



# UE 2

## BIOLOGIE CELLULAIRE

<p><b>FICHE DE COURS 1 : INTRODUCTION AU VIVANT (Cours commun 1 UE1/ UE2)</b></p>
---

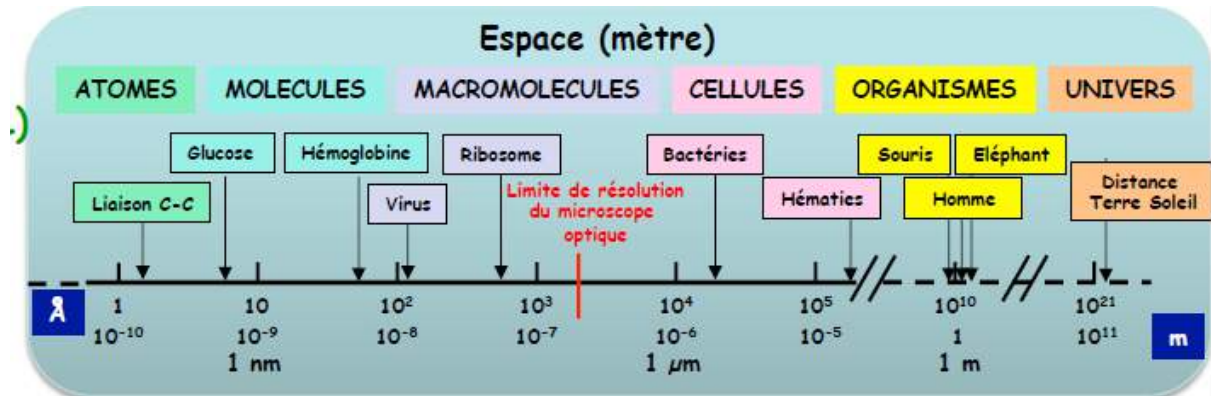
# INTRODUCTION AU VIVANT

## Table des matières

<b>I. La vie.....</b>	<b>p. 3</b>
<b>II. Les différents types de cellules.....</b>	<b>p..3</b>
<b>1) La cellule procaryote, une cellule simple.....</b>	<b>p. 4</b>
<b>2) La cellule eucaryote.....</b>	<b>p. 5</b>
<b>III. Outils d'étude des structures et fonctions cellulaires.....</b>	<b>p. 8</b>
<b>Synthèse.....</b>	<b>p. 13</b>

## INTRODUCTION AU VIVANT

Il est très important de maîtriser et d'apprendre les ordres de grandeur et les exemples de dimension/comparaison. +



### I. La vie

La biologie, ou l'étude de la science de la vie, consiste à étudier la matière vivante.

Un être vivant est un système chimique complexe **autonome, reproductible** gouverné par un programme. Pour réaliser ses fonctions, un être vivant **produit et utilise de l'énergie**.

La vie est un état complexe de la matière. La matière est la substance qui compose l'univers. La matière se présente sous 3 formes : gazeuse, solide, liquide. La matière est composée de substances fondamentales, les éléments. 109 éléments ou atomes sont connus (96 naturels) et dont 4 constituent la majorité du corps : **l'hydrogène H, le carbone C, l'oxygène O et l'azote N**.

Tous les êtres vivants sont composés de **cellules**. La cellule est l'unité de vie, elle correspond au plus petit ensemble de structures et de fonctions vitales.

**La cellule est la plus petite unité capable de manifester de manière autonome les propriétés du vivant. Elle synthétise l'ensemble de ses constituants en utilisant les éléments du milieu extracellulaire. Elle croît, se multiplie et meurt**

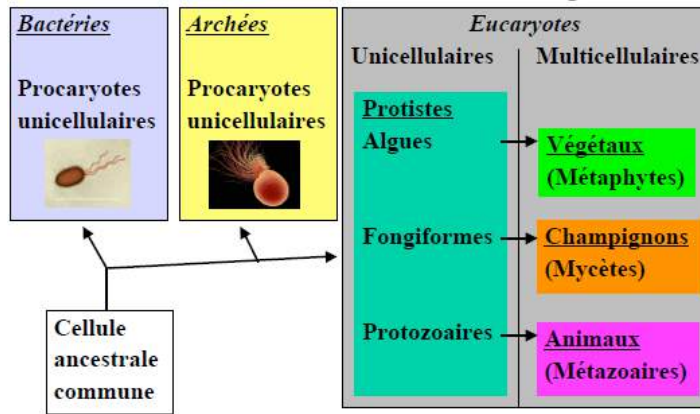
Les cellules sont composées de **molécules**. Une molécule est un assemblage d'**atomes** réunis par des liaisons fortes dans un espace défini.

Une molécule seule n'est pas vivante, la vie naît de l'interaction et de l'union de plusieurs molécules ou formes pour que se créent de nouvelles formes avec des propriétés nouvelles.

### II. Les différents types de cellules

Toutes les formes vivantes sont constituées de cellules, chaque cellule contenant tous les attributs du vivant. Les cellules, qu'elles soient constitutives de l'organisme humain ou de pathogènes, présentent une structure générale similaire avec une **membrane plasmique** délimitant un **cytoplasme** dans lequel on trouve une **information génétique**.

Sur cette base simple, on peut distinguer une grande diversité de cellules, en fonction de la présence de noyau (cellules eucaryotes) ou de leur absence (cellules procaryotes). Les cellules ne sont pas visibles à l'œil nu, mais au microscope.



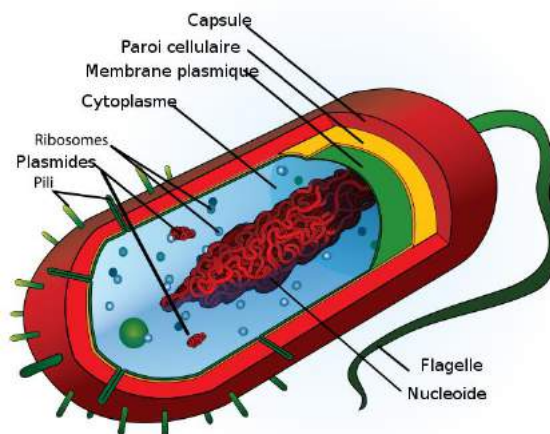
## 1) La cellule procaryote, une cellule simple

La cellule procaryote présente une organisation cellulaire ou **ultrastructure** simple du fait de l'absence de réelles structures intracellulaires différenciées. Les procaryotes ne forment pas d'organismes pluricellulaires : ils sont tous unicellulaires.

