaire (après prélèvement)**

on réalise une coupe fine dans un bloc durci.

on congèle le tissu. Puis on le coupe au cryostat où on maintient une température de -10 à -30°. L'épaisseur est de 5 à 10 μ .

les coupes sont recueillies sur une lame puis seront fixées.

- **Enrobage en paraffine**

il faut d'abord fixer le tissu pour le préserver. Le plus courant des fixateurs est le formaldéhyde, il forme des ponts protéiques mais perte des lipides.

on enrobe ensuite le bloc en paraffine. Elle est solide à T° ambiante, non miscible à l'eau or les fixateurs sont aqueux.

il va falloir faire une substitution de l'eau par un solvant miscible avec la paraffine.

puis on coule la paraffine dans un moule et la paraffine refroidit. On démoule puis on obtient un bloc.

on coupe avec un microtome. Le bras tourne et à chaque rotation il avance de 5μ . Il passe devant un couteau. On obtient des rubans. On les transfère sur une lame de verre.

pour les contrastes, on colore le tissu. Un colorant a 2 parties : le chromophore, partie colorante, et la partie qui provoque l'adhésion de la molécule sur la préparation. les principaux colorants sont aqueux. Pour les faire pénétrer, on déparaffine par le toluène puis on réhydrate jusqu'à l'eau.

le plus courant est l'hématoxyline éosine.

b) Préparation pour l'étude en ME

on inclut la préparation dans des résines polymérisées où on peut couper très fin.

Il faut avoir fixé rapidement la préparation pour conserver les organites. On utilise le glutaraldéhyde.

On prend des pièces très petites d'1 mm d'épaisseur. La fixation est rapide, équivalente en périphérie et au centre. La lame de coupe est en diamant.

on réalise d'abord une coupe semi fine ($0,75 - 1\mu$). Puis on la colore pour la voir en optique. On prend du Bleu de Toluidine. Les coupes sont recueillies sur des grilles métalliques de 2mm de diamètre.

Lorsque l'on a utilisé le glutaraldéhyde on fait une post fixation à l'acide osmique. Le glutaraldéhyde fixe les protéines, l'acide osmique les lipides.

Il faut maintenant contraster la coupe. On utilise des sels de métaux : citrate de plomb et acétate d'uranyle. les électrons vont pouvoir diffracter, on aura une image en teinte de gris.

On peut voir la mb en trilamination, en fonction du grossissement utilisé. Au faible grossissement (jusqu'à 20 000) la mb apparaît en une seule lame.

A un plus fort grossissement, on voit la trilamination. Environ **10 nm** d'épaisseur.

c) Les types d'informations obtenues

2. Autres techniques

a) Culture cellulaire

b) Fractionnement cellulaire

c) Repérage cellulaire

(1) Anticorps marqués

Les Ac sont des Ig réparties en 5 types : **les Ig G** sont les plus utilisées. Chaque Ig G a 2 chaînes lourdes et 2 chaînes légères. Elles ont une dualité de fonction et de structure. Une partie de la molécule reconnaît l'Ag de manière spécifique.

On produit les Ac de 2 façons :

- Ac polyclonaux

les plus anciens. Obtenus en injectant à l'animal l'Ag purifié contre lequel on veut produire des Ac.

l'animal réagit. Il produit alors un certain nb d'Ac par l'intermédiaire des plasmocytes lors de la médiation humorale. On recueille le sang de l'animal, contenant les Ac. la réponse est **polyclonale** car l'Ag injecté a différents sites antigéniques contre lesquels se sont formés des Ac spécifiques.

chaque Ac est produit par un seul clone de lymphocyte.

Le sérum aura les Ac de l'animal produits par l'injection, + des préexistants, + les protéines du sang.

on veut obtenir une liaison spécifique avec l'Ag. On purifie donc le sérum : on prend le sérum en présence de l'Ag qu'on fixe sur un support (billes). On met les billes dans une colonne de séparation et on passe le sérum sur la colonne. Les Ac restent fixées sur les billes et tout le reste s'écoule. On recueille les billes, on sépare Ac/Ag et on a des Ac purifiés.

- Ac monoclonaux

la méthode combine la production l'Ac par les lymphocytes et la possibilité d'immortaliser les cellules par multiplication indéfinie grâce à des lignées de myélome (tumeurs de la lignée lymphocytaire). Chaque clone produit une variété d'Ac.

on hybride les cellules (d'un côté les lymphocytes, de l'autre le myélome). Les cellules hybrides ont multipliées pour produire les Ac.

après fusion cellulaire les cellules hybrides sont immortelles et produisent des Ac.
on fait une culture en milieu sélectif pour que seulement les hybrides se multiplient.
On isole les cellules, elles se multiplient, elles produisent des Ac qui sont dans le surnageant.

(2) Marquage fluo

Le marquage des Ac se fait par des enzymes ou fluorochromes qui absorbent la lumière à une certaine longueur d'onde mais qui la restituent à une longueur d'onde plus élevée. On prend un filtre qui ne laisse passer que la 2^{ème} longueur.

(3) Radio-isotopes : autoradiographie

L'autoradio détecte la radioactivité. On la réalise soit sur un gel, soit sur des coupes.
On impressionne un film photo qui va révéler une image latente.

On trempe la lame dans une émulsion photo qui sera séchée ensuite. L'isotope par son émission va impressionner le film photo coulé sur la préparation. L'image latente est ensuite révélée (aspects en tortillon à l'endroit du radio-isotope).

d) Immunocytochimie

Chromogène incolore → composé coloré

Enzyme

Peroxydase

fonctionne en présence d'H₂O₂

si on veut le faire en ME, on utilise la DAB (diaminobenzépine), opaque aux électrons.

Le plus souvent, on prend des **billes d'or colloïdal** de 1 à 20 nm. On fait un dépôt d'argent et ça grossit, pour avoir quelque chose de visible. Avec des protéines peu exprimées, on ne peut pas utiliser le marqueur sur le premier Ac.

On applique donc sur l'Ag le premier Ac, non marqué, pour **l'amplification** on utilise le **2^{ème} Ac antilapin**, marqué (fabriqué dans une autre espèce).

Le 1^{er} Ac est reconnu par plusieurs Ac antilapin.

Cette amplification n'est pas suffisante. On prend alors **l'avidine** (ou streptavidine), une glycoprotéine qui a 4 sites de liaison pour la **biotine**. La biotine, elle, peut se lier à des Ac secondaires.

On utilise donc des Ac secondaires **biotinylés**.

e) **Hybridation in situ**

On pourrait mettre en évidence l'**ARN** qui code pour cette protéine. C'est l'hybridation in situ. On utilise la complémentarité entre brin d'ADN ou ADN/ARN. On utilise une **sonde** qui peut être **biotinylée**.

L'ARN peut être présent sans qu'il y ait forcément de protéine.

f) **Vésicules**

On étudie le fantôme de GR.

voici le résultat des deux gels :

- vésicule à l'endroit : détecte une protéine
- vésicule à l'envers : détecte la même et une seconde.

La première est donc une protéine transmembranaire, la seconde est une protéine périphérique de l'interne ou incorporée à la mb du côté interne.

Tout cela car le réactif ne peut pas traverser les mb.

III. **Généralités biochimiques**

A. **Les éléments constitutifs du vivant**

Dans la membrane, les lipides sont en **bicouche** lipidique.

La mb du GR, en poids sec : **60% prots et 40% lipides**. On a 60 molécules de lipides pour 1 molécule protéique. Dans le SNC on a + de lipides à cause de la myéline.

Les lipides sont amphiphiles.

B. **Les molécules de base du vivant**

1. **Eau, ions**

2. **Oses, osides**

3. **lipides**

a) **triglycérides**

b) **phospholipides**

(1) glycérophospholipides

glycérol

acide phosphorique

composé polaire (choline, éthanolamine, sérine)

acide gras

on a des phosphatidyl-choline, sérine ou éthanolamine.

(2) Sphingophospholipides

- Sphingomyéline
dans le SN

c) Stérols

(1) Cholestérol

stabilise les mb. La plus grande partie est hydrophobe, il a une fonction hydrophile.

4. bases de l'ADN/ARN

5. glucolipides, glycoprotéines, PG

IV. morphologie de la membrane

A. organisation membranaire

1. disposition des lipides

ils se disposent en bicouche. (découvert début 20^{ème}).

Les lipides permettent une flexibilité et des mouvements permanents des organites. Les lipides permettent aussi des fusions ou séparation d'organites.

