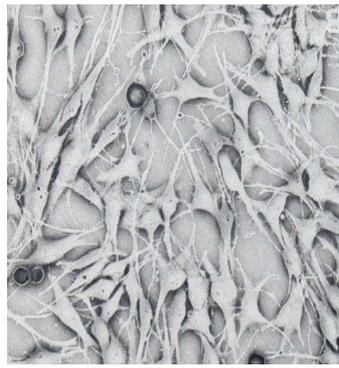
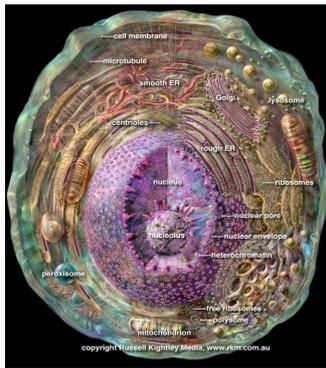


INTRODUCTION à la BIOLOGIE CELLULAIRE

Généralités sur la cellule



© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

- I - Généralités**
- II - Propriétés fondamentales des cellules**
- III - Classification**
- IV - Plan d'organisation de la cellule**
 - * Procaryote / bactérie
 - * Eucaryote
- V - Modèles cellulaires eucaryotes:**
 - Levure; Amibe; Cellules végétale & animale
- VI - Méthodes d'étude des cellules**
- VII - Constituants de la cellule**

Plan

Ouvrages
de
référence

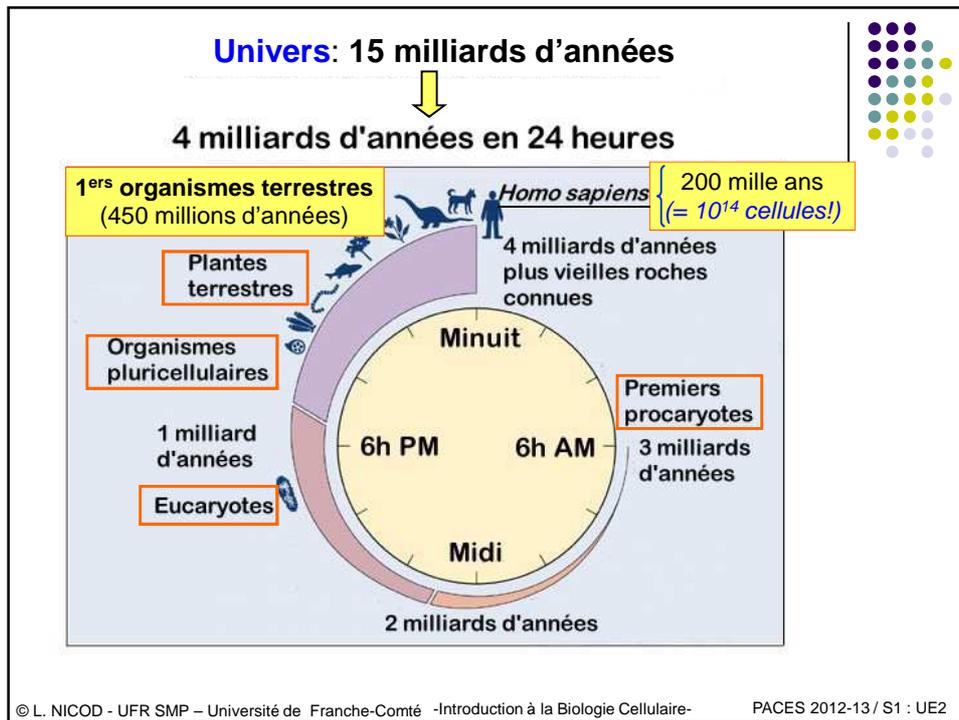
« Cours de Biologie Cellulaire » -
ellipses

« Cours de Biologie Cellulaire » -
P Cau & R Seïte - 4^{ème} éd.

« L'Essentiel de la Biologie Cellulaire » -
Alberts / Bray / Hopkin & coll. - 3^{ème} éd. (2011)
Médecine - Sciences Flammarion

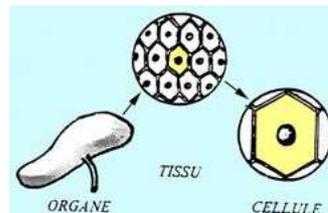


© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2



I - Généralités

- **Historique:**
 - 1665** : Début de la biologie cellulaire :
(*R. Hooke, Van Leeuwenhoek*)
 - 1838** : La théorie cellulaire de *Schleiden & Schwann*
- **Définition:** **cellule = unité fondamentale du vivant**
 - cellules isolées: bactéries, protozoaires, ...
 - organismes supérieurs = communautés de cellules
organe > tissu > cellule
- **Questions:**
 - *D'où venons-nous?*
 - *Comment nous développons-nous?*
 - *Tous différents?*
 - *Pourquoi vieillissons-nous, mourons-nous?*



II. Propriétés fondamentales de toutes les cellules



Cellule = unité structurale fondamentale

(Matériel génétique + organisation biochimique)

1. **ADN** : informations / gènes
2. **Code génétique** universel
3. **ARNs/ ribosomes** : traduction de l'information en protéines
4. **Protéines**: contrôlent structure et fonction cellulaires
5. **Energie / ATP** : intégrité du contenu cellulaire
 synthèse des constituants cellulaires
6. **Membrane plasmique**: protéines + lipides

III. Classification

Unité et diversité des cellules



isolées / en communauté

mobiles / sédentaires

CELLULES

formes définies / variables

colorées (vertes)/ non colorées

2 types de cellule

« avant »

« caryote = noyau »

« vrai »

Procaryotes

Eucaryotes

(1 à 2 µm)

(5 à 100µm ou +)