D'une très petite taille, la cellule procaryote mesure environ 2  $\mu\text{m}$  de long pour une largeur de 1  $\mu\text{m}$ . Elle possède une **membrane plasmique**, qui délimite un milieu aqueux intracellulaire, le **cytoplasme**, contenant :

- de l'eau, des petites molécules organiques (comme du glucose par exemple), des ions ;
- des inclusions inertes : accumulations de molécules, qui peuvent former des granulations si elles sont suffisamment importantes ;
- des enzymes, qui permettent la réalisation des réactions du métabolisme cellulaire ;
- des ribosomes (constitués de protéines et d'ARNr) et des ARNt, éléments nécessaires à l'expression de l'information génétique ;
- une information génétique, sous forme d'un chromosome circulaire et de plasmides, ainsi que d'ARNm.

Aucune structure membranaire intracellulaire, et donc aucun organe (pas de compartimentation). Par conséquent, l'information génétique n'est pas contenue dans un noyau.



**Pas d'organites délimités par des membranes, Pas de noyau.**  
**Diamètre cellule procaryote : 0,5 à 3  $\mu\text{m}$ .**

L'information génétique est essentiellement constituée d'un chromosome unique, formé d'un ADN double brin circulaire. Ce chromosome porte tous les gènes indispensables au fonctionnement de la bactérie. Il est regroupé dans une partie centrale de la bactérie, formant un **nucléoïde**.

En plus de ce **génome** principal, une bactérie possède un génome accessoire, sous forme de **plasmides** dont la présence n'est pas indispensable à la bactérie. Il s'agit d'ADN double brin circulaire, d'une taille très inférieure à celle du chromosome bactérien. Ils sont très souvent porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques. Une bactérie peut être parfois capable de transmettre un de ses plasmides à une autre bactérie.

La membrane plasmique délimite la cellule, et possède un grand nombre de protéines lui permettant d'assurer le passage de certaines molécules du milieu extracellulaire vers le cytoplasme, ou au contraire de la bactérie vers l'extérieur. Certaines protéines membranaires permettent aussi la réalisation de certaines voies du métabolisme.

Au-delà de la membrane plasmique se trouve une paroi bactérienne, caractérisée en particulier par la présence de peptidoglycanes (macromolécules glucidiques reliées par des peptides). La technique de coloration de Gram donne un résultat différent en fonction de la présence ou non de la paroi : bactéries qui ne sont pas colorées (on les qualifie de bactéries Gram -, ou Gram négatives), alors que d'autres bactéries sont colorées (ce sont les bactéries Gram +, ou Gram positives).

La paroi et la capsule sont facultatives, toutes les bactéries n'en possèdent pas forcément.

## 2) La cellule eucaryote

La cellule eucaryote est d'une taille plus importante que les procaryotes : en général de 20 à 50  $\mu\text{m}$ , mais certaines cellules peuvent atteindre des tailles très importantes. Les cellules eucaryotes possèdent un **noyau** et un système de **compartimentation**.

**Combien de cellules chez un être humain :  $10^{14}$  (cent mille milliards)**

**Combien de types cellulaires différents : > 200**

**Combien de bactéries chez un être humain : >  $10^{15}$**

### • Membrane plasmique et cytosol

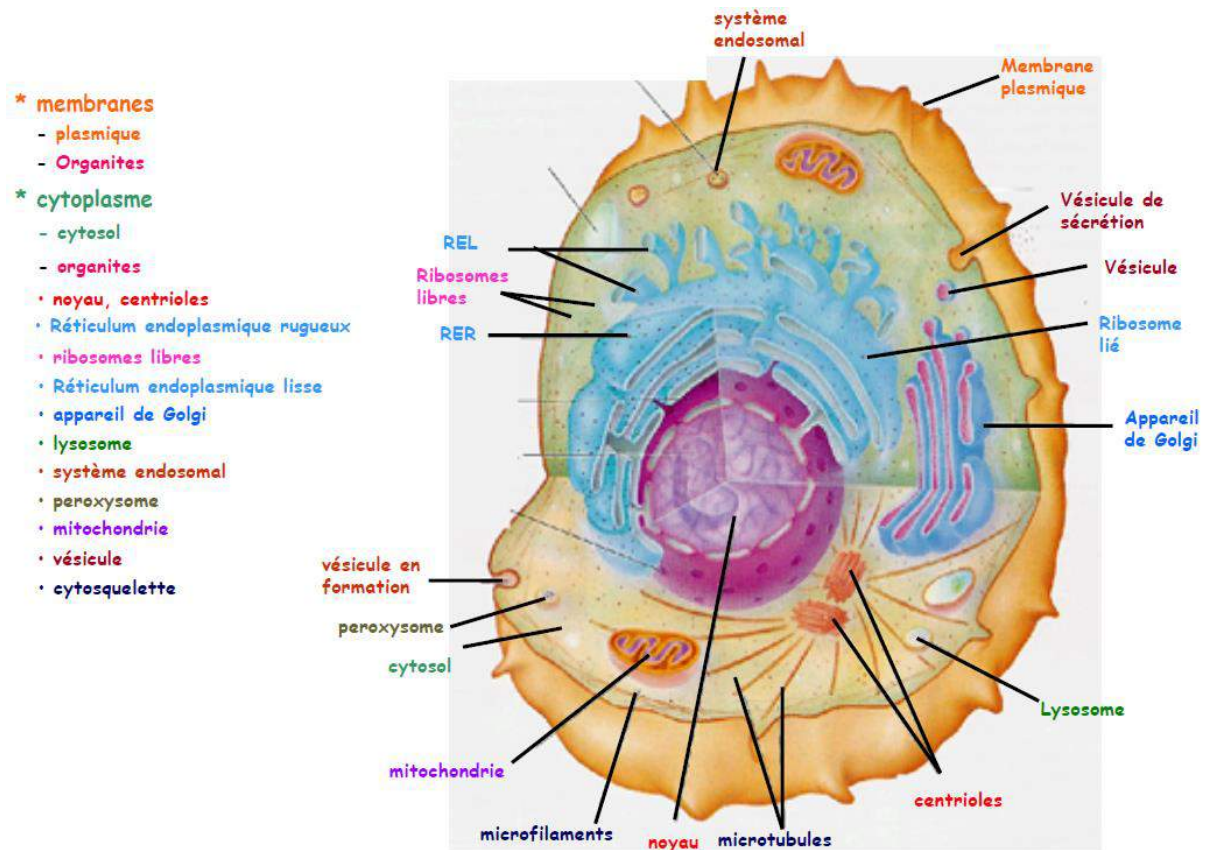
La membrane plasmique présente une organisation générale semblable à celle de la cellule procaryote, avec une double couche de lipides et diverses protéines.