Les lipides ont des mouvements dans la membrane :

- rotation sur eux même
- translation
- flexibilité des chaînes d'acides gras
- flip flop (passage d'une couche à l'autre dans certaines conditions, phénomène spontané mais lent. Pour être efficace, il faut des protéines spécifiques comme la translocase.

La fluidité de la mb se fait à partir d'une température. En dessous, elle se rigidifie. La température de changement est mesurée par la structure des molécules constitutives de la mb (dépend du **degré d'insaturation** des acides gras). La température est abaissée quand le degré d'insaturation augmente.

La **longueur des** chaînes influe aussi. Plus elle sont courtes plus la mb est fluide. Le cholestérol rigidifie les mb. La forme crystal de la mb est quand elle est immobile.

2. disposition des protéines

a) étude biochimique et fonctionnelle

il y a 2 types de protéines :

- protéines périphérique
peuvent être extraites facilement par des détergents à **une seule queue hydrophobe**.
- protéines ancrées dans la mb
extraites par des détergents **ioniques**.
 - Protéines transmembranaires
traversent entièrement la bicouche, elles ont 2 parties polaires et une région apolaire.
 - Protéines transmembranaires plus complexes
plusieurs parties qui traversent la membrane
 - Protéines à une seule partie hydrophile et une partie hydrophobe

Si on ne dénature pas le protéines on peut étudier leur fonctionnalités. On peut les intriduire dans des bicouches phospholipidiques artificielles. On contrôle la nature de la bicouche et les protéines.

b) Etude morphologique

Après cryofracture, on peut voir, au MEI, la présence de particules insérées dans la mb.

Principe de la cryofracture

on prend un petit bloc de tissu que l'on refroidit à basse température. L'objet devient cassant. Quand on applique un trait de fracture avec une lame froide, le trait passe par les zones de moindre résistance c'est-à-dire entre les 2 feuillets de la bicouche.

Pour avoir une image en relief on fait un ombrage métallique. On place l'objet dans une chambre à vide. On évapore un métal (platine) qui se dépose sur l'objet.

Le dépôt se fait selon un angle : les parties en relief face au métalliseur seront recouvertes mais pas leur face postérieure.

On a donc des zones avec du métal qui vont diffracter les électrons, et d'autres sans, où les électrons vont traverser.

On solidarise le tout avec un film de carbone. On ne conserve que la réplique, sans les parties biologiques.

Enfin, on l'étudie au ME.

On voit des particules au niveau de la mb, selon une certaine concentration. Il y a des zones où il y a beaucoup de particules, d'autres moins.

c) **Mouvement**

- rotation sur elles mêmes
- translation latérale

2 protéines éloignées peuvent donc se rapprocher.

Pour le montrer on utilise des [Ac spécifiques](#) de l'Ag et la fluorescence (microscope à fluo).

3. **microdomaines**

ce sont des fractions de mb qui résistent à des détergents non ioniques. Ces fragments ont une faible densité due au cholestérol. Ce sont des portions moins fluides : des radeaux lipidiques qui flottent sur l'ensemble de la mb.

La baisse de la fluidité est liée au type de lipides particuliers qu'on y trouve. S'il y a de la phosphatidyl sérine.

Si sphingomyéline : forte proportion de chaînes saturées et de chaînes longues. (→ Gel solide).

Au niveau des radeaux il y a une ségrégation de protéines spécifiques qui jouent le rôle dans le fonctionnement cellulaire et dans la signalisation intercellulaire.

V. **La membrane cytoplasmique**

A. **Morphologie**

1. **Présentation avec son micro environnement**

a) **asymétrie**

C'est la même chose que les membranes biologiques mais il y a en plus un environnement glucidique du côté externe.

Il y a asymétrie des lipides (la phosphatidyl sérine sur une cellule normale est du côté cytosolique de la membrane, quand la cellule rentre en apoptose on a une bascule et elle vient du côté externe) et des protéines (détermine la fonction des cellules).

Les protéines peuvent être localisées dans des parties spécifiques (cf spermatozoïde).

b) **Le glycocalix**

Il a pu être démontré grâce :

(1) Au PAS (MO)

Periodic Acid Schiff

Il met en évidence une classe particulière chimique (c'est différent d'une coloration signalétique comme l'hématoxyline éosine).

L'acide oxyde les glycols pour donner des aldéhydes, révélés ensuite par le Schiff.

(2) Au rouge de ruthénium (marqueur des glucides) (ME)

(3) Lectines (reconnaissent certains motifs sucrés particuliers)

Les sucres associés du côté externe seulement sont incorporés sous forme de glycoprotéines ou de protéoglycannes.

il y a des glycolipides, des glycoprotéines (les résidus sucrés forment des chaînes aléatoires, bifurquées, complexes), des protéoglycannes.

Il y a des chaînes de GAG (répétition de disaccharides).

Il y a aussi le GPI : glycolipide + protéine. sa concentration est élevée dans les microdomaines où ils exercent un rôle particulier (récepteur).

c) Cortex

Du côté intracellulaire.

La membrane fixe des éléments du cytosquelette qui forme le cortex cellulaire. Il es constitué de spectrine (dans le GR) qui forme des petits filaments reliés à la mb cytoplasmique par l'intermédiaire de protéines. Le lien avec la mb se fait par l'ankirine.

La spectrine forme des mailles. A l'intersection de ces mailles on aura de petits filaments d'actine.

Intérêt du cortex : dans les sphérocytes (GR gonflés) le GR a tendance à éclater car sa mb est fragilisée à cause de la mauvaise spectrine (anémie).

d) Zone de moindre mobilité des prots

Limitations par :

- fixation des prots au cytosquelette
- fixation des prots à la MEC
la MEC est constituée de macromolécules. Il y a les fibres de collagène et les fibres élastiques, des glycoprotéines d'adhérence et des PG et des GAG.
- limitation par jonctions cellulaire

B. Disposition des molécules constitutives

1. Les lipides

2. Les protéines

3. Les sucres

4. Expérience : coloration vésicule out/out out/in

C. Perméabilité membranaire

1. Diffusion

La diffusion simple à travers la mb est utilisée pour les gaz et petites molécules non chargée. Les autres nécessitent des perméases (transport actif ou passif).

a) Transport passif

De la concentration la plus élevée à la moins élevée. Ils se font soit par molécules qui fixent ce qui doit être transporté (protéines porteuses, ex : glucose) ou par des protéines canal.

Des canaux sont contrôlés par la variation du potentiel de mb. D'autres s'ouvrent après liaison spécifique d'un ligand du côté extra ou intra cellulaire. D'autres sont sensibles aux tractions mécaniques sur la mb cytoplasmique (oreille).

b) Transport actif

L'énergie vient d'un cotransport. La perméase transporte 2 molécules : une passive, l'autre active. La disparition des gradients entraîne la production d'énergie qui entraîne le transport. Ou bien l'énergie peut venir de l'ATP (pompes).

(1) Les cotransports

- Symport

dans le même sens, exemple : glucose.

le transport du glucose se fait contre le gradient de glucose, en profitant du bon gradient de Na^+ qui lui veut rentrer dans la cellule.

exemple : entérocyte.

au pôle apical c'est un transport actif du glucose (symport $\text{Na}^+/\text{glucose}$), du côté opposé c'est un transport passif selon le gradient.

- Antiport

dans les sens opposés.

(2) Avec ATP

Par exemple la pompe Na^+/H^+ fait entrer du Na^+ et fait sortir du H^+ .

Les pompes Na^+/K^+ font entrer du Na^+ et sortir du K^+ .

Conclusion : les transports conservent le milieu cellulaire, et servent à l'échange entre la lumière d'un tube qui contient un liquide et le milieu intérieur.

Pour augmenter la surface de la mb au pôle apical et basal, les perméases sont dans les replis. On les met en évidence à l'aide de l'immunohistochimie.

L'ATP est fourni par la mitochondrie. On a bien une relation entre aspect morphologique et fonction.

2. les échanges avec mouvement membranaire

a) endocytose

la cellule absorbe des éléments grâce à des internalisations de sa membrane.

(1) Pinocytose

Absorption de liquide et donc de molécules dissoutes.

- *Micropinocytose*
invagination de la mb qui entraîne les molécules. Fait appel aux filaments d'**actine**.
- *Macropinocytose*
formation d'un voile cytoplasmique. Englobe beaucoup de liquide dans une vacuole.