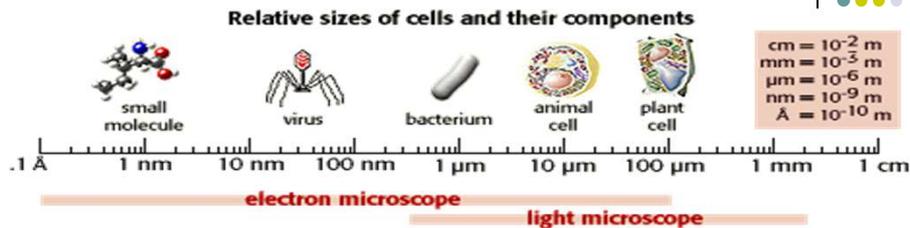
Org°rudimentaire

*Compartiments
intracellulaires*

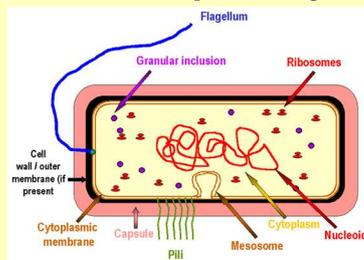
	Cellule procaryote	Cellule eucaryote
Membrane nucléaire	-	+
Nombre de chromosomes	1 (circulaire: <u>nucléotide</u>)	> 1
Taille ADN	(0,75 à 5) x 10 ⁶ pb	1,5 x 10 ⁷ à 1,5 x 10 ¹¹ pb
Histones / ADN	-	+
Nucléole	-	+
Volume cellulaire	< qqs μm ³	μm ³ à qqs mm ³
1 ^{er} acide aminé / synthèse protéique	Méthionine ou N-formylméthionine	Méthionine
Systèmes / organites endomembranaires	-	+
Paroi cellulaire	+ (PG) (sauf mycoplasmes)	- (sauf c. végétales: cellulose)
Stérols/ membr. plasmique	-*	+
Ribosomes	70 S / cytoplasme	80 S / RER
Phagocytose Pinocytose	-	±
Flux cytoplasmique	-	+ (cyclose)
Site transport des e-	Membrane cellulaire	Membrane organites

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

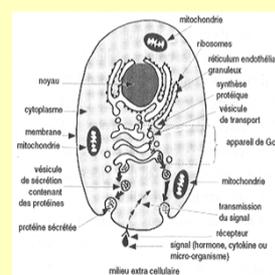
IV. Plan d'organisation de la cellule



1. La cellule procaryote

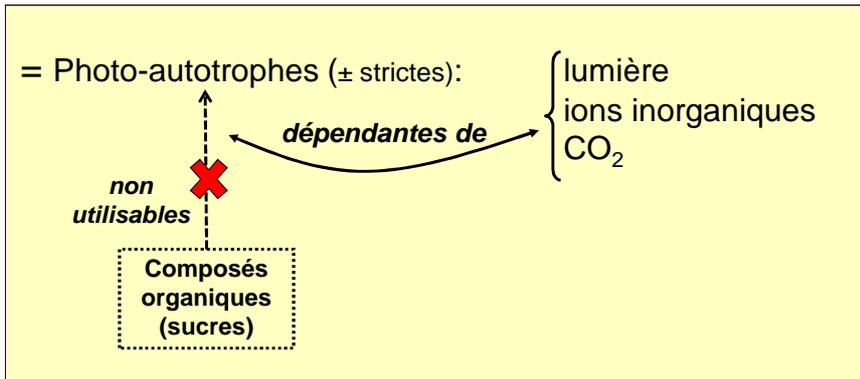


2. La cellule eucaryote



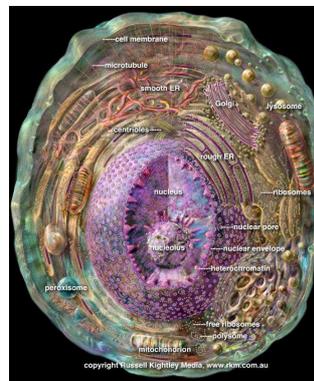
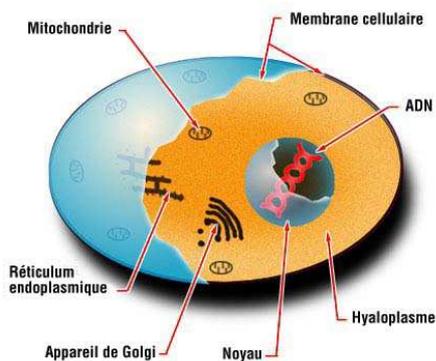
- *ex de bactéries photosynthétiques*

Les cyanobactéries
 (= « algues bleues » / eutrophisation des eaux)
 ... dans eaux douces, salées, sol



2. La cellule eucaryote

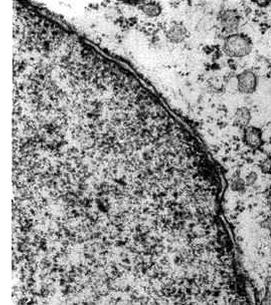
Organismes unicellulaires: Protistes (amibes, levures)
 pluricellulaires: Plantes
 Champignons
 Animaux



Organisation générale / eucaryote



2-1. Membrane plasmique (= plasmalemme):



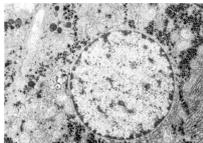
- bicouche lipidique asymétrique + (glyco)protéines
- cell-coat (= glycocalyx): chaînes osidiques
- rôles: intégrité de la cellule fluidité
(perméabilité, échanges, ...)