Le cytoplasme constitue l'ensemble du contenu cellulaire, délimité par la membrane plasmique, à l'exclusion du noyau cellulaire. Il comporte ainsi deux phases : (i) une phase liquide, le **cytosol** (ou hyaloplasme), contenant des petites molécules organiques, des ions, des enzymes en solution dans l'eau ; (ii) de nombreux organites et structures en suspension dans le cytosol.

On trouve ainsi dans le cytoplasme, en plus du cytosol :

■ des ribosomes (constitués de protéines et d'ARNr) et des ARNt, éléments nécessaires à l'expression de l'information génétique ;

- un cytosquelette, constitué de protéines et permettant l'acquisition d'une forme par la cellule, la mise en place et le mouvement éventuel des organites: microfilaments d'actine (souvent sous-membranaires), microtubules organisés à partir du centrosome chez les cellules animales (en général situé à proximité du noyau) et filaments intermédiaires (kératines, lamines, etc.) ;
- des organites, structures délimitées par une ou plusieurs membranes. Cette compartimentation permet à la cellule eucaryote de conduire simultanément plusieurs réactions biochimiques différentes.



**Présence d'organites délimités par des membranes, Noyau.**  
**Diamètre cellule eucaryote : 20 à 50µm.**

• **Le noyau des cellules eucaryotes**

Les cellules eucaryotes se distinguent des cellules procaryotes par la présence d'un noyau et d'une organisation, compartimentation, par un système endomembranaire.

Le noyau est délimité par une double membrane, **l'enveloppe nucléaire**, percée de **pores nucléaires**. Cette structure permet de définir un compartiment nucléaire, le nucléoplasme, dans lequel se trouve l'information génétique. Cette information génétique, sous forme d'**ADN** double brin linéaire, est constituée de plusieurs **chromosomes**. Cette localisation de l'information génétique permet sa protection, et joue un rôle dans son expression : en effet, les ARNm obtenus suite à la transcription doivent sortir du noyau (*via* les pores nucléaires), pour pouvoir être ensuite traduits dans le cytoplasme.



La transcription et la traduction sont ainsi découplées dans le temps (elles ont lieu l'une après l'autre) et dans l'espace (noyau et cytoplasme). Ceci permet en particulier une maturation des ARNm dans le compartiment nucléaire :

- Ajout de structures protectrices aux deux extrémités de l'ARNm : coiffe en 5' (« début » de l'ARNm) et queue polyA en 3' (« fin » de l'ARNm) ;

- Élimination (= excision) de séquences non-codantes (les introns), les séquences formant l'ARNm mature étant alors « collées » bout à bout (= épissage) sans en modifier l'ordre : c'est le mécanisme d'excision-épissage, qui concerne la majorité des gènes humains. Ces événements de maturation n'existent pas chez la majorité des procaryotes (seules les archéobactéries ont une possibilité d'excision-épissage).

- **La cellule eucaryote est compartimentée**

Une cellule eucaryote possède au sein de son cytoplasme des structures à fonction(s) précise(s), délimitées par une ou plusieurs membranes : ce sont les **organites**. Or, les membranes biologiques sont semi-perméables : elles laissent passer certaines molécules mais bloquent ou limitent le passage d'autres molécules. De ce fait, la présence de membranes internes permet donc de délimiter des **compartiments biochimiques distincts au sein de la cellule eucaryote**. Ces compartiments peuvent présenter des propriétés physico-chimiques différentes (ex : des pH différents), des compositions différentes (en particulier au niveau des enzymes présentes). Cette compartimentation permet une division du travail au sein de la cellule eucaryote :

- chaque fonction cellulaire, correspondant à un ensemble de réactions chimiques, se déroule au sein d'un compartiment bien précis de la cellule (ex : synthèse des ARN au sein du nucléoplasme) ;

- des réactions de natures opposées peuvent se dérouler en même temps dans la cellule eucaryote, si elles prennent place dans des compartiments distincts (ex: nombreuses synthèses dans le cytosol, alors que les lysosomes permettent des hydrolyses) ;

- certaines voies du métabolisme peuvent faire intervenir plusieurs compartiments de manière successive ; il y a alors une réelle coopération entre différents compartiments intracellulaires (ex : la dégradation du glucose en conditions aérobies débute dans le cytosol – par les réactions de la glycolyse – puis se poursuit dans la matrice mitochondriale).

- a. Le système endomembranaire**

Il est formé du réticulum endoplasmique (RE), de l'appareil de Golgi, de mitochondries, de lysosomes et de nombreuses vésicules. Il permet en particulier la synthèse de protéines destinées à l'exportation hors de la cellule ou à destination de certains organites (protéines des lysosomes par exemple) au niveau de ribosomes cytosoliques fixés au réticulum endoplasmique (cette association formant le réticulum endoplasmique rugueux (RER) ou granuleux (REG) ; ces protéines sont ensuite maturées et triées par l'appareil de Golgi. Le réticulum (réticulum endoplasmique lisse, ou REL) intervient aussi dans la synthèse des lipides. Les différentes **vésicules** et **saccules** le constituant sont délimités par une simple membrane.