(2) Endocytose médiée par récepteurs

- **à clathrine**
protéine intracellulaire, cytoplasmique. elle constitue les **triskélions**. Elle peut s'assembler à d'autres molécules. L'assemblage induit la formation de cages.
 - Rassemblement des récepteurs
 - La clathrine se fixe par une **adaptine** (protéine adaptatrice).
 - La **dynamine** s'enroule autour du collet pour isoler la vésicule.
- **à cavéoline**
ne se font qu'au niveau des **microdomaines** membranaires, c'est-à-dire une portion de mb avec beaucoup de prots extracellulaires liées par l'intermédiaire d'un GPI.
 - La cavéoline est intégrée à la mb **mais pas transmembranaire**, des 2 côtés elle est intracellulaire.

(3) Phagocytose

Ingestion de structures pleines (cellules entières, bactéries...)

- **Microphagocytose**
phagocytose d'une bactérie par un globule blanc polynucléaire. Phénomène d'**opsonisation**.
les récepteurs de la cellule ayant reconnu les Ig fixée sur la bactérie entraîne une invagination de la mb, ce qui forme une vacuole qui englobe la bactérie : le phagosome. Le phagosome se lie ensuite à différentes structures mbnaires.

- **Macrophagocytose**

cellule phagocytée par le macrophage.

b) Exocytose

Phénomène inverse, exportation de matériaux synthétisés.

- **Constitutive, permanente**

la réarrangement des phospholipides par exemple. Le glycocalix est aussi apporté par les vésicules qui fusionnent avec la mb.

- **Provoquée**

types spécifiques de cellules impliquées dans la sécrétion.

D. Echanges entre 2 cellules voisines

1. Jonctions gap (nexus)

Le lanthanum diffuse dans les espaces intercellulaires et à travers la jonction. Opaque aux électrons, il se voit bien. Il y a présence de ponts entre les 2 membranes. Ces ponts ne sont **pas continus**.

Pour préciser ça, on a utilisé la technique de cryofracture. On observe une condensation de protéines au niveau de la jonction (connexines (transmembranaires)). La **connexine** fait 1kDa.

Elles s'associent par 6 pour former les connexons. Le **connexon** est un canal protéique qui peut être ouvert ou fermé.

Les ions ou l'AMP cyclique ou l'ATP peuvent passer. Dans la membrane cytoplasmique, les connexons arrivent **déjà constitués**. Ils correspondent à un connexon du côté opposé.

La demi vie des connexons est de 1 à 5h. le renouvellement est **fréquent**.

a) Rôle des nexus

Rôle de **couplage intercellulaire**. Il est important dans le muscle cardiaque. Idem dans les cellules muscle lisse comme le muscle utérin. Au moment de l'accouchement, les cellules ayant reçu l'information hormonale font part aux autres par l'intermédiaire des nexus.

Dans les sécrétions.

Des maladies qui portent sur le gène de la connexine peut donner une surdité ou des patho musculaires.

VI. L'adhérence entre deux cellules et entre cellules et MEC

Des protéines intégrées à la mb jouent le rôle d'adhérence. Elles sont à l'origine de jonctions stables ou d'adhérence labile. On parle de **CAM** pour les molécules d'adhérence cellulaire, de **SAM** pour les molécules d'adhérence à la MEC.

Il existe des molécules nécessitant la **présence de Ca⁺⁺** pour une adhérence fonctionnelle. Ces molécules sont présentes sous 2 formes :

- directement actives
- inactives et ont besoin d'un signal pour être activées et permettre la liaison.

D'autres sont adressées à la mb quand la cellule a reçu un signal.

A. Molécules d'adhérence

1. immunoglobulines (Ig)

Elles ont des motifs Ig. Ce sont des glycoprotéines **intrinsèques de la mb**. Elles ont un domaine intra et un domaine extra cellulaire.

a) Classe des N-CAM

Interviennent dans interférences intercellulaires neurone neurone, neurone cellule gliale, extrémité de l'axone cellule musculaire.

L'adhérence se fait par la partie extra cellulaire. La partie intracellulaire permet des phénomènes de signalisation et **l'interaction avec le cytosquelette**. Ces glycoprotéines ont de **l'acide sialique**.

Leur comportement diffère selon la quantité d'acide sialique.

Il existe une forme embryonnaire de N-CAM, dite **polycyalité**, qui, en plus du rôle d'adhérence, a des liaisons instables donc les cellules peuvent se **déplacer** facilement sur le substrat.

Les liaisons des N-CAM sont des liaisons **homotypiques** car ce sont 2 molécules de même nature qui interagissent.

Les N-CAM peuvent aussi faire des liaisons **hétérotypiques**, par exemple **avec la MEC**.

La molécule ROBO (Round About...)

2. Cadhérines

Transmembranaires, elles interviennent dans des liaisons **homotypiques**.

Elles **nécessitent la présence de Ca⁺⁺** pour stabiliser la liaison. Si on chélate le Ca⁺⁺, la liaison se défait.

Elles interviennent au niveau de **jonctions** cellulaires et dans des localisations **extrajonctionnelles**.

Malgré leur homotypie, elles peuvent interagir avec d'autres molécules comme **les Ig**.

Leur site de liaison est du côté extracellulaire. Du côté intracellulaire, elles interagissent avec le cytosquelette.

3. Intégrines

Elles interviennent dans l'adhérence à la MEC et dans les adhérences cellule-cellule. Elles sont transmembranaires.

Une intégrine est un hétérodimère à 2 sous unités : $\alpha\beta$ (18 types) et γ (8 types).

Il y a beaucoup de combinaisons possibles entre les différentes sous unités. On a des associations variables. Une partie sert à la liaison, l'autre sert de liaison avec le cytoplasme.

Les intégrines interagissent aussi avec des Ig, pour l'adhésion cellule-cellule, sous forme de liaisons hétérotypiques.

Les intégrines interagissent avec la laminine (une glycoprotéine de la MEC). On la trouve dans les LB.

exemple : les fibroblastes sécrètent une glycoprotéine d'adhérence de la MEC : la fibronectine. In vivo, la fibronectine va pouvoir interagir avec les intégrines (adhésion) et avec les autres constituants de la MEC.

La plupart des variétés cellulaires expriment des intégrines.

4. sélectines

ce sont des lectines intégrées à la mb, qui reconnaissent des motifs sucrés particuliers.

Exemple de leur utilité : la **diapédèse**

Le globule blanc quitte la circulation sanguine pour passer dans le tissu conjonctif. Les vaisseaux capillaires sont bordés par des cellules aplaties : les cellules endothéliales.

Le **lymphocyte** possède à sa surface des **adressines** (sucres) et des **intégrines**.

la **cellule endothéliale** exprime des molécule d'adhérence de **type Ig**.

Pour l'activation de la cellule endothéliale il faut qu'une **sélectine** soit exprimée sur la mb cytoplasmique.

La mb de la cellule endothéliale grâce aux sélectine permet l'adhérence du lymphocyte.

Cette liaison est très **instable**.

Le GB roule sur la cellule endothéliale et il y a activation des **intégrines**. Ça permet la liaison des intégrines activées à la molécule d'adhérence Ig (beaucoup plus stable, immobilise le GB sur la cellule endothéliale.). les conditions sont réunies pour que le GB traverse l'espace entre 2 cellules endothéliales.

B. Jonctions intercellulaires définies

Les cellules épithéliales ont les jonctions les plus développées. Les liaisons se présentent sous forme de :

- macula : jonction ponctuelle
- fascia : plus étendue, moins arrondie
- zonula : la jonction fait le tour de la cellule

1. Nexus (gap)

Sous forme de **fascias**, les prots transmembranaires forment des [jonctions communicantes](#).

2. Jonctions serrés : zonulas occludens : tight junctions

Étanches. On les trouve au niveau des **cellules épithéliales** où ils forment des zonulas occludens. Elles sont localisées sur les parties hautes des faces latérales des cellules.

A un plus fort grossissement au MO on a un aspect **pentalamellaire**. On dirait que les 2 feuilletts externes des mb on fusionné. Avec la cryofracture, on voit un réseau continu sur la partie haute de la face latérale des 2 cellules.

Les 2 cellules présentent le même réseau protéique, les 2 réseaux se correspondent exactement.

Les protéines les plus importantes dans ces jonctions sont les **occludines**.

Du côté intracellulaire on a une interaction avec le cytosquelette, notamment avec les filaments d'actine par des protéines intermédiaires notamment ZO1.

Rôle

Ce sont des protéines **stables**, qui empêchent la diffusion latérale des protéines. On a 2 compartiments : apical et baso latéral. C'est une barrière entre l'espace intercellulaire sous la zonula et la lumière.