2-2. Compartimentation: +++



a - Organites à double membrane:

* **Noyau:** chromatine (ADN/2 + histones), nucléole
enveloppe nucléaire double
(ribosomes, lamina)



qqq µm

* **Mitochondrie:** memb. externe perméable
memb. interne / crêtes (ATP)
matrice : ADNmt

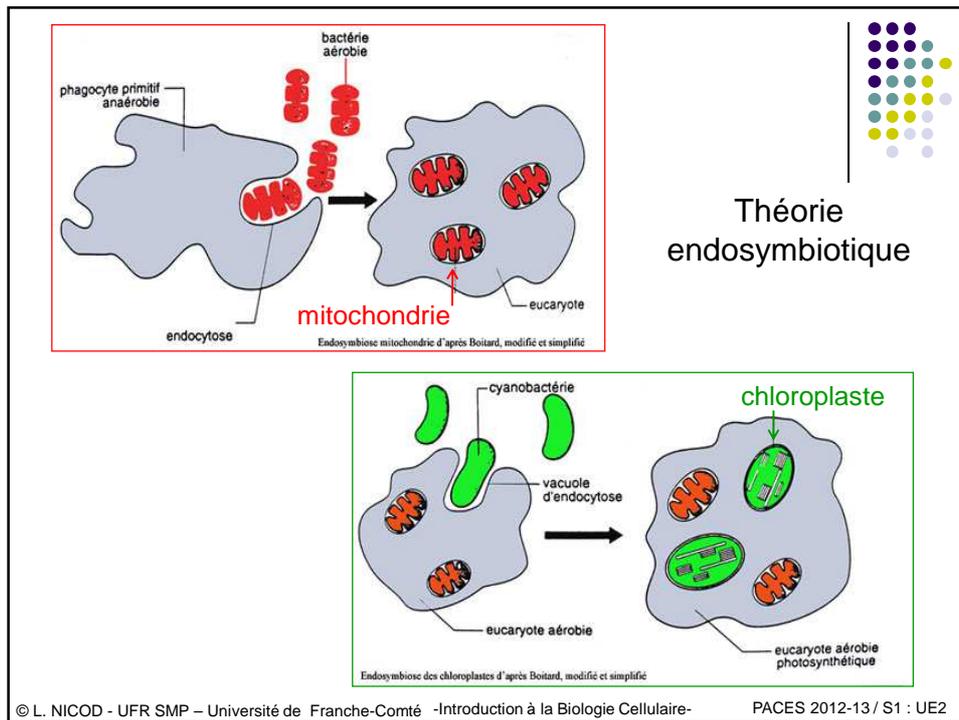


1 µm

* **Chloroplaste:** ADN, chlorophylle
photosynthèse



qqq µm

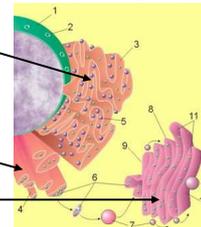


**b - Organites à simple membrane:
= système endomembranaire**

*** Réticulum endoplasmique (RE):**

= réseau de cavités en continuité avec memb. nucléaire

- RE rugueux (RER ou REG): + ribosomes / f. externe
- RE lisse (REL): sans ribosomes



*** Appareil de Golgi:**

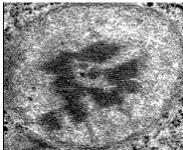
= empilement de saccules aplatis (dictyosomes, citernes)

- Face cis / noyau ; face trans / memb. plasmique
- Localisation: centre cellulaire (vers centrosome)

* **Lysosomes** (+++ Macrophages)
= vésicules de digestion riches en enzymes

* **Endosomes**
= réseau de vésicules à pH acide sans enzymes

* **Peroxisomes** (*pas S.E.*)
= vésicules riches en enzymes:
R° oxydation, catalase

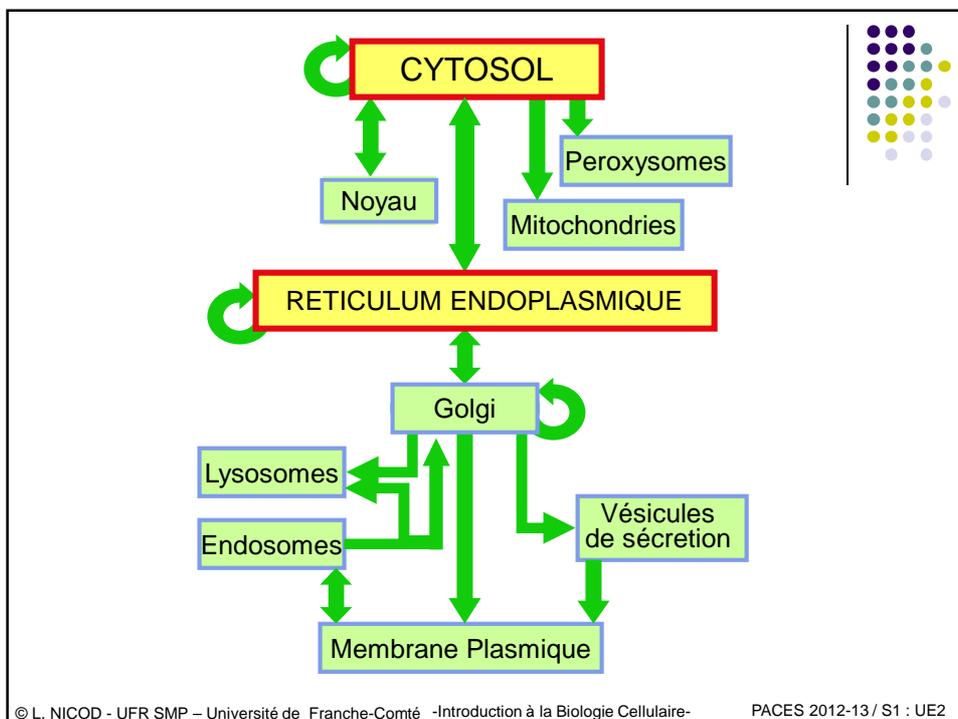


0,5 à 2 µm

2-3. Cytosol (= hyaloplasme)
= gel aqueux + cytosquelette

	microtubules (MT)
	microfilts. d'actine (MF)
	filts. Intermédiaires (FI)

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2



V. Modèles cellulaires eucaryotes

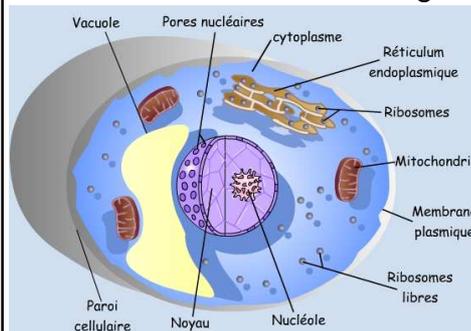
1. La levure (champignon unicellulaire):

(ex: *Saccharomyces cerevisiae*)

Cellules eucaryotes **les + simples**

Développement dans milieu simple (ions, glucose, vit.)