- b. Les lysosomes**

Ces organites délimités par une simple membrane sont caractérisés par un pH très acide. Ils comportent de nombreuses enzymes hydrolytiques, permettant ainsi d'assurer la digestion intracellulaire. Dérivent de l'appareil de Golgi.

- c. Les mitochondries**

Elles sont délimitées par une double membrane. La mitochondrie est le lieu des réactions du catabolisme oxydatif, permettant la synthèse d'énergie utilisable pour la cellule (sous forme d'ATP) à partir de l'oxydation complète des molécules organiques. On trouve dans la **matrice mitochondriale** des petits ADN double brin circulaires, ainsi que les ribosomes et ARNt nécessaires à l'expression de ce génome mitochondrial. La présence d'une information génétique conduit à qualifier la mitochondrie d'organite semi-autonome : elle est capable de synthétiser quelques-unes de ses protéines, mais reste pour l'essentiel dépendante du génome nucléaire. Théorie de l'endosymbiose entre une cellule eucaryote ancestrale et une eubactérie aérobie explique la naissance des mitochondries.

#### d. Les peroxysomes

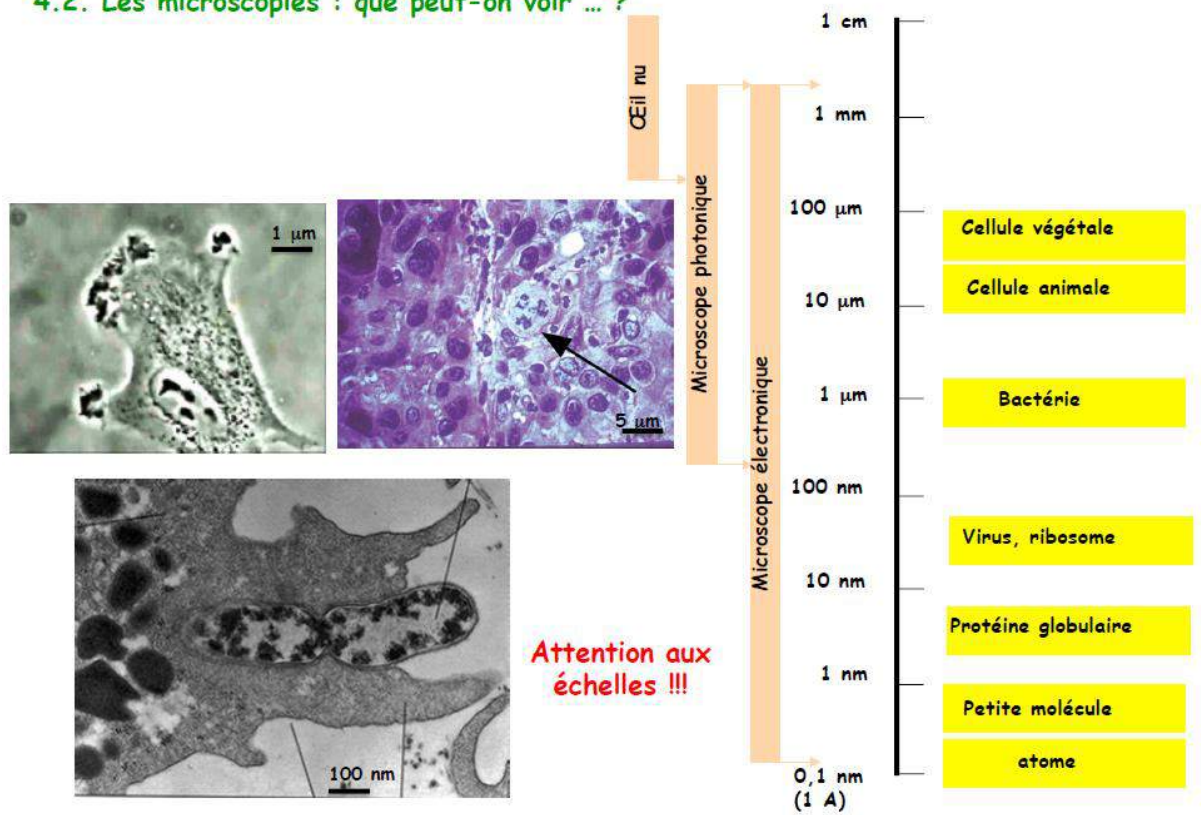
Il s'agit d'organites délimités par une simple membrane et intervenant dans des réactions de détoxification. Ces réactions produisent du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), et les peroxysomes possèdent l'équipement enzymatique permettant de transformer en eau ( $H_2O$ ) cette molécule nocive pour la cellule.

### III. Outils d'étude des structures et fonctions cellulaires

#### 1) Les microscopies

Observation d'un échantillon grossi et coloré à l'aide de l'énergie fournie par un flux de photons en microscopie photonique et par un flux d'électrons en microscopie électronique, ce qui augmente le pouvoir de résolution de l'œil.

#### 4.2. Les microscopies : que peut-on voir ... ?



- **Microscopie photonique ou optique** : la coloration de l'échantillon est nécessaire pour une microscopie à fond clair, mais pas pour les microscopies à contraste de phase et contraste d'interférence différentielle.