Cette barrière n'est pas totalement étanche. De **petits pores** permettent la diffusion de certains petits ions.

Cette barrière peut être rompue, notamment par des bactéries.

3. Zonulas adhérens

Utilise des protéines transmembranaires associées au cytosquelette

4. Desmosomes

Utilise des protéines transmembranaires associées au cytosquelette

5. Hémidesmosomes

Ils font intervenir les **filaments intermédiaires**. Par exemple c'est le cas d'un épithélium fixé sur sa LB.

6. Points focaux

Sous forme de **fascia ou macula**, ils utilisent des **filaments d'actine**. Ce sont des jonctions beaucoup plus **transitoires**.

VII. Autres fonctions des protéines associées à la membrane plasmique

A. Détection de l'information

Les récepteurs membranaires se présentent sous différentes formes.

Ils peuvent avoir un **rôle enzymatique** :

Exemple : l'entérocyte

Au niveau de son pôle apical, il a un glycocalix important dans lequel sont intégrées des enzymes. L'entérocyte doit absorber les aa, les monosaccharides, les acides gras...

Dans la lumière de l'intestin, les aa sont sous forme de dipeptide qui ne peuvent pas être absorbés. C'est l'activation de l'enzyme spécifique qui va transformer le dipeptide en aa simples qui vont être absorbés par des perméases. C'est la même chose pour les sucres qui vont être clivés en disaccharides.

Exemple : le récepteur notch

Dans la membrane plasmique, il y a clivage de protéines à l'intérieur même de la mb. Par exemple, le récepteur notch (transmembranaire) a une partie extracellulaire et une partie intracellulaire.

Ce récepteur reconnaît un ligand porté par d'autres cellules. Il y a clivage de la partie intracellulaire qui se fait à l'intérieur de la mb grâce à une enzyme intégrée à la mb. Elle coupe le reste du récepteur à l'intérieur même de la membrane. On a donc l'activation de notch. La partie intracellulaire va dans le noyau pour activer ou réprimer des gènes.

2. Le cytosquelette

Définition

Structure filamenteuse qui maintiennent la forme de la cellule, permettent le déplacement à l'intérieur de la cellule, le transport de signaux, d'ARNm, de molécules de signalisation.

Constitué de :

- *microfilaments*
5-6 nm de diamètre
- *microtubules*
25 nm de diamètre
- *filaments intermédiaires*
10 nm de diamètre

I. Les microfilaments d'actine

A. Généralités

Il y a de l'actine dans le noyau dont on ne sait pas la forme qu'elle va prendre.

L'actine est importante : **5 à 10% de la masse protéique** dans une cellule non musculaire.

Dans les cellules musculaires, c'est 20% de la masse protéique !

L'actine existe sous plusieurs formes :

- dans les cellules musculaires
- **et** dans les autres cellules

B. Structure d'un filament

1. Molécule de base

L'actine moléculaire est l'**actine G**. elle a une forme en arachide, avec un site de liaison à l'ATP.

Les 2 extrémités sont différentes.

2. Microfilament

Elles peuvent s'associer pour former des chaînes, tête à queue. 2 filaments d'actine s'enroulent pour faire le microfilament, de manière hélicoïdale. Quelle que soit l'actine considérée, on aura toujours la même structure.

Le filament d'actine a une extrémité pointue, l'autre barbelée.

3. Formation

Un filament d'actine peut se former in vitro avec du **Mg⁺ et de l'ATP**. L'actine G lie l'ATP, puis l'ATP est hydrolysé.

L'extrémité qui s'allonge (**la barbelée est +**), celle qui se raccourcit est -.

4. Mise en évidence des formes d'actine

Pour mettre en évidence les différentes formes d'actine, on fait de l'**immunocytochimie** avec un Ac spécifique des différentes formes d'actine. On peut aussi utiliser un **test histochimique**, par exemple avec la **myosine** qui aime l'actine.

Des substances d'origine fongiques altèrent le squelette d'actine : par exemple la **cytochalasine**, qui se lie à l'extr +). Ou bien la **phalloïdine** qui se lie aux faces latérales du microfilament (stabilise).

C. Interaction avec des protéines

Les filaments d'actine forment des structures variables par liaison à différents types de protéines. On peut le mettre en évidence par cryofracture puis cryodécapage.

Les protéines qui interagissent avec le monomère d'actine sont :

1. Protéines de séquestration de l'actine G

Comme la **thymosine** (se lie aux monomères et ralentit la formation du microfilament)

2. Activation de la polymérisation

Des protéines se lient à l'actine G mais favorisent la polymérisation. En se liant aux monomères d'actine, ils phosphorylent l'ADP en ATP et favorisent la polymérisation. Exemple : les **profillines**.

Cette propriété existe au niveau de la paroi de certaines bactéries.

3. Protéines associées aux protéines de coiffe

Qui s'associent à une des extrémités du filament et ce qui permet sa stabilisation (muscle strié) : exemple **cap Z** (+) et **tropomoduline** (-).

4. Protéines pour les faisceaux ou réseaux

Des protéines permettent la combinaison des microfilaments pour former des réseaux ou des faisceaux.

- *faisceaux*
les protéines s'attachent latéralement au microfilament. En fonction des protéines de liaison on aura des faisceaux plus ou moins serrés (**villine, alpha actinine**)
- *réseaux flexibles*
se forment grâce à des protéines comme la **filamine**. Ce sont des réseaux 3D qui se

trouvent dans l'ensemble des cellules **non musculaires**. C'est ce réseau qui est responsable de la forme **gel** du cytosol.

5. Liaison à la mb

Des protéines permettent la liaison à la mb cytopl. Dans le muscle strié, on a la **distrophine** qui fait le lien entre un **complexe membranaire glycoprotéique** et les microfilaments. Au MO, on voit lors de l'immunocytochimie contre la distrophine un immunomarquage périphérique des distrophines.

6. Coupure des filaments

Il y a aussi des protéines de coupure des filaments qui les coupent en plus petits. Par exemple la **gelsoline**, qui fait que l'on passe du gel au liquide.

D. Rôle des filaments d'actine in vivo

1. Formation de structures stables

a) Dans les jonctions cellulaires de type zonula adhérens

(= jonctions intermédiaires). La jonction se fait par des **cadhérines**. Elles se lient grâce au Ca^{++} . Du côté intracellulaire, elles se lient aux **caténines** qui forment un complexe moléculaire. Les caténines, elles mêmes, se lient aux microfilaments.

Au MET, on voit les microfilaments denses spécifiques de la zonula adhérens.

b) Dans les microvillosités du pôle apical de certaines cellules

Comme les **entérocytes**. Chaque microvillosité est centrée sur un faisceau de microfilaments polarisés. **L'extr + est du côté de la pointe de la microvillosité**. Les microvillosités plongent dans le réseau terminal. Leur taille est variable (quelques microns, mais il existe des microvillosités plus longues : stéréocils qui ont un squelette d'actine et non de microtubules).

2. Permettre la mobilité.

a) En utilisant la polymérisation/dépolymérisation de l'actine

On observe cette mobilité pendant l'**endocytose**. L'invagination de la mb lors de la **pinocytose** est facilitée par la polymérisation des filaments d'actine, qui, à un stade ultérieur, vont s'interposer entre la mb cytopl et la vésicule d'endocytose, repoussant ainsi la vésicule à l'intérieur du cytopl.

L'intervention de l'**actine est précoce**, après, les **microtubules** prennent le relais.

(1) Le déplacement d'une cellule entière grâce à l'actine

La cellule a un front de déplacement et constitue un **lamellipode**. Le cytoplasme du lamellipode est rempli d'un réseau d'actine avec les **+ du côté de la mb**, des – du côté opposé.

La plupart des mouvements qui utilisent l'actine utilisent les moteurs moléculaires comme **les myosines**.

(2) Infection par listeria monocytogène

Les bactéries utilisent le même système et peuvent se déplacer dans la cellule grâce à l'actine.

Lors d'une infection par listeria, la bactérie est endocytée dans une vacuole, mais elle peut se débarrasser de l'enveloppe membranaire.

La bactérie va être propulsée à l'intérieur de la cellule grâce à des microfilaments qui la poussent en direction du pôle opposé de la cellule. Elle peut ainsi sortir du cytoplasme, être recapturée par une nouvelle cellule, etc..

Listeria possède au niveau de ses parois des protéines qui activent la transformation $ADP \rightarrow ATP$ donc qui **favorisent la polymérisation**. Cette polymérisation se fait sous forme d'un réseau d'actine avec le + du coté de la bactérie. Des prots de liaison font le réseau, et il y a aussi des prots de coiffe. Du côté opposé, des prots de coupure vont défaire le réseau d'actine.