Division: fission ou bourgeonnement



Paroi rigide

Membrane plasmique

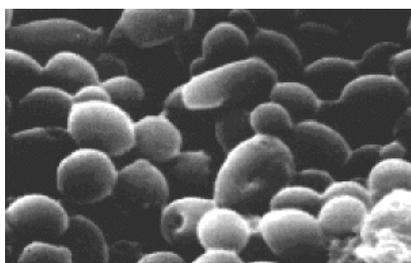
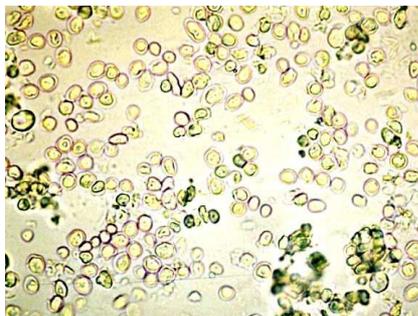
Cytoplasme :actine, ribosomes, mitochondries, « lysosome », RE-golgi rudimentaires

Noyau haploïde (16 chr + nucléole) + pores / membrane nucléaire

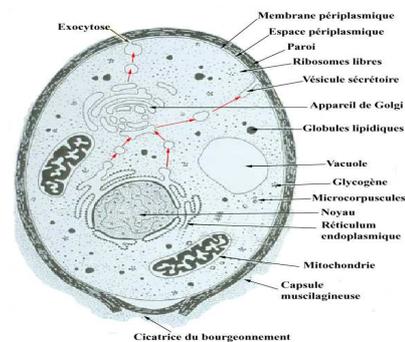
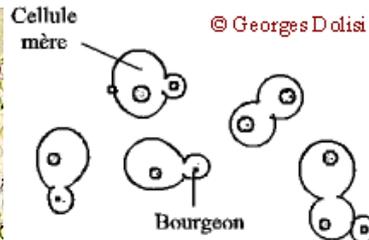
Plasmides / ADN

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire-

PACES 2012-13 / S1 : UE2



Levures photographiées au M.E.B.



La levure

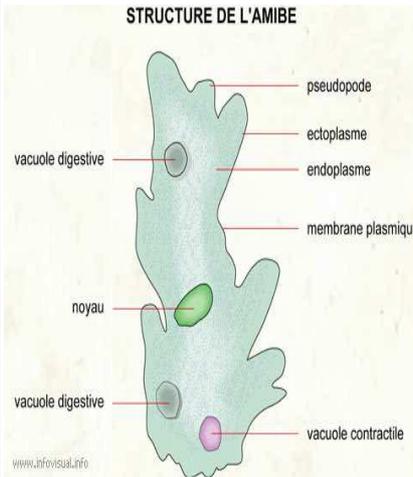
© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire-

PACES 2012-13 / S1 : UE2

2. L'amibe = Protozoaire

(ex : *Amoeba proteus*)

- **Eucaryotes unicellulaires** | les + grands (L : 1mm)
| les + complexes

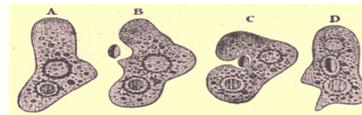


Membrane plasmique renforcée
rigide & fluide / pas de paroi

Noyau: enveloppe (lamina) + pores
>100 chr & >10 nucléoles

Cytoplasme + syst. endomembr.:

ribosomes, mitoch., lysosomes, RE, Golgi,
cytosquelette (**pseudopodes**)
vacuoles de phagocytose
vacuoles contractiles



© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

3. La cellule végétale

Paroi épaisse

(fibres de cellulose + PS + Protéines)

Membrane plasmique (échanges)

Noyau:

memb. nucléaire + lamina (protéines)
chromosomes nombreux (>200)
nucléoles (1 à 10)

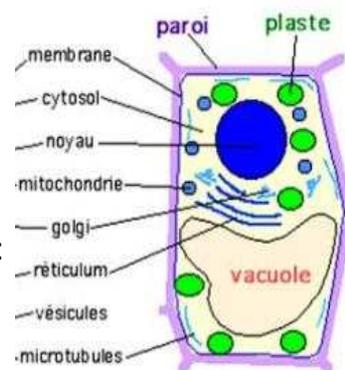
Cytoplasme + syst. endomembranaire:

ribosomes, mitoch., RE, Golgi, lysosomes,

Cytosquelette (MT et MF)

Chloroplastes (**chlorophylle**)

Vacuole centrale (réserves, déchets)



© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

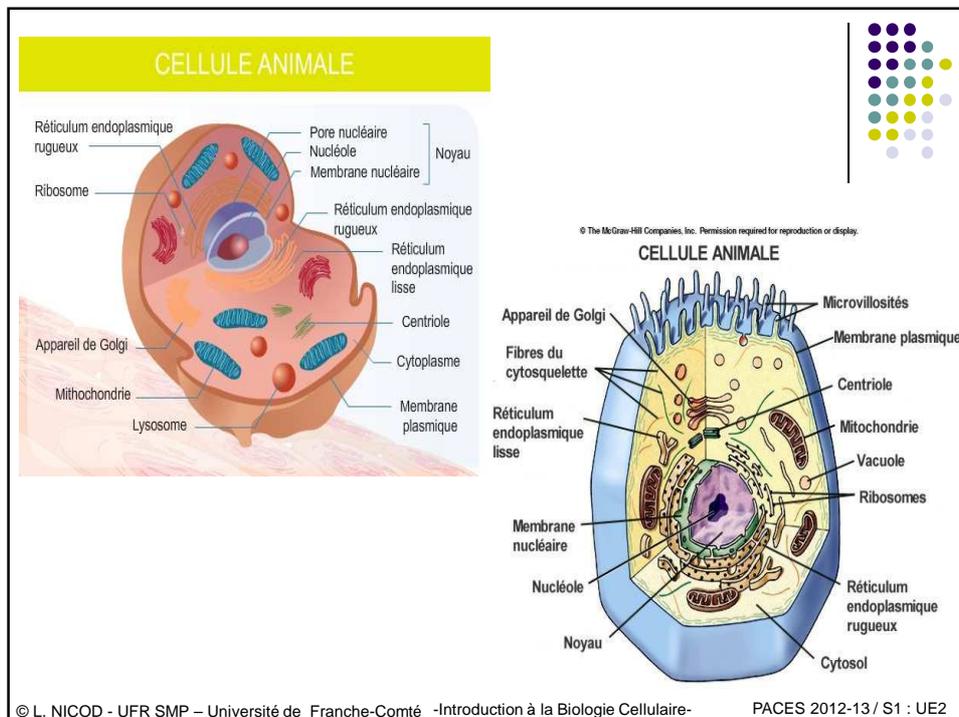
4. La cellule animale



- **Animaux supérieurs :**
 - = 200 types de cellules différentes, spécialisées
- **Structure :**
 - Glycocalyx (GP de surface)
 - Membrane plasmique
 - Cytoplasme + syst. endomembranaire
+ cytosquelette (MT /centrioles, MF, FI)
+ peroxysomes (oxyd° moléc. orga.)

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire-

PACES 2012-13 / S1 : UE2



VI. Méthodes d'étude de la cellule



1. Les cultures cellulaires

2. Le fractionnement cellulaire:

= Purification & analyses biochimiques
des organites / protéines cellulaires

Techniques: - Centrifugation
- Chromatographie sur colonne
- Electrophorèse

3. (Les techniques de biologie moléculaire)

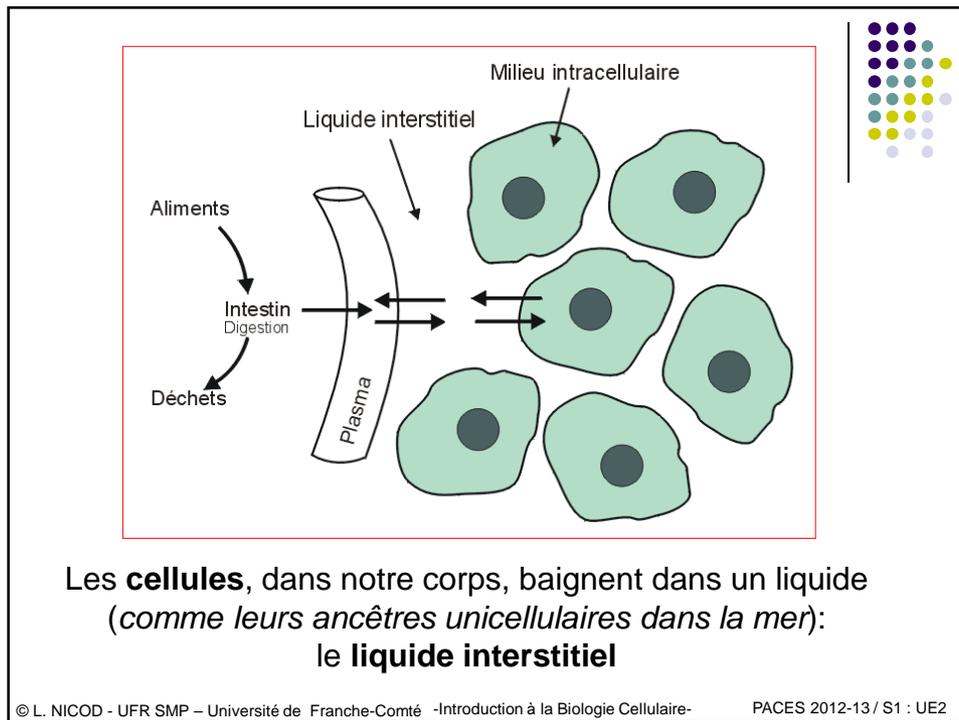
Identification, isolement & séquençage des gènes

4. (Les études morphologiques)

1. Les cultures cellulaires animales



- = Réponse à la nécessité d'un **grand nombre de cellules** / études diverses
- Informations sur **un type** cellulaire
/ population hétérogène d'un tissu
- Isolement cellules / tissu:
[dissociation + mise en culture +/- prolifération]
- **Comportements ≠ en culture:**
Cellules | **circulantes** → culture *en suspension*
| **organisées /tissu** → *adhérentes* / support
- Cultures **primaires** / **secondaires**
lignées (*immortelles - commercialisées*)



Culture cellulaire

quelques caractéristiques

Figure 3. Morphology of cell types commonly used in culture.

- Milieu de culture adapté complexe: (nutriments, facteurs de croissance ...)
- Maintien en survie ou prolifération
- Immortalisation : $\left\{ \begin{array}{l} \text{spontanée} \\ \text{induite} \end{array} \right.$ (*mutations*)
- Inhibition de contact / support (*repiquage*)

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

2. Le fractionnement cellulaire

Purification & analyse biochimiques
des **organites & protéines** cellulaires



Comment casser les cellules & tissus?