- **Microscopie photonique à fluorescence**

L'échantillon est rendu fluorescent avant son observation

DAPI : noyau (fluorescence bleue)

Rhodamine : mitochondries (fluorescence rouge)

Localisation dans la cellule de molécules naturellement fluorescentes ou marquées

- **Microscopie confocale à balayage laser**

Observation d'objets épais ( $> 500 \mu\text{m}$ ) et fluorescents

Reconstitution 3D de l'objet après traitement numérique

- **Microscopie électronique**

Pouvoir de résolution  $10^3$  fois supérieur à celui des microscopes photoniques (0.2 nm au lieu de  $0.2 \mu\text{m}$ )

**MET** : échantillon  $< 0.1 \mu\text{m}$  ; électrons traversent la matière ; observations des structures cellulaires ; contraste obtenu par imprégnation de sels de métaux lourds ; observation aussi en cryofracture : observation d'une réplique, d'un moulage, de l'échantillon congelé, ce qui permet notamment de visualiser l'intérieur hydrophobe des membranes et de voir des particules correspondant aux protéines

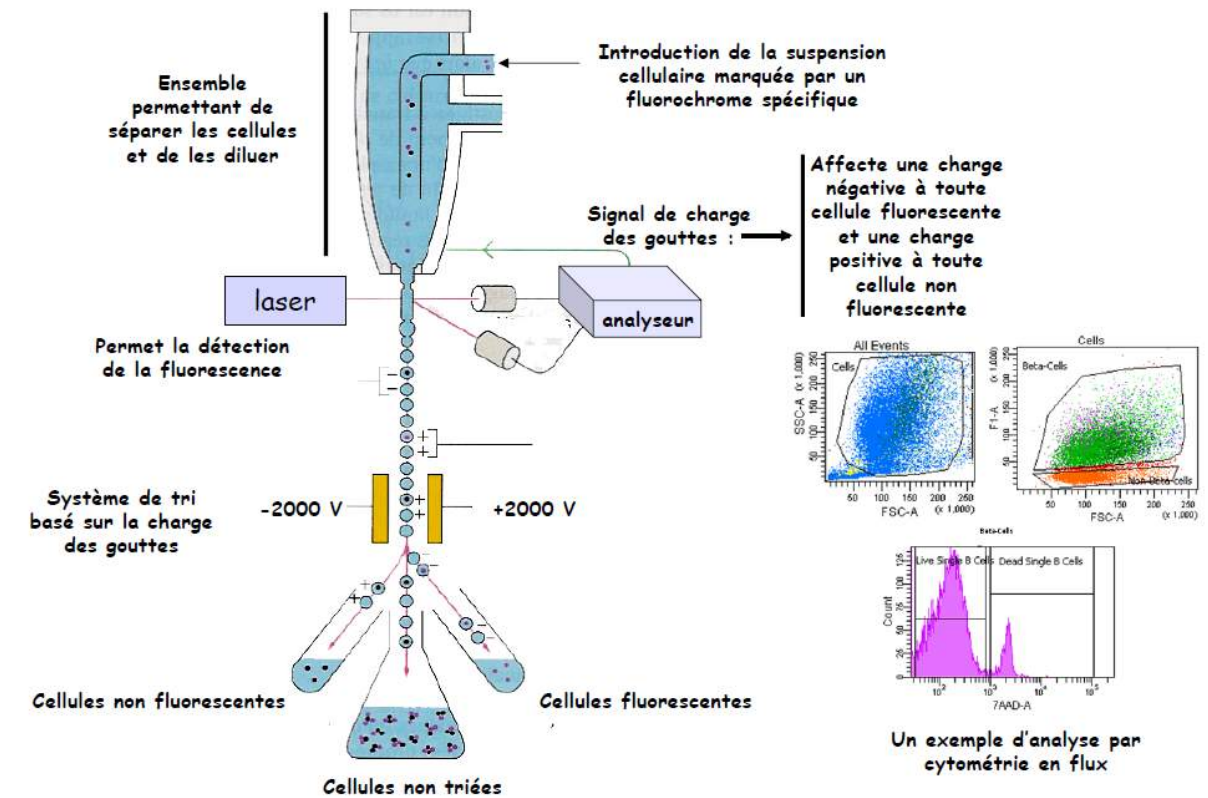
**MEB** : Obtention d'une image 3D de la surface cellulaire

**Préparation des échantillons avant une observation au microscope :**

3 étapes principales : fixation ; coupe ; contraste

## **2) La cytométrie en flux**

Cette technique permet de trier une sous- population cellulaire à l'aide d'un marqueur fluorescent qui lui est spécifique. Ce fluorochrome va acquérir une charge négative en rencontrant le laser : ainsi les cellules intéressantes seront- elles ensuite déviées vers l'électrode (+) et ainsi séparées des autres cellules.



### 3) Culture et fractionnement cellulaires

Les cellules isolées à partir d'un tissu peuvent être mises en culture solide, sur boîte, ou liquide. La première culture ainsi obtenue est appelée **culture primaire**.

Quand les cellules auront atteint un certain taux de prolifération, et que leur densité en culture aura atteint un certain seuil, avant que les cellules ne se touchent les unes les autres (confluence), nous prélevons des cellules et les remettons en culture après les avoir diluées = **culture secondaire**.

Enfin, de manière spontanée, ou par intervention de l'expérimentateur, ces cellules vont être immortalisées : on obtient alors une lignée cellulaire.

Le fractionnement cellulaire consiste, à partir d'une culture cellulaire, à séparer par centrifugation les organites les uns des autres, en fonction de leur taille.

### 4) Techniques d'analyse biochimiques

#### - **Immunocytochimie**

Cette technique consiste à localiser *in situ* (sur coupe ou sur échantillon entier ou sur culture cellulaire) une protéine spécifique à l'aide de l'outil anticorps ; pour voir quelque chose, il faut marquer l'anticorps : il peut l'être :

A la radioactivité

A l'or colloïdal

Par une enzyme

Par une molécule fluorescente : on parle alors d'immunofluorescence

#### - **Immunofluorescence directe et indirecte**

On utilise donc ici un anticorps fluorescent dirigé spécifiquement contre une protéine d'intérêt que l'on souhaite localiser

Dans l'approche directe, ce seul anticorps est utilisé : ainsi 1 fluorochrome sera fixé par protéine, et le signal peut donc être trop faible

Pour augmenter la sensibilité de ce système, on peut utiliser l'approche indirecte, qui consiste à utiliser 2 anticorps : un premier anticorps, dit primaire, dirigé contre la protéine, et reconnaissant 1 site sur la protéine ; un 2<sup>nd</sup> anticorps, dit secondaire, et dirigé contre le premier anticorps, y reconnaissant plusieurs sites, et c'est ce 2<sup>nd</sup> anticorps qui est fluorescent : ainsi plusieurs fluorochromes sont fixés pour 1 site de la protéine : on augmente la sensibilité de la visualisation

## - **Pulse chase**

### **Objectif**

- Identifier le lieu de synthèse d'une macromolécule
- Identifier la nature du précurseur de synthèse (poids moléculaire, glycosylation, phosphorylation...)
- Identifier la dynamique intra- cellulaire d'une macromolécule
- Identifier les phénomènes de maturation d'un précurseur de synthèse (modifications post- traductionnelles de type clivage protéolytique, glycosylations...)