Le réseau pousse la bactérie du côté opposé de la cellule.

Les microorganismes ont développé des stratégies avec les propriétés de la cellule normale.

b) En utilisant les moteurs moléculaires comme les myosines

(1) Myosines conventionnelles (ex : type 2)

Les myosines 2 sont constituées de 2 chaînes lourdes et de 4 chaînes légères. Forme de bâtonnet avec 2 têtes de myosine à **activité ATPasique**. L'assemblage de 2 molécules de myosine 2 se fait de manière antiparallèle pour que les têtes de myosine soient localisées de chaque côté du filament.

Les têtes de myosine interagissent avec les filaments d'actine, de telle sorte qu'on obtienne un rapprochement des filaments d'actine. On trouve les myosines conventionnelles dans les cellules musculaires mais aussi dans d'autres cellules.

(2) Myosines non conventionnelles.

Structure variable : 1 ou 2 têtes, elles **ne forment pas de filaments de myosine**. Exemple : 1 tête et 1 queue = myosine 1.

c) Mouvements liés à l'interaction actine/myosine

(1) Dans le sarcomère

Des filaments d'actine stabilisés par des prots de coiffe interagissent avec des filaments de **myosine 2**.

Par le jeu d'interaction actine myosine on aura un raccourcissement du sarcomère lors de la contraction ou un allongement lors de l'étirement.

(2) Cytodiérèse

L'actomyosine est importante dans la **cytodiérèse** qui permet à 2 cellules filles de se séparer. Expérience : si on injecte des Ac anti myosine dans des cellules en train de se diviser, on aura une cellule énorme à 2 noyaux mais 1 seul cytoplasme. On obtient aussi la même chose en inactivant le gène de la myosine 2.

(3) Lors du développement

Les zonulas adhérens interviennent dans la **formation de structures tubulaires** à partir d'une rangée unique de cellules, plane au départ.

Un certain nombre de structures forment des glandes qui vont s'invaginer. L'invagination est bordée par les cellules épithéliales. C'est la constriction au niveau apical qui va entraîner la déformation de la cellule. Les microfilaments sont parallèles à la mb en faisant tout le tour. Lorsqu'ils interagissent ils permettent une constriction du pôle apical des cellules.

(4) Réparation de plaies

Formation de **fibres de stress** sur des cultures cellulaires. On réalise une culture pour obtenir un seul type cellulaire.

Dans la région des fibres de stress, des **points focaux** se sont formés. Les fibres convergent vers eux. Au niveau de la mb cytopl il y a des **intégrines** qui lient la MEC. Elles sont liées à des **microfilaments** par l'intermédiaire de diverses molécules de liaison. Les microfilaments qui se lient à ces points focaux vont interagir avec des filaments de **myosine**. Par le déplacement de l'actine sur la myosine, ça va tirer sur la mb et le cytoplasme.

Annexe : technique de séparation cellulaire

On peut étudier l'interaction spécifique entre 2 types cellulaires différents si on prend des milieux de culture adaptés aux 2 types cellulaires étudiés.

On part d'un tissu que l'on réduit en une suspension de cellules. On détruit la MEC (en utilisant des **chélateurs du Ca⁺⁺** qui est important pour les cadhérines).
Ensuite, on a un mélange duquel on doit extraire la ou les cellule(s) qui nous intéressent.
On peut utiliser des Ag spécifiques de la surface des cellules, si on les connaît, et fixer leurs Ac sur un support quelconque. Après lavage, on aura séparé les cellules.
Autre technique, on peut faire de la cytométrie de flux. Cela consiste à séparer les Ac marqués par la fluorescence.

(5) Déplacement d'organites avec des mb à l'intérieur de la cellule.

La **myosine** est utilisée, comme la **myosine 1** qui va se lier par une extrémité à l'élément membranaire (vésicule...) et par l'**extrémité ATPasique va se lier à l'actine** de telle sorte que le déplacement de la vésicule se fasse vers l'extrémité + de ce filament.

La **myosine 5** a un rôle dans le déplacement de structures membranaires. Elle intervient dans les dernières étapes du déplacement des grains en fixant l'élément membranaire du **mélanosome**.

Les mélanosomes (structure de grain de sécrétion qui contiennent la mélanine) sont synthétisés par le mélanocyte (cellule à prolongements cellulaires, c'est donc une cellule dendritique). Les granulations se remplissent de mélanine. Les mélanosomes sont transportés par les dendrites vers les cellules ppales de la peau : les kératinocytes.

On accumule les grains de mélanine dans les kératinocytes ce qui donne le brun. Si les grains de mélanine restent dans les mélanocytes, on a un albinisme.

II. Les microtubules

A. structure

Structures tubulaires faites de **tubuline**. Ce sont des cylindres de 24-25 nm de diamètre.

La tubuline existe sous 2 formes : α et β . elle fait 4 nm de diamètre.

Les α et les β s'associent pour former un dimère.

Ils lient le GTP. Le **β hydrolyse le GTP** mais pas l' α .

Les dimères s'associent tête à queue pour former un **protofilament**.

Les protofilaments s'associent pour former un microtubule. Ils prennent une disposition hélicoïdale. Si on coupe transversalement on note **13 sous unités**.

In vivo, les MT sont instables, et polarisés. Ils ont un e extrémité + et une -.

Il y a **polymérisation au niveau des 2 extrémités** par ajout de dimères.

Mais l'extrémité **+ se polymérise plus facilement**. La dépolymérisation quant à elle est plus rapide du côté - .

B. Agents associés

1. Inhibiteurs de la polymérisation

Des agents peuvent s'associer pour modifier le comportement (= l'instabilité dynamique) des MT.

La **colchicine** séquestre la tubuline et empêche la polymérisation des MT.

Le **taxol** se lie aux MT, notamment à l'extrémité +. Il empêche la polymérisation. Ceci est néfaste au moment de la mitose, mais bénéfique en cas de mitoses anormales.

In vivo, l'extrémité – ne va pas se polymériser. Pourquoi ?

- modification post translationnelle de la tubuline à ce niveau
- facteurs empêchant la polymérisation
- protéines de coiffe qui bloquent l'ensemble de l'extr. - .

in vivo, l'extr – est donc soit stable, soit se dépolymérise.

D'autres protéines déstabilisent les MT en séquestrant la tubuline en se liant à l'extr +.

2. autres

Des protéines interagissent sur la face **latérale** des MT.

a) Les MAP

- **Microtubules Associated Proteins**, MAP1, 2 et tau dans les neurones. Elles ont une partie de liaison au MT et une extrémité en forme de bras qui pourra s'associer à différentes structures dans la cellule.
- Rôle

Stabiliser les MT, permettre la réticulation des MT en faisceaux, par exemple dans les dendrites et l'axone.

On observe tau ds les axones, map2 dans les dendrites.

C. Rôle des MT dans le cytoplasme

Ils déplacent des éléments d'un endroit à l'autre de la cellule. Ils servent de **rail** pour le déplacement vers le + ou le -. Il leur faut des moteur moléculaires : la **kinésine** et la **dynéine**.

1. Moteurs moléculaires

a) Kinésine

- *Conventionnelle*

Extraite à partir d'une cellule géante. Différents domaines :

- o la **queue** prend en charge les éléments membranaires déplacés (cargos)
- o une partie hydrolyse l'ATP et entre en contact avec le MT.

Le déplacement se fait **dans le sens de la polymérisation**. Les têtes sautent d'une sous u à l'autre.

- *Kinésines qui se déplacent vers + ou -*

Elles transportent divers éléments comme des **éléments membranaires**, des **protéines**, de l'**ARNm**. Elles peuvent aussi déplacer des éléments les uns par rapport aux autres comme des **MT**.

Les kinésine séquestrent aussi certains facteurs comme des FdS.

b) Dynéine

La dynéine cytoplasmique a un domaine pour fixer les éléments à transporter et un domaine **ATPasique**. Elles transporte les éléments du **+ vers le -**.

- *Fibroblaste en culture :*

Il développe un **lamellipode** par polymérisation de **microfilaments**. Ds le cytoplasme on a un réseau d'actine et les fibres de stress qui aboutissent à des **points focaux**.

Des **intégrines** sont stimulées, ce qui stimule l'actine et donne une tension dans les fibres de stress. A l'arrière de la cellule les points focaux se désagrègent et la cellule bascule vers l'avant. Il faut qu'il y ait ajout de mb à l'avant par exocytose et endocytose à l'arrière.