- ❖ **Séparation contrôlée :**
des fractions & organites cellulaires
des macromolécules
- ❖ **Éclatement cellules:**
choc osmotique (*hypotonique*)
ultra-sons
broyage

Précautions : *organites doivent rester intacts*



Homogénat cellulaire (en suspension dans tampon)

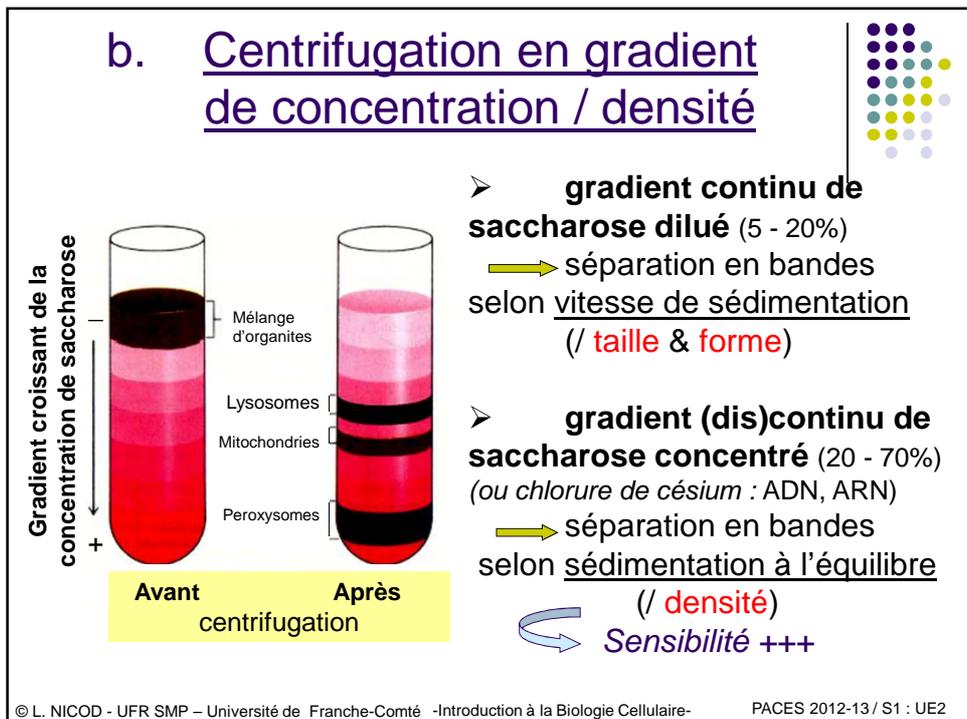
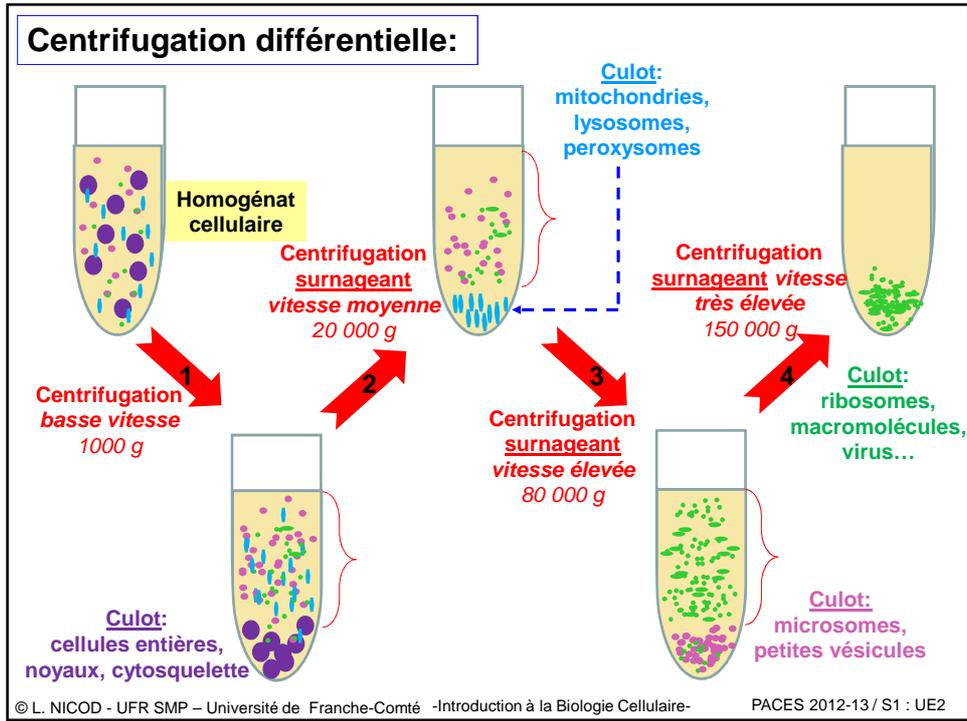
a. Centrifugation différentielle