### **Principe**

Utiliser un radioisotope (précurseur radioactif) spécifique de la macromolécule étudiée afin de la repérer en la distinguant d'autres types de macromolécules : ce radiomarquage spécifique permettra le repérage de la macromolécule et donc son suivi.

ADN : thymidine tritiée ou BrdU (bromodésoxyuridine, analogue de la thymidine)

ARN : uridine tritiée

Protéine : un acide aminé radioactif (leucine tritiée, méthionine ou cystéine marquée au soufre 35 pour les plus classiques) ou un sucre (mannose, glucose, galactose...) radioactif ou du phosphate marqué au <sup>32</sup>P

### **Protocole**

Temps de pulse : incubation plus ou moins longue des cellules avec le traceur. Pour déterminer le lieu de synthèse de la macromolécule dans la cellule, on pratiquera plutôt un pulse court (quelques minutes). Des cellules sont prélevées à intervalles de temps réguliers et on localise (autoradiographie) ou on dose (scintigraphie) le traceur dans la cellule.

Temps de chasse : le milieu de culture est débarrassé du traceur, l'excès de traceur est éliminé (lavage des cellules) et les cellules sont remises en culture dans un milieu avec éventuellement traceur froid (non radioactif). Des cellules sont prélevées à intervalles de temps réguliers et on localise (autoradiographie) ou on dose (scintigraphie) le traceur dans la cellule.

Recherche du traceur : la radioactivité cellulaire peut-être dosée avec un compteur à scintillation. Autrement, on peut déterminer dans quel(s) compartiment(s) cellulaire(s) se trouve le traceur par autoradiographie (méthode dite aux grains d'argent). Les grains d'argent sont observés au MET.

## **Informations fournies**

Elles dépendent de la méthode d'analyse à l'issue du pulse et des différents temps de chasse. On peut en effet soit analyser directement un étalement de cellules par autoradiographie, soit extraire des cellules les macromolécules à analyser (par exemple les protéines) et les analyser en électrophorèse (souvent SDS- PAGE) couplée à une autoradiographie ou à une analyse quantitative au compteur à scintillations d'une bande de gel.

### **Analyse d'un étalement de cellules :**

- Détermination du lieu de synthèse à l'issue d'un pulse court
- Détermination du flux intra- cellulaire de la macromolécule à l'issue des différentes chasses

### **Analyse des protéines radioactives extraites en SDS- PAGE :**

- Détermination de la nature du précurseur de synthèse à l'issue d'un pulse court
- Détermination des maturations subies par ce précurseur au cours du temps à l'issue des différentes chasses
- **Introduction de molécules dans les cellules**

# SYNTHESE

**Cellule** = brique du vivant = - Elle réalise des échanges avec son milieu environnant (Matrice Extra- Cellulaire ou MEC)

- Elle peut se reproduire
- Elle peut produire de la matière et de l'énergie

Bases de la théorie cellulaire (1837-1839):

**LES CELLULES SONT LES UNITES STRUCTURALES ET FONCTIONNELLES DU VIVANT**

1855

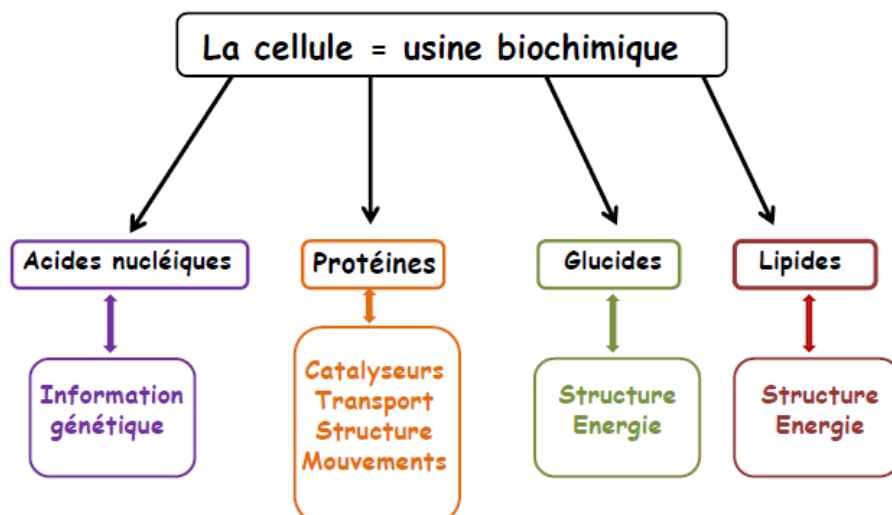
Complément de la théorie cellulaire:

**LES CELLULES SONT LES UNITES DE REPRODUCTION DU VIVANT**

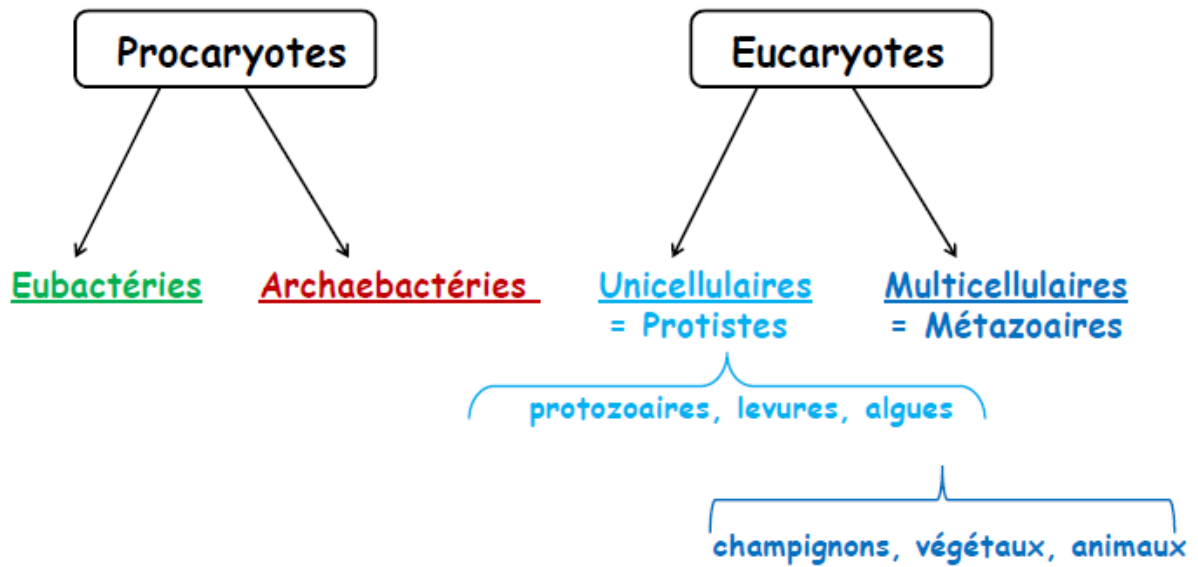
L'unité fondamentale du monde vivant :

- Fonctionnelle
- Autonome
- Reproductrice
- Membrane sélective et échanges

La cellule crée, transforme, utilise échange de l'énergie :

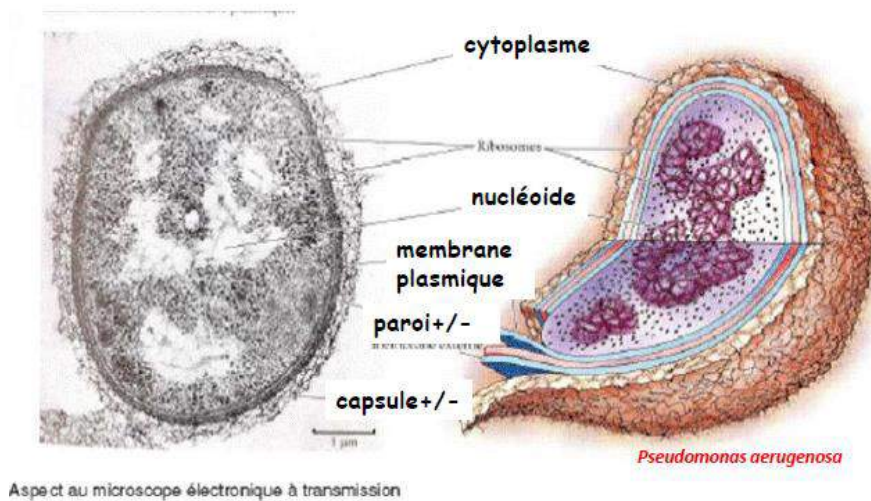


Cellules procaryotes et eucaryotes :