L'endocytose fait intervenir le **squelette d'actine**. Quand la vésicule est endocytée elle est prise en charge par **les MT** (après l'actine), qui vont amener la vésicule au front de déplacement et l'actine va intervenir, permettant la fusion.

- *La cellule épithéliale*

La cellule est polarisée. L'extr - est du coté apical, la + au pole basal.

Y a-t-il des centres organisateurs de MT dans la cellule ?

Les cellules utilisent la **dynéine** pour déplacer qqe chose à l'**extr -**.

- *Le neurone*

Dans l'axone, l'**extr -** est vers le **péricaryon**.

Ces MT sont à peu près libre. Dans les dendrites, les MT ont la double orientation.

D. Polymérisation des MT dans une cellule.

Elle se fait par le centre organisateur de MT (MTOC) qui a pour rôle d'induire la polymérisation de la tubuline.

Dans les cellules animales, le ppal MTOC est le **centrosome**.

Un centrosome = 1 diplosome + le matos péri centriolaire

1 diplosome = 2 centrioles

Schéma

Des MT cytoplasmiques partent du centrosome.

1. Les centrioles

Chacun constitue une structure fixe. C'est un petit cylindre de **0,2 μ de diamètre et de 0,5 μ de long**. Sa paroi est faite de triplets de MT.

Le tubule A est complet avec ses 13 sous u, les 2 autres sont incomplets. Il y a 9 triplets.

Il y a toujours un centriole mature, et un jeune.

Le mature a des **satellites**.

Sur une coupe transversale de l'extrémité proximale du centriole **immature** on a au centre une **roue de charrette** amorphe aux électrons.

Quand les cellules se multiplient, le centriole se duplique.

2. Rôle du centrosome dans la cellule

a) organisation des MT

C'est dans la région péri centriolaire que se polymérisent les structures cytoplasmiques radiaires autour du centrosome. La polymérisation se fait à partir d'un **anneau de gamma tubuline**. L'extr - est **dans le matériel** péri centriolaire.

Techniques :

Pour recueillir les centrioles on peut

- lyser la cellule par un milieu **hypertonique**
- ultrasons
- broyat mécanique (culots)
- séparation par gradients de densité

Par cette technique on a réussi à purifier des centrosomes et quand on leur a mis de la tubuline, elle a polymérisé.

On peut mettre en évidence que lors d'un traitement avec des éléments qui éliminent les propriétés de polarisation, le centrosome sera incapable de polymériser les MT.

Dans le matos péri centriolaire se trouve des molécules permettant la polymérisation.

b) Cils vibratiles

Dans les cellules ciliées, au pôle apical. Ce sont des différenciations de surface. A la base des cils on voit une rangée de petits pois : les **corpuscules basaux**.

(1) Formation des cils vibratiles

Elle commence quand la cellule se différencie. Elle a un **diplosome**. Dans le centre cellulaire on voit naître de **nouveaux centrioles** (100 à 200). Ces nouveaux centrioles vont migrer vers le pôle apical pour se mettre sous la mb afin de constituer la rangée de corpuscules basaux. A partir de chaque corpuscule va se former un cil vibratile.

(2) Le cil vibratile

C'est une expansion de la mb. Le corpuscule basal a une structure de centriole, formé de 9 triplets. Dans l'axe du cil on voit des doublets périphériques. Un **des tubules des triplets a disparu**, le corpuscule basal est rattaché à la mb par un lien périphérique au dessus du corpuscule basal. A l'intérieur du cil, on voit une densification, à partir de laquelle se polymérisent **2 tubules entiers bien distincts**. On a 9 + 2 doublets.

Le cil vibratile contient l'**axonème**. A la base du cil, on peut trouver une structure en roue de charrette.

On a 2 tubules périphériques, et à partir d'un épaissement, on a en + 2 tubules centraux.

Des bras de **dynéine** sont attachés au tubule A. en plus, il y a des liens de **nexines** entre les doublets. On a aussi des structures radiaires qui partent des tubules centraux vers la périphérie.

Dans certaines cellules, à la base du cil on peut voir une **racine ciliaire** qui plonge dans le cytoplasme. Elle est **striée** et plonge profondément vers le noyau.

Les cils vibratiles battent selon une cinétique toujours identique quand le cil est normal. Il bat de manière active dans une direction et tous les cils battent dans cette direction. Il revient à sa position initiale, il se foid pour aller en arr puis il se redresse.

Dans l'épithélium respiratoire, la partie haute baigne dans le mucus.

Le mouvement actif est lié aux bras de dynéine. Ils interagissent avec le tubule B adjacent. Les MT ne bougent pas les uns par rapport aux autres mais il y a un mouvement de torsion. On trouve des cils dans la trompe pour déplacer le liquide tubaire.

Dans certaines pathologies on a **immobilité** des cils vibratiles soit parce qu'il manque les bras de dynéine ou parce que les MT centraux sont anormaux.

La **dyskinésie ciliaire** est le **syndrome de Kartagener**. Il associe des infections, une stérilité chez l'homme, et éventuellement des situs inversus : déplacement de molécules morphogènes qui entraîne une malformation D/G.

c) Le monocil

(1) Cellules photoréceptrices de la rétine

Elles forment un cil à partir du diplosome de la cellule.

Ce sont **les centrioles** qui sont à l'origine du **monocil**.

On trouve dans l'axonème des **doublets périphériques** (perte du tubule c) et **pas de tubules centraux**. Il y a des **bras de dynéine** mais **le cil ne bat pas**.

(2) Rôles

Il y a des monocils vers le **nœud de Hensen**. Pendant un temps court, ils permettent **l'orientation D/G** de l'organisme grâce au déplacement de liquide qu'ils induisent. Sur certains monocils de neurones, on a des concentrations de **récepteurs à certains peptides**, et ces récepteurs ne sont pas ailleurs sur la mb.

Dans les 2 types de cils, **l'extr + est en haut**. Le transport intra flagellaire permet d'apporter les molécules de kinésine au pôle +, et d'autres molécules dans l'autre sens.

Chez les cellules qui vont entrer en mitose, on peut avoir des baisses de longueur des cils.

d) Rôle dans la division cellulaire

III. Les filaments intermédiaires

A. structure

Ils sont constitués de prots résistantes et se mettent en **dimères**.

Les dimères s'associent de manière **antiparallèle** pour former un **tétramère**.

Les tétramères s'associent bout à bout pour former un **protofilament**.

10 protofilaments forment un **filament intermédiaire**.

Le FI fait **10 nm** de diamètre et n'est **pas polarisé**.

B. Qui est où

1. Filaments intermédiaires dans les cellules épithéliales

a) Cytokératines acides

b) Cytokératines basiques

On a toujours une interaction entre une **CK basique** et une **acide**. Les associations sont variables en fonction du type cellulaire épith.

Dans un épith constitué de pls couches cellulaires comme l'épiderme, au niveau des cellules basales on a 5+14, puis vers le haut ça devient 1+10.

2. **Fibroblastes**

a) **Vimentine**

3. **muscle**

a) **Desmine**

On peut avoir dans la même cellule de la **vimentine** et de la **desmine** mais **jamais avec la cytokératine**.

4. **Prots des neurofilaments**

a) **GFAP**

5. **Noyau**

a) **Lamine**

C. **Rôle des FI**

1. **Cytosquelette**

2. **Résistance mécanique**

S'il y a une anomalie sur une cytokératine au niveau de l'épith de la peau, on observe une rupture de la cellule à l'int du cytoplasme car les FI cassent. Formation d'une **bulle**.

a) **Desmosomes**

De type **macula**. On les trouve sur les **faces lat** des cellules épith. Les cellules qui doivent résister à une pression mécanique auront beaucoup de desmosomes.

Dans le desmosome, la liaison entre 2 cellules se fait par des **cadhérines** (desmocholine, desmogléine). Du côté cytoplasmique on a de nombreuses prots de liaison : desmoplakine ou plakiglobine.

b) **Hémidesmosomes**

Ils attachent la cellule sur la MEC. On les trouve au niveau des cellules épithéliales où les cellules adhèrent sur la MEC au pôle basal.

L'adhérence se fait par les **intégrines** qui se lient à des **prots extracellulaires** (lamine, qui interagissent avec les éléments de la lame dense).

Du côté intracellulaire, on a des prots de liaison qui servent d'intermédiaire pour la liaison des filaments de cytokératines.