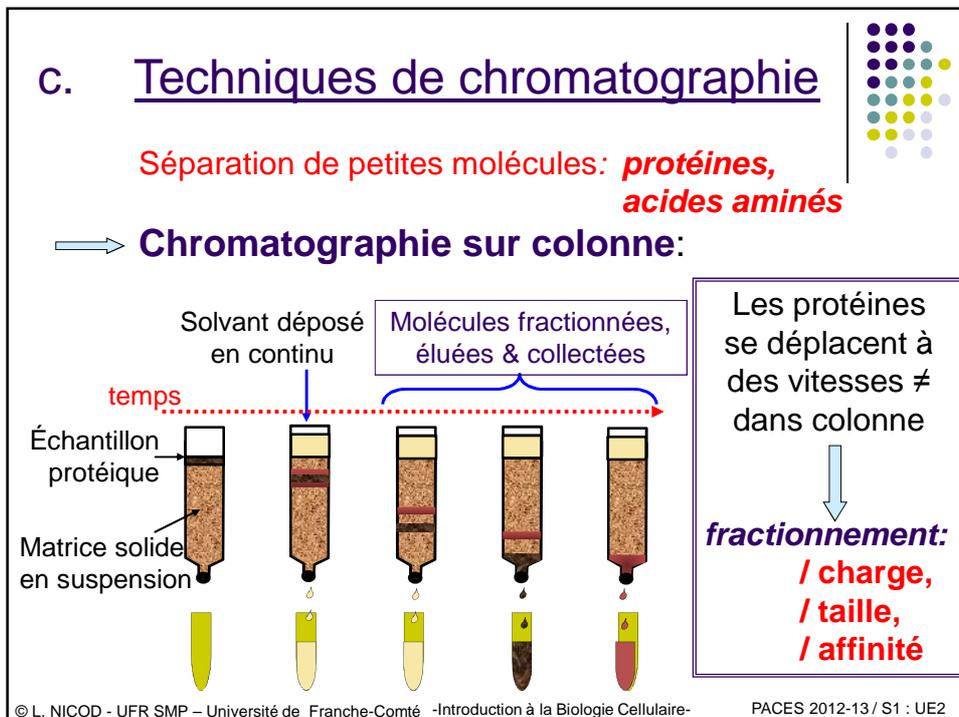
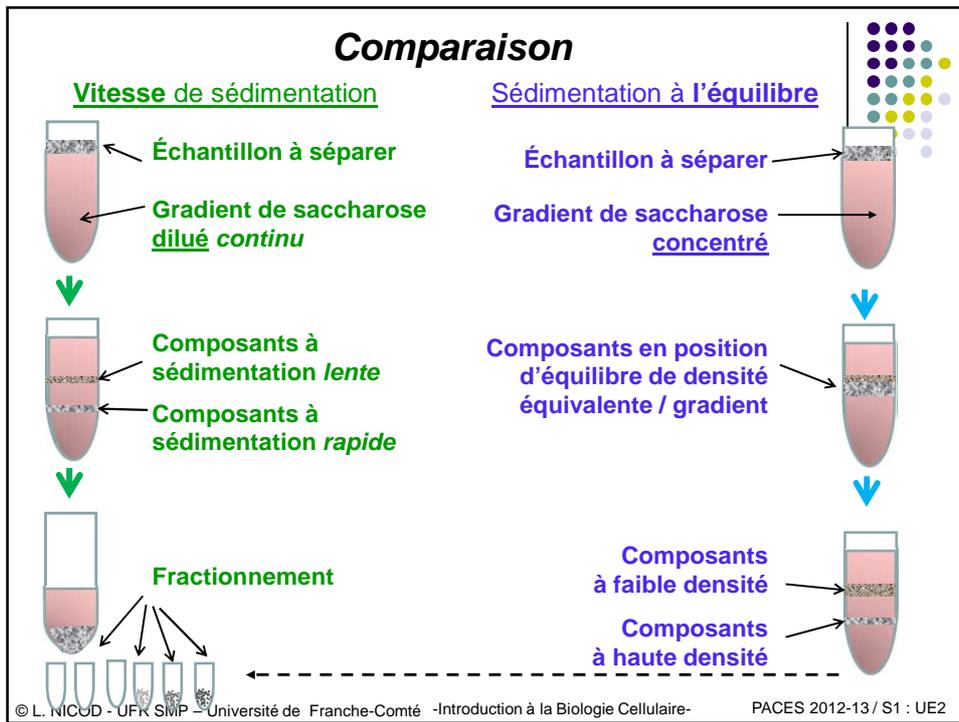
= **Centrifugations (ultracentrifugations) répétées
à vitesses croissantes:**

séparation des composants / **taille & densité**

Composants les + denses :
recueillis / 1ère centrifugation

**+ composants sont petits,
+ force centrifuge (pour les sédimenter) est élevée
(derniers recueillis)**





Purification des protéines par chromatographie sur colonne



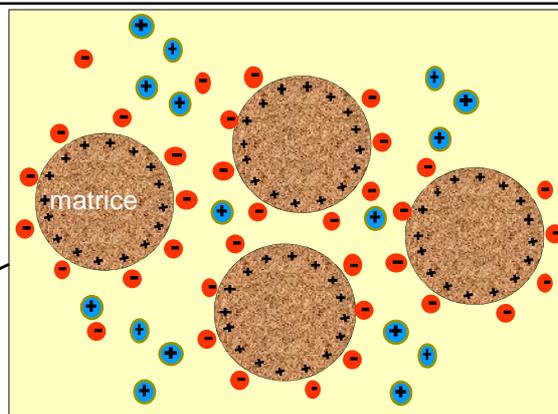
3 types de matrice:

- chr. par échange de ions
- chr. par filtration sur gel
- chr. par affinité

**Un échantillon est passé successivement à
travers plusieurs colonnes différentes...**

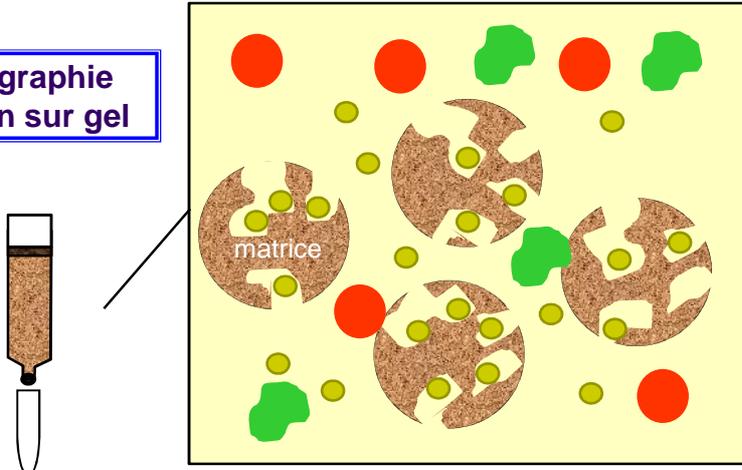
Une protéine purifiée → étude +++

Chromatographie sur colonne échangeuse d'ions



Matrice insoluble portant des charges ioniques
qui retardent les molécules de charge opposée
(selon pH, FI de la solution)