Evolution grâce à mise en place d'une compartimentation

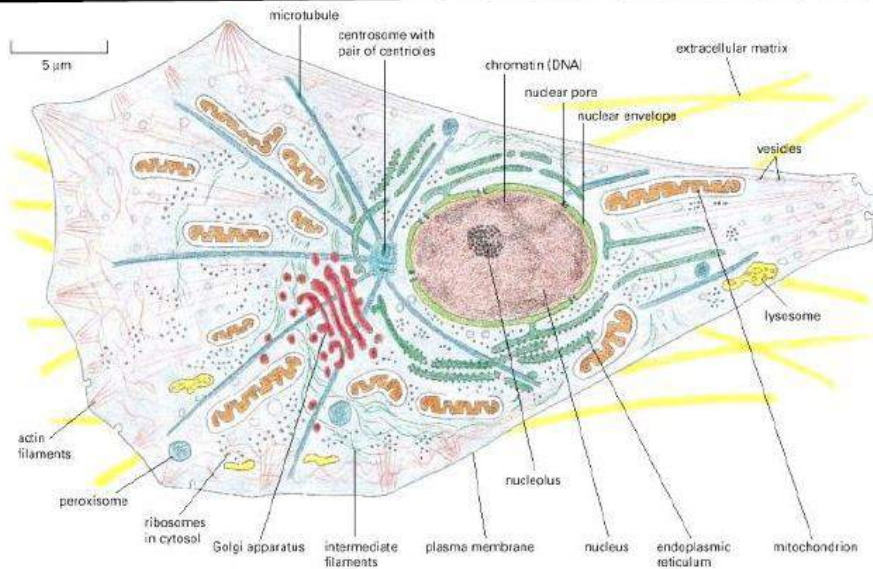
## LA CELLULE PROCARYOTE TYPE



➤ **Compartimentation minimale**



# LA CELLULE EUCARYOTE TYPE



## ➤ Compartimentation intracellulaire complexe

Cellule en Interphase = qui ne se divise pas

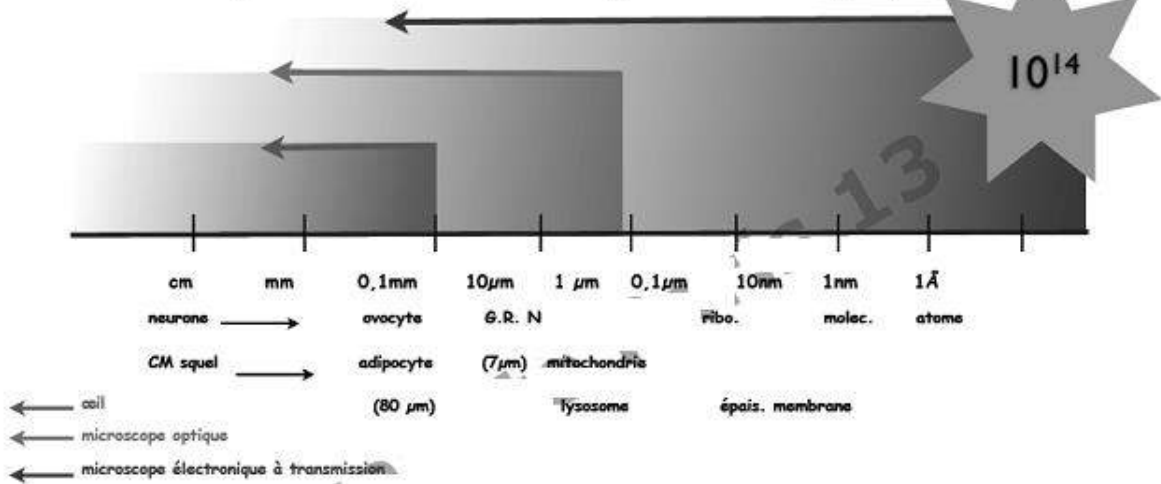
**Cellule eucaryote** = volume délimité par une membrane, la membrane plasmique, et renfermant un cytoplasme compartimenté en organites

**Organite** = volume intra- cellulaire délimité par une membrane et conférant à la cellule une ou plusieurs fonction(s)

## COMPARAISON PROCARYOTE/ EUCARYOTE

	Eucaryote	Procaryote
<b>Membrane nucléaire</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
<b>Nombre de chromosomes</b>	<b>&gt;1</b>	<b>1</b>
<b>Forme ADN</b>	<b>Linéaire compacté</b>	<b>Circulaire</b>
<b>Histones</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
<b>Nucléole</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
<b>Compartimentation</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>
<b>Paroi cellulaire</b>	<b>Cellule végétale</b>	<b>Oui</b>
<b>Taille ribosomes cytoplasmiques</b>	<b>80S</b>	<b>70S</b>
<b>ARN ribosomaux</b>	<b>18S, 28S, 5.8S, 5S</b>	<b>16S, 23S, 5S</b>
<b>Mitochondries</b>	<b>Oui</b>	<b>Non</b>

# Ordre de grandeur des objets biologiques

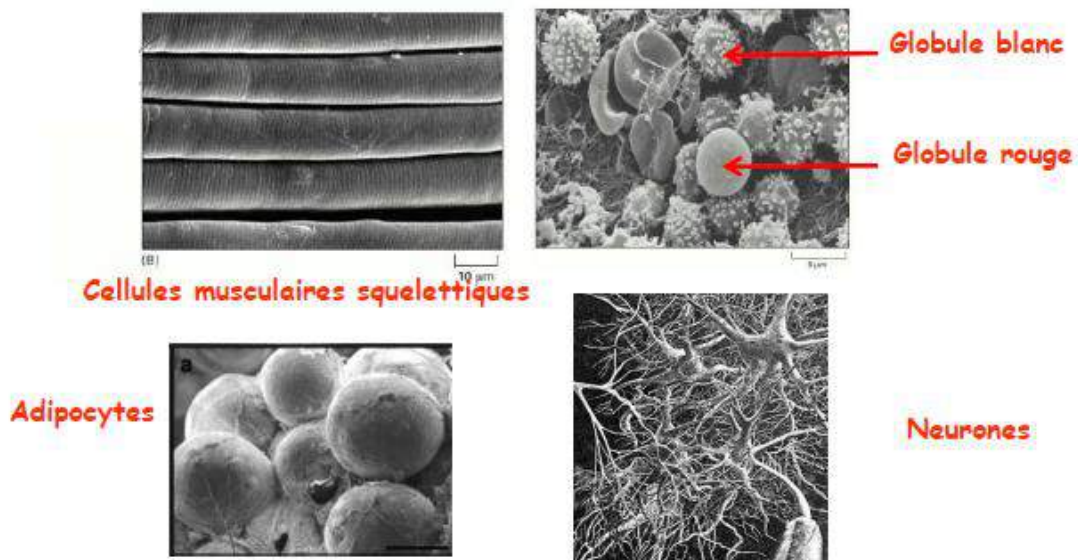


CM squelet : cellule musculaire squelettique ; GR : Globule Rouge ; N : noyau ; Ribo : ribosome ; Molec : molécule

## Organismes uni- et pluricellulaires

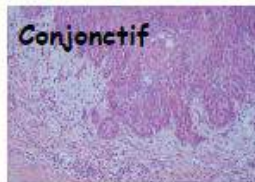
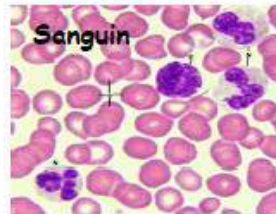
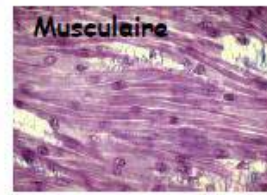
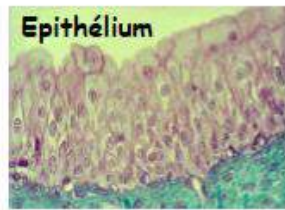
**Organisme pluricellulaire** : chez l'homme par exemple, il existe plus de **200 types différents de cellules**. Chacun de ces types cellulaires a une ou plusieurs fonctions à accomplir dans l'organisme et sa forme ainsi que sa structure sont adaptées à cette ou ces fonctions. (cf cours d'histologie)

### Ex: espèce humaine



> 200 types cellulaires différents, spécialisés, même génome

Ex: espèce humaine



➤ 5 types de tissus différents  
(5 à  $10 \times 10^{13}$  cellules)

Les caractéristiques principales de ces différents tissus seront abordées en histologie.