3. Le système endomembranaire

I. Généralités

Il existe seulement chez les **eucaryotes**. Ce sont des cavités plus ou moins développées, des membranes et des cavités **communicantes** entre elles et avec la mb cytoplasmique.

Elle comprend tout sauf les peroxysomes : REG, REL, Golgi, grains de sécrétion, système endosome/lysosome...

II. Le RE

C'est un ensemble de citernes, canalicules, vésicules en continuité avec la citerne nucléaire.

A. Le REG

1. MO

Au niveau de la cellule glandulaire comme la cellule pancréatique, on a observé au niveau du noyau une euchromatine développée, un nucléole volumineux et dans le cytoplasme une striation du pôle basal aux colorants basiques (basophilie figurée).

On a vu la présence **de citernes aplaties et empilées portant des ribosomes**. On peut aussi avoir des citernes dilatées au contenu **finement granuleux** (glycosylation plus importante des prots de la lumière).

2. rôle

a) Synthèse de protéines grâce aux ribosomes.

b) Glycosylation

c) Synthèse des phospholipides

Se fait sur la face cytosolique du RE. A partir du cytosol vont être **apportés les éléments nécessaires** (acides gras...)

Le phospholipide synthétisé peut **rester** en position du côté cytosolique ou peut passer du côté **endoluminal** grâce à des transporteurs ATP dépendants. Il peut encore être arraché de la membrane pour aller vers d'autres structures membranaires comme les mitochondries (ou les peroxysomes ou les gouttelettes lipidiques).

La synthèse des mb se fait à partir d'une membrane préexistante.

d) **exemple**

La **phosphatidyl sérine** est du côté **interne** de la mb cytopl. Elle est transloquée sur le feuillet externe dans certaines conditions physiologiques ou pathologiques. Par exemple en **apoptose** on a un basculement de la phosphatidyl sérine, qui peut ainsi être reconnue par les phages.

Pathologiquement, si la PS est exposée en permanence du côté externe, par exemple sur un GR, ça induirait l'adhérence des cellules entre elles et à la paroi des vaisseaux.

B. **Le REL**

1. **ME**

Structures canaliculaires apparaissant dissociées. En fait, elles sont **en continuité avec les REG**.

2. **rôle**

a) **calcium**

c'est un lieu de **stockage du calcium**, très important pour les cellules musculaires.

Le calcium est pompé à l'intérieur par des ATPases. Il se lie à des prots de liaison comme la calséquestrine (à l'int). Par l'activation de récepteurs variables en fonction du type cellulaire (récepteur à la ryanodine, à l'inositol 3P...), le calcium de la citerne est à l'origine des modifications protéiques.

b) **glucose**

Il a un rôle dans les **métabolismes du glucose** en intervenant dans la restitution du glucose dans les cellules hépatiques.

Le REL est souvent associé à du **glycogène libre** dans le cytosol. (taille 2x le ribosome).

Le REL est capable de **restituer le glucose en retransformant du glucose 6P en glucose grâce à la glucose 6 phosphatase**.

c) **détoxification**

Le REL a un rôle de **détoxification**. Il a des enzymes variées qui transforment des molécules peu solubles en molécules solubles.

Après un traitement par barbiturique par exemple, on a une augmentation du REL.

d) **hormones**

Il intervient aussi dans la **synthèse d'hormones dérivées du cholestérol** (stéroïdes). On les trouve dans les gonades et dans la glande surrénale (glucocorticoïdes). On trouve l'association de **gouttelettes lipidiques**, de REL développé et des **mitochondries à crêtes tubulaires**.

III. L'appareil de Golgi

A. structure

C'est une structure en 3D, comme un ruban circulaire composé de **pires de saccules alternant avec des régions riches en vésicules**.

Son aspect est plus ou moins circulaire.

Les saccules sont reliées par des canaux. Les vésicules sont tapissées de **coatomères**.

Le Golgi est constitué d'un ensemble de **dictyosomes**. Chaque dictyosome est constitué par 3 types de saccules : **cis, médian, et trans**.

Le flux antérograde va du cis au trans.

Son aspect est variable selon le type cellulaire.

Le **saccule cis** peut accumuler des **métaux lourds** ou de **l'acide osmique**.

Le **trans** est caractérisé par une accumulation de **phosphatase acide** que l'on peut mettre en évidence par **histoenzymologie**.

B. Fonction

Transformation des protéines synthétisées dans le REG, notamment les prots membranaires et les lumbinales. Il effectue des **glycosylations**.

Le cis et le trans trient les protéines et les lipides en **fonction de leur destination finale**.

Il intervient dans le **stockage du calcium** comme le REL et les mitochondries.

Synthèse des sphingolipides (sur le côté luminal du golgi cis et méd)

C. Devenir des éléments à partir du golgi trans

1. Vers la membrane cytoplasmique

a) Voie soumise à régulation

Elle forme des **grains de sécrétion** pour l'**exocytose**. Le phénomène d'exocytose sera induit par un signal spécifique. Le **pH** augmente progressivement dans les grains **jusqu'à 7**. dans le trans ils sont acides puis on passe à la neutralité puis à l'exocytose.

Les grains se forment du réseau **cis** golgien par 2 voies :

(1) Bourgeoisement

Bourgeoisement de **vésicules à clathrine**, qui vont fusionner pour former un grain de sécrétion.

(2) Vacuole

A partir du réseau cis, une **vacuole** dans laquelle le produit de sécrétion est très dilué puis la **concentration** du produit de sécrétion **augmente** (la vacuole perd de la mb) jusqu'à former un grain.

Exemples :

- On voit bien qu'il y a une maturation des membranes du grain de sécrétion et du produit de sécrétion lui-même. On trouve des **protéases** pour cliver le produit de sécrétion natif en produit mature. L'insuline est synthétisée sous forme de pro insuline clivée par une protéase qui donnera l'hormone active.
- Le NGF (facteur de croissance) est présent dans des granules sous forme d'un précurseur qui pourra être clivé ou non. Son clivage permet d'agir sur des neurones pour induire leur survie. S'il n'est pas clivé, il ne peut pas se lier à son récepteur et cela induit l'apoptose.
- Clivage par les **convertases**
elles clivent une protéine en fragments de plus en plus petits. On aboutit à des hormones différentes. Dans une glande endocrine, 2 types de cellules fabriquent le même précurseur. Dans le type 1, la convertase permet d'obtenir une hormone spécifique. Dans le type 2 on a 2 convertases donc on a 2 clivages. Les 2 produits ont des effets très différents.

b) Voie constitutive

C'est le rôle de **renouvellement de la mb cellulaire**, elle se fait **dans toutes les cellules**.

De 2 manières :

(1) Coatomères

Depuis le réseau **trans** golgien. Au niveau des vésicules on trouve des éléments membranaires qui constitueront le **glycocalix**.

(2) Cavéoline

Depuis le réseau **trans**. Des vésicules de **cavéoline** vont fusionner avec la mb cytoplasmique et participer à la formation des **microdomaines** riche en cavéoline et en prots associées au GPI.

2. Vers le système endosomes/lysosomes

Au niveau du réseau transgolgien, **les enzymes lysosomiales sont liées au récepteur au mannose phosphate**.

Le bourgeonnement va permettre la **séquestration** des enzymes. Il se fait par **vésicules à clathrine** et par formation de polysomes dans lesquels les enzymes pourront se détacher de leurs récepteurs.

Les pro lysosomes fusionnent avec **le système endosomique**. Après cette fusion les enzymes sont **actives**. Après la fusion, les récepteurs au mannose phosphate seront **recyclés** : ils retournent au Golgi par des vésicules.

IV. Le système endosome lysosome

A. Le système

1. structure

Ce système est difficile à définir sur le plan morphologique.

C'est un **compartiment hétérogène** que l'on peut définir par les flux membranaires. Vers ce système se dirigent des vésicules venant de la **membrane cytoplasmique** et du **réseau transgolgien**.

Le compartiment endosomique est en équilibre avec les lysosomes.

Exemple : endocytose de l'EGF (facteur de croissance)

1 à 5 minutes après que la vésicule a perdu sa clathrine elle fusionne avec un système membranaire complexe : un endosome précoce localisé à proximité de la membrane cytoplasmique. L'endosome a un pH un peu acide (6,5). Après fusion de la vésicule avec l'endosome précoce, les récepteurs seront intégrés à la membrane de l'endosome et à cause de l'acidité le ligand se dissocie de son récepteur.

2. Devenir des éléments

Le ligand est dégradé. Le devenir des récepteurs dépend du signal reçu par la cellule.