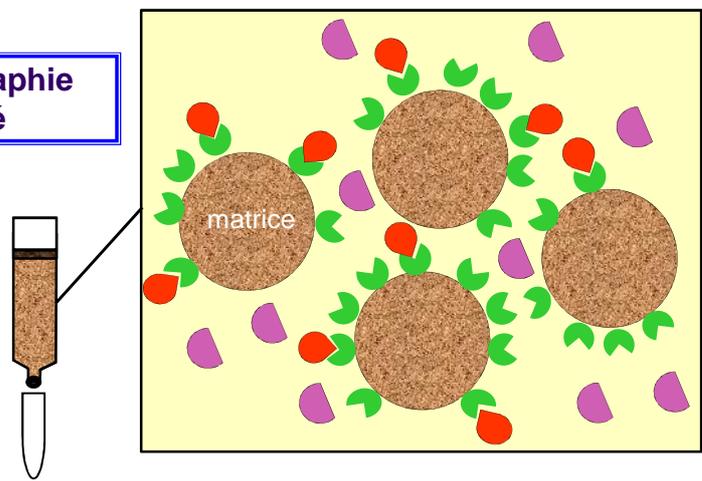
Chromatographie par filtration sur gel



Matrice inerte mais poreuse:
les petites molécules sont retenues par la matrice & migrent plus lentement

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

Chromatographie d'affinité



Matrice insoluble liée à un ligand
→ interaction spécifique avec une protéine

Degré de purification +++ après un seul passage

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

d. Techniques d'électrophorèse



Matrice de gel réticulé inerte
immérgé dans une solution tampon

Champ électrique → migration molécules vers l'**anode +**



© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire-

PACES 2012-13 / S1 : UE2

Séparation de protéines par SDS-PAGE

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS

(**Sodium Dodécyl Sulfate**)



→ déterminer | *taille*
| *composition en sous-unités protéiques*

- 1. Dénaturation des protéines:** ↑ T° ; SDS détergent (solubilisation)
2-Mercaptoéthanol (rupture pt S-S)
- 2. Gel de polyacrylamide → taille de pores ajustable**
Plus la concentration du gel est élevée, plus les « mailles du filet » sont serrées.
- 3. Champ électrique → fractionnement en bandes / PM**
P. de petite taille migrent plus vite; P de grande taille sont retardées
Migration d'un mélange étalon / PM
- 4. Coloration du gel:** *Bleu de Coomassie, colorants argentifères*

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire-

PACES 2012-13 / S1 : UE2

Electrophorèse bidimensionnelle:
> 1 000 protéines peuvent être séparées

Première dimension:
 séparation selon **charge**
 (point isoélectrique)

Deuxième dimension:
 séparation selon **masse**

Protein mixture

pH 4.0

Gradient pH stable

pH 10.0

Apply first gel to top of second

pH 4.0

pH 10.0

SDS-PAGE

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

3. Techniques de biologie moléculaire:

Isolement et analyse des acides nucléiques:

- **Électrophorèse sur gel d'agarose**
- **Techniques PCR**
- **Séquençage ADN**

Applications:

En médecine: identification
 diagnostic
 traitement maladies génétiques (*avenir*)

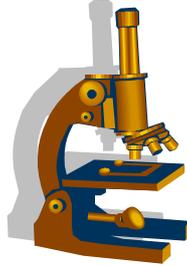
En biologie : identification
 classification des espèces
 organisation & fonctionnement des gènes

A T G C

T
A
G
C

© L. NICOD - UFR SMP – Université de Franche-Comté -Introduction à la Biologie Cellulaire- PACES 2012-13 / S1 : UE2

4. Les études morphologiques



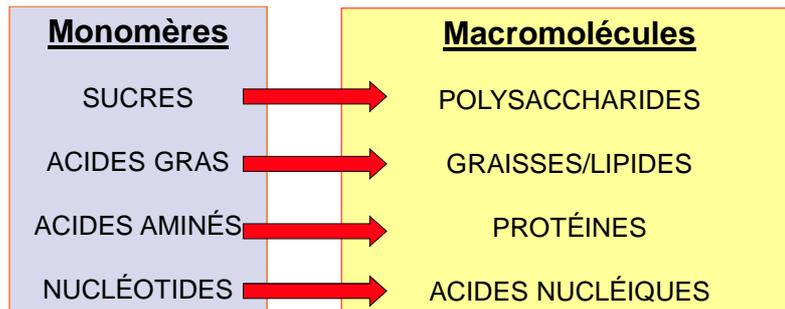
Cf. module n°3 : méthode d'étude des tissus

VII. Constituants de la cellule

Composants		% du poids total	Types # de molécules
Inorganiques	Eau	70	1
	Ions (<i>sels minéraux</i>)	1	20
Organiques	Sucres	1	250
	Acides gras	1	50
	Acides aminés	0,4	100
	Nucléotides	0,4	100
	Autres petites moléc.	0,2	300
	Macromolécules (<i>Prot., Ac Nucl, PS</i>)	26	3000

Constituants organiques

- Unités moléculaires = **monomères**
- Association de monomères = **polymères**
- Édifications complexes de polymères = **macromolécules**
- 4 familles principales de molécules organiques :



⇒ extraordinaire **diversité de formes et comportements**

Ex. de macromolécule: ADN