Le lysosome est un organe de tri. Le récepteur peut être **recyclé** dans une structure membranaire tubulaire (**endosome de recyclage**, pH proche de 7), puis retourne à la membrane pour jouer son rôle.

Le récepteur peut aussi entrer dans une **voie de dégradation**. Il se dirige alors vers des systèmes membranaires **de plus en plus acides**. Il va vers un **corps multi vésiculaire** (une mb périph et à l'int, de petites vésicules). Ces vésicules se forment par invagination de la mb du corps multivésiculaire. Les récepteurs associés à la mb vont se retrouver à la périphérie de ces vésicules.

Le corps multivésiculaire va fusionner avec un **endosome tardif** (pH entre 5 et 6) où l'on trouve des enzymes comme la **phosphatase acide**. Au niveau de la mb on trouve des **récepteurs au mannose phosphate** et des protéines transmembranaires spécifiques (protéines membranaires associées au lysosome : **LALP**) et des **vésicules**.

L'endosome tardif a reçu **les pro lysosomes** venant du réseau transgolgien, ils ont ramené les enzymes, les récepteurs au mannose phosphate et les LALP.

Une partie de l'endosome tardif **reva au golgi**, une autre **fusionne avec les lysosomes**.

3. Les cellules présentatrices d'Ag

A partir des corps multi vésiculaires il se fera une **exocytose d'exosomes**. On envisage de les utiliser pour la vaccination dans le cadre de cancers.

B. Les lysosomes

1. présentation

ils sont le **compartiment de dégradation finale**. Ils contiennent des **hydrolases**, leur pH est **acide (5)**, ils n'ont **pas de récepteurs au mannose phosphate**.

Ce système est partagé avec les **lysosomes sécrétoires** qui subissent l'exocytose mais servent à dégrader des **éléments extracellulaires**.

2. morphologie

leur morphologie est très variable : ils peuvent être homogène ou hétérogène.

Les lysosomes **homogènes** ressemblent à des grains de sécrétion. Pour les distinguer, on peut faire une histoenzymologie pour voir s'il y a de la **phosphatase alcaline**.

Si on voit un précipité au phosphate de plomb, alors ce sont des lysosomes.

3. Substrats dégradés

Ils viennent soit de l'extérieur (endocytose par récepteurs ou phagocytose) ou de l'autophagie.

Mécanismes variés :

a) L'autophagie

dégradation des **éléments endogènes** (protéines solubles, éléments membranaires endommagés, organites en fin d'activité (remodelage, différenciation, sénescence))

(1) Autophagie médiée par les chaperonnes

Les protéines solubles sont adressées aux lysosomes associés aux molécules **chaperonnes**. Par l'intermédiaire de transporteurs, la protéine est injectée dans le lysosome pour être dégradée.

(2) Micro autophagie

Le lysosome, en retournant à la mb, va invaginer une portion du cytoplasme qui va pouvoir être dégradée.

(3) Macro autophagie

Une portion importante du cytoplasme sera dégradée (lors d'un jeûne). Il se forme un système membranaire à l'origine inconnue. Il vient entourer une portion de cytoplasme (avec des mitochondries, du glycogène...). Ca fait transitoirement une **vacuole à double mb**. Elle va être détruite dans sa portion interne. Cette vacuole **fusionne avec les lysosomes** qui

apportent les enzymes pour la dégradation et des enzymes qui donnent une résistance à la mb.

On a ainsi un **auto lysosome**. Il est capable de dégrader tous les éléments de l'intérieur sauf certains lipides. Cela donne des **corps résiduels**.

b) crinophagie

Dans les cellules glandulaires qui produisent des **grains de sécrétion, quand ils sont produits en excès il faut les dégrader**. Par exemple : la prolactine. On observe la fusion entre grains de sécrétions et lysosomes.

c) Phagocytose

Progressivement, le phagosome acquiert les propriétés de la voie de phagocytose vers les lysosomes. On pense que des systèmes endosomes/lysosomes s'associent à la vésicule de phagocytose pour donner le **phagolysosome**.

4. A quoi sert le pH acide ?

- * dissocier le ligand de son récepteur
- * activer les enzymes permettant la dégradation.
- * faciliter la dénaturation des protéines, ce qui facilite l'action des protéases
- * nécessaire pour l'activité de certains transporteurs transmembranaires.

5. Pathologies lysosomiales

Anomalies de certaines enzymes lysosomiales d'origine génétique (pour certaines manifestation in utero).

Des maladies peuvent toucher des transporteurs au niveau de la mb du lysosome ou de l'endosome tardif.

Des lysosomes peuvent s'accumuler sans être dégradés.

Souvent toutes les cellules peuvent être touchées, la cellule la plus sensible est le neurone. (retard mental)

Il y a des pathologies acquises (infectieuses) comme la tuberculose (bacille de Koch) où la bactérie développe une stratégie qui empêche les lysosomes de s'acidifier

Le flux membranaire

Antérograde (synthèse des protéines) du REG vers le Golgi puis vers la mb cytopl.

Les vésicules à clathrine participent aux grains.

6. Agents pathogènes

Les bactéries entrent elles mêmes dans les cellules ou produisent des toxines pathogènes.

a) Listeria monocytogène

Elle exprime à sa surface des **internalines** (GP), qui se lient à des molécules d'adhérence (E cadhérines des zonulas adherens). Du côté intra cytoplasmique il y a activation du cytosquelette → activation de l'actine et de la myosine → traction sur la mb. Formation d'une vacuole.

b) Salmonella

Provoque la formation d'un **voile cytoplasmique** en injectant un facteur de signalisation le provoquant.

Des toxines s'intègrent à la mb. Elles sont hydrosolubles mais ont des parties liposolubles cachées. Elles st reconnus au niveau de microdomaines à GPI. La liaison au GPI entraîne un changement conformationnel et la partie liposoluble interagit avec la mb. Les toxines enchâssés peuvent former des **pores** donc le fonctionnement est perturbé. (communication entre les milieux extra et intra cell).

c) d'autres toxines

rentrent dans le cytoplasme par **endocytose** liée aux récepteurs et agissent de manière intracellulaire.

d) La toxine diphtérique

utilise l'endocytose par récepteurs liée à la **clathrine**. La fixation aboutit à une vésicule à clathrine.

Dans d'autres cas, elle se fait par les microdomaines où les toxines peuvent être reconnues par des motifs particuliers comme le **cholestérol**.

e) Tuberculose

Endocytose par **macrophages**. La vacuole doit fusionner avec du **lysosome** pour la destruction. Le bacille produit des prots qui empêchent la fusion des pro lysosomes avec la vacuole. Ceci empêche l'apport des pompes à P+. Dans la vacuole la bactérie peut proliférer.

les toxines entrées par récepteurs utilisent la voie rétrograde et aboutissent au REG. Elles utilisent la même mécanique : motifs spécifiques reconnus par les domaines transmembranaires. Puis ils retournent au REG. Puis ils utilisent en sens inverse ce qui sert à injecter ds le RE par le translocon pour raller ds le cytosol.

V. Les peroxysomes

A. présentation

Ce sont des **organites multifonctionnels** présents ds la quasi-totalité des cellules eucaryotes. Limités par une mb, imperméable aux p+ et aux petits métabolites. Elle limite un petit domaine spécifique. Ils sont arrondis, de **0,1 à 1,5 micron**.

Leur contenu est finement granuleux. Ils diffèrent des lysosomes habituels qui eux sont denses aux électrons. Dans la matrice, on peut trouver un **crystal**. Ils contiennent une cinquantaine d'enzymes (oxydases variées et catalases).

Parmi les oxydases, on trouve celles qui interviennent dans la **b-oxydation** des acides gras. Elles sont à l'origine de la production d'eau oxygénée qui peut entrer dans un cycle de production de composés très réactifs.

La catalase peut transformer H_2O_2 en H_2O et O_2 gazeux.

Pour montrer que ce sont des peroxysomes, on fait une **immunocytochimie, le produit est coloré brun**.

B. Théories de formation

1. De novo par néosynthèse

2. Dérivé de peroxysome préexistant

Un peroxysome se divise en 2 puis par apports de mb et de prots matricielles. Les prots sont synthétisés au niveau des ribosomes libres puis passent dans la matrice du peroxysome par l'intermédiaire de perméases. Lors de maladies des peroxysomes, souvent elles entraînent un décès de l'enfant car les cellules ne peuvent pas se débarrasser de H_2O_2 .

Immunocytochimie : localisation de prots spécifiques en MO et ME

Les nexus ne sont visibles qu'en ME

On prend un MET pas un MEB.